

Développement d'analogues urotensinergiques radiomarqués pour l'imagerie de tumeurs solides Benjamin Poret

▶ To cite this version:

Benjamin Poret. Développement d'analogues urotensinergiques radiomarqués pour l'imagerie de tumeurs solides. Cancer. Normandie Université, 2018. Français. NNT: 2018NORMR028. tel-01838279

HAL Id: tel-01838279 https://theses.hal.science/tel-01838279

Submitted on 13 Jul 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie

Préparée au sein de l'Université de Rouen Normandie

Développement d'analogues urotensinergiques radiomarqués pour l'imagerie de tumeurs solides

Présentée et soutenue par Benjamin PORET

Thèse soutenue publiquement le 6 juillet 2018 devant le jury composé de				
M FOURMY Daniel	Directeur de Recherche, Université de Toulouse III	Rapporteur		
M FAIVRE-CHAUVET Alain	Professeur des Universités Praticien Hospitalier, Université de Nantes	Rapporteur		
Mme BARRÉ Louisa	Directeur de Recherche, Université de Caen Normandie	Examinateur		
Mme LANCELOT Sophie	MCU-PH, Université Claude Bernard Lyon 1	Examinateur		
M GANDOLFO Pierrick	Professeur des Universités, Université de Rouen Normandie	Directeur		
M BOHN Pierre	Radiopharmacien, Université de Rouen Normandie	Co-directeur		

Thèse dirigée par GANDOLFO Pierrick et BOHN Pierre, laboratoires DC2N et LITIS







Pour toi ma sœur ; Pour toi ma nièce ; Pour toi maman ; Et pour tous ceux qui ont souffert, qui souffrent ou qui souffriront de près ou de loin du cancer.

« Quand on cherche, on trouve jeune homme ! » S. Michel

REMERCIEMENTS

Par ces quelques lignes, je souhaite remercier chaleureusement le **Docteur Daniel Fourmy**, Directeur de Recherche à l'Inserm de l'Université de Toulouse qui me fait l'honneur d'évaluer ce travail et de siéger dans ce jury de thèse en qualité de rapporteur, malgré la distance et la rudesse du climat normand. C'est pour moi un privilège que ces travaux soient jugés par un spécialiste des RCPG et plus particulièrement de leur internalisation, qui est l'un des principes majeurs dans le développement de radioligands.

Le **Professeur Alain Faivre-Chauvet**, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier de l'Université de Nantes, a accepté d'être le rapporteur de ce travail, en tant qu'expert du développement et de l'évaluation de radioligands en médecine nucléaire. C'est pour moi un honneur que ce travail soit évalué par un spécialiste du domaine et je l'en remercie très sincèrement.

Je tiens également à remercier le **Docteur Louisa Barré**, Directrice de Recherche à l'Université de Caen Normandie, pour avoir accepté d'apporter son expertise en qualité d'examinatrice dans le domaine de la radiochimie spécialisée dans l'imagerie médicale. Je souhaite lui exprimer ma sincère reconnaissance.

Pour parfaire ce jury de thèse, je souhaite remercier le **Docteur Sophie Lancelot**, Maître de Conférences et Praticienne Hospitalière de l'Université Claude Bernard de Lyon pour avoir accepté d'examiner ces travaux de thèse en qualité de radiopharmacienne et spécialiste de l'imagerie médicale. Je suis honoré par sa présence dans ce jury de thèse.

Je tiens à présenter toute ma sincère gratitude au **Professeur Pierrick Gandolfo**, Professeur à l'Université de Rouen Normandie et co-directeur de cette thèse, pour le temps, la confiance et la patience qu'il m'a accordés tout au long de ces années de doctorat, et durant ces longs mois de rédaction. J'ai beaucoup appris à tes côtés, à me dépasser, à toujours essayer de donner le meilleur de moi-même, parfois sans y arriver, mais en étant sorti grandi et armé pour la suite de l'aventure. J'espère que tu es fier de ce qu'on a accompli tous les trois avec Pierre et que ce projet trouvera écho avec un prochain étudiant.

Je remercie très chaleureusement le **Docteur Pierre Bohn**, Radiopharmacien au Centre Henri Becquerel à Rouen et co-directeur de cette thèse, pour m'avoir fait confiance toutes ces années, du Master à la thèse et pour toute la passion de la recherche qu'il a su me transmettre. Je n'oublierai jamais la première fois que tu m'as parlé en ce mois de juillet 2013 : « As-tu peur de manipuler de la radioactivité ? ». Je ne me souviens plus exactement de ma réponse, mais entre le ^{99m}Tc, le ¹⁸F et l'¹¹¹In, je pense que la réponse devait être négative. En tout cas, j'ai adoré mon aventure à Becquerel où j'ai pu développer des techniques de mise au point de radioligands. Tout comme Pierrick, j'espère que tu es fier aujourd'hui du travail que l'on a accompli tous ensemble.

Je remercie le **Docteur Youssef Anouar**, Directeur de Recherche Inserm et directeur du laboratoire de Différenciation et Communication Neuronale et Neuroendocrine et le **Docteur Thierry Paquet**, Directeur Adjoint du Laboratoire d'Informatique, de l'Information et des Systèmes, qui m'ont accueilli au sein de leurs laboratoires respectifs dans lesquels j'ai pu réaliser ma thèse.

Je tiens tout particulièrement à remercier le **Docteur Hélène Castel**, Directrice de Recherche Inserm, pour m'avoir accueilli dans son équipe de recherche depuis mon tout premier stage de Master puis en thèse, de m'avoir accordé toute sa confiance, apporté son savoir et son expertise scientifique. Tu cherches à extraire le meilleur de tes étudiants et j'ai pu apprendre la rigueur et la force de travail à tes cotés. Je ne te remercierai jamais assez pour m'avoir recommandé à Pierre Bohn ce fameux été 2013 lorsqu'il cherchait un étudiant pour développer les projets de recherche à Becquerel. Nous voici 5 ans plus tard, à l'orée d'un projet qui ne demande qu'à prendre son envol.

Je remercie chaleureusement le **Professeur Pierre Vera**, Directeur du Centre Henri Becquerel et Praticien Hospitalier, pour m'avoir accueilli dans ce grand service de médecine nucléaire où j'ai pu apprendre les bases et les techniques avancées de manipulation de radioligands. Je souhaite te remercier pour le temps précieux et ton expertise que tu m'as accordés lors de nos réunions scientifiques. Remerciements (2018) 42-45

Felicitations Soutenance The Soutena

The Journal of Incredibles Thanks

Journal homepage : www.merci.fr

Les remerciements d'un p'tit gars en thèse

Benjamin Poret

ARTICLE INFO

Receveid 3 june 2018 Accepted 3 june 2018

Keyword : Merci Amis Famille Doctorants Collègues Les autres

Introduction

1. Au Centre Henri Becquerel

Il va sans dire que j'ai été grandement accompagné au CHB par un nombre incroyable de professionnels aux diverses spécialités auprès desquels j'ai pu tirer le meilleur. Toute ma sincère gratitude pour toi **Romain M** pour m'avoir initié à la « bécane », ce fameux micro-TEMP dernier cri et pour y avoir passé un grand volume d'heures à expliquer (et ré-expliquer) au singe que je suis comment fonctionne cette formidable technologie. Egalement, je souhaite remercier **Pierre D** (encore un Pierre !), spécialisé dans le développement d'outils d'analyses d'imagerie pour m'avoir initié, le temps de quelques après-midi, au développement de plugin ImageJ, qui aura permis de me sauver de quelques nuits blanches (et d'heures de psychothérapie) à compter les cellules une à une...

Ces mots de sincères gratitudes sont pour **Joseph LC**, qui lors de notre virée à Vienne (pour le « plus grand congrès international de médecine nucléaire »), m'a encouragé et appris beaucoup sur la radioactivité, son histoire et ses mystères. J'ai encore une pensée émue pour cette génération d'enfants traités avec de la crème au radium pour ses « effets purificateurs ».

Bien sûr, je ne pourrais pas évoquer toutes ces personnes sans parler de **Pierrick** (bonne chance mec pour ce début de thèse, t'as les reins pour faire ça, pssschhhh ondes positives !), **Jean R** pour l'installation d'un multipasseur sur l'HPLC, la meilleure invention de l'Homme après le chocolat au riz soufflé et **Isabelle G** pour avoir organisé les réunions scientifiques de Becquerel jusqu'à peu.

ABSTRACT

Parce que les remerciements sont aussi l'expression personnelle d'un doctorant à la fin d'un processus de travail et de façonnage sur plus de 8 années d'études, il me paraissait important de pouvoir y exprimer tout le degré de folie qui sommeille en moi dans ces prochaines lignes. La vie est faite de rencontres et de passions, de découvertes et de dépassement. Je suis issu d'un milieu modeste, élevé par des parents qui m'ont appris le courage, la force et le travail, à aimer et à respecter mon prochain. J'ai eu (et j'ai encore) des amis fidèles, qui m'ont appris à être curieux, à développer mon sens commun, à partager et à profiter des bons moments, j'ai une famille compréhensive et attentive et j'ai eu des collègues et amis patients, des rencontres incongrues et spontanées, des personnes qui œuvrent tous les jours pour rendre ce monde meilleur. Qui a donc cultivé ce grain de folie ?

Enfin, dans ce même bâtiment se cache **Aurélie**, la gentillesse incarnée sur Terre, elle m'a couvert quand j'ai perdu lamentablement mon badge VIP dans la nature et m'a aidé dans mes démarches administratives. Le grand administratophobe que je suis lui en est éternellement reconnaissant.

Evidemment, il serait étonnant de ne pas remercier toute l'équipe de préparateurs en médecine nucléaire qui m'ont quotidiennement accueilli et aidé tout au long de cette thèse. Le « racleur des fonds de pot d'indium » comme je me suis auto surnommé vous est très reconnaissant. Sans être exhaustif, j'aimerais tout de même nommer Arthur, Christèle, Delphine, Mireille, Raphaël, Romain et Maxime.

Enfin, Becquerel ne serait pas le grand centre qu'il est sans son service d'anapath du 2^e étage et les personnes qui le composent. Mes remerciements tout chaleureux à **Jean Michel P** (en qualité de chef de ce service) qui, pendant l'été 2013 et les autres qui ont suivi m'a initié à l'orientation et à l'identification cellulaire de pièces anatomiques cancéreuses extraites de patients malheureusement atteint de cancer. Je n'oublierai jamais votre accueil et la passion que vous me transmettiez lors de nos rdv quotidiens pendant toute la durée de mon master. Egalement, je souhaite remercier Marie et « son » cryostat sur lequel je me suis entraîné à la coupe de tranches sériées de 3 µM d'épaisseur, prouesse physique surtout lorsque la clim tombait en panne. **Elodie**, pour m'avoir initié à la culture cellulaire, technique qui deviendra ma principale activité de thèse. **Colas**, notre rencontre chez Vadim et nos conversations passionnées à côté de tubes tournant sur 20 000 g me manqueront.



The Journal of Incredibles Thanks

Journal homepage : www.merci.fr

2. A Mont-Saint-Aignan

2.1 L'équipe 3 « Astrocyte et Niche Vasculaire »

C'est à MSA que j'ai passé la majeure partie de ma thèse et notamment dans l'équipe 3. Et je pense que je ne peux pas commencer cette partie sans remercier **Laurence D** qui m'a accueilli et aidé tout au long de cette thèse. Tu portes à bout de bras tellement d'activités – recherche – encadrement – commandes – mère pingouin – que tu es l'un des principaux piliers de cette équipe. Il suffit que tu sois en vacances (ce qui arrive rarement, heureusement pour nous) pour comprendre toute la charge de boulot que tu abats. Ma sincère gratitude pour toute l'aide que tu m'as apporté au cours de cette aventure. J'espère pouvoir t'offrir un mojito dans Rouen un de ces jours.

J'ai cependant une pensée un peu triste pour **Fabrice** : j'espère que mon (ou ma) successeur aura des placards aussi bien garnis de chocolats et de cochonneries que moi. Blague à part, merci pour toutes ces années de patience et de pédagogie que tu m'as apporté en cours magistraux ou en petites réunions individuelles. C'était un réel plaisir d'échanger scientifiquement et humainement avec toi.

A Marie Christine, tu as quitté le laboratoire avant moi (mais bon, tu y étais aussi depuis bien plus longtemps :D), je te dédie ces maigres lignes pour te remercier : ta gentillesse, ta disponibilité, l'aide que tu n'as jamais été avare de donner, je n'ai que de bons souvenirs avec toi et je te souhaite encore de vivre cette deuxième vie de retraite encore plus à fond que la première ! Et bien sûr, comment ne pas évoquer **Martine** dans la foulée, votre duo de toujours. Je te remercie d'abord pour les nombreux animaux que tu m'as fournis et la disponibilité dont tu as fait preuve à mon égard. Ensuite, je voudrai remercier la personne gentille et rigoureuse que tu es. Enfin, nouvelle arrivée dans cette grande famille, je te remercie **Oana** pour le vent de fraîcheur que tu as amené avec toi. J'ai hâte d'entendre parler de l'optogénétique et de patchclamp. Et félicitations pour ta jolie Adèle.

Material & Methods 1. Les doctorants de l'équipe 3, passé – présent – futur

Surnommés les pingouins - car se déplaçant en groupe et ayant la caractéristique de s'entraider en manip peu importe le jour et l'heure de la journée - les doctorants de l'équipe 3 - passés et présents représentent pour moi ce qui a été de meilleur dans cette thèse : notre complicité. Paul, tu es pour moi la personne qui regroupe le plus de qualités humaines. Tu es un symbole de sagesse, tu as une incroyable capacité de travail et tu concentres tout cela dans une tête bien faite. Jamais un mot méchant, jamais un mot plus haut que l'autre, toujours dans la raison et non dans la précipitation. Tu deviendras un grand chercheur, sans aucun doute. Alexandre, tu es juste impressionnant. C'est le mot. Ta curiosité infinie pour tout et ton courage de travail font que tu dépasses largement le niveau d'un doctorant lambda. Je ne doute pas un seul instant que tu seras prochainement à la tête d'une startup de biotechnologie innovante et rentable. En tout cas, Paul et Alex, laissez-moi vous exprimer tout l'honneur que cela a été d'être votre « collègue » pendant ces trois belles années.

Evidemment, **Daniele**, tu es le nouveau arrivé dans cette équipe et tu présentes déjà toutes les qualités requises pour devenir le super chercheur que tu dois devenir. Au fait, t'as pensé au PSM ? :D

Comment ne pas évoquer le duo légendaire de chanteurs, danseurs et artistes qui était composé de **Pierre Michaël** (danse) et de **Jane** (voix). J'ai tellement appris à vos côtés, en termes de science, d'expériences et de brasserie. C'était juste génial de bosser avec vous jusqu'à des heures improbables. Merci pour tout. Dans la foulée, on n'oublie pas **GAAEELLE** (<3) qui a marqué son passage par sa bonne humeur et son humour à toute épreuve.

Vadim, tout est de ta faute. Je me souviendrai toujours de t'avoir eu pour « mentor » lorsque j'ai démarré mes premiers stages, où le Benjamin de l'époque ne se voyait pas faire de thèse dans l'avenir. Tu es tellement passionné parce que tu fais que c'est inévitablement contagieux. Laure ne te remercie pas, mais elle t'aime bien quand même. Enfin, je n'énumère pas tous les très bons moments que l'on a passé à tes côté : le rush corniche, le « ckinostim », la Finlande et les sauna, l'histoire des babouk et nos parties de ballon volant dans le tournoi irréel de 2004.

Et par ordre aléatoire, quelques mots pour les doctorants devenus docteurs, les médecins et les post-doc et les pas docteurs mais c'est tout comme : Céline, SACARIPAPOG, Perzowski, Cynthia, FX, Victor (et les nouilles chinoises), Yann, Mélanie, Antoine, Céleste, Emmanuel, Renaud, Nicolas, juste merci de rendre ou d'avoir rendu le travail si agréable. Margaux, t'as géré !!!

2. Ceux qui ont connu le 4^e étage et le 2^e du Curib

J'aimerai également remercier chaleureusement Lucas et Alexis, pour m'avoir fourni la dizaine de lignée cellulaire sur lesquelles j'ai pu travailler tout au long de ma thèse. C'est grâce à des dons comme cela que la recherche progresse. Ces quelques mots aussi pour Christophe et toute l'aide que tu m'as apporté pour maîtriser les arcanes de la microfluorimétrie, Maïté, Anthony, Magali, Marjorie, Benjamin, Marie, pour tous les échanges et l'aide que vous m'avez apporté au cours de ma thèse.

Aux doctorants ou anciens docteurs, à savoir Aurélien, Matthieu, Fanny, Hugo, Sarah, Mahmmoud, Roxanne, Damien, Rhita, Marion, Alexis, Alexandre, Julien, Hadrien, Mouna, Lisa (vous l'avez ? :D), vous êtes tous des champions et vous côtoyer a été un plaisir pour moi.

Enfin, **Catherine**, merci pour ton aide précieuse et ta gentillesse, **Marine** et **Julia** pour les bons moments à base de barres chocolatées (et les têtes brûlées), **Laurence M** pour ta disponibilité, **Nathalie** pour le formidable travail que tu accomplis quotidiennement dans ce laboratoire sans jamais te plaindre (suivez l'exemple les autres =D).

3. The last but not least

Et pour terminer, **Lina**, **Maria**, **Audrey**, vous êtes arrivées trop tard dans ce labo, la prochaine fois, faites un effort pour arriver 1 voire 2 ans avant pour qu'on puisse profiter de bons moments ensembles. **Audrey**, particulièrement, tu dois être une sœur spirituelle si ça existe quelque part. C'est d'ailleurs à toi que je dois cette mise en page si... particulière.



The Journal of Incredibles Thanks

Journal homepage : www.merci.fr

Results 1. TJTB

Une mention spéciale pour ce groupe composé **d'Auriane**, **Karima**, **Ophélie** et **Julie**. C'était juste génial de vous rencontrer, de devenir votre ami et de partager autant de choses avec vous. C'est grâce à ce genre d'amitié qu'une thèse passe plus facilement, malgré le travail, la pression et certaines difficultés liées aux expériences. Merci pour le soutient que vous m'avez apporté tout au long de ces 3 années éprouvantes. Sans vous, ça n'aurait pas été pareil. Restezvous-même.

2. NormaDoc

Je ne pourrai pas évoquer la thèse sans parler bien évidemment de l'association NormaDoc et des membres qui l'ont composé et la compose aujourd'hui. **Marc**, merci pour avoir été un président exemplaire, **Bérénice** et **Marie**, merci pour votre énergie communicative, **Auriane**, **Nicolas**, **Thomas**, **François**, merci pour votre calme olympien, votre amitié et vos propositions toujours très mesurées. Et bien sûr, merci aux nouveaux qui ont repris le flambeau, **Laëtitia**, **Camille**, **Edouard**, **Sarah** et **Hugo**, vous faites déjà de grandes choses avec cette association et je prie pour que cela donne envie aux autres doctorants de continuer cette formidable aventure.

3. Les rencontres fortuites

Avec ces quelques lignes, je souhaite remercier les doctorants que j'ai rencontré au hasard de la vie : **Morgane**, ne lâche rien, tu as le talent et l'intelligence d'y aller jusqu'au bout ; **Pierre**, tu as l'âme d'un gagnant, grand magicien et marabout, tu deviendras certainement l'une des grandes figures de ce pays ; **Alexandre C**, ta gentillesse et ton humour m'ont toujours donné l'envie de vouloir te croiser au premier étage de Martainville.

Discussion

1. Les amis pour la vie

On se fait beaucoup d'amis dans la vie, mais ceux qui restent pour toujours peu importe les circonstances sont précieux et je voudrai leur dédier aussi ce petit paragraphe : **Thomas** (peut être le seul à avoir lu cette thèse en entier), **Lucie**, **Pierre** (et ses tajines de la mortkitue), **Eloïse**, **Adeline**, **David** (et moiléboules), **Astroud**, **Céline**, **Emmanuelle** (LGEHDDSGSIDC, j'ai dû en oublier...:D), **Lucas** (et sa moustache), **Guillaume** (et la startup nation), **Vincent** (et le procrastinateur), **Aline**, **Romumu**, **Bérengère**, **Yanikou**, **Antoinou**, **Thibal**, **Amandine**, **Nif**, **Fredo**, **Sarah** et tous ceux que j'ai certainement oublié. Je vous aime.

2. Mentions spéciales

Choses promises, choses due : voici un paragraphe honorable pour **_patrice_**, **_roberto_**, **_rudiger_** et la belle **_celine_** : passer du temps à vos côté m'a aidé à surmonter toutes les épreuves, vous avez été ma soupape de décompression lorsque les moments étaient difficiles. Merci pour tout ça. Egalement, impossible de ne pas citer la piaule d'**Irony** et tous ceux que j'y ai croisé. C'est un bon endroit pour s'y détendre, débattre et échanger sur l'actualité du moment. Il n'y a que des gens bons à l'intérieur.

Conclusion

Pour enfin terminer ces remerciements, je souhaite dédier ce paragraphe à ma famille. Maman et Stéphane, merci de m'avoir toujours tout donné afin que je puisse aller aussi loin que ce que je voulais. Ce sont les valeurs que vous m'avez apprises qui m'ont menées jusqu'ici. Mamie Frillay et Mamie Michel, pardon de ne pas avoir pu passer plus de temps avec vous mais on se rattrapera vite. Rébecca, Cyrille, Axelle, Gaëlle, Cédric, Matthieu, Gaëtan, Nina, je vous aime très fort, j'aurais aimé aussi passer plus de temps avec vous, profiter de mes neveux et nièces, de mes cousins et petites cousines, d'affronter les épreuves ensemble, de profiter de vous. J'espère pouvoir me rattraper dans l'avenir. Chantal, Jeannot, Stéphanie, Christophe, Nelly, Yannick, Jean Luc, Sylvie, Sylvie, tonton, merci pour m'avoir toujours accueilli les bras ouverts, même quand je débarquais à l'improviste, même quand je ne donne pas de nouvelle. Thierry, Lucille, Noémie et Solène, merci d'être ma super belle famille, déjà presque 10 ans qu'on se connait... Je vous aime très fort aussi.

Et **Laure**... Je termine par le paragraphe le plus dur à écrire. Tu es juste incroyable. Enumérer tes qualités me ferait faire une liste plus longue que cette thèse. Tu as toujours été disponible, attentive, à mon écoute, tu as toujours compris mes doutes, tu m'as toujours poussé vers l'avant, même quand je devais décommander un weekend pour une manip, rentrer à 2h du mat pour une présentation, même quand je passais mes soirées à analyser mes résultats, même quand il fallait encore passer au labo mes jours de vacances pour m'occuper de mes cellules et de mes souris. J'ai sacrifié une bonne partie de notre temps en commun pour cette thèse et, pareil que pour les autres : je compte bien me rattraper.

Big up aux à ceux qui ont donné le coup de main final : Laurence, Paul, Audrey, Margaux, Ophélie, Karima, Alex et Laure.

A tous, merci pour tout.

SOMMAIRE

SOMMAIRE	Ĺ
CURRICULUM VITAE	3
RÉSUMÉ	7
ABSTRACT11	L
LISTE DES FIGURES	3
LISTE DES TABLEAUX15	5
LISTE DES ABRÉVIATIONS17	7
LISTE DES LIGNÉES CELLULAIRES	L
CHAPITRE I – Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse25	5
1. Généralités sur les RCPG25	5
2. Principaux mécanismes cellulaires et moléculaires de la tumorigenèse	L
2.1 La croissance et la prolifération tumorale induites par les RCPG	ł
2.2 La migration et l'invasion tumorale induites par les RCPG41	L
2.3 La néoangiogenèse induite par les RCPG	2
3. Stratégies pour le développement de radioligands en médecine nucléaire	7
3.1 Radioligands ciblant les récepteurs du NPY58	3
3.2 Radioligands ciblant le GRPR	1
3.3 Radiotraceurs ciblant le CXCR472	2
3.4 Radioligands ciblant les récepteurs SST ₁₋₅	5
CHAPITRE II : le système urotensinergique	7
1. Généralités sur le système urotensinergique	7
1.1 Homologies structurales entre l'UII, l'URP et la somatostatine87	7
1.2 Localisation de l'UII90)
2. Le récepteur de l'urotensine II	3
2.1 Découverte et structure	3
2.2 Localisation du récepteur UT94	ł
3. Rôles physiologiques et physiopathologiques du système urotensinergique97	7
3.1 Effets physiologiques97	7
3.2 Effets sur le développement tumoral102	2
3.3 Pharmacologie du récepteur UT106	5
CHAPITRE III : modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides	t
1. Développement d'un radioligand111	L
1.1 Généralités	L
1.2. Radiomarquage113	3
1.2.1 Choix du radioisotope	3
1.2.2 Choix du chélateur	5
1.3. Evaluation in vitro / in vivo d'un radioligand118	3
1.4. Agonistes ou antagonistes ?)

2. Recours à l'imagerie moléculaire pour le diagnostic de tumeurs solides	120
2.1 Généralités	120
2.2 Techniques d'imagerie	122
2.2.1 La tomodensitométrie	122
2.2.2 La tomographie par émission de positons	124
2.2.3 La tomographie par émission monophotonique	127
3. Les thérapies par radionuclides	130
3.1 La curiethérapie et la radiothérapie externe	130
3.2 La radiothérapie interne	133
OBJECTIFS DE THESE	141
MATÉRIELS ET MÉTHODES	143
1. Matériels	143
1.1 Réactifs et consommables	143
1.2 Construits plasmidiques	144
1.3 Cultures cellulaires et transfections	145
1.4 Animaux	145
1.5 Analyse des données	146
2. Expériences in vitro	146
2.1 Radiomarquages et analyses HPLC	146
2.2 Mesure de la mobilisation du calcium par Flexstation	147
2.3 Mesure de l'internalisation par la méthode ELISA	147
2.4 Etude de l'internalisation par cytochimie	149
2.5 Etude de l'expression de l'UT par Western Blot	149
2.6 Etude de la croissance cellulaire	150
2.7 Etude de la migration cellulaire	150
2.8 Etude de l'expression de l'UT au sein des xénogreffes tumorales	151
3. Expériences <i>in vivo</i>	152
3.1 Biodistribution de l' ¹¹¹ In-DOTA-UII	152
3.2 Xénogreffes tumorales pour l'imagerie micro-TEMP	153
RÉSULTATS	155
DISCUSSION	198
1. Développement du DOTA-UII et du DOTA-urantide	203
2. Capacités des analogues à reconnaître et induire l'internalisation du complexe ligand-récepteur	205
3. Mise au point du radiomarquage à l'indium-111 avec des DOTA-peptides	208
4. Evaluation <i>in vivo</i> de la biodistribution de l' ¹¹¹ In-DOTA-UII	210
5. Evaluation <i>in vivo</i> de la captation tumorale de l' ¹¹¹ In-DOTA-UII	212
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	219
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

CURRICULUM VITAE

Benjamin Poret

Doctorant en Biologie Cellulaire Spécialité Neurosciences 29 ans 73 rue Route de Lyons 76000 Rouen 07 68 97 11 77

benjamin.poret@gmail.com



	FORMATIONS
Depuis Janvier 2015	Doctorat de Biologie Cellulaire spécialité Neurosciences, Université de Rouen, Normandie. Titre : Développement d'analogues urotensinergiques radiomarqués pour le diagnostic de tumeurs solides. Thèse co-dirigée par le Pr P. Gandolfo et par le Dr P. Bohn. Laboratoire de Différenciation et Communication Neuronale et Neuroendocrine (DC2N, Inserm U1239. Resp. d'équipe Dr H. Castel) et Laboratoire d'Informatique, du Traitement de l'Information et des Systèmes (LITIS, Dir Dr Thierry Paquet ; Centre Henri Becquerel, service de Médecine Nucléaire, équipe QuantIF, Dir. P. Vera).
Formations doctorales	Apprendre à communiquer avec le public sur les sciences ; Analyses biostatistiques ; Formation spécifique destinée aux personnes concevant les procédures expérimentales.
2012–2014	Master Recherche Sciences Biomédicales, spécialité Neurosciences et Sciences des Comportements, parcours Neurosciences - Mention Assez Bien - Université de Rouen, France.
2010–2012	Licence Biologie Intégrative et Evolutive, spécialité Neurosciences, parcours Neurosciences – Mention Bien – Université de Tours, France.
2009–2010	Première année d'étude du cycle de Maïeutique – Ecole de Sage- Femme, Rouen, France.
2007–2009	Validation de la PACES1 (ex PCEM1), faculté de Médecine – Classement 199/989, Université de Rouen, France.

COMPÉTENCES ACQUISES

TechniquesBiologie moléculaire : Western Blot, design de primers et de vecteurs,
transformation bactérienne, extraction d'ADN/ARN et de protéines, analyse
de gel, RT/qPCR. Biologie cellulaire : culture cellulaire, immuno-histo et
cytochimie, ELISA, transfection, migration et prolifération cellulaire,
microfluorimétrie. Expérimentation animale : xénogreffes tumorales,
biodistribution et analyses pharmacocinétiques, injection *i.v./i.p./i.m./per os*,
dissections anatomiques. Maîtrise technique : manipulation de la
radioactivité, microscopie classique/confocale, Flexstation, HPLC, cryostat,
imagerie TEMP/TEP, compteur gamma, beta imageur, analyses d'images
(ImageJ, Image Lab, ICY, LAS X), statistiques (GraphPad Prism 6).

Transversales	Gestion d'un projet de recherche, veille scientifique & technologique,
	conception et mise en pratique de protocoles de recherche, déploiement de
	partenariats de recherche avec des acteurs extérieurs, analyses et
	interprétations de résultats, animation d'ateliers de présentation et de
	recherche, rédaction de rapports, présentation de résultats en interne et en
	externe (congrès régionaux, nationaux et internationaux).

Encadrement Encadrement de janvier à juin 2016 de M^{elle} Laïla Letaïef dans le cadre de son projet tutoré pour le Master 2 Sciences BioMédicales, Neurosciences, Université de Rouen. Formation aux techniques de culture cellulaire de type L2, transfection, migration cellulaires, imagerie confocale, microfluorimétrie calcique et ELISA.

Encadrement d'avril à juin 2014 de M^{elle} Insaf Farah et de M^{elle} Fortune D'Mbélé dans le cadre de leurs projets tutorés pour le Master 1 Sciences BioMédicales, parcours Imagerie, Université de Rouen. Formation à la culture cellulaire, révélation chromogénique et coloration classique HES, immunohistochimie, analyses HPLC et manipulation micro-SPECT et β imager.

Activités annexes Création du bureau de l'association NormaDoc en octobre 2017 dans le but de fédérer, accompagner et informer les doctorants. Poste de chargé de communication (2017) et mise en relation des sponsors pour la préparation des Journées de l'Ecole Doctorale Normandie Biologie Intégrative, Santé et Environnement. Développement, mise en place et maintien technique du site internet NormaDoc (http://www.assonormadoc.fr).

Doctorant référent pour les Comité de Suivi Individuel (CSI) de Nicolas Dupré (Rouen), Thomas Clamens (Evreux) et Maxime Patout (Rouen).

Animations scientifiques au sein de l'Université : visites annuelles du laboratoire Inserm U1239 pour les étudiants de Licence et Master, visites annuelles « Portes Ouvertes » de l'Université de Rouen, animations lors de la « Fête de la Science » (2016), communications affichées pour les Semaines du Cerveau (2017) et Litisiades (2017)

COMMUNICATION ORALE

B. Poret, L. Desrues, N. Perzo, P.M. Coly, J.E. Joubert, R. Leduc, M.A. Bonin, R. Modzelewski, F. Morin, P. Decazes ; P. Vera, H. Castel, P. Bohn* and P. Gandolfo* : Development of radiolabeled urotensinergic analogs to image solid tumors. European Association of Nuclear Medicine, Vienne, Autriche, 2017.

COMMUNICATIONS AFFICHÉES

- **B. Poret**, L. Desrues, N. Perzo, P.M. Coly, J.E. Joubert, R. Leduc, M.A. Bonin, R. Modzelewski, F. Morin, P. Vera, H. Castel, P. Bohn* and P. Gandolfo* : The urotensin-II receptor is a new target for imaging solids tumors with radiolabeled DOTA-peptide ligands. Journée Normande de la Recherche Biomédicale, Caen, France, 2017.
- **B. Poret**, L. Desrues, N. Perzo, P.M. Coly, J.E. Joubert, R. Leduc, M.A. Bonin, R. Modzelewski, F. Morin, P. Vera, H. Castel, P. Bohn* and P. Gandolfo* : Development of urotensin-II receptor radionuclide to imaging solid tumors. Société de Neuroendocrinologie, Dijon, France, 2017.
- **B. Poret**, L. Desrues, N. Perzo, P.M. Coly, J.E. Joubert, R. Leduc, M.A. Bonin, R. Modzelewski, F. Morin, P. Vera, H. Castel, P. Bohn* and P. Gandolfo* : Le système urotensinergique : une nouvelle cible pour le diagnostic de tumeurs solides. Cancéropôle Nord-Ouest, Deauville, France, 2017.

- **<u>B. Poret</u>**, L. Desrues, N. Perzo, P.M. Coly, J.E. Joubert, R. Leduc, M.A. Bonin, F. Morin, P. Vera, H. Castel, P. Bohn* and P. Gandolfo* Development of urotensin-II receptor radionuclide to imaging solid tumors. 20^e Journées de l'Ecole Doctorale nBISE, Le Havre, France, 2017.
- **<u>B. Poret</u>**, L. Desrues, N. Perzo, P.M. Coly, J.E. Joubert, R. Leduc, M.A. Bonin, F. Morin, P. Vera, H. Castel, P. Bohn* and P. Gandolfo* : Development of ¹¹¹In-DOTA-urotensinergic analogs to image solid tumors. GDR 3545, Tours, France, 2016.
- **<u>B. Poret</u>**, L. Desrues, N. Perzo, P.M. Coly, J.E. Joubert, R. Leduc, M.A. Bonin, F. Morin, P. Vera, H. Castel, P. Bohn* and P. Gandolfo* : Development of urotensin-II receptor radionuclide to image solid tumors. Journée Normande de la Recherche Biomédicale, Rouen, France, 2016.
- **<u>B. Poret</u>**, L. Desrues, N. Perzo, P.M. Coly, J.E. Joubert, R. Leduc, M.A. Bonin, F. Morin, P. Vera, H. Castel, P. Bohn* and P. Gandolfo* : Development of ¹¹¹In-DOTA-urotensinergic analogs to image solid tumors. 19^e Journées de l'Ecole Doctorale nBISE, Caen, France, 2016.

EXPÉRIENCES PROFESSIONNELLES

Depuis Janv. 2015	 Doctorant titulaire d'une bourse Région Haute-Normandie et d'une bourse de la Ligue contre le Cancer. Gestion de projet, communications orales et affichées, rédaction de rapport. Projet de thèse : Développement d'analogues urotensinergiques radiomarqués pour le diagnostic de tumeurs solides. 					
Janv.–Juin 2014	Stagiaire au sein du Laboratoire LITIS, service de Médecine Nucléaire (Dir. Pr P. Vera), équipe QuantIF sous la responsabilité du Dr P. Bohn, activité de recherche : évaluation d'un nouveau radiotraceur de l'hypoxie intratumorale, le Technidazole.					
Jui.–Août 2013	Stagiaire au sein du Laboratoire LITIS, service de Médecine Nucléaire (Dir. Pr P. Vera), équipe QuantIF sous la responsabilité du Dr P. Bohn, activité de recherche : évaluation d'un traceur de type ^{99m} Tc-RGD pour le suivi des intégrines $\alpha_v\beta_3$ intratumorales chez des souris xénogreffées à l'aide d'un micro-SPECT et d'un β -imager.					
Avril–Juin 2013	Stagiaire au sein du Laboratoire DC2N, Unité Inserm 1239, équipe 3 « Astrocytes et Niche Vasculaire » sous la responsabilité du Pr P. Gandolfo, activité de recherche : impact du système urotensinergique sur la prolifération des cellules tumorales chez des souris porteuses de xénogreffes tumorales (U87-MG, glioblastome, grade IV).					

CENTRES D'INTÉRET ET COMPÉTENCES TRANSVERSALES

Connaissances approfondies en outils d'édition numérique

- Word, Power Point, Excel
- Adobe Photoshop, Premiere Pro, Illustrator, Sony Vegas Pro
- > Wordpress

Hobbies

- Vulgarisation scientifique
- Biotechnologies
- Lectures scientifiques

RÉSUMÉ

Avec plus de 900 membres connus chez l'Homme, les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) représentent la plus grande famille de protéines membranaires (Lander et al., 2001). Classiquement, les RCPG présentent une haute affinité pour leurs ligand(s) endogène(s) et activent une ou plusieurs protéines G qui interagissent avec des effecteurs membranaires et/ou cytosoliques pour conduire à la réponse cellulaire. Ils sont impliqués dans une grande diversité de processus physiologiques et physiopathologiques, ce qui explique en partie, que près d'un tiers des traitements utilisés ciblent ces récepteurs (Rask-Andersen et al., 2011). Dans une majorité des cas, l'activation d'un RCPG par son ligand entraine l'internalisation du complexe ligand-récepteur qui se poursuit par sa dégradation ou son recyclage.La surexpression de RCPG a été observée dans plusieurs types de tumeurs solides, avec généralement une corrélation avec l'agressivité des cancers. A titre d'exemples, l'endothéline-1 (ET-1) est impliquée dans la survie des cellules tumorales via les récepteurs ETA et ETB dans le cancer du côlon, de la prostate et dans le mélanome ; la thrombine participe à la migration cellulaire via son récepteur protease activated receptor-1 (PAR-1) dans le cancer du sein, du colon et de la prostate ; le stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) est impliqué dans la néoangiogenèse tumorale et l'apparition de métastases via son récepteur CXCR4 dans le cancer du sein, pulmonaire, de la tête et du cou (Dorsam et Gutkind, 2007). Depuis plusieurs années, la surexpression de certains RCPG variés dans des tumeurs solides est mise à profit pour développer des radioligands à des fins diagnostiques, thérapeutiques voire théranostiques.

Synthétisé à partir d'un analogue de la somatostatine, un neuropeptide capable de lier cinq sous-types de RCPG (sst₁ à sst₅), l'¹¹¹In-DTPA-octréotide (Octréoscan[®]) est couramment utilisé pour le diagnostic de tumeurs neuroendocrines. Le chélateur DTPA couplé à l'octréotide peut être radiomarqué à l'¹¹¹In, émetteur de rayonnements γ . Après interaction avec les récepteur sst₂, surexprimés dans ces tumeurs, l'internalisation du complexe ligand-récepteur induit la rétention du radioisotope dans les cellules cibles, ce qui permet de visualiser la tumeur

à l'aide de techniques d'imagerie adaptées (Jensen *et al.*, 2000). D'autres chélateurs développés plus récemment, comme le DOTA, sont capables de fixer des éléments émetteurs de rayonnements γ , β^+ , β - et α grâce à une forte stabilité thermodynamique et cinétique plasmatique, offrant ainsi l'opportunité d'une utilisation plus adaptée en imagerie et en thérapie clinique (Breeman *et al.*, 2005 ; Lacoeuille *et al.*, 2018).

Acteurs majeurs des processus de la tumorigenèse, les neuropeptides vasoactifs et leurs récepteurs constituent des cibles à fort potentiel pour développer ce type de radioligands. Parmi ces neuropeptides, l'urotensine II (UII), qui présente des homologies structurales avec la somatostatine, interagit avec un RCPG nommé UT. Depuis une dizaine d'années, l'équipe « Astrocytes et Niche Vasculaire », dirigée par le Dr Hélène Castel, et dans laquelle j'ai préparé en partie mon doctorat, concentre notamment ses recherches sur l'étude du rôle et des mécanismes d'action du système urotensinergique dans la tumorigenèse gliale. Après avoir caractérisé la présence de récepteurs fonctionnels de haute affinité sur les astrocytes (Castel et al., 2006 ; Diallo et al., 2008 ; Jarry et al., 2010), l'équipe a démontré que le récepteur UT est exprimé dans des extraits tumoraux d'astrocytomes et de glioblastomes de patients (Lecointre et al., 2015 ; Le Joncour et al., soumis). In vitro, l'UII exerce de puissantes activités chimioattractantes sur les cellules U87-MG issues d'un glioblastome humain (Lecointre et al., 2015). Concentrée dans des éponges de matrigel implantées sous la peau de souris C57BL/6, l'UII stimule l'invasion des éponges par des cellules pro-angiogéniques. De plus, l'administration intratumorale quotidienne d'UII chez des souris Nudes porteuses de xénogreffes tumorales issues de cellules U87-MG, accélère drastiquement la croissance des tumeurs tandis que le palosuran et l'urantide, antagonistes de l'UT, diminuent la croissance tumorale et augmentent la survie des animaux. D'autres équipes ont observé que l'UT est surexprimé dans une large variété de tumeurs solides (Takahashi et al., 2001 ; Kristof et al., 2010 ; Balakan et al., 2014 ; Federico et al., 2014 ; Wei et al., 2017) et participent aux mécanismes tumorigéniques tels que la migration et/ou la prolifération cellulaire(s). Ces données ont été rapportées dans le cas de cancers de la prostate (Grieco *et al.*, 2011), de la vessie (Grieco *et al.*, 2014), du colon (Federico *et al.*, 2014), du foie (Li *et al.*, 2017b), ou encore des poumons (Zhou *et al.*, 2012). Récemment, Wei et coll. (2017) ont même montré que l'expression de l'UT est un facteur de mauvais pronostic dans le cancer hépatocellulaire. Enfin, l'internalisation du récepteur UT, mécanisme indispensable pour le développement d'un radioligand a également été démontré après traitement avec l'UII (Giebing *et al.*, 2005 ; Proulx *et al.*, 2005) suggérant que ce RCPG constitue une cible intéressante pour la conception d'analogues radioactifs dérivés de l'UII pour le diagnostic ou la thérapie de certains cancers solides.

Grâce à une collaboration avec le Dr Marc-André Bonin et le Pr Richard Leduc de l'institut de pharmacologie de l'Université de Sherbrooke (Canada), deux analogues de l'UII, le DOTA-UII (DOTA-Ahx-UII) et le DOTA-urantide (DOTA-Ahx-[Pen⁵, D-Phe⁷, Orn⁸]UII₄₋₁₁) (Ahx : acide amino-hexanoïque) ont été synthétisés. Les travaux présentés dans cette thèse de doctorat avaient pour objectif d'évaluer ces deux analogues par des expériences in vitro (cellules HEK-293 ou lignées tumorales exprimant l'UT) et in vivo (souris C57BL/6 ou souris Nudes porteuses de xénogreffes) afin de mesurer leur potentiel pour le diagnostic de tumeurs surexprimant le récepteur UT. Pour mener à bien ce projet, mes activités se sont focalisées sur le radiomarquage de ces analogues à l'¹¹¹In par un protocole que nous avons mis au point dans le service de médecine nucléaire du Centre Henri Becquerel. La stabilité des DOTA-peptides a été vérifié par incubation (3 h, 37°C) dans du plasma humain. Nous avons également montré que le DOTA-UII et le DOTA-urantide sont tous deux capables de reconnaître sélectivement l'UT sur des cellules HEK-293 transfectées avec un ADNc codant l'UT, avec une puissance et une efficacité similaires à celles obtenues avec les peptides de référence. De manière intéressante, nous avons observé sur ces mêmes lignées que le DOTA-UII, comme l'UII, entraîne l'internalisation du complexe ligand-récepteur tandis que l'urantide et le DOTA-urantide sont inactifs (Brulé et al., 2014).

Ces résultats nous ont alors convaincu de tester dans un premier temps les caractéristiques *in vivo* de l'¹¹¹In-DOTA-UII. Ainsi, nous avons montré, lors d'expériences de biodistribution chez des souris C57BL/6 exprimant naturellement le récepteur UT sous la forme murine (mUTS2R^{+/+}), *knock-out* (mUTS2R^{-/-}) ou exprimant constitutivement la forme humaine (mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+}) que l'¹¹¹In-DOTA-UII est capté par le système rénal et présente une clairance très rapide de l'organisme. Après avoir vérifié qu'elles exprimaient fonctionnellement l'UT, des cellules A549 (adénocarcinome pulmonaire humain) et DLD-1 (adénocarcinome colorectal humain) ont été xénogreffées chez des souris *Nudes*. Après l'injection intraveineuse d'¹¹¹In-DOTA-UII (15 MBq), aucun signal intratumoral n'a pu être observé par imagerie TDM/TEMP. Compte tenu de la stabilité thermodynamique et plasmatique de l'¹¹¹In-DOTA-UII et de son potentiel à reconnaitre et à activer sélectivement l'UT normalement surexprimé dans ces tumeurs, il est vraisemblable que ces résultats décevants sont principalement dus à une clairance rénale rapide du radioligand.

Ainsi, ce projet soulève certaines interrogations et plusieurs pistes mériteraient d'être explorées : augmenter la stabilité, la lipophilie et la taille de l'¹¹¹In-DOTA-UII ; vérifier la capacité de l'¹¹¹In-DOTA-urantide à imager des tumeurs surexprimant l'UT ; développer et tester de nouveaux ligands urotensinergiques optimisés et/ou synthétiser de nouveaux radioligands porteurs de groupes prosthétiques fluorés dont les propriétés pharmacocinétiques, *i.e.* haute lipophilie et meilleure absorption par les tumeurs, sont souvent supérieures au DOTA. A terme, la poursuite de ces travaux devrait permettre de développer des analogues urotensinergiques radiomarqués, qui pourront être exploités à des fins diagnostiques, voire thérapeutique

ABSTRACT

Overexpression of G protein-coupled receptors (GPCRs) in tumor is widely used to develop GPCR-targeting radioligands for solid tumor imaging. For example, somatostatin analogue labeled with ¹¹¹Indium (¹¹¹In-OctreoScan) is used for the diagnosis of neuroendocrine tumors.

The vasoactive neuropeptide urotensin II (UII), which shares structural analogies with somatostatin, interacts with a single high affinity GPCR named UT. High expression of UT has been reported in several types of human solid tumors from lung, gut, prostate or breast, suggesting that UT is a valuable target to design radiolabeled UII analogues for cancer diagnosis.

Two urotensinergic analogues (DOTA-UII and DOTA-urantide) both containing the DOTA chelating group capable of complexing radioactive metal isotopes have been synthetized and radiolabeled with ¹¹¹Indium. Incubation of ¹¹¹In-DOTA-UII in human plasma revealed that only 30% of the radioligand was degraded after a 3h incubation period. Administration of graded concentrations of both DOTA-UII and DOTA-urantide in the vicinity of HEK293 cells expressing UT induced a dose-dependent increase in cytosolic calcium concentration, with similar potency and efficacy to that obtained with UII and urantide. These results demonstrated that conjugation of DOTA in urotensinergic analogues did not affect UT activation. DOTA-UII was also able to promote UT internalization in HEK293 cells expressing UT, while DOTAurantide was ineffective. Intravenous injection of ¹¹¹In-DOTA-UII in C57BL/6 mice revealed a slight signal mostly restricted in kidney, and similar results were obtained with knock-out mice or constitutively expressing human UT mice. Finally, ¹¹¹In-DOTA-UII was injected into nude mice bearing heterotopic xenografts of human A549 cells (lung adenocarcinoma) or DLD-1 cells (colorectal adenocarcinoma) both expressing functional UT. In both cases, SPECT-CT imaging showed the absence of tumor uptake and significant renal and bladder uptakes, suggesting fast tracer clearance from the organism.

However, further investigations will be necessary to decrease renal clearance and to improve tumor imaging.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure cristallographique du récepteur opioïdergique µ de Rat.

Figure 2 : Représentation schématique des principaux effecteurs associés aux RCPG.

Figure 3 : Représentation schématique des principales voies de signalisation liées aux sousunités Gα.

Figure 4 : Effets des β -arrestines dans la signalisation des RCPG.

Figure 5 : Différentes voies associées à l'activation de RCPG dans la modulation de la prolifération/survie cellulaire.

Figure 6 : Représentation schématique des cinq principales étapes de la migration cellulaire.

Figure 7 : Représentation schématique des différents types de protrusions cellulaires.

Figure 8 : Représentation schématique des différentes étapes clés de l'invasion, de la migration et de la production de métastases au travers de l'implication des RCPG.

Figure 9 : Représentation schématique des principales voies de signalisation impliquées dans la migration activées par les RCPG.

Figure 10 : Représentation schématique de l'intiation de la néoangiongenèse tumorale induite par des facteurs pro-angiogéniques.

Figure 11 : Séquences peptidiques des neuropeptides de la famille du NPY et de deux analogues, le BVD15 et le [Lys(DOTA)⁴]BVD15.

Figure 12 : Images obtenues par micro-TEP chez des souris *Nudes* porteuses de xénogreffes de cellules tumorales MCF-7, après injection de ¹⁸F[Pra⁴(F-Glc), Phe⁷, Pro³⁴]-NPY.

Figure 13 : Séquences peptidiques de la GRP, de la BBN, de la NMC et de la NMB.

Figure 14 : Représentation schématique des principales voies de transduction du GRPR.

Figure 15 : Principaux analogues de la BBN radiomarqués et testés *in vivo* chez le petit animal.

Figure 16 : Séquences peptidiques du SDF-1 et de quelques analogues synthétiques.

Figure 17 : Imageries TEP/TDM de patients atteints de tumeurs après injection de ⁶⁸Ga-Pentixafor.

Figure 18 : Ligands somatostatinergiques et principaux analogues synthétiques développés.

Figure 19 : Scintigraphies de patients porteurs de TNE après injection d'analogues somatostatinergiques.

Figure 20 : Comparaison des images obtenues chez un même patient avec le

¹⁷⁷Lu-DOTA-JR11 et le ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE.

Figure 21 : Séquences de l'UII, de l'URP et de la SST-14.

Figure 22 : Représentation schématique de l'évolution des gènes codant la somatostatine, l'UII ou l'URP.

Figure 23 : Représentation schématique de la structure de l'UT.

Figure 24 : Représentation schématique des principales voies de signalisation associées au récepteur UT.

Figure 25 : Représentation schématique de l'internalisation du complexe ligand-récepteur exploitée en médecine nucléaire dans le cas d'un agoniste radiomarqué.

Figure 26 : Développement et essor des techniques d'imagerie utilisées en oncologie.

Figure 27 : Principe de fonctionnement de l'imagerie TEP.

Figure 28 : Principe de fonctionnement de l'imagerie TEMP.

Figure 29 : Principe de fonctionnement des micro-TEMP modernes.

Figure 30 : Analyse de l'internalisation du complexe ligand-récepteur par la méthode ELISA.

Figure 31 : Test de migration en *transwells*.

Figure 32 : Protocoles d'études de la biodistribution et de la captation tumorale avec l'¹¹¹In-DOTA-UII.

Figure 33 : Rôle du système urotensinergique dans la migration cellulaire, l'angiogenèse et le développement tumoral.

Figure 34 : Représentation schématique des étapes clés dans la conception d'un radioligand capable de cibler des tumeurs solides.

Figure 35 : Séquences de l'UII, de l'urantide, de l'octréotide et de leurs analogues conjugués avec le chélateur DOTA.

Figure 36 : Effets cellulaires et voies de signalisation recrutées par quelques analogues de l'UII.

Figure 37 : Caractéristiques fonctionnelles de l'In-DOTA-UII sur des cellules HEK-293 exprimant la forme humaine de l'UT.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux couples RCPG/ligands surexprimés dans des tumeurs solides chez

 l'Homme.

Tableau 2 : Revue non exhaustive de ligands et de leur(s) RCPG associé(s) dans la modulation de la prolifération et/ou de l'apoptose de lignées tumorales (humaines ou animales).

Tableau 3 : Revue non exhaustive de ligands et de leur(s) RCPG associé(s) dans la modulation de l'invasion/migration cellulaires et de la production de métastases à partir de lignées tumorales (humaines ou animales).

Tableau 4 : Revue non exhaustive de ligands et de leur(s) RCPG associé(s) dans lamodulation de l'angiogenèse et de l'inflammation au niveau du microenvironnement tumoral.

Tableau 5 : Affinité du NPY et de plusieurs analogues développés pour le diagnostictumoral, sur les récepteurs de types 1, 2 et 5.

Tableau 6 : Principaux analogues de la bombésine testés *in vivo* comme radioligands.

Tableau 7 : Principaux ligands à haute affinité pour les récepteurs somatostatinergiques

 utilisés ou testés en médecine nucléaire.

Tableau 8 : Comparaison des séquences de l'UII et de l'URP au cours de l'évolution.

Tableau 9 : Localisation centrale et périphérique de l'UII chez l'Homme, le Singe, le Rat et la Souris.

Tableau 10 : Localisation centrale et périphérique du récepteur UT chez l'Homme, le Singe,le Rat et la Souris.

Tableau 11 : Voies de transduction associées à l'activation du récepteur UT et impliquéesdans les effets mitogènes, hypertrophiques, pro-migratoires et/ou angiogéniques de l'UII.

Tableau 12 : Implication du système urotensinergique dans la tumorigenèse.

Tableau 13 : Principaux agonistes et antagonistes du récepteur UT.

Tableau 14 : Caractéristiques essentielles au développement de radioligands.

Tableau 15 : Caractéristiques des principaux radioisotopes utilisés et/ou développés en médecine nucléaire.

Tableau 16 : Principaux essais cliniques de phase 1/2 ou phase 3 exploitant les analogues somatostatinergiques pour la thérapie par peptides radiomarqués (PRRT).

Tableau 17 : Principaux analogues urotensinergiques développés pour le diagnostic et le traitement de certaines pathologies.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AC	: adénylate cyclase
Akt	: voir PKB
Ahx	: acide hexanoïque
Amb	: acide aminométhylbenzoïque
AMPc	: adénosine monophosphate cyclique
AngII	: angiotensine II
AT1	: récepteur de type 1 de l'angiotensine II
β_2	: récepteur β-adrénergique de type 2
β-ARR	: β-arrestine
BBN	: bombésine
²¹³ Bi	: bismuth-213
$[Ca^{2+}]_{c}$: concentration de calcium cytosolique
CCK	: cholécystokinine
Cdc42	: cell division control protein 42
CEV	: cellule endothéliale vasculaire
CMLV	: cellule musculaire lisse vasculaire
c-Src	: proto-oncogene tyrosine-protein kinase
⁶⁴ Cu	: cuivre-64
CXCR1,2,4	: récepteur de chimiokine de type 1, 2 ou 4 motif C-X-C
DAG	: diacyl glycérol
DOTA	: acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique
DOTA-OC	: DOTA-octréotide
DOTA-TATE	: DOTA-Tyr ³ -octréotate
DOTA-TOC	: DOTA-Tyr ³ -octréotide
DTM	: domaine transmembranaire
DTPA	: acide diéthylène-triamine-pentaacétique
DTPA-OC	: DTPA-octréotide
DTPA-TATE	: DTPA-Tyr ³ -octréotate
DTPA-TOC	: DTPA-Tyr ³ -octréotide
e1-3	: boucles extracellulaires 1 à 3
EGF	: epidermal growth factor
EGFR	: récepteur de l'EGF
EP _{2,4}	: récepteur de type 2 ou 4 de PGE ₂
ERK	: extracellular signal-regulated kinase
ET-1	: endothéline-1
ET _{A,B}	: récepteur de type A ou B de l'ET-1
18 F	: fluor-18
FDG	: fluoro-déoxy-D-glucose
⁰³Ga	: gallium-68
GEF	: guanine nucleotide exchange factor
GPER	: G-protein coupled estrogen receptor
GRK	: G-protein coupled receptor kinase
GRP	: gastrin-releasing peptide

GRPR	: récepteur du GRP
HIF-1	: hypoxia inducible factor-1
HYNIC	: hydrazinonicotinamide
i ₁₋₃	: boucles intracellulaires 1 à 3
^{123, 124, 125, 131} I	: iode-123, -124, -125 ou -131
IL-8	: interleukine-8
¹¹¹ In	: indium-111
IP ₃	: inositol triphosphate
IRM	: imagerie par résonnance magnétique
JNK	: c-Jun N-terminal kinase
LPA	: acide lysophosphatidique
LPAR _{1,2,3}	: récepteurs de type 1, 2 ou 3 du LPA
¹⁷⁷ Lu	: lutécium-177
MAPK	: mitogen-activated protein kinase
MEC	: matrice extracellulaire
MMP	: métalloprotéase matricielle
NMB	: neuromédine B
NMBR	: récepteur de la NMB
NMC	: neuromédine C
NODAGA	: acide 1,4,7-triazacyclononane-1-acide glutarique-4,7-diacétique
NOTA	: acide 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N"-triacétique
NPY	: neuropeptide Y
PADA	: acide [pyridine-2-yl-méthyl-amino]-diacétique
PAI-1	: plasminogen activator inhibitor-1
PAF	: platelet-activating factor
PAK1	: p21 activated kinase
PAR-1	: protease activated receptor 1
PD	: progressive disease
PDGF	: platelet-derived growth factor
PDGFR	: récepteur du PDGF
PEG	: polyéthylène glycol
PGE ₂	: prostaglandine E ₂
PI3K	: phosphoinositide 3-kinase
PIP ₂	: phosphatidylinositol 4,5-biphosphate
PIP ₃	: phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate
PKA, B, C, D	: protéine kinase A, B, C ou D
PLC	: phospholipase C
PP	: polypeptide pancréatique
PRRT	: peptide receptor radionuclide therapy
PSMA	: prostate specific membrane antigen
PTAFR	: récepteur du PAF*
PTEN	: phosphatase and tensin homolog
PYY	: neuropeptide YY
RC	: réponse complète
RCPG	: récepteur couplé aux protéines G
RG	: réponse globale

RGD	: tripeptide Arg-Gly-Asp
ROCK	: rho-associated protein kinase
ROS	: reactive oxygen species
RP	: réponse partielle
RT	: radiothérapie
RTC3D	: RT conformationnelle 3D
RTCMI	: RT conformationnelle avec modulation d'intensité
RTE	: RT externe
RTK	: récepteur tyrosine kinase
RTS	: RT stéréotaxique
S1P	: sphingosine-1-phosphate
S1P _{1,2,3}	: récepteur de type 1, 2 ou 3 de la S1P*
SD	: stable disease
SDF-1	: stromal cell-derivated factor-1
SiFA <i>lin</i>	: SIlicon-based fluoride Acceptors
SNC	: système nerveux central
SST-14,28	: somatostatine 14 ou 28
sst ₁₋₅	: récepteur de type 1, 2, 3, 4 ou 5 de la somatostatine
STAT	: signaux transducteurs et activateurs de transcription
^{99m} Tc	: technétium-99-métastable
TDM	: tomodensitométrie
TE2A	: 1,8-N,N'-bis-(carboxyméthyl)-1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane
TEMP	: tomographie par émission monophotonique
TEP	: tomographie par émission de positons
TETA	: acide 1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane-1,4,8,11-tétraacétique
T/M	: ratio tumeur/muscle
TNE	: tumeur neuroendocrine
TNE-B	: TNE broncho-alvéolaire
TNE-GEP	: TNE gastroentéropancréatique
TNE-IM	: TNE de l'intestin moyen
TNE-P	: TNE pancréatique
UII	: urotensine II
URP	: urotensin-II related peptide
UT	: récepteur urotensinergique
VEGF	: vascular endothelial growth factor
VEGFR2	: récepteur de type 2 du VEGF*
VIP	: vasoactive intestinal polypeptide
⁹⁰ Y	: yttrium-90
Y ₁₋₅	: récepteur de type 1, 2, 3, 4 ou 5 du NPY

LISTE DES LIGNÉES CELLULAIRES

Nom	N° RRID	Espèce	Type de cancer	Référence
Modèles cellulair	es du cancer	de l'endo	omètre	•
HEC-1-B	CVCL 0294			Fogh <i>et al.</i> , 1977
HeLa	CVCL 0030	Homme	nme Adénocarcinome	Bang <i>et al.</i> , 1952
KB	CVCL 0372			Eagle, 1955
KLE	CVCL 1329			Richardson <i>et al.</i> , 1984
RL95-2	CVCL 0505			Way <i>et al.</i> , 1983
Modèles cellulair	es du cancer	du colon		
AKATOL-1-71	n.d.	Souris		Manalov et al., 1979
AZ-521	CVCL		-	Takada <i>et al.</i> , 2005
Caco-2	CVCL 0025	Homme	Adénocarcinome	Fogh <i>et al.</i> , 1977
CT26	CVCL 7254	Souris		Brattain <i>et al.</i> , 1980
CX-1	CVCL 2011		-	Rowan <i>et al.</i> , 2000
DiFi	CVCL 6895		Carcinome	Boman <i>et al.</i> , 1990
DLD-1	CVCL 0248		Adénocarcinome	Dexter <i>et al.</i> , 1979
GW-39	n.d.		Carcinome	Goldenberg <i>et al.</i> , 1974
HCA7	CVCL 0289	Homme	Adénocarcinome	Kirkland, 1985
HCT 116	CVCL 0291		Carcinome	Brattain <i>et al.</i> , 1981
HT-29	CVCL 0320			Fogh et Trempe, 1975
LoVo	CVCL 0399			Drewinko <i>et al.</i> , 1976
LS174T	CVCL D190			Tom <i>et al.</i> , 1976
MC-26	CVCL 0240			Corbett <i>et al.</i> , 1975
St-15	n.d.	Souris	Adénocarcinome	Sumiyoshi <i>et al.</i> , 1984
SW403	CVCL 0545		1 denoeuremente	Leibovitz <i>et al.</i> , 1976
SW480	CVCL 0546			
SW620	CVCL 0547	Homme		
WiDr	CVCL 2760			Petricciani et al., 1974
Modèles cellulair	es du cancer	de l'estor	mac	
NUGC-3	CVCL 1612		Adénocarcinome	Akiyama et al. 1988
MKN1	CVCL 1415		Carcinome	Takeshima <i>et al.</i> 1991
MKN28	CVCL 1416			
MKN45	CVCL_0434	Homme	Adénocarcinome	Motoyama et al., 1986
MKN74	CVCL 2791			
SC-6-ICK	CVCL F953			Katoh et al. 1993
SLU-077	n d	Souris		Hudd <i>et al</i> 1989
Modèles cellulair	es du cancer	olial		11444 07 481, 1909
8-MG	CVCL 1052	Shar		
42-MG	CVCL_1032			Perzelova et al., 1998
GI 15	CVCL_1798		Glioblastome	Bocchini et al. 1991
UN-18	CVCL_0392			Diserens <i>et al</i> 1981
LN 10	CVCL_0394	Homme		Studer <i>et al</i> 1985
SW1088	CVCL 1715		Astrocytome	Fogh <i>et al.</i> 1977
T98G	CVCL_1715			Stein 1979
1980 1187-MG	CVCL_0550		Glioblastome	Ponten et Macintyre 1968
Modèles collulair	es du concor	du foio -	l	
REL 7402	CVCL 5402			Chap at al. 1080
Hen 3R	$\frac{CVCL_{J472}}{CVCL_{0226}}$			
Hen G2	$\frac{\text{CVCL}_{0027}}{\text{CVCL}_{0027}}$	Homma	Carcinome	Aden et al., 1979
МНСС07 Ц	$\frac{\text{CVCL}_{0027}}{\text{CVCL}_{4072}}$	Homme	nomme	Listal 2001
	$\frac{CVCL_{4972}}{CVCL_{0525}}$		Adénocarcinomo	Each at Trampo 1075
WD E244	$\frac{\text{CVCL}_{0323}}{\text{CVCL}_{0022}}$	Dot	Náonlasma	Togn et al. 1024
WD-Г344	UVCL_9800	Nal	neopiasilie	1 Sau ei ui., 1984

Modèles cellulaires du cancer de l'ovaire				
Caov-3	CVCL 0201			Buick et al 1985
DOV13	CVCL 6674		Adénocarcinome	Berchuck et al 1992
HRA	CVCL_1086	Homme	Cystadénocarcinome	Kajiyama <i>et al.</i> 2002
OV 1063	CVCL_0700		n d	Horowitz et al. 1085
OV-1003	CVCL_4300		Adénocarcinomo	Homilton at al. 1983
SK OV 2	CVCL_0403		Adenocarcinome	Fach et al. 1077
SK-UV-S	CVCL_0332		Cystadenocarcinome	Fogli <i>et al.</i> , 1977
Modeles cellulali	res du cancer	du pancr	eas	$N_{1}^{c} = 1 + 1 + 1 + 1000$
AR42J	CVCL_0143	Rat	Neoplasme	Mickel <i>et al.</i> , 1989
AsPC-1	CVCL_0152			Chen <i>et al.</i> , 1982
Capan-1	CVCL_0237		Adénocarcinome	Fogh <i>et al.</i> , 1977
Capan-2	CVCL_0026			Wright <i>et al.</i> , 1981
CFPAC-1	CVCL_1119	Homme		Schoumacher <i>et al.</i> , 1990
Co-3	n.d.		n.d.	Sumiyoshi et al., 1984
HCG-25	CVCL_C827			Akagi et Kimoto, 1977
HPAF-II	CVCL_0313			Kim et al., 1989
HT2	CVCL_S971	Hamster	Adénocarcinome	Townsend et al., 1982
MIA PaCa-2	CVCL_0428			Sumi et al., 1994
PANC-1	CVCL_0480	Hommo		Lieber <i>et al.</i> , 1975
SLU-48	n.d.	Homme	n.d.	Hudd et al., 1989
SW1990	CVCL_1723		Adénocarcinome	Kyriazis et al., 1983
Modèles cellulair	res du cancer	de la pro	state	
DU145	CVCL_0105			Stone et al., 1978
LNCaP	CVCL_0395	**		Horoszewicz et al., 1980
PC-3	CVCL 0035	Homme	Carcinome	Kaighn et al., 1979
PPC-1	CVCL 4778			Brothman <i>et al.</i> , 1989
Modèles cellulai	es du cancer	des pour	ions	
3LL	CVCL 5653	Souris	n.d.	Bertram et Janik, 1980
A-549	CVCL 0023		Adénocarcinome	Giard <i>et al.</i> , 1973
BEN	CVCL 1082			Ellison <i>et al.</i> , 1975
COR-L23	CVCL 1139			
COR-L24	CVCL 2409			Baillie-Johnson <i>et al.</i> , 1985
COR-L27	CVCL D733			
COR-L42	CVCL D737		Carcinome	
COR-L42	CVCL 2415		Caremonie	
COR-L51	CVCL_2415			
COR-L88	CVCL_2410	Homme		
COR L 103	$CVCL_1141$	Homme		
MOR	$CVCL_2618$		Adénocarcinome	Ibson <i>et al.</i> , 1987
NCI H60	CVCL_2010		Adenocaremonie	Gazdar <i>et al.</i> 1980
NCI H92	CVCL_15/9			Morstyn <i>et al.</i> , 1984
NCI-II02	CVCL_1591			
NCI-H343	CVCL_1558		Carcinome	
NCI-H440	CVCL_1562			
NCI-H510A	CVCL_1565			Carney <i>et al.</i> , 1985
POC	CVCL_0B89			Ibson <i>et al.</i> , 1987
Modeles cellulan	res du cancer	du sein	I	
BT-20	CVCL_0178		Carcinome	Lasfargues et Ozzello, 1958
BT-549	CVCL_1092			Lasfargues et Coutinho, 1981
HCC1428	CVCL_1252		Adénocarcinome	Gazdar et al., 1998
HCC1500	CVCL_1254			
Hs 578T	CVCL_0332	Homme		Hackett et al., 1977
MCF-7	CVCL_0031		Carcinome	Soule <i>et al.</i> , 1973
MDA-MB-134-VI	CVCL_0617			
MDA-MB-157	CVCL_3740			Cailleau et al., 1974
MDA-MB-231	CVCL 0062		Adénocarcinome	

MDA-MB-361	CVCL_0620		Adénocarcinome	Fogh <i>et al.</i> , 1977
MDA-MB-453	CVCL_0418	Homme		Coilloon at al. 1078
MDA-MB-468	CVCL_0419			Califeati et ul., 1978
SK-BR-3	CVCL_0033			Fogh et Trempe, 1975
T-47D	CVCL_0553		Carcinome	Keydar <i>et al.</i> , 1979
Modèles cellulair	es du cancer	du systèr	ne sympathique	
BE(2)-C	CVCL_V007		Namahlastana	Levchenko et al., 1996
IMR-32	CVCL_0346		Neurobiastonie	Tumilowicz et al., 1970
SK-N-MC	CVCL_0530	Homme	Sarcome	Pipellor at $al = 1072$
SK-N-SH	CVCL_0531		Nouroblastoma	Bledler et al., 1975
SMS-KAN	CVCL_7131		Neuroblastollie	Reynolds et al., 1982
Modèles cellulair	es du cancer	de la tête	et du cou	
686LN-M3e-M3e	CVCL_D099			Zhang et al., 2006
B88	n.d.			Uchida et al., 2003
HNt	n.d.			Kawamata et al., 1997
JHU-022	CVCL_5991		Carcinome	Minhas et al., 2003
MDA-1483	CVCL_6980			Sacks et al., 1988
SCC-25	CVCL_1682	11		Rheinwald et Beckett, 1981
UM-SCC-9	CVCL_7793	Homme		Datron 1095
UM-SCC-11B	CVCL_7716	· ·		Dakei, 1985
UM-SCC-22B	CVCL_7732			Bradford et al., 1991
UM-SCC-38	CVCL_7749			
T.Tn	CVCL_3174			Takahashi et al., 1990
TSU	CVCL_8763			Hayashi et al., 1995
Modèles cellulaires du cancer de la vessie				
HT-1376	CVCL_1292			Rasheed et al., 1977
RT-112	CVCL_1670	Homme	Carcinome	Marshall et al., 1977
T24	CVCL_0554			Bubenik et al., 1973
Modèles cellulaires d'autres cancers				
BeWo	CVCL_0044	Homme	Carcinome du chorion	Dawe et al., 1964
B16	CVCL_F936	Souris	s Mélanome	Silagi, 1969
M24met	CVCL_3915			Mueller et al., 1991
SW13	CVCL_0542	Homme	Adrénocorticocarcinome	Leibovitz et al., 1973
VMRC-RCW	CVCL_1790		Carcinome rénal	Jia et al., 1997

RRID : *Ressource Identification Native* ; n.d. : non déterminé.
INTRODUCTION

CHAPITRE I – Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

1. Généralités sur les RCPG

C'est vers la fin des années 70 que furent découvertes des structures protéiques transmembranaires particulières, constituant une interface entre l'environnement extra- et intracellulaire (Lefkowitz, 1975) et dont l'activation entraîne une réponse cellulaire *via* des voies de transduction associées. Appelées « récepteurs », ces protéines ont la capacité d'interagir avec des facteurs endogènes (hormones, amines, peptides, etc.) et exogènes (molécules odorantes, composés de synthèse, etc.).

Après la caractérisation fonctionnelle de la composante noradrénergique dans le système nerveux autonome, la première hypothèse sur l'existence de récepteurs adrénergiques nait dans les années 40. Elle repose sur la capacité de l'adrénaline et de la noradrénaline à moduler des processus physiologiques variés, *e.g.* diamètre de la pupille ou diamètre des vaisseaux sanguins (Ahlquist, 1948). Ce ne sera que dans les années 70 que l'équipe de Robert Joseph Lefkowitz caractérise deux types de récepteurs adrénergiques (α et β) grâce à des études de liaison réalisées à l'aide d'adrénaline radiomarquée au tritium (³H) (Mukherjee *et al.*, 1975 ; Lefkowitz, 1975 ; Williams et Lefkowitz, 1978). Ces récepteurs interagissent avec une protéine de liaison au GTP, la *guanine nucleotide regulator protein*, ou protéine G (De Lean *et al.*, 1980) d'où leur nom de récepteurs couplés aux protéines G ou RCPG. Chez l'Homme, on compte actuellement plus de 900 RCPG, constituant ainsi la plus grande famille de récepteurs (Hopkins et Groom, 2002 ; Gloriam *et al.*, 2007 ; Lagerström et Schiöth, 2008). Ubiquistes, les RCPG participent à de nombreux processus physiologiques et physiopathologiques, expliquant

pourquoi plus d'un tiers des thérapies (actuelles ou en développement) ciblent ces récepteurs (Lagerström et Schiöth, 2008 ; Rask-Andersen *et al.*, 2011). Les RCPG partagent une structure globale incluant une extrémité N-terminale extracellulaire et C-terminale cytosolique et sept domaines transmembranaires (DTM) organisés en hélices α et reliés entre eux par des boucles extra- (e₁₋₃) et intracellulaires (i₁₋₃) (Palczewski *et al.*, 2000 ; Cherezov *et al.*, 2007 ; Rasmussen *et al.*, 2007 ; Heilker *et al.*, 2009) (**Fig. 1**). L'interaction avec leur(s) ligand(s) au niveau d'une poche de liaison induit un changement conformationnel conduisant généralement au recrutement de protéine(s) G, elle(s)-même(s) constituée(s) d'une sous-unité α (G α) et d'un complexe hétérodimérique composé des sous-unités β et γ (G $\beta\gamma$) considérées comme indissociables en conditions physiologiques (Gilman, 1987 ; Wall *et al.*, 1995 ; Hubbell *et al.*, 2003). Ces sous-unités (α et $\beta\gamma$) interagissent avec des effecteurs (enzymes, canaux ou échangeurs), constituant ainsi les relais intracellulaires d'une grande variété de cascades de signalisation (Sakmar, 2002 ; Cabrera-Vera *et al.*, 2003 ; Kobilka, 2007) (**Fig. 2**).



Figure 1. Structure cristallographique du récepteur opioïdergique µ de Rat. Les DTM du RCPG présentent une conformation en hélices hydrophobes de type α ancrées dans la membrane, assurant le lien entre l'environnement extra- et intracellulaire. Ils relaient, via des changements de conformation induits par la liaison du ligand (ici, la β -FNA en vert/rouge), le recrutement et/ou l'implication de protéines membranaires ou cytosoliques. β-FNA βfunaltrexamine DTM : domaine : transmembranaire : : e boucle extracellulaire ; i : boucle intracellulaire. D'après Manglik et al., 2012.



Figure 2. Représentation schématique des principaux effecteurs associés aux RCPG. Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) sont associés à de nombreuses voies de signalisation intracellulaires relayées par une sous-unité α ou le complexe $\beta\gamma$. La phosphorylation du RCPG par les GRK entraîne sa désensibilisation et la signalisation spécifique via les β -arrestines. Ils peuvent ainsi agir également directement et/ou indirectement sur l'activation d'autres RCPG, de RTK, ou l'ouverture de canaux ioniques par exemple. β -ARR : β -arrestine ; DTM : domaine transmembranaire ; e : boucle extracellulaire ; GRK : G-protein coupled receptor kinase ; i : boucle intracellulaire ; RTK : récepteur tyrosine kinase.

Selon leur homologie de séquences et leur régulation sélective d'effecteurs, les Ga sont classées en quatre grandes familles, *i.e.* $G\alpha_s$, $G\alpha_{i/0}$, $G\alpha_{g/11}$, et $G\alpha_{12/13}$ (Simon *et al.*, 1991 ; Rosenbaum *et al.*, 2009 ; Hazell *et al.*, 2012). Les $G\alpha_s$ stimulent les adénylates cyclases (AC) qui convertissent l'adénosine triphosphate en adénosine phosphate monocyclique (AMPc) (Camps et al., 1992; Hazell et al., 2012). Une élévation du taux cytosolique d'AMPc augmente le niveau d'activité de la protéine kinase A (PKA) responsable notamment de la phosphorylation du facteur de transcription cAMP response element-binding protein (ou CREB), permettant ainsi de réguler l'expression de gènes cibles (Bers, 2002). Inversement, les Gα_i réduisent la production d'AMPc en inhibant l'activité des AC (Neer et al., 1984). Les Gα_o peuvent réguler l'ouverture de canaux calciques et potassiques et la voie de transduction des mitogen-activated protein kinases (MAPK) (Clark et al., 2003; Jiang et Bajpayee, 2009; Bratton *et al.*, 2012). Les $G\alpha_{\alpha}$ recrutent une phospholipase C de type β (PLC_{β}) responsable de l'hydrolyse du phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP₂) en diacylglycérol (DAG) et en inositol triphosphate (IP₃). Le DAG active une protéine kinase C (PKC) responsable de la phosphorylation d'effecteurs intracellulaires, tandis que l'IP₃ interagit avec un récepteur canal localisé sur la membrane du réticulum endoplasmique, dont l'ouverture entraine une élévation

de la concentration cytosolique de calcium ($[Ca^{2+}]_c$) (Neylon *et al.*, 1992). Les Gaq peuvent également recruter différentes MAPK telles que la *c-Jun N-terminal kinase* (JNK), MAPK p38, ou l'*extracellular signal-regulated kinase* (ERK) de type 5, responsables de l'activation du promoteur *c-jun* (Marinissen *et al.*, 2003). Enfin, les Ga_{12/13} sont les principaux modulateurs de l'activité de Rho GTPases qui, *via* l'activation de la voie Rho/ROCK (*Rho-associated protein kinase*), jouent un rôle important dans la constitution des fibres de stress d'actine et de points focaux d'adhésion (Buhl *et al.*, 1995) (**Fig. 3**).



Figure 3. Représentation schématique des principales voies de signalisation liées aux sous-unités Ga. L'activation des protéines $G\alpha_s$, $G\alpha_{i/0}$, $G\alpha_{q/11}$, et $G\alpha_{12/13}$ est impliquée dans le recrutement de nombreux seconds messagers participant aux cascades de signalisations et à la régulation de certains gènes impliqués dans un grand ensemble de réponses cellulaires, allant de la prolifération, de la migration ou encore de l'angiogenèse cellulaire. AC : adénylate cyclase ; Akt (ou PKB) : protéine kinase B ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; DAG : diacylglycérol ; ERK : *extracellular signalregulated kinase* ; IP₃ : inositol triphosphate ; MAPK : *mitogen-activated protein kinase* ; mTOR : *mammalian target of rapamycin* ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; PIP₂ : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ; PKA : protéine kinase A ; PKC : protéine kinase C ; PLC : phospholipase C ; ROCK : *rho-associated protein kinase* ; SRF : *serum response factor*.

D'abord considérées comme une interface protéique nécessaire au rapprochement de Ga avec le RCPG, les sous-unités β et γ forment un complexe stable pouvant être considéré comme une même sous-unité fonctionnelle GBy. Une première étude avait montré que l'acétylcholine (en interagissant avec les récepteurs muscariniques de type 2, ou M₂) entraîne le recrutement de Gby qui i) provoque l'ouverture d'un canal potassique (Logothetis et al., 1987) responsable d'une hyperpolarisation (Schoots et al., 1999) via un efflux de K⁺ et ii) inhibe l'activité de canaux calciques voltage-dépendants (pour revue, Currie, 2010). Le complexe GBy peut aussi réguler l'activité de certaines enzymes comme *i*) la PLC_{β}, conduisant à une élévation de $[Ca^{2+}]_c$ au même titre que les $G\alpha_a$ (Boyer *et al.*, 1992), et *ii*) certaines isoformes d'AC responsables de la réduction ou de l'augmentation de l'AMPc selon les isoformes (Wittpoth et al., 1999; Diel et al., 2006). D'autres protéines interviennent dans la signalisation des RCPG. Parmi elles, les G-protein coupled receptor kinases (GRK) sont une famille de protéines kinases comprenant sept membres (GRK1-7) capables de phosphoryler un RCPG, activé par un agoniste, sur des résidus sérines et thréonines présents au niveau de la boucle i₂ et/ou de l'extrémité C-terminale du récepteur (Palczewski et al., 1991 ; Krupnick et al., 1997 ; Krasel et al., 2005). Cette phosphorylation entraîne le recrutement des β -arrestines (β -ARR), favorisant l'arrêt de la signalisation (désensibilisation) par encombrement stérique du RCPG (Lohse et al., 1992; Mukherjee et al., 1999; Millman et al., 2008; Gurevich et al., 2012) (Fig. 4A) et son internalisation (Nobles *et al.*, 2011) (Fig. 4B). Ces β-ARR servent de plateformes protéiques permettant i) le recrutement de la protéine adaptatrice de type 2 (adaptor protein-2) et de la clathrine pour former le complexe d'endocytose avec le RCPG (Luttrell et al., 1999), *ii*) l'invagination de la membrane plasmique puis le détachement de la vésicule intracellulaire dynamine-dépendante (Laporte et al., 1999 ; Daaka, 2012), iii) l'adressage de cette vésicule à la membrane pour le recyclage du récepteur ou vers les endosomes tardifs pour sa dégradation par les liposomes (Oakley et al., 1999 ; 2000). Les β-ARR sont également responsables du

recrutement de la *proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src* (c-Src) facilitant l'activation des MAPK telles que ERK1/2 (Wei *et al.*, 2003 ; Barthet *et al.*, 2007), les JNK (McDonald *et al.*, 2000) ou encore de la kinase p38 (Sun *et al.*, 2002) (**Fig. 4C**).



Figure 4. Effets des β -arrestines dans la signalisation des RCPG. L'activation d'un RCPG conduit au recrutement des β -arrestines impliquées dans différents processus cellulaires. A. Désensibilisation des RCPG par découplage des protéines G dû à l'encombrement stérique induit par la liaison des β -arrestines. B. Internalisation du complexe RCPG/ β -ARR suite au recrutement de la protéine adaptatrice AP-2 et de la clathrine participant à la formation de la vésicule d'endocytose. L'internalisation entraîne soit le recyclage du récepteur à la membrane soit sa dégradation. C. Activation de la voie des MAPK impliquées dans de nombreux processus cellulaires via le recrutement des β -arrestines. AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; AP-2 : adaptor protein-2 ; β -ARR : β -arrestine ; ERK : extracellular signal-regulated kinase ; MAPK : mitogen-activated protein kinase.

Certains RCPG sont capables d'activer eux-mêmes d'autres récepteurs membranaires,

recrutant ainsi les voies de signalisation qui leur sont associées. Cette « transactivation » a été mise en évidence pour la première fois dans des fibroblastes où l'activation de RCPG entraîne la phosphorylation de résidus tyrosines de l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR), un récepteur à activité tyrosine kinase (RTK) (Daub *et al.*, 1996), avec une efficacité similaire à celle obtenue avec le ligand naturel de l'EGFR (Leserer *et al.*, 2000). Ce processus entraîne par exemple l'activation de métalloprotéases matricielles (MMP) (Prenzel *et al.*, 1999 ; Leserer *et al.*, 2000) ou d'effecteurs tels que les PLC, l'élévation de la $[Ca^{2+}]_c$ ou encore le recrutement de RCPG (Andreev *et al.*, 2001 ; Esposito *et al.*, 2011 ; Gesty-Palmer *et al.*, 2013). C'est le cas notamment avec le récepteur β -adrénergique de type 2 (β_2) qui transactive le récepteur *protease-activated receptor* de type 1 (PAR-1) *via* l'action des MMP de type 13 (Jaffré *et al.*, 2012).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

De plus, certains RCPG tels que le récepteur de type B du *gamma aminobutyric acid* (Kaupmann *et al.*, 1998) ou de récepteurs métabotropiques du glutamate (Pin *et al.*, 2004), collaborent dans leurs voies de signalisation au cours d'une interaction physique de type di- ou oligo-mérisation (pour revue, Franco *et al.*, 2016).

Suite à des études cristallographiques et pharmacologiques réalisées sur des récepteurs cholinergiques métabotropiques, il est admis que certains agonistes de RCPG peuvent privilégier une voie de signalisation par rapport à une autre ; ces composés sont alors appelés agonistes biaisés (Kenakin, 1995 ; Jarpe *et al.*, 1998 ; Violin et Lefkowitz, 2007 ; Violin *et al.*, 2014). Ce phénomène a été largement étudié avec le propanolol, qui agit sur le récepteur adrénergique β_2 comme un agoniste inverse dans la signalisation de l'AC/AMPc, et comme un agoniste partiel dans la voie ERK1/2 relayée par les β -ARR (Azzi *et al.*, 2003). En plus de ces observations, des biais de signalisation ont été constatés avec récepteur de type 1 (AT1) de l'angiotensine II (AngII), dont l'activation entraîne classiquement l'hydrolyse de PIP₂ en IP₃ et DAG, l'activation de la voie MAPK ainsi que l'internalisation du complexe ligand-récepteur, alors qu'un analogue de l'AngII, le [Sar¹, Ile⁴, Ile⁸]AngII, n'a pas d'effet sur la production d'IP₃ mais est capable de recruter les autres voies (Holloway *et al.*, 2002 ; Costa-Neto *et al.*, 2016).

2. Principaux mécanismes cellulaires et moléculaires de la tumorigenèse

Au travers des protéines G et leurs voies de signalisation associées, les RCPG sont impliqués dans presque tous les processus biologiques, ce pourquoi leur dérégulation est généralement liée à de nombreuses pathologies allant de l'hypertension (Sun *et al.*, 2015) à certaines maladies neurodégénératives (Melancon *et al.*, 2012 ; Nickols et Conn, 2014). Par leur implication dans la régulation de la prolifération (Gutkind, 1998 ; Rozengurt, 1999 ; Voisin

et al., 2011), de la migration (Rozengurt *et al.*, 2002), de l'adhésion, de l'invasion (Dorsam et Gutkind, 2007) et de l'angiogenèse cellulaires (Overington *et al.*, 2006 ; Spiegelberg et Hamm, 2007), les RCPG et leur(s) ligand(s) associé(s) jouent aussi un rôle important dans l'initiation et/ou le développement de tumeurs. A l'appui de cette hypothèse, nombre de ces RCPG deviennent pro-oncogéniques lorsqu'ils sont surexposés à leur ligand tels que le *gastrin-releasing peptide* (GRP), l'endothéline-1 (ET-1), la bradykinine ou encore l'AngII (Dorsam et Gutkind, 2007 ; Lappano et Maggiolini, 2011 ; Martini *et al.*, 2014) (**Tab. 1**). De plus, des centaines de mutations sont responsables de la mise en place de boucles autocrines et paracrines impliquées dans de nombreux types de cancers (Bar-Shavit *et al.*, 2016 ; Liu *et al.*, 2016). En effet, une importante étude d'association génétique pangénomique (*GWAS* pour *genome-wide association study*) menée par Easton et coll. en 2007 a notamment révélé l'existence de polymorphismes mononucléotidiques sur les gènes codants les RCPG dont la présence est corrélée à une élévation du risque d'apparition de cancers. A titre d'exemple, le polymorphisme du récepteur de type 1 de la mélanocortine (MC1R) est associé à une augmentation de la prolifération de cellules tumorales de cancer de la peau (Demenais *et al.*, 2010).

Ligand	Récepteurs	Origine tumorale	Références
α-MSH	MSHR	Peau	Beaino <i>et al.</i> , 2015 ; Seong <i>et al.</i> , 2016 ; Chou <i>et al.</i> , 2013
Angiotensine II	AT1	Sein, prostate, pancréas, ovaire, cerveau, colon	Hoshino <i>et al.</i> , 2011 ; Arrieta <i>et al.</i> , 2015 ; Chen, 2017
Bombésine, GRP	GRPR ; NMBR ; BB ₃	Prostate, sein, pancréas, poumon, colon, estomac	Zhang <i>et al.</i> , 2007b ; Lee <i>et al.</i> , 2010 ; Morgat <i>et al.</i> , 2017
Bradykinine	B _{1,2}	Poumon, sein, prostate	Seufferlein et Rozengurt, 1996 ; Yu et al., 2014a ; Lin et al., 2015
CCK, gastrine, pentagastrine	CCK _{1,2}	Poumon, ovaire, pancréas, estomac, colon, glie cérébrale	Rozengurt <i>et al.</i> , 2002 ; Kaloudi <i>et al.</i> , 2015 ; Smith <i>et al.</i> , 2016
CCL1 (IL-8)	CCR8	Sein, peau, tête et cou, peau	Müller <i>et al.</i> , 2001 ; Balkwill, 2004 ; Olkanud <i>et al.</i> , 2009
CCL21	CCR7	Sein, estomac, tête et cou	Müller <i>et al.</i> , 2001 ; Ishigami <i>et al.</i> , 2007 ; Basheer <i>et al.</i> , 2018
CXCL1, CXCL2, CXCL3	CXCR2	Poumon, tête et cou, estomac	Keane <i>et al.</i> , 2004 ; Unver <i>et al.</i> , 2015 ; Wang <i>et al.</i> , 2015
CXCL12 (SDF-1)	CXCR4	Sein, prostate, poumon, colon	Pan <i>et al.</i> , 2006 ; Domanska <i>et al.</i> , 2013 ; Amara <i>et al.</i> , 2015
Endothéline 1	ET _{A,B}	Prostate, colon, ovaire, estomac	Kim et al., 2005 ; Tsai et al., 2015 Rosanò et al., 2017

FSH	FSHR	Prostate, thyroïde	Porter et Ben-Josef, 2001 ; Ghinea et al., 2015 ; Pawlikowski et al., 2015
G-1, œstradiol	GPER	Endomètre, prostate, sein	He et al., 2009 ; Wei et al., 2014 ; Shang et al., 2015
Galanine	GAL-R ₁₋₃	Poumon, tête et cou	Seufferlein et Rozengurt, 1996 ; Medeiros et al., 2015 ; Yamamoto et al., 2017
LHRH	LHRHR	Sein, prostate, ovaire	Deivaraju <i>et al.</i> , 2016 ; Gupta <i>et al.</i> , 2017 ; Schally <i>et al.</i> , 2017
LPA	LPAR ₁₋₃	Colon, ovaire, prostate, sein	Yang <i>et al.</i> , 2005 ; Zhang <i>et al.</i> , 2007a ; Shida <i>et al.</i> , 2008
Neuropeptide Y	Y1-5	Sein, prostate, poumon	Sarvi <i>et al.</i> , 2014 ; Li <i>et al.</i> , 2015 ; Galli <i>et al.</i> , 2015 ;
Neurotensine	NTR ₁₋₃	Peau, du cerveau, sein, pancréas, prostate, colon	Guha et al., 2003 ; Liu et al., 2017 ; Qiu et al., 2017
Ocytocine	Récepteurs de l'ocytocine	Endomètre, sein	Zhong <i>et al.</i> , 2010 ; Jeon <i>et al.</i> , 2016 Xu <i>et al.</i> , 2017 ;
Endorphine, enképhaline, dynorphine	Récepteurs aux opioïdes	Poumon, neuroblastomes, sein, prostate	Zylla <i>et al.</i> , 2013 ; Singleton <i>et al.</i> , 2014 ; Li et Low, 2017
Platelet- activating factor	PTAFR	Sein, du cerveau, poumon	Jongsma et al., 2011 ; Ong et al., 2017 ; Serio et al., 2018
Prostaglandine E2	EP _{2,4}	Colon, sein, prostate, estomac, tête et cou	Mazhar et al., 2006 ; Prima et al., 2016 ; Wang et al., 2017
Somatostatine	sst ₁₋₅	TNE, TNE-GEP, TNE-B, cerveau, peau	Baum et al., 2016 ; Ben-Shlomo et al., 2017 ; Reidy et al., 2017
S1P	S1P _{1,2,3}	Colon, sein, prostate, tête et cou	Shida <i>et al.</i> , 2008 ; Liu <i>et al.</i> , 2012 ; Bi <i>et al.</i> , 2014
Thrombine	PAR-1	Sein, colon, tête et cou, du rein, du cerveau, pancréas	Hernàndez et al., 2009 ; McCoy et al., 2012 ; Shirai et al., 2017
Vasopressine	V _{1,2,3}	Poumon, prostate, sein	Campling <i>et al.</i> , 1995 ; Pifano <i>et al.</i> , 2017 ; Pifano <i>et al.</i> , 2018
PACAP, VIP	VPAC _{1,2} ; PAC ₁	Estomac, colon, pancréas, poumon	Gutiérrez-Cañas et al., 2003 ; Moody et al., 2003 ; Moody et Jensen, 2016

Tableau 1. Principaux couples RCPG/ligands surexprimés dans des tumeurs solides chez l'Homme. Un nombre croissant de publications plaide en faveur de la surexpression de RCPG au sein de tumeurs d'origines très variées, suggérant leur recrutement dans l'induction et/ou le développement tumoral. α-MSH : α-melanocyte stimulating hormone ; AT1 : récepteur de type 1 de l'angiotensine II ; B_{1,2} : récepteur de type 1 ou 2 de la bradykinine ; CCK_{1,2} : récepteur de type 1 ou 2 de la CCK ; CCL1 (IL-8) : interleukine-8 ; CCL21 : chimiokine au motif C-C 21 ; CCR7,8 : récepteur de type 7 ou 8 aux chimiokines motif C-C ; CXCL1,2,3,12 : chimiokine de type 1, 2, 3 ou 12 motif C-X-C ; CXCR2,4 : récepteur de chimiokines de type 2 ou 4 motif C-X-C ; ET_{AB} : récepteur de type A ou B de l'ET-1 ; EP_{2.4} : récepteur de type 2 ou 4 de PGE₂ ; FSH : *follicle stimulating hormone* ; FSHR : récepteur de la FSH ; G-1 : ligand du GPER ou GPR30 ; GAL-R₁₋₃ : récepteur de type 1, 2 ou 3 de la galanine ; GPER : G-protein coupled estrogen receptor ; GRP : gastrin-releasing peptide ; GRPR : récepteur du GRP ; LHRH : luteinizing hormone releasing hormone ; LHRHR : récepteur de la LHRH ; LPA : acide lysophosphatidique ; LPAR₁₋₃ : récepteur de type 1, 2 ou 3 du LPA ; NMBR : récepteur de la NMB ; NTR₁₋₃ : récepteur de type 1, 2 ou 3 de la neurotensine ; MSHR : melanocyte stimulating hormone receptor; PACAP: pituitary adenylate-cyclase activating peptide; PAC₁: récepteur de type 1 du PACAP ; PTAFR : récepteur du PAF ; S1P_{1,2,3} : récepteur de type 1, 2 ou 3 de la S1P ; sst₁₋₅ : récepteur de type 1, 2, 3, 4 ou 5 de la somatostatine ; $V_{1,2,3}$: récepteur de type 1, 2 ou 3 de la vasopressine ; VIP : vasoactive intestinal polypeptide ; VPAC_{1,2} : récepteur de type 1 ou 2 du VIP ; Y_{1-5} : récepteur de type 1, 2, 4, ou 5 du NPY.

2.1 La croissance et la prolifération tumorale induites par les RCPG

Depuis une trentaine d'années, de nombreux RCPG et leur(s) ligand(s) associé(s) sont connus pour avoir un rôle pro-mitotique, en contrôlant le cycle cellulaire ou stimulant l'expression de facteurs pro-oncogéniques, la synthèse d'ADN et la prolifération cellulaire (Chambard *et al.*, 1987 ; Ghanemi *et al.*, 2013 ; Singh *et al.*, 2015). L'effet pro-mitotique du sérum bovin fœtal sur les cellules en culture est dans un premier temps expliqué par la présence de l'acide lysophosphatidique (LPA) qui active la famille des *lysophosphatidic acid receptors* (LPAR) et permet le recrutement de la voie $G\alpha_s$ (Chambard *et al.*, 1987 ; Pouysségur *et al.*, 1988 ; van Corven *et al.*, 1989). Depuis ces travaux, l'implication de ligands de RCPG a été mise en évidence dans le recrutement de cette voie, *e.g.* la substance P et la substance K (Nilsson *et al.*, 1985), la thrombine (Paris et Pouysségur, 1986 ; Vouret-Craviari *et al.*, 1993) ou encore la bombésine (BBN) (Rozengurt et Sinnett-Smith, 1983 ; Letterio *et al.*, 2017) (**Fig. 5A**).

Les MAPK constituent une famille de sérine/thréonine kinases impliquées dans la transduction de signaux externes régulant la prolifération, la division et la différenciation cellulaires, et ce, *via* la translocation nucléaire de certaines d'entre-elles conduisant à l'activation de facteurs de transcription (Naor *et al.*, 2000 ; Roux et Blenis, 2004). Les premières MAPK découvertes et les plus étudiées sont les ERK 1 et 2 (également appelées p44^{mapK} et p42^{mapK}, respectivement), initialement connues pour être activées par des facteurs de croissance tels que l'*epidermal growth factor* (EGF), le *platelet-derived growth factor* (PDGF) ou le *fibroblast growth factor* (ou FGF) dont les récepteurs appartiennent à la famille des RTK (Pawson, 1995 ; Pandey *et al.*, 2016 ; Imperial *et al.*, 2017).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse



Figure 5. Différentes voies associées à l'activation de RCPG dans la modulation de la prolifération/survie cellulaire. A. Recrutement de facteurs de transcription associés à la prolifération cellulaire. L'inhibition de GSK-3 β via la voie PI3K/Akt permet de lever sa propre inhibition sur CREB. **B.** La voie PI3K/Akt induit également l'inhibition de Bad normalement impliqué dans les mécanismes apoptotiques, entraînant donc une diminution de l'apoptose. C. De nombreux ligands et leurs RCPG associés sont capables de recruter directement ou indirectement les MAPK impliquées dans la régulation du cycle cellulaire et notamment dans le passage de la phase G_0 à la phase S correspondant à la duplication du génome. Akt (ou PKB) : protéine kinase B ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; AngII : angiotensine II ; Bad : Bcl-2-associated death ; β-ARR : β-arrestine ; BBN : bombésine ; BDK : bradykinine ; Cas3,9 : caspase 3 ou 9 ; CCK : cholécystokinine ; CREB : cAMP response element-binding protein ; CytoC : cytochrome C ; DAG : diacylglycérol ; ET-1 : endothéline-1 ; EGFR : récepteur de l'EGF ; GSK-3 β : glycogen synthetase kinase 3 β ; IP3: inositol triphosphate; MAPK: mitogen-activated protein kinase; mTOR: mammalian target of rapamycin ; NF- κ B : nuclear factor κ B ; p70^{S6K} : ribosomal protein S6 kinase beta-1 ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; PIP₂ : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ; PLC : phospholipase C; PKA : protéine kinase A ; PKC : protéine kinase C ; PKD : protéine kinase D.

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

Le lien entre les RCPG et l'activation des MAPK est cependant longtemps resté incompris, mais il a été démontré à la fin des années 90 que nombre de ligands de RCPG sont capables d'activer la voie ERK 1/2 dans certaines circonstances, *via* notamment la transactivation de l'EGFR, dont la présence est parfois indispensable pour l'activité promitotique des RCPG (Gutkind, 1998 ; Carpenter, 1999 ; Prenzel *et al.*, 1999). La transactivation est rendue possible grâce à l'augmentation rapide de l'activité kinase de la famille c-Src induite par des agonistes de RCPG, et liée au recrutement des β -ARR (Rodríguez-Fernández et Rozengurt, 1996 ; Luttrell, 1999 ; Cao *et al.*, 2000) mais également *via* les voies Ga₈ et Ga₄ (Ma et Pei, 2007). Cette dernière observation a été confirmée pour d'autres ligands, tels que l'AngII (Sadoshima *et al.*, 1995), l'ET-1 (Wang *et al.*, 1992 ; Cazaubon *et al.*, 1993), l'ocytocine (Ohmichi *et al.*, 1995), la BBN (Pang *et al.*, 1993), la *thyrotropin-releasing hormone* (Ohmichi *et al.*, 1994) ou la *gonadotropin-releasing hormone* (Sim *et al.*, 1995). Ces voies peuvent également faire le relais de la voie phosphoinositide 3-kinase (PI3K) / protéin kinase B (Akt) conduisant à l'inhibition de l'apoptose suite à l'activiation de certains RCPG (Sadoshima *et al.*, 1995 ; Pang *et al.*, 1993) (**Fig. 5B**).

Plus classiquement, de nombreux neuropeptides mitotiques tels que l'AngII, la BBN ou l'ET-1 sont capables de recruter la voie PLC/PIP₂/DAG pour activer une protéine kinase C (PKC), conduisant à la phosphorylation de la voie MEK/ERK (MEK : *MAPK kinase*) et du complexe mTOR/p70^{S6K} (mTOR : *mammalian target of rapamycin*), responsables de l'augmentation de l'expression de gènes de régulation du cycle cellulaire et de réponse précoce (tels que *FOS*, *JUN*, *MYC*) (Rozengurt, 1986 ; 1998 ; 2002). Le DAG est également responsable de l'activation de la protéine kinase D (PKD), notamment connue pour son rôle dans la stimulation de la synthèse d'ADN et dans la prolifération cellulaire (Zhukova *et al.*, 2001) (**Fig. 5**C).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

Le mécanisme d'activation des MAPK est déterminé par le RCPG impliqué, le type de sous-unités recrutées ainsi que par le type cellulaire concerné. C'est pourquoi certains gènes codant des RCPG (mutés ou non) et leurs protéines G associées ont été isolés à partir de tumeurs humaines (Gutkind, 1998), dont les ligands jouent un rôle majeur dans la mise en place de boucles autocrines et/ou paracrines impliquées dans la croissance de tumeurs solides (Rozengurt, 1999). Dans de nombreux carcinomes, la BBN, la bradykinine, la cholécystokinine (CCK), la galanine, la gastrine, la neurotensine ou la vasopressine sont connues pour provoquer une élévation de la $[Ca^{2+}]_c$ et l'activation de la voie PKC/PKD, permettant directement le recrutement de la voie Raf-1/Ras/ERK (Cai *et al.*, 1997) et/ou indirectement *via* la *guanine nucleotide exchange factor* (GEF) de type *son of sevenless - growth factor receptor-bound protein 2*, conduisant à la prolifération cellulaire mais aussi à leur migration au travers de l'activation de leurs RCPG respectifs (Rozengurt, 1999) (**Tab. 2**).

RCPG	Ligand	Fonction	Voie(s) principales de signalisation	Type de cancer	Lignée cellulaire	Références				
Récepteurs	Récepteurs aux peptides									
			EGFR, ERK1/2	Sain	Primaire	Greco et al. 2003				
			Ca ²⁺ , PKC, ERK2	Selli	MCF-7	Muscella et al., 2002 ; 2003				
			MAPK, STAT3	Prostate	PC-3	Uemura et al., 2011				
				FIOState	LNCaP	Hoshino, 2010				
				Gliome	LN-18	Juillerat-Jeanneret et al.,				
		Prolifération 1	nd	Ghome	LN-308	2003				
	AngII	AngII	n.u.		PANC-1	Fujimoto, 2001				
AT1				Pancréas	MIAPaCa-2					
					Capan-2					
			МАРК		HPAF-II	- Amaya, 2004				
					AsPC-1					
					PANC-1					
			NF-κB		HPAF-II					
		Apoptose \downarrow			AsPC-1					
					PANC-1					
			nd	Gliome	LN-18	Juillerat-Jeanneret et al.,				
AT2	AngII	Prolifération \uparrow	n.u.	Gliolite	LN-308	2003				
			МАРК	Sein	MCF-7	Greco et al., 2003				
					NCI-H345	Coufferdain of Dominant				
B ₁₋₂	Bradykinine	Prolifération ↑	PKC, ERK2		NCI-H69	Seufferlein et Rozengurt, 1996				
				Poumon	NCI-510A					
CCK1	ССК	Prolifération ↑	PKC, PKD, FAK, trans. EGFR		n.d.	Rozengurt et al., 2002				

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

					AR42J (R)	Blackmore et Hirst, 1992
		Prolifération ↑			SW 1990	Smith et al., 1990
					H2T (H)	Rehfeld et Solinge, 1994
				Pancréas	SLU-048	Hudd et al., 1989
CCK	ССК	Durliffuntion of	n d.		Co-3	Sumiyoshi et al., 1984
com		Promeration ~			PANC-1	Undel at al. 1090
					MIAPaCa-2	Hudd <i>el al.</i> , 1989
					SC-6-JCK	Yasui <i>et al.</i> , 1986
		Prolifération ↓		Estomac	SLU-077	Hudd et al 1989
	<i>a</i>			Listoniae	(M)	Hudd <i>Cr un</i> ., 1909
	Gastrine				MNK45	Watson <i>et al.</i> , 1989
					AKATOL	Svet-Moldavsky et al., 1980
CCK ₂	Donto gostrino	Prolifération ↑	n.d.	Colon	CX1	
	Fentagastime			COIOII	X56	Smith et Solomon, 1988
					SW 403	Remy-Heintz et al., 1993
					CT 26	Szabó <i>et al.</i> , 2000
		Prolifération 1			WiDr	Smith <i>et al.</i> 1993
					MC 26 (M)	Winsett <i>et al.</i> 1986
					AKATOL	
	Pentagastrine				1-71	Svet-Moldavsky et al., 1980
CCK ₂			n.d.		St-15	Sumiyoshi et al., 1984
		-		Colon	LoVo	Müerköster <i>et al.</i> 2005
		Proliferation ≈			LS174T	WIGHKOSTEI <i>et ut.</i> , 2005
					HT-29	Watson at al. 1090
	Gastrine				LoVo	watson <i>et al.</i> , 1989
					MC 26 (M)	Graffner et al., 1992
ET		Prolifération ↑	↑ β-caténine, TCF-4		HT-29	Kim et al., 2005
L1?		Apoptose \approx	nd		Primaires	Nelson et al., 1996
			n.u.		n.d.	Nelson, 2003
			IGF-I-II, PDGF,		Primaires	
ETA	ET-1	Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF	Prostate	Primaires	
ET_A	ET-1	Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF	Prostate	Primaires LNCaP	Nelson <i>et al.</i> , 1996
ET _A	ET-1	Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II	Prostate	Primaires LNCaP PPC-1	Nelson <i>et al.</i> , 1996
ETA	ET-1	Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF	Prostate	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3	Nelson et al., 1996
ET _A	ET-1	Prolifération ↑ Prolifération ≈	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d.	Prostate	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires	Nelson <i>et al.</i> , 1996
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d.	Prostate	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt,
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d.	Prostate Poumon	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine GRP	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃	ET-1 Galanine GRP	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d.	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L47	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP	Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L42 COR-L42	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L47 COR-L42 COR-L103	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP	Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L47 COR-L42 COR-L103 MOR	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire Poumon	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L27 COR-L42 COR-L103 MOR COR-L88	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP GRP/NMB	Prolifération ↑ Prolifération ≈ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire Poumon	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L47 COR-L27 COR-L42 COR-L103 MOR COR-L88 NCI-H345	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP GRP/NMB	Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire Poumon	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L47 COR-L47 COR-L42 COR-L42 COR-L103 MOR COR-L88 NCI-H345 COR-L51	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985 Cardona <i>et al.</i> , 1991
ET _A GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP GRP/NMB	Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d.	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire Poumon	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L47 COR-L47 COR-L42 COR-L42 COR-L103 MOR COR-L42 COR-L103 MOR COR-L88 NCI-H345 COR-L51 NCI-H69	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR	ET-1 Galanine GRP GRP/NMB	Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d. Boucle autocrine	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire Poumon	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L42 COR-L47 COR-L47 COR-L42 COR-L42 COR-L103 MOR COR-L88 NCI-H345 COR-L51 NCI-H69 POC	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985 Cardona <i>et al.</i> , 1991
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR GRPR	ET-1 Galanine GRP GRP/NMB	Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d. Boucle autocrine	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire Poumon	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L47 COR-L47 COR-L42 COR-L103 MOR COR-L42 COR-L103 MOR COR-L88 NCI-H345 COR-L51 NCI-H69 POC COR-L24	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985
ET _A ET _B GAL-R ₁₋₃ GRPR GRPR	ET-1 Galanine GRP GRP/NMB	Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑ Prolifération ↑	IGF-I-II, PDGF, BFGF, EGF EGF, BFGF EGF, IGF-I,II IGF-I,II, PDGF n.d. n.d. n.d. Boucle autocrine	Prostate Poumon Tête et cou Neuro- blastome Ovaire Poumon	Primaires LNCaP PPC-1 PC-3 Primaires NCI-H69 NCI-510 MDA-1483 UM-22B Primaire SK-N-SH Primaire OV-1063 n.d. COR-L47 COR-L47 COR-L47 COR-L47 COR-L42 COR-L42 COR-L103 MOR COR-L88 NCI-H345 COR-L51 NCI-H69 POC COR-L23	Nelson <i>et al.</i> , 1996 Seufferlein et Rozengurt, 1996 Zhang <i>et al.</i> , 2007b Lango <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 2013 Lawlor <i>et al.</i> , 1998 Sun <i>et al.</i> , 2000 Cuttitta <i>et al.</i> , 1985

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

GRPR	Bombésine		PKC, ERK2	Poumon	NCI-H345	Seufferlein et Rozengurt, 1996							
				1	PANC-1								
		Prolifération			CFPAC-1								
GRPR/NMBR	n.d.		n.d.	Pancréas	Capan-1	Szepeshazi et al., 2005							
			_		Capan-2								
		Prolifération \approx			MIAPaCa-2								
			ERK1/2	Pancréas	PANC-1	Guha <i>et al.</i> , 2003							
NTR	Neurotensine	Prolifération ↑	n.d.	Prostate	PC-3	Seethalakshmi <i>et al.</i> , 1997							
			PKC, ERK2	Poumon	NCI-H345	Seufferlein et Rozengurt, 1996							
			n d		MCF-7	Boire at al. 2005							
			↑ β-caténine	Sein	Primaire	Yin <i>et al.</i> 2006							
PAR-1	Thrombine	Prolifération ↑			11111110	11101011,2000							
			MEK, ERK1/2	Colon	HT-29	Darmoul et al., 2003							
					LoVo								
			MEK, ERK1/2	Colon	HCT-116	Darmoul et al., 2003							
PAR-1	Thrombine	Prolifération \uparrow	MAPK	Tête et	686LN-M3e	Lin et al. 2001							
			n.d.	cou	JHU-22	Liu <i>et at.</i> , 2001							
<u>V</u> 1					NGLUOS	N. 4. 6. 1000							
V ₃ V ₂	Vacannasina	Dualifération 1	Boucle autocrine	Doumon	NCI-H82	North <i>et al.</i> , 1998							
• 2	vasopressine	Proliferation		Poumon	NCI-H345	Seufferlein et Rozengurt.							
V ?			PKC, ERK2		NCI-H510	1996							
Récenteurs	aux linides hi	ioactifs											
Receptedist					11a 579T								
			COX-2		MDA-MB-	Mazhar et al 2006							
		Prolifération ↑ –		C . in	231								
			AMPc, PKA	Sem	Primaire	Chang et al., 2005							
			n.d.		MDA-MB-	Tjandrawinata et al., 1997							
			$\uparrow \beta_{-caténine} \perp APC$		134 Primaire	Hull at al 2004							
		-	p cutennie, ‡ / ii C		LS174T	Wright <i>et al.</i> 2000							
FP.	PGF		n.d.		HT-29	Colucci et al., 2005							
	1022			Colon	DiFi	Tjandrawinata <i>et al.</i> , 1997							
			↑ Bcl-2		HCA-7	Sheng et al., 1998							
		Apoptose ↓	n.d.		CT 26 (M)	Reinmuth et al., 2003							
		Prolifération	COX	Drestata	PC-3	T 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1							
											n.d.	Prostate	LNCaP
			↑ Bel-2	Tête et		Lin <i>et al</i> 2002							
		Apoptose ↓		cou	Echantillons	Hoshino at al. 2002							
			AMIFC, FISK, FKA	Estolliac		Gupta <i>et al.</i> , 2003							
		Prolifération ↑	AMPc, PI3K, Akt		n.d.	Hull <i>et al.</i> , 2004							
FP.	PGE	1	n.d.		LS174T	Sheng <i>et al.</i> , 2001							
	1022	A	1 Bal 2		HCA 7	Sheng <i>et al.</i> 1999							
		Apoptose ↓			Echantillone	Hoshino et al 2003							
		Dualifónation	Awire, Fisik, Fika		HCT-116	110shino et ut., 2005							
LPAR ₁			n.d.		LS174T								
			PKC GSK-38 B-	Colon	HCT-116	Yang et al., 2005							
			caténine		LS174T								
LPAR ₂					HCT-116								
			MAPK, PKC, KLF5		SW 480								
	LPA	Prolifération		1	HCT-116	Zhang <i>et al.</i> , 2007							
IDAD		1	1		LS174T								
LPAR ₃			n.d.		SW 480	Vanc et al. 2005							
					LoVo	1 ang <i>et al.</i> , 2005							
LDAD		[Boucle autocrine	Ovaire	n.d.	Mills et Moolensor 2002							
		1 1	Doucle autocrifie	-	1	with the with the second secon							

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

S1P ₁	S1P	Prolifération ↑	SphK1	Sein	MCF-7	Shida <i>et al.</i> , 2008		
_		Apoptose ↓	n.d.	Colon	LoVo	Liu et al., 2012		
Récepteurs aux protéines								
CXCR2	n.d ¹	Survie ↑	n.d.	Poumon	LLC (M)	Keane <i>et al.</i> , 2004		
CXCR4	SDF-1	Prolifération	ation		NCI-H69	Kijima <i>et al.</i> , 2002		
FSHR	FSH	↑ 1	AMPc, PI3K, Akt, ERK1/2	Prostate	n.d.	Porter et Ben-Josef, 2001		
Autres récep	Autres récepteurs							
		Prolifération	MADV/EDV	Endomètro	RL95-2	He at $al = 2000$		
		1	MAPK/EKK	Endometre	KLE	He <i>et ut</i> ., 2009		
GPER	G-1	Prolifération	ERK1/2, p21	Prostate	PC-3	Chan et al., 2009		
		\downarrow	Ras, Raf, ERK1/2	Sain	MDA-MB-	Wei at al. 2014		
		Apoptose ↑	p53, Cas3, Cas9	Jelli	231	wei ei al., 2014		

Tableau 2. Revue non exhaustive de ligands et de leur(s) RCPG associé(s) dans la modulation de la prolifération et/ou de l'apoptose de lignées tumorales (humaines ou animales. A. Représentation schématique des étapes de l'invasion et de la migration tumorales. En réponse à un gradient chimioattractant, une cellule tumorale se détache et adhère à la MEC. La production de MMP et d'uPA permet de dégrader la MEC pour progresser vers la source d'attraction. **B.** Représentation schématique des étapes de la production de métastases. En réponse à un gradient chimioattractant, une cellule tumorale est capable de migrer et de rejoindre un vaisseau sanguin par intravasation et de produire des métastases. COX-2 : cyclooxygénase-2 ; CXCR4 : récepteur de chimiokines de type 4 motif C-X-C ; EP₂ : récepteur de type 2 de PGE₂ ; GRP : *gastrin-releasing peptide* ; GRPR : récepteur du GRP ; HIF-1α : *hypoxia inducible factor-1α* ; MEC : matrice extracellulaire ; MMP-2,9 : métalloprotéinase matricielle de type 2 ou 9 ; NF-κB : *nuclear factor κB* ; PGE₂ : prostaglandine E2 ; SDF-1 : *stromal-cell derived factor 1* ; uPA : *urokinase-type plasminogen activator*.

2.2 La migration et l'invasion tumorale induites par les RCPG

La migration est un processus qui peut se décomposer en cinq étapes principales : polarisation, apparition de protrusions à l'avant de la cellule, formation d'adhésions stabilisant ces protrusions, contraction-traction à partir des adhésions, et rétractation du pôle arrière de la cellule (Lauffenburger et Horwitz, 1996) (**Fig. 6**). Le *Dictyostelium discoideum*, un eucaryote unicellulaire du groupe des amibes, a notamment servi de modèle pour étudier la migration directionnelle en réponse à un gradient chimioattractant d'AMPc (Servant *et al.*, 2000). La migration cellulaire intervient dans plusieurs processus physiologiques et pathologiques tels que l'embryogenèse, la surveillance immunitaire, l'invasion tumorale ou l'apparition de métastases (Chen, 2017 ; Nieto Gutierrez et McDonald, 2018).



Figure 6. Représentation schématique des cinq principales étapes de la migration cellulaire. Suite à la détection d'un signal, la cellule se polarise (1) et émet des protrusions à l'avant (2). La formation de nouvelles adhésions (3) permet la contraction (4) et la traction de la cellule suivie de la rétractation (5) du pôle caudal. MEC : matrice extracellulaire.

L'ensemble des événements liés à la migration cellulaire a été regroupé dans le concept du « *directionnal sensing* » (Meili et Firtel, 2003). Celui-ci implique la détection d'un signal extracellulaire par des récepteurs membranaires tels que des RCPG et/ou RTK, permettant de déclencher la polarisation des cellules. La stimulation focalisée de ces récepteurs entraîne une cascade de signalisation intracellulaire impliquant la PI3K, responsable de l'accumulation de

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP₃) à l'avant de la cellule et l'activation de guanosines GTPases de type Rho, Rac et cell division control protein 42 (Cdc42) via le recrutement de GEF (Servant et al., 2000; Huang et al., 2003). Ces dernières interagissent avec des protéines effectrices, et sont responsables de la polymérisation de l'actine à l'avant de la cellule (Takai et al., 2001). D'autres études ont par ailleurs montré que l'activation de ces GTPases ne dépend pas seulement du PIP₃ produit par la PI3K. En effet, Li et coll. ont montré en 2003 que le complexe βy peut interagir avec la sérine/thréonine kinase *p21 activated kinase* (PAK1) qui stimule la GEF PAK-associated guanine nucleotide exchange factor, elle-même responsable de l'activation de Cdc42. Rac permet quant à lui de favoriser la polymérisation de l'actine à l'avant de la cellule (mécanisme indispensable à la mise en place des protrusions cellulaires) et entraîne une boucle de rétrocontrôle positive sur la PI3K (Etienne-Manneville et Hall, 2002). Il existe par ailleurs un rétrocontrôle négatif qui implique la phosphatase and tensin homolog (PTEN), capable de réduire l'impact de la PI3K en hydrolysant le PIP₃ en arrière et sur les faces latérales de la cellule polarisée (Sansal et Sellers, 2004). Des études ont ainsi révélé que l'absence de PTEN dans certaines cellules entraîne des défauts de polarisation et de migration, faisant de PTEN un suppresseur de tumeurs majeur (Funamoto et al., 2002 ; Iijima et al., 2002).

Nécessaires à la migration cellulaire, les protrusions existent sous cinq formes : les lamellipodes, les filopodes, les *blebs*, les invadopodes et les podosomes (pour revue, Ridley, 2011). Les lamellipodes sont formés par la polymérisation continue des filaments d'actine à l'avant des cellules ; les filopodes correspondent à des extensions exploratrices formées de filaments parallèles d'actine ; les *blebs* sont des structures sphériques riches en myosine qui apparaissent lors de la division ou de la migration ; les podosomes et invadopodes sont des structures riches en actine situées à la membrane des cellules et qui ont un contact étroit avec

la matrice extracellulaire (MEC). Pour rappel, la MEC est principalement composée de protéoglycanes et de protéines fibreuses ; elle joue un rôle crucial dans l'adhésion des cellules (Järveläinen *et al.*, 2009) (**Fig. 7**).



Figure 7. Représentation schématique des différents types de protrusions cellulaires. Les lamellipodes permettent la migration à l'avant des cellules (1) (extrait de Nardo *et al.*, 2005), les filopodes correspondent à des extensions exploratrices (2) (extrait de Collart-Dutilleul *et al.*, 2014), les podosomes (3) (extrait de Luxenburg *et al.*, 2007) et les invadopodes (4) (extrait de Schoumacher *et al.*, 2011) sont des structures riches en actine situées à la membrane ventrale des cellules très au contact de la MEC, les *blebs* apparaissent lors de la division cellulaire (5) (extrait de Paluch *et al.*, 2006). MEC : matrice extracellulaire.

Les podosomes et les invadopodes peuvent dégrader la MEC en régulant la sécrétion et l'activation de protéases telles que les MMP, permettant ainsi aux cellules de franchir la barrière tissulaire dans un contexte physiologique ou physiopathologique (Sibony-Benyamini et Gil-Henn, 2012). En effet, les podosomes sont des structures principalement présentes sur les cellules saines à motilité potentiellement élevée, telles que les monocytes (Gaidano *et al.*, 1990), les macrophages (Linder et Kopp, 2005) ou encore les cellules endothéliales (Moreau *et al.*, 2003). Les invadopodes sont quant à eux présents sur les cellules cancéreuses, qu'elles proviennent de mélanomes (Monsky *et al.*, 1994) ou de carcinomes de sein (Coopman *et al.*, 1998). Ces deux protrusions apparaissent selon un processus similaire, en réponse à un stimulus pro-migratoire.

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

Il est aujourd'hui largement établi que de nombreux ligands de RCPG jouent un rôle majeur dans la migration et l'invasion cellulaires liées à la tumorigenèse, et dans les processus de production de métastases. Parmi eux figurent par exemple le *stromal cell-derivated factor-1* (SDF-1), l'AngII ou encore la bradykinine.

Selon la nature et le mode d'action de ces molécules, on distingue notamment les chimiokines et les lipides bioactifs. Les premières chimiokines décrites, telles que l'interleukine-8 (IL-8), se caractérisent par les propriétés pro-migratoires qu'elles exercent sur des cellules du système immunitaire (Baggiolini *et al.*, 1989). Les chimiokines et leurs récepteurs sont impliqués dans de nombreuses pathologies, comme les maladies auto-immunes (Godessart et Kunkel, 2001), les troubles cardiovasculaires (Charo et Taubman, 2004) et le cancer (Vicari et Caux, 2002). Le couple SDF-1/ récepteur de chimiokine de type 4 motif C-X-C (CXCR4) est l'un des plus étudiés dans la migration cellulaire et les processus métastatiques de nombreux cancers à tumeurs solides, notamment dans le carcinome du sein (Helbig *et al.*, 2003 ; Lee *et al.*, 2004), de poumon (Phillips *et al.*, 2003), de rein (Pan *et al.*, 2006), de prostate (Taichman *et al.*, 2002) et dans les processus invasifs des gliomes (Ehtesham *et al.*, 2006). Il a été observé par exemple que SDF-1/CXCR4 relaye l'invasion de cellules tumorales en stimulant l'activation de molécules d'adhésion comme les intégrines $\alpha_v\beta_3$ (Zheng *et al.*, 1999) (**Fig. 8**).



Figure 8. Représentation schématique des différentes étapes clés de l'invasion, de la migration et de la production de métastases au travers de l'implication des RCPG. A. Représentation schématique des étapes de l'invasion et de la migration tumorales. En réponse à un gradient chimioattractant, une cellule tumorale se détache et adhère à la MEC. La production de MMP et d'uPA permet de dégrader la MEC pour progresser vers la source d'attraction. **B.** Représentation schématique des étapes de la production de métastases. En réponse à un gradient chimioattractant, une cellule tumorale est capable de migrer et de rejoindre un vaisseau sanguin par intravasation et de produire des métastases. COX-2 : cyclooxygénase-2 ; CXCR4 : récepteur de chimiokines de type 4 motif C-X-C ; EP₂ : récepteur de type 2 de PGE₂ ; GRP : *gastrin-releasing peptide* ; GRPR : récepteur du GRP ; HIF-1α : *hypoxia inducible factor-1α* ; MEC : matrice extracellulaire ; MMP-2,9 : métalloprotéinase matricielle de type 2 ou 9 ; NF-κB : *nuclear factor κB* ; PGE₂ : prostaglandine E2 ; SDF-1 : *stromal-cell derived factor 1* ; uPA : *urokinase-type plasminogen activator*.

Les lipides sont les constituants majeurs de la membrane cellulaire. Certains d'entre eux sont appelés lipides bioactifs, car ils ont la particularité d'exercer des effets biologiques. C'est le cas de la prostaglandine E₂ (PGE₂) qui stimule la motilité de cellules de carcinome colorectal (Sheng *et al.*, 2001) *via* le récepteur de type 4 de PGE₂ (EP₄), ou encore le *platelet-activating factor* (PAF) qui stimule la migration de cellules issues de carcinomes du sein au travers du *PAF receptor* (PTAFR) (Bussolati *et al.*, 2000). De même, le LPA exerce des effets promigratoires sur des cellules souches mésenchymateuses (Pébay *et al.*, 2007), des cellules tumorales de prostate (Hao *et al.*, 2007) et des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV), recrutées pour la néoangiogenèse tumorale (Shahi et Pineda, 2008). Il a également été observé que le *sphingosine-1-phosphate* (S1P) stimule la migration de cellules endothéliales vasculaires (Okamoto *et al.*, 2000) et de CMLV (Fegley *et al.*, 2003) par l'activation des récepteurs de type 1 et 3 de S1P (S1P_{1,3}) (Kimura *et al.*, 2000) tandis qu'il inhibe celle de neutrophiles (Kawa *et al.*, 1997) et de myoblastes (Becciolini *et al.*, 2006) *via* l'activation du S1P₂ particulièrement exprimé dans ces cellules (Ryu *et al.*, 2006; Arikawa *et al.*, 2003).

Enfin, de nombreux peptides vasoactifs jouent aussi un rôle important sur la migration cellulaire. Il s'agit, sans être exhaustif, de l'AngII, de la bradykinine, de la substance P, du *vasoactive intestinal polypeptide* (VIP), de la neurotensine, du neuropeptide Y (NPY), de l'*atrial natriuretic peptide*, de l'urotensine II (UII), de l'ET-1 ou de l'adrénomédulline. Au-delà de leurs propriétés vasoactives, ces peptides modulent la migration des cellules endothéliales, vasculaires lisses et/ou les cellules du système immunitaire, jouant ainsi un rôle majeur dans les processus de tumorigenèse (Bar-Shavit *et al.*, 2016 ; Ouyang *et al.*, 2017 ; Nogués *et al.*, 2018). A titre d'exemple, l'AngII agit sur la migration de CMLV (Mugabe *et al.*, 2010), l'ET-1 stimule la migration de cellules endothéliales (Daher *et al.*, 2008), le NPY exerce des effets pro-migratoires sur des cellules issues d'un carcinome du sein (Medeiros *et al.*, 2012),

tandis que la bradykinine agit sur l'invasion et la migration de cellules tumorales de prostate (Yu *et al.*, 2013).

Les données de la littérature montrent que la plupart des protéines G peuvent être sollicitées dans le mécanisme de migration cellulaire (Rozengurt *et al.*, 2002 ; Cotton et Claing, 2009 ; Ganguly *et al.*, 2011). Le recrutement de $G\alpha_q$ et de la voie PLC/PIP₂/IP₃/Ca²⁺ permet d'agir sur la calmoduline et sur le remodelage des filaments d'actine. C'est par exemple la voie relayée par le récepteur de l'ocytocine pour stimuler la migration des cellules HUVEC (*human umbilical vein endothelial cell*) (Cattaneo *et al.*, 2008), tout comme le LPA permet la migration de CMLV *via* la voie ERK1/2 recrutée par G α_q (Kim *et al.*, 2006). Cela a également été démontré dans le cas de la liaison de la thrombine avec le *protease activated receptor 1* (PAR-1) (Austin *et al.*, 2013), relayant l'invasion tumorale en favorisant le détachement et la migration de cellules cancéreuses épithéliales, et l'implantation de métastases (Boire *et al.*, 2005 ; Elste et Petersen, 2010 ; McCoy *et al.*, 2012). Enfin, le récepteur orphelin GPR116 joue un rôle important dans la migration de cellules MDA-MB-231 (une lignée tumorale du cancer du sein), au travers de l'activation de la voie G α_q /p63RhoGEF-RhoA/Rac connue pour stimuler la voie ROCK pendant le processus de migration tumoral (Tang et Han, 2013).

D'autres types de sous-unités G α peuvent être impliqués dans ces processus. C'est le cas de G α_s sollicitées par le GPR30 ou *G-protein coupled estrogen receptor* (GPER), un médiateur de nombreuses réponses biologiques relayées par les œstrogènes (Berger *et al.*, 2013). Son activation par le ligand G-1 entraîne le recrutement de la voie AC/AMPc/PKA/Cdc42 impliquée dans la polarisation cellulaire *via* la polymérisation d'actine et la formation de protrusions ; le lien entre la PKA et le Cdc42 reste encore discuté (Feoktistov *et al.*, 2000 ; Tatin *et al.*, 2006 ; Prossnitz et Maggiolini, 2009). L'activation du GPER entraîne le recrutement de la sous-unité G $\alpha_{i/o}$ associée à la migration et l'adhésion cellulaires des cellules

SK-BR-3 (une lignée tumorale humaine issue d'un carcinome de sein), relayée en aval par l'*heparin-binding* EGF induisant la transactivation de l'EGFR et de la libération de MMP dans le microenvironnement tumoral (Ge *et al.*, 2012). Cette transactivation de l'EGFR active la voie MAPK/ERK1/2 qui dans ce cas précis freine la prolifération des cellules tumorales au profit de la migration (Prossnitz et Barton, 2011 ; Filardo et Thomas, 2012). Le LPA précédemment décrit peut lui-même transactiver l'EGFR *via* la voie G_i/Src dans un modèle de cancer ovarien au travers de l'activation du LPAR de type 2 (LPAR-2). De plus, le LPA est capable de promouvoir la migration et la formation de métastases *via* le LPAR-1 dans les cellules DLD-1 (lignée tumorale humaine colorectale) (Lee *et al.*, 2006b), les cellules NUGC-3 (lignée tumorale humaine d'adénocarcinome gastrique) (Shida *et al.*, 2004), et les cellules BT-549, Hs578T, MDA-MB-231, MDA-MB-157 et T47D (toutes des lignées tumorales humaines d'adénocarcinome du sein) (Witt *et al.*, 2006 ; Chen *et al.*, 2007). Il a notamment été observé dans ces lignées la formation de fibres de stress d'actine et l'assemblage de points focaux d'adhésion par le recrutement de la voie G $\alpha_{12/13}$ /RhoA/ROCK (Choi *et al.*, 2010).

Dans le cas des peptides vasoactifs, l'AngII est capable de coupler *via* AT1 la voie $Ga_{q/11}$, $Ga_{12/13}$ et $Ga_{i/0}$ (Gasparo *et al.*, 2000 ; Keys *et al.*, 2002) dans plusieurs lignées tumorales issues de carcinomes de prostate (LNCaP, PC-3) (Daaka, 2004 ; Hoshino *et al.*, 2011 ; Uemura *et al.*, 2011), de pancréas (PANC-1) (Guha *et al.*, 2003) et dans le cancer du sein (Ruiter *et al.*, 2011 ; Vinson *et al.*, 2012). Ce couplage est suivi d'une élévation de la $[Ca^{2+}]_c$, du recrutement de MAPK et de plusieurs tyrosines kinases telles que la Src ou la *focal adhesion kinase* (ou FAK) impliquées dans la maturation des points focaux d'adhésion (Gasparo *et al.*, 2000 ; Keys *et al.*, 2002). Comme plusieurs autres RCPG, AT1 peut stimuler des voies de signalisation parallèles aux protéines G, par la phosphorylation du RCPG par les GRK et le couplage des β -ARR qui conduit à l'activation de la voie MAPK, des *janus kinases* et/ou de signaux

transducteurs et activateurs de transcription (STAT) impliqués dans l'angiogenèse (Tang *et al.*, 2014 ; Zhao *et al.*, 2014 ; Yu *et al.*, 2015a) (**Fig. 9**) (**Tab. 3**).



Figure 9. Représentation schématique des principales voies de signalisation impliquées dans la migration activées par les RCPG. Les RCPG et leur(s) ligand(s) sont impliqués dans le recrutement de nombreuses voies de signalisation associées aux différentes sous-unités de protéines G. En modulant les mécanismes intracellulaires associés, ces cascades d'activation jouent un rôle majeur dans la migration et l'invasion cellulaires liées à la tumorigenèse. A2 : récepteur de l'adénosine de type 2 ; AC : adénylate cyclase ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; CaM : calmoduline ; CXCR4 : récepteur de chimiokines de type 4 motif C-X-C ; DAG : diacylglycérol ; EGFR : récepteur de l'EGF ; EP₄ : récepteur de type 4 de PGE₂ ; ERK : *extracellular signal-regulated kinase* ; ET_B : récepteur de type B de l'ET-1 ; FSHR : récepteur de la FSH ; IP₃ : inositol triphosphate ; LPAR₂ : récepteur de type 2 du LPA ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; PIP₂ : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ; PIP₃ : phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate ; PKA : protéine kinase A ; PKC : protéine kinase C ; PLC : phospholipase C ; RhoGEF : *rho guanine nucleotide exchange factor* ; ROCK : *rho-associated protein kinase* ; S1P_{1,2} : récepteur de type 1 ou 2 de la S1P.

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

RCPG	Ligand	Fonction	Acteurs principaux	Cancer	Lignée cellulaire	Publication		
Récepteurs aux peptides								
				Ovaire	SK-OV-3	Suganuma et al., 2005		
					HCC1428			
A TT 1	A TT	Invasion \uparrow		C	HCC1500	Dhadaa <i>a</i> 1, 2000		
AII	Angli		n.a.	Sein	BT-549	Rhodes et al., 2009		
					Hs 578T			
		Métastases ↑		Tête et cou	T.Tn	Kawamata et al., 2003		
		Invasion 1	nd	Tête et cou	MDA1483	Zhang et al. 2004		
GRPR	GRP	Invasion	n.u.	Tele el cou	UM-22B	Zhang ei ui., 2004		
		Métastases ↑	FAK	Neuro- blastome	BE(2)-C	Kang et al., 2007		
		Invasion 1	MMP	Sein	MCF-7	Boire et al., 2005		
			MMP-2, MMP-9	Tête et cou	686LN-M3e	Liu et al., 2001		
			MMP-2, PAR-2	Sein	MDA-MB-231	Even-Ram et al., 1998		
		Minutian	n.d.	Mélanome	M24met	Shi et al., 2004		
PAR-1		Migration T		Colon	HT-29	Darmoul et al., 2003		
1711(1			Rho, ERK	Rein	COS-7 transfectées (M)	McCoy et al., 2012		
	Thrombine		n.d.		Echantillons	Hernández et al., 2009		
			MMP	Sein		Kang <i>et al.</i> , 2003		
		Métastases ↑	n.d.		MDA-MB-231	Even-Ram et al., 1998		
PAR-2			n.d.	Mélanome	M24met			
PAR-1		Migration ↑			PC-3	Shi et al., 2004		
PAR-2			MMP	Prostate	DU-145	•		
Récepte	Récepteurs aux lipides							
		Métastases ↑	COX-2	Poumon	Echantillons	Hida <i>et al.</i> , 1998		
		Lucco al contra	MMP-1, MMP-2		Caco-2	Tsujii <i>et al.</i> , 1998		
EP_2	DCE	Invasion	n.d.		LS174T	Sheng et al., 2001		
	PGE ₂	Métastases ↑			CT26 (M)	Reinmuth et al., 2003		
				Colon	LS174T	Sheng et al., 2001		
EP ₄			AMPc, PI3K, Akt	Colon	n.d.	Gupta et DuBois, 2001		
					DLD-1	Shida <i>et al.</i> , 2008		
					NUGC-3			
					MKN1			
LPAR ₁			n.d.		BT-549*			
					Hs 578T*			
			MDA-MB-157*					
		Migration ↑			MDA-MB-231*	Chen <i>et al.</i> , 2007		
		6 1		Sein	T47D*			
	LPA		RhoA		BT-20			
					MCF-/			
LDAD					453**			
LPAR ₂					MDA-MB-			
			n.d.		408 MKN28			
				Colon	MKN74	Shida <i>et al.</i> , 2008		
LPAR ₃		Métastases ^		Sein	MDA-MB-157	Zhang et al., 2007a		
LPAR ₅		Migration 1	n.d.	Mélanome	B16	Jongsma et al 2011		
PTAFR	PAF	Migration ↑	n.d.	Sein	n.d.	Bussolati <i>et al.</i> 2000		
		<u> </u>	MMP-2, MMP-9	Tête et cou	SCC-25	Tamashiro <i>et al.</i> , 2014		
S1P ₁	S1P	Invasion ↑	ERK1/2, MMP-2, MMP-9, uPA	Colon	LoVo	Liu et al., 2012		

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

				T	MIZNI	
C1D				Colon	MKNI DID 1	
51P ₁		Migration T	Expression de STP ₃	a :	DLD-1	Shida <i>et al.</i> , 2008
	CID	T . •		Sein	MDA-MB-231	D: (1 2014
S1P ₂	SIP	Invasion †	MMP-9, NF-кВ	Prostate	PANC-1	B1 et al., 2014
		Migration ↓	n.d.	Colon	AZ-521	.
S1P ₃		Migration ↑	ERK, Akt		MKNI	Yamashita <i>et al.</i> , 2006
				Pancréas	HCG-27	
Récepte	eurs aux protéi	nes				
CCD 7	CCL 01	Invasion ↑	1	a :	MDA-MB-361	
CCR7	CCL21	Migration ↑	n.d.	Sein	MDA-MB-231	Müller et al., 2001
		Migration ↑		Sein	Primaire	
			n.d.	Mélanome	n.d.	Balkwill et al., 2004
CCR8	CCL1/IL8	Métastases ↑			UM-SCC-9	0.1.1.1000
			IL-1α, IL-6, IL-8	Tête et cou	UM-SCC-11B	Ondrey <i>et al.</i> , 1999
CCR8	CCL1/IL8		IL-1α, IL-6, IL-8	Tête et cou	UM-SCC-38	Ondrey et al., 1999
CXCR2	n.d.	Métastases ↑		Poumon	3LL (M)	Keane et al., 2004
					HNt	
		n.d.	Tête et cou	B88	Almofti <i>et al.</i> , 2004	
		Invasion ↑		Sein	MDA-MB-361	Müller et al., 2001
			$\alpha_v\beta_3$	Prostate	PC-3	Zheng et al., 1999
			n.d.	Gliome	n.d.	Ehtesham et al., 2006
					n.d.	Smith et al., 2004
			n.d.	Sein	MDA-MB-231	Müller et al., 2001
CXCR4	SDF-1				Primaire	
		Migration ↑		Prostate		Phillips et al., 2003
				Rein	n.d.	Pan et al., 2006
				Prostate		Taichman et al., 2002
			HIF-1α, EGF	Poumon	A549	Phillips et al., 2005
		Adhésion ↑	Akt, kinase p70 S6		NCI-H446	
		Motilité ↑	<i>via</i> l'activation du récepteur c-Kit	Poumon	NCI-H69	Kijima <i>et al.</i> , 2002
			n.d.		n.d.	Smith et al., 2007
		T	MMP, IL-6	Endomètre	RL95-2	U
GPER	G-1	Invasion	n.d.		KLE	He et al., 2009
			Trans. EGFR		MOL 7	Share et 1 0015
			ERK, Akt	Sein	MCF-/	Shang <i>et al.</i> , 2015
GPR 116	n.d.	Migration ↑	RhoA, Rac, ROCK	Join	MDA-MB-231	Tang <i>et al.</i> , 2014

Tableau 3. Revue non exhaustive de ligands et de leur(s) RCPG associé(s) dans la modulation de l'invasion/migration cellulaires et de la production de métastases à partir de lignées tumorales (humaines ou animales). Les lignées tumorales marquées par (*) présentent un effet pro-migratoire à 0,1 μM et anti-migratoire à 1 μM tandis que les lignées tumorales marquées par (**) présentent un effet pro-migratoire à 1 μM mais aucun effet à 0,1 μM. Les caractéristiques des lignées cellulaires citées sont disponibles dans la liste des lignées cellulaires. Akt : protéine kinase B ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; AngII : angiotensine II ; AT1 : récepteur de type 1 de l'AngII ; CCR7 : récepteur de type 7 aux chimiokines motif C-C ; CCL1,21 : chimiokines au motif C-C 1 ou 21 ; CXCR2,4 : récepteur de chimiokines de type 2 ou 4 motif C-X-C ; EGFR : récepteur de l'EGF ; EP_{2,4} : récepteur de type 2 ou 4 de PGE₂ ; ERK1/2 : *extracellular signal-regulated kinases 1/2* ; FAK : *focal adhesion kinase* ; G-1 : ligand du GPER ou GPR30 ; GPER : *G-protein coupled estrogen receptor* ; GRP : *gastrin-releasing peptide* ; GRPR : récepteur du GRP ; GSK-3β : glycogen synthetase kinase 3β ; IL-1α,6,8 : interleukines-1α, -6 ou -8 ; LPA : acide lysophosphatidique ; LPAR_{1,2,3,5} : récepteur de type 1, 2, 3 ou 5 du LPA ; MAPK : *mitogen-activated protein kinase* ; MMP-1,2,9 : métalloprotéinase matricielle de type 1, 2 ou 9 ; NF-κB : *nuclear factor κB* ; PAF : *platelet*

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

activating factor; PGE_2 : prostaglandine E_2 ; PI3K: phosphoinositide 3-kinase; PAR-1,2: proteaseactivated receptor 1 ou 2; PTAFR: récepteur du PAF; ROCK: rho-associated protein kinase; S1P: sphingosine-1-phosphate; $S1P_{1,2,3}$: récepteur de type 1, 2 ou 3 de la S1P; SDF-1: stromal-cell derived factor-1; Trans.: transactivation; uPA: urokinase-like plasminogen activator. \uparrow : augmentation; \downarrow : diminution; n.d.: non précisé / non observé. (M): Souris.

2.3 La néoangiogenèse induite par les RCPG

De nombreuses études précliniques ont démontré l'importance du microenvironnement dans la tumorigenèse (Olumi *et al.*, 1999 ; Barcellos-Hoff et Ravani, 2000 ; Bhowmick *et al.*, 2004). Il est constitué de cellules non tumorales, de fibroblastes, de cellules endothéliales, de cellules du système immunitaire, de péricytes et de la MEC, participant au support de la structure, la croissance et l'angiogenèse tumorale (Olumi *et al.*, 1999).

La néoangiogenèse tumorale est une étape clé dans la progression de certains cancers solides (Bello *et al.*, 2004). Il est aujourd'hui admis que le passage d'un néoplasme à une tumeur maligne est lié au développement de plusieurs mécanismes comme la migration, l'invasion et la production de métastases, suivis de la formation d'un réseau vasculaire intratumoral. La néoangiogenèse tumorale se distingue de la néoangiogenèse physiologique par la présence de capillaires anormaux et peu fonctionnels, et se caractérise par la surprolifération et la migration de cellules composant les vaisseaux sanguins elle-même attribuée à une sur-excrétion de facteurs mitotiques et chimioattractants produits par les cellules tumorales (Tate et Aghi, 2009). Cette néovascularisation est corrélée avec un mauvais pronostic chez les patients (Birlik *et al.*, 2006 ; Vuong *et al.*, 2017). La croissance tumorale s'effectue en deux phases vasculaires, *i.e.* l'exploitation de vaisseaux préexistants par les cellules tumorales, suivie de la formation de capillaires *de novo* par angiogenèse (remodelage des vaisseaux existants), par vasculogenèse (activation et recrutement de précurseurs endothéliaux) et/ou par intussusception (scission d'un vaisseau préexistant) (Holash *et al.*, 1999 ; Leenders *et al.*, 2002).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

La surexpression d'angiopoïétine-2 par les cellules endothéliales perturbe les contacts entre elles et les cellules péri-endothéliales (au contraire de l'angiopoïétine-1 produite par les cellules tumorales qui favorise les contacts entre elles (Stratmann et al., 1998)), conduisant à la régression des capillaires existants et à l'apparition d'une zone hypoxique et nécrotique au centre de la tumeur (Holash et al., 1999) (Fig. 10A et 10B). Par l'intermédiaire du complexe hypoxia inducible factor-1 (HIF-1), cette hypoxie va entraîner la production de nombreux facteurs pro-angiogéniques, de chimiokines et de protéases matricielles (Zagzag et al., 2005 ; 2006). Parmi ces facteurs, le SDF-1 et le vascular endothelial growth factor (VEGF) agissent sur les vaisseaux sanguins distants via les récepteurs CXCR4 et le récepteur de type 2 du VEGF (VEGFR2) respectivement, provoquant l'apparition de filopodes sur une cellule leader (Tip cell) (Herbert et al., 2012). Des études in vitro et in vivo ont montré que l'activation de l'axe SDF-1/CXCR4 est un événement majeur dans la vasculogenèse au niveau du site tumoral, permettant de recruter des précurseurs mésenchymateux qui se différencient en cellules endothéliales (Aghi et al., 2006; Du et al., 2008). HIF-1 induit également l'expression de MMP (Pratt et al., 2016), de l'urokinase receptor (Lee et al., 2018) et du plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) (Liao et al., 2006) qui participent à la dégradation de la MEC, libérant ainsi des facteurs de croissance et facilitant la progression de cellules endothéliales, amplifiant l'angiogenèse tumorale (Arai et al., 1998 ; Sandström et al., 1999 ; Gondi et al., 2004 ; Roy et Marchetti, 2008) (Fig. 10C).

Les cellules du système immunitaire qui envahissent la zone tumorale par un mécanisme inflammatoire, telles que les leucocytes et les macrophages, libèrent l'IL-8 capable d'interagir avec CXCR1 et CXCR2 exprimés par les cellules endothéliales, participant ainsi à l'augmentation de leur survie, de leur prolifération et de leur migration (Li *et al.*, 2003). Cette

cytokine est également sécrétée par les cellules tumorales pseudopalissadiques qui bordent la zone nécrotique, dont l'hypoxie stimule son expression (Brat *et al.*, 2005).



Figure 10. Représentation schématique de l'initiation de la néoangiogenèse tumorale induite par des facteurs pro-angiogéniques. A. Apparition de cellules tumorales aux abords d'un vaisseau sanguin. **B.** Déstabilisation des contacts entre les cellules endothéliales et les péricytes entraînant la régression des microcapillaires sanguins. L'acteur majeur de ce processus est l'Ang2 produite par les cellules endothéliales. C. La destruction des capillaires sanguins par compression des cellules tumorales entraîne la formation d'une zone nécrotique au centre du foyer tumoral. Les cellules pseudopalissadiques en hypoxie expriment en grande quantité le facteur HIF-1, qui est à l'origine de la production de nombreux facteurs pro-angiogéniques et de chimiokines qui agissent sur un vaisseau sanguin distant. Des filopodes sont formés sur une cellule *leader* capable de promouvoir la migration guidée de cellules endothéliales vers la tumeur, et dont la progression sera facilitée par la production de protéases matricielles dans le microenvironnement tumoral. Adapté de la thèse de Céline Lecointre, 2014. Ang2 : angiopoïétine-2 ; AngII : angiotensine II ; Cdc42 : cell division control protein 42 ; CXCR4 : récepteur de chimiokines de type 2 motif C-X-C ; HIF-1 : hypoxia inducible factor-1 ; HRE : hypoxia responsive elements ; IL-8 : interleukine-8 ; MMP-2,9 : métalloprotéase matricielle de type 2 ou 9 ; p300/CBP : cAMP response element-binding protein / CREB-binding protein ; PAI-1 : plasminogen activator inhibitor-1 ; SDF-1 : stromal cell-derived factor-1 ; uPA : urokinase-type plasminogen activator ; VEGF : vascular endothelial growth factor; VEGFR2: récepteur de type 2 du VEGF.

Ce recrutement de la voie SDF-1/CXCR4 dans l'angiogenèse a été observé pour les glioblastomes (Aghi *et al.*, 2006), des neuroblastomes (Jodele *et al.*, 2005 ; Jin *et al.*, 2006 ; Du *et al.*, 2008), dans des modèles de carcinomes du sein et de la prostate (Olumi *et al.*, 1999 ; Orimo *et al.*, 2005) ou dans le carcinome de rein (Harris, 2002).

D'autres RCPG et leurs ligands associés sont toutefois connus pour leurs effets proangiogéniques. Dans le cancer du sein, le couple AngII/AT1 est capable de transactiver l'EGFR *via* la phosphorylation de ERK, STAT3 et de PKC (Ruiter *et al.*, 2011 ; Vinson *et al.*, 2012) et de stimuler l'expression du VEGFR2 et de l'Ang-2 dans les cellules endothéliales en migration (Piastowska-Ciesielska *et al.*, 2013 ; Muñoz-Espín et Serrano, 2014). AT1 est également impliqué dans la néoangiogenèse de lignées tumorales issues de modèles animaux de cancer ovarien (SK-OV-3), colorectal (HRA) (Arafat *et al.*, 2007) et hépatique (HepG2) (Yoshiji *et al.*, 2005). De plus, l'activation du récepteur AT1 induit l'inhibition de l'activité caspase-3 et de l'apoptose des cellules endothéliales vasculaires (Ohashi *et al.*, 2004) (**Tab. 4**).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

RCPG	Ligand	Fonction	Acteurs principaux	Cancer	Lignée cellulaire	Publication
Récept	teurs aux p	oeptides				
AT1 AngII			VEGF	Ovaire	SK-OV-3 HRA	Suganuma et al., 2005
	Angiogenèse ↑		Pancréas	Echantillons	Arafat et al., 2007	
	i ingrogenese		Foie	Hep G2	Yoshiji et al., 2005	
			n.d.	Rein	Culture primaire (R)	Miyajima et al., 2002
Récept	teurs aux l	ipides bioacti	fs			
EP ₁			VEGF	C 1	HCT 116	Fukuda <i>et al.</i> , 2003
		A	$\alpha_v \beta_3$	Colon	CT26 (M)	Reinmuth et al., 2003
ED	PGE_2	Angiogenese	COX-2, PDGF	Têta at aou	HNt	Nishimura et al., 1999
EP ₂			COX-2, VEGF	Tele el cou	Echantillons	Gallo et al., 2001
		Inflammation \uparrow	↑ IL-10, ↓ TNFα	Colon	CT26	Kambayashi et al., 1995
			HIF-1α, VEGFR	Ovoiro	OVCAR-3	Lee at al. 2006a
LPAR LPA		Angiaganàsa t		Ovalle	Caov-3	
	ΙΡΛ	Angiogenese		Prostate	PC-3	
			Foie	SK-Hep-1	Lee ei ui., 2000a	
		Angiogenèse \approx	nd	Ovaire	SKOV-3	
			n.u.	Foie	Hep-3B	
		Invasion ↑	SphK1 Boucle		Plaquettes, fibroblastes, neurotrophiles	Pyne et Pyne, 2010
S1P ₁	SP1		autocrine, ↑ S1P	n d	CEV	Okamoto et al., 2000
		Vasculogenèse ↑			CMVL	Fegley et al., 2003
					CE	LaMontagne et al., 2006
		Inflammation \uparrow	IL-6, STAT3, SphK1		n.d.	Nguyen et al., 2014
Récept	teurs aux p	orotéines				
			n.d.	Poumon	3LL (M)	Keane et al., 2004
			wig I DA et S1D		OVCAR-3	
CXCR2	CXCL1		via El A di STI	Ovaira	Caov-3	Lee <i>et al.</i> , 2006b
		Angiogenèse ↑	via I PA	Ovalle	SK-OV-3	
			via LPA		DOV13	
CXCR4	SDF-1		n.d.	*	n.d.	Pour revue, Domanska <i>et al.</i> , 2013

Tableau 4. Revue non exhaustive de ligands et de leur(s) RCPG associé(s) dans la modulation de l'angiogenèse et de l'inflammation au niveau du microenvironnement tumoral. De nombreux récepteurs exprimés par les tumeurs participent notamment au recrutement de cellules proangiogéniques. Il est par ailleurs admis que le couple CXCR4/SDF-1 est particulièrement impliqué dans l'angiogenèse intra/péritumorale (*). Les caractéristiques des lignées cellulaires citées sont disponibles dans la liste des lignées cellulaires. AngII : angiotensine II ; AT1 : récepteur de type 1 de l'AngII ; CE : cellule endothéliale ; CEV : cellule endothéliale vasculaire ; CMVL : cellule musculaire vasculaires lisse ; COX-2 : cyclooxygènase 2 ; CXCR4 : récepteur de type 4 aux chimiokines C-X-C ; EP_{1,2} : récepteur de type 1 ou 2 de PGE₂ ; HIF-1 α : *hypoxia-inducible factor-1\alpha* ; IL-6,10 : interleukine-6 ou -10 ; LPA : acide lysophosphatidique ; LPAR : récepteurs du LPA ; PDGF : *platelet-derived growth factor* ; PGE₂ : prostaglandine E₂ ; S1P : *sphingosine-1-phosphate* ; S1P₁ : récepteur de type 1 de la S1P ; SphK1 : sphingosine kinase 1 ; SDF-1 : *stromal-cell derived factor 1* ; STAT3 : *signal transducer and activator of transcription 3* ; TNF α : *tumor necrosis a* ; VEGF : *vascular endothelial growth factor* ; VEGFR : récepteur du VEGF. \uparrow : augmentation ; \downarrow : diminution ; n.d. : non précisé / non observé. (M) : Souris ; (R) : Rat.

3. Stratégies pour le développement de radioligands en médecine nucléaire

Depuis plus de 40 ans, chercheurs et cliniciens développent de nouveaux outils pour diagnostiquer et traiter les cancers solides à un stade précoce (Goldenberg et al., 1978 ; De Jager et al., 1993 ; Reubi et al., 1995 ; Behr et al., 1998). Le recours à des anticorps monoclonaux radiomarqués fut une piste prometteuse explorée, avec notamment un anticorps, dirigé contre un antigène surexprimé par la lignée GW-39 d'adénocarcinome de colon, et marqué à l'iode-131 (¹³¹I) grâce à son addition simple et rapide (Primus et al., 1977 ; Goldenberg et al., 1978). Cependant, en raison de leur masse moléculaire élevée (≈ 150 kDa), de leur faible perméabilité membranaire et des réactions immunogéniques qu'ils peuvent provoquer, ces anticorps radiomarqués restaient, jusque dans les années 2000, difficiles à exploiter en médecine nucléaire (De Jager et al., 1993 ; Behr et al., 1998). Aujourd'hui, certains anticorps sont utilisés en routine clinique, en particulier le ^{99m}Tc-sulesomab (Quigley et al., 2008) ou le ^{99m}Tc-besilesomab (Richter et al., 2011) (^{99m}Tc : technétium-99-métastable) qui ciblent l'antigène NCA90 présent à la surface des granulocytes, et qui participent au diagnostic de l'ostéomyélite chez les patients. L'ibritumomab, marqué à l'yttrium-90 (⁹⁰Y) (Zévalin®) permet quant à lui le traitement de lymphomes non Hodgkinien à cellules B positives au CD20 chez des patients en rechute ou réfractaires au traitement par rituximab (Milenic et al., 2004 ; Cheson, 2011).

A la fin des années 80, une alternative aux anticorps est mise au point avec le développement de ligands radiomarqués (Krenning *et al.*, 1989). Au-delà de leur taille réduite (\approx 1,5 kDa), ces ligands combinent plusieurs avantages dont leur très haute affinité et sélectivité pour leur récepteur (Krenning *et al.*, 1989 ; Reubi *et al.*, 1995 ; Okarvi, 2004 ; Okarvi et Maecke, 2018). Parmi eux, de nombreux ligands (chimiokines, lipides bioactifs ou peptides vasoactifs)

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

et leur(s) RCPG sont impliqués dans l'induction et/ou le développement de cancers *via* le recrutement et l'activation d'une grande variété de voies de signalisations. Ces couples RCPG/ligands font donc naturellement l'objet de recherches intensives en cancérologie.

On sait aujourd'hui que la majorité des tumeurs neuroendocrines exprime une forte densité de récepteurs somatostatinergiques (Reubi *et al.*, 1995). Cette caractéristique a été mise à profit pour cibler ces tumeurs après une injection par voie intraveineuse d'analogues radiomarqués de la somatostatine (Krenning *et al.*, 1989). La liaison et l'internalisation du complexe ligand-récepteur permet ainsi d'identifier les foyers tumoraux et leurs métastases (Hofland *et al.*, 1995). Cette approche continue d'être perfectionnée et de nouvelles stratégies sont développées pour surmonter les défis liés à l'emploi de ces molécules chez l'Homme (Reubi, 2003 ; Mariani, 2006 ; Charron *et al.*, 2016). De nombreuses équipes ont connu ainsi des échecs avant de parvenir à des réussites, et à titre d'exemples, il convient de citer les radiotraceurs ciblant les récepteurs de la famille des NPY, de la BBN ou encore du SDF-1, qui illustrent les différentes difficultés rencontrées pour générer des radioligands satisfaisants.

3.1 Radioligands ciblant les récepteurs du NPY

Cette famille regroupe trois neuropeptides de 36 acides aminés chez l'Homme, *i.e.* le NPY (Tatemoto, 1982), le neuropeptide YY (PYY) (Tatemoto, 1982) et le polypeptide pancréatique (PP) (Kimmel *et al.*, 1975) qui interagissent avec une famille de RCPG nommés Y₁ à Y₅, tous négativement couplés à une AC (Larhammar *et al.*, 2001). Le NPY est largement exprimé chez les mammifères, notamment dans le système nerveux central (SNC) au niveau du striatum, du noyau accumbens, de l'amygdale, du cortex frontal, de l'hypothalamus ou de l'hippocampe (Adrian *et al.*, 1983 ; Michel *et al.*, 1998).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

Il est impliqué dans une grande variété de processus physiologiques, tels que le comportement alimentaire (c'est un peptide orexigène), l'apprentissage et la mémorisation, les émotions, l'homéostasie cardiovasculaire et la régulation du cycle circadien (Colmers et Bleakman, 1994 ; Wettstein *et al.*, 1995 ; Pedrazzini *et al.*, 1998). Ce système neuropeptidergique est également associé à plusieurs pathologies dont certaines d'ordres neurologiques comme l'anxiété, la dépression ou l'épilepsie (Heilig, 2004 ; Eva *et al.*, 2006 ; Enman *et al.*, 2015). Exprimé aussi en périphérie, le NPY exerce de puissants effets vasoconstricteurs (Pedrazzini *et al.*, 1998), module la motilité et la sécrétion gastro-intestinale (Playford et Cox, 1996), agit sur la libération de l'insuline (Wang *et al.*, 1994) et participe à la régulation de la fonction rénale (Pedrazzini *et al.*, 1998).

Le NPY intervient dans plusieurs processus liés à la tumorigenèse, comme la prolifération et l'invasion cellulaires, l'angiogenèse tumorale ou la formation de métastases. Ces activités ont notamment été observées dans les tumeurs endocrines, incluant le cancer du sein, de l'ovaire et de la prostate, jusqu'aux tumeurs neuroendocriniennes, dont les neuroblastomes ou bien encore les cancers gastroentéropancréatiques (Reubi *et al.*, 2001 ; 2002 ; Körner et Reubi, 2007). Des analyses autoradiographiques réalisées sur plus de 100 échantillons tumoraux ont montré que le récepteur Y₁ est exprimé de façon prédominante dans 85% de carcinomes primaires du sein et dans 100% des métastases situées dans les nœuds lymphatiques (Reubi *et al.*, 2001). Il est également retrouvé dans des lignées tumorales d'origine prostatique (Magni et Motta, 2001) et dans les neuroblastomes, par exemple (Zwanziger *et al.*, 2008). Ce système peptidergique constitue ainsi une cible diagnostique ou thérapeutique intéressante (Eva *et al.*, 2006).


Figure 11. Séquences peptidiques des neuropeptides de la famille du NPY et de deux analogues, le BVD15 et le [Lys(DOTA)⁴]BVD15. A. L'étude des séquences peptidiques du NPY, du PYY et du PP par Beck-Sickinger et coll. (1990) a permis de démontrer l'importance des résidus conservés Arg^{33} , Arg^{35} et Tyr³⁶ pour la liaison aux récepteurs Y₁, Y₂, Y₄ et Y₅. En 2001, Langer et coll. montrent qu'il est possible de greffer des chélateurs sur le résidu Lys en position 4 du NPY. Zwanziger et coll. (2008) confirmera que cette Lys correspond à la position optimale pour ne pas altérer l'affinité des analogues pour le récepteur Y₁. **B.** Guérin et coll. (2010), sur la base du BVD15, un analogue tronqué stable du NPY correspondant à l'extrémité C-terminale (Ile^{28} à Tyr³⁶), parviennent à greffer un DOTA en position 4 dont le résidu Ile⁴ est préalablement substitué par une lysine. Résidus en gras : résidus importants pour la liaison au récepteur ou pour la greffe d'un chélateur. BVD15 : [Pro³⁰, Tyr³², Leu³⁴]NPY₍₂₈₋₃₆₎-NH₂; DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; NPY : neuropeptide Y ; PP : polypeptide pancréatique ; PYY : neuropeptide YY.

Les acides aminés en position N-terminale du NPY jouent un rôle crucial dans la liaison avec ses récepteurs, et plus particulièrement les deux résidus Arg (positions 33 et 35) et le résidu Tyr (position 36) (Beck-Sickinger *et al.*, 1990 ; Kirby *et al.*, 1993 ; Cox, 2007). Cette portion est d'ailleurs hautement conservée entre le NPY, le PYY et le PP (Larhammar *et al.*, 2004) (**Fig. 11A**). Ces observations ont permis de faire une percée dans la conception de radioligands

sélectifs de récepteurs de cette famille de neuropeptides (Daniels *et al.*, 1995 ; Balasubramaniam *et al.*, 2001 ; Jois et Balasubramaniam, 2003 ; Koglin *et al.*, 2002).

Les premières études ciblant Y₁ ont principalement porté sur le radiomarquage du NPY et de ses analogues par le ^{99m}Tc, le gallium-68 (⁶⁸Ga) et l'indium-111 (¹¹¹In) pour permettre l'imagerie sur des modèles d'animaux porteurs de tumeurs solides (Söll *et al.*, 2001 ; Langer *et al.*, 2001 ; Zwanziger *et al.*, 2008 ; Guérin *et al.*, 2010). Le radiomarquage au ^{99m}Tc a été rendu possible grâce à l'ajout d'un chélateur, l'acide [pyridine-2-yl-méthyl-amino]-diacétique (PADA) sur une lysine en position 4 (Lys⁴) (notons que l'His²⁶ a été remplacée par une alanine pour empêcher la chélation du ^{99m}Tc). Les auteurs ont comparé la faisabilité du radiomarquage avec ce radioisotope avec un analogue entier du NPY, le [Lys⁴([^{99m}Tc]-(CO)₃-PADA), Ala²⁶]-NPY, et avec un analogue tronqué (partie centrale) du NPY, le Ac-[Ahx⁵⁻²⁴, Lys⁴([^{99m}Tc]-CO)₃-PADA), Ala²⁶]-NPY (Ahx : acide hexanoïque), dont les modifications structurales ne semblent ni altérer la liaison avec Y₁ ni modifier ses fonctions biologiques, notamment l'internalisation du complexe ligand-récepteur (Langer *et al.*, 2001).

Zwanziger et coll. ont quant à eux développé en 2008 des analogues du NPY couplés au chélateur acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique (DOTA) pour le radiomarquage avec le ⁶⁸Ga et l'¹¹¹In. Le DOTA offre l'avantage de pouvoir être radiomarqué avec des radioisotopes pour l'imagerie moléculaire mais également avec des radioisotopes exploitables pour la thérapie. Les auteurs ont étudié l'introduction du DOTA en position N-terminale ou sur la chaîne latérale de la Lys⁴ du NPY, et sur l'affinité des ligands pour les récepteurs. Les résultats obtenus sur des souris porteuses de xénogreffes tumorales de MCF-7 (une lignée tumorale humaine issue d'un cancer du sein) montrent que le [Lys(DOTA)⁴]NPY radiomarqué à l'¹¹¹In permet de cibler Y₁. Bien qu'une faible captation tumorale soit observée, cette étude a permis d'ouvrir des applications potentielles avec des analogues du NPY,

radiomarqués pour le diagnostic ou le traitement de tumeurs surexprimant Y₁ (Zwanziger *et al.*, 2008).

Selon une approche similaire et à partir d'une série d'analogues du NPY tronqués couplés au DOTA, le [Pro³⁰, Tyr³², Leu³⁴]NPY₍₂₈₋₃₆₎-NH₂ (BVD15) a été sélectionné pour sa haute affinité pour Y₁, mais aussi pour Y₂ et Y₄ (Daniels *et al.*, 1995). L'analyse des propriétés des analogues synthétisés avait révélé que la greffe du DOTA en position N-terminale altérait grandement l'affinité du peptide pour Y₁, soulignant encore l'importance de la région N-terminale dans l'interaction peptide-récepteur. L'analogue le plus affin pour Y₁ est le [Lys⁴(DOTA)]BVD15, basé sur le NPY tronqué. Facilement synthétisable et radiomarquable, cet analogue est capable de cibler *in vivo* Y₁ chez des souris porteuses de xénogreffes issues des lignées de MCF-7 et T47D (Dumulon-Perrault *et al.*, 2008 ; Guérin *et al.*, 2010) (**Fig. 11B**). Après plusieurs études se focalisant sur l'affinité des analogues du NPY, il est admis que la chaîne latérale de la Lys⁴ constitue le meilleur emplacement pour y greffer des chélateurs, mais aussi des marqueurs de fluorescence (Zwanziger *et al.*, 2008 ; Ahrens *et al.*, 2011) (**Tab. 5**).

Aujourd'hui, la recherche se tourne principalement vers le développement d'analogues du NPY radiomarqués avec le fluor-18 (¹⁸F) (Hofmann *et al.*, 2015). En effet, la présence d'un ou plusieurs atomes de fluor sur une molécule va généralement contribuer à diminuer sa



Figure 12. Images obtenues par micro-TEP chez des souris *Nudes* porteuses de xénogreffes de cellules tumorales MCF-7, après injection de ¹⁸F[Pra⁴(F-Glc), Phe⁷, Pro³⁴]NPY. Les images sont obtenues 45 – 60 min après injection de 2 – 5 MBq de ¹⁸F[Pra⁴(F-Glc), Phe⁷, Pro³⁴]NPY (1) ou co-injection avec 125 μ g (4 mg/kg) (2) ou 250 μ g (8 mg/kg) (3) de [Phe⁷, Pro³⁴]NPY non radioactif. Les flèches rouges indiquent la position des xénogreffes. %DI/g : pourcentage estimée de la dose injectée par gramme de masse corporelle ; F-Glc : fluoroglycosyle ; NPY : neuropeptide Y ; MCF-7 : lignée tumorale humaine de cancer du sein Pra : propargylglycine ; TEP : tomographie par émission de positons. ¹⁸F : fluor-18. D'après Hofmann *et al.*, 2015.

métabolisation et augmenter sa lipophilie, conférant une meilleure absorption par les tumeurs et un meilleur passage de barrières physiologiques (Bégué et Bonnet-Delpon, 2008) (**Fig. 12**).

Lignées cellulaires	SK-N-MC	MCF-7	SMS-KAN	HEC-1B
Time de				(15)
Ligands		K i (nw)	
NPY	$9,5\pm0,1$	$9,5 \pm 0,1$	$8,8\pm0,1$	$8,2 \pm 0,1$
[Phe ⁷ , Pro ³⁴]NPY	$10,3 \pm 0,2$	$9,1 \pm 0,1$	$7,6\pm0,1$	$8,6\pm0,5$
[Ahx ⁵⁻²⁴]NPY	$6,8 \pm 0,1$	n.d.	$9,2 \pm 0,3$	n.d.
[Ahx ⁸⁻²⁰]NPY	$8,0\pm0,1$	$7,7 \pm 0,1$	$8,2 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
DOTA-NPY	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
[Lys(DOTA) ⁴]NPY	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
DOTA-[Phe ⁷ , Pro ³⁴]NPY	$8,6 \pm 0,2$	$8,9 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,1$	7,1 ± 0,3
[Lys(DOTA) ⁴ , Phe ⁷ , Pro ³⁴]NPY	9,5 ± 0,2	9,1 ± 0,1	$7,2 \pm 0,1$	$7,5 \pm 0,1$
DOTA-[Ahx ⁵⁻²⁴]NPY	n.d.	n.d.	$8,8 \pm 0,1$	$7,0 \pm 0,3$
[Lys(DOTA) ⁴ , Ahx ⁵⁻²⁴]NPY	n.d.	n.d.	$8,5 \pm 0,1$	$6,8 \pm 0,2$
[Lys(Ga-DOTA) ⁴ , Ahx ⁸⁻²⁰]NPY	$8,8 \pm 0,1$	n.d.	n.d.	n.d.
[Lys(In-DOTA) ⁴ , Ahx ⁸⁻²⁰]NPY	$8,8 \pm 0,1$	n.d.	n.d.	n.d.
BVD15	n.d.	39 ± 34	n.d.	n.d.
DOTA-BVD15	n.d.	4507 ± 1753	n.d.	n.d.
[Lys(DOTA) ⁴]BVD15	n.d.	63 ± 25	n.d.	n.d.
[Lys(Cu-DOTA)4]BVD15	n.d.	29 ± 15	n.d.	n.d.
Ac[Lys(DOTA) ⁴]BVD15	n.d.	275 ± 99	n.d.	n.d.
[Phe ⁷ , Pro ³⁴]NPY	n.d.	$9,0 \pm 0,2$	n.d.	n.d.
¹⁸ F[Pra ⁴ (F-Glc), Phe ⁷ , Pro ³⁴]NPY	n.d.	$8,5 \pm 0,1$	n.d.	n.d.

Tableau 5. Affinité du NPY et de plusieurs analogues développés pour le diagnostic tumoral, sur les récepteurs de types 1, 2 et 5. Les modifications de la séquence du NPY, notamment le remplacement d'acides aminés ou l'ajout de chélateurs tels que le DOTA, peuvent avoir un effet sur l'affinité des analogues sur les différents sous-types de récepteurs. Les cellules SK-N-MC (lignée tumorale humaine de cancer du neuroépithélium) et MCF-7 (lignée tumorale humaine de cancer du sein) expriment le récepteur Y₁ tandis que les cellules SMS-KAN (lignée tumorale humaine de neuroblastome) expriment le récepteur Y₂ et les cellules HEC-B1 (lignée tumorale humaine de cancer de l'endomètre) expriment le récepteur Y₅. La constante de dissociation (K_i) et la S.E.M. sont calculées grâce à l'équation de Cheng-Prusoff (Cheng, 2001) à partir de l'IC₅₀ obtenue par l'incubation des cellules avec le [³H]propionyl-NPY ou le ¹²⁵I-PYY. La mention n.d. (en noir) indique que les analogues n'ont pas été testés sur ces lignées ; la mention n.d. (en rouge) indique que les analogues testés sont incapables de déplacer la liaison. Adapté de Zwanziger *et al.*, 2008 ; Guérin *et al.*, 2010 ; Hofmann *et al.*, 2015. BVD15 : [Pro³⁰, Tyr³², Leu³⁴]NPY₍₂₈₋₃₆₎-NH₂ ; DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; F-Glc : fluoroglycosyle ; NPY : neuropeptide Y ; Pra : propargylglycine ; PYY : neuropeptide YY. Cu : cuivre ; F/¹⁸F : fluor-18 ; Ga : gallium ; ¹²⁵I : iode-125 ; In/¹¹¹In : indium-111.

3.2 Radioligands ciblant le GRPR

La bombésine, ou BBN, est un neuropeptide de 14 acides aminés initialement isolé chez les amphibiens (Anastasi *et al.*, 1971). Son équivalent chez les mammifères est le *mammalian gastrin-releasing peptide* (GRP) qui est composé quant à lui de 27 résidus, dont le décapeptide de la région C-terminale présente une analogie presque parfaite avec la BBN (Slice *et al.*, 1994). Les récepteurs (*cf infra*) aux analogues de la BBN, tels que la GRP, la neuromédine B (NMB) ou encore la neuromédine C (NMC) (**Fig. 13**) sont majoritairement présents dans le système digestif, en particulier au niveau du côlon et de l'estomac, mais aussi dans le SNC et le SN périphérique, exerçant des effets variés comme la régulation de la satiété, de la thermorégulation, de la sécrétion endocrine digestive (la gastrine ou encore la CCK), la sécrétion exocrine pancréatique et la motricité digestive (Sunday *et al.*, 1988 ; Lee *et al.*, 1994 ; Gonzalez *et al.*, 2008).



Figure 13. Séquences peptidiques de la GRP, de la BBN, de la NMC et de la NMB. La séquence N-terminale des analogues de la BBN initialement isolée chez les amphibiens est très conservée au cours de l'évolution. L'équivalent de la BBN chez les mammifères est le GRP avec lequel elle partage une forte analogie dans la portion N-terminale. Sa partie N-terminale (Gly¹⁸-Met²⁸) correspond à la séquence de la NMC et, à quelques résidus près, à la NMB. BBN : bombésine ; GRP : *gastrin-releasing peptide* ; NMB : neuromédine B ; NMC : neuromédine C.

Parmi les quatre récepteurs identifiés, trois sont retrouvés chez l'Homme : le récepteur

de la NMB (NMBR), le *gastrin-releasing peptide receptor* (GRPR) et le BB3 (le récepteur orphelin de la BBN). Le GRPR a été le plus étudié en raison de sa large distribution et de son

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

implication dans une majorité d'effets physiologiques au travers de sa liaison au GRP, avec lequel il présente une très forte affinité, également partagée avec la BBN (Lin *et al.*, 1995). Cette liaison active plusieurs voies de signalisation, comme la voie PLC/PIP₂/IP₃ qui conduit à une élévation de $[Ca^{2+}]_c$, ainsi qu'à une activation de PKC, de MAPK et de plusieurs protéines intervenant dans la formation des adhésions focales (Heslop *et al.*, 1986 ; Frucht *et al.*, 1992)





Figure 14. Représentation schématique des principales voies de transduction du GRPR. Comme observé pour de nombreux RCPG, l'activation du GRPR par la bombésine (BBN) ou par le GRP permet de recruter une grande diversité de voies de signalisation aboutissant à la modulation de la prolifération, la migration et/ou la différenciation cellulaire. AC : adénylate cyclase ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; β-ARR : β-arrestine ; BBN : bombésine ; DAG : diacylglycérol ; FAK : *focal adhesion kinase* ; GRP : *gastrin-releasing peptide* ; GRPR : récepteur du GRP ; IP₃ : inositol triphosphate ; *MAPK* : *mitogen-activated protein kinase* ; mTOR : *mammalian target of rapamycin* ; p70^{S6K} : *ribosomal protein S6 kinase beta-1* ; PIP₂ : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ; PKA : protéine kinase C ; PKD : protéine kinase D ; PLC : phospholipase C.

Dans la mesure où le GRPR est surexprimé dans une large variété de cancers, incluant le cancer de la prostate, du sein, du pancréas, du côlon, du poumon à petites cellules et les gliomes (Moody *et al.*, 1983 ; Frucht *et al.*, 1992 ; Sharif *et al.*, 1997 ; Lawlor *et al.*, 1998 ; Gugger et Reubi, 1999), plusieurs analogues radiomarqués de la BBN ont été développés pour diagnostiquer et traiter les tumeurs (Boerman *et al.*, 2000), en privilégiant des composés plus

stables que le peptide naturel dont la demi-vie se limite à quelques minutes (Okarvi, 2004 ; 2008 ; Fani *et al.*, 2012b ; Fani et Maecke, 2012 ; Charron *et al.*, 2016). Les premiers essais ont consisté à réduire la taille de la BBN pour ne conserver que la séquence 7–14 de la partie C-terminale du peptide (Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Gly¹¹-His¹²-Leu¹³-Met¹⁴-NH₂ ou BBN₍₇₋₁₄₎) qui conserve une haute affinité pour les récepteurs (Hoffman *et al.*, 2003 ; Rogers *et al.*, 2004 ; Schuhmacher *et al.*, 2005). Plusieurs chélateurs du ^{99m}Tc ont été greffés aux analogues de la BBN tels que le diaminédithiol (ou DADT) (Baidoo *et al.*, 1998 ; Lin *et al.*, 2005), le triaminédithiol (N₃S) (Wiele *et al.*, 2000 ; Liolios *et al.*, 2012), le tétra-amine (ou N₄) (Maina *et al.*, 2005), le mercapto-acétyltriglycine (ou MAG₃) (Okarvi et al-Jammaz, 2003), l'acide hydrazinonicotinique (HYNIC) (Ananias *et al.*, 2013 ; Carlesso *et al.*, 2015), l'acide diéthylènetriamine-penta-acétique (DTPA) ou le DOTA (Okarvi, 2004 ; Zhang *et al.*, 2004 ; Smith *et al.*, 2005). Ananias et coll. ont été les premiers en 2013 à obtenir une autorisation pour un essai clinique du ^{99m}Tc-HYNIC-(tricine/TPPTS)-BBN₍₇₋₁₄₎ sur huit patients atteints d'un cancer de la prostate. Malheureusement, et en raison de la très faible stabilité plasmatique chez l'Homme, aucune tumeur n'a pu être visualisée chez les patients.

Bien que prometteuses, et ouvrant la voie pour le développement de radiotraceurs ciblant le GRPR, les images obtenues à partir du ^{99m}Tc-DTPA-BBN₍₇₋₁₄₎ ou du ¹¹¹In-DTPA-BBN₍₇₋₁₄₎ sur des cellules tumorales exprimant le GRPR, présentent un bruit de fond important et une faible captation tumorale (Breeman *et al.*, 2002 ; Lin *et al.*, 2005 ; Smith *et al.*, 2005). Des études précliniques utilisant différents chélateurs, espaceurs, analogues et radioisotopes ont été réalisées, avec notamment le ⁶⁴Cu-CB-TE2A-8-Aoc-BBN₍₇₋₁₄₎, le ⁶⁴Cu-DOTA-8-Aoc-BBN₍₇₋₁₄₎ (Garrison *et al.*, 2007), et le ⁶⁸Ga/⁶⁴Cu-RGD-BBN (Liu *et al.*, 2009c ; Lears *et al.*, 2011) (avec Aoc : acide octanoïque ; ⁶⁴Cu : cuivre-64 ; RGD : tripeptide Arg-Gly-Asp ; TE2A : 1,8-*N*,*N'*-bis-(carboxyméthyl)-1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane) chez

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

des modèles d'animaux porteurs de xénogreffes de cellules PC-3 (une lignée tumorale humaine issue d'un carcinome de la prostate). Les résultats obtenus ont permis de montrer que l'utilisation d'espaceurs composés d'acides glutamiques, chargés négativement, diminue significativement l'affinité et l'internalisation de ces analogues, préconisant de privilégier des espaceurs non chargés voire chargés positivement. A partir d'une cohorte de 17 patients atteints de cancers gastro-intestinaux traités auparavant avec le imatinib (une chimiothérapie inhibant l'activité de certains RTK tel que le récepteur du PDGF), Dimitrakopoulou-Strauss et coll. ont en 2007 injecté le ⁶⁸Ga-DOTA-PEG-[D-Tyr⁶-βAla¹¹-Thi¹³-Nle¹⁴]-BBN₍₆₋₁₄₎ (⁶⁸Ga-BZH3, avec Nle : norleucine ; PEG : polyéhylène glycol ; Thi : thienylalanine). Le BZH3 est un analogue capable de lier les trois récepteurs (Dimitrakopoulou-Strauss et al., 2011) dont les propriétés pharmacologiques ont été comparées avec le ¹⁸F-FDG (FDG : fluoro-déoxy-D-glucose). Ce dernier présente une meilleure captation tumorale que le ⁶⁸Ga-BZH3, amenant les auteurs à conclure que le ⁶⁸Ga-BZH3 ne devait pas être utilisé en routine pour les patients atteints par ces tumeurs. La même équipe a cependant démontré que le ⁶⁸Ga-BZH3 était nettement supérieur au ¹⁸F-FDG dans l'imagerie des gliomes, et ce d'autant que le grade est élevé (Dimitrakopoulou-Strauss et al., 2011 ; Strauss et al., 2012). Plus récemment, l'équipe de Pujatti et coll. a réalisé en 2015 une étude comparative entre le BZH3 et un nouvel analogue, le [Tyr-Gly5,Nle¹⁴]-BBN₍₆₋₁₄₎ (BEYG5N) sur lequel est greffé le DOTA ou le DTPA, marqué à 1¹¹¹In. Sur des modèles animaux porteurs de xénogreffes tumorales prostatiques (PC-3 et LNCaP). le ¹¹¹In-DOTA-BEYG₅N présente un ratio tumeur/muscle (T/M) deux à trois fois plus grand comparativement aux ratios T/M obtenus pour l'¹¹¹In-DPTA-BEYG₅N et l'¹¹¹In-BHZ3. Les analogues conjugués au DOTA présentent donc de meilleures caractéristiques que les analogues DTPA en termes de liaison spécifique, de stabilité thermodynamique et d'internalisation tumorale (Fig. 15) (Tab. 6).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse



Figure 15. Principaux analogues radiomarqués de la BBN et testés in vivo chez le petit animal. Toutes les xénogreffes (A-E) sont obtenues par injection de cellules PC-3 (lignée tumorale humaine issue d'un carcinome de prostate). A. Scintigraphie obtenue 90 min après injection intraveineuse de 3,7 MBq de ^{99m}Tc-HYNIC-BBN₍₇₋₁₄₎ chez une souris *Nude* porteuse d'une tumeur (extrait de Faintuch et al., 2008). B. Scintigraphie réalisée 60 min après injection intraveineuse de 7,4 MBq de ^{99m}Tc-N₃S-[Orn]₃-BBN₍₇₋₁₄₎ chez une souris SCID porteuse d'une tumeur (extrait de Liolios *et al.*, 2012). C. Imagerie TEP obtenue 60 min après injection intraveineuse de 1,94 MBq de ⁶⁸Ga-DOTA-PESIN chez une Souris Nude porteuse d'une tumeur (extrait de Zhang et al., 2007b). D. Imagerie TEP obtenue 5, 60 et 120 min après injection intraveineuse de 0,5 MBg de ⁶⁴Cu-DMPTACN-BBN₍₇₋₁₄₎ chez une souris NMRI Nude porteuse d'une tumeur (extrait de Bergmann et al., 2013). E. Imagerie TEMP obtenue 60 min après injection intraveineuse de 27,75 MBq de ¹⁷⁷Lu-DOTA-Glu-BBN chez une souris balb/c Nude porteuse d'une tumeur (extrait de Lim et al., 2015). BBN : bombésine ; DMPTACN : acide 2-[4,7bis(2pyridylméthyl)-1,4,7-triazacyclononan-1-yl] acétique ; DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; HYNIC : hydrazinonicotinamide ; N₃S : triaminédithiol ; PEG : polyéthylène glycol ; PESIN : PEG-BBN₍₇₋₁₄₎.⁶⁴Cu : cuivre-64 ; ⁶⁸Ga : gallium-68 ; ¹⁷⁷Lu : lutécium-177 : ^{99m}Tc : tecnétium-99 métastable.

Dans la mesure où la BBN possède des propriétés pro-mitotiques très importantes,

même à très faibles doses, des antagonistes stables du GRPR ont été développés (Abiraj *et al.*, 2011 ; Majumdar et Weber, 2011). Leur principal intérêt repose sur leur capacité à inhiber l'expression de l'EGFR, la croissance tumorale et la néoangiogenèse (Mansi *et al.*, 2011 ; 2013). Le groupe de Mansi et coll. a ainsi testé en 2009 un antagoniste couplé au DOTA (l'¹¹¹In-DOTA-RM1) qui a montré des propriétés très intéressantes pour le ciblage de tumeurs, comparant les résultats obtenus avec l'agoniste ¹¹¹In-DOTA-AMBA dans les PC-3 en culture et dans un modèle animal de xénogreffes tumorales.

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

Ligand	Chélateur	Nom usuel	IC ₅₀ (nM)	Ratio T/M	Modèle animal	Référence
Composés 1	non radiomar	més				
BBN			79.0			
	n.d.	n.d.				Baidoo <i>et al.</i> , 19981
[Lys]BBN	DADT		n.d.			
BBN(7-14)	DOTA-PEG	DOTA-PESIN	9,5			Zhang <i>et al.</i> , $2007b^2$
BBN(7-14)-RGD	n.d.		67,9			Liu et al., 2009c ³
(7.1)	NOTA		55,9			,
BBN2	NOTA		8,2	n.d.	n.d.	Richter <i>et al.</i> , 2016 ²
	$DOTA-(Gly)_3$		21.7			
	DOTA-Gly-(Ser) ₂	n.d.	31,7			Parry <i>et al.</i> , 2007 ²
BBN(7-14)	Gly		82			
	NOTA-Bn-SCN-		1.4			Craft <i>et al.</i> , 2012^2
	Aoc		29.7			Paramann at al. 2012^4
		99m	26,7			Bergmann et al., 2015
Analogues	BBN radioma	rques au ²²¹¹		1	a :	D 1 (1 1000
[Lys]BBN	DADI N(DNDC) C			n.d.	Sain	Baidoo <i>et al.</i> , 1998
	N(PNP6)-Cys			2,6	Xénogreffes PC-3	Faintuch et al., 2008
				7,0	Allogreffes tumorales	
		n.d.	n.a.	6,15	de prostate	De Barros et al., 2010
DDN	HYNIC-β-Ala			n.d.	Xénogreffes Capan-1	Carlesso et al., 2015
DDIN (7-14)				6,0	Xénogreffes MDA-MB-231	Barros et al., 2013
			38	11,27	Xénogreffes HT-29	Shi et al., 2008 ²
	HYNIC- (tricine/TPPTS)- Aca	HABBN	n.d.	0 ³	Etude préclinique sur 8 patients avec cancer de la prostate	Ananias et al., 2013
DDN	N ₃ S-[Arg] ₃	,	1,58	8,65	N/ SS DC 2	L: 1:
BBIN(2-14)	N ₃ S-[Orn] ₃	n.a.	0,77	6,38	Xenogreffes PC-3	Liolios et al., 2012 ²
Analogues	BBN radioma	rqués au ^{67/68}	Ga			
	DOTA-PEG	DOTA-PESIN	6,6	208,80		Zhang et al., 2007b ²
BBN ₍₇₋₁₄₎	DOTA-Glu	1	nd	7,96		Lim et al., 2015
	RGD-NOTA	n.d.	n.a.	4,5	Xénogreffes PC-3	Liu et al., 2009c
r D16 C4-13	NOTA-PEG ₂	NOTA-P2-RM2	0,9	n.d.		Varasteh et al., 2013 ²
Leu ¹⁴ $ BBN_{(6,14)}$	NOTA-PEG	n d	3.2	76,6		Varasteh <i>et al</i> 2014^2
(0-14)	NOMILO	n.u.	5,2	56	Xénogreffes BT474	Varasten et al., 2014
[D-Tyr ⁶ , β-Ala ¹¹ , Thi ¹³ , Nle ¹⁴]- BBN ₍₆₋₁₄₎	DOTA-PEG ₂	BZH3	n.d.	83	Xénogreffes AR42J	Schuhmacher <i>et al.</i> , 2005
BBN2	NOTA	n d.	4.6	2	Xénogreffes PC-3	Richter <i>et al.</i> 2016 ²
			.,0	1.8	Xénogreffes LNCaP	100000000000000000000000000000000000000
Analogues 1	BBN radioma	rqués au ⁶⁴ C	u			
	DOTA-Aoc	ļ	n.d.	5	Xénogreffes PC-3	Rogers et al., 2003
	DOTA-PEG ₂		3,9	n.d.	n.d.	Rogers et al., 2004 ²
	DOTA-(Gly) ₃			20		
	DOTA-Gly-(Ser) ₂			7,5		Parry et al., 2007 ²
BBN	Glv	nd	n.d.	19		
DD 1 v (7-14)	NOTA-Bn-SCN-	n.u.		23,7	Xénogreffes PC-3	Craft <i>et al.</i> , 2012 ²
	DMPTACN	1	0.37	28.3	-	Bergmann et al 2013 ⁴
	DUPA-Ahx-	{ }	11.1	20,5		Denderi (1. 20143
	NODAGA-5-Ava		11,1	n.d.		Banuari <i>et al.</i> , 2014 ³
	Aca-DOTA		18,4	3		Yang <i>et al.</i> , 2005 ³
[Lys ³]BBN	DOTA		2,2	6	¥/ 00 50 0	Chen <i>et al.</i> , 2004 ³
		n.a.	2,2	n.a.	Aenogremes PC-3	N. 1

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

Analogues	BBN radioma	rqués à l' ¹¹¹ I	n				
[p-Phe ⁶ Sta ¹³	NOTA-PEG ₂	NOTA-P2-RM2	1,2	81		Varasteh et al., 2013 ²	
Leu^{14}]BBN ₍₆₋₁₄₎	RGD-Glu-DO3A- Ahx	RM2	5,39	41,5	Xénogreffes PC-3	Reynolds et al., 2015 ²	
[Lys ³ , Tyr ⁴]BBN _(2,14)	DTPA	n.d.	1,05	3,12		Ho <i>et al.</i> , 2009 ²	
Analogues	BBN radioma	rqués au ¹⁸ F					
BBN	NOTA-4,7- lanthionine		114	9,11		Carlucci et al., 2015 ²	
BBIT	NOTA-2,6- lanthionine	n.d.	23	6,67	Xénogreffes PC-3		
BBN(7-14)	RGD-SFB		282	5		Li et al., 2008 ²	
Analogues	BBN radioma	rqués au ¹⁷⁷ L	.u				
	DOTA-PEG	DOTA-PESIN	6,1	147	Vánograffas DC 2	Zhang et al., 2007b	
	DOTA-Aoc	n.d.	n.d.	n.d.	Xenogrenes I C-5	Johnson et al., 2006 ⁵	
	DO3A-Gly-4- aminobenzovl	AMBA	0,53	52	Xénogreffes DU145 Xénogreffes LNCaP	Maddalena <i>et al.</i> , 2009 ^{5,6}	
BBN ₍₇₋₁₄₎			0,65	41,5			
			1,02	113		2007	
	DOTA- Lys(glucose)-4 aminobenzoate	DOTA-Glu- BBN	4,67	n.d.	Xénogreffes PC-3	Lim et al., 2015 ⁶	
[D-Phe ⁶ , Hms ¹⁴]BBN ₍₆₋₁₄₎	DOTA-PEG	n.d.	2,4	384		Valverde et al., 2016 ⁴	
[D-Tyr ⁶ , β-Ala ¹¹ , Thi ¹³ , Nle ¹⁴]BBN ₍₆₋₁₄₎	DOTA-PEG ₂	BZH3	n.d.	74	Xénogreffes AR42J	Schuhmacher <i>et al.</i> , 2005	
[Lys ¹ (α,γ- folate)- Lys ³]BBN ₍₁₋₁₄₎	DOTA	Folate-BBN	n.d.	48,2	Xénogreffes T47D	Aranda-Lara <i>et al.</i> , 2016a	
[D-Phe ⁶ , Sta ¹³ , Leu ¹⁴]BBN ₍₆₋₁₄₎	RGD-Glu-DO3A- Ahx	RM2	5,83	47,6	Xénogreffes PC-3	Reynolds et al., 2015 ²	
Analogue B	BN radiomar	qués au ⁸⁶ Y					
[Pro ¹ , Tyr ⁴]- BBN ₍₁₋₁₄₎	DOTA	MP2346	n.d.	77,7	Xénogreffes PC-3	Biddlecombe <i>et al.</i> , 2007	

Tableau 6. Principaux analogues de la bombésine testés in vivo comme radioligands. De nombreux radioligands basés sur la séquence de la bombésine ont été développés et présentent des affinités et des ratio T/M très hétérogènes en fonction de la lignée tumorale, des chélateurs et des radioisotopes employés. En dépit de résultats prometteurs obtenus *in vitro*, les essais chez l'Homme se confrontent à de nouvelles difficultés, en particulier à cause de la courte demi-vie des composés (Ananias et al., 2013). Les valeurs de ratio T/M sont obtenues quatre heures après injection. ¹L'IC₅₀ a été obtenue sur membranes extraites de cerveaux de rats Sprague-Dawley, préalablement incubées avec le [¹²⁵I-Tyr⁴]BBN. ²L'IC₅₀ a été obtenue avec la lignée PC-3 préalablement incubée avec le [¹²⁵I-Tyr⁴]BBN ou la BBN. ³Les tumeurs n'ont pas pu être visualisées chez les patients en raison d'une trop faible stabilité plasmatique du radioligand chez les patients, malgré des résultats prometteurs obtenus chez le petit animal. ⁴L'IC₅₀ a été obtenue avec la lignée PC-3 préalablement incubée avec le GRP. ⁵Les souris traitées avec le radioligand présentent une diminution du volume tumoral par rapport au contrôle. ⁶L'IC₅₀ a été obtenue avec la lignée PC-3 préalablement incubée avec l'analogue non radioactif du composé. Aca : acide ε-amino-caproïque ; Ahx : acide amino-hexanoïque ; AMBA : DO3A-G-4-aminobenzoyle-BBN(7-14); Aoc : acide amino-octanoïque ; Ava : acide amino-valérique ; BBN : bombésine ; Ava-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Sar¹¹-His¹²-FA01010¹³-Tle¹⁴ BBN2 ; Bn-SNC S-2-(4isothiocyanatobenzyle); BZH3 : [D-Tyr⁶, β-Ala¹¹, Thi¹³, Nle¹⁴]-BBN₍₆₋₁₄₎; DMPTACN : acide 2-[4,7bis(2pyridylméthyl)-1,4,7-triazacyclononan-1-yl] acétique ; DADT : diaminédithiol ; DO3A : acide 1,4,7-tris(carboxyméthyl)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane : DOTA : acide 1.4.7.10tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DUPA acide (2-[3-(1,3-dicarboxypropyl)uréido]pentanedioïque ; FA01010 : acide (4R,5S)-4-amino-5-méthylheptanoïque ; GRP : gastrinreleasing peptide ; HABBN : HYNIC-(tricine/TPPTS)-Aca-BBN(7-14) ; Hms : méthoxinine ; HYNIC : hydrazinonicotinamide ; MP2346 : $[Pro^1, Tyr^4]$ -BBN₍₁₋₁₄₎ ; N₃S : triaminédithiol ;

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

Nle : norleucine ; NO2A : acide 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacétique ; NODAGA : acide 1,4,7-triazacyclononane-1-acide glutarique-4,7-diacétique ; NOTA : acide 1,4,7-triazacyclononane-*N*,*N*',*N*''-triacétique ; P2 : PEG₂ ; PEG : polyéthylène glycol ; PEG₂ : diéthylène glycol ; PESIN : PEG-BBN₍₇₋₁₄₎ ; PNP6 : diphosphine ; RGD : tripeptide Arg-Gly-Asp ; RM2 : [D-Phe⁶, Sta¹³, Leu¹⁴]BBN₍₆₋₁₄₎ ; Sar : sarcosine ; SFB : *N*-succinimidyl-4-[¹⁸F] ; Sta : statine ; Thi : thiénylalanine ; Tle : *tert*-leucine ; TPPTS : triphénylphosphine-3,3',3''-trisulfonate trisodique. ⁶⁴Cu : cuivre-64 ; ¹⁸F : fluor-18 ; ^{67/68}Ga : gallium-67 ou 68 ; ¹¹¹In : indium-111; ¹⁷⁷Lu : lutécium-177 ; ^{99m}Tc : tecnétium-99 métastable ; ⁸⁶Y : yttrium-86.

Ainsi, cet antagoniste présente de meilleures propriétés in vivo, i.e. une plus grande captation et rétention tumorales et une plus faible captation rénale et pancréatique. La même équipe a ainsi démontré que la présence d'un espaceur chargé positivement entre le chélateur et l'antagoniste améliore l'affinité et la stabilité de liaison. Appelé DOTA-RM2, ce nouvel analogue radiomarqué avec le ⁶⁸Ga a été récemment testé en étude clinique de phase II chez des patients atteints de cancers de la prostate et se présente comme un radioligand très prometteur pour localiser les tumeurs (Minamimoto et al., 2016 ; 2018). D'autres antagonistes radiomarqués au ⁶⁴Cu présentent des caractéristiques pharmacocinétiques très intéressantes et ont fait l'objet d'une étude clinique de phase I (Durkan et al., 2014). Enfin, plusieurs antagonistes marqués au ¹⁸F ont été développés, montrant généralement une haute et spécifique captation tumorale et un meilleur ratio T/M par rapport aux autres radioligands (Honer et al., 2011). Leur utilisation pourrait donc être particulièrement intéressante dans l'imagerie des cancers de la prostate (Kumar et Ghosh, 2018). Malgré ces données encourageantes, assez peu d'études cliniques ont été menées pour traiter des tumeurs surexprimant le GRPR. Quelques groupes s'attachent toutefois à développer des analogues de la BBN radiomarqués avec i) des émetteurs β tels que le ⁹⁰Y ou le lutécium-177 (177 Lu) (Zhang *et al.*, 2004 ; Abiraj *et al.*, 2011 ; Morgat *et al.*, 2014) ou *ii*) des émetteurs de particules α tels que le bismuth-213 (²¹³Bi) (Wild et al., 2011). Les études précliniques comparatives démontrent la supériorité des analogues radiomarqués avec le ²¹³Bi, notamment grâce à sa meilleure efficacité de traitement des tumeurs et à sa plus faible toxicité pour les tissus sains environnants (Lacoeuille et al., 2018 ; Marcu et Bezak, 2018; Okarvi et Maecke, 2018).

3.3 Radiotraceurs ciblant le CXCR4

Le récepteur de chimiokine de type 4 (CXCR4) est un RCPG qui joue un rôle majeur pendant l'embryogenèse et dans l'inflammation (Caruz et al., 1998 ; Nagasawa et al., 1998 ; Kruizinga et al., 2009). Récemment identifié comme une cible prometteuse pour le développement d'analogues radiomarqués pour l'imagerie et le traitement de tumeurs, le CXCR4 est impliqué dans des mécanismes importants de la tumorigenèse, e.g. prolifération/migration/invasion cellulaire et apparition de métastases (Burger et Kipps, 2006 ; Wojcechowskyj et al., 2011). En accord avec ces observations, le CXCR4 est surexprimé dans les tumeurs primaires et les métastases de cancer du sein (Müller et al., 2001 ; Huang et al., 2009; Hassan et al., 2010), de la prostate (Taichman et al., 2002), de l'ovaire (Hall et Korach, 2012), de l'œsophage (Kaifi et al., 2005), du rein (Zagzag et al., 2005), du côlon (Zeelenberg et al., 2003) ou du poumon (Müller et al., 2001). Enfin, cette surexpression intratumorale du CXCR4 est généralement associée à une forte agressivité et une résistance aux chimiothérapies, et donc malheureusement à un mauvais pronostic pour les patients (Scala et al., 2005; Yopp et al., 2011). Ainsi, plusieurs agents pharmacologiques dirigés contre le CXCR4 ont été testés pour empêcher la formation de métastases chez des patients, mais en raison des rôles cruciaux auxquels participe le CXCR4 dans de nombreux processus biologiques, d'importants effets secondaires et délétères limitent leur utilisation (Kuil et al., 2012 ; Weiss et Jacobson, 2013 ; Philipp-Abbrederis et al., 2015). Le développement de nouveaux outils pour l'imagerie du CXCR4 permettrait i) d'affiner le pronostic des patients surexprimant le récepteur dans les foyers tumoraux, *ii*) l'emploi de radioligands thérapeutiques et *iii*) de déterminer les doses optimales d'agents anti-métastatiques à injecter chez un patient.

L'une des premières études pour la détection du CXCR4 dans les tumeurs a employé un antagoniste radiomarqué du récepteur, le ¹¹¹In-DTPA-TZ14011 (Hanaoka *et al.*, 2006). Bien

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

que les expériences de binding avec ce radioligand aient été prometteuses (IC₅₀ de 7,9 nM, similaire à celui du SDF-1), les résultats obtenus dans un modèle animal de xénogreffes tumorales ont été cependant décevants, probablement en raison d'une clairance rénale rapide. Plusieurs autres radioligands ont donc été synthétisés au cours de ces dernières années, mais aucun ne remplit in vivo toutes les exigences nécessaires, en termes de sélectivité et de propriétés pharmacocinétiques. A titre d'exemple, le ⁶⁴Cu-AMD3100, pourtant rapidement et facilement radiomarqué, présente chez des souris saines une clairance rénale rapide et une accumulation importante dans le foie et la moelle épinière (Nimmagadda et al., 2010 ; Weiss et Jacobson, 2013). Similaire au TZ14011 mais contenant un groupement fluorobenzoyle en position N-terminale pour fixer le ¹⁸F, un autre antagoniste du CXCR4 a été synthétisé (Jacobson et al., 2010). Nommé ¹⁸F-T140, ce nouveau radioligand présente une accumulation dans les tumeurs exprimant le CXCR4 mais marque également les hématies. De plus, son radiomarquage est long avec un rendement faible. D'autres radioligands ont alors été conçus sur la base du T-140, comme le T-140-2D, avec l'incorporation de deux molécules de DOTA sur les résidus lysines en position 7 et 8, et présentent également de mauvaises caractéristiques, *i.e.* une accumulation dans les hématies, un mauvais rendement de marquage avec le ⁶⁴Cu ou le ⁶⁸Ga, et une très faible spécificité tumorale (Jacobson et al., 2010). Malgré ces résultats décevants, l'utilisation de chélateurs DOTA ou NOTA (acide 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N"triacétique), fixés en position N-terminale du T-140 en remplacement du groupement fluorobenzoyle, permet de réduire la liaison non spécifique sur les hématies sans altérer significativement la liaison au récepteur du CXCR4 dans les tumeurs (Weiss et al., 2012; Weiss et Jacobson, 2013) (Fig. 16).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse



Figure 16. Séquences peptidiques du SDF-1 et de trois analogues. A partir de l'isoforme β du SDF-1, qui compte plus de 90 acides aminés, Hanaoka et coll. (2006) se sont intéressés à la synthèse du TZ14011 (un analogue de 14 acides aminés antagoniste du CXCR4) sur lequel est greffé un chélateur DTPA sur une Lys⁸ en position D. Thiele et coll. (2014) ont développé le FC131 dont la stabilité plasmatique est grandement améliorée et le marquage avec l'iode-124 (¹²⁴I) permet non seulement de visualiser des tumeurs exprimant le CXCR4 mais également de mettre en évidence la présence de métastases du cancer de poumon dans un modèle animal. En 2011, Gourni et coll. (2014) développent également un pentapeptide basé en partie sur la séquence C-terminale du TZ14011 dont la structure permet la greffe d'un chélateur DOTA, le CPCR4.2, commercialisé sous le nom de Pentixafor[®] et utilisé pour le diagnostic de tumeurs solides exprimant le CXCR4. Amb : acide aminométhylbenzoïque ; Cit : N^5 -aminocarbonylornithine ; CXCR4 : récepteur de chimiokines de type 4 motif C-X-C ; DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DTPA : acide diéthylène-triamine-penta-acétique ; Me : méthyl ; Nal : 3-napthyalanine ; SDF-1 : *stromal cell-derived factor-1*.

Ces nouveaux radiotraceurs couplés au ⁶⁴Cu présentent d'intéressantes caractéristiques *in vivo*, telles qu'une accumulation spécifique dans les tumeurs exprimant le CXCR4, un ratio tumeur sur bruit élevé, un temps de radiomarquage faible et un rendement important. Sur la base de ces résultats probants et de la séquence du T-140, un nouveau pentapeptide cyclique a été synthétisé, le FC131 (D-Tyr¹, Arg², Arg³, Nal⁴, Gly⁵) (Thiele *et al.*, 2014). Testé sur modèle animal, sa stabilité plasmatique est grandement améliorée et son marquage avec l'iode-124 (¹²⁴I) permet non seulement de visualiser des tumeurs exprimant le CXCR4 mais également de mettre en évidence la présence de métastases du cancer de poumon. Dans le but de concevoir des analogues radiomarqués avec le ⁶⁸Ga, produits *via* un générateur (cf chapitre III - 1.2.1), et sur la base du pentapeptide cyclique, le FC131, le CPCR4-2 (D-Tyr¹, [*N*-Me]D-Orn², [4-acide aminométhylbenzoïque-DOTA]Arg³, 2-Nal⁴, Gly⁵) a été développé. Les résultats montrent que chez des souris porteuses de tumeurs surexprimant le CXCR4, le ⁶⁸Ga-CPCR4-2 présente les

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

meilleures propriétés pharmacodynamiques, avec une forte captation tumorale, un ratio T/M très élevé, une excrétion rapide par les reins. Ce composé est maintenant commercialisé sous le nom de ⁶⁸Ga-Pentixafor® pour l'imagerie de cancers et de maladies inflammatoires (Gourni *et al.*, 2011 ; Herrmann *et al.*, 2015 ; Bouter *et al.*, 2017) (**Fig. 17**).

D'autres molécules sont encore en phase d'étude telles que le ⁶⁸Ga-CCIC16 qui présente de bonnes propriétés pour l'imagerie de tumeurs issues de cellules U87-MG (lignée tumorale humaine issue d'un glioblastome) (George *et al.*, 2014).



Figure 17. Imageries TEP/TDM de patients atteints de tumeurs après injection de ⁶⁸**Ga-Pentixafor. A.** *Gauche*, vue « corps entier » TEP/TDM d'un patient, une heure après injection de ⁶⁸Ga-Pentixafor (60 min post-injection) atteint par de multiples myélomes surexprimant le CXCR4. *Droite*, section tomographique du pelvis avec trois foyers tumoraux (flèches, rouges et blanches). Extrait de Buck *et al.*, 2017. **B.** Projections d'intensités maximales « corps entier » TEP/TDM de patients atteints d'un lymphome diffusant à grandes cellules B (LDGCB), de leucémie prolymphocytique à cellules T (LPL-T), d'un carcinome adrénocortical (CAC) et d'un cancer pulmonaire à petites cellules (CPPC). Extrait de Walenkamp *et al.*, 2017. CXCR4 : récepteur de chimiokines de type 4 motif C-X-C ; TDM : tomodensitométrie ; TEP : tomographie par émission de positons. ⁶⁸Ga : gallium-68.

3.4 Radioligands ciblant les récepteurs SST₁₋₅

Cette famille comporte deux peptides de 14 (SST-14) et 28 (SST-28) acides aminés issus d'un même précurseur. Ils possèdent tous deux un cycle dû à la présence d'un pont disulfure qui abrite quatre acides aminés conservés jouant un rôle essentiel dans l'activité biologique, *i.e.* Phe^{7,21}, Trp^{8,22}, Lys^{9,23} et Thr^{10,24} (Patel *et al.*, 1999). Isolés pour la première fois en 1972 à partir d'extraits d'hypothalamus de Mouton par Guillemin et coll., les peptides somatostatinergiques sont largement exprimés aux niveaux central et périphérique, *e.g.* dans certaines aires cérébrales, l'axe hypothalamo-hypophysaire, le tractus digestif, le pancréas endocrine et exocrine ou encore le système immunitaire (Brazeau *et al.*, 1973 ; Dasgupta, 2004 ; Pawlikowski *et al.*, 2007 ; Watt *et al.*, 2008). Sur le plan fonctionnel, le système somatostatinergique exerce classiquement une action inhibitrice, notamment sur la sécrétion de l'hormone de croissance et de la thyrotropine par l'hypophyse (Patel *et al.*, 1999 ; Pawlikowski *et al.*, 2013), de l'insuline par le pancréas (Dasgupta, 2004), du VIP, de la gastrine, de la CCK et de la sécrétine au niveau gastro-intestinal (Evangelista, 2009 ; Schubert, 2009).

Les activités de la somatostatine sont relayées par une famille de RCPG de très haute affinité, constituée de cinq membres bien caractérisés, sst₁ à sst₅ (Hoyer *et al.*, 1995 ; Reisine et Bell, 1995 ; Patel *et al.*, 1999 ; Lamberts *et al.*, 2002 ; Jacobs et Schulz, 2008). Comme pour une nette majorité de RCPG, la liaison avec la somatostatine entraîne l'internalisation du complexe ligand-récepteur (Majumdar et Siahaan, 2010 ; Raza Naqvi *et al.*, 2011). Les voies de couplage sont bien identifiées et les sst₁₋₅ sont négativement couplés à l'AC. L'activation de ces récepteurs peut entraîner la modulation de l'ouverture de canaux potassiques (Patel, 1999), le recrutement de la phospholipase A2 (Schweitzer *et al.*, 1990) ou de phosphatases (Colas *et al.*, 1992). Les propriétés anti-mitotiques de la somatostatine ont été observées dans de

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

nombreux cancers, e.g. carcinomes du sein (Watt et al., 2008), tumeurs neuroendocrines (Reubi et Maecke, 2008). La somatostatine est également capable d'induire l'apoptose via les récepteurs sst₂ et sst₃ (Sharma et al., 1997 ; Guillermet-Guibert et al., 2005), suggérant que ce neuropeptide joue un rôle clé dans la modulation de la tumorigenèse (Reubi et al., 1991). A l'appui de cette hypothèse, de nombreuses études ont démontré la présence d'une densité élevée de récepteurs somatostatinergiques dans des tumeurs neuroendocrines, avec toutefois une prédominance nette pour sst₂ (Atkinson et al., 2013). Il s'agit par exemple d'adénomes de la tige hypophysaire (Reubi et Landolt, 1984; Moyse et al., 1985; Reubi et al., 1987a; 1987b) et gastroentéropancréatiques (TNE-GEP) (Reubi et al., 1990a), de phéochromocytomes (Epelbaum et al., 1995; Reubi et al., 1990a), de neuroblastomes (Moertel, 1994; Prévost et al., 1996), de cancers médullaires de la thyroïde (Reubi et al., 1991) ou encore de cancers pulmonaires à petites cellules (Sagman et al., 1990). D'autres données plus récentes révèlent que certaines TNE bronchiques (TNE-B) expriment préférentiellement sst₁ (Kaemmerer et al., 2015). Les récepteurs somatostatinergiques sont également surexprimés dans des tumeurs nonneuroendocrines, telles que les méningiomes, les médulloblastomes et les gliomes (Reubi et al., 1986 ; 1987a ; Frühwald et al., 1999 ; Frühwald, 2011), ainsi que dans les carcinomes du sein (Reubi et al., 1990a; Srkalovic et al., 1990), rénaux (Reubi et al., 1992), prostatiques (Fekete et al., 1988; Reubi et al., 1995; Halmos et al., 2000), ovariens (Reubi et al., 1991; Halmos et al., 2000), gastriques (Miller et al., 1992) et hépatocellulaires (Kouroumalis et al., 1998).

Sur la base de ces observations, des radioligands ont été développés pour cibler des récepteurs somatostatinergiques chez les patients porteurs de tumeurs, avec en premier lieu le marquage des deux peptides naturels avec l'iode-125 (¹²⁵I) (Bodei *et al.*, 2003b). Les résultats obtenus ont révélé que l'expression des sst diffère considérablement selon les patients et le type de tumeurs. A titre d'exemples, les méningiomes et les médulloblastomes présentent des taux

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

élevés de récepteurs, tandis que les lymphomes en expriment relativement peu (Reubi, 2003). Il convient aussi de noter que de nombreuses tumeurs, dont la plupart des tumeurs neuroendocrines, ont un profil d'expression très hétérogène avec des densités très variables d'une région à l'autre (Reubi et al., 1990b). En plus de ces observations, il apparait que la demivie plasmatique de SST-14 et SST-28 (\approx 1 à 3 minutes) est difficilement compatible avec des applications in vivo (Appetecchia et Baldelli, 2010). Heureusement, la réduction de la partie C-terminale et du cycle aux quatre acides aminés biologiquement actifs, ainsi que le remplacement du Trp⁸ par son énantiomère, permettent d'augmenter la stabilité des analogues et implicitement leurs applications (Veber et al., 1981; Breeman et al., 2001; Okarvi et al., 2004). Quatre analogues somatostatinergiques ont ainsi été développés : l'octréotide, l'octréotate, le lanréotide et la vapréotide, encore utilisés aujourd'hui pour le diagnostic et le traitement de divers cancers (Bauer et al., 1982 ; Pawlikowski et al., 2007 ; Appetecchia et Baldelli, 2010 ; Strosberg et Kvols, 2010). Les affinités différentielles des analogues somatostatinergiques, e.g. liaison privilégiée de l'octréotide pour sst₂ et sst₅ (Barbieri et al., 2013), ainsi que des variations dans le trafic et l'internalisation des récepteurs, ont aussi été mises à profit pour caractériser d'autres composés au potentiel diagnostic et/ou thérapeutique (Nouel, 1997; Patel et al., 1999).

En 1989, Krenning et coll. ont été les premiers à réaliser des scintigraphies de récepteurs somatostatinergiques à l'aide de l'octréotide modifié par l'insertion d'un résidu tyrosine (Tyr³-octréotide) permettant la greffe d'iode-123 (¹²³I). Cependant, en raison de la faible stabilité *in vivo* et d'une captation non spécifique trop importante, le DTPA a été conjugué à l'octréotide *via* l'ajout d'un résidu D-Phe dans la partie N-terminale, pour être radiomarqué à l'¹¹¹In (Bakker *et al.*, 1991a ; 1991b). Appelé DTPA-octréotide (DTPA-OC), ce nouvel analogue obtient en 1994 une autorisation de mise sur le marché aux Etats-Unis sous le nom d'Octreoscan® ; il

permet de visualiser principalement les TNE, mais aussi les méningiomes, les cancers du sein et les lymphomes (Krenning *et al.*, 1992 ; 1993 ; Kwekkeboom *et al.*, 1993).



Figure 18. Ligands somatostatinergiques et principaux analogues développés. Le système somatostatinergique comporte deux peptides de 14 (SST-14) et 28 (SST-28) acides aminés, qui interagissent avec cinq types de récepteur (sst₁₋₅). Ils possèdent un cycle qui abrite quatre résidus conservés (Phe, Trp, Lys, Thr) au cours de l'évolution, jouant un rôle essentiel dans la liaison aux cinq récepteurs. En raison de leur courte demi-vie, plusieurs analogues stables ont été développés (octréotide, octréotate, lanréotide et vapréotide) sur la base d'un octapeptide composé d'un cycle de quatre résidus impliqués dans la liaison aux sst (les affinités de chaque analogue pour les récepteurs sont disponibles dans le **tableau 7**). La greffe d'un chélateur, tel que le DTPA ou le DOTA permet l'incorporation d'un radioisotope (¹¹¹In, ⁶⁸Ga, ⁹⁰Y ou ¹⁷⁷Lu) dont l'activité sera exploitée pour le diagnostic ou le traitement des tumeurs neuroendocrines. DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-LAN : DOTA-lanréotide ; DOTA-OC : DOTA-octréotide ; DOTA-TATE : DOTA-octréotate ; DOTA-TOC : DOTA-Tyr³-octréotide ; DOTA-VAP : DOTA-vapréotide ; DTPA : acide diéthylène-triamine-pentaacétique ; DTPA-OC : DTPA-octréotate ; DTPA-TATE : DTPA-octréotate ; DTPA-TOC : DTPA-Tyr³-octréotide ; Nal : 3-napthyalanine ; sst₁₋₅ : récepteur de type 1, 2, 3, 4 ou 5 de la SST. ⁶⁸Ga : gallium-68 ; ¹¹¹In : indium-111 ; ¹⁷⁷Lu : lutécium 177 ; ⁹⁰Y : yttrium-90.

Sur la base de l'octréotide, d'autres dérivés ont été développés, avec toujours une affinité préférentielle pour sst₂. Il s'agit du DTPA-Tyr³-octréotide (DTPA-TOC) et du DTPA-Tyr³-octréotate (DTPA-TATE) (De Jong *et al.*, 1998) (Fig. 18). L'addition du résidu Tyr en position 3, déjà utilisée par Krenning et coll. (cf supra), et le remplacement du thréoninol en position C-terminale par un résidu thréonine permet d'augmenter i) la stabilité des radioligands et *ii*) leur affinité pour sst₂ (Reubi *et al.*, 2000 ; De Jong *et al.*, 2001). De nouveaux analogues utilisent préférentiellement le DOTA en lieu et place du DTPA, ce qui permet la chélation de radioisotopes tels que l'¹¹¹In ou le ⁶⁸Ga pour l'imagerie de tumeurs surexprimant les récepteurs somatostatinergiques, ou par des radioisotopes tels que l'90Y et le ¹⁷⁷Lu pour leur action thérapeutique sur les tumeurs. Ainsi furent développés le DOTA-octréotide (DOTA-OC) (Heppeler et al., 1998), le DOTA-Tyr³-octréotide (DOTA-TOC) (Otte et al., 1997 ; Heppeler et al., 1998) et le DOTA-Tyr³-octréotate (DOTA-TATE) (Heppeler et al., 1998) (Fig. 19). La sensibilité, qui correspond à la capacité à imager une tumeur, dépasse généralement 75% pour les TNE-GEP, les TNE-B mais également pour les paragangliomes (Gabriel, et al., 2007), ce qui contribue à la sélection efficace de la ou des futures thérapies à mettre en œuvre (Kwekkeboom et al., 2010). (Tab. 7).



Figure 19. Scintigraphies de patients porteurs de TNE après injection d'analogues somatostatinergiques. A. Scintigraphies réalisées une heure après injection chez un même patient de l'¹¹¹In-DTPA-OC (*gauche*) ou du ⁶⁸Ga-DOTA-TOC (*droite*). Extrait de Fani et Maecke, 2012. B. Scintigraphies « corps entier » 24 heures ou quatre heures après injection du ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE chez un patient atteint d'une TNE rectale métastasant au niveau du foie. Extrait de Duijzentkunst *et al.*, 2017. DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-TOC : DOTA-Tyr³-octréotide ; DTPA : acide diéthylènetriamine-pentaacétique ; DTPA-OC : DTPA-octréotide ; TNE : tumeur neuroendocrine. ⁶⁸Ga : gallium-68 ; ¹¹¹In : indium-111 ; ¹⁷⁷Lu : lutécium-177.

Récepteur	sst1	sst2	sst3	sst4	sst5	Statut (2017)		
Ligands naturels								
SST-14	0,93	0,15	0,56	1,5	0,29	n.d.		
SST-28 ¹	$5,2 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,3$	$7,7\pm0,9$	$5,6 \pm 0,4$	$4,0 \pm 0,3$	n.d.		
Analogues								
Octréotide ¹	>10000 (5)	$2 \pm 0,7$	187 ± 55	>1000 (4)	22 ± 6 (5)	n.d.		
Lanréotide	180	0,54	14	230	17	n.d.		
Vapréotide	>1000	5,4	31	45	0,7	n.d.		
DTPA-OC ¹	>10000	12 ± 2	376 ± 84	>1000	299 ± 50	n.d.		
DTPA-TATE ¹	>10000	3,9 ± 1	>10000	>1000	>1000	n.d.		
DOTA-OC ¹	>10000	14 ± 3	27 ± 9	>1000	103 ± 39	n.d.		
DOTA-TOC ¹	>10000	14 ± 2,6	880 ± 324	>1000	393 ± 84	n.d.		
DOTA-TATE ¹	>10000	$1,5 \pm 0,4$	>1000	453 ± 176	547 ± 160	n.d.		
DOTA-LAN ¹	>10000	$26 \pm 3,4$	771 ± 229	>10000	73 ± 12	n.d.		
DOTA-VAP ¹	>10000	29 ± 7	419 ± 104	743 ± 190	80 ± 19	n.d.		
In-DTPA-OC ¹	>10000	$22 \pm 3,6$	182 ± 13	>1000	237 ± 52	Commercialisé		
In-DTPA-TATE ¹	>10000	$1,3 \pm 0,2$	>10000	433 ± 176	>1000	n.d.		
Ga-DOTA-OC ¹	>10000	$7,3 \pm 1,9$	120 ± 45	>1000	60 ± 14	n.d.		
Ga-DOTA-TOC ¹	>10000	$2,5 \pm 0,5$	613 ± 140	>1000	73 ± 21	Etude phase 2		
Ga-DOTA-TATE ¹	>10000	$0,2\pm0,04$	>1000	300 ± 140	377 ± 18	Commercialisé		
Ga-DOTA-NOC ³	>10000	$1,9\pm0,4$	$40,0\pm5,8$	260 ± 74	$7,2 \pm 1,6$	Etude phase 2		
Y-DOTA-OC ¹	>10000	20 ± 2	27 ± 8	>10000	57 ± 22	n.d.		
Y-DOTA-TOC ¹	>10000	$11 \pm 1,7$	389 ± 135	>10000	114 ± 29	Etude phase 2		

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

Y-DOTA-TATE ¹	>10000	$1,6 \pm 0,4$	>1000	523 ± 239	187 ± 50	n.d.
Y-DOTA-VAP ¹	>10000	12 ± 2	102 ± 25	778 ± 225	$20 \pm 2,3$	n.d.
Y-DOTA-LAN ¹	>10000	23 ± 5	290 ± 105	>10000	$16 \pm 3,4$	n.d.
Lu-DOTA-TATE ²	>1000	$2,0\pm0,8$	162 ± 16	>1000	>1000	Etude phase 2
In-DOTA-sst ₃ -ODN ⁴	>1000	>1000	$5,2 \pm 1,3$	>1000	>1000	Etude pilote
In-DOTA-sst ₂ -ANT ⁴	>1000	$1,5 \pm 0,4$	>1000	287 ± 27	>1000	Etude pilote
In-DOTA-JR115	>1000	$3,8 \pm 0,7$	>1000	>1000	>1000	Etude pilote
Ga-DOTA-JR11 ⁵	>1000	$29 \pm 2{,}7$	>1000	>1000	>1000	Etude pilote
Ga-NODAGA-JR11 ⁵	>1000	$1,2 \pm 0,2$	>1000	>1000	>1000	Etude phase 2
Lu-DOTA-JR115	>1000	$0,73 \pm 0,15$	>1000	>1000	>1000	Etude pilote

Tableau 7. Principaux ligands à haute affinité pour les récepteurs somatostatinergiques utilisés ou testés en médecine nucléaire. De nombreux radioligands ont été développés sur la base de l'octréotide et sur leur capacité à reconnaître et induire l'internalisation du complexe ligand-récepteur. Depuis 2006, plusieurs équipes ont testé le potentiel de certains antagonistes pour diagnostiquer les tumeurs neuroendocrines. ¹Reubi et coll. en 2000 ont déterminé l'IC₅₀ de leurs composés sur des fractions cellulaires de CHO-K1 (exprimant stablement sst1 et sst5) ou de CCL39 (exprimant stablement sst₂, sst₃ et sst₄) préalablement incubées avec l'¹²⁵I-[Leu⁸, D-Trp²², Tyr²⁵]SST-28. ²Schottelius et coll. en 2015 ont déterminé l'IC₅₀ du Lu-DOTA-TATE sur des fractions cellulaires d'AR42J préalablement incubées avec le traceur équivalent non radioactif. ³Antunes et coll. en 2007 ont déterminé l'IC₅₀ du Ga-DOTA-NOC sur des fractions cellulaires de CHO-K1 (exprimant stablement sst1 et sst5) ou de CCL39 (exprimant stablement le sst₂, le sst₃ et sst₄) préalablement incubées avec l'¹²⁵I-[Leu⁸, D-Trp²², Tyr²⁵]SST-28. ⁴Ginj et coll. en 2006 ont déterminé l'IC₅₀ de leurs composés sur des fractions cellulaires d'HEK-293 exprimant stablement sst₃ préalablement incubées avec le traceur équivalent non radioactif. ⁵Fani et coll. en 2012b ont déterminé l'IC₅₀ de leurs composés sur des fractions cellulaires de CHO-K1 (exprimant stablement sst₁ et sst₅) ou de CCL39 (exprimant stablement sst₂, sst₃ et sst₄) préalablement incubées avec l'¹²⁵I-[Leu⁸, D-Trp²², Tyr²⁵]SST-28. L'affinité est indiquée par la valeur de l'IC₅₀ \pm SEM exprimée en nM. Agl : acide α-glutamique ; ANT : NO₂-Phe¹-(D-Cys²-Tyr³-D-Trp⁴-Lys⁵-Thr⁶-Cys⁷)-D-Tyr⁸; Cbm : acide D-4-amino-Phe-carbamoyle ; Cpa : acide γ -amino- β -hydroxy-cyclohexanepentanoïque ; DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-LAN : DOTA-lanréotide ; DOTA-NOC : DOTA-[Nal¹]-octréotide ; DOTA-OC : DOTA-octréotide ; DOTA-TATE : DOTA-Tyr³-octréotate ; DOTA-TOC : DOTA-Tyr³-octréotide ; DOTA-VAP : DOTAvapréotide ; DTPA : acide diéthylène-triamine-penta-acétique ; DTPA-OC : DTPA-octréotide ; DTPA-TATE : DTPA-octréotate ; DTPA-TOC : DTPA-Tyr3-octréotide ; Hor : acide amino-Phehydroorotique ; JR11 : Cpa¹-[D-Cys²-Hor³-D-Cbm⁴-Lys⁵-Thr⁶-Cys⁷]-D-Tyr⁸ ; Nal : 3-napthyalanine ; NODAGA : acide 1,4,7-triazacyclononane-1-acide glutarique-4,7-acétique ; ODN : NH₂-CO-(D-Cys¹-Phe²-Tyr³-D-Agl(Me-2-naphthoyl)⁴-Lys⁵-Thr⁶-Phe⁷-Cys⁸); SST-14,28 : somatostatine 14 ou 28. Ga : gallium ; In : indium ; Lu : lutécium ; Y : yttrium. n.d. : non déterminé.

La possibilité de modifier la partie N-terminale sans altérer les propriétés biologiques des analogues somatostatinergiques a permis de mettre au point d'autres radioligands couplés par exemple avec le chélateur HYNIC, facilitant la chélation du ^{99m}Tc, très utilisé et étudié pour les scintigraphies tumorales (Maresca *et al.*, 2010 ; Bigott-Hennkens *et al.*, 2011).

Grâce aux succès diagnostiques obtenus avec les dérivés somatostatinergiques, peu d'essais ont été réalisés pour élaborer des analogues radiomarqués au ¹⁸F, couramment utilisé en médecine nucléaire sous la forme ¹⁸F-FDG pour le diagnostic de tumeurs. Quelques laboratoires ont toutefois développé des radiotraceurs fluorés (Laverman *et al.*, 2010 ; 2012), avec notamment la greffe d'un groupe aryltrifluoroborate (ammoniométhyl-BF₃, AMBF₃) sur le Tyr³-octréotate, ce qui permet la complexation avec le ¹⁸F (Liu *et al.*, 2014). Le composé ainsi généré (¹⁸F-AMBF₃-TATE) présente une activité spécifique plus élevée que les autres analogues somatostatinergiques, ce qui contribue à limiter fortement le bruit de fond en essai préclinique (Liu *et al.*, 2014). Sur la base de ces résultats, l'équipe de Niedermoser et coll., a utilisé en 2015 le groupement SiFA*lin* (accepteur à base de fluorure de silicone ou *SIliconbased fluoride Acceptors*) incluant une charge positive permanente qui présente des caractéristiques prometteuses *in vivo*. En effet, on observe chez la Souris une biodistribution similaire à celle du ⁶⁸Ga-DOTA-TATE mais les images obtenues avec le dérivé fluoré sont de meilleures qualité, avec une résolution et une captation tumorales plus importantes ; ces résultats prometteurs sont dus à la plus faible énergie émise par le ¹⁸F.

Depuis 2006, l'utilisation d'antagonistes somatostatinergiques est explorée. Deux antagonistes ont notamment été étudiés : le ¹¹¹In-sst₂-ANT et le ¹¹¹In-sst₃-ODN-8, qui fixent sst₂ et sst₃, respectivement (Ginj *et al.*, 2006). Les études *in vivo* ont montré que ces composés présentent une plus grande captation et rétention tumorales que certains agonistes, et ce malgré l'absence d'internalisation du complexe ligand-récepteur, pourtant considéré comme un

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

processus indispensable pour le développement de radiotraceurs ciblant les RCPG (Lamberts *et al.*, 2002). Ces résultats ont par la suite été expliqués *in vitro* par la très grande accessibilité des sites de liaison par ces antagonistes (comparés aux agonistes), associée à leur lente dissociation du récepteur (Cescato *et al.*, 2008 ; Fani *et al.*, 2017). Des antagonistes ont par la suite été optimisés par l'addition/modification d'acides aminés et par le remplacement de résidus par leur énantiomère (Cescato *et al.*, 2008). Ils sont encore en phase d'évaluation avec les radioisotopes tels que ⁶⁸Ga, ⁶⁴Cu, ¹¹¹In et ¹⁷⁷Lu (Fani *et al.*, 2011 ; Fani *et al.*, 2012 ; 2017 ; Radford *et al.*, 2017). A titre d'exemple, l'antagoniste ¹⁷⁷Lu-DOTA-JR11 présente une meilleure efficacité de traitement que le ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE chez des patients atteints de métastases issues de tumeurs neuroendocrines, avec *i*) une plus forte captation tumorale, *ii*) un meilleur ratio tumeur/rein et *iii*) une meilleure stabilité *in vivo* (Wild *et al.*, 2014) (**Fig. 20**). Ce radioligand est actuellement évalué par une étude multicentrique de phase 1/2 (identifiant Clinical-Trials.gov : NCT02592707) et théranostique (identifiant Clinical-Trials.gov : NCT02592707).

Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse



Figure 20. Comparaison des images obtenues chez un même patient avec le ¹⁷⁷Lu-DOTA-JR11 (A) et le ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE (B). A. Scintigraphie planaire obtenue 24 heures après injection du ¹⁷⁷Lu-DOTA-JR11 (antagoniste de sst₂) chez un patient atteint de plusieurs TNE-GEP (flèches noires blanches). flèche du haut indique un possible méningiome. La et **B.** Scintigraphie planaire réalisée chez le même patient injecté avec le ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE (agoniste du sst₂) dont l'analyse indique une captation tumorale deux à quatre fois inférieure à celle mesurée avec le ¹⁷⁷Lu-DOTA-JR11, pour une même dose injectée. Extrait de Fani et al., 2017. DOTA : acide 1,4,7,10tétra-aza-cyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-TATE : DOTA-Tyr³-octréotate ; JR11 : Cpa¹-[D-Cys²-Hor³-D-Cbm⁴-Lys⁵-Thr⁶-Cys⁷]-D-Tyr⁸ ; sst₂ : récepteur de type 2 de la somatostatine ; TNE : tumeur neuroendocrine ; TNE-GEP : TNE gastroentéropancréatique. ¹⁷⁷Lu : lutécium-177.

~ 86 ~

CHAPITRE II : le système urotensinergique 1. Généralités sur le système urotensinergique

Isolée à la fin des années 60 par Howard Bern de l'Université de Berkeley (Californie, Etat-Unis) et Karl Lederis de l'Université de Calgary (Alberta, Canada) à partir d'urophyses de poissons téléostéens de la famille des Gobiidés, l'urotensine II (UII) est un neuropeptide capable de stimuler la contraction de muscles lisses (Bern et Lederis, 1969). L'UII a ensuite été caractérisée chez de nombreuses espèces de poissons (Pearson *et al.*, 1980) et sa présence a été démontrée dans des motoneurones de la moelle épinière et du tronc cérébral d'un tétrapode, la Grenouille verte *Rana ridibunda* (Conlon *et al.*, 1992). Le gène codant l'UII a été identifié chez plusieurs mammifères y compris chez l'Homme (Coulouarn *et al.*, 1998 ; Ames *et al.*, 1999).

1.1 Homologies structurales entre l'UII, l'URP et la somatostatine

L'UII est un peptide de 11 acides aminés chez les primates, 14 chez le Rat et 17 chez la Souris. Au cours de l'évolution, la structure peptidique de l'UII est très bien conservée, notamment dans sa partie C-terminale, *i.e.* un hexapeptide cyclique (CFWKYC) formé par un pont disulfure entre deux résidus cystéines. Cette séquence n'a pas évolué depuis la Lamproie jusqu'à l'Homme, suggérant la grande importance de ce cycle dans les activités biologiques exercées par l'UII (Coulouarn *et al.*, 1998). En 2003, Sugo et coll. ont isolé, à partir d'extraits de cerveaux de rats, un paralogue de l'UII, l'*urotensin-II-related peptide* (URP), dont la séquence (Ala⁴-hUII₄₋₁₁) est conservée chez tous les mammifères (**Fig. 21**) (**Tab. 8**).

Le système urotensinergique



Figure 21. Séquences de l'UII, de l'URP et de la SST-14. Les séquences courtes de l'UII et l'URP partagent d'importantes similitudes structurales avec la SST-14 au niveau de la région cyclique biologiquement active. SST-14 : somatostatine 14 ; UII : urotensine II ; URP : *urotensin-II related peptide*.

Tomillo	Nom de l'e	spèce	Séquences peptidiques		
Familie	Scientifique	Commun	UII	URP	
	Pelophylax ridibundus	Grenouille rieuse	AGNLSECFWKYCV		
	Hyla arborea	Grenouille verte	AGNLSECFWKYCV		
	Xenopus laevis	Xénope lisse	GNLSECFWKYCV	ACFWKYCV	
	Gallus gallus	Poulet	GNLSECFWKYCV	ACFWKYCI	
	Taeniopygia guttata	Mandarin diamant	GNLSECFWKYCV	ACFWKYCI	
	Felis catus	Chat	GSPSECFWKYCV		
	Sus scrofa	Sanglier d'Europe	GPPSECFWKYCV		
	Ovis aries	Mouton	GPSSECFWKYCV		
	Bos taurus	Taureau	GPSSECFWKYCV	ACFWKYCV	
	Rattus norvegicus	Rat	QHGTAPECFWKYCI	ACFWKYCV	
Tánan a la a	Mus musculus	Souris	QHKQHGAAPECFWKYCI	ACFWKYCV	
Tetrapodes	Otolemur garnettii	Otolemur	GTPSECFWKYCV	ACFWKYCV	
	Callithrix jacchus	Marmouset	ETPDCFWKYCV		
	Papio anubis	Babouin olive	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
	Macaca mulatta	Macaque rhésus	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
	Macaca fascicularis	Macaque crabier	ETPDCFWKYCV		
	Nomascus leucogenys	Gibon	ETPDCFWKYCV		
	Pongo abelii	Orang-outan	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
	Gorilla gorilla	Gorille	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
	Homo sapiens	Homme	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
	Pan paniscus	Bonobo	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
	Pan troglodytes	Chimpanzé	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
	Danio Rerio	Poisson zébre	GGGADCFWKYCV	DDT <mark>CFWKYC</mark> V	
Téléostéens	Gillichtys mirabilis	Gobie	AGTADCFWKYCV		
	Takifugu rubripes	Tétrodon	TGNNE <mark>CFWKYC</mark> V	SEPCFWKYCV	
Agnate	Lethenteron camptschticum	Lamproie	NNFSDCFWKYCW		

Tableau 8. Comparaison des séquences de l'UII et de l'URP au cours de l'évolution. La partie cyclique des peptides urotensinergiques (en rouge) est hautement conservée. Hormis quelques infimes variations du peptide en partie C terminale, seule la partie N-terminale varie entre les espèces. Cependant, la séquence ETPD semble commune à tous les primates, dont *Homo sapiens*. Extrait et adapté de Castel *et al.*, 2017. UII : urotensine II ; URP : *urotensin-II related peptide*.

Le système urotensinergique

Partageant d'importantes similitudes structurales avec la somatostatine au niveau de la région cyclique biologiquement active (Conlon *et al.*, 1997 ; Tostivint *et al.*, 2006), l'UII a d'abord été décrite comme un peptide *somatostatin-like* (Pearson *et al.*, 1980). Cette hypothèse fut ensuite abandonnée dans la mesure où les précurseurs de l'UII et de la somatostatine ne présentent quasiment aucune idendité de séquence (Conlon *et al.*, 1997). Chez l'Homme, les gènes codant l'UII et la SS2 (variant de la somatostatine) sont localisés dans la région p36 du chromosome 1 alors que ceux codant l'URP et la somatostatine sont localisés dans la région q28 du chromosome 3 (Sugo *et al.*, 2003 ; Tostivint *et al.*, 2006). La comparaison des positions relatives des gènes codant l'UII, l'URP et la somatostatine chez le Poisson zèbre, le Poulet et l'Homme a permis de mettre en évidence deux gènes ancestraux, le *protoUII* et le *protoSS* qui auraient conduit, par duplication segmentaire au cours de l'évolution, aux gènes codant le couple UII/SS2 et URP/SS (Tostivint *et al.*, 2006) (**Fig. 22**). Toutefois, l'UII et l'URP sont tous deux capables à concentrations relativement élevées de reconnaître et d'activer les récepteurs sst₂ et sst₅ (Malagon *et al.*, 2008).



Figure 22. Représentation schématique de l'évolution des gènes codant la somatostatine, l'UII ou l'URP chez les tétrapodes. La comparaison des positions relatives des gènes codant l'UII, l'URP et la somatostatine chez le Poisson zèbre, le Poulet et l'Homme, a permis de mettre en évidence deux gènes ancestraux, le *protoUII* et le *protoSS* qui auraient conduit aux gènes codant le couple UII/SS2 et URP/SS par duplication segmentaire au cours de l'évolution. Les croix représentent les gènes perdus au cours de l'évolution. Adapté de Tostivint *et al.*, 2014. UII : urotensine II ; URP1/2 : *urotensin-II related peptide I* et 2 ; SST1/2 : somatostatine de types 1 et 2.

1.2 Localisation de l'UII

La présence de l'UII a initialement été observée dans le SNC de poissons téléostéens (Yulis et Lederis, 1986) puis au niveau des motoneurones de la Grenouille verte (Chartrel *et al.*, 1995). Par la suite, plusieurs équipes ont montré que l'UII est exprimée dans une sous-population neuronale chez le Rat, dans les noyaux des nerfs crâniens abducens, facial, trijumeau et hypoglosse et ceux de la partie caudale de la moelle épinière (Coulouarn *et al.*, 1999 ; Dun *et al.*, 2001). Des observations similaires sont rapportées chez la Souris (Coulouarn *et al.*, 1999 ; Egginger et *al.*, 2006) et chez l'Homme (Coulouarn *et al.*, 1998 ; Ames *et al.*, 1999).

Le système urotensinergique

En périphérie, l'UII est largement distribuée, en particulier dans les systèmes cardiovasculaire, digestif et rénal. A titre d'exemple, des niveaux élevés d'UII sont relevés dans le cœur chez l'Homme (Douglas *et al.*, 2002), le Rat (Ames *et al.*, 1999 ; Sugo *et al.*, 2003) et la Souris (Elshourbagy *et al.*, 2002 ; Dubessy *et al.*, 2008). Chez l'Homme, une forte expression d'UII est aussi retrouvée dans les surrénales (Maguire *et al.*, 2004), le pancréas (Totsune *et al.*, 2001), les reins (Langham *et al.*, 2004) ou encore les poumons (Kristof *et al.*, 2010). Plus récemment, une étude a démontré que l'UII est également présente dans le sang ombilical de femmes enceintes, indiquant que ce peptide peut empreinter la voie sanguine pour exercer ses fonctions biologiques (Zhang *et al.*, 2017) (**Tab. 9**).

Tissus	Homme	Singe	Rat	Souris		
Système nerveux central						
Cerveau	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy et al., 2002	Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Bucharles <i>et al.</i> , 2014	Elshourbagy et al., 2002		
Hypothalamus	Totsune et al., 2001		Egginger et al., 2006	Dubessy et al., 2008		
Tronc cérébral	Coulouam <i>et al.</i> , 1998 ; Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001 ; Ng <i>et al.</i> , 2002		Coulouarn <i>et al.</i> , 1999 ; Dun <i>et al.</i> , 2001 ; Pelletier <i>et al.</i> , 2002			
Moelle épinière	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003	Coulouarn et al., 1998; Elshourbagy et al., 2002	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Dun <i>et al.</i> , 2001 ; Pelletier <i>et al.</i> , 2002 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003	Coulouarn <i>et al.</i> , 1999 ; Pelletier <i>et al.</i> , 2002 ; Dubessy <i>et al.</i> , 2008 ; Egginger <i>et al.</i> , 2011		
Cervelet	Sugo et al., 2003	Elshourbagy et al., 2002	Coulouarn et al., 1999	Dubessy et al., 2008		
Système car	rdiovasculaire					
Cœur	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Totsune <i>et al.</i> , 2003 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004	Ames et al., 1999	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy et al., 2002 ; Dubessy et al., 2008		
Myocarde	Douglas et al., 2002		Nakayama <i>et al.</i> , 2008 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009			
Oreillettes	Matsushita <i>et al.</i> , 2001 ; Douglas <i>et al.</i> , 2002 ; Dschietzig <i>et al.</i> , 2002 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004	Elshourbagy et al., 2002	Sugo <i>et al.</i> , 2003			
Ventricules	Totsune <i>et al.</i> , 2003 ; Dschietzig <i>et al.</i> , 2002 ; Tzanidis <i>et al.</i> , 2003 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004	Elshourbagy et al., 2002	Nakayama <i>et al.</i> , 2008 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009			
Aorte thoracique	Matsushita et al., 2001	Elshourbagy et al., 2002	Maguire et al., 2008	Elshourbagy et al., 2002		
Veines saphènes	Matsushita <i>et al.</i> , 2001 ; Dschietzig <i>et al.</i> , 2002 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004					
Plasma	Lapp <i>et al.</i> , 2004 ; Joyal <i>et al.</i> , 2006 ; Zhang <i>et al.</i> , 2017		Song <i>et al.</i> , 2006 ; Wang <i>et al.</i> , 2011			

Le système urotensinergique

Système endocrinien						
Hypophyse	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ;		Sugo et al., 2003	Dubessy et al., 2008		
Pancréas	Coulouarn <i>et al.</i> , 2001 Totsune <i>et al.</i> , 1998 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Silvestre <i>et al.</i> , 2004			
Surrénales	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004		Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Albertin <i>et al.</i> , 2006			
Testicules	Sugo et al., 2003		Sugo et al., 2003	Elshourbagy et al., 2002; Dubessy et al., 2008		
Ovaires	Coulouarn et al., 1998 ; Sugo et al., 2003		Sugo et al., 2003			
Placenta	Totsune <i>et al.</i> , 2001 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003 Maguire <i>et al.</i> , 2004					
Système ur	o-génital et gastro-	intestinal				
Reins	Matsushita <i>et al.</i> , 2001 ; Totsune <i>et al.</i> , 2003 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Langham <i>et al.</i> , 2004	Elshourbagy et al., 2002	Song <i>et al.</i> , 2006 ; Tian <i>et al.</i> , 2008 ; Mori <i>et al.</i> , 2009	Elshourbagy et al., 2002		
Tube contourné	Shenouda <i>et al.</i> , 2002 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004 ; Balat <i>et al.</i> , 2007		Song <i>et al.</i> , 2006 ; Tian <i>et al.</i> , 2008			
Glomérules	Shenouda <i>et al.</i> , 2002 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004 ; Balat <i>et al.</i> , 2007			Adebiyi et al., 2014		
Tube collecteur	Shenouda <i>et al.</i> , 2002 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004		Song et al., 2006			
Prostate	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo et al., 2003			
Estomac	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo et al., 2003	Dubessy et al., 2008		
Intestin	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo et al., 2003	Dubessy et al., 2008		
Foie	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Wang <i>et al.</i> , 2011	Elshourbagy et al., 2002		
Autres tissu	15					
Thymus	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo et al., 2003	Coulouarn et al., 1999		
Rate	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy et al., 2002	Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy et al., 2002		
Poumons	Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004 ; Kristof <i>et al.</i> , 2010		Sugo <i>et al.</i> , 2003	Qi et al., 2004		
Muscles squelettiques		Elshourbagy et al., 2002		Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002 ; Dubessy <i>et al.</i> , 2008 ; Wang <i>et al.</i> , 2009		
Cellules immunitaires	Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Bousette <i>et al.</i> , 2004 ; Kristof <i>et al.</i> , 2010					

Tableau 9. Localisation centrale et périphérique de l'UII chez l'Homme, le Singe, le Rat et la Souris. Les références en noir sont issues de travaux ayant démontré la présence d'ARNm de l'UII ; les références en rouge rapportent la présence d'une immunoréactivité *UII-like*. UII : urotensine II.

2. Le récepteur de l'urotensine II

2.1 Découverte et structure

Initialement découvert à partir d'extraits de tissus sensoriels de rats (Tal *et al.*, 1995) et par l'analyse d'une banque de données génomiques (Marchese *et al.*, 1995), le récepteur de l'UII fut respectivement nommé dans le premier cas *sensory epithelium neuropeptide-like receptor* (SENR) et dans le second cas GPR14 selon la nomenclature en vigueur des récepteurs orphelins. Après désorphanisation du GPR14 comme RCPG de l'UII (Ames *et al.*, 1999 ; Liu *et al.*, 1999 ; Mori *et al.*, 1999 ; Nothacker *et al.*, 1999), ce récepteur fut renommé *urotensin-II receptor* ou UT par l'Union Internationale de la Pharmacologie de Base et Clinique (IUPHAR) (Douglas et Ohlstein, 2000).

Appartenant à la classe A des RCPG, l'UT possède à ce titre deux sites de N-glycosylation dans sa région N-terminale, un motif NLxxxD (où « x » est un résidu quelconque) dans son DTM2, ainsi qu'un pont disulfure entre les boucles extracellulaires e₁ et e₂. La structure de l'UT comporte aussi un motif d'interaction aux protéines G à la jonction du DTM3 et de la boucle intracellulaire i₂, et des sites potentiels de phosphorylation par des PKA, PKC et *glycogen synthetase kinases-3β* au niveau des boucles i₂ et i₃ (Marchese *et al.*, 1995 ; Tal *et al.*,1995 ; Proulx *et al.*, 2008). Des séquences présentes dans les DTM 3, 4 et 5 sont responsables de la formation d'une « poche » permettant la liaison du ligand (Sainsily *et al.*, 2013), et une séquence de localisation nucléaire présente sur la boucle i₃ induit l'adressage du récepteur dans le compartiment nucléaire (Doan *et al.*, 2011) (**Fig. 23**). Ce processus d'internalisation a été décrit pour plusieurs couples de ligands/récepteurs tels l'AngII/AT1 (Kule *et al.*, 2004), l'ET-1/ET_B (Wu-Wong *et al.*, 1995), la vasopressine/V₂ (Bowen-Pidgeon *et al.*, 2001) ou la thrombine/PAR-1 (Mirza *et al.*, 1996).

Introduction

Le système urotensinergique



Figure 23. Représentation schématique de la structure de l'UT. Les acides aminés représentés en orange sont les résidus hautement conservés au sein de la classe A des RCPG : deux sites de N-glycosylation dans la partie N-terminale extracellulaire, un motif NLxxxD dans le DTM2, un pont disulfure entre la 1^{ère} et la 2^{ème} boucle extracellulaire e₁ et e₂, un motif ERY d'interaction aux protéines G à la jonction entre le TDM3 et la boucle i₂, et un motif NPxxY dans le DTM7. L'UT présente également des sites de phosphorylation (en vert) et deux motifs polyprolines I et II (en jaune) dans sa portion C-terminale. Une séquence de localisation nucléaire a été identifiée dans la boucle i₃ (en rose). Extrait et adapté de la thèse de Jane-Eileen Joubert (2016). C-term : extrémité C-terminale ; DTM1-7 : domaines transmembranaires 1 à 7 ; e₁₋₃ : boucles extracellulaires 1 à 3 ; i₁₋₃ : boucles intracellulaires 1 à 3 ; N-term : extrémité N-terminale.

2.2 Localisation du récepteur UT

Se superposant en partie avec ce qui est observé avec l'UII, les ARNm codant l'UT sont présents à un niveau élevé dans le SNC, notamment dans le tronc cérébral et la moelle épinière (Totsune *et al.*, 2001 ; Maguire *et al.*, 2008 ; Doan *et al.*, 2011). En fonction des espèces étudiées, l'UT est peu exprimé dans le cortex, l'hippocampe et le thalamus. Il a également été retrouvé dans les cellules endothéliales des microvaisseaux cérébraux (Spinazzi *et al.*, 2006).

En périphérie, l'UT est fortement exprimé dans le système cardiovasculaire chez l'Homme, notamment dans le myocarde (Douglas *et al.*, 2002), les oreillettes (Leonard *et al.*,

Le système urotensinergique

2009), les ventricules (Totsune *et al.*, 2001), ou l'aorte thoracique (Leonard *et al.*, 2009). On le retrouve aussi en grande quantité dans le système endocrinien, en particulier dans les surrénales (Giuliani *et al.*, 2009), l'hypophyse (Totsune *et al.*, 2001) ou le pancréas (Douglas *et al.*, 2004). Les reins (Langham *et al.* 2004), les muscles squelettiques (Maguire *et al.*, 2008) et les cellules du système immunitaire (Segain *et al.*, 2007) expriment également ce récepteur (**Tab. 10**).

Tissus	Homme	Singe	Rat	Souris
Système ne	rveux central			
Cerveau		Nguyen et al., 2012	Clark <i>et al.</i> , 2001 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006 ; Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
Amygdale			Jégou <i>et al.</i> , 2006	
Bulbe olfactif			Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006	
Cortex	Maguire <i>et al.</i> , 2000 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001		Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006 ; Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
Hippocampe			Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
Hypothalamus	Totsune <i>et al.</i> , 2001		Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Lin <i>et al.</i> , 2003 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
Tronc cérébral	Totsune <i>et al.</i> , 2001		Lin et al., 2003 ; Jégou et al., 2006 ; Zhang et al., 2008 ; Nguyen et al., 2012	
Moelle épinière	Totsune <i>et al.</i> , 2001	Elshourbagy et al., 2002 ; Nguyen et al., 2012	Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006 ; Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	Liu et al., 1999
Cervelet			Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006 ; Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
Système car	rdiovasculaire			
Cœur	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Totsune <i>et al.</i> , 2003 ; Douglas <i>et al.</i> , 2004		Tzanidis <i>et al.</i> , 2003 ; Gong <i>et al.</i> , 2004 ; Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Doan <i>et al.</i> , 2011	Liu <i>et al.</i> , 1999 ; Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002
Myocarde	Douglas et al., 2002			
Oreillettes	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Matsushita <i>et al.</i> , 2001 ; Totsune <i>et al.</i> , 2003 ; Leonard <i>et al.</i> , 2009	Elshourbagy et al., 2002	Zhang <i>et al.</i> , 2007 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009	
Ventricules	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Maguire <i>et al.</i> , 2000 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001	Elshourbagy et al., 2002	Johns <i>et al.</i> , 2004 ; Zhang <i>et al.</i> , 2007c ; Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009	
Aorte thoracique	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Matsushita <i>et al.</i> , 2001 ; Leonard <i>et al.</i> , 2009	Elshourbagy et al., 2002	Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009	Elshourbagy et al., 2002
Artère basilaire			Porras-González <i>et al.</i> , 2014	
Le système urotensinergique

Système en	Système endocrinien										
Hypophyse	Totsune et al., 2001		Jégou et al., 2006								
Pancréas	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Douglas <i>et al.</i> , 2004	Elshourbagy et al., 2002; Nguyen et al., 2012	Nguyen et al., 2012	Elshourbagy et al., 2002							
Surrénales	Takahashi <i>et al.</i> , 2003 ; Morimoto <i>et al.</i> , 2008 ; Giuliani <i>et al.</i> , 2009	Nguyen et al., 2012	Albertin <i>et al.</i> , 2006 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012								
Testicules	Douglas et al., 2004		Gartlon et al., 2001								
Placenta	Totsune et al., 2001										
Système ur	o-génital et gastro-	intestinal	·								
Reins	Maguire <i>et al.</i> , 2000 ; Matsushita <i>et al.</i> , 2001 ; Totsune <i>et al.</i> , 2003 ; Langham <i>et al.</i> , 2004	Nguyen et al., 2012	Tian <i>et al.</i> , 2008 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009 ; Mori <i>et al.</i> , 2009 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	Adebiyi et al., 2014							
Vessie				Liu <i>et al.</i> , 1999 Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002							
Estomac		Elshourbagy et al., 2002									
Foie			Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Wang <i>et al.</i> , 2011 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012								
Autres tissu	IS										
Rate			Gartlon et al., 2001								
Poumons	Kristof et al., 2010	Elshourbagy et al., 2002	Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012								
Muscles squelettiques	Douglas <i>et al.</i> , 2004 ; Qi <i>et al.</i> , 2005 ; Maguire <i>et al.</i> , 2008	Nguyen et al., 2012	Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	Elshourbagy et al., 2002 ; Wang et al., 2009							
Cellules immunitaires	Bousette <i>et al.</i> , 2004 ; Segain <i>et al.</i> , 2007		Segain et al., 2007								

Tableau 10. Localisation centrale et périphérique du récepteur UT chez l'Homme, le Singe, le Rat et la Souris. Les ARNm codant l'UT sont présents dans le SNC, plus particulièrement dans le tronc cérébral et la moelle épinière. En périphérie, l'UT est majoritairement retrouvé dans le système cardiovasculaire et le système endocrinien, où il y exerce de nombreuses activités biologiques. SNC : système nerveux central ; UII : urotensine II ; UT : récepteur urotensinergique.

Le système urotensinergique

3. Rôles physiologiques et physiopathologiques du système urotensinergique

3.1 Effets physiologiques

En raison des niveaux élevés d'expression de l'UT relevés dans le système cardiovasculaire des mammifères, de nombreuses équipes ont recherché de potentielles activités vasoactives de l'UII. Il a ainsi été démontré que ce neuropeptide provoque une vasoconstriction dose-dépendante sur des anneaux désendothélialisés d'aorte de Rat (Chatenet al., 2004) ou d'Homme (Maguire et al., 2008). Actif dès les concentrations et infrananomolaires, l'UII est à ce jour considérée comme le peptide vasoactif naturel le plus puissant, dépassant largement les effets de l'AngII, de la vasopressine, ou de l'ET-1 (Douglas et al., 2000). Cette vasoconstriction est relayée par la voie PLC/PIP₂/IP₃ responsable de la mobilisation du calcium qui permet de recruter la calmoduline puis la myosin light chain kinase (MLCK), provoquant ainsi la contraction musculaire (Tasaki et al., 2004). Cet effet contractile peut également être sous-tendu par les voies PKC/ERK ou RhoA/ROCK (Russell et Molenaar, 2004) (Fig. 24.A). Administrée sur des artères pulmonaires humaines intactes, l'UII induit, à des concentrations encore plus faibles, une vasodilation via la libération de monoxyde d'azote (Stirrat et al., 2001; Bianca et al. 2012; Porras-González et al., 2014). Plus récemment, il a été montré que l'administration d'UII chez le Rat entraîne une augmentation transitoire de la pression artérielle lorsque l'apport en sodium est suffisant, et ce, avec une fonction rénale qui reste normale (Caroccia et al., 2017). Ces mêmes auteurs ont toutefois observé une augmentation progressive de la pression artérielle chez des animaux uni-néphrectomisés, l'UII apparaîssant impliquée dans la régulation de la synthèse de l'aldostérone, inhibant sa suppression normalement induite par la rénine lors d'un apport normal en sodium.

Le système urotensinergique

L'UII est par ailleurs connue pour stimuler la prolifération et l'hypertrophie cellulaires. Observé sur de nombreuses lignées issues de plusieurs espèces, notamment sur des cardiomyocytes de Rat, cet effet stimulant est relayé par la voie G α_q (Tzanidis *et al.*, 2003), la transactivation de l'EGFR (Onan *et al.*, 2004 ; Liu *et al.*, 2009a), la voie PI3K/Akt (Gruson *et al.*, 2010) ou la voie nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (ou NADPH) oxydase (Chao *et al.*, 2014). Chez le Rat, l'UII est aussi capable d'augmenter la prolifération de CML aortiques *via* la transactivaiton de l'EGFR (Tsai *et al.*, 2009), d'astrocytes *via* la voie PLC/[Ca²⁺]_c (Jarry *et al.*, 2010), ou de fibroblastes *via* la voie MAPK (Song *et al.*, 2012). Chez l'Homme, des effets mitogènes de l'UII ont été observés sur des CML pulmonaires (Djordjevic *et al.*, 2005 ; Diebold *et al.*, 2011) et sur des cellules endothéliales ombilicales (Lee *et al.*, 2014) (**Fig. 24.B**).

Depuis une décennie, un nombre croissant de publications rapportent que l'UII possède des propriétés chimioattractantes sur des cellules natives, par exemple sur des progéniteurs endothéliaux murins (Zhang *et al.*, 2011 ; Yi *et al.*, 2012) ou des monocytes humains (Segain *et al.*, 2007) (**Fig. 24.C**). Cet effet est également rapporté sur des lignées tumorales humaines issues de cancers prostatiques et colorectales *via* un mécanisme autocrine/paracrine de l'UII (Grieco *et al.*, 2010 ; Federico *et al.*, 2014), ou encore sur des lignées d'astrocytomes (Lecointre *et al.*, 2015). Les propriétés pro-mitogènes et pro-migratoires de l'UII, notamment sur les cellules endothéliales, suggèrent une implication du système urotensinergique dans la néoangiogenèse. De fait, il a été montré *in vitro*, sur des cellules endothéliales humaines, que l'UII induit l'expression de molécules d'adhésion (Cirillo *et al.*, 2008) et participe aux processus liés à l'angiogenèse (Diebold *et al.*, 2012) tels que la prolifération (Lee *et al.*, 2014), la migration cellulaire (Guidolin *et al.*, 2010) ou encore la tubulogenèse (Albertin *et al.*, 2009).





Figure 24. Représentation schématique des principales voies de signalisation associées au récepteur UT. A. Voies de transduction associées aux effets vasoactifs de l'UII. La vasoconstriction est relayée par la voie PLC/PIP₂/IP₃ responsable de la mobilisation du calcium qui permet de recruter la calmoduline puis la myosin light-chain kinase (MLCK), provoquant ainsi la contraction musculaire. **B.** Voies de transduction associées aux effets de l'UII sur la prolifération, la survie et l'hypertrophie cellulaires. Observées sur de nombreuses lignées issues de plusieurs espèces, cet effet stimulant est relayé par la voie $G\alpha_{\alpha}$, la transactivation de l'EGFR et la voie PI3K/Akt. C. Voies de transduction associées aux effets de l'UII sur la migration cellulaire. Depuis une décennie, un nombre important de publications rapportent que l'UII possède des propriétés chimioattractantes, relayées par la voie Rho/ROCK. Cet effet est également observé sur des lignées tumorales humaines issues de cancers prostatiques et colorectales via un mécanisme autocrine/paracrine de l'UII. AA : acide arachidonique ; Arg : arginine ; β -ARR : β -arrestine ; CaM : calmoduline ; COX : cyclooxygénase ; DAG : diacylglycérol ; EGFR : récepteur de l'EGF ; eNOS : endothelial nitric oxyde synthase ; ERK : extracellular signal-regulated kinase ; GC : guanylate cyclase ; GMPc : guanosine monophosphate cyclique ; IP_3 : inositol triphosphate ; MLCK : myosin light-chain kinase ; NO : monoxyde d'azote ; NOX : NADP oxydase ; PGE₂ : prostaglandine E₂ ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase; PIP₂: phosphatidylinositiol 4,5-biphosphate; PKC: protéine kinase C; PLA₂: phospholipase A₂; PLC : phospholipase C ; PTPN11 : tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11 ; Rho: ras homolog gene family; ROCK: rho-associated protein kinase; ROS: reactive oxygen species; UII: urotensine II; UT: récepteur urotensinergique.

Le système urotensinergique

Sur des cultures de CML humaines, l'UII provoque un remodelage vasculaire (Diebold *et al.*, 2011). Ces observations ont notamment donné lieu à d'intenses recherches dans le cadre de la compréhension du développement de pathologies cardiaques telles que l'athérosclérose ou l'hypertension artérielle (Chen *et al.*, 2008 ; Diebold *et al.*, 2011 ; Porras-González *et al.*, 2014) (**Tab. 11**).

Type cellulaire	Espèce	Principaux mécanismes / voies de signalisation	Références
Prolifération			
CMUN	Lapin	РКС, МАРК	Watanabe et al., 2001
CMLV	Rat	RhoA, ROCK	Sauzeau et al., 2001
CHO-UT	Hamster	Gα _{i/o} , PI3K, PLC, calmoduline, MEK, Ca ²⁺	Ziltener et al., 2002
Cellules épithéliales rénales	Porc	Ca ²⁺ , PKC, MAPK, ERK	Matsushita et al., 2003
CML des voies aériennes		PKC, MAPK, Ca ²⁺ , calcineurine	Chen et al., 2001
Fibroblastes cardiaques	-	Transactivation d'EGFR, ERK, ROS	Chen et al., 2008
Cellules tubulaires	Det	ROS, transactivation EGFR via HB-EGF	Sue et al., 2009
CML	Kat	Ca ²⁺ , CaMK, ERK, PKD	Iglewski et Grant, 2010
Précurseurs endothéliaux		ERK, p38 ^{MAPK}	Xu et al., 2012
CML and man since		ERK, TGFβ	Zhang et al., 2012
CML pulmonaires	LapinPKCRatRhoHamster Ga_{iJ} Hamster Ga_{iJ} lesPorc Ca^{24} PKCTranRatROSCa^{24}ERFHommeNOZHommeNOZRatPLCRatROSCa^{24}ROSHommeNOZPLCRatRatPLCRatROSHommePS8HommePS8RatTranP131ROSRatTranP131ROSRatROSHommePKASourisn.d.ItitéHommeHommePKASourisn.d.RatRhoMCMCKRatRatRhoMCMCKRatRatRhoMCMCKRatRatRhoMCMCKRatRatPKOKRatRatPKOKRatRatPKOKRatRatPKOKRatRatPKOKRatRatPKOKRatRatPKOKRatRatPKOKRatRatPKOKRatRatPKOK </td <td>NOX4, ROS, Fox3, JNK, MMP-2</td> <td>Diebold et al., 2011</td>	NOX4, ROS, Fox3, JNK, MMP-2	Diebold et al., 2011
Astrocytes		PLC, Ca^{2+} , IP_3 , $G\alpha_{i/o}$	Jarry et al., 2010
Fibroblastes	Rat	MAPK, expression de VEGF, production de collagène	Zhang et al., 2008 ;
CML aortiques		ROS, transactivation d'EGFR	Zhang <i>et al.</i> , 2007c ; Hirose <i>et al.</i> , 2009
Cellules endothéliales ombilicales	Homme	p38 ^{MAPK} , ERK	Lee et al., 2014
CML	Homme	ERK, ROS	Kim et al., 2017
Précurseurs cardiaques	а :	Inhibition via JNK	Chen et al., 2013
Cellules glomérulaires	Souris	Ca ²⁺ , CaMKII, AMPc, CREB	Soni et Adebiyi, 2017
Survie			
CMLV	D	Transactivation d'EGFR via β-arrestine	Esposito et al., 2011
Cardiomyocytes	Rat	PI3K, ERK	Chen et al., 2012
Hypertrophie			·
		$G\alpha_{q}$, Ras	Tzanidis et al., 2003
Cardiomyocytes-UT		Transactivation d'EGFR via HB-EGF, ERK, p38 ^{MAPK}	Onan et al., 2004
	Rat	ROS, transactivation d'EGFR	Liu et al., 2009b
		PI3K, Akt, GSK-3β	Gruson et al., 2010
Cardiomyocytes		ROS, NADPH oxydase, Akt, PTEN	Chao et al., 2014
	Homme	PKA, AMPc, Ca ²⁺	Johns et al., 2004
	Souris	n.d.	Oh et al., 2017
Migration et motilité			
		RhoA, ROCK	Segain <i>et al.</i> , 2007
Monocytes	Homme	MCP-1, TGF-β	Huang et al., 2017
Progéniteurs endothéliaux	Rat	RhoA, ROCK	Xu et al., 2009
CML vasculaires	Homme	MEK	Matsusaka et Wakabayashi, 2006
Fibroblastes vasculaires	Det	PKC, ROCK, MAPK	Zhang et al., 2011
Progéniteurs endothéliaux	Kat	n.d.	Yi et al., 2012

Le système urotensinergique

Angiogenèse			
Angiogenese		Perméabilité vasculaire	Gendron et al., 2004
	D (Tubulogenèse, angiogenèse	Spinazzi et al., 2006
	Rat	Migration via RhoA, ROCK	Xu et al., 2009
		Migration via ERK, p38 ^{MAPK} , ERK1/2	Xu et al., 2012
Cellules endothéliales		Libération d'ADM, MAPK, p38 ^{MAPK}	Shi et al., 2005
		Expression de molécules d'adhésion, RhoA	Cirillo et al., 2008
Cellules endothéliales CML		Prolifération, tubulogenèse	Albertin et al., 2009
	Homme	Migration, tubulogenèse, PLC, PKC, PI3K, ERK1/2, FAK	Guidolin et al., 2010
		Expression VEGF, ET-1, ADM	Albertin et al., 2011
		Tubulogenèse, angiogenèse, HIF-1, ROS, NOX2	Diebold et al., 2012
		Prolifération, libération IL-8, p38 ^{MAPK} , ERK	Lee et al., 2014
		TEM	Zhang et al., 2017
	Lapin	Prolifération, Gα _q , PKC, MAPK	Watanabe et al., 2001
CML	Souris	Remodelage vasculaire, ROS, transactivation EGFR	Papadopoulos et al., 2008
	Dat	Prolifération, contractilité, RhoA	Sauzeau et al., 2001
	Kat	Prolifération, expression ET-1	Tsai et al., 2009
		Prolifération, remodelage vasculaire, FoxO3, MMP-2	Diebold et al., 2011
		Prolifération par l'augmentation de [Ca ²⁺]c, AMPc et CREB	Rodríguez-Moyano et al., 2011
		Inflammation <i>via</i> ERK, IL-1 β et \downarrow ABCA-1	Kim et al., 2017
	Homme	Migration PhoA POCK	Segain et al., 2007
Monocytes / Macrophages		Wigrauoli, KloA, KOCK	Loirand et al., 2008
		Activation, expression ACAT-1, PKC, MEK, ROCK	Watanabe et al., 2005
		VCAM-1, IL-1β, IL-6	Park et al., 2013
		Prolifération, transactivation EGFR, ERK, ROS	Chen et al., 2008
		Production de collagène, ERK1/2	Dai et al., 2011
		Sécrétion TGF-β	Zhang et al., 2009
Fibroblastes vasculaires	Rat	Migration, PKC, ROCK, calcineurine, MAPK	Zhang et al., 2011
		Sécrétion VEGF, AngII, MAPK	Song <i>et al.</i> , 2012
		Expression MCP-1, Rho, MAPK, Ca ²⁺	Zhang et al., 2014
CML Monocytes / Macrophages Fibroblastes vasculaires		Expression ADL via MAPK, Rho, PKC, Ca ²⁺	Li <i>et al.</i> , 2017a

Tableau 11. Voies de transduction associées à l'activation du récepteur UT et impliquées dans les effets mitogènes, hypertrophiques, pro-migratoires et/ou angiogéniques de l'UII. ABCA-1 : ATPbinding cassette 1; ACAT-1: acétyl-CoA acétyltransférase de type 1; ADL: aldostérone; ADM : adrénomédulline ; Akt : protéine kinase B ; AngII : angiotensine II ; CaMK : calmoduline kinase ; CaMKII : calmoduline kinase II ; CHO-UT : lignée chinese hamster ovary transfectée avec la forme humaine du récepteur UT ; CML : cellule musculaire lisse ; CMLV : cellule musculaire lisse vasculaire ; EGFR : récepteur de l'EGF ; ERK1/2 : extracellular signal-regulated kinases 1/2 ; ET-1 : endothéline-1 ; FAK : focal adhesion kinase ; FoxO3 : forkhead box O3 ; GSK-3 β : glycogen synthetase kinase 3β ; HB-EGF : heparin-binding EGF ; HIF-1 : hypoxia-inducible factor-1 ; IL-1 β , 6,8 : interleukine-1 β , -6 ou -8 ; IP₃ : inositol triphosphate ; JNK : *c-Jun N-terminal kinase* ; MAPK : mitogen-activated protein kinase ; MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1 ; MEK : MAPK kinase ; MLC : myosin light chain ; MLCK : myosin light chain kinase ; MMP-2 : métalloprotéase matricielle de type 2 ; NOX2 : NADPH oxydase de type 2 ; p38^{MAPK} : *mitogen*activated protein kinase p38; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; PKC : protéine kinase C ; PKD : protéine kinase D ; PLC : phospholipase C ; PTEN : phosphatase and tensin homolog ; ROCK : rho-associated protein kinase ; ROS : reactive oxygen species ; TEM : transition épithéliomésenchymateuse ; TGF- β : transforming growth factor- β ; VCAM-1 : vascullar cell adhesion *molecule-1* ; VEGF : *vascular endothelial growth factor*. n.d. : non précisé / non observé.

Le système urotensinergique

3.2 Effets sur le développement tumoral

En 2001, Takahashi et coll. montrent que le récepteur UT est exprimé dans de nombreuses lignées tumorales, notamment issues de glioblastomes, de neuroblastomes, de cancers colorectaux, de la corticosurrénale, de l'utérus et du chorion (membrane extérieure de l'embryon). La présence du récepteur est également retrouvée dans des extraits tumoraux de patients, dans la zone périnécrotique de gliomes (Lecointre *et al.*, 2015), de neuroblastomes (Takahashi *et al.*, 2003), de foie (Yu *et al.*, 2014b ; Wei *et al.*, 2017), de colon (Federico *et al.*, 2014), mais aussi au niveau de cellules endothéliales et de CMLV péritumorales dans le cancer pulmonaire (Kristof *et al.*, 2010) et au niveau de la veine porte dans le cancer hépatique (Wei *et al.*, 2017).

Ces observations, en grande partie récentes, plaident en faveur d'un rôle du système urotensinergique dans l'induction et/ou le développement de tumeurs. En accord avec cette hypothèse, il a été démontré que l'UII, à très faibles concentrations/doses, stimule *in vitro* et *in vivo* la prolifération de cellules A549 (lignée tumorale humaine pulmonaire non à petites cellules) (Wu *et al.*, 2010). Ce même constat est rapporté sur la lignée WB-F344 (lignée tumorale humaine hépatique) où l'activation de l'UT est responsable de l'accélération de la transition de la phase G1 à la phase S et de l'augmentation de l'expression de la cycline E et de la *cyclin-dependent kinase 2* (CDK2) (Yu *et al.*, 2015b). Plusieurs autres équipes ont mis en évidence une activité pro-mitogène de l'UII, notamment dans les carcinomes rénaux et corticosurrénaliens (Takahashi *et al.*, 2003), de la vessie (Franco *et al.*, 2014) et du colon (Federico *et al.*, 2014).

Par ailleurs, il a été montré que l'UII favorise la migration de cellules tumorales *via* le recrutement de la voie RhoA/ROCK et participe au remodelage cellulaire, notamment sur des lignées humaines d'astrocytomes (SW1088) et de glioblastomes (U87-MG) (Lecointre *et al.*,

Le système urotensinergique

2015 ; Castel *et al.*, 2017). Cet effet pro-migratoire a également été observé sur d'autres lignées, issues d'adénocarcinomes de la prostate (Grieco *et al.*, 2010), colorectaux (Federico *et al.*, 2014) et hépatiques (Li *et al.*, 2017b ; Wei *et al.*, 2017). Par ailleurs, une étude réalisée au sein de l'équipe « Astrocyte et Niche Vasculaire», a montré que l'activation de l'UT sur les cellules U87-MG inhibe la biogenèse des autophagosomes, favorisant ainsi la formation de complexes d'adhésion et la migration cellulaire (Coly *et al.*, 2016). Enfin, l'UT est présent au niveau de CMLV péritumorales, et son activation serait liée à l'infiltration de macrophages (Zhou *et al.*, 2012) et au remodelage vasculaire au travers de cellules endothéliales au sein de tumeurs pulmonaires (Lee *et al.*, 2016), confirmant le rôle important du système urotensinergique dans la néoangiogenèse tumorale (**Tab. 12**).

Le système urotensinergique

Tissus ou lignées	Origine tumorale	Processus	Commentaire (effecteurs, processus impliqués, etc.)	Référence		
SW1783		Expression 1	Hout niveou d'expression d'UT			
SW1088	Astrocytome	Migration ↑ Remodelage cellulaire	Rho, ROCK Polymérisation de l'actine et formation de lamellipodes, formation et	Lecointre et al., 2015		
T98G			maturation des adhesions locales	Takahashi <i>et al</i> 2001		
Echantillons tumoraux			Zones périnécrotiques et périvasculaires	Takanasin et ut., 2001		
U87-MG			Zones permeetonques et perivaseulaites			
8-MG		Expression ↑		Lecointre et al., 2015		
42-MG	Glioblastome		n.d.			
GL15						
Primaire		Prolifération ↑	n.d.	Takahashi et al., 2001		
U87-MG		Migration ↑	Rho, ROCK	Lecointre et al., 2015		
IMR-22	NT 11 /			Takahashi et al., 2001		
Echantillons tumoraux	Neuroblastome		Niveau d'expression d'UT eleve	Takahashi et al., 2003		
Echantillons tumoraux		Expression \uparrow		Kristof et al. 2010		
CMLV péritumorales			Niveau d'expression d'UT élevé	Kiistoi <i>ei ai.</i> , 2010		
A549	Poumon	Prolifération ↑	Wu et al., 2010			
Macrophages		Infiltration \uparrow	↑ TNFα, IL-6, MMP-9, NF-κB	Zhou et al., 2012		
Cellules endothéliales		Remodelage vasculaire	↑ ΤΝFα, ΝF-κΒ	Lee et al, 2016		
Echantillons tumoraux	Sein	Expression \uparrow	Corrélation entre l'expression l'UT et de l'UII	Balakan et al., 2014		
Veine porte (péritumoral)						
Echantillons tumoraux				Wei et al., 2017		
BEL-7402		Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé			
MHCC-97H		1 ·				
Echantillons tumoraux				Yu et al., 2014b		
BEL-7402						
Echantilions tumoraux	.		n.d.	Wei et al., 2017		
MHCC-97H DEL 7402	Fote	Migration ↑	MMD 2 DOS NADDH INV			
DEL-7402 HenG2			MMP-2, KOS, NADPH, JNK	Listal 2016		
перог		Prolifération 1	n d	Li ei ui., 2010		
BEL-7402		Tomeration	PKC, ERK, p38 ^{MAPK}	Yu <i>et al.</i> , 2014b		
WB-F344		Prolifération ↑	NADPH, ROS, NOX2, accélération de la transition G1/S et augmentation de l'expression de la cycline E/CDK2	Yu <i>et al.</i> , 2015b		
BEL-7402		Motilité ↑	Polymérisation de l'actine, fascine	Li et al., 2016		
DLD-1				Takahashi et al., 2001		
LoVo						
HT-29			Niveau d'expression d'UT élevé			
SW620			Niveau a expression a off cieve			
CoLo		Expression 1				
WIDR		Expression				
Echantillons tumoraux	Colon		Inversement proportionnelle avec le grade tumoral ARNm peu exprimés dans les adénomes mais très exprimés dans les adénocarcinomes	Federico et al., 2014		
HT-29						
LoVo		Prolifération ↑	A faible concentration (10 nM), mais			
WIDR	1		minimized a naute concentration (1 μ M)			

Le système urotensinergique

HT-29	Colon	Migration 1	nd	Federico <i>et al.</i> 2014		
WIDR	Colon	Ivingration	11.4.	1 cdefieo er ui., 2014		
Echantillons tumoraux			Inversement proportionnelle avec le grade tumoral			
RT112		Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé			
T24	_					
Echantillons tumoraux		Expression \approx	Niveau d'expression d'UT modéré			
T24				5		
RT112	Vessie	Prolifération ↑		Franco <i>et al.</i> , 2014		
HT-1376						
T24	Vessie Vessie Rein Corticosurrénale Médullosurrénale Prostate	Motilitá ↑	n.d.			
RT112		Would be				
T24		Invesion 1				
RT112		Invasion				
VMRC-RCW	Rein Corticosurrénale Médullosurrénale	Prolifération ↑	Prolifération à faibles concentrations, cytotoxique à fortes concentrations	Takahashi et al., 2003		
Echantillons tumoraux		Expression 1	Niveeu d'expression d'UT élevé	Shenouda et al., 2002		
SW 12		Expression	Niveau d'expression d'OT eleve	Takahashi et al., 2001		
SW-15	Corticosurrénale	Prolifération ↑	n.d.			
Echaptillons tumoroux				Takahashi et al., 2003		
Echantinons tumoraux	Médullosurrénale	Expression \uparrow	Niveau d'expression d'UT élevé			
		Expression ↑ Niveau d'expression d'UT élevé Prolifération ↑ n.d. ale Expression ↑ Niveau d'expression d'UT élevé				
LNCaP		Migration ↑	FAK, $\alpha_V \beta_3$			
		Invasion ↑	Ras, RhoA, ROCK			
DU145	Drostata	Expression \approx		Crisco et al. 2010		
D0145	Prostate	Migration \approx	Faihla niveau d'avanasion d'UT	Grieco <i>et al.</i> , 2010		
DC 2		Expression \approx	Faible niveau d'expression d'OT			
PC-3		Migration \approx				
Echantillons tumoraux	1		Corrélation avec le grade tumoral	1		
HeLa	Endomètre	Expression ↑	Nimmed damages in datum (1-1 /	Talashashi yan 2001		
BeWo	Chorion		Niveau d'expression d'UT eleve	1 akanasni <i>et al.</i> , 2001		

Tableau 12. Implication du système urotensinergique dans la tumorigenèse. Ce tableau récapitule les données disponibles de la littérature montrant l'expression du récepteur UT et l'implication du système urotensinergique dans la modulation de processus de prolifération, migration et angiogenèse dans plusieurs cancers solides. Les caractéristiques des lignées cellulaires citées sont disponibles dans la liste des lignées cellulaires. CDK2 : *cyclin dependant kinase* 2 ; CMLV : cellule musculaire lisse vasculaire ; ERK : *extracellular signal-regulated kinase* ; FAK : *focal adhesion kinase* ; IL-6 : interleukine-6 ; JNK : *c-Jun N-terminal kinase* ; MAPK : *mitogen-activated protein kinase* ; MMP-2,9 : métalloprotéase matricielle de type 2 ou 9 ; NADPH : nicotine adénine dinucléotide phosphate ; NOX2 : NADPH oxydase de type 2 ; NF- κ B : *nuclear factor* κ B ; p38^{MAPK} : *mitogen-activated protein kinase* p38 ; PKC : protéine kinase C ; ROCK : *rho-associated protein kinase* ; ROS : *reactive oxygen species* ; TNF α : *tumor necrosis* α ; UII : urotensine II ; UT : récepteur urotensinergique. \uparrow : augmentation ; \downarrow : diminution ; n.d. : non déterminé.

3.3 Pharmacologie du récepteur UT

Les puissants effets vasoactifs du système urotensinergique ont conduit plusieurs laboratoires à développer des analogues (agonistes ou antagonistes) de l'UT pour essayer de les exploiter dans le traitement de pathologies cardiovasculaires, comme l'hypertension artérielle, les troubles du rythme ou encore l'insuffisance cardiaque. Dans un premier temps, les travaux se sont focalisés sur la caractérisation de la séquence minimale biologiquement active des deux ligands naturels de l'UT, *i.e.* l'UII et l'URP. La substitution de la Cys⁵ par une alanine conduit à la destruction du cycle et entraîne la perte fonctionnelle, confirmant l'importance de la portion cyclique dans les deux peptides (Labarrère et al., 2003 ; Chatenet et al., 2004 ; Guerrini et al., 2005). De fait, le maintien de cette structure par une liaison alanyl-alanyl à la place des résidus Cys permet de conserver les propriétés agonistes des analogues (Foister et al., 2006). En 2002, Grieco et coll. ont montré que l'échange de la Cys⁵ par une pénicillamine (Pen) génère un « super agoniste », *i.e.* un composé avec une affinité supérieure au ligand naturel. D'autres études ont d'ailleurs montré que le motif Phe6/3-Lys8/5-Tyr9/6 est essentiel pour l'activité biologique de l'UII et de l'URP et que la substitution du Trp^{7/4} par son énantiomère n'a aucun impact sur cette dernière (Flohr et al., 2002 ; Brkovic et al., 2003 ; Labarrère et al., 2003 ; Chatenet et al., 2004 ; Guerrini et al., 2005).

D'autres groupes se sont penchés sur les portions C- et N-terminales en dehors du cycle, soit les résidus Glu¹-Asp⁴ et Val¹¹, respectivement. De manière intéressante, le remplacement des quatre premiers acides aminés par un résidu Ala ne modifie pas les propriétés biologiques de l'UII (Flohr *et al.*, 2002 ; Kinney *et al.*, 2002 ; Labarrère *et al.*, 2003), tandis que le remplacement de la Val¹¹ par une D-Val divise par deux sa puissance contractile, indiquant l'importance de l'orientation de la partie N-terminale pour son activité biologique (Kinney *et al.*, 2002 ; Labarrère *et al.*, 2003).

Le système urotensinergique

Une meilleure compréhension des modalités fonctionelles de l'UII et de l'URP a permis de développer des antagonistes (peptidiques ou non) de l'UT. Les premiers analogues testés ont été obtenus par la substitution de la Lys^{5/8} par une ornithine, dont la chaîne latérale est légèrement plus courte, ce qui a pour conséquence d'agir sur le site d'occupation du récepteur (Vergura *et al.*, 2004 ; Guerrini *et al.*, 2005). L'[Orn⁸]-UII se comporte à la fois comme un antagoniste, notamment sur la contraction d'anneaux aortiques, et comme un agoniste puisqu'il peut induire la mobilisation du calcium intracellulaire sur des cellules exprimant l'UT, faisant de cet analogue un agoniste biaisé (Camarda *et al.*, 2002). Fait intéressant, l'[Orn³]-URP conserve une activité antagoniste sur l'UT de Rat (Diallo *et al.*, 2008) alors qu'il exerce une activité d'agoniste partiel chez l'Homme (Desrues *et al.*, 2012).

Sur la base de ces travaux, l'analogue [Pen⁵, D-Phe⁷, Orn⁸]-UII₄₋₁₁, ou urantide, a été développé (Patacchini *et al.*, 2003). Ce peptide agit comme un puissant antagoniste sur des modèles aortiques de rats (Camarda *et al.*, 2004), mais comme un agoniste partiel sur des cellules HEK-293 exprimant le récepteur UT, notamment sur la mobilisation calcique *via* la sous-unité $G\alpha_q$, ainsi qu'au travers de $G\alpha_o$, $G\alpha_i$, $G\alpha_{13}$ et l'AMPc (Brulé *et al.*, 2014). Sur ces mêmes cellules, les auteurs ont observé que l'urantide n'est pas capable d'induire le recrutement de la β -ARR 2, nécessaire à l'internalisation du complexe ligand-récepteur. Enfin, l'urantide réduit la motilité et l'invasion de cellules LNCaP (cellules tumorales humaines issues d'un adénocarcinome de prostate) (Grieco *et al.*, 2010), et retarde la croissance de xénogreffes tumorales de cellules U87-MG (cellules tumorales humaines issues d'un glioblastome) en altérant la néoangiogenèse et le remodelage vasculaire (Le Joncour *et al.*, soumis) (**Tab. 13**).

Le système urotensinergique

Composés		Espèce	Madèla angénéra antal	Déféneres			
Nom	Activité	cible	Modele experimental	Keierences			
		Р	eptidique				
[Pen ⁵]UII ₄₋₁₁ (P5U)	Agoniste	Rat	Contraction d'aorte	Carotenuto et al., 2014			
	A	Homme	Mahilianian addisor				
[Orn ⁸]UII	Agoniste		Mobilisation calcique	Camarda et al., 2002			
	omposés Espèce cible Mo Activité Espèce cible Mo Peptidique P Agoniste Rat Mo Agoniste Homme M Antagoniste Agoniste M P Antagoniste M App Agoniste M Agoniste Rat M RP Antagoniste M Antagoniste Momme M RP Agoniste Mo Antagoniste Homme M P Agoniste Mo Antagoniste Homme M Agoniste Homme Modil P Antagoniste Modil Antagoniste Rat Modil Mogeniste Homme Modil Mogeniste Rat Phosp Souris Example S Mo Souris Example Mo Souris Example Mo Souris Example Modil Singe Contra Mo Souris Example Matagoniste Singe Contra Matagoniste Singe Contra	Contraction d'aorte					
	Agoniste			Chatenet et al., 2004			
[Orn ⁵]URP	Antagoniste		Mobilisation calcique				
	8	Rat	Contraction d'aorte	Diallo <i>et al.</i> , 2008			
	Agoniste		Mobilisation calcique	-			
[D-Phe ⁴]URP	Antagoniste		Contraction d'aorte				
				Chatenet <i>et al.</i> , 2004			
[D-Phe ⁶]URP	Agoniste		Espèce cibleModèle expérimentalHRatContraction d'aorteCarotHommeMobilisation calciqueArratHommeContraction d'aorteCarotMobilisation calciqueCarotMobilisation calciqueCarotMobilisation calciqueDiaMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueGaratMobilisation calciqueGaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratHommeMobilisation calciqueHommeContraction d'arte ERKMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCaratMobilisation calciqueCara	Diallo <i>et al.</i> , 2008			
	Antagoniste	tagoniste Contraction d'aorte Chaten .goniste Homme Mobilisation calcique Camare .goniste Chat Contraction d'aorte et d'artère fémorale Brulé Singe Contraction d'aorte et d'artère srénales Behm Homme Motilité et invasion de LNCaP Grieco Homme Internalisation sur HEK-293 Brulé		Chatenet <i>et al.</i> , 2004			
		Homme	Mobilisation calcique	Camarda <i>et al.</i> , 2006			
	Agoniste	Chat	Contraction d'aorte et d'artère fémorale	Brule <i>et al.</i> , 2014			
		Singe	Contraction d'artères rénales	Behm et al., 2006			
		Singe	Motilité et invasion de L'NCaP	Grieco <i>et al</i> 2011			
	Antagoniste	Homme	Internalisation sur HEK-293	Brulé <i>et al.</i> , 2014			
[Pen ⁵ , D-Phe ⁷ , Orn ⁸]UII ₄₋₁₁		Rat	Contraction d'aorte	Behm <i>et al.</i> , 2006			
(urantida)			Sécrétion de TGF-β	Dai et al., 2007			
(urantide)			Mobilisation calcique	Camarda et al., 2004			
			Phosphorylation d'Akt et ERK	Chen et al., 2012			
			Sécrétion d'insuline	Marco et al., 2008			
			Synthèse et sécrétion de collagène	Zhang et al., 2008			
			Hypertrophie de cardiomyocytes	Esposito et al., 2011			
		Lapin	Rigidité des muscles papillaires du mvocarde	Fontes-Sousa et al., 2007			
	Agoniste			Camarda et al., 2004			
		Homme	Mobilisation calcique				
			Contraction d'agenta	Comordo et al. 2006			
[Pen ⁵ , D-Phe ⁷ , Dab ⁸]UII ₄₋₁₁			Contraction d'aorie	Camarda <i>et ut.</i> , 2000			
(UFP-803)	Antagoniste	Rat	Mobilisation calcique				
			Sécrétion de neurotransmetteurs (dopamine, glutamate, sérotonine et	Ono et al., 2008			
			histamine)				
		Souris	Extravasation de plasma	Camarda et al., 2006			
	Agoniste	Singe	mésentériques	Behm et al., 2006			
		Ū	Formation d'IP ₃	Behm et al., 2004			
			Contraction d'aorte	Behm et al., 2006			
SB-710411			Formation d'IP ₃	Behm et al., 2004			
	Antagoniste	Rat	Prolifération de cellules hépatiques				
			Fibrose hépatique	Liu <i>et al.</i> , 2009a			
			Sécrétion TGF-β				
		Chat	Contraction de l'artère fémorale	Behm et al., 2006			

Le système urotensinergique

	Agoniste	Rat	Contraction d'aorte			
GSK-248451		Singe	Contraction d'artères rénales et mésentériques	Behm <i>et al</i> 2006		
0.0011 2 10 10 1	Antagoniste	Rat	Contraction d'aorte	Benni er un, 2000		
		Chat	Contraction d'aorte et d'artère fémorale			
Urocontrine	Antagoniste	Rat	Contraction d'aorte	Chatenet et al., 2012		
		Nor	1-peptidique			
GSK1562590		Homme Chat	Contraction d'artère fémorale et d'aorte thoracique	Behm et al., 2010		
	-		Mobilisation calcique			
			Phosphorylation de MAPK	Clozel et al., 2006		
		Homme	Excrétion urinaire d'albumine	Sidharta et al., 2006		
				Spinazzi et al., 2006		
ACT-058363			Angiogenèse	Albertin et al., 2009		
(Palosuran)		Rat	↑ flux sanguin rénal	Clozel et al., 2006		
			Excrétion de sodium	Trebicka et al., 2008		
			Fibrose pulmonaire	Onat et al., 2012		
			Hypertension artérielle pulmonaire	Onat et al., 2013		
	Antagonista		Contraction d'aorte	Clozel et al., 2004		
	Antagomste	Homme				
		Singe	Mobilisation calcique			
SB-706375		Rat		Douglas et al., 2005		
		Kat	Contraction d'aorte			
		Souris	Mobilisation calcique			
			\downarrow pression diastolique et systolique			
			Œdème pulmonaire	Bousette at al. 2006a		
			Hypertrophie de cardiomyocytes	Bousette et ut., 2000a		
SB-611812		Rat	Dilation ventriculaire			
			Prolifération de fibroblastes			
			Fibrose myocardique	Bousette et al., 2006b		
			Expression de collagène			

Tableau 13. Principaux agonistes et antagonistes du récepteur UT. Les puissants effets vasoactifs du système urotensinergique ont encouragé plusieurs équipes de recherche à développer des agonistes ou antagonistes de l'UT pour les exploiter dans le traitement de pathologies cardiovasculaires, e.g. hypertension artérielle, troubles du rythme et/ou insuffisances cardiaques. Ces analogues peuvent aussi être mis à profit dans le développement de radioligands ciblant l'UT. Akt : protéine kinase B ; Dab : acide 2,4-diaminobutyrique; ERK : extracellular signal-regulated kinase ; IP3 : inositol triphosphate ; MAPK : mitogen-activated protein kinase ; TGF- β : transforming growth factor- β ; UT : récepteur urotensinergique.

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

CHAPITRE III : modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

1. Développement d'un radioligand

1.1 Généralités

Depuis plusieurs années, des ligands naturels radiomarqués de RCPG (ou leurs dérivés synthétiques) suscitent un grand intérêt en clinique, principalement en médecine nucléaire, pour le diagnostic et le traitement de certains cancers (Charron *et al.*, 2016; Okarvi et Maecke, 2016). Les RCPG constituent des cibles moléculaires de choix puisque l'interaction avec leur ligand entraîne l'internalisation du complexe ligand-récepteur. Ce processus permet une rétention suffisante de la radioactivité au sein des cellules tumorales surexprimant les RCPG pour les détecter et/ou entraîner leur mort (Reubi, 2003 ; Hillyar *et al.*, 2014 ; Pae et Pooga, 2014). Faisant écho à des données déjà évoquées (*cf* chapitre I-3.4), il convient de préciser que cette stratégie, longtemps considérée comme indispensable au développement de radioligand, peut être contournée par le développement de certains antagonistes radiomarqués, qui peuvent offrir l'avantage d'avoir une plus forte accessibilité et une dissociation plus lente pour leur(s) récepteur(s) (Ginj *et al.*, 2006 ; Fani *et al.*, 2017) (**Fig. 25**).

L'autre composante fondamentale pour le développement de radioligands repose sur la combinaison *i*) d'une faible expression et une densité limitée du RCPG ciblé en conditions physiologiques dans l'ensemble des organes et *ii*) d'une surexpression et haute densité de ces récepteurs dans les cellules tumorales (Mariani *et al.*, 2006 ; Dorsam et Gutkind, 2007 ; Okarvi

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

et Maecke, 2016). Le premier radioligand a obtenir une autorisation de mise sur le marché cible le récepteur sst₂, mais de nombreuses équipes de recherche ont développé des outils pour le



Figure 25. Représentation schématique de l'internalisation du complexe ligand-récepteur exploitée en médecine nucléaire dans le cas d'un ligand radiomarqué. La fixation d'un radioligand sur un RCPG (1) entraîne sa phosphorylation par les GRK (2), responsable du recrutement des β -ARR (3). L'assemblage du manteau de clathrine à la membrane grâce à la formation de complexes clathrine/AP-2 (4) et la fission membranaire dynamine dépendante (5) permettent l'internalisation du complexe ligand-récepteur (6). Ce processus favorise une rétention suffisante de la radioactivité au sein des cellules tumorales surexprimant des RCPG pour les détecter et/ou entraîner leur mort par dénaturation de l'ADN. AP-2 : *adaptor protein-2* ; β -ARR : β -arrestine ; GRK : *G-protein coupled receptor kinase* ; GTP : guanosine triphosphate.

diagnostic et la thérapie de cancers solides surexprimant d'autres RCPG (cf chapitre I.3).

Les caractéristiques attendues des ligands naturels ou synthétiques pour le développement de radioligands sont résumées dans le **tableau 14**. Brièvement, ils doivent atteindre rapidement et lier sélectivement leur cible d'intérêt, s'accumuler au niveau tumoral, avoir une haute stabilité *in vivo*, tout en présentant une clairance et élimination relativement rapide par les urines (Okarvi et Maecke, 2016). Bien que les facteurs qui influencent les

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

caractéristiques pharmacocinétiques d'un radioligand soient encore relativement mal connus, il s'avère que la taille, la charge et la lipophilicité de la molécule aient un impact significatif sur la visualisation de la cible (Hofmann *et al.*, 2015 ; Marcu *et al.*, 2018).

Principales caractéristiques attendues d'un radioligand
Faible poids moléculaire
Synthèse chimique rapide et aisée
Structure bien caractérisée
Facilement radiomarquable
Flexible aux modifications moléculaires
Tolérant aux conditions rudes de radiomarquage
Propriétés pharmacocinétiques favorables
Haute sélectivité pour la cible moléculaire
Haute pénétration tumorale
Faible accumulation dans les tissus sains
Clairance rapide de l'organisme
Haute affinité de liaison pour le récepteur
Faible toxicité
Possibilité d'y greffer un chélateur
Distribution spécifique in vivo

Tableau 14. Caractéristiques essentielles au développement de radioligands. Pour être exploités en médecine nucléaire, les radioligands doivent répondre à plusieurs critères pharmacologiques essentiels, notamment un faible poids moléculaire, un radiomarquage aisé, une haute sélectivité pour la cible endogène et présenter une faible toxicité. D'après Okarvi et Maecke, 2018.

1.2. Radiomarquage

1.2.1 Choix du radioisotope

Il existe deux principales méthodes de marquage en médecine nucléaire : la méthode directe où l'isotope radioactif est fixé au vecteur et la méthode indirecte qui utilise un chélateur bifonctionnel, capable de lier le ligand et le radioisotope. Dans les deux cas, le protocole de radiomarquage doit être simple (une ou deux étapes maximum) et rapide (en adéquation avec la demi-vie du radioisotope utilisé), et une pureté radiochimique supérieure à 90% est visée (Fani *et al.*, 2012).

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

La sélection du radioisotope pour le développement d'un radioligand dépend essentiellement du type de rayonnement, lui-même est fonction de son utilisation. Pour le diagnostic, les radioisotopes les plus employés émettent des rayonnements gamma (γ) et des positons (β^+). Les rayonnements γ sont des ondes électromagnétiques très pénétrantes et d'énergies très variables (Schibli et Schubiger, 2010) tandis que les β^+ parcourent quelques µm voire quelques mm, et produisent deux photons d'annihiliation de 511 keV chacuns, qui sont perçus par des détecteurs situées autour du sujet (Griffiths, 2008 ; Treglia *et al.*, 2012). Pour la thérapie, les rayonnements les plus utilisés sont les électrons (β^-) et les particules alpha (α), ces dernières étant en pleine émergence (Kratochwil *et al.*, 2014 ; Lacoeuille *et al.*, 2018).

La demi-vie d'un radioisotope doit être suffisamment *i*) longue pour lui permettre d'atteindre sa cible et *ii*) courte pour ne pas irradier l'organisme et limiter les effets secondaires. Enfin, ces composés doivent pouvoir être produits à partir d'un réacteur nucléaire, d'un cyclotron ou d'un générateur, ce dernier permettant d'obtenir un isotope à moindre coût directement sur le lieu de son utilisation (pour revue, Okarvi et Maecke, 2018) (**Tab. 15**).

Nom	Abrv.	Demi- vie (h)	Emission principale	Mode de production	Chélateur(s) associé(s)	Application(s)	Modalité d'imagerie	
Iode-123	¹²³ I	13,2	γ	Cyclotron	SIB, SIPC	Diagnostic	TEMP	
Tecnécium- 99m	99mTc	6,02	γ	Générateur ⁹⁹ Mo/ ^{99m} Tc	HYNIC, MAG ₃ , GGC	Diagnostic	TEMP	
Gallium-67	⁶⁷ Ga	78,2	γ	Cyclotron NOTA, DO		Diagnostic	TEMP	
Iode-120	120 I	1,4	β^+	β^+ Cyclotron SIB, SIPC Diagnostic		TEP		
Fluor-18	¹⁸ F	1,83	β^+	Cyclotron SFB Diagno		Diagnostic	TEP	
Gallium-66	⁶⁶ Ga	9,5	β^+	Cyclotron	yclotron NOTA, DOTA I		TEP	
Gallium-68	⁶⁸ Ga	1,13	β^+	Générateur ⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	NOTA, DOTA	Diagnostic	TEP	
Cuivre-64	⁶⁴ Cu	12,7	$\beta^{\scriptscriptstyle +}$; $\beta^{\scriptscriptstyle -}$	Cyclotron	TETA, DOTA, NOTA, ATSM	TA, DOTA, Diagnostic, DTA, ATSM thérapie		
Indium-111	¹¹¹ In	67,9	γ ; e⁻ Auger	Cyclotron	DTPA, DOTA	Diagnostic, thérapie	TEMP	
Lutécium-177	¹⁷⁷ Lu	160	β-;γ	Réacteur	DOTA	Thérapie, diagnostic	TEMP	
Yttrium-90	⁹⁰ Y	64,1	β-	Générateur ⁹⁰ Sr/ ⁹⁰ Y	DOTA	Thérapie	TEMP/TEP	
Bismuth-212	²¹² Bi	1	α;β-	Générateur 224Ra/212Bi	DOTA	Thérapie	TEMP	
Bismuth-213	²¹³ Bi	0,75	α;β⁻;γ	Générateur ²²⁵ Ac/ ²¹³ Bi	DOTA	Thérapie	TEMP	
Actinium-225	²²⁵ Ac	240	α	Générateur ²²⁹ Th/ ²²⁵ Ac	DOTA	Thérapie	n.d.	

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

Tableau 15. Caractéristiques des principaux radioisotopes utilisés et/ou développés en médecine nucléaire. La sélection du radioisotope pour le développement d'un radioligand repose essentiellement sur le type de rayonnement (en fonction de son utilisation) et sur sa disponibilité (en fonction de son mode de production). ATSM : diacétyl-bis(N(4)-méthylthiosemicarbazone ; DOTA : acide 1,4,7,10tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DTPA : acide diéthylène-triamine-penta-acétique ; GGC : Gly-Gly-Cys ; HYNIC : acide hydrazinonicotinique ; MAG₃ : mercapto-acétyltriglycine ; NOTA : acide 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-triacétique ; SFB : N-succinimidyl-4-[¹⁸F] ; SIB : Nsuccinimidyl-3-iodobenzoate N-succinimidyl-5-iodo-3-pyridinecarboxylate : SIPC : TEMP : tomographie par émission monophotonique ; TEP : tomographie par émission de positons ; TETA : acide 1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane-1,4,8,11-tétraacétique. ²²⁵Ac : actinium-225 ; ^{212/213}Bis : bismuth-212 ou -213 ; ⁶⁴Cu : cuivre-64 ; ^{66/68}Ga : gallium-64 ou -68 ; ⁶⁸Ge : germanium-68 ; 18 F : fluor-18 ; 111 In : indium-111 ; $^{120/123}$ I : iode-120 ou -123 ; 177 Lu : lutécium-177 ; ⁹⁹Mo : molybdène_99 ; ²²⁴Ra : radium-224 ; ⁹⁰Sr : strontium-90 ; ^{99m}Tc : tecnécium-99 métastable ; ²²⁹Th : thorium-229 ; ⁹⁰Y : yttrium-90. n.d. : non déterminé.

1.2.2 Choix du chélateur

Dans la mise au point de radioligands, un chélateur permet de faire le lien (= la conjugaison) entre le radioisotope sélectionné, l'espaceur (le *linker*) et le ligand. Sa sélection et son *design* sont très importants puisque son incorporation modifie la taille, la charge et le poids moléculaire du ligand finalement obtenu (Fani *et al.*, 2012b ; Fani et Maecke, 2012). Une grande variété de chélateurs et de méthodes de conjugaison a été testée au cours de ces dernières années (Okarvi, 2008 ; Niedermoser *et al.*, 2015). La méthode la plus couramment utilisée, appelée méthode de post-conjugaison, consiste à greffer le chélateur sur le ligand, puis à incorporer le radioisotope (Fani *et al.*, 2012b). A ce jour, aucun radioisotope ne remplit toutes les exigences espérées pour le diagnostic et le traitement de tous les cancers ; ce constat est le même pour les chélateurs. Ainsi, plusieurs molécules basées sur une structure aliphatique, telles que le DTPA, ou macrocyclique telles que le DOTA, ont été développées pour être radiomarquées avec divers radioisotopes, chacun avec leurs avantages et leurs inconvénients (Fani *et al.*, 2012b ; Fani et Maecke, 2012).

Les chélateurs aliphatiques ont des propriétés cinétiques favorables pour la plupart des radioisotopes utilisés en clinique (Charron *et al.*, 2016). Les radioligands utilisant le DTPA présentent l'avantage d'être rapidement disponibles (incubation pendant 10 à 15 min) et d'offrir un rendement très important. Pour autant, leur stabilité thermodynamique pose problème lorsque leur rétention dans le sang est longue, comme cela a été observé dans le cas du ¹¹¹In-DTPA-OC (Fani et Maecke, 2012). Plusieurs études ont montré la supériorité thermodynamique de nouveaux chélateurs cycliques comme le DOTA ou le NOTA, améliorant ainsi les performances des radioligands greffés sur ces chélateurs (Kwekkeboom *et al.*, 2010 ; Weiss et Jacobson, 2013).

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

Plus stables que les chélateurs aliphatiques (comme le DTPA), le DOTA et le NOTA peuvent également chélater un plus large panel de radioisotopes. La lente cinétique de conjugaison avec les radioisotopes peut être améliorée par chauffage (90°C – 100°C) (Okarvi, 2008). Le DOTA est utilisé en médecine nucléaire avec le ¹⁷⁷Lu et le ⁶⁸Ga pour traiter ou mettre en évidence la présence de tumeurs, et parmi les traceurs utilisés, figurent le ⁶⁸Ga-DOTA-TOC (Morgat *et al.*, 2016) et le ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE qui interagissent avec les récepteurs sst₂ (Garske-Román *et al.*, 2018).

D'autres types de chélateurs ont été développés, tels que les groupes prosthétiques, capables de fixer les radioisotopes de faible masse moléculaire comme le ¹⁸F (Honer *et al.*, 2011 ; Liu *et al.*, 2014b ; Niedermoser *et al.*, 2015). Cependant, cette conjugaison nécessite plusieurs étapes difficiles pour obtenir un radioligand avec un grand rendement et une haute pureté. En effet, le principal défi, avec l'ajout d'un groupement prosthétique sur des analogues de synthèse, est d'obtenir un site spécifique de radiomarquage sans altérer les fonctionnalités des chaînes latérales du peptide contenant des amines, des amides ou des acides carboxyliques qui se trouvent sur la plupart des séquences et qui sont souvent perturbées lors de la conjugaison (Kostikov *et al.*, 2012 ; Charron *et al.*, 2016). Comme évoqué précédemment, les ligands marqués au ¹⁸F présentent toutefois de meilleures caractéristiques pharmacocinétiques avec une meilleure perméabilité tissulaire et une rétention plus grande au sein des tumeurs (Niedermoser *et al.*, 2015 ; Charron *et al.*, 2016).

1.3. Evaluation in vitro / in vivo d'un radioligand

Une fois préparé, l'un des premiers tests soumis au radioligand consiste à mesurer sa stabilité plasmatique. Bien que ces expériences apportent des informations cruciales avant de passer aux études chez l'animal, elles ne permettent toutefois pas de mimer pleinement les conditions expérimentales cliniques (Charron *et al.*, 2016).

L'affinité du radioligand pour son/ses récepteur(s) est ensuite à déterminer à l'aide d'approches complémentaires (études de liaison, mesure d'activités biologiques, incluant l'internalisation du récepteur) sur divers types de modèles (cellules intactes, préparation de membranes, cellules natives ou tumorales, etc.) (Reubi, 1995 ; Reubi et al., 2000). Si les résultats sont probants (haute affinité et sélectivité, internalisation du complexe ligandrécepteur), il est possible de passer aux expériences *in vivo* (pour revue, Okarvi et Maecke, 2018). Elles consistent dans un premier temps à mesurer la biodistribution du radioligand chez le petit animal, afin d'évaluer sa captation dans l'organisme, en particulier dans les organes critiques, tels que le foie et les reins (Valkema et al., 2005 ; Imhof et al., 2011). Ces mesures impliquent l'euthanasie des animaux à différents temps post-injection et la collecte des organes d'intérêt pour mesurer la radioactivité retenues en leur sein. Ces données permettent notamment de connaitre la pharmacodynamie du radioligand, apportant de précieuses informations pour opérer d'éventuelles modifications de la molécule susceptibles d'améliorer ses propriétés (Okarvi et Maecke, 2016). Dans un deuxième temps, le radioligand est injecté chez des animaux transplantés par des cellules tumorales (xénogreffes) pour étudier la captation dans la tumeur et les organes. Afin d'apporter la preuve de la spécificité du radioligand testé, il est possible de bloquer les récepteurs in vivo en utilisant un excès de ligand non radioactif. Des expériences complémentaires peuvent enfin être réalisées sur des animaux de grande taille avant de passer à des essais chez l'Homme (pour revue, Okarvi et Maecke, 2018).

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

1.4. Agonistes ou antagonistes?

Il est admis que l'internalisation du complexe ligand-récepteur, généralement induite par un agoniste, justifie leur utilisation pour diagnostiquer la présence d'une tumeur, grâce à l'accumulation du radioligand dans les cellules tumorales (Langer *et al.*, 2001 ; Mankoff *et al.*, 2008). Cependant, une première étude menée en 2006 a révélé que l'¹¹¹In-DOTA-sst₂-ANT et l'¹¹¹In-DOTA-sst₃-ODN-8, deux antagonistes somatostatinergiques, sont capables de s'accumuler dans des cellules HEK-293 transplantées chez des souris et exprimant sst₂ ou sst₃, respectivement (Ginj *et al.*, 2006). Ces résultats ont par la suite été expliqués *in vitro* par la très grande accessibilité des sites de liaison par ces antagonistes (comparés aux agonistes), associée à leur très lente dissociation du récepteur, ouvrant ainsi la voie au développement d'analogues antagonistes radiomarqués (Cescato *et al.*, 2008 ; Fani *et al.*, 2017 ; Radford *et al.*, 2017).

Alors que les chélateurs et radioisotopes utilisés pour le développement d'agonistes radiomarqués modifient peu l'affinité de liaison, plusieurs études ont démontré que l'affinité des antagonistes est particulièrement dépendante du chélateur et du radioisotope utilisés. En effet, l'antagoniste somatostatinergique LM3 couplé avec l'acide 1,4,7-triazacyclononane-1-acide glutarique-4,7-diacétique (NODAGA) (⁶⁸Ga-NODAGA-LM3) présente une affinité dix fois supérieure à celle du ⁶⁸Ga-DOTA-LM3 et cinq fois supérieure à celle du ⁶⁴Cu-NODAGA-LM3 (Eisenwiener *et al.*, 2002 ; Fani *et al.*, 2011). En marge de ces expériences, plusieurs études *in vivo* ont montré qu'une absence ou une faible internalisation est parfois corrélée à une très grande rétention tumorale (Ginj *et al.*, 2006 ; Fani *et al.*, 2012a ; 2017 ; Radford *et al.*, 2017). Aujourd'hui encore, cette ambivalence est largement discutée et n'est pas entièrement élucidée (Nicolas *et al.*, 2018).

2. Recours à l'imagerie moléculaire pour le diagnostic de tumeurs solides

2.1 Généralités

L'imagerie moléculaire regroupe différentes techniques d'imagerie employées en recherche ou en clinique pour visualiser de façon non-invasive des structures ou des mécanismes biologiques (Massoud et Gambhir, 2003). Ces techniques associent plusieurs domaines scientifiques, allant, sans y être limité, de la biologie cellulaire, la pharmacologie, la physiologie, la bio-informatique, jusqu'à l'ingénierie, la physique et les mathématiques (James et Gambhir, 2012). Le principal intérêt de l'imagerie moléculaire est de pouvoir réaliser des études spatio-temporelles et d'obtenir des résultats longitudinaux chez un même sujet (Willmann *et al.*, 2008). Quel que soit son domaine d'application, l'imagerie moléculaire offre des propriétés très intéressantes pour le diagnostic, le développement de nouveaux traitements, la compréhension des interactions protéines-protéines à l'échelle nanoscopique ainsi que le suivi thérapeutique (Weissleder, 2006 ; Lecchi *et al.*, 2007).

Grâce à ces techniques, l'injection chez un sujet vivant de molécules capables de cibler sélectivement des processus moléculaires, constitue une approche qui s'est considérablement développée, en combinant potentiellement plusieurs outils comme l'imagerie par résonnance magnétique (IRM), les ultrasons, l'imagerie photoacoustique ou la tomodensitométrie (TDM). En particulier, le développement de la tomographie par émission monophotonique (TEMP) et de la tomographie par émission de positons (TEP), combiné avec la synthèse de molécules radiomarquées, permet de suivre des processus biologiques impliqués dans certaines pathologies (dont le cancer) habituellement diagnostiquées de manière invasive par une biopsie et/ou une chirurgie exploratoire (Pomper et Lee, 2005). Ces approches sont généralement

Introduction								
Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic								
et/ou le traitement de tumeurs solides								

couplées	à la	TDM,	faisant	ainsi	entrer	la	médecine	nucl	éaire	dans	une	nouv	velle	ère	du
diagnostic	c (et dı	ı trai	temen	it (V	Vei	ssleder	et	Pitte	t, 2	2008)) (Fig.	2	(6).



Figure 26. Développement des techniques d'imagerie utilisées en oncologie. Depuis la fin des années 90, la recherche s'est intensifiée dans le développement de techniques d'imagerie pour le diagnostic, le traitement et la compréhension des cancers. Extrait et adapté de Weissleder et Pittet, 2008. IBL : imagerie par bioluminescence ; IRF : imagerie par réflexion de fluorescence ; IRF-HR : IRF à haute résolution ; IRM : imagerie par résonnance magnétique ; IRMD : IRM de diffusion ; IRMN : IRM avec nanoparticules ; MPM : microscopie à multiphotons ; TCO : tomographie à cohérence optique ; TDM : tomodensitométrie ; TDM-MC : TDM à multicoupes ; TDO : tomographie par diffusion optique ; TEMP : tomographie par émission monophotonique ; TEP : tomographie par émission de positons ; TFM : tomographie par fluorescence moléculaire ; TFP : tomographie par fluorescence.

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

2.2 Techniques d'imagerie

2.2.1 La tomodensitométrie

C'est au début des années 1970 que les ordinateurs deviennent suffisamment puissants pour réaliser les calculs nécessaires à la reconstruction des images, rendant possible la création des premiers imageurs à rayons X couplés au traitement informatique. Cette technique d'imagerie est appelée la TDM (Raynaud *et al.*, 1989)

A la différence des techniques d'imagerie exploitant les caractéristiques des rayons X, la TDM utilise le principe de la tomographie pour reconstruire le volume d'un objet ou d'un sujet à partir d'images obtenues par sections anatomiques. Grâce à l'unité numérique Hounsfield (HU), inventée par Godfrey Newbold Hounsfield et Allan MacLeod Cormack (prix Nobel 1979 de physiologie/médecine), la TDM met en évidence des différences de composition, de densité et/ou d'atténuation des rayons X entre les tissus. Les tissus denses (qui absorbent fortement les rayons X) apparaissent en blanc tandis que les tissus moins denses et les liquides (qui absorbent moins fortement les rayons X) apparaissent en noir, permettant ainsi de créer des images à très fort contraste qui reflètent fidèlement l'anatomie du sujet.

Au-delà de sa relative simplicité d'utilisation, la TDM offre pour les cliniciens plusieurs avantages précieux, comme une résolution spatiale élevée (de l'ordre de 0,5 à 1 mm) et un faible coût d'utilisation. La TDM est notamment appropriée pour diagnostiquer et évaluer certaines pathologies dont les anévrismes de l'artère splénique (Vlychou *et al.*, 2008), les ischémies (Mallo *et al.*, 2005), les lésions cérébrales (Dubroff et Newberg, 2008), l'embolie pulmonaire (Stein et Hull, 2007) ou encore les tumeurs solides (Vivanti *et al.*, 2017).

La mise au point dans les années 2000 d'une version miniaturisée de la TDM, exploitable sur animaux de petite taille, a permis d'accélérer la recherche dans de nombreux

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

domaines (Kennel *et al.*, 2000 ; Broeckhoven *et al.*, 2017). Le modèle murin est particulièrement exploité dans l'étude en temps réel de certaines pathologies, incluant le cancer et la réponse aux thérapies associées, grâce à une production d'images anatomiques de très haute résolution, comme par exemple la mesure du volume tumoral pulmonaire après une thérapie aux radiations (Kirsch *et al.*, 2010 ; Bainbridge *et al.*, 2017).

Bien que les récentes avancées technologiques aient contribué à augmenter la résolution et la sensibilité des détecteurs tout en diminuant la quantité de radiations reçues par le sujet, l'une des principales limitations techniques est liée à la haute exposition du patient aux rayons X, réduisant ainsi le nombre d'acquisitions pouvant être réalisées (Gervaise *et al.*, 2016). L'imagerie TDM présente également comme inconvénient une faible qualité de contraste des tissus mous, obligeant de recourir au couplage TDM/IRM avec des agents de contraste iodés (Massoud et Gambhir, 2003), connus pour leur potentielle toxicité rénale (Solomon *et al.*, 1994 ; Barrett *et al.*, 2006), limitant ainsi l'usage de cette technique (James et Gambhir, 2012).

En dépit des informations qu'elle apporte sur les caractéristiques morphologiques du sujet (patient ou modèle animal), la TDM n'est pas adaptée pour observer les mécanismes moléculaires. La TDM est donc généralement couplée à d'autres outils complémentaires d'imagerie comme la TEP ou la TEMP, mettant ainsi à profit les propriétés de la radioactivité pour atteindre et observer des cibles moléculaires, avec une très haute spécificité et une grande résolution spatiale, propriétés indispensables dans le diagnostic et le traitement de certaines pathologies.

2.2.2 La tomographie par émission de positons

La TEP est actuellement la technique la plus répandue dans les services de médecine nucléaire. Elle exploite les propriétés des isotopes radioactifs (radioisotopes) couplés ou non à des traceurs (molécules vectrices), qui fixent spécifiquement des cibles moléculaires d'intérêt chez le sujet vivant (Portnow *et al.*, 2013). Par rapport à d'autres technologies disponibles, la TEP et la TEMP (*cf infra*), qui sont des méthodes d'imagerie dites d'émission (par opposition à la méthode d'imagerie dite de transmission, *cf* la TDM), ne sont pas limitées par la profondeur de pénétration, contribuant à l'imagerie de processus moléculaires avec une haute sensibilité.

Le fonctionnement de l'imagerie TEP repose sur l'émission d'un β^+ issu de la désintégration d'un radioisotope dont le noyau est instable en raison d'un excès de protons. L'interaction du β^+ avec un électron environnant engendre la création de deux photons d'annihilation (rayonnement γ) d'énergie égale à 511 keV, chacun émis à 180 degrés l'un de l'autre (Sodickson *et al.*, 1961 ; Griffiths, 2008). Ces photons sont détectés par des capteurs situés autour du sujet, rendant possible la déduction du site d'émission du radioisotope (Sweet, 1951 ; Brownell, 1968 ; Phelps, 2000). Les événements d'annihilation sont ensuite convertis en signaux électriques puis en sinogrammes qui peuvent être reconstruits en images tomographiques (Wernick et Aarsvold, 2004) (**Fig. 27**).

Bien que le principe de la TEP soit connu depuis les années 1950, avec un premier essai de diagnostic de tumeurs cérébrales (Sweet, 1951), ce n'est que plusieurs décennies plus tard que les premiers imageurs multi-modalités TEP/TDM voient le jour, combinant efficacement la grande sensibilité de la TEP avec l'imagerie morphologique hautement résolutive de la TDM (Beyer *et al.*, 2000, Maurer *et al.*, 2017).

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

L'imagerie TEP/TDM offre un large champ d'applications en clinique et en recherche préclinique. Grâce à l'utilisation des radioisotopes, elle peut en particulier être exploitée pour l'analyse et la compréhension de mécanismes cellulaires et moléculaires caractéristiques de certaines pathologies. Cela suppose d'avoir développé en amont des agents radiomarqués capables d'interagir sélectivement avec des cibles d'intérêt.



Figure 27. Principe de fonctionnement de l'imagerie TEP. A. Appareil servant à la tomographie par émission de positons dans un service de médecine nucléaire. **B.** Imagerie TEP réalisée chez un patient injecté avec le ¹⁸F-FDG une heure après injection. Extrait de www.cancer.org. **C.** *Gauche*, la TEP utilise l'émission de deux photons d'annihilation d'énergie 511 keV émis dans deux directions diamétralement opposées, faisant suite à l'annihilation d'un électron (e⁻) par un positon (β^+). *Droite*, ces photons γ sont captés par des détecteurs situés autour du sujet qui permettent la déduction du site de désintégration du β^+ . Un traitement informatique reconstitue les images de la répartition du traceur à l'aide d'algorithmes de reconstruction d'images. FDG : fluoro-déoxy-D-glucose ; TEP : tomographie par émission de positons. ¹⁸F : fluor-18.

Appelés radiotraceurs ou radioligands, ces agents peuvent être injectés par voie intraveineuse en dose infime (de l'ordre de la nanomole) chez le sujet. La radioactivité se distribue ensuite dans l'organisme et la biodistribution est mesurée à l'aide d'un imageur

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

TEP/TDM. En clinique, et grâce à l'utilisation d'agents radiomarqués au ¹⁸F tel que le [¹⁸F]-2fluoro-désoxy-glucose ([¹⁸F]FDG), cette approche est principalement mise à profit pour le diagnostic de cancers tel que le cancer pulmonaire non à petites cellules ou le cancer du sein (Fowler et Ido, 2002 ; Almuhaideb *et al.*, 2011 ; Abouzied *et al.*, 2017 ; Caresia *et al.*, 2017). Le [¹⁸F]FDG emprunte le transporteur du glucose (GLUT) membranaire puis est phosphorylé au même titre que le glucose par l'héxokinase dans le compartiment cytoplasmique. Ce nouvel analogue non hydrolysable du glucose s'accumule dans les cellules à haute activité métabolique comme les cellules tumorales (Malik *et al.*, 2014 ; Beichel *et al.*, 2016 ; Rowe *et al.*, 2016).

D'autres molécules ont été développées à partir du ¹⁸F. comme le [¹⁸F]-fluoromisonidazole (ou FMISO) ou le [¹⁸F]-azomycine arabinoside (ou FAZA), utilisés comme marqueurs des tissus hypoxiques généralement présents au cœur des tumeurs solides (Fujibayashi et al., 1997; Rajendran et al., 2006; Postema et al., 2009). Plusieurs analogues fluorés sont également en phase d'essai clinique, tels que le [¹⁸F]-AV-1451 (Mishra et al., 2017) ou le [¹⁸F]-Thk5351 (Lee et al., 2017), capables de quantifier l'agrégation de la protéine tau, ou encore le ¹⁸F-Florbetapir (AV-45) (Akhtar et al., 2017) qui met en évidence les plaques β-amyloïdes, une des caractéristiques de la maladie d'Alzheimer (Christen, 2000 ; Folch et al., 2017; Goedert et al., 2017).

Comme pour la tomodensitométrie, les imageurs TEP/TDM ont été miniaturisés pour s'adapter aux problématiques de la recherche préclinique chez le petit animal (Chatziioannou, 2002 ; Shibutani *et al.*, 2017). Leur résolution spatiale est souvent plus grande que ceux employés en clinique (1 à 2 mm) avec une sensibilité plus importante (10^{-12} à 10^{-11} M *vs* 10^{-9} M en clinique) (Rowland *et al.*, 2002 ; Pomper et Lee, 2005 ; Sossi et Ruth, 2005). En fonction du radioélément utilisé (émetteur de β^+ ou de rayonnomments γ), le système d'acquisition sera différent et demandera de recourir à la TEMP (*cf infra*).

2.2.3 La tomographie par émission monophotonique

La TEMP est une technique d'imagerie de médecine nucléaire (Lecchi *et al.*, 2007). Comme pour la TEP, cette approche est généralement couplée à la TDM pour combiner la puissante sensibilité de la TEMP à l'imagerie morphologique hautement résolutive de la TDM.

Le principe de la TEMP est en partie similaire à la TEP, avec i) l'utilisation de radioisotopes et *ii*) des photons γ issus de la désintégration qui sont captés par des détecteurs externes placés autour du sujet (Mariani et al., 2010). A la différence de la TEP, où la désintégration produit l'émission d'un positon β^+ puis l'émission de deux photons d'annihilation (chacun envoyés dans une direction diamétralement opposés), les radioisotopes utilisés en TEMP sont émetteurs d'un rayonnement y lors de leur désexcitation possédant une énergie propre (Jaszczak et al., 1980). Ces propriétés impliquent une méthode différente de collection et de reconstruction des données. En pratique, un détecteur tourne autour du sujet pour capter les rayonnements γ avant une reconstruction tomographique (Bocher *et al.*, 2000) (Fig. 25). Alors que la TEP produit une image à partir de l'ensemble des désintégrations, la TEMP doit utiliser un collimateur pour exclure les rayonnements γ qui ne sont ni émis dans le bon angle ni de la bonne énergie d'émission, ne conservant ainsi que ceux dont l'origine de l'émission est connue. Comme une très grande partie des rayonnements γ issus de la désexcitation sont ignorés, la sensibilité de la TEMP est souvent inférieure à la TEP (Parker et al., 2012). Cependant, les récents progrès réalisés dans la fabrication de collimateurs de type « multi-pinhole » contribuent aujourd'hui à augmenter cette sensibilité (Beekman et al., 2005) (Fig. 26).





Figure 29. Principe de fonctionnement de l'imagerie TEMP. A. Appareil servant à la tomographie par émission monophotonique, extrait du catalogue *Siemens Healthineers*. **B.** Imagerie TEMP réalisée chez un patient une heure après injection d'¹¹¹In-DTPA-octréotide (Octréoscan). La cible montre une tumeur neuroendocrine localisée dans le pancréas. Extrait du site www.image.ch. **C.** *Gauche*, la TEMP exploite l'émission de rayonnements γ faisant suite à une transition nucléaire au sein d'un atome. *Droite*, la TEMP utilise une gamma-caméra, constituée d'un détecteur de photons γ et d'un collimateur permettant la sélection angulaire des photons. Le détecteur tourne autour du sujet pendant l'acquisition, collecte les émissions γ , dont l'origine de l'émission est connue, et exclut celles qui ne sont pas émises dans le bon angle. DTPA : acide diéthylène-triamine-penta-acétique ; TEMP : tomographie par émission monophotonique. ¹¹¹In : indium-111.



Figure **Principe** 28. de fonctionnement des micro-TEMP modernes. Les micro-TEMP modernes utilisés en recherche clinique corrigent la perte de sensibilité due à l'exclusion des photons γ émis dans un mauvais plusieurs angle en utilisant détecteurs surmontés de collimateurs avec de multiples d'épingle) pinholes (= tête permettant ainsi la collection d'un nombre plus important de photons TEMP : tomographie par émission monophotonique.

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

A l'instar de la TEP, les applications de la TEMP reposent sur l'identification de cibles moléculaires pour développer des agents radiomarqués liant sélectivement ces cibles. A ce jour, l'un des radioligands le plus utilisé en médecine nucléaire est l'¹¹¹In-DTPA-OC, qui fixe le récepteur sst₂, surexprimé dans les tumeurs neuroendocrines (Reubi *et al.*, 2000 ; Brabander *et al.*, 2015 ; Kjaer et Knigge, 2015 ; Brabander *et al.*, 2016 ; Deppen *et al.*, 2016). D'autres radiotraceurs exploitables en TEMP ont été développés tels que le ^{99m}Tc-MIP1404 (Reinfelder *et al.*, 2017) ou le ¹²³I-MIP1072 (Hillier *et al.*, 2011) qui ciblent le *prostate specific membrane antigen* (PSMA), une protéine transmembranaire surexprimée et exploitable dans le diagnostic du cancer de la prostate (Gandhi *et al.*, 2017).

La technologie TEMP a également été miniaturisée pour s'adapter à l'imagerie du petit animal et à l'investigation préclinique (Acton et Kung, 2003 ; Meikle *et al.*, 2005). Cette stratégie est également mise à profit pour étudier la biodistribution de nouveaux radiotraceurs pour l'imagerie de xénogreffes tumorales. C'est le cas notamment avec le ¹²⁵I-*c-Met-binding peptide* qui reconnait c-Met, un RTK recruté dans les mécanismes liés à la croissance, l'invasion, les métastases et l'angiogenèse (Kim *et al.*, 2009), et qui est surexprimé dans certaines tumeurs solides (Woodhouse *et al.*, 1997 ; Ma *et al.*, 2003 ; Boccaccio et Comoglio, 2006 ; Sierra *et al.*, 2011 ; Marano *et al.*, 2015). Ce récepteur est également impliqué dans la transition épithélio-mésenchymateuse observée dans les tumeurs gliales humaines (Kim *et al.*, 2011). Le recours des radiotraceurs est aussi appliqué aux tumeurs surexprimant les RCPG, avec le développement par exemple du ^{99m}Tc-HABN ou du ^{99m}Tc-BBN ciblant tous deux le GRPR dont la densité est élevée dans les cellules tumorales de prostate (Ananias *et al.*, 2011) et dans le cancer du sein (Aranda-Lara *et al.*, 2016a).

Malgré une résolution spatiale plus faible (5–7 mm vs 8–10 mm) et une sensibilité moindre (10⁻¹¹ à 10⁻¹⁰ M vs 10⁻¹² à 10⁻¹¹ M) par rapport à l'imagerie TEP, la TEMP est bien

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

adaptée pour la mise au point de nouveaux radiotraceurs (Bernsen *et al.*, 2014 ; De Jong *et al.*, 2017). Comme évoqué précédemment, ces deux technologies offrent l'avantage de pouvoir injecter de très faibles doses de radiotraceur pour réaliser le suivi de processus biologiques, limitant ainsi l'impact d'effets potentiellement toxiques sur le sujet, tout en exploitant l'affinité élevée d'un récepteur pour son ligand (Phelps *et al.*, 2000 ; Franc *et al.*, 2008).

En conclusion, les techniques TEP/TDM et TEMP/TDM permettent, en plus de poser un diagnostic et d'évaluer le pronostic tumoral d'un patient, d'évaluer des radiotraceurs à visée thérapeutiques, voire théranostiques (*cf infra*).

3. Les thérapies par radionuclides

3.1 La curiethérapie et la radiothérapie externe

Marie Sklodowska-Curie (première femme ayant le grade de docteur en science en Europe) obtient le Prix Nobel de Chimie (1911) pour la découverte du radium en 1898 et de ses propriétés ionisantes : des sources scellées de radium sont placées à proximité des tumeurs à traiter, technique qui prendra le nom de curiethérapie (ou brachythérapie) (Reed, 1898 ; Sweet, 1951 ; Brucer, 1958 ; Gupta, 1995). En 1903, les docteurs Allen Senn et Nicholas Pusey mettent au point les prémices de la radiothérapie externe (RTE) en démontrant que les rayons X (découverts par Wilhelm Röntgen en 1895) sont capables de réduire le volume de ganglions tumoraux dans la maladie de Hodgkin (Capps et Smith, 1904 ; Pusey, 1904). Les premiers cancers accessibles en surface sont ainsi traités au radium dans le début du XX^e siècle (Kusama, 1919), tandis qu'au même moment la RTE se généralise dans les années 30 avec le traitement locorégional des cancers en utilisant des rayonnements ionisants, tels que des électrons et des

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

photons, pour éliminer les cellules tumorales (Barney et Churchill, 1939 ; Taussig, 1940 ; Keall *et al.*, 2001 ; Baumann *et al.*, 2008 ; Weichselbaum et Hellman, 2011). En traversant la matière, ce type de rayonnement entraîne la production de *reactive oxygen species* (ROS) qui induisent des cassures simples et/ou double-brin de l'ADN. En fonction de la position de la cellule dans son cycle cellulaire, ces lésions pourront être partiellement réparées (ou non), et les anomalies ainsi générées seront susceptibles de provoquer la mort cellulaire (Dillon *et al.*, 2014 ; Hubenak *et al.*, 2014).

Les techniques de RTE ont évolué ces 30 dernières années pour devenir le précurseur du traitement oncologique personnalisé, basé sur des informations anatomiques associées à des paramètres cliniques (Bernier *et al.*, 2004 ; Verellen *et al.*, 2007 ; Baumann *et al.*, 2016). Les images en deux dimensions ont été progressivement remplacées par des images en trois dimensions avec pour principal objectif d'augmenter l'efficacité et la précision de la RT, tout en réduisant la toxicité sur les tissus normaux et les organes vulnérables. La RT conformationnelle 3D (RTC3D) est aujourd'hui la technique la plus utilisée (Zou *et al.*, 2014 ; Yu *et al.*, 2015c). Pour autant, de nouvelles approches sont en cours d'optimisation : la RT avec modulation d'intensité (RTCMI) qui doit moduler la forme et la puissance du faisceau en fonction du volume tumoral (Hall, 2006) ; la RT stéréotaxique (RTS), qui peut cibler les petits volumes avec une très haute précision, très utile dans le traitement des métastases (Palma *et al.*, 2015) ; la protonthérapie ou hadronthérapie, qui au contraire de la RT classique qui produit des faisceaux de photons ou d'électrons, utilise les protons et permet ainsi de réduire les doses déposées et de cibler précisément la zone à traiter (Loeffler et Durante, 2013).

Cependant, l'hypoxie intratumorale, caractéristique des tumeurs solides, induit la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, le développement de métastases et augmente la résistance des cellules tumorales aux radiations et aux chimiothérapies (Gray *et al.*, 1953 ;
Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

Rohwer et Cramer, 2011 ; Wilson et Hay, 2011). Cette hypoxie diminue la production de ROS induite par les radiations et réduit ainsi les cassures de l'ADN. Il faudrait par exemple augmenter de deux à trois fois la dose de radiations sur cellules hypoxiques pour obtenir le même taux de mortalité cellulaire que chez les cellules non hypoxiques (Jain, 2005). L'hypoxie va également *i*) provoquer la régulation négative de Bad (pour *Bcl-2-associated death*) et de Bax (pour *Bcl-2-associated X*) (Semenza, 2000), diminuant ainsi l'apoptose (Wang et Ohh, 2010) et *ii*) promouvoir la sélection de cellules résistantes (Hill *et al.*, 2009 ; Kioi *et al.*, 2010) empêchant la radiothérapie d'être efficace et augmentant la tumorigenèse dans certains cas.

L'intensification de la radiothérapie, ou IRT, qui consiste à augmenter les doses de radiations envoyées sur les tumeurs solides en fonction de leur résistance, n'améliore malheureusement pas toujours le contrôle locorégional des tumeurs ni le taux de survie des patients. Des études récentes montrent que l'IRT *i*) a un effet positif sur le contrôle locorégional et sur la survie des patients dans le cancer du poumon, de la tête et du cou, *ii*) a un effet positif seulement sur le contrôle locorégional dans le cancer du sein et de la prostate, *iiii*) n'a aucun effet sur les cancers primaires du SNC, colorectaux et de l'œsophage (pour revue, Yamoah *et al.*, 2015). Cependant, lorsque l'état du patient et la localisation tumorale le permettent, l'efficacité de la RT est largement améliorée avec un traitement multimodal des tumeurs solides, notamment avec l'exérèse tumorale, le recours aux chimiothérapies ou à une thérapie ciblée (Wilson et Hay, 2011 ; Vanneman et Dranoff, 2012 ; Scott *et al.*, 2012 ; Hassan *et al.*, 2014).

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

3.2 La radiothérapie interne

La radiothérapie interne consiste à injecter des molécules radioactives chez des patients dans l'objectif de traiter une pathologie. Elle existe sous plusieurs formes, telle que la radiothérapie interne libre qui utilise les propriétés naturelles de certains éléments radioactifs à aller se fixer sur un organe cible, comme l'¹³¹I qui fixe naturellement la thyroïde, pour traiter les tumeurs thyroïdiennes (Jeong *et al.*, 2014 ; Gruber et Colevas, 2015). La radiothérapie interne est également employée sous forme vectorisée, exploitant les propriétés des anticorps ou des peptides pour cibler les tumeurs (Baum *et al.*, 2016 ; Rahbar *et al.*, 2017). Les thérapies par peptides radiomarqués (PRRT, pour *peptide receptor radionuclide therapy*), exploitent les propriétés pharmacobiologiques de radiotraceurs capables de reconnaitre sélectivement, et à très faibles concentrations, les récepteurs localisés à la surface des cellules tumorales (Sgouros *et al.*, 2010 ; Strosberg *et al.*, 2013). La liaison entre le radiotraceur et son récepteur va généralement entrainer l'internalisation du couple ligand-récepteur, permettant alors au radioisotope de provoquer la mort cellulaire (Kwekkeboom, 2005).

Le développement de la PRRT est étroitement liée avec celui d'analogues somatostatinergiques radiomarqués, *e.g.* l'¹¹¹In-DTPA-TOC, initialement utilisé pour le diagnostic des TNE puis pour leur traitement de tumeurs inopérables et/ou métastasées (Krenning *et al.*, 1992 ; Krenning *et al.*, 1994 ; Valkema *et al.*, 2002). Bien qu'une augmentation de l'espérance de vie ait été observée chez 62% des patients traités (Anthony *et al.*, 2004), le nombre de patients avec une réponse complète (RC, disparition des lésions quatre semaines après traitement, équivalent à une rémission) ou partielle (RP, diminution de 30% du volume tumoral confirmée quatre semaines après traitement) reste faible. Cependant, avec l'arrivée de nouveaux chélateurs tels que le DOTA, l'¹¹¹In-DTPA-TOC est progressivement délaissé au profit d'autres radiotraceurs somatostatinergiques capables de lier stablement des radioisotopes

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

émetteurs de β⁻ possédant les propriétés favorables pour une utilisation en thérapie (Druce *et al.*, 2010). La PRRT continue d'être développée dans le traitement des TNE et d'autres pathologies positives aux sst avec deux principaux radioisotopes faisant l'objet d'essais cliniques, l'⁹⁰Y et le ¹⁷⁷Lu (Essen *et al.*, 2006 ; Teunissen *et al.*, 2006 ; Marincek *et al.*, 2015).

Après les essais avec l'¹¹¹In-DTPA-TOC, la première PRRT a employé le ⁹⁰Y-DOTA-Tyr³-octréotide (⁹⁰Y-DOTA-TOC) chez des patients atteints de TNE-GEP et de TNE-B (Waldherr *et al.*, 2002). Les résultats obtenus montrent que 2% et 22% des patients traités, respectivement, ont une RC et une RP, soit une réponse globale (RG) de 24%. Chez 49% des patients, le volume tumoral n'a ni progressé, ni diminué (SD pour *stable disease*) contre 15% chez lesquels le volume tumoral a augmenté (PD pour *progressive disease*) (**Tab. 16**). Des travaux plus récents ont apporté des résultats similaires concernant la SD et la RG de patients traités (Valkema *et al.*, 2006 ; Forrer *et al.*, 2006 ; Bushnell *et al.*, 2010 ; Imhof *et al.*, 2011). Testé chez des malades atteints de TNE-GEP, le ⁹⁰Y-DOTA-TATE, un autre analogue somatostatinergique, a permis d'atteindre une RG de 23% (Cwikla *et al.*, 2010), valeur similaire à celle obtenue par Waldherr en 2001 portant sur le ⁹⁰Y-DOTA-TATE ont montré que le volume tumoral diminue de 30% chez plus de 30% progressivement, tandis qu'il est stable ou augmenté chez plus de 50% et 20% d'entre eux, respectivement.

Les résultats prometteurs obtenus avec le ⁹⁰Y en ont fait, entre 1995 et 2005, le radioisotope le plus testé en PRRT (De Jong *et al.*, 1998 ; Otte *et al.*, 1998 ; Paganelli *et al.*, 2001 ; Waldherr *et al.*, 2001 ; Valkema *et al.*, 2006 ; Bushnell *et al.*, 2010, Cwikla *et al.*, 2010) (**Tab. 16**). Cependant, la forte toxicité rénale et hématologique provoquée par les radiotraceurs incluant 1^{,90}Y a encouragé le développement de radiotraceurs avec le ¹⁷⁷Lu (Bernard *et al.*, 1997 ; Otte *et al.*, 1998 ; Paganelli *et al.*, 2001 ; Waldherr *et al.*, 2001 ; Cybulla *et al.*, 2001).

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

La première PRRT exploitant les propriétés du ¹⁷⁷Lu couplé à l'octréotate (¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE) est réalisée en 2003 par Kwekkeboom et coll. pour traiter des patients atteints de TNE-GEP. Les traceurs au ¹⁷⁷Lu libèrent moins de radioactivité dans les tissus sains environnants (Bodei *et al.*, 2014) grâce à une énergie plus faible et une distance d'émission moins importante, diminuant ainsi les effets secondaires liés au traitement (Bodei *et al.*, 2014 ; Sabet *et al.*, 2016 ; Kwekkeboom et Krenning, 2016).

Des travaux prometteurs ont par la suite révélé que ce traitement augmente la médiane de survie des malades, qu'ils soient porteurs d'une TNE-GEP, d'une TNE pancréatique (TNE-P) ou d'une TNE de l'intestin moyen (TNE-IM) (Kwekkeboom *et al.*, 2008 ; Ezziddin *et al.*, 2014 ; Sabet *et al.*, 2015). Comme l'ont récemment démontré Strosberg et coll. (2017) dans une étude de phase III du programme NETTER-1 dans le traitement des TNE-GEP, la médiane de survie des patients traités avec le ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE et le ⁹⁰Y-DOTA-TATE est significativement plus longue chez les premiers. Chez les patients atteints de TNE évolutives après traitement avec des analogues somatostatinergiques radiomarqués, la médiane est sensiblement identique à celle des patients atteints de TNE non évolutifs et le taux de patients pour lesquels la pathologie a été contrôlée (RC + RP + SD) est de 62%, allant jusqu'à 95% dans certains essais cliniques (Kwekkeboom *et al.*, 2008 ; Cwikla *et al.*, 2010 ; Bodei *et al.*, 2011 ; Vinjamuri *et al.*, 2013 ; Duijzentkunst *et al.*, 2017).

D'autres radiotraceurs en cours d'études cliniques emploient des radioisotopes très ionisants, comme l'actinium-255 (255 Ac) ou le 213 Bi, émetteurs de particules α , mais dont la distance d'émission est relativement courte (100 µm pour les α *vs* quelques mm pour les β).

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

Etudes	Nombre de patients	Type de tumeurs	RG (%)	RC (%)	RP (%)	PD (%)	SD (%)	MDS	MDS SP
¹¹¹ In-DTPA-Tyr ³ -octréotide (¹¹¹ In-DTPA-TOC) (Octréoscan [®])									
Anthony et al., 2002	27	TNE-GEP	7	0	7	11	78	18	n.d.
Valkema et al., 2002	26	TNE	19	0	19	12	42	n.d.	n.d.
⁹⁰ Y-DOTA-Tyr ³ -octréotide (⁹⁰ Y-DOTA-TOC)									
Waldherr et al., 2001	41	TNE-GEP ; TNE-B	24	2	22	15	49	n.d.	n.d.
Valkema et al., 2006	58	TNE-GEP	9	0	9	29	50	37	n.d.
Forrer et al., 2006	116	TNE	27	4	23	11	62	n.d.	n.d.
Imhof et al., 2011	1109	TNE ; TNE-B	35	1	34	60	5	n.d.	n.d.
Bushnell et al., 2010	90	TNE-GEP ; TNE-B	4	0	4	17	70	27	n.d.
Waldherr et al., 2002	39	TNE-GEP ; TNE-B	23	5	18	8	69	n.d.	n.d.
Cwikla <i>et al.</i> , 2010	60	TNE-GEP	22	0	22	5	73	22	17
Savelli et al., 2012	38	TNE-GEP	45	0	45	29	26	n.d.	n.d.
Paganelli et al., 2001	26	TNE	23	n.d.	n.d.	13	64	n.d.	n.d.
Bodei et al., 2004	43	TNE ; TNE-B	20	n.d.	n.d.	33	46	n.d.	n.d.
⁹⁰ Y-DOTA-Tyr ³ -octréotate (⁹⁰ Y-DOTA-TATE)									
Cwikla <i>et al.</i> , 2010	60	TNE-GEP	23	0	23	5	77	22	n.d.
Vinjamuri et al., 2013	59	TNE ; TNE-B	25	0	25	n.d.	47	n.d.	n.d.
¹⁷⁷ Lu-DOTA-Tyr ³ -octréotide (¹⁷⁷ Lu-DOTA-TOC)									
Baum et al., 2016	56	TNE	34	16	18	34	32	34	17
Pfeifer et al., 2011	75	TNE ; TNE-B	24	8	16	15	62	29	n.d.
Hörsch et al., 2016	468	TNE ; TNE-B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	59	41
¹⁷⁷ Lu-DOTA-Tyr ³ -octréotate (¹⁷⁷ Lu-DOTA-TATE) (Lutathéra [®])									
Kwekkeboom et al., 2008	310	TNE-GEP	30	2	28	20	35	46	33
Bodei et al., 2011	51	Tumeurs sst ⁺	29	2	27	18	26	n.d.	n.d.
Ezziddin et al., 2014	68	TNE-P	60	0	60	15	12	53	n.d.
Sabet et al., 2015	61	TNE-IM	44	0	44	8	47	61	n.d.
Sansovini et al., 2013	51	TNE-P	29	8	21	19	52	n.d.	29
Paganelli et al., 2014	43	TNE-GI	7	7	0	16	77	n.d.	36
Delpassand et al., 2014	37	TNE-GEP	24	0	24	24	38	n.d.	16
Swärd et al., 2010	310	TNE-GEP	30	2	28	n.d.	n.d.	46	n.d.
Garkavij et al., 2010	26	TNE-GEP	38	n.d.	n.d.	13	50	n.d.	n.d.
Danthala et al., 2014	44	TNE ; TNE-B	32	0	32	20	22	n.d.	n.d.

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

Tableau 16. Principaux essais cliniques de phase 1/2 ou phase 3 exploitant les analogues somatostatinergiques pour la thérapie par peptides radiomarqués (PRRT). Le développement de la PRRT est étroitement liée à celui d'analogues somatostatinergiques radiomarqués, e.g. l'¹¹¹In-DTPA-TOC, initialement utilisé pour le diagnostic des TNE puis pour le traitement de tumeurs inopérables et/ou métastasées. MDS et MDS-SP sont exprimées en mois. DOTA : acide 1,4,7,10tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique DOTA-TATE DOTA-Tyr³-octréotate : DOTA-TOC : DOTA-Tyr³-octréotide ; DTPA : acide diéthylène-triamine-pentaacétique ; DTPA-TOC : DTPA-Tyr³-octréotide ; MDS : médiane de survie ; MDS-SP : médiane de survie sans progression; RC : réponse complète; RG : réponse globale; RP : réponse partielle; PD : progressive disease, tumeur progressante ; PRRT : peptide receptor radionuclide therapy ; SD : stable disease, tumeur stable ; sst⁺ : tumeurs surexprimant les récepteurs somatostatinergiques ; TNE : tumeur neuroendocrine ; TNE-B : TNE bronchique ; TNE-GEP : TNE gastroentéropancréatique ; TNE-GI : TNE gastro-intestinale ; TNE-IM : TNE de l'intestin moyen ; TNE-P : TNE pancréatique. ¹¹¹In : indium-111 ; ¹⁷⁷Lu : lutécium-177 ; ⁹⁰Y : yttrium-90. n.d. : non déterminé.

C'est le cas notamment avec l'255 Ac-DOTA-TOC (Miederer et al., 2008 ; Nayak et al.,

2007) ou avec le ²¹³Bi-DOTA-TOC dont les premiers résultats semblent prometteurs chez les sept patients inclus, atteints de TNE métastasées au foie et ne répondant pas au traitement par radiotraceurs émetteurs de β^- classiques (Kratochwil *et al.*, 2014).

En règle générale, la PRRT permet de diminuer le volume tumoral, d'augmenter l'espérance et la qualité de vie des patients (Teunissen *et al.*, 2004 ; Khan *et al.*, 2011 ; Traub-Weidinger *et al.*, 2011). Généralement bien toléré chez les malades, la totalité du traitement est habituellement administré en 3 à 4 fractions par intervalles de 6 à 12 semaines, n'excédant pas les doses potentiellement à risque pour l'intégrité des organes (Garkavij *et al.*, 2010 ; Larsson *et al.*, 2012). Cependant, la PRRT provoque également plusieurs types d'effets secondaires de plus ou moins grande importance liés à la toxicité des rayonnements ionisants. La toxicité aiguë et légère, la plus fréquemment retrouvée, se traduit par des nausées, des vomissements et/ou des douleurs abdominales (Kwekkeboom *et al.*, 2008). La toxicité hématologique légère et transitoire se caractérise par une baisse du nombre de plaquettes et de cellules lymphocytaires B et T et intervient chez 88% des patients traités par PRRT, mais une rémission totale intervient généralement 60 jours après traitement (Sierra *et al.*, 2009). D'autres effets secondaires, rares mais sévères et au long terme liés à des atteintes de la moelle osseuse et des reins par les

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

radiations, limitent les doses à injecter. En effet, il a été observé des toxicités hématologiques sévères de grades 3 à 4 chez 3 à 14% des patients (Bodei *et al.*, 2014 ; Bergsma *et al.*, 2016), des insuffisances rénales chroniques (Imhof *et al.*, 2011) ou bien l'apparition de myélodysplasies et de leucémies aigues chez 1 à 2% des patients (Kesavan *et al.*, 2014 ; Kesavan et Turner, 2016). Ces deux dernières complications sont généralement liées à l'adjonction de chimiothérapies (en amont de la PRRT) et à l'invasion tumorale de la moelle osseuse (Bodei *et al.*, 2015a), mais elles peuvent également être dues aux propriétés biologiques et physiques de l'⁹⁰Y (Bodei *et al.*, 2008 ; Sierra *et al.*, 2009 ; Imhof *et al.*, 2011 ; Bodei *et al.*, 2015b). Cependant, il est admis que ces toxicités sévères et persistantes sont très rares et il est possible de réduire de plus de 40% la dose absorbée par les reins en co-infusant des acides aminés chargés positivement durant le traitement (Bodei *et al.*, 2003a ; Rolleman *et al.*, 2003 ; Menda *et al.*, 2018).

Aujourd'hui, la PRRT exploite les informations données par l'imagerie moléculaire afin de déterminer le traitement optimal pour les patients (Bentzen *et al.*, 2005). Ce n'est qu'en 2005 que le mot « théranostique » est employé pour la première fois pour prédire les doses absorbées par les tumeurs et par l'organisme, afin de réduire les effets secondaires et d'augmenter l'efficacité de la radiothérapie interne. Appelée « dosimétrie pré-thérapeutique », cette technique consiste à analyser l'énergie déposée par unité de masse par un rayonnement ionisant, soit de comprendre le comportement d'un radiotraceur émetteur de photons gamma pour adapter la dose injectée de radiotraceur émetteur de positons chez un patient (Eberlein *et al.*, 2017). Les paires d'isotopes les plus fréquemment employés pour évaluer la dosimétrie chez un patient sont l'¹²³I avec l'¹³¹I (Luster *et al.*, 2008), le ⁶⁸Ga avec le ¹⁷⁷Lu ou encore l'¹¹¹In avec le ⁹⁰Y (Zaknun *et al.*, 2013), estimées sur leurs propriétés physiques et biologiques (Bodei *et al.*, 2008). Dans le cadre des TNE, les composés théranostiques utilisés actuellement en PRRT

Modalités d'emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides

profitent de la polyvalence des nouveaux chélateurs tel que le DOTA pour complexer des radioisotopes capables d'émettre des β^+ ou des des γ, β⁻, tels que l'¹¹¹In-DOTA-TOC/⁹⁰Y-DOTA-TOC, ¹¹¹In-DOTA-TATE/⁹⁰Y-DOTA-TATE, le le ⁶⁸Ga-DOTA-TOC/¹⁷⁷Lu-DOTA-TOC et le ⁶⁸Ga-DOTA-TATE/¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE (Ilan et al., 2015 ; Ljungberg et al., 2016 ; 2018). Kwekkeboom et coll. ont également montré en 2008 que le couple ¹¹¹In-DTPA-OC/¹¹⁷Lu-DOTA-TATE est associé à une très bonne réponse globale chez des patients porteurs de tumeurs sst positives. La multiplication d'outils radiopharmaceutiques et leur affinage en fonction des patients et des pathologies a permis de faire entrer la PRRT dans l'ère de la médecine personnalisée.

OBJECTIFS DE THESE

L'implication du système urotensinergique dans le contrôle de la prolifération/migration cellulaires et dans les processus pro-angiogéniques, et la surexpression de son récepteur UT dans plusieurs types de tumeurs solides, nous ont conduits à émettre l'hypothèse selon laquelle l'UT pourrait constituer une cible prometteuse pour le développement de radioligands utilisés dans le diagnostic voire le traitement de tumeurs. Les travaux présentés dans ce manuscrit de thèse s'articulent autour de l'évaluation *in vitro* et *in vivo* de deux analogues urotensinergiques radiomarquables, le DOTA-Ahx-UII (DOTA-UII) et le DOTA-Ahx-urantide (DOTA-urantide).

Les objectifs de ce travail de thèse étaient les suivants :

- comparer et vérifier les activités biologiques de ces deux analogues avec les peptides de référence, notamment sur leur capacité à reconnaître, activer et internaliser le récepteur UT ;
- mettre au point un radiomarquage simple et efficace des deux analogues avec l'indium-111;
- analyser la biodistribution *in vivo* de l'¹¹¹In-DOTA-UII dans plusieurs modèles animaux d'expression du récepteur UT ;
- étudier la capacité de l'¹¹¹In-DOTA-UII à imager des tumeurs qui surexpriment le récepteur UT.

Ces expériences permettront de mieux appréhender, d'affiner et d'optimiser les propriétés pharmacodynamiques de ces deux analogues pour la détection de tumeurs surexprimant le récepteur UT.

MATÉRIELS & MÉTHODES

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériels

1.1 Réactifs et consommables

Les milieux Dubelcco's Modified Eagle Medium (DMEM), Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640, Opti-MEM[®], les solutions tryspine-éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), d'antibiotiques/antifongique (AA) (pénicilline 10000 U/mL ; streptomycine 10000 U/mL ; fungizone 25 U/mL), de sodium pyruvate (Na-P), le Dubelcco's phosphate-buffered saline (DPBS), les tampons Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) (1,26 mM CaCl₂; 0,50 mM MgCl₂; 0,40 mM MgSO₄; 5,33 mM KCl; 4,16 mM NaHCO₃; 5,55 mM D-Glucose), le kit de révélation ELISA Pierce sont commercialisés par ThermoFisher Scientific (Montignyle-Bretonneux, France). Le Mowiol 4-88 solide est commercialisé par Calbiochem (Meudon, France). La fibronectine humaine, la poly-L-ornithine, le tampon phosphate buffered saline (10X), l'HEPES, l'eau Ultrapure, le Triton X-100, le 4,6-di-amidino-2-phényl indole (DAPI), l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide citrique monohydraté, le citrate de sodium dihydraté, la probénécide, le tris-HCl, la tricine, la glycine, le sodium dodecyl sulfate (SDS), le sodium deoxycholate, le cocktail d'inhibiteurs de protéases et de phosphatases, l'amonium persulfate (APS), le Nonidet P40 (NP40), le Tween-21, le réactif WST-1, le paraformaldéhyde, le phénylméthylsulfonyl fluoride (PMSF), le normal donkey serum (NDS), l'hématoxyline et le chlorure d'indium (InCl₂) en poudre sont commercialisés par Sigma Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). Les chambres de Boyden modifiées (Transwell) et les plaques de culture 24 et 96 puits proviennent de Corning (Bagneaux-Sur-Loing, France). Le sérum de veau bovin (SBF) décomplémenté et le kit de transfection Amaxa[®] Cell Line Nucleofector[®] kit V sont fournis par Lonza (Levallois-Perret, France). L'acrylamide 30%, le N,N,N',N'-tétra-méthyléthylène-diamine (TEMED), le kit de révélation pour western-blot (péroxydase et luminol) et le matériel de transfert Mini-PROTEAN Tetra Cell System sont commercialisés par Bio-Rad (Marnes-la-Coquette, France). Le kit de transfection FuGene® HD est distribué par Promega Corporation (Southampton, Royaume-Uni). Les membranes de transfert de polyvinylidène difluoride (PVDF), l'isopentane, l'éthanol et le méthanol proviennent de Merk Millipore (Guyancourt, France). L'urotensine II humaine (UII) est synthétisée par Polypeptides Laboratories (Strasbourg, France). L'urantide est distribuée par Peptide International (Louisville, Etats-Unis). Le SDF-1 est produit par Bio-Techne (Abindton-on-Thames, Royaume-Uni). Le DOTA-Ahx-UII (DOTA-UII) et le DOTA-Ahx-urantide (DOTA-urantide) sont synthétisés par le Pr R. Leduc et le Dr M.A. Bonin de l'Institut de Pharmacologie de l'Université de Sherbrooke (Canada). Les anticorps anti-MYC (sc-40), anti-UT (H-90), anti-β actine (sc-47778), le goat anti-mouse couplé horseradish peroxydase (GAM-HRP) et le goat anti-rabbit-HRP (GAR-HRP) sont commercialisés par Santa Cruz Biotechnology (Paso Robles, Etats-Unis). Les anticorps Alexia Fluor 488-conjugated donkey anti-mouse (DAM488) et Alexia Fluor 594-conjugated donkey anti-rabbit (DAR594) sont fournis par Invitrogen (Paris, France). L'anticorps anti-CD34 est distribué par Abcam (Cambridge, Royaume-Uni).

1.2 Construits plasmidiques

L'ADN complémentaire (ADNc) codant la forme humaine du récepteur UT est inséré dans le vecteur pCMV-MYC-N (UT-MYC) ou pEGFP-N2 (UT-GFP) en phase avec l'épitope MYC ou GFP, respectivement. Ces construits ont été générés et validés par le Dr L. Desrues au sein de l'équipe « Astrocytes et Niche Vasculaire ».

1.3 Cultures cellulaires et transfections

La lignée cellulaire A549 d'adénocarcinome pulmonaire humain provient de *l'American Type Culture Collection* (ATCC, CCL-185[™]) ; la lignée cellulaire HEK-293 (ATCC, CRL1573[™]) nous a été offerte par les Dr L. Prézeau, C. Barrère et I. Bidaud (IGF, Montpellier, France) ; la lignée cellulaire DLD-1 d'adénocarcinome colorectal (ATCC, CCL-221[™]) nous a été fournie par le Dr L. Grumolato (Inserm 1239, DC2N, Mont-Saint-Aignan, France).

Les cellules HEK-293 d'une part et les cellules A549 et DLD-1 sont d'autre part maintenues dans un milieu de culture DMEM et RPMI 1640 respectivement. Les milieux sont complémentés avec 10% de SBF et 1% de sodium-pyruvate, et les cellules sont cultivées en atmosphère humide (37°C, 5 % de CO₂) et repiquées lorsqu'elles atteignent entre 85 et 95 % de confluence. Les cellules sont utilisées 24 ou 48 h après les transfections transitoires réalisées à l'aide du kit Amaxa ou du kit FuGene, en suivant les instructions des fournisseurs.

1.4 Animaux

Pour les expériences de biodistribution, des souris C57BL6/J femelles (Janvier Laboratories, Saint-Berthevin, France) mUTS2R^{+/+} (*wild-type*, exprimant le récepteur UT murin), mUTS2R^{-/-} (*knock-out* pour le récepteur UT murin), mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+} (*knock-out* pour le récepteur UT murin) âgées de 8 semaines sont gardées à 23°C dans des cages collectives filtrées et maintenues dans une armoire ventilée avec une photopériode de 12h/12h, nourriture et eau *ad libitum*.

Pour les expériences d'imagerie, des souris *Swiss Nude (nu/nu)* femelles (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) âgées de 8 semaines sont gardées à 23°C dans un box de type EOPS (exempt de tout organismes pathogènes spécifiques) dans des cages collectives filtrées et maintenues dans une armoire ventilée avec une photopériode de 12 h/12 h, nourriture et eau *ad libitum*.

1.5 Analyse des données

Les analyses statistiques sont effectuées à l'aide du logiciel GraphPad PRISM 6 (GraphPad Software Inc, La Jolla, Etats-Unis). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm l'erreur standard moyenne (SEM). Les tests *U* de Mann-Whitney (non paramétrique) sont appliqués pour les comparaisons de variables deux à deux. Les analyses de variance multiple sont réalisées à l'aide d'une *one-way* ANOVA. Les données présentées dans la partie « Résultats » sont considérées significatives d'un point de vue statistique lorsque la *p-value* est au moins inférieure à 0,05.

2. Expériences in vitro

2.1 Radiomarquages et analyses HPLC

Le DOTA-UII ou le DOTA-urantide sont mis en solution (0,05 mM) dans un tampon isocitrate (6 mM acide citrique, 20 mM citrate de sodium, 0,02 N acide chlorhydrique, pH = 4). Cette solution est longuement vortexée puis portée 20 min à 100°C au contact de 30 MBq de chlorure d'indium radioactif (¹¹¹InCl₃) (Mallinckrodt, Staines-upon-Thames, Royaume-Uni). Après refroidissement, la complexation de l'¹¹¹In avec les DOTA-peptides est vérifiée par un système HPLC Ultimate 3000 sur une colonne C18 Kromasil® KR100-5-C18-4,6X250 grâce à un gradient d'eau (A) et d'acétonitrile (B) ; couplé à un détecteur Radio-HPLC FlowRam. La séquence utilisée est la suivante : 0-15 min 5 % B, 15-25 min 5-95 % B, 25-30 min 95 % B, 30-40 min 95-5 % B, 40-45 min 5 % B. La solution est ensuite conservée à 4°C jusqu'à son utilisation. La stabilité de l'¹¹¹In-DOTA-UII est analysée à l'issue de 3 h d'incubation dans du plasma humain frais à 37°C. Les échantillons de sérum sont centrifugés (18000 g ; 3 min) et quelques gouttes de surnageant sont déposées sur une membrane. La pureté radiochimique est déterminée par chromatographie sur couche mince couplée à un compteur d'émissions gamma.

2.2 Mesure de la mobilisation du calcium par Flexstation

Des plaques 96 puits préalablement coatées à la poly-L-ornithine (100 µg/mL, 1 h, 37°C) sont ensemencées avec 50 000 cellules HEK-293 transfectées avec le vecteur UT-MYC dans un milieu de culture complémenté. Le lendemain, les cellules sont rincées avec un tampon HBSS (20 mM HEPES ; 0,5 mM MgCl₂ ; 2,6 mM CaCl₂ ; 7,7 mM Na₂CO₃ ; 1,4 mM MgSO₄ ; 5,3 mM KCl ; 138 mM NaCl ; 0,1% BSA ; 5,5 mM glucose ; 2,5 mM probénécide ; pH = 7,4) puis incubées avec le même tampon contenant 0,02 % d'acide pluronique et 2 µM de la sonde Fluo-4 A.M. Les cellules sont rincées au tampon HBSS puis laissées au repos (1 h, 37°C, 5 % CO₂). Les cellules sont placées dans un lecteur de plaque Flexstation[®] (Molecular Devices, Rebecq-Rognon, Belgique) dans lequel l'intensité de fluorescence est mesurée en continu (300 secondes ; λ = 480 nm) avant et après application de concentrations croissantes (10⁻¹¹ à 10⁻⁶ M) des peptides d'intérêt (UII, DOTA-UII, urantide ou DOTA-urantide).

2.3 Mesure de l'internalisation par la méthode ELISA

Des plaques 96 puits préalablement coatées à la poly-L-ornithine (100 µg/mL, 1 h, 37°C) sont ensemencées la veille avec 10 000 cellules HEK-293 transfectées avec le vecteur UT-MYC, dans un milieu de culture complémenté (10 % SBF). Les cellules sont ensuite rincées au PBS, incubées (1 h) avec un milieu de culture minimum, puis traitées (1 h) avec l'UII, le

DOTA-UII (10⁻¹⁵ à 10⁻⁶ M, chacun), l'urantide ou le DOTA-urantide (10⁻¹⁰ à 10⁻⁶ M, chacun). Les cellules sont ensuite rincées au PBS puis fixées au PFA (4 %, 10 min), perméabilisées ou non avec du Triton X-100 (0,05 %, 10 min) et incubées dans une solution de blocage (PBS, SBF 1 %, 1 h). L'anticorps primaire anti-MYC (1/300^e) est appliqué (1 h, \approx 20^oC) sur les cellules dans la solution de blocage, puis les cellules sont rincées et incubées (1 h, \approx 20^oC) avec l'anticorps secondaire GAM-HRP (1/1000^e) dans la solution de blocage. Les cellules sont rincées au PBS et incubées (5 min) avec le kit de révélation ELISA *Pierce*. L'intensité biolumineuse est déterminée à l'aide du lecteur de plaques TECAN[®] (Life Science, Neuville-sur-Grouette, France) sur 12 points différents dans chaque puits. Les données sont exprimées par le ratio entre l'intensité mesurée sur les cellules perméabilisées et celle mesurée sur les cellules non perméabilisées, comparé à la valeur contrôle moyenne (**Fig. 30**).



Figure 30. Analyse de l'internalisation du complexe ligand-récepteur par la méthode ELISA. Des cellules HEK-293 transfectées avec le vecteur UT-MYC sont ensemencées dans des plaques 96 puits et traitées le lendemain avec de l'UII, du DOTA-UII (1 h, $10^{-6} à 10^{-15}$ M, chacun), de l'urantide ou du DOTA-UR (1 h, $10^{-6} à 10^{-10}$ M, chacun). Les cellules sont ensuite rincées au PBS puis fixées au PFA, perméabilisées ou non au Triton X-100 (0,05% ; 5 min ; 20 °C), et incubées avec l'anticorps primaire anti-MYC puis avec l'anticorps secondaire. Les cellules sont rincées au PBS et incubées avec le kit de révélation ELISA *Pierce*. L'intensité de bioluminescence est déterminée à l'aide du lecteur de plaque (TECAN[®]) sur 12 points différents dans chaque puits. Les résultats sont exprimés par le rapport entre l'intensité mesurée sur les cellules perméabilisées et celle mesurée sur les cellules non perméabilisées, comparé à la valeur contrôle moyenne. DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; PFA : paraformaldéhyde ; UII : urotensine II ; UR : urantide ; UT : récepteur urotensinergique.

2.4 Etude de l'internalisation par cytochimie

Les cellules HEK-293 transfectées avec le vecteur UT-GFP sont ensemencées (70 000 cellules) sur des lamelles de verres pré-coatées (fibronectine humaine, 25 µg/mL, 4°C, 12 h) et placées dans une plaque 24 puits. Les cellules sont rincées au PBS, incubées (1 h) avec un milieu de culture minimum, puis traitées avec l'UII, le DOTA-UII, l'urantide ou le DOTA-urantide (10⁻⁷ M chacun, 1 h). Les cellules sont ensuite fixées au paraformaldéhyde (4 %, 10 min), rincées au PBS puis marquées avec du DAPI (1µg/mL, 5 min) pour visualiser les noyaux. Les lamelles sont montées sur lames de verre avec du Mowiol, puis examinées à l'aide un microscope confocal à balayage laser (Leica TCS SP8, Le Pecq, France).

2.5 Etude de l'expression de l'UT par Western Blot

Des flasques 25 cm² sont ensemencées avec 500 000 cellules A549 ou DLD-1. Après environ 48 h, lorsque les cultures atteignent 75 à 80 % de confluence, les cellules sont rincées au PBS froid puis grattées dans du tampon de lyse RIPA (25 mM Tris HCl pH 7,6 ; 150 mM NaCl ; 1 % NP40 ; 1 % sodium déoxycholate) contenant un cocktail d'inhibiteurs de protéases et de phosphatases. Les lysats cellulaires sont homogénéisés par des passages successifs dans une aiguille creuse puis centrifugés (12000 g, 30 min, 4°C) et la concentration protéique du surnageant est déterminée par la méthode de Bradford (Bradford, 1976). Les échantillons protéiques sont mélangés avec un volume égal de tampon de Laemmli (120 mM Tris HCl ; pH = 6,8, 20 % glycérol ; 4 % SDS ; 0,02 % bleu de bromophénol ; 10 % β-mercaptoéthanol) puis soumis à une électrophorèse sur gel SDS-PAGE contenant 12 % d'acrylamide. Les protéines sont transférées sur une membrane PVDF à l'aide du Mini-PROTEAN *Tetra Cell System*. Les sites non-spécifiques sont bloqués avec du lait écrémé (5 % , \approx 20 °C, 1 h) dans un tampon TBS (50 mM Tris HCl pH 7,5 ; 150 mM NaCl). Les membranes sont ensuite incubées sous agitation lente avec l'anticorps primaire anti-UT (1/300^e, 12 h, 4°C). Après plusieurs rinçages, les membranes sont incubées avec l'anticorps secondaire GAR-HRP (1/1000^e, $\approx 20^{\circ}$ C, 2 h) dirigé contre les IgG de Lapin. Après plusieurs rinçages, les bandes immunoréactives sont visualisées à l'aide du kit ECL *Western blotting substrate* et du système d'imagerie ChemiDoc. L'anticorps anti- β actine est utilisé pour vérifier l'homogénéité des dépôts protéiques.

2.6 Etude de la croissance cellulaire

Des plaques 96 puits préalablement coatées à la poly-L-ornithine (100 µg/mL, 1 h, 37°C) sont ensemencées avec 5 000 cellules A549 ou DLD-1 avec le milieu de culture complémenté (10 % SBF). Après 24 h, les cellules sont rincées au PBS, puis traitées (24 h à 72 h, 37°C, 5 % CO₂) avec l'UII (10⁻⁹ à 10⁻⁷ M, recharge toutes les 24 h) dans un milieu de culture minimum. L'incubation de cellules en présence de SBF (10 %) ou de SDF-1 (10⁻¹⁰ à 10⁻⁸ M) sert de contrôle positif. Les cellules sont ensuite incubées (1 h) avec le kit WST-1. La densité cellulaire est déterminée à l'aide du lecteur de plaque TECAN[®] (λ = 450 nm) sur 12 points différents dans chaque puits.

2.7 Etude de la migration cellulaire

Des *transwells* (24 puits, pores $\emptyset = 8 \ \mu m$) préalablement coatés à la fibronectine humaine (25 μ g/mL, 4°C, 12 h) sont ensemencées avec 50 000 cellules A549 ou DLD-1 dans la chambre supérieure dans un milieu de culture minimum. Le gradient est généré par l'ajout d'UII (10⁻⁹ ou 10⁻⁷ M) dans la chambre inférieure et les cellules sont incubées pendant 24 h (37°C, 5 % CO₂). Elles sont ensuite rincées avec du PBS et les cellules encore présentes sur la membrane supérieure sont éliminées à l'aide d'un bâtonnet ouaté. Les cellules ayant migré, situées à la surface de la membrane inférieure, sont fixées grâce à des bains successifs de méthanol (50, 70, 90 et 100 %), colorées avec l'hématoxyline puis montées sur une lame de verre à l'aide de Mowiol. Elles sont alors photographiées à l'aide d'un microscope Nikon à raison de 60 à 80 champs par membrane. Pour chaque champ, le nombre de cellules par image est déterminé par *ImageJ* à l'aide d'un *plug-in* développé par le Dr P. Decazes (Laboratoire QuantIF, Centre Henri Becquerel).



Figure 31. Test de migration en chambre de Boyen (*transwells*). Les cellules sont ensemencées dans la chambre supérieure du *transwell*, sur une membrane poreuse pré-coatée à la fibronectine. La chambre inférieure contient de l'UII (10⁻⁷ ou 10⁻⁹ M) qui attire les cellules de la chambre supérieure par un gradient de concentration. Après fixation et coloration, les cellules ayant migré sont comptées. UII : urotensine II.

2.8 Etude de l'expression de l'UT au sein des xénogreffes tumorales

Trois semaines après la greffe tumorale $(5.10^6 \text{ de cellules A549 ou DLD-1, 100 } \mu\text{L PBS})$ au niveau du flanc droit, les animaux sont anesthésiés par une brève exposition à l'isoflurane (5 %) et euthanasiés par décapitation. Les xénogreffes tumorales sont réséquées et congelées dans de l'isopentane (-50°C) puis conservées à -80°C. Pour les expériences d'immunohistochimie, des tranches microscopiques (10 μ m) sont réalisées à l'aide d'un Cryostat CM1950 (Leica, Le Pecq, France). Pour les expériences d'immunohistochimie, les coupes histologiques sont rincées au PBS (3 x 5 min, 4°C), fixées au PFA (4 %, 10 min, $\approx 20^{\circ}$ C), à nouveau rincées au PBS (3 x 5 min) puis perméabilisées au Triton X-100 (0,3 % ; 7 min). Après rinçage, les coupes sont incubées avec une solution de blocage (Triton X-100 0,03 % ; SBF 10 % ; NDS 2 % ; 1 h ; $\approx 20^{\circ}$ C) servant également à la dilution des anticorps primaires et secondaires. Les coupes sont alors incubées (12 h, 4°C) avec les anticorps primaires anti-UT (1/200^e) et anti-CD34 (1/100^e). Après plusieurs rinçages, les membranes sont incubées (2 h, $\approx 20^{\circ}$ C) avec les anticorps secondaires DAR488 (1/1000^e) et DAR594 (1/1000^e). Après rinçage et incubation au DAPI (1/1000^e, 5 min, $\approx 20^{\circ}$ C), les lames sont lavées une dernière fois au PBS en vue du montage réalisé avec du Mowiol, et conservées dans une boîte noire à 4°C jusqu'à leur observation au microscope confocal à balayage laser (Leica TCS SP8).

3. Expériences in vivo

3.1 Biodistribution de l'111In-DOTA-UII

Des souris C57BL/6 mUTS2R^{+/+}, mUTS2R^{-/-} et mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+} (Janvier Laboratories, Saint-Berthevin, France) femelles âgées de 8 à 10 semaines sont gardées dans un box de type conventionnel par groupe de cinq animaux dans des cages collectives filtrées et maintenues dans une armoire ventilée (23°C, photopériode 12 h/12 h) avec nourriture et eau *ad libitum*. Les souris reçoivent une injection de 3 MBq d'¹¹¹In-DOTA-UII (200 μ L) par voie intraveineuse (dans la veine caudale latérale droite). Après 4, 24, 48 et 72 h, elles sont ensuite euthanasiées sous anesthésie gazeuse (isoflurane, 5 %) et le sang et les organes (reins, foie, estomac, rate, poumons, os, peau, colon, intestin grêle, glandes parotides, cœur, muscle, cerveau) sont prélevés pour mesurer l'émission de rayonnements γ à l'aide d'un compteur

gamma (Berthold Technologies, Thoiry, France). Les données sont exprimées en pourcentages estimés de la dose injectée rapportés au poids de l'échantillon (**Fig. 32.A**).

3.2 Xénogreffes tumorales pour l'imagerie micro-TEMP

Des souris *Swiss Nudes* (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) femelles âgées de 8 à 10 semaines sont gardées dans un box de type EOPS (exempt d'organismes pathogènes spécifiques) par groupe de cinq animaux dans des cages collectives filtrées et maintenues dans une armoire ventilée (23°C, photopériode 12 h/12 h) avec nourriture et eau autoclavée *ad libitum*.

Les souris sont préalablement anesthésiées dans une chambre d'inhalation par isoflurane (3 %) et la peau de la zone d'injection (flanc droit) est aseptisée à l'aide de Bispetine jaune. Une suspension de cellules A549 ou DLD-1 (5.10^6 cellules dans 100 µL de PBS) est injectée de manière sous-cutanée à l'aide d'une seringue stérile Myjector (Terumo Europe, Saint-Quentin-en-Yvelines, France). Tous les deux jours, les animaux sont pesés et le développement tumoral est suivi à l'aide d'un pied à coulisse (Fisher Scientific SAS, Illkirsh, France) sur animal vigile. Le volume tumoral (V) est estimé avec l'aide de la formule suivante (avec a et b : longueur et largeur de la masse tumorale apparente, respectivement) :

$$V = \left(\frac{1}{2}\right) \cdot a \cdot b^2$$

Lorsque les tumeurs atteignent un volume de 250 mm³ (\pm 10 %), les animaux préalablement anesthésiés (isoflurane 3 %) reçoivent une injection de 15 MBq d'¹¹¹In-DOTA-UII (200 µL) par voie intraveineuse (veine caudale latérale droite) et sont observés 1 h et 24 h post-injection par micro-TEMP couplé à un TDM. Les acquisitions sont réalisées pendant 1 h sur animal anesthésié avec collection des émissions γ à 171 et 245 KeV (± 20 %) sur 35 secondes par projection. Ces observations ont été conduites avec l'aide du Dr R. Modzelewski, responsable du micro-TEMP/TDM du Centre Henri Becquerel (**Fig. 32.B**).



Figure 32. Protocoles d'études de la biodistribution et de la captation tumorale avec l'¹¹In-DOTA-UII. A. Des souris C57BL/6 mUTS2R^{+/+}, mUTS2R^{-/-} et mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+} reçoivent une injection intraveineuse (veine caudale latérale droite) d'¹¹¹In-DOTA-UII (3 MBg, 200 µL). Après 4, 24, 48 ou 72 heures, le sang et les organes (reins, foie, estomac, rate, poumons, os, peau, colon, intestin grêle, glandes parotides, cœur, muscle, cerveau) sont prélevés et les rayonnements y sont mesurés par un compteur gamma. B. Des souris Swiss Nudes reçoivent une suspension de cellules A549 ou de DLD-1 (5.10⁶ cellules, 100 µL) de manière sous-cutanée au niveau du flanc droit. Lorsque les tumeurs atteignent un volume de 250 mm³ (± 10 %), les animaux reçoivent une injection d'¹¹¹In-DOTA-UII (15 MBq, 200 μL) par voie intraveineuse (veine caudale latérale droite) et une observation est réalisée 1 h et 24 h postinjection par micro-TEMP couplé à un TDM. Les acquisitions sont effectuées pendant une heure sur animal anesthésié avec collection des émissions y à 171 et 245 KeV (± 20 %) sur 35 secondes par projection. Ces observations ont été menées avec l'aide du Dr R. Modzelewski, responsable du micro-TEMP/TDM du Centre Henri Becquerel. Les xénogreffes tumorales sont ensuite réséquées et congelées analyses. DOTA acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique pour mUTS2R^{+/+} : souris exprimant le récepteur UT murin ; mUTS2R^{-/-} : souris n'exprimant pas le récepteur UT murin (knock-out); mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+} : souris n'exprimant pas le récepteur UT murin mais exprimant la forme humaine ; TDM : tomodensitométrie ; TEMP : tomographie par émission monophotonique; UII: urotensine II; UT: récepteur urotensinergique.¹¹¹In: indium-111.

RÉSULTATS

RÉSULTATS

Evaluation of ¹¹¹-In-labeled DOTA urotensin II analogues for targeting the UT

receptor overexpressed in solid tumors

B. Poret^{1, 2, 4}, L. Desrues^{1, 4}, N. Perzo^{1, 4}, P.M. Coly^{1, 4}, M. Dubois^{1,4}, J.E. Joubert^{1, 4}, M.A. Bonin³, R. Leduc³, R. Modzelewski^{2, 4}, P. Decazes^{2, 4}, F. Morin^{1, 4}, P. Vera^{2, 4}, H. Castel^{1, 4}, P. Bohn^{2, 4*} and P. Gandolfo^{1, 4*}

*Co-last authors

¹Normandie University, UNIROUEN, INSERM, DC2N, 76000, Laboratory of Neuronal and Neuroendocrine Differentiation and Communication, team Astrocyte and Vascular Niche, 76000 Rouen, France.

²EA 4108, Laboratory of Computer Science, Information Processing and Systems (LITIS), team "QuantIF", Centre Henri Becquerel, 76000 Rouen, France.

³Department of Physiology & Pharmacology, Institute of Sherbrooke, Faculty of Medicine and Health Sciences, Sherbrooke University, Sherbrooke, Québec, Canada.

⁴Institute for Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), 76000 Rouen, France

Key Words: Urotensin II, UT receptor, DOTA-analogues

Address for correspondence: Pierrick Gandolfo, Normandy University, UNIROUEN, INSERM, DC2N, 76000, Laboratory of Neuronal and Neuroendocrine Differentiation and Communication, team Astrocyte and Vascular Niche, 76000 Rouen, France.

E-mail: Pierrick.gandolfo@univ-rouen.fr; Tel: (33) 235-14-6630.

Abstract

Overexpression of G protein-coupled receptors (GPCRs) in tumor is widely used to develop GPCR-targeting radioligands for solid tumor imaging. For example, somatostatin analogue labeled with ¹¹¹Indium (¹¹¹In-OctreoScan) is used for the diagnosis of neuroendocrine tumors. The vasoactive neuropeptide urotensin II (UII), which shares structural analogies with somatostatin, interacts with a single high affinity GPCR named UT. High expression of UT has been reported in several types of human solid tumors from lung, gut, prostate or breast, suggesting that UT is a valuable target to design radiolabeled UII analogues for cancer diagnosis. Two urotensinergic analogues (DOTA-UII and DOTA-urantide) both containing the DOTA chelating group capable of complexing radioactive metal isotopes have been synthetized and radiolabeled with ¹¹¹Indium. Incubation of ¹¹¹In-DOTA-UII in human plasma revealed that only 30% of the radioligand was degraded after a 3h incubation period. Administration of graded concentrations of both DOTA-UII and DOTA-urantide in the vicinity of HEK293 cells expressing UT induced a dose-dependent increase in cytosolic calcium concentration, with similar potency and efficacy to that obtained with UII and urantide. These results demonstrated that conjugation of DOTA in urotensinergic analogues did not affect UT activation. DOTA-UII was also able to promote UT internalization in HEK293 cells expressing UT, while DOTA-urantide was ineffective. Intravenous injection of ¹¹¹In-DOTA-UII in C57BL/6 mice revealed a slight signal mostly restricted in kidney, and similar results were obtained with knock-out mice or constitutively expressing human UT mice. Finally, ¹¹¹In-DOTA-UII was injected into nude mice bearing heterotopic xenografts of human A549 cells (lung adenocarcinoma) or DLD-1 cells (colorectal adenocarcinoma) both expressing functional UT. In both cases, SPECT-CT imaging showed the absence of tumor uptake and significant renal and bladder uptakes, suggesting fast tracer clearance from the organism. However, further investigations will be necessary to decrease renal clearance and to improve tumor imaging.

INTRODUCTION

Urotensin II (UII) is a conserved cyclic peptide originally isolated from urophysis of a teleostean fish (Pearson *et al.*, 1980), which shares sequence homologies with somatostatin (Tostivint *et al.*, 2006). This neuropeptide interacts with a G protein coupled receptor (GPCR) named UT, classically coupled to the PLC/IP₃/Ca²⁺ pathway (Tasaki *et al.*, 2004; Desrue *et al.*, 2008; Jarry *et al.*, 2010). UII and its receptor are broadly expressed in peripheral organs and more especially in the cardiovascular system, and historically UII is considered as the most potent vasoactive neuropeptide (Douglas *et al.*, 2000; Camarda *et al.*, 2002). UII also participates in the modulation of endocrine functions, such as steroid production (Albertin *et al.*, 2006) or insulin secretion (Silvestre *et al.*, 2009), and UII likely behaves as a chemokine (Castel *et al.*, 2017).

More recently, the presence of high density UT has been reported in various tumor cell lines (Takahashi *et al.*, 2001; Takahashi *et al.*, 2003; Balakan *et al.*, 2014) as well as in human tumor extracts from lung (Kristof *et al.*, 2010), liver (Wei *et al.*, 2017) and colon (Federico *et al.*, 2014). It has also been demonstrated that UII, at very low concentrations, stimulates cell proliferation and/or cell migration from human tumors, *e.g.* lung (Wu *et al.*, 2010), colon (Federico *et al.*, 2014), adrenal (Takahash *et al.*, 2003), cancers or gliomas (Lecointre *et al.*, 2015). Moreover, the UT receptor is present in peritumoral vascular smooth muscle cells, and its stimulation is linked to macrophage infiltration (Zhou *et al.*, 2012) and vascular remodeling through endothelial cells (Lee *et al.*, 2016). These observations strongly suggest that the urotensinergic system plays a major role in induction and/or development of solid tumors.

Over-expression of GPCRs in tumors was used to develop radiotracers for the diagnosis of solid cancers in patients. Among the radiolabeled GPCR ligands developed so far, somatostatinergic analogues are employed for imaging neuroendocrine tumors (Krenning *et al.*, 1989; Reubi *et al.*, 2000; Wild *et al.*, 2010). Since expression of UT appears as a pejorative factor in tumorigenesis, the aim of this study was to develop urotensinergic analogues, conjugated with DOTA, to image solid tumors. More precisely, two candidates have been tested, DOTA-UII and DOTA-urantide. This choice was motivated by the fact that UII binds tightly to UT in a quasi-irreversible manner (Qi *et al.*, 2005) and that urantide exhibits dual activity (antagonist/biased ligand) on UT (Brulé *et al.*, 2014).

MATERIALS AND METHODS

Products and reagents

Human urotensin-II (UII) was obtained from Polypeptides Laboratories (Strasbourg, France) and urantide was from Peptide International (Louisville, USA). The analogs DOTA-UII and DOTA-UR were generously provided by Pr. R. Leduc and Dr. M.A. Bonin from the Pharmacology Institute of Sherbrooke University (Canada). The mouse monoclonal anti-MYC (sc-40), the rabbit monoclonal anti-UT (H-90) and the secondary antibody goat anti-mouse HRP (GAM-HRP) were purchased from SantaCruz Biotechnology (Paso Robles, USA). The mouse monoclonal anti-CD34 was obtained from Abcam and the secondary antibodies Alexia Fluor 488-conjugated donkey anti-mouse (DAM488) and Alexia Fluor 594-conjugated donkey anti-rabbit (DAR594) were provided from Invitrogen (Paris, France). Human UTS2R cDNA is inserted into the pCMV-MYC-N (UT-MYC) and pCMV-EGFP (UT-GFP) vectors. All constructs were previously verified in our team by sequencing.

Cell lines culture and transfections

Human lung adenocarcinoma A549 cell line was obtained from American Type Culture Collection (ATCC, CCL-185[™]). Human colorectal adenocarcinoma DLD-1 (ATCC, CCL-221[™]) cell line was gracefully offered by Dr L Grumolato (DC2N laboratory, Inserm U1239, Mont-Saint-Aignan, France) and human embryonic kidney HEK-293 (ATCC, CRL1573[™]) cell line was generously given by Dr Prézeau (IGF laboratory, Montpellier, France). All cell lines were routinely maintained according to the instructions from ATCC. More precisely, A549 and DLD-1 cells were cultured with RPMI 1640 media and HEK-293 cells were cultured with DMEM media, all supplemented with 1% sodium pyruvate (ThermoFisher Scientific, Montigny-Le-Bretonneux, France) and 10% fetal bovine serum (FBS, Lonza, Levallois-Perret, France). Transient transfections were performed using either Amaxa[®] Cell Line Nucleofactor[®] Kit V (Lonza, Levallois-Perret, France) or FuGene[®] HD (Promega Corporation, Southampton, UK) according to the manufacturer's protocol.

Calcium assay

HEK-293 expressing UT-MYC were plated at 50,000 cells/well into clear-bottom, black, 96-well plates (Corning, Bagneaux-sur-Loing, France), previously coated with poly-L-ornithine (100 μ g/mL, 1h, 37 °C) and incubated overnight with media only. After 24h in culture, cells were rinsed twice with HBSS buffer (20 mM HEPES, 0.5 mM MgCl₂, 2.6 mM CaCl₂, 7.7 mM Na₂CO₃, 1.4 mM MgSO₄, 5.3 mM KCl, 138 mM NaCl, 0.1% BSA, 5.5 mM glucose, 2.5 mM probenecid, pH 7.4) (Sigma Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France) and loaded (40 min at 37 °C) with the calcium-sensitive dye fluo-4 AM (ThermoFisher Scientific, Montigny-Le-Bretonneux, France) containing 20% pluronic F-127 in DMSO. The effects of graded concentrations of UII, DOTA-UII, urantide and DOTA-urantide (10⁻¹¹ to 10⁻⁶ M, each) on $[Ca²⁺]_c$ were measured with a fluorometric imaging plate reader FlexStation III (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Data were expressed as the ratio of maximum response to the average control value.

Internalization assay

For ELISA experiments, HEK-293 cells expressing UT-MYC were plated at 10,000 cells/well into white, 96-well plates (Corning, Bagneaux-sur-Loing, France), previously coated with poly-L-ornithine (100 μ g/mL, 1 h, 37 °C), and incubated overnight with media only. Cells were treated

or not for 1 h with increasing concentrations of UII, DOTA-UII, urantide, or DOTA-urantide (10⁻¹⁰ to 10⁻⁶ M, each), washed with PBS and fixed with paraformaldehyde (4%, 10 min, 20°C). Cells were permeabilized or not with Triton X-100 (0.05%, 5 min). Non-specific binding sites were blocked with FBS (10%) and normal donkey serum (NDS, 2%, 1 h). Cells were incubated with anti-MYC antibody (1 h, 20°C) followed by incubation with GAM-HRP (1 h, 20°C). After washes, chemoluminescence was detected with an ELISA kit (ThermoFisher Scientific, Montigny-Le-Bretonneux, France) and the InfinitePro200 plate reader (TECAN FRANCE, Lyon). Data are expressed as the ratio between intensity measured on the permeabilized cells and that measured on the non-permeabilized cells, compared to the average control value.

For cytochemistry experiments, HEK-293 cells expressing UT-GFP were seeded at 70,000 cells/well into transparent, 24-well plates (Corning, Bagneaux-sur-Loing, France), previously coated with human fibronectin (25 μ g/mL, overnight, 4 °C), and incubated overnight with media only. Cells were treated for 1 h with UII, urantide, DOTA-UII or DOTA-urantide (10⁻⁷ M, each). Cells were rinsed with PBS before fixation with paraformaldehyde (4%, 10 min) and counterstaining with DAPI (1 μ g/mL, 5 min) to label nuclei. Cells were imaged by confocal microscopy (Leica TCS SP8 confocal laser scanning microscope).

Cell migration assay

DLD-1 and A549 cell lines were seeded (50,000 cells) on transwell filters with 8 μ m pores previously coated with human fibronectin (25 μ g/mL, 4°C, overnight) in serum-free medium on the upper chamber. A chemotaxic diffusion was generated through the microporous membrane by filling the lower chamber with UII (10⁻⁷ M or 10⁻⁹ M). After 24 h incubation period at 37°C, filters were rinsed with PBS and non-migrating cells were removed from the

upper surface by using a cotton-swab. Migrating cells were fixed in successive baths of methanol (50, 70, 90 and 100%), stained with eosin and hematoxylin and filters were mounted on glass slides with Mowiol. Random phase contrast images of filters were then recorded, using a digital camera connected to a Nikon microscope (Eclipse TS-100) and image analysis was performed by using *Image J*'s Cell Counter. The data were represented as the ratio of treatment chemoattraction normalized to control.

Radiolabeling

For labeling with ¹¹¹In, DOTA-UII or DOTA-urantide was dissolved at 0.05 mM in 1 mL of isocitrate buffer (6 mM citric acid, 20 mM sodium citrate, 0.02 N chlorhydric acid, pH 4). ¹¹¹InCl₃ (30 MBq) was added to the vial and the solution was incubated at 100 °C for 20 min. The radiochemical purity of the radiolabeled peptides was determined by high performance liquid chromatography (HPLC, Thermofisher Ultimate 3000) equipped with a column (Kromasil® KR100-5 C18 (250 x 4.6 mm, 5µm), and monitored with ultraviolet detector (wavelength: 254 nm) and with Gabi radioactivity detector from Elysia. Solvent A was water for HPLC and solvent B was acetonitrile. Separation of compounds was achieved using the following conditions: (i) isocratic elution with 5% B from the injection time until 15 min, (ii) a gradient from 5% to 95% B over the next 10 min, (iii) an isocratic elution with 95% B for 5 min, another (iv) linear gradient from 95% to 5% B over 10 min and finally (v) isocratic elution with 5% B for 5 min. The column temperature was set at 25°C and the injection volume was 20 µl. The stability of radiolabeled peptides was assessed by incubation of ¹¹¹In-DOTA-UII in fresh human serum at 37 °C for up to 3 h. The serum samples were centrifuged (18,000 x *g*, 3 min)

and the supernatant was collected to determine the radiochemical purity by thin layer chromatography.

In vivo assay

For biodistribution studies, C57BL6/6 wild-type (mUTS2R^{+/+}), KO (mUTS2R^{-/-}), and KI (mUTS2R^{-/-}), hUTS2R^{+/+}) mice were injected with ¹¹¹In-DOTA-UII (3 MBq, 100 μL) into tail vein. Mice were sacrificed at 4, 24, 48 and 72 h post-injection and blood and organs were collected. All samples were analyzed with a gamma counter and the data presented were calculated as the percent injected dose per gram of tissue (% ID/g).

For Micro-SPECT/CT studies, inocula (100 μ L) containing a suspension of 5.10⁶ freshly harvested A549 or DLD-1 cells in phosphate buffered-saline were injected subcutaneously into the right flank in Swiss (nu/nu) mice. When the tumor size reached 250 mm³ (approximatively 3-weeks), 15 MBq of ¹¹¹In-DOTA-UII were injected into tail vein. Images were performed 24 h post-injection with micro-SPECT/CT (1 h acquisition, images at 35-s intervals). After analysis, animals were sacrificed, and tumors were collected, directly frozen in isopentane (-50 °C) and stored at -80 °C.

Immunochemistry

A549 or DLD-1 tumor cryostat sections (10 μ m in size) were processed in a Leica CM1950 Cryostat, mounted directly on slides and then fixed in 4% paraformaldehyde (10 min, 20°C), permeabilized with Triton X-100 (0.05%, 5 min) and non-specific sites were blocked with FBS and NDS (10% and 2%, respectively, 1 h). Slices were incubated overnight at 4 °C with primary antibodies (anti-UT and anti-CD34) followed by incubation for 2 h at 20°C with appropriate secondary antibodies (DAR594 and DAM488, respectively). Slices were counterstained with

DAPI (1 μ g/mL, 10 min) to label nuclei, and imaged by confocal microscopy (Leica TCS SP8 confocal laser scanning microscope).

Animal models

Animal procedures were carried out in accordance with recommendations of the French Ethical Committee and under the supervision of authorized investigators. For biodistribution studies, 8-week-old female C57BL6/6 mUTS2R^{+/+} (wild-type), mUTS2R^{-/-} (KO), mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+} (KI) (René Janvier Laboratories) were used. For imagery studies, 8-old-week female Swiss (*nu/nu*) mice (Charles River Laboratories) were used. Mice were acclimated and housed in sterile cages in groups of 5, in a temperature-controlled room with a 12-hours light/12-hours dark schedule, and fed with autoclaved food and water *ad libitum*.

Statistical analyzes

Data were expressed as mean \pm SEM and analyzed with GraphPad Prism (version 6, GraphPad Software, Inc). Mann-Whitney *U* test was used for non-parametric comparisons, and multivariate analysis were done with ANOVA one-way test. All reported P values were two-sided and considered to be statistically significant at *P* < 0.05.
RESULTS

Recognition and activation of UT receptor by DOTA-UII and DOTA-urantide

We first evaluated the ability of DOTA-UII and DOTA-urantide to functionally interact with UT. This receptor is classically associated with the phospholipase C/IP₃/Ca²⁺ pathway (Castel *et al.*, 2006; Diallo *et al.*, 2008; Douglas *et al.*, 2014). We thus compared the ability of UII, urantide and their DOTA analogues to mobilize calcium in HEK-293 cells expressing UT receptor. We found that exposure of graded concentrations of DOTA-UII or DOTA-urantide (10^{-11} to 10^{-6} M, each) induced a transient and dose-dependent increase in [Ca²⁺]_c. (EC₅₀ : 2.60 10^{-8} M ± 0.47 ; 9.75 10^{-9} M ± 2.44, respectively) with a potency and efficacy similar to that obtained with UII and urantide (EC₅₀ : 1.89 10^{-8} M ± 0.97; 2.45 10^{-8} M ± 1.3, respectively), indicating that the coupling of DOTA at the N-terminal extremity of UII or urantide, did not alter interaction and activation of UT.

Internalization of UT evoked by urotensinergic DOTA analogues

Development of GPCR DOTA-radioligands to image solid tumors requires internalization of the receptor/complex, allowing radioactivity accumulation in tumor cells (Tatsi *et al.*, 2014). The ability of urotensinergic DOTA analogues to provoke UT internalization was first evaluated by using an ELISA approach on HEK-293 cell line transfected with cDNA encoding human UT tagged MYC receptor. We showed that application for 1 h of UII (10⁻¹⁵ to 10⁻⁶ M) induced a dose-dependent increase in internalization rate of UT, starting from picomolar concentrations and with a plateau reached between 10⁻⁹ and 10⁻⁸ M (Fig. 3A). As expected, DOTA-UII exerted

similar effects, with very close potency and efficacy. In contrast, both urantide and its DOTA analog failed to provoke UT internalization, even at high concentrations (Fig. 3B). These results were confirmed by confocal microscopy within HEK-293 cells expressing human UT-GFP. In control conditions, UT is mostly located at the plasma membrane level (Fig. 3B). Application of UII or DOTA-UII (10⁻⁷ M, each) for 1 h promoted a strong accumulation of UT into cells, while urantide and DOTA-urantide were both ineffective (Fig. 3B).

UT expression and activity of UII on DLD-1 and A549 cells

Previous studies have clearly reported the presence of UT on several human cell lines, including DLD-1 and A549 (Takahashi *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2010), originally isolated from colorectal adenocarcinoma and lung adenocarcinoma, respectively. By a Western blot analysis, we first verified the presence of UT in both cell lines, and we observed a major band at the expected molecular mass (\approx 65 kDa) (Fig. 4A, *left*). To make sure that the expression of UT is preserved in the tumor microenvironment, immunohistochemistry studies were then carried out from xenografts obtained after injection of DLD-1 or A549 into nude mice. The receptor was mostly located around pro-angiogenic regions expressing CD34 (Fig. 4B, *right*). We also verified the ability of UII to promote migration and/or proliferation in these cell lines. As illustrated in Fig. 4B, UII stimulated migration in DLD-1 (and A549 cells, with a more potent activity observed on DLD1 cells. Furthermore, UII provoked an increase in proliferation rate in both cells, observed after 48 h period incubation, at low and high concentrations (Fig. 4C).

Radiolabeling and stability

Radiolabeling of DOTA-UII or DOTA-urantide with ¹¹¹In was achieved by 20 min incubation with ¹¹¹InCl₃ in isocitrate buffer (pH 4) at 100 °C. For both analogues, the incorporation in the DOTA chelator was >99%, as demonstrated by radioanalytical HPLC (Fig. 5). Stability of ¹¹¹In-DOTA-UII was tested by incubation in human serum at 37 °C. After 1 and 3 h spent in human plasma, we found more than 80 and 70% of intact radiopeptide, respectively (Table 1).

Biodistribution studies with ¹¹¹In-DOTA-UII

The biodistribution of ¹¹¹In-DOTA-UII was studied in 8-old-weeks female C57BL6/6 mice expressing UT (WT), not expressing murine UT (mUTS2R^{-/-}, KO) or expressing human UT (mUTS2R^{-/-}; hUTS2R^{+/+}, KI). Our results were calculated as mean %ID/g value ± SD at 4, 24, 48 and 72 h post-injection, and are summarized in Table 2 (WT), Table 3 (KO) and Table 4 (KI). ¹¹¹In-DOTA-UII displayed a rapid clearance from blood and background tissues predominantly *via* the kidneys. More precisely, more than 90% of radioactive peptide was eliminated from animals over 4 h post-injection, and no significantly differences were observed between the three groups.

Tumor imaging studies with ¹¹¹In-DOTA-UII

Heterotopic xenografts were obtained by injection of A549 cells (from human lung adenocarcinoma) or DLD–1 cells (from human colorectal adenocarcinoma) in nude mice. When tumors size reach 250 mm³, ¹¹¹In-DOTA-UII was injected into tail vein and acquisitions were performed 24 h pi with a micro-SPECT/CT. We found that ¹¹¹In-DOTA-UII failed to image A549 (Fig. 5A) or DLD-1 tumors (Fig. 5B).

DISCUSSION

GPCRs play a major role in the initiation and progression of cancers. Several of them, such as AT1, ETB or CXCR4, involved in a wide range of biological mechanisms, participate in the modulation of proliferation/migration and/or angiogenesis, three fundamental processes involved in tumorigenesis (Charron *et al.*, 2016; Hauser *et al.*, 2017; Nohata *et al.*, 2017). Some of these GPCRs are over-expressed in tumor cells, constituting interesting targets for the diagnosis and/or treatment of solid tumors. For example, somatostatinergic radiolabeled analogues have been developed to visualize neuroendocrine tumors, which contain high density of sst₂ receptors (Krenning *et al.*, 1989). Therefore, the discovery of new GPCR over-expressed in tumors, is a promising way to develop new radioligands (Reubi, 2003; Smith *et al.*, 2005; Mariani *et al.*, 2006).

Considered as the most potent vasoactive compound identified so far, the neuropeptide UII also participates in critical tumorigenic mechanisms, such as cell migration and/or proliferation (Segain *et al.*, 2007; Lecointre *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2017) and tumor angiogenesis (Guidolin *et al.*, 2010; Le Joncour *et al.*, submitted). Recent reports have clearly demonstrated that the urotensinergic receptor UT is present at the membrane level of tumoral cells from lung (Kristof *et al.*, 2010), breast (Balakan *et al.*, 2014), colon (Federico *et al.*, 2016) or prostate cancer (Grieco *et al.*, 2018). Taken together, the aim of this study was to develop DOTA-urotensinergic analogues able to selectively interact with UT, and to investigate their ability to target UT-expressing solid tumors.

For the first time, two DOTA urotensinergic analogues (DOTA-UII and DOTA-urantide) have been synthesized. DOTA chelating agent was chosen because of the better thermodynamic stability of the final complex compared to DTPA complexes. (Breeman *et al.*, 2003; Deppen *et*

~ 172 ~

al., 2016). In addition, DOTA can also incorporate a wide range of radioisotopes used for diagnosis, such as ¹¹¹In and ⁶⁸Ga (Breeman *et al.*, 2003; Forrer *et al.*, 2004), or therapy, such as ⁹⁰Y and ¹⁷⁷Lu (Waldherr *et al.*, 2001; Bodei *et al.*, 2011). The addition of DOTA in a peptide sequence may alter affinity and binding to the receptor and receptor-induced cellular response, as previously described with NPY (Tatsi et al., 2014). Thus, to verify that conjugation of DOTA in UII and urantide did not alter their selectivity for UT, we have tested their ability to activate the $G\alpha_q/PLC/PIP_2/IP_3$ pathway, classically associated with UT (Douglas *et al.*, 2004; Diallo et al., 2008; Jarry et al., 2010). We found that application of DOTA-UII and DOTAurantide in the vicinity of HEK-293 cells expressing UT led to a dose-dependent increase in [Ca²⁺]_c, with similar potency and efficacy to those obtained with UII and urantide. These results demonstrated that conjugation of a DOTA with Ahx linker at the C-terminal sequences of UII or urantide did not impair UT activation. We also raised the question whether DOTA urotensinergic peptides were able to provoke UT internalization, a key mechanism for the development of tumoral radiotracers. By combining two experimental approaches (ELISA and immunocytochemistry) we showed that a 1 h period incubation of HEK-293 cells expressing UT with UII or DOTA-UII induced an intracellular accumulation of the receptor. In contrast, urantide and DOTA-urantide were both ineffective. These results are in accordance with previous studies demonstrating that urantide is unable to recruit β -arrestine 2, a GPCR protein partner which plays a crucial role in receptor internalization. Accordingly, it seems that urantide behaves as a biased UT ligand, capable of selectively stimulating certain intracellular cascades with more or less intensity (Brulé et al., 2014)

Currently, Indium–111 is used for imaging tumor in patients or animals, mainly through its interesting characteristics, e.g. compatibility with many chelator including DOTA, emission of

y rays detectable with a gamma camera, relatively long half-life compared with other radioisotopes, thus offering a reasonable time to perform in vivo experiments requiring late imaging (Okarvi and Maecke, 2016; 2018). The radiolabeling protocol developed in this study consisted in incubation of urotensinergic DOTA-peptides with InCl₃ at 100°C for 20 min. We obtained a labeling yield of more than 99% of ¹¹¹In-DOTA–UII or ¹¹¹In-DOTA-urantide. The plasma stability of the compounds at 37°C was evaluated for 3 hours and led to an acceptable result unlike some DTPA tracers (Kwekkeboom et al., 1999), confirming that DOTA-peptides may be used for the development of GPCR-targeting radioligands. These results are also consistent with previous studies indicating that peptides containing a Met, Ser, Ala, Thr, Gly or Val residue in the N-terminal extremity, such as DOTA-UII or DOTA-urantide, possess a longer biological half-life in plasma than other compounds (Werke and Bernkop-Schnürch, 2006). To verify that the high temperature (100°C) adopted for the peptide radiolabeling did not cause a denaturation of the DOTA-UII, and in particular cleaving the disulfide bridge essential for the biological activity of the peptide (Labarrère et al., 2003; Chatenet et al., 2004; Guerrini et al., 2005), ¹¹¹In has been replaced by stable Indium. We found that In–DOTA–UII conserved a potent stimulatory effect on calcium mobilization in HEK-293 cells expressing UT showing that the labeling protocol used for urotensinergic analogues did not alter their biological properties. As a comparison, the somatostatinergic analog octreotide, which contains a disulfide bridge, also retains its biological properties after chelation of radioisotopes under high temperature (Breeman et al., 2003; Tatsi et al., 2014).

It is commonly accepted that the internalization of the ligand–receptor complex induced by a DOTA–peptide justifies, in part, its potential exploitation to diagnose the presence of a tumor, allowed by accumulation of the agonistic radioligand in tumor cells (Langer *et al.*, 2001;

~ 174 ~

Mankoff *et al.*, 2008). Thus, we decided to focus *in vivo* experiments with DOTA–UII. Injected into C57BL6/6 mice, ¹¹¹In–DOTA–UII is rapidly eliminated by renal filtration as early as 4 h post-injection. The uptake of ¹¹¹In–DOTA–UII was low in almost all organs except the kidneys. Furthermore, the estimated amount of radioactivity collected in the blood and organs was two to three times lower than that involving other ¹¹¹In–DOTA–UII was rapidly filtered and eliminated in urine. Consistent with this hypothesis, analysis of the biodistribution of ¹¹¹In–DOTA–UII in mUTS2R^{-/-} mice did not reveal any decrease in systemic uptake. Since interspecies incompatibility problems cannot be excluded between ¹¹¹In–DOTA–UII (human form) and the mouse receptor, we studied the biodistribution of ¹¹¹In–DOTA–UII in C57BL/6 mice whose UT receptor gene was invalidated in favor of the human form (mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+}). No difference was observed in the biodistribution of radioligand, confirming an important renal metabolism or clearance.

Finally, A549 cells (from human lung adenocarcinoma) or DLD–1 cells (from human colorectal adenocarcinoma) were injected in nude mice to generate heterotopic tumors. The presence of functional UT was previously verified in both cell lines, and expression of the receptor was also confirmed in xenografts, mainly in pro-angiogenic regions. These results are in accordance with recent data obtained from human glioblastomas (Le Joncour *et al.,* submitted). After tumor growth, ¹¹¹In–DOTA–UII was intravenously injected for SPECT–CT imaging. Unfortunately, no intratumoral signals was detected 24 h post-injection. The absence of signal was probably due to a stronger clearance of peptide which was not compatible with the accumulation of the radiotracer in tumor cells.

In conclusion, we have developed for the first time two DOTA-urotensinergic peptides. While conjugation of DOTA in the N-terminal extremity of UII or urantide did not alter UT activation,

~ 175 ~

we did not observe signal in tumor xenografts expressing UT. Thus, in further studies, we will try to increase the stability, lipophilic properties and the size of ¹¹¹In-urotensinergic peptides, to optimize tumor absorption.

REFERENCES

1. Albertin G, Casale V, Ziolkowska A, Spinazzi R, Malendowicz LK, Rossi GP, et al. Urotensin-II and UII-receptor expression and function in the rat adrenal cortex. Int J Mol Med. 2006;17: 1111–1115. doi:<u>10.3892/ijmm.17.6.1111</u>

2. Balakan O, Kalender ME, Suner A, Cengiz B, Oztuzcu S, Bayraktar R, et al. The relationship between urotensin ii and its receptor and the clinicopathological parameters of breast cancer. Med Sci Monit. 2014;20: 1419–1425. doi:<u>10.12659/MSM.890459</u>

3. Bodei L, Cremonesi M, Grana CM, Fazio N, Iodice S, Baio SM, et al. Peptide receptor radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE: the IEO phase I-II study. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2011;38: 2125–2135. doi:<u>10.1007/s00259-011-1902-1</u>

4. Breeman WAP, Jong M de, Visser TJ, Erion JL, Krenning EP. Optimising conditions for radiolabelling of DOTA-peptides with 90Y, 111In and 177Lu at high specific activities. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2003;30: 917–920. doi:<u>10.1007/s00259-003-1142-0</u>

5. Brulé C, Perzo N, Joubert J-E, Sainsily X, Leduc R, Castel H, et al. Biased signaling regulates the pleiotropic effects of the urotensin II receptor to modulate its cellular behaviors. FASEB J. 2014;28: 5148–5162. doi:<u>10.1096/fj.14-249771</u>

6. Camarda V, Rizzi A, Calò G, Gendron G, Perron SI, Kostenis E, et al. Effects of human urotensin II in isolated vessels of various species; comparison with other vasoactive agents. Naunyn-Schmied Arch Pharmacol. 2002;365: 141–149. doi:<u>10.1007/s00210-001-0503-0</u>

7. Castel H, Diallo M, Chatenet D, Leprince J, Desrues L, Schouft MT, et al. Biochemical and functional characterization of high-affinity urotensin II receptors in rat cortical astrocytes. J Neurochem. 2006;99: 582–595. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.04130.x

8. Castel H, Desrues L, Joubert JE, Tonon MC, Prézeau L, Chabbert M, et al. The G proteincoupled receptor UT of the neuropeptide urotensin II displays structural and functional chemokine features. Front Endocrinol. 2017;8. doi:<u>10.3389/fendo.2017.00076</u>

9. Charron CL, Hickey JL, Nsiama TK, Cruickshank DR, Turnbull WL, Luyt LG. Molecular imaging probes derived from natural peptides. Nat Prod Rep. 2016;33: 761–800. doi:10.1039/c5np00083a

10. Chatenet D, Dubessy C, Leprince J, Boularan C, Carlier L, Ségalas-Milazzo I, et al. Structure– activity relationships and structural conformation of a novel urotensin II-related peptide. Peptides. 2004;25: 1819–1830. doi:<u>10.1016/j.peptides.2004.04.019</u>

11. Chen J, Cheng Z, Owen NK, Hoffman TJ, Miao Y, Jurisson SS, et al. Evaluation of an 111In-DOTA–Rhenium Cyclized α-MSH Analog: A Novel Cyclic-Peptide Analog with Improved Tumor-Targeting Properties. J Nucl Med. 2001;42: 1847–1855. 12. Decristoforo C, Gonzalez IH, Carlsen J, Rupprich M, Huisman M, Virgolini I, et al. 68Ga- and 111In-labelled DOTA-RGD peptides for imaging of $\alpha\nu\beta$ 3 integrin expression. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2008;35: 1507–1515. doi:10.1007/s00259-008-0757-6

13. Deppen SA, Blume J, Bobbey AJ, Shah C, Graham MM, Lee P, et al. 68Ga-DOTATATE compared with 111In-DTPA-Octreotide and conventional imaging for pulmonary and gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: a systematic review and meta-analysis. J Nucl Med. 2016;57: 872–878. doi:10.2967/jnumed.115.165803

14. Desrues L, Lefebvre T, Diallo M, Gandolfo P, Leprince J, Chatenet D, et al. Effect of GABAA receptor activation on UT-coupled signaling pathways in rat cortical astrocytes. Peptides. 2008;29: 727–734. doi:<u>10.1016/j.peptides.2008.01.024</u>

15. Diallo M, Jarry M, Desrues L, Castel H, Chatenet D, Leprince J, et al. [Orn5]URP acts as a pure antagonist of urotensinergic receptors in rat cortical astrocytes. Peptides. 2008;29: 813–819. doi:<u>10.1016/j.peptides.2007.10.023</u>

16. Douglas SA, Dhanak D, Johns DG. From 'gills to pills': urotensin-II as a regulator of mammalian cardiorenal function. Trends in Pharmacological Sciences. 2004;25: 76–85. doi:<u>10.1016/j.tips.2003.12.005</u>

17. Douglas SA, Sulpizio AC, Piercy V, Sarau HM, Ames RS, Aiyar NV, et al. Differential vasoconstrictor activity of human urotensin-II in vascular tissue isolated from the rat, mouse, dog, pig, marmoset and cynomolgus monkey. Br J Pharmacol. 2000;131: 1262–1274. doi:10.1038/sj.bjp.0703690

18. Federico A, Zappavigna S, Romano M, Grieco P, Luce A, Marra M, et al. Urotensin-II receptor is over-expressed in colon cancer cell lines and in colon carcinoma in humans. Eur J Clin Invest. 2014;44: 285–294. doi:<u>10.1111/eci.12231</u>

19. Forrer F, Uusijärvi H, Waldherr C, Cremonesi M, Bernhardt P, Mueller-Brand J, et al. A comparison of 111In-DOTATOC and 111In-DOTATATE: biodistribution and dosimetry in the same patients with metastatic neuroendocrine tumours. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2004;31: 1257–1262. doi:10.1007/s00259-004-1553-6

20. Grieco P, Franco R, Bozzuto G, Toccacieli L, Sgambato A, Marra M, et al. Urotensin II receptor predicts the clinical outcome of prostate cancer patients and is involved in the regulation of motility of prostate adenocarcinoma cells. J Cell Biochem. 2010;112: 341–353. doi:10.1002/jcb.22933

21. Guerrini R, Camarda V, Marzola E, Arduin M, Calo G, Spagnol M, et al. Structure–activity relationship study on human urotensin II. J Pept Sci. 2005;11: 85–90. doi:<u>10.1002/psc.590</u>

22. Guidolin D, Albertin G, Oselladore B, Sorato E, Rebuffat P, Mascarin A, et al. The proangiogenic activity of urotensin-II on human vascular endothelial cells involves ERK1/2 and PI3K signaling pathways. Regul Pept. 2010;162: 26–32. doi:<u>10.1016/j.regpep.2010.02.009</u> 23. Hauser AS, Attwood MM, Rask-Andersen M, Schiöth HB, Gloriam DE. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. Nat Rev Drug Discov. 2017;16: 829–842. doi:10.1038/nrd.2017.178

24. Jarry M, Diallo M, Lecointre C, Desrues L, Tokay T, Chatenet D, et al. The vasoactive peptides urotensin II and urotensin II-related peptide regulate astrocyte activity through common and distinct mechanisms: involvement in cell proliferation. Biochem J. 2010;428: 113–124. doi:10.1042/BJ20090867

25. Kim M-Y, Ilyosbek S, Lee BH, Yi KY, Jung Y-S. A novel urotensin II receptor antagonist, KR-36676, prevents ABCA1 repression via ERK/IL-1 beta pathway. Eur J Pharmacol. 2017;803: 174–178. doi:<u>10.1016/j.ejphar.2017.03.056</u>

26. Krenning EP, Breeman WAP, Kooij PPM, Lameris JS, Bakker WH, Koper JW, et al. Localisation of endocrine-related tumours with radioionated analogue of somatostatin. The Lancet. 1989;333: 242–244. doi:<u>10.1016/S0140-6736(89)91258-0</u>

27. Kristof AS, You Z, Han YS, Giaid A. Protein expression of urotensin II, urotensin-related peptide and their receptor in the lungs of patients with lymphangioleiomyomatosis. Peptides. 2010;31: 1511–1516. doi:10.1016/j.peptides.2010.04.017

28. Kwekkeboom DJ, Kooij PP, Bakker WH, Mäcke HR, Krenning EP. Comparison of 111In-DOTA-Tyr3-octreotide and 111In-DTPA-octreotide in the same patients: biodistribution, kinetics, organ and tumor uptake. J Nucl Med. 1999;40: 762–767.

29. Labarrère P, Chatenet D, Leprince J, Marionneau C, Loirand G, Tonon M-C, et al. Structureactivity relationships of human urotensin II and related analogues on rat aortic ring contraction. J Enzyme Inhib Med Chem. 2003;18: 77–88. doi:<u>10.1080/1475636031000093507</u>

30. Langer M, La Bella R, Garcia-Garayoa E, Beck-Sickinger AG. 99mTc-labeled neuropeptide Y analogues as potential tumor imaging agents. Bioconjug Chem. 2001;12: 1028–1034.

31. Le Joncour V, Guichet PO, Dembele KP, Mutel A, Perzo N, Desrues L, et al. Targeting the urotensin II/UT G protein-coupled receptor to counteract angiogenesis and mesenchymal hypoxia/necrosis in glioblastoma.

32. Lecointre C, Desrues L, Joubert JE, Perzo N, Guichet P-O, Le Joncour V, et al. Signaling switch of the urotensin II vasosactive peptide GPCR: prototypic chemotaxic mechanism in glioma. Oncogene. 2015;34: 5080–5094. doi:<u>10.1038/onc.2014.433</u>

33. Lee JH, Park BK, Oh K-S, Yi KY, Lim CJ, Seo HW, et al. A urotensin II receptor antagonist, KR36676, decreases vascular remodeling and inflammation in experimental pulmonary hypertension. Int Immunopharmacol. 2016;40: 196–202. doi:<u>10.1016/j.intimp.2016.09.002</u>

34. Mankoff DA, Link JM, Linden HM, Sundararajan L, Krohn KA. Tumor receptor imaging. J Nucl Med. 2008;49: 149S-163S. doi:<u>10.2967/jnumed.107.045963</u>

35. Mariani G, Erba PA, Signore A. Receptor-mediated tumor targeting with radiolabeled peptides: there is more to it than somatostatin analogs. J Nucl Med. 2006;47: 1904–1907.

36. Nohata N, Goto Y, Gutkind JS. Onco-GPCR signaling and dysregulated expression of microRNAs in human cancer. J Hum Genet. 2017;62: 87–96. doi:<u>10.1038/jhg.2016.124</u>

37. Okarvi SM, Maecke HR. Radiometallo-labeled peptides in tumor diagnosis and targeted radionuclide therapy. In: van Eldik R, Hubbard CD, editors. Advances in Inorganic Chemistry. Academic Press; 2016. pp. 341–396. doi:<u>10.1016/bs.adioch.2015.11.003</u>

38. Okarvi SM, Maecke HR. Peptide applications in biomedicine, biotechnology and bioengineering. Peptide Applications in Biomedicine, Biotechnology and Bioengineering. 2018; 431–483. doi:10.1016/B978-0-08-100736-5.00019-3

39. Pearson D, Shively JE, Clark BR, Geschwind II, Barkley M, Nishioka RS, et al. Urotensin II: a somatostatin-like peptide in the caudal neurosecretory system of fishes. PNAS. 1980;77: 5021–5024. doi:<u>10.1073/pnas.77.8.5021</u>

40. Qi J, Minor LK, Smith C, Hu B, Yang J, Andrade-Gordon P, et al. Characterization of functional urotensin II receptors in human skeletal muscle myoblasts: comparison with angiotensin II receptors. Peptides. 2005;26: 683–690. doi:<u>10.1016/j.peptides.2004.11.018</u>

41. Reubi JC, Schär JC, Waser B, Wenger S, Heppeler A, Schmitt JS, et al. Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes SST1-SST5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. Eur J Nucl Med. 2000;27: 273–282.

42. Reubi JC. Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. Endocr Rev. 2003;24: 389–427. doi:<u>10.1210/er.2002-0007</u>

43. Segain J-P, Rolli-Derkinderen M, Gervois N, Blétière DR de la, Loirand G, Pacaud P. Urotensin II is a New Chemotactic Factor for UT Receptor-Expressing Monocytes. J Immunol. 2007;179: 901–909. doi:<u>10.4049/jimmunol.179.2.901</u>

44. Silvestre RA, Egido EM, Hernández R, Marco J. Characterization of the insulinostatic effect of urotensin II: A study in the perfused rat pancreas. Regul Pept. 2009;153: 37–42. doi:<u>10.1016/j.regpep.2008.11.008</u>

45. Smith CJ, Volkert WA, Hoffman TJ. Radiolabeled peptide conjugates for targeting of the bombesin receptor superfamily subtypes. Nucl Med Biol. 2005;32: 733–740. doi:<u>10.1016/j.nucmedbio.2005.05.005</u>

46. Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Shibahara S. Expression of urotensin II and urotensin II receptor mRNAs in various human tumor cell lines and secretion of urotensin II-like immunoreactivity by SW-13 adrenocortical carcinoma cells. Peptides. 2001;22: 1175–1179. doi:10.1016/S0196-9781(01)00441-7

47. Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Arihara Z, Noshiro T, Hayashi Y, et al. Expression of urotensin II and its receptor in adrenal tumors and stimulation of proliferation of cultured tumor cells by urotensin II. Peptides. 2003;24: 301–306. doi:<u>10.1016/S0196-9781(03)00039-1</u>

48. Tasaki K, Hori M, Ozaki H, Karaki H, Wakabayashi I. Mechanism of Human Urotensin II-Induced Contraction in Rat Aorta. J Pharmacol Sci. 2004;94: 376–383. doi:<u>10.1254/jphs.94.376</u> 49. Tatsi A, Maina T, Cescato R, Waser B, Krenning EP, de Jong M, et al. [DOTA]Somatostatin-14 analogs and their 111In-radioligands: Effects of decreasing ring-size on sst1–5 profile, stability and tumor targeting. Eur J Med Chem. 2014;73: 30–37. doi:10.1016/j.ejmech.2013.12.003

50. Tostivint H, Joly L, Lihrmann I, Parmentier C, Lebon A, Morisson M, et al. Comparative genomics provides evidence for close evolutionary relationships between the urotensin II and somatostatin gene families. PNAS. 2006;103: 2237–2242. doi:<u>10.1073/pnas.0510700103</u>

51. Waldherr C, Pless M, Maecke HR, Haldemann A, Mueller-Brand J. The clinical value of [90Y-DOTA]-D-Phe1-Tyr3-octreotide (90Y-DOTATOC) in the treatment of neuroendocrine tumours: A clinical phase II study. Ann Oncol. 2001;12: 941–945. doi:<u>10.1023/A:1011160913619</u>

52. Wei H, Yu X, Xue X, Liu H, Wang M, Li Y, et al. Urotensin II receptor as a potential biomarker for the prognosis of hepatocellular carcinoma patients. Oncol Lett. 2017;14: 2749–2756. doi:10.3892/ol.2017.6545

53. Werle M, Bernkop-Schnürch A. Strategies to improve plasma half life time of peptide and protein drugs. Amino Acids. 2006;30: 351–367. doi:<u>10.1007/s00726-005-0289-3</u>

54. Wild D, Fani M, Behe M, Brink I, Rivier J, Reubi J, et al. First clinical evaluation of somatostatin receptor antagonist imaging. J Nucl Med. 2010;51: 483–483.

55. Wu YQ, Song Z, Zhou CH, Xing SH, Pei DS, Zheng JN. Expression of urotensin II and its receptor in human lung adenocarcinoma A549 cells and the effect of urotensin II on lung adenocarcinoma growth in vitro and in vivo. Oncol Rep. 2010;24: 1179–1184.

56. Zhou C-H, Wan Y-Y, Chu X-H, Song Z, Xing S-H, Wu Y-Q, et al. Urotensin II contributes to the formation of lung adenocarcinoma inflammatory microenvironment through the NF-κB pathway in tumor-bearing nude mice. Oncol Lett. 2012;4: 1259–1263. doi:10.3892/ol.2012.932

LEGENDS TO FIGURES

Fig 1. Chemical structure of urotensin II (UII), urantide and their DOTA analogues.

(A, B) structure of UII (ETPD[CFWKYC]V) and DOTA-UII (DOTA-Ahx-ETPD[CFWKYC]V). (C, D) structure of urantide (C, D[Pen-F-W-Orn-YC]V) and DOTA-urantide (D, DOTA-Ahx-D[Pen-F-W-Orn-YC]V).

Fig 2. Effects of UII, urantide and their DOTA analogues on $[Ca^{2+}]_c$ in HEK-293 cells expressing UT.

(A) Representative recording of $[Ca^{2+}]_c$ in HEK-293 cells exposed (arrow) to graded concentrations of UII, DOTA-UII, urantide or DOTA-urantide (10^{-11} to 10^{-6} M, each). (B) Quantification of the effects of the peptides on $[Ca^{2+}]_c$ in HEK-293 cells. The results are expressed as percentages of the corresponding control values in the absence of the peptides. Data are mean \pm SEM of three independent experiments.

Fig 3. Effects of UII, urantide and their DOTA analogues on UT internalization in HEK-293 cells.

(A) Quantification of internalization rate of UT in HEK-293 cells exposed for 1 h to graded concentrations of UII or DOTA-UII (*left*, 10^{-15} M to 10^{-6} M, each) and urantide or DOTA-urantide (*right*, 10^{-10} M to 10^{-6} M, each). (B) Representative confocal microscopy images of HEK-293 cells expressing UT-GFP (green) treated for 1 h with UII or DOTA-UII (*left*, 10^{-7} M, each) and urantide or DOTA-urantide (*right*, 10^{-7} M, each). Data are mean \pm SEM of three to six independent experiments.

Fig 4. UT expression in DLD-1 and A549 cell lines and effect of UII on cellular migration and proliferation.

(A) *Left,* Western blot analysis of membranes isolated from DLD-1 and A549 cells. The gel was calibrated with stained proteins of known molecular mass (kDa). *Right*, Representative

~ 184 ~

confocal microscopy images of DLD-1 and A549 xenografts labelled with UT-GFP (green, arrows) and CD34 (red) antibodies. (B) *Upper panel*, Effect of UII (10^{-9} or 10^{-7} M, 24 h) on migration of DLD1 and 549 cells in modified Boyden chambers. (B) *Upper panel*, Effect of UII (10^{-9} or 10^{-7} M, 24 h to 72 h) on proliferation of DLD1 and 549 cells. Data are mean \pm SEM of six independent experiments. Mann and Whitney test: *: *p* <0.05; **: *p* <0.01; ***: *p* <0.001; n.s: not significant.

Fig 5. Radiolabelling of DOTA-UII and DOTA-urantide with ¹¹¹In.

High performance liquid chromatography (HPLC) profiles of ¹¹¹In-DOTA-UII (A) and ¹¹¹In-DOTAurantide (B). The retention time of DOTA-UII and DOTA-urantide, was 22.14 and 22.03 min, respectively.

Fig 6. Three-dimensional SPECT/CT images of Swiss nude mice xenografted with A549 cells or DLD-1 cells.

Images were obtained at 24 h post-injection of ¹¹¹In-DOTA-UII (15 MBq, 200 μ L) into Swiss nude mice bearing A549 (A) or DLD-1 tumor (B). White arrows (A and B, *right panel*) delimited by staple lines indicate the tumor site.

Table 1. Stability of ¹¹¹In-DOTA-UII in human plasma.

After incubation in human plasma (until 3 h, 37°C), the stability of radiolabeled DOTA-UII was analyzed by HPLC.

Table 2. Biodistribution of ¹¹¹In-DOTA-UII in C57BL6/6 wild mice (mUTS2R^{+/+}).

Data are expressed as the percent %ID/g after intravenous injection of ¹¹¹In-DOTA-UII (3 MBq, 100 μ L) at 4, 24, 48 and 72 h. Data are mean \pm SEM obtained from five animals.

Table 3. Biodistribution of ¹¹¹In-DOTA-UII in C57BL6/6 mice non-expressing murine UT (mUTS2R^{-/-}). Data are expressed as the percent %ID/g after intravenous injection of ¹¹¹In-DOTA-UII (3 MBq, 100 μ L) at 4, 24, 48 and 72 h. Data are mean \pm SEM obtained from five animals.

Table 4. Biodistribution of ¹¹¹In-DOTA-UII in C57BL6/6 mice expressing human UT (mUTS2R^{-/-}; hUTS2R^{+/+}). Data are expressed as the percent %ID/g after intravenous injection of ¹¹¹In-DOTA-UII (3 MBq, 100 μ L) at 4, 24, 48 and 72 h. Data are mean \pm SEM obtained from five animals.



Poret *et al.*, Fig. 1



Poret *et al.*, Fig. 2



Poret *et al.*, Fig. 3



Poret *et al.*, Fig. 4



Poret *et al.*, Fig. 5

A549 (24h p.i.)

Kidneys level





В

DLD1 (24h p.i.)

Kidneys level





Poret *et al.*, Fig. 6

Time spent in plasma	Peptide stability
0 h	98 % (± 2%)
1 h	82 % (± 2%)
3 h	71 % (± 4%)

Organs	Estimated percentage of injected dose per gram (%ID/g)			
	4 hours	24 hours	48 hours	72 hours
Kidney	5.762 ± 0.374	2.173 ± 0.255	1.442 ± 0.166	1.166 ± 0.162
Liver	0.038 ± 0.004	0.037 ± 0.004	0.031 ± 0.008	0.022 ± 0.002
Stomach	0.052 ± 0.007	0.021 ± 0.003	0.019 ± 0.003	0.006 ± 0.001
Spleen	0.034 ± 0.003	0.025 ± 0.002	0.024 ± 0.004	0.024 ± 0.005
Lung	0.034 ± 0.005	0.020 ± 0.002	0.016 ± 0.003	0.012 ± 0.003
Bone	0.019 ± 0.001	0.020 ± 0.003	0.022 ± 0.005	0.019 ± 0.003
Skin	0.022 ± 0.006	0.019 ± 0.002	0.023 ± 0.004	0.018 ± 0.005
Colon	0.029 ± 0.001	0.015 ± 0.002	0.015 ± 0.003	0.010 ± 0.002
Mid intestine	0.027 ± 0.003	0.020 ± 0.006	0.012 ± 0.002	0.009 ± 0.002
Parotid	0.014 ± 0.002	0.011 ± 0.002	0.014 ± 0.003	0.013 ± 0.003
Heart	0.016 ± 0.002	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.010 ± 0.002
Pancreas	0.040 ± 0.005	0.009 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.002
Blood	0.030 ± 0.003	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.000	0.003 ± 0.000
Muscle	0.007 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.014 ± 0.001	0.005 ± 0.002
Brain	0.003 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000

Organs	Estimated percentage of injected dose per gram (%ID/g)			
	4 hours	24 hours	48 hours	72 hours
Kidney	5.400 ± 0.392	2.340 ± 0.101	1.266 ± 0.122	1.010 ± 0.086
Liver	0.047 ± 0.004	0.027 ± 0.003	0.020 ± 0.003	0.020 ± 0.002
Stomach	0.025 ± 0.004	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.006 ± 0.002
Spleen	0.036 ± 0.002	0.028 ± 0.002	0.022 ± 0.004	0.023 ± 0.004
Lung	0.039 ± 0.002	0.014 ± 0.001	0.013 ± 0.002	0.011 ± 0.002
Bone	0.016 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.008 ± 0.002
Skin	0.019 ± 0.003	0.014 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.007 ± 0.003
Colon	0.038 ± 0.004	0.026 ± 0.007	0.011 ± 0.003	0.014 ± 0.004
Mid intestine	0.026 ± 0.003	0.016 ± 0.002	0.010 ± 0.002	0.005 ± 0.001
Parotid	0.022 ± 0.003	0.012 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.001
Heart	0.016 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Pancreas	0.019 ± 0.004	0.011 ± 0.003	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.002
Blood	0.022 ± 0.003	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.000	0.003 ± 0.000
Muscle	0.006 ± 0.000	0.003 ± 0.000	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.000
Brain	0.002 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.001 ± 0.000

Organs	Estimated percentage of injected dose per gram (%ID/g)			
	4 hours	24 hours	48 hours	72 hours
Kidney	7.283 ± 0.431	2.919 ± 0.246	1.616 ± 0.145	1.383 ± 0.115
Liver	0.056 ± 0.002	0.035 ± 0.001	0.025 ± 0.002	0.024 ± 0.001
Stomach	0.022 ± 0.004	0.022 ± 0.006	0.012 ± 0.005	0.009 ± 0.002
Spleen	0.042 ± 0.002	0.027 ± 0.002	0.021 ± 0.002	0.019 ± 0.002
Lung	0.050 ± 0.004	0.025 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.010 ± 0.001
Bone	0.023 ± 0.004	0.009 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.001
Skin	0.030 ± 0.004	0.019 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.009 ± 0.002
Colon	0.035 ± 0.002	0.019 ± 0.001	0.016 ± 0.003	0.009 ± 0.001
Mid intestine	0.024 ± 0.004	0.013 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.007 ± 0.001
Parotid	0.028 ± 0.005	0.017 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.013 ± 0.002
Heart	0.015 ± 0.000	0.007 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.000
Pancreas	0.025 ± 0.005	0.010 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.006 ± 0.000
Blood	0.030 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.000	0.002 ± 0.000
Muscle	0.012 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.000	0.003 ± 0.000
Brain	0.003 ± 0.001	0.001 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000

DISCUSSION

DISCUSSION

La prise en charge des patients atteints d'un cancer constitue un enjeu majeur de santé publique. D'après les données de l'OMS (2015), le cancer du poumon (+12,7%) est le plus fréquent, suivi par ceux du sein (+10,9%), du colon (+9,4%) et de la prostate (+6,9%). Grâce à l'amélioration des outils de diagnostic, à une meilleure prise en charge des malades et une adaptation de leur(s) traitement(s), le taux de mortalité a sensiblement diminué ces dernières années. Pour autant, la dégradation de l'environnement de la population dans les pays industrialisés ou en voie de développement (pollution de l'air par exemple) fait craindre une augmentation de l'incidence des cancers (Ferlay *et al.*, 2014 ; Guo *et al.*, 2016 ; Zhao *et al.*, 2017). Dans la mesure où le diagnostic précoce est essentiel pour favoriser l'efficacité des traitements, de nombreux laboratoires de recherche s'attachent à développer et/ou perfectionner des dispositifs variés pour améliorer le diagnostic.

Les RCPG jouent un rôle majeur dans l'initiation et la progression des cancers. Plusieurs d'entre eux, tels que EP₂, AT1, ET_B, CXCR4, GRPR, CCK₁ ou encore LPAR, impliqués dans un large panel de mécanismes biologiques, participent à la modulation de la prolifération/migration cellulaires et/ou à la néoangiogenèse, trois processus fondamentaux pour la tumorigenèse (Chen, 2017 ; Hauser *et al.*, 2017 ; Nohata *et al.*, 2017). Souvent surexprimés à la surface des cellules tumorales, ces RCPG constituent ainsi des cibles intéressantes pour le diagnostic et/ou le traitement des tumeurs solides (Insel *et al.*, 2017).

Dès 1989, Krenning et coll. ont élaboré des analogues radiomarquables de la somatostatine, à partir de l'octréotide (Veber *et* al., 1981 ; Bauer *et al.*, 1982), pour visualiser des tumeurs neuroendocrines, connues pour surexprimer les récepteurs somatostatinergiques, et en particulier sst₂. Avec la découverte de nouveaux récepteurs surexprimés et impliqués dans

la tumorigenèse, ces travaux précurseurs ont ouvert la voie pour développer/optimiser de nouveaux radioligands (Reubi, 2003 ; Mariani, 2006 ; Liu *et al.*, 2009a ; Charron *et al.*, 2016).

Depuis une dizaine d'années, l'équipe « Astrocytes et Niche Vasculaire », dirigée par le Dr Hélène Castel, et dans laquelle j'ai préparé en partie mon doctorat, concentre notamment ses recherches sur l'étude du rôle et des mécanismes d'action du système urotensinergique dans la tumorigenèse gliale. Après avoir caractérisé la présence de récepteurs fonctionnels de haute affinité sur les astrocytes (Castel et al., 2006 ; Diallo et al., 2008), l'équipe a démontré que le récepteur UT est exprimé dans des extraits tumoraux humains d'astrocytomes et de glioblastomes (Lecointre et al., 2015 ; Le Joncour et al., soumis). In vitro, l'UII exerce de puissantes activités chimioattractantes sur les cellules U87-MG (glioblastome humain) (Lecointre et al., 2015) (Fig. 33.A). Des études réalisées par le Dr Le Joncour ont démontré que l'UII, concentrée dans des éponges de matrigel implantées sous la peau de souris C57BL/6, entraîne l'invasion dans le gel de macrophages et de cellules pro-angiogéniques, *i.e.* cellules endothéliales et musculaires lisses (Fig. 33.B). De plus, l'administration intratumorale quotidienne d'UII chez des souris Nudes porteuses de xénogreffes issues de cellules U87-MG accélère drastiquement la croissance des tumeurs tandis que le palosuran et l'urantide, antagonistes de l'UT, diminuent la tumorigenèse et augmentent la survie des animaux. L'analyse histologique des xénogreffes traitées à l'UII a révélé la présence d'une néoangiogenèse intratumorale anarchique et peu fonctionnelle, et de zones hypoxiques et/ou nécrotiques (Fig. 33.C). Toujours au sein de l'équipe, le Dr Coly a quant à lui récemment démontré que l'activation de l'UT sur des cellules U87-MG ralentit la biogenèse des autophagosomes en inhibant la formation d'endosomes pré-autophagiques émanant de la membrane plasmique, ce qui aurait pour conséquence l'accumulation de phospholipides et de protéines impliquées dans la réorganisation du cytosquelette d'actine, nécessaires pour une migration directionnelle efficace (Coly et al., 2016). En parallèle, d'autres laboratoires ont observé que l'UT et/ou l'UII sont surexprimés dans une large variété de tumeurs solides (Kristof *et al.*, 2010 ; Balakan *et al.*, 2014 ; Federico *et al.*, 2014 ; 2017 ; Wei *et al.*, 2017) et participent aux mécanismes tumorigéniques telles que la migration et/ou la prolifération cellulaire(s). Ces données ont été rapportées dans le cas de cancers de la prostate (Grieco *et al.*, 2010), du colon (Federico *et al.*, 2014), du foie (Li *et al.*, 2017b), ou encore des poumons (Zhou *et al.*, 2012) (*cf* **tab. 12**).



Figure 33. Rôle du système urotensinergique dans la migration cellulaire, l'angiogenèse et le développement tumoral. A. *Gauche*, des expériences en chambre de Boyden modifiées (*Transwell*[®]) ont permis de montrer que l'UII stimule la migration de cellules SW1088 et de U87-MG, lignées tumorales issues d'un astrocytome et d'un glioblastome humain, respectivement. *Droite*, expériences similaires réalisées avec le palosuran ou l'urantide, deux antagonistes capables de freiner la migration des cellules U87-MG (d'après Lecointre *et al.*, 2015). B. L'analyse immunohistochimique d'éponges de matrigel préalablement chargées en UII et implantées de manière sous-cutanée chez des souris C57BL/6 a permis de mettre en évidence l'invasion de cellules dérivant de l'hôte impliquées dans la néoangiogenèse, *i.e.* cellules endothéliales (marquage collagène IV, rouge), cellules musculaires lisses (marquage α -SMA, vert) et macrophages (marquage F4/80, rouge), démontrant le caractère proangiogénique du système urotensinergique (d'après Le Joncour *et al.*, soumis). C. *Gauche*, des injections quotidiennes d'UII ou d'urantide (10⁻⁸ M, 20 µL, chacun) au sein de xénogreffes tumorales issues de cellules U87-MG accélèrent ou freinent drastiquement le développement tumoral, respectivement. *Droite*, macrophotographies de tumeurs U87-MG injectées quotidiennement avec l'UII ou l'urantide prises au même jour (d'après Le Joncour *et al.*, soumis).

Le projet de recherche qui m'a été confié pour la préparation de mon doctorat a consisté à évaluer la capacité d'analogues urotensinergiques à cibler sélectivement l'UT surexprimés dans des tumeurs solides. Pour mener à bien ce projet, mes activités se sont focalisées sur le radiomarquage de ces analogues, et sur leur évaluation *in vitro* (cellules HEK-293 ou lignées tumorales exprimant l'UT) et *in vivo* (souris C57BL/6 ou souris *Nudes* porteuses de xénogreffes hétérotopiques) (**Fig. 34**).



Figure 34. Représentation schématique des étapes clés dans la conception d'un radioligand capable de cibler des tumeurs solides. La première étape consiste à identifier un processus biologique lié à la tumorigenèse, et d'en extraire une ou des cible(s) moléculaire(s) exploitable(s) avec différentes modalités d'imagerie, telles que la TEP ou la TEMP. Ensuite, il convient de développer des analogues radiomarquables d'évaluer leurs caractéristiques *in vitro* et *in vivo*, pour définir d'éventuelles applications chez l'Homme. Adapté de James et Gambhir, 2012. TEMP : tomographie par émission monophotonique ; TEP : tomographie par émission de positons.

1. Développement du DOTA-UII et du DOTA-urantide

Bien qu'il soit courant de mettre à profit la présence d'un résidu tyrosine pour y greffer directement un atome d'iode radioactif, la stabilité de cette liaison est très faible (Krenning *et al.*, 1989 ; Bakker *et al.*, 1991a ; 1991b). De plus, la séparation du radioisotope et du ligand provoque une irradiation des organes fixant naturellement l'iode, telle que la thyroïde, la moelle épinière et les os (Holm *et al.*, 1991). Aussi, cette approche est-elle privilégiée pour des études de liaison *in vitro* sur le récepteur d'intérêt (Carlucci *et al.*, 2015 ; Reynolds *et al.*, 2015 ; Richter *et al.*, 2016). En médecine nucléaire, il est donc essentiel de développer des ligands conjugués avec des chélateurs capables de lier stablement les radioisotopes afin de confiner la radioactivité au microenvironnement tumoral (Okarvi et Maecke, 2018).

L'existence d'un unique récepteur urotensinergique connu à ce jour, constitue une singularité (avec le récepteur OT de l'ocytocine, par exemple) dans le domaine des neuropeptides. A titre de comparaison, le NPY et la somatostatine fixent chacun cinq RCPG distincts. Il est couramment observé qu'un analogue donné présente une plus grande affinité pour un sous-type de récepteur. C'est notamment le cas de l'octréotide qui interagit préférentiellement avec sst₂, sst₃ et sst₅ (*cf* **tab. 7**). Cette caractéristique du système urotensinergique est donc un avantage non négligeable puisqu'elle peut être mise à profit pour le développement d'analogues optimisés pour les tumeurs surexprimant le récepteur UT.

Grâce à une collaboration avec le Dr Marc-André Bonin et le Pr Richard Leduc de l'Institut de pharmacologie de l'Université de Sherbrooke (Canada), deux analogues de l'UII, le DOTA-UII (DOTA-Ahx-UII) et le DOTA-urantide (DOTA-Ahx-[Pen⁵, D-Phe⁷, Orn⁸]UII₄₋₁₁) (Ahx : acide amino-hexanoïque) ont été synthétisés. Il s'agit des premiers essais de conjugaison d'un chélateur sur l'UII ou l'urantide à des fins diagnostiques (voire thérapeutiques) pour le cancer. L'approche choisie pour greffer le DOTA s'appuie sur l'homologie structurale entre
l'UII et l'octréotide, ce dernier ayant permis de développer plusieurs radioligands, tels que le DOTA-OC, le DOTA-TOC ou le DOTA-TATE (Kwekkeboom *et al.*, 1999 ; Kwekkeboom et Krenning, 2016) (**Fig. 35**).



Figure 35. Séquences de l'UII, de l'urantide, de l'octréotide et de leurs analogues conjugués avec le chélateur DOTA. La forte homologie de structure entre l'UII, l'urantide et l'octréotide, *i.e.* une séquence courte, un pont disulfure et un hexapeptide cyclisé, nous a convaincu de tester dans un premier temps le DOTA-UII et le DOTA-urantide à des fins diagnostiques (voire thérapeutiques). DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-OC : DOTA-octréotide ; DOTA-UII : DOTA-urotensine II ; DOTA-UR : DOTA-urantide ; UII : urotensine II.

Le choix du DOTA pour la conception des analogues urotensinergiques a été motivé par ses meilleures propriétés thermodynamiques vis-à-vis du DTPA, et par la possibilité d'incorporer un plus large panel de radioisotopes. En effet, le DOTA est capable de former des complexes stables avec des radioisotopes communément utilisés pour le diagnostic, tels que l'¹¹¹In ou le ⁶⁸Ga, mais également avec des radioisotopes employés pour la thérapie, tels que l'⁹⁰Y, le ¹⁷⁷Lu et, plus récemment testé en recherche préclinique, le ²¹³Bi (Lacoeuille *et al.*, 2018) (*cf* **tab. 15**). De fait, le nombre important de radioisotopes pouvant être couplés au DOTA rend son exploitation possible en théranostique (Wulfert *et al.*, 2014 ; Herrmann *et al.*, 2016 ; Lapa *et al.*, 2017). Il convient de préciser que le NOTA serait un autre chélateur intéressant, notamment en raison des complexes formés avec les radioisotopes tels que le ⁶⁸Ga ou le ⁶⁴Cu, thermodynamiquement stables, mais le nombre limité de radioisotopes exploitables avec ce

chélateur rend son utilisation encore difficile pour la théranostique, comparativement au DOTA (Drude *et al.*, 2017 ; Guleria *et al.*, 2018).

Enfin, les études structures/activités, réalisées sur des modèles *in vitro* (lignées cellulaires transfectées avec l'ARNm codant l'UT) et *ex vivo* (anneaux d'aortes de Rat, par exemple) ont permis d'orienter le développement des DOTA-analogues urotensinergiques (Chatenet *et al.*, 2004 ; Guerrini *et al.*, 2005). Puisque l'ajout d'un DOTA dans l'hexapeptide cyclique biologiquement actif pourrait induire une baisse d'affinité des analogues urotensinergiques (voire empêcher la liaison avec le récepteur), les séquences C-terminales de l'UII et de l'urantide constituent les sites optimaux pour la conjugaison du chélateur. En outre, l'ajout d'Ahx, qui joue le rôle d'espaceur situé entre le chélateur et les analogues urotensinergiques, évite l'encombrement stérique en éloignant le chélateur (Bandari *et al.*, 2014 ; Reynolds *et al.*, 2015) tout en augmentant sensiblement leur lipophilie, améliorant - théoriquement- les propriétés pharmacodynamiques des composés (Guo *et al.*, 2011 ; Liu *et al.*, 2014).

2. Capacités des analogues à reconnaître et induire l'internalisation du complexe ligand-récepteur

Sur des cellules HEK-293 exprimant le récepteur UT humain, nous avons montré que le DOTA-UII et le DOTA-urantide sont capables d'entraîner une augmentation dosedépendante de la $[Ca^{2+}]_c$, avec une puissance et une efficacité similaires à celles obtenues pour l'UII et l'urantide. Bien que nous n'ayons pas caractérisé la voie recrutée par les DOTApeptides urotensinergiques, il est vraisemblable que ces analogues activent l'axe $G\alpha_q/PLC/PIP_2/IP_3$ responsable d'une libération de calcium par le réticulum endoplasmique, comme cela a été démontré pour l'UII (Chatenet *et al.*, 2004 ; Tasaki *et al.*, 2004 ; Castel *et al.*, 2006) et l'urantide (Camarda *et al.*, 2004 ; Brulé *et al.*, 2014).

Il est admis que l'ajout d'un chélateur sur un peptide peut grandement impacter ses propriétés biologiques. A titre d'exemple, la conjugaison du DOTA sur des analogues du NPY, dans leur partie N-terminale (pourtant située en dehors du site de liaison), perturbe le repliement des peptides et diminue ainsi leur affinité pour les récepteurs Y_1 , Y_2 et Y_5 (Guérin *et al.*, 2010). Plus classiquement, les analogues de l'octréotide, le DTPA-OC ou le DOTA-OC, ont une affinité 6 à 7 fois moins grande pour sst₂, probablement en raison d'un encombrement stérique (Reubi *et al.*, 2000). Aussi, il est particulièrement intéressant de constater que l'ajout d'un DOTA sur l'UII ou l'urantide ne diminue par leur affinité pour l'UT. Ces résultats renforcent aussi l'hypothèse selon laquelle la séquence C-terminale Glu¹-Asp⁴ de l'UII joue un rôle mineur dans la liaison ligand-récepteur (Flohr *et al.*, 2002 ; Kinney *et al.*, 2002 ; Labarrère *et al.*, 2003).

Toujours sur des cellules HEK-293 transfectées avec l'ADNc codant l'UT, nous avons montré que le DOTA-UII, comme l'UII, sont capables d'entraîner l'internalisation du complexe ligand-récepteur. Cette autre approche dans la caractérisation des DOTA-peptides complète les études de microfluorimétrie calcique pour s'assurer que la greffe du chélateur ne perturbe pas les propriétés de l'urotensine *via* un repliement de la chaine Ahx ou par l'encombrement stérique du peptide. L'efficacité et la puissance du DOTA-UII pour l'internalisation du complexe ligand-récepteur semblent identiques à celles de l'UII, alors que l'ajout d'un chélateur est susceptible d'entraîner une baisse d'affinité pour le récepteur, altérant ou inhibant la capacité des analogues à internaliser le récepteur par encombrement stérique (Tatsi *et al.*, 2014 ; Charron *et al.*, 2016). Contrairement à l'UII et le DOTA-UII, le DOTA-urantide et l'urantide ne provoquent pas l'internalisation de l'UT. Ces résultats sont en accord avec de précédentes études qui ont montré que l'urantide est incapable de recruter la β-arrestine 2 (Brulé *et al.*, 2014), protéine nécessaire à l'internalisation pour de nombreux RCPG (Jala *et al.*, 2005 ; Latorraca *et al.*, 2018) (*cf* **fig. 25**). Ces résultats ne doivent toutefois pas obérer les propriétés agonistes de l'urantide, qui présente par exemple les mêmes activités que l'UII sur la migration et l'adhésion de cellules HEK-293 exprimant le récepteur UT (Brulé *et al.*, 2014) (**Fig. 36**). En fait, l'urantide doit être classé parmi les ligands biaisés de l'UT, capables de stimuler spécifiquement certaines cascades intracellulaires avec plus ou moins d'intensité (Violin *et al.*, 2014 ; Smith *et al.*, 2018).



Figure 36. Effets cellulaires et voies de signalisation recrutées par quelques analogues de l'UII. *Gauche*, effets de l'UII, de l'URP et d'autres analogues sur la migration, l'adhésion et l'apoptose cellulaires. *Droite*, partenaires cellulaires recrutés par ces mêmes analogues, pouvant être classés parmi les ligands biaisés de l'UT, *i.e.* capables d'activer certaines cascades intracellulaires avec plus ou moins d'intensité. L'urantide ne recrute pas la β -arrestine 2, protéine importante pour l'internalisation du complexe ligand-récepteur. D'après Brulé *et al*, 2014. AMPc : adénosine monophosphate cyclase ; IP1 : inositol monophosphate ; UII : urotensine II ; urantide : [Pen⁵, D-Trp⁷, Orn⁸]UII₄₋₁₁ ; URP : *urotensin-II related peptide* ; UT : récepteur urotensinergique.

Il est communément admis que l'internalisation du complexe ligand-récepteur induite par un DOTA-peptide justifie, en partie, son exploitation potentielle pour diagnostiquer la présence d'une tumeur, grâce à l'accumulation du radioligand dans les cellules tumorales (Langer *et al.*, 2001 ; Mankoff *et al.*, 2008). Parallèlement, plusieurs études *in vivo* ont montré qu'une absence ou une faible internalisation est parfois corrélée à une très longue rétention tumorale (Fani *et al.*, 2012a ; 2017 ; Radford *et al.*, 2017). Aujourd'hui encore, cette ambivalence est largement discutée et n'est pas entièrement élucidée (Nicolas *et al.*, 2018). C'est pourquoi, en plus du nombre très important de publications plaidant en faveur de l'exploitation du processus d'internalisation dans le diagnostic tumoral, nous avons décidé de nous focaliser dans un premier temps sur l'étude du DOTA-UII pour les expériences *in vivo*.

3. Mise au point du radiomarquage à l'indium-111 avec des DOTA-peptides

Dans une perspective d'exploiter les DOTA-peptides *in vivo*, nous avons dans un premier temps mis au point un protocole de marquage à l'aide d'¹¹¹In. Ce radioisotope est un candidat « idéal » puisqu'il *i*) est compatible avec de nombreux chélateurs, dont le DOTA (Lacoeuille *et al.*, 2018), *ii*) dispose de propriétés favorables pour le diagnostic grâce à ses émissions de particules γ détectables avec un micro-TEMP, *iii*) possède une demi-vie relativement longue (67,9h) par rapport à d'autres radioisotopes offrant ainsi un temps raisonnable pour réaliser les expériences (Okarvi et Maecke, 2016) (*cf* **tab. 15**).

Commercialisé pour les radiomarquages, l'¹¹¹In se présente sous la forme d'indiumchlorure (InCl₃). Alors qu'une incubation à température ambiante pendant un temps relativement court est suffisant pour la chélation de l'¹¹¹In avec le DTPA, la force protonique du tampon, le temps et la température élevée de la solution sont des paramètres importants pour la chélation avec le DOTA (Smith-Jone *et al.*, 1999 ; Liu *et al.*, 2002, Breeman *et al.*, 2003). Ainsi, il est nécessaire d'employer un tampon acide (pH 4 – 4,5) chauffé pendant 20 minutes à 80°C minimum pour l'⁹⁰Y et le ¹⁷⁷Lu, et chauffé à 100°C pour l'¹¹¹In, afin d'obtenir une chélation optimale dans le DOTA (Breeman *et al.*, 2003). Selon les données de la littérature, ce radiomarquage est très classiquement opéré avec des températures équivalentes ou proches de 95°C (Brom *et al.*, 2012 ; Tatsi *et al.*, 2014). D'autres équipes ont par ailleurs montré que l'utilisation d'un tampon de type acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique (Hépès, pH 5,5) permet de diminuer le temps d'incubation et d'améliorer l'activité spécifique des radioligands marqués, en réduisant la compétition de chélation avec le cadmium produit par la décroissance de l'¹¹¹In, et avec lequel il entre en compétition (Brom *et al.*, 2012).

En pratique, le protocole de marquage que nous avons adopté consiste à incuber les DOTA-peptides urotensinergiques avec l'InCl₃ pendant 20 minutes à 100°C dans un tampon isocitrate (pH 4). Une expérience de dégradation forcée par la chaleur (100 °C pendant 8 heures) n'a permis de séparer que 2% d'¹¹¹In du DOTA-UII. En outre, plus de 99% de l'¹¹¹In-DOTA-UII est retrouvée en solution trois jours après le marquage (à température ambiante). Ces résultats diffèrent de ce qui est couramment observé avec les radioligands couplés au DTPA, qui sont moins stables en solution (Kwekkeboom *et al.*, 1999 ; Béhé *et al*, 2003 ; Visser *et al.*, 2003). L'¹¹¹In-DOTA-UII est également relativement stable dans le plasma humain puisque, après quatre heures, 30% seulement de l'¹¹¹In est décomplexé du DOTA-UII, ce qui offre une fenêtre de temps confortable pour les expériences *in vitro* et *in vivo* (Roosenburg *et al.*, 2014 ; Orkavi et Maecke, 2018). Ces résultats sont globalement en accord avec la littérature qui indique que les peptides contenant un résidu Met, Ser, Ala, Thr, Gly ou Val en position N-terminale, comme le DOTA-UII ou même le DOTA-urantide, ont une demi-vie plus longue que les autres composés (Woodley, 1994 ; Werle et Bernkop-Schnuerch, 2006).

La température élevée (100°C) que nous avons adoptée pourrait provoquer une dénaturation du DOTA-UII, et notamment la rupture du pont disulfure, indispensable pour l'activité biologique du peptide (Labarrère *et al.*, 2003 ; Chatenet *et al.*, 2004 ; Guerrini *et al.*, 2005). L'octréotide, qui contient également un pont disulfure, semble conserver ses propriétés biologiques malgré une possible dénaturation de ce dernier par les fortes températures employées lors de la chélation des radioisotopes (Reubi *et al.*, 2000 ; Tatsi *et al.*, 2014). Nous avons donc voulu vérifier la viabilité du DOTA-UII en suivant le même protocole mais en substituant l'¹¹¹In par de l'In non radioactif. Appliquée sur des cellules HEK-293 exprimant

l'UT, l'In-DOTA-UII induit de façon dose-dépendante une augmentation de la $[Ca^{2+}]_c$ et entraîne l'internalisation du complexe ligand-récepteur. Ces résultats démontrent que nos conditions de marquage n'altère en rien les propriétés biologiques du peptide (**Fig. 37**).



Figure 37. Caractéristiques fonctionnelles de l'In-DOTA-UII sur des cellules HEK-293 exprimant la forme humaine de l'UT. Malgré les conditions difficiles employées lors du marquage du DOTA-UII avec de l'indium (100°C, 20 min, pH 4), l'In-DOTA-UII induit de façon dose-dépendante une augmentation de la $[Ca^{2+}]_c$ (droite) et l'internalisation du complexe ligand-récepteur (gauche). $[Ca^{2+}]_c$: concentration cytosolique de calcium DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10tétraacétique ; DOTA-UII : DOTA-urotensine II ; UII : urotensine II. In : indium.

4. Evaluation *in vivo* de la biodistribution de l'¹¹¹In-DOTA-UII

Les expériences *in vivo* ont dans un premier temps consisté à mesurer la biodistribution du radioligand chez le petit animal, permettant ainsi d'apprécier sa captation dans l'organisme, en particulier dans les organes critiques, tels que le foie et les reins (Valkema *et al.*, 2005 ; Imhof *et al.*, 2011). La souris C57BL/6, dont le fond génétique a été très étudié, est un modèle couramment utilisé en laboratoire grâce à sa disponibilité, sa reproduction facile et sa robustesse en conditions d'élevage standart (Battey *et al.*, 1999). Nous avons observé que l'¹¹¹In-DOTA-UII est rapidement éliminé par filtration rénale chez les souris dès quatre heures post-injection, avec une captation que nous avons considéré comme résiduelle dans la majorité des organes étudiés. Les études de distribution de l'UT chez la Souris, moins nombreuses que celles menées chez l'Homme ou le Rat, montrent une expression importante du récepteur au niveau du cœur (Liu *et al.*, 1999 ; Elshourbagy *et al.*, 2002), du pancréas (Elshourbagy *et al.*, 2002) et des reins (Adebiyi *et al.*, 2014). Pour autant, l'analyse de la captation de l'¹¹¹In-DOTA-UII a révélé un faible signal dans ces organes. Par ailleurs, la quantité estimée de radioactivité retrouvée dans le sang, le système digestif (foie, intestins, etc.) et les autres organes est deux à trois inférieure à celles retrouvées pour des ¹¹¹In-DOTA-ligands testés par d'autres équipes, suggérant que le ¹¹¹In-DOTA-UII serait rapidement filtré et éliminé dans les urines (Tsai *et al.*, 2000 ; Schmitt *et al.*, 2005 ; Wei *et al.*, 2018).

En accord avec cette hypothèse, l'analyse de la biodistribution de l'¹¹¹In-DOTA-UII dans des souris C57BL/6 n'exprimant pas le gène codant le récepteur UT murin (mUTS2R^{-/-}) n'a révélé aucune diminution de la captation générale. Dans la mesure où des problèmes d'incompatibilités inter-espèces ne peuvent être exclues entre l'¹¹¹In-DOTA-UII (forme humaine) et le récepteur murin, nous avons étudié la biodistribution de l'¹¹¹In-DOTA-UII chez des souris C57BL/6 dont le gène codant le l'UT a été invalidé au profit du gène codant la forme humaine du récepteur (mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+}). Là encore, aucune différence de biodistribution du radioligand n'a été relevée, plaidant ainsi en faveur d'une métabolisation ou d'une clairance rénale importante.

A ce stade des expériences, cette élimination pourrait limiter l'utilisation de l'¹¹¹In-DOTA-UII qui ne semble pas avoir le temps de rejoindre et fixer suffisamment ses cibles, compromettant ainsi l'emploi du radioligand pour détecter les foyers tumoraux.

5. Evaluation *in vivo* de la captation tumorale de l'¹¹¹In-DOTA-UII

Le recours en recherche préclinique à des souris immunodéprimées porteuses de xénogreffes de cellules tumorales humaines permet de tester de nouveaux composés à potentiel diagnostic et/ou thérapeutique (Tentler *et al.*, 2012). Ce modèle murin recrée les conditions nécessaires à la formation d'une masse tumorale, présentant les caractéristiques fondamentales des tumeurs solides, *i.e.* un index de prolifération élevé, des zones hypoxiques et nécrotiques intratumorales et une néoangiogenèse en dérivation du réseau vasculaire de l'hôte.

Des xénogreffes hétérotopiques de cellules A549 (issues d'un adénocarcinome pulmonaire humain) et DLD-1 (issues d'un adénocarcinome colorectal humain) ont été réalisées chez des souris *Nudes*. Au préalable, l'expression de l'UT dans ces lignées avait été vérifiée par *Western Blot* et par immunohistochimie, ainsi que son activité au travers de tests de prolifération et de migration cellulaires. Après apparition des tumeurs (200-250 mm³), l'¹¹¹In-DOTA-UII (15 MBq) a été injecté par voie intraveineuse. Après 24 heures, aucun signal intratumoral n'a pu être observé par imagerie TDM/TEMP. Même si une internalisation (et une accumulation après 24 heures) du radioligand au sein des tumeurs surexprimant le récepteur pouvait être espérée, ces résultats font écho à ceux de la biodistribution du radioligand chez les souris C57BL/6. En effet, d'autres études réalisées avec le ^{99m}Tc-TP3654 (Thakur *et al.*, 2000), l'¹¹¹In-DTPA-octréotide (Bombardieri *et al.*, 2010) ou encore le ⁶⁴Cu-DOTA-TATE (Pfeifer *et al.*, 2015) avaient permis, avec des conditions similaires, de visualiser les tumeurs ciblées.

Compte tenu de la stabilité thermodynamique et plasmatique de l'¹¹¹In-DOTA-UII et de son potentiel à reconnaitre et à activer sélectivement l'UT normalement surexprimé dans ces tumeurs, il est vraisemblable que ces résultats décevants sont principalement dus à une clairance rénale rapide du radioligand. A partir d'un constat identique avec d'autres traceurs, plusieurs laboratoires ont trouvé plusieurs alternatives potentielles pour surmonter ces difficultés. La première consiste à augmenter le nombre de carbones entre le ligand et le chélateur pour améliorer les propriétés pharmacodynamiques des analogues, comme *i*) l'emploi de chaines polyéthylène glycol (PEG) (Johnson *et al.*, 2006 ; Guo *et al.*, 2013 ; Valverde *et al.*, 2016), ou *ii*) l'ajout de macromolécules telles que le glucose, le folate, les IgG ou des molécules de reconnaissance à l'albumine (Lim *et al.*, 2015a ; Aranda-Lara *et al.*, 2016a). La deuxième piste repose sur la substitution d'acides aminés naturels par des formes peu communes, telles que la norleucine (Nle), l'ornithine (Orn) ou la pénicillamine (Pen), par leur énantiomères dextrogyres (Ginj *et al.*, 2007 ; Fani *et al.*, 2012 ; 2017). La troisième consiste à combiner les analogues avec d'autres ligands, tels que le RGD, pour générer des radioligands bi-fonctionnels ciblant l'intégrine pro-angiogénique $\alpha_V\beta_3$ généralement surexprimée par les cellules endothéliales dans les foyers tumoraux. Ces différentes stratégies pourraient donc être explorées pour optimiser les DOTA-peptides urotensinergiques afin de les rendre opérationnels dans la détection de tumeurs surexprimant le récepteur UT.

Les modifications de séquences entre le chélateur et le ligand permettent généralement d'améliorer les propriétés pharmacodynamiques des composés. C'est le cas par exemple de l'¹¹¹In-DOTA-Ahx-(D-Lys⁶-GnRH) qui présente seulement, quatre heures post-injection, un ratio tumeur/muscle de 1,25 et une clairance rénale proche de 90% (Guo *et al.*, 2011a ; 2011b). De façon tout à fait intéressante, l'ajout du résidu D-Phe dans la séquence (¹¹¹In-DOTA-Ahx-D-Phe-(D-Lys⁶-GnRH)) permet d'améliorer ses propriétés pharmacodynamiques et le ratio T/M chez des animaux porteurs de xénogreffes de cellules MDA-MB-231 (issues d'un adénocarcinome de sein) (Guo *et al.*, 2013). Les données de la littérature indiquent également que les peptides hydrophiles, avec un poids moléculaire compris entre 2 et 25 kDa, sont susceptibles d'être rapidement filtrés au niveau rénal par les glomérules et rarement réabsorbés

dans tubules (pour revue, Di et Kerns, 2015). L'une des stratégies employée consiste à augmenter le poids moléculaire des radioligands par l'addition de polymères entre le chélateur et le ligand, tels que des chaînes PEG (*cf supra*), limitant ainsi leur filtration rénale tout en augmentant leur stabilité plasmatique. Validé pour la première fois par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) pour l'amélioration des propriétés pharmacodynamiques des peptides dans le traitement des anémies associées à une maladie chronique rénale (Levin *et al.*, 2007), cette technique est aujourd'hui assez largement appliquée aux radioligands (pour revue, Okarvi et Maecke, 2018). A titre d'exemple, l'ajout d'une chaîne PEG dans la séquence du DOTA-BBN ou du NOTA-BBN a permis de multiplier le ratio T/M par environ 26 et 38, respectivement (Zhang *et al.*, 2007b ; Varasteh *et al.*, 2014 ; Lim *et al.*, 2015b). Dans certains cas, l'ajout de polymères restaure l'affinité du ligand pour son récepteur, en éloignant le chélateur du site actif du peptide, diminuant ainsi l'encombrement stérique (Bandari *et al.*, 2014 ; Valverde *et al.*, 2016). Il serait donc intéressant de développer et d'évaluer les propriétés pharmacodynamiques de l'¹¹¹In-DOTA-PEG-UII.

Une autre piste à explorer consisterait à conjuguer l'¹¹¹In-DOTA-UII avec des molécules capables de lier l'albumine. Ce procédé pourrait diminuer la filtration glomérulaire, augmenter la stabilité plasmatique et prolonger incidemment la demi-vie du radioligand combiné à l'albumine (Pollaro *et al.*, 2015 ; Sun *et al.*, 2017). Pour illustrer cette hypothèse de travail, nous pouvons citer le cas du *glucagon-like peptide-1* (GLP-1) dans le traitement du diabète, avec l'ajout d'un résidu d'acide gras à 16 carbones. En effet, cette stratégie a fait progresser de 8 heures la demi-vie du composé après son injection intraveineuse (Marre *et al.*, 2008 ; Lindgren *et al.*, 2014). Cette technique a par ailleurs été mise à profit pour améliorer les propriétés pharmacodynamiques de plusieurs radioligands, tels que le ¹⁷⁷Lu-phosphoramidate-CTT1298 (Choy *et al.*, 2017) ou le ⁶⁴Cu-DOTA-F56-CM (Feng *et al.*, 2018) respectivement exploités dans un modèle préclinique du cancer de la prostate et du côlon. En raison de leur

plus faible filtration, ces radioligands permettent généralement d'augmenter la captation tumorale et de diminuer la toxicité rénale (Vegt *et al.*, 2010). Encore en phase expérimentale, ces nouveaux composés ouvrent également la voie aux molécules bi-fonctionnelles, capables de reconnaître plusieurs cibles tumorales, caractéristique qui peut s'avérer essentielle au vue de l'hétérogénéité d'expression au sein des cellules tumorales (Zhai *et al.*, 2015).

Depuis une vingtaine d'années, le récepteur UT, l'UII et l'URP suscitent l'intérêt de plusieurs équipes de recherche pour leurs propriétés vasoactives. A ce titre, un nombre relativement important d'analogues urotensinergiques ont d'ores et déjà été criblés dans le but de traiter l'hypertension artérielle, les troubles du rythme ou les insuffisances cardiaques. Parmi ces composés, certains pourraient présenter des caractéristiques intéressantes pour le développement de radioligands ciblant le récepteur UT. Dans le cas de la forme humaine de l'UII, les modifications structurales sont en partie limitées par la petite taille du peptide (11 acides aminés). Les études de relations structure-activité montrent que i) la modification du résidu Val¹¹ en position N-terminale, ou son remplacement par son équivalent dextrogyre, altère significativement son affinité pour le récepteur (Labarrère et al., 2003), et ii) la substitution d'un acide aminé dans la partie cyclique entraîne généralement la perte d'activité biologique (Brkovic et al., 2003 ; Labarrère et al., 2003 ; Chatenet et al., 2004). Dans la mesure où des modifications de la partie C-terminale Glu¹-Asp⁴ n'ont pas d'impact significatif sur la capacité des analogues à interagir avec l'UT (Flohr et al., 2002 ; Kinney et al., 2002), cette portion peptidique pourrait être le siège de modifications biochimiques susceptibles de produire des radioligands urotensinergiques satisfaisants.

Les premiers analogues de l'UII qui exploitent sa forme courte, l'UII₄₋₁₁, possèdent les mêmes propriétés biologiques que ce dernier (Labarrère *et al.*, 2003). Le remplacement de la Cys⁵ par un résidu Pen augmente significativement l'affinité de l'analogue pour l'UT (Grieco

et al., 2002a ; 2002b). Une étude plus récente a révélé que la substitution du Trp⁷ par son énantiomère améliore les propriétés pharmacodynamiques du peptide, conduisant à une augmentation de sa stabilité et sa de lipophilie (Billard et al., 2018). L'URP, le paralogue de l'UII (Sugo et al., 2003), présente également une séquence plus courte ([Ala¹]-UII₄₋₁₁) limitant théoriquement sa protéolyse enzymatique. Le remplacement du Trp⁴ par sa forme dextrogyre (Diallo et al., 2008), par un résidu bisphénylalanine (Bip) ou phényléthynylphénylalanine (Pep) (Chatenet et al., 2012), modifie très peu l'affinité et augmente la stabilité plasmatique et la lipophilie des analogues ainsi générés. Chatenet et coll. ont également montré en 2004 que la substitution de l'Ala¹ par une D-Ala n'impacte pas les propriétés biologiques mais augmente significativement la demi-vie du peptide. D'autres équipes ont observé que le changement du résidu lysine de l'UII (Lys⁸) ou de l'URP (Lys⁵) par une ornithine génère un ligand biaisé capable d'une part d'inhiber la contraction d'anneaux d'aorte et d'autre part d'induire une élévation de la [Ca²⁺]_c (Camarda et al., 2002 ; Chatenet et al., 2004 ; Diallo et al., 2008). L'ensemble de ces données a été mis à profit pour le développement de l'urantide ([Pen⁵, D-Trp⁷, Orn⁸]-UII₄₋₁₁), dont l'affinité pour l'UT et la stabilité plasmatique sont meilleures que celles de l'UII (Patacchini et al., 2003). Enfin, la substitution de la Phe⁶ par une 3cyclohexyalanine (Cha) génère un antagoniste avec une affinité élevée pour l'UT, à condition encore de remplacer la Cys⁵ par un résidu Pen (Chatenet et al., 2006). Le développement d'analogues antagonistes avec une forte affinité est encouragée en raison des résultats prometteurs obtenus avec ce genre de radioligands (Fani et al., 2017; Radford et al., 2017)

Ainsi, il serait intéressant de développer et d'analyser plusieurs analogues possibles pour l'emploi de radioligands urotensinergiques combinant -théoriquement- une affinité, une stabilité et une lipophilie élevées : un agoniste pur, le [D-Ala¹, Pen², D-Trp⁴]-URP ; un ligand biaisé, le [D-Ala¹, Pen², D-Trp⁴, Orn⁵]-URP ; un antagoniste pur, le [D-Ala¹, Pen², Cha³, D-Trp⁴, Orn⁵]-URP (**Tab. 17**).

Analogue	Séquence											Références
UII	Glu	Thr	Pro	Asp	Cys	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Coulouarn et al., 1998
[D-Trp ⁷]-UII	Glu	Thr	Pro	Asp	Cys	Phe	D-Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Billard et al., 2018
UII ₄₋₁₁				Asp	Cys	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Labarrère et al., 2003
P5U				Asp	Pen	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Carotenuto et al., 2014
URP				Ala	Cys	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Sugo et al., 2003
[D-Tyr ⁶]-URP				Ala	Cys	Phe	Trp	Lys	D-Tyr	Cys	Val	Diallo et al., 2008
[Bip ⁶]-URP				Ala	Cys	Phe	Trp	Lys	Bip	Cys	Val	Billard et al., 2017
[Phe ⁶]-URP				Ala	Cys	Phe	Phe	Lys	Tyr	Cys	Val	
[D-Trp ⁴]-URP				Ala	Cys	Phe	D-Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Diallo et al., 2008
[D-Ala ¹]-URP				D-Ala	Cys	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Chatenet et al., 2004
Urocontrine				Ala	Cys	Phe	Bip	Lys	Tyr	Cys	Val	Chatenet et al., 2012
Urocontrine A				Ala	Cys	Phe	Pep	Lys	Tyr	Cys	Val	
[Orn ⁵]URP				Ala	Cys	Phe	Trp	Orn	Tyr	Cys	Val	Diallo et al., 2008
Urantide				Asp	Pen	Phe	D-Trp	Orn	Tyr	Cys	Val	Patacchini et al., 2003
UFP-803				Asp	Pen	Phe	D-Trp	Dab	Tyr	Cys	Val	Camarda et al., 2006
[Cha ⁶]-UII ₄₋₁₁				Asp	Cys	Cha	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Chatenet et al., 2006
[Pen ⁵ ,Cha ⁶]-UII ₄₋₁₁				Asp	Pen	Cha	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	
[D-Ala ¹ , Pen ² , D- Trp ⁴]-URP				D-Ala	Pen	Phe	D-Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	
[D-Ala ¹ , Pen ² , D- Trp ⁴ , Orn ⁵]-URP				D-Ala	Pen	Phe	D-Trp	Orn	Tyr	Cys	Val	
[D-Ala ¹ , Pen ² , Cha ³ , D-Trp ⁴ , Orn ⁵]-URP				D-Ala	Pen	Cha	D-Trp	Orn	Tyr	Cys	Val	

Tableau 17. Principaux analogues urotensinergiques développés pour le diagnostic et le traitement de certaines pathologies. Basés sur la structure de l'UII ou de l'URP, plusieurs analogues présentent des caractéristiques intéressantes. L'ajout d'un résidu Pen en lieu et place d'une cystéine confère une plus grande affinité pour le récepteur UT, alors que toute substitution de la séquence Phe-X-Lys-Tyr par un énantiomère altère fortement l'affinité du ligand. Le remplacement de la lysine par un résidu Orn ou Dab ou de la phénylalanine par un résidu Cha entraîne systématiquement la formation d'un ligand biaisé voire un antagoniste pur. En jaune : acides aminés non-essentiels à l'activité des analogues ; en gris : acides aminés qui peuvent être substitués par leur énantiomère ; en bleu : acides aminés entrant dans la formation du pont disulfure, indispensable à l'activité biologique du peptide ; en rouge : acides aminés essentiels à l'activité biologique du peptide ; en vert : valine dont l'orientation est primordiale pour la reconnaissance du récepteur ; en orange : acides aminés entraînat la formation d'un analogue biaisé ; en gras : acides aminés modifiés dans la séquence d'origine. Bip : biphénylalanine ; Cha : 3-cyclohexyalanine ; Dab : acide 2,4-diaminobutyrique ; Orn : ornithine ; Pen : pénicillamine ; Pep : phényléthynylphénylalanine ; UII : urotensine II ; URP : *urotensin-II related-peptide*.

La présence de nombreux marqueurs différents à la surface des cellules tumorales est le

point de départ essentiel pour le développement de radioligands bi-fonctionnels, combinant deux peptides. Reynolds et coll. ont synthétisé en 2015 le RGD-Glu-DO3A-Ahx-RM2 capable de se lier au GRPR et à l'intégrine $\alpha_V\beta_3$ participant à la néoangiogenèse tumorale (Malric *et al.*, 2017 ; Tabatabai, 2017 ; Taggart *et al.*, 2017). Administré chez des souris porteuses de xénogreffes de cellules PC-3 (issues d'un adénocarcinome de prostate), ce radioligand se caractérise par un ratio T/M proche de 50, une captation limitée dans les autres organes (notamment le foie et les reins) et une clairance rénale rapide. L'implication du système urotensinergique dans le remodelage vasculaire au travers des cellules endothéliales, sa surexpression au niveau de CMVL péritumorales, et sa capacité à stimuler l'infiltration de macrophages au sein des tumeurs (Lee *et al.*, 2016 ; Le Joncour *et al.*, soumis) laissent à penser que le développement d'analogues RGD-DOTA-peptides urotensinergiques serait donc aussi une stratégie prometteuse pour la suite de ce projet.

.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Depuis une trentaine d'années, de nombreux travaux portent sur la mise au point de radioligands capables de fixer des RCPG surexprimés au sein des tumeurs solides. Plusieurs radiotraceurs sont aujourd'hui couramment utilisés pour diagnostiquer certains cancers, comme c'est le cas pour les tumeurs neuroendocrines dont la présence peut être diagnostiquée grâce à l'Octréoscan[®] qui fixe les récepteurs sst₂.

Après avoir été largement étudié pour son implication dans des pathologies cardiovasculaires, le système urotensinergique fait depuis quelques années l'objet d'intenses recherches sur ses propriétés pro-mitogènes, chimioattractantes et pro-angiogéniques, et incidemment, sur son rôle potentiel dans l'induction et/ou le développement de tumeurs. En particulier, l'équipe « Astrocytes et Niche Vasculaire » a récemment démontré que le système urotensinergique participe à la tumorigenèse gliale. Il est dorénavant acquis que l'UT est surexprimé dans plusieurs types de cancers solides, faisant de ce récepteur une cible diagnostique voire pronostique prometteuse.

Sur la base de ces données, nous nous étions fixés comme objectif de développer des analogues urotensinergiques couplés au DOTA pour évaluer leur capacité à imager des tumeurs solides surexprimant le récepteur UT. Les travaux rapportés dans ce manuscrit montrent qu'en dépit des propriétés prometteuses du DOTA-UII et du DOTA-urantide observées *in vitro*, l'¹¹¹In-DOTA-UII peine à détecter ses cibles d'intérêt lorsqu'il est injecté chez des souris porteuses de xénogreffes tumorales. Il est relativement classique que des peptides aux propriétés pharmacologiques prometteuses *in vitro* se révèlent décevants *in vivo*, en raison notamment d'une demi-vie très courte. Les données que nous avons obtenues chez la Souris avec l'¹¹¹In-DOTA-UII, suggèrent une clairance rénale importante. Parmi les modifications structurales qui pourraient augmenter la stabilité, la lipophilie et la taille des peptides, figurent

l'acétylation ou l'amidation de l'extrémité N- ou C-terminale, le remplacement d'un acide aminé par sa forme dextrogyre, la substitution d'un acide aminé naturel par un équivalent dextrogyre ou de synthèse ou leur conjugaison avec des macromolécules, augmentant ainsi leur demi-vie (Adessi et Soto, 2002 ; Werle et Bernkop-Schnürch, 2006).

Ce projet soulève toutefois plusieurs interrogations et/ou perspectives de recherche. Afin d'optimiser nos résultats, plusieurs pistes seraient à explorer : vérifier la capacité de l'¹¹¹In-DOTA-urantide à imager des tumeurs surexprimant l'UT, développer et tester de nouveaux ligands urotensinergiques tels que l'URP ou d'autres analogues optimisés comme le [D-Ala¹, Pen², D-Trp⁴]-URP, le [D-Ala¹, Pen², D-Trp⁴, Orn⁵]-URP, ou encore le [D-Ala¹, Pen², Cha³, D-Trp⁴, Orn⁵]-URP et/ou synthétiser de nouveaux radioligands porteurs de groupes prosthétiques fluorés dont les propriétés pharmacocinétiques, *i.e.* haute lipophilie et meilleure absorption par les tumeurs, sont souvent supérieures au DOTA (Bégué et Bonnet-Delpon, 2008 ; Hofmann *et al.*, 2015).

Enfin, il serait judicieux de profiter des propriétés pro-angiogéniques du système urotensinergique afin de chercher à combiner ces peptides avec d'autres ligands, tel que le RGD pour le développement de radioligands bi-fonctionnels ciblant à la fois l'UT et l'intégrine $\alpha_V\beta_3$.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abiraj K, Mansi R, Tamma ML, Fani M, Forrer F, Nicolas G, Cescato R, Reubi JC, Maecke HR (2011) Bombesin antagonist–based radioligands for translational nuclear imaging of gastrin-releasing peptide receptor– positive tumors. J Nucl Med 52:1970–1978
- Abouzied MM, Fathala A, Alsugair A, Muhaideb AIA, Qahtani MHA (2017) Role of fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography in the evaluation of head and neck carcinoma. World J Nucl Med 16:257–265
- Acton PD, Kung HF (2003) Small animal imaging with high resolution single photon emission tomography. Nucl Med Biol 30:889–895
- Adebiyi A (2014) RGS2 regulates urotensin II-induced intracellular Ca2+ elevation and contraction in glomerular mesangial cells. J Cell Physiol 229:502–511
- Aden DP, Fogel A, Plotkin S, Damjanov I, Knowles BB (1979) Controlled synthesis of HBsAg in a differentiated human liver carcinoma-derived cell line. Nature 282:615–616
- Adessi C, Soto C (2002) Converting a peptide into a drug: strategies to improve stability and bioavailability. Curr Med Chem 9:963–978
- Adrian TE, Allen JM, Bloom SR, Ghatei MA, Rossor MN, Roberts GW, Crow TJ, Tatemoto K, Polak JM (1983) Neuropeptide Y distribution in human brain. Nature 306:584–586
- Aghi M, Cohen KS, Klein RJ, Scadden DT, Chiocca EA (2006) Tumor stromal-derived factor-1 recruits vascular progenitors to mitotic neovasculature, where microenvironment influences their differentiated phenotypes. Cancer Res 66:9054–9064
- Ahlquist RP (1948) A study of the adrenotropic receptors. Am J Physiol 153:586-600
- Ahrens VM, Frank R, Stadlbauer S, Beck-Sickinger AG, Hey-Hawkins E (2011) Incorporation of orthocarbaboranyl-Nε-modified L-lysine into neuropeptide Y receptor Y1- and Y2-selective analogues. J Med Chem 54:2368–2377
- Akagi T, Kimoto T (1977) Establishment and characteristics of a human pancreatic cancer cell line (HCG-25). Acta Pathol Jpn 27:51–58
- Akhtar RS, Xie SX, Chen YJ, Rick J, Gross RG, Nasrallah IM, Van Deerlin VM, Trojanowski JQ, Chen-Plotkin AS, Hurtig HI, Siderowf AD, Dubroff JG, Weintraub D (2017) Regional brain amyloid-β accumulation associates with domain-specific cognitive performance in Parkinson disease without dementia. PLoS One 12:14–25
- Akiyama S, Amo H, Watanabe T, Matsuyama M, Sakamoto J, Imaizumi M, Ichihashi H, Kondo T, Takagi H (1988) Characteristics of three human gastric cancer cell lines, NU-GC-2, NU-GC-3 and NU-GC-4. Jpn J Surg 18:438–446
- Albertin G, Casale V, Ziolkowska A, Spinazzi R, Malendowicz LK, Rossi GP, Nussdorfer GG (2006) Urotensin-II and UII-receptor expression and function in the rat adrenal cortex. Int J Mol Med 17:1111–1115
- Albertin G, Guidolin D, Sorato E, Oselladore B, Tortorella C, Ribatti D (2011) Urotensin-II-stimulated expression of pro-angiogenic factors in human vascular endothelial cells. Regulatory Peptides 172:16–22
- Albertin G, Guidolin D, Sorato E, Spinazzi R, Mascarin A, Oselladore B, Montopoli M, Antonello M, Ribatti D (2009) Pro-angiogenic activity of Urotensin-II on different human vascular endothelial cell populations. Regul Peptides 157:64–71
- Almofti A, Uchida D, Begum NM, Tomizuka Y, Iga H, Yoshida H, Sato M (2004) The clinicopathological significance of the expression of CXCR4 protein in oral squamous cell carcinoma. Int J Oncol 25:65–71

- Almuhaideb A, Papathanasiou N, Bomanji J (2011) 18F-FDG PET/CT imaging in oncology. Ann Saudi Med 31:3-13
- Amara S, Chaar I, Khiari M, Ounissi D, Weslati M, Boughriba R, Hmida AB, Bouraoui S (2015) Stromal cell derived factor-1 and CXCR4 expression in colorectal cancer promote liver metastasis. Cancer Biomark 15:869–879
- Amaya K, Ohta T, Kitagawa H, Kayahara M, Takamura H, Fujimura T, Nishimura G-I, Shimizu K, Miwa K (2004) Angiotensin II activates MAP kinase and NF-κB through angiotensin II type I receptor in human pancreatic cancer cells. Int J Oncol 25:849–856
- Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM, Louden CS, Foley JJ, Sauermelch CF, Coatney RW, Ao Z, Disa J, Holmes SD, Stadel JM, Martin JD, Liu W-S, Glover GI, Wilson S, McNulty DE, Ellis CE, Elshourbagy NA, Shabon U, Trill JJ, Hay DWP, Ohlstein EH, Bergsma DJ, Douglas SA (1999) Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. Nature 401:282–286
- Ananias HJK, Yu Z, Dierckx RA, van der Wiele C, Helfrich W, Wang F, Yan Y, Chen X, de Jong IJ, Elsinga PH (2011) 99mTechnetium-HYNIC(tricine/TPPTS)-Aca-Bombesin(7–14) as a targeted imaging agent with microSPECT in a PC-3 prostate cancer xenograft model. Mol Pharmaceutics 8:1165–1173
- Ananias HJK, Yu Z, Hoving HD, Rosati S, Dierckx RA, Wang F, Yan Y, Chen X, Pruim J, Hooge MNL de, Helfrich W, Elsinga PH, Jong IJ de (2013) Application of 99mTechnetium-HYNIC(tricine/TPPTS)-Aca-Bombesin(7-14) SPECT/CT in prostate cancer patients: A first-in-man study. Nucl Med Biol 40:933–938
- Anastasi A, Erspamer V, Bucci M (1971) Isolation and structure of bombesin and alytesin, two analogous active peptides from the skin of the european amphibians Bombina and Alytes. Experientia 27:166–167
- Andreev J, Galisteo ML, Kranenburg O, Logan SK, Chiu ES, Okigaki M, Cary LA, Moolenaar WH, Schlessinger J (2001) Src and Pyk2 mediate G-protein-coupled receptor activation of epidermal growth factor receptor (EGFR) but are not required for coupling to the mitogen-activated protein (MAP) kinase signaling cascade. J Biol Chem 276:20130–20135
- Anthony CT, Hughey S, Lyons J, Weiss S, Hornick CA, Drouant GJ, Fuselier JA, Coy DH, Murphy WA, Woltering EA (2004) The effect of drug dose and drug exposure time on the binding, internalization, and cytotoxicity of radiolabeled somatostatin analogs. J Surg Res 119:1–13
- Anthony LB, Woltering EA, Espenan GD, Cronin MD, Maloney TJ, McCarthy KE (2002) Indium-111pentetreotide prolongs survival in gastroenteropancreatic malignancies. Semin Nucl Med 32:123–132
- Antunes P, Ginj M, Zhang H, Waser B, Baum RP, Reubi JC, Maecke H (2007) Are radiogallium-labelled DOTAconjugated somatostatin analogues superior to those labelled with other radiometals? Eur J Nucl Med Mol Imaging 34:982–993
- Appetecchia M, Baldelli R (2010) Somatostatin analogues in the treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours, current aspects and new perspectives. J Exp Clin Cancer Res 29:19
- Arafat HA, Gong Q, Chipitsyna G, Rizvi A, Saa CT, Yeo CJ (2007) Antihypertensives as novel antineoplastics: angiotensin-I-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor blockers in pancreatic ductal adenocarcinoma. J Am Coll Surg 204:996–1005
- Arai Y, Kubota T, Nakagawa T, Kabuto M, Sato K, Kobayashi H (1998) Production of urokinase-type plasminogen activator (u-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in human brain tumours. Acta Neurochir 140:377–386
- Aranda-Lara L, Ferro-Flores G, Azorín-Vega E, Ramírez F de M, Jiménez-Mancilla N, Ocampo-García B, Santos-Cuevas C, Isaac-Olivé K (2016a) Synthesis and evaluation of Lys1(α,γ-Folate)Lys3(177Lu-DOTA)-Bombesin(1-14) as a potential theranostic radiopharmaceutical for breast cancer. Appl Radiat Isot 107:214–219
- Aranda-Lara L, Ferro-Flores G, Ramírez F de M, Ocampo-García B, Santos-Cuevas C, Díaz-Nieto L, Isaac-Olivé K (2016b) Improved radiopharmaceutical based on 99mTc-Bombesin-folate for breast tumour imaging. Nucl Med Commun 37:377–386
- Arikawa K, Takuwa N, Yamaguchi H, Sugimoto N, Kitayama J, Nagawa H, Takehara K, Takuwa Y (2003) Ligand-dependent inhibition of B16 melanoma cell migration and invasion via endogenous S1P2 G protein-coupled receptor requirement of inhibition of cellular rac activity. J Biol Chem 278:32841–32851

- Arrieta O, Villarreal-Garza C, Vizcaíno G, Pineda B, Hernández-Pedro N, Guevara-Salazar P, Wegman-Ostrosky T, Villanueva-Rodríguez G, Gamboa-Domínguez A (2015) Association between AT1 and AT2 angiotensin II receptor expression with cell proliferation and angiogenesis in operable breast cancer. Tumor Biol 36:5627–5634
- Atkinson H, England JA, Rafferty A, Jesudason V, Bedford K, Karsai L, Atkin SL (2013) Somatostatin receptor expression in thyroid disease. Int J Clin Exp Pathol 94:226–229
- Austin KM, Covic L, Kuliopulos A (2013) Matrix metalloproteases and PAR1 activation. Blood 121:431-439
- Azzi M, Charest PG, Angers S, Rousseau G, Kohout T, Bouvier M, Piñeyro G (2003) β-Arrestin-mediated activation of MAPK by inverse agonists reveals distinct active conformations for G protein-coupled receptors. PNAS 100:11406–11411

В

- Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL (1989) Neutrophil-activating peptide-1/Interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. J Clin Invest 84:1045–1049
- Baidoo KE, Lin KS, Zhan Y, Finley P, Scheffel U, Wagner HN (1998) Design, synthesis, and initial evaluation of high-affinity technetium bombesin analogues. Bioconjugate Chem 9:218–225
- Baillie-Johnson H, Twentyman PR, Fox NE, Walls GA, Workman P, Watson JV, Johnson N, Reeve JG, Bleehen NM (1985) Establishment and characterisation of cell lines from patients with lung cancer (predominantly small cell carcinoma). Br J Cancer 52:495–504
- Bainbridge H, Salem A, Tijssen RHN, Dubec M, Wetscherek A, Van Es C, Belderbos J, Faivre-Finn C, McDonald F, of the international Atlantic MR-Linac Consortium OB of the LTSG (2017) Magnetic resonance imaging in precision radiation therapy for lung cancer. Transl Lung Cancer Res 6:689–707
- Baker SR (1985) An in vivo model for squamous cell carcinoma of the head and neck. Laryngoscope 95:43-56
- Bakker WH, Albert R, Bruns C, Breeman WAP, Hofland LJ, Marbach P, Pless J, Pralet D, Stolz B, Koper JW, Lamberts SWJ, Visser TJ, Krenning EP (1991a) [111In-DTPA-D-Phe1]-octreotide, a potential radiopharmaceutical for imaging of somatostatin receptor-positive tumors: synthesis, radiolabeling and in vitro validation. Life Sci 49:1583–1591
- Bakker WH, Krenning EP, Reubi JC, Breeman WAP, Setyono-Han B, de Jong M, Kooij PPM, Bruns C, van Hagen PM, Marbach P, Visser TJ, Pless J, Lamberts SWJ (1991b) In vivo application of [111In-DTPA-D-Phe1]-octreotide for detection of somatostatin receptor-positive tumors in rats. Life Sci 49:1593–1601
- Balakan O, Kalender ME, Suner A, Cengiz B, Oztuzcu S, Bayraktar R, Borazan E, Babacan T, Camci C (2014) The relationship between urotensin ii and its receptor and the clinicopathological parameters of breast cancer. Med Sci Monit 20:1419–1425
- Balasubramaniam A, Dhawan VC, Mullins DE, Chance WT, Sheriff S, Guzzi M, Prabhakaran M, Parker EM (2001) Highly selective and potent neuropeptide Y (NPY) Y1 receptor antagonists based on [Pro 30, Tyr 32, Leu 34]NPY(28-36)-NH 2 (BW1911U90). J Med Chem 44:1479–1482
- Balat A, Karakök M, Yılmaz K, Kibar Y (2007) Urotensin-II immunoreactivity in children with chronic glomerulonephritis. Ren Fail 29:573–578
- Balkwill F (2004) Cancer and the chemokine network. Nat Rev Cancer 4:540-550
- Bandari RP, Jiang Z, Reynolds TS, Bernskoetter NE, Szczodroski AF, Bassuner KJ, Kirkpatrick DL, Rold TL, Sieckman GL, Hoffman TJ, Connors JP, Smith CJ (2014) Synthesis and biological evaluation of copper-64 radiolabeled [DUPA-6-Ahx-(NODAGA)-5-Ava-BBN(7-14)NH2], a novel bivalent targeting vector having affinity for two distinct biomarkers (GRPr/PSMA) of prostate cancer. Nucl Med Biol 41:355–363
- Bang FB, Gey GO, Foard M, Minnegan D (1952) Comparative susceptibility of cultured cell strains to the virus of eastern equine encephalomyelitis. Bull Johns Hopkins Hosp 91:427–461
- Barbieri F, Bajetto A, Pattarozzi A, Gatti M, Würth R, Thellung S, Corsaro A, Villa V, Nizzari M, Florio T (2013)

Peptide receptor targeting in cancer: the somatostatin paradigm. Int J Pept 2013:926295

- Barcellos-Hoff MH, Ravani SA (2000) Irradiated mammary gland stroma promotes the expression of tumorigenic potential by unirradiated epithelial cells. Cancer Res 60:1254–1260
- Barney JD, Churchill EJ (1939) Adenocarcinoma of the kidney with metastasis to the lung: cured by nephrectomy and lobectomy. J Urol 42:269–276
- Barrett BJ, Katzberg RW, Thomsen HS, Chen N, Sahani D, Soulez G, Heiken JP, Lepanto L, Ni Z, Nelson R (2006) Contrast-induced nephropathy in patients with chronic kidney disease undergoing computed tomography: a double-blind comparison of iodixanol and iopamidol. Invest Radiol 41:815–821
- Barros ALB de, Mota L das G, Ferreira C de A, Corrêa NCR, Góes AM de, Oliveira MC, Cardoso VN (2013) 99mTc-labeled bombesin analog for breast cancer identification. J Radioanal Nucl Chem 295:2083–2090
- Bar-Shavit R, Maoz M, Kancharla A, Nag JK, Agranovich D, Grisaru-Granovsky S, Uziely B (2016) G proteincoupled receptors in cancer. Int J Mol Sci 17:1320–1328
- Barthet G, Framery B, Gaven F, Pellissier L, Reiter E, Claeysen S, Bockaert J, Dumuis A (2007) 5-Hydroxytryptamine4 receptor activation of the extracellular signal-regulated kinase pathway depends on src activation but not on G protein or β-Arrestin signaling. Mol Biol Cell 18:1979–1991
- Basheer HA, Pakanavicius E, Cooper PA, Shnyder SD, Martin L, Hunter KD, Vinader V, Afarinkia K (2018) Hypoxia modulates CCR7 expression in head and neck cancers. Oral Oncology 80:64–73
- Battey J, Jordan E, Cox D, Dove W (1999) An action plan for mouse genomics. Nat Genet 21:73–75
- Bauer W, Briner U, Doepfner W, Haller R, Huguenin R, Marbach P, Petcher TJ, Pless J (1982) SMS 201–995: A very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. Life Sci 31:1133–1140
- Baum RP, Kulkarni HR, Schuchardt C, Singh A, Wirtz M, Wiessalla S, Schottelius M, Mueller D, Klette I, Wester H-J (2016) 177Lu-labeled prostate-specific membrane antigen radioligand therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer: safety and efficacy. J Nucl Med 57:1006–1013
- Baumann M, Krause M, Hill R (2008) Exploring the role of cancer stem cells in radioresistance. Nat Rev Cancer 8:19–24
- Baumann M, Krause M, Overgaard J, Debus J, Bentzen SM, Daartz J, Richter C, Zips D, Bortfeld T (2016) Radiation oncology in the era of precision medicine. Nat Rev Cancer 16:234–250
- Beaino W, Nedrow JR, Anderson CJ (2015) Evaluation of 68Ga- and 177Lu-DOTA-PEG4-LLP2A for VLA-4targeted PET imaging and treatment of metastatic melanoma. Mol Pharmaceutics 12:1929–1938
- Becciolini L, Meacci E, Donati C, Cencetti F, Rapizzi E, Bruni P (2006) Sphingosine 1-phosphate inhibits cell migration in C2C12 myoblasts. Biochim Biophys Acta 1761:43–51
- Beck-Sickinger AG, Gaida W, Schnorrenberg G, Lang R, Jung G (1990) Neuropeptide Y: identification of the binding site. Int J Pept Protein Res 36:522–530
- Beekman FJ, Have F van der, Vastenhouw B, Linden AJA van der, Rijk PP van, Burbach JPH, Smidt MP (2005) U-SPECT-I: a novel system for submillimeter-resolution tomography with radiolabeled molecules in mice. J Nucl Med 46:1194–1200
- Bégué JP, Bonnet-Delpon D (2008) Bioorganic and medicinal chemistry of fluorine. John Wiley & Sons,
- Béhé M, Becker W, Gotthardt M, Angerstein C, Behr TM (2003) Improved kinetic stability of DTPA-DGlu as compared with conventional monofunctional DTPA in chelating indium and yttrium: preclinical and initial clinical evaluation of radiometal labelled minigastrin derivatives. Eur J Nucl Med Mol Imaging 30:1140–1146
- Behm D, Aiyar N, Olzinski A, McAtee J, Hilfiker M, Dodson J, Dowdell S, Wang G, Goodman K, Sehon C, Harpel M, Willette R, Neeb M, Leach C, Douglas S (2010) GSK1562590, a slowly dissociating urotensin-II receptor antagonist, exhibits prolonged pharmacodynamic activity ex vivo. Br J Pharmacol 161:207– 228
- Behm DJ, Doe CPA, Johns DG, Maniscalco K, Stankus GP, Wibberley A, Willette RN, Douglas SA (2004a) Urotensin-II: a novel systemic hypertensive factor in the cat. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 369:274–280

- Behm DJ, Herold CL, Camarda V, Aiyar NV, Douglas SA (2004b) Differential agonistic and antagonistic effects of the urotensin-II ligand SB-710411 at rodent and primate UT receptors. European Journal of Pharmacology 492:113–116
- Behm DJ, Stankus G, Doe CPA, Willette RN, Sarau HM, Foley JJ, Schmidt DB, Nuthulaganti P, Fornwald JA, Ames RS, Lambert DG, Calo' G, Camarda V, Aiyar NV, Douglas SA (2006) The peptidic urotensin-II receptor ligand GSK248451 possesses less intrinsic activity than the low-efficacy partial agonists SB-710411 and urantide in native mammalian tissues and recombinant cell systems. Br J Pharmacol 148:173– 190
- Behr TM, Jenner N, Radetzky S, Béhe M, Gratz S, Yücekent S, Raue F, Becker W (1998) Targeting of cholecystokinin-B/gastrin receptors in vivo: preclinical and initial clinical evaluation of the diagnostic and therapeutic potential of radiolabelled gastrin. Eur J Nucl Med 25:424–430
- Behrens J, Lustig B (2004) The Wnt connection to tumorigenesis. Int J Dev Biol 48:477-487
- Beichel RR, Van Tol M, Ulrich EJ, Bauer C, Chang T, Plichta KA, Smith BJ, Sunderland JJ, Graham MM, Sonka M, Buatti JM (2016) Semiautomated segmentation of head and neck cancers in 18F-FDG PET scans: a just-enough-interaction approach. Med Phys 43:2948–2964
- Bello L, Giussani C, Carrabba G, Pluderi M, Costa F, Bikfalvi A (2004) Angiogenesis and invasion in gliomas. Angiogenesis in Brain Tumors. Springer, Boston, MA, pp 263–284
- Ben-Shlomo A, Liu N-A, Melmed S (2017) Somatostatin and dopamine receptor regulation of pituitary somatotroph adenomas. Pituitary 20:93–99
- Bentzen SM (2005) Theragnostic imaging for radiation oncology: dose-painting by numbers. Lancet Oncol 6:112– 117
- Berchuck A, Rodriguez G, Olt G, Whitaker R, Boente MP, Arrick BA, Clarke-Pearson DL, Bast RC (1992) Regulation of growth of normal ovarian epithelial cells and ovarian cancer cell lines by transforming growth factor-beta. Am J Obstet Gynecol 166:676–684
- Berger T, Conley AJ, Van Klompenberg M, Roser JF, Hovey RC (2013) Increased testicular sertoli cell population induced by an estrogen receptor antagonist. Mol Cell Endocrinol 366:53–58
- Bergmann R, Ruffani A, Graham B, Spiccia L, Steinbach J, Pietzsch J, Stephan H (2013) Synthesis and radiopharmacological evaluation of 64Cu-labeled bombesin analogs featuring a bis(2-pyridylmethyl)-1,4,7-triazacyclononane chelator. Mol Cell Endocrinol 70:434–446
- Bergsma H, Konijnenberg MW, Kam BLR, Teunissen JJM, Kooij PP, Herder WW, Franssen GJH, Eijck CHJ, Krenning EP, Kwekkeboom DJ (2016) Subacute haematotoxicity after PRRT with 177Lu-DOTAoctreotate: prognostic factors, incidence and course. Eur J Nucl Med Mol Imaging 43:453–463
- Bern HA, Lederis K (1969) A reference preparation for the study of active substances in the caudal neurosecretory system of teleosts. J Endocrinol 45:11–12
- Bernard BF, Krenning EP, Breeman WAP, Rolleman EJ, Bakker WH, Visser TJ, Mäcke H, Jong M (1997) Dlysine reduction of indium-111 octreotide and yttrium-90 octreotide renal uptake. J Nucl Med 38:1929– 1933
- Bernier J, Hall EJ, Giaccia A (2004) Radiation oncology: a century of achievements. Nat Rev Cancer 4:14-25
- Bernsen MR, Vaissier PEB, Van Holen R, Booij J, Beekman FJ, De Jong M (2014) The role of preclinical SPECT in oncological and neurological research in combination with either CT or MRI. Eur J Nucl Med Mol Imaging 41:36–49
- Bers DM (2002) Cardiac excitation-contraction coupling. Nature 415:198-205
- Bertram JS, Janik P (1980) Establishment of a cloned line of Lewis Lung Carcinoma cells adapted to cell culture. Cancer Lett 11:63–73
- Beyer T, Townsend DW, Brun T, Kinahan PE, Charron M, Roddy R, Jerin J, Young J, Byars L, Nutt R (2000) A combined PET/CT scanner for clinical oncology. J Nucl Med 41:1369–1379
- Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL (2004) Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. Nature 432:332–337
- Bi Y, Li J, Ji B, Kang N, Yang L, Simonetto DA, Kwon JH, Kamath M, Cao S, Shah V (2014) Sphingosine-1-

phosphate mediates a reciprocal signaling pathway between stellate cells and cancer cells that promotes pancreatic cancer growth. Am J Pathol 184:2791–2802

- Bianca R d'Emmanuele di V, Mitidieri E, Fusco F, D'Aiuto E, Grieco P, Novellino E, Imbimbo C, Mirone V, Cirino G, Sorrentino R (2012) Endogenous urotensin II selectively modulates erectile function through eNOS. PLoS ONE 7:19–31
- Bianca RDDV, Cirino G, Mitidieri E, Coletta C, Grassia G, Roviezzo F, Grieco P, Novellino E, Imbimbo C, Mirone V, Sorrentino R (2009) Urotensin II: a novel target in human corpus cavernosum. The Journal of Sexual Medicine 7:1778–1786
- Biddlecombe GB, Rogers BE, de Visser M, Parry JJ, de Jong M, Erion JL, Lewis JS (2007) Molecular imaging of gastrin-releasing peptide receptor-positive tumors in mice using 64Cu- and 86Y-DOTA-(Pro1,Tyr4)-Bombesin(1-14). Bioconjugate Chem 18:724-730
- Biedler JL, Helson L, Spengler BA (1973) Morphology and growth, tumorigenicity, and cytogenetics of human neuroblastoma cells in continuous culture. Cancer Res 33:2643–2652
- Bigott-Hennkens HM, Dannoon SF, Noll SM, Ruthengael VC, Jurisson SS, Lewis MR (2011) Labeling, stability and biodistribution studies of 99mTc-cyclized Tyr3-octreotate derivatives. Nucl Med Biol 38:549–555
- Billard E, Létourneau M, Hébert TE, Chatenet D (2017) Insight into the role of urotensin II-related peptide tyrosine residue in UT activation. Biochem Pharmacol 144:100–107
- Billard, Iddir, Nassour, Lee-Gosselin, Poujol de Molliens, Chatenet (2018) New directions for urotensin II receptor ligands. J Pept Sci
- Birlik B, Canda S, Ozer E (2006) Tumour vascularity is of prognostic significance in adult, but not paediatric astrocytomas. Neuropathol Appl Neurobiol 32:532–538
- Blackmore M, Hirst BH (1992) Autocrine stimulation of growth of AR4-2J rat pancreatic tumour cells by gastrin. Br J Cancer 66:32–38
- Boccaccio C, Comoglio PM (2006) Invasive growth: a MET-driven genetic programme for cancer and stem cells. Nat Rev Cancer 6:637–645
- Bocchini V, Casalone R, Collini P, Rebel G, Lo Curto F (1991) Changes in glial fibrillary acidic protein and karyotype during culturing of two cell lines established from human glioblastoma multiforme. Cell Tissue Res 265:73–81
- Bocher M, Balan A, Krausz Y, Shrem Y, Lonn A, Wilk M, Chisin R (2000) Gamma camera-mounted anatomical X-ray tomography: technology, system characteristics and first images. Eur J Nucl Med 27:619–627
- Bodei L, Cremonesi M, Ferrari M, Pacifici M, Grana CM, Bartolomei M, Baio SM, Sansovini M, Paganelli G (2008) Long-term evaluation of renal toxicity after peptide receptor radionuclide therapy with 90Y-DOTATOC and 177Lu-DOTATATE: the role of associated risk factors. Eur J Nucl Med Mol Imaging 35:1847–1856
- Bodei L, Cremonesi M, Grana C, Rocca P, Bartolomei M, Chinol M, Paganelli G (2004) Receptor radionuclide therapy with 90Y-[DOTA]0-Tyr3-octreotide (90Y-DOTATOC) in neuroendocrine tumours. Eur J Nucl Med Mol Imaging 31:1038–1046
- Bodei L, Cremonesi M, Grana CM, Fazio N, Iodice S, Baio SM, Bartolomei M, Lombardo D, Ferrari ME, Sansovini M, Chinol M, Paganelli G (2011) Peptide receptor radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE: the IEO phase I-II study. Eur J Nucl Med Mol Imaging 38:2125–2135
- Bodei L, Cremonesi M, Kidd M, Grana CM, Severi S, Modlin IM, Paganelli G (2014) Peptide receptor radionuclide therapy for advanced neuroendocrine tumors. Thorac Surg Clin 24:333–349
- Bodei L, Cremonesi M, Zoboli S, Grana C, Bartolomei M, Rocca P, Caracciolo M, Mäcke HR, Chinol M, Paganelli G (2003a) Receptor-mediated radionuclide therapy with 90Y-DOTATOC in association with amino acid infusion: a phase I study. Eur J Nucl Med 30:207–216
- Bodei L, Kassis AI, Adelstein SJ, Mariani G (2003b) Radionuclide therapy with Iodine-125 and other auger– electron-emitting radionuclides: experimental models and clinical applications. Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals 18:861–877
- Bodei L, Kidd M, Paganelli G, Grana CM, Drozdov I, Cremonesi M, Lepensky C, Kwekkeboom DJ, Baum RP,

Krenning EP, Modlin IM (2015a) Long-term tolerability of PRRT in 807 patients with neuroendocrine tumours: the value and limitations of clinical factors. Eur J Nucl Med Mol Imaging 42:5–19

- Bodei L, Kidd M, Prasad V, Modlin IM (2015b) Peptide receptor radionuclide therapy of neuroendocrine tumors. 44:198–215
- Boerman OC, Oyen WJG, Corstens FHM (2000) Radio-labeled receptor-binding peptides: A new class of radiopharmaceuticals. Semin Nucl Med 30:195–208
- Boire A, Covic L, Agarwal A, Jacques S, Sherifi S, Kuliopulos A (2005) PAR1 is a matrix metalloprotease-1 receptor that promotes invasion and tumorigenesis of breast cancer cells. Cell 120:303–313
- Boman BM, Olive M, Untawale S, Blick M, North S, Gallick G, Dolf G, Siciliano MJ, Roubein LD, Fritche H, Thomas G, Pathak S, Wildrick DM, Levin B (1990) The difi rectal carcinoma cell line from a familial adenomatous polyposis patient: an in vitro model system to study genetic changes in colorectal cancer. Hereditary Colorectal Cancer. Springer, Tokyo, pp 541–548
- Bombardieri E, Ambrosini V, Aktolun C, Baum RP, Bishof-Delaloye A, Del Vecchio S, Maffioli L, Mortelmans L, Oyen W, Pepe G, Chiti A, Oncology Committee of the EANM (2010) 111In-pentetreotide scintigraphy: procedure guidelines for tumour imaging. Eur J Nucl Med Mol Imaging 37:1441–1448
- Bousette N, Hu F, Ohlstein EH, Dhanak D, Douglas SA, Giaid A (2006a) Urotensin-II blockade with SB-611812 attenuates cardiac dysfunction in a rat model of coronary artery ligation. Journal of Molecular and Cellular Cardiology 41:285–295
- Bousette N, Patel L, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A (2004) Increased expression of urotensin II and its cognate receptor GPR14 in atherosclerotic lesions of the human aorta. Atherosclerosis 176:117–123
- Bousette N, Pottinger J, Ramli W, Ohlstein EH, Dhanak D, Douglas SA, Giaid A (2006b) Urotensin-II receptor blockade with SB-611812 attenuates cardiac remodeling in experimental ischemic heart disease. Peptides 27:2919–2926
- Bouter C, Meller B, Sahlmann CO, Staab W, Wester HJ, Kropf S, Meller J (2017) Imaging chemokine receptor CXCR4 in chronic infection of the bone with 68Ga-Pentixafor-PET/CT first insights. J Nucl Med jnumed.117.193854
- Bowen-Pidgeon D, Innamorati G, Sadeghi HM, Birnbaumer M (2001) Arrestin effects on internalization of vasopressin receptors. Mol Pharmacol 59:1395–1401
- Boyer JL, Waldo GL, Harden TK (1992) Beta gamma-subunit activation of G-protein-regulated phospholipase C. J Biol Chem 267:25451–25456
- Brabander T, Kwekkeboom DJ, Feelders RA, Brouwers AH, Teunissen JJM (2015) Nuclear medicine imaging of neuroendocrine tumors. Nucl Med Biol 44:73–87
- Brabander T, Teunissen JJM, Van Eijck CHJ, Franssen GJH, Feelders RA, de Herder WW, Kwekkeboom DJ (2016) Peptide receptor radionuclide therapy of neuroendocrine tumours. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism 30:103–114
- Bradford CR, Kimmel KA, Van Dyke DL, Worsham MJ, Tilley BJ, Burk D, del Rosario F, Lutz S, Tooley R, Hayashida DJ (1991) 11p deletions and breakpoints in squamous cell carcinoma: association with altered reactivity with the UM-E7 antibody. Genes Chromosomes Cancer 3:272–282
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72:248–254
- Brat DJ, Bellail AC, Meir V (2005) The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. Neuro Oncol 7:122–133
- Brattain MG, Fine WD, Khaled FM, Thompson J, Brattain DE (1981) Heterogeneity of malignant cells from a human colonic carcinoma. Cancer Res 41:1751–1756
- Brattain MG, Strobel-Stevens J, Fine D, Webb M, Sarrif AM (1980) Establishment of mouse colonic carcinoma cell lines with different metastatic properties. Cancer Res 40:2142–2146
- Bratton MR, Antoon JW, Duong BN, Frigo DE, Tilghman S, Collins-Burow BM, Elliott S, Tang Y, Melnik LI, Lai L, Alam J, Beckman BS, Hill SM, Rowan BG, McLachlan JA, Burow ME (2012) Gαo potentiates estrogen receptor α activity via the ERK signaling pathway. J Endocrinol 214:45–54

- Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Butcher M, Rivier J, Guillemin R (1973) Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. Science 179:77–79
- Breeman WA, Jong M, Kwekkeboom DJ, Valkema R, Bakker WH, Kooij PP, Visser TJ, Krenning EP (2001) Somatostatin receptor-mediated imaging and therapy: basic science, current knowledge, limitations and future perspectives. Eur J Nucl Med 28:1421–1429
- Breeman WAP, Jong M, Erion JL, Bugaj JE, Srinivasan A, Bernard BF, Kwekkeboom DJ, Visser TJ, Krenning EP (2002) Preclinical Comparison of 1111n-Labeled DTPA- or DOTA-Bombesin Analogs for Receptor-Targeted Scintigraphy and Radionuclide Therapy. J Nucl Med 43:1650–1656
- Breeman WAP, Jong M, Visser TJ, Erion JL, Krenning EP (2003) Optimising conditions for radiolabelling of DOTA-peptides with 90Y, 111In and 177Lu at high specific activities. Eur J Nucl Med Mol Imaging 30:917–920
- Brkovic A, Hattenberger A, Kostenis E, Klabunde T, Flohr S, Kurz M, Bourgault S, Fournier A (2003) Functional and binding characterizations of urotensin II-related peptides in human and rat urotensin ii-receptor assay. J Pharmacol Exp Ther 306:1200–1209
- Broeckhoven C, du Plessis A, le Roux SG, Mouton P le FN, Hui C (2017) Beauty is more than skin deep: a noninvasive protocol for in vivo anatomical study using micro-CT. Methods Ecol Evol 8:358–369
- Brom M, Joosten L, Oyen WJ, Gotthardt M, Boerman OC (2012) Improved labelling of DTPA- and DOTAconjugated peptides and antibodies with 1111n in HEPES and MES buffer. EJNMMI Res 2:4–8
- Brothman AR, Lesho LJ, Somers KD, Wright GL, Merchant DJ (1989) Phenotypic and cytogenetic characterization of a cell line derived from primary prostatic carcinoma. Int J Cancer 44:898–903
- Brownell GL, Ellett WH, Reddy AR (1968) Absorbed fractions for photon dosimetry. J Nucl Med Suppl :29-39
- Brulé C, Perzo N, Joubert J-E, Sainsily X, Leduc R, Castel H, Prézeau L (2014) Biased signaling regulates the pleiotropic effects of the urotensin II receptor to modulate its cellular behaviors. FASEB J 28:5148–5162
- Bucharles C, Bizet P, Arthaud S, Arabo A, Leprince J, Lefranc B, Cartier D, Anouar Y, Lihrmann I (2014) Concordant localization of functional urotensin II and urotensin II-related peptide binding sites in the rat brain: Atypical occurrence close to the fourth ventricle. J Comp Neurol 522:2634–2649
- Buck AK, Stolzenburg A, Hänscheid H, Schirbel A, Lückerath K, Schottelius M, Wester H-J, Lapa C (2017) Chemokine receptor – Directed imaging and therapy. Methods 130:63–71
- Buhl AM, Johnson NL, Dhanasekaran N, Johnson GL (1995) Gα12 and Gα13 stimulate Rho-dependent stress fiber formation and focal adhesion assembly. J Biol Chem 270:24631–24634
- Buick RN, Pullano R, Trent JM (1985) Comparative properties of five human ovarian adenocarcinoma cell lines. Cancer Res 45:3668–3676
- Burger JA, Kipps TJ (2006) CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. Blood 107:1761–1767
- Bushnell DL, O'Dorisio TM, O'Dorisio MS, Menda Y, Hicks RJ, Van Cutsem E, Baulieu JL, Borson-Chazot F, Anthony L, Benson AB, Oberg K, Grossman AB, Connolly M, Bouterfa H, Li Y, Kacena KA, LaFrance N, Pauwels SA (2010) 90Y-Edotreotide for metastatic carcinoid refractory to octreotide. J Clin Oncol 28:1652–1659
- Bussolati B, Biancone L, Cassoni P, Russo S, Rola-Pleszczynski M, Montrucchio G, Camussi G (2000) PAF produced by human breast cancer cells promotes migration and proliferation of tumor cells and neo-angiogenesis. Am J Pathol 157:1713–1725

C

- Cabrera-Vera TM, Vanhauwe J, Thomas TO, Medkova M, Preininger A, Mazzoni MR, Hamm HE (2003) Insights into G Protein Structure, Function, and Regulation. Endocr Rev 24:765–781
- Cai H, Smola U, Wixler V, Eisenmann-Tappe I, Diaz-Meco MT, Moscat J, Rapp U, Cooper GM (1997) Role of diacylglycerol-regulated protein kinase C isotypes in growth factor activation of the Raf-1 protein kinase. Mol Cell Biol 17:732–741
- Cailleau R, Olivé M, Cruciger QV (1978) Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: preliminary characterization. In Vitro 14:911–915
- Cailleau R, Young R, Olivé M, Reeves WJ (1974) Breast tumor cell lines from pleural effusions. J Natl Cancer Inst 53:661–674
- Camarda V, Rizzi A, Calò G, Gendron G, Perron SI, Kostenis E, Zamboni P, Mascoli F, Regoli D (2002) Effects of human urotensin II in isolated vessels of various species; comparison with other vasoactive agents. Naunyn-Schmied Arch Pharmacol 365:141–149
- Camarda V, Song W, Marzola E, Spagnol M, Guerrini R, Salvadori S, Regoli D, Thompson JP, Rowbotham DJ, Behm DJ, Douglas SA, Calo' G, Lambert DG (2004) Urantide mimics urotensin-II induced calcium release in cells expressing recombinant UT receptors. Eur J Pharmacol 498:83–86
- Camarda V, Spagnol M, Song W, Vergura R, Roth AL, Thompson JP, Rowbotham DJ, Guerrini R, Marzola E, Salvadori S, Cavanni P, Regoli D, Douglas SA, Lambert DG, Calò G (2006) In vitro and in vivo pharmacological characterization of the novel UT receptor ligand [Pen5,DTrp7,Dab8]urotensin II(4–11) (UFP-803). Br J Pharmacol 147:92–100
- Campling BG, Sarda IR, Baer KA, Pang SC, Baker HM, Lofters WS, Flynn TG (1995) Secretion of atrial natriuretic peptide and vasopressin by small cell lung cancer. Cancer 75:2442–2451
- Camps M, Hou C, Sidiropoulos D, Stock JB, Jakobs KH, Gierschik P (1992) Stimulation of phospholipase C by guanine-nucleotide-binding protein βγ subunits. Eur J Biochem 206:821–831
- Cao W, Luttrell LM, Medvedev AV, Pierce KL, Daniel KW, Dixon TM, Lefkowitz RJ, Collins S (2000) Direct binding of activated c-Src to the β3-adrenergic receptor is required for MAP Kinase activation. J Biol Chem 275:38131–38134
- Capps JA, Smith JF (1904) X-ray therapy in leukemia. A preliminary report with special reference to lymphatic leukemia. J Am Med Asso 63:891–891
- Cardona C, Rabbitts PH, Spindel ER, Ghatei MA, Bleehen NM, Bloom SR, Reeve JG (1991) Production of neuromedin B and neuromedin B gene expression in human lung tumor cell lines. Cancer Res 51:5205–5211
- Caresia Aroztegui AP, García Vicente AM, Alvarez Ruiz S, Delgado Bolton RC, Orcajo Rincon J, Garcia Garzon JR, de Arcocha Torres M, Garcia-Velloso MJ (2017) 18F-FDG PET/CT in breast cancer: Evidence-based recommendations in initial staging. Tumour Biol 39:10–18
- Carlesso FN, Fuscaldi LL, Araújo RS, Teixeira CS, Oliveira MC, Fernandes SOA, Cassali GD, Reis DC, Barros ALB, Cardoso VN, Carlesso FN, Fuscaldi LL, Araújo RS, Teixeira CS, Oliveira MC, Fernandes SOA, Cassali GD, Reis DC, Barros ALB, Cardoso VN (2015) Evaluation of 99mTc-HYNIC-βAla-Bombesin(7-14) as an agent for pancreas tumor detection in mice. Braz J Med Biol Res 48:923–928
- Carlucci G, Kuipers A, Ananias HJK, de Paula Faria D, Dierckx RAJO, Helfrich W, Rink R, Moll GN, de Jong IJ, Elsinga PH (2015) GRPR-selective PET imaging of prostate cancer using [18F]-lanthionine-bombesin analogs. Peptides 67:45–54
- Carney DN, Gazdar AF, Bepler G, Guccion JG, Marangos PJ, Moody TW, Zweig MH, Minna JD (1985) Establishment and identification of small cell lung cancer cell lines having classic and variant features. Cancer Res 45:2913–2923
- Caroccia B, Menegolo M, Seccia TM, Petrelli L, Antonello M, Limena A, Porzionato A, Caro R, Poglitsch M, Rossi GP (2017) Urotensin II Exerts Pressor Effects By Stimulating Renin And Aldosterone Synthase

Gene Expression. Sci Rep 7:73–83

- Carotenuto A, Auriemma L, Merlino F, Yousif AM, Marasco D, Limatola A, Campiglia P, Gomez-Monterrey I, Santicioli P, Meini S, Maggi CA, Novellino E, Grieco P (2014) Lead optimization of P5U and urantide: discovery of novel potent ligands at the urotensin-II receptor. J Med Chem 57:5965–5974
- Carpenter G (1999) Employment of the Epidermal Growth Factor Receptor in Growth Factor–Independent Signaling Pathways. J Cell Biol 146:697–702
- Caruz A, Samsom M, Alonso JM, Alcami J, Baleux F, Virelizier JL, Parmentier M, Arenzana-Seisdedos F (1998) Genomic organization and promoter characterization of human CXCR4 gene 1. FEBS Lett 426:271–278
- Castel H, Desrues L, Joubert JE, Tonon MC, Prézeau L, Chabbert M, Morin F, Gandolfo P (2017) The G proteincoupled receptor UT of the neuropeptide urotensin II displays structural and functional chemokine features. Front Endocrinol 8:76–92
- Castel H, Diallo M, Chatenet D, Leprince J, Desrues L, Schouft MT, Fontaine M, Dubessy C, Lihrmann I, Scalbert E, Malagon M, Vaudry H, Tonon M-C, Gandolfo P (2006) Biochemical and functional characterization of high-affinity urotensin II receptors in rat cortical astrocytes. J Neurochem 99:582–595
- Cattaneo MG, Chini B, Vicentini LM (2008) Oxytocin stimulates migration and invasion in human endothelial cells. Br J Pharmacol 153:728–736
- Cazaubon S, Parker PJ, Strosberg AD, Couraud PO (1993) Endothelins stimulate tyrosine phosphorylation and activity of p42/mitogen-activated protein kinase in astrocytes. Biochem J 293:381–386
- Cescato R, Maina T, Nock B, Nikolopoulou A, Charalambidis D, Piccand V, Reubi JC (2008) Bombesin receptor antagonists may be preferable to agonists for tumor targeting. J Nucl Med 49:318–326
- Chambard JC, Paris S, L'Allemain G, Pouysségur J (1987) Two growth factor signalling pathways in fibroblasts distinguished by pertussis toxin. Nature 326:800
- Chan JM, Oh WK, Xie W, Regan MM, Stampfer MJ, King IB, Abe M, Kantoff PW (2009) Plasma selenium, manganese superoxide dismutase, and intermediate- or high-risk prostate cancer. J Clin Oncol 27:3577– 3583
- Chang SH, Ai Y, Breyer RM, Lane TF, Hla T (2005) The prostaglandin E2 receptor EP2 is required for cyclooxygenase 2-mediated mammary hyperplasia. Cancer Res 65:4496–4499
- Chao HH, Sung LC, Chen CH, Liu JC, Chen JJ, Cheng TH (2014) Lycopene inhibits urotensin-II-induced cardiomyocyte hypertrophy in neonatal rat cardiomyocytes. Evid Based Complement Alternat Med 2014:724670
- Charo IF, Taubman MB (2004) Chemokines in the Pathogenesis of Vascular Disease. Circ Res 95:858-866
- Charron CL, Hickey JL, Nsiama TK, Cruickshank DR, Turnbull WL, Luyt LG (2016) Molecular imaging probes derived from natural peptides. Nat Prod Rep 33:761–800
- Chartrel N, Conlon JM, Collin F, Braun B, Waugh D, Vallarino M, Lahrichi SL, Rivier JE, Vaudry H (1995) Urotensin II in the central nervous system of the frog Rana ridibunda: immunohistochemical localization and biochemical characterization. J Comp Neurol 364:324–339
- Chatenet D, Dubessy C, Boularan C, Scalbert E, Pfeiffer B, Renard P, Lihrmann I, Pacaud P, Tonon MC, Vaudry H, Leprince J (2006) Structure–Activity Relationships of a Novel Series of Urotensin II Analogues: Identification of a Urotensin II Antagonist. J Med Chem 49:7234–7238
- Chatenet D, Dubessy C, Leprince J, Boularan C, Carlier L, Ségalas-Milazzo I, Guilhaudis L, Oulyadi H, Davoust D, Scalbert E, Pfeiffer B, Renard P, Tonon MC, Lihrmann I, Pacaud P, Vaudry H (2004) Structure– activity relationships and structural conformation of a novel urotensin II-related peptide. Peptides 25:1819–1830
- Chatenet D, Nguyen QT, Létourneau M, Dupuis J, Fournier A (2012) Urocontrin, a novel UT receptor ligand with a unique pharmacological profile. Biochem Pharmacol 83:608–615
- Chatziioannou AF (2002) Molecular imaging of small animals with dedicated PET tomographs. Eur J Nucl Med Mol Imaging 29:98–114
- Chen HHW, Kuo MT, Tien Kuo M (2017) Improving radiotherapy in cancer treatment: Promises and challenges. Oncotarget 8:62742–62758

- Chen M, Towers LN, O'Connor KL (2007) LPA2 (EDG4) mediates Rho-dependent chemotaxis with lower efficacy than LPA1 (EDG2) in breast carcinoma cells. Am J Physiol, Cell Physiol 292:1927–1933
- Chen R, Zhu D, Ye X, Shen D, Lu R (1980) Establishment of three human liver carcinoma cell lines and some of their biological characteristics in vitro. Sci Sin 23:236–247
- Chen S (2017) Editorial: GPCRs and Cancer. Front Genet 8:162–165
- Chen WH, Horoszewicz JS, Leong SS, Shimano T, Penetrante R, Sanders WH, Berjian R, Douglass HO, Martin EW, Chu TM (1982) Human pancreatic adenocarcinoma: in vitro and in vivo morphology of a new tumor line established from ascites. In Vitro 18:24–34
- Chen X, Park R, Hou Y, Tohme M, Shahinian AH, Bading JR, Conti PS (2004) MicroPET and autoradiographic imaging of GRP receptor expression with 64Cu-DOTA-[Lys3] bombesin in human prostate adenocarcinoma xenografts. J Nucl Med 45:1390–1397
- Chen Y, Zhao M, Liu X, Yao W, Yang J, Zhang Z, Tang C (2001) Urotensin II receptor in the rat airway smooth muscle and its effect on the rat airway smooth muscle cells proliferation. Chin Med Sci J 16:231–235
- Chen YL, Liu JC, Loh SH, Chen CH, Hong CY, Chen JJ, Cheng TH (2008) Involvement of reactive oxygen species in urotensin II-induced proliferation of cardiac fibroblasts. European Journal of Pharmacology 593:24–29
- Chen YL, Loh SH, Chen JJ, Tsai C-S (2012) Urotensin II prevents cardiomyocyte apoptosis induced by doxorubicin via Akt and ERK. Eur J Pharmacol 680:88–94
- Chen Z, Xu J, Ye Y, Li Y, Gong H, Zhang G, Wu J, Jia J, Liu M, Chen Y, Yang C, Tang Y, Zhu Y, Ge J, Zou Y (2013) Urotensin II inhibited the proliferation of cardiac side population cells in mice during pressure overload by JNK-LRP6 signalling. J Cell Mol Med 18:852–862
- Cheng HC (2001) The power issue: determination of KB or Ki from IC50: A closer look at the Cheng–Prusoff equation, the Schild plot and related power equations. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 46:61–71
- Cherezov V, Rosenbaum DM, Hanson MA, Rasmussen SGF, Thian FS, Kobilka TS, Choi H-J, Kuhn P, Weis WI, Kobilka BK, Stevens RC (2007) High-resolution crystal structure of an engineered human β2-adrenergic g protein–coupled receptor. Science 318:1258–1265
- Cheson BD (2011) Role of functional imaging in the management of lymphoma. J Clin Oncol 29:1844–1854
- Choi JW, Herr DR, Noguchi K, Yung YC, Lee C-W, Mutoh T, Lin M-E, Teo ST, Park KE, Mosley AN, Chun J (2010) LPA Receptors: Subtypes and Biological Actions. Annu Rev Pharmacol Toxicol 50:157–186
- Chou ST, Chang WL, Chang CT, Hsu SL, Lin YC, Shih Y (2013) Cinnamomum cassia essential oil inhibits α-MSH-induced melanin production and oxidative stress in murine B16 melanoma cells. Int J Mol Sci 14:19186–19201
- Choy CJ, Ling X, Geruntho JJ, Beyer SK, Latoche JD, Langton-Webster B, Anderson CJ, Berkman CE (2017) 177Lu-labeled phosphoramidate-based PSMA inhibitors: The effect of an albumin binder on biodistribution and therapeutic efficacy in prostate tumor-bearing mice. Theranostics 7:1928–1939
- Christen Y (2000) Oxidative stress and Alzheimer disease. Am J Clin Nutr 71:621-629
- Cirillo P, Rosa SD, Pacileo M, Gargiulo A, Angri V, Fiorentino I, Prevete N, Petrillo G, Palma RD, Leonardi A, Paulis AD, Chiariello M (2008) Human urotensin II induces tissue factor and cellular adhesion molecules expression in human coronary endothelial cells: an emerging role for urotensin II in cardiovascular disease. J Thromb Haemost 6:726–736
- Clark MJ, Harrison C, Zhong H, Neubig RR, Traynor JR (2003) Endogenous RGS protein action modulates μopioid signaling through Gαo effects on adenylyl cyclase, extracellular signal-regulated kinases, and intracellular calcium pathways. J Biol Chem 278:9418–9425
- Clark SD, Nothacker HP, Wang Z, Saito Y, Leslie FM, Civelli O (2001) The urotensin II receptor is expressed in the cholinergic mesopontine tegmentum of the rat. Brain Res 923:120–127
- Clozel M, Hess P, Qiu C, Ding S-S, Rey M (2006) The urotensin-II receptor antagonist palosuran improves pancreatic and renal function in diabetic rats. J Pharmacol Exp Ther 316:1115–1121
- Colas B, Cambillau C, Buscail L, Zeggari M, Esteve J-P, Lautre V, Thomas F, Vaysse N, Susini C (1992)

Stimulation of a membrane tyrosine phosphatase activity by somatostatin analogues in rat pancreatic acinar cells. Eur J Biochem 207:1017–1024

- Collart-Dutilleul P-Y, Secret E, Panayotov I, Deville de Périère D, Martín-Palma RJ, Torres-Costa V, Martin M, Gergely C, Durand J-O, Cunin F, Cuisinier FJ (2014) Adhesion and proliferation of human mesenchymal stem cells from dental pulp on porous silicon scaffolds. ACS Appl Mater Interfaces 6:1719–1728
- Colmers WF, Bleakman D (1994) Effects of neuropeptide Y on the electrical properties of neurons. Trends Neurosci 17:373–379
- Colucci R, Blandizzi C, Tanini M, Vassalle C, Breschi MC, Tacca MD (2005) Gastrin promotes human colon cancer cell growth via CCK-2 receptor-mediated cyclooxygenase-2 induction and prostaglandin E2 production. Br J Pharmacol 144:338–348
- Coly PM, Perzo N, Joncour VL, Lecointre C, Schouft M-T, Desrues L, Tonon M-C, Wurtz O, Gandolfo P, Castel H, Morin F (2016) Chemotactic G protein-coupled receptors control cell migration by repressing autophagosome biogenesis. Autophagy 12:2344–2362
- Conlon JM, O'Harte F, Smith DD, Tonon M-C, Vaudry H (1992) Isolation and primary structure of urotensin II from the brain of a tetrapod, the frog Rana ridibunda. Biochem Biophys Res Commun 188:578–583
- Conlon JM, Tostivint H, Vaudry H (1997) Somatostatin- and urotensin II-related peptides: molecular diversity and evolutionary perspectives. Regulatory Peptides 69:95–103
- Coopman PJ, Do MT, Thompson EW, Mueller SC (1998) Phagocytosis of cross-linked gelatin matrix by human breast carcinoma cells correlates with their invasive capacity. Clin Cancer Res 4:507–515
- Corbett TH, Griswold DP, Roberts BJ, Peckham JC, Schabel FM (1975) Tumor induction relationships in development of transplantable cancers of the colon in mice for chemotherapy assays, with a note on carcinogen structure. Cancer Res 35:2434–2439
- van Corven EJ, Groenink A, Jalink K, Eichholtz T, Moolenaar WH (1989) Lysophosphatidate-induced cell proliferation: identification and dissection of signaling pathways mediated by G proteins. Cell 59:45–54
- Costa-Neto CM, Parreiras-E-Silva LT, Bouvier M (2016) A pluridimensional view of biased agonism. Mol Pharmacol 90:587–595
- Cotton M, Claing A (2009) G protein-coupled receptors stimulation and the control of cell migration. Cell Signal 21:1045–1053
- Coulouarn Y, Jégou S, Tostivint H, Vaudry H, Lihrmann I (1999) Cloning, sequence analysis and tissue distribution of the mouse and rat urotensin II precursors. FEBS Letters 457:28–32
- Coulouarn Y, Lihrmann I, Jegou S, Anouar Y, Tostivint H, Beauvillain JC, Conlon JM, Bern HA, Vaudry H (1998) Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneurons of the spinal cord. PNAS 95:15803–15808
- Cox HM (2007) Neuropeptide Y receptors; antisecretory control of intestinal epithelial function. Auton Neurosci 133:76–85
- Craft JM, Silva RAD, Lears KA, Andrews R, Liang K, Achilefu S, Rogers BE (2012) In vitro and in vivo evaluation of a 64Cu-labeled NOTA-Bn-SCN-Aoc-bombesin analogue in gastrin-releasing peptide receptor expressing prostate cancer. Nuclear Medicine and Biology 39:609–616
- Currie KP (2010) G protein inhibition of CaV2 calcium channels. Channels 4:497-509
- Cuttitta F, Carney DN, Mulshine J, Moody TW, Fedorko J, Fischler A, Minna JD (1985) Bombesin-like peptides can function as autocrine growth factors in human small-cell lung cancer. Nature 316:823–826
- Cwikla JB, Sankowski A, Seklecka N, Buscombe JR, Nasierowska-Guttmejer A, Jeziorski KG, Mikolajczak R, Pawlak D, Stepien K, Walecki J (2010) Efficacy of radionuclide treatment DOTATATE Y-90 in patients with progressive metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinomas (GEP-NETs): a phase II study. Ann Oncol 21:787–794
- Cybulla M, Weiner SM, Otte A (2001) End-stage renal disease after treatment with 90Y-DOTATOC. Eur J Nucl Med 28:1552–1554

D

- Daaka Y (2012) S-nitrosylation-regulated GPCR signaling. Biochim Biophys Acta 1820:743-751
- Daher Z, Noël J, Claing A (2008) Endothelin-1 promotes migration of endothelial cells through the activation of ARF6 and the regulation of FAK activity. Cell Signal 20:2256–2265
- Dai HY, He T, Li XL, Xu WL, Ge ZM (2011) Urotensin-2 promotes collagen synthesis via ERK1/2-dependent and ERK1/2-independent TGF-β1 in neonatal cardiac fibroblasts. Cell Biol Int 35:93–98
- Dai HY, Kang WQ, Wang X, Yu XJ, Li ZH, Tang MX, Xu DL, Li CW, Zhang Y, Ge ZM (2007) The involvement of transforming growth factor-β1 secretion in Urotensin II-induced collagen synthesis in neonatal cardiac fibroblasts. Regul Pept 140:88–93
- Daniels AJ, Matthews JE, Slepetis RJ, Jansen M, Viveros OH, Tadepalli A, Harrington W, Heyer D, Landavazo A, Leban JJ (1995) High-affinity neuropeptide Y receptor antagonists. PNAS 92:9067–9071
- Danthala M, Kallur KG, Prashant GR, Rajkumar K, Rao MR (2014) 177Lu-DOTATATE therapy in patients with neuroendocrine tumours: 5 years' experience from a tertiary cancer care centre in India. Eur J Nucl Med Mol Imaging 41:1319–1326
- Darmoul D, Gratio V, Devaud H, Lehy T, Laburthe M (2003) Aberrant expression and activation of the thrombin receptor protease-activated receptor-1 induces cell proliferation and motility in human colon cancer cells. Am J Pathol 162:1503–1513
- Dasgupta P (2004) Somatostatin analogues: multiple roles in cellular proliferation, neoplasia, and angiogenesis. Pharmacol Ther 102:61–85
- Daub H, Weiss FU, Wallasch C, Ullrich A (1996) Role of transactivation of the EGF receptor in signalling by Gprotein-coupled receptors. Nature 379:557–560
- Dawe CJ, Banfield WG, Morgan WD, Slatick MS, Curth HO (1964) Growth in continuous culture, and in hamsters, of cells from a neoplasm associated with acanthosis nigricans. J Natl Cancer Inst 33:441–456
- De Barros ALB, Mota L das G, Ferreira C de A, Oliveira MC de, Góes AM de, Cardoso VN (2010) Bombesin derivative radiolabeled with technetium-99m as agent for tumor identification. Bioorg Med Chem Lett 20:6182–6184
- De Jager R, Abdel-Nabi H, Serafini A, Pecking A, Klein JL, Hanna MG (1993) Current status of cancer immunodetection with radiolabeled human monoclonal antibodies. Semin Nucl Med 23:165–179
- De Jong M, Bernard BF, Bruin ED, Van Gameren A, Bakker WH, Visser TJ, Mäcke HR, Krenning EP (1998a) Internalization of radiolabelled [DTPA0]octreotide and [DOTA0, Tyr3]octreotide: Peptides for somatostatin receptor-targeted scintigraphy and radionuclide therapy. Nuclear Medicine Communications 19:283
- De Jong M de, Breeman WAP, Bakker WH, Kooij PPM, Bernard BF, Hofland LJ, Visser TJ, Srinivasan A, Schmidt MA, Erion JL, Bugaj JE, Mäcke HR, Krenning EP (1998b) Comparison of 1111n-labeled Somatostatin Analogues for Tumor Scintigraphy and Radionuclide Therapy. Cancer Res 58:437–441
- De Jong M de, Breeman WAP, Bernard BF, Bakker WH, Schaar M, Gameren A van, Bugaj JE, Erion J, Schmidt M, Srinivasan A, Krenning EP (2001) [177Lu-DOTA0,Tyr3]octreotate for somatostatin receptor-targeted radionuclide therapy. Int J Cancer 92:628–633
- De Jong M, Mather S, Maina T (2017) Preclinical in vivo cancer, straightway to patients? Q J Nucl Med Mol Imaging 61:145–152
- De Lean A, Stadel JM, Lefkowitz RJ (1980) A ternary complex model explains the agonist-specific binding properties of the adenylate cyclase-coupled beta-adrenergic receptor. J Biol Chem 255:7108–7117
- Deivaraju C, Temple HT, Block N, Robinson P, Schally AV (2016) LHRH receptor expression in sarcomas of bone and soft tissue. Horm Mol Biol Clin Investig 28:105–111
- Delpassand ES, Samarghandi A, Zamanian S, Wolin EM, Hamiditabar M, Espenan GD, Erion JL, O'Dorisio TM, Kvols LK, Simon J, Wolfangel R, Camp A, Krenning EP, Mojtahedi A (2014) Peptide receptor

radionuclide therapy with 177lu-dotatate for patients with somatostatin receptor-expressing neuroendocrine tumors: the first US phase 2 experience. Pancreas 43:518

- Demenais F, Mohamdi H, Chaudru V, Goldstein AM, Bishop N, A J, Bishop DT, Kanetsky PA, Hayward NK, Gillanders E, Elder DE, Avril MF, Azizi E, van Belle P, Bergman W, Bianchi-Scarrà G, Bressac-de Paillerets B, Calista D, Carrera C, Hansson J, Harland M, Hogg D, Höiom V, Holland EA, Ingvar C, Landi MT, Lang JM, Mackie RM, Mann GJ, Ming ME, Njauw CJ, Olsson H, Palmer J, Pastorino L, Puig S, Randerson-Moor J, Stark M, Tsao H, Tucker MA, van der Velden P, Yang XR, Gruis N (2010) Association of MC1R variants and host phenotypes with melanoma risk in CDKN2A mutation carriers: A GenoMEL Study. J Natl Cancer Inst 102:1568–1583
- Deppen SA, Blume J, Bobbey AJ, Shah C, Graham MM, Lee P, Delbeke D, Walker RC (2016) 68Ga-DOTATATE compared with 111In-DTPA-Octreotide and conventional imaging for pulmonary and gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: a systematic review and meta-analysis. J Nucl Med 57:872–878
- Desrues L, Lefebvre T, Lecointre C, Schouft M-T, Leprince J, Compère V, Morin F, Proust F, Gandolfo P, Tonon M-C, Castel H (2012) Down-regulation of GABAA receptor via promiscuity with the vasoactive peptide Urotensin II receptor. Potential involvement in astrocyte plasticity. PLoS ONE 7:e36319
- Di L, Kerns EH (2015) Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization. Academic Press,
- Diallo M, Jarry M, Desrues L, Castel H, Chatenet D, Leprince J, Vaudry H, Tonon M-C, Gandolfo P (2008) [Orn5]URP acts as a pure antagonist of urotensinergic receptors in rat cortical astrocytes. Peptides 29:813–819
- Diebold I, Petry A, Burger M, Hess J, Görlach A, Gutkind JS (2011) NOX4 mediates activation of FoxO3a and matrix metalloproteinase-2 expression by urotensin-II. MBoC 22:4424–4434
- Diebold I, Petry A, Sabrane K, Djordjevic T, Hess J, Görlach A (2012) The HIF1 target gene NOX2 promotes angiogenesis through urotensin-II. J Cell Sci 125:956–964
- Diel S, Klass K, Wittig B, Kleuss C (2006) Gβγ activation site in adenylyl cyclase type II adenylyl cyclase type III is inhibited by Gβγ. J Biol Chem 281:288–294
- Dillon MT, Good JS, Harrington KJ (2014) Selective targeting of the G2/M cell cycle checkpoint to improve the therapeutic index of radiotherapy. Clin Oncol 26:257–265
- Dimitrakopoulou-Strauss A, Hohenberger P, Haberkorn U, Mäcke HR, Eisenhut M, Strauss LG (2007) 68Ga-Labeled Bombesin Studies in Patients with Gastrointestinal Stromal Tumors: Comparison with 18F-FDG. J Nucl Med 48:1245–1250
- Dimitrakopoulou-Strauss A, Seiz M, Tuettenberg J, Schmieder K, Eisenhut M, Haberkorn U, Strauss LG (2011) Pharmacokinetic Studies of 68Ga-Labeled Bombesin (68Ga-BZH3) and F-18 FDG PET in Patients With Recurrent Gliomas and Comparison to Grading: Preliminary Results. Clin Nucl Med 36:101
- Diserens AC, de Tribolet N, Martin-Achard A, Gaide AC, Schnegg JF, Carrel S (1981) Characterization of an established human malignant glioma cell line: LN-18. Acta Neuropathol 53:21–28
- Djordjevic T, BelAiba RS, Bonello S, Pfeilschifter J, Hess J, Görlach A (2005) Human urotensin II is a novel activator of NADPH oxidase in human pulmonary artery smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25:519–525
- Doan ND, Nguyen TTM, Létourneau M, Turcotte K, Fournier A, Chatenet D (2011) Biochemical and pharmacological characterization of nuclear urotensin-II binding sites in rat heart. Br J Pharmacol 166:243–257
- Domanska UM, Kruizinga RC, Nagengast WB, Timmer-Bosscha H, Huls G, de Vries EGE, Walenkamp AME (2013) A review on CXCR4/CXCL12 axis in oncology: No place to hide. Eur J Cancer 49:219–230
- Dorsam RT, Gutkind JS (2007) G-protein-coupled receptors and cancer. Nature Reviews Cancer 7:79-94
- Douglas SA, Ohlstein EH (2000) Urotensin receptors : The IUPHAR Compendium of Recept Characterization and Classification. London : IUPHAR Media 365-372

- Douglas SA, Behm DJ, Aiyar NV, Naselsky D, Disa J, Brooks DP, Ohlstein EH, Gleason JG, Sarau HM, Foley JJ, Buckley PT, Schmidt DB, Wixted WE, Widdowson K, Riley G, Jin J, Gallagher TF, Schmidt SJ, Ridgers L, Christmann LT, Keenan RM, Knight SD, Dhanak D (2005) Nonpeptidic urotensin-II receptor antagonists I: in vitro pharmacological characterization of SB-706375. Br J Pharmacol 145:620–635
- Douglas SA, Dhanak D, Johns DG (2004) From 'gills to pills': urotensin-II as a regulator of mammalian cardiorenal function. Trends Pharmacol Sci 25:76–85
- Douglas SA, Sulpizio AC, Piercy V, Sarau HM, Ames RS, Aiyar NV, Ohlstein EH, Willette RN (2000) Differential vasoconstrictor activity of human urotensin-II in vascular tissue isolated from the rat, mouse, dog, pig, marmoset and cynomolgus monkey. Br J Pharmacol 131:1262–1274
- Douglas SA, Tayara L, Ohlstein EH, Halawa N, Giaid A (2002) Congestive heart failure and expression of myocardial urotensin II. The Lancet 359:1990–1997
- Drewinko B, Romsdahl MM, Yang LY, Ahearn MJ, Trujillo JM (1976) Establishment of a human carcinoembryonic antigen-producing colon adenocarcinoma cell line. Cancer Res 36:467–475
- Druce MR, Lewington V, Grossman AB (2010) Targeted Radionuclide Therapy for Neuroendocrine Tumours: Principles and Application. Neuroendocrinology 91:1–15
- Drude N, Tienken L, Mottaghy FM (2017) Theranostic and nanotheranostic probes in nuclear medicine. Methods 130:14–22
- Dschietzig T, Bartsch C, Pregla R, Zurbrügg HR, Armbruster FP, Richter C, Laule M, Romeyke E, Neubert C, Voelter W, Baumann G, Stangl K (2002) Plasma levels and cardiovascular gene expression of urotensin-II in human heart failure. Regul Peptides 110:33–38
- Du R, Lu KV, Petritsch C, Liu P, Ganss R, Passegué E, Song H, VandenBerg S, Johnson RS, Werb Z, Bergers G (2008) HIF1α induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. Cancer Cell 13:206–220
- Dubessy C, Cartier D, Lectez B, Bucharles C, Chartrel N, Montero-Hadjadje M, Bizet P, Chatenet D, Tostivint H, Scalbert E, Leprince J, Vaudry H, Jégou S, Lihrmann I (2008) Characterization of urotensin II, distribution of urotensin II, urotensin II-related peptide and UT receptor mRNAs in mouse: evidence of urotensin II at the neuromuscular junction. J Neurochem 107:361–374
- Dubroff JG, Newberg A (2008) Neuroimaging of traumatic brain injury. Semin Neurol 28:548-557
- Duijzentkunst DAS, Kwekkeboom DJ, Bodei L (2017) Somatostatin receptor 2–targeting compounds. J Nucl Med 58:54S-60S
- Dumulon-Perreault V, Guérin B, Dubuc C, Authier S, Khan M, Langlois R, Benard F (2008) 64Cu-(DOTA)Lys4-BVD-15 as a novel agent for breast cancer imaging. J Nucl Med 49:97P-97P
- Dun SL, Brailoiu GC, Yang J, Chang JK, Dun NJ (2001) Urotensin II-immunoreactivity in the brainstem and spinal cord of the rat. Neurosci Lett 305:9–12
- Durkan K, Jiang Z, Rold TL, Sieckman GL, Hoffman TJ, Bandari RP, Szczodroski AF, Liu L, Miao Y, Reynolds TS, Smith CJ (2014) A heterodimeric [RGD-Glu-[64Cu-NO2A]-6-Ahx-RM2] ανβ3/GRPr-targeting antagonist radiotracer for PET imaging of prostate tumors. Nucl Med Biol 41:133–139

E

- Eagle H (1955) Propagation in a fluid medium of a human epidermoid carcinoma, strain KB. Proc Soc Exp Biol Med 89:362–364
- Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PDP, Thompson D, Ballinger DG, Struewing JP, Morrison J, Field H, Luben R, Wareham N, Ahmed S, Healey CS, Bowman R, The SEARCH Collaborators, Luccarini C, Conroy D, Shah M, Munday H, Jordan C, Perkins B, West J, Redman K, Driver K, Meyer KB, Haiman CA, Kolonel LK, Henderson BE, Marchand LL, Brennan P, Sangrajrang S, Gaborieau V, Odefrey F, Shen C-Y, Wu P-E, Wang H-C, Eccles D, Evans DG, Peto J, Fletcher O, Johnson N, Seal S, Stratton MR,

Rahman N, Chenevix-Trench G, Bojesen SE, Nordestgaard BG, Axelsson CK, Garcia-Closas M, Brinton L, Chanock S, Lissowska J, Peplonska B, Nevanlinna H, Fagerholm R, Eerola H, Kang D, Yoo K-Y, Noh D-Y, Ahn S-H, Hunter DJ, Hankinson SE, Cox DG, Hall P, Wedren S, Liu J, Low Y-L, Bogdanova N, Schürmann P, Dörk T, Tollenaar RAEM, Jacobi CE, Devilee P, Klijn JGM, Sigurdson AJ, Doody MM, Alexander BH, Zhang J, Cox A, Brock IW, MacPherson G, Reed MWR, Couch FJ, Goode EL, Olson JE, Meijers-Heijboer H, Ouweland A van den, Uitterlinden A, Rivadeneira F, Milne RL, Ribas G, Gonzalez-Neira A, Benitez J, Hopper JL, McCredie M, Southey M, Giles GG, Schroen C, Justenhoven C, Brauch H, Hamann U, Ko Y-D, Spurdle AB, Beesley J, Chen X, kConFab, Aghmesheh M, Amor D, Andrews L, Antill Y, Armes J, Armitage S, Arnold L, Balleine R, Begley G, Beilby J, Bennett I, Bennett B, Berry G, Blackburn A, Brennan M, Brown M, Buckley M, Burke J, Butow P, Byron K, Callen D, Campbell I, Chenevix-Trench G, Clarke C, Colley A, Cotton D, Cui J, Culling B, Cummings M, Dawson S-J, Dixon J, Dobrovic A, Dudding T, Edkins T, Eisenbruch M, Farshid G, Fawcett S, Field M, Firgaira F, Fleming J, Forbes J, Friedlander M, Gaff C, Gardner M, Gattas M, George P, Giles G, Gill G, Goldblatt J, Greening S, Grist S, Haan E, Harris M, Hart S, Hayward N, Hopper J, Humphrey E, Jenkins M, Jones A, Kefford R, Kirk J, Kollias J, Kovalenko S, Lakhani S, Leary J, Lim J, Lindeman G, Lipton L, Lobb L, Maclurcan M, Mann G, Marsh D, McCredie M, McKay M, McLachlan SA, Meiser B, Milne R, Mitchell G, Newman B, O'Loughlin I, Osborne R, Peters L, Phillips K, Price M, Reeve J, Reeve T, Richards R, Rinehart G, Robinson B, Rudzki B, Salisbury E, Sambrook J, Saunders C, Scott C, Scott E, Scott R, Seshadri R, Shelling A, Southey M, Spurdle A, Suthers G, Taylor D, Tennant C, Thorne H, Townshend S, Tucker K, Tyler J, Venter D, Visvader J, Walpole I, Ward R, Waring P, Warner B, Warren G, Watson E, Williams R, Wilson J, Winship I, Young MA, Group AM, Bowtell D, Green A, deFazio A, Chenevix-Trench G, Gertig D, Webb P, Mannermaa A, Kosma V-M, Kataja V, Hartikainen J, Day NE, Cox DR, Ponder BAJ (2007) Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. Nature 447:1087-1093

- Eberlein U, Cremonesi M, Lassmann M (2017) Individualized Dosimetry for Theranostics: Necessary, Nice to Have, or Counterproductive? J Nucl Med 58:97–103
- Egginger J-G, Camus A, Calas A (2006) Urotensin-II expression in the mouse spinal cord. J Chem Neuroanat 31:146–154
- Ehtesham M, Winston JA, Kabos P, Thompson RC (2006) CXCR4 expression mediates glioma cell invasiveness. Oncogene 25:2801–2806
- Eisenwiener KP, Prata MIM, Buschmann I, Zhang H-W, Santos AC, Wenger S, Reubi JC, Mäcke HR (2002) NODAGATOC, a New chelator-coupled somatostatin analogue labeled with [67/68Ga] and [111In] for SPECT, PET, and targeted therapeutic applications of somatostatin receptor (hsst2) expressing tumors. Bioconjugate Chem 13:530–541
- Ellison M, Woodhouse D, Hillyard C, Dowsett M, Coombes RC, Gilby ED, Greenberg PB, Neville AM (1975) Immunoreactive calcitonin production by human lung carcinoma cells in culture. Br J Cancer 32:373– 379
- Elshourbagy NA, Douglas SA, Shabon U, Harrison S, Duddy G, Sechler JL, Ao Z, Maleeff BE, Naselsky D, Disa J, Aiyar NV (2002) Molecular and pharmacological characterization of genes encoding urotensin-II peptides and their cognate G-protein-coupled receptors from the mouse and monkey. Br J Pharmacol 136:9–22
- Elste AP, Petersen I (2010) Expression of proteinase-activated receptor 1-4 (PAR 1-4) in human cancer. J Mol Hist 41:89–99
- Enman NM, Sabban EL, McGonigle P, Van Bockstaele EJ (2015) Targeting the neuropeptide Y system in stressrelated psychiatric disorders. Neurobiol Stress 1:33–43
- Epelbaum J, Bertherat J, Prevost G, Kordon C, Meyerhof W, Wulfsen I, Richter D, Plouin PF (1995) Molecular and pharmacological characterization of somatostatin receptor subtypes in adrenal, extraadrenal, and malignant pheochromocytomas. J Clin Endocrinol Metab 80:1837–1844
- Esposito G, Perrino C, Cannavo A, Schiattarella GG, Borgia F, Sannino A, Pironti G, Gargiulo G, Serafino LD, Franzone A, Scudiero L, Grieco P, Indolfi C, Chiariello M (2011) EGFR trans-activation by urotensin II receptor is mediated by β-arrestin recruitment and confers cardioprotection in pressure overload-induced cardiac hypertrophy. Basic Res Cardiol 106:577–589
- Essen M, Krenning EP, Kooij PP, Bakker WH, Feelders RA, Herder WW de, Wolbers JG, Kwekkeboom DJ (2006) Effects of Therapy with [177Lu-DOTA0, Tyr3]octreotate in patients with paraganglioma,

meningioma, small cell lung carcinoma, and melanoma. J Nucl Med 47:1599-1606

Etienne-Manneville S, Hall A (2002) Rho GTPases in cell biology. Nature 420:629-635

- Eva C, Serra M, Mele P, Panzica G, Oberto A (2006) Physiology and gene regulation of the brain NPY Y1 receptor. Front Neuroendocrinol 27:308–339
- Evangelista S (2009) Role of calcitonin gene-related Peptide in gastric mucosal defence and healing. Curr Pharm Des 15:3571–3576
- Even-Ram S, Uziely B, Cohen P, Grisaru-Granovsky S, Maoz M, Ginzburg Y, Reich R, Vlodavsky I, Bar-Shavit R (1998) Thrombin receptor overexpression in malignant and physiological invasion processes. Nat Med 4:909–914
- Ezziddin S, Khalaf F, Vanezi M, Haslerud T, Mayer K, Zreiqat AA, Willinek W, Biersack H-J, Sabet A (2014) Outcome of peptide receptor radionuclide therapy with 177Lu-octreotate in advanced grade 1/2 pancreatic neuroendocrine tumours. Eur J Nucl Med Mol Imaging 41:925–933

F

- Faintuch BL, Teodoro R, Duatti A, Muramoto E, Faintuch S, Smith CJ (2008) Radiolabeled bombesin analogs for prostate cancer diagnosis: preclinical studies. Nucl Med Biol 35:401–411
- Fani M, Braun F, Waser B, Beetschen K, Cescato R, Erchegyi J, Rivier JE, Weber WA, Maecke HR, Reubi JC (2012a) Unexpected sensitivity of sst2 antagonists to N-terminal radiometal modifications. J Nucl Med 53:1481–1489
- Fani M, Del Pozzo L, Abiraj K, Mansi R, Tamma ML, Cescato R, Waser B, Weber WA, Reubi JC, Maecke HR (2011) PET of somatostatin receptor-positive tumors using 64Cu- and 68Ga-somatostatin antagonists: the chelate makes the difference. J Nucl Med 52:1110–1118
- Fani M, Maecke HR (2012) Radiopharmaceutical development of radiolabelled peptides. Eur J Nucl Med Mol Imaging 39:11–30
- Fani M, Maecke HR, Okarvi SM (2012b) Radiolabeled Peptides: Valuable Tools for the Detection and Treatment of Cancer. Theranostics 2:481–501
- Fani M, Nicolas GP, Wild D (2017) Somatostatin receptor antagonists for imaging and therapy. J Nucl Med 58:61S-66S
- Federico A, Zappavigna S, Dallio M, Misso G, Merlino F, Loguercio C, Novellino E, Grieco P, Caraglia M (2017) Urotensin-II receptor: A double identity receptor involved in vascoconstriction and in the development of digestive tract cancers and other tumors. Curr Cancer Drug Targets 17:109–121
- Federico A, Zappavigna S, Romano M, Grieco P, Luce A, Marra M, Gravina A, Stiuso P, D'Armiento Francesco P, Vitale G, Tuccillo C, Novellino E, Loguercio C, Caraglia M (2014) Urotensin-II receptor is overexpressed in colon cancer cell lines and in colon carcinoma in humans. Eur J Clin Invest 44:285–294
- Fegley AJ, Tanski WJ, Roztocil E, Davies MG (2003) Sphingosine-1-phosphate stimulates smooth muscle cell migration through gαi- and pi3-kinase-dependent p38mapk activation. J Surg Res 113:32–41
- Fekete M, Wittliff JL, Schally AV (1988) Characteristics and distribution of receptors for [d-trp6]- luteinizing hormone-releasing hormone, somatostatin, epidermal growth factor, and sex steroids in 500 biopsy samples of human breast cancer. J Clin Lab Anal 3:137–147
- Feng J, Zhao C, Wang L, Qu L, Zhu H, Yang Z, An G, Tian H, Shou C (2018) Development of a novel albuminbased and maleimidopropionic acid-conjugated peptide with prolonged half-life and increased in vivo anti-tumor efficacy. Theranostics 8:2094–2106
- Feoktistov I, Goldstein AE, Biaggioni I (2000) Cyclic AMP and protein kinase A stimulate Cdc42: Role of A2 adenosine receptors in human mast cells. Mol Pharmacol 58:903–910
- Ferlay J, Soerjomataram D, Dikshit R, Sultan E, Colin M, Marise R, Maxwell PD, David F, Freddie B (2014)
Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. International Journal of Cancer 136:359–386

- Filardo EJ, Thomas P (2012) Minireview: G protein-coupled estrogen receptor-1, GPER-1: Its mechanism of action and role in female reproductive cancer, renal and vascular physiology. Endocrinology 153:2953–2962
- Flohr S, Kurz M, Kostenis E, Brkovich A, Fournier A, Klabunde T (2002) Identification of nonpeptidic urotensin II receptor antagonists by Virtual screening based on a pharmacophore model derived from structure-activity relationships and nuclear magnetic resonance studies on urotensin II. J Med Chem 45:1799–1805
- Fogh J, Fogh JM, Orfeo T (1977) One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice. J Natl Cancer Inst 59:221–226
- Fogh J, Trempe G (1975) New Human Tumor Cell Lines. Human Tumor Cells in Vitro. Springer, Boston, MA, pp 115–159
- Foister S, Taylor LL, Feng JJ, Chen WL, Lin A, Cheng FC, Smith AB, Hirschmann R (2006) Design and synthesis of potent cystine-free cyclic hexapeptide agonists at the human urotensin receptor. Org Lett 8:1799–1802
- Folch J, Ettcheto M, Petrov D, Abad S, Pedrós I, Marin M, Olloquequi J, Camins A (2017) Review of the advances in treatment for Alzheimer disease: strategies for combating β-amyloid protein. Neurología
- Fontes-Sousa AP, Brás-Silva C, Pires AL, Monteiro-Sousa D, Leite-Moreira AF (2007) Urotensin II acutely increases myocardial length and distensibility: potential implications for diastolic function and ventricular remodeling. Naunyn-Schmied Arch Pharmacol 376:107–115
- Forrer F, Waldherr C, Maecke HR, Mueller-Brand J (2006) Targeted radionuclide therapy with 90Y-DOTATOC in patients with neuroendocrine tumors. Anticancer Res 26:703–707
- Fowler JS, Ido T (2002) Initial and subsequent approach for the synthesis of 18FDG. Semin Nucl Med 32:6–12
- Franc BL, Acton PD, Mari C, Hasegawa BH (2008) Small-animal SPECT and SPECT/CT: Important tools for preclinical investigation. J Nucl Med 49:1651–1663
- Franco R, Martínez-Pinilla E, Lanciego JL, Navarro G (2016) Basic Pharmacological and Structural Evidence for Class A G-Protein-Coupled Receptor Heteromerization. Front Pharmacol 7:1–10
- Franco R, Martínez-Pinilla E, Navarro G, Zamarbide M (2017) Potential of GPCRs to modulate MAPK and mTOR pathways in Alzheimer's disease. Prog Neurobiol 149–150:21–38
- Franco R, Zappavigna S, Gigantino V, Luce A, Cantile M, Cerrone M, Facchini G, Perdonà S, Pignata S, Di Lorenzo G, Chieffi S, Vitale G, De Sio M, Sgambato A, Botti G, Yousif AM, Novellino E, Grieco P, Caraglia M (2014) Urotensin II receptor determines prognosis of bladder cancer regulating cell motility/invasion. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 33:48
- Frucht H, Gazdar AF, Park JA, Oie H, Jensen RT (1992) Characterization of functional receptors for gastrointestinal hormones on human colon cancer cells. Cancer Res 52:1114–1122
- Frühwald MC (2011) Somatostatin. Encyclopedia of Cancer. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 3467–3470
- Frühwald MC, O'Dorisio MS, Pietsch T, Reubi JC (1999) High expression of somatostatin receptor subtype 2 (sst2) in medulloblastoma: Implications for diagnosis and therapy. Pediatr Res 45:697–708
- Fujibayashi Y, Taniuchi H, Yonekura Y, Ohtani H, Konishi J, Yokoyama A (1997) Copper-62-ATSM: A new hypoxia imaging agent with high membrane permeability and low redox potential. J Nucl Med 38:1155– 1160
- Fujimoto Y, Sasaki T, Tsuchida A, Chayama K (2001) Angiotensin II type 1 receptor expression in human pancreatic cancer and growth inhibition by angiotensin II type 1 receptor antagonist. FEBS Letters 495:197–200
- Fukuda R, Kelly B, Semenza GL (2003) Vascular endothelial growth factor gene expression in colon cancer cells exposed to prostaglandin E2 is Mediated by hypoxia-inducible Factor 1. Cancer Res 63:2330–2334
- Funamoto S, Meili R, Lee S, Parry L, Firtel RA (2002) Spatial and temporal regulation of 3-phosphoinositides by PI3-kinase and PTEN mediates chemotaxis. Cell 109:611–623

G

- Gabriel M, Decristoforo C, Kendler D, Dobrozemsky G, Heute D, Uprimny C, Kovacs P, Guggenberg EV, Bale R, Virgolini IJ (2007) 68Ga-DOTA-Tyr3-Octreotide PET in neuroendocrine tumors: Comparison with somatostatin receptor scintigraphy and CT. J Nucl Med 48:508–518
- Gaidano G, Bergui L, Schena M, Gaboli M, Cremona O, Marchisio PC, Caligaris-Cappio F (1990) Integrin distribution and cytoskeleton organization in normal and malignant monocytes. Leukemia 4:682–687
- Galli S, Tilan J, Naranjo A, Ryn CV, Yang C, Tsuei J, Trinh E, Kitlinska JB (2015) Abstract 1628: Neuropeptide Y (NPY) and its receptor expression in neuroblastoma patients associations with disease prognosis and patients' survival. Cancer Res 75:1628–1628
- Gallo O, Franchi A, Magnelli L, Sardi I, Vannacci A, Boddi V, Chiarugi V, Masini E (2001) Cyclooxygenase-2 pathway correlates with VEGF expression in head and neck cancer. Implications for tumor angiogenesis and metastasis. Neoplasia 3:53–61
- Gandhi J, Afridi A, Vatsia S, Joshi G, Joshi G, Kaplan SA, Smith NL, Khan SA (2017) The molecular biology of prostate cancer: current understanding and clinical implications. Prostate 1
- Ganguly S, Saxena R, Chattopadhyay A (2011) Reorganization of the actin cytoskeleton upon G-protein coupled receptor signaling. Biochim Biophys Acta 1808:1921–1929
- Garkavij M, Nickel M, Sjögreen-Gleisner K, Ljungberg M, Ohlsson T, Wingårdh K, Strand S-E, Tennvall J (2010) 177Lu-[DOTA0,Tyr3] octreotate therapy in patients with disseminated neuroendocrine tumors: Analysis of dosimetry with impact on future therapeutic strategy. Cancer 116:1084–1092
- Garrison JC, Rold TL, Sieckman GL, Figueroa SD, Volkert WA, Jurisson SS, Hoffman TJ (2007) In vivo evaluation and small-animal PET/CT of a prostate cancer mouse model using 64Cu bombesin analogs: side-by-side comparison of the CB-TE2A and DOTA chelation systems. J Nucl Med 48:1327–1337
- Garske-Román U, Sandström M, Baron KF, Lundin L, Hellman P, Welin S, Johansson S, Khan T, Lundqvist H, Eriksson B, Sundin A, Granberg D (2018) Prospective observational study of 177Lu-DOTA-octreotate therapy in 200 patients with advanced metastasized neuroendocrine tumours (NETs): feasibility and impact of a dosimetry-guided study protocol on outcome and toxicity. Eur J Nucl Med Mol Imaging 45:970–988
- Gartlon J, Parker F, Harrison DC, Douglas SA, Ashmeade TE, Riley GJ, Hughes ZA, Taylor SG, Munton RP, Hagan JJ, Hunter JA, Jones DN (2001) Central effects of urotensin-II following ICV administration in rats. Psychopharmacology 155:426–433
- Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T (2000) International Union of Pharmacology. XXIII. The Angiotensin II receptors. Pharmacol Rev 52:415–472
- Gazdar AF, Carney DN, Russell EK, Sims HL, Baylin SB, Bunn PA, Guccion JG, Minna JD (1980) Establishment of continuous, clonable cultures of small-cell carcinoma of lung which have amine precursor uptake and decarboxylation cell properties. Cancer Res 40:3502–3507
- Gazdar AF, Kurvari V, Virmani A, Gollahon L, Sakaguchi M, Westerfield M, Kodagoda D, Stasny V, Cunningham HT, Wistuba II, Tomlinson G, Tonk V, Ashfaq R, Leitch AM, Minna JD, Shay JW (1998) Characterization of paired tumor and non-tumor cell lines established from patients with breast cancer. Int J Cancer 78:766–774
- Ge C, Yu M, Zhang C (2012) G protein-coupled receptor 30 mediates estrogen-induced proliferation of primordial germ cells Via EGFR/Akt/β-catenin signaling pathway. Endocrinology 153:3504–3516
- Gendron G, Simard B, Gobeil J Fernand, Sirois P, D'Orléans-Juste P, Regoli D (2004) Human urotensin-II enhances plasma extravasation in specific vascular districts in Wistar rats. Can J Physiol Pharmacol 82:16–21
- George GPC, Stevens E, Åberg O, Nguyen Q-D, Pisaneschi F, Spivey AC, Aboagye EO (2014) Preclinical evaluation of a CXCR4-specific 68Ga-labelled TN14003 derivative for cancer PET imaging. Bioorg Med Chem 22:796–803

- Gervaise A, Gervaise-Henry C, Pernin M, Naulet P, Junca-Laplace C, Lapierre-Combes M (2016) How to perform low-dose computed tomography for renal colic in clinical practice. Diagn Interv Imaging 97:393–400
- Gesty-Palmer D, Yuan L, Martin B, Wood WH, Lee M-H, Janech MG, Tsoi LC, Zheng WJ, Luttrell LM, Maudsley S (2013) β-arrestin-selective G protein-coupled receptor agonists engender unique biological efficacy in vivo. Mol Endocrinol 27:296–314
- Ghanemi A, He L, Yan M (2013) New factors influencing G protein coupled receptors' system functions. Bull Alexandria Fac 49:1–5
- Ghinea N, Robin B, Planeix F, Brito I, Pichon C (2015) Endothelial FSH receptor expression and vascular remodeling in hormone-refractory prostate cancer. JCO 33:e16035–e16035
- Giard DJ, Aaronson SA, Todaro GJ, Arnstein P, Kersey JH, Dosik H, Parks WP (1973) In vitro cultivation of human tumors: establishment of cell lines derived from a series of solid tumors. J Natl Cancer Inst 51:1417–1423
- Gilman AG (1987) G proteins: Transducers of receptor-generated signals. Annu Rev Biochem 56:615-649
- Ginj M, Zhang H, Waser B, Cescato R, Wild D, Wang X, Erchegyi J, Rivier J, Mäcke HR, Reubi JC (2006) Radiolabeled somatostatin receptor antagonists are preferable to agonists for in vivo peptide receptor targeting of tumors. PNAS 103:16436–16441
- Giuliani L, Lenzini L, Antonello M, Aldighieri E, Belloni AS, Fassina A, Gomez-Sanchez C, Rossi GP (2009) Expression and functional role of urotensin-II and its receptor in the adrenal cortex and medulla: Novel insights for the pathophysiology of primary aldosteronism. J Clin Endocrinol Metab 94:684–690
- Gloriam DE, Fredriksson R, Schiöth HB (2007) The G protein-coupled receptor subset of the rat genome. BMC Genomics 8:338
- Godessart N, Kunkel SL (2001) Chemokines in autoimmune disease. Curr Opin Immunol 13:670-675
- Goedert M, Eisenberg DS, Crowther RA (2017) Propagation of Tau Aggregates and Neurodegeneration. Annu Rev Neurosci 40:189–210
- Goldenberg DM, DeLand F, Kim E, Bennett S, Primus FJ, van Nagell JRJ, Estes N, DeSimone P, Rayburn P (1978) Use of radio-labeled antibodies to carcinoembryonic antigen for the detection and localization of diverse cancers by external photoscanning. N Engl J Med 298:1384–1388
- Goldenberg DM, Preston DF, Primus FJ, Hansen HJ (1974) Photoscan localization of GW-39 tumors in hamsters using radiolabeled anticarcinoembryonic antigen immunoglobulin G. Cancer Res 34:1–9
- Gondi CS, Lakka SS, Dinh DH, Olivero WC, Gujrati M, Rao JS (2004) Downregulation of uPA, uPAR and MMP-9 using small, interfering, hairpin RNA (siRNA) inhibits glioma cell invasion, angiogenesis and tumor growth. Neuron Glia Biol 1:165–176
- Gong H, Wang YX, Zhu YZ, Wang WW, Wang MJ, Yao T, Zhu Y-C (2004) Cellular distribution of GPR14 and the positive inotropic role of urotensin II in the myocardium in adult rat. Journal of Applied Physiology 97:2228–2235
- Gonzalez N, Moody TW, Igarashi H, Ito T, Jensen RT (2008) Bombesin-related peptides and their receptors. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 15:58–64
- Gourni E, Demmer O, Schottelius M, D'Alessandria C, Schulz S, Dijkgraaf I, Schumacher U, Schwaiger M, Kessler H, Wester H-J (2011) PET of CXCR4 expression by a 68Ga-labeled highly specific targeted contrast agent. J Nucl Med 52:1803–1810
- Gourni E, Mansi R, Jamous M, Waser B, Smerling C, Burian A, Buchegger F, Reubi JC, Maecke HR (2014) N-Terminal modifications improve the receptor affinity and pharmacokinetics of radiolabeled peptidic gastrin-releasing peptide receptor antagonists: Examples of 68Ga- and 64Cu-labeled peptides for PET imaging. J Nucl Med 55:1719–1725
- Graffner H, Singh G, Chaudry I, Milsom JW (1992) Omeprazole-induced hypergastrinemia does not influence growth of colon carcinoma. Digest Dis Sci 37:485–489
- Gray LH, Conger AD, Ebert M, Hornsey S, Scott OCA (1953) The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. Br J Radiol 26:638–648
- Greco S, Muscella A, Elia MG, Salvatore P, Storelli C, Mazzotta A, Manca C, Marsigliante S (2003) Angiotensin

II activates extracellular signal regulated kinases via protein kinase C and epidermal growth factor receptor in breast cancer cells. J Cell Physiol 196:370–377

- Grieco P, Carotenuto A, Campiglia P, Zampelli E, Patacchini R, Maggi CA, Novellino E, Rovero P (2002a) A New, Potent Urotensin II Receptor Peptide Agonist Containing a Pen Residue at the Disulfide Bridge. J Med Chem 45:4391–4394
- Grieco P, Carotenuto A, Patacchini R, Maggi CA, Novellino E, Rovero P (2002b) Design, Synthesis, Conformational Analysis, and Biological Studies of Urotensin-II Lactam Analogues. Bioorganic & Medicinal Chemistry 10:3731–3739
- Grieco P, Franco R, Bozzuto G, Toccacieli L, Sgambato A, Marra M, Zappavigna S, Migaldi M, Rossi G, Striano S, Marra L, Gallo L, Cittadini A, Botti G, Novellino E, Molinari A, Budillon A, Caraglia M (2010) Urotensin II receptor predicts the clinical outcome of prostate cancer patients and is involved in the regulation of motility of prostate adenocarcinoma cells. J Cell Biochem 112:341–353
- Grieco P, Franco R, Bozzuto G, Toccacieli L, Sgambato A, Marra M, Zappavigna S, Migaldi M, Rossi G, Striano S, Marra L, Gallo L, Cittadini A, Botti G, Novellino E, Molinari A, Budillon A, Caraglia M (2011) Urotensin II receptor predicts the clinical outcome of prostate cancer patients and is involved in the regulation of motility of prostate adenocarcinoma cells. J Cell Biochem 112:341–353
- Griffiths D (2008) Introduction to Elementary Particles. John Wiley & Sons,
- Gruber JJ, Colevas AD (2015) Differentiated thyroid cancer: focus on emerging treatments for radioactive iodinerefractory patients. Oncologist 20:113–126
- Gruson D, Ginion A, Decroly N, Lause P, Vanoverschelde JL, Ketelslegers JM, Bertrand L, Thissen JP (2010) Urotensin II induction of adult cardiomyocytes hypertrophy involves the Akt/GSK-3β signaling pathway. Peptides 31:1326–1333
- Guérin B, Dumulon-Perreault V, Tremblay MC, Ait-Mohand S, Fournier P, Dubuc C, Authier S, Bénard F (2010) [Lys(DOTA)4]BVD15, a novel and potent neuropeptide Y analog designed for Y1 receptor-targeted breast tumor imaging. Bioorg Med Chem Lett 20:950–953
- Guerriero F, Ferrari ME, Botta F, Fioroni F, Grassi E, Versari A, Sarnelli A, Pacilio M, Amato E, Strigari L, Bodei L, Paganelli G, Iori M, Pedroli G, Cremonesi M (2013) Kidney Dosimetry in 177Lu and 90Y Peptide Receptor Radionuclide Therapy: Influence of Image Timing, Time-Activity Integration Method, and Risk Factors. Biomed Res Int 2013:
- Guerrini R, Camarda V, Marzola E, Arduin M, Calo G, Spagnol M, Rizzi A, Salvadori S, Regoli D (2005) Structure–activity relationship study on human urotensin II. J Pept Sci 11:85–90
- Gugger M, Reubi JC (1999) Gastrin-releasing peptide receptors in non-neoplastic and neoplastic human breast. Am J Pathol 155:2067–2076
- Guha S, Lunn JA, Santiskulvong C, Rozengurt E (2003) Neurotensin stimulates protein kinase C-dependent mitogenic signaling in human pancreatic carcinoma cell Line PANC-1. Cancer Res 63:2379–2387
- Guidolin D, Albertin G, Oselladore B, Sorato E, Rebuffat P, Mascarin A, Ribatti D (2010) The pro-angiogenic activity of urotensin-II on human vascular endothelial cells involves ERK1/2 and PI3K signaling pathways. Regul Pept 162:26–32
- Guillermet-Guibert J, Lahlou H, Pyronnet S, Bousquet C, Susini C (2005) Somatostatin receptors as tools for diagnosis and therapy: Molecular aspects. Best Pract Res Clin Gastroenterol 19:535–551
- Guleria M, Das T, Amirdhanayagam J, Sarma HD, Dash A (2018) Comparative evaluation of using NOTA and DOTA derivatives as bifunctional chelating agents in the preparation of 68Ga-labeled porphyrin: impact on pharmacokinetics and tumor uptake in a mouse model. Cancer Biother Radiopharm 33:8–16
- Guo H, Gallazzi F, Sklar LA, Miao Y (2011a) A novel Indium-111-labeled gonadotropin-releasing hormone peptide for human prostate cancer imaging. Bioorg Med Chem Lett 21:5184–5187
- Guo H, Hathaway H, Royce ME, Prossnitz ER, Miao Y (2013) Influences of hydrocarbon linkers on the receptor binding affinities of gonadotropin-releasing hormone peptides. Bioconjugate Chem 23:5484–5487
- Guo H, Lu J, Hathaway H, Royce ME, Prossnitz ER, Miao Y (2011b) Synthesis and evaluation of novel gonadotropin-releasing hormone receptor-targeting peptides. Bioconjugate Chem 22:1682–1689

- Guo Y, Zeng H, Zheng R, Li S, Barnett AG, Zhang S, Zou X, Huxley R, Chen W, Williams G (2016) The association between lung cancer incidence and ambient air pollution in China: A spatiotemporal analysis. Environmental Research 144:60–65
- Gupta (1995) Brachytherapy Past, present and future. J Med Phy 20:31-35
- Gupta JC, Hada RS, Sahai P, Talwar GP (2017) Development of a novel recombinant LHRH fusion protein for therapy of androgen and estrogen dependent cancers. Protein Expr Purif 134:132–138
- Gupta RA, DuBois RN (2001) Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. Nature Reviews Cancer 1:11–21
- Gurevich EV, Tesmer JJG, Mushegian A, Gurevich VV (2012) G protein-coupled receptor kinases: More than just kinases and not only for GPCRs. Pharmacol Ther 133:40–69
- Gutiérrez-Cañas I, Rodríguez-Henche N, Bolaños O, Carmena MJ, Prieto JC, Juarranz MG (2003) VIP and PACAP are autocrine factors that protect the androgen-independent prostate cancer cell line PC-3 from apoptosis induced by serum withdrawal. Br J Pharmacol 139:1050–1058
- Gutkind JS (1998) Cell growth control by G protein-coupled receptors: from signal transduction to signal integration. Oncogene 17:1331

Η

- Hackett AJ, Smith HS, Springer EL, Owens RB, Nelson-Rees WA, Riggs JL, Gardner MB (1977) Two syngeneic cell lines from human breast tissue: the aneuploid mammary epithelial (Hs578T) and the diploid myoepithelial (Hs578Bst) cell lines. J Natl Cancer Inst 58:1795–1806
- Hall EJ (2006) Intensity-modulated radiation therapy, protons, and the risk of second cancers. Int J Radiat Oncol Biol Phys 65:1–7
- Hall JM, Korach KS (2012) Endocrine disrupting chemicals promote the growth of ovarian cancer cells via the ER-CXCL12-CXCR4 signaling axis. Mol Carcinog 52:715–725
- Halmos G, Schally AV, Sun B, Davis R, Bostwick DG, Plonowski A (2000) High expression of somatostatin receptors and messenger ribonucleic acid for its receptor subtypes in organ-confined and locally advanced human prostate cancers. J Clin Endocrinol Metab 85:2564–2571
- Hamilton TC, Young RC, McKoy WM, Grotzinger KR, Green JA, Chu EW, Whang-Peng J, Rogan AM, Green WR, Ozols RF (1983) Characterization of a human ovarian carcinoma cell line (NIH:OVCAR-3) with androgen and estrogen receptors. Cancer Res 43:5379–5389
- Hanaoka H, Mukai T, Tamamura H, Mori T, Ishino S, Ogawa K, Iida Y, Doi R, Fujii N, Saji H (2006) Development of a 111In-labeled peptide derivative targeting a chemokine receptor, CXCR4, for imaging tumors. Nucl Med Biol 33:489–494
- Hao F, Tan M, Xu X, Han J, Miller DD, Tigyi G, Cui M-Z (2007) Lysophosphatidic acid induces prostate cancer PC3 cell migration via activation of LPA1, p42 and p38α. Biochim Biophys Acta 1771:883–892
- Harris AL (2002) Hypoxia a key regulatory factor in tumour growth. Nat Rev Cancer 2:38-47
- Hassan M, Watari H, AbuAlmaaty A, Ohba Y, Sakuragi N (2014) Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. Biomed Res Int 2014:150845
- Hassan S, Buchanan M, Jahan K, Aguilar-Mahecha A, Gaboury L, Muller WJ, Alsawafi Y, Mourskaia AA, Siegel PM, Salvucci O, Basik M (2010) CXCR4 peptide antagonist inhibits primary breast tumor growth, metastasis and enhances the efficacy of anti-VEGF treatment or docetaxel in a transgenic mouse model. Int J Cancer 129:225–232
- Hauser AS, Attwood MM, Rask-Andersen M, Schiöth HB, Gloriam DE (2017) Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. Nat Rev Drug Discov 16:829–842
- Hayashi E, Rikimaru K, Nagayama M (1995) Simultaneous production of G- and M-CSF by an oral cancer cell

line and the synergistic effects on associated leucocytosis. Eur J Cancer, B, Oral Oncol 31B:323-327

- Hazell GGJ, Hindmarch CC, Pope GR, Roper JA, Lightman SL, Murphy D, O'Carroll A-M, Lolait SJ (2012) G protein-coupled receptors in the hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei serpentine gateways to neuroendocrine homeostasis. Front Neuroendocrinol 33:45–66
- He YY, Cai B, Yang YX, Liu XL, Wan XP (2009) Estrogenic G protein-coupled receptor 30 signaling is involved in regulation of endometrial carcinoma by promoting proliferation, invasion potential, and interleukin-6 secretion via the MEK/ERK mitogen-activated protein kinase pathway. Cancer Sci 100:1051–1061
- Heilig M (2004) The NPY system in stress, anxiety and depression. Neuropeptides 38:213-224
- Heilker R, Wolff M, Tautermann CS, Bieler M (2009) G-protein-coupled receptor-focused drug discovery using a target class platform approach. Drug Discov Today 14:231–240
- Helbig G, Christopherson KW, Bhat-Nakshatri P, Kumar S, Kishimoto H, Miller KD, Broxmeyer HE, Nakshatri H (2003) NF-κ B promotes breast cancer cell migration and metastasis by inducing the expression of the chemokine receptor CXCR4. J Biol Chem 278:21631–21638
- Heppeler A, Froidevaux S, Mäcke HR, Jermann E, Béhé M, Powell P, Hennig M (1998) Radiometal-labelled macrocyclic chelator-derivatised somatostatin analogue with superb tumour-targeting properties and potential for receptor-mediated internal radiotherapy. Chem Eur J 5:1974–1981
- Herbert SP, Cheung JYM, Stainier DYR (2012) Determination of endothelial stalk versus tip cell potential during angiogenesis by H2.0-like homeobox-1. Curr Biol 22:1789–1794
- Hernández NA, Correa E, Avila EP, Vela TA, Pérez VM (2009) PAR1 is selectively over expressed in high grade breast cancer patients: a cohort study. J Transl Med 7:47
- Herrmann K, Lapa C, Wester HJ, Schottelius M, Schiepers C, Eberlein U, Bluemel C, Keller U, Knop S, Kropf S, Schirbel A, Buck AK, Lassmann M (2015) Biodistribution and Radiation Dosimetry for the Chemokine Receptor CXCR4-Targeting Probe 68Ga-Pentixafor. J Nucl Med 56:410–416
- Herrmann K, Schottelius M, Lapa C, Osl T, Poschenrieder A, Hänscheid H, Lückerath K, Schreder M, Bluemel C, Knott M, Keller U, Schirbel A, Samnick S, Lassmann M, Kropf S, Buck AK, Einsele H, Wester H-J, Knop S (2016) First-in-human experience of CXCR4-directed endoradiotherapy with 177Lu- and 90Y-labeled pentixather in advanced-stage multiple myeloma with extensive intra- and extramedullary disease. J Nucl Med 57:248–251
- Heslop JP, Blakeley DM, Brown KD, Irvine RF, Berridge MJ (1986) Effects of bombesin and insulin on inositol (1,4,5) trisphosphate and inositol (1,3,4) trisphosphate formation in Swiss 3T3 cells. Cell 47:703–709
- Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, Muramatsu H, Kozaki K, Nakamura S, Ogawa M, Mitsudomi T, Sugiura T, Takahashi T (1998) Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. Cancer Res 58:3761–3764
- Hill RP, Marie-Egyptienne DT, Hedley DW (2009) Cancer stem cells, hypoxia and metastasis. Semin Radiat Oncol 19:106–111
- Hillier SM, Kern AM, Maresca KP, Marquis JC, Eckelman WC, Joyal JL, Babich JW (2011) 123I-MIP-1072, a small-molecule inhibitor of prostate-specific membrane antigen, is effective at monitoring tumor response to taxane therapy. J Nucl Med 52:1087–1093
- Hillyar CRT, Cornelissen B, Vallis KA (2014) Uptake, internalization and nuclear translocation of radioimmunotherapeutic agents. Ther Deliv 5:319–335
- Hirose T, Takahashi K, Mori N, Nakayama T, Kikuya M, Ohkubo T, Kohzuki M, Totsune K, Imai Y (2009) Increased expression of urotensin II, urotensin II-related peptide and urotensin II receptor mRNAs in the cardiovascular organs of hypertensive rats: Comparison with endothelin-1. Peptides 30:1124–1129
- Ho CL, Chen LC, Lee WC, Chiu SP, Hsu W-C, Wu YH, Yeh CH, Stabin MG, Jan ML, Lin WJ, Lee TW, Chang CH (2009) Receptor-binding, biodistribution, dosimetry, and micro-SPECT/CT imaging of 111In-[DTPA1, Lys3, Tyr4]-Bombesin analog in human prostate tumor-bearing mice. Cancer Biother Radiopharm 24:435–443
- Hoffman TJ, Gali H, Smith CJ, Sieckman GL, Hayes DL, Owen NK, Volkert WA (2003) Novel series of 111Inlabeled bombesin analogs as potential radiopharmaceuticals for specific targeting of gastrin-releasing peptide receptors expressed on human prostate cancer cells. J Nucl Med 44:823–831

- Hofland LJ, Koetsveld V, M P, Waaijers M, Zuyderwijk J, Breeman WA, Lamberts SW (1995) Internalization of the radioiodinated somatostatin analog [125I-Tyr3]octreotide by mouse and human pituitary tumor cells: increase by unlabeled octreotide. Endocrinology 136:3698–3706
- Hofmann S, Maschauer S, Kuwert T, Beck-Sickinger AG, Prante O (2015) Synthesis and in vitro and in vivo evaluation of an 18F-labeled neuropeptide Y analogue for imaging of breast cancer by PET. Mol Pharmaceutics 12:1121–1130
- Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, Boland P, Alexander CR, Zagzag D, Yancopoulos GD, Wiegand SJ (1999) Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. Science 284:1994–1998
- Holloway AC, Qian H, Pipolo L, Ziogas J, Miura S, Karnik S, Southwell BR, Lew MJ, Thomas WG (2002) Sidechain substitutions within angiotensin II reveal different requirements for signaling, internalization, and phosphorylation of type 1A angiotensin receptors. Mol Pharmacol 61:768–777
- Holm L-E, Hall P, Wiklund K, Lundell G, Berg G, Bjelkengren G, Cederquist E, Ericsson UB, Hallquist A, Larsson L-G, Lidberg M, Lindberg S, Tennvall J, Wicklund H, Boice JD (1991) Cancer Risk After Iodine-131 Therapy for Hyperthyroidism. J Natl Cancer Inst 83:1072–1077
- Honer M, Mu L, Stellfeld T, Graham K, Martic M, Fischer CR, Lehmann L, Schubiger PA, Ametamey SM, Dinkelborg L, Srinivasan A, Borkowski S (2011) 18F-labeled bombesin analog for specific and effective targeting of prostate tumors expressing gastrin-releasing peptide receptors. J Nucl Med 52:270–278
- Hopkins AL, Groom CR (2002) The druggable genome. Nat Rev Drug Discov 1:727-730
- Horoszewicz JS, Leong SS, Chu TM, Wajsman ZL, Friedman M, Papsidero L, Kim U, Chai LS, Kakati S, Arya SK, Sandberg AA (1980) The LNCaP cell line--a new model for studies on human prostatic carcinoma. Prog Clin Biol Res 37:115–132
- Horowitz AT, Treves AJ, Voss R, Okon E, Fuks Z, Davidson L, Biran S (1985) A new human ovarian carcinoma cell line: establishment and analysis of tumor-associated markers. Oncology 42:332–337
- Hörsch D, Ezziddin S, Haug A, Gratz KF, Dunkelmann S, Miederer M, Schreckenberger M, Krause BJ, Bengel FM, Bartenstein P, Biersack H-J, Pöpperl G, Baum RP (2016) Effectiveness and side-effects of peptide receptor radionuclide therapy for neuroendocrine neoplasms in Germany: A multi-institutional registry study with prospective follow-up. Eur J Cancer 58:41–51
- Hoshino K, Ishiguro H, Teranishi J, Yoshida S, Umemura S, Kubota Y, Uemura H (2011) Regulation of androgen receptor expression through angiotensin II type 1 receptor in prostate cancer cells. Prostate 71:964–975
- Hoshino T, Tsutsumi S, Tomisato W, Hwang H-J, Tsuchiya T, Mizushima T (2003) Prostaglandin E2 protects gastric mucosal cells from apoptosis via EP2 and EP4 receptor activation. J Biol Chem 278:12752–12758
- Hoyer D, Bell GI, Berelowitz M, Epelbaum J, Feniuk W, Humphrey PPA, O'Carroll A-M, Patel YC, Schonbrunn A, Taylor JE, Reisine T (1995) Classification and nomenclature of somatostatin receptors. Trends Pharmacol Sci 16:86–88
- Huang CY, Burns JC, Shimizu C (2017) Urotensin 2 in Kawasaki disease pathogenesis. Pediatr Res 82:1048-1055
- Huang C-Y, Lee CY, Chen MY, Yang WH, Chen YH, Chang CH, Hsu HC, Fong YC, Tang CH (2009) Stromal cell-derived factor-1/CXCR4 enhanced motility of human osteosarcoma cells involves MEK1/2, ERK and NF-κB-dependent pathways. J Cell Physiol 221:204–212
- Huang YE, Iijima M, Parent CA, Funamoto S, Firtel RA, Devreotes P (2003) Receptor-mediated Regulation of PI3Ks Confines PI(3,4,5)P3 to the Leading Edge of Chemotaxing Cells. MBoC 14:1913–1922
- Hubbell WL, Altenbach C, Hubbell CM, Khorana HG (2003) Rhodopsin structure, dynamics, and activation: A perspective from crystallography, site-directed spin labeling, sulfhydryl reactivity, and disulfide crosslinking. Advances in Protein Chemistry. Academic Press, pp 243–290
- Hubenak JR, Zhang Q, Branch CD, Kronowitz SJ (2014) Mechanisms of injury to normal tissue after radiotherapy: a review. Plast Reconstr Surg 133:49e-56e
- Hudd C, LaRegina MC, Devine JE, Palmer DC, Herbold DR, Beinfeld MC, Gelder FB, Johnson FE (1989) Response to exogenous cholecystokinin of six human gastrointestinal cancers xenografted in nude mice. Am J Surg 157:386–394

Hull MA, Ko SCW, Hawcroft G (2004) Prostaglandin EP receptors: targets for treatment and prevention of colorectal cancer? Mol Cancer Ther 3:1031–1039

I - J

- Ibson JM, Waters JJ, Twentyman PR, Bleehen NM, Rabbitts PH (1987) Oncogene amplification and chromosomal abnormalities in small cell lung cancer. J Cell Biochem 33:267–288
- Iglewski M, Grant SR (2010) Urotensin II-induced signaling involved in proliferation of vascular smooth muscle cells. Vasc Health Risk Manag 6:723–734
- Iijima M, Huang YE, Devreotes P (2002) Temporal and spatial regulation of chemotaxis. Dev Cell 3:469-478
- Ilan E, Sandström M, Wassberg C, Sundin A, Garske–Román U, Eriksson B, Granberg D, Lubberink M (2015) Dose response of pancreatic neuroendocrine tumors treated with peptide receptor radionuclide therapy using 177Lu-DOTATATE. J Nucl Med 56:177–182
- Imhof A, Brunner P, Marincek N, Briel M, Schindler C, Rasch H, Mäcke HR, Rochlitz C, Müller-Brand J, Walter MA (2011) Response, survival, and long-term toxicity after therapy with the radiolabeled somatostatin analogue [90Y-DOTA]-TOC in metastasized neuroendocrine cancers. J Clin Oncol 29:2416–2423
- Imperial R, Toor OM, Hussain A, Subramanian J, Masood A (2017) Comprehensive pancancer genomic analysis reveals (RTK)-RAS-RAF-MEK as a key dysregulated pathway in cancer: Its clinical implications. Semin Cancer Biol
- Insel PA, Sriram K, Wiley SZ, McCann T, French RP, Lowy AM (2017) G protein-coupled receptors (GPCRs): unrecognized potential therapeutic targets in cancer. Cancer Res 77:1139–1139
- Ishigami S, Natsugoe S, Nakajo A, Tokuda K, Uenosono Y, Arigami T, Matsumoto M, Okumura H, Hokita S, Aikou T (2007) Prognostic value of CCR7 expression in gastric cancer. Hepatogastroenterology 54:1025–1028
- Jacobs S, Schulz S (2008) Intracellular trafficking of somatostatin receptors. Mol Cell Endocrinol 286:58-62
- Jacobson O, Weiss ID, Kiesewetter DO, Farber JM, Chen X (2010) PET of tumor CXCR4 expression with 4-18F-T140. J Nucl Med 51:1796–1804
- Jaffré F, Friedman AE, Hu Z, Mackman N, Blaxall BC (2012) β-adrenergic receptor stimulation transactivates protease-activated receptor 1 via matrix metalloproteinase 13 in cardiac cells. Circulation 125:2993–3003
- Jain RK (2005) Normalization of Tumor Vasculature: An Emerging Concept in Antiangiogenic Therapy. Science 307:58–62
- Jala VR, Shao W-H, Haribabu B (2005) Phosphorylation-independent β-Arrestin Translocation and Internalization of Leukotriene B4 Receptors. J Biol Chem 280:4880–4887
- James ML, Gambhir SS (2012) A molecular imaging primer: modalities, imaging agents, and applications. Physiol Rev 92:897–965
- Jarpe MB, Knall C, Mitchell FM, Buhl AM, Duzic E, Johnson GL (1998) [D-Arg1,D-Phe5,D-Trp7,9,Leu11]substance P acts as a biased agonist toward neuropeptide and chemokine receptors. J Biol Chem 273:3097–3104
- Jarry M, Diallo M, Lecointre C, Desrues L, Tokay T, Chatenet D, Leprince J, Rossi O, Vaudry H, Tonon M-C, Prézeau L, Castel H, Gandolfo P (2010) The vasoactive peptides urotensin II and urotensin II-related peptide regulate astrocyte activity through common and distinct mechanisms: involvement in cell proliferation. Biochem J 428:113–124
- Järveläinen H, Sainio A, Koulu M, Wight TN, Penttinen R (2009) Extracellular matrix molecules: potential targets in pharmacotherapy. Pharmacol Rev 61:198–223
- Jaszczak RJ, Coleman RE, Lim CB (1980) SPECT: single photon emission computed tomography. IEEE Trans Nucl Sci 27:1137–1153

- Jégou S, Cartier D, Dubessy C, Gonzalez BJ, Chatenet D, Tostivint H, Scalbert E, Leprince J, Vaudry H, Lihrmann I (2006) Localization of the urotensin II receptor in the rat central nervous system. J Comp Neurol 495:21–36
- Jeon SY, Hwang KA, Choi KC (2016) Effect of steroid hormones, estrogen and progesterone, on epithelial mesenchymal transition in ovarian cancer development. J Steroid Biochem Mol Biol 158:1–8
- Jeong SY, Lee SW, Kim HW, Song BI, Ahn BC, Lee J (2014) Clinical applications of SPECT/CT after first I-131 ablation in patients with differentiated thyroid cancer. Clin Endocrinol 81:445–451
- Jia LQ, Osada M, Ishioka C, Gamo M, Ikawa S, Suzuki T, Shimodaira H, Niitani T, Kudo T, Akiyama M, Kimura N, Matsuo M, Mizusawa H, Tanaka N, Koyama H, Namba M, Kanamaru R, Kuroki T (1997) Screening the p53 status of human cell lines using a yeast functional assay. Mol Carcinog 19:243–253
- Jiang M, Bajpayee NS (2009) Molecular mechanisms of Go signaling. Neurosignals 17:23-41
- Jin DK, Shido K, Kopp HG, Petit I, Shmelkov SV, Young LM, Hooper AT, Amano H, Avecilla ST, Heissig B, Hattori K, Zhang F, Hicklin DJ, Wu Y, Zhu Z, Dunn A, Salari H, Werb Z, Hackett NR, Crystal RG, Lyden D, Rafii S (2006) Cytokine-mediated deployment of SDF-1 induces revascularization through recruitment of CXCR4+ hemangiocytes. Nat Med 12:557–567
- Jodele S, Chantrain CF, Blavier L, Crooks GM, Shimada H, Coussens LM, Declerck YA (2005) Contribution of bone marrow-derived cells to the tumor vasculature in neuroblastoma is matrix metalloproteinase-9-dependent. Cancer Res 65:1080–1080
- Johns DG, Ao Z, Naselsky D, Herold CL, Maniscalco K, Sarov-Blat L, Steplewski K, Aiyar N, Douglas SA (2004) Urotensin-II-mediated cardiomyocyte hypertrophy: effect of receptor antagonism and role of inflammatory mediators. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 370:238–250
- Johnson CV, Shelton T, Smith CJ, Ma L, Perry MC, Volkert WA, Hoffman TJ (2006) Evaluation of combined 177Lu-DOTA-8-AOC-BBN (7-14)NH2 GRP receptor-targeted radiotherapy and chemotherapy in PC-3 human prostate tumor cell xenografted SCID mice. Cancer Biother Radiopharm 21:155–166
- Jois SDS, Balasubramaniam A (2003) Conformation of neuropeptide Y receptor antagonists: structural implications in receptor selectivity. Peptides 24:1035–1043
- Jongsma M, Matas-Rico E, Rzadkowski A, Jalink K, Moolenaar WH (2011) LPA is a chemorepellent for B16 melanoma cells: action through the cAMP-elevating LPA5 receptor. PLOS ONE 6:29–34
- Joyal D, Huynh T, Aiyar N, Guida B, Douglas S, Giaid A (2006) Urotensin-II levels in acute coronary syndromes. Int J Cardiol 108:31–35
- Juillerat-Jeanneret L, Celerier J, Bernasconi CC, Nguyen G, Wostl W, Maerki HP, Janzer R-C, Corvol P, Gasc J-M (2004) Renin and angiotensinogen expression and functions in growth and apoptosis of human glioblastoma. Br J Cancer 90:1059–1068

K

- Kaemmerer D, Specht E, Sänger J, Wirtz RM, Sayeg M, Schulz S, Lupp A (2015) Somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms: new diagnostic, prognostic, and therapeutic markers. J Clin Endocrinol Metab 100:831–840
- Kaifi JT, Yekebas EF, Schurr P, Obonyo D, Wachowiak R, Busch P, Heinecke A, Pantel K, Izbicki JR (2005) Tumor-cell homing to lymph nodes and bone marrow and cxcr4 expression in esophageal cancer. J Natl Cancer Inst 97:1840–1847
- Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y, Lechner JF, Jones LW (1979) Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). Invest Urol 17:16–23
- Kajiyama H, Kikkawa F, Suzuki T, Shibata K, Ino K, Mizutani S (2002) Prolonged survival and decreased invasive activity attributable to dipeptidyl peptidase IV overexpression in ovarian carcinoma. Cancer Res 62:2753–2757

- Kaloudi A, Nock BA, Krenning EP, Maina T, De MJ (2015) Radiolabeled gastrin/CCK analogs in tumor diagnosis: towards higher stability and improved tumor targeting. Q J Nucl Med Mol Imaging 59:287–302
- Kambayashi T, Alexander HR, Fong M, Strassmann G (1995) Potential involvement of IL-10 in suppressing tumor-associated macrophages. Colon-26-derived prostaglandin E2 inhibits TNF-alpha release via a mechanism involving IL-10. J Immunol 154:3383–3390
- Kang J, Ishola TA, Baregamian N, Mourot JM, Rychahou PG, Evers BM, Chung DH (2007) Bombesin induces angiogenesis and neuroblastoma growth. Cancer Lett 253:273–281
- Kang Y, Siegel PM, Shu W, Drobnjak M, Kakonen SM, Cordón-Cardo C, Guise TA, Massagué J (2003) A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. Cancer Cell 3:537–549
- Katoh Y, Nakamura M, Ohnishi Y, Shimamura K, Ueyama Y, Tamaoki N (1993) Autonomous production of granulocyte-colony stimulating factor in tumour xenografts associated with leukocytosis. Br J Cancer 68:715–719
- Kaupmann K, Malitschek B, Schuler V, Heid J, Froestl W, Beck P, Mosbacher J, Bischoff S, Kulik A, Shigemoto R, Karschin A, Bettler B (1998) GABAB-receptor subtypes assemble into functional heteromeric complexes. Nature 396:683–687
- Kawa S, Kimura S, Hakomori S, Igarashi Y (1997) Inhibition of chemotactic motility and trans-endothelial migration of human neutrophils by sphingosine 1-phosphate. FEBS Lett 420:196–200
- Kawamata H, Furihata T, Omotehara F, Sakai T, Horiuchi H, Shinagawa Y, Imura J, Ohkura Y, Tachibana M, Kubota K, Terano A, Fujimori T (2003) Identification of genes differentially expressed in a newly isolated human metastasizing esophageal cancer cell line, T.Tn-AT1, by cDNA microarray. Cancer Sci 94:699– 706
- Kawamata H, Nakashiro K, Uchida D, Harada K, Yoshida H, Sato M (1997) Possible contribution of active MMP2 to lymph-node metastasis and secreted cathepsin L to bone invasion of newly established human oral-squamous-cancer cell lines. Int J Cancer 70:120–127
- Keall PJ, Kini VR, Vedam SS, Mohan R (2001) Motion adaptive x-ray therapy: a feasibility study. Phys Med Biol 46:1
- Keane MP, Belperio JA, Xue YY, Burdick MD, Strieter RM (2004) Depletion of CXCR2 inhibits tumor growth and angiogenesis in a murine model of lung cancer. J Immunol 172:2853–2860
- Kenakin T (1995) Agonist-receptor efficacy II: agonist trafficking of receptor signals. Trends Pharmacol Sci 16:232–238
- Kennel SJ, Davis IA, Branning J, Pan H, Kabalka GW, Paulus MJ (2000) High resolution computed tomography and MRI for monitoring lung tumor growth in mice undergoing radioimmunotherapy: Correlation with histology. Med Phys 27:1101–1107
- Kesavan M, Claringbold PG, Turner JH (2014) Hematological toxicity of combined 177lu-octreotate radiopeptide chemotherapy of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors in long-term follow-up. Neuroendocrinology 99:108–117
- Kesavan M, Turner JH (2016) Myelotoxicity of peptide receptor radionuclide therapy of neuroendocrine tumors: a decade of experience. Cancer Biother Radiopharm 31:189–198
- Keydar I, Chen L, Karby S, Weiss FR, Delarea J, Radu M, Chaitcik S, Brenner HJ (1979) Establishment and characterization of a cell line of human breast carcinoma origin. Eur J Cancer 15:659–670
- Keys JR, Greene EA, Koch WJ, Eckhart AD (2002) Gq-coupled receptor agonists mediate cardiac hypertrophy via the vasculature. Hypertension 40:660–666
- Khan S, Krenning EP, Essen M van, Kam BL, Teunissen JJ, Kwekkeboom DJ (2011) Quality of life in 265 patients with gastroenteropancreatic or bronchial neuroendocrine tumors treated with [177Lu-DOTA0,Tyr3]Octreotate. J Nucl Med 52:1361–1368
- Kijima T, Maulik G, Ma PC, Tibaldi EV, Turner RE, Rollins B, Sattler M, Johnson BE, Salgia R (2002) Regulation of cellular proliferation, cytoskeletal function, and signal transduction through CXCR4 and c-Kit in small cell lung cancer cells. Cancer Res 62:6304–6311
- Kim EM, Jeong MH, Kim DW, Jeong HJ, Lim ST, Sohn MH (2011) Iodine 125-labeled mesenchymal-epithelial

transition factor binding peptide-click-cRGDyk heterodimer for glioma imaging. Cancer Science 102:1516-1521

- Kim EM, Park EH, Cheong SJ, Lee CM, Kim DW, Jeong HJ, Lim ST, Sohn MH, Kim K, Chung J (2009) Characterization, biodistribution and small-animal SPECT of I-125-labeled c-Met binding peptide in mice bearing c-Met receptor tyrosine kinase-positive tumor xenografts. Nucl Med Biol 36:371–378
- Kim J, Keys JR, Eckhart AD (2006) Vascular smooth muscle migration and proliferation in response to lysophosphatidic acid (LPA) is mediated by LPA receptors coupling to Gq. Cell Sign 18:1695–1701
- Kim TH, Lee DG, Kim YA, Lee BH, Yi KY, Jung YS (2017) A novel urotensin II receptor antagonist, KR-36996 inhibits smooth muscle proliferation through ERK/ROS pathway. Biomol Ther 25:308–314
- Kim TH, Xiong H, Zhang Z, Ren B (2005) β-Catenin activates the growth factor endothelin-1 in colon cancer cells. Oncogene 24:597–604
- Kim YW, Kern HF, Mullins TD, Koriwchak MJ, Metzgar RS (1989) Characterization of clones of a human pancreatic adenocarcinoma cell line representing different stages of differentiation. Pancreas 4:353–362
- Kimmel JR, Hayden LJ, Pollock HG (1975) Isolation and characterization of a new pancreatic polypeptide hormone. J Biol Chem 250:9369–9376
- Kimura T, Watanabe T, Sato K, Kon J, Tomura H, Tamama K, Kuwabara A, Kanda T, Kobayashi I, Ohta H, Ui M, Okajima F (2000) Sphingosine 1-phosphate stimulates proliferation and migration of human endothelial cells possibly through the lipid receptors, Edg-1 and Edg-3. Biochem J 348:71–76
- Kinney WA, Jr HRA, Qi J, Smith CE, Santulli RJ, de Garavilla L, Andrade-Gordon P, Cho DS, Everson AM, Feinstein MA, Leung PA, Maryanoff BE (2002) Structure–function analysis of urotensin II and its use in the construction of a ligand–receptor working model. Angew Chem Int Ed 41:2940–2944
- Kioi M, Vogel H, Schultz G, Hoffman RM, Harsh GR, Brown JM (2010) Inhibition of vasculogenesis, but not angiogenesis, prevents the recurrence of glioblastoma after irradiation in mice. J Clin Invest 120:694– 705
- Kirby DA, Boublik JH, Rivier JE (1993) Neuropeptide Y: Y1 and Y2 affinities of the complete series of analogs with single D-residue substitutions. J Med Chem 36:3802–3808
- Kirkland SC (1985) Dome formation by a human colonic adenocarcinoma cell line (HCA-7). Cancer Res 45:3790– 3795
- Kirsch DG, Grimm J, Guimaraes AR, Wojtkiewicz GR, Perez BA, Santiago PM, Anthony NK, Forbes T, Doppke K, Weissleder R, Jacks T (2010) Imaging primary lung cancers in mice to study radiation biology. Int J Radiat Oncol Biol Phys 76:973–977
- Kjaer A, Knigge U (2015) Use of radioactive substances in diagnosis and treatment of neuroendocrine tumors. Scand J Gastroenterol 50:740–747
- Kobilka BK (2007) G protein coupled receptor structure and activation. Biochim Biophys Acta 1768:794-807
- Körner M, Reubi JC (2007) NPY receptors in human cancer: A review of current knowledge. Peptides 28:419– 425
- Kostikov AP, Chin J, Orchowski K, Schirrmacher E, Niedermoser S, Jurkschat K, Iovkova-Berends L, Wängler C, Wängler B, Schirrmacher R (2012) Synthesis of [18F]SiFB: a prosthetic group for direct protein radiolabeling for application in positron emission tomography. Nat Protoc 7:1956–1963
- Kouroumalis E, Skordilis P, Thermos K, Vasilaki A, Moschandrea J, Manousos ON (1998) Treatment of hepatocellular carcinoma with octreotide: a randomised controlled study. Cancer Biother Radiopharm 42:442–447
- Krasel C, Bünemann M, Lorenz K, Lohse MJ (2005) β-arrestin binding to the β2-adrenergic receptor requires both receptor phosphorylation and receptor activation. J Biol Chem 280:9528–9535
- Kratochwil C, Giesel FL, Bruchertseifer F, Mier W, Apostolidis C, Boll R, Murphy K, Haberkorn U, Morgenstern A (2014) 213Bi-DOTATOC receptor-targeted alpha-radionuclide therapy induces remission in neuroendocrine tumours refractory to beta radiation: a first-in-human experience. Eur J Nucl Med Mol Imaging 41:2106–2119
- Krenning EP, Bakker WH, Kooij PPM, Breeman W a. P, Oei HY, Jong M de, Reubi JC, Visser TJ, Bruns C,

Kwekkeboom DJ, Reijs AEM, Hagen PM van, Koper JW, Lamberts SWJ (1992) Somatostatin Receptor Scintigraphy with Indium-111-DTPA-D-Phe-1-Octreotide in Man: Metabolism, Dosimetry and Comparison with Iodine-123-Tyr-3-Octreotide. J Nucl Med 33:652–658

- Krenning EP, Breeman WAP, Kooij PPM, Lameris JS, Bakker WH, Koper JW, Ausema L, Reubi JC, Lamberts SWJ (1989) Localisation of endocrine-related tumours with radioionated analogue of somatostatin. Lancet 333:242–244
- Krenning EP, Kooij PPM, Bakker WH, Breeman W a. P, Postema PTE, Kwekkeboom DJ, Oei HY, Jong M de, Visser TJ, Reijs AEM, Lamberts SWJ (1994) Radiotherapy with a Radiolabeled Somatostatin Analogue, [111In-DTPA-d-Phe1]-Octreotide. Ann NY Acad Sci 733:496–506
- Krenning EP, Kwekkeboom DJ, Bakker WH, Breeman WA, Kooij PP, Oei HY, van Hagen M, Postema PT, de Jong M, Reubi JC (1993) Somatostatin receptor scintigraphy with [111In-DTPA-D-Phe1]- and [123I-Tyr3]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients. Eur J Nucl Med 20:716–731
- Kristof AS, You Z, Han YS, Giaid A (2010) Protein expression of urotensin II, urotensin-related peptide and their receptor in the lungs of patients with lymphangioleiomyomatosis. Peptides 31:1511–1516
- Krupnick JG, Gurevich VV, Benovic JL (1997) Mechanism of quenching of phototransduction binding competition between arrestin and transducin for phosphorhodopsin. J Biol Chem 272:18125–18131
- Kuil J, Buckle T, Leeuwen FWB van (2012) Imaging agents for the chemokine receptor 4 (CXCR4). Chem Soc Rev 41:5239–5261
- Kule CE, Karoor V, Day JNE, Thomas WG, Baker KM, Dinh D, Acker KA, Booz GW (2004) Agonist-dependent internalization of the angiotensin II type one receptor (AT1): role of C-terminus phosphorylation in recruitment of β-arrestins. Regul Peptides 120:141–148
- Kumar K, Ghosh A (2018) 18F-AlF labeled peptide and protein conjugates as positron emission tomography imaging pharmaceuticals. Bioconjugate Chem 29:953–975
- Kusama K (1919) The X-ray treatment of retinal glioma. Am J Ophthalmol 2:636–650
- Kwekkeboom DJ, Bakker WH, Kam BL, Teunissen JJM, Kooij PPM, de Herder WW, Feelders RA, van Eijck CHJ, de Jong M, Srinivasan A, Erion JL, Krenning EP (2003) Treatment of patients with gastro-enteropancreatic (GEP) tumours with the novel radiolabelled somatostatin analogue [177Lu-DOTA0,Tyr3]octreotate. Eur J Nucl Med Mol Imaging 30:417–422
- Kwekkeboom DJ, de Herder WW, Kam BL, van Eijck CH, van Essen M, Kooij PP, Feelders RA, van Aken MO, Krenning EP (2008) Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [177Lu-DOTA0,Tyr3]Octreotate: toxicity, efficacy, and survival. J Clin Oncol 26:2124–2130
- Kwekkeboom DJ, Kam BL, Essen M van, Teunissen JJM, Eijck CHJ van, Valkema R, Jong M de, Herder WW de, Krenning EP (2010) Somatostatin receptor-based imaging and therapy of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. Endocr Relat Cancer 17:R53–R73
- Kwekkeboom DJ, Kooij PP, Bakker WH, Mäcke HR, Krenning EP (1999) Comparison of 111In-DOTA-Tyr3octreotide and 111In-DTPA-octreotide in the same patients: biodistribution, kinetics, organ and tumor uptake. J Nucl Med 40:762–767
- Kwekkeboom DJ, Krenning EP (2016) Peptide Receptor Radionuclide Therapy in the Treatment of Neuroendocrine Tumors. Hematol Oncol Clin North Am 30:179–191
- Kwekkeboom DJ, Mueller-Brand J, Paganelli G, Anthony LB, Pauwels S, Kvols LK, O'Dorisio TM, Valkema R, Bodei L, Chinol M, Maecke HR, Krenning EP (2005) Overview of Results of Peptide Receptor Radionuclide Therapy with 3 Radiolabeled Somatostatin Analogs. J Nucl Med 46:62S-66S
- Kwekkeboom DJ, Reubi JC, Lamberts SW, Bruining HA, Mulder AH, Oei HY, Krenning EP (1993) In vivo somatostatin receptor imaging in medullary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 76:1413–1417
- Kyriazis AP, McCombs WB, Sandberg AA, Kyriazis AA, Sloane NH, Lepera R (1983) Establishment and characterization of human pancreatic adenocarcinoma cell line SW-1990 in tissue culture and the nude mouse. Cancer Res 43:4393–4401

L

- Labarrère P, Chatenet D, Leprince J, Marionneau C, Loirand G, Tonon M-C, Dubessy C, Scalbert E, Pfeiffer B, Renard P, Calas B, Pacaud P, Vaudry H (2003) Structure-activity relationships of human urotensin II and related analogues on rat aortic ring contraction. J Enzyme Inhib Med Chem 18:77–88
- Lacoeuille F, Arlicot N, Faivre-Chauvet A (2018) Targeted alpha and beta radiotherapy: An overview of radiopharmaceutical and clinical aspects. J Nucl Med 42:32–44
- Lagerström MC, Schiöth HB (2008) Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery. Nat Rev Drug Discov 7:339–357
- Lamberts SWJ, de Herder WW, Hofland LJ (2002) Somatostatin analogs in the diagnosis and treatment of cancer. Trends Endocrinol Metab 13:451–457
- LaMontagne K, Littlewood-Evans A, Schnell C, O'Reilly T, Wyder L, Sanchez T, Probst B, Butler J, Wood A, Liau G, Billy E, Theuer A, Hla T, Wood J (2006) Antagonism of sphingosine-1-phosphate receptors by FTY720 inhibits angiogenesis and tumor vascularization. Cancer Res 66:221–231
- Langer M, La Bella R, Garcia-Garayoa E, Beck-Sickinger AG (2001) 99mTc-labeled neuropeptide Y analogues as potential tumor imaging agents. Bioconjug Chem 12:1028–1034
- Langham RG, Kelly DJ, Gow RM, Zhang Y, Dowling JK, Thomson NM, Gilbert RE (2004) Increased expression of urotensin II and urotensin II receptor in human diabetic nephropathy. Am J Kidney Dis 44:826–831
- Lango MN, Dyer KF, Lui VWY, Gooding WE, Gubish C, Siegfried JM, Grandis JR (2002) Gastrin-releasing peptide receptor-mediated autocrine growth in squamous cell carcinoma of the head and neck. J Natl Cancer Inst 94:375–383
- Lapa C, Herrmann K, Schirbel A, Hänscheid H, Lückerath K, Schottelius M, Kircher M, Werner RA, Schreder M, Samnick S, Kropf S, Knop S, Buck AK, Einsele H, Wester H-J, Kortüm KM (2017) CXCR4-directed endoradiotherapy induces high response rates in extramedullary relapsed Multiple Myeloma. Theranostics 7:1589–1597
- Laporte SA, Oakley RH, Zhang J, Holt JA, Ferguson SSG, Caron MG, Barak LS (1999) The β2-adrenergic receptor/βarrestin complex recruits the clathrin adaptor AP-2 during endocytosis. PNAS 96:3712–3717
- Lapp H, Boerrigter G, Costello-Boerrigter LC, Jaekel K, Scheffold T, Krakau I, Schramm M, Guelker H, Stasch J-P (2004) Elevated plasma human urotensin-II-like immunoreactivity in ischemic cardiomyopathy. Int J Cardiol 94:93–97
- Lappano R, Maggiolini M (2011) G protein-coupled receptors: novel targets for drug discovery in cancer. Nat Rev Drug Discov 10:47–60
- Larhammar D, Salaneck E (2004) Molecular evolution of NPY receptor subtypes. Neuropeptides 38:141-151
- Larhammar D, Wraith A, Berglund MM, Holmberg SKS, Lundell I (2001) Origins of the many NPY-family receptors in mammals. Peptides 22:295–307
- Larsson M, Bernhardt P, Svensson JB, Wängberg B, Ahlman H, Forssell-Aronsson E (2012) Estimation of absorbed dose to the kidneys in patients after treatment with 177Lu-octreotate: comparison between methods based on planar scintigraphy. EJNMMI Research 2:49
- Lasfargues EY, Coutinho WG (1981) Human Breast Tumor Cells in Culture; New Concepts in Mammary Carcinogenesis. New Frontiers in Mammary Pathology. Springer, Boston, pp 117–143
- Lasfargues EY, Ozzello L (1958) Cultivation of human breast carcinomas. J Natl Cancer Inst 21:1131-1147
- Latorraca NR, Wang JK, Bauer B, Townshend RJL, Hollingsworth SA, Olivieri JE, Xu HE, Sommer ME, Dror RO (2018) Molecular mechanism of GPCR-mediated arrestin activation. Nature 557:452–456
- Lauffenburger DA, Horwitz AF (1996) Cell migration: a physically integrated molecular process. Cell 84:359–369
- Laverman P, D'Souza CA, Eek A, McBride WJ, Sharkey RM, Oyen WJG, Goldenberg DM, Boerman OC (2012)

Optimized labeling of NOTA-conjugated octreotide with F-18. Tumor Biol 33:427-434

- Laverman P, McBride WJ, Sharkey RM, Eek A, Joosten L, Oyen WJG, Goldenberg DM, Boerman OC (2010) A novel facile method of labeling octreotide with 18F-Fluorine. J Nucl Med 51:454–461
- Lawlor ER, Lim JF, Tao W, Poremba C, Chow CJ, Kalousek IV, Kovar H, MacDonald TJ, Sorensen PHB (1998) The Ewing tumor family of peripheral primitive neuroectodermal tumors expresses human gastrinreleasing peptide. Cancer Res 58:2469–2476
- Le Joncour V, Guichet PO, Dembele KP, Mutel A, Perzo N, Desrues L, Poret B, Modzelewski R, Bohn P, Vera P, Couraud PO, Honnorat J, Marguet F, Laquerrière A, Ferracci FX, Langlois O, Morin F, Gandolfo P, Castel H Targeting the urotensin II/UT G protein-coupled receptor to counteract angiogenesis and mesenchymal hypoxia/necrosis in glioblastoma, soumis.
- Lears KA, Ferdani R, Liang K, Zheleznyak A, Andrews R, Sherman CD, Achilefu S, Anderson CJ, Rogers BE (2011) In Vitro and In Vivo evaluation of 64Cu-labeled SarAr-Bombesin analogs in gastrin-releasing peptide receptor–expressing prostate cancer. J Nucl Med 52:470–477
- Lecchi M, Ottobrini L, Martelli C, Del Sole A, Lucignani G (2007) Instrumentation and probes for molecular and cellular imaging. Q J Nucl Med Mol Imaging 51:111–126
- Lecointre C, Desrues L, Joubert JE, Perzo N, Guichet P-O, Le Joncour V, Brulé C, Chabbert M, Leduc R, Prézeau L, Laquerrière A, Proust F, Gandolfo P, Morin F, Castel H (2015) Signaling switch of the urotensin II vasosactive peptide GPCR: prototypic chemotaxic mechanism in glioma. Oncogene 34:5080–5094
- Lee BC, Lee TH, Avraham S, Avraham HK (2004) Involvement of the chemokine receptor CXCR4 and its ligand stromal cell-derived factor 1α in breast cancer cell migration through human brain microvascular endothelial cells. Mol Cancer Res 2:327–338
- Lee CM, Jeong HJ, Cheong SJ, Kim EM, Kim DW, Lim ST, Sohn MH (2010) Prostate cancer-targeted imaging using magnetofluorescent polymeric nanoparticles functionalized with bombesin. Pharm Res 27:712–721
- Lee CY, Tsai YT, Loh SH, Liu JC, Chen T-H, Chao HH, Cheng TH, Chen JJ (2014) Urotensin II Induces Interleukin 8 Expression in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. PLoS ONE 9:e90278
- Lee H, Seo S, Lee S yoon, Jeong HJ, Woo S ho, Lee K min, Lee Y, Park KH, Heo J hyeok, Yoon CW, Kang JM, Cho J, Okamura N, Furumoto S, Yanai K, Na DL, Ido T, Villemagne VL, Noh Y (2017) [18f]-thk5351 PET imaging in patients with semantic variant primary progressive aphasia. Alzheimer Dis Assoc Disord Publish Ahead of Print:
- Lee J, Park SY, Lee EK, Park CG, Chung HC, Rha SY, Kim YK, Bae G-U, Kim BK, Han J-W, Lee HY (2006a) Activation of Hypoxia-Inducible Factor-1α Is Necessary for Lysophosphatidic Acid–Induced Vascular Endothelial Growth Factor Expression. Clin Cancer Res 12:6351–6358
- Lee JH, Park BK, Oh KS, Yi KY, Lim CJ, Seo HW, Lee BH (2016) A urotensin II receptor antagonist, KR36676, decreases vascular remodeling and inflammation in experimental pulmonary hypertension. Int Immunopharmacol 40:196–202
- Lee KH, Koh SA, Kim J-R (2013) Hepatocyte growth factor-mediated gastrin-releasing peptide induces IL-8 expression through Ets-1 in gastric cancer cells. Oncol Res 20:393–402
- Lee MC, Schiffman SS, Pappas TN (1994) Role of neuropeptides in the regulation of feeding behavior: A review of cholecystokinin, bombesin, neuropeptide Y, and galanin. Neurosci Biobehav Rev 18:313–323
- Lee S young, Kim HJ, Oh SC, Lee D-H (2018) Genipin inhibits the invasion and migration of colon cancer cells by the suppression of HIF-1 α accumulation and VEGF expression. Food and Chemical Toxicology 116:70–76
- Lee Z, Swaby RF, Liang Y, Yu S, Liu S, Lu KH, Bast RC, Mills GB, Fang X (2006b) Lysophosphatidic acid is a major regulator of growth-regulated oncogene α in ovarian cancer. Cancer Res 66:2740–2748
- Leenders WPJ, Küsters B, de Waal RMW (2002) Vessel co-option: how tumors obtain blood supply in the absence of sprouting angiogenesis. Endothelium 9:83–87
- Lefkowitz RJ (1975) Heterogeneity of adenylate cyclase-coupled β-adrenergic receptors. Biochemical Pharmacology 24:583–590
- Leibovitz A, McCombs WM, Johnston D, McCoy CE, Stinson JC (1973) New human cancer cell culture lines. I.

SW-13, small-cell carcinoma of the adrenal cortex. J Natl Cancer Inst 51:691-697

- Leibovitz A, Stinson JC, McCombs WB, McCoy CE, Mazur KC, Mabry ND (1976) Classification of human colorectal adenocarcinoma cell lines. Cancer Res 36:4562–4569
- Leonard AD, Thompson JP, Hutchinson EL, Young SP, McDonald J, Swanevelder J, Lambert DG (2009) Urotensin II receptor expression in human right atrium and aorta: effects of ischaemic heart disease. Br J Anaesth 102:477–484
- Leserer M, Gschwind A, Ullrich A (2000) Epidermal growth factor receptor signal transactivation. IUBMB Life 49:405–409
- Letterio JJ, Coughlin SR, Williams LT (1986) Pertussis toxin-sensitive pathway in the stimulation of c-myc expression and DNA synthesis by bombesin. Science 234:1117–1119
- Levchenko A, Mehta BM, Spengler BA, Narkar AA, Fonti R, Biedler JL, Tsuruo T, Larson SM (1996) Measurement of P-glycoprotein expression in multidrug-resistant human neuroblastoma cell lines using self-competitive binding assay. Anal Biochem 236:338–343
- Levin NW, Fishbane S, Cañedo FV, Zeig S, Nassar GM, Moran JE, Villa G, Beyer U, Oguey D (2007) Intravenous methoxy polyethylene glycol-epoetin beta for haemoglobin control in patients with chronic kidney disease who are on dialysis: a randomised non-inferiority trial (MAXIMA). Lancet 370:1415–1421
- Li A, Dubey S, Varney ML, Dave BJ, Singh RK (2003) IL-8 Directly Enhanced Endothelial Cell Survival, Proliferation, and Matrix Metalloproteinases Production and Regulated Angiogenesis. J Immunol 170:3369–3376
- Li G, Low PS (2017) Synthesis and evaluation of a ligand targeting the μ and δ opioid receptors for drug delivery to lung cancer. Bioorg Med Chem Lett 27:2074–2078
- Li J, Tian Y, Wu A (2015) Neuropeptide Y receptors: a promising target for cancer imaging and therapy. Regen Biomater 2:215–219
- Li J, Zhao PP, Hao T, Wang D, Wang Y, Zhu YZ, Wu YQ, Zhou CH (2017a) Urotensin II inhibitor eases neuropathic pain by suppressing the JNK/NF-κB pathway. J Endocrinol 232:165–174
- Li Y, Tang ZY, Ye SL, Liu YK, Chen J, Xue Q, Chen J, Gao DM, Bao WH (2001) Establishment of cell clones with different metastatic potential from the metastatic hepatocellular carcinoma cell line MHCC97. World J Gastroenterol 7:630–636
- Li Y ying, Shi Z ming, Yu X tong, Feng P, Wang XJ (2017b) The effects of urotensin II on migration and invasion are mediated by NADPH oxidase-derived reactive oxygen species through the c-Jun N-terminal kinase pathway in human hepatoma cells. Peptides 88:106–114
- Li YY, Shi ZM, Yu XY, Feng P, Wang XJ (2016) Urotensin II-induced insulin resistance is mediated by NADPH oxidase-derived reactive oxygen species in HepG2 cells. World J Gastroenterol 22:5769–5779
- Li ZB, Wu Z, Chen K, Ryu EK, Chen X (2008) 18F-Labeled BBN-RGD Heterodimer for Prostate Cancer Imaging. J Nucl Med 49:453–461
- Liao H, Hyman MC, Lawrence DA, Pinsky DJ (2006) Molecular regulation of the PAI-1 gene by hypoxia: contributions of Egr-1, HIF-1α, and C/EBPα. FASEB J 21:935–949
- Lieber M, Mazzetta J, Nelson-Rees W, Kaplan M, Todaro G (1975) Establishment of a continuous tumor-cell line (PANC-1) from a human carcinoma of the exocrine pancreas. Int J Cancer 15:741–747
- Lim JC, Cho EH, Kim JJ, Choi SM, Lee SY, Nam SS, Park UJ, Park SH (2015a) Preclinical pharmacokinetic, biodistribution, imaging and therapeutic efficacy of 177Lu-Labeled glycated bombesin analogue for gastrin-releasing peptide receptor-positive prostate tumor targeting. Nuclear Medicine and Biology 42:234–241
- Lim JC, Dho SH, Cho EH, Lee SY, Kim SY, Jung SH, Kim JC (2015b) Preclinical pharmacokinetic, biodistribution, imaging and therapeutic efficacy of 177Lu-Labeled glycated bombesin analogue for gastrin-releasing peptide receptor-positive prostate tumor targeting. Nucl Med Biol 3:1–6
- Lin DT, Subbaramaiah K, Shah JP, Dannenberg AJ, Boyle JO (2002) Cyclooxygenase-2: A novel molecular target for the prevention and treatment of head and neck cancer. Head Neck 24:792–799
- Lin JT, Coy DH, Mantey SA, Jensen RT (1995) Comparison of the peptide structural requirements for high affinity

interaction with bombesin receptors. Eur J Pharmacol 294:55-69

- Lin K-S, Luu A, Baidoo KE, Hashemzadeh-Gargari H, Chen M-K, Brenneman K, Pili R, Pomper M, Carducci MA, Wagner HN (2005) A new high affinity technetium-99m-Bombesin analogue with low abdominal accumulation. Bioconjugate Chem 16:43–50
- Lin K-S, Pan J, Amouroux G, Turashvili G, Mesak F, Hundal-Jabal N, Pourghiasian M, Lau J, Jenni S, Aparicio S, Bénard F (2015) In Vivo radioimaging of bradykinin receptor B1, a widely overexpressed molecule in human cancer. Cancer Res 75:387–393
- Lin Y, Tsuchihashi T, Matsumura K, Abe I, Iida M (2003) Central cardiovascular action of urotensin II in conscious rats. J Hypertens 21:159
- Linder S, Kopp P (2005) Podosomes at a glance. J Cell Sci 118:2079–2082
- Lindgren J, Refai E, Zaitsev SV, Abrahmsén L, Berggren P-O, Karlström AE (2014) A GLP-1 receptor agonist conjugated to an albumin-binding domain for extended half-life. Pep Sci 102:252–259
- Liolios CC, Fragogeorgi EA, Zikos C, Loudos G, Xanthopoulos S, Bouziotis P, Paravatou-Petsotas M, Livaniou E, Varvarigou AD, Sivolapenko GB (2012) Structural modifications of 99mTc-labelled bombesin-like peptides for optimizing pharmacokinetics in prostate tumor targeting. Int J Pharm 430:1–17
- Liu DG, Wang J, Zhang ZT, Wang Y (2009a) The urotension II antagonist SB-710411 arrests fibrosis in CCL4 cirrhotic rats. Molecular Medicine Reports 2:953–961
- Liu J, Agopiantz M, Poupon J, Wu Z, Just P-A, Borghese B, Ségal-Bendirdjian E, Gauchotte G, Gompel A, Forgez P (2017) Neurotensin Receptor 1 Antagonist SR48692 Improves Response to Carboplatin by Enhancing Apoptosis and Inhibiting Drug Efflux in Ovarian Cancer. Clin Cancer Res 23:6516–6528
- Liu JC, Chen CH, Chen JJ, Cheng TH (2009b) Urotensin II Induces Rat Cardiomyocyte Hypertrophy via the Transient Oxidization of Src Homology 2-Containing Tyrosine Phosphatase and Transactivation of Epidermal Growth Factor Receptor. Mol Pharmacol 76:1186–1195
- Liu Q, Pong SS, Zeng Z, Zhang Q, Howard AD, Williams DL, Davidoff M, Wang R, Austin CP, McDonald TP, Bai C, George SR, Evans JF, Caskey CT (1999) Identification of urotensin II as the endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPR14. Biochem Biophys Res Commun 266:174–178
- Liu S, Pietryka J, Ellars CE, Edwards DS (2002) Comparison of yttrium and indium complexes of DOTA-BA and DOTA-MBA: models for 90Y- and 111In-labeled DOTA-biomolecule conjugates. Bioconjugate Chem 13:902–913
- Liu SQ, Huang JA, Qin M-B, Su YJ, Lai MY, Jiang HX, Tang GD (2012) Sphingosine kinase 1 enhances colon cancer cell proliferation and invasion by upregulating the production of MMP-2/9 and uPA via MAPK pathways. Int J Colorectal Dis 27:1569–1578
- Liu Y, An S, Ward R, Yang Y, Guo XX, Li W, Xu T-R (2016) G protein-coupled receptors as promising cancer targets. Cancer Lett 376:226–239
- Liu Y, Gilcrease MZ, Henderson Y, Yuan XH, Clayman GL, Chen Z (2001) Expression of protease-activated receptor 1 in oral squamous cell carcinoma. Cancer Lett 169:173–180
- Liu Z, Li ZB, Cao Q, Liu S, Wang F, Chen X (2009c) Small-animal PET of tumors with 64Cu-labeled RGDbombesin heterodimer. J Nucl Med 50:1168–1177
- Liu Z, Niu G, Wang F, Chen X (2009d) <Superscript>68</Superscript>Ga-labeled NOTA-RGD-BBN peptide for dual integrin and GRPR-targeted tumor imaging. Eur J Nucl Med Mol Imaging 36:1483–1494
- Liu Z, Pourghiasian M, Bénard F, Pan J, Lin K-S, Perrin DM (2014) Preclinical Evaluation of a High-Affinity 18F-Trifluoroborate Octreotate Derivative for Somatostatin Receptor Imaging. J Nucl Med 55:1499–1505
- Ljungberg M, Celler A, Konijnenberg MW, Eckerman KF, Dewaraja YK, Sjögreen-Gleisner K (2016) Joint EANM/MIRD Guidelines for Quantitative 177Lu SPECT Applied for Dosimetry of Radiopharmaceutical Therapy. J Nucl Med 57:151–162
- Ljungberg M, Pretorius PH (2018) SPECT/CT: an update on technological developments and clinical applications. Br J Radiol 91:20160402
- Loeffler JS, Durante M (2013) Charged particle therapy-optimization, challenges and future directions. Nat Rev

Clin Oncol 10:411

- Logothetis DE, Kurachi Y, Galper J, Neer EJ, Clapham DE (1987) The βγ subunits of GTP-binding proteins activate the muscarinic K+ channel in heart. Nature 325:321–326
- Lohse MJ, Andexinger S, Pitcher J, Trukawinski S, Codina J, Faure JP, Caron MG, Lefkowitz RJ (1992) Receptorspecific desensitization with purified proteins. Kinase dependence and receptor specificity of beta-arrestin and arrestin in the beta 2-adrenergic receptor and rhodopsin systems. J Biol Chem 267:8558–8564
- Loirand G, Rolli-Derkinderen M, Pacaud P (2008) Urotensin II and atherosclerosis. Peptides 29:778–782
- Luster M, Clarke SE, Dietlein M, Lassmann M, Lind P, Oyen WJG, Tennvall J, Bombardieri E (2008) Guidelines for radioiodine therapy of differentiated thyroid cancer. Eur J Nucl Med Mol Imaging 35:1941
- Luttrell LM, Ferguson SSG, Daaka Y, Miller WE, Maudsley S, Rocca GJD, Lin F-T, Kawakatsu H, Owada K, Luttrell DK, Caron MG, Lefkowitz RJ (1999) β-arrestin-dependent formation of β2 adrenergic receptor-Src protein kinase complexes. Science 283:655–661
- Luxenburg C, Geblinger D, Klein E, Anderson K, Hanein D, Geiger B, Addadi L (2007) The architecture of the adhesive apparatus of cultured osteoclasts: from podosome formation to sealing zone assembly. PLoS ONE 2:179–184

M

- Ma L, Pei G (2007) β-arrestin signaling and regulation of transcription. J Cell Sci 120:213–218
- Ma PC, Kijima T, Maulik G, Fox EA, Sattler M, Griffin JD, Johnson BE, Salgia R (2003) c-MET mutational analysis in small cell lung cancer: novel juxtamembrane domain mutations regulating cytoskeletal functions. Cancer Res 63:6272–6281
- Maddalena ME, Fox J, Chen J, Feng W, Cagnolini A, Linder KE, Tweedle MF, Nunn AD, Lantry LE (2009) 177Lu-AMBA biodistribution, radiotherapeutic efficacy, imaging, and autoradiography in prostate cancer models with low GRP-R expression. J Nucl Med 50:2017–2024
- Magni P, Motta M (2001) Expression of neuropeptide Y receptors in human prostate cancer cells. Ann Oncol 12:S27–S29
- Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP (2000) Orphan-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. Br J Pharmacol 131:441–446
- Maguire JJ, Kuc RE, Kleinz MJ, Davenport AP (2008) Immunocytochemical localization of the urotensin-II receptor, UT, to rat and human tissues: Relevance to function. Peptides 29:735–742
- Maguire JJ, Kuc RE, Wiley KE, Kleinz MJ, Davenport AP (2004) Cellular distribution of immunoreactive urotensin-II in human tissues with evidence of increased expression in atherosclerosis and a greater constrictor response of small compared to large coronary arteries. Peptides 25:1767–1774
- Maina T, Nock BA, Zhang H, Nikolopoulou A, Waser B, Reubi J-C, Maecke HR (2005) Species differences of bombesin analog interactions with GRP-R define the choice of animal models in the development of GRPR-R-targeting drugs. J Nucl Med 46:823–830
- Majumdar ID, Weber HC (2011) Biology of mammalian bombesin-like peptides and their receptors. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 18:68–73
- Majumdar S, Siahaan TJ (2010) Peptide-mediated targeted drug delivery. MedRes Rev 32:637-658
- Malagon MM, Molina M, Gahete MD, Duran-Prado M, Martinez-Fuentes AJ, Alcain FJ, Tonon M-C, Leprince J, Vaudry H, Castaño JP, Vazquez-Martinez R (2008) Urotensin II and urotensin II-related peptide activate somatostatin receptor subtypes 2 and 5. Peptides 29:711–720
- Malik AI, Akhtar N, Loya A, Yusuf MA (2014) Endoscopic ultrasound fine needle aspiration of 2-deoxy-2-[18F] fluoro-D-glucose avid lymph nodes seen on positron emission tomography- computed tomography -what

looks like cancer may not always be so. Cancer Imaging 14:27

- Mallo RD, Salem L, Lalani T, Flum DR (2005) Computed tomography diagnosis of ischemia and complete obstruction in small bowel obstruction: a systematic review. J Gastrointest Surg 9:690–694
- Malric L, Monferran S, Gilhodes J, Boyrie S, Dahan P, Skuli N, Sesen J, Filleron T, Kowalski-Chauvel A, Cohen-Jonathan Moyal E, Toulas C, Lemarié A (2017) Interest of integrins targeting in glioblastoma according to tumor heterogeneity and cancer stem cell paradigm: an update. Oncotarget 8:86947–86968
- Manglik A, Kruse AC, Kobilka TS, Thian FS, Mathiesen JM, Sunahara RK, Pardo L, Weis WI, Kobilka BK, Granier S (2012) Crystal structure of the µ-opioid receptor bound to a morphinan antagonist. Nature 485:321–326
- Mankoff DA, Link JM, Linden HM, Sundararajan L, Krohn KA (2008) Tumor receptor imaging. J Nucl Med 49:149–163
- Manolov G, Urumov I, Argirova R, Petkova P (1979a) Cytogenetic study of foetal colon mouse tumour--AKATOL-1-71--cultivated in vitro. Hereditas 90:227–236
- Manolov G, Urumov I, Argirova R, Petkova P (1979b) Cytogenetic study of foetal colon mouse tumour AKATOL-1–71 cultivated in vitro. Hereditas 90:227–236
- Mansi R, Fleischmann A, Mäcke HR, Reubi JC (2013) Targeting GRPR in urological cancers—from basic research to clinical application. Nat Rev Urol 10:235–244
- Mansi R, Wang X, Forrer F, Kneifel S, Tamma M-L, Waser B, Cescato R, Reubi JC, Maecke HR (2009) Evaluation of a 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7,10-Tetraacetic acid–conjugated bombesin-based radioantagonist for the labeling with single-photon emission computed tomography, positron emission tomography, and therapeutic radionuclides. Clin Cancer Res 15:5240–5249
- Mansi R, Wang X, Forrer F, Waser B, Cescato R, Graham K, Borkowski S, Reubi JC, Maecke HR (2011) Development of a potent DOTA-conjugated bombesin antagonist for targeting GRPr-positive tumours. Eur J Nucl Med Mol Imaging 38:97–107
- Marano L, Chiari R, Fabozzi A, De Vita F, Boccardi V, Roviello G, Petrioli R, Marrelli D, Roviello F, Patriti A (2015) c-Met targeting in advanced gastric cancer: An open challenge. Cancer Lett 365:30–36
- Marchese A, Heiber M, Nguyen T, Heng HHQ, Saldivia VR, Cheng R, Murphy PM, Tsui L-C, Shi X, Gregor P, George SR, O'dowd BF, Docherty JM (1995) Cloning and chromosomal mapping of three novel genes, GPR9, GPR10, and GPR14, encoding receptors related to interleukin 8, neuropeptide Y, and somatostatin receptors. Genomics 29:335–344
- Marco J, Egido EM, Hernández R, Silvestre RA (2008) Evidence for endogenous urotensin-II as an inhibitor of insulin secretion: Study in the perfused rat pancreas. Peptides 29:852–858
- Marcu L, Bezak E, Allen BJ (2018) Global comparison of targeted alpha vs targeted beta therapy for cancer: In vitro, in vivo and clinical trials. Critical Reviews in Oncology/Hematology 123:7–20
- Maresca KP, Marquis JC, Hillier SM, Lu G, Femia FJ, Zimmerman CN, Eckelman WC, Joyal JL, Babich JW (2010) Novel polar single amino acid chelates for technetium-99m tricarbonyl-based radiopharmaceuticals with enhanced renal clearance: application to octreotide. Bioconjugate Chem 21:1032–1042
- Mariani G, Bruselli L, Kuwert T, Kim EE, Flotats A, Israel O, Dondi M, Watanabe N (2010) A review on the clinical uses of SPECT/CT. Eur J Nucl Med Mol Imaging 37:1959–1985
- Mariani G, Erba PA, Signore A (2006) Receptor-mediated tumor targeting with radiolabeled peptides: there is more to it than somatostatin analogs. J Nucl Med 47:1904–1907
- Marincek N, Radojewski P, Dumont RA, Brunner P, Müller-Brand J, Maecke HR, Briel M, Walter MA (2015) Somatostatin receptor-targeted radiopeptide therapy with 90Y-DOTATOC and 177Lu-DOTATOC in progressive meningioma: long-term results of a phase II clinical trial. J Nucl Med 56:171–176
- Marinissen MJ, Servitja J-M, Offermanns S, Simon MI, Gutkind JS (2003) Thrombin protease-activated receptor-1 signals through Gq- and G13-initiated MAPK cascades regulating c-Jun expression to induce cell transformation. J Biol Chem 278:46814–46825
- Marre M, Shaw J, Brändle M, Bebakar WMW, Kamaruddin NA, Strand J, Zdravkovic M, Thi TDL, Colagiuri S

(2008) Liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue, added to a sulphonylurea over 26 weeks produces greater improvements in glycaemic and weight control compared with adding rosiglitazone or placebo in subjects with Type 2 diabetes (LEAD-1 SU). Diabet Med 26:268–278

- Marshall CJ, Franks LM, Carbonell AW (1977) Markers of neoplastic transformation in epithelial cell lines derived from human carcinomas. J Natl Cancer Inst 58:1743–1751
- Martini M, Santis MCD, Braccini L, Gulluni F, Hirsch E (2014) PI3K/AKT signaling pathway and cancer: an updated review. Ann Med 46:372–383
- Massoud TF, Gambhir SS (2003) Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light. Genes Dev 17:545–580
- Matsusaka S, Wakabayashi I (2006) Enhancement of vascular smooth muscle cell migration by urotensin II. Naunyn-Schmied Arch Pharmacol 373:381–387
- Matsushita M, Shichiri M, Fukai N, Ozawa N, Yoshimoto T, Takasu N, Hirata Y (2003) Urotensin II is an autocrine/paracrine growth factor for the porcine renal epithelial cell line, LLCPK1. Endocrinology 144:1825–1831
- Matsushita M, Shichiri M, Imai T, Iwashina M, Tanaka H, Takasu N, Hirata Y (2001) Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. J Hypertens 19:2185
- Maurer T, Düwel C, Haller B, Gschwend JE, Schwaiger M, Eiber M (2017) PD61-02 68GA-PSMA PET/CT for detection of early recurrent prostate cancer after radical prostatectomy with PSA values up to 1ng/ml. J Urol 197:11–20
- Mazhar D, Ang R, Waxman J (2006) COX inhibitors and breast cancer. Br J Cancer 94:346–350
- McCoy KL, Gyoneva S, Vellano CP, Smrcka AV, Traynelis SF, Hepler JR (2012) Protease-activated receptor 1 (PAR1) coupling to Gq/11 but not to Gi/o or G12/13 is mediated by discrete amino acids within the receptor second intracellular loop. Cell Signal 24:1351–1360
- McDonald PH, Chow C-W, Miller WE, Laporte SA, Field ME, Lin F-T, Davis RJ, Lefkowitz RJ (2000)) β-Arrestin 2: A receptor-regulated MAPK Scaffold for the activation of JNK3. Science 290:1574–1577
- Medeiros M, Rossa C, D'Silva J (2015) P38 Galanin receptors are correlated with different signaling pathways in human head and neck cancer. Oral Oncology 51:54–59
- Medeiros PJ, Al-Khazraji BK, Novielli NM, Postovit LM, Chambers AF, Jackson DN (2012) Neuropeptide Y stimulates proliferation and migration in the 4T1 breast cancer cell line. Int J Cancer 131:276–286
- Meikle SR, Kench P, Kassiou M, Banati RB (2005) Small animal SPECT and its place in the matrix of molecular imaging technologies. Phys Med Biol 50:R45
- Meili R, Firtel RA (2003) Two poles and a compass. Cell 114:153-156
- Melancon BJ, Hopkins CR, Wood MR, Emmitte KA, Niswender CM, Christopoulos A, Conn PJ, Lindsley CW (2012) Allosteric modulation of seven transmembrane spanning receptors: theory, practice, and opportunities for central nervous system drug discovery. J Med Chem 55:1445–1464
- Menda Y, Madsen MT, O'Dorisio TM, Sunderland J, Watkins LG, Dillon JS, Mott SL, Schultz MK, Zamba GKD, Bushnell DL, O'Dorisio MS (2018) 90Y-DOTATOC dosimetry-based personalized peptide receptor radionuclide therapy. J Nucl Med jnumed.117.202903
- Michel MC, Beck-Sickinger A, Cox H, Doods HN, Herzog H, Larhammar D, Quirion R, Schwartz T, Westfall T (1998) XVI. International Union of Pharmacology recommendations for the nomenclature of neuropeptide Y, peptide YY, and pancreatic polypeptide receptors. Pharmacol Rev 50:143–150
- Mickel FS, Weidenbach F, Swarovsky B, LaForge KS, Scheele GA (1989) Structure of the canine pancreatic lipase gene. J Biol Chem 264:12895–12901
- Miederer M, Henriksen G, Alke A, Mossbrugger I, Quintanilla-Martinez L, Senekowitsch-Schmidtke R, Essler M (2008) Preclinical Evaluation of the α-Particle Generator Nuclide 225Ac for Somatostatin Receptor Radiotherapy of Neuroendocrine Tumors. Clin Cancer Res 14:3555–3561
- Milenic DE, Brady ED, Brechbiel MW (2004) Antibody-targeted radiation cancer therapy. Nat Rev Drug 3:488–499

- Miller GV, Farmery SM, Woodhouse LF, Primrose JN (1992) Somatostatin binding in normal and malignant human gastrointestinal mucosa. Br J Cancer 66:391–395
- Millman EE, Zhang H, Zhang H, Godines V, Bean AJ, Knoll BJ, Moore RH (2008) Rapid recycling of β2adrenergic receptors is dependent on the actin cytoskeleton and myosin Vb. Traffic 9:1958–1971
- Mills GB, Moolenaar WH (2003) The emerging role of lysophosphatidic acid in cancer. Nat Rev Cancer 3:582– 591
- Minamimoto R, Hancock S, Schneider B, Chin FT, Jamali M, Loening A, Vasanawala S, Gambhir SS, Iagaru A (2016) Pilot comparison of 68Ga-RM2 PET and 68Ga-PSMA-11 PET in patients with biochemically recurrent prostate cancer. J Nucl Med 57:557–562
- Minamimoto R, Sonni I, Hancock S, Vasanawala S, Loening A, Gambhir SS, Iagaru A (2018) Prospective evaluation of 68Ga-RM2 PET/MRI in patients with biochemical recurrence of prostate cancer and negative findings on conventional imaging. J Nucl Med 59:803–808
- Minhas KM, Singh B, Jiang W-W, Sidransky D, Califano JA (2003) Spindle assembly checkpoint defects and chromosomal instability in head and neck squamous cell carcinoma. Int J Cancer 107:46–52
- Mirza H, Yatsula V, Bahou WF (1996) The proteinase activated receptor-2 (PAR-2) mediates mitogenic responses in human vascular endothelial cells. J Clin Invest 97:1705–1714
- Mishra S, Gordon BA, Su Y, Christensen J, Friedrichsen K, Jackson K, Hornbeck R, Balota DA, Cairns NJ, Morris JC, Ances BM, Benzinger TLS (2017) AV-1451 PET imaging of tau pathology in preclinical Alzheimer disease: Defining a summary measure. Neuroimage 161:171–178
- Miyajima A, Kosaka T, Asano T, Asano T, Seta K, Kawai T, Hayakawa M (2002) Angiotensin II Type I antagonist prevents pulmonary metastasis of murine renal cancer by inhibiting tumor angiogenesis. Cancer Res 62:4176–4179
- Moertel CG (1994) The Management of Patients with Advanced Carcinoid Tumors and Islet Cell Carcinomas. Annals of Internal Medicine 120:302
- Moertel CL, Reubi J-C, Scheithauer BS, Schaid DJ, Kvols LK (1994) Expression of somatostatin receptors in childhood neuroblastoma. Am J Clin Pathol 102:752–756
- Monsky WL, Lin CY, Aoyama A, Kelly T, Akiyama SK, Mueller SC, Chen WT (1994) A potential marker protease of invasiveness, separase, is localized on invadopodia of human malignant melanoma cells. Cancer Res 54:5702–5710
- Moody TW, Bertness V, Carney DN (1983) Bombesin-like peptides and receptors in human tumor cell lines. Peptides 4:683–686
- Moody TW, Hill JM, Jensen RT (2003) VIP as a trophic factor in the CNS and cancer cells. Peptides 24:163-177
- Moody TW, Jensen RT (2016) PACAP and Cancer. Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide PACAP. Springer, Cham, pp 795–814
- Moreau V, Tatin F, Varon C, Génot E (2003) Actin can reorganize into podosomes in aortic endothelial cells, a process controlled by Cdc42 and RhoA. Mol Cell Biol 23:6809–6822
- Morgat C, MacGrogan G, Brouste V, Vélasco V, Sevenet N, Bonnefoi H, Fernandez P, Debled M, Hindie E (2017) Expression of Gastrin-Releasing Peptide Receptor (GRPR) in Breast Cancer and its Association with Pathological, Biological and Clinical Parameters: A Study of 1432 Primary Tumors. J Nucl Med 1401– 1407
- Morgat C, Mishra AK, Varshney R, Allard M, Fernandez P, Hindié E (2014) Targeting neuropeptide receptors for cancer imaging and therapy: perspectives with bombesin, neurotensin, and neuropeptide-Y receptors. J Nucl Med 55:1650–1657
- Morgat C, Vélayoudom-Céphise F-L, Schwartz P, Guyot M, Gaye D, Vimont D, Schulz J, Mazère J, Nunes M-L, Smith D, Hindié E, Fernandez P, Tabarin A (2016) Evaluation of 68Ga-DOTA-TOC PET/CT for the detection of duodenopancreatic neuroendocrine tumors in patients with MEN. Eur J Nucl Med Mol Imaging 43:1258–1266
- Mori M, Sugo T, Abe M, Shimomura Y, Kurihara M, Kitada C, Kikuchi K, Shintani Y, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M (1999) Urotensin II Is the Endogenous Ligand of a G-Protein-Coupled Orphan

Receptor, SENR (GPR14). Biochem Biophys Res Commun 265:123-129

- Mori N, Hirose T, Nakayama T, Ito O, Kanazawa M, Imai Y, Kohzuki M, Takahashi K, Totsune K (2009) Increased expression of urotensin II-related peptide and its receptor in kidney with hypertension or renal failure. Peptides 30:400–408
- Morimoto R, Satoh F, Murakami O, Totsune K, Arai Y, Suzuki T, Sasano H, Ito S, Takahashi K (2008) Immunolocalization of urotensin II and its receptor in human adrenal tumors and attached non-neoplastic adrenal tissues. Peptides 29:873–880
- Morstyn G, Russo A, Carney DN, Karawya E, Wilson SH, Mitchell JB (1984) Heterogeneity in the radiation survival curves and biochemical properties of human lung cancer cell lines. J Natl Cancer Inst 73:801–807
- Motoyama T, Hojo H, Watanabe H (1986) Comparison of seven cell lines derived from human gastric carcinomas. Acta Pathol Jpn 36:65–83
- Moyse E, Dafniet ML, Epelbaum J, Pagesy P, Peillon F, Kordon C, Enjalbert A (1985) Somatostatin Receptors in Human Growth Hormone and Prolactin- Secreting Pituitary Adenomas. J Clin Endocrinol Metab 61:98– 103
- Müerköster S, Isberner A, Arlt A, Witt M, Reimann B, Blaszczuk E, Werbing V, Fölsch UR, Schmitz F, Schäfer H (2005) Gastrin suppresses growth of CCK2 receptor expressing colon cancer cells by inducing apoptosis in vitro and in vivo. Gastroenterology 129:952–968
- Mugabe BE, Yaghini FA, Song CY, Buharalioglu CK, Waters CM, Malik KU (2010) Angiotensin II-induced migration of vascular smooth muscle cells is mediated by p38 mitogen-activated protein kinase-activated c-Src through spleen tyrosine kinase and epidermal growth factor receptor transactivation. J Pharmacol Exp Ther 332:116–124
- Mukherjee C, Caron MG, Coverstone M, Lefkowitz RJ (1975) Identification of adenylate cyclase-coupled betaadrenergic receptors in frog erythrocytes with (minus)-[3-H] alprenolol. J Biol Chem 250:4869–4876
- Mukherjee S, Palczewski K, Gurevich VV, Hunzicker-Dunn M (1999) β-arrestin-dependent desensitization of luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor is prevented by a synthetic peptide corresponding to the third intracellular loop of the receptor. J Biol Chem 274:12984–12989
- Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, McClanahan T, Murphy E, Yuan W, Wagner SN, Barrera JL, Mohar A, Verástegui E, Zlotnik A (2001) Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. Nature 410:50–56
- Muñoz-Espín D, Serrano M (2014) Cellular senescence: from physiology to pathology. Nat Rev Mol Cell Biol 15:482–496
- Muscella A, Greco S, Elia MG, Storelli C, Marsigliante S (2002) Angiotensin II stimulation of Na+/K+ATPase activity and cell growth by calcium-independent pathway in MCF-7 breast cancer cells. J Endocrinol 173:315–323
- Muscella A, Greco S, Elia MG, Storelli C, Marsigliante S (2003) PKC-ζ is required for angiotensin II-induced activation of ERK and synthesis of C-FOS in MCF-7 cells. J Cell Physiol 197:61–68

N

- Nagasawa T, Tachibana K, Kishimoto T (1998) A novel CXC chemokine PBSF/SDF-1 and its receptor CXCR4: their functions in development, hematopoiesis and HIV infection. Semin Immunol 10:179–185
- Nakayama T, Hirose T, Totsune K, Mori N, Maruyama Y, Maejima T, Minagawa K, Morimoto R, Asayama K, Kikuya M, Ohkubo T, Hashimoto J, Kohzuki M, Takahashi K, Imai Y (2008) Increased gene expression of urotensin II-related peptide in the hearts of rats with congestive heart failure. Peptides 29:801–808
- Nanda PK, Pandey U, Bottenus BN, Rold TL, Sieckman GL, Szczodroski AF, Hoffman TJ, Smith CJ (2012) Bombesin analogues for gastrin-releasing peptide receptor imaging. Nucl Med Biol 39:461–471

- Naor Z, Benard O, Seger R (2000) Activation of MAPK cascades by G-protein-coupled receptors: the case of gonadotropin-releasing hormone receptor. Trends Endocrinol Metab 11:91–99
- Nardo AD, Cicchetti G, Falet H, Hartwig JH, Stossel TP, Kwiatkowski DJ (2005) Arp2/3 complex-deficient mouse fibroblasts are viable and have normal leading-edge actin structure and function. PNAS 102:16263–16268
- Nayak TK, Norenberg JP, Anderson TL, Prossnitz ER, Stabin MG, Atcher RW (2007) Somatostatin-receptortargeted α-emitting 213Bi is therapeutically more effective than β–-emitting 177Lu in human pancreatic adenocarcinoma cells. Nucl Med Biol 34:185–193
- Neer EJ, Lok JM, Wolf LG (1984) Purification and properties of the inhibitory guanine nucleotide regulatory unit of brain adenylate cyclase. J Biol Chem 259:14222–14229
- Nelson JB (2003) Endothelin inhibition: novel therapy for prostate cancer. J Urol 170:S65-S68
- Nelson JB, Chan-Tack K, Hedican SP, Magnuson SR, Opgenorth TJ, Bova GS, Simons JW (1996) Endothelin-1 production and decreased endothelin B receptor expression in advanced prostate cancer. Cancer Res 56:663–668
- Neylon CB, Nickashin A, Little PJ, Tkachuk VA, Bobik A (1992) Thrombin-induced Ca2+ mobilization in vascular smooth muscle utilizes a slowly ribosylating pertussis toxin-sensitive G protein. Evidence for the involvement of a G protein in inositol trisphosphate-dependent Ca2+ release. J Biol Chem 267:7295–7302
- Ng LL, Loke I, O'Brien RJ, Squire IB, Davies JE (2002) Plasma Urotensin in Human Systolic Heart Failure. Circulation 106:2877–2880
- Nguyen AV, Wu Y-Y, Lin EY (2014) STAT3 and sphingosine-1-phosphate in inflammation-associated colorectal cancer. World J Gastroenterol 20:10279–10287
- Nguyen TTM, Létourneau M, Chatenet D, Fournier A (2012) Presence of urotensin-II receptors at the cell nucleus: Specific tissue distribution and hypoxia-induced modulation. Int J Biochem Cell Biol 44:639–647
- Nickols HH, Conn PJ (2014) Development of allosteric modulators of GPCRs for treatment of CNS disorders. Neurotherapeutics 61:55–71
- Nicolas GP, Wild D, Fani M (2018) Reply: advantages and limits of targeted radionuclide therapy with somatostatin antagonists. J Nucl Med 59:547–548
- Niedermoser S, Chin J, Wängler C, Kostikov A, Bernard-Gauthier V, Vogler N, Soucy J-P, McEwan AJ, Schirrmacher R, Wängler B (2015) In vivo evaluation of 18F-SiFAlin–Modified TATE: A potential challenge for 68Ga-DOTATATE, the clinical gold standard for somatostatin receptor imaging with PET. J Nucl Med 56:1100–1105
- Nieto Gutierrez A, McDonald PH (2018) GPCRs: Emerging anti-cancer drug targets. Cell Signal 41:65-74
- Nilsson J, Euler AM, Dalsgaard CJ (1985) Stimulation of connective tissue cell growth by substance P and substance K. Nature 315:61–63
- Nimmagadda S, Pullambhatla M, Stone K, Green G, Bhujwalla ZM, Pomper MG (2010) Molecular imaging of CXCR4 receptor expression in human cancer xenografts with [64Cu]AMD3100 positron emission tomography. Cancer Res 70:3935–3944
- Nishimura G, Yanoma S, Mizuno H, Kawakami K, Tsukuda M (1999) A selective cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses tumor growth in nude mouse xenografted with human head and neck squamous carcinoma cells. Cancer Sci 90:1152–1162
- Nobles KN, Xiao K, Ahn S, Shukla AK, Lam CM, Rajagopal S, Strachan RT, Huang T-Y, Bressler EA, Hara MR, Shenoy SK, Gygi SP, Lefkowitz RJ (2011) Distinct phosphorylation sites on the β2-adrenergic receptor establish a barcode that encodes differential functions of β-arrestin. Sci Signal 4:ra51–ra51
- Nogués L, Palacios-García J, Reglero C, Rivas V, Neves M, Ribas C, Penela P, Mayor F (2018) G protein-coupled receptor kinases (GRKs) in tumorigenesis and cancer progression: GPCR regulators and signaling hubs. Semin Cancer Biol 48:78–90
- Nohata N, Goto Y, Gutkind JS (2017) Onco-GPCR signaling and dysregulated expression of microRNAs in human cancer. J Hum Genet 62:87–96

- North WG, Fay MJ, Longo KA, Du J (1998) Expression of all known vasopressin receptor subtypes by small cell tumors implies a multifaceted role for this neuropeptide. Cancer Res 58:1866–1871
- Nothacker H-P, Wang Z, McNeill AM, Saito Y, Merten S, O'Dowd B, Duckles SP, Civelli O (1999) Identification of the natural ligand of an orphan G-protein-coupled receptor involved in the regulation of vasoconstriction. Nature Cell Biology 1:383–385
- Nouel D, Gaudriault G, Houle M, Reisine T, Vincent JP, Mazella J, Beaudet A (1997) Differential internalization of somatostatin in COS-7 cells transfected with SST1 and SST2 receptor subtypes: a confocal microscopic study using novel fluorescent somatostatin derivatives. Endocrinology 138:296–306

0

- Oakley RH, Laporte SA, Holt JA, Barak LS, Caron MG, § (1999) Association of β-arrestin with G protein-coupled receptors during clathrin-mediated endocytosis dictates the profile of receptor resensitization. J Biol Chem 274:32248–32257
- Oakley RH, Laporte SA, Holt JA, Caron MG, Barak LS (2000) Differential affinities of visual arrestin, beta arrestin1, and beta arrestin2 for G protein-coupled receptors delineate two major classes of receptors. J Biol Chem 275:17201–17210
- Oh KS, Lee JH, Yi KY, Lim CJ, Park BK, Seo HW, Lee BH (2017) A novel urotensin II receptor antagonist, KR-36996, improved cardiac function and attenuated cardiac hypertrophy in experimental heart failure. Eur J Pharmacol 799:94–102
- Ohashi H, Takagi H, Oh H, Suzuma K, Suzuma I, Miyamoto N, Uemura A, Watanabe D, Murakami T, Sugaya T, Fukamizu A, Honda Y (2004) Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt regulates angiotensin II-induced inhibition of apoptosis in microvascular endothelial cells by governing survivin expression and suppression of caspase-3 activity. Circ Res 94:785–793
- Ohmichi M, Koike K, Nohara A, Kanda Y, Sakamoto Y, Zhang ZX, Hirota K, Miyake A (1995) Oxytocin stimulates mitogen-activated protein kinase activity in cultured human puerperal uterine myometrial cells. Endocrinology 136:2082–2087
- Ohmichi M, Sawada T, Kanda Y, Koike K, Hirota K, Miyake A, Saltiel AR (1994) Thyrotropin-releasing hormone stimulates MAP kinase activity in GH3 cells by divergent pathways. Evidence of a role for early tyrosine phosphorylation. J Biol Chem 269:3783–3788
- Okamoto H, Takuwa N, Yokomizo T, Sugimoto N, Sakurada S, Shigematsu H, Takuwa Y (2000) Inhibitory regulation of rac activation, membrane ruffling, and cell migration by the G protein-coupled sphingosine-1-phosphate receptor EDG5 but not EDG1 or EDG3. Mol Cell Biol 20:9247–9261
- Okarvi SM (2004) Peptide-based radiopharmaceuticals: Future tools for diagnostic imaging of cancers and other diseases. Med Res Rev 24:357–397
- Okarvi SM (2008) Peptide-based radiopharmaceuticals and cytotoxic conjugates: Potential tools against cancer. Cancer Treat Rev 34:13-26
- Okarvi SM, al-Jammaz I (2003) Synthesis, radiolabelling and biological characteristics of a bombesin peptide analog as a tumor imaging agent. Anticancer Res 23:2745–2750
- Okarvi SM, Maecke HR (2016) Radiometallo-labeled peptides in tumor diagnosis and targeted radionuclide therapy. Advances in Inorganic Chemistry. Academic Press, pp 341–396
- Okarvi SM, Maecke HR (2018) Peptide applications in biomedicine, biotechnology and bioengineering. Peptide Applications in Biomedicine, Biotechnology and Bioengineering 431–483
- Olkhanud PB, Baatar D, Bodogai M, Hakim F, Gress R, Anderson RL, Deng J, Xu M, Briest S, Biragyn A (2009) Breast Cancer Lung Metastasis Requires Expression of Chemokine Receptor CCR4 and Regulatory T Cells. Cancer Res 69:5996–6004
- Olumi AF, Grossfeld GD, Hayward SW, Carroll PR, Tlsty TD, Cunha GR (1999) Carcinoma-associated

Fibroblasts Direct Tumor Progression of Initiated Human Prostatic Epithelium. Cancer Res 59:5002-5011

- Onan D, Pipolo L, Yang E, Hannan RD, Thomas WG (2004) Urotensin II promotes hypertrophy of cardiac myocytes via mitogen-activated protein kinases. Mol Endocrinol 18:2344–2354
- Onat AM, Pehlivan Y, Turkbeyler IH, Demir T, Kaplan DS, Ceribasi AO, Orkmez M, Tutar E, Taysi S, Sayarlioglu M, Kisacik B (2013) Urotensin Inhibition with Palosuran Could Be a Promising Alternative in Pulmonary Arterial Hypertension. Inflammation 36:405–412
- Onat AM, Turkbeyler IH, Pehlivan Y, Demir T, Kaplan DS, Taysi S, Ceribasi AO, Tutar E, Kisacik B (2012) The efficiency of a urotensin II antagonist in an experimental lung fibrosis model. Inflammation 35:1138–1143
- Ondrey FG, Dong G, Sunwoo J, Chen Z, Wolf JS, Crowl-Bancroft CV, Mukaida N, Van Waes C (1999) Constitutive activation of transcription factors NF-κB, AP-1, and NF-IL6 in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines that express pro-inflammatory and pro-angiogenic cytokines. Mol Carcinog 26:119–129
- Ong DST, Hu B, Ho YW, Sauvé C-EG, Bristow CA, Wang Q, Multani AS, Chen P, Nezi L, Jiang S, Gorman CE, Monasterio MM, Koul D, Marchesini M, Colla S, Jin E-J, Sulman EP, Spring DJ, Yung WKA, Verhaak RGW, Chin L, Wang YA, DePinho RA (2017) PAF promotes stemness and radioresistance of glioma stem cells. PNAS 114:E9086–E9095
- Ono T, Kawaguchi Y, Kudo M, Kushikata T, Hashiba E, Yoshida H, Kudo T, Furukawa K, Douglas SA, Guerrini R, Calo' G, Hirota K (2008) Urotensin II evokes neurotransmitter release from rat cerebrocortical slices. Neurosci Lett 440:275–279
- Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, Carey VJ, Richardson AL, Weinberg RA (2005) Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. Cell 121:335–348
- Otte A, Jermann E, Behe M, Goetze M, Bucher HC, Roser HW, Heppeler A, Mueller-Brand J, Maecke HR (1997) DOTATOC: a powerful new tool for receptor-mediated radionuclide therapy. Eur J Nucl Med 24:792– 795
- Otte A, Mueller-Brand J, Dellas S, Nitzsche EU, Herrmann R, Maecke HR (1998) Yttrium-90-labelled somatostatin-analogue for cancer treatment. Lancet 351:417–418
- Ouyang Q, Zhou J, Yang W, Cui H, Xu M, Yi L (2017) Oncogenic role of neurotensin and neurotensin receptors in various cancers. Clin Exp Pharmacol Physiol 44:841–846
- Overington JP, Al-Lazikani B, Hopkins AL (2006) How many drug targets are there? Nat Rev Drug Discov 5:993

Ρ

- Pae J, Pooga M (2014) Peptide-mediated delivery: an overview of pathways for efficient internalization. Therapeutic Delivery 5:1203–1222
- Paganelli G, Sansovini M, Ambrosetti A, Severi S, Monti M, Scarpi E, Donati C, Ianniello A, Matteucci F, Amadori D (2014) 177 Lu-Dota-octreotate radionuclide therapy of advanced gastrointestinal neuroendocrine tumors: results from a phase II study. Eur J Nucl Med Mol Imaging 41:1845–1851
- Paganelli G, Zoboli S, Cremonesi M, Bodei L, Ferrari M, Grana C, Bartolomei M, Orsi F, Cicco CD, Mäcke HR, Chinol M, Braud F de (2001) Receptor-mediated radiotherapy with 90Y-DOTA-D-Phe1-Tyr3-octreotide. Eur J Nucl Med 28:426–434
- Palczewski K, Buczyłko J, Kaplan MW, Polans AS, Crabb JW (1991) Mechanism of rhodopsin kinase activation. J Biol Chem 266:12949–12955
- Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, Behnke CA, Motoshima H, Fox BA, Trong IL, Teller DC, Okada T, Stenkamp RE, Yamamoto M, Miyano M (2000) Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor.

Science 289:739-745

- Palma DA, Louie AV, Rodrigues GB (2015a) New Strategies in Stereotactic Radiotherapy for Oligometastases. Clin Cancer Res 21:5198–5204
- Palma G, Frasci G, Chirico A, Esposito E, Siani C, Saturnino C, Arra C, Ciliberto G, Giordano A, D'Aiuto M (2015b) Triple negative breast cancer: looking for the missing link between biology and treatments. Oncotarget 6:26560–26574
- Paluch E, Sykes C, Prost J, Bornens M (2006) Dynamic modes of the cortical actomyosin gel during cell locomotion and division. Trends Cell Biol 16:5–10
- Pan J, Mestas J, Burdick MD, Phillips RJ, Thomas GV, Reckamp K, Belperio JA, Strieter RM (2006) Stromal derived factor-1 (SDF-1/CXCL12) and CXCR4 in renal cell carcinoma metastasis. Mol Cancer 5:56
- Pandey V, Bhaskara VK, Babu PP (2016) Implications of mitogen-activated protein kinase signaling in glioma. J Neurosci Res 94:114–127
- Pang L, Decker SJ, Saltiel AR (1993) Bombesin and epidermal growth factor stimulate the mitogen-activated protein kinase through different pathways in Swiss 3T3 cells. Biochem J 289:283–287
- Papadopoulos P, Bousette N, Giaid A (2008) Urotensin-II and cardiovascular remodeling. Peptides 29:764-769
- Paris S, Pouysségur J (1986) Pertussis toxin inhibits thrombin-induced activation of phosphoinositide hydrolysis and Na+/H+ exchange in hamster fibroblasts. EMBO J 5:55–60
- Park SL, Lee BK, Kim Y-A, Lee BH, Jung Y-S (2013) Inhibitory effect of an urotensin II receptor antagonist on proinflammatory activation induced by urotensin II in human vascular endothelial cells. Biomol Ther 21:277–283
- Parker MW, Iskandar A, Limone B, Perugini A, Kim H, Jones C, Calamari B, Coleman CI, Heller GV (2012) Diagnostic accuracy of cardiac positron emission tomography versus single photon emission computed tomography for coronary artery diseaseclinical perspective: a bivariate meta-analysis. Circ Cardiovasc Imaging 5:700–707
- Parry JJ, Kelly TS, Andrews R, Rogers BE (2007) In vitro and in vivo evaluation of 64Cu-Labeled DOTA-Linker-Bombesin(7-14) analogues containing different amino acid linker moieties. Bioconjugate Chem 18:1110–1117
- Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Grieco P, Novellino E, Rovero P, Maggi CA (2003) Urantide: an ultrapotent urotensin II antagonist peptide in the rat aorta. Br J Pharmacol 140:1155–1158
- Patel YC (1999) Somatostatin and its receptor family. Front Neuroendocrinol 20:157-198
- Pawlikowski M, Fuss-Chmielewska J, Jaranowska M, Pisarek H, Kubiak R, Winczyk K (2015) Expression of follicle stimulating hormone receptors (FSHR) in thyroid tumours – a marker of malignancy? J Thyroid Res 8:1–5
- Pawlikowski M, Lawnicka H, Pisarek H, Kunert-Radek J, Radek M, Culler MD (2007) Effects of somatostatin-14 and the receptor-specific somatostatin analogs on chromogranin A and alpha-subunit (alpha-SU) release from "clinically nonfunctioning" pituitary adenoma cells incubated in vitro. J Physiol Pharmacol 58:179–188
- Pawson T (1995) Protein modules and signalling networks. Nature 373:573
- Pearson D, Shively JE, Clark BR, Geschwind II, Barkley M, Nishioka RS, Bern HA (1980) Urotensin II: a somatostatin-like peptide in the caudal neurosecretory system of fishes. PNAS 77:5021–5024
- Pébay A, Bonder CS, Pitson SM (2007) Stem cell regulation by lysophospholipids. Prostaglandins Other Lipid Mediat 84:83–97
- Pedrazzini T, Seydoux J, Künstner P, Aubert J-F, Grouzmann E, Beermann F, Brunner HR (1998) Cardiovascular response, feeding behavior and locomotor activity in mice lacking the NPY Y1 receptor. Nat Med 4:722–726
- Pelletier G, Lihrmann I, Vaudry H (2002) Role of androgens in the regulation of urotensin II precursor mRNA expression in the rat brainstem and spinal cord. Neuroscience 115:525–532
- Perzelová A, Máciková I, Mráz P, Bízik I, Steno J (1998a) Characterization of two new permanent glioma cell

lines 8-MG-BA and 42-MG-BA. Neoplasma 45:25-29

- Perzelová A, Máciková I, Mráz P, Bízik I, Steno J (1998b) Characterization of two new permanent glioma cell lines 8-MG-BA and 42-MG-BA. Neoplasma 45:25–29
- Petricciani JC, Wallace RE, McCoy DW (1974) A comparison of three in vivo assays for cell tumorigenicity. Cancer Res 34:105–108
- Pfeifer A, Knigge U, Binderup T, Mortensen J, Oturai P, Loft A, Berthelsen AK, Langer SW, Rasmussen P, Elema D, Benzon E von, Højgaard L, Kjaer A (2015) 64Cu-DOTATATE PET for Neuroendocrine Tumors: A Prospective Head-to-Head Comparison with 111In-DTPA-Octreotide in 112 Patients. J Nucl Med 56:847–854
- Pfeifer AK, Gregersen T, Grønbæk H, Hansen CP, Müller-Brand J, Herskind Bruun K, Krogh K, Kjær A, Knigge U (2011) Peptide receptor radionuclide therapy with Y-DOTATOC and (177)Lu-DOTATOC in advanced neuroendocrine tumors: results from a Danish cohort treated in Switzerland. Neuroendocrinology 93:189–196
- Phelps ME (2000) Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. Proc Natl Acad Sci USA 97:9226–9233
- Philipp-Abbrederis K, Herrmann K, Knop S, Schottelius M, Eiber M, Lückerath K, Pietschmann E, Habringer S, Gerngroß C, Franke K, Rudelius M, Schirbel A, Lapa C, Schwamborn K, Steidle S, Hartmann E, Rosenwald A, Kropf S, Beer AJ, Peschel C, Einsele H, Buck AK, Schwaiger M, Götze K, Wester H-J, Keller U (2015) In vivo molecular imaging of chemokine receptor CXCR4 expression in patients with advanced multiple myeloma. EMBO Mol Med 7:477–487
- Phillips RJ, Burdick MD, Lutz M, Belperio JA, Keane MP, Strieter RM (2003) The stromal derived factor-1/CXCL12-CXC chemokine receptor 4 biological axis in non-small cell lung cancer metastases. Am J Respir Crit Care Med 167:1676–1686
- Phillips RJ, Mestas J, Gharaee-Kermani M, Burdick MD, Sica A, Belperio JA, Keane MP, Strieter RM (2005) Epidermal growth factor and hypoxia-induced expression of CXC chemokine receptor 4 on non-small cell lung cancer cells is regulated by the phosphatidylinositol 3-kinase/PTEN/AKT/Mammalian target of rapamycin signaling pathway and activation of hypoxia inducible factor-1α. J Biol Chem 280:22473– 22481
- Piastowska-Ciesielska AW, Kozłowski M, Wagner W, Domińska K, Ochędalski T (2013) Effect of an angiotensin II type 1 receptor blocker on caveolin-1 expression in prostate cancer cells. Arch Med Sci 9:739–744
- Pifano M, Garona J, Capobianco CS, Gonzalez N, Alonso DF, Ripoll GV (2017) Peptide agonists of vasopressin V2 receptor reduce expression of neuroendocrine markers and tumor growth in human lung and prostate tumor cells. Front Oncol 7:1–5
- Pifano M, Garona J, Sobol NT, Albertó M, Alonso DF, Ripoll GV (2018) Search of vasopressin analogs with antiproliferative activity on small-cell lung cancer: drug design based on two different approaches. Future Med Chem 10:879–894
- Pin J-P, Kniazeff J, Binet V, Liu J, Maurel D, Galvez T, Duthey B, Havlickova M, Blahos J, Prézeau L, Rondard P (2004) Activation mechanism of the heterodimeric GABAB receptor. Biochem Pharmacol 68:1565–1572
- Playford RJ, Cox HM (1996) Peptide YY and neuropeptide Y: two peptides intimately involved in electrolyte homeostasis. Trends Pharmacol Sci 17:436–438
- Pollaro L, Raghunathan S, Morales-Sanfrutos J, Angelini A, Kontos S, Heinis C (2015) Bicyclic peptides conjugated to an albumin-binding tag diffuse efficiently into solid tumors. Mol Cancer Ther 14:151–161
- Pomper MG, Lee JS (2005) Small animal imaging in drug development. Curr Pharm Des 11:3247-3272
- Pontén J, Macintyre EH (1968) Long term culture of normal and neoplastic human glia. Acta Pathol Microbiol Scand 74:465–486
- Porras-González C, Ureña J, Egea-Guerrero JJ, Gordillo-Escobar E, Murillo-Cabezas F, González-Montelongo M del C, Muñoz-Sánchez MÁ (2014) Contractile responses to rat urotensin II in resting and depolarized basilar arteries. J Physiol Biochem 70:193–199
- Porter AT, Ben-Josef E (2001) Humoral mechanisms in prostate cancer: A role for FSH. Urol Oncol Semin Ori

6:131-138

Portnow LH, Vaillancourt DE, Okun MS (2013) The history of cerebral PET scanning. Neurology 80:952-956

- Postema EJ, McEwan AJB, Riauka TA, Kumar P, Richmond DA, Abrams DN, Wiebe LI (2009) Initial results of hypoxia imaging using 1-αd-(5-deoxy-518F]-fluoroarabinofuranosyl)-2-nitroimidazole 18F-FAZA). Eur J Nucl Med Mol Imaging 36:1565–1573
- Pouysségur J, Chambard JC, Lamp G, Allemain G, Magnaldo I, Seuwen K (1988) Transmembrane signalling pathways initiating cell growth in fibroblasts. Phil Trans R Soc Lond B 320:427–436
- Pratt J, Coady MJ, Annabi B (2016) Membrane type-1 matrix metalloproteinase-regulated autophagy: a role in brain cancer chemoresistance. Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging. Academic Press, pp 213–230
- Prenzel N, Zwick E, Daub H, Leserer M, Abraham R, Wallasch C, Ullrich A (1999) EGF receptor transactivation by G-protein-coupled receptors requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF. Nature 402:884–888
- Prévost G, Veber N, Viollet C, Roubert V, Roubert P, Bénard J, Eden P (1996) Somatostatin-14 Mainly Binds the Somatostatin Receptor Subtype 2 in Human Neuroblastoma Tumors. Neuroendocrinology 63:188–197
- Prima V, Kaliberova LN, Kaliberov S, Curiel DT, Kusmartsev S (2017) COX2/mPGES1/PGE2 pathway regulates PD-L1 expression in tumor-associated macrophages and myeloid-derived suppressor cells. PNAS 114:1117–1122
- Primus FJ, MacDonald R, Goldenberg DM, Hansen HJ (1977) Photoscan localization of GW-39 tumors in hamsters using radiolabeled anticarcinoembryonic antigen immunoglobulin G. Cancer Res 37:1544–1547
- Prossnitz ER, Barton M (2011) The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. Nat Rev Endocrinol 7:715–726
- Prossnitz ER, Maggiolini M (2009) Mechanisms of estrogen signaling and gene expression via GPR30. Mol Cell Endocrinol 308:32–38
- Proulx CD, Holleran BJ, Lavigne P, Escher E, Guillemette G, Leduc R (2008) Biological properties and functional determinants of the urotensin II receptor. Peptides 29:691–699
- Pusey WA (1904) The treatment of leukemia and pseudo-leukemia with roentgen rays. J Am Med Asso 63:273–274
- Pyne NJ, Pyne S (2010) Sphingosine 1-phosphate and cancer. Nat Rev Cancer 10:489-503

- Qi J, Du J, Tang X, Li J, Wei B, Tang C (2004) The upregulation of endothelial nitric oxide synthase and urotensin-II is associated with pulmonary hypertension and vascular diseases in rats produced by aortocaval shunting. Heart Vessels 19:81–88
- Qiu S, Pellino G, Fiorentino F, Rasheed S, Darzi A, Tekkis P, Kontovounisios C (2017) A Review of the role of neurotensin and its receptors in colorectal cancer. Gastroenterol Res Pract 2017:6456257
- Quigley A-M, Gnanasegaran G, Buscombe JR, Hilson AJW (2008) Technetium-99m-labelled sulesomab (LeukoScan) in the evaluation of soft tissue infections. Med Princ Pract 17:447–452
- Quinn LA, Woods LK, Merrick SB, Arabasz NM, Moore GE (1977) Cytogenetic Analysis of Twelve Human Malignant Melanoma Cell Lines. J Natl Cancer Inst 59:301–307
- Quinn T, Moore H (2016) Targeted Therapy for Melanoma.
- Radford L, Gallazzi F, Watkinson L, Carmack T, Berendzen A, Lewis MR, Jurisson SS, Papagiannopoulou D, Hennkens HM (2017) Synthesis and evaluation of a 99mTc tricarbonyl-labeled somatostatin receptortargeting antagonist peptide for imaging of neuroendocrine tumors. Nuclear Medicine and Biology 47:4– 9

- Rahbar K, Ahmadzadehfar H, Kratochwil C, Haberkorn U, Schäfers M, Essler M, Baum RP, Kulkarni HR, Schmidt M, Drzezga A, Bartenstein P, Pfestroff A, Luster M, Lützen U, Marx M, Prasad V, Brenner W, Heinzel A, Mottaghy FM, Ruf J, Meyer PT, Heuschkel M, Eveslage M, Bögemann M, Fendler WP, Krause BJ (2017) German multicenter study investigating 177Lu-PSMA-617 radioligand therapy in advanced prostate cancer patients. J Nucl Med 58:85–90
- Rajendran JG, Schwartz DL, O'Sullivan J, Peterson LM, Ng P, Scharnhorst J, Grierson JR, Krohn KA (2006) Tumor hypoxia imaging with [F-18] fluoromisonidazole positron emission tomography in head and neck cancer. Clin Cancer Res 12:5435–5441
- Rangger C, Helbok A, Ocak M, Radolf T, Andreae F, Virgolini IJ, Guggenberg EV, Decristoforo C (2013) Design and Evaluation of Novel Radiolabelled VIP Derivatives for Tumour Targeting. Anticancer Res 33:1537– 1546
- Rasheed S, Gardner MB, Rongey RW, Nelson-Rees WA, Arnstein P (1977) Human bladder carcinoma: characterization of two new tumor cell lines and search for tumor viruses. J Natl Cancer Inst 58:881–890
- Rask-Andersen M, Almén MS, Schiöth HB (2011) Trends in the exploitation of novel drug targets. Nat Rev Drug Discov 10:579–590
- Rasmussen SGF, Choi HJ, Rosenbaum DM, Kobilka TS, Thian FS, Edwards PC, Burghammer M, Ratnala VRP, Sanishvili R, Fischetti RF, Schertler GFX, Weis WI, Kobilka BK (2007) Crystal structure of the human β2 adrenergic G-protein-coupled receptor. Nature 450:383–387
- Raynaud S, Fabre D, Mazerolle F, Geraud Y, Latière HJ (1989) Analysis of the internal structure of rocks and characterization of mechanical deformation by a non-destructive method: X-ray tomodensitometry. Tectonophysics 159:149–159
- Raza Naqvi SA, Sosabowski JK, Ahamad Nagra S, Ishfaq MM, Mather SJ, Matzow T (2011) Radiopeptide internalisation and externalisation assays: Cell viability and radioligand integrity. Appl Radiat Isot 69:68– 74
- Reed RH (1898) The X-ray from a medico-legal standpoint. J Am Med Asso 30:1013-1019
- Rehfeld JF, Van Solinge WW (1994) The Tumor Biology Of Gastrin And Cholecystokinin. In: Vande Woude G.F., Klein G. (eds) Advances in Cancer Research. Academic Press, pp 295–347
- Reidy DL, Pandit-Taskar N, Krebs S, O' Donoghue JA, Raj NP, Cruz E, Pham H, Lashley A, Bodei L, Weber W (2017) Theranostic trial of well differentiated neuroendocrine tumors (NETs) with somatostatin antagonists 68Ga-OPS202 and 177Lu-OPS201. JCO 35:4094–4094
- Reinfelder J, Kuwert T, Beck M, Sanders JC, Ritt P, Schmidkonz C, Hennig P, Prante O, Uder M, Wullich B, Goebell P (2017) First experience with Spect/ct using a 99mtc-labeled inhibitor for prostate-specific membrane antigen in patients with biochemical recurrence of prostate cancer. Clin Nucl Med 42:26–33
- Reinmuth N, Liu W, Ahmad SA, Fan F, Stoeltzing O, Parikh AA, Bucana CD, Gallick GE, Nickols MA, Westlin WF, Ellis LM (2003) ανβ3 integrin antagonist S247 decreases colon cancer metastasis and angiogenesis and improves survival in mice. Cancer Res 63:2079–2087
- Reisine T, Bell GI (1995) Molecular biology of somatostatin receptors. Endocr Rev 16:427-442
- Remy-Heintz N, Perrier-Meissonnier S, Nonotte I, Laliberté M-F, Chevillard C, Laboisse C, Bali J-P (1993) Evidence for autocrine growth stimulation by a gastrin/CCK-like peptide of the gastric cancer HGT-1 cell line. Mol Cell Endocrinol 93:23–29
- Reubi J, Waser B, Schaer J-C, Laissue JA (2001) Somatostatin receptor sst1–sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. Eur J Nucl Med 28:836–846
- Reubi JC (1995) Neuropeptide receptors in health and disease: the molecular basis for in vivo imaging. J Nucl Med 36:1825–1835
- Reubi JC (2003) Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. Endocr Rev 24:389-427
- Reubi JC (2017) In Vitro Evaluation of Molecular Tumor Targets in Nuclear Medicine: Immunohistochemistry Is One Option, but Under Which Conditions? J Nucl Med 58:1885–1887
- Reubi JC, Eisenwiener K-P, Rink H, Waser B, Mäcke HR (2002) A new peptidic somatostatin agonist with high

affinity to all five somatostatin receptors. European Journal of Pharmacology 456:45-49

- Reubi JC, Kvols L, Krenning E, Lamberts SWJ (1990a) Distribution of somatostatin receptors in normal and tumor tissue. Metabolism Clinical and Experimental 39:78–81
- Reubi JC, Kvols L, Krenning E, Lamberts SWJ (1991) In vitro and in vivo Detection of Somatostatin Receptors in Human Malignant Tissues. Acta Oncol 30:463–468
- Reubi JC, Laissue J, Krenning E, Lamberts SWJ (1992) Somatostatin receptors in human cancer: Incidence, characteristics, functional correlates and clinical implications. J Steroid Biochem Mol Biol 43:27–35
- Reubi JC, Landolt AM (1984) High Density of Somatostatin Receptors in Pituitary Tumors from Acromegalic Patients. J Clin Endocrinol Metab 59:1148–1151
- Reubi JC, Lang W, Maurer R, Koper JW, Lamberts SWJ (1987a) Distribution and biochemical characterization of somatostatin receptors in tumors of the human central nervous system. Cancer Res 47:5758–5764
- Reubi JC, Maecke HR (2008) Peptide-Based Probes for Cancer Imaging. J Nucl Med 49:1735–1738
- Reubi JC, Maurer R, Klijn JGM, Stefanko SZ, Foekens JA, Blaauw G, Blankenstein MA, Lamberts SWJ (1986) High Incidence of Somatostatin Receptors in Human Meningiomas: Biochemical Characterization. J Clin Endocrinol Metab 63:433–438
- Reubi JC, Maurer R, Werder K von, Torhorst J, Klijn JGM, Lamberts SWJ (1987b) Somatostatin receptors in human endocrine tumors. Cancer Res 47:551–558
- Reubi JC, Schär JC, Waser B, Wenger S, Heppeler A, Schmitt JS, Mäcke HR (2000) Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes SST1-SST5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. Eur J Nucl Med 27:273–282
- Reubi JC, Waser B, Foekens JA, Klijn JGM, Lamberts SWJ, Laissue J (1990b) Somatostatin receptor incidence and distribution in breast cancer using receptor autoradiography: Relationship to EGF receptors. Int J Cancer 46:416–420
- Reubi JC, Waser B, Schaer JC, Markwalder R (1995) Somatostatin receptors in human prostate and prostate cancer. J Clin Endocrinol Metab 80:2806–2814
- Reynolds CP, Reynolds DA, Frenkel EP, Smith RG (1982) Selective toxicity of 6-hydroxydopamine and ascorbate for human neuroblastoma in vitro: a model for clearing marrow prior to autologous transplant. Cancer Res 42:1331–1336
- Reynolds TJS, Schehr R, Liu D, Xu J, Miao Y, Hoffman TJ, Rold TL, Lewis MR, Smith CJ (2015) Characterization and evaluation of DOTA-conjugated Bombesin/RGD-antagonists for prostate cancer tumor imaging and therapy. Nucl Med Biol 42:99–108
- Rheinwald JG, Beckett MA (1981) Tumorigenic keratinocyte lines requiring anchorage and fibroblast support cultured from human squamous cell carcinomas. Cancer Res 41:1657–1663
- Rhodes DR, Ateeq B, Cao Q, Tomlins SA, Mehra R, Laxman B, Kalyana-Sundaram S, Lonigro RJ, Helgeson BE, Bhojani MS, Rehemtulla A, Kleer CG, Hayes DF, Lucas PC, Varambally S, Chinnaiyan AM (2009) AGTR1 overexpression defines a subset of breast cancer and confers sensitivity to losartan, an AGTR1 antagonist. PNAS 106:10284–10289
- Richardson GS, Dickersin GR, Atkins L, MacLaughlin DT, Raam S, Merk LP, Bradley FM (1984) KLE: a cell line with defective estrogen receptor derived from undifferentiated endometrial cancer. Gynecol Oncol 17:213–230
- Richter S, Wuest M, Bergman CN, Krieger S, Rogers BE, Wuest F (2016) Metabolically Stabilized 68Ga-NOTA-Bombesin for PET Imaging of Prostate Cancer and Influence of Protease Inhibitor Phosphoramidon. Mol Pharmaceutics 13:1347–1357
- Richter WS, Ivancevic V, Meller J, Lang O, Guludec DL, Szilvazi I, Amthauer H, Chossat F, Dahmane A, Schwenke C, Signore A (2011) 99mTc-besilesomab (Scintimun®) in peripheral osteomyelitis: comparison with 99mTc-labelled white blood cells. Eur J Nucl Med Mol Imaging 38:899–910
- Ridley AJ (2011) Life at the leading edge. Cell 145:1012-1022
- Rodríguez-Fernández JL, Rozengurt E (1996) Bombesin, bradykinin, vasopressin, and phorbol esters rapidly and transiently activate src family tyrosine kinases in Swiss 3T3 cells dissociation from tyrosine

phosphorylation of p125 focal adhesion kinase. J Biol Chem 271:27895-27901

- Rodríguez-Moyano M, Díaz-Carrasco I, Dominguez-Rodriguez A, Calderon-Sanchez E, Ordoñez A, Smani T (2011) Essential role of store-operated calcium entry in urotensin-II induced vascular smooth muscle cells proliferation. Biophysical Journal 100:83–89
- Rogers BE, Bigott HM, McCarthy DW, Manna DD, Kim J, Sharp TL, Welch MJ (2003) MicroPET imaging of a gastrin-releasing peptide receptor-positive tumor in a mouse model of human prostate cancer using a 64Cu-labeled bombesin analogue. Bioconjugate Chem 14:756–763
- Rogers BE, Della Manna D, Safavy A (2004) In vitro and in vivo evaluation of a 64Cu-labeled polyethylene glycol-bombesin conjugate. Cancer Biother Radiopharm 19:25–34
- Rohwer N, Cramer T (2011) Hypoxia-mediated drug resistance: novel insights on the functional interaction of HIFs and cell death pathways. Drug Resist Updat 14:191–201
- Rolleman EJ, Valkema R, Jong M de, Kooij PP, Krenning EP (2003) Safe and effective inhibition of renal uptake of radiolabelled octreotide by a combination of lysine and arginine. Eur J Nucl Med 30:9–15
- Roosenburg S, Laverman P, Joosten L, Cooper MS, Kolenc-Peitl PK, Foster JM, Hudson C, Leyton J, Burnet J, Oyen WJG, Blower PJ, Mather SJ, Boerman OC, Sosabowski JK (2014) PET and SPECT imaging of a radiolabeled minigastrin analogue conjugated with DOTA, NOTA, and NODAGA and labeled with 64Cu, 68Ga, and 111In. Mol Pharmaceutics 11:3930–3937
- Rosanò L, Cianfrocca R, Sestito R, Tocci P, Castro VD, Bagnato A (2017) Targeting endothelin-1 receptor/βarrestin1 network for the treatment of ovarian cancer. Expert Opin Ther Targets 21:925–932
- Rosanò L, Spinella F, Bagnato A (2013) Endothelin 1 in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. Nat Rev Cancer 13:637–651
- Rosenbaum DM, Rasmussen SGF, Kobilka BK (2009) The structure and function of G-protein-coupled receptors. Nature 459:356–363
- Roux PP, Blenis J (2004) ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: a family of protein kinases with diverse biological functions. Microbiol Mol Biol Rev 68:320–344
- Rowan AJ, Lamlum H, Ilyas M, Wheeler J, Straub J, Papadopoulou A, Bicknell D, Bodmer WF, Tomlinson IP (2000) APC mutations in sporadic colorectal tumors: A mutational "hotspot" and interdependence of the "two hits." Proc Natl Acad Sci USA 97:3352–3357
- Rowe SP, Drzezga A, Neumaier B, Dietlein M, Gorin MA, Zalutsky MR, Pomper MG (2016) Prostate-specific membrane antigen–targeted radiohalogenated PET and therapeutic agents for prostate cancer. J Nucl Med 57:90–96
- Rowland DJ, Lewis JS, Welch MJ (2002) Molecular imaging: the application of small animal positron emission tomography. J Cell Biochem Suppl 39:110–115
- Rowshanfarzad P, Sabet M, Reza Jalilian A, Kamalidehghan M (2006) An overview of copper radionuclides and production of 61Cu by proton irradiation of natZn at a medical cyclotron. Applied Radiation and Isotopes 64:1563–1573
- Roy M, Marchetti D (2008) Cell surface heparan sulfate released by heparanase promotes melanoma cell migration and angiogenesis. J Cell Biochem 106:200–209
- Rozengurt E (1986) Early signals in the mitogenic response. Science 234:161-166
- Rozengurt E (1998) Signal transduction pathways in the mitogenic response to G protein-coupled neuropeptide receptor agonists. J Cell Physiol 177:507–517
- Rozengurt E (1999) Autocrine loops, signal transduction, and cell cycle abnormalities in the molecular biology of lung cancer. Curr Opin Oncology 11:116
- Rozengurt E (2002) Neuropeptides as growth factors for normal and cancerous cells. Trends Endocrinol Metab 13:128–134
- Rozengurt E, Guha S, Sinnett-Smith J (2002) Gastrointestinal peptide signalling in health and disease. Eur J Surg Suppl 23–38
- Rozengurt E, Sinnett-Smith J (1983) Bombesin stimulation of DNA synthesis and cell division in cultures of Swiss

3T3 cells. Proc Natl Acad Sci USA 80:2936–2940

- Ruiter R, Visser LE, Van Duijn CM, Stricker BHC (2011) The ACE insertion/deletion polymorphism and risk of cancer, a review and meta-analysis of the literature. Curr Cancer Drug Targets 11:421–430
- Russell FD (2008) Urotensin II in cardiovascular regulation. Vasc Health Risk Manag 4:775-785
- Russell FD, Molenaar P (2004) Investigation of signaling pathways that mediate the inotropic effect of urotensin-II in human heart. Cardiovasc Res 63:673–681
- Ryu J, Kim HJ, Chang EJ, Huang H, Banno Y, Kim HH (2006) Sphingosine 1-phosphate as a regulator of osteoclast differentiation and osteoclast–osteoblast coupling. EMBO J 25:5840–5851

S

- Sabet A, Biersack H-J, Ezziddin S (2016) Advances in Peptide Receptor Radionuclide Therapy. Semin Nucl Med 46:40–46
- Sabet A, Dautzenberg K, Haslerud T, Aouf A, Sabet A, Simon B, Mayer K, Biersack H-J, Ezziddin S (2015) Specific efficacy of peptide receptor radionuclide therapy with 177Lu-octreotate in advanced neuroendocrine tumours of the small intestine. Eur J Nucl Med Mol Imaging 42:1238–1246
- Sacks PG, Parnes SM, Gallick GE, Mansouri Z, Lichtner R, Satya-Prakash KL, Pathak S, Parsons DF (1988) Establishment and characterization of two new squamous cell carcinoma cell lines derived from tumors of the head and neck. Cancer Res 48:2858–2866
- Sadoshima J, Qiu Z, Morgan JP, Izumo S (1995) Angiotensin II and other hypertrophic stimuli mediated by G protein–coupled receptors activate tyrosine kinase, mitogen-activated protein kinase, and 90-kD S6 kinase in cardiac myocytes: the critical role of Ca2+-dependent signaling. Circ Res 76:1–15
- Sagman U, Mullen JB, Kovacs K, Kerbel R, Ginsberg R, Reubi JC (1990) Identification of somatostatin receptors in human small cell lung carcinoma. Cancer 66:2129–2133
- Sainsily X, Cabana J, Boulais PE, Holleran BJ, Escher E, Lavigne P, Leduc R (2013) Identification of transmembrane domain 3, 4 & 5 residues that contribute to the formation of the ligand-binding pocket of the urotensin-II receptor. Biochem Pharmacol 86:1584–1593
- Sakmar TP (2002) Structure of rhodopsin and the superfamily of seven-helical receptors: the same and not the same. Curr Opin Cell Biol 14:189–195
- Sandström M, Johansson M, Sandström J, Bergenheim AT, Henriksson R (1999) Expression of the proteolytic factors, tPA and uPA, PAI-1 and VEGF during malignant glioma progression. Int J Dev Neurosci 17:473–481
- Sansal I, Sellers WR (2004) The biology and clinical relevance of the PTEN tumor suppressor pathway. J Clin Oncol 22:2954–2963
- Sansovini M, Severi S, Ambrosetti A, Monti M, Nanni O, Sarnelli A, Bodei L, Garaboldi L, Bartolomei M, Paganelli G (2013) Treatment with the radiolabelled somatostatin analog 177Lu-DOTATATE for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. NEN 97:347–354
- Sarvi S, Mackinnon AC, Avlonitis N, Bradley M, Rintoul RC, Rassl DM, Wang W, Forbes SJ, Gregory CD, Sethi T (2014) CD133+ Cancer Stem-like Cells in Small Cell Lung Cancer Are Highly Tumorigenic and Chemoresistant but Sensitive to a Novel Neuropeptide Antagonist. Cancer Res 74:1554–1565
- Sauzeau V, Mellionnec EL, Bertoglio J, Scalbert E, Pacaud P, Loirand G (2001) Human urotensin II-induced contraction and arterial smooth muscle cell proliferation are mediated by RhoA and Rho-Kinase. Circ Res 88:1102–1104
- Savelli G, Bertagna F, Franco F, Dognini L, Bosio G, Migliorati E, Rodella C, Biasiotto G, Bettinsoli G, Minari C, Zaniboni A, Ferrari C, Tomassetti P, Ferrari V, Giubbini R (2011) Final results of a phase 2A study for the treatment of metastatic neuroendocrine tumors with a fixed activity of 90Y-DOTA-D-Phe1-Tyr3 octreotide. Cancer 118:2915–2924

- Scala S, Ottaiano A, Ascierto PA, Cavalli M, Simeone E, Giuliano P, Napolitano M, Franco R, Botti G, Castello G (2005) Expression of CXCR4 predicts poor prognosis in patients with malignant melanoma. Clin Cancer Res 11:1835–1841
- Schally V, Block Norman L, Rick Ferenc G (2017) Discovery of LHRH and development of LHRH analogs for prostate cancer treatment. The Prostate 77:1036–1054
- Schmitt A, Bernhardt P, Nilsson O, Ahlman H, Kölby L, Forssell-Aronsson E (2005) Differences in biodistribution between 99mTc-depreotide, 111In-DTPA-octreotide, and 177Lu-DOTA-Tyr3-octreotate in a small cell lung cancer animal model. Cancer Biother Radiopharm 20:231–236
- Schoots O, Hernando F, Knoers NV, Burbach JPH (1999) Vasopressin Receptors: Structural Functional Relationships and Role in Neural and Endocrine Regulation. Regulatory Peptides and Cognate Receptors. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 107–133
- Schottelius M, Šimeček J, Hoffmann F, Willibald M, Schwaiger M, Wester H-J (2015) Twins in spirit episode I: comparative preclinical evaluation of [68Ga]DOTATATE and [68Ga]HA-DOTATATE. EJNMMI Res 5:22–28
- Schoumacher M, Louvard D, Vignjevic D (2011) Cytoskeleton networks in basement membrane transmigration. Eur J Cell Biol 90:93–99
- Schoumacher RA, Ram J, Iannuzzi MC, Bradbury NA, Wallace RW, Hon CT, Kelly DR, Schmid SM, Gelder FB, Rado TA (1990) A cystic fibrosis pancreatic adenocarcinoma cell line. Proc Natl Acad Sci USA 87:4012– 4016
- Schubert ML (2009) Gastric exocrine and endocrine secretion. Curr Opin Gastroenterol 25:529-536
- Schuhmacher J, Zhang H, Doll J, Mäcke HR, Matys R, Hauser H, Henze M, Haberkorn U, Eisenhut M (2005) GRP receptor-targeted PET of a rat pancreas carcinoma xenograft in nude mice with a 68Ga-labeled bombesin(6–14) analog. J Nucl Med 46:691–699
- Schweitzer P, Madamba S, Siggins GR (1990) Arachidonic acid metabolites as mediators of somatostatin-induced increase of neuronal M-current. Nature 346:464–467
- Scott AM, Wolchok JD, Old LJ (2012) Antibody therapy of cancer. Nature Rev Cancer 12:278-283
- Seethalakshmi L, Mitra SP, Dobner PR, Menon M, Carraway RE (1997) Neurotensin receptor expression in prostate cancer cell line and growth effect of NT at physiological concentrations. Prostate 31:183–192
- Segain J-P, Rolli-Derkinderen M, Gervois N, Blétière DR, Loirand G, Pacaud P (2007) Urotensin II is a new chemotactic factor for UT receptor-expressing monocytes. J Immunol 179:901–909
- Semenza GL (2000) Hypoxia, clonal selection, and the role of HIF-1 in tumor progression. Crit Rev Biochem Mol Biol 35:71–103
- Seong ZK, Lee SY, Poudel A, Oh SR, Lee HK (2016) Constituents of cryptotaenia japonica inhibit melanogenesis via CREB- and MAPK-associated signaling pathways in murine B16 melanoma cells. Molecules 21:1296
- Serio J, Ropa J, Chen W, Mysliwski M, Saha N, Chen L, Wang J, Miao H, Cierpicki T, Grembecka J, Muntean AG (2018) The PAF complex regulation of Prmt5 facilitates the progression and maintenance of MLL fusion leukemia. Oncogene 37:450–460
- Servant G, Weiner OD, Herzmark P, Balla T, Sedat JW, Bourne HR (2000) Polarization of chemoattractant receptor signaling during neutrophil chemotaxis. Science 287:1037–1040
- Seufferlein T, Rozengurt E (1996) Galanin, neurotensin, and phorbol esters rapidly stimulate activation of mitogen-activated protein kinase in small cell lung cancer cells. Cancer Res 56:5758–5764
- Sgouros G, Roeske JC, McDevitt MR, Palm S, Allen BJ, Fisher DR, Brill AB, Song H, Howell RW, Akabani G, Bolch I collaboration with the SMCWE, Brill AB, Fisher DR, Howell RW, Meredith RF, Sgouros (Chair) G, Wessels BW, Zanzonico and PB (2010) Radiobiology and Dosimetry of α-Particle Emitters for Targeted Radionuclide Therapy. J Nucl Med 51:311–328
- Shahi PK, Pineda IF (2008) Tumoral angiogenesis: review of the literature. Cancer Invest 26:104-108
- Shang D, Li Z, Zhu Z, Chen H, Zhao L, Wang X, Chen Y (2015) Baicalein suppresses 17-β-estradiol-induced migration, adhesion and invasion of breast cancer cells via the G protein-coupled receptor 30 signaling pathway. Oncol Rep 33:2077–2085

- Sharif TR, Luo W, Sharif M (1997) Functional expression of bombesin receptor in most adult and pediatric human glioblastoma cell lines; role in mitogenesis and in stimulating the mitogen-activated protein kinase pathway. Mol Cell Endocrinol 130:119–130
- Sharma K, Srikant CB (1997) Induction of wild-type p53, Bax, and acidic endonuclease during somatostatinsignaled apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. Int J Cancer 76:259–266
- Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD, DuBois RN (1998) Modulation of aoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. Cancer Res 58:362–366
- Sheng H, Shao J, Washington MK, DuBois RN (2001) Prostaglandin E2 increases growth and motility of colorectal carcinoma cells. J Biol Chem 276:18075–18081
- Shenouda A, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A (2002) Localization of urotensin-II immunoreactivity in normal human kidneys and renal carcinoma. J Histochem Cytochem 50:885–889
- Shi J, Jia B, Liu Z, Yang Z, Yu Z, Chen K, Chen X, Liu S, Wang F (2008) 99mTc-labeled bombesin(7–14)NH2 with favorable properties for SPECT imaging of colon cancer. Bioconjugate Chem 19:1170–1178
- Shi X, Gangadharan B, Brass LF, Ruf W, Mueller BM (2004) Protease-activated receptors (PAR1 and PAR2) contribute to tumor cell motility and metastasis11NIH grants CA85405 (B.M. Mueller), HL16411 (W. Ruf), and HL60742 (W. Ruf). Mol Cancer Res 2:395–402
- Shi XD, Li ZL, Wu HC, Wang TH, Fu Q, Yan QN, Tang CS (2005) Mechanism of urotensin II-stimulated adrenomedullin secretion in human vascular endothelial cells. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao 25:791–793
- Shibutani T, Onoguchi M, Kanno T, Ogihara S, Wakabayashi H, Inaki A, Hiromasa T, Taki J, Shiba K, Kinuya S (2017) Characteristics among three multi-pinhole collimators using a new small animal SPECT-PET/CT system. J Nucl Med 58:1124–1124
- Shida D, Fang X, Kordula T, Takabe K, Lépine S, Alvarez SE, Milstien S, Spiegel S (2008) Cross-talk between LPA1 and Epidermal Growth Factor Receptors Mediates Up-regulation of Sphingosine Kinase 1 to Promote Gastric Cancer Cell Motility and Invasion. Cancer Res 68:6569–6577
- Shida D, Kitayama J, Yamaguchi H, Hama K, Aoki J, Arai H, Yamashita H, Mori K, Sako A, Konishi T, Watanabe T, Sakai T, Suzuki R, Ohta H, Takuwa Y, Nagawa H (2004) Dual mode regulation of migration by lysophosphatidic acid in human gastric cancer cells. Exp Cell Res 301:168–178
- Shirai Y, Uwagawa T, Shiba H, Shimada Y, Horiuchi T, Saito N, Furukawa K, Ohashi T, Yanaga K (2017) Recombinant thrombomodulin suppresses tumor growth of pancreatic cancer by blocking thrombininduced PAR1 and NF-κB activation. Surgery 161:1675–1682
- Sibony-Benyamini H, Gil-Henn H (2012) Invadopodia: The leading force. Eur J Cell Biol 91:896-901
- Sidharta PN, Wagner FD, Bohnemeier H, Jungnik A, Halabi A, Krähenbühl S, Chadha-Boreham H, Dingemanse J (2006) Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the urotensin II receptor antagonist palosuran in macroalbuminuric, diabetic patients. . Clin Pharmacol Ther 80:246–256
- Sierra JR, Tsao MS, de Bono JS (2011) c-MET as a potential therapeutic target and biomarker in cancer. Ther Adv Med Oncol 3:21–35
- Sierra ML, Agazzi A, Bodei L, Pacifici M, Aricò D, De Cicco C, Quarna J, Sansovini M, De Simone M, Paganelli G (2009) Lymphocytic toxicity in patients after peptide-receptor radionuclide therapy (PRRT) with 177Lu-DOTATATE and 90Y-DOTATOC. Cancer Biother Radiopharm 24:659–665
- Silagi S (1969) Control of pigment production in mouse melanoma cells in vitro. Evocation and maintenance. J Cell Biol 43:263–274
- Silvestre RA, Egido EM, Hernandez R, Leprince J, Chatenet D, Tollemer H, Chartrel N, Vaudry H, Marco J (2004) Urotensin-II is present in pancreatic extracts and inhibits insulin release in the perfused rat pancreas. Eur J Endocrinol 151:803–809
- Sim PJ, Bart Wolbers W, Mitchell R (1995) Activation of MAP kinase by the LHRH receptor through a dual mechanism involving protein kinase C and a pertussis toxin-sensitive G protein. Mol Cell Endocrinol 112:257–263
- Simon MI, Strathmann MP, Gautam N (1991) Diversity of G proteins in signal transduction. Science 252:802-

808

- Singh A, Abhinay A, Kumar A, Prasad R, Ghosh A, Mishra OP (2016) Askin tumor: A rare neoplasm of thoracopulmonary region. Lung India 33:196–198
- Singh A, Nunes JJ, Ateeq B (2015) Role and therapeutic potential of G-protein coupled receptors in breast cancer progression and metastases. Eur J Pharmacol 763:178–183
- Slice LW, Wong HC, Sternini C, Grady EF, Bunnett NW, Walsh JH (1994) The conserved NPXnY motif present in the gastrin-releasing peptide receptor is not a general sequestration sequence. J Biol Chem 269:21755– 21761
- Smith CJ, Volkert WA, Hoffman TJ (2005) Radiolabeled peptide conjugates for targeting of the bombesin receptor superfamily subtypes. Nucl Med Biol 32:733–740
- Smith HO, Leslie KK, Singh M, Qualls CR, Revankar CM, Joste NE, Prossnitz ER (2007) GPR30: a novel indicator of poor survival for endometrial carcinoma. Am J Obstet Gynecol 196:386–392
- Smith JP, Fonkoua LK, Moody TW (2016) The Role of Gastrin and CCK Receptors in Pancreatic Cancer and other Malignancies. Int J Biol Sci 12:283–291
- Smith JP, Kramer ST, Demers LM (1993) Effects of gastrin and difluoromethylornithine on growth of human colon cancer. Digest Dis Sci 38:520–528
- Smith JP, Solomon TE (1988) Effects of Gastrin, Proglumide, and Somatostatin on Growth of Human Colon Cancer. Gastroenterology 95:1541–1548
- Smith JP, Solomon TE, Bagheri S, Kramer S (1990) Cholecystokinin stimulates growth of human pancreatic adenocarcinoma SW-1990. Digest Dis Sci 35:1377–1384
- Smith JS, Lefkowitz RJ, Rajagopal S (2018) Biased signalling: from simple switches to allosteric microprocessors. Nat Rev Drug Discov 17:243–260
- Smith MCP, Luker KE, Garbow JR, Prior JL, Jackson E, Piwnica-Worms D, Luker GD (2004) CXCR4 Regulates Growth of Both Primary and Metastatic Breast Cancer. Cancer Res 64:8604–8612
- Smith-Jones PM, Bischof C, Leimer M, Gludovacz D, Angelberger P, Pangerl T, Peck-Radosavljevic M, Hamilton G, Kaserer K, Kofler A, Schlagbauer-Wadl H, Traub T, Virgolini I (1999) DOTA-lanreotide: A novel somatostatin analog for tumor diagnosis and therapy. Endocrinology 140:5136–5148
- Sodickson L, Bowman W, Stephenson J, Weinstein R (1961) Single-quantum annihilation of positrons. Phys Rev 124:1851–1861
- Söll RM, Dinger MC, Lundell I, Larhammer D, Beck-Sickinger AG (2001) Novel analogues of neuropeptide Y with a preference for the Y1-receptor. Eur J Biochem 268:2828–2837
- Solomon R, Werner C, Mann D, D'Elia J, Silva P (1994) Effects of saline, mannitol, and furosemide on acute decreases in renal function induced by radiocontrast agents. N Engl J Med 331:1416–1420
- Song N, Ding W, Chu S, Zhao J, Dong X, Di B, Tang C (2012) Urotensin II stimulates vascular endothelial growth factor secretion from adventitial fibroblasts in synergy with angiotensin II. Circulation J 76:1267–1273
- Song W, Abdel-Razik AES, Lu W, Ao Z, Johns DG, Douglas SA, Balment RJ, Ashton N (2006) Urotensin II and renal function in the rat. Kidney Int 69:1360–1368
- Soni H, Adebiyi A (2017) Urotensin II-induced store-operated Ca 2+ entry contributes to glomerular mesangial cell proliferation and extracellular matrix protein production under high glucose conditions. Sci Rep 7:18049
- Sossi V, Ruth TJ (2005) Micropet imaging: in vivo biochemistry in small animals. J Neural Transm 112:319-330
- Soule HD, Vazguez J, Long A, Albert S, Brennan M (1973) A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. J Natl Cancer Inst 51:1409–1416
- Spiegelberg BD, Hamm HE (2007) Roles of G-protein-coupled receptor signaling in cancer biology and gene transcription. Curr Opin Gen Dev 17:40–44
- Spinazzi R, Albertin G, Nico B, Guidolin D, Di Liddo R, Rossi GP, Ribatti D, Nussdorfer GG (2006) Urotensin-II and its receptor (UT-R) are expressed in rat brain endothelial cells, and urotensin-II via UT-R stimulates angiogenesis in vivo and in vitro. Int J Mol Med 18:1107–1112

- Srkalovic G, Cai RZ, Schally AV (1990) Evaluation of receptors for somatostatin in various tumors using different analogs. J Clin Endocrinol Metab 70:661–669
- Stein GH (1979) T98G: an anchorage-independent human tumor cell line that exhibits stationary phase G1 arrest in vitro. J Cell Physiol 99:43–54
- Stein PD, Hull RD (2007) Multidetector computed tomography for the diagnosis of acute pulmonary embolism. Curr Opin Pulm Med 13:384–388
- Stirrat A, Gallagher M, Douglas SA, Ohlstein EH, Berry C, Kirk A, Richardson M, MacLean MR (2001) Potent vasodilator responses to human urotensin-II in human pulmonary and abdominal resistance arteries. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 280:925–928
- Stone KR, Mickey DD, Wunderli H, Mickey GH, Paulson DF (1978) Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU 145). Int J Cancer 21:274–281
- Stratmann A, Risau W, Plate KH (1998) Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis. Am J Pathol 153:1459–1466
- Strauss LG, Koczan D, Seiz M, Tuettenberg J, Schmieder K, Pan L, Cheng C, Dimitrakopoulou-Strauss A (2012) Correlation of the Ga-68-Bombesin Analog Ga-68-BZH3 with Receptors Expression in Gliomas as Measured by Quantitative Dynamic Positron Emission Tomography (dPET) and Gene Arrays. Mol Imaging Biol 14:376–383
- Strosberg J, Kvols L (2010) Antiproliferative effect of somatostatin analogs in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. World J Gastroenterol 16:2963–2970
- Strosberg JR (2013) Update on the management of unusual neuroendocrine tumors: pheochromocytoma and paraganglioma, medullary thyroid cancer and adrenocortical carcinoma. Semin Oncol 40:120–133
- Studer A, de Tribolet N, Diserens AC, Gaide AC, Matthieu JM, Carrel S, Stavrou D (1985) Characterization of four human malignant glioma cell lines. Acta Neuropathol 66:208–217
- Sue YM, Chen CH, Hsu YH, Hou CC, Cheng CY, Chen YC, Lin SL, Chen TW, Chen TH (2009) Urotensin II induces transactivation of the epidermal growth factor receptor via transient oxidation of SHP-2 in the rat renal tubular cell line NRK-52E. Growth Factors 27:155–162
- Suganuma T, Ino K, Shibata K, Kajiyama H, Nagasaka T, Mizutani S, Kikkawa F (2005) Functional expression of the angiotensin ii type1 receptor in human ovarian carcinoma cells and its blockade therapy resulting in suppression of tumor invasion, angiogenesis, and peritoneal dissemination. Clin Cancer Res 11:2686–2694
- Sugo T, Murakami Y, Shimomura Y, Harada M, Abe M, Ishibashi Y, Kitada C, Miyajima N, Suzuki N, Mori M, Fujino M (2003) Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II-immunoreactive molecule in the rat brain. Biochem Biophys Res Commun 310:860–868
- Sumi S, Beauchamp RD, Townsend CM, Pour PM, Ishizuka J, Thompson JC (1994) Lovastatin inhibits pancreatic cancer growth regardless of RAS mutation. Pancreas 9:657–661
- Sumiyoshi H, Yasui W, Ochiai A, Tahara E (1984) Effects of gastrin on tumor growth and cyclic nucleotide metabolism in xenotransplantable human gastric and colonic carcinomas in nude mice. Cancer Res 44:4276–4280
- Sun B, Schally AV, Halmos G (2000) The presence of receptors for bombesin/GRP and mRNA for three receptor subtypes in human ovarian epithelial cancers. Reg Pept 90:77–84
- Sun GC, Ho WY, Chen BR, Cheng PW, Cheng WH, Hsu MC, Yeh TC, Hsiao M, Lu PJ, Tseng CJ (2015) GPCR dimerization in brainstem nuclei contributes to the development of hypertension. Br J Pharmacol 172:2507–2518
- Sun X, Li Y, Liu T, Li Z, Zhang X, Chen X (2017) Peptide-based imaging agents for cancer detection. Adv Drug Deliv Rev 110–111:38–51
- Sun Y, Cheng Z, Ma L, Pei G (2002) β-arrestin2 is critically involved in CXCR4-mediated chemotaxis, and this is mediated by its enhancement of p38 MAPK activation. J Biol Chem 277:49212–49219
- Sunday ME, Kaplan LM, Motoyama E, Chin WW, Spindel ER (1988) Gastrin-releasing peptide (mammalian bombesin) gene expression in health and disease. Lab Invest 59:5–24

- Svet-Moldavsky GJ (1980) Dependence of gastro-intestinal tumors on gastro-intestinal hormones: pentagastrin stimulates growth of transplanted colon adenocarcinoma in mice. Biomedicine 33:259–261
- Swärd C, Bernhardt P, Ahlman H, Wängberg B, Forssell-Aronsson E, Larsson M, Svensson J, Rossi-Norrlund R, Kölby L (2010) [177Lu-DOTA0-Tyr3]-Octreotate treatment in patients with disseminated gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: the value of measuring absorbed dose to the kidney. World J Surg 34:1368–1372
- Sweet WH (1951) The uses of nuclear disintegration in the diagnosis and treatment of brain tumor. N Engl J Med 245:875–878
- Szabó I, Rumi G, Bódis B, Németh P, Mózsik G (2000) Gastrin and pentagastrin enhance the tumour proliferation of human stable cultured gastric adenocarcinoma cells. J Physiol-Paris 94:71–74
- Szepeshazi K, V. Schally A, Nagy A, Halmos G (2006) Inhibition of growth of experimental human and hamster pancreatic cancers in vivo by a targeted cytotoxic bombesin analog. Suizo 21:384–386

Γ

- Tabatabai G (2017) The Role of Integrins in Angiogenesis. Biochemical Basis and Therapeutic Implications of Angiogenesis. Springer, Cham, pp 23–36
- Taggart MD, Rippaus DN, Andreou DT, Williams MJ, Wurdak DH, Wronski MK, Lorger DM (2017) Site-specific phenotypes of cancer cells and macrophages in intracranial breast cancer metastases. Neuro Oncol 19:12–19
- Taichman RS, Cooper C, Keller ET, Pienta KJ, Taichman NS, McCauley LK (2002) Use of the stromal cellderived factor-1/CXCR4 pathway in prostate cancer metastasis to bone. Cancer Res 62:1832–1837
- Takada H, Imoto I, Tsuda H, Sonoda I, Ichikura T, Mochizuki H, Okanoue T, Inazawa J (2005) Screening of DNA copy-number aberrations in gastric cancer cell lines by array-based comparative genomic hybridization. Cancer Sci 96:100–110
- Takahashi K, Kanazawa H, Chan CT, Hosono T, Takahara M, Sato K (1990) A case of esophageal carcinoma metastatic to the mandible and characterization of two cell lines (T. T and T. Tn) established from the oral tumor. Jpn J Oral Maxillofac Surg 36:307–316
- Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Arihara Z, Noshiro T, Hayashi Y, Shibahara S (2003) Expression of urotensin II and its receptor in adrenal tumors and stimulation of proliferation of cultured tumor cells by urotensin II. Peptides 24:301–306
- Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Shibahara S (2001) Expression of urotensin II and urotensin II receptor mRNAs in various human tumor cell lines and secretion of urotensin II-like immunoreactivity by SW-13 adrenocortical carcinoma cells. Peptides 22:1175–1179
- Takai Y, Sasaki T, Matozaki T (2001) Small GTP-Binding Proteins. Physiol Rev 81:153-208
- Takeshima E, Hamaguchi M, Watanabe T, Akiyama S, Kataoka M, Ohnishi Y, Xiao HY, Nagai Y, Takagi H (1991) Aberrant elevation of tyrosine-specific phosphorylation in human gastric cancer cells. Jpn J Cancer Res 82:1428–1435
- Tal M, Ammar DA, Karpuj M, Krizhanovsky V, Naim M, Thompson DA (1995) A novel putative neuropeptide receptor expressed in neural tissue, including sensory epithelia. Biochem Biophys Res Comm 209:752–759
- Tamashiro PM, Furuya H, Shimizu Y, Kawamori T (2014) Sphingosine kinase 1 mediates head & neck squamous cell carcinoma invasion through sphingosine 1-phosphate receptor 1. Cancer Cell Int 14:76
- Tang H, Zhang Q, Yang L, Dong Y, Khan M, Yang F, Brann DW, Wang R (2014) Reprint of "GPR30 mediates estrogen rapid signaling and neuroprotection". Mol Cell Endocrinol 389:92–98
- Tang L, Han X (2013) The urokinase plasminogen activator system in breast cancer invasion and metastasis. Biomed Pharmacother 67:179–182
- Tasaki K, Hori M, Ozaki H, Karaki H, Wakabayashi I (2004) Mechanism of Human Urotensin II-Induced Contraction in Rat Aorta. J Pharmacol Sci 94:376–383
- Tate MC, Aghi MK (2009) Biology of Angiogenesis and Invasion in Glioma. Neurotherapeutics 6:447-457
- Tatemoto K (1982) Neuropeptide Y: complete amino acid sequence of the brain peptide. Proc Natl Acad Sci USA 79:5485–5489
- Tatin F, Varon C, Génot E, Moreau V (2006) A signalling cascade involving PKC, Src and Cdc42 regulates podosome assembly in cultured endothelial cells in response to phorbol ester. J Cell Sci 119:769–781
- Tatsi A, Maina T, Cescato R, Waser B, Krenning EP, de Jong M, Cordopatis P, Reubi JC, Nock BA (2014) [DOTA]Somatostatin-14 analogs and their 1111n-radioligands: Effects of decreasing ring-size on sst1–5 profile, stability and tumor targeting. Eur J Med Chem 73:30–37
- Taussig FJ (1940) Cancer of the vulva: an analysis of 155 cases (1911–1940). Am J Obstet Gynecol 40:764–779
- Tentler JJ, Tan AC, Weekes CD, Jimeno A, Leong S, Pitts TM, Arcaroli JJ, Messersmith WA, Eckhardt SG (2012) Patient-derived tumour xenografts as models for oncology drug development. Nat Rev Clin Oncol 9:338– 350
- Teunissen JJM, Kwekkeboom DJ, Krenning EP (2004) Quality of life in patients with gastroenteropancreatic tumors treated with [177Lu-DOTA0,Tyr3]octreotate. J Clin Oncol 22:2724–2729
- Teunissen JJM, Kwekkeboom DJ, Krenning EP (2006) Staging and treatment of differentiated thyroid carcinoma with radiolabeled somatostatin analogs. Trends Endocrinol Metab 17:19–25
- Thakur ML, Marcus CS, Saeed S, Pallela V, Minami C, Diggles L, Le Pham H, Ahdoot R, Kalinowski EA (2000) 99mTc-labeled vasoactive intestinal peptide analog for rapid localization of tumors in humans. J Nucl Med 41:107–110
- Thiele S, Mungalpara J, Steen A, Rosenkilde MM, Våbenø J (2014) Determination of the binding mode for the cyclopentapeptide CXCR4 antagonist FC131 using a dual approach of ligand modifications and receptor mutagenesis. Br J Pharmacol 171:5313–5329
- Tian L, Li C, Qi J, Fu P, Yu X, Li X, Cai L (2008) Diabetes-induced upregulation of urotensin II and its receptor plays an important role in TGF-β1-mediated renal fibrosis and dysfunction. Am J Physiol-Endocrinol Metabolism 295:E1234–E1242
- Tjandrawinata RR, Dahiya R, Hughes-Fulford M (1997) Induction of cyclo-oxygenase-2 mRNA by prostaglandin E2 in human prostatic carcinoma cells. Br J Cancer 75:1111–1118
- Tom BH, Rutzky LP, Jakstys MM, Oyasu R, Kaye CI, Kahan BD (1976) Human colonic adenocarcinoma cells. Establishment and description of a new line. In Vitro 12:180–191
- Tostivint H, Joly L, Lihrmann I, Parmentier C, Lebon A, Morisson M, Calas A, Ekker M, Vaudry H (2006) Comparative genomics provides evidence for close evolutionary relationships between the urotensin II and somatostatin gene families. PNAS 103:2237–2242
- Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Satoh F, Ito S, Kimura Y, Sasano H, Murakami O (2001) Role of urotensin II in patients on dialysis. The Lancet 358:810–811
- Townsend CM, Franklin RB, Gelder FB, Glass E, Thompson JC (1982) Development of a transplantable model of pancreatic duct adenocarcinoma. Surgery 92:72–78
- Traub-Weidinger T, Raderer M, Uffmann M, Angelberger P, Kurtaran A, Leimer M, Preitfellner J, Dudczak R, Virgolini I (2011) Improved quality of life in patients treated with peptide radionuclides. World J Nucl Med 10:115–121
- Trebicka J, Leifeld L, Hennenberg M, Biecker E, Eckhardt A, Fischer N, Pröbsting AS, Clemens C, Lammert F, Sauerbruch T, Heller J (2007) Hemodynamic effects of urotensin II and its specific receptor antagonist palosuran in cirrhotic rats. Hepatology 47:1264–1276
- Treglia G, Castaldi P, Rindi G, Giordano A, Rufini V (2012) Diagnostic performance of Gallium-68 somatostatin receptor PET and PET/CT in patients with thoracic and gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours: a meta-analysis. Endocrine 42:80–87
- Tsai CS, Loh SH, Liu JC, Lin JW, Chen YL, Chen CH, Cheng TH (2009) Urotensin II-induced endothelin-1 expression and cell proliferation via epidermal growth factor receptor transactivation in rat aortic smooth

muscle cells. Atherosclerosis 206:86–94

- Tsai KW, Hu LY, Chen TW, Li SC, Ho MR, Yu SY, Tu YT, Chen WS, Lam HC (2015) Emerging role of microRNAs in modulating endothelin-1 expression in gastric cancer. Oncol Rep 33:485–493
- Tsai SW, Sun Y, Williams LE, Raubitschek AA, Wu AM, Shively JE (2000) Biodistribution and radioimmunotherapy of human breast cancer xenografts with radiometal-labeled DOTA conjugated znti-HER2/neu antibody 4D5. Bioconjugate Chem 11:327–334
- Tsao MS, Smith JD, Nelson KG, Grisham JW (1984) A diploid epithelial cell line from normal adult rat liver with phenotypic properties of "oval" cells. Exp Cell Res 154:38–52
- Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN (1998) Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. Cell 93:705–716
- Tumilowicz JJ, Nichols WW, Cholon JJ, Greene AE (1970) Definition of a continuous human cell line derived from neuroblastoma. Cancer Res 30:2110–2118
- Tzanidis A, Hannan RD, Thomas WG, Onan D, Autelitano DJ, See F, Kelly DJ, Gilbert RE, Krum H (2003) Direct actions of urotensin ii on the heart: implications for cardiac fibrosis and hypertrophy. Circ Res 93:246–253

$$U - V$$

- Uchida D, Begum NM, Almofti A, Nakashiro K ichi, Kawamata H, Tateishi Y, Hamakawa H, Yoshida H, Sato M (2003) Possible role of stromal-cell-derived factor-1/CXCR4 signaling on lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. Exp Cell Res 290:289–302
- Uemura H, Hoshino K, Kubota Y (2011) Engagement of renin-angiotensin system in prostate cancer. Curr Cancer Drug Targets 11:442–450
- Unver N, Esendagli G, Yilmaz G, Guc D (2015) CXCL7-induced macrophage infiltration in lung tumor is independent of CXCR2 expression: CXCL7-induced macrophage chemotaxis in LLC tumors. Cytokine 75:330–337
- Valkema R, De Jong M, Bakker WH, Breeman WA p, Kooij PP m, Lugtenburg PJ, De Jong FH, Christiansen A, Kam BL r, De Herder WW, Stridsberg M, Lindemans J, Ensing G, Krenning EP (2002) Phase I study of peptide receptor radionuclide therapy with [In-DTPA]octreotide: the Rotterdam experience. Semin Nucl Med 32:110–122
- Valkema R, Pauwels S, Kvols LK, Barone R, Jamar F, Bakker WH, Kwekkeboom DJ, Bouterfa H, Krenning EP (2006) Survival and response after peptide receptor radionuclide therapy with [90Y-DOTA0,Tyr3]octreotide in patients with advanced gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. Semin Nucl Med 36:147–156
- Valkema R, Pauwels SA, Kvols LK, Kwekkeboom DJ, Jamar F, Jong M de, Barone R, Walrand S, Kooij PPM, Bakker WH, Lasher J, Krenning EP (2005) Long-Term Follow-Up of Renal Function After Peptide Receptor Radiation Therapy with 90Y-DOTA0,Tyr3-Octreotide and 177Lu-DOTA0, Tyr3-Octreotate. J Nucl Med 46:83–91
- Valverde IE, Vomstein S, Mindt TL (2016) Toward the optimization of bombesin-based radiotracers for tumor targeting. J Med Chem 59:3867–3877
- Vanneman M, Dranoff G (2012) Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. Nat Rev Cancer 12:237
- Varasteh Z, Rosenström U, Velikyan I, Mitran B, Altai M, Honarvar H, Rosestedt M, Lindeberg G, Sörensen J, Larhed M, Tolmachev V, Orlova A (2014) The effect of mini-PEG-based spacer length on binding and pharmacokinetic properties of a 68Ga-labeled NOTA-conjugated antagonistic analog of bombesin. Molecules 19:10455–10472
- Varasteh Z, Velikyan I, Lindeberg G, Sörensen J, Larhed M, Sandström M, Selvaraju RK, Malmberg J, Tolmachev

V, Orlova A (2013) Synthesis and characterization of a high-affinity NOTA-Conjugated bombesin antagonist for GRPR-targeted tumor imaging. Bioconjugate Chem 24:1144–1153

- Veber DF, Freidinger RM, Perlow DS, Jr WJP, Holly FW, Strachan RG, Nutt RF, Arison BH, Homnick C, Randall WC, Glitzer MS, Saperstein R, Hirschmann R (1981) A potent cyclic hexapeptide analogue of somatostatin. Nature 292:55–58
- Vegt E, Jong M de, Wetzels JFM, Masereeuw R, Melis M, Oyen WJG, Gotthardt M, Boerman OC (2010) Renal toxicity of radiolabeled peptides and antibody fragments: mechanisms, impact on radionuclide therapy, and strategies for prevention. J Nucl Med 51:1049–1058
- Verellen D, Ridder MD, Linthout N, Tournel K, Soete G, Storme G (2007) Innovations in image-guided radiotherapy. Nat Rev Cancer 7:nrc2288
- Vergura R, Camarda V, Rizzi A, Spagnol M, Guerrini R, Calo' G, Salvadori S, Regoli D (2004) Urotensin II stimulates plasma extravasation in mice via UT receptor activation. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 370:347–352
- Vicari AP, Caux C (2002) Chemokines in cancer. Cytokine Growth Factor Rev 13:143-154
- Vinjamuri S, Gilbert TM, Banks M, McKane G, Maltby P, Poston G, Weissman H, Palmer DH, Vora J, Pritchard DM, Cuthbertson DJ (2013) Peptide receptor radionuclide therapy with 90Y-DOTATATE/90Y-DOTATOC in patients with progressive metastatic neuroendocrine tumours: assessment of response, survival and toxicity. Br J Cancer 108:1440–1448
- Vinson GP, Barker S, Puddefoot JR (2012) The renin–angiotensin system in the breast and breast cancer. Endocr Relat Cancer 19:R1–R19
- Violin JD, Crombie AL, Soergel DG, Lark MW (2014) Biased ligands at G-protein-coupled receptors: promise and progress. Trends Pharmacol Sci 35:308–316
- Violin JD, Lefkowitz RJ (2007) β-Arrestin-biased ligands at seven-transmembrane receptors. Trends Pharmacol Sci 28:416–422
- Visser M de, Janssen PJJM, Srinivasan A, Reubi JC, Waser B, Erion JL, Schmidt MA, Krenning EP, Jong M de (2003) Stabilised 111In-labelled DTPA- and DOTA-conjugated neurotensin analogues for imaging and therapy of exocrine pancreatic cancer. Eur J Nucl Med Mol Imaging 30:1134–1139
- Vivanti R, Szeskin A, Lev-Cohain N, Sosna J, Joskowicz L (2017) Automatic detection of new tumors and tumor burden evaluation in longitudinal liver CT scan studies. Int J Comput Assist Radiol Surg
- Vlychou M, Kokkinis C, Stathopoulou S, Tsilikas C, Lazoura O, Petinelli A, Papadaki P, Fezoulidis I (2008) Imaging investigation of a giant splenic artery aneurysm. Angiology 59:503–506
- Voisin T, Firar AE, Fasseu M, Rouyer-Fessard C, Descatoire V, Walker F, Paradis V, Bedossa P, Henin D, Lehy T, Laburthe M (2011) Aberrant expression of OX1 receptors for orexins in colon cancers and liver metastases : an openable gate to apoptosis. Cancer Res 71:3341–3351
- Vouret-Craviari V, Van Obberghen-Schilling E, Scimeca JC, Van Obberghen E, Pouysségur J (1993) Differential activation of p44mapk (ERK1) by alpha-thrombin and thrombin-receptor peptide agonist. Biochem J 289:209–214
- Vuong HG, Kondo T, Duong UNP, Pham TQ, Oishi N, Mochizuki K, Nakazawa T, Hassell L, Katoh R (2017) Prognostic impact of vascular invasion in differentiated thyroid carcinoma: a systematic review and metaanalysis. Eur J Endocrinol 177:207–216

W

- Waldherr C, Pless M, Maecke HR, Haldemann A, Mueller-Brand J (2001) The clinical value of [90Y-DOTA]-D-Phe1-Tyr3-octreotide (90Y-DOTATOC) in the treatment of neuroendocrine tumours: A clinical phase II study. Ann Oncol 12:941–945
- Waldherr C, Pless M, Maecke HR, Schumacher T, Crazzolara A, Nitzsche EU, Haldemann A, Mueller-Brand J (2002) Tumor response and clinical benefit in neuroendocrine tumors after 7.4 GBq 90Y-DOTATOC. J Nucl Med 43:610–616
- Walenkamp AME, Lapa C, Herrmann K, Wester H-J (2017) CXCR4 ligands: the next big hit? J Nucl Med 58:77S-82S
- Wall MA, Coleman DE, Lee E, Iñiguez-Lluhi JA, Posner BA, Gilman AG, Sprang SR (1995) The structure of the G protein heterotrimer Giα1β1γ2. Cell 83:1047–1058
- Wang H, Dong K, Xue X, Feng P, Wang X (2011) Elevated expression of urotensin II and its receptor in diethylnitrosamine-mediated precancerous lesions in rat liver. Peptides 32:382–387
- Wang HX, Zeng XJ, Liu Y, Wang J, Lu LQ, Hao G, Zhang LK, Tang CS (2009) Elevated expression of urotensin II and its receptor in skeletal muscle of diabetic mouse. Regul Pept 154:85–90
- Wang J, Cho NL, Zauber AG, Hsu M, Dawson D, Srivastava A, Mitchell-Richards K, Markowitz SD, Bertagnolli MM (2017) Expression of COX-2 and 15-PGDH in adenomas removed during pretreatment colonoscopy to predict chemopreventive efficacy of the selective COX-2 inhibitor, celecoxib. J Clin Oncol 35:524– 524
- Wang Y, Ohh M (2010) Oxygen-mediated endocytosis in cancer. J Cell Mol Med 14:496-503
- Wang Y, Simonson MS, Pouysségur J, Dunn MJ (1992) Endothelin rapidly stimulates mitogen-activated protein kinase activity in rat mesangial cells. Biochem J 287:589–594
- Wang Y, Wu JF, Tang Y-Y, Zhang M, Li Y, Chen K, Zeng MY, Yao F, Xie W, Zheng XL, Zeng GF, Tang CK (2014) Urotensin II increases foam cell formation by repressing ABCA1 expression through the ERK/NFκB pathway in THP-1 macrophages. Biochemical and Biophysical Research Communications 452:998– 1003
- Wang Z, Liu H, Shen Z, Wang X, Zhang H, Qin J, Xu J, Sun Y, Qin X (2015) The prognostic value of CXCchemokine receptor 2 (CXCR2) in gastric cancer patients. BMC Cancer 15:766
- Wang ZL, Bennet WM, Wang RM, Ghatei MA, Bloom SR (1994) Evidence of a paracrine role of neuropeptide-Y in the regulation of insulin release from pancreatic islets of normal and dexamethasone-treated rats. Endocrinology 135:200–206
- Watanabe T, Pakala R, Katagiri T, Benedict CR (2001) Synergistic effect of urotensin II with serotonin on vascular smooth muscle cell proliferation. J Hypertens 19:2191
- Watanabe T, Suguro T, Kanome T, Sakamoto Y, Kodate S, Hagiwara T, Hongo S, Hirano T, Adachi M, Miyazaki A (2005) Human urotensin II accelerates foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. Hypertension 46:738–744
- Watson S, Durrant L, Morris D (1989) Gastrin: growth enhancing effects on human gastric and colonic tumour cells. Br J Cancer 59:554–558
- Watt HL, Kharmate G, Kumar U (2008) Biology of somatostatin in breast cancer. Mol Cell Endocrinol 286:251– 261
- Way DL, Grosso DS, Davis JR, Surwit EA, Christian CD (1983) Characterization of a new human endometrial carcinoma (RL95-2) established in tissue culture. In Vitro 19:147–158
- Wei H, Ahn S, Shenoy SK, Karnik SS, Hunyady L, Luttrell LM, Lefkowitz RJ (2003) Independent β-arrestin 2 and G protein-mediated pathways for angiotensin II activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2. PNAS 100:10782–10787
- Wei H, Yu X, Xue X, Liu H, Wang M, Li Y, Wang X, Ding H (2017) Urotensin II receptor as a potential biomarker

for the prognosis of hepatocellular carcinoma patients. Oncol Lett 14:2749-2756

- Wei L, Petryk J, Gaudet C, Kamkar M, Gan W, Duan Y, Ruddy TD (2018) Development of an inflammation imaging tracer, 111In-DOTA-DAPTA, targeting chemokine receptor CCR5 and preliminary evaluation in an ApoE-/- atherosclerosis mouse model. J Nucl Cardiol 1:1–10
- Wei W, Chen ZJ, Zhang KS, Yang XL, Wu YM, Chen XH, Huang HB, Liu HL, Cai SH, Du J, Wang HS (2014) The activation of G protein-coupled receptor 30 (GPR30) inhibits proliferation of estrogen receptornegative breast cancer cells in vitro and in vivo. Cell Death Dis 5:1428–1433

Weichselbaum RR, Hellman S (2011) Oligometastases revisited. Nat Rev Clin Oncol 8:11-23

- Weiss ID, Jacobson O (2013) Molecular imaging of chemokine receptor CXCR4. Theranostics 3:76-84
- Weiss ID, Jacobson O, Kiesewetter DO, Jacobus JP, Szajek LP, Chen X, Farber JM (2012) Positron emission tomography imaging of tumors expressing the human chemokine receptor CXCR4 in mice with the use of 64Cu-AMD3100. Mol Imaging Biol 14:106–114
- Weissleder R (2006) Molecular imaging in cancer. Science 312:1168-1171
- Weissleder R, Pittet MJ (2008) Imaging in the era of molecular oncology. Nature 452:580-589
- Werle M, Bernkop-Schnürch A (2006) Strategies to improve plasma half life time of peptide and protein drugs. Amino Acids 30:351–367
- Wernick MN, Aarsvold JN (2004) Emission Tomography: The Fundamentals of PET and SPECT. Elsevier,
- Wettstein JG, Earley B, Junien JL (1995) Central nervous system pharmacology of neuropeptide Y. Pharmacology & Therapeutics 65:397–414
- Wiele CV de, Dumont F, Broecke RV, Oosterlinck W, Cocquyt V, Serreyn R, Peers S, Thornback J, Slegers G, Dierckx RA (2000) Technetium-99m RP527, a GRP analogue for visualisation of GRP receptorexpressing malignancies: a feasibility study. Eur J Nucl Med 27:1694–1699
- Wild D, Fani M, Behe M, Brink I, Rivier J, Reubi J, Maecke H, Weber W (2010) First clinical evaluation of somatostatin receptor antagonist imaging. J Nucl Med 51:483–483
- Wild D, Fani M, Fischer R, Pozzo LD, Kaul F, Krebs S, Fischer R, Rivier JEF, Reubi JC, Maecke HR, Weber WA (2014) Comparison of Somatostatin Receptor Agonist and Antagonist for Peptide Receptor Radionuclide Therapy: A Pilot Study. J Nucl Med 55:1248–1252
- Wild D, Frischknecht M, Zhang H, Morgenstern A, Bruchertseifer F, Boisclair J, Provencher-Bolliger A, Reubi J-C, Maecke HR (2011) Alpha- versus beta-particle radiopeptide therapy in a human prostate cancer model (213Bi-DOTA-PESIN and 213Bi-AMBA versus177Lu-DOTA-PESIN). Cancer Res 71:1009–1018
- Williams RS, Lefkowitz RJ (1978) Alpha-adrenergic receptors in rat myocardium. Identification by binding of [3H]dihydroergocryptine. Circ Res 43:721–727
- Willmann JK, Bruggen N van, Dinkelborg LM, Gambhir SS (2008) Molecular imaging in drug development. Nat Rev Drug Discov 7:591–607
- Wilson WR, Hay MP (2011) Targeting hypoxia in cancer therapy. Nat Rev Cancer 11:393
- Winsett OE, Townsend CM, Glass EJ, Thompson JC (1986) Gastrin stimulates growth of colon cancer. Surgery 99:302–307
- Witt AE, Hines LM, Collins NL, Hu Y, Gunawardane RN, Moreira D, Raphael J, Jepson D, Koundinya M, Rolfs A, Taron B, Isakoff SJ, Brugge JS, LaBaer J (2006) Functional proteomics approach to investigate the biological activities of cDNAs implicated in breast cancer. J Proteome Res 5:599–610
- Wittpoth C, Scholich K, Yigzaw Y, Stringfield TM, Patel TB (1999) Regions on adenylyl cyclase that are necessary for inhibition of activity by $\beta\gamma$ and Gia subunits of heterotrimeric G proteins. PNAS 96:9551–9556
- Wojcechowskyj JA, Lee JY, Seeholzer SH, Doms RW (2011) Quantitative phosphoproteomics of CXCL12 (SDF-1) signaling. PLoS ONE 6:18–24
- Woodhouse EC, Chuaqui RF, Liotta LA (1997) General mechanisms of metastasis. Cancer 80:1529–1537
- Woodley JF (1994) Enzymatic barriers for GI peptide and protein delivery. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 11:61-

95

- Wright DH, Ford-Hutchinson AW, Chadee K, Metters KM (2000) The human prostanoid DP receptor stimulates mucin secretion in LS174T cells. Br J Pharmacol 131:1537–1545
- Wright WC, Daniels WP, Fogh J (1981) Distinction of seventy-one cultured human tumor cell lines by polymorphic enzyme analysis. J Natl Cancer Inst 66:239–247
- Wu YQ, Song Z, Zhou CH, Xing SH, Pei DS, Zheng JN (2010) Expression of urotensin II and its receptor in human lung adenocarcinoma A549 cells and the effect of urotensin II on lung adenocarcinoma growth in vitro and in vivo. Oncol Rep 24:1179–1184
- Wulfert S, Kratochwil C, Choyke PL, Afshar-Oromieh A, Mier W, Kauczor H-U, Schenk J-P, Haberkorn U, Giesel FL (2014) Multimodal imaging for early functional response assessment of 90Y-177Lu-DOTATOC peptide receptor targeted radiotherapy with DW-MRI and 68Ga-DOTATOC-PET/CT. Mol Imaging Biol 16:586–594
- Wu-Wong JR, Chiou WJ, Magnuson SR, Opgenorth TJ (1995) Endothelin receptor in human astrocytoma U373MG cells: binding, dissociation, receptor internalization. J Pharmacol Exp Ther 274:499–507

$$X - Y$$

- Xu H, Fu S, Chen Q, Gu M, Zhou J, Liu C, Chen Y, Wang Z (2017) The function of oxytocin: a potential biomarker for prostate cancer diagnosis and promoter of prostate cancer. Oncotarget 8:31215–31226
- Xu S, Jiang H, Wu B, Yang J, Chen S (2009) Urotensin II Induces Migration of Endothelial Progenitor Cells via Activation of the RhoA/Rho Kinase Pathway. Tohoku J Exp Med 219:283–288
- Xu S, Wen H, Jiang H (2012) Urotensin II promotes the proliferation of endothelial progenitor cells through p38 and p44/42 MAPK activation. Mol Med Rep 6:197–200
- Yamamoto H, Okada R, Tanaka R, Unno K, Iguchi K (2017) Expression of a urokinase-type plasminogen activator during tumor growth leads to angiogenesis via galanin activation in tumor-bearing mice. FEBS Open Bio 7:1784–1792
- Yamoah K, Showalter TN, Ohri N (2015) Radiotherapy intensification for solid tumors: a systematic review of randomized trials. Int J Radiat Oncol Biol Phys 93:737–745
- Yang M, Zhong WW, Srivastava N, Slavin A, Yang J, Hoey T, An S (2005) G protein-coupled lysophosphatidic acid receptors stimulate proliferation of colon cancer cells through the β-catenin pathway. PNAS 102:6027–6032
- Yasui W, Sumiyoshi H, Ochiai A, Tahara E (1986) Cholecystokinin inhibition of tumor growth and gastrinstimulated cyclic adenosine 3':5'-monophosphate metabolism in human gastric carcinoma in nude mice. Cancer Res 46:740–743
- Yi K, Yu M, Wu L, Tan X (2012) Effects of urotensin II on functional activity of late endothelial progenitor cells. Peptides 33:87–91
- Yin Y-J, Katz V, Salah Z, Maoz M, Cohen I, Uziely B, Turm H, Grisaru-Granovsky S, Suzuki H, Bar-Shavit R (2006) Mammary gland tissue targeted overexpression of human protease-activated receptor 1 reveals a novel link to β-catenin stabilization. Cancer Res 66:5224–5233
- Yopp AC, Shia J, Butte JM, Allen PJ, Fong Y, Jarnagin WR, DeMatteo RP, D'Angelica MI (2011) CXCR4 expression predicts patient outcome and recurrence patterns after hepatic resection for colorectal liver metastases. Ann Surg Oncol 19:339–346
- Yoshiji H, Kuriyama S, Noguchi R, Yoshii J, Ikenaka Y, Yanase K, Namisaki T, Kitade M, Yamazaki M, Masaki T, Fukui H (2005) Combination of vitamin K2 and the angiotensin-converting enzyme inhibitor, perindopril, attenuates the liver enzyme-altered preneoplastic lesions in rats via angiogenesis suppression. J Hepatol 42:687–693
- Yu HS, Lin TH, Tang CH (2013) Bradykinin enhances cell migration in human prostate cancer cells through B2

receptor/PKC8/c-Src dependent signaling pathway. Prostate 73:89-100

- Yu HS, Wang SW, Chang AC, Tai HC, Yeh HI, Lin YM, Tang CH (2014a) Bradykinin promotes vascular endothelial growth factor expression and increases angiogenesis in human prostate cancer cells. Biochemical Pharmacology 87:243–253
- Yu MO, Park KJ, Park DH, Chung YG, Chi SG, Kang SH (2015a) Reactive oxygen species production has a critical role in hypoxia-induced Stat3 activation and angiogenesis in human glioblastoma. J Neurooncol 125:55–63
- Yu XT, Wang PY, Shi ZM, Dong K, Feng P, Wang HX, Wang XJ (2014b) Up-regulation of urotensin II and its receptor contributes to human hepatocellular carcinoma growth via activation of the PKC, ERK1/2, and p38 MAPK signaling pathways. Molecules 19:20768–20779
- Yu XT, Wang PY, Shi ZM, Dong K, Feng P, Wang HX, Wang XJ (2015b) Urotensin-II-mediated reactive oxygen species generation via NADPH oxidase pathway contributes to hepatic oval cell proliferation. PLoS ONE 10:14–22
- Yu Y, Guan H, Xing LG, Xiang YB (2015c) Role of gross tumor volume in the prognosis of non-small cell lung cancer treated with 3D conformal radiotherapy: a meta-analysis. Clin Ther 37:2256–2266
- Yulis CR, Lederis K (1986) Extraurophyseal distribution of urotensin II immunoreactive neuronal perikarya and their processes. PNAS 83:7079–7083

Ζ

- Zagzag D, Krishnamachary B, Yee H, Okuyama H, Chiriboga L, Ali MA, Melamed J, Semenza GL (2005) Stromal cell–derived factor-1α and CXCR4 expression in hemangioblastoma and clear cell-renal cell carcinoma: von Hippel-Lindau loss-of-function induces expression of a ligand and its receptor. Cancer Res 65:6178–6188
- Zagzag D, Lukyanov Y, Lan L, Ali MA, Esencay M, Mendez O, Yee H, Voura EB, Newcomb EW (2006) Hypoxia-inducible factor 1 and VEGF upregulate CXCR4 in glioblastoma: implications for angiogenesis and glioma cell invasion. Lab Invest 86:1221–1232
- Zaknun JJ, Bodei L, Mueller-Brand J, Pavel ME, Baum RP, Hörsch D, O'Dorisio MS, O'Dorisiol TM, Howe JR, Cremonesi M, Kwekkeboom DJ (2013) The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy (PRRNT) in neuroendocrine tumours. Eur J Nucl Med Mol Imaging 40:800–816
- Zeelenberg IS, Stalle LR-V, Roos E (2003) The chemokine receptor CXCR4 is required for outgrowth of colon carcinoma micrometastases. Cancer Res 63:3833–3839
- Zhai C, Summer D, Rangger C, Franssen GM, Laverman P, Haas H, Petrik M, Haubner R, Decristoforo C (2015) Novel bifunctional cyclic chelator for 89Zr labeling–radiolabeling and targeting properties of RGD conjugates. Mol Pharmaceutics 12:2142–2150
- Zhang H, Bialkowska A, Rusovici R, Chanchevalap S, Shim H, Katz JP, Yang VW, Yun CC (2007a) Lysophosphatidic acid facilitates proliferation of colon cancer cells via induction of Krüppel-like factor. J Biol Chem 282:15541–15549
- Zhang H, Chen J, Waldherr C, Hinni K, Waser B, Reubi JC, Maecke HR (2004) Synthesis and evaluation of bombesin derivatives on the basis of pan-bombesin peptides labeled with indium-111, lutetium-177, and yttrium-90 for targeting bombesin receptor-expressing tumors. Cancer Res 64:6707–6715
- Zhang L-F, Ding W-H, Shi L-B, Li K, Haom Y-J, Ke Y-N, Tang Z-S (2009) Effects of exogenous urotensin II on vascular remodelling after balloon injury. Clin Exp Hypertens 37:477–481
- Zhang L-J, Xie Q, Tang C-S, Zhang A-H (2017) Expressions of irisin and urotensin II and their relationships with blood pressure in patients with preeclampsia. Clin Exp Hypertens 39:460–467
- Zhang Q, Bhola NE, Lui VWY, Siwak DR, Thomas SM, Gubish CT, Siegfried JM, Mills GB, Shin D, Grandis JR

(2007b) Antitumor mechanisms of combined gastrin-releasing peptide receptor and epidermal growth factor receptor targeting in head and neck cancer. Mol Cancer Ther 6:1414–1424

- Zhang W xi, Liang Y, Wang X ming, Nie Y, Chong L, Lin L, Chen C, Li C chong (2012) Urotensin upregulates transforming growth factor-β1 expression of asthma airway through ERK-dependent pathway. Mol Cell Biochem 364:291–298
- Zhang X, Su L, Pirani AA, Wu H, Zhang H, Shin DM, Gernert KM, Chen ZG (2006) Understanding metastatic SCCHN cells from unique genotypes to phenotypes with the aid of an animal model and DNA microarray analysis. Clin Exp Metastasis 23:209–222
- Zhang Y, Bao S, Kuang Z, Ma Y, Hu Y, Mao Y (2014) Urotensin II promotes monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic adventitial fibroblasts of rat. Chin Med J (Engl) 127:1907–1912
- Zhang Y gang, Li Y guang, Liu B guo, Wei R hong, Wang D ming, Tan X rui, Bu D fang, Pang Y zheng, Tang C shu (2007c) Urotensin II accelerates cardiac fibrosis and hypertrophy of rats induced by isoproterenol1. Acta Pharmacol Sin 28:36–43
- Zhang YG, Kuang ZJ, Mao YY, Wei RH, Bao SL, Wu LB, Li YG, Tang CS (2011) Osteopontin is involved in urotensin II-induced migration of rat aortic adventitial fibroblasts. Peptides 32:2452–2458
- Zhang YG, Li J, Li YG, Wei RH (2008) Urotensin II induces phenotypic differentiation, migration, and collagen synthesis of adventitial fibroblasts from rat aorta. J Hypertens 26:1119
- Zhao J, Chen L, Shu B, Tang J, Zhang L, Xie J, Qi S, Xu Y (2014)) Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor influences angiogenesis by regulating the coordinated expression of VEGF and the Ang/Tie system. PLoS ONE 9:e92691
- Zhao JK, Wu M, Kim CH, Jin ZY, Zhou JY, Han RQ, Yang J, Zhang XF, Wang XS, Liu AM, Gu X, Su M, Hu X, Sun Z, Li G, Li L, Mu L, Zhang ZF (2017) Jiangsu Four cancers study: a large case–control study of lung, liver, stomach, and esophageal cancers in Jiangsu Province, China. Eur J Cancer Prev 26:357
- Zheng J, Thylin MR, Ghorpade A, Xiong H, Persidsky Y, Cotter R, Niemann D, Che M, Zeng Y-C, Gelbard HA, Shepard RB, Swartz JM, Gendelman HE (1999) Intracellular CXCR4 signaling, neuronal apoptosis and neuropathogenic mechanisms of HIV-1-associated dementia. J Neuroimmunol 98:185–200
- Zhong M, Boseman ML, Millena AC, Khan SA (2010) Oxytocin induces the migration of prostate cancer cells: involvement of the Gi-coupled signaling pathway. Mol Cancer Res 8:1164–1172
- Zhou CH, Wan YY, Chu XH, Song Z, Xing SH, Wu YQ, Yin XX (2012) Urotensin II contributes to the formation of lung adenocarcinoma inflammatory microenvironment through the NF-κB pathway in tumor-bearing nude mice. Oncol Lett 4:1259–1263
- Zhukova E, Sinnett-Smith J, Rozengurt E (2001) Protein kinase D potentiates DNA synthesis and cell proliferation induced by bombesin, vasopressin, or phorbol esters in Swiss 3T3 cells. J Biol Chem 276:40298–40305
- Ziltener P, Mueller C, Haenig B, Scherz MW, Nayler O (2002) Urotensin Ii mediates Erk1/2 phosphorylation and proliferation in Gpr14-transfected cell lines. J Recept Signal Transduct 22:155–168
- Zou LQ, Zhang BL, Chang Q, Zhu FP, Mao YY, Wei YQ, Guan YS (2014) 3D conformal radiotherapy combined with transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol 20:17227–17234
- Zwanziger D, Khan IU, Neundorf I, Sieger S, Lehmann L, Friebe M, Dinkelborg L, Beck-Sickinger AG (2008) Novel chemically modified analogues of neuropeptide Y for tumor targeting. Bioconjug Chem 19:1430– 1438
- Zylla Dylan, Gourley Brett L., Vang Derek, Jackson Scott, Boatman Sonja, Lindgren Bruce, Kuskowski Michael A., Le Chap, Gupta Kalpna, Gupta Pankaj (2013) Opioid requirement, opioid receptor expression, and clinical outcomes in patients with advanced prostate cancer. Cancer 119:4103–4110

RÉSUMÉ

La surexpression de récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) dans certains cancers est mise à profit en médecine nucléaire pour développer des radioligands capables de diagnostiquer la présence de tumeurs. A titre d'exemple, des analogues de la somatostatine marqués à l'indium-111 (¹¹¹In-OctreoScan) sont utilisés pour le diagnostic de tumeurs neuroendocrines. L'urotensine II (UII), qui présente des homologies structurales avec la somatostatine, est considérée comme le neuropeptide vasoactif le plus puissant découvert à ce jour. L'UII interagit avec un unique RCPG de très haute affinité appelé UT, classiquement couplé à la voie Ga_a/PLC/IP₃/Ca²⁺. L'UII exerce notamment des activités pro-mitotiques et chémoattractantes et une expression élevée de l'UT a été rapportée dans plusieurs types de tumeurs solides humaines provenant des poumons, de l'intestin, de la prostate ou du sein. Ces données suggèrent que l'UT pourrait être une cible prometteuse pour concevoir des analogues urotensinergiques radiomarqués à finalités diagnostiques voire thérapeutiques. Deux analogues urotensinergiques capables de lier des isotopes radioactifs (le DOTA-UII et le DOTA-urantide) ont été synthétisés et radiomarqués avec succès avec l'¹¹¹In. L'incubation de l'¹¹¹In-DOTA-UII dans du plasma humain a révélé que seulement 30% du radioligand étaient dégradés après 3 heures d'incubation. L'administration de concentrations croissantes de DOTA-UII et de DOTA-urantide sur des cellules HEK-293 exprimant l'UT induit une augmentation dosedépendante de la concentration cytosolique de calcium, avec une puissance et une efficacité similaires à celles obtenues avec l'UII (EC₅₀: 1,26 10⁻⁸ M et 2,09 10⁻⁸ M, UII et DOTA-UII, respectivement) et urantide (EC₅₀: 1,82 10⁻⁸ M et 1,52 10⁻⁸ M, urantide et DOTA-urantide, respectivement). Alors que la fixation sur l'UT du DOTA-UII ou l'UII entraîne l'internalisation du complexe ligand-récepteur (ELISA et immunocytochimie) dans les cellules HEK-293 exprimant l'UT, l'urantide et le DOTA-urantide restent inactifs.

L'injection intraveineuse de l'¹¹¹In-DOTA-UII chez des souris C57BL/6 a révélé un léger signal principalement restreint dans les reins, indiquant une clairance rapide du peptide. Des résultats similaires ont été obtenus avec des souris dont le gène codant l'UT a été invalidé (mUTS2R^{-/-}) ou des souris exprimant constitutivement la forme humaine de l'UT (mUTS2R^{-/-} hUTS2R^{+/+}). Enfin, l'¹¹¹In-DOTA-UII a été injecté chez des souris Nudes porteuses de xénogreffes hétérotopiques de cellules humaines A549 (adénocarcinome pulmonaire) ou DLD-1 (adénocarcinome colorectal), exprimant fonctionnellement l'UT, comme nous l'avons préalablement vérifié par analyses western blot, par immunohistochimie et par des tests de migration/prolifération cellulaire. Dans les deux cas, l'imagerie TEMP/TDM n'a toutefois pas révélé de signal exploitable dans les tumeurs, suggérant que la clairance du radioligand est trop importante pour permettre l'accumulation du radiotraceur et la détection des tumeurs. L'ensemble de nos résultats démontre que la conjugaison de DOTA dans les analogues urotensinergiques n'altère pas l'activation de l'UT. Cependant, d'autres investigations sont nécessaires pour diminuer la clairance rénale et améliorer l'imagerie tumorale et ainsi permettre, à terme, de concevoir des radioligands urotensinergiques à finalités diagnostiques voire théranostiques.

Mots clés : Urotensine II ; Récepteur UT ; RCPG ; Cancer ; Radioligand ; DOTA-analogues.