



**HAL**  
open science

# 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.



Normandie Université

## 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	Examineur
Mme LANCELOT Sophie	MCU-PH, Université Claude Bernard Lyon 1	Examineur
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,

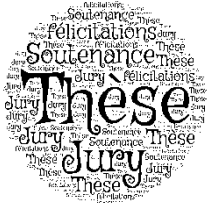


du Master à la thèse et pour toute la passion de la recherche qu'il a su me transmettre. Je n'oublierai jamais la première fois que tu m'as parlé en ce mois de juillet 2013 : « As-tu peur de manipuler de la radioactivité ? ». Je ne me souviens plus exactement de ma réponse, mais entre le  $^{99m}\text{Tc}$ , le  $^{18}\text{F}$  et l' $^{111}\text{In}$ , 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 côtés. 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.



# The Journal of Incredible Thanks

Journal homepage : [www.merci.fr](http://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

### 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 ?

### 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 grâtes 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 **Pierriek** (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.

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<sup>e</sup> 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 Incredible Thanks

Journal homepage : [www.merci.fr](http://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 côtés : le rush corniche, le « ckinostim », la Finlande et les saunas, l'histoire des babouk et nos parties de ballon volant dans le tournoi irréal 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<sup>e</sup> étage et le 2<sup>e</sup> du Curib

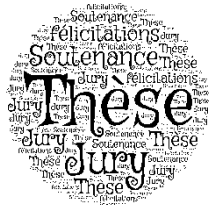
J'aimerais également remercier chaleureusement **Lucas** et **Alexis**, pour m'avoir fourni la dizaine de lignée cellulaire sur lesquelles j'ai pu travailler tout au long de ma thèse. C'est grâce à des dons comme cela que la recherche progresse. Ces quelques mots aussi pour **Christophe** et toute l'aide que tu m'as apporté pour maîtriser les arcanes de la microfluorimétrie, **Maité**, **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**, **Mahmoud**, **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 ensemble. **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 Incredible Thanks

Journal homepage : [www.merci.fr](http://www.merci.fr)

## Results

### 1. TJTJ

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 soutien que vous m'avez apporté tout au long de ces 3 années éprouvantes. Sans vous, ça n'aurait pas été pareil. Restez-vous-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**, **Béregère**, **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**, **ton-ton**, 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 connaît... 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 week-end 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.....	1
<i>CURRICULUM VITAE</i> .....	3
RÉSUMÉ.....	7
ABSTRACT.....	11
LISTE DES FIGURES.....	13
LISTE DES TABLEAUX.....	15
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	17
LISTE DES LIGNÉES CELLULAIRES.....	21
CHAPITRE I – Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse ..	25
1. Généralités sur les RCPG .....	25
2. Principaux mécanismes cellulaires et moléculaires de la tumorigenèse .....	31
2.1 La croissance et la prolifération tumorale induites par les RCPG .....	34
2.2 La migration et l’invasion tumorale induites par les RCPG .....	41
2.3 La néoangiogenèse induite par les RCPG .....	52
3. Stratégies pour le développement de radioligands en médecine nucléaire .....	57
3.1 Radioligands ciblant les récepteurs du NPY .....	58
3.2 Radioligands ciblant le GRPR.....	64
3.3 Radiotraceurs ciblant le CXCR4 .....	72
3.4 Radioligands ciblant les récepteurs SST <sub>1-5</sub> .....	76
CHAPITRE II : le système urotensinergique .....	87
1. Généralités sur le système urotensinergique .....	87
1.1 Homologies structurales entre l’UII, l’URP et la somatostatine .....	87
1.2 Localisation de l’UII .....	90
2. Le récepteur de l’urotensine II.....	93
2.1 Découverte et structure.....	93
2.2 Localisation du récepteur UT .....	94
3. Rôles physiologiques et physiopathologiques du système urotensinergique .....	97
3.1 Effets physiologiques .....	97
3.2 Effets sur le développement tumoral.....	102
3.3 Pharmacologie du récepteur UT .....	106
CHAPITRE III : modalités d’emploi de radioligands en médecine nucléaire pour le diagnostic et/ou le traitement de tumeurs solides.....	111
1. Développement d’un radioligand .....	111
1.1 Généralités.....	111
1.2. Radiomarquage.....	113
1.2.1 Choix du radioisotope .....	113
1.2.2 Choix du chélateur .....	116
1.3. Evaluation in vitro / in vivo d’un radioligand .....	118
1.4. Agonistes ou antagonistes ? .....	119

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 tomодensitométrie .....	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 in vivo.....	152
3.1 Biodistribution de l' <sup>111</sup> 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 in vivo de la biodistribution de l' <sup>111</sup> In-DOTA-UII.....	210
5. Evaluation in vivo de la captation tumorale de l' <sup>111</sup> In-DOTA-UII .....	212
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	219
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	222

# 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](mailto: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

- Techniques** **Biologie 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<sup>elle</sup> 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<sup>elle</sup> Insaf Farah et de M<sup>elle</sup> 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  $\beta$ -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.

**B. Poret**, 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<sup>e</sup> Journées de l'Ecole Doctorale nBISE, Le Havre, France, 2017.

**B. Poret**, 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 <sup>111</sup>In-DOTA-urotensinergic analogs to image solid tumors. GDR 3545, Tours, France, 2016.

**B. Poret**, 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.

**B. Poret**, 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 <sup>111</sup>In-DOTA-urotensinergic analogs to image solid tumors. 19<sup>e</sup> 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 <sup>99m</sup>Tc-RGD pour le suivi des intégrines  $\alpha_v\beta_3$  intratumorales chez des souris xéno greffées à l'aide d'un micro-SPECT et d'un  $\beta$ -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 xéno greffes tumorales (U87-MG, glioblastome, grade IV).

## CENTRES D'INTÉRÊT 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 entraîne 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 ET<sub>A</sub> et ET<sub>B</sub> 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 (sst<sub>1</sub> à sst<sub>5</sub>), l'<sup>111</sup>In-DTPA-octréotide (Octréoscan<sup>®</sup>) est couramment utilisé pour le diagnostic de tumeurs neuroendocrines. Le chélateur DTPA couplé à l'octréotide peut être radiomarké à l'<sup>111</sup>In, émetteur de rayonnements  $\gamma$ . Après interaction avec les récepteur sst<sub>2</sub>, 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  $\gamma$ ,  $\beta^+$ ,  $\beta^-$  et  $\alpha$  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 ; Lacoeyille *et al.*, 2018).

Acteurs majeurs des processus de la tumorigénèse, 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 tumorigénèse 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-[Pen<sup>5</sup>, D-Phe<sup>7</sup>, Orn<sup>8</sup>]UII<sub>4-11</sub>) (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'<sup>111</sup>In 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 vérifiée 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'<sup>111</sup>In-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<sup>+/+</sup>), *knock-out* (mUTS2R<sup>-/-</sup>) ou exprimant constitutivement la forme humaine (mUTS2R<sup>-/-</sup> hUTS2R<sup>+/+</sup>) que l'<sup>111</sup>In-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 xéno greffées chez des souris *Nudes*. Après l'injection intraveineuse d'<sup>111</sup>In-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'<sup>111</sup>In-DOTA-UII et de son potentiel à reconnaître 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'<sup>111</sup>In-DOTA-UII ; vérifier la capacité de l'<sup>111</sup>In-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  $^{111}\text{In}$  ( $^{111}\text{In}$ -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 synthesized and radiolabeled with  $^{111}\text{In}$ . Incubation of  $^{111}\text{In}$ -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  $^{111}\text{In}$ -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,  $^{111}\text{In}$ -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 opioïdérique  $\mu$  de Rat.
- Figure 2 :** Représentation schématique des principaux effecteurs associés aux RCPG.
- Figure 3 :** Représentation schématique des principales voies de signalisation liées aux sous-unités  $G\alpha$ .
- Figure 4 :** Effets des  $\beta$ -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'initiation de la néoangiogenèse 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)<sup>4</sup>]BVD15.
- Figure 12 :** Images obtenues par micro-TEP chez des souris *Nudes* porteuses de xénogreffes de cellules tumorales MCF-7, après injection de <sup>18</sup>F[Pra<sup>4</sup>(F-Glc), Phe<sup>7</sup>, Pro<sup>34</sup>]-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 <sup>68</sup>Ga-Pentixafor.
- Figure 18 :** Ligands somatostatinerigiques et principaux analogues synthétiques développés.
- Figure 19 :** Scintigraphies de patients porteurs de TNE après injection d'analogues somatostatinerigiques.

**Figure 20 :** Comparaison des images obtenues chez un même patient avec le  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-JR11 et le  $^{177}\text{Lu}$ -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  $^{111}\text{In}$ -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' $^{111}\text{In}$ -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 la modulation de l'angiogenèse et de l'inflammation au niveau du microenvironnement tumoral.

**Tableau 5 :** Affinité du NPY et de plusieurs analogues développés pour le diagnostic tumoral, 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 somatostatinerigiques 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 impliquées dans les effets mitogènes, hypertrophiques, pro-migratoires et/ou angiogéniques de l'UII.

**Tableau 12 :** Implication du système urotensinerigique 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 somatostatinerigiques pour la thérapie par peptides radiomarqués (PRRT).

**Tableau 17 :** Principaux analogues urotensinerigiques 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
$\beta_2$	: récepteur $\beta$ -adrénergique de type 2
$\beta$ -ARR	: $\beta$ -arrestine
BBN	: bombésine
$^{213}\text{Bi}$	: bismuth-213
$[\text{Ca}^{2+}]_c$	: concentration de calcium cytosolique
CCK	: cholécystokinine
Cdc42	: <i>cell division control protein 42</i>
CEV	: cellule endothéliale vasculaire
CMLV	: cellule musculaire lisse vasculaire
c-Src	: <i>proto-oncogene tyrosine-protein kinase</i>
$^{64}\text{Cu}$	: 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 <sup>3</sup> -octréotate
DOTA-TOC	: DOTA-Tyr <sup>3</sup> -octréotide
DTM	: domaine transmembranaire
DTPA	: acide diéthylène-triamine-pentaacétique
DTPA-OC	: DTPA-octréotide
DTPA-TATE	: DTPA-Tyr <sup>3</sup> -octréotate
DTPA-TOC	: DTPA-Tyr <sup>3</sup> -octréotide
e <sub>1-3</sub>	: boucles extracellulaires 1 à 3
EGF	: <i>epidermal growth factor</i>
EGFR	: récepteur de l'EGF
EP <sub>2,4</sub>	: récepteur de type 2 ou 4 de PGE <sub>2</sub>
ERK	: <i>extracellular signal-regulated kinase</i>
ET-1	: endothéline-1
ET <sub>A,B</sub>	: récepteur de type A ou B de l'ET-1
$^{18}\text{F}$	: fluor-18
FDG	: fluoro-déoxy-D-glucose
$^{68}\text{Ga}$	: gallium-68
GEF	: <i>guanine nucleotide exchange factor</i>
GPER	: <i>G-protein coupled estrogen receptor</i>
GRK	: <i>G-protein coupled receptor kinase</i>
GRP	: <i>gastrin-releasing peptide</i>

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

RGD	: tripeptide Arg-Gly-Asp
ROCK	: <i>rho-associated protein kinase</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
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	: <i>sphingosine-1-phosphate</i>
S1P <sub>1,2,3</sub>	: récepteur de type 1, 2 ou 3 de la S1P*
SD	: <i>stable disease</i>
SDF-1	: <i>stromal cell-derived factor-1</i>
SiFAlin	: <i>Silicon-based fluoride Acceptors</i>
SNC	: système nerveux central
SST-14,28	: somatostatine 14 ou 28
sst <sub>1-5</sub>	: récepteur de type 1, 2, 3, 4 ou 5 de la somatostatine
STAT	: signaux transducteurs et activateurs de transcription
<sup>99m</sup> Tc	: technétium-99-métastable
TDM	: tomodensitométrie
TE2A	: 1,8- <i>N,N'</i> -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
U11	: urotensine II
URP	: <i>urotensin-II related peptide</i>
UT	: récepteur urotensinergique
VEGF	: <i>vascular endothelial growth factor</i>
VEGFR2	: récepteur de type 2 du VEGF*
VIP	: <i>vasoactive intestinal polypeptide</i>
<sup>90</sup> Y	: yttrium-90
Y <sub>1-5</sub>	: récepteur de type 1, 2, 3, 4 ou 5 du NPY





## LISTE DES LIGNÉES CELLULAIRES

Nom	N° RRID	Espèce	Type de cancer	Référence
<b>Modèles cellulaires du cancer de l'endomètre</b>				
HEC-1-B	CVCL_0294	Homme	Adénocarcinome	Fogh <i>et al.</i> , 1977
HeLa	CVCL_0030			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
<b>Modèles cellulaires du cancer du colon</b>				
AKATOL-1-71	n.d.	Souris	Adénocarcinome	Manalov <i>et al.</i> , 1979
AZ-521	CVCL_	Homme		Takada <i>et al.</i> , 2005
Caco-2	CVCL_0025			Fogh <i>et al.</i> , 1977
CT26	CVCL_7254	Souris		Brattain <i>et al.</i> , 1980
CX-1	CVCL_2011	Homme		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		Adénocarcinome	Kirkland, 1985
HCT 116	CVCL_0291		Carcinome	Brattain <i>et al.</i> , 1981
HT-29	CVCL_0320		Adénocarcinome	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.	Sumiyoshi <i>et al.</i> , 1984		
SW403	CVCL_0545	Homme		Leibovitz <i>et al.</i> , 1976
SW480	CVCL_0546			
SW620	CVCL_0547			
WiDr	CVCL_2760			
<b>Modèles cellulaires du cancer de l'estomac</b>				
NUGC-3	CVCL_1612	Homme	Adénocarcinome	Akiyama <i>et al.</i> , 1988
MKN1	CVCL_1415		Carcinome	Takeshima <i>et al.</i> , 1991
MKN28	CVCL_1416		Adénocarcinome	Motoyama <i>et al.</i> , 1986
MKN45	CVCL_0434			
MKN74	CVCL_2791			
SC-6-JCK	CVCL_F953			
SLU-077	n.d.	Souris	Hudd <i>et al.</i> , 1989	
<b>Modèles cellulaires du cancer glial</b>				
8-MG	CVCL_1052	Homme	Glioblastome	Perzelova <i>et al.</i> , 1998
42-MG	CVCL_1798			Bocchini <i>et al.</i> , 1991
GL15	CVCL_5H95			Diserens <i>et al.</i> , 1981
LN-18	CVCL_0392		Astrocytome	Studer <i>et al.</i> , 1985
LN-308	CVCL_0394			Fogh <i>et al.</i> , 1977
SW1088	CVCL_1715		Glioblastome	Stein, 1979
T98G	CVCL_0556			Ponten et Macintyre, 1968
U87-MG	CVCL_GP63			
<b>Modèles cellulaires du cancer du foie</b>				
BEL-7402	CVCL_5492	Homme	Carcinome	Chen <i>et al.</i> , 1980
Hep 3B	CVCL_0326			Aden <i>et al.</i> , 1979
Hep G2	CVCL_0027			Li <i>et al.</i> , 2001
MHCC97-H	CVCL_4972			
SK-HEP-1	CVCL_0525		Adénocarcinome	Fogh et Trempe, 1975
WB-F344	CVCL_9806	Rat	Néoplasme	Tsao <i>et al.</i> , 1984

Modèles cellulaires du cancer de l'ovaire							
Caov-3	CVCL_0201	Homme	Adénocarcinome	Buick <i>et al.</i> , 1985			
DOV13	CVCL_6674			Berchuck <i>et al.</i> , 1992			
HRA	CVCL_U986		Cystadénocarcinome	Kajiyama <i>et al.</i> , 2002			
OV-1063	CVCL_4366		n.d.	Horowitz <i>et al.</i> , 1985			
OVCAR-3	CVCL_0465		Adénocarcinome	Hamilton <i>et al.</i> , 1983			
SK-OV-3	CVCL_0532		Cystadénocarcinome	Fogh <i>et al.</i> , 1977			
Modèles cellulaires du cancer du pancréas							
AR42J	CVCL_0143	Rat	Néoplasme	Mickel <i>et al.</i> , 1989			
AsPC-1	CVCL_0152	Homme	Adénocarcinome	Chen <i>et al.</i> , 1982			
Capan-1	CVCL_0237			Fogh <i>et al.</i> , 1977			
Capan-2	CVCL_0026			Wright <i>et al.</i> , 1981			
CFPAC-1	CVCL_1119		Schoumacher <i>et al.</i> , 1990				
Co-3	n.d.		n.d.	Sumiyoshi <i>et al.</i> , 1984			
HCG-25	CVCL_C827		Adénocarcinome	Akagi et Kimoto, 1977			
HPAF-II	CVCL_0313	Hamster	Adénocarcinome	Kim <i>et al.</i> , 1989			
HT2	CVCL_S971			Townsend <i>et al.</i> , 1982			
MIA PaCa-2	CVCL_0428			Sumi <i>et al.</i> , 1994			
PANC-1	CVCL_0480		Homme	n.d.	Lieber <i>et al.</i> , 1975		
SLU-48	n.d.				Hudd <i>et al.</i> , 1989		
SW1990	CVCL_1723			Adénocarcinome	Kyriazis <i>et al.</i> , 1983		
Modèles cellulaires du cancer de la prostate							
DU145	CVCL_0105	Homme	Carcinome	Stone <i>et al.</i> , 1978			
LNCaP	CVCL_0395			Horoszewicz <i>et al.</i> , 1980			
PC-3	CVCL_0035			Kaighn <i>et al.</i> , 1979			
PPC-1	CVCL_4778			Brothman <i>et al.</i> , 1989			
Modèles cellulaires du cancer des poumons							
3LL	CVCL_5653	Souris	n.d.	Bertram et Janik, 1980			
A-549	CVCL_0023	Homme	Adénocarcinome	Giard <i>et al.</i> , 1973			
BEN	CVCL_1082		Carcinome	Baillie-Johnson <i>et al.</i> , 1985	Ellison <i>et al.</i> , 1975		
COR-L23	CVCL_1139						
COR-L24	CVCL_2409						
COR-L27	CVCL_D733						
COR-L42	CVCL_D737						
COR-L47	CVCL_2415						
COR-L51	CVCL_2416						
COR-L88	CVCL_1141						
COR-L103	CVCL_D744						
MOR	CVCL_2618				Adénocarcinome	Ibson <i>et al.</i> , 1987	
NCI-H69	CVCL_1579		Carcinome	Gazdar <i>et al.</i> , 1980			
NCI-H82	CVCL_1591						
NCI-H345	CVCL_1558						
NCI-H446	CVCL_1562						
NCI-H510A	CVCL_1565						
POC	CVCL_0B89						
Modèles cellulaires du cancer du sein							
BT-20	CVCL_0178				Homme	Carcinome	Lasfargues et Ozzello, 1958
BT-549	CVCL_1092		Lasfargues et Coutinho, 1981				
HCC1428	CVCL_1252	Adénocarcinome	Gazdar <i>et al.</i> , 1998				
HCC1500	CVCL_1254						
Hs 578T	CVCL_0332	Carcinome	Hackett <i>et al.</i> , 1977				
MCF-7	CVCL_0031		Soule <i>et al.</i> , 1973				
MDA-MB-134-VI	CVCL_0617		Cailleau <i>et al.</i> , 1974				
MDA-MB-157	CVCL_3740						
MDA-MB-231	CVCL_0062			Adénocarcinome			

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

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

---

# INTRODUCTION

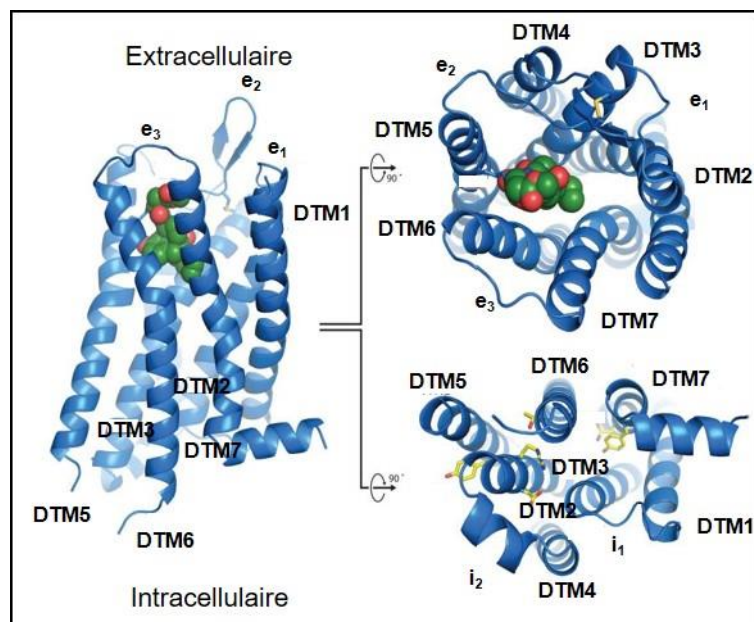
# CHAPITRE I – Intérêts du développement de radioligands ciblant les RCPG impliqués dans la tumorigenèse

## 1. Généralités sur les RCPG

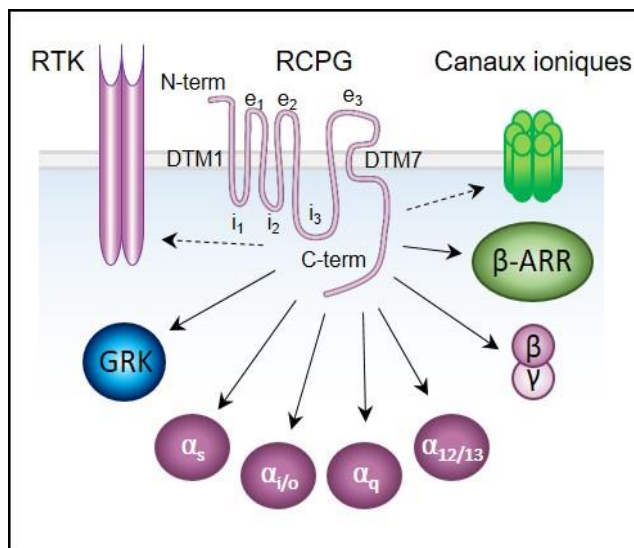
C'est vers la fin des années 70 que furent découvertes des structures protéiques transmembranaires particulières, constituant une interface entre l'environnement extra- et intracellulaire (Lefkowitz, 1975) et dont l'activation entraîne une réponse cellulaire *via* des voies de transduction associées. 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 adrénérgiques naît 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 adrénérgiques ( $\alpha$  et  $\beta$ ) grâce à des études de liaison réalisées à l'aide d'adrénaline radiomarquée au tritium ( $^3\text{H}$ ) (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  $\alpha$  et reliés entre eux par des boucles extra- ( $e_{1-3}$ ) et intracellulaires ( $i_{1-3}$ ) (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  $\alpha$  ( $G\alpha$ ) et d'un complexe hétérodimérique composé des sous-unités  $\beta$  et  $\gamma$  ( $G\beta\gamma$ ) considérées comme indissociables en conditions physiologiques (Gilman, 1987 ; Wall *et al.*, 1995 ; Hubbell *et al.*, 2003). Ces sous-unités ( $\alpha$  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 opioïdérique  $\mu$  de Rat.** Les DTM du RCPG présentent une conformation en hélices hydrophobes de type  $\alpha$  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  $\beta$ -FNA en vert/rouge), le recrutement et/ou l'implication de protéines membranaires ou cytosoliques.  $\beta$ -FNA :  $\beta$ -funaltrexamine ; DTM : domaine transmembranaire ; e : boucle extracellulaire ; i : boucle intracellulaire. D'après Manglik *et al.*, 2012.

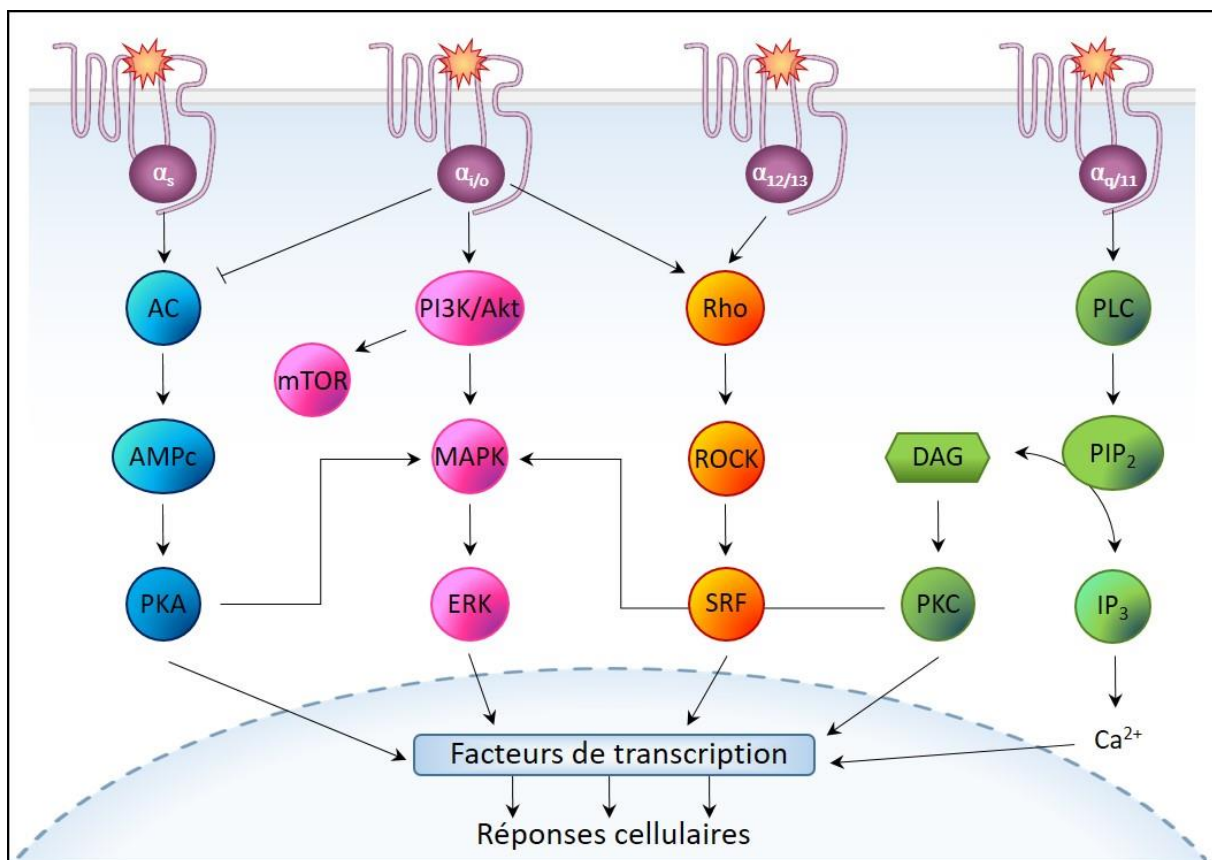


**Figure 2. Représentation schématique des principaux effecteurs associés aux RCPG.** Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) sont associés à de nombreuses voies de signalisation intracellulaires relayées par une sous-unité  $\alpha$  ou le complexe  $\beta\gamma$ . La phosphorylation du RCPG par les GRK entraîne sa désensibilisation et la signalisation spécifique *via* les  $\beta$ -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.  $\beta$ -ARR :  $\beta$ -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  $G\alpha$  sont classées en quatre grandes familles, *i.e.*  $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_{i/o}$ ,  $G\alpha_{q/11}$ , 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  $G\alpha_i$  réduisent la production d'AMPc en inhibant l'activité des AC (Neer *et al.*, 1984). Les  $G\alpha_o$  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  $G\alpha_q$  recrutent une phospholipase C de type  $\beta$  ( $PLC\beta$ ) responsable de l'hydrolyse du phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ( $PIP_2$ ) en diacylglycérol (DAG) et en inositol triphosphate ( $IP_3$ ). Le DAG active une protéine kinase C (PKC) responsable de la phosphorylation d'effecteurs intracellulaires, tandis que l' $IP_3$  interagit avec un récepteur canal localisé sur la membrane du réticulum endoplasmique, dont l'ouverture entraîne une élévation



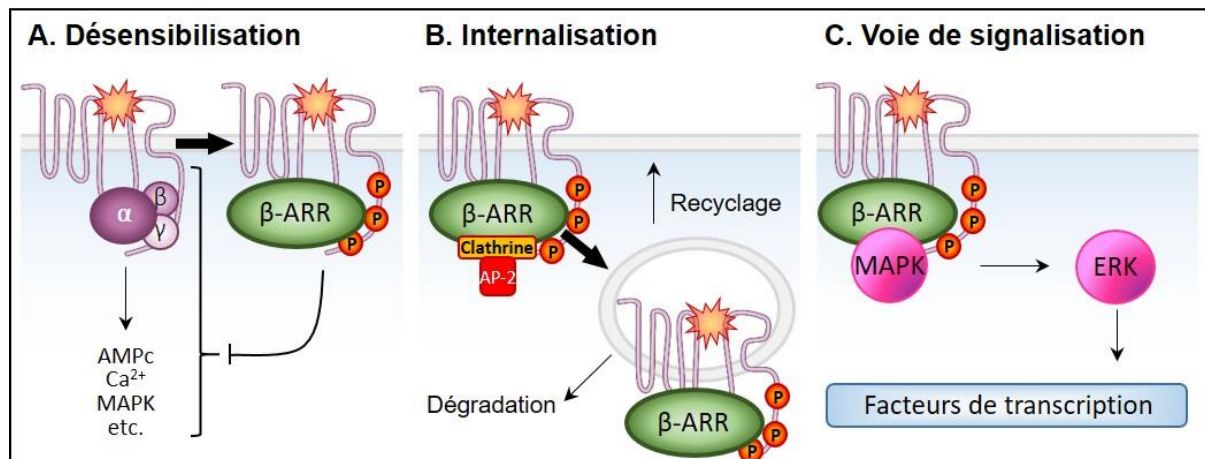
de la concentration cytosolique de calcium ( $[Ca^{2+}]_c$ ) (Neylon *et al.*, 1992). Les  $G\alpha_q$  peuvent également recruter différentes MAPK telles que la *c-Jun N-terminal kinase* (JNK), MAPK p38, ou l'*extracellular signal-regulated kinase* (ERK) de type 5, responsables de l'activation du promoteur *c-jun* (Marinissen *et al.*, 2003). Enfin, les  $G\alpha_{12/13}$  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  $G\alpha$ .** L'activation des protéines  $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_{i/o}$ ,  $G\alpha_{q/11}$ , 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 signal-regulated kinase* ; IP<sub>3</sub> : inositol triphosphate ; MAPK : *mitogen-activated protein kinase* ; mTOR : *mammalian target of rapamycin* ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; PIP<sub>2</sub> : 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  $G\alpha$  avec le RCPG, les sous-unités  $\beta$  et  $\gamma$  forment un complexe stable pouvant être considéré comme une même sous-unité fonctionnelle  $G\beta\gamma$ . Une première étude avait montré que l'acétylcholine (en interagissant avec les récepteurs muscariniques de type 2, ou  $M_2$ ) entraîne le recrutement de  $G\beta\gamma$  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  $G\beta\gamma$  peut aussi réguler l'activité de certaines enzymes comme *i*) la  $PLC\beta$ , conduisant à une élévation de  $[Ca^{2+}]_c$  au même titre que les  $G\alpha_q$  (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  $i_2$  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  $\beta$ -arrestines ( $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -arrestines dans la signalisation des RCPG. L'activation d'un RCPG conduit au recrutement des  $\beta$ -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  $\beta$ -arrestines. B. Internalisation du complexe RCPG/ $\beta$ -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  $\beta$ -arrestines. AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; AP-2 : adaptor protein-2 ;  $\beta$ -ARR :  $\beta$ -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  $\beta$ -adrénergique de type 2 ( $\beta_2$ ) qui transactive le récepteur *protease-activated receptor* de type 1 (PAR-1) via l'action des MMP de type 13 (Jaffré *et al.*, 2012).

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 propranolol, qui agit sur le récepteur adrénergique  $\beta_2$  comme un agoniste inverse dans la signalisation de l'AC/AMPC, et comme un agoniste partiel dans la voie ERK1/2 relayée par les  $\beta$ -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 PIP<sub>2</sub> en IP<sub>3</sub> et DAG, l'activation de la voie MAPK ainsi que l'internalisation du complexe ligand-récepteur, alors qu'un analogue de l'AngII, le [Sar<sup>1</sup>, Ile<sup>4</sup>, Ile<sup>8</sup>]AngII, n'a pas d'effet sur la production d'IP<sub>3</sub> 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
$\alpha$ -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 <sub>3</sub>	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 <sub>1,2</sub>	Poumon, sein, prostate	Seufferlein et Rozengurt, 1996 ; Yu <i>et al.</i> , 2014a ; Lin <i>et al.</i> , 2015
CCK, gastrine, pentagastrine	CCK <sub>1,2</sub>	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 <sub>A,B</sub>	Prostate, colon, ovaire, estomac	Kim <i>et al.</i> , 2005 ; Tsai <i>et al.</i> , 2015 Rosanò <i>et al.</i> , 2017

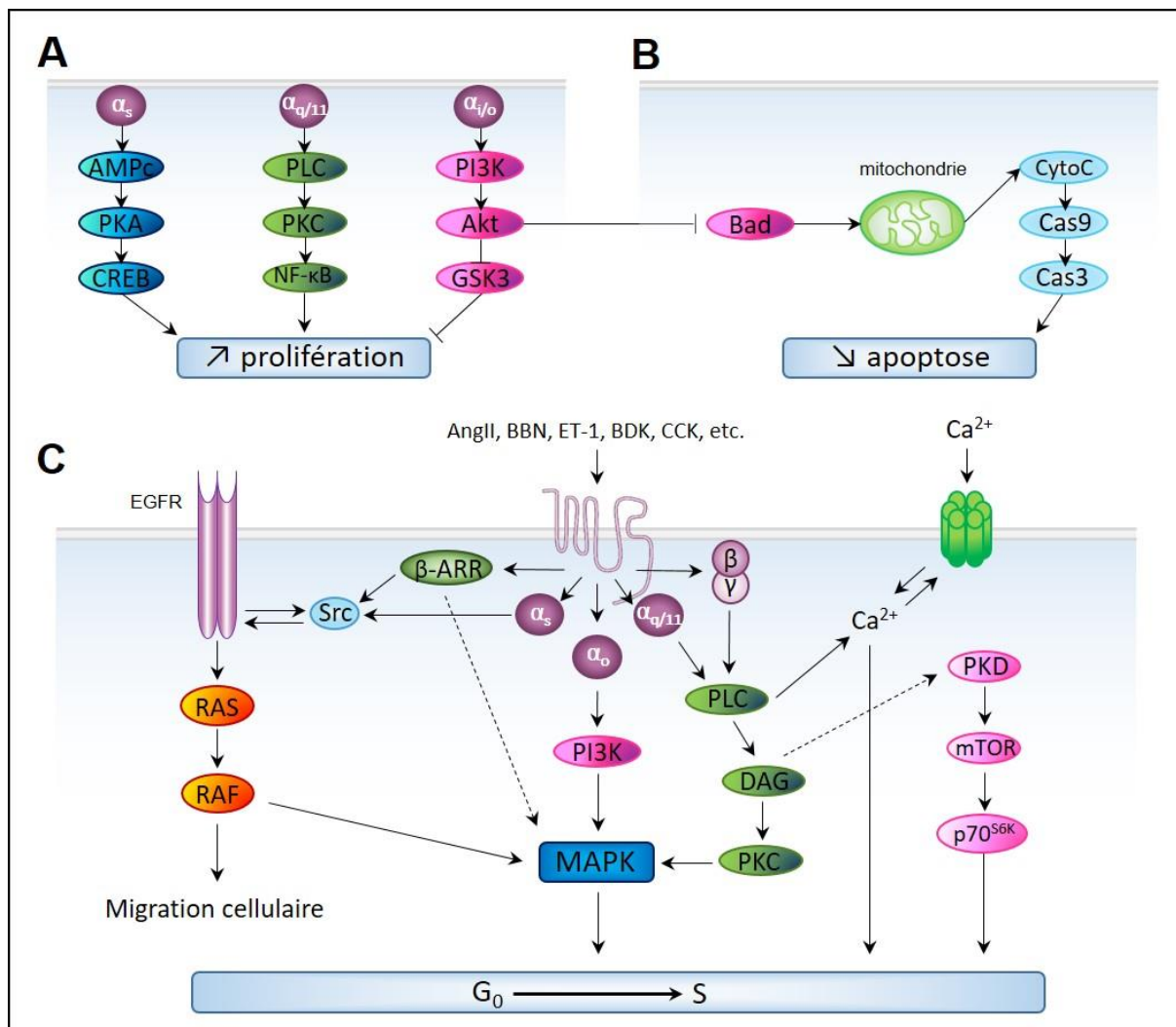
FSH	FSHR	Prostate, thyroïde	Porter et Ben-Josef, 2001 ; Ghinea <i>et al.</i> , 2015 ; Pawlikowski <i>et al.</i> , 2015
G-1, œstradiol	GPER	Endomètre, prostate, sein	He <i>et al.</i> , 2009 ; Wei <i>et al.</i> , 2014 ; Shang <i>et al.</i> , 2015
Galanine	GAL-R <sub>1-3</sub>	Poumon, tête et cou	Seufferlein et Rozengurt, 1996 ; Medeiros <i>et al.</i> , 2015 ; Yamamoto <i>et al.</i> , 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 <sub>1-3</sub>	Colon, ovaire, prostate, sein	Yang <i>et al.</i> , 2005 ; Zhang <i>et al.</i> , 2007a ; Shida <i>et al.</i> , 2008
Neuropeptide Y	Y <sub>1-5</sub>	Sein, prostate, poumon	Sarvi <i>et al.</i> , 2014 ; Li <i>et al.</i> , 2015 ; Galli <i>et al.</i> , 2015 ;
Neurotensine	NTR <sub>1-3</sub>	Peau, du cerveau, sein, pancréas, prostate, colon	Guha <i>et al.</i> , 2003 ; Liu <i>et al.</i> , 2017 ; Qiu <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2011 ; Ong <i>et al.</i> , 2017 ; Serio <i>et al.</i> , 2018
Prostaglandine E <sub>2</sub>	EP <sub>2,4</sub>	Colon, sein, prostate, estomac, tête et cou	Mazhar <i>et al.</i> , 2006 ; Prima <i>et al.</i> , 2016 ; Wang <i>et al.</i> , 2017
Somatostatine	sst <sub>1-5</sub>	TNE, TNE-GEP, TNE-B, cerveau, peau	Baum <i>et al.</i> , 2016 ; Ben-Shlomo <i>et al.</i> , 2017 ; Reidy <i>et al.</i> , 2017
S1P	S1P <sub>1,2,3</sub>	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	Hernández <i>et al.</i> , 2009 ; McCoy <i>et al.</i> , 2012 ; Shirai <i>et al.</i> , 2017
Vasopressine	V <sub>1,2,3</sub>	Poumon, prostate, sein	Campling <i>et al.</i> , 1995 ; Pifano <i>et al.</i> , 2017 ; Pifano <i>et al.</i> , 2018
PACAP, VIP	VPAC <sub>1,2</sub> ; PAC <sub>1</sub>	Estomac, colon, pancréas, poumon	Gutiérrez-Cañas <i>et al.</i> , 2003 ; Moody <i>et al.</i> , 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.  $\alpha$ -MSH :  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone ; AT1 : récepteur de type 1 de l'angiotensine II ; B<sub>1,2</sub> : récepteur de type 1 ou 2 de la bradykinine ; CCK<sub>1,2</sub> : 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<sub>A,B</sub> : récepteur de type A ou B de l'ET-1 ; EP<sub>2,4</sub> : récepteur de type 2 ou 4 de PGE<sub>2</sub> ; FSH : follicle stimulating hormone ; FSHR : récepteur de la FSH ; G-1 : ligand du GPER ou GPR30 ; GAL-R<sub>1-3</sub> : 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 ; LPAR<sub>1-3</sub> : récepteur de type 1, 2 ou 3 du LPA ; NMBR : récepteur de la NMB ; NTR<sub>1-3</sub> : récepteur de type 1, 2 ou 3 de la neurotensine ; MSHR : melanocyte stimulating hormone receptor ; PACAP : pituitary adenylate-cyclase activating peptide ; PAC<sub>1</sub> : récepteur de type 1 du PACAP ; PTAFR : récepteur du PAF ; S1P<sub>1,2,3</sub> : récepteur de type 1, 2 ou 3 de la S1P ; sst<sub>1-5</sub> : récepteur de type 1, 2, 3, 4 ou 5 de la somatostatine ; V<sub>1,2,3</sub> : récepteur de type 1, 2 ou 3 de la vasopressine ; VIP : vasoactive intestinal polypeptide ; VPAC<sub>1,2</sub> : récepteur de type 1 ou 2 du VIP ; Y<sub>1-5</sub> : 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* (LPA) 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.*, 1986). Classiquement, ces mécanismes sont en partie relayés par les MAPK (Franco *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  $p44^{\text{mapK}}$  et  $p42^{\text{mapK}}$ , 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).



**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 $\beta$  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<sub>0</sub> 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* ;  $\beta$ -ARR :  $\beta$ -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 $\beta$  : *glycogen synthetase kinase 3 $\beta$*  ; IP<sub>3</sub> : inositol triphosphate ; MAPK : *mitogen-activated protein kinase* ; mTOR : *mammalian target of rapamycin* ; NF- $\kappa$ B : *nuclear factor  $\kappa$ B* ; p70<sup>S6K</sup> : *ribosomal protein S6 kinase beta-1* ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; PIP<sub>2</sub> : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ; PLC : phospholipase C ; PKA : protéine kinase A ; PKC : protéine kinase C ; PKD : protéine kinase D.



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 pro-mitotique 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  $\beta$ -ARR (Rodríguez-Fernández et Rozengurt, 1996 ; Luttrell, 1999 ; Cao *et al.*, 2000) mais également *via* les voies  $G\alpha_s$  et  $G\alpha_i$  (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'activation 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/PIP<sub>2</sub>/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<sup>S6K</sup> (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. 5C**).

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 (Rozenfurt, 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 (Rozenfurt, 1999) (**Tab. 2**).

RCPG	Ligand	Fonction	Voie(s) principales de signalisation	Type de cancer	Lignée cellulaire	Références
<b>Récepteurs aux peptides</b>						
AT1	AngII	Prolifération ↑	EGFR, ERK1/2	Sein	Primaire	Greco <i>et al.</i> 2003
			Ca <sup>2+</sup> , PKC, ERK2		MCF-7	Muscella <i>et al.</i> , 2002 ; 2003
			MAPK, STAT3	Prostate	PC-3	Uemura <i>et al.</i> , 2011
			n.d.		LNCaP	Hoshino, 2010
				Gliome	LN-18	Juillerat-Jeanneret <i>et al.</i> , 2003
		LN-308				
		Apoptose ↓	MAPK	Pancréas	PANC-1	Fujimoto, 2001
					MIAPaCa-2	
					Capan-2	
			NF-κB	Pancréas	HPAF-II	Amaya, 2004
AsPC-1						
PANC-1						
HPAF-II						
AsPC-1						
PANC-1						
AT2	AngII	Prolifération ↑	n.d.	Gliome	LN-18	Juillerat-Jeanneret <i>et al.</i> , 2003
			MAPK		LN-308	
B <sub>1-2</sub>	Bradykinine	Prolifération ↑	PKC, ERK2	Poumon	NCI-H345	Seufferlein et Rozenfurt, 1996
					NCI-H69	
NCI-510A						
CCK <sub>1</sub>	CCK	Prolifération ↑	PKC, PKD, FAK, trans. EGFR		n.d.	Rozenfurt <i>et al.</i> , 2002

CCK <sub>1</sub>	CCK	Prolifération ↑	n.d.	Pancréas	AR42J (R)	Blackmore et Hirst, 1992	
		Prolifération ≈			SW 1990	Smith <i>et al.</i> , 1990	
					H2T (H)	Rehfeld et Solinge, 1994	
					SLU-048	Hudd <i>et al.</i> , 1989	
		Prolifération ↓			Co-3	Sumiyoshi <i>et al.</i> , 1984	
					PANC-1	Hudd <i>et al.</i> , 1989	
MIAPaCa-2							
CCK <sub>2</sub>	Gastrine	Prolifération ↑	n.d.	Estomac	SC-6-JCK	Yasui <i>et al.</i> , 1986	
	Pentagastrine				SLU-077 (M)	Hudd <i>et al.</i> , 1989	
					MNK45	Watson <i>et al.</i> , 1989	
CCK <sub>2</sub>	Pentagastrine	Prolifération ↑	n.d.	Colon	AKATOL 1-71	Svet-Moldavsky <i>et al.</i> , 1980	
					CX1	Smith et Solomon, 1988	
					X56		
	Gastrine	Prolifération ≈	n.d.	Colon	SW 403	Remy-Heintz <i>et al.</i> , 1993	
					CT 26	Szabó <i>et al.</i> , 2000	
					WiDr	Smith <i>et al.</i> , 1993	
ET <sub>2</sub>	ET-1	Prolifération ↑	↑ β-caténine, TCF-4	Prostate	MC 26 (M)	Winsett <i>et al.</i> , 1986	
					Apoptose ≈	AKATOL 1-71	Svet-Moldavsky <i>et al.</i> , 1980
						St-15	Sumiyoshi <i>et al.</i> , 1984
		LoVo	Müercköster <i>et al.</i> , 2005				
		LS174T					
		ET <sub>A</sub>	Prolifération ↑		n.d.	n.d.	HT-29
LoVo	Graftner <i>et al.</i> , 1992						
MC 26 (M)							
ET <sub>B</sub>	Prolifération ≈	n.d.	n.d.	HT-29	Kim <i>et al.</i> , 2005		
GAL-R <sub>1,3</sub>	Galanine	Prolifération ↑	n.d.	Poumon	Primaires	Nelson <i>et al.</i> , 1996	
					n.d.	Nelson, 2003	
					Primaires	Nelson <i>et al.</i> , 1996	
					LNCaP		
					PPC-1		
					PC-3		
GRPR	GRP	Prolifération ↑	n.d.	Tête et cou	NCI-H69	Seufferlein et Rozengurt, 1996	
					NCI-510		
					Neuroblastome	MDA-1483	Zhang <i>et al.</i> , 2007b
						UM-22B	Lango <i>et al.</i> , 2002
						Primaire	
	Ovaire	SK-N-SH	Lee <i>et al.</i> , 2013				
		Primaire	Lawlor <i>et al.</i> , 1998				
		OV-1063	Sun <i>et al.</i> , 2000				
		n.d.	Cuttitta <i>et al.</i> , 1985				
		GRP/NMB	Prolifération ↑	Boucle autocrine	Poumon	COR-L47	Cardona <i>et al.</i> , 1991
COR-L27							
COR-L42							
COR-L103							
MOR							
COR-L88							
NCI-H345							
COR-L51							
NCI-H69							
POC							
GRPR	GRP/NMB	Prolifération ↑	Boucle autocrine	COR-L24	Cardona <i>et al.</i> , 1991		
				COR-L23			
				BEN			

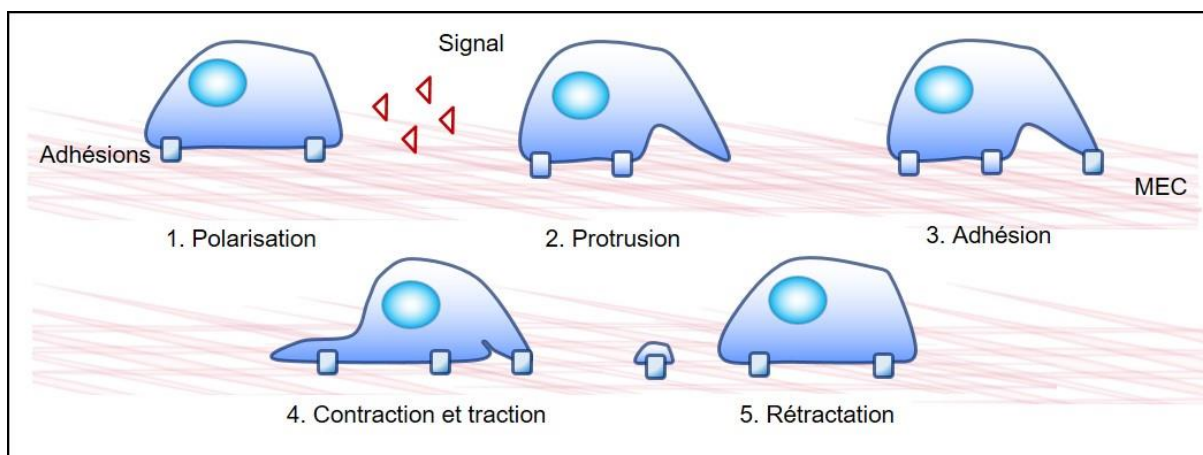
GRPR	Bombésine		PKC, ERK2	Poumon	NCI-H345	Seufferlein et Rozengurt, 1996	
GRPR/NMBR	n.d.	Prolifération	n.d.	Pancréas	PANC-1	Szepeshazi <i>et al.</i> , 2005	
		Prolifération ≈			CFPAC-1		
							Capan-1
					Capan-2		
NTR	Neurotensine	Prolifération ↑	ERK1/2	Pancréas	PANC-1	Guha <i>et al.</i> , 2003	
			n.d.	Prostate	PC-3	Seethalakshmi <i>et al.</i> , 1997	
PAR-1	Thrombine	Prolifération ↑	PKC, ERK2	Poumon	NCI-H345	Seufferlein et Rozengurt, 1996	
			n.d.		NCI-H69		
			↑ β-caténine	Sein	MCF-7	Boire <i>et al.</i> , 2005	
PAR-1	Thrombine	Prolifération ↑	MEK, ERK1/2	Colon	HT-29	Darmoul <i>et al.</i> , 2003	
			n.d.		LoVo		
PAR-1	Thrombine	Prolifération ↑	MEK, ERK1/2	Colon	HCT-116	Darmoul <i>et al.</i> , 2003	
			MAPK	Tête et cou	686LN-M3e	Liu <i>et al.</i> , 2001	
		n.d.	JHU-22				
V <sub>1</sub>	Vasopressine	Prolifération ↑	Boucle autocrine	Poumon	NCI-H82	North <i>et al.</i> , 1998	
V <sub>3</sub>					NCI-H345		
V <sub>2</sub>			PKC, ERK2		NCI-H510	Seufferlein et Rozengurt, 1996	
V <sub>7</sub>							
<b>Récepteurs aux lipides bioactifs</b>							
EP <sub>2</sub>	PGE <sub>2</sub>	Prolifération ↑	COX-2	Sein	Hs 578T	Mazhar <i>et al.</i> , 2006	
			AMPc, PKA		MDA-MB-231		
			n.d.		Primaire	Chang <i>et al.</i> , 2005	
			↑ β-caténine, ↓ APC	Colon	MDA-MB-134	Tjandrawinata <i>et al.</i> , 1997	
			n.d.		Primaire	Hull <i>et al.</i> , 2004	
			LS174T		Wright <i>et al.</i> , 2000		
			HT-29		Colucci <i>et al.</i> , 2005		
		Apoptose ↓	↑ Bcl-2	DiFi	Tjandrawinata <i>et al.</i> , 1997		
			n.d.	HCA-7	Sheng <i>et al.</i> , 1998		
		Prolifération ↑	COX	CT 26 (M)	Reinmuth <i>et al.</i> , 2003		
	n.d.	Prostate	PC-3	Tjandrawinata <i>et al.</i> , 1997			
Apoptose ↓	↑ Bcl-2	LNCaP					
	AMPc, PI3K, PKA	Tête et cou	Echantillons	Lin <i>et al.</i> , 2002			
EP <sub>4</sub>	PGE <sub>2</sub>	Prolifération ↑	AMPc, PI3K, Akt	Estomac	n.d.	Gupta <i>et al.</i> , 2001	
			n.d.		Hull <i>et al.</i> , 2004		
		Apoptose ↓	↑ Bcl-2		LS174T	Sheng <i>et al.</i> , 2001	
		AMPc, PI3K, PKA	HCA 7		Belley et Chadee, 1999		
			Echantillons	Hoshino <i>et al.</i> , 2003			
LPAR <sub>1</sub>	LPA	Prolifération ≈	n.d.	Colon	HCT-116	Yang <i>et al.</i> , 2005	
LPAR <sub>2</sub>		Prolifération ↑	PKC, GSK-3β, β-caténine		LS174T		
			MAPK, PKC, KLF5		HCT-116		
LPAR <sub>3</sub>		Prolifération ↑	n.d.		LS174T		SW 480
LPAR <sub>n.d.</sub>		Boucle autocrine			Ovaire	n.d.	Mills et Moolenaar, 2003
					Prostate	n.d.	

S1P <sub>1</sub>	S1P	Prolifération ↑	SphK1	Sein	MCF-7	Shida <i>et al.</i> , 2008
		Apoptose ↓	n.d.	Colon	LoVo	Liu <i>et al.</i> , 2012
<b>Récepteurs aux protéines</b>						
CXCR2	n.d <sup>1</sup>	Survie ↑	n.d.	Poumon	LLC (M)	Keane <i>et al.</i> , 2004
CXCR4	SDF-1	Prolifération ↑			NCI-H69	Kijima <i>et al.</i> , 2002
FSHR	FSH		AMPC, PI3K, Akt, ERK1/2	Prostate	n.d.	Porter et Ben-Josef, 2001
<b>Autres récepteurs</b>						
GPER	G-1	Prolifération ↑	MAPK/ERK	Endomètre	RL95-2 KLE	He <i>et al.</i> , 2009
		Prolifération ↓	ERK1/2, p21	Prostate	PC-3	Chan <i>et al.</i> , 2009
		Apoptose ↑	Ras, Raf, ERK1/2 p53, Cas3, Cas9	Sein	MDA-MB-231	Wei <i>et al.</i> , 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 ; EP<sub>2</sub> : récepteur de type 2 de PGE<sub>2</sub> ; GRP : *gastrin-releasing peptide* ; GRPR : récepteur du GRP ; HIF-1 $\alpha$  : *hypoxia inducible factor-1 $\alpha$*  ; MEC : matrice extracellulaire ; MMP-2,9 : métalloprotéinase matricielle de type 2 ou 9 ; NF- $\kappa$ B : *nuclear factor  $\kappa$ B* ; PGE<sub>2</sub> : 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).



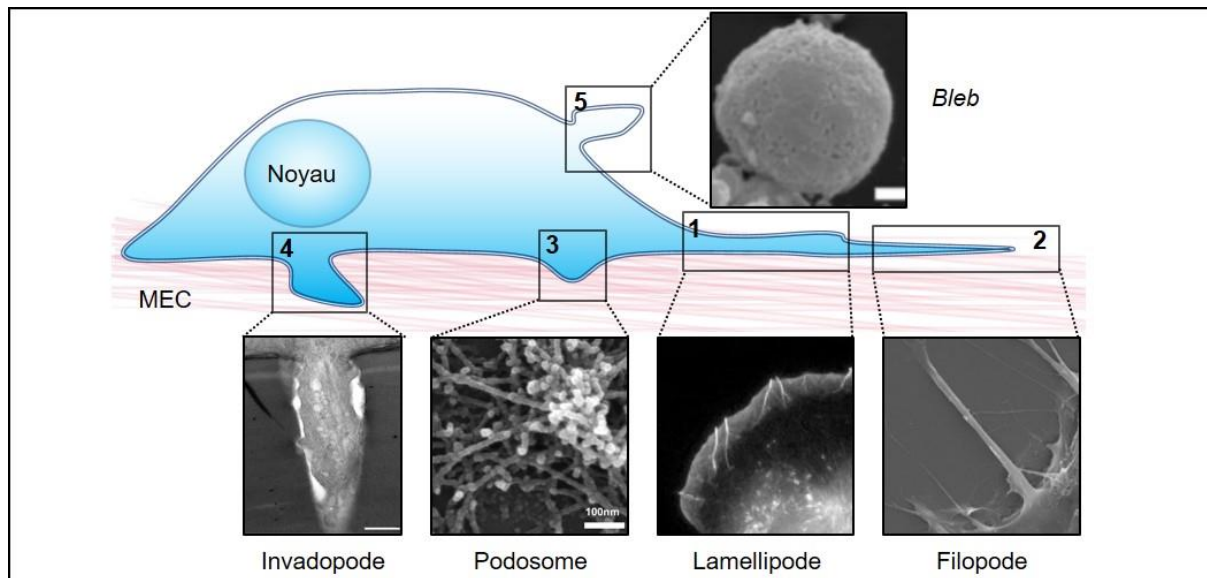
**Figure 6. Représentation schématique des cinq principales étapes de la migration cellulaire.** Suite à la détection d'un signal, la cellule se polarise (1) et émet des protrusions à l'avant (2). La formation de nouvelles adhésions (3) permet la contraction (4) et la traction de la cellule suivie de 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 « *directional 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

phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP<sub>3</sub>) 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 PIP<sub>3</sub> produit par la PI3K. En effet, Li et coll. ont montré en 2003 que le complexe  $\beta\gamma$  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 PIP<sub>3</sub> 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**).



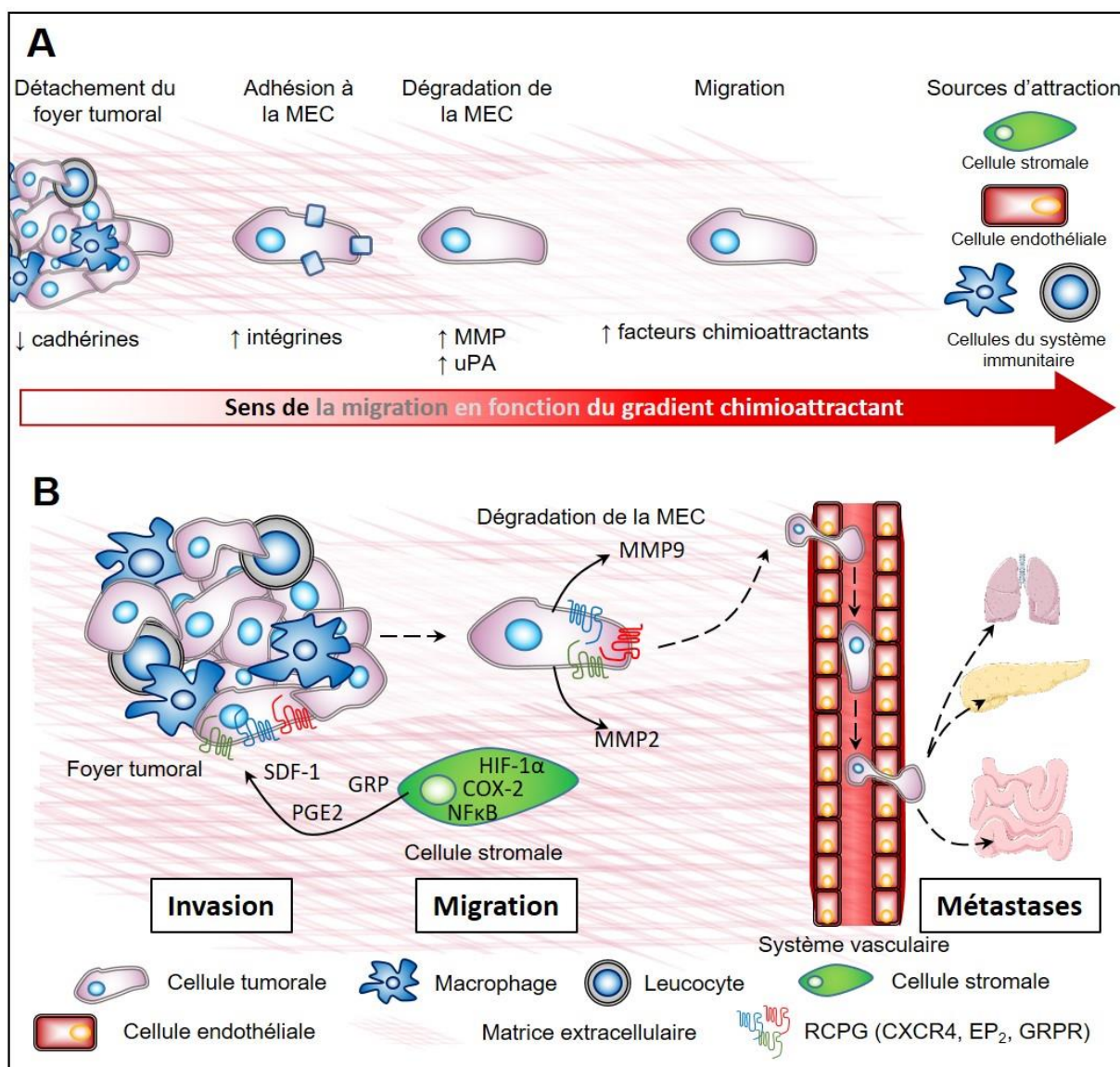
**Figure 7. Représentation schématique des différents types de protrusions cellulaires.** Les lamellipodes permettent la migration à l'avant des cellules (1) (extrait de Nardo *et al.*, 2005), les filopodes correspondent à des extensions exploratrices (2) (extrait de Collart-Dutilleul *et al.*, 2014), 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.



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-derived 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 ; EP<sub>2</sub> : récepteur de type 2 de PGE<sub>2</sub> ; 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* ; PGE<sub>2</sub> : prostaglandine E<sub>2</sub> ; 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 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) qui stimule la motilité de cellules de carcinome colorectal (Sheng *et al.*, 2001) *via* le récepteur de type 4 de PGE<sub>2</sub> (EP<sub>4</sub>), 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 pro-migratoires 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<sub>1,3</sub>) (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 S1P<sub>2</sub> 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).

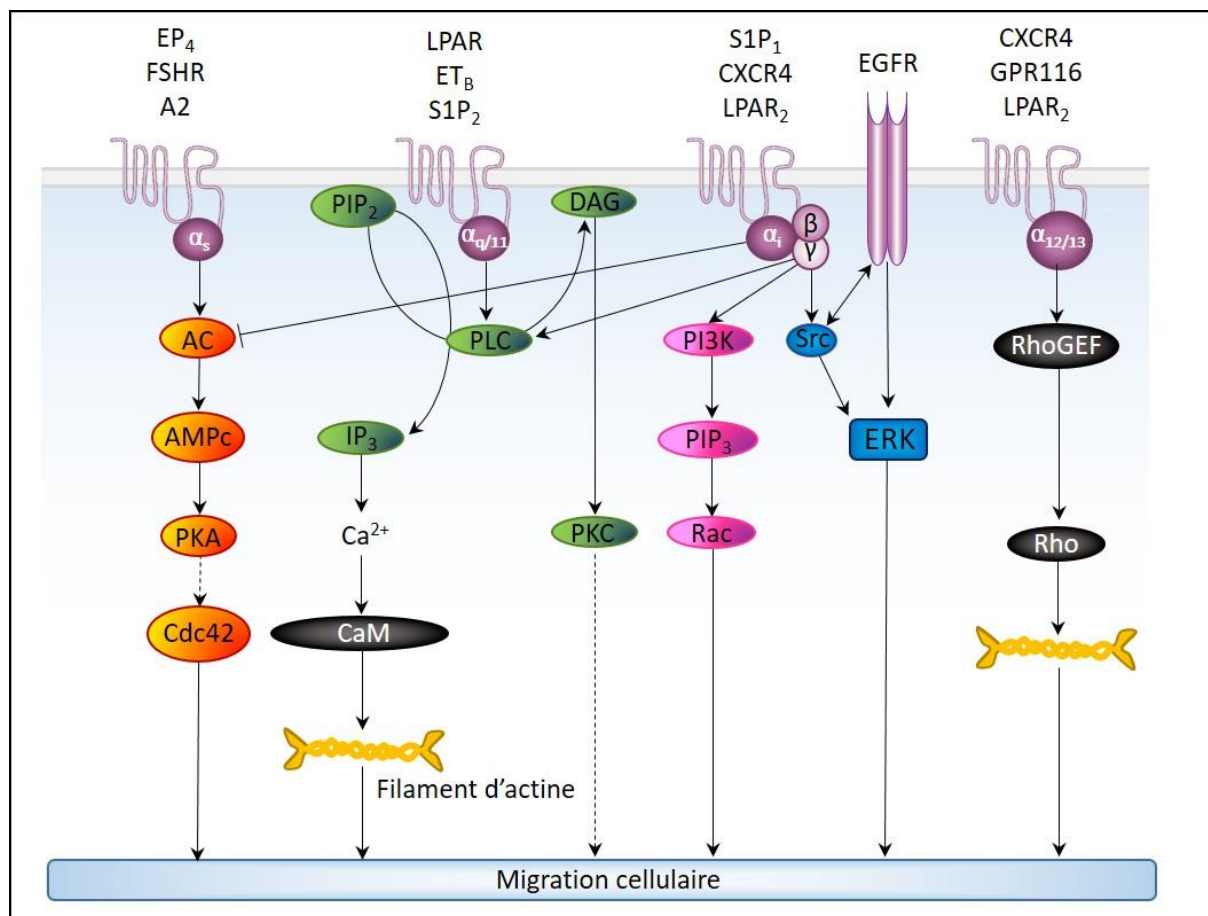
Les données de la littérature montrent que la plupart des protéines G peuvent être sollicitées dans le mécanisme de migration cellulaire (Rozengurt *et al.*, 2002 ; Cotton et Claing, 2009 ; Ganguly *et al.*, 2011). Le recrutement de  $G\alpha_q$  et de la voie PLC/PIP<sub>2</sub>/IP<sub>3</sub>/Ca<sup>2+</sup> 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  $G\alpha_q$  (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  $G\alpha_q$ /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  $G\alpha$  peuvent être impliqués dans ces processus. C'est le cas de  $G\alpha_s$  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'adénocarcinomes 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  $G_{\alpha_{q/11}}$ ,  $G_{\alpha_{12/13}}$  et  $G_{\alpha_{i/o}}$  (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  $\beta$ -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 ; EP<sub>4</sub> : récepteur de type 4 de PGE<sub>2</sub> ; ERK : *extracellular signal-regulated kinase* ; ET<sub>B</sub> : récepteur de type B de l'ET-1 ; FSHR : récepteur de la FSH ; IP<sub>3</sub> : inositol triphosphate ; LPAR<sub>2</sub> : récepteur de type 2 du LPA ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; PIP<sub>2</sub> : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ; PIP<sub>3</sub> : 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<sub>1,2</sub> : récepteur de type 1 ou 2 de la S1P.

RCPG	Ligand	Fonction	Acteurs principaux	Cancer	Lignée cellulaire	Publication
<b>Récepteurs aux peptides</b>						
AT1	AngII	Invasion ↑	n.d.	Ovaire	SK-OV-3	Suganuma <i>et al.</i> , 2005
				Sein	HCC1428	Rhodes <i>et al.</i> , 2009
		HCC1500				
		BT-549				
Métastases ↑	Tête et cou	Hs 578T	Kawamata <i>et al.</i> , 2003			
GRPR	GRP	Invasion ↑	n.d.	Tête et cou	MDA1483	Zhang <i>et al.</i> , 2004
		Métastases ↑	FAK	Neuroblastome	UM-22B	Kang <i>et al.</i> , 2007
PAR-1	Thrombine	Invasion ↑	MMP	Sein	MCF-7	Boire <i>et al.</i> , 2005
			MMP-2, MMP-9	Tête et cou	686LN-M3e	Liu <i>et al.</i> , 2001
		Migration ↑	MMP-2, PAR-2	Sein	MDA-MB-231	Even-Ram <i>et al.</i> , 1998
			n.d.	Mélanome	M24met	Shi <i>et al.</i> , 2004
			Rho, ERK	Colon	HT-29	Darmoul <i>et al.</i> , 2003
		Métastases ↑	n.d.	Rein	COS-7 transfectées (M)	McCoy <i>et al.</i> , 2012
			MMP	Sein	Echantillons	Hernández <i>et al.</i> , 2009
			n.d.		MDA-MB-231	Kang <i>et al.</i> , 2003
		PAR-2	n.d.	Mélanome	M24met	Even-Ram <i>et al.</i> , 1998
		PAR-1	Migration ↑	MMP	Prostate	PC-3
PAR-2	DU-145					
<b>Récepteurs aux lipides</b>						
EP <sub>2</sub>	PGE <sub>2</sub>	Métastases ↑	COX-2	Poumon	Echantillons	Hida <i>et al.</i> , 1998
		Invasion ↑	MMP-1, MMP-2	Colon	Caco-2	Tsujii <i>et al.</i> , 1998
			n.d.		LS174T	Sheng <i>et al.</i> , 2001
Métastases ↑	n.d.	CT26 (M)	Reinmuth <i>et al.</i> , 2003			
EP <sub>4</sub>	LPA	Migration ↑	AMPc, PI3K, Akt	Sein	LS174T	Sheng <i>et al.</i> , 2001
LPAR <sub>1</sub>			n.d.		DLD-1	Chen <i>et al.</i> , 2007
			n.d.		NUGC-3	
			n.d.	MKN1		
			n.d.	BT-549*		
LPAR <sub>2</sub>			RhoA	Hs 578T*	Colon	Shida <i>et al.</i> , 2008
			n.d.	MDA-MB-157*		
			n.d.	MDA-MB-231*		
			n.d.	T47D*		
LPAR <sub>3</sub>			Métastases ↑	n.d.	Sein	MDA-MB-157
	BT-20**					
LPAR <sub>5</sub>	Migration ↓	n.d.	Mélanome	B16	Jongsma <i>et al.</i> , 2011	
						MCF-7**
PTAFR	PAF	Migration ↑	n.d.	Sein	n.d.	Bussolati <i>et al.</i> , 2000
S1P <sub>1</sub>	S1P	Invasion ↑	MMP-2, MMP-9 ↓ Cadherine E	Tête et cou	SCC-25	Tamashiro <i>et al.</i> , 2014
			ERK1/2, MMP-2, MMP-9, uPA	Colon	LoVo	Liu <i>et al.</i> , 2012

S1P <sub>1</sub>	S1P	Migration ↑	Expression de S1P <sub>3</sub>	Colon	MKN1	Shida <i>et al.</i> , 2008	
					DLD-1		
S1P <sub>2</sub>		Invasion ↑	MMP-9, NF-κB	Prostate	PANC-1	Bi <i>et al.</i> , 2014	
		Migration ↓	n.d.	Colon	AZ-521		
S1P <sub>3</sub>		Migration ↑	ERK, Akt		Pancréas	HCG-27	Yamashita <i>et al.</i> , 2006
<b>Récepteurs aux protéines</b>							
CCR7	CCL21	Invasion ↑	n.d.	Sein	MDA-MB-361	Müller <i>et al.</i> , 2001	
		Migration ↑			MDA-MB-231		
CCR8	CCL1/IL8	Migration ↑	n.d.	Sein	Primaire	Balkwill <i>et al.</i> , 2004	
		Métastases ↑		Mélanome	n.d.		
				IL-1α, IL-6, IL-8	Tête et cou	UM-SCC-9	Ondrey <i>et al.</i> , 1999
			UM-SCC-11B				
CCR8	CCL1/IL8	Métastases ↑	IL-1α, IL-6, IL-8	Tête et cou	UM-SCC-38	Ondrey <i>et al.</i> , 1999	
CXCR2	n.d.			Poumon	3LL (M)	Keane <i>et al.</i> , 2004	
CXCR4	SDF-1	Invasion ↑	n.d.	Tête et cou	HNt	Almofti <i>et al.</i> , 2004	
					B88		
				Sein	MDA-MB-361	Müller <i>et al.</i> , 2001	
					PC-3	Zheng <i>et al.</i> , 1999	
		Migration ↑	n.d.	n.d.	Gliome	n.d.	Ehtesham <i>et al.</i> , 2006
						n.d.	Smith <i>et al.</i> , 2004
				Sein	MDA-MB-231	Müller <i>et al.</i> , 2001	
					Primaire		
				Prostate	n.d.	Phillips <i>et al.</i> , 2003	
				Rein		Pan <i>et al.</i> , 2006	
Prostate	Phillips <i>et al.</i> , 2005						
Adhésion ↑	Akt, kinase p70 S6	Poumon	NCI-H446	Kijima <i>et al.</i> , 2002			
Motilité ↑	via l'activation du récepteur c-Kit		NCI-H69				
GPER	G-1	Invasion ↑	n.d.	Endomètre	n.d.	Smith <i>et al.</i> , 2007	
			MMP, IL-6		RL95-2	He <i>et al.</i> , 2009	
			n.d.		KLE		
		Trans. EGFR	Sein	MCF-7	Shang <i>et al.</i> , 2015		
ERK, Akt							
GPR 116	n.d.	Migration ↑	RhoA, Rac, ROCK		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<sub>2,4</sub> : récepteur de type 2 ou 4 de PGE<sub>2</sub> ; 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<sub>1,2,3,5</sub> : 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-*



*activating factor* ; PGE<sub>2</sub> : prostaglandine E<sub>2</sub> ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; PAR-1,2 : *protease-activated receptor 1* ou 2 ; PTAFR : récepteur du PAF ; ROCK : *rho-associated protein kinase* ; S1P : *sphingosine-1-phosphate* ; S1P<sub>1,2,3</sub> : récepteur de type 1, 2 ou 3 de la S1P ; SDF-1 : *stromal-cell derived factor-1* ; Trans. : transactivation ; uPA : *urokinase-like plasminogen activator*. ↑ : augmentation ; ↓ : diminution ; n.d. : non précisé / non observé. (M) : Souris.

## 2.3 La néoangiogenèse induite par les RCPG

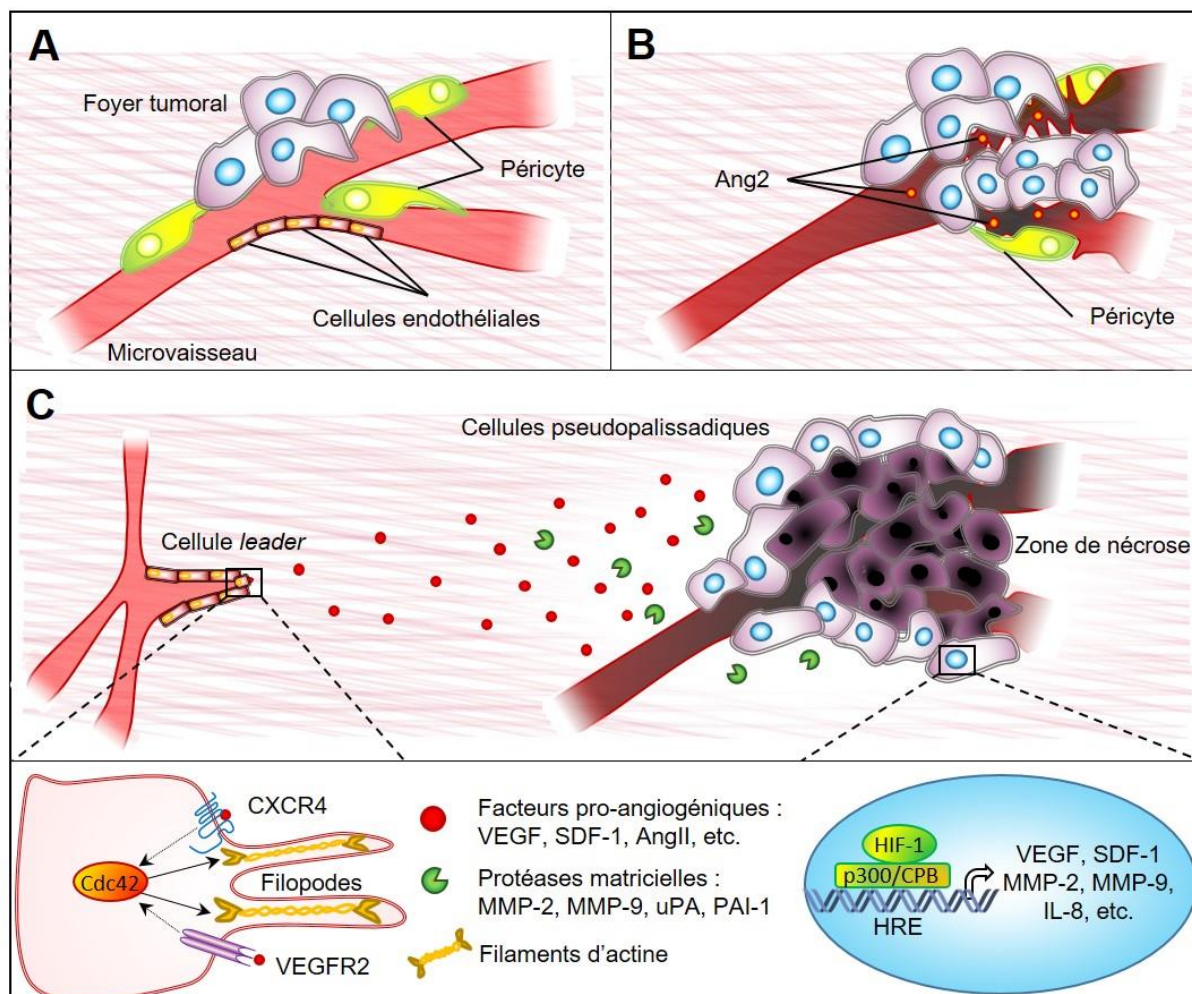
De nombreuses études précliniques ont démontré l'importance du microenvironnement dans la tumorigenèse (Olumi *et al.*, 1999 ; Barcellos-Hoff et Ravani, 2000 ; Bhowmick *et al.*, 2004). Il est constitué de cellules non tumorales, de fibroblastes, de cellules endothéliales, de cellules du système immunitaire,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

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 vasculogénèse 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'angiogénèse 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 pro-angiogéniques. 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**).

RCPG	Ligand	Fonction	Acteurs principaux	Cancer	Lignée cellulaire	Publication
<b>Récepteurs aux peptides</b>						
AT1	AngII	Angiogenèse ↑	VEGF	Ovaire	SK-OV-3	Suganuma <i>et al.</i> , 2005
					HRA	
			n.d.	Pancréas	Echantillons	Arafat <i>et al.</i> , 2007
				Foie	Hep G2	Yoshiji <i>et al.</i> , 2005
	Rein	Culture primaire (R)	Miyajima <i>et al.</i> , 2002			
<b>Récepteurs aux lipides bioactifs</b>						
EP <sub>1</sub>	PGE <sub>2</sub>	Angiogenèse ↑	VEGF	Colon	HCT 116	Fukuda <i>et al.</i> , 2003
EP <sub>2</sub>			α,β <sub>3</sub>			CT26 (M)
			COX-2, PDGF	Tête et cou	HNT	Nishimura <i>et al.</i> , 1999
			COX-2, VEGF		Echantillons	Gallo <i>et al.</i> , 2001
	Inflammation ↑	↑ IL-10, ↓ TNFα	Colon	CT26	Kambayashi <i>et al.</i> , 1995	
LPAR	LPA	Angiogenèse ↑	HIF-1α, VEGFR	Ovaire	OVCAR-3	Lee <i>et al.</i> , 2006a
					Caov-3	
				Prostate	PC-3	
		Foie	SK-Hep-1			
	Angiogenèse ≈	n.d.	Ovaire	SKOV-3		
			Foie	Hep-3B		
SIP <sub>1</sub>	SP1	Invasion ↑	SphK1, Boucle autocrine, ↑ SIP	n.d.	Plaquettes, fibroblastes, neutrophiles	Pyne et Pyne, 2010
		Vasculogenèse ↑			CEV	Okamoto <i>et al.</i> , 2000
					CMVL	Fegley <i>et al.</i> , 2003
					CE	LaMontagne <i>et al.</i> , 2006
	Inflammation ↑	IL-6, STAT3, SphK1		n.d.	Nguyen <i>et al.</i> , 2014	
<b>Récepteurs aux protéines</b>						
CXCR2	CXCL1	Angiogenèse ↑	n.d.	Poumon	3LL (M)	Keane <i>et al.</i> , 2004
			via LPA et SIP	Ovaire	OVCAR-3	Lee <i>et al.</i> , 2006b
			via LPA		Caov-3	
			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 pro-angiogéniques. 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 : cyclooxygénase 2 ; CXCR4 : récepteur de type 4 aux chimiokines C-X-C ; EP<sub>1,2</sub> : récepteur de type 1 ou 2 de PGE<sub>2</sub> ; HIF-1α : *hypoxia-inducible factor-1α* ; IL-6,10 : interleukine-6 ou -10 ; LPA : acide lysophosphatidique ; LPAR : récepteurs du LPA ; PDGF : *platelet-derived growth factor* ; PGE<sub>2</sub> : prostaglandine E<sub>2</sub> ; SIP : *sphingosine-1-phosphate* ; SIP<sub>1</sub> : récepteur de type 1 de la SIP ; SphK1 : sphingosine kinase 1 ; SDF-1 : *stromal-cell derived factor 1* ; STAT3 : *signal transducer and activator of transcription 3* ; TNFα : *tumor necrosis α* ; VEGF : *vascular endothelial growth factor* ; VEGFR : récepteur du VEGF. ↑ : augmentation ; ↓ : 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 ( $^{131}\text{I}$ ) grâce à son addition simple et rapide (Primus *et al.*, 1977 ; Goldenberg *et al.*, 1978). Cependant, en raison de leur masse moléculaire élevée ( $\approx 150$  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  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sulesomab (Quigley *et al.*, 2008) ou le  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -besilesomab (Richter *et al.*, 2011) ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$  : 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 ( $^{90}\text{Y}$ ) (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)

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 somatostatinerigiques (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.

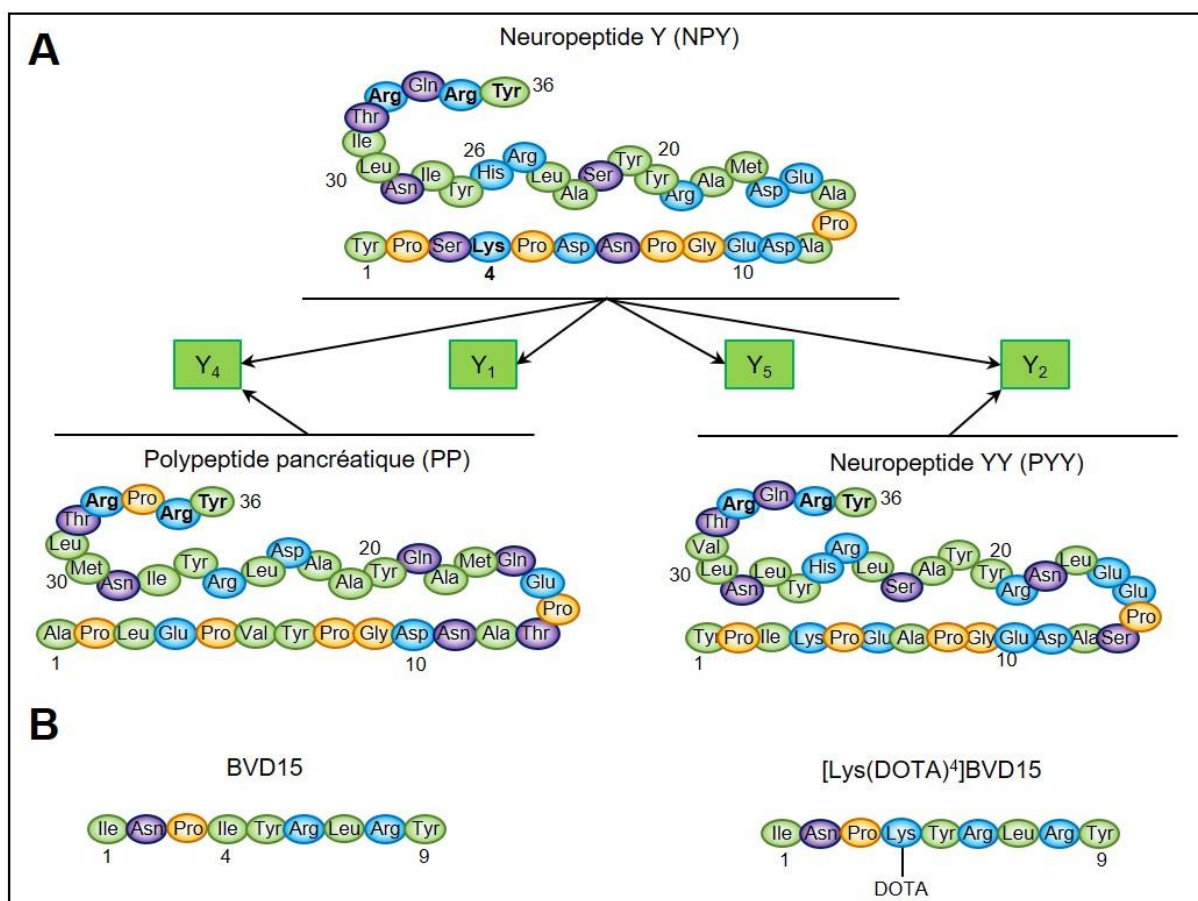
### 3.1 Radioligands ciblant les récepteurs du NPY

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 Y<sub>1</sub> à Y<sub>5</sub>, 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).

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 Y<sub>1</sub> 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)<sup>4</sup>]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<sup>33</sup>, Arg<sup>35</sup> et Tyr<sup>36</sup> pour la liaison aux récepteurs Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>4</sub> et Y<sub>5</sub>. 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 Y<sub>1</sub>. B. Guérin et coll. (2010), sur la base du BVD15, un analogue tronqué stable du NPY correspondant à l'extrémité C-terminale (Ile<sup>28</sup> à Tyr<sup>36</sup>), parviennent à greffer un DOTA en position 4 dont le résidu Ile<sup>4</sup> est préalablement substitué par une lysine. Résidus en gras : résidus importants pour la liaison au récepteur ou pour la greffe d'un chélateur. BVD15 : [Pro<sup>30</sup>, Tyr<sup>32</sup>, Leu<sup>34</sup>]NPY<sub>(28-36)</sub>-NH<sub>2</sub> ; 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).

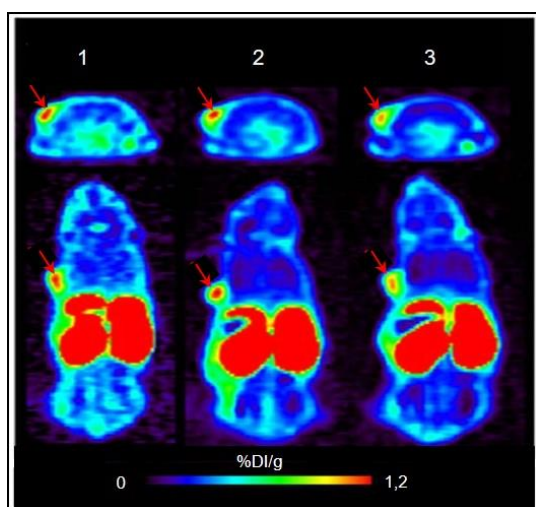
Les premières études ciblant  $Y_1$  ont principalement porté sur le radiomarquage du NPY et de ses analogues par le  $^{99m}\text{Tc}$ , le gallium-68 ( $^{68}\text{Ga}$ ) et l'indium-111 ( $^{111}\text{In}$ ) pour permettre l'imagerie sur des modèles d'animaux porteurs de tumeurs solides (Söll *et al.*, 2001 ; Langer *et al.*, 2001 ; Zwanziger *et al.*, 2008 ; Guérin *et al.*, 2010). Le radiomarquage au  $^{99m}\text{Tc}$  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 ( $\text{Lys}^4$ ) (notons que l' $\text{His}^{26}$  a été remplacée par une alanine pour empêcher la chélation du  $^{99m}\text{Tc}$ ). Les auteurs ont comparé la faisabilité du radiomarquage avec ce radioisotope avec un analogue entier du NPY, le  $[\text{Lys}^4([\text{Lys}^4(^{99m}\text{Tc})-(\text{CO})_3\text{-PADA}), \text{Ala}^{26}]\text{-NPY}$ , et avec un analogue tronqué (partie centrale) du NPY, le  $\text{Ac-}[\text{Ahx}^{5-24}, \text{Lys}^4([\text{Lys}^4(^{99m}\text{Tc})-\text{CO})_3\text{-PADA}), \text{Ala}^{26}]\text{-NPY}$  (Ahx : acide hexanoïque), dont les modifications structurales ne semblent ni altérer la liaison avec  $Y_1$  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  $^{68}\text{Ga}$  et l' $^{111}\text{In}$ . Le DOTA offre l'avantage de pouvoir être radiomarké 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  $\text{Lys}^4$  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  $[\text{Lys}(\text{DOTA})^4]\text{NPY}$  radiomarké à l' $^{111}\text{In}$  permet de cibler  $Y_1$ . 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  $Y_1$  (Zwanziger *et al.*, 2008).

Selon une approche similaire et à partir d'une série d'analogues du NPY tronqués couplés au DOTA, le  $[\text{Pro}^{30}, \text{Tyr}^{32}, \text{Leu}^{34}]\text{NPY}_{(28-36)}\text{-NH}_2$  (BVD15) a été sélectionné pour sa haute affinité pour  $Y_1$ , mais aussi pour  $Y_2$  et  $Y_4$  (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  $Y_1$ , soulignant encore l'importance de la région N-terminale dans l'interaction peptide-récepteur. L'analogue le plus affin pour  $Y_1$  est le  $[\text{Lys}^4(\text{DOTA})]\text{BVD15}$ , basé sur le NPY tronqué. Facilement synthétisable et radiomarquable, cet analogue est capable de cibler *in vivo*  $Y_1$  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  $\text{Lys}^4$  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 ( $^{18}\text{F}$ ) (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  $^{18}\text{F}[\text{Pra}^4(\text{F-Glc}), \text{Phe}^7, \text{Pro}^{34}]\text{NPY}$ .** Les images sont obtenues 45 – 60 min après injection de 2 – 5 MBq de  $^{18}\text{F}[\text{Pra}^4(\text{F-Glc}), \text{Phe}^7, \text{Pro}^{34}]\text{NPY}$  (1) ou co-injection avec 125  $\mu\text{g}$  (4 mg/kg) (2) ou 250  $\mu\text{g}$  (8 mg/kg) (3) de  $[\text{Phe}^7, \text{Pro}^{34}]\text{NPY}$  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.  $^{18}\text{F}$  : fluor-18. D'après Hofmann *et al.*, 2015.

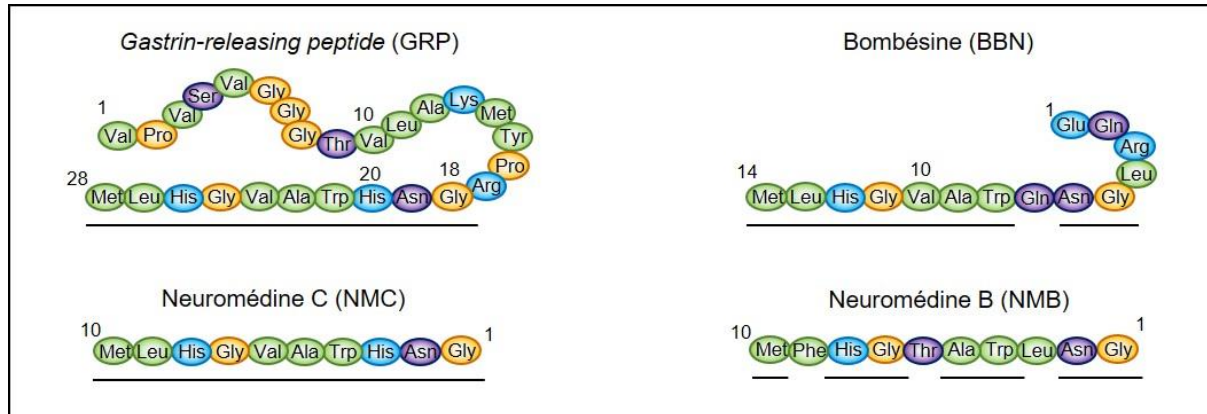
métabolisation et augmenter sa lipophilie, conférant une meilleure absorption par les tumeurs et un meilleur passage de barrières physiologiques (Bégué et Bonnet-Delpon, 2008) (**Fig. 12**).

Lignées cellulaires	SK-N-MC (Y <sub>1</sub> )	MCF-7 (Y <sub>1</sub> )	SMS-KAN (Y <sub>2</sub> )	HEC-1B (Y <sub>5</sub> )
Ligands	K <sub>i</sub> (nM)			
NPY	9,5 ± 0,1	9,5 ± 0,1	8,8 ± 0,1	8,2 ± 0,1
[Phe <sup>7</sup> , Pro <sup>34</sup> ]NPY	10,3 ± 0,2	9,1 ± 0,1	7,6 ± 0,1	8,6 ± 0,5
[Ahx <sup>5-24</sup> ]NPY	6,8 ± 0,1	n.d.	9,2 ± 0,3	n.d.
[Ahx <sup>8-20</sup> ]NPY	8,0 ± 0,1	7,7 ± 0,1	8,2 ± 0,1	6,9 ± 0,1
DOTA-NPY	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
[Lys(DOTA) <sup>4</sup> ]NPY	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
DOTA-[Phe <sup>7</sup> , Pro <sup>34</sup> ]NPY	8,6 ± 0,2	8,9 ± 0,1	6,5 ± 0,1	7,1 ± 0,3
[Lys(DOTA) <sup>4</sup> , Phe <sup>7</sup> , Pro <sup>34</sup> ]NPY	9,5 ± 0,2	9,1 ± 0,1	7,2 ± 0,1	7,5 ± 0,1
DOTA-[Ahx <sup>5-24</sup> ]NPY	n.d.	n.d.	8,8 ± 0,1	7,0 ± 0,3
[Lys(DOTA) <sup>4</sup> , Ahx <sup>5-24</sup> ]NPY	n.d.	n.d.	8,5 ± 0,1	6,8 ± 0,2
[Lys(Ga-DOTA) <sup>4</sup> , Ahx <sup>8-20</sup> ]NPY	8,8 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.d.
[Lys(In-DOTA) <sup>4</sup> , Ahx <sup>8-20</sup> ]NPY	8,8 ± 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) <sup>4</sup> ]BVD15	n.d.	63 ± 25	n.d.	n.d.
[Lys(Cu-DOTA) <sup>4</sup> ]BVD15	n.d.	29 ± 15	n.d.	n.d.
Ac[Lys(DOTA) <sup>4</sup> ]BVD15	n.d.	275 ± 99	n.d.	n.d.
[Phe <sup>7</sup> , Pro <sup>34</sup> ]NPY	n.d.	9,0 ± 0,2	n.d.	n.d.
<sup>18</sup> F[Pra <sup>4</sup> (F-Glc), Phe <sup>7</sup> , Pro <sup>34</sup> ]NPY	n.d.	8,5 ± 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 Y<sub>1</sub> tandis que les cellules SMS-KAN (lignée tumorale humaine de neuroblastome) expriment le récepteur Y<sub>2</sub> et les cellules HEC-B1 (lignée tumorale humaine de cancer de l'endomètre) expriment le récepteur Y<sub>5</sub>. La constante de dissociation (K<sub>i</sub>) et la S.E.M. sont calculées grâce à l'équation de Cheng-Prusoff (Cheng, 2001) à partir de l'IC<sub>50</sub> obtenue par l'incubation des cellules avec le [<sup>3</sup>H]propionyl-NPY ou le <sup>125</sup>I-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 : [Pro<sup>30</sup>, Tyr<sup>32</sup>, Leu<sup>34</sup>]NPY<sub>(28-36)</sub>-NH<sub>2</sub> ; 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/<sup>18</sup>F : fluor-18 ; Ga : gallium ; <sup>125</sup>I : iode-125 ; In/<sup>111</sup>In : indium-111.

### 3.2 Radioligands ciblant le GRPR

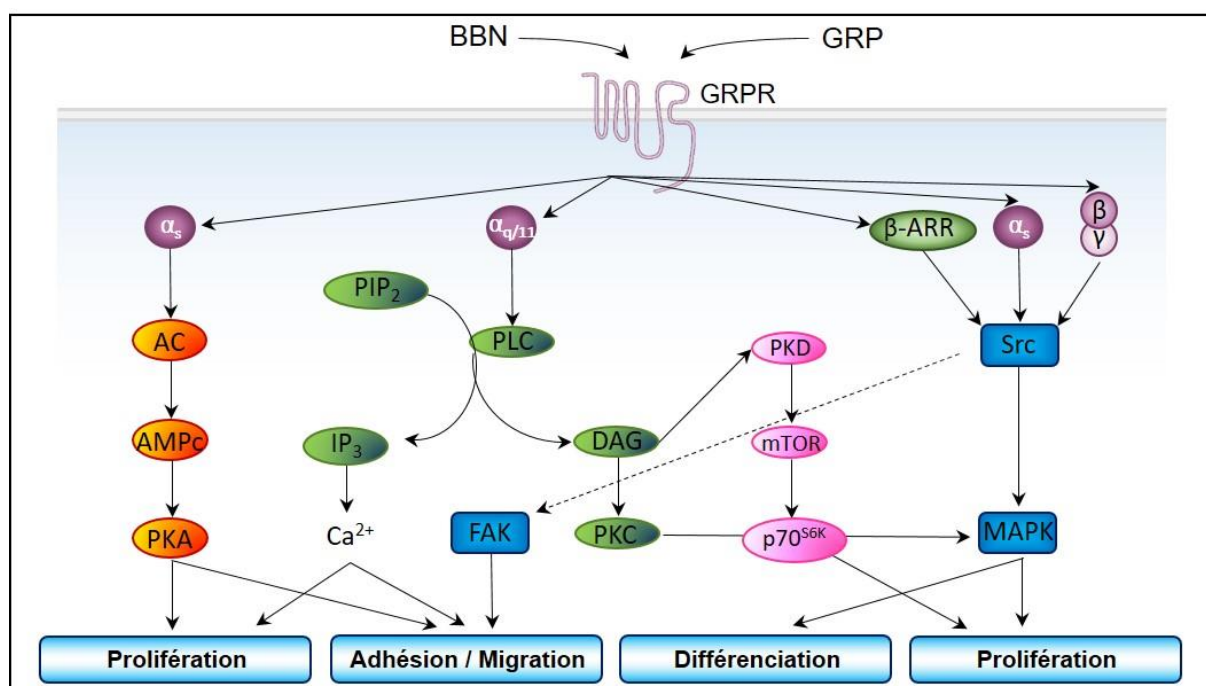
La bombésine, ou BBN, est un neuropeptide de 14 acides aminés initialement isolé chez les amphibiens (Anastasi *et al.*, 1971). Son équivalent chez les mammifères est le *mammalian gastrin-releasing peptide* (GRP) qui est composé quant à lui de 27 résidus, dont le décapeptide de la région C-terminale 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 (Gly<sup>18</sup>-Met<sup>28</sup>) 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

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/PIP<sub>2</sub>/IP<sub>3</sub> qui conduit à une élévation de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub>, 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) (Fig. 14).



**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 ; IP<sub>3</sub> : inositol triphosphate ; MAPK : mitogen-activated protein kinase ; mTOR : mammalian target of rapamycin ; p70<sup>S6K</sup> : ribosomal protein S6 kinase beta-1 ; PIP<sub>2</sub> : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ; PKA : protéine kinase A ; PKC : protéine kinase C ; PKD : protéine kinase D ; PLC : phospholipase C.

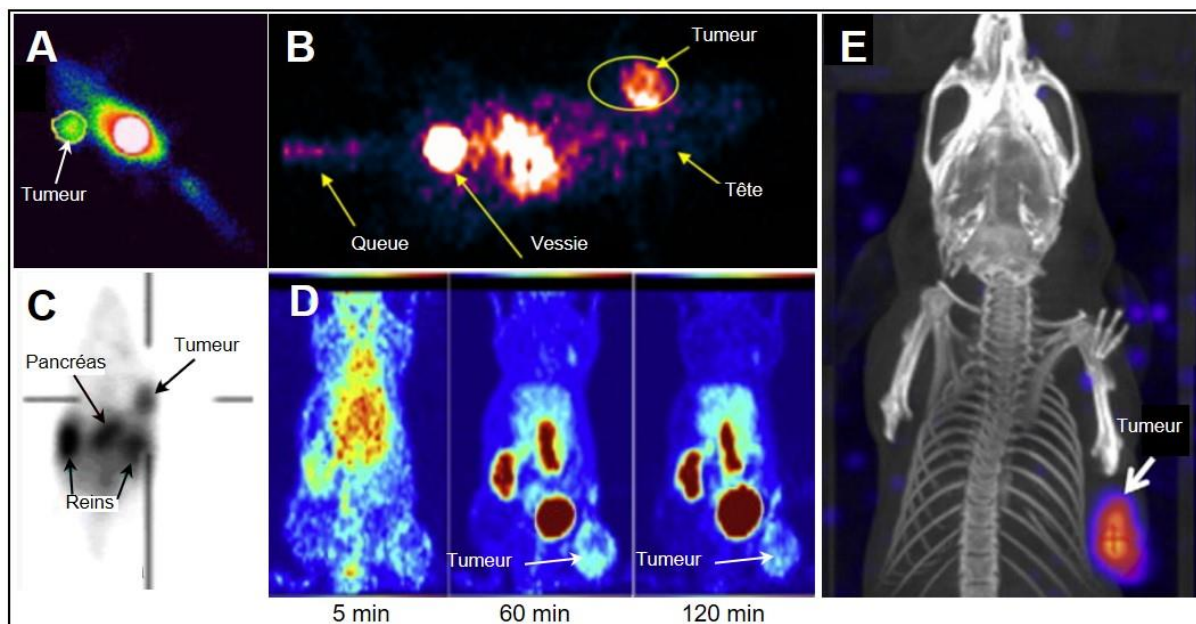
Dans la mesure où le GRPR est surexprimé dans une large variété de cancers, incluant le cancer de la prostate, du sein, du pancréas, du côlon, du poumon à petites cellules et les gliomes (Moody *et al.*, 1983 ; Frucht *et al.*, 1992 ; Sharif *et al.*, 1997 ; Lawlor *et al.*, 1998 ; Gugger et Reubi, 1999), 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 (Gln<sup>7</sup>-Trp<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>-Val<sup>10</sup>-Gly<sup>11</sup>-His<sup>12</sup>-Leu<sup>13</sup>-Met<sup>14</sup>-NH<sub>2</sub> ou BBN<sub>(7-14)</sub>) qui conserve une haute affinité pour les récepteurs (Hoffman *et al.*, 2003 ; Rogers *et al.*, 2004 ; Schuhmacher *et al.*, 2005). Plusieurs chélateurs du <sup>99m</sup>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 (N<sub>3</sub>S) (Wiele *et al.*, 2000 ; Liolios *et al.*, 2012), le tétra-amine (ou N<sub>4</sub>) (Maina *et al.*, 2005), le mercapto-acétyl triglycine (ou MAG<sub>3</sub>) (Okarvi et al-Jammaz, 2003), l'acide hydrazinonicotinique (HYNIC) (Ananias *et al.*, 2013 ; Carlesso *et al.*, 2015), l'acide diéthylène-triamine-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 <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-(tricine/TPPTS)-BBN<sub>(7-14)</sub> 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 <sup>99m</sup>Tc-DTPA-BBN<sub>(7-14)</sub> ou du <sup>111</sup>In-DTPA-BBN<sub>(7-14)</sub> 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 <sup>64</sup>Cu-CB-TE2A-8-Aoc-BBN<sub>(7-14)</sub>, le <sup>64</sup>Cu-DOTA-8-Aoc-BBN<sub>(7-14)</sub> (Garrison *et al.*, 2007), et le <sup>68</sup>Ga/<sup>64</sup>Cu-RGD-BBN (Liu *et al.*, 2009c ; Lears *et al.*, 2011) (avec Aoc : acide octanoïque ; <sup>64</sup>Cu : cuivre-64 ; RGD : tripeptide Arg-Gly-Asp ; TE2A : 1,8-*N,N'*-bis-(carboxyméthyl)-1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane) chez

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  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-PEG-[D-Tyr<sup>6</sup>-βAla<sup>11</sup>-Thi<sup>13</sup>-Nle<sup>14</sup>]-BBN<sub>(6-14)</sub> ( $^{68}\text{Ga}$ -BZH3, avec Nle : norleucine ; PEG : polyéthylène 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  $^{18}\text{F}$ -FDG (FDG : fluoro-déoxy-D-glucose). Ce dernier présente une meilleure captation tumorale que le  $^{68}\text{Ga}$ -BZH3, amenant les auteurs à conclure que le  $^{68}\text{Ga}$ -BZH3 ne devait pas être utilisé en routine pour les patients atteints par ces tumeurs. La même équipe a cependant démontré que le  $^{68}\text{Ga}$ -BZH3 était nettement supérieur au  $^{18}\text{F}$ -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-Gly<sub>5</sub>,Nle<sup>14</sup>]-BBN<sub>(6-14)</sub> (BEYG<sub>5</sub>N) sur lequel est greffé le DOTA ou le DTPA, marqué à l' $^{111}\text{In}$ . Sur des modèles animaux porteurs de xénogreffes tumorales prostatiques (PC-3 et LNCaP), le  $^{111}\text{In}$ -DOTA-BEYG<sub>5</sub>N présente un ratio tumeur/muscle (T/M) deux à trois fois plus grand comparativement aux ratios T/M obtenus pour l' $^{111}\text{In}$ -DTPA-BEYG<sub>5</sub>N et l' $^{111}\text{In}$ -BZH3. 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**).





**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  $^{99m}\text{Tc}$ -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  $^{99m}\text{Tc}$ -N $_3$ S-[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  $^{68}\text{Ga}$ -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 MBq de  $^{64}\text{Cu}$ -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  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-Glu-BBN chez une souris *balb/c* *Nude* porteuse d'une tumeur (extrait de Lim *et al.*, 2015). BBN : bombésine ; DMPTACN : acide 2-[4,7-bis(2pyridylméthyl)-1,4,7-triazacyclononan-1-yl] acétique ; DOTA : acide 1,4,7,10-tétrazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; HYNIC : hydrazinonicotinamide ; N $_3$ S : triaminédithiol ; PEG : polyéthylène glycol ; PESIN : PEG-BBN $_{(7-14)}$ .  $^{64}\text{Cu}$  : cuivre-64 ;  $^{68}\text{Ga}$  : gallium-68 ;  $^{177}\text{Lu}$  : lutécium-177 ;  $^{99m}\text{Tc}$  : technétium-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 ( $^{111}\text{In}$ -DOTA-RM1) qui a montré des propriétés très intéressantes pour le ciblage de tumeurs, comparant les résultats obtenus avec l'agoniste  $^{111}\text{In}$ -DOTA-AMBA dans les PC-3 en culture et dans un modèle animal de xénogreffes tumorales.

Ligand	Chélateur	Nom usuel	IC <sub>50</sub> (nM)	Ratio T/M	Modèle animal	Référence		
<b>Composés non radiomarqués</b>								
BBN	n.d.	n.d.	79,0	n.d.	n.d.	Baidoo <i>et al.</i> , 1998 <sup>1</sup>		
[Lys <sup>3</sup> ]BBN	DADT		n.d.					
BBN <sub>(7-14)</sub>	DOTA-PEG	DOTA-PESIN	9,5			Zhang <i>et al.</i> , 2007b <sup>2</sup>		
BBN <sub>(7-14)</sub> -RGD	n.d.	n.d.	67,9			Liu <i>et al.</i> , 2009c <sup>3</sup>		
	NOTA		55,9					
BBN2	NOTA		8,2			Richter <i>et al.</i> , 2016 <sup>2</sup>		
BBN <sub>(7-14)</sub>	DOTA-(Gly) <sub>3</sub>		50			Parry <i>et al.</i> , 2007 <sup>2</sup>		
	DOTA-Gly-(Ser) <sub>2</sub>		31,7					
	DOTA-Gly-Ser-Gly		82					
	NOTA-Bn-SCN-Aoc	1,4						
	DMPTACN	28,7	Craft <i>et al.</i> , 2012 <sup>2</sup>					
			28,7	Bergmann <i>et al.</i> , 2013 <sup>4</sup>				
<b>Analogues BBN radiomarqués au <sup>99m</sup>Tc</b>								
[Lys <sup>3</sup> ]BBN	DADT	n.d.	n.d.	n.d.	Sain	Baidoo <i>et al.</i> , 1998		
BBN <sub>(7-14)</sub>	N(PNP6)-Cys			2,6	Xéno greffes PC-3	Faintuch <i>et al.</i> , 2008		
	HYNIC-β-Ala			n.d.	7,0	Allogreffes tumorales de prostate	De Barros <i>et al.</i> , 2010	
					6,15			
					n.d.	Xéno greffes Capan-1	Carlesso <i>et al.</i> , 2015	
					6,0	Xéno greffes MDA-MB-231	Barros <i>et al.</i> , 2013	
	38			Xéno greffes HT-29	Shi <i>et al.</i> , 2008 <sup>2</sup>			
	HYNIC-(tricine/TPPTS)-Aca			HABBN	n.d.	0 <sup>3</sup>	Etude préclinique sur 8 patients avec cancer de la prostate	Ananias <i>et al.</i> , 2013
BBN <sub>(2-14)</sub>	N <sub>3</sub> S-[Arg] <sub>3</sub>			n.d.	1,58	8,65	Xéno greffes PC-3	Liolios <i>et al.</i> , 2012 <sup>2</sup>
	N <sub>3</sub> S-[Orn] <sub>3</sub>				0,77	6,38		
<b>Analogues BBN radiomarqués au <sup>67/68</sup>Ga</b>								
BBN <sub>(7-14)</sub>	DOTA-PEG	DOTA-PESIN	6,6	208,80	Xéno greffes PC-3	Zhang <i>et al.</i> , 2007b <sup>2</sup>		
	DOTA-Glu	n.d.	n.d.	7,96		Lim <i>et al.</i> , 2015		
	RGD-NOTA			4,5		Liu <i>et al.</i> , 2009c		
[D-Phe <sup>6</sup> , Sta <sup>13</sup> , Leu <sup>14</sup> ]BBN <sub>(6-14)</sub>	NOTA-PEG <sub>2</sub>	NOTA-P2-RM2	0,9	n.d.		Varasteh <i>et al.</i> , 2013 <sup>2</sup>		
	NOTA-PEG	n.d.	3,2	76,6	56	Xéno greffes BT474	Varasteh <i>et al.</i> , 2014 <sup>2</sup>	
[D-Tyr <sup>6</sup> , β-Ala <sup>11</sup> , Thi <sup>13</sup> , Nle <sup>14</sup> ]BBN <sub>(6-14)</sub>	DOTA-PEG <sub>2</sub>	BZH3	n.d.	83	Xéno greffes AR42J	Schuhmacher <i>et al.</i> , 2005		
BBN2	NOTA	n.d.	4,6	2	Xéno greffes PC-3	Richter <i>et al.</i> , 2016 <sup>2</sup>		
				1,8	Xéno greffes LNCaP			
<b>Analogues BBN radiomarqués au <sup>64</sup>Cu</b>								
BBN <sub>(7-14)</sub>	DOTA-Aoc	n.d.	n.d.	5	Xéno greffes PC-3	Rogers <i>et al.</i> , 2003		
	DOTA-PEG <sub>2</sub>			3,9	n.d.	n.d.	Rogers <i>et al.</i> , 2004 <sup>2</sup>	
	DOTA-(Gly) <sub>3</sub>			n.d.	n.d.	20	Xéno greffes PC-3	Parry <i>et al.</i> , 2007 <sup>2</sup>
	DOTA-Gly-(Ser) <sub>2</sub>					7,5		
	DOTA-Gly-Ser-Gly					19		
	NOTA-Bn-SCN-Aoc					23,7		
	DMPTACN			0,37	28,3	Bergmann <i>et al.</i> , 2013 <sup>4</sup>		
	DUPA-Ahx-NODAGA-5-Ava			11,1	n.d.	Bandari <i>et al.</i> , 2014 <sup>3</sup>		
	Aca-DOTA			18,4	3	Yang <i>et al.</i> , 2005 <sup>3</sup>		
[Lys <sup>3</sup> ]BBN	DOTA	n.d.	2,2	6	Xéno greffes PC-3	Chen <i>et al.</i> , 2004 <sup>3</sup>		
			2,2	n.d.				
BBN <sub>(6-13)</sub>	NO2A-Ahx	n.d.	6,1	61,3		Nanda <i>et al.</i> , 2012 <sup>3</sup>		

Analogues BBN radiomarqués à $^{111}\text{In}$						
[D-Phe <sup>6</sup> , Sta <sup>13</sup> , Leu <sup>14</sup> ]BBN <sub>(6-14)</sub>	NOTA-PEG <sub>2</sub>	NOTA-P2-RM2	1,2	81	Xéno greffes PC-3	Varasteh <i>et al.</i> , 2013 <sup>2</sup>
	RGD-Glu-DO3A-Ahx	RM2	5,39	41,5		Reynolds <i>et al.</i> , 2015 <sup>2</sup>
[Lys <sup>3</sup> , Tyr <sup>4</sup> ]BBN <sub>(2,14)</sub>	DTPA	n.d.	1,05	3,12		Ho <i>et al.</i> , 2009 <sup>2</sup>
Analogues BBN radiomarqués au $^{18}\text{F}$						
BBN	NOTA-4,7-lanthionine	n.d.	114	9,11	Xéno greffes PC-3	Carlucci <i>et al.</i> , 2015 <sup>2</sup>
	NOTA-2,6-lanthionine		23	6,67		
BBN <sub>(7-14)</sub>	RGD-SFB		282	5		Li <i>et al.</i> , 2008 <sup>2</sup>
Analogues BBN radiomarqués au $^{177}\text{Lu}$						
BBN <sub>(7-14)</sub>	DOTA-PEG	DOTA-PESIN	6,1	147	Xéno greffes PC-3	Zhang <i>et al.</i> , 2007b
	DOTA-Aoc	n.d.	n.d.	n.d.		Johnson <i>et al.</i> , 2006 <sup>5</sup>
	DO3A-Gly-4-aminobenzoyl	AMBA	0,53	52	Xéno greffes DU145	Maddalena <i>et al.</i> , 2009 <sup>5,6</sup>
			0,65	41,5	Xéno greffes LNCaP	
	DOTA-Lys(glucose)-4-aminobenzoate	DOTA-Glu-BBN	4,67	n.d.	Xéno greffes PC-3	Lim <i>et al.</i> , 2015 <sup>6</sup>
[D-Phe <sup>6</sup> , Hms <sup>14</sup> ]BBN <sub>(6-14)</sub>	DOTA-PEG	n.d.	2,4	384	Valverde <i>et al.</i> , 2016 <sup>4</sup>	
[D-Tyr <sup>6</sup> , β-Ala <sup>11</sup> , Thi <sup>13</sup> , Nle <sup>14</sup> ]BBN <sub>(6-14)</sub>	DOTA-PEG <sub>2</sub>	BZH3	n.d.	74	Xéno greffes AR42J	Schuhmacher <i>et al.</i> , 2005
[Lys <sup>1</sup> (α,γ-folate)-Lys <sup>3</sup> ]BBN <sub>(1-14)</sub>	DOTA	Folate-BBN	n.d.	48,2	Xéno greffes T47D	Aranda-Lara <i>et al.</i> , 2016a
[D-Phe <sup>6</sup> , Sta <sup>13</sup> , Leu <sup>14</sup> ]BBN <sub>(6-14)</sub>	RGD-Glu-DO3A-Ahx	RM2	5,83	47,6	Xéno greffes PC-3	Reynolds <i>et al.</i> , 2015 <sup>2</sup>
Analogues BBN radiomarqués au $^{86}\text{Y}$						
[Pro <sup>1</sup> , Tyr <sup>4</sup> ]-BBN <sub>(1-14)</sub>	DOTA	MP2346	n.d.	77,7	Xéno greffes PC-3	Biddlescombe <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. <sup>1</sup>L'IC<sub>50</sub> a été obtenue sur membranes extraites de cerveaux de rats Sprague-Dawley, préalablement incubées avec le [<sup>125</sup>I-Tyr<sup>4</sup>]BBN. <sup>2</sup>L'IC<sub>50</sub> a été obtenue avec la lignée PC-3 préalablement incubée avec le [<sup>125</sup>I-Tyr<sup>4</sup>]BBN ou la BBN. <sup>3</sup>Les 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. <sup>4</sup>L'IC<sub>50</sub> a été obtenue avec la lignée PC-3 préalablement incubée avec le GRP. <sup>5</sup>Les souris traitées avec le radioligand présentent une diminution du volume tumoral par rapport au contrôle. <sup>6</sup>L'IC<sub>50</sub> 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-aminobenzoyl-BBN<sub>(7-14)</sub> ; Aoc : acide amino-octanoïque ; Ava : acide amino-valérique ; BBN : bombésine ; BBN2 : Ava-Gln<sup>7</sup>-Trp<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>-Val<sup>10</sup>-Sar<sup>11</sup>-His<sup>12</sup>-FA01010<sup>13</sup>-Tle<sup>14</sup> ; Bn-SNC : S-2-(4-isothiocyanatobenzyle) ; BZH3 : [D-Tyr<sup>6</sup>, β-Ala<sup>11</sup>, Thi<sup>13</sup>, Nle<sup>14</sup>]-BBN<sub>(6-14)</sub> ; DMPTACN : acide 2-[4,7-bis(2pyridylméthyl)-1,4,7-triazacyclononan-1-yl] acétique ; DADT : diaminedithiol ; DO3A : acide 1,4,7-tris(carboxyméthyl)-1,4,7,10-tétrazacyclododécane ; DOTA : acide 1,4,7,10-tétrazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DUPA : acide (2-[3-(1,3-dicarboxypropyl)-uréido]pentanedioïque) ; FA01010 : acide (4R,5S)-4-amino-5-méthylheptanoïque ; GRP : *gastrin-releasing peptide* ; HABBN : HYNIC-(tricine/TPPTS)-Aca-BBN<sub>(7-14)</sub> ; Hms : méthoxinine ; HYNIC : hydrazinonicotinamide ; MP2346 : [Pro<sup>1</sup>, Tyr<sup>4</sup>]-BBN<sub>(1-14)</sub> ; N<sub>3</sub>S : triaminédithiol ;

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 : PEG<sub>2</sub> ; PEG : polyéthylène glycol ; PEG<sub>2</sub> : diéthylène glycol ; PESIN : PEG-BBN<sub>(7-14)</sub> ; PNP6 : diphosphine ; RGD : tripeptide Arg-Gly-Asp ; RM2 : [D-Phe<sup>6</sup>, Sta<sup>13</sup>, Leu<sup>14</sup>]BBN<sub>(6-14)</sub> ; Sar : sarcosine ; SFB : *N*-succinimidyl-4-[<sup>18</sup>F] ; Sta : statine ; Thi : thiénylalanine ; Tle : *tert*-leucine ; TPPTS : triphénylphosphine-3,3',3''-trisulfonate trisodique. <sup>64</sup>Cu : cuivre-64 ; <sup>18</sup>F : fluor-18 ; <sup>67/68</sup>Ga : gallium-67 ou 68 ; <sup>111</sup>In : indium-111 ; <sup>177</sup>Lu : lutécium-177 ; <sup>99m</sup>Tc : technétium-99 métastable ; <sup>86</sup>Y : yttrium-86.

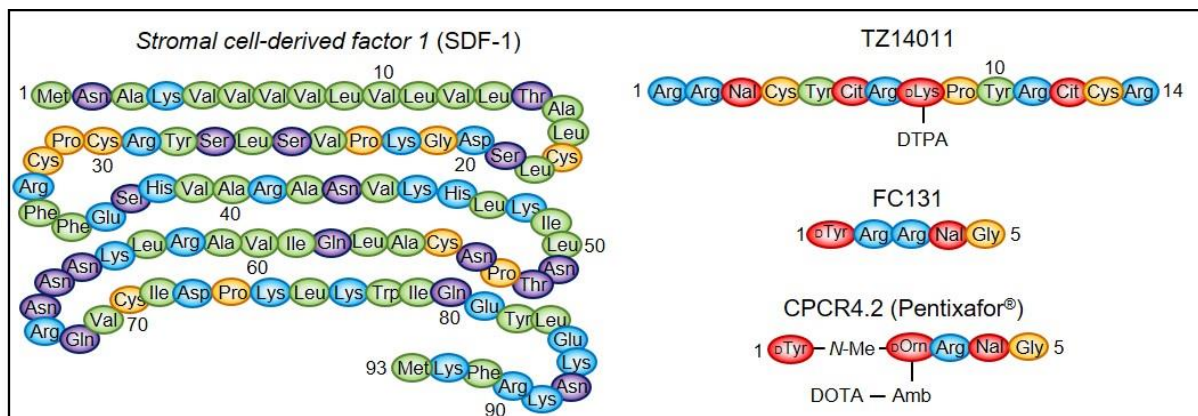
Ainsi, cet antagoniste présente de meilleures propriétés *in vivo*, *i.e.* une plus grande captation et rétention tumorales et une plus faible captation rénale et pancréatique. La même équipe a ainsi démontré que la présence d'un espaceur chargé positivement entre le chélateur et l'antagoniste améliore l'affinité et la stabilité de liaison. Appelé DOTA-RM2, ce nouvel analogue radiomarqué avec le <sup>68</sup>Ga 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 radiomarkés au <sup>64</sup>Cu 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 <sup>18</sup>F 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 radiomarkés avec *i)* des émetteurs  $\beta$  tels que le <sup>90</sup>Y ou le lutécium-177 (<sup>177</sup>Lu) (Zhang *et al.*, 2004 ; Abiraj *et al.*, 2011 ; Morgat *et al.*, 2014) ou *ii)* des émetteurs de particules  $\alpha$  tels que le bismuth-213 (<sup>213</sup>Bi) (Wild *et al.*, 2011). Les études précliniques comparatives démontrent la supériorité des analogues radiomarkés avec le <sup>213</sup>Bi, 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  $^{111}\text{In}$ -DTPA-TZ14011 (Hanaoka *et al.*, 2006). Bien

que les expériences de *binding* avec ce radioligand aient été prometteuses (IC<sub>50</sub> 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 <sup>64</sup>Cu-AMD3100, pourtant rapidement et facilement radiomarké, 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 <sup>18</sup>F, un autre antagoniste du CXCR4 a été synthétisé (Jacobson *et al.*, 2010). Nommé <sup>18</sup>F-T140, ce nouveau radioligand présente une accumulation dans les tumeurs exprimant le CXCR4 mais marque également les hématies. De plus, son radiomarkage 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 <sup>64</sup>Cu ou le <sup>68</sup>Ga, 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**).

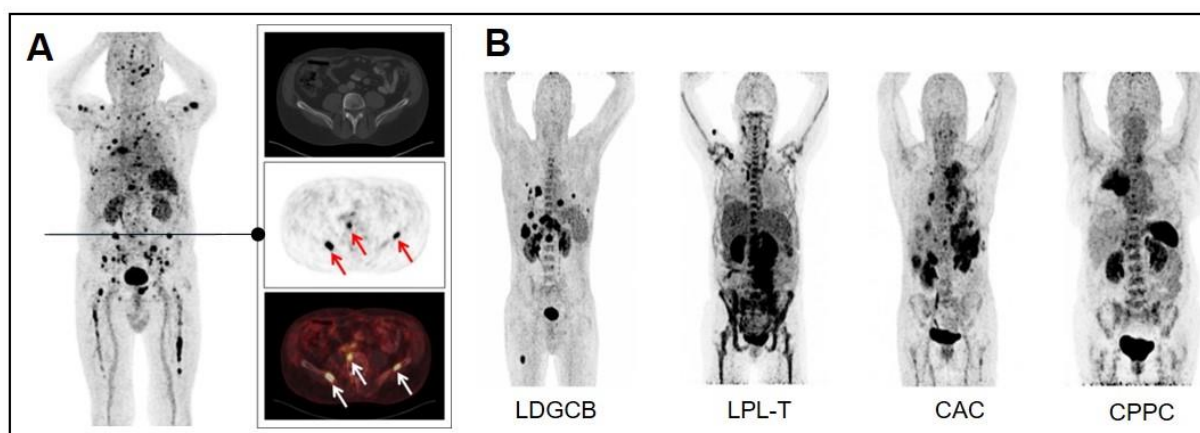


**Figure 16. Séquences peptidiques du SDF-1 et de trois analogues.** A partir de l'isoforme  $\beta$  du SDF-1, qui compte plus de 90 acides aminés, Hanaoka et coll. (2006) se sont intéressés à la synthèse du TZ14011 (un analogue de 14 acides aminés antagoniste du CXCR4) sur lequel est greffé un chélateur DTPA sur une Lys<sup>8</sup> 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 (<sup>124</sup>I) 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<sup>5</sup>-aminocarbonylornithine ; CXCR4 : récepteur de chimiokines de type 4 motif C-X-C ; DOTA : acide 1,4,7,10-tétrazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DTPA : acide diéthylène-triamine-pentaacétique ; Me : méthyl ; Nal : 3-naphthalanine ; SDF-1 : *stromal cell-derived factor-1*.

Ces nouveaux radiotraceurs couplés au <sup>64</sup>Cu 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-Tyr<sup>1</sup>, Arg<sup>2</sup>, Arg<sup>3</sup>, Nal<sup>4</sup>, Gly<sup>5</sup>) (Thiele *et al.*, 2014). Testé sur modèle animal, sa stabilité plasmatique est grandement améliorée et son marquage avec l'iode-124 (<sup>124</sup>I) 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 <sup>68</sup>Ga, produits *via* un générateur (cf chapitre III - 1.2.1), et sur la base du pentapeptide cyclique, le FC131, le CPCR4-2 (D-Tyr<sup>1</sup>, [N-Me]D-Orn<sup>2</sup>, [4-acide aminométhylbenzoïque-DOTA]Arg<sup>3</sup>, 2-Nal<sup>4</sup>, Gly<sup>5</sup>) a été développé. Les résultats montrent que chez des souris porteuses de tumeurs surexprimant le CXCR4, le <sup>68</sup>Ga-CPCR4-2 présente les

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  $^{68}\text{Ga}$ -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  $^{68}\text{Ga}$ -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  $^{68}\text{Ga}$ -Pentixafor.** **A.** *Gauche*, vue « corps entier » TEP/TDM d'un patient, une heure après injection de  $^{68}\text{Ga}$ -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 prolymphocytaire 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.  $^{68}\text{Ga}$  : gallium-68.



### 3.4 Radioligands ciblant les récepteurs SST<sub>1-5</sub>

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<sup>7,21</sup>, Trp<sup>8,22</sup>, Lys<sup>9,23</sup> et Thr<sup>10,24</sup> (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 somatostatinerigiques 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 somatostatinerigique 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.*, 2007 ; Barbieri *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, sst<sub>1</sub> à sst<sub>5</sub> (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 sst<sub>1-5</sub> 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

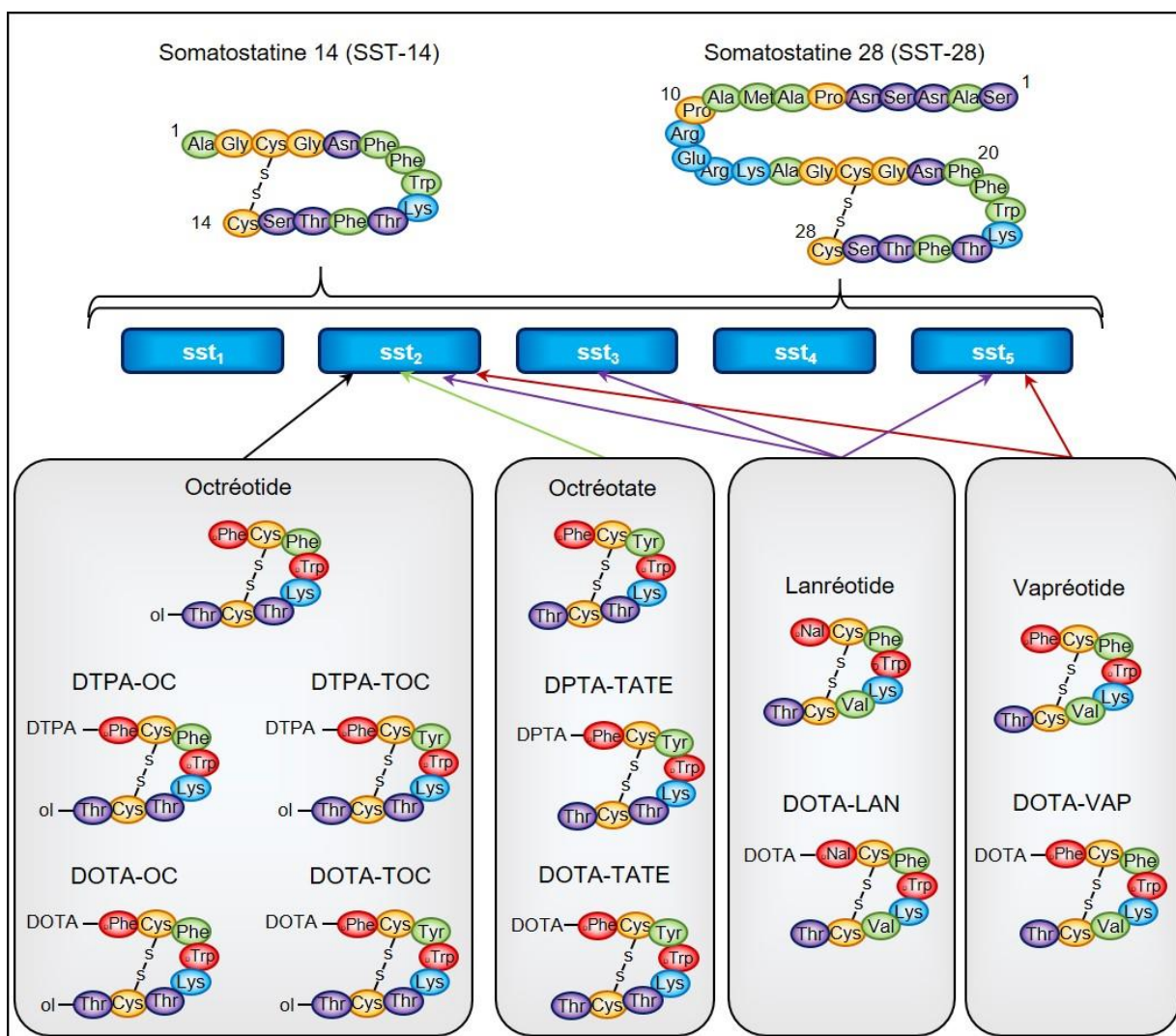
nombreux cancers, *e.g.* carcinomes du sein (Watt *et al.*, 2008), tumeurs neuroendocrines (Reubi et Maecke, 2008). La somatostatine est également capable d'induire l'apoptose *via* les récepteurs *sst*<sub>2</sub> et *sst*<sub>3</sub> (Sharma *et al.*, 1997 ; Guillermet-Guibert *et al.*, 2005), suggérant 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 somatostatinerigiques dans des tumeurs neuroendocrines, avec toutefois une prédominance nette pour *sst*<sub>2</sub> (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 *sst*<sub>1</sub> (Kaemmerer *et al.*, 2015). Les récepteurs somatostatinerigiques sont également surexprimés dans des tumeurs non-neuroendocrines, 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 somatostatinerigiques chez les patients porteurs de tumeurs, avec en premier lieu le marquage des deux peptides naturels avec l'iode-125 (<sup>125</sup>I) (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

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 apparaît que la demi-vie 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 Trp<sup>8</sup> 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 somatostatinerigiques 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 Kvolos, 2010). Les affinités différentielles des analogues somatostatinerigiques, *e.g.* liaison privilégiée de l'octréotide pour sst<sub>2</sub> et sst<sub>5</sub> (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).

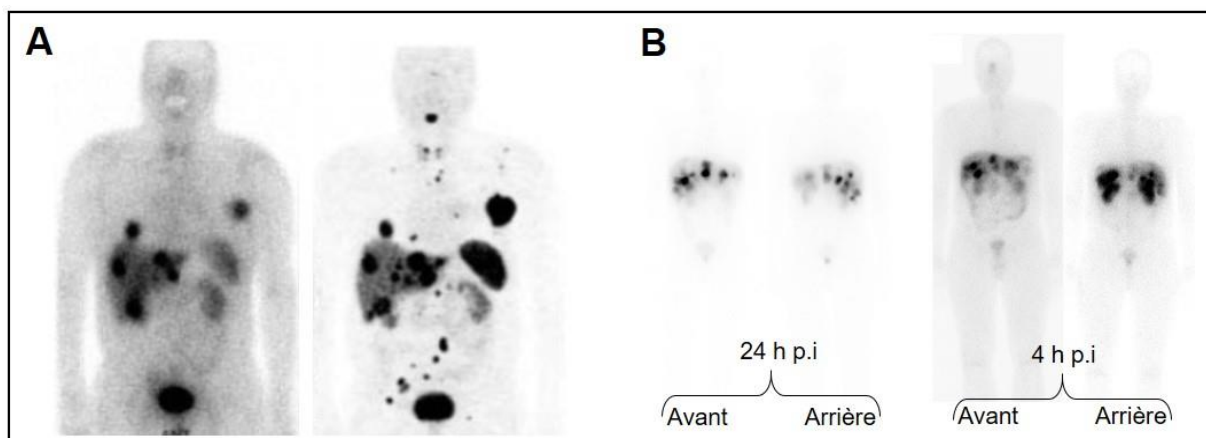
En 1989, Krenning et coll. ont été les premiers à réaliser des scintigraphies de récepteurs somatostatinerigiques à l'aide de l'octréotide modifié par l'insertion d'un résidu tyrosine (Tyr<sup>3</sup>-octréotide) permettant la greffe d'iode-123 (<sup>123</sup>I). Cependant, en raison de la faible stabilité *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 radiomarké à l'<sup>111</sup>In (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 somatostatinerigiques et principaux analogues développés.** Le système somatostatinerigique comporte deux peptides de 14 (SST-14) et 28 (SST-28) acides aminés, qui interagissent avec cinq types de récepteur ( $sst_{1-5}$ ). 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 ( $^{111}\text{In}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{90}\text{Y}$  ou  $^{177}\text{Lu}$ ) dont l'activité sera exploitée pour le diagnostic ou le traitement des tumeurs neuroendocrines. DOTA : acide 1,4,7,10-tétrazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-LAN : DOTA-lanréotide ; DOTA-OC : DOTA-octréotide ; DOTA-TATE : DOTA-octréotate ; DOTA-TOC : DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octréotide ; DOTA-VAP : DOTA-vapréotide ; DTPA : acide diéthylène-triamine-pentaacétique ; DTPA-OC : DTPA-octréotide ; DTPA-TATE : DTPA-octréotate ; DTPA-TOC : DTPA-Tyr<sup>3</sup>-octréotide ; Nal : 3-naphthalanine ;  $sst_{1-5}$  : récepteur de type 1, 2, 3, 4 ou 5 de la SST.  $^{68}\text{Ga}$  : gallium-68 ;  $^{111}\text{In}$  : indium-111 ;  $^{177}\text{Lu}$  : lutécium 177 ;  $^{90}\text{Y}$  : yttrium-90.

Sur la base de l'octréotide, d'autres dérivés ont été développés, avec toujours une affinité préférentielle pour  $ss_2$ . Il s'agit du DTPA-Tyr<sup>3</sup>-octréotide (DTPA-TOC) et du DTPA-Tyr<sup>3</sup>-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  $ss_2$  (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'<sup>111</sup>In ou le <sup>68</sup>Ga pour l'imagerie de tumeurs surexprimant les récepteurs somatostatinerrgiques, ou par des radioisotopes tels que l'<sup>90</sup>Y et le <sup>177</sup>Lu pour leur action thérapeutique sur les tumeurs. Ainsi furent développés le DOTA-octréotide (DOTA-OC) (Heppeler *et al.*, 1998), le DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octréotide (DOTA-TOC) (Otte *et al.*, 1997 ; Heppeler *et al.*, 1998) et le DOTA-Tyr<sup>3</sup>-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 somatostatinerigues.** A. Scintigraphies réalisées une heure après injection chez un même patient de  $^{111}\text{In}$ -DTPA-OC (*gauche*) ou du  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC (*droite*). Extrait de Fani et Maecke, 2012. B. Scintigraphies « corps entier » 24 heures ou quatre heures après injection du  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-TATE chez un patient atteint d'une TNE rectale métastasante 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-Tyr<sup>3</sup>-octréotide ; DTPA : acide diéthylènetriamine-pentaacétique ; DTPA-OC : DTPA-octréotide ; TNE : tumeur neuroendocrine.  $^{68}\text{Ga}$  : gallium-68 ;  $^{111}\text{In}$  : indium-111 ;  $^{177}\text{Lu}$  : lutécium-177.

Récepteur	sst <sub>1</sub>	sst <sub>2</sub>	sst <sub>3</sub>	sst <sub>4</sub>	sst <sub>5</sub>	Statut (2017)
<b>Ligands naturels</b>						
SST-14	0,93	0,15	0,56	1,5	0,29	n.d.
SST-28 <sup>1</sup>	5,2 ± 0,3	2,7 ± 0,3	7,7 ± 0,9	5,6 ± 0,4	4,0 ± 0,3	n.d.
<b>Analogues</b>						
Octréotide <sup>1</sup>	>10000 (5)	2 ± 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 <sup>1</sup>	>10000	12 ± 2	376 ± 84	>1000	299 ± 50	n.d.
DTPA-TATE <sup>1</sup>	>10000	3,9 ± 1	>10000	>1000	>1000	n.d.
DOTA-OC <sup>1</sup>	>10000	14 ± 3	27 ± 9	>1000	103 ± 39	n.d.
DOTA-TOC <sup>1</sup>	>10000	14 ± 2,6	880 ± 324	>1000	393 ± 84	n.d.
DOTA-TATE <sup>1</sup>	>10000	1,5 ± 0,4	>1000	453 ± 176	547 ± 160	n.d.
DOTA-LAN <sup>1</sup>	>10000	26 ± 3,4	771 ± 229	>10000	73 ± 12	n.d.
DOTA-VAP <sup>1</sup>	>10000	29 ± 7	419 ± 104	743 ± 190	80 ± 19	n.d.
In-DTPA-OC <sup>1</sup>	>10000	22 ± 3,6	182 ± 13	>1000	237 ± 52	Commercialisé
In-DTPA-TATE <sup>1</sup>	>10000	1,3 ± 0,2	>10000	433 ± 176	>1000	n.d.
Ga-DOTA-OC <sup>1</sup>	>10000	7,3 ± 1,9	120 ± 45	>1000	60 ± 14	n.d.
Ga-DOTA-TOC <sup>1</sup>	>10000	2,5 ± 0,5	613 ± 140	>1000	73 ± 21	Etude phase 2
Ga-DOTA-TATE <sup>1</sup>	>10000	0,2 ± 0,04	>1000	300 ± 140	377 ± 18	Commercialisé
Ga-DOTA-NOC <sup>3</sup>	>10000	1,9 ± 0,4	40,0 ± 5,8	260 ± 74	7,2 ± 1,6	Etude phase 2
Y-DOTA-OC <sup>1</sup>	>10000	20 ± 2	27 ± 8	>10000	57 ± 22	n.d.
Y-DOTA-TOC <sup>1</sup>	>10000	11 ± 1,7	389 ± 135	>10000	114 ± 29	Etude phase 2

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

**Tableau 7. Principaux ligands à haute affinité pour les récepteurs somatostatinerigiques 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. <sup>1</sup>Reubi et coll. en 2000 ont déterminé l'IC<sub>50</sub> de leurs composés sur des fractions cellulaires de CHO-K1 (exprimant stablement sst<sub>1</sub> et sst<sub>5</sub>) ou de CCL39 (exprimant stablement sst<sub>2</sub>, sst<sub>3</sub> et sst<sub>4</sub>) préalablement incubées avec l'<sup>125</sup>I-[Leu<sup>8</sup>, D-Trp<sup>22</sup>, Tyr<sup>25</sup>]SST-28. <sup>2</sup>Schottelius et coll. en 2015 ont déterminé l'IC<sub>50</sub> du Lu-DOTA-TATE sur des fractions cellulaires d'AR42J préalablement incubées avec le traceur équivalent non radioactif. <sup>3</sup>Antunes et coll. en 2007 ont déterminé l'IC<sub>50</sub> du Ga-DOTA-NOC sur des fractions cellulaires de CHO-K1 (exprimant stablement sst<sub>1</sub> et sst<sub>5</sub>) ou de CCL39 (exprimant stablement le sst<sub>2</sub>, le sst<sub>3</sub> et sst<sub>4</sub>) préalablement incubées avec l'<sup>125</sup>I-[Leu<sup>8</sup>, D-Trp<sup>22</sup>, Tyr<sup>25</sup>]SST-28. <sup>4</sup>Ginj et coll. en 2006 ont déterminé l'IC<sub>50</sub> de leurs composés sur des fractions cellulaires d'HEK-293 exprimant stablement sst<sub>3</sub> préalablement incubées avec le traceur équivalent non radioactif. <sup>5</sup>Fani et coll. en 2012b ont déterminé l'IC<sub>50</sub> de leurs composés sur des fractions cellulaires de CHO-K1 (exprimant stablement sst<sub>1</sub> et sst<sub>5</sub>) ou de CCL39 (exprimant stablement sst<sub>2</sub>, sst<sub>3</sub> et sst<sub>4</sub>) préalablement incubées avec l'<sup>125</sup>I-[Leu<sup>8</sup>, D-Trp<sup>22</sup>, Tyr<sup>25</sup>]SST-28. L'affinité est indiquée par la valeur de l'IC<sub>50</sub> ± SEM exprimée en nM. Agl : acide α-glutamique ; ANT : NO<sub>2</sub>-Phe<sup>1</sup>-(D-Cys<sup>2</sup>-Tyr<sup>3</sup>-D-Trp<sup>4</sup>-Lys<sup>5</sup>-Thr<sup>6</sup>-Cys<sup>7</sup>)-D-Tyr<sup>8</sup> ; Cbm : acide D-4-amino-Phe-carbamoyl ; 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-[Nal<sup>1</sup>]-octréotide ; DOTA-OC : DOTA-octréotide ; DOTA-TATE : DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octréotate ; DOTA-TOC : DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octréotide ; DOTA-VAP : DOTA-vapréotide ; DTPA : acide diéthylène-triamine-penta-acétique ; DTPA-OC : DTPA-octréotide ; DTPA-TATE : DTPA-octréotate ; DTPA-TOC : DTPA-Tyr<sup>3</sup>-octréotide ; Hor : acide amino-Phe-hydroorotique ; JR11 : Cpa<sup>1</sup>-[D-Cys<sup>2</sup>-Hor<sup>3</sup>-D-Cbm<sup>4</sup>-Lys<sup>5</sup>-Thr<sup>6</sup>-Cys<sup>7</sup>]-D-Tyr<sup>8</sup> ; Nal : 3-naphthalanine ; NODAGA : acide 1,4,7-triazacyclononane-1-acide glutarique-4,7-acétique ; ODN : NH<sub>2</sub>-CO-(D-Cys<sup>1</sup>-Phe<sup>2</sup>-Tyr<sup>3</sup>-D-Agl(Me-2-naphthoyl)<sup>4</sup>-Lys<sup>5</sup>-Thr<sup>6</sup>-Phe<sup>7</sup>-Cys<sup>8</sup>) ; SST-14,28 : somatostatine 14 ou 28. Ga : gallium ; In : indium ; Lu : lutécium ; Y : yttrium. n.d. : non déterminé.

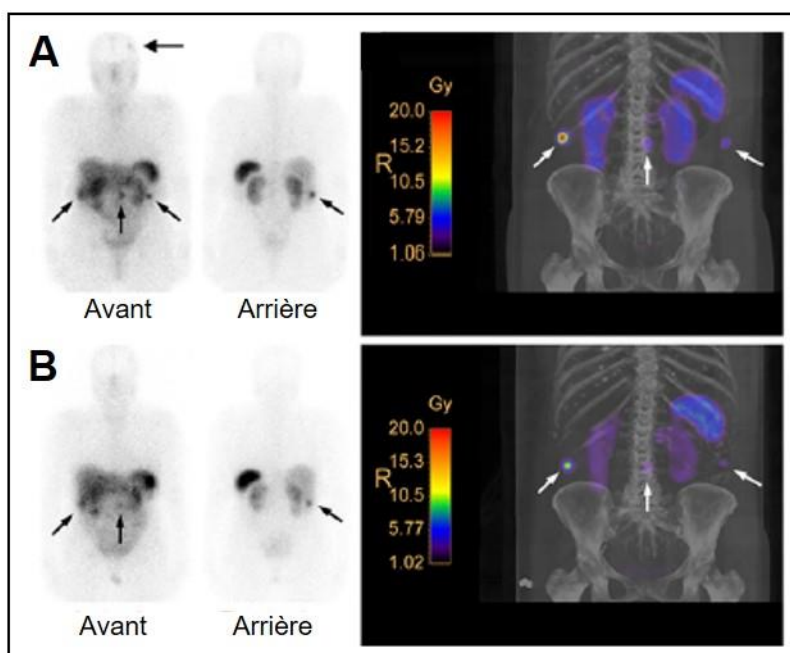
La possibilité de modifier la partie N-terminale sans altérer les propriétés biologiques des analogues somatostatinerigiques a permis de mettre au point d'autres radioligands couplés par exemple avec le chélateur HYNIC, facilitant la chélation du  $^{99m}\text{Tc}$ , très utilisé et étudié pour les scintigraphies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

Grâce aux succès diagnostiques obtenus avec les dérivés somatostatinerigiques, peu d'essais ont été réalisés pour élaborer des analogues radiomarqués au  $^{18}\text{F}$ , couramment utilisé en médecine nucléaire sous la forme  $^{18}\text{F}$ -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- $\text{BF}_3$ ,  $\text{AMBF}_3$ ) sur le Tyr<sup>3</sup>-octréotate, ce qui permet la complexation avec le  $^{18}\text{F}$  (Liu *et al.*, 2014). Le composé ainsi généré ( $^{18}\text{F}$ - $\text{AMBF}_3$ -TATE) présente une activité spécifique plus élevée que les autres analogues somatostatinerigiques, 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 SiFAlin (accepteur à base de fluorure de silicone ou *Silicon-based 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  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE mais les images obtenues avec le dérivé fluoré sont de meilleure qualité, avec une résolution et une captation tumorales plus importantes ; ces résultats prometteurs sont dus à la plus faible énergie émise par le  $^{18}\text{F}$ .

Depuis 2006, l'utilisation d'antagonistes somatostatinerigiques est explorée. Deux antagonistes ont notamment été étudiés : le  $^{111}\text{In}$ -sst<sub>2</sub>-ANT et le  $^{111}\text{In}$ -sst<sub>3</sub>-ODN-8, qui fixent sst<sub>2</sub> et sst<sub>3</sub>, 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



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  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{111}\text{In}$  et  $^{177}\text{Lu}$  (Fani *et al.*, 2011 ; Fani *et al.*, 2012 ; 2017 ; Radford *et al.*, 2017). A titre d'exemple, l'antagoniste  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-JR11 présente une meilleure efficacité de traitement que le  $^{177}\text{Lu}$ -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 : NCT02609737).



**Figure 20. Comparaison des images obtenues chez un même patient avec le  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-JR11 (A) et le  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-TATE (B).** A. Scintigraphie planaire obtenue 24 heures après injection du  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-JR11 (antagoniste de  $\text{sst}_2$ ) chez un patient atteint de plusieurs TNE-GEP (flèches noires et blanches). La flèche du haut indique un possible méningiome. B. Scintigraphie planaire réalisée chez le même patient injecté avec le  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-TATE (agoniste du  $\text{sst}_2$ ) dont l'analyse indique une captation tumorale deux à quatre fois inférieure à celle mesurée avec le  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-JR11, pour une même dose injectée. Extrait de Fani *et al.*, 2017. DOTA : acide 1,4,7,10-tétra-aza-cyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-TATE : DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octroétate ; JR11 : Cpa<sup>1</sup>-[D-Cys<sup>2</sup>-Hor<sup>3</sup>-D-Cbm<sup>4</sup>-Lys<sup>5</sup>-Thr<sup>6</sup>-Cys<sup>7</sup>]-D-Tyr<sup>8</sup> ;  $\text{sst}_2$  : récepteur de type 2 de la somatostatine ; TNE : tumeur neuroendocrine ; TNE-GEP : TNE gastroentéropancréatique.  $^{177}\text{Lu}$  : lutécium-177.



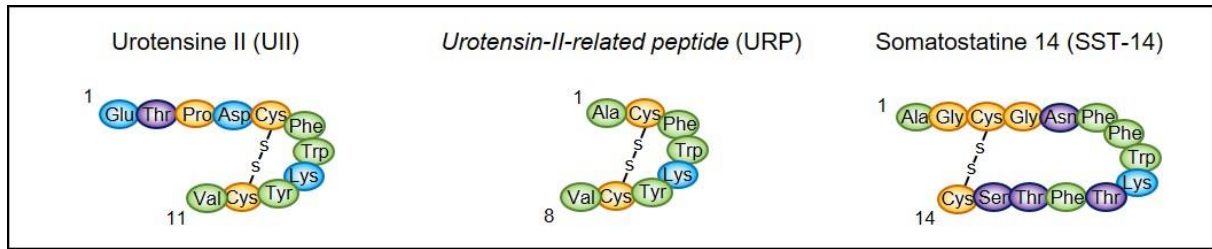
# CHAPITRE II : le système urotensinergique

## 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 motoneurons 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 (Ala<sup>4</sup>-hUII<sub>4-11</sub>) est conservée chez tous les mammifères (**Fig. 21**) (**Tab. 8**).

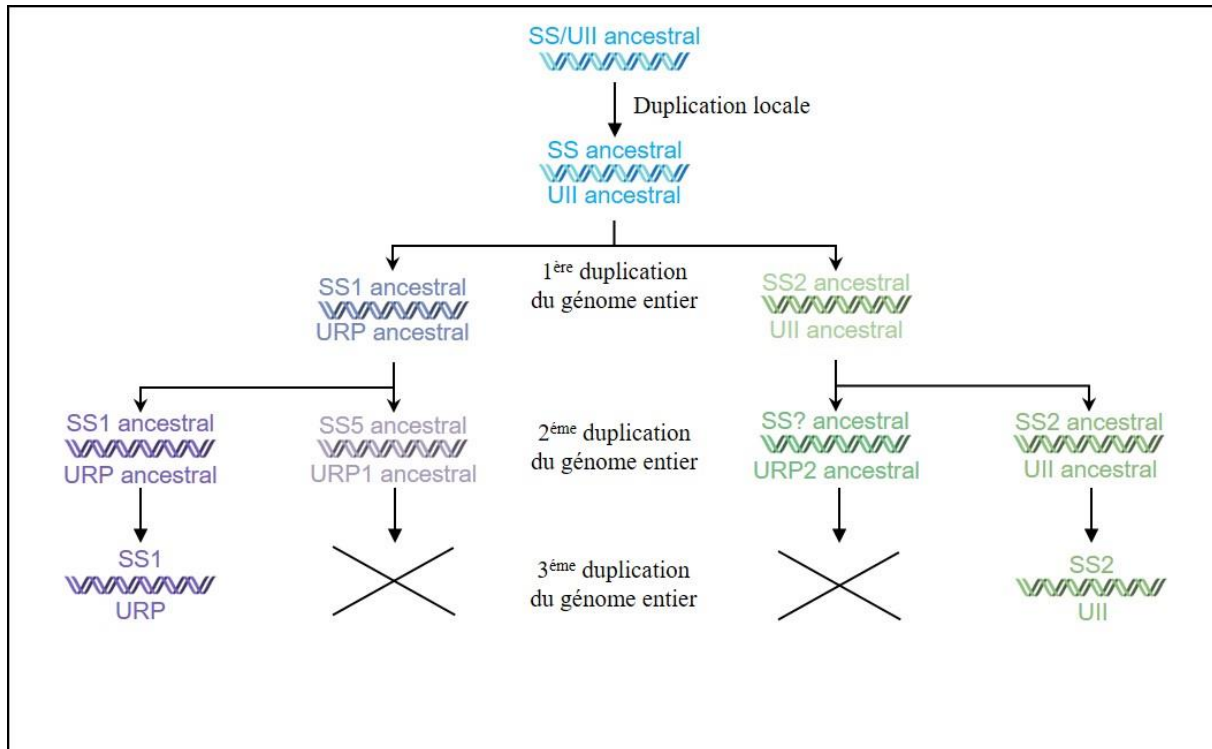


**Figure 21. Séquences de l’UII, de l’URP et de la SST-14.** Les séquences courtes de l’UII et l’URP partagent d’importantes similitudes structurales avec la SST-14 au niveau de la région cyclique biologiquement active. SST-14 : somatostatine 14 ; UII : urotensine II ; URP : *urotensin-II related peptide*.

Famille	Nom de l’espèce		Séquences peptidiques	
	Scientifique	Commun	UII	URP
Tétrapodes	<i>Pelophylax ridibundus</i>	Grenouille rieuse	AGNLSECFWKYCV	
	<i>Hyla arborea</i>	Grenouille verte	AGNLSECFWKYCV	
	<i>Xenopus laevis</i>	Xénope lisse	GNLSECFWKYCV	ACFWKYCV
	<i>Gallus gallus</i>	Poulet	GNLSECFWKYCV	ACFWKYCI
	<i>Taeniopygia guttata</i>	Mandarin diamant	GNLSECFWKYCV	ACFWKYCI
	<i>Felis catus</i>	Chat	GSPSECFWKYCV	
	<i>Sus scrofa</i>	Sanglier d’Europe	GPPSECFWKYCV	
	<i>Ovis aries</i>	Mouton	GPSSECFWKYCV	
	<i>Bos taurus</i>	Taureau	GPSSECFWKYCV	ACFWKYCV
	<i>Rattus norvegicus</i>	Rat	QHGTAPECFWKYCI	ACFWKYCV
	<i>Mus musculus</i>	Souris	QHKQHGAAPCFWKYCI	ACFWKYCV
	<i>Otolemur garnettii</i>	Otolemur	GTPSECFWKYCV	ACFWKYCV
	<i>Callithrix jacchus</i>	Marmouset	ETPDCFWKYCV	
	<i>Papio anubis</i>	Babouin olive	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV
	<i>Macaca mulatta</i>	Macaque rhésus	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV
	<i>Macaca fascicularis</i>	Macaque crabier	ETPDCFWKYCV	
	<i>Nomascus leucogenys</i>	Gibon	ETPDCFWKYCV	
	<i>Pongo abelii</i>	Orang-outan	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV
	<i>Gorilla gorilla</i>	Gorille	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV
	<i>Homo sapiens</i>	Homme	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV
<i>Pan paniscus</i>	Bonobo	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
<i>Pan troglodytes</i>	Chimpanzé	ETPDCFWKYCV	ACFWKYCV	
Téléostéens	<i>Danio Rerio</i>	Poisson zébre	GGGADCFWKYCV	DDTCFWKYCV
	<i>Gillichthys mirabilis</i>	Gobie	AGTADCFWKYCV	
	<i>Takifugu rubripes</i>	Tétronon	TGNNECFWKYCV	SEPCFWKYCV
Agnate	<i>Lethenteron camptschicum</i>	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*.

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'UUI 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'UUI et de la somatostatine ne présentent quasiment aucune identité de séquence (Conlon *et al.*, 1997). Chez l'Homme, les gènes codant l'UUI 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'UUI, l'URP et la somatostatine chez le Poisson zèbre, le Poulet et l'Homme a permis de mettre en évidence deux gènes ancestraux, le *protoUUI* et le *protoSS* qui auraient conduit, par duplication segmentaire au cours de l'évolution, aux gènes codant le couple UUI/SS2 et URP/SS (Tostivint *et al.*, 2006) (**Fig. 22**). Toutefois, l'UUI 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 1* 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).

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
<b>Système nerveux central</b>				
Cerveau	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002	Sugo <i>et al.</i> , 2003 ; Bucharles <i>et al.</i> , 2014	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002
Hypothalamus	Totsune <i>et al.</i> , 2001		Egginger <i>et al.</i> , 2006	Dubessy <i>et al.</i> , 2008
Tronc cérébral	Coulouarn <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 <i>et al.</i> , 1998 ; Elshourbagy <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002	Coulouarn <i>et al.</i> , 1999	Dubessy <i>et al.</i> , 2008
<b>Système cardiovasculaire</b>				
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 <i>et al.</i> , 1999	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002 ; Dubessy <i>et al.</i> , 2008
Myocarde	Douglas <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2002	Nakayama <i>et al.</i> , 2008 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009	
Aorte thoracique	Matsushita <i>et al.</i> , 2001	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002	Maguire <i>et al.</i> , 2008	Elshourbagy <i>et al.</i> , 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	



Système endocrinien				
Hypophyse	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001		Sugo <i>et al.</i> , 2003	Dubessy <i>et al.</i> , 2008
Pancréas	Coulouarn <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 <i>et al.</i> , 2003		Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002 ; Dubessy <i>et al.</i> , 2008
Ovaires	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo <i>et al.</i> , 2003	
Placenta	Totsune <i>et al.</i> , 2001 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003 Maguire <i>et al.</i> , 2004			
Système uro-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 <i>et al.</i> , 2002	Song <i>et al.</i> , 2006 ; Tian <i>et al.</i> , 2008 ; Mori <i>et al.</i> , 2009	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002
<i>Tube contourné</i>	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	
<i>Glomérules</i>	Shenouda <i>et al.</i> , 2002 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004 ; Balat <i>et al.</i> , 2007			Adebiyi <i>et al.</i> , 2014
<i>Tube collecteur</i>	Shenouda <i>et al.</i> , 2002 ; Maguire <i>et al.</i> , 2004		Song <i>et al.</i> , 2006	
Prostate	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo <i>et al.</i> , 2003	
Estomac	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo <i>et al.</i> , 2003	Dubessy <i>et al.</i> , 2008
Intestin	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo <i>et al.</i> , 2003	Dubessy <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2002
Autres tissus				
Thymus	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003		Sugo <i>et al.</i> , 2003	Coulouarn <i>et al.</i> , 1999
Rate	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998 ; Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002	Sugo <i>et al.</i> , 2003	Elshourbagy <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2004
Muscles squelettiques		Elshourbagy <i>et al.</i> , 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			

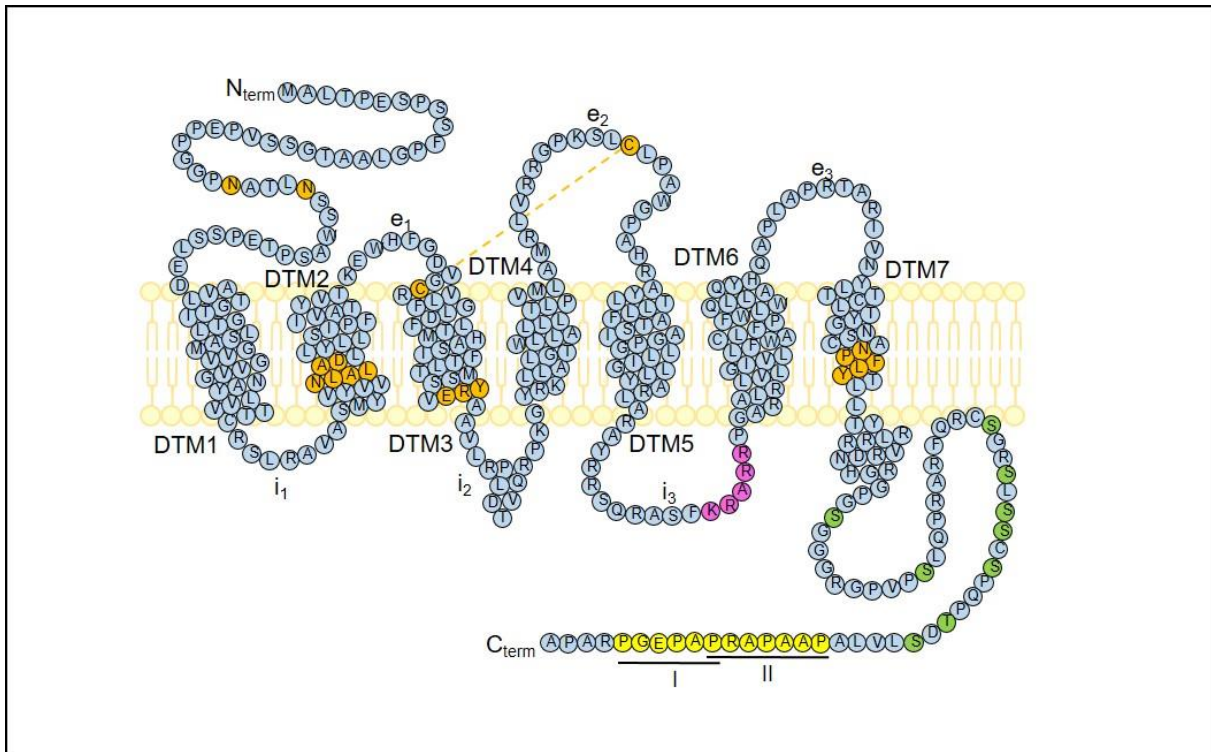
**Tableau 9. Localisation centrale et périphérique de l'UII chez l'Homme, le Singe, le Rat et la Souris.** Les références en noir sont issues de travaux ayant démontré la présence d'ARNm de l'UII ; les références en rouge rapportent la présence d'une immunoréactivité *UII-like*. UII : urotensine II.

## 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 e<sub>1</sub> et e<sub>2</sub>. La structure de l'UT comporte aussi un motif d'interaction aux protéines G à la jonction du DTM3 et de la boucle intracellulaire i<sub>2</sub>, et des sites potentiels de phosphorylation par des PKA, PKC et *glycogen synthetase kinases-3β* au niveau des boucles i<sub>2</sub> et i<sub>3</sub> (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 i<sub>3</sub> 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<sub>B</sub> (Wu-Wong *et al.*, 1995), la vasopressine/V<sub>2</sub> (Bowen-Pidgeon *et al.*, 2001) ou la thrombine/PAR-1 (Mirza *et al.*, 1996).



**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<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> boucle extracellulaire e<sub>1</sub> et e<sub>2</sub>, un motif ERY d'interaction aux protéines G à la jonction entre le TDM3 et la boucle i<sub>2</sub>, 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 i<sub>3</sub> (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 ; e<sub>1-3</sub> : boucles extracellulaires 1 à 3 ; i<sub>1-3</sub> : 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.*,

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
<b>Système nerveux central</b>				
Cerveau		Nguyen <i>et al.</i> , 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	
<i>Amygdale</i>			Jégou <i>et al.</i> , 2006	
<i>Bulbe olfactif</i>			Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006	
<i>Cortex</i>	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	
<i>Hippocampe</i>			Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
<i>Hypothalamus</i>	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 <i>et al.</i> , 2003 ; Jégou <i>et al.</i> , 2006 ; Zhang <i>et al.</i> , 2008 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
Moelle épinière	Totsune <i>et al.</i> , 2001	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002 ; Nguyen <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 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	
<b>Système cardiovasculaire</b>				
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
<i>Myocarde</i>	Douglas <i>et al.</i> , 2002			
<i>Oreillettes</i>	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 <i>et al.</i> , 2002	Zhang <i>et al.</i> , 2007 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009	
<i>Ventricules</i>	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Maguire <i>et al.</i> , 2000 ; Totsune <i>et al.</i> , 2001	Elshourbagy <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2002	Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Hirose <i>et al.</i> , 2009	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002
Artère basilaire			Porras-González <i>et al.</i> , 2014	

Système endocrinien				
Hypophyse	Totsune <i>et al.</i> , 2001		Jégou <i>et al.</i> , 2006	
Pancréas	Ames <i>et al.</i> , 1999 ; Douglas <i>et al.</i> , 2004	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	Nguyen <i>et al.</i> , 2012	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002
Surrénales	Takahashi <i>et al.</i> , 2003 ; Morimoto <i>et al.</i> , 2008 ; Giuliani <i>et al.</i> , 2009	Nguyen <i>et al.</i> , 2012	Albertin <i>et al.</i> , 2006 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
Testicules	Douglas <i>et al.</i> , 2004		Gartlon <i>et al.</i> , 2001	
Placenta	Totsune <i>et al.</i> , 2001			
Système uro-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 <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2014
Vessie				Liu <i>et al.</i> , 1999 Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002
Estomac		Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002		
Foie			Gartlon <i>et al.</i> , 2001 ; Wang <i>et al.</i> , 2011 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	
Autres tissus				
Rate			Gartlon <i>et al.</i> , 2001	
Poumons	Kristof <i>et al.</i> , 2010	Elshourbagy <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2012	Maguire <i>et al.</i> , 2008 ; Nguyen <i>et al.</i> , 2012	Elshourbagy <i>et al.</i> , 2002 ; Wang <i>et al.</i> , 2009
Cellules immunitaires	Bousette <i>et al.</i> , 2004 ; Segain <i>et al.</i> , 2007		Segain <i>et al.</i> , 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.

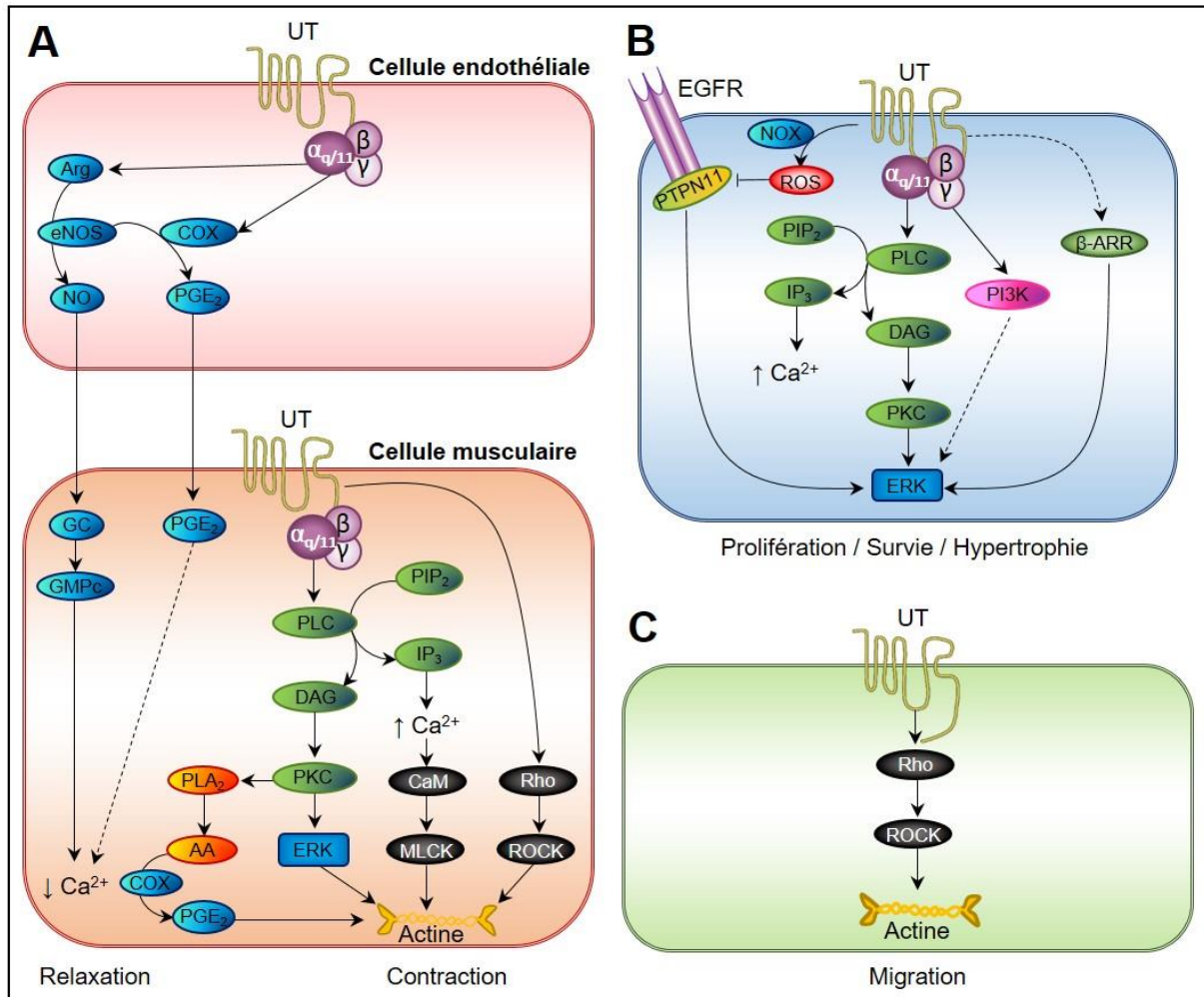
## 3. Rôles physiologiques et physiopathologiques du système urotensinergique

### 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 *et al.*, 2004) ou d'Homme (Maguire *et al.*, 2008). Actif dès les concentrations 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/PIP<sub>2</sub>/IP<sub>3</sub> 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 vasodilatation *via* la libération de monoxyde d'azote (Stirrat *et al.*, 2001 ; Bianca *et al.* 2012 ; Porrás-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 apparaissant 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.

L'UUI 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  $G\alpha_q$  (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'UUI est aussi capable d'augmenter la prolifération de CML aortiques *via* la transactivation de l'EGFR (Tsai *et al.*, 2009), d'astrocytes *via* la voie PLC/[Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub> (Jarry *et al.*, 2010), ou de fibroblastes *via* la voie MAPK (Song *et al.*, 2012). Chez l'Homme, des effets mitogènes de l'UUI 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'UUI 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'UUI (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'UUI, 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'UUI 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’UUI. La vasoconstriction est relayée par la voie PLC/ $PIP_2$ /IP<sub>3</sub> 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’UUI 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  $G_{\alpha_q}$ , la transactivation de l’EGFR et la voie PI3K/Akt. **C.** Voies de transduction associées aux effets de l’UUI sur la migration cellulaire. Depuis une décennie, un nombre important de publications rapportent que l’UUI 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’UUI. AA : acide arachidonique ; Arg : arginine ;  $\beta$ -ARR :  $\beta$ -arrestine ; CaM : calmoduline ; COX : cyclooxygénase ; DAG : diacylglycérol ; EGFR : récepteur de l’EGF ; eNOS : *endothelial nitric oxide synthase* ; ERK : *extracellular signal-regulated kinase* ; GC : guanylate cyclase ; GMPc : guanosine monophosphate cyclique ; IP<sub>3</sub> : inositol triphosphate ; MLCK : *myosin light-chain kinase* ; NO : monoxyde d’azote ; NOX : NADP oxydase ;  $PGE_2$  : prostaglandine E<sub>2</sub> ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ;  $PIP_2$  : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ; PKC : protéine kinase C ; PLA<sub>2</sub> : phospholipase A<sub>2</sub> ; 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* ; UUI : urotensine II ; UT : récepteur 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
<b>Prolifération</b>			
CMLV	Lapin	PKC, MAPK	Watanabe <i>et al.</i> , 2001
	Rat	RhoA, ROCK	Sauzeau <i>et al.</i> , 2001
CHO-UT	Hamster	G $\alpha_{i/o}$ , PI3K, PLC, calmoduline, MEK, Ca <sup>2+</sup>	Ziltener <i>et al.</i> , 2002
Cellules épithéliales rénales	Porc	Ca <sup>2+</sup> , PKC, MAPK, ERK	Matsushita <i>et al.</i> , 2003
CML des voies aériennes	Rat	PKC, MAPK, Ca <sup>2+</sup> , calcineurine	Chen <i>et al.</i> , 2001
Fibroblastes cardiaques		Transactivation d'EGFR, ERK, ROS	Chen <i>et al.</i> , 2008
Cellules tubulaires		ROS, transactivation EGFR <i>via</i> HB-EGF	Sue <i>et al.</i> , 2009
CML		Ca <sup>2+</sup> , CaMK, ERK, PKD	Iglewski et Grant, 2010
Précurseurs endothéliaux		ERK, p38 <sup>MAPK</sup>	Xu <i>et al.</i> , 2012
CML pulmonaires		ERK, TGF $\beta$	Zhang <i>et al.</i> , 2012
CML pulmonaires		Homme	NOX4, ROS, Fox3, JNK, MMP-2
Astrocytes	Rat	PLC, Ca <sup>2+</sup> , IP <sub>3</sub> , G $\alpha_{i/o}$	Jarry <i>et al.</i> , 2010
Fibroblastes		MAPK, expression de VEGF, production de collagène	Zhang <i>et al.</i> , 2008 ;
CML aortiques		ROS, transactivation d'EGFR	Zhang <i>et al.</i> , 2007c ; Hirose <i>et al.</i> , 2009
Cellules endothéliales ombilicales	Homme	p38 <sup>MAPK</sup> , ERK	Lee <i>et al.</i> , 2014
CML	Homme	ERK, ROS	Kim <i>et al.</i> , 2017
Précurseurs cardiaques	Souris	Inhibition <i>via</i> JNK	Chen <i>et al.</i> , 2013
Cellules glomérulaires		Ca <sup>2+</sup> , CaMKII, AMPc, CREB	Soni et Adebisi, 2017
<b>Survie</b>			
CMLV	Rat	Transactivation d'EGFR <i>via</i> $\beta$ -arrestine	Esposito <i>et al.</i> , 2011
Cardiomyocytes		PI3K, ERK	Chen <i>et al.</i> , 2012
<b>Hypertrophie</b>			
Cardiomyocytes-UT	Rat	G $\alpha_q$ , Ras	Tzanidis <i>et al.</i> , 2003
		Transactivation d'EGFR <i>via</i> HB-EGF, ERK, p38 <sup>MAPK</sup>	Onan <i>et al.</i> , 2004
ROS, transactivation d'EGFR		Liu <i>et al.</i> , 2009b	
PI3K, Akt, GSK-3 $\beta$		Gruson <i>et al.</i> , 2010	
Cardiomyocytes	ROS, NADPH oxydase, Akt, PTEN	Chao <i>et al.</i> , 2014	
	Homme	PKA, AMPc, Ca <sup>2+</sup>	Johns <i>et al.</i> , 2004
	Souris	n.d.	Oh <i>et al.</i> , 2017
<b>Migration et motilité</b>			
Monocytes	Homme	RhoA, ROCK	Segain <i>et al.</i> , 2007
		MCP-1, TGF- $\beta$	Huang <i>et al.</i> , 2017
Progéniteurs endothéliaux	Rat	RhoA, ROCK	Xu <i>et al.</i> , 2009
CML vasculaires	Homme	MEK	Matsusaka et Wakabayashi, 2006
Fibroblastes vasculaires	Rat	PKC, ROCK, MAPK	Zhang <i>et al.</i> , 2011
Progéniteurs endothéliaux		n.d.	Yi <i>et al.</i> , 2012

Angiogenèse				
Cellules endothéliales	Rat	Perméabilité vasculaire	Gendron <i>et al.</i> , 2004	
		Tubulogenèse, angiogenèse	Spinazzi <i>et al.</i> , 2006	
		Migration <i>via</i> RhoA, ROCK	Xu <i>et al.</i> , 2009	
		Migration <i>via</i> ERK, p38 <sup>MAPK</sup> , ERK1/2	Xu <i>et al.</i> , 2012	
	Homme	Libération d'ADM, MAPK, p38 <sup>MAPK</sup>	Shi <i>et al.</i> , 2005	
		Expression de molécules d'adhésion, RhoA	Cirillo <i>et al.</i> , 2008	
		Prolifération, tubulogenèse	Albertin <i>et al.</i> , 2009	
		Migration, tubulogenèse, PLC, PKC, PI3K, ERK1/2, FAK	Guidolin <i>et al.</i> , 2010	
		Expression VEGF, ET-1, ADM	Albertin <i>et al.</i> , 2011	
		Tubulogenèse, angiogenèse, HIF-1, ROS, NOX2	Diebold <i>et al.</i> , 2012	
CML	Lapin	Prolifération, Gα <sub>q</sub> , PKC, MAPK	Watanabe <i>et al.</i> , 2001	
		Souris	Remodelage vasculaire, ROS, transactivation EGFR	Papadopoulos <i>et al.</i> , 2008
	Rat	Prolifération, contractilité, RhoA	Sauzeau <i>et al.</i> , 2001	
		Prolifération, expression ET-1	Tsai <i>et al.</i> , 2009	
	Homme	Prolifération, remodelage vasculaire, FoxO3, MMP-2	Diebold <i>et al.</i> , 2011	
		Prolifération par l'augmentation de [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>c</sub> , AMPc et CREB	Rodríguez-Moyano <i>et al.</i> , 2011	
	Monocytes / Macrophages	Homme	Inflammation <i>via</i> ERK, IL-1β et ↓ ABCA-1	Kim <i>et al.</i> , 2017
			Migration, RhoA, ROCK	Segain <i>et al.</i> , 2007
				Loirand <i>et al.</i> , 2008
			Activation, expression ACAT-1, PKC, MEK, ROCK	Watanabe <i>et al.</i> , 2005
Fibroblastes vasculaires	Rat	VCAM-1, IL-1β, IL-6	Park <i>et al.</i> , 2013	
		Prolifération, transactivation EGFR, ERK, ROS	Chen <i>et al.</i> , 2008	
		Production de collagène, ERK1/2	Dai <i>et al.</i> , 2011	
		Sécrétion TGF-β	Zhang <i>et al.</i> , 2009	
		Migration, PKC, ROCK, calcineurine, MAPK	Zhang <i>et al.</i> , 2011	
		Sécrétion VEGF, AngII, MAPK	Song <i>et al.</i> , 2012	
		Expression MCP-1, Rho, MAPK, Ca <sup>2+</sup>	Zhang <i>et al.</i> , 2014	
		Expression ADL <i>via</i> MAPK, Rho, PKC, Ca <sup>2+</sup>	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 : *ATP-binding 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-3β : *glycogen synthetase kinase 3β* ; HB-EGF : *heparin-binding EGF* ; HIF-1 : *hypoxia-inducible factor-1* ; IL-1β,6,8 : interleukine-1β, -6 ou -8 ; IP<sub>3</sub> : 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<sup>MAPK</sup> : *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 épithélio-mésenchymateuse ; TGF-β : *transforming growth factor-β* ; VCAM-1 : *vascular cell adhesion molecule-1* ; VEGF : *vascular endothelial growth factor*. n.d. : non précisé / non observé.

## 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 péri-tumorales 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'UUI, 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'UUI, notamment dans les carcinomes rénaux et corticosurréaliens (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'UUI 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.*,

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 péri-tumorales, 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**).

Tissus ou lignées	Origine tumorale	Processus	Commentaire (effecteurs, processus impliqués, etc.)	Référence	
SW1783	Astrocytome	Expression ↑	Haut niveau d'expression d'UT	Lecointre <i>et al.</i> , 2015	
SW1088		Migration ↑	Rho, ROCK		
		Remodelage cellulaire	Polymérisation de l'actine et formation de lamellipodes, formation et maturation des adhésions focales		
T98G	Glioblastome	Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé	Takahashi <i>et al.</i> , 2001	
Echantillons tumoraux			Zones périnécrotiques et périvasculaires	Lecointre <i>et al.</i> , 2015	
U87-MG			n.d.		
8-MG					
42-MG					
GL15					
Primaire		Prolifération ↑	n.d.	Takahashi <i>et al.</i> , 2001	
U87-MG		Migration ↑	Rho, ROCK	Lecointre <i>et al.</i> , 2015	
IMR-22	Neuroblastome	Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé	Takahashi <i>et al.</i> , 2001	
Echantillons tumoraux				Takahashi <i>et al.</i> , 2003	
Echantillons tumoraux	Poumon	Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé	Kristof <i>et al.</i> , 2010	
CMLV péri-tumorales					
A549		Prolifération ↑	A faibles et fortes concentrations, <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> chez le petit animal	Wu <i>et al.</i> , 2010	
Macrophages		Infiltration ↑	↑ TNF $\alpha$ , IL-6, MMP-9, NF- $\kappa$ B	Zhou <i>et al.</i> , 2012	
Cellules endothéliales		Remodelage vasculaire	↑ TNF $\alpha$ , NF- $\kappa$ B	Lee <i>et al.</i> , 2016	
Echantillons tumoraux	Sein	Expression ↑	Corrélation entre l'expression l'UT et de l'UII	Balakan <i>et al.</i> , 2014	
Veine porte (péritumoral)	Foie	Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé	Wei <i>et al.</i> , 2017	
Echantillons tumoraux					
BEL-7402					
MHCC-97H					
Echantillons tumoraux		Migration ↑	n.d.	Wei <i>et al.</i> , 2017	
BEL-7402					
Echantillons tumoraux					
MHCC-97H		Prolifération ↑	n.d.	Li <i>et al.</i> , 2016	
BEL-7402					
HepG2		Prolifération ↑	PKC, ERK, p38 <sup>MAPK</sup>	Yu <i>et al.</i> , 2014b	
BEL-7402					
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 <i>et al.</i> , 2016		
DLD-1	Colon	Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé	Takahashi <i>et al.</i> , 2001	
LoVo					
HT-29					
SW620					
CoLo					
WIDR		Prolifération ↑	A faible concentration (10 nM), mais inhibition à haute concentration (1 $\mu$ M)	Federico <i>et al.</i> , 2014	
Echantillons tumoraux					Inversement proportionnelle avec le grade tumoral
					ARNm peu exprimés dans les adénomes mais très exprimés dans les adénocarcinomes
HT-29					
LoVo					
WIDR					

HT-29	Colon	Migration ↑	n.d.	Federico <i>et al.</i> , 2014
LoVo				
WIDR				
Echantillons tumoraux	Vessie	Expression ↑	Inversement proportionnelle avec le grade tumoral	Franco <i>et al.</i> , 2014
RT112			Niveau d'expression d'UT élevé	
T24		Expression ≈	Niveau d'expression d'UT modéré	
Echantillons tumoraux				
T24		Prolifération ↑	n.d.	
RT112				
HT-1376				
T24				
RT112		Motilité ↑	n.d.	
T24				
RT112	Invasion ↑	n.d.		
RT112				
VMRC-RCW	Rein	Prolifération ↑	Prolifération à faibles concentrations, cytotoxique à fortes concentrations	Takahashi <i>et al.</i> , 2003
Echantillons tumoraux		Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé	Shenouda <i>et al.</i> , 2002 Takahashi <i>et al.</i> , 2001
SW-13	Corticosurrénale	Prolifération ↑	n.d.	Takahashi <i>et al.</i> , 2003
Echantillons tumoraux	Médullosurrénale	Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé	
LNCaP	Prostate	Migration ↑	FAK, $\alpha_v\beta_3$	Grieco <i>et al.</i> , 2010
		Invasion ↑	Ras, RhoA, ROCK	
DU145		Expression ≈	Faible niveau d'expression d'UT	
		Migration ≈		
PC-3		Expression ≈		
Echantillons tumoraux			Migration ≈	
		Expression ↑	Corrélation avec le grade tumoral	
HeLa	Endomètre	Expression ↑	Niveau d'expression d'UT élevé	Takahashi <i>et al.</i> , 2001
BeWo	Chorion			

**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- $\kappa$ B : *nuclear factor  $\kappa$ B* ; p38<sup>MAPK</sup> : *mitogen-activated protein kinase p38* ; PKC : protéine kinase C ; ROCK : *rho-associated protein kinase* ; ROS : *reactive oxygen species* ; TNF $\alpha$  : *tumor necrosis  $\alpha$*  ; UII : urotensine II ; UT : récepteur urotensinergique. ↑ : augmentation ; ↓ : 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 Cys<sup>5</sup> 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 Cys<sup>5</sup> 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 Phe<sup>6/3</sup>-Lys<sup>8/5</sup>-Tyr<sup>9/6</sup> est essentiel pour l'activité biologique de l'UII et de l'URP et que la substitution du Trp<sup>7/4</sup> 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 Glu<sup>1</sup>-Asp<sup>4</sup> et Val<sup>11</sup>, 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 Val<sup>11</sup> 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).

Une meilleure compréhension des modalités fonctionnelles 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<sup>5/8</sup> 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'[Orn<sup>8</sup>]-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'[Orn<sup>3</sup>]-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 [Pen<sup>5</sup>, D-Phe<sup>7</sup>, Orn<sup>8</sup>]-UII<sub>4-11</sub>, 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  $\beta$ -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**).



Composés		Espèce cible	Modèle expérimental	Références	
Nom	Activité				
<b>Peptidique</b>					
[Pen <sup>5</sup> ]UII <sub>4-11</sub> (P5U)	Agoniste	Rat	Contraction d'aorte	Carotenuto <i>et al.</i> , 2014	
[Orn <sup>8</sup> ]UII	Agoniste	Homme	Mobilisation calcique	Camarda <i>et al.</i> , 2002	
	Antagoniste	Rat	Contraction d'aorte		Chatenet <i>et al.</i> , 2004
[Om <sup>5</sup> ]URP	Agoniste		Mobilisation calcique	Diallo <i>et al.</i> , 2008	
	Antagoniste		Contraction d'aorte		
[D-Phe <sup>4</sup> ]URP	Agoniste		Mobilisation calcique		
	Antagoniste		Contraction d'aorte		Chatenet <i>et al.</i> , 2004
[D-Phe <sup>6</sup> ]URP	Agoniste		Mobilisation calcique		Diallo <i>et al.</i> , 2008
	Antagoniste		Contraction d'aorte		Chatenet <i>et al.</i> , 2004
[Pen <sup>5</sup> , D-Phe <sup>7</sup> , Orn <sup>8</sup> ]UII <sub>4-11</sub> (urantide)	Agoniste		Homme	Mobilisation calcique	Camarda <i>et al.</i> , 2006
			Chat	Contraction d'aorte et d'artère fémorale	Behm <i>et al.</i> , 2006
			Singe	Contraction d'artères rénales	
	Antagoniste	Homme	Motilité et invasion de LNCaP	Grieco <i>et al.</i> , 2011	
			Internalisation sur HEK-293	Brulé <i>et al.</i> , 2014	
		Rat	Contraction d'aorte	Behm <i>et al.</i> , 2006	
			Sécrétion de TGF-β	Dai <i>et al.</i> , 2007	
			Mobilisation calcique	Camarda <i>et al.</i> , 2004	
			Phosphorylation d'Akt et ERK	Chen <i>et al.</i> , 2012	
			Sécrétion d'insuline	Marco <i>et al.</i> , 2008	
	Lapin	Rigidité des muscles papillaires du myocarde	Fontes-Sousa <i>et al.</i> , 2007		
	[Pen <sup>5</sup> , D-Phe <sup>7</sup> , Dab <sup>8</sup> ]UII <sub>4-11</sub> (UFP-803)	Agoniste	Homme	Mobilisation calcique	Camarda <i>et al.</i> , 2004
		Antagoniste	Rat	Contraction d'aorte	Camarda <i>et al.</i> , 2006
Mobilisation calcique					
			Sécrétion de neurotransmetteurs (dopamine, glutamate, sérotonine et histamine)	Ono <i>et al.</i> , 2008	
Souris		Extravasation de plasma	Camarda <i>et al.</i> , 2006		
SB-710411	Agoniste	Singe	Contraction d'artères rénales et mésentériques	Behm <i>et al.</i> , 2006	
			Formation d'IP <sub>3</sub>	Behm <i>et al.</i> , 2004	
	Antagoniste	Rat	Contraction d'aorte	Behm <i>et al.</i> , 2006	
			Formation d'IP <sub>3</sub>	Behm <i>et al.</i> , 2004	
			Prolifération de cellules hépatiques	Liu <i>et al.</i> , 2009a	
	Fibrose hépatique				
	Chat	Sécrétion TGF-β			
			Contraction de l'artère fémorale	Behm <i>et al.</i> , 2006	

GSK-248451	Agoniste	Rat	Contraction d'aorte	Behm <i>et al.</i> , 2006	
	Antagoniste	Singe	Contraction d'artères rénales et mésentériques		
		Rat	Contraction d'aorte		
		Chat	Contraction d'aorte et d'artère fémorale		
Urocontrine	Antagoniste	Rat	Contraction d'aorte	Chatenet <i>et al.</i> , 2012	
<b>Non-peptidique</b>					
GSK1562590	Antagoniste	Homme	Contraction d'artère fémorale et d'aorte thoracique	Behm <i>et al.</i> , 2010	
		Chat			
ACT-058363 (Palosuran)		Homme	Mobilisation calcique		Clozel <i>et al.</i> , 2006
			Phosphorylation de MAPK		
			Excrétion urinaire d'albumine		Sidharta <i>et al.</i> , 2006
			Angiogenèse		Spinazzi <i>et al.</i> , 2006
					Albertin <i>et al.</i> , 2009
		Rat	↑ flux sanguin rénal		Clozel <i>et al.</i> , 2006
			Excrétion de sodium		Trebicka <i>et al.</i> , 2008
			Fibrose pulmonaire		Onat <i>et al.</i> , 2012
			Hypertension artérielle pulmonaire		Onat <i>et al.</i> , 2013
			Contraction d'aorte		Clozel <i>et al.</i> , 2004
SB-706375		Homme	Mobilisation calcique		Douglas <i>et al.</i> , 2005
		Singe			
	Rat	Contraction d'aorte			
	Souris	Mobilisation calcique			
SB-611812	Rat	↓ pression diastolique et systolique		Bousette <i>et al.</i> , 2006a	
		Œdème pulmonaire			
		Hypertrophie de cardiomyocytes			
		Dilatation ventriculaire		Bousette <i>et al.</i> , 2006b	
		Prolifération de fibroblastes			
		Fibrose myocardique			
		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.



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

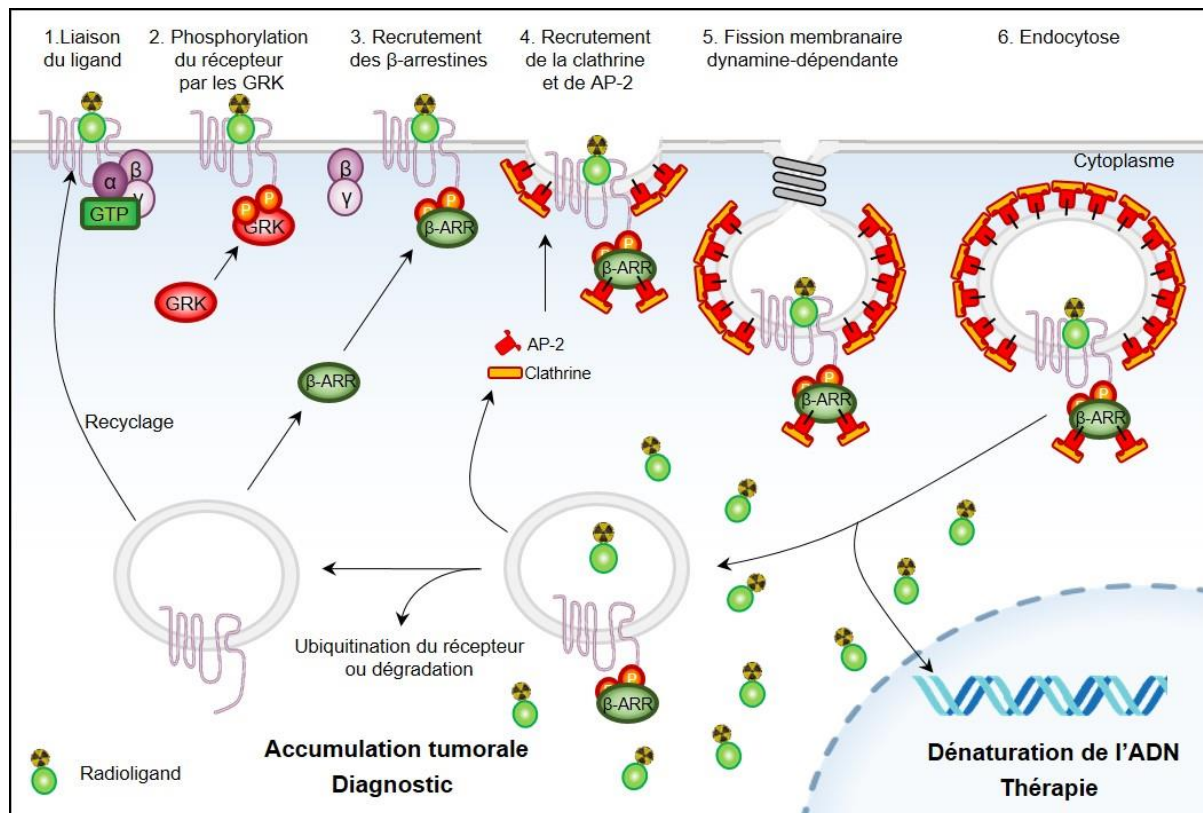
## 1. Développement d'un radioligand

### 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

et Maecke, 2016). Le premier radioligand a obtenu une autorisation de mise sur le marché cible le récepteur sst<sub>2</sub>, 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 dépendante de la dynamine (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

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 <i>in vivo</i>

**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).

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 ( $\gamma$ ) et des positons ( $\beta^+$ ). Les rayonnements  $\gamma$  sont des ondes électromagnétiques très pénétrantes et d'énergies très variables (Schibli et Schubiger, 2010) tandis que les  $\beta^+$  parcourent quelques  $\mu\text{m}$  voire quelques mm, et produisent deux photons d'annihilation 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 ( $\beta^-$ ) et les particules alpha ( $\alpha$ ), 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	<sup>123</sup> I	13,2	γ	Cyclotron	SIB, SIPC	Diagnostic	TEMP
Tecnécium-99m	<sup>99m</sup> Tc	6,02	γ	Générateur <sup>99</sup> Mo/ <sup>99m</sup> Tc	HYNIC, MAG <sub>3</sub> , GGC	Diagnostic	TEMP
Gallium-67	<sup>67</sup> Ga	78,2	γ	Cyclotron	NOTA, DOTA	Diagnostic	TEMP
Iode-120	<sup>120</sup> I	1,4	β <sup>+</sup>	Cyclotron	SIB, SIPC	Diagnostic	TEP
Fluor-18	<sup>18</sup> F	1,83	β <sup>+</sup>	Cyclotron	SFB	Diagnostic	TEP
Gallium-66	<sup>66</sup> Ga	9,5	β <sup>+</sup>	Cyclotron	NOTA, DOTA	Diagnostic	TEP
Gallium-68	<sup>68</sup> Ga	1,13	β <sup>+</sup>	Générateur <sup>68</sup> Ge/ <sup>68</sup> Ga	NOTA, DOTA	Diagnostic	TEP
Cuivre-64	<sup>64</sup> Cu	12,7	β <sup>+</sup> ; β <sup>-</sup>	Cyclotron	TETA, DOTA, NOTA, ATSM	Diagnostic, thérapie	TEP
Indium-111	<sup>111</sup> In	67,9	γ ; e <sup>-</sup> Auger	Cyclotron	DTPA, DOTA	Diagnostic, thérapie	TEMP
Lutécium-177	<sup>177</sup> Lu	160	β <sup>-</sup> ; γ	Réacteur	DOTA	Thérapie, diagnostic	TEMP
Yttrium-90	<sup>90</sup> Y	64,1	β <sup>-</sup>	Générateur <sup>90</sup> Sr/ <sup>90</sup> Y	DOTA	Thérapie	TEMP/TEP
Bismuth-212	<sup>212</sup> Bi	1	α ; β <sup>-</sup>	Générateur <sup>224</sup> Ra/ <sup>212</sup> Bi	DOTA	Thérapie	TEMP
Bismuth-213	<sup>213</sup> Bi	0,75	α ; β <sup>-</sup> ; γ	Générateur <sup>225</sup> Ac/ <sup>213</sup> Bi	DOTA	Thérapie	TEMP
Actinium-225	<sup>225</sup> Ac	240	α	Générateur <sup>229</sup> Th/ <sup>225</sup> Ac	DOTA	Thérapie	n.d.

**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 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DTPA : acide diéthylène-triamine-penta-acétique ; GGC : Gly-Gly-Cys ; HYNIC : acide hydrazinonicotinique ; MAG<sub>3</sub> : mercapto-acétyltryglycine ; NOTA : acide 1,4,7-triazacyclononane-*N,N',N''*-triacétique ; SFB : *N*-succinimidyl-4-[<sup>18</sup>F] ; SIB : *N*-succinimidyl-3-iodobenzoate ; SIPC : *N*-succinimidyl-5-iodo-3-pyridinecarboxylate ; TEMP : tomographie par émission monophotonique ; TEP : tomographie par émission de positons ; TETA : acide 1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane-1,4,8,11-tétraacétique. <sup>225</sup>Ac : actinium-225 ; <sup>212/213</sup>Bi : bismuth-212 ou -213 ; <sup>64</sup>Cu : cuivre-64 ; <sup>66/68</sup>Ga : gallium-64 ou -68 ; <sup>68</sup>Ge : germanium-68 ; <sup>18</sup>F : fluor-18 ; <sup>111</sup>In : indium-111 ; <sup>120/123</sup>I : iode-120 ou -123 ; <sup>177</sup>Lu : lutécium-177 ; <sup>99</sup>Mo : molybdène-99 ; <sup>224</sup>Ra : radium-224 ; <sup>90</sup>Sr : strontium-90 ; <sup>99m</sup>Tc : technécium-99 métastable ; <sup>229</sup>Th : thorium-229 ; <sup>90</sup>Y : 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  $^{111}\text{In}$ -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).

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  $^{177}\text{Lu}$  et le  $^{68}\text{Ga}$  pour traiter ou mettre en évidence la présence de tumeurs, et parmi les traceurs utilisés, figurent le  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC (Morgat *et al.*, 2016) et le  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-TATE qui interagissent avec les récepteurs  $\text{sst}_2$  (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  $^{18}\text{F}$  (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  $^{18}\text{F}$  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 ligand-récepteur), 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 connaître 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).

## 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'<sup>111</sup>In-DOTA-sst<sub>2</sub>-ANT et l'<sup>111</sup>In-DOTA-sst<sub>3</sub>-ODN-8, deux antagonistes somatostatinerigiques, sont capables de s'accumuler dans des cellules HEK-293 transplantées chez des souris et exprimant sst<sub>2</sub> ou sst<sub>3</sub>, 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 somatostatinerigique LM3 couplé avec l'acide 1,4,7-triazacyclononane-1-acide glutarique-4,7-diacétique (NODAGA) (<sup>68</sup>Ga-NODAGA-LM3) présente une affinité dix fois supérieure à celle du <sup>68</sup>Ga-DOTA-LM3 et cinq fois supérieure à celle du <sup>64</sup>Cu-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).

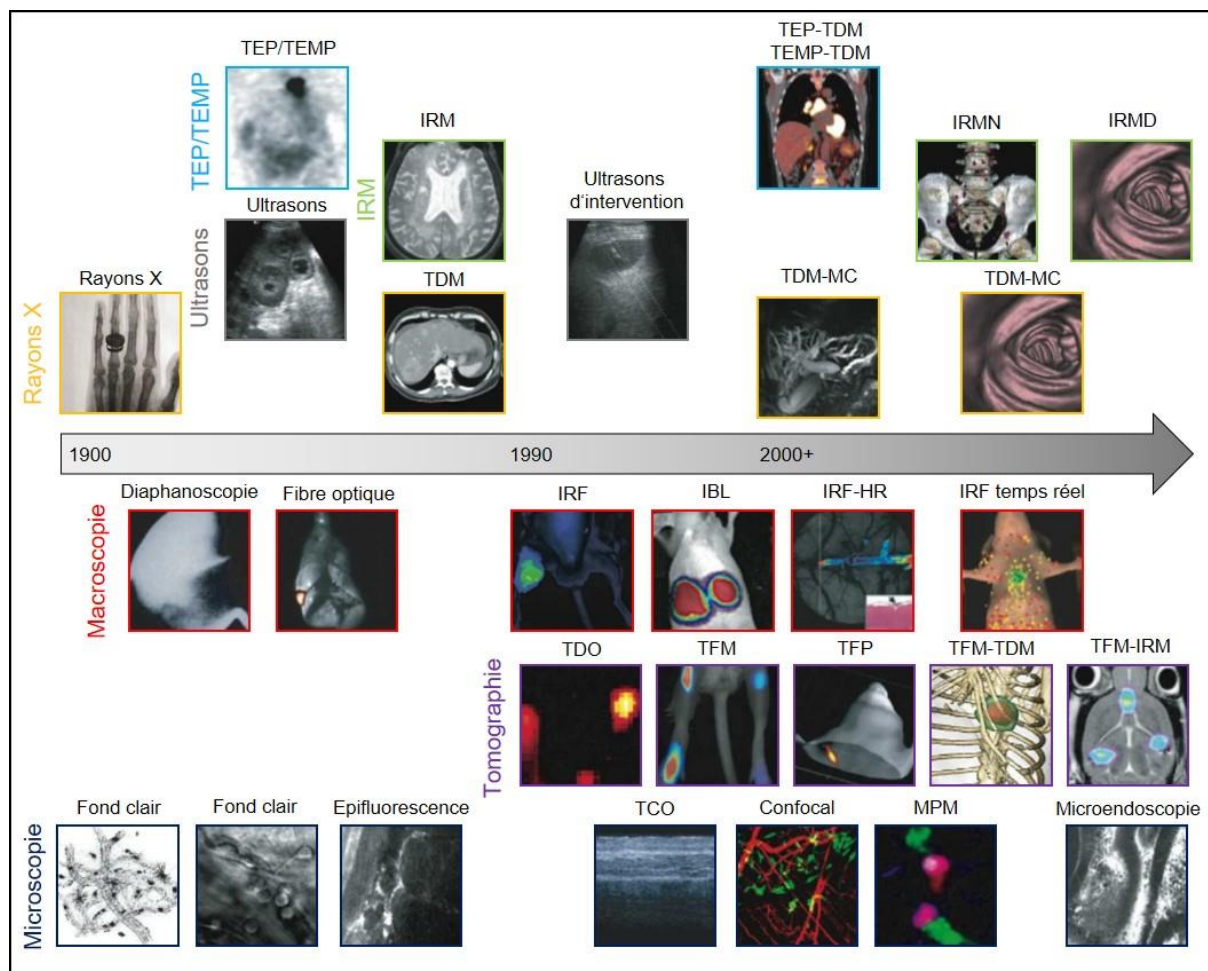
## 2. Recours à l'imagerie moléculaire pour le diagnostic de tumeurs solides

### 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 résonance magnétique (IRM), les ultrasons, l'imagerie photoacoustique ou la tomодensitométrie (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

couplées à la TDM, faisant ainsi entrer la médecine nucléaire dans une nouvelle ère du diagnostic et du traitement (Weissleder et Pittet, 2008) (**Fig. 26**).



**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 résonance magnétique ; IRMD : IRM de diffusion ; IRMN : IRM avec nanoparticules ; MPM : microscopie à multiphotons ; TCO : tomographie à cohérence optique ; TDM : tomodensitométrie ; TDM-MC : TDM à multicoups ; 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.

## 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

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.



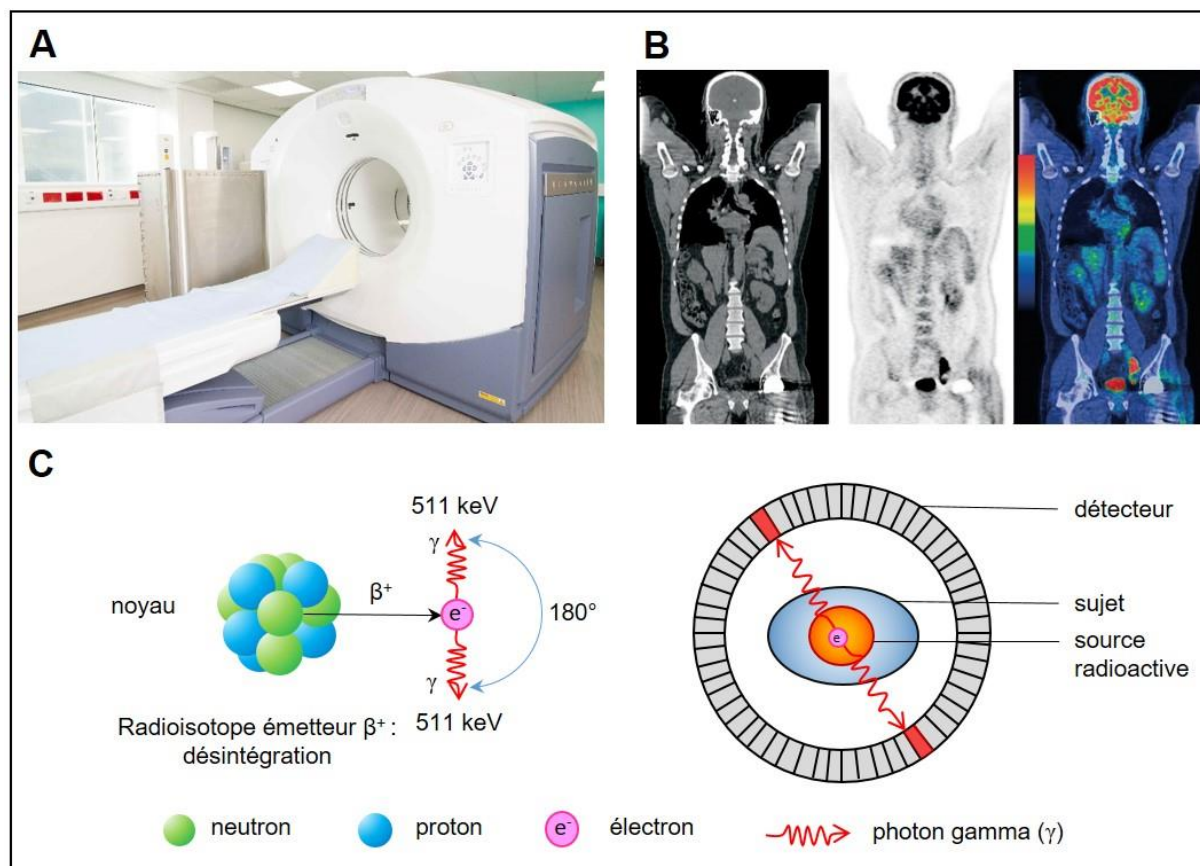
## 2.2.2 La tomographie par émission de positons

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  $\beta^+$  issu de la désintégration d'un radioisotope dont le noyau est instable en raison d'un excès de protons. L'interaction du  $\beta^+$  avec un électron environnant engendre la création de deux photons d'annihilation (rayonnement  $\gamma$ ) 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).

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  $^{18}\text{F}$ -FDG une heure après injection. Extrait de [www.cancer.org](http://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 ( $\beta^+$ ). *Droite*, ces photons  $\gamma$  sont captés par des détecteurs situés autour du sujet qui permettent la déduction du site de désintégration du  $\beta^+$ . 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.  $^{18}\text{F}$  : 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

TEP/TDM. En clinique, et grâce à l'utilisation d'agents radiomarqués au  $^{18}\text{F}$  tel que le [ $^{18}\text{F}$ ]-2-fluoro-désoxy-glucose ([ $^{18}\text{F}$ ]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 [ $^{18}\text{F}$ ]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).

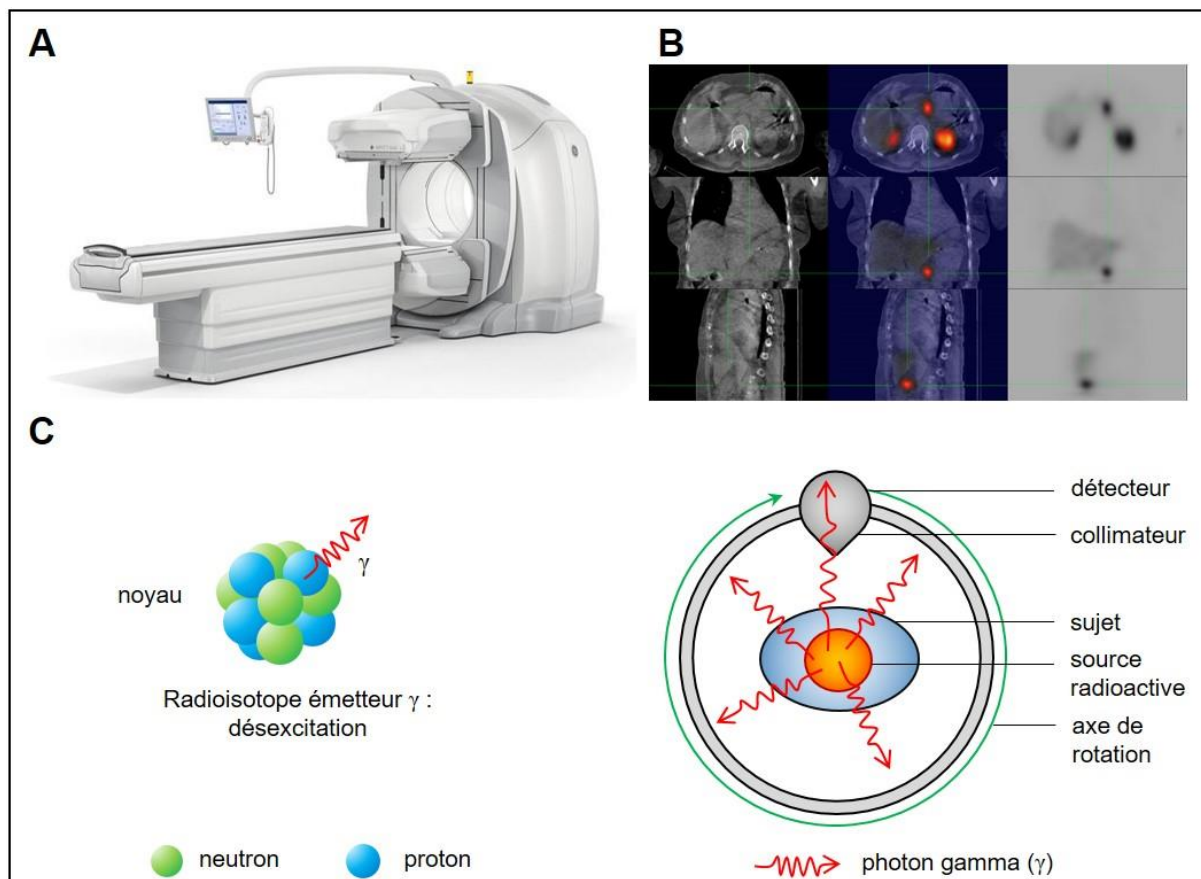
D'autres molécules ont été développées à partir du  $^{18}\text{F}$ , comme le [ $^{18}\text{F}$ ]-fluoromisonidazole (ou FMISO) ou le [ $^{18}\text{F}$ ]-azomycine arabinoside (ou FAZA), utilisés comme marqueurs des tissus hypoxiques généralement présents au cœur des tumeurs solides (Fujibayashi *et al.*, 1997 ; Rajendran *et al.*, 2006 ; Postema *et al.*, 2009). Plusieurs analogues fluorés sont également en phase d'essai clinique, tels que le [ $^{18}\text{F}$ ]-AV-1451 (Mishra *et al.*, 2017) ou le [ $^{18}\text{F}$ ]-Thk5351 (Lee *et al.*, 2017), capables de quantifier l'agrégation de la protéine tau, ou encore le  $^{18}\text{F}$ -Florbetapir (AV-45) (Akhtar *et al.*, 2017) qui met en évidence les plaques  $\beta$ -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  $\beta^+$  ou de rayonnements  $\gamma$ ), le système d'acquisition sera différent et demandera de recourir à la TEMP (*cf infra*).

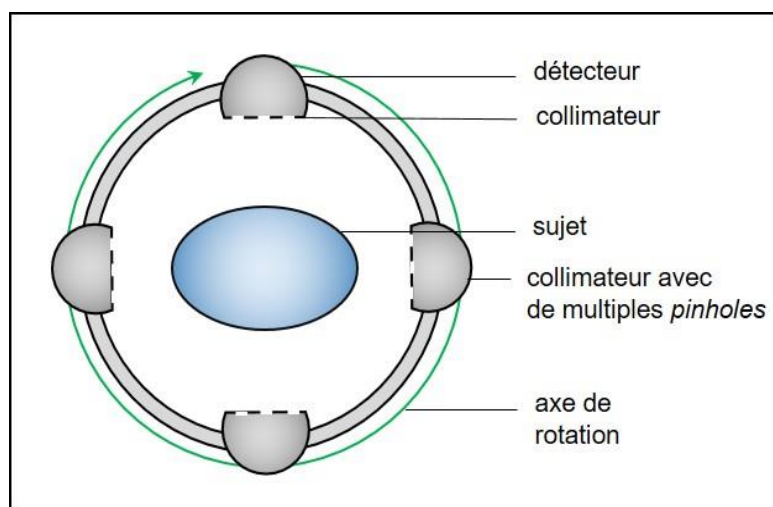
### 2.2.3 La tomographie par émission monophotonique

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  $\gamma$  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  $\beta^+$  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  $\gamma$  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  $\gamma$  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  $\gamma$  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  $\gamma$  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' $^{111}\text{In}$ -DTPA-octréotide (Octréoscan). La cible montre une tumeur neuroendocrine localisée dans le pancréas. Extrait du site [www.image.ch](http://www.image.ch). **C. Gauche**, la TEMP exploite l'émission de rayonnements  $\gamma$  faisant suite à une transition nucléaire au sein d'un atome. **Droite**, la TEMP utilise une gamma-caméra, constituée d'un détecteur de photons  $\gamma$  et d'un collimateur permettant la sélection angulaire des photons. Le détecteur tourne autour du sujet pendant l'acquisition, collecte les émissions  $\gamma$ , 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.  $^{111}\text{In}$  : indium-111.



**Figure 28. Principe 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  $\gamma$  émis dans un mauvais angle en utilisant plusieurs détecteurs surmontés de collimateurs avec de multiples *pinholes* (= tête d'épingle) permettant ainsi la collection d'un nombre plus important de photons  $\gamma$ . TEMP : tomographie par émission monophotonique.

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' $^{111}\text{In}$ -DTPA-OC, qui fixe le récepteur  $\text{sst}_2$ , 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  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIP1404 (Reinfelder *et al.*, 2017) ou le  $^{123}\text{I}$ -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  $^{125}\text{I}$ -*c-Met-binding peptide* qui reconnaît 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  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HABN ou du  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -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

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<sup>e</sup> 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

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 (RTCFMI) 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 ;



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, *iii*) 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).

## 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' $^{131}\text{I}$  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 reconnaître 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 entraîner 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 somatostatinerigiques radiomarqués, *e.g.* l' $^{111}\text{In}$ -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' $^{111}\text{In}$ -DTPA-TOC est progressivement délaissé au profit d'autres radiotraceurs somatostatinerigiques capables de lier stablement des radioisotopes

émetteurs de  $\beta^-$  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' $^{90}\text{Y}$  et le  $^{177}\text{Lu}$  (Essen *et al.*, 2006 ; Teunissen *et al.*, 2006 ; Marincek *et al.*, 2015).

Après les essais avec l' $^{111}\text{In}$ -DTPA-TOC, la première PRRT a employé le  $^{90}\text{Y}$ -DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octréotide ( $^{90}\text{Y}$ -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  $^{90}\text{Y}$ -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  $^{90}\text{Y}$ -DOTA-TOC. D'une manière générale, les études employant l' $^{90}\text{Y}$ -DOTA-TOC et le  $^{90}\text{Y}$ -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  $^{90}\text{Y}$  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 l' $^{90}\text{Y}$  a encouragé le développement de radiotraceurs avec le  $^{177}\text{Lu}$  (Bernard *et al.*, 1997 ; Otte *et al.*, 1998 ; Paganelli *et al.*, 2001 ; Waldherr *et al.*, 2001 ; Cybulla *et al.*, 2001).

La première PRRT exploitant les propriétés du  $^{177}\text{Lu}$  couplé à l'octréotate ( $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-TATE) est réalisée en 2003 par Kwekkeboom et coll. pour traiter des patients atteints de TNE-GEP. Les traceurs au  $^{177}\text{Lu}$  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  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-TATE et le  $^{90}\text{Y}$ -DOTA-TATE est significativement plus longue chez les premiers. Chez les patients atteints de TNE évolutives après traitement avec des analogues somatostatinerigiques 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 ( $^{255}\text{Ac}$ ) ou le  $^{213}\text{Bi}$ , émetteurs de particules  $\alpha$ , mais dont la distance d'émission est relativement courte (100  $\mu\text{m}$  pour les  $\alpha$  vs quelques mm pour les  $\beta$ ).

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

**Tableau 16. Principaux essais cliniques de phase 1/2 ou phase 3 exploitant les analogues somatostatinerigiques pour la thérapie par peptides radiomarqués (PRRT).** Le développement de la PRRT est étroitement liée à celui d'analogues somatostatinerigiques radiomarqués, *e.g.* l'<sup>111</sup>In-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 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-TATE : DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octréotate ; DOTA-TOC : DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octréotide ; DTPA : acide diéthylène-triamine-pentaacétique ; DTPA-TOC : DTPA-Tyr<sup>3</sup>-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<sup>+</sup> : tumeurs surexprimant les récepteurs somatostatinerigiques ; 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. <sup>111</sup>In : indium-111 ; <sup>177</sup>Lu : lutécium-177 ; <sup>90</sup>Y : yttrium-90. n.d. : non déterminé.

C'est le cas notamment avec l'<sup>225</sup>Ac-DOTA-TOC (Miederer *et al.*, 2008 ; Nayak *et al.*, 2007) ou avec le <sup>213</sup>Bi-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<sup>-</sup> classiques (Kratowchwil *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

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 aiguës 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'<sup>90</sup>Y (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 radiotracer émetteur de photons gamma pour adapter la dose injectée de radiotracer 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'<sup>123</sup>I avec l'<sup>131</sup>I (Luster *et al.*, 2008), le <sup>68</sup>Ga avec le <sup>177</sup>Lu ou encore l'<sup>111</sup>In avec le <sup>90</sup>Y (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

profitent de la polyvalence des nouveaux chélateurs tel que le DOTA pour complexer des radioisotopes capables d'émettre des  $\gamma$ , des  $\beta^+$  ou des  $\beta^-$ , tels que l' $^{111}\text{In}$ -DOTA-TOC/ $^{90}\text{Y}$ -DOTA-TOC, le  $^{111}\text{In}$ -DOTA-TATE/ $^{90}\text{Y}$ -DOTA-TATE, le  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC/ $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-TOC et le  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE/ $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-TATE (Ilan *et al.*, 2015 ; Ljungberg *et al.*, 2016 ; 2018). Kwekkeboom et coll. ont également montré en 2008 que le couple  $^{111}\text{In}$ -DTPA-OC/ $^{177}\text{Lu}$ -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 :

- 1) 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 ;
- 2) mettre au point un radiomarquage simple et efficace des deux analogues avec l'indium-111 ;
- 3) analyser la biodistribution *in vivo* de l'<sup>111</sup>In-DOTA-UII dans plusieurs modèles animaux d'expression du récepteur UT ;
- 4) étudier la capacité de l'<sup>111</sup>In-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<sup>®</sup>, les solutions trypsine-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 CaCl<sub>2</sub> ; 0,50 mM MgCl<sub>2</sub> ; 0,40 mM MgSO<sub>4</sub> ; 5,33 mM KCl ; 4,16 mM NaHCO<sub>3</sub> ; 5,55 mM D-Glucose), le kit de révélation ELISA *Pierce* sont commercialisés par ThermoFisher Scientific (Montigny-le-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 (InCl<sub>2</sub>) 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<sup>®</sup> *Cell Line Nucleofector*<sup>®</sup> kit V sont fournis par Lonza (Levallois-Perret, France). L'acrylamide 30%, le *N,N,N',N'*-tétra-méthyl-

éthylène-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<sup>®</sup> 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- $\beta$  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 complétés avec 10% de SBF et 1% de sodium-pyruvate, et les cellules sont cultivées en atmosphère humide (37°C, 5 % de CO<sub>2</sub>) 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<sup>+/+</sup> (*wild-type*, exprimant le récepteur UT murin), mUTS2R<sup>-/-</sup> (*knock-out* pour le récepteur UT murin), mUTS2R<sup>-/-</sup> hUTS2R<sup>+/+</sup> (*knock-out* pour le récepteur UT murin mais *knock-in* pour le récepteur UT humain) 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 ( $^{111}\text{InCl}_3$ ) (Mallinckrodt, Staines-upon-Thames, Royaume-Uni). Après refroidissement, la complexation de l' $^{111}\text{In}$  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'<sup>111</sup>In-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

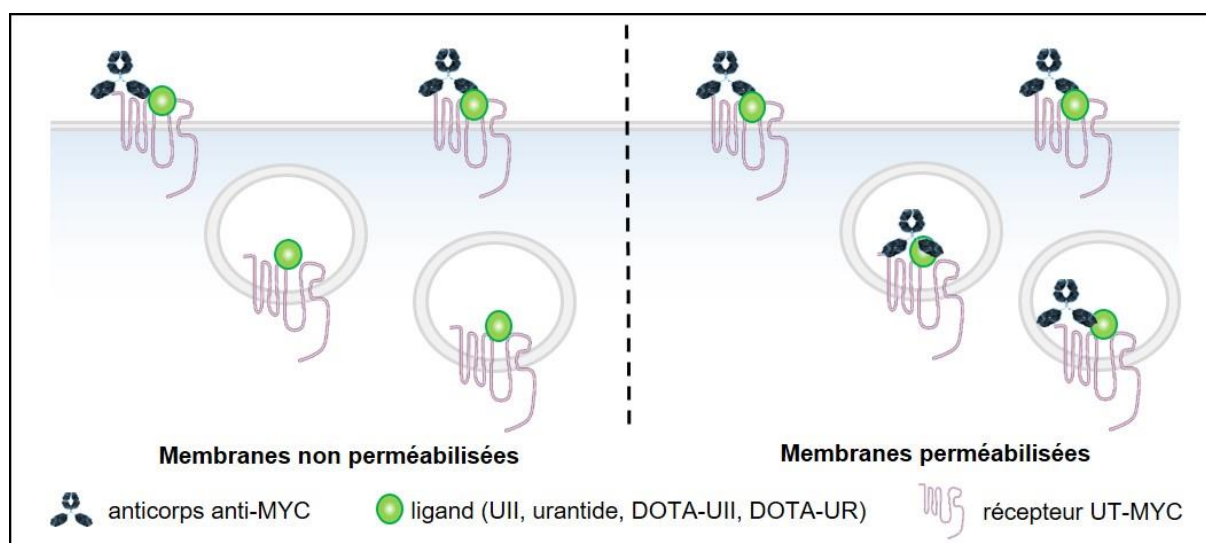
Des plaques 96 puits préalablement coatées à la poly-L-ornithine (100 µg/mL, 1 h, 37°C) sontensemencées avec 50 000 cellules HEK-293 transfectées avec le vecteur UT-MYC dans un milieu de culture complété. Le lendemain, les cellules sont rincées avec un tampon HBSS (20 mM HEPES ; 0,5 mM MgCl<sub>2</sub> ; 2,6 mM CaCl<sub>2</sub> ; 7,7 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ; 1,4 mM MgSO<sub>4</sub> ; 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 % CO<sub>2</sub>). 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<sup>-11</sup> à 10<sup>-6</sup> 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) sontensemencées la veille avec 10 000 cellules HEK-293 transfectées avec le vecteur UT-MYC, dans un milieu de culture complété (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<sup>e</sup>) est appliqué (1 h,  $\approx 20^{\circ}\text{C}$ ) sur les cellules dans la solution de blocage, puis les cellules sont rincées et incubées (1 h,  $\approx 20^{\circ}\text{C}$ ) avec l'anticorps secondaire GAM-HRP (1/1000<sup>e</sup>) 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<sup>®</sup> (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 sontensemencées 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 ;  $20^{\circ}\text{C}$ ), 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<sup>®</sup>) 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-tétrazacyclododécane-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 sontensemencées (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 cm<sup>2</sup> sontensemencées 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 % , ≈ 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<sup>e</sup>, 12 h, 4°C). Après plusieurs rinçages, les membranes sont incubées avec l'anticorps secondaire GAR-HRP (1/1000<sup>e</sup>, ≈ 20°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.

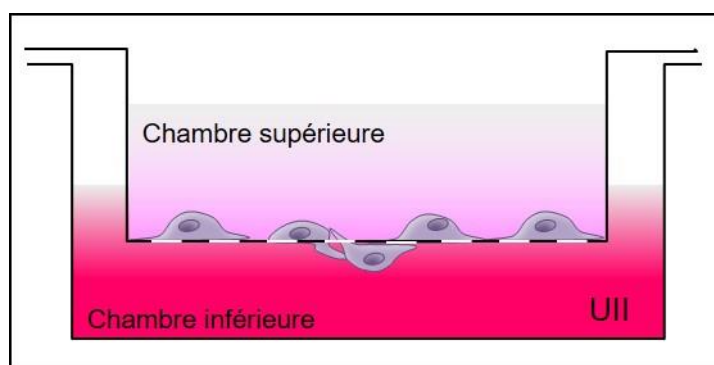
## 2.6 Etude de la croissance cellulaire

Des plaques 96 puits préalablement coatées à la poly-L-ornithine (100 µg/mL, 1 h, 37°C) sontensemencées avec 5 000 cellules A549 ou DLD-1 avec le milieu de culture complété (10 % SBF). Après 24 h, les cellules sont rincées au PBS, puis traitées (24 h à 72 h, 37°C, 5 % CO<sub>2</sub>) avec l'UII (10<sup>-9</sup> à 10<sup>-7</sup> 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<sup>-10</sup> à 10<sup>-8</sup> 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<sup>®</sup> (λ = 450 nm) sur 12 points différents dans chaque puits.

## 2.7 Etude de la migration cellulaire

Des *transwells* (24 puits, pores Ø = 8 µm) préalablement coatés à la fibronectine humaine (25 µg/mL, 4°C, 12 h) sontensemencées 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<sup>-9</sup> ou 10<sup>-7</sup> M) dans la chambre inférieure et les cellules sont incubées pendant 24 h (37°C, 5 % CO<sub>2</sub>). 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 ( $5 \cdot 10^6$  de cellules A549 ou DLD-1, 100  $\mu$ 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 rééquarées et congelées dans de l'isopentane ( $-50^{\circ}\text{C}$ ) puis conservées à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Pour les expériences d'immunohistochimie, des tranches microscopiques (10  $\mu$ 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°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°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<sup>e</sup>) et anti-CD34 (1/100<sup>e</sup>). Après plusieurs rinçages, les membranes sont incubées (2 h,  $\approx$  20°C) avec les anticorps secondaires DAR488 (1/1000<sup>e</sup>) et DAR594 (1/1000<sup>e</sup>). Après rinçage et incubation au DAPI (1/1000<sup>e</sup>, 5 min,  $\approx$  20°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'<sup>111</sup>In-DOTA-UII

Des souris C57BL/6 mUTS2R<sup>+/+</sup>, mUTS2R<sup>-/-</sup> et mUTS2R<sup>-/-</sup> hUTS2R<sup>+/+</sup> (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'<sup>111</sup>In-DOTA-UII (200  $\mu$ 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  $\gamma$  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

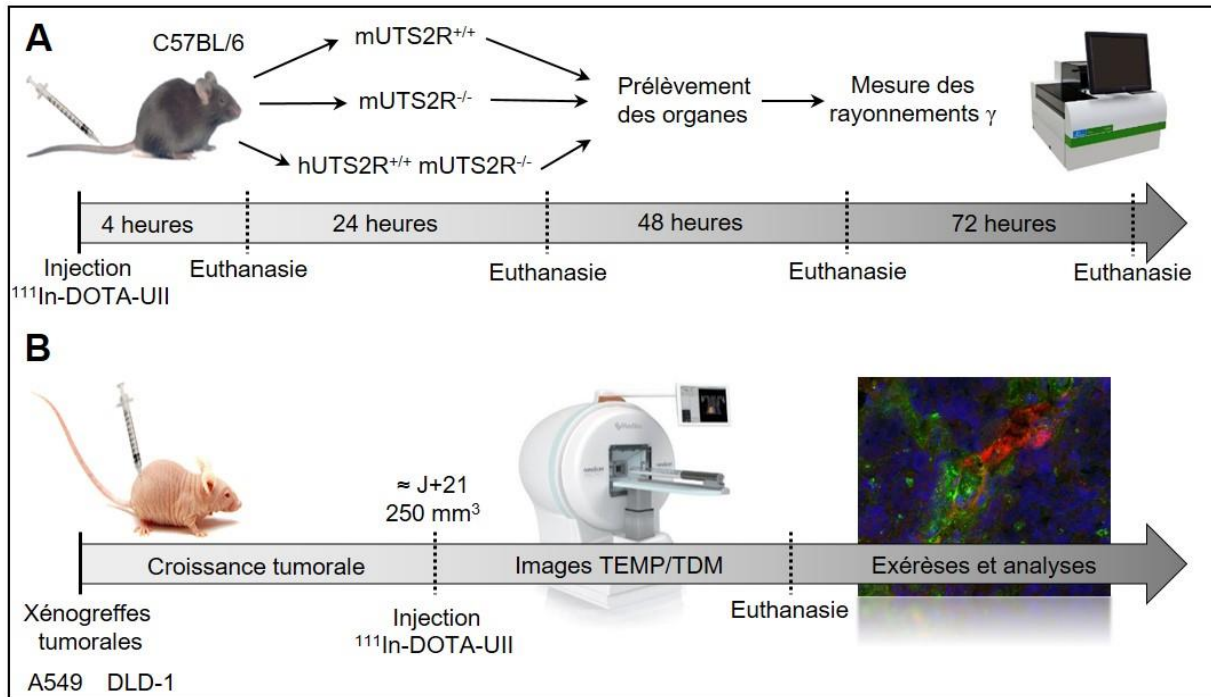
Des souris *Swiss Nudes* (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) femelles âgées de 8 à 10 semaines sont gardées dans un box de type EOPS (exempt d'organismes pathogènes spécifiques) par groupe de cinq animaux dans des cages collectives filtrées et maintenues dans une armoire ventilée (23°C, 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 ( $5 \cdot 10^6$  cellules dans 100  $\mu\text{L}$  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  $250 \text{ mm}^3$  ( $\pm 10 \%$ ), les animaux préalablement anesthésiés (isoflurane 3 %) reçoivent une injection de 15 MBq d' $^{111}\text{In}$ -DOTA-UII (200  $\mu\text{L}$ ) 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  $\gamma$  à 171 et 245 KeV

( $\pm 20\%$ ) 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  $^{111}\text{In-DOTA-UII}$ .** **A.** Des souris C57BL/6  $m\text{UTS}2\text{R}^{+/+}$ ,  $m\text{UTS}2\text{R}^{-/-}$  et  $m\text{UTS}2\text{R}^{-/-} h\text{UTS}2\text{R}^{+/+}$  reçoivent une injection intraveineuse (veine caudale latérale droite) d' $^{111}\text{In-DOTA-UII}$  (3 MBq, 200  $\mu\text{L}$ ). 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  $\gamma$  sont mesurés par un compteur gamma. **B.** Des souris *Swiss Nudes* reçoivent une suspension de cellules A549 ou de DLD-1 ( $5 \cdot 10^6$  cellules, 100  $\mu\text{L}$ ) de manière sous-cutanée au niveau du flanc droit. Lorsque les tumeurs atteignent un volume de 250  $\text{mm}^3$  ( $\pm 10\%$ ), les animaux reçoivent une injection d' $^{111}\text{In-DOTA-UII}$  (15 MBq, 200  $\mu\text{L}$ ) par voie intraveineuse (veine caudale latérale droite) et une observation est réalisée 1 h et 24 h post-injection par micro-TEMP couplé à un TDM. Les acquisitions sont effectuées pendant une heure sur animal anesthésié avec collection des émissions  $\gamma$  à 171 et 245 KeV ( $\pm 20\%$ ) 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 pour analyses. DOTA : acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétracétique ;  $m\text{UTS}2\text{R}^{+/+}$  : souris exprimant le récepteur UT murin ;  $m\text{UTS}2\text{R}^{-/-}$  : souris n'exprimant pas le récepteur UT murin (*knock-out*) ;  $m\text{UTS}2\text{R}^{-/-} h\text{UTS}2\text{R}^{+/+}$  : 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.  $^{111}\text{In}$  : indium-111.

# RÉSULTATS



# RÉSULTATS

## Evaluation of <sup>111</sup>In-labeled DOTA urotensin II analogues for targeting the UT receptor overexpressed in solid tumors

B. Poret<sup>1,2,4</sup>, L. Desrues<sup>1,4</sup>, N. Perzo<sup>1,4</sup>, P.M. Coly<sup>1,4</sup>, M. Dubois<sup>1,4</sup>, J.E. Joubert<sup>1,4</sup>, M.A. Bonin<sup>3</sup>, R. Leduc<sup>3</sup>, R. Modzelewski<sup>2,4</sup>, P. Decazes<sup>2,4</sup>, F. Morin<sup>1,4</sup>, P. Vera<sup>2,4</sup>, H. Castel<sup>1,4</sup>, P. Bohn<sup>2,4\*</sup> and P. Gandolfo<sup>1,4\*</sup>

\*Co-last authors

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

<sup>2</sup>EA 4108, Laboratory of Computer Science, Information Processing and Systems (LITIS), team “QuantIF”, Centre Henri Becquerel, 76000 Rouen, France.

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

<sup>4</sup>Institute for Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), 76000 Rouen, France

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

**Address for correspondence:** Pierrick Gandolfo, Normandie 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  $^{111}\text{Indium}$  ( $^{111}\text{In}$ -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 synthesized and radiolabeled with  $^{111}\text{Indium}$ . Incubation of  $^{111}\text{In}$ -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  $^{111}\text{In}$ -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,  $^{111}\text{In}$ -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 (Ull) 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/IP<sub>3</sub>/Ca<sup>2+</sup> pathway (Tasaki *et al.*, 2004; Desrue *et al.*, 2008; Jarry *et al.*, 2010). Ull and its receptor are broadly expressed in peripheral organs and more especially in the cardiovascular system, and historically Ull is considered as the most potent vasoactive neuropeptide (Douglas *et al.*, 2000; Camarda *et al.*, 2002). Ull also participates in the modulation of endocrine functions, such as steroid production (Albertin *et al.*, 2006) or insulin secretion (Silvestre *et al.*, 2009), and Ull 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 Ull, 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 urotensinerbic 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, Bagnaux-sur-Loing, France), previously coated with poly-L-ornithine (100 µg/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 MgCl<sub>2</sub>, 2.6 mM CaCl<sub>2</sub>, 7.7 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1.4 mM MgSO<sub>4</sub>, 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 Ull, DOTA-Ull, urantide and DOTA-urantide (10<sup>-11</sup> to 10<sup>-6</sup> M, each) on [Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub> 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, Bagnaux-sur-Loing, France), previously coated with poly-L-ornithine (100 µg/mL, 1 h, 37 °C), and incubated overnight with media only. Cells were treated



or not for 1 h with increasing concentrations of Ull, DOTA-Ull, 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, Bagnaux-sur-Loing, France), previously coated with human fibronectin (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , overnight, 4 °C), and incubated overnight with media only. Cells were treated for 1 h with Ull, urantide, DOTA-Ull or DOTA-urantide ( $10^{-7}$  M, each). Cells were rinsed with PBS before fixation with paraformaldehyde (4%, 10 min) and counterstaining with DAPI (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 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  $\mu\text{m}$  pores previously coated with human fibronectin (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 4°C, overnight) in serum-free medium on the upper chamber. A chemotactic diffusion was generated through the microporous membrane by filling the lower chamber with Ull ( $10^{-7}$  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  $^{111}\text{In}$ , DOTA-Ull 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).  $^{111}\text{InCl}_3$  (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, 5 $\mu\text{m}$ ), 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  $\mu\text{l}$ . The stability of radiolabeled peptides was assessed by incubation of  $^{111}\text{In}$ -DOTA-Ull 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<sup>+/+</sup>), KO (mUTS2R<sup>-/-</sup>), and KI (mUTS2R<sup>-/-</sup> hUTS2R<sup>+/+</sup>) mice were injected with <sup>111</sup>In-DOTA-U11 (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 µL) containing a suspension of 5.10<sup>6</sup> 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 mm<sup>3</sup> (approximately 3-weeks), 15 MBq of <sup>111</sup>In-DOTA-U11 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 µm 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 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<sup>+/+</sup> (wild-type), mUTS2R<sup>-/-</sup> (KO), mUTS2R<sup>-/-</sup> hUTS2R<sup>+/+</sup> (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-Ull and DOTA-urantide

We first evaluated the ability of DOTA-Ull and DOTA-urantide to functionally interact with UT. This receptor is classically associated with the phospholipase C/IP<sub>3</sub>/Ca<sup>2+</sup> pathway (Castel *et al.*, 2006; Diallo *et al.*, 2008; Douglas *et al.*, 2014). We thus compared the ability of Ull, urantide and their DOTA analogues to mobilize calcium in HEK-293 cells expressing UT receptor. We found that exposure of graded concentrations of DOTA-Ull or DOTA-urantide (10<sup>-11</sup> to 10<sup>-6</sup> M, each) induced a transient and dose-dependent increase in [Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub>. (EC<sub>50</sub> : 2.60 10<sup>-8</sup> M ± 0.47 ; 9.75 10<sup>-9</sup> M ± 2.44, respectively) with a potency and efficacy similar to that obtained with Ull and urantide (EC<sub>50</sub> : 1.89 10<sup>-8</sup> M ± 0.97; 2.45 10<sup>-8</sup> M ± 1.3, respectively), indicating that the coupling of DOTA at the N-terminal extremity of Ull 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 Ull (10<sup>-15</sup> to 10<sup>-6</sup> M) induced a dose-dependent increase in internalization rate of UT, starting from picomolar concentrations and with a plateau reached between 10<sup>-9</sup> and 10<sup>-8</sup> M (Fig. 3A). As expected, DOTA-Ull 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-U11 or DOTA-urantide with  $^{111}\text{In}$  was achieved by 20 min incubation with  $^{111}\text{InCl}_3$  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  $^{111}\text{In}$ -DOTA-U11 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 $^{111}\text{In}$ -DOTA-U11**

The biodistribution of  $^{111}\text{In}$ -DOTA-U11 was studied in 8-old-weeks female C57BL6/6 mice expressing UT (WT), not expressing murine UT (mUTS2R<sup>-/-</sup>, KO) or expressing human UT (mUTS2R<sup>-/-</sup>; hUTS2R<sup>+/+</sup>, KI). Our results were calculated as mean %ID/g value  $\pm$  SD at 4, 24, 48 and 72 h post-injection, and are summarized in Table 2 (WT), Table 3 (KO) and Table 4 (KI).  $^{111}\text{In}$ -DOTA-U11 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 $^{111}\text{In}$ -DOTA-U11**

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 mm<sup>3</sup>,  $^{111}\text{In}$ -DOTA-U11 was injected into tail vein and acquisitions were performed 24 h pi with a micro-SPECT/CT. We found that  $^{111}\text{In}$ -DOTA-U11 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 sst<sub>2</sub> 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 Ull 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 uterotensinergic 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 uterotensinergic analogues (DOTA-Ull 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*

*al.*, 2016). In addition, DOTA can also incorporate a wide range of radioisotopes used for diagnosis, such as  $^{111}\text{In}$  and  $^{68}\text{Ga}$  (Breeman *et al.*, 2003; Forrer *et al.*, 2004), or therapy, such as  $^{90}\text{Y}$  and  $^{177}\text{Lu}$  (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 Ull and urantide did not alter their selectivity for UT, we have tested their ability to activate the  $\text{G}\alpha_q/\text{PLC}/\text{PIP}_2/\text{IP}_3$  pathway, classically associated with UT (Douglas *et al.*, 2004; Diallo *et al.*, 2008; Jarry *et al.*, 2010). We found that application of DOTA-Ull and DOTA-urantide in the vicinity of HEK–293 cells expressing UT led to a dose-dependent increase in  $[\text{Ca}^{2+}]_c$ , with similar potency and efficacy to those obtained with Ull and urantide. These results demonstrated that conjugation of a DOTA with Ahx linker at the C-terminal sequences of Ull 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 Ull or DOTA-Ull 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  $\beta$ -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

γ 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  $\text{InCl}_3$  at  $100^\circ\text{C}$  for 20 min. We obtained a labeling yield of more than 99% of  $^{111}\text{In}$ -DOTA-Ull or  $^{111}\text{In}$ -DOTA-urantide. The plasma stability of the compounds at  $37^\circ\text{C}$  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-Ull 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 ( $100^\circ\text{C}$ ) adopted for the peptide radiolabeling did not cause a denaturation of the DOTA-Ull, 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),  $^{111}\text{In}$  has been replaced by stable Indium. We found that In-DOTA-Ull 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;

Mankoff *et al.*, 2008). Thus, we decided to focus *in vivo* experiments with DOTA–Ull. Injected into C57BL6/6 mice,  $^{111}\text{In}$ –DOTA–Ull is rapidly eliminated by renal filtration as early as 4 h post-injection. The uptake of  $^{111}\text{In}$ –DOTA–Ull 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  $^{111}\text{In}$ –DOTA–ligands (Chen *et al.*, 2001; Decristofo *et al.*, 2008), suggesting that  $^{111}\text{In}$ –DOTA–Ull was rapidly filtered and eliminated in urine. Consistent with this hypothesis, analysis of the biodistribution of  $^{111}\text{In}$ –DOTA–Ull in  $\text{mUTS2R}^{-/-}$  mice did not reveal any decrease in systemic uptake. Since interspecies incompatibility problems cannot be excluded between  $^{111}\text{In}$ –DOTA–Ull (human form) and the mouse receptor, we studied the biodistribution of  $^{111}\text{In}$ –DOTA–Ull in C57BL/6 mice whose UT receptor gene was invalidated in favor of the human form ( $\text{mUTS2R}^{-/-}$   $\text{hUTS2R}^{+/+}$ ). 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,  $^{111}\text{In}$ –DOTA–Ull 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 Ull or urantide did not alter UT activation,

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  $^{111}\text{In}$ -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:[10.3892/ijmm.17.6.1111](https://doi.org/10.3892/ijmm.17.6.1111)
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:[10.12659/MSM.890459](https://doi.org/10.12659/MSM.890459)
3. Bodei L, Cremonesi M, Grana CM, Fazio N, Iodice S, Baio SM, et al. Peptide receptor radionuclide therapy with <sup>177</sup>Lu-DOTATATE: the IEO phase I-II study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38: 2125–2135. doi:[10.1007/s00259-011-1902-1](https://doi.org/10.1007/s00259-011-1902-1)
4. Breeman WAP, Jong M de, Visser TJ, Erion JL, Krenning EP. Optimising conditions for radiolabelling of DOTA-peptides with <sup>90</sup>Y, <sup>111</sup>In and <sup>177</sup>Lu at high specific activities. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30: 917–920. doi:[10.1007/s00259-003-1142-0](https://doi.org/10.1007/s00259-003-1142-0)
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:[10.1096/fj.14-249771](https://doi.org/10.1096/fj.14-249771)
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:[10.1007/s00210-001-0503-0](https://doi.org/10.1007/s00210-001-0503-0)
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](https://doi.org/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 protein-coupled receptor UT of the neuropeptide urotensin II displays structural and functional chemokine features. *Front Endocrinol*. 2017;8. doi:[10.3389/fendo.2017.00076](https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00076)
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](https://doi.org/10.1039/c5np00083a)
10. Chatenet D, Dubessy C, Leprince J, Boullaran 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:[10.1016/j.peptides.2004.04.019](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.04.019)
11. Chen J, Cheng Z, Owen NK, Hoffman TJ, Miao Y, Jurisson SS, et al. Evaluation of an <sup>111</sup>In-DOTA–Rhenium Cyclized  $\alpha$ -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  $\alpha\beta 3$  integrin expression. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35: 1507–1515. doi:[10.1007/s00259-008-0757-6](https://doi.org/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](https://doi.org/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:[10.1016/j.peptides.2008.01.024](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.01.024)
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:[10.1016/j.peptides.2007.10.023](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.10.023)
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:[10.1016/j.tips.2003.12.005](https://doi.org/10.1016/j.tips.2003.12.005)
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](https://doi.org/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:[10.1111/eci.12231](https://doi.org/10.1111/eci.12231)
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](https://doi.org/10.1007/s00259-004-1553-6)
20. Grieco P, Franco R, Bozzuto G, Toccaceli 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](https://doi.org/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:[10.1002/psc.590](https://doi.org/10.1002/psc.590)
22. Guidolin D, Albertin G, Oselladore B, Sorato E, Rebuffat P, Mascarin A, et al. The pro-angiogenic activity of urotensin-II on human vascular endothelial cells involves ERK1/2 and PI3K signaling pathways. *Regul Pept*. 2010;162: 26–32. doi:[10.1016/j.regpep.2010.02.009](https://doi.org/10.1016/j.regpep.2010.02.009)



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](https://doi.org/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](https://doi.org/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:[10.1016/j.ejphar.2017.03.056](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.03.056)
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:[10.1016/S0140-6736\(89\)91258-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(89)91258-0)
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 lymphangioliomyomatosis. *Peptides.* 2010;31: 1511–1516. doi:[10.1016/j.peptides.2010.04.017](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.04.017)
28. Kwekkeboom DJ, Kooij PP, Bakker WH, Mäcke HR, Krenning EP. Comparison of <sup>111</sup>In-DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octreotide and <sup>111</sup>In-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. Structure-activity relationships of human urotensin II and related analogues on rat aortic ring contraction. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2003;18: 77–88. doi:[10.1080/1475636031000093507](https://doi.org/10.1080/1475636031000093507)
30. Langer M, La Bella R, Garcia-Garayoa E, Beck-Sickinger AG. <sup>99m</sup>Tc-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:[10.1038/onc.2014.433](https://doi.org/10.1038/onc.2014.433)
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:[10.1016/j.intimp.2016.09.002](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.09.002)
34. Mankoff DA, Link JM, Linden HM, Sundararajan L, Krohn KA. Tumor receptor imaging. *J Nucl Med.* 2008;49: 149S-163S. doi:[10.2967/jnumed.107.045963](https://doi.org/10.2967/jnumed.107.045963)
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:[10.1038/jhg.2016.124](https://doi.org/10.1038/jhg.2016.124)
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:[10.1016/bs.adioch.2015.11.003](https://doi.org/10.1016/bs.adioch.2015.11.003)
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](https://doi.org/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:[10.1073/pnas.77.8.5021](https://doi.org/10.1073/pnas.77.8.5021)
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:[10.1016/j.peptides.2004.11.018](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.11.018)
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:[10.1210/er.2002-0007](https://doi.org/10.1210/er.2002-0007)
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:[10.4049/jimmunol.179.2.901](https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.2.901)
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:[10.1016/j.regpep.2008.11.008](https://doi.org/10.1016/j.regpep.2008.11.008)
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:[10.1016/j.nucmedbio.2005.05.005](https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2005.05.005)
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](https://doi.org/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:[10.1016/S0196-9781\(03\)00039-1](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(03)00039-1)
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:[10.1254/jphs.94.376](https://doi.org/10.1254/jphs.94.376)

49. Tatsi A, Maina T, Cescato R, Waser B, Krenning EP, de Jong M, et al. [DOTA]Somatostatin-14 analogs and their <sup>111</sup>In-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](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.12.003)
50. Tostivint H, Joly L, Lihmann 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:[10.1073/pnas.0510700103](https://doi.org/10.1073/pnas.0510700103)
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:[10.1023/A:1011160913619](https://doi.org/10.1023/A:1011160913619)
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](https://doi.org/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:[10.1007/s00726-005-0289-3](https://doi.org/10.1007/s00726-005-0289-3)
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- $\kappa$ B pathway in tumor-bearing nude mice. *Oncol Lett.* 2012;4: 1259–1263. doi:[10.3892/ol.2012.932](https://doi.org/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

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  $^{111}\text{In}$ .**

High performance liquid chromatography (HPLC) profiles of  $^{111}\text{In}$ -DOTA-UII (A) and  $^{111}\text{In}$ -DOTA-urantide (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  $^{111}\text{In}$ -DOTA-UII (15 MBq, 200  $\mu\text{L}$ ) 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  $^{111}\text{In}$ -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  $^{111}\text{In}$ -DOTA-UII in C57BL6/6 wild mice (mUTS2R<sup>+/+</sup>).**

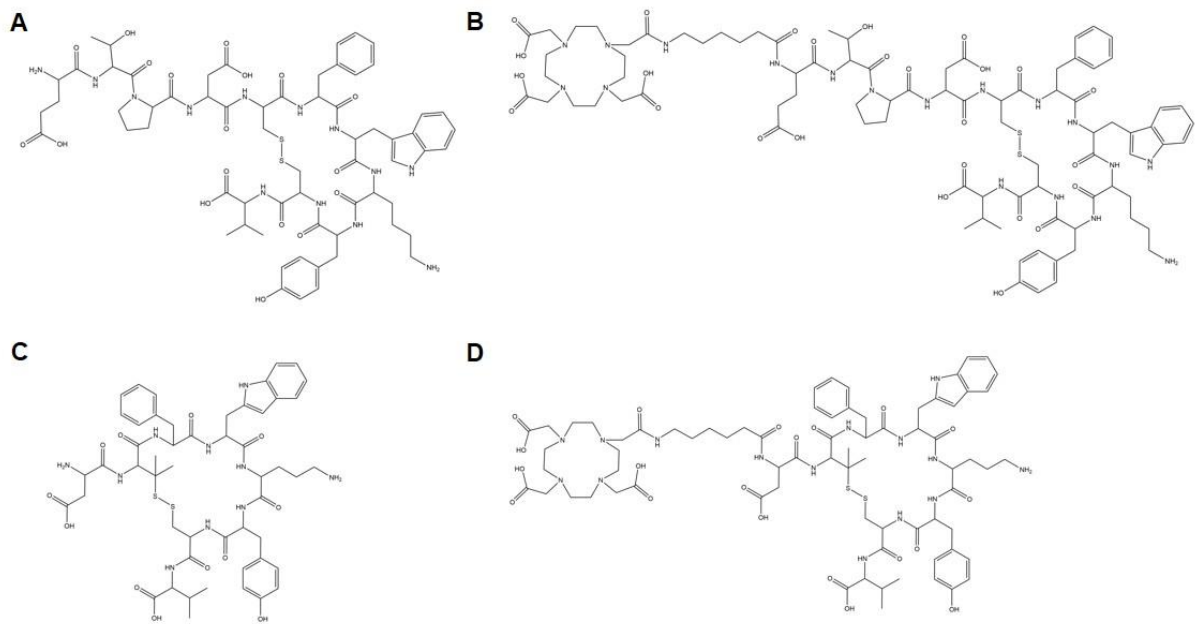
Data are expressed as the percent %ID/g after intravenous injection of  $^{111}\text{In}$ -DOTA-UII (3 MBq, 100  $\mu\text{L}$ ) at 4, 24, 48 and 72 h. Data are mean  $\pm$  SEM obtained from five animals.

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

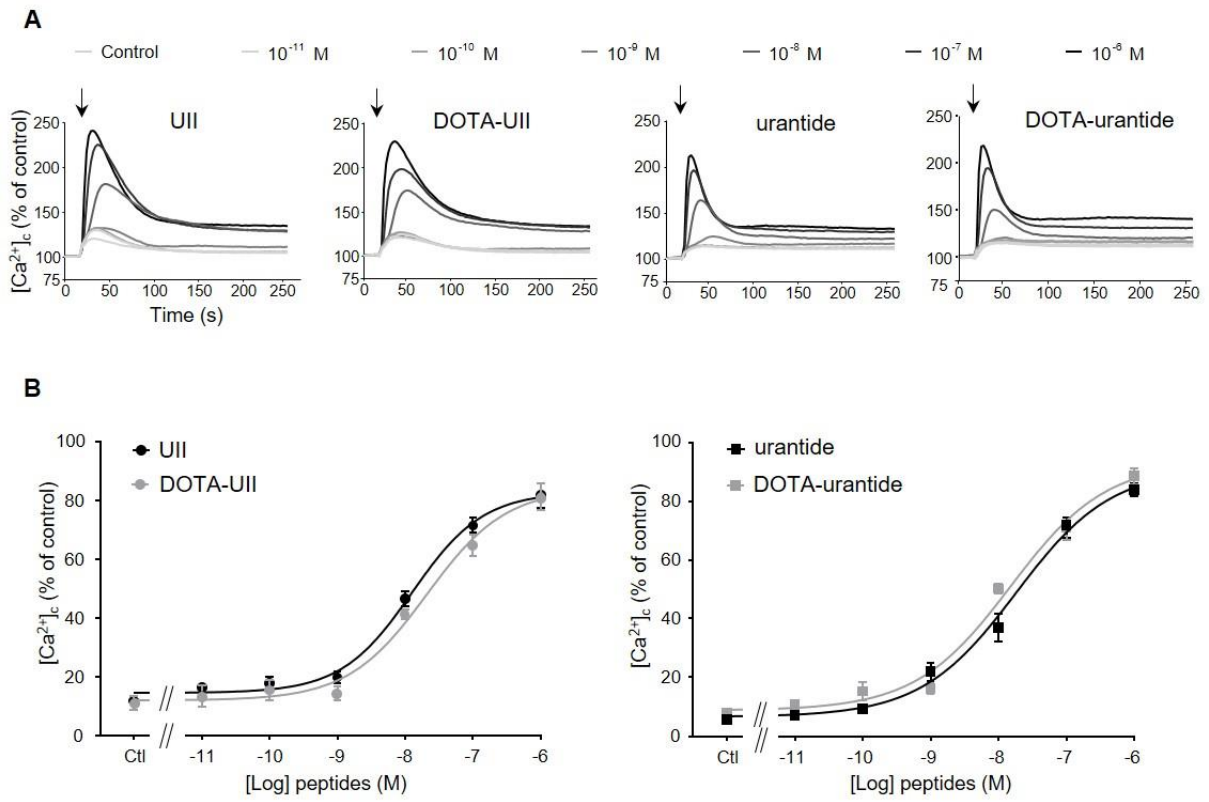
**Table 4. Biodistribution of  $^{111}\text{In}$ -DOTA-Ull in C57BL6/6 mice expressing human UT (mUTS2R<sup>-/-</sup> ; hUTS2R<sup>+/+</sup>).** Data are expressed as the percent %ID/g after intravenous injection of  $^{111}\text{In}$ -DOTA-Ull (3 MBq, 100  $\mu\text{L}$ ) at 4, 24, 48 and 72 h. Data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



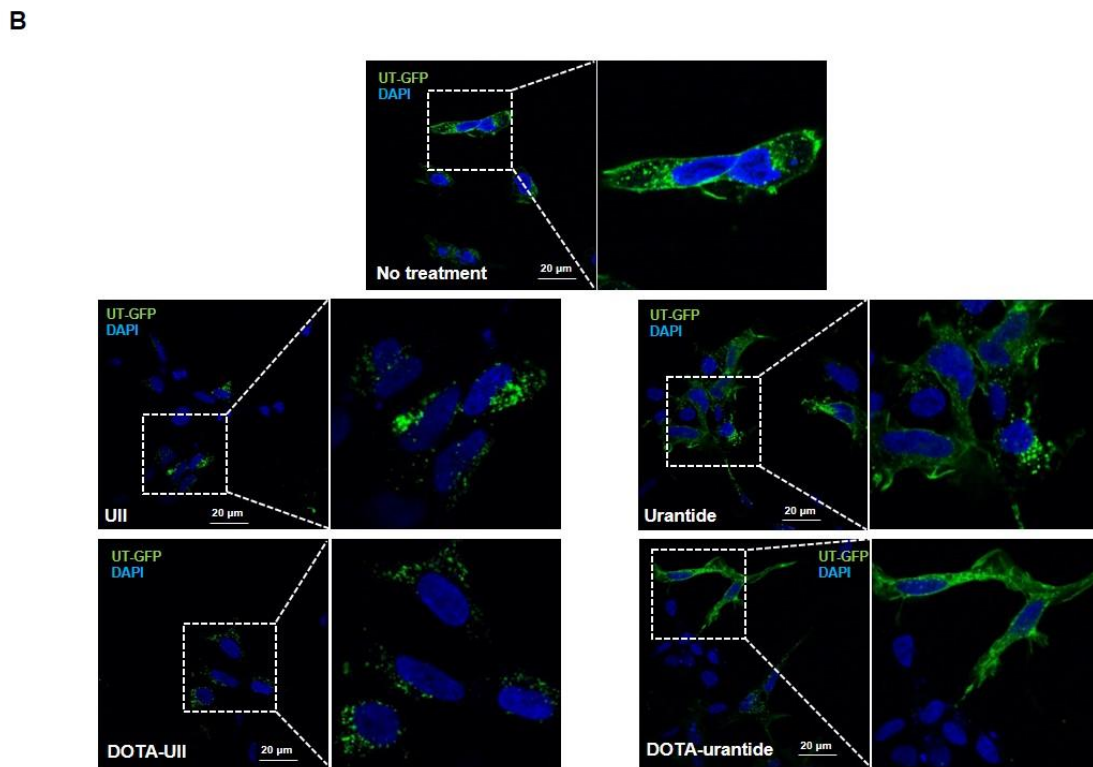
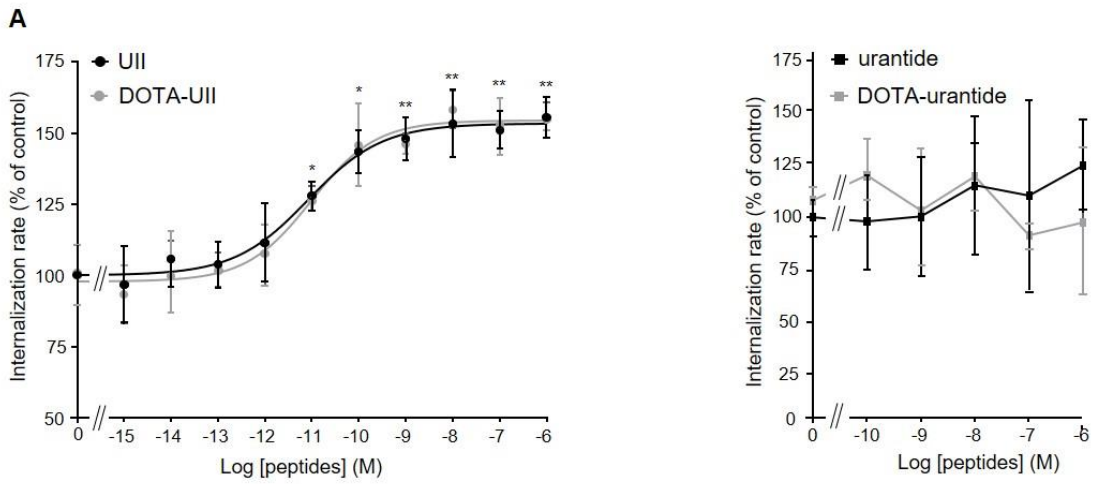




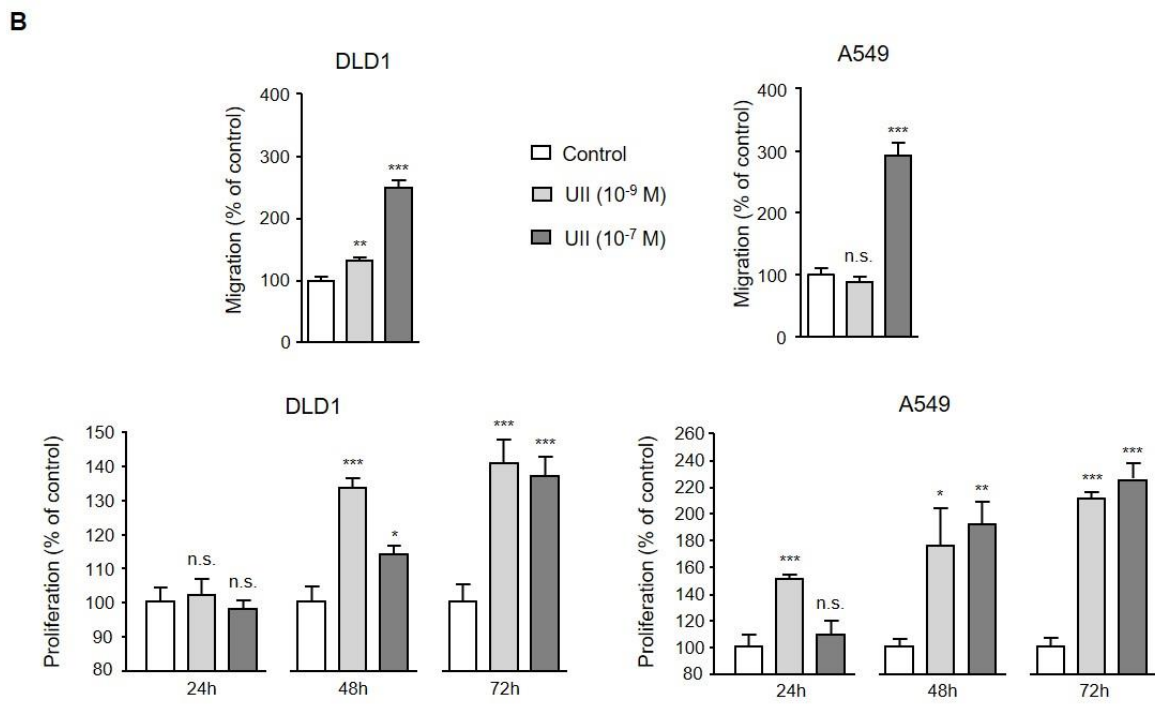
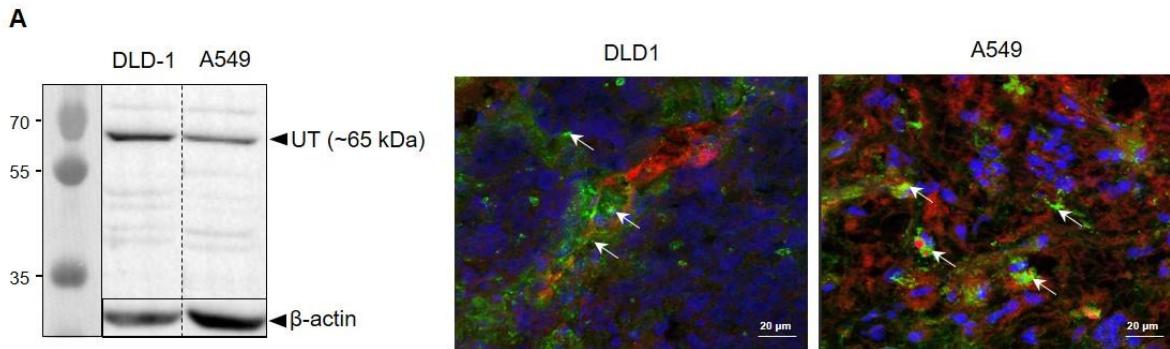
Poret *et al.*,  
Fig. 1



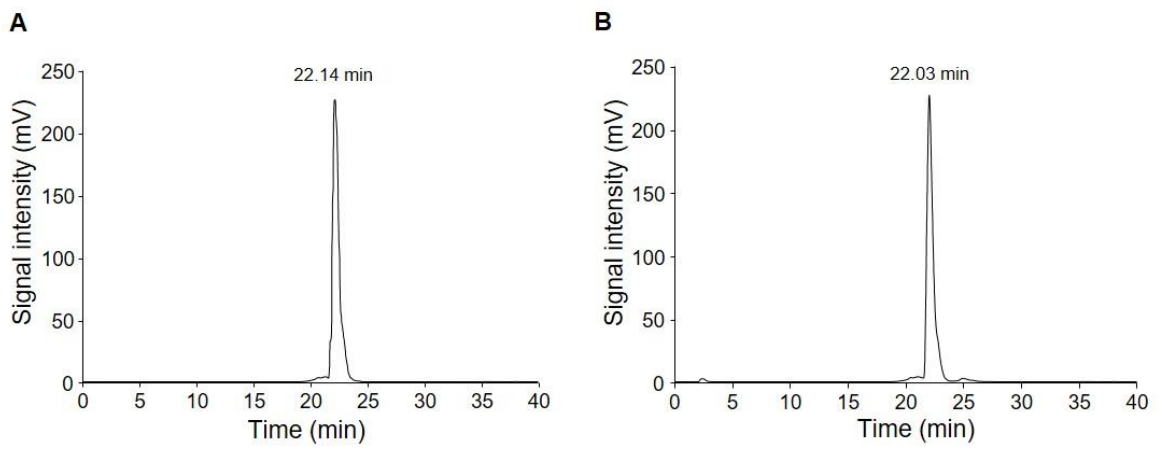
Poret *et al.*,  
Fig. 2



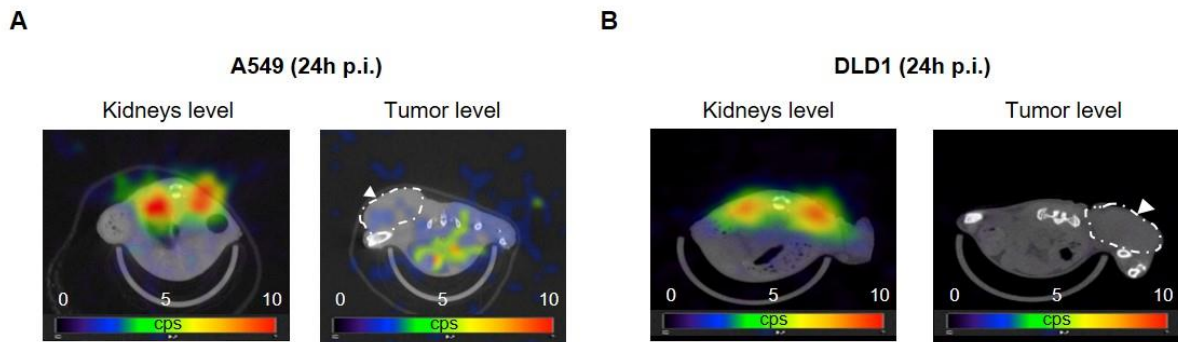
Poret *et al.*,  
Fig. 3



Poret *et al.*,  
Fig. 4



Poret *et al.*,  
Fig. 5



Poret *et al.*,  
Fig. 6

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

Poret *et al.*,  
Table 1

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.

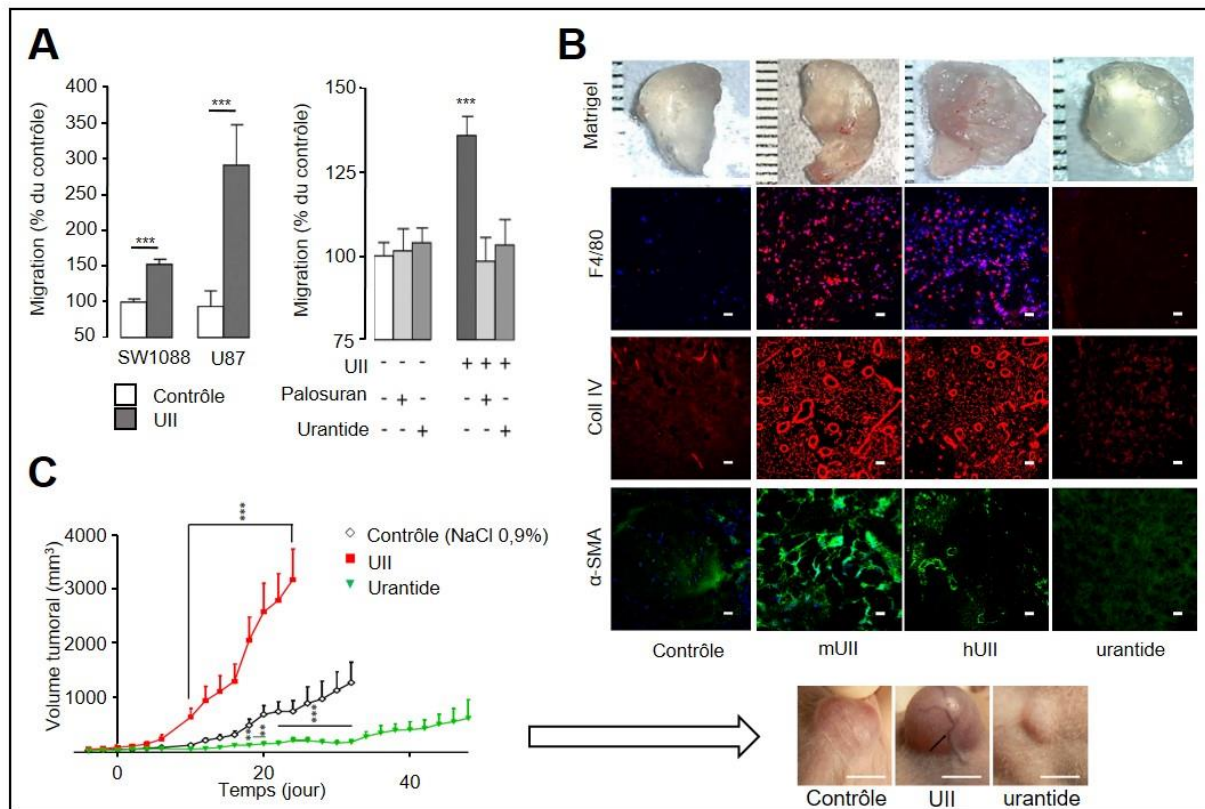
Les RCPG jouent un rôle majeur dans l'initiation et la progression des cancers. Plusieurs d'entre eux, tels que EP<sub>2</sub>, AT<sub>1</sub>, ET<sub>B</sub>, CXCR<sub>4</sub>, GRPR, CCK<sub>1</sub> ou encore LPAR, impliqués dans un large panel de mécanismes biologiques, participent à la modulation 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 somatostatinerigiques, et en particulier sst<sub>2</sub>. 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).

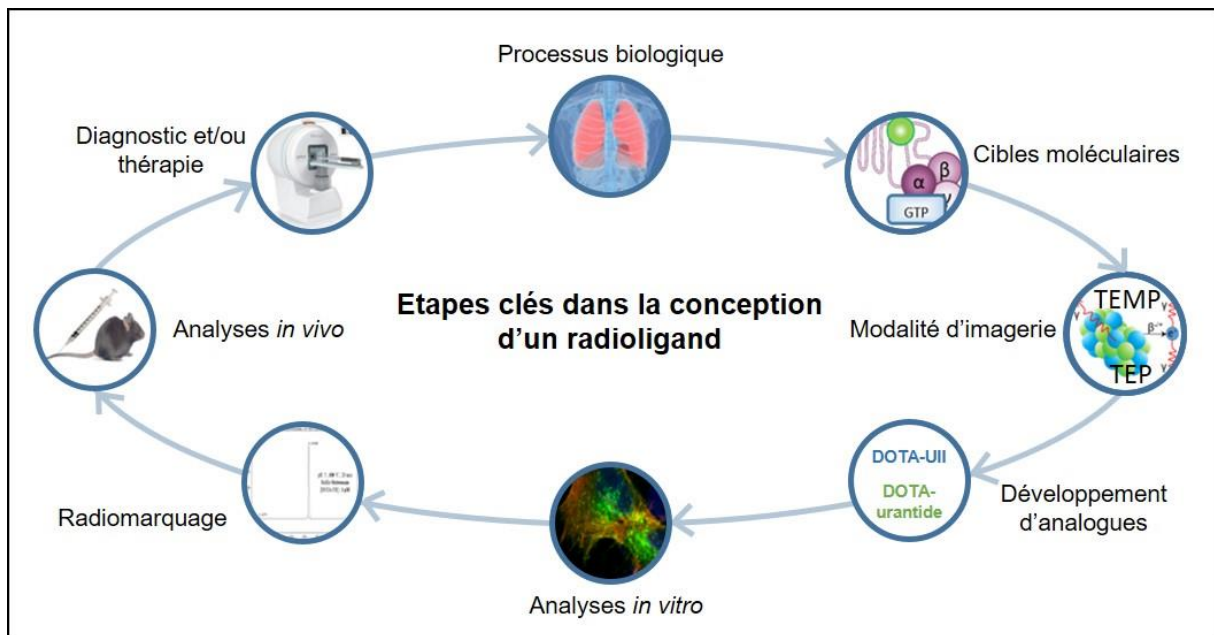
Depuis une dizaine d'années, l'équipe « Astrocytes et Niche Vasculaire », dirigée par le Dr Hélène Castel, et dans laquelle j'ai préparé en partie mon doctorat, concentre notamment ses recherches sur l'étude du rôle et des mécanismes d'action du système urotensinergique dans la tumorigenèse gliale. Après 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  $\alpha$ -SMA, vert) et macrophages (marquage F4/80, rouge), démontrant le caractère pro-angiogénique du système urotensinergique (d'après Le Joncour *et al.*, soumis). **C. Gauche**, des injections quotidiennes d'UII ou d'urantide ( $10^{-8}$  M, 20  $\mu$ L, 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

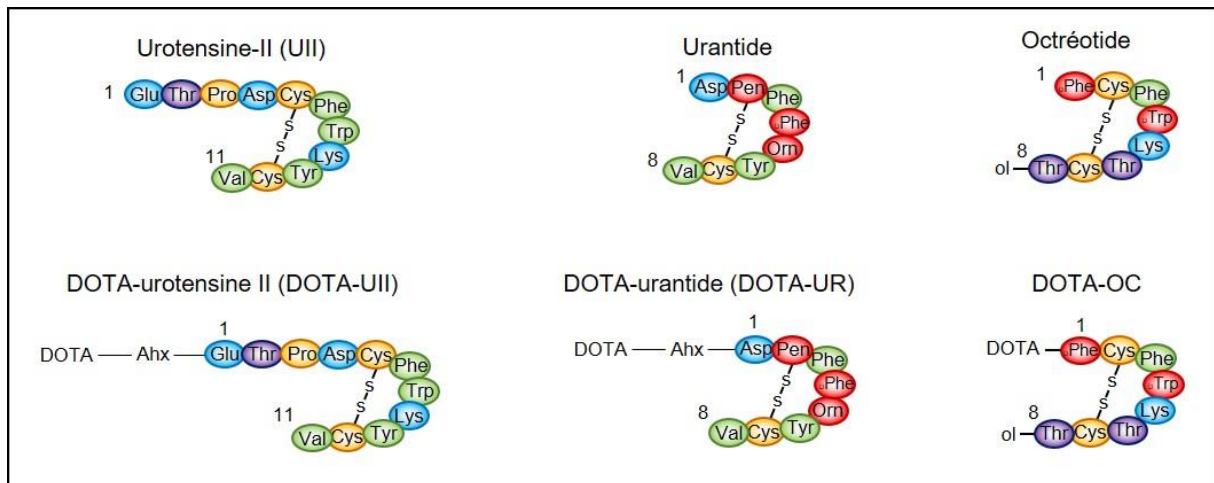
Bien qu'il soit courant de mettre à profit la présence d'un résidu tyrosine pour y greffer directement un atome d'iode radioactif, la stabilité de cette liaison est très faible (Krenning *et al.*, 1989 ; Bakker *et al.*, 1991a ; 1991b). De plus, la séparation du radioisotope et du ligand provoque une 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 sst<sub>2</sub>, sst<sub>3</sub> et sst<sub>5</sub> (*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-[Pen<sup>5</sup>, D-Phe<sup>7</sup>, Orn<sup>8</sup>]UII<sub>4-11</sub>) (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-tétrazacyclododécane-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  $^{111}\text{In}$  ou le  $^{68}\text{Ga}$ , mais également avec des radioisotopes employés pour la thérapie, tels que  $^{90}\text{Y}$ , le  $^{177}\text{Lu}$  et, plus récemment testé en recherche préclinique, le  $^{213}\text{Bi}$  (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  $^{68}\text{Ga}$  ou le  $^{64}\text{Cu}$ , 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 du site actif des peptides, permettant ainsi de ne pas altérer le site d'interaction ligand-récepteur (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

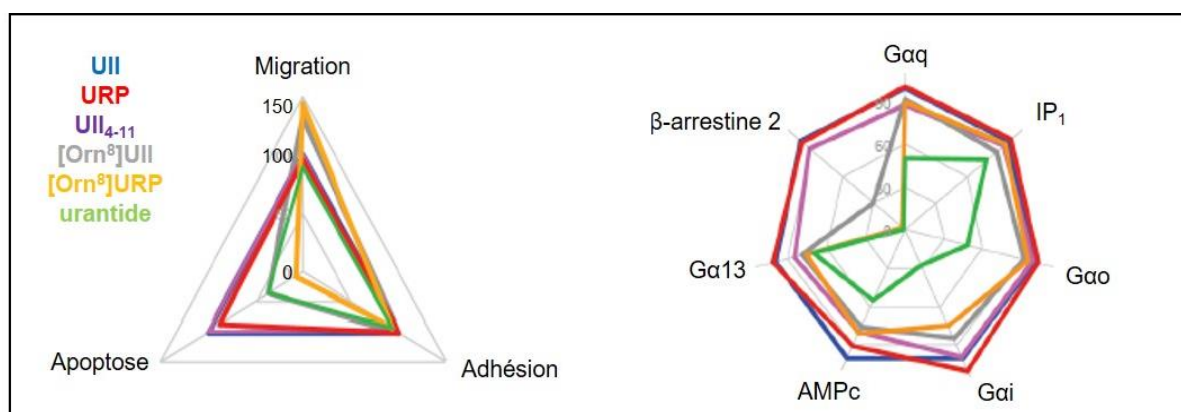
Sur des cellules HEK-293 exprimant le récepteur UT humain, nous avons montré que le DOTA-UII et le DOTA-urantide sont capables d'entraîner une augmentation dose-dépendante de la  $[Ca^{2+}]_c$ , avec une puissance et une efficacité similaires à celles obtenues pour l'UII et l'urantide. Bien que nous n'ayons pas caractérisé la voie recrutée par les DOTA-peptides 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<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub> et Y<sub>5</sub> (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 sst<sub>2</sub>, 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 pas leur affinité pour l'UT. Ces résultats renforcent aussi l'hypothèse selon laquelle la séquence C-terminale Glu<sup>1</sup>-Asp<sup>4</sup> 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 chaîne 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  $\beta$ -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 : [Pen<sup>5</sup>, D-Trp<sup>7</sup>, Orn<sup>8</sup>]UII<sub>4-11</sub> ; 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-U11 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'<sup>111</sup>In. 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  $\gamma$  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**).

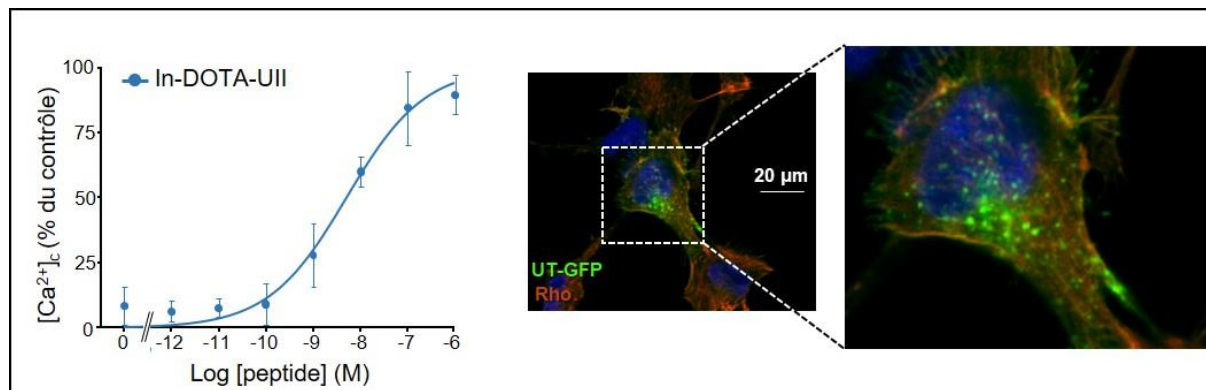
Commercialisé pour les radiomarquages, l'<sup>111</sup>In se présente sous la forme d'indium-chlorure (InCl<sub>3</sub>). Alors qu'une incubation à température ambiante pendant un temps relativement court est suffisant pour la chélation de l'<sup>111</sup>In avec le DTPA, la force protonique du tampon, 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'<sup>90</sup>Y et le <sup>177</sup>Lu, et chauffé à 100°C pour l'<sup>111</sup>In, 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  $^{111}\text{In}$ , 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  $^{111}\text{InCl}_3$  pendant 20 minutes à  $100^\circ\text{C}$  dans un tampon isocitrate (pH 4). Une expérience de dégradation forcée par la chaleur ( $100^\circ\text{C}$  pendant 8 heures) n'a permis de séparer que 2% d' $^{111}\text{In}$  du DOTA-UII. En outre, plus de 99% de  $^{111}\text{In}$ -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).  $^{111}\text{In}$ -DOTA-UII est également relativement stable dans le plasma humain puisque, après quatre heures, 30% seulement de  $^{111}\text{In}$  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 ( $100^\circ\text{C}$ ) 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  $^{111}\text{In}$  par de l' $^{111}\text{In}$  non radioactif. Appliquée sur des cellules HEK-293 exprimant

l'UT, l'<sup>111</sup>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'<sup>111</sup>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'<sup>111</sup>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-1,4,7,10-tétraacétique ; DOTA-UII : DOTA-urotensine II ; UII : urotensine II. In : indium.

#### 4. Evaluation *in vivo* de la biodistribution de l'<sup>111</sup>In-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 standard (Battey *et al.*, 1999). Nous avons observé que l'<sup>111</sup>In-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'<sup>111</sup>In-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 <sup>111</sup>In-DOTA-ligands testés par d'autres équipes, suggérant que le <sup>111</sup>In-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'<sup>111</sup>In-DOTA-UII dans des souris C57BL/6 n'exprimant pas le gène codant le récepteur UT murin (mUTS2R<sup>-/-</sup>) 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'<sup>111</sup>In-DOTA-UII (forme humaine) et le récepteur murin, nous avons étudié la biodistribution de l'<sup>111</sup>In-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<sup>-/-</sup> hUTS2R<sup>+/+</sup>). 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'<sup>111</sup>In-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'<sup>111</sup>In-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 diagnostique 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 mm<sup>3</sup>), l'<sup>111</sup>In-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 <sup>99m</sup>Tc-TP3654 (Thakur *et al.*, 2000), l'<sup>111</sup>In-DTPA-octréotide (Bombardieri *et al.*, 2010) ou encore le <sup>64</sup>Cu-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'<sup>111</sup>In-DOTA-UII et de son potentiel à reconnaître 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 chaînes 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.*, 2006 ; Reynolds *et al.*, 2015) ou encore l'utilisation d'antagonistes (Biddlecombe *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' $^{111}\text{In}$ -DOTA-Ahx-(D-Lys<sup>6</sup>-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 ( $^{111}\text{In}$ -DOTA-Ahx-D-Phe-(D-Lys<sup>6</sup>-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'<sup>111</sup>In-DOTA-PEG-UII.

Une autre piste à explorer consisterait à conjuguer l'<sup>111</sup>In-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 <sup>177</sup>Lu-phosphoramidate-CTT1298 (Choy *et al.*, 2017) ou le <sup>64</sup>Cu-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'U<sup>II</sup> 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'U<sup>II</sup>, 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 Val<sup>11</sup> 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 Glu<sup>1</sup>-Asp<sup>4</sup> 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'U<sup>II</sup> qui exploitent sa forme courte, l'U<sup>II</sup><sub>4-11</sub>, possèdent les mêmes propriétés biologiques que ce dernier (Labarrère *et al.*, 2003). Le remplacement de la Cys<sup>5</sup> 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 Trp<sup>7</sup> 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 ([Ala<sup>1</sup>]-UII<sub>4-11</sub>) limitant théoriquement sa protéolyse enzymatique. Le remplacement du Trp<sup>4</sup> 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'Ala<sup>1</sup> 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 (Lys<sup>8</sup>) ou de l'URP (Lys<sup>5</sup>) 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 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub> (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 ([Pen<sup>5</sup>, D-Trp<sup>7</sup>, Orn<sup>8</sup>]-UII<sub>4-11</sub>), 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 Phe<sup>6</sup> par une 3-cyclohexyalanine (Cha) génère un antagoniste avec une affinité élevée pour l'UT, à condition encore de remplacer la Cys<sup>5</sup> 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-Ala<sup>1</sup>, Pen<sup>2</sup>, D-Trp<sup>4</sup>]-URP ; un ligand biaisé, le [D-Ala<sup>1</sup>, Pen<sup>2</sup>, D-Trp<sup>4</sup>, Orn<sup>5</sup>]-URP ; un antagoniste pur, le [D-Ala<sup>1</sup>, Pen<sup>2</sup>, Cha<sup>3</sup>, D-Trp<sup>4</sup>, Orn<sup>5</sup>]-URP (**Tab. 17**).

Analogue	Séquence											Références
UII	Glu	Thr	Pro	Asp	Cys	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Coulouarn <i>et al.</i> , 1998
[D-Trp <sup>7</sup> ]-UII	Glu	Thr	Pro	Asp	Cys	Phe	<b>D-Trp</b>	Lys	Tyr	Cys	Val	Billard <i>et al.</i> , 2018
UII <sub>4-11</sub>				Asp	Cys	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Labarrère <i>et al.</i> , 2003
P5U				Asp	<b>Pen</b>	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Carotenuto <i>et al.</i> , 2014
URP				Ala	Cys	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Sugo <i>et al.</i> , 2003
[D-Tyr <sup>6</sup> ]-URP				Ala	Cys	Phe	Trp	Lys	<b>D-Tyr</b>	Cys	Val	Diallo <i>et al.</i> , 2008
[Bip <sup>6</sup> ]-URP				Ala	Cys	Phe	Trp	Lys	<b>Bip</b>	Cys	Val	Billard <i>et al.</i> , 2017
[Phe <sup>6</sup> ]-URP				Ala	Cys	Phe	<b>Phe</b>	Lys	Tyr	Cys	Val	
[D-Trp <sup>4</sup> ]-URP				Ala	Cys	Phe	<b>D-Trp</b>	Lys	Tyr	Cys	Val	Diallo <i>et al.</i> , 2008
[D-Ala <sup>1</sup> ]-URP				<b>D-Ala</b>	Cys	Phe	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Chatenet <i>et al.</i> , 2004
Urocontrine				Ala	Cys	Phe	<b>Bip</b>	Lys	Tyr	Cys	Val	Chatenet <i>et al.</i> , 2012
Urocontrine A				Ala	Cys	Phe	<b>Pep</b>	Lys	Tyr	Cys	Val	
[Orn <sup>5</sup> ]-URP				Ala	Cys	Phe	Trp	<b>Orn</b>	Tyr	Cys	Val	Diallo <i>et al.</i> , 2008
Urantide				Asp	<b>Pen</b>	Phe	<b>D-Trp</b>	<b>Orn</b>	Tyr	Cys	Val	Patacchini <i>et al.</i> , 2003
UFP-803				Asp	<b>Pen</b>	Phe	<b>D-Trp</b>	<b>Dab</b>	Tyr	Cys	Val	Camarda <i>et al.</i> , 2006
[Cha <sup>6</sup> ]-UII <sub>4-11</sub>				Asp	Cys	<b>Cha</b>	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	Chatenet <i>et al.</i> , 2006
[Pen <sup>5</sup> ,Cha <sup>6</sup> ]-UII <sub>4-11</sub>				Asp	<b>Pen</b>	<b>Cha</b>	Trp	Lys	Tyr	Cys	Val	
[D-Ala <sup>1</sup> , Pen <sup>2</sup> , D-Trp <sup>4</sup> ]-URP				<b>D-Ala</b>	<b>Pen</b>	Phe	<b>D-Trp</b>	Lys	Tyr	Cys	Val	
[D-Ala <sup>1</sup> , Pen <sup>2</sup> , D-Trp <sup>4</sup> , Orn <sup>5</sup> ]-URP				<b>D-Ala</b>	<b>Pen</b>	Phe	<b>D-Trp</b>	<b>Orn</b>	Tyr	Cys	Val	
[D-Ala <sup>1</sup> , Pen <sup>2</sup> , Cha <sup>3</sup> , D-Trp <sup>4</sup> , Orn <sup>5</sup> ]-URP				<b>D-Ala</b>	<b>Pen</b>	<b>Cha</b>	<b>D-Trp</b>	<b>Orn</b>	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 entraînant la formation d'un analogue biaisé ; en gras : acides aminés modifiés dans la séquence d'origine. Bip : biphénylalanine ; Cha : 3-cyclohexylalanine ; Dab : acide 2,4-diaminobutyrique ; Orn : ornithine ; Pen : pénicillamine ; Pep : phényléthylphénylalanine ; 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 péri-tumorales, 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 sst<sub>2</sub>.

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'<sup>111</sup>In-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'<sup>111</sup>In-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'<sup>111</sup>In-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-Ala<sup>1</sup>, Pen<sup>2</sup>, D-Trp<sup>4</sup>]-URP, le [D-Ala<sup>1</sup>, Pen<sup>2</sup>, D-Trp<sup>4</sup>, Orn<sup>5</sup>]-URP, ou encore le [D-Ala<sup>1</sup>, Pen<sup>2</sup>, Cha<sup>3</sup>, D-Trp<sup>4</sup>, Orn<sup>5</sup>]-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
- Abouziied 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 Ca<sup>2+</sup> 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 ortho-carboranyl-N $\epsilon$ -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- $\beta$  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- $\kappa$ B 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, Loudon 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, Pruijm 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-111-pentetreotide 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 DOTA-conjugated 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( $\alpha,\gamma$ -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 SIP2 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)  $\beta$ -Arrestin-mediated activation of MAPK by inverse agonists reveals distinct active conformations for G protein-coupled receptors. *PNAS* 100:11406–11411

## B

- 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) [<sup>111</sup>In-DTPA-D-Phe<sup>1</sup>]-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 [<sup>111</sup>In-DTPA-D-Phe<sup>1</sup>]-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<sub>2</sub> (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)NH<sub>2</sub>], 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) <sup>99m</sup>Tc-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, Grisar-Granovsky S, Uziely B (2016) G protein-coupled 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-Hydroxytryptamine<sub>4</sub> receptor activation of the extracellular signal-regulated kinase pathway depends on src activation but not on G protein or  $\beta$ -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
- Batley 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) <sup>177</sup>Lu-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 <sup>68</sup>Ga- and <sup>177</sup>Lu-DOTA-PEG4-LLP2A for VLA-4-targeted 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,
- Bébé 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 cholecystinin-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 <sup>64</sup>Cu-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 <sup>177</sup>Lu-DOTA-octreotate: 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) D-lysine 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 <sup>64</sup>Cu- and <sup>86</sup>Y-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 <sup>99m</sup>Tc-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 <sup>90</sup>Y-DOTATOC and <sup>177</sup>Lu-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 <sup>90</sup>Y-[DOTA]0-Tyr3-octreotide (<sup>90</sup>Y-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 <sup>177</sup>Lu-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 <sup>90</sup>Y-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, Kwেকেboom 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, Roubin 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) Gao potentiates estrogen receptor  $\alpha$  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 <sup>111</sup>In-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 <sup>90</sup>Y, <sup>111</sup>In and <sup>177</sup>Lu 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 non-invasive 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 DOTA-conjugated peptides and antibodies with <sup>111</sup>In 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, Lihmann 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, Lückerrath 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) G $\alpha$ 12 and G $\alpha$ 13 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) <sup>90</sup>Y-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, Calò G, Lambert DG (2004) Urotensin II 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 [Pen<sup>5</sup>,DTrp<sup>7</sup>,Dab<sup>8</sup>]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  $\beta\gamma$  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  $\beta_3$ -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- $\beta$ Ala-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, Santicoli 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 protein-coupled 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, Lihmann 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, Pouyssegur 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, Nsima 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, Lahrchi 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, Lihmann 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, Lihmann 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 <sup>64</sup>Cu-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  $\beta$ 2-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  $\alpha$ -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) <sup>177</sup>Lu-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  $\mu$ -opioid signaling through G $\alpha$ o 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, Lihmann I (1999) Cloning, sequence analysis and tissue distribution of the mouse and rat urotensin II precursors. *FEBS Letters* 457:28–32
- Coulouarn Y, Lihmann I, Jégou 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 <sup>64</sup>Cu-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, Stepień 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
- Cybulka 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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 secretion in Urotensin II-induced collagen synthesis in neonatal cardiac fibroblasts. *Regul Pept* 140:88–93
- Daniels AJ, Matthews JE, Slepatis 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) <sup>177</sup>Lu-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 G-protein-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 <sup>111</sup>In-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) [<sup>177</sup>Lu-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  $^{177}\text{Lu}$ -dotatate for patients with somatostatin receptor-expressing neuroendocrine tumors: the first US phase 2 experience. *Pancreas* 43:518
- Deménais 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)  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE compared with  $^{111}\text{In}$ -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) G $\beta\gamma$  activation site in adenylyl cyclase type II adenylyl cyclase type III is inhibited by G $\beta\gamma$ . *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)  $^{68}\text{Ga}$ -Labeled Bombesin Studies in Patients with Gastrointestinal Stromal Tumors: Comparison with  $^{18}\text{F}$ -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  $^{68}\text{Ga}$ -Labeled Bombesin ( $^{68}\text{Ga}$ -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, Passequé E, Song H, VandenBerg S, Johnson RS, Werb Z, Bergers G (2008) HIF1 $\alpha$  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) <sup>64</sup>Cu-(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-[<sup>64</sup>Cu-NO<sub>2</sub>A]-6-Ahx-RM2]  $\alpha$ v $\beta$ 3/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, Sangrajang 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, Doady 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, Fergaira 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 stress-related 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  $\beta$ -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 <sup>177</sup>Lu-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 <sup>64</sup>Cu- and <sup>68</sup>Ga-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 vasoconstriction 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 over-expressed 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 g*o*i- 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 albumin-based 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  $\beta$ -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  $^{90}\text{Y}$ -DOTATOC in patients with neuroendocrine tumors. *Anticancer Res* 26:703–707
- Fowler JS, Ido T (2002) Initial and subsequent approach for the synthesis of  $^{18}\text{F}$ FDG. *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, Sjögren-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
- Garlton 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)  $\beta$ -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, Ercegyi 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, Lenzi 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  $^{68}\text{Ga}$ -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  $^{68}\text{Ga}$ - and  $^{64}\text{Cu}$ -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, Toccaceli 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, Toccaceli 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 iodine-refractory 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-3 $\beta$  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, Mascarini 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

## H

- 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 <sup>111</sup>In-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 p38 $\alpha$ . *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- $\kappa$  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, Lückerrath 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 111In-labeled 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-Sickinge 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) Side-chain 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- $\kappa$ B-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 cross-linking. *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 <sup>177</sup>Lu-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)  $\beta$ -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  $\beta$ -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, Lihmann 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, Vecilla 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 <sup>177</sup>Lu-DOTA-8-AOC-BBN (7-14)NH<sub>2</sub> 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, Rzakowski 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, Sängler 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, Chaitnik 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)  $\beta$ -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, Schirmacher E, Niedermoser S, Jurkschat K, Iovkova-Berends L, Wängler C, Wängler B, Schirmacher R (2012) Synthesis of [<sup>18</sup>F]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)  $\beta$ -arrestin binding to the  $\beta$ 2-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) <sup>213</sup>Bi-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  $\beta$ -arrestins. *Regul Peptides* 120:141–148
- Kumar K, Ghosh A (2018) 18F-AIF 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-entero-pancreatic (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-Tyr3-octreotide 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) <sup>99m</sup>Tc-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, Lückerrath K, Schottelius M, Kircher M, Werner RA, Schreder M, Sannick 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  $\beta$ 2-adrenergic receptor/ $\beta$ arrestin 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 <sup>177</sup>Lu-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 gastrin-releasing 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, Ottobriani 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, Prézéau 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 1 $\alpha$  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-1 $\alpha$  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 $\alpha$  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  $\alpha$  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  $\beta$ -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, Swanevelter 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  $\mu$  and  $\delta$  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- $\kappa$ B 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-1 $\alpha$ , and C/EBP $\alpha$ . *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, Brennehan 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, Fragozeorgi EA, Zikos C, Loudos G, Xanthopoulos S, Bouziotis P, Paravatou-Petsotas M, Livaniou E, Varvarigou AD, Sivolapenko GB (2012) Structural modifications of <sup>99m</sup>Tc-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 <sup>90</sup>Y- and <sup>111</sup>In-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 <sup>64</sup>Cu-labeled RGD-bombesin heterodimer. *J Nucl Med* 50:1168–1177
- Liu Z, Niu G, Wang F, Chen X (2009d) <sup>68</sup>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 <sup>18</sup>F-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 <sup>177</sup>Lu 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  $\beta\gamma$  subunits of GTP-binding proteins activate the muscarinic K<sup>+</sup> channel in heart. *Nature* 325:321–326
- Lohse MJ, Andexinger S, Pitcher J, Trukawinski S, Codina J, Faure JP, Caron MG, Lefkowitz RJ (1992) Receptor-specific 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)  $\beta$ -arrestin-dependent formation of  $\beta$ 2 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)  $\beta$ -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) <sup>177</sup>Lu-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-[<sup>18</sup>F] 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  $\mu$ -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 <sup>90</sup>Y-DOTATOC and <sup>177</sup>Lu-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 1 ng/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)  $\beta$ -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-Sickingler 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  $\alpha$ -Particle Generator Nuclide  $^{225}\text{Ac}$  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  $\beta$ 2-adrenergic 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, Vasanaawala S, Gambhir SS, Iagaru A (2016) Pilot comparison of  $^{68}\text{Ga}$ -RM2 PET and  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11 PET in patients with biochemically recurrent prostate cancer. *J Nucl Med* 57:557–562
- Minamimoto R, Sonni I, Hancock S, Vasanaawala S, Loening A, Gambhir SS, Iagaru A (2018) Prospective evaluation of  $^{68}\text{Ga}$ -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, Hindie 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, Hindie E, Fernandez P, Tabarin A (2016) Evaluation of  $^{68}\text{Ga}$ -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, Blaszcuk 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 beta-adrenergic 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)  $\beta$ -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<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>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- $\zeta$  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-receptor-targeted  $\alpha$ -emitting  $^{213}\text{Bi}$  is therapeutically more effective than  $\beta$ -emitting  $^{177}\text{Lu}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  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  $^{18}\text{F}$ -SiFAlin-Modified TATE: A potential challenge for  $^{68}\text{Ga}$ -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, Bhujwala ZM, Pomper MG (2010) Molecular imaging of CXCR4 receptor expression in human cancer xenografts with  $^{64}\text{Cu}$ 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  $\beta_2$ -adrenergic receptor establish a barcode that encodes differential functions of  $\beta$ -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
- Noel 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

## O

- Oakley RH, Laporte SA, Holt JA, Barak LS, Caron MG, § (1999) Association of  $\beta$ -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- $\kappa$ B, 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

## P

- 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, Boussette N, Giaid A (2008) Urotensin-II and cardiovascular remodeling. *Peptides* 29:764–769
- Paris S, Pouyssegur J (1986) Pertussis toxin inhibits thrombin-induced activation of phosphoinositide hydrolysis and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 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 disease: clinical 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 <sup>64</sup>Cu-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) 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, Lihmann 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, Máčiková 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) <sup>64</sup>Cu-DOTATATE PET for Neuroendocrine Tumors: A Prospective Head-to-Head Comparison with <sup>111</sup>In-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, Lückerrath 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-1 $\alpha$ . *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- $\alpha$ -(5-deoxy-518F]-fluoroarabinofuranosyl)-2-nitroimidazole 18F-FAZA). *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 36:1565–1573
- Pouyssegur 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

## Q – R

- 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 receptor-targeting 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, Heinzl A, Mottaghy FM, Ruf J, Meyer PT, Heuschkel M, Eveslage M, Bögemann M, Fendler WP, Krause BJ (2017) German multicenter study investigating <sup>177</sup>Lu-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 [<sup>18</sup>F] fluoromisonidazole positron emission tomography in head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 12:5435–5441
- Rangger C, Helbok A, Ocak M, Radolf T, Andrae 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  $\beta_2$  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 <sup>68</sup>Ga-OPS202 and <sup>177</sup>Lu-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 <sup>99m</sup>Tc-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)  $\alpha\beta_3$  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, Laboisie 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 <sup>68</sup>Ga-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) <sup>99m</sup>Tc-besilesomab (Scintimun®) in peripheral osteomyelitis: comparison with <sup>99m</sup>Tc-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 <sup>64</sup>Cu-labeled bombesin analogue. *Bioconjugate Chem* 14:756–763
- Rogers BE, Della Manna D, Safavy A (2004) In vitro and in vivo evaluation of a <sup>64</sup>Cu-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-Peittl 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 <sup>64</sup>Cu, <sup>68</sup>Ga, and <sup>111</sup>In. *Mol Pharmaceutics* 11:3930–3937
- Rosanò L, Cianfrocca R, Sestito R, Tocci P, Castro VD, Bagnato A (2017) Targeting endothelin-1 receptor/ $\beta$ -arrestin1 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 <sup>61</sup>Cu 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, Sinnott-Smith J (2002) Gastrointestinal peptide signalling in health and disease. *Eur J Surg Suppl* 23–38
- Rozengurt E, Sinnott-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 <sup>177</sup>Lu-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 Ca<sup>2+</sup>-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 <sup>177</sup>Lu-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, Mellionec 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 <sup>90</sup>Y-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 <sup>99m</sup>Tc-depreotide, <sup>111</sup>In-DTPA-octreotide, and <sup>177</sup>Lu-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 [<sup>68</sup>Ga]DOTATATE and [<sup>68</sup>Ga]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 <sup>68</sup>Ga-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, Rozenfurt 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  $\alpha$ -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- $\beta$ -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 somatostatin-signaled 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 apoptosis 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)NH<sub>2</sub> 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 metastasis. NIH 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 thrombin-induced PAR1 and NF- $\kappa$ B 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, Dingemans 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 <sup>177</sup>Lu-DOTATATE and <sup>90</sup>Y-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, Egidio 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–

- 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 NPX<sub>n</sub>Y 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, Fonkouda 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, Adebisi A (2017) Urotensin II-induced store-operated Ca<sup>2+</sup> 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, Vazquez 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)  $\beta$ -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

## T

- 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, Loriger 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 cell-derived 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, Okanou 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 <sup>111</sup>In-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 [<sup>177</sup>Lu-DOTA<sup>0</sup>,Tyr<sup>3</sup>]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) <sup>99m</sup>Tc-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- $\beta$ 1-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, Lihmann 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 <sup>90</sup>Y-DOTATATE/<sup>90</sup>Y-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)  $\beta$ -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 <sup>111</sup>In-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, Pouyssegur 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 meta-analysis. *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  $G\alpha 1\beta 1\gamma 2$ . *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, Bertagnoli 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, Pouyssegur 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/NF- $\kappa$ B 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 CXCR2 chemokine 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  $\beta$ -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, <sup>111</sup>In-DOTA-DAPTA, targeting chemokine receptor CCR5 and preliminary evaluation in an ApoE<sup>-/-</sup> 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 receptor-negative 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 <sup>64</sup>Cu-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 receptor-expressing 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 radiolabeled therapy in a human prostate cancer model (<sup>213</sup>Bi-DOTA-PESIN and <sup>213</sup>Bi-AMBA versus <sup>177</sup>Lu-DOTA-PESIN). *Cancer Res* 71:1009–1018
- Williams RS, Lefkowitz RJ (1978) Alpha-adrenergic receptors in rat myocardium. Identification by binding of [<sup>3</sup>H]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  $G\alpha$  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–

- 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  $\beta$ -catenin pathway. *PNAS* 102:6027–6032
- Yasui W, Sumiyoshi H, Ochiai A, Tahara E (1986) Cholecystokinin inhibition of tumor growth and gastrin-stimulated 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  $\beta$ -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/PKC $\delta$ /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

## Z

- Zagzag D, Krishnamachary B, Yee H, Okuyama H, Chiriboga L, Ali MA, Melamed J, Semenza GL (2005) Stromal cell-derived factor-1 $\alpha$  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’Dorisio 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 <sup>89</sup>Zr 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, Bholra 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- $\beta$ 1 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 isoproterenol. *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- $\kappa$ B pathway in tumor-bearing nude mice. *Oncol Lett* 4:1259–1263
- Zhukova E, Sinnott-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, Neundorff I, Sieger S, Lehmann L, Friebe M, Dinkelborg L, Beck-Sickingher 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 ( $^{111}\text{In}$ -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  $\text{G}\alpha_q/\text{PLC}/\text{IP}_3/\text{Ca}^{2+}$ . 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  $^{111}\text{In}$ . L'incubation de  $^{111}\text{In}$ -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 dose-dépendante de la concentration cytosolique de calcium, avec une puissance et une efficacité similaires à celles obtenues avec l'UII ( $\text{EC}_{50}$ :  $1,26 \cdot 10^{-8}$  M et  $2,09 \cdot 10^{-8}$  M, UII et DOTA-UII, respectivement) et urantide ( $\text{EC}_{50}$ :  $1,82 \cdot 10^{-8}$  M et  $1,52 \cdot 10^{-8}$  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  $^{111}\text{In}$ -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 ( $\text{mUTS2R}^{-/-}$ ) ou des souris exprimant constitutivement la forme humaine de l'UT ( $\text{mUTS2R}^{-/-}$   $\text{hUTS2R}^{+/+}$ ). Enfin,  $^{111}\text{In}$ -DOTA-UII a été injecté chez des souris *Nudes* porteuses de xéno greffes 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.