

- imaging. *J Nucl Med*, 2008, 49 (10): 1723-1729.
- [40] Lee S, Chen X. Dual-modality probes for in vivo molecular imaging. *Mol Imaging*, 2009, 8 (2): 87-100.
- [41] Lee HY, Li Z, Chen K, et al. PET/MRI dual-modality tumor imaging using arginine-glycine-aspartic (RGD)-conjugated radiolabeled iron oxide nanoparticles. *J Nucl Med*, 2008, 49 (8): 1371-1379.
- [42] Xie J, Huang J, Li X, et al. Iron oxide nanoparticle platform for biomedical applications. *Curr Med Chem*, 2009, 16 (10): 1278-1294.
- [43] Cheon J, Lee JH. Synergistically integrated nanoparticles as multimodal probes for nanobiotechnology. *Acc Chem Res*, 2008, 41 (12): 1630-1640.
- [44] Shokeen M, Fetting NM, Rossin R. Synthesis, in vitro and in vivo evaluation of radiolabeled nanoparticles. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2008, 52 (3): 267-277.
- [45] Claus C, Rossin R, Welch MJ, et al. In vivo evaluation of $(64)\text{Cu}$ -labeled magnetic nanoparticles as a dual-modality PET/MR imaging agent. *Bioconjug Chem*, 2010, 21 (4): 715-722.
- [46] Patel D, Kell A, Simard B, et al. The cell labeling efficacy, cytotoxicity and relaxivity of copper-activated MRI/PET imaging contrast agents. *Biomaterials*, 2011, 32 (4): 1167-1176.
- [47] Xie J, Chen K, Huang J, et al. PET/NIRF/MRI triple functional iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, 2010, 31 (11): 3016-3022.
- [48] Park JC, Yu MK, An GI, et al. Facile preparation of a hybrid nanoprobe for triple-modality optical/PET/MR imaging. *Small*, 2010, 6 (24): 2863-2868.
- [49] Stelter L, Pinkernelle JG, Michel R, et al. Modification of aminosilane superparamagnetic nanoparticles: feasibility of multimodal detection using 3T MRI, small animal PET, and fluorescence imaging. *Mol Imaging Biol*, 2010, 12 (1): 25-34.
- [50] Higuchi T, Anton M, Dumler K, et al. Combined reporter gene PET and iron oxide MRI for monitoring survival and localization of transplanted cells in the rat heart. *J Nucl Med*, 2009, 50 (7): 1088-1094.
- [51] Uppal R, Catana C, Ay I, et al. Bimodal thrombus imaging: simultaneous PET/MR imaging with a fibrin-targeted dual PET/MR probe—feasibility study in rat model. *Radiology*, 2011, 258 (3): 812-820.

(收稿日期: 2011-05-19)

血管活性肠肽受体显像及治疗研究进展

唐波 郑磊 李前伟

【摘要】 血管活性肠肽(VIP)是由28个氨基酸组成的小分子多肽, 属胰高血糖素-胰泌素家族, 通过其受体(VIPR)介导, 调节正常及肿瘤细胞的增殖与分化。多种类型的肿瘤细胞膜上表达高密度及高亲和力VIPR, 为实现肿瘤放射性核素标记VIPR显像及靶向治疗提供了分子基础。新的VIPR放射性配体的研发极大地推动了肿瘤VIPR显像及治疗的研究, 有望在肿瘤的早期诊断、分期及靶向治疗中发挥重要作用。

【关键词】 受体, 血管活性肠肽; 放射性核素显像; 放射疗法

Advances on the imaging and therapy of vasoactive intestinal peptide receptor TANG Bo, ZHENG Lei, LI Qian-wei. Department of Nuclear Medicine, Southwest Hospital of the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Corresponding author: LI Qian-wei, Email: tmmuxnyy@yahoo.com.cn

【Abstract】 Vasoactive intestinal peptide(VIP) is a peptide hormone containing 28 amino acid residues, and it belongs to glucagon-secretin family. VIP regulates the proliferation and differentiation of normal and cancer cell through the mediation of vasoactive intestinal peptide receptor (VIPR). Different types of cancer cell membrane express distinct density and affinity of VIPR, which provides the underlying molecular basis for labeling VIPR for radionuclide imaging and targeted therapy. The progress of VIPR radioligand research greatly promotes tumor VIPR imaging and therapy. The research will play an important part in the early diagnosis, staging, and targeted therapy of cancer.

【Key words】 Receptors, vasoactive intestinal peptide; Radionuclide imaging; Radiotherapy

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2011.04.004

作者单位: 400038, 第三军医大学西南医院核医学科

通信作者: 李前伟(Email: tmmuxnyy@yahoo.com.cn)

肿瘤生长抑素受体显像的成功应用极大地推动了肿瘤受体显像的发展,也促进了受体介导的靶向治疗研究,在肿瘤的个性化诊疗中日益发挥重要作用^[1]。血管活性肠肽受体(vasoactive intestinal peptide receptor, VIPR)在多种肿瘤细胞膜中高水平表达且密度高于生长抑素受体,为肿瘤 VIPR 显像及靶向治疗研究奠定了基础,本文就 VIPR 显像及治疗研究进展作一综述。

1 血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)及 VIPR 概况

VIP 是由 Said 和 Mutt^[2]从猪小肠中分离得到,由 28 个氨基酸组成的直链小分子多肽,属胰高血糖素-胰泌素家族。编码 VIP 的基因为单拷贝基因,定位于第 6 号染色体长臂近末端处,全长为 8837 bp,该基因编码产生 170 个氨基酸的前 VIP 蛋白,后者经胰蛋白酶、羧基肽酶 B 类酶和肽- α -加单氧酶等酶解,最终产生由 28 个氨基酸组成的 VIP 和由 27 个氨基酸组成的组氨酸甲肽(peptide histidine methionine, PHM)。VIP 结构包括 N 末端无序结构区和 α 螺旋域,其余氨基酸残基在 C 末端形成螺旋样结构, N 端和 C 端区域对 VIP 生物活性及识别特异性受体有重要作用^[3]。VIP 广泛存在于人体的多种组织器官中,不同组织中的分布浓度不同;VIP 主要通过肝脏代谢,肾脏排泄,发挥舒张血管、扩张支气管、抗炎、免疫抑制、激素分泌及细胞增生等生理作用,在循环中的半衰期仅 1~2 min,正常时不起循环激素作用。

VIPR 属于七次跨膜 G 蛋白耦联受体家族,广泛存在于多种正常组织器官细胞膜表面。整个受体包括 3 个部分: N-末端胞外域,含一个疏水的 N 末端信号肽以及 VIP 结合位点;跨膜域,含七个疏水的跨膜片段; C-末端胞质域,与信号转导相关。VIP 氨基酸残基的 C 末端与其受体 N 末端相结合,引起受体构象改变而导致受体胞内域的丝氨酸和苏氨酸磷酸化,再经 G α_s 蛋白(一种激动型 G 蛋白)介导,激活腺苷酸环化酶,使胞内环一磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)水平增高,激发一系列信号转导,调节多种生理功能^[4]。VIPR 存在 3 种不同亚型,由国际药理联合会分别命名为 VPAC1、VPAC2 和 PAC1,它们对不同配体及类似物有不同的亲和力,其中 VPAC1 和 VPAC2 对 VIP

和垂体腺苷酸环化酶激活肽(pituitary adenylate cyase activating polypeptide, PACAP)具有相似的高亲和力,而 PAC1 是 PACAP 的特异性受体,与 PACAP 的结合力是 VIP 的 300~1000 倍^[5-6]。在人类组织中, VIP 主要高亲和性地结合 VPAC1 和 VPAC2 两种受体亚型,而发挥正常的受体调节功能需要完整的跨膜结构,实验证实,只有五次跨膜结构的 VPAC1 和 VPAC2 变异体不能进一步激发体内第二信使的产生,因此不能完成正常的信号转导^[7]。

2 肿瘤 VIPR 显像及靶向治疗的分子机制

放射性核素受体显像与受体介导的靶向治疗属于分子显像与分子治疗的范畴,其前提和基础是靶组织及细胞应该高水平表达相应的受体。Reubi 等^[8]通过放射自显影研究证实, VIPR 在乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、膀胱癌、结肠癌、胰腺癌、胃肠道鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、淋巴瘤、角质细胞瘤等肿瘤组织中高密度表达。不同的 VIPR 亚型在肿瘤中有不同的表达,其中结肠癌、肺癌、乳腺癌、胰腺癌以及肝癌等肿瘤细胞高表达 VPAC1,是恶性肿瘤细胞最常表达的受体类型^[9-10];而 VPAC2 仅在平滑肌肉瘤、纤维肉瘤等良性肿瘤表面有限表达^[9];PAC1 则主要表达于神经胶质瘤、成神经细胞瘤、脑垂体腺瘤等神经内分泌性肿瘤。经研究发现, VIPR 在恶性肿瘤及其转移灶中高水平表达,并且肿瘤组织高亲和力 VIPR 最大结合位点是正常组织的 22.5~57.9 倍^[11],有助于肿瘤显像获得高 T/NT 值,为开展肿瘤的受体显像研究提供了分子基础,肿瘤表面受体亚型的差异性表达也为设计针对特定受体亚型的分子显像剂和靶向治疗制剂奠定了理论基础。

研究发现,多种肿瘤患者血清 VIP 浓度增加^[12-13],由此推测, VIP 可能与肿瘤发生进展有相关关系。通过对荷瘤裸鼠的研究证实, VIP 能够增加血管内皮生长因子的表达和肿瘤血管密度,从而促进肿瘤新生血管的生成和肿瘤生长,该调节作用主要通过 VIPR 介导,经 cAMP/蛋白激酶 A 和磷脂酰肌醇激酶 3 信号通路而刺激血管内皮生长因子表达^[14-15]。Valdehita 等^[16]证明, VIP 能够诱导 VPAC1 的内化和核定位,通过信号转导调节表皮生长因子受体等基因表达,从而促进肿瘤生长进展。这些研究表明, VIP 可以通过受体介导,调节肿瘤的增殖、分

化,为发展受体拮抗剂和VIP类似物联合放化疗的肿瘤靶向治疗提供了实验依据。

3 放射性核素VIPR显像

3.1 ^{125}I -VIP肿瘤受体显像

Virgolini等^[17]率先开展了 ^{125}I -VIP的肿瘤受体显像研究: ^{125}I -VIP经标记、纯化后,比活度大于500TBq/mmol,注射入人体后未出现严重不良反应,血循环半清除时间大约1min,注射后10min,大部分放射性被肺组织摄取,肾脏有效半排时间为6.2h左右,肺和膀胱为 ^{125}I -VIP主要集聚器官,肝、脾和正常胃肠道组织的摄取量相对较少,对于胃肠道肿瘤显像效果较好; ^{125}I -VIP显像能够检出直径小于2cm的肿瘤,甚至能显示CT未能发现的部分类癌,而显像的肿瘤类型多于生长抑素受体显像,并且在 ^{125}I -VIP显像阳性的17例结肠腺癌病例中,生长抑素受体显像仅检出4例阳性病例, ^{125}I -VIP显像的阳性检出率明显高于生长抑素受体显像。Raderer等^[18-19]应用 ^{125}I -VIP对结直肠癌和胰腺癌的显像结果表明,结直肠癌中87%的原发灶及82%的局部复发灶均能清楚显示,并且能检出89%的肝转移以及所有的淋巴结转移灶;能够显示约90%的胰腺原发肿瘤及其肝转移病灶。总之, ^{125}I -VIP显像能比CT更早发现原发肿瘤病变,有利于肿瘤的早期诊断和治疗。但是,VIP在体内循环的有效半衰期仅1~2min,极易受蛋白酶降解,而且VIP存在潜在的致癌效应;此外, ^{125}I 须通过回旋加速器生产,费用昂贵,且 ^{125}I -VIP标记后需分离纯化,故难以在临床推广应用。

3.2 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 标记VIP类似物肿瘤受体显像

为克服 ^{125}I -VIP显像存在的不足,有研究应用 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 通过双功能螯合剂巯基乙酸-三甘氨酸(N-(N-(benzylthio)acetyl)glycyl)glycyl)glycin, MAG₃)和甲酰四环烷-4-苯甲酸(4-((1,4,8,11-tetraazacyclotetradec-1-yl)methyl)benzoic acid, CPTA)对VIP进行间接法标记,但结果显示,得到的标记物的放化纯度低,制备后需分离纯化,生物结合活性明显降低,难以获得较好的显像结果^[20-21]。Virgolini等^[22]通过合成VIP类似物P1666并用 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 标记,对15例结肠癌患者进行显像,结果显示:肺放射性摄取低于 ^{125}I -VIP,且24h后肺内放射性下降99.6%;T/NT值为2.6~3.7,注射后24h显像,肿瘤原发灶

仍清晰可见,肿瘤阳性检出率约为60%;但超过50%的患者出现轻重不等的不良反应,极大地限制了其临床应用。Thakur等^[21,23]报道,将天然VIP28的羧基端耦联 γ -氨基丁酸作为连接支架,再连接四个氨基酸的甘氨酸-甘氨酸-(γ -氨基丁酸)-丙氨酸-甘氨酸[GG(D)AG],得到TP3654,其中GG(D)AG作为与 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 螯合的4N结构,可成功进行VIP的 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 标记;碱性条件下, $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ -TP3654的标记率可达99%,体内稳定且与VIPR的结合活性无明显变化,生物活性与天然VIP相似;注射入人体后无不良反应,24h后有70%放射性通过泌尿系统排泄,约20%通过肝胆排泄,其余正常组织器官摄取较少;注射后15min内能清楚显示所有高表达VIPR的肿瘤;由于 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ -TP3654大部分通过泌尿道和肝胆排泄,后者对腹部肠道肿瘤显像有一定干扰,但通过体内动力学实验表明,该显像剂在肝胆系统排泄较缓,而肿瘤摄取显像剂较快,因此对肠道肿瘤的探测明显优于生长抑素受体显像。

Kothari等^[24]在已有的研究基础上,将3种VIP类似物VP05、VD4、VD5(分别为经第28、第20、第19位残基修饰、固相合成得到的不同分子质量的VIP类似物)与 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ (OH)₂(CO)₃⁺混合反应,分别得到3种 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ (CO)₃-VIP类似物,标记率均大于95%,室温下非常稳定;它们主要通过肝胆和肾排泄,肿瘤摄取显像剂较 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ -TP3654高。但3种 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ (CO)₃-VIP类似物被软组织摄取相对较多,本底较高,需进一步改进其体内分布特性。

3.3 肿瘤VIPR PET

与SPECT相比,PET具有更加优越的灵敏度和分辨率,因此用正电子核素标记的VIP类似物的PET显示出良好的应用前景。Moody等^[25]率先用 ^{18}F 通过酰化一步法标记VIP类似物(Arg¹⁵, Arg²¹)VIP,得到 ^{18}F -RR-VIP,发现其能与肿瘤VPAC1高选择性结合,发挥VIPR激动剂的功能;对乳腺癌动物模型显像发现,注射1~2h后,各正常组织放射性明显降低,肿瘤影像清晰,注射后4h延迟显像示肿瘤组织放射性约为正常组织的4~15倍,并且甲状腺和肺组织的放射性本底较低,对乳腺癌的显像明显优于 ^{125}I -VIP。为进一步提高 ^{18}F 标记VIP类似物的稳定性,避免体内过快的水解反应,Cheng等^[26]成功合成了[R^{8,15,21},L¹⁷]-VIP(该VIP类似物为第8、第15、第21位用精氨酸代替,第17

位由亮氨酸代替), 并通过三步法和一步法分别与 N-琥珀酰亚胺-4-¹⁸F-氟苯甲酸酯 (N-suc-cinimidyl-4-¹⁸F-fluorobenzoate⁴, ¹⁸F-SFB) 和-琥珀酰亚胺-4-¹⁸F-(氟甲基)苯甲酸酯(N-succinimidyl-4-¹⁸F(fluoromethyl)-benzoate⁶, ¹⁸F-SFMB) 反应、制备得到 ¹⁸F-FB-[R^{8,15,21}, L¹⁷]-VIP⁷ 和 ¹⁸F-FMB-[R^{8,15,21}, L¹⁷]-VIP⁸, 它们具有更高的体内、外稳定性和受体结合亲和力, 但需进一步的荷瘤动物显像实验来评价其有效性。

⁶⁴Cu 的半衰期适中且标记后不需分离纯化, Zhang 等^[27]合成 3 种特异性 VIP 类似物 TP3939、TP3982、TP4200(3 种分子质量分别为 3939、3982、4200 的合成肽), 并用 ⁶⁴Cu 标记, 所得 3 种标记物的生物活性与天然 VIP 相似, 经放射性配体结合分析显示, 其与乳腺癌组织的结合率是正常乳腺组织的 2.17~10.93 倍; 血液半清除时间为 3.0~3.5 min, 血液中 97% 以上的放射性为标记化合物原型, 仅少量游离 ⁶⁴Cu 与血浆蛋白结合。他们进一步报道, 合成后的 ⁶⁴Cu-TP3939 放化纯约为 98%, 血浆蛋白结合率低于 15%, 对前列腺癌荷瘤小鼠显像发现, 静脉注射后, 血液放射性清除快, 4 h 和 24 h 肿瘤摄取分别为 (7.48±3.63)% ID/g 和 (5.78±0.66)% ID/g, T/NT 值分别为 4.0 和 2.7; ⁶⁴Cu-TP3939 能灵敏地显示 ¹⁸F-FDG 和 CT 探测不到的前列腺上皮内瘤变, 并能定位复发肿瘤和判断治疗效果, 是一种最具潜力的新型 PET 显像剂^[28]。

4 VIPR 介导的肿瘤治疗

VIP 能通过其受体介导, 调节肿瘤的增殖与分化, 而竞争性拮抗剂可以抑制 VIP 与受体结合, 阻止受体信号转导, 发挥抑制肿瘤生长的作用。一种由神经降压素和 VIP 杂合得到的 VIPR 拮抗剂 neurotensin⁶⁻¹¹-VIP⁷⁻²⁸ 的抗肿瘤研究表明, 该拮抗剂能够显著抑制 80% 的裸鼠成瘤, 体外能抑制 50% 的肿瘤细胞集落形成; 对神经母细胞瘤、结肠癌、乳腺癌等肿瘤生长有显著抑制作用, 能够明显缩小瘤体体积、减少淋巴结侵袭以及改善肿瘤分期^[29]。在 neurotensin⁶⁻¹¹-VIP⁷⁻²⁸ 的 N 末端加上硬脂酰, 并在第 17 位用亮氨酸替换甲硫氨酸得到 (SN)VIPhyb, 该拮抗剂能竞争性抑制 VIPR 的 3 种亚型 VPAC1、VPAC2 和 PAC1, 其中与 VPAC1 的结合力约为 neurotensin⁶⁻¹¹-VIP⁷⁻²⁸ 的 10 倍, 能够显著抑制 VIP 诱导的 cAMP 的增加和 c-fos 基因的表达^[30]。

neurotensin⁶⁻¹¹-VIP⁷⁻²⁸ 和 (SN)VIPhyb 与化疗药物对肿瘤具有协同抑制作用, 两者均能增强化疗药物的抗肿瘤作用, 与化疗药物联用能够增强肿瘤的杀伤效应。Moody 等^[31]在 VIP 的 C 末端通过短肽链丙氨酸-亮氨酸-丙氨酸-亮氨酸-丙氨酸(ALALA)和亮氨酸-丙氨酸-亮氨酸-丙氨酸(LALA)与化疗药物玫瑰树碱(ellipticine)连接, 分别得到复合物 VIP-ALALA-ellipticine 和 VIP-LALA-ellipticine, 这两者均能诱导 VIPR 介导的 cAMP 升高和 c-fos 上调, 发挥 VIPR 激动剂的作用。该复合物与 VPAC1 结合后, 受体-VIP-ellipticine 复合物内吞入溶酶体, 经内源性酶解后释放化疗药物, 发挥细胞毒作用而杀伤肿瘤细胞, 能够有效抑制乳腺癌和肺癌等肿瘤细胞的增生和存活^[31-32]。随后, Moody 等^[33]又合成了 VPAC1 的特异结合物(A-NL-K)-VIP, 通过 N-甲胺-乙烷-甘氨酸(L2)与喜树碱(camptothecin)连接, 得到复合物(A-NL-K)-VIP-L2-camptothecin, 该复合物能够有效杀灭乳腺癌细胞, 但尚需进一步的体内试验来验证其抗癌效应及安全性。

对于 VIPR 介导的放射性核素治疗研究, 报道较少, 有待于通过开展研究来验证其有效性和安全性。VIPR 介导的核素治疗应该在肿瘤高水平表达 VIPR 的基础上, 选用合适的治疗核素, 确保治疗用的放射性标记配体具有高比活度, 与肿瘤组织的结合有高选择性和高亲和力, 在达到对肿瘤有效治疗的同时, 减少对正常组织器官辐射损伤的目的。

综上所述, 肿瘤分子核医学显像诊断与靶向治疗在肿瘤防治中有重要意义, 而肿瘤特异性的分子靶标是显像与治疗的关键, 多种肿瘤组织高表达 VIPR, 为放射性核素标记 VIPR 显像与治疗提供了分子基础。近年来, 基于肿瘤 VIPR 的 SPECT 和 PET 研究得到极大发展, 同时针对 VIPR 的生物靶向治疗也有望成为新型的肿瘤靶向治疗药物, 但如何提高放射性核素标记物的体内外稳定性、提高 T/NT 值、增强肿瘤显像及靶向治疗的特异性、减少正常组织器官的放射性损伤, 是完善肿瘤 VIPR 显像及治疗的关键。相信随着进一步的研究和发展, 肿瘤 VIPR 显像与靶向治疗将在临床中得到广泛应用。

参 考 文 献

- [1] Riccabona G, Decristoforo C. Peptide targeted imaging of cancer.

- Cancer Biother Radiopharm, 2003, 18(5): 675-687.
- [2] Said SI, Mutt V. Polypeptide with broad biological activity: isolation from small intestine. *Science*, 1970, 169(951): 1217-1218.
- [3] Onoue S, Matsumoto A, Nagano Y, et al. Alpha-helical structure in the C-terminus of vasoactive intestinal peptide: functional and structural consequences. *Eur J Pharmacol*, 2004, 485(1-3): 307-316.
- [4] Hoare SR. Mechanisms of peptide and non-peptide ligand binding to Class B G-protein-coupled receptors. *Drug Discov Today*, 2005, 10(6): 417-427.
- [5] Laburthe M, Couvineau A, Marie JC. VPAC receptors for VIP and PACAP. *Receptors Channels*, 2002, 8(3-4): 137-153.
- [6] Laburthe M, Couvineau A. Molecular pharmacology and structure of VPAC Receptor for VIP and PACAP. *Regul Pept*, 2002, 108(2-3): 165-173.
- [7] Bokaei PB, Ma XZ, Byczynski B, et al. Identification and characterization of five-transmembrane isoforms of human vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide receptors. *Genomics*, 2006, 88(6): 791-800.
- [8] Reubi JC. In vitro identification of vasoactive intestinal peptide receptors in human tumors: implications for tumor imaging. *J Nucl Med*, 1995, 36(10): 1846-1853.
- [9] Reubi JC, Läderach U, Waser B, et al. Vasoactive intestinal peptide/pituitary adenylate cyclase-activating peptide receptor subtypes in human tumors and their tissues of origin. *Cancer Res*, 2000, 60(11): 3105-3112.
- [10] Moody TW, Jensen RT. Breast cancer VPAC1 receptors. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1070: 436-439.
- [11] Virgolini I, Yang Q, Li S, et al. Cross-competition between vasoactive intestinal peptide and somatostatin for binding to tumor cell membrane receptors. *Cancer Res*, 1994, 54(3): 690-700.
- [12] Koch TR, Michener SR, Go VL. Plasma vasoactive intestinal polypeptide concentration determination in patients with diarrhea. *Gastroenterology*, 1991, 100(1): 99-106.
- [13] Hejna M, Hamilton G, Brodowicz T, et al. Serum levels of vasoactive intestinal peptide (VIP) in patients with adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Anticancer Res*, 2001, 21(2A): 1183-1187.
- [14] Collado B, Carmena MJ, Clemente C, et al. Vasoactive intestinal peptide enhances growth and angiogenesis of human experimental prostate cancer in a xenograft model. *Peptides*, 2007, 28(9): 1896-1901.
- [15] Valdehita A, Carmena MJ, Collado B, et al. Vasoactive intestinal peptide (VIP) increases vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and secretion in human breast cancer cells. *Regul Pept*, 2007, 144(1-3): 101-108.
- [16] Valdehita A, Bajo AM, Fernández-Martínez AB, et al. Nuclear localization of vasoactive intestinal peptide (VIP) receptors in human breast cancer. *Peptides*, 2010, 31(11): 2035-2045.
- [17] Virgolini I, Raderer M, Kurtaran A, et al. Vasoactive intestinal peptide-receptor imaging for the localization of intestinal adenocarcinomas and endocrine tumors. *N Engl J Med*, 1994, 331(17): 1116-1121.
- [18] Raderer M, Kurtaran A, Hejna M, et al. ¹²³I-labelled vasoactive intestinal peptide receptor scintigraphy in patients with colorectal cancer. *Br J Cancer*, 1998, 78(1): 1-5.
- [19] Raderer M, Kurtaran A, Yang Q, et al. Iodine-123-vasoactive intestinal peptide receptor scanning in patients with pancreatic cancer. *J Nucl Med*, 1998, 39(9): 1570-1575.
- [20] Pallela VR, Thakur ML, Chakder S, et al. ^{99m}Tc-labeled vasoactive intestinal peptide receptor agonist: functional studies. *J Nucl Med*, 1999, 40(2): 352-360.
- [21] Rao PS, Thakur ML, Pallela V, et al. ^{99m}Tc labeled VIP analog: evaluation for imaging colorectal cancer. *Nucl Med Biol*, 2001, 28(4): 445-450.
- [22] Virgolini I, Traub T, Ofluoglu S, et al. Human biodistribution, safety and absorbed dose of ^{99m}Tc-P1666 vasoactive intestinal peptide (VIP) receptor scintigraphy. *J Nucl Med*, 1999, 40:244 (abstract)
- [23] Thakur ML, Marcus CS, Saeed S, et al. Imaging tumors in humans with Tc-99m-VIP. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 921: 37-44.
- [24] Kothari K, Prasad S, Korde A, et al. ^{99m}Tc(CO)₃-VIP analogues: preparation and evaluation as tumor imaging agent. *Appl Radiat Isot*, 2007, 65(4): 382-386.
- [25] Moody TW, Leyton J, Unsworth E, et al. (Arg¹⁵, Arg²¹) VIP: evaluation of biological activity and localization to breast cancer tumors. *Peptides*, 1998, 19(3): 585-592.
- [26] Cheng DF, Yin DZ, Zhang L, et al. Preparation of the novel fluorine-18-labeled VIP analog for PET imaging studies using two different synthesis methods. *J Fluorine Chem*, 2007, 128(3): 196-201.
- [27] Zhang K, Aruva MR, Shanthly N, et al. Vasoactive intestinal peptide (VIP) and pituitary adenylate cyclase activating peptide (PACAP) receptor specific peptide analogues for PET imaging of breast cancer: In vitro/in vivo evaluation. *Regul Pept*, 2007, 144(1-3): 91-100.
- [28] Zhang K, Aruva MR, Shanthly N, et al. PET imaging of VPAC1 expression in experimental and spontaneous prostate cancer. *J Nucl Med*, 2008, 49(1): 112-121.
- [29] Moody TW, Zia F, Draoui M, et al. A vasoactive intestinal peptide antagonist inhibits non-small cell lung cancer growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(10): 4345-4349.
- [30] Moody TW, Jensen RT, Fridkin M, et al. (N-stearyl, norleucine¹⁷) VIPhybrid is a broad spectrum vasoactive intestinal peptide receptor antagonist. *J Mol Neurosci*, 2002, 18(1-2): 29-35.
- [31] Moody TW, Czerwinski G, Tarasova NI, et al. VIP-ellipticine derivatives inhibit the growth of breast cancer cells. *Life Sci*, 2002, 71(9): 1005-1014.
- [32] Moody TW, Czerwinski G, Tarasova NI, et al. The development of VIP-ellipticine conjugates. *Regul Pept*, 2004, 123(1-3): 187-192.
- [33] Moody TW, Mantey SA, Fuselier JA, et al. Vasoactive intestinal peptide-camptothecin conjugates inhibit the proliferation of breast cancer cells. *Peptides*, 2007, 28(9): 1883-1890.