

항암 효능을 지닌 헤파린 나노 입자

박경순 · 유미경 · 변영로

1. 헤파린의 항암 효능

헤파린은 설페이트화된 선형의 polysaccharide로 이루어져 있으며, 주로 uronic acid로 구성되어 있다. 헤파린은 다양한 구조의 혼합체로서 항혈전성, 염증 억제, 신규혈관형성 암 성장 억제 및 면역 억제 등의 다양한 성질을 가지고 있다.

항 응고제로 널리 알려진 헤파린은 암 환자들에게 많이 생길 수 있는 혈전 현상을 막기 위해 사용되고 있으며, 지난 40년간 종양 성장 과정과 암 전이 과정을 방해하여 항암 효과를 나타내는 헤파린의 또 다른 몇 가지 메커니즘이 밝혀지고 있다 (그림 1 참고).

생물약학적 수준의 헤파린의 복용은 혈소판 부착 과정 중 P-selectin 단백질이 혈소판 세포 표면에 부착하는 기능을 억제함으로써 종양 세포간에 달라 붙는 현상을 막는다. 즉, P-selectin을 매개로 한 ca-

rcinoma 세포 표면에 분포하고 있는 mucin과 혈소판 사이의 상호작용을 막으면서 종양의 전이를 억제시킬 수 있는 것이다.^{1,2} 뿐만 아니라, 내피세포와 ECM 단백질들과의 부착에도 헤파린이 영향을 미쳐 그 작용을 억제시킬 수 있다고 알려졌다.

Heparanase는 헤파린의 sequence를 분해할 수 있는 단백질의 일종으로 주로 분절된 헤파린과 헤파



유미경

2000~ 2004 건국대학교 신소재공학과 (학사)
2004~ 현재 광주과학기술원 신소재공학과 석사과정



박경순

1995~ 1999 전남대학교 자연과학대학 화학과 (학사)
1999~ 2001 광주과학기술원 신소재공학과 (석사)
2001 ~ 현재 광주과학기술원 신소재공학과 박사과정



변영로

1980~ 1984 서울대학교 화학공학과 (학사)
1984~ 1986 한국과학기술원 화학공학과 (석사)
1986~ 1989 한국과학기술원연구원 고분자화학 연구실 (연구원)
1989~ 1994 Univ. of Utah, Dept. of Pharmacology and Pharmaceutical Chemistry (박사)
1994~ 1996 Univ. of Michigan, Dept. of Pharmaceutics (Post-Doc.)
1996~ 현재 광주과학기술원 신소재공학과 조교수, 부교수

Heparin Nanoparticles having Anti-Tumor Effects

광주과학기술원 세포 및 거대분자 치료기술 연구센터 (Kyeongsun Park, Mikyung Yu, and Youngro Byun, Center for Cell and Macromolecular Therapy, Department of Materials Science and Engineering, Gwangju Institute of Science and Technology (GIST), 1 Oryong-dong, Puk-ku, Gwangju 500-712, Korea)
e-mail: yrbyun@gist.ac.kr

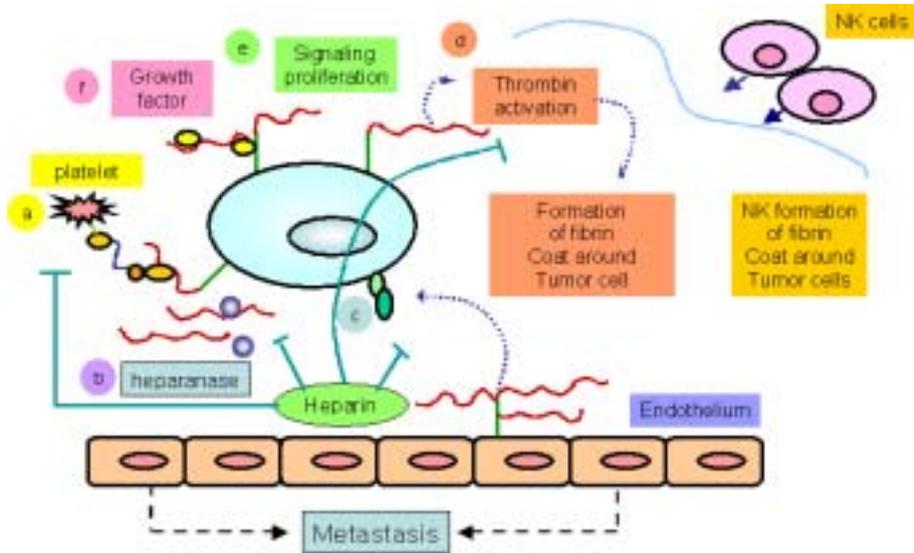


그림 1. 헤파린의 항암 효능.

린 사슬에 붙어있던 성장 인자들을 분비하여 주변의 내피 세포에 달라붙은 후 복합체를 이루면 암세포 전이를 유도할 수 있다. 헤파린은 이러한 heparanase의 작용을 억제시키며,³⁻⁵ 특히, 헤파린 sequence 중 sulfate 부분이 많을수록 그 작용성이 증가한다.⁶ 암세포 표면에 존재하는 heparan sulfate glycosaminoglycan(HSGAG)은 내피세포 부착에 관여하는 인테그린 단백질에 co-receptor로 작용하여 암세포가 혈관과 들러붙을 수 있도록 유도하고, 혈관으로부터 조직 내로 혈액이 유출되는 현상을 촉진시킨다. 따라서, 생물약학적 수준의 헤파린 복용은 암세포 표면의 HSGAG이 인테그린에 결합하는 과정을 방해하여 암 전이 현상을 억제시킬 수 있는 것으로 확인되었다.

혈액은 정상적인 혈관 안에서는 액체 (fluid) 상태로 있어야 하고, 혈관의 상처부위에서는 빨리 응고하여 손상된 혈관으로부터의 혈액손실을 중단케 하여 항상성을 유지해야 한다. 정상 상태에서는 혈관 내 혈전이 생기면 혈전용해 작용이 활성화되어 유동성을 회복하게 되며, 혈전이 생기는 것과 혈전이 생기는 것을 막는 기전의 균형이 중요하다. 그러나 일반적으로 암환자들에게는 이러한 균형이 깨어지게 되어 정상 지혈 기전의 병리적 현상이 나타난다. 즉, 중앙세포는 응고 작용을 증진시키는 요소들인 tissue factor 등을 분비하여 피브리노겐 수치를 증가시키고, 이에 따라 혈소판의 갯수가 증가하여 만성적인 응고 시스템이 작용하게 됨으로써 혈액의 항상성이 깨어

지게 된다.^{7,8} 항 응고제로 많이 사용되고 있는 헤파린은 중앙세포 주변에 응고작용 촉진 요소의 프로세스를 방해하여 이러한 피브린이 형성되는 것을 억제할 수 있고, 비정상적인 지혈 기전을 막을 수 있게 된다.^{7,9} 이와 관련하여, 암 세포 주변의 피브린 형성은 일반적으로 두꺼운 shell을 형성하여 면역 시스템으로부터 영향을 받기 어려우나, 헤파린이 피브린 형성을 억제하면 중앙세포가 natural killer 세포로부터 좀 더 쉽게 접근할 수 있게 되고, cytokine 등과 결합하거나 그들의 활동성을 조절하여 면역 시스템 작용에 의한 중앙세포의 파괴 또는 죽음을 유도할 수 있다.^{10,11}

2. 신규혈관형성 억제 및 항암 효과를 지닌 다양한 헤파린 유도체

지금까지 헤파린을 이용하여 저분자 및 고분자 화합물을 화학적 또는 물리적으로 결합하는 방법을 이용하여 약물전달체, 신규혈관형성 및 암 성장 억제효능을 갖는 헤파린 유도체들이 개발이 되어져 왔으며, 헤파린과 구조적으로 비슷한 다양한 저·고분자의 화합물들을 이용하여 암 치료에 적용을 해 왔다. 본문에서는 신규혈관형성 억제, 항암 효능 및 약물전달체의 가능성을 갖는 다양한 헤파린 유도체 및 헤파린 나노 입자를 소개하고자 한다.

2.1 헤파린-스테로이드 복합체 (Heparin-Steroid Conjugates as Anti-Angiogenic Inhibitor)

Folkman 등은 이미 확립이 된 다양한 종양을 가지는 mouse에서 헤파린과 cortisone을 경구 또는 피하주사를 하므로써 탁월한 항암 효과를 발표하였다.¹² 헤파린과 cortisone의 병용 투여에 의한 암 성장 억제 효능은 암세포가 아닌 내피세포의 DNA 합성을 억제하므로써 내피세포의 증식에 영향을 주어 신규혈관형성 현상을 억제하는 것으로 알려졌다.¹³ 신규혈관형성과 암 성장 억제에 대한 헤파린과 스테로이드 물질의 시너지 효과를 바탕으로 하여 Thorpe 등은 헤파린에 다양한 스테로이드 화합물 (e. g. cortisol, tetrahydrocortisone)을 결합하여 신규혈관형성 억제 및 암 성장 억제효능을 지닌 헤파린-스테로이드 복합체를 개발하였다.^{14,15} 대표적인 헤파린-스테로이드 복합체 구조는 **그림 2**와 같다.

헤파린-스테로이드 복합체는 adipic dihydrazide를 갖는 헤파린의 카르복시 그룹에 스테로이드를 화학적으로 결합하였다. 헤파린-스테로이드 복합체는 헤파린의 카르복시 그룹을 개질하므로써 항 혈전성을 감소시켜 HAH-cortisol을 투여하였을 때 hemorrhage의 유발을 방지할 수 있는 장점을 지니고 있다. **그림 2**처럼, HAH-cortisol은 acyl hydrazone 결합을 가지고 있어서, pH 7.4 조건에서는 안정하지만 pH 4.8에서는 15분 이내에 절반의 cortisol이 빠르게 방출된다. 따라서, 이러한 HAH-cortisol이 내피세포에 흡수되어 산성화된 endosome이나 lysosomes에 전달되었을 경우 약 pH 4.8에 가까운 산성 조건을 갖는 세포 내 환경에서 스테로이드가 빠르게 방출되는 특성을 갖는다.

이러한 HAH-cortisol 복합체는 헤파린과 cortisol의 단순한 혼합물보다는 더 낮은 농도 조건에서 증식하는 내피세포의 DNA 합성을 효과적으로 억제하였으며, 세포 증식 및 내피세포의 migration 역시

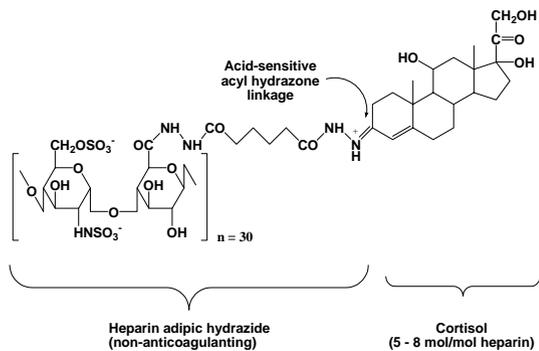


그림 2. HAH-cortisol 복합체의 구조.

효과적으로 억제하였다. 또한, Lewis Lung Carcinoma (LLC)가 이식된 종양을 HAH-cortisol로 처리함으로써, 대조군과 비교하여 40~60%의 암 성장 억제효능을 보여주었다. 이 외에도, HAH-tetrahydrocortisone 복합체는 HAH-cortisol 보다 더 효과적으로 내피세포의 DNA 합성 및 세포증식 억제 효능을 가지고 있으며, 탁월한 항암 효능을 지닐 것으로 사료된다.

2.2 헤파린과 유사한 화합물 (Heparin-Like Compounds)

헤파린 유도체들이 다양한 angiogenic factor들과 결합하여 성장인자 (예, FGF2와 VEGF)들의 신규혈관형성 능력을 감소시킬 수 있다면, 신규혈관형성 억제제로서의 후보가 될 수 있다. 몇 가지 헤파린과 유사한 구조를 갖는 음이온 분자들과 헤파린 유도체들이 신규혈관형성 억제제로서 개발되어 왔다. 여기에서는, 신규혈관형성 억제효능을 갖는 화학적으로 개질된 polysulfated/polysulfonated 화합물들을 소개하고자 한다.

2.2.1 슈리민 (Suramin)

Suramin은 원래 trypanosomiasis (트리파노소마증)와 onchocerciasis (회선사상충)를 치료하기 위해 개발된 polysulfonated naphthylurea이다 (**그림 3** 참고).

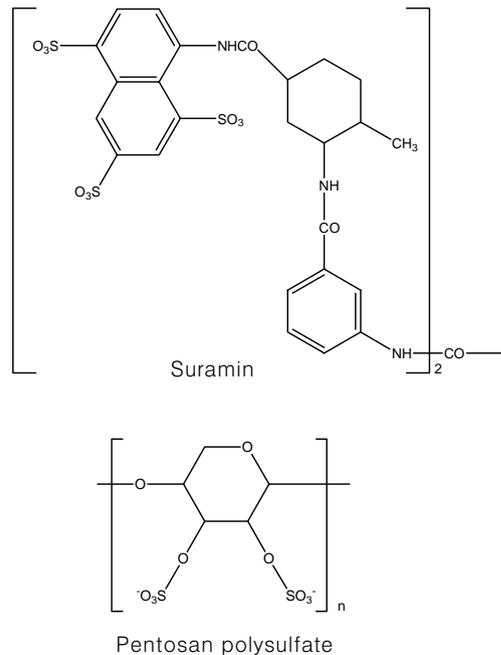


그림 3. Suramin과 pentosan polysulfate의 구조.

Suramin은 세포 표면의 HSPGs (heparan sulfate proteoglycans)와 tyrosine kinase (TK) receptor와의 상호작용을 방해하므로써, 배양된 내피세포에서 fibroblast growth factor (FGFs) 또는 vascular endothelial cell growth factor (VEGF)의 활성도를 감소시키고 신규혈관형성 현상을 억제한다.¹⁶ 이것은 suramin의 하나 또는 그 이상의 sulfonate 그룹이 성장인자의 heparin-binding region과 결합에 의한 것으로 여겨진다.¹⁷ 치료 효율을 향상시키기 위해, suramin과 구조적 연관성을 지닌 다양한 polysulfonated naphthylureas의 유도체가 개발되었으며 FGF2의 활성도의 감소에 관한 연구가 진행되어졌다.¹⁸ 그러나, suramin의 임상 적용에 있어서 가장 큰 문제점은, 항암 효과를 나타낼 수 있는 높은 투여 농도에서 심각한 독성을 나타내는 것이다. 예로써, suramin을 투여하였을 경우, 혈액 내 순환하는 heparan sulfate와 dermatan sulfate의 농도를 급격히 증가시켜 결국에는 응고장애 (coagulopathy) 현상을 유발한다.¹⁹ 따라서, suramin의 부작용을 감소시키면서 FGF2의 antagonist의 능력을 향상시킨 sulfonated distamycin A 유도체가 개발되었다.¹⁷

2.2.2 펜토산 폴리설페이트 (Pentosan Polysulfate)

Pentosan polysulfate는 xylose hydrogen sulfate의 고분자로서 carbohydrate monomer 당 2개의 sulfate 그룹을 포함한다. Pentosan polysulfate는 FGFs 뿐만 아니라 다른 heparin-binding growth factor와 결합하며^{20,21} FGFR1과의 heparin-binding site에서 상호작용을 하는 것으로 나타났다.²² 또한, FGFR4로 transfection된 몇몇 세포들의 성장을 억제하였다. 흥미로운 것은, pentosan polysulfate나 suramin은 큰 혈관의 내피세포보다는 microvascular의 내피세포의 증식억제에 더 민감하다는 것이다. 게다가, FGF2와 관련된 세포의 증식보다는 FGF4와 관련된 세포증식 억제에 효과적이었다. 그러나, 임상에서 Kaposi's sarcoma를 가진 환자에 대해서 pentosan polysulfate를 투여하였을 때, 항암 효능에 대한 반응이 나타나지 않았으며, 항혈전제의 공통적인 부작용 중의 하나인 비가역적인 혈소판 감소증 (thrombocytopenia)을 유발하는 것이 문제가 되고 있다.^{18,23}

2.2.3 술폰산 고분자 (Sulfonic Acid Polymers)

Sulfonic acid 고분자인 PAMPS [poly(2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid)], PAS [poly(anethole-sulfonic acid)]와 PSS [poly(sty-

renesulfonic acid)]는 suramin과 pentosan polysulfate 보다 더 강력한 신규혈관형성 억제제로 알려져 있다. 이러한 고분자들은 *in vitro*에서 신규혈관형성 억제 효과 및 FGF2에 의해 유발된 HUVEC 세포의 증식을 억제하였다. Sulfonic acid 고분자들은 FGF2의 활성도 억제와 깊은 관련이 있는 것으로 여겨지고 있다.²⁴ 따라서, PAMPS, PAS 및 PSS는 FGF가 내피세포에서 HSPG와 FGFR과의 결합을 방해하였으며, rabbit cornea에서 FGF2로 인해 유발된 신규혈관형성 현상과 nude mouse에서 이종 이식된 hemangiosarcoma의 성장을 억제하였다.

2.3 헤파린-고분자 나노 입자 (Heparin-Polymer Nanoparticles)

약물전달체로서 콜로이드 형태의 나노 입자들은 혈관을 통하여 투여된 후에 플라즈마 단백질에 의해 쉽게 옹소닌 작용 (opsonization)이 이루어진다. 이렇게 흡착된 단백질들은 mononuclear phagocyte system (MPS)에 의해 쉽게 인식되도록 하므로써 나노 입자들의 체내 분포에 제한요소가 된다. 식세포 (phagocyte)에 의해 잡혀 먹히는 것을 피하기 위해 헤파린과 methyl methacrylate (MMA)의 공중합체를 이용하여 크기가 약 160 nm 정도의 양친성인 나노 입자를 제조하여 식세포에 의한 phagocytosis를 억제하고 체내에서 오랜 기간 순환할 수 있도록 한 헤파린-PMMA 나노 입자가 개발되었다.²⁵ 헤파린-PMMA 나노 입자의 표면은 polysaccharide, 내부는 소수성인 PMMA 고분자로 이루어져 있다. PMMA나 dextran-PMMA 나노 입자와는 달리 헤파린-PMMA 나노 입자는 체내 혈액에서 오랫동안 순환하는 것이 관찰되었으며, 72시간까지도 혈액 속에 존재하는 것을 관찰할 수 있었다. 이것은 나노 입자의 표면에 polysaccharide인 헤파린이 존재하여 폴리에틸렌글리콜 (polyethylene glycol)처럼 입체장에 효과를 갖게 되어 식세포에 의한 옹소닌 작용 (opsonization)을 현저히 감소시키기 때문으로 분석되고 오랜 기간 동안 체내에서 순환하는 것으로 기대할 수 있다. 따라서, 헤파린-고분자 나노 입자는 표면에 존재하는 polysaccharide가 식세포에 의한 옹소닌 작용을 감소시킬 수 있어 능동적인 표적형 약물전달체로서 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

2.4 헤파린-독소루비신 복합체 (Heparin-Doxorubicin Complex)

임상 적용에 있어서 독소루비신의 가장 큰 단점은 심장 및 신장질환과 관련된 심각한 독성을 유발한다

는 것이며, 약물전달체로서 리포솜, DNA나 헤파린을 이용하여 독소루비신의 심각한 독성문제를 해결하고 암 성장 억제효능을 유지하는 연구가 수행되어 왔다.²⁶⁻²⁹ 헤파린과 DNA는 음이온성 전하를 띠고 있어 독소루비신의 아민그룹과 아주 쉽게 이온결합을 통하여 복합체를 이루는 특성을 이용한 헤파린-독소루비신 복합체는 독소루비신에 의해 유발되는 심장질환 및 신장질환의 부작용을 현저히 감소하였다. 독소루비신은 헤파린의 항혈전성 효과를 감소시켜 헤파린에 의해 나타날 수 있는 독성 또한 감소할 수 있을 것으로 보고되고 있다. 헤파린-독소루비신 복합체에 의한, 독소루비신의 독성 감소효과는 몇 가지 제안에 의해 설명될 수 있다. 첫째로, 헤파린-독소루비신 복합체는 독소루비신이 복합체로부터 느리게 방출되도록 하여 빠른 혈중농도와 심장조직에서의 농도 증가를 막는다.³⁰ 둘째로, 헤파린은 독소루비신과 심혈관 벽과의 직접적인 접촉을 감소시킨다.³¹ 셋째로, 헤파린-독소루비신 복합체가 심장조직으로 독소루비신이 흡수되는 것을 감소시킨다.²⁸ 넷째로, 헤파린은 강한 산성도를 가지는 mucopolysaccharide이므로 자유라디칼 형성을 억제하여 독소루비신의 독성을 감소시킨다. 이러한 헤파린-독소루비신 복합체는 부작용을 최소화하여 사용될 수 있다. 헤파린-독소루비신은 혈중에서 이온결합성 복합체를 유지하여, 독소루비신의 체내 혈중농도를 장기간 유지할 수 있어서 암 성장이나 전이 유발을 효과적으로 막을 수 있었다.³⁰ 따라서, 독소루비신을 헤파린과 이온결합을 통한 복합체는 독소루비신과 헤파린에 의해 발생할 수 있는 부작용들을 현저히 감소시킬 수 있으며 그들의 항암 효과는 그대로 유지할 수 있어서 임상에서 암 치료 방법 중의 하나로 적용이 될 수 있다.

2.5 헤파린-담즙산 복합체

헤파린에 저분자량의 소수성을 띠는 물질을 헤파린의 카르복시 그룹에 화학적으로 결합하여 헤파린 나노 입자를 개발하여 신규혈관형성 및 암 성장 억제효능에 대한 가능성을 연구하였다.

헤파린의 카르복시 그룹에 담즙산 중의 하나인 데옥시콜릭산 (deoxycholic acid)을 화학적으로 결합하여 분자량이 14500~17000 정도이며 나노 입자의 크기가 110~200 nm 정도가 되는 헤파린 유도체가 제조되었다. 이러한, 헤파린 나노 입자의 표면은 헤파린으로 구성되어 있고 내부는 소수성 물질로 이루어져 있다 (그림 4 참고).

이러한 헤파린 나노 입자는 암 세포 및 혈관내피

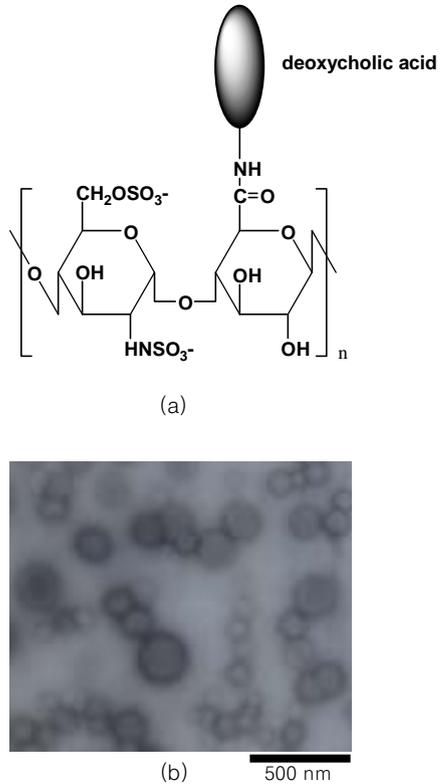


그림 4. (a) 헤파린-데옥시콜릭산 유도체의 구조 및 (b) 헤파린 유도체의 TEM 영상.

세포의 증식에 영향을 주는 것이 확인되었다. 혈청이 없는 조건에서, 헤파린 나노 입자는 혈관내피세포에 약간의 세포독성을 보였지만 다른 암세포에는 세포독성을 보이지 않았다. 혈청이 처리된 조건에서, 헤파린 나노 입자는 HUVEC 세포의 증식억제에 가장 큰 효과를 보였으며, 암세포에는 B16F10 melanoma > squamous cell carcinoma (SCC) 순으로 세포증식 억제 효과를 보였으나, Lewis Lung Carcinoma (LLC)에서는 증식억제효과가 거의 없었다. 이 결과로, 헤파린 나노 입자는 세포독성 효과보다는 세포 증식억제효과를 갖고 있으며, 암세포보다는 혈관내피세포의 증식억제에 더 영향을 미친다고 볼 수 있다 (그림 5 참고).

소수성 물질이 도입된 헤파린 나노 입자는 HUVEC 세포의 tube 형성을 억제할 수 있었다. 처음 6시간 이내에는 대조군, 헤파린, 헤파린 나노 입자를 처리한 그룹에서 큰 차이가 없었으나, 12시간째에 100 µg/mL 농도이상에서 tube 형성 억제 현상이 관찰되었으며, 18시간에는 헤파린 나노 입자를 처리한 그룹에서는

혈관내피세포의 tube 형성이 거의 보이지 않았다 (그림 6 참고). 이것은, 헤파린 나노 입자가 혈관내피세포의 증식을 억제하여 신규혈관형성 현상을 억제할 수 있는 것으로 사료된다.

혈관내피세포 증식 억제 및 tube 형성을 억제하는 헤파린 나노 입자를 이용하여, *in vivo*에서 암 성장 억제효과가 있는지를 알아보았다. 헤파린 나노 입자는 LLC의 종양에 대해서는 전혀 암 성장 효과를 관찰할 수 없었으며, SCC에서는 대조군과 비교하였을 때 약 50% 정도의 암 성장 억제효과를 보였다. 이것

은, 세포실험의 결과와 일치하는 것으로 여겨진다. 또한, 헤파린 나노 입자와 항암제인 독소루비신을 병용투여하였을 경우에, 약 80%의 암 성장 억제를 보여 독소루비신보다 더 효과적임을 확인하였다 (그림 7 참고).

이러한 결과를 바탕으로, 신규혈관형성 및 암 성장 억제효능을 지닌 헤파린 나노 입자가 암 치료에 응용이 될 수 있으며, 기존의 항암제와 병용 투여하므로써 항암제의 효능을 더욱 증진시킬 수 있다. 또한, 양친성을 갖는 물질이므로 소수성인 약물을 전달할 수

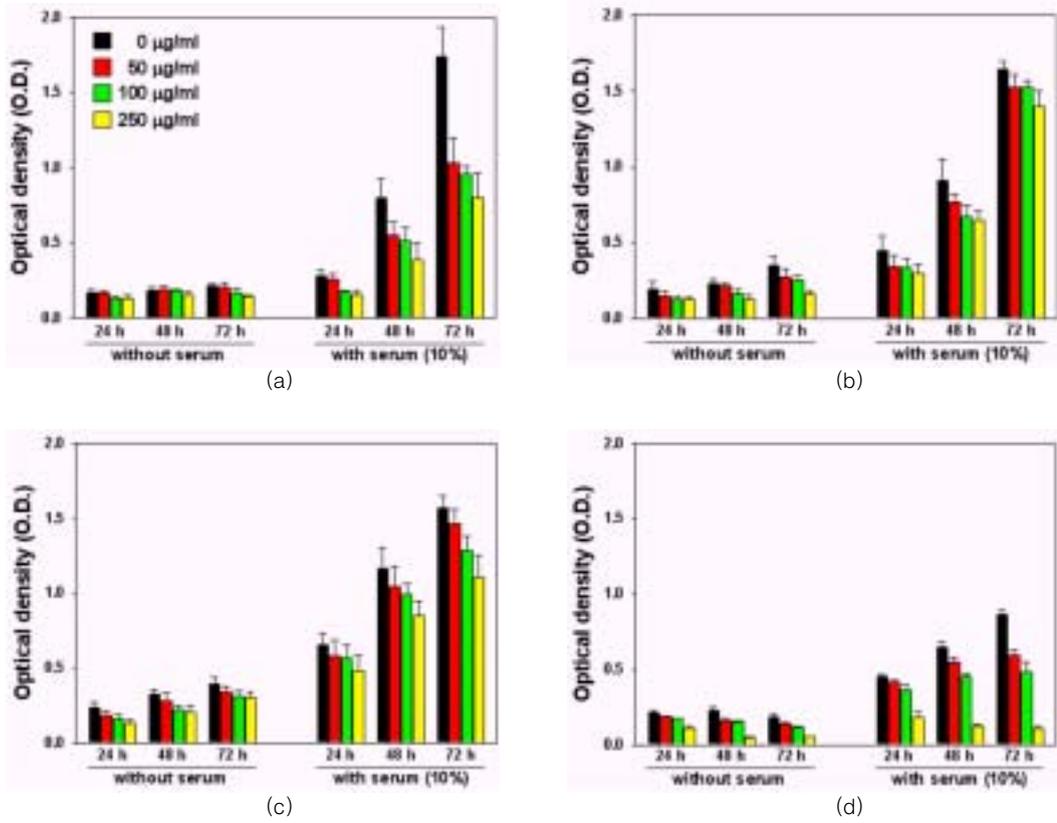


그림 5. 혈청의 유무에 따른 다양한 세포에서 헤파린 나노입자의 세포증식 억제효과. (a) B16F10, (b) LLC, (c) SCC, and (d) HUVEC 세포.



그림 6. 헤파린 나노 입자에 의한 HUVEC의 tube 형성 억제.

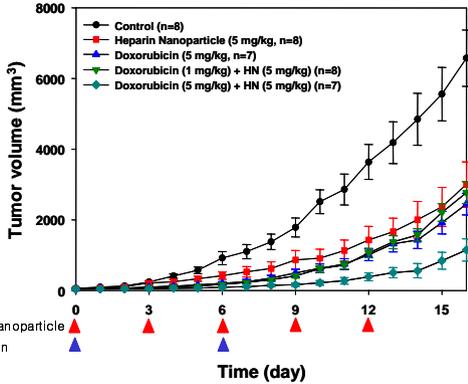


그림 7. 헤파린 나노 입자, 독소루비신, 헤파린 나노 입자와 독소루비신의 병용투여에 따른 SCC에서 항암효과.

있는 약물전달체로서의 기능도 제안되고 있다. 특히, 헤파린은 구조적인 복잡성으로 인해 다양한 방법으로 개질이 가능하며, 체내에서 헤파린 나노 입자의 안정성만 확보된다며 암 치료 목적 뿐만 아니라 암 진단용 추적자로 개발이 가능해 암의 조기 진단에도 활용 가능할 것이다.

3. 결론

헤파린은 다양한 작용기를 가지고 있고, 구조적인 복잡성으로 인해 다양한 특성을 나타낸다. 이러한 특성을 지니는 헤파린에 저·고분자 화합물들을 화학적으로 결합하거나 물리적으로 결합하여 다양한 형태의 헤파린 유도체들이 개발되어 왔으며, 이들은 신규 혈관형성억제 및 항암 효과를 보이거나, 기존 항암제의 심한 독성의 감소 및 약물전달체로서의 역할 등 다양한 연구가 수행되고 있다. 하지만, 헤파린이 직접적으로 종양세포를 죽이는 것이 아니라 종양에 있는 혈관 내피세포들의 증식에 영향을 주어 암 성장을 억제시키는 것으로 여겨진다. 따라서, 기존 항암 치료에 복합적으로 사용되므로써 항암 효과를 보다 효과적으로 하는 부가효과 (additive effect)를 유도하는 것으로 사료된다. 또한, 암 세포에서 특이적으로 발현이 되는 단백질, 효소 및 수용체 등을 이용하면 헤파린 및 기존약물의 약효를 증가시킬 수 있을 것이다. 이외에도 체내에서 안정성이 확보된 동위원소가 부착된 헤파린 유도체를 개발하게 되면, 암 진단 및 치료에 있어서 중추적인 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글 : 본 연구는 중기거점/차세대신기술개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.

참고문헌

1. N. M. Varki and A. Varki, *Semin. Thromb. Hemost.*, **28**, 53 (2002).
2. M. Petitou, *et al.*, *Chemistry*, **7**, 858 (2001).
3. P. O. Iversen, D. R. Sorensen, and H. B. Benestad, *Leukemia*, **16**, 376 (2002).
4. C. R. Parish, C. Freeman, K. J. Brown, D. J. Francis, and W. B. Cowden, *Cancer Res.*, **59**, 3433 (1999).
5. A. Bentolila, *et al.*, *J. Med. Chem.*, **43**, 2591 (2000).
6. I. Vlodaysky, Y. Friedmann, and Y. Friedmann, *J. Clin. Invest.*, **108**, 341 (2001).
7. A. K. Kakkar and R. C. Williamson, *BMJ.*, **318**, 1571 (1999).
8. R. H. Cosgrove, L. R. Zacharski, E. Racine, and J. C. Andersen, *Semin. Thromb. Hemost.*, **28**, 79 (2002).
9. L. R. Zacharski and D. L. Ornstein, *Thromb. Haemost.*, **80**, 10 (1998).
10. W. Koopmann, C. Ediriwickrema, and M. S. Krangel, *J. Immunol.*, **163**, 2120 (1999).
11. I. Vlodaysky, *et al.*, *Semin. Cancer Biol.*, **12**, 121 (2002).
12. J. Folkman, R. Langer, R. J. Linhardt, C. Haudenschild, and S. Taylor, *Science (Washington DC)*, **221**, 719 (1983).
13. N. Sakamoto and N. G. Tanaka, *The Cancer Journal.*, **2**, 9 (1988).
14. E. J. Derbyshire, Y.-C. Yang, S. Li, G. A. Comin, J. Belloir, and P. E. Thorpe, *Biochimica et Biophysica Acta.*, **86**, 1310 (1996).
15. P. E. Thorpe, E. J. Derbyshire, S. P. Andrade, N. Press, P. P. Knowles, S. King, G. J. Watson, Y.-C. Yang, and M. Rao-Betté, *Cancer Res.*, **53**, 3000 (1993).
16. T. P. Fan, R. Jaggar, and R. Bicknell, *Trends Pharmacol. Sci.*, **16**, 57 (1995).
17. M. Ciomei, W. Pastori, M. Mariani, F. Sola, M. Grandi, and N. Mongelli, *Biochem Pharmacol.*, **47**, 295 (1994).
18. J. M. Pluda, L. E. Shay, A. Foli, S. Tannenbaum, P. J. Cohen, B. R. Goldspiel, D. Adamo, M. R. Cooper, S. Broder, and R. Yarchoan, *J. Natl. Cancer Inst.*, **85**, 1585 (1993).
19. M. J. Hawkins, *Curr. Opin. Oncol.*, **7**, 90 (1995).

20. G. Zugmaier, M. Lippman, and A. Wellstein, *J. Natl. Cancer Inst.*, **84**, 1716 (1992).
21. D. A. Belford, I. A. Hendry, and C.R. Parish, *J. Cell. Physiol.*, **157**, 184 (1993).
22. M. W. Pantoliano, R. A. Horlick, B. A. Springer, D. E. Van Dyk, T. Tobery, D. R. Wetmore, J. D. Lear, A. T. Nahapetian, J. D. Bradley, and W. P. Sisk, *Biochemistry*, **33**, 10229 (1994).
23. B. W. Parker, S. M. Swain, G. Zugmaier, R. L. DeLap, M. E. Lippman, and A. Wellstein, *J. Natl. Cancer Inst.*, **85**, 1068 (1993).
24. S. Liekens, J. Neyts, B. Degreve, and E. De Clercq, *Oncol. Res.*, **9**, 173 (1997).
25. C. Passirani, G. Barratt, J. P. Devissaguet, and D. Labarre, *Pharm Res.*, **15**, 1046 (1998).
26. G. Atassi and J. Tagnon, *Eur. J. Cancer.*, **10**, 399 (1974).
27. A. Gabizon, A. Meshorer, and Y. Barenhoiz, *J. Natl. Cancer Inst.*, **77**, 459 (1986).
28. T. Aoyama, M. horioka, and S. Nagamitus, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, **35**, 808 (1987).
29. M. Yumi, H. Toshiro, T. Shigeyuki, U. Kohki, A. Kouhei, and U. Kohji, *J. Cancer Res.*, **121**, 469 (1995).
30. T. Colombo, F. Delaini, R. Ferrari, M. B. Donati, G. Donelli, and A. Poggi, *Biomedicine*, **34**, 124 (1981).
31. M. Mezonni and F. Arcamona, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **80**, 313 (1978).