

C-11 및 F-18 표지 콜린의 합성과 체내동태에 관한 연구

원자력병원 싸이클로트론 응용연구실¹, 동국대학교 이과대학 화학과²

양승대^{1,2} · 김상욱^{1,2} · 서용섭^{1,2} · 전권수¹ · 안순혁¹ · 허민구¹ · 임상무¹ · 홍성운¹ · 유국현²

A Study on the Synthesis and Its Biodistribution of C-11 and F-18 Labelled Choline

Seung Dae Yang^{1,2}, Sang Wook Kim^{1,2}, Yong Sup Suh^{1,2}, Kwon Soo Chun, Ph.D.¹

Soon Hyuk Ahn¹, Min Goo Hur¹, Sang Moo Lim, M.D.¹ Sung Woon Hong, M.D.¹

Kook Hyun Yu, Ph.D.²

Laboratory of Cyclotron Application, KCCH¹, Department of Chemistry, Dongguk University², Seoul, Korea

Abstract

Objectives : Recently, [*methyl*-¹¹C]-(β -Hydroxyethyl)trimethylammonium ([¹¹C]choline) has been discovered to be a very effective tracer in imaging various human tumors using positron emission tomography. Because of the short half-life of C-11, it is very difficult to use in a routine imaging procedure and needs a frequent synthesis of [¹¹C]choline. This can be supplemented by the substitution of [¹¹C]choline with [*methyl*-¹⁸F]fluorocholine. Here, we would like to report cell uptake and biodistribution of [¹¹C]choline and [¹⁸F]fluorocholine as a basic study.

Methods : [¹¹C]Choline was prepared by the treatment of [¹¹C]CH₃I with N,N-dimethylaminoethanol and [¹⁸F]fluorocholine was synthesized from reaction of CH₂Br[¹⁸F]F with N,N-dimethylaminoethanol. The radiochemical purity was checked by high performance liquid chromatography (HPLC). The biodistribution of [¹¹C]choline and [¹⁸F]fluorocholine was determined in balb/c mouse at 5 min, 20 min, 40 min and 80 min. The cell uptake was measured using glioma (9L) and colon adenocarcinoma (SW620). **Results** : The radiochemical purity was more than 98% after purification. In the liver, uptake did not change over time: the uptake was 20%ID/g for [¹¹C]choline and 13%ID/g for [¹⁸F]fluorocholine. In the kidney, radioactivity decreased over time: the uptake was 15%ID/g for [¹¹C]choline and 20%ID/g for [¹⁸F]fluorocholine, 80 min post-injection. The cell uptake of [¹¹C]choline was 4.93% for glioma (9L) and 18.69% for colon adenocarcinoma (SW620). For [¹⁸F]fluorocholine, 1.77% for glioma (9L) and 2.77% for colon adenocarcinoma (SW620). **Conclusion** : [¹¹C]Choline and [¹⁸F]fluorocholine showed a different cell uptake tendency, depending on cancer cell line. (Korean J Nucl Med 2001;35:185-191)

Key Words: [¹¹C]Choline, [¹⁸F]fluorocholine, Phospholipid, Cancer, Membrane

Received Apr. 19, 2001; accepted May 31, 2001

Corresponding Author: Seung Dae Yang, Laboratory of Cyclotron Application, Korea Cancer Center Hospital, 215-4 Gongleung-Dong, Nowon-Gu, Seoul 139-240, Korea.

Tel: 82-2-970-1339, Fax: 82-2-970-1330

E-mail: sdyang@kcchsun.kcch.re.kr

* 이 연구는 과학기술부의 원자력 중장기연구개발 사업에서 지원하는 "싸이클로트론 및 PET 이용기술개발" 과제를 통해 수행한 것임

서 론

Choline은 4차 암모늄염으로 말단에 수산화기를 가진 화합물이다. 체내에서 choline의 수산화기가 인산화되어 phosphatidyl choline을 형성한다. Phosphatidyl choline은 포유동물 총 인지질의 30-50%

를 차지하며, 생체막을 형성하는 주요 구성 성분이다. 또한, phosphatidyl choline은 일부 활성화제나 methionine 유도체에 대하여 methyl 기 공여체 또는 수용체로서 작용할 수 있다. 최근, choline의 이러한 성질과 정상세포에 비해 비정상적으로 증식하는 암세포의 특성을 이용하여 종양을 영상화하고자 choline의 methyl기 중 한 곳을 양전자 방출 방사성동위원소인 C-11으로 표지하여 [¹¹C]choline을 합성하였고, 여러 가지의 종양에 대해 추적자로서 사용할 수 있음을 확인하였다.^{1,2)} Hara T. 등은 [¹¹C]choline이 뇌종양이나 후두암의 전이관찰 및 간, 폐, 직장암 등의 영상을 얻는데 유용한 방사성의약품으로 보고하였으며,³⁾ 기존의 방사성의약품으로 영상화가 어려운 전립선암의 영상을 얻는 데도

유용할 것이라 보고하였다.⁴⁾ 그러나 C-11이 표지된 choline은 반감기가 짧아 환자의 수에 따라 여러 번 생산을 해야하는 단점이 있다. 이런 단점을 보완하기 위해 C-11보다 반감기가 긴 양전자 방출 핵종인 F-18을 choline에 표지하여 [¹¹C]choline을 대체하려는 연구가 진행 중이다. F-18이 표지된 [¹⁸F]fluorocholine의 합성 및 생체 내 특성에 관한 연구는 아직 많은 연구를 필요로 하는 단계이다. 본 연구에서는 [¹¹C]CH₃I를 N,N-dimethylaminoethanol과 반응시켜 [¹¹C]choline을 합성하였고, CH₂Br₂를 ¹⁸F와 반응시켜 CH₂Br [¹⁸F]F를 합성한 후 N,N-dimethylaminoethanol과 반응시켜 [¹⁸F]fluorocholine을 합성하였다. [¹¹C] Choline과 [¹⁸F]fluorocholine의 구조 그리고 각각의 반응식을 Fig.

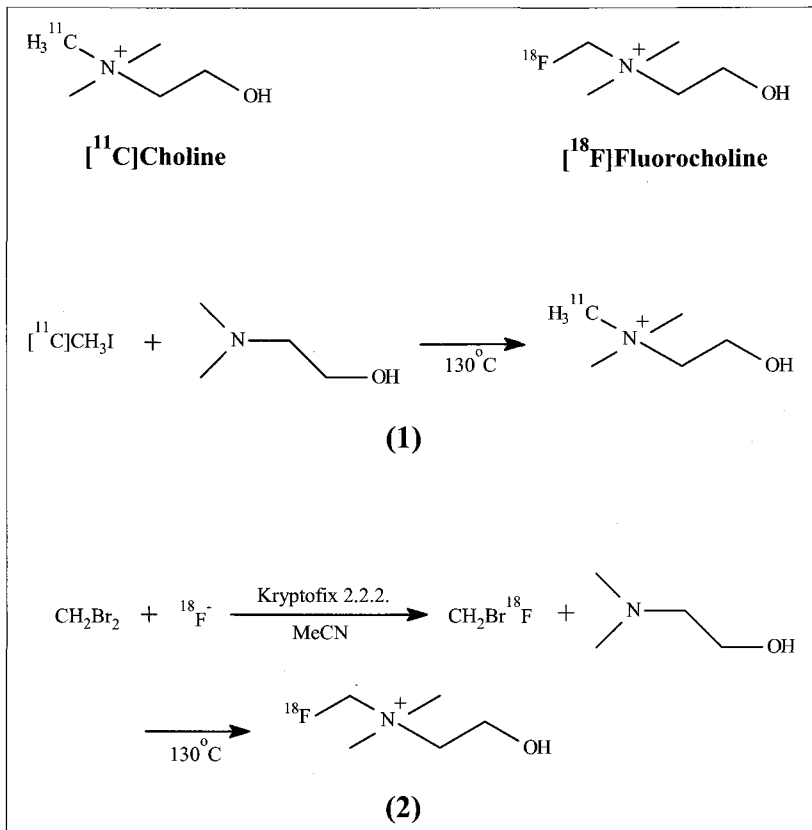


Fig. 1. The structure and synthetic scheme of [¹¹C]choline and [¹⁸F]fluorocholine. [¹¹C]Choline and [¹⁸F]fluorocholine were prepared by the direct reaction of [¹¹C]CH₃I(1) or CH₂Br [¹⁸F]F(2) with N,N-dimethylaminoethanol without solvent.

1에 나타내었다. 합성은 기체크로마토그래프, 공압 실린더, 슬레노이드 밸브 그리고 헬륨기체를 이용하여 반자동화된 합성장치를 이용하여 수행하였다. 합성된 [^{11}C]choline과 [^{18}F] fluorocholine은 각각 양이온 교환 SEP-PAK 카트리지를 이용하여 분리, 정제하였고, 분석은 방사능 검출기가 부착된 HPLC를 이용하였다. [^{11}C]choline과 [^{18}F]fluorocholine의 체내동태 실험은 balb/c mouse를 사용하여 5분, 20분, 40분, 80분에 확인하였고, 세포섭취는 glioma (9L) 와 colon adenocarcinoma (SW620)의 두 가지 세포주를 대상으로 하였다.

대상 및 방법

1. [^{11}C]CO₂ 및 [^{11}C]CH₃I의 생산

[^{11}C]CO₂ 생산을 위한 조사는 원자력병원에 설치되어 있는 MC-50 싸이클로트론을 이용하였다. MC-50 싸이클로트론의 동위원소 생산을 위한 양성자 에너지는 35 MeV이고 알루미늄 입사창을 통과하고 난 후 표적물질인 질소에 입사하는 양성자 에너지는 13.1 MeV이며 이 에너지 감쇠는 Williamson's stopping power data를 이용하여 계산하였다. [^{11}C]CO₂은 0.5% 산소를 포함하고 있는 질소 기체(99.999%)에 13.1 MeV의 양성자를 조사하여 $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$ 핵반응으로 생산하였다. 표적기체의 압력은 176.4 psi이다. 조사는 35 MeV 양성자 30 μA 로 15-30 min 간 수행하였다. 조사 후 표적 기체는 500 mL/min.로 맞춰진 flow regulator를 통하여 액체질소에 잠겨 있는 stainless steel loop trap을 통하여 배출되었다. Trap에 포집된 [^{11}C]CO₂는 약한 열로 가열하며 헬륨 기체를 흘리며 GE MeI microlab 장치로 이송시킨 후 [^{11}C]CH₃I를 합성하였다.

2. [^{11}C]Choline의 합성

[^{11}C]Choline은 Fig. 2의 합성장치를 이용하여 합성하였다. 0.5 ml의 N,N-dimethylaminoethanol이 담겨진 0℃의 반응조에서 GE MeI microlab (GE Medical System, WI, USA) 장치로부터 생성된

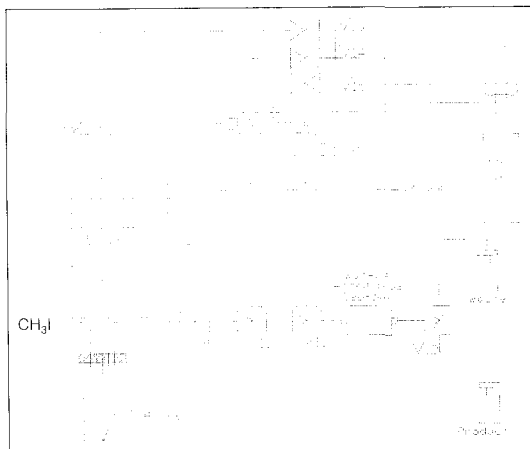


Fig. 2. Schematic drawing of C-11 and F-18 labelled choline production system. The purification of CH₂Br[^{18}F]F was archived by gas chromatography.

[^{11}C]CH₃I를 2분간 유입시키고 유입이 완료되면 온도를 130℃로 올려 5분간 반응시켰다. 반응 완료 후에 진공펌프를 이용해 반응하지 않은 잔류 N,N-dimethylaminoethanol을 완전히 제거시키고, 4 ml의 증류수 넣은 후 기체 압력을 이용해 양이온 교환 SEP-PAK 카트리지를 통과시켜 합성된 [^{11}C]choline iodide를 흡착시켰다. 이어 15 ml의 증류수로 다시 SEP-PAK 카트리지를 씻어준 후에 멸균된 5 ml의 생리식염수를 밀어 주어 [^{11}C]choline chloride로서 회수하였다. 화합물의 분석은 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)를 이용하였다. 역상 칼럼 (μ -Bondapak C18 column, 300×3.9 mm, 10 μm , Waters)과 NaH₂PO₄ (3 mM)를 용매로 하여 실험하였고 용매는 1 ml/min으로 흘려주었다.

3. [^{18}F]Fluorocholine의 합성

[^{18}F]Fluorocholine은 [^{11}C]choline의 합성에 사용한 장치에 기체 크로마토그래프와 주입부 그리고 F-18 표지용 반응조를 추가하여 합성하였다. F-18 표지용 반응조에서 CH₂Br₂를 ^{18}F (9.3-11.1 GBq)과 Kryptofix 2.2.2의 존재하에 acetonitrile을 용매로 90℃에서 20분간 반응시켜 CH₂Br[^{18}F]F를 합성하였다. 생성된 CH₂Br[^{18}F]F를 기체 크로마토그래프를 통해 분리한 후 포집해 130℃에서 30분간 반응

시간 후 [^{11}C]choline 합성시와 동일한 방법으로 [^{18}F]fluorocholine을 회수하였다. 분석은 [^{11}C]choline의 경우와 동일하게 수행하였다.

4. *In vitro*에서 [^{11}C]Choline과 [^{18}F]Fluorocholine의 세포섭취를 비교

[^{11}C]Choline과 [^{18}F]fluorocholine의 섭취를 측정하기 위해 9L (glioma)과 SW-620 (colon adenocarcinoma)을 사용하였다. 9L과 SW-620 두 세포주를 각각의 배양액을 이용하여 37°C, 5% CO_2 incubator에서 이틀에 한번씩 배양액을 교환하면서 culture flask 배양면의 80% 정도를 덮을 정도로 세포가 배양되었을 때 계대 배양하였다. 0.25%의 trypsin-EDTA를 사용하여 culture flask에 있는 세포주를 떼어낸 후 배양액을 이용하여 2회 세척하고 1.0×10^6 개씩의 세포주를 25 cm^2 culture flask에 동일하게 분주한 후 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후에 [^{11}C]choline과 [^{18}F]fluorocholine을 각각 $3.0 \times 10^4 \text{ Bq}/45 \mu\text{l}$ 를 각각의 flask에 직접 넣어준 후 5, 20, 40, 80 분 후에 각각의 flask에서 세포주를 수확한 후 PBS로 2회 세척하고 1,200 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 cell pellet을 γ -counter로 측정하였다. 실험은 각 시간 군에 3개씩 시행하였고 결과는 주사량의 백분율로 표시하였다.

5. [^{11}C]Choline과 [^{18}F]Fluorocholine의 balb/c mouse에서의 체내동태 연구

체내동태 연구는 balb/c mouse를 이용하였다. [^{11}C]Choline과 [^{18}F]fluorocholine 5.6 MBq를 꼬리 정맥에 주사한 후 5, 20, 40, 80분 후 희생하여 혈액 및 장기를 적출하여 무게와 방사능을 측정하였다. 실험은 각 시간 군에 세 마리 씩 시행하였다. 결과는 조직 그람 당 주사량의 백분율 (percentage of injected dose per gram: %ID/g)로 표시하였다.

결 과

1. [^{11}C]CO₂ 및 [^{11}C]CH₃I의 생산

빔을 35 MeV/30 μA 로 조사시 생성된 [^{11}C]CO₂의 생산 수율은 59 mCi/ μA 이었다. Trap에 포집된 [^{11}C]CO₂의 방사능은 36.9-42.4 GBq 이었다. [^{11}C]CO₂가 GE-MeI 합성장치 통과 후에 생성된 [^{11}C]CH₃I의 방사능은 7.1-9.3 GBq이었으며, 고체 지지체 컬럼의 상태에 따라 생산량에 많은 차이를 보였다.

2. [^{11}C]Choline의 합성

[^{11}C]CH₃I와 N,N-dimethylaminoethanol이 [^{11}C]choline iodide로 합성되는 시간은 5분이었고, 생성물을 양이온 교환수지에 흡착시켜 증류수로 세척하

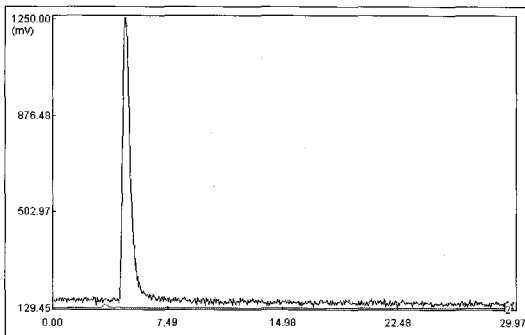


Fig. 3. HPLC analysis of the purified [^{11}C]choline. UV(2) and RA(1) profiles were recorded simultaneously. Retention time 4.65 min in RA profile is [^{11}C]choline.

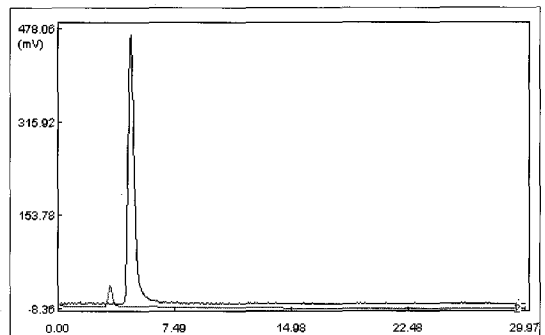


Fig. 4. HPLC analysis of the purified [^{18}F]fluoromethyl choline. UV(2) and RA(1) profiles were recorded simultaneously. Retention time 4.65 min in RA profile is [^{18}F]fluoromethyl choline.

고 0.9% 생리식염수로 회수하는데 소요되는 시간은 약 10-12분이었다. 생성된 [¹¹C]choline chloride의 양은 3.0-4.5 GBq 이었으며, 방사화학적 수율은 붕괴시간 보정 후 84%-90% 이었다. 생성물의 HPLC 머무름 시간은 4.65분이었다. 표지 후 최종 정제된 용액의 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었다.

3. [¹⁸F]Fluorocholine의 합성

¹⁸F (9.3-11.1 GBq)와 CH₂Br₂의 20분간 반응 후 분리 포집된 CH₂Br[¹⁸F]F의 양은 1.1-1.5 GBq 이었으며, CH₂Br[¹⁸F]F와 N,N-dimethylaminoethanol과의 30분 반응으로 생성된 [¹⁸F]fluorocholine은 0.1-0.2 GBq 였다. 생성물의 HPLC 머무름 시간은 [¹¹C]choline 과 마찬가지로 4.65분이었다. 표지 후

최종 정제된 용액의 크로마토그램을 Fig. 4에 나타내었다.

4. In vitro에서 [¹¹C]Choline과 [¹⁸F]Fluorocholine의 세포섭취율 비교

[¹¹C]Choline과 [¹⁸F]fluorocholine의 최대섭취는 모두 80분에 나타났고, SW-620과 9L 두 세포주의 섭취비는 [¹¹C]choline의 경우에는 3.8이었고, [¹⁸F]fluorocholine의 경우는 1.6이었다. 그리고, 두 화합물 모두 SW-620과 9L의 섭취가 시간에 따라 증가함을 확인하였다. Fig. 5와 6에 [¹¹C]choline과 [¹⁸F]fluorocholine의 두 세포주에 대한 섭취율을 표시하였다.

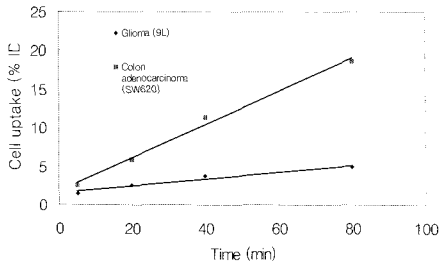


Fig. 5. Cellular uptakes of [¹¹C]choline using SW620 (colon adenocarcinoma) and 9L (glioma) cells. The uptake ratios were about 3.8 at 80 min.

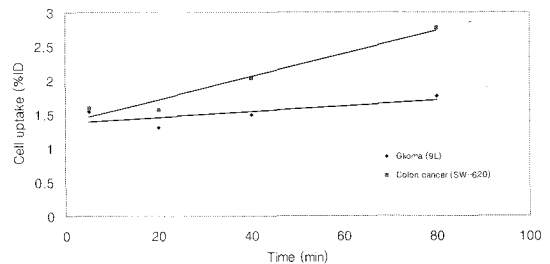


Fig. 6. Cellular uptakes of [¹⁸F]fluoromethyl choline using SW620 (colon adenocarcinoma) and 9L(glioma) cells. The uptake ratios were about 1.6 at 80 min.

Table 22. Biodistribution of [¹¹C]Choline in balb/c mouse (mean±SD)

Organ	5min	20min	40min	80min
Blood	0.843±0.099	0.823±0.262	0.785±0.083	0.899±0.102
Liver	19.178±1.726	22.505±3.361	19.998±1.740	20.339±2.836
Lung	12.413±1.199	11.703±3.230	11.909±0.948	12.317±1.698
Spleen	6.415±0.816	6.196±1.041	7.067±0.248	6.504±1.327
Kidney	38.833±4.943	24.124±6.296	16.273±3.307	15.012±3.667
Stomach	4.030±0.466	3.707±0.755	14.528±16.943	3.831±0.459
Intestine	6.641±0.598	6.222±1.413	6.146±0.103	6.378±0.473
Femur	2.058±0.221	1.981±0.468	2.194±0.270	2.310±0.218
Muscle	2.054±0.539	1.698±0.435	1.997±0.201	2.028±0.165
Brain	0.836±0.071	0.818±0.063	1.123±0.160	1.136±0.209

* Three animals were used at each time point

Table 23. Biodistribution of [¹⁸F]Fluoromethyl choline in balb/c mouse (mean±SD)

Organ	5min	20min	40min	80min
Blood	1.165±0.024	1.423±0.349	0.817±0.246	0.484±0.048
Liver	12.985±2.027	15.663±0.772	12.206±3.461	11.266±2.151
Lung	8.751±1.436	9.355±0.903	8.250±1.096	9.248±0.759
Spleen	4.247±0.243	4.360±0.160	4.159±0.699	4.181±0.179
Kidney	35.054±12.557	36.018±6.980	24.232±0.764	23.253±2.670
Stomach	1.815±0.135	2.138±0.313	1.952±0.333	3.073±0.314
Intestine	4.877±0.151	5.591±0.746	4.600±0.987	5.088±0.392
Femur	1.924±0.303	2.770±0.131	4.085±0.188	6.122±1.684
Muscle	1.622±0.264	1.790±0.280	1.617±0.311	1.532±0.110
Brain	0.797±0.288	0.631±0.111	0.643±0.162	0.789±0.110

* Three animals were used at each time point

5. [¹¹C]Choline과 [¹⁸F]Fluorocholine의 balb/c mouse에서의 체내동태 연구

[¹¹C]Choline과 [¹⁸F]fluorocholine의 balb/c mouse에서의 체내 동태 결과를 Table 1과 2에 나타내었다. 두 화합물 모두 신장, 간, 폐, 비장 의 순서로 많이 분포하는 것이 확인되었다. 신장에서는 시간이 경과함에 따라 배출되는 것을 확인하였고, 간, 폐 그리고 비장에서는 시간에 관계없이 일정하게 분포하는 것이 관찰되었다. 그러나 대퇴골에서 [¹⁸F] fluorocholine의 섭취는 1.924±0.303에서 6.122±1.684로 시간의 경과에 따라 증가하는 것으로 확인되었다.

고 찰

C-11과 F-18을 표지한 방사성의약품은 PET 임상이용에 있어서 가장 널리 사용되고 있다. 본 실험에서는 앞으로 국내에서도 임상이용이 기대되는 [¹¹C]choline과 [¹⁸F]fluorocholine을 반자동화된 자동합성장치를 이용하여 합성하였고, 9L (glioma)과 SW-620 (colon adenocarcinoma) 두 세포주를 배양하여 [¹¹C]choline과 [¹⁸F]fluorocholine의 종양에 따른 세포섭취를 연구하였다. 그리고 두 화합물이 거의 유사한 체내분포를 하고 있음을 balb/c mouse를 사용하여 확인하였다. 현재 이용되는 PET용 방사

성 의약품중 뇌종양을 영상화하는데는 [¹¹C]methionine이 [¹⁸F]FDG보다 우수하다고 알려져 있다. 그 이유는 [¹⁸F]FDG의 방사능 세기가 뇌종양에서 당의 대사정도에 따라 정상세포보다 높고 낮음이 결정지어지게 되므로 종양의 정확한 경계를 그려낼 수 없기 때문이다. Hara T. 등은 [¹¹C]choline의 tumor/background 비가 크기 때문에 뇌종양의 영상을 얻는데 있어서 [¹¹C]methionine보다도 우수한 화합물임을 보고하였다¹⁾. [¹¹C]Choline PET이 가진 또 한가지 장점은 뇌종양 세포내에서 대사가 간단하다는 것이다. [¹¹C]Choline이 단순히 인지질의 합성에만 사용되어지는 데 반해 [¹¹C]methionine은 단백질 합성 및 자체의 methyl-¹¹C 그룹을 다른 화합물에 공여하는 methyl 공여체로서도 사용되어지는 등의 다양한 대사과정을 거치게 된다.⁵⁻⁹⁾ [¹¹C]Choline이 가진 많은 장점에도 불구하고 C-11의 반감기가 짧아 반복생산을 해야하는 불편이 뒤따르게 된다. 이와 같은 불편을 해결하기 위하여 C-11보다 반감기가 약 5배 긴 F-18을 표지 하였다. 그러나 실험결과에서 나타났듯 현재까지는 CH₂Br₂의 CH₂Br¹⁸F로의 방사화학적 수율과 최종 생성물인 [¹⁸F]fluorocholine의 수율이 낮아 이를 개선하기 위한 실험을 진행중이다. 앞으로 임상적용에 앞서 다른 장기에서와 달리 대퇴골에서 [¹⁸F]fluorocholine의 섭취가 1.924±0.303 %ID/g 에서 6.122±1.684 %ID/g로 시간의 경과에 따라 증가하

는 이유가 [¹⁸F]fluorocholine 자체의 섭취증가에 의한 것인지 또는 ¹⁸F이 유리되어 섭취율이 증가하는 것인지에 관한 연구가 선행되어야 할 것이며, 9L과 SW-620 세포주 이외의 다른 종양세포주의 세포섭취에 관한 연구 또한 계속되어야 할 것이다.

요 약

목적: 최근 들어 [¹¹C]choline은 양전자방출단층촬영을 통한 각종 종양을 진단하는데 유용한 방사성의약품으로 보고되고 있다. 그러나 C-11의 반감기가 너무 짧은 단점 때문에 일상적인 작업이 쉽지 않고, 잦은 합성이 필요하다. [¹¹C]Choline의 단점은 반감기가 적당한 F-18이 치환된 [¹⁸F]fluorocholine을 합성하여 해결할 수 있다. **대상 및 방법:** [¹¹C]Choline은 [¹¹C]CH₃I와 N,N-dimethylaminoethanol을 반응시켜 합성하였고, [¹⁸F]fluorocholine은 CH₂Br[¹⁸F]F과 N,N-dimethylaminoethanol을 반응시켜 합성하였다. 방사화학적 순도는 고성능액체크로마토그래프를 이용하여 확인하였다. 두 화합물의 체내동태는 balb/c mouse를 이용하여 5, 20, 40, 80분에 측정하였다. 세포섭취 실험은 glioma (9L)과 colon adenocarcinoma (SW620)를 사용하였다. **결과:** 정제후 방사화학적 순도는 98% 이상이었다. 간에서의 섭취는 시간에 따라 변하지 않았고 [¹¹C]choline은 약 20 %ID/g, [¹⁸F]fluorocholine은 약 13 %ID/g 섭취되었다. 신장에서의 섭취는 시간에 따라 감소하였고, 주사 80분 후에 각각 15 %ID/g, 20 %ID/g 섭취되었다. 9L과 SW620세포섭취 실험에 있어서 [¹¹C]choline은 각각 4.93, 18.69 %ID/g, [¹⁸F]fluorocholine은 각각 1.77, 2.77 %ID/g이 섭취된 것을 확인하였다. **결론:** [¹¹C]Choline과 [¹⁸F]fluorocholine은 종양 세포주에 따라 다른 섭취 경향을 나타내는 것을 확인하였다. 이상의 결과들로 보아 다른 종양 세포주에 있어서 두 화합물의 섭취 경향에 관한 연구가 필요하다.

참 고 문 헌

- 1) Hara T, Kosaka N, Shinoura N, Kondo T. PET imaging of brain tumor with [methyl-¹¹C]choline. *J Nucl Med* 1997;38:842-47.
- 2) Hara T, Kosaka N, Kondo T, Kishi H, Kobori O. Imaging of brain tumor, lung cancer, esophagus cancer, colon cancer, prostate cancer and bladder cancer with [C-11]choline. *J Nucl Med* 1997;38:250P.
- 3) Hara T, Yuasa M. Automated synthesis of [¹¹C]choline, a positron-emitting tracer for tumor imaging. *Appl Radiat Isot* 1999;50:531-3.
- 4) Hara T, Kosaka N, Kishi H. PET imaging of prostate cancer with C-11-choline. *J Nucl Med* 1998;39:990-5.
- 5) Yavin E. Regulation of phospholipid metabolism in differentiating cells from rat brain cerebral hemispheres in culture: patterns of acetylcholine, phosphocholine and choline phosphoglycerides labeling from [methyl-¹⁴C]choline. *J Biol Chem* 1976;251:1392-7.
- 6) Lanks T, Somers L, Papirmeister B, Yamamura H. Choline transport by neuroblastoma cells in tissue culture. *Nature* 1974;252:476-8.
- 7) Liscovitch M, Slack B, Blusztain JK, Wurtman RJ. Differential regulation of phosphatidylcholine biosynthesis by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate and diacylglycerol in NG108-15 neuroblastoma × glioma cells. *J Biol Chem* 1987;262:17487-91.
- 8) George TP, Morash SC, Cook HW, Byers DM, Palmer FBS, Spence MW. Phosphatidylcholine biosynthesis in cultured glioma cells: evidence for channeling of intermediates. *Biochim Biophys Acta* 1989;1004:283-91.
- 9) Yorek MA, Dunlap JA, Spector AA, Ginsberg BH. Effect of ethanolamine on choline uptake and incorporation into phosphatidylcholine in human Y79 retinoblastoma cells *J Lipid Res* 1986;27:1205-13.