

Diagnosis of fibroadenoma using radiolabeled bladder cancer specific peptide

Yeong Su Ha¹, Wonjung Kwak¹, Hwa Young Lee¹, Byung-Heon Lee², Il-Hwa Hong³, Kyu-Shik Jeong³, Gwang Il An⁴, and Jeongsoo Yoo^{1,*}

¹Department of Molecular Medicine, BK21 Plus KNU Biomedical Convergence Program, Kyungpook National University School of Medicine;

²Department of Biochemistry and Cell Biology and Cell & Matrix Research Institute, Kyungpook National University School of Medicine;

³Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu; ⁴Molecular Imaging Research Center, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences Seoul, Korea

ABSTRACT

Most tumors are believed to overexpress several receptors, and small peptides targeting these receptors were developed for diagnosis and tumor therapy during past decade. Here we report that fibroadenoma can be visualized by bladder cancer specific peptide. A 9-mer bladder cancer specific peptide, which was discovered from the phage display method, was synthesized by peptide synthesizer, and additional tyrosine was conjugated at the N-terminal for radioiodination (Y-BP). Y-BP was radiolabeled with ^{131/124}I using Iodogen tube. The rat treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine for 8 weeks was allowed to grow until large size tumor was developed under axilla. The tumor model was microPET imaged sequentially using [¹⁸F]FDG and radioiodinated ¹²⁴I-Y-BP. The tumor was excised and examined by immunostaining studies. Radioiodinated ¹²⁴I-Y-BP was purified using fast protein liquid chromatography (FPLC) in > 90% radiochemical purity. The whole tumor was well visualized by [¹⁸F]FDG with several intense focal uptake within tumor. The tumor was also clearly seen with ¹²⁴I-Y-BP at 4 h post-injection, and to our surprise the tumor uptake of ¹²⁴I-Y-BP lasted up to three days. The tumor was diagnosed histologically as a fibroadenoma derived from mammary gland. In conclusion, the bladder cancer specific peptide showed the good potential as a new radiotracer for the detection of breast fibroadenoma.

J Radiopharm Mol Probes 1(1):38-45, 2015

Key Words: Bladder cancer specific peptide, Fibroadenoma, PET imaging, Imaging agent, Radiopharmaceuticals

Introduction

섬유선종은 유방 종양 중 가장 흔한 양성 종양으로 30대 이하의 여성 그 중에서도 유방암의 가족력이 있는 여성에서 더 많이 발생하는 것으로 알려져 있다. 이 중 약 4% 가량은 거대 혹은 연소성 섬유선종을 형성한다(1,2). 간혹 크기가 큰 섬유선종을 방치했다가, 나중에 빨리 자라고 재발이 많은 엽상종양으로 변할 수도 있다. 이러한

섬유선종은 악성종양과 달리 생명에는 크게 지장을 주지 않기 때문에 악성종양과 쉽게 구분할 수 있다면 진단에 있어 매우 유익할 것으로 생각된다(3-6).

기존 임상에서도 종양의 진단에 널리 쓰이고 있는 fluorine-18 fluoro-2-deoxy-D-glucose ([¹⁸F]FDG) 양전자방출단층촬영(positron emission tomography, PET) 영상은 포도당 유사체인 FDG가 포도당 운반체에 의해 세포로 운반되고, 포도당과 다르게 더 이상 포도당의 일반적인 대사과정을

Received February 25, 2015 / Revised March 26, 2015 / Accepted March 31, 2015

Corresponding Author: Jeongsoo Yoo

Department of Molecular Medicine, BK21 Plus KNU Biomedical Convergence Program, Kyungpook National University School of Medicine, 680 Gukchaebosang-ro, Joon-gu, Daegu 702-422, Korea

Tel: +82-53-420-4947, Fax: +82-53-426-4944, E-mail: yooj@knu.ac.kr

Copyright © 2015, The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

거치지 않아 세포에 축적되는 현상을 이용한 것이다 (7,8). 하지만 일반적으로 포도당 대사과정이 활발한 것으로 알려진 뇌, 갈색지방조직, 심장에서 높은 섭취율을 보여 주어 영상을 판독하는데 있어 어려움이 따른다 (9,10). 또한 ^{18}F 의 상대적으로 짧은 반감기(110분)로 인해 장시간 동안 종양에 대한 관찰이 불가능하고, 비선택적인 장기로부터 배출되는데 충분하지 못한 시간으로 인해 역시 영상의 판독에 있어 어려움을 가중시키는 단점이 있다.

종양의 진단에 있어 다양한 특징들을 대상으로 하는 연구들이 진행되고 있다. 특히 대부분의 종양은 다양한 수용체를 과발현하는 것으로 알려져 있다. 과거 10년 동안 이러한 수용체를 표적화하는 작은 펩타이드를 이용하여 종양의 진단과 치료에 응용할 수 있도록 많은 발전을 거듭해 왔다(11-16). 펩타이드를 기반으로 한 방사성의약품의 경우 단백질이나 항체를 기반으로 한 방사성 의약품과는 다른 장점을 가진다. 크기가 작아 피나 표적화 하지 않는 장기로부터 배출 속도가 빠르고 종양에 대한 투과력이 높으며, 인위적으로 원하는 배열을 가지는 펩타이드의 합성이 용이하고 생체 내 낮은 면역원성을 보여 준다(13). 또한 동위원소를 이용한 표지 조건하에서 안정한 이유 등으로 인해 펩타이드를 이용한 방사성의약품은 종양을 진단하는데 있어 유용하게 쓰일 수 있을 뿐만 아니라, 펩타이드를 나노입자와 결합시킴으로써 방사성동위원소를 이용한 핵의학 영상뿐 아니라 자기공명영상(MRI)이나 컴퓨터단층촬영(CT)을 동시에 얻을 수 있는 다중영상이 가능하고 더 나아가 치료에도 넓게 응용할 수 있는 장점을 가진다(17).

최근에 방광암에 특이적인 작은 펩타이드를 본 연구팀에서 파지 디스플레이 펩타이드 라이브러리 방법으로 선별하였다(18). 이렇게 선별된 방광암 특이적 펩타이드를 방사성요오드화하여 방광암에 대한 특이적 진단을 성공적으로 실시하였다(19). 그런데 이러한 실험과정 중에 기대하지 않았던 유선의 섬유선종에 대한 특이적 표적화를 관찰할 수 있었다.

이번 연구에서는 방사성요오드인 ^{131}I 을 방광암 특이적 펩타이드에 표지한 후 영상 전 연구를 진행하였고, 그 결과를 바탕으로 PET 핵종인 ^{124}I 를 방광암 특이적 펩타이드에 표지한 후 이를 이용하여 유방 섬유선종을 진단할 수 있는 방사성의약품으로서의 가능성을 검증하였다.

Materials and Methods

1. 기기 및 재료

펩타이드 표지를 위한 Iodogen 튜브는 Pierce Biochemical Co. (Rockford, IL, USA), ^{131}I 용액은 Korea Atomic Energy Research Institute (KAERI, Daejeon, Korea)으로 부터 구입하였다. 사이클로트론(KIRAMS MC50, Korea Institute of Radiological Medical Sciences, Seoul, Korea)을 이용하여 생산된 ^{124}I 용액을 공급받았으며, 인산완충식염수(PBS)와 혈청 내 안정성 실험을 위한 소태아혈청(FBS)은 Hyclone (South Logan, UT, USA)으로부터 구입하였다. 섬유선종 동물 모델은 생후 7주령의 암컷 흰쥐(Fischer 344 rat)를 사용하였으며 Orient Bio Inc. (Seongnam, Korea)로부터 구매하였고, 양전자방출단층촬영(microPET) 장치(R4 Rodent Model, Concorde Microsystem Inc., Knoxville, TN, USA)를 이용하여 스캔을 실시하였다.

2. 펩타이드

Cys-Ser-Asn-Arg-Asp-Ala-Arg-Arg-Cys (CSNRDARRC, 모두 왼쪽 회전성 이성질체) 아미노산 서열을 가지는 방광암 특이적 펩타이드는 표준 Fmoc 방법을 통해 합성되었다. 레진으로부터 결합을 끊기 전에 아미노(NH_2) 말단 부분에 타이로신 잔여물을 접합하여 주고, 말단의 두 시스테인 잔여물을 이용해 이황화 결합으로 고리화시켜 주었다. 그리고 나서 고속 단백질 액체크로마토그래피(GE Healthcare Life Sciences, South Logan, UT, USA)로 정제하여 주고, 액체크로마토그래피 질량분석기로 합성된 펩타이드(Y-BP)를 확인하였다.

3. 방사성표지 실험

방광암 특이적 펩타이드는 Iodogen 튜브를 이용하여 ^{131}I 와 ^{124}I 로 표지하였다. 우선 Iodogen 튜브에 80 μL 의 PBS를 넣어주고 필요한 양의 $^{131/124}\text{I}$ 을 넣어준다. 그리고 나서 20 μL 의 물에 녹아져 있는 20 μg 의 펩타이드를 넣어 주고 15분간 실온에서 약하게 저어준다. Iodogen 튜브안의 혼합물은 0.22 μm 주사기 필터(Millipore, Billerica, MA, USA)를 통과하였다. 표지 수율은 이동상으로 10% 아세트산암모늄:메탄올(3:7)을 사용하고, 고정상으로 실리카 플레이트를 사용하여 방사선 얇은 막 크로마토그래피(radio-TLC) 이미지 스캐너(Bioscan Inc., Washington DC,

USA)를 통해 확인하였다. 표지된 펩타이드(^{131/124}I-Y-BP)는 고속 단백질 액체크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. 역상 Shiseido Capcell Pak C18 컬럼(5 μm, 4.6 × 150 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA)에 용매 A (0.1% TFA in water) 97%와 용매 B (0.1% TFA in acetonitrile) 3%로부터 용매 A 20%와 용매 B 80%로 30분 동안 선형변화로 분당 1 mL씩 흘려 보내주었고, UV 스펙트로그램은 220 nm 파장대를 사용하였다. 분리한 정제물은 최고 40°C의 수조에서 진공회전농축기를 사용하여 농축시킨 후 생리식염수로 희석하여 in vitro와 in vivo 동물 실험에 사용하였다.

4. 혈청 내 안정성 테스트

방사표지 된 펩타이드 50 μL (3.7 MBq)를 450 μL의 PBS와 FBS에 넣고 37°C에서 5시간 동안 약하게 흔들어서 안정성을 확인하였다. 흔들어진 지 0, 1, 2, 3, 4, 5시간이 지나고 방사선 얇은 막 크로마토그래피 이미지 스캐너를 사용하여 온전한 방사표지 된 펩타이드의 상대적인 양을 확인하였다. 방사선 얇은 막 크로마토그래피 조건은 앞서 언급한 방법과 동일한 조건에서 진행하였다.

5. 섬유선종 동물 모델

동물에 관련된 모든 절차 및 실험은 경북대학교 동물 실험윤리위원회로부터 승인을 받은 후 지침에 따라 수행하였다(승인번호: 2014-0040). Fischer 344 흰쥐(7주령, 암

컷)가 마시는 물에 N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine이 0.05%가 되게 녹여 8주간 경구를 통해 섭취하게 하였다. 처음 0.05%의 N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine이 녹아있는 물을 섭취한 후 약 70주 가량 지난 뒤 2마리에서 유선 가까운 부근에 종양이 자라기 시작하였다.

6. MicroPET 영상

섬유선종 동물 모델에게 18.5 MBq의 [¹⁸F]FDG를 꼬리정맥으로 주사하여, 40분 후에 microPET 스캐너를 이용하여 20분간 영상을 획득하였다. 영상을 얻는 동안 실험 동물은 이소플루오란과 산소의 혼합 가스로 마취하였으며, 배와위 자세로 고정하여 영상을 획득하였다. [¹⁸F]FDG 영상 하루 후에 동일한 섬유선종 동물 모델에게 9.25 MBq의 ¹²⁴I-Y-BP를 꼬리정맥으로 주사하여 5, 19, 72시간 후에 [¹⁸F]FDG 영상과 동일한 방법으로 각각 1시간, 2시간 동안 영상을 획득하였다. 획득한 sinogram은 OSEM (ordered-subsets expectation maximum) 방식을 통하여 이미지를 재구성하였다.

7. 면역조직화학 염색

MicroPET 영상 실험 후 종양을 떼어내어 10%의 포르말린에 고정시킨 후 에탄올의 농도를 차츰 증가시키며 탈수과정을 진행하고 파라핀에 고정을 시켰다. 파라핀 고정을 3 μm 두께의 절편으로 박절하여 슬라이드에 부착하고, 자일렌으로 파라핀을 제거한 후에 다시 에탄올로 탈

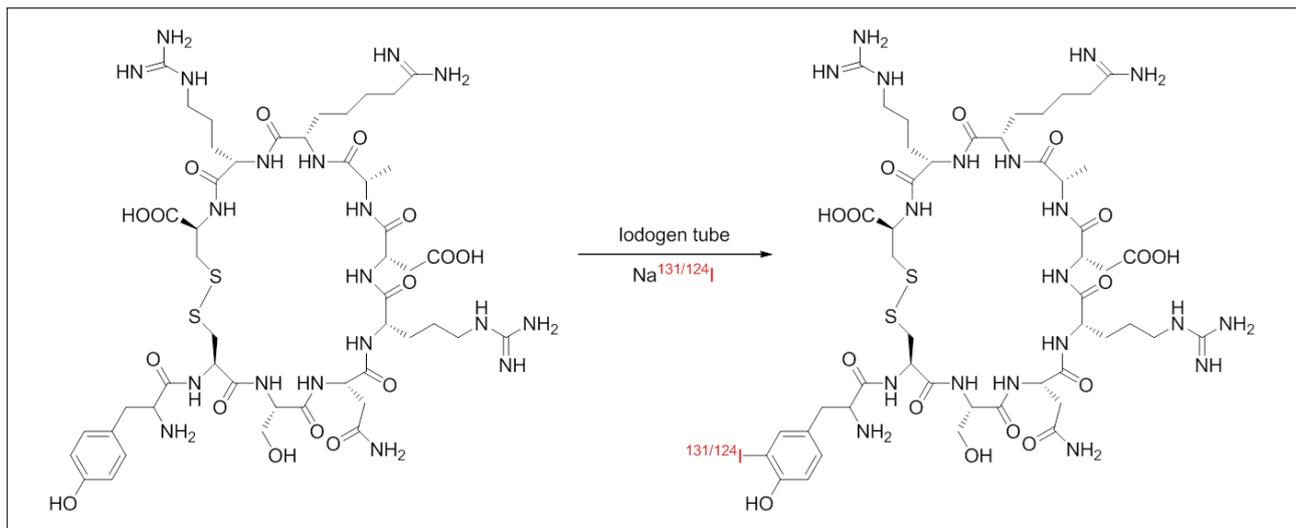


Figure 1. Chemical structure of Y-BP and ^{131/124}I-Y-BP.

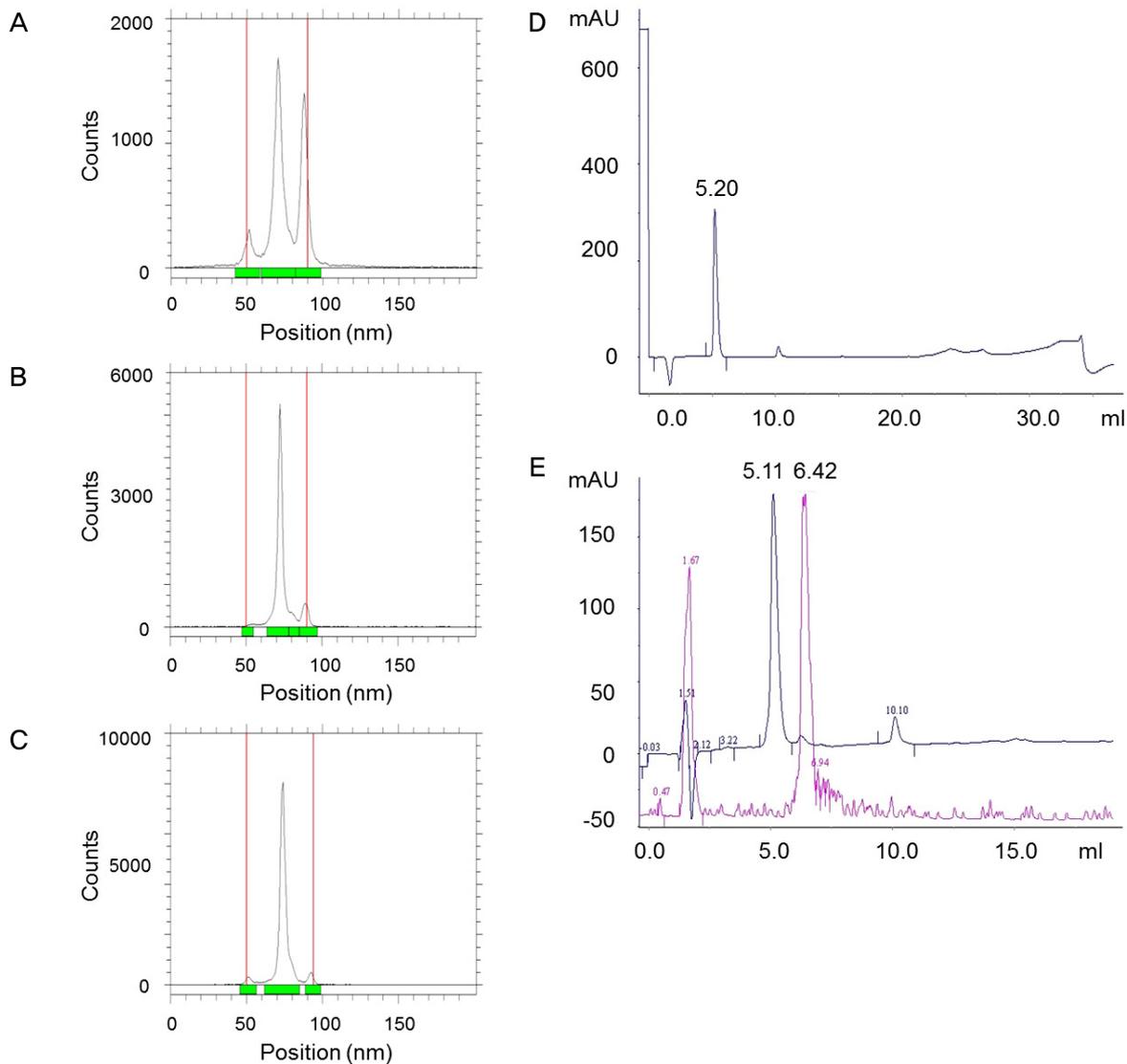


Figure 2. (A) Radio-TLC chromatogram of ^{124}I -Y-BP and (B) ^{131}I -Y-BP after 15 min reaction in Iodogen tube, (C) after purification by fast protein liquid chromatography (FPLC). (D) FPLC UV spectrum of non-radiolabeled Y-BP at a wavelength of 220 nm, (E) UV and a radioactivity traces of radiolabeled ^{124}I -Y-BP.

수과정을 거쳤다. Hematoxylin and eosin (H&E) 염색은 haematoxylin 용액에 조직 슬라이드를 5분간 반응시킨 후 물로 씻어낸다. 그 다음 산성 알코올 용액에 3번, 암모니아수에 5번 조직 슬라이드를 담궜다 빼준 후, 조직 슬라이드를 eosin 용액에 1분 동안 반응시킨다. 에탄올의 농도를 차츰 증가시키며 탈수과정을 진행한 후 봉입하고 광학현미경으로 관찰하였다. 섬유 형성을 관찰하기 위해 상피세포의 마커를 확인하는 염색을 진행하였다. 조직 절편에 있는 과산화효소의 활성을 억제시키기 위해 3% 과산화수소를 10분간 처리한 후 비특이적 항원을 제거하기 위해 차단 항체를 실온에서 10분간 반응시켰다. 트리스

완충액으로 여분의 용액을 제거하고, 1차 항체로 anti-cytokeratin (CK8/18) (rabbit monoclonal, Abcam, Cambridge, UK) 을 처리한 후 실온에서 1시간 반응시키고, 트리스 완충액으로 세척한 후 2차 항체 역시 실온에서 1시간 반응시켰다. 그런 다음 트리스 완충액으로 씻어내고 과산화효소 짝용액에 10분간 반응시킨 후 chromogen substrate와 3,3'-diaminobenzidine (DAB) 혼합물을 이용하여 발색하였다. Haematoxylin으로 대조염색하고 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

Results and Discussion

1. 펩타이드 합성 및 방사성표지

방광암 특이적 펩타이드는 파지 디스플레이 검사를 통해 스크리닝하였다. 방사성요오드화를 위해 타이로신기를 컨주게이션시켜주고, 생체 내 단백질 가수 분해를 저해하기 위해 말단 부분에 두 개의 시스테인을 이용하여 고리화 시켜주었다. 방광암 특이적 펩타이드는 98% 이상의 화학적 순도로 준비되었고, 고속 단백질 크로마토그래피로 정제하였으며 질량 분석을 통해 구한 값과 계산된 값이 잘 일치가 되는 것으로 합성된 펩타이드를 확인하였다(계산된 값: 1240.52, 질량 분석 값: 1241.00).

준비된 펩타이드는 말단의 타이로신기에 ^{131}I 또는 ^{124}I 을 이용하여 방사성요오드화 하였다(Figure 1). 다양한 방사성표지 방법 중 방사성요오드 방법을 선택한 이유는 ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I 과 같은 다양한 요오드 동위원소가 이용 가능하며, 타이로신 잔여물의 페놀(phenol) 고리에 Iodogen이나 Iodo-beads와 같은 산화제를 이용하여 쉽게 직접적인 요오드화가 가능하기 때문이다(14,20). 여기서 우리는 PET 영상 핵종인 ^{124}I (반감기: 4.2일)와 영상 전 실험에 사용하기 위해 감마선을 방출하는 ^{131}I 을 방사성요오드로 사용하였다. 영상 전 실험에 ^{131}I 을 이용한 이유는 ^{124}I 에 비해 생산이 용이해 이용하기가 편리하고, 8일의 긴 반감기로 인해 시간에 의한 제한 없이 실험을 수행하는데 편리하기 때문이다.

표지수율은 ^{131}I 과 ^{124}I 각 각 >80%와 >55%였으며, 항상 ^{131}I 이 ^{124}I 에 비해 높았다. 아마도 이러한 결과는 ^{131}I 이 ^{124}I 에 비해 비방사능이 높기 때문일 것이다(21). 표지된 펩타이드는 정제 후 90% 이상의 방사화학적 순도를 나타내었으며 이를 이용하여 *in vitro*와 *in vivo* 실험에 사용하였다(Figure 2).

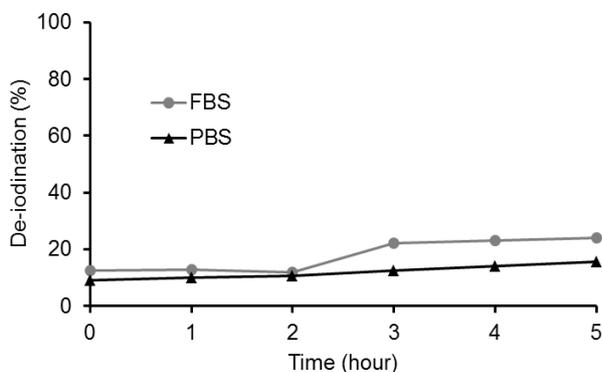


Figure 3. In vitro stability of ^{131}I -Y-BP in PBS and FBS.

2. 혈청 내 안정성 테스트

표지된 펩타이드가 *in vivo* 상에서 섬유선종을 표적화 하는데 있어 충분한 시간 동안 온전한 상태로 남아있는 것을 확인하기 위해, 방사성요오드화 펩타이드의 안정성 테스트를 진행하였다. 고속 단백질 액체크로마토그래피로 정제한 ^{131}I -Y-BP를 PBS와 FBS에 넣고 37°C에서 5시간 동안 저어주며 방사선 얇은 막 크로마토그래피를 사용하여 테스트 기간 동안 자유 ^{131}I 이온의 양을 확인하였다. 그 결과 FBS에서 약 24%의 자유 ^{131}I 이온이 영상 시간인 5시간에 떨어져 나왔음을 확인할 수 있었고, 이는 PBS에서 약 15%의 자유 ^{131}I 이온이 관찰 된 것에 비해 높은 수치를 보여준다(Figure 3).

3. MicroPET 영상 및 면역조직화학 염색

^{124}I -Y-BP의 섬유선종에 대한 선택적 표적화를 확인하기 위해 섬유선종 동물 모델을 사용하여 microPET 영상을

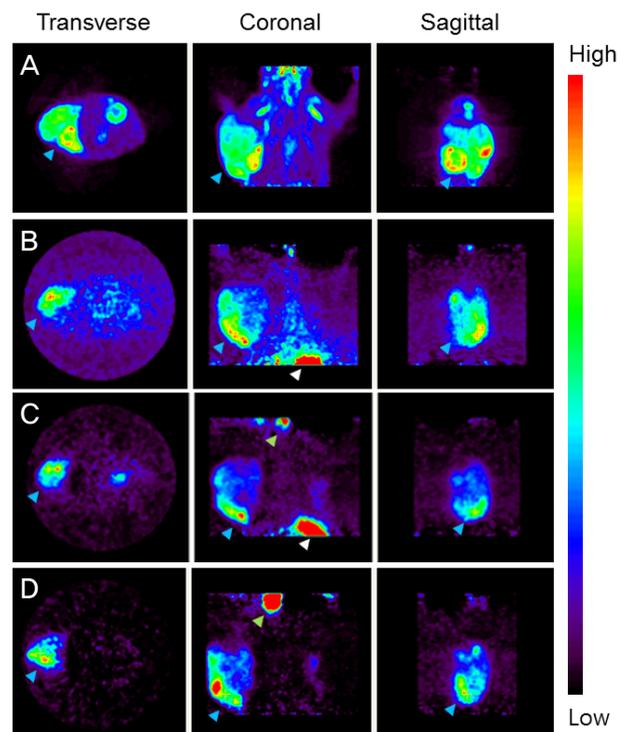


Figure 4. Comparative microPET images of ^{18}F FDG and ^{124}I -Y-BP in the same fibroadenoma model. (A) The microPET images were obtained at 40 min after ^{18}F FDG injection and (B), (C), (D) 5 h, 19 h, 72 h after ^{124}I -Y-BP injection, respectively. (sky arrowhead indicates the fibroadenoma, white arrowhead indicates the stomach, green arrowhead indicates the thyroid)

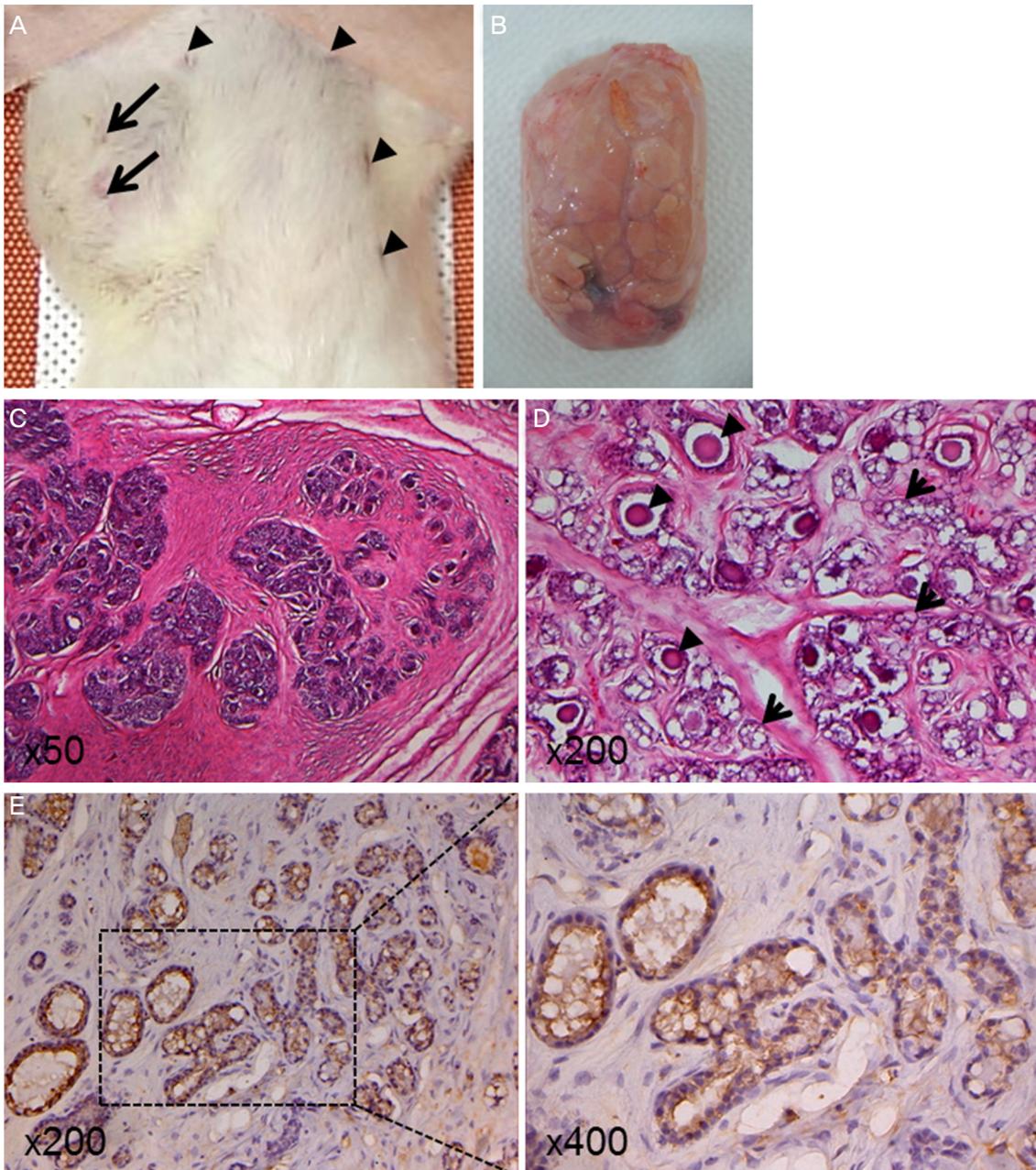


Figure 5. Morphological and microscopic examination of the tumor in rat. (A) There is a nodular subcutaneous tumor that arises in the area of the right armpit involving the mammary glands (arrow). Non-involving mammary glands (arrowhead). (B) The tumor is well-demarcated and easily removed from the subcutaneous tissue. (C) The tumor consists of secretory acini surrounded by dense collagenous stroma. (D) The epithelium of the acini is composed of one to two cuboidal cell layers and usually has large vacuoles (arrow). Note that there is abundant secretion (arrow head) in the secretory acini. (E) The epithelium of the acini expresses CK8/18 in its cytoplasm. H&E (C, D). Immunohistochemistry for CK8/18 (E). Original magnifications $\times 50$ (C), $\times 200$ (D, E left), $\times 400$ (E right).

획득하였다.

일반적으로 종양을 잘 표적화하는 것으로 알려진 [^{18}F]FDG 영상에서 transverse, coronal, sagittal 부분 영상결과를 통해 전체적으로 유선 부근의 섬유선종의 섭취율이 주변 다른

조직에 비하여 높은 것을 관찰할 수 있었다(Figure 4A). 이는 세포의 증식이 활발한 암의 일종일 것이라는 것을 확인할 수 있는 결과이고, 기준에 보고된 바와 같이 nitro-furan 유도체가 유선 부근에 종양을 유발한다는 결과와

잘 일치가 되는 것으로, N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine 섭취를 통해 흰쥐에서 섬유선종이 잘 만들어졌다는 것을 확인할 수 있는 결과이다(22,23). 그리고 진행된 동일한 섬유선종 모델에 대한 ^{124}I -Y-BP 영상에서 [^{18}F]FDG 영상의 높은 신호가 관찰되었던 동일한 섬유선종 부분에서 높은 신호가 관찰되는 것을 확인할 수 있었다(Figure 4B). 이는 ^{124}I -Y-BP가 섬유선종에 대해 특이적으로 표적화가 가능하다는 것을 보여주는 결과이며, 특히 종양 조직 안에서 특정부위가 더 많은 섭취를 보였다. 다른 한 마리의 흰쥐에 N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine을 통해 유발한 섬유선종 모델에서도 동일한 결과를 확인할 수 있었다(data not shown). 이 부위는 19시간 후 배출이 늘어나고 종양의 섭취율은 유지되다가, 73시간 후 영상에서 주변 다른 조직은 모두 배출이 일어나 신호가 없는데 반하여 아주 높은 섭취율을 유지하는 것을 확인할 수 있었다(Figure 4C, D). 실제로 이 부위의 종양이 섬유선종이 맞는지 확인하기 위해 떼어낸 종양을 이용한 조직염색을 실시하였고, 그 결과에서도 섬유선종을 확인할 수 있었다. 종양을 떼어내는 과정 중에 섬유선종의 특징 중 하나인 경계가 뚜렷했고 제거도 아주 손쉽게 되었으며, 포도알갱이 같은 소핵과가 모인 형태를 띠고 있었다. H&E 염색 결과에서 아주 짙은 콜라겐기질로 둘러싸인 분비선으로 구성된 것을 확인할 수 있었고, cytokeratin8/18 (CK8/18)을 이용한 면역 염색법을 통해 CK8/18에 양성 신호를 관찰할 수 있었다. 이는 섬유화가 진행되면서 상피 세포가 증가되고 세포가 층층이 쌓이면서 섬유선종으로 발달되는 것을 확인할 수 있는 결과이며, 유선에서 유래된 섬유선종과 같은 조직학적 분석결과이다(Figure 5). ^{124}I 의 적절한 반감기(4.2일)로 인해 73시간까지 섬유선종에 대한 microPET 영상이 가능하였고, 이는 섬유선종에 대한 약물 처리나 병의 경과에 대한 장시간 모니터링이 가능하다는 것을 보여주는 결과이다. ^{124}I -Y-BP 영상 결과에서 섬유선종 뿐만 아니라 갑상선과 위에서도 높은 신호가 관찰되었는데 이는 생체 내 생리학적 조건에서 투여된 펩타이드로부터 떨어져 나온 자유 ^{124}I 이온 때문이다. 이러한 생체 내 직접적 방사성요오드화 펩타이드로부터의 탈요오드화는 불가피한 현상으로 이미 많은 문헌에 보고되었다(24). 탈요오드화 현상은 ^{131}I -Y-BP를 이용한 in vitro 혈청 내 안정도 테스트 결과에서도 확인할 수 있었다.

^{124}I -Y-BP가 섬유선종에 대해 높은 특이적 표적영상을 보여주는 결과를 통해 섬유선종에 대한 방사성추적자로써 사용되기 위해서는 갑상선과 위에 대한 자유 방사성

요오드 이온의 신호를 최소화해야 한다. 이를 위해 과염 소산나트륨을 먼저 처리하여 위에 대한 자유 방사성요오드 이온의 축적을 차단할 수 있으리라 기대된다(25).

Conclusion

방광암 특이적 펩타이드를 산화제인 Iodogen으로 타이로신 기에 손쉽게 표지할 수 있었고, N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine 섭취를 통해 유발한 섬유선종 동물 모델에서 [^{18}F]FDG영상과 비교해 종양 부분을 5시간 뿐만 아니라 72시간까지도 특이적으로 표적화한다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 면역조직화학 염색 결과를 통해 영상에서 높은 신호를 보였던 종양이 유선에서 유래된 섬유선종이라는 것 역시 확인할 수 있었다. 본 연구 결과를 바탕으로 방사성요오드화된 방광암 특이적 펩타이드를 이용해 방광암뿐만 아니라 양성 유방암의 일종인 섬유선종을 진단하는 방사성추적자로 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

Acknowledgments

이 연구는 한국연구재단 중견연구지원사업(2013R-1A2A2A01012250), 방사선기술개발사업(2013M2A2A6042317), 방사선의학기술개발사업(2012-0006386)의 지원을 받았으며, 다른 이해관계는 없음을 밝힙니다.

References

1. Lim WK, Ong CK, Tan J, Thike AA, Ng CC, Rajasegaran V, Myint SS, Nagarajan S, Nasir ND, McPherson JR, Cutcutache I, Poore G, Tay ST, Ooi WS, Tan VK, Hartman M, Ong KW, Tan BK, Rozen SG, Tan PH, Tan P, Teh BT. Exome sequencing identifies highly recurrent MED12 somatic mutations in breast fibroadenoma. *Nat Genet* 2014;46:877-880.
2. Won KS, Gayed I, Kim EE, Macapinlac H. Juvenile fibroadenoma of the breast demonstrated on ^{111}In -octreotide SPECT and ^{18}F -FDG PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:440.
3. Krishnamurthy S, Ashfaq R, Shin HJ, Sneige N. Distinction of phyllodes tumor from fibroadenoma: a reappraisal of an old problem. *Cancer* 2000;90:342-349.
4. Pietruszka M, Barnes L. Cystosarcoma phyllodes: a clinicopathologic analysis of 42 cases. *Cancer* 1978;41:1974-1983.
5. Norris HJ, Taylor HB. Relationship of histologic features to behavior of cystosarcoma phyllodes. Analysis of ninety-four

- cases. *Cancer* 1967;20:2090-2099.
6. Hart WR, Bauer RC, Oberman HA. Cystosarcoma phyllodes. A clinicopathologic study of twenty-six hypercellular periductal stromal tumors of the breast. Analysis of ninety-four cases. *Am J Clin Pathol* 1978;70:211-216.
 7. Reske SN, Kotzerke J. FDG-PET for clinical use. *Eur J Nucl Med* 2001;28:1707-1723.
 8. Younes-Mhenni S, Janier MF, Cinotti L, Antoine JC, Tronc F, Cottin V, Ternamian PJ, Trouillas P, Honnorat J. FDG-PET improves tumour detection in patients with paraneoplastic neurological syndromes. *Brain* 2004;127(Pt 10):2331-2338.
 9. Kelloff GJ, Hoffman JM, Johnson B, Scher HI, Siegel BA, Cheng EY, Cheson BD, O'shaughnessy J, Guyton KZ, Mankoff DA, Shankar L, Larson SM, Sigman CC, Schilsky RL, Sullivan DC. Progress and promise of FDG-PET imaging for cancer patient management and oncologic drug development. *Clin Cancer Res* 2005;11:2785-2808.
 10. Pinilla I, Rodriguez-Vigil B, Gomez-Leon N. Integrated ¹⁸F-FDG PET/CT: Utility and Applications in Clinical Oncology. *Clin Med Oncol* 2008;2:181-198.
 11. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674.
 12. Reubi JC, Maecke HR. Peptide-Based Probes for Cancer Imaging. *J Nucl Med* 2008;49:1735-1738.
 13. Okarvi SM. Peptide-based radiopharmaceuticals: future tools for diagnostic imaging of cancers and other diseases. *Med Res Rev* 2004;24:357-397.
 14. Okarvi SM. Peptide-based radiopharmaceuticals and cytotoxic conjugates: potential tools against cancer. *Cancer Treat Rev* 2008;34:13-26.
 15. Schottelius M, Wester HJ. Molecular imaging targeting peptide receptors. *Methods* 2009;48:161-177.
 16. Weiner RE, Thakur ML. Radiolabeled peptides in diagnosis and therapy. *Semin Nucl Med* 2001;31:296-311.
 17. Lee SM, Kang SW, Ryu JH, Na JH, Lee DE, Han SJ, Kang CM, Choe YS, Lee KC, Leary JF, Choi K, Lee KH, Kim K. Tumor-homing glycol chitosan-based optical/PET dual imaging nanoprobe for cancer diagnosis. *Bioconjugate Chem* 2014; 25:601-610.
 18. Lee SM, Lee EJ, Hong HY, Kwon MK, Kwon TH, Choi JY, Park RW, Kwon TG, Yoo ES, Yoon GS, Kim IS, Ruoslahti E, Lee BH. Targeting bladder tumor cells in vivo and in the urine with a peptide identified by phage display. *Mol Cancer Res* 2007; 5:11-19.
 19. Ha YS, Lee HY, An GI, Kim J, Kwak W, Lee EJ, Lee SM, Lee BH, Kim IS, Belay T, Lee W, Ahn BC, Lee J, Yoo J. Synthesis and evaluation of a radioiodinated bladder cancer specific peptide. *Bioorg Med Chem* 2012;20:4330-4335.
 20. Heppeler A, Froidevaux S, Eberle AN, Maecke HR. Receptor targeting for tumor localisation and therapy with radiopeptides. *Curr Med Chem* 2000;7:971-994.
 21. Mougín-Degraef M, Jestin E, Bruel D, Remaud-Le Saec P, Morandau L, Faivre-Chauvet A, Barbet J. High-Activity Radio-Iodine Labeling of Conventional and Stealth Liposomes. *J Liposome Res* 2006;16:91-102.
 22. Price JM, Morris JE, Lalich JJ. Evaluation of the carcinogenic activity of 5-Nitrofurans derivatives in the rat. *Federation Proc* 1966;25:419.
 23. Stein RJ, Yost D, Petroliunas F, Von-Esch A. Carcinogenic activity of nitrofurans: a histologic evaluation. *Federation Proc* 1966; 25:291.
 24. Bakker WH, Krenning EP, Breeman WA, Koper JW, Kooij PP, Reubi JC, Klijn JG, Visser TJ, Docter R, Lamberts SW. Receptor scintigraphy with a radioiodinated somatostatin analogue: radiolabeling, purification, biologic activity, and in vivo application in animals. *J Nucl Med* 1990;31:1501-1509.
 25. Wolff J. Perchlorate and the thyroid gland. *Pharmacol Rev* 1998;50:89-105.