

가토 방광에서 실험적으로 유발된
낭종 및 사람 단순낭종에서
Holmium-166 nitrate pentahydrate
- Chitosan Complex를 이용한
경화요법

연세대학교 대학원

의 학 과

원 중 윤

가토 방광에서 실험적으로 유발된
낭종 및 사람 단순낭종에서
Holmium-166 nitrate pentahydrate
- Chitosan Complex를 이용한
경화요법

연세대학교 대학원

의 학 과

원 중 윤

가토 방광에서 실험적으로 유발된
낭종 및 사람 단순낭종에서
Holmium-166 nitrate pentahydrate
- Chitosan Complex를 이용한
경화요법

지도교수 이 도 연

이 논문을 박사학위 논문으로 제출함

2006 년 1 월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

원 중 윤

원종윤의 박사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2006 년 1 월 일

감사의 글

제가 학위를 마치고 논문을 완성하기까지 지도와 많은 조언을 주셨으며 한명의 영상의학과 의사로서 역할을 할 수 있도록 가르침을 주신 이도연 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 이 연구의 계획단계부터 논문의 완성에 이르기까지 세심한 검토와 부족한 부분에 대한 자문을 아끼지 않고 해주신 유형식 교수님, 이종두 교수님, 서진석 교수님, 박영년 교수님께도 큰 감사를 올립니다. 또한 제가 지금의 전공을 할 수있도록 이끌어 주시고 끊임없는 관심과 애정으로 변함없이 지도해 주신 이종태 교수님께도 큰 절을 올립니다.

영상의학과 의사로서 학문에 대한 정진과 폭넓은 식견을 항상 강조하시고 격려해주신 김기황 교수님께 감사를 올리며, 영상의학과에 좋은 연구 여건을 제공하기위해 늘 애쓰시는 김상진 교수님께도 감사드립니다. 제 논문의 정리와 임상연구에 많은 지도와 도움을 주신 김은경 교수님과 김주희 교수님께도 늦게나마 감사를 드리며, 제자로서 또한 후배로서 항상 따뜻하게 배려해 주신 김동익 교수님과 제가 영상의학과를 전공하여 이 같은 영광을 누릴 수 있도록 도와주시고 이끌어주신 여러 영상의학과 교수님들께 머리숙여 감사의 말씀을 올립니다.

언제나 어려운 부탁을 마다않고 자신의 일처럼 성심껏 도와주신 여러 실험동물부 선생님들과 혈관촬영실 선생님들, 영상의학과 의국원 선생님들 여러분들이 계셨기에 오늘의 결과가 있을 수 있었습니다. 앞으로 더욱 노력하고 학문에 전념을 다해 여러분들의 도움과 애정에 보답할 것을 약속드립니다.

끝으로 부족한 자식에게 올바른 길을 몸소 실천으로 인도해 주시는 아버지, 사랑과 헌신으로 은혜를 베풀어 주신 어머니, 늘 존경하며 세계 삶의 이정표가 되어주시는 장인어른과 저의 든든한 후원자이시며 세계 항상 활력을 주시는 장모님께 이 영광을 돌립니다. 늘 같은 자리에서 늘 같은 모습으로 저를 지켜봐주는 사랑하는 아내와 이 기쁨을 나누고자 합니다.

저자 씬

<차례>

그림 및 표 차례	iii
국문요약	1
I. 서론	4
Part 1. 동물실험	
II. 재료 및 방법	7
1. 실험동물	7
2. 실험물질	7
3. 방사선량의 계산	8
4. 실험방법	10
5. 통계분석	11
III. 결과	12
1. 실험동물의 관찰	12
2. 감마카메라 영상	12
3. 혈액검사 소견	12
4. 방광의 육안적 검사소견	14
5. 방광의 병리조직학적 소견	15
6. 방사선조사량에 따른 방광벽 괴사효과	18
Part 2. 임상연구	
II. 재료 및 방법	19
1. 환자선정과 기준	19
2. 치료전 검사	19
3. ¹⁶⁶ Ho-chitosan 복합체 경화요법	20
4. 치료 후 추적검사	22
III. 결과	22

IV. 고찰	27
V. 결론	36
참고문헌	38
영문요약	44

그림 차례

그림 1. ^{166}Ho -chitosan 복합체 방광주입후 감마카메라 영상 . . .	12
그림 2. 가토의 평균 백혈구 수치	13
그림 3. 가토의 평균 혈소판 수치	13
그림 4. 정상 대조군 가토 방광의 육안적 소견	14
그림 5. 20Gy 조사군 가토 방광의 육안적 소견	14
그림 6. 80Gy 조사군 가토 방광의 육안적 소견	15
그림 7. Grade 0 가토 방광의 조직학적 소견	16
그림 8. Grade 1 가토 방광의 조직학적 소견	16
그림 9. Grade 2 가토 방광의 조직학적 소견	17
그림 10. Grade 3 가토 방광의 조직학적 소견	17
그림 11. 간 단순낭종의 경화요법 증례	24
그림 12. 신장 단순낭종의 경화요법 증례	25
그림 13. 신장 단순낭종의 경화요법 증례	26

표 차례

표 1. 구체의 체적 및 반경별 ^{166}Ho 의 흡수선량률	8
표 2. 가토방광표본의 조직학적 소견의 분류	15
표 3. 방사선량과 기간별 조직학적 소견의 분류	18
표 4. 목표선량 조사를 위한 낭종의 부피 별 방사능량	21
표 5. 통증 측정표	21
표 6. 치료효과 관정의 분류	22
표 7. 시술 중 발생한 통증의 정도별 환자수	23
표 8. 치료효과별 환자수	24

국문요약

가토 방광에서 실험적으로 유발된 낭종 및 사람 단순낭종에서 Holmium-166 nitrate pentahydrate - Chitosan 복합체를 이용한 경화요법

단순 낭종은 성인의 신장 및 간에 발생하는 가장 흔한 양성 종양이다. 낭종의 원인은 정확히 밝혀져 있지는 않으며 크기가 증가 하면 통증을 유발하거나 감염, 출혈이 되는 등 합병증을 동반하기도 하며 주위 장기의 압박으로 인하여 황달, 수신증, 신장기능저하 등의 증상을 유발한다. 치료로서 과거에는 수술적 적출술이나 배액술을 하였으나 수술에 따른 이환률과 사망률 및 높은 재발률로 인하여 기존의 치료법을 대체하는 방법이 필요하였으며, 낭종의 내용물을 흡입한 후 내벽상피세포 파괴를 위해 각종 경화제를 주입하는 경화요법이 시술되고 있다. 현재 여러 종류의 경화제가 이용되고 있으나 높은 재발률과 각종 부작용으로 효과적이고 안전한 경화제 및 경화요법의 개발이 필요한 실정이다.

방사성 동위원소인 ^{166}Ho 과 chitosan의 혼합물인 ^{166}Ho -chitosan 복합체는 반감기가 26.8 시간으로 짧고, 연부조직에서 침투력이 낮으며(평균 1.23mm), 세포 괴사 능력이 강한 베타방사선을 주로(95%) 방출하며 체내에서 gel화되는 성질로 인하여 다른 장기로 누출을 방지할 수 있어 소간암과 관절염의 치료에 이용되고 있다. 이와 같은 성상은 낭종의 상피세포괴사를 위한 경화요법에도 적용 가능할 것으로 기대되어 이 연구를 계획하였다.

본 연구의 목적은 ^{166}Ho -chitosan 복합체를 이용한 낭종의 경화요법의 개발을 위하여 동물실험을 통하여 치료의 세부사항과 방법을 정하며, 효과 및 안전성을 검증하고, 이를 기초로한 임상적용을 통해 새로운 경화요법 제제로서의 치료효과와 안전성을 평가하고자 하였다.

단순낭종의 동물모델로 가토의 방광을 사용하였으며 정상 가토 수컷 20마리를 대상으로 실험하였다. 가토를 개복하여 소변에 의한 경화제의 희석효과를 방지하기 위해 요도와 요관을 결찰한 후 21gauge 천자침으로 방광을 천자하고 ^{166}Ho -chitosan 복합체를 주입하여 방사선조사를 한 후

요도와 요관의 결찰을 풀고 개복부위를 봉합하였다. 실험동물은 정상대조군 2마리, 10Gy 조사군 6마리, 20Gy 조사군 6마리, 80Gy 조사군 6마리로 나누었으며 방사선조사 1주, 4주, 8주 후에 2마리씩 희생시켜 방광을 적출하고 병리조직검사를 시행하여 상피 세포층의 괴사, 탈락정도, 방광벽의 변화 및 주변 조직의 변화를 알아보았다.

실험동물은 관찰기간까지 활동량은 정상이었고 사망 예는 없었다. 적출한 방광은 천공의 증거는 없었으며 방광주위조직의 손상은 없었다. 10Gy 조사군은 주로 방광상피세포의 부분 괴사를, 20Gy 조사군은 방광상피세포의 완전괴사와 근층의 부분괴사를 보였고, 80Gy 조사군은 50 %에서 방광의 전층괴사를 보였다. 결과적으로 20Gy의 방사선 조사로 효과적인 상피세포 괴사를 유발하였고 치료의 안전성을 확인하여 임상연구에 적용가능함을 검증하였다.

임상시험은 단순 낭종으로 확인되고 증상이 있는 35명의 환자, 40개의 낭종을 대상으로 하였으며 낭종의 위치는 신장이 35예, 간이 5예였다. 치료의 적응증은 통증(n=21), 추적검사에서 크기가 커진 경우(n=11), 경화요법 후 재발(n=4), 혈뇨(n=3), 과열의 위험성(n=1) 였다. 시술은 초음파 유도하에 21gauge 천자침으로 낭종을 천자하고 낭종액을 완전히 배액하였다. 배액 후 천자침을 통하여 낭종의 크기에 따라 10-30mCi의 방사능을 가진 ¹⁶⁶Ho-chitosan 복합체 용액을 주입하였다. 주입 후 감마카메라 스캔을 시행하여 방사능의 낭종내 집적과 타장기 유출 여부를 관찰하였다. 추적검사는 초음파 또는 CT로 낭종의 소실여부 및 크기 변화를 관찰, 비교하였다.

시술전 낭종의 부피는 16-257ml(평균: 120.5± 42.1)였다. 천자된 액체는 모두 무색이었고 비정형, 혹은 악성세포가 검출되지 않았다. 시술 직후 시행한 감마카메라상 낭종외부로 유출되는 증거는 없었다. 단기추적검사상(1-3개월) 완전관해(낭종의 소실)가 7예(17.5%), 부분적완전관해(잔류낭종부피:시술전 부피의 15%이하)가 15예(37.5%), 부분관해(잔류낭종부피:15-50 %) 13예(32.5%), 무반응(잔류낭종부피:50%이상) 5예(12.5%)였고 장기추적검사상(12-30개월) 완전관해가 20예(50.0%), 부분적완전관해가 15예(37.5%), 부분관해 4예(10.0%), 무반응 1예(2.5%)였다. 시술과 관련된 사망은 없었고 환자의 통증은 경미하였으며 합병증은 1예의 미열 외에는 관찰되지 않았다.

본 연구의 동물실험을 통하여 ^{166}Ho -chitosan 복합체를 이용한 경화요법이 주위조직 및 전신적 방사선 부작용이 없어 안전하며 동물 낭종모델의 상피세포층을 효과적으로 소실시킬 수 있음을 증명하였고 이를 바탕으로 한 임상연구에서 간 및 신장의 단순낭종의 치료에 적용하여 부작용은 거의 없이 50%의 완전관해와 37.5%의 부분적완전관해의 치료성적을 얻었다. 결론적으로 ^{166}Ho -chitosan 복합체를 이용한 경화요법은 기존의 경화요법을 대체할 수 있는 안전하고 효과적인 새로운 단순낭종의 치료법이라고 사료된다.

핵심되는 말 : 단순낭종, 경화요법, ^{166}Ho -chitosan 복합체, 체내방사선치료

가토방광에서 실험적으로 유발된 낭종 및 사람 단순낭종에서
Holmium-166 nitrate pentahydrate - Chitosan Complex를 이용한
경화요법

<지도교수 이도연>

연세대학교 대학원 의학과

원 종 윤

I. 서 론

단순 낭종(simple cyst)은 성인의 신장, 난소 및 간에 주로 발생하는 가장 흔한 양성 종양이다. 낭종의 원인은 정확히 밝혀져 있지는 않으나 태생학적인 잔류 세포로 인하여 선천적으로 발생하거나 신낭종의 경우 신세뇨관 폐색(tubular obstruction)으로 이차적으로 발생하는 저류성 낭종으로 추측하고 있다. 이들 낭종의 대부분은 증상이 없이 우연히 발견되나 크기가 커지면 통증을 유발하거나 파열, 감염, 출혈이 되는 등 합병증을 동반하기도 하며 간낭종의 경우 담도계의 폐색으로 인한 황달이 오거나, 신낭종의 경우 신장의 압박에 의한 고혈압, 신우나 신배의 폐쇄, 신 기능 저하, 혈뇨 등의 원인이 된다¹⁻³.

낭종의 크기로 인한 증상이 있거나 합병증이 동반된 경우에 치료를 요하는데, 과거에는 수술적 적출술이 우선되었으나 수술 자체로 인한 이환률이나 사망률을 무시할 수 없어 1970년대 중반 경피적 흡입술 및 배액술(percutaneous aspiration or drainage) 개발되어 치료를 대치하고 있는 추세이다. 그러나 이러한 치료는 낭종의 분비 상피를 제거하지 못하므로 30-80%의 높은 재발률이 보고되고 있다. 재발을 방지하는 방법으로 낭종의 내용물을 흡입한 후 내벽의 상피세포(epithelial cell)를 파괴하는 경화

요법(sclerotherapy)이 시술되고 있다. 현재까지 사용되었던 경화제로는 iophendylate, 50% dextrose solution, povidone-iodine, bismuth phosphate, tetracycline, phenol, bleomycin, morrhuate sodium, talc, acetic acid 등이 있으며 99% ethanol이 가장 많이 이용되고 있다^{4,5}.

Ethanol은 신낭종 벽의 상피세포를 고정, 비활성화시키며, 구하기 쉬운 장점이 있다. Ethanol의 경화치료 성적은 단기추적 관찰을 통해 80% 이상의 높은 성공률을 보고하고 있지만 31개월 이상의 장기추적결과 치료효과는 61%로 낮아짐을 보고하여 재발이 많은 점이 문제점이다. 또한 2회 이상의 반복적 시술을 한 경우에서 1회의 경화치료를 시행한 군보다 장기 재발율이 감소한다고 알려져 있어 반복 시술의 번거로움이 있으며, 심한 통증, 발열, 알코올에 의한 환자의 취함 등도 문제점으로 나타났다^{5,6}. 경화제로서의 tetracycline 또한 구하기 쉽고 값이 저렴하며, 악성흉막삼출의 치료에 잘 알려진 경화제로서 작용기전은 낮은 pH (2.0-3.5)에 기인된다고 여겨지며, 이것이 세포의 이물반응을 일으켜 피막을 유착시키고 낭내의 분비세포의 섬유화를 일으킨다고 알려져있다. 그러나 이 역시 시술시 동반된 심한 통증과 재발 등이 문제점이다⁷. 이후 개발된 acetic acid도 효과적이고 안전한 경화제로써, ethanol보다 빠르고 완전하게 퇴행한다고 보고하였으나 장기적인 추적 결과가 아직 없다⁸. 이상적인 경화제의 요건으로 1회의 시행에 효과적인 경화 작용으로 재발이 없어야 하며, 국소적 또는 전신적 부작용이 적어야 하고, 값싸고 쉽게 얻을 수 있으며, 사용이 간편해야 한다. 그러나 이러한 모든 조건을 만족시킬 수 있는 경화제는 아직 없으며 각각의 장, 단점으로 인하여 시술자의 편의에 따라 많은 종류의 경화제가 사용되고 있다⁴.

Holmium-166(¹⁶⁶Ho)은 Holmium-165(¹⁶⁵Ho)를 원자로에서 중성자 조사에 의하여 생성되며 단면적이 넓어 쉽게 활성화되며 반감기가 26.8 시간으로 짧고, 세포 괴사 능력이 강한 베타방사선을 주로(95%) 방출함과 동시에 미량(5%)의 감마선을 방출하므로, 감마 카메라를 이용한 영상과 방사선량을 정량적으로 측정할 수 있는 장점이 있다. ¹⁶⁶Ho은 최대에너지가

1.85MeV로 높으나 감마선과 비교하여 연부조직 침투력(평균 1.23mm)이 낮아 경피주입에 의한 간암과 관절염 치료에 우수한 효과와 주위장기의 방사선 장애가 없는 것으로 판명되어 현재 소간암과 관절염 치료제로 상용화되었다. Chitosan은 분자량이 크고 체액내에서 gel화 되는 성질이 있어 ^{166}Ho 과 결합시 다른 장기로의 누출을 방지할 수 있다. 따라서 이러한 ^{166}Ho -chitosan 복합체는 세포괴사능력이 강한 베타선을 주로 방출하고 에너지는 높으나 연부조직 침투력이 낮아 얇은 막으로 둘러싸인 단순농종의 치료에 효과적일것으로 착안하였으며, 체내에서 gel화되는 성질로 인하여 낭종 외 방사선 유출의 방지가 가능하고 감마선의 방출로 영상이 가능함으로 방사선 유출을 확인할 수 있어 안정성을 확보할 수 있을 것으로 기대되었다⁹⁻¹¹.

본 연구의 목적은 ^{166}Ho -chitosan 복합체를 이용한 낭종의 경화요법의 개발을 위하여 동물실험을 통하여 ^{166}Ho -chitosan 복합체 경화요법의 효과 및 안전성을 검증하고 낭종의 경화요법에 적절한 방사선량(radiation dose)을 결정하여 임상연구의 근거를 마련하고, 임상적용을 통해 새로운 경화요법 제제로서의 치료효과와 안전성을 평가하기 위함이다.

Part 1. 동물실험

II. 재료 및 방법

1. 실험동물:

동일 조건하에서 국산 과립형 복합사료로 사육한 정상 가토 수컷 20마리의 (체중 2-3kg) 방광을 이용하였다. 가토의 귀정맥을 통해 pentobarbital sodium 0.5ml/kg을 주사하거나 ketamine hydrochloride 1ml/kg 와 xylazine hydrochloride 0.1ml/kg를 근육주사하여 마취하였다. 식염수를 주입하여 방광내벽이 고르게 식염수와 접촉하는 용량을 결정하였으며 그 양은 약 10 ml 정도였다.

2. 실험 물질

실험에 사용된 ^{166}Ho 은 질산 홀뮴 화합물로 한국 원자력연구소에서 다음과 같이 제조하였다. ^{165}Ho nitrate pentahydrate ($^{165}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)를 NaOH에 용해된 NaBH_4 와 반응 시키면 ^{165}Ho 입자의 대응집 (macroaggregate),이 생성되며 이를 원자로에서 neutro flux로 활성화시키면 ^{166}Ho nitrate pentahydrate ($^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 용액이 된다. Chitosan은(1-4)-linked,2 amino-2-deoxy-b-D-glucopyranose로서 게 (crab)등의 껍질에서 추출된 고분자 물질로 다가양이온성(polycationic), 생물분해성(biodegradable), 무독성의 자연중합체(natural polymer)이며 분자량은 300,000-500,000이다. 본 실험에서 사용한 chitosan은 동결 건조한 제품으로 chitosan을 초산 및 주사용수에 넣어 녹이고 아스코르빈산을 멸균 주사용수에 녹여 섞은후 분주하여 제조한 완제품을 이용하였다(동화약품, 서울, 한국). ^{166}Ho -chitosan 복합체는 chitosan 용액을 pH 3.0에서 ^{166}Ho 과 반응시켜 초음파처리, 원심분리 및 미세처리하여 만들었다.

3. 방사선량의 계산 (radiation dosimetry)

실험동물에 조사할 방사선량의 계산은 한국원자력연구소에 의뢰하였다. 토끼 방광의 모양을 구체로 가정하고 방광의 용적당 선원으로부터 0mm-0.5mm내에 위치한 표적체에서 계산된 흡수선량률을 EGS4 code system을 이용한 Monte Carlo 시뮬레이션(simulation)을 통하여 구하였다 (표 1). 이 흡수선량률표를 아래와 같은 공식에 대입하여 각각의 방사선량의 조사를 위한 최초 방사능량과 조사시간을 구하였다¹²⁻¹⁵.

표 1. 구체의 체적 및 반경별 Hol-166의 흡수선량률

체적(cc)	반경(cm)	흡수선량률(Gy/s)	오차(%)
10	1.34	0.1340×10^{-11}	4.5
20	1.68	0.6642×10^{-12}	6.7
30	1.93	0.4348×10^{-12}	8.2
40	2.12	0.3292×10^{-12}	6.5
50	2.29	0.2639×10^{-12}	7.0
60	2.43	0.2185×10^{-12}	7.6
70	2.56	0.1881×10^{-12}	8.2
80	2.67	0.1634×10^{-12}	7.4
90	2.78	0.1467×10^{-12}	8.6
100	2.88	0.1307×10^{-12}	8.2

$$A(Gy) = B(mCi/ml) \times 3.7 \times 10^7 \times C(ml) \times D(Gy/sec \text{ per } Bq) \times E(sec)$$

$A(Gy)$: 흡수선량

$B(mCi/ml)$: 초기방사능체적밀도

$C(ml)$: 선원의 체적

$D(Gy/sec \text{ per } Bq)$: 흡수선량률

$E(sec)$: 조사시간

$$E(sec) = \int_0^t e^{-\lambda t} dt = \frac{1}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t})$$

여기서 λ 는 붕괴상수 ($0.693 / T_{1/2}$) $\rightarrow Ho-166$ 의 반감기는 $26.83 hr$

예를 들어 ^{166}Ho 선원을 10ml의 체적에 균일하게 채울 경우에 선원으로부터 0mm-0.5mm내에 위치한 표적체에서 계산된 흡수선량률은 Bq당 $0.1340 \times 10^{-11} Gy/s$ 이므로 치료선량(A)을 20Gy로 하고 조사시간(E)을 600초로 할 때 필요한 초기방사능은

$$B(mCi/ml) = \frac{20 \times 0.693}{26.83 \times 3600 \times (1 - e^{-\frac{0.693 \times 600}{26.83 \times 3600}}) \times 0.1340 \times 10^{-11} \times 10(ml) \times 3.7 \times 10^7}$$

$$= 67.38 mCi/ml$$

(조사시간은 정확한 계산을 위해 지수함수를 사용하였으나 t=600초일 때 적분값은 598.7초이므로 600초를 그냥 사용하여도 차이가 없음)

으로 구할 수 있다. 또한 ^{166}Ho -chitosan 복합체 용액을 주입 후 완전히 붕괴(decay) 될 때까지 방광 내 잔류시킨다고 가정할 때 20 Gy의 목표 선량을 위한 ml 당 ^{166}Ho -chitosan 복합체 용액의 방사능은 약 0.3 mCi 정도로 계산 할 수 있다.

4. 실험방법

실험동물은 다음과 같이 4군으로 분류하였다.

1군. 정상 대조군 : 2 마리 - 아무 시술도 하지않은 정상 가토의 방광

2군. Low dose군 : 6마리

- (1) 요관 및 요도 결찰 후 10 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 1주 후 희생 : 2 마리
- (2) 요관 및 요도 결찰 후 10 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 4주 후 희생 : 2 마리
- (3) 요관 및 요도 결찰 후 10 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 8주 후 희생 : 2 마리

3군. Target dose군 : 6마리

- (1) 요관 및 요도 결찰 후 20 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 1주 후 희생 : 2 마리
- (2) 요관 및 요도 결찰 후 20 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 4주 후 희생 : 2 마리
- (3) 요관 및 요도 결찰 후 20 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 8주 후 희생 : 2 마리

4군. High dose군 : 6마리

- (1) 요관 및 요도 결찰 후 80 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 1주 후 희생 : 2 마리
- (2) 요관 및 요도 결찰 후 80 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 4주 후 희생 : 2 마리
- (3) 요관 및 요도 결찰 후 80 Gy 방사선 조사 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 제거, 8주 후 희생 : 2 마리

먼저 가토의 소변에 의해 경화제가 회석되거나 배설되는 것을 방지하기 위하여 가토를 마취하에 개복하여 요도(urethra)와 요관(ureter)을 4-0 silk로 결찰하였다. 21G 천자침으로 방광을 직접 천자하여 방광내의 소변을 비운 후 가진 ^{166}Ho -chitosan 복합체 용액 10 ml를 주입 하였다. ^{166}Ho 의 방사능(radioactivity)는 주입 전 용량교정기(dose calibrator)로 측정하고 각각의 목표방사선조사량에 따라 조사시간을 계산하였다. 정해진 조사시간(30분-3시간)의 경과 후 ^{166}Ho -chitosan 복합체 용액을 제거였고, 요도와 요관의 결찰을 풀고 개복부위를 봉합하였다. 각군의 가토를 2마리씩 1주, 4주, 8주 후 희생 시키고 방광을 적출하였다. ^{166}Ho -chitosan 복합체 용액 주입후 감마카메라 (gamma camera) 검사로 방사능 집적의 방광내 상태 및 타기관 유출여부를 관찰하였으며, 방사선 조사 전과 조사 1일, 1주, 4주, 8주 후에 가토의 혈액을 채취하여 백혈구와 혈소판의 수치를 측정, 비교하였다.

적출된 방광은 육안적 조직 변화를 관찰하고 10% 중성 포르말린에 고정시킨 후, 탈수 과정을 거쳐 파라핀에 포매, 박절하여 조직 표본을 제작한 후 hematoxylin-eosin염색을 하여 광학 현미경으로 관찰하였다. 병리조직 검사는 상피 세포층의 괴사, 탈락정도, 방광벽의 변화 및 주변 조직의 변화를 알아보았다.

5. 통계분석

자료는 SAS Ver6.12(SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 통계 분석을 하였다. 시간에 따른 각 변수의 변화는 반복측정법(Repeated measures analysis)을 이용하였고 통계적 유의수준은 p값 0.05미만으로 하였다.

III. 결과

1. 실험동물의 관찰

실험동물은 관찰기간까지 활동량은 정상이었고 사망 예는 없었다.

2. 감마카메라 영상

시술 직후 시행한 감마카메라 영상에서 전예에서 방광이외의 방사능 집적은 관찰되지 않았다 (그림 1).

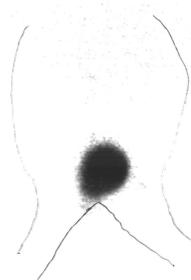


그림 1. ^{166}Ho -chitosan 복합체 주입 직후 시행한 감마카메라 사진으로 방광외의 방사능 집적은 보이지 않는다.

3. 혈액검사 소견

시술 전과 ^{166}Ho -chitosan 복합체 주입 1일, 1주, 4주, 8주 후에 측정된 백혈구의 평균 수치는 각각 7.39 ± 0.61 , 8.01 ± 2.01 , 9.130 ± 0.78 , 7.77 ± 2.12 , $8.31 \pm 1.56 \text{K/uL}$ 로 의미있는 변화는 보이지 않았으며 ($p=0.124$), 같은 기간의 평균 혈소판 수치도 498 ± 87.5 , 488 ± 66.3 , 395 ± 102 , 520 ± 95.5 , $477 \pm 47.8 \text{K/uL}$ 로 의미있는 변화는 보이지 않았다 ($p=0.08$) (그림 2, 3).

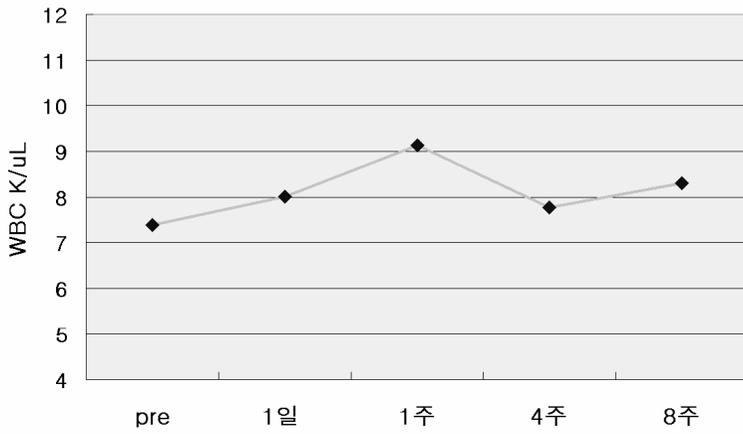


그림 2. 가토의 평균 백혈구 수치

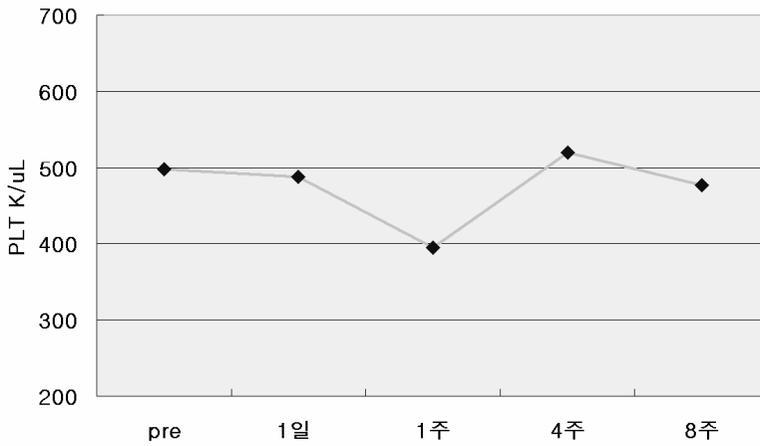


그림 3. 가토의 평균 혈소판 수치

4. 방광의 육안적 검사 소견

방광적출 시 전실험동물에서 주위장기의 육안적 손상이나 방광벽의 천공은 없었다. 대조군(그림 4)과 10 Gy 조사군과, 20 Gy 조사군(그림 5) 실험동물의 방광외벽과 내벽은 매끈하였으나 80 Gy 조사군(그림 6)의 실험동물에서 육안적으로 방광내벽의 불규칙한 비후가 관찰되었다.



A.



B.

그림 4. 정상대조군의 가토 방광 외벽과 주위 조직(A) 및 내벽(B)의 육안 소견.



A.



B.

그림 5. 20 Gy 조사군 가토 방광의 육안적 소견. 방광 외벽은 매끈하였으며 천공은 없었다. 방광 주위의 지방조직이나 장에 육안적 이상소견은 없으며(A), 방광내벽에서도 정상 대조군과 비교하여 육안적 이상소견은 관찰되지 않는다(B).



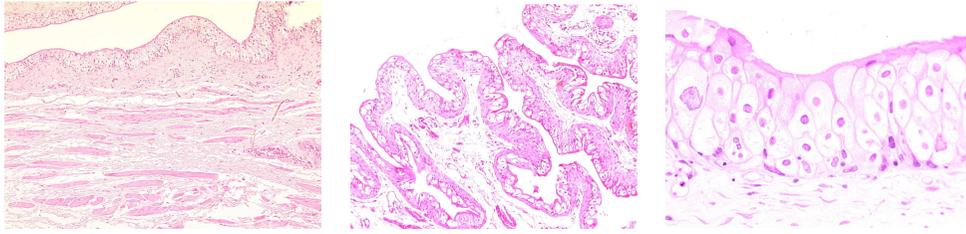
그림 6. 80 Gy 조사군 가토 방광의 육안적 소견. 방광 주위의 지방조직이나 장에 육안적 이상소견은 없었으나 방광 내벽의 불규칙한 비후가 관찰된다.

5. 방광의 병리조직학적 소견

가토의 방광벽은 점막(mucosa), 근층(muscle layer), 장막(serosa)으로 구성되어 있으며 각군의 실험 동물에서 적출한 방광의 조직학적 소견은 방광 점막상피세포 및 근층, 장막층의 괴사정도에 따라 grade 0, 1, 2, 3으로 분류하였다(표 2). 각각의 분류에 해당되는 현미경학적 소견은 (그림 7-10)과 같다.

표 2. 가토방광표본의 조직학적 소견의 분류

Grade	조직학적 소견
Grade 0	정상방광벽
Grade 1	상피층의 부분적 괴사
Grade 2	상피층의 전층 ~ 근육층 일부(< 50%) 괴사
Grade 3	근육층 50 % 이상 ~ 방광벽 전층 괴사

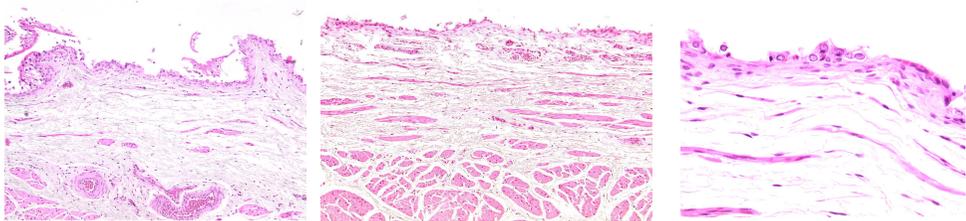


A.

B.

C.

그림 7. Grade 0. 가토 정상 방광으로 점막(mucosa), 근층(muscle layer), 장막(serosa)으로 구성되어 있으며(A, H&E, x40) 방광이 비어있을 때에는 많은 주름이 생기나(B, H&E, x200), 내용물이 차 있어 팽창될 때에는 주름은 없어진다. 이행상피(transitional epithelium)인 점막상피 아래에는 고유판(lamina propria)이 있으며 근층은 매우 두꺼운 층으로 여러겹으로 구성되어 있다. 상피에서 가장 윗층의 세포는 유리면쪽 세포막이 정상적으로 산호성이며 두꺼워져 있는 소견을 보인다(C, H & E, x400).



A.

B.

C.

그림 8. Grade 1. 점막상피세포의 일부 층이 탈락, 소실되어 있으며 근층은 정상소견을 보인다(H & E, A: x100, B: x100, C: x400).

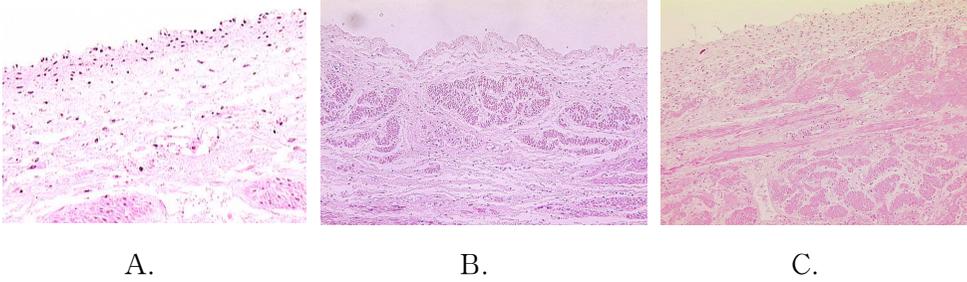


그림 9. Grade 2. 점막상피세포의 전층이 괴사되어 있으며(A, H&E, x400), 근층은 정상이거나(B, H&E, x100), 여러층으로 구성되어 있는 근층의 상부 일부층(<50%)이 괴사되어 정상 구조가 소실되어 있다(C, H&E, x100).

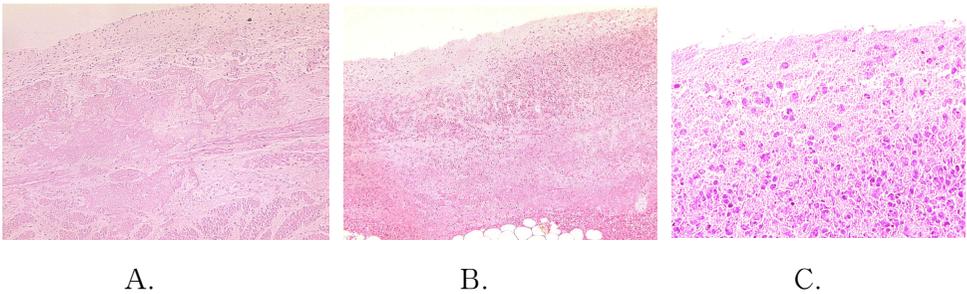


그림 10. Grade 3. 점막상피세포의 전층의 괴사와 함께 근층의 50 % 이상이 괴사되어 일부만이 남아있거나(A, H&E, x40), 점막상피세포전층의 괴사와 함께 고유관과 괴사된 근층에 염증세포의 침윤이 보이고 있다(B, C, H&E, x40, x100). 부분적으로 얇아진 방광벽 장막층 밖의 지방조직에 괴사의 소견은 없다(B).

6. 방사선 조사량에 따른 방광벽 괴사 효과

각각의 실험 동물에 대한 방사선 조사 후 방광조직 적출의 기간 및 방사선 조사량에 따른 조직학적 소견의 분류는 (표 3)과 같다.

표 3. 방사선 조사 후 조직적출 기간 및 방사선 조사량에 따른 조직학적 소견의 분류

	10 Gy 군	20 Gy 군	80 Gy 군
1 주	G 0 / G 1	G 0 / G 1	G 1 / G 1
4 주	G 0 / G 1	G 2 / G 2	G 2 / G 3
8 주	G 1 / G 2	G 2 / G 2	G 3 / G 3

방광내 방사선조사를 시행한 가토는 총 18마리였으며, 6마리의 10Gy 조사군 가토 중 Grade 0는 2마리, Grade 1은 3마리, Grade 2는 1마리였으며, 20Gy 조사군 6마리 중 Grade 0과 1은 각각 1마리씩이었고 나머지 4마리는 Grade 2였다. 80Gy 조사군 6마리 중 Grade 1은 2마리, Grade 2가 1마리 나머지 3마리는 Grade 3 였다. 방사선량의 증가에 따라 상피세포의 완전소실이 많았으며, 1주보다는 4주, 8주 후에 적출한 조직에서 상피세포의 소실 정도가 증가하여 시간이 지날수록 소실의 정도가 증가하였다. 4주, 8주 희생군에서 20Gy의 방사선 조사로 상피세포의 완전괴사를 유발할 수 있었으며, 80Gy 조사군에서는 방광벽 근층의 50%이상 괴사의 예가 6마리의 실험 동물 중 3마리(50 %)에서 보였다. 그러나 전층괴사를 보인 방광조직 중 부분적으로 방광벽이 얇아진 소견은 있었으나 천공은 없었으며, 방광 장막 바깥쪽의 지방조직의 괴사도 보이지 않았다.

Part 2. 임상연구

II. 재료 및 방법

1. 환자선정과 기준

2000년 4월부터 2002년 12월 31까지 영상검사인 초음파 및 전산화단층촬영검사에서 단순 낭종이 발견되고 천자에 의하여 단순 낭종으로 확진된 35명의 환자, 40개의 낭종을 대상으로 하였다. 본 연구는 병원의 기관윤리위원회의 심의와 승인을 얻었으며, 모든 환자에게서 시술방법, 기대되는 효과 및 가능한 부작용 등에 관하여 설명하고 동의를 얻었다. 35명의 환자 중 25명은 남자, 10명은 여자였다. 낭종의 위치는 신장이 35예, 간이 5예였다. 치료의 적응증은 통증(n=21) 추적검사에서 크기가 커진 경우(n=11), 경화요법 후 재발(n=4), 혈뇨(n=3), 파열의 위험성(n=1) 이었다. 간기능 검사, 혈액 검사 및 신장검사에서 본 치료에 적합하지 않은 출혈성 환자, 간과 신장 기능이 극도로 저하되어 있는 환자 및 심폐기능에 이상이 있는 환자는 제외하였고, 초음파에서 낭종이 확인되나 경피 유도로 천자가 불가능한 환자는 제외하였다. 기타 질환이 동반되어도 단순 낭종과 관련이 없으면서 낭종 치료에 병합 부작용이 없을 것으로 판정되는 환자는 대상에 포함하였다.

2. 치료 전 검사

가. 간기능 검사로 sGOT, sGPT, Bilirubin, Protein, BUN, Creatinine 및 신장기능 검사와 혈액검사인 prothrombin time, platelet, WBC 검사를 시행하였다.

나. 초음파검사, 전산화단층촬영검사로 낭종의 장기, 정상, 위치 및 크기를 검사하였다.

다. 악성낭종, 감염이 의심되는 경우 시술 전 낭종액을 초음파유도하에

채취하여 세포 및 세균검사를 시행하였으며 이들 질환이 확진된 경우 대상에서 제외하였다.

3. ^{166}Ho -chitosan 복합체 경화요법

가. 초음파나 전산화단층촬영검사로 간장 혹은 신장 낭종의 크기를 측정하였으며, 시술 전 후로 낭종의 부피 계산은 다음과 같이 하였다¹⁶.

$$\text{volume} = (l \times w \times d) / 6$$

[l: length, w: width, d: depth of the cyst]

나. 시술 전 50mg의 meperidine hydrochloride를 정맥주사하여 환자를 진정(sedation) 시킨 후 경피 천자하기 위한 준비로 천자부위의 피부를 betadine 용액으로 소독하고 2 % lidocaine으로 국소 마취를 시행하였다.

다. 초음파 유도하에 21gauge 15cm 길이의 천자침으로 천자하여 세포검사 등 단순 낭종 여부를 검사하기 위해 낭종액을 5ml 정도 채취한 후 가능한 양의 낭종액을 모두 배액하였다.

라. 낭종액을 배액한 직후에 낭종이 허탈되는 것을 방지하고 낭종벽을 고르게 펴서 낭종의 상피세포면과 방사선동위원소가 고르게 접할 수 있도록 최초 낭종 부피의 약 30 %의 생리식염수를 주입하였다.

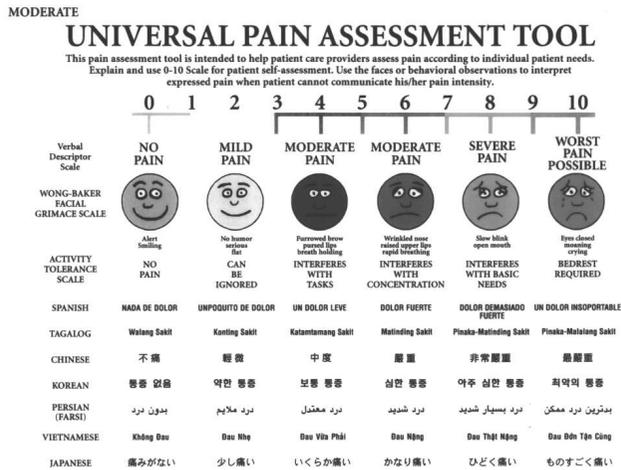
마. 구형모델의 흡수선량률을 이용하여 목표선량 20 Gy의 방사선조사를 위한 낭종의 부피별 총 방사능량을 계산하였으며(표 4) 그 값은 낭종의 부피가 100ml일 경우 8.9mCi, 200ml일 경우 17.7mCi, 300ml일 경우 26.3mCi 였고 시술의 편의를 위하여 낭종부피 100ml당 10mCi의 방사능을 가진 ^{166}Ho -chitosan 복합체 용액을 천자침을 통하여 낭종내에 주입하여 치료를 종료하였다.

표 4. 목표선량 20Gy조사를 위한 낭종의 부피 별 총 방사능량

낭종부피	100ml	200ml	300ml
방사능량	8.9mCi	17.7mCi	26.3mCi

바. 시술 중 아래와 같은 통증측정표를 이용하여 환자가 호소하는 통증의 정도를 기록하였다(표 5).

표 5. 통증측정표



사. 치료직후 감마카메라를 이용하여 전신 동위원소영상을 촬영하여 주입한 ¹⁶⁶Ho의 낭종내 방사능집적 여부 및 낭종 바깥으로의 유출 여부를 관찰하였다.

아. 모든 시술 및 검사 종료 후 환자는 일반병실로 옮겨졌으며

동위원소와 낭종벽의 고른 접촉을 위하여 매 15분마다 자세를 바꾸도록 하였다.

4. 치료 후 추적검사

치료후 환자는 단기추적검사(1-3개월)와 장기추적검사(6-30개월)을 시행하여 효과를 판정하였다. 추적검사는 초음파영상을 얻어 시행하였으며 치료효과의 판정은 추적검사 전,후의 낭종의 부피의 변화에 따라 표 6과 같이 분류하였다.

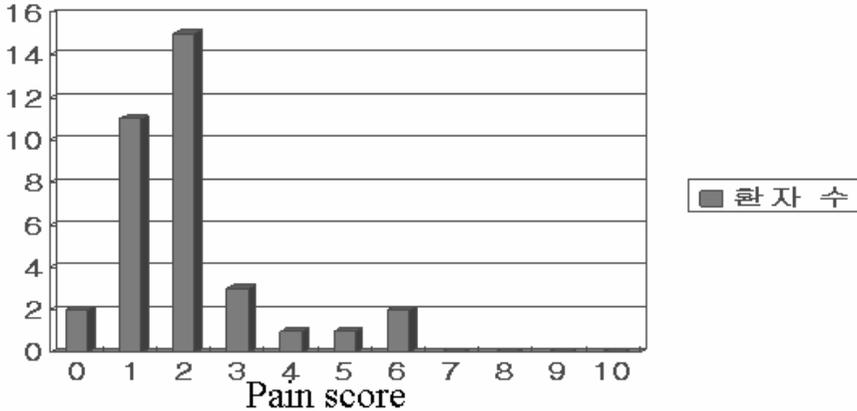
표 6. 치료효과 판정의 분류

치료 효과	낭종의 잔류부피
완전관해	낭종의 완전소실
부분적 완전관해	시술전 부피의 15% 미만
부분관해	시술전 부피의 15 - 50%
무반응	시술전 부피의 50% 이상

III. 결 과

시술전 낭종의 부피는 16-267ml(평균: 120.5±42.1ml)였다. 천자된 액체는 모두 무색이었고 비정형, 혹은 악성세포가 검출되지 않았다. 시술 중 28명의 환자는 통증이 없거나 무시할 수 있는 약한 통증을 호소하였으며 7명의 환자는 중등도의 통증을 호소하였다(표 7).

표 7. 시술 중 발생한 통증의 정도별 환자수



시술 직후 시행한 감마카메라상 방사능은 낭종내에 집적된 소견을 보였으며 낭종외부로 유출되는 증거는 없었다. 시술 1일 후 1명에서 미열을 동반한 백혈구수 증가가 있었으나 특별한 치료없이 다음날 소실되었다. 신낭종 시술 후 혈뇨가 있거나 BUN, creatinine의 증가 소견은 없었으며 간낭종 시술 후 sGOT, sGPT, Bilirubin 등의 간기능을 나타내는 수치 변화는 없었다. 추적검사기간 중 시술과 관련하여 사망한 예는 없었다.

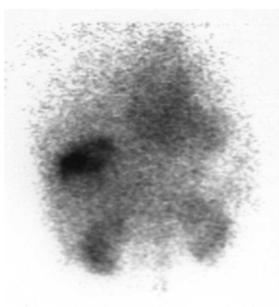
단기추적검사(1-3개월) 완전관해가 7예(17.5%), 부분적 완전관해가 15예(37.5%), 부분적 관해 13예(32.5%), 무반응 5예(12.5%)였고 장기추적검사에서는(12-30개월) 완전관해가 20예(50.0%), 부분적 완전관해가 15예(37.5%), 부분적 관해 4예(10.0%), 무반응 1예(2.5%)였다(표 8)(그림 11, 12, 13).

표 8. 치료효과별 환자 수

Response	단기효과 (1-3 개월)	장기효과 (12-30 개월)
완전관해	7 (17.5%)	20 (50.0%)
부분적완전관해	15 (37.5%)	15 (37.5%)
부분관해	13 (32.5%)	4 (10.0%)
무반응	5 (12.5%)	1 (2.5%)
Total	40 (100%)	40 (100%)



A.

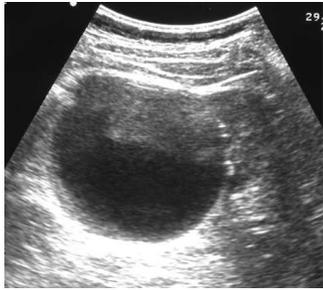


B.

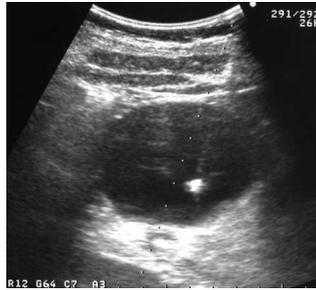


C.

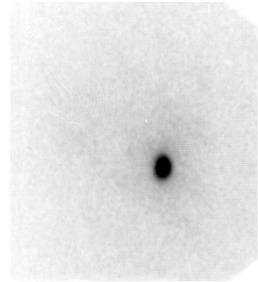
그림 11. 42세 여자 환자로 소화불량과 복부 통증 및 팽만감으로 내원하였다. CT 영상에서 간의 우엽에 10x10x10cm 크기(167cc)의 낭종이 있다(A). 낭종을 천자하여 내용물을 배액한 후 20mCi ^{166}Ho -chitosan 복합체를 주입하였고 감마카메라 영상에서 낭종내에 동위원소의 집적을 확인할 수 있다(B). 22개월 추적검사에서 낭종의 크기는 2.5x2x2.3cm(11.5cc)로 감소하여 6.9%의 부피가 남아있어 부분적 완전관해 되었다(C).



A.



B.



C.

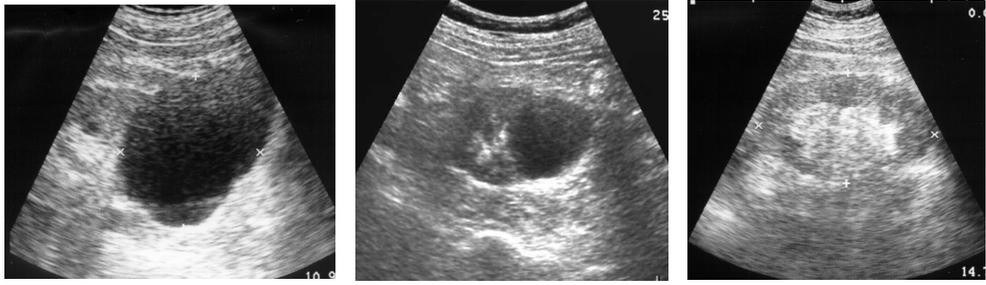


D.



E.

그림 12. 57세 남자로 우측 옆구리 통증을 주소로 내원하였다. 시술전 초음파에서 우측 신장에 9.4x10x11cm크기의(172cc) 낭종이 발견되었다(A). 초음파 유도하에 21G 천자침으로 낭종을 천자하여 20 mCi ^{166}Ho -chitosan 복합체를 낭종내에 주입하였다(B). 주입 직후 시행한 감마카메라영상에서 방사능 집적이 낭종내에 국한된 것을 확인하였고(C), 1개월 추적 초음파영상에서(D) 부피는 47cc로 감소하였고(27.3%) 29개월 추적 초음파영상에서(E) 낭종이 보이지 않아 완전관해된 경우이다.



A.

B.

C.

그림 13. 68세 남자 환자로 복부 통증을 주소로 내원하였다. 시술전 초음파영상에서 좌측 신장에 7x8x9cm 크기의(84cc) 낭종이 발견되었다(A). 21gauge 생검침을 이용해 천자 후 10mCi ^{166}Ho -chitosan 복합체를 낭종내에 주입하였다. 3개월 추적 초음파에서(B) 부피는 27cc로 감소하였고(32.4%) 30개월 추적 초음파에서(C) 낭종이 보이지 않아 완전관해된 경우이다.

IV. 고 찰

단순낭종은 그 치료 원리 및 방법은 간단하지만 시술중의 통증으로 대표되는 부작용과 잦은 재발로 인하여 수술적 제거, 배액술 등의 여러 종류의 치료가 시도되었으며 가장 효과적이라고 알려진 경화요법의 경우도 치료 방법이나 사용되는 경화제의 종류도 아직 정형화되지 못하고 있다. 단순낭종의 대표적인 것으로 신낭종과 간낭종이 있다. 신낭종의 경우 40대에서 20-30%, 60대에서 50% 이상의 유병률을 보이는 매우 흔한 질환으로 단순낭종의 경우 내부벽은 한층의 입방세포(cuboidal cell)로 덮혀있으며 그 원인은 정확히 밝혀져 있지 않으나 원위세뇨관(distal conlolut ed tubule) 혹은 집합관(collecting tubule)의 계실(diverticula)이나 폐쇄에서 기원하는 것으로 알려져 있다. 맑은 액체를 가지고 세포검사나 배양 검사에서 악성세포나 세포파괴물과 균이 없으며, 드물게 아무런 치료 없이 추적검사상 줄어들거나 없어지는 경우도 있지만 대부분의 신낭종은 서서히 크기가 커진다^{1,17,18}. 대부분 증상이 없이 우연히 발견되나 때로 낭종이 커지면 신피막(renal cortex)이 낭종에 의해 팽창됨으로 해서 통증이 발생하며 옆구리의 불편감이나 통증으로 나타난다^{19,20}. 또한 위장관의 압박함으로 비특이적 소화기 증상이 나타나거나 레닌의존성 고혈압(renin dependent hypertension), erythropoietin과 관련된 적혈구증가증(polycythemia vera), 폐쇄성 수신증(obstructive hydronephrosis)이 발생할 수 있다. 간낭종은 한층의 담도상피(biliary epithelium)로 덮혀있으며 담도와 연결은 드물며 크기가 커질경우 국소압박증상으로 통증, 종괴촉지 등이 나타날 수 있으며 심할 경우 호흡곤란, 하대정맥 압박에 의한 하지부종, 간문맥 압박에 의한 문맥고혈압(portal hypertension), 황달 등이 발생할 수 있다^{17,18}.

단순낭종이 발견되면 경화치료를 고려하기전에 치료하려는 낭종이 양성인지 악성병변인지를 감별하는 것이 중요한데 이는 약 4%의 신세포암(renal cell carcinoma)이 낭종으로 발현되어 단순낭종과 혼동되기 때문이다.

방사선학적 검사상 단순낭종의 특징을 확인하는 것이 중요하며 초음파영상에서는 액체를 포함하는 얇은 피막을 가진 병변이며 내부에코는 없고 초음파의 투과가 좋아 후방음향증강(posterior acoustic enhancement)가 보인다. 낭종벽은 규칙적이며 내부에 얇은 격막을 가질 수 있으나 두께가 1 mm를 넘지 않으며, 고형성분을 갖지 않는다. CT상에서의 감쇄계수는 0 - 20 HU정도로 낮지만 드물게 내부에 출혈 등이 동반되는 경우에는 60-100 HU정도를 보일 수도 있다^{21,22}. 초음파검사와 전산화단층촬영검사는 단순낭종과 다른 낭종과의 감별에 90%이상의 정확성을 갖는 것으로 알려져 있다. 위의 단순낭종의 진단기준에 들지 않는 복합낭종(complicated cyst)인 경우에는 일단 경화치료는 유보해야 한다. 낭종을 천자, 내용물을 흡입하여 낭종내 액체의 감염이 의심되는 경우에는 일단 도관을 설치하여 배액한 후 전신적 항생제치료로 감염을 조절하고 경화요법을 시행하여야 한다. 만약 낭종의 내용물이 출혈성이라면 배액되는 액체가 맑아질 때까지 경화치료를 연기해야 하며 반드시 세포검사를 시행하여 악성세포의 존재여부를 확인하여야 한다^{19,23}.

본 연구의 실험적 모델로 가토의 방광을 사용하였다. 낭종의 인위적 생성이나 경화요법의 실험적 연구를 위한 동물 모델에 관한 보고는 많지 않다. 쥐의 von Hippel-Lindau 유전인자를 억제하여 신낭종을 유발한 보고가 있으나 유전자 조작 등의 방법이 복잡하고 낭종 유발율이 30 % 정도이며 유발된 낭종의 크기가 작아 본 연구에 적합하지 않으며²⁴, 성견에서 수술적 방법으로 음낭수종(hydrocele)을 유발하여 각종 경화제의 효과를 실험한 보고가 있었으나²⁵ 이 역시 수술적 처치의 전단계가 필요하고 방법 역시 복잡하여 본 연구에 적합하지 않았다. 토끼의 방광은 조작이 쉽고 낭종을 만들기 위한 전처치가 필요없으며, 본 연구의 조직학적 소견에서 기술하였듯이 상피세포로 덮혀있는 점막층과 근층, 외벽층으로 구성되어 있어 상피세포층의 괴사정도의 관찰이 가능하고, 두께도 1-수mm 정도로 낭종벽의 두께와 비슷하여 낭종의 경화요법 모델로서 적합하였다. 이미 다른 경화요법 관련 연구에서 동물 모델로서 이용된 바가 있는데 다른 연

구에서는 토끼의 방광에 요도를 통하여 도관을 삽입한 후 경화제를 주입하고 그 변화를 관찰하였다²⁶. 이 경우 지속적으로 유입되는 소변에 의한 회석효과로 경화효과 측정의 정확도가 떨어지는 단점이 있어 본 연구에서는 마취, 개복 후 요관과 요도를 결찰하고 경화제를 주입하였으며 최장 3시간 이상의 결찰에도 이에 따른 부작용은 발생하지 않았다. 방사선조사 후에도 실험동물의 활동은 정상이었고 비뇨기계의 부작용에 따른 이상소견은 보이지 않았다. 본 연구의 결과에서 방사선량에 따른 상피세포층 및 근층의 변화의 구분도 뚜렷하여 낭종의 경화요법 치료의 동물모델 형성의 방법으로 요관 및 요도를 결찰한 토끼의 방광모델은 경화치료효과를 판정하기 적합하였다고 생각된다.

경화제로 사용되는 약제는 ethanol, tetracycline, minocycline hydrochloride, doxycycline, bleomycin, isophenylate, quinacrine, bismuth phosphate, acetic acid 등이 있다. 여러 경화제 중 ethanol은 95 - 100%의 농도를 사용하며 이전에는 주로 혈관조영술 하에서 신세포암 등의 종양을 치료하기 위해 사용되었으나 Bean에 의해 처음 단순낭종의 치료에 도입된 이후 가장 널리 사용되는 경화치료제 중 하나로 국소 주입시 세포막의 파괴, 단백질변성 등의 작용으로 낭종 내벽의 상피세포의 파괴를 유도한다^{6,27}. Tetracycline, minocycline, doxycycline, bleomycine 등의 경화제는 낮은 pH를 이용하여 세포에 강한 자극을 주어 염증반응을 유발하고, 이에 따라 유착이 발생하여 더 이상 액체의 생산을 못하도록 하거나 생산된 액체가 고이는 공간을 없앤다⁷. 본 연구의 동물실험에서 가토의 방광벽은 방사선조사 후 상피세포의 파괴 및 소실과 함께 고유판(lamina propria)과 근층의 염증세포 침윤을 보였으며 임상시험에서의 낭종의 완전관해는 이러한 기전에 의한 낭종액 생산차단과 염증에 의한 낭종 내강(lumen)의 유착으로 기인하였을 것으로 생각된다.

단순낭종의 치료에서 단순흡입술만을 시행한 경우 그 재발률이 80%에 이르며 1 회의 경화치료 후는 가장 보편적으로 사용하고 있는 ethanol의 경우 약 32% - 60%의 재발이 보고 되었다. Ethanol을 이용한 2회 이상

의 반복경화치료의 경우 더욱 효과적이라고 보고가 되고 있으며 70 - 97 %의 낭종이 완전소실된다고 보고되고 있다. 단순낭종의 경화요법시 시술자마다 배액도관(drainage catheter)을 삽입하기도 하고 삽입하지 않기도 하며 경화치료를 시행한 횟수도 다양하다. 그러나 일반적으로 도관을 삽입하지 않는 경우는 보통 1 회의 시술로 시행하는 것이 일반적이며, 도관을 삽입하는 경우에는 대개 수차례의 경화제 투여를 하며 몇 번의 치료를 할 것인지를 미리 결정하기보다는 치료 후 하루에 배액되는 양이 5 ml 이하가 되는 경우에 도관을 제거하여 치료를 종료한다. 낭종이 작은 경우에는 도관의 삽입 없이 1 회의 치료로 가능하지만 1 회의 치료만으로는 치료가 충분히 이루어지지 않거나 치료 후 재발하는 경우가 있으므로, 여러 차례의 경화치료를 하는 경우가 많은데, 이를 위해서는 도관 삽입이 필수적이다. 그러나 도관은 도관경로(tract)의 성숙(maturation)을 위하여 최소한 1-2주 이상의 유지가 필요하여 환자에 불편을 유발하고 입원기간이 길어지며 도관이 또다른 감염의 원인이 되기도 하며 출혈 등의 부작용이 발생할 수 있으므로²⁸ 같은 치료효과를 얻을 수 있는 경우 이를 피하는 것이 더 유용한 치료법이 될 수 있다. 본 치료법의 임상시험에서 이러한 도관의 삽입 없이 80% 이상의 완전관해와 부분완전관해를 얻을 수 있었고 이러한 치료효과는 도관을 삽입하여 반복치료를 시행한 다른 경화제의 보고된 치료효과와 비교하여 같거나 더 우수한 결과를 보여 시술의 유용성 및 편의성이 증명되었다.

낭종의 경화치료 후의 추적검사에서 내용물없이 완전히 소실되거나 약간의 액체가 남아 있을 수있다. 남아있는 액체가 있더라도 계속적인 추적 검사에서 그 액체는 저절로 소실되는 경우가 대부분이므로 성급히 다시 액체를 배액하려는 시도는 유보하여야 하며, 6개월 이상의 추적검사로 변화를 관찰하여야 한다. 어떤 경우에는 추적검사상 낭종의 크기가 일시적으로 커지는 경우가 있는데 대부분 6 개월 이내에 재치료 없이 자연히 소실되므로 경화치료 후 추적검사에서 다시 발견된 낭종들의 대부분이 낭종벽의 상피세포들의 잔존으로 인한 실제 재발이라기보다는 반응성 또는 염

증성 삼출액에 의한 일과성인 것으로 보인다. 그러므로 경화치료 후 추적 검사상 낭종이 계속 보일 때는 곧 재치료를 시행하기보다는 일단 6 개월 정도 추적검사를 시행하여 낭종 크기의 변화를 관찰하여야 하며 6개월 이후에도 계속 남아 있거나 추적 중 크기가 계속 커지는 경우에는 치료가 실패하거나 재발된 경우로 생각하여 다시 치료를 시도하여야 한다²⁹⁻³¹. 본 연구에서도 1-3개월의 단기추적검사에서 17.5%였던 완전관해 환자수가 12개월 이상의 장기추적검사에서 50%로 증가하였으며 5명의 무반응 환자 중 2명은 부분관해를, 2명은 부분완전관해의 결과를 장기추적검사에서 보여 단순낭종의 경화효과가 장기간에 걸쳐 진행됨을 알 수 있었다.

경화치료의 합병증으로는 경화치료를 위한 천자, 도관 삽입 등의 시술에 따라 발생하는 낭종내, 외 출혈, 동정맥류, 가성동맥류 등이 있고, 경화제가 낭종 밖으로 누출되면 통증을 유발하기도 하며, 심하면 주위조직의 섬유화를 일으킬 수도 있다. ethanol 주입 시 유발되는 통증은 주로 경화제의 화학적 성질에 의하여 낭종과 그 주변 조직에 분포된 신경을 자극하거나 도관 벽을 타고 ethanol이 복강 내로 새어 나와 발생하며 경화제가 혈관이나 요관 등으로 들어가면 혈전증이나 요관협착 등을 일으킬 수 있고, 그 밖에 일시적 체온상승, 감염 등의 합병증이 생길 수 있다^{3,28}. 본 연구의 임상시험에서 발생한 부작용은 1예의 미열이외에는 없었으며 특히 다른 경화제의 가장 큰 단점인 통증의 경우 80%의 환자에서 통증이 없거나 무시할 수 있는 미약한 통증을 호소하였는데 이는 ¹⁶⁶Ho-chitosan 복합체가 화학적 자극이 아닌 방사선 조사에 의한 세포괴사를 일으키며, 그 투과도가 낮아 주위조직에도 손상을 미치지 않기 때문이다.

베타선을 방출하는 동위원소 중 ¹⁶⁶Ho은 반감기가 26.8 시간으로 짧고 세포 괴사능력이 강한 베타방사선을 주로(95%) 방출함과 동시에 미량(5%)의 감마선을 내어 영상 진단과 방사선량을 정량적으로 측정할 수 있는 장점이 있으며, 비슷한 용도의 치료용으로 많이 이용되고 있는 Y-90, P-32, Re-186 등과 비교하여 값이 저렴하고 구하기 쉬운 ¹⁶⁵Ho를 이용하여 원자로에서 간단한 방법으로 얻을 수 있다. 또한 최대에너지가

1.85MeV로 높을 뿐 아니라 연부조직의 투과두께는 평균 1.23mm이며 에너지의 90%가 2.1mm이내의 두께에 축적되므로³² 낭종의 피막의 평균적인 두께인 1mm내외에 적당하여 낭종 내부에 주입될 경우 낭종벽에만 집중적으로 조사되며 주위의 정상 조직에는 거의 영향을 미치지 않을 것으로 예상되어 본 연구에 이 동위원소의 사용을 계획하였으며 실제로 본 연구의 동물실험 및 임상연구에서 주위 장기에는 아무런 해가 없음이 증명되었다. 이러한 특성은 종양의 치료에도 적용되었다. Brown 등은 인간의 유방암을 이식시킨 누드마우스에 ¹⁶⁶Ho에 미소구형입자를 붙여 주입 후 종양의 크기가 감소하였다는 보고를 하였으며³³ Bayouth 등은 ¹⁶⁶Ho을 DOTMP과 킬레이트를 만들어 정맥 주사하여 다발성 골수종에 사용하려는 시도를 하였다³⁴. 국내에서도 ¹⁶⁶Ho을 간암에 직접 천자하여 주입하거나 간동맥을 통하여 주입하여 치료하려는 연구가 활발히 진행중이며 이미 많은 환자에서 좋은 효과가 보고되고 있으며, 관절염이나 피부암의 치료에 이용되고 있다^{35,36}.

방사성동위원소를 치료목적으로 사용시 가장 중요한 점의 하나는 동위원소를 주위장기 누출없이 표적장기에 집적시킬 수 있는지의 여부로 반감기가 아주 짧은 동위원소를 사용하여 누출전에 대부분의 방사능이 감쇄(decay)되도록 하는 방법과 누출을 방지할 수 있는 담체(carrier)와 결합시키는 방법이 있다³⁷. 본 연구에서 사용한 ¹⁶⁶Ho-chitosan 복합체는 고분자의 키토산이 란탄계 금속과 강력히 결합하여 안정한 chelate를 이룬다는 점에 착안하여 한국원자력연구소에서 개발한 물질이다. 본 약제를 혈관을 통해 주입하기 위해서는 표적 장기에 집적시킬 수 있는 방법이 필수적인데 이를 위해서는 투여 즉시 약제가 원하는 부위에 머물러야 한다. 이 복합체는 pH 4.0 이하에서는 용액상태나 체내에 투입되어 중성인 체액과 만나면 점도가 증가하여 젤화 되므로 표적 장기에 머물 수 있다. ¹⁶⁶Ho-chitosan 복합체의 제조업체인 동화약품 중앙연구소의 보고에 따르면 pH 변동에 따른 물성 변화에 소요되는 시간은 체외 실험에서 ¹⁶⁶Ho-chitosan 복합체 용액(pH:약 3.0)을 중성용액에 주입하면 주입과 동

시에 겔화가 일어나며, 본 연구의 예비실험으로 ^{166}Ho -chitosan 복합체를 생리식염수에 혼합한 결과 즉시 겔화가 진행됨을 확인하였다. 낭종내부에 주입하였을 때 육안적으로 확인할 수는 없지만 투여 즉시 겔화가 일어나 낭종내부에 국소적으로 머물 것이라고 추정할 수 있으며 이는 본 실험의 감마카메라를 이용한 영상에서 낭종에 집중되는 것으로 증명하였다. Holmium은 주로 신장을 통하여 소변으로 배설되는데 ^{166}Ho -chitosan 복합체를 간암에 직접주입하여 치료한 보고에서 소변으로 배설된 방사능은 투여량의 0.17 % 였으며⁹, ^{166}Ho -chitosan 복합체를 류마티스관절염 (rheumatoid arthritis) 환자의 관절강내에 주입하여 방사선화액막제거술 (radiation synovectomy)을 시도한 보고에서 동위원소 주입 72시간 동안 요중으로 배설된 동위원소의 양이 주입량의 0.53 % 에 불과하여 ^{166}Ho -chitosan 복합체는 표적기관 외의 유출이 거의 없고 표적기관 집적률이 매우 우수함이 증명되었다³⁶.

본 연구에서 중성자(photon)와 전자(electron)의 에너지 이동의 상호작용(energy transfer interaction)으로 인한 방사선량은 한국원자력연구소에서 EGS4 code system을 이용한 Monte Carlo 시뮬레이션을 통하여 계산하였으며 에너지의 tracing cut-off 값은 중성자는 1keV, 전자는 10keV로 하였다. 동물실험에서 사용하였던 토끼의 방광과 임상연구에서 치료하였던 낭종을 구체로 가정하여 시뮬레이션의 표적기관을 구체로 하였고 구체 표면에서 0-0.5mm 내에 위치한 표적체에서의 ^{166}Ho 의 흡수선량률을 계산하고 이를 기초로 목표 방사선조사량을 위한 방사능량과 조사시간을 결정하였다. 방사선 흡수선량(radiation dosimetry)은 모형(phantom)을 이용하여 방사선선원을 설치하고 직접 방사선 조사를 하면서 표적영역에 전리함(ionization chamber) 또는 열형광 물질(thermoluminescence material)을 장치하여 방사선흡수선량을 직접측정하는 방법과 컴퓨터를 이용하여 방사선과 매질의 반응에 대한 시뮬레이션을 하는 방법이 있으며 이의 대표적인 방법으로 Monte Carlo 계산법이 있다³⁸⁻⁴⁰. 이 방법은 방사선과 매질의 반응시 나타나는 통계적특성(stochastic characteristics)를 효과적으로 계산

할 수 있어 혈관이나 장(intestine) 같은 복잡한 구조의 인체장기에서의 방사선 흡수선량을 정하는데 이용되고 있다¹².

방사성 동위원소를 이용한 체내방사선조사치료(internal radiation therapy)를 더욱 효과적으로 시행하기 위해서는 정확한 선량을 측정하는 것이 중요하다. ¹⁶⁶Ho는 자연상태에서 베타와 감마변이에 의해 자연 붕괴되며 조직 방사선량의 대부분은 베타선에 의한다. 투과성 방사선인 감마선에 의한 방사선량의 산출은 장기의 형태에 따라 다르나 ¹⁶⁶Ho의 경우 감마선에 의한 방사선량은 5% 이하로 감마선에 의한 방사선흡수선량은 총방사선량의 산출에 커다란 영향을 미치지 않는다. 베타선의 최대 침투 거리는 1.23mm로 베타방사능 흡수량의 측정은 주입한 동위원소가 낭종내에 균일하게 분포한다는 가정하에 산출이 가능하다⁴¹⁻⁴³. 본 연구는 낭종내부에 ¹⁶⁶Ho-chitosan 복합체를 주입하였으므로 베타선에 균등하게 분포하리라 가정하에 컴퓨터를 이용한 시뮬레이션으로 방사선량을 측정하였다^{12-15,44}. 그러나 이러한 시뮬레이션을 이용한 흡수선량의 계산은 비정형으로 생긴 인체의 장기나 종양, 본 연구에서의 낭종 등에는 정확하게 일치하는 것이 불가능하다. 현재까지 동위원소를 이용한 종양이나 관절염의 치료에 관한 보고는 이러한 흡수선량의 부정확성에 대한 문제점을 언급하고 있고 각각의 연구에서 투여한 방사능량은 이전의 경험이나 다른 연구에서 주입한 방사능량을 그대로 이용하고 있는 실정이다^{32,36}. 이러한 문제점의 보완을 위하여 본 연구에서와 같이 가장 실제장기와 근접한 모델을 이용하여 그 효과 및 안정성을 검증하는 것이 필요하며, 향후 ¹⁶⁶Ho-chitosan 복합체가 여러분야의 임상에서 이용되기 위해서는 여러 가지 비정형화된 인체 장기 모델에서 선량측정에 대한 기본적인 연구가 뒷받침되어야 할 것이다.

동물실험연구에서 계획하였던 목표선량은 20Gy로 이는 관상동맥(coronary artery)나 요도 등의 내부방사선치료(internal radiation therapy)에 관한 보고에서 그 효과 및 안전성이 검증된 방사선량으로^{45,46} 이를 적정방사선량으로 가정하여 적정방사선량 이하의 치료효과를 검증하기 위하여 10Gy 조사군을, 고선량의 방사선으로 인한 독성효과(toxic effect)의 검증

을 위하여 80Gy 조사군을 설정하였다. 20Gy의 조사량은 방광의 상피세포층을 방사선조사 4주와 8주 후에 100% 괴사시켜 효과적이었으며, 근층의 손상은 적어 낭종 상피세포 괴사라는 경화요법의 목적에 부합하는 적절한 조사량임이 증명되었으며 80Gy 조사군의 경우도 근층의 손상은 심하였으나 방광의 천공이나 주위장기의 손상된 예가 없어 고선량에서도 안정성을 확보할 수 있음이 확인되었다. 임상연구에서도 20Gy의 1회 조사로 87.5%의 완전관해 및 부분완전관해의 결과를 보여 치료가 효과적임이 증명되었다. 앞으로 20Gy와 80Gy의 중간 방사선량의 동물실험과 임상연구를 통하여 좀더 높은 방사선조사량이 단순낭종의 치료효과를 더욱 향상시킬 수 있는지의 연구도 필요할 것이다.

경화요법은 본 연구에서 치료에 적용한 간낭종, 신낭종 이외에도 여러 다른 낭성질환(cystic disease)에도 시도된 보고가 있다. 수술후 발생한 임프류(postoperative lymphocele), 낭성림프관종(cystic lymphangioma), 갑상선낭종(thyroid cyst), 포충낭(hydatid cyst), 동맥류성골낭(aneurysmal bone cyst) 등에 이러한 경화요법이 시도되고 있으나 아직 그 보고가 많지 않고 사용되는 경화제나 그 시술 방법이 연구자마다 다양하고 통증, 감염, 주위조직 손상, 전신부작용 등의 합병증과 도관을 삽입하여야 하거나 반복치료가 필요한 등의 시술의 편의성으로 인하여 통일된 치료방법에 대한 논의가 필요한 실정이다. ¹⁶⁶Ho-chitosan 복합체도 이러한 질환의 치료방법의 하나로서 적응이 가능하며 본 연구의 결과로 다른 경화요법에 비하여 더 좋은 효과를 기대할 수 있으며 향후 연구가 필요할 것으로 생각된다⁴⁷⁻⁵⁰. 또한 신장, 갑상선, 등에 발생하는 악성낭성종양의 치료에도 적용이 가능할 것으로 생각된다. 특히 낭성신세포암 (cystic renal cell carcinoma)은 악성 신장종양의 1-2%를 차지하는 종양으로 조직학적으로 내벽이나 격막(septum)이 투명암종세포(clear carcinoma cell)로 덮혀있는 구조이며, 전이가 적고 분화도가 좋은 저등급 (low grade)의 악성종양으로 종양이나 신장의 부분 절제로도 80% 이상의 생존률을 보이는 종양이다^{51,52}. 고령이나 전신상태가 수술적 치료에 부적합한 낭성신세포암

환자의 치료에도 ^{166}Ho -chitosan 복합체를 이용한 경화요법의 적용할 경우 낭종 내벽을 덮고있는 악성세포의 완전 괴사가 가능할 것으로 기대된다.

V. 결론

단순낭종은 간장, 신장 및 난소에 빈도가 많으며 일반적으로 작은 경우는 치료하지 않으나 점차 크기가 커져 여러 가지 임상증상을 나타냄으로 치료를 요하는 경우도 많으나 현재의 치료법으로는 수술을 제외하고는 완치하는 경우가 적고 재발의 빈도가 많으며 심한 통증 등의 부작용이 많아 새로운 치료법의 개발이 필요한 실정에서 본 연구는 낭종내 방사선조사라는 다른 개념의 치료방법을 제시하였다.

^{166}Ho -chitosan 복합체는 높은 에너지로 세포괴사효과가 뛰어나며 연부조직의 투과도가 낮고 체내환경에서의 gel화로 안전하며 감마선의 방출로 영상이 가능한 장점이 있으며, 임상에서 간종양과 관절염에 있어 안전하고 우수한 치료법으로 적용되고 있다. 이러한 이론적 배경과 임상 경험에 근거하여 계획한 본 연구의 동물실험에서 가토의 방광 모델은 조작이 간편하고 여러층의 상피세포층과 근층을 가지고 있어 경화제의 상피세포 및 주위조직의 괴사효과 정도의 측정이 용이하여 단순낭종의 경화요법 실험을 위한 적합한 동물모델로 증명되었다. 가토 방광 모델에서 ^{166}Ho -chitosan 복합체의 베타방사선은 20Gy의 방사선량에서 방광상피세포층과 근층의 일부층을 선택적으로 괴사시켜 효과적이었으며 주위조직에는 영향을 주지 않아 안전성을 확인하였다.

임상시험에서 낭종의 경화요법제로서 ^{166}Ho -chitosan 복합체는 다른 경화제에 비하여 통증이 매우 적어 환자의 거부감이 적었으며, 간 및 신장의 단순낭종의 1회 치료로 87.5%에서 부분적 완전관해 혹은 완전 관해의 치료성적을 얻어 다른 종류의 경화제로 반복 치료 할 때와 같거나 더 우

수한 치료효과를 보였다. 또한 다른 경화제의 경우처럼 반복치료를 위하여 도관을 삽입하거나, 경화제 주입 일정 시간 후 제거가 필요 없어 시술이 간편하며, 액상으로 되어 있는 다른 경화제와는 달리 낭종내에서 젤화가 일어나므로 21G의 가는 천자침으로 주입할 경우 낭종의 유출의 위험이 없어 우려되는 방사선피폭 등에 의한 부작용도 없어 치료효과가 우수하며 안전한 낭종의 경화요법제제로서의 가능성을 증명하였다.

앞으로 더 많은 증례와 더 오랜 기간 동안의 추적검사를 통한 효과와 안전성 및 장기 재발여부의 검증이 필요하며 단순낭종 이외의 양성 낭성 종양 및 낭성신세포암 등의 악성 낭성 종양의 치료에 적용을 위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Bisceglia M, Calliani CA, Senger C, Stallone C, Sessa A. Renal cystic disease. *Adv Anat Pathol* 2006;13:26-56.
2. Terada N, Ichioka K, Matsuta Y, Okubo K, Yoshimura K, Arai Y. The natural history of simple renal cysts. *J Urol* 2002;167:21-23.
3. 박석민, 한성태, 박석희, 전정수, 문영희, 이한진, 등. 간 및 신낭종의 경피적 에탄올 경화치료: 효과 및 추적검사. *대한방사선의학회지* 1994;30:253-258.
4. Lucey BC, Kuligowska E. Radiologic management of cysts in the abdomen and pelvis. *AJR* 2006;186:562-573.
5. 김종수, 정경호, 이상용, 이정민, 손명희, 송호영, 등. 선천성 낭종에서 경피적 알코올 경화치료법. *대한방사선의학회지* 1992;28:29-35.
6. Bean WJ, Rodan BA. Hepatic cysts: treatment with alcohol. *Am J Roentgenol* 1985;144:237-241.
7. 신세권, 권태범, 성훈, 김학진, 장경재, 전병희. Minocycline hydrochloride 을 이용한 신낭종의 경화요법. *대한방사선의학회지*. 1994;31:351-354.
8. Seo TS, Oh JH, Yoon Y, Lim JW, Park SJ, Chang SG, et al. Acetic acid as a sclerosing agent for renal cysts: comparison with ethanol in follow-up results. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2000;23:177-181.
9. 이종태, 김은경, 원종윤, 이도연, 이종두, 유내춘, 등. Holmium-166 키토산 복합체의 간동맥 주입에 의한 간세포암치료의 기초와 임상연구. *대한방사선의학회지* 2001;44:441-451.
10. Mumper RJ, Yun Ryo U, Jay M. Neutron -activated Holmium-166-Poly(L-lactic acid) microspheres : A potential agent for the internal radiation therapy of hepatic tumors. *J Nucl Med* 1991;32:2139-2143.
11. Suzuki YS, Momose Y, Higashi N, Shigematsu A, Park KB, Kim YM, et al. Biodistribution and kinetics of holmium-166-chitosan complex (DW-166HC) in rats and mice. *J Nucl Med*

- 1998;39:2161–2166.
12. Kim EH, Moon DH, Oh SJ, Choi CW, Lim SM, Hong MK, et al. Monte Carlo dose simulation for intracoronary radiation therapy with a rhenium 188 solution-filled balloon with contrast medium. *J Nucl Cardiol* 2002;9(3):312–318.
 13. Nelson WR, Hirayam H, Rogers DWO : The EGS4 code system. Stanford Linear Accelerator Center, SLAC 1985:256.
 14. Prestwich WV, Nunes J, Kowk CS : Beta dose point kernels for radionuclides of potential use in radioimmunotherapy. *J Nucl Med* 1989;30:1036–1046.
 15. Bardies M, Chatal JF. Absorbed doses for internal radiotherapy from 22 beta-emitting radionuclides: beta dosimetry of small spheres. *Phys Med Biol* 1994;39:961–981.
 16. Pedersen JF, Emamian SA, Nielsen MB. Simple renal cysts: relation to age and arterial blood pressure. *Br J Radiol* 1993;66:581–584.
 17. Sanfelippo RM, Beahrs OH, Weiland LH. Cystic disease of the liver. *Ann Surg* 1974;179:922–925.
 18. Friedland GW. Shrinking and disappearing renal cysts. *Urol Radiol* 1987;9:21–25.
 19. Dalton D, Neiman H, Grayhack JT. The natural history of simple renal cysts: a preliminary study. *J Urol* 1986;135:905–908.
 20. Evan AT, Coughlin JP. Urinary obstruction due to renal cysts. *J Urol* 1970;103:277–280.
 21. Lang EK. Renal cyst puncture studies. *Urol Clin North Am* 1987; 14:91–102.
 22. Meziane MA, Fishman EK, Goldman SM, Friedman AC, Siegelman SS. Computed tomography of high-density renal cysts in adult polycystic kidney disease. *J Comput Assist Tomogr* 1986;10:767–770.
 23. Clayman RV, Surya V, Miller RP, Reinke DB, Fraley EE. Pursuit of the renal mass: is ultrasound enough? *Am J Med* 1984;

- 77:218-223.
24. Rankin EB, Tomaszewski JE, Haase VH. Renal cyst development in mice with conditional inactivation of the von Hippel-Lindau tumor suppressor. *Cancer Res* 2006;66(5):2576-2583.
 25. Castillo Jimeno JM, Santiago AM, Sebastian JL, Ruiz JL, Perez Unzu A, Puras A, et al. Experimental surgical model of hydrocele for the use of sclerotherapy *Arch Esp Urol* 1990;43(8):819-828.
 26. 김영찬, 오주형, 윤엽, 고영태, 최우석, 김의중, 등. 경화제로서의 acetic acid의 유용성에 대한 실험적 연구. *대한방사선의학회지* 1997;37:233-236.
 27. vanSonnenberg E, Wroblecka JT, D'Agostino HB, et al. Symptomatic hepatic cysts:percutaneous drainage and sclerosis. *Radiology* 1994; 190:387-392.
 28. Kim SH. Renal cyst sclerotherapy. In Han MC, Park JH. eds. *Interventional Radiology*. Seoul: Ilchokak, 1999. p620-625.
 29. Hanna RM, Dahniya MH. Aspiration and sclerotherapy of symptomatic simple renal cyst: value of two injection of a sclerosing agent. *Am J Roentgenol* 1996; 167:781-783.
 30. Chung BH, Kim JH, Hong CH, et al. Comparison of single and multiple sessions of percutaneous sclerotherapy of simple cyst. *BJU Int* 2000;85:626-627.
 31. Fontana D, Porpiglia F, Morra I, et al. Treatment of simple cysts by percutaneous drainage with three repeated alcohol injections. *Urology* 1999;53:904-907.
 32. Johnson LS, Yanch JC, Shortkroff S, Barnes CL, Sitzer AI, Sledge CB. Beta-particle dosimetry in radiation synovectomy. *Eur J Nucl Med* 1995;22:977-988.
 33. Brown RF, Lidesmith LC, Day DE: 166-Holmium-containing glass for internal radiotherapy of tumors. *Int J Radiol Appl Instrum* 1991;18:783-790.
 34. Bayouth JE, Macey DJ, Kasi LP, Garlich JR, McMillian K,

- Dimopoulos MA, Champlin RE: Pharmacokinetics, dosimetry and toxicity of Holmium-166-DOTMP for bone marrow ablation in multiple myeloma. *J Nucl Med* 1995;36:730-737.
35. Lee JD, Yang WI, Lee MG, et al. Effective local control of malignant melanoma by intratumoural injection of a beta-emitting radionuclide. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002;29:221-230.
 36. Lee SH, Suh JS, Kim HS, Lee JD, Song J, Lee SK. MR Evaluation of Radiation Synovectomy of the Knee by Means of Intra-articular Injection of Holmium-166-Chitosan Complex in Patients with Rheumatoid Arthritis: Results at 4-month Follow-up. *Korean J Radiol* 2003;4:170-178.
 37. Noble J, Jones AG, Davies MA, Sledge CB, Kramer RI, Livni E. Leakage of radioactive particle systems from a synovial joint studied with a gamma camera: its application to radiation synovectomy. *J Bone Joint Surg Am* 1983;65:381-389.
 38. Al-Ghorabie FHH. Development of a computer code using the EGS4 Monte Carlo simulation system to evaluate the response of a NaI(Tl) detector to photons with energies below 300 keV. *Appl Radiat Isot* 2006;64:85-92.
 39. Lewis, D.G., Kilic, A., Ogg, C.A., 1995. Adaptation of the EGS4 Monte Carlo code for the design of a polarized source for X-ray fluorescence analysis of latinum and other heavy metals in vivo. In: Predecki, P.K., et al. (Eds.), *Advances in X-ray Analysis*, vol. 38. Plenum, New York, p. 579-583.
 40. Zaidi, H. Relevance of accurate Monte Carlo modeling in nuclear medical imaging. *Med. Phys.* 1999;26:574-608.
 41. Kwok CS, Prestwich WV, Wilson BC: Calculation of radiation doses for nonuniformly distributed beta and gamma radionuclides in soft tissue. *Med Phys* 1985;12:405-412.
 42. Howell RW, Rao DV, Sastry K: Macroscopic dosimetry for radioimmunotherapy: nonuniform activity distribution in solid

- tumors. *Med Phys* 1989;16:66–74.
43. Werner BL, Rahman M, Salk WN, Kwok CS: Dose distributions in regions containing beta sources: uniform spherical regions in homogeneous media. *Med Phys* 1991;18:1181–1191.
 44. Zavgorodni SF: A model for dose estimation in therapy of liver with intraarterial microspheres. *Phys Med Biol* 1996;41:2463–2480.
 45. Popma, JJ, Suntharalingam M, Lansky AJ, Heuser RR, Speiser B, Teirstein PS, et al. Randomized Trial of $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ –Radiation Versus Placebo Control for Treatment of In–Stent Restenosis. *Circulation* 2002;106:1090–1096.
 46. Shin JH, Song HY, Moon DH, Oh SJ, Kim JS, Kim TH, et al. Reduction of Tissue Hyperplasia with a Rhenium–188 Mercaptoacetyltriglycine–3filled Balloon: Preliminary Study in a Canine Urethral Model. *J Vasc Interv Radiol* 2004; 15:737–743.
 47. Tasar M, Gulec B, Saglam M, Yavuz I, Bozlar U, Ugurel S. Posttransplant symptomatic lymphocele treatment with percutaneous drainage and ethanol sclerosis: long–term follow–up. *Clin Imaging* 2005;29:109–116.
 48. Cho YS, Lee HK, Ahn IM, Lim SM, Kim DK, Choi CG, et al. Sonographically guided ethanol sclerotherapy for benign thyroid cysts: results in 22 patients. *Am J Roentgenol* 2000;174(1):213–216.
 49. Dubois J, Chigot V, Grimard G, Isler M, Garel L. Sclerotherapy in aneurismal bone cysts in children: a review of 17 cases. *Pediatr Radiol* 2003;33:365–372.
 50. Goktay AY, Secil M, Gulcu A, Hosgor M, Kraraca I, Olguner M, et al. Percutaneous treatment of hydatid liver cysts in children as a primary treatment: long–term results. *J Vasc Interv Radiol* 2005;16:831–839.
 51. Murad T, Komaiko W, Oyasu R, Bauer K. Multilocular cystic renal cell carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1991;95:6337.

52. Han KR, Janzen NK, McWhorter VC, Kim HL, Pantuck AJ, Zisman A, et al. Cystic renal cell carcinoma: biology and clinical behavior. *Urol Oncol* 2004;22(5):410–414.

Abstract

Sclerotherapy with Holmium-166 nitrate pentahydrate-Chitosan Complex in Experimental Cyst Model of Rabbit Bladder and Human Simple Cyst

Jong Yun Won

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Do Yun Lee)

Simple cyst is very common benign disease, particularly in kidney and liver of aging adult population. The etiology of simple cyst is not well documented. With increasing the size, some cysts may cause pain, infection, hemorrhage and some compression symptoms. Surgical resection or simple drainage have been attempted to treat those symptoms. Because of the surgery related morbidity and mortality and frequent recurrence after simple drainage, sclerotherapy has been tried to substitute conventional treatment. Various sclerosing agents have been used for the ablation of simple cyst. However, high recurrence rate and adverse effects such as pain and adjacent organ injury are still vexing problem and development of new safe and effective sclerosing agent is mandatory.

¹⁶⁶Ho-chitosan complex has a short half-life of 26.83 hours, shallow soft tissue penetration depth(mean 1.23mm) and 95% of high beta-energy(1.85 MeV). It is gelatinized in the environment of high pH more than 4.0 and can confine radioactive isotope in the cyst. We performed experimental and clinical study using ¹⁶⁶Ho-chitosan complex to determine the safety and effectiveness of this agent for the sclerotherapy of simple cysts.

The urinary bladders of a 20 male rabbits were used as the animal model of simple cyst. After laparotomy, ureter and urethra of each rabbit were ligated. We punctured bladder with 21 G needle and injected ^{166}Ho -chitosan complex with different radioactivity. After finishing the irradiation of bladder, we untied the ligation and closed the laparotomy wound. Experimental animals were grouped into normal control group(n=2), 10Gy(n=6), 20Gy(n=6) and 80Gy(n=6) radiation group. Two rabbits from each radiation group were sacrificed 1,4,8 weeks after the radiation respectively. The pathologic specimens of urinary bladders were obtained. The change of adjacent organ and the degree of necrosis of bladder lining epithelium and other layers were evaluated.

All animals showed normal activity and no mortality during the experimental period. On gross specimen of urinary bladder, there was no perforation or gross injury of adjacent organ. 10Gy radiation group showed partial necrosis of epithelial cell. 20Gy group showed complete necrosis of epithelial cell and less than 50 % of muscular layer. 80Gy group showed complete necrosis of entire layer of bladder. Those findings demonstrated 20Gy was adequate radiation dose for the eradication of epithelial lining and sclerotherapy using ^{166}Ho -chitosan complex could be a safe and effective for the clinical trial of human simple cyst.

On the base of the results of the animal experiment, clinical study was performed. Forty cysts in 35 patients were treated by sclerotherapy using ^{166}Ho -chitosan complex. The location of cysts are kidney(n=35) and liver(n=5). The indications for treatment were: pain(n=21), increasing size during follow-up(n=11), failure of previous ethanol sclerotherapy(n=4), hematuria(n=3), impending rupture(n=1). Under ultrasound guidance, 21G puncture needle was inserted in the cyst and whole cystic fluid was gently aspirated. Depending on the volume of the cyst, 10-30 mCi of ^{166}Ho -chitosan complex was administrated through the puncture needle. After the procedure, gamma

camera imaging was performed. Serial follow-up was performed with CT or ultrasonound. The volume changes of the cysts before and after the sclerotherapy were evaluated. According to the residual volume, the treatment effects were classified as complete regression (invisible), nearly complete regression (<15 volume% of initial volume), partial regression (15-50 volume%), and no response (>50 volume%).

The calculated volume of the cysts before sclerotherapy ranged from 16-257 ml. On gamma camera examinations, radioactivity was confined in the cyst without evidence of leakage. On the follow up images of 12-30months, 20 cysts(50%) showed complete regression, 15 cysts(37.5%) near complete regression, 4 cysts(10%) partial regression and 1 cyst (2.5%) showed no response. There was no procedure related mortality. No patients complained of significant pain during the procedure and no major or minor complications were encountered, except mild fever in one patient.

In conclusion, animal experiments proved sclerotherapy using ¹⁶⁶Ho-chitosan complex could induce complete necrosis of epithelial layer of animal cyst model without any local or systemic complication. Clinical trial resulted in 50 % of complete and 37.5 % of near complete regression of renal and hepatic cyst without any significant complication. We concluded ¹⁶⁶Ho-chitosan complex could be a new safe and effective sclerosing agent for the treatment of simple cyst.

Key Words : simple cyst, sclerotherapy, Holmium-166 chitosan complex, internal radiation therapy