대한방사선의학회지 2001;44:441 - 451

Holmium - 166 키토산 복합체의 간동맥 주입에 의한 간세포암치료의 기초와 임상 연구[1]

이종태 · 김은경 · 원종윤 · 이도연 · 이종두 · 유내춘[2] · 박경배[3] · 유형식

목적: Holmium - 166(Ho - 166) 키토산 복합체를 성견의 간동맥에 주입하여 동위원소인 Ho - 166의 체내분포와 간 조직에 미치는 영향을 알아보고, 이것을 기초로 간세포암치료에 적용하여 효과와 안정성을 입증하고자 한다.

대상과 방법: 기초연구로서 성견 6마리를 대상으로 Ho - 166 키토산 복합체를 20 mCi를 좌간동맥에 주입한 후 시간별로 혈액을 채취하여 시간별 혈액내의 베타선 방사능 농도(cpm)를 측정하고, 감마카메라를 이용하여 각 장기와 소변의 방사능 분포(%), 주입전후 혈액과 간기능검사를 시행하였으며 4, 8, 12 주후에 골수와 적출간의 병리적 변화를 관찰하였다. 임상연구로서 간세포암으로 확진된 25명의 간종양 (직경 3 - 9 cm) 25예에 산출된 치료방사능량의 Ho - 166 키토산 복합체를 미세도관을 통하여 종양혈류의 간동맥내로 주입후 감마카메라에 의한 전신 동위원소영상과 혈중 베타선 방사능농도(cpm)를 측정하고 혈액검사, 간기능검사를 주기적으로 하였다. 치료 후 3개월에 CT와 간동맥촬영소견을 종합하여 완전관해(complete response: CR), 부분관해(partial response:PR)와 변화 없음(non - response:NR)으로 치료효과를 분류하였다.

결과: Ho - 166 키토산 복합체 투여즉시 혈중 방사능 농도는 급격히 최고점으로 상승하였고, 급격히 감소하여 24시간 후는 거의 방사능이 검출되지 않았다. 소변으로의 배설은 투여량의 0.17%이었으며, 투여후 6시간까지 52 - 68%가 배설되었다. 각 장기의 Ho - 166 방사능분포율은 전신 방사능량 대비 간좌엽 25%, 간우엽 7%, 폐 3%, 방광 1.4 - 3% 및 골격 2% 이었다. 혈액검사는 백혈구가 1 - 3일에 증가하였으나 이후 감소하기 시작하여 혈소판과 함께 21일째 최저로 감소하였다. 골수 세포충실도는 25%로 감소하였다가 12주째 50%로 정상 대조군과 비슷하게 회복되었다. 병리조직학적으로 간은 비특이적인 변화를 보였다. 임상환자의 치료결과는 완전 관해 17예(68%), 부분 관해 5예(20%) 및 변화 없음이 3예(12%)였다. 치료직후 시행한 감마카메라 영상에서 76%(19/25)에서 종양에만 방사능이 집적되었고 백혈구와 혈소판 수치가 치료 전 수치의 50%이상 감소한 환자는 6예(12%)였으며, SGOT와 SGPT는 검사환자의 75%와 67%가 치료 1 - 3일에 2 - 3배 증가하였고 4주째 정상으로 환원되었다. 치료 합병증은 간농양 1예, 피부 발적 1예 및 간내 담즙저류가 1예 있었다.

결론: Ho - 166 키토산 복합체의 간동맥내 투여는 Ho - 166의 높은 방사능이 표적 간조직내 국한하여 집적됨으로 정상간과 타장기의 방사선 부작용 없이 결절형 과혈관성 간세포암의 새로운 치료법으로 이용될 수 있을 것으로 생각한다. 그러나 앞으로 임상에 도입하기 위해서는 정확한 종양 방사선량의 산출과 혈액학적 부작용 방법의 연구가 더 진행되어야 할 것이다.

간세포암의 치료방법 중 방사선 치료로서는 체외 및 체내로 나눌 수 있으며, 이들 중 체내 방사선 치료는 고에너지 방사선을 종양 내에서 집중적으로 조사하여 괴사시키는 방법으로 이는 주위의 정상조직에는 방사선 부작용을 최소화하고 특정의 종양부위에는 세포독성(cytotoxic) 용량의 방사선을 조사하는 방법이다 (1). 이에 이용되는 방사성 동위원소로서는 Iodine - 131(I - 131)과 Yttrium - 90(Y - 90), Phosphorus - 32(P - 32), Rhenium - 188 (Re - 188) 등이 있으며 이들 중

[1]연세대학교 의과대학 진단방사선과학교실
[2]연세암센타
[3]한국원자력연구소
이 논문은 2001년 1월 26일 접수하여 2001년 4월 11일에 채택되었음.

현재까지 임상적으로 간암치료에 이용되었거나 치료제로 사용되고 있는 동위원소로는 I-131과 Y-90이 있다 (2-8). 그러나 Y-90은 순수한 베타선으로 감마선이 없는 방사성 동위원소임으로 간내 주입시 감마카메라 영상을 얻을 수가 없는 것이 임상이용의 문제점이다 (3-7). I-131은 임파선 조영시 사용되는 유용성 리피오돌 내의 I-127를 I-131로 치환시켜 I-131 베타선을 이용하고, 리피오돌이 종양혈관에 선택적으로 집적되는 기전에 따라 간세포암을 치료하였고, 치료효과가 있다고 하였으나, 이 동위원소도 베타선 에너지가 낮고 반감기가 8일로 길 뿐 아니라 간동맥 주입시 주위 정상 간 조직, 폐 및 갑상선 등 전신장기의 유출로 인한 부작용이 지적되었다 (2, 9).

Holmium-166(Ho-166)은 Holmium-165(Ho-165)를 원자로에서 중성자로 조사하여 활성시켜 생성되며 95%가 베타선(Emax=1.84MeV, 반감기=26.9시간)이며, 감마선(0.081Mev, 1.38MeV)은 5%를 포함하고 있어 Y-90에 상응하는 높은 에너지를 가지고 있으면서 감마카메라영상을 얻을 수 있는 큰 장점이 있다. 이러한 Ho-166의 특성으로 1991년 Mumper 등(10)이 처음으로 간암치료의 이용가능성을 발표하였다.

이 연구에서는 한국원자력 연구소에서 개발한 Ho-166 키토산 복합체를 성견의 간동맥으로 주입하여 Ho-166 방사능의 체내분포 및 간 조직에 미치는 영향을 조사하고 이를 기초로 임상적으로 25명의 간세포암 환자에 적용하였다. 임상적용 결과를 분석하여 그 안정성과 효과를 입증하여 앞으로 간세포암치료제로 이용 가능성을 제시하고자 한다.

대상과 방법

Ho-166 CHICO의 생성

Ho-165 nitrate pentahydrate{Ho-165$(NO_3)_3 5H_2O$}를 NaOH에 용해된 NaBH4와 반응시키면H-165입자의 대응집(macroaggregate)이 생성되며 이를 원자로에서 neutron flux로 활성화시키면 Ho-166 nitrate pentahyrate{166-Ho$(NO_3)_3 5H_2O$} 용액이 된다. 키토산은 (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)이다. 키토산 용액을 pH 3.0에서 Ho-166과 반응시켜 생성된 Ho-166 chitosan 복합체를 초음파처리, 원심분리 및 미세처리 하였으며 1 ml 용액에 20 mCi 포함하는 무색의 액체로 제조한 것으로 한국원자력 연구소로부터 공급을 받아 사용하였다 (11).

동물실험 연구

a. 대상동물 및 방법

체중 10-16 Kg의 성견(Beagle) 6마리를 대상으로 하였다. 방법으로는 Xylazine HCL(바이엘코리아, 서울, 한국) 1 ml/kg과 Ketamine HCl (유한양행, 서울, 한국) 10 ml/kg을 정맥주사로 마취후 대퇴부동맥을 천자하여 3F 미세도관을 좌간동맥에 삽입한후 Ho-166이 20 mCi를 함유하고 있는 Ho-166 키토산 복합체를 주입하였다.

간의 방사선 흡수선량의 계산은 Wollner 등(12)의 베타선에 의한 흡수선량공식을 이용하였다. 연구자들은 간좌엽의 혈관을 선택하여 약물을 주입하였음으로 간좌엽의 용량을 기준으로 하였고 간의 중량은 Miller 등(13)이 제시한 공식에 따라 체중의 3%, 간좌엽은 전체 간의 30%로 계산하였다. 이와 같이 하여 Ho-166 20mCi 주입시 간의 평균 방사선 추정 흡수선량(estimated absorption dose)은 8,462±1,759 cGy로 정상 간세포가 손상을 받지 않은 간암의 치료용량이 된다.

b. 혈중 및 소변의 방사능측정

정해진 시간별로 혈액 및 소변을 채취하여 이중 200 μl를 Liquid Scintillation Analyser (Aloka 1000, Aloka, Tokyo, Japan)를 사용하여 베타선 방사능(radioactivity)농도를 count per minute(cpm)로 기록하였다. 혈액은 Ho-166 키토산 투여전, 15분, 30분, 1, 4, 12, 24, 48 및 72시간에 각각의 방사능을 cpm으로 기록하였고 소변은 0 (약물투여직후), 6시간, 12, 24, 48, 72시간에 각각 채취하여 cpm을 기록하였다.

c. 방사능의 체내분포

약물투여 직후 및 24, 48, 72시간 경과후 감마카메라를 이용하여 전신, 간, 간우엽, 간좌엽, 폐, 방광, 골격 등의 방사능을 cpm으로 기록함과 동시에 감마카메라 영상을 얻었다. 측정한 계수는 Ho-166의 자연붕괴계수(decay factor)를 계산하여 기록하였다.

d. 혈액학적 검사

약물 투여전과 후 1일, 3, 7, 10, 14일과 3주, 4, 6, 8 및 12주에 정맥혈을 채취하여 헤모글로빈, 헤마토크리트, 백혈구, 혈소판수치와 SGOT, SGPT, BUN, Creatinine 및 Alkaline phosphatase를 측정하였다.

e. 골수검사 및 병리조직검사

실험동물 6마리는 각각 4주, 8주, 12주에 2마리씩 희생시켰으며, 희생시키기 직전에 대퇴골 골수 생검을 시행하였다. 정상 골수소견과 비교 관찰하기 위하여 희생시킨 동물은 시술전 대퇴골에서 골수를 얻었다. 실험동물을 희생시킨 후 각 기관의 육안적 변화를 관찰하였으며, 간을 적출하여 주간동맥을 노출한 후 간동맥조영촬영을 시행하였다. 동시에 적출간의 간조직 현미경적 변화를 관찰하였다.

임상 연구

1. 연구대상 및 방법

1998년 4월부터 1999년 3월까지 초음파(US) 및 복부 전

산화단층촬영(CT)에서 종양이 발견되고 경피세포흡인생검 및 임상검사에 의하여 간세포암으로 최종 진단한 간암환자 25명을 대상으로 하였다. 대상환자는 남자가 23명, 여자가 2명이었으며 연령은 37세부터 79세(평균 54.3세)였다. 모든 환자는 Child 분류상 A 또는 B인 간경변 환자이며 HBsAg가 양성이었다. 대상이 된 종양은 간동맥촬영으로 결절형, 과혈관성인 단일 종괴였으며 종괴의 직경은 3 cm이상 9 cm 이하였다 (3 - 5 cm : 10명, 5 - 7 cm : 9명, 7 - 9 cm : 6명). 간동맥촬영상 동문맥단락(shunt)이 있는 경우는 대상에서 제외하였다. 모든 임상연구는 병원 내 임상시험위원회의 심의를 거쳤으며 환자의 동의를 얻었다.

Ho - 166 주입용량은 다음과 같이 계산하였다. 주입한 Ho - 166 방사능이 종양 내에 고르게 분포한다고 가정하고 Nelson 등(14)의 Monte Carlo code EGS4 simulation for Geometry와 Prestwich 등(15)이 제시한 베타선 에너지 흡수선량의 계산공식을 이용하였다. 이에 따라 종양직경 1 cm 당 20 mCi(740MBq)의 Ho - 166 방사능량이 적절한 것으로 제시되었고 키토산 용액 1 ml내에 30 mCi(1,110 MBq)가 포함되도록 조절하였다.

2. 시술

간동맥촬영으로 종양혈관을 확인한 후 3F 미세도관을 종양혈류공급의 간동맥 분지내로 삽입하여 종양 변연까지 진입시켰다. 선택적 간동맥촬영을 시행하여 종양혈관을 확인한 후 종양직경에 따라 산출된 Ho - 166 방사능을 포함하고 있는 키토산 복합체를 서서히 도관내로 주입하고 시술을 종료하였다.

3. 혈액내 베타선 방사능 측정과 감마카메라 영상

시술 종료후 전신혈액내의 방사능 유출정도를 측정하기 위하여 주입 종료후 5분에 5 ml 혈액을 채취하여 베타선 counter를 이용하여 혈액 200㎕ 당 cpm을 측정하였다. 또한 시술직후 및 24 시간 후에 감마카메라 촬영으로 간과 전신영상을 얻어 주입한 Ho - 166의 방사능의 종양내 집적유무와 정도 및 전신 방사능 분포를 관찰하였다.

4. 혈액 화학적 검사

치료 전, 치료 직후, 4주 후 및 8주의 환자의 백혈구, 혈소판 수치 및 AFP수치와 SGOT, SGPT, Bilirubin 수치를 검사하였다.

5. 치료효과 판정

치료 3개월 후 CT 및 혈관촬영을 시행하여 종양괴사 여부와 정도, 종양혈관의 소실여부 간실질의 변화를 관찰하였다. 종양치료결과는 완전 관해 (complete response: CR), 부분관해 (PR:partial response) 50% 이상과 50%이하 및 무반응 (NR:non - response)으로 구분하였다. 3개월 후 시행한 검사에서 반응이 없는 환자는 화학색전술을 시행하였고, 반응이 있는 경우에는 최소 6개월에서 26개월까지 추적 관찰을 하였다 (평균 14개월).

결 과

동물실험

6마리의 실험동물은 실험기간동안 약물투여와 관련된 증상은 관찰되지 않았으며 사망 예는 없었다.

a. 혈중 및 소변의 방사능측정치

시간별 혈중의 방사능 농도는 투여즉시 최고점에 도달하였다가 급격히 감소하였다 (Fig.1, Table 1). 시간별 소변의 방사능 측정치와 양을 곱하여 방사능 cpm으로 환산하여 전체 투여량 중의 소변으로 배출량을 알아보면 전체 투여량의 0.17%가 소변으로 배설되었고, 투여후 6시간까지 약 52 - 68%가 배설되었다. 시간경과에 따라 단위시간당 배설되는 방사능량은 감소하였다.

Table 1. Radioactivity of Blood with Time Interval (cpm/min)

Pre	15min	30min	1hr	2hr	4hr	12hr	24hr	72hr
29±4.9	31884±7853	22064±5343	13752±3543	10056±718	4496±342	2907±153	422±24	43±12

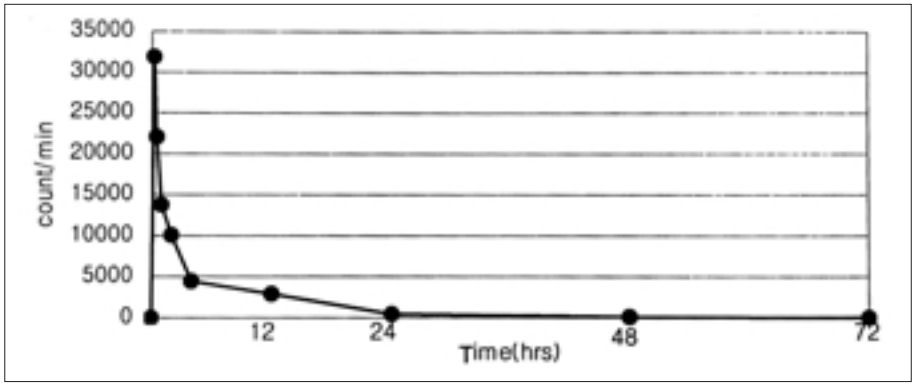


Fig. 1. Blood concentration of Ho-166 radioactivity(cpm).
Blood radioactivitity was acutely elevated immediately after intraarterial injection of Ho-166 chitosan complex and almost completely disappeared after 24 hours.

b. 방사능의 체내분포

투여직후, 24, 48 및 72시간의 감마카메라영상에서 좌간엽에 국한하여 방사능 집적을 보였으며 타장기 및 전신의 방사능 집적은 미약하였다 (Fig. 2, Table 2). 전신, 간좌엽, 간우엽, 방광, 골격, 폐에 대한 전신 감마카메라 측정값은 투여직후 및 시간이 경과하여도 일정수준의 값을 유지하는 것으로 보아 외부의 유출 없이 반감기에 따라서 방사능이 소실되는 것을 알 수 있었다. 투여 후 전신 평균방사능 cpm은 77,890 cpm으로 이를 100%로 하였을 때 각 장기의 축적율(%)은 간좌엽이 평균 25.0%, 간우엽 7%, 폐 3%, 방광 1.4-35 및 골격 2%로 간 좌엽이 타장기에 비해 월등히 높은 것을 알 수 있었으며 시간에 따른 변화는 유의하지 않았다 (Fig. 3).

간우엽 용적이 간좌엽에 비해 용적이 큼으로 단위당 평균계수(average count/pixel)를 산출한 결과 간좌엽과 우엽의 단위당 방사능량 계수는 1군에서 투여즉시 평균 7.6배 (6.2-9.2), 24시간후 7.9배(5.5-10.6), 48시간후 7.4배(4.5-13.9) 및 72시간후 8배(6.1-9.9)로 표적 장기인 간좌엽이 우엽에 비해 월등히 높은 방사능 집적율을 보였다.

c. 혈액검사

Ho-166 CHICO 투여에 의한 헤모글로빈과 헤마토크리트는 큰 변화가 없었으며, 백혈구 수치와 혈소판 수치는 약물 투여 후 10일부터 감소하기 시작하였으며 21일째 가장 감소하였으며 그 이후는 서서히 회복되었다.

간기능검사는 SGOT와 SGPT가 4예에서 투여 후 1일 후 상승하였으나 1예를 제외하고 모두 3일 후 정상으로 회복되었다. Alkaline phosphatase는 정상을 유지하였으며 BUN과 Creatinine도 특이한 변화가 각 군에서 없었다.

d. 골수검사 및 병리조직학적 소견

4주째 시행한 골수조직검사상 세포충실도는 25%로 감소되었고, 8주째 35%, 12주째 50%로 정상대조군 수준(40-50%)으로 회복되었다. 결과적으로 이 소견은 혈액검사상 백혈구와 혈소판 수치의 감소와 회복되는 시간과 일치하였다.

4주째 간조직의 변화는 간세포의 풍선양변성(ballooning degeneration) 및 소포성 지방변성이 관찰되었다. 8-12주째 간문맥과 중심정맥의 동양의 울혈(sinusoid congestion)이 관찰되었으나 괴사소견은 관찰되지 않아 치료용량으로 정상간의 변화는 비특이적인 것을 알 수 있었다.

이상의 동물실험결과로 간동맥으로 치료용량의 Ho-166 키토산 복합체 주입은 4주째에 백혈구, 혈소판 및 골수의 감소가 있으나 12주째 회복되었고 병리적으로 비특이적 변화를 보여 안전한 제재임을 확인하여 임상연구를 진행하였다.

임상 연구

a. 효과판정

치료 후 3개월 째의 분석으로 완전 관해가 17예(68%), 부분 관해가 5예(20%) (50%이하 : 4예, 50%이상 : 1예), 및 변화 없음이 3예였다 (Table 3). 변화가 없는 3예는 간암치료를 위해 화학색전술을 시행하였다. 반응이 있었던 22예 중 추적기간 중 2예에서 재발하였는데 각각 치료 부위와 치료 종양의 원위부에서 재발하였다.

치료환자중 사망 예는 3예 있었고 1예는 6개월에, 2예는 12개월에 사망하였다. 사망 원인은 치료와 무관한 전반적인 간기능 장애였다. 25예의 치료환자중 2예는 치료 후 6개월 후

Table 2. Radioactivity of Organ with Time Intervals (cpm/min)

	pre	24hr	48hr	72hr
Whole body	343896±9878	191364±5853	118990±4767	71874±2233
Liver (Lt.)	95780±2918	56708±980	29356±1004	13851±780
Liver (Rt.)	27405±881	14738±513	8906±167	4265±112
Lung	12133±478	6429±312	2716±103	1716±88
Bladder	5265±245	2706±113	1432±100	929±54
Bone	8157±229	4272±212	2165±98	1219±95

* Lt. : Left lobe, Rt. : Right lobe

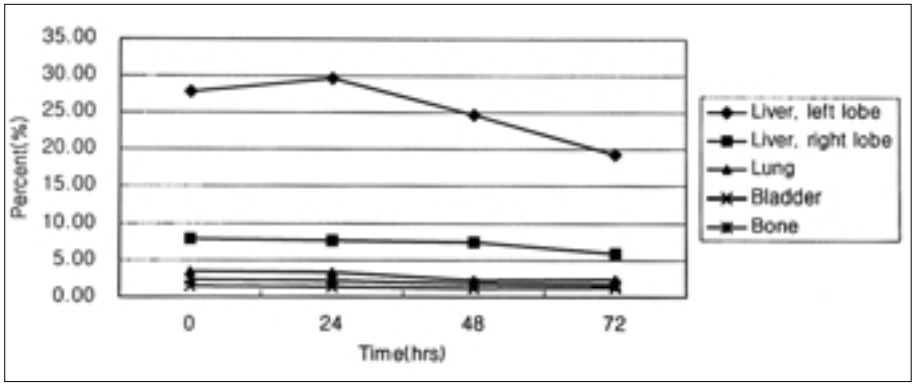


Fig. 2. Proportion of radioactivity of each organ per whole body(%).
High concentration of radioactivity in left lobe of liver(>25%) was seen, compared with other organ(<10%).

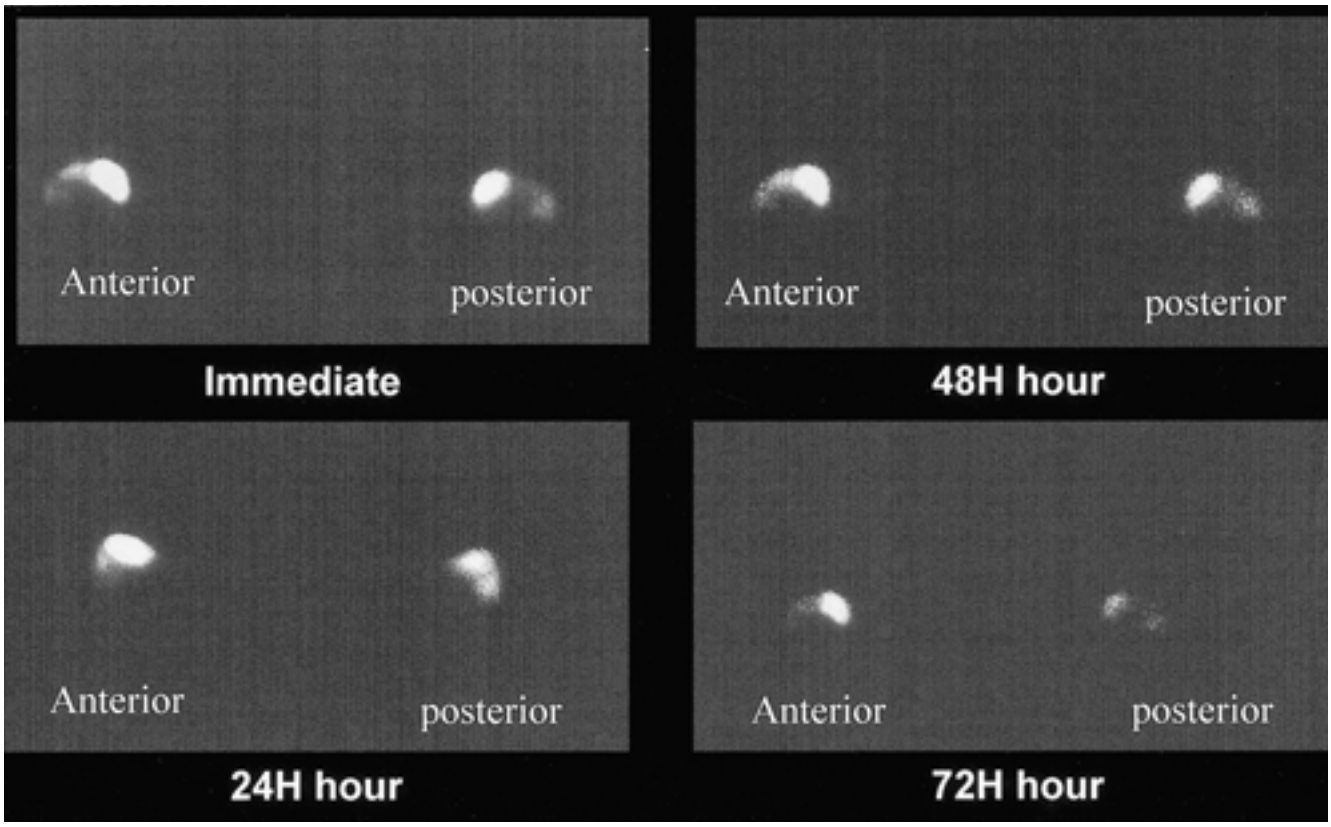


Fig. 3. Gamma camera scan of dog liver after intraarterial injection of 20 mCi Ho-166 chitosan complex into left hepatic artery. Radioactivities are well localized in left lobe without systemic distribution.

Table 3. Results of Treatment of Hepatocellular Carcinoma by Intraarterial Injection of Ho-166 Chitosan Complex after 3 months

Size of tumor(cm)	No. of Pts	CR	PR(>50%)	PR(<50%)	NR
3 - 5	10	9	1	0	0
5 - 7	9	5	2	1	1
7 - 9	6	3	1	0	2
	25	17(68%)	4(16%)	1(4%)	3(12%)

CR: complete response, PR : partial response, NR: Non-response

Table 4. Injection Dose and Radioactivity of Ho-166 in Blood

Size of tumor (cm)	No. of patients	Dose of Ho-166 (mCi)	Radioactivity(mean) (cpm/ 200 μℓ)
3 - 5	10	60 - 100	4,205 - 84,931(29,738)
5 - 7	9	110 - 140	47,421 - 133,704(71,912)
7 - 9	6	140 - 160	29,413 - 96,957(82,039)

에 종양제거수술을 받았으며 병리검사상 완전괴사로 종양세포가 발견되지 않았다 (Fig. 4). Fig. 5, 6은 완전 관해의 예로 치료 후 3개월째 CT와 간동맥조영촬영에서 종양 내부는 완전괴사되었고 종양주위의 원형의 음영증강소견을 보였으며 치료 12개월후 CT에서는 종양 주위의 간실질의 수축과 종양 괴사의 크기가 감소됨을 확인하였다.

b. Ho-166 키토산 주입량 및 혈중 농도

25명의 환자중 18예는 1회 치료하였고 나머지 5명의 환자는 2회 치료하였다. 이들 환자는 종양 직경이 5 cm 이상이고, 1회 치료시 주입 Ho-166 방사능량이 치료량 보다 적게 주입되었던 예로 1회 치료 후 1개월 이내에 2회 치료를 시행하였다.

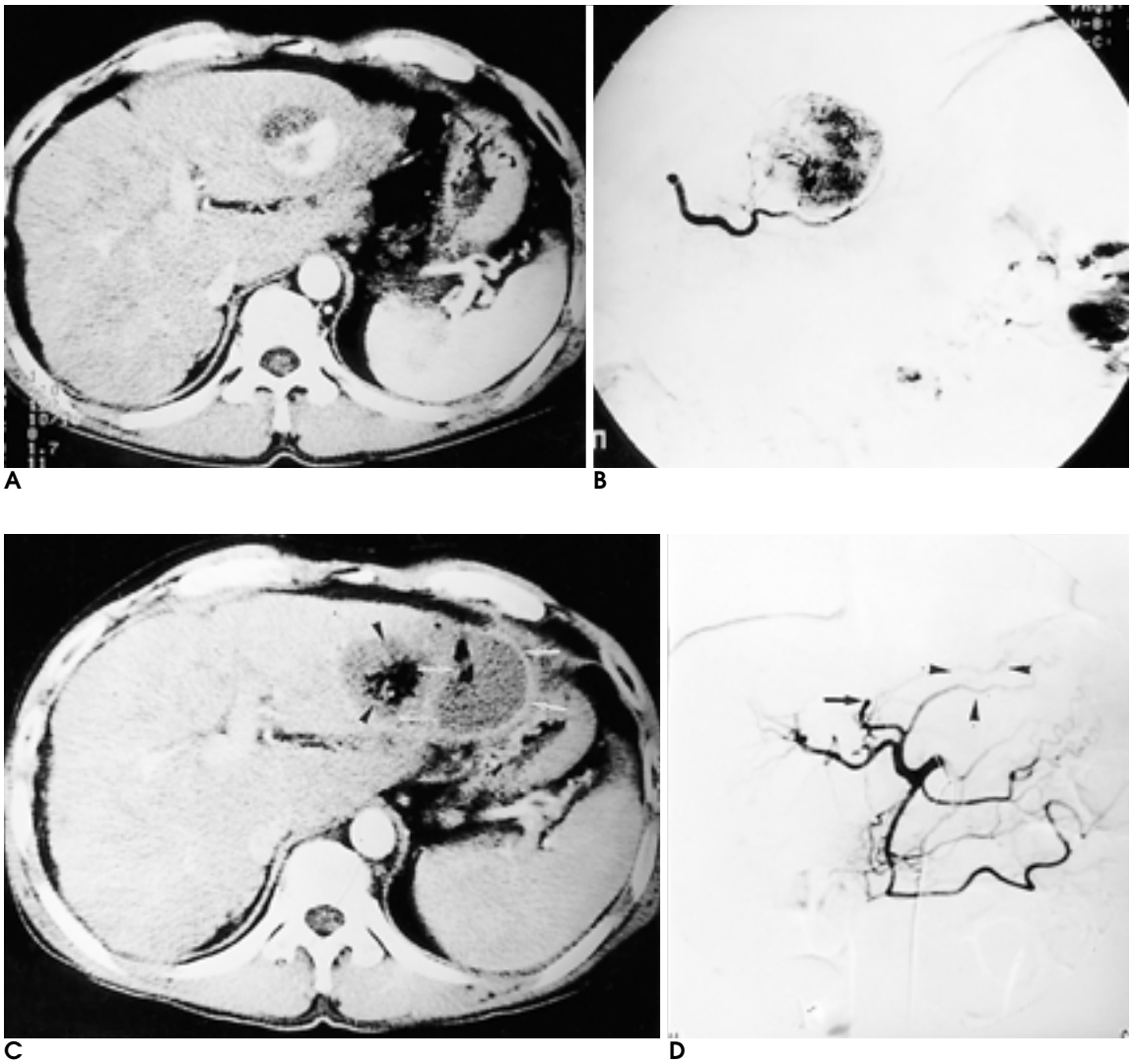
간세포암 종괴의 크기에 따른 Ho-166의 동맥내 주입 방사능량(mCi)과 5분 이내의 혈중 베타선방사능농도 (cpm)는 Table 4와 같다.

c. 감마카메라 영상검사

감마카메라 동위원소 영상상 환자 25명중 19예(76%)에서는 간종양에만 국한하여 방사능 집적이 있고 전신과 종양외의 장기에 방사능 분포가 없었으나 치료효과가 없는 3예, 부분 관해를 보인 2예 및 완전 관해된 1예에서 간종괴 외에 간 전체 및 전신에 미만성으로 방사능분포가 관찰되어 동정맥 단락에 의한 전신유출로 판단되었다.

d. 혈액 검사와 부작용

백혈구는 치료 후 1-3일에 치료 전보다 증가하였고 이후 감소하기 시작하여 4주째 최저로 감소하였으며 혈소판은 치료직후 감소하기 시작하여 4주째 최저로 감소하였다. 치료 후 4주째 백혈구와 혈소판 수치가 치료 전 수치의 75%이상이 9예(36%), 50-75%는 10예(40%), 30-50%와 30% 미만인 경우 각각 3예 (12%)였으며 그 이후 서서히 증가하여 12주



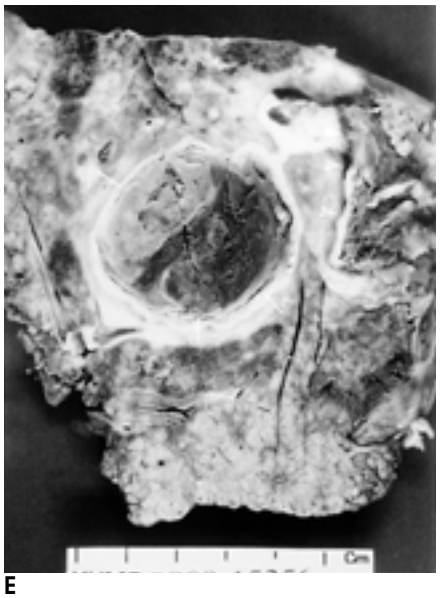


Fig. 4. Nodular HCC, 5 cm in size.
A. Contrast-enhanced CT shows arterial enhancement of mass in the left lobe of liver.
B. Superselective subsegmental hepatic angiography shows a hypervascular mass.
C. Contrast-enhanced CT, 3 months after intraarterial injecton of Ho-166 chitosan complex shows complete absence of arterial enhancement and central gas densities in the tumor (arrowheads) and associated abscess cavity (arrows).
D. Hepatic angiography 3 months after the treatment shows complete loss of tumor vascularity (arrowheads) and obstruction of the tumor supplying artery (arrow).
E. The resected hepatic specimen shows complete necrosis of HCC(arrows) surrounded by thick fibrous capsule and abscess cavity near the tumor(arrowheads).

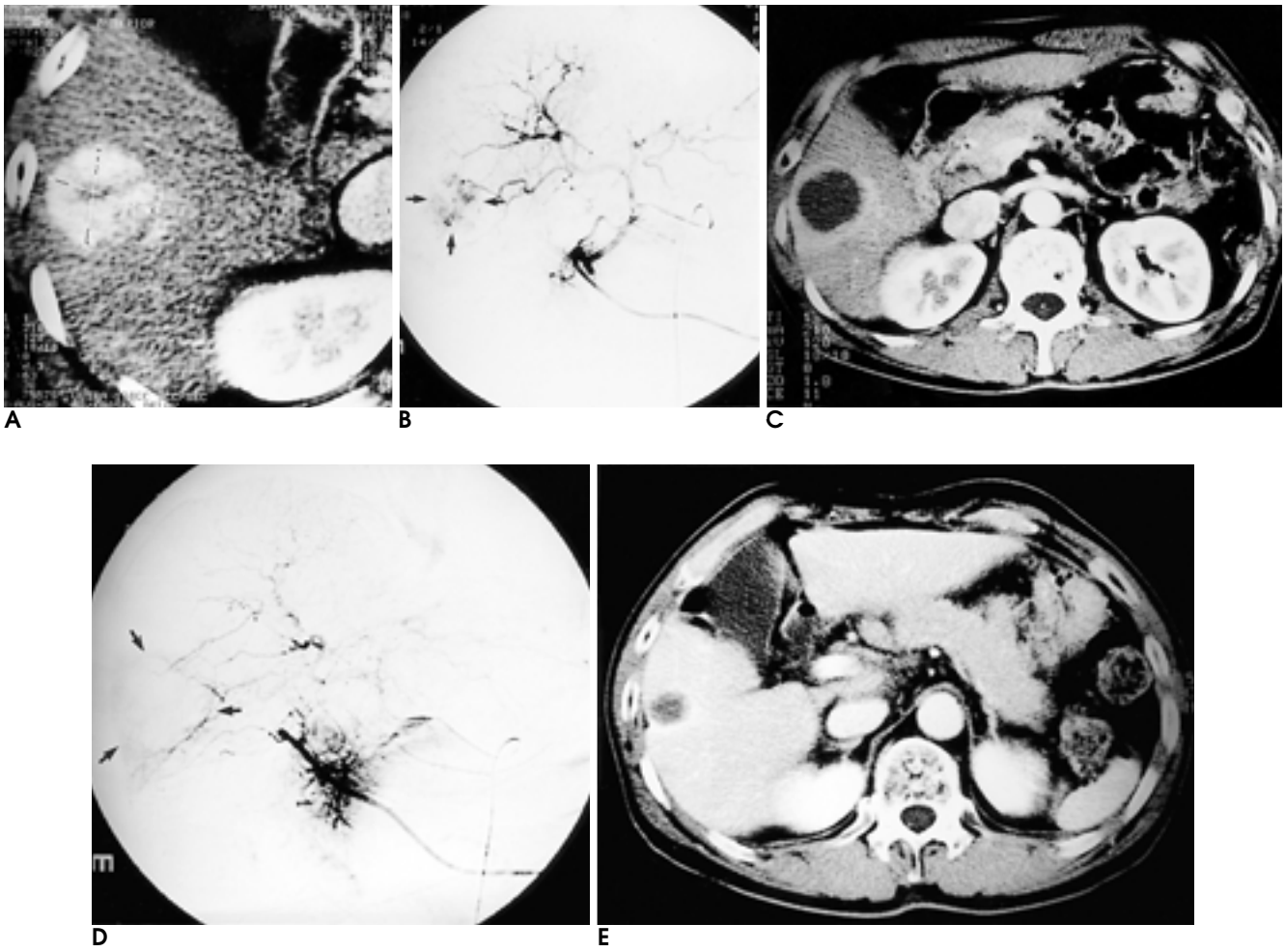


Fig. 5. Nodular HCC, 3.5 cm in size.
A. Contrast-enhanced CT shows homogeneously enhanced mass in the right lobe of liver.
B. Hepatic angiography shows vascular mass(arrows).
C. Contrast-enhanced CT, one month after intraarterial injection of Ho-166 chitosan complex, shows complete absence of arterial enhancement of mass, however, ring-like contrast enhancement at the outside of the tumor.
D. Hepatic angiography, one month after the treatment, shows faint staining around the dead space of treated tumor (arrows).
E. Contrast-enhanced CT, 24 months after the treatment shows a small cyst-like treated tumor and the minimal deformity of liver margin.

째 치료 전 수치수준으로 회복되었다.

SGOT는 12예중 8예(67%), SGPT는 16예중 12예(75%)가 치료 전 정상수치(<50IU/ℓ)에서 치료 후 1 - 3일에 2 - 3배 증가하였으나 4주째 치료 전 수치로 회복되었으며, biliru - bin, 및 alkaline phosphatase, BUN과 creatinine은 특이한 변화가 없었다.

Alpha - fetoprotein은 치료 전 검사상 100 ng/ml로 상승되었던 13예는 치료 후 종양이 완전 및 부분 관해를 보인 예로 1예를 제외하고 모두 정상 수준으로 감소하였으나 1예는 간외장기에 재발된 예로 상승하였다.

백혈구 및 혈소판 감소의 부작용을 제외한 합병증은 키토산 알레르기 반응으로 생각되는 피부 발적이 1예, 간농양 1예, 간내 담즙저류(biloma) 1예가 있었다.

고 찰

현재까지 간암의 체내치료에 이용되고 있는 방사성동위원소들은 Yttrium - 90(Y - 90)과 Iodine - 131(I - 131) 등이 있으며(2, 3 - 7), 앞으로 이용 가능한 동위원소로는 Holmium - 166과 Rhenium - 188 등이 있다 (8, 10, 11). 이들 방사성동위원소들은 공통적으로 높은 에너지의 베타선을 가지고 있으며 감마선은 함유하지 않거나 적은 양만을 포함하고 있다. 이 베타선은 연부조직 침투력이 약하여 표적장기 조직에 집중적으로 방사선조사가 이루어져도 주위 정상조직에의 방사선량을 최소할 수 있는 장점이 간종양 치료의 적용근거가 되고있다. 이와 같은 특성을 이용하여 Mantravadi 등(3)은 전이간암환자에서 Y - 90 microsphere를 간동맥내로 주입하여 전이간암치료의

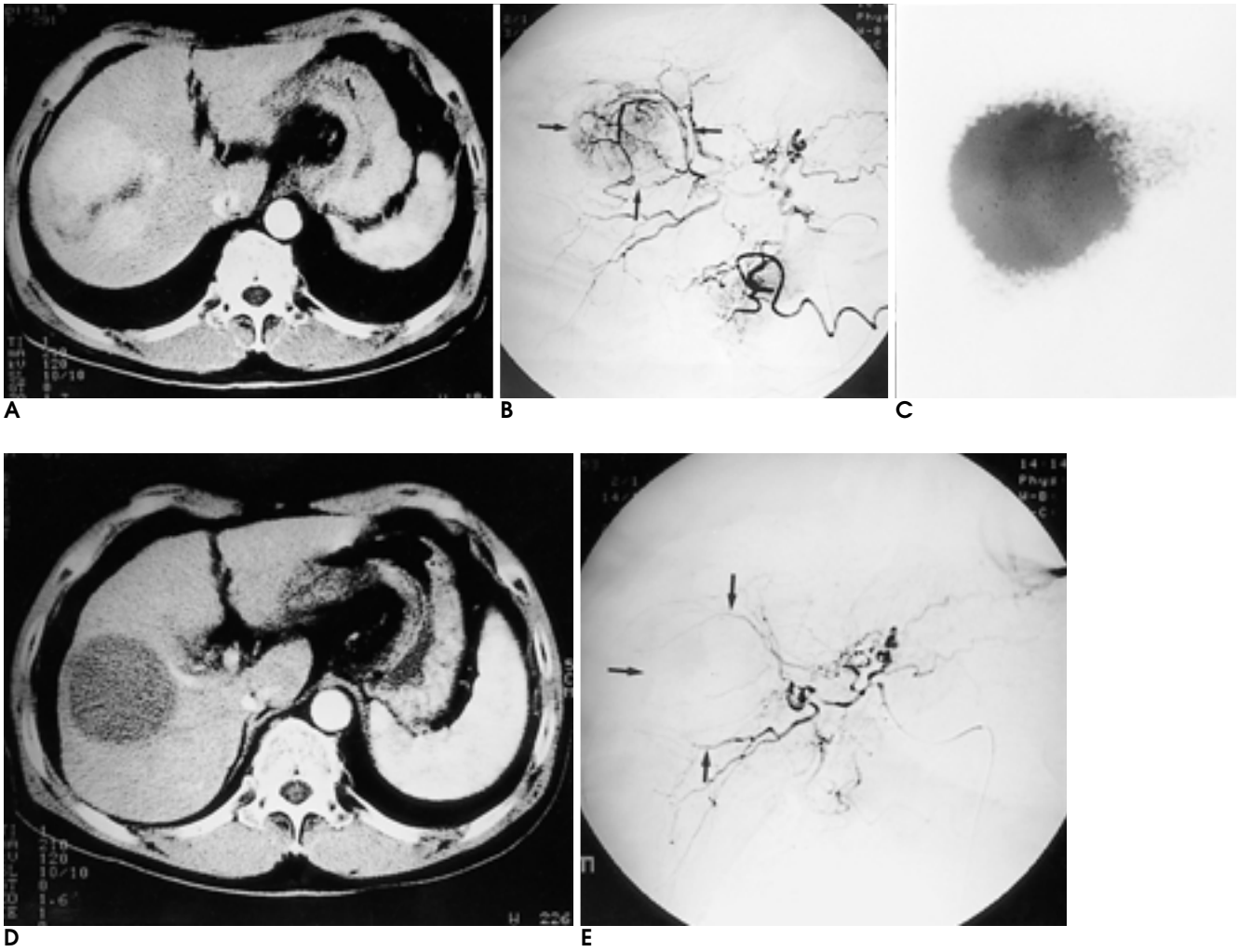


Fig. 6. Large and nodular HCC, 8 cm in size.
A. Contrast-enhanced CT shows homogeneous arterial enhancement of mass in the right lobe of liver.
B. Hepatic angiography shows hypervascular mass(arrows).
C. Gamma camera scan immediately after intraarterial injection of Ho-166 chitosan complex shows well-localized radioactivity of tumor.
D. Contrast-enhanced CT 3 months after the treatment shows complete absence of arterial enhancement of mass and normally appeared extra-tumoral liver parenchyma.
E. Hepatic angiography 3 months after the treatment shows complete loss of tumor vascularity (arrows).
F. Contrast-enhanced CT 18 months after the treatment shows reduction of the completely treated tumor and the marginal contraction of liver parenchyma.

경험을 처음으로 보고하였으며 이후 여러 저자들이 전이간암 치료에 Y-90을 이용하여왔다 (4-7).

Ho-166이 방출하는 방사선은 Y-90과 거의 같은 에너지 (Emax=1.84MeV)의 베타선이 95%이며 순수베타선만인 Y-90과 달리 5%의 감마선을 가지고 있어 감마카메라에 의한 감마선 영상을 얻을 수 있으며 연부조직 침투력이 평균 1.23 mm(최대 8 mm)로 간종양에 주입되면 집중적으로 종양에 방사선량을 투여하여도 종양 밖의 간조직의 방사선 선량을 최소화 할 수 있는 장점들이 있다 (10, 11). Mumper 등(10)은 Ho-166 polylactic acid의 미소입자를 동물 간문맥에 주입한

결과 Ho - 166의 방사능이 6일 동안 94.5%가 간 조직에 남아 있고 간외 장기에의 확산은 미약하여 간종양 치료물질로 이용 가능성을 처음으로 보고하였다. 백 등(16)도 흰쥐의 문맥에 Ho - 166 키토산 복합체를 투여하여 일주일 후 자가방사기록법(autoradiography)을 시행한 결과 90%이상 체내에 머무르고 대부분 간조직에 있으며 뇨와 변의 배설량은 4%로 극히 미미하였다고 보고함으로 Ho - 166의 간암치료동위원소로 이용 가능성을 뒷받침하였다.

본 연구에서 사용한 Ho - 166 키토산 복합체는 한국원자력연구소에서 개발하였으며 키토산은 게(crab)등의 껍질에서 추출한 무독성의 고분자 자연중합체(natural polymer)로서 란탄계의 금속과 강력히 결합하여 안정한 chelate를 이룬다 (11). 간세포암 치료에는 간종양에 주입된 물질이 종양내에 오래 머물고 주위 간조직이나 타장기로의 유출이 없어야 한다. 키토산 물질은 pH가 3인 산성에서 용액이며 체액의 pH가 6이상 되면 점차 점도가 증가하여 겔화하는 특성을 가지고 있다. 따라서 간동맥으로 이물질을 주입하면 사람의 체액이 pH 7임으로 종양내 혈액과 혼합되면 겔화 되어 종양내에 침전됨으로 Ho - 166방사능이 종양 외로 유출 없이 종양에만 방사선조사를 할 수 있을 것으로 추정된다. 방사성동위원소를 이용한 치료의 장점으로는 내부방사선조사에 의한 것으로 측부혈관이나 신생혈관생성 없이 암을 괴사시킬 수 있다는 점이다 (2, 9). 본 임상연구의 Ho - 166 키토산 복합체의 간동맥 주입 치료 후 6개월의 조영 CT 및 간동맥조영촬영상 완전 괴사된 간세포암의 예에서는 종양혈관과 종양주변 모든 혈관의 소실되어 빈 공간으로 관찰되었으며 종양에 혈류를 공급하는 측부혈관 또는 신생혈관 등은 발견되지 않았다. 그러나 치료 후 6개월 후 CT와 간동맥촬영상 종괴가 완전관해되어도 종양 연변에 띠모양의 조영증강이 관찰되었으며 이 소견은 시간이 경과하여 치료된 종양이 축소되면서 자연히 소실되었다 (Fig. 5). 이 등(17)은 경피적으로 간세포암에 Ho - 166키토산 복합체를 투여한 예에서 같은 현상을 보았고 원인은 병리적으로 종양주변부에 심한 염증세포 침윤이 있어 키토산의 성질에 의해 염증세포가 유인되어 주위조직의 섬유화에 의한 것이라고 하였다. 이 현상은 임상에서 치료 후 잔존종양여부의 판단에 중요한 소견이라 할 수 있다.

기초실험에서 개의 좌간 동맥에 주입한 Ho - 166의 감마카메라에 의한 각 장기의 방사능(radioacitivity) 분포를 관찰 분석한 결과 표적장기인 간좌엽의 집적선량은 25 - 26%로 낮게 나타났다. 이 결과는 Ho - 166이 간내에 90%이상 집적된다는 보고와는 큰 차이가 있다 (10, 16). 이러한 이유를 규명하기 위하여 알고 있는 일정 방사능 농도를 실험과 같은 조건하에 팬톰을 사용하여 스캔하였을 때 팬톰상태에서는 총방사능의 25%, 공기중 노출상태에서는 47%로 측정되었다. 즉 감마카메라 영상에서의 25 - 47%의 집적비율이 거의 투여량의 대부분을 반영하는 것으로 나타났다. 그러므로 본 실험에서 간좌엽의 집적비율이 25 - 26%는 투여량 대부분이 표적 장기 내로 집적된 것을 의미한다.

임상에서 방사능동위원소를 간동맥에 주입하였을 때의 문제점은 전신으로 유출이다. 원인으로는 동정맥 단락(shunt)과 방사성동위원소의 해리에 의하여 일어난다 (7, 12). I - 131 lip - iodol에 의한 간세포암 치료연구에서는 정상에서 I - 131의 폐와 간의 분포비가 1 - 4:10라고 하였으며 폐 조직에 의미 있는 변화는 없었다고 하였다 (9, 18). Wollner 등(12)은 정상 사람에서 99 mTc - MAA에서 평균 폐동맥 단락율은 평균 12.6 ±6%정도이나 투여량에 따라 변화한다고 하였고 폐동맥 단락을 알기 위하여 Tc - MAA 간동맥내 주입에 의한 측정이 필요하다고 하였다.

백혈구와 혈소판수의 감소는 간동맥내 치료에 중요한 문제점으로 동물실험과 임상에서 확인되었다. 이러한 감소는 Ho - 166 주입후 3 - 4주에 나타나고 이 시기는 동물실험상 골수의 세포충실도가 가장 감소하는 시기와 일치함으로 골수의 방사선 조사에 의한 골수 방사선장해가 주원인이라고 생각되고 12주째는 회복되는 것으로 가역적인 반응임을 알 수 있다. 그러나 치료시에 백혈구와 혈소판의 감소에 의한 2차 합병증의 예방에 주의하여야 할 것으로 생각된다. 한편 간기능검사는 동물실험에서는 약물투여전후의 간기능 수치는 통계적으로 의의있는 변화가 없었으나 임상시험에는 간동맥화학색전술 후에 나타나는 간기능 변화와 비슷하여 이는 간종양의 급격한 괴사로 인한 것이며 Ho - 166 방사능 자체에 의한 주위 간조직 방사선 장해로는 생각되지 않는다. Marn 등(19)은 Y - 90에 의한 간내 국소적 부종, 울혈, 및 미세 경색에 의하여 간실질의 CT 영상에서 저음영 소견이 국소적 혹은 미만성으로 나타나고 가역적 방사선 반응현상이라고 하였으나, 이것은 Y - 90가 종양외의 동맥분지에 주입되어 나타나는 것으로 생각된다. 본 임상연구에서는 종양 혈관을 선택적으로 도관을 삽입하고 주입함으로 치료 후 1예의 간농양과 담즙저류, 2예의 작은 간실질 괴사가 있었으나 Marn 등의 보고와 같은 CT 변화는 발견되지는 않았다.

본 임상연구에서는 치료된 종양의 낮은 음영과 공기음영이 괴사 종양내에 많이 관찰되어 방사선에 의한 급격한 괴사로 종괴내에 유리된 공기의 음영으로 판단되었으며 이 현상은 고식적인 화학색전술에서도 관찰할 수 있으나 흔하지 않은 것으로 알고 있다. 이런 종양괴사 변화는 이 등(17)이 간세포암내에 Ho - 166 키토산복합체를 경피주입결과 주입후 1일부터 종양괴사가 급격히 일어나고 있는 것으로 설명되며 주입용량의 양과 밀접한 관계가 있다고 하였다.

간내 치료를 위한 베타선량의 계산은 감마선의 경우보다 복잡하여 아직까지 여러 저자들의 일치된 산출방식은 없는 것으로 알려져 있다. 그러나 Wollner 등의 베타선량 산출방법을 제시하였고 다른 연구자들도 간세포암괴사선량으로 Y - 90의 간동맥내 주입시 200 - 400 Gy를 제시하면서 간 분절(segment)이 임상적으로 간장애가 발생하지 않는 흡수선량을 100Gy 이하라고 하였다 (1, 2, 6, 19). 본 연구에서는 동물실험은 Wollner 등(12)의 공식을 이용하였고 임상연구에서는 Monte Carlo code EGS4 simulation for Geometry (14, 15)에 의한 베타선 흡수선량을 이용하였다. 임상실험결과 간세포암종 직경 1 cm 당 20 mCi Ho - 166 용량이 충분한 종양 흡수선량

과 주위 간조직의 선량을 최소화 할 수 있는 방사능량으로 나타났다 (20). 그러나 간종양의 직경을 기준으로 하였을 때의 종양이 직경 3 cm이하의 작은 종양에서는 잘 합치가 되지만 종양이 큰 경우 종양은 체적으로 존재함으로 흡수선량에 문제가 있을 것으로 생각한다. 앞으로 임상에 이용하기 위해서는 종양크기에 따른 Ho-166의 선량측정 연구가 필요할 것으로 생각된다.

임상 연구에서 Ho-166 Chitosan 복합체의 간동맥 치료를 시행한 25명의 환자의 추적검사로 치료종양의 완전괴사 예가 17명(68%)으로 다른 연구자들의 간세포암치료로서 Y-90과 I-131을 이용한 결과와 비교하여 월등히 높은 치료성적을 나타내고 있다 (2, 7, 9, 19). 이것은 Ho-166 키토산 복합체의 오랫동안 침전으로 충분한 방사선조사, 동맥주입후의 감마카메라 영상화 및 기술적으로 최근의 미세 도관의 개발이용으로 간동맥 분지의 초선택 삽입이 가능한 점들에 기인한다고 생각한다.

그러나 이 치료법의 단점은 간세포암종이 결절형, 과혈과성이며 혈류의 간동맥이 분지가 1-2개이면서 동정맥 단락이 없는 경우에만 적용할 수 있다는 점이다. 그러나 간세포암 치료법의 다양화로 다른 치료법과 병용하여 이용되면 치료효율을 높일 수 있으리라고 확신한다. 따라서 앞으로 이 치료법이 보편적으로 이루어지기 위해서는 종양크기에 따른 정확한 방사능 주입량과 방사선량의 산출, 골수의 방사선장해로 초래되는 백혈구와 혈소판감소의 예방대책과 장기적 추적 검사에 의한 종양외의 각 장기의 방사선 장해 등의 연구가 더 이루어져야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Grady ED : Internal radiation therapy of hepatic cancer. *Dis Colon and Rectum* 1979;22:371-375
2. Yoo HS, Lee JT, Kim BS, et al : Nodular hepatocellular carcinoma treatment with subsegmental intraarterial injection of I-131-labeled iodized oil. *Cancer* 1991: 68:1878-1884
3. Mantravadi RVP, Spigos DG, Tan WS, Felix EL. Intraarterial yttrium 90 in the treatment of hepatic malignancy. *Radiology* 1982;142: 783-786
4. Herba MJ, Illescas FF, Thirlwell NP, et al : Hepatic malignancies: Improved treatment with intraarterial Y-90. *Radiology* 1988;169: 311-314
5. Andrews JC, Walker SC, Ackermann RJ, et al : Hepatic radioembolization with yttrium-90 containing glass microspheres: Preliminary results and clinical follow-up. *J Nucl Med* 1994;35: 1637-1644
6. Houle S, TCK Yip, Shepered FA, et al : Hepatocellular carcinoma : Pilot trial of treatment with Y-90 microspheres. *Radiology* 1989; 172:857-860
7. Shepherd FA, Rostein LE, Houle S, et al : A phase O dose escalation trial of Yttrium-90 microspheres in the treatment of primary hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1992;70:2250-2254
8. Wang SJ, Chen MN, Hsieh BT, et al : Biodistribution of rhenium-188 Lipiodol infused via the hepatic artery of rats with heptic tumors. *Eur J Nucl Med* 1996;23:13-17
9. 유형식, 이종태, 김기황 등. I-131-Lipiodol의 간동맥주입에 의한 원발성간암 치료의 기초 및 임상적 연구. *대한방사선의학회지* 1988; 24:288-299
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. Park KB, Kim YM, Kim JR : *Preparation of Ho-166 macroaggregate as a potential liver cancer treatment agent.* 5th Asian Symposium on Research Reactors, RI section. Seoul 1996:389-395
12. Wollner IRA, Knutsen C, Smith P, et al : Effects of hepatic arterial Yttrium-90 glass microspheres in dogs. *Cancer* 1988;61:1336-1344
13. Miller RA : *The digestive apparatus and abdomen*. In Evans ML, CH Ristensen TP. *Miller's anatomy of the dog*. Philadelphia : W. S. Saunders Company 1970:492-499
14. Nelson WR, Hirayam H, Rogers DWO : *The EGS4 code system. Stanford Linear Accelerator Center*, SLAC 1985:256
15. Prestwich WV, Nunes J, Kowk CS : Beta dose point kernels for radionuclides of potential use in radioimmunotherapy. *J Nucl Med* 1989;30:1036-1046
16. 백민선, 박경배, 김동현 : 흰쥐의 간문맥으로 투여한 166-Ho-chitosan의 분포와 배설. *응용약물학회지* 1997;5:233-238
17. 이연희, 이종태, 유형식 등. 마우스피하에 이식시킨 간세포암(SK-HEP1)에 대한 Holmium- 166의 효과. *대한방사선의학회지* 1998; 38:83-91
18. 김동익, 서정호, 유형식 등 : 간동맥으로 주입한 I-131 Lipiodol의 간조직에 미치는 영향 및 체내분포. *대한방사선의학회지* 1989;25: 548-563
19. Marn CS, Andrews JC, Francis IR, et al : Hepatic parenchymal changes after intraarterial Y-90 therapy : CT findings. *Radiology* 1993;187:125-128
20. 정정일, 한광협, 이종태 등. DW-166HC의 경피적 간종양내 주입의 안전성, 내약성 및 유효성에 관한 임상연구 : 제1상 및 제2상. *대한소화기학회지* 1998;32(suppl 1):120-125

대한방사선의학회지 2001;44:441 - 451

J Korean Radiol Soc 2001;44:441 - 451

Experimental and Clinical Studies on the Intraarterial Injection of Holmium-166 Chitosan Complex in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma[1]

Jong Tae Lee, M.D., Eun Kyung Kim, M.D., Jong Yoon Won, M.D., Do Yun Lee, M.D., Jong Doo Lee, M.D., Nae Choon Yoo, M.D.[2], Kyung Bae Park, Ph.D[3], Hyung Sik Yoo, M.D.

[1]Department of Diagnostic Radiology, Yonsei University, Korea
[2]Yonsei Cancer Center, College of Medicine, Yonsei University, Korea
[3]Korea Atomic Energy Research Institute

Purpose: The purposes of this study were to evaluate the biodistribution and effect of Ho-166 radionuclide by intra-arterial injection of the Ho-166 chitosan complex in dogs and to assess the clinical efficacy and side effects of this complex in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC).

Materials and Methods: In an experimental study, 20 mCi of Ho-166 chitosan complex was injected into the left hepatic artery of six adult dogs. The distribution of radioactivity in each organ was calculated using a gamma camera scan at regular intervals. A beta ray radioactivity count (cpm) of blood and urine was performed periodically, and hematologic and hepatic function were regularly assessed. At 4, 8 and 12 weeks after intra-arterial injection, bone marrow and liver were pathologically evaluated. Twenty-five patients with a single, nodular HCC mass 3 - 9 cm in diameter were treated by intra-arterial injection of Ho-166 chitosan complex, and immediately after the procedure a gamma camera scan was obtained. A beta ray radioactivity count(cpm) of blood was performed periodically, hematologic and hepatic function were regularly evaluated, and CT scans and angiograms were obtained 3 months after the procedure. On the basis of the CT and angiographic findings, the treatment effects were classified as complete (CR), partial (PR) or non-response(NR).

Results: In the animal study, blood radioactivity peaked immediately after injection and then declined rapidly. Urinary excretion was 0.17%. The proportion of radioactivity in each organ per whole body was 25% in the left lobe of the liver, 7% in the right lobe, 3% in the lung, 1.4 - 3% in the bladder, and 2% in bone. WBC and platelet counts declined maximally at 3 - 4 weeks and recovered at 12 weeks. The cellularity of bone marrow was 25% at 4 weeks and 55% at 12 weeks, findings which correlated well with the observed hematologic changes. In the clinical study of 25 HCC patients, CR was achieved in 17 (68%) cases, PR in 5 (20%) and NR in 3 (12%). At gamma camera imaging immediately after treatment, tumor radioactivity was localized in 76% of cases. In six cases (24%) WBC and platelet counts decreased 50% or more compared with their pretreatment level. In 67 - 75% of cases, SGOT and SGPT were, within 1 - 3 days, 2 - 3 times higher than their pre-treatment level, and recovered at post 4 weeks.

Conclusion: Ho-166 chitosan complex administrated intra-arterially localized the target organ with minimal side effects, and we therefore suggest that it may be used in the treatment of nodular and hypervascular HCC. Further study of its dosimetry and possible hematologic side reactions is needed, however.

Index words : Liver neoplasm, therapy
Radionuclides, therapeutic
Therapeutic radiology

Address reprint requests to : Jong Tae Lee, M.D., Department of Diagnostic Radiology, Yonsei University College of Medicine, 134 Shinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea.
Tel. 82-2-361-5837 Fax. 82-2-393-3035 E-mail: jtlee@yumc.yonsei.ac.kr.