

KAERI-CM-128/96

MASTER

Ho-166 표지화합물의 동물 및 임상시험

Animal experiments and clinical trials of ^{166}Ho -chitosan
for various cancers.

研 究 機 關
韓國原子力研究所
附設原子力病院

DISTRIBUTION OF THIS DOCUMENT IS UNLIMITED
FOREIGN SALES PROHIBITED

NT

科 學 技 術 處

DISCLAIMER

Portions of this document may be illegible in electronic image products. Images are produced from the best available original document.

KAERI-CM-128/96

Ho-166 표지화합물의 동물 및 임상시험

Animal experiments and clinical trials of ^{166}Ho -chitosan
for various cancers.

研 究 機 關
韓國原子力研究所
附設原子力病院

科 學 技 術 處

제 출 문

과 학 기 술 처 장 관 귀 하

본 보고서를 “ Ho-166 표지화합물의 동물 및 임상시험 ” 최종보고서로 제출합니다.

1997. 7. .

주관연구기관명 : 한국원자력연구소
부설 원자력병원

주관연구책임자 : 임 상 무
(싸이클로트론응용연구실)

연구 원 : 최 창 운
이 종 인
박 상 윤
손 영 숙
이 승 훈
김 석 준
김 은 회
우 광 선
정 위 섭
김 미 숙
김 병 기
김 종 훈
이 창 훈

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and the role of the accounting department in ensuring the integrity of the financial statements. It emphasizes the need for transparency and accountability in all financial reporting.

2. The second part of the document outlines the various methods used to collect and analyze financial data, including the use of statistical models and the application of advanced data analysis techniques. It highlights the importance of using reliable data sources and the need for regular updates to the financial information.

3. The third part of the document focuses on the role of the accounting department in managing the company's financial resources and ensuring that all financial obligations are met. It discusses the importance of budgeting and the need for regular monitoring of the company's financial performance.

4. The fourth part of the document discusses the various risks associated with financial reporting and the need for the accounting department to implement effective risk management strategies. It emphasizes the importance of maintaining accurate records and the need for regular audits to ensure the integrity of the financial statements.

5. The fifth part of the document discusses the various challenges faced by the accounting department in maintaining accurate records and the need for the department to implement effective controls to ensure the integrity of the financial statements. It highlights the importance of using reliable data sources and the need for regular updates to the financial information.

6. The sixth part of the document discusses the various methods used to collect and analyze financial data, including the use of statistical models and the application of advanced data analysis techniques. It highlights the importance of using reliable data sources and the need for regular updates to the financial information.

7. The seventh part of the document focuses on the role of the accounting department in managing the company's financial resources and ensuring that all financial obligations are met. It discusses the importance of budgeting and the need for regular monitoring of the company's financial performance.

8. The eighth part of the document discusses the various risks associated with financial reporting and the need for the accounting department to implement effective risk management strategies. It emphasizes the importance of maintaining accurate records and the need for regular audits to ensure the integrity of the financial statements.

9. The ninth part of the document discusses the various challenges faced by the accounting department in maintaining accurate records and the need for the department to implement effective controls to ensure the integrity of the financial statements. It highlights the importance of using reliable data sources and the need for regular updates to the financial information.

10. The tenth part of the document discusses the various methods used to collect and analyze financial data, including the use of statistical models and the application of advanced data analysis techniques. It highlights the importance of using reliable data sources and the need for regular updates to the financial information.

요 약 문

I. 제 목

^{166}Ho 표지화합물의 동물 및 임상시험

◆ 연구 세부과제

1. 세포독성
2. 흡수선량 평가
3. 난소암 복강내 전이 치료
4. 위암, 복강내 전이 치료
5. 낭종성 뇌종양 치료
6. 간암, 간동맥 주사 치료
7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 세포독성

위암과 난소암 환자의 치료 목적으로 ^{166}Ho -chitosan complex를 internal radionucleotide로서 복강 내 투여로의 임상 적용에 선행하여 ^{166}Ho 의 in vitro cytotoxicity를 사람 위암 혹은 난소암에서 유래한 암 세포주를 대상으로 MTT assay 법을 이용하여 조사하므로, 이의 임상 적용시 ^{166}Ho 의 세포사멸

효과 및 적정 dose 설정, 항암제 병용 투여의 적합한 regimen 설정 등을 위한 기초 자료로 활용한다.

^{166}Ho 단독 혹은 항암제와의 병용 치료에 의한 암세포의 세포독성을 정확히 평가할 수 있는 방법을 수립하고 이들 방법에 근거하여 dose regimen, 병용요법의 개발하고, ^{166}Ho 단독 혹은 항암제 병용에 의한 세포살상 기전을 연구하여 이에 근거한 살상 극대화를 위한 기술을 개발한다.

2. 흡수선량 평가

모사 실험에 의한 흡수선량 평가의 의의는, 체내에 주입되는 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 양과 표적 조직 및 장기의 흡수선량의 관계를 평가함으로써 원하는 흡수선량을 유도하기위해 요구되는 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 체내주입량을 결정하는 근거자료를 제공하는데 있다.

3. 난소암 복강내 전이 치료

^{166}Ho 은 반감기가 27시간이고 충분히 용해되므로 $^{32}\text{P-Chromic Phosphate}$ 단점을 보완할 수 있으며, 또한 이미 간암과 피부암에 적용하여 안전성과 효과가 입증되었다. 그러므로 본 연구에서는 1, 2차 치료 후에 재발성 또는 지속성인 난치성 난소암환자에 대하여 복강내에 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 투여한 후 독성(부작용 및 합병증) 확인하고, 본 약제 투입에 임상효과 및 예기치 않은 부작용의 발생 여부에 대하여 임상증세를 관찰하여 본 치료방법의 임상사용 가능 여부를 확인하였다.

4. 위암, 복강내 전이 치료

우리나라에서 암발생률과 암사망률이 가장높은 위암은 아직까지는 조기진단률이 낮기 때문에 진단당시 복강내 전이가 있든지, 치유절제술 후에 복강내 재발이 가장 많은 현실이다. 복강내 전이나 재발은 치유방법이 없어서 일단 진단이 되면 환자는 중심정맥을 통한 영양요법과 대증요법을 받을 뿐이었다. 따라서 비교적 다루기가 편하고 단시간의 조작으로 시술이 끝나는 ^{166}Ho -CHICO의 투여는 기대가 되는 치료법이다. 위암의 복강내 전이에 의한 복수가 있는 환자 중에서 치료법에 동의하고, 진신상태가 양호한(PS: ECOG class; 0-2) 환자에게 ^{166}Ho -CHICO를 투여하고, 치료반응과 간기능, 신기능, 조혈기능등을 비교하였다.

5. 낭종성 뇌종양 치료

뇌종양의 치료는 현재까지 수술적 제거와 방사선치료, 항암제 치료가 있으나 재발한 경우의 치료는 거의 불가능하다. 방사성동위원소를 종양내에 직접 투여하는 치료법이 소개되었으나 이 때 사용되는 ^{32}P , ^{198}Au 등이 단점이 많아 임상사용이 어려웠다. 최근에 국내에서 개발된 Ho-166-chico는 이러한 단점을 극복할 수 있는 방사성동위원소표지화합물로 생각된다.

본 연구는 낭성뇌종양환자에 Ho-166-chico를 직접투여하여 종양치료 효과를 객관적으로 판정하여 임상적 유용성과 나타날 수 있는 부작용을 연구하였다.

6. 간암, 간동맥 주사 치료

국내외에서 간암에 ^{131}I -lipiodol을 간동맥에 주사하여 치료를 시도하여 완전 관해 또는 부분관해가 보고되었고, 적은 양이 폐로 유출됨이 관찰되었으며, 감마선의 에너지가 커서 격리병실에 입원하여야 하는 단점이 지적되었다. 또한 방사성옥소의 승화현상이 작업종사자의 피폭을 증가시키는 문제등으로 널리 이용되지 못하였다. ^{90}Y 미소구나 유리입자를 동맥주사하는 치료도 시도되었으나, 아직 입자크기의 조절, ^{90}Y 의 표지 안정성등이 상품화단계까지 이르지 못하였다. ^{166}Ho -macroaggregate albumin등을 간암조직에 직접주입하는 치료가 최근 작은 종양에서 좋은 결과를 보이고 있고, ^{166}Ho -chitosan의 직접주사도 성공적이나, 크기가 큰(지름 4 cm 이상) 또는 여러개의 종양에는 아직 좋은 치료 방법이 없다.

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

방사선 활액막 절제술에 이용하는 방사성 표지 화합물은 방사성 핵종 운반체인 작은 입자와 이에 부착된 베타선 방출 핵종으로 구성된다. 베타선 방출 핵종의 경우 국내에서는 1993년 부터 ^{165}Dy 이 이용되었으나 반감기가 2.3시간으로 짧아 핵종을 생산하는 원자로에서 원거리에 있는 병원인 경우 이용하기에 어려움이 있었다. 방사성 핵종 운반체의 경우 그동안 국내외에서 이용된 것들은 비유기성 교질 또는 입자 형태로 관절외로 누출되어 비특적 장기에 방사능 피해를 주는 것이 문제가 되어왔다.

따라서 적절한 베타 에너지와 반감기를 가진 베타선 방출 핵종과 관절외로의 방사능 누출이 적거나 없는 방사성 핵종 운반체의 개발이 요구되어 왔다.

본 연구의 궁극적인 목표는 베타선 방출 핵종으로 반감기가 26.8시간으로 비교적 길어 핵종을 생산하는 원자로에서 원거리에 있는 병원에서도 이용이 가능한 ^{166}Ho 을, 방사선 핵종 운반체로는 유기물이며 수용성 형태로 제작 가능한 chitosan을 결합시킨 새로운 방사성 표지 화합물인 ^{166}Ho -chitosan을 개발하여 임상에서 방사선 활액막 절제술용 제제로 사용하고자 하는데 있다. 본 연구는 일차적으로 가토를 대상으로 생체 적합성 여부를 규명하고자 한다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 세포독성

가. 세포주 선정 및 MTT assay법 수립

나. ^{166}Ho 의 세포독성 평가를 위한 colony forming assay법 수립

다. ^{166}Ho , cisplatin 단독 혹은 병용 치료에 의한 세포 사멸의 기전 연구

2. 흡수선량 평가

^{166}Ho -chico의 Monte Carlo simulation code인 EGS4 (Electron Gamma Shower version 4)를 이용한 낭성뇌종양 흡수선량 평가

3. 난소암 복강내 전이 치료

1) OVCAR-3, SK-OV-3와 같은 난소암 세포주를 이용하여 MTT assay를 시행하여 ^{166}Ho -CHICO의 세포독성 및 cisplatin과의 병용효

과에 대해 관찰하였고 상용화된 ICR 마우스를 이용하여 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 독성시험

- 2) 전신 자가 방사기록법을 이용한 $^{166}\text{Ho-Chitosan}$ 의 마우스 복강내 투여 후 체내 동태연구를 시행하였으며, 흡수선량
- 3) 난치성 난소암 환자 5명을 대상으로하여 총 14회에 걸쳐 $^{166}\text{Ho-Chitosan}$ 을 투여하고 cisplatin 병합항암화학요법을 시행함으로써 임상 효과 및 부작용, 독성여부를 관찰.

4. 위암, 복강내 전이 치료

위암환자 1예에 대하여 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 30mCi를 3회에 걸쳐 peritoneal port를 통하여 투여한 후 임상적인 반응과 부작용, 독성여부를 관찰

5. 낭종성 뇌종양 치료

$^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 이용하여 8명의 낭성 뇌종양 환자 치료

6. 간암, 간동맥 주사 치료

2예의 간암환자에서 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 간동맥 가지에 주사하여 체내동태와 부작용을 관찰

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

- 1) $^{166}\text{Ho-Chitosan}$ 의 체외 안정성 검사
- 2) 가토를 이용한 체내 안정성 검사 및 생체 분포 검사

IV. 연구개발 결과

1. 세포독성

난소암의 경우 ^{166}Ho 에 상당한 저항성을 보였다. 그러나 cisplatin의 병용으로 저용량에서는 synergistic, 고용량에서는 additive 세포사멸 효과를 관찰하였다. 위암세포주는 대부분 ^{166}Ho 에 민감하게 반응 하였고 이 경우도 5-FU, cisplatin의 병용으로 세포사멸의 증가를 관찰할 수 있었다. 항암제와 ^{166}Ho 의 동시, 선처리, 후처리 등에는 세포 사멸 효과의 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

^{166}Ho 단독 혹은 cisplatin 병용의 경우 세포의 사멸 기전을 연구하기 위하여 ^{166}Ho 혹은 cisplatin 투여 후 세포내에서 진행되는 apoptosis 즉 DNA fragmentation, colony 형성능을 평가하였다. MTT 분석법에서 관찰한 synergistic 세포 사멸 효과를 DNA fragmentation, colony 형성능 평가에서도 관찰 할 수 있었다. ^{166}Ho 단독에 의한 세포 사멸효과는 저 용량의 항암제를 병용하므로 증가시킬 수 있으며 이연구의 확장 및 약동력학 연구를 통하여 임상 활용에 적합한 dose regimen을 결정할 수 있을 것이다.

2. 흡수선량 평가

낭내액에 확산되어있는 ^{166}Ho -CHICO에 의해 낭벽에 전달되는 방사선 흡수선량과 낭벽 표면에 결합되어 있는 ^{166}Ho -CHICO에 의해 낭벽에 전달되는 방사선 흡수선량을 계산하였다. 총 10 mCi의 ^{166}Ho -CHICO이 직경이 각각 1 cm, 2 cm, 3 cm인 구형 낭내액 및 낭벽 표면에 각각 균일하게 분포되어 있다고 가정하였다. 깊이 1 mm이내의 표적체에서의 선량에 대비하여 깊이 4 mm에서의 선량은 그 크기가 5% 이하로 감소되어있음을 알 수 있었다.

또한, 깊이 4 mm 까지의 표적체에서 흡수되는 총에너지를 100%로 보았을 경우에 1 mm 두께의 표적체에서 흡수되는 에너지 크기는 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm 깊이에서 각각 약 60%, 15%, 10%, 5%로 나타났다.

$^{166}\text{Ho-CHICO}$ 방사능의 크기와 낭벽표면에 결합되어있는 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 방사능의 크기를 각각 체적 밀도와 면 밀도로 나타내었을 경우에 동일한 값의 방사능 체적 밀도 및 면 밀도는 다른 크기의 낭 모델들에 대하여 비슷한 크기의 흡수선량을 유도함을 알 수 있었다.

한 임상예로부터 구한 98.1%의 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 낭벽표면 결합률을 적용한 흡수선량 평가자료와 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 낭벽 표면 결합 특성이 고려되지 않은 낭벽의 흡수선량 평가 자료를 비교하였을 때, $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 낭벽표면 결합 특성을 무시함으로써 약 98% 감소된 흡수선량을 얻을 수 있음을 알 수 있었다.

전신 자가 방사기록법을 이용한 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 마우스 복강내 투여 후 체내동태 연구에서 soluble 및 macroaggregated $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 C57 mice 복강내 주사 후 6 및 48시간의 전신 자가 방사기록에서 방사능이 모두 복강내 장기의 복막측 표면에 분포함을 알 수 있었고, soluble form이 macroaggregated form보다 더 고른 분포를 보였다. 표지 후 5일에 주사한 macroaggregated $^{166}\text{Ho-Chitosan}$ 의 분포는 간 및 척수 골수에 상당량의 방사능 분포를 보여 radiolysis 등에 의해 분해된 작은 입자의 흡수를 시사하였다. 한편 체내에 주입된 $^{166}\text{Ho-Chitosan}$ 에 의한 장기의 흡수 선량을 알기 위하여 computer를 이용한 모사실험을 시행하였는데 이 연구를 토대로 임의의 크기를 가진 구형 cyst에 있어서 주변 영역의 흡수선량의 예측이 가능하였다.

3. 난소암 복강내 전이 치료

난치성 난소암 환자 5명에 대해서 $^{166}\text{Ho-Chitosan}$ 복강내 투여 및

cisplatin based chemotherapy 병용 요법을 총 14회 시행하였다. 치료효과는 5명중 4명에서 부분적인 반응을 보였고, 1회에서 4도의 중증 설사가 있었으나 그밖의 독성은 ^{166}Ho -Chitosan투여와 관련이 없거나 차기 치료에 영향을 미칠 정도가 아닌 경미한 독성이었다.

4. 위암, 복강내 전이 치료

위암환자 1명에게 총 3회에 걸쳐 ^{166}Ho -CHICO를 30 mCi 식 투여한 결과 복수조절의 치료효과는 관찰할 수 없었고, 간독성, 신독성, 조혈기능독성도 없었고, 다만 발열반응만 제 1회 투여시에 관찰되었다..

5. 낭종성 뇌종양 치료

치료를 시행한 전체 여덟 명의 환자 중 여섯 명에서 종양의 용적이 감소하였다. 이중 두 명 (증례 4, 8) 에서는 치료 후 낭성 종양이 거의 없어졌다. 증례 7의 경우 종양 용적에는 유의한 변화 (낭종의 용적이 25% 이상 증가하거나 감소한 경우)가 없었으나 종양의 종괴 효과가 거의 없어져 뚜렷한 치료효과를 보였다. 증례 6의 두개인두종 1예에서 종양용적이 증가했는데 수술당시 종양 벽이 너무 두껍고 질겨서 수술적 제거가 어려웠던 경우로 종양 벽이 두꺼워서 낭내 방사선 조사에도 불구하고 위축되지 않았기 때문인 것으로 판단되었다. 세균감염은 8예 모두에서 관찰되지 않았고 동위원소 주입 후 주변 뇌조직의 부종에 의하여 일시적으로 좌측 부전마비가 더 진행된 예가 하나 있었으나 (증례 1) 후에 정상으로 회복되었다. 낭종이 뇌실과 거의 붙어있었던 4 예 (증례 2, 4, 5, 6) 중 1 예에서 (증례 5) 동위원소 주입 후 뇌실과 낭종 간에 교통로가 생겼으나 뇌실염 이나 뇌염, 혹은 뇌막염의 소견 등은 보이지 않았다.

시 종양 벽이 너무 두껍고 질겨서 수술적 제거가 어려웠던 경우로 종양 벽이 두꺼워서 낭내 방사선 조사에도 불구하고 위축되지 않았기 때문인 것으로 판단되었다. 세균감염은 8예 모두에서 관찰되지 않았고 동위원소 주입 후 주변 뇌조직의 부종에 의하여 일시적으로 좌측 부전마비가 더 진행된 예가 하나 있었으나 (증례 1) 후에 정상으로 회복되었다. 낭종이 뇌실과 거의 붙어있었던 4 예 (증례 2, 4, 5, 6) 중 1 예에서 (증례 5) 동위원소 주입 후 뇌실과 낭종 간에 교통로가 생겼으나 뇌실염 이나 뇌염, 혹은 뇌막염의 소견 등은 보이지 않았다.

이상 치료대상 8 명중 7 명에서 특별한 합병증 없이 뚜렷한 치료효과를 보았으며 앞으로 종양의 병리학적 종류에 따른 치료효과와 전체 생존기간에 미치는 영향 등 자세한 치료결과에 대하여서는 향후 계속적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

6. 간암, 간동맥 주사 치료

증례 1은 58세 남자환자로 1996년 3월 초음파검사상 지름 약 3 cm의 종양이 발견되어, 원자력병원 핵의학과에 방사성동위원소 치료를 위하여 의뢰되었다. 간우상부의 종괴에 혈류를 공급하는 간동맥가지에 ^{166}Ho -Chitosan complex 10 mCi를 간동맥 화학요법/색전술 직전에 투여하였다. 동맥가지의 혈류분포에 따른 ^{166}Ho -chitosan의 종양에 방사능의 집적을 확인할 수 있었고, 4주후 알파 태아단백의 급격한 감소($5352.9 \rightarrow 247.3 \text{ ng/ml}$)를 관찰하였다. 방사능에 의한 심각한 부작용은 없었다. 증례2는 1996년 6월 21일 항암제색전술(TAE) 직전에 10 mCi, 1996년 7월 19일 15 mCi, 1996년 10월 11일 21 mCi의 ^{166}Ho -Chitosan complex를 간동맥 주사하였고, 11개월간 매달 TAE를 시행하여 병의 진행이 정지되었다.

방사능에 의한 심각한 부작용은 없었으나, 치료후 알파 태아단백의 수치는 서서히 감소하였고, 12개월째에 폐전이가 진행되어 사망하였다.

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

체의 안정성 검사상 상온과 37℃에서 각각 25일간 분해되지 않고 안정하였고, 체내 안정성 검사상 주사후 2시간, 6시간, 24시간, 48시간의 측정치는 각각 99.9%, 99.9%, 99.8%, 99.7%로 거의 대부분이 관절내에 그대로 머물러 있었다. 생체분포 검사상 각 장기로의 누출률은 심장 0.71, 간 1.5, 방광 0.5, 비장 1.5, 폐 0.25, 뇌 0.26, 신장 0.81, 혈액 0.065(% Injected Dose $\times 10^{-3}$ /gram)으로 타 방사성 표지 화합물에 비해서 뿐만 아니라 베타성 방출 핵종은 ^{166}Ho 으로 같으나 방사성 핵종 운반체가 다른 ^{166}Ho -acetylacetone에 비해서도 우수한 결과를 보였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

1. 세포독성

^{166}Ho 와 저 용량의 항암제를 병용하므로 ^{166}Ho 의 세포 사멸 효과의 증가를 관찰 할 수 있었으므로, 두 약제에 의한 세포 사멸 기전을 규명하고 이에 근거한 조절제를 개발하여 ^{166}Ho 의 세포 사멸 효과를 극대화하는 연구를 장차 수행하여 임상 활용에 적합한 이상적인 dose regimen을 결정할 수 있을 것이다. 또한 ^{166}Ho 의 세포 사멸이 DNA fragmentation에 기인 함을 규명하였다. 이 결과는 현재 기초 분야에서 활발히 연구 중인 세포 apoptosis을 조절

하는 기술을 ^{166}Ho 세포 사멸 효과의 상승을 위해 활용 할 수 있는는 이론적 근거를 제시해준다.

2. 흡수선량 평가

^{166}Ho chitosan 복합체, 또는 ^{166}Ho -CHICO, 는 치료 이용에 적합한 ^{166}Ho 의 핵 특성과 임상 적용에 적절한 chitosan의 생화학적 특성 때문에 양성 뇌 종양의 낭내 방사선 치료에 그 활용이 기대되고 있는 물질이다. 본 연구에서 낭내벽의 흡수선량에 대한 보다 정확한 평가는, 기대하는 치료 효과를 유도하기 위한 처방을 결정하는데 중요한 근거 자료를 제공한다.

^{166}Ho -CHICO이 간암, 복강 전이암, 류마티스형 관절염 치료에도 그 효과가 기대되고 있는 바, 이들 치료법을 완성하는데에도 방사선 흡수선량 평가 작업이 필요하리라 여겨진다. 한편, 세포 또는 세포 내 소기관 등 생물학적 결정 표적에 대한 방사선 흡수선량 평가 체계를 확립하는 것은 생물체의 방사선에 의한 영향 연구를 활성화하는 계기가 될 것이다.

3. 난소암 복강내 전이 치료

본 연구결과를 이용하여 현재 기존의 치료방법으로는 효과를 기대할 수 없는 난소암에서 아직 완치를 기대할 수준은 아니지만 악성복수를 조절하는데 있어서 효율적으로 이용할 수 있으며, 부분적으로 통증의 조절도 이루어져 이로 인하여 남은 생존기간동안 삶의 질을 높일 수 있을 것이다. 또한 이런 말기암 뿐만 아니라 궁극적으로는 수술 후 남은 미세 종양을 치료하는데 이용하여 항암화학요법을 대체하여 완치의 효과를 기대할 수 있으며, 향후 이부분에 대해서도 2상 및 3상 임상실험이 필요하리라 사료된다.

4. 위암, 복강내 전이 치료

금년도 연구는 연구수행과정에 문제가 있어서 증례수 모집이 한예에 불과하였다. 제1상 임상시험은 증례수가 충분하지 못한 상태에서 결론을 내리기 어려우므로, 제1상시험의 증례수를 더 모으고, 중간결과를 토대로 가능할 수 있으면 제2상, 제3상 임상시험을 병행하고자 한다.

5. 낭종성 뇌종양 치료

$^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 이용하여 전이성 뇌종양환자 3 명을 포함하여 여덟 명의 낭성 뇌종양 환자를 치료하였다. 이들을 MRI나 CT로 판정한 종양 용적변화로 판단하였을 때 방사선학적 치료 반응율은 [71% (CR 1 + PR 4)/ 8]가 된다. 그러나 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 주입 후 종양의 용적에는 큰 변화가 없었어도 신경학적인 증상이 명백히 개선된 증례는 모두 7 예로 최대 치료 반응율은 87.5%에 달한다. $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 을 뇌 종양에 주사 후에 낭종에서 밖으로 새나온 경우는 없었으며, 전신적으로 흡수되어 합병증을 일으킨 경우도 없었다. 단 뇌실과 근접한 낭종의 경우에는 홀미움키코의 주입에 신중을 기하여야 할 것으로 생각되며, 이에 관해서는 더 많은 연구가 필요하리라고 생각된다. 이상과 같은 결과 낭성 뇌종양에 대한 홀미움키코 낭내 방사선 치료법은 안전하고 효과적인 치료법으로 추정되며, 향후 더 많은 기초연구와 임상 경험 이 필요할 것으로 판단되는 바이다.

6. 간암, 간동맥 주사 치료

2예의 간암환자에서 간동맥내 주사치료를 시도하여 체내동태 및 부작용을 관찰하였다. lipiodol과는 다른 분포양상을 보여, 부작용과 흡수선량평가등의 연

구가 계속되어야 한다. 크기가 크거나 여러개인 경우, 또는 위치가 수술이 불가능한 간암에서 간동맥내 ^{166}Ho -chitosan 주사는 직접주사치료와 함께 새로운 치료방법으로 활용될 것이다.

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

본 연구는 방사선 활액막 절제술용의 이상적인 방사성 표지 화합물을 개발하기 위한 노력의 일환이다. 새로운 방사성 표지 화합물인 ^{166}Ho -Chitosan이 방사선 활액막 절제술용 제제로서 이용되기 위해서는 먼저 생체 적합성이 확립되어야 하고 ^{166}Ho -Chitosan의 활액막에 미치는 영향에 대한 병리조직학적 연구가 있어야 하며 최종적으로 임상 실험이 이루어져야 한다.

일차년도 계획인 본 연구를 통하여 ^{166}Ho -Chitosan이 생체 적합성을 가짐을 증명하였다. 따라서 후속 연구로서 ^{166}Ho -Chitosan의 관절내 주사후 활액막 변화의 병리조직학적 연구가 뒤따라야 할 것이며, 장기적으로는 임상 실험까지 이름으로서 새로운 방사성 표지 화합물인 ^{166}Ho -Chitosan을 방사선 활액막 절제술용 제제로 사용하고자 한다.

S U M M A R Y

I. Project title : Animal experiments and clinical trials of ^{166}Ho -chitosan for various cancers.

- 1) A study for in vitro cytotoxicity of ^{166}Ho -Chitosan
- 2) Evaluation of radiation absorption dose with ^{166}Ho -chitosan
- 3) Intraperitoneal ^{166}Ho -chitosan therapy in patients with diffuse intraperitoneal metastatic ovarian cancer
- 4) Intraperitoneal ^{166}Ho -chitosan therapy in patients with metastatic stomach cancer
- 5) ^{166}Ho -chitosan therapy for cystic brain tumor
- 6) Intraarterial injection of ^{166}Ho -chitosan in primary liver cancer
- 7) ^{166}Ho -Chitosan as a radiation synovectomy agent
 - Biocompatibility study of ^{166}Ho -Chitosan in rabbits

II. Objective and Importance of the Project

^{166}Ho is a good therapeutic radionuclide because of its suitable half-life(26.8 hours), high beta energy and 6% gamma ray for imaging. Chitosan is a kind of N-glucosamine with 400 to 500 kD MW, which chelates metal ions and degrades slowly in vivo.

We evaluated the cytotoxic effects of ^{166}Ho -Chitosan complex in a variety of the cancer cell lines derived from human stomach cancer or ovary cancer based on MTT assay and HTCA method. We also attempted to elucidate the mechanism of cell death mediated by the

¹⁶⁶Ho-Chitosan complex .

Much higher radiation doses can be delivered to the peritoneal serosa by administering IP (intraperitoneal) radiocolloids (¹⁹⁸Au, ³²P, or ⁹⁰Y). The intraperitoneal administration of chromic phosphate suspension ³²P has been used as an adjunct in the treatment of ovarian cancer because of its theoretical potential to irradiate and destroy free or implanted malignant cell in the areas at high risk peritoneal surfaces, including the diaphragm.

Intracavitary radiation therapy is an effective method to treat the brain cystic tumor.

Large or multiple primary liver cancers are inoperable, and resistant to chemotherapy intraarterial in fusion of radioisotope such as ¹³¹I-lipiodol or 90Y-resin etc, showed limited efficacy without serious side effects. ¹⁶⁶Ho-chitosan is suitable for intraarterial injection, because this solution become gel with neutral pH.

Radiation synovectomy agents consist of radiopharmaceutical carrier, which have been tagged with, or which incorporate, beta-emitting isotopes. Chitosan, is ideal and suitable particles based on its soluble and biodegradable characteristics.

III. Scope and Contents of the Project

As a preclinical studies, we performed cytotoxic effect of ¹⁶⁶Ho-chitosan in a variety of cancer cell lines derived from stomach or ovarian cancer based on MTT assay and HTCA method. To evaluated the absorbed dose to the cavitory wall, ¹⁶⁶Ho-chitosan was injected into

the peritoneal cavity of mice, and whole body autoradiographs were taken at 6 hrs and 24 hrs later to determine the biodistribution and dosimetry. Simulation of energy transfer from the beta particles to the cavity wall using the Monte Carlo code EGS4 was done, and used as a standard for the planning therapy. The radiation absorbed dose to the cyst wall is assessed for different sizes of the tumoral cyst and a varying amount of ^{166}Ho -Chitosan complex, or ^{166}Ho -CHICO, administered into the cyst.

Intracavitary ^{166}Ho -chitosan therapy were tried in peritoneal metastatic ovarian and stomach cancers and cystic brain tumors to see the biodistribution, dosimetry, toxicity and responses. Intraarterial injection in inoperable primary liver cancer just before chemoembolization was also tried. As a radiation synovectomy agent, biocompatibility study in the knee joints of rabbits were performed.

IV. Results and Proposal for Applications

Ovarian cancer cell lines showed resistance to ^{166}Ho alone but showed synergistic cytotoxic effects at low dose combination and additive effects at high dose combination. Stomach cancer cell lines were sensitive to ^{166}Ho and showed additive cytotoxic effects with its combination of 5-FU and cisplatin. Similar cytotoxicity was observed in pretreatment, cotreatment, or posttreatment of ^{166}Ho and anticancer drugs.

When 10 mCi of ^{166}Ho -CHICO is uniformly bound to the cyst wall surface of a 3 cm-dia. cyst, the absorbed dose is 40.06 Gy, 14.96 Gy, 5.315 Gy, and 1.660 Gy at 1 mm, 2 mm, 3mm, and 4 mm in depth,

respectively. When 10 mCi of ^{166}Ho -CHICO is uniformly diffused in the cystic fluid of a 3 cm-dia. cyst, the absorbed dose is 601.7 Gy, 188.7 Gy, 73.87 Gy, and 20.78 Gy at 1 mm, 2 mm, 3mm, and 4 mm in depth, respectively.

97-99% of ^{166}Ho -chitosan was localized within the peritoneal cavity, and more than 90% of ^{166}Ho -chitosan was attached to the peritoneal wall. Partial responses were observed in 4 among 5 patients with ovarian cancer without severe toxicity. In the cystic brain tumor, 5 of 8 cysts were shrunk in size with thinning of the wall, 2 out of 8 showed growth retardation. In the primary liver cancer, radioactivity was distributed in the territory of selected hepatic arterial branch, and partial responses were observed in 2 cases. In the knee joints of the rabbits, more than 98% of ^{166}Ho -chitosan remained in the joint cavity and was stable upto 1 week.

^{166}Ho -chitosan seems to be safe and effective agent for the treatment of various cancers and radiation synovectomy, many clinical trials and good responses are expected.

CONTENTS

Chapter1. Introduction -----	24
Chapter 2. Status of the art -----	35
Chapter 3. Contents and results of the project -----	41
Part 1. A study for in vitro cytotoxicity of ^{166}Ho -Chitosan -----	41
Part 2. Evaluation of radiation absorption dose with ^{166}Ho -chitosan --	61
Part 3. Intraperitoneal ^{166}Ho -chitosan therapy in patients with diffuse intraperitoneal metastatic ovarian cancer -----	72
Part 4. Intraperitoneal ^{166}Ho -chitosan therapy in patients with metastatic stomach cancer -----	81
Part 5. ^{166}Ho -chitosan therapy for cystic brain tumor -----	81
Part 6. Intraarterial injection of ^{166}Ho -chitosan in primary liver cancer -	88
Part 7. ^{166}Ho -Chitosan as a radiation synovectomy agent ----- - Biocompatibility study of ^{166}Ho -Chitosan in rabbits	88
Chapter 4. The extent of research achievement and contribution--	110
Chapter 5. The application of research results -----	114
Chapter 6. References -----	118

목 차

제 1 장 서 론 -----	24
제 2 장 국내외 기술개발 현황 -----	35
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	41
1. 세포독성 -----	41
가. 난소암 세포주에서 ^{166}Ho 의 세포독성효과 및 cisplatin 병용효과---	41
나. 위암 세포주에서 ^{166}Ho 의 세포독성효과 및 cisplatin/5-FU 병용 처리효과 -----	46
다. ^{166}Ho 의 세포독성 평가를 위한 colony forming assay법 수립 ---	56
라. ^{166}Ho , cisplatin 단독 혹은 병용 치료에 의한 세포사멸의 기전 연구 -----	58
2. 흡수선량 평가 -----	61
가. 낭종성 모델 -----	61
나. 복강내 전이암 모델 -----	63
3. 난소암 복강내 전이 치료 -----	72
가. ^{166}Ho 의 세포독성에 관한 in vitro 연구 -----	73
나. ^{166}Ho -chitosan 독성 시험 -----	73
다. 전신자가 방사기록법을 이용한 ^{166}Ho -chitosan의 마우스 복강내 투여후 체내 동태 연구 -----	74
라. 흡수선량 평가 -----	74
마. 난소암 치료에 있어서 임상연구 -----	75

4. 위암, 복강내 전이 치료 -----	81
5. 낭종성 뇌종양 치료 -----	81
6. 간암, 간동맥 주사 치료 -----	88
7. 슬관절 체내동태 및 병리조직 소견 -----	88
가. ^{166}Ho 및 chitosan의 제조 -----	88
나. 수용성 ^{166}Ho -chitosan 제재의 종류 -----	98
다. ^{166}Ho -chitosan의 체내 안정성 검사 -----	98
라. ^{166}Ho -chitosan의 체외 안정성 검사 -----	99
마. ^{166}Ho -chitosan의 생체분포 검사 -----	99
 제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외 기여도 -----	 110
 제 5 장 연구개발 결과의 활용계획 -----	 114
 제 6 장 참고문헌 -----	 118

제 1 장 서 론

1. 세포독성

위암과 난소암 환자의 치료 목적으로 ^{166}Ho -chitosan complex를 internal radionucleotide로서 복강 내 투여로의 임상 적용에 선행하여 ^{166}Ho 의 in vitro cytotoxicity를 사람 위암 혹은 난소암에서 유래한 암 세포주를 대상으로 MTT assay법을 이용하여 조사하므로, 이의 임상 적용시 ^{166}Ho 의 세포사멸 효과 및 적정 dose 설정, 항암제 병용 투여의 적합한 regimen 설정 등을 위한 기초 자료로 활용한다.

^{166}Ho 단독 혹은 항암제와의 병용 처리에 의한 암세포의 세포독성을 정확히 평가할 수 있는 방법을 수립하고 이들 방법에 근거하여 dose regimen, 병용요법의 개발하고, ^{166}Ho 단독 혹은 항암제 병용에 의한 세포살상 기전을 연구하여 이에 근거한 살상 극대화를 위한 기술을 개발한다.

2. 흡수선량 평가

체내에 주입된 ^{166}Ho -chitosan complex (이하 ^{166}Ho -CHICO)에 의한 표적 조직 및 장기의 흡수선량을 computer를 이용한 모사 실험을 통해 평가한다. 모사 실험에 의한 흡수선량 평가의 의미는, 체내에 주입되는 ^{166}Ho -CHICO의 양과 표적 조직 및 장기의 흡수선량의 관계를 평가함으로써 원하는 흡수선량을 유도하기위해 요구되는 ^{166}Ho -CHICO의 체내주입량을 결정하는 근거자료를 제공하는데 있다. ^{166}Ho 으로부터 방출된 베타선이 인체 내에서 에너지를 전달하는 과정에 대한 모사 실험은 Monte Carlo simulation code인 EGS4 (Electron Gamma Shower version 4)를 이용하여 수행한다.

연구 대상으로 ^{166}Ho -CHICO를 이용한 남성뇌종양의 치료와 복강내 전이암의 치료를 위한 흡수선량평가 자료 생산이 설정되었다.

3. 난소암 복강내 전이 치료

난소암의 여성암 중 가장 치명적인 악성종양으로써 초기 증상이 불분명하여 진단 당시에는 이미 3기말 혹은 4기인 경우가 대부분이며, 5년 생존율이 40%미만으로써 최근 급격히 발달한 수술, 항암화학요법, 면역요법등의 각종 치료방법의 도입에도 불구하고 지난 30년간 생존율이 거의 향상되지 않았다. 더우기 기존의 치료 후에 재발한 경우에는 carboplatin, paclitaxel, ifosfamide, hexamethylmelamine 등의 2차 항암화학제의 단독 혹은 cisplatin과의 복합요법이 사용되고 있으나 치료반응율이 15 - 36% 정도로 보고되고 있을 뿐 아직 장기 생존율에 대한 보고는 거의 없으며, 그 기대효과 또한 미미한 실정이다. 따라서 새로운 치료 방법의 시도가 절실한 실정이다.

난소암은 특징적으로 복강내에 주로 국한되는 경향을 보이며, 뼈, 간, 폐, 뇌의 간질에 전이되는 경우는 매우 드물기 때문에 복강내의 복막 표면의 암세포를 확실히 제거할 수 있는 국소적인 치료 방법의 개발이 필요하였고, 이런 노력의 일환으로 항암제의 복강내 투여, 방사성 동위원소의 복강내 투여 방법등이 시도되고 있다. 이중 복강내 항암제 투여법의 경우는 초기인 경우 비교적 효과적이어서 이미 널리 사용되고 있으나 말기 및 재발성인 경우에는 아직 한계가 있는 실정이다. 이런 시점에서 최근 방사성 동위원소를 복강내에 투여하여 난치성의 난소암을 치료하려는 연구들이 보고되고 있으며, 원자력연구소에서 비교적 임상적 효용성이 높은 holmium을 개발하여 상용화함으로써 본 연구자들은 이를 이용한 난치성 난소암의 치료를 계획하게 되었다.

그러므로 본 연구에서는 i) in vitro에서 ^{166}Ho -CHICO와 cispaltin 병합의 synergistic cytotoxic effect를 확인하고 ii) 마우스에게 ^{166}Ho -CHICO를 투여한 경우 복강내의 분포 및 흡수선량을 평가하여 궁극적으로 iii) 1, 2차 치료 후에 재발성 또는 지속성인 난치성 난소암환자에 대하여 복강내에 ^{166}Ho -CHICO투여한 후 독성(부작용 및 합병증) 확인하고, 본 약제 투입에 임상효과 및 예기치 않은 부작용의 발생 여부에 대하여 임상증세를 관찰하여 본 치료방법의 임상사용 가능여부를 확인하였다.

4. 위암, 복강내 전이 치료

위암의 복강내 전이는 진행성위암의 경우 가장흔한 재발형태이며, 환자에게는 치명적이다. 이에대한 치료법으로 peritonectomy와 CHPP (Continuous Hyperthermic Peritoneal Perfusion) 치료법을 시도하고 있으나, 현실적 적용에 문제가 많다. 그러므로, 다루기가 비교적 간편하고, radiation hazard가 적은 ^{166}Ho -CHICO를 이용하여 위암의 복강내 전이가 치료될 수만 있다면 획기적인 치료법이 될 것으로 기대한다. 나아가서 예방적 치료로 환자 생존률향상에 도움이될것으로 기대한다.

5. 낭종성 뇌종양 치료

^{166}Ho -chico는 원자력연구소에서 개발한 새로운 동위원소이다. 이는 holmium과 chitosan을 결합시킨 것으로 병소에 투입시 전신 적인 흡수가 거의 일어나지 않으면서 한 곳에 집중적으로 방사선을 조사할 수 있는 장점을 갖고 있다. 원자력병원 신경외과에서는 이러한 장점을 이용하여 ^{166}Ho -chico로 낭성 뇌종양을 치료하였다. 방사선 조사량은 EGS4 code를 이용하여 Monte Carlo simulation으로 하였다.

¹⁶⁶Ho-chico가 낭성 뇌종양의 치료에 적합한 특성을 들자면 다음과 같다.

첫째, 방사선 조사범위가 최대 8mm에 불과하여 상기 증례와 같이 신경학적으로 중요한 부위에 생긴 종양을 치료할 때에 주변 정상 뇌조직에 미치는 영향을 최소화하면서도 충분한 양의 방사선 조사를 기대할 수 있다.

둘째, 반감기가 27시간으로 안정성이 높다.

셋째, 키토산과의 결합으로 인하여 전신 적인 흡수가 거의 일어나지 않아 국소부위에 안정적으로 투입할 수 있다.

넷째, 액상으로 되어있어 오마야리저버 등을 통하여 반복적으로 병소에 주입하기가 용이하다.

다섯째, 감마선을 일부 방출하므로 감마카메라를 사용하여 동위원소의 동태를 감시할 수 있다.

여섯째, 방사선조사범위가 최대 8mm이므로 특히 신경학적으로 예민한 부위인 운동영역이나 시상, 기저핵부위 주변 등에 생긴 종양에도 최소한의 손상으로 접근할 수 있어 그 활용이 광범위하다고 할 수 있다.

향후 연구방향으로는 낭성종양에 대한 계속적인 치료 및 관찰은 물론, 고형종양에 대하여서도 주입시의 확산범위 및 방사선 조사형태에 관하여 계속적인 적용범위 확대에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

6. 간암, 간동맥 주사 치료

방사성의약품의 동맥내 주사는 간암의 혈류가 95%가 간동맥에 의하여, 정상 간조직의 혈류가 70%가 간문맥에 의한다는 것을 이용한 치료법으로, 종양에 의하여 80% 이상 섭취된다면, 다른 장기의 부작용 없이 수술이 불가능한 경우에도 치료 효과를 기대할 수 있다. 유성 조영제인 lipiodol을 I-131로 표지하여 간동맥내 주사로 4.5 Cm 이하의 간암을 치료한 예들이 있으며, 크기

가 작을수록 효과가 좋았다. 방사성 미소구의 사용도 시도되었는데, 미소구에서 방사성 핵종이 유리되어 골수에 섭취되는 문제가 있고, 미소구의 밀도가 높아 중앙내에 고르게 분포하지 못함이 관찰되었다. ^{166}Ho -Chitosan Complex는 수용액 형태의 고분자 방사성의약품으로 간동맥내 투여를 시도하였다.

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

가. 역사적 배경

방사선을 이용한 핵의학 연구는 자기공명촬영이나 초음파 등의 진단 방법 연구가 중심이 되어왔다. 그러나 이온화된 방사선이 세포를 죽일 수 있음이 알려지고 부터 방사선을 이용한 질병 치료에 관심을 갖게 되었다. 즉 치료 목적의 방사선 이용이 가능하여 진 것이다. 방사선을 이용한 치료법은 암 치료에 가장 많이 이용되지만 방사선의 세포독성(cytotoxic) 효과는 암 뿐 아니라 여러 가지 다른 병적 상태의 치료에 이용될 수 있다. 그 중 대표적인 것이 베타선 방출 핵종(beta-emitting isotope)을 관절내에 주사함으로써 활액막을 절제해내어 활액막의 염증(활액막염)을 치료하는 것이다(Rosenthal, 1978 ; Harbert, 1987 ; Doherty, 1984). 이러한 방법을 방사선 활액막 절제술이라고 하며 주로 류마티스 관절염의 치료에 이용되고 있다. 방사선 활액막 절제술(radiation synovectomy)은 류마티스 관절염 뿐 아니라 활액막의 비후를 일으키는 모든 염증성 및 비염증성 관절염에 적용된다. 즉, 화농성 관절염, 결핵성 관절염, 외상후 관절염, 퇴행성 관절염, 혈우병성 관절염, 활액막 연골종증(synovial chondromatosis), 색소음모결절성 활액막염(pigmented villonodular synovitis) 등에도 적용될 수 있다(Doherty, 1984). 이와 같이 방사선 활액막 절제술은 핵의학 치료법 중에서 중요한 역할을 하고 있다. 시술 방법은 방사성 표지 화합물(radiation synovectomy agent)을 관절내로 주사 하기만 하면 되므로 비교적 간단하다. 방사선 활액막 절제술

의 이용은 호주와 캐나다에서 제일 활발하며 유럽의 100여개 센터에서 시행 중이며 미국에서는 미미한 실정이다(Clunie & Eil, 1995).

이러한 방사선 활액막 절제술은 간편하다는 기술상의 장점이 있으나, 방사능이 관절외로 누출되어 목표로 하지 않는 타 장기에 흡수되어 원치않는 영향을 끼칠 수 있다는 단점을 지닌다. 그 이유는 일반적인 방사성 핵종 운반체가 비유기성 물질이기 때문이다. 방사능에 주로 영향을 받는 장기는 국소 임파선, 간, 비장 등이다. 따라서 현재 방사선 활액막 절제술에 관한 연구는 관절외로의 방사능 누출을 줄이는 점에 집중되고 있다(Sledge et al., 1977)

나. 이론적 배경

류마티스 관절염의 유병률은 보고에 따라 다르나 국내의 경우 전 인구의 2% 전후, 미국의 경우 2백만명 이상의 환자가 있는 것으로 보고 되고있다. 환자의 대부분은 수부 관절에 증상이 있고 반수 이상에서 슬관절에 증상이 있다. 동통과 기능 장애의 주된 원인은 관절의 손상에 기인하며 치료를 하지 않을 시에는 관절의 염증(활액막염)은 진행되어 침습적 육아조직(infiltrating granulation tissue, pannus)에 의하여 관절 연골이 파괴되고 지속적인 동통을 유발하며 결국 관절의 변형 및 영구 장애를 일으키게 된다(Calabro, 1986)(표 1).

활액막염의 진행을 막는 방법으로 여러 시도가 있어 왔는데, osmic acid, nitrogen mustard 등을 이용한 화학적 활액막 절제술(chemical synovectomy)의 경우 독성이 강하여 활액막 뿐 아니라 관절 자체에 손상을 주는 단점이 있고(Von Reis & Swensson, 1951), 관절내 부신피질호르몬 주사의 경우 관절 주변의 뼈에 골다공증이 발생하며 특히 반복적으로 시행하는 경우 전신적인 부작용이 문제된다(Behrens et al., 1976).

표 1. Radioisotopes suggested for use in radiation synovectomy agents.

Isotope	Half-life (days)	Beta energy (MeV)	Range in soft tissue (mm)	Gamma energy (KeV)
¹⁶⁵ Dy	0.1	1.29	5.7	95(4%)
¹¹⁵ In	0.2	0.86		336(47%)
¹⁷⁶ Lu	0.2	1.3		none
¹⁵⁶ Sm	0.4	0.7		none
¹⁸⁸ Re	0.7	2.12	11.0	155(15%)
¹⁶⁶ Ho	1.2	1.85	8.5	81(6%)
¹⁰⁵ Rh	1.5	0.57		319(19%)
¹⁵³ Sm	1.9	0.67	2.5	103(28%)
¹⁹⁸ Au	2.7	0.96	3.6	411(96%)
⁹⁰ Y	2.7	2.28	11.0	none
¹⁸⁶ Re	3.7	1.07	3.6	137(10%)
¹⁷⁵ Yb	4.2	0.47		396(7%)
¹⁷⁷ Lu	6.7	0.48	1.7	208(11%)
¹⁶⁹ Er	9.4	0.34	1.0	none
³² P	14	1.71	7.9	none
⁵¹ Cr	27.8	0.47		320(10%)

심한 활액막염의 경우 활액막 세포를 절제 해내는 외과적 활액막 절제술 (surgical synovectomy)이 시행되나 수기상 모든 활액막을 절제해내기가 어

려워서 활액막염의 재발이 호발하고 재발한 경우 수술 부위에 섬유성 반흔 조직이 생겨 재수술이 어려우며 관절을 절개하여 시술하므로 술후 관절 강직으로 인한 관절운동범위 제한 등의 문제가 있다(Mori, 1985). 한편으로는 최근 관절경을 이용한 관절경하 활액막 절제술(arthroscopic synovectomy)이 활발한데 술후 관절 강직의 부작용은 줄었으나 활액막 절제 범위에 한계가 있다(English et al., 1986).

다. 방사선 활액막 절제술

1) 활동 기전

방사성 표지 화합물은 방사성 핵종 운반체인 작은 입자(particle)와 이에 부착된 베타선 방출 핵종(beta-emitting isotope)로 구성된다. 활동 기전은 관절내로 주입된 화합물이 베타선을 방출하여 활액막을 파괴시키는 것과 활액막 세포에 의해 탐식되면 활액막내에서 원자나 분자의 활성화 및 이온화 과정이 계속 일어나게 되고, 이로 인해 유리기(free radical) 등의 여러 화학적으로 활성적인 물질이 생성되어 염증 상태의 활액막이 파괴 된다는 두 가지로 설명된다(Harbert, 1987 ; Deutsch, 1993).

2) 베타선 방출 핵종(동위원소, radionuclides, isotope)

많은 핵종이 제시되어 활액막 절제 성능에 대하여 동물및 임상 실험중이고 사용되고 있다(표 1). 동위원소들의 에너지와 연부조직 투과력을 보면 0.34MeV, 0.33mm의 ^{169}Er 부터 2.27MeV 3.6mm의 ^{90}Y 에 이르기 까지 다양하다. 반감기는 2.3시간의 ^{165}Dy 이 가장 짧고 27.8일의 ^{51}Cr 이 가장 길다. 핵종의 사용 경향은 유럽의 경우 ^{90}Y 와 ^{169}Er 가, 호주의 경우 ^{165}Dy 이 가장 많이 사용되며 국내에서는 1993년 부터 원자력병원에서 ^{165}Dy 이 사용되었고 1996년 부터는 ^{166}Ho 이 사용되고 있다.

3) 방사성 핵종 운반체(입자, radiopharmaceutical carrier, particle)

방사성 핵종의 운반체(radiopharmaceutical carrier)로서 초기에 사용된 교질(colloid) 형태의 경우 작은 입자 크기로 인해 관절외로의 방사능 누출이 문제되어 사용이 제한되어 왔다(Gumpel et al., 1975 ; Virkkunen et al., 1967). 이러한 문제점은 크기가 1-20 μm 정도인 미소구형입자(microsphere)나 응집입자(macroaggregate)를 사용함으로써 일부 해결되었다(Noble et al., 1983 ; Sledge et al., 1977 ; English et al., 1986). 그중 대표적인 것으로 철의 수산화물 응집입자(ferric hydroxide macroaggregates, FHMA)가 있는데 이는 ^{90}Y , ^{166}Dy , ^{166}Ho 등의 운반체로서 작용할 수 있고 자신은 활액막 조직에 집적되어 관절외로의 누출문제는 조금 개선되었다. 그러나 방사능이 낮은 반감기가 긴 핵종의 경우에는 역시 관절외로의 누출 문제 때문에 비효과적이다(Chinol et al., 1990 ; Zalutsky et al., 1986 ; Davis & Chinol, 1989). 이상과 같이 현재까지의 방사성 핵종 운반체의 연구는 비수용성 물질에 제한되어 있었다. 이에 반하여 chitosan은 수용성 유기성 고분자로 새로운 가능성을 보이는 물질이다.

4) 이상적인 방사성 표지 화합물

이상적인 방사성 표지 화합물은 다음과 같은 특성을 가져야 한다(Noble et al. 1983).

첫째, 증식된 활액막을 절제해 낼 수 있을 정도의 베타 에너지를 가져야 한다. 그러나 관절연골이나 피부에는 손상을 주지 않을 정도여야 한다.

둘째, 크기가 활액세포에 탐식 될 정도의 작은 크기여야 하나 너무 작아 관절외로 누출될 정도는 아니어야 한다. 따라서 적정 크기는 2-5 μm 정도이다. 그리고 방사성 핵종 운반체와 베타선 방출 핵종의 결합은 비가역적이어야 하며 따라서 시술중 분리되어서는 안된다.

셋째, 활액막 내에서 생분해되어야 한다. 관절내에 잔존시 화합물 자체가 육아조직 형성을 유발할 수 있기 때문이다.

5) 새로운 방사성 표지 화합물 개발의 필요성

방사성 표지 화합물이 목적하는 관절내에만 작용하고 관절외로 누출되지 않아 비목적 장기에 영향을 끼치지 않기 위해서는 적절한 베타 에너지와 반감기를 가진 베타선 방출 핵종이어야 한다. 또한 방사능 누출은 방사성 핵종 운반체에 의하여 좌우되므로 관절외로의 누출이 적거나 없는 이상적인 방사성 핵종 운반체의 개발이 필요하다.

본 연구는 방사선 활액막 절제술용의 이상적인 방사성 표지 화합물을 개발하기 위한 노력의 일환으로 시작되었다. 본 연구에서는 베타선 방출 핵종으로 반감기가 26.8시간으로 비교적 길어 핵종을 생산하는 원자로에서 원거리에 있는 병원에서도 이용이 가능한 ^{166}Ho 를 이용하였다. 방사선 핵종 운반체로는 유기물이며 수용성 형태로 제작 가능한 chitosan을 이용하였다.

본 연구에서는 상기한 두 물질을 결합시킨 새로운 방사성 표지 화합물인 ^{166}Ho -chitosan을 개발하여 방사선 활액막 절제술용 제제로서의 가능성을 생체 적합성 실험을 통하여 알아보고자 하였다.

라. 연구 목적

방사선 활액막 절제술에 이용하는 방사성 표지 화합물은 방사성 핵종 운반체인 작은 입자와 이에 부착된 베타선 방출 핵종으로 구성된다. 베타선 방출 핵종의 경우 국내에서는 1993년 부터 ^{165}Dy 이 이용되었으나 반감기가 2.3시간으로 짧아 핵종을 생산하는 원자로에서 원거리에 있는 병원인 경우 이용하기에 어려움이 있었다. 방사성 핵종 운반체의 경우 그동안 국내외에서 이용된 것들은 비유기성 교질 또는 입자 형태로 관절외로 누출되어 비목적 장기에 방사능 피해를 주는 것이 문제가 되어왔다.

따라서 적절한 베타 에너지와 반감기를 가진 베타선 방출 핵종과 관절외로의 방사능 누출이 적거나 없는 방사성 핵종 운반체의 개발이 요구되어 왔다.

본 연구의 궁극적인 목표는 베타선 방출 핵종으로 반감기가 26.8시간으로 비교적 길어 핵종을 생산하는 원자로에서 원거리에 있는 병원에서도 이용이 가능한 ^{166}Ho 을, 방사선 핵종 운반체로는 유기물이며 수용성 형태로 제작 가능한 chitosan을 결합시킨 새로운 방사성 표지 화합물인 ^{166}Ho -chitosan을 개발하여 임상에서 방사선 활액막 절제술용 제제로 사용하고자 하는데 있다. 본 연구에서는 일차적으로 가토를 대상으로 생체 적합성 여부를 규명하고자 한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 세포독성

항암제에 대한 세포 독성 평가 기술은 국내·외적으로 상당 수준의 기술이 확보되어 있으나 세포 독성의 기전에 근거한 정확한 평가 기술은 현재 개발 중에 있다. 방사선에 의한 세포 사멸 기전 연구가 현재 기초 수준에 있고 또한 internal radionuclide의 활용이 활발치 못하여 이분야 연구는 외국에서도 많은 진전이 없었다. 최근 internal nucleotide의 체내 전달의 새로운 개념이 도입되어 장차 활발한 기초, 임상 연구가 기대된다. ^{166}Ho 의 chitosan complex에 대한 연구는 국외에서는 진행된 바가 없으나 텍사스 대학 MDAnderson Cancer Center와 Dow 회사와 공동 연구로 ^{166}Ho -DOTMP을 개발하여 bone marrow ablation in multiple myeloma에 활용하기 위한 약동력학, 독성 연구 등이 진행되고 있고, Rhenium-186, Iodine 131, Indium-111에 peptide 혹은 단일 항체를 부착시켜 internal radionuclide의 specific delivery을 위한 연구들도 미국의 몇몇 대학 및 연구소에서 진행 중에 있다. 그외에도 P32와 cisplatin을 병용으로 복강내 투여하여 난소암을 치료하려는 시도가 Wisconsin 의대와 뉴욕 성 Vincent 병원과 공동으로 연구된 바 있다. 현재 internal radionuclide 세포 독성 평가는 다른 항암제의 독성에 준하여 평가하나, 항암제와는 세포 독성을 나타내는 기전이 서로 다르므로 internal radionuclide의 효과적 임상 적용 및 세포 살상 효과를 얻기 위해서는 ^{166}Ho chitosan complex의 세포 사멸 기전의 기초 연구에 근거한 세포 살상 측정법의 개발, 병용요법 개발 및 dose regimen 설정이 절실히 필요하다.

2. 흡수선량 평가

교질(colloid)상의 방사능 핵종 (radionuclide)을 주입하는 정위적 낭내 방사선 치료 (stereotatic intracavitary radiation therapy)는 수술로 제거가 불가능한 낭성 뇌종양의 치료에 효과적인 한가지 방법이다. 최초의 낭성 뇌종양의 낭내 방사선 치료는 1995 년 Lange 등에 의해 수행되었다.¹⁾ 시술 과정은 1) seller floor에 골공 (bony opening)을 만들고, 2) 골공을 거쳐 낭벽에 구멍을 뚫은 후, 3) 낭내액을 흘려내고, 4) ^{90}Y -colloid 를 낭에 주입하고, 5) 골공을 닫는 것으로 이루어졌다. ^{90}Y -colloid의 주사량은 낭벽의 흡수선량이 200 Gy가 되도록 처방되었다. 그 후, ^{90}Y 뿐만 아니라 ^{32}P 동위원소의 임상 적용도 시도되었다.²⁾ 한편, 방사성동위원소를 복강내 전이암의 치료는 세계적으로 이미 활발히 이루어지고 있다.

최근 한국에서는, 수술로 제거가 불가능한 낭성 뇌종양과 복강내 전이암에 대해 강내 방사선 치료법을 적용하는데 있어서 ^{166}Ho chitosan 복합체를 이용할 것이 제안되고 있다. chitosan은 독성이 미미하고 생체의 면역 반응을 유발하지 않으며 생체 분해가 가능하므로 의료적 활용에 적합하다. 특히, 다중음이온성 착화 (polycationic chelating)가 가능하고 acetic acid에 용해성이 좋으므로 그 활용 가능성이 강조된다. 한편, ^{166}Ho 은 치료용으로 적합한 다음의 핵 특성을 가지고 있다. 첫째, 99%의 수율로 방출되는 베타 입자는 최대 에너지가 1.85 MeV로서 soft tissue 에서 최대 9 mm의 range를 갖는다. 둘째, 임상 적용에 적절한 반감기 (26.9 시간)를 갖는다. 셋째, 5.4% 수율로 방출되는 81 keV의 x-ray를 동위원소화합물의 검출에 이용할 수 있다.

^{166}Ho 은 자연 존재율이 100% 인 Holmium-165으로부터 $^{166}\text{Ho}(n, \alpha)^{166}\text{Ho}$ 반응을 통해 생산할 수 있다. 한국원자력연구소의 30 MW 연구용 원자로인 HANARO 는 열중성자 조사에 활용가능하다. 또한, ^{166}Ho chitosan 복합체는 상온에서 산성 chitosan 용액을 $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3$ 용액과 섞어 99% 이상의 표

지울로 그 생산이 가능하다.³⁾ $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 병소에 주사한 후 실시한 자가방사기록은 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 가 병소외부로 누출없이 병소 내부에 제한적으로 분포함을 보여주고 있다.³⁾

$^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 종양낭 내로의 주입은 subgalea 부위에 설치한 Ommaya reservoir를 통해 이루어지고 있다. $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 낭내 주입 후 분포 특성은 gamma camera를 이용하여 관찰된다. 낭내에 주입된 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 는 베타 입자를 방출하고 베타입자로부터 낭내액과 낭벽에 에너지 전달이 발생한다. $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 이용에 의한 치료 효과는 자기공명영상화를 이용하여 병소의 크기 변화를 관찰함으로써 확인할 수 있다. $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 복강내 주입 시 복수의 체적 및 복벽 면적의 측정은 ^{99m}Tc 을 이용하여 간접적으로 이루어질 수 있다.

3. 난소암 복강내 전이 치료

난소암의 방사선 치료에 대한 노력은 외국에서는 이미 50여년전부터 시도되어졌다. 1954년 Root 등에 의해 colloidal radioactive chromic phosphate를 투여하는 치료가 시도된 이후 ^{198}Au , ^{32}P , ^{90}Y 등 여러가지 동위원소를 복강 및 흉강에 투여하는 시도가 이루어져 왔다. 이중 대표적인 경우는 ^{32}P 를 복강 및 흉강에 투여하는 방법이며, 기존의 항암제에 효과가 없는 악성복수 복수의 치료에 이용되었으나, 환자의 생존을 향상에는 도움이 안되었다. 그러므로 난소암의 치료방법으로써 각광받지 못하였으나, 최근에는 전신적으로 투여하는 항암제와 병용하여 소량을 반복하여 사용함으로써 나름대로 좋은 결과가 보고되고 있다. 그러나 $^{32}\text{P-Chromic Phosphate}$ 는 반감기가 14일이나 되고 충분히 용해가 되지 않아 부작용과 사용상 불편함이 많았다. 이처럼 난소암에서 방사선 치료가 효과적일 수 있음을 알고 있으나 부작용 등으로 사용의 제약이 있어 최근의 연구는 이런 부작용 및 사용상의 단점을 최소화할 수 있는

방사선 운반체인 동위원소의 개발에 초점이 맞추어져 있다. 그러므로 본 연구에서는 본 원자력병원과 연구소의 긴밀한 유대관계를 바탕으로 유용한 방사성 동위원소를 비교적 쉽게 얻을 수 있고 치료에 응용할 수 있는 장점을 살려 Holmium(^{166}Ho)을 치료에 응용하고자 하였다. 본원의 본 임상실험에 사용될 ^{166}Ho 은 반감기가 27시간이고 충분히 용해되므로 ^{32}P -Chronic Phosphate 단점을 보완할 것으로 사료된다. 또한 이미 간암과 피부암에 적용하여 안전성과 효과가 입증되었으며, 본 연구에서 시행한 난소암에서의 방사성 동위원소의 복강내 치료방법도 독성 연구(세포 독성에 관한 in vitro 연구 및 in vivo 연구), 체내 동태 연구, 흡수선량 평가 및 몇례의 임상 실험에서 주목할만한 결과를 보이고 있는 실정이다.

4. 위암, 복강내 전이 치료

Washington Cancer Institute의 Sugarbaker 등은 결장암 환자에 peritonectomy를 시행하여서 생존율의 향상을 보았다고 보고하였고, 일본 가나자와 의대의 요네무라 등은 CHPP와 peritonectomy를 동시에 시행하여 생존율의 향상은 확인하지 못했으나 복강내 전이가 줄어들었다고 보고하였다. 국내의 CHPP의 시도는 보고되고 있으나 뚜렷한 생존율향상의 효과는 없었다. (연세대의 노성훈 등이나, 적십자병원의 김진영 등)

5. 낭종성 뇌종양 치료

동위원소를 이용한 종양치료는 오랜 역사를 가지고 있다. 뇌종양에 대한 동위원소 치료로는 동위원소를 낭성종양에 주입하여 종양을 치료하는 방법이 이용되었으며, ^{32}P 가 주로 이용되었다. 그러나 ^{32}P 는 낭종내에 넣어도 전신으로 흡수되어 골수기능저하가 있을 수 있고, 반감기가 길어 취급에 주의를 요

하며, 감마선 방출이 없어 동위원소 분포를 체외에서 감시할 수 없는 등 단점이 있었다. ^{166}Ho -chico는 원자력연구소에서 개발한 새로운 동위원소이다. 이는 holmium과 chitosan을 결합시킨 것으로 병소에 투입시 전신적인 흡수가 거의 일어나지 않으면서 한 곳에 집중적으로 방사선을 조사할 수 있는 장점을 갖고 있다. 그러나 ^{166}Ho -chico를 이용한 뇌종양 치료 연구는 아직 보고된 바 없다.

6. 간암, 간동맥 주사 치료

국내외에서 간암에 ^{131}I -lipiodol을 간동맥에 주사하여 치료를 시도하여 완전 관해 또는 부분관해가 보고되었고, 적은 양이 폐로 유출됨이 관찰되었으며, 감마선의 에너지가 커서 격리병실에 입원하여야 하는 단점이 지적되었다. 또한 방사성옥소의 승화현상이 작업종사자의 피폭을 증가시키는 문제등으로 널리 이용되지 못하였다. ^{90}Y 미소구나 유리입자를 동맥주사하는 치료도 시도되었으나, 아직 입자크기의 조절, ^{90}Y 의 표지 안정성등이 상품화단계까지 이르지 못하였다. ^{166}Ho -macroaggregate albumin등을 간암조직에 직접주입하는 치료가 최근 작은 종양에서 좋은 결과를 보이고 있고, ^{166}Ho -chitosan의 직접주사도 성공적이나, 크기가 큰(지름 4 cm 이상) 또는 여러개의 종양에는 아직 좋은 치료 방법이 없다.

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

국내의 경우 이미 ^{166}Ho -chitosan을 이용한 간암 치료가 성공적임이 발표되었고, ^{166}Ho -chitosan 패치(patch)를 이용한 피부암의 치료가 시도되고 있다. 국외의 경우 Holmium을 이용한 방사선 치료 보고는 ^{166}Ho -poly (L-lactic acid) microsphere를 이용한 간암 치료의 시도와 ^{166}Ho -DOTMP를 이

용한 다발성 골수종 치료의 시도가 보고된 바있다. 한편 Holmium을 이용한 방사선 활액막 절제술에 대한 임상 보고는 아직 없으며 ^{166}Ho -acetylacetone의 생체 적합성 실험 보고 한 례가 보고된 바 있다. 그러나 아직 전세계적으로 chitosan과 같은 수용성 유기물을 방사선 핵종 운반체로 이용한 례는 없는 것으로 알려져 있다. 더군다나 Holmium과 chitosan을 결합시킨 방사선 표지 화합물을 이용한 방사선 활액막 절제술은 국내외 어디서도 시도한 바 없다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1. 세포독성

가. 난소암 세포주에서 ^{166}Ho 의 세포 독성 효과 및 cisplatin 병용 효과

^{166}Ho -chitosan complex는 배양액에 첨가 즉시 loose gel type의 polymer를 형성하고 chitosan 자체가 540 nm에서 상당한 흡광도를 내므로 MTT assay에는 Ho nitrate를 이용하였다. SK-OV-3세포의 경우 ^{166}Ho 1-100 uCi 범위 내에서 단지 10 % 정도의 세포 사멸 효과를 관찰할 수 있었다(그림 1). OVCAR-3의 경우에도 1-30 uCi ^{166}Ho dose dependent fashion의 세포 사멸 효과를 관찰하였다. 그러나 SK-OV-3 세포의 경우 cisplatin과 동시 병용 처리시(cotreatment) ^{166}Ho 의 세포 사멸효과의 상당한 증가를 관찰하였고 특히 저 농도 및 고 농도의 cisplatin에서 synergistic pattern의 세포사멸효과의 증가를 관찰하였다 (그림 2). cisplatin과 ^{166}Ho 의 처리 시간의 차이에 따른 ^{166}Ho 세포 독성 효과의 변화를 평가하는 연구에서는 ^{166}Ho 의 선처리(그림 3), 후처리(그림 4) 등에서 동시 처리 보다 낮은 세포 독성효과를 관찰하였으며 병용에 따른 세포 독성의 상승 효과를 관찰할 수 없었다. 이 결과는 난소암의 경우 ^{166}Ho 와 cisplatin을 동시에 병용 처리하므로 낮은 dose의 cisplatin에서 더 나은 항암효과를 기대할 수 있게 하는 연구 결과로 임상 적용시 치료 regimen 설정에 고려해 볼만한 기초 자료가 될 것이다. 그러나 OV-CAR-3 세포의 경우 두 약제의 병용 처리에 대한 상승 효과를 관찰할 수 없었으므로 이 연구 결과를 일반적인 난소암의 현상으로 인정하기에는 더 많은 세포주들을 이용한 연구가 필요하다고 사료된다. MTT assay의 결과는 세포의 viabillity를 측정하는 지수를 의미하므로 세포 사멸 효과의 좀더 정확한 평가는 현재 조건을 설정 중에 있는 HTCA법으로 가능할 것으로 사료되

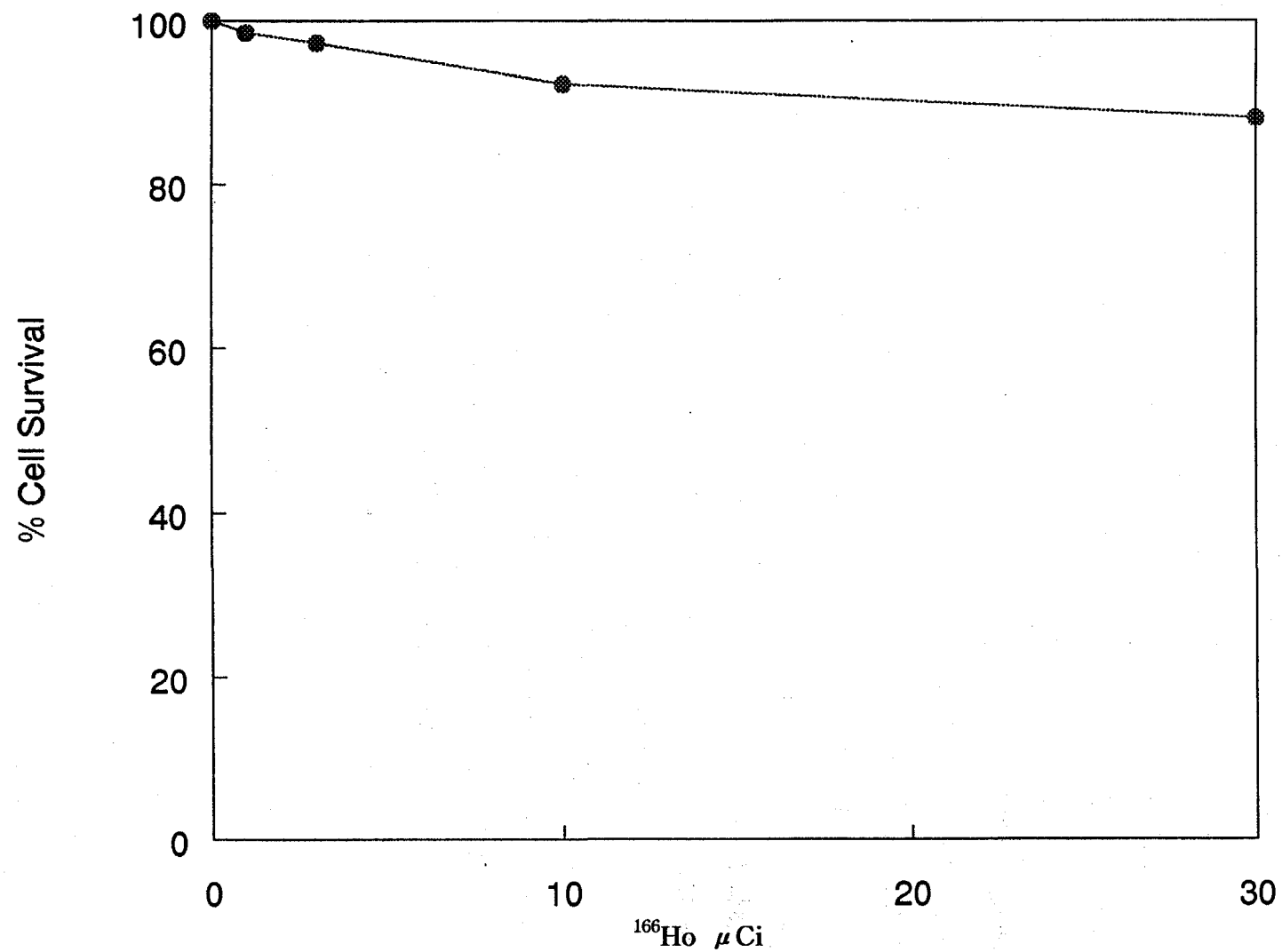


그림 1. Cytotoxicity of ^{166}Ho on SK-OV-3 Cells

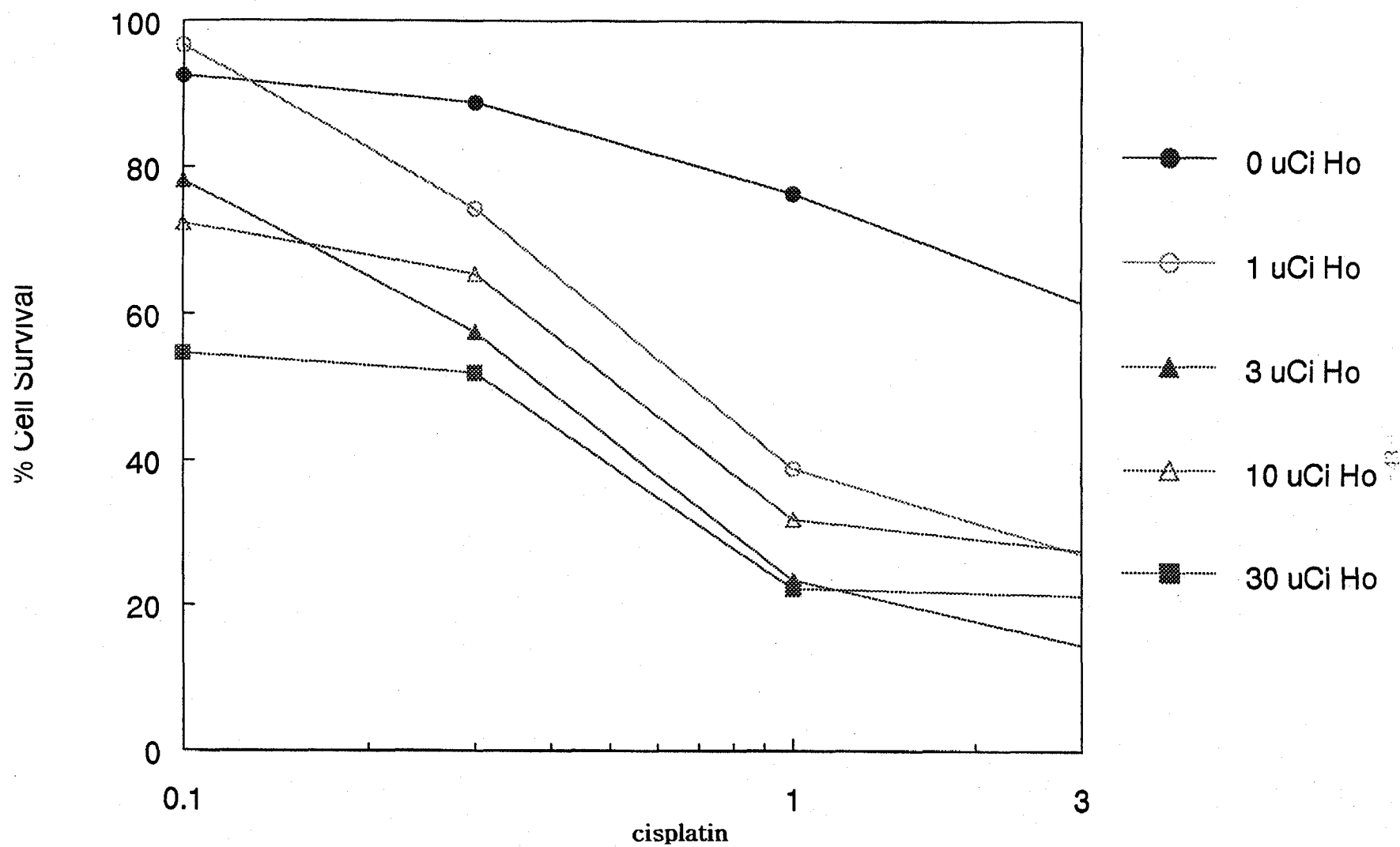


그림 2. Cytotoxicity of ^{166}Ho and CDDP on SK-OV-3 Cotreatment

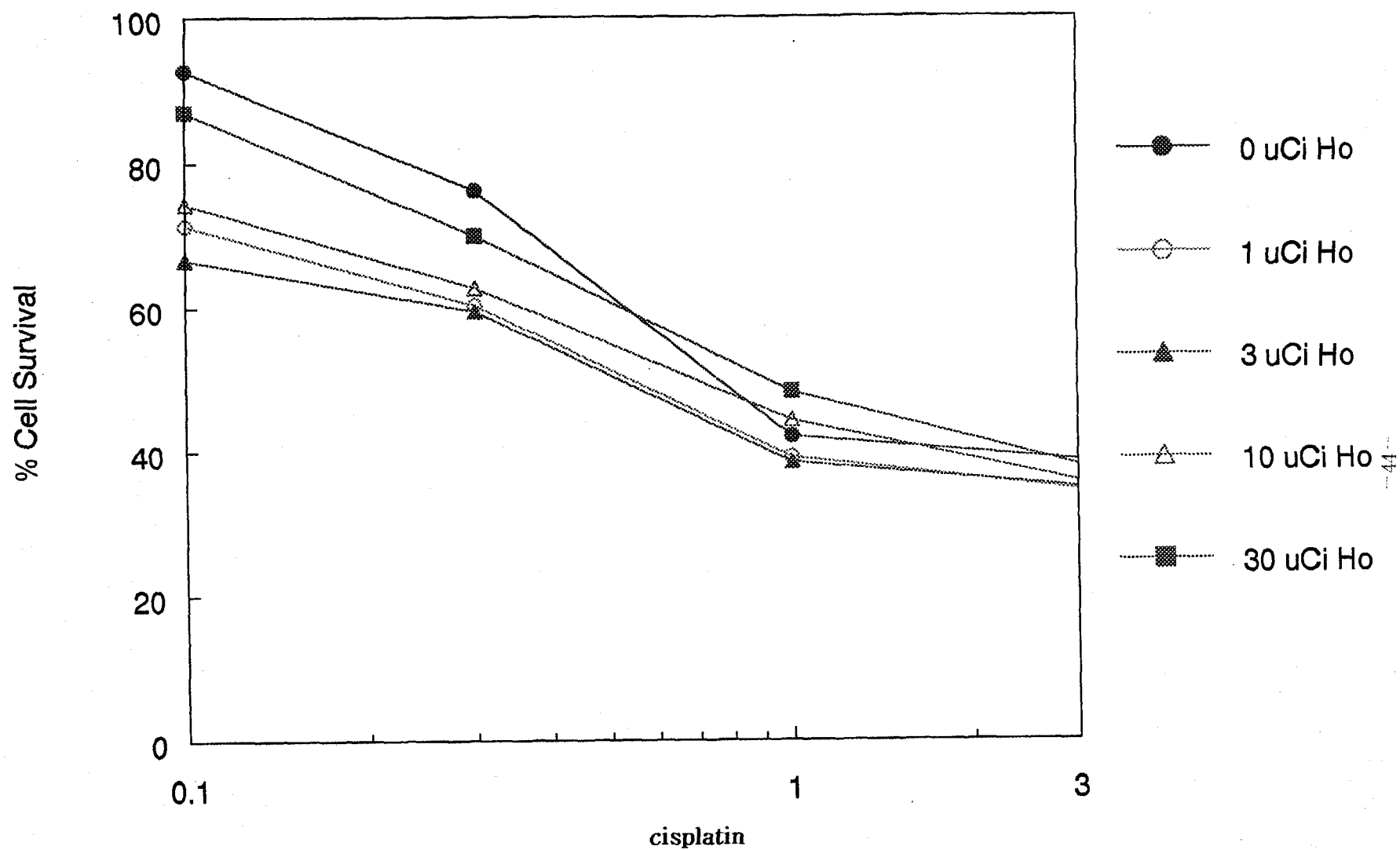


그림 3. Cytotoxicity of ^{166}Ho and CDDP on SK-OV-3 ^{166}Ho Pretreatment to CDDP

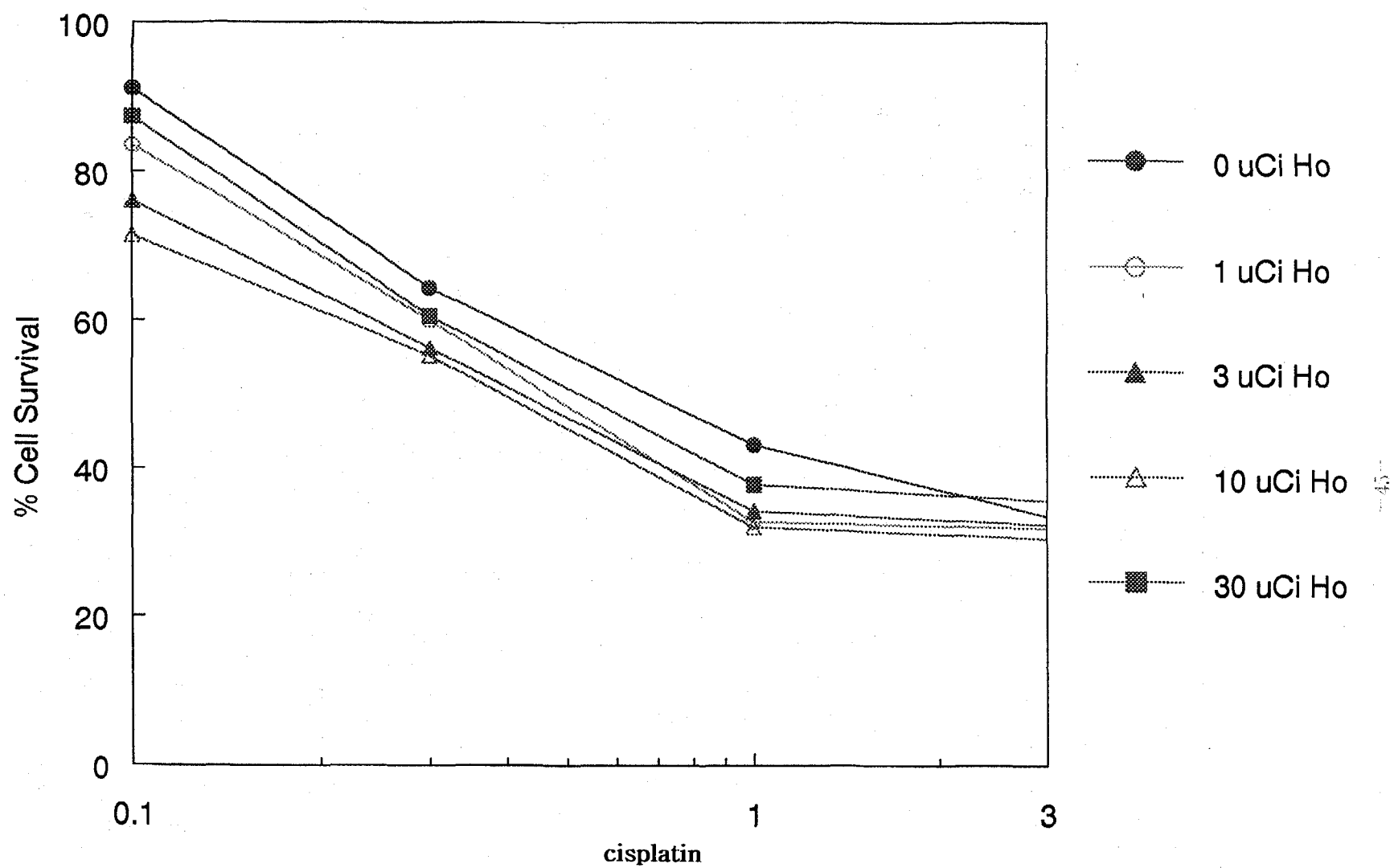


그림 4. Cytotoxicity of ^{166}Ho and CDDP on SK-OV-3 CDDP Pretreatment to ^{166}Ho

며 HTCA법은 radionucleotide의 세포 사멸의 delayed effect를 관찰할 수 있으므로 ^{166}Ho 세포 사멸 효과의 치수가 증가될 것으로 예상된다.

나. 위암 세포주에서 ^{166}Ho 의 세포 독성 효과 및 cisplatin/5-FU 병용 처리 효과

SNU-5의 경우 ^{166}Ho 단독 처리시 1 uCi ^{166}Ho 처리로 15 %가 사멸하였고, 3 uCi ^{166}Ho 처리로 25 % 세포가 사멸하였으며 10 uCi ^{166}Ho 에서는 45 %, 30 uCi ^{166}Ho 에서는 57 %의 세포 사멸 효과를 보였다 (그림 5). 위암세포의 경우 난소암보다 ^{166}Ho 자체의 cytotoxic 효과에 더욱 민감한 것으로 평가하였다. cisplatin의 동시 투여 혹은 ^{166}Ho 선회리에서는 병용 처리에 따른 세포 독성의 상승 효과를 관찰 할 수 없었으나 (그림 6-7). 그러나 cisplatin를 선회리한 경우 저 농도 ^{166}Ho 에서 synergistic효과를 고농도에서는 additive 이하의 세포 사멸 정도의 변화를 관찰하였다 (그림 8). 5-FU 병용 처리의 경우에도 저농도의 5-FU에서 ^{166}Ho 공동 처리에 의한 세포 독성 효과의 additive pattern의 증가를 관찰할 수 있었고 그 이상의 농도에서는 additive 이하의 효과를 관찰하였다 (그림 9).

Kato III 세포의 경우 3 uCi ^{166}Ho 로 약 20 %의 세포 사멸을 관찰하였고 10 uCi ^{166}Ho 30 uCi ^{166}Ho 의 경우는 약 40 % 세포 사멸 효과를 보였으며 100 uCi에서도 더 이상의 세포 독성 효과의 증가를 관찰할 수 없었으며, 10 uCi에서 이미 세포 독성 효과가 plateau에 도달하였다 (그림 10). 그러나 cisplatin 혹은 5-FU 병용 처리의 경우 저 농도에서는 additive pattern의 세포 독성 효과를 관찰하였으며 고 농도에서는 additive 이하의 효과를 얻었다 (그림 11-12). Hs 746-T 세포의 경우 1 uCi ^{166}Ho 처리에서 약 20 %의 세포 사멸 효과가 관찰되었으나 그 이상의 ^{166}Ho 처리로 세포 독성 효과가 plateau를 유지하였다 (그림 13). ^{166}Ho 에 저항성을 보이는 세포주 들이 모

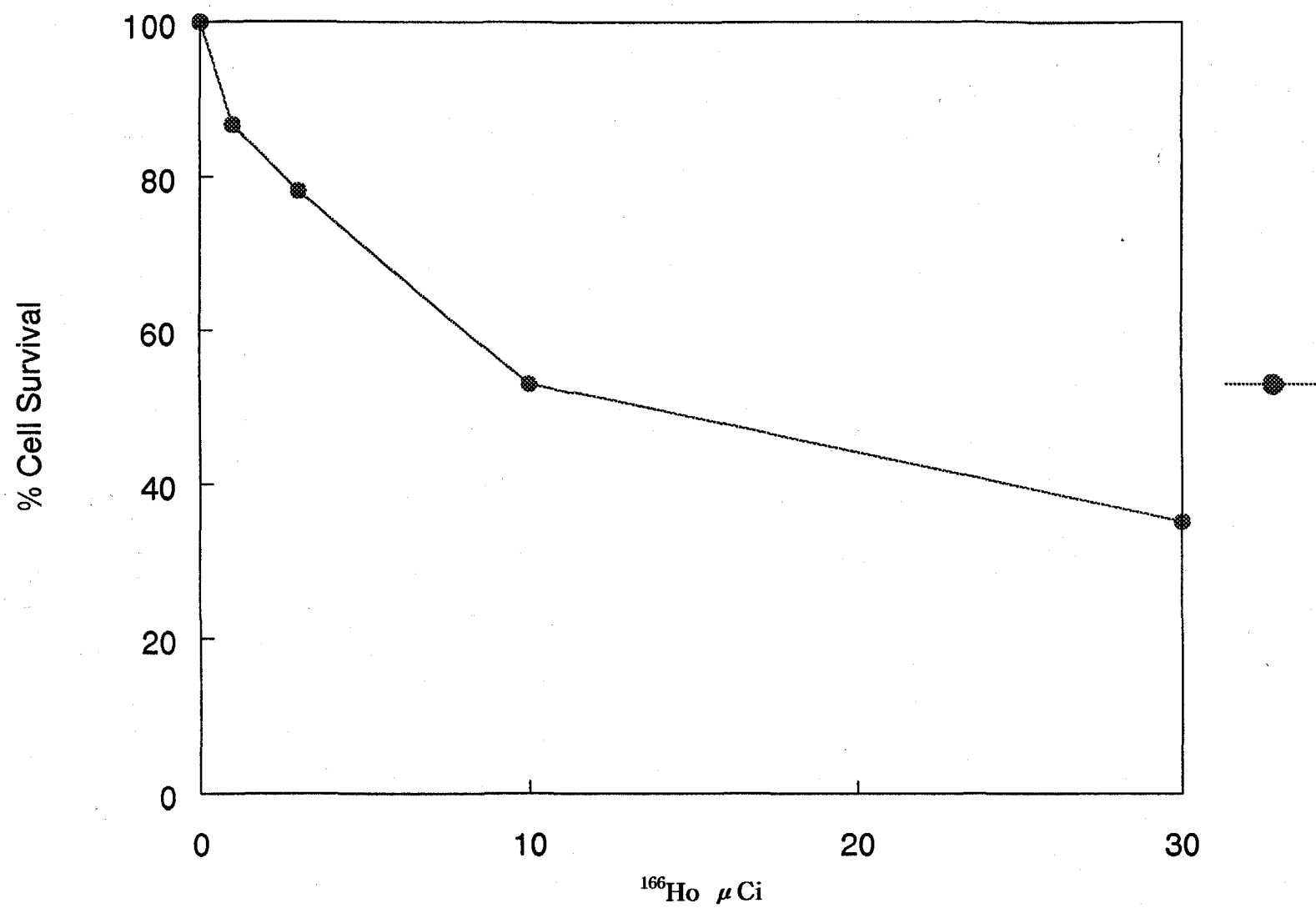


그림 5. Cytotoxicity of ^{166}Ho on SNU-5

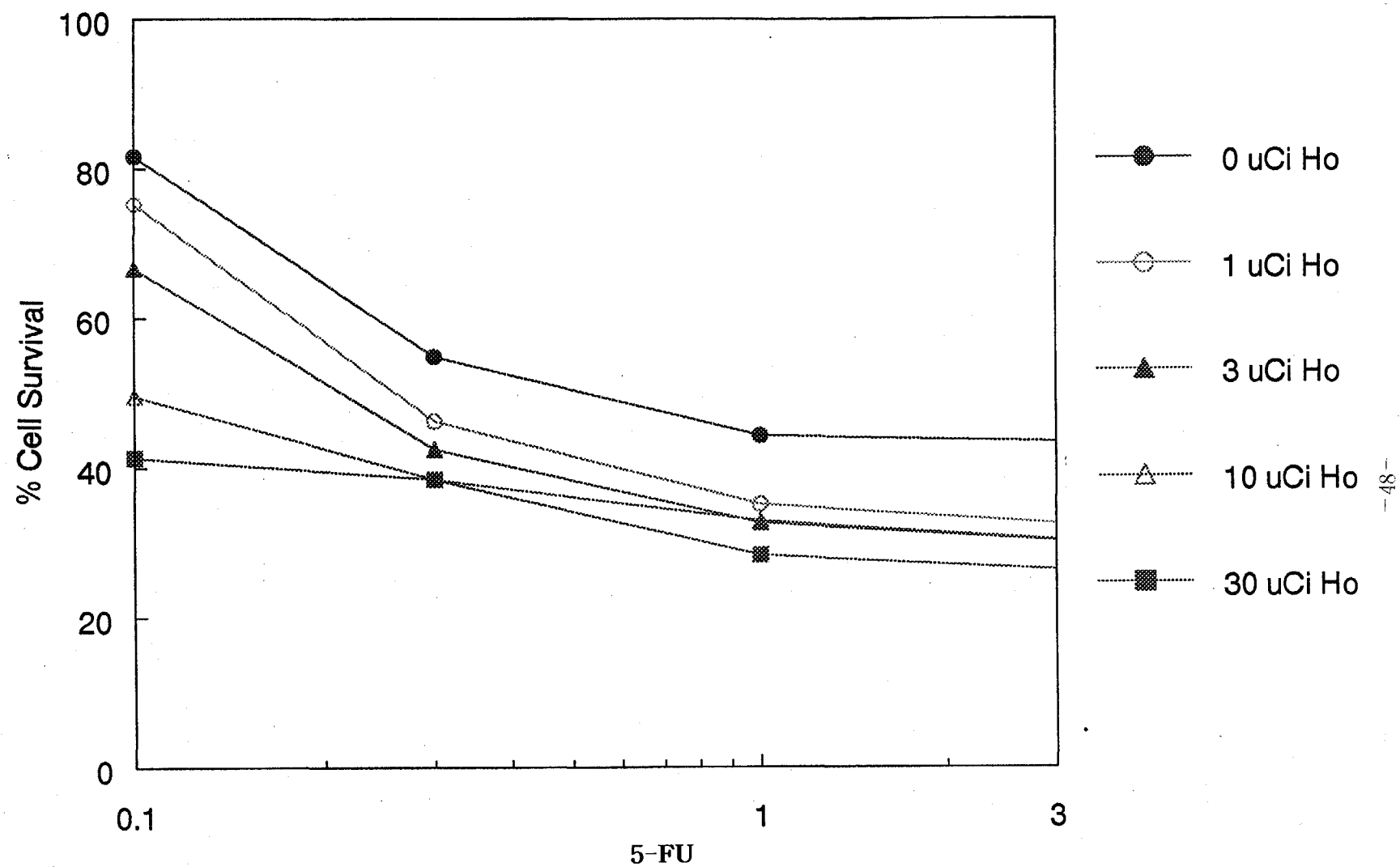


그림 6. Cytotoxicity of ^{166}Ho and 5-FU on SNU-5 Cotreatment

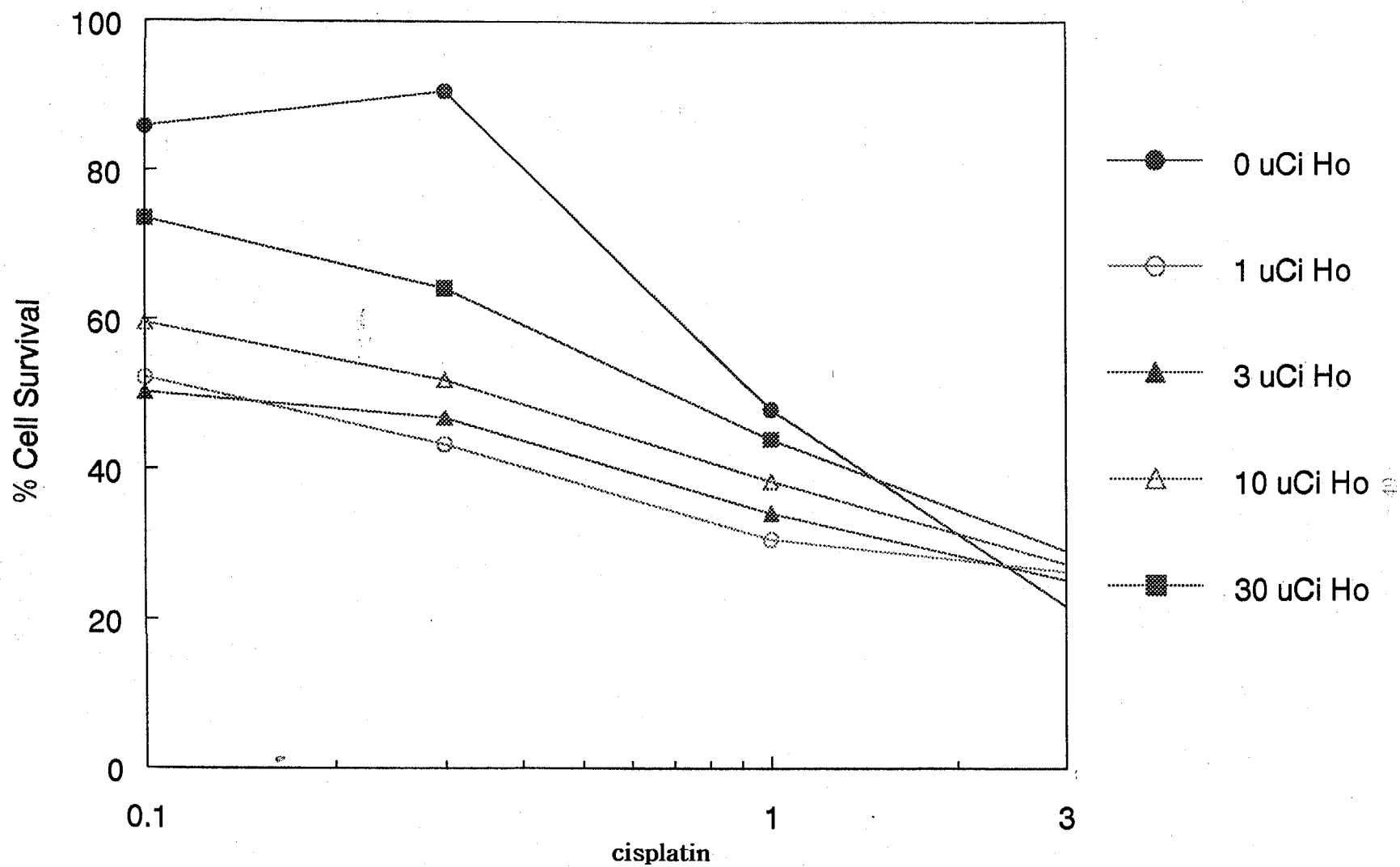


그림 7. Cytotoxicity of ^{166}Ho and CDDP on SNU-5 ^{166}Ho Pretreatment to CDDP

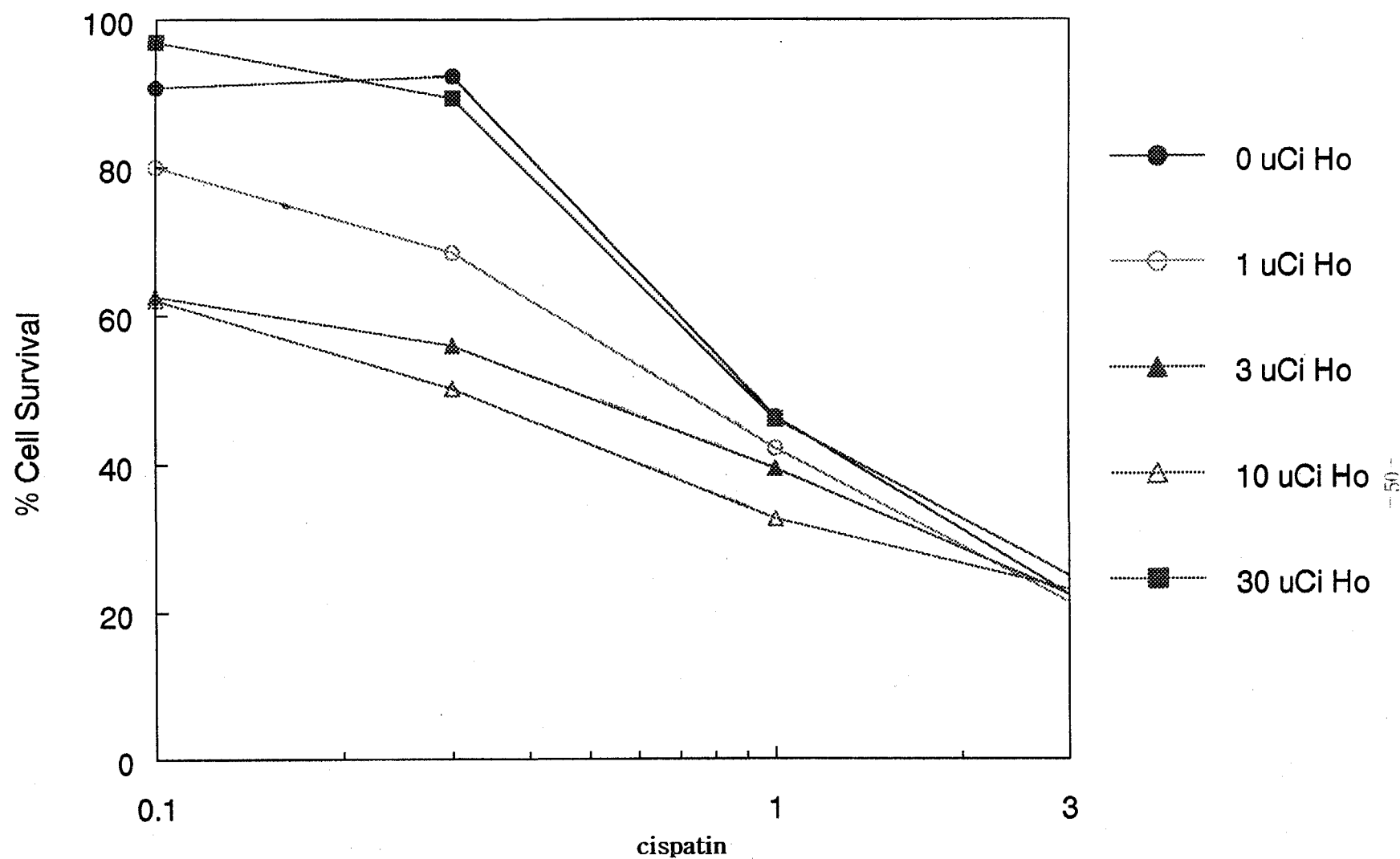


그림 8. Cytotoxicity of ^{166}Ho and CDDP on SNU-5 CDDP Pretreatment to ^{166}Ho

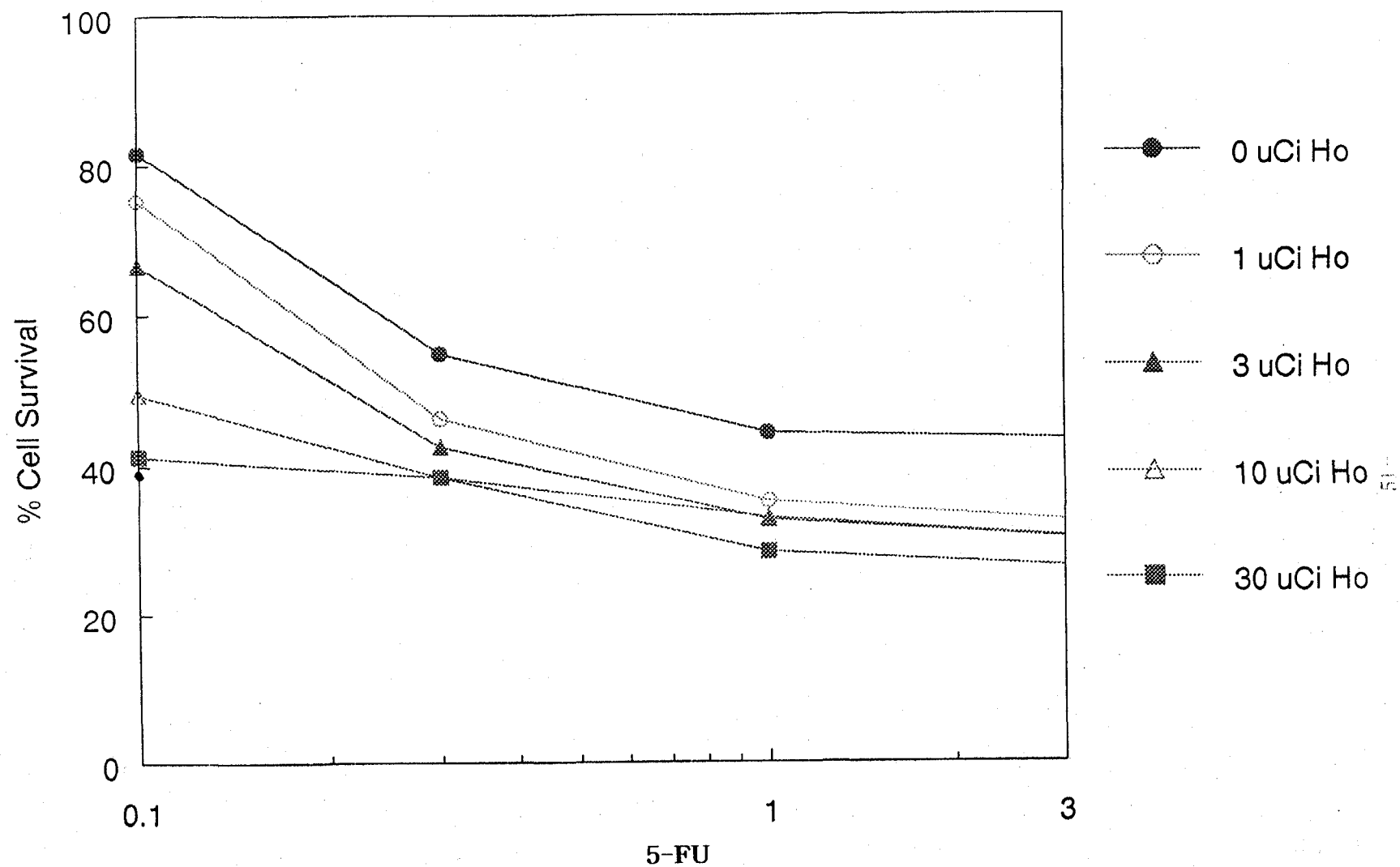


그림 9. Cytotoxicity of ^{166}Ho and 5-FU on SNU-5 Cotreatment

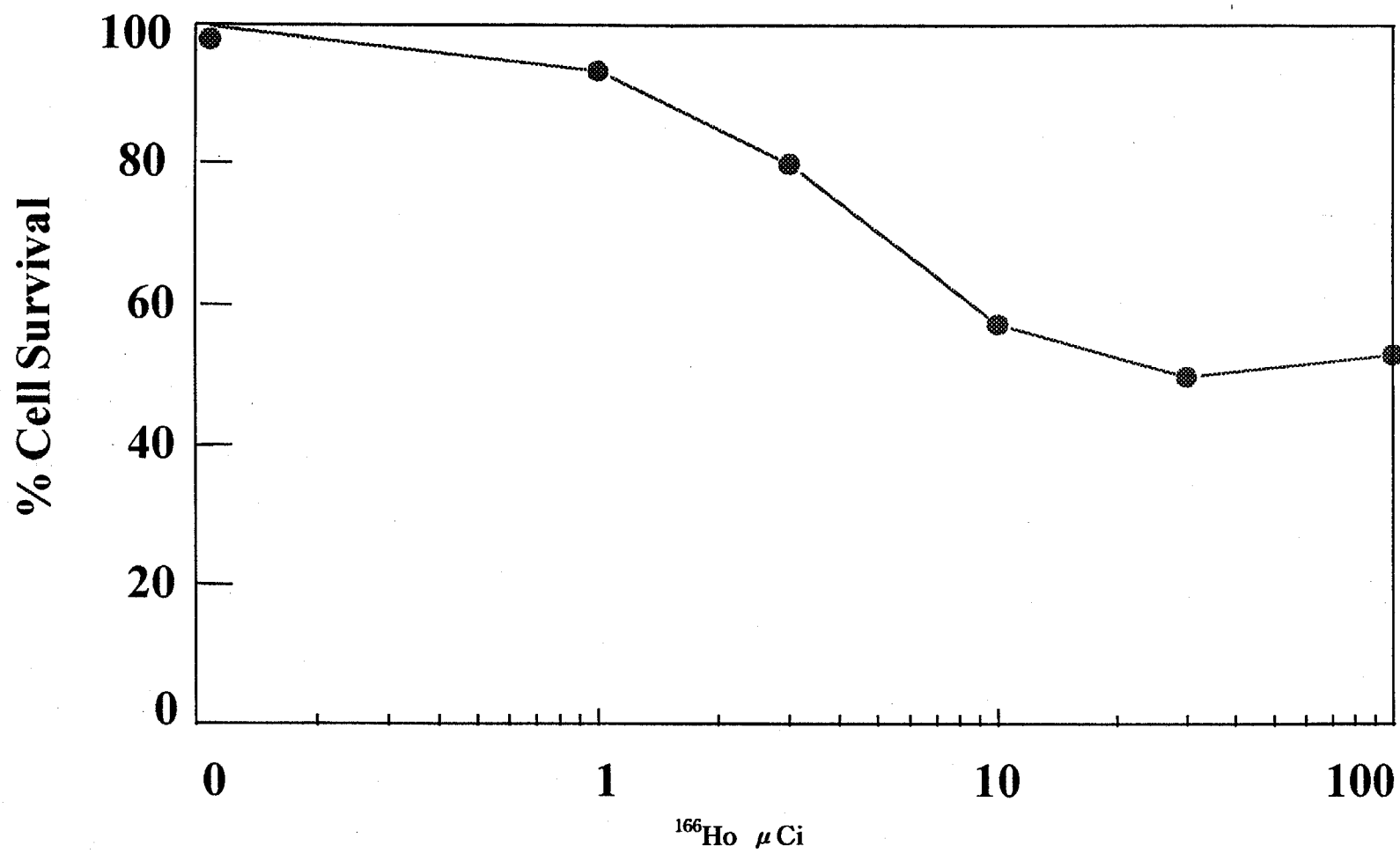


그림 10. Cytotoxicity of ^{166}Ho on KATO III Cell line

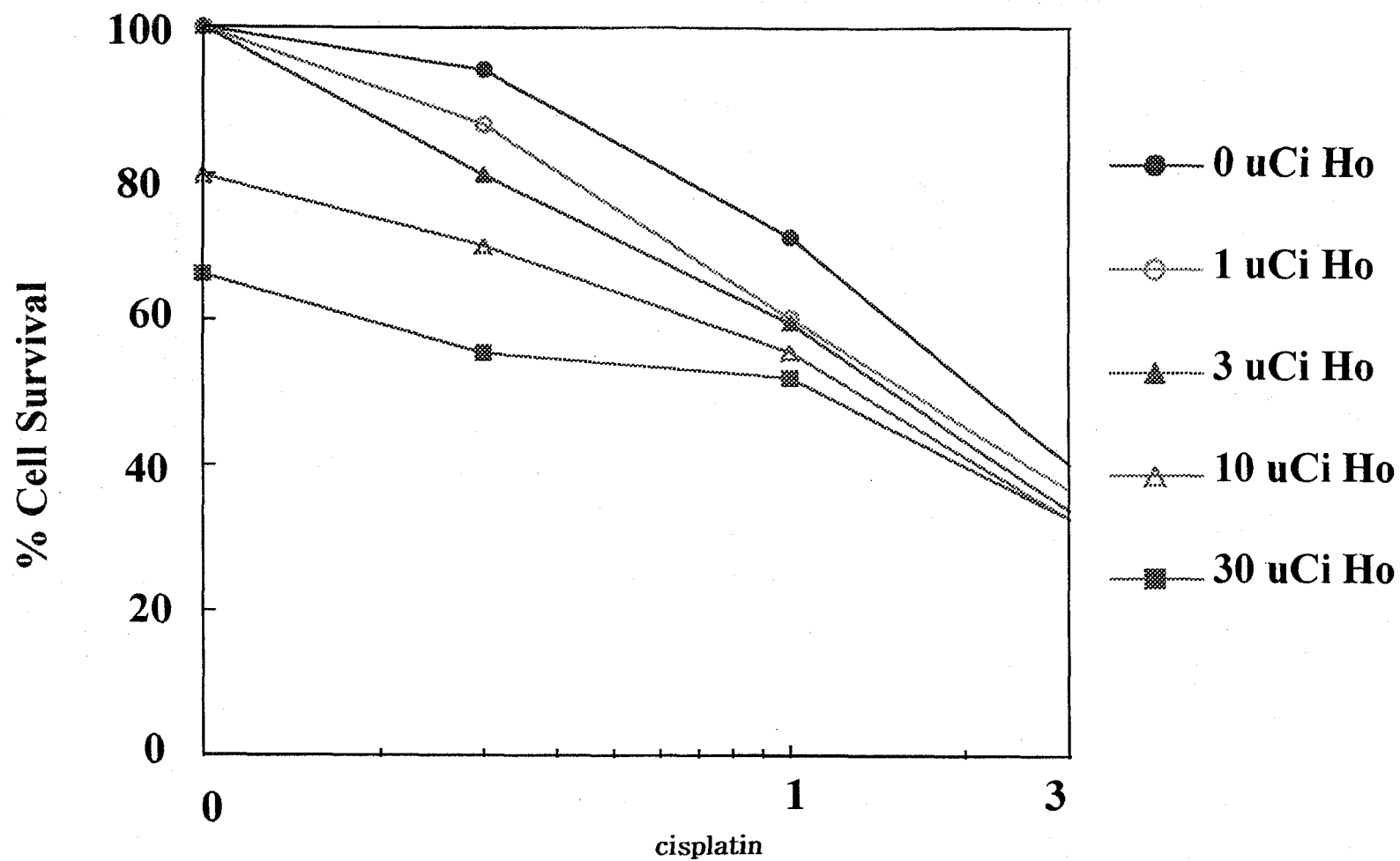


그림 11. Cytotoxicity of ^{166}Ho and CDDP on KATO III Cell line cotreatment

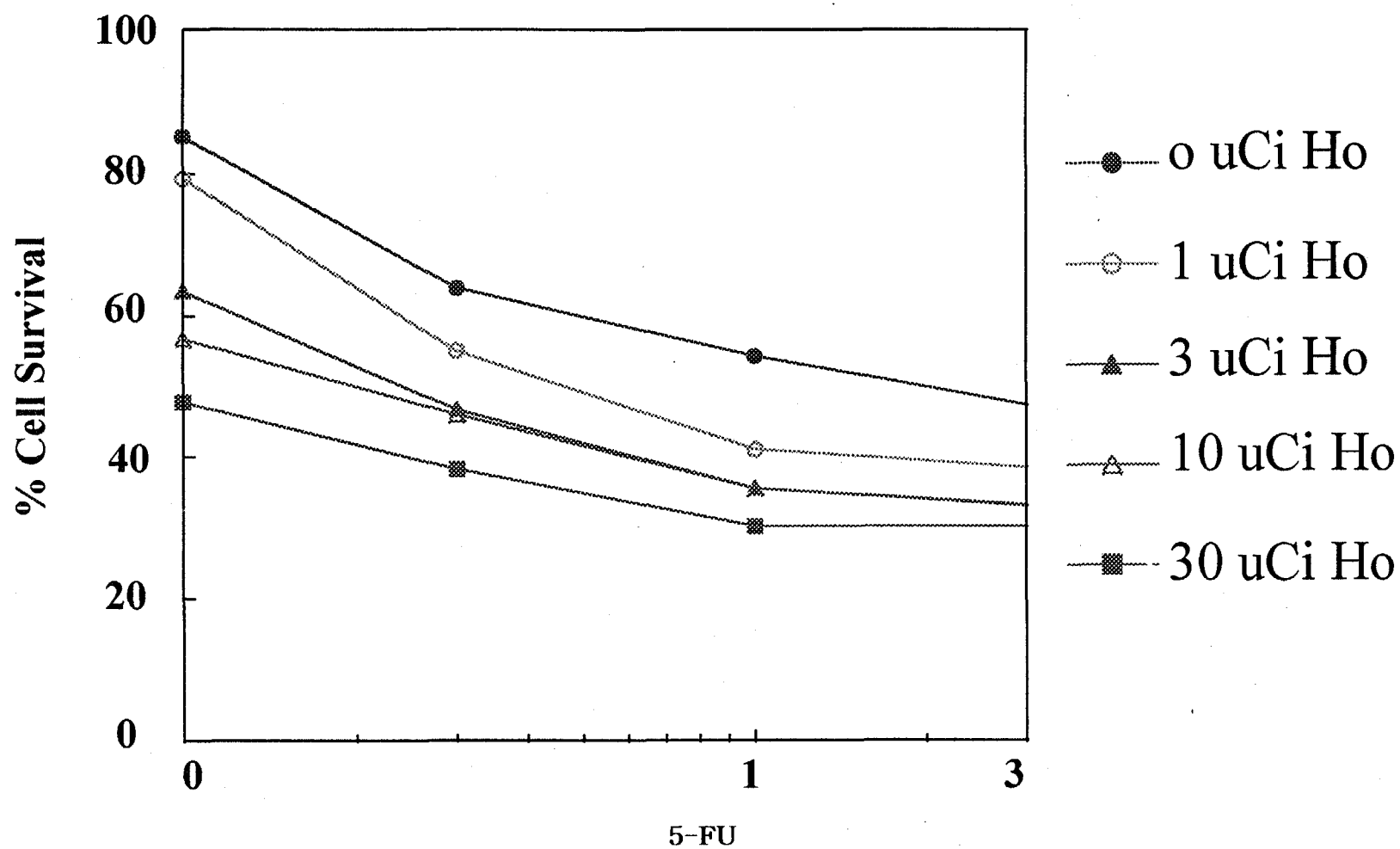


그림 12. Cytotoxicity of ^{166}Ho and 5-FU on KATO III Cell line cotreatment

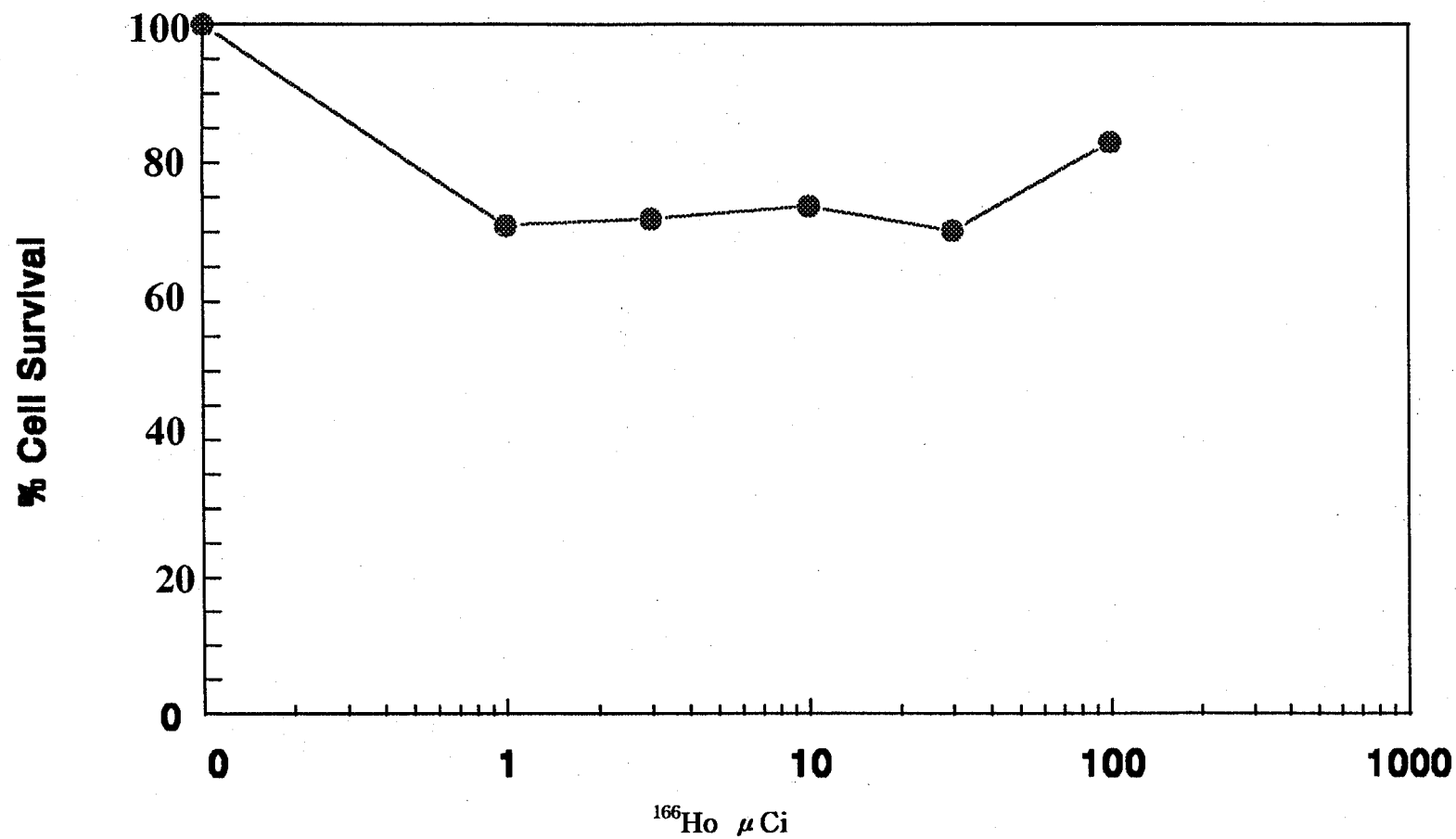


그림 13. Cytotoxicity of ^{166}Ho on HS 746T Cell line

두 substratum에 attached 상태로 성장하므로 cell to substratum attachment가 radionucleotide 혹은 항암제의 세포 사멸 효과에 영향을 미칠 것으로 사료되며 이들의 관계 규명은 장차의 더 많은 기초 연구를 통하여 가능할 것으로 사료된다.

다. ^{166}Ho 의 세포독성 평가를 위한 colony forming assay법 수립

MTT assay법이 세포독성 평가에 가장 용이한 방법이나 ^{166}Ho 의 세포독성평가에 적합한지 또한 그 단점을 보완하여 ^{166}Ho 의 독성 평가의 정확한 기술을 확보하기 위하여 ^{166}Ho 단독 혹은 cisplatin 공동처리후 암세포의 colony forming 능력을 측정하는 방법을 수립하였다. Colony 형성 정도를 평가하기에 적합한 조건을 수립하기 위하여 SKOV-3 cell line과 SW 626 cell line을 여러 다른 농도로 plating하여 colony counter가 인지할 수 있는 colony size을 형성할 수 있는 incubation time, plating 세포수와 형성된 colony 수의 관계가 비례하는 plating 세포수를 결정하였다.

1) SW626 cell line

1×10^3 - 1×10^4 세포를 6 well plate에 plating하여 20 일간 배양하여 colony size가 200 um 이상인 colony (Arteck colony counter로 colony 수의 측정이 가능한 size 임)를 형성하였음

No.of plating cells	No of colony (n = 3)
1×10^3	36
2×10^3	71
3×10^3	85
5×10^3	101
1×10^4	98 *

* large colony formed in the middle of culture dish

2) SKOV-3 cell line

1×10^3 - 1×10^4 세포를 6 well plate에 plating하여 7 일간 배양하여 colony size가 200 um 이상인 colony (Arteck colony counter로 colony 수의 측정이 가능한 size 임)를 형성하였음

No.of plating cells	No of colony (n = 3)
1×10^3	34
2×10^3	53
3×10^3	56*
5×10^3	70*
1×10^4	74*

* large colony formed in the middle of culture dish

두 세포주에서 $1 - 2 \times 10^3$ cell을 plating하였을 때 plating cell number와 형성된 colony의 수가 비례하므로, 적합한 plating 세포수를 2×10^3 으로 선정하였다. SW626 세포주는 20 일간 배양, SKOV-3 세포주는 7 일간 배양이 Arteck colony counter로 측정 가능한 colony size를 형성하는 기간임을 설정하였음.

3) Colony forming assay법을 이용한 ^{166}Ho , cisplatin의 단독 혹은 병용 처리에 의한 세포사멸 효과 검색

SKOV-3 cell line 2×10^3 세포를 plating 한후 1 일이 경과하여 세포의 정착을 유도하고 ^{166}Ho 0.3 uCi/ml, 1uCi/ml, 3 uCi/ml, 10 uCi/ml, 30 uCi/ml 와 cisplatin 0.1 ug/ml, 0.3 ug/ml, 1 ug/ml, 3 ug/ml의 단독 혹은 병용 처리 한후 colony forming 정도를 비교하였다.

CDDP H0-166	0 ug/ml	0.1 ug/ml	0.3 ug/ml	1 ug/ml	3 ug/ml
0 uCi/ml	29	19	12	4	1
0.3 uCi/ml	25	20	13.5	3	3
1 uCi/ml	23	14	18	7	2
3 uCi/ml	19	18	9.5	6	1
10 uCi/ml	*	12.5	10.5	4.5	1
30 uCi/ml	14	12	10	5	2

* failed due to contamination.

** 몇 개의 well에서 colony의 merging이 관찰되어서 정확한 colony number의 평가가 어려운 경우는 실험군에서 제외하였음.

Colony forming assay법에 의한 cisplatin의 세포사멸효과는 dose dependency를 보였으나 ^{166}Ho 의 세포사멸효과는 결과에 일관성이 적어서 정확한 평가를 위한 재실험을 진행중에 있다. colony size가 큰 경우 이웃하는 colony와 merging하여 한 개의 colony로 측정되는 경우가 있었고 또한 대부분의 colony가 배양 용기의 중심에 위치하여(suspended cell이 부착하기 전에 배양액의 흔들림에 따른 vortex 효과 때문에 배양용기의 center로 세포가 모임) colony의 merging를 증가시키므로 계획하고있는 재실험에서는 soft agar로 single 세포군의 위치 고정을 시도하고 있다. SW626 cell line에서도 ^{166}Ho , cisplatin 단독 혹은 병용의 세포사멸효과를 측정하기위한 실험을 수행하였으나 colony size가 작아 Artek colony counter에서 측정이 불가능하여 재실험이 진행 중에 있다.

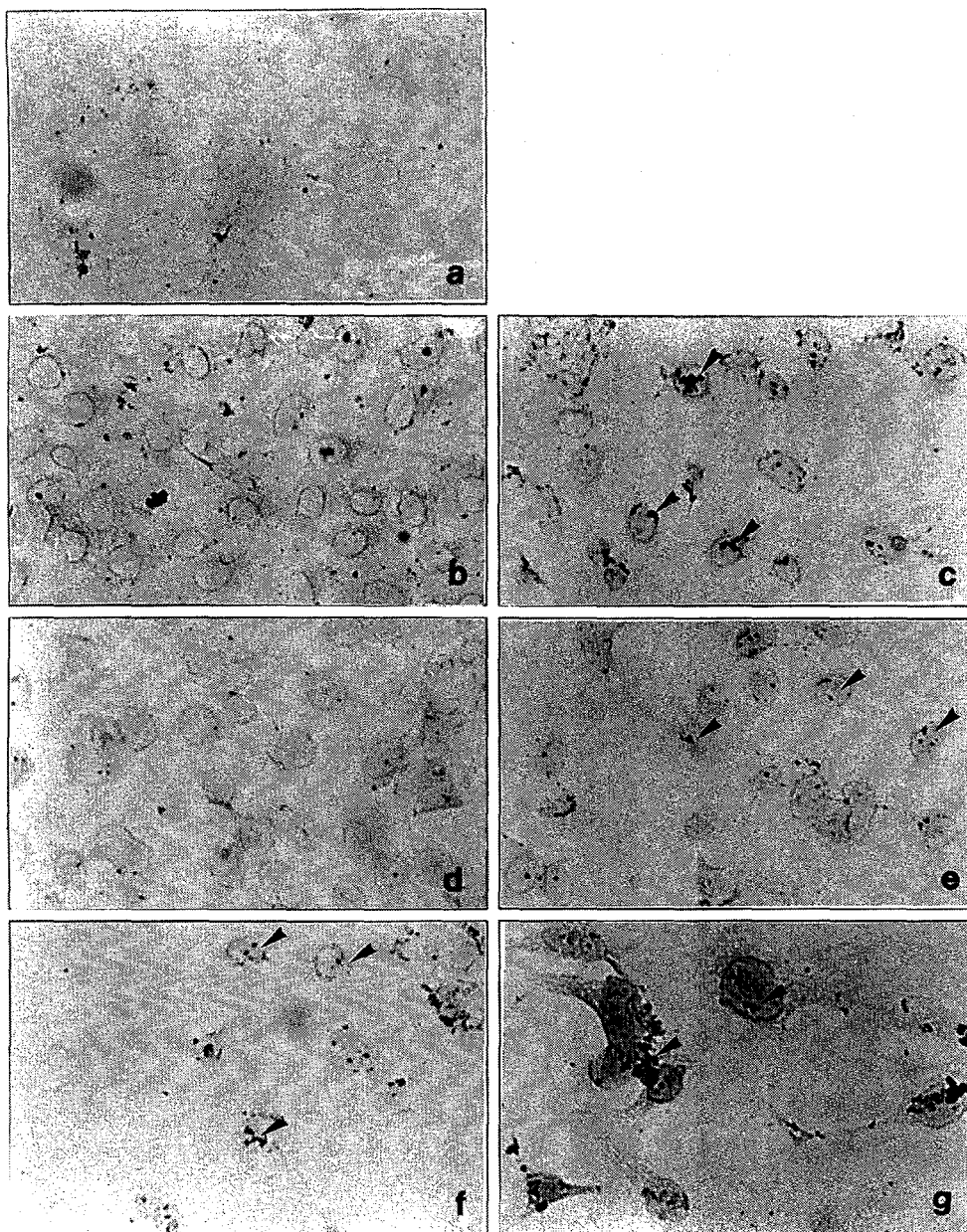
라. ^{166}Ho , cisplatin 단독 혹은 병용 처리에 의한 세포 사멸의 기전 연구

^{166}Ho 또는 cisplatin에 의한 세포 사멸 기전을 연구하여 이에 근거한 세

포사멸효과의 증진을 위한 방법 및 기술을 모색하기 위하여 이들 처리후 동반 될 것으로 기대되는 DNA fragmentation를 측정하였다. ^{166}Ho , cisplatin에 의한 DNA손상을 확인하기 위하여 SKOV-3 cell, SW626 cell을 12mm cover slip 위에 1 일간 배양하여 세포정착을 시킨후 ^{166}Ho (0, 3, 30 uCi/ml), cisplatin(0.1 ug/ml, 1 ug/ml), 단독처리 혹은 ^{166}Ho (3 uCi/ml) + cisplatin(0.1 ug/ml)의 병용처리후 6 시간, 16 시간, 48 시간 후에 95% ethyl alcohol로 고정한후 Apop-Tag 방법으로 염색하여 DNA fragmentation 정도를 측정하였다.

^{166}Ho 처리 혹은 cisplatin 처리후 6 시간동안에는 Apop-Tag으로 염색된 세포수가 극히 적었고 16 시간후에 maximum에 도달했으며 48 시간후에는 사멸하는 세포가 이미 배양용액으로 떨어져나가게되었고, Apop-Tag에 염색되는 세포수가 적었다. 48 시간 경과후 생존한 세포의 경우 DNA 손상의 회복이 이미 진행되었을 것으로 사료되었다. 그러므로 장차 cisplatin과 ^{166}Ho 의 반복처리에 의한 치료 효과를 얻기위해서는 이들 처리후 DNA손상이 초고조인 시간과 DNA 수복이 진행된 시간 사이에 재투여를 하는 것이 효과적일 것으로 사료되며 이들의 반복 투여 효과는 colony forming assay, Apop-Tag 염색 등의 방법으로 확인할 계획이다.

^{166}Ho 처리 혹은 cisplatin 처리 16시간 후에 고정한 세포의 Apop-Tag 염색 결과에 의하면 cisplatin 1 ug/ml(panel c), ^{166}Ho 30 uCi/ml(panel e) 처리한 세포에서 90 % 이상의 세포가 Apop-Tag으로 염색되었다. (그림 14) 그러나 이 농도의 1/10에 해당되는 0.1 ug/ml cisplatin (panel b)과 3 uCi/ml ^{166}Ho (panel d) 처리에서는 거의 대부분의 세포가 Apop-Tag으로 염색되지 않았다. 그러나 0.1 ug/ml cisplatin 과 3 uCi/ml ^{166}Ho 의 병용 처리한 경우 80 % 이상의 세포가 Apop-Tag으로 염색되었다. 이 결과는 96 연도의 연구 결과에서 관찰된 cisplatin과 ^{166}Ho 의 저농도의 병용이 세포사멸에 synergistic한 효과를 내었던 MTT 결과를 지지하는 연구 결과로서 cisplatin과 ^{166}Ho 의 세



Apop-Tag Staining of SKOV-3 cell line at 16 hr treatment of ^{166}Ho or/and CDDP

a) control, b) CDDP: 0.1 ug/ml, c) CDDP: 1 ug/ml d) ^{166}Ho : 3 uCi/ml

e) ^{166}Ho : 30 uCi/ml, f, g) CDDP: 0.1 ug/ml + ^{166}Ho : 3 uCi/ml

Magnification: a-f):100X, g): 200X

그림 14. Apop-Tag Staining of SKOV-3 cell line at 16 hr treatment of ^{166}Ho or/and CDDP

포사멸효과는 apoptosis에 의해 진행될 것임을 제시해준다. 이세포들이 모두 p-53 단백질에 돌연변이가 있으므로 cisplatin과 ^{166}Ho 에 의한 apoptosis는 p-53 independent pathway로 진행 될 것으로 추정된다.

2. 흡수선량 평가

1) 연구방법

$^{166}\text{Ho-CHICO}$ 가 강(cavity)내에 주입이되면 강내부액 (intracavitary fluid)에서의 확산이 일어나고 그 중 일부는 강내벽 표면에 결합될 것이 예측된다. 강내부액에 확산되어있는 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 과 강내벽 표면에 결합되어있는 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 이 공히 강내벽의 에너지 흡수에 기여하므로 강내부액의 방사능 체적 밀도와 강내벽표면에서의 방사능 면 밀도를 정확히 파악할 필요가 있다.

soft tissue에서 베타 입자의 에너지 전달 현상은 Monte Carlo 방법을 채택한 EGS4⁴⁾ code를 이용하였다. EGS4-PRESTA version은 electron의 운동에너지가 10 keV 이하로, photon의 에너지가 1 keV 이하로 감소될 때까지 그 이동 및 에너지 전달 현상을 추적하도록한다. 10 keV 의 운동에너지를 갖는 electron의 soft tissue 내에서의 range는 2.6 μm 으로서 이는, 세포단위의 표적체에서의 국지적 에너지흡수를 설명하는데 유효한 크기이다.

■ 낭종양 모델

종양낭의 체적은 종양낭의 자기공명영상법(magnetic resonance imaging)에 의해 수집된 각 단편영상에서의 낭의 면적과 두께를 읽음으로써 계산할 수있다. 또한, 각 단편영상에서 낭의 주변길이를 측정함으로써 낭벽표면의

넓이를 계산할 수 있다. 낭내액의 방사능은 낭내액의 일부를 추출하여 체적 방사능 밀도를 측정하고 그 값을 이미 구해진 낭의 체적과 곱함으로써 구해진다. 낭내에 주입된 총방사능 중 낭벽표면에 결합되어있는 방사능은 주입된 방사능으로부터 낭내액에 확산되어있는 방사능을 빼 줌으로써 구해진다. 낭벽표면의 방사능을 낭벽표면의 넓이로 나누면 낭벽표면의 방사능 면밀도가 얻어진다.

계산을 하는데 이용한 기하학적 모델은 그림 15 과 같다. 계산의 편의를 위해 구 형태의 cyst 를 가정한다. 방사선원 영역으로서 종양낭에의 낭내체적과 낭벽표면을 설정하였다. $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 은 낭내체적과 낭벽 표면에서 균일하게 분포하는 것으로 가정하였다. 낭내액의 기본 방사능 체적 밀도와 낭벽표면의 기본 방사능 면밀도에 대해 각 1 mm 두께의 낭벽에서의 방사선 에너지 흡수밀도를 계산하였다. 이 기본 자료와 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 낭벽표면에서의 결합률을 이용하여 다양한 값의 낭내 방사능 주입량에 대한 낭벽의 방사선 흡수선량을 계산할 수 있다.

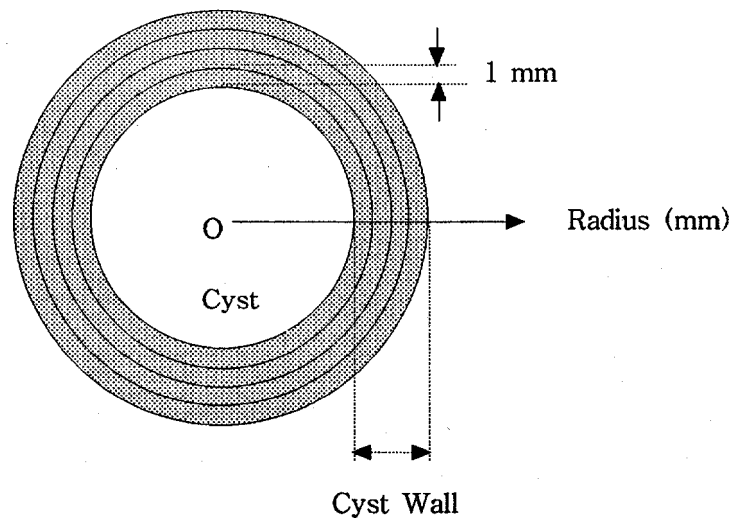


그림 15. Geometrical model for calculating dose to the cyst wall.

■ 복강내 전이암 모델

복강내 전이암에 의해 생성되는 복수(ascites)의 체적은 ^{99m}Tc 을 복수에 주입한 후 일부 복수를 채취하여 방사능 밀도를 측정하고 초기 주입된 방사능과 비교함으로써 그 체적을 계산할 수 있다. 체적을 알고 있는 복수에 대해, ^{166}Ho 을 주입한 후 채취된 복수 sample의 ^{166}Ho 방사능 밀도를 측정하면 복수내에 확산되어 있는 양을 계산할 수 있고 초기에 주입한 총 ^{166}Ho 양과 비교함으로써 복강 내벽에 결합되어있는 ^{166}Ho 방사능을 확인할 수 있다. 복벽의 방사능 면밀도 (areal activity density)는 복강 내벽면적의 standard value를 이용하여 계산할 수있다.

계산을 하는데 이용한 기하학적 모델은 그림 16 과 같다. 계산의 편의를 위해 반무한(semi-infinite) 체적의 복수 영역과 그에 접한 복강내벽 영역을 가정하였다. 방사선원 영역으로서 복수내부체적과 복벽표면이 설정되었다. $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 은 복수와 복강내벽 표면에서 균일하게 분포하는 것으로 가정하였다. 복수내 단위 방사능 체적 밀도와 복벽표면의 단위 방사능 면밀도에 대해 각 $10\ \mu\text{m}$ 두께의 복벽에서의 방사선 에너지 흡수밀도를 계산하였다. 이 기본 자료와 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 복벽표면에서의 결합률을 이용하여 다양한 값의 복수내 방사능 주입량에 대한 복벽의 방사선 흡수선량을 계산할 수 있다.

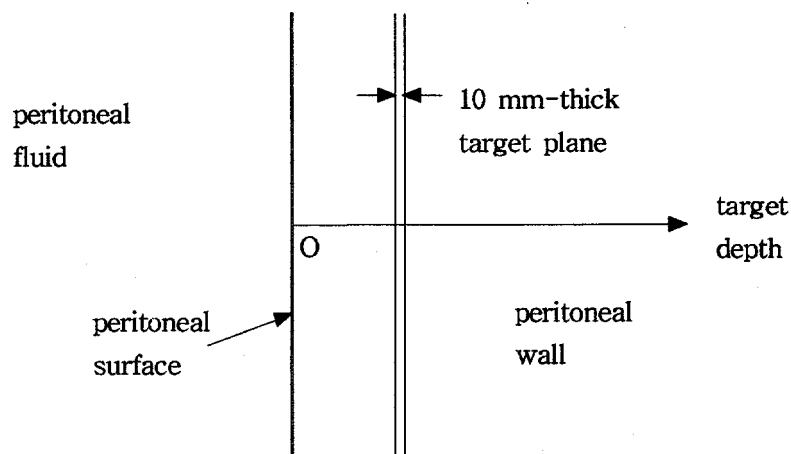


그림 16. Geometrical model for calculating dose to the peritoneal wall.

2) 연구 결과 및 토의

■낭종양 모델

낭내액에 확산되어있는 ^{166}Ho -CHICO에 의해 낭벽에 전달되는 방사선 흡수선량은 표 2-4에 기록되어있다. 총 10 mCi의 ^{166}Ho -CHICO이 직경이 각각 1 cm, 2 cm, 3 cm인 구형 낭에 균일하게 분포되어있다고 가정하였다. 깊이 1 mm이내의 표적체에서의 선량에 대비하여 깊이 4 mm에서의 선량은 그 크기가 5% 이하로 감소되어있음을 알 수있다. 깊이 4 mm 까지의 표적체에서 흡수되는 총에너지를 100%로 보았을 경우에 1 mm두께의 표적체에서 흡수되는 에너지 크기는 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm 깊이에서 각각 약 60%, 15%, 10%, 5%로 나타난다.

표 2. Absorbed dose to a 1 mm-thick cyst wall at a varying depth for a 1 cm-dia. cyst when 10 mCi of ^{166}Ho is uniformly distributed in the cystic fluid.

target depth (mm)	absorbed dose (Gy)	relative dose	cummulative energy absorption
1.0	1283. (2.63%) ^a	100.	58.7
2.0	407.6 (1.62%)	31.8	84.8
3.0	132.2 (3.38%)	10.3	96.0
4.0	36.70 (5.10%)	2.86	100.

a. percent fractional standard deviation

표 3. Absorbed dose to a 1 mm-thick cyst wall at a varying depth for a 3 cm-dia. cyst when 10 mCi of ^{166}Ho is uniformly distributed in the cystic fluid.

target depth (mm)	absorbed dose (Gy)	relative dose	cummulative energy absorption
1.0	141.4 (1.92%) ^a	100.	61.2
2.0	48.09 (4.64%)	34.0	86.1
3.0	16.64 (3.54%)	11.8	96.2
4.0	5.259 (5.88%)	3.72	100.

a. percent fractional standard deviation

표 4. Absorbed dose to a 1 mm-thick cyst wall at a varying depth for a 3 cm-dia. cyst when 10 mCi of ^{166}Ho is uniformly distributed in the cystic fluid.

target depth (mm)	absorbed dose (Gy)	relative dose	cummulative energy absorption
1.0	40.00 (4.58%) ^a	100.	60.5
2.0	14.96 (4.09%)	37.4	86.2
3.0	5.315 (4.72%)	13.3	96.4
4.0	1.660 (11.2%)	4.15	100.

a. percent fractional standard deviation

낭벽 표면에 결합되어 있는 ^{166}Ho -CHICO에 의해 낭벽에 전달되는 방사선 흡수선량은 표 5-7에 기록되어있다. 총 10 mCi의 ^{166}Ho -CHICO이 직경이 각각 1 cm, 2 cm, 3 cm인 구형 낭벽 표면에 균일하게 분포되어있다고 가정하였다. 깊이 1 mm이내의 표적체에서의 선량에 대비하여 깊이 4 mm에서의 선량은 그 크기가 5% 이하로 감소되어있음을 알 수있다. 깊이 4 mm 까

지의 표적체에서 흡수되는 총에너지를 100%로 보았을 경우에 1 mm두께의 표적체에서 흡수되는 에너지 크기는 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm 깊이에서 각각 약 60%, 15%, 10%, 5%로 나타난다.

표 5. Absorbed dose to a 1 mm-thick cyst wall at a varying depth for a 1 cm-dia. cyst when 10 mCi of ^{166}Ho is uniformly bound to the cyst wall surface.

target depth (mm)	absorbed dose (Gy)	relative dose	cummulative energy absorption
1.0	4967. (1.74%) ^a	100.	59.4
2.0	1421. (3.90%)	28.6	83.1
3.0	523.8 (2.59%)	10.5	94.7
4.0	184.1 (2.19%)	3.71	100.

a. percent fractional standard deviation

표 6. Absorbed dose to a 1 mm-thick cyst wall at a varying depth for a 2 cm-dia. cyst when 10 mCi of ^{166}Ho is uniformly bound to the cyst wall surface.

target depth (mm)	absorbed dose (Gy)	relative dose	cummulative energy absorption
1.0	1317. (.990%) ^a	100.	62.8
2.0	393.0 (2.38%)	29.8	85.3
3.0	151.9 (4.51%)	11.5	95.5
4.0	56.83 (6.67%)	4.31	100.

a. percent fractional standard deviation

표 7. Absorbed dose to a 1 mm-thick cyst wall at a varying depth for a 3 cm-dia. cyst when 10 mCi of ^{166}Ho is uniformly bound to the cyst wall surface.

target depth (mm)	absorbed dose (Gy)	relative dose	cummulative energy absorption
1.0	601.7 (.685%) ^a	100.	63.4
2.0	188.7 (2.39%)	31.3	85.9
3.0	73.87 (2.17%)	13.0	95.8
4.0	27.80 (3.25%)	4.62	100.

a. percent fractional standard deviation

^{166}Ho -CHICO 방사능의 크기와 낭벽표면에 결합되어있는 ^{166}Ho -CHICO 방사능의 크기를 각각 체적 밀도와 면 밀도로 나타내었을 경우에 각각 1 cm, 2 cm, 3 cm 직경의 낭벽에 흡수되는 선량이 표 8과 9에 기록되어있다. 1 mCi/ml의 방사능 체적 밀도와 0.1 mCi/cm²의 방사능 면 밀도가 고려되었다. 동일한 값의 방사능 체적 밀도 및 면 밀도는 다른 크기의 낭 모델들에 대하여 비슷한 크기의 흡수선량을 유도함을 알 수있다.

낭성 뇌종양 환자에 ^{166}Ho -CHICO를 이용한 낭내 방사치료를 적용한 한 임상예로부터 ^{166}Ho -CHICO의 낭벽표면 결합률이 98.1% 로 나타났다. (이 환자의 CT 영상은 ^{166}Ho -CHICO이 낭외부로 누출없이 낭내부에 그 분포가 제한되어 있음을 보여주었다.) 98.1%의 ^{166}Ho -CHICO 낭벽 표면 결합률을 다른 종양낭의 경우에도 적용할 수있다는 가정하에 3 cm 직경의 낭에 10 mCi의 ^{166}Ho -CHICO이 주입된 경우를 고찰하여보았다. 이 경우에 낭내액의 초기 방사능 체적 밀도는 0.0134 mCi/ml이고 낭벽 표면의 초기 방사능 면 밀도는 1.388 mCi/cm² 이다. 표 8 과 9의 자료를 이용하여 낭벽에 흡수되는 선량을 계산하면, 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm 깊이의 낭벽에 낭내액의 선원은 각각 0.759 Gy, 0.283 Gy, 0.101 Gy, 0.0314 Gy의 선량을 낭벽 표면의 선

원은 각각 2361 Gy, 740 Gy, 290 Gy, 109 Gy의 선량을 야기한다.

^{166}Ho -CHICO의 낭벽 표면 결합 특성이 고려되지 않고 낭내액에 균일하게 분포한다고 가정하였을 경우에, 3 cm 직경의 중앙낭에 주입된 10 mCi의 ^{166}Ho -CHICO에 의한 낭벽의 방사선 흡수선량은 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm의 깊이에서 각각 40.06 Gy, 14.96 Gy, 7.513 Gy, 1.660 Gy로 평가된다. 98.1%의 ^{166}Ho -CHICO 낭벽 표면 결합률이 적용된 흡수선량 자료와 비교하였을 때, ^{166}Ho -CHICO의 낭벽 표면 결합 특성이 고려되지 않은 낭벽의 흡수선량 자료는 약 98%의 평가저하가 발생할 수 있음을 알 수 있다.

표 8. Absorbed dose (Gy) to a 1 mm-thick cyst wall at a varying depth for 1 mCi/ml of ^{166}Ho uniformly distributed in the cystic fluid.

target depth (mm)	1 cm-dia.	2 cm-dia.	3 cm-dia.
1.0	67.18 (2.63%) ^a	59.24 (1.92%)	56.64 (4.58%)
2.0	21.34 (1.62%)	20.14 (4.64%)	21.15 (4.09%)
3.0	6.923 (3.38%)	6.968 (3.54%)	7.513 (4.72%)
4.0	1.920 (5.10%)	2.202 (5.88%)	2.347 (11.2%)

a. percent fractional standard deviation

표 9. Absorbed dose (Gy) to a 1 mm-thick cyst wall at a varying depth for 0.1 mCi/cm² of ¹⁶⁶Ho uniformly bound to the cyst wall surface.

target depth (mm)	1 cm-dia.	2 cm-dia.	3 cm-dia.
1.0	156.1 (1.74%) ^a	165.5 (.990%)	170.1 (.685%)
2.0	44.63 (3.90%)	49.39 (2.38%)	53.33 (2.39%)
3.0	16.45 (2.59%)	19.09 (4.51%)	20.89 (2.17%)
4.0	5.785 (2.19%)	7.139 (6.77%)	7.860 (3.25%)

a. percent fractional standard deviation

■복강내 전이암 모델

복수에 확산되어있는 ¹⁶⁶Ho-CHICO에 의해 복벽에 전달되는 방사선 흡수선량은 표 10-11에 기록되어있다. 1 μ Ci/cm²의 areal activity density로 ¹⁶⁶Ho-CHICO이 복벽 표면에 균일하게 분포되어 있는 경우에 복벽의 방사선 흡수선량은 0 mm, 1 mm, 2 mm, 3mm, 4mm의 깊이에서 각각 80.8 Gy, 3.91 Gy, 1.09 Gy, .329 Gy, .0939 Gy이다. 0.1 μ Ci/ml의 volume activity density로 ¹⁶⁶Ho-CHICO이 복수에 균일하게 분포되어 있는 경우에 복벽의 방사선 흡수선량은 0 mm, 1 mm, 2 mm, 3mm, 4mm의 깊이에서 각각 7.40 Gy, 1.46 Gy, .658 Gy, .252 Gy, .0855 Gy이다. 복벽 표면에서의 흡수선량에 대한 4 mm 깊이에서의 상대적 흡수선량의 크기는, surface source 의 경우에 약 0.1%, volume source의 경우에 약 1%로 감소하였다.

Æ 10. Absorbed dose (Gy) to a 10 μm -thick peritoneal wall at a varying depth for 1 $\mu\text{Ci}/\text{cm}^2$ of ^{166}Ho uniformly distributed over the peritoneal wall surface.

target depth (mm)	absorbed dose (Gy)	relative absorbed dose ^a
0.0	80.8 (6.10%) ^b	100.
1.0	3.91 (5.99%)	4.84
2.0	1.09 (5.31%)	1.35
3.0	.329 (6.38%)	.408
4.0	.0939 (7.25%)	.116

a. dose value relative to that at the peritoneal surface

b. percent fractional standard deviation

Æ 11. Absorbed dose (Gy) to a 10 μm -thick peritoneal wall at a varying depth for 0.1 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ of ^{166}Ho uniformly distributed in the peritoneal fluid.

target depth (mm)	absorbed dose (Gy)	relative absorbed dose ^a
0.0	7.40 (8.24%) ^b	100.
1.0	1.46 (6.56%)	19.7
2.0	.658 (6.09%)	8.89
3.0	.252 (5.57%)	3.40
4.0	.0855 (3.13%)	1.16

a. dose value relative to that at the peritoneal surface

b. percent fractional standard deviation

표 12. Absorbed dose (Gy) to a 10 μ m-thick peritoneal wall at a varying depth for 1.3 μ Ci/cm² of ¹⁶⁶Ho surface source and 0.1 μ Ci/ml of ¹⁶⁶Ho volume source.

target depth (mm)	surface source (Gy)	volume source (Gy)	total absorbed dose (Gy)
0.0	105.	17.8	123.
1.0	5.08	3.50	8.59
2.0	1.42	1.58	3.00
3.0	.428	.605	1.03
4.0	.122	.205	.327

Fischer rat을 이용한 복수 모사 실험으로부터 약 93.2~95.6%의 ¹⁶⁶Ho-CHICO 복벽 부착률이 관찰되었다. 한 실험예로서, 절개한 복벽의 감마계수로부터 1.3 μ Ci/cm²의 ¹⁶⁶Ho-CHICO 복벽 방사능과 채취한 복수의 감마계수를 통해 2.4 0.1 μ Ci/ml의 ¹⁶⁶Ho-CHICO 복수 방사능을 구하였다. 이 실험예에 대한 복벽의 방사선 흡수선량은 표 12에 주어진다. 얇은 위치에 놓인 복벽 표적체에서는 흡수선량의 대부분이 surface source의 영향인데 반하여, 복벽 표적체의 깊이가 깊어짐에 따라 volume source의 흡수선량에 대한 상대적 기여도가 증가함을 볼 수 있다.

3. 난소암 복강내 전이 치료

연구는 크게 3단계로 나누어 시행하였는데 첫째, OVCAR-3, SK-OV-3와 같은 난소암 세포주를 이용하여 MTT assay를 시행하여 ¹⁶⁶Ho-CHICO의 세포독성 및 cisplatin과의 병용효과에 대해 관찰하였고 상용화된 ICR 마우스를 이용하여 ¹⁶⁶Ho-CHICO의 독성시험을 시행하였다. 둘째, 전신 자가 방사기록법을 이용한 ¹⁶⁶Ho-Chitosan의 마우스 복강내 투여후 체

내 동태연구를 시행하였으며, 흡수선량의 평가를 시행하였다. 셋째, 난치성 난소암 환자 5명을 대상으로하여 총 14회에 걸쳐 ^{166}Ho -Chitosan을 투여하고 cisplatin 병합항암화학요법을 시행함으로써 임상효과 및 부작용, 독성여부를 관찰하였다.

1) $^{166}\text{Holmium}$ 의 세포 독성에 관한 in vitro 연구

: MTT assay를 이용한 난소암 세포주에서 ^{166}Ho 의 세포 독성 효과 및 cisplatin 병용 효과

OVCAR-3 세포의 경우에 1-30 uCi ^{166}Ho dose dependent fashion의 세포 사멸 효과를 관찰 할 수 있었다. 그러나 SK-OV-3 세포의 경우 cisplatin과 동시 병용 처리시 ^{166}Ho 의 세포 사멸효과의 상당한 증가가 관찰되었고 특히 저농도 및 고농도 cisplatin에서 synergistic pattern의 세포 사멸효과의 증가가 관찰되었다. cisplatin과 ^{166}Ho 의 처리 시간에 따른 ^{166}Ho 세포독성효과의 변화를 평가하는 연구에서 ^{166}Ho 의 선처리, 후처리 등에서 동시처리보다 낮은 세포독성 효과가 관찰되었으며 병용에 따른 세포독성의 상승효과는 관찰할 수 없었다. 이 결과는 난소암의 경우 ^{166}Ho 과 cisplatin을 동시에 병용처리함으로써 낮은 용량의 cisplatin에서 더 나은 항암효과를 기대할 수 있게 하는 연구결과로서 임상 적용시 치료 regimen의 설정에 고려해 볼만한 기초자료가 될 것이다. 그러나 일반적인 난소암의 결과로 인정하기에는 더 많은 세포주에 대해서 세포 사멸효과를 정확히 평가할 수 있는 HTCA법으로 연구할 필요가 있다고 사료된다.

2) ^{166}Ho -Chitosan 독성시험: 동화약품 중앙연구소에서 수행

: Conventional ICR mice를 이용한 in vivo test

상용량의 약 10배인 2.5mg/Kg/10ml in D/W에서도 독성 효과는 관찰되지 않고 4일간 생존함

3) 전신 자가 방사기록법을 이용한 ^{166}Ho -Chitosan의 마우스 복강내 투여 후 체내 동태연구

전신 자가 방사기록법을 이용한 ^{166}Ho -CHICO의 마우스 복강내 투여 후 체내동태 연구에서 soluble 및 macroaggregated ^{166}Ho -CHICO의 C57 mice 복강내 주사 후 6 및 48시간의 전신 자가 방사기록에서 방사능이 모두 복강내 장기의 복막측 표면에 분포함을 알 수 있었고, soluble form이 macroaggregated form보다 더 고른 분포를 보였다. 표지 후 5일에 주사한 macroaggregated ^{166}Ho -Chitosan의 분포는 간 및 척수 골수에 상당량의 방사능 분포를 보여 radiolysis 등에 의해 분해된 작은 입자의 흡수를 시사하였다.

4) 흡수선량평가

체내에 주입된 ^{166}Ho -Chitosan에 의한 장기의 흡수 선량을 알기 위하여 computer를 이용한 모사실험을 시행하였는데, 첫번째 계산 모델로 brain tumor cyst에 주입한 경우에 cyst 주변 조직의 흡수선량을 평가하였다. 이 연구를 토대로 임의의 크기를 가진 구형 cyst에 있어서 주변 영역의 흡수선량의 예측이 가능하였다.

Brain cystic tumor에 대한 모사 계산은 복강내 주입된 ^{166}Ho -Chitosan에 의한 복강내 전이암의 암세포 및 복벽 세포에 대한 흡수선량 평가에 대해 유효한 자료를 제공하며, 복강내 모델 개발의 기초자료가 된다.

Target Depth (mm)	Source in the cyst		Source on the cyst	
	1 cm D	2 cm D	1 cm D	2 cm D
0.5	3.30($\pm 2.6\%$)	0.365($\pm 1.9\%$)	12.8($\pm 1.7\%$)	3.40($\pm 0.99\%$)
1.5	1.05($\pm 1.6\%$)	0.124($\pm 4.6\%$)	3.66($\pm 3.9\%$)	1.01($\pm 2.4\%$)
2.5	0.341($\pm 3.4\%$)	0.043($\pm 3.5\%$)	1.35($\pm 2.6\%$)	0.392($\pm 4.5\%$)
3.5	0.094(± 5.1)	0.014($\pm 5.9\%$)	0.474($\pm 2.2\%$)	0.147($\pm 6.7\%$)

5) 난소암 치료에 있어서 임상연구

난치성 난소암 환자 5명에 대해서 ^{166}Ho -Chitosan 복강내 투여 및 cisplatin based chemotherapy 병용 요법을 총 14회 시행하였다.

(1) 임상 시험시험의 대상 질환

임상시험 환자의 대상은 기존의 치료방법인 수술과 항암 약물치료에 완전 관해되지 않은 환자, 재발한 난소암 환자, 이상과 같은 조건이면서 난소암과 임상경과가 유사한 난관암, 원발성 복막암 환자 중 기존의 항암요법 등에 의해서는 완치가 어렵다고 추정되는 환자를 대상으로 하였다.

(2) 피험자의 선정기준 및 제외기준

A. 피험자의 선정기준

- 조직학적으로 판명된 지속적 혹은 재발성 난소암, 난관암 및 원발성복막암 환자 중 18세 이상 70세 미만인 경우
- 암의 전이가 복강 및 골반내에 국한된 경우
- 최근 4주간 수술 및 다른 항암요법, 호르몬 요법, 면역요법 등을 시행하지 않은 경우

- d. 간 및 신장 기능이 정상인 경우
- e. 골수 기능이 정상인 경우
- f. 심장 및 폐기능에 이상이 없는 경우
- g. 일상 생활 운동능력이 (ECOG performance status) 0-2인 경우
- h. 본 임상 실험에 자의로 참여를 결정하고 동의서에 서명한 경우

B. 피험자의 제외기준

- a. 복강내 치료가 불가능하다고 사료되는 심한 유착이 있는 경우
과거력상 복부 혹은 골반에 대한 방사선 치료를 시행했던 경우
- b. 급성 감염이 있는 경우
- c. 최근 5년간 다른 종류의 암으로 치료받았던 병력이 있는 경우
- d. 개복수술을 위한 마취 등이 불가능한 전신 질환이 있는 경우
- e. 임상시험 중 경미한 부작용 등에 의해 자의로 치료를 중단하려는 경우

(3) 임상시험 방법

A. 환자의 선정 및 기본 검사

병력 및 과거력 상 임상 시험의 대상이 된다고 사료되는 환자는 일단 이 임상 시험에 대한 설명을 상세히 시행하고 동의서를 취득한 후 병력 청취 및 이학적 검사를 시행하였다. 모든 환자는 치료 전 CBC, 간기능검사, BUN/creatinine, 흉부 X-ray사진 등의 일반적인 검사, CA-125, CA 19-9, CEA등의 종양표식물검사를 시행하였고, CT, MRI, USG등의 종양의 크기를 객관적으로 관찰할 수 있는 X-ray검사는 필요에 따라 시행하였다.

B. 시험적 개복술

이 임상실험을 시행하기로 결정된 환자는 일단 전신마취하에서 종양을 가

능한 제거하는 종양 축소 수술(cytoreductive surgery)을 시행하였고, 수술 후 holmium을 복강내로 투여하기 위한 peritoneal catheter인 Bard Port Titanium Implanted Port (Bard Access System, 5425 West Amelia Earhart Drive Salt Lake City, Utah, USA)를 삽입하였다.

C. Holmium 투여량을 결정을 위한 복강 내 용적 추정 검사 및 분포 검사

수술 후 7 - 14일 경과 후 환자에게 복수의 양이 충분한 경우는 ^{99m}Tc -sulfur colloid를 적당량 투여하여 gamma camera로 복강내 분포를 확인한 후 다시 복수 천자를 이용하여 농도를 측정함으로써 복강내 용적을 추정하였다. 한편 복수의 양이 적거나 점액성이어서 복수 천자가 불가능한 경우에는 peritoneal catheter를 통하여 1-2 liter의 생리 식염수를 주입하고 2mCi/liter의 ^{99m}Tc -sulfur colloid를 투여한 후 초음파를 이용하여 복수천자를 시도하고 농도를 측정함으로써 복강의 용적을 추정하고 gamma camera로 분포를 확인하였다.

D. 복강내 ^{166}Ho -CHICO 투여

일단 복강내의 용적이 계산되면 현재까지 안전하다고 사료되는 20 mCi/liter로 양을 계산하여 ^{166}Ho -CHICO를 투여하고, 50 - 100ml의 생리 식염수로 port관을 세척하였다. 이후 복부를 전동 마사지기로 마사지하고 환자를 좌우상하로 30분간 계속 움직이게 함으로써 복수와 ^{166}Ho -CHICO 충분히 혼합되고 복강내 전 표면에 분포하도록 하였다. 현재까지의 검사상 투여 후 소변으로의 방사성 물질의 배출은 극히 미미한 실정이나, 사용상의 안전성을 위하여 일단 각 용량의 첫번째 환자의 첫 cycle에서는 투여 후 3일까지 매일 아침 소변을 채취하여 잔류 방사선 양을 측정하였다. ^{166}Ho -CHICO 투여시 예상되는 구토 및 오심 증세의 완화를 위하여 0 hour, 4 hour, 8 hour에 ondansetron을 1 ample 씩 주사하였다.

F. ^{166}Ho -CHICO 투여량의 증가

일단 20 mCi/liter의 양으로 3명에게 시행하여 2명이상에서 grade 3 이상의 치료가 불가능한 부작용이 관찰되지 않으면, 10mCi/liter씩 용량을 동일한 방법으로 증가시킨다. 용량이 결정된 환자는 일단 6 cycle 씩 같은 용량으로 투여하며, 투여 중에 방사선의 cumulative effect에 의한 부작용이 있는지 관찰하였다.

(4) 임상시험 결과

환자의 연령은 31세에서 65세까지 였으며, 최초 난소암의 수술적 병기는 모두 FIGO 3기였다. 조직학적 유형은 immature teratoma 1례 mucinous epithelial cancer 2례, malignant sex cord tumor 1례, clear cell carcinoma 1례였다. 5례 모두 지속성 혹은 재발성 난소암이었으며, 2-3회의 수술 및 수회의 항암화학요법을 시행받았고 연구시작 당시 기존의 치료방법으로는 개선의 여지가 거의 없는 환자였다(표 13).

표 13. Patient Profiles with Intraperitoneal ^{166}Ho -CHICO Administration

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5
Age	31	51	40	65	52
Initial	IIIc	IIIc	IIIc	IIIc	IIIc
FIGO stage					
Pathologic type	Immature teratoma	Mucinous cancer	Malignant sex cord tumor	Mucinous cancer	Clear cell carcinoma
Previous treatment	Surgery X 2 ChemoTx ¹ RadioTx ² ChemoTx ³	Surgery X 2 ChemoTx ⁴	Surgery X 2 ChemoTx ⁵	Surgery X 3 ChemoTx ⁶	Surgery X 3 ChemoTx ⁷
Disease status	Recurrent	Persistent	Persistent	Persistent	Recurrent
Residual mass	> 4 cm	> 4 cm	> 4 cm	> 4 cm	> 4 cm

1. BEP(bleomycin, VP-16, Cisplatin) 7 cycle, 2. Open field technique, 3. VAC(vincristine, adriamycin, cyclophosphamide) 1 cycle, 4. CAC(cyclophosphamide, adriamycin, carboplatin) 3 cycle, Et-P(etoposide, cisplatin) 3 cycle, Et-I(etoposide, ifosfamide) 3 cycle, 5. CAP 6 cycle, Carboplatin 3 cycle, CC(cyclophosphamide, carboplatin) 1 cycle, 6. CAP 6 cycle, TP(taxol, cisplatin) 2 cycle, 7. Melphalan 6 cycle, CP(cyclophosphamide, cisplatin) 8 cycle, TP 1 cycle

복강내 ^{166}Ho -CHICO 투여는 5명의 환자에서 모두 14회 시행하였는데 그 임상효과는 표 14와 같다. 5명 중 4례에서 복수 천자의 빈도가 줄거나 점액 성이 묽어져 복수천자가 용이하게 되는 등 부분적인 반응을 보였으며, 약물 치료를 병합하지 않은 1례에서는 변화없이 2개월 후 사망하였다. 현재 3명의 환자가 투여 후 2개월 정도에 사망하였으며, 2명의 환자에서는 병의 진전없이 생존해있다. ^{166}Ho -CHICO 투여는 각각 1회부터 6회까지 시행하였으며, 현재 총 40 mCi까지 투여하고 있다(표 14). ^{166}Ho -CHICO 투여 후 나타나는 독성반응은 WHO classification에 의해 grade 1-4까지 분류하였으며, 이중 1례에서 grade 4의 설사를 동반하였고, 이외에 grade 3의 빈혈, 호산구 감소

중이 각각 1례, 말초신경증이 3례 발생하였으나 회복되었다(표 15).

표 14. Clinical Effects after Holmium Application

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5
Ascites tapping before Ho	3/weeks serotic fluid	ascites(+) but not done due to viscosity	2/weeks serotic fluid	ascites(+) but not done due to viscosity	small localized cyst in gastro- colic ligament
No. of injection	1 cycle	4 cycles	2 cycles	6 cycles	1 cycle
Dosage (mCi/Total)	40	40, 40, 35, 30	35, 35	25, 30, 30, 35, 35, 30	7
Combined chemotherapy	None	Cisplatin + Cytosan	Cisplatin	Carboplatin	None
Disease status after last ¹⁶⁶ Ho -CHICO	No change Death 2 months later	Marked after decreased ascites, Death 3 months later	Marked decreased ascites, Death 3 months later	Liquefied & Decreased decreased ascites, 2 Stable disease status	speed in collecting fluid, Stable disease status

표 15. Toxicity Evaluation(WHO Classification; total 14 cycles)

	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Abdominal pain	4	4	-	-
Nausea/Vomiting	6	-	-	-
Diarrhea	3	3	-	1
Fever	-	2	-	-
Anemia	1	5	1	-
Leucopenia	1	3	1	-
Dyspnea	-	1	-	-
Allergic reaction	1	-	-	-
Proteinuria	1	-	-	-
Hematuria	3	-	-	-
Peripheral neuropathy	-	-	3	-

4. 위암, 복강내 전이 치료

작년도 연구에 이어 금년연구도 제일상연구로 하였다. 위암수술후에 복수가 생길것으로 예상되는 환자 1명에게 예방적으로 수술직후에 1회 투여하고, 계속 투여하려 하였으나, 연구소 사정으로 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 가 생산이 되지않아 몇 달 지연된후에 복수가 생긴뒤에 투여 하였으나 복강내 전이가 너무 심하여 2회 투여한 후에 환자는 더 이상 추적이 되지 않았음. 1회부터 3회까지 투여하는 중에 간기능검사, 전혈검사 (CBC), 신장기능검사를 시행하였으나 이상소견 없었다. 첫회 투여직후 38°C 정도의 열이 하루동안 있었다.

5. 낭종성 뇌종양 치료

1) 연구 방법

$^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 이용하여 8명의 남성 뇌종양 환자를 치료하였다. 이 중 세명은 폐암이나 유방암이 전이된 뇌종양 환자이었고, 세 명은 재발한 성상세포종, 한 명은 재발한 삼차신경초종, 한 명은 두개인두종이었다. 각 낭종에서 종양 벽의 두께는 3 mm 이하 였고 수술적 처치가 어려운 깊은 위치에 있거나 수술로 인하여 정상적인 기능에 손상을 가져올 우려가 높은 환자를 대상으로 하였다 (표 16).

표 16. 증례 요약 및 치료결과

증례 번호	성별/ 나이	진단명	투여횟수 및 용량(mCi)	종양 용적 (ml)		벽의 두께(mm)	
				치료전	치료후	치료전	치료후
1	남/66	전이된 폐암	15, 15, 15	6.3	2.7	3	2
2	여/39	신경초종	15, 15	24	24	3	3
3	남/63	전이된 폐암	15, 20	16.8	6.2	1	2
4	여/34	정상세포종	10	60	2	1	1
5	여/26	정상세포종	10	47.4	10.6	1	2
6	남/14	두개인두종	20, 15	10.7	16.1	3	3
7	남/26	정상세포종	20	47	53.5	3	1
8	여/49	전이된 유방암	20, 5	14.3	0	2	1

두개 내 낭종에 대한 홀미움키코 주입을 정확히 하고 반복적인 주입도 가능하게 하기 위하여 오마야 리저버 (Ommaya reservoir, Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL 60015. USA)를 사용하였다. 오마야 리저버는 뇌 정위 수술로 설치하였으며, 조직학적 진단이 내려지지 않은 경우 리저버 설치와 동시에 조직 생검을 시행하였다. 낭성 종양이 두 개인 경우 가능하면 두 개 모두에 오마야 리저버를 설치하였다. 일단 오마야 리저버를 설치한 후 피하주사를 통하여 홀미움키코를 주입하였다. 전이성 뇌종양 환자에서는 전 뇌방사선치료 (whole brain radiation therapy, 3,000 rad)를 시행한 후 이에 동반하여 홀미움키코를 주입하였다. 홀미움키코를 주입하기 직전의 낭종 용적을 측정하고 또 동위원소가 새어나갈 가능성을 검사하기 위하여 조영제 1 cc를 미리 오마야 리저버에 주사한 후 CT 혹은 MRI를 시행하였다.

방사선 조사량은 모든 낭성 종양이 원형이라는 가정하에 깊이 4 mm 지점에서 2,500 rad가 되도록 모의계산을 하여 홀미움키코 투여 양을 결정하였다 (EGS4 code, Monte Carlo simulation). 홀미움키코 주입 후 동위원소의 분포는 감마카메라 또는 삼중헤드 SPECT 감마카메라로 추적하였다. 치료결과와 판정은 CT 혹은 MRI로 하였다.

2) 연구 결과

치료를 시행한 전체 여덟 명의 환자 중 여섯 명에서 종양의 용적이 감소하였다 (표 16). 이중 두 명 (증례 4, 8) 에서는 치료 후 낭성 종양이 거의 없어졌다 (그림 17, 18). 증례 7의 경우 종양 용적에는 유의한 변화 (낭종의 용적이 25% 이상 증가하거나 감소한 경우)가 없었으나 종양의 종괴 효과가 거의 없어져 뚜렷한 치료효과를 보였다 (그림 19). 증례 6의 두개인두종 1예에서 종양용적이 증가했는데 수술당시 종양 벽이 너무 두껍고 질겨서 수술적 제거가 어려웠던 경우로 종양 벽이 두꺼워서 낭내 방사선 조사에도 불구하고 위축되지 않았기 때문인 것으로 판단되었다.

세균감염은 8예 모두에서 관찰되지 않았고 동위원소 주입 후 주변 뇌조직의 부종에 의하여 일시적으로 좌측 부전마비가 더 진행된 예가 하나 있었으나 (증례 1) 후에 정상으로 회복되었다 (그림 20). 낭종이 뇌실과 거의 붙어있었던 4 예 (증례 2, 4, 5, 6) 중 1 예에서 (증례 5) 동위원소 주입 후 뇌실과 낭종 간에 교통로가 생겼으나 뇌실염 이나 뇌염, 혹은 뇌막염의 소견 등은 보이지 않았다.

이상 치료대상 8 명중 7 명에서 특별한 합병증 없이 뚜렷한 치료효과를 보았으며 앞으로 종양의 병리학적 종류에 따른 치료효과와 전체 생존기간에 미치는 영향 등 자세한 치료결과에 대하여서는 향후 계속적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

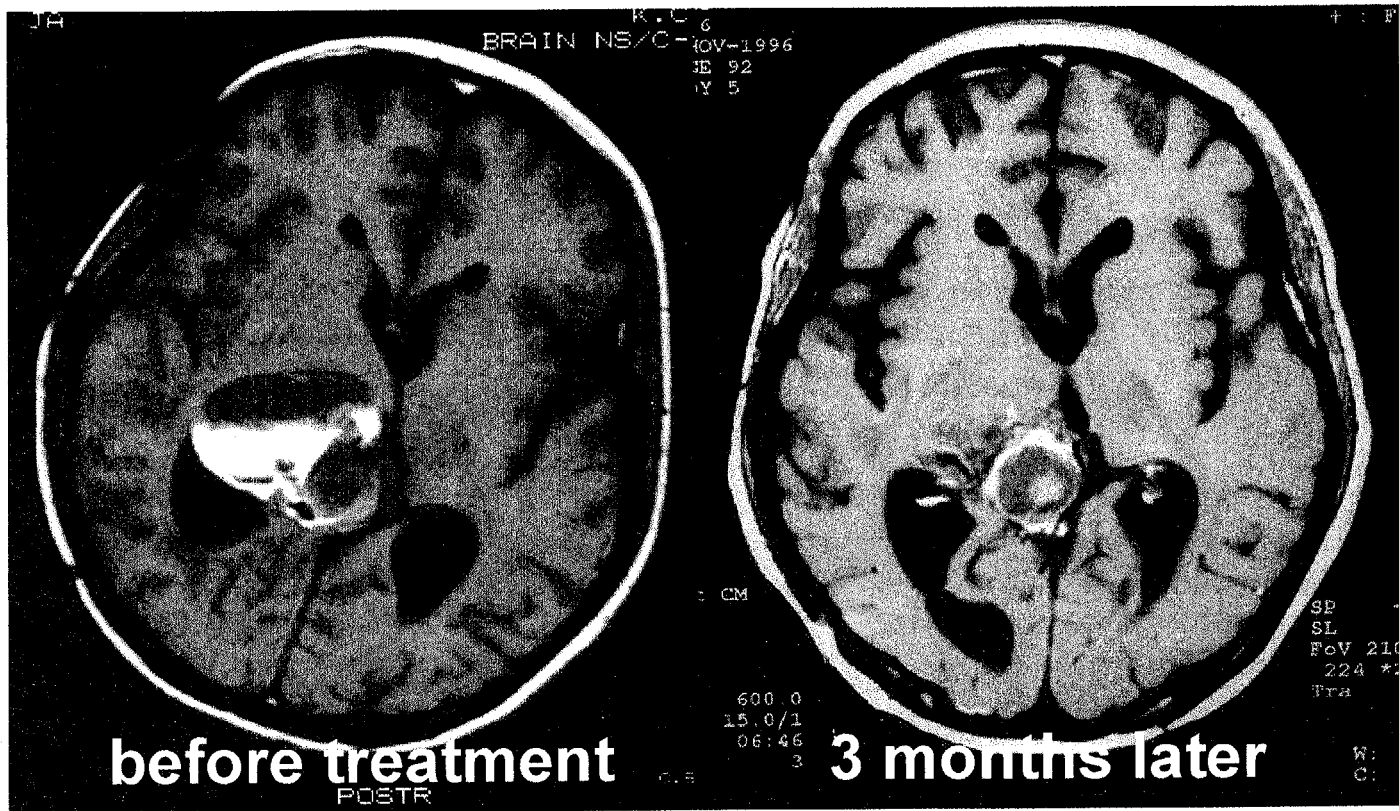


그림 17. ^{166}Ho -CHICO 주입전과 3개월후 MRI영상

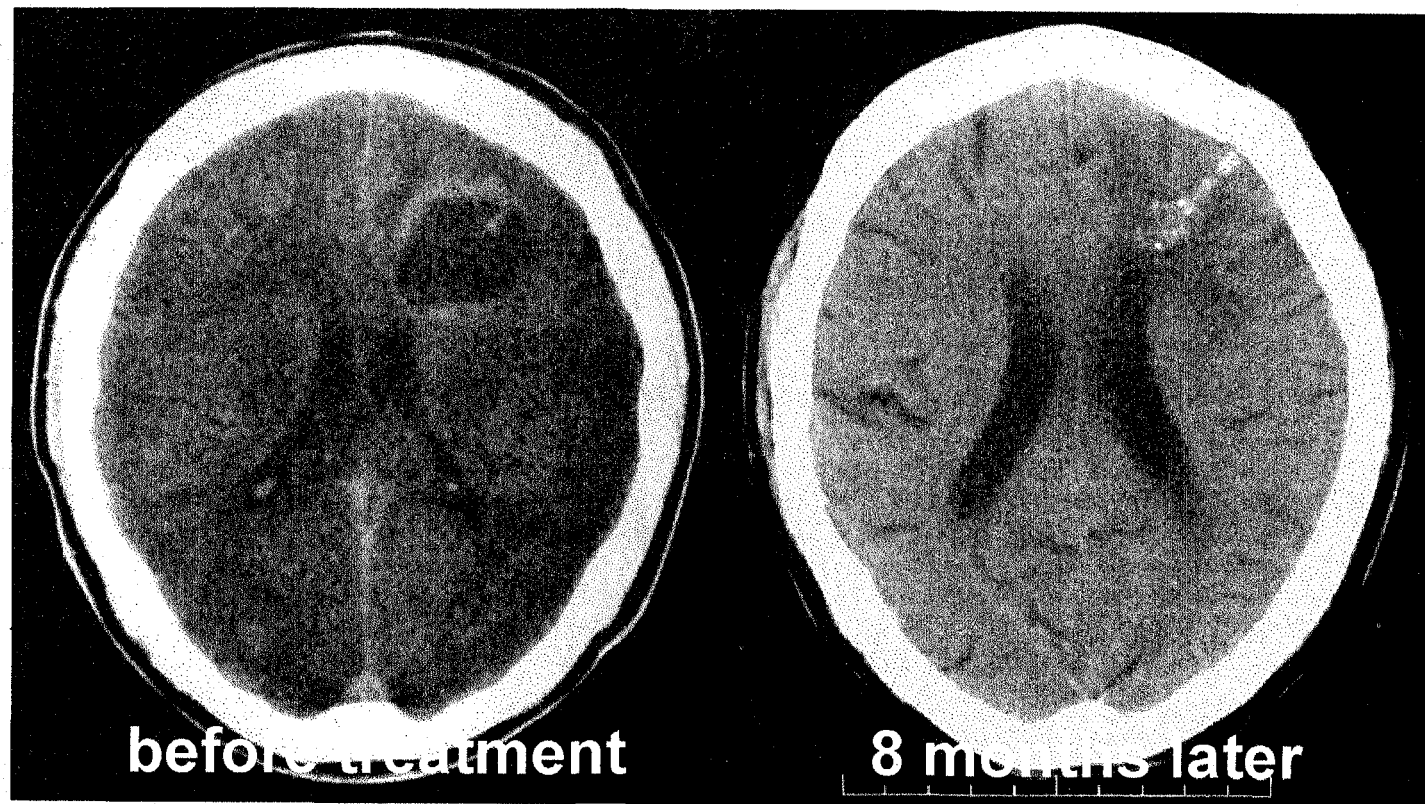


그림 18. ^{166}Ho -CHICO 주입후 낭종이 없어진 영상

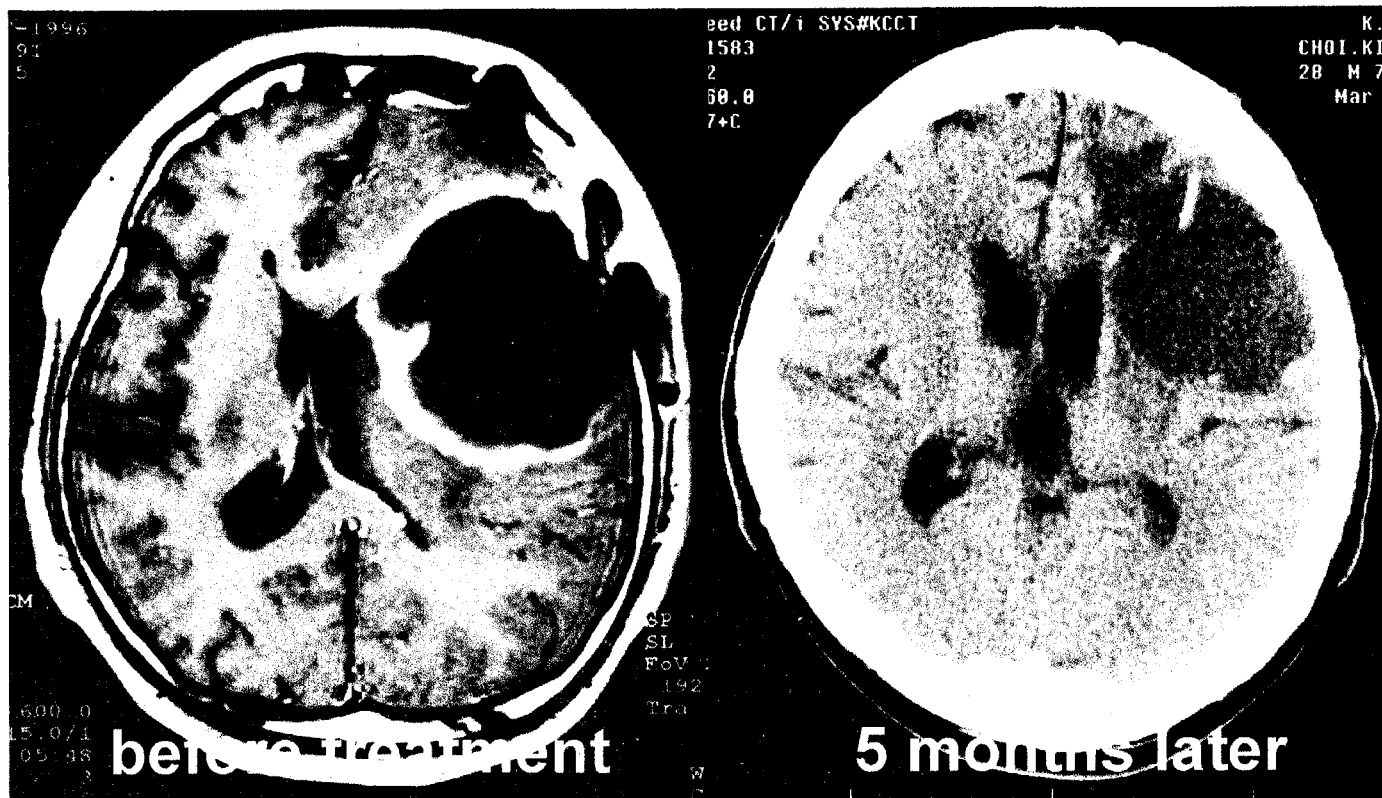
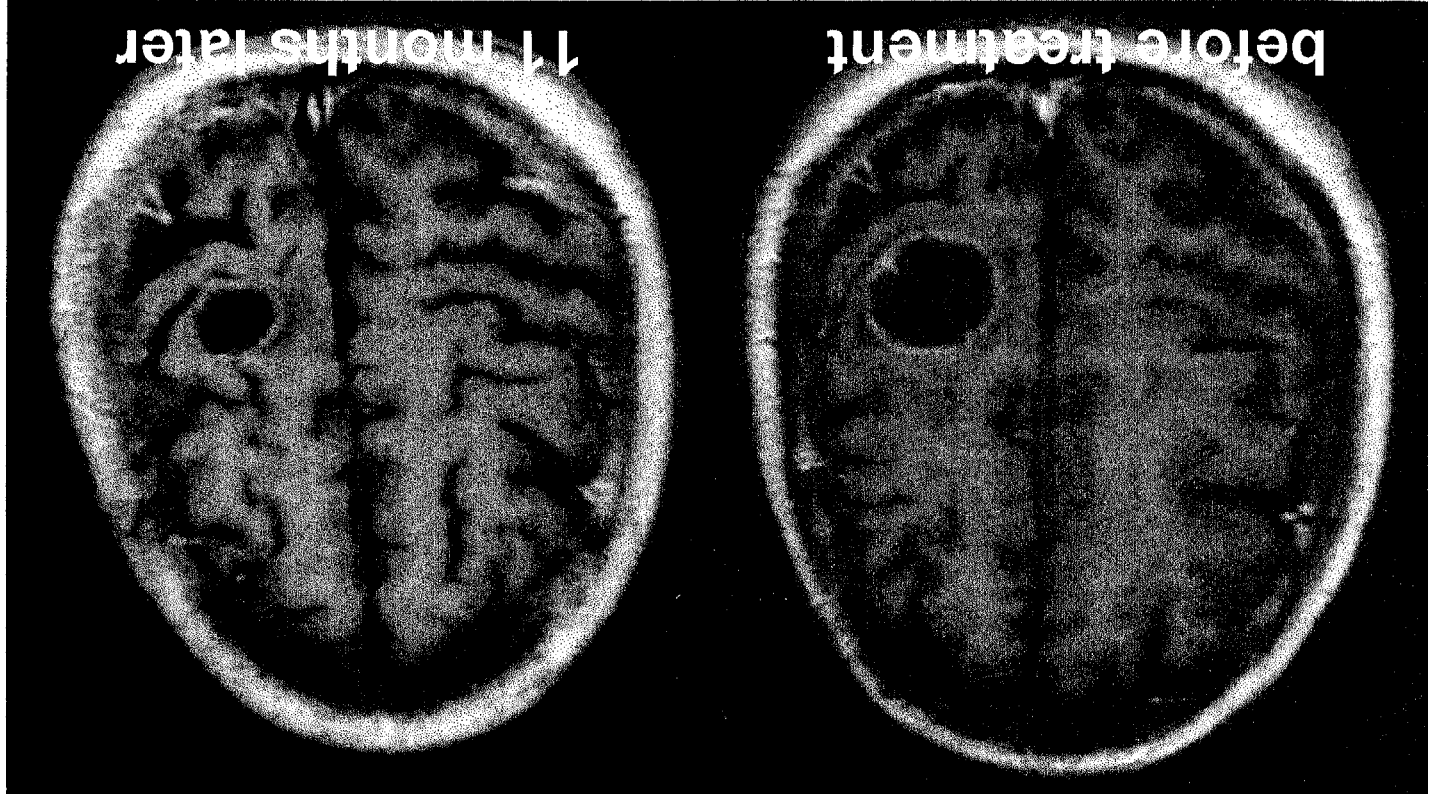


그림 19. ^{166}Ho -CHICO 주입후 5개월 후 CT 영상

그림 20. ^{166}Ho -CHICO 주입후 경사로로 돌아온 영상



6. 간암, 간동맥 주사 치료

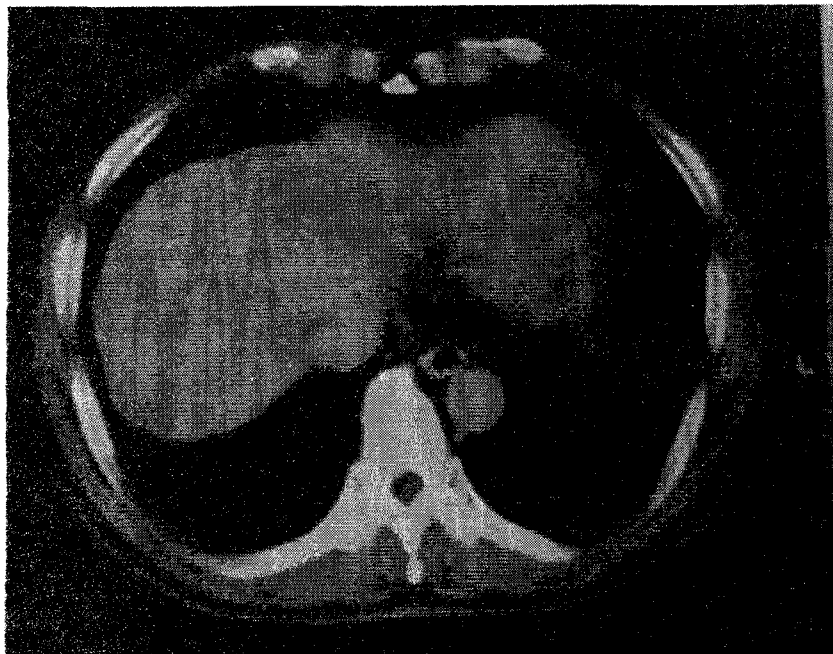
증례 1은 58세 남자환자로 1996년 2월 모 지방대학병원에서 간경화로 진단을 받고 경과관찰 도중 1996년 3월 초음파검사상 지름 약 3 cm의 종양이 발견되어, 원자력병원 핵의학과에 방사성동위원소 치료를 위하여 의뢰되었다. 그림 21의 CT에서 보이는 간우상부의 종괴에 혈류를 공급하는 간동맥가지에 ^{166}Ho -Chitosan complex 10 mCi를 간동맥 화학요법/색전술 직전에 투여하였다(그림 22). 그림 23에서 수용성 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ 의 분포와 ^{166}Ho -chitosan의 분포를 비교하면, $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ 가 동맥혈류를 따라 종괴에 집적됨이 점도가 높은 ^{166}Ho -chitosan보다 우수함이 관찰되나, 동맥가지의 혈류분포에 따른 ^{166}Ho -chitosan의 종양에 방사능의 집적을 확인할 수 있었다. 4주후 알파 태아단백의 급격한 감소($5352.9 \rightarrow 247.3 \text{ ng/ml}$)를 관찰하였다. 방사능에 의한 심각한 부작용은 없었다. 증례2는 1996년 1월 타병원에서 이미 간암을 진단 받고 간동맥색전술을 시행하였던 경우로, 1996년 6월 21일 항암제색전술(TAE) 직전에 10 mCi, 1996년 7월 19일 15 mCi, 1996년 10월 11일 21 mCi의 ^{166}Ho -Chitosan complex를 간동맥 주사하였고, 11개월간 매달 TAE를 시행하여 병의 진행이 정지되었다(그림 24, 25, 26, 27, 28). 방사능에 의한 심각한 부작용은 없었으나, 치료후 알파 태아단백의 수치는 서서히 감소하였고(그림 29), 12개월째에 폐전이가 진행되어 사망하였다.

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

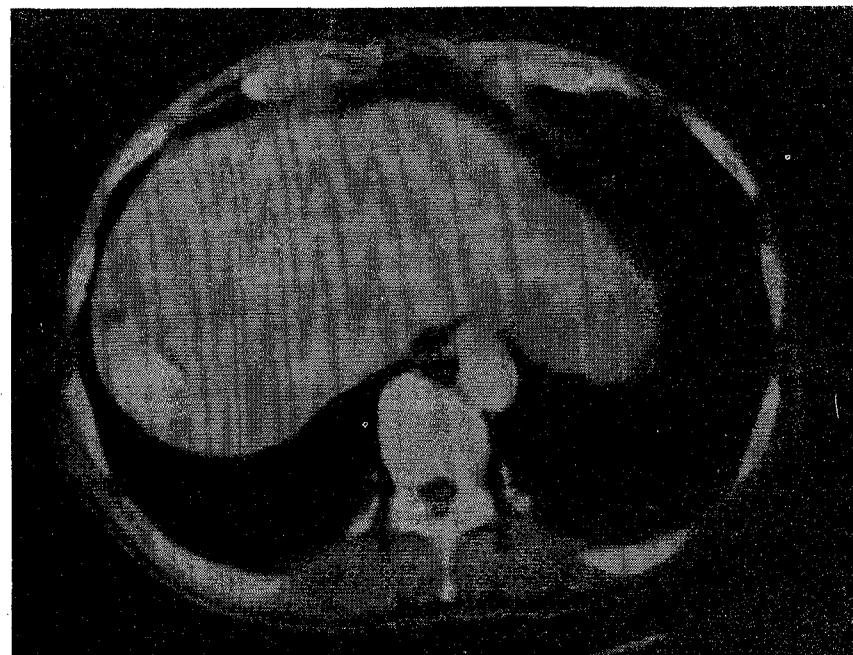
제 1 절. 연구 내용 및 방법

1. ^{166}Ho 및 chitosan의 제조

자연에는 Holmium의 동위원소중 ^{165}Ho 이 100% 존재하기 때문에 원자로에

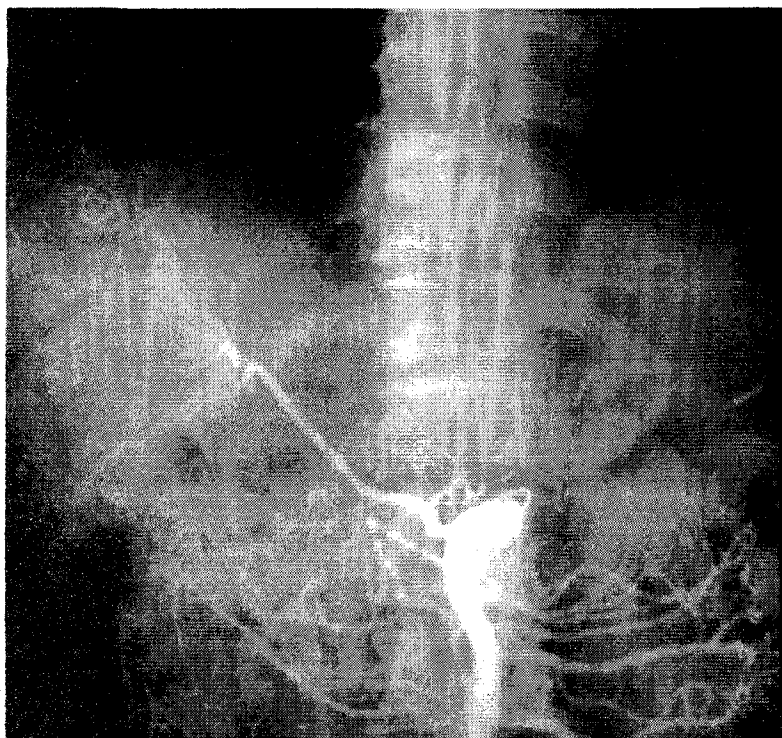


1996. 6. 25.

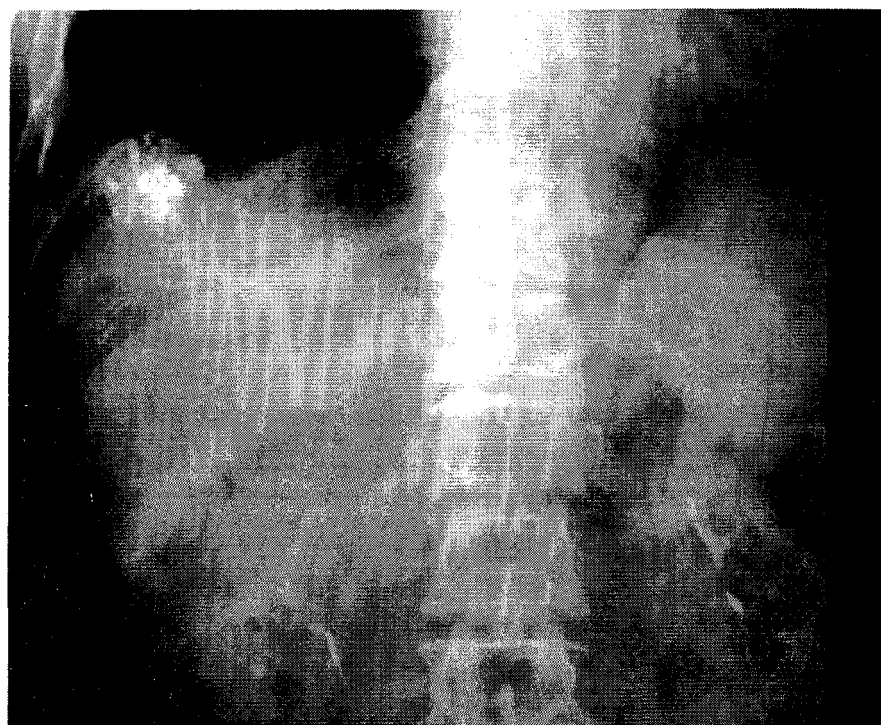


1996. 7. 29.

그림 21. 증례 1의 치료전후 간 CT 소견



**1996.7.10.
Pre -TAE**

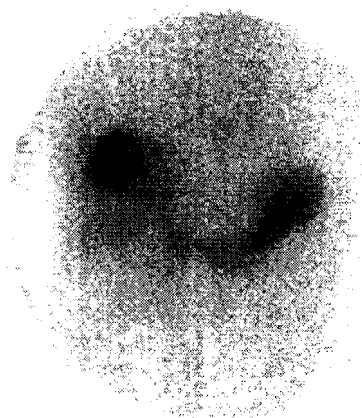


**1996.7.10.
Post -TAE**

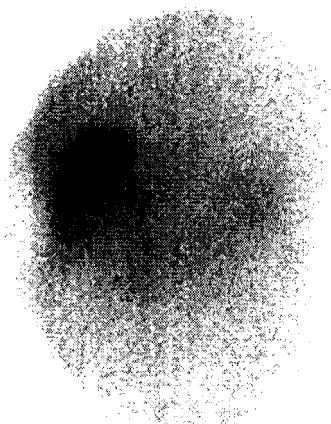
그림 22. 증례 1의 간동맥 색전술 전후 혈관조영 영상

1996.7.10. TAE 30min

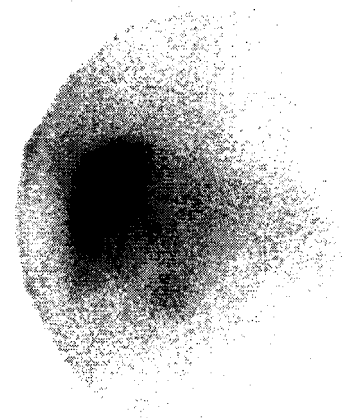
1996.7.11. TAE 24h



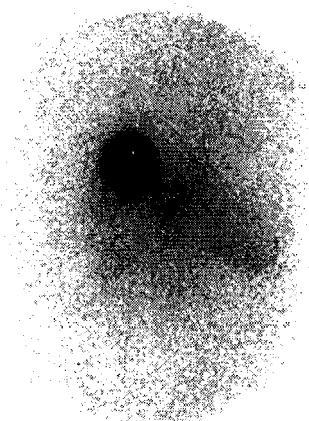
$^{99m}\text{TcO}_4$ Ant..



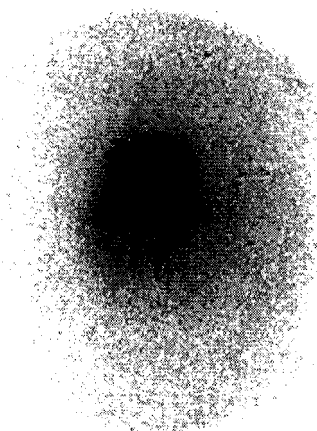
^{166}Ho Ant.



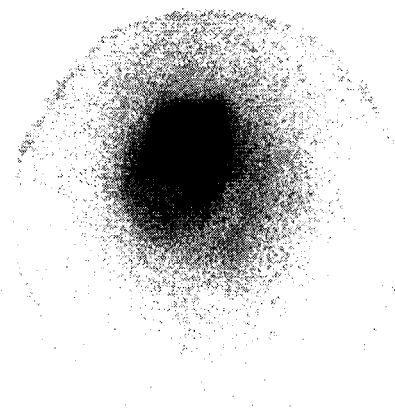
^{166}Ho Ant.



$^{99m}\text{TcO}_4$ Rt. Lat.



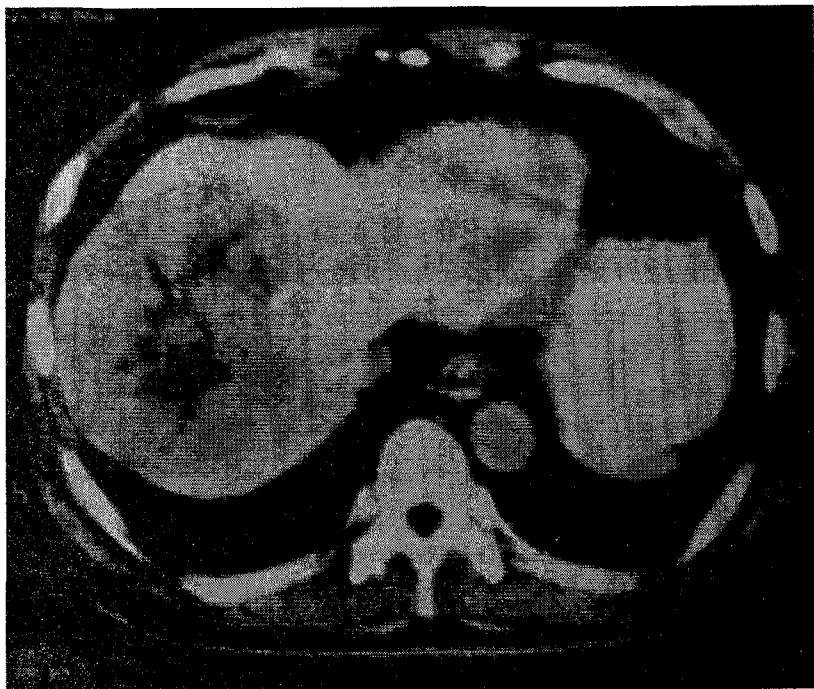
^{166}Ho Rt Lat.



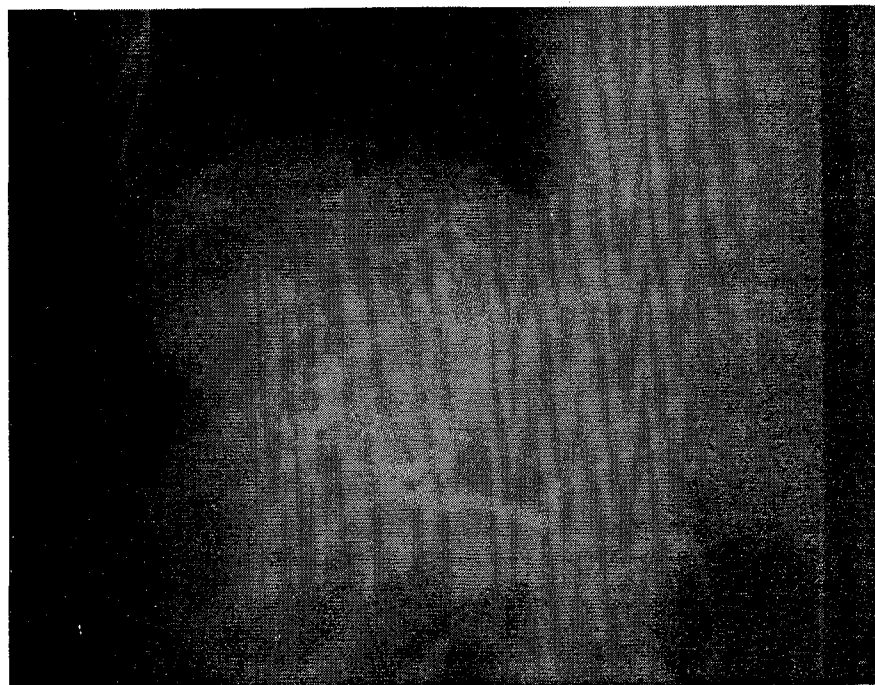
^{166}Ho Rt Lat.

그림 23. 증례 1의 $^{99m}\text{TcO}_4$, ^{166}Ho -chitosan의 간동맥 가지내 주사후 방사능의 분포

치료 전



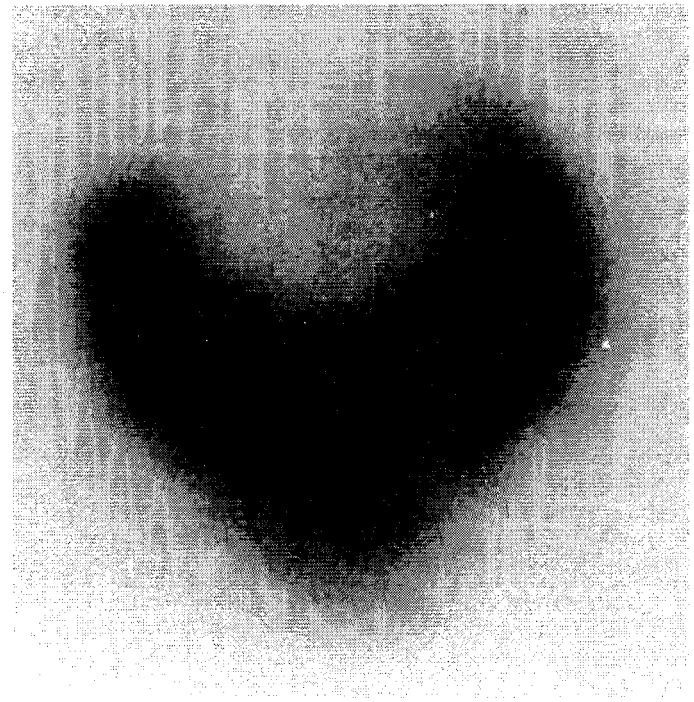
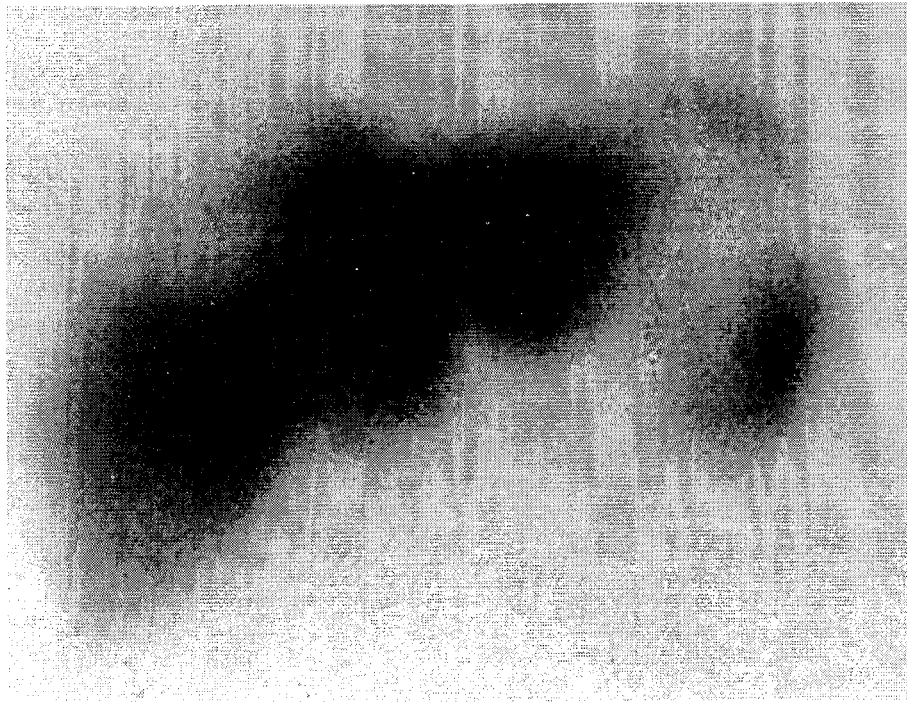
1996. 1. 5



1996. 1월

그림 24. 증례 2의 치료전 CT 및 동맥혈관 조영 영상

간 콜로이드 스캔(치료전)



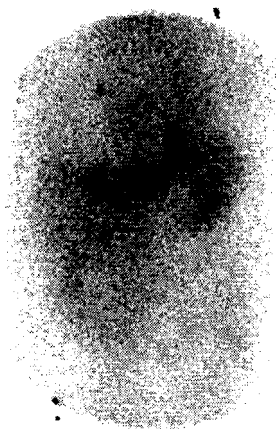
1996. 1. 19.

그림 25. 증례 2의 치료전 간 콜로이드 소견

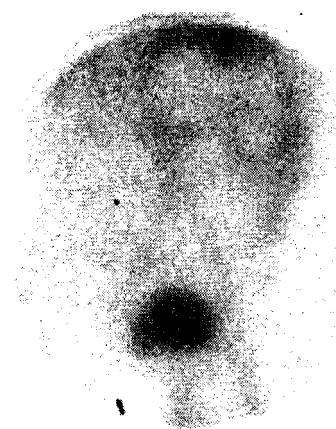
$^{99m}\text{TcO}_4$



Abd. Ant.



Abd. Rt. Lat.



Pelvis Ant.

^{166}Ho -Chytosan

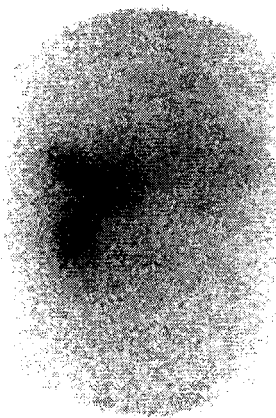
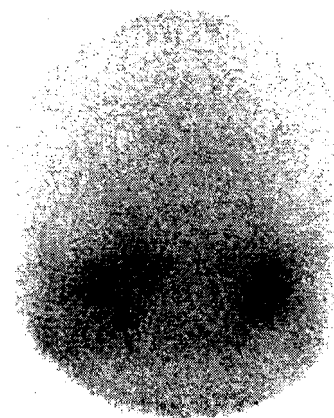
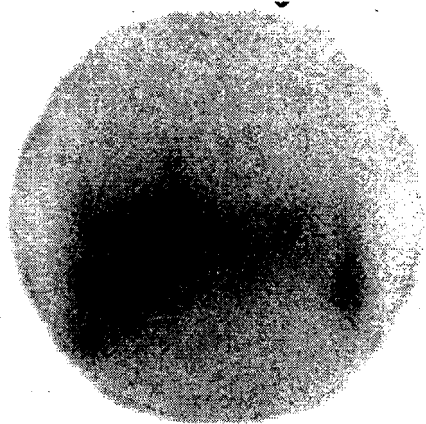
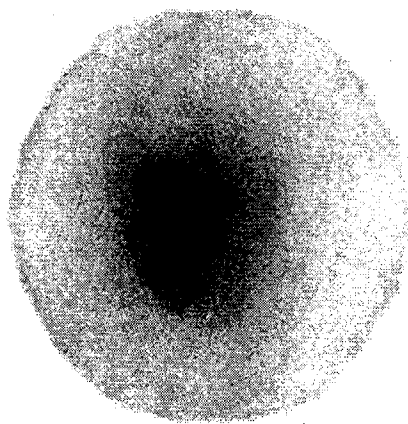


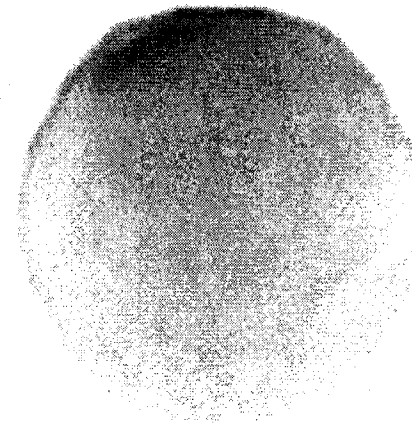
그림 26. $^{166}\text{Ho}(+^{99m}\text{TcO}_4)$ 간동맥 주입 30분 후 스캔 소견



**^{166}Ho -Chytosan
Abdomen Ant.**

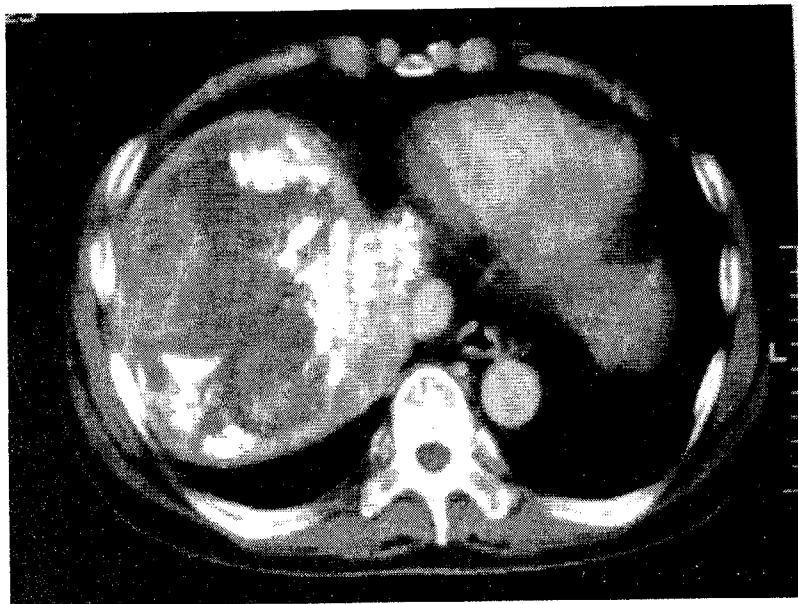


**^{166}Ho -Chytosan
Abdomen Rt Lat.**

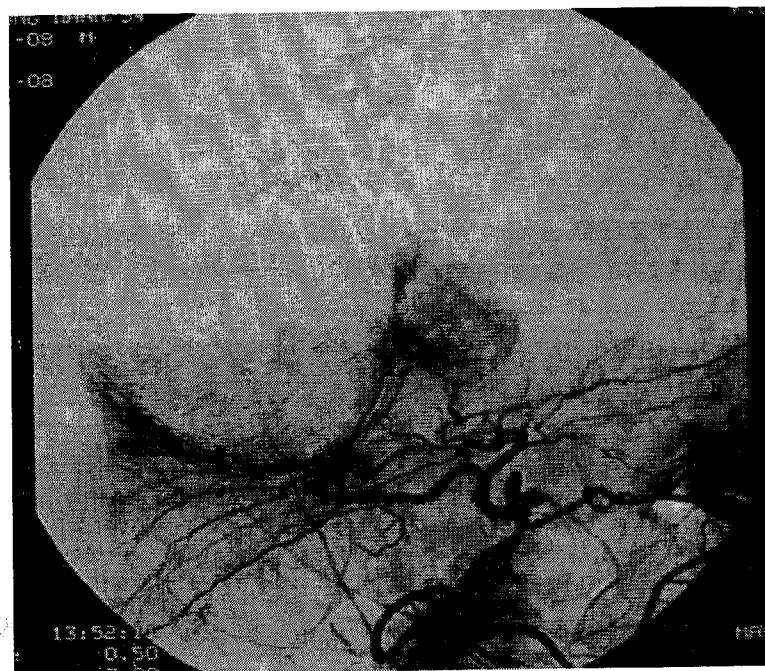


**^{166}Ho -Chytosan
Pelvis Ant.**

그림 27. $^{166}\text{Ho}(+^{99\text{m}}\text{TcO}_4)$ 간동맥 주입 24시간 후 스캔 소견



1996. 11. 5.



1996. 11. 8.

그림 28. TAE 5번째의 CT 및 간동맥혈관 조영 영상

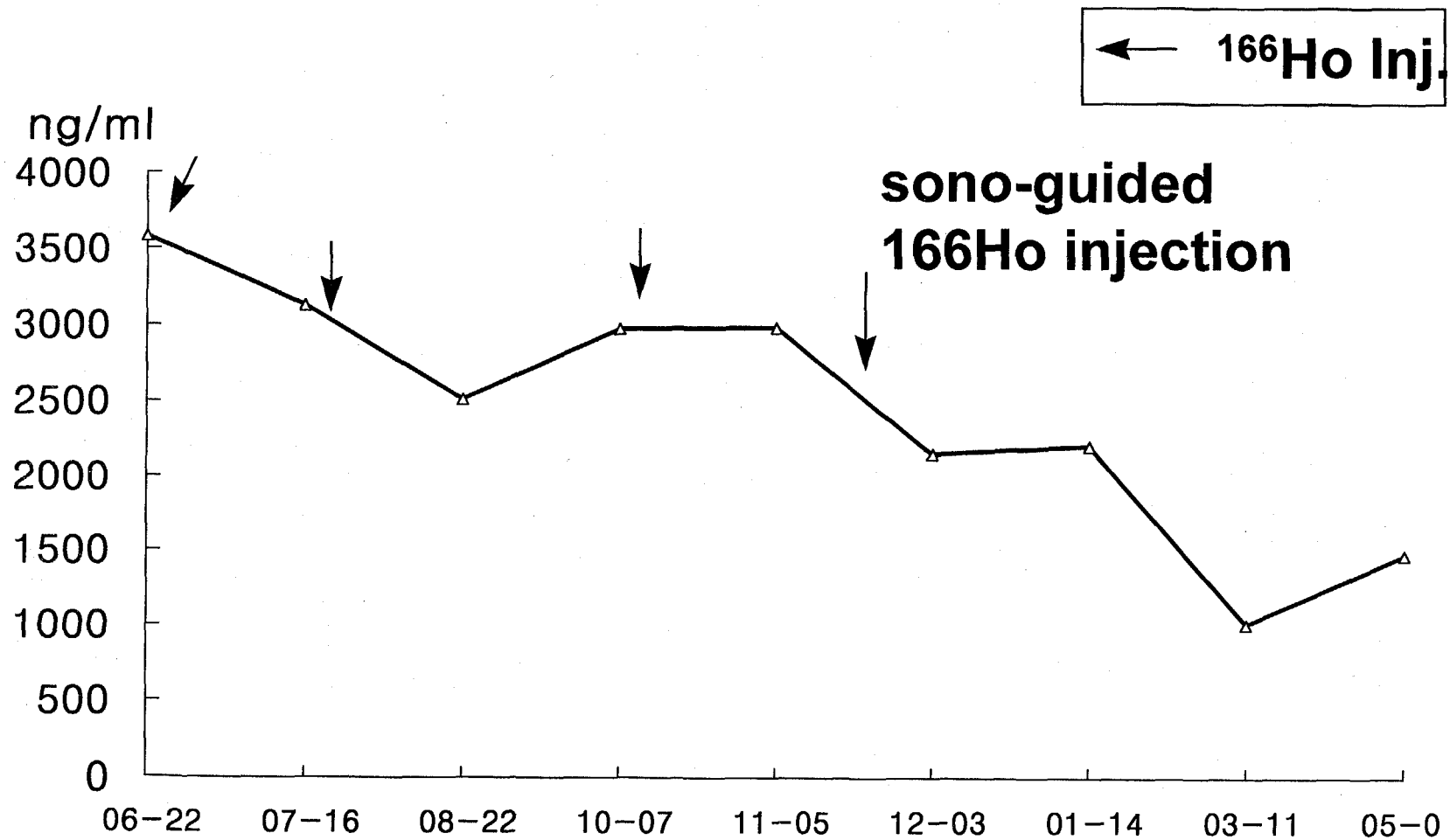


그림 29. 증례 2의 치료후 α -FP 수치의 변화

서 (n, v)반응을 일으키면 ^{166}Ho 만 쉽게 얻을 수 있다. 따라서 표적 원료 물질이 순수하다면 중성자 핵반응에 의해 생성되는 것은 순수한 ^{166}Ho 뿐이다. 중성자 다발속이 $1 \times 10^{13} \text{ n/cm}^2\text{sec}$ 인 조사공에서 $^{165}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 40mg을 10시간 조사시켜 104 mCi를 생산할 수 있었으며 이 때 방사성 핵종 순도는 99.9% 이상이었다. 한편 chitosan은 게껍질, 새우껍질, 오징어 뼈의 주성분인 chitin을 알칼리 가수분해(alkaline hydrolysis)하여 제조하였다.

2. 수용성 ^{166}Ho -chitosan 제제의 제조

$^{165}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (200mg)을 $1 \times 10^{13} \text{ n/cm}^2\text{sec}$ 의 중성자속을 10분간 원자력연구소의 TRIGA Mark III 원자로에서 조사한 후 2ml의 증류수에 녹여 10% $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3$ 용액을 만들었다. 30mg의 chitosan을 2% acetic acid 4ml에 녹여 0.1ml의 pH 3.75 10% $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3$ 용액을 첨가하여 실온에서 30분간 진탕하였다. MeOH(49) : H_2O : Acetic acid(2)로 전개한 ITLC(Instant Thin Layer Chromatography)로 표지수율(yield)을 확인하였다. 제조된 ^{166}Ho -chitosan 수용액을 2N NaOH를 첨가하여 pH 5.5로 조정하고 0.2 μm membrane filter로 여과하였다.

3. ^{166}Ho -chitosan의 체외 안정성 검사

가. 연구 방법

^{166}Ho -chitosan complex를 상온과 37°C에서 각각 25일간 유지하였다.

나. 안정성의 측정

일정 시간마다 ITLC-SA (MeOH(49) : H_2O (49) : Acetic acid(2)) 로 확인하여 ^{166}Ho -chitosan의 위치인 $R_f=0.2-0.4$ 의 방사능량과, 미반응 자유 ^{166}Ho 의 위치인 $R_f=0.8-1.0$ 의 방사능량을 측정 ^{166}Ho -chitosan complex의 파괴 정도를 검사하여 체외 안정성을 조사하였다.

4. ^{166}Ho -chitosan의 체내 안정성 검사

가. 연구 재료

실험 재료로는 생후 10주, 평균 체중 2.33(1.8-2.5)kg의 가토를 택하였으며 실험에 이용된 모든 가토는 한 곳의 양토장에서 공급받았다. ^{166}Ho -chitosan은 제조 후, 반응 혼합물의 pH를 5.5로 맞추고 0.2 μm 필터를 사용하여 여과하였다.

나. 연구 방법

가토는 ketamine 10mg과 xylazine 20mg을 후지 태퇴근 부위에 근주하여 마취하였다. 마취후 후지 좌측 슬관절 주변의 털을 깎고 10% 베타딘 용액으로 소독한 후, 1cc 주사기를 이용하여 ^{166}Ho -chitosan 0.5ml(0.4 mCi)를 슬관절에 주사하였다.

다. 방사능 측정

방사능 측정은 원자력병원 핵의학과에 비치된 감마 카메라(Siemens, Basicam TM)를 이용하였다. 카메라를 가토에 최대한로 근접시켜 한 화면당 100만 count가 될 때까지 노출시켜 슬관절에 남아있는 방사능을 측정하였다. 주사 직후를 기준시점으로 하고 물리적 방사능 감쇠(반감기를 고려)를 보정하여 일정 시간마다 관절내에 남아 있는 방사능을 백분율로 표시하였다.

5. ^{166}Ho -chitosan의 생체분포 검사

가. 연구 재료

실험 재료로는 생후 10주, 평균 체중 2.33(1.8-2.5)kg의 가토를 택하였으며 실험에 이용된 모든 가토는 한 곳의 양토장에서 공급받았다. 자웅의 구별은 두지 않았고 전 실험 기간중 사료로는 고형 압축 사료를 공급하였다.

나. 연구 방법

(1) 시술 방법 및 후처치

가토는 ketamine 10mg과 xylazine 20mg을 후지 태퇴근 부위에 근주하여 마취하였다. 마취후 후지 좌측 슬관절 주변의 털을 깎고 10% 베타딘 용액으로 소독한 후, 1cc 주사기를 이용하여 ^{166}Ho -chitosan 1mCi를 주입하였다. 주사기는 ^{166}Ho -chitosan 주입전후에 그 무게를 정밀 전자저울로 측정하여 주사된 ^{166}Ho -chitosan의 무게를 측정하여 주입된 방사능량을 보정하고자 하였다. ^{166}Ho -chitosan이 주사된 가토는 사육장 한 개에 한 마리씩 넣어 사육하였다.

(2) 장기의 적출

가토는 48시간 동안 사육된 후 희생시켜 가토의 체중을 측정하고 심장, 간, 방광, 비장, 폐, 뇌, 신장, 혈액을 적출, 채취하였다. 적출, 채취된 각 장기는 전체 무게를 정밀 전자 저울로 잔후 automatic gamma counter에서 사용하는 20ml 시료통(vial)에 들어갈 수 있는 장기는 시료통에 장기 전체를 넣었고, 심장, 간, 폐, 신장과 같이 부피가 큰 장기는 일부를 절제하여 절제된 장기의 무게를 잔 후 시료통에 넣었다.

다. 방사능 측정

방사능 측정은 원자력 병원 연구동 Cyclotron실에 비치된 automatic gamma counter(Wallac, 1480 Wizard™ 3")를 이용하였다. 각 가토에 주사된 ^{166}Ho -chitosan의 방사능량을 알기 위하여 실험 후 남은 ^{166}Ho -chitosan의 방사능량을 먼저 측정하여 각 가토에 주사된 ^{166}Ho -chitosan의 방사능량을 구하였다. 적출, 채취된 장기의 방사능량은 동 시간에 측정하여 각 장기에서 검출된 방사능량을 % injected dose(이하 %ID라 함) $\times 10^{-3}/\text{gram}$ 또는 타 연구와 비교키 위하여 %ID 로 표시하였다.

이와 같은 실험을 4마리의 가토에서 시행하였고, 3개월 간격으로 3회 시행

함으로써 총 12마리의 가토에서 실시하였다. 모든 가토는 동일 양토장에서 사육된 것을 이용하였고, 모든 실험은 같은 장소에서 동일인에 의하여 실시되었다.

제 2 절. 연구 결과

1. ^{166}Ho -chitosan의 체외 안정성 검사

ITLC로 확인한 결과, ^{166}Ho -chitosan의 위치인 $R_f=0.2-0.4$ 에서 보이는 방사능량은 2일, 4일, 6일, 13일, 25일이 모두 99%였고, 미반응 자유 ^{166}Ho 의 위치인 $R_f=0.8-1.0$ 에는 무시할 수 있을 정도로 작은 방사능을 보였다. 이것으로 ^{166}Ho -chitosan은 분해되지 않고 체외에서 안정하다는 것을 알 수 있었다 (표 17, 18).

표 17. The effect of elapsed time at room temperature on the stability of ^{166}Ho -chitosan.

elapsed time(day)	radiochemical purity of ^{166}Ho -chitosan(%)
0	99
2	99
4	99
6	99
13	99
25	99

표 18. The effect of elapsed time at 37°C on the stability of ^{166}Ho -chitosan.

elapsed time(day)	radiochemical purity of ^{166}Ho -chitosan(%)
0	99
2	99
4	99
6	99
13	99
25	99

2. ^{166}Ho -chitosan의 체내 안정성 검사

감마 카메라에 의하여 측정된 슬관절에 남아있는 방사능은 주사후 2시간, 6시간, 24시간, 48시간이 각각 99.9%, 99.9%, 99.8%, 99.7%로 거의 대부분이 관절내에 그대로 머물러 있었다(표 19).

표 19. Percentage of administered ^{166}Ho -chitosan remained in the normal knee joint of the rabbit.

elapsed time(day)	percentage
0	100
2	99.9
6	99.9
24	99.8
48	99.7

3. ^{166}Ho -chitosan의 생체분포 검사

심장, 간, 방광, 비장, 폐, 뇌, 신장, 혈액으로의 방사능 누출은 각각 평균 0.71, 1.5, 0.50, 1.5, 0.25, 0.26, 0.81, 0.065(% Injected Dose $\times 10^{-3}$ /gram) 였 으며 비장과 간으로의 누출률이 가장 컸다(표 20).

표 20. Biodistribution of ^{166}Ho -chitosan in rabbits.

		leakage(% injected dose x 10^{-3} /gram)						
		heart	liver	bladder	spleen	lung	brain	kidney blood
실험 1		0.16	1.54	0.11	1.75	0.22	0.15	0.99
		1.68	2.50	0.93	1.87	0.27	0.58	0.86
		0.29	0.61	0.46	1.03	0.28	0.06	0.56
		1.56	1.85	0.37	1.41	0.58	0.15	0.45
실험 2		0.42	1.92	0.25	1.78	0.35	0.06	1.00
		0.43	2.40	0.36	1.24	0.12	0.21	1.20
		1.81	1.78	0.77	1.36	0.22	0.06	2.61
		0.19	1.88	0.55	1.89	0.44	0.18	0.65
실험 3		0.51	0.63	0.46	1.22	0.12	0.04	0.47
		0.47	1.22	0.70	1.78	0.16	0.03	0.23
		0.28	0.22	0.21	1.65	0.16	0.05	0.23
		0.72	1.45	0.83	1.02	0.15	1.54	0.47
평균		0.71	1.50	0.50	1.50	0.25	0.26	0.81
표준편차 ± 0.61		0.71	0.26	0.33	0.15	0.43	0.65	0.023

표 21. Comparison of biodistribution in rabbits treated with radiation synovectomy agents.

		leakage(% injected dose x 10^{-3} /gram)						
agent	time(hour)	liver	spleen	kidney	lung	blood	brain	heart
^{165}Dy -HMA*	24	3.8	1.7	1.9	0.9	2.1	2.5	1.5
^{188}Rh -sc [#]	48	1.7	0.8	2.3	0.1	0.8		
^{166}Ho -chitosan	48	1.5	1.5	0.81	0.25	0.065	0.26	0.71

note : * ; ^{165}Dy -hydroxide macroaggregates.

note : # ; ^{188}Rh -sulphur colloid.

표 22. Comparison of biodistribution of ^{166}Ho in rabbits treated with different radiopharmaceutical carrier.

agent	time(hour)	leakage(% injected dose)					
		liver	spleen	kidney	lung	brain	heart
$^{166}\text{Ho-AcAc}^*$	44	0.36	0.02	0.44	0.01		0.02
$^{166}\text{Ho-chitosan}$	48	0.14	0.004	0.008	0.004	0.0017	0.004

note : * ; ^{166}Ho -acetylacetone.

제 3 절. 고찰

방사선 활액막 절제술은 류마티스 관절염으로 대표되는 염증성 관절염의 치료에 이용되는 비침습적인 치료법으로 외과적 활액막 절제술을 대치하기 위하여 개발되었다. 외과적 활액막 절제술은 2년내지 5년간의 증상 호전기간을 가지지만 시술이 어렵고 입원이 필요한 등의 문제점이 있다(Sledge et al. 1986). 이에 비하여 방사선 활액막 절제술은 관절내로 베타선 방출 핵종의 방사성 물질을 주입하여 염증성 활액막을 제거한다. 이러한 방사선 활액막 절제술은 1952년 Fellingner와 Shmid에(Fellinger & Shmid, 1952) 의하여 최초로 보고된 이후에 유럽에서 광범위하게 이용되고 있다(Clunie & Eil, 1995). 초기의 시도로는 ^{90}Y (Chappele et al., 1972)이나 ^{198}Au (Topp et al., 1975)의 교질 또는 입자 형태가 이용되었는데 방사능 누출이 25-60% 정도로 심하여 국소 임파절에 심각한 방사능 영향을 주었다. 이러한 방사능 누출은 교질형태의 방사성 핵종 운반체와 베타선 방출 핵종간의 결합이 불안정하였고 방사성 핵종 운반체의 크기가 너무 작았기 때문이었다(Chappele et al., 1972, Topp et al., 1975, Noble et al., 1983). 이러한 결과는 ^{169}Er , ^{32}P , ^{186}Re 에서도 마찬가지였다.

1978년 Hnatowich등은(Hnatowich et al., 1978) 1-5 μ m의 크기를 갖는 ferric hydroxide macroaggregates(FHMA)와 ^{165}Dy 을 결합시킨 새로운 방사성 표지 화합물을 보고하였고, 이후로 ^{90}Y , ^{166}Ho 등의 화합물도 보고되었다. FHMA를 이용한 방사성 표지 화합물의 경우 1-13%까지의 다양한 방사능 누출률을 보이는데 이는 방사성 핵종 운반체의 크기와 방사성 핵종 운반체와 핵종간 결합의 안정성에 의해 좌우된다. 또한 반감기가 짧은 베타선 방출 핵종을 이용하는 것이 관절내 주입후 파괴되는 방사성 표지 화합물의 양이 줄게 됨으로써 관절외로의 방사능 누출을 줄일 수 있음을 알게 되었다. Chinol 등은(Chinol et al., 1990) FHMA는 ^{165}Dy 같이 반감기가 짧은 베타선 방출 핵종에 적합하다고 하였으나 Hosain 등은(Hosain et al., 1990) 반감기가 좀더 긴 ^{166}Ho 이 실용적인 면에서 더 적절하다고 하였다. 이후 최근까지의 연구는 방사능 누출을 줄이는데 집중되고 있는데 1990년 McLaren등은 철분 축적이 없고 고농도의 농축이 가능한 hydroxide macroaggregate (HMA)을 방사성 핵종 운반체로 개발하여 이를 이용한 새로운 방사성 표지 화합물인 ^{165}Dy -HMA가 기존의 ^{165}Dy -FHMA와 교질형태의 ^{90}Y 에 비하여 방사능 누출이 현저하게 적음을 보고하였고 이에 국내에서는 1993년부터 원자력병원에서 ^{165}Dy -HMA을 이용한 방사선 활액막 절제술을 시행하였다.

이와 같이 방사능 피해가 없고 적절하게 염증성 활액막을 절제해야 하는 방사선 활액막 절제술이 이상적이기 위해서는 베타선 방출 핵종을 잘 선택하여야 하고 이상적인 방사성 핵종 운반체를 개발하여 방사능 누출을 줄여야 한다.

전술한 바와 같이 베타선 방출 핵종의 경우 ^{198}Au , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{32}P , ^{165}Dy , ^{166}Ho 등이 있다. 이중에서 ^{90}Y 과 ^{198}Au 은 각각 2.7일의 비교적 긴 반감기를 가지고 교질 형태로 제조되어 작은 입자 크기로 인해 관절외로의 방사능 누출이 문제되어 사용이 제한되어 왔다(Gumpel et al., 1975). 최근 다양하게 이용되는 베타선 방출 핵종으로는 ^{165}Dy 이 있는데 이는 반감기가 2.3시간으

로 짧아 원자로에서 원거리에 있는 병원의 경우 사용하기에 제약이 있다는 결정적인 단점이 있다. 이에 본 연구에서는 반감기가 긴 ^{166}Ho 을 새로운 베타선 방출 핵종으로 사용하였다. ^{166}Ho 은 최근 이용이 증가되고 있는 베타선 방출 핵종으로 반감기가 26.8시간으로 적절하며, 1.78 및 1.86 MeV의 베타선과 6.2%의 80.6 KeV 감마선을 방출하여 방사능량이 높아 치료용 핵종으로 적합하다(Mumper et al., 1991, Neves et al., 1987). 또한 연부조직 투과력이 최대 8.4mm, 평균 3mm로 염증성 활액막이 비후된 경우 평균 1-7mm의 두께를 보인다는 점을 고려할 때 더욱 적합하다고 판단된다(Hosain et al., 1990). 생산적인 면을 볼때 원자로에서 천연의 ^{165}Ho 에 중성자를 조사하여 비교적 쉽게 생산할 수 있다.

한편 방사성 핵종의 운반체로는 교질 형태, 미소구형입자(microspere) 또는 응집입자(macroaggregate)를 사용하여 왔으나 전술한 바와 같이 교질 형태의 경우 심각한 정도의 방사능 누출이 문제이며(Noble et al., 1983), 철의 수산화물 응집입자(ferric hydroxide macroaggregates, FHMA)는 방사성 핵종의 운반체로서 작용할 수 있고 자신은 활액막 조직에 집적되어 관절외로의 누출문제는 조금 개선되었지만 반감기가 긴 핵종인 경우에는 역시 관절외로의 누출 문제 때문에 비효과적이다(Chinol et al., 1990). 최근 수산화물 응집입자(hydroxide macroaggregate, HMA)가 개발되어 이용되고 있으나 여러 베타선 방출 핵종중 ^{165}Dy 에만 이용되고 있다.

이상적인 방사성 핵종 운반체는 관절외로의 방사능 누출이 거의 없어야 하므로 다음과 같은 특성을 가져야 한다. 첫째, 체외 및 체내에서 높은 친화력을 가지고 베타선 방출 핵종과 결합해야 한다. 둘째, 주사후 관절내에 균일하게 분포해야 한다. 셋째, 염증성 반응없이 활액막으로 흡수되어야 한다. 넷째, 관절내에서 입자의 생물적 반감기가 결합된 방사성 핵종의 물리적 반감기보다 길어야 한다. 다섯째, 입자는 활액막내에서 생분해되어야 한다(Deutsch et al., 1993).

본 연구에서는 chitosan을 방사성 핵종 운반체로 사용하였다. 게껍질, 새우 껍질, 오징어 뼈의 주성분인 chitin(poly- β (1-4)-N-acetyl-D-glucosamine)은 아미노당으로 이루어진 다당류의 하나로 N-아세틸 글루코사민이 β -1,4 결합으로 중합된 것이다(Popper & Knorr, 1990). 이는 alkaline hydrolysis에 의한 deacethylation으로 chitosan으로 바뀌며, free amino group들이 여러 개의 양이온을 킬레이트할 수 있다. 특히 베타선 방출 핵종의 착화물이 가능하다. 이러한 chitosan계 고분자는 금속과의 흡착 능력이 좋아 폐수 처리제로 선진국에선 이미 시판되고 있고, 그 밖에 단백질 응집제, 식수탁도 저하제 및 가축의 사료로도 이용되고 있으며, 최근 활발히 연구가 진행되고 있는 효소 고정화에 있어서도 이 chitosan계 유도체는 효소 고정화 담체로서 우수한 사실이 확인 되고 있고 의약용으로는 독성이 낮고 생분해성과 생체적합성 및 생체 친화성을 가지기 때문에 이용 연구가 급진전되고 있다(Muzzarelli, 1977). Chitosan의 응용 연구는 금속과 킬레이트를 형성할 수 있는 자유 아민기에 주로 초점이 맞추어져 있으며(최규석 & 안형수, 1990), 최근에 다양한 금속 양이온과의 킬레이트를 형성함에 의해 chitin 과 chitosan의 우수성이 입증되었다.

본 연구의 결과를 보면 ^{166}Ho -chitosan의 체외 안정성의 경우 상온과 37°C 에서 25일간 99%의 방사능이 잔존하여 체외에서 비교적 안정하였다. 체내 안정성의 경우 슬관절내 방사능 잔존률이 ^{165}Dy -HMA의 경우 98.6%(6시간), 97.3%(24시간)(McLaren et al., 1990), ^{188}Rh -sulphur colloid의 경우 93.1%(1시간), 90.8%(24시간), 87.2%(48시간)(Wang et al., 1995), ^{166}Ho -acetylacetone의 경우 98.5%(24시간), 98.6%(48시간), 98.1%(72시간), 99.0%(96시간), 98.2%(120시간)로(Mumper et al., 1992) 보고된 것에 비하여 ^{166}Ho -chitosan의 경우 99.9%(2시간), 99.9%(6시간), 99.8%(24시간), 99.7%(48시간)로 타 방사성 표지 화합물에 비해서 뿐만아니라 베타성 방출 핵종은 ^{166}Ho 으로 같으나 방사성 핵종 운반체가 다른 ^{166}Ho -acetylacetone에 비하여

서도 우수한 결과를 보였다. 또한 생체분포를 보면 $^{165}\text{Dy-HMA}$ 의 경우 각 장기로의 방사능 누출률은 1.5(심장, 단위는 % Injected Dose $\times 10^{-3}/\text{gram}$), 3.8(간), 1.7(비장), 0.9(폐), 2.5(뇌), 1.9(신장), 2.1(혈액)(McLaren et al., 1990), $^{188}\text{Rh-sulphur colloid}$ 의 경우 1.7(간), 0.8(비장), 0.1(폐), 2.3(신장), 0.8(혈액)로(Wang et al., 1995) 보고된 것에 비하여 $^{166}\text{Ho-chitosan}$ 의 경우 0.71(심장), 1.5(간), 0.50(방광), 1.5(비장), 0.25(폐), 0.26(뇌), 0.81(신장), 0.065(혈액)로 타 방사성 표지 화합물에 비하여 방사능 누출률이 낮았으며(표 6), 방사성 핵종 운반체만 다른 $^{166}\text{Ho-acetylacetone}$ 의 경우 0.02(심장, 단위는 % Injected dose), 0.36(간), 0.02(비장), 0.01(폐), 0.44(신장)로(Mumper et al., 1992) 보고되었으나 $^{166}\text{Ho-chitosan}$ 의 경우 각각 0.004, 0.14, 0.004, 0.004, 0.008로 방사능 핵종 운반체가 chitosan으로 바뀐 경우 방사능 누출률이 낮았다(표 7).

이와같이 $^{166}\text{Ho-chitosan}$ 은 기존에 이용되어온 대부분의 방사성 표지 화합물과 비교하여 체외 및 체내 안정성 그리고 관절외로의 방사능 누출정도에 있어 우수한 결과를 보이며, 다른 방사성 핵종 운반체를 이용한 $^{166}\text{Ho-acetylacetone}$ 에 비교해서도 우수한 결과를 보였다. 이는 chitosan이 다음과 같은 이상적인 방사성 핵종 운반체의 가능성을 보이는데 기인한다. 첫째, chitosan은 금속이온과 쉽게 킬레이트를 형성할 수 있는 아민기를 포함하고 있어 특정 금속 이온을 선택적으로 포집하는 기능성 고분자로 중금속 이온에 대해 우수한 흡착력을 가진다. Chitosan 과 Holmium의 경우 음하전단을 가진 chitosan 분자와 양이온적 성질을 가진 금속 Holmium의 강력한 이온 결합 작용에 의한 것으로 설명된다. 따라서 여타 방사성 표지 화합물에 비하여 월등한 결합 안정성을 보여 체내외에서 우수한 안정성을 보이는 것으로 판단된다. 둘째, chitosan은 천연의 고분자로 수용성 형태로 제조가 가능하여 활액과 섞임으로써 활액막내에 골고루 퍼질 수 있다. 셋째, 유기물로서 생체 친화성이 있으므로 이물 반응이 여타 방사성 표지 화합물에 비하여 상대적으로 적고 활액막으로의 흡착이 우수하다. 넷째, 생분해성이

있어 베타선 방출 핵종이 치료제로서의 역할을 다한 후 생분해성 고분자인 chitosan은 생체내에서 서서히 분해된다. 또한 ^{166}Ho -chitosan의 농도, pH, 반응시간 등의 변화에 따라 다양한 점도의 수용액 형태의 제조가 가능할 뿐 아니라 응집입자(macroaggregate)로의 제조도 가능한 장점이 있다.

결론적으로 높은 방사능량과 적절한 반감기의 장점을 지닌 ^{166}Ho 과 이상적인 방사성 핵종 운반체의 특성을 보이는 chitosan을 결합시킨 새로운 방사성 표지 화합물인 ^{166}Ho -chitosan은 방사선 활액막 절제술용 제제로서의 이용 가능성이 매우 높다고 생각된다.

제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

1. 세포독성

난소암의 경우 ^{166}Ho 에 상당한 저항성을 보였다. 그러나 cisplatin의 병용으로 저용량에서는 synergistic, 고용량에서는 additive 세포사멸 효과를 관찰하였다. 위암세포주는 대부분 ^{166}Ho 에 민감하게 반응하였고 이 경우도 5-FU, cisplatin의 병용으로 사포사멸의 증가를 관찰할 수 있었다. 항암제와 ^{166}Ho 의 동시, 선처리, 후처리 등에는 세포 사멸 효과의 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

^{166}Ho 단독 혹은 cisplatin 병용의 경우 세포의 사멸 기전을 연구하기 위하여 ^{166}Ho 혹은 cisplatin 투여 후 세포내에서 진행되는 apoptosis 즉 DNA fragmentation, colony 형성능을 평가하였다. MTT 분석법에서 관찰한 synergistic 세포 사멸 효과를 DNA fragmentation, colony 형성능 평가에서도 관찰할 수 있었다. ^{166}Ho 단독에 의한 세포 사멸효과는 저 용량의 항암제를 병용하므로 증가시킬 수 있으며 이연구의 확장 및 약동력학 연구를 통하여 임상 활용에 적합한 dose regimen을 결정할 수 있을 것이다.

2. 흡수선량 평가

본 연구는 낭성 뇌종양 및 복강내 전이암의 방사선 치료를 위해 ^{166}Ho -CHICO를 이용하는데 있어서 강내 방사선 조사에 따른 강내벽의 흡수선량을 평가함으로써, ^{166}Ho -CHICO의 주사 처방을 결정하는 한 가지 근거 자료를 제공하는 것을 그 목표로 한다. 종양성 낭의 계산 모델을 설정하고 다양한 크기의 낭에 대해, 낭벽의 깊이에 따른 차별된 흡수선량 자료를 제공하고, 복강내 전이암에 대하여는 반평면 체적의 계산 모델을 설정하고 복벽

의 깊이에 따른 흡수선량을 평가함으로써 일차적인 자료가 제공되었다.

$^{166}\text{Ho-CHICO}$ 이 강내벽 표면에 결합하는 정도를 아는 것이, 보다 정확한 강내벽 선량 평가에 필수 요건임에도 불구하고 임상 자료의 부족으로 충분한 신뢰성을 갖는 강내벽 표면 결합률을 구하지 못하였다. 이는 앞으로의 임상 자료의 축적을 통해 보완되어야 할 사항이다. 본 연구에서 생산된 흡수선량 자료는 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 강내벽 표면 결합률 적용 이전 단계의 기본 자료로서 보다 신뢰성 있는 강내벽 표면 결합률이 확보됨에 따라 각 평가 대상에 따라 개선된 최종 흡수선량 자료를 제공할 수 있을 것이다.

3. 난소암 복강내 전이 치료

본 연구는 난소암에서 ^{166}Ho 의 임상적 이용에 관한 세계최초의 연구일 뿐 아니라 radioactive colloid의 복강내 치료 및 항암화학요법 병합치료에 대한 국내 최초의 임상연구이다.

본 연구에서 목표로한 in vitro에서 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와 cisplatin 병합의 synergistic cytotoxic effect를 확인하였고, 마우스에게 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 투여한 경우 복강내의 분포 및 흡수선량을 평가하여 방사능이 모두 복강내 장기의 복막측 표면에 분포함을 알 수 있었다. 또한 holmium의 공급상의 어려움으로 인하여 약간의 차질이 있었으나, 1, 2차 치료 후에 재발성 또는 지속성인 난치성 난소암환자에 대하여 복강내에 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 투여한 후 독성(부작용 및 합병증) 확인하였고, 5례 중 4례에서 부분적인 반응을 보임으로서 이 치료방법의 임상적 이용가능성을 확립하였다고 사료된다.

이 연구는 현재까지 난소암에서의 방사선 치료는 극히 제한적으로만 사용되어왔고, 임상효과 또한 한계가 있다고 생각해온 대다수의 국내외 암전문의들에게 난치성 난소암에서의 치료에 있어서 새로운 가능성을 제시하였고, 향후 난치성 난소암 뿐만 아니라, 수술 후 남은 미세종양에서의 치료방법에

대하여 임상연구를 지속한다면 난소암 치료의 기본적인 치료방법의 하나로 사용될 수 있다고 사료된다.

4. 위암, 복강내 전이 치료

위암의 복강내 전이로 인한 복수를 치료하기 위한 제일상시험의 대상이 되는 환자의 수가 많지 않고, 도중에 생산이 중단된 점, 동의서 받기가 쉽지 않은 점, 등으로 인하여 금년에는 환자가 많이 모이지 않았다. 앞에서도 언급이 되었지만, 재발양상이 특별히 변하지 않을 것이기 때문에 지속적인 연구가 필요하다고 본다.

5. 낭종성 뇌종양 치료

홀미움키코를 이용하여 여덟 명의 낭성 뇌종양 환자를 치료하였다. 이들을 MRI나 CT로 판정한 종양 용적변화로 판단하였을 때 완전 관해 (complete response, CR)가 1 예 (12.5%), 부분 관해 (partial response, PR)가 4 예 (50%), 질환 고정 (stable disease, SD)이 2예 (25%), 질환 진행 (progressive disease, PD)이 1 예 (12.5%)였다. 따라서 방사선학적 치료 반응율은 $[71\% (CR 1 + PR 4) / 8]$ 가 된다. 그러나 홀미움키코 주입 후 종양의 용적에는 큰 변화가 없었어도 신경학적인 증상이 명백히 개선된 증례는 모두 7 예로 최대 치료 반응율은 87.5%에 달한다.

홀미움키코가 낭종에서 밖으로 새나온 경우는 없었으며, 전신적으로 흡수되어 합병증을 일으킨 경우도 없었다. 단 뇌실과 근접한 낭종의 경우에는 홀미움키코의 주입에 신중을 기하여야 할 것으로 생각되며, 이에 관해서는 더 많은 연구가 필요하리라고 생각된다.

이상과 같은 결과 낭성 뇌종양에 대한 홀미움키코 낭내 방사선 치료법은 안

전하고 효과적인 치료법으로 추정되며, 향후 더 많은 기초연구와 임상 경험
이 필요할 것으로 판단되는 바이다.

6. 간암, 간동맥 주사 치료

2예의 간암환자에서 간동맥내 주사치료를 시도하여 체내동태 및 부작용을
관찰하였다. 간동맥내에서 gel상태로 변화하여 세동맥 또는 모세혈관에 걸리
는 것으로 추측되는데, 폐의 방사능이 없어 lipiodol과는 다른 분포양상을 보
인다. 크기가 크거나 여러개인 경우, 또는 위치가 수술이 불가능한 간암에서
간동맥내 ^{166}Ho -chitosan 주사는 새로운 치료법으로 가능성을 보이며, 부작용
과 흡수선량평가등의 연구가 계속되어야 한다.

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

전술한 바와 같이 ^{166}Ho -chitosan의 생체 적합성을 계획한 바대로 확립
하였다. 93년도 부터 시작한 ^{165}Dy -HMA을 이용한 방사선 활액막절제술이
성공적이었으나 1995년 12월말로 원자로 이용이 대전의 하나로로 바뀔에 따
라 원자로와 본원간의 이송거리가 멀어져 반감기가 짧은 ^{165}Dy -HMA은 더
이상 이용하기가 어려워 졌다. 이때 효과가 우수하고 부작용이 적은
 ^{166}Ho -chitosan을 이용한 방사선 활액막절제술을 세계 최초로 시행함으로써
본원의 대외적 홍보 및 환자 유치에 일조가 될 것으로 사료된다.

제 5 장 연구개발결과와 활용계획

1. 세포독성

^{166}Ho 와 저 용량의 항암제의 병용하므로 ^{166}Ho 의 세포 사멸 효과의 증가를 관찰 할 수 있었으므로, 두 약제에 의한 세포 사멸 기전을 규명하고 이에 근거한 조절제를 개발하여 ^{166}Ho 의 세포 사멸 효과를 극대화하는 연구를 장차 수행하여 임상 활용에 적합한 이상적인 dose regimen을 결정할 수 있을 것이다. 또한 ^{166}Ho 의 세포 사멸이 DNA fragmentation에 기인 함을 규명하였다. 이 결과는 현재 기초 분야에서 활발히 연구 중인 세포 apoptosis을 조절하는 기술을 ^{166}Ho 세포 사멸 효과의 상승을 위해 활용 할 수 있는는 이론적 근거를 제시해준다.

2. 흡수선량 평가

^{166}Ho chitosan 복합체, 또는 ^{166}Ho -CHICO, 는 치료 이용에 적합한 ^{166}Ho 의 핵 특성과 임상 적용에 적절한 chitosan의 생화학적 특성 때문에 남성 뇌종양의 낭내 방사선 치료에 그 활용이 기대되고 있는 물질이다. 본 연구에서 낭내벽의 흡수선량에 대한 보다 정확한 평가는, 기대하는 치료 효과를 유도하기위한 처방을 결정하는데 중요한 근거 자료를 제공한다.

^{166}Ho -CHICO이 간암, 복강 전이암, 류마티스형 관절염 치료에도 그 효과가 기대되고 있는 바, 이들 치료법을 완성하는데에도 방사선 흡수선량 평가 작업이 필요하리라 여겨진다. 한편, 세포 또는 세포 내 소기관 등 생물학적 결정 표적에 대한 방사선 흡수선량 평가 체계를 확립하는 것은 생물체의 방사선에 의한 영향 연구를 활성화하는 계기가 될 것이다.

3. 난소암 복강내 전이 치료

본 연구결과를 이용하여 현재 기존의 치료방법으로는 효과를 기대할 수 없는 난소암에서 아직 완치를 기대할 수준은 아니지만 악성복수를 조절하는데 있어서 효율적으로 이용할 수 있으며, 부분적으로 통증의 조절도 이루어질 뿐만 아니라 항암화학제에 비하여 독성효과 및 부작용도 거의 없는 치료방법으로서 환자의 남은 생존기간동안 삶의 질을 높일 수 있을 것이다.

현재 임상적 연구는 기존의 난소암 치료가 수술 및 항암화학요법으로 이루어진 일반적인 치료계획이 확립되어 있어 초기 난소암이나 수술 후 남은 미세 종양을 치료하는데 사용하기에는 아직 윤리적인 어려움이 있으나, 말기암 환자에 대한 연구가 지속되어 이 치료에 대한 확대이용이 가능하다면, 항암화학요법을 대체하여 사용할 수 있으며, 향후 이부분에 대해서도 2상 및 3상 임상실험이 필요하리라 사료된다.

4. 위암, 복강내 전이 치료

지금까지의 연구결과로는 증예수가 적어서 속단하기는 어렵지만 $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 복강내 투여는 간독성, 신독성, 혈액학적 독성이 미미하고, 경증도의 미열이 반응으로 나타났을 뿐이다. 따라서, 제1상 연구와 제2, 3상의 임상연구가 지속되어도 괜찮을 것으로 사료됨

5. 낭종성 뇌종양 치료

$^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 이용하여 전이성 뇌종양환자 3 명을 포함하여 여덟 명의 낭성 뇌종양 환자를 치료하였다. 이들을 MRI나 CT로 판정한 종양 용적변화로 판단하였을 때 완전 관해 (complete response, CR)가 1 예 (12.5%), 부분 관

해 (partial response, PR)가 4 예 (50%), 질환 고정 (stable disease, SD)이 2예 (25%), 질환 진행 (progressive disease, PD)이 1 예 (12.5%)였다. 따라서 방사선학적 치료 반응율은 [71% (CR 1 + PR 4)/ 8]가 된다. 그러나 ^{166}Ho -CHICO 주입 후 종양의 용적에는 큰 변화가 없었어도 신경학적인 증상이 명백히 개선된 증례는 모두 7 예로 최대 치료반응율은 87.5%에 달한다. ^{166}Ho -CHICO를 뇌 종양에 주사 후에 낭종에서 밖으로 새나온 경우는 없었으며, 전신적으로 흡수되어 합병증을 일으킨 경우도 없었다. 단 뇌실과 근접한 낭종의 경우에는 홀미움키코의 주입에 신중을 기하여야 할 것으로 생각되며, 이에 관해서는 더 많은 연구가 필요하리라고 생각된다.

이상과 같은 결과 낭성 뇌종양에 대한 홀미움키코 낭내 방사선 치료법은 안전하고 효과적인 치료법으로 추정되며, 향후 더 많은 기초연구와 임상 경험 이 필요할 것으로 판단되는 바이다.

특히 전이성 뇌종양은 외부방사선 치료가 현재까지 주로 이용되었으나 방사선치료 후 전반적인 뇌기능저하가 올 수 있으며, ^{166}Ho -CHICO 낭내 방사선 치료법은 방사선조사치료 전에 시도하여 볼 수 있는 안전하고 효과적인 치료법으로 생각된다.

6. 간암, 간동맥 주사 치료

2예의 간암환자에서 간동맥내 주사치료를 시도하여 체내동태 및 부작용을 관찰하였다. 간동맥내에서 gel상태로 변화하여 세동맥 또는 모세혈관에 걸리는 것으로 추측되는데, lipiodol과는 다른 분포양상을 보여, 부작용과 흡수선량평가등의 연구가 계속되어야 한다. 크기가 크거나 여러개인 경우, 또는 위치가 수술이 불가능한 간암에서 간동맥내 ^{166}Ho -chitosan 주사는 직접주사치료와 함께 새로운 치료방법으로 활용될 것이다.

7. 슬관절, 체내동태 병리조직 소견

본 연구를 통하여 ^{166}Ho -chitosan이 생체 적합성을 가짐을 증명하였다. 따라서 후속 연구로서 ^{166}Ho -chitosan의 관절내 주사후 활액막 변화의 병리 조직학적 연구가 뒤따라야 할 것이며, 장기적으로는 임상 실험까지 이룸으로써 새로운 방사성 표지 화합물인 ^{166}Ho -chitosan을 방사선 활액막 절제술용 제제로 사용하고자 한다.

제 6 장 참고문헌

1. Lange M, Kirsch CM, Steude U, et al. Intracavitary treatment of intrasellar cystic craniopharyngeomas with 90-Yttrium by trans sphenoidal approach - a technical note. *Acta Neurochir Wien* 1995; 135(3-4): 206-209.
2. Liu Z, Tian Z, Yu X, et al. Stereotactic intratumour irradiation with nuclide for craniopharyngiomas. *Chin Med J Engl* 1996; 109(3): 219-222.
3. 박 경배, 김 영미, 신 병철 등. 새로운 방사선 치료용 ^{166}Ho -Chitosan 착물 및 그 응집 입자의 제조에 관한 연구. *대한핵의학회지* 1996; 30(3): 351-160.
4. Nelson WR, Hyrayama H, Rogers DWO. The EGS4 code system. Stanford Linear Accelerator Center 1985; SLAC-265.
5. Potter ME, Partridge EE, Shingleton HM, et al. Intraperitoneal chromic phosphate in ovarian cancer: risks and benefits. *Gynecol Oncol* 1989;32:314
6. Varia M, Roseman J, Ventlcatraman S, et al. Intraperitoneal chromic phosphate therapy following second look laparotomy for ovarian cancer. *Cancer* 1988;61:919
7. Powell JL, Burrell MO, Kirchner AB, et al. Intraperitoneal radioactive chromic phosphate ^{32}P in the treatment of ovarian cancer. *S Med J* 1987;80:1513
8. Reddy S, Sutton GP, Stehman FB, et al. Ovarian carcinoma: Adjuvant treatment with ^{32}P in the treatment of ovarian cancer. *Radiology* 1987;165:275

9. Aure JC, Hoeg K, Kolstad P, et al. Radioactive colloidal gold in the treatment of ovarian carcinoma. *Acta Radiol* 1971;10:399
10. Kolstad P, Davy M, Hoeg K, et al. Individualized treatment of ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1977;128:627
11. Pattillo RA, Collier BD, Abdel-Dayem, et al. Phosphorus-32-chromic phosphate for ovarian cancer: I. Fractionated low-dose intraperitoneal treatments in conjunction with platinum analog chemotherapy. *J Nucl Med* 1955;36:29
12. Peter K. Lechner, Neil B. Rosenshein, Steven A. Leibel et al. Distribution and tissue dose of intraperitoneally administered radioactive chromic phosphate (32P) in New Zealand white rabbits. *Radiology* 134:729-734, March 1980
13. William D. Kaplan, Robert E. Zimmerman, William D. Bloomer et al. Therapeutic intraperitoneal 32P : A clinical assesment of the dynamics of distribution. *Radiology* 136:683-688, March 1981.
14. R. Hamazoe, A. Murakami, Y. Hirooka. et al. A phase II pilot study of the combined application of hyperthermia and intra-hepato-arterial chemotherapy using cisplatin and 5-fluorouracil. *J of Surg Oncol* 48:127-132, 1991
15. T. Fujumura, Y. Yonemura, K. Muraoka. Continuous hyperthermic peritoneal perfusion for the prevention of peritoneal recurrence of gastric cancer: Randomized controlled study. *World J. Surg.* 18:150-155, 1994
16. Andrew M. Averbach, Arvil D. Stephens, Paul H. Sugarbaker. Gastric cancer with peritoneal carcinomatosis: Case report and presentation of a pilot treatment plan. *Surgical Rounds* 14-23, Jan. 1996

17. Tian ZM, Liu ZH, Kang GQ et al. CT-guided sterotactic injection of radionuclide in treatment of brain tumors. *Chin Med J* 121:987-992, 1992
18. Harza TA, Howells R. Use of beta emitters for intracavitary therapy.
In : Spencer RP (ed): *Therapy in Nuclear Medicine*. New York: Grune & Stratton, pp 307-312, 1978
19. Taasan V, Shapiro B, Taren A, et al. Phosphorus-32 therapy of cystic grade IV astrocytomas : Technique and preliminary application. *J Nucl Med* 26:1334-1338, 1985
20. 최규석, 안형수 : 가교 chitodan계 인산유도체의 합성과 금속이온 흡착특성에 관한 연구. *Polymer*. 1990, 14-5:516-526.
21. Behrens R, Shepard N, Mitchell N. Metabolic recovery of articular cartilage after intra-articular injections of gluco-corticoid. *J Bone Joint Surg*. 1976, 58A:1157-1160.
22. Calabro JJ. Rheumatoid arthritis: diagnosis and management. *Clin Symp*. 1986, 38:1-32.
23. Chappelle A, Oka M, Rekonen A, Ruotsi A. Chromosome damage after intra-articular injection of radioactive yttrium. *Ann Rheum Dis*. 1972, 31:508.
24. Chinol M, Vallabhajosula S, Zukerman JD and Goldsmith SJ. In-vivo stability of ferric hydroxide macroaggregates(FHMA). Is it a suitable carrier for radionuclides used in synovectomy? *Nucl Med Biol*. 1990, 17:479-486.
25. Clunie G, Eil PJ. A survey of radiation synovectomy in Europe, 1991-1993. *Eur J Nucl Med*. 1995, 22:970-976.

26. Davis MA, Chinol M. Radiopharmaceuticals for radiation synovectomy: evaluation of two Yttrium-90 particulate agents. *J Nucl Med.* 1989, 30:1047-1055.
27. Deutsch E, Brodack JW, Deutsch KFl. Radiation synovectomy revisited. *Eur J Nucl Med.* 1993, 20:1113-1127.
28. Doherty M. Potential rheumatologic applications of intra-articular radiocolloid therapy. *Geriatric medicine today.* 1984, 3:31-42.
29. English RJ, Zalutsky M, Venkatesan P, Sledge CB. Therapeutic application of dysprosium-165-FHMA in the treatment of rheumatoid knee effusions. *J Nucl Med Tech.* 1986, 14:18-20.
30. Fellingner K, Schmid J. Die Lokale Behandlung der Rheumatischen Erkrankungen. *Wien Z Inn Med.* 1952, 33:351.
31. Gumpel JM, Beer TC, Crawley J and Farran HE. Yttrium-90 in persistent synovitis of the knee—a single center comparison of four ⁹⁰Y-radiocolloids. *Br. J. Radiol.* 1975, 48:377-381.
32. Harbert JC. Radiocolloid therapy in joint diseases. *Nuclear medicine therapy*, New York: Thieme Medical. 1987:169-186.
33. Hosain F, Haddon MJ, Hosain H, Drost JK and Spencer RP : Radiopharmaceuticals for diagnosis and treatment of arthritis. *Nucl Med Biol.* 1990, 17:151-155.
34. MaLaren —A, Hetherington E, Maddalena D and Snowdon G. Dysprosium(¹⁶⁵Dy) hydroxide macroaggregates for radiation synovectomy—animal studies. *Eur J Nucl Med.* 1990, 16:627-632.

35. Mori M. A review of knee joint synovectomy in rheumatoid arthritis with theoretical and technical considerations. *Ann Chir Gynaecol.* 1985, 74:40-47.
36. Mumper RJ, Mills BJA, Ryo UY and Jay M. Polymeric microspheres for radionuclide synovectomy containing neutron-activated ^{166}Ho . *J Nucl Med.* 1992, 33:398-402.
37. Mumper RJ, Ryo UY and Jay M. Neutron-activated HO-^{166} poly(L-lactic acid) microspheres: a potential agent for the internal radiation therapy of hepatic tumors. *J Nucl Med.* 1991, 32:2139-2143.
38. Muzzarelli RAA. Chitin. Oxford, Pergamon press. 1977, 255-265.
39. Neves M, Waerenborgh F, Patricio L. Palladium-109 and ^{166}Ho potential radionuclides for synoviotherapy-radiation absorbed dose calculations. *Appl Radiat Isot.* 1987, 38:745-749.
40. Noble J, Jones AG, Davis MA, Sledge CB, Kramer RI, Livni E. Leakage of radioactive particle systems from a synovial joint studied with a gamma camera: its application of radiation synovectomy. *J Bone Joint Surg.* 1983, 65A:381-389.
41. Popper L, Knorr D. Application of high pressure homogenization for food preservation. *Food Technology.* 1990:84-89.
42. Rosenthal L. Use of radiocolloids for intra-articular therapy for synovitis. *Therapy in nuclear medicine*, New York: Grune & Stratton. 1978:147-242.
43. Sledge CB, Noble J, Hnatowich DJ, Kramer R, Shortkroff S. Experimental radiation synovectomy by ^{165}Dy ferric hydroxide macroaggregate. *Arthritis Rheum.* 1977, 20:1334-1342.

44. Taylor AR, Harbison JS, Pepler C. Synovectomy of the knee in rheumatoid arthritis: results of surgery. *Ann Rheum Dis.* 1972, 31:159-161.
45. Topp JR, Cross EG, Fain AG. Treatment of persistent knee joint effusions with intra-articular radioactive gold, *Can Med Assoc J.* 1975, 112:1085-1089.
46. Virkkunen M, Krusium FE, Heiskanen T. Experiences of intra-articular administration of radioactive gold. *Acta Rheum Scand.* 1967, 13:81-91.
47. Von Reis G, Swensson A. Intra-articular injections of osmic acid in painful joint affections. *Acta Med Scand[Suppl].* 1951, 259:27-32.
48. Wang SJ, Lin WY, Hsieh BT, Shen LH, Tsai ZT, Ting G and Knapp FF. Rhenium-188 sulphur colloid as a radiation synovectomy agent. *Eur J Nucl Med.* 1995, 22:505-507.
49. Zalutsky MA, Venkatesan PP, English RJ, Shortkroff S, Sledge CB, Adelstein SJ. Radiation synovectomy with Dy-165 FHMA:lymph node uptake and radiation dosimetry calculations. *Int J Nucl Med Biol.* 1986, 12:457-465.

서 지 정 보 양 식

수행기관 보고서번호	위탁기관 보고서 번호	표준보고서 번호	INIS 주제코드
KAERI-CM-128/96			
제 목 / 부 제	Ho-166 표지화합물의 동물 및 임상시험		
연구책임자 및 부서명	임 상 무 (싸이클로트론응용연구실)		
연 구 자 및 부서명	최창운, 김은희, 우광진, 정위섭 (싸이크로트론응용 연구실) 이종인(외과), 김석준(정형외과), 박상윤, 김병기, 김종훈(산부인과), 이창훈, 이승훈 (신경외과), 손영숙, 김미숙(세포생물학연구실)		
발행지	서울	발행기관	한국원자력연구소 부설 원자력병원
페이지		도표	유(○), 무()
참고사항	공개(), 대외비(), _____급 비밀		
비밀여부	보고서 종류		
연구위탁기관	계약 번호		
초록(300단어 내외)	¹⁶⁶Ho는 적당한 반감기(26.8시간)와 강한 베타에너지, 6%의 핵영상에 적합한 감마선방출 등의 특성을 가진 좋은 치료용 핵종이다. Chitosan은 N-glucosamine의 일종으로 분자량 400 내지 500 kD의 중금속을 착화하는 생체내 분해성 고분자 화합물로 ¹⁶⁶Ho과 안정한 결합을 이룬다. 위암, 난소암 배양 세포를 대상으로 MTT법에 의한 세포독성 및 항암제와의 병용시 상승효과를 관찰하였으며, 적절한 투여량 및 방법을 연구하였다. 모사실험에 의한 흡수선량평가를 낭종 및 부강의 모델을 설정하여 시행하였고, 마우스 부강내에 ¹⁶⁶Ho-chitosan을 투여하여 체내동태 및 흡수선량 평가를 하였다. 5배의 난치성 난소암과 1배의 위암에서 ¹⁶⁶Ho-chitosan을 부강내 투여하여 4명에서 부분적인 반응을 보였고, 심각한 독성은 없었다. 8배의 낭종성 뇌종양에서 ¹⁶⁶Ho-chitosan을 낭내에 투여하여 2예에서 종양이 거의 없어졌고, 5예에서 부분관해가 관찰되었으며, 심각한 부작용은 없었다. 2예의 간암에서 간동맥내 투여로 동맥가지의 혈류분포를 따라 분포함과 부분관해가 관찰되었다. 슬관절내에서의 안정성 및 누출되지 않음이 확인되어 관절염 치료제로서의 적합성이 인정되었다. 각종 암 및 관절염에서 ¹⁶⁶Ho-chitosan의 다양한 투여 경로에 따른 임상시험이 기대된다.		
주제명 키워드 (10단어 내외)			
¹⁶⁶ Ho-chitosan, 세포독성, 흡수선량, 부강내 치료, 낭종성 뇌종양, 간동맥내 주사, 슬관절.			

BIBLIOGRAPHIC INFORMATION SHEET

Performing Org. Report No.	Sponsoring Org Report No.	Standard Report No.	INIS Subject Code
KAERI-CM-128/96			
Title/Subtitle	Animal experiments and clinical trials of ^{166}Ho -chitosan for various cancers.		
Project Manager and Dept. Sang Moo Lim (Lab. of Cyclotron Application)			
Researcher and Dept CW Choi, EH Kim, KS Woo, WS Chung (Lab. of Cyclotron Application Laboratory), JI Lee, SY Park, YS Son, SH Lee, SJ Kim, BG Kim, JH Kim, CH Lee			
Pub. Place	Seoul	Pub. Org.	Korea Cancer Center Hospital
Page	Fig. Table	Yes(0), No()	Pub. Date
Note	Size		
Classified	Open(), Outside(), Class	Report Type	
Sponsoring Org.	Contract No.		
Abstract (About 300 Words)			
^{166}Ho is a good therapeutic radionuclide because of its suitable half-life(26.8 hours), high beta energy and 6% gamma ray for imaging. Chitosan is a kind of N-glucosamine with 400 to 500 kD MW, which chelates metal ions and degrades slowly in vivo. As a preclinical studies, we performed cytotoxic effect of ^{166}Ho-chitosan in a variety of cancer cell lines derived from stomach or ovarian cancer based on MTT assay and HTCA method. To evaluated the absorbed dose to the cavity wall from ^{166}Ho-chitosan, intraperitoneal administration of ^{166}Ho-chitosan in the rat and simulation of energy transfer from the beta particles to the cavity wall using the Monte Carlo code EGS4 was done, and used as a standard for the planning therapy. Intracavitary ^{166}Ho-chitosan therapy were tried in peritoneal metastatic ovarian and stomach cancers and cystic brain tumors. Intraarterial injection in inoperable primary liver cancer was also tried. As a radiation synovectomy agent, biocompatibility study in the knee joints of rabbits were performed. ^{166}Ho-chitosan showed synergistic effects with 5-FU or cisplatin in vitro. 97-99% of ^{166}Ho-chitosan was localized within the peritoneal cavity, and more than 90% of ^{166}Ho-chitosan was attached to the peritoneal wall. Partial response were observed in 4 among 5 patients with ovarian cancer without severe toxicity. In the cystic brain tumor, 5 of 8 cysts were shrunken in size with thinning of the wall, 2 out of 8 showed growth retardation. In the primary liver cancer, radioactivity was distributed in the territory of selected hepatic arterial branch, and partial responses were observed in 2 cases. In the knee joints of the rabbits, more than 98% of ^{166}Ho-chitosan remained in the joint cavity and was stable upto 1 week.			
Subject Keywords (About 10 Words)			
^{166}Ho -Chitosan, absorption dose, intracavitary therapy, intraarterial injection, radiation synovectomy			

주 의

1. 이 보고서는 과학기술처에서 시행한 기관고유사업의 연구 보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 과학기술처에서 시행한 특정연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

Ho-166 표지화합물의 동물 및 임상시험

1997年 7月 10日 印刷

1997年 7月 10日 發行

發行人 김 성 년

發行處 韓國 原子力 研究所

大田廣域市 儒城區 德津洞 150

印刷所 東 和 社

믿는마음 지킨약속 다져가는 신뢰사회