

흰쥐의 간문맥으로 투여한 ¹⁶⁶Holmium-chitosan의 분포와 배설

백민선 · 박경배¹ · 김동현*

한국과학기술연구원, 도평콘트롤센터, 한국원자력 연구소¹

Distribution and Excretion of Radioactivity Following Intraportal Administration of ¹⁶⁶Ho-Chitosan Complex to Rats

Min Sun BAEK, Kyung Bae PARK¹ and Dong Hyun KIM

Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology,
39-1 Hawoelgok-dong, Sungbuk-gu, Seoul, Korea and

Korea Advanced Energy Research Institute¹, 150 Dukjin-dong, Yoosung-gu, Daejeon, Korea

(Received April 21, 1997; accepted August 18, 1997)

Abstract – The distribution and excretion of radioactivity were examined after intraportal administration of ¹⁶⁶Ho-chitosan complex at a dose of 1 mCi/kg (10 mg chitosan/kg) to rats. Whole body macroautoluminographs showed that the radioactivity after an administration was concentrated in liver and perfused primarily to organs including kidney, spleen, and bone marrow, then to muscle and brain. Similar profiles were observed from 2 hr to 168 hr after the administration. The relative percentage of radioactivity in bone and spinal column increased with time, suggesting that free ¹⁶⁶Ho, released from chitosan complex deposited in the liver, selectively binds to these tissues. ¹⁶⁶Ho-chitosan complex administered intraportally was excreted less than 4% through urine (2.7 ± 0.8%) and feces (0.65 ± 0.4%) up to seven days. These results demonstrate that the radioactivity of ¹⁶⁶Ho-chitosan complex when administered intraportally, mainly localizes in liver without affecting other tissues and organs. Considering the short half life of ¹⁶⁶Ho and the localization to the liver, ¹⁶⁶Ho-chitosan complex might be a useful agent in the treatment of hepatic carcinoma.

Keywords □ ¹⁶⁶Ho-chitosan complex, distribution, excretion, hepatic carcinoma

암의 치료에 있어 방사성 물질은 화학요법과 병행하여 간암 등의 치료에 사용되고 있으며(Epstein 등, 1991) 현재 임상적으로 사용되고 있는 방사성 물질은 ¹³¹I, ¹²⁵I, ¹⁸⁶Re, ²¹²Bi, ⁹⁰Y 등이 있다(Madsen 등, 1988; Sitzmann과 Abrams, 1993; Wang 등, 1996). 그러나, 동위원소 치료법은 골격 변형이나 척추 기형을 유발하는 등 정상 조직에 미치는 독성 효과로 인하여 그 사용에 제한을 받고있는 바(Mayfield 등, 1981; Riseborough 등, 1976) 이를 극복하기 위해 암 조직에 선택적으로 작용할 수 있도록 ¹³¹I, ¹²⁵I, ¹⁸⁶Re, ²¹²Bi과 같은 방사성 동위원소를 암세포에 특이적으로 발현되는 antiferitin과 같은 암 표식인자등에 대한 단일 클론 항체와 접합시켜 방사성 면역요법에 응용하고 있다(Buchsbaum 등, 1993; Juwei 등, 1996; Sharkey 등, 1995; Sitzmann과 Abrams, 1993). 특히 간암의 치료에 있어 최근 간 동맥으로 직접 방사성 동위원소를 주입하여 간암 조직에의 선택성을

높이는 방법이 시도되어지고 있으며 ¹³¹I과 ⁹⁰Y-lipiodol 등이 사용되고 있다 (Madsen 등, 1988; Wang 등, 1996).

한편 Brown 등 (1991)은 ¹⁶⁶Holmium을 암세포에 적용시 암세포의 DNA복제를 억제한다고 보고하였으며, Appelbaum 등 (1992)은 정맥으로 주입시 특히 골수 조직에 다량 침착 되는 것을 이용하여 골수 이식전 골수 절제에의 이용 가능성을 보고하였다. 또한 Holmium-Yttrium Aluminum Garnet Laser(Ho-YAG)는 방사시 열에 의한 조직 손상이 적고 지혈 효과도 우수하여 최근 미국의 FDA에서 복강경 담낭 절제술에의 이용을 허가한 바가 있다(Bhatta 등, 1994). ¹⁶⁶Holmium은 β-선과 γ-선을 갖는 강한 방사성 물질이며 그 반감기가 짧아 체내 적용시 표적 세포에 선택적으로 작용 후 체내에서 빠르게 소실되는 장점을 가져 암 치료에의 임상 적용이 연구되고 있으며(Turner 등, 1994) 방사성 활막 절제술(Radiation Synovectomy)용과 간암 및 복강 내 전이암 등 낭종성 종양 치료제로 개발되고 있다.

본 연구에서는 ¹⁶⁶Holmium을 chitosan과 결합시켜 ¹⁶⁶Hol-

* To whom correspondence should be addressed.

mium-chitosan complex를 제조하여 쥐의 간문맥을 통하여 직접 주입한 후 whole body autoradiography를 이용하여 표적 장기인 간으로의 이행과 체외 배설에 관한 연구를 수행하였다.

실험방법

시험물질

^{166}Ho -chitosan complex는 시험 당일 오전 $^{166}\text{Holmium nitrate pentahydrate}$ ($^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)를 원자로에서 조사하여 $^{166}\text{Holmium nitrate pentahydrate}$ ($^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)용액(sp. act. 25 mCi/ml)을 원자력 연구소에서 제공 받았다. 이 용액을 pH가 3.0-3.5로 조정된 chitosan용액에 첨가하여 최종 chitosan농도가 10 mg/ml이 되도록하고 상온에서 한시간 교반하여 ^{166}Ho -chitosan complex를 제조하였다. 방사화학적 순도는 TLC plate(Instant Thin Layer Chromatography, Silicic Acid)에서 전개용매($\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}:\text{acetic acid}=49:49:2$, v/v/v)를 사용하여 전개한 후 ^{166}Ho -chitosan complex(Rf=0.2-0.4)와 free ^{166}Ho (Rf=0.8-1.0)의 방사능을 측정하여 순도를 확인하였으며 이 때 complex형태로 존재하는 방사능량이 99% 이상이었다.

실험동물

수컷의 Sprague-Dawley rat(200-220 g)을 대한 실험 동물 센터에서 구입하였으며 KIST 동물실에서 일주일간 순화시킨 후 사용하였다. 사육실은 12시간 조명 주기와, 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 그리고 상대습도를 $55 \pm 10\%$ 로 유지하였다. 사료는 대한 실험 동물 센터에서 구입한 고품사료를 사용하였으며 사료와 수돗물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

동물처치

^{166}Ho -chitosan complex는 Nishigaki등 (1995)이 서술한 방법대로 pancreatic-duodenal cannulation을 시술한 후 간문맥으로 투여하였다. 먼저 sodium pentobarbital(40 mg/kg)을 복강투여하여 마취시킨 후 복부의 털을 제거한 다음 중간선을 따라 2-3 cm 절개하였다. 절개 후 십이지장을 간문맥이 보이도록 고정하고 간문맥으로 향하는 pancreatic-duodenal vein 주위의 장간막을 제거하였다. 노출된 정맥 아래로 수술사를 넣고 십이지장으로 향하는 정맥을 절찰한 후 PE 10 tube를 문맥까지 삽관하고 수술사로 절찰하여 고정하였다. Cannula 한쪽 끝을 피하를 통하여 목 뒤까지 뽑아낸 후 복부를 봉합하고 cannula를 고정시켰다. 실험약의 투여는 수술 24시간 경과한 후 cannula를 통하여 간문맥으로 투여하였다.

투여량 ^{166}Ho 의 반감기는 26.8시간으로 투여 시점의 방사선량을 계산한 후 동일한 점도 및 pH (pH 2.5-3.5)를 유지하기 위하여 chitosan 용액(10 mg/ml)으로 방사선량이 1 mCi/ml이 되도록 검액을 제조하였으며 실험 동물 몸무게

kg당 1 ml 용량으로 투여하였다.

배설시험

^{166}Ho -chitosan complex를 1 mCi/kg 용량으로 간문맥을 통해 네 마리 랫드에 투여 후 각각 metabolic cage에 넣고 24시간 간격으로 1주일 동안 뇨와 분변을 수집하여 총부피와 무게를 측정하였다. 뇨는 일정량을 취하여 β -counter (TRI-CARB, 2000CA, Packard)로 방사선량을 측정하였으며 분변은 두 배의 증류수를 넣고 Polytron(Ultra-turrax25, IKA Labortechnik)을 이용하여 균질화 시킨 후 일정액을 취하여 β -counter로 방사선량을 측정하였다. 각 실험기간 동안 배설된 총 방사선량은 방사선량 측정시의 dpm 값을 $N_t = N_0 e^{-\lambda t}$ 식으로 계산하여 투여 시점의 방사선량으로 환산하였다. 배설량은 ^{166}Ho -chitosan 투여액을 일정 비율로 희석하여 방사선량을 측정하여 총 투여 방사선량을 환산 계산하고 이에 대한 백분율(%)로 나타내었다.

Whole body autoradiography

^{166}Ho -chitosan complex 용액을 실험 동물당 1 mCi/kg 용량으로 각 group 당 2마리씩 투여 후 2, 24, 48, 96, 그리고 168시간 되는 시점에 ether로 마취하여 처사 시켰다. 이때 각 실험 동물의 체내에 잔존하는 방사선량은 우물형 전리함(IGC-IC, Aloka Co. Ltd.)을 이용하여 ^{166}Ho 과 비슷한 ^{135}Xe 의 calibration range하에서 측정하였다.

Autoradiography를 위한 박편은 Shigematsu 등 (1995)이 보고한 방법에 따라 다음과 같이 준비 하였다. 검체를 dry ice-hexane bath에서 급속히 냉각시키고 5% carboxymethylcellulose 용액을 이용하여 mounting시켰다. 검체 동물을 microtomb(Leiker, Germany)을 이용하여 신장 부위와 정 중앙 부위가 나타날 수 있도록 30 μm 두께의 절편을 만들었고, 이를 -20°C 에서 동결건조 하였다. 168시간 검체 박편 제조가 완료된 직후 각각의 절편을 동일 조건으로 비교하고자, 동시에 Imaging plate(IP, Fuji Photo Film, Co., Ltd)에 30분간 노출시켰다. 노출이 종료된 IP를 BAS 2000 Image Analyzer(Fuji Photo Film Co., Ltd)로 분석하여 whole body autoradioluminograph을 얻었다. 각 조직 또는 장기 내의 방사선의 농도는 Image analyzer로 정량하여 background를 뺀 density를 면적으로 나누어 단위 면적당 density(PSL-BG/S)로 나타내었다. 또한 각 기관의 총 방사선량은 image analysis로 얻은 방사선의 농도(두께 30 μm , 단위 면적 1 mm^2)를 각 조직 및 장기의 평균 무게로 곱하여 조직 내 총 방사선량을 개략적으로 계산하여 분포를 비교하였다.

실험결과

^{166}Ho -chitosan complex는 낭종성 종양 치료를 목적으로 하는 국소 방사선 치료제로서, 본 실험에서는 그 이용 목적에 준하여 간 문맥을 통하여 직접 실험액을 투여한 후 체내

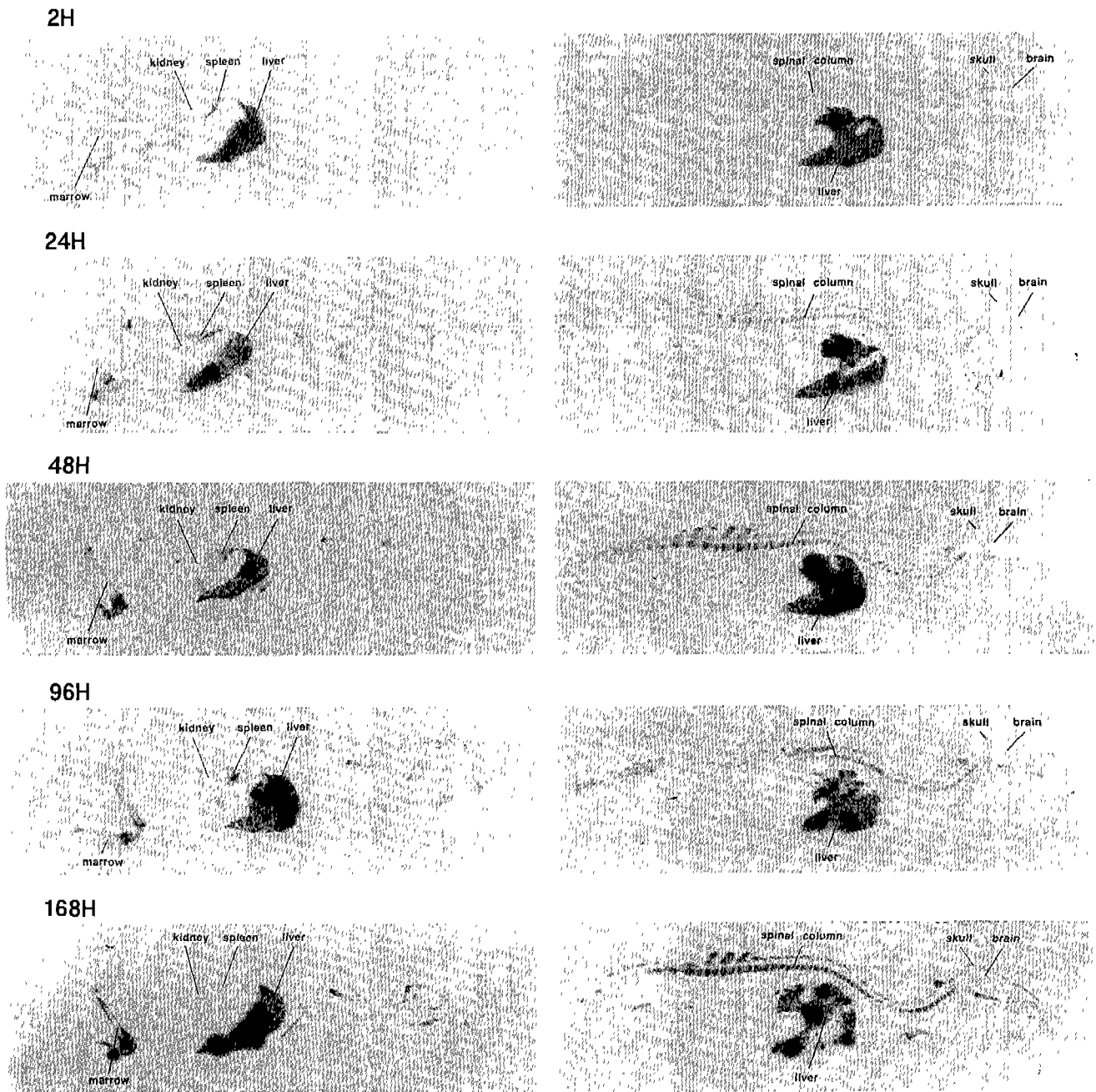


Fig. 1. Whole body macroautoradioluminographs of middle and kidney section at 2 h, 24 h, 48 h, 96 h and 168 h after intraportal administration of ¹⁶⁶Ho-chitosan complex at a dose of 1 mCi/kg to rats.

분포와 배설을 조사하였다.

¹⁶⁶Ho-chitosan complex를 간 문맥으로 투여 후 2, 24, 48, 96, 그리고 168시간 경과 후 전신 분포를 알아보기 위하여 BAS 2000 Image analyzer를 이용하여 whole body autoradiograph를 얻었으며, 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 주요 장기와 조직 내의 상대적인 방사선량은 Table 1에 나타내었다. 상대 방사선량은 혈액 중 PSL/S 값을 기준으로 조직 내 방사선량을 비교적 고친화성 조직을 10이상, 중간 친

화성 조직을 1이상 그리고 1이하를 저친화성 조직으로 분류시 간은 고친화성 조직으로, 허파, 비장, 신장, 골수, 그리고 척추가 중간 친화성 조직으로 그리고 뇌와 근육이 저친화성 조직으로 분류되었으며 이 양상은 투여 후 168시간까지 동일하였다. 특히 간 조직 내의 ¹⁶⁶Ho의 농도는 Table 1에서 보는 바와 같이 타 기관에 비하여 월등히 높았으며 whole body autoradiography(Fig. 1)를 보면 동일 간 조직 내에도 상대적인 분포가 매우 다르게 나타났다.

Table 1. Distribution of radioactivity in various organs and tissues after intraportal administration of ^{166}Ho -chitosan complex (1 mCi/kg) to rats.

		(PSL-BG)/S				
		2 hr	24 hr	48 hr	96 hr	168 hr
kidney line	Whole body	1.94±1.02 ^a	4.96±3.3	3.02±1.66	5.55±5.65	5.8 ±3.7
	Brain	0.14±0.08	0.4 ±0.21	0.36±0.12	0.41±0.04	0.93±0.03
	Lung	1.04±0.21	1.06±0.39	0.69±0.28	0.71±0.08	0.85±0.29
	Liver	28.7±14.96	47.5±17.8	44.4±23.87	56.2±50.94	66.5±48.33
	Spleen	3.38±1.2	4.25±0.14	5.47±0.42	3.63±0.64	2.7 ±0.4
	Kidney	0.91±0.42	1.18±0.59	1.15±0.19	0.97±0.33	0.98±0.15
	Bone marrow	1.41±0.43	4.4 ±2.49	3.14±0.64	4.57±0.52	5.69±3.09
	Muscle	0.11±0.03	0.03±0.00	0.1 ±0.05	0.1 ±0.01	0.09±0.04
	Middle line	Whole body	3.31±1.00	7.38±3.86	6.52±3.99	2.85±0.58
Liver		33.4±14.8	77.6±45.02	62.1±47.52	24.5±7.76	29.6±18.07
Spinal column		1.21±0.44	3.14±0.03	4.51±0.01	3.95±0.18	6.84±0.48
Blood		0.6 ±0.47	0.51±0.35	0.56±0.08	0.28±0.03	0.25±0.2

^aEach value was calculated as the density subtracted background per unit square (PSL-BG/S) (n=2).

^{166}Ho -chitosan을 간 문맥투여후 2, 24, 48, 96, 그리고 168 시간 경과 후 동물 조직 내 잔존하는 총 방사선량을 측정된 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 측정에 사용한 전리함 계측기의 효율은 약 50%정도였으며, 측정된 방사선량(N_t)으로부터 환산하여 계산한 초기방사선량(N_0)값은 거의 일정하였다. 투여후 일주일까지 체내에 잔류하는 방사선량은 90% 이상으로 대부분이 체내에 머무르고 있었으며 whole body autoradiography 시험을 통하여 체내에 잔류하는 ^{166}Ho 은 주로 간에 머무르고 있음을 확인하였다.

^{166}Ho -chitosan을 투여후 일주일간의 뇨와 분변으로 배설되는 양상은 Fig. 3에 나타내었다. Urine으로 배설되는 속

도는 투여 후 1일째 투여 총량의 1.05±0.35%, 2일째 0.60±0.17%가 배설되었으며 그 후 일주일간은 0.1-0.3%/day의 속도로 배설되었다. 분변으로의 배설은 투여 일주일까지 매일 0.1-0.2% 정도씩 배설됨을 알 수 있었다. 투여 일주일까지 배설된 총 방사선량은 뇨로 2.70±0.77%, 그리고 분변으로 0.65±0.36% 정도 배설되었으며 총 배설량은 4% 미만으로 나타났다. 이는 측정된 몸 속에 머무르는 방사선량과 일치하는 결과를 나타내 주고 있다.

골수 조직과 척추, 그리고 두개골에서의 방사선 분포는 투여후 시간이 경과할수록 상대적인 농도가 서서히 증가함을 Fig. 1을 통하여 알 수 있다. 간 조직 내의 방사선량에 대한 상대적인 골수 내 방사선량은 투여 2, 24, 48, 96 그리고 168시간 경과시 각각 0.045, 0.070, 0.059, 0.113 그리고

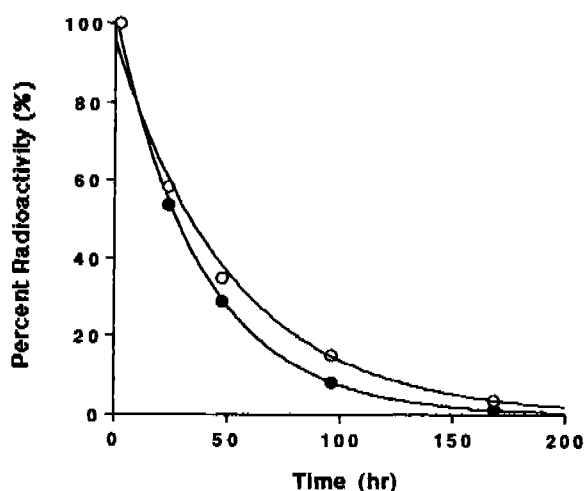


Fig. 2. The radioactivity in the body (○) and decay curve of ^{166}Ho (●) at the designated time after intraportal administration of ^{166}Ho -chitosan complex at a dose of 1 mCi/kg (n=2). The radioactivity remaining in the body was counted by curie meter and theoretical radioactivity was calculated using equation $N_t = N_0 e^{-\lambda t}$.

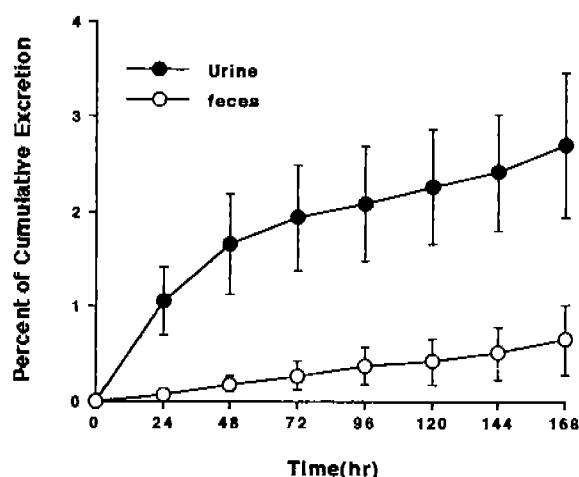


Fig. 3. Cumulative urinary (■) and fecal (●) excretion of radioactivity after intraportal administration of ^{166}Ho -chitosan complex at a dose of 1 mCi/kg to rats. Bars represent standard deviation (n=4).

0.118이었고 상대적인 척추내 방사선량은 각각 0.039, 0.050, 0.085, 0.098 그리고 0.143이었다.

고 찰

약물을 투여할 때 다른 조직에의 영향은 최소화하고 표적 장기에서의 약물 효과를 극대화 시키기 위해 최근 cannulation에 의해 직접 약물을 투여하는 방법이 임상적으로 널리 응용되어지고 있다(Geoffrey 등, 1990; Hirayama 등, 1989). 본 실험에서는 ¹⁶⁶Ho-chitosan complex를 간문맥으로 직접 주입하였을 때 방사선 농도의 체내 분포와 배설을 조사하였다. 투여 후 2시간 부터 168시간에 이르기까지 ¹⁶⁶Ho의 체내 분포양상은 유사하였으며 주로 간조직에 선택적으로 높게 축적되는 것을 관찰할 수 있었다. Chitosan 용액은 산성에서는 용해도가 높으나 pH 6.0이상에서 침전되는 것으로 알려져 있으며(LeHoux와 Grondin, 1993) 간문맥을 통해 투여시 혈액 및 조직 내의 생체 pH는 7이상이므로 가장 먼저 도달한 간에서 모세혈관을 통하여 간 조직 내로 분포될 때 미세한 입자를 형성하여 간 조직 곳곳에 정체하여 머무르는 결과로 추측된다. 따라서 Fig. 1에서 나타난 바와 같이 동일 간 조직내에서도 부위에 따라 상대적인 방사선량의 차이를 가져온다고 할 수 있다.

간 문맥으로 투여된 시료는 가장 먼저 간을 지나서 체순환계로 이행되는데 대부분이 간 조직 내에 머무르고 일부가 혈액을 통하여 rapidly perfused organ(신장, 비장)에 침착되었다가 서서히 유리되는 것으로 사료된다. 투여 2시간 경과 후 혈액 중 방사선량은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 극히 미미하며, 이는 ¹⁶⁶Ho-chitosan complex가 투여 후에도 ¹⁶⁶Ho과 chitosan이 유리되지 않고 대부분 complex 형태로 조직 내에 침착된 사실을 말해주고 있으며, 이 사실은 본 시료를 체내에 적용시 타 조직에 대한 방사선 영향이 최소화될 수 있음을 시사한다.

척추 및 골수의 방사선 분포는 투여 2시간 경과 시점에서 극소량만 이행되었으나 시간이 경과함에 따라 척추 및 골수의 상대적 방사선량의 증가를 보여주었으며 이 현상은 일단 조직에 침착된 ¹⁶⁶Ho-chitosan complex에서 ¹⁶⁶Ho이 서서히 유리되어 나오고 유리된 ¹⁶⁶Ho의 일부가 친화성이 높은 뼈와 척추(Appelbaum 등, 1992), 두 조직에 이행되어 축적된 결과라고 사료된다.

간 문맥으로 ¹⁶⁶Ho-chitosan complex(1 mCi/kg)를 투여한 후 일주일간 배설되는 방사선량은 뇨로 2.70±0.77% 그리고 분변으로 0.65±0.36%가 배설되었으며 총 배설량이 4% 미만으로 그 배설량은 극히 미미하였으며, 이 결과는 ¹⁶⁶Ho과 chitosan이 체내에서 매우 안정적인 complex로 머무르고 있음을 간접적으로 증명하여 준다. 뇨와 분변으로 배설되는 방사선 물질은 시험방법에서 기술한 TLC 방법으로 확인

한 결과 Rf값이 0.8-1.0사이에서 방사능이 검출된 사실(data not shown)로 미루어 주로 complex에서 유리된 free ¹⁶⁶Ho으로 추정되어진다.

결론적으로 ¹⁶⁶Ho-chitosan complex를 간문맥으로 투여시 ¹⁶⁶Ho은 표적 장기인 간에 대부분이 머무르고 골수 조직 이외의 타 기관으로의 이행은 매우 미미하였으며 이러한 양상은 일주일 경과시 까지 유지되었다. 또한 체외로의 방사선량의 배설은 4% 미만으로 극히 소량이었다.

참고문헌

- Appelbaum, F. R., Brown, P. A., Sandmaier, B. M., Storb, R. and Fisher, D. R. et al. (1992). Specific marrow ablation before marrow transplantation using an aminophosphonic acid conjugate ¹⁶⁶Ho-EDTMP. *Blood*, **80**(6), 1608-1613.
- Bhatta, N., Isaacson, K., Bhatta, K. M., Anderson, R. R. and Schiff, I. (1994). Comparative study of different laser systems. *Fertil Steril*, **61**(4), 581-591.
- Brown R. F., Lidesmith L. C. and Day D. E. (1991). ¹⁶⁶Holmium-containing glass for internal radiotherapy of tumors. *Int J Rad Appl Instrum B*, **18**(7), 783-790.
- Buchsbaum D. J., Langmuir V. K. and Wessels B. W. (1993). Experimental radioimmunotherapy. *Med Phys*, **20**, 551-567.
- Dobson, G. P., Veech, R. L., Passonneau, J. V. and Huang, M. T. (1990). *In vivo* portal-hepatic venous gradients of glycogenic precursors and incorporation of D-[3-³H]glucose into liver glycogen in the awake rat. *J Biol Chem*, **265**(27), 16350-16357.
- Epstein, B., Ettinger, D., Lechner, P. K. and Order, S. E. (1991). Multimodality cisplatin treatment in nonresectable alpha-fetoprotein-positive hepatoma. *Cancer*, **67**, 896-900.
- Hirayama H., Morgaado J., Gasinska I., Pang K. S. (1989). *Drug Metab Dispos*, **18**, 588.
- Juwei, M., Sharkey, R. M., Behr, T., Swayne, L. C., Herskovic, T. and Pereira, M. et al. (1996). Radioimmunotherapy of medullary thyroid cancer with Iodine-131-labeled anti-CEA antibodies. *J Nucl Med*, **37**, 905-911.
- LeHoux, J. and Frondin, F (1993). Some effects of chitosan on liver function in the rat. *Endocrinology* **132**, 1078-1084.
- Madsen, M. K., Park, C. H. and Thakur, M. L. (1988). Dosimetry of Iodine-131 Ethiodol in the treatment of hepatoma. *J Nucl Med*, **29**, 1038-1044.
- Mayfield, J. K., Riseborough, E. J., Jaffe, N. and Nehme, M. E. (1981). Spinal deformity in children treated for neuroblastoma: The effect of radiation and other forms of treatment. *J Bone and Joint Surg*, **63-A**(2), 183-193.
- Nishigaki, J., Suzuki, S., Yui, J., Shigematsu, A. (1995). Distribution volume of three ^{99m}Tc-labeled compounds in the rat liver with time after intraportal and intravenous injections. *Biol Pharm Bull*, **18**(2), 1705-1709.
- Riseborough, E. J., Grabis, S. L., Burton, R. I. and Jaffe, N (1976). Skeletal alterations following irradiation for Wilms tumor: With particular reference to scoliosis and kyphosis. *J Bone and Joint Surg*, **58-A**(4), 526-536.

- Sharkey, R. M., Juwei, M., Shevitz, J., Behr, T., Dunn, R. and Swayne, L. C. et al. (1995). Evaluation of a complementarity-determining region-grafted (humanized) anticarcinogenic embryonic antigen monoclonal antibody in preclinical and clinical studies. *Cancer Research*, **55**, 5935-5945.
- Shigematsu, A., Motoji, N., Hatori, A. and Satoh, T. (1995). Progressive application of autoradiography in pharmacokinetic and metabolic studies for the development of new drugs. *Regul Toxi Pharm*, **22**, 122-142.
- Sitzmann, J. V. and Abrams, R. (1993). Improved survival for hepatocellular cancer with combination surgery and multimodality treatment. *Ann Surg*, **217**(2), 149-154.
- Turner, J. H., Claringbold, P. G., Klemp, P. F. B., Cameron, P. J., Martindale, A. A., Glancy, R. J., Norman, P. E., Hetherington, E. L., Najdovski, L. and Lambrecht, R. M. (1994). ¹⁸⁸Ho-microsphere liver radiotherapy: a preclinical SPECT dosimetry study in the pig. *Nucl Med Comm*, **15**, 545-553.
- Wang, S. J., Lin, W. Y., Lui, W. Y., Chen, M. N., Tsai, Z. T. and Ting, G. (1996). Hepatic artery injection of Yttrium-90-Lipiodol biodistribution in rats with hepatoma. *J Nucl Med*, **37**, 332-335.