

行政院原子能委員會  
委託研究計畫研究報告

肝纖維化與肝癌動物模式建立以及 Re-188

ECD-Lipiodol 學術臨床試驗評估與 IND 資料建立

Animal models for cirrhosis and hepatoma and clinical  
trial using Re-188 ECD-Lipiodol

計畫編號：992001INER084

受委託機關(構)：國立成功大學醫學院內科學科

計畫主持人：林錫璋 教授

核研所聯絡人員：羅彩月

聯絡電話：06-2353535 轉 3624、3626

E-mail address：linxz@mail.ncku.edu.tw

報告日期：99 年 10 月 29 日

# 目 錄

目 錄.....	2
中文摘要.....	3
英文摘要.....	4
壹、計畫緣起與目的 .....	8
一、計畫緣起.....	8
二、目的.....	9
貳、研究方法與過程 .....	9
一、建立肝纖維化與肝癌二種動物模式 .....	9
二、lipiodol 藥物載體於肝臟測試.....	11
三、Re-188 ECD/lipiodol 藥物釋放系統於肝癌治療.....	14
參、主要發現與結論 .....	17
肆、參考文獻.....	18

## 摘要部份

### 一、中、英文標題

中文：肝纖維化與肝癌動物模式建立以及 Re-188-ECD-Lipiodol 學術  
臨床試驗評估 IND 資料建立

英文：Animal models for cirrhosis and hepatoma and clinical trial using  
Re-188 ECD/Lipiodol

### 二、計畫編號

計畫編號：992001INER084

### 三、計畫參與人員及所屬單位

計畫參與人員	所屬單位
林錫璋	國立成功大學醫學院內科學科
陳炯瑜	國立成功大學醫學院內科學科
賴羿君	國立成功大學醫學院內科學科
王儷蓁	國立成功大學醫學院內科學科

### 四、中文摘要

**背景/目的** 臨床上有數種治療肝癌方式，其中放射線同位素治療術是一種將放射線直接作用在癌細胞上，並且減少對正常組織的破壞。利用新劑型藥物釋放系統，以增加藥物停留於肝臟時間及降低對人體的傷害。為了進一步探索放射線治療，本實驗已建立肝癌、肝纖維化動物模式，以利 Re-188 類藥物釋放用於治療肝癌。

**材料與方法** 本實驗分為三部份，第一部分：選用 6 週齡 Wistar rats 以 0.030%-0.040% thioacetamide 加入大鼠飲用水中，分別餵食 12 週以及 18 週建立穩定地肝纖維化動物模式。另外，篩選大鼠肝腫瘤 N1-S1 細胞，將肝臟之右葉挑出，取 N1-S1 細胞  $6 \times 10^6$  cells/ml 0.25 ml

注射，以建立穩定地肝癌動物模式。第二部份：lipiodol 藥物載體於肝臟測試。依 lipiodol 與載體之混合比例，注射至 Sprague-Dawely 大鼠肝腫瘤中，待 24 小時、48 小時後利用 X-ray 造影。第三部份：Re-188 ECD/lipiodol 藥物新劑型治療 Sprague-Dawely 大鼠肝腫瘤，待 1 小時、18 小時、24 小時後利用 Micro Spect-CT 造影，並觀察腫瘤消長情況。

**結果** 第一部分：經過 12 週和 18 週的 thioacetamide(0.030 %-0.040 %) 餵食，發現大鼠有肝纖維化的現象。另外，注射肝腫瘤 N1-S1 細胞的大鼠有肝癌發生。第二部份：藉由 X-ray 造影可發現 lipiodol 藥物載體成功地停留於肝腫瘤。第三部份：Re-188 ECD/lipiodol 藥物新劑型可直接作用於肝腫瘤目標位置上。

**結論** 經餵食 thioacetamide 飲用水 12 週和 18 週之大鼠可建立穩定地肝纖維化動物模式；經注射肝腫瘤 N1-S1 細胞之大鼠，可建立穩定地肝癌動物模式。本研究的新劑型藥物釋放系統有助於延長藥物停留於體內，且有抑制腫瘤生長之趨勢。

**關鍵字：**肝纖維化、肝癌、新劑型藥物釋放系統、lipiodol、Re-188 ECD/lipiodol

## 五、英文摘要

### Abstract

**Background/purpose** Different methods have been developed to treat hepatoma such as radiofrequency ablation and percutaneous ethanol injection. Radioisotope injection is a new option that targets specific lesions aiming to reduce damage to normal tissue. In order to explore the brachytherapy in hepatoma and cirrhosis, animal models were established in this study. **Material and methods** part I : six-week-old rats were fed with 0.030%-0.040% thioacetamide for 12 and 18 weeks to create

cirrhotic animal models; another group was injected N1-S1 cell line(  $6 \times 10^6$  cells/ml , 0.25 ml) to establish hepatoma model. part II: A novel drug carrier with lipiodol was injected into a Sprague-Dawley rat hepatoma model. The carrier stability was observed in the lesion by X-ray images at 24 and 48 hours. part III: Re-188 ECD/ lipiodol with novel drug carrier were injected into a Sprague-Dawley rat hepatoma model. The efficacy of carrier was assessed by Re-188 ECD/lipiodol distribution from Micro spect-CT images at 1, 18 and 24 hours. After 2 weeks observing, tumor size and survival rate were estimated. **Results** part I : The rats became liver fibrosis by feeding thioacetamide for 12 and 18 weeks. The rats with injection N1-S1 cell line were induced hepatoma. part II : Our newly developed drug carrier with lipiodol remained stably in the targeted lesion. part III : Re-188 ECD/ lipiodol can be reduced tumor size by our new drug delivery system. Besides, the survival rate in experimental group is higher than control group. **Conclusion** Hepatoma model was established successfully by injection N1-S1 cell to rats. Liver fibrosis models were accomplished through feeding thioacetamide for 12 and 18 weeks separately. Re-188 ECD/ lipiodol were delivered to the targeted lesions stably and effectively by the new drug delivery system. Also, the new system could effectively lower the mortality of hepatoma implanted rats.

**Keywords:** cirrhosis, hepatoma, new developed drug delivery system, lipiodol, Re-188 ECD/lipiodol

## 內文部份

### 一、中文摘要

**背景/目的** 臨床上有數種治療肝癌方式，其中放射線同位素治療術是一種將放射線直接作用在癌細胞上，並且減少對正常組織的破壞。利用新劑型藥物釋放系統，以增加藥物停留於肝臟時間及降低對人體的

傷害。為了進一步探索放射線治療，本實驗已建立肝癌、肝纖維化動物模式，以利 Re-188 類藥物釋放用於治療肝癌。

**材料與方法** 本實驗分為三部份，第一部分：選用 6 週齡 Wistar rats 以 0.030%-0.040% thioacetamide 加入大鼠飲用水中，分別餵食 12 週以及 18 週建立穩定地肝纖維化動物模式。另外，篩選大鼠肝腫瘤 N1-S1 細胞，將肝臟之右葉挑出，取 N1-S1 細胞  $6 \times 10^6$  cells/ml 0.25 ml 注射，以建立穩定地肝癌動物模式。第二部份：lipiodol 藥物載體於肝臟測試。依 lipiodol 與載體之混合比例，注射至 Sprague-Dawely 大鼠肝腫瘤中，待 24 小時、48 小時後利用 X-ray 造影。第三部份：Re-188 ECD/lipiodol 藥物新劑型治療 Sprague-Dawely 大鼠肝腫瘤，待 1 小時、18 小時、24 小時後利用 Micro Spect-CT 造影，並觀察腫瘤消長情況。

**結果** 第一部分：經過 12 週和 18 週的 thioacetamide(0.030 %-0.040 %) 餵食，發現大鼠有肝纖維化的現象。另外，注射肝腫瘤 N1-S1 細胞的大鼠有肝癌發生。第二部份：藉由 X-ray 造影可發現 lipiodol 藥物載體成功地停留於肝腫瘤。第三部份：Re-188 ECD/lipiodol 藥物新劑型可直接作用於肝腫瘤目標位置上。

**結論** 經餵食 thioacetamide 飲用水 12 週和 18 週之大鼠可建立穩定地肝纖維化動物模式；經注射肝腫瘤 N1-S1 細胞之大鼠，可建立穩定地肝癌動物模式。本研究的新劑型藥物釋放系統有助於延長藥物停留於體內，且有抑制腫瘤生長之趨勢。

**關鍵字：**肝纖維化、肝癌、新劑型藥物釋放系統、lipiodol、Re-188 ECD/lipiodol

## 二、英文摘要

### Abstract

**Background/purpose** Different methods have been developed to treat hepatoma such as radiofrequency ablation and percutaneous ethanol injection. Radioisotope injection is a new option that targets specific lesions aiming to reduce damage to normal tissue. In order to explore the brachytherapy in hepatoma and cirrhosis, animal models were established in this study. **Material and methods** part I : six-week-old rats were fed with 0.030%-0.040% thioacetamide for 12 and 18 weeks to create cirrhotic animal models; another group was injected N1-S1 cell line(  $6 \times 10^6$  cells/ml , 0.25 ml) to establish hepatoma model. part II : A novel drug carrier with lipiodol was injected into a Sprague-Dawley rat hepatoma model. The carrier stability was observed in the lesion by X-ray images at 24 and 48 hours. part III: Re-188 ECD/ lipiodol with novel drug carrier were injected into a Sprague-Dawley rat hepatoma model. The efficacy of carrier was assessed by Re-188 ECD/lipiodol distribution from Micro spect-CT images at 1, 18 and 24 hours. After 2 weeks observing, tumor size and survival rate were estimated. **Results** part I : The rats became liver fibrosis by feeding thioacetamide for 12 and 18 weeks. The rats with injection N1-S1 cell line were induced hepatoma. part II : Our newly developed drug carrier with lipiodol remained stably in the targeted lesion. part III : Re-188 ECD/ lipiodol can be reduced tumor size by our new drug delivery system. Besides, the survival rate in experimental group is higher than control group. **Conclusion** Hepatoma model was established successfully by injection N1-S1 cell to rats. Liver fibrosis models were accomplished through feeding thioacetamide for 12 and 18 weeks separately. Re-188 ECD/ lipiodol were delivered to the targeted lesions stably and effectively by the new drug delivery system. Also, the new system could effectively lower the mortality of hepatoma implanted rats.

**Keywords:** cirrhosis, hepatoma, new developed drug delivery system, lipiodol, Re-188 ECD/lipiodol

### 三、作者及所屬單位

計畫參與人員	所屬單位
林錫璋	國立成功大學醫學院內科學科
陳炯瑜	國立成功大學醫學院內科學科
賴羿君	國立成功大學醫學院內科學科
王儷蓁	國立成功大學醫學院內科學科

### 壹、計畫緣起與目的

#### 一、計畫緣起

肝纖維化是指肝臟纖維結締組織的過度沉積。纖維增生是機體對於損傷的一種修復反應，各種病因所致反覆或持續的慢性肝實質炎症、壞死可導致肝臟持續不斷的纖維增生而形成肝纖維化，肝纖維化和肝硬化是連續的發展過程，二者難以截然分開。肝癌死亡率長期居高不下。近三年，台灣每年約有 6,000 人死於此病，而肝癌好發於 45 歲至 60 歲間，此對於社會生產力或國家競爭力影響顯著。肝癌的治療不斷地在進步，而外科手術切除一向被認為是可望治癒的方法之一，但它並非適用於每位肝病者。近 10 年來，陸續有數種癌症新藥及新療法問世，其他治療方法包括肝動脈栓塞法、酒精注射法、化學治療、肝臟移植等等，但又因部份患者無法用於以上療法，因此放射線治療術被視為治療肝癌的新趨勢之一。由於放射性同位素治療可破壞癌細胞，並減少對正常細胞的影響，預計在數年內將可成為肝癌患者的新希望。

## 二、目的

Re<sup>188</sup> 是我國核能所由進口核種 W<sup>188</sup> 蛻變可自產的放射性同位素。Re<sup>188</sup> 半衰期 16.9 小時，4 個半衰期為 3 天，其放射線以 β 射線為主(85%) 而少量的 γ 射線(15%)可以成像。我們將所研發的植入載體混合 Re-188 ECD/lipiodol，藉著藥物釋放系統送入體內，使 Re-188 ECD/lipiodol 藥物作用於局部腫瘤，以提高治療效果並降低對周圍組織的傷害。此研發已應用在大鼠動物模式中以評估治療肝癌之可能性。

## 貳、研究方法與過程

### 一、建立肝纖維化與肝癌二種動物模式

#### (一) 肝纖維化動物模式的建立

##### 1.材料與方法

(A)第一批大鼠：選用 6 週齡之 wister- rats 共 35 隻，每週量測其體重，依大鼠體重變化給予 0.030% -0.040% thioacetamide 之飲用水，餵食至 18 週。

(B)第二批大鼠：選用 6 週齡之 wister- rats 共 86 隻，每週量測其體重，依大鼠體重變化給予 0.030% -0.040% thioacetamide 之飲用水，餵食至 12 週。

##### 2.結果

(A)已成功建立肝纖維化與膽道癌動物模式。

(B)已送至核能所羅博士實驗室。(預計 11/2 運送第二批至核能所。)

#### (二) 建立大鼠肝腫瘤動物模式

##### 1.材料與方法

(1) 大鼠肝腫瘤細胞株 (N1-S1-F3 cells)細胞培養

##### A. 解凍細胞

- (A) 將 IMDM 培養基置於 37°C 水槽中回溫，回溫後以酒精擦拭後，移至無菌操作台。
- (B) 取出冷凍管，立即放到 37°C 水槽中快速解凍，以酒精擦拭後，移至無菌操作台。
- (C) 於無菌操作台內取 20 ml IMDM 培養基加至 75T flask 中。
- (D) 取出已解凍之細胞懸浮液，加入裝有培養基之 75T flask 中，旋開瓶口後放入 37°C 培養箱中培養。

#### B. 細胞繼代培養

- (A) 將細胞吸起放入 50 ml 離心管中。
- (B) 離心，1000 轉，5 分鐘。此時，於 75T flask 中加入 20 ml IMDM 培養基。
- (C) 離心後，吸掉離心管中的上清液。
- (D) 以適量之 IMDM 培養基沖散細胞，吸取一些細胞至培養盤中。
- (E) 旋開瓶口後放入 37°C 培養箱中培養。

#### C. 收細胞

- (A) 將細胞吸起放入 50 ml 離心管中。
- (B) 離心，1000 轉，5 分鐘。
- (C) 離心後，吸掉離心管中的上清液。以 10-20 ml PBS 沖散細胞，並吸取 10 $\mu$ l 細胞與 trypan blue 10 $\mu$ l，以 1:1 的稀釋染色，計算細胞數。
- (D) 離心，1000 轉，5 分鐘。
- (E) 於 75T flask 中加入 20 ml IMDM 培養基。
- (F) 吸掉上清液，以所需體積的 PBS 打散細胞。

#### (2) 大鼠肝腫瘤細胞注射

- (A) 將肝臟之任一葉挑出，翻到背面，取 N1-S1 細胞 6 x 10<sup>6</sup> cells/ml

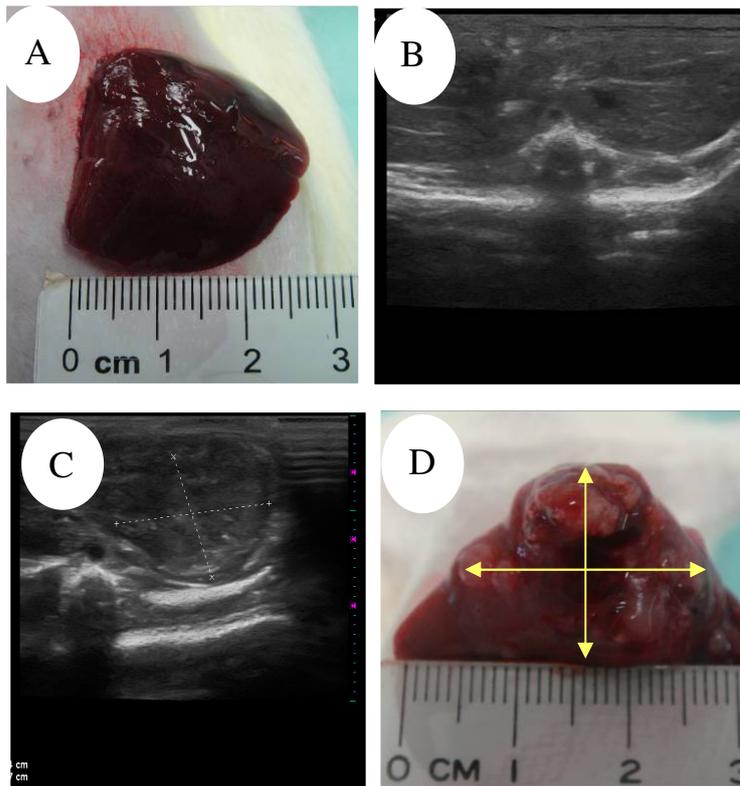
0.25 ml，用針頭挑起肝臟背面的表層，進行注射。

(B) 放回肝臟，進行縫合，縫合後再噴適量的碘酒。

(C) 注射 9 天後，腫瘤即生成。

## 2.結果

已成功建立大鼠之原位肝腫瘤動物模式(如圖一)。



圖一、大鼠肝腫瘤之動物模式建立。(A)正常大鼠肝臟之解剖圖像，其肝臟表面較為平滑。(B)正常大鼠肝臟之超音波圖像，其肝臟表面為均質平滑。(C)肝腫瘤大鼠在 9 天後藉由超音波引導之下所呈現的圖像，可明顯看出肝腫瘤的位置，大小為 0.91 cm×1.23 cm。(D)同(C)之大鼠，解剖可明顯看出腫瘤，且與超音波呈現的結果相符合。

## 二、lipiodol 藥物載體於肝臟測試

### 1.材料與方法

#### (1)Lipiodol 藥物載體製備

A.Lipiodol 是一種脂肪酸，具有顯影的功能。Lipiodol 因黏度比水溶

性顯影劑大，流動性小，故可長期觀察病況的變化。

B.首先在加熱器上將 Lipiodol 1 ml、KOH 0.05 g 與 NaOH 0.02 g 加熱攪拌混合。(溫度維持 80°C-90°C )

C.攪拌均勻後，依序添加 Alginate 0.01 g、Span 80 0.05 ml、Cetyl alcohol 0.1 g、PLGA (10:10)0.1 g。

D.利用高溫(60 °C)，快速將已配置好的藥物載體取至針筒。

### (2)Histoacryl 混合藥物劑型製備

Histoacryl 為一種組織黏膠，它與組織接觸即產生固化，並能有效黏合組織或血管。它可以用在人體血管注射，目前之醫療用途主要在於合併內視鏡治療術，治療胃靜脈瘤。使用方法為 2 ml Histoacryl 加入等量 2ml Lipiodol，混合之後，直接注入胃靜脈瘤(血管)中，可以造成立即栓塞。

B.Histoacryl 與 Lipiodol 以比例(1:1)方式作混合。

### (3)動物實驗

A.選用肝腫瘤 Sprague-Dawely 大鼠 15 隻。

B.實驗分組：

【Control 組】：

每隻注射 0.2 ml Lipiodol。(N=5)

【Histoacryl 組】：

每隻注射 0.2 ml Histoacryl 混合藥物劑型。(N=5)

【實驗組】：

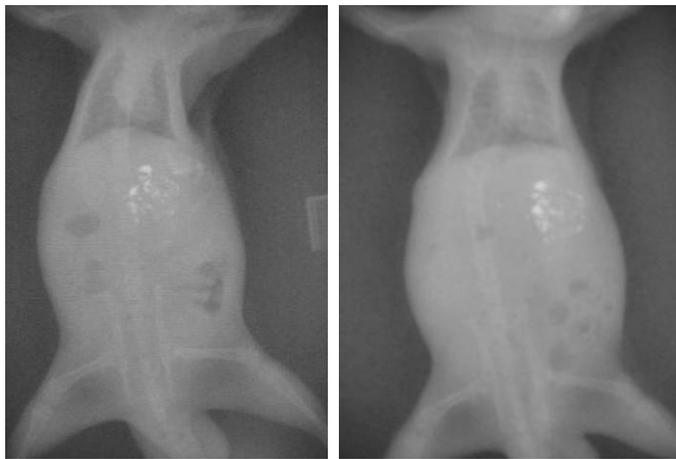
每隻注射 0.2 ml Lipiodol 藥物新劑型。(N=5)

C.於第 24 小時、48 小時後利用 X-ray 造影。

## 2.結果

### A.【Control 組】

圖二所示，經過 24、48 小時之後，肝臟持續代謝 Lipiodol 藥物，只見些許亮點處為殘餘的 Lipiodol。



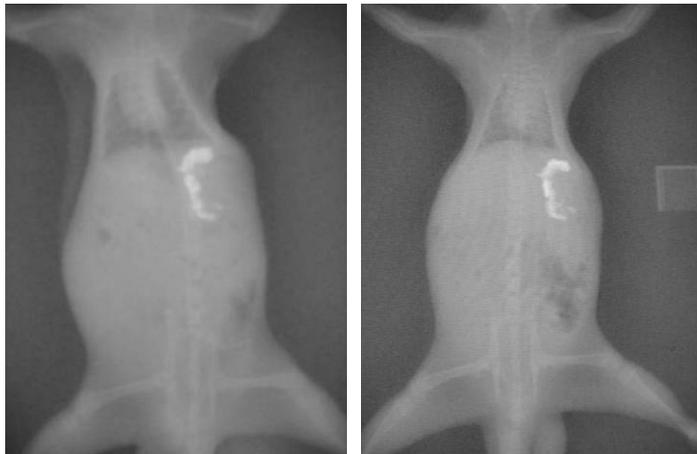
24 小時

48 小時

圖二、Lipiodol 藥物直接注射大鼠腫瘤內於 24、48 小時所偵測到之 X-ray 影像。

### **B. 【Histoacryl 組】**

由圖三所示，經過 24、48 小時後，Histoacryl 混合藥物劑型並沒有被肝臟所代謝，故此劑型仍然停留於原注射位置。



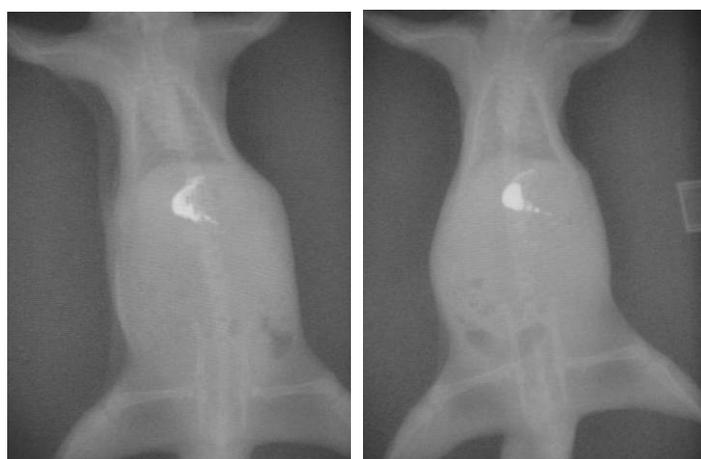
24 小時

48 小時

圖三、Histoacryl 混合藥物劑型注射入大鼠腫瘤內於 24、48 小時所偵測到之 X-ray 影像。

### **C. 【實驗組】**

由圖四所示，48 小時的 Lipiodol 其分佈範圍及影像強度比 24 小時來的少，表示經一天後，Lipiodol 藥物新劑型有漸漸消散的現象；但比 Control 組的 Lipiodol 來的集中。推測是由於 Lipiodol 藥物新劑型的包覆作用之故。



24 小時

48 小時

圖四、Lipiodol 藥物新劑型注射入大鼠腫瘤內於 24、48 小時所偵測到之 X-ray 影像。

### 3. 結論

(A) Lipiodol 藥物新劑型可達到與 Histoacryl 混合藥物劑型的包覆效果，且能有效延緩藥物停留於肝臟時間。

## 三、Re-188 ECD/lipiodol 藥物釋放系統於肝癌治療

### 1. 材料與方法

#### (1) Re-188 ECD/lipiodol 藥物載體製備

A. 首先在加熱器上將 Re-188 ECD/lipiodol 1 ml、KOH 0.05 g 與 NaOH 0.02 g 加熱攪拌混合。(溫度維持 80°C - 90°C)

B. 攪拌均勻後，依序添加 Alginate 0.01 g、Span 80 0.05 ml、Cetyl alcohol 0.1 g、PLGA (10:10) 0.1 g。

C. 利用高溫(60°C)，快速將已配置好的藥物載體取至針筒。

#### (2) Histoacryl 混合藥物劑型製備

A.Histoacryl 與 Re-188 ECD/lipiodol 以比例(1:1)方式作混合。

### (3)動物實驗

A.選用肝腫瘤 Sprague-Dawely 大鼠 15 隻。

B.實驗分組：

【Control 組】：

每隻注射 0.2 ml Re-188 ECD/lipiodol。(N=5)

【Histoacryl 組】：

每隻注射 0.1 ml Histoacryl 混合藥物劑型。(N=5)

【實驗組】：

每隻注射 0.2 ml Re-188 ECD/lipiodol 藥物新劑型。(N=5)

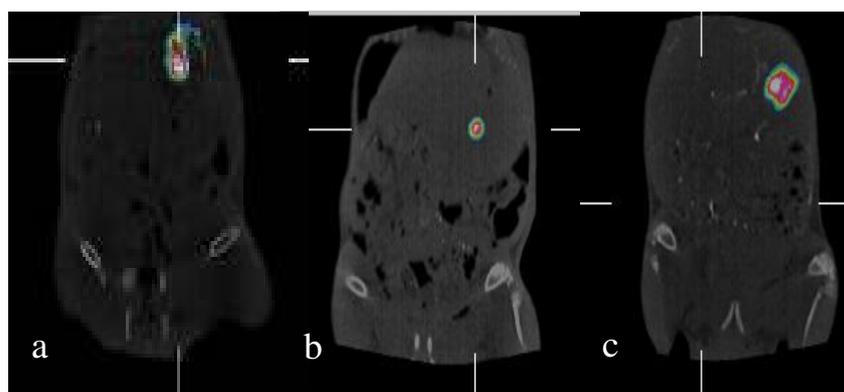
C.於第 1 小時、18 小時、24 小時後利用 Micro Spect-CT 造影。

D.治療兩週後，紀錄各組的腫瘤變化及存活隻數。

E.切除肝臟檢體作 Hematoxylin-Eosin 與 TUNEL assay 病理染色。

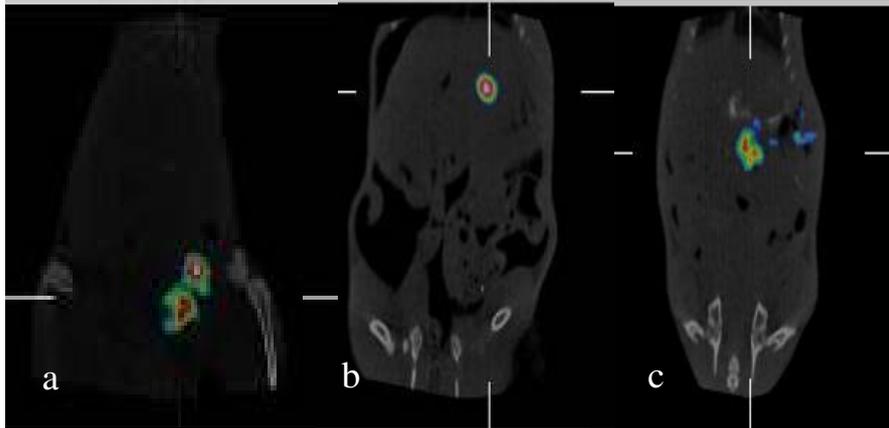
## 2.結果

圖五所示，三組體內分佈並無明顯變化，皆集中於肝臟。



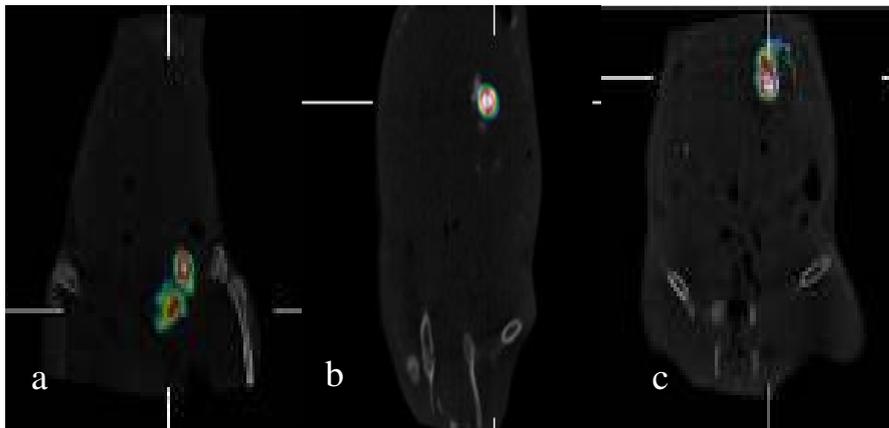
圖五、大鼠肝腫瘤於第 1 小時所偵測到之 Micro SPECT/CT 影像。(a) 為 Control 組；(b)為 Histoacryl 組；(c)為實驗組。

圖六所示，(a)Control 組：Re-188 ECD/lipiodol 分佈於腎臟、膀胱；(b)Histoacryl 組：Histoacryl 混合藥物劑型仍集中於肝臟；(c)實驗組：分佈在於肝臟的藥物。



圖六、大鼠肝腫瘤於第 18 小時所偵測到之 Micro SPECT/CT 影像。(a) 為 Control 組；(b)Histoacryl 組；(c)實驗組。

圖七所示，(a)Control 組：Re-188 ECD/lipiodol 經過 24 小時由肝臟代謝到膀胱；(b)Histoacryl 組：其混合藥物劑型仍集中於肝臟，無明顯擴散現象；(c)實驗組：發現此新劑型藥物較 Histoacryl 組肝臟擴散範圍大但仍比 Control 組集中於肝臟。



圖七、大鼠腫瘤內於第 24 小時所偵測到之 Micro SPECT/CT 影像。(a)為 Control 組；(b)為 Histoacryl 組；(c)為實驗組。

#### 紀錄腫瘤體積變化：

【Control 組】：5 隻大鼠的腫瘤均變大。

【實驗組】：4 隻大鼠僅有 1 隻的腫瘤變大。

【Histoacryl 組】：治療 5 隻大鼠僅存活 1 隻。(腫瘤變小)

以 SPSS 12.0 統計套裝軟體進行 Pearson 卡方檢定，發現 Control 組和

實驗組呈現統計學顯著上差異( $p=0.028$ )。

存活觀察：單位: rats (大鼠存活隻數/大鼠總隻數)。

【Control 組】：4/5 rats (1 隻觀察期間死亡)。

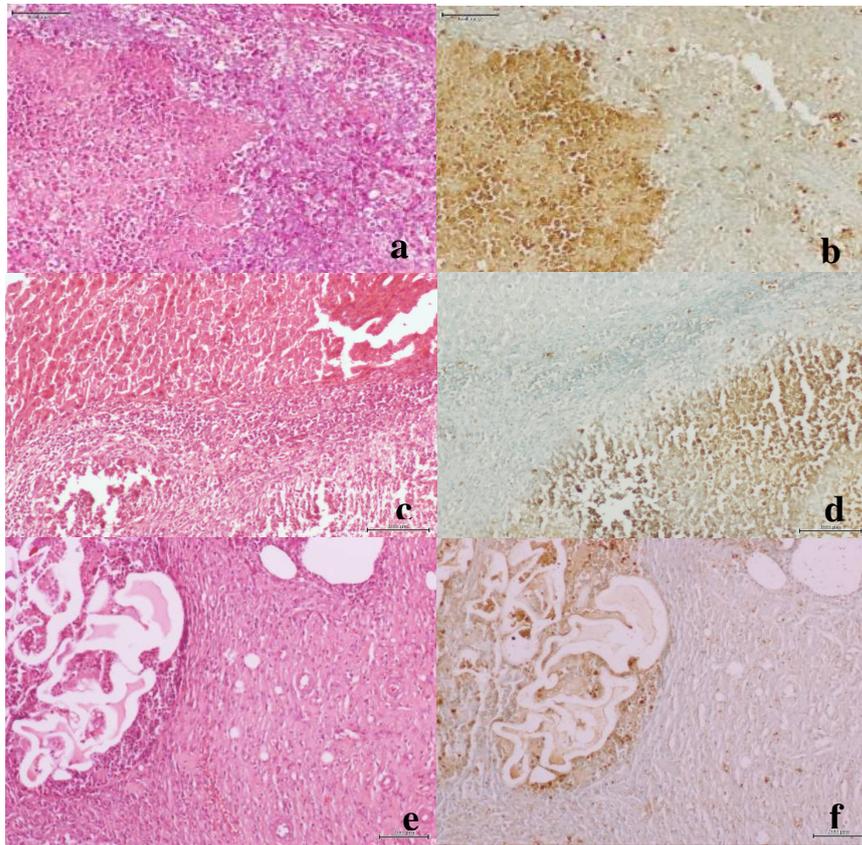
【Histoacryl 組】：1/5 rats。

(2 隻治療中即死亡；2 隻於觀察期間死亡)。

【實驗組】：4/5 rats (1 隻觀察期間死亡)。

### 病理分析

圖八所示，(a, b)Control 組未治癒成功，仍然有癌細胞存活。(e, f)實驗組顯示腫瘤區域均壞死，未發現癌細胞存活。



圖八、大鼠肝臟之病理圖。(a, c, e)H&E stain；(b, d, f)TUNEL assay。

(a, b)control 組；(c,d)Histoacryl 組；(e,f)為實驗組。

### 參、主要發現與結論

1.Histoacryl 組混合藥物劑型其死亡率較實驗組高，可能 Histoacryl 注

射劑量太多(大鼠為人體的 1.5x)或部份 Histoacryl 經血管至肺部而造成肺栓塞，但病理分析發現腫瘤有消失現象。

2.相較於 Histoacryl 組混合藥物劑型，實驗組大鼠經過解剖及病理分析發現超過半數之大鼠其腫瘤有被抑制生長的情況，表示此新藥物劑型有助於延長 Re-188 ECD/lipiodol 於腫瘤中，並使腫瘤壞死。

3.本藥物釋放系統具有親酯性組成藥物，全部均具生物可分解性及為核可藥品所組成。本藥物釋放系統能有效延長藥物停留於肝臟的時間，且較 Histoacryl 安全。

4.未來可以搭載之藥物並不限於 Re-188 ECD/lipiodol。未來將再精製新劑型藥物釋放系統，使藥物精確地作用於局部腫瘤，以提升治療效果。

#### 肆、參考文獻

[1] Luo TY, Hsieh BT, Wang SJ, et al. Preparation and biodistribution of rhenium-188 ECD/Lipiodol in rats following hepatic arterial injection. Nucl Med Biol 2004;31:671-677.

[2] Luo TY, Lin XZ, Shih YS, Lin WJ. Intratumor injection of Re-188 ECD/Lipiodol into an animal model of hepatoma. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine Copenhagen, Denmark, October 13-17, 2007.

[3] 施映霞，羅彩月，陳健祺，林錫璋等。銻-188 治療肝腫瘤之療效評估。2007 生物醫學工程科技研討會。台中，台灣

[4] Luo TY, Lo AR, Hsieh BT, et al. A design for automatic preparation of highly concentrated 188Re-perrhenate solutions. Appl Radiat Isot 2007;65:21-25.

[5] Luo TY, Hsieh BT, Wang SJ, et al. Preparation and biodistribution of rhenium-188 ECD/Lipiodol in rats following hepatic arterial injection. Nucl Med Biol 2004;31:671-67.

- [6]Chen MF, Jeng LB. Partial hepatic resection for hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol Hepatol 1997; 12: S329-334.
- [7] Lin DY, Lin SM, Liaw YF. Non-surgical treatment of hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol Hepatol 1997; 12: S319-328.
- [8] Lee PH, Lin WJ, Tsang YM, et al. Clinical management of recurrent hepatocellular carcinoma. Ann Surg 1995; 222:670-676.
- [9] Huang YH, Wu JC, Chau GY, et al. Supportive treatment, resection and transcatheter arterial chemoembolization in resectable hepatocellular carcinoma: an analysis of survival in 419 patients. Eurp J Gastroenterol Hepatol 1999; 11: 315-321.
- [10] Wang LJ, Lai YC, Chen CY, Chen MH, Shin YS, Luo TY, Zuchini R, Lee CT, Chou TC, Lin XZ. A study of ECD/Re-188-lipiodol drug delivery system for hepatoma treatment. 2010 International Symosium on Biomedical Engineering, Kaohsiung Taiwan.