

肝动脉栓塞微球对移植型肝癌大鼠疗效的实验研究

陈庆华

摘要: 肝动脉栓塞微球是 80 年代国外少数国家开始研究用于治疗中晚期肝癌的新剂型, 采用超选导管将微球注入肝动脉末梢, 起阻断肝癌血供和在局部缓释药物等双重功能。本综述着重介绍笔者实验室研究的羟基喜树碱, 甲氨蝶呤明胶微球和顺铂乙基纤维素微球的大鼠栓塞药效学试验, 结果证明该剂型对移植性肝癌的治疗是有显著作用的。

关键词: 微球 肝动脉栓塞 肝癌 羟基喜树碱 甲氨蝶呤 顺铂

Study on the Therapeutic Effects of Microspheres by Transhepatic Arterial Chemoembolization on Transplanted Liver Cancer in Rats

Chen Qing-hua

Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040.

ABSTRACT: The microspheres (ms) for hepatic arterial embolization is a kind of new dosage forms for treatment of non-resectable hepatocellular carcinoma since last decade in abroad. The microspheres could be introduced through the catheter to the end of the hepatic arteries and thus played double roles of embolization and sustained release of the drug entrapped.

This review introduced the therapeutic effects on transplanted liver cancer of rats by using different kinds of microspheres, such as Hydroxycamptothecin, Methotrexate-gelatin ms and cisplatin ethylcellulose ms, all were studied and approved by the authorial labs.

Key Words: Embolization of hepatic artery; Liver cancer; Hydroxycamptothecin; Methotrexate; cis-Platin

肝动脉栓塞微球是 80 年代国外一些先进国家开始研究用于治疗中晚期肝癌的新剂型 (Cancer 1985;56:2402)。抗癌药物被包裹在一定粒径的微球内, 在 X 光电视监督下, 导管经患者股动脉超选至肝动脉甚或肿瘤供血动脉, 注入微球。微球具有切断肝癌血供和在肿瘤局部缓释药物双重功能, 故载药微球远比临床沿用的明胶海绵碎块等栓塞剂疗效优良, 后者由于粒径粗大, 一般仅能栓至肝动脉近端血管, 易于产生侧支循环, 使肿瘤重新取得营养而长大。

上海医药工业研究院多年来进行栓塞微球的研究 (中国医药工业杂志 1993;24:13)。在第二军医大学长海, 长征医院和上海医科大学中山医院等单位大力协作下, 取得可喜的进展。本

文着重介绍羟基喜树碱 (HPCT-ms), 甲氨蝶呤明胶微球 (MTXms) (生物可降解微球) 和顺铂乙基纤维素微球 (CDDP-ms) (非生物降解微球) 动物疗效的研究及其结果。

方 法

一、大鼠肝癌模型的建立

分别采用腹腔移植型 BERH-2 系 (MTX-ms 和 CDDP-ms) 和 WALKER-256 系 (HPCT-ms) 肿瘤细胞株, 经大鼠腹腔传代, 种鼠剖腹, 取出肿瘤组织, 切成 0.2cm² 小块后, 种植于 Wistar 大鼠肝包膜下, 7~10 天后在肝长出 0.4~

作者单位: 200040 上海医学工业研究院

1.0cm 大小的肿块。剖腹，先测量肿块表面最大径和最小径，再作肝动脉插管治疗。

二、大鼠实验分组

实验的 Wistar 大鼠在麻醉下剖腹，分离肝动脉和十二指肠动脉，在手术显微镜下，经胃

十二指肠动脉插入内径 0.4mm 聚乙烯导管至肝固有动脉，妥善固定后，接注射器作肝动脉灌注。治疗试验分组见表 1。下列三种载药微球的粒径在 40~90 μ m 之间。

表 1 大鼠肝动脉注射三种微球的实验分组

组别	羟基喜树碱微球	N(只)	甲氨蝶呤微球	N(只)	顺铂微球	N(只)
G1	生理盐水 (0.2ml)	20	生理盐水 (0.2ml)	5	生理盐水(0.2ml)	13
G2	HPTC溶液(1mg/kg)	20	MTX溶液 (1mg/kg)	5	CDDP溶液 (3mg/kg)	12
G3	明胶微球 (10mg/kg)	20	明胶微球(10mg/kg)	5	乙基纤维素微球(5mg/kg)	12
G4	HPTC微球(10mg/kg)	20	MTX微球(6.5mg/kg)	6	CDDP微球(5mg/kg)	14
	药物 1mg/kg		药物 1mg/kg		药物 3mg/kg	

N: 动物数。

注射后，移去导管。在近动脉切口处结扎胃十二指肠动脉缝合腹部切口后，回笼喂养。

三、疗效指标的评定

(一) 肿瘤生长率: 除留 5 只动物观察生存时间外, 其余动物在 7~8 天内处死。即刻剖腹, 测量肿瘤最大径(a)和最小径(b), 按公式 $V = a \times b^2 / 2$, 根据治疗前后的肿瘤体积计算肿瘤生长率。

(二) 肿瘤坏死范围: 切取每一动物肿瘤及

其周围肝组织, 置 10% 福尔马林中固定, 每份标本分 2~3 处取材作病理切片, 在光镜下观察组织坏死范围, 由一名不知治疗分组情况的病理医生统一读片。根据栓塞后肿瘤坏死程度不同, 分轻度(0~30%), 中度(30%~70%)和重度(70%~100%)坏死三级。

(三) 生存时间: 上述各组中随机取 5 只肝癌大鼠, 作栓塞治疗后在相同条件喂养, 观察大鼠的生存时间。

表 2(1) 羟基喜树碱微球治疗前后肿瘤体积的生长率

组别	肿瘤体积(CM ³)		P*	肿瘤生长率	P**
	治疗前	治疗后			
G1	0.058 ± 0.017	1.046 ± 0.0845	<0.01	17.356 ± 14.765	
G2	0.0659 ± 0.031	0.805 ± 0.511	<0.01	11.215 ± 10.934	<0.05
G3	0.0765 ± 0.035	0.891 ± 0.790	<0.01	10.629 ± 6.907	<0.05
G4	0.103 ± 0.076	0.065 ± 0.395	>0.05	3.225 ± 2.324	<0.05

表 2(2). MTX 微球治疗前后肿瘤体积的生长率

组别	肿 体 积 (CM ³)		肿瘤生长率	P**
	治疗前	治疗后		
G1	0.05433 ± 0.009162	1.2356 ± 0.7707	22.50 ± 13.50	
G2	0.08059 ± 0.03495	1.2100 ± 0.5970	18.04 ± 12.94	
G3	0.09687 ± 0.05169	1.3530 ± 1.1520	13.473 ± 8.907	
G4	0.1199 ± 0.08510	0.5290 ± 0.3669	5.667 ± 3.232	<0.5

表 2(3). CDDP 微球治疗前后肿瘤体积的生长率

组别	肿瘤体积(CM ³)		P*	肿瘤生长率	P**
	治疗前	治疗后			
G1	0.068±0.030	1.008±0.776	<0.01	17.785±14.467	
G2	0.083±0.039	0.549±0.0350	<0.01	10.211±9.539	<0.05
G3	0.057±0.018	0.467±0.427	<0.01	7.657±4.897	<0.05
G4	0.087±0.067	0.070±0.040	>0.05	1.354±1.188	<0.01

P* 治疗前后比较, P** 与第一组比较。

表 3 肝癌治疗肿瘤组织坏死的范围(%)

分级	羟基喜树碱组				MTX 组				CDDP 组			
	G1	G2*	G3*	G4**	G1	G2	G3	G4	G1	G2*	G3*	G4**
轻度 (0-30%)	87.5	80.7	66.7	16.7	87.5	85.71	66.6	33.3	87.5	57.1	42.8	11.1
中度 (30-70%)	12.5	19.3	16.7	33.3	12.5	14.3	16.67	16.7	12.5	28.6	42.8	33.3
重度 (70-100%)	0	0	16.7	50.1	0	0	16.7	50.1	0	14.3	14.3	55.6

* 经 Ridit 分析, G4 组肿瘤坏死程度显著重于 G1(P<0.01)和 G2, G3 (P<0.05)

表 4 肿瘤治疗后动物生存的时间(天)

组别	G1	G2	G3	G4
羟基喜树碱组	12.80±3.10	14.40±4.56	16.92±4.81	22.60±8.30**
MTX 组	12.80±3.70	11.80±5.22	14.20±5.22	17.00±7.70
CDDP 组	12.80±1.00	17.80±3.90	19.60±3.90	28.20±8.90**

** 经统计学处理, G4 大鼠平均生存时间显著长于 G1(P<0.01)。其它各组无显著差异。

结果及讨论

从四种不同剂型对移植型肿瘤的大鼠肝动脉灌注治疗效果分析, 载药微球无论从肿瘤体积生长率, 或是治疗后肿瘤组织坏死范围和动物生存时间等指标都远比其他三种为佳。(见表 2、3、4)。

由于动物移植性肝癌或人原发性肝癌的血供 90% 以上来自肝动脉, 所以临床上采用的肝动脉栓塞术被证明是行之有效的。载药微球之所以优于其他栓塞剂, 在于它具有较彻底切断肝癌血供以及在局部缓释包裹药物等双重功用。微球粒径, 载药量和在体内释药速度均可采用制剂手段人为控制, 本研究中采用的载药

微球大小在 40~90 μ m 间, 可栓塞至动物或人的窦前小动脉甚至肝窦水平。这样能有效阻断肿瘤的血流供应, 促使肝癌缺氧缺血而坏死, 同时, 微球内包裹药物可在肝癌邻近缓慢释放, 形成局部药物浓度高的现象, 这显然对化疗是有利的。从栓塞后血管造影追踪显示, 微球栓塞后不易引起侧支循环, 就会明显减少肿瘤重新取得营养长大的可能性。

试验数据表明, 单纯化疗的疗效是轻微的。

肝动脉栓塞后, 正常肝细胞的损害较为轻微, 且易恢复, 主要与其血供 70%~90% 来自门静脉有关, 这可以解释微球对移植肿瘤大鼠肝动脉栓塞后的生存期比其他剂型明显延长的一大原因。