

• 实验研究 Experimental research •

温敏药物缓释栓塞剂行兔肝动脉栓塞的实验研究

万智勇, 张磊, 卢子瑄, 张敏洁, 王彬, 段友容

【摘要】 目的 探讨温敏药物缓释栓塞剂行肝动脉栓塞治疗的可行性与疗效。**方法** 选用新西兰大白兔 15 只,以自组包载“碘海醇”温敏缓释剂泊洛沙姆 407(Pluronic® F-127)行肝动脉栓塞术,术后随访 4 周,定期复查肝功能、DSA、CT 及动物处死后组织病理检查。**结果** 术后丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)一过性增高,2 周后恢复正常。术后即刻行肝动脉 DSA 造影,见栓塞区段以下分支完全性闭塞;4 周复查造影显示栓塞小动脉未显示再通;术后 1~2 周 CT 复查可见栓塞区出现肝实质液化性梗死灶,4 周仍见斑点状坏死灶。栓塞区高密度对比剂 CT 值随时间逐渐下降,持续时间达 4 周,并从中心区向边缘扩散。术后即刻行肝、肺病理检查见栓塞区肝动脉段一下分支被栓塞剂完全充填,肝窦内及门静脉肝静脉内未见栓塞剂,双肺动脉各级分支内未见栓塞剂;术后 3 d、1、2、4 周见窦前小动脉有条絮状栓塞剂和血栓混合物;肝小叶结构完全消失,周围见纤维结缔组织增生。**结论** 温敏药物缓释栓塞剂在体温下快速形成固态,达到末梢动脉栓塞的效果,同时药物缓释持续时间达 4 周,是一种较为安全、理想的栓塞剂。

【关键词】 栓塞剂,药物缓释,温度敏感;栓塞治疗;实验性

中图分类号:R73-36 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2011)-07-0559-04

Hepatic artery embolization using thermosensitive and slow-release drug as embolic agents: an experimental study in rabbits WAN Zhi-yong, ZHANG Lei, LU Zi-xuan, ZHANG Ming-jie, WANG Bin, DUAN You-rong. Department of Oncology and Interventional Radiology, Punan Hospital, Shanghai Pudong New District, Shanghai 200125, China

Corresponding author: DUAN You-rong, E-mail: yrduan@shsci.org

【Abstract】 Objective To explore the feasibility and effect of hepatic artery embolization by using thermosensitive and slow-release drug as embolic agents in experimental rabbits. **Methods** Hepatic artery embolization was carried out in fifteen New Zealand rabbits by using Lutrol® F 127 as embolic material. The rabbits were followed up for 4 weeks. Examinations, including liver function, CT scanning and angiography were regularly conducted. Every three rabbits were sacrificed immediately after the procedure and each time at 3 days, 1, 2 and 4 weeks after the procedure. The specimens were collected and sent for histopathologic examination. **Results** After the operation, a transient elevation of ALT and AST level was observed in all rabbits, which reached its peak at the fifth day and turned to its initial level in two weeks. The complete occlusion of segmental artery branches and distal branches was achieved immediately after the embolization and no recanalization was detected on DSA performed 4 weeks after the operation. The liquefaction necrosis of liver parenchyma was demonstrated on CT scanning performed 1 to 2 weeks after the treatment, and punctate necrosis foci were still seen in 4 weeks. The CT value of the high-density lesions located within the embolized region gradually decreased with the time. This changing process of CT value spread from lesion's center to lesion's margin and lasted for 4 weeks. Pathological examination conducted immediately after the

embolization showed that the tiny hepatic arteries were completely filled with Lutrol® F 127, and no embolic material could be found in hepatic sinusoids, portal veins or pulmonary arteries. At the 3th day and 1st, 2nd, 4th week, Lutrol® F 127 together with thrombosis was found in pre-sinusoidal

基金项目:上海市浦东新区科技发展基金创新资金 PKJ2010-Y27

作者单位:200125 上海市浦东新区浦南医院肿瘤介入科(万智勇、张磊、卢子瑄、张敏洁、王彬);上海市肿瘤研究所(段友容)

通信作者:段友容 E-mail:yrduan@shsci.org

arterioles and meanwhile complete disappearance of hepatic lobules with hyperplasia of interlobular connective tissue could also be seen. **Conclusion** In the environment of body temperature, the thermosensitive and slow-release drug used as an embolic agent will quickly transform into solid state. Thus, the peripheral arterioles can be effectively occluded. Meanwhile, the drug release time is very long, lasting for four weeks. Therefore, Lutrol® F 127 is a safe and ideal embolic agent. (J Intervent Radiol, 2011, 20: 559-562)

【Key words】 embolic agent; drug release; thermosensitivity; embolization therapy; laboratory

介入治疗是目前中晚期肿瘤的较为有效的治疗方法之一。探讨一种理想的栓塞剂,提高肿瘤介入治疗的远期疗效成为介入医学研究的重点课题之一。本研究采用自主研制温敏药物缓释栓塞剂泊洛沙姆 407(Lutrol® F 127),在已完成前期体外研究的基础上,行实验兔肝动脉栓塞的体内实验,探讨其行动脉栓塞的安全性,栓塞疗效及药物缓释作用,为今后进一步临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选用新西兰大白兔 15 只,雌雄不限,3 个月龄左右,体重 2 kg。

1.1.2 栓塞材料 由上海市肿瘤研究所研制并已获得国家专利的温敏药物缓释栓塞剂——纳米凝胶体系载体,与其他聚合物,聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙二醇(PEG)等混合形成组合物,已完成体外实验(另文发表)。

1.1.3 包载药物 碘海醇(IOHEXOL 350 mgI/ml),含量为纳米凝胶体系载体:碘海醇=1:0.25(ml)。

1.1.4 检查设备 GE 平板 DSA (Innova3100), Philip Brilliance 16 排螺旋 CT 扫描机。

1.2 方法

1.2.1 插管与栓塞方法 采用兔耳缘氯胺酮静脉麻醉,剂量按 8~10 mg/kg 总量行全麻。同时以利多卡因局部麻醉,沿腹白线切开上腹部,将胃向下翻出,暴露肝门区,沿门静脉左侧切开血管包膜,直视下找到具有搏动的腹腔动脉或胃左动脉,钝性分离长约 2 cm 动脉,将 2 支丝线穿过血管分别置于游离血管两端,于游离血管中间剪开一小口,以 24 G 静脉留置针(0.7 mm×19 mm)直接穿刺入血管后结扎血管并固定留置。DSA 造影见肝动脉显影后,经留置管内注入碘海醇温敏栓塞剂 4~5 ml,复查造影见肝左或右动脉末梢分支完全性栓塞后,拔出留置针,结扎血管止血后关腹,结束手术。

1.2.2 检测血清学指标 分别于栓塞前,术后 1、5 d 和 2 周,采集兔耳缘静脉血,检测血清总胆红素

(TBIL)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)等项目。

1.2.3 术后影像学检测 术后即刻及 4 周行 DSA 血管造影确定栓塞血管及栓塞持续时间,术后即刻,24、48 h 和 1、2、4 周分别行肝脏 CT 扫描,检测栓塞区内肝实质形态及密度变化。

1.2.4 组织病理检查 术后即刻处死动物 3 只取肝、肺行组织病理检查,分别于术后 3 d 及 1、2、4 周各处死后 3 只实验兔行肝组织病理检查。

2 结果

2.1 栓塞前后血生化指标变化

栓塞前后,TBIL、TP 基本在正常范围;栓塞后 ALT、AST 变化较明显,术后第 1 天开始增高,术后 5 d 达到最高峰,增高 4~5 倍,但于术后 2 周基本恢复正常(见表 1)。

表 1 不同部位栓塞前后 ALT、AST 变化 (u/L)

栓塞部位	栓塞前	术后 1 d	术后 2 周
右叶上段			
ALT	35.2±3.3	213.0±6.9	43.1±3.6
AST	20.6±4.6	195.0±7.8	36.3±3.4
左叶内外段			
ALT	33.2±4.2	242.0±7.8	38.4±8.9
AST	24.1±5.1	223.0±9.4	34.1±6.7

2.2 术后影像随访

栓塞术后即刻及 4 周行 DSA 造影,同时术后 24、48 h 和 1、2、4 周行肝脏 CT 扫描,主要观察下列结果。

2.2.1 术后 DSA ①术后即刻造影。由于插管时导管开口方向不同,故栓塞部位有所不同,其中 5 只动物肝动脉右上叶段以下分支完全性闭塞,10 只动物肝左叶段以下分支完全性闭塞。②术后 4 周行肝动脉 DSA 复查(3 只动物)原栓塞的肝段以下小动脉仍完全性闭塞,未见血管再通及侧支形成。

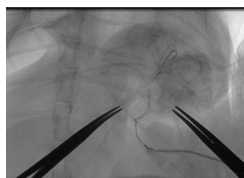
2.2.2 检测栓塞部位栓塞剂沉积区 CT 值变化。栓塞后 48 h 内对比剂完全聚集在栓塞肝小叶区,随时间延长,栓塞区肝实质发生坏死后,栓塞剂在坏死

中央区消失,主要沉积在坏死的边缘区;CT 值以栓塞后当日最高为(756 ± 15) Hu,术后 1、2、7、14、21 和 28 d 后 CT 值别为(739 ± 15)、(713 ± 17)、(584 ± 14)、(392 ± 19)、(233 ± 13)和(39 ± 7)Hu,28 d 时基本接近肝实质密度。

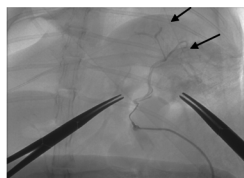
根据栓塞部位肝实质形态与密度变化,判断肝

实质局部坏死情况:栓塞 48 h 后见栓塞区肝实质边缘模糊,72 h 后栓塞区明显水肿,其内密度不均;1 至 2 周后见不规则低密度坏死灶,4 周后见坏死灶缩小,边缘栓塞剂沉积基本消失,提示肝坏死部分修复(见图 1)。

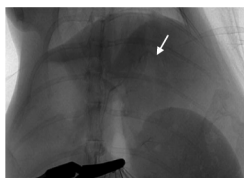
2.3 组织病理学检查结果



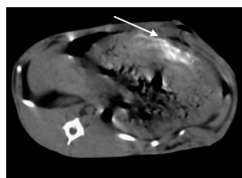
1a 肝左叶动脉 DSA



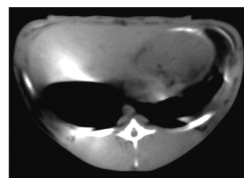
1b 术后即刻复查肝左叶段以下小动脉完全闭塞



1c 术后 4 周复查见原栓塞的肝左叶段以上动脉分支未见再通



1d 术后 1 d CT 见肝左叶栓塞剂沉积



1e 术后 21 d 肝左叶片状低密度灶,边缘高密度栓塞剂

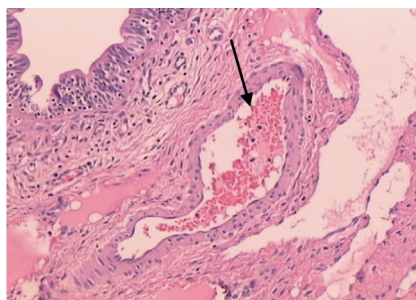
图 1 栓塞前后 DSA 和 CT 图像

术后即刻处死动物 3 只行栓塞区肝及双肺组织病理检查:栓塞区肝动脉段以下小动脉完全由已凝固的 Lutrol® 所充填,肝窦及门静脉内见少许血栓但未见栓塞剂;术后 3 d 及 1、2、4 周病理:末梢动脉内仍见条带状栓塞剂充填,其间有继发血栓形成,部分血管外形不规则;栓塞区 1 周时大体标本

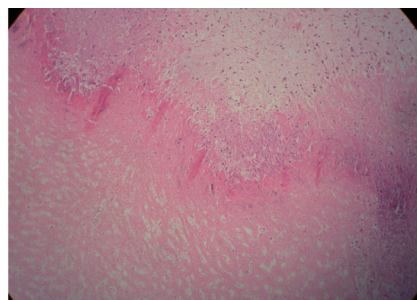
见栓塞区整片肝段呈黄色液化坏死,HE 染色下见肝小叶结构完全消失,代之以广泛性液化坏死及炎性细胞浸润,2 周坏死区边缘见肉芽组织增生,4 周见栓塞区内边缘部分肝细胞再生、修复,表现为坏死和纤维结缔组织结构交替存在(见图 2)。



2a 术后 7 d 大体标本见肝左叶外段呈黄色液化坏死



2b 术后 28 d 病理见汇管区小动脉外形不规则,其内栓塞剂充填 HE 染色



2c 术后 28 d 病理:肝细胞坏死及边缘炎性细胞浸润和增生 HE 染色

图 1 栓塞后病理变化

3 讨论

3.1 栓塞剂的要求

在 TACE 临床治疗中广泛应用液体栓塞剂为碘油,一般将碘油与化疗药物混合配制成混悬液或乳剂,行肿瘤末梢动脉栓塞,同时由于其内含有化疗药物可起到局部缓释作用。理论上理想的栓塞材料应符合以下要求:无毒,无抗原性,具有较好的生物相容性,能迅速按需要闭塞不同口径、不同流量的血管,易经导管运送,易得,易消毒。理想的栓塞材料还需理想的药物载体,能有效载荷不同的药物(如化疗、分子靶向类药物等)到达肿瘤供血血管内,并在肿瘤局部稳定且持续一段时间缓释。

3.2 本研究所使用栓塞剂的特点

本研究所使用栓塞剂为自行研发“温敏纳米凝

胶体系”,以泊洛沙姆 407(Pluronic® F-127)为主体,与其他聚合物的组合物,从我们已完成的体外实验显示其具有如下特征^[1-6]:①安全无毒、无刺激、无免疫原性,可应用于人体的药物载体。②常温下超纯水、生理盐水、PBS 中溶解自组装形成可以包裹药物的凝胶,无需加入其他有机溶剂,减少溶剂可能含有的毒性。③具有温度敏感的特点,常温下是液态凝胶,在 30 ~ 45℃转变成固态凝胶,方便了操作过程。④可自组装包载不同药物(化疗药物、分子靶向如血管内皮抑素抗肿瘤血管新生等),随着材料的降解药物被缓慢释放,缓释时间可长至 4 周以上,达到既栓塞又能发挥药物局部缓释的目的。⑤当可降解的载体材料如泊洛沙姆和不降解的聚乙烯醇(PVP)组合以后制备的纳米凝胶在体温状态同

样具有温度敏感性。因此用此材料制备的栓塞剂可以起到栓塞效果,并在一定时间内随可降解的泊洛沙姆的降解释放药物达到治疗肿瘤目的,不降解的 PVP 继续留在栓塞位置起到栓塞作用。

3.3 本研究结果分析

3.3.1 行肝动脉栓塞的安全性 本实验分别对 15 只实验兔的肝左或右动脉分支行栓塞治疗,术后随访 4 周,除术后 2 周内出现一过性肝损害(ALT 和 AST 一过性增高)外,并未发生严重肝、肾、心、肺功能衰竭死亡等情况,未见严重过敏反应。因此我们认为该栓塞剂行体内栓塞治疗较为安全。

3.3.2 行栓塞治疗操作的可行性 本栓塞剂在常温下为液态,流动性较好,可顺利通过 24G 静脉留置针或小儿头皮针等直接注入肝动脉内,进入血管后在透视下可见该栓塞剂顺血流快速到达末梢小动脉内,并随温度上升快速凝固(1~2 min 左右)使末梢小动脉及其分支完全性闭塞;在行栓塞过程中,由于栓塞剂的流动性较好,因此并不需要高压注入,避免栓塞剂反流或异位栓塞的发生;亦未见栓塞剂通过微小吻合支发生分流等,本实验所有动物在栓塞后均成活,未见严重并发症如肺梗死等发生,同时栓塞后即刻行双肺病理检测也证实肺内血管未见栓塞剂异位栓塞。

3.3.3 栓塞疗效分析 为了解栓塞效果,所有实验兔在栓塞后均即刻行肝动脉 DSA 复查造影,显示所有靶血管段以下动脉分支均完全闭塞,未见部分或不全栓塞;并于术后 4 周再次复查见栓塞区血管仍然闭塞,未见血管再通及侧支血管形成,证实此栓塞剂栓塞持续时间大于 4 周;术后 CT 随访示栓塞 48 h 后见栓塞区肝实质边缘模糊,1 至 2 周后均可见明显不规则低密度坏死灶,4 周后见坏死灶缩小,但未见完全消失;组织病理结果:术后即刻见栓塞区肝动脉段以下小动脉完全由已凝固的 Lutrol® 所充填达到彻底栓塞微小动脉的目的;术后 3 d 和 1、2、4 周病理仍见末梢动脉内条带状栓塞剂与继发血栓的混合物,进一步证实栓塞持续时间大于 4 周;1 周时见栓塞区肝小叶结构完全消失,代之以广泛性液化坏死及炎症细胞浸润,2 周坏死区边缘见肉芽

组织增生,4 周见栓塞区内边缘部分肝细胞再生、修复,表现为坏死和纤维结缔组织结构交替存在。因此我们认为其栓塞疗效较理想。

3.3.4 药物缓释效果 为了更直观观测该栓塞剂在体内药物缓释状况及持续时间,本研究将包载药物为高密度对比剂碘海醇(IOHEXOL 350 mgI/ml),可在透视或 CT 下直接显示,透视下见对比剂直接沉积于栓塞的各小动脉分之内;CT 随访栓塞后当日碘海醇大量沉积于栓塞区肝实质,其 CT 值最高,随着时间延长,随载体物资的降解,碘海醇缓慢释放,其中心坏死区碘海醇逐渐消失,但在坏死区边缘仍可见高密度对比剂沉积,其 CT 值呈线性逐步下降,对比剂显示最长时间大于 4 周。因此我们认为其药物缓释效果也是较理想。

总之,通过本次实验我们认为该材料具有温敏特征,是一种方便、安全、疗效可靠的栓塞剂,同时也是一种较为理想药物缓释系统,值得进一步临床研究与应用。

[参考文献]

- [1] Yu H, Gu XH, Qi XL, et al. Preparation and characterization of a novel series of amphiphilic phospholipids compounds [J]. J Applied Polymer Sci, 2008, 110: 2058 - 2062.
- [2] Yu H, Guo X, Qi X, et al. Synthesis and characterization of arginine-glycine-aspartic peptides conjugated poly(lactic acid-co-L-lysine) diblock copolymer[J]. J Mater Sci Mater Med, 2008, 19: 1275 - 1281.
- [3] Duan YR, Zhang ZR, Liu WS, et al. A study on pelge nanoparticles as controlled drug delivery systems for intravenous [J]. Key Eng Mater, 2005, 288: 163 - 166.
- [4] Duan YR, Zhang ZR. Synthesis, characterization of pelge as drug carrier and their degradation behaviour in vitro [J]. J Materials Sci, 2007, 18: 2067 - 2073.
- [5] Duan YR, Zhang ZR. Preparation of DHAQ loaded pelge-NP and evaluation of drug release behaviors in vitro/in vivo [J]. J Applied Polymer Sci, 2006, 17: 509 - 516.
- [6] Duan YR, Xu J, Lin Y, et al. A preliminary study on MeO-peg-PLGA-peg-OMe nanoparticles as intravenous carriers [J]. J Biomed Mater Res, 2008, 87: 515 - 523.

(收稿日期:2011-04-28)