

·实验研究 Experiment research·

兔肝 VX2 移植瘤介入性热化疗方法的实验研究

刘毅勇, 王执民, 曹 玮, 张洪新, 李文献, 秦向阳

【摘要】 目的 研究 2 种经动脉热灌注化疗方法对兔肝 VX2 移植瘤的热化协同效率。**方法** 30 只新西兰大白兔建立肝 VX2 肿瘤模型。经股动脉插管, 导管头置于兔肝动脉, DSA 证实肿瘤供血动脉后, 分 3 组(每组 10 只), 分别给予常温 100 ml 盐水 + 阿霉素(ADM)灌注、60℃热生理盐水 100 ml + 阿霉素连续灌注、60℃热生理盐水 100 ml + 阿霉素间歇灌注。灌注过程中, 测量 60℃热灌注组肿瘤组织内 43 ~ 45℃持续时间, 灌注后即时检测各组肿瘤组织内阿霉素浓度。**结果** 阿霉素浓度: 60℃间歇灌注组为 $(17.622 \pm 1.368) \mu\text{g/ml}$, 60℃连续灌注组为 $(12.013 \pm 2.237) \mu\text{g/ml}$, 常温灌注组为 $(11.519 \pm 1.225) \mu\text{g/ml}$ 。60℃间歇灌注组与 60℃连续灌注组比 $P < 0.05$, 60℃连续灌注组与常温灌注组比 $P > 0.05$; 43 ~ 45℃持续时间: 60℃间歇性灌注组为 $(11.3 \pm 3.3) \text{min}$, 60℃连续灌注组为 $(4.1 \pm 2.7) \text{min}$, 60℃间歇灌注组比 60℃连续灌注组高近 3 倍。60℃2 组兔的呼吸、心率、体温变化无明显差异。**结论** 经动脉间歇热灌注化疗方法是一种更有效的介入热化疗方法。

【关键词】 间歇性灌注; 热化疗; 经动脉; VX2; 肝脏

中图分类号: R816.5, R453 文献标识码: A 文章编号: 1008-794X(2006)-12-0746-04

Experimental study of interventional infusion thermochemotherapy in rabbit liver VX2 tumor LIU Yi-yong, WAN Zi-ming, CHAO Wei, ZHANG Hong-xin, LI Wen-xian, QIN Xiang-yang. Department of Radiology, PLA 253 Hospital, Huhhot 010050, China

【Abstract】 Objective Effectiveness of two kinds of thermochemotherapy infusion from intraarterial approach were studied in the grafted liver VX2 tumors of rabbit. **Methods** VX2 tumor model was established in 30 Newzland rabbit's livers. Percutaneous transfemoral hepatic arterial catheterization with fixation of the catheter tip inside the feeding vessel was carried out under DSA guidance. All 30 rabbits were divided into three groups ($n = 10$ in each group), normal temperature 100 ml saline + Adriamycin (ADM) infusion (group 1), 60℃ 100 ml saline + ADM continuous perfusion (group 2) and 60℃ 100 ml saline + ADM intermittent perfusion (group 3). After the perfusion, the lasting time periods of 43 ~ 45℃ for tumor tissue of group 2 and 3 together with the concentrations of ADM within tumor's tissue were measured. **Results** Concentrations of ADM were shown as $(12.013 \pm 2.237) \mu\text{g/ml}$, $(17.622 \pm 1.368) \mu\text{g/ml}$, and $(11.519 \pm 1.225) \mu\text{g/ml}$ for group 2, group 3 and group 1 respectively. 60℃ intermittent perfusion vs 60℃ continuous perfusion showed $P < 0.05$, 60℃ continuous perfusion vs normal temperature perfusion also showed $P > 0.05$. 43 ~ 45℃ period lasting time (min) for 60℃ continuous perfusion vs 60℃ intermittent perfusion were $(4.1 \pm 2.7) \text{min}$ and $(11.3 \pm 3.3) \text{min}$ respectively, the latter was three times more than the former. There were no differences shown between the temperature, respiration and heart rate of group 2 and group 3. **Conclusion** Intermittent intraarterial perfusion thermochemotherapy is a more effective interventional management among all thermochemotherapies. (J Intervent Radiol, 2006, 15: 746-749)

【Key words】 Thermochemotherapy; Intermittent infusion; VX2; Liver

兔大腿 VX2 肿瘤模型间歇热灌注化疗方法实

验证实, 这一方法可使肿瘤组织快速升温至有效治疗温度并延长持续时间, 达到热疗与化疗协同治疗的目的, 而不必增加灌注量(即热容量), 是一种安全有效的介入热化疗法^[1]。为了进一步研究该方法在肝肿瘤治疗中的应用, 进行本实验研究。

作者单位: 010050 呼和浩特 中国人民解放军第二五三医院放射科(刘毅勇); 第四军医大学唐都医院介入放射科(王执民、曹玮、张洪新、李文献、秦向阳)

通讯作者: 刘毅勇

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 器材 静脉留置针套鞘,超滑导丝,2/3 FMAG 微导管(美国 COOK 公司生产),1250 mA、Polydoras-100 附带 DSA 的大功率 X 线机(德国 Siemens 公司生产),高压注射器(美国纽约 ETL 有限公司),76%泛影葡胺(中国上海信谊药厂),速眠新(846 合剂),恒温水浴箱(北京医疗设备厂 BS2 型),泰尔茂 TE-311 恒温灌注泵,上海仪器分析总厂 970 CRT 荧光光度仪,美国 GT 台式高速离心机,西安天星化玻有限公司的玻璃组织匀浆器,台湾产 K-型热电藕温度计 8801 & 8803。

1.1.2 试剂 6%盐酸乙醇溶液,盐酸 ADM(盐酸阿霉素, Adriamycin)(浙江海正药业产品),盐酸 ADM 标准品(意大利爱宝药厂)。

1.1.3 实验动物 新西兰大白兔 30 只,体重 2.5 ~ 3.0 kg,雌雄不分,第四军医大学动物实验中心提供;Vx2 活体瘤株,唐都医院超声科段云友教授惠赠。

1.2 实验方法

1.2.1 模型制备 将一定量 Vx2 活细胞液注射到兔后腿外侧肌肉中,待长出实质性包块后,切取包块边缘生长旺盛的鱼肉样组织,用眼科剪剪为 0.2 ~ 0.3 mm³/块。兔经戊巴比妥钠(30 mg/kg)静脉麻醉后,开腹直视下充分暴露兔肝左中央叶,用 16 号针头经肝包膜肝内注入生理盐水与瘤块的混悬液约 1.0 ml/只,瘤细胞数 10⁶ ~ 10⁸ 个/mm³。

1.2.2 模型饲养及生长观察 送动物中心饲养,B 超观察肿瘤长至约 2 cm 左右(成熟模型,图 1、2),即可用于实验。行术前 DSA。

1.2.3 实验分组 分为 3 组,每组 10 只,分别给予常温 100 ml 生理盐水 + 阿霉素灌注(第 3 组)、60℃生理盐水 100 ml + 阿霉素连续灌注(第 2 组)、60℃生理盐水 100 ml + 阿霉素间歇性灌注(第 1 组),阿霉素剂量 2 mg/kg 体重。

1.2.4 介入性热灌注化疗 将荷瘤兔麻醉后,置于仰卧位固定,右侧腹股沟备皮消毒后,经股动脉搏动处沿其纵轴切开皮肤。钝性分离暴露右侧股动脉,夹住近端、暂时切断供血后,用 4 号丝线提起远端股动脉,用眼科剪剪开一小斜口、将顶端弯曲成形的 2/3 F 微导管插入^[2]。在 X 线机透视下,间歇注入 76%复方泛影葡胺以显示导管顶端位置,超选择插入兔肝动脉。行正位 DSA (38%泛影葡胺总量 5 ml,速率 1 ml/s,减影 2 帧/s)。DSA 证实到达供瘤动脉后(图 3),经导管灌注 1、2、3 组药液。连续热灌注

具体方法如下:将 60℃生理盐水 + 阿霉素溶液 100 ml 注入泰尔茂 TE-311 恒温灌注泵内(通电保温 60℃),以 5 ml/min 连续灌注,20 min 内灌注完毕。间歇性热灌注方法:将 60℃生理盐水 + 阿霉素溶液 100 ml 注入泰尔茂 TE-311 恒温灌注泵内(通电保温 60℃),先用 20 ml/15 s 的药液快速灌注,使肿瘤组织中心温度升至 45℃左右时停止灌注,待温度降至 43℃时再以同样速率灌注使之达 45℃,直至 100 ml 药液灌注完毕,本灌注组热灌注用时累计 75 s,连续测温时间 20 min。热灌注前,将测温探头穿刺进入瘤体内,全程监控温度变化。常温灌注:常温生理盐水 + 阿霉素溶液 100 ml 注入泰尔茂 TE-311 恒温灌注泵内(室温),以 5 ml/min 连续灌注,20 min 内灌注完毕。

1.2.5 肿瘤温度及兔呼吸、体温、心率测量 将测温探头沿开腹小切口插入肿瘤中心测温,灌注过程中监测兔的体温、呼吸、心率等生命体征的变化。

1.2.6 阿霉素标准浓度曲线方程的制定 配制阿霉素标准品与 6%盐酸乙醇的系列浓度(5、10、20、50、100、200、500、1 000、2 000 mg/L)。于激发/发射波长为 502/554 nm 下检测各浓度,得出如下线性回归方程:CON = 0.765 × INT² + 1.236 64 拟合优度:98.388%

1.2.7 样品采集与阿霉素浓度测量 灌注完毕,处死瘤兔,取整个瘤体,剔除肌肉及坏死组织后,用组织匀浆器匀浆,取匀浆液 1 ml 加入 6%盐酸乙醇至 5 ml,摇匀,4℃过夜,离心(12 000 g)20 min,取上清液 1 ml 上机检测,与上述线性回归方程对照,得出相应阿霉素浓度。

1.3 数据处理

采用 SPSS 10.0 统计软件,3 组阿霉素浓度值用方差分析法进行组间比较,2 组热灌注组温度持续时间进行组间 *t* 检验。2 组热灌注组呼吸、体温、心率进行组间 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

灌注后,3 组肿瘤组织内阿霉素浓度、2 组热灌注组有效治疗温度持续时间及 2 组热灌注组兔呼吸、心率、体温变化见表 1 ~ 3。

3 讨论

3.1 动物模型的选择

VX2 肿瘤细胞株起源于 Shope 病毒诱发的兔乳头状瘤衍生的鳞癌,是一种可移植的肿瘤细胞

表 1 各组肿瘤组织内 ADM 浓度($\mu\text{g/ml}$)

组别	灌注方式	动物数	ADM 浓度($\bar{x} \pm s$)
1组	(60℃间歇灌注)	10	17.622 \pm 1.368
2组	(60℃连续灌注)	10	12.013 \pm 2.237
3组	(常温灌注)	10	11.519 \pm 1.225

组间比较结果:1组对2组 $P = 0.041$, 1组对3组 $P = 0.03$, 2组对3组 $P = 0.821$

表 2 2种热灌注方法肿瘤组织有效温度(43~45℃)持续时间

灌注方式	动物数	时间(min, $\bar{x} \pm s$)
60℃连续灌注	10	4.1 \pm 2.7
60℃间歇灌注	10	11.3 \pm 3.3

表 3 2组热灌注组动物呼吸、体温、心率($n = 20$, $\bar{x} \pm s$)

生命体征	60℃间歇灌注	60℃连续灌注
呼吸(min)	69 \pm 13	71 \pm 11
心率(min)	187 \pm 31	192 \pm 34
体温(℃)	39.4 \pm 0.8	39.2 \pm 0.7

株,具有稳定的生物学特性,可接种到兔的肾脏、肝脏、肌肉等组织器官内,制成原位肿瘤动物模型^[3]。

兔 VX2 瘤株接种在肝内后,虽然其组织形态、生物学特性与原发性肝癌有所不同,但具有实体瘤、血供丰富、血供来自肝动脉等特点,故完全可被用作有关肝癌治疗学、放射生物学和肝癌影像学等的临床前期研究^[4,5]。

3.2 介入性热灌注化疗

热疗与化疗并用两者间具有协同作用^[6-8],在原发性肝癌治疗中,经动脉热灌注化疗(热化疗)已在临床应用^[9,10],该疗法采用热生理盐水加化疗药物连续灌注的方式。本组实验结果显示:60℃恒温热生理盐水 + 阿霉素溶液匀速连续灌注,肿瘤组织的升温速度慢,维持 43℃ 以上温度的时间短,且瘤组织内阿霉素浓度与常温灌注组相比无明显差异,连续

灌注方式热效率不高,究其原因:①为了保证肿瘤化疗所需的药物浓度,热灌注总量有限,总热容量不足;②单位时间内热容量低,升温慢;③连续灌注时,血液流动导致导管内热量持续丢失。采用经动脉间歇性热灌注化疗显示,在 60℃ 间歇灌注组,肿瘤组织从 38.5℃ 升至 43℃ 的平均时间约 15 s,有效治疗温度持续时间平均为 11 min,较 60℃ 连续灌注组延长近 3 倍,且瘤组织内阿霉素浓度较连续灌注组亦有显著提高。

我们认为经动脉间歇热灌注化疗提高效率的原因主要是:①在热灌注总量不变的条件下,间歇热灌注提高了单位时间内热灌注量(连续热灌注 100 ml/20 min,间歇热灌注 100 ml/1.5 min),充分发挥了有限热容量的效能,使肿瘤组织快速升温到有效治疗温度;②明显缩短了热溶液灌注时间,减少了灌注时导管内热量丢失;③减少了连续灌注的冲刷作用所造成的热能丢失,减缓了肿瘤组织降温速度;④间歇热灌注利用热灌注后产生的瘤区血流动力学变化。梁志会等^[11]在对犬肝进行热灌注后行 DSA 发现:犬肝动脉有所扩张,血流有所减慢,血液于肝脏中滞留时间延长。在间歇热灌注中,经过最初几次热灌注后,后续的灌注可借助减缓血流作用,使热量在瘤区的滞留时间延长,提高了灌注的热效率。通过上述因素的综合作用,明显延长了有效治疗温度持续时间,增加了热与阿霉素在肿瘤内停留和作用时间,提高肿瘤组织内阿霉素浓度。2 组热灌注组兔呼吸、心率、体温监测结果显示 3 项指标较正常均有升高,但两组间无显著差异。动物活体实验证实,在介入热化疗过程中,动物的呼吸、心率、体温都有一定程度的加快,但 1 h 内全部恢复正常^[12,13]。肝肾功能改变亦为一过性。本实验结果与之相符合,因此兔肝间歇热灌注化疗动物方法是安全的。

在保持热灌注总量不变的情况下,与连续热灌



图 1 兔肝 VX2 移植瘤大体标本,箭头所示为瘤体

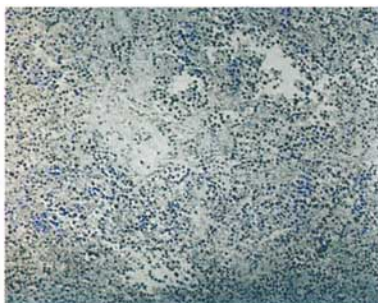
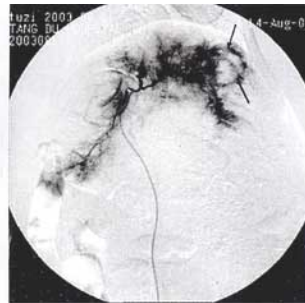
图 2 兔肝 VX2 移植瘤病理切片(HE \times 200)

图 3 兔肝 VX2 移植瘤 DSA 影像,箭头所示为瘤体

注比较,动脉内间歇热灌注提高了热与化疗协同的效率,这对于介入热化疗的临床应用有重要意义:①保持化疗药物浓度不变,满足了肿瘤化疗对药物浓度的要求;②消除了增加热灌注量后可能产生的人体不能耐受的不良反应。与兔大腿 VX2 肿瘤模型实验结果相比,兔肝 VX2 肿瘤内 43℃持续时间及阿霉素浓度均有明显下降。分析其原因,除系统误差外,肝内门脉可能是一影响因素。

[参考文献]

- [1] 刘毅勇,王执民,曹 玮,等.经动脉间歇性热灌注化疗方法的实验研究[J].临床放射学杂志,2003,22:158-160.
- [2] 曹 玮,王执民,梁志会,等.血管生成抑制剂 TNP-470 与碘化油混合栓塞肝癌的实验研究[J].世界华人消化杂志,2000,8:629-632.
- [3] Swistel AJ, Bading JR, Raaf J. Intraarterial versus intravenous Adriamycin in the rabbit Vx2 tumor system[J]. Cancer, 1984, 53: 1397-1404.
- [4] Matsumura T, Moriyau F, Kono Y, et al. Contrast-enhanced power Doppler imaging of the liver-preliminary animal study [J]. Nippon Rinsho, 1998, 56: 985-989.
- [5] 张洪新,王执民,曹 玮,等.兔 Vx2 移植性肝癌模型的建立及其影像学表现[J].介入放射学杂志,2002,11:193-196.
- [6] Rossi M, Bezzi M, Pepino D, et al. Needle design gives boost to thermal ablation[J]. Diagn Imaging, 2000, 22: 69.
- [7] Djavan B, Shariat S, Fakhari M, et al. Neoadjuvant and adjuvant alpha-blockade improves early results of high-energy transurethral microwave thermotherapy for lower urinary tract symptoms of benign prostatic hyperplasia: a randomized, prospective clinical trial[J]. Urology, 1999, 53: 251.
- [8] Rau B, Wust P, Gellermann J, et al. Phras II-studie zur praoperativen Radio-Chemo-Thermo-therapie beim local fortgeschrittenen Rektum Karzinom [J]. Strahlenther-Onkol, 1998, 174: 556.
- [9] 曹 玮,王执民,梁志会,等.动脉热灌注化疗治疗中晚期肝癌的疗效评价[J].临床放射学杂志,2001,20:530-531.
- [10] Satou T. Warm drug solution injected into tumor vessel may enhance antitumor effect[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 1990, 17(8 Pt 2): 1763-1767.
- [11] 梁志会,王执民,张洪新,等.经肝动脉介入性热疗对犬肝功能的影响[J].第四军医大学学报,2000,21:430-432.
- [12] 曹晓明,王执民,张洪新,等.经肝动脉介入热化疗对荷瘤兔(vx2)肝肾功能的影响[J].第四军医大学学报,2002,23:793-795.
- [13] 吴良浩,陈新龙,蒋红良.家犬肝动脉热化疗的实验研究[J].介入放射学杂志,2001,10:351-353.

(收稿日期:2005-01-25)

·消 息·

2007 年《中国医学计算机成像杂志》征订启事 2007 Subscribing of Chinese Computed Medical Imaging

《中国医学计算机成像杂志》为中国科技期刊、中国学术期刊(核心期刊),面向广大医学影像学工作者。国内外公开发行人,中国标准刊号:ISSN1066-5741,CN31-1700/R,可在全国各地邮局订阅,邮发代号:4-566。本刊主要栏目有神经、头颈、胸部、腹部、骨骼肌肉、儿科、介入、超声、核医学,实验研究、物理技术、短片报道、短讯、等。

本刊为双月刊,每双月底出版,每期定价 12 元,全年 72 元。

本刊地址:上海市静安区乌鲁木齐中路 12 号
邮政编码:200040

电 话:0086-21-62498318

0086-21-62489999 × 6302

电子邮箱:62498318@163.com

开户银行:上海银行淮海支行

户名请写:《中国医学计算机成像杂志》杂志社,并注明用途

银行帐号:316829-000020008874

订购请与编辑部联系,欢迎网上订购。

中国医学计算机成像杂志编辑部

2006 年 9 月 20 日