

• 实验研究 Experiment research •

单侧肺动脉化疗性栓塞术在转移性肺癌模型中的应用

吴安乐, 颜志平, 周康荣, 王建华, 刘清欣, 罗剑钧, 陈 颀

【摘要】 目的 探讨选择性肺动脉化疗性栓塞治疗肺转移瘤的可行性和疗效,并通过碘油示踪阐明微小肺转移瘤的肺动脉供血情况。方法 实验采用新西兰大白兔 14 只,建立血源转移性肺癌模型。分为 3 组,A 组(4 只)作为对照组,B 组(4 只)和 C 组(6 只)为实验组。所有兔均在全麻下分离股静脉,采用 3 F 微导管行选择性左肺动脉灌注治疗:A 组灌注生理盐水 5 ml;B 组灌注表阿霉素(2 mg/kg)和卡铂(15 mg/kg);C 组灌注卡铂(15 mg/kg),同时将超液态碘油 1 ml 和表阿霉素(2 mg/kg)混合配成碘油乳剂透视下缓慢注入行化疗性栓塞术。术后 3 周全麻下处死所有存活实验兔(12 只),剖胸取肺组织,用 4%甲醛溶液固定,取材后石蜡包埋,分别测量肿瘤最大直径并计算肿瘤体积,比较各组治疗后体积改变。同时,在 C 组标本中另外取材,冰冻切片下用苏丹Ⅲ染色监测治疗后肿瘤内部碘油沉积情况。结果 A 组转移瘤平均体积(130.56 ± 9.41) mm³较经介入治疗后 B 组(69.47 ± 10.00) mm³、C 组(19.73 ± 3.54) mm³左肺转移瘤平均体积明显大,而 C 组左肺转移瘤体积较 B 组小,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。2 只兔术中死亡,死亡兔肺转移瘤内均见碘油沉积。另外,化疗栓塞后 3 周 C 组转移瘤内仍然可见散在碘油沉积,部分碘油已进入肿瘤实质内。结论 化疗性栓塞术治疗肺部转移瘤确实可行,有利于控制肺转移瘤。经过碘油脂质染色进一步证实肺动脉参与了转移性肺癌的血供,尤其是参与了早期肺内微小转移结节的供血。随肿瘤结节的不断增大,转移瘤的肺动脉血供也不断增多。

【关键词】 化疗性栓塞;肺部转移瘤;肺动脉

中图分类号:R734.2 文献标识码:A 文章编号:1008-794X(2007)-10-0688-05

Application of unilateral pulmonary arterial chemoembolization in treating experimental pulmonary metastases WU An-le, YAN Zhi-ping, ZHOU Kang-rong, WANG Jian-hua, LIU Qing-xin, LUO Jian-jun, CHEN Yi. DSA Division, Department of Medical Imaging, Ningbo First Municipal Hospital, Ningbo Medical Imaging Research Institute, Ningbo 315010, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the feasibility and efficacy of pulmonary artery chemoembolization in experimental lung metastases, and to elucidate pulmonary arterial supply to metastases using lipiodol as a tracer. **Methods** 14 New Zealand white rabbits were selected to establish the experimental hematogenous pulmonary metastatic VX2 tumor models, and then randomly divided into 3 groups (group A, $n = 4$; group B, $n = 4$; group C, $n = 6$). All rabbits were under general anesthesia to have exploration of femoral veins. Group A served as control was perfused with normal saline (5 ml, per rabbit). Group B and C were assigned for experimentation and received anticancer drug perfusion of pharmorubicin (2 mg/kg) plus carboplatin (15 mg/kg), and carboplatin (15 mg/kg), respectively. And then simultaneously, unilateral pulmonary chemoembolization (UPCE) with lipiodal emulsion formed by mixing superliguified lipiodal 1 ml and pharmorubicin (2 mg/kg) was carried out by slow infusion under fluoroscopic monitoring. The remained 12 survival rabbits were sacrificed 3 weeks later and then the removal of their tracheas and lungs as specimens was undertaken for pathologic examination. The tumors size was presented by its greatest diameter for calculating the volume change in

基金项目:卫生部博士点基金资助项目(9741)

作者单位:315010 浙江省宁波市第一医院影像科 DSA 室,宁波市影像医学研究所(吴安乐);复旦大学附属中山医院放射科,上海市影像医学研究所(颜志平、周康荣、王建华、刘清欣、罗剑钧、陈 颀)

通讯作者:颜志平

comparison before and after treatment. Additional cryostat sections and Sudan III staining were performed for group C members. **Results** After the experimentation, the average volume of metastatic tumor in group A ($130.56 \pm 9.41 \text{ mm}^3$) was significantly larger than those in group B ($69.47 \pm 10.00 \text{ mm}^3$) and C ($19.73 \pm 3.54 \text{ mm}^3$), respectively; but furthermore, the tumor volume of group C was lesser than that of group B with significant statistical difference ($P < 0.05$). Lipoidal deposition appeared in the metastatic tumor of the 2 experimental rabbits died of pulmonary arterial infarction during the lipoidal emulsion infusion. On the other hand, the disseminated lipoidal depositions were found in the metastatic tumors of group C, 3 weeks after chemoembolization; and portions of lipoidal entered the tumor parenchyma. **Conclusions** Transpulmonary arterial chemoembolization is feasible for pulmonary metastasis, furthermore in combination with transpulmonary perfusion would be more beneficial for controlling the metastasis confirmed by pulmonary arterial blood supply to metastasis through pathologic changes. More pulmonary arterial blood supply occurs in accordance with tumor enlargement. (J Intervent Radiol, 2007, 16: 688-692)

【Key words】 Chemoembolization; Pulmonary artery; Pulmonary metastasis

灌注化疗及栓塞治疗已经应用于许多实体瘤的治疗,尤其在肝癌、肾癌等肿瘤的化疗性栓塞术中疗效显著^[1]。我们通过文献报道的血源性转移性肺癌模型^[2]在复旦大学附属中山医院完成超选择性肺动脉化疗性栓塞术的实验研究,旨在探讨化疗性栓塞治疗肺转移瘤的可行性和疗效,并希冀通过碘油脂质染色,在活体条件下了解肺转移瘤的肺动脉供血情况。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究选用新西兰大白兔 14 只,体重 2 ~ 3 kg,均为雄性,VX2 瘤在兔大腿皮下成瘤传代,通过单细胞悬液制备(浓度为 $10^8/\text{ml}$),而后经耳缘静脉($1.5 \text{ ml}/\text{只}$)途径建立转移性肺癌模型。接种 3 周后行多排螺旋 CT 扫描(Marchoni, Philips, USA)监测肺内转移灶的生长情况。技术条件:矩阵 512×512 ,层厚 1.3 mm, DFOV 77 mm, 120 kV, 333 mA, C 重建方式。扫描证实接种成功后,将实验兔随机分成 A、B、C 三组,A 组(4 只)作为对照组,B 组(4 只)和 C 组(6 只)为实验组进行分组治疗。

1.2 方法

1.2.1 超选择性左肺动脉插管和分组药物灌注 用氯胺酮($25 \text{ mg}/\text{kg}$),鲁米那($25 \text{ mg}/\text{kg}$)肌注麻醉实验兔,采用外科方法钝性分离右股静脉,将 3 F 微导管插入右股静脉,在 DSA 透视下行选择性左肺动脉插管。A 组:灌注生理盐水 5 ml; B 组:灌注表阿霉素($2 \text{ mg}/\text{kg}$)和卡铂($15 \text{ mg}/\text{kg}$); C 组:先灌注卡铂($15 \text{ mg}/\text{kg}$),然后将超液态碘油 1 ml 和表阿霉素($2 \text{ mg}/\text{kg}$)混合配成碘油乳剂透视下缓慢注入行化疗性栓塞术。其中 C 组 2 只实验兔因术中导管后退至

肺动脉主干导致两肺碘油乳剂栓塞术中即刻死亡,剖胸取肺组织固定后作苏丹 III 染色,不列入体积测量。

1.2.2 体积测量 治疗后 3 周全麻后处死所有存活实验兔,剖胸取左肺组织,取材于左肺膈叶,大小约 $1.5 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm}$,厚度 0.3 cm,制作成石蜡组织块,取光整石蜡块切面,选取 3 枚结节,用游标卡尺测量其最大直径并计算平均直径(R)。利用体积计算公式: $V = \pi R^3/6$ 分别计算各组肿瘤体积,比较各组间治疗后肿瘤体积差异是否具有统计学意义。

在 C 组术中死亡的 2 个肺中选取直径 2 ~ 6 mm 不同大小肿瘤结节 24 枚,分成 2 mm, 2 ~ 4 mm, 4 ~ 6 mm 3 组,每组 8 枚。采用冰冻切片下苏丹 III 脂质染色观察不同大小转移瘤肺动脉供血程度。C 组术后成活兔化疗性栓塞后肺组织也用苏丹 III 染色。

1.2.3 病理检查 C 组标本苏丹 III 染色后在高倍显微镜下观察不同大小结节内碘油染色情况。假设任何在肿瘤周边或肿瘤内部有桔红色脂质染色者均认为该处有碘油沉积,被认为具有肺动脉血供存在。瘤结节内可见点状血管样结构,伴点状脂质染色者为“+”;瘤结节周围和瘤内可见较多血管样结构伴少量碘油染色为“++”;瘤内血管样结构连成网状,伴碘油染色明显增多者为“+++”。

1.3 统计分析

采用 SPSS 10.0 软件统计,数据以均数 \pm 标准差表示,运用单因素方差分析(One-Way ANOVA)比较三个实验组间治疗后转移瘤结节平均体积的显著性差异,然后采用 Student Newman Keuls 法比较各组间差异是否具有统计学意义, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 接种后多排螺旋 CT 扫描表现

3 周后螺旋 CT 扫描证实所有实验兔均成功接种,肺野上均表现为散在结节分布,边缘模糊,以外带多见,伴肺纹理增粗及阻塞性肺气肿等。

2.2 转移瘤体积测量

A、B、C 3 组转移瘤平均体积大小分别为 $(130.56 \pm 9.41) \text{ mm}^3$, $(69.47 \pm 10.00) \text{ mm}^3$ 和 $(19.73 \pm 3.54) \text{ mm}^3$, 差异具有统计学意义 ($F = 183.79, P < 0.05$)。A 组左肺转移瘤平均体积较 B、C 两组平均体积大,而 C 组左肺转移瘤体积较 B 组小,差异具有统计学意义(图 1)。

2.3 碘油苏丹Ⅲ染色分析

24 枚不同大小肺转移结节的碘油苏丹Ⅲ染色结果显示:8 枚 2 mm 瘤结节周围均无脂质染色,瘤内见点状血管样结构,内壁见点状脂质染色,呈“+”(图 2);8 枚 2 ~ 4 mm 肺结节周围和瘤内可见少量碘油染色均呈“++”(图 3),但脂滴主要沉积在肿瘤周边部位;8 枚 4 ~ 6 mm 结节内碘油染色明显增多,均呈“+++”,碘油不但沉积于肿瘤周边,而且进入肿瘤内部血管,内部血管样结构明显增多,连成网状(图 4,5)。C 组另外 4 个化疗栓塞后 3 周转移瘤内仍然可见散在碘油沉积,部分碘油已经进入肿瘤实质内(图 6,7),栓塞后 3 周正常肺泡内无明显

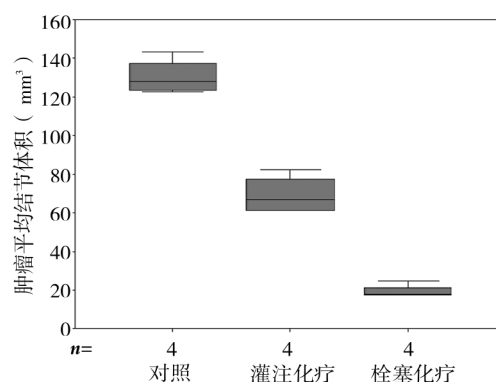


图 1 One-Way ANOVA: 治疗 3 周后 A、B、C 3 组转移瘤结节平均体积差异具有统计学意义 ($F = 183.79, P < 0.05$)。

S-N-K 统计检验: B、C 两组较 A 组均具有显著性差异 ($P < 0.05$), C 组较 B 组肿瘤体积明显缩小 ($P < 0.05$)。

渗出,间质内有少量碘油脂质染色。

2.4 术中并发症

所有实验兔均成功进行选择性的肺动脉插管,无术中插管合并症如血管破裂、肺动脉内血栓形成,导管、导丝断裂等。A 组和 B 组实验兔均成功进行药物灌注,无术中死亡, C 组中有 2 只实验兔因为栓塞过程中导管移位导致两肺同时栓塞术中即刻死亡,其余 4 只实验兔均成功进行左肺动脉化疗性栓塞术。随访 3 周,所有术中存活实验兔均长期存活。

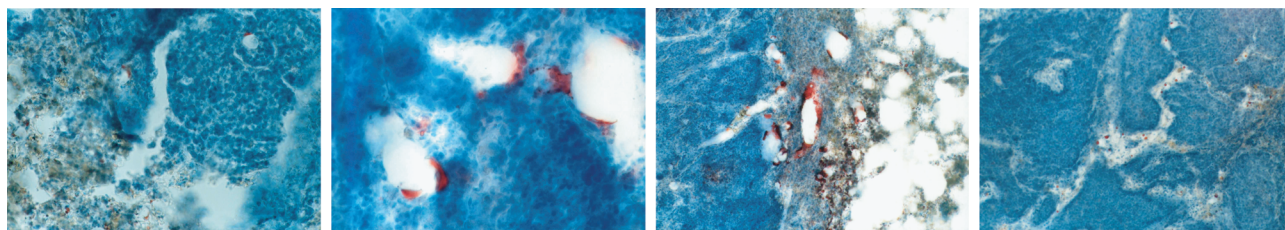


图 2 2 mm 肺结节周围均无脂质染色,瘤内可见点状血管样结构,内可见少量碘油染色均呈“++”(苏丹Ⅲ × 40)

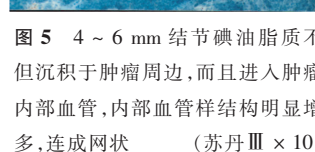
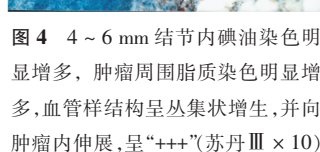
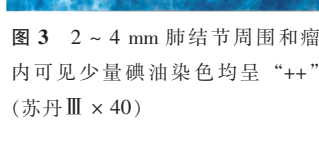


图 4 4 ~ 6 mm 结节内碘油染色明显增多,肿瘤周围脂质染色明显增多,但沉积于肿瘤周边,而且进入肿瘤内部血管,内部血管样结构明显增多,连成网状 (苏丹Ⅲ × 10)

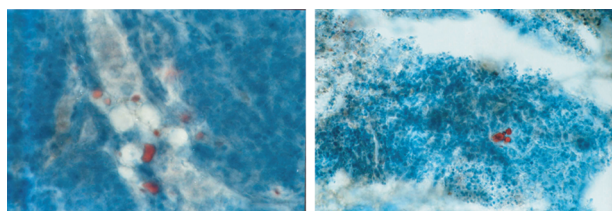
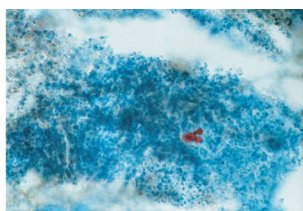


图 6 化疗栓塞后 3 周转移瘤内仍然可见散在碘油沉积,主要位于肿瘤间隙血管内。(苏丹Ⅲ × 40)



3 讨论

肺脏是全身静脉血回流的必经器官,肺组织血液循环丰富,拥有广泛的毛细血管网,使得进入血液循环中的肿瘤细胞能够顺利在肺内停留增殖,可以说,它是继淋巴系统后第二位最容易发生肿瘤转移增殖的器官。虽然肺转移瘤精确发生率还不十分清楚,但是估计肺外恶性肿瘤肺转移发生率高达 50%^[3]。

本研究通过插管途径探讨肺内多发转移瘤化疗性栓塞的可行性和有效性,并利用碘油脂质染色方法进一步在活体条件下研究肺部微转移瘤的肺动脉供血情况。

3.1 置管灌注化疗联合化疗栓塞术的可行性和有效性

经动脉灌注化疗和栓塞已经成功应用于实体瘤的介入治疗^[1],尤其在肝细胞癌的治疗中取得满意疗效。本课题设计将导管超选择性插管至左肺动脉进行灌注化疗和化疗栓塞,以期能够尽量提高药物浓度,并将结合化疗药物的碘油乳剂送入肺转移瘤的微血管床,提高临床疗效。

选择性左肺动脉灌注化疗和化疗性栓塞可以减轻高浓度化疗药物和碘油乳剂对于全肺组织的损伤,使两肺弥漫接种的实验兔既能保留生活所需基本肺功能,又可以随访观察灌注化疗和栓塞化疗后的疗效。所有实验兔术中均成功将 3 F 微导管插入左肺动脉,无术中插管合并症,表明目前的导管材料和导管操作技术完全可以应用到肺部转移瘤的介入治疗中去。

Miller 等^[4]较早研究肺部转移瘤肺动脉血供模式后认为:肺转移瘤血供来源于肺动脉,认为经肺动脉途径灌注化疗和化疗性栓塞能最大程度地控制肿瘤进展。本研究结果发现联合卡铂和表阿霉素这两组药物进行灌注化疗以及混入碘油进行化疗性栓塞,均能有效控制肿瘤进展,B、C 两组治疗后转移瘤平均肿瘤体积较 A 组明显缩小。C 组化疗栓塞术后存活的 4 个实验兔中均发现肿瘤结节内有散在碘油沉积,部分已进入肿瘤实质内,表明碘油不但可以沉积于转移瘤的微血管床内,起到栓塞目的,而且可以透过肿瘤血管壁直接进入瘤组织间隙,更大程度的起到抗肿瘤效果。C 组化疗栓塞后肿瘤平均体积较 B 组明显缩小,差异具有统计学意义,说明化疗结合栓塞治疗能够起到更加显著的疗效。另外,过度黏稠的碘油乳剂和过度栓塞将使碘油淤滞于肺动脉主干及其分支内造成急性肺动脉栓塞,甚至死亡。本组使用的化疗药物浓度和碘油剂量并没有造成严重的肺组织损伤,属于合理范围。由于实验兔肺动脉细小,透视条件下无法将微导管进行超选择性肺段动脉栓塞,如果对于肺内单发转移病灶进行精确肺动脉插管化疗栓塞可能起到更加显著的疗效。

3.2 微小肺转移瘤肺动脉供血程度探讨

通过耳缘静脉注入肿瘤单细胞悬液建立的转移性肺癌模型,肺内同时出现大小不等的肿瘤结节,利于观察各种微小转移瘤的血供情况。本研究将 2 mm, 2 ~ 4 mm 和 4 ~ 6 mm 3 组共 24 枚不同大小的瘤结节进行苏丹Ⅲ染色后发现:直径小于

2 mm 的肿瘤结节均处于细胞增生堆积阶段,周围围绕正常肺组织,瘤结节内很少有碘油沉积,碘油染色均呈 (+), 2 ~ 4 mm 结节内可见有较多血管腔样结构,其内可见碘油脂滴沉积,呈桔红色染色,碘油染色均呈 (++)。随着肿瘤结节增大,直径在 4 mm 以上的瘤结节内血管样结构不断增多,互相连成网状,碘油脂滴也明显增多,肿瘤周围和中央均团块状碘油染色,呈 (+++)。这充分证明肺部转移瘤存在肺动脉血供,并随着瘤结节的不断增大而增多。

以往研究转移性肺癌肺动脉血供多见于离体标本灌注研究,早在 1967 年 Miller 等^[4]运用 3 种不同离体转移性肺癌标本研究转移性肺癌肺动脉血供,认为直径小于 1 cm 的肺结节无法证实肺动脉血管,直径较大的转移瘤能够显示肺动脉血管进入肿瘤内部,认为肺动脉是肺部转移瘤的主要供血动脉,对于肺部转移瘤主张通过肺动脉途径灌注化疗。同年 Milene^[5]利用灌注摄影技术研究转移性肺癌和支气管肺癌血供后认为,原发支气管肺癌血供来自支气管动脉,但部分也同时存在肺动脉供血,转移性肺癌中位于中央部位的结节由支气管动脉供血,外周转移灶主要来自肺动脉,同时他们也认为无法进行活体状态下研究肺动脉供血是其缺陷。1987 年 Milene 等^[6]又通过动物模型进行肺动脉供血研究,证实 48% 肺转移瘤来源于肺动脉血供,36% 主要来自于肺动脉而部分来自于支气管动脉,16% 位于内带的转移瘤来自于支气管动脉。近年来,随着灌注成像技术的临床应用,为研究肿瘤血管生成提供了较好条件,最近吴安乐等^[7]通过活体条件下利用多层螺旋 CT 灌注成像研究转移性肺癌的血供,发现在直径大于 1 cm 的肺转移结节血供主要来自于肺动脉,同时支气管动脉也参与了肿瘤的血供,随着肿瘤的不断增大,肺动脉和支气管动脉血供均不断增多,但是他们的研究还存在一定缺陷,即受到 CT 设备和患者呼吸运动的影响,难以准确反映直径小于 1 cm 转移瘤内肺动脉的供血情况。我们应用碘油乳剂灌注研究肺动脉血供,是在活体状态下碘油通过血流自然进入肿瘤结节内,没有外加高强度压力,能较正确反映肺动脉参与转移瘤供血,并且可以阐明直径小于 1 cm 微小结节存在肺动脉供血,较以往方法更加清楚,直观。是否同时伴有支气管动脉供血还需要进一步探索。

总之,化疗性栓塞术应用于肺部转移瘤的治疗切实可行,联合肺动脉灌注化疗和化疗性栓塞将更有利于控制肺转移瘤。经过碘油脂质染色进一步明

确肺动脉参与了转移性肺癌的血供,尤其是它参与了早期肺内微小转移结节的供血。

[参考文献]

- [1] Wallace S, Charnsangavej C, Carrasco H, et al. Infusion-Embolization[J]. Cancer, 1984, 54: 2751 - 2756.
- [2] 吴安乐, 颜志平, 周康荣, 等. 兔 VX2 瘤转移性肺癌动物模型的建立和生物学特性研究[J]. 中华放射学杂志, 2003, 37: 166 - 170.
- [3] Koehne CH, Cunningham D, Costanzo Di, et al. Clinical determinants of survival in patients with 5-fluorouracil-based treatment for metastatic colorectal cancer: results of a multivariate analysis of 3825 patients [J]. Ann Oncol, 2002, 10: 308 - 317.
- [4] Miller BJ, Rosenbaum AS. The vascular supply to metastatic tumors of the lung[J]. Surg Gynecol Obstetr, 1967, 125: 1009 - 1012.
- [5] Milene EN. Circulation of primary and metastatic pulmonary neoplasm: A postmortem microarteriographic study [J]. Am J Roentgenol, 1967, 100: 603 - 619.
- [6] Milene EN, Zerhouni EA. Blood supply of pulmonary metastases [J]. J Thor Imag, 1987, 2: 15 - 23.
- [7] 吴安乐, 周康荣, 颜志平, 等. 利用 CT 灌注成像研究转移性肺癌的血供[J]. 中华放射学杂志, 2007, 41: 366 - 370.

(收稿日期:2006-12-07)