

• 实验研究 Experimental research •

介入性热灌注联合瘤体注射热碘油对兔 VX2 肝癌模型的疗效研究

何伟华, 独建库, 张明德, 邹 洋, 马小桔

【摘要】 目的 观察介入性灌注热碘油联合瘤体注射热碘油对兔 VX2 肝癌模型的疗效及安全性。**方法** 将 VX2 肝癌细胞接种于 30 只新西兰白兔肝内, 制备肝 VX2 模型。将动物随机分为实验组和对照组, 每组 15 只。实验组肝动脉灌注联合经皮穿刺瘤内注射 60℃ 热碘油 3 ml, 对照组经肝动脉灌注常温 25℃ 碘油 3 ml。用 B 超观察栓塞前后瘤体大小, 采血查血清丙氨酸转氨酶(ALT)水平。**结果** 实验组肿瘤体积由 $(1\,565 \pm 315)\text{mm}^3$ 缩小至 $(1\,054 \pm 463)\text{mm}^3$; 对照组肿瘤体积由 $(1\,568 \pm 323)\text{mm}^3$ 缩小至 $(1\,275 \pm 472)\text{mm}^3$, 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。实验组血清 ALT 从 $(736 \pm 212)\text{u/L}$ 增至 $(816 \pm 247)\text{u/L}$, 对照组从 $(745 \pm 215)\text{u/L}$ 增至 $(796 \pm 236)\text{u/L}$, 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 介入性灌注热碘油联合瘤体注射热碘油对兔 VX2 肝癌模型有更强的抑制作用。

【关键词】 肝肿瘤; 热碘油; 动物实验

中图分类号: R735.7 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2013)-11-0940-03

The therapeutic effect of interventional heated - Lipiodol perfusion combined with heated - Lipiodol injection into tumor for the treatment of VX2 liver cancer in experimental rabbits HE Wei-hua, DU Jian-ku, ZHANG Ming-de, ZOU Yang, MA Xiao-ju. Interventional Center, No.150 Hospital of PLA, Luoyang, Henan Province 471031, China

Corresponding author: DU Jian-ku, E-mail: jian kud@163.com

【Abstract】 Objective To explore the therapeutic effect and clinical safety of interventional heated-Lipiodol perfusion combined with heated-Lipiodol injection into tumor for the treatment of VX2 liver cancer in experimental rabbits. **Methods** VX2 liver cancer cells were inoculated into the livers of 30 New Zealand white rabbits to prepare the models of liver VX2. The animals were randomly and equally divided into study group ($n = 15$) and control group ($n = 15$). Interventional hepatic arterial infusion of heated-Lipiodol perfusion (60℃, 2 ml) was performed in the rabbits of the study group, which was followed by heated-Lipiodol (60℃, 1 ml) injection into the tumor three days later. For the rabbits of the control group, only transhepatic arterial infusion of 3 ml room-temperature (25℃) Lipiodol was employed. Before and after the procedure, the tumor sizes were measured by color Doppler ultrasonography and the serum ALT levels were determined. The results were analyzed and compared between the two groups. **Results** The tumor volume of the study group decreased from preoperative $(1\,565 \pm 315)\text{mm}^3$ to postoperative $(1\,054 \pm 463)\text{mm}^3$, while the tumor volume of the control group decreased from preoperative $(1\,568 \pm 323)\text{mm}^3$ to postoperative $(1\,275 \pm 472)\text{mm}^3$, the difference between the two groups was statistical significant ($P < 0.05$). The serum ALT level was increased from preoperative $(736 \pm 212)\text{u/L}$ to postoperative $(816 \pm 247)\text{u/L}$ in the study group, while in control group it was increased from preoperative $(745 \pm 215)\text{u/L}$ to postoperative $(796 \pm 236)\text{u/L}$, and statistically significant difference existed between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Interventional heated-Lipiodol infusion combined with heated-Lipiodol injection into the tumor can more strongly inhibit the VX2 liver cancer than conventional transhepatic arterial infusion of 3 ml room-temperature (25℃) Lipiodol

does in experimental rabbit models. (J Intervent Radiol, 2013, 22: 940-942)

【Key words】 hepatic tumor; heated-Lipiodol; animal experiment

基金项目: 军队十二五课题资助项目(08z006)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2013.11.015

作者单位: 471000 河南洛阳 解放军第 150 医院介入中心

通信作者: 独建库 E-mail: jian kud@163.com.

肝癌的联合治疗已成为临床研究的热点,近年来热疗在肝癌的治疗中逐渐受到重视。本研究通过兔 VX2 肝癌模型,比较介入性联合灌注热碘油与常温碘油的疗效,旨在探讨经皮穿刺瘤内注射联合肝动脉灌注热碘油的确切疗效及安全性。

1 材料与方法

1.1 实验动物及癌株

7~8 周龄纯种新西兰大白兔 30 只,体重 2.5~2.8 kg,雌雄不限,由解放军第 150 医院动物实验室提供。癌株种类为 VX2 鳞状细胞癌,由解放军 150 医院中心实验室提供;速眠新 II 注射液 2 ml/支。

1.2 兔 VX2 肝癌模型制备

取冰冻 VX2 肿瘤细胞悬液 0.5 ml 接种于兔右后肢外侧肌肉群内,2 周后肌肉内有一实质性包块。将包块从荷瘤兔肌肉群内取出,取肿瘤边缘生长旺盛的鱼肉样组织数块,切成大小约 1 mm³ 的瘤块备用,用速眠新 II 注射液按 0.3 ml/kg 肌内注射,并用地西洋 0.5 ml 腹腔注射麻醉后,在彩色多普勒超声(彩超)引导下用 18 G 针头的注射器将瘤组织注入肝左叶内实质区。接种完成后,由动物实验室专业人员饲养。2 周后,彩超测量并记录肿块大小(图 1)。电镜下可见兔肝内瘤体呈浸润性生长,与肝实质边界模糊,间质分界不清,结缔组织较少,瘤巢边缘分布着被浸润的肝索结构;肿瘤细胞弥散排列,可见纤维间隔及丰富的新生毛细血管(图 2)。

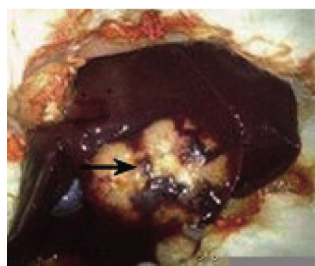


图 1 兔 VX2 肝癌标本

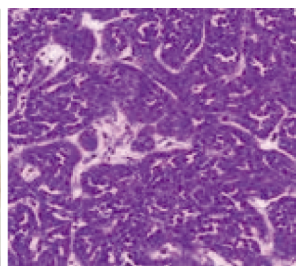


图 2 兔 VX2 肝癌病理标本 (HE, ×200)

1.3 方法

1.3.1 实验分组 30 只荷瘤兔随机分为实验组和对照组,每组 15 只。实验组采用经肝动脉灌注联合经皮穿刺瘤内注射 60℃ 热碘油,对照组经肝动脉灌注 25℃ 常温碘油。

1.3.2 治疗方法 用速眠新 II 按 0.3 ml/kg 经静脉注射麻醉后,用固定板仰卧位固定荷瘤兔,腹股沟剪毛后,洁尔碘消毒,穿刺股动脉,在 X 线透视下依次进入 4 F RH 导管至腹腔动脉,继而将 2.7 F 微导管超选择至肝动脉,DSA 造影可见肝左动脉供血的肿瘤染色影(图 3),实验组灌注 60℃ 碘化油 2 ml 栓塞瘤体后,瘤体内碘油沉积(图 4),3 d 后在彩超引导下用 18 G 穿刺针行经皮穿刺瘤内注射 60℃ 碘化油 1 ml 栓塞肿瘤(图 5);对照组灌注 25℃ 碘化油 3 ml;术中观察呼吸、心率等生命体征。

1.3.3 观察指标 ① 彩超检测肿瘤在治疗前后的体积变化,计算生长率,即生长量 = 治疗后 15 d 的体积 - 治疗前的体积。② 观察治疗前及治疗后 5 d 的血清丙氨酸转氨酶(ALT)水平。

1.4 统计处理

采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,所用数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用配对 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肿瘤生长率及生存期

治疗前两组荷瘤兔体重、肿瘤体积差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后两组生长率差异有统计学意义($P < 0.05$, 表 1)。实验组存活期与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 两组治疗前后肿瘤生长率 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	肿瘤体积(mm ³)		生长率(%)
	治疗前	治疗后 15 d	
实验组	1 565 ± 315	1 054 ± 463 ^a	0.96 ± 0.42 ^a
对照组	1 568 ± 323	1 275 ± 472	2.18 ± 0.75

^a 与对照组相比, $P < 0.05$

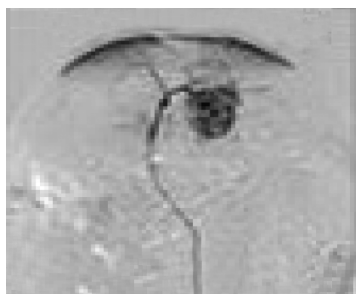


图 3 兔 VX2 肝癌肝动脉造影

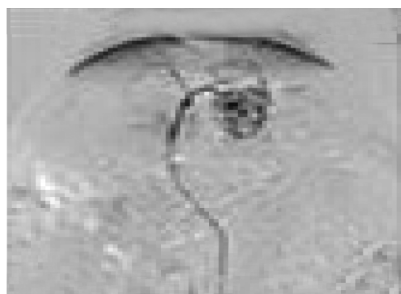


图 4 热碘油 2 ml 栓塞瘤体

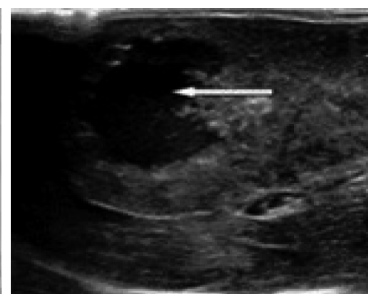


图 5 经皮瘤体内注射热碘油 1 ml

2.2 血清 ALT 水平

治疗前两组 ALT 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后 5 d 血清 ALT 水平均上升, 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 两组肝功能有一定损伤, 均表现为一过性, 见表 2。

表 2 两组治疗前、后血清丙氨酸转氨酶水平 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	丙氨酸转氨酶(u/L)		增加量(u/L)
	治疗前	治疗后 5 d	
实验组	757 ± 165	844 ± 225	78 ± 42
对照组	773 ± 171	813 ± 198	72 ± 37

3 讨论

研究表明, 加热对杀伤肿瘤细胞有一定的影响^[1], 其原理是热可以引起细胞膜通透性增加, 继而出现代谢障碍及乳酸堆积, 热可以抑制酶的活性, 引起细胞不可逆损伤, 最终造成肿瘤细胞死亡。由于肿瘤组织血管网密集, 神经不健全, 在加热后不能有效通过血流疏散热量, 引起局部温度升高, 实验证明肿瘤细胞比正常组织细胞耐热性更差, 这是热碘油栓塞的重要原理。Tabaru 等^[2]联合经肝动脉和局部注射碘化油治疗兔 VX2 瘤, 其疗效较单独肝动脉灌注碘化油或化疗药物治疗显著。

临床经验表明, 任何单一疗法均难以彻底杀死肿瘤细胞, 特别是对于体积较大的瘤块, 经肝动脉不能完全栓塞瘤体, 瘤周易残存癌细胞^[3], 而影响疗效; 故目前提倡多手段联合治疗肝癌。肝动脉灌注热碘油是将热疗与栓塞技术结合的一项新的热疗技术, 它将热碘油直接注入肿瘤的供血动脉, 通过癌灶“血管池”的蓄积作用与虹吸作用使热碘油长时间作用于肿瘤组织, 通过栓塞及热效应直接杀死癌细胞, 而对于肝、肾、心脏等脏器的损害较轻。经皮穿刺瘤内注射热碘油则是对经肝动脉栓塞碘油不能覆盖瘤区的补充治疗。Maeda 等^[4]的研究表明, 局部温度高于 42.5℃ 时肿瘤细胞就会出现不可逆的损伤和死亡, 而正常细胞可以通过血管扩张途径散热, 自身温度才升高 0.5℃ ~ 1℃, 故临床常选择 42.5℃ ~ 45℃ 作为热疗的治疗窗。

本实验通过建立兔 VX2 肝癌模型, 比较介入性灌注常温(25℃)碘油与介入性灌注热(60℃)碘油联合瘤体内注射的疗效, 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 ALT 差异无统计学意义, 证明介入联合方法使用热碘油可以优势杀死肿瘤而对正常组织影

响不大。这对于弥补单独介入性灌注常温碘油的不足, 提供改进方法的依据。介入灌注热碘油后, 肿瘤毛细血管的渗透性较正常肝组织明显增大^[5], 也为热碘油更多的栓塞瘤体, 加大瘤体的灭活提供了环境基础。曹玮等^[6]用 60℃ 热碘油行兔肝动脉栓塞, 得到了更好的疗效, 同时对肝功能影响不大。本实验结果表明, 经皮穿刺瘤内注射联合经肝动脉灌注 60℃ 热碘油可抑制肿瘤生长, 从而进一步减少癌细胞复发和转移的概率, 加大了肿瘤的坏死区。本实验结果显示, 常温(25℃)和热(60℃)碘油栓塞瘤体后, 对肝功能的影响不大, 而疗效差异明显, 证明热碘油治疗肝癌的应用价值。这也说明, 只要掌握好适应证, 热碘油栓塞瘤体并不增加对肝功能的损害。有实验显示, 用 60℃ 碘油经微导管注入瘤区, 温度仍可达 45℃ 的有效治疗温度^[7]。

本研究采用经皮瘤内注射、肝动脉栓塞和热疗结合, 增加了肿瘤灭活的效能, 可能是肿瘤综合治疗的一种新方法。我们也希望随着介入技术的不断发展, 热疗和介入联合方法在临床治疗肿瘤方面能发挥更大的作用。

[参考文献]

- [1] 曹 玮, 张洪新, 万 毅, 等. 温热(60℃)化疗栓塞对肝癌患者红细胞免疫功能的影响 [J]. 临床放射学杂志, 2008, 27: 1255 - 1257.
- [2] Tabaru K, Konno T, Oda T, et al. Treatment of VX2 carcinoma implanted in the liver with arterial and intraperitoneal administration of oily anticancer agents [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2001, 47: 149 - 154.
- [3] 杨永波, 程红岩. 肝动脉化疗栓塞治疗中碘油用量的现状与研究进展 [J]. 介入放射学杂志, 2012, 21: 348 - 352.
- [4] Maeda T, Kuramoto S, Shimojima Y, et al. Basic studies of intra-arterial hyperthermic treatment [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 1992, 19: 1667 - 1670.
- [5] 李广琪, 曹 玮, 李 超, 等. 肝动脉热灌注对兔肝 VX2 肿瘤及正常肝组织血管渗透性功能的作用 [J]. 介入放射学杂志, 2010, 19: 217 - 219.
- [6] 曹 玮, 王执民, 张洪新, 等. 兔 VX2 肝癌阿霉素热碘油栓塞的疗效观察 [J]. 临床放射学杂志, 2004, 23: 438 - 440.
- [7] 梁志会, 王执民, 张洪新, 等. 经皮肝动脉介入性热疗对犬肝功的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2000, 21: 430 - 432.

(收稿日期: 2013-04-20)

(本文编辑: 侯虹鲁)