

· 实验研究 Experimental research ·

经皮瘤内注射长春瑞滨碘油乳剂治疗兔 VX2 瘤的实验研究

刘秋松, 张世玉, 梅雀林, 李彦豪

【摘要】 目的 探讨经皮穿刺瘤内注射长春瑞滨碘油乳剂治疗兔 VX2 肿瘤的疗效。方法 建立 18 只兔 VX2 肿瘤模型,随机分为 3 组:长春瑞滨碘油乳剂组 8 只(A 组),单纯长春瑞滨溶液组 8 只(B 组),空白对照组 2 只(C 组)。在超声引导下经皮瘤内注药后的第 4 天行肿瘤超声造影,计算超声造影及大体标本的肿瘤坏死率,并行肿瘤组织病理检查。结果 A、B、C 3 组的超声造影肿瘤坏死率分别为 64.7%、29.8%、1.7%,大体肿瘤坏死率分别为 57.6%、28.2%、1.6%。A 组超声造影见肿瘤大部分无增强,病理检查见肿瘤广泛坏死。结论 经皮瘤内注射长春瑞滨碘油乳剂治疗兔 VX2 肿瘤具有良好疗效。

【关键词】 长春瑞滨; 瘤内注射; VX2 瘤

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2016)-08-0699-04

Percutaneous intratumoral injection of lipiodol emulsion of vinorelbine for rabbits with VX2 tumor: an experimental study LIU Qiu-song, ZHANG Shi-yu, MEI Que-lin, LI Yan-hao. Department of Interventional Radiology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong Province 510515, China
Corresponding author: LI Yan-hao, E-mail: cjr.liyanhao@vip.163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the curative effect of intratumoral injection of lipiodol emulsion of vinorelbine in treating VX2 tumors of experimental rabbits. **Methods** The rabbit models with VX2 tumor were established in 18 experimental rabbits, which were randomly divided into three groups; group A ($n=8$, using vinorelbine-lipiodol emulsion), group B ($n=8$, simply using vinorelbine solution) and group C ($n=2$, used as blank control group). At the fourth day after ultrasound-guided intratumoral injection, contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) was performed to determine the tumor necrosis rate (TNR), and the TNR of gross specimen was also measured. The tumor specimens were sent for pathological examinations. **Results** The tumor necrosis rates measured by CEUS of group A, group B and group C were 64.7%, 29.8% and 1.7%, respectively. The tumor necrosis rates measured on gross specimens of group A, group B and group C were 57.6%, 29.2% and 1.6%, respectively. In group A, CEUS revealed that most tumor tissues showed no enhancement, and pathological examination demonstrated extensive tumor necrosis. **Conclusion** For VX2 tumors of experimental rabbits, intratumoral injection of lipiodol emulsion of vinorelbine has excellent curative effect. (J Intervent Radiol, 2016, 25: 699-702)

【Key words】 vinorelbine; intratumoral injection; VX2 tumor

TACE 为无法手术切除肝癌的首选治疗方法^[1],但因难以完全栓塞肿瘤血管及侧支血管建立,常出

现残瘤生长,导致后续治疗困难,影响疗效,而局部肿瘤消融可作为有效补充治疗手段^[2]。经皮瘤内注药为肝癌局部治疗的有效手段之一,可较为安全、有效地消融位于膈顶、大血管旁等区域病灶^[3]。长春瑞滨注射液为高效的抗肿瘤药物,对正常皮肤软组织具有较强的刺激破坏作用,为较强的发泡剂^[4]。本研究利用长春瑞滨注射液其较强的直接破坏及抑制肿瘤特性,通过超声引导经皮瘤内注射

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2016.08.013

基金项目: 国家国际科技合作与交流专项项目(2011DF30010)

作者单位: 510515 广州 南方医科大学附属南方医院介入科(刘秋松、梅雀林、李彦豪)、超声科(张世玉)

通信作者: 李彦豪 E-mail: cjr.liyanhao@vip.163.com

长春瑞滨碘油乳剂治疗兔 VX2 肿瘤模型,观察其对兔 VX2 肿瘤的抑制、破坏疗效。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及瘤株 新西兰大白兔 18 只(2~3 月龄,雌雄不限,体重 2.0~2.5 kg),由南方医科大学实验动物中心提供。在无菌条件及速眠新 II (0.2 ml/只,吉林省华牧动物保健品有限公司)镇静下,采用瘤细胞混悬液局部注射接种法,于实验兔双侧后肢大腿肌层建立 VX2 瘤模型。VX2 瘤株由南方医院超声科馈赠。3 周后选取直径 1~4 cm、超声显示其内无明显坏死的瘤灶 38 个,随机分为 3 组:长春瑞滨碘油化疗药乳剂组 8 只(瘤灶 16 个,A 组),单纯长春瑞滨组 8 只(瘤灶 16 个,B 组),空白对照组 2 只(瘤灶 6 个,C 组)。

1.1.2 仪器及超声对比剂 采用飞利浦 IU22 彩色多普勒超声诊断仪,探头型号为 12-5/9-3。超声对比剂为声诺维(注射用六氟化硫微泡,Bracco Suisse SA)。

1.2 方法

1.2.1 试剂制备 单纯长春瑞滨溶液制备:取长春瑞滨注射液 2 mg(法国皮尔法伯制药公司)用对比剂(碘佛醇注射液,江苏恒瑞医药股份有限公司)稀释至总量 4 ml,长春瑞滨浓度为 0.5 mg/ml。

长春瑞滨碘油乳剂制备:长春瑞滨注射液 2 mg(用对比剂稀释至总量 2 ml),按 1:1 比例与碘化油注射液(上海旭东海普药业有限公司)混合均匀制成碘油化疗药乳剂(chemotherapeutic agents lipiodol emulsion, CALE),制备后 CALE 中长春瑞滨含量为 0.5 mg/ml。

1.2.2 超声引导下瘤内注药 瘤兔用戊巴比妥钠(30 mg/kg)静脉麻醉。在超声引导下进行瘤内注药,依据不同分组注射不同药物,空白对照组未注射药物;瘤灶长径≤2 cm 的注射剂量为 1 ml,瘤灶长

径>2 cm 的注射剂量为 2 ml。

1.2.3 肿瘤超声造影及计算超声造影肿瘤坏死率

瘤内注射后第 4 天,经瘤兔耳缘静脉团注对比剂行超声造影(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS),剂量为 0.4 ml/只。分别测量肿瘤灶及坏死灶的长、短径以计算 CEUS 的肿瘤坏死率。CEUS 的肿瘤坏死率=(肿瘤坏死灶长径×肿瘤坏死灶短径)/(肿瘤灶长径×肿瘤灶短径)×100%。

1.2.4 肿瘤病理检查 肿瘤大体病理检查:瘤兔超声造影后,经耳缘静脉注射利多卡因处死,剥离肿瘤组织,测量肿瘤灶及肿瘤坏死灶的长、短径以计算大体肿瘤的坏死率。大体肿瘤坏死率=(肿瘤坏死灶长径×肿瘤坏死灶短径)/(肿瘤灶长径×肿瘤灶短径)×100%。

肿瘤光镜下病理检查:每个瘤灶均于肿瘤中央及边缘区各取一肿瘤组织,4%甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,HE 染色,显微镜下观察肿瘤组织病理变化。

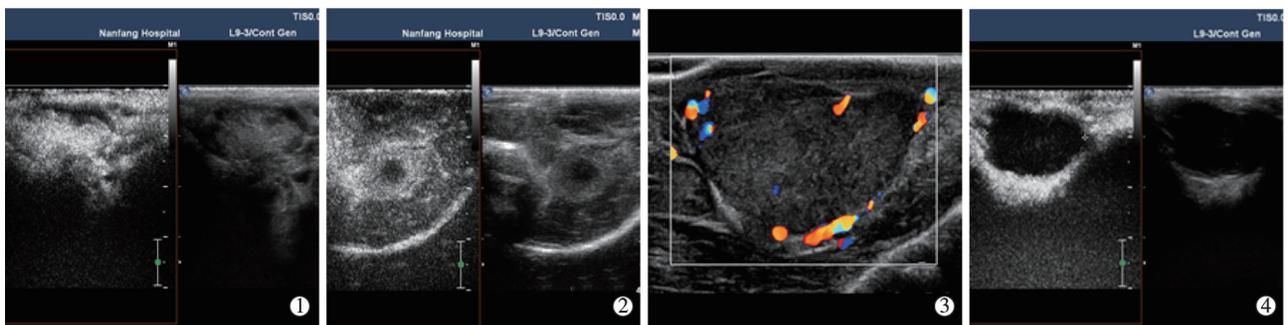
1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计量资料采用均数±标准差表述;采用符号秩检验(Wilcoxon Signed Ranks Test)比较各组 CEUS 及大体病理标本的肿瘤坏死率;单因素方差分析(采用近似 F 检验 Welch 法)比较各组的大体病理肿瘤坏死率及 CEUS 肿瘤坏死率,组间的多重比较采用 Dunnett T3 法;以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 超声造影评价肿瘤坏死程度

经瘤兔耳缘静脉团注对比剂后,对照组肿瘤周边开始增强,继而肿瘤实质绝大部分快速强化,局部区域可见小斑片状无增强;A 组肿瘤组织基本无增强,呈充盈缺损改变;B 组肿瘤组织内可见不同程度的斑片状增强(图 1)。



①空白对照瘤灶超声造影示绝大部增强;②单纯长春瑞滨溶液瘤内注药后超声造影示肿瘤组织部分增强;③④为同一实验兔,治疗前彩色多普勒示肿瘤内无明显坏死,瘤灶周边可见丰富血流信号,长春瑞滨碘油乳剂瘤内注药后超声造影示肿瘤内无明显增强

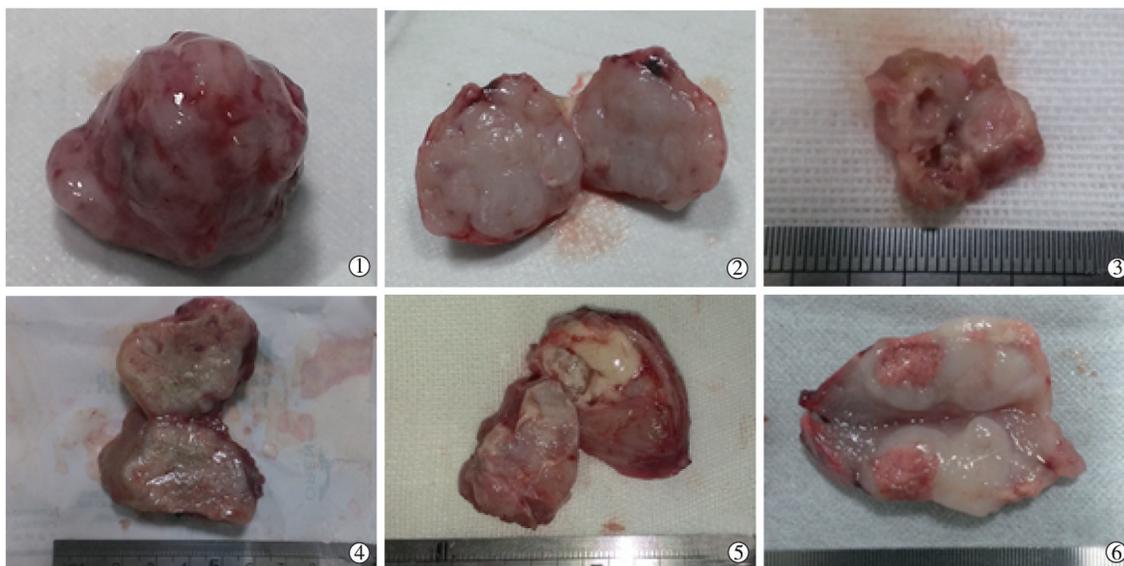
图 1 局部注射不同药物后超声图像

2.2 病理检查

2.2.1 大体病理检查 显示 A 组注射部位的肿瘤组织呈大片状灰褐色或红褐色坏死;亦部分呈黄色液化坏死表现,边界清楚;肿瘤坏死灶的平均长、短径分别为(1.65±0.13) cm、(1.05±0.17) cm。B 组注射部位肿瘤组织可见不同程度的坏死,液化坏死灶范围、比例相对 A 组较小;肿瘤坏死灶的平均长、短径分别为(1.00±0.08) cm、(0.78±0.11) cm。C

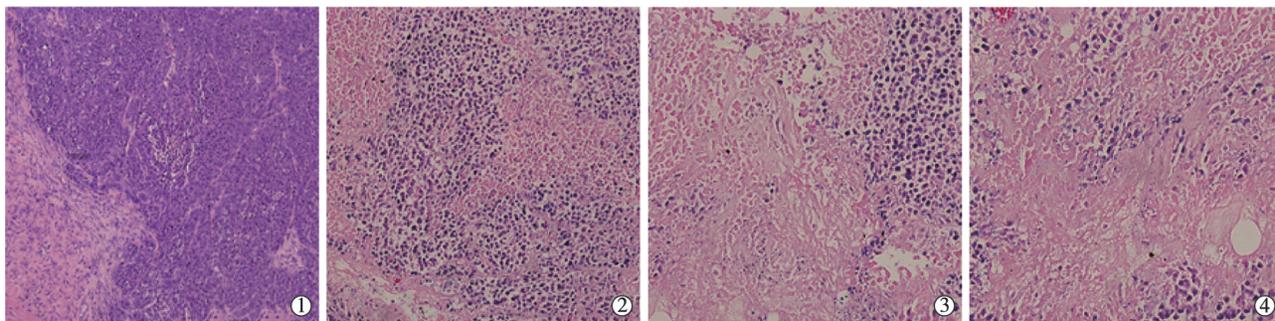
组种植瘤呈鱼肉样,灰红色为主;坏死肿瘤组织呈黄白色点片状改变,未见明显液化坏死灶(图 2)。

2.2.2 显微镜下检查(HE 染色) C 组种植瘤呈巢状结构,异型性明显,核大深染,病理性核分裂象多见,肿瘤内部可见小片状坏死。A 组肿瘤组织大片状坏死,大部分病理切片仅少量见癌细胞残存。B 组肿瘤组织可见不同程度的斑片状坏死,坏死灶周边可见癌细胞残存(图 3)。



①②剥出完整的未注射瘤灶,呈鱼肉样,灰红色为主;③单纯长春瑞滨溶液瘤内注射,瘤体内可见液化坏死囊腔;④单纯长春瑞滨溶液瘤内注射后,部分肿瘤坏死,呈灰褐色样改变;⑤长春瑞滨碘油剂瘤内注射后,可见液化坏死囊腔,其内可见黄色坏死囊液;⑥长春瑞滨碘油剂瘤内注射后,注射部位可见肿瘤组织坏死,呈红褐色样改变

图 2 大体病理改变



①对照组种植瘤呈巢状结构,异型性明显,核大深染(低倍放大);②单纯长春瑞滨溶液注射组,肿瘤组织可见不同程度的片状坏死,坏死灶周边可见癌细胞残存(中倍放大);③④长春瑞滨碘油剂组,肿瘤组织大片状坏死,仅少量见癌细胞残存(中倍放大)

图 3 注射后组织学改变

2.3 肿瘤坏死率比较

A 组与 B 组的 CEUS 及大体病理的肿瘤坏死率均明显高于对照组,A、B、C 组的 CEUS 肿瘤坏死率分别为 64.7%、29.8%、1.7%,A、B、C 组的大体病理肿瘤坏死率分别为 57.6%、28.2%、1.6%。单因素方差分析(采用近似 F 检验 Welch 法)分别比较各组的大体病理肿瘤

坏死率及 CEUS 肿瘤坏死率,差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$);组间的多重比较采用 Dunnett T3 方法,3 组间的 CEUS 及大体肿瘤的坏死率差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$,表 1)。采用符号秩检验(Wilcoxon Signed Ranks Test)比较各组 CEUS 与大体病理标本的肿瘤坏死率差异无统计学意义(均 $P > 0.05$,表 2)。

表 1 3 组间的大体病理及超声造影肿瘤坏死率比较

组间坏死率比较	P 值(大体病理)	P 值(超声造影)
A 组:B 组	0.005	0.001
A 组与 C 组	<0.001	<0.001
B 组与 C 组	0.001	0.003

注:A 组:长春瑞滨碘油乳剂组;B 组:单纯长春瑞滨溶液组;C 组:对照组

表 2 3 组大体病理标本与超声造影的肿瘤坏死率比较

组别	Z 值	P 值
长春瑞滨碘油乳剂组(A 组)	-1.099	0.272
单纯长春瑞滨溶液组(B 组)	-0.227	0.820
对照组(C 组)	-0.535	0.593

3 讨论

经皮瘤内注药为肝癌介入治疗的有效手段之一,可作为 TACE 术后残留病灶的有效补充治疗^[2,5-8]。经皮瘤内注射 CALE 较无水乙醇具有更好的弥散效果,药物可沿肿瘤内的管状结构弥散,具有较好的适形效果从而较彻底地灭活肿瘤^[3,7-8]。经皮瘤内注药可实现瘤体内局部高药物浓度而无明显全身不良反应,可较为安全、有效地消融位于膈顶、胆囊、大血管旁等危险区域病灶^[3,9]。CEUS 能够较准确地明确肿瘤血灌注特征,实时动态观察治疗前后肿瘤血供变化以及治疗后灭活程度。CEUS 在灵敏度、特异度和准确率方面与增强 CT 无明显差异,已作为临床上肿瘤局部消融治疗后的有效评价手段,具有简便、安全,减少辐射等优点^[10-11]。

长春瑞滨为细胞周期特异性抗肿瘤药物,主要通过和微管蛋白结合,使细胞在有丝分裂过程中微管形成障碍,达到抗肿瘤作用。长春瑞滨为非小细胞肺癌、转移性乳腺癌、晚期卵巢癌等的有效治疗药物之一。实验研究显示小剂量长春瑞滨和西妥昔单抗在体内外具有抗血管生成作用,联合用药具有叠加或协同作用^[12-13]。长春瑞滨亦是一种较强的发泡剂,血管外渗漏后常导致严重皮肤软组织溃疡、坏死,经久不愈;严重者甚至可损伤神经肌腱,导致肢体功能障碍^[4,14]。本研究利用长春瑞滨较强的直接破坏及肿瘤抑制特性,探讨其对兔 VX2 瘤模型的肿瘤抑制、破坏作用。本研究结果显示 A 组的 CEUS 及大体病理的肿瘤坏死率(64.7%、57.6%)均更高,与 B 组的肿瘤坏死率(29.8%、28.2%)比较均有显著性差异(均 $P < 0.01$)。分析可能机制为:①VX2 肿瘤组织较为疏松、血供丰富,CALE 可减缓血流对药物的冲刷,减轻不良反应;②CALE 可有效栓塞肿瘤末梢血管、促进肿瘤缺血坏死;③CALE 可起到化疗

药物载体作用,缓慢释放长春瑞滨,延长化疗药物在瘤体内作用时间,达到更佳疗效;④CALE 在超声下表现为强回声,便于术中实时监测药物弥散、沉积情况,及时调整消融部位,以减少并发症及提高疗效。

[参考文献]

[1] Wang JH, Changchien CS, Hu TH, et al. The efficacy of treatment schedules according to Barcelona Clinic Liver Cancer staging for hepatocellular carcinoma: survival analysis of 3892 patients[J]. Eur J Cancer, 2008, 44: 1000-1006.

[2] 李彦豪,何晓峰,陈 勇. 实用临床介入诊疗学图解[M]. 第 3 版,北京:科学出版社,2012: 344-347.

[3] 陈 勇,赵剑波,曾庆乐,等. 经皮穿刺瘤内注入碘油化疗药乳剂治疗原发性肝癌[J]. 中华普通外科杂志, 2009, 24: 992-995.

[4] Moreno de Vega MJ, Dauden E, Abajo P, et al. Skin necrosis from extravasation of vinorelbine[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2002, 16: 488-490.

[5] 黄满平,古善智,李国文,等. 探讨化学消融在肝周转移瘤治疗中的价值[J]. 介入放射学杂志, 2012, 21: 232-234.

[6] 苏 飞,王 欣,陈双倩,等. 经肝动脉化疗栓塞术联合无水乙醇瘤内注射治疗原发性肝癌的 Meta 分析[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31: 1553-1555.

[7] 马硕一,陈 勇,曾庆乐,等. 经皮穿刺瘤内注入化疗药碘油乳剂治疗复发或转移性恶性肿瘤[J]. 广东医学, 2014, 35: 1733-1736.

[8] 秦艳娟,丁 婷. 超声介入瘤内注射无水酒精治疗原发性肝癌近期复发危险因素[J]. 实用肿瘤学杂志, 2015, 29: 216-220.

[9] Mehta HJ, Begnaud A, Penley AM, et al. Treatment of isolated mediastinal and hilar recurrence of lung cancer with bronchoscopic endobronchial ultrasound guided intratumoral injection of chemotherapy with cisplatin[J]. Lung Cancer, 2015, 90: 542-547.

[10] 徐作峰,徐辉雄,吕明德,等. 超声造影评估肝癌消融局部分效价值的研究[J]. 中国超声医学杂志, 2007, 23: 284-286.

[11] 司 芩,钱晓莉,刘绪舜,等. 肝癌血灌注特征与个体化介入治疗相关性的超声造影研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2010, 19: 948-951.

[12] 钱晓萍,刘宝瑞,万 莉,等. 长春瑞滨联合西妥昔单抗抑制血管生成作用的实验研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2010, 32: 253-257.

[13] 万 莉. 小剂量长春瑞滨抗血管生成化疗的实验研究[J]. 重庆医科大学学报, 2012, 37: 434-437.

[14] 朱其聪,罗荣城,张正义,等. 透明质酸酶、地塞米松对长春瑞滨外渗性大鼠皮肤损伤的疗效[J]. 肿瘤研究与临床, 2010, 22: 678-680.

(收稿日期:2015-10-31)

(本文编辑:俞瑞纲)