

• 实验研究 Experimental research •

海藻酸钠微球与碘化油栓塞治疗兔 VX2 肝转移瘤对比研究

史 博, 杨东强, 郝晓光, 平 勇, 李亚洲, 李智岗

【摘要】 目的 对比海藻酸钠(KMG)微球与碘化油栓塞治疗兔 VX2 肝转移瘤模型效果,分析 KMG 微球栓塞治疗肿瘤的安全有效性及可行性。**方法** VX2 肿瘤细胞悬液(浓度 $1 \times 10^7/\text{ml}$)1 ml 接种新西兰大白兔脾脏,制作兔肝转移瘤模型。50 只成功建模的兔模型随机分为 3 组,A 组($n=20$)以 KMG 微球栓塞肝固有动脉,B 组($n=20$)予以碘化油栓塞肝固有动脉,C 组($n=10$)未作栓塞。A、B 组接种瘤株后 15 d 作 DSA 造影及栓塞治疗。分别观察各组模型兔子生存时间(接种 VX2 瘤株至死亡),栓塞前、栓塞后 7 d 及栓塞后 14 d 测定谷氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)值,栓塞后 7 d CT 灌注扫描检测瘤灶边缘血流量(BF)、血容量(BV)及肝动脉分数(HAF);兔模型死亡后取肝脏作苏木精-伊红(HE)染色病理切片,镜下观察肿瘤坏死情况。**结果** A 组 KMG 微球栓塞剂平均用量为 (0.15 ± 0.03) g,B 组碘化油栓塞剂平均用量为 (1.3 ± 0.4) ml,均无栓塞剂反流。栓塞后 7 d、14 d 血清 ALT、AST 值,A、B 两组均较术前明显升高,C 组变化不明显;A、B 两组与 C 组相比,差异均有显著统计学意义($P=0.015, P=0.005$),但 A、B 两组间差异无统计学意义($P=0.423$)。栓塞后 7 d CT 灌注扫描显示,A 组 BV、BF、HAF 值明显低于 B 组($P=0.003, P=0.002, P<0.000 1$)。兔模型生存时间分别为 A 组 (46.28 ± 2.85) d、B 组 (43.92 ± 2.17) d、C 组 (33.44 ± 1.86) d,A、B 两组均明显长于 C 组($P=0.001, P=0.004$)。A、B 两组组织病理 HE 染色显示,癌巢中央可见大片坏死,坏死区中残存瘤细胞核明显固缩。**结论** KMG 微球作为肿瘤栓塞剂安全有效、可行。KMG 微球栓塞治疗兔 VX2 肝转移瘤效果优于碘化油。

【关键词】 海藻酸钠微球;碘化油;兔;VX2 肝转移瘤模型

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2016)-10-0896-04

Embolization treatment with sodium alginate microspheres or with lipiodol for VX2 liver tumor in experimental rabbits: a comparative study SHI Bo, YANG Dong-qiang, HAO Xiao-guang, PING Yong, LI Ya-zhou, LI Zhi-gang. Department of Radiology, Forth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei Province 050011, China

Corresponding author: LI Zhi-gang, E-mail: zhigangli9@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To compare the curative effect of embolization treatment with sodium alginate microspheres or with lipiodol for VX2 liver tumor in experimental rabbits, and to discuss the safety, effectiveness and feasibility of sodium alginate microspheres in embolization therapy for tumors. **Methods** One milliliter of VX2 tumor cell suspension (concentration of $1 \times 10^7/\text{ml}$) was inoculated into the spleen of New Zealand white rabbit to establish the rabbit liver metastasis model. A total of 50 successfully modeled rabbits were randomly divided into three groups. Rabbits in group A ($n=20$) received proper hepatic artery embolization with sodium alginate microspheres; rabbits in group B ($n=20$) received proper hepatic artery embolization with lipiodol; and rabbits in group C ($n=10$) received no embolization management. In group A and group B, DSA examination and embolization therapy were performed at 15 days after VX2 tumor cell inoculation. The survival times (from VX2 tumor cell inoculation to death) of the three groups were recorded; the levels of glutamate aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were determined before

embolization as well as at 7 days and 14 days after embolization; CT perfusion scan was adopted at 7 days after embolization to measure the relevant parameters, including blood flow (BF), blood volume (BV) and hepatic arterial fraction (HAF) at tumor margins. After the rabbits were sacrificed, the liver samples were collected and sent for pathological examination with hematoxylin eosin (HE) staining, the tumor necrosis was microscopically checked. **Results** The average used dosage of sodium alginate microspheres in group A was (0.15 ± 0.03) g, and the average used dosage of lipiodol in group B was (1.3 ± 0.4) ml. No reflux of embolization agent was observed in performing embolization procedure in both groups. At 7 days and 14 days after embolization, ALT and AST levels were significantly increased in group A and B when compared with the preoperative ones, but in group C the levels of ALT and AST showed no obvious changes. Statistically significant differences existed between group A and group C ($P=0.015$) as well as between group B and group C ($P=0.005$), although the difference between group A and group B was not statistically significant ($P=0.423$). CT perfusion scan performed at 7 days after embolization revealed that BV, BF and HAF values of group A were prominently lower than those of group B ($P=0.003$, $P=0.002$, $P<0.0001$ respectively). The mean survival time of group A, B and C was (46.28 ± 2.85) days, (43.92 ± 2.17) days and (33.44 ± 1.86) days respectively. The mean survival time of both group A and group B was strikingly longer than that of group C ($P=0.001$ and $P=0.004$ respectively). Pathologically, HE staining showed that there was massive necrosis in the cancer center, and remarkable cell nuclear condensation of residual tumor cells could be observed within the necrotic area. **Conclusion** Sodium alginate microsphere is a safe, effective and feasible embolization agent for tumors, its curative effect is better than that of lipiodol in treating VX2 liver tumor in experimental rabbits. (J Intervent Radiol, 2016, 25: 896-899)

【Key words】 Sodium alginate microsphere; lipiodol; rabbit; VX2 liver metastasis model

随着介入放射学科发展,经导管动脉化疗栓塞术(TACE)已成为肝转移瘤治疗重要手段之一。碘化油是常用栓塞剂,其安全有效性已得到学界认可,但总不良反应率为17%~61.9%,肿瘤完全坏死率仅为0%~4.8%^[1-2],且会随血流冲击而消失^[3],尤其对一些乏血供肿瘤栓塞治疗效果欠佳。海藻酸钠(KMG)作为末梢型微球栓塞剂,在诸多疾病介入治疗中疗效显著,具有可降解性、良好组织相容性及较好的血管栓塞作用,靶向栓塞定位准确,同时还能克服碘化油易流失弊端^[4-6]。本实验通过KMG微球与碘化油栓塞分别治疗兔VX2肝转移瘤,对比分析KMG微球的安全有效性及可行性。

1 材料与方法

1.1 实验动物和器材

取健康新西兰大白兔50只,雌雄不限,体重3.0~3.5 kg。实验器材包括1%戊巴比妥钠、VX2肿瘤细胞悬液(浓度 $1 \times 10^7/\text{ml}$)、数字减影血管造影机(德国Siemens公司)、多层螺旋CT机(美国通用公司)、KMG微球(150~450 μm ,北京圣医耀科技发展公司)、碘化油注射液(法国Guerbet制药公司)、Stride 2.2 F微导管(日本Asahi公司)。

1.2 模型构建与分组

经兔耳缘静脉注射1%戊巴比妥钠(3 ml/kg),

麻醉完毕兔仰卧位固定,沿左侧肋弓下缘逐层切开腹壁,显露脾脏(有时需翻转胃及肠管)并牵拉出,用1 ml注射器斜向穿入脾脏组织,缓慢注入VX2肿瘤细胞悬液($1 \times 10^7/\text{ml}$)1 ml^[7];用无菌干纱布压迫穿刺点3~5 min,去除压迫后观察脾脏穿刺点无渗出血,还纳脾脏,逐层缝合腹壁。连续7 d于耳缘静脉缓慢注射头孢曲松钠($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)预防感染。

将50只成功建模的兔模型随机分为3组,A组($n=20$)于接种瘤株后15 d作DSA造影,KMG微球栓塞肝固有动脉;B组($n=20$)于接种瘤株后15 d作DSA造影,碘化油栓塞肝固有动脉;C组($n=10$)于接种瘤株后15 d作DSA造影,不予栓塞。

1.3 介入栓塞实验

将兔模型麻醉后仰卧固定,右侧腹股沟处切开皮肤,逐步显露右侧股动脉,直接穿刺股动脉,透视监视下将Stride微导管分别选择至腹主动脉(造影速率2 ml/s,总量4 ml)、腹腔干(造影速率1.5 ml/s,总量4 ml)、脾动脉(造影速率1 ml/s,总量3 ml)及肝固有动脉(造影速率0.5 ml/s,总量2 ml)作造影(采集速率3 帧/s,采集时间20 s);分别采用KMG微球、碘化油栓塞肝固有动脉,肝固有动脉血流停滞且无反流时停止栓塞,拔出导管,结扎右侧股动脉,逐层缝合。

栓塞前、栓塞后7 d及栓塞后14 d,每组实验兔

耳缘静脉取血,测定谷氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)值。栓塞后 7 d, A 组与 B 组实验兔作 CT 灌注扫描(参数 80 kV, 200 mA, 层厚 2.5 mm, 延时 5 s; 对比剂速率 1 ml/s, 总量 4 ml) 12 s, 间隔 1 s, 共扫描 5 次。设定腹主动脉为流入动脉, 门静脉为流入静脉, 分别选取肝内转移瘤灶边缘部位为兴趣区, 通过软件计算血流量(BF)、血容量(BV)及肝动脉分数(HAF)。

观察记录每组实验兔自接种 VX2 瘤株至死亡时间, 死亡后取肝脏转移瘤作苏木精-伊红(HE)染色切片, 镜下观察肿瘤坏死情况。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。各组实验兔生存时间以均数±标准差表示, CT 灌注值及 HAF 差异用非参数秩和检验表示, 术前术后 ALT 和 AST 指标用方差分析, 组间两两比较方差齐性时

用最小显著性差异(LSD)检验, 方差不齐时用 Games-Howell 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

A 组 KMG 微球栓塞剂平均用量为 (0.15 ± 0.03) g, B 组碘化油栓塞剂平均用量为 (1.3 ± 0.4) ml, 均无栓塞剂反流。

各组实验兔静脉血 ALT、AST 值比较见表 1。栓塞后 7 d ALT 值比较, A 组与 C 组间差异有统计学意义($P=0.034$), B 组与 C 组间差异有统计学意义($P=0.012$), A 组与 B 组间差异无统计学意义($P=0.423$); 栓塞后 7 d AST 值比较, A 组与 C 组间差异有统计学意义($P=0.015$), B 组与 C 组差异有统计学意义($P=0.005$), A 组与 B 组间差异无统计学意义($P=0.749$)。

表 1 各组实验兔静脉血 ALT、AST 值比较

组别	ALT 值(U/L)			AST 值(U/L)		
	栓塞前	栓塞后	栓塞后 14 d	栓塞前	栓塞后	栓塞后 14 d
A 组	51.39±10.04	93.36±48.37	89.73±42.43	23.36±2.38	44.27±18.62	43.81±16.67
B 组	52.98±13.67	97.43±45.46	92.84±48.27	26.20±4.77	48.64±19.61	47.29±17.84
C 组	50.86±11.18	49.37±12.90	52.35±11.27	21.89±1.51	22.39±3.47	22.72±4.63

A、B 两组实验兔栓塞后 7 d CT 灌注扫描各参数结果见表 2。

表 2 A、B 组栓塞后 7 d CT 灌注扫描结果

组别	BF (ml/min)	BV (ml/100 g)	HAF
A 组	87.435±12.732	36.472±6.591	0.348±0.147
B 组	102.313±18.293	48.047±8.362	0.465±0.171
P 值	0.003	0.002	<0.000 1

注: BF: 血流量; BV: 血容量; HAF: 肝动脉分数

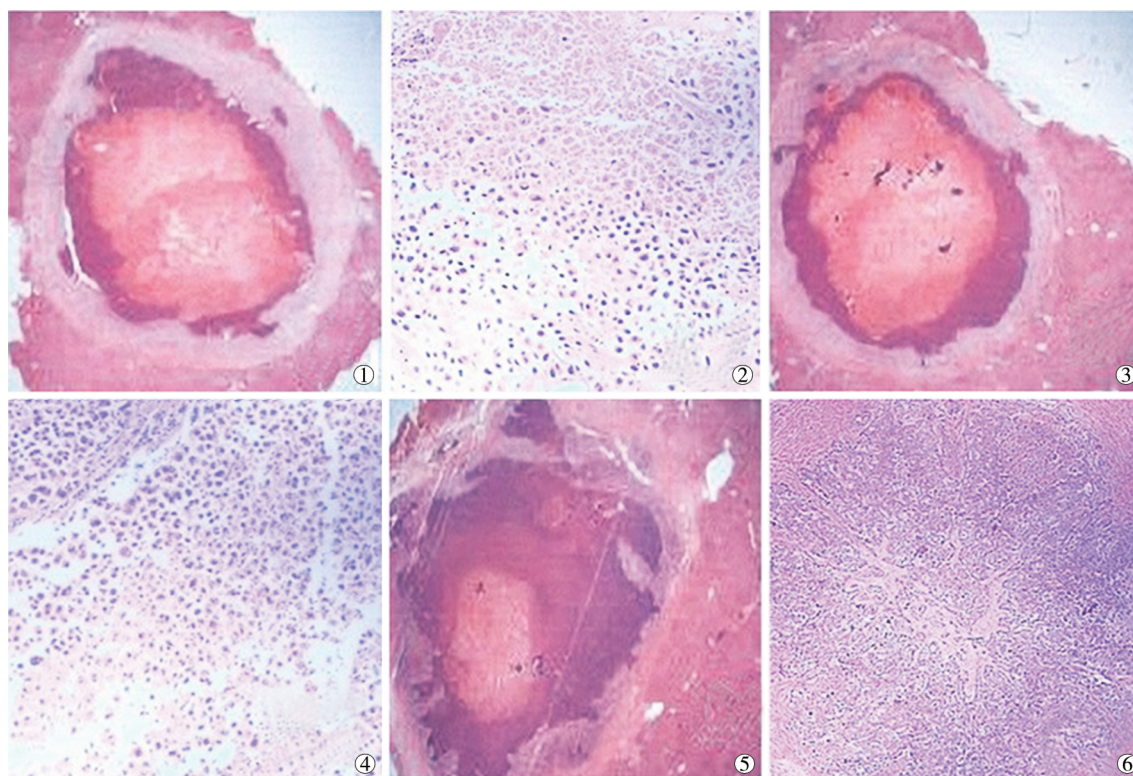
实验兔生存时间分别为 A 组 (46.28 ± 2.85) d, B 组 (43.92 ± 2.17) d, C 组 (33.44 ± 1.86) d; A 组与 B 组差异无统计学意义($P=0.124$), A 组与 C 组差异有统计学意义($P=0.001$), B 组与 C 组差异有统计学意义($P=0.004$)。

栓塞后肝脏转移瘤 HE 染色切片观察显示, A 组低倍镜下瘤灶周围纤维包膜厚, 瘤巢中央可见大片坏死, 高倍镜下大片坏死中残存瘤细胞排列松散, 细胞核明显固缩(图 1①②); B 组低倍镜下瘤灶周围纤维包膜较厚, 瘤巢中央可见大片状坏死区, 高倍镜下大片坏死区中残存瘤细胞呈排列分布, 细胞核明显固缩(图 1③④); C 组低倍镜下瘤灶周围纤维包膜单薄, 瘤巢中央可见小片状坏死, 高倍镜下瘤细胞呈梁索样结构及腺样结构排列, 瘤巢间可

见少许纤维环形成分隔, 纤维间隔内富有血管, 瘤灶周边呈浸润性生长, 细胞核较大呈类圆形或椭圆形, 核/质比值增大, 核仁较为明显, 局部可见病理性核分裂(图 1⑤⑥)。

3 讨论

ALT 是肝脏代谢主要功能指标, 据文献报道只要有 1% 肝细胞坏死, 就可使血清 ALT 增高 1 倍^[8], 世界卫生组织推荐将 ALT 视作肝功能受损最灵敏的检测指标。AST 存在于组织细胞, 中心肌细胞中含量最高, 其次为肝脏肝细胞线粒体内, 血清中含量极少, 肝脏严重坏死或破坏时才引起血清浓度升高^[9], 因此测定其血清含量可协助诊断和观察预后。本实验中 A、B 组实验兔在栓塞治疗后 7 d 血清 ALT、AST 值均明显升高, 且与未栓塞治疗 C 组有显著差异, 说明动脉栓塞在治疗肝脏肿瘤的同时也损伤正常肝细胞; 但栓塞后 14 d A、B 组血清 ALT、AST 值未继续升高, 反而有所下降, 说明动脉栓塞对正常肝细胞的损伤是暂时、可逆的, 经过积极保肝等治疗是可恢复的。A 组与 B 组栓塞治疗后 7 d 血清 ALT、AST 值比较无明显差异, 说明 KMG 微球在栓塞治疗中对肝脏损伤并不比碘化油更严重, 因



①A 组低倍镜下瘤巢中央可见大片坏死;②高倍镜下存瘤细胞排列松散,细胞核明显固缩;③B 组低倍镜下瘤巢中央可见大片状坏死区;④高倍镜下残存瘤细胞呈排列分布,细胞核明显固缩;⑤C 组低倍镜下瘤灶周围纤维包膜单薄,瘤巢中央可见小片状坏死;⑥高倍镜下瘤巢间可见少许纤维环形成分隔,纤维间隔内富有血管,瘤灶周边呈浸润性生长,局部可见病理性核分裂

图 1 栓塞后肝脏转移瘤病理学观察

而对肿瘤栓塞治疗安全可行。

本实验中实验兔平均生存时间在 A 组、B 组均 >40 d, C 组为 33 d 左右, 差异显著, 说明动脉栓塞治疗对肝转移瘤有效, 可明显提高生存时间; A 组与 B 组之间比较无明显差异, 但 A 组实验兔生存时间较长一些, 可能提示 KMG 微球栓塞治疗效果优于碘化油, 但需要扩大实验样本进一步证实。

本实验组织病理学检查结果显示, KMG 微球和碘化油栓塞治疗均能使肿瘤细胞坏死, 但 KMG 微球栓塞后 CT 灌注扫描结果显示肝脏转移瘤组织 BF、BV 及 HAF 值均比碘化油栓塞低, 且有显著差异, 这充分说明 KMG 微球栓塞效果优于碘化油。

本实验结论提示, KMG 微球作为肿瘤栓塞剂安全有效、可行。KMG 微球栓塞治疗兔 VX2 肝转移瘤效果优于碘化油。

[参考文献]

- [1] Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival[J]. Hepatology, 2003, 37: 429-442.
- [2] Camma C, Schepis F, Orlando A, et al. Transarterial chemoembo-

lization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Radiology, 2002, 224: 47-54.

- [3] 贾群玲, 高万勤. 影响原发性肝癌病人 TACE 治疗的预后因素[J]. 河南科技大学学报·医学版, 2009, 27: 158-160.
- [4] 顾其胜, 奚延斐. 海藻酸与临床医学[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2006: 15-20.
- [5] 盛 晔, 施海彬, 刘 圣, 等. 海藻酸钠微球栓塞治疗肝癌细胞癌合并动静脉分流 22 例近期疗效观察[J]. 介入放射学杂志, 2014, 23: 252-256.
- [6] 姚群立, 陆建东, 徐向荣, 等. 不同栓塞剂栓塞子宫动脉治疗子宫肌瘤的中远期随访分析[J]. 介入放射学杂志, 2015, 24: 248-252.
- [7] 史 博, 李智岗, 王永中, 等. 经脾与经肝种植 VX2 瘤株建立兔肝转移瘤模型的影像学比较[J]. 介入放射学杂志, 2014, 23: 236-240.
- [8] Ling R, Li Y, Yao Q, et al. Lymphatic chemotherapy induces apoptosis in lymph node metastases in a rabbit breast carcinoma model[J]. J Drug Target, 2005, 13: 137-142.
- [9] Gervais DA, Arellano RS, Mueller PR. Percutaneous radiofrequency ablation of renal cell carcinoma[J]. Eur Radiol, 2005, 15: 960-967.

(收稿日期: 2016-01-19)

(本文编辑: 边 佑)