

·实验研究 Experimental research·

¹²⁵I 粒子串近程放射治疗兔植入性门静脉主干癌栓实验研究

陶 贇, 李文会, 刘清欣, 罗剑钧, 张 雯, 马婧崱, 杨敏捷, 瞿旭东,
颜志平, 刘凌晓, 王建华

【摘要】 目的 评估 ¹²⁵I 粒子串近程放射治疗兔植入性门静脉主干癌栓(MPVTT)的安全性和有效性。**方法** 对 32 只新西兰大白兔门静脉主干植入 VX₂ 肿瘤细胞株,随机分为治疗组(T 组, $n=16$)和对照组(C 组, $n=16$)。治疗组、对照组兔 MPVTT 中分别植入 ¹²⁵I 粒子串、无放射性粒子串,术后定期监测兔一般情况、体重、实验室检查变化,术后 2 周治疗组、对照组各处死 8 只兔,作病理学检查。余下兔饲养至死亡尸检,对比两组多层螺旋 CT 检查结果、组织病理学检查结果、Ki-67 标记指数、凋亡指数,并以此为基础评估该疗法的有效性。**结果** 近程放射治疗后每个观察时间点均表明,对照组兔体重下降更加明显,两组兔肝功能、血细胞计数差异均无统计学意义($P>0.05$)。治疗组、对照组平均 MPVTT 体积分别为(565.4 ± 220.9) mm³、($2\ 269.9\pm437.0$) mm³,差异有显著统计学意义($P<0.001$);Ki-67 蛋白指数分别为(4.14 ± 1.84)%、(33.82 ± 6.07)%,凋亡指数分别为(6.51 ± 1.92)%、(0.91 ± 0.26)%,差异均有显著统计学意义($P=0.001$);平均生存时间分别为(39.50 ± 2.37) d、(27.38 ± 1.22) d,差异有显著统计学意义($P=0.001$)。**结论** ¹²⁵I 粒子串近程放射治疗兔植入性 MPVTT 安全有效。

【关键词】 近程放射治疗; ¹²⁵I 粒子; VX₂ 肿瘤细胞株; 门静脉主干癌栓

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2017)-08-0727-05

Brachytherapy with ¹²⁵I seed strand for the treatment of implanted main portal vein tumor thrombus: an experimental study in rabbits TAO Yun, LI Wenhui, LIU Qingxin, LUO Jianjun, ZHANG Wen, MA Jingqin, YANG Minjie, QU Xudong, YAN Zhiping, LIU Lingxiao, WANG Jianhua. Department of Interventional Radiology, Affiliated Zhongshan Hospital of Fudan University, Shanghai Institute of Imaging Medicine, Shanghai 200032, China

Corresponding author: ZHANG Wen, E-mail: zhang.wen2@zs-hospital.sh.cn

【Abstract】 Objective To evaluate the safety and efficacy of brachytherapy with ¹²⁵I seed strand in treating implanted main portal vein tumor thrombus (MPVTT) in experimental rabbits. **Methods** VX₂ tumor cell line was implanted in the main portal vein (MPV) of 32 New Zealand white rabbits to establish MPVTT models. The rabbits were randomly divided into the treatment group (group T, $n=16$) and the control group (group C, $n=16$). ¹²⁵I seed strand was implanted in the MPVTT of the rabbits of group T, while blank seed strand was implanted in the MPVTT of the rabbits of group C. After the implantation, the changes in general condition, body weight and laboratory testing results were recorded. Two weeks after the treatment, every 8 rabbits from each group were sacrificed, and the specimens were collected and sent for pathological examination. The remaining rabbits were fed till they died, and then autopsy was conducted. Multi-slice spiral CT manifestations, histopathological findings, Ki-67 labeling index and apoptosis index were used to assess the curative effect, and the results were compared between the two groups. **Results** At each observation time

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2017.08.014

基金项目:上海市卫生计生委科研项目(201540272)、上海市青年科技英才扬帆计划项目(17YF1417500)

作者单位:200032 上海 复旦大学附属中山医院介入科、上海市影像医学研究所(陶 贇、刘清欣、罗剑钧、张 雯、马婧崱、杨敏捷、瞿旭东、颜志平、刘凌晓、王建华);江苏省盐城市第三人民医院介入科(李文会)

通信作者:张 雯 E-mail: zhang.wen2@zs-hospital.sh.cn

point after brachytherapy, the weight loss of the experimental rabbits was more obvious in group C than in group T. No statistically significant differences in liver functions and white blood cell count existed between the two groups ($P>0.05$). The mean MPVTT volume of group T and group C were (565.40 ± 220.90) mm³ and $(2\,269.90\pm 437.00)$ mm³ respectively ($P<0.001$); the Ki-67 labeling indexes were $(4.14\pm 1.84)\%$ and $(33.82\pm 6.07)\%$ respectively ($P=0.001$); the median survival days were (39.50 ± 2.37) d and (27.38 ± 1.22) d respectively ($P=0.001$). **Conclusion** For the treatment of implanted MPVTT in experimental rabbits, brachytherapy with ¹²⁵I seed strand is safe and effective. (J Intervent Radiol, 2017, 26: 727-731)

【Key words】 brachytherapy; ¹²⁵I seed; VX₂ tumor cell line; main portal vein tumor thrombus

原发性肝癌在全球范围内的发病率和死亡率分别位于所有肿瘤的第 7 位和第 4 位, 其中 70%~90% 为肝细胞肝癌(HCC)^[1]。HCC 伴门静脉癌栓形成发生率为 44%~62.2%^[2]。门静脉主干癌栓(MPVTT)形成不仅是肝癌患者预后不良的首位、独立因素, 也是提高晚期 HCC 疗效的重要障碍^[3-4]; 若不加以治疗, 患者生存期仅为 2.7~4 个月^[2]。对于 HCC 伴 MPVTT 患者, 可选择的治疗方法十分有限^[2]。本中心既往研究证实线状植入 ¹²⁵I 粒子近程放射治疗是一种安全、有效的治疗兔植入性下腔静脉癌栓的方法^[5]。本研究旨在评估 ¹²⁵I 粒子串近程放射治疗对兔植入性门静脉 VX₂ 肿瘤的安全性和有效性。

1 材料与方法

取健康新西兰大白兔 35 只, 体重 1.8~2.2 kg, 雌雄不限; 其中 3 只为荷瘤兔, 采用 VX₂ 肿瘤细胞株。

1.1 VX₂ 肿瘤模型和植入性 MPVTT 构建

实验兔肌肉注射氯胺酮和速眠新混合液(4 ml: 1.5 ml, 注射量 0.4 ml/kg)作麻醉。采用 VX₂ 瘤株进行细胞培养, 收集细胞混悬液注射至兔后肢皮下, 建立荷瘤兔动物模型。2~3 周后待肿瘤长至直径约 2.0 cm 时备用。每 2 日、手术前、术后 3 d 分别以 40 000 U/kg 剂量予以兔肌肉注入青霉素钠。

取荷瘤兔瘤体无坏死区, 用眼科剪修剪去除多余筋膜、坏死组织等, 并剪成直径 1.0 mm、长 4.0 mm 长条备用。实验兔麻醉后, 采用开腹荷包缝合法将肿瘤组织条固定于门静脉内, 构建 MPVTT。

1.2 ¹²⁵I 粒子条准备和植入

本实验采用 6711 型 ¹²⁵I 籽源, 是由钛封装的圆柱形近程放射治疗放射源。每个粒子放射性强度为 25.9 MBq, 半衰期为 59.4 d, 细胞组织半值层为 17 mm, 初始剂量为 7 cGy/h。3 枚 ¹²⁵I 粒子或无放射性粒子分别连续排列装入 4 F 透明无菌导管内, 形成粒子串或无放射性粒子串。根据美国医学物理协会提供的公式, 连续排列的 3 枚粒子在植入后 7、14、21 d

累计放射剂量分别为 9.0、16.0、23.0 Gy。

通过多层螺旋 CT(MSCT)确认植入 MPVTT, 32 只实验兔随机分为治疗组(T 组, $n=16$)和对照组(C 组, $n=16$)。治疗组实验兔麻醉后, 以开腹方法将 ¹²⁵I 粒子条顺癌栓长轴用 5~0 缝线固定在 MPVTT 表面; 同样方法, 将无放射性粒子条植入对照组兔 MPVTT。

1.3 MSCT 扫描及观察指标

MPVTT 构建第 2 周, 所有实验兔在麻醉下接受 MSCT 扫描(参数为 120 kV, 150 mA/s, 层厚为 5.0 mm, 重建层厚为 1.0 mm, 重建间隔厚度为 0.625 mm)。通过耳缘静脉注射碘普罗胺对比剂(300 mg I/ml, 剂量 3.0 ml/kg, 注射速度 1 ml/s), 并测量 MPVTT 长度和宽度。MPVTT 体积 = (长度 × 宽度²) / 2。植入粒子串后 1、2、3 周, 所有实验兔均接受 MSCT 扫描。

观察指标: ①粒子串植入后每日观察实验兔一般情况。②血液检查: 粒子串植入术前和术后 1、2、3 周分别收集血液样本, 检测白细胞计数和血小板计数, 血清天冬氨酸转氨酶、白蛋白、总胆红素水平。③病理检查: 粒子串植入 2 周后, 随机从两组中分别抽取 8 只实验兔并通过静脉注射过量氯胺酮处死, 剩余兔饲养至死亡。对所有实验兔进行尸检, 切取并大体观察整个肝脏、门静脉主干、周围十二指肠, 检测肝脏转移灶数目和最大直径。典型样本由 4% 甲醛固定 24 h, 制作成石蜡切片并用显微镜观察。标本作苏木精-伊红(HE)染色, 免疫组化试验检测 Ki-67 蛋白, DNA 断裂的原位末端标记法(TUNEL)检测癌栓标本细胞凋亡。④生存时间: 观察剩余 16 只实验兔生存时间(粒子植入日至死亡)。

1.4 数据分析

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行数据分析。计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间体重、血液生化水平、肿瘤体积、凋亡指数(AI)、Ki-67 蛋白指数用 t 检验和 Wilcoxon 秩和检验, 以 Kaplan-Meier 曲线分析生存时间, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况、实验室检查及生存时间

实验过程未发生术中并发症及围手术期死亡。MPVTT 植入和粒子串植入均获成功。术后 12 h, 实验兔逐渐恢复进食和日常活动。两组兔体重基线差异无统计学意义 ($P>0.05$)。粒子串植入术后第 3 周, 治疗组兔体重明显高于对照组 (表 1)。在不同观察时间点, 两组实验兔肝功能、血细胞计数差异均无统计学意义 ($P>0.05$) (表 2)。治疗组、对照组兔平均生存时间分别为 (39.50 ± 2.37) d、 (27.38 ± 1.22) d, 差异有显著统计学意义 ($P=0.001$) (表 3、图 1)。

表 1 ^{125}I 粒子串植入后第 3 周两组指标比较*

参数	治疗组 (n=16)	对照组 (n=16)	P 值
体重/kg			
植入前	1.92±0.12	1.90±0.15	0.838
植入后	1.72±0.09	1.48±0.14	0.001
MPVTT 体积/ mm^3	565.4±220.9	2 269.9±437.0	<0.001
Ki-67 蛋白指数/%	4.14±1.84	33.82±6.07	0.001
凋亡指数/%	6.51±1.92	0.91±0.26	0.001

注: *t 检验

表 2 ^{125}I 粒子串植入前后两组实验室检查结果对比

参数	TB ($\mu\text{mol/ml}$)	ALT (U/L)	ALB (g/L)	WBC ($\times 10^9$)	PLT ($\times 10^9$)
术前					
治疗组	18.7±7.3	64.0±25.9	27.9±4.9	7.3±4.2	267.6±122.4
对照组	18.4±5.7	67.2±36.6	29.2±3.5	7.1±3.5	279.3±132.5
P 值	0.368	0.491	0.124	0.467	0.258
术后 1 周					
治疗组	17.0±1.2	68.6±10.6	27.9±2.2	6.6±1.4	251.5±50.8
对照组	17.2±1.1	73.3±13.5	26.5±3.1	7.4±1.8	230.9±42.8
P 值	0.601	0.275	0.176	0.170	0.225
术后 2 周					
治疗组	19.6±3.0	88.3±17.6	26.7±3.5	6.8±1.4	258.5±132.3
对照组	21.9±8.6	92.6±24.6	24.4±3.2	7.1±1.8	275.3±127.7
P 值	0.110	0.609	0.069	0.508	0.437
术后 3 周					
治疗组	24.5±7.5	106.5±31.9	23.1±2.3	6.7±1.3	241.1±61.9
对照组	31.3±8.0	124.1±51.8	20.2±4.2	7.5±1.1	227.3±93.4
P 值	0.101	0.427	0.115	0.216	0.733

注: 治疗组 n=16, 对照组 n=16

表 3 两组实验兔生存时间

组别	每只生存时间/d	平均值±标准差
治疗组	29 35 36 38 40 42 45 51	39.50±2.37
对照组	23 24 25 26 28 29 32 32	27.38±1.22
P 值	0.001	

注: 治疗组 n=8, 对照组 n=8

2.2 MSCT 观察

两组实验兔 MPVTT 体积基线差异无统计学意义 ($P>0.05$), MSCT 扫描显示 MPVTT 均逐渐增大, 均在 MPVTT 植入后第 2 周出现肝内转移, 但治疗

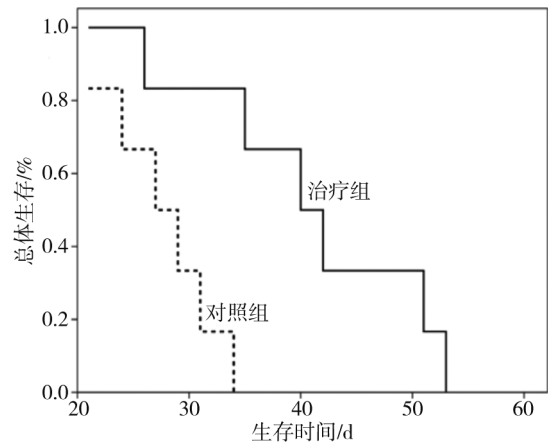


图 1 两组总体生存率比较

组肝内转移数和最大径线均小于对照组, MPVTT 体积也小于对照组, 治疗后第 3 周两组 MPVTT 体积差异有统计学意义 ($P<0.05$) (表 1)。

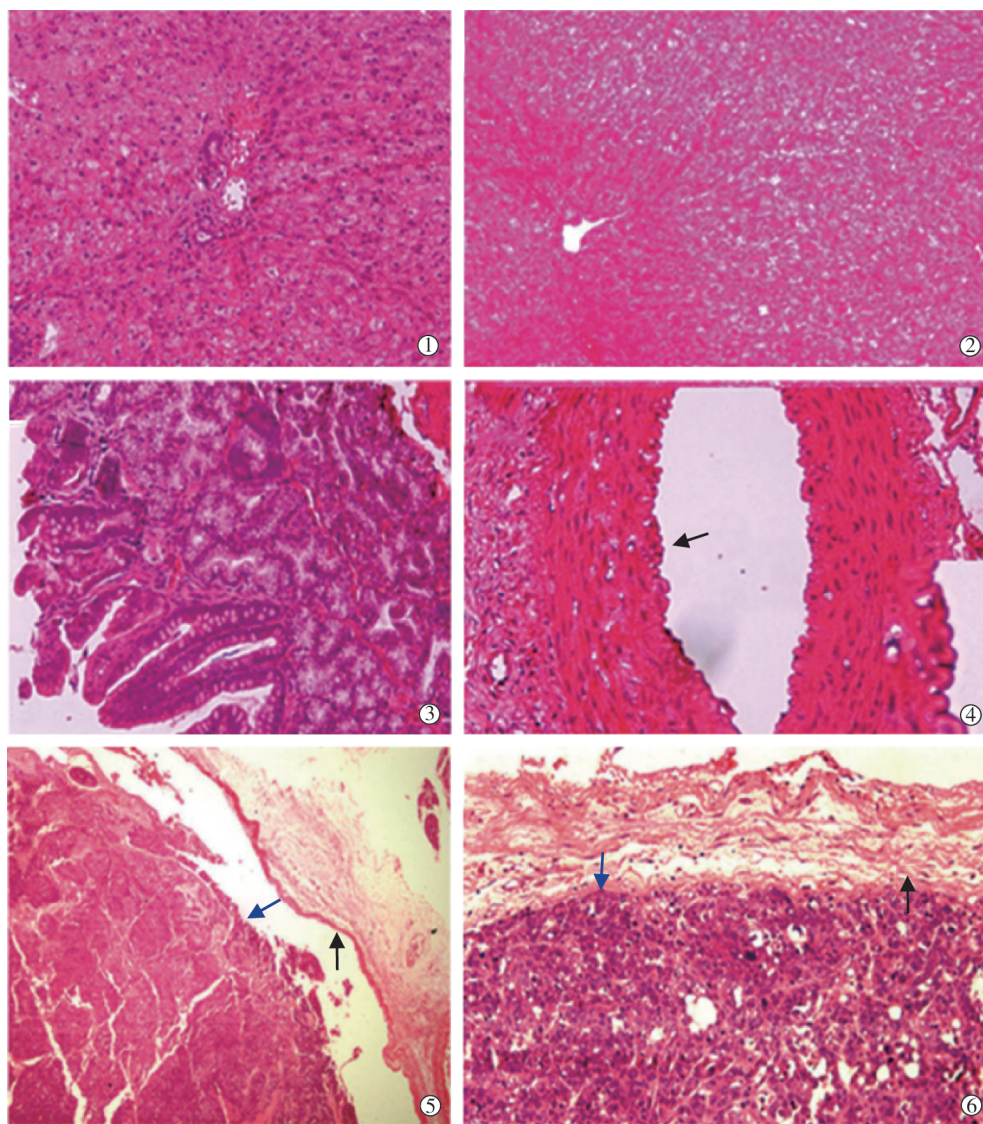
2.3 大体观察及镜下表现

治疗组 MPVTT 组织中可见大块坏死区和疏松排列的肿瘤细胞, 多数肿瘤细胞核皱缩、深染, 门静脉内膜及中膜结构疏松、破坏。 ^{125}I 粒子植入的 <10 mm 肝实质内可见肿胀和坏死细胞, 周围十二指肠及肝动脉内无明显病理改变 (图 2); 对照组 MPVTT 组织内仅可见散在的坏死细胞, 多数肿瘤细胞内可见多倍体核且排列紊乱, 门静脉中膜内可见密集排列的肿瘤细胞。

对照组 Ki-67 蛋白阳性细胞明显多于治疗组, 治疗组 TUNEL 检测阳性细胞明显多于对照组。治疗组、对照组 Ki-67 蛋白标记指数分别为 $(4.14\pm1.84)\%$ 、 $(33.82\pm6.07)\%$, 差异有显著统计学意义 ($P=0.001$) (表 1), 提示 MPVTT 肿瘤细胞增殖能力经 ^{125}I 粒子照射后明显减弱。治疗组 MPVTT 肿瘤细胞阳性染色较对照组明显增加, 对照组仅有极少量细胞核呈棕黄染色。治疗组、对照组肿瘤细胞凋亡率分别为 $(6.51\pm1.92)\%$ 、 $(0.91\pm0.26)\%$, 差异有显著统计学意义 ($P=0.001$) (表 1), 提示 ^{125}I 粒子照射后 MPVTT 肿瘤细胞凋亡增加。

3 讨论

组织间植入 ^{125}I 粒子进行近程放射治疗早就应用于临床治疗 HCC。相比外放射治疗, 近程放射治疗的优点: ①由 ^{125}I 粒子发射的 γ 射线放射距离较短, 可在对肿瘤组织保持高剂量照射的同时减少对周围正常组织的损伤; ② ^{125}I 粒子半衰期较长 (59.4 d), 持续照射可抑制肿瘤细胞复制并诱导肿瘤细胞凋亡^[6]; ③固定在癌栓表面的 ^{125}I 粒子发出的照射可极



①HE 染色示 ^{125}I 粒子串 $<10\text{ mm}$ 肝实质内可见肿胀和坏死细胞;②距 ^{125}I 粒子串 $>10\text{ mm}$ 肝组织结构正常;③周围十二指肠及肝动脉组织无明显病理改变;⑤⑥黑箭头示门静脉内皮细胞,蓝箭头示静脉中癌栓

图 2 干预 2 周后门静脉及周围肝组织病理表现

大地减少呼吸运动影响;④低剂量照射可通过改变肿瘤细胞免疫表型降低转移发生率^[7-8]。因此, ^{125}I 粒子已广泛应用于前列腺、肺部、头颈部等恶性肿瘤近距离治疗^[9-11]。针对 ^{125}I 粒子近程治疗肝癌的动物实验及临床研究,业已广泛开展。

由于门静脉解剖位置特殊,难以直接将 ^{125}I 粒子植入门静脉癌栓内,而癌栓治疗通常需要植入多枚粒子,多次穿刺植入粒子不仅会提高出血发生率,还容易使粒子移位^[4]。方主亭等^[12]报道将治疗所需 ^{125}I 粒子连续封装于 4 F 透明导管中形成一粒子串,再植入组织内,减少了穿刺次数和粒子移位造成的剂量分布不均,然后用外科缝线将粒子串固定在接种的门静脉主干肿瘤表面。该方法可避免直接穿刺门静脉主干肿瘤组织相关严重并发症发生,且

^{125}I 粒子串能保持植入位置。

Ling^[8]研究表明,肿瘤细胞倍增时间为 5 d 时植入性 ^{125}I 粒子有效时间为 120 d,而倍增时间为 30 d 时有效时间则为 275 d。相对于 VX_2 肿瘤倍增时间为 34.5 d^[13], ^{125}I 粒子更加适合用于倍增时间较长的肿瘤。这也使得 ^{125}I 粒子治疗的生存获益最大化受到制约,本中心下一个实验计划将评估高剂量率近程放射治疗植入性门静脉 VX_2 肿瘤的有效性。人类 HCC 倍增时间为 176 d,因此 ^{125}I 粒子适合用于治疗 HCC。本研究并未采用其它方法治疗癌栓,旨在评估连续线状排列的 ^{125}I 粒子条治疗 MPVTT 的效果,如果在其它治疗基础上实验,可能会使治疗稳定性和效果产生一定差异。本研究并未采用支架缓解门静脉阻塞,因为无合适支架可用于兔门静脉植入,

故仅将 ^{125}I 粒子条缝合在门静脉外壁上,未插入门静脉。这也影响了两组总体生存率。

本实验显示 ^{125}I 粒子植入后 7、14、21 d,治疗组所有实验兔均存活,实验室检查结果表明两组间差异无明显统计学意义;周围十二指肠未发现异常病理学改变,表明连续排列 ^{125}I 粒子串近程放射治疗对兔植入性 MPVTT 具安全性。近程放射治疗 14 d 后,对照组实验兔体重下降比治疗组明显,量化观察对照组肝内转移程度及 MPVTT 体积明显大于治疗组;根据镜检结果,对照组中发现更多 Ki-67 阳性细胞,治疗组中发现更多凋亡小体;治疗组兔生存期长于对照组。这些均表明, ^{125}I 粒子串近程放射治疗可降低肝内转移发生率、抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡,并提高植入性 MPVTT 兔总体生存率。对于有门静脉癌栓的晚期 HCC 患者,其门静脉阻塞症状可通过植入金属支架缓解, ^{125}I 粒子串放射治疗可抑制癌栓生长,肝内原发灶可通过经导管动脉化疗栓塞、射频消融或微波消融治疗,均取得了可喜的效果^[12,14-15]。本中心将进一步评估介入近程放射治疗作为额外癌栓治疗的可行性。

本研究结论认为, ^{125}I 粒子串近程放射治疗兔植入性 MPVTT 安全有效,可抑制肿瘤细胞增殖,促进其凋亡,抑制肝内播散及全身转移,延长生存时间。

[参考文献]

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61: 69-90.
- [2] Zhang ZM, Lai EC, Zhang C, et al. The strategies for treating primary hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus [J]. Int J Surg, 2015, 20: 8-16.
- [3] Cabibbo G, Enea M, Attanasio M, et al. A meta-analysis of survival rates of untreated patients in randomized clinical trials of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2010, 51: 1274-1283.
- [4] 刘清欣, 颜志平, 李 说, 等. ^{125}I 粒子条联合门静脉支架及化疗栓塞治疗原发性肝癌合并门静脉癌栓[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18: 593-595.
- [5] Zhang W, Yan Z, Luo J, et al. Iodine-125 seeds strand for treatment of tumor thrombus in inferior vena cava: an experimental study in a rabbit model[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2013, 36: 1371-1382.
- [6] Zhang FJ, Li CX, Jiao DC, et al. CT guided 125 Iodine seed implantation for portal vein tumor thrombus in primary hepatocellular carcinoma[J]. Chin Med J, 2008, 121: 2410-2414.
- [7] Dawson LA, Ten Haken RK, Lawrence TS. Partial irradiation of the liver[J]. Semin Radiat Oncol, 2001, 11: 240-246.
- [8] Ling CC. Permanent implants using Au-198, Pd-103 and I-125: radiobiological considerations based on the linear quadratic model[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1992, 23: 81-87.
- [9] Ragde H, Blasko JC, Grimm PD, et al. Brachytherapy for clinically localized prostate cancer: results at 7- and 8-year follow-up[J]. Semin Surg Oncol, 1997, 13: 438-443.
- [10] 贺克武, 高 斌, 秦汉林, 等. ^{125}I 粒子组织间植入联合支气管动脉灌注化疗治疗肺癌的疗效观察[J]. 介入放射学杂志, 2012, 21: 554-558.
- [11] Zhang J, Zhang JG, Song TL, et al. ^{125}I seed implant brachytherapy-assisted surgery with preservation of the facial nerve for treatment of malignant parotid gland tumors[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2008, 37: 515-520.
- [12] 方主亭, 颜志平, 罗剑钧, 等. TACE 联合与未联合腔内 ^{125}I 粒子条置入治疗肝癌伴广泛性门静脉癌栓[J]. 中华介入放射学电子杂志, 2013, 1: 8-12.
- [13] 刘险峰, 任乐荣, 苏广彦, 等. 兔 VX2 肿瘤细胞系的建立及其生物学特性的观察[J]. 中华病理学杂志, 2005, 34: 661-663.
- [14] Luo J, Yan Z, Liu Q, et al. Endovascular placement of iodine-125 seed strand and stent combined with chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in main portal vein[J]. J Vasc Interv Radiol, 2011, 22: 479-489.
- [15] Chuan-Xing L, Xu H, Bao-Shan H, et al. Efficacy of therapy for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus: chemoembolization and stent combined with iodine-125 seed[J]. Cancer Biol Ther, 2011, 12: 865-871.

(收稿日期:2016-12-11)

(本文编辑:边 佶)