

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00362

可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球介入治疗兔肝癌模型的研究

王新霞¹,程明和²,钟延强³,赵亮¹,徐爱民⁴,张国庆^{1*}

1. 第二军医大学东方肝胆外科医院药材科,上海 200438
2. 第二军医大学药学院药理学教研室,上海 200433
3. 第二军医大学药学院药剂学教研室,上海 200433
4. 第二军医大学东方肝胆外科医院微创二科,上海 200438

[摘要] **目的** 研究可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球介入治疗新西兰兔肝癌模型的疗效。**方法** 将肝肿瘤模型兔随机分为3组,分离右侧后肢的股动脉,经股动脉插入微导管至肝动脉,经导管将各组药物分别注入肝脏肿瘤组织周围动脉;空白组不给予任何药物治疗;药物对照组给予氟尿嘧啶注射液和碘化油注射液;实验组给予自制可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球。定期影像学评价,观察肿瘤生长和药物栓塞情况。**结果** 发现可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球能有效栓塞在肝肿瘤组织周围,肿瘤细胞明显凋亡,具显影效果,治疗作用更持久。**结论** 可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球具有一定的缓释作用,显影效果较好,有广阔的临床应用前景。

[关键词] 肝肿瘤;治疗性栓塞;氟尿嘧啶;可显影;微球体;碘化油

[中图分类号] R 735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)04-0362-04

Developable iodized oil-fluorouracil polylactic acid microspheres for interventional treatment of rabbit liver cancer model

WANG Xin-xia¹, CHENG Ming-he², ZHONG Yan-qiang³, ZHAO Liang¹, XU Ai-min⁴, ZHANG Guo-qing^{1*}

1. Department of Pharmacy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China
2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
3. Department of Pharmacy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
4. Minimally Invasive Therapy Department II, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

[Abstract] **Objective** To investigate the efficacy of developable iodized oil-fluorouracil polylactic acid microspheres for treatment of New Zealand rabbit liver cancer model. **Methods** The model rabbits were randomly divided into three groups. The femoral arteries of the right hind limbs were separated, a microcatheter was inserted through the femoral artery to the hepatic artery via a catheter, and the corresponding drugs were injected to the peripheral arteries around the hepatic tumor tissue. The blank control group was not given any medication; the drug control group was given fluorouracil injection and developable iodized oil injection; and the experimental group was given self-made iodized oil-fluorouracil polylactic acid microspheres. Regular imaging was used to observe tumor growth and drug embolism status. **Results** Developable iodized oil-fluorouracil polylactic acid microspheres effectively achieved embolization around the tumor tissues, resulting in notable tumor cell apoptosis, and the effects were developable and durable. **Conclusion** Developable iodized oil-fluorouracil polylactic acid microspheres have sustained-release property and can be better developed, showing a promising clinical application future.

[Key words] liver neoplasms; therapeutic embolization; fluorouracil; visualized; microspheres; iodized oil

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(4):362-365]

氟尿嘧啶是一种常用的肝癌治疗药物,但对癌细胞和正常细胞的选择性较差^[1],半衰期短,并有较

[收稿日期] 2013-09-26 **[接受日期]** 2014-01-21

[基金项目] 上海市卫生局科研项目(20114062). Supported by Research Project of Shanghai Municipal Health Bureau(20114062).

[作者简介] 王新霞, 硕士, 主管药师. E-mail: wangxinxia@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81875571, E-mail: guoqing_zhang91@126.com

强的毒副作用,可引起骨髓抑制、消化道反应等,限制了其临床使用。微球有栓塞肿瘤周围血管和缓释药物达到局部抗癌的双重功效^[2],本研究用聚乳酸为囊材包裹氟尿嘧啶,制成微球缓释制剂,可减小药物的细胞毒性,并借助聚乳酸微球的缓释作用延长药物作用时间。我国是肝癌的高发区,但肝癌的手术切除率仅为20%,而结合临床肝癌的介入疗法^[3],通过导管注入微球栓塞肿瘤周围的肝动脉,可阻断肿瘤血供,提高药物的靶向性。在微球中同时包裹碘化油作为造影剂,便于跟踪后期的栓塞效果。

本实验以新西兰肝肿瘤兔为动物模型,在数字减影血管造影(Digital subtraction angiography, DSA)监测下经股动脉插入微导管行至肝动脉注射微球^[4-5],使可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球机械栓塞肝动脉,定期在CT下检查肿瘤生长情况,观察微球的栓塞效果,并结合病理切片评价治疗效果,从而为可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球制剂的临床使用提供依据。

1 材料

4排螺旋CT机(GE,美国);数码相机(SONY,日本);显微镜(Nikon Eclipse Boi,日本);氟尿嘧啶(南通精华制药有限公司,批号:FLV070601);聚乙烯醇(PVA,北京化工厂);二氯甲烷(上海凌峰化学试剂有限公司);碘化油注射液(法国GUERBET公司,批号:06LU011A);碘海醇(上海奈可明公司);氟尿嘧啶注射液(上海旭东海普药业公司,批号:071107);自制可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球^[6]。

洁净级新西兰兔,上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,生产许可证号:SCXK(沪)2007-0005,雄性,体质量(2.81 ± 0.25) kg。

2 方法和结果

2.1 动物模型的建立及模型评价 将肿瘤细胞(第二军医大学长征医院放射科提供)种植在健康新西兰兔肝脏上,生长3周后,CT评价肿瘤生长正常,将新西兰肝肿瘤兔上肝肿瘤组织取出,切成2~3 mm的小块状组织,移植到健康新西兰兔的两叶肝上,缝合,自然生长2周后进行CT扫描,观察模型兔的肿

瘤生长大小。

2.2 给药途径及给药方案 分离模型兔右侧后肢的股动脉,经股动脉插入微导管(图1),在DSA的监测下微导管沿腹主动脉行至肝动脉,经导管将各组药物分别注入肝脏肿瘤组织周围动脉(图2)。

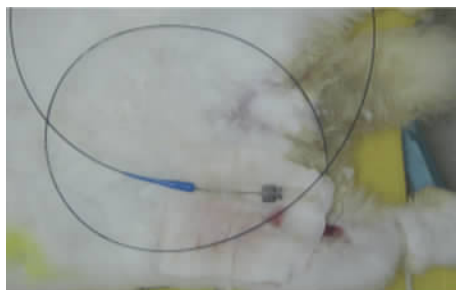


图1 兔微导管给药模型

Fig 1 Drug micro-catheter administration model in rabbits



图2 DSA检测下兔肝动脉图片

Fig 2 DSA detection of rabbit hepatic artery

肿瘤模型兔分组如下:(1)空白对照组:6只,不予任何药物治疗。(2)药物对照组:6只,在DSA观测下经导管将氟尿嘧啶3 mL(相当于氟尿嘧啶0.075 g)和碘化油1 mL注入肝脏肿瘤组织周围的动脉血管。(3)实验组:6只,在DSA观测下经导管将自制微球0.04 g(相当于氟尿嘧啶0.003 2 g)注入肝脏肿瘤组织周围的动脉血管。

2.3 CT扫描评价 各组肿瘤模型兔介入治疗术后1周进行CT扫描评价,每周1次,连续观察5周,评价肿瘤生长情况、碘化油沉积情况,CT扫描结果见图3。

CT评价结果表明,空白对照组兔肝脏肿瘤组织随时间延长,肿瘤组织快速增长,逐渐变大。药物对照组给予氟尿嘧啶和碘化油治疗后,CT扫描可见肝

脏肿瘤组织周围有明显的碘化油沉积,但随时间增加,碘化油沉积由连续、均匀变为不连续且减少。实验组给予自制微球治疗后,CT扫描可见肿瘤组织周围有碘化油沉积,且持续时间较长,随时间增加,碘化油沉积无明显减少,说明自制微球有一定的显影效果,且随时间推移,微球仍栓塞在肿瘤组织周围,

不容易随血液流失。

2.4 病理学评价 经介入治疗的模型兔和空白对照组模型兔 CT 观察满 5 周,处死,取出肝脏及肿瘤组织做病理切片,并进行 H-E 染色和 TUNEL 染色,显微镜下观察肿瘤组织的坏死情况和肿瘤细胞的凋亡情况。病理评价结果见图 4。

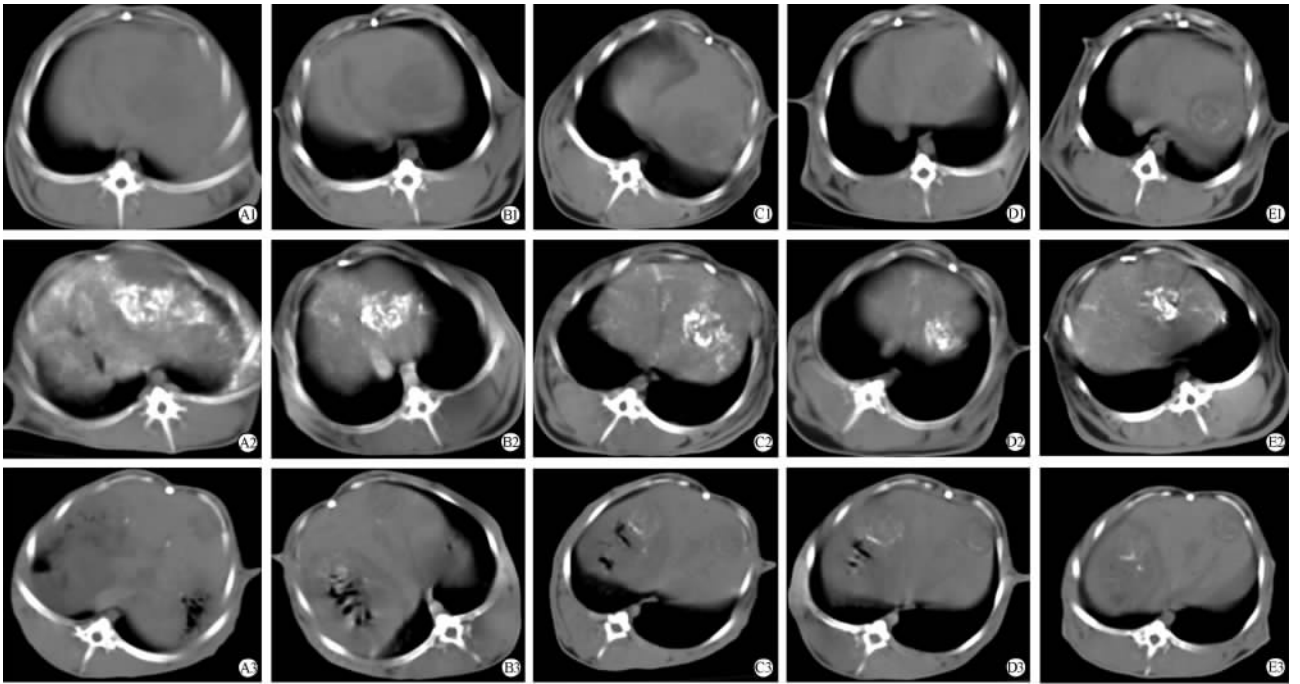


图 3 空白对照组(A1~E1)、药物对照组(A2~E2)、实验组(A3~E3)肿瘤兔 CT 扫描结果

Fig 3 CT findings of tumors in the blank control group, drug control group and experimental group

A1,B1,C1,D1,E1: 1-5 weeks of blank control group; A2,B2,C2,D2,E2: 1-5 weeks of drug control group; A3,B3,C3,D3,E3: 1-5 weeks of experimental group

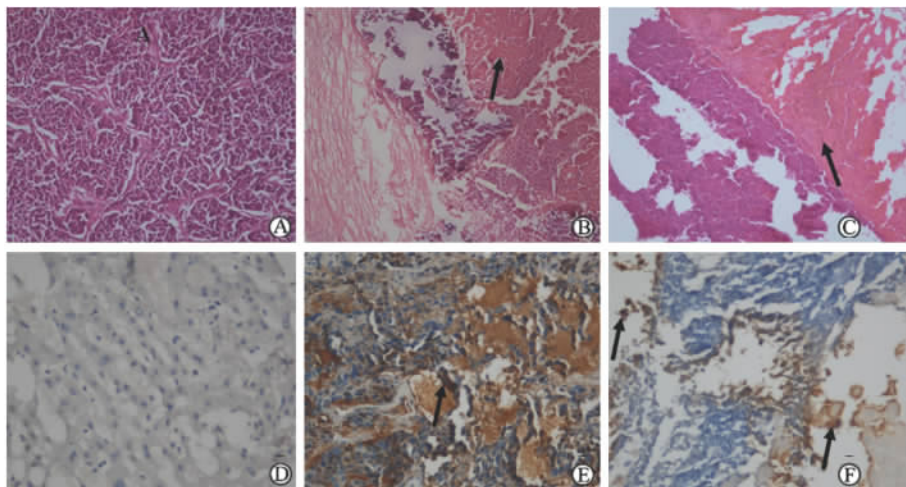


图 4 治疗效果病理切片图

Fig 4 Pathological findings of the therapeutic effects

A, B, C: H-E staining of the blank group, drug control group, and experimental group, respectively; D, E, F: TUNEL staining of the blank group, drug control group, and experimental group, respectively. In B, C the arrows showed part of the necrotic tumor tissues; In E, F the arrows showed apoptosis of tumor cells. Original magnification: $\times 200$

空白对照组的 H-E 染色和 TUNEL 染色病理切片图中,细胞均为活性细胞,无肿瘤组织坏死,无肿瘤细胞凋亡(图 4A、4D);药物对照组的 H-E 染色和 TUNEL 染色病理切片图中,大片肿瘤组织坏死(图 4B),可见凋亡细胞(图 4E);实验组的 H-E 染色和 TUNEL 染色病理切片图中,大片肿瘤组织坏死(图 4C),可见凋亡细胞,见凋亡细胞数量优于药物对照组(图 4F)。

3 讨论

本研究建立了药效学评价的兔肝肿瘤动物模型,并在 DSA 观测下对模型兔介入栓塞治疗,结合临床确立了动物模型给药方案,采用影像学 and 病理学方法评价治疗结果,发现实验组肿瘤组织大面积坏死,凋亡细胞数量优于药物对照组,空白对照组几乎无肿瘤组织坏死和肿瘤细胞凋亡,病理学与影像学评价结果基本一致。实验观察完成后,将 3 组实验动物处死,解剖发现空白对照组模型兔肿瘤已在腹腔大面积转移,腹水、肝硬化等严重;药物对照组肿瘤不同程度转移,有肝损伤和肝硬化现象;实验组肿瘤转移较少,有局部肝硬化。有文献报道,碘油可栓塞肿瘤组织的主要供血血管^[7],阻断其血供,且碘油沉积越浓密、均匀,肿瘤坏死率越高^[8]。本实验中将可显影碘化油和氟尿嘧啶用聚乳酸包裹,制成可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球,在治疗的同时便于对治疗效果跟踪观察,进而了解微球的栓塞部位,判断栓塞效果;同时微球的物理栓塞作用和缓释效果,还可延长药物的治疗周期、降低药物的毒副作用,提高患者的适应性和治疗依从性。实验结果表明,本实验自制的可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球,具有良好的肝癌治疗作用和显影效果,且作用时

间更长,有利于临床使用,通过影像学可以实时了解肿瘤生长情况,从而评价治疗效果。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 刘永辉,李公春,崔娇娇. 5-氟尿嘧啶类抗肿瘤药物的研究进展[J]. 河北化工,2008,3:9-11.
- [2] Fan J, Ten G J, He S C, Guo J H, Yang D P, Wang G Y. Arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 1998,4:33-37.
- [3] Ramsey D E, Kernagis L Y, Soulen M C, Geschwind J F. Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma[J]. J Vasc Interv Radiol, 2002,13(9 Pt 2):S211-S221.
- [4] 赵冬梅,韩福刚. 肝细胞癌 TACE 术后疗效的影像学评价[J]. 中国医学创新,2011,8:186-188.
- [5] 万智勇,张磊,卢子瑄,张敏洁,王彬,段友容. 温敏药物缓释栓塞剂行兔肝动脉栓塞的实验研究[J]. 介入放射学杂志,2011,20:559-562.
- [6] 王新霞,张丽,周闰臣,张国庆,鲁莹,钟延强. 可显影碘化油-氟尿嘧啶聚乳酸微球的研制[J]. 第二军医大学学报,2010,31:1100-1103.
Wang X X, Zhang L, Zhou G C, Zhang G Q, Lu Y, Zhong Y Q. Preparation of visualized iodized oil-5-fluorouracil loaded polylactic acid microspheres[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2010,31:1100-1103.
- [7] 袁亮,李玉伟. 碘油乳剂经动脉栓塞治疗肝细胞癌的研究进展[J]. 中国介入放射学,2009,3:67-69.
- [8] Poyanli A, Rozane I, Acuna B, Sencer S. Palliative treatment of hepatocellular carcinoma by chemoembolization [J]. Acta Radiol, 2001,42:602-607.

[本文编辑] 尹茶