

1% 聚桂醇在成人血管畸形治疗中的应用研究

胡超 朱飞 宁金龙 汪垠 王辉 桑鹏飞 王敏

摘要 目的 探讨 1% 聚桂醇瘤体内注射治疗成人血管畸形的效果及作用机制。方法 将 28 例成人血管畸形病例分成 4 组,术前注射治疗的时间分别为对照组、30 min、48 h、2 周,选择 1% 聚桂醇注射治疗,采用组织化学法和免疫组织化学法观察收集到的瘤体标本,并测定血管内皮生长因子(VEGF)和 CD34 的含量。结果 组织化学法光镜下未见未用药组与各用药组之间组织结构无显著的差别,免疫组织化学法见 VEGF、CD34 在未用药组中表达呈强阳性,且表达的程度随着聚桂醇治疗时间的延长呈下降趋势,用药组各个时间段比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 对于成人血管畸形的治疗,1% 聚桂醇瘤体内注射是一种安全有效的治疗方法,推测其作用机制可能是通过下调 VEGF、CD34 的表

达破坏内皮细胞,栓塞病变血管,从而达到治疗效果。

关键词 血管畸形; 聚桂醇; 硬化治疗; 血管内皮细胞生长因子; 平均微血管密度

中图分类号 R 543; R 969.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)05-0686-05

血管畸形是一种良性的先天性血管病变,人群发病率约为 1.5%^[1],其发病机制尚未完全阐明。已证实血管畸形的发生发展可能与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达有关,其有促进内皮细胞增生、转移、增加血管通透性和血管生成的作用。VEGF 的表达与平均微血管密度(microvessel density, MVD)呈正相关,MVD 作为衡量血管生成程度的一种重要指标,而 CD34 是最常用的检测和评估 MVD 的指标,因此 VEGF 和 CD34 可作为评价血管内皮细胞增殖的良好指标。该研究通过采集 1% 聚桂醇注射治疗过程中的血管畸形瘤体组织标本,测定不同治疗时间段标本中 VEGF 和 MVD 的表达,探讨 1% 聚桂醇的可能治疗

2015-03-13 接收

基金项目:安徽省高等学校省级自然科学基金项目(编号:KJ2014A108);安徽省高等教育振兴计划项目

作者单位:安徽医科大学第一附属医院整形外科,合肥 230022

作者简介:胡超,男,硕士研究生;

朱飞,男,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: hfzfx@163.com

Lower tube voltage, low concentration of iodine contrast agent (double) application in head and neck CTA examination

Wang Yuping, Wang Longsheng, Zheng Suisheng, et al

(Dept of Radiation, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To investigate the low tube voltage, low concentrations of iodine contrast agent (double low) application results in the head-neck CT angiography (CTA) examination. **Methods** Sixty volunteers, selected as research objects to receive CTA, were randomly divided into a double-low test group and a conventional test group, with 30 volunteers in each group. For the double-low test group, the head-neck CTA examination was conducted by means of lower tube voltage and lower-concentration iodinated contrast agent, while the conventional test group was given conventional CTA examination. After the examination, the two groups were mutually compared in terms of image quality, CT value level, radiation dose, and so on. **Results** Two different groups interested in the low zone (ROI) and conventional CT values had no differences ($P > 0.05$); double low set in the right middle cerebral artery, the left middle cerebral artery in image quality score was slightly lower than that of the conventional group ($P < 0.05$); ROI in the other two groups of image quality scores and subjective image quality scores, there was no significant difference ($P > 0.05$); SSDE double low group, DLP values were significantly lower than that of the conventional group ($P < 0.05$). **Conclusion** The use of lower tube voltage and lower-concentration contrast agent for the head-neck CTA examination can, without affecting image quality, reduce the dose of contrast agent and that of radiation, thus being worthy of application and promotion.

Key words head and neck CTA; low concentration of iodine contrast agent; low voltage; radiation dose

机制及时间间隔,为临床上应用聚桂醇治疗血管畸形提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取安徽医科大学第一附属医院整形外科 2012 年 1 月~2013 年 11 月接受聚桂醇注射治疗的成人血管畸形组织标本 28 例,年龄 16~60 岁,中位年龄 42 岁,发生部位为额颞部 2 例,唇部、颌下区 10 例,口腔 5 例,耳部 2 例,躯干 5 例,四肢 4 例,其中有 6 例患者曾行手术切除或冰冻治疗,术后瘤体复发,其余病例为初诊。瘤体大小为 1.0 cm × 1.5 cm × 1.5 cm ~ 12.0 cm × 10.0 cm × 8.0 cm。根据病史、临床体征、彩超、CT、CTA 和(或)MRI 检查和穿刺瘤体检查得以诊断。血管畸形患者共 28 例,分为 4 组,每组 7 例,A 组作为对照组;B、C、D 组分别为术前 30 min、48 h、2 周瘤体内注射 1% 聚桂醇。

1.2 主要试剂 1% 聚桂醇注射液(陕西天宇制药有限公司);鼠抗人 VEGF 单克隆抗体(福州迈新公司);S-P 通用型试剂盒、浓缩型 DAB 试剂盒、防脱片剂多聚赖氨酸、柠檬酸组织抗原修复液粉剂及 PBS 粉剂、鼠抗人 CD34 单克隆抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司);苏木精-伊红复染剂、中性树胶封固剂、蒸馏水、无水乙醇、95% 乙醇溶液、浓盐酸、浓硫酸等试剂(安徽医科大学第一附属医院病理科提供)。

1.3 主要仪器 病理切片烘仪 QP-BI 型(安徽电子科技研究所);Lecica RM 型原装石蜡切片机、包埋机(德国 Nussloch 公司);OLYMPUS 光学显微镜、水浴锅、常温冰箱(安徽医科大学第一附属医院病理科提供)。

1.4 治疗方法 术前行血常规、凝血功能、胸片、CT、CTA(或 MRI)检查,明确患者的术前情况及瘤体部位、大小,制定个体化的治疗方案。

硬化注射治疗方法:病灶及周围区域常规消毒,用 5 ml 注射器抽吸 1.0~5.0 ml 的 1% 聚桂醇注射液,从正常的皮肤沿瘤体切线方向刺入,折转 90° 刺入瘤体内,回抽以确认针尖位于瘤体内,不同层面放射状推注,也可在瘤体周边选取 2~3 个穿刺点缓慢推注药液。对于瘤体体积较大的患者,可在药液抽取时混合少量空气(不超过药量的 1/5),然后充分摇晃注射器至药液内产生大量泡沫^[2]。用药量据瘤体的部位和大小而定,一般来说,注射量为瘤体的表面积值的一半,个体 1 次最大剂量不要超过 10

ml。

1.5 检测指标与方法

1.5.1 临床疗效评价 治愈:经治疗后,瘤体完全消失,外观及功能恢复正常,经随访无复发。有效:瘤体明显缩小(体位移动试验延长),外观及功能基本恢复正常。无效:治疗前后外观及功能无明显改变,或治疗后复发者。

1.5.2 切片组织学观察 光学显微镜下观察组织学变化,并比较各用药组间及与未用药组光镜下的区别。

1.5.3 VEGF 阳性判断 光学显微镜下观察血管内皮细胞及管周细胞胞质染色情况,每张切片随机观察 10 个高倍视野,以细胞染成棕黄色颗粒为阳性细胞,参照 Remmele et al^[3] 提出的标准计算免疫反应积分(immunoreactive score,IRS):① 阳性细胞百分比(percent of positive cell,PP):无阳性细胞为 0 分,阳性细胞占视野内同类细胞总数的 25% 以下、26%~50%、51%~75% 及 75% 以上者分别计为 1、2、3、4 分;② 阳性染色强度(staining intensity,SI):未着色、淡黄色、棕黄色、棕褐色分别计为 0、1、2、3 分。③ 免疫反应积分为将阳性细胞百分比计与着色强度计分相乘所得,即 $IRS = PP \times SI$,IRS 0 分为阴性(-),1 分为弱阳性(±),2~4 分为阳性(+),6~8 分为中等阳性(++),9~12 分为强阳性(+++)。

1.5.4 CD34 阳性判断 采用 Weidner 法^[4] 判断阳性结果:以细胞染成棕褐色颗粒为阳性细胞,先在低倍镜下寻找“热点”,即组织内血管清楚且数量最多的染色区域,然后计数 5 个高倍视野内的阳性血管数,取其平均值即为 MVD 计数。与邻近的微血管明显分离的阳性血管内皮细胞视为独立的微血管;若内皮细胞数目 > 8 个则不予计数。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,各组的 VEGF 评分及 MVD 计数均采用重复测量的方差分析,各组之间的评分及计数作多个样本均数的两两比较。

2 结果

2.1 临床观察 本组 28 例血管畸形患者经 1% 聚桂醇硬化治疗后均有效,其中 25 例患者治愈,临床体征:皮肤黏膜形态、颜色正常,无明显功能障碍,局部周围组织结构无异常,彩超或 CT 显示瘤体消失;3 例患者有效,但仍需继续临床随访。所有病例在注射后均见不同程度的肿胀,但未出现肝肾功能损

害、过敏、高热、局部破溃、坏死等严重并发症。所有病例随访 2 ~ 16 个月, 疗效稳定。如一先天性额顶部动静脉畸形患者, 查体见额顶部一大小约 8.0 cm × 3.5 cm × 2.0 cm 的病灶, 表面凹凸不平, 皮温较高, 可触及搏动, 并闻及血管杂音。CT、CTA 均提示: 额顶部皮下病灶, 考虑血管畸形。造影示额顶部头皮血管畸形, 供血动脉有右侧眼动脉脑膜分支及脑膜中动脉、颞浅动脉及枕动脉、左侧颞浅动脉和枕动脉, 可见上述动脉迂曲扩张, 形成广泛交通的动静脉瘘, 主要通过左侧的头皮静脉向颈外静脉回流。经一期“左侧颞浅动脉切断结扎 + 瘤体周围结扎 + 1% 聚桂醇硬化术”、二期“右侧颞部血管缝扎术 + 1% 聚桂醇硬化术”。术后一个半月复查额顶部 CTA, 提示额顶部瘤体消失, 迂曲动脉大部闭塞, 局部周围组织结构无异常。随访 1 年未见瘤体复发。见图 1。

2.2 病理切片观察 光镜下观察到细胞质被染成红色, 细胞核被染成紫蓝色, 管腔大小不一, 管壁厚薄不均, 呈囊状扩张。各用药组间及与未用药组无显著区别。

2.3 免疫组织化学法检测结果

2.3.1 VEGF 的表达 VEGF 的表达见于血管内皮细胞胞质中或胞膜中。在对照组呈棕黄色颗粒, 呈强阳性表达。在各治疗组 VEGF 表达的强度随着聚桂醇治疗时间的延长呈下降趋势。VEGF 免疫积分在术前 30 min 注射组降低并不明显, 相比对照组差异无统计学意义; 在术前 48 h 注射组明显降低, 在术前 2 周注射组降到最低, 与对照组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 2。

2.3.2 CD34 的表达 CD34 的表达见于血管内皮细胞胞质中。在对照组中呈棕褐色颗粒, 强阳性表达。随着 1% 聚桂醇注射后时间的延长, MVD 计数均呈下降趋势。MVD 计数在术前 30 min 注射组降

表 1 各组 VEGF 和 MVD 评分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	VEGF	F 值	MVD	F 值
对照	11.80 ± 0.88		74.13 ± 6.99	
术前 30 min 注射	11.20 ± 1.61*	3.35	71.77 ± 5.26*	1.77
术前 48 h 注射	7.53 ± 2.54*	2.49	60.73 ± 8.57*	2.65
术前 2 周注射	4.27 ± 1.99*	1.63	44.90 ± 6.92*	1.53

与对照组比较: * $P < 0.05$

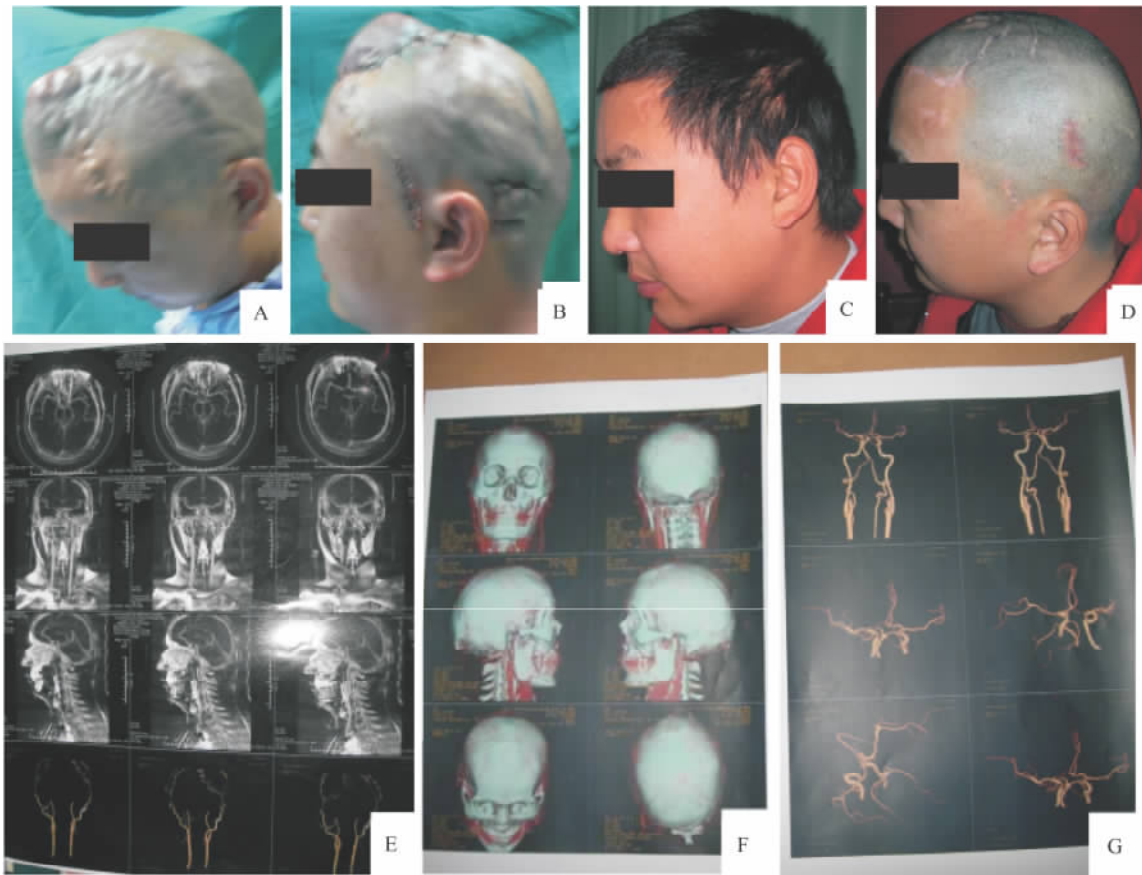


图 1 额顶部动静脉畸形患者

A: 治疗前; B: 第 1 次手术后 1 个月; C、D: 治疗后; E: 治疗前 CTA; F、G: 治疗后 CTA

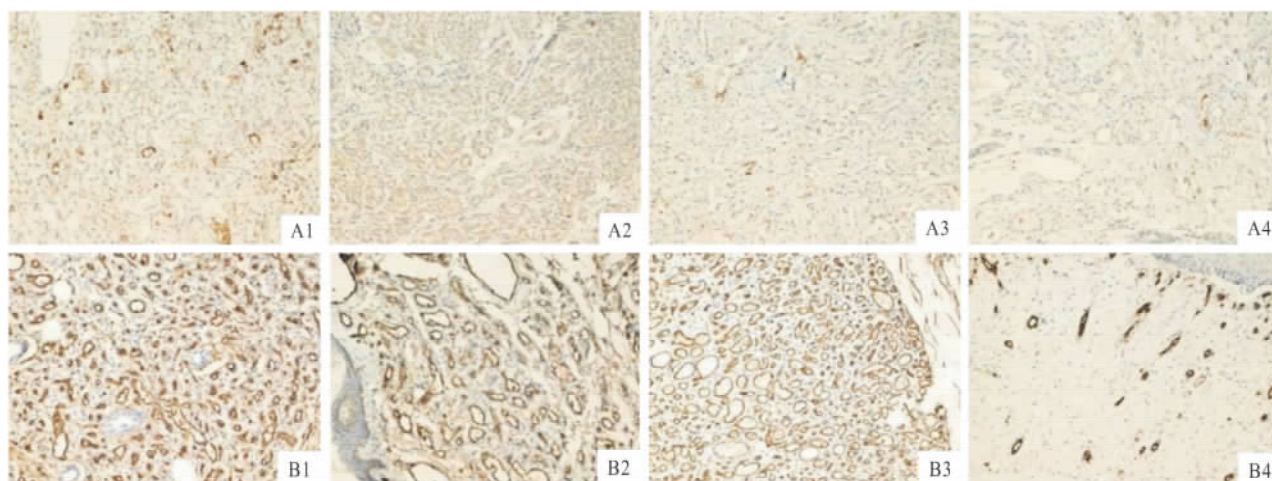


图2 VEGF和CD34在各组中的表达 SP×400

A: VEGF; B: CD34; 1: 对照组; 2: 术前30 min注射组; 3: 术前48 h注射组; 4: 术前2周注射组

低不明显,与对照组相比差异无统计学意义;在术前48 h注射组MVD计数明显降低,在术前2周注射组降到最低,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1、图2。

3 讨论

血管畸形是由不同类型的血管(动脉、静脉、毛细血管等)因先天发育异常而形成的畸形,在胚胎发生期,血管的形成包括血管发生和血管生成两个阶段,在血管生成过程中,受到许多血管内皮细胞上的受体和配体调节,一旦缺陷就会阻碍影响血管的新生^[5]。血管畸形可分为高流量血管畸形(动脉畸形、动静脉畸形)和低流量血管畸形(毛细血管畸形和静脉畸形),现一般将既往命名法中的“葡萄酒色斑”、“海绵状血管瘤”以及“动静脉瘤”称为“毛细血管畸形”、“静脉畸形”和“动静脉畸形”,而“毛细血管瘤”、“草莓样血管瘤”和“毛细血管海绵状血管瘤”仍属于“血管瘤”的范畴^[6]。葡萄酒色斑是位于真皮层的毛细血管畸形,界限清楚,在婴儿期呈粉红色,至中年期呈深红色,且逐渐增厚成结节状。静脉畸形常表现为体表易被压缩的肿块,体位试验阳性,触之柔软,但肿块内常有静脉石。动静脉畸形旧称“蔓状血管瘤”,是由结构形态异常的动脉和静脉及其分支相吻合形成的大量血管瘘,表面皮肤温度较正常要高,有搏动感,触诊有震颤感,可导致局部组织坏死及皮肤溃疡。

VEGF与血管畸形的发生发展有重要关系,其能产生多种生物学效应:①促进血管内皮细胞增殖,刺激新生血管形成^[7];②特异地作用于血管内

皮细胞,使其迁移、增殖和分化形成新血管;③增加微血管的通透性。VEGF是目前所知的最强的促进血管形成的细胞因子^[8]。MVD在衡量血管生成程度上是具有代表性的量化指标,其与VEGF的表达呈正相关性^[9],CD34是最常用的检测MVD的指标,具有加速血管前内皮细胞聚集而形成血管的功能,常表达于新生的或增殖的血管内皮细胞中,用来测量组织内微血管的密度以检测新生微血管的形成。

聚桂醇注射液是一种新型硬化剂,其主要成分即为1%聚桂醇,早起被用作局部麻醉药,后来发现其具有闭塞血管的作用,因此在进行了大量的相关基础和临床研究后,逐渐广泛地用于治疗各类血管畸形,取得良好的治疗效果^[10]。聚桂醇主要作用于瘤体中的血管内皮细胞,促进血栓形成,阻塞病变血管,并形成无菌性炎症反应,促进瘤体旁结缔组织的增生与纤维化,压迫病变血管,从而达到治疗血管畸形的目的^[11]。聚桂醇注射液的药效较传统硬化剂平和,注射后发热、局部组织坏死及溃疡等不良反应的发生率较低。对于体积较大的瘤体,使用泡沫硬化疗法可将大部分血液从病变的血管段内排出,避免药物的稀释,保持原有的最佳药物浓度,并能增加药物的作用面积,延长药物的作用时间,从而增强聚桂醇的疗效^[12-13]。

本研究中,通过免疫组化法测定VEGF、CD34在未用药前的血管畸形瘤体内呈高表达,使用1%聚桂醇局部注射后其表达水平与对照组未用药组相比降低,说明1%聚桂醇抑制瘤体内血管内皮细胞的增生,促使瘤体的消退可能与其降低VEGF、CD34

的表达水平有关,通过破坏血管内皮细胞,打破血管平衡稳态,促进血栓的形成,同时可形成无菌性炎症反应,导致瘤体内及其周围结缔组织的增生与机化,压迫栓塞血管,从而达到治疗血管畸形目的。此外,随着聚桂醇作用时间的延长,VEGF、CD34 的表达在 2 周内呈逐渐下降趋势,提示单次给药后药物的影响时间持续 ≥ 2 周,若两次药物注射时间间隔 < 2 周,可能会由于药物剂量的持续增加,使药物相关不良反应发生的概率增大,而并不能如期地提高治疗效果,这为临床上用药间隔为不少于 2 周提供了理论依据。对于瘤体位于功能部位、短期内可能增长迅速或可能对机体造成严重破坏的患者,应尽早诊断尽早治疗以控制病灶的增殖,避免进一步恶化,使外观及功能的破坏最小化。1% 聚桂醇瘤体内注射治疗血管畸形疗效确切,对其作用机制的进一步研究有助于其更好地应用于临床。

参考文献

[1] Redono P. Vascular malformations(I) . Concept , classification , pathogenesis and clinical features [J]. *Actas Dermosifiliogr* , 2007 , 98(3) : 141 - 58.
 [2] 汪 垠,朱 飞,宁金龙,等. 1% 聚桂醇在面部血管瘤及血管畸形治疗中的应用[J]. *中华整形外科杂志* , 2012 , 11(5) : 428 - 31.
 [3] Remmele W , Stegner H E. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estro-

gen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue [J]. *Pathologe* , 1987 , 8(3) : 138 - 40.
 [4] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. *Breast Cancer Res Treat* , 1995 , 36(2) : 169 - 80.
 [5] Cohen M M Jr. Vascular update: morphogenesis , tumors , malformations , and molecular dimensions [J]. *Am J Med Genet A* , 2006 , 140(19) : 2013 - 38.
 [6] 张 莉,林晓曦,王 炜. 血管瘤和血管畸形的鉴别诊断[J]. *中华整形外科杂志* , 2003 , 19(2) : 138 - 41.
 [7] Ferrara N. Vascular endothelial growth factor [J]. *Eur J Cancer* , 1996 , 32A (14) : 2413 - 22.
 [8] 胡中倩,张焱敏,李 嘉,等. 聚桂醇对人肝癌 HepG2 细胞增殖及迁移影响的体外研究[J]. *安徽医科大学学报* , 2013 , 48(7) : 772 - 4.
 [9] Yao D F , Wu X H , Zhu Y , et al. Quantitative analysis of vascular endothelial growth factor , microvascular density and their clinicopathologic features in human hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* , 2005 , 4(2) : 220 - 6.
 [10] Lee K B , Kim D I , Oh S K , et al. Incidence of soft tissue injury and neuropathy after embolo/sclerotherapy for congenital vascular malformation [J]. *J Vasc Surg* , 2008 , 48(5) : 1286 - 91.
 [11] 崔世军,张 建,谷涌泉,等. 聚桂醇 400 治疗下肢静脉曲张疗效和安全性的临床研究[J]. *药物不良反应杂志* , 2010 , 12(4) : 234 - 8.
 [12] Ukritmanoroat T. Comparison of efficacy and safety between foam sclerotherapy and conventional sclerotherapy: a controlled clinical trial [J]. *J Med Assoc Thai* , 2011 , 94 Suppl 2: S35 - 40.
 [13] Alòs J , Carreño P , López J A , et al. Efficacy and safety of sclerotherapy using polidocanol foam: a controlled clinical trial [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg* , 2006 , 31(1) : 101 - 7.

Application of 1% lauromacrogol sclerotherapy on adult vascular malformations

Hu Chao , Zhu Fei , Ning Jinlong , et al

(Dept of Plastic Surgery , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the clinical effect and mechanism of 1% lauromacrogol sclerotherapy on adult vascular malformations. **Methods** 28 patients of adult vascular malformations were divided averagely into 4 groups. The control group received no therapy. The experimental groups received sclerotherapy 30 min , 48 h and 2 weeks respectively before the operation. The tissue structure of above examples was observed by histochemistry method and the expression levels of the VEGF and MVD were detected by immunohistochemistry method. **Results** There were no significant difference between experimental groups and the control group in the specimen dyed by HE-staining. While the expressions of the VEGF and MVD were suppressed in the experimental groups by the means of immunohistochemistry. The variance was significant in all experimental groups. **Conclusion** Intratumoral injection of lauromacrogol for adult vascular malformations is safe and effective. The mechanism of the therapy may involve to suppress the expressions of VEGF and MVD , induce the destruction of vascular endothelial cell , and promote the regression of the tumor.

Key words vascular malformation; lauromacrogol; sclerotherapy; vascular endothelial cell growth factor; microvessel density