

不同活度¹²⁵I 粒子植入治疗兔 VX2 肝癌的研究

王伟昱¹, 秦汉林¹, 朱先海¹, 谢 韬¹, 周 磊¹, 施长杲¹, 高 斌²

摘要 目的 观察并比较不同活度¹²⁵I 粒子组织间植入对肝癌的抑瘤作用及对机体的损伤。方法 从 36 只新西兰大白兔制成的 VX2 肝癌模型中选取 24 只, 随机均等分为 3 组, 分别植入活度为 0、25.9、37.0 MBq 的¹²⁵I 粒子。分别检测瘤兔体重、肿瘤体积、血常规、肝肾功能变化, 术后 5 周处死实验兔, 观察移植瘤病理改变。结果 两治疗组瘤兔体重减轻及肿瘤体积增加均较对照组慢 ($P < 0.05$), 其中 37.0 MBq 组的肿瘤体积增加量较 25.9 MBq 组小 ($P < 0.05$); 两治疗组白细胞 (WBC) 值先升后降, 各组治疗前后红细胞 (RBC) 及血红蛋白 (Hb) 无明显变化; 2 周时两治疗组瘤兔谷丙转氨酶 (ALT) 及谷草转氨酶 (AST) 明显降低 ($P < 0.05$); 4 周时 37.0 MBq 组较 25.9 MBq¹²⁵I 数值下降更明显 ($P < 0.05$); 两治疗组肿瘤坏死增加, 37.0 MBq 组坏死更加明显。结论 不同活度¹²⁵I 粒子植入均可抑制肿瘤的生长, 促使肿瘤细胞坏死; ¹²⁵I 粒子植入对机体损伤小; 37.0 MBq¹²⁵I 粒子组作用优于 25.9 MBq¹²⁵I 粒子组。

关键词 ¹²⁵I 粒子; VX2 肝癌; 不同活度; 抑瘤; 辐射损伤

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)06-0778-04

原发性肝癌是最常见的恶性肿瘤之一, 肝动脉化疗栓塞 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE) 是目前治疗中晚期原发性肝癌的主要手段, 但 TACE 有不完全栓塞及肿瘤侧枝循环易形成的特点, 远期疗效不满意, 对原发性肝癌采用不同手段联合治疗是当前治疗肝癌的热点之一^[1]。该研究以动物实验的方法探讨不同活度¹²⁵I 粒子组织间植入治疗兔 VX2 肝癌的疗效, 对瘤周正常组织及机体的损伤情况, 为¹²⁵I 粒子组织间植入治疗原发性肝癌提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 兔 VX2 肝癌模型的制作 选取健康成年新西兰大白兔 36 只, 2~3 (2.50 ± 0.32) kg, 由安徽医科大学实验动物中心提供。采用 VX2 肝癌细胞株进行细胞培养, 收集细胞混悬液注射到新西兰大白兔双侧后肢皮下, 建立荷瘤动物移植瘤种兔模型。2 周后将荷瘤种兔处死, 取出肿瘤灶, 选取肿瘤组织有

2015-03-24 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81071240)

作者单位: ¹ 安徽省肿瘤医院肿瘤介入科, 合肥 230001

² 安徽医科大学第三附属医院, 合肥 230061

作者简介: 王伟昱, 男, 博士, 硕士生导师, 副主任医师;

高 斌, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: gaobinrm@hotmail.com

The study of the influence of the different pure titanium surface treatment on the growth of fibroblast

Shen Bin, Liu Xianghui, Sun Weige, et al

(Dept of Stomatology, College of Clinical Medical, Anhui Medical University, PLA 81st Hospital, Nanjing 210002)

Abstract Titanium plates were randomly divided into four groups, each with different surface treatments (smooth group, double acid corrosion sandblasting group, HF acid etching sandblasting group, microarc oxidation group). Mouse fibroblast cells were inoculated on different groups of titanium plates and tested by MTT to detect cells' adhesion and proliferation. Cells were cultured for 24h and observed on the surface of plates by scanning electron microscope. The comparison between the rates of fibroblasts' adhesion was smooth group < HF acid etching sandblasting group < double acid corrosion sandblasting group < microarc oxidation group ($P < 0.05$). Fibroblasts' proliferation was higher than on microarc oxidation group than those on the other three groups. Compared with the other three kinds of surface treatment, fibroblasts can be on the specimen surface treated by microarc oxidation better adhesion and proliferation.

Key words pure titanium; sandblasting and acid etching; microarc oxidation; fibroblasts

活性的部分,CT 导引下采用 VX2 肿瘤组织块接种法成功制备兔 VX2 肝移植瘤模型。

1.2 实验分组及粒子植入 选取瘤兔体重及肝肿瘤体积大小无明显差别的 VX2 肝癌模型 24 只,随机分为 3 组,每组 8 只,其中两组为治疗组,分别采用初始活度为 25.9 MBq¹²⁵I 粒子植入治疗(25.9 MBq¹²⁵I 组)、37.0 MBq¹²⁵I 粒子植入治疗(37.0 MBq¹²⁵I 组);另一组植入粒子空壳,活度为 0 MBq(对照组)。实验前制定合适的 TPS 治疗计划^[2]。根据肿瘤形成后由 CT 平扫确定的肿瘤图像范围,应用 TPS 2.0 系统进行分析,确定输入粒子初始活度、剂量、植入距离、断层间隔等,根据系统预测计算相对理想的靶区内剂量分布,并估计每个 CT 断层粒子数目及分布,计算粒子总数。统计出剂量-体积直方图,制定可靠的治疗靶区及其他正常区域结构所受剂量的 TPS 治疗计划报告。

1.3 粒子植入后的观测 观察治疗前后各组实验兔的一般情况,包括兔精神状态、食欲及活动情况等。分别于¹²⁵I 粒子植入治疗前、治疗后第 2 周、第 4 周测量各组实验兔体重,CT 扫描观测肿瘤病灶的大小变化;外周静脉血检测各组实验兔肝功能和血常规的动态变化。术后第 5 周处死各组实验兔,取出肿瘤病灶,测量病灶重量,观察组织病理学变化。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件进行分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示;两组均值比较采用 *t* 检验,组间差异采用 ANOVA、Dunnett's *t* 检验。

2 结果

2.1 一般情况观察 经不同初始活度¹²⁵I 粒子植入后,均可观察到两治疗组瘤兔生存状态好转,精神转好,活动状况、反应均较佳,皮毛光泽度增加,活动增加,食欲有所恢复,优于对照组。

2.2 ¹²⁵I 粒子植入对各检测指标的影响 ¹²⁵I 粒子植入前各组兔的体重及体积大小相似,差异无统计学意义。在治疗后第 2 周、第 4 周时,各组瘤兔体重、体积改变(肿瘤体积 $V = 1/2a \times b^2$,*a* 为病灶长径,*b* 为病灶短径,*a*、*b* 均为根据 CT 图像测量的数值);在治疗前和治疗后第 2、4 周分别取各实验组兔外周血,检测不同初始活度¹²⁵I 粒子近距离植入治疗对各组瘤兔的血液及肝功能的影响。见表 1。

2.3 ¹²⁵I 粒子植入对兔 VX2 移植肿瘤组织学及瘤周正常肝组织的影响 对照组中肿瘤细胞增殖,且极少出现坏死区,细胞核处于明显有丝分裂相,周围分布纤维结缔组织和血管。25.9 MBq¹²⁵I 组中肿瘤

表 1 ¹²⁵I 粒子植入治疗对兔 VX2 移植肿瘤模型各检测指标的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组	25.9 MBq ¹²⁵ I 组	37.0 MBq ¹²⁵ I 组
体重(kg)			
第 0 天	2.53 ± 0.91	2.59 ± 0.87	2.41 ± 0.99
第 2 周	2.09 ± 0.62	2.15 ± 0.91	2.21 ± 1.01
第 4 周	1.76 ± 0.92	2.03 ± 0.71*	2.13 ± 0.89*
体积(mm ³)			
第 0 天	81.26 ± 7.17	82.69 ± 9.38	82.76 ± 8.23
第 2 周	178.37 ± 18.23	169.12 ± 17.79	158.81 ± 1.56
第 4 周	342.68 ± 18.92	252.35 ± 17.64*	211.21 ± 23.28* #
WBC(×10 ⁹ /L)			
第 0 天	8.92 ± 1.17	8.78 ± 1.06	9.01 ± 1.29
第 2 周	9.12 ± 0.85	19.57 ± 0.73*	20.42 ± 0.88*
第 4 周	9.56 ± 0.97	10.43 ± 0.85	9.92 ± 0.93
RBC(×10 ¹² /L)			
第 0 天	5.57 ± 0.98	5.18 ± 0.66	5.26 ± 0.79
第 2 周	5.12 ± 0.85	5.02 ± 0.83	4.98 ± 0.78
第 4 周	4.96 ± 0.95	5.41 ± 0.45	5.12 ± 0.73
Hb(g/L)			
第 0 天	143.45 ± 9.53	138.26 ± 13.62	139.29 ± 11.65
第 2 周	139.37 ± 11.26	137.77 ± 9.73	142.62 ± 12.86
第 4 周	137.56 ± 13.97	140.43 ± 17.85	138.92 ± 13.93
ALT(U/L)			
第 0 天	39.82 ± 4.25	40.35 ± 4.27	41.16 ± 3.65
第 2 周	60.23 ± 4.85	35.39 ± 5.98*	33.57 ± 8.80*
第 4 周	81.86 ± 6.80	32.40 ± 7.45*	26.13 ± 6.29* #
AST(U/L)			
第 0 天	25.20 ± 6.33	23.70 ± 9.15	24.12 ± 8.75
第 2 周	60.56 ± 4.72	29.76 ± 6.71*	28.64 ± 8.75*
第 4 周	79.57 ± 9.36	27.82 ± 5.36*	20.14 ± 9.66* #

与对照组比较: * *P* < 0.05; 与 25.9 MBq¹²⁵I 组比较: # *P* < 0.05

细胞增殖减弱,出现坏死区,细胞核出现的分裂相减少,周围纤维结缔组织破坏,血管生成减少;37.0 MBq¹²⁵I 组中肿瘤细胞增殖进一步减弱,仅见少数肿瘤细胞,出现大片坏死区域,坏死物质为灰白色半凝固浓稠物质,肿瘤中心逐步出现液化坏死并形成囊腔,细胞核出现的分裂相进一步减少,周围纤维结缔组织破坏严重。病理切片显示¹²⁵I 粒子植入治疗有显著的抗肿瘤作用,而 37.0 MBq¹²⁵I 组中较 25.9 MBq¹²⁵I 组中明显。同时研究显示 37.0 MBq¹²⁵I 组肿瘤边缘与正常肝组织交界处形成明显的纤维组织增生带,正常组织中肝细胞体积增大,部分呈气球样变、出现灶性出血,点状坏死,与 25.9 MBq¹²⁵I 组相比,瘤周正常肝组织损伤明显。见图 1。

3 讨论

自 20 世纪 60 年代以来,¹²⁵I 放射性粒子组织间植入近距离治疗恶性肿瘤的临床研究迅速发展。1965 年放射性¹²⁵I 粒子首先应用于前列腺癌的治疗。

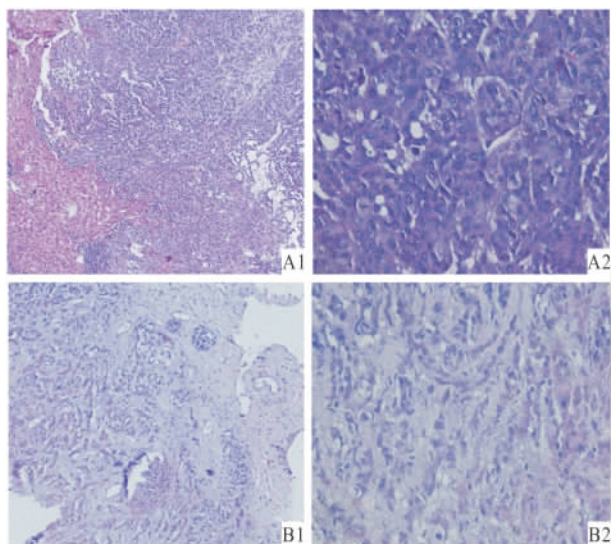


图1 ^{125}I 粒子植入后兔 VX2 移植肿瘤组织学及瘤周正常肝组织的变化 HE

A: 术后第4周 对照组肿瘤组织; B: 术后第5周 37.0 MBq 组肿瘤组织; 1: $\times 10$; 2: $\times 40$

疗取得很好的疗效,其具有创伤小、副作用少、效果明显等优点。远期效果与根治手术几乎相同,因此至今发达国家在治疗早期前列腺癌中仍将此法作为首选方法^[3]。目前,放射性粒子组织间植入治疗恶性肿瘤的价值已逐渐为国内外学者所认识和关注,放射性 ^{125}I 粒子对肺癌、胰腺癌等肿瘤的治疗也显示了其优势。随着图象分析技术、新型放射性核素以及三维治疗计划系统的迅速发展,粒子植入的适应证不断扩大,现已逐渐应用于多种恶性肿瘤的治疗,并取得了较好的临床治疗效果^[4-5]。

肝癌的放射性粒子组织间植入治疗,突破了外照射治疗所引起的全肝放射剂量过高及肿瘤组织放射剂量不足等缺陷,使放射疗法治愈肝癌成为可能。本研究不同初始活度 ^{125}I 粒子植入治疗后,两实验治疗组瘤兔生存状态好转,精神转好,活动状况、反应均较佳,皮毛光泽度增加,活动增加,食欲有所恢复;在 37.0 MBq ^{125}I 组中,恢复情况显著优于对照组,说明 ^{125}I 粒子植入肿瘤体内通过杀伤肿瘤细胞使肿瘤缩小进而改善瘤兔的一般状况。将 ^{125}I 粒子植入肿瘤体内,提供约200 d的持续照射,有效覆盖肿瘤及亚肿瘤靶区,持续性低剂量近距离照射肿瘤细胞以达到杀伤肿瘤细胞的目的。体内植入足够大剂量和半衰期的粒子,能使肿瘤干细胞最大限度的失去繁殖力,进而彻底治疗肿瘤。本实验显示,不同活性的放射性 ^{125}I 粒子均对肿瘤有杀伤作用,粒子

植入后第4周两实验组瘤兔瘤重及体积变化与对照组比较差异有统计学意义。另外,本实验显示,治疗后第2周,两治疗组体重及肿瘤体积与对照组比较差异无统计学意义,说明治疗组肿瘤未完全停止生长。分析可能的原因是:①肿瘤组织中存在增殖速度较快的细胞,相对而言, ^{125}I 粒子活度较低,对该肿瘤组织产生的照射剂量率也较低;②粒子刚植入时,粒子间距相对较大,而低剂量率的 ^{125}I 粒子释放的射线随着距离的增加衰减非常迅速。以上两点导致粒子植入后短期内还不能释放出足够的射线杀死所有肿瘤细胞,抑制其再繁殖且杀伤的范围有限,也就无法完全抑制肿瘤的进展。而粒子植入后第4周两实验组瘤兔瘤重及体积变化与对照组比较差异无统计学意义。说明随着时间延长,持续的低剂量放射治疗不仅可增加肿瘤对射线的敏感性,还能够抑制肿瘤细胞的有丝分裂,从而有效杀伤肿瘤细胞。另外,随着粒子周围肿瘤细胞坏死,肿瘤体积缩小,粒子间距缩小,使之前活度过低产生的“冷点”逐渐变成“热点”,更有效抑制肿瘤生长^[6]。

本实验显示植入粒子的活度与疗效密切相关。研究利用CT、组织学检查及生化检查观察不同初始活度 ^{125}I 粒子植入治疗对兔VX2肝癌的作用,结果显示经治疗可促使肿瘤坏死增加,肿瘤缩小,促使肝功能恢复,说明不同活度粒子均有抗肿瘤作用。 37.0 MBq ^{125}I 组改变更加明显,说明同等情况下高活度粒子比低活度粒子对肿瘤的杀伤效应大。粒子植入后瘤兔体重及肿瘤体积变化表明两治疗组不同活度粒子均有抗肿瘤作用,高活度粒子(37.0 MBq 组)较低活度粒子(25.9 MBq 组),抗肿瘤作用更强。两实验组瘤兔粒子植入后2周时肝功能指标AST及ALT开始下降,4周时进一步下降,说明粒子植入后瘤体缩小促进了肝功能的恢复,高活度粒(37.0 MBq 组)较低活度粒子(25.9 MBq 组)抗肿瘤作用更强,肝功能恢复也较快。虽然经过TPS计算,两组治疗组给定的放射总剂量基本相同,但是如果采用的单个粒子活度过低则不能产生足够的射线完全杀灭肿瘤细胞,这与以往的文献^[7]报道一致。

本研究显示 37.0 MBq ^{125}I 组肿瘤边缘与正常肝组织交界处形成明显的纤维组织增生带,正常组织中肝细胞体积增大,部分呈气球样变,出现灶性出血,点状坏死,与 25.9 MBq ^{125}I 组相比,瘤周正常肝组织损伤明显。表明 ^{125}I 粒子源在正常肝组织中的剂量分布按照距离平方反比衰减原理,粒子周边的肝组织组织接受了较大部分的剂量,出现了局灶性

肝损伤;而远处的组织接受到的剂量较少,无明显肝损伤。 $37.0\text{ MBq }^{125}\text{I}$ 组正常肝组织损伤明显说明射线剂量越大,损伤越重。提示临床工作中可以在病灶不同位置选择不同活度的粒子植入。两治疗组粒子植入后2周时各瘤兔WBC较对照组明显升高,4周时回复至正常,WBC升高是因为 ^{125}I 粒子植入后杀伤肿瘤细胞,短期内产生炎症反应所致,为一过性反应。而 37.0 MBq 组与 25.9 MBq 组WBC数值差异无统计学意义,说明上述反应与植入粒子放射活度无显著相关性。通过对RBC、Hb对比分析可知, ^{125}I 粒子植入后对全身各重要脏器无明显毒副反应影响,总体安全性较高。

参考文献

- [1] Ling S, Deng D, Mo Y, et al. Correlations between CT perfusion parameters and vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in implanted VX2 lung tumors [J]. *Cell Bio-chem Biophys*, 2014, 70(1): 629–33.
- [2] Chen L, Xiao J, Su I C, et al. Establishing a rabbit spinal tumor model for nonvascular interventional therapy through CT-guided percutaneous puncture inoculation [J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2015, 36(1): 153–9.
- [3] Dong S, Tang Q, Long M, et al. The cooperative effect of p53 and Rb in local nanotherapy in a rabbit VX2 model of hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Nanomedicine*, 2013, 8: 3757–68.
- [4] Dedic-Hagan J, Teh A Y, Liang E, et al. Migration of a strand of four seeds in low-dose-rate brachytherapy [J]. *BMJ Case Rep*, 2014, 4: 515–9.
- [5] 黄海,徐绍年,杜振广,等.组织间 ^{125}I 放射粒子植入联合经皮椎体成形术治疗胸腰椎转移瘤的价值[J]. *中华肿瘤杂志*, 2014, 36(3): 228–31.
- [6] Lou H, Zheng S, Li T, et al. Vulgarisin A, a New diterpenoid with a rare 5/6/4/5 ring skeleton from the Chinese medicinal plant *Prunella vulgaris* [J]. *Org Lett*, 2014, 16(10): 2696–9.
- [7] 刘颖,范巧佳.夏枯草与白毛夏枯草的生药学研究[J]. *中药材*, 2007, 30(10): 1230–4.

The study of different activity ^{125}I seeds implantation to therapy rabbit liver VX2 tumor

Wang Weiyu, Qin Hanlin, Zhu Xianhai, et al

(Dept of Interventional Radiology, Anhui Provincial Tumor Hospital, Hefei 230001)

Abstract Objective To investigate and compare the inhibitions to liver tumors and injuries to the organism of different activity ^{125}I seeds implantation. **Methods** Chose 24 from 36 New Zealand white rabbits VX2 liver tumor models, divided them evenly into 3 groups, implanted 0 MBq dummy seeds (control group), 25.9 MBq ^{125}I seeds (25.9 MBq ^{125}I group) and 37.0 MBq ^{125}I seeds (37.0 MBq ^{125}I group) into tumors. Measured the rabbits weight, tumor volume, blood routine, hepatic and renal function, and killed the rabbits after 5 weeks to observe pathological changes. **Results** The rabbits' weight decreasing and volume increasing of treatment groups was slower than control group ($P < 0.05$). 37.0 MBq group is more obvious in the 25.9 MBq group in tumor volume increasing ($P < 0.05$); The rabbits' WBC of two treatment group elevated and then decreased, the RBC and Hb of the three groups had no obvious change before and after the treatment; at 2 weeks, the tumor rabbits' ALT and AST of two treatment groups were significantly lower than the control group ($P < 0.05$); at 4 weeks, 37.0 MBq group decrease more obviously than the 25.9 MBq group ($P < 0.05$). Two treatment groups increased tumor necrosis, and the change of 37.0 MBq group was more obvious. **Conclusion** Different activity ^{125}I seeds can make the tumor cell necrosis, inhibit tumor growth; the injuries to the organism of ^{125}I seeds implantation therapy is small; 37.0 MBq group is better than 25.9 MBq group.

Key words ^{125}I seed; VX2 liver cancer; different activity; tumor suppression; radiation damage