

- selective partial cystectomy for invasive urothelial bladder carcinoma [J]. Urology, 2008, 72(3): 613 – 616
- 5 Holzbeierlein JM, Lopez – Corona E, Bochner BH, *et al.* Partial cystectomy: a contemporary review of the Memorial Sloan – Kettering Cancer Center experience and recommendations for patient selection [J]. J Urol, 2004, 172(3): 878 – 881
- 6 Kassouf W, Swanson D, Kamat AM, *et al.* Partial cystectomy for muscle invasive urothelial carcinoma of the bladder: a contemporary review of the MD Anderson Cancer Center experience. J Urol, 2006, 175(6): 2058 – 2062
- 7 Sweeney P, Kursh ED. Partial cystectomy [J]. Urol Clin N Am, 1992, 19(4): 701 – 711
- 8 Thalmann GN, Stein JP. Outcom of radical cystectomy [J]. BJU Int, 2008, 102(9 Pt B): 1279 – 1288
- 9 Schoenberg M. Management of invasive and metastaic bladder cancer. [M]//Walsh PC. Campbell's Urology (8thed.). St. Louis, MO: Elsevier, 2002: 2803 – 2817
- 10 Milowsky M, Stadler W, Bajorin D. Integration of neoadjuvant and adjuvant chemotherapy and cystectomy in the treatment of muscle – invasive bladder cancer [J]. BJU Int, 2008, 102(9 Pt B): 1339 – 1344
- 11 Shipley WU, Kaufman DS, Zehr E, *et al.* Selective bladder preservation by combined modality protocol treatment: long – term outcomes of 190 patients with invasive bladder cancer [J]. Urology, 2002, 60(1): 62 – 67
- (收稿: 2011 – 10 – 17)
(修回: 2011 – 10 – 20)

三叶青提取物联合介入治疗兔 VX2 肝癌模型多层螺旋 CT 表现及肝功能动态分析

贾玉柱 劳 群 祁克信 陆海华 杨光钊 魏克民

摘 要 **目的** 评价单纯介入治疗与三叶青提取物联合介入治疗兔 VX2 肝移植瘤的疗效。**方法** 33 只荷瘤兔, 随机分为空白对照组、单纯介入治疗组和三叶青提取物联合介入治疗组, 14 天后, 对比分析其多层螺旋 CT (MSCT) 影像学改变及肝功能变化。**结果** 三叶青提取物联合介入治疗在 2 周后 MSCT 检查显示肿瘤大小, 肿瘤生长率、坏死率较单纯介入治疗及空白对照组疗效有统计学意义 ($P < 0.05$)。在肝功能方面三叶青提取物联合介入治疗组 GPT、GOT 明显较其他两组降低, 比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 三叶青联合介入对 VX2 兔肝癌模型的介入治疗对肿瘤抑制及兔肝功能改变有一定疗效。

关键词 VX2 肝癌 三叶青 多层螺旋 CT 肝功能

A Dynamic Analysis of Manifestation of the Multi – slice CT (MSCT) and Liver Function in Interventional Treatment of Rabbit VX2 Liver Cancer Model Combined with *Tetragastium Hemsleyanum* Diels et. Gilg (SYQ) Extract. Jia Yuzhu, Lao Qun, Qi Kexin, Lu Haihua, Yang Guangzhao, Wei Kemin. Radiology Department of Tongde Hospital of Zhejiang Province, Zhejiang 310012, China

Abstract Objective To evaluate the effects of the interventional treatment combined with *Tetragastium hemsleyanum* Diels et. Gilg (SYQ) extract on rabbit VX2 liver tumor. **Methods** Totally 33 tumor – bearing rabbits were randomly divided into 3 groups: control group, simple intervention group and intervention combined with SYQ extracts group. After 14 days, a comparative study of imaging changes of the multi – slice CT (MSCT) and liver function changes was carried out. **Results** After 14 days, imaging changes in the multi – slice CT (MSCT) showed that there was a significant effect in the tumor size, tumor growth rate, and necrosis rate by intervention combined with SYQ extracts group as compared with other two groups ($P < 0.05$). In intervention combined with SYQ extracts group, the positive rates of liver GPT, GOT were significantly lower than other two groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Interventional treatment combined with SYQ extracts has a certain effect in inhibiting the VX2 rabbit liver tumor and maintaining a protective change in liver function.

Key words VX2 liver tumor; SYQ; MSCT; Liver function

肝癌的早期治疗仍首选手术切除, 但对中晚期

常伴有较严重肝硬化的肝癌病例, 综合治疗已成为共识^[1]。利用中药联合介入技术治疗中晚期肝癌的综合治疗, 是近年来研究的新热点^[2]。

三叶青为葡萄科崖爬藤属植物, 学名为三叶崖爬藤, 生于阴湿山坡、山沟中, 具有清热解毒、祛风化痰、活血止痛的功能, 主要用于治疗高热惊厥、肺炎、肝

基金项目: 浙江省中医药管理局基金资助课题 (2009CB024)

作者单位: 310012 杭州, 浙江省立同德医院

通讯作者: 魏克民, 主任医师, 教授, 博士生导师, 电子信箱: wkm-cyzy@163.com

炎、肿瘤等^[3]。本研究采用三叶青提取物灌胃及碘油 + 化疗药物肝动脉灌注对兔 VX2 肝癌模型的抑瘤作用做动态影像学实验研究,通过对肿瘤大小、生长率、坏死率以及 CT 值强化程度的动态影像学观察,以及 GPT、GOT 等肝功能方面的研究,以病理为最终验证,为临床三叶青抗肿瘤研究提供动态的影像学实验资料,为中药结合肝动脉碘油化疗药物栓塞术(transluminal arterial chemical embolization, TACE)方法综合治疗肝肿瘤提供实验依据。

材料与方法

1. 实验动物:健康新西兰大白兔 33 只,雌雄不限,体重 2.0 ~ 2.5kg,由浙江省实验动物中心,生产许可证:SCXK(Z) 2009 - 0039。

2. VX2 瘤株制备与瘤兔接种:(1) VX2 瘤株制备:VX2 瘤株由温州医学院动物实验中心惠赠。实验兔采用 1% 戊巴比妥钠溶液(1ml/kg)经耳缘静脉注射麻醉后,仰卧固定自制手术台上,消毒铺巾后,切取瘤块边缘旺盛的鱼肉样 VX2 肿瘤组织,放置与预先配置好的生理盐水中(50ml 生理盐水 + 80mg 庆大霉素),去除坏死组织和结缔组织后,用眼科剪剪成约 1mm × 1mm × 1mm 小块瘤株。用 1ml 针筒抽取制备好瘤细胞液体 1ml,连接 3F 穿刺针,将 VX2 鳞癌瘤株接种兔腹股沟区皮下或肌内使之成瘤并以之传代。余下瘤细胞用生理盐水配制成 VX2 瘤组织混悬液约 1×10^6 个/毫升。(2) 兔 VX2 移植瘤的种植:将麻醉固定好的实验兔,备皮左上胸腹部,CT 定位下选取肝脏最大层面做腹部皮肤标记,聚维酮碘消毒 3 次,消毒约直径 10cm 范围,铺无菌巾,切开腹腔 将兔肝左中央叶充分暴露,挑开肝包膜将悬液用 16 号针头注入肝实质内接种。术后给予庆大霉素 8 万 U 肌内注射,连续 3 天抗感染。接种 2 周后备用。(3) 药品:三叶青原料,华东医药公司中药分公司提供(鉴定为 *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et. Gilg),粉碎过 100 目筛。(4) 三叶青提取物制备:将 10kg 三叶青分别加乙醇 80L 提取 3 次,每次 2h,合并提取液,回收溶剂,得浓缩液。浓缩液用 2 倍量乙酸乙酯萃取 3 次后合并溶剂,挥干溶剂,冷冻干燥,得到三叶青乙酸乙酯提取物。

3. 实验方法:瘤兔随机分为 A、B、C 3 组,A 组:三叶青联合介入治疗组;B 组:单纯介入治疗组;C 组:对照组,每组 11 只,雌雄不限,肝癌模型种植后 A 组瘤兔于造模术后 8 天开始用三叶青提取物灌胃,2 周后联合介入治疗;B 组瘤兔 2 周后单纯介入治疗;C 组 2 周后动脉灌注生理盐水。瘤兔接种瘤株 14 天后,A、B、C 3 组荷瘤兔用 1% 戊巴比妥钠 1ml/kg 体重全麻后,固定于手术台上,常规准备。根据腹股沟区血管走向纵行切开皮肤,分离开的股动脉 3cm 置入导丝,退出穿刺针后引入 4F 导管,于 T11 间隙主动脉处注入对比剂,寻找腹腔干开口,了解肝血管走行,3F 同轴微导管在微导丝导向下,送达肝总动脉处,手推造影显示肿瘤供血情况,进行肿瘤供血动脉的超选,造影证实肿瘤染色后按分组要求注入药物:1mg/kg

阿霉素与 0.2mg/kg 超液态碘油。术后拔出导管,加压包扎切口,术后肌内注射青霉素抗感染 3 天。C 组仅动脉灌注生理盐水。

4. 观察指标及方法:兔 VX2 肝癌模型肝 CT 扫描前的实验室检查:GPT、GOT 肝功能指标。肝 CT 扫描:采用 1% 戊巴比妥钠麻醉后,运用 GE16 排螺旋 CT 机,120kV,200mA,层厚 3mm,Pitch1.5mm,FOV480mm,后处理重建 1.5mm,造影剂采用碘海醇 4ml,经耳缘静脉快速推注,立即作 CT 增强扫描。调整窗宽窗位,测量肿瘤大小、单位面积平扫及增强平均 CT 值,注意尽可能同层同部位测量,测量 3 次,取平均值,以确保对比数据的可靠性和准确性。治疗后 14 天 CT 扫描后记录肿瘤大小,肿瘤体积大小按照 $V = 1/2ab^2$ (a 为最大径,b 为最小径),计算肿瘤生长率,肿瘤生长率(growth rate, GR) = V 治疗后/V 治疗前 × 100%;14 天后处死兔子,10% 的甲醛固定,石蜡包埋切片,每份标本在肿瘤最大层面做病理切片,光镜观察并用图像采集系统采集图像。结合光镜观察和采集图像的测量,计算出肿瘤坏死区域和整个肿瘤的面积,二者之比即为肿瘤组织坏死率;组织病理学表现,包括大体变化,转移情况,HE 染色观察肿瘤以及周边正常肝组织的变化。

5. 统计学方法:所有计数资料数据用均数标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 15.0 统计软件进行数据分析,测量肿瘤大小、单位面积、平均 CT 值,GST、GLT 均以 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

结 果

标本切面见 C 组色泽灰红、鲜嫩鱼肉状外观,中心少量液化坏死;B 组边缘色泽暗红、如老化鱼肉状外观,中心液化坏死较 C 组较重;A 组质地明显软化,中央大片灰黄色凝固坏死,凝固坏死区并有液化坏死腔及“瘀泥”样坏死物。肿瘤坏死率: A 组 (67.23 ± 7.26)%; B 组 (52.35 ± 6.27)%; C 组 (42.67 ± 7.38)%。结果示单纯介入治疗,介入治疗联合三叶青提取物治疗,不予治疗均可引起肿瘤坏死,坏死率 3 组间比较均有显著性差异($P < 0.01$),介入治疗联合三叶青提取物治疗肿瘤坏死率最高(表 1)。A 组与 B 组荷瘤兔肿瘤体积及 CT 值变化有统计学差异($P < 0.05$)(表 1、表 2),治疗后 A 组血清 GTP、GOP 较 B 组低,与 B 组相比有统计学意义($P < 0.05$)(表 3)。

表 1 3 组治疗前后 VX2 兔肿瘤体积变化及生长量($n = 11, \bar{x} \pm s$)

组别	治疗前体积	治疗后两周	生长率	坏死率
	(cm^3)	体积 (cm^3)	(%)	(%)
A 组	1.35 ± 0.22	$2.23 \pm 0.26^*$	$165.2 \pm 17.45^*$	67.23 ± 7.26^A
B 组	1.32 ± 0.28	$3.48 \pm 0.24^*$	$263.6 \pm 15.23^*$	52.35 ± 6.27^A
C 组	1.37 ± 0.21	$4.75 \pm 0.32^*$	$346.7 \pm 16.42^*$	42.67 ± 7.38^A

治疗前后 VX2 兔肿瘤体积比较,* $P < 0.05$;肿瘤生长率 A、B、C 组间比较,* $P < 0.05$,肿瘤坏死率 A、B、C 组间比较,^A $P < 0.05$

表 2 3 组 VX2 兔肿瘤平均 CT 值变化 (HU)

组别	术前平扫 平均 CT 值	术前增强动脉 期检查 CT 值	术后 2 周 平扫 CT 值	术后 2 周增强动 脉期检查 CT 值
A	45.6 ± 6.2	68.5 ± 5.8	43.5 ± 8.3	70.6 ± 5.9 *
B	44.8 ± 7.5	72.2 ± 6.4	47.8 ± 6.8	78.1 ± 6.7 *
C	45.7 ± 6.8	70.4 ± 6.1	52.6 ± 7.4	83.6 ± 7.4 *

术后 2 周增强动脉期检查 CT 值 A、B、C 组间比较, * $P < 0.05$

表 3 3 组治疗前后血清 GPT、GOT 量表 (IU/L) ($n = 11, \bar{x} \pm s$)

组别	GPT		GOT	
	术前	术后 2 周	术前	术后 2 周
A 组	40.65 ± 5.78	56.48 ± 7.84 *	35.94 ± 7.41	44.31 ± 6.23 *
B 组	38.87 ± 6.54	80.45 ± 6.74 *	37.26 ± 3.48	60.74 ± 7.54 *
C 组	40.45 ± 5.64	120.26 ± 8.84 *	36.81 ± 36.91	135.28 ± 6.53 *

治疗后血清 GPT、GOT 量 A、B、C 组间比较, * $P < 0.05$

讨 论

恶性肿瘤目前在医学界尚无理想的药物和方法,肝癌是常见的恶性肿瘤,手术切除被公认为肝癌根治的首选方法,但至今手术切除率仍不足 30%,在手术切除的患者中,有 30% ~ 70% 出现肝癌复发和转移^[4]。目前 TACE 已经成为肝癌治疗行之有效的办法^[5]。但目前使用的化疗药,主要作用机制是阻止脱氧核糖核酸、核糖核酸或蛋白质的合成,或者直接对这些高分子发生作用,这些药物毒性大,对机体免疫力、肝肾功能等都有不同程度的损伤,尤其不适合应用于肝硬化合并肝癌的治疗,而且,化疗药对肿瘤细胞耐药性日益增加,加重了病人和国家的经济负担^[6]。

近些年来,用于对 VX2 兔肝癌生长情况检测的方法有 B 超、CT、MRI、DSA 等,这 4 种方法都有一定的优缺点^[7]。本研究结果表明,CT 检查方便、简单,直观性好,可重复性强,可直观准确地观察移植瘤生长情况。本模型生物学行为与人类的原发性肝癌相同或相近,可以模拟人类肝细胞肝癌,CT 表现类似于人类肝细胞性肝癌“快进快出”的强化特点。种植后 2 周平扫肿瘤与周围肝脏实质分界清楚,呈低密度或等密度,增强扫描动脉期强化明显 (CT 值增加 35HU 左右),与病理上所见癌细胞巢内富含多量薄壁血管相一致;多数可见增粗的供血动脉直达肿瘤边缘并向瘤组织内延伸,周围正常肝脏实质期强化明显 (CT

值增加 40HU 左右),与以往报道类似。如果肿瘤较大超过 2.5cm 以上,中心可出现液化坏死,表现为环状强化特征,后经病理证实与以往报道相似。

研究表明,三叶青乙酸乙酯提取物对肿瘤细胞具有很好的细胞毒作用,对正常原代大鼠细胞毒性较小,三叶青急性毒性试验和长期毒性试验证实,三叶青高剂量组为人体推荐剂量的 120 倍,试验证实安全无毒;对小鼠 TNF- α 、IFN- γ 具有上调作用,具有增强小鼠的细胞免疫和体液免疫功能^[8]。本实验 3 组螺旋 CT 显示三叶青提取物组对 VX2 瘤兔的治疗前后 VX2 兔肿瘤体积增长减小,生长率减低,坏死率增高,平均 CT 值变化较其他两组均有差异,对 VX2 瘤兔血清肝功能有效的改进,病理组织学显示三叶青治疗组坏死率高,且为凝固性坏死多见,周围肿瘤组织软化明显较其他组鱼肉状外观有所不同。本研究发现三叶青提取物不但在肿瘤进展方面可以做到有效的控制,而对于 VX2 瘤兔有良好护肝保肝的作用,三叶青提取物有其独特的保肝护肝作用,与介入疗法的联合应用,兼顾了整体与局部、宿主与癌肿、症状与疾病等方面,取长补短,使治疗方案更加全面合理,真正起到了遏制肿瘤生长及减毒增效的作用。

参考文献

- 中华医学会中华放射学杂志编委会介入放射学组. 肝癌介入治疗规范化条例(草案) [J]. 中华放射学杂志, 2001, 35 (12): 888
- 李森, 李铭. 肝癌中药介入治疗的应用基础与临床研究现状 [J]. 北京中医药, 2009, 28 (2): 146 - 147
- 何福根. 三叶青抗肿瘤作用及其机制研究进展 [J]. 肿瘤学杂志, 2010, 6 (1): 75 - 77
- Cross D, Burmester JK. Gene therapy for cancer treatment: past, present and future [J]. Clin Med Res, 2006, 4: 218 - 227
- 肖运平, 肖恩华. 介入治疗在防治肝癌术后复发中的作用及进展 [J]. 介入放射学杂志, 2008, 17 (11): 831 - 834
- 姜宪辉, 叶华. 原发性肝癌 127 例介入治疗的临床研究 [J]. 临床医学工程杂志, 2008, 15 (10): 19 - 20
- 韩志刚, 程红岩, 胡海洋, 等. 兔 VX2 肝癌模型的制作及 CT、MRI 表现 [J]. 中国介入影像与治疗学, 2007, 4 (1): 61 - 65
- 汪珍, 冯健, 王晓华, 等. 三叶青提取物对人结肠癌细胞系 RKO 细胞凋亡的影响 [J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32 (3): 321 - 322, 324

(收稿: 2011 - 07 - 28)

(修回: 2011 - 08 - 30)