

载药微球三氧化二砷治疗兔 VX2 肝肿瘤 药代动力学研究

李浩 段旭华 韩新巍 任建庄 陈鹏飞 李凤尧 白亮亮 王满周

郑州大学第一附属医院放射介入科 450052

通信作者:段旭华,Email:xuhuaduan@163.com

【摘要】 目的 观察经肝动脉导管化疗栓塞术(TACE)中应用载药栓塞微球(CalliSpheres Beads, CB, 江苏恒瑞)加载三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO)对兔 VX2 肝肿瘤的化疗栓塞作用及其药代动力学。方法 64只荷瘤兔采用数字表法随机分为4组,对照组、空白微球栓塞组(CB组)、ATO载药微球栓塞组(CBATO组)、ATO碘油栓塞组(cTACE组)。TACE术前、术后10、20、40 min及1、3、6、12 h、1、3 d取血并检测血 ATO 浓度及肝肾功能指标。TACE术后1、3、7、14 d处死实验兔4只,取肿瘤组织、肝脏、肾脏、肺、心脏和肌肉标本采用氢原子荧光方法检测 ATO 浓度。采用双侧 *t* 检验比较 CBATO 组与 cTACE 组的血及组织的 ATO 浓度及肝肾功能。结果 术后1、3、7 d对照组谷氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平无明显变化,CB组、CBATO组和cTACE组 ALT 和 AST 水平升高(ALT的 *F* 值分别为25.872、17.69、7.016,AST的 *F* 值分别为46.365、32.385、12.548,*P* 值均<0.05),且与对照组相比差异有统计学意义;术后1、3、7 d,CBATO组 ALT 和 AST 水平低于cTACE组,但差异无统计学意义(ALT的 *t* 值分别为0.369、0.432、0.169,AST的 *t* 值分别为0.353、0.488、0.593,*P* 值均>0.05)。在各观测时间点,4组实验兔的尿素氮及血肌酐水平差异无统计学意义。术后10、20 min时CBATO组的血 ATO 较cTACE组低,差异有统计学意义(*t* 值分别为7.675、6.461,*P* 值均<0.01);术后12 h后CBATO组的血 ATO 高于cTACE组。在活性瘤组织内,CBATO组 ATO 浓度较cTACE组高,术后1 d两者差异无统计学意义(*t* 值为2.155,*P*=0.068),术后3、7、14 d差异有统计学意义(*t* 值分别为11.462、7.624、2.649,*P* 值均<0.05)。结论 载药微球可以在肿瘤组织中持续缓慢释放化疗药物,较长时间保持肿瘤组织内化疗药物较高浓度,并没有增加实验兔的肝肾毒性。

【关键词】 化学栓塞,治疗性; 肝肿瘤,实验性; 放射学,介入性; 载药微球; 三氧化二砷

基金项目:国家自然科学基金(81401494);河南省医学科技攻关计划项目(201403059)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2019.07.017

Pharmacokinetics of drug-eluting beads loading arsenic trioxide in the treatment of rabbit VX2 liver tumour

Li Hao, Duan Xuhua, Han Xinwei, Ren Jianzhuang, Chen Pengfei, Li Fengyao, Bai Liangliang, Wang Manzhou

Department of Intervention, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Corresponding author: Duan Xuhua, Email:xuhuaduan@163.com

【Abstract】 Objective To study pharmacokinetics and tissue distribution of CalliSpheres Beads (CB) loaded Arsenic trioxide (ATO) on rabbit VX2 liver tumor by transcatheter arterial chemoembolization (TACE). **Method** Sixty four rabbits with VX2 liver tumors were randomly divided into 4 groups: control group, CB group, CBATO group and cTACE group. Blood samples were taken at specific time points after TACE. The blood concentration of ATO, liver and kidney functions were examined respectively. In each group, every 4 rabbits were sacrificed on 1 days, 3 days, 7 days and 14 days after operation. The tumor, liver, kidney, lung, heart and muscle were taken to detect the drug concentration. Bilateral *t*-test was used to compare the drug concentration in blood and tissue between CBATO group and cTACE group. **Results** Statistically, The levels of ALT and AST in group CBATO and cTACE on 1st, 3rd and 7th days after TACE were significantly higher than those in CB group (ALT: *F*=25.872, 17.69, 7.016, AST: *F*=46.365, 32.385, 12.548, *P*<0.05) respectively. The ALT and AST levels in CBATO group were statistically lower than those in cTACE group (ALT: *t*=0.369, 0.432, 0.169, 0.353, AST: *t*=0.488, 0.593, *P*>0.05). There were no statistically significant differences in the levels of BUN and Scr between the four experimental groups at each observation time point. Statistically, 10 minutes and 20 minutes after TACE, the blood drug concentration in CBATO was significantly lower than that in cTACE (*t*=7.675, 6.461, *P*<0.001). while 12 hours after operation, blood drug

concentration in CBATO group was higher than that in cTACE group. In tumor tissue, the concentration of ATO in CBATO was higher than that in cTACE, and there was no statistical differences on the 1st day after TACE ($t=2.155$, $P=0.068$), but there was a statistical differences between 3rd, 7th and 14th days ($t=11.462$, 7.624 , 2.649 , $P<0.05$). **Conclusion** CBATO could prolong the time of drug metabolism, increase the drug concentration in tumor tissue, and didn't aggravate the damage of liver and kidney function.

【Key words】 Chemoembolization, therapeutic; Liver neoplasms, experimental; Radiology, interventional; Drug-eluting beads; Arsenic trioxide

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81401494); Henan Medical Science and Technology Research Project (201403059)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2019.07.017

经肝动脉导管化疗栓塞术 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE) 是肝癌介入治疗最常用的方法之一^[1]。将阿霉素、表阿霉素及三氧化二砷 (arsenic trioxide, ATO) 等化疗药与碘油混合制备的混悬液为基础的 TACE 治疗引起的慢性肝细胞损伤、肝纤维化、肝硬化等不良反应, 已成为 TACE 术后重要并发症^[2]。载药微球 (drug-eluting beads, DEB) 能加载更大剂量化疗药物, 并具有缓慢释放、肿瘤局部药物浓度高等优势, 可以对肿瘤细胞持续杀伤, 已取得良好的临床疗效^[3]。在动物实验中, DEB 栓塞兔肝 2 周后可在肝组织中检测到药物^[4]。

有报道, 对于不可手术切除的肝癌患者 DEB-TACE 能明显减少介入治疗次数、减轻肝脏损害, 疗效较 cTACE 更好^[5]。载药栓塞微球 (CalliSpheres® Beads, CB, 江苏恒瑞) 为磺胺基修饰的聚乙烯醇 (PVA) 聚合水凝胶微球, 可利用其负电荷团加载含正电荷的抗肿瘤药物并永久栓塞肿瘤供血血管。我们采用砷盐分析方法和紫外分光光度法证实, CB 同样能加载带有正电荷的三氧化二砷^[6]。基于以上理论基础, 本研究通过了解 ATO 在动物体内的动态变化情况, 为临床治疗方案的制定提供依据。

资料与方法

一、实验动物与分组

本实验经河南省动物伦理委员会批准 (科研-2017-03)。实验动物为日本大耳白兔 (体重 2.8~3.4 kg), 雌雄不限。由河南省动物实验中心提供。

采用 Duan 等^[7]报道的方法建立兔 VX2 肝癌模型。兔肿瘤模型建模后 16 d 行增强 CT 观察肿瘤大小及位置 (图 1), 采用随机数字法, 将 64 只荷瘤兔分为 4 组, 对照组、微球栓塞组 (CB 组)、ATO 载药

微球栓塞组 (CBATO 组)、ATO 碘油栓塞组 (cTACE 组), 每组 16 只。

二、兔 VX2 肝肿瘤 TACE 介入手术方法

实验兔术前禁饮食 24 h, 用速眠新 II 注射液 (敦化市圣达动物药品有限公司) 0.2~0.3 ml/kg 肌肉麻醉后, 仰卧位固定于实验台。常规右侧股动脉切口区备皮、消毒、铺巾, 分离右股动脉, 切开后插入 4 F 动脉鞘, 经微导丝引入 4.0 F Cobra 导管 (美国), 插管至腹腔干造影明确肿瘤供血动脉, 后经 2.7 F 微导管超选择至肿瘤供血动脉 (动脉鞘和微导管均为日本 Terumo 公司产品)。对照组实验兔, 经微导管注射 10 ml 生理盐水; 其他 3 组根据肿瘤大小、血供及染色情况, CB 组注入未载药 CB 微球 (微球直径 100~300 μm , 0.1 g, 江苏恒瑞), CBATO 组注入 ATO 载药微球 (微球直径 100~300 μm , ATO 用量 0.5 mg/kg), cTACE 组注入 ATO 超液态碘油乳化剂 (ATO 用量 0.5 mg/kg)。CBATO 组与 cTACE 组每只实验兔应用 ATO 剂量均为 0.5 mg/kg。栓塞终点为注入上述药物后复查造影无肿瘤染色; 若仍有肿瘤染色, 追加栓塞微球 (8 Spheres 微球, 直径 100~300 μm , 江苏恒瑞) 栓塞。栓塞过程在透视下缓慢进行, 避免栓塞剂反流至正常肝脏血管及胃肠道血管内。复查造影, 若无肿瘤染色, 则撤出导管, 拔出导管鞘, 结扎右侧股动脉, 逐层缝合切口, 皮肤切口消毒, 并于兔的左后腿处肌肉注射 40 000 U 长效青霉素混悬液 0.5 ml, 完成手术。

三、血液与组织标本收集

CBATO 组和 cTACE 组分别于 TACE 术前, 术后 10、20、40 min 及 1、3、6、12 h, 1、3 d 从耳缘静脉取血 0.5 ml 加入肝素化 2 ml 离心管中, 在离心机 (Thermo scientific, Multifuge, USA, X1R) 以 3 000 转/min 的转速 (离心半径 8 cm) 离心 10 min 后取上清, 置于 -20℃ 冰箱内保存。每组实验兔分别于术后 1、3、7、14 d 处死 4 只, 处死前取血液标本, 解剖后取心

脏、肺、正常肝脏、肾脏、活性瘤组织等标本,放入冻存管并标记时间与组织,放 -80°C 超低温冰箱待测。术前、术后1、3、7 d血清标本通过自动生化分析仪(上海科华,ZY-1200M系列)行肝肾功能检查。

四、血清(组织)样品的前处理与药物浓度检测

将样品从冰箱取出,充分解冻。称取血清样品0.1 g(精确至0.001g)、动物组织及器官样品0.5~1.0 g(精确至0.001g),分别置于烧瓶中,加入5 ml 67% HNO_3 ,密封,在台式恒温振荡器(上海精宏,TH2-312)上消化过夜。再加入2 ml 30% H_2O_2 ,置于 100°C 水浴锅(北京永光明医疗器械有限公司,XMTD-4000)3 h至样品消化完全,并冷却至室温。将烧瓶中的溶液转移至10 ml的容量瓶中,用2% HNO_3 定容至刻度,3 000 转/min(离心半径8 cm)离心5 min,取上清液,使用氢原子荧光方法检测药物浓度。

五、统计学方法

采用SPSS17.0(SPSS, Chicago, IL, USA)统计软件进行统计分析。Kolmogorov-Smirnov 检验计量资料是否符合正态分布。符合正态分布资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用双侧 t 分布检验比较术后血液及组织药

物浓度。采用ANOVA方法检验不同组谷氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血尿素氮(BUN)和肌酐(Scr)水平差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

所有实验兔均能耐受建模手术与TACE手术。造影显示肿瘤血管丰富(图2),后透视下缓慢注射栓塞剂,术中未见明显栓塞剂反流。栓塞后再次造影可见肿瘤血管栓塞彻底(图3)。术后按各时间点取血液及组织标本(图4)。

一、治疗前后各组实验兔肝肾功能变化

CB组、CBATO组、cTACE组ALT和AST水平在术后明显升高,后逐渐下降,术后7 d时仍高于术前水平。术后1、3、7 d对照组ALT和AST水平无明显变化,均低于与其他组的水平,差异有统计学意义(表1);CBATO组和cTACE组ALT和AST水平均高于CB组(表1),CBATO组与cTACE组相比差异无统计学意义(表1)。BUN及Scr水平在CBATO组和cTACE组实验兔,术后较术前升高,但在各时间点

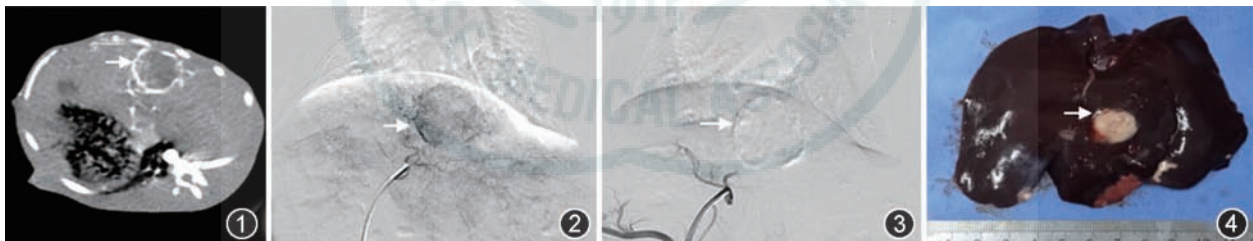


图1 肿瘤植入16 d,实验兔增强CT动脉期显示肝脏内一边缘明显强化的低信号区(↑) 图2 经肝动脉导管化疗栓塞术(TACE)术中三氧化二砷载药微球栓塞术(CBATO)组兔肝动脉造影显示,肝左叶内富血供占位性病变(↑) 图3 TACE术中CBATO组注入载药微球栓塞后造影显示原占位性病变无肿瘤供血(↑) 图4 TACE术后7 d CBATO组肝脏大体标本,可见肝左外叶肿瘤占位(↑)

表1 各组实验兔介入治疗前后ALT、AST水平变化($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT(U/L)				AST(U/L)			
	术前	术后1 d	术后3 d	术后7 d	术前	术后1 d	术后3 d	术后7 d
对照组	25.74±8.74	24.71±9.40	29.38±13.49	32.50±11.63	42.13±13.49	47.33±11.28	44.28±16.22	48.36±11.34
CB组	27.63±10.48	89.38±23.47	80.48±22.01	55.48±13.81	46.37±9.38	130.21±22.12	98.37±18.54	84.33±16.32
CBATO组	25.39±12.45	142.47±29.29	115.28±18.44	85.38±20.49	42.17±10.76	179.37±21.02	153.38±19.40	113.37±12.49
cTACE组	23.59±9.58	149.43±23.84	121.38±21.38	88.34±24.98	47.18±14.32	184.28±18.28	160.48±21.65	119.47±16.37
F值	0.101	25.872	17.690	7.016	0.185	46.365	32.385	12.548
P值	0.958	<0.001	<0.001	0.006	0.905	<0.001	<0.001	0.001

注:CB组:微球栓塞组;CBATO组:三氧化二砷载药微球栓塞组;cTACE组:三氧化二砷碘油栓塞组;ALT:谷氨酸转氨酶;AST:天冬氨酸氨基转移酶。术后1、3、7 d对照组ALT和AST水平分别与CB组(ALT的 t 值分别为5.116、3.959、2.546,AST的 t 值分别为6.676、11.07、12.751)、CBATO组(ALT的 t 值分别为7.656、7.519、4.489,AST的 t 值分别为4.392、8.629、8.591)、cTACE组(ALT的 t 值分别为9.734、7.278、4.053,AST的 t 值分别为3.62、7.707、7.142)比较,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05);CB组分别与CBATO组(ALT的 t 值分别为2.829、2.424、2.42,AST的 t 值分别为3.222、4.1、2.826)、cTACE组(ALT的 t 值分别为3.59、2.666、2.375,AST的 t 值分别为3.768、4.358、3.04)比较,CBATO组与cTACE组比较(ALT的 t 值分别为0.369、0.432、0.169,AST的 t 值分别为0.353、0.488、0.593),差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)。4组动物数均为4只

4 组间差异均无统计学意义(表 2)。

二、不同给药方法中 ATO 的药代动力学情况

CBATO 组和 cTACE 组均在术后 10 min 时血 ATO 浓度达到高峰然后下降,术后约 1 h 回归到基线水平。术后 10、20 min 时 CBATO 组的血 ATO 浓度较 cTACE 组低,且差异有统计学意义(表 3);术后 40 min 及 1、3、6 h,虽然 CBATO 组的血 ATO 浓度较 cTACE 组低,但差异无统计学意义(表 3);12 h 后各时间点 CBATO 组的血 ATO 浓度较 cTACE 组高,但差异无统计学意义(表 3)。

三、CBATO 组及 cTACE 组的组织药物时间-浓度变化趋势

在活性瘤组织中, CBATO 组的 ATO 浓度在术后 3 d 内逐渐上升,3 d 时达到顶峰后下降。术后 1 d CBATO 组瘤组织内 ATO 浓度较 cTACE 组浓度低,但差异无统计学意义(表 4)。术后 3、7、14 d CBATO 组瘤组织内 ATO 浓度较 cTACE 组高,差异均有统计学意义(表 4)。

CBATO 组与 cTACE 组在术后 1 d 肝脏组织中 ATO 浓度达到顶峰后逐渐下降,各时间点 CBATO 组与 cTACE 组 ATO 浓度差异无统计学意义(表 4)。肾脏、肺、心脏和肌肉等组织中 ATO 浓度均在术后 1 d 达到顶峰后逐渐下降,术后 7 d 恢复至基线水平(表 5)。

讨 论

一、cTACE 的局限性

cTACE 一般为碘化油与化疗药物混合后给药,这种给药方式使大部分药物进入循环系统,增加了全身的不良反应。虽然 cTACE 可使肿瘤生长受抑,在部分患者甚至肿瘤全部坏死;但在血流的冲击和肝组织中 Kupffer 细胞的吞噬作用下,部分碘化油可被清除,化疗药物迅速代谢,从而影响远期疗效^[8]。因此,进一步提高 TACE 对肝癌的疗效尤为重要。本研究结果显示,载药微球与碘油相比,

表 2 各组实验兔介入治疗前后 BUN、Scr 水平变化($\bar{x} \pm s$)

组别	BUN (mmol/L)				Scr (μ mol/L)			
	术前	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d	术前	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
对照组	4.74±1.03	5.66±2.17	5.18±1.34	4.92±2.24	64.71±16.48	61.37±21.33	68.35±18.56	58.37±19.37
CB 组	5.01±2.12	5.49±2.70	6.29±1.83	7.47±1.31	59.31±12.34	63.48±17.05	58.28±17.84	60.19±17.62
CBATO 组	4.91±1.49	5.08±1.06	6.04±2.18	5.64±2.37	58.83±14.63	68.98±22.33	72.46±21.39	64.28±23.31
cTACE 组	6.45±2.47	7.11±1.58	7.32±2.16	6.77±1.36	63.20±17.11	69.89±14.35	65.62±13.74	67.12±20.31
F 值	0.719	0.801	0.853	1.461	0.144	0.190	0.435	0.152
P 值	0.560	0.517	0.491	0.274	0.932	0.901	0.732	0.926

注:CB 组:微球栓塞组;CBATO 组:三氧化二砷载药微球栓塞组;cTACE 组:三氧化二砷碘油栓塞组;BUN:血尿素氮;Scr:血肌酐。4 组动物均为 4 只

表 3 TACE 术后血浆 ATO 浓度变化($\text{ng/ml}, \bar{x} \pm s$)

组别	10 min	20 min	40 min	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	72 h
CBATO 组	31.46±8.12	19.34±7.61	12.74±5.49	9.21±3.17	6.04±1.05	5.17±2.31	4.37±1.46	3.16±0.79	2.19±0.48
cTACE 组	136.43±26.12	77.60±16.35	23.46±9.02	14.59±4.28	8.66±2.46	5.94±2.84	3.13±0.93	2.37±0.57	1.67±0.26
t 值	7.675	6.461	2.030	2.020	1.959	0.421	1.433	1.622	1.905
P 值	<0.001	<0.001	0.082	0.083	0.091	0.686	0.195	0.149	0.098

注:ATO:三氧化二砷;CBATO 组:ATO 载药微球栓塞组;cTACE 组:ATO 碘油栓塞组;TACE:经肝动脉导管化疗栓塞术;两组动物数均为 4 只

表 4 TACE 术后肿瘤组织和正常肝脏组织中 ATO 浓度变化情况($\mu\text{g/g}, \bar{x} \pm s$)

组别	肿瘤组织				正常肝脏组织			
	1 d	3 d	7 d	14 d	1 d	3 d	7 d	14 d
CBATO 组	0.250 1±0.077 9	0.807 5±0.114 5	0.338 3±0.073 1	0.170 1±0.099 3	0.148 1±0.066 0	0.101 2±0.042 7	0.033 5±0.014 2	0.018 0±0.009 7
cTACE 组	0.348 6±0.047 8	0.144 7±0.016 3	0.058 3±0.007 2	0.036 3±0.018 6	0.171 4±0.019 4	0.068 1±0.020 1	0.038 3±0.018 6	0.024 7±0.005 4
t 值	2.155	11.462	7.624	2.649	0.677	1.403	0.410	1.207
P 值	0.068	<0.001	<0.001	0.033	0.520	0.203	0.694	0.267

注:ATO:三氧化二砷;CBATO 组:ATO 载药微球栓塞组;cTACE 组:ATO 碘油栓塞组;TACE:经肝动脉导管化疗栓塞术;两组动物数均为 4 只

表 5 TACE 术后各组织器官内 ATO 浓度变化情况($\mu\text{g/g}, \bar{x} \pm s$)

组别	肾				肺			
	1 d	3 d	7 d	14 d	1 d	3 d	7 d	14 d
CBATO 组	0.062 1±0.032 6	0.041 9±0.019 8	0.023 3±0.017 1	0.019 3±0.009 2	0.050 1±0.026 4	0.035 0±0.022 8	0.021 1±0.017 3	0.017 1±0.009 7
cTACE 组	0.128 2±0.043 4	0.055 6±0.021 2	0.026 2±0.009 1	0.017 3±0.006 3	0.119 6±0.043 8	0.054 7±0.025 1	0.021 7±0.007 6	0.015 9±0.007 3
<i>t</i> 值	2.436	0.945	0.299	0.359	2.718	1.162	0.064	0.198
<i>P</i> 值	0.045	0.376	0.740	0.730	0.030	0.283	0.951	0.849

组别	心脏				肌肉			
	1 d	3 d	7 d	14 d	1 d	3 d	7 d	14 d
CBATO 组	0.057 3±0.034 5	0.037 0±0.017 2	0.021 6±0.015 0	0.017 8±0.010 2	0.061 0±0.024 8	0.042 0±0.022 9	0.019 6±0.010 6	0.016 5±0.008 8
cTACE 组	0.104 0±0.027 9	0.049 6±0.025 3	0.025 9±0.007 8	0.019 2±0.006 9	0.088 2±0.028 3	0.058 2±0.010 7	0.020 7±0.006 4	0.018 9±0.006 8
<i>t</i> 值	2.105	0.824	0.509	0.227	1.446	1.282	0.178	0.432
<i>P</i> 值	0.073	0.437	0.626	0.827	0.191	0.241	0.864	0.679

注: ATO: 三氧化二砷; CBATO 组: ATO 载药微球栓塞组; cTACE 组: ATO 碘油栓塞组; TACE: 经肝动脉导管化疗栓塞术; 两组动物数均为 4 只

可以在肿瘤组织中持续缓慢释放化疗药物, 较长时间保持肿瘤组织内化疗药物较高浓度, 并没有增加实验兔的肝肾毒性。

二、TACE 应用 ATO 作为化疗药物安全性和有效性

ATO 控制肝癌主要机制为选择性细胞毒作用, 抑制肿瘤血管的生成从而抑制肿瘤的生长和侵袭, 并抑制肿瘤细胞增殖^[9-11]。ATO 抗肿瘤效能呈现剂量和时间依赖性的双重作用^[12], 所以用 ATO 治疗肝癌, 选择合适的给药途径很重要。对于肝癌来说, 静脉途径用药却并不理想, ATO 进入血液后, 95%~97% 与血红蛋白结合, 血浆游离型药物浓度低^[13], 局部肿瘤组织难以达到有效药物浓度。将 ATO 与栓塞剂混合后栓塞肿瘤供血动脉, 一方面使 ATO 滞留于肿瘤组织内, 在提高肿瘤组织局部药物浓度的同时, 延长药物作用时间; 另一方面, 栓塞造成瘤体内的乏氧环境, pH 值下降, 有助于弱酸性的亚砷酸根离子向肿瘤细胞内转移^[14]。Liu 等^[15]使用 20 mg ATO 与碘油混合治疗原发性肝癌, 证实此种 cTACE 安全有效, 不良反应小, 若 cTACE 术后, 静脉应用 ATO 行全身化疗(10 mg/d, 14 d 为 1 个疗程), 在控制肝癌肺转移方面效果更佳。

既往的研究中, 实验兔 ATO 使用剂量范围为 0.2~5.0 mg/kg^[16-18]。本研究选择 ATO 剂量为 0.5 mg/kg, 原因如下: CB 栓塞效果好并有更长药物缓释时间, 低剂量 ATO 便能到达相应的治疗效果; 超选择肝肿瘤动脉栓塞, 化疗药物靶向作用于肿瘤, 所以可以适当降低化疗药物剂量; 出于动物的安全考虑, 在能得到可靠实验数据的前提下尽量减小化疗药物的浓度。本研究表明 CBATO 治疗兔

VX2 肝肿瘤模型, 对正常肝肾组织损伤及 ATO 在肾、肺、心及肌肉组织的积累, 与 cTACE 一样安全可靠。

三、载药微球作为栓塞剂和载药剂与碘油相比的优势

碘油乳化剂为油包水状态, 缺乏稳定性和化疗药持续缓释的效果^[8], 乳剂中的化疗药物代谢仍很迅速^[19]。Hong 等^[20]的实验证实 cTACE 术后 7 d 在肿瘤组织中虽然存在碘油, 但化疗药物浓度近乎为零; 术后碘油仅能使化疗药物在肿瘤组织短时间蓄积。本研究中我们也发现 cTACE 组术后 12 h ATO 血药浓度迅速恢复至基线水平, 肿瘤组织内 ATO 浓度在术后 1 天 d 达到顶峰后迅速下降, 7 d 到达基线水平。从而证实碘油乳化剂作为载药剂缺乏稳定性, 化疗药物代谢迅速。Zhang 等^[21]发现 CBATO 术后 7 d、1 个月能在 CB 周边组织中检测出化疗药物, 药物浓度随时间的延长而减小。在本研究中, 术后 1 d CBATO 组肿瘤组织内药物浓度开始升高, 3 d 时达到顶峰后下降, 14 d 时仍可检测出较高药物浓度。这表明 CB 搭载 ATO 可以延长 ATO 作用于肿瘤组织的时间, 使药物能在肿瘤内持续释放, 在 14 d 内仍保留较高浓度。这个过程可模拟 ATO 抗肿瘤的时间和剂量依赖性的特性, 发挥 ATO 促肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管形成及肿瘤转移的作用。

四、本研究的局限性

因为动物模型少, 没能设置更多观察点来检测 ATO 在血液及各组织中的浓度。并且因为 ATO 无荧光性等特性, 在本研究中无法测定 ATO 从 CB 释放后在肿瘤组织内的分布情况及浓度梯度。

综上所述,载药微球与碘油相比,可以在肿瘤组织中持续缓慢释放化疗药物,较长时间保持肿瘤组织内化疗药物较高浓度,并没有增加实验兔的肝肾毒性。CBATO 拥有更好的临床应用价值,为进一步在临床开展 CBATO 治疗肝癌奠定了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Piscaglia F, Ogasawara S. Patient selection for transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma: importance of benefit/risk assessment [J]. *Liver cancer*, 2018, 7(1): 104-119. DOI: 10.1159/000485471.
- [2] 中华医学会放射学分会介入学组协作组. 原发性肝细胞癌经导管肝动脉化疗性栓塞治疗技术操作规范专家共识[J]. *中华放射学杂志*, 2011, 45(10): 908-912. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2011.10.003.
- [3] Lewis AL, Gonzalez MV, Lloyd AW, et al. DC bead: in vitro characterization of a drug-delivery device for transarterial chemoembolization [J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2006, 17(2 Pt 1): 335-342. DOI: 10.1097/01.RVI.0000195323.46152.B3.
- [4] Lee KH, Liapi EA, Cornell C, et al. Doxorubicin-loaded QuadraSphere microspheres: plasma pharmacokinetics and intratumoral drug concentration in an animal model of liver cancer [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2010, 33(3): 576-582. DOI: 10.1007/s00270-010-9794-1.
- [5] Huang K, Zhou Q, Wang R, et al. Doxorubicin-eluting beads versus conventional transarterial chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(5): 920-925. DOI: 10.1111/jgh.12439.
- [6] 赵国瑞. 三氧化二砷载药微球抗肝癌细胞的实验研究[D]. 郑州大学, 2018: 1-53.
- [7] Duan XH, Li TF, Zhou GF, et al. Transcatheter arterial embolization combined with radiofrequency ablation activates CD8(+) T-cell infiltration surrounding residual tumors in the rabbit VX2 liver tumors [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 2835-2844. DOI: 10.2147/OTT.S95973. eCollection 2016.
- [8] Pesapane F, Nezami N, Patella F, et al. New concepts in embolotherapy of HCC [J]. *Med Oncol*, 2017, 34(4): 58. DOI: 10.1007/s12032-017-0917-2.
- [9] Jiang L, Wang L, Chen L, et al. As₂O₃ induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells through a ROS-mediated mitochondrial pathway and activation of caspases [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(2): 2190-2196.
- [10] Kimura H, Weisz A, Kurashima Y, et al. Hypoxia response element of the human vascular endothelial growth factor gene mediates transcriptional regulation by nitric oxide: control of hypoxia-inducible factor-1 activity by nitric oxide [J]. *Blood*, 2000, 95(1): 189-197.
- [11] 吴文娟, 崔慧先, 邹英华, 等. 三氧化二砷-碘油化疗栓塞对兔肝移植瘤转移及与血管形成关系的研究 [J]. *中华放射学杂志*, 2007, 2(41): 200-205. DOI: 10.3760/j.issn: 1005-1201.2007.02.025.
- [12] Wang H, Liu Y, Wang X, et al. Randomized clinical control study of locoregional therapy combined with arsenic trioxide for the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer*, 2015, 121(17): 2917-2925. DOI: 10.1002/cncr.29456.
- [13] Shoostary S, Behtash S, Nafisi S. Arsenic trioxide binding to serum proteins [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2015, 148(31-36). DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2015.03.001.
- [14] Xiao X, Liu Y, Guo M, et al. pH-triggered sustained release of arsenic trioxide by polyacrylic acid capped mesoporous silica nanoparticles for solid tumor treatment in vitro and in vivo [J]. *J Biomater Appl*, 2016, 31(1): 23-35. DOI: 10.1177 / 0885328216637211.
- [15] Liu B, Huang JW, Li Y, et al. Arsenic trioxide transarterial chemoembolization with and without additional intravenous administration of arsenic trioxide in unresectable hepatocellular carcinoma with lung metastasis: a single-blind, randomized trial [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015, 141(6): 1103-1108. DOI: 10.1007/s00432-014-1866-1.
- [16] Li H, Gong J, Jiang X, et al. Arsenic trioxide treatment of rabbit liver VX-2 carcinoma via hepatic arterial cannulation-induced apoptosis and decreased levels of survivin in the tumor tissue [J]. *Croat Med J*, 2013, 54(1): 12-16.
- [17] Kim HJ, Shin JH, Kim TH, et al. Efficacy of transarterial embolization with arsenic trioxide oil emulsion in a rabbit VX2 liver tumor model [J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2009, 20(10): 1365-1370. DOI: 10.1016/j.jvir.2009.07.005.
- [18] Lin CJ, Wu MH, Hsueh YM, et al. Tissue distribution of arsenic species in rabbits after single and multiple parenteral administration of arsenic trioxide: tissue accumulation and the reversibility after washout are tissue-selective [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2005, 55(2): 170-178. DOI: 10.1007 / s00280-004-0872-4.
- [19] Gupta S, Wright KC, Ensor J, et al. Hepatic arterial embolization with doxorubicin-loaded superabsorbent polymer microspheres in a rabbit liver tumor model [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2011, 34(5): 1021-1030. DOI: 10.1007 / s00270-011-0154-6.
- [20] Hong K, Khwaja A, Liapi E, et al. New intra-arterial drug delivery system for the treatment of liver cancer: preclinical assessment in a rabbit model of liver cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(8): 2563-2567. DOI: 10.1158 / 1078-0432.CCR-05-2225.
- [21] Zhang S, Huang C, Li Z, et al. Comparison of pharmacokinetics and drug release in tissues after transarterial chemoembolization with doxorubicin using diverse lipiodol emulsions and CalliSpheres Beads in rabbit livers [J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1): 1011-1017. DOI: 10.1080 / 10717544.2017.1344336.

(收稿日期: 2018-07-13)

(本文编辑: 高宏)