文章编号:1000-5404(2012)16-1683-03

短篇论著

Nordy微泡抗肿瘤血管治疗的超声造影及微血管密度分析

杨正春[1],李 锐[2],黄泽君[2],陈朝晖[2] (401120 重庆,重庆市渝北区人民医院超声科[1];400038 重庆,第三军医大学西南医院超声科[2])

[摘要] **目的** 探讨超声造影对兔VX2肿瘤组织抗血管生成治疗效果的评估价值。**方法** 40只VX2肿瘤模型新西兰大白兔随机分为实验组与对照组。实验组抗肿瘤血管生成治疗后与对照组同时进行超声造影,然后均进行免疫组化微血管密度(microvessel density,MVD)测定,再进行相关分析。**结果** 模型兔超声造影后,实验组超声造影最大回声强度比为(117.10±9.71)%,显著低于对照组[(2 240.42±1 670.51)%,$P<0.01$];上升时间、达峰时间实验组显著高于对照组($P<0.01$)。实验组与对照组治疗前后MVD变化差异具有显著性差异($P<0.01$)。模型兔超声造影后得到的相关造影参数最大回声强度比与MVD呈正相关,上升时间及达峰时间与MVD呈负相关($r=0.679\ 4$、$-0.615\ 4$、$-0.697\ 7$)。**结论** 超声辐照携载Nordy药物微泡抗肿瘤血管生成治疗有效,同时超声造影能间接反映肿瘤血管生成的变化。

[关键词] VX2肿瘤;超声造影;微血管密度
[中图法分类号] R445.1;R730.53 [文献标志码] A

肿瘤血管生成是肿瘤生长、浸润及转移的重要条件。诺帝(Nordy,专利号:ZL02133700.4)药物抗肿瘤血管生成治疗有效已得到国内外实验证明,但均采取病理等有创手段进行评估[1-2],不能反映在体肿瘤血管生成的功能状态信息。因此,寻求一种在体、无创、快捷评价抗肿瘤血管生成治疗效果的方法具有十分重要的临床价值。同时,大量研究证明超声造影参数可以间接反映兔VX2肿瘤微血管密度(microvessel density,MVD)[3],能实时定量评估兔VX2肿瘤血供程度的演变过程[4],因此,本研究通过对实验组兔VX2肿瘤[5]抗血管生成治疗后与对照组超声造影血流灌注参数进行对照性研究,并与肿瘤MVD进行相关性分析,旨在探讨超声造影血流灌注参数对评价抗肿瘤血管生成治疗效果的评估价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

新西兰大白兔40只,雌雄不限,体质量1.7~3.1(2.7±0.5) kg,瘤兔由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供[批号:SCXK(渝)2007-0005],VX2肿瘤组织由第三军医大学新桥医院超声科赠送。采用隧道组织块包埋法[6-7]把肿瘤种植于兔两侧大腿股外侧肌,模型兔入组条件:模型兔种植后7~22 d进行超声观察,肿瘤最大切面纵横径均大于1.0 cm且无坏死者[3]。将成功建立的40只模型兔按随机数字表法均分为实验组与对照组。

1.2 仪器与试剂

Acuson Sequoia 512型超声诊断仪(德国),造影参数分析使用对比脉冲序列(contrast pulse sequence,CPS)成像技术及SonoLiverR CAP(Clinical Application Package)定量分析软件。SonoVue超声造影剂(意大利Bracco公司)。用5 ml生理盐水稀释并震荡摇匀,微泡平均直径为2.5 μm,浓度为2×10^8/ml,按0.1 ml/kg经兔耳缘静脉团注,尾随快速注射3 ml生理盐水冲洗[3]。抗肿瘤血管生成的携载诺帝的脂质微泡采用机械振荡法制备[8]。兔抗兔CD34多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司),SABC免疫组化染色试剂(北京中杉金桥公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验组超声辐照携载诺帝药物微泡抗肿瘤血管生成治疗 实验组的模型兔进行治疗,方法为经兔耳缘静脉团注携载诺帝的脂质微泡,剂量27 mg/kg[9],尾随快速注射3 ml生理盐水冲洗,同时超声靶向辐照肿瘤部位,隔日1次,共3次;探头型号:4V1c-S;辐照参数:MBD(microbubble destruction)模式,频率:1.5 MHz,机械指数:1.9,深度:6.0 cm,发射方式:间歇式(间隔时间6 s,共辐照2 min)。

1.3.2 抗肿瘤血管生成治疗后实验组与对照组超声造影检查 首先用二维超声监测肿瘤生长情况[10],选取肿瘤最大的切面,然后再进行造影检查,实时动态观察肿瘤区域的造影灌注全过程及回声强度变化情况并存于硬盘。造影结束后再利用CAP版本软件进行分析。CAP软件分析方法:将造影图像常规选择4个感兴趣区(region of interest,ROI):边界ROI,描画整个被分析的区域,其轮廓用蓝色边框标示;病灶ROI,其边框用绿色标示;周边与病灶面积相近对照ROI,边框用黄色标示;参考对照ROI,即蓝色边框区除去绿色边框区的部分[11]。然后得到超声造影灌注的3项参数:最大回声强度比(maximun intensity,IMAX)、上升时间(rise time, RT)及达峰时间(time to peak,TTP)。

1.3.3 实验组抗血管生成治疗后和对照组的免疫组化染色MVD测定 采用ABC法,参照试剂盒操作规程进行染色,采用Weidner法计数,分别由两名病理医师进行结果统计,每个样本先在低倍镜(×100)下观察阳性染色的微血管,选择染色

[基金项目] 国家自然科学基金(30770563)
[通信作者] 李 锐,E-mail:raylee-7991@yahoo.com.cn

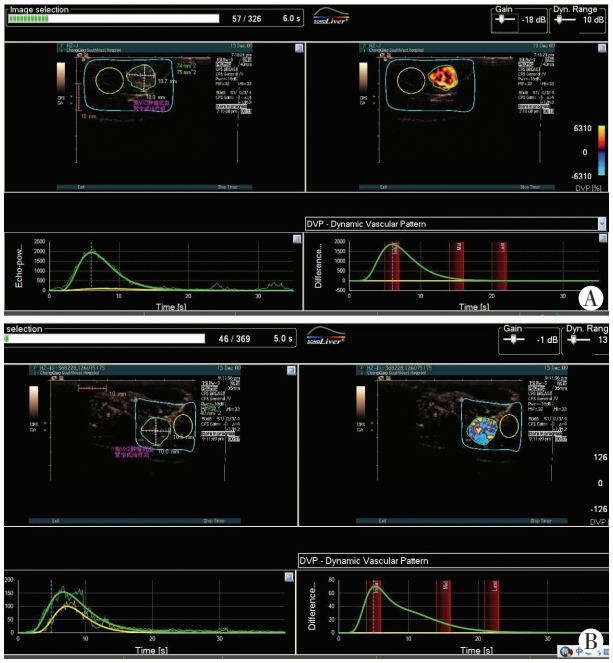
最多的区域(即“热点”),然后选择3个不重复高倍镜视野,再计算单位视野(×200)的平均微血管数,即MVD。

1.4 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SAS 8.0统计软件进行配对 t 检验。

2 结果

模型兔超声造影后得到的相关造影参数:实验组IMAX低于对照组,RT、TTP显著高于对照组($P<0.01$,图1、表1)。抗CD34抗体免疫组化染色后,棕染的内皮细胞在对照组肿瘤组织内呈成簇分布,实验组呈散在分布(图2);2组治疗前后MVD变化差异具有统计学意义($t=26.944$,$P<0.01$)。40只模型兔超声造影后得到的相关造影参数与MVD相关性分析结果显示:超声造影IMAX与MVD呈正相关、RT及TTP与MVD呈负相关($r=0.6794$、-0.6154、-0.6977)。



A:对照组;B:实验组 绿色:肿瘤组织,黄色:周边正常组织

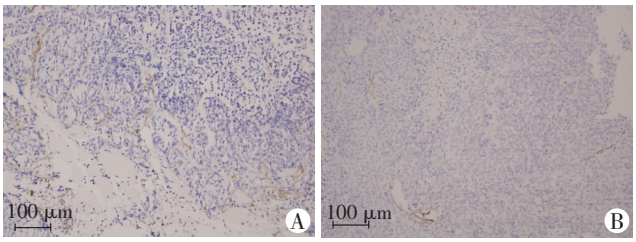
图1 2组肿瘤组织和周边正常组织超声造影及CAP分析参数图

表1 2组肿瘤组织超声造影血流灌注参数值的对比

($n=20$, $\bar{x} \pm s$)

组别	最大回声强度比(%)	上升时间(s)	达峰时间(s)
对照组	2 240.42±1 670.51	4.81±0.34	6.07±0.19
实验组	117.10±9.71[a]	5.45±0.39[a]	6.49±0.27[a]

a:$P<0.01$,与对照组比较



A:对照组;B:实验组

图2 对照组与实验组肿瘤组织免疫组化MVD图 (SABC ×100)

3 讨论

近年来,大量的研究表明,MVD与肿瘤的生长、转移及预后密切相关,它是反映肿瘤生物学行为的一个重要参数,MVD检测已成为定量分析肿瘤血管生成的金指标[12]。同时研究证明超声造影参数可以间接反映兔VX2肿瘤的MVD,能实时定量评估兔VX2肿瘤血供程度的演变过程[3-4]。在本研究中,对实验组进行超声辐照携载诺帝药物微泡抗肿瘤血管生成治疗,而对照组不做任何干预。实验组于治疗后与对照组同时进行MVD测定,结果显示MVD实验组明显低于对照组,这就说明超声辐照携载诺帝药物微泡抗肿瘤血管生成治疗有效。同时,通过超声造影血流灌注参数与肿瘤组织MVD进行相关性分析,我们发现,IMAX与MVD呈正相关,究其原因,由于VX2肿瘤细胞浸润破坏了原有的正常血管并诱导产生畸变血管,使血管卷曲成团,同时病灶内血管数量也增多,肿瘤组织MVD就越大,则进入单位体积造影剂的量就越大,故IMAX与MVD呈正相关。此外,由于肿瘤组织血管壁薄且缺乏肌层,弹性较差,导致超声造影时造影剂灌注速度快、时间短,故RT及TTP与MVD呈负相关,这与国内外相关研究一致[13-14]。

本研究结果表明,IMAX实验组明显低于对照组,说明实验组单位体积灌注造影剂的量较对照组少,也间接说明微血管的数量实验组较对照组少,这与MVD实验组小于对照组的结果相一致,超声造影也就间接证明了兔VX2肿瘤通过超声辐照携载诺帝药物微泡抗肿瘤血管生成治疗有一定效果。超声造影参数RT及TTP实验组低于对照组,原因在于实验组治疗后微血管数量较对照组少,超声造影剂灌注的速度就慢,所以RT及TTP实验组均要长于对照组。

本研究中,实验组与对照组MVD及超声造影参数差异均有显著统计学意义,超声造影参数与MVD有相关性,但相关性不是很强,考虑原因在于超声造影是功能性成像,而恶性肿瘤微血管具有新生的微血管数量多、部分新生微血管未能形成良好的管腔、呈闭塞状态或不能很好地与原有毛细血管网和其他新生血管进行连接的特点[15],这就造成相当一部分新生血管无功能,造影剂不能正常灌注,从而影响造影的相关参数;而MVD只是检查其存在性而与功能无关。

总之,在本研究中MVD实验组明显低于对照组,说明超声辐照携载诺帝药物微泡抗肿瘤血管生成治疗有效;超声造影参数与MVD有相关性,同时实验组与对照组超声造影参数有明显差异,说明超声造影参数可以间接反映肿瘤微血管的生成情况,从而达到间接

反映肿瘤治疗效果的目的,所以超声造影是评价抗肿瘤血管生成治疗效果的一种在体、无创、简便的检查方法。

参考文献:

[1] 贾世军, 赵涌, 卞修武. 诺帝对人卵巢癌细胞3AO和SKOV3增殖、周期及Aurora-A表达的影响[J]. 第三军医大学报, 2009, 31(18): 1728-1731.
[2] 白家驷, 史景泉, 郑江, 等. 诺帝对体外内皮细胞三维成型的抑制作用[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(12): 1190-1192.
[3] 周鹏, 周平, 何炜, 等. 超声造影定量评估实质期兔肝VX2瘤血供程度的演变过程[J]. 中国医学影像技术, 2010, 26(4):616-619.
[4] 黄泽君, 李锐, 张莹, 等. 兔VX2肿瘤超声造影灌注定量参数与肿瘤组织周细胞变化[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(4):331-333.
[5] 白雪萍, 雷成功, 王兴华. Sono Vue实时超声造影评价肝VX2肿瘤血流灌注的实验研究[J]. 山西医药杂志, 2006, 35(2): 111-113.
[6] 吴文娟, 崔慧先, 李海涛, 等. 兔VX_2肝癌模型的建立及超声观察[J]. 中华超声影像学杂志, 2005, 14(2): 147-150.
[7] Chen J H, Li Y C, Huang Y S, *et al*. Induction of VX2 carcinoma in rabbit liver: comparison of two inoculation methods[J]. Lab Anim, 2004, 38(1): 79-84.
[8] 张莹, 李锐, 黄泽君, 等. 载诺帝脂质微泡的制备及特性的实验研究[J]. 中国超声医学杂志, 2009, 25(11): 1012-1014.
[9] 刘宏, 卞修武, 陈代伦, 等. 诺帝对人恶性胶质瘤裸鼠原位移植瘤FPR、VEGF表达的影响及意义[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2007, 12(2): 72-75.
[10] 张勇, 王志刚, 康娟, 等. 兔VX_2肝癌模型的建立及超声监测[J]. 中国超声医学杂志, 2008, 24(9): 785-788.
[11] 荣雪余, 冀鸿涛, 朱强, 等. 超声造影在肝局灶性病变鉴别诊断中的应用[J]. 中国医学影像技术, 2008, 24(3): 402-405.
[12] 丁洪基. 肿瘤微血管密度检测及其临床病理意义[J]. 诊断病理学杂志, 2008, 15(3): 241-243.
[13] 黄丽华, 宗绍云. 超声造影在乳腺疾病诊断中的应用研究[J]. 临床超声医学杂志, 2007, 9(12): 729-732.
[14] 袁惠, 王丹, 陈红艳, 等. 肝细胞性肝癌超声造影定量参数与微血管密度的相关性研究[J]. 中国临床医学影像杂志, 2009, 20(4): 255-257.
[15] Duarte M, Longatto-Filho A, Schmitt F C. Angiogenesis, haemostasis and cancer: new paradigms and old concerns[J]. J Bras Pato Med Lab, 2007, 43(6): 441-449.

(**收稿**:2012-01-23;**修回**:2012-03-16)
(编辑 栾 嘉)

文章编号:1000-5404(2012)16-1685-03

短篇论著

一期手术重建治疗膝关节脱位合并多发韧带损伤

宋 航[1],肖 洪[1],任小宝[2] (400020 重庆,解放军第324医院骨科[1];400038 重庆,第三军医大学西南医院急诊部[2])

[**摘要**] **目的** 探讨膝关节脱位合并多发韧带损伤急性期行一期韧带重建术后近期疗效。**方法** 2005年1月至2011年12月,对39例膝关节脱位患者采用一期同种异体肌腱移植重建前后交叉韧带,锚钉缝合修复内侧副韧带,部分股二头肌腱重建修复外侧副韧带损伤。术后早期康复锻炼。**结果** 患者术后均未发生关节内感染。全部切口Ⅰ期愈合。术后均获至少12个月随访。2例患膝较健侧屈曲缺失25°,其余膝关节活动度恢复正常。膝关节Lysholm评分为82~95分,平均87.6分。后抽屉试验Ⅰ度阳性6例,Lachman试验阳性(Ⅰ度)6例,内、外翻试验及前抽屉试验均为阴性。**结论** 对外伤性膝关节脱位合并多发韧带损伤于急性期一期重建,近期疗效满意。

[**关键词**] 膝关节脱位;韧带损伤;韧带重建;韧带修复
[**中图法分类号**] R684.76;R686.5;R687.4 [**文献标志码**] A

膝关节脱位并发多韧带损伤在膝关节损伤中发生率较低[1],多发生于高能量损伤,目前多主张采用手术治疗恢复一个无痛并功能良好的膝关节[2]。2005年1月至2011年12月,解放军第324医院对收治的39例膝关节脱位患者于急性期(受伤后2周内)一期重建修复多发韧带损伤,获随访12个月,疗效满意,报告如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

本组男性29例,女性10例,年龄25~46岁,平均35.3岁;左膝21例,右膝18例;交通伤26例,重物砸伤7例,运动伤5例,机器绞伤1例。患者入院后均行完善的临床症状检查,患膝关节表现疼痛、肿胀和活动疼,浮髌试验均阳性。其中13例入院时患膝仍然畸形,胫骨相对于股骨后脱位8例,胫骨相对股骨内侧脱位5例。3例伴腓总神经支配区感觉及运动缺失;X线片提示3例伴胫骨内侧平台塌陷骨折。本组病例足背动脉和胫后动脉可触及,下肢血管彩超检查未见腘动、静脉及其分支损伤。术前行患膝MRI检查提示前后交叉韧带合并内侧副韧带损伤23例,前、后交叉韧带合并外侧副韧带损伤11例,后交叉韧带合并内侧副韧带损伤5例;本组合并内、外侧半月板同时损伤3例,单一外侧半月板损伤6例,单一内侧半月板损伤8例,合并软骨损伤6例。伤后至术前时间为6~13 d,平均7.8 d。本实验经过医院伦理委员会批准,患者及其家属知情同意,并签知情同意书。

1.2 术前处理

13例患膝脱位畸形行急诊手法复位,复位后即予石膏托固

[**基金项目**] 第三军医大学临床创新基金(SWH2011LC006);重庆市科技攻关(CSTC2010AB5118)
[**通信作者**] 任小宝,电话:(023)68765653,E-mail:rxb1000@sohu.com