

· 临床研究 ·

晚期直肠癌术前选择性动脉灌注化疗对手术和血管内皮细胞生长因子、微血管密度的影响

杨卫东, 张亚冰[△]

(重庆市第一人民医院普外科 400011)

摘要:目的 探讨术前选择性动脉灌注化疗治疗晚期直肠癌对手术切除、血管内皮细胞生长因子(VEGF)和肿瘤血管密度(MVD)的影响。方法 选择该院 2006 年 8 月至 2010 年 6 月收治的直肠癌患者 62 例,随机分为选择性动脉灌注化疗加手术组(治疗组)32 例和单纯手术组(对照组)30 例。灌注化疗方案为替加氟 800 mg、亚叶酸钙 100 mg、奥沙利铂 150 mg。比较两组患者治疗后组织 VEGF 阳性率与 MVD 计数。结果 治疗组介入治疗后体积(37.21±11.15)cm³ 较治疗前(48.57±10.43)cm³ 明显缩小,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗组 21 例行根治手术,对照组 15 例行根治性手术。治疗组术中出血量(86±24)mL 较对照组(158±36)mL 少($P<0.05$)。治疗组 VEGF 阳性表达率较对照组显著降低($P<0.05$),平均微血管密度亦较对照组明显下降($P<0.05$)。结论 晚期直肠癌术前行选择性动脉灌注化疗可减小肿瘤体积,增加手术切除率,其机制可能与下调 VEGF 表达和 MVD 值抑制肿瘤的血管生成有关。

关键词:直肠癌;介入治疗;血管内皮细胞生长因子;微血管密度

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.24.015

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)24-2496-02

Effect of selective rectal artery chemotherapy before resection on operation and microvessel density and vascular endothelial growth factor in advanced rectal carcinoma

Yang Weidong, Zhang Yabing[△]

(General Surgery of The First People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400011, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of selective rectal artery chemotherapy before resection on operation and microvessel density and vascular endothelial growth factor in advanced rectal carcinoma. **Methods** From Aug 2006 to Jun 2010, 62 cases of rectal carcinoma, were divided into therapeutic group, 32 patients were treated with selective rectal artery chemotherapy and operation, and control group, 30 patients were treated with operation only. selective rectal artery chemotherapy regimens: tegafur + calcium folinate + oxaliplatin. The positive rate of VEGF and MVD were performed between two groups. **Results** In therapeutic group, the volume of tumor after therapy was less than that of before treatment ($P<0.05$). There were 21 cases treated by radical resection in therapeutic group, but 15 cases in control group. The blood loss of operation in therapeutic group was (86±24) mL, which less than that of control group (158±36) mL. Compared with control group, the positive rate of VEGF and MVD were decreased obviously in therapeutic group ($P<0.05$). **Conclusion** The therapy of selective rectal artery chemotherapy before resection in advanced rectal carcinoma can reduce the tumor volume and operation risk, and the mechanism may be relate with down regulation of VEGF and MVD, and further inhibition of tumor angiogenesis.

Key words: rectal carcinoma; interventional therapy; vascular endothelial growth factor; microvessel density

结直肠癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率在全球呈上升趋势。世界卫生组织(WHO)报告结直肠癌分别居所有癌症的第 3 位和第 4 位^[1-2]。结直肠癌以手术治疗为主,虽然近年来手术进步很大,但 5 年总体生存率只有 50%~70%。因此,近年来新辅助治疗作为综合治疗的一种方法在结直肠癌中的应用得到越来越多的关注。本科室采用术前选择性动脉灌注化疗治疗晚期直肠癌,不但提高了肿瘤的切除率,而且降低了肿瘤的复发,获得满意疗效。本研究应用免疫组织化学技术,检测经选择性动脉灌注化疗前后癌组织中血管内皮细胞生长因子(VEGF)及微血管密度(MVD)表达的变化情况,探讨选择性动脉灌注化疗在治疗直肠癌中的可能机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2006 年 8 月至 2010 年 6 月本科收治的临床资料完整的直肠癌患者 62 例,其中男 35 例,女 27 例;年龄 38~79 岁,平均 54 岁;所有病例均由手术或纤维结肠镜病理检查证实。参考 WHO 的直肠癌 TNM 分期标准,临床分期 III 期 48 例,IV 期 14 例。病理分型:腺癌 35 例,黏液腺癌 23 例,印戒细胞癌 4 例。均未曾接受过放射治疗及化疗。采用随

机数字法随机分为两组:动脉灌注化疗加手术治疗组(治疗组)32 例,单纯手术治疗组(对照组)30 例。两组患者年龄、性别、肿瘤 TNM 分期、病理分型、手术方式等方面比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 治疗方法

1.2.1 选择性动脉灌注化疗 治疗组采用 Seldinger 方法进行股动脉穿刺插管,分别选择肠系膜下动脉和双髂内动脉进行造影,观察肿瘤动脉的供血情况,于乙状结肠动脉或直肠上动脉和髂内动脉灌注化疗药物。化疗方案:替加氟 800 mg,亚叶酸钙 100 mg,奥沙利铂 150 mg^[3]。患者在治疗前 30 min 分别肌注苯海拉明 40 mg,静滴泮托拉唑钠 40 mg,静脉推注地塞米松 10 mg,预防化疗药物的消化道反应。每 3 周重复 1 次,共 2~3 次。化疗结束后 2 周行手术治疗。

1.2.2 免疫组化 所用一抗鼠抗人 VEGF 单克隆抗体、鼠抗人 CD34 单克隆抗体及配套的免疫组化试剂盒均购自北京中山生物公司,取手术切除后癌组织标本,行石蜡包埋并制备组织切片,分别进行病理组织学检查,采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化法染色,用已知阳性切片作阳性对照,用

[△] 通讯作者, Tel: (023) 63708643; E-mail: yabing_501@163.com。

PBS 代替一抗作阴性对照,具体操作按说明书进行。

1.3 观察指标 监测治疗组化疗过程中患者的不良反应,主要观察骨髓抑制、大出血、乏力情况。对治疗不良反应较重患者进行相应的对症处理。介入前、后采用增强 CT 测定肿瘤的最大径(a)、最小径(b)及肿瘤厚度(c),监测肿瘤大小以评价近期疗效。肿瘤体积计算公式参考 $1/6\pi abc$ 。术中观察所见肿瘤的坏死情况,肿瘤与周围组织的分解是否清楚、肿瘤是否可以切除(分为根治术、改良根治术、姑息性手术)及出血量情况。VEGF 以细胞质上出现棕黄色颗粒为阳性细胞,计算每例切片 5 个高倍视野中阳性染色反应细胞的百分率, $<10\%$ 标记为阴性, $\geq 10\%$ 标记为阳性。肿瘤组织 MVD 通过 CD34 抗体标记后在光学显微镜下进行计数,按照文献[4]的方法判断:先在 40 倍光学显微镜下找到癌灶周围间质血管密集区,然后在 200 倍的光学显微镜下计数上述 4 个不同区域的血管数,取其平均值为血管密度。

1.4 统计学处理 所有数据应用 SPSS12.0 统计软件进行分析,计数资料采用 χ^2 检验比较,计量资料采用 t 检验分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 介入治疗前、后肿瘤大小的变化情况 治疗组介入治疗前的平均体积 $(48.57 \pm 10.43) \text{cm}^3$,介入治疗后体积 $(37.21 \pm 11.15) \text{cm}^3$,治疗前、后比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 手术情况 治疗组 21 例行根治手术,9 例行姑息性手术,2 例远处转移者行单纯结肠造瘘。对照组 15 例行根治性手术,12 例行姑息性手术,3 例远处转移者行单纯结肠造瘘,术后改行其他治疗。术中见对照组肿瘤坏死程度明显轻于治疗组。治疗组肿瘤与正常肠管分界清楚,与骶前粘连者易于剥离,周围正常肠管未见缺血坏死,手术中出血量为 $(86 \pm 24) \text{mL}$,对照组出血量为 $(158 \pm 36) \text{mL}$,两者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗组介入化疗过程中仅 5 例出现轻度胃肠道不适,无严重不良反应发生。

2.3 两组组织 VEGF 及肿瘤 MVD 的比较 治疗组 VEGF 的阳性表达率较对照组显著降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),平均 MVD 亦较对照组明显下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 两组 VEGF 阳性率及 MVD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF 阳性率(%)	MVD
治疗组	32	24.8 ± 8.4 *	22.6 ± 6.3 *
对照组	30	59.4 ± 12.6	55.1 ± 14.2

*: $P < 0.05$,与对照组比较。

3 讨论

直肠癌是中国目前最常见的恶性肿瘤之一,且发病率呈上升趋势。目前,手术仍是最重要的根治性手段,但部分患者就诊时已属中晚期,手术风险及复发率都较高。近年来,新辅助治疗已成为肿瘤临床研究最活跃的领域之一。新辅助放疗不但可降低肿瘤分期、提高根治性切除率和保肛率,并且能降低术后局部复发率及延长生存期等^[5-6]。目前,新辅助治疗联合全直肠系膜切除术(TME)已成为局部晚期直肠癌的标准治疗模式^[5]。

近年来,对直肠癌患者的术前区域动脉灌注化疗逐渐开展广泛^[7-10],相关的研究认为化疗药物对于癌细胞的杀灭作用依赖于其在肿瘤局部的药物浓度,药物浓度每增加 1 倍其对肿瘤细胞的杀伤作用增加 10 倍^[8]。而且动脉注入的化疗药物经体循环后对全身临床或亚临床转移灶产生作用,同时经静脉回流

入肿瘤部位起到二次化疗的效应。杨光华^[9]研究发现晚期直肠癌行动脉灌注化疗后比单纯全身化疗短期疗效明显提高。张相等^[10]对 52 例结直肠癌患者术前行区域动脉灌注化疗(PRAC),结论表明 PRAC 能有效改善结直肠癌患者的远期生存,不良反应少。作者在实际的临床治疗中,按照 NCCN 治疗指南选择针对直肠癌适宜的化疗药物,同时根据直肠血管的解剖特点进行血管造影了解肿瘤的供血情况,这样保证了药物的剂量强度和有效性,还消除了动脉栓塞可能导致的肠管缺血坏死或穿孔等发生。

因肿瘤周围组织的药物浓度提高,使得化疗药物能充分与细胞接触并将之杀灭,减少癌细胞的扩散和术中医源性播散,同时使原发肿瘤或转移病灶缩小,降低肿瘤分期,提高根治性切除率和手术难度,并降低局部复发率。本组 32 例患者经灌注化疗后,肿瘤体积较治疗前明显缩小,术中肿块与周围组织界限较清晰,容易分离,且出血量不多。唐云强等^[11]对 23 例进展期低位直肠癌行术前区域动脉灌注化疗,并与 22 例单纯手术组进行比较,结果表明术前灌注化疗能提高根治性切除率,并延长术后 1、3 年生存率,降低术后 3 年复发率。

自从 Folkman 等提出肿瘤生长及转移依赖肿瘤组织中新生血管的看法后,关于肿瘤的生长和肿瘤内微血管关系的研究报道十分广泛^[12]。VEGF 是目前发现的最强烈的血管生成因子,参与许多生理及病理过程。MVD 是衡量肿瘤血管形成程度的标志,肿瘤细胞的生长繁殖依赖其周围的微血管提供营养。本研究结果表明化疗后 VEGF 及 MVD 表达的降低可能与化疗药物对肿瘤细胞的直接杀伤及减少肿瘤血管生成有关,推测其机制可能是通过抑制肿瘤细胞和毛细血管内皮细胞分泌促血管生成因子(VEGF 是其中之一),间接抑制肿瘤血管生成。郭云等^[13]研究表明,动脉灌注化疗可以明显抑制癌细胞增殖活性,促进肿瘤细胞凋亡。因此,动脉灌注化疗通过下调 VEGF 表达和 MVD 值抑制肿瘤的血管生成,以及通过化疗药物对肿瘤细胞的直接杀伤起抗肿瘤的作用。

由于局部灌注化疗,其全身的不良反明显减轻,因此患者的耐受性好。总之,选择性动脉灌注化疗治疗直肠癌有助于提高手术切除率,降低手术风险,效果肯定,值得临床进一步大样本研究以推广应用。

参考文献:

[1] Steward BW, Kleihues Ped. World Cancer Report [M]. Lyon: IARC Press, 2003: 198-202.
 [2] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global Cancer Statistics, 2002 [J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55: 74-108.
 [3] 安永恒. 肿瘤合理用药 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 148-263.
 [4] Obermair A, Kurz C, Czerwenka K, et al. Microvessel density and vessel invasion in lymph node negative breast cancer: effect on recurrence-free survival [J]. Int J Cancer, 1995, 62(2): 126-131.
 [5] Julien LA, Thorson AG. Current neoadjuvant strategies in rectal cancer [J]. J Surg Oncol, 2010, 101(4): 321-326.
 [6] Castaldo ET, Parikh AA, Pinson CW, et al. Improvement of survival with response to neoadjuvant radiation therapy for rectal cancer [J]. Arch Surg, 2009, 144(2): 129-135.
 [7] 董立国, 李井泉, 吕刚. 区域性动脉灌注化疗在不可切除胃肠道肿瘤治疗中的应用 [J]. 解放军医学杂志, 2011, 36(10): 1101-1102.

状及比较特定的体征进行初步诊断。近期的文献^[5-6,8-9]报道因 MRI 检查能清晰显示髌股关节骨、软骨及内侧支持带的损伤程度,能较好地起到协助诊断作用,故对通过询问病史及查体后初步诊断为急性滑脱性髌股关节撞击综合征的患者,应常规进行膝关节 MRI 检查,以便进一步确定诊断并明确损伤程度。而随着关节镜技术的发展,为临床医师提供了在微创情况下对膝关节疾病进行即诊即治的有效手段。关节镜因可在直视下更清晰地观察关节内骨、软骨及髌内侧支持带、十字韧带损伤情况,故应作为该病诊断的金标准。

3.2 手术指征及手术时机的选择 急性滑脱性髌股关节撞击综合征既往多采用石膏或支具固定膝关节行保守治疗。但临床报道复发性髌骨脱位发生率很高,反复的髌骨脱位可引起骨性关节炎的发生。Maenpaa 等报道了对 100 例患者进行保守治疗,随访期内髌骨再脱位发生率高达 44%,另 19% 的患者存在半脱位或膝关节长期疼痛,完全治愈率仅 37%。故对于该病,目前认为凡具有髌骨脱位或再脱位危险的均为手术指征。对于有手术指征的患者均应尽早安排手术治疗。无髌骨脱位及多数髌骨半脱位病例可于受伤之后 1 周内手术,以阻止创伤性关节炎的发展,缩短康复期;对于部分脱位型但关节肿胀较轻的病例也可于 1 周内手术,尽快清除创伤引起的骨、软骨碎片,可有效减少继发性损伤的发生;而对于膝关节肿胀明显、关节活动受限的严重脱位及半脱位型病例可于伤后用支具固定膝关节 1~3 周,待肿胀消退屈膝功能恢复后再行手术,以避免术后发生关节僵直。

3.3 手术方法的选择 对于急性滑脱性髌股关节撞击综合征的关节镜手术治疗需根据术前症状体征、MRI 检查结果及术中关节镜所见具体情况来确定。单纯清理术适用于髌股关节稳定、内侧支持带 I 度损伤的无脱位型病例。其主要目的是探查关节受损情况,明确诊断,并尽早清除关节腔内的积血,以缩短康复期。本组 3 例内侧支持带 I 度损伤且受伤后无髌骨脱位的患者进行了单纯清理术,术后膝关节功能恢复较快,术后 3 个月复查时 Lysholm 临床评分均达到 95 分以上。清理术加外侧支持带松解术多用于内侧支持带 I 度损伤的半脱位型病例,不修补内侧支持带,仅部分松解外侧支持带即能纠正髌骨的位移。目前,很多学者^[10]认为关节镜下松解外侧支持带,具有操作简单、创伤轻、恢复快等优点。清理术加髌骨内侧支持带缝合术适用于部分内侧支持带 I~II 度损伤的半脱位型病例,仅通过修补内侧支持带即能纠正髌骨的位移。本组 9 例患者进行了该术式,均取得了较好疗效。术后 3 个月复查时 Lysholm 临床评分均达到 90 分以上。清理术加内侧支持带缝合术加外侧支持带松解术适用于多数脱位型及半脱位病例。通过内侧支持带的缝合及外侧支持带的松解来纠正髌骨的位移,两者的协同作用可使髌股关节更稳定,本组 8 例内侧支持带损

伤较重的病例均采用了此种术式,术后仅 1 例功能恢复欠佳。此外,尚有胫骨结节移位术^[11],适用于髌骨脱位及半脱位严重及股骨滑车发育异常的病例,对于以上情况内侧支持带缝合术加外侧支持带松解术有时仍不能将髌骨复位,则需将股四头肌内侧头向外、向下推进缝合或(和)胫骨结节向下、向内移位,才能将髌骨较好地复位于股骨滑车内。

参考文献:

- [1] 于利,王立德,吕德成,等.急性滑脱性髌股关节撞击综合征的关节镜诊断与治疗[J].中华骨科杂志,2005,25(6):332-333.
- [2] 陈疾许,陈世益.髌股关节疾病研究进展[J].国外医学骨科学分册,2003,24(1):332-333.
- [3] Sillanpaa PJ, Mattila VM, Maenpaa H, et al. Treatment with and without initial stabilizing surgery for primary traumatic patellar dislocation. a prospective randomized study[J]. J Bone Joint Surg Am, 2009, 45(2):263-273.
- [4] 王亦聰.骨与关节损伤[M].4版.北京:人民卫生出版社,2007:419.
- [5] 王植,王林森.急性滑脱性髌股关节撞击症的认识与 MRI 诊断[J].中华骨科杂志,2003,23(7):408-413.
- [6] 朱宝玉,王万春,梁培雄,等.MRI 在急性膝关节损伤中的应用价值[J].中国骨与关节损伤杂志,2007,22(9):750-751.
- [7] Ricchetti ET, Mehta S, Sennett BJ, et al. Comparison of lateral release versus with medial soft-tissue realignment for the treatment of recurrent patellar instability: a systematic review [J]. Arthroscopy, 2007, 23(5):463-468.
- [8] Andrich J. Surgical options for patellar stabilization in the skeletally immature patient [J]. Sports Med Arthrosc, 2007, 15(2):82-88.
- [9] McConnell J. Rehabilitation and nonoperative treatment of patellar instability[J]. Sports Med Arthrosc, 2007, 15(2):95-104.
- [10] Larson RL, Cabaud HE, Slocum DB, et al. The patellar compression syndrome surgical treatment by lateral retinacular release [J]. Clin Orthop Relat Res, 1978, 134:158-167.
- [11] 刘德俊,严益军,王兴平,等.急性滑脱性髌股关节撞击症的治疗观察[J].中国误诊学杂志,2007,7(22):5206-5210.

(收稿日期:2012-03-08 修回日期:2012-05-10)

(上接第 2497 页)

- [8] 许剑民,钟芸诗,牛伟新,等.术前肝动脉联合区域动脉灌注化疗预防结直肠癌术后肝转移[J].中华医学杂志,2006,86(2):88-92.
- [9] 杨光华.晚期直肠癌动脉化疗灌注术与全身化疗对比分析[J].医药论坛杂志,2011,32(7):62-63.
- [10] 张相良,石慧娟,崔书中,等.区域动脉灌注化疗在结直肠癌术前应用的远期疗效观察[J].广东医学,2010,31(19):2562-2564.
- [11] 唐云强,谭志明,王嘉康,等.术前区域动脉灌注化疗治疗进展期低位直肠癌的临床研究[J].南方医科大学学报,

2008,28(7):1247-1253.

- [12] Salem SA, Aly DG, Youssef NS. Immunohistochemical assessment of angiogenesis and vascular endothelial growth factor expression in cutaneous lichen planus: relation to the degree of inflammation[J]. Eur J Dermatol, 2011, 21(2):197-202.
- [13] 郭云,唐宗江,刘小健,等.3种不同术前辅助治疗方法对低位直肠癌细胞凋亡的影响[J].广西医科大学学报 2006,23(6):907-909.

(收稿日期:2012-03-28 修回日期:2012-05-23)