

## $^{188}\text{Re}$ 灌注球囊照射预防兔血管再狭窄

任晓庆 李红波 黄定九 黄钢 毛家亮 樊法生 王长谦 王彬尧

**【摘要】** 目的 观察 $^{188}\text{Re}$ 灌注球囊血管内照射对兔血管损伤后再狭窄的预防作用。方法 应用球囊过度扩张损伤兔双侧髂动脉,随机选择一侧髂动脉进行 $^{188}\text{Re}$ 灌注球囊血管内局部照射,对受照射血管进行血管造影、组织病理学检查及增殖细胞核抗原(PCNA)染色分析。结果 与非照射组血管比较,照射组血管直径较大[(1.94 ± 0.19) vs (1.77 ± 0.28) mm,  $P < 0.05$ ],新生内膜面积减少[(1.12 ± 0.75) vs (2.17 ± 1.21) mm<sup>2</sup>,  $P < 0.01$ ],狭窄面积百分比降低[(19.23 ± 12.60) % vs (34.45 ± 17.49) %,  $P < 0.01$ ],PCNA 阳性率低[(3.75 ± 2.09) % vs (5.64 ± 1.74) %,  $P < 0.05$ ]。0.5 mm 深处组织吸收剂量为 15 Gy。结论  $^{188}\text{Re}$ 灌注球囊血管内照射能够抑制兔损伤血管再狭窄。

**【关键词】** 血管;创伤和损伤;辐射;电离;铼;兔

**Intravascular  $\gamma$ -irradiation with a liquid  $^{188}\text{Re}$ -filled balloon for the prevention of restenosis in rabbit model**  
REN Xiaqing, LI Hongbo, HUANG Dingjiu, et al. Renji Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200001, China

**【Abstract】** **Objective** To investigate the effects of intravascular  $\gamma$ -irradiation with a liquid  $^{188}\text{Re}$ -filled balloon on restenosis in rabbit model, and to evaluate the feasibility of the intravascular irradiation. **Methods** The bilateral iliac arteries of 14 rabbits were injured by catheter balloon overdilation. A random side iliac artery of the rabbit was irradiated by a liquid  $^{188}\text{Re}$ -filled balloon with the radioactivity of 15 Gy at a depth of 0.5 mm beneath the skin close to the artery, and the other iliac artery served as a control. At 12 weeks after operation, quantitative angiography, histopathology and immunohistochemistry analysis were performed in the injured iliac arteries to evaluate the effects of irradiation. **Results** There was significant increase in iliac artery diameter [(1.94 ± 0.19) vs (1.77 ± 0.28) mm,  $P < 0.05$ ], and significant decrease in neointimal area [(1.12 ± 0.75) vs (2.17 ± 1.21) mm<sup>2</sup>,  $P < 0.01$ ], percent stenosis area [(19.23 ± 12.60) % vs (34.45 ± 17.49) %,  $P < 0.01$ ], and the proliferative cell nuclear antigen (PCNA) positive rate of vascular smooth muscle cells [(3.75 ± 2.09) % vs (5.64 ± 1.74) %,  $P < 0.05$ ] in  $^{188}\text{Re}$ -filled balloon irradiation group compared with control group. **Conclusions** Intravascular  $\gamma$ -irradiation by a liquid  $^{188}\text{Re}$ -filled balloon with 15 Gy at 0.5 mm tissue depth beneath the skin close to the artery in rabbit model could inhibit neointimal proliferation and prevent restenosis. The intravascular brachytherapy with irradiation for prevention of restenosis is technically feasible.

**【Key words】** Blood vessels; Wounds and injuries; Radiation, ionizing; Rhenium; Rabbits

血管再狭窄为冠状动脉成形术的主要障碍。许多动物实验及临床研究表明,血管内放射治疗是防止再狭窄的有效措施。本实验应用球囊过度扩张法对兔髂动脉造成损伤,再利用球囊灌注放射源 $^{188}\text{Re}$ 对损伤血管段进行照射,以观察其预防再狭窄的有效性及其可行性。

### 材料与amp;方法

1. 实验动物。新西兰大白兔 14 只,雌雄不拘,体重匹配(3.0 ± 0.5) kg。常规颗粒饲料喂养。
2. 放射源。 $^{188}\text{Re}$  (Na $^{188}\text{ReO}_4$  溶液)由中国科学院上海原子核研究所提供。 $^{188}\text{Re}$  发射  $\gamma$  射线,由 $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$  发生器产生。其半衰期为 16.98 h;总平均吸收剂量常数  $\Gamma = 0.459 \times 10^{-6}$  (g · Gy Bq<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>);最大能量为 2.12 MeV,平均能量为 0.764 MeV;在组织中的最大射程为 11 mm,经离球囊 0.5

mm 则能量下降 50 %,2.5 mm 能量下降至 10 %<sup>[1]</sup>。所使用的 $^{188}\text{Re}$  溶液放射性浓度为 962 ~ 1 184 GBq/L。

3. 放射剂量的估测。据文献[2~4]进行放射剂量的估测。据文献及本实验室的研究结果,抑制内膜增生的有效吸收剂量应在 15 Gy 以上<sup>[5,6]</sup>。以距离球囊 0.5 mm 深处血管组织吸收剂量为估测剂量(15 Gy),球囊表面的吸收剂量应达 30 Gy。所用 $^{188}\text{Re}$  放射性浓度为 962 ~ 1 184 GBq/L,故达到靶剂量所需照射时间为 600 ~ 720 s。

4. 血管内照射方法。经兔耳缘静脉按体重注射质量分数为 3 % 戊巴比妥钠 0.8 mL/kg 进行麻醉,分离右侧颈总动脉。行髂动脉造影后,用 3.0/20 mm 经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)球囊过度扩张双侧髂动脉。压力 607.95 kPa,持续 2 min,球囊与血管直径之比平均为 1.36 1。重复造影观察扩张效果。随机选择一侧髂动脉为照射段,另一侧为对照段。用 $^{188}\text{Re}$  液体 1 mL 充盈球囊导管(球囊内灌注 $^{188}\text{Re}$  约 0.15 mL),在扩张损伤的髂动脉段进行局部照射,照射时间据所用 $^{188}\text{Re}$  的放射性浓度而定。对照侧重复上述过程,但改为生理盐水充盈球囊。照射结束后结扎右颈总动脉,青霉素干粉局部敷撒,缝合皮肤,普通饲料喂养。

作者单位:200001 上海第二医科大学附属仁济医院心内科(任晓庆(现在中国医学科学院、中国协和医科大学阜外心血管病医院生理室)、李红波、黄定九、毛家亮、王长谦、王彬尧),核医学科(黄钢);中国科学院上海原子核研究所(樊法生)

5. 取材及组织病理学检查。术后 12 周,在质量分数为 3%戊巴比妥钠麻醉下,分离左侧颈总动脉,行双髂动脉造影。然后剖腹分离腹主动脉,插管以生理盐水灌流清除血液,继之用体积分数为 4%中性福尔马林以 100 mm Hg 压力灌注固定 10 min,分离双侧髂动脉,切取靶血管段,置中性福尔马林固定 24 h。标本石蜡包埋,常规病理切片,HE 染色及增殖细胞核抗原(PCNA)染色。

6. 血管造影及病理切片图像分析。采用 DSA 造影机自动血管分析测量(AVA)系统,自动测量髂动脉血管平均直径。应用 ZEISS 公司 KS400 图像分析系统进行血管图像分析。由计算机软件自动计算管腔面积、内弹力膜(IEL)包绕面积、管腔周径、新生内膜面积(内弹力膜包绕面积减去管腔面积)及狭窄面积百分比。每条血管测量 3 个切面,取平均值。

7. 免疫组织化学分析。将石蜡包埋标本做 5  $\mu$ m 厚切片。采用微波抗原修复后,加 PCNA 一抗,37  $^{\circ}$ C 保温 120 min;加二抗 37  $^{\circ}$ C 保温 30 min;加 3,3'-二氨基联苯胺(DAB) 200  $\mu$ L,反应 5~10 min,镜下观察显色情况,加 PBS 终止反应。血管平滑肌细胞 PCNA 阳性表达为细胞核内呈细颗粒状棕黄色沉淀。250 倍光镜下计数 200 个细胞,计算 PCNA 阳性细胞占总计数细胞的百分比。

8. 统计学处理。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。应用 SAS 软件进行血管造影及图像分析的配对  $t$  检验或组间  $t$  检验,免疫组织化学分析行成组  $t$  检验。

## 结 果

1. 髂动脉造影分析。球囊过度扩张双侧髂动脉后即刻造影,照射组与非照射组血管直径分别为(2.23  $\pm$  0.15)和(2.19  $\pm$  0.11) mm,无明显差别。术后 3 个月,照射侧及非照射侧血管直径均显著减小,照射组血管直径为(1.94  $\pm$  0.19) mm,与血管扩张后即刻造影相比,差异有显著性( $t=3.8$ ,  $P<0.01$ ),非照射组血管直径为(1.77  $\pm$  0.28) mm,与照射组及扩张后即刻造影比较,差异均有显著性( $t$  分别为 2.06 和 6.5,  $P<0.05$  和 0.01)。表明血管均出现不同程度重构及损伤反应。但照射组血管直径明显大于非照射组,表明<sup>188</sup>Re 照射(0.5 mm 深处组织吸收剂量 15 Gy)能减轻损伤后血管狭窄。

2. 血管病理切片分析。与非照射组血管比较,照射组血管新生内膜面积明显减少,狭窄面积百分比显著降低,管腔周径显著扩大(表 1),表明<sup>188</sup>Re(0.5 mm 深处组织吸收剂量 15 Gy)能够抑制血管损伤后新生内膜增生。

表 1 照射组与非照射组血管病理切片图像分析

指 标	照射组	非照射组
管腔周径(mm)	7.59 $\pm$ 0.61 * (2.09)	7.05 $\pm$ 0.87
管腔面积(mm <sup>2</sup> )	4.61 $\pm$ 0.72	4.01 $\pm$ 1.02
IEL 面积(mm <sup>2</sup> )	5.74 $\pm$ 0.57	6.19 $\pm$ 0.66
内膜面积(mm <sup>2</sup> )	1.12 $\pm$ 0.75 (2.78)	2.17 $\pm$ 1.21
狭窄面积(%)	19.23 $\pm$ 12.60 (2.88)	34.45 $\pm$ 17.49

注:实验兔数均为 14 只;括号内为  $t$  值。与非照射组比较, \* $P<0.05$ ,  $P<0.01$

3. 免疫组织化学分析。照射组与非照射组血管平滑肌细胞 PCNA 阳性率分别为(3.75  $\pm$  2.09)%和(5.64  $\pm$  1.74)%,差异有显著性( $t=2.6$ ,  $P<0.05$ ),表明<sup>188</sup>Re 照射能抑制血管

平滑肌细胞增殖。

## 讨 论

动物实验及临床研究表明<sup>[1,7,8]</sup>,应用血管内放射治疗能抑制新生内膜增生,预防损伤血管再狭窄,从而为临床 PT-CA 术后再狭窄的预防提供了有效手段。目前虽有  $\gamma$ 、射线等多种放射源应用于动物实验或临床,但放射源以其优良的性能受到重视,尤其是<sup>188</sup>Re 有望成为理想的血管内放射源<sup>[9]</sup>。<sup>188</sup>Re 液体充盈球囊后,不管血管是否弯曲,均自动置中,与血管内壁密切接触。这就保证在血管内表面同一点上的吸收剂量相等,且避免了应用中装置所带来的麻烦。<sup>188</sup>Re 发射高能  $\beta$  射线,短时间内即可释放较高的放射剂量。由于其组织穿透力较低,故减少了对非靶组织的放射损伤,也避免了对操作者的放射暴露。其穿透深度也正好满足抑制内膜增生的需要。

Teirstein 等<sup>[5]</sup>证实血管内吸收剂量达(26.5  $\pm$  3.5) Gy 能够抑制血管再狭窄[放射源距离靶点(1.02  $\pm$  0.6) mm],而 Verin 等<sup>[6]</sup>的研究结果表明在血管内表面 18 Gy 无效。因此,本实验参考 Hoher 等<sup>[1]</sup>应用剂量,选择球囊表面 30 Gy 作为放射剂量,即在组织 0.5 mm 处吸收剂量为 15 Gy,结果表明此剂量能够抑制内膜增殖,预防再狭窄。

临床及实验均发现利用  $\beta$  射线进行血管内照射可出现边端再狭窄,即所谓的“糖果纸”样现象<sup>[10]</sup>。其机制可能为受照射血管边端放射性活度降低,边缘低剂量照射刺激组织增生所致。本实验血管造影也有照射血管存在边端狭窄现象。

本研究结果显示,尽管术后 3 个月照射组血管与非照射组血管直径存在明显差异,但其  $s$  较大(分别为 0.19 和 0.28 mm),表明两组血管直径的变化较大。此可能与血管损伤的程度不同、血管组织对损伤的反应差异以及核素照射效果不同有关。

本研究结果表明,应用液态<sup>188</sup>Re 充盈球囊对兔损伤髂动脉血管内照射,能够减少损伤血管腔狭窄,抑制新生内膜增生,减少狭窄面积百分比,抑制平滑肌细胞增殖。但本实验使用的是兔髂动脉,与冠状动脉尤其是临床冠状动脉狭窄存在差异,故应进一步深入研究。

## 参 考 文 献

- Hoher M, Wohrle J, Wohlfrom M, et al. Intracoronary  $\beta$ -irradiation with a liquid <sup>188</sup>Re-filled balloon. Six-month results from a clinical safety and feasibility study. *Circulation*, 2000, 101: 2355-2360.
- Lee J, Lee DS, Kim KM, et al. Dosimetry of <sup>188</sup>Re diethylene triamine pentaacetic acid for endovascular intra-balloon brachytherapy after coronary angioplasty. *Eur J Nucl Med*, 2000, 27: 76-82.
- Kotzerke J, Rentschler M, Gattung G, et al. Dosimetric fundamentals of endovascular therapy using <sup>188</sup>Re for the prevention of restenosis after angioplasty. *Nuklearmedizin*, 1998, 37: 68-72.
- Amol HI, Reinstein LE, Weiberger J. Dosimetry of a radioaction coronary balloon dilatation catheter for treatment of neointimal hyperplasia. *Med Phys*, 1996, 23: 1783-1788.
- Teirstein PS, Massullo V, Jani S, et al. Catheter-based radiotherapy to inhibit restenosis after coronary stenting. *N Engl J Med*, 1997, 336: 1697-1703.
- Verin V, Urban P, Popowski Y, et al. Feasibility of intracoronary  $\beta$ -irra-

diation to reduce restenosis after balloon angioplasty. A clinical pilot study. *Circulation*, 1997, 95:1138-1144.

7 Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, et al. Intracoronary low-dose irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in the swine restenosis model. *Circulation*, 1995, 92: 3025-3031.

8 毛家亮, 黄定九, 彭延申, 等. 血管内<sup>32</sup>P放射治疗减少血管损伤后内膜增生的实验研究. *中国介入心脏病学杂志*, 2000, 8: 104-106.

9 Kotzerke J, Hanke H, Hbher M. Endovascular brachytherapy for the prevention of restenosis after angioplasty. *Eur J Nucl Med*, 2000, 27: 223-236.

10 Serruys PW, Kay IP. I like the candy, I hate the wrapper: the <sup>32</sup>P radioactive stent. *Circulation*, 2000, 101:3-7.

(收稿日期:2002-01-11)

· 论著摘要 ·

240 例甲亢、甲低患者血清性激素测定分析

杜忠芳 陈燕 董明国 石应元 刘建华 程鹏飞

笔者检测了 240 例甲状腺功能亢进(简称甲亢)、甲状腺功能减退(简称甲低)患者的促卵泡成熟素(FSH)、促黄体生成素(LH)、孕酮(P)、雌二醇(E<sub>2</sub>)、睾酮(T)和垂体泌乳素(PRL)水平,以探讨甲亢、甲低患者下丘脑-垂体-性腺轴的变化规律,现报道如下。

一、资料与方法

1. 病例资料。对照组选择无甲状腺及其他内分泌疾病的体格检查者 92 例,其中男 46 例,年龄 22~52 岁,平均 34.7 岁,女 46 例,年龄 20~46 岁,平均 32.8 岁。1999 年 12 月~2001 年 1 月门诊及住院甲亢、甲低患者 240 例,年龄 18~50 岁。其中甲亢组 128 例,男女各 64 例;甲低组 112 例,男女各 56 例。

2. 方法。晨空腹抽取静脉血 3 mL,分离血清,-20 保存。试剂盒由天津九鼎医学生物工程公司提供,测定仪器为中佳光电仪器公司生产的 GC-911 型计数器。

3. 统计学处理。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,行 *t* 检验。

二、结果与讨论

各组血清性激素测定结果见表 1。

本研究男性甲亢组和甲低组 FSH、LH 测定结果与对照组差异不明显,与文献<sup>[1,2]</sup>报道一致。表明高或低甲状腺激素血症对男性下丘脑-垂体促性腺激素释放激素(GnRH)和 FSH、LH 的促进作用不明显。但女性甲亢和甲低组的 FSH、LH 较对照组明显升高,并可随 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 恢复正常而发生可逆性变化<sup>[3]</sup>,表明

表 1 各组血清性激素测定结果

组别	FSH(U/L)	LH(U/L)	P(μg/L)	E <sub>2</sub> (ng/L)	T(μg/L)	PRI(μg/L)
对照组						
男性组	8.12 ±7.10	9.90 ±7.22	0.65 ±1.23	18.06 ±9.21	18.17 ±9.46	14.39 ±6.18
女性组	11.71 ±9.21	14.42 ±10.29	1.85 ±1.23	87.13 ±33.84	0.46 ±0.33	12.74 ±7.11
甲亢组						
男性组	12.98 ±9.65* (2.90)	13.68 ±9.16 (2.33)	0.45 ±0.41 (1.21)	49.24 ±27.16 (7.48)	32.40 ±7.98 (7.80)	16.35 ±12.42 (0.99)
女性组	21.57 ±26.43* (2.78)	27.38 ±25.94* (3.18)	0.88 ±1.56* (3.48)	32.01 ±18.12 (10.99)	1.57 ±2.98 (2.48)	19.12 ±18.67* (2.68)
甲低组						
男性组	11.60 ±13.20 (1.61)	9.00 ±6.17 (0.68)	0.23 ±0.28 (2.48)	46.18 ±12.39 (12.76)	6.68 ±5.96 (8.24)	28.01 ±16.50 (5.30)
女性组	28.10 ±19.50 (5.19)	33.01 ±44.80* (2.72)	0.79 ±1.08* (4.61)	62.90 ±28.69* (3.89)	0.40 ±0.39 (0.82)	43.07 ±37.80 (5.30)

注:括号内为 *t* 值。与对照组比较,\**P*<0.05, *P*<0.01

高甲状腺激素血症对女性下丘脑-垂体的作用较男性明显。

E<sub>2</sub>、P、T 在男性和女性中有很大差异。男性甲亢组和甲低组 E<sub>2</sub> 均较对照组明显升高,甲低组 T 明显下降,甲亢组则明显升高,甲亢、甲低组 P 均无明显变化。E<sub>2</sub> 升高可能与雄激素在外周组织向 E<sub>2</sub> 的代谢转化率增高及 E<sub>2</sub> 的代谢清除率下降有关。男性甲低的雄激素与雌激素比例失调,可能是性功能减退的原因之一。女性甲亢组和甲低组 E<sub>2</sub> 均较对照组降低。女性甲亢或甲低患者常伴有月经失调、经量减少、闭经等症状,也有资料报道甲低患者早期月经量有增多的现象,这与甲状腺患者性激素水平浓度改变有关,其机制可能是:甲亢或甲低发生后,E<sub>2</sub> 明显下降,通过雄激素垂体-下丘脑的正负反馈作用,改变了 GnRH 和 FSH、LH 的分泌,进而干扰正常的月经周期<sup>[3,4]</sup>。甲低患者因代谢低下,子宫内膜生长不全,导致月经量减少甚至闭

经。PRL 在女性甲亢组和甲低组中均升高,男性甲低组升高,甲亢组则无明显变化。结果表明,高 PRL 血症在女性甲低组中更多见,这可能为女性甲低患者月经不调、溢乳、不孕的另一原因。

参 考 文 献

1 Erfurth EM, Hedner P. Increased plasma gonadotropin levels in spontaneous hyperthyroidism reproduced by thyroxine but not by triiodothyronine administration to normal subject. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987, 64:698-706.

2 彭小丁,潘长玉,汪寅章,等. 男性 Graves 病患者唾液睾酮及血清性激素水平的变化. *中华内分泌代谢杂志*, 1989, 5:29-31.

3 王毓贵,高瑜明,滕春明,等. 甲亢患者和垂体-性腺轴变化. *放射免疫杂志*, 2000, 13:162-164.

4 史轶繁,白耀,张桂元,等. 内分泌疾病. 见:方圻,主编. 现代内科学. 北京:人民军医出版社, 1995. 2413-2794.

(收稿日期:2001-11-07)

作者单位:430064 武汉铁路中心医院核医学科(杜忠芳、陈燕),检验科(董明国、石应元、刘建华、程鹏飞)