

不同温度无水乙醇消融兔 VX2 移植性肝癌的实验研究

黄金华¹, 鹿连伟², 顾仰葵¹, 高飞¹, 李文全¹, 陈林¹

(1. 中山大学肿瘤防治中心影像介入科, 广东 广州 510060; 2. 广州市儿童医院放射科, 广东 广州 510120)

摘要: 【目的】探讨不同温度无水乙醇瘤内注射对兔 VX2 移植性肝癌消融治疗效果。【材料与方法】32 只新西兰大白兔肝内植入瘤块, 随机分为 25、50、60、70 4 组, 各 8 只, 在 CT 导向下经皮穿刺向瘤内注入不同温度的无水乙醇各 1 mL, CT 扫描测定碘油范围, 一周后取肿瘤行病理学检查, 观察相同剂量不同温度无水乙醇对肿瘤组织所致凝固坏死的范围。【结果】肿瘤坏死面积随温度增加而扩大, 50 组与常温组差异无统计学意义, 60 和 70 组与常温组差异有统计学意义, 60 组和 70 组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。【结论】加热至 60 以上的无水乙醇对兔 VX2 移植性肝癌的消融效果较常温好, 是一种不增加无水乙醇用量又能达到扩大消融范围的肝癌局部消融方法。

关键词: 肿瘤模型; VX2 肿瘤; 乙醇; 实验研究

中图分类号: R730.56

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)06-封二-03

Experimental Study of Percutaneous Absolute Ethanol Therapy with Different Temperature in Rabbits Bearing Hepatic VX2 Tumors // HUANG Jin-hua¹, LU Lian-wei², GU Yang-Kui¹, GAO Fei¹, LI Wen-quan¹, CHEN Lin¹. (1. Department of Imaging and Intervention Therapy, Cancer Center, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510060, China; 2. Department of Radiology, Guangzhou Children's Hospital, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To discuss the therapeutic efficacies of percutaneous injection using absolute ethanol of different temperatures in rabbits bearing hepatic vx2 tumors. 【Methods】Thirty-two rabbits with hepatic VX2 tumor were randomly divided into 4 groups (group of 25, 50, 60, and 70) and there were 8 rabbits in each group. The tumors of each animal were percutaneously injected into 1 mL absolute ethanol of planned temperature guided by CT scan and the size of ablation zone was measured. Tumors were examined by the pathological methods 1 week later to observe the coagulation necrosis size using the same dose but different temperatures. 【Results】The coagulation necrosis size was increased followed with temperature increase of absolute ethanol in the same dose. There was no statistical significance between 50 group and normal temperature group, there was statistical significance between normal temperature group and groups of 60 and 70, and there was statistical significance between 60 group and 70 group. 【Conclusion】Percutaneous injection using absolute ethanol of over 60 has more effect than normal temperature and it's a good local ablation method to treat implantation solid VX2 tumor of rabbits in the liver, which can obviously enlarge the ablation ranges and need not add the absolute ethanol dosage.

Key words: neoplasm model; VX2 neoplasm; ethanol; experimental study

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(6):封二-]

自 1983 年日本学者 Sugiura 等^[1]首先采用无水乙醇化学消融(percutaneous ethanol injection, PEI)方法治疗肝癌以来, PEI 已成为肝癌局部重要治疗手段并在全身多处实体肿瘤治疗中得到应用。本研究以兔 VX2 移植性肝癌为实验对象, 采用注射剂量相同但温度不同的无水乙醇瘤内注射, 旨在观察不同温度时无水乙醇的消融效果。

1 材料与方法

1.1 材料与实验设备

新西兰大白兔 32 只(每只体重约 2.5~3 kg, 中山大学实验动物中心提供); CT 扫描仪; 超级恒温水槽; 手术器材一套; 麻醉药速眠新(长春军需大学兽医研究所出品, 1.5 mL/支), 无水乙醇(广州化学试剂厂出品, 乙醇浓度 99.7%), 21G 千叶针等。

1.2 方法

1.2.1 兔 VX2 肝肿瘤模型的制作 开腹直视下移植肿瘤: 用速眠新(0.2~0.3 mL/kg, im)麻醉携瘤种兔, 瘤区消毒铺巾后切开皮肤, 分离并取出肿瘤, 取肿瘤边缘区颜色鲜

(下转附页 I to appendix I)

收稿日期: 2007-07-12

作者简介: 黄金华(1961-), 男, 江西南康人, 副教授, 硕士生导师, E-mail: hjinh@mail.sysu.edu.cn

(上接封二 from inside front cover)

嫩血供丰富的组织,将其剪成 1 mm^2 大小组织块。采用同样的方法麻醉新西兰大白兔,仰卧固定四肢,上腹部备皮,消毒铺巾,沿剑突下正中作一切口,暴露肝左叶。将 VX2 组织块塞入脑血管造影针鞘管内,然后将鞘管插入肝组织中约 1.5 cm ,轻轻推动内芯,把组织块植入肝脏内后拔出针,用无菌棉签轻压伤口止血,将肝叶送回腹腔,缝合腹部切口。

1.2.2 实验动物分组 瘤块接种 21 d 后,根据 CT 扫描结果,选取肝肿瘤直径 $1.5\sim 2.0\text{ cm}$ 的荷瘤兔 32 只,随机分为 4 组,分别为 A 组:常温 25 ; B 组:50 组; C 组:60 组; D 组:70 组,每组荷瘤兔 8 只。

1.2.3 实验方法 麻醉荷瘤兔后腹部 CT 平扫,确定肿瘤所在的位置,上腹部备皮,消毒铺巾;选取肿瘤最大层面,CT 导向下用 21G 穿刺针穿刺至肿瘤组织内(图 1)。无水乙醇与碘化油按照 10 : 1 的比例充分混合后倒入三角烧瓶内,放入恒温水槽加温,用 2 mL 注射器快速抽取加热到预定温度的无水乙醇 1 mL 行瘤内注射,再次 CT 扫描显示肿瘤消融后混合剂弥散范围。术后将动物放在温暖的饲养笼内待其苏醒,连续 3 d 青霉素 40 万单位肌肉注射。

1.2.4 观察内容 影像学改变:兔 VX2 移植瘤 CT 平扫,选取碘化油弥散最大层面,测定碘化油区域最大径和最小径,按公式计算最大层面碘化油弥散面积:碘化油弥散面积=最大径 \times 最小径。比较不同温度无水乙醇的弥散面积与肿瘤消融坏死的关系。

病理学变化:无水乙醇消融 7 d 后处死实验兔,切取荷瘤兔肝脏,送病理检查,沿标本连续切片选取最大层面测量坏死灶最大径与最小径,按照公式:消融坏死面积=最大径 \times 最小径;选标本最大层面制成病理大切片,HE 染色,光镜下观察消融灶内部及周边肿瘤坏死情况。

1.2.5 统计学分析 采用 SPSS13.0 for Windows 统计软件进行统计分析,数据用均数 \pm 标准差表示,各组内采用配对 T 检验,多组间比较采用完全随机设计方差分析法,取 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 影像学结果

消融治疗前 32 只荷瘤兔肝内均为 1 个病灶,各组间肿瘤大小无统计学意义。兔肝肿瘤病灶 CT 平扫表现为低密度,与正常肝分界清楚。消融结束后即刻行 CT 扫描,显示消融区致密碘油沉积(图 2)。统计结果显示:随着无水乙醇温度的升高,病灶内乙醇弥散范围增大(表 1)。与常温组(A 组)相比, B 组无统计学意义($P=0.187$), C 组有统计学意义($P < 0.001$); C 组与 B 组相比有统计学意义($P < 0.01$); D 组与 B 组相比有统计学意义($P=0.02$)。

2.2 病理检查结果

肉眼可见肿瘤消融区类圆形灰白凝固灶,与周围的肿瘤组织分界清楚,肿瘤组织鱼肉样,无包膜与正常组织分

界清楚(图 3)。CT 测量的碘油弥散范围与病理标本测量的凝固范围在相同温度组内无统计学意义(表 1)。HE 染色:光镜下消融区内可见大片凝固性坏死,肿瘤细胞形态消失,并见细胞核碎片固缩表现,但未见残存肿瘤细胞,坏死灶周边少许纤维结缔组织增生;非消融区肿瘤呈浸润生长,肿瘤细胞圆形、梭形或不规则,排列紊乱,核大深染,核

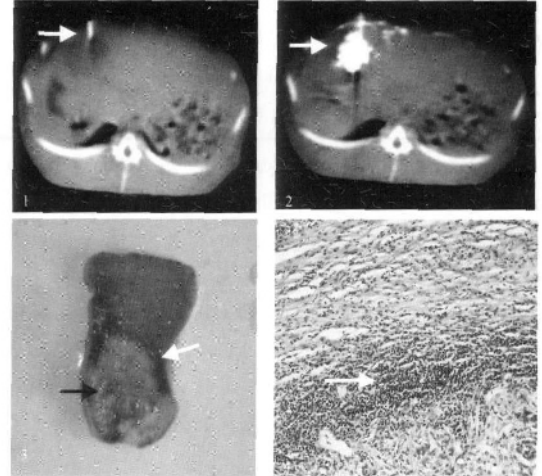


图 1 CT 导向下插入消融针,针尖位于肿瘤内(箭头示)

图 2 PEI 治疗后

CT 平扫显示消融区致密碘油沉积(箭头示)

图 3 肝移植瘤病理标本

黑箭头示无水乙醇注射后肿瘤凝固坏死区,白箭头示未消融肿瘤组织

图 4 未消融肿瘤组织镜下表现

肿瘤细胞呈巢状分布,肿瘤细胞呈圆形、梭形或不规则形,核大深染,异形性明显,肿瘤组织无包膜,呈浸润性生长(白箭所示)

Fig.1 A needle was inserted into the nodule and the tip of the needle was placed at nodule center guided by CT scan (as the arrow shows).

Fig.2 Transverse CT image after PEI.

It was showed lipiodol deposited densely in the aimed area (as the arrow shows).

Fig.3 Gross specimen of liver transplantation tumor after PEI.

The black arrow shows coagulation necrosis area and the white arrow shows the tumor tissue without ablation.

Fig.4 Photomicrograph showed the tumor cells without ablation.

The tumor cells distributed in nest appearance, shaped as round, fusiform or anomalism, with karyomegaly, anachromasis and obviously heteromorphism, while with infiltrative growth and without peplos (as the white arrow shows). (HE staining $\times 200$)

3 讨论

3.1 无水乙醇化学消融机理

经穿刺皮无水乙醇注射(PEI)是肝癌重要的局部治疗手段^[2]。PEI 消融肿瘤的机制是无水乙醇使肿瘤细胞迅速脱水,胞浆内原生质凝固变性坏死;其二无水乙醇进入局部

表 1 不同温度无水乙醇化学消融肿瘤坏死面积、碘油弥散范围(cm^2)

Table 1 The coagulation necrosis size of tumor and the diffusion scope of lipiodol after percutaneous chemo-ablation using different temperatures absolute ethanol ($\bar{x} \pm s, \text{cm}^2$)

Group	Number of samples	Size of coagulation necrosis	Diffusion scope of lipiodol
A	25	0.56 \pm 0.06	0.54 \pm 0.07
B	50	0.60 \pm 0.09	0.57 \pm 0.09
C	60	0.89 \pm 0.08	0.88 \pm 0.11
D	70	1.06 \pm 0.08	1.02 \pm 0.09

Size of coagulation necrosis in every group tumors: group A versus group B, $P > 0.05$, the difference between them had no statistical significance; group B vs group C, group B vs group D, group C vs group D, group A vs group C, group A vs group D, $P < 0.05$, there was statistical significance between the difference of them. Paired comparison in every group, $P > 0.05$, there was no statistical significance between the difference of tumor coagulation necrosis size and the diffusion scope of lipiodol in each group.

小血管内,使血管内皮细胞破坏,形成血栓,血供中断,促使肿瘤组织坏死^[3]。CT 导向下 PEI 依据解剖结构对肿瘤进行靶向治疗,具有定位准确、适形性高、操作简便、疗效确切、并发症少、费用低廉等优点^[4]。但 PEI 消融肿瘤时的不足之处是一次注射大量无水乙醇易引起酒精中毒和明显的肝功能损害,临床应用时无水乙醇每次用量受到很大限制,较大肝癌常需反复多次治疗,从而导致疗程长,与穿刺注射相关并发症相应增多^[5]。因此采用一种不增加乙醇用量而又能增大肿瘤凝固坏死范围的方法对 PEI 的临床应用具有重要意义。

临床工作中多在 B 超或 CT 引导下进行肿瘤 PEI 治疗。B 超通过肿瘤组织灰度变化来反应肿瘤消融范围^[6]。CT 引导下无水乙醇消融肿瘤组织,图像表现为组织密度轻度减低,但要判断消融确切范围还是有一定难度^[4]。因此,临床多采用无水乙醇与高密度的示踪剂碘化油按大约 10:1 的比例混合进行消融注射,以碘化油弥散范围来反应肿瘤消融范围。本实验中各组别观察到的 CT 扫描所显示的碘化油弥散范围和病理检测的肿瘤凝固坏死基本一致,可以认为混悬液中的碘化油可以作为肿瘤凝固坏死区域的一种示踪剂。

3.2 加热无水乙醇增大肿瘤坏死范围的机理

本研究表明,加热无水乙醇瘤内注射治疗(percutaneous

hot ethanol injection therapy, PHEI)产生的消融范围随温度的升高而加大,当温度达 60 以上时,消融范围与常温下的消融范围差别有统计学意义,而温度达到 70 时消融范围可进一步增大。由于无水乙醇的沸点为 78.5,因此,临床应用时选择的温度以 70~75 为佳。加热无水乙醇增加凝固灶范围的可能机理是:乙醇属于有机溶剂,挥发能力较强,加热后更为明显。组织内注射后因其挥发性,局部气压较高,迫使乙醇沿组织、细胞间隙向远处弥散。加热乙醇注入组织后,与细胞、组织间液发生对流散热,流向外周。高热溶液的热损伤效应和乙醇的凝固效应具有协同作用。细胞受热损伤后细胞通透性增加,药物进入细胞增多,细胞结构更容易被乙醇破坏。反之,细胞受乙醇破坏后,其对热损伤的耐受性降低^[7]。

参考文献:

- [1] SUGIURA N, TAKAYOSHI K, OHTO M, et al. Percutaneous intratumoral injection of ethanol under ultrasound imaging for treatment of small hepatocellular carcinoma [J]. Acta Hepatol Jpn, 1983, 24: 920-925.
- [2] 郑云,张亚奇,邹如海,等.人工胸水协助超声引导肝穹隆部肿瘤治疗[J].中山大学学报:医学科学版,2005,26(6):696-699.
- [3] BURGNER F A, BOLONDI L, LAZZARONI S, et al. Percutaneous ethanol injection in the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: A study on 207 patients [J]. Cancer, 1992, 69: 925-929.
- [4] HO C S, KACHURA J R, GALLINGER S, et al. Percutaneous ethanol injection of unresectable medium- to -large-sized hepatomas using a multipronged needle: efficacy and safety [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2007, 30(2): 241-247.
- [5] LIVRAGHI T, GIORGIO A, MARIN G, et al. Hepatocellular carcinoma and cirrhosis in 746 patients: longterm results of percutaneous ethanol injection [J]. Radiology, 1995, 197 (1): 101-108.
- [6] GIORGIO A, TARANTINO L, STEFANO G, et al. Ultrasound-guided percutaneous ethanol injection under general anesthesia for treatment of hepatocellular carcinoma on cirrhosis: Long-term results in 268 patients [J]. Eur J Ultrasound, 2000, 12: 145-154.
- [7] NAKAI M, SATO M, YAMADA K, et al. Percutaneous hot ethanol injection therapy (PHEIT) for hepatocellular carcinoma [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2001, 28(11):1633-1637.