DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.065

的活体传代。由于兔肝脏的左叶体积明显大于右叶，我们一般选择种植在肝左叶。在肝脏种植肿瘤时进针较深，将组织块用导丝推致左肝内，随后用少量明胶海绵以同样的方法封堵针道，拔针后并压迫片刻。一方面减少瘤块逆出致腹腔种植，另一方面尽量使肿瘤种植在肝叶深部。与上述几种方法比较，该方法定位准确，成功率较高，本组成功率为100%。操作简单，动物创伤小，并发症少，本组无一例动物因感染或出血死亡。但由于动物例数较少，此方法的成功率有待进一步验证，且有操作者要接触射线等不足之处，有待进一步完善。

3.2 螺旋CT扫描检测兔VX2肝癌病灶

病灶显示清晰，对瘤灶的变化可进行动态观测，避免了实验动物必须开腹或处死才能观测瘤灶[4]。我们经过反复摸索得出120 KV，90 mA，FOV 14，Kernel 4.2，层厚5 mm，螺距5的扫描条件，用3~5 ml的对比剂，0.3 ml/s，延迟15~18 s、45~50 s、120 s分别行动脉期、门脉期及平衡期的扫描，瘤灶显示较为清晰。在CT平扫上瘤灶呈低密度，少数为等密度，当有坏死时为明显低密度；动脉早期扫描瘤灶呈明显强化；门脉期扫描瘤灶呈较低密度，与周围肝组织的界限较清楚，与人肝细胞性肝癌CT表现相似。在肿瘤的种植时间上以2周左右的瘤灶显示清晰，表现典型。1周左右的瘤灶常较小，难以观测到。而3周以上的瘤灶大多出现明显的坏死且肝内、远处出现多发转移灶。CT表现的低密度区，与尸检发现肿瘤液化坏死是吻合的。表明肿瘤生长迅速，恶性程度高。CT上发现有2例在动脉期可见在肿瘤周围有粗大的畸形血管，考虑是供应肿瘤的新生成的肿瘤血管。实验中我们还观测到通过动物多次传代的肿瘤会较早出现坏死且坏死明显，可能与反复传代肿瘤恶性程度增加有关。

关键词：VX2肿瘤；动物模型；螺旋CT
中图法分类号：R73-75 文献标识码：B

参考文献：

[1] Okada M, Kudo S, Miyazaki O, *et al*. Antitumoral efficacy and pharmacokinetic properties of pirarubicn upon hepatic intra-arterial injection in the rabbit VX2 tumor model[J]. Br J Cancer, 1995, 71(5): 518—523.
[2] Mugitani T, Taniguchi H, Takada A, *et al*. TNP-470 inhibits collateralization to complement the anti-tumor effect of hepatic artery ligation[J]. Br J Cancer, 1998, 77(12): 638—642.
[3] 邵国良，周康荣，王建华等. 介入治疗实验研究中兔VX2肝癌模型制作的改进和CT评价[J]. 临床放射学杂志，2000，19(10)：120—123.
[4] Sano J, Sugiyama Y, Kunieda K, *et al*. Therapeutic effect of TNP-470 on spontaneous liver metastasis of colon tumors in the rabbit[J]. Surg Today, 2000, 30(12): 1 100—1 106.

（编辑 郭建秀）

文章编号：1000-5404(2002)09-1127-02

个案与短篇

经皮穿刺加热无水乙醇注射治疗肝癌的实验研究

Experimental studies on percutaneous hot ethanol injection therapy for carcinoma of liver

牟 玮，巫北海，周代全，吴光明，陈 洁，谢 兵 （第三军医大学附属西南医院放射科，重庆 400038）

Kawai等[1]于1998年提出了经皮穿刺加热无水乙醇瘤内注射疗法(Percutaneous hot ethanol injection therapy，PHEIT)，主要是介绍了一种乙醇持续加热装置。我们采用离体猪肝和兔肿瘤模型对该疗法进行研究，评估加热乙醇所致凝固灶大小及其临床应用前景。

1 材料和方法

1.1 材料

离体不足2 h新鲜猪肝3个。无水乙醇为分析纯，浓度为99.99%，批号为20000320，北京化工厂生产。

1.2 实验动物

移植性兔VX2肿瘤瘤兔(纯种新西兰大白兔)8只。肿瘤模型的制备方法为：将荷瘤种兔处死后，局部消毒，取皮下肿瘤块，剥去纤维组织，挑选无出血、坏死肿瘤组织，用利刀片或剪刀切成1 mm×1 mm×1 mm大小的小块备用。另取大白兔，3%戊巴比妥钠耳缘静脉注射麻醉30 mg/kg。兔取仰卧位，四肢固定于木板上，手术区消毒。在上腹正中切皮开腹，暴露肝脏。将肝叶牵出体外，用显微组织镊子将肝包膜捅一小口，纱布压迫止血后，用眼科镊将所取的肿瘤块沿隧道嵌入。然后肝叶放回腹腔，依次缝合切口，入笼饲养。

8只兔体重2~2.5 kg。每只兔在其肝脏有一个移植瘤灶，共计肿瘤数8个。兔肝脏植入肿瘤后3周用于实验研究，肿瘤大小为0.9~1.2 cm。

1.3 实验方法

1.3.1 猪肝离体实验研究 采用8号针把加热和未加热无水乙醇注射入离体肝脏，每种溶液注射剂量分别为0.5、1.0、1.5、2.0 ml，每种剂量注射8次(8个病灶)。无水乙醇加热注射的方法为：用小器皿(服药杯)装上10~15 ml无水乙醇，用小玻璃片盖上，直接放入少量沸腾开水中加热。乙醇沸腾(78 ℃)后即可用注射器抽取行肝组织内注射。

病灶观察：乙醇注射后1 h，沿与穿刺针垂直平面切开病灶，测量病变最大层面面积，即长径与短径的乘积。

1.3.2 活体动物实验研究 8只瘤兔随机分为2组，即注射

作者简介：牟 玮(1963—)，男，贵州省集市人，博士，副主任医师，副教授，主要从事介入放射学方面的研究，发表论文14篇。电话(023)68754426
收稿日期：2002-02-20；修回日期：2002-03-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

未加热乙醇和注射加热乙醇组，每组 4 只。均以 3%戊巴比妥钠按经耳缘静脉注射麻醉 30 mg/ kg。兔取仰卧位，四肢固定于木板上，手术区消毒。在上腹正中切皮开腹，暴露肝脏肿瘤。用 8 号针头插入肿瘤中心，注射未加热或加热无水乙醇 1 ml。注射完毕后回纳肝脏，缝合腹壁。24 h 后，用过量麻药处死动物，取材以 10%福尔马林溶液固定，石蜡包埋，常规切片，HE 染色，光镜检查。

肿瘤坏死范围评估方法为：每份标本在肿瘤最大层面及其邻近层面作 2~3 张病理切片，光镜观察并用图像采集系统采集图像。结合光镜观察和采集图像的测量，计算出肿瘤坏死区域和整个肿瘤的面积，二者之比即为肿瘤组织坏死率。

1.3.3 统计学处理 应用统计软件 SPSS(8.0 版)，行单向方差分析和 t 检验。

2 结果

2.1 离体实验结果

加热和未加热无水乙醇以不同剂量注射肝组织后其凝固灶大小见表 1。

表 1 加热和未加热无水乙醇所致凝固灶大小(cm^2, $\bar{x} \pm s$)

分组	0.5ml	1.0ml	1.5ml	2.0ml
未加热组	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.6 ± 0.3
加热组	0.7 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.7 ± 0.3	1.7 ± 0.5

统计学分析表明：① 未加热和加热无水乙醇随注射剂量增加其凝固灶面积加大，除 1.5 ml 和 2.0 ml 组凝固灶面积无显著差异外($P>0.05$)，其余各组间均有显著差异($P<0.05$)。② 各剂量组加热无水乙醇所致凝固灶大于未加热者。0.5 ml、1.0 ml 和 1.5 ml 组加热和未加热乙醇所致凝固灶大小有显著差异($P<0.05$)，在 2.0 ml 组则无显著差异($P>0.05$)。

2.2 活体动物实验结果

光镜观察见肿瘤中央区细胞呈坏死状态，周边区坏死细胞呈散在分布，部分瘤周肝细胞萎缩伴肝窦扩张。加热和未加热无水乙醇注射入肝移植性 VX2 肿瘤内 1 d 后，肿瘤坏死率见表 2。

表 2 加热和未加热无水乙醇注射后肿瘤坏死率比较

分组	肿瘤数	瘤大小(cm)	肿瘤坏死率
未加热组	4	1.0 ± 0.1	71.9%
加热组	4	1.1 ± 0.1	87.5%

统计学处理，两组肿瘤大小无显著性差异($P>0.05$)，肿瘤坏死率有非常显著性差异($P<0.01$)，说明加热无水乙醇较未加热者能造成更大范围的肿瘤坏死。

3 讨论

经皮无水乙醇注射(PEI)是常用的治疗肝肿瘤的疗法之一，其治疗的机理，一是无水乙醇直接使癌细胞脱水，胞浆内原生质凝固变性坏死。二是无水乙醇进入局部小血管内，使血管内皮细胞破坏，形成血栓，中断血供，促使肿瘤组织坏死。同时引起中性白细胞、淋巴细胞浸润和成纤维细胞增生，继而发生纤维化，最后达到灭活癌细胞的目的[2]。PEI 具有操作简便、疗效可靠、严重并发症少等优点。但是，无水乙醇存在以下缺点：最主要的一点是对肝组织的毒性较大，可造成明显的肝功能损害；其次，增加注射剂量时，乙醇会从针孔外漏到肝包膜外而引起剧烈疼痛，或经小血管进入循环系引起不良反应。因此，在临床应用中，无水乙醇用量受到明显的限制，常需多次治疗，从而存在疗程长，与穿刺相关并发症增多，不适于肝功能差的患者等缺点[3~5]。所以，开发一种不增加乙醇用量而又能增大凝固范围的技术对 PEI 的临床应用具有重要意义。

用离体猪肝所作的研究显示，加热无水乙醇所致凝固灶大于未加热者。特别是在 0.5~1.5 ml 组加热和未加热乙醇所致凝固灶大小有显著差异。用兔移植性 VX2 肿瘤模型所作的研究也表明，加热乙醇瘤内注射所致的肿瘤坏死率明显高于未加热者。因此，我们认为 PHEIT 是一种不增加乙醇用量而又能明显增大凝固范围的治疗方法，可减少并发症的发生和治疗次数，比较适合于肝功能较差的患者，具有较大的临床应用价值。

加热无水乙醇注射能增加凝固灶大小的可能机制是：① 乙醇属有机溶剂，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。②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。③，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膜通透性增加，药物进入细胞增多，细胞结构更容易被乙醇破坏。反过来，细胞受乙醇破坏后，其对热损伤的耐受性减低。

因为液性制剂局部杀癌存在液体是否均匀地在瘤内弥散的问题，而离体肝组织及动物肿瘤模型与人体肝癌组织是有所不同的，如组织致密程度、肿瘤细胞与纤维成分的比例、瘤内压力、有无纤维间隔或包膜等因素均可影响液性制剂在组织内的弥散。因此，该疗法有待于临床验证和更深入的研究。

关键词：肝肿瘤；介入治疗；动物模型；乙醇
中图法分类号：R735.705 文献标识码：B

参考文献：

[1] Kawai N, Sato M, Sonomura T, *et al*. Experimental study of percutaneous hot ethanol injection therapy (PHEIT) by continuous heating device for hepatocellular carcinoma [J]. Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi, 1998, 58(7): 366—368.

[2] Burgener F A, Steinmetz S D. Treatment of experimental adenocarcinomas by percutaneous intratumoral injection of absolute ethanol[J]. Invest Radiol, 1987, 22(6): 472—478.

[3] Livraghi T, Bolondi L, Iazzaroni S, *et al*. Percutaneous ethanol injection in the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: A study on 207 patients[J]. Cancer, 1992, 69(4): 925—929.

[4] Shiina S, Tagawa K, Niwa Y, *et al*. Percutaneous ethanol injection therapy for hepatocellular carcinoma: Results in 146 patients[J]. Am J Roentg, 1993, 160(5): 1 023—1 028.

[5] Livraghi T, Giorgio A, Marin G, *et al*. Hepatocellular carcinoma and cirrhosis in 746 patients: long-term results of percutanous ethanol injection[J]. Radiology, 1995, 197(1): 101—108.

（编辑 郭建秀）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net