

射频消融治疗对残癌细胞增殖能力的影响

李廷军 马宽生 孙海 蔡磊 欧霞 王曙光

【摘要】 目的 探讨射频消融(radio frequency ablation, RFA)治疗后残余肿瘤细胞的增殖情况。方法 VX2 肿瘤组织块接种于新西兰兔肝脏,建立种植型肝脏肿瘤模型,2 周后行 RFA 治疗,通过控制肿瘤边缘的温度,人为造成肿瘤残余。实验动物分实验组及对照组,实验组动物脾脏接种残癌组织,对照组动物脾脏接种未经 RFA 处理的 VX2 肿瘤组织,术后 2、3、4 周观察脾脏肿瘤体积、质量并测定肿瘤细胞的增殖指数。结果 术后 2 周对照组肿瘤体积、质量大于实验组;术后 3、4 周两组间肿瘤体积及质量比较差异无统计学意义;术后 2、3、4 周肿瘤细胞的增殖指数无差别。结论 射频消融治疗对残余肿瘤细胞的增殖无明显影响。

【关键词】 射频消融; 肿瘤增殖

【中图分类号】 R730.56 **【文献标识码】** A

Proliferative capability of remnant hepatic VX2 tumor in rats after treatment with radio frequency ablation LI Ting-jun*, MA Kuan-sheng, SUN Hai, CAI Lei, OU Xia, WANG Shu-guang. *Southwest Hospital & Institute of Hepatobiliary Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China
Corresponding author: MA Kuan-sheng, E-mail: makuansheng@vip.sina.com

【Abstract】 Objective To observe the changes of proliferative capability of remnant hepatic VX2 tumor after treatment with radio frequency ablation (RFA). **Methods** Rabbit hepatoma models were established by implanting VX2 tumor mass into the liver of New Zealand rabbits. RFA was applied to the tumors and the remnant tumors were harvested by controlling the marginal temperature of the tumors. The rabbits were divided into treatment group and control group. The spleens of the rabbits in the treatment group were implanted with remnant tumor tissue, while those in the control group with the VX2 tumors tissue without being processed by RFA. Volume, weight and proliferation index (PI) of the tumors were compared between the two groups 2, 3 and 4 weeks after RFA. **Results** The mean levels of volume and weight of the tumors were (278.28 ± 55.77) mm and (3, 0.31 ± 0.07) mg in control group, which were significantly higher than (100.32 ± 25.52) mm and (3, 0.12 ± 0.10) mg respectively in treatment group at weeks 3, 4 postoperatively, while they showed no statistical difference between the two groups at week 3, 4 postoperatively. There was no statistical difference upon the PI between the groups at weeks 2, 3 and 4 postoperatively. **Conclusion** RFA has no apparent effect on proliferative capability of VX2 tumor cells.

【Key words】 Radio frequency ablation; Tumor proliferation

射频消融(radio frequency ablation, RFA)是一种利用高频电流使组织中带电粒子高速震荡摩擦产热,致使组织细胞发生凝固性坏死而达到治疗效果的临床治疗手段。由于其创伤小、术后恢复快等优点,逐渐成为肝脏肿瘤及其他部位肿瘤局部治疗的常见有效方法^[1]。然而对于 RFA 能否引起肿瘤细胞生物学特性改变的问题争议较大。本研究应用接种移植的方法建立兔肝 VX2 肿瘤模型后行 RFA 治

疗,并通过控制肿瘤边缘的温度人为造成肿瘤残余;取残余肿瘤组织再接种兔体内,对残癌细胞的增殖情况进行观察。

1 材料与方法

1.1 材料及动物

游标卡尺、300 目细胞滤网、离心机;FACScan 流式细胞仪购自美国 BD 公司;AC211S 型电子天平购自德国 Sartorius 公司;苏眠新 II 注射液为长春军事医学院军事医学研究所产品;新西兰白兔为重庆市渝达实验兔场供应,38 只,体质量 2.0 ~ 2.5 kg,月龄 3 ~ 4 个月,雌雄不限。

作者单位: 400038 重庆,第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所、中国人民解放军西南肝胆外科医院(李廷军、马宽生、蔡磊、欧霞、王曙光); 400020 重庆,解放军 324 医院普外科(孙海)

通讯作者: 马宽生, E-mail: makuansheng@vip.sina.com

1.2 实验模型制作

1.2.1 兔肝脏 VX2 肿瘤模型制作及残癌制备:模型按文献[2]方法建立。VX2 肿瘤组织碎片分别接种于 2 只新西兰兔肝脏左叶;2 周后可长出直径 1~2 cm 的肝肿瘤,取其中 1 只按文献[3]方法行 RFA 处理。速眠新 0.2 ml/kg 肌肉注射麻醉后固定,正中切口开腹充分暴露肝脏及肿瘤;肿瘤中心插入电极针并张开,控制发射功率,监测并维持肿瘤边缘温度于 43~45 °C 30 min。切取肿瘤边缘组织,剪成 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小置入生理盐水中备用。肿瘤细胞在 43~45 °C 条件下 30 min 内仍有一定数量的细胞存活^[4]。这部分能够恢复活性的肿瘤组织为被研究的残癌。另 1 只直接处死,切除肿瘤边缘生长旺盛组织并剪切成 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小备用。

1.2.2 实验组、对照组的建立及处理:取纯种新西兰白兔 36 只,随机分为实验组及对照组各 18 只。麻醉后仰卧固定,剑突下约 1 cm 取正中切口 2~3 cm,逐层开腹,轻柔游离脾脏于体外,距其下极边缘 1 cm 处插入眼科镊约 0.5 cm,成隧道。将备用残癌 VX2 肿瘤碎块插入试验组动物脾脏隧道底部,未经射频处理的备用肿瘤碎块插入对照组动物脾脏;压迫止血,逐层关腹。两组动物分别于术后 2、3、4 周各处死 6 只,完整剥离肿瘤并清除周围组织。

1.3 观察指标

1.3.1 肿瘤体积:完整分离的肿瘤组织成类圆形,游标卡尺测定最大、最小直径,所测数据计算肿瘤体积($V=0.5a \times b^2$, a 和 b 分别是最大和最小直径)^[5]。

1.3.2 肿瘤质量:肿瘤切除后放入电子天平测定其质量。

1.3.3 肿瘤细胞增殖指数:取肿瘤周边鱼肉样生长组织约 150 mg,按文献[6-8]制备肿瘤单细胞悬液。将组织剪切至匀浆状并加入少量 PBS,依次用 200 目、300 目细胞滤网过滤。收取滤液置离心管中,1 500 × g 离心 5 min, PBS 冲洗 3 次;再以 800 × g 离心 3 min,弃上清。加入 70% 预冷乙醇固定,4 °C 保存。采用 FACSscan 流式细胞仪测定细胞周期,变异系数稳定在 3%~8%。采用 Modifit LT 软件(美国 BD 公司)分析结果。测定异倍体肿瘤细胞各周期比例,增殖指数(proliferation index, PI)用 $IP = S\% + G_2M\%$ 表示^[9]。

1.4 统计学分析

数据采用 SPSS 10.0 软件行独立样本的 *t* 检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体积测定结果

通过肿瘤的最大、最小直径计算肿瘤体积。术后第 2 周试验组肿瘤直径及体积明显比对照组小($P < 0.05$);但术后 3、4 周两组肿瘤体积比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 肿瘤体积测定分析情况($\text{mm}^3, \bar{x} \pm s$)

分组	术后时间(周)		
	2	3	4
对照组	278.28 ± 55.77	834.34 ± 244.39	5 518.65 ± 1 215.26
实验组	100.32 ± 25.52	1 519.63 ± 509.19	4 620.05 ± 1 373.06

2.2 质量测定结果

清除肿瘤周围结缔组织并生理盐水冲洗后,电子天平测定肿瘤质量。术后 2 周对照组肿瘤平均质量大于实验组($P < 0.05$);术后 3、4 周两组之间差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 1。

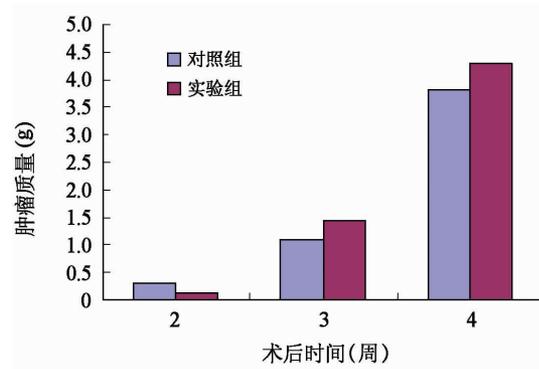


图 1 术后两组肿瘤质量

2.3 细胞增殖指数

肿瘤细胞的增殖指数表示其增殖能力的大小。术后 2、3、4 对照组及实验组之间差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 肿瘤细胞增殖指数情况($\%, \bar{x} \pm s$)

分组	术后时间(周)		
	2	3	4
对照组	55.49 ± 3.60	56.55 ± 3.81	47.33 ± 3.10
实验组	51.21 ± 3.07	56.47 ± 3.24	51.37 ± 1.44

3 讨论

RFA 治疗是一种使肿瘤局部发生凝固性坏死来达到治疗效果的治疗手段^[1,10]。目前虽在临床中得到广泛应用,但存在着较高的残癌存留及术后复发率。文献报道术后复发率为 20%~60%^[11-14]。

关于射频对残癌增殖能力影响的研究结果存在

较大争议。Nikfarjam 等^[15]认为 RFA 治疗术后肿瘤的生长无明显改变,仅仅是改变了其生长方式。von Breitenbuch 等^[16]研究证实 RFA 促进了残瘤生长,并有临床报道认为 RFA 治疗会促进肿瘤的复发及残瘤的增殖^[17-19]。但上述研究主要集中在 RFA 治疗后全身及局部环境的改变对肿瘤生物学特性的影响。本实验着重研究治疗手段对肿瘤细胞自身增殖能力方面的生物学特性的影响。

残瘤组织细胞接种动物脾脏后,通过动物模型方法研究其增殖能力。术后 2 周实验组肿瘤平均体积及质量明显比对照组低,而增殖指数之间无明显差别。这可能与热休克阶段后肿瘤细胞活性的恢复有关。细胞活性在术后 2 周末恢复并于第 3 周达到高峰。术后 3、4 周残瘤细胞的增殖能力与同期未经射频处理的肿瘤细胞的增殖能力相比无明显差别。综上所述,RFA 不会改变肿瘤细胞的增殖能力,是肿瘤局部治疗的安全手段。

参 考 文 献

[1] 马宽生. 肝癌的局部消融治疗及进展. 肝胆外科杂志, 2005, 13 (4): 250 - 252.
 [2] Miao Y, Ni Y, Mulier S, et al. Treatment of VX2 liver tumor in rabbits with "wet" electrode mediated radio-frequency ablation. Eur Radiol, 2000, 10(1): 188 - 194.
 [3] 范林军, 何振平, 马宽生, 等. 射频消融治疗兔肝 VX2 肿瘤后残余肿瘤细胞间信息传导功能的变化. 中华实验外科杂志, 2003, 20(3): 224 - 226.
 [4] Multhoff G, Botzler C, Wiesnet M, et al. A stress-inducible 72-kDa heat-shock protein (HSP72) is expressed on the surface of human tumor cells, but not on normal cells. Int J Cancer, 1995, 61 (2): 272 - 279.
 [5] 王莽, 王佚, 王少春, 等. 兔 VX2 肝癌模型的建立及超声影像监测的研究. 重庆医科大学学报, 2003, 28(5): 585 - 611.
 [6] 张召辉, 李玺, 夏安周, 等. 胰腺组织单细胞悬液制备方法的比

较研究. 河北医学, 2005, 11(2): 143 - 144.
 [7] 董敬朋, 陈艺华, 等. 新鲜肿瘤组织单细胞悬液的制备方法. 临床与实验病理学杂志, 1995, 11(4): 280.
 [8] 夏安周, 邢淑华, 朱学文, 等. 肾组织单细胞悬液制备方法的比较研究. 徐州医学院学报, 2004, 24(1): 49 - 51.
 [9] 胡成进, 杨道理, 尹格平, 等. 肝癌细胞 RNA DNA 及增殖指数的定量研究. 新消化病学杂志, 1997, 5(8): 516 - 517.
 [10] Nikfarjam M, Muralidharan V, Christophi C. Mechanisms of focal heat destruction of liver tumors? J Surg Res, 2005, 127(2): 208 - 223.
 [11] Montorsi M, Santambrogio R, Bianchi P, et al. Survival and recurrences after hepatic resection or radiofrequency for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients; a multivariate analysis? J Gastrointest Surg, 2005, 9(1): 62 - 68.
 [12] Mulier S, Ni Y, Jamart J, et al. Local recurrence after hepatic radiofrequency coagulation; multivariate meta-analysis and review of contributing factors. Ann Surg, 2005, 242(2): 158 - 171.
 [13] 陈敏山, 李锦清. 经皮射频消融与手术切除治疗小肝癌的疗效比较. 中华医学杂志, 2005, 85(2): 830 - 834.
 [14] 马宽生, 陈敏, 丁钧, 等. 射频消融治疗肝肿瘤 315 例报告. 消化外科, 2005, 4(5): 307 - 310.
 [15] Nikfarjam M, Muralidharan V, Christophi C, et al. Altered growth patterns of colorectal liver metastases after thermal ablation. Surgery, 2006, 139(1): 73 - 81.
 [16] von Breitenbuch P, Kohl G, Guba M, et al. Thermoablation of colorectal liver metastases promotes proliferation of residual intrahepatic neoplastic cells. Surgery, 2005, 138(5): 882 - 887.
 [17] Ruzzenente A, Manzoni M D, Molfetta M, et al. Rapid progression of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. World J Gastroenterol, 2004, 10(8): 1137 - 1140.
 [18] Seki T, Tamai T, Ikeda K, et al. Rapid progression of hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization and percutaneous radiofrequency ablation in the primary tumour region. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2001, 13(3): 291 - 294.
 [19] Imamura Y, Kohara K, Shibata T, et al. Two cases of hepatocellular carcinoma showing rapid progression after radio frequency ablation therapy. Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi, 2002, 99 (1): 40 - 44.

(收稿日期: 2006-12-19)

(本文编辑: 张玉琳)

· 消息 ·

第十二届全国普通外科学术会议征文通知

中华普通外科杂志编辑部将于 2007 年 11 月 16 - 19 日在上海松江召开“第十二届全国普通外科学术会议”。本次学术会议的的主题是“消化道肿瘤的现代治疗”,会议将就肝胆、胰及胃肠道肿瘤外科治疗的现代概念和进展、消化道肿瘤的综合治疗问题进行研讨,就前沿及热点问题展开争论。会议将邀请多位欧美、日本及港台和大陆外科专家做专题演讲。欢迎外科同道与会进行学术交流,介绍经验、开展讨论。

征文内容:(1)肝、胆、胰及胃肠道肿瘤外科治疗进展与评价;(2)肿瘤患者的综合治疗问题;(3)普通外科疾病的新诊断技术、新手术方法、新经验;(4)普通外科疾病的临床研究、基础研究、实验研究,手术适应证与禁忌证问题;(5)外科患者的营养支持,外科感染的防治策略;(6)普通外科的其他热点问题。

征文要求:(1)请将未公开发表的论文全文以及 800 字以内的中、英文摘要各一份,并附拷贝软盘或通过电子信箱发送到 pweditor@126.com,寄到 100034 北京西城区阜内大街 133 号 中华普通外科杂志编辑部 林林 收,联系电话:010 - 66124704。(2)来稿请注明单位、作者姓名、邮编及联系电话(请自留底稿,恕不退稿),并请附单位介绍信,信封左下角请注明“征文”字样。参会代表将获得国家级继续医学教育 I 类学分。(3)截稿日期 2007 年 9 月 30 日。

中华普通外科杂志编辑部