

乙酸局部注射治疗实验性肝肿瘤

• 实验研究 •

马明平, 明建中, 周义成, 胡道予

【摘要】 目的: 对比评价 50% 乙酸与无水酒精对兔实验性肝肿瘤的治疗作用以及对肝肾功能的影响。**方法:** 随机将植有 VX2 肝肿瘤的 30 只实验兔分为 50% 乙酸注射组和无水酒精注射组, 每组 15 只, 分别于开腹直视下向肿瘤内注入乙酸或无水酒精, 治疗后 1、3、5 和 7d 分别采静脉血检测血清 ALT、AST、BUN、Cr 变化, 术后 7d 处死动物, 观察肿瘤坏死情况及坏死区范围。**结果:** 50% 乙酸及无水酒精治疗后均导致肿瘤及周围肝组织凝固性坏死, 两组肿瘤完全坏死率分别为 73.3% (11/15) 和 33.3% (5/15), 局部坏死区平均直径分别为 (1.6 ± 0.7) cm 和 (0.9 ± 0.5) cm, 肿瘤完全坏死率及坏死区范围差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)。治疗后 1 周内两组动物 ALT、AST 均有一过性升高; 乙酸治疗组术后 1 周内 BUN 和 Cr 亦有一过性升高, 酒精治疗组术后 BUN 和 Cr 变化不明显。**结论:** 50% 乙酸较无水酒精具有更强的致组织坏死能力, 同时 50% 乙酸可能具有轻度的肾脏毒性作用。

【关键词】 肝肿瘤, 实验性; 放射学, 介入性; 模型, 动物

【中图分类号】 R815; R735.7 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2004)01-0053-04

Local acetic acid injection for treatment of experimental hepatic tumor MA Ming-ping, MING Jian-zhong, ZHOU Yi-cheng, et al. Department of Radiology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, P. R. China

【Abstract】 Objective: To evaluate the therapeutic efficacy and safety of local acetic acid injection for treatment of experimental hepatic tumor compared to ethanol injection. **Methods:** Thirty Japanese white rabbits with hepatic VX2 tumor were randomly divided into two groups two weeks after tumor inoculation: group A was treated with local injection of 50% acetic acid and group B treated with absolute ethanol injection. The treatment was performed under laparotomy and direct visualization. Serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr) were determined before and 1, 3, 5 and 7 days after treatment. All rabbits were sacrificed one week after treatment, and then the complete tumor necrosis rate and mean diameter of necrotic area around tumor were measured and compared between the groups. **Results:** Complete tumor necrosis rates of ethanol injection and acetic acid injection were 33.3% (5/15) and 73.3% (11/15) respectively. The mean diameter of necrotic area of two groups were 0.9 ± 0.5 cm and 1.6 ± 0.7 cm. There were significant differences in complete tumor necrosis rate ($P < 0.05$) and mean diameter of necrotic area ($P < 0.01$) between the two groups. Necrotic area of acetic acid injection was significantly larger than that of the ethanol injection. Compared to pre-treatment, serum ALT and AST elevation developed in both groups and returned to normal level in one week after treatment. In the group with acetic acid injection, serum BUN and Cr level also elevated at 1~3 days posttreatment and returned to normal level in one week. No such change was observed in ethanol injection group. **Conclusion:** 50% acetic acid is more effective in the destruction of hepatic tumor than absolute ethanol, but acetic acid may have mild toxic effect on kidney.

【Key words】 Liver neoplasm, experimental; Radiology, interventional; Models, animal

经皮穿刺无水酒精注射(percutaneous ethanol injection, PEI)治疗肝肿瘤是外科手术切除之外一种疗效肯定、创伤小而广为接受的治疗方法^[1-3], 但由于 PEI 一般需要多次穿刺治疗, 加上术后局部复发率高而影响了其临床应用^[3,4]。

乙酸被认为较无水酒精具有更强的致蛋白质脱水变性及组织渗透性而更适合局部注射治疗^[5], 关于乙酸局部注射治疗肝肿瘤的临床研究已有报道^[6,7], 但是有关乙酸与无水酒精治疗肝肿瘤的对比实验研究报道较少, 为了进一步明确乙酸与无水酒精对肝肿瘤的

治疗作用, 我们采用兔 VX2 肝肿瘤作为肝癌模型, 观察了两种组织灭活剂对肝肿瘤及周围正常肝组织的灭活作用以及两者对肝肾功能的影响。

材料与方法

1. 实验动物

国内常用的日本大白兔, 体重 2.5~3.3kg, 由本单位实验动物中心提供, 50% 乙酸及无水酒精由本单位制剂室提供。

2. 实验方法

兔 VX2 肝肿瘤模型制作: 将腿部携有 VX2 肿瘤

作者单位: 430030 武汉, 华中科技大学同济医学院附属同济医院放射科

作者简介: 马明平 (1970-), 男, 湖北宜昌人, 博士, 主要从事介入放射工作。

的种兔经戊巴比妥钠 (30mg/kg) 静脉全麻后, 无菌条件下剥离肿瘤, 清洗并剔出坏死组织, 用眼科剪将其尽量剪碎, 制成大小约 $1\text{mm} \times 1\text{mm} \times 1\text{mm}$ 的肿瘤组织块备用, 实验用大白兔同前述方法全麻后无菌手术下开腹, 暴露肝脏, 用眼科剪将肝左中央叶或右中央叶剪开长 3~5mm 小口, 将 1mm^3 左右的肿瘤组织直接植入肝内, 包埋并缝合肝包膜。

实验动物的分组及不同处理: 植入 VX2 肿瘤后 12~14d 再次同前述方法开腹, 观察肿瘤生长情况 (无肿瘤生长者不进入本实验), 测量肿瘤的最大径及最小径, 随机将肿瘤生长良好的实验兔分为两组: A 组为 50% 乙酸治疗组, B 组为无水酒精治疗组, 乙酸或无水酒精的注入量由肿瘤的最大直径确定, 即肿瘤最大直径的厘米数等于乙酸或无水酒精注射的毫升数, 局部注射采用开腹直视下用 1ml 注射器将乙酸或无水酒精自肿瘤中心缓慢注入, 术中注意观察实验兔的呼吸及心率情况。

术前及术后 1、3、5 和 7d 分别自兔耳缘静脉采血, 离心后检测血清中丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST) (赖氏比色法); 尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr) (速率法), 观察乙酸及无水酒精对兔肝肾功能的影响。

治疗后 1 周静脉注入过量氯胺酮处死动物, 取出肝脏, 10% 的甲醛固定后沿横断面薄层 (3mm) 切开肝脏, 先大体观察和测量肿瘤的坏死情况和范围, 然后标本石蜡包埋后制成 $5\mu\text{m}$ 厚切片 HE 染色后镜下观察肿瘤及周围肝组织坏死情况, 测量肿瘤及周围肝组织坏死情况由两位病理科医师采用双盲法进行, 根据镜下判断肿瘤是否完全坏死, 完全坏死记为“+”, 未完全坏死记为“-”。坏死区范围以坏死区最大层面为准, 测量坏死区最大直径及最小直径, 其平均直径 = (最大直径 + 最小直径) / 2。

3. 统计学处理

治疗前两组肿瘤大小的平均直径, 乙酸与无水

酒精的注射量, 治疗后坏死区平均直径对比采用 t 检验; 两组间肿瘤完全坏死率对比采用 χ^2 检验; 治疗前及术后 1、3、5 和 7d 的 ALT、AST、BUN、Cr 变化前后对比采用 t 检验, 所有数据均用 SAS 软件处理。

结 果

34 只实验动物中 30 只植入肿瘤后 12~14d 肿瘤生长良好, 呈鱼肉样结节, 位于肝表面。随机将 30 只实验兔分为乙酸治疗组和无水酒精治疗组。

兔 VX2 肝肿瘤治疗过程中的病理学变化: 注入乙酸或无水酒精过程中见肿瘤及周围肝组织迅速变为苍白色, 并凝结成硬结状, 大体标本肿瘤及局部肝组织坏死区呈深褐及苍白色, 镜下显示呈凝固性坏死, 乙酸治疗组中肝肿瘤及周围肝组织广泛坏死, 肿瘤完全坏死率达 73.3% (11/15), 镜下见坏死区呈无定形状, 肿瘤细胞及周围部分正常肝细胞结构完全破坏, 呈大片红染无结构坏死区, 不能辨别组织及细胞大致结构, 坏死区周围有少量肝细胞变性 & 炎性细胞浸润 (图 1、2); 无水酒精治疗组肿瘤完全坏死率 33.3% (5/15), 虽然肿瘤及周围肝组织亦有明显坏死, 但镜下坏死区组织结构仍大致可辨认, 细胞核明显皱缩, 并可见部分残存肿瘤细胞, 坏死区周围肝细胞呈大片水样变性, 另外有 4 例虽然肿瘤周围正常肝组织明显变性坏死, 但中心区仍可见大量肿瘤细胞残存 (图 3、4), 乙酸治疗组中

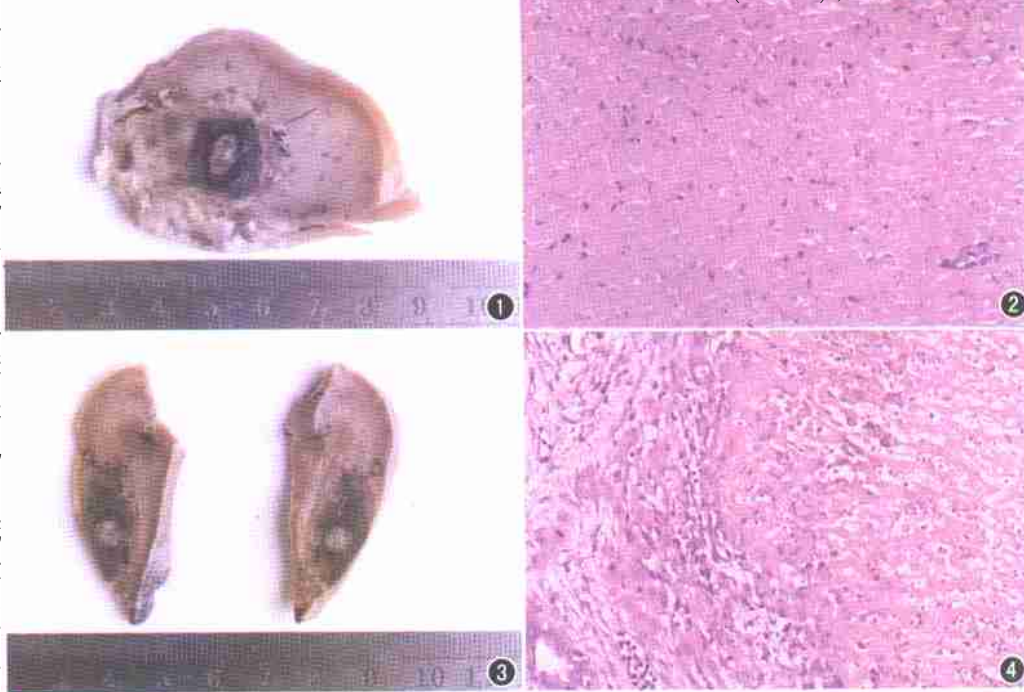


图 1 50% 乙酸注入后肝肿瘤及周围肝组织完全坏死。图 2 镜下显示凝固性坏死, 呈无定形状, 组织结构完全破坏 (HE $\times 100$)。图 3 无水酒精注入后部分肝肿瘤及周围肝组织坏死。

图 4 镜下显示部分肿瘤细胞坏死, 部分肿瘤细胞残存, 细胞轮廓清晰可辨 (HE $\times 100$)。

未观察到此现象(表 1)。

表 1 乙酸及无水酒精治疗前后肿瘤变化对比

	乙酸组	无水酒精组	P 值
术前肿瘤平均直径(cm)	0.7±0.3	0.8±0.2	> 0.05
乙酸及酒精注入量(ml)	0.9±0.4	1.0±0.3	> 0.05
坏死区平均直径(cm)	1.6±0.7	0.9±0.5	< 0.01
肿瘤完全坏死率(%)	73.3	33.3	< 0.05

乙酸及无水酒精治疗对肝肾功能的影响: 乙酸及无水酒精治疗 1~ 3d 后 ALT、AST 均明显升高, 1 周后恢复正常, 乙酸治疗组中 BUN 和 Cr 亦有升高, 而酒精治疗组中 BUN 和 Cr 变化不明显(表 2), 另外乙酸注入过快者有呼吸加深加快现象。

讨 论

随着影像学的发展, 小肝癌的检出率明显提高, 虽然目前外科手术切除仍然是小肝癌治疗的首选方法, 但是肝癌患者往往有肝硬化的背景, 一部分患者由于肝功能较差或其它因素而不能承受手术。PEI 由于其创伤小、对肝功能影响小、费用低、疗效肯定而成为外科手术之外治疗小肝癌的一种重要手段, 但是 PEI 一般需要反复多次注射, 一个 2cm 左右的病灶往往需要 3~ 6 次治疗, 每次注入 1~ 8ml 无水酒精才能导致肿瘤完全坏死^[8,9]。研究发现肝癌组织内常有较多组织间隔, 而无水酒精对组织间隔的渗透性较差, 所以需要反复多次穿刺治疗才能使无水酒精均匀分布至各个间隔内, 促使肿瘤细胞完全坏死^[10], 但是反复多次治疗增加了动静脉瘘、胆道损伤、针道转移等并发症的发生率^[8, 11, 12]。另外 PEI 治疗后病灶局部复发率较高, 文献报道复发率达 37%^[10]。

乙酸被认为具有更强的致蛋白干燥脱水变性、更强的渗透性而更适宜局部注射治疗。Ohnishi 等^[5, 6]研究表明 15% 的乙酸比无水酒精具有更强的致组织坏死能力, 随着浓度的增加, 其致组织坏死能力逐渐增

强, 达到 50% 以后无进一步增加, 因此认为 50% 乙酸是局部注射治疗的最佳浓度, 致组织坏死能力约为无水酒精的 3 倍。

本实验中我们亦观察到 50% 的乙酸致肿瘤完全坏死率及坏死区范围均明显大于无水酒精治疗组, 与文献报道一致。乙酸注入肿瘤后引起瘤体本身及周围肝组织广泛凝固性坏死, 镜下见肿瘤及周围肝组织均完全破坏, 呈无定形结构, 坏死灶周围有炎性细胞浸润及纤维组织增生。无水酒精注入后亦引起肿瘤及周围肝组织部分坏死, 坏死区周围细胞变性较乙酸治疗组明显, 肿瘤完全坏死率及坏死区范围明显低于乙酸治疗组, 镜下坏死区呈凝固性, 但组织结构仍部分可辨, 细胞核呈皱缩改变, 镜下形态与乙酸所致坏死区有明显差异, 坏死区内肿瘤细胞坏死不彻底, 其间可见残存肿瘤细胞, 这也可能部分说明无水酒精治疗需要多次反复注射和容易复发的原因。另有 4 例标本显示肿瘤周围肝组织变性坏死而肿瘤仅部分坏死, 我们认为可能与肿瘤细胞较正常肝细胞对无水酒精的敏感性差异有关。乙酸及无水酒精注射治疗后 ALT 和 AST 一过性升高, 考虑为直接损伤肝细胞的反应; 乙酸治疗组中 BUN 和 Cr 较治疗前亦有一过性升高, 而无水酒精治疗前后两者改变不明显, 说明乙酸对肾脏可能有一定的毒性作用, 有文献报道大剂量乙酸注射治疗肝癌后致肾功能衰竭也进一步说明乙酸可能具有肾脏毒性作用^[13]。另外, 实验中还观察到快速注入乙酸时实验兔呼吸加深加快, 缓慢注入时反应不明显, 可能与乙酸中部分 H⁺ 快速进入血液循环有关。

从本实验结果来看, 50% 乙酸对肿瘤组织的破坏作用明显强于无水酒精, 乙酸注入后肿瘤及周围肝组织坏死主要呈凝固性坏死, 且坏死彻底, 细胞变性不明显; 无水酒精注入后肿瘤及肝组织部分坏死, 周围可见明显细胞变性, 但是由于乙酸可能具有轻度肾脏毒性作用, 经皮乙酸注射治疗中应严格的控制剂量并注意缓慢注射。

表 2 乙酸及无水酒精治疗前后肝肾功能指标动态变化

各项指标	术前	术后 1d	术后 3d	术后 5d	术后 7d
ALT(IU/l) *	32.1±6.0	78.6±12.6 [▲]	135.3±15.6 [▲]	89.4±12.6 [▲]	39.3±8.4 [△]
ALT(IU/l)	37.5±8.2	65.7±9.5 [▲]	167.6±20.4 [▲]	126.5±21.5 [▲]	41.2±11.5 [△]
AST(IU/l) *	38.5±7.4	73.5±8.7 [▲]	214.4±32.6 [▲]	116.7±19.6 [▲]	45.7±9.6 [△]
AST(IU/l)	43.7±9.4	89.6±10.5 [▲]	194.6±17.3 [▲]	80.9±9.4 [▲]	39.5±14.3 [△]
BUN(mmol/l) *	5.46±1.37	9.21±2.64 [▲]	7.06±2.85 [△]	6.38±2.05 [△]	6.59±2.47 [△]
BUN(mmol/l)	6.35±1.52	6.84±3.45 [△]	5.95±2.31 [△]	6.85±3.26 [△]	7.52±3.67 [△]
Cr(μmol/l) *	89.42±21.35	156.47±35.62 [▲]	98.55±29.37 [△]	92.62±38.56 [△]	94.76±34.68 [△]
Cr(μmol/l)	97.65±19.67	106.52±34.16 [△]	94.35±29.56 [△]	89.31±27.69 [△]	92.68±23.62 [△]

注: * 乙酸治疗组; △ 与术前对比 P>0.05; ▲ 与术前对比 P<0.05。 ©1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参考文献:

- [1] Shiina S, Tagawa K, Niwa Y, et al. Percutaneous ethanol injection therapy for hepatocellular carcinoma: results in 146 patients[J]. AJR, 1993, 160(5): 1023-1028.
- [2] Livraghi T, 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(4): 925-929.
- [3] Tanikawa K, Majima Y. Percutaneous ethanol injection therapy for recurrent hepatocellular carcinoma[J]. Hepatogastroenterology, 1993, 40(4): 324-327.
- [4] 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.
- [5] Ohnishi K, Ohya N, Ito S, et al. Small hepatocellular carcinoma: treatment with US-guided intratumoral injection of acetic acid[J]. Radiology, 1994, 193(3): 747-752.
- [6] Ohnishi K, Nomura F, Ito S, et al. Prognosis of small hepatocellular carcinoma (less than 3 cm) after percutaneous acetic acid injection: a study of 91 cases[J]. Hepatology, 1996, 23(5): 994-1002.
- [7] Liang HL, Yang CF, Lai KH, et al. Small hepatocellular carcinoma: safety and efficacy of single high-dose percutaneous acetic acid injection for treatment[J]. Radiology, 2000, 214(3): 769-774.
- [8] Sheu JC, Sung JL, Huang GT, et al. Intratumor injection of absolute ethanol under ultrasound guidance for the treatment of small hepatocellular carcinoma[J]. Hepatogastroenterology, 1987, 34(6): 255-261.
- [9] Ebara M, Ohto M, Sugiura N, et al. Percutaneous ethanol injection for the treatment of small hepatocellular carcinoma: a study of 95 patients[J]. J Gastroenterol Hepatol, 1990, 5(6): 616-626.
- [10] Ohnishi K, Yoshioka H, Ito S, et al. Prospective randomized controlled trial comparing percutaneous acetic acid injection and percutaneous ethanol injection for small hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 1998, 27(1): 67-72.
- [11] Ishii H, Okada S, Okusaka T, et al. Needle track implantation of hepatocellular carcinoma after ethanol injection[J]. Cancer, 1998, 82(9): 1638-1642.
- [12] Zerbey A, Mueller PR, Dawson S, et al. Pleural seeding from hepatocellular carcinoma: a complication of percutaneous alcohol ablation[J]. Radiology, 1994, 193(1): 81-82.
- [13] Van Hoof M, Joris JP, Horsmans Y, et al. Acute renal failure requiring hameodialysis after high dose percutaneous acetic acid injection for hepatocellular carcinoma[J]. Acta Gastroenterol Belg, 1999, 62(1): 49-51.

(收稿日期: 2003-01-21)

腹膜后巨大脂肪肉瘤一例

• 病例报道 •

潘志华

【中图分类号】R735.5; R814.42 【文献标识码】D 【文章编号】1009-0313(2004)01-0056-01

病例资料 患者,女,66岁。3年前无明显诱因出现消瘦、纳差,无皮肤、巩膜黄染及其它不适。1年前消瘦、纳差加重且出现腹胀。查体:腹部膨隆,表面未见静脉曲张、蜘蛛痣及胃肠型,全腹无压痛,腹部可扪及约25cm×20cm包块,界限不清,表面光滑、质硬,肠鸣音正常,无移动性浊音。

B超:剑突至脐下约3cm可见一巨大不规则团块,内部不均质,边界模糊,与周围组织无明确分界,团块形态不规则,以强回声为主,内可见3.5~5.0cm的弱回声团块,肝脾双肾受压推移。诊断:中上腹巨大实质性占位性病变。

CT扫描:从右膈下至耻骨联合上层面见一境界清晰、形态不规则的巨大肿块影,最大层面见该肿块几乎占据整个腹腔,其内密度不均,以低密度为主,CT值约-80~43HU;在低密度区内可见不规则云絮状影及粗细不一、走行不规则线条状影(图1);在低密度内右肾前方可见约6.7cm×7.0cm×4.5cm软组织密度肿块影,境界清晰,密度不均,肿块中心可见低密度区(图2)。增强扫描示巨大肿块不均匀性强化;其内右肾前方肿块影明显强化,中心无强化。肝、小肠、胰腺及右侧髂血管等被

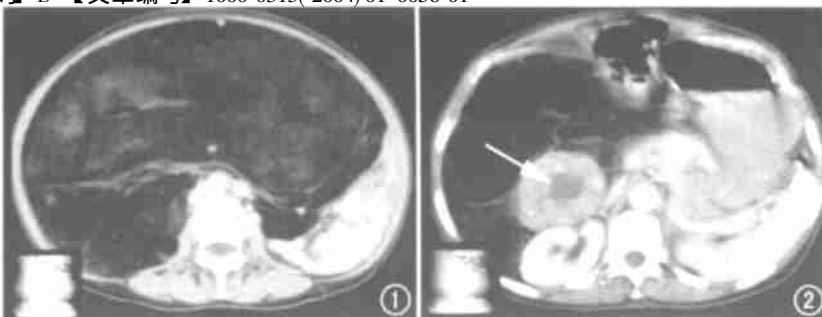


图1 腹部低密度肿块几乎占据整个腹腔,其内可见不规则云絮状影。

图2 右肾前方软组织密度肿块影,中心低密度区无强化(箭)。

推移。诊断:腹膜后巨大脂肪肉瘤或脂肪瘤可能性大。

手术所见:巨大肿瘤位于腹膜后,约50cm×45cm×30cm,呈多个分叶状。其位于右肾前至盆腔之部分肿瘤质硬,髂血管推向左侧并穿越肿瘤。肿瘤部分包膜完整,部分无完整包膜,切除肿瘤重约10kg。病理诊断:脂肪瘤样型脂肪肉瘤。

讨论 发生于腹膜后间隙的脂肪肉瘤起病隐匿,发现时往往已经很大,可占据大部分腹腔、盆腔,以沿各间隙侵袭性生长为特点,易包绕大血管及腹腔脏器。腹膜后脂肪肉瘤多为原发,很少由脂肪瘤恶变而来。本例为老年女性,瘤体巨大,较罕见。该肿块内脂肪含量比例较高,在CT影像上表现为低密度肿块,有一定的特点;适当的窗位、窗宽有助观察肿块内的细微结构。同时,详尽了解肿块与周围组织关系,有助于术前评估,确定合理的手术方案。