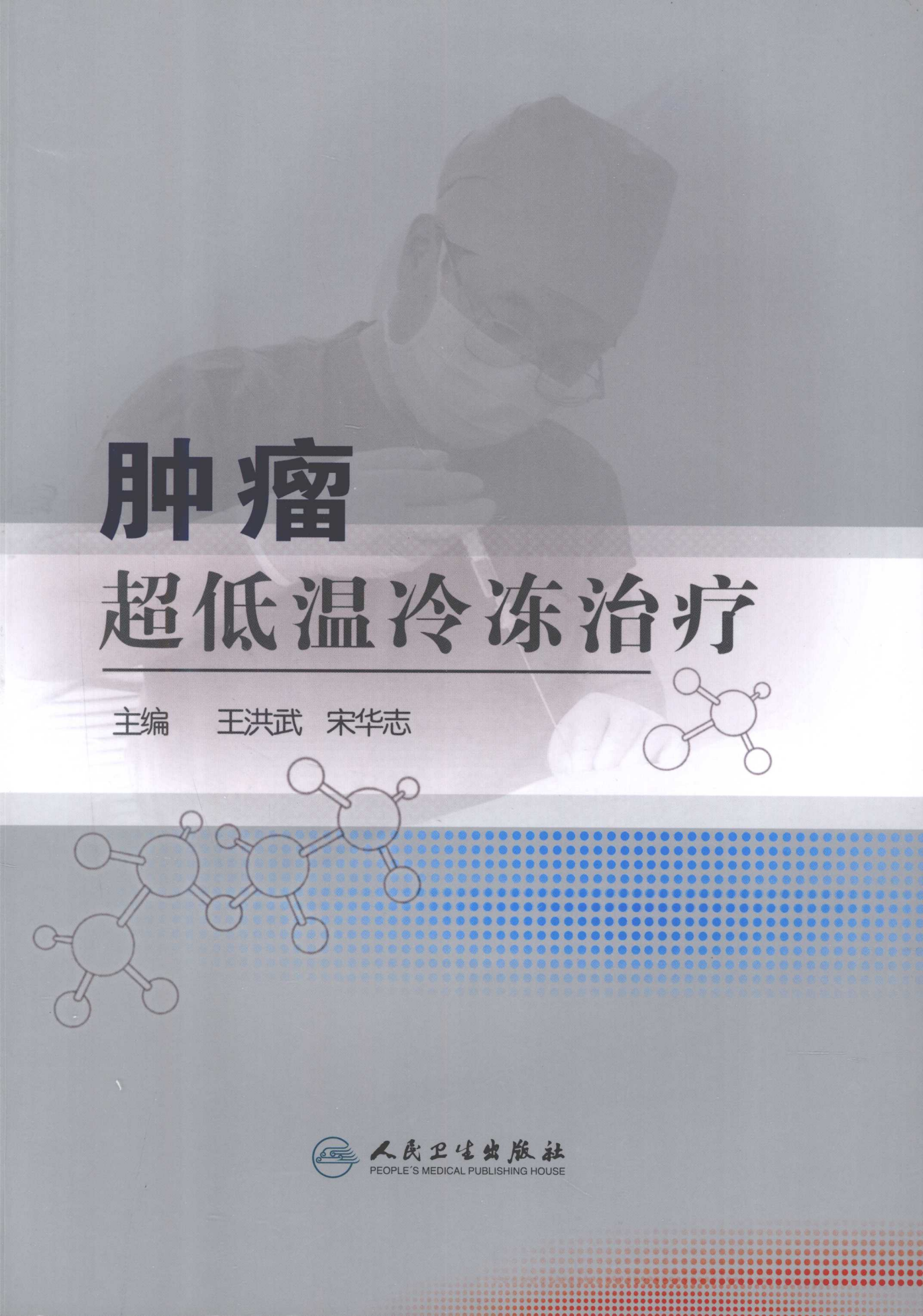




肿瘤 超低温冷冻治疗

主编 王洪武 宋华志



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

附赠

超低溫冷凍治疗

王國興 醫學博士 主編

香港大學出版社

肿瘤超低温冷冻治疗

主 编 王洪武 宋华志

编者名单 (按姓氏音序排列)

安永辉	河北省石家庄市第一人民医院肿瘤科
白广德	广西中医学院附属瑞康医院肿瘤科
胡凯文	北京中医药大学东方医院肿瘤科
李德忠	广州军区武汉总医院医学实验中心
李国雄	广州军区武汉总医院放射科
李 静	广州军区武汉总医院肿瘤微创治疗科
李泉旺	北京中医药大学东方医院肿瘤科
李秀莉	河北省石家庄市第一人民医院肿瘤科
刘元水	山东省千佛山医院肿瘤科
秦怀海	中国煤炭总医院神经外科
宋华志	广州军区武汉总医院肿瘤微创治疗科
王洪武	中国煤炭总医院肿瘤微创治疗中心
王 慧	广州军区武汉总医院肿瘤微创治疗科
王勇强	北京军区新疆总医院肿瘤科
武 清	上海第二军医大学附属长征医院肿瘤科
谢雄亮	广州军区武汉总医院肿瘤微创治疗科
晏鸿波	广州军区武汉总医院皮肤科
易峰涛	广州军区武汉总医院肿瘤微创治疗科
张继青	广州军区武汉总医院放疗中心
郑晓寰	山东省千佛山医院肿瘤科
周 佩	广州军区武汉总医院特诊科

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

肿瘤超低温冷冻治疗/王洪武等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2010. 8

ISBN 978 - 7 - 117 - 13205 - 3

I. ①肿… II. ①王… III. ①肿瘤 - 冷冻疗法
IV. ①R730. 56

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 128421 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

肿瘤超低温冷冻治疗

主 编: 王洪武 宋华志

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010 - 59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010 - 67605754 010 - 65264830

010 - 59787586 010 - 59787592

印 刷: 北京汇林印务有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 21 插页: 16

字 数: 511 千字

版 次: 2010 年 8 月第 1 版 2010 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 13205 - 3/R · 13206

定 价: 59.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

前 言

目前我国每年新发癌症患者逾 225 万例,死亡 175 万人,且发病率呈逐年上升趋势。大型综合医院中,肿瘤占各科室疾病的比例逐年上升,全国已有 27 个省(区、市)设立了肿瘤专科医院。癌症患者的治疗需求,使肿瘤治疗领域医务工作者的数量不断增加,而学习和掌握肿瘤治疗的新方法已成为肿瘤领域医务工作者面临的新课题。

冷冻治疗是一项重要的微创、靶向治疗技术。早在 4000 多年前的古希腊,人们就用冰治疗疾病。冷冻治疗历经冰、液态氧、液态 CO₂ 雪、液氮,直至现在的高压氩气,治疗范围由表浅的皮肤疾病,到体内深部肿瘤,已达到了类似手术切除的治疗效果,从而衍生了现代冷冻治疗学。

1993 年,美国学者应用数十项太空专利技术发明了氩氦冷冻治疗系统(简称氩氦刀)。经过数年的试验,美国(1998 年)氩氦刀治疗系统(endocare crosurgery system)和以色列(2000 年)氩氦刀(Cryo-HIT™低温冷冻手术系统)相继通过美国 FDA 注册和欧共体 CE 注册认证,开始应用于实体肿瘤的靶向治疗。

1998 年,中国首次引进了氩氦刀,进行了许多有益地探索。氩氦刀技术发明在美国,而在中国的应用已得到国外专家的高度评价。

2000 年,美国财政部将氩氦刀治疗前列腺癌纳入全民医保计划。近年来,中国的一些地区也将氩氦刀治疗肿瘤列入了医保范围之内,促进了氩氦刀在中国的应用和普及。

十余年来,中国的氩氦刀治疗技术日趋成熟,在肺癌、肝癌、前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌等实体肿瘤的治疗方面已有几十万的临床治疗经验,确立了氩氦刀在实体肿瘤治疗方面的主导地位,日本、韩国、中国台湾等先后派人到中国内地学习氩氦刀治疗技术,表明中国内地在冷冻治疗方面已处于世界先进水平。

同时,CO₂ 冷冻在内镜治疗领域和外科肋间神经止痛方面也积累了丰富经验,特别是在内镜冻融治疗的基础上,又拓展出冻切技术,对快速冻取腔道内的肿瘤和异物发挥了重要作用。

正如国际冷冻外科学会主席 Franco Lugnani 博士所说:冷冻治疗适应于任何一个可使用解剖刀清除不良组织的过程中,目前已广泛应用于皮肤科、妇科、泌尿科、神经科、肺内科、心血管以及肿瘤科等多项外科医学领域。

遗憾的是,目前国内外均缺乏对冷冻治疗的双盲、随机及前瞻性研究,各个中心的治疗也不甚规范,临床疗效良莠不齐。因此,尽快制定氩氦刀治疗规范已迫在眉睫。作为国内较

早开展冷冻治疗领域的专家,作者深感责任重大,因此,特组织国内知名专家将多年的宝贵经验编撰成书,呈现给广大同行和患者。经过几年的努力,专家们终于在繁忙的工作中完成了这部专著的编写,几经周折终于付梓。

本书共分三篇,第一篇主要介绍冷冻的基础知识、实施方案和影像引导技术,第二篇介绍冷冻治疗设备,第三篇介绍冷冻治疗在 20 余种常见实体肿瘤中的应用。

本书系统介绍了肿瘤超低温冷冻治疗技术,由国内知名的 10 家医院的 21 位氩氦刀专家集体撰写,融合了国内外最新的资料和丰富的临床经验,并配有大量珍贵的图片资料,具有很强的实用价值和重要的学术价值,可以作为本行业学习的参考书,对规范冷冻治疗具有重要的指导意义,对其他专业的医务人员及患者也有重要的参考价值。希望该书的出版,能极大地促进国内肿瘤冷冻事业的发展,同时培养大批专业人才,也让广大患者了解该技术,增加战胜疾病的信心。

当然,冷冻治疗只是肿瘤微创治疗技术的重要组成部分,还需与其他技术联合应用。近年来,作者积极探索多种肿瘤微创治疗技术,形成了初步的理论体系,对实体肿瘤采取影像引导下的经皮穿刺治疗,施行局部冻融手术,减瘤负荷,改善患者生存质量,延长患者生命。同时探讨了冷冻与化疗、放/化疗粒子植入、抗血管生成药物、动脉介入等多种联合治疗模式,取得明显疗效。而对空腔器官肿瘤,则采取内镜引导下的介入治疗,如氩气刀、CO₂ 冷冻、内支架置入、光动力治疗等,这些研究的进展,无疑是传统治疗方法的延伸和发展,为晚期肿瘤患者带来了福音。

非常感谢煤炭总医院王明晓院长多年来对我工作的关心和支持,也感谢各位作者在百忙之中为本书撰稿。本书在内容编排上得到了赵海鹰女士和杨洋女士的大力帮助,在此表示衷心的感谢。

本书编写专家较多,风格各异,由于本人水平所限,难以将各位专家的风采充分展现出来,书中错误在所难免,希望广大读者批评指正。

王洪武

2010 年 8 月

目 录

第一篇 基 础 篇

第一章 概述	3
第二章 冷冻治疗计划的设计与执行	35

第二篇 冷冻治疗设备

第一章 氩氦靶向手术治疗系统	79
第二章 液氮冷冻治疗系统	88
第三章 CO ₂ 冷冻治疗系统	95

第三篇 应 用 篇

第一章 头颈部肿瘤	103
第一节 上颌窦癌	103
第二节 口腔肿瘤	106
第三节 喉癌	111
第四节 甲状腺癌	115
第二章 肺癌	120
第三章 纵隔肿瘤	139
第四章 肝脏肿瘤	154
第五章 乳腺癌	175
第六章 胰腺癌	183
第七章 肾脏及肾上腺肿瘤	208
第一节 肾脏肿瘤	208
第二节 肾上腺肿瘤	213

第八章 前列腺疾病	217
第一节 前列腺癌	217
第二节 前列腺增生	242
第九章 妇科肿瘤	248
第一节 宫颈癌	248
第二节 卵巢肿瘤	253
第三节 子宫肌瘤	255
第十章 直肠癌	263
第十一章 骨肿瘤	285
第十二章 颅内肿瘤	292
第十三章 恶性软组织肿瘤	300
第十四章 皮肤肿瘤	312
第十五章 血管瘤	319
第十六章 氩氦刀手术室的管理及围术期护理	323
第一节 氩氦刀手术室的管理	323
第二节 氩氦刀围术期护理	324

第一篇

基础篇

概述

一、冷冻治疗概述

1. 冷冻治疗的演变过程 冷冻治疗(cryotherapy)又称冷冻外科治疗(cryosurgery)、冷冻疗法(cryotherapy)、冻烙术(cryocautery)、冻凝术(cryocongelation)、低温外科(cryogenic surgery)、冷冻消融术(cryoablation)等,但冷冻治疗更为确切,医学术语中也更常用。冷冻治疗是一种便宜、简单、安全的治疗方法,既适合于医院中应用,也适合于诊所中应用。

早在4000多年前,古埃及人和古希腊人希波克拉底(Hippocrates)即知道冷冻具有止痛和抗炎作用。200多年前演变成用水疗来特异地破坏局部组织。英国医师 James Arnott (1797—1883)是第一个用局部超低温破坏组织的人,1819年和1879年他发表了用低温治疗疾病的文章。他最早用盐水和碎冰的混合物来姑息性治疗肿瘤,能使疼痛减轻和局部出血停止,因此,他认为超低温能使表面的炎症终止。他设计了特殊的设备,用冷冻来治疗乳腺癌和子宫癌,虽然能达到姑息性效果,但他意识到冷冻治疗并不能治愈癌症,因此,他倡导用 -24°C 的低温来治疗痤疮、神经性疼痛和头痛。他对冷冻治疗的贡献功不可没。

实际上,冰和盐水产生的低温不足以杀灭肿瘤。18世纪后叶,由于科学技术的快速发展,液化气制冷已引起人们的兴趣。1877年圣诞前夜,Cailletet在法国科学院宣布 O_2 和 CO_2 在高压下能变成液体。1895年,德国的Linde首先将液态气体变成了商业产品,由此促进了它的广泛应用。

纽约医生 Campbell White 是第一个用液态气体制冷剂治疗疾病的人。1899年他报道,已经成功地应用液态气体治疗了许多疾病,如红斑狼疮、带状疱疹、软下疳、疣、下肢静脉曲张性溃疡、痈和上皮瘤。他认为液态气体能有效地治疗肿瘤,并乐观地认为能治愈上皮肿瘤。

纽约皮肤病专家 Whitehouse(1864—1938)也发现上皮性肿瘤放疗后加用液态气体治疗比反复应用放疗的效果好。液态气体治疗曾在20世纪20~30年代风靡一时。虽然它的最低温度可达 -182.9°C ,但由于它有易爆等缺点,所以主要还是局限于痤疮的治疗。

1907年芝加哥医生 Pussey 第一次将 CO_2 雪运用于治疗过程,从而开始出现了“冷冻治疗”的概念。他成功地用 CO_2 雪治愈了1例脸部大片带毛的黑痣患者。

1911年,伯明翰放射治疗医生 Hall Edwards 在Lancet上首次描述了 CO_2 储存罐的模型,2年后他又描述了 CO_2 的应用和储存方法,为冷冻治疗的发展做出了巨大贡献。但固体 CO_2 在体表的温度并不能达到 -79°C ,组织冷冻不够深,因为只有当组织温度达 -50°C 、深度达

3mm 时才能杀灭恶性肿瘤。因此,直到 20 世纪 60 年代,冷冻只能有效地应用于良性皮肤疾病。虽然 1917 年 De Quervain 曾报道成功应用 CO_2 雪治疗膀胱乳头状瘤和癌。

20 世纪 40 年代,前苏联的 Kapitsa 和美国的 Collins 将液化氢和氮混合制造液氮,开创了液氮冷冻治疗的时代。1950 年 Allington 第一次用液氮治疗疾病。他认为液氮与其他的液态气体性能相似。第二次世界大战后,液氮可免费获得,由此推动了它的广泛应用。他用棉棒蘸取液氮治疗良性皮肤疾病,但由于棉棒和皮肤间的传热性很差,不能用于肿瘤的治疗。

美国神经外科医生 IS Cooper 对冷冻治疗的贡献也是无可估量的。他最早设计了液氮冷冻探头,可使温度达 -196°C 。1961 年他开始用液氮作为冷冻剂治疗中枢神经系统疾病。Torre(1965 年)和 Zacarian(1967 年)分别设计了液氮喷雾装置,用于治疗表浅的疾病。1968 年,液氮超低温手术成功地应用于前列腺癌、肝癌等的治疗。Zacarian 和 Amoils 为液氮冷冻装置的设计也作出了巨大贡献。早期用于肿瘤临床治疗的冷冻治疗仪器是一种倾倒式和喷射式的简便装置,治疗方法是直接将液氮倾注入到病变组织的表面。在操作时难以控制冷冻的靶区和范围,而且冷冻治疗的有效深度只有 1~2cm,因此主要用于治疗位于组织器官表浅部位的肿瘤,如皮肤肿瘤和内脏肿瘤开放性手术过程中。液氮冷冻目前主要用于皮肤疾病,如病毒性疣、脂溢性角化病、传染性软疣、蜘蛛样血管瘤和指(趾)黏液样囊肿等。如果每 2~3 周冷冻一次,病毒性疣的治疗有效率可达 75%。冷冻治疗对癌前角化病和 Bowen 病有效率最高,Bowen 病的治愈率可与手术切除、刮除术和高频电刀治疗相媲美。基底细胞癌也常选用冷冻治疗,在挑选的患者中,其治愈率也与外科手术相当。其他肿瘤还有鳞癌和恶性小痣。

20 世纪 80 年代,美国 CMS 公司发明的具有插入式循环冷冻治疗探头的 LCS-2000 型液氮冷冻机和德国研制的压力式液氮冷冻机,这种插入式液氮低温冷冻设备有不同型号的探针,每种探针可以设置不同的冷冻温度。所提供的探针数量和所达到的冷冻效果使治疗更完美,操作更方便,可广泛应用于深部肿瘤的治疗,如肾癌、子宫癌、肝癌、前列腺癌、头面部肿瘤等。但由于设备庞大,限制了它的临床应用。1994 年美国研制成功一种新型超低温介入冷冻治疗设备——氩氮靶向手术治疗系统(endocare cryocare system,简称氩氮刀),1998 年进入中国市场。近年来,以色列 Galilmedical 公司按同一技术原理制造的 Cryo-Hit 氩氮刀也进入了中国市场,极大地促进了中国冷冻事业的发展。该系统的研制结合了航天、生物传感、电子计算机、适形监控和靶向治疗等多项技术,将超低温靶向冷冻和介入热疗有机地结合在一起,是世界上第一个兼具超低温和热效应双重功能的医疗系统,为肿瘤的超低温治疗技术的发展带来突破性进展。

2. 冷冻治疗设备

(1) 制冷剂:常用制冷剂有气体和液体两种,如氩气、 NO 、 CO_2 和液氮等,氩气所产生的最低温度可达 -160°C 左右, NO 、 CO_2 为 -80°C 左右,液氮可达 -196°C 。

(2) 制冷机:根据制冷剂的不同,也主要分为气体和液体两种,如由氩气、 NO 、 CO_2 等制冷的机器有氩氮刀、 NO 冷冻机、 CO_2 冷冻机等。由液氮制冷的机器有美国、英国和德国生产的液氮冷冻机等。

(3) 操作手段:对皮肤表浅的良性疾病,可用棉签蘸取液氮进行冷冻,或用液氮喷雾机喷雾进行表面冷冻。对插入式制冷机(如液氮冷冻机和氩氮刀)则可在术中配合手术直接穿

刺对肿瘤进行冷冻,或在影像学引导下(如B超、CT、MRI等)经皮穿刺靶向冷冻,或内镜、腔镜等引导下进行靶向冷冻治疗。

二、冷冻治疗的病理生理学基础

(一) 机体对冷冻及热融反应的生物学机制

1. 常温下机体组织细胞存活的条件 在正常温度下,生物机体的器官、组织和细胞在一个狭小的变化范围内保持正常的工作状态,细胞浸浴在血浆及血浆的超滤液中,而血浆成分通过许多机制被限制在狭小的变化范围内,保持着内环境稳定,细胞亦保持着一个与细胞外十分不同的但相当稳定的细胞内环境。所以细胞的存活一方面要求有正常温度下的细胞外液的恒定,也要求有细胞内液的恒定。而要维持内、外液的恒定,必须涉及维持这种衡定的基本因素:一是渗透压,正常情况下血浆和细胞外液及细胞内液的渗透压平均为 300mmol/L (mOsm/kg)。一般来讲,细胞能耐受 $\pm 10\%$ 的渗透压偏离,超出这一范围便可引起细胞损伤;二是酸碱度,血浆和细胞外液的 pH 亦在一个局限($7.31 \sim 7.43$)的狭小范围内,超出这一范围将会引起细胞损伤;三是无机离子,正常温度下,血浆和细胞外液有相应的无机离子成分和水平,细胞内液亦有相应的无机离子成分和水平。细胞通过细胞膜的主动运转来维持这种跨膜的离子梯度;四是代谢底物,机体一切活动所需要的能量均来源于体内糖、脂肪和蛋白质的分解氧化,其中糖是主要的能源物质。机体在有氧代谢中,氧的供给非常重要,组织液中的氧含量极为有限,当血供中断时,能量的产生也迅速停止,细胞的呼吸功能也将停止。总之,机体的一切生命活动都必须以新陈代谢的正常进行为基础,机体不断进行新陈代谢,即不断与外界环境进行物质和能量的交换,生命才能存在和维持。新陈代谢一旦停止,生命也就随之死亡,一切生命活动也就不复存在。人体的基本结构与功能单位是细胞,人体的一切生理活动都是在细胞功能与结构正常的基础上进行的。前述各条件的正常维持着机体内各器官组织的存活和正常新陈代谢的进行,而其中某些及全部条件的改变必然导致细胞结构与功能的破坏,甚至导致局部组织的死亡。

2. 零度以上低温对机体组织细胞的影响 组织细胞常温下的存活赖于代谢底物的不断供应和分解代谢产物的及时清除。体内绝大多数的生理生化反应的过程是温度依赖性的,当温度达到零度以上低温时,机体组织细胞对代谢物质需要的依赖性降低,细胞的生物化学反应能力降低,新陈代谢迟缓,细胞膜上离子通道发生障碍,因降低温度降低了细胞膜蛋白的效率和平衡细胞内外离子的能力,细胞膜通透性增强,不过这种损伤通常是可逆的。

3. 超冷引起的组织细胞变化 超冷对机体细胞是一个高强度的物理刺激,氩氮刀靶区内的组织细胞是否发生死亡与刺激强度、作用时间及强度-时间这三个要素有直接关系。当温度低于 -0.56°C 时,细胞间质液体冷冻,但细胞内液仍不冷冻,这个时期由于细胞间液中水结冰而致细胞外液电解质浓度升高,细胞外渗透压升高而导致细胞内水外渗造成细胞内脱水。进一步降低温度细胞外的高渗液使水离开细胞,进一步导致细胞挛缩。当温度下降至 $-15 \sim -10^{\circ}\text{C}$ 时,细胞内冰晶开始形成。当温度降至 -40°C 以下时,不仅细胞内、外冰晶形成,而且细胞外冰晶可穿过细胞膜与细胞内冰晶共同损伤细胞。当温度迅速下降至 $-100 \sim -40^{\circ}\text{C}$ 时,可使冰晶迅速在细胞内外和微静脉、微动脉内形成,细胞脱水和破裂,毛细血管破裂。研究证明:冰晶形成率、冷冻时间、冷冻复温循环次数与细胞死亡呈正相关, -40°C 冷冻后8小时、24小时的细胞死亡率分别为 $60\% \sim 85\%$ 、 $84\% \sim 94\%$,24小时达最大

值,此后死亡率缓慢增加。而且冷冻损伤还与冷冻速率密切相关。组织内冰晶的形成部位是由降温速度决定的,快速冷冻能促使细胞内外的冰晶形成,此时细胞内来不及失水就形成冰晶。实验证明在 $25^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的冷冻速率下细胞的破坏增多,表明细胞的破坏与细胞内的冰晶快速形成相关,细胞内的冰晶形成取决于冷冻速率,而细胞内的冰晶形成是导致细胞破坏死亡的主要原因,细胞内的冰晶形成与细胞的存活呈反比关系,冰晶越多则细胞复温后存活的可能性越小。

4. 复温对细胞的损伤 快速降温冷冻,细胞内会形成大量的小冰晶,随后的解冻期由于细胞膜的破裂和再水化作用导致细胞死亡。在冷冻过程结束后,化冻亦能对组织造成损伤,在温度从 -40°C 逐渐回升到 -20°C 的过程中,冰晶会发生膨胀,并使在冷冻过程中形成的冰晶爆裂,造成细胞结构破坏,从而导致细胞崩解死亡,即复温时亦可使细胞发生崩解机械性损伤。另一方面,在组织复温时这些小冰晶可能发生重结晶,小冰晶由 -196°C 升温至 -40°C 或 -15°C 时发生结晶,重结晶使细胞内的冰晶膨胀从而导致细胞破裂形成致死性损伤。如将温度重新降至 -196°C ,重结晶作用停止,进一步升温至 0°C 以上时,组织中(包括细胞外、内)的冰晶融化,由于在迅速冷冻时细胞外膜及细胞内膜性结构受冷冻冰晶的作用已发生一定的破坏,细胞结构变得酥脆,复温时随着冰晶的融化很可能导致细胞外膜及细胞内膜性结构的融化。同时热融后的细胞将处于再水化的环境中,细胞膜性结构会发生突然的水化溶解,从而使细胞破裂而死亡。而氩氦靶向治疗一般要进行两次冷冻—热融循环,氩氦靶向治疗的肿瘤组织坏死发生的快慢与氦气升温的温度有关,氦气升温的温度越高,升温的范围越大,发生快速坏死的组织体积也越大。当进行第二个循环时,第二次迅速冷冻的致损伤的机制与第一次相同,由于前一次的冷冻与复温循环已造成局部冰球范围内的组织损伤,第二个循环是在组织已受损伤的基础上进行的,细胞膜屏障已发生损伤,所以第二次冷冻组织内形成的冰晶更快、更广泛,对组织摧毁作用更明显。由于第一个循环已致细胞膜性结构损伤、破裂或溶解,第二次冷冻时冰晶更易在组织间及细胞内广泛形成,而造成进一步的损伤。实验证明:双冷热循环产生的坏死比单次循环明显增大。

(二) 冷冻治疗杀死肿瘤细胞的机制

关于冷冻杀死肿瘤的机制已有多方面的探讨,但仍缺乏系统一致的认识,鉴于氩氦刀治疗有冻融的直接效应和冻融后延迟性效应,因此认为将其分为直接性损伤机制和延迟性(或继发性)损伤机制为妥。

1. 直接性损伤机制

(1) 冰晶致伤学说:迅速的低温使细胞内外的水形成冰晶,当温度下降到 $-10 \sim -0.56^{\circ}\text{C}$ 时细胞间质中的液体冷冻结冰,当温度下降至 -15°C 时,细胞内冰晶开始形成,当温度降至 -40°C 以下时,不仅细胞内、外冰晶形成,而且细胞内、外冰晶会穿过细胞膜与细胞内冰晶融合,迅速而广泛的冰晶形成会随着冰晶的膨胀、增大而使细胞结构断裂,细胞膜及各种细胞器的完整破坏以致细胞死亡。当温度迅速下降至 $-100 \sim -40^{\circ}\text{C}$ 时,冰晶在细胞内外和微静脉、微动脉内形成,内皮细胞脱水,毛细血管破裂。而且在高压氦气从 -175°C 升温到 40°C 的过程中,迅速的升温会使超低温下形成的冰晶膨胀和爆裂,而致细胞结构损伤。接着广泛的冰晶融化,细胞内膜性结构及非膜性结构也发生融化,同时已受损的细胞处于再水化的环境中,细胞膜性结构会发生突然的水化溶解,细胞破裂而死亡。冰晶形成、冰晶融化均可造成细胞不可逆的死亡。因此,氩氦刀治疗中,冷冻热融循环伴随的冰晶形成与融化循

环是造成肿瘤细胞及正常细胞死亡的主要机制。

(2) 细胞膜损伤学说:细胞膜对冷冻热融的损伤作用特别敏感,冷冻治疗能引起细胞膜结构破裂及溶解。首先冷冻使细胞内外冰晶形成,细胞内外水分减少,细胞在周围高渗环境下出现脱水,以致细胞内电解质浓缩,细胞皱缩。当一个细胞达到其最小临界体积时,对在正常情况下不通透溶质的细胞膜的通透性会发生不可逆性的和致死性的增高。细胞处于如此高的电解质浓度及紊乱的环境中,又因其高度的通透性而死亡。同时还因冷冻促使细胞膜性结构、蛋白质结构中的结构水逸出,使细胞丧失功能而死亡。

(3) 化学致伤学说:迅速的低温使细胞内外水分形成冰晶,细胞内外的水分减少,溶质成分增多,细胞内电解质浓缩,渗透压增高,使细胞内的电解质浓度达到能损伤细胞的程度,进而这种高电解质及其平衡紊乱状态、冷冻所致的代谢障碍,加上冷冻所致的血管阻塞,使肿瘤治疗靶区内血流阻断、血氧及营养物质供应阻断,靶区内出现局部酸性物质增多而致严重的酸中毒从而使细胞发生进一步的损伤而死亡。致害水平的电解质浓度和酸中毒可引起局部蛋白质变性和核酸变性。

(4) 细胞器损伤学说:任何细胞内的代谢反应都取决于细胞结构,特别是膜性结构的完整性,膜性结构损伤是细胞死亡的主要机制之一。细胞的生命及生命活动依赖于细胞结构的完整性,冷冻所致的细胞膜性结构损伤必然导致细胞死亡。①冷冻可明显地破坏细胞内的线粒体结构,在温度降低到 $-60 \sim -40^{\circ}\text{C}$ 时,线粒体膜损伤以至线粒体酶全部放出。线粒体是细胞代谢的能量及氧化反应中心,线粒体膜性结构破坏,细胞的糖代谢、氧化磷酸化反应会立即停止,糖代谢中的三羧酸循环、呼吸链中的电子传递将不能进行,从而使细胞不能进行能量代谢等许多反应而使细胞死亡。细胞如果不能进行能量代谢,就不能利用反应底物,同时也不能外运废物,细胞就会因中毒而死亡。②对细胞核的作用:冷冻可使细胞内DNA具有一较慢的降解过程,这个过程与细胞死亡的过程一致。冷冻可很快的破坏核仁组织区(Ag-NOR)的结构和功能,核仁的功能停止。冷冻后细胞内DNA浓缩明显,这将使细胞内不能进行复制、转录和翻译活动。冷冻可致细胞核膜损伤,表现为核膜溶解,核膜中成分丢失,以致核内染色质外流。冷冻后细胞核形态解体,核内容物积聚,呈斑块状分布,发生碎裂,以致功能丧失。因此,细胞核破坏也是冷冻所致细胞死亡的重要原因。③冷冻可致溶酶体损伤,其中的酶逸出造成细胞结构自溶。④内质网损伤能致蛋白质等物质代谢发生障碍,特别是蛋白质的合成不能进行,另外,冷冻导致胞质、胞膜、核膜及核内蛋白质变性,而致细胞死亡。⑤高尔基复合体是细胞内分泌物包装及运送装置,其膜性结构损伤直接影响细胞代谢中物质的运输和排泄环境。⑥冷冻可造成细胞连接分离和断裂。冷冻能使血管内皮细胞之间的紧密连接断开、细胞的间隙增大,致血管通透性增大,以致血浆逸出,同时冷冻过程还可致肿瘤细胞之间连接裂开,肿瘤组织结构破坏。⑦冷冻可使细胞内的张力原纤维失去正常的束状排列的状态,变成融合的斑块状,也可使中间纤维聚集并分布紊乱,从而破坏细胞的骨架结构和功能。

(5) 温度休克学说:温度的急剧大幅度变化可使细胞发生快速的收缩和膨胀以致细胞破裂,在冷冻治疗中局部温度从正常体温 37°C 在1分钟之内下降至 -140°C 。其中急速冷冻除使细胞内外广泛的冰晶形成造成对细胞破坏之外,冷冻还使细胞常温下的弹性消失,处在一种松脆的状态中。接着是氦气极速致热效应,高压氦气的极速升温使细胞内冰晶膨胀破坏细胞膜性结构,细胞破裂,形成致死性损伤。快速复温将冰球解冻并急速升温至 50°C ,从

而使冷冻时肿瘤细胞内的冰晶爆裂。并且复温还可使处在松脆状态的细胞随着冰晶的溶解,细胞的所有结构亦发生融化。这样肿瘤细胞在极短时间内的冷热骤变中被摧毁变成碎片,其中在超低温下的细胞内外冰晶形成,肿瘤组织内微静脉和微动脉内血栓形成及膜性生物活性发生病变是肿瘤细胞被摧毁的主要因素。实验证明:在氩氦靶向治疗中,急速冷热融循环比单独的冷和热过程对组织的破坏作用要大得多。

总之,氩氦刀冷热循环无疑地彻底摧毁了肿瘤细胞生存的基础。许多实验证明氩氦刀对肿瘤的破坏是毁灭性的。关于氩氦刀治疗的许多机制也许不重要,也可能它仅仅是一个刺激,一个超越生命范围的任何生命体都无法抵抗的物理性刺激,它足以破坏任何生命结构,也就是说,在如此剧烈的低温冷冻和复温热融事件中,任何细胞,不管是肿瘤细胞还是正常细胞都不能承受这种强力打击而死亡。

2. 迟发性(继发性)反应机制

(1) 缺血缺氧机制:有认为冷冻后局部血流速度突然减慢,小静脉内出现血流淤滞,毛细血管血流障碍,之后小动脉血流亦减少,最后发生淤滞,从而造成微循环阻断,同时冷冻可直接损伤毛细血管内皮,内皮下胶原纤维裸露,使血小板与损伤的血管壁黏附,因而激活凝血因子形成血栓并栓塞血管,血流停止使组织发生缺血性梗死。还由于冷冻引起组织损伤而造成组织因子释放而激活外源性凝血系统,加速局部血凝和血栓形成。局部的血栓形成和栓塞会阻断血流,靶区由于没有血及代谢底物供应加上肿瘤区内代谢停止而发生肿瘤组织细胞死亡。血管破裂,血凝、血栓形成,阻断血流,引起缺血缺氧、酸中毒、离子中毒而死亡。

对于血管的作用,Buch 等的动物实验显示,舌在冷冻后几分钟内冷冻灶组织上充血水肿,冷冻后 3 小时出现明显的毛细血管壁损伤,内皮细胞之间断开,组织渗出红细胞,并且微小动静脉出现血栓,血管壁肌层发生变性改变,冷冻后 6 小时见动静脉内皮明显损伤,中性粒细胞渗出,24 小时后局部有大量的中性粒细胞,48 小时见中性粒细胞可黏附于变性的肌纤维上,冷冻后 4 天见局部组织坏死和静脉栓塞。有学者对肝门部进行冷冻并探索深低温冷冻对肝血流动力学的影响,结果证实,深低温冷冻肝门部严重影响肝动脉、肝静脉的血流。临床上在对供血主干的肿瘤实施肝癌氩氦靶向治疗后,其边缘的微小病灶也随之消失,病理观察结果显示,微血栓在微静脉及微动脉内形成,小血管呈冷凝栓塞状。这可能是原来肿瘤区内的某血管分支供应其周围的微小病灶,氩氦靶向治疗破坏了支配该小病灶的血管,以致该病灶的血管阻断,造成缺血缺氧,使局部的代谢发生障碍而逐渐死亡的结果。这可以解释为什么氩氦刀治疗后某些未被冷冻区域的肿瘤细胞也发生死亡,可能是冷冻治疗后血管栓塞的后期效果。

实验还表明,氩氦刀治疗后即发生冷冻区域的边缘水肿,毛细血管的内皮细胞损伤以致其短期内通透性增加,血管中液体成分外渗或外溢,这种靶区边缘区域充血水肿的现象可为氩氦刀靶向治疗联合局部抗肿瘤药物的应用创造条件,因为肿瘤边缘区微小血管损伤使血管内皮细胞之间的连接断开,同时由于其通透性增加发生在氩氦刀治疗后的短时间内,所以实施氩氦刀治疗时给予的抗肿瘤药物容易随血浆渗出到达治疗的边缘区,从而增加局部抗肿瘤药物的浓度,起到杀死某些未冷冻区域中尚存的肿瘤细胞。利用氩氦刀治疗的这一效应,使肿瘤化疗增添了一种新途径。另外,氩氦刀冷冻消融术后患者肿瘤大部分缩小或消失,肿瘤负荷大为减少,改善局部控制率可以减少原发肿瘤向远处转移的几率,并且肿瘤负

荷的减轻可为后续化疗提供有利条件。

以上是关于氩氦刀治疗时对靶区内微血管的作用及微血管、小血管栓塞和血管断裂对肿瘤的治疗作用。但血管直径大小、血流速度快慢等可影响冰球的形成,特别是当靶区内及边缘有大血管时由于血液循环的热效应——血管的热池效应,尤其是在周围有丰富纤维结缔组织的大血管,由于具有对冷冻较好的耐受性,可能会抵抗氩氦刀的治疗作用。当动脉直径大于4mm时,则不会造成对血管的冷冻损伤。有资料显示:由于流动血液的温热作用邻近大血管的肿瘤可安全的接受冷冻消融治疗。大血管周围的肿瘤组织细胞死亡但血管壁并没有明显损伤,这一方面证明了对靠近大血管的肿瘤实施氩氦刀治疗的安全性;另一方面,提示我们靠近大动脉边缘的肿瘤,在进行氩氦刀治疗时,由于热效应的存在,靠近大血管的冰球边缘温度可能接近组织坏死温度,因而可能是肿瘤靶区坏死边缘。这提示我们在对这样的肿瘤进行氩氦刀治疗时,要特别注意是否会引起肿瘤组织残留,从而导致肿瘤复发的问题。由于各个患者肿瘤靠近、包绕大血管情况不同,血管大小、部位及器官的不同,其热池效应有所差异。因此,临床在用氩氦刀治疗靠近大血管的肿瘤时,需要慎重并在严密的监控下操作。

(2) 机体免疫反应机制:氩氦靶向治疗虽然发生在肿瘤局部,但治疗后肿瘤会发生溶解、结构破坏,溶解成分有可能成为异物(抗原)而入血,从而使机体产生相应的反应,其中主要是机体的体液免疫反应和细胞免疫反应。

1) 冷冻治疗增加机体细胞免疫作用:Roy等对冷冻和未经冷冻的纤维肉瘤的细胞膜抗原提取并分析显示:冷冻后大分子大于或等于75kD的抗原成分减少,而小分子蛋白(14~24kD)的抗原成分明显增加,提示:冷冻细胞的抗原的免疫性高于未冷冻细胞的免疫性。氩氦刀冷冻消融治疗提高了 CD_3^+ /HLA-DR⁺水平,提高了机体细胞免疫力,从而增强杀伤肿瘤细胞的能力。Tsujino M等对荷Meth-A纤维肉瘤的BALB/c小鼠冷冻后脾脏进行了分离,发现冷冻后抗肿瘤的免疫效应细胞主要是巨噬细胞和自然杀伤细胞(NK细胞),巨噬细胞在冷冻后第14天开始增加,IL-1、IFN和PGE₂活性增强。我们对兔肝氩氦刀冷冻复温手术后第16天见冷冻灶周围增生的结缔组织中有大量的多核巨细胞和巨噬细胞,Bagley DH等提示:经冷冻处理的肿瘤细胞可以诱导特异性T淋巴细胞的细胞毒作用。C57/BL小鼠MCA-10肿瘤经冷冻后淋巴细胞介导的细胞毒性出现在第7~21天,并证明这种由冷冻治疗诱发的细胞毒素反应是具有肿瘤特异性的。氩氦冻融的肺癌细胞能增加IL-12的水平,与IL-2联合应用能增加IL-12的分泌,并能增强NK细胞、CTL细胞的活性,提高机体的细胞免疫功能。张积仁等用流式细胞仪对50例接受氩氦靶向治疗的原发性肝癌患者治疗前后一周的血液T淋巴细胞亚类 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_8^+ 及NK细胞进行了检测,提示:氩氦靶向治疗可以促进T淋巴细胞增殖,提高T淋巴细胞和NK细胞的杀伤活性。田军等采用冷冻肿瘤细胞膜抗原接种用于预防膀胱肿瘤的复发和转移结果显示:接种冷冻肿瘤细胞膜抗原患者的NK细胞活性、 CD_2^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+ / CD_8^+ 明显升高,IL-2、sIL-2R亦明显升高,表示显著激活了T淋巴细胞的功能。Airolidi等用口腔上皮细胞癌抗原检测方法对口腔上皮细胞癌冷冻前后1~2周外周血白细胞特异趋化反应进行检测,证实冷冻可以刺激特异性细胞免疫反应。吴培对接受氩氦刀治疗患者治疗前后T细胞亚群及 CD_3^+ 、 CD_{28}^+ T细胞检测证明氩氦刀治疗可提高患者的免疫力。

2) 冷冻治疗对机体体液免疫的作用:Tanaka及Schurder等都证明经冷冻后残存的坏死