

MRI 引导脑肿瘤氩氦靶向冷冻消融治疗的动物实验安全与风险研究

The Efficacy and Safety of MRI-guided Argon-helium Cryoablation in Brain Tumors: An Animal Study // LIU Bing

刘冰

(吉林省人民医院, 吉林 长春 130021)

摘要: [目的] 探讨磁共振引导氩氦靶向冷冻消融治疗兔脑肿瘤的安全与风险。[方法] 以经颅骨穿刺的方法将兔 VX2 肝癌细胞株植入 28 只兔右顶叶, 制作兔脑肿瘤模型。饲养 6d 后 28 只兔行高场 MRI 扫描, 将影像判断肿瘤生长良好的 18 只兔作为治疗组, 肿瘤生长不良的 10 只兔作为对照组, 治疗组行冷冻消融治疗, 对照组行探针置入, 未冷冻消融。术后瞬间、3d、7d, 对治疗组兔进行 MRI 扫描后分别处死 2 只进行病理分析, 14d 处死剩余试验兔进行病理分析, 术后 3d、7d、14d 对对照组兔行 MRI 扫描。[结果] 治疗组冷冻消融术后病变周围可见出现水肿带, 均有高血压表现; 局灶性癫痫发作 6 例; 肢体运动障碍不能行走 3 例; 肢体运动障碍可以行走 5 例; 术后 3 天达到高峰, 3 天后逐渐消退, 术后 14 天可见水肿带完全消退。病理检查结果显示术后肿瘤组织开始坏死, 3d 及 7d 部分肿瘤组织残留, 14d 肿瘤组织少量残留。[结论] MRI 引导兔脑肿瘤氩氦靶向冷冻消融治疗有一定效果, 但并发症需关注。

关键词: MRI; 兔脑肿瘤模型; 冷冻消融

中图分类号: R739.41 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2017)04-0337-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.04.B017

颅内恶性肿瘤是神经外科最常见的疾病, 常规开颅手术创伤大, 有较高的致残率和致死率。术中磁共振成像(MRI)应用于神经外科已有十多年的历史^[1], MRI 在中枢神经系统成像中具有其他影像技术无可比拟的优势, 术中 MRI 成像显示的肿瘤边缘较手术直视下肉眼观察到的肿瘤边缘更为明确, 同时术中 MRI 导引使神经外科医师能实时动态的监测到由于开颅、肿瘤切除、脑水肿及脑脊液流失所导致的脑组织移位情况, 可明显提高肿瘤切除率, 同时最大程度保留邻近正常脑组织功能, 减少神经系统损伤等并发症, 提高患者的生存率及生存质量。Tacker 等^[2]报道了 MRI 导引的经颅骨正常猪脑冷冻治疗的可行性, 但 MRI 导引的经颅骨脑肿瘤冷冻治疗国外尚罕有报道。虽然冷冻用于脑肿瘤治疗最初始于 20 世纪 60 年代, 但由于受神经系统成像质量及冷冻技术相对不成熟的限制, 冷冻治疗一直仅仅作为神经外科手术治疗的辅助手段^[3,4]。本研究以兔脑肿瘤模型为

基础, 应用氩氦靶向冷冻消融系统作为治疗手段, 在 MRI 介导下对兔脑肿瘤进行冷冻治疗, 观察对脑肿瘤的治疗效果及风险。

1 材料与方法

1.1 实验材料及设备

新西兰大白兔 28 只(吉林大学动物实验中心提供), 雌雄不限, 体重 2.1~3.2kg, GE Signa 3.0T 超导型 MR 扫描机, 0.3T 常导磁共振扫描仪配光学导引系统(中国新博医疗技术有限公司), CRYO-HITTM 氩氦靶向治疗系统冷冻消融系统(以色列 Galil Medical Ltd 公司)。

1.2 脑肿瘤动物模型制备

将全部 28 只大白兔, 以 30mg/kg 的剂量肌注戊巴比妥全麻后, 用兔固定台固定。常规剃毛、消毒、铺巾, 垂直平双眼外眦水平连线中点做一纵行切口, 长约 2.5cm, 显示矢状缝及冠状缝。于矢状缝右侧、冠状缝后方 5mm 处, 使用 14G 穿刺针(150mm, 美国 Invivo 公司, 外径 2.1mm)经颅骨钻孔。拔出 14G 穿刺

基金项目: 吉林省科技厅自然科学基金资助项目(201215204)

通讯作者: 刘冰, 科主任, 教授, 硕士; 吉林省人民医院肿瘤介入科, 吉林省长春市朝阳区工农大路 1183 号(130021); E-mail: liubing_1963@126.com

收稿日期: 2016-10-14; **修回日期:** 2017-01-10

针,将盛有 0.96mm×0.96mm×5.0mm 的兔 VX2 肿瘤组织的 18G 穿刺套针(150 mm, COOK 公司 MReye™ DK-4632)穿入右侧顶叶,深约 5mm,用针芯将瘤块植入顶叶,植入深度为皮层下 5mm,然后拔出穿刺套针,全层缝合皮肤。植瘤后 6d,所有瘤兔全麻下行 3.0T 高场 MR 扫描,耳缘静脉注射后扫描,确定肿瘤已生长,明确大小及位置。影像判断:按照磁共振对于成像大于 0.5cm 可清楚显示病灶的一般规律,肿瘤生长良好的 18 只瘤兔为治疗组,肿瘤生长不良的 10 只为对照组。对照组瘤兔仅给予插入冷冻针,未给予冷冻消融治疗。

1.3 MR 引导下氩氦靶向治疗脑肿瘤冷冻消融

植瘤后第 6d 对治疗组瘤兔行冷冻消融治疗,以 30mg/kg 的剂量肌注戊巴比妥全麻后,在无菌条件下,沿原手术切口重新切开头皮,用 14G 的 MRI 兼容的穿刺针将颅骨钻孔处的纤维及反应性的疤痕组织刮除。采用发射-接收柔性表面线圈,行术中成像,完全平衡稳态序列(True-FISP) (SPGR 3D, TR 8.4ms, TE 4.2ms, flip angle 45°, 层厚/层间距 3.0mm/3.0mm, field of view 300mm×300mm, 矩阵 180×216, 扫描时间 45s) 矢状位和横轴位图像交替使用。将 1.47mm 的氩氦靶向治疗系统冷冻探头在光学导航系统实时引导下自颅骨孔道植入脑肿瘤内。确定冷冻探针到达肿瘤区域后,启动冷冻消融系统。冷冻参数采用 40% 氩气输出功率,冷冻 3min,复温 1min,重复两个循环。完成两个冷冻消融循环后,撤出冷冻探针,重新缝合皮肤切口。

1.4 治疗后影像学评价

分别于治疗后即刻、3d、7d 行 3.0T 高场 MRI 扫描,横轴位 T1WI、T2WI 和 E-T1WI,扫描参数同术前扫描。消融区域大小的测量,取最大截面的相互

垂直的两个直径的乘积。冷冻区域周围的水肿未包括在内。对冷冻后第 3d 及第 7d 的冷冻范围大小进行对比分析。

1.5 治疗后病理学评价

分别于治疗后即刻、3d、7d 各处死 2 只瘤兔,取出兔脑,用 10% 多聚甲醛溶液固定 48~72h 后,以 2.5mm 层厚,横轴位切层,石蜡固定,对冷冻中心、冷冻边缘及周围正常脑组织做 HE 染色及光镜观察。冷冻治疗术后立即处死的瘤兔,在甲醛固定前,于冷冻区域中心及边缘分别取出数块体积约 1mm³ 的组织浸于电镜液中,用于电镜观察。

1.6 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件,实验手术各个时间段、植瘤各个时间段冷冻范围大小采用单因素方差分析,其中两两比较采用 LCD 法。治疗组与对照组间冷冻范围大小比较采用两独立样本 *t* 检验进行比较。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 治疗后影像学评价

治疗组术后立即行高场 MRI 扫描显示,冷冻区域中心呈等 T1 等 T2 信号,周围区域 T1WI 示有片状短 T1 信号;T2WI 示薄的长 T2 信号区。增强扫描边缘示有局部增强。治疗后 3d,高场 MRI 扫描显示,在 T1WI,冷冻区域中心呈等信号,周围示环状短 T1 信号区;T2WI 中心呈等信号,周围呈长 T2 信号环。增强扫描中心区域无增强,周围示有轻度增强(Figure 1)。治疗后第 7d, MRI 显示在 T1WI,中心区域信号减低,周围低信号水肿带也较第 3d 时减轻。增强扫描显示冷冻区域周围示不均匀增强,在 T2WI 上,

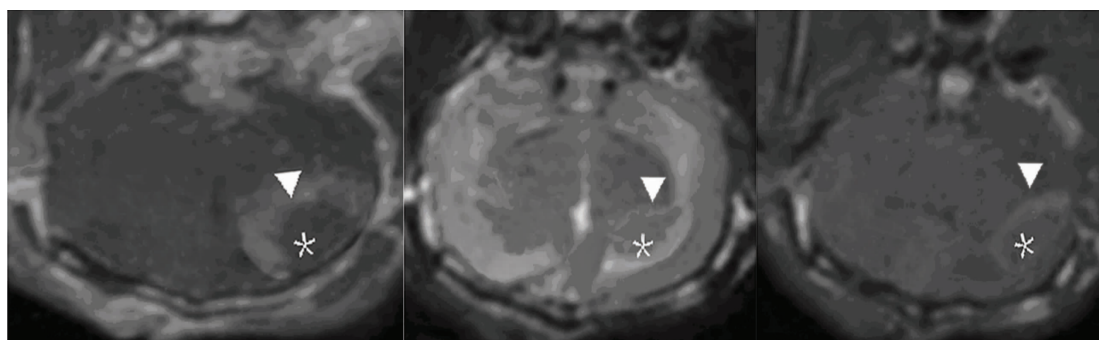


Figure 1 The MRI showing of freeze region after 3 days of operation

中心区域呈不均匀高信号,周围伴薄的水肿带。冷冻治疗后第 14d,MRI 显示冷冻区域呈长 T1 长 T2 信号区,周围水肿基本消失。增强扫描无明显强化。治疗组术后 14d 的肿瘤大小与对照组植瘤 20d 比较差异有统计学意义(Table 1)。

Table 1 Comparison of the tumor dimensions between 14th day post operative and 20th day implantaion tumor

Group	T1WI	T2WI	EN-T1WI
After 14 day	0.16±0.04	0.15±0.03	0.14±0.03
20th implantaion tumor	1.23±0.11	1.22±0.15	1.21±0.14
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 治疗后病理学评价

治疗组术后组织病理学结果显示冷冻中心见坏死区,周围区域见多灶性出血区及神经细胞水肿(Figure 2)。电镜显示冷冻中心神经元核多凹凸,染色质散在核基质中片状凝集,神经细胞核固缩,核膜完整,内质网脱颗粒,胞质中线粒体空泡化。细胞器空化。毛细血管内皮细胞核固缩(Figure 3)。冷冻周围区域神经元常染色质为主,胞质内细胞器结构较

正常。毛细血管内皮细胞核常染色质为主,基膜外胶质终足肿胀,形成大片空白区(星号),血脑屏障基本正常(Figure 3、4)。治疗后 3d 组织病理学结果显示中心呈凝固性坏死,周围区域可见神经元水肿,淋巴细胞浸润,和血管扩展。2 只瘤兔在在坏死区边缘血管周围发现残存的肿瘤细胞(Figure 1)。治疗后 7d 组织病理学显示,在中心区域坏死,周围有炎性细胞浸润、肉芽组织增生,和灶性出血区。2 只瘤兔在坏死区周边亦发现了肿瘤细胞残留(Figure 5)。

2.3 冷冻消融后的临床表现

整个实验过程中,对照组和治疗组在冷冻消融术前(植瘤术后第 6d)各死亡 2 只。对于死亡的 4 只瘤兔因未实施消融治疗,不做分析。冷冻消融术后对照组死亡 2 只,治疗组无死亡。对照组瘤兔逐渐出现食欲下降,精神萎靡,嗜睡,活动减少,且在植瘤后第 13d 死亡 1 只。治疗组瘤兔,冷冻治疗后 7d 死亡 1 只。冷冻消融术后瘤兔表现为:食欲下降,少动,嗜睡,呕吐,并于 1d 后、2d 后出现不能行走 3 例,能行走但不稳 5 例,局灶性癫痫发作 6 例。冷冻消融术

7d 后,上述表现逐渐缓解,治疗 9~10d 后瘤兔表现为活动增加,激惹性增强。

3 讨论

本研究联合使用了 3.0T 高场磁共振扫描仪和开放式 0.3T 磁共振扫描仪两种不同场强的设备。开放式 0.3T 扫描仪结合光学示踪系统用于术中实时导引冷冻探针植入至靶点及监测术中冰球的形成情况^[4]。术中 MRI 能清晰显示冰球边缘,获得理想的冷冻消融范围^[5]。

光学示踪^[6]由红外线立体相机完成,该相

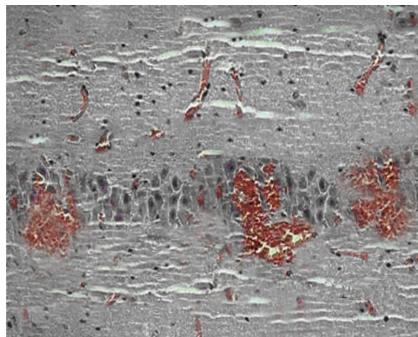


Figure 2 The light microscope showing of center region at the instant after freeze melt(HE×200)

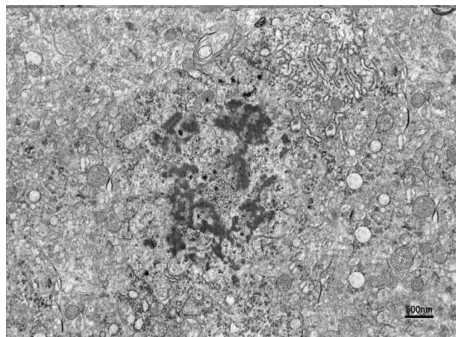


Figure 3 The electron microscope of center region at the instant after freeze melt

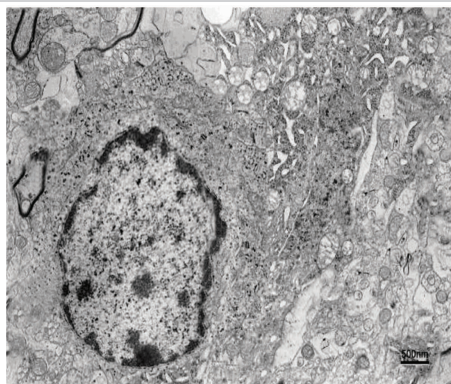


Figure 4 The electron microscope showing edge region at the instant after freeze melt

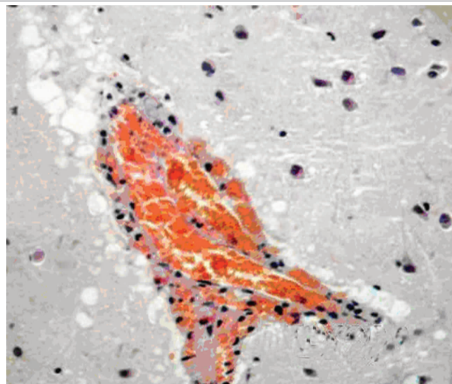


Figure 5 The tumor vestigial surround the freeze melt after 5 days of operation(HE×200)

机能同时监测两条红外线路径,一条连接穿刺针,另一条连接于磁体上极的固定反光球,从而提供一个固定的坐标系统。光学跟踪系统的空间坐标显示在图像中,图像数据的采集、图像重建和显示连续有序地进行,前一图像重建和显示的同时,平行地进行下一图像的数据采集。图像数据的采集时间为 1.5s,图像重建加上显示时间为 1.45s。如果器具位置的改变正好发生在图像数据启动采集之前,滞后时间是 2.95s。重建和显示时间之和短于数据采集时间,因而每隔 1.5s 就显示一幅新图像。这样,图像接近于实时显示。红外线立体相机的位置可随意移动,软件系统基于光学三角测量系统的参照装置,计算出手术器械位置和虚拟的前进路线投射在实时成像图像上。支持以穿刺针平面为导向的扫描,实现了对器械的实时跟踪及三维定位。另外,虽然 CT 也能用于冷冻治疗术中监测冰球,但 CT 对脑组织解剖结构的显示不如 MRI 清晰,因此 MRI 成为脑肿瘤冷冻治疗的最好的方式。

本研究中,肿瘤被种植于脑皮质内或皮质与白质交界的区域,当肿瘤直径小于 1.0cm 时即及时行冷冻治疗。术中使冰球覆盖整个肿瘤区域,以达到最佳的治疗效果。由于相对于兔脑来说,冰球范围仍然较大,解剖学上,兔脑的颅腔容积明显小于猪脑等实验动物,因此其缓冲由于水肿或出血等引起的颅压高的能力相对较弱,不可避免的会引起颅压升高并并发症,并引起较高的死亡率^[7]。本研究中,实验兔死亡分析为高颅压引起,建议术后应给予脱水降颅压等积极地相关处理。

关于脑肿瘤热消融的动物学和临床研究均有报道^[8-10]。Miao 等报道了射频(RFA)消融兔脑肿瘤模型,研究中常规行颅骨开窗术以减轻术后高颅压引起的并发症,因为在预试验中,所有的瘤兔均于治疗后 24h 内死亡。考虑到冷冻消融较热消融有明显的优势,如术中水肿较热消融轻,其引起的高颅压的并发症相对小,因此我们的研究中未行颅骨开窗术,但术后进行了积极的脱水治疗。

本研究的局限性:(1)本实验中应用了固定的冷冻消融参数,是因为兔脑颅腔容积较小限制了对合理的治疗参数的进一步探讨。(2)本实验应用的实验兔属于小型动物,因此术前及术中难以行磁共振功能成像来确定皮质功能区,以进一步保证术中的安

全性。但在将来的临床治疗中,我们可以行功能磁共振成像(fMRI)、磁共振波谱成像(MRS)以获得有用的脑功能活动区和肿瘤的生化信息,尽可能的减轻治疗相关的并发症,保护重要的功能活动区。

综上所述,在 MRI 引导氩氦靶向冷冻消融对兔脑肿瘤尤其是转移性脑肿瘤经消融治疗后存活的瘤兔病理证实肿瘤细胞均有坏死,表明该手段具有治疗效果,但也有诸多并发症的风险;对于不接受开颅手术或不具有开颅手术指征的患者不失为一种有益的治疗手段。

参考文献:

- [1] Hall WA, Galicich W, Bergman T, et al. 3-Tesla intraoperative MR imaging for neurosurgery [J]. J Neurooncol, 2006, 77(3): 297-303.
- [2] Tacke J, Speetzen R, Adam G, et al. Experimental MR imaging-guided interstitial cryotherapy of the brain[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2001, 22(3): 431-440.
- [3] Gage AA, Baust JG. Cryosurgery for tumors [J]. J Am Coll Surg, 2007, 205(2): 342-356.
- [4] Clasen S, Boss A, Schmidt D, et al. MR-guided radiofrequency ablation in a 0.2-T open MR system: technical success and technique effectiveness in 100 liver tumors[J]. J Magn Reson Imaging, 2007, 26(4): 1043-1052.
- [5] Kurumi Y, Tani T, Naka S, et al. MR-guided microwave ablation for malignancies [J]. Int J Clin Oncol, 2007, 12(2): 85-93.
- [6] Mogami T, Harada J, Kishimoto K, et al. Percutaneous MR-guided cryoablation for malignancies, with a focus on renal cell carcinoma[J]. Int J Clin Oncol, 2007, 12(2): 79-84.
- [7] Carpentier A, McNichols RJ, Stafford RJ, et al. Real-time magnetic resonance-guided laser thermal therapy for focal metastatic brain tumors[J]. Neurosurgery, 2008, 63(1 Suppl 1): 21-28.
- [8] Leonardi MA, Lumenta CB. Stereotactic guided laser-induced interstitial thermotherapy (SLITT) in gliomas with intraoperative morphologic monitoring in an open MR: clinical experience[J]. Minim Invasive Neurosurg, 2002, 45(4): 201-207.
- [9] Schwarzmaier HJ, Eickmeyer F, von Tempelhoff W, et al. MR-guided laser irradiation of recurrent glioblastomas[J]. J Magn Reson Imaging, 2005, 22(6): 799-803.
- [10] Tacke J. Thermal therapies in interventional MR imaging Cryotherapy [J]. Neuroimaging Clin N Am, 2001, 11(4): 759-765.