

(14):5158-5164.

[25] Wang J, Meng W, Zheng X, et al. Combination of aptamer with gold nanoparticles for electrochemical signal amplification; application to sensitive detection of platelet-derived growth factor[J]. *Biosens Bioelectron*, 2009, 24(6): 1598-1602.

[26] Bang GS, Cho S, Kim BG. A novel electrochemical detection method for aptamer biosensors[J]. *Biosens Bioelectron*, 2005, 21(6): 863-870.

(收稿日期:2012-04-01)

• 综 述 •

## 热消融方法用于肿瘤细胞杀伤机制的研究进展

杨鹏飞<sup>1</sup>综述, 刘宝林<sup>2</sup>审校

(1. 国家食品药品监督管理局医疗器械审评中心, 北京 100020;

2. 上海理工大学医疗器械与食品学院, 上海 200093)

关键词: 肿瘤; 热消融; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.18.025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)18-2224-03

热消融方法已被广泛地应用于治疗各种肿瘤疾病, 消融肿瘤的热能来源可以为射频、激光、微波以及超声波等。这些消融方法可以通过微创或是无创的方式对肿瘤组织进行治疗, 而同时可以避免对周围正常的组织产生损伤<sup>[1-4]</sup>。尽管该法疗效显著, 但手术后仍发现有复发症<sup>[5-6]</sup>。理解热消融方法对肿瘤治疗的潜在机制可以更好地控制手术过程, 减少复发症, 增加患者的存活率。

### 1 热疗法机制

肿瘤的热消融方法均以热为主要方式破坏肿瘤, 按照产生热和热传递的方式的不同, 主要分为射频消融<sup>[7]</sup>、激光热消融<sup>[8]</sup>、微波消融<sup>[9]</sup>、超声波聚焦<sup>[10]</sup>。而对组织的热消融可以分为直接热损伤效应和间接热损伤效应。

直接热消融效应与组织所受到的温度相关, 一般加热温度为 42~45 ℃, 时间为 30~60 min, 就可导致不可逆的细胞内的蛋白质(包括膜蛋白)变性<sup>[11]</sup>。当组织温度升高到 60 ℃时, 细胞产生不可逆损伤的时间将大大缩短。在 60~140 ℃时, 蛋白质变性, 细胞片刻间死亡, 在这个温度范围内, 发现有凝固坏死区间<sup>[12]</sup>。当温度继续升高到 100~300 ℃时, 组织内水分气化。在 300~1 000 ℃时, 会发生碳化以及产生烟的现象, 同时由于出现了热阻限制现象, 碳化阻碍了组织受损伤的程度<sup>[13]</sup>。而且碳化增加了组织间隙压力, 可能会导致癌细胞扩散而深入肝脏及血管。

对肿瘤的热消融过程可以分为 4 个区域: 作用区域、中心区域、过渡区域和参考区域<sup>[14]</sup>。作用区域是热源接触组织的地方。中心区域在作用区域外侧, 由被破坏的组织组成。过渡区域则由部分损伤细胞和部分未受损伤的细胞组成, 这部分组织有亚急性出血症状。参考区域指在过渡区域外的正常组织。热损伤后如果立即对作用区域的细胞进行评估时, 发现其形态上正常, 但采用电镜观测发现细胞已经受到不可逆的损伤。例如, 对肝进行微波加热试验时, 发现细胞形态学和组织学特征正常, 但新陈代谢功能已经丧失<sup>[15]</sup>。在中心区发现细胞有酶活损失, 并最终死亡<sup>[16]</sup>。

在热疗后肿瘤血管系统也会发生变化, 但血管系统对热的反应是有限的<sup>[17]</sup>。当温度在 40~42 ℃, 时间在 30~60 min 时, 肿瘤血流并没有显著的变化<sup>[18]</sup>。而正常的组织由于炎症反应, 血流量会轻微增加, 治疗后会回到基准水平<sup>[19]</sup>。超过 42~44 ℃时, 肿瘤血流发生不可逆的减少, 出现血管淤积和血

栓, 导致热阻增大。当温度超过 60 ℃时, 肿瘤的微环境完全受到损伤<sup>[20]</sup>。

由于温度突变而导致的机械效应也会对组织产生直接的损伤。在作用组织部位的相变或是热膨胀会导致冲击波。在组织界面产生的二次波会导致作用部位末梢组织的断裂<sup>[21]</sup>。

肿瘤细胞以及亚细胞机构直接受热损伤的机制比较复杂, 与很多细胞机制相关。当温度在 50~55 ℃时, 细胞会很快死亡<sup>[22]</sup>。而亚细胞结构, 包括核酸、细胞膜、细胞骨架以及线粒体都会收到热损伤<sup>[23]</sup>。一般认为, 细胞膜功能的变化是加热导致细胞死亡的主要因素。温度升高后细胞膜流动性的改变、渗透特性的改变和表面气泡的产生都是这个观点的依据<sup>[24]</sup>。而另一种观点认为, 膜的破坏并不是热消融导致细胞死亡的原因, 两者之间并没有直接的联系<sup>[25]</sup>。线粒体功能的紊乱才是决定因素, 其超微结构确实与细胞的存活率以及新陈代谢功能相关<sup>[23]</sup>。

与上同热疗对 DNA 的热效应主要体现在 DNA 长链的断裂程度上, 这直接反映出 DNA 能否正常复制<sup>[24]</sup>。若癌细胞的 DNA 经过热疗后, 长链发生断裂现象, 将会对癌细胞的正常繁殖起到阻碍作用, 达到阻止癌细胞恶性化繁殖的目的, 对于治疗癌症起到积极的作用。直接热消融后组织仍然会受到间接的损伤, 临床以及试验数据显示热消融停止后组织的损伤仍将继续<sup>[25]</sup>, 但此类损伤的机制仍有待研究。可能代表细胞损伤死亡的延迟, 或者是由于最开始的热刺激而触发了细胞损伤的扩充或展开<sup>[1]</sup>。研究发现, 在肝转移模型中, 应用热疗后肿瘤细胞受损伤的峰值出现在 4~5 d 后。通过 NADA-diaphorase 染色, 发现间接的损伤与最初的热效应并不相关<sup>[26]</sup>。间接损伤机制还可能与众多因素包括细胞的凋亡、巨噬细胞、细胞因子的释放以及缺血灌注损伤等相关。

人体免疫系统与热消融也有着一定的关系。热疗会改变免疫抗原, 而产生很多免疫反应。而免疫反应可能是热消融后对肿瘤继续损伤且影响肿瘤复发性的机制之一<sup>[27]</sup>。不同的细胞免疫性能不相同, 人的肝癌细胞有较低的产生免疫原的能力。一些研究者研究了热消融与免疫效应对癌细胞的共同作用情况<sup>[28]</sup>, 很可能由于热消融而增加了癌细胞抗原的表达, 刺激了免疫反应。

### 2 射频消融热疗

通常将无线电频率称为射频, 射频治疗是利用频率较高的

交变电场产生的射频电流作为加热源,对疾病进行治疗。射频加热机制既有生物组织中离子传导电流所产生焦耳热的因素也有生物组织在高频电磁场中因介电损耗而产生热的作用。电介质在受外电磁场作用时会产生极化,有 2 种极化机制:1 种是电子极化;另 1 种是电介质的极性分子的偶极矩由无规则取向转为顺应外电场方向取向,这种极化称为取向极化。由于电子质量远比分子小很多,惯性亦很小,故电子极化很少消耗外场能量;而取向极化则由于分子要频繁地跟随外电场的方向变化,转动惯量又很大,故需消耗大量电场能量,这些能量则转化为热,因此介电损耗产热主要由取向极化引起<sup>[29-30]</sup>。

微波、射频、超声均可对浅部肿瘤加热。使用微波 2 450 MHz,有效深度仅为 2~3 cm。尽管超声波加热也能作用得比较深,但由于各种组织的反射不均,常引起温度不均匀且有不易穿透含气空腔以及被骨组织吸收的问题。与其他热疗方式相比,射频热疗有很多优点,如:设备相对简单;无需使用屏蔽室;可加热较大的体积;有冷却辅助时可以加热深部;组织间加热肿瘤长度不受限制。近年来对超声引导下射频消融(RFA)治疗肝肿瘤的报道逐渐增多,多数学者认为 RFA 适宜治疗小肝癌,但随着治疗方法的成熟和治疗方案的建立,RFA 治疗较大肿瘤也逐渐受到重视。

射频消融和放射联合或者与某些引物联合杀伤力均比单一的射频消融强得多,因为多种效果对癌细胞群体的杀灭均有独立和互补的作用。Yamakado 等<sup>[31]</sup>报道 RFA 联合肝动脉栓塞化疗可取得更好疗效。Sakr 等<sup>[32]</sup>报道,射频消融结合乙醇消融较单一的射频消融率可由 52.5% 提高到 80%。多因子联合作用能产生比热疗放疗或热疗化疗两因子综合疗法有更大的效应<sup>[33-34]</sup>。以上结论对热疗临床实践有重大指导意义,并已在射频综合热疗中显出效果。

参考文献

[1] Nikfarjam M, Muralidharan V, Christophi C, et al. Mechanisms of focal heat destruction of liver tumors[J]. J Surg Res, 2005, 127(2):208-223.

[2] 李臻, 张文广, 韩新巍. 原发性肝细胞癌介入治疗的现状与进展[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(3):221-226.

[3] 李丹丹, 黄进, 李文伦, 等. 超声引导单极冷循环经皮射频消融治疗毗邻胆囊肝癌安全性及疗效评估[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5(5):239-242.

[4] 李亚洲, 宫卫东. 射频技术在临床中的应用[J]. 介入放射学杂志, 2010, 19(3):241-247.

[5] Vogl TJ, Straub R, Eichler K, et al. Colorectal carcinoma metastases in liver: laser-induced interstitial thermotherapy—local tumor control rate and survival data[J]. Radiology, 2004, 230(2):450-458.

[6] Solbiati L, Livraghi T, Goldberg SN, et al. Percutaneous radio-frequency ablation of hepatic metastases from colorectal cancer: long-term results in 117 patients[J]. Radiology, 2001, 221(1):159-166.

[7] Mazzaglia PJ, Berber E, Siperstein AE. Radiofrequency thermal ablation of metastatic neuroendocrine tumors in the liver[J]. Curr Treat Options Oncol, 2007, 8(4):322-330.

[8] Muralidharan V, Christophi C. Interstitial laser thermotherapy in the treatment of colorectal liver metastases[J]. J Surg Oncol, 2001, 76(1):73-81.

[9] Izzo F. Other thermal ablation techniques: microwave and intersti-

tial laser ablation of liver tumors[J]. Ann Surg Oncol, 2003, 10(5):491-497.

[10] Kennedy JE, Ter Haar GR, Cranston D. High intensity focused ultrasound: surgery of the future[J]. Br J Radiol, 2003, 76(909):590-599.

[11] Welch AJ, Motamedi M, Rastegar S, et al. Laser thermal ablation[J]. Photochem Photobiol, 1991, 53(6):815-823.

[12] Heisterkamp J, van Hillegersberg R, Sinofsky E, et al. Heat-resistant cylindrical diffuser for interstitial laser coagulation: comparison with the bare-tip fiber in a porcine liver model[J]. Lasers Surg Med, 1997, 20(3):304-309.

[13] Svaasand LO, Boerslid T, Oeveraasen M. Thermal and optical properties of living tissue: application to laser-induced hyperthermia[J]. Lasers Surg Med, 1985, 5(6):589-602.

[14] Ozaki T, Tabuse K, Tsuji T, et al. Microwave cell death: Enzyme histochemical evaluation for metastatic carcinoma of the liver[J]. Pathol Int, 2003, 53(12):837-845.

[15] Ozaki T, Mori I, Nakamura M, et al. Microwave cell death: immunohistochemical and enzyme histochemical evaluation[J]. Pathol Int, 2003, 53(10):686-692.

[16] Heisterkamp J, van Hillegersberg R, Ijzermans JN. Interstitial laser coagulation for hepatic tumors[J]. Br J Surg, 1999, 86(3):293-304.

[17] Peterson HI. Modification of tumor blood flow—a review[J]. Int J Radiat Biol, 1995, 60(1/2):201-210.

[18] Emami B, Song CW. Physiological mechanisms in hyperthermia: a review[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1984, 10(2):289-295.

[19] Stureson C, Ivarsson K, Andersson-Engels S, et al. Changes in local hepatic blood perfusion during interstitial laser-induced thermotherapy of normal rat liver measured by interstitial laser Doppler flowmetry[J]. Lasers Med Sci, 1999, 14(2):143-149.

[20] Muralidharan V, Nikfarjam M, Malcontenti-Wilson C, et al. Effect of interstitial laser hyperthermia in a murine model of colorectal liver metastases: scanning electron microscopic study[J]. World J Surg, 2004, 28(1):33-37.

[21] Watanabe S, Flotte TJ, McAuliffe DJ, et al. Putative photoacoustic damage in skin induced by pulsed ArF excimer laser[J]. J Invest Dermatol, 1988, 90(5):761-766.

[22] Wheatley DN, Kerr C, Gregory DW. Heat-induced damage to HeLa-S3 cells: correlation of viability, permeability, osmosensitivity, phase-contrast light-, scanning electron- and transmission electron-microscopical findings[J]. Int J Hyperthermia, 1989, 5(2):145-162.

[23] Fajardo LF, Egbert B, Marmor J, et al. Effects of hyperthermia in a malignant tumor[J]. Cancer, 1980, 45(3):613-623.

[24] 刘庆纲, 徐志恒, 李志刚, 等. 热疗中热效应对 DNA 结构的影响[J]. 电子显微学报, 2001, 20(5):585-588.

[25] Wiersinga WJ, Jansen MC, Straatsburg IH, et al. Lesion progression with time and the effect of vascular occlusion following radio-frequency ablation of the liver[J]. Br J Surg, 2003, 90(3):306-312.

[26] Nikfarjam M, Malcontenti-Wilson C, Christophi C. Focal hyperthermia produces progressive tumor necrosis independent of the initial thermal effects[J]. J Gastrointest Surg, 2005, 9(3):410-417.

[27] Dickson JA, Shah SA. Hyperthermia: the immune response and tumor metastasis[J]. Natl Cancer Inst Monogr, 1982, 61(2):183-192.

[28] Midis GP, Fabian DF, Lefor AT. Lymphocyte migration to tumors after hyperthermia and immunotherapy [J]. J Surg Res, 1992, 52(5):530-536.

[29] 赵庆孝, 杨鹏飞, 王玉凯, 等. 射频电极针的发展现状 [J]. 中国医药导刊, 2011, 13(5):901-903.

[30] 罗荣光, 顾仰葵, 高飞, 等. 单针灌注电极射频消融治疗肝肿瘤疗效分析 [J]. 介入放射学杂志, 2010, 19(8):617-621.

[31] Yamakado K, Nakatsuka A, Ohmori S, et al. Radiofrequency ablation combined with chemoembolization in hepatocellular carcinoma: treatment response based on tumor size and morphology [J]. J Vasc Interv Radiol, 2002, 13(12):1225-1232.

[32] Sakr Ayman A, Abdel A. The combined effect of radiofrequency and ethanol ablation in the management of large hepatocellular carcinoma [J]. Eur J Radiol, 2004, 54(3):418-425.

[33] Rau B. Preoperative treatment of rectal cancer with radiation, chemotherapy and hyperthermia: analysis of treatment efficacy and heat-shock response [J]. Radiat Res, 1999, 151(4):479-488.

[34] Todryk SM, Eaton J, Birchall L, et al. Heated tumour cells of autologous and allogeneic origin elicit anti-tumour immunity [J]. Cancer Immunol Immunother, 2004, 53(4):323-330.

(收稿日期:2012-04-09)

• 综 述 •

## 糖化清蛋白检测临床意义研究进展

黄田海, 毛雁飞, 马兰花 综述, 谭琳琳 审校

(解放军第 324 医院, 重庆 400020)

关键词: 糖尿病; 血糖; 血清白蛋白; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.18.026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)18-2226-04

与非糖尿病(NDM)个体相比,糖尿病(DM)患者体内多种蛋白质可发生糖化作用,其中部分糖化蛋白质被认为与DM慢性并发症有关<sup>[1-2]</sup>。在众多的糖化蛋白质中,糖化血红蛋白(HbA1c)被认为是判断DM患者血糖控制水平的金指标<sup>[3-4]</sup>。糖尿病控制与并发症试验(DCTT)研究结果认为, HbA1c < 7.0% 是用于判断DM慢性并发症的理想指标<sup>[5]</sup>。红细胞的生存周期一般为120 d,因此HbA1c水平反映的是几个月前的血糖含量<sup>[6]</sup>。当在较短的时间内血糖控制水平出现波动时, HbA1c 检测并不能反映血糖控制的真实水平。而且, HbA1c 水平受红细胞生存周期的影响较大,尤其是当血红蛋白变异或其他疾病(如溶血性贫血、肾性贫血等)导致红细胞生存周期缩短时。此时, HbA1c 水平已不能准确反映机体的血糖控制水平<sup>[7-9]</sup>。由于果糖胺水平不受血红蛋白异常代谢的影响,因此,也曾用于评价血糖控制水平。果糖胺水平与血清中已转化为酮胺类的糖化蛋白质的水平有关。果糖胺的检测通常采用还原显色反应,即果糖胺在碱性溶液中具有还原性,能够还原硝基四氮唑蓝而产生色彩变化。果糖胺水平不受贫血或血红蛋白变异的影响。而且,在血液蛋白质中所占比例最大的清蛋白具有比血红蛋白更快的代谢速度。因此,较 HbA1c 而言,果糖胺水平能反映更短时间周期内的血糖控制水平<sup>[10]</sup>。然而,果糖胺水平受血液蛋白质和相对分子质量较小的其他物质的水平影响较大(如胆红素、尿酸等)<sup>[10]</sup>。

糖化清蛋白(GA)检测则可避免果糖胺检测所受到的上述因素的影响<sup>[11]</sup>。GA也是一种酮胺类物质,是清蛋白与葡萄糖通过非酶促氧化反应相连接而生成的产物。与果糖胺类似,GA也是反映血糖控制水平的理想指标,且不受血红蛋白代谢状态的影响。而且,与HbA1c相比,GA反映的血糖控制水平的时间周期更短。GA检测曾采用高效液相色谱法(HPLC),步骤繁琐、耗时,且成本较高。目前,GA检测通常采用酶法,且大部分自动化生化分析仪都可用于GA检测<sup>[12-13]</sup>。笔者现就GA检测以监控血糖控制水平的临床意义作简要综述。

### 1 血糖控制水平的短期变化

清蛋白的代谢半衰期明显短于血红蛋白,因此,当血糖控

制水平出现短期变化时,GA水平的改变更为迅速<sup>[6,14]</sup>。有研究显示,在接受胰岛素治疗,但血糖控制效果欠佳的2型DM(T2DM)患者中, HbA1c 水平仅从10.9%下降至10.0%,而GA水平从35.6%下降至25.0%;在所监测的2周时间中, HbA1c 和GA水平分别下降了0.9%和10.6%,GA的下降幅度达到了HbA1c下降幅度的10倍以上<sup>[15]</sup>。因此,GA能够比HbA1c更好地反映血糖控制水平受治疗因素的影响而出现短期变化。

1型DM(T1DM)发病更为迅速,尤其是当T1DM患者胰岛β细胞被迅速破坏时,患者血糖和血液酮胺类物质的水平在短时间内即可升高<sup>[16]</sup>。研究显示,虽然T1DM患者体内HbA1c与GA水平呈正相关,但与T2DM患者相比,其回归曲线存在明显的上漂移;而且,由于T1DM患者血糖水平是在极短时间内升高的,因此,GA水平升高的幅度比HbA1c更为明显,且T1DM患者GA/HbA1c比值升高的幅度也明显大于T2DM患者。以GA/HbA1c ≥ 3.2作为临界值时,其在T1DM和T2DM鉴别诊断中的灵敏度和特异度分别为97%和98%。因此,GA/HbA1c比值升高对于T1DM的诊断具有重要的临床意义<sup>[17]</sup>。

### 2 餐后高血糖

流行病学研究显示,餐后高血糖是心血管疾病的危险因素之一。与空腹血糖相比,餐后血糖水平可能与心血管疾病的关联更为显著<sup>[18-19]</sup>。因此,α葡萄糖苷酶抑制剂治疗能有效避免糖耐量受损或DM患者继发心血管疾病<sup>[20-21]</sup>。HbA1c是反映血糖水平的指标之一。另一方面,与空腹血糖相比,GA与餐后血糖水平具有更高的相关性。研究显示,T1DM患者GA/HbA1c水平明显高于T2DM患者,且T1DM患者血糖水平的波动幅度也明显大于T2DM患者<sup>[22]</sup>。由此可见,虽然T1DM和T2DM患者有可能具有相同的HbA1c水平,但前者的GA水平明显高于后者。因此,与HbA1c相比,GA能够更有效地反映餐后血糖水平和血糖波动范围。

研究显示,接受胰岛素治疗的T2DM患者,其GA/HbA1c水平明显高于接受饮食治疗或口服降糖药治疗的患者<sup>[23]</sup>。胰