



· 论 著 ·

# 动态三维超声造影评价瑞格非尼抑制兔肝VX<sub>2</sub>残癌增殖的实验研究

陈凯玲<sup>1, 2</sup>, 王 坤<sup>1</sup>, 毛丽娟<sup>1</sup>, 毛 枫<sup>1</sup>, 韩 红<sup>1</sup>, 曹佳颖<sup>1</sup>, 张小龙<sup>1</sup>, 王文平<sup>1, 2</sup>1. 复旦大学附属中山医院超声科, 上海 200032 ;  
2. 上海市影像医学研究所, 上海 200032

[摘要] 目的: 观察瑞格非尼对不全消融残癌的抑制作用并探讨动态三维超声造影 (three-dimensional contrast-enhanced ultrasound, 3D-CEUS) 评估靶向治疗反应的可行性。方法: 构建兔VX<sub>2</sub>肝原位种植瘤模型及不全消融模型, 随机将实验兔分为4组 (n=5): 不全消融组 (A组)、不全消融+靶向治疗组 (B组)、靶向治疗组 (C组)、对照组 (D组)。在不全消融治疗前当天及治疗后7、14、21、28 d进行3D-CEUS检查并进行在机定量参数分析, 实验结束后取出VX<sub>2</sub>肿瘤行细胞增殖指数 (Ki-67)、CD34免疫组织化学染色, 计算微血管密度 (microvessel density, MVD) 并比较各组间差异。结果: 在治疗后21和28 d, B组和C组的峰值强度 (peak intensity, PI) 显著低于治疗前 (P值分别为0.046, 0.033); 而且, B组和C组的PI与D组相比差异有统计学意义 (P值分别为0.027, 0.031)。在治疗后28 d, B组和C组的上升支斜率 (S) 显著低于同时期对照组 (P值分别为0.035, 0.014); 而且B组与A组相比差异有统计学意义 (P=0.027)。治疗后28 d, 各组肿瘤组织Ki-67增殖指数、MVD计数差异无统计学意义 (P>0.05) 结论: 3D-CEUS定量分析技术可反映瑞格非尼抑制肝VX<sub>2</sub>原位种植瘤残癌增殖的治疗效果。

[关键词] 肝细胞癌; 三维超声造影; 定量分析; 不全消融; 残癌; 靶向治疗

中图分类号: R735.7; R445.1 文献标志码: A DOI: 10.19732/j.cnki.2096-6210.2024.02.009

**Experimental study of dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound in evaluating the inhibitory effect of regorafenib on the proliferation of incomplete ablation residual liver VX<sub>2</sub> tumor** CHEN Kailing<sup>1, 2</sup>, WANG Kun<sup>1</sup>, MAO Lijuan<sup>1</sup>, MAO Feng<sup>1</sup>, HAN Hong<sup>1</sup>, CAO Jiaying<sup>1</sup>, ZHANG Xiaolong<sup>1</sup>, WANG Wenping<sup>1, 2</sup> (1. Department of Ultrasound, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Institute of Medical Imaging, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: WANG Wenping E-mail: puguang61@126.com

[Abstract] **Objective:** To observe the feasibility of three-dimensional contrast-enhanced ultrasound (3D-CEUS) in evaluating the inhibitory effect of regorafenib on incomplete ablation of residual cancer. **Methods:** The rabbits were randomly divided into 4 groups (n=5): incomplete ablation group (group A), incomplete ablation + targeted therapy group (group B), targeted therapy group (group C), and control group (group D). 3D-CEUS was performed on the day before treatment and 7, 14, 21, 28 d after treatment, and quantitative parameters were analyzed *in vivo*. VX<sub>2</sub> tumors were taken out at the end of the experiment for cell proliferation index (Ki-67) and CD34 immunohistochemical staining, and microvessel density (MVD) was calculated. **Results:** At 21 and 28 days after treatment, the peak intensity (PI) of group B and C was significantly lower than that before treatment (P=0.046, 0.033, respectively). Moreover, the PI of group B and group C were significantly different from that of group D (P=0.027, 0.031, respectively). At 28 d after treatment, the ascending slope (S) of group B and group C was significantly lower than that of the control group (P=0.035, 0.014, respectively). There was significant difference between group B and group A (P=0.027). At 28 d after treatment, there was no significant difference in Ki-67 proliferation index and MVD among the three groups (P>0.05). **Conclusion:** Quantitative analysis parameters of 3D-CEUS can reflect the efficacy of regorafenib in inhibiting the proliferation of residual cancer after incomplete ablation of VX<sub>2</sub> in situ orthotopic tumor.

基金项目: 国家自然科学基金 (82272013); 上海市自然科学基金 (20ZR1452800); 上海申康中心重大临床研究项目 (SHDC2020CR1031B)

通信作者: 王文平 E-mail: puguang61@126.com

[ Key words ] Hepatocellular carcinoma; Three-dimensional contrast-enhanced ultrasound; Quantitative analysis; Incomplete ablation; Residual cancer; Targeted therapy

微波消融 (microwave ablation, MWA) 是原发性肝癌局部治疗的主要方法, 也是外科手术的替代方案<sup>[1]</sup>。消融后病灶可形成3个区域: 中心高温区 (>60 °C)、亚致死高温过渡区 (43~50 °C) 及周围组织不受消融影响区。中心区肿瘤快速发生蛋白变性导致凝固性坏死, 而过渡区肿瘤细胞经历可逆性损伤后仍可存活, 并且诱导形成缺氧微环境导致残癌快速进展<sup>[2-3]</sup>。因此, 对于不全消融残癌的处理是临床亟待解决的问题。瑞格非尼是唯一能够改善索拉非尼治疗失败的晚期肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 患者总生存率的多激酶抑制剂<sup>[4]</sup>。动态三维超声造影 (three-dimensional contrast-enhanced ultrasound, 3D-CEUS) 可增加扫描角度和提高时空分辨率, 克服二维成像的单平面取样误差, 实时可视化反映感兴趣区 (region of interest, ROI) 微血管结构, 能够准确地定量评价血流灌注改变<sup>[5]</sup>。本研究旨在观察瑞格非尼对不全消融残癌的抑制作用, 并探讨3D-CEUS评估靶向治疗反应的可行性。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

选取清洁级雄性新西兰大白兔20只 (复旦大学附属中山医院动物实验中心提供), 体重1.8~2.2 kg, 健康状况良好。采用内隧道法建立肝VX<sub>2</sub>原位种植瘤模型, 2周后肿瘤体积达到1 cm<sup>3</sup>左右时进行随机分组。VX<sub>2</sub>瘤株由上海市肿瘤研究所提供。本研究经医院动物实验伦理委员会批准。

### 1.2 肝VX<sub>2</sub>原位种植瘤不全消融模型的构建及实验分组

实验前禁食2 h, 3%戊巴比妥钠 (1 mL/kg) 麻醉实验兔, 称量体重后使用深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司的Reason 7S超声诊断仪观察VX<sub>2</sub>肿瘤的位置、大小, 注射意大利Bracco公司

生产的超声造影剂声诺维 (SonVue) 观察病灶内增强区域, 明确超声引导下的穿刺路径及消融范围; 然后使用南京康友微波能应用研究所KY-2200微波消融系统进行消融, 根据文献及课题组前期研究基础, 设置消融功率为30 W, 时间为20 s<sup>[6]</sup>。

随机将实验兔分为4组 (n=5): 不全消融组 (A组)、不全消融+靶向治疗组 (B组)、靶向治疗组 (C组)、对照组 (D组)。具体处理如下: A组, 超声引导下将19 G消融针刺入肿瘤边缘区域进行偏心性消融 (模式图见图1), 消融结束后即刻通过耳缘静脉团注0.6 mL SonVue并尾随1.0 mL生理盐水冲管, 观察消融区域周边的肿瘤组织是否存在“高回声增强-廓清”区域, 如有视为造模成功 (图2)。B组, 超声引导下不全消融同A组, 消融后第2天开始服用瑞格非尼0.392 g/d (瑞格非尼成人0.16 g/d, 按人与兔的体表面积等效剂量折算方法0.16 g/d × 70 kg × 0.07/2 kg=0.392 g/d); 连续给药28 d, 每两日称量实验兔体重, 然后根据体重调整给药剂量。C组, 将消融针刺入肿瘤组织但未打开MWA仪开关。第2天开始每天服用瑞格非尼0.392 g/kg (同B组)。D组, 将消融针刺入肿瘤组织但未打开MWA仪开关。实验结束, 苏醒后放置回笼中饲养, 术后连续3 d注射肌注40万单位青霉素。

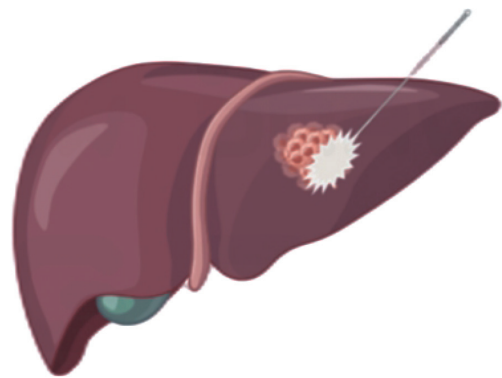


图1 肝肿瘤不全消融示意图

将消融针偏心性刺入肿瘤边缘处, 保留部分肿瘤, 图中针尖所指白色区域表示消融后肿瘤组织, 其余为不全消融残癌区域。

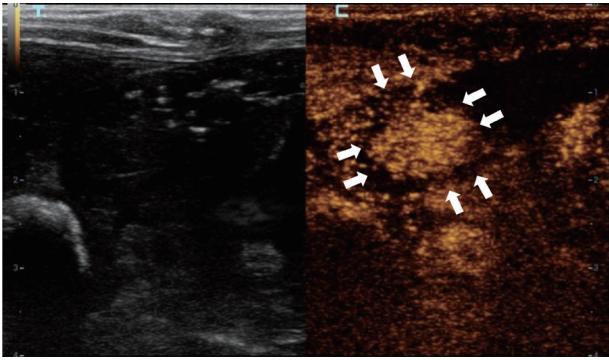


图2 肝肿瘤不全消融CEUS图像

肝肿瘤部分消融后即刻行CEUS, 不全消融区域残癌组织(箭头所示)在CEUS动脉期呈高回声增强。

### 1.3 3D-CEUS检查

在治疗前当天及治疗后7、14、21、28 d进行3D-CEUS检查, 仪器为日本Canon公司的Aplio 500超声诊断仪, 配备三维高频探头PLT-1204MV (中心频率12.0 MHz)。常规超声观察肿瘤大小、内部回声、边界, 病灶位置固定于屏幕中央, 切换至3D-CEUS模式, 耳缘静脉团注0.2 mL SonVue即刻开始计时, 保持探头不动, 连续采集150 s动态图像并保存原始图像。

### 1.4 定量分析

使用机器自带定量分析软件, 选取残癌区域的肿瘤组织作为ROI, 绘制时间-强度曲线 (time-intensity curve, TIC), 拟合后自动生成定量参数如下: ① 时间参数, 达峰时间 (time to peak, TP)、平均渡越时间 (mean transit time, MTT); ② 强度参数, 峰值强度 (peak intensity, PI)、曲线下面积 (area under curve, AUC)、上升支/下降支曲线下面积 (area under the curve of wash-in/wash-out,  $AUC_{in}/AUC_{out}$ ) 及上升支斜率 (ascending slope,  $S$ )。对原始动态图像重复选取3次ROI, 保留拟合度最佳的曲线及对应参数, 拟合度 $\geq 75\%$ 时纳入结果。

### 1.5 病理学检查

实验结束后采用空气栓塞法处死实验兔, 切取肝脏, 取出VX<sub>2</sub>肿瘤并呈书页状切开, 观察肿瘤的形态特征, 并对肺、心脏等其他脏器组织取材, 浸泡在4%的中性多聚甲醛溶液中固定后石蜡包埋, 行HE染色以及肿瘤细胞增殖指数

Ki-67、CD34免疫组织化学染色, 计算微血管密度 (microvessel density, MVD)。

### 1.6 统计学处理

采用SPSS 26.0统计学软件进行数据分析, 定量数据以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 两组间比较用Kruskal-Wallis秩和检验, 多组间比较采用方差分析。定性数据以 $n(\%)$ 表示, 组间比较用Fisher精确概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 肿瘤接种及造模成功率

VX<sub>2</sub>肿瘤种植后第14天, 超声检查显示20只实验兔的肝左叶均见单发低回声结节, 与周围肝实质分界清, 最大径11.4 (8.4, 12.1) mm, 成瘤率100.0%。随机将实验兔分为不全消融组 (A组)、不全消融+靶向治疗组 (B组)、靶向治疗组 (C组)、对照组 (D组)。A组和B组造模后即刻进行CEUS评估, 根据视觉判断: 实验兔肿瘤未消融区域出现“高回声增强-廓清”区域, 但肿瘤消融区域在整个增强时期始终未见增强, 10只实验兔均出现上述表现, 视为造模成功, 成功率100.0% (10/10), 可用于后续实验。

### 2.2 实验兔不良反应发生情况

造模过程中, A组和C组分别有1只实验兔皮肤灼伤, 未做特殊处理; A组1只实验兔造模后进行CEUS评估的过程中心跳骤停; 造模后第2天, B组1只实验兔下水肿; 第28天, D组1只实验兔在CEUS检查后心跳骤停, 余存活至实验结束。

### 2.3 各组3D-CEUS定量分析参数比较

各组肝VX<sub>2</sub>原位种植瘤治疗前后3D-CEUS定量分析参数比较见表1。在治疗前, A、B、C、D共4组病灶TP、MTT、PI、 $S$ 、AUC、 $AUC_{in}$ 、 $AUC_{out}$ 等参数差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 使得各组参数具有可比性。在治疗后第21和28天, B组和C组的峰值强度PI显著低于治疗前 ( $P$ 值分别为0.046, 0.033); 而且, B组和C组的PI与同时期对照组 (D组) 相比, 差异有统计学意义 ( $P$ 值分别为0.027, 0.031), 各组PI值在治疗后第7、14天差异无统计学意义

表1 各组肝VX2原位种植瘤治疗前后3D-CEUS定量分析参数比较

参数	组别	治疗前				治疗后7d				治疗后14d				治疗后21d				治疗后28d				M (P <sub>2s</sub> , P <sub>7s</sub> )			
		P <sub>1</sub> 值	P <sub>2</sub> 值	P <sub>3</sub> 值	P <sub>4</sub> 值	P <sub>1</sub> 值	P <sub>2</sub> 值	P <sub>3</sub> 值	P <sub>4</sub> 值	P <sub>1</sub> 值	P <sub>2</sub> 值	P <sub>3</sub> 值	P <sub>4</sub> 值	P <sub>1</sub> 值	P <sub>2</sub> 值	P <sub>3</sub> 值	P <sub>4</sub> 值	P <sub>1</sub> 值	P <sub>2</sub> 值	P <sub>3</sub> 值	P <sub>4</sub> 值	P <sub>1</sub> 值	P <sub>2</sub> 值	P <sub>3</sub> 值	P <sub>4</sub> 值
TP/s	A	11.3 (8.6, 15.1)	11.3 (7.8, 15.2)	15.5 (9.0, 22.3)	11.3 (5.2, 15.6)	9.7 (5.9, 12.7)	0.987	0.736	0.827	0.863															
	B	6.1 (4.9, 15.6)	7.5 (5.4, 17.7)	10.2 (9.3, 14.8)	10.1 (8.2, 12.5)	8.0 (5.3, 18.4)	0.371	0.452	0.637	0.438															
	C	9.6 (6.8, 16.2)	10.3 (5.9, 19.1)	8.9 (6.6, 15.7)	6.2 (4.5, 13.9)	11.6 (8.9, 17.2)	0.826	0.572	0.581	0.623															
	D	14.0 (7.5, 18.5)	13.2 (9.3, 19.2)	11.7 (7.2, 19.1)	11.0 (9.6, 14.7)	8.7 (6.0, 12.9)	0.811	0.764	0.742	0.841															
MTT/s	A	26.7 (16.2, 28.8)	21.5 (17.5, 36.0)	27.1 (19.9, 36.6)	25.0 (14.9, 36.6)	31.4 (17.3, 38.7)	0.761	0.696	0.872	0.813															
	B	37.4 (13.2, 39.9)	29.0 (16.5, 30.5)	32.6 (11.9, 45.3)	34.7 (12.5, 42.3)	32.5 (16.7, 39.4)	0.418	0.519	0.436	0.395															
	C	31.3 (12.4, 41.1)	35.1 (13.7, 45.3)	24.3 (5.4, 41.2)	37.9 (15.8, 39.5)	29.4 (15.8, 37.6)	0.591	0.387	0.413	0.356															
	D	19.6 (12.2, 42.7)	27.3 (9.5, 49.7)	20.2 (10.6, 35.7)	24.8 (13.0, 33.4)	27.5 (14.9, 34.8)	0.521	0.127	0.234	0.376															
PI	A	9.8 (6.9, 13.5)	12.2 (7.2, 13.7)	12.8 (6.0, 16.2)	8.2 (4.5, 13.9)	7.9 (3.4, 9.7)	0.523	0.726	0.489	0.353															
	B	11.6 (5.7, 13.2)	10.8 (5.6, 15.8)	7.6 (5.6, 10.1)	3.9 (1.6, 5.7) **	1.4 (0.8, 4.6) ***	0.347	0.215	0.037	0.046															
	C	10.4 (9.9, 13.9)	13.4 (8.5, 14.1)	8.3 (6.1, 12.3)	2.8 (1.1, 6.9) **	2.3 (0.9, 5.8) **	0.471	0.283	0.041	0.033															
	D	12.5 (6.6, 15.2)	13.1 (6.2, 18.5)	11.9 (7.9, 14.6)	7.0 (3.4, 12.3)	7.7 (2.2, 13.4)	0.916	0.785	0.814	0.614															
S/ (AU·s <sup>-1</sup> )	A	5.1 (1.3, 8.9)	4.9 (1.5, 10.7)	5.4 (2.5, 8.9)	3.5 (0.8, 7.7)	1.4 (0.6, 3.5) #	0.304	0.381	0.331	0.294															
	B	6.0 (4.0, 7.8)	4.6 (2.3, 11.8)	3.1 (1.7, 9.7)	4.0 (1.2, 9.5) ***	1.2 (0.7, 5.3) ***	0.294	0.521	0.381	0.286															
	C	5.4 (2.7, 8.3)	4.8 (1.4, 9.5)	4.3 (1.0, 7.8)	3.7 (1.4, 10.5)	1.8 (0.6, 4.8)	0.642	0.163	0.101	0.086															
	D	6.3 (2.6, 11.8)	6.1 (3.4, 9.9)	5.7 (0.9, 10.2)	4.8 (2.1, 8.9)	4.2 (1.5, 3.9)	0.826	0.800	0.582	0.199															
AUC/ (AU·s)	A	169.5 (108.2, 294.7)	159.5 (90.1, 282.8)	142.7 (81.6, 238.3)	81.0 (62.0, 166.4)	95.1 (67.8, 131.6)	0.743	0.710	0.112	0.079															
	B	210.8 (149.8, 239.2)	182.7 (100.4, 277.2)	153.2 (93.4, 226.0)	117.8 (75.9, 202.7)	106.5 (36.1, 167.0)	0.700	0.522	0.473	0.215															
	C	236.8 (123.0, 283.1)	245.3 (166.9, 304.6)	221.7 (89.3, 287.7)	124.6 (110.7, 215.4)	123.3 (96.7, 149.7)	0.592	0.487	0.092	0.084															
	D	193.0 (92.5, 241.5)	110.5 (104.0, 149.8)	172.8 (103.6, 226.9)	113.3 (92.9, 241.7)	109.2 (72.4, 117.3)	0.391	0.284	0.094	0.102															
AUC <sub>int</sub> / (AU·s)	A	81.8 (52.1, 83.6)	72.5 (61.1, 118.7)	63.7 (51.7, 104.3)	56.3 (33.5, 94.8)	45.0 (29.7, 83.4)	0.582	0.395	0.211	0.197															
	B	78.6 (70.4, 85.8)	76.1 (44.8, 102.9)	61.2 (46.5, 93.6)	52.1 (38.7, 95.6)	48.3 (41.5, 76.9)	0.836	0.892	0.748	0.672															
	C	66.7 (47.6, 76.4)	62.5 (53.8, 94.2)	52.6 (34.7, 97.9)	54.6 (41.3, 103.8)	45.7 (24.4, 77.6)	0.843	0.635	0.387	0.238															
	D	64.2 (46.4, 85.6)	56.4 (35.3, 104.6)	53.9 (41.6, 109.2)	47.2 (37.2, 93.7)	60.1 (37.2, 75.8)	0.741	0.579	0.473	0.236															
AUC <sub>out</sub> / (AU·s)	A	123.4 (89.3, 251.3)	98.7 (61.3, 137.6)	101.3 (74.3, 151.5)	94.5 (74.3, 179.4)	92.1 (75.3, 119.6)	0.342	0.273	0.186	0.092															
	B	113.6 (73.4, 202.7)	105.4 (84.2, 163.4)	101.3 (74.3, 151.5)	107.1 (68.5, 192.9)	83.2 (57.5, 153.7)	0.583	0.476	0.731	0.403															
	C	125.7 (104.1, 192.6)	103.6 (74.1, 189.3)	86.4 (63.1, 191.4)	85.7 (64.1, 179.8)	67.3 (57.2, 112.6)	0.271	0.104	0.076	0.083															
	D	135.1 (73.2, 189.4)	116.5 (82.4, 176.7)	105.6 (84.3, 179.1)	96.4 (72.5, 193.5)	79.1 (47.6, 165.4)	0.321	0.204	0.109	0.310															

\*: 与治疗前相比, 差异有统计学意义 (P<0.05); #: 与同时期对照组相比, 差异有统计学意义 (P<0.05); #: 与同时期对照组相比, 差异有统计学意义 (P<0.05); \*\*: 同时期B组与A组相比, 差异有统计学意义 (P<0.05)。P<sub>1</sub>: 治疗前与治疗7d相比; P<sub>2</sub>: 治疗前与治疗14d相比; P<sub>3</sub>: 治疗前与治疗21d相比; P<sub>4</sub>: 治疗前与治疗28d相比。

( $P > 0.05$ )。在治疗后第28天, B组和C组 $S$ 显著低于同时期对照组( $P$ 值分别为0.035, 0.014); 而且B组与A组相比差异有统计学意义( $P = 0.027$ )。各组治疗后7、14、21、28 d分别与治疗前相比较, TP、MTT、AUC、AUC<sub>in</sub>、AUC<sub>out</sub>参数差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。肝VX<sub>2</sub>不全消融残癌3D-CEUS定量分析图像见图3。

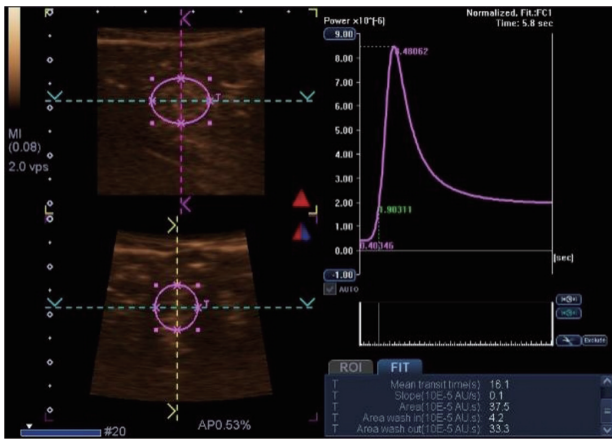


图3 不全消融残癌实时3D-CEUS定量分析图像

选择残癌组织作为ROI, 自带软件在机拟合后生成定量分析参数。

#### 2.4 各组治疗前后病理学检查结果比较

治疗后28 d, 处死各组实验兔, 固定肿瘤组织后选取最大切面染色切片, 与对照组相比, 不全消融组、靶向治疗组、不全消融+靶向治疗组中肿瘤组织Ki-67增殖指数、MVD计数差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗后28 d各组免疫组织化学染色结果比较见表2。Ki-67细胞核阳性染色见图4A, CD34染色计算MVD见图4B。

表2 治疗后28 d各组免疫组织化学染色结果比较

组别	$M(P_{25}, P_{75})$	
	Ki-67增殖指数/%	MVD
A	31 (26, 48)	22.3 (13.1, 35.7)
B	37 (30, 45)	25.7 (10.6, 40.5)
C	43 (32, 53)	24.5 (12.3, 38.4)
D	34 (29, 44)	22.4 (11.5, 47.3)
$F$ 值	4.347	5.227
$P$ 值	0.103	0.361

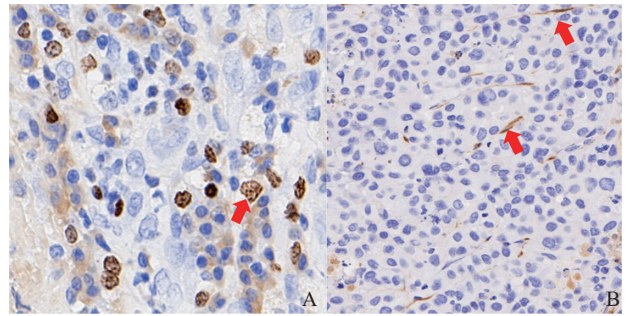


图4 Ki-67及CD34免疫组织化学染色图像

A: 治疗后28 d, 不全消融残癌组织免疫组织化学染色Ki-67阳性细胞核( $\times 100$ , 箭头所示); B: CD34标记阳性血管内皮细胞( $\times 40$ , 箭头所示, 棕色), 计算每1 mm<sup>2</sup>的微血管数, 即为MVD。

### 3 讨论

每年全世界原发性肝癌约42万例新发患者, 约30万人死于肝癌<sup>[7]</sup>。在中国, 肝癌位于癌症相关死因的第二位, 5年生存率仅约14.1%<sup>[8]</sup>。热消融已经成为肝癌的一线治疗方法, 也是外科手术可替代治疗方案。然而, 肿瘤较大, 毗邻重要解剖结构等原因导致不全消融率高达2%~60%<sup>[9-10]</sup>。相较于未行热消融治疗的HCC病灶, 不全消融残癌的侵袭性更高, 可能快速增殖及转移, 严重制约患者的长期生存<sup>[11]</sup>。对于残癌的处理是临床上亟待解决的问题。瑞格非尼是唯一批准用于进展期肝癌的二线治疗的多激酶抑制剂, 也是不全消融残癌的补救性治疗方法之一<sup>[12]</sup>。

兔VX<sub>2</sub>肿瘤是由Shope病毒诱发的鳞状细胞癌, 具有血供丰富、生长迅速的特点<sup>[13-14]</sup>。肝VX<sub>2</sub>原位种植瘤主要由肝动脉供血, 与人类HCC血供特点相似, 能够模拟HCC所处的肝脏生物学环境。肝VX<sub>2</sub>原位种植瘤可分为3个生长阶段: 实质期为种植后2~3周, 肿瘤内新生血管旺盛, 肿瘤快速增殖; 坏死期为种植后4~5周, 肿瘤中心区域由于生长过快, 供血不足而发生坏死; 囊变期为种植后6~7周, 肿瘤因缺乏血供而呈大片坏死, 仅周边少量活性组织<sup>[15]</sup>。因此, 本研究使用3D-CEUS定量分析技术评价瑞格非尼对兔肝VX<sub>2</sub>原位种植瘤不全消融残癌的早期治疗效果时, 在种植后第14天进行不全消融处理, 术后即

刻给予瑞格非尼治疗，治疗后28 d为观察终点，并设置同时期对照组，以减少肿瘤组织自身坏死和囊变带来的干扰。

本研究观察到，在全消融后服用靶向药物的第14天内，各组病灶的增强参数差异均无统计学意义，可能因为瑞格非尼发挥抗血管生成作用需要时间和剂量的积累，与曹佳颖等<sup>[6]</sup>结果相似。本实验还观察到靶向治疗残癌后28 d，*S*存在下降趋势，而AUC、AUC<sub>in</sub>和AUC<sub>out</sub>与未行靶向治疗组和同时期对照组差异均无统计学意义。而在治疗后第21天和28天，瑞格非尼治疗后的残癌组织的PI（分别为3.9、1.4 AU）显著低于同时期未行靶向治疗的残癌组织（分别为8.2、7.9 AU）及同时期的对照组（分别为7.0、7.7 AU）。本实验中所选取的实时三维定量参数PI可准确反映整个肿瘤组织血供减少，克服了传统二维定量分析单平面取样可能会高估或者低估肿瘤坏死情况的局限性，进而较为客观地反映瑞格非尼抗肿瘤治疗效果的差异<sup>[16]</sup>。但是，治疗后28 d各组MVD差异无统计学意义，考虑到目前病理学分析最常用的方法仍为单层组织切片，与传统的二维CEUS类似，由于肿瘤内血管不均匀分布导致单个肿瘤组织切面难以代表肿瘤组织整体情况，而且，病理取材平面难以做到与CEUS取样平面完全一致。此外，MVD计数的区域为人工选择，还受观察者的主观及视觉的影响，上述因素均可导致病理学指标与影像学结果不符，与既往研究<sup>[17]</sup>报道一致。为增加病理学参数与3D-CEUS定量分析参数的相关性，后续研究可采用连续切片扫描做三维统计，或许能较客观地反映整个肿瘤的病理指标情况。

本研究也存在一定的局限性：由于3D-CEUS定量分析技术较为复杂，目前无法获得任意形状的ROI，而全消融残癌形态不规则，因此，本研究未比较各组病灶坏死体积的差异，对于靶向治疗所致肿瘤坏死信息的分析不够全面。

综上，本研究结果表明，3D-CEUS定量分析参数可反映瑞格非尼抑制肝VX2原位种植瘤不全

消融残癌增殖的治疗效果。

#### [参 考 文 献]

- [1] KAN X F, ZHOU G H, ZHANG F, et al. Interventional optical imaging permits instant visualization of pathological zones of ablated tumor periphery and residual tumor detection [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(17): 4594–4602.
- [2] XU W L, WANG S H, SUN W B, et al. Insufficient radiofrequency ablation-induced autophagy contributes to the rapid progression of residual hepatocellular carcinoma through the HIF-1 $\alpha$ /BNIP3 signaling pathway [J]. *BMB Rep*, 2019, 52(4): 277–282.
- [3] ZHAO Z Z, WU J Y, LIU X D, et al. Insufficient radiofrequency ablation promotes proliferation of residual hepatocellular carcinoma via autophagy [J]. *Cancer Lett*, 2018, 421: 73–81.
- [4] BRUIX J, QIN S K, MERLE P, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2017, 389(10064): 56–66.
- [5] GOLEMATI S, COKKINOS D D. Recent advances in vascular ultrasound imaging technology and their clinical implications [J]. *Ultrasonics*, 2022, 119: 106599.
- [6] 曹佳颖, 于凌云, 林冲, 等. 动态三维超声造影评估兔肝VX2肿瘤局部微创治疗效果的实验研究 [J]. *中国超声医学杂志*, 2019, 35(11): 1034–1037.
- [7] SIEGEL R, MILLER K, WAGLE N S, et al. Cancer statistics, 2023 [J]. *CA A Cancer J Clin*, 2023, 73: 17–48.
- [8] 范松松, 杨立鹏, 赵荣楠, 等. 中国原发性肝癌2022年版诊疗指南与2019年版诊疗规范比较分析 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2022, 29(22): 1575–1578.
- [9] DOYLE A, GORGEN A, MUADDI H, et al. Outcomes of radiofrequency ablation as first-line therapy for hepatocellular carcinoma less than 3 cm in potentially transplantable patients [J]. *J Hepatol*, 2019, 70(5): 866–873.
- [10] RYU T, TAKAMI Y, WADA Y, et al. Operative microwave ablation for hepatocellular carcinoma within 3 cm and 3 nodules: experience in 559 patients [J]. *J Gastrointest Surg*, 2022, 26(3): 615–622.
- [11] XIA Y, LI J, LIU G H, et al. Long-term effects of repeat hepatectomy vs percutaneous radiofrequency ablation among patients with recurrent hepatocellular carcinoma: a randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2020, 6(2): 255–263.
- [12] SONBOL M B, RIAZ I B, NAQVI S A A, et al. Systemic therapy and sequencing options in advanced hepatocellular carcinoma: a systematic review and network meta-analysis [J]. *JAMA Oncol*, 2020, 6(12): e204930.
- [13] KIDD J G, ROUS P. A transplantable rabbit carcinoma

- originating in a virus-induced papilloma and containing the virus in masked or altered form [J]. J Exp Med, 1940, 71(6): 813-838.
- [14] 陈凯玲, 张炜彬, 毛丽娟, 等. 肝脏VX<sub>2</sub>原位移植瘤术后模型的建立及超声影像学评估 [J]. 肿瘤影像学, 2022, 31(5): 547-553.
- [15] 王利华, 周平, 周鹏, 等. 超声造影在兔肝VX<sub>2</sub>肿瘤模型演变评估中的应用 [J]. 中国医学计算机成像杂志, 2010, 16(1): 52-55.
- [16] WANG L, NIE F, DONG T T, et al. Role of contrast-enhanced ultrasound with time-intensity curve analysis for differentiating hypovascular solid pancreatic lesions [J]. Eur Radiol, 2023, 33(7): 4885-4894.
- [17] IORDANESCU I, BECKER C, ZETTER B, et al. Tumor vascularity: evaluation in a murine model with contrast-enhanced color Doppler US effect of angiogenesis inhibitors [J]. Radiology, 2002, 222(2): 460-467.
- (收稿日期: 2023-08-09 修回日期: 2022-12-13)

## 《抗癌》2024年征订启事

《抗癌》杂志于1988年创刊, 主管单位为上海市科学技术协会, 主办单位为上海市抗癌协会。《抗癌》杂志坚持以读者为导向, 架起读者与医院之间的桥梁, 介绍抗癌防癌的科学知识, 倡导健康的生活方式, 宣传癌症患者战胜病魔的动人事迹, 努力为广大癌症患者和家属服务。杂志刊号: CN 31-1664/R, ISSN 1008-3065。欢迎广大读者订阅。

杂志为季刊, 每期48页。本刊季末出版, 每期8元, 全年共32元整。订购请通过邮政局汇款。

通信地址: 上海市东安路270号10号楼415室《抗癌》杂志社收

邮 编: 200032

电 话: (021)64042258

电子信箱: anti-cancer@163.com

《抗癌》杂志社