

纳米冷冻治疗学——纳米医学的新前沿

刘 静^{1,2}

1. 清华大学医学院生物医学工程系, 北京 100084
2. 中国科学院理化技术研究所, 北京 100080

[摘要] 近年来,借助低温方法对恶性肿瘤实施靶向治疗已成为肿瘤临床和生物医学工程研究领域中的重要主题。为了突破制约传统冷冻手术治疗效率的技术瓶颈,本实验室首次提出将纳米技术与低温工程学相结合,以发展先进肿瘤微创治疗方法的技术理念,并在相应的机理分析、试验研究和医疗仪器的研制等方面取得进展。种种态势表明,纳米冷冻治疗学正成为纳米医学领域内极具探索价值的新前沿。由于这一方法在调控冰球生长方向和强度、确保肿瘤适形治疗以及提高医学成像分辨率等方面均优于传统手段,因而在预期的临床应用上可望取得较佳结果。该方法的提出,为发展高效物理靶向治疗开辟了一条新的途径。本文在简要剖析低温医学技术发展态势的基础上,评述了纳米冷冻治疗这一未来纳米医学领域可能具有重要意义的概念,阐述了其基本特点、功能和应用方式等问题,并以本实验室前期取得的系列进展为例,剖析了在现阶段发展纳米冷冻治疗技术的途径;同时也对纳米冷冻治疗学的前景进行了展望,归纳出了一些有待解决的基础科学和应用技术问题。

[关键词] 纳米冷冻手术;纳米医学;低温医学;肿瘤临床;微创治疗;物理治疗

[中图分类号] R730.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2007)15-0067-08

Nano Cryosurgical Therapy: New Frontier in Nano Medicine

LIU Jing^{1,2}

1. Department of Biomedical Engineering, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100084, China
2. Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China

Abstract: In recent years, cryogenic approaches for a targeted treatment on malignant tumor become more and more important in both clinics and biomedical engineering area. To breakthrough the bottleneck of the traditional cryosurgery, this study combines the nano technology and the cryogenic technology and proposes for the first time to develop a highly advanced therapy for a minimally invasive treatment of tumor. Progresses have been made on its mechanism, experimental demonstrations as well as development of medical equipment. Various evidences indicate that, the nano cryosurgical therapy is a new frontier worth of particular attention in the nano medicine field. Since this new technical strategy has unique merits over the traditional cryosurgery in regulating the growth direction and strength of ice ball, enabling a conformable tumor treatment, and enhancing image resolution etc., it is expected that one may achieve much better treatment efficiency than an ordinary cryosurgery. The nano cryosurgery opens new possibilities for developing highly targeted physical therapies on tumor. In this paper, following a brief review on the advance of cryosurgery, the concept of nano cryosurgery and its generalized significance in future nano medicine are illustrated. The basic feature, capability, and implementation of the nano cryosurgery are discussed. With the progresses in our laboratory as examples, strategies to develop future nano cryosurgery are proposed. Future prospect of this new therapy is presented. Some fundamental and practical issues are identified.

Key Words: nano cryosurgery; nano medicine; cryomedicine; tumor clinics; minimally invasive therapy; physical therapy

CLC Number: R730.5

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2007)15-0067-08

收稿日期: 2007-07-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(50575219), 清华大学伍舜德博士医学科学研究基金项目

作者简介: 刘 静, 北京市海淀区清华大学医学院生物医学工程系、中国科学院理化技术研究所, 教授, 研究方向为生物医学工程学;

E-mail: jliu@cl.cryo.ac.cn

1 肿瘤低温外科手术概况

围绕恶性肿瘤治疗展开的技术攻关一直是国内外临床与生物医学工程界的重大课题。在各种方法中,低温外科手术近年来的进展尤为引人瞩目^[1]。这是一大类相对新颖的物理疗法,其实施过程通常是以一种微创的方式将冷冻探针(人们习惯称之为冷刀)插入到恶性肿瘤部位,利用特定技术在刀头实现可控制性的降温 and 升温功能,组织在冷冻过程中,会在探针周围形成一个冰球,于是,通过探针持续不断地冷冻、解冻病灶,可以产生一系列不可逆损伤而达到消除病灶的目的。图1显示的是实验中所拍摄到的冷热刀作用于明胶时的可视化试验结果^[1],从这些冰球生长、消融的过程中,可以清楚地看到探针外壁周围出现了多重冰球。目前,低温方法已被成功用于代替常规手术切除,具有麻醉镇痛、止血或减少出血以及能防止肿瘤扩散等优点,且副作用远低于放疗和化疗,因而在肿瘤治疗方面有“绿色疗法”之称。由于这些因素,低温外科手术已拓展到几乎所有肿瘤临床科目,被确认为是一种治疗抗药性很强的大块肿瘤的重要方法^[2-3]。

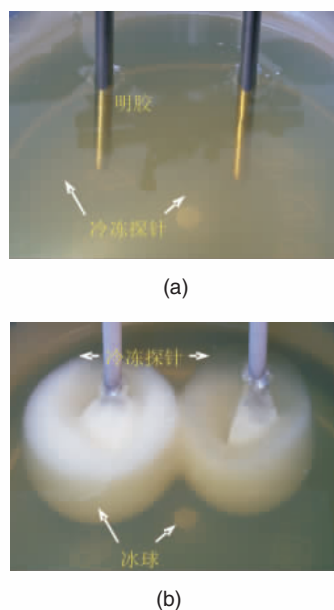


图1 两枚冷热探针(a)作用下的明胶内冰球生长与消融情况实际拍摄图(b)

Fig. 1 Iceballs (b) produced in phantom gel by 2 probes (a) during freezing/heating cycle using combined cryosurgery and hyperthermia system

众所周知,肿瘤组织与正常组织最典型的一个区别就在于其生长十分迅速,这种快速生长的前提是需要持续不断地提供营养物质及养分,而这一角色正是通过肿瘤组织内极为丰富的血管网络充当的^[4]。图2是肿瘤不断长大过程中其周边血管网络形成的示意图^[5]。

肿瘤增长的这种生理特性决定了其总是出现在大血管附近或与大血管发生粘连,而且,许多恶性肿瘤还会在生长过程中将大血管包裹住。对这类累及大量血管及重要器官的恶性肿瘤,手术切除不仅难度大、风险较高,而且术后极易发生肿瘤转移。因此,冷冻治疗作为肿瘤临床方面最为重要的微创性方法之一,由于具有减少出血及止血的优势,在这类肿瘤的治疗中发挥了独到的作用,正逐步为广大临床医师所接受。

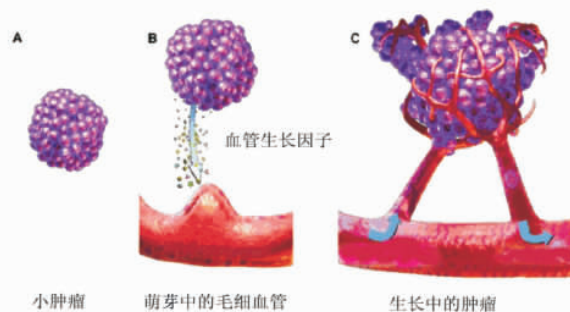


图2 肿瘤血管网络形成过程

Fig. 2 Formation of tumor blood vessel network

然而,低温医学技术还远未达到完善的程度,其治疗肿瘤方面的疗效仍受到很大限制,这主要是因为冷冻和融化控制方面的困难所致。一方面,由于冷冻探针需插入到深部肿瘤实施手术,因而要求由此引起的机械创伤应尽可能小,与此同时,还必须保证冷冻探针在运输冷量的过程中不至于对沿程健康组织造成冻伤;另一方面,深部肿瘤的降温及复温过程若不进行严格的质量保证,很难得到预期的治疗效果^[6-7]。所以,寻求理想的冷冻治疗方法并研制相应的低温医疗仪器一直是研究者们的重要努力方向之一。正是这些临床上面临的紧迫现实需求,构成了低温生物医学工程学赖以发展的动力。

2 纳米冷冻治疗方法的提出及其基本特征

生物组织极易在降温和复温的过程中受到损坏,研究解决其中的关键技术具有重要的临床医学价值。低温手术治疗过程中,冷冻、复温速率以及所达到并维持的温度水平,是确定疗效的主要因素。通常,为实现最优的细胞杀伤性,存在某种特定的降温速率。图3给出了两类细胞在不同冷冻或复温速率下的损伤百分数^[8],可以看出,最高的杀伤率可在非常慢或非常快的冷却或复温速率下获得,也就是说,不恰当的冷却可能导致细胞存活下来,这就是人们所熟知的生物材料低温保存。从这种意义上讲,低温对生物组织起到的是双刃剑的作用,如何发挥其对目标组织的选择性杀伤作用,而同时又能保护周围健康组织免受损坏,是低温医疗实践中努力追求的目标。

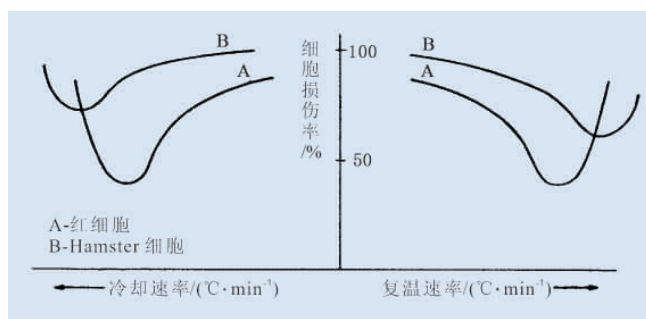


图 3 不同冷却及复温速率下的细胞杀伤率曲线

Fig. 3 Cell damage curve under different freezing and thawing rate

归纳起来, 现有低温外科手术措施普遍存在降温效果有限、冻结范围难以适形化、冰球影像监测精度低、健康组织可能遭受冻伤损害等不利因素, 由此会造成最终的靶向杀伤效率不高, 肿瘤细胞出现残留、转移和复发等情形。近期, 为显著提升传统冷冻治疗方法的局限性, 本实验室从纳米医学技术的角度出发, 首次提出了纳米冷冻手术的概念^[9-13], 可望为上述难题的解决提供新的技术路线。

纳米低温手术植根于最新出现的纳米技术中。事实上, 纳米技术一经出现就对现代医学技术产生了重要影响。在其异彩纷呈的诸多革新中, 采用磁纳米颗粒实现的肿瘤靶向热疗即是一个突出的例子^[14]。与纳米热疗一样, 纳米冷冻治疗也是在这一科学发展洪流中应运而生的, 只是其技术理念和作用与前者存在很大不同。纳米冷冻手术是冷冻外科与当代纳米技术相结合的产物, 其基本思路是将具有特定功能的纳米颗粒及其溶液加载到目标组织部位(图 4)^[12-13], 根据需要实现对应的强化或弱化传热过程来达到低温医学治疗的目的。

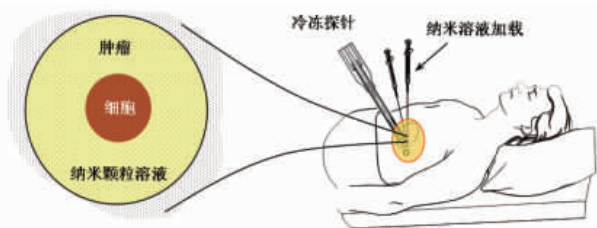
图 4 在目标组织内加载纳米颗粒溶液的
纳米冷冻手术示意图

Fig. 4 Schematic diagram for loading nano particle solution for administrating a nano cryosurgery

纳米冷冻方法的最早尝试源于本实验室的工作^[9-11], 此后这一理念逐渐趋于明朗, 并正发展成为纳米医学中具有重要意义的概念。前期理论和试验研究表明, 将一定量纳米颗粒溶液注射到目标组织部位后, 可

以显著提升其降温速率及冷冻范围, 从而大大扩展常规冷冻探针的冻结范围。特别是由于纳米颗粒的加载, 目标组织内冰晶的成核概率及结冰量得以显著增强, 从而对肿瘤细胞造成更彻底的杀伤。因此, 纳米冷冻手术扩展了传统冷冻外科的治疗极限。此外, 通过引入具有特定功能影像效应的纳米颗粒, 还可使冷冻治疗过程中的冰球生长过程更易于通过 B 超、MRI、X-CT 等观测出来, 从而引导实现更为精确的肿瘤靶向治疗。在一些情况下, 还可利用纳米颗粒携带抗肿瘤药物进入目标肿瘤, 从而结合冷冻过程实现对目标细胞的多重杀伤。而且, 由于纳米颗粒的添加十分简便, 人们可将具有特定热物性的纳米颗粒溶液注射到特定部位, 由此以一种易于实施的方式调控冷冻过程中冰球的生长方向、形状和大小, 这对于实现精确化、适形化肿瘤治疗具有关键意义。

图 3 揭示的一个基本点还在于, 不同类型组织均有各自对应的最佳冷却及复温速率, 这在一个实际手术中, 通常很难贯穿全目标组织实施优化调控。而纳米颗粒则可方便地引入到目标组织, 从而确保在纳米尺度上的靶向杀伤成为可能。如果冰晶形成于细胞内, 极易造成对细胞器及细胞膜的破坏。所以, 纳米技术与低温手术的结合, 可望使传统的肿瘤冷冻治疗效率得以大大提升, 并进一步促成其迈向真正的“绿色”化。

3 纳米冷冻外科手术的优势

3.1 可根据需要强化或削弱目标组织的冷冻效果

纳米冷冻手术超越于传统低温手术的优势之一, 在于其可显著提升目标组织的冷冻乃至杀伤效率上。本试验室前期开展的系列理论和试验研究论述了这一特点^[10-11,15]。图 5 所示为猪肉在加载铝质纳米颗粒水溶液前后的情形下, 由冷冻探针引起的目标组织的温度响应曲线^[10]。其中, 数枚针头式热电偶分别被安置在距离探针外壁 5, 10, 15, 20 mm 的位置, 并与探针尖端处于同一水平面。从图中数据可以看到, 在加载纳米颗粒的情况下, 距离 5 mm 处的组织的最低温度达到了 -120°C , 而未加载纳米颗粒的情形下同样位置的最低温度仅为 -75°C 。可见, 由于纳米颗粒的引入所产生的效果提升十分显著。这是因为金属的热导率要远远高于水和组织, 因而会使冷冻速度加快, 冰球范围得以扩大许多。该试验中, 实际测量得到的冰球直径为 48 mm 左右。另外, 从更多的实验数据看, 注射不同的溶液会产生有显著差别的冷冻效果, 这种特性正好可用于手术的调控。

除了作为强化冷冻治疗的手段之外, 采用与生物组织相容但导热性较差的纳米颗粒, 还可达到弱化特殊部位的传热目的, 这在防止该处组织遭受低温损伤时十分有用。冷冻外科手术中, 避免正常组织受到因探

针冷量泄露而引起的强烈冷冻损害,一直是一个重要问题^[16],对于缩短患者住院时间和康复周期十分关键。此方面,低导热纳米颗粒材料以及一些具备抗冻性能的纳米溶液的引入,可有助于解决上述难题。总体上看,纳米冷冻手术在控制冻结过程及提升治疗效率方面提供了一种方便灵活的手段。

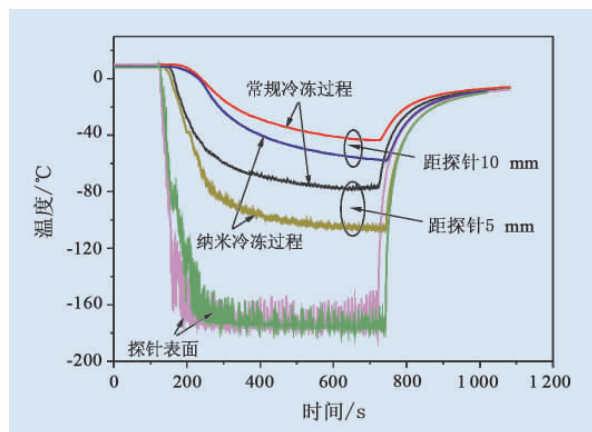


图5 猪肉组织在注射纳米颗粒溶液前后经受冷刀作用时的温度响应曲线和冷冻效果

Fig. 5 Comparison between freezing temperature responses of pork tissues with or without injected nano-particles

3.2 强化冰晶生长并提升冷冻杀伤率

纳米冷冻治疗较之传统低温手术具有许多优势。从低温造成细胞损伤的角度看^[17-18],细胞内冰晶形成是一个致死因素,其杀伤细胞骨架、细胞器及细胞膜取决于两个重要参数:冷却速率和胞内成核概率。一旦一定数量的纳米颗粒沉积到细胞内,则上述因素均可望得到显著增强(图6),这在近期的研究中已得到证实^[12]。

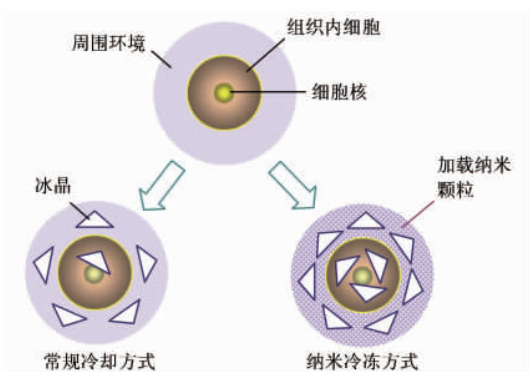


图6 冻结过程中细胞水平上的冰晶形成示意图

Fig. 6 Ice formation at cell level when subjected to freezing

因此,纳米冷冻手术的意义不仅在于显著提升目标组织的降温速率和降温水平,其重要作用还在于大大提升了胞内成核的概率,因而更有助于杀伤肿瘤细胞。在文献[12]中,Yan和Liu通过引入成核理论进一步解释了纳米冷冻手术的机理,结果表明,由于纳米颗粒导入细胞,会显著增加细胞内的非均相成核概率,从而有可能引起对目标肿瘤细胞的更大冷冻杀伤效果。此外,纳米颗粒作为影像增敏剂,其引入也将使得对冰球的发生发展实现更为精确的影像监测,使得靶向消融成为可能。

3.3 纳米冷冻方法在肿瘤适形治疗上的优势

临床上所遇到的肿瘤大多具有复杂的形状,因此确保一个最优的冷冻范围十分重要。一般认为,低温手术中决定组织及细胞损伤的主要因素是冷冻过程中达到的最低温度、在该温度停留的时间、冷冻-复温循环次数,以及降温、复温速率等^[17]。尽管组织损伤是由多个因素共同决定的,但是研究也表明,如果组织温度降低到某一临界值即可能引起损伤。对于不同的组织,该临界值有所不同,通常在-20~-70区间。因此,临界温度的等温线(面)通常被认为是组织发生致命损伤的边界。基于这些因素,外科医生可以通过调整冷刀的插入方位等参数来确保靶区肿瘤尽可能地被包括在临界等温线(面)之内,同时应尽量减少对周围健康组织的杀伤。治疗过程中,探针所产生的冰球应超越目标肿瘤边界一定范围,才可能对肿瘤细胞造成彻底摧毁^[3]。实际过程中,由于肿瘤形状复杂、大血管的存在以及冷冻探针插入方位的限制,会在各探针之间出现因冷冻不足而造成的“治疗死区”(图7(a)),这常常成为诱导肿瘤复发的因素。为此,在大块肿瘤的传统治疗过程中,往往需要引入多枚冷冻探针,最多者甚至超过20枚。显然,由此造成的探针机械插入创伤是十分严重的。所以,肿瘤治疗中的一个关键问题就在于应尽可能以微创的方式避免“死

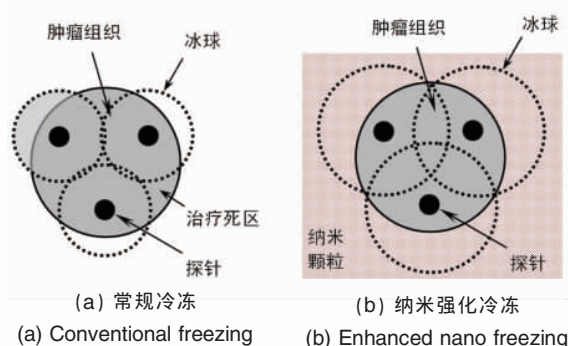


图7 3枚冷冻探针联合作用下所形成的冰球截面图

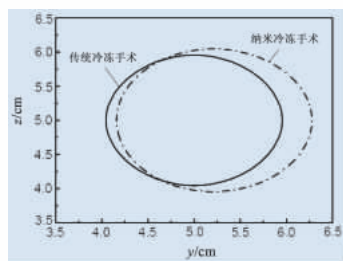
注: 虚线—冰球界面; 实心黑球—探针; 浅色大圆—肿瘤

Fig. 7 Cross section of ice balls generated under combined freezing by three probes

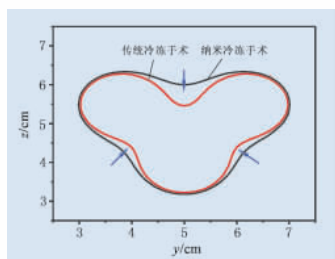
Notes: Dash line: boundary of ice ball;

Dark sphere: probe; Undertone circle: tumor

区”发生。本课题的近期研究表明,该问题采用纳米技术可以得到较好的解决。图 7 反映了应用多枚冷冻探针产生冰球覆盖一个球形目标肿瘤的示意情况。可以看到,由于纳米冷冻颗粒溶液的引入,冰球范围显著扩大,原先不能被冷冻探针所覆盖的区域(图 7(a)),可在同样冷刀作用下得以被摧毁(图 7(b))。



(a) 单枚冷刀
(a) Single cryoprobe



(b) 3 枚冷刀
(b) Three cryoprobes

图 8 传统冷冻方法与纳米冷冻作用下形成的典型冰球界面对比情况

Fig. 8 Comparison of typical ice ball interfaces formed in a conventional cryosurgery and nano cryosurgery

进一步从数值模拟的角度,还可以更全面地了解纳米颗粒在调控冰球生长方向上的定量特性。图 8(a)反映了单枚冷冻探针作用下借助纳米颗粒调整冰球生长方向和大小的一些情况^[11];图 8(b)则反映了在 3 枚冷刀冻结下,采用注射纳米颗粒后,冷冻范围及形状得以显著改善的情况^[19]。可见,新方法在调控冷冻杀伤范围方面显示出优良的特性。

以上强化冷冻问题,还可借助于红外热图成像方法从实验上更清晰地刻画出来^[15]。图 9 反映了组织(猪肉)中从 4 个部位(1,2,3,4)注射不同量纳米铝颗粒溶液导致的非对称冻结情况,详细研究可参见文献^[15]。显然,由于不同量纳米溶液的加载,组织中冷冻过程得以方便地调控,从而有助于实现一个高度适形化的肿瘤冷冻治疗。

3.4 纳米冷冻手术在提升医学成像分辨率上的优势

传统冷冻手术从提出到获得推广,经历了一个漫长的发展过程。早先,虽然此项技术在一些人体深部器

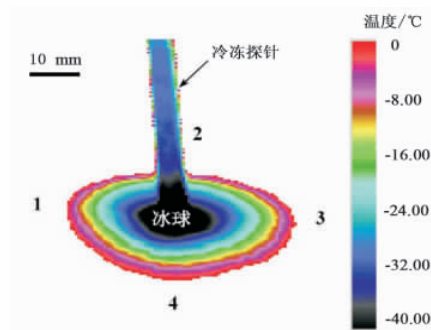


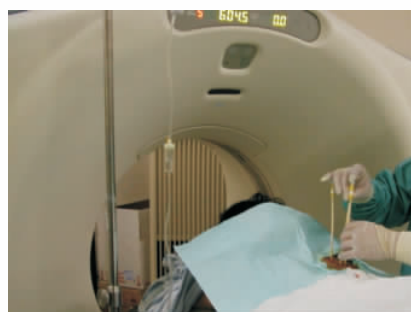
图 9 组织(猪肉)中从 4 个部位(1,2,3,4)注射不同量纳米铝颗粒溶液(分别为 1 ml, 2 ml, 3 ml and 4 ml)导致的非对称冻结情况

Fig. 9 Thermal image for unsymmetrical freezing of pork tissues injected with 1 ml, 2 ml, 3 ml and 4 ml (from sign 1 to sign 4) aqueous suspension of aluminum nano-particles in water, respectively

官如肺、乳腺、前列腺以及大脑等部位肿瘤的治疗方面报道了许多令人鼓舞的结果,但距离为临床普遍接受还有一定差距。其中的一个关键原因在于要对低温手术中形状不规则的瞬态冻结区域进行实时监测存在很大困难。在过去许多场合,冷冻治疗实际上主要用于皮表等易于观察和实施手术的部位,而对于那些不易检测的对象,如前列腺癌、肺癌、肝癌等,则手术尝试不多,一个直接原因就是缺乏优良的影像监测措施。

近年来,随着一系列医学影像技术,如磁共振成像、计算机断层摄影、超声成像以及光学成像技术等低温外科领域的推进^[20],原本难以在冷冻手术中触及的冻结冰球得以在屏幕上显示出来(图 10)^[7],临床医师因此可以在“看”着冰球生长或消融的前提下有效地调控冷冻手术的执行进程,低温手术得以向数字化、影像化迈进。随着这些监测技术的日趋完善,低温外科手术渐呈大规模推广的态势。然而,在现有的医学成像方法中,也还存在着诸多局限性,比如,冰球图像质量尚不够清晰,目标对象分辨率及对比度不够理想,三维动态成像还存在困难,目标组织的功能影像不能充分获取等。总体上,比较完善的可同时监测低温手术中组织内冻结冰球大小、组织解剖结构乃至温度信息等的成像方法还十分有限。

无疑,纳米影像技术的引入为低温外科手术的应用增添了强有力的工具。通过选择合适的纳米图像增敏剂,可以显著提升传统成像方法的精度和质量。这在近年来的一些分子影像技术中已得到体现^[21-22]。纳米冷冻手术影像监测完全可以借鉴这些成果,发展出低温手术的影像引导仪器,探索筛选出若干具有特殊物理性质的纳米颗粒材料作为影像增敏剂,以确保 MRI、超声、X-CT 及 PET 等设备能获得高质量图像。比如,在超



(a)



(b)



(c)

图 10 在 CT(a)及超声(b)引导下进行的冷冻手术及 MRI 获取的冰球影像(c)

Fig. 10 CT (a) and ultrasound (b) guided cryosurgery and the ice ball image detected by MRI (c)

声成像过程中,对比剂应具有尽可能强的超声散射特性,而且,其颗粒尺寸应尽可能小以便能通过毛细管输运。在此方面,最近发展出的一些高效超声成像增敏介质有微泡、碳氟类纳米颗粒乳状液等。而作为磁共振成像的增敏剂,合适的候选材料包括超顺磁氧化铁纳米颗粒。对于光学成像来说,则应尽量选择具有合适光学对比性质的材料。显然,最为理想的情况是,一种好的纳米颗粒介质应同时具备优良的强化/弱化冻结及增强影像质量的功能。这样,当纳米颗粒完成其作为提升冷冻手术性能的功能外,还可充当作为手术前后诊断病情或疗效的介质,从而帮助临床医师制定出合理的治疗计划。

4 纳米冷冻疗法中的材料选择与输运问题

根据目标组织对强化或弱化冻结过程的需求,临床中可供选择的纳米颗粒实际上有很多,如氧化铁、金、可降解聚合物、脂质体、胶态离子甚至是药物,或更多半导体类纳米颗粒。以往在纳米高温热疗中,磁性纳米颗粒用得最多,这主要是为了配合外界电磁加热而选定的。该类材料可以有多种应用方式,如制成玻璃陶瓷、微胶囊或磁性纳米颗粒的悬浮液等。一般说来,组织要达到预期目标温度,在很大程度上取决于此处所加载颗粒的数量及输运方式^[14]。纳米颗粒的典型加载方法主要有静脉、动脉注射或直接经皮注射等。在强化传热方面,氧化铁类材料由于与生物体相容性较好,可能是最为通用的材料。研究表明,颗粒尺寸在小于 10 μm 时即易于输运。纳米冷冻手术可充分地借鉴这些成果,但在应用中应深入了解组织传热及相变特性与纳米颗粒尺寸、形状及微结构之间的关系。

从医学成像的角度看,将纳米颗粒引入到目标组织中,对于提高成像质量继而确保微创手术的高效实施十分有利。以往,人们报道了许多用于成像的纳米颗粒荧光^[20],这些材料包括但不限于半导体量子点、荧光硅纳米颗粒、硅覆层荧光聚合物颗粒、染色胶状纳米颗

粒、荧光聚苯乙烯颗粒、荧光染料与氧化铁纳米颗粒的复合体等。一些研究者正试图发展出可对组织在治疗过程中的热损伤区域实施成像及监测的检温装置,以确保治疗过程精确化。在低温手术中,也许可借助于具有温度依赖性的荧光纳米颗粒来探测出冻结组织区域内的温度分布信息^[12]。实际上,对在体纳米颗粒-组织相互作用进行成像,可以揭示出组织杀伤细节,从而提升某些肿瘤标记物的使用效果。研究表明,一些直径在 20~30 nm 范围的磁纳米颗粒,如 Fe_3O_4 等,在改善传统微创手术中所采用的影像技术如磁光共轭成像(Magnetomotive Optical Coherence Tomography)或核磁成像(MRI)的分辨率和对比度方面十分有用^[22]。这些进展无疑将推进纳米冷冻治疗技术的进步。

5 纳米技术引导下的低温医疗仪器革新问题

冷冻外科手术的实施,常常要借助于具有极端冷却性能的器械,这在深部肿瘤的治疗过程中尤为如此。低温手术要实现微创化,需要确保这样的治疗过程,即冷冻探针插入组织时所造成的机械创伤应尽可能小,这就要求所设计的探针杆直径应尽量小,但与此同时又必须保证有足够的冷量释放到目标组织。所以,研制实用化的冷冻医疗器械时要兼顾制冷能力及器械实现可行性两方面。迄今,围绕各类浅表或深部肿瘤的治疗,研究者们发展了形式多样的低温医疗仪器^[1]。典型者如预冷金属块或预冷针、干冰,采用压缩或液化汽的喷射冻结,采用制冷设备的冷冻系统,热电制冷方法及低温热管方法,基于 Joule-Thomson 气体节流制冷效应的冷冻探针,基于低温液体如液氮的沸腾制冷蒸发效应的冷冻探针,以及最新出现的集冷冻与加热功能于一体的冷热刀医疗设备(图 11)等。

纳米冷冻手术概念的建立,提供了诸多用以改良传统医疗仪器的可能性。比如,在本实验室前期发展的冷热刀医疗设备基础上^[23],通过纳米金属颗粒的应用,可确保实现一个更为高效的深低温冷冻治疗及高温热

疗的联合实施。其中, 加热过程既可采用电磁辐射加热, 也可采用激光光纤加热。与此对应, 选择合适的电磁类或光学性质强化纳米颗粒, 可在冷冻治疗结束后完成高质量的高温热疗过程。由此, 通过不同的低温技术与高温热疗方法的组合, 可望建立起一系列高效的纳米冷热疗复合手术方法。



图 11 集冷冻治疗与高温热疗功能于一体的冷热刀医疗设备设计图和实物图

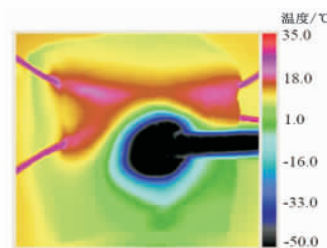
Fig. 11 Design protocol and sample of a freezing/heating equipment capable of performing both cryosurgery and hyperthermia therapy

6 纳米冷冻治疗学中的基础科学问题

在低温外科手术中, 生物组织要经历降温冻结及升温融化的相变过程, 其中会牵涉到许多十分复杂的传热和血液流动问题。为开展高效的纳米冷冻外科手术, 必须深入认识降温过程中组织的温度响应规律, 这就涉及到对生物传热学理论模型的建立和求解上。此方面的研究包括从细胞、亚细胞层次到组织、器官直至整个生命个体内的传热传质现象。

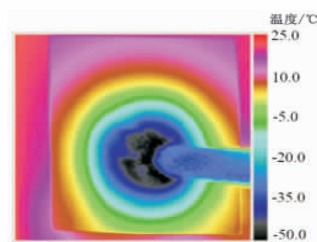
归纳起来, 低温杀灭肿瘤的基本因素主要包括以下方面^[2-3]: ① 细胞脱水和皱缩; ② 细胞电解质毒性浓缩和 pH 值改变; ③ 细胞膜脂蛋白变性; ④ 细胞内冰晶形成并引起机械性损伤; ⑤ 血流淤积和微血栓形成; ⑥ 免疫效应等。纳米冷冻手术概念的引入, 可望从微观尺度对上述问题进行改观。

此外, 近年来取得的一个新认识是生物组织中的血管加热效应对肿瘤冷冻治疗的成功实施造成严重的限制。解剖学上, 肿瘤组织中总会包含有大量血管或为大血管所贯穿, 或者瘤体本身就靠近大血管或直接长于大血管上^[4]。降温过程中, 由于温暖的血液对流所提供的足量的热能, 会在与血管相连的周围冻结组织内引起较大的温度梯度(图 12)^[24]。因此, 对那些处于大血管周边的肿瘤病灶, 若对其内血液流动在相变传热中的影响效果不加评估, 进而对所采用的降温程序做出严格计划, 可能会导致手术最终失败。而冷冻不足造成的残留于血管内的肿瘤细胞, 极有可能沿血管扩散, 从而诱发肿瘤的迁移和复发。相反, 如果肿瘤靠近对人体重要的大血管, 则应全力降低探针对血管造成的损伤, 以免引起生命危险。



(a) 无大血管情形

(a) Without large blood vessel



(b) 有大血管情形

(b) With large blood vessel

图 12 冷冻探针垂直作用于明胶时的红外温度分布

Fig. 12 Infrared image of phantom gel frozen by a perpendicularly inserted freezing probe

针对这类十分棘手的累及大血管的复杂肿瘤, 具有良好适应性的纳米冷冻外科手术有助于解决其适形化冷冻治疗问题。目前此方面的研究正处于积极的进展之中。

归纳起来, 当前因纳米冷冻疗法的提出而引申出的一些关键问题, 不完全列举可大致包含如下几类。

1) 冷冻或者复温过程中所涉及的微/纳米尺度(细胞、微血管等)生物热响应、热损伤机理的理论描述与实验刻画。

2) 微/纳米尺度下生物材料与纳米颗粒的相互作用机制。

3) 加载有纳米颗粒的生物组织热物性, 如热导率、比热、相变潜热、相变温度等基础数据的离体或在体测量, 以及相应物理机制的理论解释。

4) 纳米颗粒在组织和血管内的运输特性、运输装置及先进冷冻治疗仪器的研制。

5) 监测冷冻治疗过程中冰球生长与消融过程的纳米影像增强技术。

6) 面向对象的肿瘤纳米冷冻治疗数值计算方法的建立及治疗计划软件研制等。

7 小结与展望

纳米冷冻治疗方法作为纳米医学领域中的新理念, 扩展了传统冷冻外科的技术范畴, 在精确化、适形化肿瘤治疗上展示出独特价值。这一观念的确立使得肿瘤低温手术可望实现在分子尺度上的调控, 从而为

突破传统冷冻疗法的技术瓶颈指出了新的解决途径。

需要指出的是,当前对纳米冷冻手术的研究还处于开端。作为一类年轻的肿瘤物理治疗方法,纳米冷冻手术被完整地理解还有一段距离。今后的研究工作应集中在相应机理的揭示及动物、临床试验等问题上。可以预见的是,正如纳米热疗已成为当前国内外纳米医学领域的研究热点一样,纳米冷冻治疗方法的建立,可望促成一系列新观念的提出,激发学术界和产业界沿此思路进一步开展工作,并引导学术研究和临床应用的深入,从而为人类的抗癌之战提供一种有效的技术手段。

致谢:笔者对数届研究生及同事做出的持续贡献深表感谢。

参考文献 (References)

- [1] 刘 静. 低温生物医学工程学原理 [M]. 北京: 科学出版社, 2007.
LIU Jing. Principle of cryogenic biomedical engineering [M]. Beijing: Science Press, 2007.
- [2] 王洪武. 现代肿瘤靶向治疗技术 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
WANG Hongwu. Modern techniques for targeted tumor treatment [M]. Beijing: China Medical Technology Press, 2005.
- [3] 张积仁, GRAVES G, LITTRUP P J, 等. 氩氦靶向肿瘤治疗技术[M]. 香港: 先锋生命科学出版公司, 2003.
ZHANG J R, GRAVES G, LITTRUP P J, *et al.* Ar-He based targeted tumor treatment [M]. Hong Kong: Pioneer Bioscience Publishing Co, 2003.
- [4] DENG Z S, LIU J. Numerical study on the effects of large blood vessels on 3-D tissue temperature profiles during cryosurgery[J]. Numerical Heat Transfer, Part A: Applications, 2006, 49: 47-67.
- [5] SIEMANN D W. Vascular targeting agents [J]. Horizons in Cancer Therapeutics, 2002(3): 4-15.
- [6] RUBINSKY B. Cryosurgery [J]. Annu Rev Biomed Eng, 2000(2): 157-187.
- [7] BISCHOF J C, MERRY N, HULBERT J. Rectal protection during prostate cryosurgery: Design and characterization of an insulating probe[J]. Cryobiology, 1997, 34: 80-92.
- [8] BUDMAN H, SHITZER A, DAYAN J. Analysis of the inverse problem of freezing and thawing of a binary-solution during cryosurgical processes [J]. ASME Journal of Biomechanical Engineering, 1995, 117: 193-202.
- [9] DENG Z S, LIU J. Numerical simulation of selectively freezing the target biological tissues by injecting "functional solution"[J]. Cryobiology, 2004, 49: 306.
- [10] YU T H, LIU J, ZHOU Y X. Selective freezing of target biological tissues after injection of solutions with specific thermal properties[J]. Cryobiology, 2005, 50: 174-182.
- [11] DENG Z S, LIU J. Numerical simulation of selective freezing of target biological tissues following injection of solutions with specific thermal properties[J]. Cryobiology, 2005, 50: 183-192.
- [12] YAN J F, LIU J. Nano-cryosurgery and its mechanisms on enhancing freezing treatment of tumor [J]. 2007, submitted.
- [13] LIU J, YAN J F, DENG Z S. Nano-cryosurgery: a basic way to enhance freezing treatment of tumor [C]//2007 ASME International Mechanical Engineering Congress & Exposition, November 11-15, 2007, Seattle, Washington.
- [14] LV Y G, DENG Z S, LIU J. Study on the induced heating effects of embedded micro/nano particles on human body subject to external medical electromagnetic field [J]. IEEE Trans Nanobiosci, 2005, 4: 284-294.
- [15] YAN J F, LIU J, ZHOU Y X. Infrared image to evaluate the selective (directional) freezing due to localized injection of thermally important solutions[C]// 27th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Shanghai, China, 2005.
- [16] 华泽钊, BAUST J G, CHANG Z H. 肿瘤低温手术中正常器官的热保护问题[J]. 制冷学报, 1995, 16: 41-46.
HUA Zezhao, BAUST J G, CHANG Z H. Thermal protection of normal organs during tumor cryosurgery[J]. Journal of Refrigeration, 1995, 16: 41-46.
- [17] GAGE A A, BAUST J. Mechanism of tissue injury in cryosurgery[J]. Cryobiology, 1998, 37: 171-186.
- [18] TONER M. Advances in low-temperature biology [M]. London: JAI Press, 1993, 1-51.
- [19] DENG Z S, LIU J. Conformal cryosurgical treatment of tumor by use of nanoparticles: Feasibility study [C]//1st Annual IEEE International Conference on Nano/Molecular Medicine and Engineering, August 6-9, Macao, China, 2007.
- [20] 刘 静. 超声及磁共振成像法引导的低温外科手术 [J]. 仪器仪表学报, 2000, 21(增刊): 84-87.
LIU Jing. Ultrasound and MRI guided cryosurgery [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2002, 21 (Suppl): 84-87.
- [21] WICKLINE S A, LANZA G M. Nanotechnology for molecular imaging and targeted therapy [J]. Circulation, 2003, 107: 1092-1095.
- [22] AMY O, FARAH T, KENNETH S, *et al.* Magnetomotive contrast for *in vivo* optical coherence tomography [J]. Opt Express, 2005, 13: 6597-6614.
- [23] LIU J, ZHOU Y X, YU T H, *et al.* Minimally invasive system capable of performing both cryosurgery and hyperthermia treatment [J]. Minimally Invasive Therapy and Allied Technologies, 2004, 13: 47-57.
- [24] DENG Z S, LIU J, WANG H W. Disclosure of the significant thermal effects of large blood vessels during cryosurgery through infrared temperature mapping [J]. International Journal of Thermal Sciences, 2007, doi: 10.1016/j.ijthermalsci. 2007-05-07.

(责任编辑 李慧政)