

课题编号：Z151100003915131

密级：非密

# 北京市科技计划 课题任务书

课题名称：首都市民健康项目培育一肝细胞癌高温射频消融  
过程中热传导规律及对肝管和区域肝组织的影响

所属项目名称：生物医药与生命科学创新培育研究

课题委托单位：北京市科学技术委员会

课题承担单位：中国人民解放军总医院

起止年限：2015 年 06 月至 2018 年 08 月

北京市科学技术委员会制

课题承担单位基本信息一			
单位名称	中国人民解放军总医院		
组织机构代码	J0000046-3	隶属关系	军事单位
上级主管单位名称 (一级法人)	总后勤部卫生部		
单位类型	事业单位	企业注册经济类型	
单位地址	北京市复兴路 28 号		
注册地所属区县	海淀区	注册时间	
邮政编码	100853	单位传真	010-66939236
电子邮箱	xuwenhuan999@126.com		
高新证书号		所在高技术开发区	
单位负责人	任国荃	联系方式	010-66939426
单位科技管理部门负责人	刘广东	联系方式	010-66937236
课题负责人	姜凯	联系方式	010-66938232
财务负责人	王涓	联系方式	66937236
联系人	李琨	联系方式	66939236
市科委认定研发机构批准号			

课题基本信息			
课题所属技术领域	医疗卫生	课题所属学科	临床医学
课题类型	公益应用类	课题服务行业	卫生、社会保障和社会福利业
课题所处阶段类型	应用研究	课题主要技术的来源类型	国内其他单位
成果预期表达形式	论文论著	技术创新类型	原始创新

## 编写说明

1. 本任务书适用于由北京市科学技术委员会（以下简称“市科委”）立项、市科技经费支持的科技计划课题。

2. 本任务书需按照市科委统一提供的用户名和密码，登陆“北京市科委在线服务平台”（网址：[mis.bjkw.gov.cn](http://mis.bjkw.gov.cn)）填写，字体统一用宋体小四；确认所填信息正确、完整并经课题负责人检查无误后，提交市科委审核并网上提交确认后，在线进行打印（用 A4 纸），用 A4 幅面纸复印，用普通订书钉装订。打印后的课题任务书不得再行修改。

3. 本任务书“课题编号”和“课题所属项目”由市科委确定，“密级”由课题承担单位根据国家有关保密工作规定提出，项目主持单位审核，市科委确定。“密级”一经确定必须严格按照该级别“密级”文件管理规定执行。

4. 本任务书中第一次出现外文名词时，要写清全称和缩写，再出现同一词时可以使用缩写。

5. 课题经费支出明细中各项开支范围说明见《北京市科技项目经费管理办法》。

6. 本任务书正本一式六份以上（市科委四份、项目主持单位一份、课题承担单位各一份），由课题承担单位负责人和课题负责人亲笔签署意见，经项目主持单位审查后，报送市科委签订执行（地址：北京市海淀区四季青路 7 号院 2 号楼，邮政编码：100195）。

7. 编写内容可参考各栏目括号内的说明（本方案正本应删除说明内容）。

<h2>一、课题任务与目标、考核指标</h2>
<p><b>1、课题任务：</b></p> <p>本课题通过人体标本灌注、动物实验研究、临床病例研究等方法，分析和探讨肿瘤与周围组织“热传导效应(HCE)”规律及其对胆管的影响程度，以及高温伴随的“热灌溉效应(HIE)”引起的周围肝组织的变化，并获得高温完全消融特殊位置 HCC 的全面认识，最终提供安全有效的治疗方案，拓展 RFA 的应用范围，进一步提高 HCC 射频消融的安全性和有效性。</p> <p><b>2、课题目标：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 认识高温射频完全消融治疗的瘤体与周围组织内热传导规律；</li> <li>2) 明确高温射频完全消融时“热灌溉效应(HIE)”对于区域性肝组织功能的影响；</li> <li>3) 明确高温射频完全消融大胆管与血管旁瘤组织对胆道功能的影响；</li> <li>4) 根据上述实验结果的总结，提出可行的技术方法，明确高温射频完全消融治疗大胆管与血管旁特殊位置 HCC 的临床应用效果。</li> </ol> <p><b>3、考核指标及年度分解：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1、形成肝细胞癌高温射频消融的治疗方案；</li> <li>2、发表 SCI 论文 2 篇，核心期刊论文 2 篇。</li> </ol>
<h2>二、课题研究开发内容</h2> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 利用肝脏移植中切除的 HCC 肝脏标本，研究不同的射频消融温度和灌注条件，进行完全消融时瘤体与周围组织的“热传导效应(HCE)”规律，分析 HCE 对肿瘤组织、大血管与胆管壁的影响；</li> <li>2) 利用小型猪实验动物，研究高温一次性完全消融诱导肝组织大面积毁损，以及特殊位置高温消融所致“热灌溉效应(HIE)”，对于区域肝功能、组织损伤与修复的影响，分析高温消融的有效性、安全性和最佳消融条件；</li> <li>3) 利用小型猪实验动物，建立大胆管旁射频消融治疗的动物模型，将电极设置于距离大胆管不同位置，研究高温消融的“热传导效应(HCE)”对于胆道壁病理损伤与胆道并发症的发生情况，以及与血流“热沉降效应(HSE)”的相互关系；。</li> <li>4) 开展临床试验研究，以一次性完全消融为原则，以精准的术前影像学评估和消融设计规划为基础，与常规消融进行比较，分析毗邻大胆管与血管的特殊部位 HCC 高</li> </ol>

温消融时的肝功能变化及胆道并发症发生情况，评价高温完全消融治疗大胆管与血管旁 HCC 的临床应用效果与安全性。

### 三、课题技术路线与实施方案

#### 1、技术方案与技术路线

##### 第一部分 高温完全射频消融的瘤体与周围组织热传导规律研究

由于目前还没有成熟的大动物肝肿瘤模型，因此本研究设计利用我们肝胆外科容易获取的肝脏移植 HCC 肝脏标本，通过体外循环灌注后进行 HCC 高温消融时热传导效应（HCE）规律的研究。所有获取参与本实验研究标本，患者签署知情同意书。本项研究获得解放军总医院伦理审查委员会批准。

##### 1. 模型建立

##### 1.1 肝脏移植切除新鲜 HCC 肝脏组织标本的获取与准备

切除的含有大于 3cm 毗邻主要胆管与血管的特殊位置 HCC 的肝脏标本，留取病理标本后，立即以合适的 PE 管进行肝动脉、门静脉和胆管插管，以肝素生理盐水灌洗，最后连接蠕动泵，以 37℃ 乳酸林格缓冲液进行循环灌注。

##### 2. 实验分组

新鲜人 HCC 肝脏组织标本分组，各组 10 例：

- 1) 非灌注组：再随机分为 60、70、80、90、95℃ 不同射频消融温度组；
- 2) 循环灌注组：再随机分为 60、70、80、90、95℃ 不同射频消融温度组；
- 3) 对照组：不进行射频消融，行组织形态学观察。

##### 3. 射频消融

射频消融设备：Valleylab Cool-tip RF 射频消融系统；射频消融电极为 17G 集束针（裸露端 2.5cm），电极顶端配有热敏电偶，可显示针尖温度。最大输出功率 200W，可调节输出功率、目标消融温度，控制输出时间。

射频消融：固定动、静脉与胆管的灌流速度，根据血管粗细使灌流速度尽量与体内肝组织血流速度相同。将射频治疗电极插入肿瘤中心部位，如下图从射频针位置开始向外周间隔 5mm 距离依次放置数码测温计的测温电极，直至贴近血管与胆管壁处（测温方法参照本实验室以前文献 Jiang K et al. Panminerva Med.

2013;55(3):297-302), 设置射频温度, 开始射频治疗。采用 Cool-tip™ RF 射频消融系统, 根据各实验组要求设置射频消融参数, 通过控制输出功率使消融灶温度稳定达到 60-95℃ 不等, 并连续监测肝脏肿瘤组织内与正常肝组织内的温度梯度。

#### 4. 标本获取

射频消融结束后以中心放射状取材至正常肝组织作为检测标本, 用 4% 甲醛溶液固定, 行常规切片 HE 染色。

#### 5. 观测指标

5.1 射频消融处理后的肝脏标本大体观察: 检查标本横切面的消融区颜色、脆度、凝固性坏死、碳化和充血区的分布, 血管与胆管纵向切开, 观察胆管壁颜色、脆度变化与特点。

##### 5.2 HE 染色的光镜观察

主要观察消融灶周围肝组织、胆管与血管壁的以下几项变化: 肝细胞肿胀、中央静脉扩张、门静脉扩张、胆管上皮增生、炎症细胞聚集、窦状隙增宽、窦状隙充血。根据病理损伤程度分为 4 级: (-) 为无损伤; (+) 为轻度损伤; (++) 为中度损伤; (+++) 为重度损伤。

##### 5.3 肿瘤和肝组织内血管密度分析

免疫组化检测血管内皮标志物 CD31, 以显示肿瘤和肝组织内的血管分布, 间接反映肿瘤组织的血循环情况;

#### 6 统计学分析

记录数码测温计的各个电极所测温度, 以消融时间为横坐标, 分析组织中的温度梯度与消融电极温度的关系, 并分析不同的消融温度、消融时间、肿瘤微血管密度对所测区域的组织损伤、细胞活性的影响, SPSS15.0 统计学分析软件进行多因素方差分析, 评估不同的肿瘤大小和肿瘤特性对热传导的影响, 总结高温射频消融在 HCC 与周围组织内的热传导规律。

### 第二部分 高温完全消融的热灌溉效应对区域性肝组织功能的影响

#### 1. 实验动物

本项研究获得解放军总医院动物实验伦理审查委员会批准。选用中国实验用广西巴马小型猪, 雌雄不限, 体重 25-35Kg。由解放军总医院实验动物中心提供。动物来源

及实验过程符合相关规定。术前适应性饲养一周，术前一天禁食不禁水。

## 2. 实验分组

2.1 按射频消融温度分组：常规温度射频消融组（60–75℃）和高温消融组（85–95℃）两组。调整消融时间，采用单电极或集束电极，以获得不同面积的消融区域。每种射频消融方式根据术后观察时间不同分为3组：急性期24h组、亚急性期2周组、慢性期4周组，每组5只。以非手术猪作为对照组。

## 2.2 按消融的不同特殊位置分组

根据消融位置不同分为四组：（1）消融区域位于肝叶或段的根部，进行RFA治疗时，“热灌溉效应（HIE）”的热量沿肝叶或段门静脉与肝动脉流入相应的肝叶或段；（2）消融区域位于肝静脉根部时，流失的大部分热量直接沿肝静脉流入全身；（3）消融区域位于第一肝门毗邻左右侧门静脉与肝动脉的主干，热量分别流向左右肝叶区域，累及面积广泛。术后观察时间均分为24h组和2周组。

## 3. 射频消融

3.1 实验动物麻醉：以速眠新II（盐酸赛拉嗪注射液）+咪达唑仑注射液（体积比1:1）按0.5ml/kg肌肉注射诱导麻醉；气管插管成功后连接呼吸机。调节呼吸机使潮气量为10ml/kg，呼吸频率为16/min，FI<sub>O2</sub>为0.4，呼气末正压保持在4cm水柱以保持动物良好的氧合状态。吸入0.8%异氟烷结合经耳缘静脉静滴枸橼酸芬太尼注射液2~5mg/kg，静吸复合维持麻醉；同时静滴罗库溴胺注射液（20~50mg/头）作为肌肉松弛剂。

实验动物在麻醉诱导前给予10mg/kg盐酸氯胺酮，1mg硫酸阿托品肌注进行麻醉前辅助用药。予以0.5ml/kg 1%戊巴比妥钠进行静脉麻醉诱导，气管插管成功后连接呼吸机。调节呼吸机使潮气量为10ml/kg，呼吸频率为16/min，FI<sub>O2</sub>为0.4，呼气末正压保持在4cm水柱以保持动物良好的氧合状态。切开颈外静脉建立静脉通道，切开颈动脉连接动脉监护仪。术中予以平衡液补充动物生理需要量及术中液体丢失。术中监测动物血压、心率、体温等指标。

3.2 射频消融设备：Valleylab Cool-tip RF射频消融系统；射频消融针为17G单极（裸露端3cm）或集束针（裸露端2.5cm），电极顶端配有热敏电偶，可显示针尖温度。最大输出功率200W，可调节输出功率、目标消融温度，控制输出时间。

## 3.3 超声引导下的射频消融



动物采用仰卧位，经正中切口逐层切开止血入腹。术中超声从肝门区沿门静脉分支扫描，向外周探查，明确较大胆管与门静脉血管(直径 3mm)，确定射频消融的部位。选定部位后，准确插入 Cool-tip 冷循环射频消融电极针，其左右侧每隔 5mm 置入温度探测针。穿刺成功后，连接射频消融系统(The Valley Lab System, Boulder, CO, USA)进行射频消融。在消融的同时，该系统自动监测温度以及组织阻抗，周围温度数码实时测定。水泵持续泵入 20℃ 蒸馏水于冷循环电极针空腔内，以维持针尖的温度维持 20℃。特殊位置消融时超声测量消融区域周围的门静脉和肝动脉、胆管直径。

#### 4. 标本采集

4.1 血液标本:各组动物于术前、术后及术后不同时间通过穿刺动物前腔静脉颈外静脉插管采取静脉血 5ml。将静脉血行 3500 转/分离心 15min 后，取上清液置入-20℃ 冰箱保存，备检。

4.2 所有动物分别在射频消融治疗后 24h、1 周、2 周、3 周和 4 周进行超声和 CT 扫描，扫描完毕后，将每组动物在相应时间周处死，取出肝脏标本固定于福尔马林溶液中。制作成相应的标本和 HE 切片以备病理和 CT 对照分析。

#### 5. 观测指标

1) 常规超声和 CT 影像学观察

2) 动物术后存活情况

所有动物均精心饲养，存活超过 14d 视为长期存活。动物处死时均在全麻下行剖腹探查术，探查是否存在手术并发症(如胆痿、腹水、腹腔脓肿、腹腔出血等)。

3) 射频消融处理后的肝脏标本大体观察：检查标本横切面的消融区颜色、脆度、凝固性坏死、碳化和充血区的分布。胆管、血管壁的颜色、脆度分布。

4) HE 染色的光镜观察和组织学评分

5) 血生化指标测定

血清转氨酶(ALT、AST)、白蛋白(A1b)、胆红素(Bil)、碱性磷酸酶(AP)和谷氨酰基转移酶 (GGT) 等指标。血液标本检测由我院生化科提供的全自动生化分析仪测定完成。

6) 区域肝细胞功能测定

ALT、AST 只能用于测定肝细胞的损伤程度，不能准确反映肝细胞功能。我们通过

SPECT-CT 测定<sup>99m</sup>Tc 标记的半乳糖基人血清白蛋白 (<sup>99m</sup>Tc-galactosyl human serum albumin, <sup>99m</sup>Tc-GSA) 的吸收情况确定局部肝细胞功能的变化。<sup>99m</sup>Tc-GSA 冻干药盒由协和医院与北京师范大学合作生产并提供。

#### 7) 免疫组化测定消融区周围炎性反应

常规免疫组化法检测射频消融凝固坏死区边缘的炎症细胞反应, 如 CD20、CD4、CD8、CD56、CD68 的阳性细胞数量。

#### 8) 消融区周围组织 NADH 细胞活力染色

配置孵育液: NBT 100mg, 0.1mol/L 磷酸缓冲液 (pH7.8) 80ml, PMS10mg, 4%乳酸钠溶液 20ml, NAD50mg。按先后顺序加入上述试剂, 搅拌均匀, 粗滤纸过滤。

制作冰冻切片: 标本入恒冷箱冰冻切片机, 切成 5mm 厚的组织片, 贴于防脱载玻片上, 入 37℃ 孵育液反应 30min, 蒸馏水漂洗 10min, 室温下晾干, 甘油明胶封片。有活力的组织染成蓝紫色, 失去活力的组织不着色。

#### 9) 反映细胞增生的 Ki-67 标记指数测定

肝组织常规固定, 石蜡包埋, 行 5mm 切片, 利用兔单克隆抗-Ki-67 抗体 (BD 公司) 进行两步法免疫组化检测。肝细胞增殖活性以 Ki-67 标记指数表示: 每只大鼠肝脏计数 20 个高倍视野, 其中 Ki-67 阳性的细胞占计数的总肝细胞数的百分比为标记指数。

### 6. 统计学分析

分析高温消融、低温消融以及特殊位置消融后, 各组的动物生存情况、消融面积、周围血管直径、肝功能、组织损伤、炎性反应、肝细胞再生等指标的差异。所有检测结果根据情况采用均数±标准差或中位数 (5%~95%分位数) 表示, 组间比较采用方差分析, 两组间比较采用 t 检验或秩和检验。使用 SPSS15.0 进行统计学分析。绘制以电极中心向周围辐射的温度传导分布图, 分析热量与组织中的传导特点。综合评价高温消融诱导肝组织大面积损毁对于肝功能和及周围器官的影响。

## 第三部分 高温完全消融热传导效应对胆道系统功能的影响

### 1. 实验动物

本研究获得解放军总医院伦理审查委员会批准。选用中国实验用广西巴马小型猪, 雌雄不限, 体重 25-35Kg。由解放军总医院实验动物中心提供。动物来源及实验过程

符合相关规定。术前适应性饲养一周， 术前一天禁食不禁水。

## 2. 实验分组

以左肝叶大胆管为靶胆管，将射频针置于胆管一侧，按照单极射频针(暴露头端 3cm)与胆管壁的距离不同分为四组，1-3mm 组，3.1-5mm 组，5.1-8mm 组，8.1-10mm 组。每组根据术后观察时间不同分成 3 组：早期 3 天组、晚期 1 月组，长期 3 月组，每组 5 只。以假手术猪作为对照组。

## 3. 射频消融

3.1 实验动物麻醉：以速眠新 II (盐酸赛拉嗪注射液)+咪达唑仑注射液（体积比 1:1）按 0.5ml/kg 肌肉注射诱导麻醉；气管插管 成功后连接呼吸机。调节呼吸机使潮气量为 10ml/kg，呼吸频率为 16/min，FI02 为 0.4，呼气末正压保持在 4cm 水柱以保持动物良好的氧合状态。吸入 0.8%异氟烷结合经耳缘静脉静滴枸橼酸芬太尼注射液 2~5mg/kg，静吸复合维持麻醉；同时静滴罗库溴胺注射液（20~50mg/头）作为肌肉松弛剂。

实验动物在麻醉诱导前给予 10mg/kg 盐酸氯胺酮，1mg 硫酸阿托 品肌注进行麻醉前辅助用药。予以 0.5ml/kg 1%戊巴比妥钠进行静脉麻醉诱导，气管插管 成功后连接呼吸机。调节呼吸机使潮气量为 10ml/kg，呼吸频率为 16/min，FI02 为 0.4， 呼气末正压保持在 4cm 水柱以保持动物良好的氧合状态。切开颈外静脉建立静脉通道，切开颈动脉连接动脉监护仪。术中予以平衡液补充动物生理需要量及术中液体丢失。术中监测动物血压、心率、体温等指标。

3.2 射频消融设备：Valleylab Cool-tip RF 射频消融系统；射频消融针为 17G 单极（裸露端 3cm），电极顶端配有热敏电偶，可显示针尖温度。最大输出功率 200W，可调节输出功率、目标消融温度，控制输出时间。

### 3.3 超声引导下的射频消融

动物采用仰卧位，经正中切口逐层切开止血入腹。先由彩色 Doppler 超声确定相关胆管（猪左肝管延伸至左肝第 3、4 叶内肝门部的胆管，直径  $(3.0 \pm 0.5)$  mm）。在超声引导下将单束射频针（裸露端 3cm）置入与胆管距离控制在 5.0 mm~20mm 范围，周围每隔 5mm 置入测温电极监测周围温度，然后进行 RFA 治疗。

## 4. 标本采集

4.1 血液标本：各组动物于术前、术后及术后不同时间通过动物颈外静脉插管采取静

脉血 5ml。将静脉血行 3500 转/分离心 15min 后，取上清液置入-20° 冰箱保存，备检。

4.2 所有动物分别在射频消融治疗后 3 天、4 周和 3 个月进行超声、CT 和胆管造影检查。检查完毕后，将每组动物在相应时间周处死，取出肝脏标本固定于福尔马林溶液中。制作成相应的标本和 HE 切片以备病理和 CT 对照分析。

#### 5. 观测指标

1) 常规超声、CT 和胆管造影检查，了解肝脏 RFA 治疗后局部损毁区域及所观察的胆管直径变化、胆管狭窄和扩张情况。

#### 2) 动物术后存活情况

所有动物均精心饲养，存活超过 14d 视为长期存活。观察期间记录围手术期动物生命体征、呼吸、饮水、进食、精神等情况，以及与实验相关的并发症和死亡率。动物处死时均在全麻下行剖腹探查术，探查是否存在手术并发症(如黄疸、胆漏、胆管炎、胆汁性腹膜炎、胆管出血、脓肿等)。

#### 3) HE 染色的光镜观察和组织学评分

#### 4) 血生化指标测定

血清转氨酶(ALT、AST)、白蛋白、胆红素、碱性磷酸酶和 $\gamma$ -GT 等指标。血液标本检测由我院生化科提供的全自动生化分析仪测定完成。

#### 5) 区域肝细胞功能测定

ALT、AST 只能用于测定肝细胞的损伤程度，不能准确反映肝细胞功能。我们通过 PET-CT 测定 $^{99m}\text{Tc}$  标记的半乳糖基人血清白蛋白( $^{99m}\text{Tc}$ -galactosyl human serum albumin,  $^{99m}\text{Tc}$ -GSA)的吸收情况确定局部肝细胞功能的变化。 $^{99m}\text{Tc}$ -GSA 冻干药盒由协和医院与北京师范大学合作生产并提供。

#### 6) 免疫组化检测胆管周围细胞反应

常规免疫组化法检测胆管周围的炎症细胞反应，如 CD20、CD4、CD8、CD56、CD68 的阳性细胞数量。

#### 7) 胆管细胞增生的 Ki-67 标记指数测定

肝组织常规固定，石蜡包埋，行 5 $\mu\text{m}$  切片，利用兔单克隆抗-Ki-67 抗体(BD 公司)进行两步法免疫组化检测。肝细胞增殖活性以 Ki-67 标记指数表示：每只大鼠肝脏计数 20 个高倍视野，其中 Ki-67 阳性的细胞占计数的总肝细胞数的百分比为标记

指数。

## 6. 统计学分析

分析大胆管旁一次性完全消融后，各组动物的生存情况、周围大胆管的损伤、狭窄和修复情况，以及对肝功能的影响。检测结果以均数±标准差或中位数(5%~95%分位数)表示，组间比较采用方差分析，两组间比较采用 t 检验或秩和检验，使用 SPSS15.0 进行统计学分析。综合评价高温射频完全消融对胆道系统功能的影响。

## 第四部分 高温射频完全消融治疗大胆管与血管旁肿瘤的临床研究

选择肝门部或毗邻左右肝管的 HCC 患者实施射频消融治疗，以一次性完全消融为治疗原则，以精准的术前影像学评估和消融设计规划为基础，观察高温完全射频消融治疗大胆管与血管旁肿瘤的疗效、并发症等临床资料。所有参与本实验研究患者签署知情同意书。本项研究获得本院伦理审查委员会批准。

2. 通过对 14 例临床研究结果表明，毗邻大胆管与血管旁(射频消融电极裸露端距离胆管 20mm)射频消融治疗 HCC 具有很高的安全性，无大血管的损伤、胆漏、胆管出血和胆管狭窄等严重并发症的发生，肝功能变化与远离大胆管与血管旁(射频消融电极裸露端距离胆管>20mm)的普通射频消融病例相一致。

### 1. 患者入选标准

临床 HCC 行 RFA 治疗的患者，不限性别、年龄、肿瘤性质和来源、大小和有无其他疾患，同时符合以下标准均为纳入观察范围：

1.1 均为临床诊断为 HCC，诊断依据为超声、超声造影和增强 CT 相结合；

1.2 患者不愿、不宜或不能手术切除的患者；

1.3 肿瘤位于第一、第二肝门部或靠近胆囊(肿瘤边缘离最近的胆道距离为 0-5mm)，肿瘤数量不超过 3 个，单个肿瘤直径小于 5cm，无肝内及远处转移；

1.4 肝功能为 Child A 级或 B 级(保肝治疗转为 A 级)，能耐受 RFA 治疗；

1.5 无其他严重合并症：如凝血功能障碍、重度腹水、腹膜炎、胆系感染等

1.6 患者可以持续随访，病例资料记录完整。

### 3. 射频术前准备

3.1 患者术前行常规检查,包括血常规、凝血功能、肝肾功能、肿瘤标志物 AFP、腹部 CT、B 超、心电图、胸片等检查,并根据患者肿瘤位置、数目、及肝功能的 Child

分级制定相应的治疗计划。

3.2 术前积极予护肝治疗，静脉滴注维生素 K1，改善凝血功能和肝脏储备功能，必要的营养支持治疗，改善营养状态；

3.3 术前与患方充分沟通交流病情，消除患者不安、紧张、焦虑等情绪。

#### 4. 随机分组

按照随机分配表，将患者随机分配到常规温度消融组（60–75℃）或高温消融组（85–95℃）。

#### 5. 射频治疗方法

射频消融设备：使用 Cool-tip™ RF ablation system (Valleylab, Boulder, Co., USA)，阻抗状态由能量反馈系统自动控制，外接循环泵（Valleylab, Boulder, Co., USA）用冷却注射用水使 RF 电极尖端温度保持 20℃。射频消融针为 17G 集束针（裸露端 2.5cm），电极顶端配有热敏电偶，可显示针尖温度。最大输出功率 200W，可调节输出功率、目标消融温度，控制输出时间。

消融治疗过程：采用仰卧位，全身麻醉，使用鼻咽部测温计测量体温变化，分别置入腹腔镜与腹腔镜超声，隔离周围组织避免损伤，同时观察射频消融过程肝脏的颜色变化，必要时辅助体外超声或与 CT 联合引导穿刺定位。根据患者肿瘤部位、大小和数目的不同，采用单电极或集束电极针治疗，以局部中心温度能够维持稳定的温度为标准。对肿瘤直径>3cm 或形态不规则者，单次射频消融难以覆盖所有肿瘤区域，可使用集束电极针，将测温电极置入贴近胆管与血管壁处测定温度。按照组别不同设置消融温度，射频时间 12min 为一循环，一般使用 4–6 个循环。术中超声实时监测肿瘤内部强回声气体流动现象，观察气体沿肿瘤毗邻的肝段或肝叶主要血管与胆管内的流动方向。当气体流动现象消失后，表面可视肿瘤组织色泽变为深褐色或浅褐色，此时停止消融与冷循环。期间每隔 5min 停止消融测定针尖温度与单纯测温电极温度记录 RF 电极尖部温度范围。在停止消融 6min 后，分步退出拔除电极；腹腔镜探查穿刺针道出血与胆汁漏的情况，及时压迫、电凝或氰基丙烯酸盐粘合剂封堵针道，观察 15 分钟。

#### 6 术后观察临床项目

6.1 在治疗前 1 天与术后第 1、3、7、14 天常规复查，主要项目包括：血常规、肝功能、肾功能(BUN、Cr)、凝血功能检查，甲胎蛋白以及影像学的检查，包括超声和

CT 或 MRI。在射频治疗后 1、3、6、9、12 月复查肝功能、甲胎蛋白以及影像学检查，特别注意肿瘤附近胆管的变化情况。

6.2 记录患者住院期间及术后主要并发症包括：发热、疼痛、肝功能损伤、胸腔积液、胸腔积液，皮肤烫伤、黄疸、腹水，及其他罕见并发症。

### 6.3 射频疗效评价与术后并发症评估方法

CT 或 MRI 复查，显示消融区域超越肿瘤，边缘清晰、无强化者考虑为完全消融。肿瘤边缘模糊、有增强、彩色超声检查局部显示有血流者考虑为肿瘤部分残留，肝内复发者根据病人肝功能、意愿和一般情况可再次行射频。

住院期间 RFA 治疗前及治疗后第 1、3、7、14 天复查肝功能，出院前复查 AFP。治疗前及治疗后 1~3 天内行超声造影、增强 CT 或 MRI 检查了解肿瘤的影像学变化，此后每月复查一次。记录 RFA 治疗的次数和时间、住院时间、并发症，随访 6~12 个月，观察患者的远期并发症情况。

## 7 数据处理与统计学分析

通过随访了解患者生存状态，统计分析病例所有资料，数据以均数±标准差或中位数(5%~95%分位数)表示。根据 Couinaud 分段方法记录肿瘤位置、肿瘤大小、数目，按照肿瘤大小再分为<3cm, 3-5cm 和>5cm 组；统计每组患者的射频消融条件如温度、功率和时间；测量每例患者射频消融后的影像学消融面积、肝功能、AFP、肿瘤复发时间、无瘤生存时间和生存时间等。统计软件使用 SPSS15.0 版本，采用 Kaplan-Meier 法分析两组病例 6 个月、1 年和 3 年累计生存率，Log-Rank 法检验比较两组生存率之间是否存在统计学差异，应用 COX 回归方程作与预后相关的多因素分析。对不同直径大小肿瘤的完全消融率用卡方检验，计算各组间 P 值，检验水准为双侧  $\alpha = 0.05$ ， $P < 0.05$ ，差异有统计学意义。

技术路线（见附图）

## 2、课题组织实施与管理措施

### 1. 前期临床实践与经验支持

我们中心已经完成了 1000 多例肝癌射频消融治疗，有相当一部分是>3cm 的大肝癌，或者是位于特殊位置的肝癌，通过调整射频消融的温度、功率、时间和电极配置，获得了完全消融，而且无严重并发症发生。在总结临床经验的基础上，我们提出了

一次性完全消融的治疗原则，提出“热传导效应（HCE）”与“热灌溉效应（HIE）”的概念与临床意义，且已在国际上发表了多篇 SCI 论文，总结推广一次性完全消融的临床治疗经验，获得国际认可。

## 2. 临床资源、动物模型、实验仪器和试剂均可保证

解放军总医院肝胆外科医院、全军肝胆外科研究所、全军数字化肝胆外科重点实验室，现为医学博士授予点、博士后流动站、北京市重点学科，长期进行肝脏及胆道外科相关临床与基础研究。临床拥有专门的肝脏手术切除和微创治疗亚专科病区，具有丰富的临床病例资源。已建立猪肝切除、爆炸伤、射频消融等动物模型，掌握相应的外科手术技巧和各种检测方法。解放军总医院建有标准的实验动物中心，设备齐全的大动物手术室，标准实验动物和其它试剂均可从国内、外公司购得，为按期完成本研究项目提供了有利的保障。

## 3、课题委托任务（需另附委托或合作协议）

无



四、课题各年度任务目标、考核指标及研究开发内容完成的计划进度	
年度	分年度研发内容、目标及考核指标
2015 年	<p>2015.08-2015.12</p> <p>一、收集临床肝移植中切除的 HCC 肝脏标本，研究不同的射频消融温度和灌注条件，进行完全消融时瘤体与周围组织的“热传导效应（HCE）”规律，分析 HCE 对肿瘤组织、大血管与胆管壁的影响；</p> <p>二、启动并完成动物实验，包括两部分：</p> <p>第一部分 研究高温一次性完全消融诱导肝组织大面积毁损，以及特殊位置高温消融所致“热灌溉效应（HIE）”，对于区域肝功能、组织损伤与修复的影响，分析高温消融的有效性、安全性和最佳消融条件；</p> <p>第二部分 建立大胆管旁射频消融治疗的动物模型，将电极设置于距离大胆管不同位置，研究高温消融的“热传导效应（HCE）”对于胆道壁病理损伤与胆道并发症的发生情况，以及与血流“热沉降效应（HSE）”的相互关系。</p> <p>两部分每组完成 15 例，合计 30 例。</p> <p>撰写 SCI 论文 2 篇，核心期刊论文 2 篇。</p>
2016 年	<p>一、继续收集临床肝移植中切除的 HCC 肝脏标本，研究不同的射频消融温度和灌注条件，进行完全消融时瘤体与周围组织的“热传导效应（HCE）”规律，分析 HCE 对肿瘤组织、大血管与胆管壁的影响；</p> <p>二、对前一年度动物实验产生的标本进行进一步处理，对数据进行归纳、整理、总结。</p>
2017 年	<p>一、继续收集临床肝移植中切除的 HCC 肝脏标本，研究不同的射频消融温度和灌注条件，进行完全消融时瘤体与周围组织的“热传导效应（HCE）”规律，分析 HCE 对肿瘤组织、大血管与胆管壁的影响；</p> <p>对该部分内容产生的数据进行归纳、整理、总结。</p> <p>二、开展临床试验研究，以一次性完全消融为原则，以精准的术前影像学评估和消融设计规划为基础，与常规消融进行比较，分析毗邻大胆管</p>

	与血管的特殊部位 HCC 高温消融时的肝功能变化及胆道并发症发生情况，评价高温完全消融治疗大胆管与血管旁 HCC 的临床应用效果与安全性。
2018 年	对临床试验研究进行归纳、整理、总结，完成结题报告。

## 五、课题经费预算（预算附加说明并明确按支出科目明细安排）

1、课题经费来源：单位：万元

来 源		2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	合计
市财政科技经费		15	0	0	0	15
其他来源	国家有关部委拨款	0	0	0	0	0
	主持单位匹配	0	0	0	0	0
	承担单位自筹	7.5	0	0	0	7.5
	其他	0	0	0	0	0
合 计		22.5	0	0	0	22.5

2、课题经费支出：单位：万元

### （1）课题经费支出预算

科 目		来源	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	合计
直接费用	设备费	市财政科技经费	0	0	0	0	0
		其他来源	0	0	0	0	0
	材料费	市财政科技经费	7.5	0	0	0	7.5
		其他来源	3.5	0	0	0	3.5
	测试化验加工费	市财政科技经费	4.8	0	0	0	4.8
		其他来源	3.2	0	0	0	3.2
	燃料动力费	市财政科技经费	0	0	0	0	0
		其他来源	0	0	0	0	0

	差旅费	市财政科技经费	0	0	0	0	0
		其他来源	0	0	0	0	0
	会议费	市财政科技经费	0	0	0	0	0
		其他来源	0	0	0	0	0
	国际合作与交流费	市财政科技经费	0	0	0	0	0
		其他来源	0	0	0	0	0
	档案/出版/文献/信息传播/知识产权事务费	市财政科技经费	0.8	0	0	0	0.8
		其他来源	0.5	0	0	0	0.5
	劳务费	市财政科技经费	0.6	0	0	0	0.6
		其他来源	0.3	0	0	0	0.3
	咨询费	市财政科技经费	0	0	0	0	0
		其他来源	0	0	0	0	0
	其他费用	市财政科技经费	0	0	0	0	0
		其他来源	0	0	0	0	0
	直接费用小计	市财政科技经费	13.7	0	0	0	13.7
		其他来源	7.5	0	0	0	7.5
	间接费用	市财政科技经费	1.3	0	0	0	1.3
		其他来源	0	0	0	0	0
	分项合计	市财政科技经费	15	0	0	0	15
		其他来源	7.5	0	0	0	7.5

合 计	22.5	0	0	0	22.5
-----	------	---	---	---	------

(2) 仪器设备购置费用明细：（单价在 5 万元以上，含 5 万元）						
名 称	型 号	数 量	金 额	资金来源	购买时间	主要用途
3、课题研究所需的配套条件及来源						
<p>解放军总医院（解放军医学院），拥有 7 个国家和全军重点实验实。设有符合国家标准的实验动物中心，各实验室和仪器测试中心均对全院研究人员开放，可保证本项目所需仪器设备的需要。</p> <p>全军肝胆外科研究所长期从事肝胆管结石、精准肝切除、肝移植术后胆道并发症的临床与基础研究，先后荣获国家科技进步一等奖、军队科技进步一等奖等奖项 15 项。承担了国家自然科学基金、国家传染病重大专项、“十五”、“十一五”、“十二五” 攻关课题等 30 余项。</p> <p>研究所实验室拥有完善的实验设施和条件，具备全套小动物显微外科器械、手术显微镜、Transonic System 的生理记录仪和血压、血流、血氧饱和度测定模块及探头等仪器设备。拥有进行细胞培养的超净工作间、工作台、细胞培养箱等全套仪器设备。进行组织固定、包埋、切片、脱蜡、染色的全套组织病理学实验设备，以及原位杂交仪、病理图像采集和分析系统、荧光显微镜、酶标仪、Real-time PCR 仪、化学发光成像仪、电泳仪，凝胶图像分析仪、低温高速离心机、组织匀浆机、紫外可见分光光度计等。</p> <p>本项目组成员高、中、初级职称结合，基础研究人员与临床医生结合，大多数具有博士、硕士学位，科学作风严谨，理论知识扎实，实验技术过硬，具备良好的科研素质和对最新研究进展的把握能力，在各自的研究工作中均有杰出的表现，并保证有充足的时间完成本课题的研究。</p>						

## 六、预期成果形式、知识产权归属与管理

- 1) 认识高温射频完全消融治疗的瘤体与周围组织内热传导规律；
- 2) 明确高温射频完全消融时“热灌溉效应(HIE)”对于区域性肝组织功能的影响；
- 3) 明确高温射频完全消融大胆管与血管旁瘤组织对胆道功能的影响；
- 4) 根据上述实验结果的总结，提出可行的技术方法，明确高温射频完全消融治疗大胆管与血管旁特殊位置 HCC 的临床应用效果；
- 5) 发表 SCI 论文，4 篇，国内核心期刊 5 篇，培养研究生 2 名。

## 七、课题成果推广方案

提高消融温度，研究肿瘤与周围组织“热传导效应(HCE)”规律及其对胆管的影响程度，以及高温伴随的“热灌溉效应(HIE)”引起的周围肝组织的变化进行分析和评价，以获得对高温完全射频消融特殊位置 HCC 的安全有效的实验数据；本项目研究将显著提高肝细胞癌的一次性完全消融的成功率，且减少严重并发症的发生率，使患者获得良好的预后。同时，将射频消融技术提升为有效、可靠、安全的微创治疗手段，推广至特殊部位肝细胞癌微创根治治疗领域，通过举办会议、学习班，发表论文、著作向国内外推广。

## 八、课题承担单位、参加单位、课题负责人、课题研究人员

<b>1、课题承担单位</b>			
单位名称	中国人民解放军总医院	联系人	李琨
电 话	66939236	传 真	010-66939236
邮 编	100853	电子信箱	xuwenhuan999@126.com
通讯地址	北京市复兴路 28 号		
<b>2、课题参加单位</b>			
单位名称		主要任务分工	
(盖章)			
<b>3、课题负责人（课题负责人应从课题承担单位产生）</b>			
姓 名	姜凯	性别	男
出生年月	1967-08-08	证件号码	后文字第 2419874 号
学 历	博士	是否留学归国人员	否
技术职称	高级	从事专业	肝胆外科临床
职务	行政副主任	电 话	010-66938232
传 真		手机	
邮政编码	100853	电子信箱	jiangk301@126.com
工作单位	中国人民解放军总医院		
通讯地址	北京市复兴路 28 号外科大楼 14 层肝胆外科 3 病区		
主 要 业 绩	<p>课题负责人从事肝胆外科关于肝细胞癌的外科治疗与微创治疗。近 5 年来，作为骨干，参与课题研究：</p> <p>a) 肝细胞癌精准治愈性治疗技术的探索与评价，国家科技部传染病重大专项（2006ZX10002-026，2008-2010）</p>		

	<p>b) 精准肝胆外科技术体系的构建及循证评价，国家科技支撑计划项目（2012BAI06B01）</p> <p>c) 基于肝外科手术中肝脏低灌注和代谢监测的入肝血流控制研究，国家自然科学基金课题（2013-2016，NSFC81271738）</p>
--	--



4、课题研究人员									
姓 名	性别	出生年月	身份证号	技术职称	职务	学历	从事专业	主要分工	工作单位
陈永卫	男	1973-08-01		高级	主管医师	博士	肝胆外科临床	临床病例研究	中国人民解放军总医院
冯健	男	1983-07-03		中级	医师	博士	肝胆外科临床	动物实验	中国人民解放军总医院
陈继业	男	1981-12-01		中级	主管医师	博士	肝胆外科临床	动物实验	中国人民解放军总医院
王勋	男	1983-11-26		中级	住院总医师	博士	肝胆外科临床	数据处理	中国人民解放军总医院
王松	男	1989-08-12		初级	住院医师	硕士	肝胆外科临床	动物实验与数据收集	中国人民解放军总医院
潘可	女	1982-02-05		中级	主管技师	硕士	肝胆外科基础研究	动物实验与管理	中国人民解放军总医院

## 九、各方职责

订立任务书各方共同遵守《北京市科技计划项目（课题）管理办法》。

### 市科委的主要职责：

1. 按照任务书规定的年度计划，向课题承担单位核拨第一年度课题经费。
2. 负责对本课题实施过程进行调度、监督、检查，组织按年度对本课题年度任务目标和考核指标及下一年度实施计划进行评议。
3. 有权根据北京市重点工作要求调整任务计划。调整任务计划以及本课题需经费调整时，应通知课题承担单位冻结课题经费支出。
4. 本课题被终止时，负责组成清算小组对经费进行清算，并根据处理意见追回市科技经费。
5. 应对课题承担单位针对本课题成果推广的有关工作给予必要的协助。

### 课题承担单位的主要职责：

1. 对课题经费必须单独核算，按任务书规定的开支范围，实行专款专用，不得挪用，并按本任务书规定保证自筹经费足够到位；
2. 负责本课题的组织实施，按时、高质量地完成本任务书约定的研究内容和工作任务，并有义务对市科委组织的管理工作提供支持；
3. 本课题在实施过程中如果取得重大进展或发生重大问题，应及时向市科委和项目主持单位报告；如课题需要调整、终止或变更时，应按照《北京市科技计划项目（课题）管理办法》执行。
4. 本课题被终止时，应自收到市科委处理意见通知之日起冻结课题经费支出，应当及时对已做的工作、经费使用、已购置的设备仪器等情况进行总结并向市科委提交书面报告，配合市科委进行经费清算。
5. 应配合市科委的课题年度调度、检查与评议工作，并按照市科委的要求开展下一年度的工作；当本课题完成时，课题承担单位负责准备课题验收所需的有关材料。
6. 本课题所形成的技术研发成果中，主要由市科委科技经费支持研发的，应优先在北京地区进行产业化，如需转到外埠产业化，应事先征得市科委同意。

### 项目主持单位的主要职责：

1. 应向课题承担单位支付本任务书约定的匹配经费，监督课题承担单位的自筹经费到位、课题经费使用情况；
2. 应协调本课题实施过程中的有关问题，督促课题承担单位按进度要求完成本任务书规定的各项任务；如遇课题承担单位发生重大问题或出现课题调整、终止结题、变更的情况，应根据本课题的实施进展情况审核课题承担单位提交的调整、变更备案、终止结题申请并签署意见。
3. 应对本课题执行情况进行调度、监督和检查，进行技术保密；协助市科委进行调度、评议与监督、检查等课题管理工作。

十、其他未尽事宜
无

### 十一、任务书各方

市 科 委	单位名称	北京市科学技术委员会		邮编	100195	北京市科学技术委员会 (盖北京市科技项目合同专用章) 年 月 日	
	主管主任	(签字)					
	主管处长	(签字)					
	主管工程师	(签字)					
	地 址	北京市海淀区四季青路 7 号院 2 号楼					
	电 话		传 真				
	电子信箱						
课 题 承 担 单 位 一	单位名称	中国人民解放军总医院					(单位盖章) 年 月 日
	组织机构代码	J0000046-3	邮 编	100853			
	单位负责人	(签字)					
	单位科技管理部门负责人	(签字)					
	课题负责人	(签字)					
	财务负责人	(签字)					
	联系人	李琨					
	通讯地址	北京市复兴路 28 号					
	电 话	66939236	传 真	010-66939236			
	电子信箱	xuwenhuan999@126.com					
	户 名	中国人民解放军总医院财务处					
	开户银行	北京工商行太平路分理处					
	帐 号						

十二、承担单位拨款明细					单位：万元
单位名称	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	合计
中国人民解放军总医院	15.0	0.0	0.0	0.0	15.0

### 十三、预留印鉴卡

供应商或用款单位名称 (全称)	中国人民解放军总医院		
供应商或用款单位法人	任国荃	帐户名称	中国人民解放军总医院财务处
组织机构代码	J0000046-3	其他	
联系电话	66939236 (办公室)	银行帐号	
	66937236 (财务)		
经办部门	科研处	开户银行	北京工商行太平路分理处
经办人	国家喜		
联系电话	66939236 (办公室)	银行行号	802
		启用日期	2016-01-01
供应商或用款单位地址	北京市复兴路 28 号	邮政编码	100853
供应商或用款单位公章		银行预留印鉴	
			

供应商或用款单位编号：

图文说明——技术路线图

