



用氩氦冷冻消融术治疗犬口腔黑色素瘤的研究

白雪瑞^{1,2}, 董颖波^{3,4}, 李卓群³, 胡红³, 战晓燕¹, 李尚同¹, 王金福¹, 刘艳海^{3,4*}

(1. 上海农林职业技术学院动物科学技术系, 上海 201699; 2. 上海市农业学校动物科学技术系, 上海 201600; 3. AMC 河西中心动物医院, 江苏南京 210000; 4. 南京农业大学动物医学院, 江苏南京 210095)

摘要: 口腔黑色素瘤是犬最常见的口腔恶性肿瘤, 易发于老年犬。本病例通过采用新型氩氦冷冻消融术治疗老年犬 II 型口腔黑色素瘤, 结果显示, 术后 20 d, 患处显示瘤样软组织显著缩小, 炎性分泌物消失; 术后 3 个月, 瘤样软组织基本消退, 伤口愈合良好; 术后 9 个月, 患犬未发生肿瘤复发或转移。结果表明, 氩氦刀冷冻消融术具有安全有效的特点, 可作为老年犬口腔黑色素瘤的新型治疗手段, 值得在兽医临床推广和应用。

关键词: 氩氦刀; 口腔黑色素瘤; 老龄犬; 冷冻消融术

[中图分类号] S857.14 [文献标志码] A [文章编号] 1004-6704(2024)-06-0063-05

Treatment of Canine Oral Melanoma by Argon-helium Cryoablation

BAI Xuerui^{1,2}, DONG Yinbo^{3,4}, LI Zhuoqun³, HU Hong³, ZHAN Xiaoyan¹,
LI Shangtong¹, WANG Jinfu¹, LIU Yanhai^{3,4*}

(1. Department of Animal Science and Technology, Shanghai Vocational and Technical College of Agriculture and Forestry, Shanghai 201699, China; 2. Department of Animal Science and Technology, Shanghai Agricultural School, Shanghai 201600, China; 3. AMC Hexi Central Animal Hospital, Nanjing, Jiangsu 210000, China; 4. Animal Medical College of Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: Oral melanomas are the most common form of oral malignancy with a relatively poor prognosis in dogs, and prone to older dogs. For older dogs, due to their low immune function, the treatment is more difficult, and traditional surgery is not effective in the treatment of oral melanoma in dogs. Therefore, it is extremely important to explore a novel treatment for oral melanoma in older dogs. In this case, a novel argon-helium cryoablation was used to treat type II oral melanoma in an elderly dog. The results showed that the tumor-like soft tissue was significantly reduced and the inflammatory secretions disappeared 20 days after surgery; the tumor-like soft tissue basically subsided and the wound healed well 3 months after surgery; and no tumor recurrence or metastasis occurred 9 months after surgery. It indicated that novel argon-helium cryoablation is safe and effective for the treatment of canine oral melanoma in older dogs, which is worth popularizing in veterinary clinic.

Key words: argon-helium cryosurgery; oral melanoma; older dog; cryoablation

口腔黑色素瘤(oral melanomas, OMs), 由神经嵴的黑色素细胞发展而来的恶性肿瘤, 具有较高局

部侵袭性和转移性, 常见于多种动物, 尤其是犬。犬口腔黑色素瘤(canine oral melanoma, COM)是犬口腔肿瘤类型中最常见的恶性肿瘤, 约占 51%^[1]。COM 易发于老年犬, 据统计平均发病年龄均为 11~12 岁及以上^[2-3]。最近报道, 松狮犬、金毛猎犬、拉布拉多猎犬和北京犬一贵宾犬混种的犬种患 COM 疾病的风险增加^[4]。由于犬黑色素瘤细胞向

[收稿日期] 2024-06-05

[基金项目] 上海农林职业技术学院科研课题(KY2-0000-20-10)

[第一作者] 白雪瑞(1992-), 女, 讲师, 主要从事临床兽医、动物微生物等教学及研究工作。E-mail: 18221396682@163.com

*[通信作者] 刘艳海, E-mail: 937739060@qq.com

周围骨骼(如下颌骨和上颌骨)以及周围淋巴结或远处器官的转移率较高,因此 COM 普遍预后不良^[5-6]。数据显示,未经治疗的 COM 患犬中位生存期约为 65 d^[7]。目前,临床治疗 COM 的方法主要为普通的手术刀切除术、化疗或放疗,但治疗效果仍有待提高^[8]。针对老年犬,由于其免疫功能较为低下,治疗难度增大的问题,探索一种新型的治疗老年犬口腔黑色素瘤的方案极为重要。本院通过接诊 1 例伴有炎性的 II 型 COM 老年犬,选用新型的氩氦冷冻消融术治疗方案,探究该方案对老年犬口腔黑色素瘤治疗效果和可行性。现将具体临床诊断与治疗结果报告如下,以期对犬口腔黑色素瘤的诊治提供新的思路。

1 病例基本情况

小型贵宾犬,雄性,16 岁 6 个月,体重 4.1 kg,已去势。主诉:该犬几个月前,开始有流口水现象,后有脓性分泌物,精神一般,吃药一周后症状有好转。

2 临床检查及结果

2.1 一般检查

体况评分 4/5,心率 160 次/min,呼吸频率 20 次/min,肛温 39 °C。同时,该犬精神一般,食欲不振,口腔内有严重牙结石和牙菌斑,此外,如图 1 所示,在下颌偏左侧见肿块,直径约为 3 cm,触诊肿块为中等硬度,并伴有脓性分泌物。其次,心脏听诊有三级心脏病,肺部听诊未发现异常。

2.2 实验室检查

经血常规与生化检查,结果如表 1、2 所示,球蛋白和谷丙转氨酶的数值略微升高,且白细胞数、嗜中性粒细胞数显著升高,其他指标正常。经血涂片镜检观察的结果显示,单核细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞的数量偏低,而叶状嗜中性粒细胞数明显升高,其他血细胞形态、数量正常。以上结果表明,患犬伴有化脓性炎症,符合口腔脓性分泌物的临床症状。



图 1 约 3 cm 的下颌肿块(红色箭头所示)

Fig. 1 Mandibular mass about 3 cm (indicated by red arrow)

表 1 血常规检查的异常结果

Table 1 Abnormal results of routine blood tests

项目	实际值	参考值
球蛋白 GLOB(g/L)	52 ↑	25~45
谷丙转氨酶 ALT(U/L)	127 ↑	10~125

注: ↑ 表示检查结果高于参考值,下同。

表 2 血液生化检查的异常结果

Table 2 Results of blood biochemical tests

项目	实际值	参考值
白细胞数 WBC($10^9/L$)	20.73 ↑	6~17
嗜中性粒细胞数 NEU($10^9/L$)	17.04 ↑	3.2~12.3

2.3 B 超检查

对患犬肝、肾、脾、肾上腺及膀胱等进行 B 超检查。结果显示:肝脏回声均质,边缘锐利;胆囊壁光滑,胆汁充盈,内有中等回声沉积物;肾脏皮髓质分界清晰,包膜光滑,形态规则,CDFI 见血供丰富;脾脏回声不均质,边缘平滑,脾尾锐利;肾上腺形态规则,大小回声未见异常;胃内少量气体,胃壁分层清晰,幽门口通畅;膀胱不充盈,内壁规则,内容物均质无回声。以上结果提示,患犬胆汁淤积,脾脏存脂肪沉积或脾髓脂肪瘤。

2.4 电子断层扫描(CT)增强检查

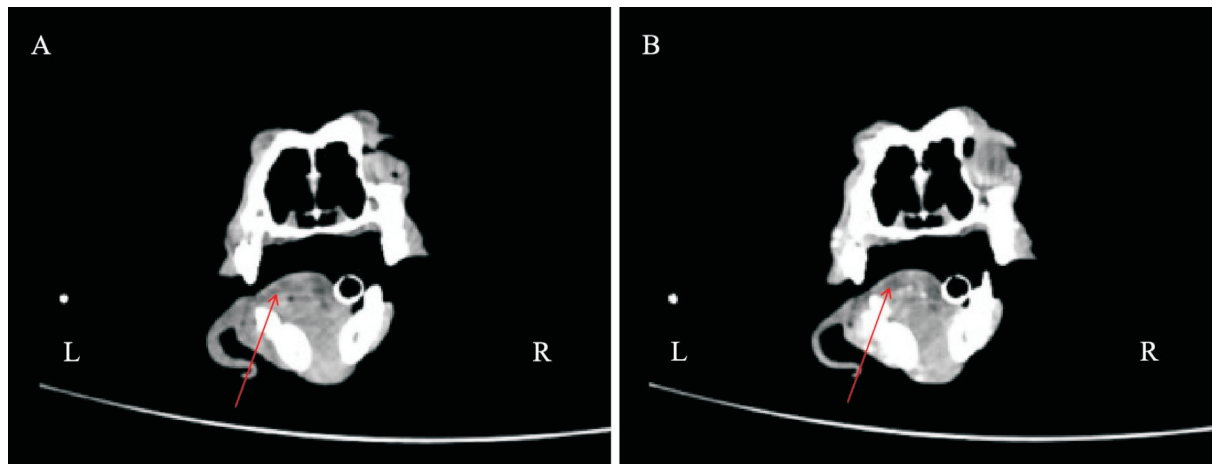
先对患犬头部进行 CT 平扫检查(参数:120 kV、150 mAs;层间距 1.0 mm、间隔 1.0 mm、旋转时间 0.75 s 和准直光束间距 0.938)。以静脉注射碘海醇(600 mg 碘/kg·bw)作为造影,进行 CT 增强检查。结果如图 2A、B 所示,在双侧下颌骨间偏左侧,见一类圆形软组织密度物质,平扫呈等密度结构,边界较为清晰,CT 增强扫描后,组织强化明显。

综合分析以上检查结果,高度怀疑该犬下颌骨为一肿瘤性生长物质,并伴有炎性反应。因发病部位在口腔,易造成饮食障碍,建议先采用氩氦冷冻消融术对肿瘤进行微创手术。加之考虑到牙结石易造成伤口污染,故手术前先清除牙结石和牙菌斑。经主人同意,进行手术治疗。

3 治疗

3.1 术前准备

患犬禁食禁水 6 h,术前 30 min 静脉滴注丙泊酚注射液(5.5 mg/kg·bw)进行麻醉,考虑高龄动物,给药速率降低为 0.55 mg/kg/min,待犬进入麻醉后,经气管插管,异氟烷维持麻醉,同时,静脉滴注复方氯化钠(12 mL/h/kg·bw)和头孢唑啉(用量为 20 mg/kg·bw)混合液。将患犬仰卧保定,利用



A. CT 平扫图;B. CT 增强图(箭头:口腔内下颌中部偏左侧肿物)

图 2 鼻腔鼻咽部 CT 检查

Fig. 2 CT examination of nasal nasopharynx

结石钳和超声波洁牙机清除牙结石,使用牙菌斑试剂和抛光杯去除牙菌斑,清洗消毒其口腔后,用无菌创巾隔离术部,准备手术。在氩氦冷冻消融肿瘤前,选择肿瘤的左侧组织进行采样,送至第三方检测机构(上海兽丘参考实验室)进行病理组织学检查。

3.2 手术过程

根据 CT 结果,选择氩氦刀消融肿瘤的位置和范围。因肿瘤位置特殊,消融范围不能直接穿透整个下颌部位,但需完全覆盖肿瘤,且超出肿瘤边缘 1~2 cm。如图 3 所示,将氩氦探针经下颌皮肤刺入肿瘤组织,通过注入氩气使探针瞬间冷至 -140°C 以下,肿瘤及周边组织变成冰晶物质。随后,通过氦气使探针温度在 20 s 内升至 $20\sim 40^{\circ}\text{C}$,同时,配合使用温盐水冲洗,使组织回温。通过 3 次氩-氦气的反复冷冻消融,增强消融效果,使肿瘤组织完全失活。随后,拔除探针,术部消毒。术中,由于患犬年龄较大,需特别注意麻醉及其监护。

3.3 术后护理

术后,待患犬麻醉作用消退,完全清醒后,禁食 5~6 h,出院。术后 3 d 内,每天一次皮下注射美洛昔康液(用量为 $0.2\text{ mg/kg}\cdot\text{bw}$)和头孢噻呋钠(用量为 $45\text{ mg/kg}\cdot\text{bw}$),口腔碘伏冲洗消毒一次。同时,每天观察肿瘤消退程度,记录一个月,后每 3 个月复查肿瘤有无转移或异常临床表现。

3.4 组织病理学检查

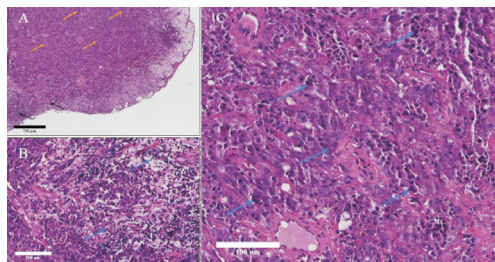
经组织病理学检查,结果如图 4a 所示,见一个无包膜,边界不清的肿瘤性生长结构,被纤维血管间质分隔呈多个小叶或小巢状,浸润并扩张至黏膜固有层。此外,如图 4a、b 所示,在黏膜处可见炎症细胞浸润肿瘤组织,提示患处伴有炎症。如图 4c 所

示,肿瘤细胞呈嗜碱性,具有高度多形性,从圆形、上皮样、三角形不等,且细胞大小显著不等。其中,约 40% 以上肿瘤细胞存在不规则形状的细胞核,少部分瘤细胞的胞浆含少量黑色素颗粒。另外,部分区



图 3 氩氦刀冷冻消融术治疗犬口腔肿瘤

Fig. 3 Argon-helium cryoablation treatment of canine oral melanoma



A. 在肿块内部,肿瘤性细胞组织被纤维血管间质分隔呈多个小叶或小巢状(黄色箭头所示),肿块边缘浸润炎症组织(黑色箭头所示);B 大量的炎症细胞(蓝色箭头所示);C 大量的圆形、上皮样、三角形的多形性肿瘤细胞(蓝色箭头所示)

图 4 口腔肿块组织形态观察(H. E. 染色)

Fig. 4 Photomicrographs of histological findings in oral mass (H. E. staining)

域肿瘤细胞紧密融合,呈现圆形至不规则形状的大细胞核。据统计,瘤细胞有丝分裂指数 >4 个有丝分裂/10个高倍视野(high-power field, HPF)。综合上述组织病理学检查结果,诊断该口腔肿物为恶性黑色素瘤。另外,在检查的肿物组织中,从血管内未见肿瘤细胞。

4 预后

通过氩氦刀消融口腔肿瘤及周边少部分组织,术后20 d复查,犬口腔患处未感染,瘤样软组织显著缩小,脓性分泌物消失,可正常进食。术后3个月复诊,其瘤样软组织基本消退,伤口愈合良好。分别在术后6个月和9个月复诊,该犬身体状况均保持良好,未出现肿瘤转移或异常临床表现。

5 讨论

犬口腔黑色素瘤是最常见的口腔恶性肿瘤类型,通常表现为局部浸润、进展迅速、转移率和复发率高的特点,特别是对老年犬,预后往往严重不良^[9]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将COM分为四期:I期为直径小于2 cm的肿瘤,II期为直径2~4 cm的肿瘤,III期为 >4 cm的肿瘤和/或伴有淋巴转移,IV期为发生远端转移的肿瘤^[10]。因COM的转移率与其分期紧密相关,因此,分期可用于推测肿瘤疾病程度,具有预后意义^[11]。据报道,I期(无转移)、II期(无转移)、III期(有转移)COM的中位生存时间(median survival time, MST)分别约为19个月、6个月、3个月。目前,关于COM的治疗主要有根治性手术切除、放疗(作为主要治疗或辅助治疗)及化疗—放疗的联合治疗^[12]。鉴于临床疗效、技术与费用等因素,国内易被接受和应用于COM的治疗主要为手术疗法,尤其是对于I—II期的COM病例,但临床疗效有限^[13]。因此,探索一项更适用于COM手术治疗的新策略,十分迫切。

近几年,冷冻消融术作为一种安全有效的局部微创治疗技术,被广泛应用于许多类型肿瘤的治疗^[14-15]。冷冻消融术主要包括液体或气体型,其中,以气体为介质的氩氦刀系统在临床中应用最为广泛。该技术基于气体节流效应(焦耳—汤姆逊原理)原理,借助高压氩气迅速膨胀并吸收周围的热量,将局部温度瞬间降至 -140 °C以下,导致肿瘤细胞内外形成冰晶。此时,消融区微血管的闭塞和组织细胞膜的破裂,导致肿瘤细胞缺血和坏死。随后,

通过氩气使探针温度可在20 s内从 -140 °C升高至 $20\sim 40$ °C,进一步加剧肿瘤细胞的损伤。经氩—氦冷冻疗法系统对肿瘤多次冻融,可增加冷冻范围,提高消融效果,并使靶区肿瘤组织失活。目前,氩氦刀冷冻消融术已广泛用于人的肺、肝等组织的肿瘤治疗^[16-17],而该技术对犬等动物的肿瘤治疗报道较少。最新研究表明,CT辅助下,利用氩氦刀技术可消除治疗犬骨肉瘤、鼻腔鳞状细胞癌,且术后恢复均良好^[18-19]。然而,我国尚无关于氩氦冷冻消融术治疗犬口腔黑色素瘤的相关文献报道。

本病例中,根据犬口腔黑色素瘤大小(直径约3 cm)、组织病理学检查结果,及术后9个月未见转移或异常临床表现,表明术前患犬处于II期COM阶段。此外,根据临床与实验室检查结果表明,该犬口腔瘤处伴有炎症反应。同时,考虑到16岁的高龄犬免疫功能较为低下,传统手术对该犬黑色素瘤的治疗难度加大,因此,选用氩氦冷冻术治疗其口腔肿瘤。结果显示,术后20 d,患处显示瘤样软组织显著缩小,炎性分泌物消失;术后3个月,瘤样软组织基本消退,伤口愈合良好;术后9个月,患犬未发生肿瘤复发或转移。结果表明氩氦刀冷冻消融术对老年犬II期COM的疗效良好。总结其优势,主要有以下三点:(1)氩氦冷冻术通过使瘤样靶细胞直接坏死,释放细胞内容物,促进肿瘤来源的自身抗原释放,并激活宿主免疫系统,具有可提高患者免疫功能、延长生存期的优势^[20],因此,该技术更适合免疫力低下的老年犬;(2)术中利用CT辅助监测肿瘤范围,可引导氩氦消融针精准消融区域。此外,使消融区域扩大至肿瘤组织边缘 $1\sim 2$ cm,可显著降低恶性肿瘤扩散复发的概率^[21];(3)本病例中,根据瘤体较大、侵犯程度较深的特点,氩氦消融针治疗的温度和深度较液氮等冷冻技术更为可控。综上所述,新型的氩氦刀冷冻消融术具有安全有效的特点,可作为老年犬口腔黑色素瘤的新型治疗手段,值得在兽医临床推广应用。

参考文献:

- [1] SATTHATHUM C, SRISAMPANE S, JARIYARAN-GSRIRATTANA P, et al. Characteristics of canine oral tumors: Insights into prevalence, types, and lesion distribution[J]. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, 2023, 10(3): 554-562.
- [2] CAMERINO M, GIACOBINO D, MANASSERO L, et al. Prognostic impact of bone invasion in canine oral malignant melanoma treated by surgery and anti-

- CSPG4 vaccination: A retrospective study on 68 cases (2010-2020)[J]. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2022, 20(1):189-197.
- [3] SPANGLER W L, KASS P H. The histologic and epidemiologic bases for prognostic considerations in canine melanocytic neoplasia[J]. *Veterinary Pathology*, 2006, 43(2):136-149.
- [4] WINGO K. Histopathologic diagnoses from biopsies of the oral cavity in 403 dogs and 73 cats[J]. *Journal of Veterinary Dentistry*, 2018, 35(1):7-17.
- [5] WILLIAMS L E, PACKER R A. Association between lymph node size and metastasis in dogs with oral malignant melanoma: 100 cases (1987-2001)[J]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2003, 222(9):1 234-1 236.
- [6] RAMOS-VARA J A, BEISSENHERZ M E, MILLER M A, et al. Retrospective study of 338 canine oral melanomas with clinical, histologic, and immunohistochemical review of 129 cases[J]. *Veterinary Pathology*, 2000, 37(6):597-608.
- [7] HARVEY H J, MACEWEN E G, BRAUN D, et al. Prognostic criteria for dogs with oral melanoma[J]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1981, 178(6):580-582.
- [8] 李家骥, 李格宾. 犬黑色素瘤治疗研究进展[J]. *动物医学进展*, 2019, 40(1):98-101.
LI J J, LI G B. Progress on canine melanoma therapy[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2019, 40(1):98-101.
- [9] ALMELA R M, ANSÓN A. A review of immunotherapeutic strategies in canine malignant melanoma[J]. *Veterinary Sciences*, 2019, 6(1):15.
- [10] BERGMAN P J. Canine oral melanoma[J]. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 2007, 22(2):55-60.
- [11] MENGHINI T L, SCHWARZ T, DANCER S, et al. Contrast-enhanced CT predictors of lymph nodal metastasis in dogs with oral melanoma[J]. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2023, 64(4):694-705.
- [12] KIM K R, KIM D H, JUNG M J, et al. Canine oral melanoma with suspected pulmonary metastasis: Combination of immunotherapy and tyrosine kinase inhibitor treatment[J]. *Veterinari Medicina*, 2023, 68(12):477-482.
- [13] TAGAWA M, AOKI M. Clinical utility of liquid biopsy in canine oral malignant melanoma using cell-free DNA[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2023, 10(20):1-8.
- [14] ZHANG X Y, SUN Y. Argon-helium cryoablation treatment of undifferentiated pleomorphic sarcoma of the thyroid: A case report and literature review[J]. *Journal of Interventional Medicine*, 2023, 6(4):194-198.
- [15] CHENG R W, LI Y, SU L, et al. Clinical effect of cold and heat ablation on patients with advanced lung cancer and its influence on immune function[J]. *American Journal of Translational Research*, 2023, 15(4):2 939-2 948.
- [16] 谭业栋, 张永涛, 张立成, 等. 氩氦刀冷冻消融与微波消融治疗原发性肝细胞癌近期疗效及对免疫功能的影响[J]. *中国介入影像与治疗学*, 2022, 19(10):609-613.
TAN Y D, ZHANG Y T, ZHANG L CH, et al. Short-term effect of Argon-helium cryoablation and microwave ablation for primary hepatocellular carcinoma and impact on immune function[J]. *Chinese Journal of Interventional Imaging and Therapy*, 2022, 19(10):609-613.
- [17] 高梦宇, 周志刚, 王 猛, 等. 射频消融和氩氦刀冷冻消融治疗 I 期非小细胞肺癌的安全性和疗效对比研究[J]. *介入放射学杂志*, 2021, 30(10):1 010-1 014.
GAO M Y, ZHOU ZH G, WANG M, et al. Radiofrequency ablation versus Argon-helium cryoablation for stage I non-small cell lung cancer: A comparison study of safety and efficacy[J]. *Journal of Interventional Radiology*, 2021, 30(10):1 010-1 014.
- [18] 李思玉, 彭进勇, 李艳艳. CT 引导下氩氦刀冷冻消融术治疗犬骨肉瘤病例报告[J]. *吉林畜牧兽医*, 2023, 44(8):161-162.
LI S Y, PENG J Y, LI Y Y. A case report of CT-guided argon-helium knife cryoablation in the treatment of canine osteosarcoma [J]. *Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2023, 44(8):161-162.
- [19] 谢奕行, 吴子峻, 李少川. 应用氩氦刀冷消融技术治疗犬鼻腔鳞状细胞癌病例[J]. *中国兽医杂志*, 2022, 58(11):114-117.
XIE Y H, WU Z J, LI SH CH. Argon-helium knife cold ablation technique was used to treat canine nasal squamous cell carcinoma cases[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2022, 58(11):114-117.
- [20] ZHENG Z, ZHAO Y C, AN Y H, et al. Efficacy of argon-helium cryoablation and its effects on immune function of patients with neck malignant tumours[J]. *Clinical Otolaryngology*, 2021, 46(1):206-212.
- [21] MILOVANCEV M, RUSSELL D S. Surgical margins in the veterinary cancer patient [J]. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2017, 15(4):1 136-1 157.