

微波消融和自体细胞因子诱导的杀伤细胞治疗肝癌的现状与展望*

严舒¹综述, 范德庆^{2△}审校(1. 遵义医学院研究生院 2011 级, 贵州遵义 563003; 2. 重庆市涪陵中心医院肝胆外科 408000)

【关键词】 肝癌; 微波消融; 杀伤细胞

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2014. 02. 055 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)02-0251-03

原发性肝癌(肝癌)是全世界癌症死亡的第三大原因^[1]。在我国每年死于肝癌的患者约 11 万, 其病死率已上升为农村和城市恶性肿瘤病死率的第一位和第一位^[2]。肝癌的有效治疗是临床上所面临的艰巨而又紧迫的难题。近年来, 随着外科微创技术的迅猛发展和生物免疫技术的日趋成熟, 一些新的治疗技术逐渐应用于肝癌的治疗, 并取得了相当的成果。其中消融治疗小肝癌已被广泛接受为肝癌根治性治疗方法之一, 其 5 年生存率同手术切除无明显差异^[3]。1991 年美国斯坦福大学 Schmidt Wolf 等研究发现在多种细胞因子如干扰素(INF)、CD3 单克隆抗体、白细胞介素-1 和白细胞介素-2 作用下外周血淋巴细胞可以被定向诱导并大量增殖成为肿瘤杀伤细胞, 称为细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokines induced killer, CIK)。本文将微波消融(microwave ablation)和 CIK 治疗肝癌的临床研究现状综述如下。

1 微波消融治疗肝癌的相关机制与效应

1.1 微波消融的原理 微波是一种波长为 1 mm 至 1 m, 频率 0.3~3 000 GHz 的电磁波。微波消融治疗肝癌的机制是当微波进入肿瘤组织, 在分子内部以每秒亿万次的速度使微波折射, 产生两极分子循环运动, 相互摩擦产生电介热。肝癌肿瘤血管丰富, 含水量高, 肿瘤微血管易扭曲、狭窄、闭塞, 所以对热的调节差, 微波作用产生的局部高热易被滞留在肿瘤组织内, 在极短时间内产生 65~100 °C 的高温, 使肿瘤组织蛋白质变性, 使肿瘤细胞在极短的时间内发生不可逆的凝固性坏死, 达到原位灭活肿瘤组织的目的。在临床上最常用的是 2 450 MHz 微波消融系统, 而实验证明 915 MHz 微波消融系统较 2 450 MHz 微波消融系统频率较低, 组织中有更深的穿透力, 理论上可达到更大的消融范围^[4]。微波消融系统均包括微波生成器、低耗柔软的同轴电缆及微波天线这 3 个基本配件。磁控管生成微波, 天线通过低耗同轴电缆连接微波生成器, 并且将微波由磁控管传输至组织中, 经微波辐射后, 使组织中带电离子和水分子振荡摩擦产生高热, 细胞中的蛋白质即发生凝固性坏死, 将癌瘤杀灭。

1.2 微波消融的适应证及禁忌证 由于缺乏统一的具体微波仪器型号、厂家、消融器类型、输出功率、方式、时间, 目前微波消融在临床上仍没有统一的适应证及禁忌证。Crocetti 等^[5]指出肝癌消融治疗的适应证应为单发肿瘤, 或数目大于或等于 3 个, 最大直径小于或等于 3 cm 的多发肿瘤, 无血管侵犯或肝外扩散, 肝功能 Child-Pugh 分级为 A 或 B 级。中国《2011 年肝癌局部消融治疗规范的专家共识》^[6]进一步指导肝癌的局部消融适应证: (1) 最大直径小于或等于 5 cm 的单发肿瘤, 或数

目小于或等于 3 个, 最大直径小于或等于 3 cm 的多发肿瘤; (2) 肿瘤无脉管癌栓及邻近器官侵犯; (3) 肝功能 Child-Pugh 分级为 A 或 B 级, 或经内科治疗后达到该标准; (4) 对于手术不能切除的直径超过 5 cm 的单发肿瘤或最大直径超过 3 cm 的多发肿瘤, 局部消融可作为姑息性治疗或联合治疗的一部分。禁忌证: (1) 大块型肝癌或弥漫型肝癌; (2) 肿瘤伴有脉管癌栓或者邻近器官侵犯; (3) 肝功能 Child-Pugh 分级 C 级, 经保肝治疗无改善者; (4) 治疗前 1 个月内有食管(胃底)静脉曲张破裂出血; (5) 不可纠正的凝血功能障碍及严重血象异常, 有严重出血倾向者; (6) 顽固性大量腹水, 恶病质; (7) 活动期感染, 尤其是胆道系统炎症等; (8) 严重的肝、肾、心、肺、脑等主要脏器功能衰竭; (9) 意识障碍或不能配合治疗的患者。相对禁忌证: (1) 第 1 肝门区肿瘤; (2) 肿瘤紧贴胆囊、胃肠、膈肌或突出于肝包膜为经皮穿刺路径的相对禁忌证; (3) 伴有肝外转移的病灶不应视为绝对禁忌, 仍然可以采用局部消融治疗控制肝内病灶情况。

1.3 微波消融治疗肝癌的临床应用 1979 年日本 Tabuse 等将凝固止血用于肝切除术, 这是微波消融最早应用于肝脏外科的记载。1994 年 Seki 等首次报道了将微波消融技术用于治疗肝癌。近年来, 微波消融作为一种治疗肝癌的新型技术大量应用于临床工作中, 并取得了较为令人满意的效果。董宝玮等^[7]报道治疗小肝癌 216 例, 最长的随访时间已超过 10 年, 平均随访时间已近 40 个月, 1、3、5 年生存率分别达 94.87%、80.44% 和 68.63%。Kuang 等^[8]报道了 90 例肝癌应用水循环内冷却微波天线经皮微波消融, 肿瘤大小分组: ≤3.0 cm、>3.0~5.0 cm、>5.0~8.0 cm, 完全消融的成功率分别为 94.0%、91.0%、92.0%, 只有 5.0% 的患者出现消融后近期的局部进展。Liang 等^[9]对 288 例患者中 477 个肝癌结节微波消融治疗, 随访后发现 1~5 年的累计生存率分别为 93%、82%、72%、63% 和 51%。微波消融不仅仅可以单独应用于肝癌的治疗, 也可联合其他治疗方案治疗肝癌。Yang 等^[10]对 35 例患者的 41 个肝癌(病灶小于或等于 3 cm)进行肝动脉化疗栓塞术+微波消融治疗, 发现其中 25 例甲胎蛋白(AFP)治疗前较高者在联合治疗 10 d 后 AFP 明显降低。目前国内外大多数专家均认为, 微波消融是肝癌治疗的有效手段, 微波消融联合其他方法治疗肝癌较单纯的微波治疗更有效, 能更好地提高患者术后的生存质量。

1.4 微波消融治疗肝癌的并发症 Goldberg 等^[11]提出, 影像学引导下的肿瘤消融治疗并发症定义标准中指出主要并发症是指一个并发症如不及时治疗, 可能危及生命, 导致更重大的

* 基金项目: 重庆市涪陵区科学技术计划项目(2012ABB1108)。

△ 通讯作者, E-mail: Flfandeqing@126.com。

发病和残疾或住院时间延长 1 周以上则为主要并发症。微波消融治疗肝癌的并发症包括表现为低热,肝包膜下热消融后术区疼痛、无症状性胸腔积液和腹水,胆囊壁增厚,严重的如血红蛋白尿,胆道损伤,腹腔内出血,动静脉分流、肝脓肿形成,结肠穿孔,电极灼伤,肿瘤种植等。Liang^[12]对 1 136 例肝癌患者的 1 928 个肿瘤进行了微波消融治疗,共计 3 697 次,分析其病死率及治疗相关并发症,其中死亡 2 例(与微波消融治疗无直接关系),严重并发症 30 例(2.6%),从而得出微波治疗肝癌耐受性好,严重并发症发生率低的结论。必要时采用腹腔镜下微波消融治疗,理论上是可供选择的减少严重并发症的有效途径。Jagad 等^[13]报道,经腹腔镜微波凝固肝细胞癌 57 例,治疗期间没有发生严重的并发症,但术后有 4 例患者发生了肝脓肿,2 例行经皮肝穿刺脓肿抽吸术,随访 CT 示病灶消融完全。罕见的并发症如门静脉血栓形成,Kojima 等^[14]报道 1 例微波消融术后门静脉血栓形成给予溶栓治疗后治愈。微波消融微创伤较小、安全性较高,但对于特殊位置的肿瘤,如靠近膈顶、心包、胆道、胃肠道的肿瘤,以及肝功能较差、凝血功能较差的患者,仍具有一定危险性。因此严格掌握适应证,术中注意相邻组织结构的保护,术中对消融进展的仔细评估,手术中、后对病患及时观察,及早发现,积极治疗可以避免和治疗一些严重并发症。

2 CIK 细胞治疗肝癌的相关机制与效应

2.1 CIK 细胞治疗肝癌的原理

CIK 细胞是将来源于外周血中的单核细胞在体外经过多种细胞因子的激活和一段时间培养而获得的一群异质细胞,主要效应细胞的表面标志为 CD3⁺CD56⁺。这种新型的免疫活性细胞具有 T 淋巴细胞强大的抗瘤活性以及自然杀伤细胞的非主要组织相容性复合体(MHC)限制性杀瘤的优点。其主要机制:(1)直接杀伤肿瘤细胞。CIK 细胞通过与肿瘤细胞的直接接触杀伤肿瘤细胞,CIK 细胞能有效到达肿瘤部位,杀伤肿瘤细胞,同时运送使肿瘤细胞裂解的病毒^[15]。(2)分泌多种细胞因子,如白细胞介素-2(IL-2)、肿瘤坏死因子(TNF)等抑制肿瘤细胞,不仅对肿瘤细胞有直接抑制作用,而且还可通过调节免疫系统间接杀伤肿瘤细胞^[16]。(3)诱导肿瘤细胞的凋亡。Verneris 等发现 CIK 细胞在培养过程中表达 FasL 同时还高水平表达 Bcl-2、Bcl-xL 和 survivin 等抗凋亡基因,使 CIK 细胞不仅能抵抗 FasL⁺肿瘤细胞引发的效应细胞 Fas-FasL 凋亡,还可诱导 Fas⁺肿瘤细胞凋亡,从而对肿瘤细胞起到慢性杀伤的作用,保证抗瘤活性的长效持久。

2.2 CIK 细胞治疗肝癌的临床应用

CIK 细胞的经典培养方式是在抽取患者外周血后分离单个核细胞,加入多种细胞因子诱导,经过 15~20 d 的扩增培养,产生大量具有高杀伤活性的 CIK 细胞,然后将这些活性细胞回输到患者体内,使其发挥抗肿瘤作用^[17]。Hui 等^[18]对肝癌切除术 127 例患者进行不同 CIK 细胞治疗研究,显示 CIK I 组(3 次 CIK 细胞回输)、CIK II 组(6 次 CIK 细胞回输)的 1、3、5 年无瘤生存率较对照组(未进行 CIK 细胞回输)提高,说明肝癌术后进行 CIK 细胞回输治疗这方法能够降低术后肝癌患者的复发率。而微创技术联合 CIK 细胞治疗肝癌更是成为了近年来临床研究的热点。Weng 等^[19]对经过肝动脉化疗栓塞联合射频消融术后的 85 例肝癌患者进行了研究,表明 CIK 细胞回输可以减少肝癌复发和提高肝癌患者的存活率。Shi 等^[20]应用 CIK 细胞治疗中、晚期肝癌,治疗后患者外周血中的 DC1 和 DC2 细胞百分比分别从治疗前的(0.59±0.23)%和(0.26±0.12)%升高到(0.85±0.27)%和(0.43±0.19)%,使患者的免疫功能得到改善。

2.3 CIK 细胞治疗肝癌的并发症

CIK 细胞免疫治疗的不良反应从目前报道来看较少,低热是其最常见的不良反应,往往能很快自行消退。

3 微波消融联合自体 CIK 细胞治疗肝癌的展望

由于肝癌细胞特生物学特性,肝癌的高复发和高转移率是在临床工作中无法回避的问题。术后体内可能存在的残余肿瘤细胞,肝癌患者存在严重的免疫抑制现象^[21],各类肝炎病毒及不同程度的肝硬化背景与乙醇、黄曲霉素、烟草、亚硝酸盐、有机溶剂、有机氯杀虫剂、重金属等致病因素的持续存在,导致肝癌的复发率仍处于较高的水平。免疫缺陷被认为是肝癌复发、转移的最危险因素^[22]。Chen 等^[23]指出微波治疗可刺激局部免疫反应,但持续时间较短,这提示微波治疗后有必要进行免疫治疗,进一步巩固和扩大微波治疗后减灭瘤负荷的成果,达到降低和延缓肿瘤复发的目的。如何对术后患者进行巩固性治疗,延长患者的生存时间,降低肝癌复发的概率成为必须去思考的问题。人类对肝癌的治疗,经历了单纯的手术治疗到手术结合化疗、放疗的过程,现在随着科学技术的日趋发展,正进入手术、消融、放疗、化疗、生物治疗、基因治疗等联合治疗的新时代。微波消融与自体 CIK 细胞联合治疗的应用,能否减少肝癌的复发和转移率,提高肝癌患者的生活质量,延迟肝癌患者的生存时间,目前尚没有大样本随机试验及长时间随访观察。探讨微波消融联合生物免疫治疗这一综合疗法治疗肝癌的机制、效应也是下一步研究的问题。

参考文献

- [1] El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(7): 2557-2576.
- [2] Chen JG, Zhang SW. Liver cancer epidemic in China: past, present and future[J]. *Semin Cancer Biol*, 2011, 21(1): 59-69.
- [3] Bruix J, Hessheimer AJ, Forner A, et al. New aspects of diagnosis and therapy of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncogene*, 2006, 25(27): 3848-3856.
- [4] Diederich CJ. Thermal ablation and high-temperature thermal therapy: overview of technology and clinical implementation [J]. *Int J Hyperthermia*, 2005, 21(8): 745-753.
- [5] Crocetti L, de Baere T, Lencioni R. Quality improvement guidelines for radiofrequency ablation of liver tumours [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2010, 33(1): 11-17.
- [6] 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会, 中华医学会肝病学会分会肝癌学组. 肝癌局部消融治疗规范的专家共识[J]. *中华肝脏病杂志*, 2011, 19(4): 257-259.
- [7] 董宝玮, 梁萍, 于晓玲, 等. 超声引导经皮微波消融治疗早期原发性肝癌的远期疗效[J]. *中华医学杂志*, 2006, 86(12): 797-800.
- [8] Kuang M, Lu MD, Xie XY, et al. Liver cancer: increased microwave delivery to ablation zone with cooled-shaft antenna-experimental and clinical studies [J]. *Radiology*, 2007, 242(3): 914-924.
- [9] Liang P, Dong BT, Yu X, et al. Prognostic factors for survival in patients with hepatocellular carcinoma after percutaneous microwave ablation [J]. *Radiology*, 2005, 235

- (1):299-307.
- [10] Yang WZ, Jiang N, Huang N, et al. Combined therapy with transcatheter arterial chemoembolization and percutaneous microwave coagulation for small hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(6): 748-752.
- [11] Goldberg SN, Grassi CJ, Cardella JF, et al. Image-guided tumor ablation; standardization of terminology and reporting criteria[J]. Radiology, 2005, 235(3): 728-739.
- [12] Liang P, Wang Y, Yu X, et al. Malignant liver tumors: treatment with percutaneous microwave ablation-complications among cohort of 1136 patients [J]. Radiology, 2009, 251(3): 933-940.
- [13] Jagad RB, Koshariya M, Kawamoto J, et al. Laparoscopic microwave ablation of liver tumors: our experience [J]. Hepatogastroenterology, 2008, 55(81): 27-32.
- [14] Kojima Y, Suzuki S, Sakaguchi T, et al. Portal vein thrombosis caused by microwave coagulation therapy for hepatocellular carcinoma; report of a case [J]. Surg Today, 2000, 30(9): 844-848.
- [15] Thorne SH, Negrin RS, Contag CH. Synergistic antitumor effects of immune cell-viral biotherapy [J]. Science, 2006, 311(5768): 1780-1784.
- [16] Joshi PS, Liu JQ, Wang Y, et al. Cytokine-induced killer T cells kill immature dendritic cells by Tcr-independent and perforin-dependent mechanisms [J]. J Leukoc Biol, 2006, 80(6): 1345-1353.
- [17] Zhou P, Liang P, Dong B, et al. Phase clinical study of combination therapy with microwave ablation and cellular immunotherapy in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Biol Ther, 2011, 11(5): 450-456.
- [18] Hui D, Qiang L, Jian W, et al. A randomized, controlled trial of postoperative adjuvant cytokine-induced killer cells immunotherapy after radical resection of hepatocellular carcinoma [J]. Dig Liver Dis, 2009, 41(1): 3641-3646.
- [19] Weng DS, Zhou J, Zhou QM, et al. Minimally invasive treatment combined with cytokine induced killer cells therapy lower the short-term recurrence rates of hepatocellular carcinomas [J]. J Immunother, 2008, 31(1): 63-71.
- [20] Shi M, Zhang B, Rong Z, et al. Autologous cytokine-induced killer cell therapy inclinal trial phase I is safe in patient with primary hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(8): 1146-1151.
- [21] Song EY, Shin Y, Roh EY, et al. Serum HBsAg levels during peginterferon alpha-2a treatment with or without thymosin alpha-1 in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients [J]. J Med Virol, 2011, 83(1): 88-94.
- [22] Maksan SM, Araib PM, Ryschich E, et al. Immune escape mechanism: defective resting and stimulated leukocyte-endothelium interaction in hepatocellular carcinoma of the rat [J]. Dig Dis Sci, 2004, 49(5): 859-865.
- [23] Chen J, Huang X, Huang G, et al. Preconditioning chemotherapy with Cisplatin enhances the antitumor activity of cytokine induced killer cells in a murine melanoma model [J]. Cancer Biother Radiopharm, 2012, 27(3): 210-220.

(收稿日期:2013-07-10 修回日期:2013-09-29)

生化检验影响因素的研究进展

白洁 综述, 张全华 审校(兰州军区兰州总医院安宁分院检验科, 兰州 730070)

【关键词】 样品管; 标本溶血; 放置时间; 生化检验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.02.056 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)02-0253-03

随着临床检验学的发展,生化检验必须要有准确、可信的结果。检验报告的准确性衡量着检验实验室的专业水准。从技术层面上,实验室可以采取室内的质量监控系统最大限度地降低因为操作环节、试剂和测量器材性能方面导致的偏倚。实验室内质量监控系统也是现今考量一个检验实验室测量水准高低的关键指标^[1-2]。临床医学和检验学结合日益紧密,尤其是生化检测在疾病诊断、动态检测疾病发展、预测疾病治疗效果方面起到愈来愈重要的作用。因此,临床检验室能否快速、准确、有效地反映机体各种生化指标的情况对临床的指导意义很大。但是,在检验学的实践中,客观的生化检验结果固然重要,但是研究者也不能忽视可能影响生化结果的其他原因^[3-4]。本次研究系统总结标本因素对生化检验结果准确性的影响,从采集标本管不统一现象、各种导致标本溶血因素以及标本放置时间对生化检验结果的影响进行分析,同时还考虑患者的生理因素、试剂因素及仪器因素等对生化检验结果的影响,现综述如下。

1 标本采集

1.1 样品管 采集血液标本需要相应的样品管。不同医院的检验科室往往采用不同类型的样品管。这是影响生化检验结果的第一个考虑的因素。余玉群^[5]的研究指出当前国内临床生化检验所使用的采血管没有规范化的统一标准。有的科室采用自行清洗可以循环使用的玻璃采集管。有的科室采用一次性的塑料试管。也有不少科室选择真空管,但各家使用的真空管也没有行业内的可执行标准。还有一些科室采用的真空管附加了抗凝剂。在使用过程中都有一定的问题。最为显著的是多次循环使用的玻璃试管。Rothwell等^[6]研究发现一旦清洗不够彻底,可能残留的物质会干扰实验过程,引起测量结果的偏差。一次性塑料试管收集血液标本,由于没有抗凝剂的作用,标本得自然凝固析出血清,从而容易造成被检成分的改变。如血糖的检测,钾离子的测定。真空管由于抗凝剂的成分不同对试验项目的不同影响也不同,而且抗凝管种类较多也给工作带来不便,容易造成错误。