

不可逆电穿孔治疗肝脏恶性肿瘤的研究进展

赵建军 张业繁 茅 锐 李腾雁 赵 宏 毕新宇 李智宇 黄 振 魏哲文 蔡建强



〔作者简介〕 赵建军, 目前任职于国家癌症中心、国家肿瘤临床医学研究中心、中国医学科学院/北京协和医学院肿瘤医院肝胆外科, 主任医师, 硕士生导师。在国际肝胆胰协会中国分会、中国抗癌协会临床肿瘤学会(CSCO)、中国医促会肝脏肿瘤分会等 10 余个学会社会任职; 同时担任中国教育部科技司科技管理信息系统专家库专家、国家药品监督管理局医疗器械技术审评专委会委员及评审中心专家等。参加国家高技术研究发展计划(“863”计划)项目、国家自然科学基金资助项目、科技部重大专项基金资助项目等 20 余项课题。

摘 要 传统热消融如射频消融(radiofrequency ablation, RFA)、微波消融(microwave ablation, MWA)等容易损伤肿瘤周围脉管系统, 在临近血管和(或)胆管的恶性肿瘤患者中的应用受到很大限制。非热消融治疗——不可逆电穿孔(irreversible electroporation, IRE)消融技术作为一种新兴的治疗手段, 具有保护血管和胆管的特点, 因此在肝脏特殊部位恶性肿瘤治疗中展现出巨大的应用前景。本文将阐述 IRE 治疗临近血管和(或)胆管恶性肿瘤的研究进展, 总结 IRE 的适应证范围、优势与局限性以及未来发展趋势。

关键词 肝恶性肿瘤 不可逆电穿孔 非热消融治疗

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.01.001

原发性肝癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一, 是我国排名第 4 位的最常见恶性肿瘤及第 3 位的肿瘤致死病因^[1]。局部消融治疗能使因各种原因不适于手术切除的肝癌患者获得治疗的机会, 部分患者甚至可取得与手术切除相同或更好的治疗效果^[2-4]。常见的热消融手段如射频消融(radiofrequency ablation, RFA)、微波消融(microwave ablation, MWA)等具有创伤小、临床效果确切等优点, 因此局部热消融治疗在肝癌中的应用受到广泛认可^[5]。然而, RFA 和 MWA 等在消融过程中产生的高温对周围组织造成无差别的广泛破坏, 损伤消融区域内的管道系统和神经等重要组织, 同时还存在着血液循环引起的“热沉效应”, 使得热消融治疗在临近血管和(或)胆管的肿瘤中应用受到很大限制^[6,7]。

不可逆电穿孔(irreversible electroporation, IRE)是非热消融治疗, 通过电极之间的陡脉冲直流电使细

胞膜产生纳米级的不可逆孔径, 所以这项技术又被称为纳米刀(nano knife), 高压脉冲使电极之间的细胞发生凋亡但不损失结缔组织、弹性纤维和胶原纤维, 细胞凋亡后产生的细胞碎片被吞噬细胞吞噬^[8]。IRE 消融治疗使肿瘤细胞发生凋亡但不会损伤临近的神经、血管和胆管, 由于其消融不依靠高温杀伤肿瘤细胞, 故不会产生“热沉效应”^[9,10]。因此, IRE 消融技术在治疗特殊部位肝癌中展现出巨大的应用前景。本文将对 IRE 治疗临近血管和(或)胆管恶性肿瘤的临床和基础研究进展进行阐述, 总结 IRE 的适应证范围、优势与局限性以及未来发展趋势。

一、基础研究进展

多项动物实验研究表明肝脏组织在 IRE 消融后 90min ~ 2h 开始出现细胞凋亡迹象, 并一直持续至消融后 24h, 肝脏消融区域内组织开始被纤维组织替代^[11-13]。利用裸鼠皮下移植瘤模型, 有研究者通过免疫组化和 MRI 观察 IRE 消融后肿瘤组织随时间的变化, 结果显示消融区域边缘活细胞在消融后 24h 凋亡率达到峰值^[14]。消融后 24h 血管未见明显变化, 消融后 7 天动脉中膜血管平滑肌细胞数量明显减少, 中膜最内层可见凋亡细胞, 中膜逐渐被成纤维细胞和纤维化的胶原组织所取代^[13]。虽然 IRE 消融区域内血管结构发生变化, 但是并不影响周围组织血供情

基金项目: 国家卫生和计划生育委员会医药卫生科技发展研究中心项目(W2017NK02); 首都卫生发展科研专项项目(首发 2018-1-4021)

作者单位: 100021 国家癌症中心、国家肿瘤临床医学研究中心、中国医学科学院/北京协和医学院肿瘤医院肝胆外科

通讯作者: 蔡建强, 教授, 博士生导师, 电子信箱: caijianqiang@cicams.ac.cn; 魏哲文, 电子信箱: zhewenwei100@163.com

况,表明 IRE 消融可以起到保护血管作用。Chen 等^[15]对小鼠和猪的肝脏进行 IRE 消融,消融区域内细胞发生凋亡,从而导致巨噬细胞浸润进一步杀灭肿瘤,同时分泌 IL-4、IL-12、IFN- γ 等细胞因子增多刺激产生局部和全身免疫反应,利于宿主生存。Choi 等^[16]在实验猪模型上观察 IRE 对肝门胆管的影响,研究发现当电极不接触胆管且距离胆管 $\geq 3\text{mm}$ 时能够避免胆管损伤和狭窄,并且电极位置在胆管同侧时胆管发生损伤的概率明显低于电极在胆管两侧,电极与胆管和肿瘤的相对位置对于 IRE 消融的有效性和安全性至关重要。一种新型的高频 IRE 系统在实验猪模型上进行了研究,结果表明该系统不受血管和胆管位置的影响,对组织可进行快速重复消融且对电极附近的内皮细胞损伤较小,高频 IRE 在临床应用的可行性和对长期生存预后的影响尚需进一步研究^[17]。

二、临床研究进展

近年来,随着 IRE 消融技术在肝癌治疗中广泛开展,国内外研究者更加关注 IRE 治疗特殊部位肝恶性肿瘤的有效性和安全性并进行了深入的研究,取得了较好的观察和评估结果。国内一项研究表明 IRE 治疗肝门部肝癌的完全消融率和局部复发率均与外科手术效果接近,研究者在超声引导下经皮穿刺或腹腔镜或开腹对位于主要胆管及门静脉旁 0.5cm 内的肿瘤病灶进行消融,肿瘤直径 $1.0 \sim 4.4\text{cm}$,平均直径为 2.2cm ,电极针尖暴露 2cm ,电极之间针距 2cm ,术后平均随访 22 个月统计分析发现消融区域邻近的血管、胆管、胆囊或胃肠道均未出现损伤或相关并发症,完全消融率为 91.4% ,局部复发率仅为 6.2% ^[18]。此项研究中,作者在消融后直接拔除电极针,未对针道进行消融,随访亦未提及针道转移情况。Distelmaier 等^[19]对 29 例肝癌患者共 43 个肿瘤病灶(8 个原发灶和 35 个转移灶)进行 CT 引导下经皮 IRE 消融治疗,肿瘤直径为 $6.40 \pm 11.39\text{ml}$,肿瘤病灶均临近肝静脉主干和(或)门静脉分支且距离 0.5cm 内,电极针尖暴露中位值 1.5cm ($1 \sim 2\text{cm}$),电极之间针距中位值 2cm ($1.0 \sim 2.5\text{cm}$),平均随访 24 个月,研究结果表明肿瘤完全消融率为 93% ($40/43$),所有临近肿瘤的周围血管均保持良好灌注,在 40 个完全消融的肿瘤病灶中只有 2 个肿瘤出现病灶内复发,但有 11 个病灶出现针道播种转移,针道转移率为 26% ($11/43$)^[20]。本研究中 IRE 针道种植转移率明显高于射频消融,一方面可能与 IRE 电极数目多有关,当

肿瘤较大,电极较多时,电极接触到肿瘤的概率增加;另一方面可能是针道消融方式不同导致肿瘤播散。目前,IRE 针道播种转移尚不明确,是否对针道进行消融以及选择逐步消融进针还是逐步退针消融仍存在分歧,需要更多的临床研究证据。IRE 参数标准是电极之间距离 $\leq 2.5\text{cm}$,当肿瘤最大径 $\leq 2.5\text{cm}$ 时,理论上电极不会穿刺到肿瘤组织,故不会发生针道转移,无须对针道进行消融以免损伤正常肝组织;当肿瘤最大径 $> 2.5\text{cm}$,电极有可能穿刺进入肿瘤病灶,发生针道转移的概率大大增加,此时应对针道消融防止种植转移发生。此外,消融前肿瘤穿刺活检是 IRE 获得病理的唯一途径,最新研究表明肝癌穿刺活检针道种植转移率为 0.23% ^[21]。虽然穿刺针道转移率很低,但无瘤原则下应该对穿刺针道进行消融,确保 IRE 消融的有效性。

目前,IRE 消融有效性的评估主要依赖术后 CT 或 MRI 观察消融范围、肿瘤坏死情况以及管道系统完整性,随访时间通常为 1 周、1 个月、3 个月、6 个月、1 年。术中超声或即刻超声造影可以及时观察消融效果,以便调整消融参数。IRE 消融病灶 30min 后术中超声显示消融区域内无细胞结构肝组织,表明消融区域内已无存活的肿瘤细胞。Stutter 等^[22]对 58 例肝细胞肝癌患者共 75 个肿瘤病灶进行 IRE 消融治疗,其中 47 个肿瘤病灶位于肝门部,肿瘤直径 $0.6 \sim 9.0\text{cm}$,中位值为 2.4cm ;中位随访时间 9 个月发现 92% ($69/75$)的肿瘤病灶达到完全消融,并且主胆管及肝血管结构无附带损伤,研究发现甲胎蛋白与消融后的无进展生存期具有相关性,这表明甲胎蛋白可以作为预测患者 IRE 消融治疗预后的指标。ctDNA 包含肿瘤基因组概况的全面信息,包括单核苷酸变异、拷贝数变异和表观遗传变异等,以 ctDNA(circular tumor DNA)为生物学标志物的液体活检技术是评估肝癌患者预后风险的重要手段,ctDNA 是预测 IRE 治疗的患者复发转移的潜在标志物,用以指导患者进行术后辅助治疗,但目前尚缺乏与 IRE 相关的 ctDNA 研究^[23,24]。

在有关 IRE 并发症的研究中,Dollinger 等^[25]研究发现, 9.9% 消融区域内或邻近的静脉在术后 3 天出现血栓或狭窄,但是平均随访 5.7 个月后有不到 5% 的静脉依然存在血栓或狭窄。这表明 IRE 消融邻近的静脉不受 IRE 消融过程的影响,几乎不会发生血栓或狭窄。该作者的另一项研究发现 IRE 消融区域内或邻近的胆管损伤发生率达 27.3% ,肝门部

胆管损伤和其他位置胆管损伤的发生率无明显差别,但是随着时间推移,损伤的胆管都恢复正常^[26]。虽然 IRE 消融不产生热沉效应,但是由于电压、脉冲长度、电极间距等因素的影响,电极针尖产生热量并扩散到四周,当电极放置不平行时温度分布不均匀,温度集中在电极间距最小的区域,热损伤胆管可导致胆管狭窄,进而可导致胆汁淤积、感染和肝萎缩,而血管的热损伤可导致暂时性或永久性的血管血栓形成^[27,28]。

通常情况下,IRE 不适用于体内金属置入物靠近肿瘤的患者。一方面,金属置入物会影响电场分布导致肿瘤消融区域改变,影响消融效果;另一方面,电流通过金属置入物时产生热量,导致组织热损伤。研究者们对此不断进行研究发现,IRE 不会对金属置入物进行明显地直接加热,但会导致电极周围温度升高并且消融区域残留有活组织。因此,仪器制造商规定消融区存在金属置入物是 IRE 的绝对禁忌,这就导致前期使用金属支架的肝门部胆管癌患者无法选择 IRE 治疗。但是,Melenhorst 等^[29]报道 1 例 IRE 成功治疗姑息性金属支架置入后肝门部胆管癌无法切除的患者,术后 1 年无局部肿瘤进展或转移且未发现支架相关并发症,可能原因是金属电导率增加使得消融区域更完整,高温可以杀灭肿瘤细胞并增强局部免疫反应,但当金属支架延伸至十二指肠时,局部产热可能会损伤到十二指肠肠壁,应避免使用 IRE。目前,临床对此仍然存在争议,其安全性和有效性仍需要进一步研究。

三、临床应用争议

IRE 治疗费用昂贵,目前仅推荐用于不适合传统热消融的患者。IRE 治疗对患者身体状况和适应证都要求严格,需要患者具备良好的心肺功能,因此必须对患者进行全面术前检查和评估,肿瘤位置特殊的患者应该进行肝脏三维重建,明确肿瘤与门静脉主干至三级分支,肝静脉一、二级分支,胆管一、二级分支之间的位置关系;IRE 适用于治疗 $<3\text{cm}$ 的肿瘤,消融的肿瘤与传统热消融相比较小^[30]。当电极数超过两根时,置针难度大大提升,由于置针难度较高且必须平行布针,要求术者必须具备较高的布针技术、扎实的肝脏管道系统解剖知识和丰富的肝脏超声或 CT 操作经验。由于第一、二、三肝门的解剖结构复杂,胆管、门静脉和肝动脉的距离较近,IRE 可能产生严重的并发症包括胆汁漏、胆管狭窄、迟发性出血以及门静脉或肝动脉附壁血栓形成等^[31]。虽然电场不损伤

脉管系统纤维组织,但是可能会破坏血管内皮细胞从而导致附壁血栓形成。根据笔者的临床实践经验,当血管被电极穿过或位于电极之间时,大量红细胞被破坏可能会出现溶血性贫血,可能会出现一过性血尿和血红蛋白、血小板计数下降等现象,术后应注意观察尿液颜色变化并监测患者血红蛋白水平以便及时纠正。这提醒术者在置针时不能将电极穿刺进入胆管或血管等管道系统,避免产生严重的术后并发症。

四、展望

IRE 消融技术属于非热能消融技术,电场不会产生热量,但是可以使细胞膜产生纳米微孔导致细胞发生凋亡而非坏死,达到杀灭消融区域细胞目的,同时具有保留细胞外基质、血管、胆管及神经结构等优点,在治疗肝门部及特殊疑难部位恶性肿瘤中展现出良好的应用前景,让这类患者有了安全有效的治疗选择,是传统热消融无法治疗临近血管危险部位肝癌、多肿瘤病灶、严重肝硬化的重要补充,最大限度减少正常肝组织损伤,确保术后恢复。IRE 消融技术填补了外科手术和传统消融治疗困难的肝脏肿瘤,因此临床使用需要医生严格把握 IRE 消融适应证,发挥其最大优势。

随着 IRE 消融技术被更多的临床医生熟练掌握,其临床应用价值和疗效会进一步提升,在影像学引导下进行 IRE 治疗,具有以下优点:①术中定位准确,局部消融疗效确切,消融边界清晰;②消融时间短,工作效率高;③消融区的重要管道组织得以保留,因此消融区组织结构可以恢复;④不受热沉效应影响,是传统热消融及外科手术良好的补充;⑤工作电极较细,局部穿刺损伤小,并发症发生率低于传统热消融;⑥消融效果评价时间缩短,更加容易评价消融效果;⑦使细胞凋亡而非蛋白质变性坏死,可以诱发免疫反应,针对这一特点临床可以结合放疗或者免疫检查点抑制剂联合使用,改善远期疗效。当然 IRE 尚有许多未知领域需要探索,是否常规进行术前穿刺活检明确肿瘤性质,如果术前穿刺活检结果是胆管细胞癌或混合性肝癌,是否需要行肝门部淋巴结清扫,如果需要进行肝门部淋巴结清扫该如何选择术式:先经皮消融再开腹清扫或开腹下消融后清扫或腹腔镜下消融后清扫以及如何避免针道转移,当肿瘤直径 $\leq 3\text{cm}$ 时,临床治疗效果是否等同于外科手术切除或者传统消融治疗效果等,这些问题还需要设计良好的前瞻性临床研究来解决。

参考文献

- 1 Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China,

- 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115 – 132
- 2 European Association for the Study of the Liver. Electronic address E E. Corrigendum to "EASL clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma" [J]. J Hepatol, 2019, 70(4): 817
- 3 Min JH, Kang TW, Cha DI, *et al.* Radiofrequency ablation versus surgical resection for multiple HCCs meeting the Milan criteria: propensity score analyses of 10 – year therapeutic outcomes [J]. Clin Radiol, 2018, 73(7): 676, e15 – e24
- 4 Jiang L, Yan L, Wen T, *et al.* Comparison of outcomes of hepatic resection and radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma patients with multifocal tumors meeting the barcelona – clinic liver cancer stage A classification [J]. J Am Coll Surg, 2015, 221(5): 951 – 961
- 5 黄小准, 黄璋侃, 周厚宏, 等. 热消融在肝脏恶性肿瘤的临床应用进展 [J]. 肝癌电子杂志, 2018, 5(4): 20 – 25
- 6 Fang C, Cortis K, Yusuf GT, *et al.* Complications from percutaneous microwave ablation of liver tumours: a pictorial review [J]. Br J Radiol, 2019, 92(1099): 20180864
- 7 Fonseca AZ, Saad WA, Ribeiro MA Jr. Complications after radiofrequency ablation of 233 hepatic tumors [J]. Oncology, 2015, 89(6): 332 – 336
- 8 Deipolyi AR, Golberg A, Yarmush ML, *et al.* Irreversible electroporation: evolution of a laboratory technique in interventional oncology [J]. Diagn Interv Radiol, 2014, 20(2): 147 – 154
- 9 Martin RC, Kwon D, Chalikonda S, *et al.* Treatment of 200 locally advanced (stage III) pancreatic adenocarcinoma patients with irreversible electroporation: safety and efficacy [J]. Ann Surg, 2015, 262(3): 486 – 494, discussion 92 – 94
- 10 Niessen C, Thumann S, Beyer L, *et al.* Percutaneous irreversible electroporation: long – term survival analysis of 71 patients with inoperable malignant hepatic tumors [J]. Sci Rep, 2017, 7: 43687
- 11 Faroja M, Ahmed M, Appelbaum L, *et al.* Irreversible electroporation ablation: is all the damage nonthermal? [J]. Radiology, 2013, 266(2): 462 – 470
- 12 Ben – David E, Ahmed M, Faroja M, *et al.* Irreversible electroporation: treatment effect is susceptible to local environment and tissue properties [J]. Radiology, 2013, 269(3): 738 – 747
- 13 Vogel JA, Van Veldhuisen E, Agnass P, *et al.* Time – dependent impact of irreversible electroporation on pancreas, liver, blood vessels and nerves: a systematic review of experimental studies [J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166987
- 14 Kim HB, Sung CK, Baik KY, *et al.* Changes of apoptosis in tumor tissues with time after irreversible electroporation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 435(4): 651 – 656
- 15 Chen X, Ren Z, Yin S, *et al.* The local liver ablation with pulsed electric field stimulate systemic immune reaction against hepatocellular carcinoma (HCC) with time – dependent cytokine profile [J]. Cytokine, 2017, 93: 44 – 50
- 16 Choi JW, Lu DS, Osuagwu F, *et al.* Assessment of chronological effects of irreversible electroporation on hilar bile ducts in a porcine model [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2014, 37(1): 224 – 230
- 17 Siddiqui IA, Kirks RC, Latouche EL, *et al.* High – frequency irreversible electroporation: safety and efficacy of next – generation irreversible electroporation adjacent to critical hepatic structures [J]. Surg Innov, 2017, 24(3): 276 – 283
- 18 黄凯文. 履险如夷之纳米刀肝癌消融 [J]. 肝癌电子杂志, 2015, 2(2): 36 – 41
- 19 Distelmaier M, Barabasz A, Heil P, *et al.* Midterm safety and efficacy of irreversible electroporation of malignant liver tumors located close to major portal or hepatic veins [J]. Radiology, 2017, 285(3): 1023 – 1031
- 20 Fredericks C, Arslan B, Mullane M, *et al.* Needle tract seeding following irreversible electroporation (IRE) of metastatic colorectal carcinoma to the liver [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2015, 38(5): 1349 – 1351
- 21 Chen QW, Cheng CS, Chen H, *et al.* Effectiveness and complications of ultrasound guided fine needle aspiration for primary liver cancer in a Chinese population with serum alpha – fetoprotein levels $\leq$ 200ng/ml——a study based on 4,312 patients [J]. PLoS One, 2014, 9(8): e0101536
- 22 Sutter O, Calvo J, N'kontchou G, *et al.* Safety and efficacy of irreversible electroporation for the treatment of hepatocellular carcinoma not amenable to thermal ablation techniques: a retrospective single – center case series [J]. Radiology, 2017, 284(3): 877 – 886
- 23 Cai Z, Chen G, Zeng Y, *et al.* Comprehensive liquid profiling of circulating tumor DNA and protein biomarkers in long – term follow – up patients with hepatocellular carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(17): 5284 – 5294
- 24 Cai ZX, Chen G, Zeng YY, *et al.* Circulating tumor DNA profiling reveals clonal evolution and real – time disease progression in advanced hepatocellular carcinoma [J]. Int J Cancer, 2017, 141(5): 977 – 985
- 25 Dollinger M, Muller – Wille R, Zeman F, *et al.* Irreversible electroporation of malignant hepatic tumors – alterations in venous structures at subacute follow – up and evolution at mid – term follow – up [J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0135773
- 26 Dollinger M, Zeman F, Niessen C, *et al.* Bile duct injury after irreversible electroporation of hepatic malignancies: evaluation of MR imaging findings and laboratory values [J]. J Vasc Interv Radiol, 2016, 27(1): 96 – 103
- 27 Kang TW, Lim HK, Cha DI. Percutaneous ablation for perivascular hepatocellular carcinoma: refining the current status based on emerging evidence and future perspectives [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(47): 5331 – 5337
- 28 Van Den Bos W, Scheffer HJ, Vogel JA, *et al.* Thermal energy during irreversible electroporation and the influence of different ablation parameters [J]. J Vasc Interv Radiol, 2016, 27(3): 433 – 443
- 29 Melenhorst MC, Scheffer HJ, Vroomen LG, *et al.* Percutaneous irreversible electroporation of unresectable hilar cholangiocarcinoma (klatskin tumor): a case report [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2016, 39(1): 117 – 121
- 30 Vroomen L, Petre EN, Cornelis FH, *et al.* Irreversible electroporation and thermal ablation of tumors in the liver, lung, kidney and bone: what are the differences? [J]. Diagn Interv Imaging, 2017, 98(9): 609 – 617
- 31 Coelen RJS, Vogel JA, Vroomen L, *et al.* Ablation with irreversible electroporation in patients with advanced perihilar cholangiocarcinoma (ALPACA): a multicentre phase I/II feasibility study protocol [J]. BMJ Open, 2017, 7(9): e015810

(收稿日期: 2019 – 11 – 11)

(修回日期: 2019 – 11 – 13)