Progress of ultrasound-guided thermal ablation combined with immune checkpoint inhibitors for treating hepatocellular carcinoma

WANG Fei[1,2], ZHOU Zubang[1,2*]

(1. Graduate School, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;
2. Department of Ultrasound, Gansu Provincal Hospital, Lanzhou 730000, China)

[**Abstract**] Ultrasound-guided thermal ablation has become an important method for treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) due to its advantages of minimally invasive and less complications, which not only has curative effect, but also can enhance the anti-tumor immune response of patients. However, as a local treatment, tumor recurrence has become the primary problem affecting curative effect of thermal ablation. In recent years, immunotherapy combined with local therapy has exhibited great exploration value with the emergence of immune checkpoint inhibitors. The advancements of ultrasound-guided thermal ablation combined with immune checkpoint inhibitors in treatment of HCC were mainly reviewed in this article.

[**Keywords**] carcinoma, hepatocellular; ultrasonography; thermal ablation technique; immune checkpoint
DOI: 10.13929/j.1672-8475.201905038

超声引导下热消融联合免疫检查点抑制剂治疗肝细胞癌研究进展

王 菲[1,2], 周祖邦[1,2*]

(1. 甘肃中医药大学研究生院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院超声医学科, 甘肃 兰州 730000)

[**摘 要**] 超声引导下热消融因其微创、并发症少等优点已成为治疗肝细胞癌(HCC)的重要手段之一, 不仅疗效确切, 而且能够增强抗肿瘤免疫反应; 但作为局部治疗手段, 复发是影响其疗效的首要问题。近年来, 免疫检查点抑制剂的出现, 使得免疫联合局部治疗极具探索价值。本文主要针对超声引导下热消融联合免疫检查点抑制剂治疗 HCC 研究进展进行综述。

[**关键词**] 癌, 肝细胞; 超声检查; 热消融技术; 免疫检查点
[**中图分类号**] R735.7; R815; R445.1 [**文献标识码**] A [**文章编号**] 1672-8475(2019)11-0700-04

肝细胞癌(hepatocellular cancer, HCC)是全球主要健康问题之一, 为造成世界范围癌症相关死亡的第 3 大常见原因[1], 在我国临床恶性肿瘤中发病率高居第 3 位[2]。引发 HCC 的病因较多, 主要包括乙型肝炎、丙型肝炎、非酒精性脂肪性肝炎、酗酒和肥胖等。临床治疗 HCC 以手术切除、局部治疗和系统治疗为主, 对早期 HCC 可行手术干预或肝移植, 而晚期 HCC 患者大多由于伴有严重肝功能障碍、身体状况较差而失去手术切除机会, 且往往难以耐受全身化疗[2], 迫切需要新的 HCC 治疗策略。超声引导下热消融治疗具有侵袭性小、操作简便、疗效好、不良反应少等优点, 治疗后患者 5 年生存率与外科手术切除相似[3]。目前用

[**第一作者**] 王菲(1992—), 女, 甘肃兰州人, 在读硕士。研究方向: 介入超声。E-mail: 1115854196@qq.com
[**通信作者**] 周祖邦, 甘肃中医药大学研究生院, 730000; 甘肃省人民医院超声医学科, 730000。E-mail: zzbxjh@126.com
[**收稿日期**] 2019-05-22 [**修回日期**] 2019-07-03

于治疗 HCC 的常见热消融治疗方式包括微波消融（microwave ablation，MWA）、射频消融（radiofrequency ablation，RFA）及聚焦超声（focused ultrasound，FUS）等，主要通过物理作用破坏肿瘤细胞，并使肿瘤抗原成为原位癌症疫苗[4]，继而引发系统性抗肿瘤免疫反应，影响并可能消除隐匿的转移性肿瘤[5]。近年来，细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4（cytotoxic T-lymphocyte antigen 4，CTLA-4）和程序性细胞死亡蛋白-1（programmed cell death-1，PD-1）等免疫检查点抑制剂已在治疗多种恶性肿瘤中获得良好疗效，热消融技术和免疫疗法在治疗 HCC 时的潜在协同作用有望解除肿瘤免疫抑制、增强长期的系统性抗肿瘤免疫[6]，使之逐渐成为研究热点。本文主要就超声引导下热消融及免疫检查点抑制剂治疗 HCC 的研究进展进行综述。

1 HCC 的免疫抑制机制

肝脏作为处理消化道吸收的营养物质和分子的主要脏器，可以识别并清除细菌、病毒等病原体，且防止过激的炎症反应对机体造成损伤。对 HCC 的免疫是错综复杂的过程，主要包括肿瘤相关抗原（tumor associated antigens，TAAS）释放、抗原提呈细胞（antigen presenting cells，MHC）提呈 TAAS、免疫细胞启动和激活、T 细胞向肿瘤组织迁徙、肿瘤组织 T 细胞浸润、T 细胞识别肿瘤细胞及清除肿瘤细胞等环节[7]。肝窦内皮细胞（liver sinusoidal endothelial cells，LSEC）、Kupffer 细胞和树突状细胞等在肝脏免疫调节中充当着重要角色。正常情况下，免疫细胞可识别肿瘤细胞并将其清除，但当病毒和肿瘤相关抗原等不断刺激机体时，即可形成免疫抑制状态，反而促进 HCC 的发展。具有免疫抑制功能的细胞主要包括调节性 T 细胞（regulatory tcell，Treg）、骨髓源性抑制细胞（myeloid-derived suppressor cell，MDSC）和肿瘤相关巨噬细胞（tumor-associated macrophages，TAMs）等[8]。$CD8^+$ T 淋巴细胞被激活后主要分化为细胞毒性 T 细胞，对细胞内病原体的免疫防御和肿瘤监视十分重要。肝癌细胞中的 MDSC 可通过分泌白细胞介素 8（interleukin 8，IL-8）、白细胞介素 10（interleukin 10，IL-10）等免疫抑制因子直接抑制 $CD8^+$ T 细胞的作用[9]，其中 IL-10 还可通过 M2 巨噬细胞极化途径激活 TAMs[10]，进一步加重免疫抑制，促进肿瘤进展，Treg 则可通过直接抑制 $CD8^+$ T 细胞的增殖分化造成免疫逃逸。

免疫检查点是免疫系统中的抑制性信号通路，正常情况下可通过调节自身免疫反应强度来维持免疫耐受。机体受到肿瘤侵袭时，肿瘤细胞能够通过调节免疫检查点通路，使 CTLA-4、PD-1 和 T 细胞免疫球蛋白-3（T cell immunoglobulin-3，TIM-3）[11]等免疫检查点上调，导致免疫系统失灵，促进肿瘤细胞的增殖和逃逸。细胞因子失调和肝脏免疫检查点相关分子上调意味着免疫系统衰弱，如何使肝脏免疫环境与 HCC 的免疫抑制性相结合，是治疗 HCC 的一大困局。

2 常见的超声引导下热消融及其诱导的免疫反应

超声扫查因定位准确、实时、无辐射、微创等特点成为应用最广泛的热消融术引导方式，联合应用 CEUS 可进一步提高 HCC 病灶的检出率，有助于更好地消融病灶及实时监测消融针，并保证安全的消融边缘。超声引导下热消融治疗与外科手术切除的目的均为消除肿瘤细胞、避免肿瘤转移，不同之处在于消融后坏死肿瘤组织可刺激机体的免疫系统，触发全身抗肿瘤免疫反应，而这种效果是外科手术切除所无法达到的[12]。

2.1 超声引导下 MWA 治疗 HCC 诱导的免疫反应

超声引导下 MWA 现已广泛用于临床治疗不可切除性肝癌和复发性肝癌。MWA 主要利用微波磁场产生热能，在短时间内产生 65℃～100℃高温，使肿瘤局部组织温度迅速升高，最终导致肿瘤细胞发生凝固性坏死，从而直接在原位破坏肿瘤细胞；肿瘤破坏形成的细胞碎片可特异性增强局部抗肿瘤反应，对机体免疫反应有正反馈作用[13]。研究[14]报道，MWA 不仅能够降低 Treg 细胞比例，还可增加 $CD4^+$ T 淋巴细胞的数量、提高 $CD4^+$ T/$CD8^+$ T 细胞比值。$CD4^+$ T 作为免疫应答的主要细胞，可调节机体的抗肿瘤免疫作用。辅助性 T 细胞 1（helper T cells 1，Th1）能够增强细胞毒性 T 细胞的杀伤作用，促进肿瘤细胞的清除。这些细胞的变化标志着机体免疫系统的好转。Zhang 等[15]分析 MWA 治疗前、治疗后 1 周和 1 个月 HCC 患者 T 细胞亚群和细胞因子变化，结果显示治疗后 1 周 T 细胞抗肿瘤免疫增强，辅助性 T 细胞 2（helper T cells 2，Th2）细胞因子被抑制，Th1 细胞因子稍提高，伴有局部炎症损伤和修复，随后 Th1 细胞因子尤其是白细胞介素 12（interleukin 12，IL-12）迅速增多，抗肿瘤免疫功能显著增强，表明 MWA 辅助治疗可促进 Th2/Th1 的偏离，提高 HCC 患者抗肿瘤免疫功能。

2.2 超声引导下 RFA 治疗 HCC 诱导的免疫反应

RFA 与 MWA 均通过直接高温损伤和凝固性坏死诱导肿瘤细胞死亡。RFA 引起肿瘤细胞死亡后，热休克

蛋白(heat shock proteins, HSPs)、高迁移率族蛋白 B1(high mobility group proteins, HMGB1)等细胞内抗原的释放可被树突状细胞识别,进而刺激系统免疫反应。在 RFA 热烧灼区域外,由于热量扩散形成过渡区,热休克蛋白在此区域显著升高。已有研究[16]证实热休克蛋白在调节 RFA 的免疫刺激作用中具有关键作用。同时 RFA 本身也可导致肿瘤特异性抗体、$CD4^+$ T 细胞及 $CD8^+$ T 淋巴细胞持续增多,并降低 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 调节性 T 细胞水平[17],有助于免疫系统的恢复。

3 常见的 HCC 免疫检查点及抑制剂

免疫检查点作为人体免疫系统中起保护作用的分子,能够中断免疫反应,使免疫系统的活化保持在正常范围内。免疫检查点主要包括 PD-1、TIM-3、淋巴细胞激活基因 3(lymphocyte activation gene 3, LAG-3)、CTLA-4、B 和 T 淋巴细胞衰减剂(B and T-lymphocyte attenuator, BTLA)等[18]。其中 PD-1 和 CTLA-4 是目前临床应用较广泛的免疫检查点。阻断 CTLA-4 和 PD-1 与其各自配体间相互作用已被证明对恶性肿瘤具有治疗作用,且治疗晚期黑色素瘤、非小细胞肺癌和肾细胞癌[6]效果较好。

3.1 CTLA-4 CTLA-4 主要通过与其配体结合后产生抑制性信号,竞争性抑制 T 细胞激活,使肿瘤细胞逃脱 T 淋巴细胞的攻击。目前已开发出 2 种 CTLA-4 抑制剂,即 ipilimumab 和 tremelimumab,均已进行Ⅲ期临床试验,用于治疗部分恶性肿瘤。一项采用 treelimumab 治疗肝癌的Ⅰ期临床试验[19]证实了其抗肿瘤疗效,其部分应答率为 17.6%,疾病控制率达 76.4%。此外,有学者[20]指出,tremelimumab 既可用于感染丙型肝炎病毒(hepatitis c virus, HCV)的 HCC 单药治疗,也可与局部消融相结合,具有良好的安全性和抗肿瘤效果。

3.2 PD-1 PD-1 是 T 细胞上发现的另一种免疫抑制分子,其配体细胞程序性死亡-配体 1(programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1)和细胞程序性死亡-配体 2(programmed cell death 1 ligand 2, PD-L2)于包括肿瘤细胞在内的多种组织中均有表达,PD-1 和 PD-L1 或 PD-L2 的特异性结合启动 T 细胞的程序性死亡,导致免疫系统衰弱和 Treg 上调。PD-1 抑制剂可阻断 PD-1 与其配体结合,上调 T 细胞增殖,增强 T 细胞对肿瘤细胞的识别,调动人体自身免疫功能对抗肿瘤入侵。目前已上市的抗 PD-1/PD-L1 药物包括尼沃单抗(nivolumbab)、潘利珠单抗(pembrolizumab)和度伐单抗(durvalumab)等[21]。其中 nivolumab 是 FDA 批准的第 1 个 HCC 免疫检查点抑制剂。国际多中心研究 CheckMate 040[22]证实 nivolumab 抗体有明显抗肿瘤活性,在该研究的剂量递增阶段,中位反应时间达到 17 个月,总生存期达 15 个月;在剂量扩大阶段,客观反应率为 20%,中位反应时间为 9.9 个月,9 个月总生存率为 74%,对于接受或未接受索拉菲尼治疗的患者均表现出良好效果。

针对其他免疫检查点调节因子的抗体如 TIM3、LAG3、BTLA 等正在进行临床试验,相信未来也将在治疗肝癌中发挥重要作用。

4 超声引导下热消融联合免疫检查点抑制剂治疗 HCC

热消融联合免疫检查点抑制剂治疗对治疗 HCC 具有较大潜力。与单一疗法相比,联合疗法更有利于增强内源性抗肿瘤反应。初步研究[23]证明 CTLA-4 抑制剂 tremelimumab 联合 RFA 治疗晚期 HCC 安全可行。den Brok 等[24]在 RFA 前采用特异性抗体抑制 CTLA-4,发现其可增强患者对 RFA 或冷冻消融治疗的反应。对黑色素瘤 B16ova 模型联合应用 RFA 与 CTLA-4 抑制剂,可显著提高其生存率[6]。关于 durvalumab 和 tremelimumab 联合 RFA 治疗晚期 HCC 或胆管癌的临床试验正在进行中[17]。

5 小结

HCC 具有复杂的免疫抑制网络和肿瘤微环境,免疫治疗为其治疗重点。免疫检查点抑制剂的出现给 HCC 治疗带来了革命性变化,无论是单药治疗或与热消融结合均已经显示出良好前景,但在为患者带来希望的同时,还需进行高质量的大样本临床研究来进一步明确适用人群,探索更高效率的联合模式。相信未来对于 HCC 的联合治疗体系会更加完善。

[参考文献]

[1] Khemlina G, Ikeda S, Kurzrock R. The biology of hepatocellular carcinoma: Implications for genomic and immune therapies. Mol Cancer, 2017, 16(1): 149.

[2] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017 年版). 传染病信息, 2017, 16(3): 705-720.

[3] Wang Y, Liang P, Yu X, et al. Ultrasound-guided percutaneous microwave ablation of adrenal metastasis: Preliminary results. Int J Hyperthermia, 2009, 25(6): 455-461.

[4] Zerbini A, Pilli M, Penna A, et al. Radiofrequency thermal ablation of hepatocellular carcinoma liver nodules can activate and enhance tumor-specific T-cell responses. Cancer Res, 2006, 66

(2):1139-1146.

[5] van den Bijgaart RJ, Eikelenboom DC, Hoogenboom M, et al. Thermal and mechanical high-intensity focused ultrasound: Perspectives on tumor ablation, immune effects and combination strategies. Cancer Immunol Immunother, 2017,66(2):247-258.

[6] Slovak R, Ludwig JM, Gettinger SN, et al. Immuno-thermal ablations- boosting the anticancer immune response. J Immunother Cancer, 2017,5(1):78.

[7] Tagliamonte M, Petrizzo A, Tornesello ML, et al. Combinatorial immunotherapy strategies for hepatocellular carcinoma. Cur Opin Immunol, 2016,39(1):103-113.

[8] 韩雪,黄金华.PD-1/PD-L1 在肝细胞癌治疗中的研究进展.肿瘤预防与治疗,2017,30(2):121-126.

[9] Zhang Z, Zhang Y, Sun XX, et al. microRNA-146a inhibits cancer metastasis by downregulating VEGF through dual pathways in hepatocellular carcinoma. Mol Cancer, 2015, 14(1):5.

[10] Colegio OR, Chu NQ, Szabo AL, et al. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. Nature, 2014,513(7519):559.

[11] Knolle PA, Wohlleber D. Immunological functions of liver sinusoidal endothelial cells. Cell Mol Immunol, 2016,13(3):347-353.

[12] Xue J, Schmidt SV, Sander J, et al. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation. Immunity, 2014,40(2):274-288.

[13] Chiang J, Cristescu M, Lee MH, et al. Effects of microwave ablation on arterial and venous vasculature after treatment of hepatocellular carcinoma. Radiology, 2016,281(2):617.

[14] 何瀚,翟宏军,朱椰凡.肝癌热消融治疗对调节性 T 淋巴细胞的影响.中国医师进修杂志,2012,35(18):1-2.

[15] Zhang H, Hou X, Cai H, et al. Effects of microwave ablation on T-cell subsets and cytokines of patients with hepatocellular carcinoma. Minim Invasive Ther Allied Technol, 2017,26(4):207-211.

[16] Chu K, Fand Dupuy DE. Thermal ablation of tumours: Biological mechanisms and advances in therapy. Nat Rev Cancer, 2014,14(3):199-208.

[17] Ahmed M, Kumar G, Moussa M, et al. Hepatic radiofrequency ablation-induced stimulation of distant tumor growth is suppressed by c-Met inhibition. Radiology, 2016, 279(1):103-117.

[18] Shrestha R, Prithviraj P, Anaka M, et al. Monitoring immune checkpoint regulators as predictive biomarkers in hepatocellular carcinoma. Front Oncol, 2018,8(1):269.

[19] Sangro B, Gomez-Martin C, Mata MDL, et al. A clinical trial of CTLA-4 blockade with tremelimumab in patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C. J Hepatol, 2013,59(1):81-88.

[20] Kudo M. Immune checkpoint inhibition in hepatocellular carcinoma: Basics and ongoing clinical trials. Oncology, 2017, 92(1):50-62.

[21] Ma W, Gilligan BM, Yuan J, et al. Current status and perspectives in translational biomarker research for PD-1/PD-L1 immune checkpoint blockade therapy. J Hematol Oncol, 2016,9(1):47.

[22] Elkhoueiry AB, Sangro B, Yau T, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): An open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. Lancet, 2017,389(10088): 2492-2502.

[23] Duffy A, Kerkar SP, Kleiner DE, et al. Paired tumor biopsy analysis and safety data from a pilot study evaluating Tremelimumab—a monoclonal antibody against CTLA-4-in combination with ablative therapy in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). J Immuno Ther Cancer, 2014,2(3):98.

[24] den Brok MH, Sutmuller RP, Van dVR, et al. In situ tumor ablation creates an antigen source for the generation of antitumor immunity. Cancer Res, 2004,64(11):4024-4029.

关键词

关键词又称主题词,是位于摘要之后,在论文中起关键作用的、最能说明问题的、代表论文特征的名词或词组。它通常来自于题目,也可以从论文中挑选。一般每篇论文要求 2～5 个关键词。每个关键词都可以作为检索论文的信息,若选择不当,会影响他人的检索效果。医学上现在主要使用美国《医学索引》(Index Medicus)的医学主题词表(Medical Subject Headings, MeSH)最新版作为规范,亦可参考中国医学科学院情报研究所翻译地英汉对照《医学主题词注释字顺表》。非主题词表的关键词为自由词,只有必要时,才可排列于最后。有些新词也可选用几个直接相关的主题词进行搭配。