

· 综 述 ·

高强度聚焦超声治疗对原发性肝癌患者免疫功能的影响

黄 梅¹综述,王光霞^{2△}审校

(1. 天津中医药大学影像医学与核医学专业 2008 级硕士一班 300193;

2. 天津市南开医院超声诊断中心 300100)

关键词:高强度聚焦超声;原发性肝癌;免疫

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.23.064

中图分类号:R735.7;R730.51

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)23-3283-03

原发性肝癌恶性程度高,有“癌王”之称,仅有 10%~20% 的肝癌患者可以接受以手术为主的综合性治疗,当患者出现临床症状时几乎都已处于肝癌的中晚期,常伴有肝硬化、肝功能不全、肝内转移及门静脉癌栓等,采用手术治疗已相当困难。而肝动脉结扎、介入栓塞、化疗、放疗等方法治疗效果均不佳,而且会进一步损伤肝功能,虽然至今肝癌根治性切除术仍是首选治疗手段^[1],但手术易引起机体免疫力下降和肿瘤细胞播散入血,增加了术后转移灶的发生,远期效果并不太理想。

20 世纪 90 年代以来,一种治疗实体肿瘤的新技术——高强度聚焦超声(highintensity focused ultrasound, HIFU)日益受到国内外学者关注。HIFU 是一种微创性、实时性、适形性、非侵入性的体外治疗肿瘤的新技术,有可掌握治疗范围、可重复治疗等优点,已越来越受到临床重视。国内外大量的动物实验和临床应用 HIFU 技术治疗多种恶性实体肿瘤是有效、安全和可行的^[2-4],HIFU 治疗原发性肝癌的疗效已被大量临床应用所证实^[5-7],有研究表明,接受 HIFU 治疗的中晚期肝癌患者平均生存期(10.9±6.8)个月,明显长于中晚期肝癌的自然生存期(3~6 个月)^[8]。而且 HIFU 除可以杀灭肿瘤细胞、破坏肿瘤组织外,还可以增加宿主的抗肿瘤免疫功能^[9]。现将 HIFU 治疗原发性肝癌对患者机体免疫功能的影响综述如下。

1 HIFU 治疗肝癌的作用机制

1.1 高热效应 “高热效应”是引起肿瘤组织凝固性坏死的主要作用机制^[10]。HIFU 能使超声能量聚焦于靶区,使焦域处瞬态(0.5~1.0 s)产生约 65~100 ℃ 的高温,致使靶区癌组织发生不可逆的凝固性坏死,达到切除肿瘤的目的。HIFU 在切除肿瘤时,精确性比较高,可在显微镜下观察到肿瘤细胞和正常细胞之间只间隔了几个细胞^[11]。

1.2 空化效应 这是由于声压幅值很大,且负压交替出现时,负压期拉力把组织撕破形成空化微泡并迅速增大;正压期空化泡被压缩最终崩溃,空化泡崩溃时产生的高温高压能使组织受到严重破坏。

1.3 机械效应 高强度聚焦超声使受到超声作用的组织细胞高速振动,强烈变化的力学作用可以破坏靶区的细胞及其支持结构、改变细胞的功能、使 DNA 大分子降解及酶变性等。

1.4 破坏肿瘤营养血管 HIFU 可使小于 0.2 mm 的肿瘤营养血管收缩关闭,损伤血管内皮细胞,形成血栓,使肿瘤组织缺血坏死,亦有利于防止癌转移。

2 HIFU 治疗原发性肝癌可增强机体的抗癌免疫力

2.1 细胞免疫的变化

2.1.1 T 细胞 T 淋巴细胞是细胞免疫的主要承担者,是最主要的肿瘤免疫细胞之一。T 细胞可分为 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞两大亚群。CD4⁺ T 细胞主要分泌细胞因子来调节抗肿瘤免疫,目前认为 CD4⁺ T 淋巴细胞在肿瘤免疫监视和调控中起主导作用,它能通过一系列途径直接和间接地参与肿瘤细胞的破坏和清除作用,如活化 CD8⁺ T 淋巴细胞杀伤肿瘤细胞,还可以通过其他效应细胞发挥作用。另外,CD4⁺ T 淋巴细胞的免疫记忆,也是其参与肿瘤免疫的基础^[12]。CD8⁺ T 淋巴细胞包括细胞毒 T 淋巴细胞和抑制性 T 淋巴细胞,CD8⁺ T 细胞主要分泌抑制性细胞因子发挥特异性免疫抑制作用。

肝癌患者因肿瘤生长而使机体免疫功能受抑制,在免疫网络的各个环节上均存在不同程度的紊乱和缺陷,其中以细胞免疫的改变为主,主要表现为淋巴细胞总数下降,CD4⁺ T 亚群的下降,CD4⁺/CD8⁺ 的比值降低或倒置。Ormandy 等^[13]研究发现肿瘤患者的外周血 CD3⁺、CD4⁺、NK 细胞的水平及 NK 细胞的杀伤活性均明显低于健康人;而 CD8⁺ 细胞的百分率与 sIL-2R 水平则明显高于健康人。因此,CD4⁺/CD8⁺ 比值的恒定维持着细胞免疫反应的平衡,CD4⁺/CD8⁺ 比值是常常被用来衡量肿瘤患者机体抗肿瘤免疫功能的重要指标之一,以及评价肿瘤患者免疫治疗后机体免疫功能恢复的标志,肿瘤治疗有效的宿主外周血 CD4⁺/CD8⁺ 比值都会升高,而治疗无效则变化不大。

曹玮等^[14]研究结果表明,经 HIFU 治疗后,患者外周血 CD3⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞的百分率明显升高,且接近健康人水平;而 CD8⁺ T 细胞的百分率明显降低。叶欣等^[15]和邹玉红等^[16]应用 HIFU 治疗原发性肝癌 42 例,研究结果发现经 HIFU 治疗后肝癌患者的 CD4⁺ T 细胞百分数和 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显升高,CD8⁺ T 细胞百分数下降。赵洪等^[17]在观察 HIFU 对荷瘤小鼠淋巴细胞杀伤功能的影响中发现治疗组脾脏淋巴细胞对 H22 肝癌细胞的杀伤作用明显高于对照组。谢勋鹏等^[18]研究实验应用 HIFU 治疗 H22 移植性肝癌荷瘤鼠外周血淋巴细胞亚群的变化。结果发现对照组肝癌小鼠外周血淋巴细胞亚群 CD3⁺ T、CD4⁺ T 淋巴细胞数、CD4⁺/CD8⁺ 比值明显低于正常对照组,CD8⁺ T 淋巴细胞高于对照组,差异有统计学意义,表明荷瘤机体肿瘤宿主处于免疫抑制状态,细胞免疫功能被肿瘤抑制,表现为外周血 T 淋巴细胞亚群总数下降,亚群的比例失衡,细胞免疫功能下降。而 HIFU 治疗后 HIFU

△ 通讯作者,E-mail:yuxiangwang.good@163.com。

治疗组小鼠外周血淋巴细胞亚群 $CD3^+$ T 淋巴细胞、 $CD4^+$ T 淋巴细胞数, $CD4^+/CD8^+$ 比值明显高于对照组, $CD8^+$ T 淋巴细胞低于对照组, 差异有统计学意义, 所以认为 HIFU 治疗后解除肿瘤对机体的免疫抑制状态, 表现为外周血 T 淋巴细胞亚群总数恢复, 亚群的比例失衡得到纠正, 从而改善荷瘤机体的细胞免疫功能。

2.1.2 $CD4^+$ T 细胞 又分为 Th1、Th2 两个亚型 抗原刺激后短期内, T 细胞可产生多种细胞因子, 以表达 IL-2 和 IFN- γ 为主的 Th1 细胞, 可以增强杀伤性效应细胞的细胞毒性作用, 主要介导抗肿瘤的细胞免疫反应; 以表达 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13 为主的 Th2 型细胞, 促进机体抗体的产生, 介导体液免疫反应, 同时也抑制 Th1 细胞分泌其系列因子。正常机体的 Th1 细胞和 Th2 细胞处于平衡状态, 机体的抗肿瘤作用, 主要以 Th1 介导的细胞免疫为主。张俊平等^[19] 研究发现原发性肝癌患者外周血单个细胞及血浆中存在 Th1/Th2 平衡失调, 呈 Th2 型细胞因子优势表达现象, 这种平衡失调将造成免疫抑制状态, 从而发生肿瘤免疫逃逸。叶欣等^[15] 研究结果发现经 HIFU 治疗后肝癌患者的 IL-2 和 IFN- γ 水平较治疗前明显提高, 而 IL-4 和 IL-10 水平明显下降, 提示应用 HIFU 治疗原发性肝癌可以改善患者体内 Th1 向 Th2 漂移的状态, 这从一定程度上克服了肝癌的免疫逃逸和打破了肝癌的免疫封闭, 从而间接促进细胞免疫功能。

2.1.3 NK 细胞 NK 细胞是抗肿瘤免疫的第 1 道防线。因为 NK 细胞是细胞免疫中的非特异性成分, 不依赖抗体或补体、不需预先活化即可直接杀伤肿瘤细胞, 其杀伤作用无肿瘤特异性和主要组织相容性复合体 (MHC) 限制性。邹玉红等^[16] 应用 HIFU 治疗原发性肝癌 42 例前后测量 NK 细胞数量发现, 经过 HIFU 治疗后 NK 细胞百分数明显升高, 差异有统计学意义。曹玮等^[14] 研究发现, 经 HIFU 治疗后, 患者外周血 NK 细胞的百分率明显升高, 且接近健康人水平; NK 细胞的杀伤活性也有明显上升。以上研究结果均提示 HIFU 可以增加机体 NK 细胞的数量, 为 NK 细胞发挥其生物学功能提供了保障。

2.1.4 巨噬细胞 巨噬细胞在抗肿瘤免疫中的作用不仅是作为抗原提呈的 APC, 而且是溶解肿瘤细胞的效应细胞。HIFU 治疗后可增强机体的非特异性免疫功能。

2.2 体液免疫指标的变化 王文见等^[20] 探讨了应用 HIFU 对中晚期原发性肝癌 21 例患者机体体液免疫状态的影响, 监测体液免疫的相关指标, 经随机分组方差分析, IgG、IgA、IgM、C3 在治疗前后的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。但同时发现 HIFU 治疗肝癌可以使局部组织中浆细胞等增加, 浆细胞增加与体液免疫有关。表明 HIFU 治疗肝癌可能促进机体的局部体液免疫。HIFU 对体液免疫的影响尚需进一步研究。

3 HIFU 治疗提高机体抗癌免疫力的可能机制

3.1 热休克蛋白 (HSP) 赵子邲等^[21] 发现肝癌术后应用 HSP 疫苗能明显提高患者免疫功能, 且可预防术后复发、提高远期生存率。提示肝癌组织中高表达的 HSP 可增强机体的抗癌免疫力。Kruse 等^[22] 研究认为, 肿瘤细胞受热后可合成具有抗原提呈作用和激发抗肿瘤特异性 $CD8^+$ 细胞反应的 HSP。HSP70 可诱发针对同源肿瘤细胞的特异性细胞毒 T 淋巴细胞 (CTL)^[23], 激发细胞介导的抗肿瘤免疫反应。罗善明等^[24] 实验研究发现, HSP70-肽复合物能刺激树突状细胞 (DC) 成熟,

促进 DC 分泌多种细胞因子, 诱导特异性抗肿瘤细胞免疫。而且 TB、HSP70-H22 肽能充分激活 DC, 增强其抗原提呈作用和肝癌抗原免疫原性, 激活初始型 T 淋巴细胞诱导强力的特异性抗肿瘤免疫。

3.2 癌/宿主比势逆转 HIFU 通过高温效应、空化和机械效应直接有效地杀伤肝癌组织, 瞬时使癌组织凝固性坏死, 减轻了机体的癌负荷, 改善了癌/宿主比势, 减弱了肝癌对机体免疫系统的抑制作用, 从而激发免疫系统的抗癌效应。

3.3 HIFU 固化疫苗理论 HIFU 对肿瘤灭活后, 留在体内的固化疫苗刺激机体产生免疫应答反应。HIFU 与传统热疗的重要区别是 HIFU 具有空化和机械效应。HIFU 固化疫苗的免疫效应明显优于传统的高温固化疫苗。

3.4 肿瘤热疗刺激免疫 热疗可改变肿瘤细胞抗原决定簇的空间构象, 出现新的抗原性, 并通过激发特异性的免疫应答杀伤同源性肿瘤细胞。

3.5 解除封闭因子 HIFU 产生的高温效应可解除肿瘤细胞分泌的封闭因子, 巨噬细胞移动抑制因子等对宿主免疫系统的抑制, 使宿主恢复对肿瘤的免疫应答反应。

3.6 肿瘤坏死区反应 由于无菌性炎症反应, 靶区周围血管增生, 有利于免疫活性细胞在局部聚集增多, 便于细胞免疫反应的发生。另外, HIFU 可以使一些生物活性物质如 IL-1、IL-2、肿瘤坏死因子 (TNF) 等在肿瘤组织中聚集, 从而对宿主抗肿瘤免疫进行调节。

4 HIFU 治疗中晚期肝癌患者使机体免疫处于相对稳定状态

翟宏军等^[25] 应用 HIFU 治疗 40 例中晚期原发性肝癌前后其免疫指标 ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$, NK, IL-2, TNF) 比较差异无统计学意义, 提示 HIFU 治疗中晚期肝癌, 能有效破坏肝癌组织, 但不能明显改善患者的免疫状态。HIFU 治疗未能增强原发性肝癌患者机体免疫力的可能机制有: (1) 原发性肝癌常表现为多发结节, HIFU 治疗后肝内残留的小癌灶会继续对机体的免疫产生抑制作用; (2) 中晚期肝癌患者全身免疫功能已受到严重抑制, HIFU 通过高温效应、空化和机械效应可诱发机体免疫反应, 但这不足以改善整个机体的免疫状态; (3) 部分患者在 HIFU 治疗前先行肝动脉介入碘油栓塞治疗 (TACE) 或者化疗等, 均对机体免疫产生一定的抑制和削弱作用; (4) 机体免疫状态低下时大量抗原出现易引起免疫耐受。此研究结果还从另一方面提示, HIFU 治疗对机体的影响较小, 对免疫功能、肝功能的打击较小, 对正常组织损伤极小, 不会像传统手术一样减弱患者机体的免疫功能, 而是处于一种机体免疫的相对稳定状态。

综上所述, HIFU 治疗原发性肝癌可使机体的免疫状态发生变化, 提高机体抗癌免疫力。中晚期肝癌患者接受 HIFU 治疗后机体免疫处于相对稳定状态, 提示 HIFU 在一定程度上能提高中晚期肝癌患者的抗癌免疫力。因此, HIFU 既能无创杀灭肿瘤细胞, 同时能提高机体的抗肿瘤免疫力, 减少复发和转移。但目前有许多问题尚需进一步的研究和探讨, 例如 HIFU 治疗原发性肝癌后机体的免疫改变的具体机制, 怎样适度掌握治疗肝癌组织的比例才能既促进机体抗癌免疫功能, 又能使原位癌得到控制等, 所以随着对 HIFU 的深入研究, HIFU 在无创性治疗原发性肝癌方面会有更广阔的应用前景。

参考文献:

[1] 苏永杰, 董家鸿, 李海林, 等. TissueLink 与钳夹法在肝癌

- 切除术中的应用比较[J]. 中国现代普通外科进展, 2008, 11(1):7.
- [2] Lledo GE, Jara RJ, Subira RD, et al. Scientific evidence on the use of high-intensity focal ultrasound (HIFU) in the treatment of prostatic carcinoma[J]. Actas Urol Esp, 2005, 29(2):131.
- [3] Li YY, Sha WH, Zhou YJ, et al. Short and long term efficacy of high intensity focused ultrasound therapy for advanced hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22(12):2148.
- [4] Wang XJ, Yuan SL, Lu YR, et al. Growth inhibition of high-intensity focused ultrasound on hepatic cancer in vivo[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(28):4317.
- [5] Wu F, Wang ZB, Chen WZ, et al. Advanced hepatocellular carcinoma; treatment with high intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization[J]. Radiology, 2005, 235(5):659.
- [6] Yi J, Li N, Jiang LS, et al. The study of clinical application of high intensity focused ultrasound in non-invasive therapy for liver cancer[J]. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2005, 36(3):426.
- [7] Wu F, Wang ZB, Chen WZ, et al. Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of patients with large hepatocellular carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2004, 11(12):1061.
- [8] 危安, 刘冀宁, 吴金术, 等. 高强度聚焦超声治疗对肝癌患者生存期影响的初步研究[J]. 医学临床研究, 2007, 24(3):402.
- [9] Wu F, Zhou L, Chen WR. Host antitumor immune responses to HIFU ablation[J]. Int J Hyperthermia, 2007, 23(2):165.
- [10] Kennedy JE. High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(4):321.
- [11] 刘亚慧, 林书玉, 郭树琴, 等. 高强度聚焦超声的原理和应用[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(7):1344.
- [12] Ostrand RS. CD4 T lymphocytes; a critical component of antitumor immunity[J]. Cancer Invest, 2005, 23(5):413.
- [13] Ormandy LA, Hillemann T, Wedemeyer H, et al. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2005, 65(5):2457.
- [14] 曹玮, 吴发伟, 刘毅勇, 等. 高强度聚焦超声对中晚期肝癌患者机体免疫细胞及其活性的影响[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18(4):308.
- [15] 叶欣, 费兴波, 赫崇军, 等. 高强度聚焦超声治疗肝癌后免疫功能的变化[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2005, 12(1):23.
- [16] 邹玉红, 叶欣, 杨宪勇. 高强度聚焦超声热疗法对原发性肝癌患者 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞的影响[J]. 中国临床康复, 2005, 9(2):168.
- [17] 赵洪, 蔡端, 张延龄. 高强度聚焦超声对荷瘤小鼠淋巴细胞杀伤功能的影响[J]. 肝胆胰外科杂志, 2004, 16(3):175.
- [18] 谢勋鹏, 冉立峰, 伍烽, 等. 高强度聚焦超声治疗后荷瘤鼠的免疫变化及特异性抗肿瘤作用[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24(4):320.
- [19] 张俊平, 吴金民, 潘宏铭, 等. 原发性肝癌患者外周血淋巴细胞 Th1/Th2 型细胞因子表的测定[J]. 实用肿瘤杂志, 2004, 19(4):323.
- [20] 王文见, 罗亿治, 伍烽, 等. 高强度聚焦超声对 21 例中晚期原发性肝癌患者免疫状态的影响[J]. 中华普通外科杂志, 2003, 18(8):453.
- [21] 赵子粼, 鄢莉, 崔建东, 等. 热休克蛋白-抗原肽复合物疫苗预防肝癌术后复发 32 例[J]. 第 4 军医大学学报, 2005, 26(22):2076.
- [22] Kruse DE, Mackanos MA, Oconnell CE, et al. Short-duration-focused ultrasound stimulation of Hsp70 expression in vivo[J]. Phys Med Biol, 2008, 53(13):3641.
- [23] Chan T, Chen Z, Hao S, et al. Enhanced T-cell immunity induced by dendritic cells with phagocytosis of heat shock protein 70 gene-transfected tumor cells in early phase of apoptosis[J]. Cancer Gene Therapy, 2007, 14(4):409.
- [24] 罗善明, 高建, 彭明利, 等. 热休克蛋白 70-H22 肽刺激 DC 诱导特异性抗肝癌免疫[J]. 重庆医学, 2009, 38(11):1351.
- [25] 翟宏军, 蒋力生, 李宁. 高强度聚焦超声治疗中晚期原发性肝癌对患者免疫状态的影响[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2006, 13(2):178.

(收稿日期:2010-06-02 修回日期:2010-07-05)

启 事

《重庆医学》开设博士生专栏,此专栏专为各院(校)博士生服务,本刊将开设绿色通道。欢迎全国医学院校博士生投稿。本刊收稿网址: <http://cqyx.journalserv.com>, 投稿后注明:博士生专栏文章。

《重庆医学》编辑部