

肝动脉化疗栓塞序贯射频消融对原发性肝癌患者的细胞免疫功能影响

余 辉,席 玮,陈世晞,陆 游,陆 逸,武 贝,冯国栋,陈 骏*

(南京医科大学附属肿瘤医院介入科,江苏省肿瘤医院,江苏省肿瘤防治研究所,江苏 南京 210009)

[摘要] 目的:探讨肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)序贯射频消融(radiofrequency ablation, RFA)治疗原发性肝癌对患者细胞免疫功能的影响。方法:回顾性分析 67 例肝癌患者临床资料,分为 TACE 序贯 RFA 组(24 例)、单纯 TACE 组(23 例)和单纯 RFA 组(20 例)。流式细胞仪检测治疗前和治疗后 7、14、30 d 时,患者外周血中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 细胞比值及自然杀伤(natural killer, NK)细胞的动态变化。结果:治疗前 3 组患者 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞基线值无差异。治疗后 7 d,单纯 TACE 组外周血 CD8⁺ 细胞比率增加,CD4⁺ 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值减少($P<0.05$)。治疗后 14 d,单纯 TACE 组外周血 CD4⁺、NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值减少,CD8⁺ 细胞比率增加($P<0.05$);单纯 RFA 组外周血 NK 细胞比率增加($P<0.05$);TACE 序贯 RFA 组及单纯 RFA 组 CD4⁺ 和 NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均显著高于同期单纯 TACE 组($P<0.05$),而单纯 RFA 组 CD8⁺ 细胞比率则显著低于同期单纯 TACE 组 ($P<0.05$)。治疗后 30 d, TACE 序贯 RFA 组外周血 CD8⁺ 细胞比率降低, NK 细胞比率和 CD4⁺/CD8⁺ 比值增加,较治疗前有统计学差异($P<0.05$);单纯 TACE 组 CD3⁺ 及 CD4⁺ 细胞比率较治疗前降低($P<0.05$);单纯 RFA 组 NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值较治疗前升高($P<0.05$);TACE 序贯 RFA 组及单纯 RFA 组 NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值较单纯 TACE 组升高($P<0.05$)。TACE 序贯 RFA 组 NK 细胞比率较单纯 RFA 组升高($P<0.05$)。结论:单纯 TACE 治疗可能造成肝癌患者一过性细胞免疫受到抑制,而 TACE 序贯 RFA 及单纯 RFA 治疗则能增强细胞免疫功能。

[关键词] 肝癌;动脉化疗栓塞;射频消融;细胞免疫;自然杀伤细胞

[中图分类号] R735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)12-1591-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20171211

肝癌是世界范围内男性发病率第 5, 而病死率第 2 位的恶性肿瘤, 近半数新发病例及死亡病例位于我国^[1]。经肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)和射频消融(radiofrequency ablation, RFA)作为肝癌介入治疗的主要方法, 近年来得到了广泛应用。随着肿瘤进展, 机体免疫功能紊乱, 抗肿瘤免疫受到抑制^[2], 而 TACE 及 RFA 治疗对患者细胞免疫功能的影响报道不一^[3,4]。因此, 本研究旨在探讨 TACE 序贯 RFA 治疗对肝癌患者细胞免疫功能的影响及其临床意义。

1 对象和方法

1.1 对象

回顾性分析 2012 年 1 月—2017 年 6 月期间本院接受介入治疗的肝癌患者临床资料。分为 TACE 序贯 RFA 组($n=24$)、单纯 TACE 组($n=23$)或单纯 RFA 组($n=20$)。TACE 序贯 RFA 组在初次 TACE

后, 1 周内接受 RFA 治疗。病例纳入标准: ①临床或病理诊断明确的肝癌患者; ②均为初次接受 TACE 和或 RFA 治疗, 无放疗或全身化疗史, 无外科手术指征或不愿意手术者; ③>18 岁; ④预计生存时间>3 个月; ⑤符合 TACE 治疗适应证^[5]; ⑥单纯 RFA 治疗或 TACE 序贯 RFA 治疗适应证^[6], 如单个肿瘤直径 ≤ 7 cm 或 ≤ 3 个肿瘤结节且最大直径 ≤ 3 cm; ⑦随访资料完整; ⑧均签署知情同意书。排除标准: ①转移性肝癌; ②广泛散在弥漫性肝癌; ③无法纠正的严重凝血功能障碍; ④合并严重的心、肺、肝、肾功能不全或精神障碍疾病; ⑤合并其他肿瘤或严重感染性疾病; ⑥恶液质或多器官功能衰竭, 预计生存期<3 个月; ⑦肝癌巴塞罗那(BCLC)分期 D 期, ECOG 评分 ≥ 2 分或肝功能 Child-Pugh 评分 C 级; ⑧除 TACE 或 RFA 治疗外, 又接受其他系统性治疗如免疫增强药物、生物免疫治疗或中药治疗。3 组患者一般资料比较无统计学差异。

1.2 方法

1.2.1 TACE 及 RFA 治疗

TACE 栓塞剂选用碘化油、明胶海绵和聚乙烯醇颗粒, 化疗药物选用阿霉素、铂剂和雷替曲塞, 剂量不要求统一。栓塞终点为造影复查肿瘤染色消失。

[基金项目] 江苏省“六大人才高峰”第十一批高层次人才培养人选项目(2014-WSW-015); 江苏省第四期“333 工程”科研项目(BRA2015492)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: 13813939190@139.com

RFA 选择腹部 B 超引导下将多极消融针 (RITA 医疗系统公司, 美国) 准确刺入肿瘤部位, 展开伞形子电极并锚定肿瘤。调节射频发生器 (RITA-1500X 型) 功率, 使电极针末端温度保持在 95~105 °C, 有效消融时间 >10 min。术后监测血常规及生化, 并常规给予保肝护肾及对症等治疗。

1.2.2 流式细胞检测

治疗前、治疗后 7、14 及 30 d 采集患者外周血, 采用单克隆抗体标记后行流式细胞仪 (FC500, Beckman 公司, 美国) 检测并用 CXP 软件分析 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 和自然杀伤细胞 (natural killer, NK)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计分析软件, 3 组间基线资料率及计数资料的比较采用 χ^2 检验。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 3 组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 同组治疗前后比较采用 Wilcoxon 符号秩检验。P \leq 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

3 组患者治疗前 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞比率的基线无统计差异 (P > 0.05, 表 1)。

治疗后 7d, TACE 序贯 RFA 治疗组患者外周血中 CD3⁺、CD4⁺ 细胞比率和 CD8⁺ 及 NK 细胞比率均轻度下降, CD4⁺/CD8⁺ 比值则轻度上升, 但较治疗前无统计差异 (P > 0.05)。单纯 TACE 组患者外周血中 CD4⁺ 及 NK 细胞比率和 CD4⁺/CD8⁺ 比值均下降, CD3⁺ 及 CD8⁺ 细胞比率则上升, 其中 CD4⁺ 及 CD8⁺ 细胞比率和 CD4⁺/CD8⁺ 比值较治疗前具有统计差异 (P < 0.05)。单纯 RFA 组患者外周血中 CD4⁺ 及 NK 细胞比率和 CD4⁺/CD8⁺ 比值均轻度上升, 而 CD3⁺ 细胞比率则轻度下降, 但各指标较 RFA 治疗前不具有统计差异 (P > 0.05)。3 组之间各指标比较无统计差异 (P > 0.05)。

治疗后 14 d, TACE 序贯 RFA 组患者外周血 CD8⁺ 细胞比率轻度下降, CD3⁺、CD4⁺、NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值轻度上升, 但与治疗前不具有统计差异 (P > 0.05)。单纯 TACE 组患者外周血 CD3⁺、CD4⁺ 和 NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值下降, CD8⁺ 细胞比率上升, 除 CD3⁺ 细胞比值外, 均较治疗前有统计差异 (P < 0.05)。单纯 RFA 组患者外周血 CD3⁺、CD8⁺ 细胞比率略低, 但较治疗前无统计差异 (P > 0.05), 而 CD4⁺、NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值升高,

其中 NK 细胞比率与治疗前有统计差异 (P < 0.05)。3 组间比较, TACE 序贯 RFA 组及单纯 RFA 组患者 CD4⁺ 和 NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均显著高于同期单纯 TACE 组患者相应指标 (P < 0.05), 单纯 RFA 组患者 CD8⁺ 细胞比率则显著低于同期单纯 TACE 组患者相应指标 (P < 0.05), 但 TACE 序贯 RFA 组与单纯 RFA 组患者之间各指标无统计差异。

治疗后 30 d, TACE 序贯 RFA 组患者外周血中, CD4⁺ 及 NK 细胞比率和 CD4⁺/CD8⁺ 比值升高, CD3⁺ 及 CD8⁺ 细胞比率降低, 其中 CD8⁺、NK 细胞比率和 CD4⁺/CD8⁺ 比值较治疗前有统计差异 (P < 0.05)。单纯 TACE 组患者外周血中, CD3⁺、CD4⁺、NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值略低, CD8⁺ 细胞比率略高, 其中 CD3⁺ 及 CD4⁺ 细胞比率较治疗前有统计差异 (P < 0.05)。单纯 RFA 组患者外周血中, CD3⁺、CD4⁺、NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值升高, CD8⁺ 细胞比率降低, 其中 NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值较治疗前有统计差异 (P < 0.05)。3 组间比较, TACE 序贯 RFA 组及单纯 RFA 组患者 NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值升高与单纯 TACE 组患者之间比较, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。而 TACE 序贯 RFA 组与单纯 RFA 组患者之间比较, NK 细胞比率差异有统计学意义 (P < 0.05)。

3 讨论

3.1 TACE 对细胞免疫的影响

TACE 是中晚期肝癌非手术治疗首选方法^[7], 能够延长患者生存期^[8]。有研究显示 TACE 可纠正或恢复肝癌患者的免疫功能低下^[9]。但也有研究显示, TACE 中的化疗药物会进一步抑制机体免疫功能, 促进肿瘤复发及转移, 影响患者生存期^[10]。本研究显示: 单纯 TACE 治疗术后 7 及 14 d 时, CD4⁺ 比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显下降, CD8⁺ 比率明显上升, NK 细胞比率在术后 14 d 时也明显降低, 且均较 TACE 治疗前具有统计学意义 (P < 0.05), 说明细胞免疫功能在 TACE 术后短时间内受到抑制, 推测与化疗药物引起免疫功能降低有关。TACE 术后 30 d NK 细胞比率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值较 TACE 前不具有统计学意义 (P > 0.05), 说明细胞免疫功能在 TACE 术后 4 周左右得到恢复, 与既往研究结果相似^[3]。因此, TACE 治疗中晚期 HCC 后采用适当的药物改善患者免疫抑制状态, 对预防肝癌局部复发及远处转移有重要意义。

3.2 RFA 治疗对细胞免疫的影响

RFA 由于其经济性, 相对安全性和操作简便性

表 1 3 组治疗前后 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞变化

($\bar{x} \pm s$)

| 组 别 | CD3 ⁺ (%) | CD4 ⁺ (%) | CD8 ⁺ (%) | CD4 ⁺ /CD8 ⁺ | NK(%) |
|---------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| TACE 序贯 RFA 组(n=24) | | | | | |
| 治疗前 | 67.54±14.30 | 41.24±10.11 | 23.87± 9.65 | 2.01±1.02 | 18.04±9.46 |
| 治疗后 7d | 65.69±11.24 | 40.40± 9.75 | 23.47±11.96 | 2.28±1.43 | 16.38±11.54 |
| 治疗后 14d | 68.29±13.33 | 42.56±10.53 ^b | 22.82±12.50 | 2.41±1.40 ^b | 19.04±7.23 ^b |
| 治疗后 30d | 66.44±12.49 | 44.04±10.76 | 18.40± 6.16 ^a | 2.67±1.14 ^{ab} | 25.40±6.16 ^{abc} |
| 单纯 TACE 组(n=23) | | | | | |
| 治疗前 | 66.52±12.38 | 43.74± 7.28 | 20.81± 8.06 | 2.33±0.72 | 17.59±9.88 |
| 治疗后 7d | 67.21±10.70 | 40.32± 7.02 ^a | 24.85± 8.47 ^a | 1.82±0.74 ^a | 16.14±7.94 |
| 治疗后 14d | 64.19±14.74 | 35.84±11.50 ^{ac} | 26.46± 9.70 ^{ac} | 1.49±0.60 ^{ac} | 13.41±4.67 ^{ac} |
| 治疗后 30d | 60.78± 8.52 ^a | 39.48± 8.58 ^a | 21.17± 6.78 | 2.10±0.94 ^c | 17.16±3.43 ^c |
| 单纯 RFA 组(n=20) | | | | | |
| 治疗前 | 66.64±14.90 | 38.04±10.34 | 21.68± 9.81 | 2.06±0.97 | 17.75±8.58 |
| 治疗后 7d | 64.74±11.56 | 41.32±10.41 | 21.65±11.44 | 2.50±1.47 | 18.61±12.07 |
| 治疗后 14d | 65.86±11.95 | 43.36±10.91 ^b | 19.40± 8.43 ^b | 2.66±1.38 ^b | 20.67±6.45 ^{ab} |
| 治疗后 30d | 66.93±12.90 | 45.04± 9.67 | 18.50± 6.16 | 2.70±1.13 ^{ab} | 21.01±6.13 ^{ab} |

与同组治疗前比较,^a $P<0.05$;与单纯 TACE 组同期比较,^b $P<0.05$;与单纯 RFA 组同期比较,^c $P<0.05$ 。

已成为治疗肝癌的最有效方法之一。荟萃分析显示,RFA 治疗 HCC 患者的 3 年及 5 年 OS 率高于 TACE,但 1 年 OS 率两者无显著差异^[11]。多项研究显示 RFA 治疗可正向调节机体免疫功能^[3,12]。RFA 后 CD4⁺细胞数量及 CD4⁺/CD8⁺比值较治疗前显著提高,证实 RFA 可在短期内提高肝癌患者 T 淋巴细胞免疫功能。本研究显示:单纯 RFA 治疗术后 14 及 30 d 时 NK 细胞比率明显增加,而 CD4⁺/CD8⁺比值在治疗 30 d 时也明显增加,较 RFA 治疗前及同期单纯 TACE 治疗组患者具有统计学意义($P<0.05$),说明机体细胞免疫功能一定程度得到增强。

3.3 TACE 联合 RFA 序贯治疗对细胞免疫的影响

尽管 TACE 和 RFA 疗效确切,但由于肝癌的血供丰富,TACE 很难栓塞彻底。而 RFA 治疗血管附近的肿瘤,热量由于“热沉效应”而被血流带走,从而引起疗效的降低^[13]。因此 RFA 或 TACE 对于>3 cm 的肿瘤都很难使其完全坏死。而采用先行 TACE 治疗,术后 1~4 周内再加用 RFA 的序贯治疗策略则可弥补单一治疗模式的不足^[5]。理论上,TACE 通过阻止肝动脉血流减少热量损失,从而增加 RFA 坏死范围并抑制局部微转移,而 RFA 则通过高温增强 TACE 抗癌药物对癌细胞作用^[14]。因此,针对早期^[15]或中等大小 HCC^[11]随机对照研究的荟萃分析均显示,TACE 序贯 RFA 较单独 RFA 或单独 TACE 治疗有更高近期和远期生存率。对于 5 cm 以内的 HCC 复发患者,TACE 序贯 RFA 的疗效也优于单纯 RFA

治疗^[13]。本研究结果显示:TACE 序贯 RFA 治疗组的患者在治疗后 14 d 时外周血 NK 细胞比率和 CD4⁺/CD8⁺细胞比值上升,较单纯 TACE 治疗组同期均明显增高,且有统计学意义($P<0.05$)。而治疗 30 d 时,较治疗前及单纯 TACE 组患者同期增高均有统计学意义($P<0.05$),其中 NK 细胞比率较单纯 RFA 组患者也明显增高,说明机体免疫功能得到部分增强。TACE 序贯 RFA 治疗可能是通过调节 T 细胞免疫功能从而削弱肿瘤细胞对机体造成的免疫抑制,一定程度地改善 TACE 术后的免疫抑制状态,这对抑制肝癌局部复发和远处转移,延长患者生存时间有重要意义。

总之,TACE 序贯 RFA 治疗中晚期 HCC 体现了综合介入治疗的观念。本研究结果显示,TACE 会造成机体一过性免疫抑制状态,而单纯 RFA 或者 TACE 联合序贯 RFA 治疗可短时间内增强机体细胞免疫功能。由于本研究样本量较少,随访时间较短,其长期影响有待进一步前瞻性大样本随机对照临床研究证实。

[参考文献]

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015,65(2): 87-108
- [2] Rai V, Abdo J, Alsuwaidan A, et al. Cellular and molecular targets for the immunotherapy of hepatocellular car-

- langeal joints accompanied with contralateral shoulder dislocation: A case report[J]. *Orthopaedic Surgery*, 2016, 8(1):85
- [5] 王进, 吴刚, 江亚, 等. 纽扣钢板与带袢钢板治疗肩锁关节脱位的疗效比较[J]. *临床骨科杂志*, 2016, 19(2):227-231
- [6] 陈雪冲, 张祝秋, 刘小勇, 等. Tossy III 型肩锁关节脱位采用 CHP 与双 Endobutton 带袢钢板治疗的临床疗效比较[J]. *颈腰痛杂志*, 2015, 36(5):424-426
- [7] 韩冰, 冯晖, 陈烁, 等. 修复 III 度肩锁关节脱位: 带线锚钉重建喙锁韧带的生物力学变化[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(4):568-572
- [8] Willimon SC, Gaskill TR, Willett PJ. Acromioclavicular joint injuries: anatomy, diagnosis, and treatment[J]. *Phys Sportsmed*, 2011, 39(1): 116-122
- [9] 张建洛, 蒋锋, 鲁驷原, 等. 带袢钢板治疗肩锁关节脱位 22 例疗效分析[J]. *实用骨科杂志*, 2015, 21(12): 1105-1107
- [10] 黄立军, 夏庆福, 王伟, 等. Tossy III 型肩锁关节脱位采用锁骨钩钢板与带袢纽扣钢板治疗效果比较[J]. *现代仪器与医疗*, 2016, 22(4):94-96
- [11] Struhl S. Double endobutton technique for repair of complete acromioclavicular joint dislocation[J]. *Tech Shoulder Elbow Surg*, 2007, 8(4): 175-179
- [12] 阮永龙, 谢杰, 王双利, 等. 带袢钢板与锁骨钩钢板治疗肩锁关节脱位疗效比较[J]. *临床骨科杂志*, 2014, 17(4):467-470
- [13] 崔继君, 王哲, 张胜杰, 等. 带袢钢板治疗肩锁关节脱位的临床研究[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2017, 14(2):106-109

[收稿日期] 2017-06-13

(上接第 1593 页)

- cinoma[J]. *Mol Cell Biochem*, 2017,
- [3] 韩聚强, 范公忍, 任永强, 等. 不同微创介入治疗原发性肝癌对机体 T 细胞免疫功能的影响[J]. *介入放射学杂志*, 2014, 23(3): 218-221
- [4] 王立静, 苗同国, 宁更献, 等. 肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌患者 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. *介入放射学杂志*, 2015, (2): 165-168
- [5] 原发性肝癌诊疗规范(2017 年版) [J]. *临床肝胆病杂志*, 2017, (8): 1419-1431
- [6] Peng ZW, Zhang YJ, Chen MS, et al. Radiofrequency ablation with or without transcatheter arterial chemoembolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: a prospective randomized trial[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(4): 426-432
- [7] 吴金道, 韩国勇, 陆森, 等. 肝动脉栓塞化疗术联合索拉菲尼对比单纯介入术治疗原发性肝癌的临床观察[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(12): 1739-1742
- [8] Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-Based Diagnosis, Staging, and Treatment of Patients With Hepatocellular Carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4): 835-853
- [9] Liao J, Xiao J, Zhou Y, et al. Effect of transcatheter arterial chemoembolization on cellular immune function and regulatory T cells in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(4): 6065-6071
- [10] 李虎子, 郭志, 王海涛, 等. 肝细胞癌患者 TACE 后外周血调节性 T 细胞水平对预后的影响[J]. *介入放射学杂志*, 2012, 21(12): 998-1001
- [11] Wang Y, Deng T, Zeng L, et al. Efficacy and safety of radiofrequency ablation and transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma: A meta-analysis[J]. *Hepatol. Res.*, 2016, 46(1): 58-71
- [12] Li G, Staveley-O'Carroll K, Kimchi E. Potential of Radiofrequency Ablation in Combination with Immunotherapy in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma[J]. *J Clin Trials*, 2016, 6(2):
- [13] Liu H, Wang Z, Fu S, et al. Randomized clinical trial of chemoembolization plus radiofrequency ablation versus partial hepatectomy for hepatocellular carcinoma within the Milan criteria[J]. *Br J Surg*, 2016, 103(4): 348-356
- [14] Peng Z, Zhang Y, Liang H, et al. Recurrent hepatocellular carcinoma treated with sequential transcatheter arterial chemoembolization and RF ablation versus RF ablation alone: a prospective randomized trial[J]. *Radiology*, 2012, 262(2): 689-700
- [15] Lan T, Chang L, Rahmathullah M, et al. Comparative Efficacy of Interventional Therapies for Early-stage Hepatocellular Carcinoma: A PRISMA-compliant Systematic Review and Network Meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(15): e3185

[收稿日期] 2017-07-13