doi:10.11659/jjssx.10E023057

·胃肠肝胆专栏·

微波消融术后辅助PD-1抑制剂治疗肝细胞癌的临床疗效

侯晓玮,秦秀菊,庄兴俊,陈 昕,魏 莉 (中国人民解放军海军第九七一医院肿瘤科,山东 青岛 266071)

[摘 要] **目的** 观察微波消融术后辅助PD-1抑制剂治疗肝细胞癌患者的临床疗效和治疗前后患者淋巴细胞亚群的变化。**方法** 纳入我院56例接受微波消融术的肝细胞癌患者,根据治疗方法不同分为2组,每组28例。其中A组患者采用微波消融术后辅助PD-1抑制剂治疗;B组患者单纯行微波消融术。观察微波消融术的局部疗效、辅助PD-1抑制剂治疗后患者生存情况及相关不良反应发生情况。采集患者外周静脉血,分别检测2组患者微波消融术前、B组患者微波消融术后及A组患者6周期免疫治疗后淋巴细胞亚群数量。**结果** A组病例完全消融率与B组比较差异无统计学意义(89.3% *vs.* 85.7%,*P*=0.69),A组病灶完全消融率与B组比较差异无统计学意义(91.7% *vs.* 85.3%,*P*=0.40)。A组患者的中位无进展生存期(mPFS)尚未达到,B组患者的mPFS为12.6个月,2组患者mPFS比较,差异有统计学意义(*P*=0.03);2组患者中位总生存期(mOS)均未达到。治疗后A组患者CD_4^+ T淋巴细胞比例较B组患者明显升高[(37.05±2.22)% *vs.* (29.23±2.88)%,*P*=0.03],CD_8^+ T淋巴细胞比例[(21.08±2.23)% *vs.* (27.18±1.75)%,*P*=0.04]和调节T细胞(Treg细胞)比例[(4.26±0.31)% *vs.* (5.22±0.34)%,*P*=0.04]明显下降。所有患者微波消融术后均未出现严重不良反应,A组28例患者行PD-1抑制剂治疗后均未出现3级以上不良反应。**结论** 微波消融术后辅助PD-1抑制剂治疗能够延长患者的无进展生存期,强化患者T淋巴细胞的功能,削弱免疫抑制性细胞的作用,其可能是延缓肝癌微波消融术后复发的一种有效策略。

[关键词] 微波消融;PD-1抑制剂;肝细胞癌;淋巴细胞亚群

[中图分类号] R453.9;R735.7 [文献标志码] A [收稿日期] 2023-10-13

Clinical efficacy of adjuvant treatment with PD-1 inhibitors for hepatocellular carcinoma after microwave ablation

HOU Xiao-wei, QIN Xiu-ju, ZHUANG Xing-jun, CHEN Xin, WEI Li (Department of Cancer, the 971st Hospital of the Chinese People's Liberation Army Navy, Qingdao Shandong 266071, China)

Abstract: Objective To observe the clinical efficacy of adjuvant PD-1 inhibitor in the treatment of patients with hepatocellular carcinoma after microwave ablation and the changes of lymphocyte subsets before and after treatment. **Methods** A total of 56 patients with hepatocellular carcinoma who underwent microwave ablation in our hospital were randomly divided into two groups according to different treatments, with 28 cases in each group. Patients in the group A received adjuvant treatment with PD-1 inhibitors after microwave ablation, while patients in the group B received microwave ablation alone. The local efficacy of microwave ablation, the survival of patients after adjuvant treatment of PD-1 inhibitor and the occurrence of related adverse reactions were observed. Peripheral venous blood was collected to

[基金项目] 山东省医药卫生科技发展计划项目(202003100478)

[通信作者] 侯晓玮,E-mail:bluesky5581@126.com

[10] 赵海龙,李 宁,马俊英.经鼻型肠梗阻导管治疗妊娠期肠梗阻的临床意义研究[J].中外医疗,2020,39(36):41-43.doi:10.16662/j.cnki.1674-0742.2020.36.041.

[11] 张 超,李 昂,曹 锋,等.经鼻肠梗阻导管治疗老年机械性小肠梗阻的疗效分析[J].中华普通外科杂志,2021,36(5):327-331.doi:10.3760/cma.j.cn113855-20201122-00878.

[12] 黄湘俊,王永恒.DSA引导下经鼻肠梗阻导管置入治疗难治性粘连性肠梗阻[J].中国介入影像与治疗学,2020,17(2):80-83.doi:10.13929/j.issn.1672-8475.2020.02.004.

[13] 杨 杰,马宏飞,肖开提·依不拉音,等.经鼻肠梗阻导管置入术治疗急性肠梗阻伴晚期胃癌患者中远期疗效及对炎性因子影响[J].临床军医杂志,2020,48(4):422-423.doi:10.16680/j.1671-3826.2020.04.22.

[14] 姜 健,薛 谦,李建超.内镜下经鼻型肠梗阻导管对肠梗阻患者胃肠功能及免疫应激的影响[J].北京医学,2020,42(8):772-774.doi:10.15932/j.0253-9713.2020.08.019.

[15] 钱晶瑶,石 磊,施 丹,等.新型鼻胃镜辅助法留置经鼻型肠梗阻导管的应用价值[J].天津医药,2019,47(1):1179-1182.doi:10.11958/20191595.

[16] 张宏昭,石 鹏,王翠敏.益气活血法对术后早期炎性肠梗阻患者炎症因子水平、免疫功能及肠道菌群的影响[J].广西医学,2023,45(12):1439-1443.doi:10.11675/j.issn.0253-4304.2023.12.10.

[17] Akbas A, Koyuncu S, Hacım NA, et al. Can HALP (hemoglobin, albumin, lymphocytes, and platelets) score differentiate between malignant and benign causes of acute mechanic intestinal obstruction [J]. Cancer Biother Radiopharm, 2022, 37(3): 199-204. doi: 10.1089/cbr.2021.0277.

[18] Du L, Zhang Y, Ji S, et al. Mechanisms of Zhenwu decoction for the treatment of renal fibrosis at various stages: what is the role of corynebacterium? [J]. Front Microbiol, 2022, 13: 913465. doi: 10.3389/fmicb.2022.913465.

[19] Ben Khelil M, Godet Y, Abdeljaoued S, et al. Harnessing antitumor $CD4^+$ T cells for cancer immunotherapy[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(1):260. doi:10.3390/cancers14010260.

(编辑:贺绍梅)

detect the number of T lymphocyte subsets before microwave ablation in the two groups, after microwave ablation in the group B, and after six cycles of immunotherapy in the group A. **Results** There was no significant difference in the complete ablation rate of cases between group A and group B (89.3% *vs.* 85.7%, *P*=0.69), and there was no significant difference in the complete ablation rate of lesions between group A and group B (91.7% *vs.* 85.3%, *P*=0.40). The median progression-free survival (mPFS) of the group A was not yet reached, the mPFS of group B was 12.6 months, and there was a statistically significant difference in the mPFS between the two groups (*P*=0.03). The median overall survival (mOS) of the two group were not yet reached. The proportion of CD_4^+ T lymphocytes after treatment in the group A significantly increased compared with that in the group B [(37.05±2.22)% *vs.* (29.23±2.88)%, *P*=0.03], while the proportion of CD_8^+ T lymphocytes [(21.08±2.23)% *vs.* (27.18±1.75)%, *P*=0.04)] and the proportion of Treg cells [(4.26±0.31)% *vs.* (5.22±0.34)%, *P*=0.04] significantly decreased. There was no serious adverse reactions in all patients after microwave ablation, and 28 patients in the group A had no adverse reactions above grade 3 after PD-1 inhibitor treatment. **Conclusion** Adjuvant PD-1 inhibitor therapy after microwave ablation can prolong the progression-free survival of patients, enhance the function of T lymphocytes, and weaken the role of immunosuppressive cells, which may be an effective strategy to delay the recurrence of liver cancer after microwave ablation.

Keywords: microwave ablation; PD-1 inhibitor; hepatocellular carcinoma; lymphocyte subsets

肝癌的病死率居我国恶性肿瘤的第2位[1]。临床上肝癌的治疗包括手术切除、肝移植和热消融等多种治疗方法，但肝癌治疗后复发率高的难题亟待解决。微波消融术作为一种创伤小、安全性高的治疗手段，越来越多地应用于肝癌的治疗[2]。研究发现，肿瘤组织在原位被微波产生的高温摧毁后，释放的肿瘤细胞碎片可能作为肿瘤抗原诱发机体对肿瘤的免疫反应[3]；在小鼠模型中，微波消融能诱导机体对骨肉瘤产生T淋巴细胞免疫反应[4]；在肝细胞癌中也发现微波消融诱导的T淋巴细胞免疫反应增强[5]。但是，肝癌患者在接受微波消融术后仍然存在较高的复发率，提示单一由微波消融所诱导的T淋巴细胞免疫增强作用较微弱，不足以控制肿瘤复发。因此，在微波消融术后联合某种免疫增强疗法可能有助于增强微波消融疗效、降低微波消融术后肿瘤复发率。在免疫反应中，可以共同传递刺激或抑制的分子为免疫检查点，是一类发挥重要免疫抑制调节作用的分子，目前PD-1/PD-L1和CTLA-4为研究较为深入的免疫检查点。PD-1与其配体PD-L1结合可抑制T淋巴细胞的活化，PD-1抑制剂阻断PD-1与PD-L1的结合，通过促进T淋巴细胞活化而对肿瘤起到杀伤作用[6]。目前，PD-1抑制剂与靶向药物联合，推荐用于晚期肝癌的系统治疗，微波消融术后辅助PD-1抑制剂治疗肝癌尚缺乏高级别的循证医学证据。因此，本研究观察了肝癌患者微波消融术后辅助PD-1抑制剂治疗的疗效及治疗后T淋巴细胞亚群和NK细胞活性的变化，以期为降低肝癌微波消融术后复发率探索更有效的辅助治疗策略。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析2018年1月至2021年12月于我科接受治疗的56例原发性肝癌患者的临床资料。纳入标准：①临床确诊为肝细胞癌；②无凝血功能障碍；③入院前未接受过抗肿瘤治疗；④年龄>18岁；⑤临床资料完整。排除标准：①合并严重精神疾病；②合并肝内及远处转移；③妊娠期或哺乳期女性。根据治疗方式的不同将患者分为2组，A组28例患者采用微波消融术后辅助PD-1抑制剂治疗，其中男24例，60岁以下10例，平均肿瘤直径(3.50±0.64)cm，单发24例，高分化17例，有肿瘤家族史7例，乙型病毒性肝炎20例，门静脉癌栓8例，肝功能A级18例、B级10例；B组28例患者单纯给予微波消融术治疗，其中男18例，60岁以下14例，平均肿瘤直径(3.40±0.66)cm，单发25例，高分化19例，有肿瘤家族史6例，乙型病毒性肝炎21例，门静脉癌栓9例，肝功能A级16例、B级12例。2组患者治疗前上述临床资料比较，差异无统计学意义(*P*>0.05)。本研究经中国人民解放军海军第九七一医院伦理委员会审批(批准号：971LL2022111402)。患者均签署手术知情同意书。

1.2 治疗方法

1.2.1 术前准备 常规禁食、禁水6 h。术前对患者进行肝肾功能、血常规、心电图、凝血功能、心脏彩超等各项检查。行增强CT或超声检查，评估肝病灶部位、大小和数量。

1.2.2 微波消融术 术前计划：根据术前CT、超声等影像学资料，选择合适体位，确定皮肤穿刺点及进针路径，穿刺时注意避开重要脏器(如胆管、胆囊等)及大血管。消融过程：先行B超探查或CT扫描，根据肿瘤大小及形状，确定微波消融针插入数量及进针路径。最大径≤3 cm的肿瘤使用1根微波消融针进行消融，>3 cm的肿瘤使用2根微波消融针同时消融。肝内多发肿瘤分别用多根消融针穿刺，同时进行消融。给予1%利多卡因麻醉(穿刺点至肝包膜)，按既定的穿刺角度和路径，将消融探针穿刺入肝肿瘤结节内，经超声探查或CT扫描确保消融探针位置准确。使用微波消融机(METI-IVC微波治疗仪)连接微波消融装置，

消融频率为2 450 MHz,根据肿瘤大小和使用微波消融针数不同,设定消融功率(55~60 W)和消融时间(10~12 min)进行消融,保证消融区超过肿瘤周边5~10 mm。持续监测患者的心电图及生命体征。

1.2.3 PD-1抑制剂治疗 微波消融术后3周开始给予PD-1抑制剂,采用固定剂量:每次信迪利单抗200 mg或卡瑞利珠单抗200 mg,每3周1次。治疗至患者出现不可耐受的不良反应或疾病进展。

1.3 T淋巴细胞亚群、调节T细胞及NK细胞检测

在2组患者微波消融术前、B组患者微波消融术后和A组患者6个周期PD-1抑制剂治疗后采集外周静脉血2 mL待检。按照试剂说明书,用流式细胞仪检测CD_3^+ T淋巴细胞、CD_8^+ T淋巴细胞、CD_4^+ T淋巴细胞及NK细胞占外周血淋巴细胞百分比,用CELL Ques软件进行数据分析。

1.4 疗效评价

采用增强CT或MRI评价局部疗效。新发肿瘤:术后任意一次随访发现肝实质内(原消融区以外)出现活性肿瘤;局部肿瘤进展:术后首次随访判断为完全消融的区域在后续随访中(非首次)出现活性肿瘤;部分消融/肿瘤残余:术后首次随访显示消融区存在活性肿瘤;完全消融:术后随访中消融区显示无活性肿瘤,且消融区周边伴或不伴同心、匀称、光滑的环形强化带。

微波消融术后1个月行肝增强CT和/或增强MRI检查评价消融疗效,之后每3个月复查,比较2组患者的中位总生存期(median overall survival,mOS)及中位无进展生存期(median progression-free survival,mPFS)。随访中经影像学检查发现肿瘤残余或新发,且符合消融适应证,可予再次消融;若不符合,则采用其他方法进行治疗。

采用常见不良事件评价标准(CTCAE)5.0版评价治疗期间出现的不良反应。

1.5 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计学分析。计数资料采用频数或率(%)表示,组间比较采用χ^2检验。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较行t检验,多组间比较采用方差分析;非正态分布的计量资料以中位数和四分位间距表示。通过*Kaplan-Meier*法计算治疗后患者mOS和mPFS。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 微波消融术的局部疗效

对2组共56例患者的70个肝内病灶进行了微波消融治疗。术后1个月复查,A组25例患者肝内31个病灶(单发病灶患者22例22个病灶、多发病灶患者3例9个病灶)均完全消融;3例患者肝内共3个病灶(单发病灶患者2例2个病灶、多发病灶患者1例1个病灶)部分消融(肿瘤残余),其中1例多发病灶患者的肝内另外2个病灶完全消融。B组24例患者肝内27个病灶(单发病灶患者22例22个病灶、多发病灶患者2例5个病灶)均完全消融;4例患者肝内共5个病灶(单发病灶患者3例3个病灶、多发病灶患者1例2个病灶)部分消融(肿瘤残余),其中1例多发病灶患者肝内另外2个病灶完全消融。

A组病例完全消融率(89.3%)与B组(85.7%)比较,差异无统计学意义(P=0.69);A组病灶完全消融率(91.7%)与B组(85.3%)比较,差异无统计学意义(P=0.40)。

2.2 治疗后患者生存情况

2组患者的中位随访时间为24个月。A组患者的mPFS尚未达到,B组患者的mPFS为12.6个月,2组患者mPFS存在统计学差异(χ^2=4.97,P=0.03),见图1。2组患者mOS均未达到。

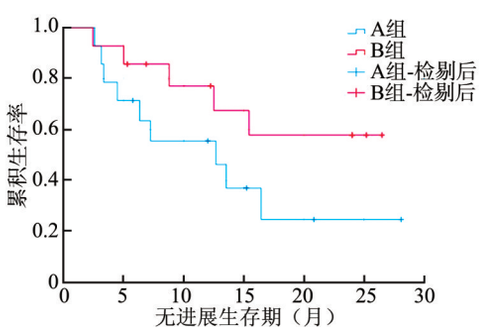


图1 2组患者PFS比较

2.3 治疗后患者淋巴细胞亚群的变化

与B组比较,治疗后A组患者CD_4^+ T淋巴细胞比例明显升高(P=0.03),CD_8^+ T淋巴细胞比例和调节T细胞(Treg细胞)比例均明显下降(P<0.05);2组患者治疗后NK细胞比例及CD_3^+ T淋巴细胞比例比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表1。

2.4 不良反应

微波消融术后出现近期不良反应,包括腹痛、转

表1 微波消融序贯免疫治疗后淋巴细胞变化($\bar{x}\pm s$,%)

淋巴细胞亚群		A组	B组	t	P
CD_3^+ T淋巴细胞	治疗前	51.40±2.96	52.38±3.00	1.20	0.22
	治疗后	64.57±2.93*	59.39±4.06*	5.18	0.31
CD_4^+ T淋巴细胞	治疗前	23.64±2.86	22.83±3.18	1.00	0.32
	治疗后	37.05±2.22*	29.23±2.88*	7.82	0.03
CD_8^+ T淋巴细胞	治疗前	27.30±2.64	27.81±3.26	0.64	0.52
	治疗后	21.08±2.23*	27.18±1.75*	6.10	0.04
调节T细胞	治疗前	6.37±1.15	6.40±1.28	0.09	0.93
	治疗后	4.26±0.31*	5.22±0.34*	0.97	0.04
NK细胞	治疗前	9.67±2.35	10.02±1.86	0.62	0.54
	治疗后	17.20±1.71*	15.49±1.01*	1.70	0.39

*:与同组治疗前比较,P<0.05

氨酶增高、发热，经保肝、镇痛、抗感染、退热等处理，均在1周后逐渐减轻；2例患者术后出现少量右侧胸腔积液，1个月后复查示胸腔积液自行吸收。微波消融术后1个月，所有患者均未出现消融相关不良反应。

PD-1抑制剂相关不良反应：A组患者中，8例给予卡瑞利珠单抗治疗的患者出现1~2级反应性毛细血管增生症，7例患者治疗后出现1~2级腹泻，6例患者治疗后出现2级转氨酶增高，3例患者治疗后出现1~2级血小板减少。经对症支持治疗后，除反应性毛细血管增生症外，其余不良反应均不同程度缓解。28例患者未出现3级以上不良反应。

3 讨论

肝细胞癌患者术后5年的复发率高达70%，术前肿瘤多发较单发肿瘤具有更高的术后复发率[7]。《肝癌术后辅助治疗中国专家共识(2023版)》[8]将靶向治疗和免疫检查点抑制剂治疗作为肝癌术后系统辅助治疗的主要建议。

有研究发现，微波消融治疗后肿瘤组织淋巴细胞浸润增多，机体免疫功能增强[8]，其原因可能是微波消融损毁肿瘤细胞后，细胞内肿瘤特异性抗原被释放并被抗原递呈细胞捕获，从而进一步激活T淋巴细胞对肿瘤细胞的免疫反应[8-12]。有研究报道，肝癌患者微波消融治疗后，仅有30%的患者获得长期缓解和较长的无进展生存期[13]。本研究结果显示，术后给予PD-1抑制剂治疗的患者，mPFS较单纯行微波消融术的患者明显延长，并且2组患者治疗后的NK细胞与CD_4^+ T淋巴细胞比例较治疗前明显升高，CD_8^+ T淋巴细胞的比例和调节T细胞(Treg细胞)比例较治疗前明显下降，且A组患者CD_4^+ T淋巴细胞、CD_8^+ T淋巴细胞、NK细胞变化较B组明显，提示虽然微波消融都能够将肝内可见肿瘤灭活，但消融术后给予PD-1抑制剂治疗，可进一步强化患者T淋巴细胞的功能，对肿瘤的复发或转移起到延迟的作用。此外，由于微波消融有一定激活免疫功能的作用，若再给予PD-1抑制剂进一步激活T淋巴细胞功能，这种叠加作用使免疫治疗成为更适合微波消融术后系统辅助治疗的选择策略。

Wei等[11]研究采用微波消融联合PD-1抑制剂卡瑞利珠单抗治疗21例晚期非小细胞肺癌患者，所有患者均消融成功，21例患者的客观缓解率为33.3%，疾病控制率为61.9%，中位随访时间6个月，mPFS为5.1个月，所有患者均未出现3级以上的严重不良反应及并发症，微波消融术后辅助免疫治疗的患者也未观察到特殊或严重不良反应，说明微波消融术后联合PD-1抑制剂对于其他肿瘤也有很好的疗效，且不良反应可控。本研究虽然观察到微波消融术后给予辅助PD-1抑制剂治疗能够延长肝癌患者的mPFS，降低复发风险，但本研究未检测治疗前后肿瘤组织浸润淋巴细胞的数量，且样本量较小，随访时间较短，未进行多中心验证，因此研究结果存在一定局限性。此外，不同患者肝癌组织免疫检查点的表达不同，免疫检查点抑制剂联合使用的最佳时机和疗程仍需进行大样本的基础和临床研究证实。

[参考文献]

[1] Zhang SW, Sun KX, Zheng RS, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2015[J]. J National Cancer Center, 2021, 1(1): 2-11. doi: 10.1016/j.jncc.2020.12.001.

[2] 蔡建强，赵 宏，陈 晓. 肝癌综合治疗新格局[J]. 中华消化外科杂志，2024，23(2)：204-208. doi：10.3760/cma.j.cn115610-20231208-00243.

[3] den Brok MH, Sutmuller RP, van der Voort R, et al. In situ tumor ablation creates an antigen source for the generate on of antitumor immunity[J]. Cancer Res, 2004, 64(11): 4024-4029. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3949.

[4] Yu Z, Geng J, Zhang M, et al. Treatment of osteosarcoma with microwave thermal ablation to induce immunogenic cell death [J]. Oncotarget, 2014, 5(15): 6526-6539. doi: 10.18632/oncotarget.2310.

[5] Dong BW, Zhang J, Liang P, et al. Sequential pathological and immunologic analysis of percutaneous microwave coagulation therapy of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Hyperthermia, 2003, 19(2): 119-133. doi: 10.1080/0265673021000017154.

[6] Liang SC, Latchman YE, Buhlmann JE, et al. Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses[J]. Eur J Immunol, 2003, 33(10): 2706-2716. doi: 10.1002/eji.200324228.

[7] Villanueva A. Hepatocellular carcinoma[J]. N Engl J Med, 2019, 380: 1450-1462. doi: 10.1056/NEJMra1713263.

[8] 肝癌术后辅助治疗中国专家共识协作组. 肝癌术后辅助治疗中国专家共识(2023版)[J]. 中华消化外科杂志，2023，22(12)：437-448. doi：10.3760/cma.j.cn112139-20230914-00121.

[9] Wiowski TT, Hänsler J, Neureiter D, et al. Activation of tumor-specific T lymphocytes by radio-frequency ablation of the VX2 hepatoma in rabbits[J]. Cancer Res, 2003, 63(19): 6496-6500.

[10] Liang P, Dong B, Yu X, et al. Prognostic factors for survival in patients with hepatocellular carcinoma after percutaneous microwave ablation [J]. Radiology, 2005, 235(1): 299-307. doi: 10.1148/radiol.2351031944.

[11] Wei Z, Yang X, Ye X, et al. Camrelizumab combined with microwave ablation improves the objective response rate in advanced non-small cell lung cancer[J]. J Cancer Res Ther, 2019, 15(7): 1629-1634. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_990_19.

[12] Leuchte K, Staib E, Thelen M, et al. Microwave ablation enhances tumor-specific immune response in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Immunol Immunother, 2021, 70(4): 893-907. doi: 10.1007/s00262-020-02734-1.

[13] Wang K, Wang C, Jiang H, et al. Combination of ablation and immunotherapy for hepatocellular carcinoma: where we are and where to go [J]. Front Immunol, 2021, 12: 792781. doi: 10.3389/fimmu.2021.792781.

(编辑：刘 艺)