

•非血管介入 Non-vascular intervention•

经皮穿刺不可逆电穿孔消融联合自然杀伤细胞
治疗胰腺癌的安全性和近期临床疗效

刘树鹏, 林 茂, 徐炯源, 曾健滢, 陈继冰, 徐 萌, 牛立志

【摘要】 目的 观察经皮穿刺不可逆电穿孔消融(IRE)联合自然杀伤细胞(NK 细胞)治疗胰腺癌的安全性和近期临床疗效。方法 2016 年 5 月至 2017 年 12 月,纳入 50 例胰腺癌患者,随机分配至两组。一组为 IRE 治疗(IRE 组,25 例),另一组为 IRE 联合 NK 细胞治疗(IRE-NK 组,25 例)。观察患者免疫功能变化,CA19-9 变化和 CT 检查结果来评估胰腺癌的治疗效果。结果 所有患者均安全完成 IRE 手术及 NK 细胞回输治疗。所有患者治疗后的淋巴细胞计数及淋巴细胞功能均较术前显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$);所有患者治疗后 60 d 时的 CA19-9 水平较术前显著下降,差异有统计学意义($P<0.05$),IRE-NK 组的 CA19-9 下降程度较 IRE 组更明显。所有患者治疗后 60 d 时 CT 评估结果显示肿瘤直径及 CT 值均较术前下降。IRE 组的肿瘤缓解率是 56.0%, IRE-NK 组的肿瘤缓解率是 68.0%。结论 IRE 消融联合 NK 细胞治疗胰腺癌安全可靠,两者具有协同治疗效果,表现在它们不仅增强患者免疫功能,同时减少 CA19-9 的表达,缩小肿瘤直径及 CT 值,提高肿瘤缓解率。

【关键词】 胰腺癌;不可逆电穿孔;消融;自然杀伤细胞

中图分类号:R735.9 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2019)-01-0042-07

percutaneous irreversible electroporation ablation combined with NK-cells transfusion for the treatment of pancreatic cancer: analysis of its safety and short-term efficacy LIU Shupeng, LIN Mao, XU Jiongyuan, CENG Jianying, CHEN Jibing, XU Meng, NIU Lizhi. Affiliated Guangzhou Fuda Cancer Hospital, Jinan University, Guangzhou, Guangdong Province 510665, China

Corresponding author: NIU Lizhi, E-mail: 438557407@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the safety and the short-term clinical effect of percutaneous irreversible electroporation ablation (IRE) combined with natural killer cells (NK cells) transfusion in treating pancreatic cancer. Methods A total of 50 patients with pancreatic cancer, who were encountered in authors' hospital during the period from May 2016 to December 2017, were enrolled in this study. The patients were randomly divided into irreversible electroporation ablation group (IRE group, $n=25$) and irreversible electroporation ablation together with NK cells transfusion group (IRE-NK group, $n=25$). The therapeutic effects were assessed by evaluating the changes in the immune function and the level of CA19-9 as well as the CT findings. Results Successful IRE and NK cells transfusion were accomplished in all patients. After the treatment, in all patients the lymphocyte count and lymphocyte function were significantly improved when compared with the preoperative data, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The level of CA19-9 was significantly decreased 60 days after treatment in all patients, the postoperative reduction in CA19-9 level was statistically significant when compared with the preoperative level ($P<0.05$). The reduction degree of CA19-9 level was more remarkable in IRE-NK group than in IRE group. CT examination performed at 60 days after the treatment showed that both the diameter and CT value of the tumor were decreased when compared with preoperative data. The tumor remission rate in IRE group was 56.0%, and it was 68% in IRE-

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.01.009

基金项目: 国家临床重点专科(肿瘤科)建设项目(2X001232)、广东省科技计划项目(2016A020216018)

作者单位: 510665 暨南大学附属广州复大肿瘤医院(刘树鹏、林 茂、徐炯源、曾健滢、陈继冰、牛立志); 暨南大学第一临床医学院、暨南大学附属第一医院(广州华侨医院)(刘树鹏、徐 萌)

通信作者: 牛立志 E-mail: 438557407@qq.com

NK group. **Conclusion** In treating pancreatic cancer, IRE ablation combined with NK cells transfusion is safe and reliable. They have synergistic therapeutic effect. They can not only enhance the immune function of patients, but also reduce the expression level of CA19-9, decrease tumor diameter, lower CT value of tumor, and improve the tumor remission rate. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 42-48)

【Key words】 pancreatic cancer; irreversible electroporation; ablation; natural killer cell

胰腺癌是高度恶性的肿瘤,其中 80%患者在发现时即不可切除^[1]。化疗和放疗是胰腺癌术后主要治疗方法,但是在过去的数十年间其治疗效果仍不理想^[2-5]。探索更有效的治疗方案已成为胰腺癌临床治疗中重要的挑战。不可逆电穿孔消融(irreversible electroporation ablation, IRE)是一种新兴的肿瘤消融技术,现已在不可切除性胰腺肿瘤中证明了其可行性及安全性^[6-9]。其作用机制是通过高压电流导致肿瘤细胞凋亡,同时不损伤周围结构组织,如血管和神经等。

自然杀伤细胞(NK 细胞)是固有免疫系统的重要组成部分,在机体抵御肿瘤中起重要作用^[10-11]。随着 NK 细胞扩增技术的提高和对 NK 细胞功能的进一步了解,NK 细胞体外扩增及回输治疗技术已经在多种肿瘤,如肾癌、鼻咽癌、乳腺癌的治疗上表现出良好的前景^[12-14]。因此,本研究前瞻性采用 IRE 联合 NK 细胞治疗胰腺癌,并通过观察该联合疗法的安全性及近期临床疗效,以求为临床治疗提供一种新的治疗模式。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床资料 本研究前瞻性纳入 2016 年 5 月至 2017 年 12 月我院收治的 50 例胰腺癌患者。经暨南大学附属广州复大肿瘤医院伦理委员会批准,且每例入组患者均签署知情同意书。入组标准:①病理学确诊的胰腺腺癌^[15];②估计生存期>3 个月;③年龄 30~80 岁;④下列指标在正常范围:总 T 细胞数 603~2 990/ μL , 细胞毒性 T 细胞 125~1 312/ μL , 辅助性 T 细胞 441~2 156/ μL , 血小板计数 $\geq 80 \times 10^9/\text{L}$, 白细胞计数 $\geq 3 \times 10^9/\text{L}$, 中性粒细胞计数 $\geq 2 \times 10^9/\text{L}$, 血红蛋白 $\geq 90 \text{ g/L}$, 凝血酶原时间国际正常化比值(INR)0.8~1.5, 肝功能总胆红素 $< 20 \mu\text{mol/L}$, 血清 ALT $< 60 \text{ U/L}$ 和肾功能血清肌酐 $< 130 \mu\text{mol/L}$, 血清尿素 $< 10 \text{ mmol/L}$ 。排除标准:①严重的心脏疾病;②自身免疫性疾病;③T 细胞淋巴瘤;④进行中的器官移植患者。所有患者随机分配至两组,每组 25 例。两组患者的临床资料见表 1。

表 1 患者临床资料汇总

患者术前资料	IRE 组 (n=25 例)	IRE-NK 组 (n=25 例)	P 值
性别(男/女)/例	14/11	13/12	0.224
中位年龄/岁	53	57	0.813
肿瘤大小/cm	4.85 \pm 1.45	4.68 \pm 1.55	0.524
肿瘤分化情况/例			0.963
高	9	10	
中	8	8	
低	8	7	
临床分期/例			0.584
III	14	13	
IV	11	12	
肿瘤位置/例			0.527
胰头部	15	14	
胰体部	6	5	
胰尾部	4	6	

1.1.2 主要设备与试剂 IRE 治疗系统为美国 Angio Dynamics 公司生产的 NanoKnife™ System。主要配置包括电流发生器,心电图同步器,15 cm 主电极和副电极,电极间隔板。定位系统为德国西门子公司生产的 SOMATOM Definition 64 排螺旋 CT,飞利浦公司生产的 IU22 超声机和 Perfint Healthcare 私营有限责任公司生产的 MAXIO V2 图像引导穿刺工具。美国 BD 公司生产的 FACSCanto™ II 流式细胞仪检测细胞类型。北京天根生化科技有限公司的中量血液基因组 DNA 提取试剂盒和天津市秀鹏生物技术开发有限公司的低分辨率型试剂盒检测献血者和患者血液情况。深圳汉科生物工程有限公司生产的高活性 NK(highly active natural killer, HANK)细胞体外培养试剂盒(包括 NK 增效剂、血浆处理液、淋巴细胞培养液添加剂、无血清培养液添加剂及细胞回输液添加剂、淋巴细胞无血清培养液)培养 NK 细胞。美国 BD 公司的 6 色 TBNK 试剂盒和美国 BD 公司的人 Th1/Th 型细胞因子检测试剂盒。

1.2 方法

1.2.1 IRE 治疗过程 手术前 1 d 清洁肠道,术前 8 h 禁食禁水。全身麻醉前给予留置胃管,导尿管,应用奥曲肽抑制胰腺分泌。全麻后,给予足够的肌肉松弛剂预防高电压短脉冲使患者出现肌肉收缩。术中使用电极 2 支,尽量保持电极针平行,并使用电极间隔板固定,电极针之间距离为 1.5~2.5 cm,

电极有效暴露端为 1.5~2.0 cm。通过 IRE 术前消融治疗计划决定消融电极进针方式及术中参数。通过 CT 联合彩色超声定位, MAXIO V2 图像穿刺引导工具引导下经皮进针, 使电极针插入距离肿瘤边缘 0~5 mm 处。设置 IRE 电流发生器参数为每组放电脉冲 10 次, 脉宽 70~90 μ s, 放电组数 7~9 组, 平均电场强度为 2 400~3 000 V/cm。采用同步心电图记录仪监测治疗过程。对于肿瘤较大或形态不规则者, 可对肿瘤分区段进行多次消融, 确保消融范围能够完全覆盖肿瘤靶区。手术结束后仍需持续镇静, 呼吸机辅助呼吸 2 h。患者留置胃管, 转 ICU 心电监护过夜, 术后第 2 天监测生命体征平稳后转入普通病房。术后需要禁食 2~3 d, 根据血尿酸淀粉酶水平及腹部体征的变化, 排除急性胰腺炎后再决定是否进食。给予预防感染, 护胃、抑制胰腺分泌等药物及静脉营养支持治疗。

1.2.2 IRE-NK 治疗过程 在 IRE 治疗前 7 d 抽取健康志愿者外周血 80 mL, 使用离心法收集外周血单核细胞(PBMC)和血浆。细胞培养第 1 天: 首先配备 HANK 细胞培养液: 分别将淋巴细胞培养液添加剂 1 支和无血清培养液添加剂 1 支加入 1 瓶淋巴细胞无血清培养液中。从液氮取出外周血单个核细胞(PBMC)(1×10^8 /L)1 支分别用 HANK 细胞培养液洗涤 2 次, 细胞计数, 取约 40×10^6 PBMC 转入 T175 培养瓶中。从 -80℃ 冰箱取出 1 支 NK 增效剂于 37℃ 水浴复苏, 0.9% NaCl 溶液洗涤 2 次, 转入 T175 培养瓶与 PBMC 共培养, 添加淋巴细胞无血清培养液至 40 mL, 往培养液中添加 2 mL 胎牛血清或按 5% 比例添加。细胞培养第 3 天: 将 T175 培养瓶细胞悉数吸出转入 50 mL 离心管离心, 去上清液, 转入 T175 培养瓶, 添加淋巴细胞无血清培养液至 60 mL, 往培养液中加入 3 mL 胎牛血清或按 5% 比例添加。细胞培养第 5 天: 补淋巴细胞无血清培养液 60 mL, 往培养液中加入 3 mL 胎牛血清或按 5% 比例添加。细胞培养第 6 天: 细胞计数, 按 1×10^6 个细胞分瓶培养。每瓶加入含 1%~2% 胎牛血清的淋巴细胞无血清培养液 50 mL, 合计 100 mL。细胞培养第 9 d 行细胞质量检测和计数, 确保 NK 细胞质量及无细菌、真菌或者支原体生长。用流式细胞仪检测 T、B 及 NK 淋巴细胞占细胞总数的变化情况。T 淋巴细胞表面标志为 CD3⁺, CD4⁺ 和 CD8⁺, B 淋巴细胞为 CD19⁺, NK 细胞为 CD3⁺CD16⁺CD56⁺。根据流式细胞仪的分析结果, 收集纯化的 NK 细胞。第 9 天患者行胰腺肿瘤 IRE 治疗。NK 细胞回输前, 进行肝炎、AIDS 和梅毒

等相关传染病检测。NK 细胞在细胞培养的第 13~15 天时通过静脉回输给 IRE-NK 组患者。整个细胞培养过程由有资质的团队(检验师和主管检验师)培养并质控。每例患者的回输量约为 300 mL, 共 1×10^{10} 个细胞, 分 3 d 回输。观察回输不良反应, 并记录。

1.2.3 免疫功能评估 免疫治疗前需抽取 2 mL 外周血, 并通过流式细胞仪检测免疫功能。检测指标包括: CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、总 CD3⁺、CD3⁺CD19⁺ 和 CD3⁺CD16⁺CD56⁺ 细胞计数。IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子水平和干扰素 γ 水平。IRE 组在术前 1 d 和术后 3 d 行免疫功能检测; IRE-NK 组在 IRE 术前 1 d 和 NK 细胞回输后 3 d 行免疫功能检测。

1.2.4 安全性评估 ①观察并记录 IRE 治疗过程中患者心率及血压的变化。②分别于术前, 术后第 1, 3, 7 和 10 天检测患者血清、尿淀粉酶和心肌酶的变化, 明确有无胰腺炎和心肌损伤。③观察术中, 术后的不良反应和急性并发症并根据通用不良事件术语标准 4.0 版^[16]进行评估。

1.2.5 疗效评估 ①检测肿瘤标志物: 术前, 术后第 1, 3, 7, 30 和 60 天时血清 CA19-9 水平(参考值范围: 0~40 U/mL)。②影像学检查: 所有患者在术前 1 周、术后 1 个月和术后 3 个月行上中腹部平扫及增强 CT 检查, 测量胰腺肿瘤的直径和 CT 值, 对比治疗前后的影像学变化并根据 mRECIST 标准^[17]来评估治疗效果。

1.3 统计学分析

应用 *U* 检验评估连续变量, 免疫检测结果通过平均数 \pm 标准差方式表示, 记录局部和系统性的并发症, 应用卡方检验进行统计。所有数据结果应用 GraphPad PRISM5 软件(San Diego, CA, USA)进行统计并作图, 数据均用双尾检验并以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

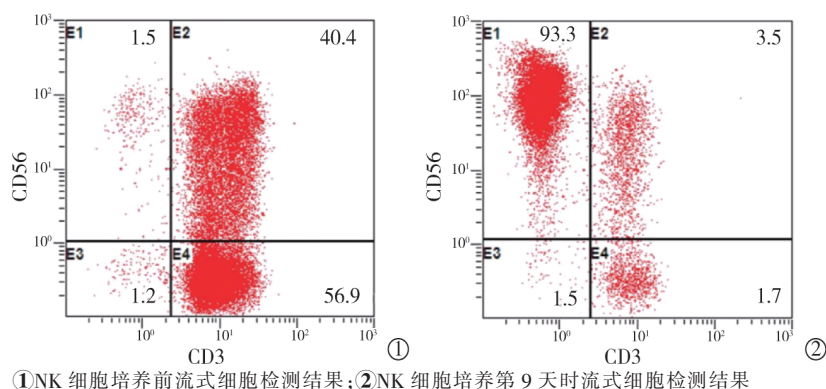
2 结果

2.1 NK 细胞培养结果

NK 细胞培养前 CD3⁺CD16⁺CD56⁺ 细胞的中位比例是 6.48%(95%CI, 4.2%~15.2%)。经过体外培养和扩增, 最终检测的 NK 细胞数量约 10×10^9 个/L; 有效细胞数量约 92%, 无细菌、真菌和支原体感染, 内毒素 < 1 EU/mL; CD3⁺CD56⁺ 细胞的中位比例是 85.6%(95%CI, 70.1%~93.3%)(图 1)。

2.2 IRE 安全性

2.2.1 患者一般情况 所有患者 IRE 治疗期间的血流动力学均保持稳定。基础收缩压为 $(106.4 \pm$

图 1 CD3-CD56⁺细胞(NK 细胞)百分比分析结果

10.1) mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),最高收缩压(111.8 ± 7.6) mmHg;基础心率(83.7 ± 7.8)次/min,最快心率(84.9 ± 9.7)次/min;血氧饱和度是 $96.1\% \pm 3.3\%$ 。IRE 治疗期间上述数据未见明显变化($P > 0.05$),无心律不齐。(表 2)

表 2 IRE 治疗患者资料

n=50

手术资料	均数±标准差	范围
手术时间/min	105.6±31.2	35.0~205.0
电极针距/cm	1.7±0.3	1.5~2.0
平均电压/V	2635±165	2 400~3 000
平均脉冲宽度/μs	78.9±6.4	70.0~90.0

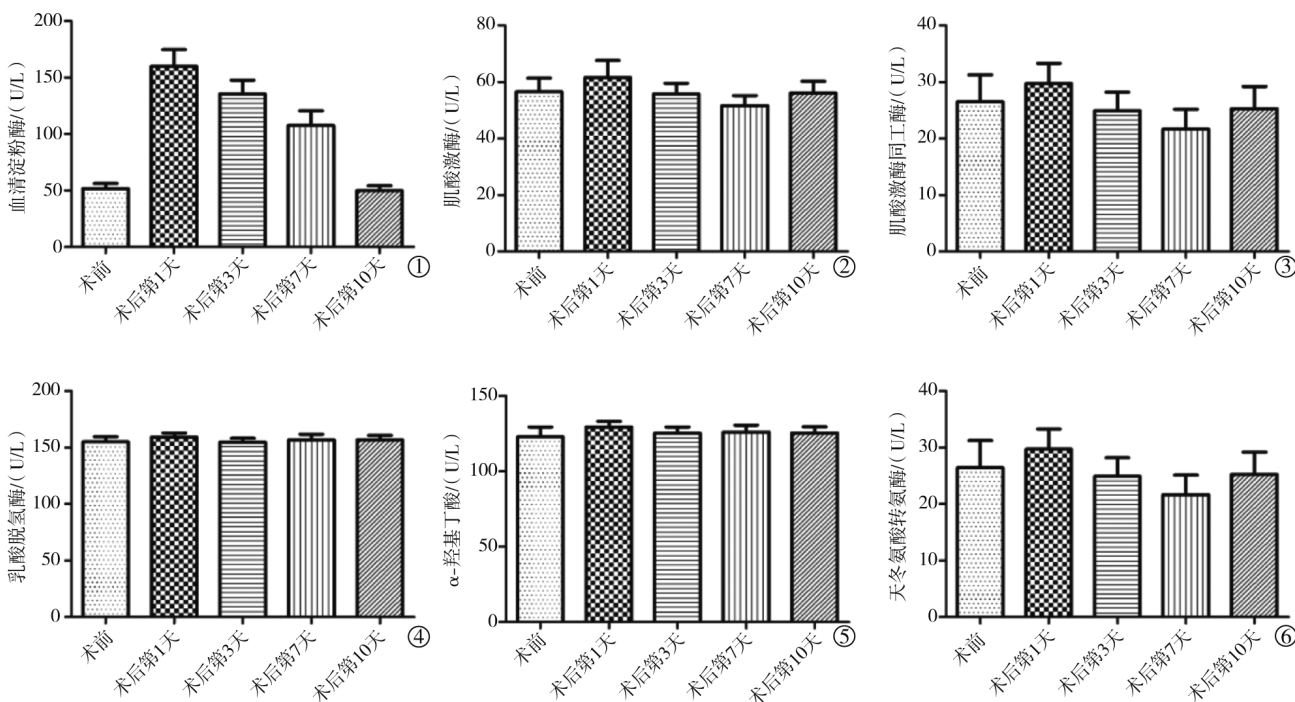
2.2.2 实验室检测 所有患者术前 1 d 的血清淀粉酶水平正常。术后第 1 天 5 例患者血清淀粉酶升高伴上腹部疼痛,经奥曲肽等对症处理后,在术后第 7

到 10 天血清淀粉酶降至正常。所有患者术前至术后 10 d 的血清淀粉酶水平差异有统计学意义($P < 0.05$,图 2①)。所有患者术前术后心肌酶未见明显变化($P > 0.05$,图 2②~⑥)。

2.2.3 术后不良反应 包括恶心呕吐,胸闷,低血糖和全身反应如寒战,疲惫,发热等,结果显示两组患者差异无明显统计学意义($P = 0.1848$,图 3)。所有患者未发现血液和骨髓抑制。所有症状经对症处理后好转。术后 2 个月内未见胰腺漏,严重出血,胆漏或者腹腔感染等严重并发症。

2.3 疗效评估

2.3.1 免疫功能结果 在淋巴细胞计数:IRE-NK 组及 IRE 组所有指标均较术前显著增高,差异有统



①血清淀粉酶变化;②~⑥心肌酶的变化

图 2 IRE 术前、术后血清淀粉酶及心肌酶的变化

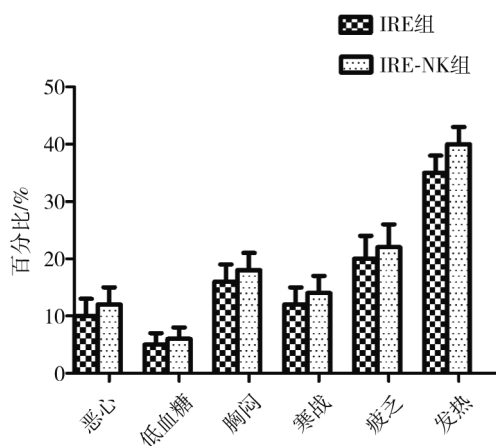


图3 IRE组和IRE-NK组术后并发症的对比

计学意义($P<0.05$);在淋巴细胞功能:IRE-NK组及IRE组术后细胞因子指标均较术前显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$)(表3)。

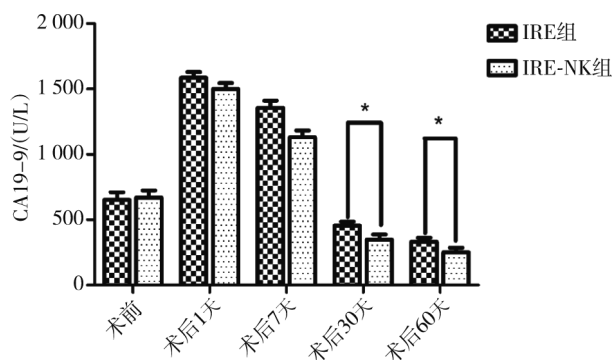
表3 淋巴细胞数量及功能比较 均值±标准差

淋巴细胞检测项目	术前 (n=50)	组别	
		IRE 组 (n=25)	IRE-NK 组 (n=25)
数量(细胞个数/μL)			
总 T 细胞	1451±61	1644±78*	1861±93***
CD8 ⁺ T 细胞	621±8	723±31*	769±13***
CD4 ⁺ T 细胞	716±30	818±35*	851±33**
NK 细胞	422±31	562±63**	632±73***
B 细胞	319±11	475±33**	561±41**
测值/(pg/mL)			
IL-2	9.4±3.1	17.5±3.9**	23.4±4.4***
TNF-β	3.8±2.2	9.6±2.5***	13.6±2.3***
IFN-γ	3.7±3.3	12.8±3.6**	17.2±3.5***
IL-4	10.5±2.1	10.8±3.4	11.2±3.1
IL-6	12.3±3.9	15.5±4.5**	15.8±5.9**
IL-10	9.7±2.7	9.9±2.3	10.3±3.2

注:采用Dunnnett- t 检验。*与术前指标相比,差异有统计学意义, $P<0.05$;**与术前指标相比,差异有统计学意义, $P<0.01$;***与术前指标相比,差异有统计学意义, $P<0.001$

2.3.2 肿瘤标志物检查结果 两组患者CA19-9在术后第1,7天时较术前明显升高,差异有统计学意义(图4, $P<0.05$),术后第30,60天时则较术前下降(图4, $P<0.05$)。在术后第1,7天时,两组差异无统计学意义($P>0.05$)。术后第30,60天时,IRE-NK组CA19-9水平与IRE组相比,差异有统计学意义(图4, $P<0.05$)。

2.3.3 影像学变化 所有肿瘤的最大直径结果(表4)。两组肿瘤的直径在术后30d时显著下降;术后60d时IRE-NK组的肿瘤直径明显小于IRE组。两组的CT值在术后30d时显著下降,在术后60d时IRE-NK组的CT值明显小于IRE组(表5)。同时观



* 两组 $P<0.05$

CA19-9在术前明显升高,术后第1天因肿瘤坏死释放而较术前显著升高,此后则缓慢下降至低于术前水平

图4 CA19-9手术前后变化

察术后60d时两组的治疗效果。结果显示:IRE组的RR是56.0%,但IRE-NK组的RR是68.0%(表6)。见图5。

表4 术前术后肿瘤最大直径比较 均数±标准差

时间	IRE组(n=25)	IRE-NK组(n=25)	P值
术前	4.41±1.03	4.69±1.28	0.514
术后30d	3.95±1.01	3.97±1.03	0.532
术后60d	3.98±1.01	3.74±1.17	0.342

表5 术前术后肿瘤CT值比较 均数±标准差

时间	IRE组(n=25)	IRE-NK组(n=25)	P值
术前	43.12±7.66	44.09±7.12	0.454
术后30d	25.67±2.06	24.31±3.12	0.553
术后60d	28.54±3.25	24.65±4.68	0.451

表6 两组术后60d时治疗效果比较 n(%)

组别	CR	PR	SD	PD	RR*
IRE组(n=25)	4(16.0)	10(40.0)	9(36.0)	2(8.0)	56.0
IRE-NK组(n=25)	7(28.0)	10(40.0)	8(32.0)	0(0.0)	68.0

注: *肿瘤缓解率

3 讨论

3.1 IRE联合NK细胞治疗的安全性

绝大多数胰腺癌患者基本没有手术切除指征,取而代之的是放疗、化疗或其它姑息性治疗方法^[18-19]。IRE是一种新兴的肿瘤消融技术,通过高压低频电流在目标肿瘤细胞表面形成电穿孔,导致细胞内外电解质平衡,从而导致细胞凋亡^[17]。目前动物实验和临床试验均证实IRE是一种安全有效的肿瘤消融技术^[18-21],而且其对重要结构如神经、血管、胆道和肠道等无明显损伤。本组50例患者中部分出现术后淀粉酶的短暂升高,经应用奥曲肽抑制胰腺分泌,抗感染的对症处理后,淀粉酶均可将至正常范围。术后CT检查显示未见胰腺导管、胆道或者邻近肠道损伤。



①IRE 治疗前图像,肿瘤 4.3 cm×4.2 cm;②IRE 消融治疗中肿瘤图像;③IRE 消融治疗术后 60 d 图像,肿瘤 3.9 cm×3.7 cm

图 5 手术前后影像改变

3.2 IRE 联合 NK 细胞治疗的有效性

在胰腺癌患者的治疗中,IRE 显示出其安全性和有效性,但 IRE 只能消融肿瘤原发灶或者转移灶,其在抑制胰腺癌细胞转移方面的作用有限。胰腺肿瘤转移的前提是微小转移介导胰腺癌细胞到外周血管,随后肿瘤细胞就可以到达全身其他组织或者器官。因此,我们在 IRE 治疗后行 NK 细胞回输治疗。令人欣喜的是 IRE 联合 NK 细胞在胰腺癌患者的治疗中起到了协同作用,提高了抗肿瘤效果,显著增强患者免疫功能,并降低 CA19-9 水平,缩小患者的肿瘤体积,降低肿瘤区 CT 值。值得注意的是,IRE 消融术后 CA19-9 水平较术前明显升高,达到术前的 2 倍左右,可能是由于肿瘤消融坏死后 CA19-9 释放入血导致。随着肿瘤坏死组织吸收和肿瘤缩小,CA19-9 表达水平在术后 1 个月开始则较术前下降。此外,IRE 联合 NK 细胞治疗的耐受性良好。

3.3 NK 细胞的优势

近些年来,许多研究证实胰腺癌的形成和发展受肿瘤免疫反应影响,提示免疫治疗在胰腺癌治疗中的作用明显^[22-23]。NK 细胞是机体的固有免疫反应,在识别及溶解肿瘤细胞不需要经过 MHC 分子途径。其通过激活受体途径,例如 NKG2D, NKp30, NKp40 和 NKp46 等介导免疫反应。因此,肿瘤细胞更容易被 NK 细胞识别及溶解^[24]。NK 细胞治疗可分为自体细胞治疗和异体细胞治疗。例如通过回输自体 NK 细胞使有些脑胶质瘤患者达到临床部分缓解,但有些转移性肿瘤和淋巴瘤却并未显示出临床疗效^[25-26]。NK 细胞表达 KIR 基因,该基因阻止 NK 细胞杀伤表达自身 MHC I 类分子的肿瘤细胞。所以,近些年来很多学者进行了异体 NK 细胞研究,从而探索肿瘤的获得性免疫治疗方法。在之前的研究中,我们应用异体 NK 细胞,并取得良好疗效。例如体外扩增回输异体 NK 细胞联合化疗治疗卵巢癌和复发转移性乳腺癌并取得一定临床疗效^[27]。

3.4 本研究的局限性

首先是随访时间短,目前的结论尚需进一步观察。第二,所有患者术后均未行病理活检,也没有生存时间曲线等客观证据。我们虽然使用 CA19-9 及 CT 对治疗效果进行评估,但仍不足以预测治疗后复发情况。本次研究仅作为开展和推广 IRE 联合 NK 治疗胰腺癌的初步探索,并为临床治疗提供一种潜在的治疗模式,其安全性和疗效评价需要更大样本和更长随访时间的研究进一步明确。

[参考文献]

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66: 7-30.
- [2] Arshad A, Al-Leswas D, Al-Taani O, et al. Pooled survival and response data from phase III randomized controlled trials for gemcitabine-based regimes in the treatment of advanced pancreatic cancer[J]. Am J Clin Oncol, 2013, 36: 411-414.
- [3] Pisters KM. Adjuvant chemotherapy for non-small-cell lung cancer: the smoke clears[J]. N Engl J Med, 2005, 352: 2640-2642.
- [4] Noel G, Mazon JJ. A randomized trial of postoperative adjuvant therapy in patients with completely resected stage II or III a non-small-cell lung cancer[J]. Cancer Radiother, 2001, 5: 195-196.
- [5] Felip E, Martinez-Marti A, Martinez P, et al. Adjuvant treatment of resected nonsmall cell lung cancer: state of the art and new potential developments[J]. Curr Opin Oncol, 2013, 25: 115-120.
- [6] Kluger MD, Epelboym I, Schroppe BA, et al. Single-institution experience with irreversible electroporation for T4 pancreatic cancer: first 50 patients[J]. Ann Surg Oncol, 2016, 23: 1736-1743.
- [7] Martin RC, Kwon D, Chalikhonda S, et al. Treatment of 200 locally advanced (stage III) pancreatic adenocarcinoma patients with irreversible electroporation: safety and efficacy[J]. Ann Surg, 2015, 262: 486-494.
- [8] 秦子淋, 牛立志, 梁冰, 等. 不可逆电穿孔消融肿瘤围手术期并发症分析[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 223-227.

- [9] Narayanan G, Hosein PJ, Arora G, et al. Percutaneous irreversible electroporation for downstaging and control of unresectable pancreatic adenocarcinoma[J]. J Vasc Interv Radiol, 2012, 23: 1613-1621.
- [10] Zhao Y, Hu J, Li R, et al. Enhanced NK cell adoptive antitumor effects against breast cancer *in vitro* via blockade of the transforming growth factor- β signaling pathway[J]. Onco Targets Ther, 2015, 8: 1553-1559.
- [11] Cheng M, Chen Y, Xiao W, et al. NK cell-based immunotherapy for malignant diseases[J]. Cell Mol Immunol, 2013, 10: 230-252.
- [12] Wang D, Zhang B, Gao H, et al. Clinical research of genetically modified dendritic cells in combination with cytokine-induced killer cell treatment in advanced renal cancer[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 251.
- [13] Li JJ, Gu MF, Pan K, et al. Autologous cytokine-induced killer cell transfusion in combination with gemcitabine plus cisplatin regimen chemotherapy for metastatic nasopharyngeal carcinoma[J]. J Immunother, 2012, 35: 189-195.
- [14] Pan K, Guan XX, Li YQ, et al. Clinical activity of adjuvant cytokine-induced killer cell immunotherapy in patients with post-mastectomy triple-negative breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20: 3003-3011.
- [15] 中国临床肿瘤学会胰腺癌专家委员会. 胰腺癌综合诊治中国专家共识(2014 年版)[J]. 临床肿瘤学杂志, 2014, 10: 358-370.
- [16] Goldberg SN, Grassi CJ, Cardella JF, et al. Image-guided tumor ablation: standardization of terminology and reporting criteria[J]. Radiology, 2005, 235: 728-739.
- [17] Watanabe H, Okada M, Kaji Y, et al. New response evaluation criteria in solid tumours-revised RECIST guideline (version 1.1)[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2009, 36: 2495-2501.
- [18] Martin RC. Irreversible electroporation of locally advanced pancreatic head adenocarcinoma[J]. J Gastrointest Surg, 2013, 17: 1850-1856.
- [19] Martin RC, McFarland K, Ellis S, et al. Irreversible electroporation in locally advanced pancreatic cancer: potential improved overall survival[J]. Ann Surg Oncol, 2013, 20: S443-S449.
- [20] 梁冰, 牛立志, 曾健滢, 等. 不可逆电穿孔消融兔胆囊侧肝脏病理学观察[J]. 介入放射学杂志, 2014, 23: 320-324.
- [21] 牛立志, 曾健滢, 张怡滢, 等. 不可逆电穿孔消融治疗胰腺癌的安全性及近期疗效观察[J]. 介入放射学杂志, 2016, 25: 225-230.
- [22] Niu L, Xu K, Mu F. Cryosurgery for lung cancer[J]. J Thorac Dis, 2012, 4: 408-419.
- [23] Izumi Y, Oyama T, Ikeda E, et al. The acute effects of transthoracic cryoablation on normal lung evaluated in a porcine model[J]. Ann Thorac Surg, 2005, 79: 318-322.
- [24] Ljunggren HG, Karre K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition[J]. Immunol Today, 1990, 11: 237-244.
- [25] Mikelsaar AV, Sunter A, Mikelsaar R, et al. Epitope of titin A-band-specific monoclonal antibody Tit1 5 H1.1 is highly conserved in several Fn3 domains of the titin molecule. Centriole staining in human, mouse and zebrafish cells[J]. Cell Div, 2012, 7: 21.
- [26] Burns LJ, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. IL-2-based immunotherapy after autologous transplantation for lymphoma and breast cancer induces immune activation and cytokine release: a phase I/II trial[J]. Bone Marrow Transplant, 2003, 32: 177-186.
- [27] Geller MA, Cooley S, Judson PL, et al. A phase II study of allogeneic natural killer cell therapy to treat patients with recurrent ovarian and breast cancer[J]. Cytotherapy, 2011, 13: 98-107.

(收稿日期:2018-03-16)

(本文编辑:俞瑞纲)