

• 讲 座 Lecture •

不可逆电穿孔技术在肝癌消融治疗中的应用

许 敏, 许丹霞, 蒋天安

【摘要】 不可逆电穿孔(IRE)是一种新型非热能消融方法,该技术利用高压脉冲电场在细胞膜上形成不可逆纳米级微孔,而不损伤周围重要血管或胆管结构,具有并发症少、安全性高和恢复快等优点,在肝癌治疗中展现出广阔的应用前景。本文对 IRE 技术在肝癌消融治疗中的作用机制、应用优势、有效性、安全性和发展方向作一介绍,以期为该技术的临床应用和推广提供参考。

【关键词】 不可逆电穿孔; 肝癌; 纳米刀; 消融

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2022)-05-0511-04

Application of irreversible electroporation in the ablation treatment of liver cancer XU Min, XU Danxia, JIANG Tian'an. Department of Ultrasound Medicine, First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University; Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pulsed Electric Field Technology for Medical Transformation, Hangzhou, Zhejiang Province 310006, China

Corresponding author: JIANG Tian'an, E-mail: tiananjiang@zju.edu.cn

【Abstract】 The irreversible electroporation(IRE) is a novel method of non-thermal ablation. IRE generates instantaneous high-voltage pulse electric field to create permanent "nanometer-scale" micropores in the cell membrane, while not damaging the surrounding important blood vessels and bile duct. IRE carries several advantages such as less complications, high safety, quick recovery, etc., which shows that it has a broad application prospect in treating liver cancers. This article aims to make a comprehensive review about IRE treatment for liver cancer ablation, focusing on its mechanism, application advantages, effectiveness, safety and future development direction so as to provide reference for its clinical application and promotion. (J Intervent Radiol, 2022, 31: 511-514)

【Key words】 irreversible electroporation; liver cancer; nanoknife; ablation

肝癌是目前我国第五位常见恶性肿瘤及第二位肿瘤致死病因,严重威胁人民的生命健康^[1]。尽管手术切除是肝癌治疗的首选方法,但因大部分患者合并有肝硬化或在确诊时已达中晚期,仅 20%~30%的患者能够获得手术切除的机会^[2]。

近年来,局部消融治疗得到广泛应用,其凭借微创、局部疗效确切和禁忌证少等优势使许多不能手术或不耐受手术的患者得到有效治疗。目前常用的局部消融方法为热消融,包括 RFA 和 MWA 等^[3-4]。尽管上述方法各具优势,但难以避免消融过程中产生的高温,在杀伤肿瘤的同时损伤消融区域内的血

管、胆管、胰管或神经等重要组织,同时还由于血液循环引起的热沉效应,使得热消融在邻近重要结构的肿瘤中应用受限^[5-6]。

不可逆电穿孔(irreversible electroporation, IRE)是一种新兴的非热消融治疗方法,现已逐步应用于临床。目前研究显示,IRE 安全有效,能够很好地克服热消融技术的不足,在肝癌,尤其是邻近血管或胆管等特殊部位的肝癌治疗中展现出独特优势^[7-9]。

1 IRE 作用机制及优势

20 世纪 50 年代有学者发现,脉冲电场作用下

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2022.05.019

基金项目:国家重大科研仪器研制项目(82027803),国家自然科学基金面上项目(81971623),浙江省自然科学基金重点项目(LZ20H180001)

作者单位:310006 杭州 浙江大学医学院附属第一医院超声医学科,浙江省脉冲电场技术医学转化重点实验室

通信作者:蒋天安 E-mail: tiananjiang@zju.edu.cn

细胞膜的脂质双分子层重新排列,形成纳米级亲水性孔道,被称为电穿孔。根据外加电场撤消后,细胞膜能否恢复到正常生理状态,电穿孔分为可逆性电穿孔(reversible electroporation, RE)和 IRE^[10]。RE 被应用于辅助化疗药物或基因药物进入细胞,是电化学疗法和基因电转染技术的理论基础^[11]。IRE 是在 RE 的基础上发展而来,通过提高电能量,在细胞膜上形成不可恢复的微孔,微孔形成增加了离子及大分子物质的通透性,使细胞渗透压发生改变,进而破坏细胞内外平衡,导致细胞水肿或凋亡^[12]。

2005 年,Devalos 等^[13]首次验证了 IRE 作为消融方法的有效性,并提出其有望成为肿瘤治疗的有力武器,随后越来越多的基础实验与临床试验证实了这一观点。现有研究结果显示,IRE 作为一种新型非热消融技术,具有以下优势:①IRE 作用于细胞膜脂质双分子层,而构成血管、胆管和神经的骨架成分可得以保留,保证了治疗后正常组织的快速恢复^[14];②IRE 不依靠温度杀伤肿瘤细胞,故疗效不受热沉效应影响,提高了血管、胆管周围肿瘤的完全消融率^[15];③IRE 工作原理为诱导细胞凋亡而非蛋白质变性坏死,可更好地保留肿瘤抗原,激活宿主抗肿瘤免疫,IRE 结合免疫治疗有望提高患者的远期疗效^[16-17]。

2 IRE 治疗肝癌的有效性和安全性

自从 IRE 作为一种新型肿瘤局部治疗方式被提出后,一系列的实验研究对肝脏 IRE 消融参数、是否损伤血管和胆道、消融前后影像学表现及免疫反应等领域进行了探索。2005 年,Miller 等^[18]利用脉冲电场消融 HepG2 人肝癌细胞株,结果表明体外采用 1 500 V/cm 电场强度、300 μ s 脉冲宽度和 10 个脉冲的消融参数可以完全灭活肝癌细胞。Lee 等^[19]通过扫描电镜发现,IRE 消融后肝细胞膜上产生了纳米级微孔(80~490 nm),且术后 24 h 微孔大小仍保持不变,证实了 IRE 可诱导肝细胞产生不可逆性穿孔。Guo 等^[20]通过构建 S-D 大鼠肝癌模型并行 IRE 治疗发现,术后 15 d MRI 提示病灶体积明显缩小,病理检查发现 9 只大鼠实现肿瘤完全灭活,剩余 1 只大鼠仅残留<5% 的肿瘤细胞,从病理学层面证实了 IRE 治疗的有效性。Lee 等^[21]对 16 头猪进行超声引导下 IRE 治疗,发现 IRE 消融区域与正常肝组织分界清晰,胆管和血管保留完整,消融区域末端脱氧核苷酸转移酶 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)和 BCL-2 癌蛋白染色呈阳性,显示凋亡过程参与了由

IRE 引起的细胞死亡。

在大量实验证实 IRE 可用于肝癌治疗的基础上,为进一步提高疗效,科学家们开始探索 IRE 联合治疗的方法。Isfort 等^[22]发现与单独 IRE 相比,IRE 治疗后即刻进行药物洗脱微球栓塞(DEB-TACE)可产生更大的消融体积,提高局部疗效。Tam 等^[23]发现 IRE 可导致纳米金颗粒沉积在肿瘤细胞内以及肿瘤周围区域,实现治疗区域覆盖肿瘤及其边缘,两种方法联合可有效降低 IRE 治疗后残留的风险。Fang 等^[24]利用 3D 肝肿瘤模型来探索 RFA 预热对 IRE 消融的增强作用,结果显示与单独 IRE 相比,使用 RFA 预热可增大 IRE 消融体积,降低杀灭肿瘤电场阈值强度,该联合方法有望用于毗邻重要器官的大肿瘤。

在实验研究取得满意结果的基础上,关于 IRE 临床应用的探索也从未停止脚步。2009 年,美国 Angio Dynamics 公司研制出首台 IRE 消融设备 Nanoknife(纳米刀),2012 年 4 月 FDA 正式批准 Nanoknife 应用于临床。2015 年 6 月,我国食品药品监督管理局批准 Nanoknife 应用于肝脏和胰腺肿瘤的消融治疗^[25]。近年来,随着 IRE 技术应用逐渐广泛,国内外多家医疗机构对 IRE 治疗肝癌的有效性和安全性进行了深入研究,取得了较好的观测和评估结果。

选择合适的患者是实现安全有效治疗的关键。IRE 推荐用于治疗直径 ≤ 5 cm 的单发病灶;多发病灶数量 ≤ 3 个,最大径线 ≤ 3 cm。IRE 可用于肝细胞癌、肝转移瘤和胆管细胞癌等多种病理类型的肝肿瘤治疗,对于邻近大血管、肝门、胆囊、胃肠道或膈肌等困难部位,不适于手术或热消融治疗的肝肿瘤尤其适用。根据 2020 颁布的改良 Delphi《肝肿瘤 IRE 专家共识》,IRE 的禁忌证包括:肿瘤最大径 > 5 cm、室性心律失常、安装植入型心律转复除颤器、充血性心力衰竭(NYHA III 级和 IV 级)、血小板 $< 50 \times 10^3/\mu\text{L}$ 或 INR > 1.7 ^[26]。

2012 年,Kingham 等^[27]报道对 28 例患者共 65 个肝癌病灶(距离肝静脉或门静脉主干 1 cm 以内)进行 IRE 消融,肿瘤直径 0.5~5 cm,中位随访时间 6 个月,结果表明肿瘤完全消融率达 98.1%,局部复发率为 5.7%,仅 1 例出现术中心律不齐,1 例出现门静脉血栓,无严重并发症发生。2013 年,Cannon 等^[28]对邻近重要结构肝癌 IRE 消融的有效性和安全性进行了前瞻性多中心研究,结果显示 44 例患者在术后 3、6 和 12 个月的局部无复发生存率

分别为 97.4%、94.6% 和 59.5%，术后有 5 例患者出现轻微不良反应，30 d 内均可自行缓解。黄凯文^[29]研究发现，IRE 治疗肝门部肝癌的完全消融率和局部复发率与外科切除手术相近，术后随访未发现消融区域邻近管道系统损伤的相关并发症。IRE 用于肝癌治疗的临床研究得到广泛开展，其主要的受试对象为邻近血管、胆管、膈肌、胃肠道或肝门等重要结构的肝癌患者，在这些外科手术和传统热消融治疗困难部位的肝癌中展现出良好的疗效。

目前研究结果显示，不仅对于特殊部位的肝癌，对于那些肝储备功能受损的肝癌患者，IRE 也是一种微创和有效的治疗选择。Bhutiani 等^[30]对 55 例 Child-Pugh B 级肝硬化背景下肝癌患者进行了 MWA 或 IRE 消融治疗，结果显示两者完全消融率无明显差异，但接受 IRE 治疗患者比 MWA 患者耐受性更好，住院时间更短。Martin 等^[31]对 26 例进展型胆管细胞癌患者在经皮肝胆管引流术后行 IRE 消融，手术成功率达 96%，在随访时间内，IRE 组全部患者均不需要行胆道引流，避免了因胆道引流引起的感染或闭塞等并发症，表明 IRE 可有效改善进展型胆管细胞癌伴梗阻性黄疸患者的梗阻症状，提高患者生活质量。Cannon 等^[32]对 5 例中晚期肝癌患者进行了 IRE 治疗，IRE 术后 47~264 d 患者行肝移植手术，中位随访时间为 403 d，4 例患者存活且无复发，1 例患者在 IRE 术后 297 d 后因移植相关并发症死亡，表明 IRE 有望为高风险肝癌患者的肝移植争取更多时间。

在验证 IRE 治疗肝癌有效性的同时，不少学者也在探索影响 IRE 疗效的相关因素。Niessen 等^[33]研究发现，病灶大小与病理分型和局部复发率独立相关，病灶直径 > 5 cm 和胆管细胞癌或转移癌复发率较高；而病灶与肝动脉、肝静脉、门静脉和胆管的距离与局部复发率无明显相关；长期随访研究显示，病灶直径 < 3 cm 或少于 2 个的患者比具有较大或较多病灶的患者生存期更长，Child-Pugh A 级患者生存期明显长于 Child-Pugh B / C 级肝硬化患者。

IRE 消融并发症包括心律失常、腹痛、出血、胆管损伤、感染和血栓等。心律失常常常发生在距离心脏较近的肿瘤，为了避免心律失常的发生，整个 IRE 消融过程应在同步心电监护下进行，控制电脉冲在心动周期的不应期施加^[34]。IRE 消融后 3.4%~46% 患者会出现术后疼痛，但仅个别患者需要大剂量静脉注射吗啡，其余仅需观察或使用简单的止痛药^[25]。尽管 IRE 为非热消融，但当电极针放置不平

行时，电极针间温度会集中在电极间距较小的区域，产生的热量有可能损伤胆管或血管，导致胆管狭窄或血管血栓形成^[35]。IRE 后 ALT、AST 和总胆红素水平升高，在 IRE 术后 2 周一般会恢复到术前基线水平^[36]。

3 总结与展望

IRE 是一种治疗肝癌安全有效的消融技术，但依然有一系列问题有待解决：①IRE 消融产生的直流电刺激会引起肌肉不自主强烈收缩，引起患者疼痛及电极针移位，故需要充分的全身麻醉和使用肌肉松弛剂来保障术中安全，增加了手术的风险和复杂程度。近些年研究发现，高频不可逆电脉冲 (high-frequency irreversible electroporation, H-FIRE) 通过产生频率高达 500 KHz 以上的交替极性脉冲，更均匀地将细胞诱导跨膜电位提高到模拟电穿孔阈值，在减少肌肉收缩和高效灭瘤方面展现了良好的应用前景^[37-38]。②IRE 多针治疗时需平行布针，电极距离保持稳定，操作技术难度较大，对穿刺者水平要求高，因此需要研发更便捷的电极针及固定装置，从而保障治疗过程的精准和微创。③IRE 治疗参数繁多，协同不好容易导致疗效不佳和产热等副作用，因而需要对不同治疗参数与消融疗效之间的量效关系进行深入研究，同时开发智能化的模型算法和导航系统，为 IRE 消融治疗保驾护航。

综上，IRE 凭借其独特的优势，已成为传统热消融或手术无法治疗的困难部位肝癌和肝储备功能较差患者的重要治疗手段。相信随着新型治疗设备的研发、治疗参数的优化以及远期临床试验的论证，IRE 在肝癌的局部治疗中将发挥越来越重要的作用。

[参考文献]

- [1] Zhang S, Sun K, Zheng R, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2015[J]. J Nat Cancer Center, 2020, 1: 2-11.
- [2] Zeng H, Chen W, Zheng R, et al. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries[J]. Lancet Glob Health, 2018, 6: e555-e567.
- [3] Yang JD, Heimbach JK. New advances in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. BMJ, 2020, 371: m3544.
- [4] Arellano RS. What's new in percutaneous ablative strategies for hepatocellular carcinoma and colorectal hepatic metastases? 2020 update[J]. Curr Oncol Rep, 2020, 22: 105.
- [5] Liu ZG, Chen XH, Yu ZJ, et al. Recent progress in pulsed

- electric field ablation for liver cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26: 3421-3431.
- [6] Wang X, Su Z, Lyu T, et al. F-FDG PET biomarkers help detect early metabolic response to irreversible electroporation and predict therapeutic outcomes in a rat liver tumor model[J]. *Radiology*, 2018, 287: 137-145.
 - [7] Nault JC, Sutter O, Nahon P, et al. Percutaneous treatment of hepatocellular carcinoma: state of the art and innovations[J]. *J Hepatol*, 2018, 68: 783-797.
 - [8] Sutter O, Calvo J, N'kontchou G, et al. Safety and efficacy of irreversible electroporation for the treatment of hepatocellular carcinoma not amenable to thermal ablation techniques: a retrospective single-center case series[J]. *Radiology*, 2017, 284: 877-886.
 - [9] Distelmaier M, Barabasch A, Heil P, et al. Midterm safety and efficacy of irreversible electroporation of malignant liver tumors located close to major portal or hepatic veins[J]. *Radiology*, 2017, 285: 1023-1031.
 - [10] Jiang CL, Davalos RV, Bischof JC. A review of basic to clinical studies of irreversible electroporation therapy[J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2015, 62: 4-20.
 - [11] Geboers B, Scheffer HJ, Graybill PM, et al. High-voltage electrical pulses in oncology: irreversible electroporation, electrochemotherapy, gene electrotransfer, electrofusion, and electroimmunotherapy[J]. *Radiology*, 2020, 295: 254-272.
 - [12] Ringel-Scaia VM, Beitel-White N, Lorenzo MF, et al. High-frequency irreversible electroporation is an effective tumor ablation strategy that induces immunologic cell death and promotes systemic anti-tumor immunity[J]. *EBioMedicine*, 2019, 44: 112-125.
 - [13] Davalos RV, Mir IL, Rubinsky B. Tissue ablation with irreversible electroporation[J]. *Ann Biomed Eng*, 2005, 33: 223-231.
 - [14] Scheck J, Bruners P, Schindler D, et al. Comparison of chronologic change in the size and contrast-enhancement of ablation zones on CT images after irreversible electroporation and radiofrequency ablation[J]. *Korean J Radiol*, 2018, 19: 560-567.
 - [15] Niessen C, Thumann S, Beyer L, et al. Percutaneous irreversible electroporation: long-term survival analysis of 71 patients with inoperable malignant hepatic tumors[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43687.
 - [16] Guo X, Du F, Liu Q, et al. Immunological effect of irreversible electroporation on hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21: 443.
 - [17] Go EJ, Yang H, Chon HJ, et al. Combination of irreversible electroporation and STING agonist for effective cancer immunotherapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12: 3123.
 - [18] Miller L, Leor J, Rubinsky B. Cancer cells ablation with irreversible electroporation[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2005, 4: 699-705.
 - [19] Lee EW, Wong D, Prikhodko SV, et al. Electron microscopic demonstration and evaluation of irreversible electroporation-induced nanopores on hepatocyte membranes[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2012, 23: 107-113.
 - [20] Guo Y, Zhang Y, Klein R, et al. Irreversible electroporation therapy in the liver: longitudinal efficacy studies in a rat model of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2010, 70: 1555-1563.
 - [21] Lee EW, Chen C, Prieto VE, et al. Advanced hepatic ablation technique for creating complete cell death: irreversible electroporation[J]. *Radiology*, 2010, 255: 426-433.
 - [22] Isfort P, Rauen P, Na HS, et al. Does drug-eluting bead TACE enhance the local effect of IRE? Imaging and histopathological evaluation in a porcine model[J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2019, 42: 880-885.
 - [23] Tam AL, Melancon MP, Abdelsalam M, et al. Imaging intratumoral nanoparticle uptake after combining nanoembolization with various ablative therapies in hepatic VX2 rabbit tumors[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2016, 12: 296-307.
 - [24] Fang Z, Mao H, Moser MAJ, et al. Irreversible electroporation enhanced by radiofrequency ablation: an in vitro and computational study in a 3D liver tumor model[J]. *Ann Biomed Eng*, 2021, 49: 2126-2138.
 - [25] 秦子淋, 曾健滢, 牛立志. 不可逆电穿孔消融治疗肝恶性肿瘤现状[J]. *介入放射学杂志*, 2017, 26: 285-289.
 - [26] Ruars AH, Barabasch A, Catalano O, et al. Irreversible electroporation for hepatic tumors: protocol standardization using the modified delphi technique[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2020, 31: 1765.e15-1771.e15.
 - [27] Kingham TP, Karkar AM, D'angelica MI, et al. Ablation of perivascular hepatic malignant tumors with irreversible electroporation[J]. *J Am Coll Surg*, 2012, 215: 379-387.
 - [28] Cannon R, Ellis S, Hayes D, et al. Safety and early efficacy of irreversible electroporation for hepatic tumors in proximity to vital structures[J]. *J Surg Oncol*, 2013, 107: 544-549.
 - [29] 黄凯文. 履险如夷之纳米刀肝癌消融[J]. *肝癌电子杂志*, 2015, 2: 36-41.
 - [30] Bhutiani N, Philips P, Scoggins CR, et al. Evaluation of tolerability and efficacy of irreversible electroporation (IRE) in treatment of child-pugh B(7/8) hepatocellular carcinoma (HCC)[J]. *HPB (Oxford)*, 2016, 18: 593-599.
 - [31] Martin EK, Bhutiani N, Egger ME, et al. Safety and efficacy of irreversible electroporation in the treatment of obstructive jaundice in advanced hilar cholangiocarcinoma[J]. *HPB (Oxford)*, 2018, 20: 1092-1097.
 - [32] Cannon RM, Bolus DN, White JA. Irreversible electroporation as a bridge to liver transplantation[J]. *Am Surg*, 2019, 85: 103-110.
 - [33] Niessen C, Igl J, Pregler B, et al. Factors associated with short-term local recurrence of liver cancer after percutaneous ablation using irreversible electroporation: a prospective single-center study[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2015, 26: 694-702.
 - [34] O'Neill CH, Martin RCG 2nd. Cardiac synchronization and arrhythmia during irreversible electroporation[J]. *J Surg Oncol*, 2020, 122: 407-411.
 - [35] 赵建军, 张业繁, 茅锐, 等. 不可逆电穿孔治疗肝脏恶性肿瘤的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2020, 49: 1-4.
 - [36] Alnaggar M, Qaid AM, Chen J, et al. Irreversible electroporation of malignant liver tumors: effect on laboratory values[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16: 3881-3888.
 - [37] Dong S, Wang H, Zhao Y, et al. First human trial of high-frequency irreversible electroporation therapy for prostate cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2018, 17: 1533033818789692.
 - [38] Siddiqui IA, Kirks RC, Latouche EL, et al. High-frequency irreversible-generation irreversible electroporation adjacent to critical hepatic structures[J]. *Surg Innov*, 2017, 24: 276-283.

(收稿日期: 2021-02-28)

(本文编辑: 俞瑞纲)