

·综述 General review·

不可逆电穿孔对肿瘤消融的研究进展

刘春苹, 叶 萍, 张明悦

【摘要】 不可逆电穿孔消融技术是一种能有效消融肿瘤的新型非热消融技术, 其利用高压电脉冲作用于细胞膜的磷脂双分子层, 产生不可逆的电穿孔, 导致细胞内外失去平衡, 最终引发肿瘤细胞死亡, 不可逆电穿孔消融技术对肿瘤的消融效果已在动物实验及临床研究中得到证实。该技术无热沉效应, 消融区域明显, 消融区邻近的血管、神经不会受到损伤。现就不可逆电穿孔消融肿瘤的机制、优势、脉冲参数、不可逆电穿孔消融仪器进行综述。

【关键词】 不可逆电穿孔; 肿瘤消融; 消融仪器

中图分类号: R197.39 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2023)-05-0498-05

Research progress in irreversible electroporation ablation for tumors LIU Chunping, YE Ping, ZHANG Mingyue. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

Corresponding author: YE Ping, E-mail: iamyping@163.com

【Abstract】 Irreversible electroporation ablation technology is a novel non-thermal ablation technique that can effectively ablate tumor tissues. It uses high-voltage electrical pulses to act on the phospholipid bilayer of cell membrane, resulting in loss of balance between the intracellular and extracellular environment and eventually causing tumor cell death. The tumor ablation effect of the irreversible electroporation ablation technology has already been confirmed in animal experiments and clinical studies. This technique carries no heat sink effect, and the ablated area can be clearly displayed, moreover, the blood vessels and nerves adjacent to the ablation area will not be damaged. This paper aims to make a comprehensive review about irreversible electroporation ablation technology, focusing on its mechanism, advantages, pulse parameters, ablation equipment, and its combination use with chemotherapy and immunotherapy in treating tumors. (J Intervent Radiol, 2023, 32: 498-502)

【Key words】 irreversible electroporation; tumor ablation; ablation equipment

电穿孔是指在高压脉冲电场的作用下, 细胞膜通透性发生变化, 产生纳米级细小孔道的现象^[1]。电穿孔的效果由一些脉冲参数决定, 如脉冲电场的脉冲宽度、脉冲时间以及电场强度等^[2-3]。当电场强度低于一定的脉冲电压域值时, 磷脂双分子层上无电穿孔形成, 细胞膜无生理反应; 高于这个脉冲电压域值时, 在一定的电压范围内形成的电穿孔, 当停止施加脉冲电压时是可以恢复的, 这种现象称之为可逆性电穿孔(reversible electroporation, RE); 在电场强度逐渐升高或持续施加脉冲电压, 形成的电穿孔无法恢复, 这种现象被称为不可逆电穿孔

(irreversible electroporation, IRE)^[4]。

脉冲电场在细胞膜上产生 RE, 此状态下细胞膜的渗透性极大的增强, 可往细胞内引入大、小分子, 而且细胞仍旧可以存活, 基于此, 研究者在施加脉冲电场之前在静脉或肿瘤内注射单剂量化疗药物, 增强了化疗效果, 被称为电化学疗法(electrochemotherapy, ECT)^[1, 5-6]。IRE 肿瘤消融技术是利用微秒/纳秒的短时间、超高压脉冲, 在肿瘤细胞的细胞膜上形成 IRE, 破坏了肿瘤细胞内外的平衡, 导致肿瘤细胞凋亡, 最终被单核-巨噬细胞系统吞噬、清除。与传统治疗肿瘤的方法相比, IRE 消融导致肿瘤细胞凋亡, 而不

是使细胞坏死,可有效地控制正常组织的损伤范围,对人体的伤害小,治疗后人的身体机能恢复快^[3]。与射频消融、微波消融相比^[6-8],IRE 在消融过程中不依赖热量,不会引起周围正常组织的不可逆性热损伤,没有热沉效应,可以用于胃肠道和血管周围的肿瘤消融,保护其管壁组织支架结构。由于 IRE 消融技术的脉冲时间短、消融界限清晰,故其对肿瘤的治疗过程用时少。除此之外,与其他的癌症治疗手段相比,肿瘤的复发率和转移率较低。

1 不同脉冲参数对肿瘤消融效果的影响

1.1 电场强度

电场强度是 IRE 肿瘤消融的重要参数之一。在不同的电场强度下细胞膜产生的通透性不同,对细胞造成的损伤程度会有所差异,从而对肿瘤的消融效果也不同。

Rubinsky 等^[9]对前列腺癌细胞分别施加 125~1 000 V/cm 的电场强度,结果显示在不同的电压下细胞受损程度不同,电压在 1 000 V/cm 时,细胞完全破碎;在 750 V/cm 时,有少量细胞未完全破碎;在 500 V/cm 时,少量细胞呈碎片状;在 250 V/cm 时,没有观察到破碎的细胞,但有形态畸变的外观;在 125 V/cm 时,细胞保持完整,细胞膜也完整。Batista 等^[10]的研究表明,在不同电场强度下,对细胞膜的损伤程度不同,在更高的电场强度下,还会使细胞内的一些结构(细胞器、蛋白质、DNA)被破坏,这些都会导致细胞损伤,最后凋亡、坏死。

Ben-David 等^[11]的研究表明,增加 IRE 脉冲电压,会使消融的宽度和深度显著增加。李鑫等^[12]利用纳米刀治疗肝癌的研究中发现,高压脉冲产生的动作电位,会引起强烈的肌肉收缩。这些研究都表明,在进行 IRE 消融时要时刻关注脉冲电压引发的现象,并评判其是否会影响消融效果,及其他并发症。

1.2 脉冲时间

脉冲频率(f)、脉冲宽度(t)影响脉冲时间,脉冲次数(n)与单个脉冲宽度的乘积等于脉冲时间(T)。脉冲频率越高表明一秒内脉冲次数越多,可以通过控制脉冲次数准确地控制脉冲时间。

Beebe 等^[13]的研究表明,一旦达到临界电场强度阈值,纳秒脉冲电场诱导的细胞凋亡取决于脉冲持续时间,并且与电场强度无关。Garcia 等^[14]的研究表明,施加更多的脉冲将有更高的细胞死亡率。Miller 等^[15]报道,利用电场强度为 1 500 V/cm、脉冲宽度 0.3 ms 的电场作用于人的肝癌细胞,以 10 个

脉冲为一组脉冲,对肝癌细胞施加 10×1、10×2、10×3 的脉冲次数,结果施加相同大小的脉冲,脉冲次数越多细胞的存活率越小,而脉冲次数多相当于脉冲时间加长。

这些实验表明,脉冲时间是 IRE 消融的另一重要参数,而脉冲的总时长又与脉冲频率、脉冲宽度、脉冲次数息息相关,故在进行 IRE 消融时要关注这些参数。

2 不可逆电穿孔消融设备

2.1 高压脉冲发生器

在 IRE 消融设备的研究中,对高压脉冲发生器的研究是其中一个重点,高压脉冲发生器用来发射 IRE 所需的脉冲参数。目前对于 IRE 消融所需的高压脉冲发生器有两种形式,一种是电容放电脉冲发生器,主要产生指数衰减脉冲,常用的是空气火花开关,另一种是方波脉冲发生器,产生方波脉冲,常用有 Blumlein 传输线、绝缘栅型场效应管(MOSFET)、IGBT[由 BJT(双极型三极管)和 MOS(绝缘栅型场效应管)组成的复合全控型电压驱动式功率半导体器件]构成的高压脉冲发生器。空气火花开关不能够自行关断,因而产生指数衰减脉冲,输出波形重复性欠佳,可控性差,寿命短,受负载影响大,因此在生物医学工程领域的研究中很少用到^[16]。Blumlein 发生器常用于形成纳秒方波脉冲。应用最多的是 MOSFET、IGBT,其作为固态开关器件具有体积小、效率高、使用寿命长、工作重复频率高、成本低、工作稳定和维护简单等优势,应用于全桥/半桥电路或 Marx 电路形成纳秒级高压脉冲发生器。Thomas 等^[17]报道了一种利用 RF MOSFET(DE375-102N12A)在级联多电平逆变器的拓扑,形成了一种高压、高频、双极脉冲发生器用于恶性肿瘤的治疗。MOSFET 能够在高电压下实现快速开关的控制,再结合 H 桥结构,使用级联多电平逆变器拓扑实现几个 MOSFET 串联,在可控宽度的离散步骤中部分整形输出脉冲。Yao 等^[18]利用 MOSFET 代替传统 Marx 电路中的空气火花开关,研制了一种可以输出数百纳秒的单极性脉冲发生器。Sakamoto 等^[19]研制了基于全桥开关电容单元(SCC)的全固态脉冲发生器,每个单元独立控制,实现脉冲参数的自由调控,其输出脉冲电压幅值为±4 kV 双极性脉冲,脉宽 100~300 ns 可调。

2.2 消融电极

在 IRE 消融设备的研究中,对消融电极的研究

是其中另一重点,由于 IRE 所需的脉冲是通过消融电极作用于肿瘤细胞的,故消融电极的选取密切影响组织消融的效果。

消融电极的样式有许多,常用于临床治疗和动物试验的消融电极有针式电极、导管电极,用于体外实验的有平行板电极、电极杯等。针式电极主要用于开腹、经腹腔镜和经皮穿刺的治疗和试验中,导管电极结合内镜技术和介入技术主要用于消化道、泌尿道、呼吸道和心血管组织等管腔结构的消融中。

现今常用的针式电极为 19 G 电极针,Flak 等^[20]利用 19 G 电极针进行消融试验。除了 19 G 电极针,还有 22 号针、单极针(16 G)和双极针(18 G)等^[21-22]。张科等^[23]探讨了热控电极与传统电极在小鼠肝脏 IRE 消融的异同。Ren 等^[24]设计了磁锚定式导管电极用于胃组织消融,Neven 等^[25]设计了吸盘式电极用于食管组织消融,Kodama 等^[26]在肺脏的支气管中使用网篮状的导管电极。针式电极结构简单,能与其他器械联合使用,适用于多种场合和组织,但在临床治疗中很难保证电极的平衡。热控电极,在传统电极的设计基础上添加了温度控制功能,在相同的脉冲电场剂量下,热控电极消融效率不及传统电极,但能更好地控制在消融过程产生的热效应,使消融效果更均衡。磁锚定电极、吸盘式电极在 IRE 消融过程中能防止高压电脉冲产生的动作电位引起肌肉收缩所产生的电极不平衡或者移位。网篮状电极可精准地控制消融区域,保证了消融的安

全性。表 1 中整理了一些在动物或人体中用到的 IRE 的电极样式。

除了电极的样式会影响到消融的效果,还要关注针式电极在消融过程中电极针的位置与间距。Ben-David 等^[11]对 25 头猪的能量沉积和电极配置进行了研究,发现电极间距从 1~3 cm 每次增加 0.5 cm,电极间距增加,消融区高度也随之增加。当电极间距为 2.5 cm,电压 3 kV,脉冲宽度 100 μ s,脉冲次数 90 次时,会出现沙漏状或两个不相邻的消融区。这些现象表明,电极的排列也是 IRE 消融过程中重要的一环。在临床治疗前,研究者应根据不同的肿瘤情况先进行模拟,选择合适的电极、最优的参数,以及电极排列方式。

2.3 现有不可逆电穿孔消融设备

现今的 IRE 消融设备,除了已发展到 Nanoknife(纳米刀)3.0 系统以外,还有赛诺微 Dopfi N3000 陡脉冲治疗系统,国内的有鹰泰利安康陡脉冲治疗仪、上海睿刀复合陡脉冲治疗设备、辉沅纳秒脉冲发生器。辉沅生物科技有限公司生产的纳秒脉冲发生器,输出的脉冲电压可达 ± 2 kV,脉冲宽度为纳秒级,脉冲上升沿陡,时间短,作用在细胞膜上的能量更大,更易产生 IRE。且其体积小,移动方便,方便了临床治疗和实验研究。

Nanoknife 3.0 系统、赛诺微 Dopfi N3000 陡脉冲治疗系统以及鹰泰利安康陡脉冲治疗仪都采用微秒级脉冲和 19 G 的消融电极。Nanoknife3.0 系统

表 1 动物或人体用到的不可逆电穿孔的电极样式

高压脉冲发生设备	电极种类	电极型号	研究对象	结果	并发症
NanoKnife; AngioDynamic	针式电极	19 G ^[27]	人肝	未见转移性癌	未出现并发症
—	针式电极	单针双极电极 ^[28]	鼠胰腺	肿瘤消退	—
ECM 830(BTX Genetronics, San Diego, CA)	针式电极	内窥镜针电极 ^[29]	猪胰腺	手术成功	无并发症发生
Marx 发生器	针式电极	平行针式电极 ^[30]	仓鼠卵巢细胞 (体外实验)	核膜破裂导致细胞死亡 和活力下降	—
DC pulse generator (IGEA Co., Italy)	针式电极	18 号(Oncobioni) ^[31]	猪肝	可完成病变边缘的细胞消融	—
—	针式电极	单极电极/双极电极 ^[32]	猪直肠	治疗顺利完成	无治疗相关并发症
NanoKnife; AngioDynamic	针式电极	16 G ^[33]	猪直肠	若直肠壁活动收缩,不会发生 异常,反之可能发生异常	无穿孔
ECM 80, Harvard Apparatus	平板电极	BTX 平板电极 ^[34]	鼠小肠(开腹)	目标组织的细胞完全消融	未见穿孔
—	导管电极	磁锚定电极 ^[24]	兔胃	成功地完成了胃组织消融	无其他并发症
NanoKnife; AngioDynamic	导管电极	网篮状电极 ^[26]	猪支气管	治疗后肺迅速恢复	—
—	导管电极	21 号和 9-F 的阀套组合 ^[35]	猪输尿管	输尿管壁完整保存	—
NanoKnife; AngioDynamic	导管电极	电极安装在球囊 扩张导管上 ^[36]	猪胆管	未有器官穿孔或梗阻	—

注:—文献中未提及

立即的视觉反馈功能结合简洁直观的显示界面,使操作者在手术过程中,可实时观测到 IRE 的有效消融区域。Dophi N3000 陡脉冲治疗系统设计了组织温度、电压/电流/阻抗/R 波的实时检测模块,可以及时调整操作,更好地保护正常组织。其还具有智能数据管理系统、可触摸屏,使操作者高效简洁地进行临床治疗或实验。鹰泰利安康陡脉冲治疗仪设计了一种可移动的薄壁绝缘导管,实现了 IRE 消融区域的径向调节,并可以在 CT、超声、磁共振系列下清晰显影。

上海睿刀复合陡脉冲治疗仪利用了正、负双极性微秒级低电压宽脉冲的电场在细胞膜上产生了大尺寸的电穿孔,增强了 IRE 的消融效果。对于消融电极做了特殊绝缘处理,缓解了电场辐射引发的肌肉收缩。

3 展望

IRE 消融技术作为一种新兴的恶性肿瘤治疗方法,在肿瘤消融方面有着许多的理论优势,但还需要更多的临床试验证明其安全性、有效性、可靠性,以及在术前准备工作、术中可能出现的状况、术后的恢复和随访,手术的适应人群,相关治疗规范等。IRE 消融组织细胞的生理机制也需要体外试验去探寻。

目前,在动物实验、体外试验以及临床治疗上使用的还是国外的 IRE 消融仪器,从经济角度出发,应加紧研发出国产的 IRE 消融器械,以实现让更多患者的治疗。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] Verma A, Asivatham SJ, Deneke T, et al. Primer on pulsed electrical field ablation understanding the benefits and limitations [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2021, 14: e010086.
- [3] Jiang C, Davalos RV, Bischof JC. A review of basic to clinical studies of irreversible electroporation therapy [J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2015, 62: 4-20.
- [4] 吴佩宏. 不可逆电穿孔消融技术的实践原理 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [5] Novickij V, Malysko V, Zelvyys A, et al. Electrochemotherapy using doxorubicin and nanosecond electric field pulses: a pilot in vivo study [J]. *Molecules*, 2020, 25: 4601.
- [6] Zuo M, Huang J. The history of interventional therapy for liver cancer in China [J]. *J Intervent Med*, 2018, 1: 70-76.
- [7] 杨波, 刘念龙, 沈晓康, 等. MRI 引导肺癌射频消融治疗的临床应用 [J]. *介入放射学杂志*, 2021, 30: 1133-1136.
- [8] Lau WY, Lai ECH. Loco-regional intervention for hepato-cellular carcinoma [J]. *J Intervent Med*, 2019, 2: 43-46.
- [9] Rubinsky J, Onik G, Mikus P, et al. Optimal parameters for the destruction of prostate cancer using irreversible electroporation [J]. *J Urol*, 2008, 180: 2668-2674.
- [10] Batista Napotnik T, Polajzer T, Miklavcic D. Cell death due to electroporation: a review [J]. *Bioelectrochemistry*, 2021, 141: 107871.
- [11] Ben-David E, Appelbaum L, Sosna J, et al. Characterization of irreversible electroporation ablation in in vivo porcine liver [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2012, 198: W62-W68.
- [12] 李鑫, 刘凤永, 袁宏军, 等. 纳米刀治疗肝癌 [J]. *介入放射学杂志*, 2017, 26: 939-943.
- [13] Beebe SJ, Chen YJ, Sain NM, et al. Transient features in nanosecond pulsed electric fields differentially modulate mitochondria and viability [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e51349.
- [14] Garcia PA, Davalos RV, Miklavcic D. A numerical investigation of the electric and thermal cell kill distributions in electroporation-based therapies in tissue [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e103083.
- [15] Miller L, Leor J, Rubinsky B. Cancer cells ablation with irreversible electroporation [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2005, 4: 699-705.
- [16] 江伟华. 高重复频率脉冲功率技术及其应用: 半导体开关的特长与局限性 [J]. *强激光与粒子束*, 2013, 25: 537-543.
- [17] Thomas PC, Gaynor PT. High voltage and frequency bipolar pulse generator design for electroporation-based cancer therapy [R]. 2013 Australasian Universities Power Engineering Conference (AUPEC), September 2013.
- [18] Yao C, Zhang X, Guo F, et al. Fpga-controlled all-solid-state nanosecond pulse generator for biological applications [J]. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 2012, 40: 2366-2372.
- [19] Sakamoto T, Akiyama H. Solid-state dual Marx generator with a short pulsewidth [J]. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 2013, 41: 2649-2653.
- [20] Flak RV, Malmberg MM, Stender MT, et al. Irreversible electroporation of pancreatic cancer-effect on quality of life and pain perception [J]. *Pancreatol*, 2021: 1059-1063.
- [21] Tasu JP, Vesselle G, Herpe G, et al. Irreversible electroporation for locally advanced pancreatic cancer [J]. *Diagn Interv Imaging*, 2016, 97: 1297-1304.
- [22] 孙钢. 不可逆电穿孔技术消融肿瘤研究进展 [J]. *介入放射学杂志*, 2015, 24: 277-281.
- [23] 张科, 王杰, 魏旭辉, 等. 热控电极与传统电极不可逆电穿孔消融小鼠肝脏对照研究 [J]. *介入放射学杂志*, 2022: 31: 62-66.
- [24] Ren F, Li Q, Hu L, et al. Safety and efficacy of magnetic anchoring electrode-assisted irreversible electroporation for gastric tissue ablation [J]. *Surg Endosc*, 2020, 34: 580-589.
- [25] Neven K, Van Es R, Van Driel V, et al. Acute and long-term effects of full-power electroporation ablation directly on the porcine esophagus [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2017, 10: e004672.
- [26] Kodama H, Vroomen LG, Ueshima E, et al. Catheter-based

- endobronchial electroporation is feasible for the focal treatment of peribronchial tumors [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2018, 155: 2150-2159.e3.
- [27] 魏哲文,张业繁,赵 宏. 超声引导下不可逆电穿孔联合外科手术围肝门区肝癌 1 例[J]. 肝癌电子杂志, 2020,7:66-69.
- [28] Neal RE 2nd, Singh R, Hatcher HC, et al. Treatment of breast cancer through the application of irreversible electroporation using a novel minimally invasive single needle electrode[J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 123: 295-301.
- [29] Lee JM, Choi HS, Chun HJ, et al. Eus - guided irreversible electroporation using endoscopic needle - electrode in porcine pancreas [J]. Surg Endosc, 2019, 33: 658-662.
- [30] Thompson GL, Roth CC, Kuipers MA, et al. Permeabilization of the nuclear envelope following nanosecond pulsed electric field exposure[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 470: 35-40.
- [31] Rubinsky B, Onik G, Mikus P. Irreversible electroporation: a new ablation modality - clinical implications [J]. Technol Cancer Res Treat, 2007,6: 37-48.
- [32] Srimathveeravalli G, Wimmer T, Monette S, et al. Evaluation of an endorectal electrode for performing focused irreversible electroporation ablations in the swine rectum [J]. J Vasc Interv Radiol, 2013, 24: 1249-1256.
- [33] Schoellnast H, Monette S, Ezell PC, et al. Irreversible electroporation adjacent to the rectum: evaluation of pathological effects in a pig model [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2013, 36: 213-220.
- [34] Phillips MA, Narayan R, Padath T, et al. Irreversible electroporation on the small intestine [J]. Br J Cancer, 2012, 106: 490-495.
- [35] Srimathveeravalli G, Cornelis F, Wimmer T, et al. Normal porcine ureter retains lumen wall integrity but not patency following catheter - directed irreversible electroporation: imaging and histologic assessment over 28 days [J]. J Vasc Interv Radiol, 2017, 28: 913-919.
- [36] Ueshima E, Schattner M, Mendelsohn R, et al. Transmural ablation of the normal porcine common bile duct with catheter - directed irreversible electroporation is feasible and does not affect duct patency [J]. Gastrointest Endosc, 2018, 87: 300.e1-300.e6.

(收稿日期:2022-02-22)

(本文编辑:新 宇)

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告
《Journal of Interventional Medicine》
网址: www.keaipublishing.com/JIM
邮箱: j_intervent_med.@163.com