

肺癌冷冻消融联合局部免疫治疗现状与探索

安军^{1,2}

1. 中山大学附属第三医院粤东医院心胸外科, 广东 梅州 514700; 2. 中山大学附属第三医院心胸外科, 广东 广州 510630

【摘要】冷冻消融不仅可致肿瘤细胞坏死和凋亡, 同时还可释放出大量肿瘤抗原, 激活免疫细胞, 诱导产生抗肿瘤免疫反应。免疫治疗已是非小细胞肺癌最为重要的治疗手段之一。本文主要从肺癌冷冻消融治疗、冷冻消融引发的免疫反应、冷冻消融联合全身免疫治疗、冷冻消融联合局部免疫治疗等方面进行概述, 重点就肺癌冷冻消融联合局部免疫治疗的策略与方法及目前相关研究现状进行探讨。

【关键词】肺癌; 冷冻消融; 局部免疫治疗; 免疫相关不良反应

【中图分类号】R319; R734.2

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2024)11-1411-04

Status and exploration of cryoablation combined with local immunotherapy for lung cancer

AN Jun^{1,2}

1. Department of Cardiothoracic Surgery, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University Yuedong Hospital, Meizhou 514700, China;

2. Department of Cardiothoracic Surgery, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Abstract: Cryoablation can not only cause necrosis and apoptosis of tumor cells, but also release a large number of tumor antigens, activate immune cells, and induce anti-tumor immune responses. Immunotherapy has become one of the most important treatments for non-small cell lung cancer. The study provides an overview about cryoablation for lung cancer, immune response induced by cryoablation, cryoablation combined with systemic immunotherapy, and cryoablation combined with local immunotherapy, focusing on the strategy and method of cryoablation combined with local immunotherapy for lung cancer and the current research status.

Keywords: lung cancer; cryoablation; local immunotherapy; immune-related adverse event

前言

冷冻消融通过直接机制和间接机制引起细胞损伤、死亡和组织坏死。直接机制为细胞低温诱导损伤, 间接机制为细胞微环境变化并损害组织活力。冷冻消融过程中, 液化气体(如氮气或氩气)通过低温探针, 并在探针末端膨胀成气态, 以产生低至-180℃的温度并在针尖周围形成冰球, 然后再通过高压氮气使针尖再次升温。当冷冻探针从组织吸收热量时, 组织冷却, 最终在细胞外空间形成冰晶。渗透压差使细胞内游离水转移到细胞外, 导致细胞脱水损伤从而破坏肿瘤^[1]。为了确保肿瘤完全消融, 需要1 cm的圆周边缘^[2]。术中计算机断层扫描(CT)实时

将消融区识别为与生成的冰球相对应的低密度区域。该程序在微创环境中导致肿瘤组织的局灶性破坏, 是手术的一种具有成本效益的替代方案^[3-4]。冷冻消融的一个可能优点是受损肿瘤细胞的细胞内容物被保留下来, 包括肿瘤相关抗原(TAAs)可以被免疫系统识别, 从而启动肿瘤特异性免疫反应^[5-6]。近年来, 免疫检查点抑制剂(Immune Checkpoint Inhibitors, ICIs)已被广泛用于治疗黑色素瘤、肾细胞癌和非小细胞肺癌等恶性肿瘤。ICIs的缺点在于只有少数患者有反应。因此, 冷冻消融和免疫疗法的联合治疗可能有助于增强ICIs的效果, 而局部免疫治疗有可能在减少明显的免疫相关不良反应、减少耐药和抵抗的产生中发挥有益价值。本文就肺癌冷冻消融联合局部免疫治疗的策略与方法及目前相关研究现状进行探讨。

【收稿日期】2024-06-19

【基金项目】教育部产学研合作协同育人项目(22087043260712); 梅州市医学科研项目(2024C0302005)

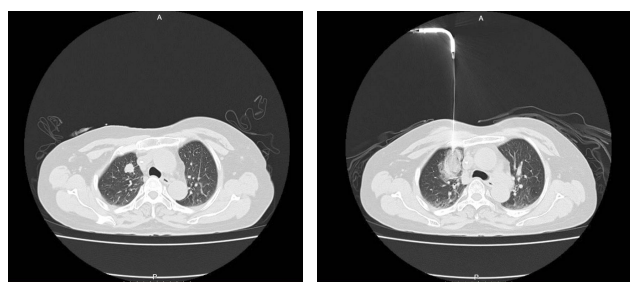
【作者简介】安军, 博士, 副主任医师, 研究方向: 肿瘤免疫, Email: an-jun@mail.sysu.edu.cn

1 肺癌冷冻消融治疗

冷冻消融技术是利用低温产生的冰晶形成机械组织损伤、细胞死亡。尽管冷的治疗特性已经使用

了几个世纪,但冷冻手术的现代时间始于20世纪60年代。Cooper等^[7]开发了一种使用探针治疗脑肿瘤和运动障碍的现代冷冻手术系统。从那时起,冷冻消融被用于多种部位恶性肿瘤的局部治疗,包括肝脏、肾脏、乳房、前列腺、肺和骨骼^[8]。

肺部肿瘤经皮冷冻消融术是一种影像引导的消融技术,用于治疗早期外周肺癌、多发性原发性肺癌或肺部转移性疾病等(图1)。与手术相比,主要益处包括保留肺实质,减少肺功能损失。肿瘤冷冻消融后的肺功能检查显示极少或没有最大呼气第1秒呼出气量的容积或一氧化碳弥散量持续降低^[9]。另一方面,过去10年的多项研究已经显示出经皮冷冻消融术的安全性和有效性^[10-15]。肺部冷冻消融术最常见的并发症是气胸,约有20%的患者需要放置胸管^[16]。严重不良事件(根据美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准定义为3级或更高级别)的发生率较低,约为6%^[10, 14-15],极少数情况下,可能会发生支气管胸膜瘘或出血。



a: 治疗前 b: 冷冻消融针周围形成冰球覆盖整个病灶

图1 肺癌双肺多发转移经皮冷冻消融治疗病例

Figure 1 A multiple metastases of lung adenocarcinoma in both lungs treated with percutaneous cryoablation

肺部肿瘤冷冻消融治疗的适应证与禁忌证可参考《影像学引导肺癌冷冻消融治疗专家共识2018版》相关内容。适应证:①I、II期和部分IIIa期的非小细胞肺癌和局限期小细胞肺癌,或广泛期小细胞肺癌经全身治疗控制良好、局部原发病灶仍然存活;②全身其他部位恶性肿瘤发生的肺转移癌;③经新辅助治疗(化疗或化疗+放疗)有效的N2非小细胞肺癌;④对于转移性单发病灶或多发病灶肺功能良好者,根据患者身体情况及肺功能情况评估决定消融数量;⑤因高龄或基础疾病无法耐受全麻开胸手术患者;⑥CT检查显示不能彻底切除的肿瘤;⑦化疗或靶向药物治疗耐药;⑧肿瘤体积巨大,累及纵隔、心包,需冷冻消融减瘤或需结合免疫治疗;⑨采用多种治

疗方法,局部病灶稳定但不能消失或缩小不明显。禁忌证:①两肺弥漫性病灶,消融治疗无法改善病情;②胸膜广泛转移伴大量胸腔积液;③肿瘤邻近纵隔大血管、穿刺困难或因对比剂过敏或患者自身无法配合等原因造成进针路径选择困难;④病灶包绕血管消融易导致严重出血;⑤肺功能严重受损,最大通气量<40%;⑥血小板计数< $70 \times 10^9/L$ 及严重凝血功能异常不能承受手术(抗凝治疗和/或抗凝药物应用者应在消融治疗前停用1周以上);⑦全身状况差(全身多发转移、严重感染、高热)、明显恶病质、重要脏器功能严重不全、严重贫血及营养代谢紊乱短期不能改善。

2 冷冻消融引发的免疫反应

冷冻消融术可直接导致细胞损伤外,还可导致间接性细胞损伤,其机制是低温诱导的组织变化,产生不利于细胞生存的微环境,包括引起明显的局部炎症反应以及血管内皮细胞因冰晶的形成而损害。炎症细胞因子(如IL-12、IFN- γ 和TNF- α)的释放引发一连串信号募集T细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞等免疫细胞大量涌入,形成抗癌免疫效应,如树突状细胞吸收包括肿瘤抗原在内的细胞碎片,然后迁移到区域淋巴结,在那里它们与T和B淋巴细胞相互作用,引发细胞和/或体液免疫反应(图2)。抗肿瘤免疫反应被证明是肿瘤特异性的。Sabel^[17]总结了肿瘤冷冻消融免疫效应临床前研究的更多细节。目前尚不清楚其中一些机制如何与免疫疗法相互作用,包括ICIs。当然,并非所有研究都表明冷冻消融具有抗肿瘤免疫反应,消融区周围的细胞也可能发生凋亡,这可导致免疫抑制细胞因子(如IL-10、TGF- β)的释放^[18]。因此,需要进一步的研究来了解冷冻消融后免疫反应的机制。

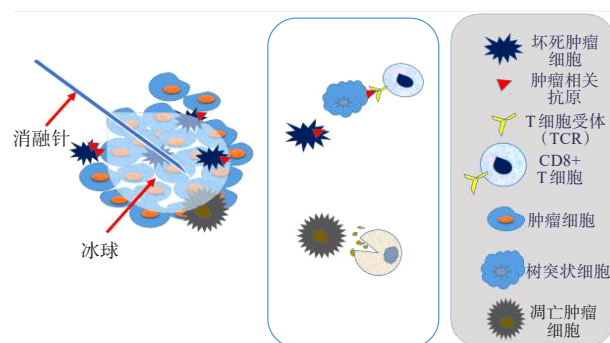


图2 冷冻消融诱导的肿瘤局部免疫反应假设模式

Figure 2 Hypothetical pattern of cryoablation-induced local immune response to tumors

3 冷冻消融联合全身免疫治疗

首先,多项临床前和临床研究表明冷冻消融对于非小细胞肺癌具有积极的结果,同时一些新的联合治疗方案也有被探索,如冷冻消融合并靶向药物治疗^[19],冷冻消融联合全身化疗、联合DC-CIK、NK细胞等治疗^[20-22]以及热消融、支气管动脉栓塞及选择性内部放射治疗联合ICIs的治疗方案^[23]。

以上这些肺部肿瘤局部治疗联合全身靶向、免疫细胞以及ICIs的治疗方案为我们提供了很好的方

向,很容易让我们产生将肺癌冷冻消融与PD-1单抗联合应用的设想。将冷冻消融与ICIs联合用于肺癌治疗在理论上具有优势,因为它们作用于抗肿瘤免疫的不同元素。当免疫系统处于免疫检查点阻断的作用下,肿瘤细胞释放的相关抗原可以防止T细胞耗竭或失能,并恢复抗肿瘤作用(图3)。一项应用支气管镜冷冻消融术联合PD-1单抗治疗肺癌的研究显示,至少有一项病例报告表明了强烈的临床反应^[24]。部分肺癌冷冻消融联合免疫疗法(全身用药)的临床试验见表1。

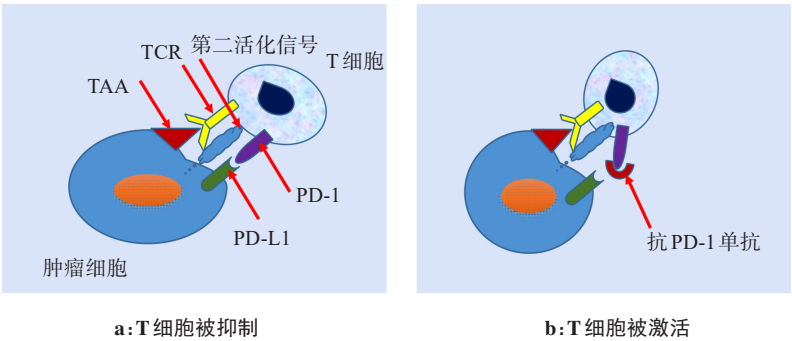


图3 经典的特异性细胞毒性T细胞杀伤机制

Figure 3 Classical specific cytotoxic T cell killing mechanisms

表1 冷冻消融联合免疫疗法的临床试验

Table 1 Clinical trials of cryoablation combined with immunotherapy

序号	临床试验名称	临床登记号
1	冷冻消融联合卡瑞利珠单抗和阿帕替尼治疗多原发性肺癌	NCT04201990
2	冷冻消融联合(或不联合)帕博利珠单抗和培美曲塞加卡铂治疗转移性肺腺癌患者的一线治疗	NCT04339218
3	冷冻消融联合NK免疫治疗晚期非小细胞肺癌	NCT02843815
4	冷冻疗法联合DC-CIK治疗肺癌患者循环肿瘤细胞(CTCs)的检测	NCT02412384
5	冷冻疗法联合GM-CSF治疗肺转移或原发性肺癌	NCT00514215

4 冷冻消融联合局部免疫治疗

过去10年以来,ICIs,包括抗细胞毒性T淋巴细胞抗原4(CTLA-4)、抗PD-1和抗PD-L1抗体,是癌症治疗领域最重要的进展,为癌症患者燃起新的希望,但是癌症免疫疗法并非万能的,治疗过程中也出现了一系列新的免疫相关不良反应(Immune-related Adverse Events, irAEs)。irAEs发生的频率不仅取决于使用的药物、暴露时间和给药剂量,也取决于个别患者的具体特征、内在危险因素。致命性ICIs相关不良反应发病率约为0.3%~1.3%。无论使用何种ICIs,具有致命后果的毒性往往发生在治疗过程的早期并迅速进展,尤其是在接受药物联合治疗的患者中^[25]。

因此免疫疗法的临床结果并非总是令人满意,它们的效果需要通过促进有利的肿瘤免疫微环境来增强,而局部免疫治疗将可能改善这一瓶颈。

局部免疫治疗的理论基础:目前免疫治疗主要是通过静脉给药,而大多数irAEs与血药浓度相关,这无疑限制了免疫治疗的用药剂量和周期,减少给药剂量将使病灶局部药物浓度难以达到理想水平,影响治疗效果并容易产生耐药。同时肿瘤分泌基质阻止药物进入局部发挥作用。

局部免疫治疗的优势:局部免疫治疗通过瘤内、瘤周直接注药,能在病灶局部形成高药物浓度,减少或不引起明显的免疫相关不良反应,减少耐药和抵抗的产生。可能具有更好的安全性及有效性,或可

成为更具前景的治疗方式。

肺部肿瘤冷冻消融是在影像引导下进行的,在进行冷冻消融针经皮穿刺的同时,通过穿刺套管或穿刺针将ICIs药物直接注入肿瘤组织内及肿瘤周围,可以同步实现肺部肿瘤的冷冻消融治疗+局部免疫治疗,实现两种治疗方法抗肿瘤效应的协同与叠加,达到更加理想的抗癌效果,同时减少irAEs的发生。

5 结 语

冷冻消融已被证明对肺癌局部控制是成功的,ICIs免疫疗法目前被认为是一种有前途且可扩展的恶性肿瘤治疗策略。随着对肿瘤发生、发展及免疫治疗机制的了解,精准治疗已成为肿瘤治疗的终极目标。人体免疫系统参与识别、活化、效应、调节的免疫通路错综复杂,抗癌的关键环节是免疫系统的正常激活及免疫抑制的解除。冷冻消融与免疫疗法的结合已经在几项临床试验中取得成果,两种治疗方法的联合应用,其增强的抗癌效果已开始显现。

免疫疗法有多种,我们团队从事肿瘤相关抗原的筛选、鉴定及对TCR的研究,建立并鉴定了多个肿瘤抗原特异性细胞毒性T细胞克隆(CTL, TCR-T)^[26-28]。肿瘤局部免疫治疗可以选择多种免疫细胞,如CD8⁺ T细胞(CTL)、TILs、NK以及TCR-T、CAR-T细胞等,再结合ICIs治疗;另一方面,对于肿瘤驱动基因阳性的患者,还可以联合靶向药物治疗。

全身ICIs免疫治疗在一部分肿瘤患者中取得了良好的疗效,但严重的irAEs也让人心怀畏惧。相比而言,局部ICIs免疫治疗在无需全身暴露的情况下,尽量形成肿瘤局部药物浓聚,增强释放“免疫刹车”的同时减少irAEs的发生,有望提高临床疗效,更重要的是通过局部免疫调节诱导全身抗癌效应。尽管冷冻消融联合局部免疫治疗还有待更多探索,在临床转化中也可能面临不少问题,特别是在联合治疗方面,需要更多相关试验提供更多有力的证据,但是,从现有相关的临床研究结果推测,冷冻消融联合局部免疫治疗有可能成为将来一种新的肿瘤治疗方案,值得探索。

【参考文献】

- [1] Cazzato RL, Garnon J, Ramamurthy N, et al. Percutaneous image guided cryoablation: current applications and results in the oncologic field[J]. Med Oncol, 2016, 33: 140.
- [2] Baust JG, Gage AA. Progress toward optimization of cryosurgery[J]. Technol Cancer Res Treat, 2004, 3: 95-101.
- [3] Mues AC, Landman J. Results of kidney tumor cryoablation: renal function preservation and oncologic efficacy[J]. World J Urol, 2010, 28: 565-570.
- [4] Chehab M, Friedlander JA, Handel J, et al. Percutaneous cryoablation vs partial nephrectomy: cost comparison of T1a tumors[J]. J Endourol, 2016, 30: 170-176.
- [5] Jansen MC, van Hillegersberg R, Schoots IG, et al. Cryoablation induces greater inflammatory and coagulative responses than radiofrequency ablation or laser induced thermotherapy in a rat liver

- model[J]. Surgery, 2010, 147(5): 686-695.
- [6] Chu KF, Dupuy DE. Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy[J]. Nat Rev Can, 2014, 14(3): 199-208.
- [7] Cooper IS, Lee AS. Cryostatic congelation: a system for producing a limited, controlled region of cooling or freezing of biologic tissues[J]. J Nerv Ment Dis, 1961, 133: 259-263.
- [8] Baust JG, Gage AA, Bjerklund Johansen TE, et al. Mechanisms of cryoablation: clinical consequences on malignant tumors[J]. Cryobiology, 2014, 68(1): 1-11.
- [9] Genshaft SJ, Suh RD, Abtin F, et al. Society of interventional radiology multidisciplinary position statement on percutaneous ablation of non-small cell lung cancer and metastatic disease to the lungs: endorsed by the canadian association for interventional radiology, the cardiovascular and interventional radiological society of europe, and the society of interventional oncology[J]. J Vasc Interv Radiol, 2021, 32(8): 1241.e1-e12.
- [10] Yamauchi Y, Izumi Y, Kawamura M, et al. Percutaneous cryoablation of pulmonary metastases from colorectal cancer[J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27086.
- [11] Inoue M, Nakatsuka S, Yashiro H, et al. Percutaneous cryoablation of lung tumors: feasibility and safety[J]. J Vasc Interv Radiol, 2012, 23(3): 295-302.
- [12] Moore W, Talati R, Bhattacharji P, et al. Five-year survival after cryoablation of stage I non-small cell lung cancer in medically inoperable patients[J]. J Vasc Interv Radiol, 2015, 26(3): 312-319.
- [13] McDevitt JL, Mouli SK, Nemcek AA, et al. Percutaneous cryoablation for the treatment of primary and metastatic lung tumors: identification of risk factors for recurrence and major complications[J]. J Vasc Interv Radiol, 2016, 27(9): 1371-1379.
- [14] Callstrom MR, Woodrum DA, Nichols FC, et al. Multicenter study of metastatic lung tumors targeted by interventional cryoablation evaluation (SOLSTICE) [J]. J Thorac Oncol, 2020, 15(7): 1200-1209.
- [15] Thierry de Baere T, Woodrum D, Tselikas L, et al. The ECLIPSE study: efficacy of cryoablation on metastatic lung tumors with a 5-year follow-up[J]. J Thorac Oncol, 2021, 16(11): 1840-1849.
- [16] Genshaft SJ, Suh RD, Abtin F, et al. Society of interventional radiology quality improvement standards on percutaneous ablation of non-small cell lung cancer and metastatic disease to the lungs[J]. J Vasc Interv Radiol, 2021, 32(8): 1242. e1-e10.
- [17] Sabel MS. Cryo-immunology: a review of the literature and proposed mechanisms for stimulatory versus suppressive immune responses[J]. Cryobiology, 2009, 58(1): 1-11.
- [18] Sabel MS, Nehs MA, Su G, et al. Immunologic response to cryoablation of breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2005, 90(1): 97-104.
- [19] Gu XY, Jiang Z, Fang W. Cryoablation combined with molecular target therapy improves the curative effect in patients with advanced non-small cell lung cancer[J]. J Int Med Res, 2011, 39(5): 1736-1743.
- [20] Yuaning Y, Lizhi N, Feng M, et al. Therapeutic outcomes of combining cryotherapy, chemotherapy and DC-CIK immunotherapy in the treatment of metastatic non-small cell lung cancer[J]. Cryobiology, 2013, 67(2): 235-240.
- [21] Lin M, Liang SZ, Wang XH, et al. Clinical efficacy of percutaneous cryoablation combined with allogenic NK cell immunotherapy for advanced non-small cell lung cancer[J]. Immunol Res, 2017, 65(4): 880-887.
- [22] Takaki H, Imai N, Thomas CT, et al. Changes in peripheral blood T-cell balance after percutaneous tumor ablation[J]. Minim Invasive Ther Allied Technol, 2017, 26(6): 331-337.
- [23] Leppelmann KS, Mooradian MJ, Ganguli S, et al. Thermal ablation, embolization, and selective internal radiation therapy combined with checkpoint inhibitor cancer immunotherapy: safety analysis[J]. J Vasc Interv Radiol, 2021, 32(2): 187-195.
- [24] Kohno M, Hashimoto R, Oiwa K, et al. Initial experience with transbronchial cryoablation as a novel local treatment for Malignant peripheral lung lesions [J]. BMJ Open Respir Res, 2018, 5(1): e000315.
- [25] Darnell EP, Mooradian MJ, Baruch EN, et al. Immune-related adverse events (irAEs): diagnosis, management, and clinical pearls[J]. Curr Oncol Rep, 2020, 22(4): 39.
- [26] Asai H, Fujiwara H, An J, et al. Co-introduced functional CCR2 potentiates *in vivo* anti-lung cancer functionality mediated by T cells double gene-modified to express WT1-specific T-cell receptor[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56820.
- [27] Nagai K, Ochi T, Fujiwara H, et al. Aurora kinase A-specific T-cell receptor gene transfer redirects T-lymphocytes to display effective anti-leukemia reactivity[J]. Blood, 2012, 119: 368-376.
- [28] An J, Fujiwara H, Suemori H, et al. Activation of T-cell receptor signaling in peripheral T-cell lymphoma cells plays an important role in the development of lymphoma-associated hemophagocytosis[J]. Int J Hematol, 2011, 93: 176-185.

(编辑:黄开颜)