

超声介导肿瘤免疫治疗的研究进展

林晓红 李 攀

摘 要 近年来,较多研究证实超声可介导肿瘤免疫治疗。高强度聚焦超声在破坏肿瘤组织的同时可导致机体在原位产生肿瘤碎片,该碎片可作为免疫系统的抗原,形成原位疫苗诱导机体产生全身的免疫反应。以微泡为载体的超声靶向微泡破坏技术介导免疫调节佐剂靶向传递到肿瘤细胞或免疫细胞,不仅可以增强机体的全身免疫应答,提高肿瘤免疫治疗的疗效,还可以减少免疫调节佐剂用量,减轻毒副作用。本文拟对超声介导肿瘤免疫治疗的研究进展进行综述,并讨论其应用潜力及面临的挑战。

关键词 超声;免疫治疗;肿瘤;微泡

[中图法分类号]R445.1

[文献标识码]A

Research progress in ultrasound mediated tumor immunotherapy

LIN Xiaohong, LI Pan

Department of Ultrasound, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Ultrasonic Molecular Imaging, Chongqing 400010, China

ABSTRACT In recent years, many studies have confirmed that ultrasound can mediate tumor immunotherapy. High-intensity focused ultrasound (HIFU) can cause tumor fragments to be generated in situ, while destroying tumors. Tumor fragments can serve as antigens of the immune system, forming in situ vaccine and inducing the organism to produce a systematic immune response. Microbubble as the carrier, mediated immunity adjuvants targeted to tumor cells and immune cells by ultrasound-targeted microbubble destruction, which not only can enhance the body's immune response, improve the efficacy of tumor immunotherapy, but also can reduce the dosage of immunity adjuvants and reduce side effects. This paper reviews the research progress in ultrasound mediated tumor immunotherapy and discuss the potential application and possible challenges.

KEY WORDS Ultrasound; Immunotherapy; Tumor; Microbubble

恶性肿瘤的传统治疗手段包括手术、化疗及放疗等,近年来新型的靶向治疗在肿瘤治疗方面也取得了重大进展。然而,复发、转移和耐药性仍然是恶性肿瘤治疗的主要障碍。免疫疗法是一种新兴的肿瘤治疗方法,由于其在恶性肿瘤治疗中的有效性,越来越受到临床医师和科学家的关注。2013年免疫抗癌疗法被评为年度“十大科技突破”之首^[1]。然而在免疫治疗取得良好的临床效果的同时,患者的反应率仍较低(<20%),免疫疗法引起的全身免疫激活常导致严重的毒性^[2]。此外,肿瘤细胞具有免疫逃逸的特性,能通过调节免疫细胞、“免疫检查点”通路等多种机制逃避免疫系统的识别,下调机体的免疫功能^[3]。因此迫切需要找到一种持久有效、安全的肿瘤免疫治疗新策略。

超声可以提高机体对肿瘤的免疫应答,加强肿瘤免疫治疗

的效果。高强度聚焦超声(high-intensity focused ultrasound, HIFU)以“局部”消融介导“全身性”免疫应答。超声靶向微泡破坏技术(ultrasound-targeted microbubble destruction, UTMD)可介导肿瘤相关抗原、基因等免疫调节佐剂高效靶向传递到肿瘤细胞或免疫细胞,增强机体的全身免疫应答。由此可见将消融和免疫调节佐剂结合具有广阔的前景,在消融的基础上进一步增加机体的免疫应答可以克服免疫耐受,并诱导树突状细胞(dendritic cells, DC)和T细胞的活化^[4],同时提供免疫记忆的保护,有效防止肿瘤的复发与转移。本文拟对超声介导肿瘤免疫治疗的研究进展进行综述,并讨论其应用潜力及面临的挑战。

一、肿瘤的免疫治疗原理

免疫治疗是一种激活自身抗肿瘤免疫反应,直接攻击肿瘤细胞而不损伤正常细胞的肿瘤治疗方法。目前肿瘤免疫治疗

基金项目:国家自然科学基金项目(81971633);重庆市教委重点基金项目(KJZD-K201900401)

作者单位:400010 重庆市,重庆医科大学第二附属医院超声科 超声分子影像重庆市重点实验室

通讯作者:李攀, Email: cqlipan@163.com

主要包括:免疫检查点阻断、肿瘤过继免疫治疗、肿瘤特异性疫苗、非特异性的免疫刺激剂。肿瘤的有效免疫反应需要 3 个步骤^[5]:①DC 捕获抗原,通过一个“成熟信号”激活对抗原的免疫;②DC 将抗原呈递给淋巴结组织中的 T 细胞使其活化;③被激活的 T 细胞在肿瘤组织中浸润,保持活性并杀死癌细胞。免疫治疗可以在这个复杂的免疫系统的任何环节发挥作用。

二、超声在肿瘤免疫治疗中的应用

1. HIFU 肿瘤消融及免疫

(1) HIFU 肿瘤消融: HIFU 消融以一种微创的方式破坏肿瘤组织,导致肿瘤组织凝固性坏死。其应用多元素超声换能器,定位在体外或腔内,产生聚焦于小区域的高强度超声束。当超声光束向聚焦区移动时,声波的收敛导致能量密度增加。在聚焦区,能量被组织吸收,在数秒钟内温度升高至 60℃~85℃。当温度高于 55℃ 维持时间 1 s 以上即可使组织凝固坏死和细胞死亡。大量动物实验和临床研究^[6-7]表明, HIFU 技术应用于靶向治疗多种恶性实体肿瘤有效、安全和可行,已广泛用于子宫肌瘤和前列腺、乳腺、肝脏、肾脏、骨、脑肿瘤的治疗中。

(2) HIFU 肿瘤消融增强免疫治疗: 临床前研究^[8-13]已证实 HIFU 不仅能直接杀伤肿瘤组织,还能有效促进机体的抗肿瘤免疫反应。熊慧等^[8]应用 HIFU 治疗大鼠原位卵巢癌,实验结果提示 HIFU 组大鼠卵巢组织发生显著形态学变化,血浆中 CD4⁺T 细胞较对照组显著增高, CD8⁺ T 细胞较对照组显著降低,辅助/抑制 T 细胞比值(CD4⁺/CD8⁺)较对照组提高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),证实了 HIFU 具有抑制肿瘤生长的作用,可能与增强机体免疫功能有关。HIFU 可以通过下调 miR-134,增加外周血 IFN- γ 和 TNF- α ,增强机体抗肿瘤免疫反应^[9]。HIFU 激活的免疫细胞过继转移同样具有很好的疗效,Ran 等^[10]应用 HIFU 处理 H22 荷瘤小鼠,将其脾脏中获得的 T 细胞过继转移到新的 H22 荷瘤小鼠体内,与对照组和假手术组比较, HIFU 激活的淋巴细胞显著抑制了体内肿瘤的生长和进展。

HIFU 消融术后诱导机体的免疫应答在临床研究中也得到了证实。吴发伟等^[11]对 30 例转移性肝癌患者进行 HIFU 治疗,术后 HIFU 组 CD3⁺、CD4⁺、NK 细胞的百分率明显升高, CD8⁺ 细胞的百分率明显降低,证实 HIFU 治疗能够影响 CD4⁺/CD8⁺。HIFU 治疗还可以促进血清中 Th2 细胞因子 IL-6 和 IL-10 分泌^[12]。钟国成等^[13]研究发现经 HIFU 处理后的癌细胞抗原能增强 DC、T 细胞对自身癌细胞的杀伤率,改善患者免疫状态,增强患者的抗肿瘤应答。

HIFU 介导全身性免疫应答的可能机制为:① HIFU 治疗后肿瘤碎片仍在原位,可作为免疫系统的抗原,形成原位疫苗,能够刺激包括 T 细胞和细胞因子在内的全身免疫反应^[14];② HIFU 消融减小了肿瘤负荷,患者机体的免疫功能得以恢复;③ HIFU 能够诱导热休克蛋白产生,刺激机体免疫系统^[15];④ HIFU 治疗会引起 Th1 型反应,导致细胞免疫的显著变化,增强 DC 细胞和细胞毒性淋巴细胞的活性;⑤ HIFU 治疗能够平衡肿瘤微环境中肿瘤诱导的免疫抑制作用^[16]。这些效应使 HIFU 广泛应用于临床治疗多种恶性实体肿瘤且效果较好。

2. UTMD 技术增强肿瘤的免疫治疗

UTMD 技术是指在特定部位发射不同声强的超声波,当超声强度足够大时血流中的微泡发生破裂,通过产生微射流、冲击波使周围的血管壁或细胞表面出现可逆或不可逆的穿孔,使血管内皮屏障损伤,进而增强血管或细胞膜通透性,增加细胞的内吞作用,最终增加外源性物质到达特定部位的剂量,从而发挥相应的生物学效应。UTMD 技术是一种无创靶向药物和基因递送技术,其在肿瘤组织免疫调节物质递送中的应用越来越受到人们的关注,具有广阔的发展前景。UTMD 技术还可以暂时的诱导打开血脑屏障,而不造成脑损伤或炎症,具有靶向中枢神经系统免疫治疗的潜力^[17]。UTMD 技术作为一种增强肿瘤疫苗、抗体、细胞因子等免疫调节佐剂传递的工具得到了广泛应用,增强了免疫治疗效果。

(1) 肿瘤疫苗: UTMD 触发的基因转染技术可以改善癌症疫苗接种的效果。Dewitte 等^[18]联合微泡及超声将从肿瘤细胞中提取的抗原注入 DC 中,观察 DC 对小鼠肺转移模型的治疗效果,结果表明其对黑色素瘤肺转移有显著抑制作用。UTMD 技术不仅可以有效抑制肿瘤生长,还可以降低诱导凋亡所需的药物剂量^[19],从而减轻全身毒副作用。

(2) 免疫检查点抑制剂: UTMD 可促进免疫检查点抑制剂的传递,增加其靶向性。研究^[20]发现,与单一治疗相比, UTMD+抗 PD-1 治疗可显著增强抑制肿瘤生长的能力并提高动物的存活率,能增强免疫检查点抑制剂治疗的抗肿瘤作用。贝伐单抗是一种靶向血管内皮生长因子和肿瘤新生血管形成的药物,具有抑制血管内皮生长因子的生物学功能的作用。Liu 等^[21]报道将超声、微泡和 MRI 监测相结合,可增强抗血管生成贝伐单抗进入中枢神经系统。

(3) 免疫调节剂: 细胞因子可通过 UTMD 介导的血脑屏障开放用于脑肿瘤的治疗。Chen 等^[22]通过小鼠腹膜内注射 IL-12,然后应用聚焦超声和微泡,使原位胶质瘤模型中的 IL-12 较未经治疗的对照小鼠增加约 3 倍,而未应用聚焦超声和微泡的小鼠得到 IL-12 的比例则增加约 2 倍,结果证实 UTMD 增强了 IL-12 的传递,减缓了肿瘤的进展,提高了小鼠生存率。Sakakima 等^[23]应用 UTMD 技术介导质粒 DNA 编码 IFN- β 的传递,体外测试显示 IFN- β 表达增加、细胞生存能力明显降低,对小鼠体内肿瘤生长有明显的抑制作用。

(4) 药物: UTMD 技术作为一种靶向、无创、高效、新颖的基因或药物传递系统,其微泡作为载体或传递增强剂,可有效促进化疗药物的传递,提高机体抗肿瘤的作用。李玥等^[24]应用超声联合微泡辅助卡铂抑制体外人肺癌 A549 细胞活性,结果发现,相较于对照组,超声联合微泡可以与卡铂协同抑制肺癌细胞活性。Nesbitt 等^[25]制备了一种生物素功能化的吉西他滨配体,将该配体与微泡连接,应用 UTMD 技术治疗小鼠胰腺癌,结果表明肿瘤的生长受到抑制,减轻了吉西他滨系统性给药的全身毒副作用。

三、应用前景及展望

HIFU 是完全无创消融治疗技术的重要进展。HIFU 消融

后可介导对肿瘤的特异性免疫,然而在目前的文献中,消融治疗相关的描述以及产生的声场分类往往缺乏细节。此外,掌握消融所达到的温度以及采用更稀疏或更密集的扫描处理方法非常重要。因此标准化的治疗描述框架有助于比较不同HIFU设置及其对免疫系统的影响^[26]。目前从HIFU研究中检索到的数据与其他消融技术一致,强调了消融应与免疫调节佐剂结合以促进抗肿瘤免疫反应,才能产生持久有效的全身免疫。

UTMD技术作为一种免疫调节佐剂传递的工具得到了广泛应用,增强了免疫治疗效果;但以微泡作为运载工具有两个主要缺点:首先,微泡体积太大,无法有效地跨越许多障碍;其次,在体内的半衰期很短,使超声的触发能力变差。因此,低细胞毒性、高特异性、持久疗效,以及基因、药物载体良好的生物利用度,是优化传递技术的临床挑战^[27]。

总之,超声介导肿瘤免疫治疗具有应用潜力。超声不仅可以通过HIFU消融肿瘤诱导机体全身性的抗癌免疫应答,还可利用声孔效应介导免疫调节佐剂(抗体、抗原、免疫细胞和疫苗)的靶向传递,加强全身性免疫应答。在此基础上联合UTMD技术产生一系列生理化学反应,使免疫调节佐剂能穿越屏障(血脑屏障、上皮组织、血脑屏障等),进一步发挥强而持久的免疫效应。目前这一领域有许多机制尚未完全明确,如下因素有待进一步研究阐明:①HIFU诱导或增强免疫应答的机制;②寻找最佳的可诱导或增强免疫应答的HIFU消融条件;③研制高生物相容性、体内稳定性和肿瘤靶向性的免疫调节佐剂的载体;④HIFU消融联合UTMD技术协同增强全身性的免疫应答。

因此,展望未来,随着对HIFU消融、载体的优化、UTMD技术、HIFU消融联合UTMD技术等的进一步研究,超声介导肿瘤免疫治疗具有广阔的应用前景,将HIFU消融和UTMD技术结合有望克服免疫耐受,产生持久有效的全身免疫应答,在消除原发肿瘤的同时,有效防止肿瘤的复发与转移。

参考文献

- [1] Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer Immunotherapy [J]. Science, 2013, 342(6165): 1432-1433.
- [2] Friedman CF, Proverbs-Singh TA, Postow MA. Treatment of the immune-related adverse effects of immune checkpoint inhibitors: a review [J]. JAMA Oncol, 2016, 2(10): 1346-1353.
- [3] Gu Z, Wang Q, Shi Y, et al. Nanotechnology-mediated immunotherapy combined with docetaxel and PD-L1 antibody increase therapeutic effects and decrease systemic toxicity [J]. J Control Release, 2018, 286(28): 369-380.
- [4] Makkouk A, Weiner GJ. Cancer immunotherapy and breaking immune tolerance: new approaches to an old challenge [J]. Cancer Res, 2015, 75(1): 5-10.
- [5] Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age [J]. Nature, 2011, 480(7378): 480-489.
- [6] Kennedy JE. High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours [J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(4): 321-327.
- [7] Merckel LG, Knüttel FM, Deckers R, et al. First clinical experience with a dedicated MRI-guided high intensity focused ultrasound system for breast cancer ablation [J]. Eur Radiol, 2016, 26(11): 4037-4046.
- [8] 熊慧, 刘小红, 周欣, 等. 高强度聚焦超声对大鼠卵巢癌的治疗效果及对免疫功能的影响 [J]. 中国当代医药, 2018, 25(24): 44-46.
- [9] Yuan SM, Li H, Yang M, et al. High intensity focused ultrasound enhances anti-tumor immunity by inhibiting the negative regulatory effect of miR-134 on CD86 in a murine melanoma model [J]. Oncotarget, 2015, 6(35): 37626-37637.
- [10] Ran LF, Xie XP, Xia JZ, et al. Specific antitumor immunity of HIFU-activated cytotoxic T lymphocytes after adoptive transfusion in tumour-bearing mice [J]. Int J Hyperthermia, 2016, 32(2): 204-210.
- [11] 吴发伟, 冯蕾, 党亚正, 等. 高强度聚焦超声对转移性肝癌患者机体免疫功能的影响 [J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(3): 517-519.
- [12] Wang X, Qin J, Chen J, et al. The effect of high-intensity focused ultrasound treatment on immune function in patients with uterine fibroids [J]. Int J Hyperthermia, 2013, 29(3): 225-233.
- [13] 钟国成, 张聪, 陈健, 等. 高强度聚焦超声治疗胰腺癌的免疫机制研究 [J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(14): 3895-3898.
- [14] Prise KM, O'Sullivan JM. Radiation-induced bystander signalling in cancer therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(5): 351-360.
- [15] 周贇, 龚建平, 王春. 高强度聚焦超声提高机体抗肿瘤免疫的相关机制 [J]. 中国现代普通外科进展, 2017, 20(12): 956-958.
- [16] Cirincione R, Di Maggio FM, Forte GI, et al. High-intensity focused ultrasound and radiation therapy-induced immuno-modulation: comparison and potential opportunities [J]. Ultrasound Med Biol, 2017, 43(2): 398-411.
- [17] Curley CT, Sheybani ND, Bullock TN, et al. Focused ultrasound immunotherapy for central nervous system pathologies: challenges and opportunities [J]. Theranostics, 2017, 23(15): 3608-3623.
- [18] Dewitte H, Van Lint S, Heirman C, et al. The potential of antigen and Trimix sonoporation using mRNA-loaded microbubbles for ultrasound triggered cancer immunotherapy [J]. J Control Release, 2014, 194(28): 28-36.
- [19] Chowdhury SM, Lee T, Bachawal SV, et al. Longitudinal assessment of ultrasound-guided complementary microRNA therapy of hepatocellular carcinoma [J]. J Control Release, 2018, 281(10): 19-28.
- [20] Bulner S, Prodeus A, Garipey J, et al. Enhancing checkpoint inhibitor therapy with ultrasound stimulated microbubbles [J]. Ultrasound Med Biol, 2019, 45(2): 500-512.
- [21] Liu HL, Hsu PH, Lin CY, et al. Focused ultrasound enhances central nervous system delivery of bevacizumab for malignant glioma treatment [J]. Radiology, 2016, 281(1): 99-108.
- [22] Chen PY, Hsieh HY, Huang CY, et al. Focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening to enhance interleukin-12 delivery for brain tumor immunotherapy: a preclinical feasibility study [J]. J Transl Med, 2015, 93(13): 93.
- [23] Sakakima Y, Hayashi S, Yagi Y, et al. Gene therapy for hepatocellular carcinoma using sonoporation enhanced by contrast agents [J]. Cancer Gene Ther, 2005, 12(11): 884-889.

[24] 李玥, 龚思铭, 蒋帅, 等. 超声联合微泡辅助卡铂抑制体外人肺癌 A549 细胞活性的适宜剂量和能量参数研究[J]. 临床超声医学杂志, 2018, 20(10): 649-653.

[25] Nesbitt H, Sheng Y, Kamila S, et al. Gemcitabine loaded microbubbles for targeted chemo-sonodynamic therapy of pancreatic cancer[J]. J Control Release, 2018, 279(10): 8-16.

[26] Shaw A, ter Haar G, Haller J, et al. Towards a dosimetric framework for therapeutic ultrasound [J]. Int J Hyperthermia, 2015, 31(2): 182-192.

[27] Zang X, Zhao X, Hu H, et al. Nanoparticles for tumor immunotherapy [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2017, 115(7): 243-256.

(收稿日期: 2019-04-25)

· 病例报道 ·

Misdiagnosis of mediastinal inflammatory myofibroblastic tumor by echocardiography: a case report

纵隔炎性肌纤维母细胞肿瘤超声心动图误诊 1 例

谢佳 徐婷 周亚馨 唐红

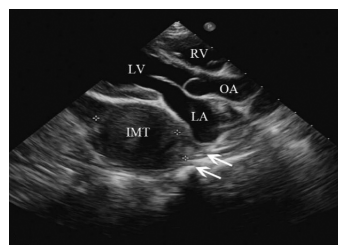
[中图法分类号] R540.45

[文献标识码] B

患儿女, 2 岁, 因上腹部膨隆 2 个月余就诊。体格检查: 腹部膨隆, 肋缘下 5 cm 触及肝脏, 质韧; 余未见异常。超声心动图示: 左房后下方探及一大约 48 mm×40 mm×55 mm 实质性团块, 回声均匀, 边界清楚, 似可见包膜, 心包腔大量积液局限于左室下壁及心尖部外侧(图 1)。超声心动图诊断: 心包巨大占位(性质?)。心脏增强 MRI 示: 左房后下方见大小约 47 mm×44 mm, 分叶状软组织肿块影, 边界清楚, 左房明显受压, 考虑“左房后下方软组织占位伴心包积液”(图 2)。上腹部增强 CT 示: 下腔静脉左侧心包腔内见一大约 64 mm×36 mm 不规则软组织包块, 压迫下腔静脉、双心房, 考虑心包占位(图 3)。择期行开胸活检术, 术中见心包外左侧见一大约 60 mm×60 mm 包块, 表面光滑、质韧, 向下延伸与膈肌关系密切。病理诊断: 纵隔炎性肌纤维母细胞肿瘤(图 4)。

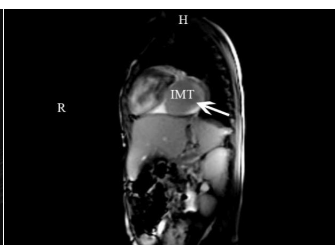
讨论: 炎性肌纤维母细胞肿瘤是一种生物行为未明的间叶组织肿瘤, 好发于女性婴幼儿及青少年期, 常见于肺和肠系膜,

心脏原发者罕见, 其发生率约占原发性心脏肿瘤的 5%。主要发生在心内膜, 以右心系统尤其是右室流出道最常见, 发生于心包及纵隔者少见。本病影像学表现无明显特异性, 因病灶发生部位不同表现多样, 常难以与其他软组织肿瘤相鉴别, 诊断依赖于病理学。分析本例超声心动图误诊原因: 超声心动图显示心包脏、壁层及心肌均未见明显异常回声改变, 肿瘤挤压左房但未随心脏活动, 肿瘤与心包积液相邻处未见明显心包回声, 致使检查者误认为肿瘤在心包腔内, 此外检查者虽行多切面探查, 却未观察到心包回声有中断, 因此误诊。对于缺乏影像学特异性表现的肿瘤, 超声检查判断其与心脏、心包相邻关系时, 可采取以下方法: ①多切面观察心包的连续性, 注意肿瘤与心脏间有无心包回声; ②观察脏、壁层心包及心肌受累情况; ③注意肿瘤是否带蒂或附着于心包; ④观察肿瘤是否随心脏活动。通过仔细辨别, 可帮助更好地判断占位与心脏的关系及其毗邻结构特征, 从而为临床提供更为准确的参考信息。



箭头示心包回声不连续; LV: 左室; RV: 右室; OA: 主动脉; LA: 左房; IMT: 肿瘤

图 1 超声心动图胸骨旁左室长轴切面示肿瘤推挤左房



IMT: 肿瘤

图 2 心脏增强 MRI 矢状面观示肿瘤紧邻心脏后方(箭头示)

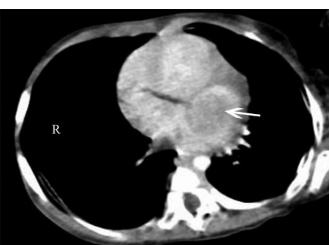


图 3 上腹部增强 CT 示肿瘤与心脏紧密相连(箭头示)

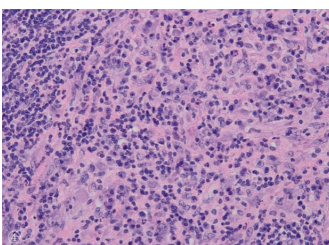


图 4 病理示肿瘤组织富含淋巴细胞、浆细胞的背景中见散在增生的短梭形细胞(HE 染色, ×400)

(收稿日期: 2019-07-27)