

重组人 p53 腺病毒经肝动脉灌注化疗治疗中晚期肝癌 临床疗效观察

崔红利, 杨均, 肖潇, 颜蓁先, 尹昕茹, 杨洋, 刘卉, 张艳梅, 赖秋建, 魏玲玲, 刘念, 王军, 陈东风

【摘要】目的 评价重组人 p53 腺病毒注射液经肝动脉灌注治疗中、晚期肝癌的疗效。**方法** 选择我院 2008 年~2014 年临床诊断的无手术指征或拒绝手术治疗的原发性肝癌患者 72 例, 分为选择性肝动脉栓塞化疗术 (TACE) 和重组人 p53 腺病毒注射液 (rAd-p53) 联合栓塞化疗治疗, 每组 36 例。两组均每隔 28 天进行一次治疗, 4 次为 1 疗程。于完成疗程后 1 月, 根据临床表现、肝脏 CT 及肝功能检查等指标进行疗效评价。**结果** TACE 组患者病情缓解 (CR+PR) 18 例 (50%), 肝脏肿瘤病灶无完全消失 (CR), 明显缩小或病灶数量减少 (PR) 18 例 (50%), 病情稳定 (SD) 2 例 (5.6%), 病情进展 (PD) 16 例 (44.4%); 联合治疗组患者病情缓解 (CR+PR) 25 例 (69.4%), 症状好转, 一般状况改善, Karnofsky 评分明显提高 ($P<0.05$)。CR 2 例 (5.6%), PR 23 例 (63.8%), SD 2 例 (5.6%), PD 9 例 (25%); 使用重组人 p53 腺病毒灌注治疗后不良反应轻微。**结论** 应用重组人 p53 腺病毒注射液联合 TACE 治疗肝癌患者临床疗效优于单纯 TACE 治疗, 值得在合适的肝癌患者中应用。

【关键词】 肝癌; 基因治疗; p53; 腺病毒; 经肝动脉栓塞化疗术

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2015.02.005

Clinical evaluation of recombinant adenovirus p53 therapy in combination with transcatheter arterial chemoembolization for patients with primary liver cancer Cui Hongli, Yang Jun, Xiao Xiao, et al. Department of Gastroenterology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

【Abstract】Objective To determine the effect of recombinant adenovirus p53 (rAd-p53) therapy in combination with transcatheter hepatic arterial chemoembolization (TACE) for patients with primary liver cancer (PLC). **Methods** A total of 72 patients with advanced PLC were enrolled in this study from Jan. 2008 to Dec. 2014. Patients were divided into TACE group (mitomycin 8 mg, epirubicin 5 mg/m², oxaliplatin 30 mg/m², n=36) and p53 treatment group (rAd-p53, mitomycin 8 mg, epirubicin 5mg/m², oxaliplatin 30 mg/m², n=36). The procedure was repeated once every 28 days for 4 times as a course. The therapeutic effects were evaluated according to the clinical symptoms, CT scans and liver functions. **Results** In TACE group, the total effective rate (CR+PR) was 50% including no complete response (CR) and partial response (PR) of 50%, stable disease (SD) was 5.6%, and progressive disease (PD) was 44.4%; In p53 treatment group, the total effective rate was 69.4%, including CR of 5.6%, PR of 63.8%, SD of 5.6%, and PD of 25%; The Karnofsky performance score in p53 treatment group was improved better than in TACE group ($P<0.05$); The adverse effects in rAd-p53-treated patients was transient and self-limited fever. **Conclusion** The rAd-p53 therapy in combination with TACE is effective for patients with advanced PLC.

【Key words】 Primary liver cancer; Gene therapy; p53; Adenovirus; Transcatheter arterial chemoembolization

原发性肝癌 (PLC) 是常见的恶性肿瘤之一。由于该病起病隐匿, 进展迅速, 确诊时大多数患者已经是

局部晚期或发生远处转移, 后续治疗困难, 预后差。如果仅采取对症支持治疗, 自然生存时间较短, 一般为 3~6 月。近年来, 基因治疗肿瘤的相关研究已经取得重大进展, 其中以复制缺陷型重组腺病毒为载体的 p53 基因作为一种治疗肿瘤的新方法在临床应用中表现出了很好的疗效, 安全性高^[1~3]。治疗肝癌的传统方法包括外科手术、化疗、放疗^[4~7], 虽然可以取得明显的效果, 但总体生存率不高^[8~11]。本文对我院 72 例肝

作者单位: 400042 重庆市 第三军医大学野战外科研究所大坪医院消化内科

第一作者: 崔红利, 主治医师。主要研究方向: 慢性肝病及消化道肿瘤诊治。E-mail: 2465517206@qq.com

通讯作者 陈东风, E-mail: chendf1981@126.com

癌患者进行总结分析,探讨重组人 p53 腺病毒经肝动脉灌注治疗是否能发挥抑制和杀灭肝癌细胞,从而提高患者生存率的作用,以期为临床提供一种新的治疗手段。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2008 年至 2014 年我科收治的无外科手术指征或拒绝手术治疗的原发性肝癌患者 72 例,男 44 例,女 28 例;年龄在 34~71 岁,平均年龄(52.5±10.8)岁。均符合 2009 年中华医学会肝病学会肝癌学组发起组织多学科专家参与修订的《原发性肝癌规范化诊治专家共识》的标准。患者肝功能属于 Child B 级 52 例 C 级 20 例。肾功能、血生化 and 血常规检查均在正常范围;无严重内科疾患,未接受过放疗或化疗;患者签署知情同意书。获得医院伦理委员会批准。将患者分为经肝动脉栓塞化疗^[12](Transcatheter arterial chemoembolization,TACE)治疗 36 例和 p53 联合 TACE 治疗 36 例。

1.2 TACE 治疗方法 两组患者均采用 Seldinger 法穿刺股动脉,将 5 F 肝管置于肝总动脉及肠系膜上动脉进行造影,明确肿瘤数目、位置、大小、供血血管和有无动静脉瘘等情况。然后,采用微导管超选至肿瘤靶血管,经导管注入碘油和丝裂霉素 5~10 mg、表阿霉素 5 mg/m²、奥沙利铂 130 mg/m²,行栓塞化术;联合 p53 治疗组在行栓塞和化疗药物栓塞后,再给予重组人 p53 腺病毒注射液(rAdp53,深圳市赛百诺基因技术有限公司,水针剂型,规格 1×10¹²VP/支。将药品置于 -20℃ 保存,使用前于室温静置融化)灌注。两组均间隔 28 d 进行一次治疗,4 次为一疗程。

1.3 实体瘤疗效判定 按 WHO 标准^[13],分为完全缓

解(CR):肿瘤病变完全消失并至少维持 4 w 以上;部分缓解(PR):肿瘤病灶的最长径减少 50%以上或增大在 25%以下;稳定(SD):无新的病灶出现;进展(PD):肿瘤病灶的两径乘积增大 25%以上或出现新病灶。

1.4 影像学检查 使用飞利浦 Brilliance iCT 检查。

1.5 统计学分析 应用 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 U 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前后肿瘤及卫星灶直径变化情况 介入治疗前和疗程结束后 4 w 复查 CT 评估肿瘤和卫星灶直径,发现两组治疗后与治疗前比,肿瘤直径和卫星灶直径均明显缩小($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),联合治疗组术后与单纯 TACE 组比,卫星灶直径缩小更明显,两组间有显著性差异($P < 0.01$,表 1)。

表 1 两组治疗前后肿瘤和卫星灶直径(cm, $\bar{x} \pm s$)变化情况的比较

	例数	肿瘤	卫星灶
联合组治疗前	36	5.8±1.8	2.3±0.4
治疗后		4.1±0.4	1.5±0.2 ^①
TACE 治疗前	36	5.4±1.6	2.1±0.1
治疗后		4.9±0.1	1.9±0.2

① $P < 0.05$

2.2 两组治疗前后肝功能变化 在 4 次介入栓塞化疗术后 1 月进行评估,TACE 组和 P53 联合治疗组患者肝功能的变化无显著性差异(表 2)。

表 2 两组治疗前后肝功能指标($\bar{x} \pm s$)的变化

	ALT(U/L)	ALB(g/L)	TBIL(μ mol/L)	PT(s)
TACE 治疗前	87.2±10.5	35.2±1.5	36.5±4.5	15.1±2.5
治疗后	105.3±7.53	34.8±1.0	65.7±8.6	17.2±2.2
联合组治疗前	115.6±4.5	35.5±1.7	13.5±4.5	16.1±2.4
治疗后	123.5±5.5	34.1±1.8	70.2±6.6	17.8±2.0

2.3 临床疗效情况 我们采用 rAdp53 联合 TACE 治疗肝癌,在完成 4 次治疗 1 月后进行评估发现,p53 联合组有效率(69.4%)较单纯 TACE 组有效率(50.0%)有显著提高($P < 0.05$)。P53 联合组有 2 例完全缓解(图 1、图 2)。这 2 例患者均为男性,年龄分别为 48 岁

和 51 岁,无肝硬化基础,确诊时肝癌直径分别为 4.5 cm 和 4.2 cm,CT 检查及术中血管造影均提示动脉供血丰富,在血管介入过程中,碘油使用量分别为 11 ml 和 12 ml,肿瘤血管栓塞彻底,且第二次栓塞化疗时仅见少许肿瘤血管残存,再一次进行了栓塞,同时观察

经两次栓塞化疗后,碘油沉积充分,病灶明显缩小。值得注意的是,这 2 例患者每次经肝动脉灌注 p53 术后均出现发热,体温波动在 $38.5^{\circ}\text{C}\sim 39^{\circ}\text{C}$,持续 3~4 天,经治疗后才恢复正常。另外,本研究中,p53 联合治疗组部分缓解 23 例,高于单纯 TACE 组 18 例 ($P<0.05$,表 3)。以上结果提示,p53 联合治疗组临床疗效优于单纯 TACE 组。

表 3 两组疗效 (%) 比较

	例数	CR	PR	SD	PD	有效
TACE	36	0	18	2	16	18 (50.0)
联合组	36	2	23	2	9	25 (69.4)

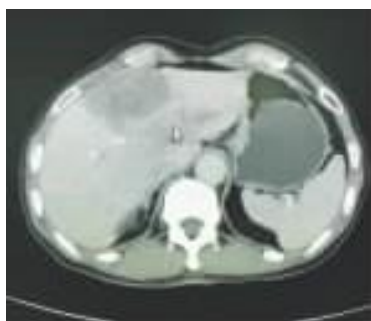


图 1 TACE 治疗后 4 月,获得 PR

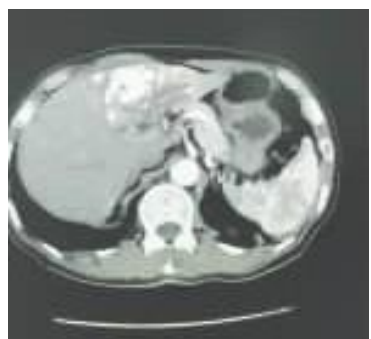


图 2 P53 联合 TACE 治疗后 4 月,获得 CR

2.4 两组患者治疗前后生活质量评价 TACE 组治疗前 Karnofsky 评分为 (56.2 ± 11.5) ,治疗后为 (60.4 ± 15.7) ,p53 联合组治疗前为 (57.3 ± 10.3) ,治疗后为 (65.1 ± 19.4) ,显著高于 TACE 组 ($P<0.05$)。

3 讨论

肝癌恶性程度高,总体预后差,尽管外科手术是肝癌的首选治疗方法,但是在确诊时大部分患者病情已达中晚期,失去了手术机会。据统计,仅约 20% 确诊患者适合手术。因此,积极采用其他非手术治疗方法,可能使相当一部分患者的症状减轻、生活质量改善和

生存期延长。目前,临床采用的多种传统治疗手段都难以达到十分满意的效果^[13]。随着分子生物学、免疫学理论和基因治疗技术的发展,以及对肿瘤发病机制的认识深入,基因治疗给肝癌的临床治疗开辟了一条新的途径。为提高中晚期肝癌患者治疗的临床疗效,延长生存期,改善患者的生存质量,我们在常规栓塞化疗的基础上,采用重组人 p53 腺病毒注射液联合 TACE 处理,探索治疗肝癌的新方法。

TACE 作为原发性肝癌的一线非根治性治疗手段^[14],临床上十分常用,其主要理论基础是基于肝癌和正常肝组织血供的差异,即 95%~99% 的肝癌组织血供来自肝动脉,而正常肝组织血供的 70%~75% 来自门静脉,肝动脉供血仅占 20%~25%。TACE 能有效阻断肝癌的肝动脉供血,使肿瘤细胞发生缺血坏死作用,同时局部高浓度的化疗药物持续作用于肿瘤细胞,而对正常肝组织影响较小。但是,TACE 治疗本身有一定的局限性,例如:1. 肿瘤血管可能栓塞不彻底及肿瘤新生血管逐渐生成,TACE 常难以使肿瘤达到病理上完全坏死;2. TACE 治疗后由于肿瘤组织缺血和缺氧,肿瘤细胞和基质释放缺氧诱导因子 (HIF),从而使血管内皮生长因子 (VEGF) 高表达,重新建立肿瘤的微循环,使残存的肿瘤细胞在一段时间后又进入增殖活跃状态,导致病情进展^[14]。

rAd-p53 是肿瘤基因治疗的新方法,已成为学者们关注的重点^[15]。有文献报道 rAdp53 对肝癌细胞有明显杀灭及抑制生长作用,抑瘤率达 80.12%。采用 Western blot 法检测注射过 Adp53 的肿瘤组织,可见 p53 蛋白的高表达。Guan YS et al^[17]采用经皮瘤内注射人 p53 腺病毒注射液联合 TACE 治疗中晚期肝癌 68 例,与对照组单独应用 TACE 治疗相比,结果治疗组瘤体明显缩小,p53 联合组有效率为 69.4%,而单纯 TACE 组为 50%,两组间差异有显著性意义 ($P<0.05$)。关于 rAdp53 治疗肿瘤的机制研究较多。据文献报道,野生型 p53 基因导入肿瘤细胞后,可以通过调控下游靶基因的表达,或直接激活凋亡信号途径,诱导肿瘤细胞凋亡^[16,17],也可以通过上调新生血管形成抑制因子 Thrombospondin-1 的表达^[18],或下调 VEGF 的表达^[19],抑制肿瘤内新生血管的生成,导致肿瘤组织局部供血障碍而发生坏死;还可以调节机体免疫反应,经过治疗后的活检组织病理表现为肝癌组织纤维化伴淋巴细胞浸润或大片变性、坏死。这些结果说明应用重组人 P53 腺病毒注射液,可以把野生型 p53 基因导入肝癌细胞,一方面抑制肿瘤细胞生长,另一方面也诱导肿瘤细胞凋亡,从而发挥对肝癌的治疗作用。

本研究中 72 例患者在治疗后肝功能指标较术前都有一定程度的升高,可能的原因包括:1. 原发性肝癌患者常伴有肝硬化,这些患者基础肝功能状态已存在受损背景,栓塞后导致缺血,加之化疗药物的肝细胞毒性作用,都会导致患者术后一过性 ALT 和 TBIL 的上升。为避免发生严重的肝功能损害,甚至肝功能衰竭,应在血管介入治疗前充分评估肝功能状态,栓塞时掌握好碘油的剂量,个体化地决定化疗药物的种类及剂量,术后加强支持及保肝等治疗,患者肝功能一般可在术后 2~4 周恢复至术前水平,为继续治疗创造条件。

p53 联合 TACE 治疗中晚期肝癌较单纯 TACE 治疗患者肝癌和卫星灶直径缩小更明显 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 总体有效率显著提高 (69.4%对 50%), 且生活质量改善更明显,其原因除有经典的栓塞化疗作用外,还可能如下机制:经肝动脉选择性地将 rAd-p53 灌注入肝癌区域,直接将 rAd-p53 导入瘤体内;①保证导入的准确性;②同时 TACE 阻断了肝癌微血管,可以阻止血流冲刷,延长 rAd-p53 与肝癌细胞接触的时间,增加靶组织对基因的摄取;③与此同时还可以通过分泌诸多细胞因子,调节机体化疗后受损的免疫功能;④还有学者研究表明高表达的 p53 蛋白能有效刺激机体的特异性肿瘤免疫反应^[20]。本研究中 rAd-p53 联合治疗组患者

术后均有 38.5℃~39℃发热,对瘤体治疗后体温恢复正常,提示 p53 腺病毒对调动机体免疫能力可能有一定的作用。

因此,对这类患者不宜给予强力的退热药物,而以物理降温为主。

重组人 p53 腺病毒联合 TACE 治疗中晚期肝癌,可提高临床疗效,改善患者生活质量,无明显副作用,值得临床医师合理选用。

【参考文献】

- [1] Pan JJ, Zhang SW, Chen CB, et al. Effect of recombinant adenovirus -p53 combined with radiotherapy on long-term prognosis of advanced nasopharyngeal carcinoma. J Clin Oncol, 2009, 27 (5):799-804.
- [2] 韩德民, 黄志刚, 张伟. 重组人 p53 腺病毒注射液治疗喉癌的 I 期临床试验及追踪观察. 中华医学杂志, 2003, 83 (23):2029-2032.
- [3] 张珊文, 肖邵文, 刘长清. 重组人 p53 腺病毒注射液联合放射线治疗头颈鳞癌的 II 期临床试验. 中华医学杂志, 2003, 83 (23):2023-2028.
- [4] Yuen MP, Chan AO, Wong BC, et al. Transarterial chemoembolization for inoperable, early stage hepatocellular carcinoma in patients with Child-Pugh grade A and B: results of a comparative study in 96 Chinese patients. Am J Gastroenterol, 2003, 98 (5):1181-1185.

- [5] Zhou WP, Lai EC, Li AJ, et al. A prospective, randomized, controlled trial of preoperative transarterial chemoembolization for resectable large hepatocellular carcinoma. Ann Surg, 2009, 249 (2):195-202.
- [6] Chapman WC, Majella Doyle MB, Stuart JE, et al. Outcomes of neoadjuvant transarterial chemoembolization to downstage hepatocellular carcinoma before liver transplantation. Ann Surg, 2008, 248 (4):617-625.
- [7] Lee JK, Chung YH, Song BC, et al. Recurrences of hepatocellular carcinoma following initial remission by transcatheter arterial chemoembolization. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 17 (1):52-58.
- [8] Schafer DF, Sorrell ME. Hepatocellular carcinoma. Lancet, 1999, 353 (9160):1253-1257.
- [9] Bargellini I, Vignali C, Cioni R, et al. Hepatocellular carcinoma: CT for tumor response after transarterial chemoembolization in patients exceeding Milan criteria -selection parameter for liver transplantation. Radiology, 2010, 255 (1):289-300.
- [10] Alsowmely AM, Hodgson HJ. Non-surgical treatment of hepatocellular carcinoma. Alimient Plarmacol Ther, 2002, 16 (1):1-15.
- [11] Llovet JM, Real MI, Montana X, et al. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. Lancet, 2002, 359 (9319):1734-1739.
- [12] Lencioni R. Loco-regional treatment of hepatocellular carcinoma. Hepatology, 2010;52 (2):762-773.
- [13] Pena AM, Nunez-Martinez O, Diaz-Sanchez A, et al. Transarterial chemoembolisation in intermediate-stage hepatocellular carcinoma. Survey on clinical practice in hospitals in the Madrid Region. Ann Hepatol, 2015, 14 (2):207-217.
- [14] Dufour JF. TACE with or without systemic therapy. J Hepatol, 2012, 56 (6):1224-1225.
- [15] 陈世晞, 陈骏, 徐卫东, 等. 动脉灌注 p53 基因治疗晚期肝癌的初步临床应用. 介入放射学杂志, 2007, 16 (2):127-129.
- [16] 彭秀斌, 许卫国, 李鹤平, 等. p53 基因联合栓塞化疗治疗 PHC22 例. 广东医学, 2009, 30 (12):1826-1828.
- [17] Galamarine CM, Kamath K, Viorery V, et al. Drug resistance associate with loss of p53 involves extensive alterations in microtubule composition and dynamics. Br J Cancer, 2003, 88 (11):1793-1799.
- [18] Ding HF, Lin YL, McGill G, et al. Essential role for caspase-8 in transcription-independent apoptosis triggered by p53. J Biol Chem, 2000, 275 (49):38905-38911.
- [19] Lawler J, Miao WM, Duquette M, et al. Thrombospondin-1 gene expression affects survival and tumor spectrum of p53-deficient mice. Am J Pathol, 2001, 159 (5):1949-1956.
- [20] Roos WK, Fallaux FJ, Mmrinelli AW, et al. Isolated-organ perfusion for local gene delivery: efficient adenovirus-mediated gene transfer into the liver. Gene Ther, 1997, 4 (1):55-62.

(收稿: 2015-02-35)

(本文编辑: 陈从新)