

重组人 P53 腺病毒灌注栓塞联合中医药治疗伴门静脉癌栓的原发性肝细胞癌

刘德祥 郭真真 陈汉威 黄益 姬智艳

【摘要】 目的 评价重组人 P53 腺病毒灌注栓塞联合中医药治疗伴门静脉癌栓(PVTT)的原发性肝细胞癌(HCC)的疗效。**方法** 随访本院 2007 年 1 月至 2010 年 8 月伴 PVTT 的 HCC 共 78 例,分为治疗组($n=43$)和对照组($n=35$),选用不同药物经肝动脉灌注栓塞治疗。对照组采用吡柔比星(THP, 20~40 mg)、丝裂霉素(MMC, 10 mg)、卡铂(CBP, 100~300 mg)混合碘油(10~20 ml),治疗组在此基础上加用重组人 P53 腺病毒注射液($1 \times 10^{12} \sim 4 \times 10^{12}$ 病毒颗粒)灌注栓塞,并于围手术期联合中医药方法治疗。两组疗程每月 1 次,连续 3 次,比较栓塞术前瘤体及门静脉癌栓大小变化情况、血常规、肝功能、甲胎蛋白(AFP)水平及应用 Karnofsky 评分评定生活质量的变化。**结果** 治疗组和对照组术后瘤体及 PVTT 均缩小,有效率分别为 79.1%、76.7%和 42.9%、40.0%,两组间差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。治疗组术后白细胞下降率为 25.6%,其中 I 级 18.6%,II 级 4.7%,III 级 2.3%,IV 级 0%,对照组下降率为 80.0%,其中 I 级 11.4%,II 级 28.6%,III 级 34.3%,IV 级 5.7%,两组间下降率及下降程度差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。治疗组术后肝功能 Child-Pugh A 级 79.1%,B 级 16.3%,C 级 4.7%,而对照组分别为 37.1%,31.4%,31.4%,治疗组肝功能好于对照组($P=0.000$)。治疗组术后 AFP 下降率和 Karnofsky 评分提高率均高于对照组(74.4% 比 40.0%,72.1% 比 42.9%)。但前者差异无统计学意义($P=0.912$),后者有统计学意义($P=0.009$)。**结论** 重组人 P53 腺病毒注射液灌注栓塞联合中医药治疗伴 PVTT 的 HCC,能增强抗癌疗效,减轻不良反应,提高患者的生存质量。

【关键词】 癌,肝细胞; 门静脉; 肿瘤循环细胞; 肿瘤抑制蛋白质 P53; 中医药

Recombinant human adenovirus-P53 transcatheter hepatic arterial chemoembolization plus traditional Chinese medicine in treatment of primary hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus

LIU De-xiang, GUO Zhen-zhen, CHEN Han-wei, HUANG Yi, JI Zhi-yan. Department of Radiology, Guangzhou Panyu Central Hospital, Guangzhou 511400, China

Corresponding author: LIU De-xiang, Email: xiangmail3@21cn.com

【Abstract】 Objective To evaluate the efficacy of recombinant adenovirus - P53 (rAd - P53) transcatheter hepatic arterial chemoembolization (TACE) plus traditional Chinese medicine in treatment of primary hepatocellular carcinoma (HCC) with portal vein tumor thrombus (PVTT). **Methods** Between January 2007 and August 2010, 78 patients with HCC and PVTT registered to our hospital were recruited in this study. The patients were divided into a control group ($n=35$) to receive TACE using pirarubicin (THP, 20~40 mg), mitomycin (MMC, 10 mg), carboplatin (CBP, 100~300 mg) and mixed lipiodol (10~20 ml), and a treatment group ($n=43$) to receive TACE using the same agents as in control group combined with rAd-P53 injection ($1 \times 10^{12} \sim 4 \times 10^{12}$ virus particle). During the perioperative period, traditional Chinese medicine were given to the treatment group. The treatments for all patients were delivered monthly for consecutively three months. Changes from baseline in size of primary tumor and PVTT, complete blood counts, liver function, level of alpha fetoprotein (AFP), and quality of life as measured by Karnofsky score were

DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-1927.2010.06.021

基金项目:广东省中医药管理局科研课题(2008018)

作者单位:511400 广州市番禺中心医院放射科

通信作者:刘德祥,Email:xiangmail3@21cn.com

compared between the two groups. **Results** Reduction in sizes of the primary tumor and PVTT was found in the control and treatment groups after operation. The effective rates were respectively in 79.1% and 76.7% of patients in treatment vs 42.9% and 40.0% in the control group, with significant differences (all $P < 0.05$). Leucopenia occurred in 25.6% (including 18.6% with grade I, 4.7% with grade II, 2.3% with grade III and 0% with grade IV leucopenia) of the patients in the treatment group, compared significantly with 80.0% (including 11.4% with grade I, 28.6% with grade II, 34.3% with grade III and 5.7% with grade IV leucopenia) of patients in control group. There were statistical significance in rate and degree of decline between two groups (all $P < 0.05$). Compared with control group, the patients in treatment group showed better liver function (79.1% vs 37.1% with Child-Pugh A, 16.3% vs 31.4% with Child-Pugh B, and 4.7% vs 31.4% with Child-Pugh C, $P = 0.000$), higher Karnofsky scores (72.1% vs 42.9%, $P = 0.009$) and lower AFP (74.4% vs 40.0%, not statistically significant, $P = 0.912$). **Conclusion** rAd-P53 injection combined with TACE and traditional Chinese medicine was shown to have improve the therapeutic efficacy, reduce adverse reactions and increase quality of life in patients with hepatocellular carcinoma and portal vein tumor thrombus.

[Key words] Carcinoma, hepatocellular; Portal vein; Neoplasms; circulating cells; Tumor suppressor protein P53; Traditional Chinese medicine

原发性肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 伴门静脉癌栓 (portal vein tumor thrombus, PVTT) 属晚期肝癌, 临床上并不少见, 日本学者报道发生率为 62.2% ~ 90.2%^[1]。PVTT 常引起肝内转移和治疗后复发, 加重门静脉高压, 导致食道静脉曲张破裂大出血, 且使常规治疗门静脉高压的措施难以奏效。目前对合并 PVTT 的肝癌缺乏有效的治疗方法。近年, P53 基因已用于治疗多种肿瘤, 并取得一定疗效。自 2007 年起本院采用重组人 P53 腺病毒注射液肝动脉灌注、肝动脉化疗栓塞术 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE)、中医药 3 者相结合的中西医结合治疗伴 PVTT 的 HCC, 取得较好疗效, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

随访 2007 年 1 月至 2010 年 8 月资料完整的伴 PVTT 的 HCC 共 78 例, 男 55 例, 女 23 例, 年龄 28 ~ 73 岁 (中位年龄 42.5 岁)。血常规正常或轻度异常 (白细胞 $\geq 3.0 \times 10^9/L$ 、血红蛋白 $\geq 80 g/L$ 、血小板 $\geq 100 \times 10^9/L$), 凝血功能及肾功能等基本正常或轻度异常, 丙氨酸转氨酶 (ALT) 超正常值 2 ~ 4 倍有 32 例, 超 4 倍以上 46 例, 38 例合并腹水。各病例均符合 HCC 诊断及中医辨证分型标准^[2], 并经 B 超、CT、磁共振成像 (MRI) 或数字减影血管造影 (DSA) 任一项或多项检查诊断为 HCC 伴 PVTT, 因肿瘤本身或患者体质情况所限, 无法耐受手术切除, 或自愿选择 TACE 术, Karnofsky 评分积分在 30 ~ 60 之间, 预

计生存期大于 2 个月。患者及其家属签署知情同意书, 本研究经医院伦理委员会审核通过。

1.2 方法

纳入研究的病例分为治疗组 43 例和对照组 35 例, 选用不同药物经肝动脉灌注栓塞治疗。全部病例均经股动脉插管, 常规先行腹主动脉和腹腔干动脉造影, 了解腹腔干动脉分支分布及 HCC 血供和 (或) 侧支血供情况。再根据肿瘤的供血情况将导管选择性插入肝固有动脉或超选择性插入肝左或肝右动脉或其更远分支, 注入药物和碘油栓塞剂。

对照组采用经肝动脉灌注吡柔比星 (THP) 20 ~ 40 mg、丝裂霉素 (MMC) 10 mg、卡铂 (CBP) 100 ~ 300 mg 混合碘油 10 ~ 20 ml 栓塞及生理盐水 10 ~ 20 ml。治疗组在上述药物的基础上再灌注重组人 P53 腺病毒注射液 [今又生, 深圳市赛百诺基因技术有限公司, 批号 S20040004, 规格 1×10^{12} 病毒颗粒 (virus particle, VP)/支, $-20^\circ C$ 以下保存] 并在围手术期统一给予中医辨证分型, 制定口服汤药, 每周换方或辨证加减。P53 腺病毒注射液药物剂量根据介入术中实际情况由主治以上职称医师制定 ($1 \times 10^{12} \sim 4 \times 10^{12}$ VP 溶于 10 ~ 20 ml 生理盐水中, 1 次/月, 连续 3 次)。

1.3 疗效评价

1.3.1 实体瘤及门静脉癌栓疗效评价 术前及术后 1 个月行上腹部增强 MRI 复查, 了解肿瘤及门静脉癌栓变化情况: 完全缓解 (CR) 即肿瘤完全消失, 维持 4 周以上; 部分缓解 (PR) 即肿瘤两径乘积减少 50% 以上, 并持续 4 周以上, 无新病灶出现; 无变化

(NC)即肿瘤两乘积减少50%以下或增大25%以下,并持续4周以上,无新病灶出现;恶化(PD)即肿瘤两径乘积增大25%以上或新病灶出现。

1.3.2 实验室指标评价 (1)血常规指标:术后1周检测,参照WHO抗癌药物常见不良反应分级标准进行分级,白细胞 $\geq 4.0 \times 10^9/L$ 为0级, $3 \times 10^9 \sim 3.9 \times 10^9/L$ 为Ⅰ级, $2 \times 10^9 \sim 2.9 \times 10^9/L$ 为Ⅱ级, $1 \times 10^9 \sim 1.9 \times 10^9/L$ 为Ⅲ级, $\leq 1 \times 10^9$ 为Ⅳ级。(2)肝功能指标:介入后1周检测,参照肝功能Child-Pugh分级标准进行分级,A级为5~6分,B级为7~9分,C级为10~15分。(3)甲胎蛋白(AFP):术后1个月检测,与术前进行对比。

1.3.3 生活质量评定 术后1周检测,比较术前术后Karnofsky评分变化。术后评分增高10分者为提高,减少10分者为降低,增高或减少小于10分者为稳定。

1.4 数据处理

应用SPSS10.0统计软件进行数据处理。计数资料的对比采用卡方检验,等级资料采用秩和检验比较组间差异。

2 结果

2.1 术后瘤体及门静脉癌栓大小的变化

治疗组术后瘤体及门静脉癌栓的总有效率[(CR例数+PR例数)/总例数]分别为79.1%及76.7%,其中CR分别有0例及3例,PR分别有34例及30例,NC分别有6例及8例,PD分别有3例及2例;对照组瘤体及门静脉癌栓的总有效率分别为42.9%及40.0%,其中CR分别有0例及1例,PR分别有15例及13例,NC分别有12例及15例,PD分别有8例及6例。治疗组瘤体及门静脉癌栓疗效明显好于对照组(均 $P<0.05$)。

2.2 实验室指标的对比

对照组较治疗组白细胞下降例数多,程度重;治疗组大部分肝功能良好,对照组大部分肝功能不佳(均 $P<0.05$)。见表1。治疗组AFP下降例数有32例(74.4%),其中下降至正常9例(20.9%),降至50%以下23例(53.5%),对照组AFP下降例数有14例

(40.0%),其中下降至正常3例(8.6%),降至50%以下11例(31.4%),治疗组下降率及程度比对照组大,但两者差异没有统计学意义($P=0.912$)。

2.3 生活质量的评定

治疗组Karnofsky评分提高例数为31例(72.1%),稳定9例,下降3例;而对照组分别为15(42.9%)、12例、8例。治疗组比对照组提高明显($P=0.009$)。

3 讨论

HCC伴PVTT患者生活质量极差,往往不能手术治疗,自然生存期只有2.4~2.7个月^[3]。为提高患者的生活质量,延长其生存期,我们在总结现有治疗手段的基础上,采用重组人P53腺病毒灌注栓塞联合中医药进行伴PVTT的原发性HCC的治疗研究。

介入治疗,特别是经肝动脉化疗栓塞术(TACE)已成为HCC非手术治疗中最有效且最成熟的一种治疗方法。对于无法手术的肝癌伴PVTT的患者,TACE治疗不但能有效控制原发灶的生长,而且对PVTT也有较好的疗效,能抑制PVTT的生长,甚至使部分患者的PVTT消失^[4],从而达到改善患者生存质量,提高生存率的目的。但由于肝癌伴PVTT患者肝功能较差,化疗药及栓塞剂用量受限,术后肝功能受损,侧支循环及门静脉血供等原因,TACE远期疗效尚不理想。临床实践证明,中医药治疗作为一种有效的姑息治疗手段,在减轻放化疗不良反应、增强放化疗敏感性、改善肝功能、提高晚期癌症患者生存质量、延长生存期等方面有较好的临床效果^[5-6]。因此,对合并PVTT的肝癌患者,围TACE手术期采用中医中药的辅助治疗,可提高机体免疫力,对治疗及预防肿瘤复发尤为重要。

研究表明P53是与肿瘤发生、发展关系最密切的抑癌基因^[7]。许多肿瘤都检测出P53基因突变、缺失等情况。有实验表明P53基因在肝癌中突变高,其失活可能在肝癌的发生、发展中起重要作用^[8]。因此,将野生型P53(rAd-P53)基因转染肿瘤细胞可能是抑制肿瘤生长的有效方法。P53基因用于肝癌治

表1 术后1周白细胞下降及肝功能Child-Pugh分级情况[例(%)]

组别	例数	白细胞下降分级					Child-Pugh分级		
		I	II	III	IV	下降率	A	B	C
治疗组	43	8(18.6)	2(4.7)	1(2.3)	0(0)	11(25.6)	34(79.1)	7(16.3)	2(4.7)
对照组	35	4(11.4)	10(28.6)	12(34.3)	2(5.7)	28(80.0)	13(37.1)	11(31.4)	11(31.4)

疗有以下特点: (1) 从肝动脉输入基因表达效率高。Anderson 等^[9]用 P53 突变的大鼠肝癌细胞 MCA-RH777 建立大鼠肝癌模型, 用重组腺病毒载体野生型 P53 基因(rAd-P53)可抑制肝癌的生长, 且从肝动脉输入较静脉输入基因表达效率高些。(2) 基因治疗与化疗、放疗结合^[10-11]。P53 可被一些损伤基因的因素激活, 如作用于 DNA 的抗癌药物或射线。利用这一特性把 P53 治疗与化疗(顺铂或 Paclitaxel)或放疗结合, 已显示出良好的抗癌效果, 并且恢复野生型 P53 在肝癌细胞中的表达, 由于 P53 的诱导, 肝癌细胞对于化疗的敏感性增加。因此将 P53 基因引入肿瘤细胞内对其进行训导成为抑癌基因治疗中最热门的内容。本研究采用的重组人 P53 腺病毒注射液是由正常人 P53 肿瘤抑制基因和改构的 5 型腺病毒载体重组而成。P53 基因和重组腺病毒颗粒两方面的因素参与了对肿瘤的治疗作用。将携带 P53 基因重组腺病毒通过肝动脉导入肿瘤, P53 基因通过多种生物学途径发挥细胞增殖调控作用, 抑制细胞分裂, 诱导肿瘤细胞凋亡, 同时 P53 基因通过提高肝癌细胞对化疗药物的敏感性发挥其抑癌作用。另一方面重组腺病毒颗粒激活免疫系统, 产生细胞因子和淋巴细胞, 提高抗肿瘤体液免疫和细胞免疫力; 调节肿瘤患者神经-内分泌系统功能, 拮抗传统疗法(放、化疗)不良反应, 缓解癌性疼痛, 提高患者生活质量。

PVTT 血供主要来源于动脉性血管, 即由肝动脉的细小分支, 门静脉周围的小动脉和胆管周围的毛细血管构成, 所以经肝动脉导入 P53 基因的抑癌作用同样可用于 PVTT。对伴 PVTT 的 HCC 采用 P53 经肝动脉灌注提高基因表达效率, 诱导肿瘤细胞凋亡, 使肝癌细胞对于 TACE 治疗的敏感性增加, 而中医药可达到治疗肿瘤, 增加 TACE 疗效, 减轻 TACE 并发症的作用, 3 者相辅相成, 形成一个良性循环。3 者相结合的中西医结合综合治疗可达到提高 TACE 使肿瘤缺血坏死, 减少肝功能损害及减少 TACE 并发症的作用。本组资料显示, 采用重组人 P53 腺病毒注射液肝动脉灌注+TACE+中医药 3 者相结合的综合治疗方法治疗伴 PVTT 的 HCC 的疗效优于传统的 TACE, 且患者的不良反应发生率低, 临

床症状改善明显, 生活质量明显提高。虽然部分患者术后出现一过性发热, 但大多较轻, 持续 3~6 h 后即自行缓解, 无需特殊处理, 仅极少数病人出现高热需要对症治疗。无 1 例出现严重不良反应。由于本研究的时间限制, 未能对患者的生存期作进一步的追踪。

总之, 重组人 P53 腺病毒灌注栓塞联合中医药治疗伴 PVTT 的 HCC, 能增强抗癌疗效, 减轻不良反应, 提高患者的生存质量, 是治疗晚期肝癌的新途径、新方法。

参考文献

- [1] Shirable K, Shimada M, Tanka S, et al. Current therapeutic of hepatocellular carcinoma with extensive portal thrombus. *Fukuoka Igaku Zasshi*, 2003, 10: 197-203.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则(第 1 辑). 1993: 70-73.
- [3] Tateishi H, Kinuta M, Furukawa J, et al. Follow-up study of combination treatment (TAE and PEIT) of unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1994, 33: 193.
- [4] 杨继金, 贾雨辰, 田建明, 等. 肝癌侵犯静脉主干的血管造影表现及介入治疗. *临床放射学杂志*, 1992, 11: 143-146.
- [5] 徐国亭, 姚家琪. 介入及中药联合治疗中晚期肝癌的疗效评价. *中医药信息*, 2003, 20: 44-45.
- [6] 王纪东, 夏昀, 王建黄. 肝血管栓塞化疗联合中药治疗中晚期肝癌 120 例临床观察. *河南大学学报(医学科学版)*, 2003, 22: 42-44.
- [7] Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature*, 1991, 351: 453-456.
- [8] Nielsen LL, Maneval DC. p53 tumor suppressor gene therapy for Cancer. *Cancer Gene Ther*, 1998, 5: 52-63.
- [9] Anderson SC, Johnson DE, Harris MP, et al. P53 gene therapy in a rat model of hepatocellular carcinoma: intra-arterial delivery of a recombinant adenovirus. *Clin Cancer Res*, 1998, 4: 1649-1659.
- [10] Xu GW, Sun ZT, Forrester K, et al. Tissue-specific growth suppression and chemosensitivity promotion in human hepatocellular carcinoma cells by retroviral-mediated transfer of the wildtype p53 gene. *Hepatology*, 1996, 24: 1264-1268.
- [11] Paillard F. Cancer gene therapy annual conference 1997: trends and news. *Hum Gene Ther*, 1998, 9: 283-285.

(收稿日期: 2010-09-08)

(本文编辑: 刘新艳)