

• 临床研究 •

重组人 p53 腺病毒联合肝动脉栓塞化疗术治疗原发性肝癌的临床研究

唐友明¹ 田洪刚¹ 张来安² 金江林¹

(1. 四川省江油市人民医院肿瘤科; 2. 放射介入科, 江油 621700)

【摘要】 目的 探讨重组人 p53 腺病毒联合肝动脉栓塞化疗术对原发性肝癌治疗效果和免疫指标的影响。方法 选取 2014 年 3 月至 2015 年 3 月间四川省江油市人民医院肝胆外科收治的 48 例原发性肝癌患者, 采用随机数字表法分为研究组和对照组。研究组患者 23 例, 采用重组人 p53 腺病毒注射液肝动脉灌注联合肝动脉栓塞化疗术治疗; 对照组患者 25 例, 采用单纯肝动脉栓塞化疗术治疗。评价实体瘤治疗效果, 采用流式细胞术检测 T 细胞亚群 (CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺) 指标, 同时记录不良反应。结果 治疗 4 周后对照组患者有效率 (64.0%) 低于研究组 (91.4%), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。CD3⁺、CD4⁺ 与 CD8⁺ 水平上, 与治疗前 1 天比较, 对照组和研究组治疗后不同时间段 T 细胞亚群表达差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 时间段与组别交互作用差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 对照组与研究组治疗后各时间段 CD4⁺/CD8⁺ 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论重组人 p53 腺病毒联合肝动脉栓塞化疗术能提高原发性肝癌患者术后免疫功能, 增强抗癌效果, 安全有效, 优于单纯肝动脉栓塞化疗术治疗。

【关键词】 肝肿瘤; 重组人 p53 腺病毒; 肝动脉栓塞化疗术; 治疗结果

【DOI】 10.13455/j.cnki.cjcor.2016.12.05 **【中图分类号】** R735.7 **【文献标识码】** A

Recombinant human p53 adenovirus combined with transcatheter arterial chemoembolization in the treatment of primary liver cancer

TANG You-ming¹, TIAN Hong-gang¹, ZHANG Lai-an², JIN Jiang-lin¹

(1. Department of Radiology; 2. Department of Interventional Radiology, Jiangyou People's Hospital, Jiangyou 621700, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the effect of recombinant human p53 adenovirus combined with transcatheter arterial chemoembolization on the treatment efficacy and immune indices of primary liver cancer. **Methods** From March 2014 to March 2015, 48 patients with primary hepatocellular carcinoma treated at Jiangyou People's Hospital were divided into an observation group and a control group. Twenty-three patients in the observation group received hepatic arterial perfusion of recombinant human p53 adenovirus injections combined with transcatheter arterial chemoembolization (TACE) and 25 patients in the control group received simple TACE. Using the flow cytometry, T cell subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD4⁺/CD8⁺) indicators were evaluated, and adverse reactions were recorded. **Results** The efficiency rate in the control group (64.0%) was lower than the observation group (91.4%) after 4 weeks ($P < 0.05$). Compared with 1 day before treatment, there was significant difference in the expression of T cell subsets CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ between the observation group and the control group at different time points ($P < 0.01$; time points and the interactive $P < 0.01$). There was no statistical difference in the level of CD4⁺/CD8⁺ between the two groups at different time points ($P > 0.05$). **Conclusion** Recombinant human p53 adenovirus combined with transcatheter arterial chemoembolization can improve the immune function, enhance the antitumor effect in patients with primary liver cancer, which is safe and effective, and is superior to the simple TACE treatment.

收稿日期: 2015-12-17

作者简介: 唐友明, 男, 副主任医师, 主要从事肿瘤临床专业。

【Key words】 Liver neoplasms; Recombinant human p53 adenovirus; Transcatheter arterial chemoembolization; Treatment outcome

原发性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 为临床上常见的恶性肿瘤,死亡率及恶性程度极高,对人类的健康产生严重危害^[1]。其晚期主要采取外科手术治疗,肝动脉化疗栓塞 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE) 是现阶段取得良好治疗效果的外科治疗方法。然而肝癌细胞存在丰富侧支循环,远期肿瘤微循环建立,很难彻底清除残留病灶,术后免疫功能会受到损伤^[2-3]。随着基因治疗在肿瘤治疗中的应用,控制或延缓残留病灶复发和提高术后机体免疫力成为临床研究的关键。我们观察分析了采用 TACE 联合 p53 腺病毒治疗原发性肝癌前后 T 细胞亚群的变化,为临床治疗提供新思路。

资料与方法

1. 一般资料:选取 2014 年 3 月至 2015 年 3 月间我院肝胆外科收治的原发性肝癌患者 48 例,采用随机数字表法分为研究组 (23 例) 和对照组 (25 例), (1) 纳入标准:①符合原发性肝癌临床诊断标准,预计生存时间 > 3 个月;②肾功能、血生化和血常规检查均在正常范围;③排除严重心、脑、肾脏及血液系统疾患。(2) 排除标准:①存在严重免疫抑制或正在接受免疫抑制治疗者;②妊娠及哺乳期妇女;③精神障碍不能正常交流者。患者及家属术前签署知情同意书,本研究经我院伦理委员会审核通过。两组患者基本资料相比,差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 1), 具有可比性。

2. 治疗方法: (1) 研究组:采用重组人 p53 腺病毒注射液经肝动脉灌注联合肝动脉栓塞化疗术治疗,用量根据患者肿瘤大小、数量及身体状况决定,术前 10 min 将 2~3 支 (2×10^{12} VP ~ 3×10^{12} VP) 重组人 p53 腺病毒注射液从 -20℃ 的恒温冰箱中取出,室温自然解冻。在化疗药注射前,用生理盐水稀释至 10~15 ml,经导管缓慢注入肿瘤滋养动脉内。行 TACE,步骤同对照组。(2) 对照组:用单纯肝动脉栓塞化疗术治疗,常规消毒、铺巾,2% 利多卡因 5 ml 于股动脉局部浸润麻醉,采用 Seldinger 穿刺法将 5F 导管放置于腹腔动脉或者肝总动脉,行肠系膜上动脉或膈动脉造影。依据肿瘤供血情况,将动脉导管放置到肝的供血动脉内,根据肝肾功能及肿瘤数目、大小、动静脉瘘及门静脉癌栓制定栓塞方

表 1 两组患者一般资料的比较 [例 (%)]

项目	对照组 (n=25)	研究组 (n=23)	t 值/ ² 值	P 值
性别				
男	18 (72.0)	17 (73.9)	0.02	0.88
女	7 (28.0)	6 (26.1)		
平均年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	48.6 ± 11.2	49.1 ± 13.1	0.09	0.93
肝脏受损				
单叶	15 (60.0)	14 (60.7)	0.00	0.95
多叶	10 (40.0)	9 (39.3)		
Child-Pugh 分级				
A 级	22 (88.0)	20 (87.0)	0.01	0.91
B 级	3 (12.0)	3 (13.0)		
T 细胞亚群 (% , $\bar{x} \pm s$)				
CD3 ⁺	59.8 ± 10.2	60.1 ± 9.8	0.10	0.92
CD4 ⁺	39.1 ± 7.2	39.02 ± 7.4	0.04	0.97
CD8 ⁺	27.01 ± 7.1	27.3 ± 7.5	0.14	0.89
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.62 ± 0.66	1.61 ± 0.62	0.05	0.96

式。经导管缓慢灌注由超化碘化油与化疗药物 (5-氟尿嘧啶 2000 mg, 吡柔比星 25~35 mg 及顺铂 35~55 mg) 制成的混悬液进行栓塞,具体剂量视肿瘤大小决定,直至造影未见肿瘤显影。

3. 观察指标: (1) 临床疗效:按照影像学图像检测出靶病灶,通过靶病灶最长直径 (LD) 之和作为基线,计算总 LD,根据实体瘤疗效评价标准 (RECIST)^[4] 分为完全缓解 (CR):所有靶病灶消失,没

有出现新病灶,肿瘤标志物无异常,持续时间大于 4 周;部分缓解 (PR):靶病灶总 LD 和缩小 > 30%,持续时间 > 4 周;病情稳定 (SD):病情处于稳定状态,靶病灶总 LD 变化处于部分缓解和疾病进展间;疾病进展 (PD):靶病灶 LD 和增加 > 20%,甚至发现新病灶。有效率 = (CR + PR) / 总例数 × 100%。

(2) 免疫指标:于治疗前 1 天 (T₁)、治疗后 1 周 (T₂)、治疗后 2 周 (T₃) 和治疗后 4 周 (T₄) 采外周血 3 ml,抗凝后采用流式细胞术检测 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 的表达。(3) 按照美国国立卫生研究院制定的不良反应术语标准 3.0 版本评估不良反应。

4. 统计学方法:数据采用 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 t 检验,计数资料采用 ² 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组患者治疗 4 周后疗效分析: 治疗 4 周后研究组有效率为 (91.4%) 显著高于对照组 (64.0%), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 2)。

表 2 两组患者治疗 4 周后疗效的比较 [例 (%)]

组别	例数	完全缓解	部分缓解	病情稳定	疾病进展	有效率 (%)
对照组	25	7 (28.0)	9 (36.0)	4 (16.0)	5 (20.0)	64.0
研究组	23	9 (39.2)	12 (52.2)	1 (4.3)	1 (4.3)	91.4

2. 两组患者 T 细胞亚群表达的比较: 两组患者治疗前后 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 的表达见表 3。

3. 两组患者治疗 4 周后不良反应的比较: 白细胞下降、血小板下降、肝功能损害及恶心呕吐等发生率均低于对照组患者, 但差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$, 表 4)。

表 4 两组患者治疗 4 周后不良反应状况的比较 [例 (%)]

类型	例数	白细胞下降	血小板下降	肝功能损害	恶心呕吐
对照组	25	11 (44.0)	12 (48.0)	7 (16.0)	10 (40.0)
研究组	23	5 (21.7)	7 (30.4)	4 (17.4)	6 (26.1)
χ^2 值		2.67	1.55	0.76	1.04
P 值		0.10	0.21	0.78	0.31

讨 论

原发性肝癌早期临床症状不明显, 容易与其他系统疾病混淆, 发现时常处于肿瘤晚期, 错过了一期手术切除最佳时机^[6]。经导管 TACE 术适用于

不能行手术切除的晚期肝癌患者, 尽管其临床效果值得认同, 但也存在缺陷, 应用比较局限, 且某些肿瘤的杀灭及清除不完全, 容易残留。肝癌细胞多存在丰富的侧支循环, 当肿瘤组织缺血缺氧时, 会释放缺氧诱导因子 (HIF), 高度表达血管内皮生长因子, 建立新的微循环, 残余部分继续增殖活跃, 术后免疫功能会受到损伤^[6-7]。

近年来, 随着分子生物学和免疫学的应用及基因治疗技术的不断研究, 人们在恶性肿瘤的治疗上发现了新的思路, 已成为大多数学者们研究的重点^[8]。以复制缺陷型重组腺病毒为载体的 p53 基因在临床应用表现出显著疗效, 目前, p53 基因被广泛应用于多种恶性肿瘤的治疗中, 通过病毒载体参与靶细胞转录和表达过程, 合成 p53 蛋白, 调节相关基因表达, 抑制肿瘤细胞及促进凋亡^[9]。因此, 以 p53 为主的基因治疗在原发性肝癌治疗中具有极大前景。

目前, 临床对于 TACE 联合 p53 腺病毒治疗前后 T 淋巴细胞亚群的变化研究较少^[10], 我们通过 TACE 联合 p53 腺病毒检测治疗前后 T 细胞亚群的变化, 为肝癌的治疗进展提供科学依据。本研究结果显示, TACE 联合 p53 腺病毒对原发性肝癌实体瘤的清除效果显著, 通过 TACE 内将含有化疗药物栓塞物置入, 能够对不断增殖的肿瘤产生杀灭作用, 同时配合含有 p53 的病毒载体可以在肿瘤细胞内特异性复制, 调控相关基因并裂解杀死肿瘤细胞, 子代病毒也可以进一步感染周围肿瘤细胞, 能够全面促使参与灶肿瘤细胞溶解坏死。术后免疫功能指标状况明显优于对照组, 因为 p53 特异性增殖的子病毒及 p53 蛋白表达可以促使机体对肿瘤产

表 3 两组患者治疗前后 T 细胞亚群表达的比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

免疫指标	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	F 值	P 值
CD3 ⁺						
对照组	59.8 ± 10.2	60.1 ± 10.2	62.1 ± 9.7	62.8 ± 8.3	18.60	0.00
研究组	60.1 ± 9.8	62.4 ± 10.6	67.9 ± 9.6	71.6 ± 7.5	9.86	0.00
CD4 ⁺						
对照组	39.1 ± 7.2	39.6 ± 7.3	40.9 ± 6.8	40.5 ± 7.5	11.30	0.01
研究组	39.02 ± 7.4	41.22 ± 6.5	42.26 ± 6.9	42.9 ± 6.6	8.10	0.00
CD8 ⁺						
对照组	27.01 ± 7.1	27.6 ± 7.5	28.1 ± 6.8	28.0 ± 6.5	13.70	0.00
研究组	27.3 ± 7.5	28.1 ± 7.1	28.5 ± 6.7	29.5 ± 6.3	10.90	0.00
CD4 ⁺ /CD8 ⁺						
对照组	1.62 ± 0.66	1.59 ± 0.71	1.60 ± 0.68	1.61 ± 0.63	3.70	0.12
研究组	1.61 ± 0.62	1.62 ± 0.69	1.63 ± 0.58	1.62 ± 0.56	1.70	0.30

注: T₁: 治疗前 1 d; T₂: 治疗后 1 周; T₃: 治疗后 2 周; T₄: 治疗后 4 周

生免疫反应,对肿瘤发挥杀伤效应,维持正常免疫功能,提高机体对肿瘤细胞的免疫能力^[11]。结果还显示,研究组患者白细胞下降、血小板下降、肝功能损害及恶心呕吐等不良反应的发生率均低于对照组,这可能与术后免疫能力及恢复能力有关。

采用重组人 p53 腺病毒联合肝动脉栓塞化疗术能提高原发性肝癌患者术后免疫功能,增强抗癌效果,优于单纯 TACE 治疗,虽然 p53 基因可特异性地引起肝癌细胞程序性死亡,或者使肝癌细胞处于严重冬眠状态,但对于正常肝细胞的损伤状况需要进一步研究。

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]. J Clin Oncol, 2009, 27: 799-804.
- [2] 史守良,董秀敏,胡万宁,等. P53 基因治疗原发性肝癌的临床研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21: 1036-1037.
- [3] 张珊文,肖绍文,刘长清,等. 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 [J]. 中华医学杂志, 2003, 83: 2023-2028.
- [4] Dufour JF. TACE with or without systemic therapy? [J]. J Hepatol, 2012, 56: 1224-1225.
- [5] 何志江,温坚,吕榆莲,等. 重组人 p53 腺病毒注射液介入治疗原发性肝癌临床疗效观察 [J]. 昆明医科大学学报, 2015, 36: 87-90.
- [6] 薛净,马艳,聂玉强,等. 高强度聚焦超声联合肝动脉化疗栓塞术治疗中晚期原发性肝癌的临床研究 [J]. 现代消化及介入诊疗, 2013, 18: 102-105.
- [7] Sato M, Tateishi R, Yasunaga H, et al. Mortality and morbidity of hepatectomy, radiofrequency ablation, and embolization for hepatocellular carcinoma: a national survey of 54, 145 patients [J]. J Gastroenterol, 2012, 47: 1125-1133.
- [8] 杨立群,张国志. 重组人 p53 腺病毒经肝动脉化疗栓塞术治疗中晚期肝癌疗效观察 [J]. 河北医药, 2013, 35: 1664-1665.
- [9] 张沁宏,王东,牟江洪,等. 重组腺病毒介导的 p53 基因对肝癌细胞生长抑制作用的研究 [J]. 第三军医大学学报, 2006, 28: 121-124.
- [10] Guan YS, Liu Y, He Q, et al. p53 gene therapy in combination with transcatheter arterial chemoembolization for HCC: one-year follow-up [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17: 2143-2149.
- [11] 崔红利,杨均,肖潇,等. 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 [J]. 实用肝脏病杂志, 2015, 18: 237-240.