

重组人 p53 腺病毒基因局部注射联合肝动脉化疗栓塞治疗原发性肝癌

官泳松, 孙龙, 周翔平, 李肖, 贺庆, 刘源

官泳松, 孙龙, 周翔平, 李肖, 贺庆, 刘源, 四川大学华西医院放射科
四川省成都市 610041
项目负责人: 官泳松, 610041, 四川省成都市, 四川大学华西医院放射科,
yongsongguan@yahoo.com
电话: 028-85421008 传真: 028-85421008
收稿日期: 2004-08-30 接受日期: 2004-09-18

摘要

目的: 评估重组人 p53 腺病毒基因治疗(rAd-p53)联合经皮肝动脉栓塞化疗术(TACE)治疗中、晚期肝细胞肝癌的临床疗效。

方法: TACE、经皮肝癌体内注入重组人 p53 腺病毒注射液(rAd-p53)2 种方法治疗中晚期肝细胞肝癌共 150 例, 其中采用经皮肝癌体内注入 rAd-p53 后联合 TACE 治疗中晚期肝细胞肝癌 68 例(治疗组), 并与同期病情相当的中晚期肝细胞肝癌单独的 TACE 治疗 82 例(对照组)相比较。

结果: 治疗组、对照组有效率分别为 67.6% 和 51.2%。治疗组瘤体明显缩小, 两组间有显著性差异($P = 0.042 < 0.05$);

对照组白细胞下降例数多, 程度重; 治疗组白细胞下降例数少, 程度轻 ($P = 0.003 < 0.05$); 治疗组比对照组的癌性疼痛减轻程度明显, 差异显著 ($P = 0.017 < 0.05$); 治疗组与对照组治疗后 Karnofsky 有显著性差异 ($P = 0.029 < 0.05$)。

结论: 重组人 p53 腺病毒注射液(rAd-p53)联合 TACE 治疗 HCC, 增强了抗癌效果, 改善了患者的生存质量。

官泳松, 孙龙, 周翔平, 李肖, 贺庆, 刘源. 重组人 p53 腺病毒基因局部注射联合肝动脉化疗栓塞治疗原发性肝癌. 世界华人消化杂志 2005;13(1):125-127
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/125.asp>

0 引言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)我国最常见的恶性肿瘤之一, 病程发展快, 患者就诊时往往已属中晚期, 绝大多数已失去手术机会^[1-4]。治疗 HCC 的传统方法包括手术、化疗、放疗, 虽然取得了不可估量的成效, 但是距离彻底根治肿瘤还很遥远^[5-8]。肿瘤抑制基因 p53

万方数据

的功能状态与肿瘤的发生、发展和转归关系密切。人类超过50%以上的肿瘤存在p53基因的异常(包括点突变、等位基因缺失、重排、插入、基因融合等)。近10 a来,人们不断探索应用p53基因对肿瘤进行临床治疗^[9-13]。2004-03/07我科采用重组人p53腺病毒注射液联合经皮肝动脉栓塞化疗术(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)治疗中、晚期HCC,将疗效分析报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 可评价中晚期HCC共150例,随访资料完整。男85例,女65例,年龄18-75(平均43.6岁)。均符合《中国常见恶性肿瘤诊治规范-原发性肝癌》(1991)^[14]的诊断标准。根据肿瘤大小、位置、中心液化坏死大小及患者身体情况,选择重组人p53腺病毒注射液(1-4)×10¹² virus particles (VP)。重组人p53腺病毒注射液用前10 min从-20℃保存的干冰箱中取出,待完全融化后,轻轻混匀,尽量勿使药液沾染瓶盖。对直径≥4 cm的肿瘤,用生理盐水稀释每支1×10¹²VP至3 mL;对直径≤4 cm的肿瘤,每支1×10¹²VP稀释至2 mL,CT引导下瘤组织局部多点注射。

1.2 方法 单纯组(TACE)82例,常规股动脉穿刺用Seldinger法将5F肝管置于腹腔动脉或肝总动脉,酌情作肠系膜上动脉或膈动脉造影,以寻找肝癌其他供血动脉,明确肿瘤数目、位置、类型、大小,供养血管以及动静脉瘘等情况,有动静脉瘘,先行明胶海绵栓塞,在肝动脉注入5-FU+HCPT+ADM行灌注化疗,然后将导管尽量超选至肝动脉对肿瘤的供血分支,根据血供来源情况,确定碘油用量。将10-30 mL超液态碘化油在电视荧光屏监视下缓慢注入,以防止栓塞剂反流造成其他脏器栓塞。TACE一般间隔4 wk进行1次,2次后评价疗效。重组人p53腺病毒注射液联合TACE治疗组(TACE+PEI)68例,在TACE(方法同单纯TACE)治疗前48-72 h后CT引导下经皮肿瘤间质内多点注射重组人p53腺病毒注射液,1次/wk,连续3-4次,每次用量依据肿瘤体积大小,尽量采取多点注射,用量(1-4)×10¹² VP。1 mo后评价疗效。主要观察治疗前后的肿瘤大小变化、白细胞变化、临床症状改善情况、Karnofsky评分变化、不良反应及生存期随访。疗效按WHO对于实体瘤疗效判定标准分为^[15]:完全缓解(CR),所见肿瘤病变完全消失并至少维持4 wk以上;部分缓解(PR),肿瘤病灶的最大径及其最大垂直径(两径)的乘积减少50%以上并维持4 wk以上,无新的病变出现;无变化(NC),肿瘤病灶的两径乘积缩小50%以下或增大25%以下,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。

2 结果

2.1 瘤体缩小情况 介入治疗前后均检查增强CT或MRI,同时以治疗后第4 wk复查的CT或MRI结果与治疗前对比。

根据WHO实体肿瘤疗效评价通用标准,结果如下(表1)。治疗组瘤体明显缩小,两组间有显著性差异。

2.2 白细胞变化 对照组白细胞下降例数多,程度重;治疗组白细胞下降例数少,程度轻。表明rAd-p53可以刺激肌体,具有升白细胞作用(表2)。

2.3 治疗后1 mo两组临床症状观察 胃肠道反应治疗组与对照组无显著差异($P > 0.05$),治疗组发热寒战及肌肉关节酸痛分别为51.5%、13.2%较对照组29.3%、1.2%高,但经对症处理,一般5-8 h体温均能降至正常,肌肉关节酸痛不适多在2-5 d内逐渐缓解。治疗组比对照组的癌性疼痛减轻程度明显,差异显著(表3)。

表1 rAd-p53联合TACE治疗肝癌疗效

组别	n	CR	PR	NC	PD	有效率(CR+PR)
治疗组	68	0	46	15	7	67.6%
对照组	82	0	42	27	13	51.2%

$\chi^2 = 4.137, P = 0.042 < 0.05$. 治疗组瘤体明显缩小,两组间有显著性差异。

表2 白细胞下降情况(n, %)

组别	下降程度(×10 ⁹ /L)			下降总例数
	4.0以下	3.0以下	2.0以下	
治疗组	12 (25.0)	4 (8.3)	2 (4.2)	18 (37.5)
对照组	8 (13.3)	20 (33.3)	11 (18.3)	39 (65.0)

两样本秩和检验 $u = -3.018, P = 0.003 < 0.05$.

表3 rAd-p53联合TACE治疗肝癌1 mo后临床症状观察(n, %)

组别	n	发热寒战	胃肠道反应	癌性疼痛缓解明显	肌肉关节酸痛
治疗组	68	35 (51.5) ^a	20 (29.4)	30 (44.1) ^b	9 (13.2%) ^c
对照组	82	24 (29.3)	28 (34.1)	21 (25.6)	1 (1.2%)

$\chi^2 = 7.679, ^aP = 0.006 < 0.05; \chi^2 = 5.674, ^bP = 0.017 < 0.05; \chi^2 = 8.626, ^cP = 0.003 < 0.05$.

2.4 rAd-p53联合TACE治疗肝癌后Karnofsky评分变化(n)(表4)。

表4 rAd-p53联合TACE治疗后Karnofsky评分变化(n)

组别	n	+20分	+10分	不变	下降	升高合计(%)
治疗组	68	14	28	18	8	42(61.8)
对照组	82	12	24	18	28	36(43.9)

$\chi^2 = 4.752, P = 0.029 < 0.05$.

3 讨论

HCC恶性程度高,预后差,自然生存期短,就诊时大部分已失去手术机会,为了改善中晚期HCC患者的预

后, 延长生存期, 改善患者的生存质量, 我们在总结以往的治疗手段的基础上, 采用重组人 p53 腺病毒注射液联合经皮肝动脉栓塞化疗术(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)进行中、晚期 HCC 临床研究。

研究表明, p53 基因指导合成 P53 蛋白, 在正常组织中, P53 蛋白的表达量很低, 在受到 DNA 损伤等刺激时, P53 蛋白表达量升高, 发挥细胞增生调控作用, 抑制细胞分裂, 诱导细胞凋亡; 不同类型的肿瘤中, p53 基因突变频率可高达 50-70%^[16]。我们首先应用 TACE 基础上连用经皮肝瘤体内注入 rAd-p53 治疗治疗 HCC, 在 TACE 治疗前经皮肝瘤体内注入 rAd-p53, 可以通过直接的靶向 rAd-p53 对肿瘤细胞进行杀伤或诱导其凋亡, 也可以其分泌的细胞因子增强机体化疗后减退的免疫功能。rAd-p53 瘤内注射, 可通过腺病毒感染将 p53 基因导入肿瘤细胞, 表达 P53 蛋白, 从而发挥抑制细胞分裂, 诱导肿瘤细胞凋亡的作用, 而对正常细胞无损伤。高表达的 P53 蛋白质能有效刺激机体的特异性抗肿瘤免疫反应, 局部注射可吸引 T 淋巴细胞等肿瘤杀伤性细胞聚集在瘤组织。p53 肿瘤抑制基因是细胞内关键的“看家基因”, 具有上调多种抗癌基因和下调多种癌基因的活性, 并有抑制血管内皮生长因子(VEGF)基因和药物多抗性(MDR)基因表达的作用^[17-21]。

两种方法联合治疗, 治疗组的有效率 67.6% 显著高于单纯介入组的有效率 51.2% ($P < 0.05$); 治疗组的瘤体缩小情况、临床症状改善情况、白细胞变化、卡氏评分升高均优于对照组。对于不宜手术的中晚期 HCC, 根据患者个体情况, 重组人 p53 腺病毒基因治疗联合 TACE, 可以弥补单一治疗方法的不足, 增强了抗癌效果, 有助于提高疗效, 可以提高患者的免疫功能及生存质量, 延缓患者的生存期。

受研究条件的限制, 随访资料主要为影像学方法和实验室资料。进一步的研究需要有更加准确的、特异性的评价手段如测定给药后的不同时间循环中药物抗体浓度变化、血药浓度, 已及长期的随访结果有利于更加准确的评价治疗的效果。如分别测定每次动脉给药后循环中抗体浓度变化情况, 分析药物代谢动力学情况。观察有无病毒血症可以通过检测血液中的病毒使用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)的方法, 能明确的表明病毒的复制状态。研究药物正常组织的毒性和实体肿瘤缩小情况, 将提供进一步的资料证明病毒在肿瘤内复制水平及药物的安全性。

4 参考文献

1 Yuen MF, Chan AO, Wong BC, Hui CK, Ooi GC, Tso WK, Yuan HJ, Wong DK, Lai CL. Transarterial chemoembolization for inoperable, early stage hepatocellular carcinoma in patients with Child-Pugh grade A and B: results of a compar-

ative study in 96 Chinese patients. *Am J Gastroenterol* 2003;98:1181-1185

2 Song BC, Suh DJ, Yang SH, Lee HC, Chung YH, Sung KB, Lee YS. Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein as a prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transcatheter arterial chemoembolization. *J Clin Gastroenterol* 2002;35:398-402

3 O'Suilleabhain CB, Poon RT, Yong JL, Ooi GC, Tso WK, Fan ST. Factors predictive of 5-year survival after transarterial chemoembolization for inoperable hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2003;90:325-331

4 Lee JK, Chung YH, Song BC, Shin JW, Choi WB, Yang SH, Yoon HK, Sung KB, Lee YS, Suh DJ. Recurrences of hepatocellular carcinoma following initial remission by transcatheter arterial chemoembolization. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:52-58

5 Schafer DF, Sorrell MF. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1999;353:1253-1257

6 Tang ZY. Hepatocellular carcinoma cause, treatment and metastasis. *World J Gastroenterol* 2001;7:445-454

7 Alsowmely AM, Hodgson HJ. Non-surgical treatment of hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1-15

8 Llovet JM, Real MI, Montana X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Sola R, Rodes J, Bruix J. Barcelona Liver Cancer Group. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;359:1734-1739

9 Kohn DB, Mitsuya H, Ballow M, Selegue JE, Barankiewicz J, Cohen A, Gelfand E, Anderson WF, Blaese RM. Establishment and characterization of adenosine deaminase-deficient human T cell lines. *J Immunol* 1989;142:3971-3977

10 Muul LM, Tuschong LM, Soenen SL, Jagadeesh GJ, Ramsey WJ, Long Z, Carter CS, Garabedian EK, Alleyne M, Brown M, Bernstein W, Schurman SH, Fleisher TA, Leitman SF, Dunbar CE, Blaese RM, Candotti F. Persistence and expression of the adenosine deaminase gene for 12 years and immune reaction to gene transfer components: long-term results of the first clinical gene therapy trial. *Blood* 2003;101:2563-2569

11 Simpson E. Immunotherapy and gene therapy. *IDrugs* 2004;7:105-108

12 Kanerva A, Hemminki A. Modified adenoviruses for cancer gene therapy. *Int J Cancer* 2004;110:475-480

13 Hughes RM. Strategies for cancer gene therapy. *J Surg Oncol* 2004;85:28-35

14 汤钊猷. 现代肿瘤学, 第一版, 上海医科大学出版社, 1993:566

15 汤钊猷. 现代肿瘤学, 第二版. 上海: 上海医科大学出版社, 2000:611

16 Wang S, El-Deiry WS. The p53 pathway: targets for the development of novel cancer therapeutics. *Cancer Treat Res* 2004;119:175-187

17 de Roos WK, Fallaux FJ, Marinelli AW, Lazaris-Karatzas A, von Geusau AB, van der Eb MM, Cramer SJ, Terpstra OT, Hoeben RC. Isolated-organ perfusion for local gene delivery: efficient adenovirus-mediated gene transfer into the liver. *Gene Ther* 1997;4:55-62

18 Lu Y, Carragher J, Zhang Y, Armstrong J, Lerner J, Rogers WP, Steiner MS. Delivery of adenoviral vectors to the prostate for gene therapy. *Cancer Gene Ther* 1999;6:64-72

19 Rutanen J, Rissanen TT, Kivela A, Vajanto I, Yla-Herttuala S. Clinical applications of vascular gene therapy. *Curr Cardiol Rep* 2001;3:29-36

20 Worgall S, Wolff G, Falck-Pedersen E, Crystal RG. Innate immune mechanisms dominate elimination of adenoviral vectors following *in vivo* administration. *Hum Gene Ther* 1997;8:37-44

21 Sung RS, Qin L, Bromberg JS. TNFalpha and IFNgamma induced by innate anti-adenoviral immune responses inhibit adenovirus-mediated transgene expression. *Mol Ther* 2001;3(5 Pt 1):757-767