

重组 p53 基因联合介入治疗晚期肝癌疗效分析

吕军

南阳医学高等专科学校第一附属医院介入科,河南 南阳 473000

摘要:目的 检测重组 p53 基因的临床治疗效果。方法 利用流式细胞术和体内淋巴细胞微核实验方法分别检测患者的突变型 p53 基因表达情况和自发体内微核形成率;用 Karuafsk 方法对治疗效果进行评价。结果 经过 2 个疗程治疗,患者腹胀等症状明显好转,生存期生活质量显著改善,C 组的 Karuafsky 明显提高,其中肝功能状态 C 组好转 10 例,T 组 21 例,生活质量提升情况,C 组中有 17 例,T 组中有 24 例,C 组中生存满意者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。介入治疗后,p53 平均表达率显著下降。经过介入治疗 2 个疗程后,无论与自然人群还是和 C 组相比,患者的 Karuafsk 评价价值显著升高,p53 平均表达率和平均 MNF 值均显著下降。结论 重组人 p53 腺病毒注射液结合肝动脉介入疗法治疗肝癌患者安全有效,能较好地控制肿瘤的进一步发展,值得在临床上推广使用。

关键词:肝癌;肝动脉介入;人源重组 p53 基因

中图分类号:R735.7 **文献标识码:**B **文章编号:**1672-3422(2014)12-0081-02

Analysis of clinical effect of advanced liver cancer in interventional therapy using reorganization p53 gene

LV Jun

Department of interventional radiology, First Affiliated Hospital of Nanyang
Medical College, Nanyang, Henan 473000, China

Abstract: **Objective** To analyze the effect of reorganization of P53 gene. **Methods** Spontaneous mutant type p53 gene expression in patients was detected using flow cytometry; The therapeutic effect was evaluated by Karuafsk method. **Results** After two courses of treatment, symptoms such as abdominal distention was improved markedly, and the survival quality of life was improved significantly. After interventional treatment, the average expression rate of p53 was reduced significantly. After interventional treatment, Karuafsk rised significantly, and average p53 expression rate and average MNF values have dropped significantly. **Conclusion** Human recombinant p53 adenovirus injection combined with hepatic artery interventional therapy is effective and security for patients of HCC, it also can control the further development of tumor well, therefore, it is worth popularizing in clinical use.

Key words: Hepatocellular carcinoma; Transhepatic Arterial Embolization; Anthropogenic reorganization of the p53 gene

目前原发性肝癌在我国的发生率偏高。由于肝癌在发病早期的特征不明显,因此多数就诊的肝癌患者已处于晚期阶段^[1-2]。当前,通过肝动脉灌注 p53 基因的介入法治疗是治疗晚期肝癌的一个新手段^[3]。本研究的目的在于对重组人 p53 腺病毒注射液结合肝动脉介入疗法治疗肝癌的临床效果进行全面评价。

1 资料与方法

1.1 病例 本分析于 2009 年 1 至 2012 年 12 月,于南阳医专第一附属医院筛选 52 份病例。所有病例均经过肝脏彩超、CT、甲胎蛋白(AFP)或肝脏穿刺等检查后明确诊断,无手术适应征,未经过化学

治疗或其他治疗。将患者随机分为治疗组(T组)和对照组(C组),每一组的病例数均为 26 例;在总的样本数中,男性 36 例,女性 16 例,年龄 33 ~ 61 岁,平均年龄(45.6 ± 4.2)岁;其中巨块型 28 例,结节型 15 例,弥漫性 9 例;通过 DSA 检查判定 34 例为富血液供应,其余 18 例为少血液供应。

1.2 治疗方法 利用 Seldinger 技术进行穿刺,将肝动脉导管选择至腹腔干动脉造影显示,再经导丝导管超选择入肝固有动脉造影,病灶染色,DSA 监视下缓慢推注药物完毕后,肝素化处理导管,外固定导管体外部分。根据肝功能情况、肿瘤大小及患者耐受程度选择治疗次数。C 组:顺铂 60 ~ 80 mg 加入 0.9% NaCl 注射液 100 ml 中稀释,再

经过介入技术,利用肝动脉导管局部灌注,每周治疗两次,3 周为 1 个疗程。T 组:在 C 组的基础上,用 100 ml 0.9% NaCl 注射液将 2 ml 重组人 p53 腺病毒注射液进行稀释,然后进行肝脏局部灌注,每周治疗两次,3 周为一个疗程。密切观察所有治疗者的反应情况,并详细记录。

1.3 突变型 p53 表达测定 流式细胞仪(美国, BD)检测突变型 p53 的表达状况。吸 1ml 抗凝外周血,分离血中单核细胞(淋巴细胞分层液分离),用少量 PBS 洗涤,然后进行过夜固定(70% 乙醇)。离心法去除乙醇,洗涤(PBS),离心去除白细胞(淋巴细胞分离液梯度离心),留下含有肿瘤细胞的单核细胞,调节细胞浓度至 1×10^6 个/ml。加入 1000 倍稀释的 FITC 标记的鼠抗人突变型 p53 抗体,置于暗处反应 30min,洗涤后进行检测。取 10^4 细胞/样品进行结果分析,记录其细胞阳性率^[4]。

1.4 体内淋巴细胞微核实验 取抗凝全血 0.1 ml,加入 3% 明胶并混匀,置于 37℃ 条件下温浴 45min,抽取上清液进行离心,用震荡器混匀微量沉淀物,并用加样器吸取出推片,风干,固定(甲醇)1min, Giemsa 染色。每份样品共统计 2000 个淋巴细胞,并计算其自发体内微核形成率^[5]。

1.5 统计学处理 所有数据均用 SPSS 13.0 软件进行,卡方检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 疗效评估 通过两个疗程的治疗,患者的一些症状明显好转,其生活质量也大改善。T 组和 C 组的 Karuafsky 评价。C 组的 Karuafsky 明显提高。其中肝功能状态 C 组好转的有 10 例, T 组中有 21 例;生活质量提升情况, C 组中有 17 例, T 组中有 24 例; C 组中生存满一年者有 13 例, T 组中有 20 例。

2.2 p53 表达的动态变化 表 1 列出了两组治疗前后的 p53 表达变化情况。结果表明, T 组的 p53 平均表达率与治疗前和 C 组比较,均显著下降。

表 1 不同组别患者 p53 平均表达率比较

组别	治疗前(%)	治疗后(%)	P 值
T 组	30.4 ± 5.4	10.2 ± 6.7	0.002
C 组	31.2 ± 8.4	22.4 ± 7.2	0.041

2.3 p53 基因治疗前后患者体内自发微核形成的变化 计数 52 例晚期肝癌患者 p53 介入治疗前与经 2~4 次介入治疗后获得的有效病例的平均自发微核率(MNF)。治疗组患者的平均 MNF 和 C 组

的平均 MNF 相比较, P 值小于 0.01, 差异极显著;与治疗前的平均 MNF 相比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 不同组患者的自发体内微核形成率

组别	平均 MNF(%)	P 值
正常人	0.052 ± 0.047	
T 组	0.127 ± 0.137	0.005
C 组	0.312 ± 0.193	0.038

3 讨论

当前,通过肝动脉灌注 p53 基因的介入法治疗是治疗晚期肝癌的一个新手段。目前的实验已经证实导入野生型 p53 可以增强肝癌患者的治疗效果^[5];进一步研究揭示内源性 p53 基因的效果要优于野生型 p53 基因^[6]。

肝癌患者病情进展较快,生存质量差,生存期明显短于其他肿瘤,一般约 2~5 个月,对于现在常用的治疗肿瘤的措施及方案反应均不佳。本论文不仅对肝癌患者外周血中突变型 p53 表达率和体内自发微核进行了连续监测,还对治疗的效果进行了追踪观察与分析,从而对动脉灌注 p53 基因治疗的晚期肝者进行了全面的评价。

本研究利用肝动脉导管将新型基因重组药物直接导入到患者的瘤体内部,从而缓解患者的病情扩展,改善患者的生活质量,提高患者的生存机率。实验结果表明,在临床上应用本方法对肝癌患者进行联合治疗,治疗效果不仅有效安全,而且还能较好地控制肿瘤的进一步发展,因此,重组人 p53 腺病毒注射液结合肝动脉介入疗法作为一种有效治疗肝癌的手段。

参考文献

- [1] 唐耘天,唐步坚.原发性肝癌免疫治疗的研究进展[J].中国癌症防治杂志,2013(1):79-82.
- [2] 赵明,王为东,李玉军.肝细胞肝癌患者 CD147 P53 的表达及临床意义[J].济宁医学院学报,2012,35(5):347-349.
- [3] Zhou XD, Tang ZY, Yu Y, et al. [Cryohepatectomy for liver cancer: preliminary evaluation of reducing postoperative recurrence] [J]. Zhonghua Wai Ke Za Zhi, 2005, 43(7): 439-441.
- [4] Liu B, Zhang H, Zhou G, et al. Adenovirus - mediated p53 gene transfer sensitizes hepatocellular carcinoma cells to heavy - ion radiation [J]. J Gastroenterol, 2007, 42(2): 140-145.
- [5] 陆玉敏,李恒国.抑癌基因 p53 表达与肝细胞癌影像学征象研究进展[J].右江民族医学院学报,2012,34(3):372-374.
- [6] 张巍,张昆,张铁军,等.缺氧诱导因子与 p53 表达在肝细胞癌侵袭过程中的作用[J].山东医药,2012,52(37):43-44.

收稿日期:2014-06-12 修回日期:2014-09-16 责任编辑:祝振中