

•论著 临床研究•

明胶海绵微粒联合重组人p53腺病毒TACE 治疗肝癌疗效分析

李闯, 刘影, 周军

(大连大学附属中山医院 介入科/辽宁省乳腺及消化肿瘤分子标志物高通量筛选靶向药物转化重点实验室, 辽宁 大连 161001)

[摘要] 目的 观察明胶海绵微粒(gelatin sponge particles, GSPs)联合重组人p53腺病毒注射液治疗肝癌的疗效及外周血突变型p53蛋白的变化。方法 从2013年1月至2013年12月间入我院行介入治疗的经病理确诊的肝癌患者中选择病例60例,随机分为GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组、单纯GSPs栓塞组、单纯重组人p53腺病毒注射液灌注组,每组20例。GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组选用直径350~560 μm 的GSPs联合重组人p53腺病毒注射液(根据肿瘤大小选取1~4支)混合行肝动脉栓塞术;单纯GSPs栓塞组选用直径350~560 μm 的GSPs混合行肝动脉栓塞术;将肿瘤供血血管及肿瘤一次性阻断,灌注组应用导管选择进入肿瘤供血责任动脉进行重组人p53腺病毒注射液灌注。观察肿瘤坏死缩小程度及治疗前后外周血突变型p53蛋白的动态变化。结果 GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组术后1、6、12个月完全缓解率分别为10%、15%、5%,有效率分别为85%、75%、70%,高于单纯GSPs栓塞组($P=0.03$)和重组人p53腺病毒注射液单纯灌注组($P=0.01$)。GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组治疗后外周血突变型p53蛋白表达率(治疗前平均23.73%,治疗后平均12.01%)显著下降,差异有统计学意义($P<0.01$);单纯GSPs栓塞组和重组人p53腺病毒注射液单纯灌注组治疗前后外周血突变型p53蛋白表达率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 应用GSPs联合重组人p53腺病毒注射液治疗肝癌肿瘤坏死效果明显,外周血突变型p53蛋白表达率显著下降,为肝癌患者提供了一种较好的治疗方案。

[关键词] 明胶海绵微粒; p53腺病毒注射液; 肝动脉化疗栓塞术(TACE); 肝癌

[中图分类号] R735.7 [文献标识码] A doi:10.11952/j.issn.1007-1954.2017.06.008

Gelatin sponge microparticle combined with recombinant human adenovirus TACE for the treatment of hepatocellular carcinoma LI Chuang, LIU Ying, ZHOU Jun. Department of Interventional Therapy, The Key Laboratory of Biomarker High Throughput Screening and Target Translation of Breast and Gasorintestinal, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian, Liaoning 161001, China

Abstract **objective** To study the curative effect of gelatin sponge particles (GSPs) combined with recombinant human p53 adenovirus injection on hepatocellular carcinoma and the changes of p53 protein in peripheral blood. **Methods** A total of 60 hepatocellular carcinoma patients admitted in Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University between Jan. 2013 and Dec. 2013 were collected in this study. Patients were randomly divided into 3 groups: GSPs+recombinant human adenovirus injection group, simple GSPs embolization group, and simple recombinant human p53 adenovirus injection group, 20 patients in each group. GSPs+recombinant human p53 adenovirus injection mixed embolization group with diameter of 350~560 μm GSPs combined with recombinant human p53 adenovirus injection, and then underwent mixed hepatic artery embolization; simple GSPs embolization group with diameter of 350~560 μm GSPs, and then mixed for with hepatic arterial embolization; tumor blood vessels and tumor were blocked once, and perfusion group was treated with catheter to enter the tumor blood supply responsibility artery for recombinant human adenovirus injection. The dynamic changes of tumor necrosis and shrinkage and the changes of p53 protein in peripheral blood were observed. **Results** The complete remission rate of GSPs+recombinant human p53 adenovirus injection embolization group was 10%, 15% and

[收稿日期] 2017-02-20

[基金项目] 大连市卫生科学研究计划项目(201316)。

[第一作者简介] 李闯(1979-),男,黑龙江明水人,副主任医师,硕士。周

[通讯作者简介] 军,主任医师,硕士, E-mail: zhoujun7092@163.com。

5% after 1, 6 and 12 months respectively, and the effective rates were 85%, 75% and 70%, which were significantly higher than those in simple GSPs embolization group ($P=0.03$) and simple recombinant human adenovirus injection group ($P=0.01$); but the expression rate of p53 protein was significantly decreased (23.73% for before treatment, 12.01% for after treatment, $P<0.01$). There was no significant difference in the expression rate of p53 protein between the simple GSPs embolization group and the simple recombinant human adenovirus injection group before and after treatment. **Conclusion** GSPs combined with recombinant human p53 adenovirus injection for the treatment of hepatocellular carcinoma, achieves obvious effect on tumor necrosis, and obvious decrease of peripheral blood mutant p53 protein expression, which provides a better treatment choice for hepatocellular carcinoma.

Key words gelatin sponge microparticles; p53 adenovirus injection; transcatheter arterial chemoembolization (TACE); hepatocellular carcinoma

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC, 简称肝癌) 是最常见的恶性肿瘤之一, 在世界范围内位居男性恶性肿瘤发病第5位, 女性第9位。中国男性肝癌发病水平在全球183个国家中排名第8位, 女性排名第12位^[1], 肝动脉化疗栓塞术 (TACE) 是不能外科手术的肝癌患者的首选治疗方法^[2], 近年来, 微粒TACE治疗肝癌取得了良好效果, p53基因是主要的抑癌基因之一, 其对肝癌的抑制作用已经为人们重视^[3], 在调控细胞周期、诱导细胞凋亡方面有重要的作用, 本研究应用直径350~560 μm 的明胶海绵微粒联合重组人p53腺病毒注射液治疗肝癌取得了良好疗效, 并对外周血突变型p53蛋白进行监测, 现报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

从2013年1月至2013年12月入大连大学附属中山医院行介入治疗的经病理确诊的肝癌患者中选择病例60例。入选标准: (1) 肿瘤为结节型或巨块型, 无肝内播散灶; (2) 无门静脉癌栓或胆道梗阻; (3) 无肝外转移; (4) 既往未行TACE治疗及任何抗肿瘤治疗; (5) 肝功能Child A或B级 (6) 预计生存时间在6个月以上。入选的患者均拒绝应用化疗药物, 术前均被告知并接受明胶海绵微粒 (gelatin sponge particles, GSPs)+药物栓塞治疗, 术前术后抽血。本研究由大连大学附属中山医院伦理委员会批准 (批准编号: 2012-002), 所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 介入治疗方法: 符合入组标准的60例肝癌患者随机分为GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组、单纯GSPs栓塞组、重组人p53腺病毒注射液单

纯灌注组, 每组20例。GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组根据肿瘤大小选择将 $(1\sim4)\times 10^{12}$ vp (1×10^{12} /支) 重组人p53腺病毒注射液用注射用水稀释至30 mL与直径350~560 μm 混合成为GSPs悬浮液行肝动脉栓塞术, 单纯GSPs栓塞组选用直径350~560 μm 的GSPs混合注射用水至30 mL行肝动脉栓塞术, 将肿瘤供血血管及肿瘤一次性阻断, 单纯灌注组应用导管选择进入肿瘤供血责任动脉进行灌注。

先常规行腹腔动脉造影, 如需要则加做肠系膜上动脉、胃左动脉、双侧膈动脉造影, 明确肿瘤供血动脉, 以确定做到靶血管栓塞彻底。然后将导管超选择入靶血管内, 超选择困难时选用微导管。选用直径350~560 μm 的GSPs, 与组选药物混合, 用注射器反复抽吸、搅拌, 使其充分混合。用10 mL注射器抽取适量栓塞剂, 在X线透视下经导管缓慢匀速与造影剂交换注射, 边栓塞边造影, 直至靶血管血流中断且肿瘤染色消失为止, 应用DynaCT三维重建技术, 确认靶血管完全阻断。

1.2.2 外周血的采集及检查: 所有患者都在介入治疗前1 d、治疗后1个月采集前臂静脉抗凝血2 mL, 应用直标法进行流式细胞仪检测外周血突变型p53蛋白; 用淋巴细胞分层液分离外周血中的单核细胞, PBS洗涤, 洗涤后用70%乙醇固定过夜。离心去除乙醇, 用PBS洗涤, 通过淋巴细胞分离液梯度离心后可去除90%白细胞, 留下单核细胞, 其中包括可能存在于外周血中的肿瘤细胞, 调节细胞浓度为 $1\times 10^6/\text{mL}$ 。加入鼠抗人突变型p53-FITC单抗, 并设同型试剂本底对照管, 暗处反应30 min, PBS洗涤后上机。用Cellquest软件自动获取104细胞/样品并分析结果, 记录p53阳性细胞百分率。

1.2.3 疗效评估及临床随访: 所有患者术后4天行CT平扫、AFP和肝功能检查, 术后7 d复查患者肝脏功

能,以后每隔1个月复查1次增强CT或MRI、AFP定量、肝功能及一般实验室检查;影像学检查提示病灶仍有强化、病灶增大或新生病灶、AFP继续增高者,再次接受TACE治疗,方法同上;病情稳定者适当延长复查间隔时间,每3~6个月复查1次。主要指标:对比2组患者的总缓解率、获益率。按照WHO实体瘤近期客观疗效评价标准mRECIST1.1标准评价肿瘤反应^[4],总有效率(overall response, OR)为完全缓解率(completely remission, CR)+部分有效率(partial response, PR);不良反应标准按WHO抗癌药物不良反应标准评定。次要指标包括AFP下降率、肝功能恢复率等。

1.3 统计学分析

采用SPSS17.0统计软件进行统计分析。计数资料采用方差分析,组间率的比较采用卡方检验,生存分析采用Kaplan-Meier检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效

患者术前肝脏增强CT,肝右叶有巨大病灶,动

脉强化明显,符合肝癌表现(图1),TACE术中造影见中肿瘤染色符合肝癌特点(图2),导管超选择入责任血管(图3),可见完整肿瘤燃烧,该血管为责任动脉,栓塞剂将肿瘤动脉完全栓塞(图4),TACE术后4天复查CT,可见肿瘤坏死明显,部分肿瘤呈蜂窝状坏死(图5),TACE术后1个月复查CT可见肿瘤坏死缩小,动脉期肿瘤无明显强化(图6),术后6个月肿瘤明显缩小,无动脉供血(图7),评价CR;根据mRECIST1.1标准评价肿瘤反应,GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组术后1、6、12个月完全缓解率(CR)分别为10%、15%、5%,有效率(OR)分别为85%、75%、70%,明显高于单纯GSPs栓塞组($\chi^2=4.912$, $P=0.03$)和重组人p53腺病毒注射液单纯灌注组($\chi^2=6.400$, $P=0.01$),差异有统计学意义。

2.2 随访及生存情况

中位随访时间21(6~36)个月。单纯灌注组中位生存期15(11.1~18.9)个月,单纯栓塞组中位生存期18(15.6~20.4)个月,混合栓塞组中位生存期23(18.0~28.0)个月,三组组间比较差异有统计学意义($F=7.018$, $P=0.03$) (图8)。

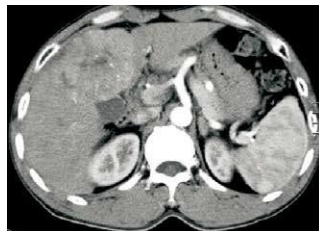


图1 术前肝脏增强CT,肝右叶巨大病灶



图2 TACE术中造影见中肿瘤染色

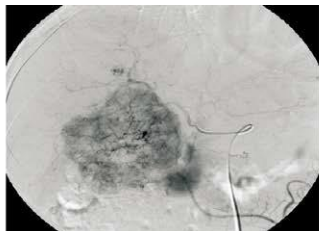


图3 导管超选择入责任血管

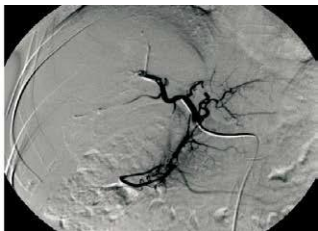


图4 肿瘤动脉完全栓塞



图5 术后4 d复查CT肿瘤坏死明显

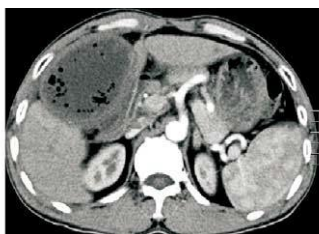


图6 术后1个月复查CT肿瘤坏死缩小

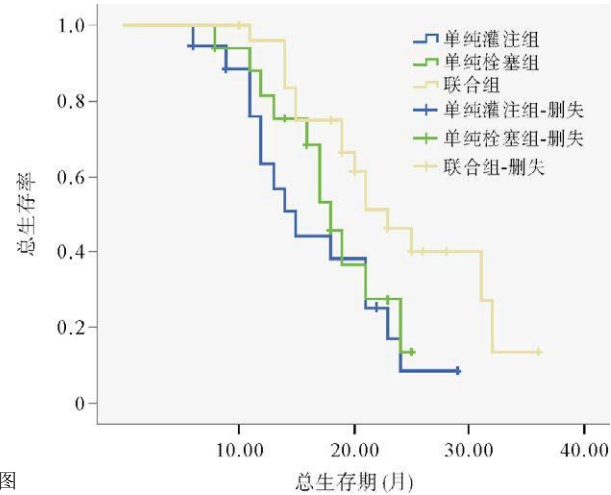


图7 术后6个月肿瘤明显缩小,无动脉供血

三组术后1、6、12个月肿瘤反应:根据mRECIST 1.1标准评价肿瘤反应,GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组术后1、6、12个月完全缓解率(CR)分别为10%、15%、5%,有效率(OR)分别为85%、75%、70%,明显高于单纯GSPs栓塞组($\chi^2=4.912$, $P=0.03$)和重组人p53腺病毒注射液单纯灌注组($\chi^2=6.400$, $P=0.01$),差异有统计学意义。

2.3 治疗前后外周血突变型p53蛋白的动态变化

GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组治疗1年后外周血突变型p53蛋白表达率显著下降,两者比较(治疗前平均23.73%,治疗后平均12.01%)差异有统计学意义($P < 0.01$);单纯GSPs栓塞组和重组人p53腺病毒注射液单纯灌注组治疗前后外周血突变型p53蛋白表达率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。



图

2.4 并发症及不良反应

栓塞术后均未见胃肠道出血、肝脓肿、急性肝功能衰竭及肺栓塞等严重并发症，均有不同程度发热，对症处理后得到控制，无恶心呕吐、腹泻及骨髓抑制表现。

3 讨论

TACE已成为中晚期肝癌的首选治疗方法^[5]。传统的TACE主要是应用碘化油及微粒混合阿霉素、铂类等化疗药物栓塞肿瘤供血动脉。为达到肿瘤最大程度坏死，往往通过增加碘化油、微粒及化疗药物剂量，大剂量的化疗药物增加全身副作用^[6]。本中心应用明

胶海绵微粒联合化疗药物栓塞肝癌及肝转移

癌取得了较好效果^[7-8]，但在治疗过程中，我们也发现，应用化疗药物后，患者会出现恶心呕吐等化疗药物反应，也有化疗药物骨髓抑制反应，导致部分患者不能耐受介入治疗，对化疗栓塞产生畏惧心理，如何使这部分患者更好的耐受治疗是一个需要解决的问题。

p53 腺病毒注射液是世界上首个成果上市的基因制品，包括肝癌在内的人类恶性肿瘤知识有50%发生了p53基因改变，失去了有功能的p53蛋白，我国肝癌的p53 等位基因缺失率高，而p53 腺病毒注射液可以通过调控上、下游靶基因的表达，诱导肿瘤细胞凋亡，调节机体免疫反应，杀灭肿瘤细胞^[9]。陈世晔等^[10]的研究表明应用p53 腺病毒注射液进行动脉内给药具有良好的效果，而且不良反应轻，本中心对前期应用 GSPs联合p53腺病毒注射液治疗肝癌患者进行了回顾性研究^[11]，发现治疗后患者术后不良反应轻，患者生存质量提高。

本研究选择的是经病理确诊的肝癌，入选的患者因抗拒化疗药物反应，均拒绝应用化疗药物，患者应用p53 腺病毒注射液术后反应轻，栓塞术后均未见胃肠道出血、肝脓肿、急性肝功能衰竭及肺栓塞等严重并发症，均有不同程度发热，对症处理后得到控制，无恶心呕吐、腹泻及骨髓抑制表现。而且GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞术后完全缓解率（CR）分别为10%、15%、5%，有效率（OR）分别为85%、75%、70%，明显高于单纯GSPs栓塞组和重组人p53 腺

表1 三组术后1、6、12个月肿瘤反应[例（%）]

组别	术后时间（月）	肿瘤反应				
		CR	PR	SD	PD	OR（CR+PR）
混合栓塞组	1	2（10%）	15（75%）	2（10%）	1（5%）	17（85%）
	6	3（15%）	12（60%）	3（15%）	2（10%）	15（75%）
	12	1（5%）	13（65%）	3（15%）	3（15%）	14（70%）
单纯GSPs栓塞组	1	0（0%）	12（60%）	6（30%）	2（10%）	12（60%）
	6	0（0%）	10（50%）	5（25%）	5（25%）	10（50%）
	12	0（0%）	7（35%）	5（25%）	8（40%）	7（35%）
单纯灌注组	1	0（0%）	11（60%）	6（30%）	2（10%）	12（60%）
	6	0（0%）	10（50%）	6（30%）	4（20%）	10（50%）
	12	0（0%）	6（30%）	6（30%）	8（40%）	6（40%）

注：CR：完全缓解；PR：部分缓解；SD：疾病稳定；PD：疾病进展；OR：客观有效

病毒注射液单纯灌注组,而且GSPs+重组人p53腺病毒注射液混合栓塞组治疗后外周血突变型p53蛋白表达率也呈显著下降趋势。

本研究患者随访时间较短;缺乏多中心大样本随机对照临床安全性及疗效评对照试验。本实验研究初步表明:GSPs联合重组人p53腺病毒注射液治疗肝癌肝功能损伤轻,严重并发症发生率低,具备良好安全性;肿瘤控制佳,是安全有效的,可进一步在临床推广应用。

参考文献:

- [1] 左婷婷,郑荣寿,曾红梅,等.中国肝癌发病状况与趋势分析[J].中华肿瘤杂志,2015,(9):691-696.
- [2] LLOVET J M, REAL M I, MONTAÑA X, et al. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2002, 359: 1734-1739.
- [3] XUE W, ZENDER L, MIETHING C, et al. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine livercarcinomas [J]. *Nature*, 2007, 445: 656-660.
- [4] EISENHAEUER E A, THERASSE P, BOGAERTS J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version1.1) [J]. *European journal of cancer*, 2009, 45(2): 228-247.
- [5] LO C M, NGAN H, TSO W K, et al. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepato-cellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2002, 35(5): 1164-1171.
- [6] 敖劲,张跃伟,徐克.明胶海绵微粒经动脉栓塞治疗原发性肝癌的研究现状[J].介入放射性杂志,2011,20(12):1010-1013.
- [7] LI C, ZHANG Y, ZHOU J, et al. Therapeutic effect and tolerability of gelatin sponge particle-mediated chemoembolization for colorectal liver metastases: a retrospective study [J]. *World J Surg Oncol*, 2013, 11(1): 222.
- [8] 张跃伟,刘影.明胶海绵微粒经导管肝动脉化学治疗栓塞术对原发性肝癌的疗效分析[J].中华肝脏病杂志,2013,21(8):637-638.
- [9] MALAGARI K. Drug-eluting particles in the treatment of HCC: chemoembolization with doxorubicin-loaded DC bead [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2008, 8(10): 1643-1650.
- [10] 陈世晔,徐卫东,尹国文,等.P53基因治疗晚期肝癌的临床观察及生物学监测[J].中华医学杂志,2010,90(31):2182-2186.
- [11] LIU Y, ZHANG Y, BAUTISTA D, et al. Trans-arterial p53-gene-embolization with gelatin sponge microparticles for hepatocellular carcinoma with BCLC stage B: single-centre experience [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71(1): 99-104.

(本文编辑:张海燕)