

• 临床研究 •

三联抗肿瘤疗法预防晚期原发性肝癌 肝移植术后肿瘤复发的临床研究

杜国盛 周林 石炳毅 朱志东 宋继勇

【摘要】 目的 初步探讨联合应用西罗莫司、胸腺肽 $\alpha-1$ (T $\alpha-1$) 及槐耳颗粒在预防晚期原发性肝癌 (肝癌) 肝移植术后肿瘤复发的有效性及安全性。方法 联合治疗组为2010年至2012年在解放军第309医院接受肝移植的12例晚期肝癌患者 (符合杭州标准)。历史对照组为2002年至2006年在该院接受晚期肝癌肝移植术15例患者,其随访资料完整。术后1个月根据患者的个体差异调整免疫抑制剂的种类或剂量,应用他克莫司 (FK506) 联合吗替麦考酚酯 (MMF),术后1个月逐渐撤出FK506,由西罗莫司替代;术中给予甲泼尼龙500 mg,术后小剂量甲泼尼龙治疗,1周停药,此时开始加用T $\alpha-1$ 及槐耳颗粒。T $\alpha-1$ 用法:先连续皮下注射10 d,每次1.6 mg,每日1次,以后每周2次。槐耳颗粒:每次20 g,每日3次。所有患者均予随访。收集患者术后随访资料,内容包括术后1年血清甲胎蛋白 (AFP) 变化,术后排斥反应发生情况,肿瘤复发情况及处理方式,生存时间。结果 联合治疗组随访8~35个月,中位随访时间18个月,无失访、退组等情况,患者均存活;历史对照组中位随访时间14个月,直至所有患者死亡。联合治疗中2例术后出现肺部孤立性转移灶 (单发) 和2例术后出现肺部多发转移灶 (多发),经 γ 刀治疗后治愈。历史对照组中术后6个月15例患者中7例复发,术后1年内15例患者全部复发,且全部出现肺部转移,单发6例,多发9例,均死于肿瘤多处转移。结论 联合应用西罗莫司、T $\alpha-1$ 及槐耳颗粒在预防晚期肝癌肝移植术后肿瘤复发有显著疗效,能延缓肿瘤的复发,延长患者的生存时间。

【关键词】 癌,肝细胞;肝移植;西罗莫司;胸腺肽 $\alpha-1$;槐耳颗粒;肿瘤复发

【中图分类号】 R617 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2014) 02-0004-05

Clinical study of triple anti-tumor therapy for preventing tumor recurrence of terminal primary liver cancer after liver transplantation Du Guosheng*, Zhou Lin, Shi Bingyi, Zhu Zhidong, Song Jiyong.

* Department of Hepatobiliary Surgery, the 309th Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100091, China

Corresponding author: Shi Bingyi, Email: shibingyi@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate initially the availability and safety of combined application of sirolimus, thymosin $\alpha-1$ (T $\alpha-1$) and Huaier granule in preventing tumor recurrence of terminal primary liver cancer (TPLC) after liver transplantation (LT). **Methods** Combination group included 12 patients with TPLC who underwent LT in the 309th hospital of Chinese People's Liberation Army from 2010 to 2012 (all conform to Hangzhou standard). And historical control group included 15 patients with TPLC underwent LT at the same hospital from 2002 to 2006, whose follow up data was true and precise. During 1 month after LT, the type or dose of immunosuppressors was adjusted according to the individual differences of patients. Tacrolimus (FK506) and mycophenolate mofetil (MMF) were given to patients at first, and FK506 was gradually withdrawn and insteaded by sirolimus at 1 month after LT. Methylprednisolone of 500 mg was given during operation. Then small dose of methylprednisolone was given after operation and withdrawn at 1 week after LT. At the same time T $\alpha-1$ and Huaier Granule were added. The T $\alpha-1$ was injected for 10 days (1.6 mg per time,

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2014.02.004

基金项目: 首都临床特色应用研究 (Z111107058811008)

作者单位: 100091 北京,解放军第309医院全军器官移植研究所肝胆外科 (杜国盛、石炳毅、朱志东、宋继勇); 解放军总医院 (解放军医学院) (周林,与杜国盛为共同第一作者)

通讯作者: 石炳毅, Email: shibingyi@medmail.com.cn

once a day) , and after that injected twice a week. Huaier granule was given 20 g per time and three times a day. All the patients had been followed up. All the data including serum alpha-fetoprotein (AFP) changes , occurrence of allograft rejection , recurrence and treatment , survival time were collected accurately. **Results** In the combination group , the 12 cases were followed up for 8-35 months with the median follow up time of 18 months without loss or drop-out. All patients were survived. In the historical control group , the medium follow up time was 14 months till all the patients died. In the combination group , 2 cases developed isolated pulmonary metastasis after LT and 2 cases deveoped multiple pulmonary metastasis. All of the four cases were cured with the treatment of γ -knife. In history control group , 7 cases developed recurrence in 6 months after LT and all of the 15 cases developed recurrence in 1 year after LT. All of the 15 cases developed pulmonary metastasis (6 cases were isolated and 9 cases were multiple) . All cases died of multi-section of tumor metastasis. **Conclusions** Combined application of sirolimus , $T\alpha-1$ and Huaier granule have significantly effect on preventing tumor recurrence of TPLC after LT , delaying tumor recurrence and prolonging survival time of patients.

【Key words】 Carcinoma , Hepatocellular; Liver transplantation; Sirolimus; Thymosin alpha 1; Huaier granule; Tumor recurrence

晚期原发性肝癌（肝癌）肝移植患者的术后肿瘤复发一直是困扰移植科医师的难题。此类患者术后易出现肿瘤复发，其病死率极高。解放军第309医院自2010年至2012年对12例晚期肝癌患者进行原位肝移植，术后联合应用西罗莫司、胸腺肽 $\alpha-1$ （thymosin $\alpha 1$ ， $T\alpha-1$ ）及槐耳颗粒预防肿瘤复发，收到显著的效果，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

联合治疗组的12例患者为2010年至2012年在解放军第309医院接受肝移植的晚期肝癌患者，其中男10例、女2例，平均年龄（ 50 ± 4 ）岁。历史对照组来自2002年至2006年在该院接受晚期肝癌肝移植术15例患者，其随访资料完整，其中男9例、女6例，平均年龄（ 53 ± 6 ）岁。所有入选病例均符合杭州标准予以肝移植治疗。患者已签署知情同意书，符合医学伦理学规定。

两组患者的基线资料详见表1。两组的平均年龄、肿瘤类型、肿瘤直径、术前甲胎蛋白（AFP）等基线资料差异无统计学意义（均为 $P > 0.05$ ）。

1.2 治疗方法

联合治疗组患者术后病情稳定后，开始给予西罗莫司、 $T\alpha-1$ 及槐耳颗粒联合治疗。术后1个月根据患者的个体差异调整免疫抑制剂的种类或剂量，术后2~3d开始口服免疫抑制剂，方案为他克莫司（FK506）和吗替麦考酚酯（MMF），术后1个月逐渐撤出FK506，由西罗莫司替代；术中给予甲泼尼龙500mg，术后小剂量甲泼尼龙治疗，

1周停药，术后1d开始应用 $T\alpha-1$ 及槐耳颗粒。
 $T\alpha-1$ 用法：先连续皮下注射10d，每次1.6mg，每日1次，以后每周2次。槐耳颗粒：每次20g，每日3次。历史对照组患者均未采用联合治疗，仅采用常规的抗排斥治疗方案。

表1 两组患者的基线资料比较
Table 1 Comparison of baseline data of patients between two groups (n)

项 目	联合治疗组 (n = 12)	历史对照组 (n = 15)	P 值
肿瘤类型			
单发	3	12	>0.05
多发	9	3	
肿瘤直径 (cm)			
<5	1	0	>0.05
5~10	6	5	
>10	5	10	
病理类型			
HCC	5	1	>0.05
胆管细胞癌	1	0	
HCC 伴结节性肝硬化	6	10	
HCC 伴慢性胆囊炎	0	4	
AFP (μg/L)			
≤25	2	0	>0.05
>25	10	15	

注：HCC 指肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma)

1.3 观察指标

所有患者均予随访。收集患者术后随访资料, 内容包括: 术后1年血清AFP变化, 术后排斥反应发生情况, 肿瘤复发情况及处理方式, 生存时间。

1.4 统计学方法

采用SPSS 13.0软件进行统计分析。数据采用均数 \pm 标准差表示, 组间比较采用 t 检验。计数资料采用 χ^2 检验。采用Kaplan-Meier法绘制两组患者的生存曲线, 比较采用Log-rank检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组患者肝移植术后均恢复正常出院。联合治疗组最长随访35个月, 最短8个月, 中位随访时间18个月, 无失访、退组等情况; 历史对照组中位随访时间14个月, 直至所有患者死亡。

2.1 两组术后排斥反应发生情况

联合治疗组患者术后发生排斥反应2例(17%), 历史对照组患者术后发生排斥反应3例(20%), 两组排斥反应发生率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 两组术后血清甲胎蛋白水平变化

两组血清AFP变化见图1。联合治疗组术后AFP水平低于历史对照组, 且治疗组与历史对照组病例术后1年AFP水平比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

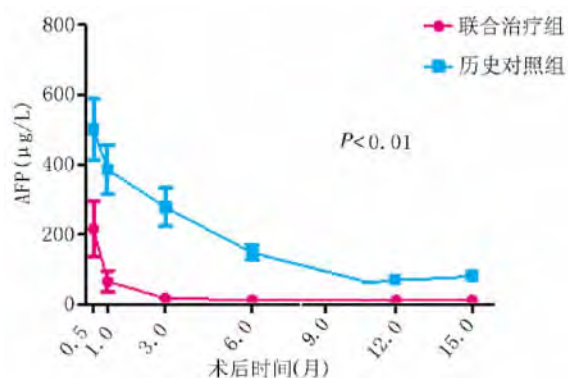


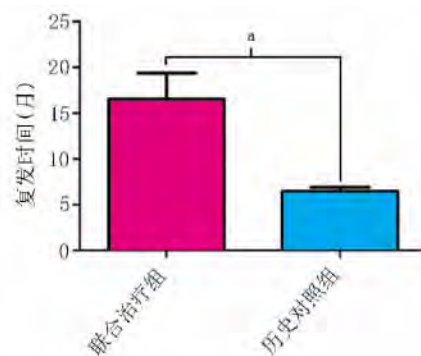
图1 两组患者术后血清甲胎蛋白水平比较

Fig. 1 Comparison of serum AFP level of patients between two groups after transplantation

2.3 两组肿瘤复发情况及处理方式

联合治疗组患者中有4例复发, 分别出现在术后18、24、12、12个月, 均为肺部转移, 肺部孤立性转移灶(单发)2例, 肺部多发性转移灶(多

发)2例, 单个病例最多出现2个结节, 经 γ 刀治疗后, 目前生存良好。历史对照组中术后6个月15例患者中7例复发, 术后1年15例患者全部复发, 且全部出现肺部转移, 单发6例, 多发9例; 患者虽经 γ 刀和化疗治疗, 但最终均死于肿瘤多处转移。与历史对照组比较, 联合治疗组病例的术后复发时间明显延长, 且差异具有统计学意义($P < 0.01$, 见图2)。



注: 与历史对照组比较, $a P < 0.01$

图2 两组患者的术后复发时间的比较

Fig. 2 Comparison of the recurrent time of patients between two groups after transplantation

2.4 两组生存时间比较

治疗组12例患者至今完全存活, 最长35个月, 最短8个月, 且目前全部患者均为无瘤生存状态。对照组15例患者术后2年内全部死亡, 均因肿瘤复发及多处转移而死亡。两组生存曲线见图3, 比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

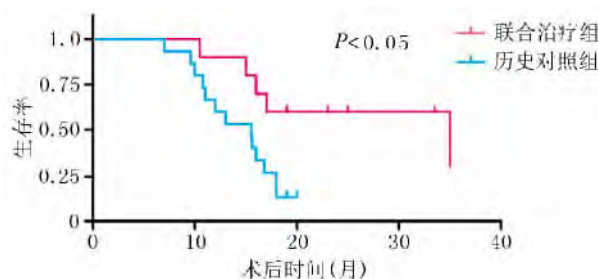


图3 两组患者的术后存活时间的比较

Fig. 3 Comparison of the survival time of patients between two groups after transplantation

3 讨论

肝癌肝移植患者的术后肿瘤复发率较高, 明显影响患者的预后和生存时间。目前报道的关于晚期肝癌肝移植术后复发的治疗效果并不理想。单独应用西罗莫司在预防晚期肝癌肝移植术后复发早有报

道,西罗莫司抑制肿瘤的主要作用原理是抑制血管内皮生长及抑制肿瘤基因^[1-3]。西罗莫司在动物实验中显示良好的疗效,但在临床应用中并未达到理想效果^[1-4]。国外报道西罗莫司的作用往往局限于米兰标准以内的患者^[1],虽然临床上显示出一定的疗效,其术后复发率为10%~30%^[5],但对于超米兰标准的患者罕有报道,并且单用西罗莫司超剂量时其不良反应突显,主要表现为骨髓抑制、血小板降低、间质性肺炎。在移植术后早期,我们的经验是根据不同患者术后的免疫状态来调节药物剂量,西罗莫司的血药浓度不宜大于10 ng/ml,在此基础上逐渐减少FK506用量;在西罗莫司替代FK506两者重叠应用期,要特别注意两药之间剂量的搭配,随着移植术后时间的延长应逐渐撤出FK506。

槐耳颗粒的主要活性成分是多糖蛋白,是由6种单糖组成的杂合糖结合18种氨基酸构成的蛋白质,具有改善机体的免疫功能和有效抑制肿瘤细胞生长的作用,能提高患者的生存时间^[6-7]。肝癌肝移植术后应用槐耳颗粒治疗能够明显改善肝癌肝移植患者的生存状况,延长生存时间,但对超米兰标准的肝移植患者其改善短期内复发率作用有限^[8]。我们的用法是移植术后尽可能早期应用,每次20 g,每日3次口服,建议长期服用。

Tα-1是由Low等在20世纪70年代末从胸腺素分离纯化出来的一种28个氨基酸组成的小分子生物活性多肽^[9-10]。Tα-1作为免疫调节剂已广泛用于肿瘤在内疾病的诊断和治疗^[11],它通过影响不同肿瘤细胞相关抗原表达与分化以及增强主要组织相容性复合体(MHC)-I型表面分子的表达,促进T淋巴细胞和自然杀伤细胞的成熟与分化^[11],从而提高肿瘤组织对宿主的免疫原性和增强机体对肿瘤细胞免疫应答能力^[12]。然而,国内外有关Tα-1对于肿瘤治疗的研究主要集中在肺癌,其次是结直肠癌和恶性黑色素瘤^[11-14],而对肝癌以及肝癌肝移植后肿瘤复发治疗的报道尚少见。相关研究显示,肝移植后早期单独应用Tα-1可提高患者的细胞免疫功能,从理论上来说有可能会增加排斥反应的风险^[15-16]。对于这类患者,我们的经验是在移植术后早期应用Tα-1,先连续皮下注射10 d,每次1.6 mg,每日1次,以后每周2次,可长期维持应用,现有临床研究证实应用该药并未增加排斥反应发生率。

本文联合治疗组术后免疫抑制剂以西罗莫司为主,同时予以槐耳颗粒及Tα-1联合治疗,不但可明显延长患者的生存时间,同时观察到患者术后肿瘤复发率明显降低,肿瘤复发病灶数量明显减少,肿瘤复发时间明显延长。

综上所述,晚期肝癌患者肝移植术后早期联合应用西罗莫司、Tα-1及槐耳颗粒,可显著提高患者的生存质量和生存时间,推迟肿瘤复发的时间,延长患者的预期寿命且不增加排斥反应发生率。本临床研究为晚期肝癌肝移植术后肿瘤复发的预防提供新的临床治疗方法,其疗效可靠性有待于更大样本、多中心的研究来证实,同时需要进一步进行动物实验来探索三者联合治疗时的作用机制和原理,发现分子学、细胞学的变化,为下一步的临床推广应用和研究提供理论支持。

参考文献:

- [1] Toso C, Merani S, Bigam DL, et al. Sirolimus-based immunosuppression is associated with increased survival after liver transplantation for hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2010, 51 (4): 1237-1243.
- [2] Tian XH, Xue WJ, Tian PX, et al. Effect of conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus on chronic allograft nephropathy [J]. *Organ Transplant*, 2012, 3 (6): 320-323.
田晓辉, 薛武军, 田普训, 等. 钙调磷酸酶抑制剂转换为西罗莫司治疗慢性移植肾病的疗效研究 [J]. *器官移植*, 2012, 3 (6): 320-323.
- [3] Xu SL, Zhang YC, Yi HM, et al. The influence of sirolimus-based immunosuppression on hepatocellular carcinoma recurrence post-liver transplantation [J]. *Chin J Organ Transplant*, 2013, 34 (8): 481-485.
许世磊, 张英才, 易慧敏, 等. 西罗莫司应用于肝癌肝移植受者的疗效分析 [J]. *中华器官移植杂志*, 2013, 34 (8): 481-485.
- [4] Jimenez RH, Boylan JM, Lee JS, et al. Rapamycin response in tumorigenic and non-tumorigenic hepatic cell lines [J]. *PLoS One*, 2009, 4 (10): e7373.
- [5] Basu A, Liu T, Banerjee P, et al. Effectiveness of a combination therapy using calcineurin inhibitor and mTOR inhibitor in preventing allograft rejection and post-transplantation renal cancer progression [J]. *Cancer Lett*, 2012, 321 (2): 179-186.
- [6] Huang W, Yan LN, Wu H, et al. Retrospective cohort study on clinical value of huaier granule in postoperative patients with liver transplantation for hepatocellular

- carcinoma[J]. Chin J Bases Clin Gen Surg, 2010, 17 (6): 547-551.
- 黄炜, 严律南, 吴泓, 等. 槐耳颗粒在肝癌肝移植患者术后临床应用价值的回顾性队列研究[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2010, 17 (6): 547-551.
- [7] Li LX, Ye SL, Wang YH, et al. Metastatic potential inhibited with trametes robiniophila in highly metastatic potential human hepatocellular carcinoma cells lines[J]. Chin Cancer, 2006, 15 (4): 265-268.
- 李立新, 叶胜龙, 王艳红, 等. 槐耳浸膏对人肝癌高转移细胞系转移的抑制作用研究[J]. 中国肿瘤, 2006, 15 (4): 265-268.
- [8] Mo B, Yang JY, Ya LN, et al. Clinical observation of huaier granule on hepatocellular carcinoma after liver transplantation[J]. J Sichuan Univ: Medical Science Edition, 2011, 42 (5): 739-741.
- 莫斌, 杨家印, 严律南, 等. 槐耳颗粒用于肝癌肝移植术后的临床观察[J]. 四川大学学报: 医学版, 2011, 42 (5): 739-741.
- [9] Goldstein AL, Goldstein AL. From lab to bedside: emerging clinical applications of thymosin alpha 1 [J]. Expert Opin Biol Ther, 2009, 9 (5): 593-608.
- [10] Serafino A, Pierimarchi P, Pica F, et al. Thymosin $\alpha 1$ as a stimulatory agent of innate cell-mediated immune response[J]. Ann N Y Acad Sci, 2012, 1270: 13-20.
- [11] Garaci E, Pica F, Serafino A, et al. Thymosin $\alpha 1$ and cancer: action on immune effector and tumor target cells [J]. Ann N Y Acad Sci, 2012, 1269: 26-33.
- [12] Xiao L, Yu X, Wang XD, et al. Application status of thymosin $\alpha 1$ in the comprehensive treatment of malignant tumor[J]. Med J West Chin, 2010, 22 (3): 561-563.
- 肖凌, 余曦, 汪晓东, 等. 胸腺肽 $\alpha 1$ 在恶性肿瘤综合治疗中的应用现状[J]. 西部医学, 2010, 22 (3): 561-563.
- [13] Hu TT, Shi J. Nonspecific immunity therapeutics of thymopeptide in cancer [J]. Drug Eval, 2012, 9 (18): 16-19.
- 胡婷婷, 史健. 胸腺肽制剂在肿瘤非特异性免疫治疗中应用进展[J]. 药品评价, 2012, 9 (18): 16-19.
- [14] Garaci E, Favalli C, Pica F, et al. Thymosin alpha 1: from bench to bedside [J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1112: 225-234.
- [15] Zhu XF, Chen G, Chen WD, et al. Effects of thymosin $\alpha 1$ on acute rejection after liver transplantation[J]. Chin J Bases Clin Gen Surg, 2008, 15 (6): 430-434.
- 朱新锋, 陈刚, 张文夺, 等. 肝移植术后应用胸腺肽 $\alpha 1$ 对急性排斥反应的影响[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2008, 15 (6): 430-434.
- [16] Yang Y, Chen GH. Postoperative immunotherapy of liver transplant patients [J]. Chin J Pract Surg, 2011, 31 (8): 745-747.
- 杨扬, 陈规划. 肝脏移植病人术后免疫治疗[J]. 中国实用外科杂志, 2011, 31 (8): 745-747.
- (收稿日期: 2014-01-05)
- (本文编辑: 朱佩玲)

本刊下期重点主题介绍

过继免疫细胞治疗预防肝癌肝移植术后复发的新思路探究

肝癌肝移植适应证标准的发展及展望

肝癌肝移植现状与进展

纽约肝癌肝移植的发展现状

激素在肝癌肝移植中的应用

索拉非尼用于肝移植术后肝癌复发预防和治疗的研究进展

肝移植再灌注后综合征出血心脏停搏的危险因素分析

大鼠肾移植模型手术改良技巧探讨