

# 动脉置管灌注华蟾素注射液联合 TACE 术对原发性肝癌患者 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 的影响及其机理探讨

李 佳<sup>1,2</sup> 曾宝珠<sup>1</sup> 孙志刚<sup>1</sup>

(1 郑州市中医院肿瘤科, 郑州, 450000; 2 上海中医药大学研究生院, 上海, 201203)

**摘要** 目的: 观察动脉置管灌注华蟾素注射液联合 TACE 术对原发性肝癌患者治疗后血清缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 的影响, 以探讨其作用机理。方法: 选取 2015 年 7 月至 2017 年 9 月郑州市中医院肿瘤科、肝病科收治的原发性肝癌患者的 90 例, 随机分成观察组 45 例 (动脉置管灌注华蟾素注射液 + TACE 术组) 和对照组 45 例 (单纯 TACE 组)。检测 2 组患者术前 1 d、术后 1 d、术后 1 周及术后 4 周血清缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 的水平, 并观察 2 组的疾病控制率和肿瘤标志物 AFP 的变化。结果: 观察组和对照组的 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 在 TACE 术后 1 d 和 1 周均较治疗前 1 d 明显升高 ( $P < 0.05$ ), 在 TACE 术后 4 周恢复到术前水平。其中观察组术后 1 周的 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。观察组、对照组的疾病控制率分别为 93.3% 和 75.6%, 经比较, 有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。观察组 AFP 经治疗后明显下降, 与对照组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论: 采用动脉置管持续灌注华蟾素注射液的方法, 可提高 TACE 术治疗原发性肝癌的临床疗效, 抑制 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 可能是其作用机理。

**关键词** 华蟾素注射液; 原发性肝癌; 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; 血管内皮生长因子

## Effects and Mechanism of Arterial Catheter Infusion Cinobufacini Injection Combined with Transhepatic Arterial Chemotherapy and Embolization (TACE) on HIF-1 $\alpha$ and VEGF of Patients with Primary Liver Cancer

Li Jia<sup>1,2</sup>, Zeng Baozhu<sup>1</sup>, Sun Zhigang<sup>1</sup>

(1 Oncology Department, Zhengzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;

2 Graduate School, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**Abstract** **Objective:** To observe the effects and functional mechanism of arterial catheter infusion cinobufacini injection combined with transhepatic arterial chemotherapy and embolization (TACE) on HIF-1 $\alpha$  and VEGF of patients with primary liver cancer.

**Methods:** A total of 90 patients with primary liver cancer patients were admitted and treated in Oncology Department and Liver Disease Department of Zhengzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, and they were randomly divided into two groups, treatment group (arterial catheter infusion cinobufotain + TACE), and control group (only TACE), with 45 cases in each group. The changes of HIF-1 $\alpha$  and VEGF levels were evaluated 1 day before operation, 1 day after operation, 1 week after operation and 4 weeks after operation in both groups. Besides, disease control rate and tumor marker (AFP) were also evaluated before and after treatment.

**Results:** The levels of HIF-1 $\alpha$  and VEGF 1 day and 1 week after TACE operation in treatment group and control group were significantly higher than those 1 day before treatment ( $P < 0.05$ ), and recovered to the levels before operation after 4 weeks. Meanwhile, the levels of HIF-1 $\alpha$  and VEGF 1 week after operation in the treatment group were lower than those in the control group, which had statistic significance ( $P < 0.05$ ). The disease control rate of treatment group (93.3%) was better than that in control group (75.6%) ( $P < 0.05$ ). There was statistically significant significance ( $P < 0.05$ ). The decrease of AFP in the treatment group was more significant than that in the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The method of arterial catheter infusion cinobufacini injection can increase the therapeutic effect of TACE on primary liver cancer and decrease the levels of HIF-1 $\alpha$  and VEGF of patients, which was probably the mechanism of it.

**Key Words** Cinobufotain injection; Primary liver cancer; HIF-1 $\alpha$ ; VEGF

中图分类号: R273; R242 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.02.037

随着 TACE 在原发性肝癌治疗上取得的进步, 肿瘤得到有效的控制, 中晚期肝癌患者的生命质量

基金项目: 河南省中医药科研专项课题 (2016ZY3027)

作者简介: 李佳 (1986.07—), 男, 博士在读, 主治医师, 研究方向: 中西医结合防治消化道肿瘤的临床和基础研究, E-mail: lijiaoncologydoctor@126.com

通信作者: 曾宝珠 (1964.03—), 女, 硕士, 主任医师, 研究方向: 中医药防治恶性肿瘤, E-mail: cbzh2009@126.com

得到改善,生存率明显提高<sup>[1]</sup>。但是 TACE 术后可引起肿瘤组织发生缺血、缺氧,引起缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (Hypoxia Inducible Factor-1, HIF-1) 和血管内皮生长因子 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) 升高,造成肿瘤新生血管的大量生成,加速肿瘤的复发和转移,从而使 TACE 的远期疗效欠佳<sup>[2]</sup>。因此,对肝癌的 TACE 治疗中,有效抑制 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 有重要意义。本研究采用留置导管华蟾素注射液缓慢动脉灌注联合 TACE 术对原发性肝癌的进行治疗干预,检测外周血 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 的含量,以探讨其作用机理。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 90 例患者均为 2015 年 7 月至 2017 年 9 月在于郑州市中医院肿瘤科、肝病科选取的原发性肝癌患者,采用 SPSS 随机数字表分为观察组和对照组,每组各 45 例。观察组:年龄 39 ~ 61 岁,平均(54 $\pm$ 8)岁;男 38 例,女 7 例;肿瘤分型:巨块型 16 例,结节型 14 例,弥漫型 15 例;Child-Pugh 分级:A 级 27 例,B 级 18 例;TNM 分期:IIIB 期 19 例,IIIC 期 15 例,IV 期 11 例。对照组:年龄 41 ~ 63 岁,平均(50 $\pm$ 10)岁;男 34 例,女 11 例;肿瘤分型:巨块型 13 例,结节型 18 例,弥漫型 14 例;Child-Pugh 分级:A 级 31 例,B 级 14 例;TNM 分期:IIIB 期 14 例,IIIC 期 17 例,IV 期 14 例。2 组一般资料比较资料差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

1.2 纳入标准 1)病理组织学或细胞学检查证实为原发性肝癌;2)或影像学+AFP 检查符合全国统一临床诊断标准;3)临床分期符合 2010 年(UICC/AJCC)TNM 分期为 IIIB-IV 期患者<sup>[3]</sup>;4)可观察病灶或转移灶近 1 月内未进行化疗、放疗或介入治疗或虽经治疗但病情明显进展;5)年龄 18 ~ 80 岁;6)PS 评分 1 ~ 3 分;7)骨髓、心、肾、肺功能基本正常者;8)肝功能 Child-Pugh 分级属于 A 或 B 级;9)预计生存期 $\geq$ 3 个月;10)获得知情同意,能配合随访者。

1.3 排除标准 1)合并未治愈的第二原发性肿瘤者;2)有症状未得到控制的脑转移者;3)患者不易控制的神经、精神疾病或精神障碍者;4)合并活动性结核者;5)合并严重感染性疾病者;6)妊娠、哺乳期妇女。

1.4 治疗方法 对照组:单用 TACE 治疗。疗程均为 4 周,治疗 2 个疗程。介入化疗方案:采用 Seldinger 技术股动脉穿刺,超选择插管到达肿瘤供血动脉,先行供血动脉灌注顺铂(齐鲁制药有限公

司,批号 H37021358)100 mg + 5-氟尿嘧啶(上海旭东海普药业有限公司)1 000 mg + 阿霉素(浙江海正药业股份有限公司,批号 H33720864)40 ~ 60 mg,再应用丝裂霉素(浙江海正药业股份有限公司,批号 H33020786)10 mg 于 40% 的碘化油(烟台鲁银药业有限公司,批号 H37022398)5 ~ 20 mL 混悬成乳剂,行肿瘤血管床的末梢血管动脉栓塞。观察组:首先采用 Seldinger 技术股动脉穿刺,超选择插管到达肿瘤供血动脉,留置造影导管,取肝素帽封管并加以固定,加压包扎导管。持续动脉灌注华蟾素注射液(安徽华润金蟾药业股份有限公司,批号 Z34020274)20 ~ 30 mL,持续 3 d,后行供血动脉灌注顺铂 100 mg + 5-氟尿嘧啶 1 000 mg + 阿霉素 40 ~ 60 mg,再应用丝裂霉素 10 mg 于 40% 的碘化油 5 ~ 20 mL 混悬成乳剂,行肿瘤血管床的末梢血管动脉栓塞。

## 1.5 观察指标

1.5.1 血清 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 水平的检测 运用双抗体夹心酶联免疫吸附法(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)检测观察组和对照组在 TACE 术前 1 d、术后 1 d、术后 1 周及术后 4 周的外周静脉血血清中 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 的水平。具体试剂准备及实验操作步骤按说明书进行。

1.5.2 疾病控制率 于治疗前、治疗 2 疗程后对全部病例均行影像学(CT 或 MRI)测量肿瘤病灶最大径和最大垂直径乘积变化。

1.5.3 肿瘤标志物检测 AFP,治疗前后各检测 1 次。

1.6 疗效判定标准 按 RECIST 疗效评价标准,分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)及疾病进展(PD)。疾病控制率(DCR),等于(CR + PR + SD)/总例数 $\times$ 100%。

1.7 统计学方法 应用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,其中计量资料采用  $t$  检验,计数资料采用卡方检验,等级资料采用 Ridit 分析。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 血清 HIF-1 $\alpha$  比较 观察组术后 1 d、术后 1 周与术前 1 d 比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );观察组术后 1 周,与对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

2.2 血清 VEGF 比较 观察组术后 1 d、术后 1 周与术前 1 d 比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );观察组术后 1 周,与对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 1 2 组患者治疗前后 HIF-1α 比较( $\bar{x} \pm s$ ,pg/mL)

| 组别            | 术前 1 d         | 术后 1 d            | 术后 1 周                        | 术后 4 周         |
|---------------|----------------|-------------------|-------------------------------|----------------|
| 观察组( $n=45$ ) | 184.78 ± 83.04 | 466.59 ± 117.24 * | 217.78 ± 83.04 * <sup>△</sup> | 187.35 ± 79.43 |
| 对照组( $n=45$ ) | 179.52 ± 91.22 | 501.18 ± 128.13   | 301.72 ± 84.55                | 199.87 ± 87.54 |

注:与本组治疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组治疗后比较,<sup>△</sup> $P<0.05$

表 2 2 组患者治疗前后 VEGF 比较( $\bar{x} \pm s$ ,pg/mL)

| 组别            | 术前 1 d         | 术后 1 d            | 术后 1 周                        | 术后 4 周         |
|---------------|----------------|-------------------|-------------------------------|----------------|
| 观察组( $n=45$ ) | 289.64 ± 89.13 | 437.85 ± 116.01 * | 389.18 ± 61.01 * <sup>△</sup> | 291.45 ± 86.75 |
| 对照组( $n=45$ ) | 293.52 ± 94.25 | 444.78 ± 123.37   | 439.92 ± 78.55                | 301.56 ± 99.24 |

注:与本组治疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组治疗后比较,<sup>△</sup> $P<0.05$

2.3 疾病控制率比较 观察组、对照组比较,疾病控制率分别为 93.3% 和 75.6%,2 组比较有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 2 组病例疾病控制率比较

| 组别            | CR<br>(例) | PR<br>(例) | SD<br>(例) | PD<br>(例) | 疾病控制率<br>(%) |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| 观察组( $n=45$ ) | 5         | 26        | 11        | 3         | 93.3 *       |
| 对照组( $n=45$ ) | 2         | 19        | 13        | 11        | 75.6         |

注:与对照组比较,\* $P<0.05$

2.4 肿瘤标志物 AFP 比较 观察组 AFP 与对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 4。

表 4 2 组病例治疗前后 AFP 比较( $\bar{x} \pm s$ ,U/mL)

| 组别            | 治疗前             | 治疗后                           |
|---------------|-----------------|-------------------------------|
| 观察组( $n=45$ ) | 1066.51 ± 29.28 | 553.63 ± 19.29 * <sup>△</sup> |
| 对照组( $n=45$ ) | 998.43 ± 32.97  | 644.18 ± 24.54                |

注:与治疗前比较,\* $P<0.05$ ;<sup>△</sup>与对照组比较, $P<0.05$

3 讨论

原发性肝癌是最常见最具侵袭力的恶性肿瘤之一,无论是在我国还是在全球范围内在恶性肿瘤中其死亡率均排在第 2 位<sup>[4]</sup>。大多数肝癌患者在确诊时已属于晚期,已失去外科手术治疗机会,TACE 治疗中晚期肝癌患者疗效显著,在不同程度上可显著抑制肿瘤组织的进展,但是术后复发转移发生率仍然较高<sup>[1]</sup>。

肝癌在 TACE 术后,肿瘤组织可缺血、缺氧发生坏死,但在此过程中肿瘤组织严重的缺血、缺氧,引起缺氧诱导因子-1(HIF-1)和血管内皮生长因子(VEGF)升高<sup>[5]</sup>。肝癌在 TACE 术后,HIF-1 迅速升高的同时也上调了 VEGF 的表达,促进肿瘤新生血管的大量生成,加速了肿瘤的复发和转移<sup>[6]</sup>。在对肝癌的 TACE 治疗中,有效抑制 HIF-1 和 VEGF 有重要意义,尤其是直接抑制 HIF-1<sup>[7]</sup>。1992 年 Semenza 等<sup>[8]</sup>在缺氧条件下发现了一种广泛存在于

人体的一种转录因子 HIF-1,是由 HIF-1α 和 HIF-1β 构成的二聚体,其调控主要是依靠 HIF-1α 的稳定和转录激活实现的<sup>[9-10]</sup>。目前已证实强心苷类药物可抑制 HIF-1α 的表达而发挥其抗肿瘤活性<sup>[11]</sup>。

蟾酥最早见于《药性论》“蟾酥眉脂”条下。为蟾酥科动物中华大蟾酥或黑框蟾的耳后腺及皮肤腺分泌的白色浆液加工干燥而成。该药味辛、性温,有毒。主要功效:化瘀消癥、利水消肿、解毒、消积。《本草正》:“消瘿气积聚,破坚癥肿胀”。华蟾素注射液为传统药材中华大蟾酥阴干全皮为主要原料,经严格工艺提取而成的水制剂。华蟾素注射液具有清热解毒、活血化癥、软坚散结等功效,其主要有效成分蟾毒灵(Bufalin),属于脂溶性强心苷,化学结构明确。现代药理研究表明<sup>[12-13]</sup>,华蟾素具有杀伤肝癌细胞、诱导肝癌细胞凋亡作用,并可通过抑制肿瘤细胞的增值、抑制肿瘤血管形成等机制产生抗肿瘤作用。临床研究也表明,华蟾素注射液治疗原发性肝癌有较好的临床疗效<sup>[14-15]</sup>。本研究中表明,观察组、对照组的疾病控制率分别为 93.3% 和 75.6%,经比较,有统计学意义( $P<0.05$ )。观察组 AFP 经治疗后明显下降,与对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。观察组和对照组 HIF-1α、VEGF 在 TACE 术后 1 d 和 1 周均较治疗前 1 d 明显升高( $P<0.05$ ),在 TACE 术后 4 周恢复到术前水平。其中观察组术后 1 周的 HIF-1α、VEGF 低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

综上所述,采用动脉置管持续灌注华蟾素注射液的方法,可提高 TACE 术治疗原发性肝癌的临床疗效,抑制 HIF-1α 和 VEGF 可能是其作用机理。由于本研究样本例数较少,可通过扩大样本量,并进行体内、体外实验,进一步的明确其作用机理。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 原发性肝癌诊疗规范

- (2017 版)[J]. 传染病信息, 2017, 16(3): 705-720.
- [2] Ji JY, Huang kh, Xu lf. Relationship between HIF-1 $\alpha$  expression after TACE and recurrence and metastasis of hepatoma[J]. International Journal of Medical Radiology, 2012, 35(4): 349-352.
- [3] 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准[J]. 中华肝脏病杂志, 2001, 9(6): 324.
- [4] Ferlay J, shin HR, Bray F, Forman D, MAthers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008, cancer incidence and mortality worldwide; IARC Cancer Base NO. 10. France; International agency for research on cancer; 2010, <http://gobocan. Iarc. fr. factsheet. asp> [EB/OL]. Accessed 2 January, 2012.
- [5] Guan QL, Ji WZ, REN WX, et al. The influence of serum HIF-1 $\alpha$  and VEGF content on the prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after TACE[J]. J Intervent Radiol, 2014, 23(2): 142-146.
- [6] Ji JY, Huang kh, Xu lf. Relationship between HIF-1 $\alpha$  expression after TACE and recurrence and metastasis of hepatoma[J]. International Journal of Medical Radiology, 2012, 35(4): 349-352.
- [7] Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signaling-in control of vascular function[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7(5): 359-371.
- [8] Semenza GL, Wang GL, A nuclear factor induced by hypoxia viade novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation[J]. Mol Cell Biol, 1992, 12: 5447-5454.
- [9] Hu YL, DeLay M. Jahanqiri A, et al. Hypoxia-induced autophagy promote tumor cell survival and adaptation to antiangiogenic treatment in glioblastoma[J]. Cancer Res, 2012, 72: 1773-1783.
- [10] Bridges JP, Lin S, Ikegami M, et al. Conditioni hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  induction in embryonic pulmonary epithelium impairs maturation and augments lymphangiogenesis[J]. Dev Biol, 2012, 362: 24-41.
- [11] Lewis JA. Digoxin blocks tumor growth through HIF-1  $\alpha$  inhibition[J]. Curr Top Med Chem, 2009, 9(1): 117.
- [12] Qi F, Li A, Inagaki Y, et al. Antitumor activity of extracts and compounds from the skin of the toad Bufo garizans Cantor[J]. Int Immunopharmacol 2011, 11: 342-349.
- [13] 蒋淑莲, 文剑, 杜建霞. 华蟾素增强细胞因子诱导的杀伤细胞对肝癌细胞的杀伤活性[J]. 中国生化药物杂志, 2007, 28(3): 164-166.
- [14] 余建国. 华蟾素注射液联合肝动脉栓塞化疗治疗原发性肝癌临床观察[J]. 现代消化及介入诊疗, 2013, 18(1): 32-33.
- [15] 李佳, 曾宝珠, 赵宁. 华蟾素注射液动脉置管灌注治疗晚期原发性肝癌 60 例[J]. 北方药学, 2017, 14(4): 79.

(2017-10-23 收稿 责任编辑: 徐颖)

(上接第 395 页)

- [4] 王雯馨. 绝经后骨质疏松症中医证型分布特点及其发病因素探讨[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [5] 周晓清, 陈晓钢, 胡小吾, 等. 特立帕肽预防骨质疏松患者腰椎融合术后椎弓根螺钉松动的前瞻性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(3): 285-287.
- [6] 卢宁. 唑来膦酸联合特立帕肽治疗绝经后骨质疏松症对骨密度影响的临床观察[J]. 世界临床药物, 2013, 34(3): 168-171.
- [7] 夏孟红, 吕志芬, 陈宇航, 等. 骨转换标志物在红斑狼疮骨质疏松治疗的应用[J]. 国际医药卫生导报, 2014, 20(14): 2060-2063.
- [8] 黎立, 司裕. 强骨胶囊联合鲑鱼降钙素针剂治疗对老年骨质疏松性压缩骨折患者骨密度及骨代谢的影响[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(16): 1809-1811, 1815.
- [9] 张维东. 髓内钉固定联合补肾续断汤治疗股骨干骨折的疗效观察[J]. 中国中医药咨讯, 2011, 3(4): 102.
- [10] 郭小玲, 甘国兴, 易仲媛, 等. 壮骨止痛方对去卵巢骨质疏松大鼠血清瘦素及长形受体的影响[J]. 中医药导报, 2016, 22(12): 21-24.
- [11] 陈晓云, 顾军花, 戴清漪, 等. 滋肾青芪颗粒对系统性红斑狼疮糖皮质激素导致骨代谢异常的调节作用[J]. 世界中医药, 2016, 11(4): 650-652.
- [12] 匡立华, 贾庆运, 谭国庆, 等. 骨碎补防治骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(8): 1000-1004.
- [13] 牛银波, 潘亚磊, 李晨睿, 等. 续断防治骨质疏松的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(7): 892-894.
- [14] 陈华庭, 王虎, 郑菁, 等. 黄芪总黄酮提取物对维甲酸所致大鼠骨质疏松的影响[J]. 中国药师, 2005, 8(11): 895-897.
- [15] 王敏娇, 司家文, 沈国芳. 促进骨形成的甲状旁腺激素: 作用及机制[J]. 中国组织工程研究, 2015, 15(19): 2405-2409.

(2017-03-14 收稿 责任编辑: 杨觉雄)