

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2014.06.020

肝癌热疗实验与临床研究进展*

王琳琳 蒋树龙 综述

(济宁医学院附属济宁市第一人民医院, 山东 济宁 272011; 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

关键词 热疗; 进展

中图分类号: R273 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2014)120-444-03

肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,其起病隐匿,恶性程度高,生存期短,治疗颇为棘手^[1-2]。近年来热疗在肿瘤治疗中的作用得到越来越多的重视,成为继手术、化疗、放疗和生物免疫治疗后出现的第5种常规肿瘤治疗方法^[3],成为肿瘤综合治疗的有效治疗手段之一。本文对肝癌热疗的实验和临床研究最新进展作一综述。

1 实验研究

1.1 抑制肝癌细胞增殖,促凋亡

基础研究发现,热疗单独应用以及联合放化疗、中药单体、靶向药物等均能够明显抑制肝癌细胞的增殖,并促进凋亡^[4-5]。索拉非尼和热疗对肝癌 HepG-2 细胞均有增殖抑制及明显促凋亡作用,同时,索拉非尼联合热疗具有协同增强作用。进一步研究结果显示,索拉非尼及热疗均增加人肝癌 HepG-2 细胞中 Bax 蛋白的表达,降低 Bcl-2 蛋白的表达,尤以索拉非尼联合热疗组最为显著。一项热疗联合放疗的研究具有类似发现,通过放疗联合热疗诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡,单纯热疗组、单纯放疗组及放疗联合热疗组较对照组 Bcl-2 蛋白表达率明显降低, Bax 蛋白表达率明显升高, Bax/Bcl-2 比值升高,同时,放疗联合热疗组与单纯热疗组和单纯放疗组比较存在显著性差异。因此,放疗联合热疗能更有效地诱导肿瘤细胞凋亡,其机制可能通过抑制 Bcl-2 蛋白表达、增加 Bax 蛋白表达来实现的。另外,热疗能够影响细胞周期的表达抑制肝癌增殖,研究发现,热疗能够降低细胞增殖核抗原(PCNA)的表达,使细胞周期中的 S 细胞减少,阻滞细胞于 G0/G1,联合应用榄香烯后抑制作用得到了加强。

不同温度热疗对体外培养肝癌 HepG2 细胞增殖与凋亡的影响存在差异,分别设置热疗 43℃、

46℃、48℃、50℃实验组和 37℃对照组,观察热疗后 24h 细胞形态变化、细胞增殖水平及细胞凋亡和坏死率。结果发现 43℃对细胞增殖抑制作用不明显,而在 46℃、48℃、50℃细胞增殖受到明显抑制,50℃时细胞坏死率最高。研究认为 46℃是热疗能够明显抑制 HepG2 细胞增殖的分界点,46℃以上可引起明显的细胞凋亡与坏死。通过肝脏肿瘤细胞加热,细胞凋亡可持续 96h,并在 24h 达到高峰^[6]。

热疗配合化疗药物具有协同杀伤肝癌细胞的作用。联合应用热疗可以显著提高顺铂对人肝癌细胞 SMMC-7721 细胞增殖抑制及诱导凋亡的作用效果。此外,热疗能够增强靶向治疗对肝癌细胞的杀伤作用。通过转染 pEGFP-C1-mTOR 反义质粒至人肝癌细胞 SMMC-7721,应用热疗后细胞皱缩、变圆,胞浆空泡化,坏死细胞比例增加。温度越高,热疗对细胞增殖抑制作用越明显,提示热疗可以增强 mTOR 靶向基因治疗对 SMMC-7721 细胞的体外杀伤作用。

热疗促肝癌细胞凋亡的作用机制研究取得了一定进展,热疗能够导致肝癌细胞形态学发生改变,主要表现为细胞变小,变圆,脱落,出现空泡,热疗可增加促凋亡受体 DR5 表达以及细胞内 Ca^{2+} 的浓度,这可能是导致肿瘤细胞凋亡的主要因素之一。通过脂质体将单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-TK)基因转染至 HepG2 细胞,应用丙氧鸟苷(GCV)自杀基因系统联合热疗对 HepG2/tk 的细胞凋亡率和增殖抑制率均有提升,提示 HSV-TK 基因转染入 HepG2 细胞并获得稳定表达后,热疗可显著增强 GCV 对 HepG2/tk 的杀伤效果。

1.2 抑制肝癌侵袭和迁移

研究发现,45℃的热应激可明显抑制肝癌细胞的迁移和侵袭能力,肿瘤抑制基因 NDRG2 能够增强热疗对肝癌细胞促凋亡和抗侵袭作用。通过给

* [基金项目]中国博士后科学基金项目(编号:2014M550132)

予肝癌不同细胞株 HepG-2 和 Huh-7 设置 37℃、39℃、41℃、43℃、45℃ 热刺激,发现 45℃ 组 HepG2 和 Huh-7 细胞的迁移和侵袭能力均显著降低,细胞内金属蛋白酶-2(MMP-2)及金属蛋白酶-9(MMP-9)分泌量下降,同时伴随 NDRG2 表达量的明显上升。给予 HepG2 细胞 NDRG2 过表达热处理后,细胞凋亡率和抗细胞侵袭能力增加。研究显示,45℃ 的热应激可明显抑制肝癌细胞的迁移和侵袭能力,NDRG2 联合热疗对肝癌细胞促凋亡和抗侵袭作用增强。

1.3 逆转肝癌多药耐药

肿瘤细胞的多药耐药(MDR)已经成为肿瘤化疗失败的主要原因之一,如何有效逆转多药耐药是当前肿瘤研究领域的热点。张靖宇等观察了热疗联合三氧化二砷(As₂O₃)对大鼠肝癌多药耐药性的影响,结果显示热疗加 As₂O₃ 组抑瘤率最高,在实验过程中,对照组荷瘤鼠活动减少,毛发稀疏,进食水少,而热疗组及联合 As₂O₃ 组状态良好,饮食状况无明显改变,体重宜未见明显减轻。应用免疫组化显示 P-糖蛋白(P-gP)显色指数,热疗加 As₂O₃ 组较其他处理组存在显著性差异。此研究表明,As₂O₃ 和热疗对大鼠肝癌均有明显抑制作用,二者联合应用存在协同作用,其可能的机制与抑制多药耐药基因表达有关^[7]。

2 临床研究

2.1 联合放疗,提高临床疗效

大量研究显示,热疗联合放疗能够有效提高肝癌治疗的临床疗效,改善生活质量,延长生存期,同时,毒副反应并未增加^[8]。热疗联合三维适形放疗(3D-CRT)治疗原发性肝癌动脉栓塞化疗术(TACE)后局部复发病例的研究显示,热疗联合 3D-CRT 较单纯 3D-CRT 近期有效率明显升高(85%和 55%),单纯应用 3D-CRT 局部皮肤损伤显著。研究认为,热疗联合三维适形放疗,能提高原发性肝癌 TACE 术后局部复发患者的近期疗效,同时并不增加不良反应。热疗结合 TACE 联合适形调强放疗(IMRT)综合治疗能够增加 3 个月总有效率(近期疗效)以及 1、3、5a 生存率。一项关于 γ-体部立体定向放疗(γ-SBRT)联合热疗及靶向药物索拉非尼(sorafenib)治疗复发及转移性肝癌的研究显示,39 例行 γ-SBRT 联合热疗,32 例 γ-SBRT 联合热疗及索拉非尼治疗,经 Log-rank 检验两组的总生存时间(OS)、无进展生存期(PFS)并无差异显著性。TACE 联合三维适形放疗及热疗治疗

中晚期原发性肝癌,总体疗效满意,总有效率 88.9%,治疗后 AFP 均有不同程度的下降,1、2、3a 生存率分别为 77.8%、59.3%、40.7%。可见,热疗与放疗联合应用具有协同增效作用,其作用机制可能通过抑制放射诱导的 DNA 损伤的修复,降低乏氧细胞比例,增强放射敏感性等方面实现的^[9-15]。

2.2 联合 TACE 减毒增效

1 项共纳入 17 个 RCT,907 例患者的 Meta 分析显示,与单纯 TACE 相比,TACE 联合热疗能明显提高患者 1 年和 2 年生存率及近期疗效,改善患者的生活质量,降低毒副反应发生率。通过观察 TACE 联合局部高频热疗治疗原发性肝癌的临床疗效和毒副反应,并检测治疗前、治疗后 1 周和治疗后 1 个月血清 VEGF、TNF-α、SIL-2R 水平的变化。结果发现,TACE 联合局部高频热疗治疗原发性肝癌能够提高治疗的有效率并缓解疼痛,改善患者的生活质量,并影响患者血清指标的表达水平。张建国等^[16]对全身热疗联合导管化疗栓塞治疗中晚期肝癌的疗效及安全性进行了观察,128 例中晚期肝癌患者分为单纯介入栓塞化疗组(A 组)和介入栓塞化疗联合全身热疗组(B 组),A 组给予 5-氟尿嘧啶、表柔比星、丝裂霉素介入栓塞化疗 2 周,B 组在 A 组方案基础上加用深度镇静下全身热疗,使全身温度升至 40~42℃,维持 90 min。结果显示,A 组、B 组有效率分别为 45.3%、64.1%,在 III、IV 度肝功能损害、肾功能损害、骨髓抑制及胃肠道反应发生率等方面比较无差异。

2.3 联合中医药提高疗效

近期研究显示,热疗联合中医辨证治疗以及中药外敷等更能提高热疗的临床疗效。薛晓光等^[17]观察体外高频热疗联合中医辨证治疗中晚期肝细胞癌患者的临床疗效,将符合纳入标准的 70 例中晚期(III B、IV 期)肝细胞癌患者随机分为治疗组(体外高频热疗+中医辨证治疗)和对照组(中医辨证治疗),治疗 6 周后对客观疗效、总生存时间(OS)、疾病进展时间(TTP)和 6 个月生存率进行评价。结果显示体外高频热疗联合中医辨证治疗在稳定病灶、改善症状、提高生活质量以及延长生存期等方面优于单纯中医辨证治疗。应用中药外敷配合高频热疗治疗原发性肝癌患者具有协同增效的作用,与单纯高频热疗相比较,能显著提高患者的近期疗效、生活质量,明显减轻疼痛、降低肿瘤标志物 AFP 的水平。

2.4 其他

临床研究发现,热疗能够抑制肿瘤侵袭转移相

关细胞因子的表达。通过对高强聚焦超声(HI-FU)治疗前、治疗后4周肝癌组织活检,采用免疫组化检测肿瘤组织中的血管内皮生长因子(VEGF)和MMP-9,结果发现局部热疗能够有效抑制肝癌组织中的MMP-9和VEGF蛋白表达,进而在阻止肿瘤细胞的侵袭转移中发挥作用。另外,热疗联合化疗较单纯化疗也具有临床优势。应用全身热疗联合GEMOX方案治疗中晚期原发性肝癌,结果显示,全身热疗联合GEMOX方案治疗近期疗效优于单纯化疗。

3 结语

综上所述,肿瘤热疗通过物理加热方式提高肿瘤患者全身或肿瘤局部的温度,从而达到治疗肿瘤的效果。因其副作用小、安全性高、病人耐受性好、成本低等优点,目前已被广泛应用于临床^[18-20]。美国NCCN指南也把热疗写入某些肿瘤的综合治疗方案。通过近年来热疗治疗肝癌的文献研究分析,热疗能够诱导肝癌细胞凋亡,抑制肝癌细胞的侵袭和迁移,同时临床上配合TACE、放疗、化疗、靶向药物、中医药等治疗手段,能够协同作用,起到增敏减毒的效果。因此,热疗作为癌症综合治疗的一种新兴手段,必将在今后的肝癌治疗中发挥愈来愈重要的作用。

参考文献:

[1] Chen J G, Zhang S W. Liver cancer epidemic in China: past, present and future[J]. *Semin Cancer Biol*, 2011, 21(1): 59-69.

[2] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61: 69-90.

[3] Franckena M. Hyperthermia for the treatment of locally advanced cervix cancer [M]. Rotterdam: Erasmus University Rotterdam, 2010: 9-14.

[4] Nakamura K, Hanazawa S, Takeda T, et al. The effect of immunotherapy and hyperthermia on advanced or recurrent ovarian and uterine cancer-229 clinical cases[J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2014, 41(10): 1295-1297.

[5] Hou C H, Lin F L, Hou S M, et al. Hyperthermia induces apoptosis through endoplasmic reticulum and reactive oxygen species in human osteosarcoma cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(10): 17380-17395.

[6] Guo Y, Ma J, Wu L, et al. Hyperthermia-induced NDRG2 upregulation inhibits the invasion of human hepatocellular

carcinoma via suppressing ERK1/2 signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61079.

[7] 张靖宇, 刘宝刚, 叶磊光. 三氧化二砷联合热疗抑制大鼠肝癌的体内实验研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2011, 19(2): 242-245.

[8] Sun J, Guo M, Pang H, et al. Treatment of malignant glioma using hyperthermia [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(29): 2775-2782.

[9] Franckena M. Review of radiotherapy and hyperthermia in primary cervical cancer [J]. *Int J Hyperthermia* 2012, 28(6): 543-548.

[10] Triantopoulou S, Efstathopoulos E, Platoni K, et al. Radiotherapy in conjunction with superficial and intracavitary hyperthermia for the treatment of solid tumors: survival and thermal parameters [J]. *Clin Transl Oncol*, 2013, 15(2): 95-105.

[11] Lin M, Zhang D, Huang J, et al. The anti-hepatoma effect of nanosized Mn-Zn ferrite magnetic fluid hyperthermia associated with radiation in vitro and in vivo [J]. *Nanotechnology*, 2013, 24(25): 255101.

[12] Rybinski M, Szymanska Z, Lasota S, et al. Modelling the efficacy of hyperthermia treatment [J]. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 2013, 10(88): 20130527.

[13] Hong M, Jiang Z, Zhou Y F. Effects of thermotherapy on Th1/Th2 cells in esophageal cancer patients treated with radiotherapy [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(5): 2359-2362.

[14] Hainfeld J F, Lin L, Slatkin D N, et al. Combined hyperthermia and radiotherapy for the treatment of cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2011, 3(4): 3799-3823.

[15] Rao W, Deng Z S, Liu J. A review of hyperthermia combined with radiotherapy/chemotherapy on malignant tumors [J]. *Crit Rev Biomed Eng*, 2010, 38(1): 101-116.

[16] 张建国, 郑国宝. 全身热疗联合导管化疗栓塞对中晚期肝癌的疗效观察 [J]. *肿瘤基础与临床*, 2013, 26(6): 490-492.

[17] 薛晓光, 吴万垠, 任军, 等. 体外高频热疗联合中医辨证治疗中晚期肝癌的临床研究 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2010, 15(7): 621-624.

[18] Kouloulis V, Triantopoulou S, Efstathopoulos E, et al. Microwave hyperthermia in conjunction with radiotherapy in superficial tumours: correlation of thermal parameters with tumour regression [J]. *West Indian Med J*, 2013, 62(8): 752-757.

[19] Takagi H, Azuma K, Tsuka T, et al. Antitumor effects of high-temperature hyperthermia on a glioma rat model [J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(4): 1007-1010.

[20] Januszewski A, Stebbing J. Hyperthermia in cancer: is it coming of age [J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(6): 565-566.

(收稿日期 2014-11-09)