

# p53 基因联合热放疗治疗晚期软组织肉瘤的临床研究

徐刚,肖绍文,刘长青,孙艳,蔡勇,苏星,李东明,石安辉,余荣,铁剑,朱广迎,徐博,张珊文

北京大学肿瘤医院放疗科,北京 100036

**摘要** 为评价重组人 p53 腺病毒注射液(rAdp53)结合热疗治疗软组织肉瘤的疗效及安全性,2001年10月至2012年6月,采用rAdp53,结合热疗放疗,治疗晚期软组织肉瘤30例。基因治疗采用瘤内注射或腹腔灌注rAdp53,每周1次,每次 $1 \times 10^{12}$ VP,平均8次。所有患者均配合热疗,平均热疗8次。放疗每次2Gy,每周5次,剂量为16~70Gy/8~35次/2~8周,平均56.3Gy。30例患者在治疗前后观测肿瘤变化,以CT评价治疗后2个月的疗效。结果表明,病灶缩小超过或等于50%者9例,介于25%~50%者8例,缩小小于25%者12例;病灶增大者1例。生存率1年为(58.6±0.091)%,2年为(22.4±0.079)%,3年为(11.2±0.069)%,4年为(5.6±0.052)%.30例患者共接受216次rAdp53瘤内注射,除1例出现过性发热外,未发现其他不良反应,未影响热疗和放疗。研究表明,软组织肉瘤瘤内注射rAdp53结合热疗、放疗安全、有效。rAdp53是一种很有潜力的治疗恶性软组织肿瘤的基因治疗药物。

**关键词** 重组腺病毒-p53;热疗;放疗;软组织肉瘤

**中图分类号** R73-36,R738.6

**文献标志码** A

**doi** 10.3981/j.issn.1000-7857.2013.14.002

## Clinical Effect of Recombinant Adenovirus-p53 Combined with Hyperthermia for Advanced Soft Tissue Sarcoma

XU Gang, XIAO Shaowen, LIU Changqing, SUN Yan, CAI Yong, SU Xing, LI Dongming, SHI Anhui, YU Rong, TIE Jian, ZHU Guangying, XU Bo, ZHANG Shanwen

Department of Radiotherapy, Beijing Cancer Hospital, Beijing 100036, China

**Abstract** In order to evaluate the efficacy and safety of recombinant adenovirus-p53 (rAdp53) combined with hyperthermia for advanced soft tissue sarcoma, from Nov. 2001 to Jun. 2012, 30 patients with advanced soft tissue sarcoma enrolled in the clinical study on Gendicine combined with hyperthermia or hyperthermia plus radiotherapy. Gendicine, recombinant adenovirus-p53, is an E1 substituted replication-incompetent recombinant adenovirus encoding the human wild-type p53 gene. Thirty patients were intratumorally injected or intra-abdominal cavity perfused with Gendicine solution of  $1 \times 10^{12}$ VP (Virus Particle) once a week with a total eight times on average. Two days after injection, all patients were combined with hyperthermia usually once or twice a week for total eight times on average. Among them, 12 patients were concurrently added with irradiation with the conventional fractionation of 2Gy/f, five fractions a week to a total dose of 16 Gy-70 Gy/8 times-35 times/2 weeks-8 weeks, 56.3Gy on average. Patients were monitored for adverse event and tumors were monitored for response. Two months after treatment, the effective rate was performed by the immediate response rate on CT at the validation point. Among the 30 patients, tumor mass shrinks more than 50% in the nine cases, 25%~50% in eight cases, less than 25% in 12 cases, nidus growth in one case. One year survival rate is (58.6±0.091)%, 2 year survival rate is (22.4±0.079)%, 3 year survival rate is (11.2±0.069)%, and 4 year survival rate is (5.6±0.052)%. Thirty patients with advanced soft tissue sarcoma have received hyperthermia and multiple intratumorally injection of Gendicine, dose-limiting toxicity and adverse events are not noted, except transient fever after Gendicine administration in one case. The treatment with intratumoral injecting of Gendicine combined hyperthermia for advanced soft tissue sarcoma is safe and effective. The results support that rAdp53 is a potentially effective gene therapeutic agent for the soft tissue sarcoma treatment.

**Keywords** recombinant adenovirus-p53; hyperthermia; radiotherapy; soft tissue sarcoma

收稿日期:2013-03-06;修回日期:2013-04-30

作者简介:徐刚,副主任医师,研究方向为恶性肿瘤综合治疗,电子信箱:xugang5@163.com;张珊文(通信作者),主任医师,研究方向为基因放疗热疗,电子信箱:zhangshw4641@sina.com

## 0 引言

不能手术或术后、放疗后复发的晚期软组织肉瘤,目前疗效仍不理想。近年来,北京大学肿瘤医院放疗科尝试重组腺病毒 p53 基因,结合热疗放疗综合疗法,治疗 30 例晚期软组织肉瘤患者。

## 1 材料及方法

### 1.1 材料

重组腺病毒-p53 制剂(rAdp53),由深圳市赛百诺基因技术有限公司提供,批号 #S010731,规格  $1 \times 10^{12}$ VP/2mL/支。置于  $-20^{\circ}\text{C}$  保存,使用时取出,室温静置融化,然后按肿瘤体积大小,以适量注射用生理盐水稀释后作瘤内注射用。

### 1.2 病例

30 例软组织恶性肿瘤患者,选自 2001 年 11 月至 2012 年 6 月经治患者。其中,男 16 例,女 14 例,年龄段 16~82 岁,中位  $52.2 \pm 19.5$  岁。随访至 2012 年 6 月。所有病例均为手术和/或放疗、化疗后复发者,全部经病理证实为软组织肉瘤。其中,13 例为放疗后复发,5 例为病灶无法手术;24 例为术后复发,手术 1 次 14 例,2 次 3 例,3 次 1 例,4 次 3 例,5 次 2 例,6 次 1 例。局部肿瘤大小为  $3.4\text{cm} \times (2.6 \sim 15.2)\text{cm} \times 9.7\text{cm}$ ,中位  $29\text{cm}$ (即  $5.94 \sim 196\text{cm}$ )。其中,腹盆腔肉瘤 11 例,头颈部肉瘤 16 例,胸部肉瘤 1 例,肢体肉瘤 2 例。腹膜后脂肪肉瘤 5 例(腰椎 1 例,盆腔 1 例,腹膜后 2 例,腹壁 1 例),横纹肌肉瘤 4 例(盆腔 2 例,右上颈 1 例,左鼻 1 例),平滑肌肉瘤 2 例(右上颌窦,甲状腺);恶性神经鞘瘤 3 例(右舌 1 例,左颞下窝 1 例,右颌 1 例),癌肉瘤 2 例(左子宫 1 例阴道转移,上颌窦 1 例),前列腺原始神经外胚层肉瘤 1 例;滑膜肉瘤 2 例(左颈 1 例,右大腿 1 例),骨肉瘤 3 例(左肋骨 1 例,下颌骨 2 例),左上颌窦癌肉瘤 1 例,右上牙龈恶性黑色素瘤 1 例,右颌骨-骨纤维增生症 1 例;左腰大肌恶性纤维组织细胞瘤 1 例;臀部恶性软组织巨细胞瘤 1 例。鼻咽-纤维肉瘤 1 例;右颌下梭形细胞肉瘤 1 例;甲状腺肌纤维母细胞肉瘤 1 例。

临床分期:IV 期 30 例。其中,5 例伴双肺转移,3 例伴盆腔多发转移,1 例伴腹腔多发转移,2 例全身多发转移,腹壁 1 例,胸膜 2 例,阴道 1 例,结肠 1 例,椎体 1 例,骨 3 例,腰大肌 1 例,肝转移 1 例。1 例双原发癌胃癌腹部肉瘤。

### 1.3 方法

30 例患者采用 rAdp53 瘤内注射加热疗,辅以精确放疗。

基因治疗方法:头颈部及腹盆腔肿瘤在 B 超引导下行瘤内 p53 基因多点注射或腹腔 rAdp53 灌注;肺部转移灶(1 例)在 CT 引导下行瘤内注射。每周注射或灌注 1 次,每次  $1 \times 10^{12}$ VP/2mL,共 5~13 次,平均  $(8 \pm 2)$  次。

热疗方法:30 例基因热疗,平均  $8(1 \sim 21)$  次热疗,放疗后 1h 内进行热疗,1~2 次/周,如能耐受,至少在 rAdp53 注射 48~72h 后有 1 次热疗。浅部肿瘤采用 915MHz 微波热疗机治疗,治疗温度  $43 \sim 44^{\circ}\text{C}$ ,每次 1h;深部肿瘤采用 41MHz 射频热

疗机治疗,治疗温度  $42 \sim 43^{\circ}\text{C}$ ,每次 1h。热疗时,体表或体腔放置热敏传感器以确保体表温度为  $43 \sim 44^{\circ}\text{C}$ ,食道或直肠温度为  $42 \sim 43^{\circ}\text{C}$ 。热疗次数 4~14 次,平均  $9 \pm 3$  次。

放疗方法:采用 2.0Gy/次,总剂量  $16 \sim 70\text{Gy}/8 \sim 35$  次/2~7 周,中位剂量 60Gy,平均剂量  $(56.3 \pm 5.3)\text{Gy}$ 。一般在 rAdp53 注射 48~72h 开始放疗。

### 1.4 疗效评价

治疗前、治疗后 2 个月 CT 为依据,测量肿瘤最大截面积:肿瘤面积=肿瘤最大径 $\times$ 最大垂直径。计算治疗结束时及确认时(治疗后 2 个月)肿瘤缩小率(%),按 WHO《实体肿瘤客观疗效评定标准》评定疗效。

### 1.5 数据统计

采用 SPSS 11.5 统计软件,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

### 2.1 近期疗效

30 例患者治疗结束后 2 个月局部疗效评价为,病灶缩小超过或等于 50%者 9 例,介于 25%~50%者 8 例,缩小小于 25%者 12 例,病灶增大者 1 例。不能手术病人治疗后可手术切除者 8 例;病灶坏死超过 50%者 8 例。病人止痛、减轻局部症状者 23 例(表 1)。

### 2.2 不良反应

所有患者治疗前、注射 rAdp53 两周期(共 8 次)时,各项血、尿、便常规检查都在正常范围;肝肾功能在治疗前、后都无明显区别,胸片、心电图检查治疗前、后均无明显异常。

在注射 rAdp53 后可能出现短暂的自限性发热。30 例患者共接受 216 人·次 rAdp53 瘤内注射,I 度发烧( $<38^{\circ}\text{C}$ )35 人·次,发生频率 16.2%;II 度发烧( $38 \sim 40^{\circ}\text{C}$ )69 人·次,发生频率 32.0%;III 度发烧( $>40^{\circ}\text{C}$ )2 人·次,发生频率 0.9%,发热共 47 人·次,发生频率 48.1%。发烧多数出现在注射 rAdp53 后 3~16h(中位平均 5h),I 度发烧可自退,II、III 度发烧在使用退烧药后数小时可退,烧退后无明显不适,不影响放疗。

### 2.3 随访

所有患者治疗结束后均进行随访,随访时间 2~89 个月,平均 12 个月。至 2012 年 6 月,30 例患者生存 5 例,死亡 25 例。死亡者中,1 例术后 1 个月大出血死亡,1 例心肺功能衰竭死亡,局部未控复发 12 例,远处转移 14 例,均有肺转移。

基因综合治疗后再生存期平均中位生存情况如图 1 和图 2 所示。30 例 IV 期不能手术切除肉瘤患者基因综合治疗后,中位生存  $(12 \pm 0.893)$  个月(图 1)。具体生存情况为:1 年  $(58.6 \pm 0.091)\%$ ,2 年  $(22.4 \pm 0.079)\%$ ,3 年(37 个月)  $(11.2 \pm 0.069)\%$ ,4 年  $(5.6 \pm 0.052)\%$ 。

30 例肉瘤患者总体中位生存  $(34 \pm 3)$  个月(图 2)。30 例总生存 1 年  $(93.3 \pm 0.046)\%$ ,2 年  $(69.4 \pm 0.085)\%$ ,3 年  $(48.6 \pm 0.093)\%$ ,51 个月  $(33.7 \pm 0.087)\%$ ,59 个月  $(22.4 \pm 0.08)\%$ ,72 个月  $(18.7 \pm 0.075)\%$ ,121 个月  $(9.3 \pm 0.076)\%$ 。

表 1 30 例病人的临床特征、治疗方法及结果

Table 1 Clinical features, treatment, and results of 30 patients

性别	年龄	病理	部位	大小/cm	rAdp53/10 <sup>12</sup> VP	放疗/Gy	热疗/次	缩小率/%
女	68	脂肪肉瘤	L3 部位	4.6×6.3	8	16	8	40
女	19	横纹肌肉瘤	右上颈	7.0×4.3	8	70	8	43
男	73	恶性神经鞘瘤	右舌	4.0×2.6	8	70	4	75
男	50	脂肪肉瘤	腹膜后	13.7×9.7	8	60	14	切除
女	75	脂肪肉瘤	右髂窝	8.1×8.3	8	60	6	增大 8%
女	62	滑膜肉瘤	右大腿	9.5×7.5	8	60	8	38
男	23	横纹肌肉瘤	盆腔	8.5×5.2	8	40	8	12
女	69	脂肪肉瘤	左下腹壁	9.5×6.0	8	60	7	59
女	58	癌肉瘤	左上颌窦	3.4×2.6	8	70	8	61
女	53	滑膜肉瘤	左颈	4.7×3.4	8	60	12	69
男	23	恶性神经鞘瘤	左颌下	5.4×4.2	5	50	10	12
女	55	子宫癌肉瘤	阴道复发	7.0×6.5	4	50	8	36.3
女	22	平滑肌肉瘤	右上颌窦	4.5×5.8	7	66	1	0
男	46	成骨肉瘤	右下颌骨	6.3×6.7	6	60	12	31
男	78	恶性黑色素瘤	鼻前和左上颌窦	8.0×6.7	7	66	1	4.1
男	53	纤维肉瘤	鼻咽	2.9×2.1	3	50	1	0
男	43	平滑肌肉瘤	甲状腺	2.9×2.1	7	64	4	44.4
男	46	脂肪肉瘤	左腹膜后	5.7×4.1	7	56	11	100
男	28	骨肉瘤(骨肉细胞型)	左肋骨	6.9×7.0	14	50	13	0
男	42	恶性软组织巨细胞瘤	右臀	14.0×14.0	16	60	21	50
女	48	骨纤维增生症	右颌骨	5.0×2.7	4	68	4	50
男	82	腺泡状横纹肌肉瘤	左鼻	5.0×2.7	5	70	5	0
女	48	恶性神经鞘瘤	右颌	9.3	7	60	1	0
男	43	原始神经外胚层肉瘤	前列腺	15.2×9.7	6	60	13	44
男	28	梭形细胞肉瘤	右颌	6.7×5.2	7	40	10	75
男	70	肌纤维母细胞肉瘤	甲状腺	2.7×2.2	6	0	8	0
女	20	腺泡状混合型横纹肌肉瘤	盆腔	9.1×8.5	5	50	5	0
女	16	侵袭性纤维瘤	左下肢腿部	5.6×2.1	10	30	8	缩小
男	49	恶性纤维组织细胞瘤	左侧腰大肌	8.1×5.3×4.4	2	16	1	0
女	53	滑膜肉瘤	左上颈	4.7×3.4	8	60	10	69

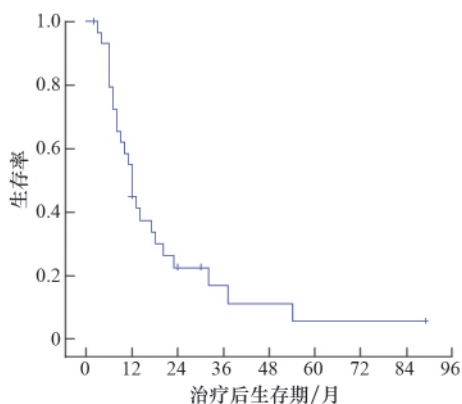


图 1 30 例晚期不能手术肉瘤患者基因综合治疗后生存情况  
Fig. 1 Survival situation for the 30 cases of advanced unresectable sarcoma after gene comprehensive treatment

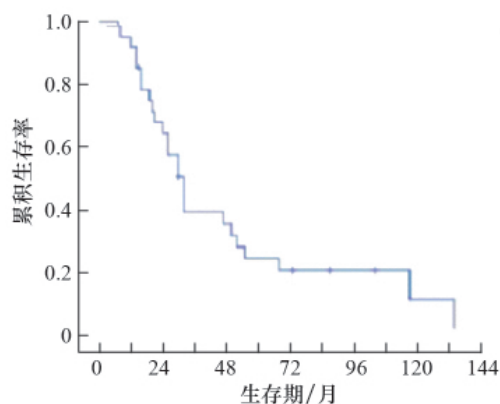


图 2 30 例肉瘤患者治疗后总生存情况  
Fig. 2 Over all survival situation for the 30 cases of sarcoma after treatment

### 3 讨论

软组织肉瘤 IV 期及复发转移的软组织肉瘤疗效极差。

肿瘤的基因治疗(包括抑癌基因 *p53* 治疗)是近年肿瘤研究领域的热点。已有研究证明,肿瘤的发生、发展与抑癌基因 *p53* 有密切关系,人类肿瘤 50% 以上都存在 *p53* 基因的变异、缺失或功能失活<sup>[1-3]</sup>。

国内外众多临床前实验结果表明<sup>[4-7]</sup>,腺病毒 *p53* 导入肿瘤细胞内,其本身具有杀癌细胞作用,结合放疗、化疗和热疗后,有明显的增效作用。2002 年 10 月,张珊文等<sup>[8]</sup>完成了重组腺病毒 *p53* 抗癌注射液治疗头颈部鳞癌的 II 期临床实验,结果证实,重组腺病毒 *p53* 基因治疗联合常规放疗对头颈部鳞癌的疗效明显优于单纯放疗。

近年研究发现,*p53* 基因与软组织肉瘤的发生、发展关系密切<sup>[9]</sup>。在各种软组织肉瘤中,*p53* 基因的突变率约为 44%~67%<sup>[10-13]</sup>。目前,已有临床前的实验研究证实,野生型 *p53* 基因对软组织肉瘤有效,如将野生型 *p53* 基因转染人平滑肌肉瘤和滑膜肉瘤,不仅能增强肿瘤细胞周期调控,而且能抑制肿瘤血管的生长<sup>[14,15]</sup>。

本研究证实,*p53* 基因联合放疗对软组织肉瘤有较好的疗效。30 例患者治疗结束后 2 个月局部疗效评价为,病灶缩小超过或等于 50% 者 9 例,介于 25%~50% 者 8 例,病情稳定即缩小小于 25% 者 12 例,病灶增大者 1 例。不能手术病人治疗后可手术切除者 8 例;病灶坏死超过 50% 者 8 例。病人止痛、减轻局部症状者 23 例。患者中唯有 1 例治疗后局部肿瘤较治疗前增大 8%,但肿瘤中央有部分坏死。而且,从减轻症状看,所有患者局部疼痛、压迫等症状均得到明显减轻甚至消失。所有患者治疗结束后都进行随访,随访时间为 2~89 个月,中位生存 12 个月。30 例目前生存 5 例,其中 1 例痊愈患者已存活 89 个月;25 例死亡,死亡者中 1 例为手术后 1 个月大出血死亡,1 例因心肺功能衰竭死亡。局部未控复发 12 例,远处转移 14 例,均有肺转移。

本研究中未发现严重毒副作用。常见副作用为发热,以 I、II 度发热为主,仅 2 例发生 III 度发热(>40℃)。发热反应多数发生在注射后数小时,少数在翌日发热。I 度发热可自退,II、III 度发热在使用退热药后数小时可恢复正常体温,热退后无明显不适,不影响放疗等其他治疗,注射基因药物后,体温达到 37~38℃,目前建议用退热药预防。除出现自限性发热外,目前未发现其他毒副作用。

### 4 结论

临床研究显示,重组腺病毒-*p53* 抗癌注射液对软组织肉瘤放疗具有明显的增效作用,而且无明显毒副作用,也没有加重放疗的不良反应。表明重组腺病毒-*p53* 对肿瘤治疗安全有效,值得在临床推广应用。

### 参考文献 (References)

- [1] 殷蔚伯. 肿瘤放射治疗学[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2002: 974.  
Yin Weibo. Radiation oncology [M]. Beijing: Peking Union Medical College Press, 2002: 974.
- [2] Laramore G E, Griffin T W. Fast neutron radiotherapy: Where have we been and where are we going the jury is still out-regarding [J]. International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, 1995, 32 (3): 599-604.
- [3] Prosnitz L R, Maguire P, Anderson J M, et al. The treatment of high-grade soft tissue sarcomas with preoperative thermoradiotherapy [J]. International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, 1999, 44 (4): 879.
- [4] 张珊文, 肖卫群, 吕有勇. 抑癌基因 *p53* 对人胃癌细胞系的放射敏感性的作用[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 1999, 8(2): 116-119.  
Zhang Shanwen, Xiao Weiqun, Lü Youyong. Chinese Journal of Radiation Oncology, 1999, 8(2): 116-119.
- [5] 张珊文, 肖卫群, 吕有勇. 抑癌基因 *p53* 提高人胃癌细胞热敏感性的作用[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2000(2): 94-96.  
Zhang Shanwen, Xiao Weiqun, Lü Youyong. Chinese Journal of Physical Medicine and Rehabilitation, 2000(2): 94-96.
- [6] 肖绍文, 张珊文, 吕有勇, 等. 外源性 *p53* 基因对人胃癌细胞的放射增敏作用[J]. 北京大学学报: 医学版, 2001(5): 48-52.  
Xiao Shaowen, Zhang Shanwen, Lü Youyong, et al. Journal of Peking University: Health Sciences Edition, 2001(5): 48-52.
- [7] 张珊文, 肖绍文, 吕有勇. 腺病毒介导 *p53* 基因对人胃癌细胞热增敏作用[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2002(8): 44-47.  
Zhang Shanwen, Xiao Shaowen, Lü Youyong. Chinese Journal of Physical Medicine and Rehabilitation, 2002(8): 44-47.
- [8] 张珊文, 肖绍文, 刘长青, 等. 重组人 *P53* 腺病毒注射液联合放射线治疗头颈部鳞癌的 II 期临床试验[J]. 中华医学杂志, 2003(23): 11-16.  
Zhang Shanwen, Xiao Shaowen, Liu Changqing, et al. National Medical Journal of China, 2003(23): 11-16.
- [9] Dei T A, Doglini C, Laurinol L, et al. *p53* protein expression in non-neoplastic lesions and benign and malignant neoplasms of soft tissue[J]. Histopathology, 1993(1): 45-50.
- [10] 赖日权, 赖晃文, 王卓才, 等. 横纹肌肉瘤 *p53*、*MDM2* 基因及 *p53*、*p21*、*p185* 蛋白表达检测比较[J]. 癌症, 1998(5): 26-28.  
Lai Riquan, Lai Huangwen, Wang Zhuocai, et al. Chinese Journal of Cancer, 1998(5): 26-28.
- [11] 杨庆媛, 张建平, 杨靖. 78 例软组织肉瘤中抑癌基因 *p53* 蛋白的表达及意义[J]. 济宁医学院学报, 2000(1): 52-53.  
Yang Qingyuan, Zhang Jianping, Yang Jing. Journal of Jining Medical College, 2000(1): 52-53.
- [12] Amir G, Issakov J, Sucher E, et al. Expression of *p53* gene product and cell proliferation marker Ki-67 in Ewing's sarcoma: correlation with clinical outcome[J]. Human Pathology, 2002, 33(2): 170-174.
- [13] Wurl P, Fitkau M, Meyer A, et al. Low detection rate of *p53* antibodies in serum of soft tissue sarcoma patients[J]. Cancer Letters, 2001, 170(2): 199-205.
- [14] Zhang S W, Xiao S W, Liu C Q. Clinical study of recombination adenoviral *p53* combined with radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma (a phase II clinical trial) [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine (Hong Kong), 2002(6): 1-3.
- [15] Zhang L, Yu D, Hu M, et al. Wild-type *p53* suppresses angiogenesis in human leiomyosarcoma and synovial sarcoma by transcriptional suppression of vascular endothelial growth factor expression [J]. Cancer Research, 2000, 60(13): 3655-3661. (责任编辑 陈广仁)