

手术联合胸腔内留置重组人 p53 腺病毒治疗非小细胞肺癌的围手术期安全性

唐 博,谭群友,王如文,周景海,邓 波,康珀铭,陶绍霖
(第三军医大学大坪医院野战外科研究所,重庆 400042)

摘 要: [目的] 评价手术联合胸腔内留置重组人 p53 腺病毒(rAd-p53)治疗非小细胞肺癌的围手术期的安全性。[方法] 2013 年 2 月 1 日至 2014 年 6 月 30 日共连续招募 180 例患者,最终非小细胞肺癌有效病例 151 例按随机数字进行完全随机化分组,分为手术联合 rAd-p53(试验组)75 例和单纯手术治疗(对照组)76 例,记录手术操作时间、术中出血量、术后胸腔引流量、胸引管留置时间,并观察围手术期并发症和不良反应。[结果] 试验组和对照组在手术时间、术中出血量、术后 3d 内引流量、术后引流总量、胸引管留置时间、手术并发症等方面无统计学差异($P>0.05$)。两组间在肝肾功能异常、血常规异常、心律失常的发生率以及发热程度等方面差异也无统计学意义($P>0.05$)。[结论] 外科手术联合胸腔内留置 rAd-p53 是非小细胞肺癌的一种安全治疗方案。

关键词: 重组人 p53 腺病毒;肺叶切除术;非小细胞肺癌

中图分类号:R734.2 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2015)05-0430-05

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2015.05.A017

Perioperative Safety of Intrapleural Recombined Adenovirus p53 Combined with Surgery in the Treatment for Non-small Cell Lung Cancer

TANG Bo, TAN Qun-you, WANG Ru-wen, et al.

(Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: [Purpose] To evaluate the safety of intrapleural recombined adenovirus p53rAd-p53 following surgery in the treatment for non-small cell lung cancer. [Methods] From February 1st 2013 to June 30th 2014, 180 patients were consecutively recruited, 151 of them were eligible. We randomly divided the 151 cases with non-small cell lung cancer into experiment group (intrapleural rAd-p53, n=75) and control group (surgery alone without the rAd-p53, n=76), respectively. Operating time, bleeding, volume of postoperative pleural drainage, continuous drainage time, perioperative complications and side effect were evaluated. [Results] There were no significant difference of operating time, bleeding, pleural drainage volume in the first 3 days postoperative, the total volume of postoperative pleural drainage, continuous drainage period and surgical complications between the two groups ($P>0.05$). Additionally, No significant difference of liverdys function, renaldys function, blood test, arrhythmia and fever level was found ($P>0.05$). [Conclusion] Intrapleural rAd-p53 following surgery is safe in the treatment for non-small cell lung cancer.

Key words: recombined adenovirus p53 (rAd-p53); lobectomy; non-small cell lung cancer

早期非小细胞肺癌通常以手术治疗为主,但术后仍有部分病例会出现复发或转移,这可能与局部肿瘤的隐性残留或术前未能发现的血行、淋巴道转

移有关。因此,有必要在手术的同时预防性使用抗肿瘤药物进行辅助治疗。重组人 p53 腺病毒(recombinant adenovirusp-53, rAd-p53)是一种基因治疗药物,通过将肿瘤抑制基因p53 和无复制能力、无致病力的腺病毒载体结合在一起,转入到肿瘤细胞内表达

收稿日期:2015-02-07;修回日期:2015-03-12

通讯作者:谭群友, E-mail: tanfriends@163.com

p53 蛋白,达到抗肿瘤的作用^[1-4]。已开展的众多临床试验研究数据表明 rAd-p53 在喉癌、肝癌、乳腺癌等的治疗中取得了不错的疗效^[5-10];但 rAd-p53 在胸腔内留置对患者的手术进展、术后并发症、不良反应和术后康复的影响鲜有报道。本研究采用前瞻性研究方法,评估联合治疗方案临床操作的安全性、可行性。

1 资料与方法

1.1 病例选择与分组

2013 年 2 月 1 日至 2014 年 6 月 30 日连续招募 180 例,均为大坪医院胸外科入院诊断为非小细胞肺癌住院患者。病例入选标准:(1)原发性非小细胞肺癌;(2)TNM 分期为 I、II 或 IIIa 期,有手术指征的患者;(3)入组前从未接受化疗、放疗和生物治疗;(4)年龄 18~68 岁;(5)预计生存期 ≥ 12 周;(6)ECOG 体力状态评分 0~2 分;(7)入组前 1 周内实验室检查 RBC、WBC、PLT、BUN、ALT、AST、PT、INR 均在正常范围;(8)患者自愿参加试验,并签署同意书。病例排除标准:(1)病理确诊不是非小细胞肺癌;(2)肿瘤侵及大血管、椎体,或肿瘤已广泛远处转移或锁骨上淋巴结转移;(3)肺部肿瘤为非肺组织来源;(4)严重凝血机制障碍或合并不宜手术的严重内科疾病;(5)3 个月内心肌梗死史或脑出血史;(6)急性感染期;(7)妊娠或哺乳期妇女;(8)患者依从性差,不能完成试验程序。

最终 151 例非小细胞肺癌有效病例按随机数字进行完全随机化,分为手术联合 rAd-p53(试验组)75 例,其中男性 51 例、女性 24 例、平均年龄 58.7 ± 9.6 岁;单纯手术治疗(对照组)76 例,其中男性 53 例、女性 23 例、平均年龄 60.4 ± 8.4 岁。本研究方案获得了大坪医院医学伦理委员会批准并在国际临床研究网站(ClinicalTrials.gov)上注册,注册号为 NCT01574729。所有入选者均在试验前签署知情同意书。

随机方法:受试者签署知情同意书后,由主要研究者/方案设计者指定筛选编号。项目统计人员将根据筛选编号用 SPSS 11.0 产生随机数字进行完全随机化,分为手术联合 rAd-p53 组(试验组)和单纯手术组(对照组)。满足入组条件的受试者随机分配到

相应组中。

1.2 研究方法与内容

本试验研究药物 rAd-p53(“今又生”注射液)购自深圳赛百诺公司,注射用水针剂,规格 1.0×10^{12} VP 病毒颗粒/1.5ml/支。

术前检查与准备:完整的病史和全面的体格检查,实验室检查,包括血常规、肝肾功能、凝血功能、肿瘤标志物等。胸部正侧位片,胸部 CT,必要时行 PET-CT 排除远处转移,ECT 排除骨转移。

手术操作:试验组入选者根据肺癌的外科治疗原则(最大限度地切净肿瘤,最大限度地保留健康的肺组织),选择单肺叶切除、双肺叶切除和肺门纵隔系统性淋巴结清扫,切除肿瘤后,冲洗胸腔,彻底止血,用 rAd-p53(约 4ml)进行肺门纵隔创面和胸腔内喷洒并留置,术后胸腔闭式引流管夹闭,使药物在胸腔留置时间 3h 以上。对照组手术切除肿瘤后,冲洗胸腔,彻底止血,不使用药物,放置胸腔引流管。

术后观察指标:(1)术后第 1、2、3d 胸引管引流量、引流总量、拔管时间;(2)术后不良反应包括发热、咳嗽、肺炎、胸腔感染等。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件。组间计量资料符合正态分布且方差齐性采用两组独立样本 t 检验,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布采用非参数秩和检验。计数资料采用 χ^2 检验,其中 $N > 40$ 且 $1 < T < 5$ 采用校正 χ^2 检验, $N < 40$ 或 $T < 1$ 采用 Fish 确切概率 χ^2 检验。根据 UICC2009,按肿瘤大小、淋巴结转移、远处转移情况,分为 3 个等级(TNM I 期、TNM II 期、TNM IIIa 期),采用非参数秩和检验。发热程度行非参数秩和检验。对术后 3d 胸腔引流管总量、胸腔总引流量、术中出血量、手术时间、拔管时间,依据手术方式进行分层分析和两独立样本 t 检验。检验效率 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 有效病例和基线情况

招募 180 例患者进行筛选。术前排除了 11 例,其中远处转移 9 例(脑转移 1 例、骨转移 4 例、肝转移 1 例、锁骨上淋巴结转移 2 例、多处转移 1 例)、术前已行化疗 2 例。169 例纳入分组,术后排除了 18 例,其中原发灶非肺来源 1 例;胸膜扩散 6 例;病理不是非

小细胞肺癌 9 例(小细胞肺癌 5 例、神经内分泌瘤 1 例、肉瘤 1 例、支气管黏膜瘤 1 例、硬化性血管瘤 1 例);未能完全切除肿瘤 2 例。最终 151 例有效病例进入统计分析。

两组患者在年龄、性别、吸烟史、病理类型、TNM 分期、腔镜和开放性手术比例差异无统计学意义($P>0.05$),说明两组间基线控制情况良好,组间具有可比性(Table 1)。

2.2 术后不良反应与并发症

试验组和对照组在转氨酶升高、尿素氮升高、肌酐升高、白细胞升高、血小板降低、心律失常等方面差异均无统计学意义($P>0.05$)。将体温 $37.4\sim 38^{\circ}\text{C}$ 、 $38.1\sim 39^{\circ}\text{C}$ 、 $39.1\sim 41^{\circ}\text{C}$ 和 41°C 以上分别定义为低热、中等度热、高热、超高热,试验组和对照组在发热程度上差异无统计学意义($P>0.05$)(Table 2)。

术后试验组出现肺不张 2 例、I 型呼吸衰竭 1 例、肺部感染 1 例、心律失常 4 例;对照组出现肺部感染 1 例、肺不张 1 例、ARDS 1 例、术后气胸 1 例。

双肺叶切除的手术时间、手术出血量、术后胸腔引流总量、术后拔管时间均大于单肺叶切除。但无论行单肺叶切除还是行肺双叶切除的病例,在手术时间、术中出血量、术后 3d 胸腔引流量、胸腔引流总量、拔除胸腔引流管时间等方面试验组和对照组间差异均无统计学意义($P>0.05$)(Table 3)。

3 讨 论

肺癌已成为恶性肿瘤死亡的重要原因之一。据 WHO 国际癌症中心统计资料显示:肺癌每年新增患者 120 万例,占恶性肿瘤新增患者总数的 17.8%^[11]。早中期 NSCLC 治疗原则仍是以手术为主的综合治

Table 1 Baseline charecteristics of patients with non-small cell lung cancer

Charecteristic	Experiment group	Control group	Statistic	P
Age(years)	58.7 ± 9.6	60.4 ± 8.4	$t=1.156$	0.249
Gender			$\chi^2=0.053$	0.818
Male	51(68.0%)	53(69.7%)		
Female	24(32.0%)	23(30.3%)		
Smoking			$\chi^2=0.009$	0.925
Smoker	43(57.3%)	43(56.6%)		
Never	32(42.7%)	33(43.4%)		
Pathology			$\chi^2=2.075$	0.150
Squamous cell carcinoma	29(38.7%)	21(27.6%)		
Adenocarcinoma	46(61.3%)	55(72.4%)		
TNM stage			$U=2694$	0.527
I a~ I b	33(44.0%)	37(48.7%)		
II a~ II b	29(38.7%)	28(36.8%)		
III a	13(17.3%)	11(14.5%)		
Surgical procedure			$\chi^2=6.178^a$	0.103
Video-assisted thoracoscopic surgery				
Lobectomy	48(64%)	34(44.7%)		
Bilobectomy	4(5.3%)	5(6.6%)		
With no video-assisted thoracoscopic surgery				
Lobectomy	20(26.7%)	34(44.7%)		
Bilobectomy	3(4%)	3(4%)		

Remark:the date of a was statistically analysed by Chi-square test of RxC table

Table 2 Adverse event of the postoperative patients

Adverse event	Experiment group	Control group	Statistic	P
Liver function				
AST ↑	7(9.3%)	7(9.2%)	0.001	0.979
ALT ↓	2(2.7%)	2(2.6%)	0.000 ^a	1.000
Renal function				
BUN ↑	4(5.3%)	0	b	0.058
Cr ↑	2(2.7%)	3(3.9%)	0.000 ^c	1.000
Arrhythmias	4(5.4%)	7(9.2%)	0.364 ^d	0.546
WBC ↑	36(48.0%)	43(56.6%)	1.114	0.291
Platelet ↓	3(4.0%)	3(3.9%)	0.000 ^e	1.000
Fever			$U=2641^f$	0.328
Nomal	51(68.0%)	56(73.7%)		
Low-grade fever	17(22.7%)	18(23.7%)		
Middle-grade fever	6(8.0%)	2(2.6%)		
Hyperpyrexia	1(1.3%)	0		

a,c,d,e:Chi-square test of continuity correction;b:Fisher's exact text;f:Nonparametric test.

疗,虽然外科医生努力最大限度地切净肿瘤,但即使是最早的 I a 期 NSCLC 也有部分病例术后出现复发或转移。rAd-p53 是我国研发的一种基因治疗药物,目前已在中国及多个国家用于恶性肿瘤治疗,并

Table 3 Analysis of operating time,bleeding,postoperative pleural drainage and continuous drainage time

Group	Pleural drainage in first 3 days postoperative (ml)	Postoperative pleural drainage(ml)	Continuous drainage time(d)	Operating time (min)	Bleeding (ml)
Lobectomy					
Experiment group	710.0 ± 316.8	1004.6 ± 539.1	5.3 ± 1.7	202.4 ± 51.7	172.2 ± 88.3
Control group	825.4 ± 325.3	1097.6 ± 476.6	5.0 ± 1.9	191.1 ± 50.8	168.6 ± 95.0
<i>t</i>	1.665	0.813	0.677	1.023	*
<i>P</i>	0.100	0.419	0.501	0.309	0.555
Bilobectomy					
Experiment group	873.3 ± 444.1	1070.6 ± 643.2	5.9 ± 1.6	253.2 ± 74.2	457.1 ± 338.4
Control group	1083.8 ± 339.0	1692.3 ± 802.6	7.1 ± 2.1	241.3 ± 42.8	306.2 ± 214.5
<i>t</i>	1.009	1.430	1.290	0.38	*
<i>P</i>	0.333	0.187	0.221	0.71	0.511

*:The date was statistically assessed with Nonparametric test

取得了较好的疗效。在经过伦理论证并征得患者同意的前提下,将外科手术与胸腔内留置 rAd-p53 联合用于 NSCLC,以期获得长期的疗效。本研究主要目的在于考察其围手术期的安全性。

临床前研究发现,在肺癌裸鼠模型瘤内注射 rAd-p53 后,外源 p53 基因和 p53 靶基因的 mRNA 水平在治疗后 1d 达到峰值,而后迅速下降^[12]。本研究发现,在 NSCLC 手术结束前一个简易的药物喷洒的操作不增加手术出血量,也未延长手术操作时间。胸腔内留置 rAd-p53 不增加非小细胞肺癌患者术后前 3d 胸引流量和术后胸引总量,证明胸膜腔留置 rAd-p53 对胸膜无明显的刺激作用,不增加术中术后并发症,临床安全性和可操作性好。

已有研究报道 rAd-p53 进入体内 3h 后开始表达 p53 基因,生成 p53 蛋白,第 3d 开始表达到高峰,第 5d 降至 30%^[13]。因此,我们采取术后夹闭胸腔引流管 3h 的方法来保证胸腔内留置 rAd-p53 在 3h 以上。这一措施使药物能在胸膜腔和瘤周被吸收,并有充分时间使 p53 基因表达,而且我们术中术后临床指标的观察均在 p53 高表达作用期,保证临床数据的可靠性。

国内四川大学华西医院采用 rAd-p53 支气管动脉灌注治疗肺癌患者,93.3%(14/15)患者得到缓解,1 例胸水减少,6 例出现发热(38~40℃),无严重毒副作用和并发症出现。我们采取胸腔内喷洒和留置 rAd-p53,药物作用定位在肿瘤周边组织,进入全身血液中的药物浓度较低,机体对药物的全身免疫反应轻微,发热发生率低。试验组发热率为 32%,低于采用支气管动脉灌注和瘤内注射 rAd-p53 的临床报

道^[13,14]。试验组部分病例使用 rAd-p53 后出现自限性发热,给予物理降温后,2d 内体温恢复正常,与官泳松等^[13]和 Toshiyoshi 等^[14]的报道一致。虽然手术后应激性低热反应可能对发热的结果有一定的影响,但是试验组中等度发热发生率高于对照组,中等度发热基本均在术后第 2~3d,与文献报道的 rAd-p53 进入机体第 3d 表达高峰,药物性发热温度在 38℃的结果相符^[13-16]。

本研究中白细胞升高、血小板降低、肝肾功能异常、心律失常等的发生可能与应用 rAd-p53 无关。白细胞升高、低热考虑为手术患者前 3d 对手术创伤的应激引起,一般于第 3d 开始回复正常。心律失常估计与手术的创伤大小,胸壁疼痛以及患者心脏基础疾病有关。

总之,本研究较详细观察了手术时间、术中出血量、术后胸腔引流量、并发症及副反应等围手术期指标,表明了手术联合胸腔内喷洒留置 rAd-p53 治疗 NSCLC 不增加手术风险,也无明显的毒副作用,是一种操作简单、安全可靠的治疗策略。但这一方法对 NSCLC 的远期疗效是否优于单纯手术治疗,还需进一步对受试者的无疾病进展生存率、远期生存率等进行长期观察研究。

参考文献:

- [1] Gu J,Zhang L,Swisher SG,et al. Induction of p53-regulated genes in lung cancer cells;implications of the mechanism for adenoviral p53-mediated apoptosis [J]. *Oncogene*,2004,23(6):1300-1307.
- [2] Swisher SG,Roth JA,Nemunaitis J,et al. Adenovirus-me-

- diated p53 gene transfer in advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 1999, 91(9): 763-771.
- [3] Tazawa H, Kagawa S, Fujiwara T. Advances in adenovirus-mediated p53 cancer gene therapy [J]. Expert Opin Biol Ther, 2013, 13(11): 1569-1583.
- [4] Li Y, Li B. Key points of basic theories and clinical practice in rAd-p53 (Gendicine™) gene therapy for solid malignant tumors[J]. Expert Opin Biol Ther, 2015, 15(3): 437-454.
- [5] Sheng S, Zheng J, Cui S, et al. Complete remission of multiple lung metastases after ablation of hepatocellular carcinoma by transarterial infusion with the p53 gene[J]. Anticancer Drugs, 2015, 26(2): 227-231.
- [6] Jing GH, Yang K. Experimental study of laryngeal squamous cell carcinoma by p53 gene therapy combined with chemotherapy [J]. China Modern Medicine, 2010, 17(4): 14-15.[敬光怀, 杨凯. p53 基因联合化疗治疗喉鳞癌的实验研究[J]. 中国当代医药, 2010, 17(4): 14-15.]
- [7] Gong XH, Zhu ZB. Treatment of advanced hepatocellular carcinoma with ultra sound-guided intratumoral injection of recombinant adenovirus p53 agent [J]. Acta Medicinæ Universitatis Scientiæ Technologiæ Huazhong, 2008, 37(4): 499-505.[贡雪灏, 朱志兵. 超声引导下瘤体内注射重组人 p53 腺病毒治疗晚期肝癌[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2008, 37(4): 499-505.]
- [8] Cai SH, Qi XD. Influence of ER expression by Ad-p53 processing in breast cancer[J]. Chinese Journal of Current Advances in General Surgery, 2013, 16(9): 683-685.[蔡绍海, 戚晓东. Ad-p53 对乳腺癌细胞雌激素受体表达的影响[J]. 中国现代普通外科进展, 2013, 16(9): 683-685.]
- [9] Li Y, Li LJ, Wang LJ, et al. Selective intra-arterial infusion of rAd-p53 with chemotherapy for advanced oral cancer; a randomized clinical trial[J]. BMC Med, 2014, 12: 16.
- [10] Qi X, Chang Z, Song J, et al. Adenovirus-mediated p53 gene therapy reverses resistance of breast cancer cells to adriamycin[J]. Anticancer Drugs, 2011, 22(6): 556-562.
- [11] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62: 10-29.
- [12] Ohtani S, Kagawa S, Tango Y, et al. Quantitative analysis of p53-targeted gene expression and visualization of p53 transcriptional activity following intratumoral administration of adenoviral p53 in vivo[J]. Mol Cancer Ther, 2004, 3(1): 93-100.
- [13] Guan YS, Liu Y, He Q, et al. p53 gene(Gendicine) therapy combining with bronchial artery infusion for treatment of lung cancer, short-time follow-up in 15 cases[J]. Chin J Interv Imaging Ther, 2005, 2(6): 405-408.[官泳松, 刘源, 贺庆, 等. p53 基因(今又生)联合支气管动脉化疗治疗肺癌 15 例疗效观察 [J]. 中国介入影像与治疗学, 2005, 2(6): 405-408.]
- [14] Fujiwara T, Tanaka N, Kanazawa S, et al. Multicenter phase I study of repeated intratumoral delivery of adenoviral p53 in patients with advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(11): 1689-1699.
- [15] Ying NC, Wang XD, Liu W, et al. Efficacy observation on recombinant human ad-p53 injection combined with cisplatin for malignant pleural effusion of non-small-cell lung cancer with intracavitary administration [J]. China Pharmacy, 2010, (12): 1120-1122.[殷南昌, 王晓东, 刘维, 等. 重组人 p53 腺病毒联合顺铂治疗 NSCLC 合并恶性胸腔积液的疗效观察[J]. 中国药房, 2010, (12): 1120-1122.]
- [16] Cheng P, Hu ZH, Hu YD, et al. Effects of recombinant adenovirus p53 injection on malignant pleural effusion [J]. Medical Journal of West China, 2010, 22(4): 635-636.[陈萍, 胡中华, 胡义德, 等. 重组 p53 基因腺病毒注射液胸腔灌注治疗恶性胸水的临床疗效观察 [J]. 西部医学, 2010, 22(4): 635-636.]