

肝纤维化 4 项在原发性肝癌放疗前后变化的意义

高世乐 胡宗涛 董六一 周俊平 朱捷 费振乐 卢东徽 刘阳

摘要 目的 回顾性分析笔者医院 72 例原发性肝癌患者放疗前后肝纤维化 4 项指标的变化,探讨其与放射性肝损伤的演变关系。**方法** 检测原发性肝癌患者放疗前 1 天、放疗后 2、4、8、12、26 周血清中 HA、LN、PCⅢ、CⅣ、AST、ALT、ALP、 γ -GT、TBIL 水平以及肝脏 CT 的动态变化。**结果** 放疗至第 2 周,部分患者血清肝纤维化 4 项水平开始升高,至第 12 周达峰值,第 26 周末再持续上升,且与转氨酶水平相比呈正相关,放疗后各时期测得指标同放疗前 1 天相比,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 肝纤维化 4 项可作为放射性肝损伤的判定指标,尤其是早期肝纤维化的预测,为早期治疗提供实验室依据。

关键词 肝纤维化 4 项 转氨酶 原发性肝癌 放射性肝损伤 肝纤维化

中图分类号 R735

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.11.037

The Significance of Four Liver Fibrosis in Primary Liver Cancer Before or after Radiotherapy. Gao Shile, Hu Zongtao, Dong Liuyi, et al. The Third Tumor Section, 105th Hospital of Chinese PLA, Anhui 230031, China

Abstract Objective Retrospectively analysis the changes of four hepatic fibrosis indexes before and after radiotherapy in 72 cases primary liver cancer in our hospital, to investigate the relationship between the changes of liver injury and radiation induced liver injury. **Methods** We detected the dynamic changes in serum HA, LN, PCⅢ, CⅣ, AST, ALT, ALP, γ -GT, TBIL and CT in liver before radiotherapy 1 day and after radiotherapy on 2, 4, 8, 12, 26 weeks about primary liver cancer patients. **Results** Some patients with serum liver fibrosis four levels began to rise after Radiotherapy 2 weeks, reach the peak on 12 weeks, continue to rise on 26 weeks, which had a positive correlation with the level of aminotransferase. compared with the 1 day before radiotherapy, the indexes after radiotherapy were $P < 0.05$ or $P < 0.01$, had statistical significance. **Conclusion** Four items of liver fibrosis can be used as a criterion for the determination of radiation induced liver injury, especially in the prediction of early liver fibrosis which, provides laboratory evidence for early treatment.

Key words Four hepatic fibrosis; Transaminase; Primary liver cancer; Radioactive liver injury; Hepatic fibrosis

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是我国常见恶性肿瘤之一,发病人数约占全球发病人数的 55%,治疗上可有手术、放疗、全身化疗、肝动脉介入栓塞术、射频消融治疗、靶向药物治疗、无水乙醇注射等手段^[1]。由于其发病隐匿,多数患者就诊时已属中晚期,只有 10%~30% 患者具备手术指征;无水乙醇注射及射频消融治疗仅适用于肝脏癌灶 < 3cm;肝动脉介入栓塞术仅适用于没有门脉癌栓患者,且治疗后易复发;全身化疗有效率较低;靶向药物治疗费用昂贵且需联合局部治疗。近年来三维适形放疗(three-dimensional conformal radiation therapy, 3-DCRT)的出现成为中晚期原发性肝癌患者新的治疗途径,其利用先进的影像和计算机技术,可以使肝癌靶区达到高剂量水平,周边正常组织受量较低,因此

3-DCRT 的开展,在中晚期肝癌患者的治疗上起着越来越重要的地位^[2,3]。但是肝脏在受到放射线照射时会发生一系列生理、病理变化,产生急性放射性肝损伤(acute radiation induced liver injury, ARILI)乃至放射性肝纤维化(hepatic radiation fibrosis, HRF)。

肝纤维化形成是各种慢性肝病形成的共同病理过程,其胶原合成与沉积大于降解和吸收,肝内胶原纤维逐渐形成肝纤维化;轻者无明显临床症状,重者肝功能异常、肝区疼痛、黄疸、腹腔积液甚至肝衰竭、死亡,放射性肝纤维化重在预防,早期诊断、早期治疗、肝脏穿刺虽为诊断肝纤维化的金标准,但因其创伤较大,无法常规操作^[4]。因此如何早期诊断急性放射性肝损伤,是肿瘤放疗科医生关注和研究的热点。肝纤维化形成时可由肝星状细胞产生透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)、Ⅲ型前胶原(procollagen type Ⅲ, PCⅢ)、Ⅳ型胶原(collagen Ⅳ, CⅣ)等多种物质,称为肝纤维化 4 项,可反映肝脏受损伤程度^[5]。现将笔者医院 2010 年 9 月~

作者单位:230031 合肥,中国人民解放军第 105 医院肿瘤三科(高世乐、胡宗涛、周俊平、朱捷、费振乐、卢东徽、刘阳);230032 合肥,安徽医科大学药理学教研室(董六一)

通讯作者:胡宗涛,电子信箱:huxuyan@163.com

2015年8月确诊的原发性肝癌患者放疗期间肝纤维化4项指标动态变化归纳分析总结,揭示其与肝功能等指标变化规律,现报道如下。

资料与方法

1. 一般资料:收集中国人民解放军第105医院2010年9月~2015年8月确诊为原发性肝癌的患者72例,其中男性44例,女性28例,患者平均年龄 45.6 ± 16.7 岁,肿瘤最大直径 $1.4 \sim 12.6$ cm,入组标准^[6]:①经临床症状、体征、血清AFP检查、影像学检查或肝脏病灶穿刺病理学检查证实为原发性肝癌;②KPS评分 ≥ 70 分;③无手术指征或拒绝手术治疗患者;④放疗期间未接受其他抗肿瘤治疗;⑤无其他部位远处转移或胸腔积液者;⑥Child-Pugh肝功能评价为A级或B级;⑦预期生存期 ≥ 26 周者;⑧无放疗治疗禁忌证;⑨治疗期间无肿瘤进展者。

2. 检测试剂与药物:HA、LN、PCⅢ、CⅣ试剂盒(上海亚培生物科技有限公司);AST、ALT、ALP、 γ -GT、TBIL试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

3. 主要仪器设备:美国VARIN 21-EX直线加速器;美国瓦里安医疗器械公司;SPECTRA MAX 190型酶标仪;美国Molecular Devices公司;全自动化学发光仪:DXI800。

4. 放射治疗方法:(1)定位扫描:所有患者均采用三维适形放疗,水解塑料体模或真空体模垫固定,放疗前CT下碘海醇注射液增强扫描(3ml/kg),扫描范围自气管隆突平面下至右肾下极,扫描层厚3mm,将定位CT图像传输至三维计划设计系统。(2)靶区勾画:由临床医师勾画靶区,肿瘤靶区(gross tumor volume, GTV)为影像学上可见的大体肿瘤体积,临床靶区(clinical target volume, CTV)为GTV外放 $0.5 \sim 1.0$ cm,计划靶体积(planning target volume, PTV)在

CTV外放 0.8cm 。(3)放疗分割剂量:4000~6000cGy/20~30F/4~6周。

5. 指标测定:放疗前第1天,放疗后第2、4、8、12、26周末晨6点采集空腹静脉血10ml,2500r/min×10min离心,收集上清液,实时荧光定量PCR法检测患者血清HA、LN、PCⅢ、CⅣ,酶联免疫法检测谷草转氨酶(all aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl-transferase, γ -GT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)等以及肝脏CT等指标。

6. 放射性肝损伤判定^[7,8]:①既往接受过肝脏放疗;②影像学检查:腹部超声或腹部CT排除肿瘤进展,腹部CT表现为照射区域一致的低密度改变;③实验室检查:典型的转氨酶异常升高;④临床表现:伴或不伴短期内迅速出现大量腹腔积液或肝脏肿大。

7. 统计学方法:所有数据运用SPSS 11.5统计学软件进行统计分析,数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验进行比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况:所有患者均顺利完成既定剂量放疗,随着照射剂量增加,逐渐出现食欲下降、精神萎靡、睡眠质量下降、肝区胀痛明显、体重减轻,KPS评分下降;给予改善食欲、营养支持、心理护理等处理后,以上各项放疗期间不良反应均可耐受。

2. 不同时期血清HA、LN、PCⅢ、CⅣ测得值变化:患者放疗期间血清HA、LN、PCⅢ、CⅣ指标自第2周开始较放疗前不同程度升高,随照射剂量增加至第12周达高峰,此后至第26周,肝纤维化4项指标未见明显改变($P < 0.05$, $P < 0.01$),见表1。

表1 不同时期血清HA、LN、PCⅢ、CⅣ浓度变化($\bar{x} \pm s$, $n=72$)

时间	HA (ng/ml)	LN (ng/ml)	PCⅢ (ng/ml)	CⅣ (ng/ml)
放疗前1天	113.6 ± 12.5	130.2 ± 21.8	12.2 ± 2.5	8.6 ± 2.5
放疗后2周	$130.6 \pm 16.4^*$	134.2 ± 22.5	14.2 ± 2.9	10.5 ± 2.9
放疗后4周	$134.8 \pm 45.1^*$	$167.5 \pm 24.5^*$	13.8 ± 2.3	10.1 ± 3.6
放疗后8周	$172.6 \pm 30.6^{**}$	$160.8 \pm 37.6^*$	$16.8 \pm 3.4^*$	$12.8 \pm 4.4^*$
放疗后12周	$201.6 \pm 44.3^{**}$	$208.5 \pm 53.2^{**}$	$17.5 \pm 4.6^*$	$21.5 \pm 4.6^{**}$
放疗后26周	$210.5 \pm 42.6^{**}$	$203.2 \pm 49.0^{**}$	$18.3 \pm 4.8^*$	$20.3 \pm 4.8^{**}$

与放疗前1天比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3. 不同时期血清AST、ALT、ALP、 γ -GT、TBIL变化:所有患者放疗期间血清AST、ALT、ALP、 γ -GT、

TBIL指标较放疗前不同程度升高,其中AST同放疗前1天相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。AST、

ALT、 γ -GT、TBIL 4 项指标于第 4 周升高明显,差异有统计学意义($P < 0.05$);ALP 指标亦有变化,差异无统计学意义($P > 0.05$);至第 12 周,所有反应肝功

能损伤指标均明显异常升高($P < 0.05$);放疗后 26 周,反应肝功能相关指标进一步升高,但变化不显著,详见表 2。

表 2 不同时期血清 AST、ALT、ALP、 γ -GT、TBIL 浓度变化 ($\bar{x} \pm s, n = 72$)

时间	AST(U/L)	ALT(U/L)	ALP(U/L)	γ -GT(U/L)	TBIL(μ mol/L)
放疗前 1 天	35.5 $\pm$ 5.8	41.5 $\pm$ 5.7	28.2 $\pm$ 5.3	10.5 $\pm$ 1.8	16.2 $\pm$ 3.8
放疗后 2 周	50.5 $\pm$ 6.5 *	46.6 $\pm$ 3.7	29.3 $\pm$ 5.5	11.2 $\pm$ 1.9	18.2 $\pm$ 3.9
放疗后 4 周	65.0 $\pm$ 9.4 **	57.2 $\pm$ 5.6 *	30.2 $\pm$ 4.4	14.8 $\pm$ 1.7 *	22.6 $\pm$ 4.1 *
放疗后 8 周	79.6 $\pm$ 8.9 **	78.5 $\pm$ 7.8 **	39.5 $\pm$ 6.1 *	15.9 $\pm$ 2.5 *	25.3 $\pm$ 4.8 **
放疗后 12 周	90.6 $\pm$ 10.5 **	80.7 $\pm$ 18.4 **	51.6 $\pm$ 6.3 **	18.6 $\pm$ 2.6 **	30.4 $\pm$ 4.5 **
放疗后 26 周	108.2 $\pm$ 18.5 **	98.5 $\pm$ 17.2 **	62.1 $\pm$ 2.7 **	20.1 $\pm$ 3.2 **	31.2 $\pm$ 4.6 **

与放疗前 1 天比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4. 放疗前及放疗后不同时间肝脏 CT 检查:放疗前肝脏增强 CT 可见肝内类圆形低密度灶为肝脏转移瘤,病灶边界较清,边缘环形强化;放疗后 4 周示肝脏转移瘤密度较前变低,直径未见明显改变;放疗后

12 周示肝脏转移瘤直径较前明显缩小,放疗周边低密度灶改变为早期放射性肝纤维化;放疗后 26 周肝纤维化病灶范围较前未见明显改变,详见图 1。

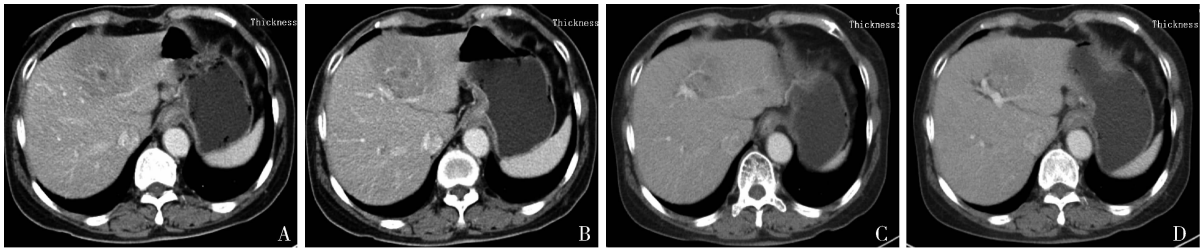


图 1 放疗前后肝脏 CT 变化

A. 疗前肝脏 CT; B. 放疗后 4 周肝脏 CT; C. 放疗后 12 周肝脏 CT; D. 放疗后 26 周肝脏 CT

讨 论

原发性肝癌主要表现为肝脏进行性肿大、腹痛、腹胀、腹腔积液、黄疸、食欲不振、消瘦、肝功能损伤等表现,治疗上多数确诊时即为中晚期,无法手术,进展快,对其治疗一直是国内外同行研究热点,但收效甚微^[9]。

近年来多项研究表明,肝脏属于放射敏感器官,其放射敏感度与低分化鳞癌相似,对放疗的敏感度仅次于骨髓、淋巴组织和肾脏,放射根治剂量为 6000cGy,通过合理设野,使高剂量区空间分布与临床病变靶区一致,但是仍然不能避免正常肝组织损伤,其放疗主要不良反应为肝细胞损伤,当全肝照射大于 4000cGy 时,可引起放射性肝损伤^[1,10,11]。放射性肝损伤包括急性放射性肝炎、放射性肝纤维化,是肝癌放疗的严重并发症,其影响因素包括肝功能分级、肿瘤体积、放疗总剂量、单次分割剂量、有无 HBV 表达阳性等指标。放射治疗在控制肿瘤生长的同时,也会

带来相应区域的放疗毒性不良反应,如何有效减轻放疗毒性不良反应,是临床医生一直以来探索的热点。有动物试验表明,急性放射性肝炎可发生在放疗后 2 周,早期肝纤维化可发生在放疗后第 12 周,一旦发生放射性肝纤维化,病死率极高,故对此类患者应在围放疗期早期诊断,早期治疗^[12]。

放射性肝纤维化是慢性肝炎向肝硬化发生过程的必经阶段,其病理过程为细胞外基质大量形成并沉积在肝脏内。如何防治放射性肝纤维化,首先需研究肝细胞外基质在放疗期间与肝纤维化之间的变化规律,胡宗涛等^[13]前期已通过大量动物试验研究表明,肝纤维化 4 项 HA、LN、PCⅢ、CⅣ可作为大鼠放射性肝纤维化指标。血清 HA、LN、PCⅢ、CⅣ变化已被临床广泛作为人慢性乙型肝炎、肝纤维化、肝硬化发展过程判定指标,那么在原发性肝癌患者放射性肝纤维化发生时是否同样适用,目前临床研究较少。

肝纤维化 4 项每一种指标有其不同特点,HA 是

一种大分子葡萄胺多糖,属蛋白多糖,由间质细胞合成、分泌,可作为肝纤维化的血清学标志物,对肝纤维化的早期诊断最为敏感^[14]。LN 是细胞基膜的非胶原结构的粘连蛋白,是基膜的特有成分,是肝纤维化形成时 ECM 的主要成分,血清浓度与肝纤维化程度相关,可作为肝纤维化早期变化的敏感指标,与肝纤维化程度呈正相关^[15]。

PCⅢ是 ECM 结缔组织代谢产生的主要胶原蛋白,在肝细胞外合成后释放入血,可反应肝脏Ⅲ型胶原合成和分泌情况,在肝纤维化早期时合成增多,可反应Ⅲ型胶原代谢及肝纤维化情况,可作为肝纤维化分级指标,其血清学水平是早期肝纤维化的敏感指标^[16]。CⅣ为构成基膜主要成分,反应基膜胶原更新率,含量最高可反映肝纤维化过程,是肝纤维化早期标志之一,也可反映肝纤维化程度^[17]。除血液学变化外,笔者还动态随访了患者放疗前后肝脏 CT 形态学变化,肝脏 CT 成像可反映肝炎、肝纤维化、肝硬化在不同阶段肝脏的血流灌注变化特点,有助于进一步鉴别及治疗后病情随访^[18]。

本研究通过统计分析发现,放疗患者血清中 HA、LN、PCⅢ、CⅣ各组指标检测结果,除 PCⅢ、CⅣ在第 4 周以及 LN 在第 8 周较前一阶段略有下降外,肝纤维化 4 项相关指标总体趋势自第 2 周开始随着放疗剂量增加逐渐升高,第 12~26 周变化趋势不明显,说明肝纤维化 4 项可作为放射性肝纤维化患者早期预测指标。其肝功能指标 AST、ALT、ALP、 γ -GT、TBIL 随着放疗后时间延续亦呈升高趋势,由此不难看出,肝纤维化 4 项、肝功能损伤程度、肝纤维化进展呈正相关。通过动态观察肝纤维化 4 项指标及肝脏 CT 检查可以得出,肝脏病灶放疗后第 12 周发生早期放射性肝纤维化,持续至第 26 周,且血清学检验与影像学检查结果变化趋势基本一致,为临床无创诊断提供重要依据。

通过以上数据得出,在原发性肝癌患者放疗期间,检测血清肝纤维化 4 项指标,可早期发现急性放射性肝炎及放射性肝纤维化的发生,为临床有效防治争取早日诊断,值得运用推广。但是血清学检测肝纤维化 4 项,对确定肝纤维化程度缺乏特异性和敏感度,仍不能替代肝脏穿刺活检病理检查,因活检为有创检查,患者接受程度低,不适宜进行重复和随诊,能否联合其他无创检查,进一步提高敏感度和特异性以及如何防治人放射性肝纤维化是今后研究的方向^[19]。

参考文献

- 1 张江洲. 肝癌放疗的应用进展[J]. 实用癌症杂志, 2013, 28(2): 215-217
- 2 陶振超, 邱峻, 钱丽庭, 等. rAd-p53 对人肝癌细胞放射敏感性影响的实验研究[J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(4): 396-399
- 3 Whang-Peng J, Cheng AL, Hsu C, et al. Clinical development and future direction for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. J Exp Clin Med, 2010, 2(3): 93-103
- 4 赵增虎, 刘俊堂, 范青建. 放射性肝损伤诊断与中西医结合治疗进展[J]. 中西医结合肝病杂志, 2011, 21(4): 251-254
- 5 王牡丹, 曹海军, 李善高, 等. 川穹嗪注射液治疗酒精性肝纤维化的临床疗效及安全性评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(9): 778-780
- 6 李松蔚, 王家平, 闫东, 等. 多西紫杉醇与碘油混合栓塞联合伽玛刀治疗原发性肝癌的疗效[J]. 放射学实践, 2012, 27(12): 1378-1381
- 7 黄伟, 卢彦达, 张伟, 等. 原发性肝癌精确放疗致乙型肝炎病毒再激活分析[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2013, 22(3): 193-197
- 8 董天明, 安宁豫. 放射性肝损伤影像学研究现状[J]. 中国医学科学院学报, 2013, 35(6): 694-697
- 9 田慧, 和振坤, 徐庆杰, 等. TACE 联合放疗治疗原发性肝癌的疗效及对生存质量的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(20): 4987-4989
- 10 凌志海, 孙权权, 张耀伟, 等. 吉西他滨增强肝癌 HepG2 细胞体外辐射敏感性的机制研究[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(12): 1993-1996
- 11 张孔志, 余文昌, 陈示志, 等. TACE 联合放疗对原发性肝癌合并门静脉癌栓患者生存的影响[J]. 中国临床肿瘤, 2012, 39(1): 35-37
- 12 高世乐, 董六一, 秦峰, 等. 芍药苷对大鼠急性放射性肝损伤的保护作用[J]. 国际中医中药杂志, 2014, 36(9): 812-815
- 13 胡宗涛, 高世乐, 秦峰, 等. 芍药苷对大鼠放射性肝纤维化的保护作用 and 机制研究[J]. 解放军药科学学报, 2012, 28(4): 283-288
- 14 Latella G, Vetuschi A, Sferla R, et al. Targeted disruption of Smad3 confers resistance to the development of dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in mice[J]. Liver Int, 2009(7): 997-1009
- 15 梅琪, 虞梅, 张菁, 等. ARFI 技术与血清铁、铁蛋白和肝纤维化四项检测在肝纤维化诊断中的相关性[J]. 东南国防医药, 2014, 10(3): 241-243
- 16 Yan XH, Liu ZY, Chen YG. Regulation of TGF- β signaling by Smad7[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2009, 41(4): 263-272
- 17 杜阳春, 廖新红, 杨红, 等. 肝脏适时组织弹性成像评分与肝纤维化四项指标相关性的探讨[J]. 广西医学, 2012, 34(2): 148-150
- 18 栗周海. 多排螺旋 CT 灌注成像对肝炎、肝纤维化和早期肝硬化诊断的应用价值[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(17): 4166-4167
- 19 梅琪, 张菁, 倪娟, 等. 声脉冲辐射力成像技术联用肝纤维化四项及血清铁测定在肝硬化诊断中的价值[J]. 海军医学杂志, 2014, 35(3): 215-217

(收稿日期: 2016-12-25)

(修回日期: 2017-02-02)