

肝癌的 药物靶向治疗

GANAI DE YAOWU BAXIANG ZHILIAO

主编 秦建民 李 琦 朱惠蓉



郑州大学出版社

肝癌的

药物靶向治疗

GANAI DE YAOWU BAXIANG ZHILIAO

主编 秦建民 李琦 朱惠蓉



郑州大学出版社

郑州

图书在版编目(CIP)数据

肝癌的药物靶向治疗/秦建民,李琦,朱惠蓉主编. —郑州:郑州
大学出版社,2015.6

ISBN 978-7-5645-2126-4

I. ①肝… II. ①秦…②李…③朱… III. ①肝癌-抗癌药-投药法
IV. ①R735.705

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 114089 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人:张功员

全国新华书店经销

河南龙华印务有限公司印制

开本:787 mm×1 092 mm 1/16

印张:21.75

字数:504 千字

版次:2015 年 6 月第 1 版

邮政编码:450052

发行电话:0371-66966070

印次:2015 年 6 月第 1 次印刷

书号:ISBN 978-7-5645-2126-4

定价:68.00 元

本书如有印装质量问题,由本社负责调换

作者名单

主 编 秦建民 李 琦 朱惠蓉

副主编 (以姓氏笔画排序)

王 炎 任建琳 罗运权

侯凤刚 盛 霞 韩克起

编 委 (以姓氏笔画排序)

叶乃菁 刘 宣 刘宁宁 吴 琼 宋大迁

陈红宇 武 清 季 青 周利红 胡 强

黄 涛 隋 华 靳宝辉

我国约 10% 的人群是乙肝病毒携带者,慢性肝炎迁延不愈易致肝硬化,部分患者最终发生肝癌。目前,我国每年至少有 11 万人死于原发性肝癌,约占世界肝癌年死亡人数的 45%。肝癌已成为严重威胁国人健康的重大疾病。近年来,虽然肝癌的早期检出率有所提高,但由于肝癌易发生早期肝内转移,且 80% ~ 90% 以上的合并肝硬化,致使大部分患者确诊时已失去手术机会。肝癌的早期发现和早期切除技术显著提高了肝癌患者的生存期,但肝癌根治手术后 5 年复发率仍高达 50% 左右。因此,探索不能手术切除和术后复发肝癌的有效治疗方法是目前该领域研究的重要任务。

中医药是中华民族的宝贵财富,早在 3500 多年前的殷周时期已有“瘤”的记载,我国现存最早的《黄帝内经》对肿瘤的发病和治疗已有明确的认识。中药是祖国医学的重要组成部分,“神农尝百草,始有医药”。明朝李时珍著的《本草纲目》中已记载中药 1892 种。在我国目前中医药已成为肝癌综合治疗的重要手段之一,整体观念和辨证施治是其内在的优势。临床实践证明,中医药具有提高肝癌患者的生活质量,在一定程度上延长肝癌患者生存期的作用。但传统的中药口服及静脉注脉等给药途径对瘤体本身的针对性较差,致使中医药在肝癌治疗中的疗效降低。

随着现代药剂学及材料学不断发展,靶向给药系统在肝癌治疗中的应用代表了一个新的发展方向,提高了药物在肿瘤局部的作用浓度和时间。中药靶向给药系统除具有一般靶向药物的优势外,尚有低毒的特色,并可能解决长期以来中药经口服或静脉注脉等途径给药后难以在肿瘤局部达到有效抗癌药物浓度的难题。

针对广大医学、药学、材料学等科研工作者的需求,应第二军医大学出版社之邀,编者在近年来承担国家自然科学基金、上海市自然科学基金、上海市中药现代化纳米专项基金、上海市教委基金等中药靶向制剂治疗肝癌的实验和临床研究的基础上,结合国内外最新的研究进展,撰写了《肝癌的中药靶向治疗》一书。该书较为全面地介绍了靶向给药系统的现代研究成果,尤其重点论述了中药纳米、微球等常用靶向给药系统在肝癌治疗中的应用和研究进展,以及存在的问题和前景。该书将进一步丰富肝癌治疗的研究内容,也是人类与肝癌斗争征程中奋斗足迹的具体体现。

限于编写时间仓促,书中难免有疏漏和不足之处,敬请读者不吝指正。

编者

2011 年 3 月 28 日

于上海中医药大学附属普陀医院

再版前言

肝癌是临床上常见的恶性肿瘤,我国每年至少有 11 万人死于原发性肝癌,约占世界肝癌年死亡人数的 45%。肝癌已成为严重威胁国人健康的重大疾病。手术切除是治疗肝癌的首选方法,但由于肝癌易发生早期肝内转移,且 85% 的患者合并肝硬化,致使大部分患者确诊时已失去手术机会,术后 5 年的复发转移率高达 50% 左右。因此,对于不能手术切除和术后复发转移的肝癌患者,控制肿瘤生长、改善生活质量、延长生存期是治疗的首要任务。

在肝癌的综合治疗中,常规的药物治疗具有针对瘤体本身的特异性差、全身毒性不良反应强等临床难题。随着现代药剂学、材料学、分子生物学等不断发展,对瘤体具有靶向识别的给药系统用于肝癌的治疗,代表了一个新的发展方向。靶向给药具有靶向肿瘤组织或细胞性,可降低全身毒性,提高药物在肿瘤局部的浓度和作用时间等优势,并可能解决长期以来抗癌药物口服或静脉注射等途径给药后难以在肿瘤局部达到有效抗癌药物浓度的难题,成为肝癌综合治疗的重要手段之一。

十余年来,我们在国家中医药管理局重点学科基金、国家自然科学基金、上海市自然科学基金、上海市中药现代化纳米专项基金、上海市教委基金等科技研究项目支持下成功研制多种肿瘤靶向制剂,并通过肝癌靶向给药系统的实验和临床研究,完成了一系列肝癌靶向药物的制备、药效、安全性及应用等工作。2011 年,我们出版了《肝癌的中药靶向治疗》,受到了学术界的好评。针对广大医学、药学、材料学等临床与科研工作者的需求,在第一版的基础上,结合国内外最新的研究进展和我们最近的研究工作,充实更新内容并增加了靶向给药系统的新近研究成果编写成这本《肝癌的药物靶向治疗》。

该书较为全面地介绍了靶向给药系统的现代研究方法、研究成果和发展趋势,尤其重点论述了纳米药物和药物微球、分子靶向药物等常用靶向给药系统在肝癌治疗中的应用和研究进展,以及存在的问题和前景。我们相信该书将进一步丰富肝癌治疗的研究内容,并将成为从事肝癌临床与基础及相关交叉学科工作者很好的参考书。

编者

2014 年 5 月

目录

绪论	1
第一章 肝癌靶向治疗的生物基础	3
第一节 肝癌发生的分子机制	3
第二节 肝癌的生物学特性	6
第三节 肝癌的治疗现状	10
第二章 靶向给药系统	27
第一节 靶向药物分类	27
第二节 靶向给药的原理	30
第三节 影响器官靶向性的因素	31
第四节 靶向性检测的方法	32
第五节 抗肿瘤靶向给药系统	43
第三章 药物微球	53
第一节 微球的作用特点	53
第二节 微球的制备材料	55
第三节 微球的制备方法及其影响因素	59
第四节 微球的理化性质与质量评价	62
第五节 微球的体内过程	67
第六节 药物微球在肝癌治疗中的应用	71
第四章 纳米药物	86
第一节 纳米药物的作用特点	86
第二节 纳米药物的制备材料	87
第三节 纳米药物的制备方法及其影响因素	92
第四节 纳米药物的理化性质与质量评价	95
第五节 纳米药物的体内过程	101
第六节 纳米药物在肝癌治疗中的应用	104
第五章 生物免疫靶向药物	114
第一节 生物免疫靶向药物作用特点	114
第二节 生物免疫靶向药物的制备方法及其影响因素	116
第三节 治疗肝癌的生物免疫靶向药物	120

第六章 分子靶向药物	124
第一节 分子靶向药物的作用特点	124
第二节 影响分子靶向药物疗效的因素	126
第三节 治疗肝癌的分子靶向药物	128
第七章 肝癌靶向治疗的药效学研究方法	138
第一节 体外药效学研究方法	138
第二节 体内药效学研究方法	140
第三节 给药途径	144
第四节 疗效评价	147
第八章 毒理实验与安全性评价	152
第一节 急性毒性试验	152
第二节 长期毒性试验	162
第三节 特殊毒性试验	169
第四节 安全性评价试验	178
第九章 靶向药物治疗肝癌的系列研究	184
第一节 丹参酮ⅡA 微球的研究	184
第二节 去甲斑蝥素微球的研究	232
第三节 丹参酮ⅡA 纳米粒的研究	260
第四节 马钱子碱免疫纳米粒的研究	292
第五节 索拉菲尼纳米微粒的研究	328
第十章 靶向药物在肝癌治疗中的应用前景	335
第一节 靶向药物治疗肝癌的优势与存在的问题	335
第二节 靶向药物治疗肝癌的发展前景	336

绪 论

大多数常用药物相对分子质量低,在体内容易扩散,导致相对平均的组织分布,缺乏选择性,特别是抗肿瘤药物缺乏对肿瘤细胞的特异性。常规治疗剂量即会对正常组织器官产生显著的毒性不良反应,在杀伤肿瘤细胞的同时,也影响正常细胞。近年来开展的靶向药物研究,是将具有一定疗效的药物与合适的载体经化学方法结合为靶向药物,根据机体某些生理功能的特性,有选择性地药物传递到治疗部位,特别是对某些毒性不良反应较大的抗肿瘤药物,靶向药物的应用显得尤为重要。1906年,Enrich首先提出靶向给药的概念,将药物选择性分布于病变部位以降低其对正常组织的毒性不良反应,并使病变组织的药物浓度增大,从而提高药物生物利用度。20世纪60年代,欧美药物学家首先提出了一种新的理念——给药系统(drug delivery system, DDS),给药量少、作用大、毒不良反应小。20世纪70年代,靶向给药系统(targeting drug delivery system, TDDS)诞生。这是一种新的制剂技术和工艺,是DDS理念的具体体现,将药物通过局部或全身血液循环而浓集定位于靶组织、靶器官、靶细胞的给药系统。靶向制剂与普通制剂和缓控释制剂相比,具有以下特点:①靶向性,使药物集中于靶区;②减少用药剂量;③提高疗效;④减少药物的毒性不良反应。靶向药物的最显著特点是:能将药物最大限度地运送到靶区,使药物在靶区浓集,直接作用于病变组织、器官和细胞,延长药物与靶部位的作用时间,使到达需药部位的药量增加,从而减少用药量、药物的毒性不良反应,达到高效、低毒的治疗效果。

肝癌居全球恶性肿瘤发病率第5位、死因第3位,在我国已经成为恶性肿瘤的第2位杀手,肝癌总的5年生存率不足5%。在我国,原发性肝癌患者常伴有不同程度的肝硬化,发生率为70%~90%。在肝硬化基础上切除肿瘤的手术风险相当大,药物治疗耐受性差,虽然肝切除或肝移植术后通过全身或局部化疗预防肿瘤复发在一定程度上提高术后生存率,但目前常用的化疗药物敏感性差,缺乏靶向性,治疗效果差,全身毒性不良反应大,导致心、肝、肾等重要脏器功能损害,阻碍其临床广泛应用。肝靶向给药系统(hepatic targeted drug delivery system, HTDDS)将抗肿瘤药物有效地输送至肝脏肿瘤部位,提高药物的溶出度和稳定性,增加药物对靶区的指向性,减少其全身分布,同时减少用药剂量和次数,降低对正常肝细胞的毒性,使药物具有药理活性的专一性,提高药物的生物利用度,从而降低其不良反应,提高药物治疗效果。

目前,用于治疗肝癌的化学药物,如5-氟尿嘧啶(5-FU)、阿霉素(ADM)、丝裂霉素(MMC)等全身应用,体内代谢快、毒性不良反应大、疗效差。利用现代生物、物理化学技术将药物包裹或嵌入液体、液膜、脂质体、类脂蛋白以及生物降解高分子物质中,制成微

球或纳米微粒、复合型乳剂、脂质体等类型的胶体或混悬系统,通过多种给药方式给药后,这些微粒选择性地聚集于肝、脾、淋巴部位并释放而发挥抗癌药物的作用,不仅增加肝癌肿瘤组织局部药物浓度,提高抗癌药物疗效,而且降低药物全身毒性不良反应。

传统化疗药物和中药制剂服用剂量大,尤其是中药制剂含大量的无效杂质,对人体毒性不良反应较强,靶向给药制剂的开发和利用能在很大程度上克服抗肿瘤药物传统剂型的不足,具有有效延缓药物释放、提高药物稳定性、掩盖药物异味、降低药物对胃肠道的不良反应等优点。对载体材料进行特殊处理后,它可载运活性分子至特定的人体器官和病变组织,然后在靶器官内控制释药,使其药效增强,同时降低对人体其他器官和细胞的不良反应,使抗肿瘤药物能发展成为安全、稳定、有效的新型药物制剂,造福于广大肝癌患者。

近年来,随着对肝癌基础研究的不断深入,针对肝癌发生、发展中密切相关的蛋白分子研制特异性的单克隆抗体,进行肝癌的分子靶向治疗,如针对表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂的西妥昔单抗、血管内皮生长因子(VEGF)抑制剂的贝伐单抗和多靶点激酶抑制剂的索拉非尼,已初步显示出潜在的临床应用价值,为肝癌患者提供了新的治疗方法。

本书在靶向药物治疗肝癌基础和临床研究基础上,综合国内外相关研究文献,从中西医学对肝癌的认识和治疗,肝癌生物学特性与靶向治疗,靶向给药系统,靶向药物微球,纳米给药系统,靶向给药系统治疗肝癌的药效学,靶向药物的毒理学和安全性,靶向中药控释微球和纳米药物治疗肝癌的研究,靶向药物制剂在肝癌治疗中的应用前景九个方面,对肝癌药物的靶向治疗进行较为全面的介绍,相信对广大从事肿瘤学科的医务工作者、科研人员了解肝癌药物靶向治疗具有一定的参考价值。

第一章

肝癌靶向治疗的生物基础

肝癌是临床上常见的恶性肿瘤,居全球癌症发病率的第5位。全球每年的新发病例约为564 000例。在我国,肝癌年死亡率占全球肝癌死亡率的45%,位居世界之首。罹患肝癌的高危人群以35~65岁的人群为主,且以男性为主。男性发病率是女性的2~4倍,

慢性病毒性肝炎是肝癌最主要的病因(约占80%),其中以乙型、丙型病毒性肝炎为主,其次是乙醇、药物以及摄食含有黄曲霉毒素的食物等。基于这一原因,在我国80%~90%的肝癌患者同时伴有肝硬化,给临床治疗带来困难。肝癌是高侵袭、转移的恶性肿瘤,早期症状隐匿,只有29.0%~47.9%的肝癌患者能够得到早期诊断,大多数病例确诊时已属晚期,能够接受根治性手术切除的病例只占10%~30%。这些情况均导致肝癌患者整体预后差,平均存活时间短。

部分肝癌患者能够得到早期诊断并接受根治性手术治疗,大部分中晚期肝癌和术后复发转移病例只能采用介入、热疗等局部姑息性治疗以延长生存期,如化疗是治疗肿瘤的重要手段之一,但对肿瘤的选择性不高,毒性不良反应大,在杀伤肿瘤细胞的同时对正常组织和细胞也造成损害,且肝癌患者绝大多数合并肝硬化,肝功能差,多不能耐受其严重的毒性不良反应,从而使抗肿瘤药物的临床应用受到限制。微波、射频、冷冻、内放射等局部疗法在一定程度上可取得类似手术切除的效果,但这些疗法受患者肝功能、肿瘤数目、肿瘤大小和有无血管、淋巴结转移等因素的制约和影响。因此,通过提高药物在瘤体局部浓度、延长其作用时间、减少毒性不良反应,有效杀灭肿瘤细胞的靶向治疗,已成为目前肝癌治疗的重要研究方向。

第一节 肝癌发生的分子机制

肝癌的发生、发展涉及癌基因的激活和(或)抑癌基因失活,多种信号转导通路异常,是一个多因素、多环节共同作用的结果。开展对肝癌发生、发展分子机制的研究,对于肝癌的早期诊治及改善患者预后具有重要的应用价值。

1. 原癌基因的激活

原癌基因是一类广泛存在于生物体中高度保守的基因,其产物具有调控细胞增生的重要功能,其受到化学、物理或其他致癌因素的影响能发生突变活化为癌基因,导致细胞恶性转化。目前研究证实,N-ras、HBVx等原癌基因突变参与肝癌发生。

(1)N-ras N-ras 基因家族与人类肿瘤相关的特征性基因有 3 种,即 H-ras、K-ras 和 N-ras。N-ras 基因是首先被证实的人肝癌转化基因之一,N-ras 主要突变热点集中在第 12 位、第 13 位和第 61 位密码子,在肝细胞性肝癌中 N-ras 第 12 位、第 13 位密码子基因突变率达 79.31%。动物实验首次证明化学致癌剂可致鼠肝癌 N-ras 第 12 和第 13 位密码子的 G-T 突变,N-ras 突变在鼠肝癌的发生中起重要作用。国外研究人员对 19 例原发性肝癌 N-ras 基因第 61 位密码子进行检测发现突变 3 例,且突变均发生于伴有肝硬化肝癌患者。N-ras 是通过 G 结合蛋白信号传导系统发挥效应的原癌基因,正常情况下 N-ras 编码的 p21 蛋白将生长信号转导到靶细胞的效应分子后自动失活,而突变的 N-ras 将使其编码的蛋白维持高度活化状态,连续刺激细胞增殖使其发生癌变。

(2)HBVx 乙型肝炎病毒 x 基因(HBVx 基因)位于 HBV 病毒第 1 374 ~ 第 1 835 位核苷酸,HBVx 基因是 HBV 中最小的一个开放读码框架,位于 C 基因的上游与多聚酶、前 C 和 ORF5、ORF6 序列重叠,近氨基端的 1 ~ 50 氨基酸为其自身的调控区域,HBVx 基因特有的反式激活功能被认为是导致肝癌发生的主要因素,其自身的调控区域(1 ~ 20 氨基酸)能够抑制 HBxAg 蛋白的反式激活活性,近羧基端的 51 ~ 154 氨基酸为其反式激活区域,是 HBxAg 蛋白发挥其反式激活作用的基础。HBVx 基因整合后通过反式激活细胞内的原癌基因,并能使抑癌基因 p53 突变和失活。有学者检测有 HBVx 基因表达的肝细胞癌中发现 130 和 131 密码子发生了 AAG-ATG 和 GTC-ATC 突变。突变后的 HBVx 基因反式激活功能明显增强,导致一系列原癌基因激活并且使抑癌基因失活,最终导致肝癌的发生。

2. 抑癌基因的功能失活或基因缺失、突变

抑癌基因是一类存在于正常细胞中,与原癌基因共同调控细胞生长和分化的基因,抑制细胞进入增殖周期,诱导终末分化和细胞凋亡,维持基因稳定,具有潜在抑制肿瘤生长的功能,起到负性调控细胞增殖的作用,抑癌基因功能缺失、突变可导致细胞恶性转化而发生肿瘤。与肝癌相关的有 p53、p16 及 PTEN 等抑癌基因。

(1)p53 p53 基因定位于 17 号染色体的短臂上(17p13.1),全长约 20 kb,由 11 个外显子和 10 个内含子组成,编码 393 个氨基酸,是相对分子质量为 53 000 的核蛋白。p53 途径的成员包括 p53 p14-ARF 和 mdm2 等,它们在细胞增殖与凋亡的平衡中起重要作用。p53 基因参与细胞周期的调节,对细胞的非正常增殖有抑制作用,是基因毒性、致癌性和非基因毒性等多种应激刺激的感应器。当正常细胞 DNA 受到化学品、辐射等损伤时 p53 基因被激活,进一步诱导下游基因 p21 等的表达,p21 蛋白与 CDK4 结合,抑制其活性,而细胞阻滞在 G1 期;当 DNA 修复失败,p53 蛋白通过促进 bax 基因转录,后者与抑制细胞凋亡的 Bcl-2 形成异源二聚体抑制其活性,从而促进细胞凋亡。p53 基因点突变是最为频发的事件,p53 等位基因杂合型缺失频率可达 25%~60%,这些突变主要位于 p53 基因 DNA 结合域,有些突变具有肿瘤特异性。p53 基因突变的一个特点是引起蛋白质功能改变的错义突变及无义突变或终止突变,在肝细胞癌中,p53 基因的突变是最常见的基因改变之一,其突变主要发生在第 7 外显子的 249 位密码子第 3 号碱基 G→T 的颠换突变,发生率达 45%,携带 T/T 基因型者患肝癌的风险显著高于携带 G/G 基因型者(校正 $OR=20.09$;95% $CI:1.13 \sim 357.99$)。此外,p53 基因也存在第 8 外显子 273 位密

码子第1号碱基C→T的转换突变,发生率为34%,携带T/T基因型者患肝癌的风险增加(校正 $OR=4.32$; 95% $CI:1.16\sim24.53$),并有研究提示p53点突变与黄曲霉毒素有密切关系。在肝细胞中,如果p53基因缺失或突变,肝细胞的非正常增殖得不到抑制将导致肝癌发生。

(2)Rb 视网膜母细胞瘤基因(Rb基因)是一种肿瘤抑制基因,位于染色体13q14上,跨度180~200 kb,含27个外显子。Rb在细胞生长、分化中发挥重要作用,它编码的Rb蛋白能控制细胞的增殖和分化。国内学者利用组织芯片及免疫组织化学技术研究肿瘤组织及其相应癌旁、远癌正常组织,发现Rb蛋白缺失率在肝癌组织中为42.5%,显著高于癌旁和远癌正常肝组织,但与肝癌肿瘤的大小和组织学分级均无相关性。Rb基因的表达对由周期素依赖性蛋白激酶(CDKs)家族调控的细胞周期分子具有重要意义,各家族成员在调控细胞衰老的过程中通过影响Rb基因的表达及其蛋白的活性控制细胞增殖、分化与衰老。

(3)p16、p21 p16基因定位于人染色体9p21区域,全长8.5 kb,由2个内含子及3个外显子构成,被称为多瘤抑制基因(multiple tumor suppressor gene1, MTS1)。p16蛋白能特异性地与CDK4结合,抑制Cyclin-CDK4复合物的活性,从而阻断后者对Rb蛋白的磷酸化修饰,使转录因子E2F无法解离出来而抑制细胞周期进程,阻止细胞由G1期进入S期,最终抑制细胞的增殖和恶性转化。p21基因为单拷贝基因,定位于第6号染色体短臂上,DNA全长为85 kb。p21是目前已知的具有最广泛的CDK激酶抑制活性的基因,其产物蛋白可抑制所有的CDK,其表达缺失可能意味着肿瘤的迅速生长。p16、p21抑癌基因参与细胞周期调控,在多种肿瘤的发展中出现高频率突变,参与了恶性肿瘤的发生。当p16发生基因缺失或突变而不能正常表达时,细胞周期发生紊乱而引起细胞癌变。研究表明,p21蛋白的表达在肝癌组织和癌旁肝组织均与p53的表达相关,p16蛋白、p21蛋白的表达缺失与肝癌发生、发展密切相关,而且两者还可作为判断肝癌恶性程度的参考指标。

(4)PTEN PTEN(PTEN/MMAC1/TEP1)基因定位于人染色体10q23.3,全长200 kb,包含9个外显子和8个内含子,是迄今发现的第一个具有双重特性磷酸酶活性的肿瘤抑制基因,继p53基因之后发现的人类肿瘤中最常突变的抑癌基因。其通过对细胞内多条信号转导通路的负性调控,抑制肿瘤细胞的增殖、迁移,诱导肿瘤细胞凋亡,对维持细胞的正常生理活动发挥重要作用。正常人体的肝组织中存在PTEN的基因及蛋白表达,且表达水平较高,PTEN基因在肝脏中缺失导致胰岛素抵抗、脂肪变性、炎症和癌症发生。研究发现肝细胞癌组织中存在PTEN基因5'端的甲基化状态,PTEN表达降低与促甲基化因素有关,提示PTEN失活可能发生在转录和转录后的全过程。同样对体外培养的肝癌细胞检测发现PTEN的低表达可能部分是由于其启动子的活性丧失,导致肝细胞癌变。

3. 信号通路异常活化

多种信号通路的异常活化参与了肝癌的发生、发展,选择性阻断肿瘤细胞信号传导通路破坏其自控性生长调节机制,已成为肝癌研究领域的热点,确立与肝癌发生、发展密切相关的信号传导通路,对于揭示肝癌发生机制与治疗具有至关重要的意义。

(1)Wnt信号通路 Wnt-catenin信号通路为Wnt信号通路经典途径,这条通路激活

后将募集细胞内 catenin, 后者活化转移入细胞核, 与转录因子 LEF/TCF 等共同作用激活特异基因的转录, 异常激活的经典 Wnt 信号通路参与多种肿瘤的形成, 包括脑、乳腺、结肠、皮肤和肝脏肿瘤。在肝脏中 β -catenin 与肝母细胞瘤、肝细胞癌和胆管细胞癌的发生密切相关。研究发现: ①肝母细胞瘤细胞中存在 APC、 β -catenin、Axin-1 和 Axin-2 基因突变, 细胞核和胞质 β -catenin 累积发生突变率为 90%~100%; ②肝腺瘤细胞中胞质和核内 β -catenin 累积占 30%, 12% 肝腺瘤患者伴有 β -catenin 基因突变; ③20%~90% 肝细胞癌患者存在 β -catenin、Axin-1、Axin-2 基因突变以及 Frizzled-7 受体基因上调和 GSK3 β 失活, 经典的 Wnt 信号通路持续激活。国外学者通过建立 c-myc 和 TGF- β 转基因肝癌小白鼠模型。研究发现, β -catenin 基因突变与激活可以促进肿瘤的生长和转移。肝脏特异性 APC 基因敲除小白鼠可以诱导 β -catenin 核转录, 激活经典 Wnt 信号通路, 增加肝细胞癌发生。国内学者在检测原发性肝癌组织中 PTEN 基因突变时发现, 位于 PTEN 基因第 4 外显子 5' 端下游 13 bp 发生 89031C→T 点突变, 导致 PTEN 蛋白的第 84 位氨基酸由精氨酸变为赖氨酸, 导致肝癌的发生。

(2) Hh 信号通路 Hedgehog (Hh) 信号通路最初在果蝇中被发现, Hh 信号通路的异常激活可以导致多种肿瘤的形成, 如基底细胞癌、髓母细胞瘤、肺小细胞癌、胰腺癌、前列腺癌、胃肠道恶性肿瘤等。Hh 信号通路主要由 3 部分组成: Hh 信号肽 (Shh、Ihh、Dhh)、跨膜受体 (Ptch、Smo) 和下游转录因子 (Gli)。在正常状态下, Hh 蛋白由其经过自我裂解所产生的 N-末端裂解 (Hh-N, 19 000) 与胆固醇或脂酰基结合, 附着于细胞膜表面。Hh 信号通路的激活是通过配体 Hh 与跨膜蛋白 Ptch 结合, 进而解除 Ptch 对另一跨膜蛋白 Smo 的抑制作用, Smo 再通过下游转录因子 Gli 来调控基因转录。肝脏的胚胎发生始于前肠和卵黄囊相交的内胚层细胞, Shh 蛋白已被证明在胚胎发生初期即启动 Hh 信号通路调节内胚层分化, 肝细胞癌可能来自肝细胞或更为原始的干细胞。可能的致癌途径有 2 个: ①通过配体 Shh 表达: 内源性 Shh 过表达, 并和受体 Ptch 结合, 从而解除了后者对下游因子 Smo 的抑制作用, 促使全长的 Gli 进入核内启动靶基因; ②Ptch 和 (或) Smo 发生突变: 导致下游信号传导调节失控, 靶基因被不断激活。除调控肿瘤的发生及进展外, 该通路还参与炎症修复和血管新生等过程。国外研究人员证明了 Hh 信号通路在人肝癌中功能异常, 并且发现这种过表达和 (或) 肿瘤发生激活其中原癌基因 Smo 介导的 c-myc 基因表达起关键作用, Smo 可以作为判断肝癌预后的因子。

第二节 肝癌的生物学特性

肝癌早期症状隐匿, 手术切除率低, 术后复发、转移率高, 与其生物学特性密切相关。随着肝癌的临床与基础研究的不断深入, 肝癌已实现了从“不治之症”向“部分可治之症”的转变。肝癌特有的生物学特性表现为: 肿瘤多中心起源; 早期出现侵袭转移, 并且侵袭性强弱在原发瘤阶段即已确定; 容易侵犯门静脉, 并形成门静脉癌栓, 易引起肝内广泛播散和肺转移; 部分肝癌表现为癌旁综合征, 如低血糖症、红细胞增多症等。

一、肝癌的病理分型

(一) 大体分类

根据肉眼所见,肝癌大致可以分为4型。

1. 巨块型

此型为临床中较常见的肝癌类型,为单个癌块或多个癌结节融合而成,有的可达婴儿头般大小,圆形,多位于肝右叶内甚至占据整个右叶。癌肿的质地较软,生长迅速,中心部常有出血坏死,在临床上可有破裂出血等并发症,周边常有散在的星状瘤结节,一般不合并或合并轻度的肝硬化。手术切除的机会较多,预后亦较好。

2. 结节型

结节型肝癌是临床中最常见的一种,表现为大小和数目不等的瘤结节,分布广泛,多发生在肝右叶,有半数以上病例波及全肝。与周围肝组织的分界不如巨块型清楚,大多伴有较严重的肝硬化,手术切除率低。

3. 弥漫型

此型最少见,可见米粒至黄豆大的癌结节广泛分布于全肝,因此肉眼难与肝硬化结节区别,无法进行手术切除。肝脏肿大不明显,甚至可能缩小,患者常因肝功能衰竭而死亡。

4. 小瘤型

指癌结节的直径或2个癌结节的直径之和 ≤ 3 cm的结节型肝癌。其特点为癌肿的体积小,边界清楚,膨胀性生长且生长缓慢,有包膜,切面呈分叶状结构。手术切除是此型最好的选择,也可辅以介入或中医药治疗,预后较好。

(二) 组织学分类

根据癌细胞起源的不同,肝癌的组织学类型分为4种。

1. 肝细胞癌

是肝癌中最常见的类型,在我国约占90%,常合并肝硬化。癌细胞起源于肝细胞,形状与其分化程度有关。分化较好的癌细胞与肝细胞类似;分化差的癌细胞异型性明显,多为巨核及多核癌细胞。

2. 胆管上皮癌

癌细胞起源于胆管上皮细胞,其组织结构多为腺癌或单纯癌。在我国约占5%,较少合并肝硬化,故预后较肝细胞癌好。

3. 混合性癌

较少见,具有肝细胞癌和胆管上皮癌2种结构,也可呈过激状态(既不完全像肝细胞癌,又不完全像胆管上皮癌)。

4. 纤维板层型肝癌

是肝癌的一种变种,西方人多见,青年多发。其生长缓慢,预后较一般的肝癌好。

此外,还有一种少见的肝恶性肿瘤——肝母细胞瘤,肉眼所见为边界清楚的孤立性肿块,癌组织常有囊性变、坏死及出血,多位于肝右叶,大小5~25 cm。

(三) 病理分级

根据肝癌细胞分化程度,将肝细胞癌分为4级。高分化为Ⅰ级,中分化为Ⅱ级和Ⅲ级,低分化为Ⅳ级。临床上以中分化为多见。癌细胞分化程度不同,产生AFP能力各异,对临床诊断和治疗效果都有一定影响。

二、肝癌的靶向治疗基础

(一) 肝癌的生物学行为

肝癌有其特有的生物学特性:①肝癌细胞分化程度的高低直接决定肿瘤的预后:分化程度越低则恶性程度越高,病情发展快,手术切除机会少,且易发生复发及转移,预后差。②肝癌的生长方式与预后也有明显关系:块状型发展较缓慢,手术切除率高,预后最好;其次是结节型;弥漫型基本无手术指征,且早期出现转移,预后最差;但是巨块型肝癌临床发生破裂出血的机会最多。③肝癌的侵袭转移:肝癌细胞生长活跃,侵袭性大,加之周围血窦丰富,极易浸润包膜和血管,导致肿瘤的局部扩散、血道转移或向腹腔内破裂种植。

肝癌转移主要取决于以下几个方面:①肝癌的大小:一般来讲,瘤体越大,转移发生率越高。②肝癌的恶性程度:一般情况下,当肝癌细胞的恶性程度较高时,体积即使很小,早期也会出现转移。③肝癌与血管的关系:与血管关系密切者,容易侵犯血管引起转移。④机体的免疫功能:随着癌症的病程进展,患者机体细胞和体液免疫功能逐渐低下,使免疫监视功能和T淋巴细胞杀伤功能降低,致肿瘤细胞向肝内或远处转移。⑤肝癌转移的特点:一般先于肝内播散,进而出现肝外转移。肝癌细胞首先在肝内蔓延和转移,进入血窦,随即侵犯门静脉分支或肝静脉分支。门静脉累及后可引起肝内播散,播散首先发生在同侧,随后波及对侧肝;肝静脉累及后即可进入体循环转移至全身其他组织脏器,常见转移脏器为肺、骨、肾上腺或脑等,亦有少部分病例出现皮下转移。癌组织侵入肝门处胆管可引起胆管阻塞或胆道出血。肝癌亦可直接蔓延、浸润至邻近器官组织,如膈、胃、结肠、网膜等。如出现肝癌结节破裂,临床上表现为急性腹痛及腹腔内出血。肝细胞癌经淋巴道转移在临床相对少见。而胆管细胞癌的转移则以淋巴道转移为主,常转移至肝门淋巴结和锁骨上淋巴结。

(二) 肝脏的血供、组织病理特点

正常肝脏的血液供应约80%来源于门静脉,肝动脉只供应少量血液(约20%),而肝癌的主要血液供应来自肝动脉(90%~100%)。这一特点为经肝动脉靶向治疗提供依据。肝脏是人体最大的网状内皮细胞吞噬系统,它能吞噬、隔离和消除入侵和内生的各种抗原。肝的淋巴管分为浅、深两组,浅淋巴管位于肝被膜内,位于膈面中间后部的淋巴管经

膈肌的腔静脉孔入胸腔,汇入膈上淋巴及纵隔后淋巴结,左侧部者注入胃左淋巴结,右侧部者注入主动脉前淋巴结,脏面的淋巴管汇入肝淋巴结。临床上约 65% 肝癌分泌 AFP。肝癌发生和发展过程与 p53、VEGF、EGF、Glypican-3 等蛋白和 mRNA 表达水平异常密切相关。因此,针对上述特点,设计针对 AFP 和上述基因的单克隆抗体、受体、siRNA 等药物对肝癌进行靶向治疗,不仅可以提高肿瘤组织内的药物浓度,而且能有效降低全身的毒性不良反应,是一种前景广阔的治疗方法。

三、靶向给药系统的特点

(一) 靶向给药系统体内分布

根据粒径和形态的不同,靶向给药系统可以作用于不同的靶器官。如粒径 $<7\text{ nm}$ 的主要被肝、脾中的巨噬细胞摄取;粒径在 $7\sim 10\text{ nm}$ 之间的主要被肺摄取;粒径 $<50\text{ nm}$ 的能够透过肝脏内皮或者通过淋巴传递到达脾和骨髓,也能到达肿瘤组织;粒径在 $50\sim 100\text{ nm}$ 之间的可以进入肝实质细胞;粒径 $<100\text{ nm}$ 的可进入骨髓;粒径在 $100\sim 200\text{ nm}$ 之间的容易被肝脏的枯否(kupffer)细胞捕捉和吞噬,使药物在肝脏中聚集,然后逐步降解释放到血液循环;人体最小的毛细血管的直径大约为 $4\text{ }\mu\text{m}$,对于直径 $<1\text{ }\mu\text{m}$ 的粒子,如毫微粒,很容易通过这些毛细血管;直径 $0.1\sim 2.0\text{ }\mu\text{m}$ 的微粒最终到达肝脏枯否细胞的溶酶体中;直径 $>12\text{ }\mu\text{m}$ 的微球可到达肝或肾和荷瘤器官中;直径 $>15\text{ }\mu\text{m}$ 的微粒可至肠系膜动脉、门静脉或肾动脉;而用于动脉栓塞的微球粒径在 $(45\pm 8)\text{ }\mu\text{m}\sim (224\pm 55)\text{ }\mu\text{m}$ 之间。根据体内的特异性分布特点和肿瘤所在部位的不同,选择相应粒径的靶向给药系统用于肿瘤治疗,以期更好地发挥药效。

(二) 靶向给药系统的细胞生物学基础

靶向给药系统能否到达理想靶位,充分发挥药物作用,与以下因素密切相关。

1. 细胞摄取

靶向给药系统一般由大分子集合体组成,因而不能通过简单扩散进入细胞,而需通过内吞作用进入胞内。内吞作用包括吞噬和吞饮两种。其中吞噬由单核吞噬系统(MPS)的吞噬细胞来完成。这一过程由细胞吸附的血液中一些特殊物质(调理素:如免疫球蛋白 IgG 和补体 C_3b)和巨噬细胞上的相关受体介导。药物摄入体内后,吞噬小泡与一个或多个溶酶体融合形成吞噬溶酶体,粒子被溶酶体中的酸性水解酶水解,释放药物产生药效。吞饮比吞噬普遍,有非特异性吞饮和受体介导的吞饮两种方式摄取粒子。

2. 外迁

外迁的快慢由毛细血管的透过性大小决定。靶向药物进入血管内,透过血管转运。其影响因素包括毛细血管的结构、组织和器官的疾病状态、小血管数目和表面积大小及载体的理化性质等。一般情况下,载体跨内皮转移的能力随相对分子质量的增加而逐渐下降。

3. 淋巴摄取

实体肿瘤通常缺乏淋巴管,通过外透进入肿瘤间隙的靶向给药系统会滞留在此间