

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00642

• 论 著 •

## 西罗莫司转换对超米兰标准肝癌肝移植患者肿瘤复发的影响

封立魁<sup>△</sup>,倪之嘉<sup>△</sup>,宋少华,林峰,傅宏,王正昕,傅志仁,丁国善\*

第二军医大学长征医院全军器官移植研究所,上海 200003

**[摘要]** **目的** 研究西罗莫司为基础的免疫抑制方案对超米兰标准的肝癌肝移植患者生存率及肿瘤复发的影响。**方法** 回顾分析2010年6月至2011年6月我院器官移植科22例超米兰标准肝癌肝移植患者的临床资料,其中11例肝移植术后免疫抑制剂采用他克莫司,11例肝移植术后免疫抑制剂由他克莫司转换为西罗莫司。比较两组急性排斥反应发生率、无瘤生存期、血常规、肝肾功能以及并发症等情况。**结果** 对22例患者平均随访(12±3)个月(7~18个月),两组间急性排斥反应发生率无明显差异;西罗莫司组有4例复发,他克莫司组有8例复发,Kaplan-Meier无复发生存曲线显示转换为西罗莫司治疗的患者其肝癌无复发生存期高于他克莫司组( $P<0.05$ )。西罗莫司组白细胞和血小板计数较他克莫司组降低,具有统计学意义( $P<0.05$ )。3例因他克莫司肾毒性转换为西罗莫司治疗的患者肾功能均好转。西罗莫司治疗组患者有2例发生口腔溃疡,没有发生肝动脉栓塞等严重并发症。**结论** 西罗莫司可有效用于超米兰标准肝癌肝移植患者,能够取得与他克莫司类似的抗排斥反应效果,同时明显降低肿瘤复发的风险。

**[关键词]** 西罗莫司;肝肿瘤;肝移植;免疫抑制剂**[中图分类号]** R 735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)06-0642-04

### Effect of conversion to sirolimus-based immunosuppression on tumor recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma beyond the Standard Milan Criteria

FENG Li-kui<sup>△</sup>, NI Zhi-jia<sup>△</sup>, SONG Shao-hua, LIN Feng, FU Hong, WANG Zheng-xin, FU Zhi-ren, DING Guo-shan\*

Organ Transplantation Institute of PLA, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of sirolimus (SRL)-based immunosuppression regimen on the survival and tumor recurrence in liver transplantation recipients with hepatocellular carcinoma beyond the standard Milan criteria. **Methods** We retrospectively analyzed 22 patients who received liver transplant in our hospital for HCC beyond the standard Milan criteria from June 2010 to June 2011. Eleven patients received tacrolimus for immunosuppression after liver transplant and the other 11 were converted from tacrolimus to SRL-based immunosuppression. The incidence rate of acute rejection, tumor-free survival period, blood routine, liver function and complications were compared between the two groups. **Results** The incidence rates of acute rejection were not significantly different between the two groups after a mean follow-up of (12±3) months (range, 7-18 months). Four patients in the SRL group and eight patients in tacrolimus group had HCC recurrence and metastasis. Kaplan-Meier recurrence-free survival curves demonstrated that SRL group had a significantly longer HCC recurrence-free survival than tacrolimus group ( $P<0.05$ ). Compared with tacrolimus group, SRL group had significantly lower leukocyte and platelet counts ( $P<0.05$ ). The tacrolimus-related nephrotoxicity was modestly improved in all the three patients after converted to SRL. Two patients suffered oral ulcers after conversion to SRL treatment and no severe complications such as arterial thrombosis were observed. **Conclusion** SRL can be effectively used for liver transplant recipients with hepatocellular carcinoma beyond the standard Milan criteria; it can achieve a similar anti-rejection effect to tacrolimus and can greatly reduce tumor recurrence.

**[Key words]** sirolimus; liver neoplasms; liver transplantation; immunosuppressive agents

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(6): 642-645]

随着外科手术技术的提高及新型免疫抑制剂的应用,器官移植已经迎来一个新的发展高峰,许多患者通过移植器官获得了新生。目前,肝脏移植已经成为肝癌的重要外科治疗手段,更是肝癌合并重度肝硬

**[收稿日期]** 2012-04-10 **[接受日期]** 2012-05-31**[基金项目]** 上海市卫生局科研基金(2009124), Supported by Scientific Research Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau(2009124).**[作者简介]** 封立魁,硕士生, E-mail: fenglik@163.com; 倪之嘉,博士,副教授, E-mail: nzj@21cn.com<sup>△</sup>共同第一作者(Co-first authors).

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885743, E-mail: dingguoshanmail@163.com

化的唯一外科治疗手段。然而, 由于肝癌患者接受肝脏移植时已经处于疾病晚期, 而且受体术后长期处于免疫抑制状态, 肿瘤复发已经成为影响肝癌肝移植受体长期预后的最重要因素之一。因此, 寻求既有高效免疫抑制功能又具有抗肿瘤效果的新型免疫抑制剂已经成为器官移植领域重要的研究课题。

西罗莫司(sirrolimus, SRL)是从吸水链霉菌中提取出来的结构与钙调磷酸酶抑制剂(calcineurin inhibitors, CNIs)他克莫司相似的一种新型大环内酯类免疫抑制剂。1999年Watson等<sup>[1]</sup>首次临床上将西罗莫司用于肝移植受体的抗排斥治疗, 发现西罗莫司明显降低了受体排斥反应的发生率, 初步证实西罗莫司作为抗排斥药物的安全性及有效性。有研究显示, 西罗莫司具有抗肿瘤的药理学作用, 能够抑制肿瘤原发灶及转移灶的生长<sup>[2-3]</sup>。因此, 明确西罗莫司在体内发挥抗排斥作用的同时能否抑制肿瘤复发具有重要临床意义。在本课题中, 我们通过回顾性分析我院近期完成的超米兰标准的肝癌肝移植受体临床资料, 明确转换为以西罗莫司为基础的免疫抑制方案对排斥反应及肝癌复发的影响, 为指导肝癌肝移植受体临床用药提供参考依据。

## 1 资料和方法

1.1 病例纳入 2010年6月至2011年6月本院共开展肝癌肝移植手术75例, 排除术前存在高血压、糖尿病、肾功能异常患者, 共22例超米兰标准的肝细胞肝癌患者入选, 其中男性21例, 女性1例, 年龄33~57岁, 平均(44.1±6.2)岁。

1.2 转换标准和分组情况 肝移植术后免疫抑制剂由CNIs转换为西罗莫司的标准: 出现严重的CNIs并发症如肾功能损害、严重的神经毒性、糖尿病(经药物治疗不能稳定控制在正常范围); CNIs治疗无效的急性排斥反应; 术后病理提示肿瘤为低分化。在22例研究对象中, 共11例转换为西罗莫司治疗, 其中3例转换原因为CNIs肾毒性、1例为顽固排斥及CNIs神经毒性(头痛、手震颤、认知功能障碍), 其余均为术后病理提示肿瘤为低分化的受体。西罗莫司组有7例晚期肝癌患者, 他克莫司组5例。两组患者的肝功能分级和肿瘤分期等无统计学差异, 具有可比性。

1.3 免疫抑制方案 术后初期常规采用以CNIs为基础的三联免疫抑制方案(他克莫司+霉酚酸酯+泼尼松), 根据转换标准转换为以西罗莫司为基础的免疫抑制方案(西罗莫司+霉酚酸酯+泼尼松)时, 西罗莫司起始剂量2 mg口服, 1次/d, 他克莫司剂量减半并在3 d后停药, 转换时间为术后14~47 d,

平均(28.30±10.31) d。按血药浓度调整服药剂量, 维持他克莫司或西罗莫司血药浓度术后1~3个月为8~10 ng/ml, 3~6个月为6~8 ng/ml, 6个月以上为5~6 ng/ml。霉酚酸酯50 mg口服, 2次/d, 服用3个月。泼尼松5 mg口服, 1次/d, 1个月后撤药。

1.4 化疗方案 术中开始按15~20 mg/kg的剂量静滴替加氟注射液, 术后每个月常规静滴替加氟化疗5 d, 连续6个周期。

1.5 检测指标 术后定期检测血糖、血常规、甲胎蛋白(AFP)、肾功能, 并行B超、CT检查肿瘤复发情况, 同时监测感染、口腔溃疡、伤口裂开等并发症。排斥反应以移植肝病理活检明确诊断; 肾功能采用内生肌酐清除率(creatinine clearance,  $C_{Cr}$ )替代肾小球滤过率(GFR)评价, 推算公式采用Cockcroft-Gault方法:  $C_{Cr}(\text{ml}/\text{min}) = (140 - \text{年龄}) \times \text{体质量} \times (1 - 0.15 \times \text{性别}) \div (72 \times \text{Scr})$ , 年龄单位为年, 体质量单位为kg, 男性=0、女性=1, Scr单位为mg/dl。

1.6 统计学处理 采用SPSS 16.0软件对数据进行统计学处理, 计量资料采用student *t*检验, 计数资料用Fisher确切概率法, 无瘤生存率以Kaplan-Meier法计算并进行Log-rank检验。检验水平( $\alpha$ )为0.05。

## 2 结果

2.1 排斥反应发生情况 转换西罗莫司治疗前, 22例患者中有6例发生轻微的急性排斥(病理诊断采用Banff标准, RAI=4分), 术后7~26 d发生, 平均(12.00±7.35) d, 急性排斥发生率为27.27%, 其中1例经激素冲击治疗后复查排斥未见缓解, 予以改用西罗莫司后好转。转为西罗莫司方案后, 1例于转换后3个月发生急性排斥反应(RAI=3~4分), 经激素治疗后缓解; 同期, 他克莫司组有2例发生急性排斥反应。

2.2 无瘤生存情况 对22例患者随访7~18个月, 平均(12±3)个月, 西罗莫司组4例复发(肝内复发2例, 右侧肋骨转移1例, 右肾上腺转移1例), 他克莫司组复发8例(肝内复发3例, 肺转移4例, 椎体、心膈组食管旁淋巴结转移1例)。以手术时间为起点, 发现复发的时间为终点, 采用Kaplan-Meier绘制无复发生存曲线, 提示西罗莫司组无复发生存率较他克莫司组高( $P=0.036$ , 图1)。

2.3 并发症发生情况 他克莫司组有2例并发细菌性肺炎, 另有肺部和肠道真菌感染各1例, 经治疗后痊愈。西罗莫司组1例因胆道并发症于换药后4个月发生胆道感染, 1例(女性)换药后2周发生下尿路感染。随访中所有患者均未检测到巨细胞病毒及

乙肝病毒再感染。Fisher 确切概率法计算,两组感染率无明显差别( $P=0.635$ ,表 1)。另外西罗莫司组有 2 例患者并发口腔溃疡,经对症治疗缓解。

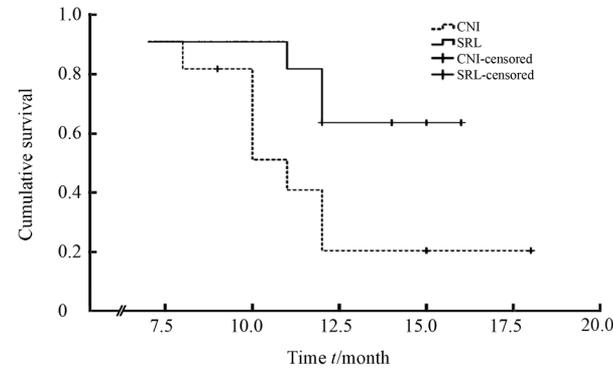


图 1 两组患者无瘤生存曲线

Fig 1 Disease-free survival curves of patients in the two groups

CNI: Calcineurin inhibitor (Tacrolimus); SRL: Sirolimus. Log-rank test,  $P=0.036$

2.4 肾功能的变化 本研究中有 3 例患者在术后 1 个月内因 CNIs 肾毒性而转换为西罗莫司治疗,其中

1 例转换时其 GFR 50 ml/min,在转换治疗 1 周内 Scr 明显下降并在 1 个月内恢复正常。另外 2 例转换时 GFR 分别为 28 和 37 ml/min,转换治疗后 Scr 下降较缓慢,转换后第 8 个月时 GFR 分别为 56、66 ml/min,较前明显好转。提示在出现 CNIs 肾毒性时,及早转换治疗可以很快使肾功能得到改善。

表 1 两组感染率的比较

Tab 1 Comparison of infection rates between the two groups

Group	N	Positive n	Negative n	Infection rate (%)
CNI	11	4	7	36.36
SRL	11	2	9	18.18
Total	22	6	16	27.27

CNI: Calcineurin inhibitor (Tacrolimus); SRL: Sirolimus

2.5 肝功能、血糖及血常规变化 术后 6 个月两组患者胆红素、丙氨酸转氨酶、白蛋白比较差异无统计学意义,西罗莫司组血糖较他克莫司组有下降趋势( $P<0.05$ )。术后 6 个月时西罗莫司组白细胞和血小板计数较他克莫司组下降( $P<0.05$ ),两组患者的血红蛋白变化差异无统计学意义。见表 2。

表 2 术后 6 个月两组肝功能、血糖及血常规等指标的变化

Tab 2 Changes of liver function, blood glucose, and blood routine indices between the 2 groups 6 months after transplantation

$n=11, \bar{x} \pm s$

Group	STB $c_B/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	ALT $\varepsilon_B/(\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$	ALB $\rho_B/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	GLU $c_B/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	WBC $(\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1})$	HB $\rho_B/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	PLT $(\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1})$
CNI	25.55±15.34	21.27±16.11	42.73±4.82	5.63±1.35	4.66±0.94	112.36±21.86	144.18±72.69
SRL	19.45±13.11	22.18±9.21	43.64±4.82	4.77±1.22*	3.16±1.12*	108.73±30.52	120.73±54.28*

CNI: Calcineurin inhibitor (Tacrolimus); SRL: Sirolimus; STB: Serum total bilirubin; ALT: Alanine aminotransferase; ALB: Albumin; GLU: Glucose; WBC: White blood cell; HB: Haemoglobin; PLT: Platelet. \* $P<0.05$  vs CNI group

### 3 讨论

有资料显示,因肝癌死亡的患者占全世界癌症患者死亡人数的 9.2%,而我国的肝癌患病人数和死亡人数大约占到全世界的一半[4]。肝癌患者的生存时间较短,平均预期生存时间仅 6~20 个月[5-6]。肝移植为晚期肝病提供了新的治疗方法,1996 年意大利学者 Mazzaferro 等提出的“Milan 标准”(米兰标准)使人们认识到早期肝癌诊断和移植前对肿瘤的分期评估是保证良好预后的关键。将米兰标准用于肝癌患者行肝移植的选择标准成为肝移植领域的里程碑。对于符合米兰标准的肝癌患者术后 5 年生存率可达 75%,预后达到因良性肝病行肝移植的水平[7]。在我国,肝癌患者多合并明显的肝硬化,同时确诊时肿瘤多已超出米兰标准,此部分患者已经失去外科手术切除的机会,肝移植是其最佳的外

科治疗手段[8]。对于这部分患者,免疫抑制剂的长期使用是促使肿瘤发生的不可忽视的原因,因此,寻找能有效预防肿瘤复发的免疫抑制方案是延长患者存活的重要途径之一[3,9]。

西罗莫司是具有体内抗肿瘤性能的新型免疫抑制剂,研究显示西罗莫司在降低器官移植术后急性排斥反应发生率、提高受体及移植物存活率方面等效甚至优于 CNIs 类药物。Chinnakotla 等[10]对接受他克莫司治疗的 106 例和接受西罗莫司治疗的 121 例肝癌肝移植患者进行比较,西罗莫司组与他克莫司组 1 年、3 年、5 年生存率分别为 94% vs 79%、85% vs 66%、80% vs 59% ( $P$  值均  $<0.001$ )。Zaghla 等[11]回顾性分析 185 例分别接受西罗莫司、西罗莫司+CNI、CNI 治疗的 3 组肝移植患者,3 组患者在急性排斥发生率上差异无统计学意义。本研究显示在转换为西罗莫司治疗后有 1 例发生轻度排

斥反应, 同期他克莫司组有 2 例发生轻微排斥, 提示西罗莫司不会导致急性排斥反应发生率的增加。

同时, 西罗莫司体内抗肿瘤的药理学作用, 使之对因肿瘤而行器官移植的受体更具特殊意义。Zimmerman 等<sup>[12]</sup>报道在 97 例肝癌肝移植患者中, 45 例接受西罗莫司联合 CNI 的免疫抑制方案, 52 例接受不含西罗莫司的免疫抑制方案。两组患者术后 1 年和 5 年的生存率在西罗莫司组为 95% 和 80%, 而 CNI 组为 83% 和 62%; 西罗莫司组的 1 年和 5 年无瘤生存率为 93% 和 79%, 而 CNI 组则为 75% 和 54%。结果提示以西罗莫司为基础的免疫抑制方案可安全有效地用于肝癌肝移植患者并能延长术后生存时间。本研究结果也显示, 对于超出米兰标准的肝癌肝移植受体, 基于西罗莫司的免疫抑制方案能够明显降低术后肝癌复发。

西罗莫司作为哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)抑制剂, 主要通过直接抑制肿瘤细胞生长并促进其凋亡发挥抗癌作用<sup>[13-14]</sup>。西罗莫司选择性阻断 mTOR 信号, 对正常组织、细胞功能影响较小<sup>[15]</sup>。众所周知, 长期服用 CNI 类药物能够促使慢性肾衰竭的发生, 一项对 36 849 例肝移植患者的分析显示术后 1、3、5 年慢性肾功能衰竭的发病率分别是 8%、14% 和 18.1%<sup>[16]</sup>。当出现 CNI 引起肾功能损害时应改用对肾功能影响较小的药物。本研究结果显示, 当 CNI 引起肾功能损害时早期转换为西罗莫司可有效改善肾功能。Sanchez 等<sup>[17]</sup>认为当肌酐清除率降低为 30 ml/min 以下时, 换用西罗莫司并不能使肾功能得到改善, 因此建议在肾功能损害初期及早转换治疗。

西罗莫司的主要副作用包括轻度的骨髓抑制, 表现为降低受体白细胞及血小板水平<sup>[18]</sup>。本研究结果也显示术后 6 个月西罗莫司组外周血白细胞及血小板水平较 CNI 组有所降低, 但并不会增加患者感染性疾病的风险; 而大部分西罗莫司组患者血小板水平仍位于正常值范围内, 因此并不增加患者的出血性疾病风险。

本研究结果显示西罗莫司可安全、有效地用于超米兰标准肝癌肝移植患者, 但由于随访时间及样本量的限制, 西罗莫司抗肿瘤作用尚需多中心大样本的前瞻性研究来证实。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] Watson C J, Friend P J, Jamieson N V, Frick T W, Alexander G,

- Gimson A E, et al. Sirolimus: a potent new immunosuppressant for liver transplantation[J]. *Transplantation*, 1999, 67: 505-509.
- [2] Panwalkar A, Verstovsek S, Giles F J. Mammalian target of rapamycin inhibition as therapy for hematologic malignancies[J]. *Cancer*, 2004, 100: 657-666.
- [3] Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis; involvement of vascular endothelial growth factor[J]. *Nat Med*, 2002, 8: 128-135.
- [4] Ferlay J, Shin H R, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin D M. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127: 2893-2917.
- [5] Bialecki E S, Di Bisceglie A M. Diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *HPB (Oxford)*, 2005, 7: 26-34.
- [6] Scatton O, Zalinski S, Terris B, Lefevre J H, Casali A, Massault P P, et al. Hepatocellular carcinoma developed on compensated cirrhosis: resection as a selection tool for liver transplantation[J]. *Liver Transpl*, 2008, 14: 779-788.
- [7] Mazzaferro V, Chun Y S, Poon R T, Schuart M E, Yao F Y, Marsh J W, et al. Liver transplantish for hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15: 1001-1007.
- [8] 董家鸿, 罗英. 努力提高肝细胞癌的肝移植治疗效果-肝移植治疗肝癌时的受者选择和围手术期辅助治疗[J]. *中华器官移植杂志*, 2011, 32: 325-327.
- [9] Toso C, Merani S, Bigam D L, Shapiro A M, Kneteman N M. Sirolimus-based immunosuppression is associated with increased survival after liver transplantation for hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2010, 51: 1237-1243.
- [10] Chinnakotla S, Davis G L, Vasani S, Kim P, Tomiyama K, Sanchez E, et al. Impact of sirolimus on the recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation [J]. *Liver Transpl*, 2009, 15: 1834-1842.
- [11] Zaghla H, Selby R R, Chan L S, Kahn J A, Donovan J A, Jabbour N, et al. A comparison of sirolimus vs. calcineurin inhibitor-based immunosuppressive therapies in liver transplantation [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 23: 513-520.
- [12] Zimmerman M A, Trotter J F, Wachs M, Bak T, Campsen J, Skibba A, et al. Sirolimus-based immunosuppression following liver transplantation for hepatocellular carcinoma [J]. *Liver Transpl*, 2008, 14: 633-638.
- [13] Ma X M, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 307-318.
- [14] Manegold P C, Paringer C, Kulka U, Krimmel K, Eichhorn M E, Wilkowski R, et al. Antiangiogenic therapy with mammalian target of rapamycin inhibitor RAD001 (Everolimus) increases radiosensitivity in solid cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14: 892-900.
- [15] Gera J F, Mellinghoff I K, Shi Y, Rettig M B, Tran C, Hsu J H, et al. AKT activity determines sensitivity to mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors by regulating cyclin D1 and c-myc expression[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 2737-2746.
- [16] Ojo A O, Held P J, Port F K, Wolfe R A, Leichtman A B, Young E W, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ[J]. *N Engl J Med*, 2003, 349: 931-940.
- [17] Sanchez E Q, Martin A P, Ikegami T, Uemura T, Narasimhan G, Goldstein R M, et al. Sirolimus conversion after liver transplantation: improvement in measured glomerular filtration rate after 2 years[J]. *Transplant Proc*, 2005, 37: 4416-4423.
- [18] Vivarelli M, Dazzi A, Cucchetti A, Gasbarrini A, Zanella M, Di Gioia P, et al. Sirolimus in liver transplant recipients: a large single-center experience[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42: 2579-2584.

[本文编辑] 孙岩