

# 索拉非尼对血管内皮生长因子促大鼠肝肿瘤的抑制效果

李楠, 陈斌, 黄勇慧, 林润, 戴海涛, 唐可禹, 杨建勇

(中山大学附属第一医院放射介入科, 广东广州 510080)

**摘要:**【目的】探索 sorafenib(索拉非尼)在不同干预时机中对血管内皮生长因子(VEGF)促瘤效应的抑制作用。【方法】将50只SD大鼠肝脏接种 Walker-256 肿瘤细胞形成的裸鼠皮下瘤块, 10 d后行MR扫描, 选取建模成功的40只SD大鼠随机分成4组, 每组10只: A组, 对照组, 仅注射 VEGF; B组, sorafenib 先于 VEGF 72 h 导入组; C组, sorafenib 与 VEGF 同时导入组; D组, sorafenib 后于 VEGF 72 h 导入组。观察并比较4组实验动物肿瘤的生长及中位生存时间。待实验动物死亡后, 采用免疫组织化学法检测各组大鼠肝肿瘤的 VEGF 的表达。【结果】服用 sorafenib 10 d后, MR 显示各组大鼠肝脏肿瘤明显增大, sorafenib 组肿瘤大小小于对照组(5.40 cm), 具有统计学意义( $P < 0.05$ )。四组实验动物中位生存时间分别是(19.6 ± 1.8)d、(31.2 ± 7.0)d、(27.4 ± 4.9)d、(26.5 ± 4.6)d。服用 sorafenib 组大鼠生存时间明显长于对照组( $P < 0.05$ )。将死亡实验大鼠进行 HE 染色及免疫组织化学检查, 四组实验动物的 VEGF 值分别为 88.3 ± 13.6、42.8 ± 8.0、71.9 ± 15.7、73.6 ± 13.7, sorafenib 组与对照组数值差异具有明显统计学意义( $P < 0.05$ ), 且不同 sorafenib 组之间数值差异较大。【结论】Sorafenib 能延长肝肿瘤大鼠的生存时间, 减少肿瘤血管生成。Sorafenib 服用时间早于 VEGF 一过性升高前的生存获益明显好于 VEGF 升高后服用。

**关键词:**原位种植性肝癌; 血管内皮生长因子; 索拉非尼; 生存获益

中图分类号: R735.7

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2017)03-0364-08

## Effect of Sorafenib in Increased VEGF in Stimulating Effect of Walker- 256 Transplanted Liver Cancer Model in SD Rats

LI Nan, CHEN Bin, HUANG Yong-hui, LIN Run, DAI Hai-tao, TANG Ke-yu, YANG Jian-yong

(Department of Interventional Radiology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Corresponding to: HUANG Yong-hui, E-mail: cir.huangyonghui@vip.163.com

**Abstract:** 【Objective】To investigate association between the time point of sorafenib administered and suppress effect on tumor growth secondary to the increased expression of vascular endothelial growth factor (VEGF). 【Methods】Fifty SD rats were performed intrahepatic implantation using tumor tissues from subcutaneous tumors in nude mice which were administered Walker 256 tumor cells. Ten days after the procedure, MR scans were used to choose forty SD rats with successful hepatic tumor transplantation among fifty experimental animals. Then they were randomly divided into four groups: (A, control group) mere injection of vascular endothelial growth factor (VEGF); (B) administration of sorafenib 72 hours prior to VEGF injection; (C) administration of sorafenib together with VEGF injection; (D) administration of sorafenib 72 hours later to VEGF injection. The tumor growth and median survival time of rodents were observed and compared. After each experimental animal died, immunohistochemical (IHC) methods were applied to detect the expression of VEGF in tumors. 【Results】Ten days after the administration of sorafenib, MR showed significant growth of hepatic tumors, the tumor size in experiment group were significant smaller, than control group (5.4 cm) with statistical significance. Median survival time of four groups were (19.6 ± 1.8) d, (31.2 ± 7.0) d, (27.4 ± 4.9) d, and (26.5 ± 4.6) d, respectively, which indicated that animals in sorafenib groups lived longer than those in control group ( $P < 0.05$ ). Differences can be observed in sorafenib groups with statistical significance existing ( $P < 0.05$ ). Harvest hepatic tumor tissues from dead animals and HE staining as well as IHC examination were performed. The expression of VEGF in four groups were 88.3 ± 13.6, 42.8 ± 8.0, 71.9 ± 15.7, and 73.6

收稿日期: 2016-12-21

基金项目: 吴阶平医学基金(320.6750.14800)

作者简介: 李楠, 在读硕士研究生, 研究方向: 肿瘤的介入治疗, E-mail: zsylinan@163.com; 黄勇慧, 通信作者, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 肿瘤/血管疾病的介入治疗, E-mail: cir.huangyonghui@vip.163.com

± 13.7. There were statistical significance between control group and sorafenib groups. And further in sorafenib groups, the expressions of VEGF also varied greatly. 【Conclusion】 Sorafenib can extend the survival time, reduce tumor angiogenesis. And we can conclude that administration of sorafenib before the transient increased expression of VEGF offers survival benefits than that after the evaluation of VEGF levels.

**Key words:** in-situ planted hepatoma; vascular endothelial growth factor; sorafenib; survival benefit

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(3):364-371]

原发性肝癌是目前世界上发病率最高的恶性肿瘤之一,是世界范围内第三大致死率最高的癌症<sup>[1]</sup>。2012年数据显示每年新发约782500例,每年约745500例死于肝癌,仅仅中国就贡献约50%的新增病例及死亡病例<sup>[2]</sup>。目前外科根治性切除是首选的治疗手段,而仅有1/3新发病例能接受手术治疗<sup>[3]</sup>,其五年生存率仅17%~53%,复发率高达70%<sup>[4]</sup>。绝大多数患者在明确诊断或出现症状时,由于肿块巨大或合并晚期肝硬化,常失去手术治疗机会。肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)<sup>[5-8]</sup>是公认BCLC-B期原发性肝癌的首选治疗方法。但是,TACE术后血浆血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平增加是一种导致肿瘤复发和转移的重要因素<sup>[9-10]</sup>。TACE后,肿瘤微环境变得混乱,加重肿瘤内缺氧导致乏氧诱导因子1(HIF-1)产生,进而上调了VEGF mRNA的表达,导致VEGF的大量产生,促进了在TACE后未及时坏死的残留肿瘤重新获得血供,进而引起复发<sup>[11]</sup>。因此术后血清VEGF的升高被公认为是肝细胞癌患者的预后较差预后指标之一。Sorafenib(索拉非尼)是一种新型复合激酶抑制剂,在肿瘤细胞和肿瘤血管系统中靶向作用于丝氨酸/苏氨酸激酶和生长因子受体酪氨酸激酶,是目前唯一治疗中晚期肝癌的分子靶向药物<sup>[12-13]</sup>。我们已经知道TACE后的VEGF升高是在术后24 h达到高峰<sup>[9]</sup>,sorafenib的半衰期为24~48 h,且不直接作用于VEGF。故使用sorafenib后需要多长时间才能发挥阻抑VEGF发挥效能成为指导sorafenib合理使用的重要依据。我们将通过本研究初步探讨这一问题。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物与瘤株

雄性 BALB/c (CAAn.Cg-Foxn1nu/CrlVr) 裸鼠

2只,周龄4周,体质量15~18 g,用于皮下接种肿瘤细胞。清洁级SD(Sprague Dawley)鼠,雄性,50只,体质量150~200 g,购买于中山大学东校区动物实验中心,用于接种肝内肿瘤。Walker-256肿瘤细胞购买于中山大学东校区实验动物中心。实验动物均饲养于中山大学北校区实验动物中心屏障环境。所有实验过程均通过中山大学实验动物伦理委员会批准。Recombinant Rat VEGF165试剂,规格20 μg/支,购买与Peprotech。Sorafenib(拜耳医药保健公司)规格为200 mg/粒。医用明胶海绵购自南京金陵制药厂。

### 1.2 皮下瘤模型的建立

Walker256肿瘤细胞株复苏后,将大约0.4 mL(内含10<sup>7</sup>个肿瘤细胞)的细胞悬液接种于裸鼠腹股沟区。9 d后可见注射部位长出直径约1 cm的肿瘤(图1A)。

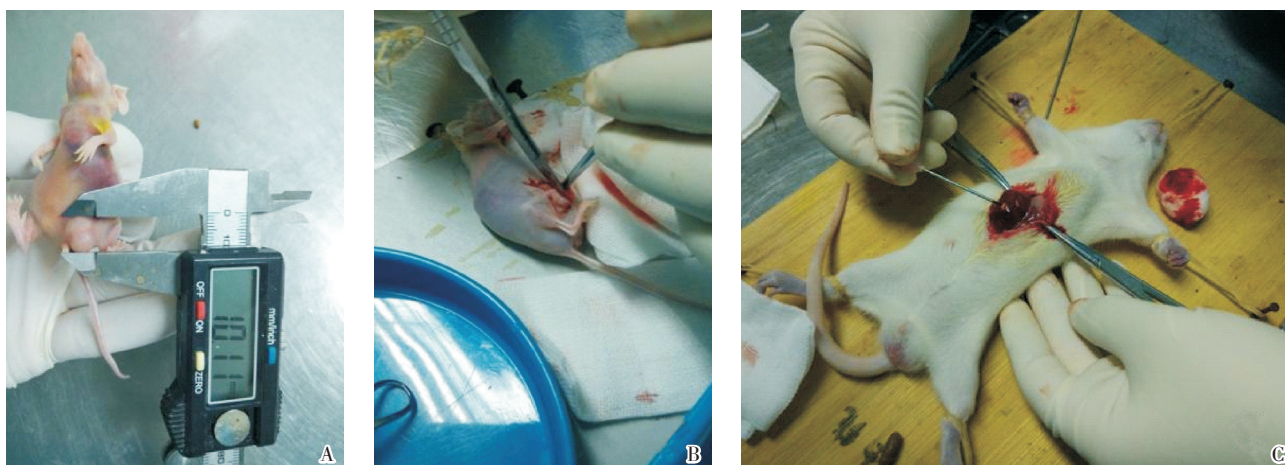
### 1.3 SD大鼠肝癌模型制作

购买雄性SD大鼠50只,体质量约150 g,养至250 g左右。腹腔内注射100 g/L水合氯醛(300 mg/kg)麻醉大鼠,待大鼠无反抗后,固定于大鼠操作台。同样方法处理裸鼠后,将其皮下瘤块切除后浸泡于生理盐水中待用。无菌条件下,于大鼠剑突下分别逐层切开皮肤、肌肉、腹膜,暴露肝脏左叶。使用眼科剪于左肝切开烧瓶样隧道,切取约2~3 mm新鲜鱼肉样瘤块种植于左肝,观察瘤块没有随呼吸掉落腹腔后,于肝脏表面覆盖明胶海绵。后逐层缝合腹膜肌肉、皮肤,消毒切口(图1B、1C)。

等待10 d后,SD大鼠行肝脏MRI扫描,确定成瘤以及肿瘤大小<sup>[14-15]</sup>。使用水合氯醛进行腹腔浸润麻醉后,将SD大鼠分别进行标记并固定于小动物专用MR线圈进行肝脏MRI检查。具体MR扫描参数:Siemens 3.0T TIM Trio MRI机;TE 82.0 ms TR 1500.0 ms;TE1.5 ms TR 508.7 ms;层厚:5 mm。

### 1.4 实验处理

依据MRI扫描结果,对50只种植肿瘤的SD



A: subcutaneous tumors of nude mice; B: cutting off subcutaneously solid tumors; C: inoculating tumors into the liver of SD rats.

图1 肝癌模型的建立

Fig.1 Establishment of the model of liver cancer

大鼠进行筛选,要求成瘤且直径在1 cm左右( $\pm 20\%$ )、无腹水。选取成瘤最符合实验条件的40只SD大鼠作为实验动物。

筛选成瘤最理想的40只SD大鼠,分别进行编号和苦味酸行体表标记。以实验开始第3天作为注射20 mg/L VEGF(1 mL/kg)的时间点。实验动物随机分成4组:对照组A,仅VEGF导入组;B组,Sorafenib(15 mg/kg)<sup>[16]</sup>先于VEGF 72 h导入组;C组,Sorafenib与VEGF同时导入组;D组,Sorafenib后于VEGF 72 h导入组。每组动物分别接受累积剂量为10 d的sorafenib。

### 1.5 影像学检查及病理学检查

待喂药10 d后,再次对大鼠肿瘤进行评价,对SD大鼠行肝脏MRI扫描,确定肿瘤大小、腹腔转移情况,使用mRECIST标准进行评价。继续饲养至所有实验大鼠死亡,对大鼠体内肿瘤进行病理切片,分析比较大鼠肝脏肿瘤切片VEGF的表达。

病理形态观察:待实验动物自然死亡后,解剖实验鼠,取部分瘤组织采用免疫组织化学观察肿瘤组织。VEGF以胞质呈现棕黄色颗粒为阳性。每张切片均由两位资深病理医师在400倍显微镜下观察5个视野,每个视野100个细胞,然后计算阳性细胞数。

### 1.6 统计学分析

使用SPSS 20.0统计学软件进行分析,所有数值均表示为 $\bar{x} \pm s$ 。大鼠生存时间采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,Log-rank检验评价存活时

间差异有无统计学意义。不同时间段肿瘤大小、VEGF采用方差分析进行统计学分析。不同数据的相关性采用Pearson相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

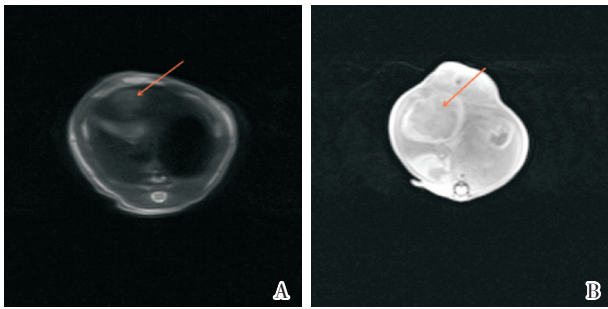
## 2 结果

### 2.1 建模成功及影像学表现

接种第10天后,进行MRI扫描,选取肝脏肿瘤大小较为一致的SD大鼠入组。MRI表现:肿块呈结节状,边界不清,T1WI为中等偏低信号,T2WI呈现中等偏高信号(图2AB)。服用sorafenib 10 d后再次对实验鼠行MRI扫描,可见肝内肿瘤明显增大,其内可见坏死信号。腹水于T2WI呈明显高信号,表现为肠间隙增宽。与第一次MRI扫描相比,肿块明显增大,其大小具有统计学意义( $P < 0.01$ )。其中,A、B、C、D组大鼠肝肿块大小分别为( $5.40 \pm 0.36$ ) cm、( $4.78 \pm 0.55$ ) cm、( $4.80 \pm 0.35$ ) cm、( $4.78 \pm 0.38$ ) cm ( $n = 10, F = 2.303, P = 0.10$ ),其中sorafenib组与对照组大小差别较大(A vs B、C、D,  $P = 0.024, 0.033, 0.027$ ),而实验组内部肿瘤大小差别较小( $P > 0.05$ )。

### 2.2 不同组SD生存时间

40只大鼠饲养至死亡,观察大鼠生存状态及终末生存时间,接种初期大鼠的形态、精神状态正常。对照组动物于第15天左右开始出现体质量下降,胃纳差,行动减少,精神不佳,后期大部分出现毛色无光泽甚至退毛,腹部膨隆,出现恶液



T2WI MRI cross-sectional scanning of the livers of rats after 10 days of implantation of tumor tissues (A) and after 10 of receiving sorafenib(B).

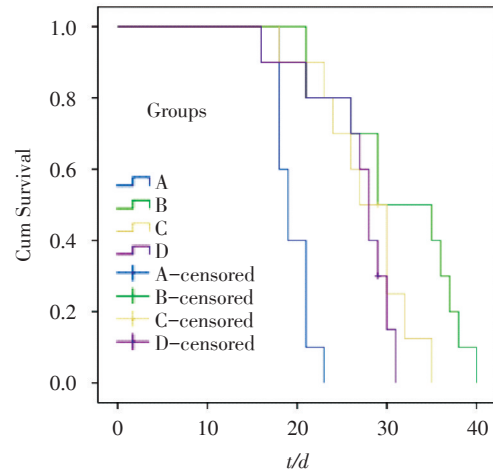
图2 大鼠肝脏的T2WI MRI扫描

Fig.2 T2WI MRI scans of the livers of rats

质表现。Sorafenib组于第18天左右开始出现肿瘤进展及肝功能下降表现。4组动物的生存曲线如图所示(图3),4组实验大鼠中位生存期分别为(19.6 ± 1.8)d、(31.2 ± 7.0)d、(27.4 ± 4.9)d、(26.5 ± 4.6)d( $n = 10, F = 9.613, P = 0.000$ ; A vs B、C、D,  $P = 0.000、0.001、0.003$ ; B vs C、D,  $P = 0.093、0.04$ ; C vs D,  $P = 0.686$ )。Sorafenib组的生存时间明显较对照组长( $P < 0.01$ )。三组sorafenib处理组实验动物生存时间存在较大差异, sorafenib早于VEGF注入前服用可以明显提高生存时间,且服药时间越早,生存获益越大,且具有统计学意义。

2.3 不同实验组动物病理表现

待实验动物死亡后,取下肝脏肿瘤组织进行

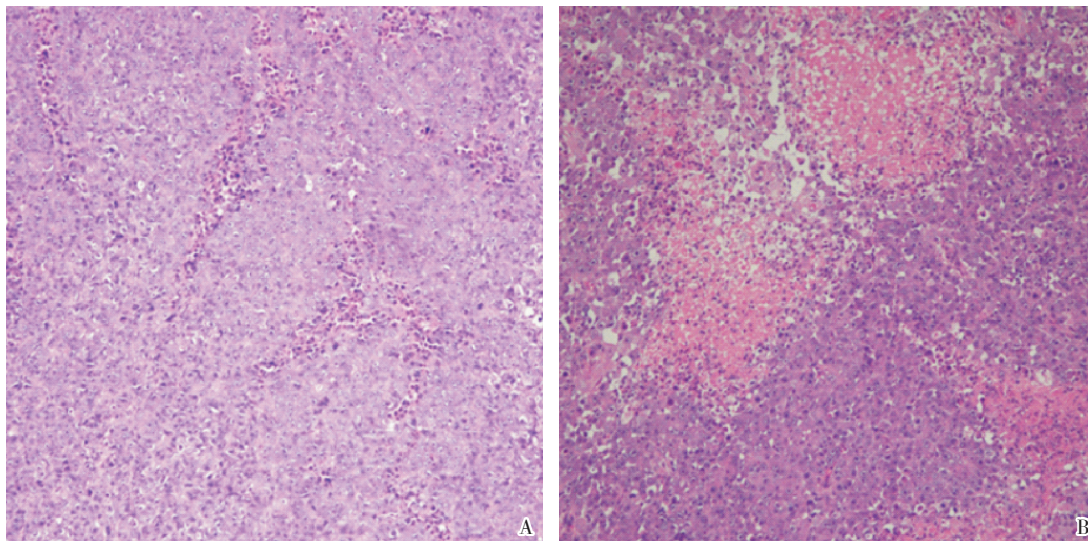


The median survival was 19.6 d in control group (blue curve), 31.2 d in group B (green curve), 27.4 d in group C (yellow curve) and 26.5 d in group D (brown curve). The log-rank test revealed significant differences between survival time in the control and all sorafenib groups ( $P < 0.01$ )

图3 四组实验动物生存曲线图

Fig.3 Survival curves for the rats in the 4 experimental groups

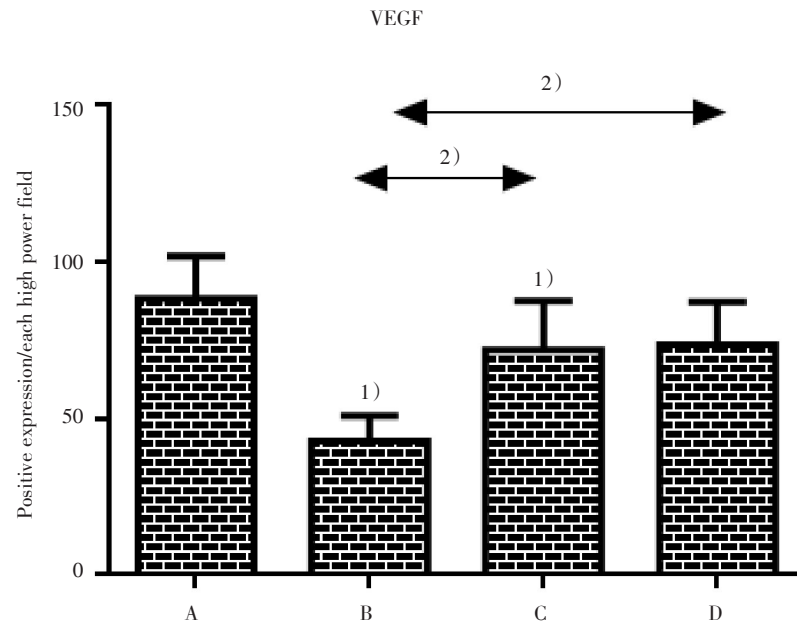
HE染色(图4)。如图所示:肿瘤内部正常肝小叶结构消失,细胞排列紊乱,瘤细胞多呈椭圆形,核大畸形、深染,核仁明显,部分细胞可见分叶核、双核、多核,核浆比明显增大。Sorafenib组肿瘤内可见大片嗜酸性染色区,其内无明显细胞结构,表明sorafenib组内肿瘤细胞大量坏死。



A: control group; B: Sorafenib groups. Representative histochemical images showing the hepatic cancer morphology of rats with hepatic metastasis. Tumor cells with significant atypia are evident and eosinophilic area shows dead cells. HE staining; ×100

图4 种植性肝癌的组织图

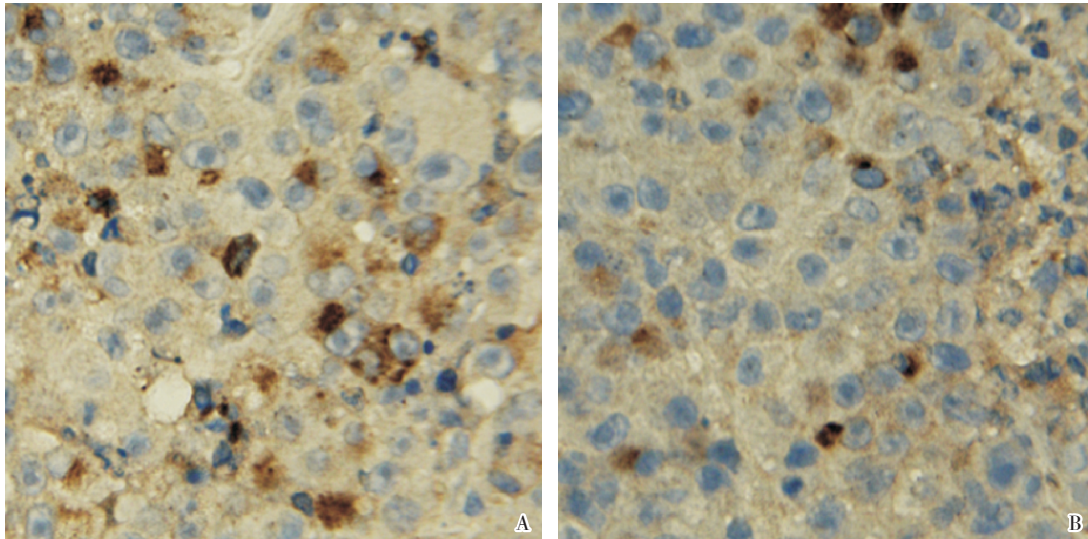
Fig.4 Histochemical images of transplantation hepatic cancer



1)  $P < 0.05$  vs A; 2)  $P < 0.05$  between two groups shown by horizontal line

图5 VEGF在4组不同实验组中的表达

Fig.5 The expression of VEGF in four groups



A: control group; B: Sorafenib groups. IHC analysis of VEGF expression in tumor tissues. Positivity for VEGF was identified by dark brown staining VEGF expression in vascular endothelial cells was high in the control group, lower in taking sorafenib groups. (VEGF,  $\times 400$ )

图6 VEGF在胞质中的染色

Fig.6 The expression of VEGF in cytoplasm

#### 2.4 免疫组织化学检测

待实验动物死亡后,采取标本,行免疫组织化学染色计数VEGF阳性细胞数。四组实验动物VEGF值表达分别为  $88.3 \pm 13.6$ 、 $42.8 \pm 8.0$ 、 $71.9 \pm 15.7$ 、 $73.6 \pm 13.7$ 。(  $n = 10$ ,  $F = 21.199$ ,  $P = 0.000$ ).与对照组相比,sorafenib组的VEGF值明显低于对

照组 ( $P < 0.05$ , A vs B、C、D,  $P = 0.000$ 、 $0.008$ 、 $0.017$ ; B vs C、D,  $P = 0.000$ 、 $0.000$ ; C vs D,  $P = 0.773$ ;图5、6)。

#### 2.5 相关性分析

采用连续型随机变量的Pearson相关分析,对VEGF、生存时间进行相关性统计分析。VEGF与

中位生存期的 Pearson 积矩相关系数为-0.789,两者具有明显负相关性。

### 3 讨论

肝动脉化疗栓塞术(TACE)是治疗中晚期肝癌的最为常用的措施之一,临床实践证实,TACE可延长不能手术切除的中晚期肝癌患者的生存时间<sup>[17-18]</sup>。TACE将肿瘤血供中断,但术后残存病灶会重建血供,使肿瘤得以继续生长,造成肝癌复发,影响TACE的远期疗效<sup>[19-21]</sup>。研究证明,VEGF在TACE术后24 h内升高最明显,呈现一过性增加的趋势,而VEGF的升高已被公认为是肝癌患者预后较差及复发预判指标之一<sup>[9,22]</sup>。因此,我们可以把肿瘤复发的一个重要环节——VEGF上升作为关注点来单独研究。根据介入手术后体内VEGF呈现一过性升高趋势<sup>[9,10,22]</sup>的变化规律,通过外加VEGF,主动调高模型体内VEGF水平以研究VEGF的变化对原位种植性肝癌的影响,并加以药物干预,这是本实验最大的一个特色。而且,本课题组前期实验已证明外源性VEGF对于原位种植性肝癌具有明显促生长的作用,且剂量越大,促进肿瘤增生效果愈明显<sup>[23]</sup>,且VEGF剂量为20 mg/L的剂量相对安全。

Walker 256 肿瘤细胞是大鼠自发的乳腺癌品系,由其构建的原位种植性肝癌动物模型具有取材方便、可控性强的特点,是研究原位种植性肝癌的常用模型<sup>[24]</sup>。我们采用了各项成熟且被研究者熟练掌握的实验手段,通过动物模型的途径,达到模拟人体肝癌效果,并采用目前临床上较先进的3.0T MR机器进行检测肿瘤进展。

通过大量临床试验证实,sorafenib治疗HCC安全有效,是巴塞罗那肝癌临床分期系统推荐的HCC首选治疗方式<sup>[25]</sup>,目前唯一的治疗中晚期肝癌的分子靶向药物。SHARP试验和Oriental试验证实sorafenib在治疗进展期肝细胞癌已显示能提高总生存率<sup>[26-27]</sup>。但两试验均显示对于BCLC分期为C期的病人,总体生存期尽管得到改善,但仍然未突破1年。Pawlik等的临床研究结果证实联合使用sorafenib可以改善TACE的疗效,同时可能降低系统并发症的发生<sup>[28]</sup>。Ghassan在《TACE and Sorafenib: A Good Marriage?》<sup>[29]</sup>一文中提出sorafenib使用的时间可能是导致疗效差异的关键

因素,因为前者采用的是sorafenib在TACE之前就开始并维持使用的方案,而后者却采用的是在3个周期的TACE后在续贯使用sorafenib。由此,Strebel等<sup>[30]</sup>提出了三种联合TACE和抗血管靶向药物的治疗模式。他们分别是:①序贯模式,即在数个周期的TACE后,在采用抗血管靶向药物治疗;②间断模式,即仅在TACE治疗的前后给予抗血管靶向药物,以对应性拮抗TACE后的VEGF升高;③连续模式,即在采用TACE治疗同时或之前开始使用抗血管靶向药物治疗。事实证明,模式1未获得显著的有效性,而后两种模式是否合理可行尚待证实。因此,我们选择在VEGF升高前、升高同时及升高后进行累积剂量相同的sorafenib进行研究。

Sorafenib是一种新型复合激酶抑制剂,在肿瘤细胞和肿瘤血管系统中靶向作用于丝氨酸/苏氨酸激酶和生长因子受体酪氨酸激酶。它通过对Raf激酶的抑制活性来进行靶向筛选,且对于c-Raf、b-Raf(正常和突变型)和MAPK家族中p38 $\alpha$ 是强大的抑制剂。Sorafenib也抑制酪氨酸激酶受体(VEGFR-2、VEGFR-3、PDGFR- $\beta$ 、Flt3和c-Kit),它们和肿瘤血管生成密切相关<sup>[31]</sup>。我们将实验动物分别于不同时间点开始给予累积剂量相同的标准当量的sorafenib持续喂饲。实验10 d后,根据mRECIST的评价标准,所有实验动物肿瘤均进展<sup>[32]</sup>。但与对照组相比,sorafenib组肿瘤大小与其大小差别较大,具有统计学意义。Sorafenib不同时间之间瘤块大小差别较小。这说明sorafenib对VEGF促瘤效应都有抑制作用,但是不同给药时间是否的确不存在差别呢?我们同时发现在给药不同组间存活时间是存在差别的。四组实验动物的生存期分别为(19.6  $\pm$  1.8)d、(31.2  $\pm$  7.0)d、(27.4  $\pm$  4.9)d、(26.5  $\pm$  4.6)d。研究表明,sorafenib不仅作用于VEGF受体,而且可以使介入术后的血清VEGF表达明显减少<sup>[33]</sup>。我们取不同组肿瘤组织进行免疫组织化学检测,sorafenib组的VEGF明显低于对照组( $P < 0.05$ ),四组不同组VEGF值分别为88.3  $\pm$  13.6、42.8  $\pm$  8.0、71.9  $\pm$  15.7、73.6  $\pm$  13.7。因此可知服用sorafenib时间越早,对于肿瘤的血管生成的抑制作用越好。VEGF的降低,一方面是索拉非尼对VEGF的抑制作用,另一方面肿瘤细胞大量坏死,其释放的VEGF也会明显减少。多数肿瘤生长需要较正常组织更多的血液供应,抑制了肿瘤VEGF表达,最终结果就

会导致血管生成的减少,这意味着肿瘤的生长减慢,其内可能大量坏死。HE染色图片中 sorafenib 组肿瘤内部出现大片状嗜酸性坏死区域,其内未见明显细胞结构,提示 sorafenib 组肿瘤组织内有大量细胞缺血缺氧而坏死,与肿瘤内部 VEGF 具有明显相关性。且 HE 染色中 sorafenib 组肿瘤细胞相对较少,坏死较多,血供不足,虽 MR 显示肿瘤大小无明显差异,但是其肿瘤细胞活性明显减低。肿瘤细胞的大量坏死及活性的减低,必然预示着实验动物的生存期存在着不同,四组实验动物生存期的差别恰恰验证了我们的想法。而且,通过相关性检验,我们知道 VEGF 与实验动物中位生存期具有明显负相关性。由此可知, sorafenib 确实能提高肝癌动物的生存时间。对于不同时间点的 sorafenib 组,把喂药时间控制在 VEGF 一过性升高之前,肝内肿瘤控制效果最好, VEGF 降低最明显,其中位生存时间延长最明显。通过此实验,我们确认 sorafenib 的应用对于原位种植性肝癌具有明显延长生存时间的作用,而且, sorafenib 在治疗过程中用药时间越早肝癌鼠生存获益越大。

本研究虽然证实 sorafenib 对介入手术后 VEGF 促瘤效应具有明显抑制作用,且介入术前应用生存获益高于术中或术后应用。但本实验仍有一些不足之处:①没有直接采用 TACE。根据我们既往的经验,对原位种植性肝癌模型进行 TACE 治疗,不能完全达到模拟 TACE 对人类肝癌产生的效果,同时存在较低的成功率,并且使动物模型生存时间缩短,降低研究的效率,影响研究的进行。同时采用人为导入 VEGF 的方法,有利于突出反映 sorafenib 作用与 VEGF 上调之间的关系,避免了其他因素的干扰。②根据本文,提前给药的效果仅在动物实验被证实,后期需细胞学研究来阐明其可能的机制。③对于肝癌患者,提前给药带来的益处还需要临床上更多证据来证实。

Sorafenib 在 SD 大鼠中能有效地抑制一过性 VEGF 升高带来的促瘤生长效果,且在一过性 VEGF 升高前服用 sorafenib 能更好地抑制肿瘤细胞增殖并延长瘤鼠的生存时间。

#### 参考文献

- [1] Connell LC, Harding JJ, Shia J, et al. Combined intrahepatic cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma[J]. *Chin Clin Oncol*, 2016, 5(5): 66-75.
- [2] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *Ca A Can J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [3] Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2003, 362(9399): 1907-1917.
- [4] Grazi GL, Ercolani G, Pierangeli F, et al. Improved results of liver resection for hepatocellular carcinoma on cirrhosis give the procedure added value[J]. *cell stem*, 2001, 234(1): 71-78.
- [5] Lewandowski RJ, Mulcahy MF, Kulik LM, et al. Chemoembolization for hepatocellular carcinoma: Comprehensive imaging and survival analysis in a 172-patient cohort[J]. *Radiology*, 2010, 255(3): 955-965.
- [6] Bruix J, Sala M, Llovet JM. Chemoembolization for hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2004, 8(127): 1108-1114.
- [7] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: An update: American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Practice Guideline [J]. *Cancer*, 2011, 53(2): 1020-1035.
- [8] Ueno K, Miyazono N, Inoue H, et al. Transcatheter arterial chemoembolization therapy using iodized oil for patients with unresectable hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer*, 2000, 88(7): 1574-1581.
- [9] Li X, Feng GS, Zheng CS, et al. Expression of plasma vascular endothelial growth factor in patients with hepatocellular carcinoma and effect of transcatheter arterial chemoembolization therapy on plasma vascular endothelial growth factor level [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(19): 2878-2882.
- [10] Wang B, Xu H, Gao ZQ, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization [J]. *Acta Radiologica*, 2008, 49(5): 523-529.
- [11] Liu K, Min XL, Peng J, et al. The changes of HIF-1 $\alpha$  and VEGF expression after TACE in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Med Res*, 2016, 8(4): 297-302.
- [12] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *NEJM*, 2009, 359(23): 2498-2499.
- [13] Chen Z. Efficacy and safety of Sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: A phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(10): 25-34.
- [14] Lucia Martiniova MS, Dsc MSK, Thomasson D, et al. Noninvasive monitoring of a murine model of metastatic

- pheochromocytoma: A comparison of contrast-enhanced microCT and nonenhanced MRI [J]. *J Mag Reson Imaging*, 2009, 29(3): 685-691.
- [15] Freimuth J, Gassler N, Moro N, et al. Application of magnetic resonance imaging in transgenic and chemical mouse models of hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9(1): 94-107.
- [16] Andersen KJ, Knudsen AR, Kannerup AS, et al. Sorafenib inhibits liver regeneration in rats [J]. *HPB*, 2013, 15(12): 944-950.
- [17] Camma C, Schepis F, Orlando A, et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: Meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Radiology*, 2002, 224(9): 47-54.
- [18] Llovet J M, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival [J]. *Hepatology*, 2003, 37(2): 429-442.
- [19] 陈建斌,魏思东,陈国勇,等.索拉非尼联合雷帕霉素治疗肝癌肝移植术后肿瘤复发的疗效观察[J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(2): 56-59.  
Chen JB, Wei SD, Chen GY, et al. Curative effect of sorafenib and rapamycin on recurrent primary liver cancer after liver transplantation [J]. *Chin J Modern Med*, 2015, 25(2): 56-59
- [20] 张岚,任正刚.索拉非尼治疗肝癌常见不良反应及处理的研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2013(20): 1268-1271.  
Zhang L, Ren ZG. Research progress in clinical presentation and management of adverse events associated with sorafenib in hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Clin Oncol*, 2013, (20): 1268-1271
- [21] 俞倩,陈中安,陈鹏.索拉非尼治疗中晚期肝癌的临床疗效及安全性[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2016, 11(5): 582-584.  
Yu Q, Chen ZA, Chen P. Safety and efficacy of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Clin Oncol Rehabil*, 2016, 11(5): 582-584.
- [22] 宋磊,吕申.原发性肝癌TACE治疗前后血浆VEGF水平变化及其与疗效间相关性的研究[J]. *大连医科大学学报*, 2008, 30(3): 232-235.  
Song L, Lv S. Possibility of VEGF as a marker to evaluate effectiveness of intervention therapy to hepatocellular carcinoma [J]. *J Dalian Med Univ*, 2008, 30(3): 232-235.
- [23] Liu N, Yang J, Huang Y, et al. Vascular endothelial growth factor accelerates establishment of a model of hepatic metastasis in Walker-256 tumor-bearing rats [J]. *Am J Med Sci*, 2015, 349(3): 234-239.
- [24] Zhang Y, Li M, Wei L, et al. Differential protein expression in perfusates from metastasized rat livers [J]. *Proteome Sci*, 2013, 11(1): 1-8.
- [25] 曲岩,晏建军,黄亮,等.肝动脉化疗栓塞联合Sorafenib治疗中期肝细胞癌患者的安全性及疗效[J]. *第二军医大学学报*, 2013, 34(8): 835-838.  
Qu Y, Yan JJ, Huang L, et al. Transarterial chemoembolization combined with sorafenib in treatment of middle stage hepatocellular carcinoma: efficacy and safety [J]. *Acad J Second Milit Med Univ*, 2013, 34(8): 835-838.
- [26] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *NEJM*, 2009, 359(23): 2498-2499.
- [27] Llovet J M, Real M I, Montaña X, et al. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2002, 359(9319): 1734-1739.
- [28] Pawlik TM, Reyes DK, Cosgrove D, et al. Phase II trial of Sorafenib combined with concurrent transarterial chemoembolization with drug-eluting beads for hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*, 2011, 29(30): 3960-3967.
- [29] Abou-Alfa GK. TACE and Sorafenib: a good marriage? [J]. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*, 2011, 29(30): 3949-3952.
- [30] Strelbel B M, Dufour J F. Combined approach to hepatocellular carcinoma: a new treatment concept for nonresectable disease [J]. *Exp Re Anti Therapy*, 2008, 8(11): 1743-1749.
- [31] Wilhelm S M, Carter C, Tang L, et al. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis [J]. *Cancer Research*, 2004, 64(19): 7099-7109.
- [32] Lencioni R, Llovet J M. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma [J]. *Sem Liver Dis*, 2010, 30(1): 52-60.
- [33] Dufour JF, Hoppe H, Heim MH, et al. Continuous administration of Sorafenib in combination with transarterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma: Results of a phase I study [J]. *Oncologist*, 2010, 15(11): 1198-1204.

(编辑 王晓鹰)