

## **Arabinoksylian z otręb ryżu (MGN-3) wzmacnia efekty terapii interwencyjnej w leczeniu raka wątroby: Trzyletnie randomizowane badanie kliniczne**

MAI HONG BANG<sup>1</sup>, TRAN VAN RIEP<sup>2</sup>, NGUYEN TIEN THINH<sup>1</sup>, LE HUU SONG<sup>3</sup>,  
TRINH TUAN DUNG<sup>4</sup>, LE VAN TRUONG<sup>5</sup>, LE VAN DON<sup>6</sup>, THAI DOAN KY<sup>1</sup>,  
DEYU PAN<sup>7</sup>, MAGDA SHAHEEN<sup>7</sup> and MAMDOOH GHONEUM<sup>8</sup>

Zakład: <sup>1</sup>Hepatogastroenterologii, <sup>2</sup>Obrazowania i Diagnostyki Funkcjonalnej, <sup>3</sup>Biologii Molekularnej, <sup>4</sup>Patologii, Kardiologii Interwencyjnej i <sup>6</sup>Immunologii.

108 Centralny Szpital Wojskowy, Hanoi, Wietnam;

Zakłady <sup>7</sup>Medycyny Wewnętrznej i <sup>8</sup>Otolaryngologii,

Uniwersytet Charlesa Drew Medycyny i Nauki, Los Angeles, CA, USA.

**Streszczenie.** Istniejący stan wiedzy i cele: W niniejszej pracy badano skuteczność arabinoksylianu z otręb ryżowych w terapii interwencyjnej (IT) w leczeniu pacjentów z nowotworami wątroby. Pacjenci i metody: łącznie w badaniu wzięło udział 68 pacjentów z rakiem wątroby (stopień I i II). Pacjenci byli randomizowani i poddawani IT (30 pacjentów, grupa kontrolna) lub IT+MGN-3 (38 pacjentów) i przydzieleni do dwóch grup w sposób losowy za pomocą listy generowanej komputerowo. Pacjenci i badacze byli poddani procedurze zaślepienia. IT obejmowała przezarterialną chemoembolizację (TOCE) lub połączenie TOCE i terapii polegającej na podskórnej iniekcji etanolu (PEIT). Wyniki: pacjenci w grupie IT+MGN-3 wykazywali: i) mniejszy stopień nawrotów choroby, 31,6% (12/38) w porównaniu do 46,7% (14/30) w grupie kontrolnej.; ii) wyższą przeżywalność po drugim roku, 35% w porównaniu do 6,7% w kontroli; iii) znacząco obniżony poziom alfa-fetoproteiny, 38% spadek ( $p=0.0001$ ), w porównaniu do wartości bazowej; iv) znaczący spadek objętości guza, w przeciwieństwie do kontroli, która nie wykazała znaczących zmian. Gdy analizowano wyniki pod kątem odpowiedzi na IT, podgrupy MGN-3+IT wykazywały większą odpowiedź na terapię, w każdym badanym aspekcie, w porównaniu z grupami jedynie po IT. Jednakże pacjenci w podgrupie MGN-3+TOCE+PEIT wykazywali większe obniżenie w poziomach AFP i dłuższy czas przeżycia niż grupa MGN-3+TOCE. Wniosek: MGN-3 w połączeniu z IT może być użyteczny w terapii raka wątroby i zasługuje na prowadzenie dalszych wieloośrodkowych badań klinicznych.

Rak wątroby (HCC) jest szóstym najczęstszym nowotworem z częstością nowych zachorowań 626000 na rok (1, 2). Rokowania przy tym typie nowotworu są złe, z medianą przeżywalności poniżej sześciu miesięcy. Etiologia HCC może być związana z trzema głównymi czynnikami epidemiologicznymi, mianowicie infekcją wirusem żółtaczkki typu B i C, ekspozycją na aflatoksynę i marskością wątroby (1, 3). Terapie interwencyjne (ITs) obejmują przetętniczą chemoembolizację (TOCE), terapię polegającą na podskórnym wstrzyknięciu etanolu (PEIT), radioablację (RFA) i krioablację (4). Jednakże, przeżywalność pacjentów, którzy są podawani

takim rodzajom terapii w dalszym ciągu nie przekracza dwóch, trzech lat (5). Chociaż sugerowano, że TOCE jest skuteczną terapią w nieoperowalnym HCC, zwiększona przeżywalność nie została potwierdzona w randomizowanych badaniach klinicznych (6). Pomimo tego, metoda ta pozostaje szeroko stosowaną terapią paliatywną przypadków HCC, które nie kwalifikują się do operacji czy terapii ablacyjnych. Podobnie, kilka nierandomizowanych badań klinicznych wykazało korzystny efekt przetętniczej chemoembolizacji, chociaż nie potwierdzono tego w badaniach randomizowanych (6). Dodatkowo, efekty uboczne i komplikacje terapii TACE są poważne (7). Metoda PEIT zyskała szerokie uznanie jako metoda terapii HCC ale może być stosowana jedynie w mniejszości przypadków.

Złe rokowania dla pacjentów z HCC w połączeniu z niską skutecznością dostępnych metod terapii, stwarzają konieczność poszukiwania nowych metod terapeutycznych lub modyfikacji obecnie stosowanych technik IT. Niniejszy artykuł przedstawia wyniki badań zmierzających do ustalenia czy połączenie IT, a konkretnie TOCE, PEIT i RFA z MGN-3, arabionoksylenem z otrębów ryżowych, może zwiększać przeżywalność pacjentów z HCC. Wykazano, że MGN-3 jest silnym czynnikiem modyfikującym odpowiedź biologiczną (BRM) (8-11), czynnikiem chemocuczulającym oraz zwiększa wrażliwość komórek nowotworowych na apoptozę indukowaną receptorem śmierci (CD95) (12) oraz na działanie daunorubicyny (13). Wyniki wykazały, że pacjenci HCC otrzymujący IT+MGN-3 wykazywali wyższy odsetek przeżywalności niż pacjenci na samej terapii IT.

## **Pacjenci i Metody**

*MGN-3.* MGN-3 jest zdenaturowaną hemicelulozą, która jest otrzymywana na drodze reakcji hemicelulozy z otręb ryżowych z enzymami z grzybów Shiitake hydrolizującymi wielocukry. Jest to arabinoksylen z ksylozą w głównym łańcuchu i polimerem arabinozy w łańcuchu bocznym (8). Pacjenci otrzymywali MGN-3 w dawce 1 g/dobę. Dawka była podzielona na porcje i przyjmowana doustnie wraz z posiłkiem przez 12 miesięcy, wraz ze stosowaniem terapii interwencyjnej (patrz niżej). MGN-3 był dostarczany przez Daiwa Pharmaceuticals Co., Ltd., Tokyo, Japan i jest powszechnie znany pod nazwą Biobran lub Lentin Plus 100.

*Pacjenci.* W badaniu uczestniczyło sześćdziesięciu ośmiu pacjentów (54 mężczyzn, 14 kobiet) z HCC, w wieku 30-68. Pacjenci byli przyjmowani w 108 Centralnym Szpitalu Wojskowym w Hanoi, Wietnam i byli w sposób losowy dzieleni na dwie grupy za pomocowaną randomizacji generowanej komputerowo: grupa IT i grupa IT+MGN-3. Zarówno badani jak i badacze nie byli świadomi przynależności do poszczególnych grup (zaślepienie badania). Grupa IT (30 pacjentów wiek  $51 \pm 17$  lat; 24 mężczyzn, 6 kobiet) było poddawanych jedynie IT, podczas gdy grupa IT+MGN-3 (38 pacjentów wiek  $49 \pm 19$  lat; 30 mężczyzn, 8 kobiet) było poddawanych terapii IT+MGN-3 przez 3 lata (wiek przedstawiono jako średnia  $\pm$  odchylenie standardowe).

Od każdego uczestnika uzyskano pisemną, świadomą zgodę na udział w badaniu. Protokół badania był zgodny z Deklaracją Helsińska z roku 1975, co zostało potwierdzone przez

Generalny Sekretariat VASLD Hanoi, Wietnam i Międzynarodową Komisję na Uniwersytecie Charlesa Drewa Medycyny i Nauki, Los Angeles, CA, USA.

Przed badaniem, przeprowadzano charakterystykę kliniczną, charakterystykę guza oraz określono typ terapii dla pacjentów w każdej grupie. Charakterystyka kliniczna pacjentów z HCC, poprzedzająca terapię była prowadzona pod kątem wirusowego zapalenia wątroby i poziomów alfafetoproteiny (AFP). Liczba pacjentów z zapaleniem wątroby B i/lub C w grupie IT wynosiła 26 a dla grupy IT+MGN-3 wynosiła 35. Liczba pacjentów z poziomami AFP w 3 kategoriach (<20, 20-500 i powyżej >500 ng/ml) wynosiła odpowiednio 11, 7 i 12 dla grupy IT; oraz 12, 10 i 16 dla grupy IT+MGN-3. Uzyskano także inne, klinicznie istotne dane od pacjentów HCC. Liczba pacjentów dla każdego objawu w dwóch grupach przechodzących terapię (odpowiednio, grupa IT i grupa IT+MGN-3) była następująca: zmęczenie (19 vs. 23), ból w prawej górnej części ciała (22 vs. 27), gorączka (5 vs. 5), problemy trawienne (3 vs. 5), utrata masy ciała (8 vs. 9), żółtaczka (2 vs. 3), hepatomegalia (11 vs. 15) i brak objawów (4 vs. 4). Charakterystyka guzów nowotworowych była wykonywana przed rozpoczęciem terapii i obejmowała liczbę guzów, miejsce guza, rozmiar guza i stopień zróżnicowania. Tabela 1 przedstawia liczbę pacjentów w grupie IT oraz grupie IT + MGN-3 dla każdej ze wspomnianych wyżej charakterystyk. Warto zauważyć, że większość pacjentów w każdej grupie miała tylko jeden guz, który był zlokalizowany w prawym płacie o średnicy guza większej niż 3 cm. Poziomy zróżnicowania guzów były scharakteryzowane jako dobre, umiarkowane i złe w każdej z grup. Liczba pacjentów w każdej kategorii nie był w sposób statystycznie istotny różny pomiędzy dwiema grupami ( $p>0.05$ ).

Terapia interwencyjna (IT). Podejścia terapeutyczne dla pacjentów HCC obejmowały PEIT, TOCE i RFA. Liczba pacjentów w dwóch grupach (odpowiednio, IT i IT+MGN-3) dla każdej metody terapii była następująca: TOCE (11 vs. 13), TOCE+PEIT (14 vs. 20), PEIT (3 vs. 3), TOCE+RFA (2 vs. 2). Liczba pacjentów dla każdej metody terapii nie różniła się znacząco pomiędzy dwoma grupami ( $p>0.05$ ). Protokoły stosowane w terapii zależały od rozmiaru guza, wyników pierwszej terapii i czasu wznowy. W przypadku TOCE, adriamycynę (20-60 mg na terapię; średnio=40 mg/terapię) mieszano z lipiodolem (5-20 ml na terapię; średnio=12 ml/terapię) i pacjenci byli poddawani terapii co 1-2 miesiące (2-5 terapii na pacjenta, średnio 3 terapie na pacjenta). Terapia PEIT składała się z iniekcji etanolu (99,5%; 3-15 ml/terapię, średnio 8 ml/terapię) podawaną dwa razy w tygodniu (średnio 6 terapii na pacjenta). Dla guzów o promieniu  $r$  poniżej 2.5 cm, całkowitą objętość etanolu ( $V$ ) obliczano ze wzoru:  $V=4/3\pi(r+0.5)^3$  (14). W przypadku terapii RFA, radioterapia była prowadzona przy mocy 60 W przez 5 minut, 2-4 cykle na terapię, 1-2 razy w tygodniu. W przypadku guzów o długości mniejszej niż 2 cm, pacjenci byli poddawani zabiegowi raz, dla guzów długości 2-4 cm, pacjenci byli poddawani zabiegom 2-3 razy, w przypadku większych guzów, pacjenci byli leczeni 3-5 razy. Dane RF nie zostały zamieszczone, z uwagi na małą próbkę pacjentów.

*Ocena wyników terapii.* Odpowiedź pacjentów na leczenie oceniano poprzez ocenę ogólnej odpowiedzi na terapię, poziomy AFP, objętość guza, nawroty choroby oraz przeżywalność.

*Ogólna odpowiedź na terapię.* Pacjentów oceniano pod względem ogólnej odpowiedzi na terapię. Pozytywną odpowiedź stwierdzano gdy pacjent nie czuł się zmęczony, miał dobry apetyt, nie czuł bólu w okolicy wątroby i przybył na wadze 3-5 kg. Dodatkowo, w przypadku pozytywnej odpowiedzi, badanie ogólne wykazywało zmniejszenie wielkości wątroby i brak objawów żółtaczk lub obrzęku. Pacjenci, którzy nie doświadczali żadnych znaczących zmian w poziomach energii, bólu, gorączki, wagi, żółtaczk lub obrzęków byli umieszczani w grupie 'nie odpowiadającej'. Odpowiedź 'niekorzystna' była definiowana jako odpowiedź odwrotna do wyżej opisanej odpowiedzi pozytywnej. Dodatkowo, większość pacjentów w grupie odpowiedzi odwrotnej doświadczało wzrostu wielkości guza lub wznowy, co obserwowano technikami obrazowania oraz dochodziło do przerzutów.

*Poziomy AFP.* Poziomy AFP pacjentów analizowano w interwałach 6-ścio miesięcznych przez 36 miesięcy za pomocą testu ELISA AFP.

*Objętość guza.* Objętość guza oznaczano w interwałach 6-ścio miesięcznych przez 36 miesięcy za pomocą tomografii komputerowej (CT), wyniki pomiarów guza przedstawiono w Tabeli IV.

*Wznowa.* Jednym z wtórnych parametrów oceny terapii była wznowa. Pacjenci byli badani pod kątem występowania wznowy w interwałach 6-ścio miesięcznych przez 36 miesięcy. Jeżeli pacjenci doświadczali poprzednio remisji, obecność guza uznawano za wznowę. Dane prezentowano jak odsetek pacjentów ze wznową.

*Przeżywalność.* Podstawowym parametrem oceny terapii była przeżywalność. Była ona oceniana w 2-3 miesięcznych interwałach przez 36 miesięcy.

*Analiza statystyczna.* Zastosowano statystyki opisowe w celu scharakteryzowania pacjentów (średnia, mediana i odchylenie standardowe dla zmiennych ciągłych oraz odsetki dla zmiennych kategoryzowanych). Do oceny statystycznej istotności różnic pomiędzy grupami dla zmiennych kategoryzowanych zastosowano test chi-2. Dla zmiennych ciągłych stosowano nieparametryczny test mediany, test U Manna-Whitneya i test Wilcoxon, dla zmiennych nie spełniających kryteriów rozkładu normalnego; dla danych spełniających kryterium rozkładu normalnego stosowano sparowane i niesparowane testy t. Ocenę przeżywalności wykonywano za pomocą procedury Kaplana-Meiera. Metodą tą oceniano względne prawdopodobieństwo kiedy wystąpi śmierć w danym punkcie czasowym oraz oceniano przeżywalność. Dane analizowano stosując SPSS wersja 15 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

Tabela I. Charakterystyka guzów pacjentów przed terapią.

Charakterystyka	IT		IT+MGN-3	
	n=30	%	n=38	%
<b>Liczba guzów</b>				
Liczba pacjentów z jednym guzem	23	76.7	31	81.6
Liczba pacjentów z dwoma guzami	7	23.3	7	18.4
Całkowita liczba guzów	37	100	45	100
<b>Miejsce guza</b>				
Prawy płąt	28	75.7	32	71.7
Lewy płąt	5	13.5	7	15.6
Oba płaty	4	10.8	6	13.3
<b>Rozmiar (średnica)</b>				
<3 cm	4	10.8	5	11.1
3-6 cm	20	54.1	23	51.1
>6 cm	13	35.1	17	37.8
<b>Zróżnicowanie</b>				
Dobre	9	24.3	11	24.5
Umiarkowane	22	59.5	24	53.3
Złe	6	16.2	10	22.2

Tabela II. Wpływ terapii na poziomy AFP (cały grupy). Dane reprezentują średni poziom AFP. % Zmian = 100 x [(wartość po terapii) – (wartość przed terapią)] / (wartość przed terapią).

Terapia	Wielkość guza (cm <sup>3</sup> )	Pacjenci		Poziom AFP (ng/ml)		% Zmian
		Liczba	%	Przed terapią	Po terapii	
IT	≤200	17	57	292.8	316.5	+8%
	>200	13	43	431.7	456.1	+6%
	10-1320*	30	100	353	376.97	+7%
IT+MGN-3	≤200	22	58	509	356.8	-30%
	>200	16	42	511.4	260.4	-49%
	12-1200*	38	100	510	316.2	-38%

\*Zakres objętości guza w grupie.

Tabela III. Wpływ terapii na poziomy AFP (podgrupy). Dane reprezentują średni poziom AFP. % Zmian=100 x [(wartość po terapii) – (wartość przed terapią)] / (wartość przed terapią).

Terapia	Liczba pacjentów	Poziom AFP (ng/ml)		% Zmian
		Przed terapią	Po terapii	
TOCE	11	433.5	360.9	-16%
TOCE+MGN-3	13	726.1	506.9	-30%
TOCE+PEIT	14	242.2	382.6	+58%
TOCE+PEIT+MGN-3	20	450	218.9	-51%

Tabela IV. Wpływ terapii na objętość guza (cała grupa). Dane reprezentują średnią  $\pm$  odchylenie standardowe. % Zmian= $100 \times [(wartość\ po\ terapii) - (wartość\ przed\ terapią)] / (wartość\ przed\ terapią)$ .

Terapia	Wielkość guza (cm <sup>3</sup> )	Pacjenci		Terapia		% Zmian
		Liczba	%	Przed terapią	Po terapii	
IT	≤200	17	57	92.7±12.3	97.6±35	+5%
	>200	13	43	460.4±76.1	454.9±106.7	-1%
	10-1320*	30	100	252.0±258.7	252.5±324.3	+0.2%
IT+MGN-3	≤200	22	58	125.9±13.6	94.1±22.3	-25%
	>200	16	42	481.7±56.6	288.3±47.9	-40%
	12-1200*	38	100	275.7±234.1	175.8±174.9	-36%

\*Zakres objętości guza w grupie.

## Wyniki

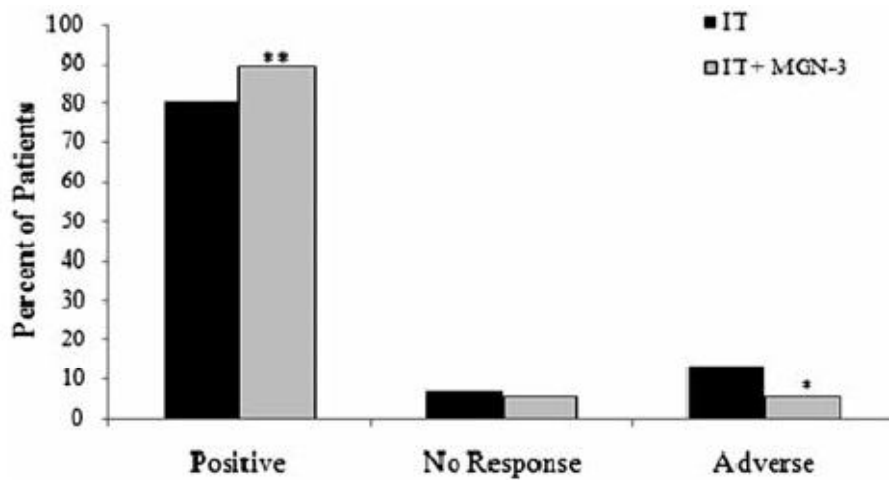
*Odpowiedź na terapię IT.* Rycina 1 przedstawia, że 89% pacjentów w grupie IT+MGN-3 oraz 80% w grupie IT wykazało pozytywną odpowiedź na terapię. Natomiast 5% w grupie IT+MGN-3 doświadczyło odwrotnych skutków w porównaniu z 13% w grupie IT ( $p < 0.05$ ).

*Poziomy AFP.* Poziomy AFP u pacjentów badano przed i po terapii względem całkowitej objętości guza. Pacjenci byli zbierani w podgrupy o objętości guza  $\leq 200\text{ cm}^3$  lub  $> 200\text{ cm}^3$  w grupie IT i w grupie IT+MGN-3, wyniki pomiarów AFP przedstawiono w Tabeli II. Jak wykazano za pomocą nieparametrycznego testu U Manna Whitneya, grupa IT traktowana łącznie wykazywała wzrost poziomu AFP o 7% ( $p = 0.2$ ), względem początkowych wartości AFP przed terapią. Szczególny wzrost poziomów AFP w zakresie 6 do 8% zaobserwowano u pacjentów z całkowitą objętością guza  $\leq 200\text{ cm}^3$  lub  $> 200\text{ cm}^3$ . W przeciwieństwie do tego, grupa IT+MGN-3 wykazywała znaczący spadek poziomu AFP ze zmianą 38% względem wartości przed terapią ( $p < 0.001$ ). W szczególności, znaczący spadek poziomów AFP sięgający od 30 do 49% ( $P < 0.05$ ) zaobserwowano u pacjentów z całkowitą objętością guza  $\leq 200\text{ cm}^3$  lub  $> 200\text{ cm}^3$  (Tabela II).

Pacjenci byli także dzieleni na podgrupy pod względem efektów terapii, zmiany w poziomach AFP po terapii przedstawiono w Tabeli III. Pacjenci w podgrupie TOCE wykazywali 16% spadek AFP, podczas gdy pacjenci w grupie TOCE+MGN-3 wykazywali 30% spadek AFP. Co więcej, pacjenci w grupie TOCE+PEIT mieli 58% wzrost AFP, podczas gdy grupa TOCE+PEIT+MGN-3 wykazywała 51% spadek AFP ( $p < 0.01$ ).

*Objętość guza.* Objętość guza badano u pacjentów HCC po terapii i wyniki kategoryzowano do dwóch podgrup w zależności od całkowitej objętości guza  $\leq 200\text{ cm}^3$  lub  $> 200\text{ cm}^3$ . Co zaskakujące, grupa IT nie wykazywała prawie zmiany w objętości guza (0.2%). Dla odmiany, grupa IT+MGN-3 miała całkowite zmniejszenie się objętości guza o 36% (Tabela IV). W szczególności, pacjenci w grupie IT+MGN-3 z objętością guza  $\leq 200\text{ cm}^3$  i  $> 200\text{ cm}^3$

wykazywali znaczący spadek średniej objętości guza odpowiednio o 25% ( $p < 0.05$ ) i 40% ( $p < 0.05$ ). Jednakże, pacjenci w odpowiednich grupach IT nie wykazywali znaczącej zmiany w objętości guza.



Ryc. 1. Ogólna odpowiedź na terapię. Pacjenci w grupach IT i IT+MGN-3 byli badani pod kątem ogólnej pozytywnej odpowiedzi, braku odpowiedzi czy negatywnej odpowiedzi na terapię. Mierzone parametry obejmowały zmęczenie pacjenta, apetyt, ból wątroby, rozmiar wątroby, gorączkę, utrata lub wzrost wagi, żółtaczkę lub obrzęki. Klasyfikacja odpowiedzi opisano w części Pacjenci i Metody. \* $p < 0.05$  i \*\* $p < 0.01$ , w porównaniu do grupy IT.

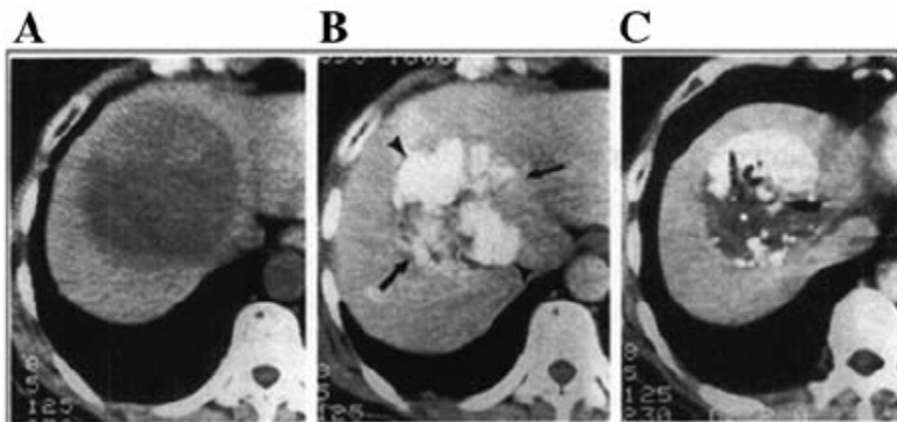
Legenda:

Percent of patients = Odsetek pacjentów

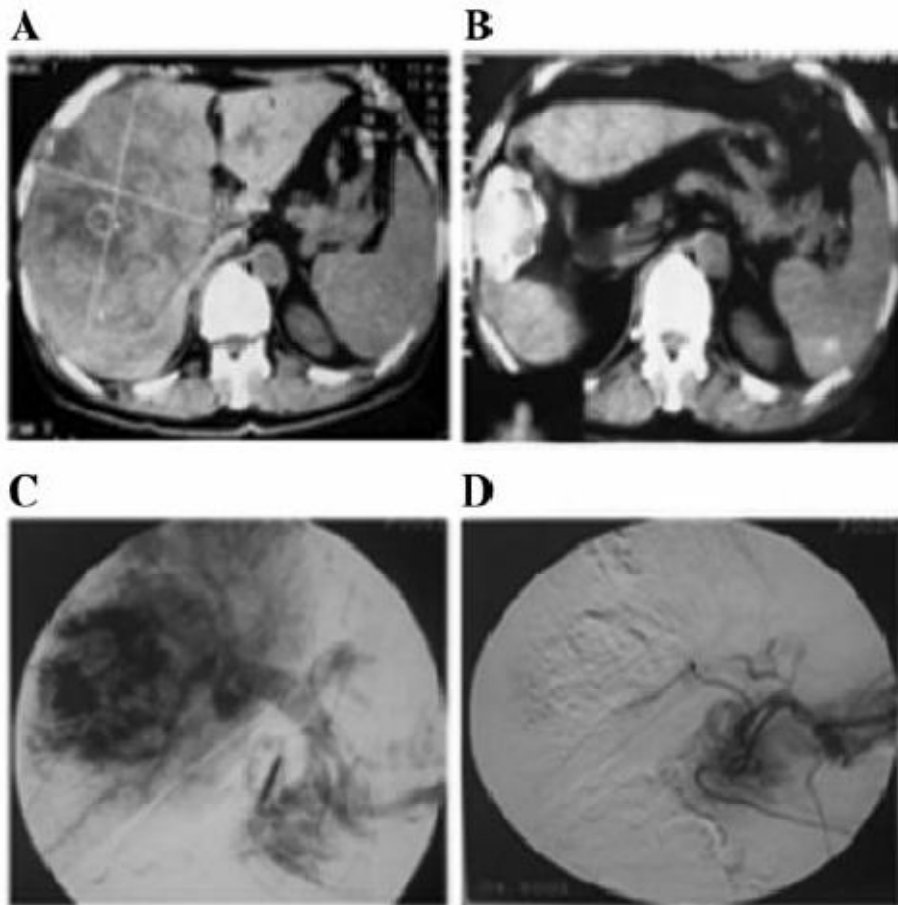
Positive = dodatni

No response + brak odpowiedzi

Adverse = efekt odwrotny



Ryc. 2. Wielokrotne skany CT pacjenta IT+MGN-3. A: Przed terapią pacjent miał duży guz w prawej części wątroby mierzący w płaszczyźnie 12x10 cm<sup>2</sup>, B: Po trzech miesiącach terapii rozmiar guza zmniejszył się do 7x8 cm<sup>2</sup> w płaszczyźnie i miał bardzo silnie obecne elementy lipidolowe (strzałki), C: Po 6 miesiącach terapii, rozmiar guza zmniejszył się dalej do 6x7 cm<sup>2</sup> w płaszczyźnie z mniej zaznaczonymi elementami lipidolowymi, co wskazuje na regenerację wątroby.



Ryc. 3. Wielokrotny skan CT i angiogramy pacjenta z grupy IT+MGN-3: Wielokrotny skan CT przed terapią wykazał, że pacjent miał duży guz w prawej części wątroby mierzący w płaszczyźnie 14x13 cm<sup>2</sup>, B: Po sześciu miesiącach terapii rozmiar guza zmniejszył się do 5x6 cm<sup>2</sup> w płaszczyźnie i miał bardzo silnie obecne elementy lipidolowe (strzałki), C: Angiografia tego samego pacjenta przed terapią uwiarykowała tętnicę wątrobową. D: Angiografia wykonana po terapii TOCE wykazała całkowitą embolizację tętnicy wątrobowej.

Tabela V. Wpływ rodzaju terapii IT na objętość guza (podgrupy). % Zmian = 100 x [(wartość po terapii) – (wartość przed terapią)] / (wartość przed terapią).

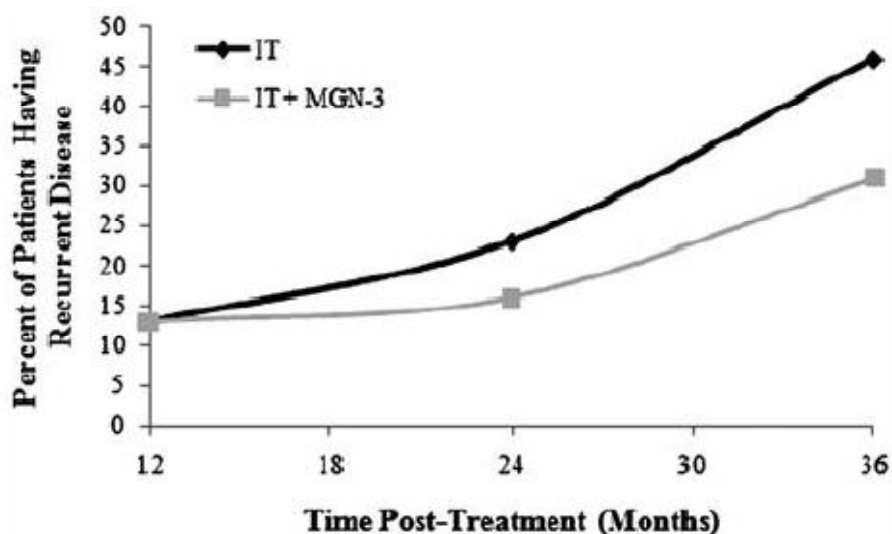
Terapia	Liczba pacjentów	Terapia		% Zmian
		Przed	Po	
TOCE	11	272.8	262.5	-4%
TOCE+MGN-3	13	301.5	175.5	-42%
TOCE+PEIT	14	303.4	313.4	+3%
TOCE+PEIT+MGN-3	20	349.5	222.4	-36%

Stosując test U Manna-Whitneya, wykazano, że pacjenci w grupie IT+MGN-3 charakteryzowali się też znaczącą zmianą objętości guza w porównaniu z grupą kontrolną ( $z=2.5$  i  $p=0.01$ ). Pacjenci byli także pogrupowani według rodzaju terapii IT, zmiany w objętości guza po terapii są przedstawione w Tabeli V. Pacjenci w grupie TOCE wykazywali 4% spadek objętości guza, podczas gdy pacjenci w grupie TOCE+MGN-3 wykazywali 42% spadek objętości guza ( $p=0.01$ ). Oprócz tego, pacjenci po terapii TOCE+PEIT wykazywali 3% wzrost objętości guza, podczas gdy pacjenci w grupie TOCE+PEIT+MGN-3 wykazywali 36% spadek objętości guza ( $p<0.01$ ).

*Badania obrazowe.* Guzy HCC były analizowane za pomocą wielokrotnego CT i angiografii. Wyniki obrazowania pacjentów reprezentatywnych dla grupy IT+MGN-3 przedstawiono na Ryc. 2 i 3. Skan z CT na Ryc. 2 wyraźnie wykazuje, że masa guza w sposób stały spadała z rozmiaru  $12 \times 10 \text{ cm}^2$  do  $6 \times 7 \text{ cm}^2$  w okresie 6 miesięcy. Angiogram na Ryc. 3 pokazuje spadek wielkości guza z rozmiaru  $14 \times 13 \text{ cm}^2$  do  $4 \times 5 \text{ cm}^2$  w okresie 6 miesięcy.

*Wznowa.* Nawrót guzów w grupach IT i MGN-3 był badany co 6 miesięcy przez 3 lata. Jak przedstawiono to na Rycinie 4, wznowa w grupie IT+MGN-3 była obniżona i wynosiła maksymalnie 32% w 30 miesiącu po terapii w porównaniu do grupy IT (47%) w tym samym punkcie czasowym. Kiedy pacjenci zostali podzieleni na grupy w zależności od rodzaju terapii IT, analiza statystyczna wykazała brak istotnych różnic w nawrotach guzów pomiędzy podgrupami TOCE i TOCE+MGN-3. Jednakże 43% pacjentów w grupie TOCE-PEIT wykazywało nawroty w porównaniu do 20% w podgrupie TOCE-PEIT+MGN-3.

*Przeżywalność.* Procent przeżywalności u pacjentów z HCC był oceniany co 2-3 miesiące. Jak przedstawiono na Rycinie 5, pacjenci z grupy IT wykazywali ostry spadek przeżywalności. Podczas gdy 63% przeżywało pierwszy rok, liczba ta spadała znacząco do 6.7% na koniec drugiego roku i po 30 miesiącach żaden pacjent nie przeżył. W przeciwieństwie do tego, w grupie IT+MGN-3 obserwowano znacząco wyższe stopnie przeżywalności, 76% po roku, 35% po dwóch latach i 11% po 3 latach. Połowa grupy IT+MGN-3 przeżywała 20 miesięcy w porównaniu z przeżyciem 15 miesięcy przez grupę IT. Kiedy pacjenci byli podzieleni na podgrupy w zależności od rodzaju terapii IT, pacjenci w grupie TOCE przeżywali średnio 14.8 miesięcy w porównaniu z 16.5 miesiąca w grupie TOCE+MGN-3. Co godne uwagi, pacjenci leczeni metodą TOCE+PEIT przeżywali średnio 14.0 miesięcy w porównaniu z 23.8 miesiącami dla grupy TOCE+PEIT+MGN-3, co wskazuje na wzrost przeżywalności o 10 miesięcy.

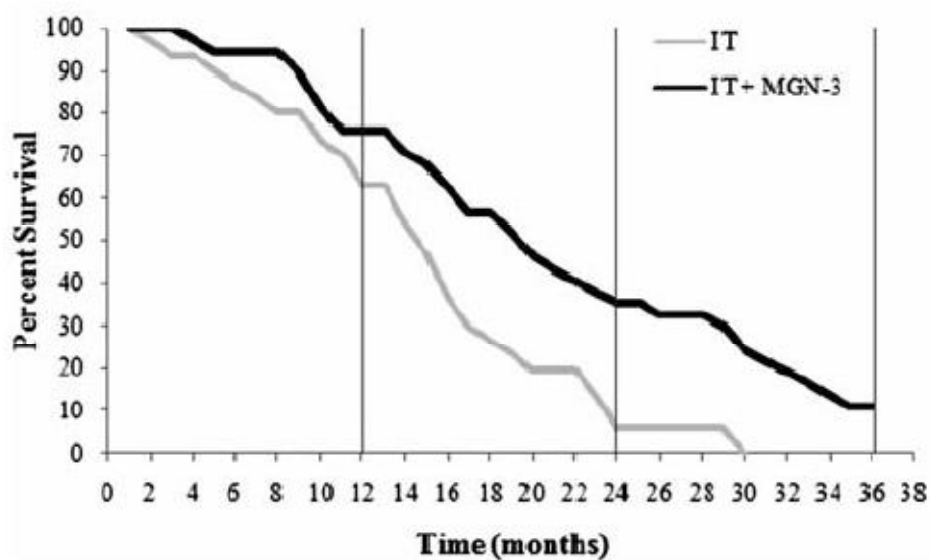


Ryc. 4. Wznowa guzów u pacjentów HCC po terapii w dwóch grupach porównanych jako całość (IT oraz IT+MGN-3).

Legenda:

Percent of patients having recurrent disease=odsetek pacjentów mających nawrót choroby

Time post treatment (months)=czas po terapii (miesiące)



Ryc. 5. Odsetek przeżywalności u pacjentów HCC po terapii w dwóch grupach porównanych jako całość (IT oraz IT+MGN-3).

## Dyskusja

Niezdolność IT do generowania znaczącej nekrozy komórek nowotworowych oraz niskie stopnie przeżywalności pacjentów HCC (3-5%) odzwierciedlają nieskuteczność tej metody terapii w leczeniu tej choroby (15-17). Dlatego też, czyni się wiele wysiłków zmierzających do poprawienia skuteczności IT. Dla przykładu, w wielu badaniach koncentrowano się na łącznym stosowaniu interferonu-alfa (IFN- $\alpha$ ) i terapii IT, jednakże uzyskiwane wyniki były sprzeczne. Podczas gdy niektóre badania wykazywały, że terapia 5-FU+IFN- $\alpha$  poprawia przeżywalność pacjentów z zaawansowanym HCC (18-20), inne artykuły donosiły, że taka terapia nie jest efektywna u pacjentów z zaawansowanym HCC (21, 22). Dodatkowo, inne BRM, takie jak PSK, lentinan i OK-432 nie działały w terapii HCC połączonej z podawaniem 5-FU (23).

Zdając sobie sprawę z potrzeby dalszego badania potencjału łączenia różnych terapii BRM, niniejsza praca miała na celu badanie IT w połączeniu z MGN-3. Poprzednio wykazano, że MGN-3 jest silnym BRM (8-11) i może hamować produkcję regulatorowych limfocytów (T reg) odpowiedzialnych za immunosupresję zależną od nowotworów (24). Co więcej MGN-3 wykazywał aktywność przeciwnowotworową (11, 25) i wzmacniał przeżywalność pacjentów z nowotworami, którzy byli leczeni oprócz MGN-3 lekami przeciwnowotworowymi (26).

Wyniki zebrane w niniejszej pracy wykazały, że dodanie MGN-3 do IT wzmacnia działanie przeciwnowotworowe, powodując nekrozę i prowadzi do korzystnych efektów w odpowiedzi na terapię, zwiększenia przeżywalności czy zmniejszenia częstości nawrotów choroby. Kiedy analizowano wyniki oddzielnie dla poszczególnych rodzajów IT, podgrupy IT+MGN-3 wykazywały lepszą odpowiedź na terapię we wszystkich aspektach, w porównaniu do odpowiednich podgrup IT. Co warto podkreślić, pacjenci w podgrupie MGN-3+TOCE+PEIT wykazywali większą redukcję poziomów AFP i dłuższe czasy przeżycia niż MGN-3+TOCE. Jednakże, nawroty, przeżywalność i objętość nowotworu nie różniły się pomiędzy TOCE i TOCE+PEIT, co sugeruje, że połączenie tych dwóch typów terapii nie wzmacnia efektu przeciwnowotworowego. Dokładny mechanizm leżący u podłoża silnego efektu przeciwnowotworowego połączenia IT z MGN-3 nie jest w pełni wyjaśniony.

Możliwe mechanizmy działania MGN-3 na HCC można przypisać efektom immunomodulacyjnym. Istnieje wiele przesłanek sugerujących główną rolę komórek NK i komórek dendrytycznych w ochronie przed i przeciwdziałaniu chorobom nowotworowym, takim jak HCC (27-29). Rola MGN-3 w silnym zwiększeniu aktywności komórek NK u pacjentów z nowotworami (30), zdrowych ludzi (9, 31) i myszy (10) jest dobrze udokumentowana i była związana z hamowaniem wzrostu różnych ludzkich i mysich nowotworów, w tym także HCC (11, 25, 26). Aktywacja komórek NK indukowana MGN-3 odbywa się na zasadzie zwiększania zawartości ziarnistych komórek NK (10) i ekspresji kluczowych receptorów powierzchniowych komórek NK, takich jak CD69, CD25 i ICAM-1 (CD45) (31). Ostatnie badania wykazały także, że MGN-3 jest silnym czynnikiem wzmacniającym dojrzewanie ludzkich komórek dendrytycznych in vitro (32) oraz może

hamować limfocyty T-reg u pacjentów z guzami lokalnymi lub po przerzutach, włącznie z tymi obecnymi w wątrobie (24).

Wcześniejsze badania prowadzone przez Suto i wsp. (23) wykazały brak zmian w czasie przeżycia lub średnicy guza przy stosowaniu różnych BRM z 5-FU. Nasze, sprzeczne z powyższymi wyniki, wykazały zmiany w przeżywalności i wzroście nowotworów przy terapii IT+MGN-3. Sugeruje to, że immunomodulacyjny efekt MGN-3 jest silniejszy od poprzednio badanych BRM. Dodatkowo, MGN-3 może działać na HCC poprzez uwrażliwianie komórek nowotworowych na TOCE lub PEIT. Wcześniejsze badania wykazały, że MGN-3 ma zdolność do uwrażliwiania komórek ludzkiej białaczki na zarówno apoptozę indukowaną receptorem śmierci (CD95) (12), jak i komórki ludzkiego nowotworu piersi na czynnik chemioterapeutyczny daunorubicynę (13).

Terapia MGN-3 może ograniczać efekty uboczne TOCE. Wcześniejsze badania wykazały, że MGN-3 ma zdolność do hamowania efektów chemotoksycznych. Badania te obejmowały ochronę zwierząt przed znacznymi zmianami patologicznymi i utratą wagi w wyniku chemioterapii (33, 34). Dodatkowo, badania u ludzi z nowotworami progresywnymi wykazały, że MGN-3 przedłuża życie i poprawia jakość życia (26). MGN-3 jest czynnikiem nietoksycznym i jest bezpieczny przy spożywaniu przez ludzi (9, 35).

W podsumowaniu, terapia HCC, która zakłada włączenie MGN-3 reprezentuje nowe podejście z dużym potencjałem klinicznym i może być stosowana w połączeniu z innymi rodzajami IT w celu wzmocnienia skuteczności terapii. Niniejszy artykuł przedstawił racjonalne uzasadnienie dalszych badań klinicznych nad różnymi kombinacjami poszczególnych terapii.

## Piśmiennictwo

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J and Pisani P: Global cancer statistics 2002. *CA-A Cancer J Clin* 55: 74-108, 2005.
- 2 El Serag HB and Mason AC: Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 340: 745-750, 1999.
- 3 Kew M: Tumors of the Liver. *In: Hepatology: A Textbook of Liver Disease*, 2nd edition Vol 2. Zakim D and Boyer TD (eds.). WB Saunders Company, Philadelphia, PA, USA, pp. 1206-1240, 1990.
- 4 Callstrom MR and Charboneau JW: Technologies for ablation of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 134: 1831-1835, 2008.
- 5 Cheng BQ, Jia CQ, Liu CT, Fan W, Wang QL, Zhang ZL and Yi CH: Chemoembolization combined with radiofrequency ablation for patients with hepatocellular carcinoma larger than 3 cm: a randomized controlled trial. *JAMA* 299: 1669-1677, 2008.
- 6 Ramsey DE, Kernagis LY, Soulen MC and Geschwind JFH: Chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 13: S211-221, 2002.
- 7 Group d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire: A comparison of lipiodol chemoembolization and conservative treatment for unresectable hepatocellular carcinoma. Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire *N Engl J Med* 332: 1256-1261, 1995.
- 8 Ghoneum M: Anti-HIV activity *in vitro* of MGN-3, an activated arabinoxylan from rice bran. *Biochem Biophys Res Commun* 243: 25-29, 1998.
- 9 Ghoneum M: Enhancement of human natural killer cell activity by modified arabinoxylan from rice bran (MGN-3). *Int J Immunother* 14: 89-99, 1998.
- 10 Ghoneum M and Abedi S: Enhancement of natural killer cell activity of aged mice by modified arabinoxylan rice bran (MGN-3). *J Pharmacy Pharmacol* 56: 1581-1588, 2004.
- 11 Noaman E, Badr El-Din N, Bibars M, Mossallam AAA and Ghoneum M: Antioxidant potential by arabinoxylan rice bran, MGN-3, represents a mechanism for its oncostatic effect against murine solid Ehrlich carcinoma. *Cancer Lett* 268: 348-359, 2008.
- 12 Ghoneum M and Gollapudi S: Modified arabinoxylan rice bran (MGN-3) sensitizes human T-cell leukemia cells to death receptors (CD95)-induced apoptosis. *Cancer Lett* 201: 41-49, 2003.

- 13 Gollapudi S and Ghoneum M: MGN-3, modified arabinoxylan rice bran, sensitizes human breast cancer cells to chemotherapeutic agent, daunorubicin. *Cancer Detect Prev* 32: 1-6, 2008.
- 14 Ebara M, Ohto M, Sugiura N, Kita K, Yoshikawa M, Okuda K, Kondo F and Kondo Y: Percutaneous ethanol injection for the treatment of small hepatocellular carcinoma: study of 95 patients. *J Gastroenterol Hepatol* 5: 616-626, 1990.
- 15 Vilana R, Bruix J, Bru C, Ayuso C, Sole M and Rodes J: Tumor size determines the efficacy of percutaneous ethanol injection for the treatment of small hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 16: 353-357, 1992.
- 16 Bruix J, Castells A, Montanya X, Calvet X, Bry C, Ayuso C, Jover L, Garcia L, Vilana R, Boix L and Rodes J: Phase II study of transarterial embolization in European patients with hepatocellular carcinoma: need for controlled trials. *Hepatology* 20: 643-650, 1994.
- 17 Trevisani F, De Notariis S, Rossi C and Bernardi M: Randomized control trials on chemoembolization for hepatocellular carcinoma: is there room for new studies? *J Clin Gastroenterol* 32: 383-389, 2001.
- 18 Urabe T, Kaneko S, Matsushita E, Unoura M and Kobayashi K: Clinical pilot study of intrahepatic arterial chemotherapy with methotrexate, 5-fluorouracil, cisplatin and subcutaneous interferon alpha-2b for patients with locally advanced hepatocellular carcinoma. *Oncology* 55: 39-47, 1998.
- 19 Sakon M, Nagano H, Dono K, Nakamori S, Umeshita K, Yamada A, Kawata S, Imai Y, Iijima S and Monden M: Combined intraarterial 5-fluorouracil and subcutaneous interferon-alpha therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer* 94: 435-442, 2002.
- 20 Ota H, Nagano H, Sakon M, Eguchi H, Kondo M, Yamamoto T, Nakamura M, Damdinsuren B, Wada H, Marubashi S, Miyamoto A, Dono K, Umeshita K, Nakamori S, Wakasa K and Monden M: Treatment of hepatocellular carcinoma with major portal vein thrombosis by combined therapy with subcutaneous interferon-alpha and intra-arterial 5-fluorouracil; role of type I interferon receptor expression. *Br J Cancer* 93: 557-564, 2005.
- 21 Hamabe ST, Yamasaki T, Saeki I, Harima Y, Okita K, Terai S and Sakaida I: Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma: Is the addition of subcutaneous interferon-a-2b beneficial? *Hepatol Res* 39: 223-230, 2009.
- 22 Eun JR, Lee HJ, Moon HJ, Kim TN, Kim JW and Chang JC: Hepatic arterial infusion chemotherapy using high-dose 5-fluorouracil and cisplatin with or without interferon-alpha for the treatment of advanced hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis. *Scand J Gastroenterol* 44: 1477-1486, 2009.
- 23 Suto T, Fukuda S, Moriya N, Watanabe Y, Sasak D, Yoshida Y, and Sakata Y: Clinical study of biological response modifiers as maintenance therapy for hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 33: S 145-148, 1994.

- 24 Lissoni P, Messina G, Brivio F, Fumagalli L, Vigoré L, Rovelli F, Maruelli L, Miceli M, Marchiori P, Porro G, Held M, di Fede G and Uchiyamada T: Modulation of the anticancer immunity by natural agents: inhibition of T regulatory lymphocyte generation by arabinoxylan in patients with locally limited or metastatic solid tumors. *Cancer Therapy* 6: 1011-1116, 2008.
- 25 Badr El-Din NK, Noaman E and Ghoneum M: *In vivo* tumor inhibitory effects of nutritional rice bran supplement MGN-3/BioBran on Ehrlich carcinoma-bearing mice. *Nutrition Cancer* 60: 235-244, 2008.
- 26 Takahara K and Sano K: The life prolongation and QOL improvement effect of rice bran arabinoxylan derivative (MGN-3, BioBran) for progressive cancer. *Clin Pharmacol Therapy* 14: 267-271, 2004.
- 27 Brookes RH, Kew MC and Rabson AR: Depressed natural cytotoxicity but normal natural killer cytotoxic factor (NKCF) production by mononuclear cells derived from patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 25: 149-152, 1987.
- 28 Chuang WL, Liu HW and Chang WY: Natural killer cell activity in patients with hepatocellular carcinoma relative to early development and tumor invasion. *Cancer* 65: 926-930, 1990.
- 29 Engleman EG: Dendritic cell-based cancer immunotherapy. *Semin Oncol* 30(3 Suppl 8): 23-29, 2003.
- 30 Ghoneum M and Brown J: NK immunorestitution of cancer patients by MGN-3, a modified arabinoxylan rice bran (study of 32 patients followed for up to 4 years). *In: Anti-aging Medical Therapeutics*, Vol. III. Klatz R and Goldman R (eds.). Health Quest Publications, Marina del Rey, CA, USA, pp. 217-226, 1999.
- 31 Ghoneum M and Jewett A: Production of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma from human peripheral blood lymphocytes by MGN-3, a modified arabinoxylan from rice bran, and its synergy with interleukin-2 *in vitro*. *Cancer Detect Prev* 24: 314-324, 2000.
- 32 Cholujova D, Jakubikova J and Sedlak J: BioBran-augmented maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *Neoplasma* 56: 89-95, 2009.
- 33 Endo Y and Kanbayashi H: Modified rice bran beneficial for weight loss of mice as a major and acute adverse effect of cisplatin. *Pharmacol Toxicol* 92: 300-303, 2003.
- 34 Jacoby HI, Wnorowski G, Sakata K and Maeda H: The effect of MGN-3 on cisplatin and adriamycin induced toxicity in the rat. *J Nutraceut Funct Med Foods* 3: 3-11, 2001.
- 35 Tazawa K: *BioBran/MGN-3: Basic and Clinical Application to Integrative Medicine*. Iyakushuppan Co. Publishers, Japan, 2003.