

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.05.025

◇临床医学◇

血管紧张素 II 与血管平滑肌细胞中自噬水平的关系 及机制研究

陈哲¹, 于康英², 周鸣鸣²作者单位:¹南京医科大学附属无锡精神卫生中心睡眠医学科, 江苏 无锡 214000;²无锡太湖学院护理学院, 江苏 无锡 214000

基金项目:江苏省高等学校自然科学基金面上项目(17KJD310004)

摘要:目的 研究血管紧张素 II (Ang II) 是否能够引起血管平滑肌细胞(VSMC)自噬, 探讨其相关作用机制。方法 以 VSMC 为研究对象, 设立组别分别为空白组、Ang II 组、自噬抑制剂(3-MA)组、自噬促进剂雷帕霉素(Rap)组、血管紧张素 II (AT1)受体抑制剂(ARB)组、3-MA+Ang II 组、Rap+Ang II 组、ARB+Ang II 组, 采用四唑盐(MTT)比色法检测细胞存活率, 蛋白质免疫印迹法检测自噬相关蛋白脂化和膜相关蛋白(LC3 II)表达的变化, 免疫荧光法检测自噬小体数目的变化。结果 实验中空白组吸光度为(0.159±0.001), Ang II 组吸光度为(0.151±0.003), 相比空白组, 加入 Ang II 药物对细胞存活率变化不明显, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。蛋白质免疫印迹结果显示加入 Ang II 促进 VSMC 的 LC3-II 表达量增多, 呈现时间依赖性、浓度依赖性, 表明 Ang II 促进 VSMC 自噬发生。3-MA 对 Ang II (10^{-7} mol/L, 24 h)引起的 LC-3 II 表达量增多起到抑制作用, Rap 对 Ang II (10^{-7} mol/L, 24 h)引起的 LC-3 II 表达量增多起到叠加作用。ARB 对 Ang II (10^{-7} mol/L, 24 h)引起的 LC-3 II 表达量增多起到抑制作用, 表明自噬是由 Ang II 通过 AT1 受体引起的。结论 Ang II 通过 AT1 受体引起血管平滑肌细胞发生自噬。

关键词:血管紧张素 II; 肌细胞, 平滑肌; 自噬; 受体, 血管紧张素, 2型; 西罗莫司

Study on the relationship and mechanism of autophagy in vascular smooth machine cells and Ang II

CHEN Zhe¹, YU Kangying², ZHOU Mingming²

Author Affiliations: ¹Department of Sleep Medicine, The Affiliated Wuxi Mental Health Center of Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu 214000, China; ²School of Nursing, Taihu University of Wuxi, Wuxi, Jiangsu 214000, China

Abstract: Objective To study if angiotensin II (Ang II) is able to cause autophagy in vascular smooth muscle cells (VSMC) and the related mechanisms of autophagy. **Methods** The VSMC was adopted as the research object. The establishment of groups were the control group, the Ang II group, the 3-MA+Ang II group, the Rap+ Ang II group, the ARB+ Ang II group, the 3-MA (autophagy inhibitor) group, the rapamycin (autophagy accelerator) group, the Angiotensin II type 1 receptor blocker (ARB, AT1 receptor inhibitors) group. MTT detected the cell viability, western blot detected the changes of the expression of autophagy-related proteins LC3-II, immunofluorescence detected the changes of the number of autophagic bodies. **Results** MTT results showed that compared to the control group, adding Ang II drugs have little effect on cell survival, which suggested that Ang II did not affect cell survival. Western blot showed that adding Ang II could increase VSMC expression of LC3-II, exhibiting a time-dependent, concentration-dependent manner, which suggested that Ang II can promote VSMC autophagy. 3-MA play an inhibitory effect on Ang II (10^{-7} mol/L, 24 h) caused increased expression of LC-3 II. Rapamycin play an overlay effect on ANG II (10^{-7} mol/L, 24 h) caused increased expression of LC-3 II. ARB play an inhibitory effect on Ang II (10^{-7} mol/L, 24 h) caused increased expression of LC-3 II, suggesting that Ang II induced autophagy through AT1 receptor. **Conclusion** Ang II induces autophagy in vascular smooth muscle cells via AT1 receptor.

Key words: Angiotensin II; Myocytes, smooth muscle; Autophagy; Receptor, angiotensin, type 2; Sirolimus

血管紧张素 II (Ang II) 是肾素-血管紧张素-醛固酮系统产生的生物活性肽^[1], 作用于血管平滑肌, 是调节心血管活动的一个重要活性物质, 在心血管疾病如高血压、心肌肥厚、心脏衰竭的发生中有重

要作用^[2]。自噬是体内消化大分子蛋白的重要途径, 当遇到营养缺乏等刺激时细胞通过形成自噬体消化体内的大分子物质, 分解成氨基酸供机体使用, 但是过度的自噬可能会过度消耗体内物质, 造

成细胞死亡,称为程序性死亡^[3-5],有文献报道在各类心血管疾病的发生过程中均有自噬水平的变化^[6-8],在心血管疾病的发生过程中,Ang II和自噬水平的变化之间是否有内在的关系,Ang II是否通过自噬水平的改变来调节心脏机能变化还鲜有报道,Ang II下游的受体主要有AT1受体和AT2受体两种,而AT1受体在Ang II发挥的大部分功能中起到介导作用^[9],若Ang II能够诱导细胞发生自噬,那么是不是通过Ang II的主要受体AT1受体来发挥作用呢,本研究自2017年3月至2018年3月以体外培养的血管平滑肌细胞(VSMC)为实验材料,设计了以下一系列实验来探讨这几个问题。

1 材料与方法

1.1 原代细胞培养 采用组织贴块法原代培养血管平滑肌细胞。取150 g左右的雄性SD大鼠,断头法处死,无菌条件下迅速剥离腹主动脉,去除外膜和内皮层,切成1 mm³的小块贴在培养皿瓶底上,培养皿中加入10 mL含20%胎牛血清,1%青链霉素的DMEM培养基后,置于37℃,含5%CO₂的细胞培养箱中培养,待单层细胞覆盖培养皿瓶底80%以上后去除组织块,用0.25%胰酶传代,取传代在5~10次以内的血管平滑肌细胞备用。

1.2 Ang II作用后蛋白质免疫印迹测定 取培养皿中培养的血管平滑肌细胞以1×10⁶/mm²传代到六孔板中,将六孔板中生长面积达70%~80%的血管平滑肌细胞饥饿12 h后,加入Ang II等药物,作用24 h后,取细胞标本做蛋白质免疫印迹。在4℃条件下,用细胞裂解液收集贴壁细胞,12 000 r/min离心10 min,取上清蛋白,经十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后转膜60 min,所用抗体为脂化和膜相关蛋白3B(LC3B)(Abcam公司)。

1.3 免疫荧光观察 取培养皿中培养的血管平滑肌细胞以1×10⁵个/平方毫米传代到24孔板中,将24孔板中生长面积达70%~80%的血管平滑肌细胞饥饿12 h后,加入Ang II等药物,作用24 h后,取细胞标本做免疫荧光。用1:1甲醇:丙酮固定,用Triton-x100透化,所用抗体为LC3B(Abcam公司),Anti-actin antibody(密理博公司)。

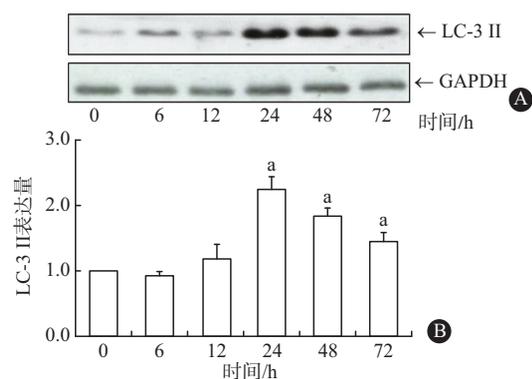
1.4 方法 以VSMC为研究对象,设立组别分别为空白组、Ang II组、自噬抑制剂(3-MA)组、自噬促进剂雷帕霉素(Rap)组、AT1受体抑制剂(ARB)组、3-MA+Ang II组、Rap+Ang II组、ARB+Ang II组,采用四唑盐(MTT)比色法检测细胞存活率,蛋白质免疫印迹法检测自噬相关蛋白LC3 II表达的变化,免疫荧光法检测自噬小体数目的变化。

1.5 统计学方法 用Sigma Pro5.0软件分析蛋白质免疫印迹图像结果,用SPSS 18.0软件进行数据统计,组间比较用单因素方差分析,组间两两比较用LSD法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ang II对细胞生存和活力的影响 对96孔板中生长面积70%~80%的血管平滑肌细胞用Ang II作用24 h后做MTT实验,测定吸光度(吸光度和细胞生存活力成正相关),结果空白组吸光度为(0.159±0.001),Ang II组吸光度为(0.151±0.003), $P > 0.05$,差异无统计学意义,可见Ang II作用24 h后细胞生存活力变化不明显,影响不大,说明Ang II作用这些时间后没有造成细胞生存率的变化,即没有造成细胞死亡。

2.2 Ang II促进血管平滑肌细胞的LC3-II表达量增多且呈时间依赖性和浓度依赖性 对六孔板中生长面积达到70%~80%的血管平滑肌细胞用10⁻⁷ mol/L Ang II作用0、6、12、24、48、72 h后蛋白质免疫印迹检测LC-3 II^[10-12]表达量的变化,结果如图1,将0 h组灰度值定为1,则6、12、24、48、72 h组分别为0.91、1.23、2.35、1.85、1.51。随着时间延长,LC-3 II表达量增多,24 h达到最大,说明Ang II诱导血管平滑肌细胞LC-3 II表达量增多,且呈现一定的时间依赖性。另外,对六孔板中生长面积达到70%~80%的血管平滑肌细胞用10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸、10⁻⁹ mol/L Ang II作用24 h后蛋白质免疫印迹检测LC-3 II表达量的变化,结果如图2,将浓度为0组灰度值定为1,则10⁻⁹、10⁻⁸、10⁻⁷、10⁻⁶、10⁻⁵ mol/L浓度组分别为1.81、2.81、3.32、3.15、3.92。随着浓度递减,LC-3 II表达量增多,说明Ang II诱导血管平滑肌细胞LC-3 II表达量增多,且呈现一定的浓度依赖性。

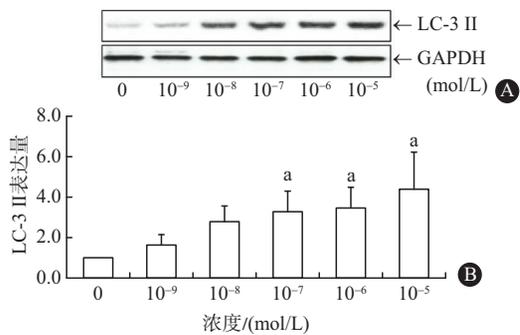


注:与0 h组比较,* $P < 0.05$

图1 Ang II促进血管平滑肌细胞的LC3-II表达量增多且呈时间依赖性:A为蛋白质免疫印迹图像,B为统计直方图

同时自噬抑制剂3-MA和自噬促进剂Rap^[13]的实验佐证了这一结果,设立组别为空白组、Ang II、

3-MA、3-MA+Ang II组,及空白组、Ang II、Rap、Rap+Ang II组,Ang II浓度采用 10^{-7} mol/L,作用时间为24 h后,检测LC-3 II表达水平的变化,结果如图3。将空白组灰度值定为1,则Ang II组,3-MA组,3-MA+Ang II组分别为2.52,0.71,0.82。将空白组灰度值定为1,则Ang II组,Rap组,Rap+Ang II组分别为1.89,1.54,2.48。可见3-MA+Ang II组比Ang II组的LC-3 II表达量少,即3-MA对Ang II(作用浓度和时间为 10^{-7} mol/L,24 h)引起的LC-3 II表达量增多起到抑制作用,也就是说Ang II能够诱导血管平滑肌细胞自噬的发生,且可被自噬抑制剂抑制。Rap+Ang II组比Ang II组的LC-3 II表达量多,可见Rap对Ang II(作用浓度和时间为 10^{-7} mol/L,24 h)引起的LC-3 II表达量增多起到叠加作用,也就是说Ang II能够诱导血管平滑肌细胞自噬的发生,且可被自噬抑制剂抑制,被自噬促进剂叠加作用,且呈现一定的时间依赖性和浓度依赖性。



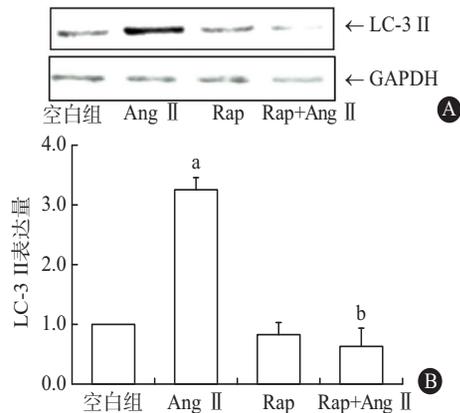
注:与0 mol/L组比较,* $P < 0.05$

图2 Ang II促进血管平滑肌细胞的LC3- II表达量增多且呈浓度依赖性:A为蛋白质免疫印迹图像,B为统计直方图

2.3 免疫荧光显示自噬小体的变化 多种检测方法共同使用能够确保实验的准确性,为此,采用另外一种实验方法免疫荧光来检测自噬发生的水平已验证是否和蛋白质免疫印迹的结果一致。取培

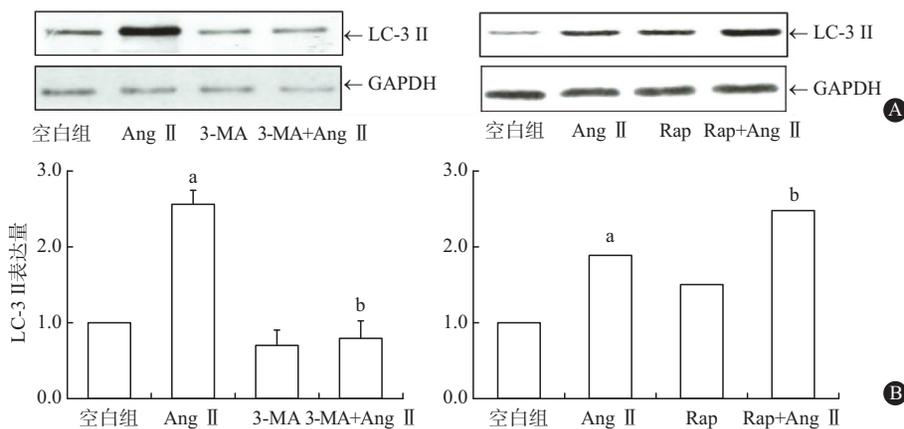
养皿中培养的血管平滑肌细胞以 1×10^5 个/ mm^2 传代到24孔板中,将24孔板中生长面积达70%~80%的血管平滑肌细胞饥饿12 h后,加入Ang II等药物(设立组别空白组,Ang II,3-MA+Ang II,Rap+Ang II组),作用24 h后,取细胞标本做免疫荧光,用抗体LC3(Abcam公司),Anti-actin antibody(密理博公司)检测自噬小体^[10],自噬小体的数目和自噬水平呈正相关。如图4,可见Ang II能促进自噬小体数目的增多,3-MA能对Ang II的影响起到抑制作用,Rap能对Ang II的影响起到叠加作用,验证了蛋白质免疫印迹的结果。

2.4 Ang II通过AT1受体诱导LC-3 II表达量增多 那么Ang II是通过什么诱导了自噬的发生呢?我们知道它下游的主要受体是AT1受体^[14-16],那么这个自噬的发生是否也是通过AT1受体,通过设计以下实验进行研究。设立组别为空白组、Ang II、ARB、ARB+Ang II组,Ang II浓度采用 10^{-7} mol/L,作用时间为24 h后,检测自噬程度的变化,结果如图5,将空白组灰度值定为1,则Ang II组,ARB组,



注:与空白组比较,* $P < 0.05$,与Ang II比较,^b $P < 0.05$

图5 Ang II通过AT1受体诱导LC-3 II表达量增多:A为蛋白质免疫印迹图像,B为统计直方图



注:与空白组比较,* $P < 0.05$,与Ang II比较,^b $P < 0.05$

图3 Ang II诱导血管平滑肌细胞自噬的发生,且被自噬抑制剂抑制,被自噬促进剂叠加:A为蛋白质免疫印迹图像,B为统计直方图

ARB+Ang II组分别为3.25,0.82,0.62。可见ARB+Ang II组比Ang II组的LC-3 II表达量少,即ARB对Ang II(作用浓度和时间为 10^{-7} mol/L, 24 h)引起的LC-3 II表达量增多起到抑制作用,即抑制了AT1受体也抑制了Ang II诱导的自噬,说明Ang II通过AT1受体诱导自噬发生。

同时通过免疫荧光实验来验证这一结果,取培养皿中培养的血管平滑肌细胞以 1×10^5 /mm²传代到24孔板中,将24孔板中生长面积达70%~80%的血管平滑肌细胞饥饿12 h后,加入Ang II等药物(设立组别空白组,Ang II,ARB+Ang II组),作用24 h后,取细胞标本做免疫荧光,用抗体LC3 II(Abcam公司),Anti-actin antibody(密理博公司)检测自噬小体^[10]。如图6。可见Ang II能促进自噬小体数目的增多,ARB能对Ang II的影响起到抑制作用,说明Ang II通过AT1受体诱导自噬发生,验证了蛋白质免疫印迹的实验结果。

3 讨论

这样我们得出结论Ang II能促进血管平滑肌细胞发生自噬,且呈现一定的时间依赖性和浓度依赖性。抑制AT1受体能够抑制Ang II诱导的VSMC的自噬,说明这种影响是通过AT1受体发挥作用的。由此可以猜想Ang II是通过AT1受体影响了下游信号通路,最终促进了自噬的发生,即Ang II通过AT1受体诱导血管平滑肌细胞发生自噬。

之前已有人证实Ang II能够促进肾脏足细胞和内皮细胞自噬的发生^[17-18],我们的研究证实Ang II在血管平滑肌细胞中也能够诱导自噬的发生,通过检测自噬相关蛋白LC3 II和自噬小体两种方法证实Ang II诱导VSMC自噬的发生并且呈现一定的时间依赖性和浓度依赖性。在Ang II作用浓度为 10^{-7} mol/L,作用时间为24 h时,达到最佳诱导效果。对于自噬在心血管疾病中的发生机制,有文献报道Ang II促进线粒体ROS的增多伴随着自噬的增强^[18],而研究报道,Ang II通过AT1受体进而激活NADPH氧化酶最终导致ROS的增多^[19-20],我们的研究证实了Ang II是通过AT1受体而导致自噬的发生,暗示Ang II、AT1受体、ROS和自噬发生之间可能存在一个信号通路,这个信号通路的阐明将有助于我们进一步了解自噬的发生及调控机制。

这项研究提供了Ang II能够诱导自噬发生的依据,并且阐明了其中的可能机制。自噬是一把双刃剑,适度自噬能够清除体内垃圾,过度自噬可能造成机体损伤^[21],已有报道证明Ang II能够诱导平滑肌细胞钙化^[22],及动脉粥样硬化^[23-25],如果能够将

Ang II诱导的自噬同平滑肌细胞钙化及动脉粥样硬化联系起来,将自噬作为调节治疗平滑肌细胞钙化及动脉粥样硬化的靶点,将具有更为重要的意义。

(本文图4,图6见插图5-2)

参考文献

- [1] DAI DF, JOHNSON SC, VILLARIN JJ, et al. Mitochondrial oxidative stress mediates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and Galphaq overexpression-induced heart failure [J]. *Circ Res*, 2011, 108(7): 837-846.
- [2] 陈旭, 杨波, 曹新冉, 等. 单硝酸异山梨酯对动脉粥样硬化兔血管内皮细胞功能的影响及机制探讨 [J]. *安徽医药*, 2017, 21(6): 995-998.
- [3] GUSTAFSSON ÅB, GOTTLIEB RA. Recycle or die: the role of autophagy in cardioprotection [J]. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2008, 44(4): 654-661.
- [4] MAIURI MC, ZALCKVAR E, KIMCHI A, et al. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2007, 8(9): 741-752.
- [5] EISENBERG-LERNER A, BIALIK S, SIMON HU, et al. Life and death partners: apoptosis, autophagy and the cross-talk between them [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(7): 966-975.
- [6] 马磊, 王蓉, 李海龙, 等. 自噬水平变化对心脏骤停心肺复苏后大鼠海马神经元凋亡的影响 [J]. *解剖学报*, 2018, 49(1): 35-40.
- [7] KURZ T, TERMAN A, BRUNK UT. Autophagy, ageing and apoptosis: the role of oxidative stress and lysosomal iron [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 462(2): 220-230.
- [8] AKAZAWA H, KOMAZAKI S, SHIMOMURA H, et al. Diphtheria toxin-induced autophagic cardiomyocyte death plays a pathogenic role in mouse model of heart failure [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(39): 41095-41103.
- [9] WANNAMETHEE SG, TCHERNOVA J, WHINCUP P, et al. Plasma leptin: associations with metabolic, inflammatory and haemostatic risk factors for cardiovascular disease [J]. *Atherosclerosis*, 2007, 191(2): 418-426.
- [10] 于海, 刘清华, 肖培伦, 等. Beclin1、LC3和mTOR在肝癌中的表达及临床意义 [J]. *安徽医药*, 2018, 22(2): 246-249.
- [11] NISHIDA K, KYOI S, YAMAGUCHI O, et al. The role of autophagy in the heart [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(1): 31-38.
- [12] KABEYA Y, MIZUSHIMA N, UENO T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing [J]. *The EMBO journal*, 2000, 19(21): 5720-5728.
- [13] SARKAR S, RAVIKUMAR B, FLOTO RA, et al. Rapamycin and mTOR-independent autophagy inducers ameliorate toxicity of polyglutamine-expanded huntingtin and related proteinopathies [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(1): 46-56.
- [14] KJELDSEN SE, DAHLÖF B, DEVEREUX RB, et al. Effects of losartan on cardiovascular morbidity and mortality in patients with isolated systolic hypertension and left ventricular hypertrophy: a Losartan Intervention for Endpoint Reduction (LIFE) substudy [J]. *JAMA*, 2002, 288(12): 1491-1498.

- [15] 潘伟男,邓水秀,赖利平.血管紧张素受体生物学特征的研究概况[J].首都食品与医药,2015,22(14):22-23.
- [16] ZOU Y, AKAZAWA H, QIN Y, et al. Mechanical stress activates angiotensin II type 1 receptor without the involvement of angiotensin II[J]. Nature Cell Biology, 2004, 6(6): 499-506.
- [17] YADAV A, VALLABU S, ARORA S, et al. ANG II promotes autophagy in podocytes [J]. American Journal of Physiology - Cell Physiology, 2010, 299(2): C488-C496.
- [18] WANG HD, XU S, JOHNS DG, et al. Role of NADPH oxidase in the vascular hypertrophic and oxidative stress response to angiotensin II in mice[J]. Circ Res, 2001, 88(9): 947-953.
- [19] 陈福晖,刘达兴,容松.心肌缺血再灌注损伤发生机制的研究进展[J].安徽医药,2017,21(12):2145-2148.
- [20] KIMURA S, ZHANG GX, NISHIYAMA A, et al. Mitochondria-derived reactive oxygen species and vascular MAP kinases: comparison of angiotensin II and diazoxide [J]. Hypertension, 2005, 45(3): 438-444.
- [21] LEVINE B, KROEMER G. Autophagy in the pathogenesis of disease[J]. Cell, 2008, 132(1): 27-42.
- [22] ARMSTRONG ZB, BOUGHNER DR, DRANGOVA M, et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker inhibits arterial calcification in a pre-clinical model[J]. Cardiovasc Res, 2011, 90(1): 165-170.
- [23] SUEN RS, RAMPERSAD SN, STEWART DJ, et al. Differential roles of endothelin-1 in angiotensin II-induced atherosclerosis and aortic aneurysms in apolipoprotein E-null mice [J]. Am J Pathol, 2011, 179(3): 1549-1559.
- [24] DOUGHAN AK, HARRISON DG, DIKALOV SI. Molecular mechanisms of angiotensin II-mediated mitochondrial dysfunction: linking mitochondrial oxidative damage and vascular endothelial dysfunction[J]. Circ Res, 2008, 102(4): 488-496.
- [25] 韩璐,宋舜尧,王梦楠,等.替米沙坦联合复方丹参滴丸对原发性老年2级高血压患者血压及血管内皮功能的影响[J].安徽医药,2018,22(2):352-355.

(收稿日期:2018-11-05,修回日期:2019-04-07)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.05.026

◇临床医学◇

调强放疗联合肝动脉化疗栓塞术治疗原发性肝癌的有效性与安全性研究

任孟先,钱立庭,刘艳,张伟,江后洲,赵友飞,孟海珍,周飞

作者单位:太和县人民医院放疗科,安徽 太和 236600

摘要:目的 探讨调强放疗(IMRT)联合肝动脉化疗栓塞术(TACE)治疗中晚期原发性肝癌的有效性与安全性。方法 回顾性分析太和县人民医院2008年9月至2015年9月收治的中晚期原发性肝癌病人70例,分为联合组36例与单纯组34例,联合组采用IMRT联合TACE治疗,单纯组采用TACE治疗,比较两组病人近期有效率,6个月、1年、2年生存率及不良反应发生率。结果 联合组总有效率(CR+PR)为66.7%,显著优于单纯组总有效率(CR+PR)41.2%,差异有统计学意义($Z = -2.367, P = 0.018$)。两组6个月、1年、2年生存率分别为100%、91.7%、72.2%和88.2%、64.7%、35.3%,中位OS分别为28个月(95%CI: 24.7~31.3)和20个月(95%CI: 12.9~27.1),生存曲线分布差异有统计学意义($\chi^2 = 3.988, P = 0.046$)。两组一般不良反应差异无统计学意义,联合组有3例出现不典型RILD,经保守治疗好转。结论 中晚期原发性肝癌病人采用IMRT联合TACE治疗能有效改善病人预后,延长病人生存时间,不明显增加不良反应发生率。

关键词:癌,肝细胞; 放射疗法,调强适形; 化学栓塞,治疗性; 肝动脉; 奥沙利铂

Efficacy and safety of intensity modulated radiotherapy combined with TACE in the treatment of primary liver cancer

REN Mengxian, QIAN Liting, LIU Yan, ZHANG Wei, JIANG Houzhou, ZHAO Youfei,

MENG Haizhen, ZHOU Fei

Author Affiliation: Department of Radiotherapy, The People's Hospital of Taihe, Taihe, Anhui 236600, China

Abstract: Objective This study was designed to evaluate the efficacy and safety of intensity modulated radiotherapy (IMRT) combined with transarterial chemoembolization (TACE) in the treatment of advanced hepatocellular carcinoma. **Methods** 70 patients who were with advanced primary liver cancer and treated in The People's Hospital of Taihe from September 2008 to September 2015 were randomly divided into two groups, the combined group (36 cases) and the control group (34 cases). The combined group was treated with IMRT combined with TACE, and the control group was treated with TACE alone. The short-term effective rate, 6 months, 1-year, 2-year survival rate and adverse reaction rate were compared between the two groups. **Results** The total effective