

益气化痰方辅助治疗对晚期非小细胞肺癌患者化疗敏感性的影响及作用机制

王 冰 姜 华

(辽宁省本溪市中心医院中西医结合病房, 本溪, 117000)

摘要 目的:探讨益气化痰方辅助治疗对晚期非小细胞肺癌(NSCLC)患者化疗敏感性的影响及作用机制。方法:选取2012年8月至2017年9月本溪市中心医院收治的晚期NSCLC患者80例作为研究对象,按照随机数表法分为对照组和观察组,每组40例。对照组接受常规化疗,观察组接受益气化痰方辅助常规化疗。比较2组患者治疗前后肿瘤绝对体积、肿瘤标志物及血管新生标志物水平、病灶活检组织中耐药基因表达的差异。结果:治疗前,2组肿瘤绝对体积、肿瘤标志物及血管新生标志物水平、病灶活检组织中耐药基因表达差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗2疗程后,观察组患者肺部原发病灶肿瘤绝对体积小于对照组;血清中肿瘤标志物鳞状细胞癌相关抗原(SCC-Ag)、细胞角蛋白19片段(CYFRA21-1)、糖类抗原125(CA125)的水平低于对照组;血清中血管新生标志物基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、血管内皮生长因子(VEGF)、血小板反应蛋白-1(TSP-1)、内皮素-1(ET-1)的水平低于对照组,TSP-1的水平高于对照组;病灶组织中耐药基因MRP、MDR1、LRP mRNA的表达低于对照组($P<0.05$)。结论:晚期NSCLC患者在化疗同时加入益气化痰方辅助治疗,可进一步提升患者的化疗敏感性,具体与该药物抑制耐药基因表达直接相关。

关键词 晚期非小细胞肺癌;益气化痰方;化疗敏感性;耐药基因;肿瘤绝对体积;肿瘤标志物;血管新生标志物;顺铂

Effects of Yiqi Huatan Decoction Adjuvant Therapy on Chemosensitivity in Advanced Non-small Cell Lung Cancer Patients and its Mechanism

Wang Bing, Jiang Hua

(Chinese and Western Medicine Ward, Benxi City Center Hospital, Benxi 117000, China)

Abstract Objective: To study the effects of Yiqi Huatan Decoction adjuvant therapy on chemosensitivity in advanced non-small cell lung cancer(NSCLC) patients and its mechanism. **Methods:** A total of 80 cases of advanced NSCLC patients in Benxi City Center Hospital during August 2012 to September 2017 were divided into a control group($n=40$) underwent conventional chemotherapy and an observation group($n=40$) underwent Yiqi Huatan Decoction adjuvant therapy combined with conventional chemotherapy according to the random number table. The difference of tumor absolute volume, contents of tumor markers and neovascularization markers, and the expression of resistance genes in the biopsy tissues of the 2 groups were compared before and after treatment. **Results:** Before treatment, there were no significant difference between the 2 groups in total volume of tumor, contents of tumor markers and neovascularization markers, expression of resistance genes in the biopsy tissue between the 2 groups($P>0.05$). 2 courses after treatment, the absolute volume of primary lung tumor in the observation group was less than that in control group; serum contents of tumor markers such as SCC-Ag, CYFRA21-1 and CA125 were lower than those in the control group; serum contents of neovascularization markers such as MMP-2, VEGF and ET-1 in the observation group were lower than those in the control group, and TSP-1 was higher than that in the control group; the expression of resistance genes such as MRP, MDR1, LRP mRNA in the observation group were lower than those in the control group($P<0.05$). **Conclusion:** Yiqi Huatan Decoction adjuvant therapy for advanced NSCLC patients bases on chemotherapy, can further enhance the sensitivity of chemotherapy, which is directly related to the drug resistance gene expression.

Key Words Advanced non-small cell lung cancer; Yiqi Huatan Decoction; Chemosensitivity; Drug-resistant gene; Absolute volume of tumors; Tumor markers; Angiogenesis markers; Cisplatin

中图分类号:R289.5;R734.2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.06.040

非小细胞肺癌(Non-small Cell Lung Cancer, NSCLC)发病率占总肺癌的80%~85%,近年来发病率不断攀升且有年轻化趋势。由于早期临床表现不

典型,许多患者临床确诊时已是晚期,保守药物治疗是其延长生存时间的唯一方法^[1-2]。目前静脉化疗药物的使用是晚期NSCLC患者最普遍的治疗方法,

在获取疗效的同时也对正常组织细胞带来损伤,部分患者随化疗疗程延长甚至出现耐药性,这部分患者的治疗预后往往不佳^[3-4]。减轻化疗耐药性或者增加患者对化疗药物的敏感性是晚期癌症患者治疗结局优化的可靠方式。目前国内研究显示不少中成药具有这一作用,故寻找能最大程度增加机体化疗敏感性的中药方剂成为当下临床研究的重点。益气化痰方是呼吸系统感染性疾患的主要治疗方剂之一,有学者认为其可能对晚期 NSCLC 患者的病情有优化作用,但具体相关研究开展不多。我们回顾性分析晚期 NSCLC 单纯应用静脉化疗,以及在静脉化疗基础上加入益气化痰方辅助治疗的疗效,并进一步分析治疗结局出现的可能机制,以期明确该中药方剂在晚期 NSCLC 患者中应用的可行性及有效性。

1 资料与方法

1.1 病例资料 选取 2012 年 8 月至 2017 年 9 月本溪市中心医院收治的晚期 NSCLC 患者 80 例作为研究对象,按照随机数表法分为对照组(常规化疗)和观察组(益气化痰方辅助常规化疗),每组 40 例。对照组中男 22 例、女 18 例,年龄 43 ~ 75 岁,平均年龄(62.18 ± 13.47)岁,病程 3 ~ 24 个月,平均病程(0.68 ± 0.11)年;观察组中男 21 例、女 19 例,年龄 41 ~ 76 岁,平均年龄(62.09 ± 14.15)岁,病程 3 ~ 24 个月,平均病程(0.66 ± 0.13)年。2 组一般资料比较,差异有统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。医院伦理委员会审核、批准本研究计划(伦理审批号:283928193)。

1.2 诊断标准 参照第 12 版《实用内科学》及《内科学》中肺癌的诊断标准。肺癌的临床分期采用美国联合癌症分类委员会(AJCC)和国际抗癌联盟(UICC)2002 年制定的肺癌 TNM 分期标准,对肺癌进行临床分期。

1.3 纳入标准 1)确诊 NSCLC 病理诊断;2)肿瘤分期为晚期;3)预计生存时间 ≥ 3 个月;4)患者或家属签署知情同意书。

1.4 排除标准 1)合并其他原发恶性肿瘤性疾病;2)入院前 6 个月内无化疗史;3)治疗期间出现严重药物过敏并致治疗中断;4)自主中途退出治疗;5)合并严重自身免疫性疾病。

1.5 治疗方法 对照组患者接受标准 DP 化疗方案:多西他赛(深圳万乐药业有限公司,国药准字 H20052067),75 mg/m²,静脉滴注,d1;顺铂(齐鲁制药有限公司,国药准字 H37021358)25 mg/m²,静脉滴注,d1 ~ d3。21 d 为 1 个疗程,连续治疗 2 个

疗程。

观察组患者在标准化疗基础上加入益气化痰方辅助治疗。具体如下:党参、薏苡仁、五爪龙、枳实各 30 g,天冬、白术各 20 g,茯苓、浙贝母、生半夏、山楂各 15 g,守宫 6 g,所用中药由本院中药房提供,指定专人配置。加水 800 mL 煎至 150 mL,分 2 次饭后温水服用,30 d 为 1 个疗程,持续治疗 2 个疗程。在化疗开始第 1 天开始服用益气化痰方。

1.6 观察指标 治疗前、治疗 2 个疗程后,2 组患者均接受肺部三维 CT 重建,使用 Image J 图像处理软件并选择感兴趣区域、测量并计算肺原发病灶肿瘤绝对体积。在上述相同时间点留取 2 组患者的外周血标本,分离血清并测定其中肿瘤标志物及血管新生标志物的水平,肿瘤标志物包括鳞状细胞癌相关抗原(SCC-Ag)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)、糖类抗原 125(CA125),血管新生标志物包括基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、血管内皮生长因子(VEGF)、血小板反应蛋白-1(TSP-1)、内皮素-1(ET-1)。CT 机为飞利浦 16 层 Brilliance CT,酶联免疫试剂盒购自上海西唐生物科技公司。

治疗前、治疗 2 个疗程后,均采用欧太纤维支气管镜 OIF-BT66 进行肺内病灶活检,采用荧光定量 PCR 法检测活检组织中耐药基因 MRP、MDR1、LRP mRNA 的表达。设置对照组病灶治疗前上述目标基因表达量为标准值 100,计算各组不同时间点的相对表达。荧光定量 PCR 法中的试剂均购自美国 Sigma 公司,反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒购自赛默飞世尔科技公司。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件处理数据。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者肿瘤绝对体积比较 治疗前,2 组患者肺部原发病灶肿瘤绝对体积的差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗 2 个疗程后,2 组患者肺部原发病灶肿瘤绝对体积均小于治疗前;且观察组患者肺部原发病灶肿瘤绝对体积小于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 2 组患者肿瘤绝对体积比较($\bar{x} \pm s, \text{cm}^3$)

组别	治疗前	治疗 2 个疗程后
对照组($n = 40$)	112.47 ± 14.82	80.65 ± 9.71
观察组($n = 40$)	112.85 ± 13.96	56.73 ± 7.82
t 值	-0.118	12.134
P 值	0.453	0.000

2.2 2 组患者肿瘤标志物比较 治疗前,2 组患者血清中肿瘤标志物 SCC-Ag、CYFRA21-1、HE4、CA125 水平的差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 2 个疗程后,2 组患者血清中 SCC-Ag、CYFRA21-1、CA125 的水平均低于治疗前,且观察组血清中 SCC-Ag、CYFRA21-1、CA125 的水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 2 组患者肿瘤标志物比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	SCC-Ag ($\mu\text{g/L}$)	CYFRA21-1 (ng/mL)	CA125 (U/mL)
对照组($n=40$)			
治疗前	6.28 $\pm$ 0.73	6.21 $\pm$ 0.75	102.47 $\pm$ 13.58
治疗 2 个疗程后	3.09 $\pm$ 0.35*	4.98 $\pm$ 0.62*	72.09 $\pm$ 9.65*
观察组($n=40$)			
治疗前	6.26 $\pm$ 0.69	6.18 $\pm$ 0.72	102.85 $\pm$ 11.96
治疗 2 个疗程后	1.65 $\pm$ 0.19* Δ	3.11 $\pm$ 0.37* Δ	48.77 $\pm$ 6.21* Δ

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组治疗 2 个疗程后比较, $\Delta P<0.05$

2.3 2 组患者血管新生标志物比较 治疗前,2 组患者血清中血管新生标志物 MMP-2、VEGF、TSP-1、ET-1 水平的差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 2 疗程后,2 组患者血清中 MMP-2、VEGF、ET-1 的水平低于治疗前,TSP-1 的水平高于治疗前;且观察组血清中 MMP-2、VEGF、ET-1 的水平低于对照组,TSP-1 的水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 2 组患者耐药基因表达比较 治疗前,2 组病灶标本中耐药基因 MRP、MDR1、LRP mRNA 表达的差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 2 个疗程后,对照组病灶组织中 MRP、MDR1、LRP mRNA 的表达与治疗前差异无统计学意义($P>0.05$),观察组病灶组织中 MRP、MDR1、LRP mRNA 的表达低于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$);且观察组病灶组织中 MRP、MDR1、LRP mRNA 的表达低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

中医对 NSCLC 病机的认识包括内外两部分,其

中以正虚之内因为主,恶毒内侵与痰浊、瘀血等相杂终成癌变。肺内正常细胞突变为肿瘤细胞,是一个“淤聚热毒、不断生发”的质变过程。吕文姣等^[5]的研究指出,中药方剂益气化痰方可减轻 NSCLC 患者化疗相关性疲劳、增加患者对化疗相关不良反应的耐受性。故有学者推测该方剂具有增加晚期 NSCLC 患者化疗敏感性的作用,但这一相关内容目前临床研究不多。

益气化痰方中主要作用药物包括党参、五爪龙、枳实、茯苓、白术、山楂等,由温胆汤化裁,其中温胆汤化具有理气和胃、化痰降浊之功效;党参补脾益气;五爪龙健脾化痰、行气除湿;白术、枳实调脾胃而消胸痞;白术、茯苓利湿除痰;山楂消食痰而通血脉^[6]。我们将益气化痰方加入治疗后,观察组患者的肿瘤绝对体积降低,明显小于对照组患者的治疗后体积,直观显示了益气化痰方联合静脉化疗在肿瘤杀灭作用方面带来的提升。上述结果的出现可能与化疗导致机体虚弱、脾胃功能失调,而益气化痰方诸药共奏益气除痰、解毒散结等功效,有助于减轻化疗所致患者免疫功能抑制以及多种正常细胞功能损伤,实现减毒增敏作用。

除肿瘤体积这一宏观指标之外,血清中存在较多与癌症患者肿瘤负荷密切相关的指标,其水平变化可客观反映机体对治疗方案的敏感性。观察组患者化疗后血清中肿瘤标志物 SCC-Ag、CYFRA21-1、CA125 及血管新生标志物 MMP-2、VEGF、TSP-1、ET-1 的水平均较低。SCC-Ag、CYFRA21-1、CA125 已在不同研究中被证实与 NSCLC 的诊断及病情评估密切相关,其水平一般与肿瘤分期正相关^[7-9]。肿瘤细胞的恶性程度演变有赖于肿瘤内部血管形成并提供氧气、养分,故在恶性肿瘤组织中存在 MMP-2、VEGF 等促血管内皮细胞增殖、迁移因子的过表达^[10-11];ET-1 近年也被发现参与恶性肿瘤的血管生成,其可能在缺氧条件下代偿性增加,并进一步诱导内皮细胞释放 MMP-2、VEGF 等强效促血管生成因子^[12];

表 3 2 组患者血管新生标志物比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	MMP-2(ng/mL)	VEGF(pg/mL)	TSP-1(ng/mL)	ET-1(ng/mL)
对照组($n=40$)				
治疗前	574.39 $\pm$ 68.21	709.11 $\pm$ 85.63	54.28 $\pm$ 6.71	23.97 $\pm$ 3.42
治疗 2 个疗程后	319.54 $\pm$ 45.28*	482.64 $\pm$ 58.71*	72.74 $\pm$ 8.86*	17.21 $\pm$ 2.05*
观察组($n=40$)				
治疗前	573.78 $\pm$ 64.62	705.89 $\pm$ 82.42	54.09 $\pm$ 6.37	23.85 $\pm$ 3.39
治疗 2 个疗程后	203.18 $\pm$ 24.39* Δ	305.48 $\pm$ 42.95* Δ	95.66 $\pm$ 11.05* Δ	11.85 $\pm$ 1.64* Δ

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组治疗 2 个疗程后比较, $\Delta P<0.05$

表 4 2 组患者耐药基因表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	MRP	MDR1	LRP
对照组($n=40$)			
治疗前	100	100	100
治疗 2 个疗程后	98.23 ± 11.07	103.26 ± 12.48	99.11 ± 10.74
观察组($n=40$)			
治疗前	98.95 ± 12.71	101.63 ± 13.27	100.74 ± 13.29
治疗 2 个疗程后	71.09 ± 8.56 * Δ	81.45 ± 9.06 * Δ	78.65 ± 8.95 * Δ

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组治疗 2 个疗程后比较, $\Delta P<0.05$

TSP-1 是具有血管新生抑制作用的因子,可抑制血管内皮生长并诱导其凋亡^[13-14]。上述结果的出现从血清学角度说明益气化痰方辅助治疗可进一步降低晚期 NSCLC 患者的肿瘤负荷,与观察组患者肿瘤体积缩小这一结果吻合,再次证实了益气化痰方在增加机体化疗敏感性方面的作用。

益气化痰方的上述减毒增敏作用实现机制尚未完全明确,推测与其改变机体耐药基因表达相关。本研究观察组患者治疗后病灶活检标本经荧光定量 PCR 检测后发现,其中耐药基因 MRP、MDR1、LRP mRNA 的表达均较低。MRP、MDR1、LRP 是目前发现的与肺癌耐药密切相关的基因,其中 MRP、MDR1 过表达可使细胞毒药物进入细胞内后很快被泵出、进而出现耐药现象^[15-16];LRP 过表达可直接影响细胞的胞内转运、分布,导致靶点药物的有效浓度下降^[17]。上述结果证实益气化痰方辅助治疗可有效抑制晚期 NSCLC 组织的耐药基因表达,这也是其增加机体化疗敏感性的主要机制。

综上所述,晚期 NSCLC 患者在常规静脉化疗基础上加入中药益气化痰方进行辅助治疗,可进一步导致肿瘤体积缩小以及血清学肿瘤负荷相关指标水平下降,其具体机制与该药物减少肿瘤耐药基因表达直接相关。但本研究所选病例数相对较少,具体结果可能存在一定偏倚。

参考文献

[1] Guo W, Hui X, Alfaifi S, et al. Preoperative contralateral lung radiation dose is associated with postoperative pulmonary toxicity in patients with locally advanced non-small cell lung cancer treated with trimodality therapy[J]. Pract Radiat Oncol, 2018, 8(4): e239-239, e248.

[2] Tay R, Prelaj A, Califano R. Immune checkpoint blockade for advanced non-small cell lung cancer:challenging clinical scenarios[J]. J Thorac Dis, 2018, 10(Suppl 13): S1494-1494S1502.

[3] Zhu Y, Du Y, Liu H, et al. Study of efficacy and safety of pulsatile administration of high-dose gefitinib or erlotinib for advanced non-small cell lung cancer patients with secondary drug resistance: A single cen-

ter, single arm, phase II clinical trial[J]. Thorac Cancer, 2016, 7(6): 663-669.

[4] Guo F, Cao Z, Guo H, et al. The action mechanism of lncRNA-HO-TAIR on the drug resistance of non-small cell lung cancer by regulating Wnt signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(6): 4885-4889.

[5] 吕文姣, 欧阳明子, 林丽珠, 等. 益气除痰方对非小细胞肺癌患者化疗相关性疲劳的防治作用[J]. 中医药导报, 2015, 21(10): 31-34.

[6] 潘旭枫, 黄学武. 益气除痰方对肺癌化疗患者全血细胞计数的影响[J]. 中国当代医药, 2017, 24(2): 134-136, 140.

[7] 田春艳, 李馥郁, 杨晋, 等. 吉非替尼联合吉西他滨和顺铂化疗方案治疗晚期非小细胞肺癌临床疗效及对血清肿瘤标志物的影响[J]. 解放军医药杂志, 2018, 30(4): 25-28.

[8] Sone K, Oguri T, Ito K, et al. Predictive Role of CYFRA21-1 and CEA for Subsequent Docetaxel in Non-small Cell Lung Cancer Patients[J]. Anticancer Res, 2017, 37(9): 5125-5131.

[9] Ying L, Wu J, Zhang D, et al. Preoperative serum CA125 is an independent predictor for prognosis in operable patients with non-small cell lung cancer[J]. Neoplasma, 2015, 62(4): 602-609.

[10] 楚荷莹, 白勇, 杨睿, 等. 恩度联合顺铂对老年晚期非小细胞肺癌患者血清 MMP-2 和 VEGF 水平的影响[J]. 肿瘤基础与临床, 2014, 27(4): 300-301.

[11] Lai Y, Wang X, Zeng T, et al. Serum VEGF levels in the early diagnosis and severity assessment of non-small cell lung cancer[J]. J Cancer, 2018, 9(9): 1538-1547.

[12] Chen JL, Lv XD, Ma H, et al. Detection of cancer embryo antigen and endothelin-1 in exhaled breath condensate: A novel approach to investigate non-small cell lung cancer[J]. Mol Clin Oncol, 2016, 5(1): 124-128.

[13] Miao X, Rahman MF, Jiang L, et al. Thrombin-reduced miR-27b attenuates platelet angiogenic activities in vitro via enhancing platelet synthesis of anti-angiogenic thrombospondin-1[J]. J Thromb Haemost, 2018, 16(4): 791-801.

[14] Zhao C, Isenberg JS, Popel AS. Human expression patterns; qualitative and quantitative analysis of thrombospondin-1 under physiological and pathological conditions[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(4): 2086-2097.

[15] El-Sheikh AA, Morsy MA, Al-Taher AY. Multi-drug resistance protein(Mrp)3 may be involved in resveratrol protection against methotrexate-induced testicular damage[J]. Life Sci, 2014, 119(1-2): 40-46.

[16] Steelman LS, Abrams SL, Ruvoilo P, et al. Drug-resistance in doxorubicin-resistant FL5. 12 hematopoietic cells; elevated MDR1, drug efflux and side-population positive and decreased BCL2-family member expression[J]. Oncotarget, 2017, 8(68): 113013-113033.

[17] Sedláková I, Laco J, To ner J, et al. Drug resistance proteins LRP, Pgp, MRP1, MRP3 and MRP5 in ovarian cancer patients[J]. Ceska Gynkol, 2013, 78(6): 545-553.