

# 益气除痰方联合静脉化疗治疗晚期 NSCLC 的疗效及免疫学机制分析

钱朱萍 陈康海

(复旦大学附属中山医院青浦分院,上海,201700)

**摘要** 目的:探讨益气除痰方联合静脉化疗治疗晚期非小细胞肺癌(NSCLC)的疗效及免疫学机制。方法:选取2014年6月至2017年12月复旦大学附属中山医院青浦分院收治的晚期NSCLC患者80例作为研究对象,按照随机数字表法分为观察组和对照组,每组40例。观察组接受益气除痰方联合静脉化疗,对照组仅接受静脉化疗。评估化疗整体效果,测定血清肿瘤标志物、免疫细胞因子含量及外周血免疫细胞含量。结果:化疗4个周期后,观察组患者的客观有效率(OR)以及血清干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )含量、外周血辅助性T细胞1(Th1)含量明显高于对照组,血清癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白片段21-1(CYFRA21-1)、鳞状细胞癌抗原(SCC-Ag)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-17(IL-17)含量以及外周血辅助性T细胞2(Th2)、辅助性T细胞17(Th17)、调节性T细胞(Treg)含量明显低于对照组。结论:益气除痰方联合静脉化疗治疗晚期NSCLC能够改进疗效,提高抗肿瘤免疫应答。

**关键词** 非小细胞肺癌;益气除痰方;肿瘤标志物;抗肿瘤免疫应答;血清干扰素- $\gamma$ ;辅助性T细胞1

## Efficacy and Immunological Mechanism Analyses of Yiqi Chutan Recipe Combined with Intravenous Chemotherapy in Treatment of Advanced NSCLC

Qian Zhuping, Chen Kanghai

(Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University Qingpu Branch, Shanghai 201700, China)

**Abstract Objective:** To study the efficacy and immunological mechanism of Yiqi Chutan Recipe combined with intravenous chemotherapy in the treatment of advanced non-small cell lung cancer(NSCLC). **Methods:** A total of 80 patients with advanced NSCLC diagnosed in Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University Qingpu Branch from June 2014 to December 2017 were randomly divided into an observation group receiving Yiqi Chutan Recipe combined with intravenous chemotherapy, and a control group receiving intravenous chemotherapy, with 40 cases in each group. Then overall effect of chemotherapy was evaluated, and serum tumor markers, immunocytokines and peripheral blood immunocytes were measured. **Results:** After 4 cycles of chemotherapy, the objective response rate(OR), serum interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ), peripheral blood T helper cell 1(Th1) in the patients of the observation group were significantly higher than those in the control group; serum carcinoembryonic antigen(CEA), cytokeratin fragment 21-1(CYFRA21-1), squamous cell carcinoma antigen(SCC-Ag), interleukin-4(IL-4), interleukin-10(IL-10), interleukin-17(IL-17) and peripheral blood T helper cell 2(Th2), T helper cell 17(Th17), regulatory T cell(Treg) were significantly lower than those in the control group. **Conclusion:** Yiqi Chutan Recipe combined with intravenous chemotherapy in the treatment of advanced NSCLC can improve the efficacy and enhance the anti-tumor immune response.

**Key Words** Non-small cell lung cancer; Yiqi Chutan Recipe; Tumor markers; Anti-tumor immune response; Serum interferon- $\gamma$ ; T helper cell 1

中图分类号:R273 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.08.041

非小细胞肺癌(Non-small Cell Lung Cancer, NSCLC)是最常见的肺癌病理类型,多数NSCLC患者确诊时已经进入肿瘤晚期,错过了手术切除的机会,需要通过以全身化疗为主的综合治疗手段来进行治疗。近年来,中药物被越来越多的用于恶性肿瘤的辅助治疗,传统中医认为,肺为五脏六腑之“华盖”,肺癌发病的病机在于正气虚损、邪毒入侵,在此基础上津血运行不畅、痰瘀互结、久而形成积块。益气除痰方具有补益肺气、除痰化痰的功效,能够针对肺癌的中医病机发挥治疗作用<sup>[3]</sup>。已有动物

实验报道,益气除痰方对肺癌荷瘤鼠的肿瘤病灶生长具有抑制作用、抗肿瘤免疫应答具有改善作用<sup>[4]</sup>,由此也提示调节抗肿瘤免疫应答可能是益气除痰方发挥肺癌治疗价值的分子机制。本研究为了在临床患者中明确益气除痰方治疗肺癌的价值,具体分析了益气除痰方联合静脉化疗治疗晚期NSCLC的疗效及免疫学机制。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2014年6月至2017年12月复旦大学附属中山医院青浦分院收治的晚期NSCLC

基金项目:上海市卫生和计划生育委员会中医药科研专项(2016L014)

作者简介:钱朱萍(1984.12—),女,硕士研究生,主治医师,研究方向:中医肿瘤研究,E-mail:xiaoping123456@163.com

通信作者:陈康海(1975.06—),男,本科,副主任医师,研究方向:肿瘤介入化疗,E-mail:ckh1975@126.com

患者 80 例作为研究对象,按照随机数字表法分为观察组和对照组,每组 40 例。观察组中男 23 例,女 17 例,年龄 45 ~ 68 岁,平均年龄(52.95 ± 7.82)岁, TNM IIIB 期 25 例、IV 期 15 例;对照组中男 23 例,女 17 例,年龄 43 ~ 70 岁,平均年龄(53.15 ± 7.78)岁, TNM IIIB 期 26 例、IV 期 14 例。2 组患者间一般资料的比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本人签署知情同意书、研究获伦理委员会批准(伦理审批号:12&ZD122)。

1.2 诊断标准 经组织病理确诊为 NSCLC、TNM 肿瘤分期为 IV 期。

1.3 纳入标准 1) 年龄 18 ~ 79 周岁;2) 结合影像学检查判断 TNM 分期 IIIB-IV 期;3) 至少有一个客观可测量的肿瘤病灶;4) 预期生存时间  $\geq 3$  个月;5) 无化疗禁忌证。

1.4 排除标准 1) 入组前接受过放疗、免疫治疗等;2) 合并自身免疫性疾病和感染性疾病;3) 不能耐受化疗的患者。

1.5 脱落与剔除标准 1) 患者未按要求服药;2) 治疗中途离组、未完成预定疗程;3) 治疗期间突发急症、需进行其他治疗。

1.6 治疗方法 2 组患者均按照 TP 方案进行化疗:21 d 为 1 个化疗周期,紫杉醇注射液(北京双鹭药业股份有限公司,国药准字 20066640) 135 mg/m<sup>2</sup>,第 1 天,静脉滴注;顺铂注射液(Hospira Australia Pty Ltd,澳大利亚,国药准字 H20140372) 30 mg/m<sup>2</sup>,第 1 ~ 3 天,静脉滴注,共进行 4 个周期;化疗过程中监测血常规、肝肾功能,如出现骨髓抑制、肝肾损害则进行对症处理。观察组患者在化疗过程中给予益气除痰方:党参 15 g、法半夏 10 g、白术 15 g、云茯苓 15 g、瓜蒌皮 15 g、鱼腥草 30 g、露蜂房 10 g、枳实 15 g 为基础方,加水煎煮、得到 200 mL 药液,每日 1 剂,早晚分 2 次口服。

1.7 观察指标 化疗前及化疗后 4 个周期时,采集晨起空腹静脉血,离心取血清后采用点化学发光法测定癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白片段 21-1(CY-FRA21-1)、鳞状细胞癌抗原(SCC-Ag)的含量,采用酶联免疫吸附法测定干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素(IL-10)、白细胞介素-17(IL-17)的含量;另取适量外周血,孵育 CD3、CD4、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-17、Foxp3 的荧光抗体后,采用流式细胞术测定 Th1、Th2、Th17、Treg 的含量。

1.8 疗效判定标准 化疗 4 个周期后参照 RECIST1.1<sup>[5]</sup>进行疗效评价,所有目标病灶均消失、持

续 1 个月以上为完全缓解(CR),所有病灶最大径之和减少 30% 以上、持续 1 个月以上为部分缓解(PR),所有病灶最大径之和减少不足 30% 或有增加但不超过 20%、持续 1 个月以上为稳定(SD),所有病灶最大径之和增加 20% 以上或出现新病灶为进展(PD)。按照(CR + PR)/总例数计算客观有效率(OR)。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计软件录入数据,2 组患者间计量资料用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,分析采用  $t$  检验、计数资料用例(%)表示,分析采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组患者整体疗效的比较 观察组患者中 CR、PR、SD、PD 分别为 1 例、21 例、15 例、3 例,OR 为 55.0%;对照组患者中 CR、PR、SD、PD 分别为 0 例、13 例、17 例、10 例,OR 为 32.5%。经  $\chi^2$  检验,观察组患者的 OR 明显高于对照组,组间 OR 的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.2 2 组患者血清肿瘤标志物的比较 2 组患者化疗前的血清 CEA、CYFRA21-1、SCC-Ag 含量比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );2 组患者化疗后的血清 CEA、CYFRA21-1、SCC-Ag 含量均明显低于化疗前( $P < 0.05$ )且观察组患者化疗后的血清 CEA、CYFRA21-1、SCC-Ag 含量明显低于对照组( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 2 组患者化疗前后血清肿瘤标志物的比较

组别	$(\bar{x} \pm s, \text{ng/mL})$		
	CEA	CYFRA21-1	SCC-Ag
观察组( $n = 40$ )			
化疗前	46.51 ± 6.93	35.89 ± 5.41	2.03 ± 0.32
化疗后	17.31 ± 2.74 <sup>*△</sup>	13.91 ± 1.88 <sup>*△</sup>	1.12 ± 0.13 <sup>*△</sup>
对照组( $n = 40$ )			
化疗前	46.88 ± 6.52	36.12 ± 4.98	2.08 ± 0.38
化疗后	24.51 ± 3.36 <sup>*</sup>	19.39 ± 2.38 <sup>*</sup>	1.42 ± 0.18 <sup>*</sup>

注:与治疗前比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;与对照组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

2.3 外周血免疫细胞的比较 2 组患者化疗前的外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 含量比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );观察组患者化疗后的外周血 Th1 含量均明显高于化疗前,Th2、Th17、Treg 含量均明显低于化疗前( $P < 0.05$ ),对照组患者化疗后的外周血 Th1 含量均明显低于化疗前,Th2、Th17、Treg 含量均明显高于化疗前( $P < 0.05$ )且观察组患者化疗后的外周血 Th1 含量均明显高于对照组,Th2、Th17、Treg 含量均明显低于对照组( $P < 0.05$ )。见表 2。

2.4 2 组患者血清免疫细胞因子的比较 2 组患者

表2 2组患者化疗前后外周血中免疫细胞的比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	Th1	Th2	Th17	Treg
观察组( $n=40$ )				
化疗前	30.39 ± 5.14	3.35 ± 0.46	1.65 ± 0.22	2.31 ± 0.35
化疗后	37.57 ± 5.84* $\Delta$	2.51 ± 0.34* $\Delta$	1.27 ± 0.16* $\Delta$	1.65 ± 0.24* $\Delta$
对照组( $n=40$ )				
化疗前	30.11 ± 4.58	3.39 ± 0.47	1.67 ± 0.18	2.35 ± 0.38
化疗后	25.41 ± 3.52*	3.88 ± 0.51*	1.94 ± 0.25*	2.91 ± 0.37*

注:与治疗前比较,\* $P < 0.05$ ;与对照组比较, $\Delta P < 0.05$

表3 2组患者化疗前后血清免疫细胞因子的比较( $\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$ )

组别	IFN- $\gamma$	IL-4	IL-10	IL-17
观察组( $n=40$ )				
化疗前	31.39 ± 4.26	20.89 ± 3.25	65.94 ± 8.41	8.71 ± 1.13
化疗后	58.37 ± 7.31* $\Delta$	17.03 ± 2.35* $\Delta$	48.12 ± 6.83* $\Delta$	6.52 ± 0.78* $\Delta$
对照组( $n=40$ )				
化疗前	30.89 ± 4.45	21.13 ± 2.88	66.21 ± 7.82	8.81 ± 0.94
化疗后	26.61 ± 3.35*	24.58 ± 3.58*	78.58 ± 9.38*	10.39 ± 1.44*

注:与治疗前比较,\* $P < 0.05$ ;与对照组比较, $\Delta P < 0.05$

化疗前的血清 IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-10、IL-17 含量比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );观察组患者化疗后的血清 IFN- $\gamma$  含量均明显高于化疗前,IL-4、IL-10、IL-17 含量均明显低于化疗前( $P < 0.05$ ),对照组患者化疗后的血清 IFN- $\gamma$  含量均明显低于化疗前,IL-4、IL-10、IL-17 含量均明显高于化疗前( $P < 0.05$ )且观察组患者化疗后的血清 IFN- $\gamma$  含量均明显高于对照组,IL-4、IL-10、IL-17 含量均明显低于对照组( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

NSCLC 是我国发病率最高的恶性肿瘤之一,多数患者确诊后已进展至晚期,需要通过静脉化疗来杀灭癌细胞、延长生存时间。虽然化疗药物对癌细胞的杀伤作用确切,但也会对正常组织脏器造成损伤并引起多种不良反应,进而影响化疗依从性及化疗效果。近年来,中药物被越来越多的用于恶性肿瘤的治疗,中药不仅能够调节机体功能、减轻化疗过程中的不良反应,还有多种中药被证实具有直接的抗癌活性和免疫调节活性。根据中医理论,肺为五脏六腑之“华盖”且“肺为主气之枢、脾为生气之源”“脾为生痰之源、肺为贮痰之器”。在肺癌的发生发展过程中,肺与脾存在生气不足、水液失调,针对中医病机进行健脾益气能够起到补益肺气、除痰化痰的功效<sup>[6]</sup>。本研究所采用的益气除痰方包含半夏、枳实、人参、白术、茯苓、露蜂房等多味具有除痰消积、益气健脾、利湿化痰功效的中药<sup>[7-8]</sup>,已有相关的动物实验研究表明,益气除痰方对肺癌荷瘤大鼠的病灶生长具有抑制作用,同时也能增强模型大

鼠的抗肿瘤免疫应答并通过免疫机制来杀伤癌细胞<sup>[4]</sup>。

本研究在晚期 NSCLC 患者接受 TP 方案化疗的过程中给予益气除痰方进行辅助治疗,旨在明确益气除痰方用于晚期 NSCLC 临床治疗的价值。在化疗前及化疗后分别对肿瘤病灶进行影像学测量并判断疗效,接受益气除痰方联合 TP 方案化疗的观察组患者的 OR 明显高于对照组。这一结果提示 TP 方案化疗的基础上给予益气除痰方能够改进化疗效果。在 NSCLC 病情发展变化的过程中,癌细胞本身能够合成和分泌多种分子进入血液循环,测定血液循环中相应肿瘤标志物的含量能够反应肿瘤负荷程度,而肿瘤标志物的变化则能反应抗肿瘤治疗的效果。CEA、CYFRA21-1、SCC-Ag 是目前临床上常用的 NSCLC 标志物<sup>[9-10]</sup>,本研究对化疗前后上述 3 种标志物的分析发现:2 组患者化疗后的血清 CEA、CYFRA21-1、SCC-Ag 含量均明显降低且观察组化疗后的血清 CEA、CYFRA21-1、SCC-Ag 含量低于对照组,肿瘤标志物的降低趋势较对照组更为显著。以上肿瘤标志物的分析结果表明常规 TP 方案化疗对 NSCLC 具有杀伤作用、化疗后肿瘤标志物的分泌减少;而在 TP 方案化疗的基础上加用益气除痰方能够增强治疗方案对 NSCLC 的杀伤作用、化疗后肿瘤标志物分泌的减少更为显著,进而也提示益气除痰方具有抗肿瘤作用。

根据已有的动物实验研究,益气除痰方具有确切的免疫调节活性,能够增强 NSCLC 模型大鼠的抗肿瘤免疫功能。在 NSCLC 的病情发展变化过程中,

机体抗肿瘤免疫应答异常所造成的免疫逃逸是重要的病理环节<sup>[11-12]</sup>。NSCLC 患者抗肿瘤免疫应答异常主要表现为 Th1、Th2、Th17、Treg 4 种 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群的紊乱, Th1 细胞的功能受到抑制, 而 Th2、Th17、Treg 细胞的功能增强<sup>[13-14]</sup>。Th1 细胞亚群能够分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-2、TNF- $\alpha$  等细胞因子, 进而通过介导细胞免疫应答来杀伤、清除癌细胞<sup>[15-16]</sup>; Th2 细胞亚群分泌的 IL-4、IL-5 具有抑制 Th1 免疫应答的效应, 能够促进癌细胞发生逃逸<sup>[17]</sup>; Th17 细胞亚群特异性分泌 IL-17, 该细胞因子具有刺激癌细胞迁移、浸润的作用, 能够促进肿瘤病情进展<sup>[18]</sup>; Treg 细胞亚群则是重要的抑制性细胞群, 既能通过细胞本身的接触抑制来削弱机体的抗肿瘤免疫应答, 也能通过分泌抑制性细胞因子 IL-10 来抑制抗肿瘤免疫应答<sup>[19-20]</sup>。本研究对化疗前后 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群的分析结果显示: 观察组患者化疗后的外周血 Th1 含量及血清 IFN- $\gamma$  含量均明显高于化疗前, 外周血 Th2、Th17、Treg 含量及血清 IL-4、IL-10、IL-17 含量均明显低于化疗前; 对照组患者化疗后的外周血 Th1 含量及血清 IFN- $\gamma$  含量均明显低于化疗前, 外周血 Th2、Th17、Treg 含量及血清 IL-4、IL-10、IL-17 含量均明显高于化疗前。这一结果表明常规 TP 方案化疗能够加重晚期 NSCLC 患者体内 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群的紊乱, Th1 细胞受抑制以及 Th2、Th17、Treg 细胞增强的病理状况进一步加重; 而在 TP 方案化疗的基础上加用益气除痰方能够调节 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群, 增强 Th1 细胞功能并抑制及 Th2、Th17、Treg 细胞功能, 进而使机体的抗肿瘤免疫应答增强。

综上所述, 益气除痰方联合静脉化疗治疗晚期 NSCLC 能够改进疗效、增强治疗方案对 NSCLC 的杀伤作用、化疗后肿瘤标志物分泌的减少更为显著, 同时也能调节 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群并增强抗肿瘤免疫应答。本次研究受限于纳入病例数较少, 可能对数据产生一定偏倚, 有待后续大样本研究进一步展开并明确该治疗方案的效果。

#### 参考文献

[1] Wang P, Zou J, Wu J, et al. Clinical profiles and trend analysis of newly diagnosed lung cancer in a tertiary care hospital of East China during 2011-2015[J]. J Thorac Dis, 2017, 9(7): 1973-1979.

[2] Zeng Y, Bao J, Zhao Y, et al. A sandwich-type electrochemical immunoassay for ultrasensitive detection of non-small cell lung cancer biomarker CYFRA21-1[J]. Bioelectrochemistry, 2018, 120: 183-189.

[3] Zhang Y, Xu LJ, Zheng Y, et al. Traditional Chinese Herbal Medicine for Perimenopausal Depression of Chinese Women: A Meta-analysis [J]. World J Tradit Chin Med, 2017, 3(3): 51-57.

[4] 张恩欣, 周岱翰, 侯超. 益气除痰方抑制肿瘤相关巨噬细胞的抗肿瘤免疫功能研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2016, 23(10): 627-630, 635.

[5] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(2): 228-247.

[6] 李娟, 唐东昕, 杨柱, 等. 肺癌的中医药治疗与研究现状[J]. 贵阳中医学院学报, 2017, 39(3): 98-100, 封3.

[7] LI Y, TANG DX, YANG Z, et al. Present Situation of the Treatment and Research on Lung Cancer with TCM[J]. Journal of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, 2017, 39(3): 98-100.

[8] 朱丽华, 陈尚雅, 李和根, 等. 晚期非小细胞肺癌中医药联合外治法的临床研究[J]. 世界中医药, 2017, 12(1): 34-36, 41.

[9] 刘启欧, 王淑美, 李舒. 益气除痰方增强肺癌化疗药物敏感性的作用机制[J]. 华西药学杂志, 2017, 32(4): 395-398.

[10] LIU QO, WANG SM, LI S, et al. Mechanism of Yiqi Chutan formula on chemosensitivity of lung cancer[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, 32(4): 395-398.

[11] 刘启欧, 王淑美, 李舒. 益气除痰方调控未折叠蛋白反应抑制 A549 肺癌生长的研究[J]. 中药材, 2016, 39(3): 625-629.

[12] 杜军华, 乔洪源, 尹宜发. 血清 CEA、CA125 及 Cyfra21-1 水平对中外晚期非小细胞肺癌患者预后的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(2): 137-140.

[13] 张颖, 董秀鹏, 杜静, 等. 肿瘤标志物 CYFRA21-1、SCC、CEA、NSE、CA125 检验在肺癌诊断中的价值[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(11): 1701-1703.

[14] ZHANG Y, DONG XP, DU J, et al. Diagnostic value of tumor markers CYFRA21-1, SCC, CEA, NSE and CA125 in lung cancer[J]. Journal of Modern Oncology, 2018, 26(11): 1701-1703.

[15] Joerger M, Finn SP, Cuffe S, et al. The IL-17-Th1/Th17 pathway: an attractive target for lung cancer therapy? [J]. Expert Opin Ther Targets, 2016, 20(11): 1339-1356.

[16] McGranahan N, Rosenthal R, Hiley CT, et al. Allele-Specific HLA Loss and Immune Escape in Lung Cancer Evolution[J]. Cell, 2017, 171(6): 1259-1271. e11.

[17] Guy TV, Terry AM, Bolton HA, et al. Collaboration between tumor-specific CD4<sup>+</sup> T cells and B cells in anti-cancer immunity[J]. Oncotarget, 2016, 7(21): 30211-30229.

[18] Shaobin W, Yu X, Jiatian L, et al. Changes of CD4<sup>+</sup> T-cell subsets after radiofrequency ablation in lung cancer and its significance[J]. J Cancer Res Ther, 2016, 12(Supplement): C166-C170.

[19] Ma QY, Huang DY, Zhang HJ, et al. Upregulation of bacterial-specific Th1 and Th17 responses that are enriched in CXCR5 + CD4 + T cells in non-small cell lung cancer[J]. Int Immunopharmacol, 2017, 52: 305-309.

[20] Mateu-Jimenez M, Curull V, Pijuan L, et al. Systemic and Tumor Th1 and Th2 Inflammatory Profile and Macrophages in Lung Cancer: Influence of Underlying Chronic Respiratory Disease[J]. J Thorac Oncol, 2017, 12(2): 235-248.