鸦胆子乳剂联合化疗对非小细胞肺癌患者血清 MMP-2水平的影响

舒琦瑾[1],王廷祥[2],张爱琴[3],王彬彬[1],朱国猛[1],吴良村[1](1.浙江中医药大学附属第一临床医学院,杭州 310006;2.浙江医院,杭州 310013;3.浙江省肿瘤医院,杭州 310022)

摘要:目的 观察鸦胆子乳剂对非小细胞肺癌患者血清 MMP-2水平的调控作用。方法 随机将 40例非小细胞肺癌患者分成对照组及治疗组各 20例。治疗组:鸦胆子乳剂注射液 30 mL qd×30 d+TP方案静脉化疗 2疗程。对照组:单用 TP方案(用法剂量同治疗组)静脉化疗 2个疗程。分别于化疗前一天、第二个疗程结束后(即第 42天)按酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay简称 ELISA)技术要求收集标本送检。结果 血清 MMP-2水平与 TNM分期呈线性关系;治疗组其下调 MMP-2水平高于对照组,两组差异有统计学意义,$P<0.05$;两组有效率、获益率治疗组虽有升高,差别无显著意义,$P>0.05$。结论 非小细胞肺癌患者血清 MMP-2水平与肺癌进展和预后相关;鸦胆子乳剂具下调非小细胞肺癌患者血清 MMP-2水平的作用,即有一定的 MMP抑制物样作用。

关键词:非小细胞肺癌;药物治疗;鸦胆子乳剂;药物治疗;紫杉醇;药物治疗;顺铂;基质金属蛋白酶 2

中图分类号:R734.200.531 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2007)03-0237-04

基金项目:浙江省中医管理局资助项目部分内容(2003C052)

Clinical Studies on MMP-2 Levels in Serums of Patients with NSCLC Treated by Emulsion of Seed Oil of Brucea Javanica and Chemical Therapy

SHU Qi-jin[1], WANG Tin-xiang[2], ZHANG Ai-qing[3], WANG Bin-bin[1], ZHU Guo-meng[1], WU Liang-cun[1] (1. *First Affiliated Hospital of Zhejiang University of TCM, Hangzhou* 310006, *China*; 2. *Zhejiang Hospital, Hangzhou* 310013, *China*; 3. *Zhejiang Provincal Hospital of Oncology, Hangzhou* 310022, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the influence of emulsion of seed oil of Brucea Javanica on MMP-2 levels in serums of patients with NSCLC. **METHODS** 40 patients with NSCLC were randomly divided into treatment group and control group. Patients in treatment group were treated by emulsion of seed oil Brucea Javanica 30 mL · day^{-1} on dl-30 and chemical treatment (CT) with TP regimen for two cycles. Patients in control group were treated by CT with TP regimen for two cycles, every 21 days were as one cycle for CT. Serum of every case was collected at d0 and d42, respectively. **RESULTS** The MMP-2 levels in serums of all cases were linear relationship with TNM staging; the MMP-2 levels in serums of cases in treatment group were lower. There were significant differences ($P<0.05$). Meanwhile, response rates and beneficial rates in two groups were no significantly different ($P>0.05$). **CONCLUSION** The MMP-2 level in serums of patients with NSCLC would be one sign of prognostic and progress of NSCLC. Emulsion of seed oil of Brucea Javanica shows a kind of effect of TIMP. Ongoing clinical trial would be considered.

KEY WORDS: NSCLC; drug therapy/emulsion of seed oil of Brucea Javanica; drug therapy/TXL; drug therapy/cDDP; MMP-2

恶性肿瘤的浸润和转移是一个多阶段、多步骤、多种成分参与的序贯连续过程，在此过程中，肿瘤组织对细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和基底膜(basal membrane, BM)的降解是肿瘤细胞能否形成转移的关键步骤。研究认为基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)系统是参与此过程的最重要的酶系统[1]。而MMP-2(明胶酶A，相对分子质量7200)可选择性降解基底膜的主要成分Ⅳ胶原，在肿瘤细胞突破基底膜屏障而发生浸润和转移的过程中起重要作用。中药鸦胆子系苦木科植物鸦胆子的成熟果实，具有清热解毒、截疟治痢、腐蚀赘疣功效。近代临床研究表明从鸦胆子中提取的鸦胆子乳剂能有效预防肺癌脑转移的发生，与化疗药同用，有减毒增效作用，能保护骨髓功能、改善患者的生活质量。大量临床应用也证实了鸦胆子乳剂联合化疗较单一化疗的疗效为优[2-3]。探讨其对非小细胞肺癌患者血清MMP-2水平的调控，旨在从分子水平解释其机制。

1 材料与方法

1.1 病例资料选择

本组病例来自2005年4月~2006年3月期间浙江省中医院肿瘤科和浙江省肿瘤医院化疗中心住院患者共40人，均经病理学或细胞学证实为非小细胞肺癌并进行了系统的临床及实验室检查，所有患者不伴有慢性阻塞性肺病、支气管哮喘、肺间质纤维化及其他感染性疾病。其中术后患者15例，未手术者25例；年龄20~70岁；活动状态karnofsky评分≥60分；预计生存时间>3个月；主要器官(心、肺、肝、肾、骨髓、胃肠)功能基本正常(治疗前不超过WHO标准Ⅰ度)；既往化疗、放疗、生物治疗结束4周以上；获得患者本人及或家属同意并签署知情同意者。

1.2 药品及试剂

鸦胆子乳剂：浙江九旭药业有限公司生产，批号：20010103，国药准字：Z19993152，规格：安瓿，10 mL/支。紫杉醇(PTX)：北京协和药厂生产，国药准字H10980069，规格：5 mL/30 mg。顺铂(DDP)：齐鲁制药厂生产，批号：0108025，规格：10 mg/2 mL。MMP-2 ELISA试剂盒：美国R & D公司生产，技术支持由上海贝西公司提供。

1.3 治疗方案

随机将40例非小细胞肺癌患者分成对照组及治疗组各20例。治疗组：鸦胆子乳剂注射液+TP方案静脉化疗。具体为：第1天紫杉醇(TXL) 135~175 mg · m^{-2}静滴；第1~3天顺铂(DDP) 30 mg · m^{-2}静滴；21 d后重复一疗程。常规抗过敏预处理，并适当水化。同时，10%鸦胆子乳剂30 mL加入0.9%氯化钠注射液500mL中静滴，连续30天。对照组：单用TP方案(用法剂量同上)静脉化疗2个疗程。

1.4 血清采集及检测

分别于化疗前一天、第二个疗程结束后(即第42天)早上空腹抽静脉自凝血3 mL，用血清分离管收集血液标本，静置30 min使血液凝集，3000 r · min^{-1}离心15 min，取血清分装后置-20℃保存。标本收齐后由浙江省中医院检验科以酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay 简称ELISA)技术检测。

1.5 评价标准

1.5.1 客观疗效 按照WHO(1981年)化疗疗效评价标准分为：完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、没有变化(SD)、疾病进展(PD)。

1.5.2 生活质量 根据Kamofsky(KPS)评分评估，以治疗后较治疗前增加≥10分为改善，减少≥10分为下降，<10分为稳定。

1.5.3 症状改善标准[4] 根据治疗前后临床症状积分变化判定，具体为症状的无、轻、中、重度分别计0、1、2、3分。判定如下：显效：治疗后积分减少≥2/3；有效：积分减少1/3~2/3；无效：积分减少<1/3或增加。

1.5.4 不良反应　根据 WHO抗癌药物急性和亚急性毒性反应表现与分级标准进行观察记录和判定。

1.6 数据处理与分析

采用 SPSS13软件统计分析。结果用均数 ±标准差表示,两样本均数比较采用 t检验,多个样本均数的比较用方差分析,多个样本均数的两两比较用 q检验。两组疗效的比较采用 χ^2检验。如 $P<0.05$表示差别有显著意义,$P<0.01$表示差别有极显著意义。统计学处理后进行相关分析并得出临床结论。

2 结果

2.1 一般资料

本研究最终选择合格受试者 40例纳入结果分析。其中 I期患者共 6例、II期 9例、III期 15例(包括 IIIa期 3例)、IV期 10例;年龄分布 20~70岁,其中治疗组及对照组分别为(57.40 ±2.30)岁、(59.30 ±1.60)岁;治疗组腺、鳞癌各 11例、7例,对照组腺、鳞癌各 9例、8例;K氏评分治疗组及对照组分别为(65.51 ±1.22)、(64.51 ±1.13)。所有资料两组无显著性差异($P>0.05$),见表 1。不同 TNM分期肺癌患者血清 MMP-2水平见表 2。

表 1　40例肺癌患者临床特征

Tab 1　The clinical features in 40 patients with NSCLC

		治疗组	对照组
年龄		57.40 ±2.30	59.30 ±1.60
性别	男	9	8
	女	11	12
Karnofsky评分		65.51 ±1.22	64.51 ±1.13
肿瘤分期	I期	3	3
	II期	4	5
	III期	8	7
	IV期	5	5
病理分型	腺癌	11	9
	鳞癌	7	8
	其他	2	3

2.2 两组结果分析

2.2.1 不同 TNM分期肺癌患者血清 MMP-2水平比较　分期越高,血清 MMP-2水平相应升高,差别有显著意义,$P<0.05$,见表 2。

表 2　不同分期的肺癌血清 MMP-2水平

Tab 2　The MMP-2 levels in serums of patients with NSCLC in different stages

分期	MMP-2
I期	126.87 ±17.58
II期	145.66 ±11.57
III期	174.90 ±16.46
IV期	203.00 ±11.75

注:$P<0.01$,I期 vs II期 vs III期 vs IV期

Note: $P<0.01$, I stage vs II stage vs III stage vs IV stage

2.2.2 两组有效率及获益率比较　有效率及获益率治疗组虽有升高,但与对照组无明显差异,$P<0.05$,见表 3。

表 3　治疗后两组有效率比较

Tab 3　The comparison of RR between the treated and control groups after treatment

	例数	CR	PR	SD	PD	有效率 /%	获益率 /%
治疗组	13	0	6	7	0	46.15[1)]	100[2)]
对照组	12	0	4	6	2	33.33	83.33

注:[1)]与对照组比较,$P>0.05$;[2)]与对照组比较,$P>0.05$

Note: [1)] Compared with the control groups, $P>0.05$; [2)] compared with the control group, $P>0.05$

2.2.3 治疗后治疗组与对照组患者血清 MMP-2水平及下降幅度:可见治疗组 MMP-2水平较对照组显著降低且下降幅度更明显,差别有显著意义,$P<0.05$,见表 4。

表 4　治疗前后两组患者血清 MMP-2水平及下降幅度

Tab 4　The MMP-2 levels and decreased levels of MMP-2 in serums of patients with NSCLC in the treated and control groups before and after treatment

	治疗前	治疗后	
	MMP-2	MMP-2	MMP-2下降幅度
治疗组	167.28 ±8.03[1)]	77.38 ±4.69[2)]	89.90 ±3.25[3)]
对照组	168.94 ±5.29	87.60 ±7.54	81.34 ±4.55

注:[1)]与对照组比较,$P>0.05$;[2)]与对照组比较,$P<0.05$;[3)]与对照组比较,$P<0.05$

Note: [1)] Compared with the control group, $P>0.05$; [2)] compared with the control group, $P<0.05$; [3)] compared with the control group, $P<0.05$

2.3 不良反应观察

治疗组与对照组所有病例均未发现明显肝肾功能损害、皮疹、红斑、支气管痉挛等药物过敏现象。治疗组有 3位患者在第一个周期中,1位患者在第二个周期结束时出现静脉给药处局部静脉炎。给予热敷处理后,症状消失。

3 讨论

肺癌是世界上最常见的恶性肿瘤,也是发病率持续增高的少数几种恶性肿瘤之一,在多数西方发达国家中,肺癌已成为恶性肿瘤最常见的死亡原因。在我国各大城市,肺癌的发病率和死亡率正逐步升高,肺癌在我国城市中居常见恶性肿瘤首位,在农村居第 4位。肺癌恶性程度高,生物学特性复杂,中位生存期一般在 6个月左右,80%一年内死亡,5年生存率仅 5%~10%。近 20年来,肺癌的死亡率在恶性肿瘤中的上升幅度最大,已居首位[5]。中医药有不良反应轻、多靶点抗肿瘤等作用,日益受到世人的瞩目。在第 5届国际癌症大会上,已将中医药疗法与手术、放疗、化疗、生物疗法并列为当前防治恶性肿瘤的五大手段。

侵袭和转移是恶性肿瘤的主要特征,是肿瘤细胞、宿主细胞及细胞外基质(ECM)之间一系列复杂、多步骤相互作用的结果。其中,肿瘤细胞与 ECM间的相互作用在这一过程中起关键作用。由于 ECM和基底膜的主要结构蛋白是 IV型胶原,而明胶酶-2(MMP-2)是降解 IV型胶原及调节肿瘤血管生成的主要酶之一,故在所有金属蛋白酶中 MMP-2是

中国现代应用药学杂志 http://www.chinajmap.com

具有降解细胞外基质功能的蛋白酶中最重要的一种。同时 MMP-2也是所有 MMPS中分布最广的,当细胞恶变时,常有 MMP-2的升高[6], MMP-2基因扩增和过度表达的肿瘤侵袭性强、恶性度高[7], MMP-2的过度表达与某些恶性肿瘤的进展和预后有关[8]。

鸦胆子乳剂主要成分为油酸和亚油酸。实验证明鸦胆子乳剂为细胞周期非特异性抗癌药,对肿瘤细胞 G0、G1、S、G2、M期有杀伤和抑制作用,能明显抑制肿瘤细胞的 DNA的合成,配合化疗及放疗有增效减毒作用。近年来研究还表明,鸦胆子油乳具有逆转化疗药物的多药耐药,从而增强化疗药物对肿瘤的作用[9]。而且鸦胆子油乳具有诱导肿瘤细胞凋亡的作用,并呈剂量依赖关系[10],此外,鸦胆子油乳还是其他抗癌药物的载体,使药物如阿霉素(ADM)充分包围于油剂中富积于肿瘤区域,长期滞留,使肿瘤组织长期保持药物的高浓度,从而与其他抗癌药物产生协同作用。鸦胆子乳剂经多年临床验证具有一定的抗肺癌作用,特别对肺癌颅内转移、胸膜转移所致恶性胸腔积液具较好疗效[3]。

本研究表明,肺癌 TNM分期越高,血清 MMP-2水平升高越明显,尤以 I期、II期与 III期、IV期相差最为显著。由于临床分期与预后关系最为密切,因此, TNM分期越靠后, MMP-2水平越高,转移风险越大,预后越差,生存期越短。这与中晚期肺癌患者(III、IV期)易转移、手术切除可能性小、预后差的临床实际相吻合。两个疗程后,有效率、获益率治疗组虽有升高,但与对照组差别无显著意义($P>0.05$),扩大病例数,进一步研究很有必要。治疗组 MMP-2水平较对照组显著降低且下降幅度更明显,差别有显著意义($P<0.05$),表明鸦胆子乳剂有 MMP抑制物样作用。即能下调 MMP-2水平,减弱肿瘤细胞对细胞外基质的降解,抑制肿瘤的侵袭与转移,从而改善预后。这或许是鸦胆子乳剂抗肺癌颅内转移、延长生存期机制之一。

本研究发现非小细胞肺癌患者血清 MMP-2水平与肿瘤分期呈正相关,提示血清 MMP-2水平与其进展及预后相关。同时结果还显示鸦胆子乳剂具有下调患者血清 MMP-2的作用,即有 MMP抑制物样作用。从一新角度分析了鸦胆子乳剂抗肺癌的作用,丰富了中医药在肿瘤综合治疗中的实践。

参考文献

[1] STETLER STEVENSON W G, LIOTTA L A, KLEINER DEJr. Extracellular matrix6: Role of matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis. FASEBJ, 1993, 7(15): 1434-1441.

[2] ZHOU Z M. Reports of 25 cases of brain metastases treated by emusion of seed oil of Brucea Javanica plus intrathecal injection drugs of chemical therapy[J]. Chin J Med(中国医刊), 1998, 33(1): 53-55.

[3] SUN K, WEI G Z, WANG Y X. Clinical observation on effects of treatment of advanced lung cancer with emusion of seed oil of Brucea Javanica plus chemical therapy[J]. Chin J Integr Tradit Chin West Med(中国中西医结合杂志), 1994, 14(2): 23-24.

[4] LIN H S. Assessment on effects of treatment with TCM in advanced lung cancer[J]. Bull Chin Cancer(中国肿瘤), 2000, 9(8): 354-355.

[5] HAO X S, ZHANG Y L. Concise Book of Oncology[M]. Vol 1. Beijing: People Health Press, 2001: 375.

[6] RIES C, PETRIDES P E. Cytokine regulation of matrix metalloproteinases activity and its regulatory dysfunction in disease[J]. Biol Chem oppeSeyler, 1995, 276(6) 345-355.

[7] SUN Y, ZHOU J C. Internal Medical Handbook of Clinical Oncology[M]. Vol 3. Beijing: People Health Press, 1996: 24.

[8] BODE W, FERNANDEZ CATALANC, GRAMS F, *et al*. Insights into MMP-TIMP interactions[J]. Anny Acadsci, 1999, 878, 73-91.

[9] TANG T. Reversal of Multidrug resistance and inhibition of DNA topoisomerase Ⅱ by emusion of seed oil of Brucea Javanica[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2001, 7(5): 349.

[10] WANG F, CAO Y, LIU H Y, *et al*. Experimental studies on the apoptosis of HL-60 cells induced by emusion of seed oil of Brucea Javanica[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2003, 28(4): 760.

收稿日期: 2006-12-22

http://www.chinjmap.com