

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.14.004
文章编号: 1005-8982 (2022) 14-0020-05

非小细胞肺癌专题·论著

华蟾素胶囊对中晚期非小细胞肺癌手术患者血清 基质金属蛋白酶、自噬相关蛋白水平的影响*

张童, 何弢, 刘勇志, 李晓菲, 贺丹

(成都医学院第二附属医院·核工业四一六医院 胸心乳腺外科, 四川 成都 610041)

摘要: **目的** 探讨华蟾素胶囊对中晚期肺癌手术患者血清基质金属蛋白酶(MMP)、自噬相关蛋白水平的影响。**方法** 选取2017年9月—2021年4月成都医学院第二附属医院就诊的中晚期非小细胞肺癌(NSCLC)患者108例, 将患者分为对照组和研究组, 各54例。患者均接受肺癌根治术, 对照组术后采取常规化疗, 研究组在对照组基础上加用华蟾素胶囊。比较两组患者临床疗效、免疫功能、血清肿瘤标志物、血清MMP和自噬相关蛋白、不良反应等指标。**结果** 研究组治疗后客观缓解率高于对照组($P < 0.05$)。研究组治疗前后 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 下降程度, $CD8^+$ 升高程度小于对照组。($P < 0.05$)。研究组患者治疗前后糖类抗原125、癌胚抗原、神经元特异性烯醇化酶的下降程度大于对照组($P < 0.05$)。研究组治疗前后基质金属蛋白酶2、基质金属蛋白酶9下降程度, 自噬相关蛋白1、微管相关蛋白1轻链3-II升高程度大于对照组($P < 0.05$)。两组患者血小板减少、肝功能损伤、白细胞减少、恶心呕吐发生率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 华蟾素胶囊可有效提高中晚期肺癌手术患者辅助治疗的疗效, 改善免疫功能和血清肿瘤标志物水平, 抑制MMP水平, 提高细胞自噬活性, 且未增加不良反应。

关键词: 肺癌; 手术; 华蟾素胶囊; MMP; 自噬相关蛋白

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

Effect of cinobufacini capsule on serum levels of matrix metalloproteinases and autophagy-related proteins in patients with advanced non-small cell lung cancer undergoing surgery*

Tong Zhang, Tao He, Yong-zhi Liu, Xiao-fei Li, Dan He

(Department of Cardiothoracic and Breast Surgery, The Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: Objective To explore the effect of the cinobufacini capsule on the serum levels of matrix metalloproteinases (MMP) and autophagy-related proteins in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) undergoing surgery. **Methods** A total of 108 NSCLC patients visiting our hospital from September 2017 to April 2021 were included in this study and divided into control and study groups according to the randomized number table method. Both groups received radical resection of lung cancer. The control group was given conventional chemotherapy postoperatively, and the study group was additionally given the cinobufacini capsules on the basis of conventional chemotherapy. The clinical efficacy, immune function, serum tumor markers, MMP, and autophagy-related proteins, and adverse reactions were compared between the two groups. **Results** The objective

收稿日期: 2022-05-26

* 基金项目: 四川省科学技术厅应用基础研究(No: 2021YJ0204); 四川省卫生健康委员会普及应用项目(No: 20PJ226); 四川省养老与老年健康协同创新中心自然科学一般项目(No: YLZBZ2024)

[通信作者] 贺丹, E-mail: hedang145@163.com

response rate (ORR) was significantly higher in study group than that in control group ($P < 0.05$). After the treatment, the decreases in the frequencies of CD3⁺ and CD4⁺ lymphocytes and the increase in the frequency of CD8⁺ lymphocytes in the study group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The decreases in the levels of carbohydrate antigen 125 (CA125), carcinoembryonic antigen (CEA) and neuron specific enolase (NSE) after the treatment in the study group were greater than those in the control group ($P < 0.05$). Besides, the decreases in the levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9, as well as the increases in the levels of autophagy-related protein 1, microtubule-associated protein 1 light chain 3-II (LC3-II), were greater in the study group than those in the control group after the treatment ($P < 0.05$). There was no significant difference in the incidence of thrombocytopenia, liver function damage, leukopenia and nausea and vomiting between the two groups ($P > 0.05$).

Conclusions Cinobufacini capsule is effective as an auxiliary therapy. It improves the immune function and the levels of serum tumor markers, reduces the levels of MMP, and enhances the autophagic activity of cells without increasing the incidence of adverse reactions.

Keywords: lung cancer; operation; cinobufagin capsule; MMP; autophagy-associated protein

近年来, 有学者在非小细胞肺癌 (non-small lung cancer, NSCLC) 细胞中检测到自噬相关蛋白发生了改变, 自噬可能与肺癌的发病、进展有密切联系^[1]。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP) 可对细胞外基质中几乎所有蛋白成分起降解作用, 破坏阻碍肿瘤细胞侵袭的组织学屏障, 在肿瘤细胞转移过程中具有重要作用^[2]。华蟾素胶囊是一种中药制剂, 在调节免疫、抑制肿瘤生长等方面可发挥一定作用, 常用于晚期肿瘤患者的辅助治疗^[3]。有研究指出, 华蟾素胶囊联合化疗可提高中晚期 NSCLC 患者疗效, 改善免疫功能, 延长生存期^[4]。本研究拟探讨华蟾素胶囊对中晚期肺癌手术患者血清基质金属蛋白酶、自噬相关蛋白水平的影响。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 9 月—2021 年 4 月就诊于成都医学院第二附属医院的 108 例中晚期 NSCLC 患者。将患者分为对照组和研究组, 各 54 例。纳入标准: ①

符合《中国原发性肺癌诊疗规范 (2015 年版)》^[5] 相关诊断标准, 且经病理学检查确诊; ②卡氏功能状态评分 (Karnofsky performance status, KPS) ≥ 60 分; ③TNM 分期 III、IV 期; ④预计生存时间 > 6 个月; ⑤无手术、化疗禁忌证。排除标准: ①合并肝、肾等其他重要器官功能障碍者; ②合并血液系统或免疫系统疾病者; ③术前 3 个月接受其他治疗方案者。两组性别、年龄、KPS 评分、TNM 分期、肺癌类型比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 均衡性良好, 具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会批准, 患者签署知情同意书。见表 1。

1.2 方法

患者均接受肺癌根治术, 手术由同一组医师完成。对照组患者术后 4~5 周接受常规化疗, 即 NP 方案和 GP 方案, NP 方案: 第 1、8 天静脉滴注长春瑞滨 (北京双鹭药业股份有限公司, 国药准字 H20067722) 25 mg/(kg·m²), 第 1~5 天静脉滴注顺铂 (云南植物药业有限公司, 国药准字 H53021679) 20 mg/(kg·m²)。GP 方案: 第 1、8 天静脉滴注吉西他滨 (山东罗欣药业集团恒欣药业有限公司, 国药准字 H20123345) 1 000 mg/m²+250 mL 生理盐水, 第 1~

表 1 两组患者临床资料比较 ($n=54$)

组别	男/女/例	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	KPS/(分, $\bar{x} \pm s$)	TNM 分期 例		肺癌类型 例		
				III 期	IV 期	腺癌	鳞癌	大细胞癌
对照组	29/25	68.35 \pm 4.46	70.83 \pm 3.66	37	17	18	29	7
研究组	28/26	68.39 \pm 4.52	71.17 \pm 3.54	36	18	19	30	5
χ^2/t 值	0.037	0.046	0.491	0.042		0.377		
P 值	0.847	0.963	0.624	0.837		0.828		

3 天静脉滴注顺铂 80 ~ 100 mg/m²。3 周为 1 个化疗周期,所有患者根据身体状况接受 3 ~ 6 个周期。研究组患者在对照组基础上加用华蟾素胶囊(陕西东泰制药有限公司,国药准字 Z20050846),化疗第 1 天开始口服,与其他药物服用间隔 2 h,2 粒/次,3 次/d,3 周/周期,服用 3 个周期。

1.3 评价指标

1.3.1 临床疗效 根据实体肿瘤疗效评价标准^[6]评估患者临床疗效,分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、疾病稳定(stable disease, SD)、疾病进展(progressive disease, PD),比较两组患者客观缓解率(objective response rate, ORR),ORR = CR + PR。目标病灶消失,且无新病灶出现,持续 > 4 周计为 CR;目标病灶直径总和减少 > 30%,且持续 > 4 周计为 PR;目标病灶直径总和减少 ≤ 30% 或增加 ≤ 20% 计为 SD;目标病灶直径总和增加 > 20% 计为 PD。

1.3.2 免疫功能指标 于治疗前、治疗 3 个周期后采集两组患者晨起空腹血 3 mL,离心后待测,采用 BD Influx 流式细胞分析仪(上海优宁维生物科技股份有限公司)测定 T 淋巴细胞亚群水平,包括 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺水平。

1.3.3 肿瘤标志物 血清采集处理同上,采用电化学发光免疫法检测糖类抗原 125(carbohydrate antigen-125, CA125)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)。

1.3.4 MMP 和自噬相关蛋白 血清采集处理同上,采用酶联免疫法对基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、微管相关蛋白 1 轻链 3-II(LC3-II)、自噬相关蛋白 1(Beclin1)水平进行测定,试剂盒购自上海一研生物科技有限公司,选用美国赛默飞公司的 FC/K3 台式酶标仪检测。

1.3.5 不良反应 比较两组患者肝功能损伤、恶心呕吐、白细胞减少、血小板减少等不良反应发生情况。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 24.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用 *t* 检验;计数资料以构成比或率(%)表示,比较用 χ^2 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗后临床疗效比较

两组患者治疗后 ORR 比较,差异有统计学意义($\chi^2=4.483$, *P* = 0.034),研究组高于对照组。见表 2。

表 2 两组患者治疗后临床疗效比较 [n=54, 例(%)]

组别	CR	PR	SD	PD	ORR
对照组	8(14.81)	14(25.93)	19(35.19)	13(24.07)	22(40.74)
研究组	12(22.22)	21(38.89)	14(25.93)	7(12.96)	33(61.11)

2.2 两组患者治疗前后免疫功能指标比较

两组患者治疗前后 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺的差值比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05),研究组 CD3⁺、CD4⁺下降程度,CD8⁺升高程度小于对照组。见表 3。

表 3 两组患者治疗前后免疫功能指标的差值比较

(n=54, %, $\bar{x} \pm s$)

组别	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺
对照组	-7.29 ± 1.41	-4.74 ± 1.24	1.83 ± 0.32
研究组	-5.22 ± 1.28	-2.54 ± 0.58	0.59 ± 0.20
<i>t</i> 值	7.988	11.810	20.929
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

2.3 两组患者治疗前后血清肿瘤标志物比较

两组治疗前后 CA125、CEA、NSE 的差值比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05),研究组下降程度大于对照组低。见表 4。

表 4 两组患者治疗前后血清肿瘤标志物的差值比较

(n=54, $\bar{x} \pm s$)

组别	CA125/(u/mL)	CEA/(ng/mL)	NSE/(ng/mL)
对照组	-12.85 ± 1.28	-7.93 ± 1.64	-6.84 ± 1.52
研究组	-18.39 ± 2.30	-10.86 ± 2.08	-10.31 ± 1.88
<i>t</i> 值	15.466	8.129	10547
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

2.4 两组患者治疗前后 MMP-2、MMP-9、Beclin1、LC3-II 比较

两组患者治疗前后 MMP-2、MMP-9、Beclin1、LC3-II 的差值比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05),研究组 MMP-2、MMP-9 下降程度,Beclin1、LC3-II 升高程度大于对照组。见表 5。

表 5 两组患者治疗前后 MMP-2、MMP-9、Beclin1、LC3-II 的差值比较 ($n=54, \bar{x} \pm s$)

组别	MMP-2/ ($\mu\text{g/L}$)	MMP-9/ (ng/L)	Beclin1/ (ng/mL)	LC3-II/ (ng/mL)
对照组	-86.09 ± 10.24	-38.44 ± 6.48	1.68 ± 0.34	10.72 ± 1.23
研究组	-126.88 ± 12.89	-69.66 ± 9.55	3.27 ± 0.51	16.71 ± 2.06
<i>t</i> 值	18.208	19.879	19.062	18.346
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

2.5 两组患者不良反应比较

两组患者血小板减少、肝功能损伤、白细胞减少、恶心呕吐发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 6。

表 6 两组患者不良反应比较 [$n=54$, 例(%)]

组别	血小板减少	肝功能损伤	白细胞减少	恶心呕吐
对照组	4(7.41)	6(11.11)	24(44.44)	32(59.26)
研究组	3(5.56)	5(9.26)	23(42.59)	28(51.85)
χ^2 值	0.153	0.101	0.038	0.600
<i>P</i> 值	0.696	0.750	0.846	0.439

3 讨论

西医治疗中晚期 NSCLC 的宗旨是有效控制病灶部位肿瘤细胞的生长,避免发生侵袭、转移,而中医治疗该类疾病则以扶正培元为主,通过整体改善患者免疫功能,进而抑制肿瘤细胞^[7-8]。目前,中西医结合治疗 NSCLC 已成为新趋势,有研究证实,中医药辅助治疗 NSCLC 可发挥减毒增效的作用^[9]。

肺癌在中医上属“肺积”“胸痛”范畴,与脏腑失调、外邪侵入等有关,该病辨证论治应以清热解毒、理气疏肝为主^[10]。华蟾素胶囊是一种由蟾皮加工而成的中药制剂,蟾蜍入药最早在《神农本草经》中有记载,具有解毒消肿、清热止痛、活血化瘀之功效^[11]。本研究结果提示华蟾素胶囊可有效提高中晚期 NSCLC 手术患者辅助治疗的疗效,改善免疫功能,降低血清肿瘤标志物水平。究其原因在于:①华蟾素胶囊主要成分中含有大量蟾素内脂素,具有散结破瘀、清热解毒之功效;②华蟾素中含有多种活性成分,如生物碱、氨基酸等,其中吲哚类生物碱和强心甙体类化合物,如华蟾素、脂蟾配基、蟾酥毒基均具有一定抗肿瘤作用,可对多种肿瘤细胞发挥毒性作用,作用于肿瘤细胞周期 S 期,有效抑制癌细

胞 DNA 和 RNA 合成,进而癌细胞的生长,诱导癌细胞凋亡;③华蟾素可作用于骨髓红细胞,促使其聚落,进而缓解骨髓抑制,有助于免疫功能的改善^[12-13]。

自噬在肿瘤的发病、进展中有重要作用,在肿瘤发生早期自噬可通过清除受损细胞器和致癌蛋白对肿瘤的生长起到抑制作用,但在肿瘤晚期又可通过降解细胞内细胞器、蛋白质为肿瘤细胞的生长提供必不可少的能量和营养物质,促进生长^[14]。LC3 是一种标记蛋白,主要定位于自噬体膜上,在合成后经切割形成 LC3-I,与磷脂酰乙醇胺偶联形成 LC3-II,参与自噬体形成过程,是临床评估自噬活动的金标准^[15]。Beclin1 是参与自噬活动的特异性基因,参与自噬泡形成过程。Beclin1 水平下降提示细胞自噬活动受到抑制,增加细胞应激,基因组稳定性下降,促进肿瘤形成^[16]。TANG 等^[17]研究表明,Curcumin 可诱导线粒体膜破裂和线粒体嵴减少,提高 Beclin1 和 LC3 的水平,激活肺癌细胞的自噬活性,诱导细胞凋亡,增强疗效。赵景霞^[18]的研究中也指出,Beclin1 和 LC3 阴性表达提示肺癌术后接受化疗的患者预后不良。这些研究均提示 Beclin1 和 LC3 表达上调可使自噬活性提高,肿瘤生长受到抑制。本研究结果从侧面反映华蟾素胶囊用于中晚期 NSCLC 手术患者辅助治疗的临床疗效,通过增强自噬活性进而抑制肿瘤生长。

NSCLC 发生远处转移的前提条件是穿过由血管基底膜和细胞外基质组成的组织学屏障,MMP-2、MMP-9 均是 MMP 家族中的一员,其中 MMP-9 可由肿瘤细胞、巨噬细胞、毛细血管内皮细胞等多种细胞分泌,主要用于降解细胞外基质促使肿瘤细胞转移,并可对碱性成纤维生长因子和血管内皮因子起到诱导作用,加速肿瘤生长^[19]。MMP-2 是一种蛋白水解酶,可水解细胞间质中的胶原蛋白和黏蛋白,促使细胞间的黏合力下降,有助于肿瘤细胞的浸润和转移,当 MMP-2 水平升高时则提示肿瘤细胞处于活动状态^[20-21]。

综上所述,华蟾素胶囊可有效提高中晚期肺癌手术患者辅助治疗的疗效,改善免疫功能,降低血清肿瘤标志物水平,抑制 MMP 水平,提高细胞自噬活性,且未增加不良反应。

参 考 文 献 :

- [1] 陈姝瑾, 王淳, 刘春英. 熊果酸对肺癌细胞 A549 自噬相关蛋白的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(6): 86-90.
- [2] NIU Y X, TANG D F, FAN L W, et al. CCL25 promotes the migration and invasion of non-small cell lung cancer cells by regulating VEGF and MMP in a CCR9-dependent manner[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(6): 3571-3580.
- [3] 方国娅, 张琪, 张莹, 等. 华蟾素胶囊联合 XELOX 方案对直肠癌患者临床症状及肿瘤标志物的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2021, 23(6): 74-76.
- [4] TAN X M, LIANG X Y, XI J X, et al. Clinical efficacy and safety of Huachansu injection combination with platinum-based chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(36): e27161.
- [5] 支修益, 石远凯, 于金明. 中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(1): 67-78.
- [6] EISENHAEUER E A, 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.
- [7] 关微, 李冰. 华蟾素胶囊联合 TP 方案对晚期非小细胞肺癌患者免疫功能及生存质量的影响[J]. 贵州医药, 2021, 45(12): 1865-1867.
- [8] 吴宏磊, 陈进宝, 徐可, 等. 华蟾素抗肿瘤作用及其机制研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(2): 192-196.
- [9] CHEN J Y, FENG L. Traditional Chinese medicine reverses resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in advanced non-small cell lung cancer: a narrative review[J]. *J Tradit Chin Med*, 2021, 41(4): 650-656.
- [10] LI L M, WANG S M, YANG X B, et al. [Corrigendum] Traditional Chinese medicine, Fuzheng Kang-Ai decoction, inhibits metastasis of lung cancer cells through the STAT3/MMP-9 pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(2): 600.
- [11] CHEN Y Y, YU M W, LIU Z S, et al. Effects of traditional Chinese medicine combined with chemotherapy for extensive-stage small-cell lung cancer patients on improving oncologic survival: study protocol of a multicenter, randomized, single-blind, placebo-controlled trial[J]. *Trials*, 2021, 22(1): 437.
- [12] WU J R, ZHANG D, NI M W, et al. Effectiveness of Huachansu injection combined with chemotherapy for treatment of gastric cancer in China: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Tradit Chin Med*, 2020, 40(5): 749-757.
- [13] 吴丽明, 金鹿, 马继明, 等. 华蟾素胶囊、依托泊苷联合顺铂治疗老年非小细胞肺癌对患者炎症因子、血清肿瘤标志物的影响[J]. 海南医学, 2020, 31(1): 20-23.
- [14] 温文浩, 侯雪楠, 崔赛男, 等. 丹参酮IIA 通过自噬诱导肺癌 A549 细胞周期阻滞的作用研究[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(5): 539-545.
- [15] 陈兰, 刘晓, 陈小菊, 等. 自噬在肺癌靶向治疗耐药中作用的研究进展[J]. 现代医学, 2021, 49(4): 470-474.
- [16] LIU Z L, LI B X, CAO M R, et al. Norcantharidin triggers apoptotic cell death in non-small cell lung cancer via a mitophagy-mediated autophagy pathway[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(12): 971.
- [17] TANG X, DING H, LIANG M L, et al. Curcumin induces ferroptosis in non-small-cell lung cancer via activating autophagy[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(8): 1219-1230.
- [18] 赵景霞. 自噬相关蛋白 Beclin1 和 LC3 在非小细胞肺癌术后辅助化疗患者预后中的作用[D]. 大连: 大连医科大学, 2015.
- [19] FENG X, XU E S. Alectinib and lorlatinib function by modulating EMT-related proteins and MMP in NSCLC metastasis[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2021, 21(3): 331-338.
- [20] OCHIENG J K, KUNDU S T, BAJAJ R, et al. MBIP (MAP3K12 binding inhibitory protein) drives NSCLC metastasis by JNK-dependent activation of MMP[J]. *Oncogene*, 2020, 39(43): 6719-6732.
- [21] RUAN J S, ZHOU H, YANG L, et al. Ursolic acid attenuates TGF- β_1 -induced epithelial-mesenchymal transition in NSCLC by targeting integrin $\alpha V\beta 5$ /MMP signaling[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(5): 593-600.

(李科 编辑)

本文引用格式: 张童, 何毅, 刘勇志, 等. 华蟾素胶囊对中晚期非小细胞肺癌手术患者血清基质金属蛋白酶、自噬相关蛋白水平的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(14): 20-24.

Cite this article as: ZHANG T, HE T, LIU Y Z, et al. Effect of cinobufacini capsule on serum levels of matrix metalloproteinases and autophagy-related proteins in patients with advanced non-small cell lung cancer undergoing surgery[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(14): 20-24.