

· 药物与临床 ·

术前复方苦参注射液联合化疗对肺癌患者恶性程度的影响

张海容 (宁波市北仑区人民医院呼吸内科, 浙江 宁波 315800)

[摘要] **目的** 研究术前复方苦参注射液联合化疗对肺癌患者血清学指标及肿瘤组织中凋亡分子和信号分子表达的影响。**方法** 对本院确诊并拟进行手术治疗的肺癌患者,根据术前化疗方案分为复方苦参注射液联合治疗组和单纯化疗组,检测血清中肺癌标志分子含量、肺癌组织中凋亡调节分子和信号分子的 mRNA 含量。**结果** ①血清肺癌标志分子:联合治疗组与单纯化疗组比较,前者血清中 SCC、Cyfra21-1、VEGF、TGF- β 1、TSGF 的含量较低;②肿瘤组织中凋亡调节分子:联合治疗组与单纯化疗组比较,前者肺癌组织中 Caspase-3/7、Fas/FasL、Bim 的 mRNA 含量较高,Pim-1 的 mRNA 含量较低;③肿瘤组织中信号分子:联合治疗组与单纯化疗组比较,前者 Wnt1、 β -catenin、Wnt5a、NFAT、JAK2、STAT3 的 mRNA 含量较低。**结论** 术前复方苦参注射液联合化疗能够更为有效地杀灭肺癌细胞、降低血清标志物含量、诱导癌细胞凋亡、抑制信号通路功能,是非小细胞肺癌患者术前理想的化疗方案。

[关键词] 非小细胞肺癌;苦参素;肿瘤标志物;凋亡;信号通路

[中图分类号] R734;R969

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)04-0359-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.020

Effect of preoperative compound matrine injection combined with chemotherapy on lung cancer patients

ZHANG Hairong (Department of Respiratory Medicine, Beilun people's Hospital in Ningbo City, Ningbo 315800, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of preoperative compound matrine injection combined with chemotherapy on serum index apoptotic molecules and signaling molecules expression in tumor tissues of lung cancer patients. **Methods** Patients with diagnosed lung cancer and planned for surgery in our hospital were selected and divided into combined marine with chemotherapy group and chemotherapy group. Then lung cancer marker molecule contents in serum and mRNA contents of apoptosis regulatory molecules, signaling molecules in tumor tissue were assayed. **Results** ①Serum lung cancer marker molecules: compared with chemotherapy group, lung cancer marker molecules in serum of combined therapy group SCC, Cyfra21-1, VEGF, TGF- β 1, TSGF contents in serum were lower; ②mRNA contents of apoptosis regulation molecules in tumor tissues: compared with chemotherapy group, apoptosis regulation molecules mRNA contents of Caspase-3/7, Fas/FasL, Bim in tumor tissues of combined therapy group were higher, mRNA content of Pim-1 was lower; ③mRNA contents of signal molecules in tumor tissues: compared with signal molecules in tumor tissues of chemotherapy group, mRNA contents of Wnt1, β -catenin, Wnt5a, NFAT, JAK2 and STAT3 in tumor tissues of combined treatment group were lower. **Conclusion** Preoperative compound matrine injection combined with chemotherapy can be more effective in killing lung cancer cells, reducing serum marker levels, inducing cancer cell apoptosis, inhibiting signaling function; it's an ideal pre-surgery chemotherapy method for patients with non-small cell lung cancer.

[Key words] non-small cell lung cancer (NSCLC); marine; tumor marker; apoptosis; signal pathway

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是我国极为常见的恶性肿瘤,手术切除是最常用的治疗方式。手术切除前进行化疗可以有效杀伤肿瘤细胞,保证彻底切除肿瘤组织,以防止肿瘤细胞残留。长春新碱联合顺铂的 NP 化疗方案是临

床上较为推荐的一类术前化疗方案,能够同时干扰细胞周期以及核内 DNA 复制过程。在化疗过程中,仍有部分患者存在无法耐受或反应性不佳,需要更换化疗方案或采取其他药物联合治疗。苦参素是新近发展起来的具有抑制细胞增殖作用的中药提取物。本研究采用术前给予复方苦参注射液联合 NP 方案进行化疗,并通过检测血清学指标及肿瘤组织中凋亡分子和信号分子表达以评价该术前治疗方案的效果。

1 对象与方法

1.1 研究对象 对2012年5月至2014年10月在北仑区人民医院被确诊为NSCLC的患者进行研究,所有患者均符合肺癌诊断以及手术治疗指征,拟在手术前进行化疗。根据术前化疗方案将90例患者分为联合治疗组和单纯化疗组,每组各45例。联合治疗组接受术前行复方苦参注射液联合NP方案化疗,该组男/女性别比(38/7),年龄(58.82±7.23)岁,术前SCC、Cyfra21-1、血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子(TGF-β1)、肿瘤特异性生长因子(TSGF)含量分别为(5.83±0.66) ng/ml、(10.31±1.52) ng/ml、(934.58±100.18) pg/ml、(45.42±5.92) ng/ml、(273.94±31.33) U/ml;单纯化疗组接受术前行NP方案化疗,男/女性别比(36/9),年龄(59.17±7.61)岁,术前SCC、Cyfra21-1、VEGF、TGF-β1、TSGF含量分别为(5.91±0.62) ng/ml、(10.89±1.39) ng/ml、(941.33±102.22) pg/ml、(45.19±5.39) ng/ml、(275.12±32.78) U/ml。两组患者一般资料的差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 治疗方法 对两组患者进行常规NP方案化疗;第1、8天时给予石酸长春瑞滨注射液40 mg,静

脉滴注;第1~3天给予顺铂40 mg,静脉滴注。以4周为1个周期,连续化疗3个周期。联合治疗组在NP化疗的基础上加用复方苦参注射液;即从每个化疗周期的第1天开始静脉滴注复方苦参注射液,100 ml/次,1次/d,连续给药2周。

1.3 检测方法

1.3.1 血清肺癌标志分子 治疗结束后,于清晨空腹时采集血清标本,用Elisa试剂盒(上海西唐生物公司)检测SCC、Cyfra21-1、VEGF、TGF-β1含量,货号:F5926、F5923、F03091、F02760;Elisa试剂盒(R&D公司,货号:ML-Elisa-1495)测定TSGF含量。

1.3.2 肺癌组织中的凋亡分子和信号分子 手术中,收集肺癌组织并放置在冻存管中,经液氮冷冻后保存在-80℃冰箱中。检测时,取出肺癌组织,加入Trizol裂解液,匀浆后提取总RNA,采用Super-RT cDNA第一链合成试剂盒(康为世纪公司,货号:CW0741)将RNA反转录为cDNA,取反转录后的样本进行PCR反应,PCR反应液UltraSYBR Mixture(康为世纪公司,货号:CW0957)。Caspase-3/7、Fas/FasL、Bim、Pim-1、Wnt1、β-catenin、Wnt5a、NFAT、JAK2、STAT3的引物见表1,扩增后计算mRNA含量。

表1 引物序列

基因名称	上游引物序列	下游引物序列
Caspase-3	GACGCAGTTTCTGTTATCG	TGCAGCTAGCTGCATCGTA
Caspase-7	GCTAGGCCATGCGCTAGCC	CGGCTTAAGCGCATGCGCT
Fas	CGTAGGCCAATTGCTAGT	TCGTAGCTAGCTGGGCTAA
FasL	GCTAGGCTTAAGCTAGCCT	CAGTGTAGCTGATAATGCT
Bim	CGTAGCTGCCATGCGATA	CATGCCGTATAAGCTAGTT
Pim-1	CAGTCGTAAGGTCAGTCGG	CGATGCAAGTAGCCGCTAC
Wnt1	GCTAGCGAAAAGTCATTGGC	CATTGCATCGAAGTCAGTG
β-catenin	GCTAGCTAAGTCAGTCGGG	CGTATATAGCTAGCTGGCTA
Wnt5a	CGTAGCTAGCCGATGCC	CGATGCCGCTAGCAATGC
NFAT	ATCGTACGGGCAAGCTAGCT	CGAGCTATGCCGATGCAT
JAK2	GTCAGCTACGATCGATCGAT	CGTAGCTAGCCGGCATGCT
STAT3	CGTAGCGCTAGCTGATGCAT	CTAGCGCTAGCTAGCTAGT

1.4 统计学方法 使用SPSS19.0软件对血清和肿瘤组织中检测所得数据进行录入,通过t检验比较两组间各指标的差异,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清肺癌标志分子 血清标志分子由肺癌细

胞分泌产生,其含量可以准确反应肺癌细胞的活力,较常用的有SCC、Cyfra21-1、VEGF、TGF-β1、TSGF。由t检验结果可知:与单纯化疗组的血清肺癌标志分子比较,联合治疗组患者血清中SCC、Cyfra21-1、VEGF、TGF-β1、TSGF的含量较低($P<0.05$),见表2。

2.2 肺癌组织中的凋亡调节分子 苦参素具有诱

表2 两组患者血清肺癌标志分子含量的比较

组别	SCC ($\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	Cyfra21-1 ($\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	VEGF ($\rho_B/\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	TGF- β 1 ($\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	TSGF ($z_B/\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$)
单纯化疗组	1.89 \pm 0.25	4.47 \pm 0.59	354.19 \pm 51.39	25.68 \pm 4.26	103.47 \pm 13.85
联合治疗组	1.14 \pm 0.16*	2.85 \pm 0.41*	213.42 \pm 31.52*	16.72 \pm 1.95*	65.14 \pm 8.52*

* $P < 0.05$, 与单纯化疗组比较

导细胞凋亡的功能,可以辅助化疗药物发挥杀伤肺癌细胞的作用。多种凋亡调节分子参与肺癌细胞的凋亡过程,通过检测肺癌组织中凋亡调节分子的 mRNA 含量,并进行 t 检验可知:与单纯化疗组的肺癌组织凋亡调节分子比较,联合治疗组患者肺癌组织中 Caspase-3/7、Fas/FasL、Bim 的 mRNA 含量(均为相对值)较高,Pim-1 的 mRNA 含量较低($P < 0.05$),见表 3。

表3 两组患者肺癌组织中凋亡调节分子的含量比较

组别	Caspase-3	Caspase-7	Fas	FasL	Bim	Pim-1
单纯化疗组	100 \pm 15.51	100 \pm 17.85	100 \pm 16.95	100 \pm 17.57	100 \pm 19.04	100 \pm 17.72
联合治疗组	314.52 \pm 41.23*	286.28 \pm 34.48*	227.71 \pm 36.10*	251.39 \pm 33.87*	361.23 \pm 50.29*	31.12 \pm 5.51*

* $P < 0.05$, 与单纯化疗组比较

表4 两组患者肺癌组织中信号分子的含量比较

组别	Wnt1	β -catenin	Wnt5a	NFAT	JAK2	STAT3
单纯化疗组	100 \pm 16.48	100 \pm 17.39	100 \pm 18.17	100 \pm 18.49	100 \pm 17.37	100 \pm 16.90
联合治疗组	16.79 \pm 2.27*	24.56 \pm 3.51*	30.60 \pm 5.29*	26.78 \pm 4.09*	42.58 \pm 6.29*	23.37 \pm 4.51*

* $P < 0.05$, 与单纯化疗组比较

2.3 肺癌组织中的信号分子 Wnt1、Wnt5a 和 JAK2-STAT 信号通路是调节细胞增殖、迁移以及血管新生过程的重要途径,有多种关键信号分子参与这一过程。与单纯化疗组的肺癌组织中凋亡调节分子比较,联合治疗组患者的 Wnt1、 β -catenin、Wnt5a、NFAT、JAK2、STAT3 的 mRNA 含量较低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

3 讨论

苦参素是中药材苦参中的有效成分,包含 98% 以上的氧化苦参碱以及少量氧化槐果碱,具有减轻炎症反应、增强免疫功能、抑制细胞增殖等功能。离体研究表明,苦参素经过处理能够通过 Caspases3/7 的途径抑制肺癌细胞株 A549 的增殖过程^[1];临床试验的结果则显示,苦参注射液联合 NP 化疗方案能够改善肺癌患者的化疗效果^[2]。本研究采用苦参注射液联合 NP 化疗方案对肺癌患者进行术前治疗,并通过相关分子的检测反映该治疗方案的临床价值。肺癌细胞本身会分泌多种分子进入血液循环,通过检测血清中标志分子的含量可以反映癌细胞的活力以及不同治疗方案对癌细胞的杀伤作用^[3]。SCC 是特异性存在于鳞状上皮细胞的多肽,当细胞发生癌变时,SCC 含量升高并分泌入血,是鳞癌的血清标志分子;Cyfra21-1 是以寡聚物形式存在于上皮细胞胞浆中的中间细丝成分蛋白,在癌变

细胞中会经蛋白酶的作用而发生脱落并进入血液循环^[4]。VEGF 和 TGF- β 1 是两类在癌细胞中呈过表达状态的细胞因子,能够促进肿瘤局部血管新生^[5]。TSGF 是一类能够通过多种信号通路来促进细胞癌变及增殖的表现因子^[6]。本研究采集患者血清并检测肺癌标志分子,结果显示:与单纯化疗组比较,联合治疗组患者血清中 SCC、Cyfra21-1、VEGF、TGF- β 1、TSGF 含量较低。表明术前复方苦参注射液联合化疗能够更为有效地杀灭肺癌细胞、降低血清标志分子含量。

肺癌患者术前进行化疗的目标在于抑制肺癌细胞增殖、诱导肺癌细胞凋亡,进而缩小瘤体体积并为手术彻底切除创造有利条件。化疗药物长春新碱的作用是干扰细胞周期、使细胞增殖停滞在中期,顺铂的作用是阻断细胞核内 DNA 的复制过程,两种药物联合应用可以抑制肺癌细胞增殖。苦参素具有激活细胞凋亡相关分子、诱导细胞发生凋亡的作用,能够辅助化疗药物杀伤肺癌细胞。目前有研究认为,

Caspase-3/7、Fas/FasL、Bim、Pim 等多种分子具有凋亡调节作用。Caspase-3/7 处于凋亡过程的中心环节,是凋亡途径的效应分子^[7,8];仅含 BH3 域蛋白的 Bim 是一类促凋亡分子,能够拮抗抗凋亡分子 Bcl-2 的作用、增强促凋亡分子 Bax 的作用,同时也能激活 Caspase 所介导的凋亡级联反应^[9];Fas 蛋白与其配体 FasL 相互结合能够形成死亡诱导复合体 DISC,是凋亡分子活化的上游必经途径,Fas 表达不足会导致肿瘤细胞逃脱 Fas/FasL 所介导的凋亡过程^[10]。Pim-1 被视为一类原癌基因,能够与抑癌基因 p53 竞争性结合酪氨酸激酶 Etk 并抑制 p53 所发挥的促凋亡作用^[11]。本研究结果显示:与单纯化疗组比较,联合治疗组患者肺癌组织中 Caspase-3/7、Fas/FasL、Bim 的 mRNA 含量较高,Pim-1 的 mRNA 含量较低。表明术前复方苦参注射液联合化疗能够更有效地诱导肺癌细胞发生凋亡。

在肺癌的发生发展过程中,多种信号通路的异常激活介导了多种恶性分子的表达,进而导致了细胞癌变的发生。Wnt 通路是一条与细胞增殖、分化、迁移等生理过程密切相关的高度保守的信号通路,包括由 Wnt1 介导的经典途径以及 Wnt5a 介导的非经典途径。Wnt1 通过招募下游分子 β -catenin 发挥作用;Wnt1 被激活后,一方面可以使 β -catenin 不被 APC-Axin-GSK3 β 复合体以泛素化的方式降解而在细胞中蓄积,另一方面可以促进 β -catenin 转为进入细胞核并发挥对多种靶基因转录启动的调控^[12]。Wnt5a 能够通过 Ca²⁺ 途径活化细胞周期蛋白 CDK2 及 PKC,进而诱导 NFAT 在细胞核内蓄积并调节靶基因的表达^[13]。蛋白酪氨酸激酶 JAK2 以及信号转导和转录激活子 STAT3 所介导的信号通路与肿瘤血管的形成有关,能够通过下游分子 miRNA-145、HIF-1 α 发挥效应^[14]。已有研究表明,在肺癌组织中信号分子 JAK2、STAT3 及其下游的效应分子 HIF-1 α 呈高表达状态,而另一类效应分子 miRNA-145 呈低表达的状态。在使用 JAK2 的抑制剂 AG490 处理肺癌细胞株 A549 后,JAK2-STAT3 通路的活化受到抑制,进而通过增加 miRNA-145 的表达来下调 HIF-1 α 的表达^[15]。本研究结果显示:与单纯化疗组比较,联合治疗组患者肺癌组织中 Wnt1、 β -catenin、Wnt5a、NFAT、JAK2、STAT3 的 mRNA 含量较低。表明术前复方苦参注射液联合化疗能够抑制 Wnt 信号通路和 JAK2-STAT3 信号通路。

复方苦参注射液联合 NP 化疗能够更为有效地杀灭肺癌细胞、降低血清标志物含量、诱导癌细胞凋

亡、抑制信号通路功能,是 NSCLC 患者术前理想的化疗方案。

【参考文献】

- [1] 李 铭,廖 红,程恒辉. 苦参素对人肺癌 A549 细胞增殖及 caspase3 /7 蛋白活性的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(5):498-499.
- [2] 张业业,高晓会,郭双双,等. 苦参素注射液联合 NP 方案治疗老年晚期 NSCLC 近期疗效观察[J]. 山东医药,2011, 51(26):100-101.
- [3] 郭柳薇,高兴华,黄莹莹. 肺癌患者 6 种血清肿瘤标志物检测结果分析[J]. 江苏医药,2014, 40(1):69-71.
- [4] Fiala O, Pesek M, Finek J, et al. Predictive role of CEA and CYFRA 21-1 in patients with advanced-stage NSCLC treated with erlotinib[J]. Anticancer Res, 2014, 34(6):3205-3210.
- [5] 王 敏. 血清 VEGF、TGF- β 1 及内皮抑素在非小细胞肺癌中的表达及相关性研究[J]. 检验医学, 2013, 28(8):676-680.
- [6] Deng B, Tan QY, Fan XQ, et al. Clinical value of assaying tumor supplied group of factor/tumor specific growth factor in patients with solitary pulmonary nodule [J]. Clin Lung Cancer, 2011, 12(3):192-196.
- [7] Xue Y, Wu L, Liu Y, et al. Entpd5 induces apoptosis in lung cancer cells via regulating caspase 3 expression [J]. PLoS One, 2015, 10(3):e0120046.
- [8] Lin YF, Lai TC, Chang CK, et al. Targeting the XIAP/caspase-7 complex selectively kills caspase-3-deficient malignancies [J]. J Clin Invest, 2013, 123(9):3861-3875.
- [9] 邓 伟,吴一龙. 促凋亡蛋白 Bim 在肺癌中的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2014, 41(11):1247-1250.
- [10] Siena L, Pace E, Ferraro M, et al. Gemcitabine sensitizes lung cancer cells to Fas/FasL system-mediated killing [J]. Immunology, 2014, 141(2):242-255.
- [11] Jin Y, Tong DY, Tang LY, et al. Expressions of Osteopontin (OPN), $\alpha\beta$ 3 and Pim-1 associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. Chin J Cancer Res, 2012, 24(2):103-108.
- [12] 左慧敏,曾林祥. Wnt 信号通路与非小细胞肺癌的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(2):266-269.
- [13] Zhang X, Lou Y, Wang H, et al. Wnt signaling regulates the stemness of lung cancer stem cells and its inhibitors exert anticancer effect on lung cancer SPC-A1 cells [J]. Med Oncol, 2015, 32(4): 95.
- [14] Hu Y, Hong Y, Xu Y, et al. Inhibition of the JAK/STAT pathway with ruxolitinib overcomes cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer (NSCLC)[J]. Apoptosis, 2014, 19(11):1627-1636.
- [15] 伊庆强,赵 美,王炯轶,等. 抑制 JAK2/STAT3 信号通路对肺癌细胞 A549 中 HIF-1 α 、VEGF 和 miRNA-145 表达的影响[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2014, 34(7):1011-1016.

[收稿日期] 2015-04-10 [修回日期] 2016-05-10

[本文编辑] 李睿曼