

扶正消癌方对 CRC 根治术后患者 COX-2 及 Cathepsin-D 的影响

彭卓翥¹, 陈婧², 李瑞胜², 覃露², 谢洁如²

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁, 530023;

2. 广西中医药大学, 广西 南宁, 530001)

[摘要] 目的: 观察扶正消癌方对结直肠癌(CRC)根治术后患者的环氧化酶-2(COX-2)和组织蛋白酶D(Cathepsin-D)的影响。方法: 将结直肠癌根治术后患者100例按随机数字表法分为2组各50例, 2组均采用FOLFOX4方案治疗后, 治疗组予扶正消癌方治疗, 对照组予香菇多糖片治疗。结果: 治疗组Cathepsin-D活性治疗前后组内比较及治疗后组间比较, 2组COX-2水平治疗前后组内比较及治疗后组间比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 扶正消癌方能够降低结直肠癌根治术后患者Cathepsin-D和COX-2的表达水平, 表明抗肿瘤血管生成可能是扶正消癌方抑制肿瘤进展的主要作用机制之一。

[关键词] 结直肠癌根治术后; 中医药疗法; 扶正消癌方; Cathepsin-D; COX-2

[中图分类号] R273.53 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.10.002

Effect of Fuzheng Xiaoi prescription on cyclooxygenase-2 and cathepsin-D in patients after radical treatment of colorectal cancer

PENG Zhuo-yu¹, CHEN Jing², LI Rui-sheng², QIN Lu², XIE Jie-ru²

(1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi, China;

2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi, China)

Abstract: Objective: To investigate the effect of Fuzheng Xiaoi prescription on cyclooxygenase-2(COX-2) and cathepsin-D in patients after radical treatment of colorectal cancer(CRC). Methods: A total of 100 patients who underwent radical treatment of CRC were divided into treatment group and control group using a random number table, with 50 patients in each group. After treatment with the FOLFOX4 regimen, the patients in the treatment group were given Fuzheng Xiaoi prescription, and those in the control group were given lentinan tablets. Results: After treatment, the treatment group had significant changes in cathepsin-D activity and COX-2 level, and there were significant differences between the two groups($P < 0.05$). Conclusion: Fuzheng Xiaoi prescription can reduce the levels of cathepsin-D and COX-2 in patients after radical treatment of CRC, suggesting that anti-tumor angiogenesis may be one of the mechanisms of action of Fuzheng Xiaoi prescription in inhibiting tumor progression.

Key words: after radical treatment of colorectal cancer; traditional Chinese medicine treatment; Fuzheng Xiaoi prescription; cathepsin-D; cyclooxygenase-2

结直肠癌(Colorectal Cancer, CRC)是临床常见的消化道恶性肿瘤之一。尽管手术方法得以不断改进, 总体效果也有所改善, 但CRC根治术后的预后仍不理想。在CRC研究中术后转移和复发仍然是一个难题^[1]。目前的研究表明, 环氧化酶-2(COX-2)是一种完整的膜结合蛋白, 是从花生四烯酸(AA)合成前列腺素(GPs)的重要限速酶。COX-2通过促进细胞增殖, 抑制细胞的凋亡, 促进血管的生成和抑制其免疫功能, 参与了肿瘤的发生发展。其中主要的机制是促进细胞的增殖和抑制

其凋亡, 促进血管的生成^[2]。组织蛋白酶D(Cathepsin-D)是一种天冬氨酸酶溶酶体蛋白酶, 活化的(Cathepsin-D)催化基底膜和细胞外基质的降解, 以促进肿瘤细胞的迁移和跨细胞外基质和血管壁进入血液循环中的肿瘤侵袭、转移发挥重要作用。侵袭、转移是恶性肿瘤患者死亡的主要原因^[3]。目前基于临床上CRC术后以阳气亏损、中气亏虚、阴血不足证最为常见, 其中阳气亏损、中气亏虚证出现频率较术前明显上升。在此基础上, 本研究组经过多年临床上的摸索及经验总结, 拟扶正祛

邪为治疗原则,以扶阳祛邪,健脾益肾为法,创制了由附子理中丸为底方演变而成的扶正消癌方对 CRC 根治术后进行治疗,观察对 Cathepsin-D 和 COX-2 的影响,现报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 选取广西中医药大学第一附属医院消化内科及胃肠外科 2016 年 9 月至 2017 年 8 月住院及门诊 CRC 根治术后患者 100 例,按随机数字表法分为治疗组和对照组各 50 例。治疗组中,男 25 例,女 25 例;年龄 36~75 岁,平均 (62.7 ± 11.1) 岁;组织学类型:黏液腺癌 18 例,管状腺癌 26 例,乳头状腺癌 6 例。对照组中,男 19 例,女 31 例;年龄 35~73 岁,平均 (61.9 ± 12.3) 岁;组织学类型:黏液腺癌 16 例,管状腺癌 27 例,乳头状腺癌 7 例。2 组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 符合《结直肠癌诊疗规范(2015 年版)》^[4]中的诊断标准。所有患者经电子结肠镜及病理学、组织学检查确诊为直肠癌或结肠癌。病理学类型:结直肠癌癌细胞穿透结直肠黏膜肌层浸润至黏膜下层,或累及固有肌层,无论有无淋巴结转移。上皮重度异型增生及不能判断浸润深度的病变称高级别上皮内瘤变,如癌组织浸润固有膜则称黏膜内癌。进展期结直肠癌的大体类型包括:(1)隆起型:凡肿瘤的主体向肠腔内突出者,均属本型;(2)溃疡型:肿瘤形成深达或贯穿肌层之溃疡者均属此型;(3)浸润型:肿瘤向肠壁各层弥漫浸润,使局部肠壁增厚,但表面常无明显溃疡或隆起。组织学类型:(1)腺癌;(2)黏液腺癌;(3)印戒细胞癌;(4)鳞癌;(5)腺鳞癌;(6)髓样癌;(7)未分化癌;(8)其他;(9)不能确定类型。

1.2.2 中医辨证标准 符合《中药新药临床研究指导原则》^[5]中大肠癌脾肾阳虚证的辨证标准。其临床表现为腹痛喜温喜按,或腹内结块,下利清谷或五更泄泻,或见大便带血,面色苍白,少气无力,畏寒肢冷,腰酸膝冷,舌质淡胖有齿痕,苔薄白,脉沉细弱。

1.3 纳入标准 (1)符合西医诊断标准;(2)符合脾肾阳虚证辨证标准;(3)经过手术根治后,术前无血行转移,符合辅助化疗的适应证;(4)年龄 18~80 岁;(5)卡氏生活质量量表(KPS)评分为 60 分或以上,无严重的心、肝、肾及造血系统紊乱等影响药物评价的因素。

1.4 排除标准 (1)不符合上述纳入标准;(2)临床及病理学证实为转移性结直肠癌;(3)临床上有明确的肝、心或造血系统损害,或精神疾病;(4)孕妇或哺乳期妇女;(5)正在参加其他药物观察;(6)已知药物过敏或未按规定用药或临床资料不全。

2 治疗方法

2 组均采用 FOLFOX4 方案治疗。注射用奥沙利铂(OXA,齐鲁制药海南有限公司生产,批准文号:国药准字 H20093168,规格:50mg/瓶)85mg/m²,d1;注射用亚叶酸钙(CF,山西振东泰盛制药有限公司生产,批准文号:国药准字 H20045530,规格:200mg/支)200mg/m²,d1、d2;氟尿嘧啶注射液(5-FU,天津金耀药业有限公司生产,批准文号:国药准字 H12020959,规格:10mL:0.25g)400mg/m² 静脉推注,d1、d2;5-FU 600mg/m²,持续静脉滴注 22h,d1、d2。结直肠癌根治术后 3~6 周开始化疗,2 周为 1 个治疗周期,6 个治疗周期后评价疗效,12 个治疗周期即 6 个月后停止化疗。

2.1 治疗组 服用扶正消癌方。药物组成:制附子 10g(1 包),干姜 10g(2 包),人参 20g(2 包),白术 10g(1 包),炙甘草 9g(3 包),陈皮 6g(1 包),茯苓 10g(1 包),补骨脂 10g(1 包),吴茱萸 9g(3 包),山药 10g(1 包),炒麦芽 10g(1 包),黄芪 10g(1 包),白花蛇舌草 15g(1 包),川芎 12g(2 包),赤芍 10g(1 包),山慈菇 10g(1 包),蜈蚣 3g(0.5 包)。以上中药均用免煎颗粒(江阴天江药业有限公司生产)。每天 1 剂,早晚餐前 30min 开水冲服。

2.2 对照组 服用香菇多糖片治疗。香菇多糖片(浙江普罗康与天然药物有限公司生产,批准文号:国药准字 Z20026215;规格:100mg/片)每次 3~5 片,每天 2 次,饭前 30min 口服。

2 组均每次用完化疗药后连服药物 7d,连续 6 个治疗周期为 1 个疗程,重复 2 个疗程即 6 个月。

3 疗效观察

3.1 观察指标 治疗前及治疗 6 个月(即 2 个疗程)后肠镜下取结直肠组织作病理切片(包埋并切取石蜡标本,行常规 HE 染色),留待行免疫组化;取结直肠组织,制备组织匀浆提取液,组织样本经组织粉碎机粉碎后,冷冻高速离心(10000×5g)10min,吸取上清液。接着将上清液离心(10000×5g)30min,再吸取上清液,即为组织匀浆提取液。测其蛋白质浓度后稀释至 2mg/mL 备用。采用免疫组织化学 SABC 方法测定表达情况,每批染色均设阳性和阴性对照,以已知阳性切片作阳性对照,以

PBS 代替一抗作空白对照,显示治疗前后癌组织及正常组织 COX-2 及 Cathepsin-D 表达情况。采用组织匀浆定量方法测定 Cathepsin-D 活性变化。用酶联免疫吸附(ELISA)法测定 Cathepsin-D 和 COX-2,ELISA 试剂盒严格按照说明书操作。试剂盒由上海西唐生物有限公司提供。

3.2 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3.3 2 组 Cathepsin-D 活性及 COX-2 水平比较 治疗组 Cathepsin-D 活性治疗前后组内比较及治疗后组间比较,2 组 COX-2 水平治疗前后组内比较及治疗后组间比较,差异均有统计学意义。(见表 1)

表 1 2 组治疗前后 Cathepsin-D 活性及 COX-2 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Cathepsin-D 活性		COX-2(IU/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	50	215.690±98.2210	105.673±72.4655 ^{ab}	137.854±78.5214	28.457±13.5210 ^{ab}
对照组	50	232.986±141.6707	213.805±148.1572	186.466±128.3094	153.679±88.7347 ^a

注:与本组治疗前比较,^a $P < 0.05$;与对照组治疗后比较,^b $P < 0.05$ 。

4 讨论

结直肠癌属于中医学“肠覃”“癥瘕”“积聚”等范畴。主要病机为本阳虚而阴邪实,因于饮食劳倦等多种因素的影响,损伤脾胃中阳,久病及肾,肾阳受损。《素问·生气通天论》载“凡阴阳之要,阳密乃固”,“阳密”则邪不得犯,而“阳疏”则百邪所趋^[6]。

CRC 术后以阳气亏损、中气亏虚、阴血不足证最为常见,其中阳气亏损、中气亏虚证出现频率较术前明显上升。扶正消癌方以附子理中丸为基础方,加用黄芪、山药益气补中;吴茱萸、补骨脂温补肾元;陈皮、麦芽、茯苓健运脾气,调理机体内环境,使阴阳气血调和,阳气复则脏腑功能自复,祛邪有力;白花蛇舌草、苦参、川芎、赤芍解毒活血化瘀;山慈菇、蜈蚣解毒破结,化瘀消痕。全方合用,扶助阳气为主、攻伐癌肿为辅,以达祛邪不伤正、扶正不留邪之效^[6]。

肿瘤的侵袭及转移是一个多因素参与、多步骤完成的过程。大致有以下几方面:原发灶肿瘤增殖,新生血管形成,肿瘤细胞从原发灶脱落,侵袭基底膜,进而侵入血管、淋巴管或体腔肿瘤细胞形成血栓,通过血液、淋巴管迁移至其他部位肿瘤细胞

穿出血管,形成微小转移灶^[7]。其中包括促进细胞增殖和抑制凋亡、促进血管形成学说,其代表性指标为 COX-2,其可通过促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、促进血管形成等机制,参与肿瘤的发生和发展,已成为了近年研究的热点。Cathepsin-D 是一类肿瘤侵袭、转移相关的酶。在降解过程与结直肠癌的浸润转移学说中,癌细胞必须降解一系列组织屏障才能形成移动的通道,组织屏障可由蛋白酶类来降解。降解酶类含有酸性蛋白酶类,如 Cathepsin-D 等^[1]。近年研究中,提出将 Cathepsin-D 作为结直肠癌判断预后的标志之一。肿瘤侵袭、转移的一个必要条件为肿瘤细胞侵犯并穿过基底膜及细胞外基质所组成的屏障,而 Cathepsin-D 恰恰满足了这一条件。结直肠癌患者中 Cathepsin-D 在肿瘤间质细胞表达阳性,在肿瘤实质细胞表达阴性,其预后不良,提示 Cathepsin-D 在间质细胞表达阳性可能是肿瘤发生发展的重要标志,同时组织蛋白酶与结直肠癌的淋巴结转移有关,可以作为结直肠癌淋巴结转移预测指标之一^[3]。

本研究结果显示,治疗组 Cathepsin-D 活性治疗前后比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),对照组 Cathepsin-D 活性治疗前后比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);2 组在治疗后的 Cathepsin-D 活性比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。2 组 COX-2 水平治疗前后组内比较及治疗后组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结果说明扶正消癌方对 Cathepsin-D 的活性及 COX-2 水平有抑制作用。

参考文献

- [1] 范应方,聂晶. 结直肠癌浸润和转移分子机制研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2001(3):236-238.
- [2] 肖冰,高枫,符兆英. 环氧合酶-2 在胃癌与癌前病变和其他胃黏膜组织中表达的研究[J]. 现代肿瘤医学,2009,17(4):702-704.
- [3] 王亚飞,程爱兰. Cathepsin D 与恶性肿瘤的关系[J]. 肿瘤基础与临床,2014,27(1):79-81.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局,中华医药会肿瘤学分会. 结直肠癌诊疗规范(2015 年版)[S]. 中国实用外科杂志,2015,35(11):1177-1191.
- [5] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[S]. 北京:中国医药科技出版社,2002:82.
- [6] 李瑞胜,覃露,吴泽铃,等. 扶阳思想在结直肠癌根治术后应用探讨[J]. 北京中医药,2017,36(8):730-731,735.
- [7] 蒋磊,赵梅梅,姚俊涛. 组织蛋白酶 D 和 P-选择素在结直肠癌中的表达及临床意义[J]. 疑难病杂志,2013,12(8):606-609,659.

(收稿日期:2017-12-18)