

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.04.012

肠益煎对大肠癌化疗患者血清基质金属蛋白酶 2、基质金属蛋白酶 9 及血管内皮生长因子的影响

李佳¹, 王文海^{2*}, 曾宝珠¹

(1. 郑州市中医院, 河南省郑州市文化宫路 65 号, 450000; 2. 上海中医药大学附属曙光医院)

摘要 目的 探讨肠益煎辅助治疗大肠癌的可能作用机制。方法 将 80 例大肠癌化疗患者随机分成治疗组和对照组各 40 例。对照组单纯给予化疗, 14 天为 1 个周期, 共进行两个周期; 治疗组在化疗的同时给予肠益煎中药汤剂, 每日 1 剂, 共服用 28 天。观察两组患者治疗前后血清基质金属蛋白酶 2 (MMP2)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 及血管内皮生长因子 (VEGF) 的变化。结果 两组治疗前血清 MMP2、MMP9 及 VEGF 比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗组治疗后血清 MMP2、MMP9 及 VEGF 均较治疗前明显降低 ($P < 0.05$)。对照组治疗后各指标与治疗前比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组治疗后组间比较治疗组 MMP2 明显低于对照组 ($P < 0.05$)。结论 肠益煎能抑制大肠癌化疗患者血清 MMP2 水平, 可能是其辅助治疗大肠癌作用机理之一。

关键词 大肠癌; 肠益煎; 基质金属蛋白酶 2; 基质金属蛋白酶 9; 血管内皮生长因子

大肠癌是常见恶性肿瘤之一, 近 10 年我国大肠癌的发病率已经上升到恶性肿瘤的第 3 位^[1], 病死率已位居恶性肿瘤第 5 位^[2]。目前对大肠癌局部原发肿瘤采取手术为主的治疗方案, 但根治术后肿瘤的复发和转移率高达 50% 左右^[3]。本研究采用肠益煎对大肠癌化疗患者进行治疗干预, 检测外周血基质金属蛋白酶 2 (MMP2)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 及血管内皮生长因子 (VEGF) 含量, 以探讨肠益煎的可能作用机理。

1 临床资料

1.1 西医诊断及中医辨证标准

西医诊断标准参照《中国常见恶性肿瘤诊治规范》^[4]。中医辨证标准参照《上海市中医病证诊疗常规》^[5], 属于脾虚湿阻、脾虚湿热或气血亏虚者。

1.2 纳入标准

符合西医诊断标准及中医辨证标准; 有明确病理诊断的未手术或术后复发转移的大肠癌患者; 年龄 18 ~ 75 岁; 卡氏评分 (Karnofsky)^[6] ≥ 60 分, 预计生存期 ≥ 3 个月; 有化疗适应证。

基金项目: 上海市中医临床重点学科建设项目 (ZYXK2012010); 上海市浦东新区卫生系统重点学科群建设资助项目 (PWZXQ2014-12); 上海市教委科研基金项目 (09jw30)

* 通讯作者: wwhdoctor@gmail.com; (021) 53827335

1.3 排除标准

有明显心、肝、肾等脏器功能损害者及不能耐受治疗者; 有炎症、外伤、溃疡、缺血性疾病、肺纤维化等其他可影响 MMP2、MMP9 及 VEGF 水平的因素; 有精神意识障碍者; 合并其他肿瘤或严重疾病者; 近期有手术史者; 有胃肠道梗阻不能进食者。

1.4 脱落标准

实验中出现严重的不良反应如骨髓抑制或某些严重合并症、并发症及不宜继续接受治疗者; 用药过程中因非药物因素而患其他疾病不能继续治疗者。

1.5 一般资料

收集 2010 年 7 月至 2012 年 3 月在上海中医药大学附属曙光医院、瑞金医院门诊及住院的大肠癌化疗患者 80 例, 采用随机数字表分为治疗组和对照组各 40 例。治疗组中男 26 例, 女 14 例; 年龄 31 ~ 77 岁, 平均 (59 ± 13) 岁; 病程 3 ~ 31 个月, 平均 (19 ± 6) 个月; 患病部位: 结肠癌 26 例, 直肠癌 14 例; 病理类型^[7]: 腺癌 36 例, 黏液腺癌 4 例; 化疗方案: FOLFOX4 13 例, FOLFIRI 13 例, 其他方案 14 例。对照组中男 18 例, 女 22 例; 年龄 33 ~ 81 岁, 平均 (62 ± 15) 岁; 病程 1 ~ 29 个月, 平均 (17 ± 7) 个月; 患病部位: 结肠癌 23 例, 直肠癌 17 例; 病理类型: 腺癌 34 例, 黏液腺

癌 6 例; 化疗方案: FOLFOX4 18 例, FOLFIRI 5 例, 其他方案 17 例。两组患者一般比较资料差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

2 方法

2.1 治疗方法

对照组给予单纯化疗。化疗方案^[4]: FOLFOX4、FOLFOX6、FOLFIRI 每两周 1 次, 或单用希罗达 1250 mg/m^2 (每片 0.5 g, 每盒 12 片, 上海罗氏制药有限公司, 批号 H20073024), 每日 2 次, 连服 14 天为 1 个疗程。化疗共进行两个周期。

治疗组在对照组基础上给予肠益煎中药汤剂, 处方: 太子参 15 g, 白术 12 g, 茯苓 12 g, 木香 9 g, 枳实 9 g, 半枝莲 15 g, 白花蛇舌草 15 g, 蜀羊泉 12 g, 甘草 9 g。随证加减: 湿阻较重者, 加苍术 12 g、砂仁 12 g; 湿热较重者, 加黄连 6 g、茵陈 9 g; 气血亏虚较重者, 加黄芪 30 g、熟地黄 15 g。每日 1 剂, 分两次服用, 连续服用 28 天。

2.2 检测方法

2.2.1 仪器与试剂 EL30 型酶联免疫检测仪购自美国 Bio-Tek 公司; VEGF human ELISA kit (批号 KIT-8701) 购自美国 Winbio 公司, MMP2、MMP9 human ELISA kit (批号 BS-0497R) 均购自美国 PharMingen 公司; 红细胞裂解液 (批号 C3702) 购自美国 Beckman Coulter 公司; PBS 溶液 (含 0.5% BSA、1.5 mM EDTA) 由本实验室自行配制。

2.2.2 标本处理 治疗前后采集大肠癌化疗患者 EDTA 抗凝的静脉血 4 ml, 混匀, 加入 $500 \mu\text{l}$ 红细胞裂解液, 室温避光孵育 15 min; 加入 $500 \mu\text{l}$ PBS 溶液, 阻断裂解; 避光静置 10 min; 1200 r/min 离心 8 min; 倒去上清液, 留取血清标本冻存于 -70°C 冰箱, 统一检测。

2.2.3 标本检测 治疗前后将冻存于 -70°C 冰箱的患者血清解冻, 采用 ELISA 酶联免疫吸附双抗体夹心法检测血清 MMP2、MMP9 及 VEGF 水平, 实验步骤严格按照试剂盒说明书操作。

3 结果

因患者拒绝采血及失联等原因, 其中治疗组共脱落 3 例 (2 例患者拒绝抽血, 1 例失联), 对照组共脱落 4 例 (2 例患者拒绝采血, 1 例失联, 1 例拒绝服药)。最终治疗组 37 例、对照组 36 例患者纳入结果分析。

表 1 示, 两组治疗前 MMP2、MMP9 及 VEGF 比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗组治疗后 MMP2、MMP9 及 VEGF 均较治疗前明显降低

($P < 0.05$)。对照组治疗后各指标与治疗前比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组治疗后比较, 治疗组 MMP2 明显低于对照组 ($P < 0.05$)。

表 1 两组大肠癌化疗患者治疗前后 MMP2、MMP9 及 VEGF 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	MMP2 (ng/ml)	MMP9 (ng/ml)	VEGF (pg/ml)
治疗组	治疗前	37	7.06 ± 2.99	14.84 ± 8.64	34.14 ± 13.60
	治疗后	37	3.27 ± 2.38* ^Δ	12.80 ± 8.59*	28.80 ± 12.89*
对照组	治疗前	36	6.53 ± 3.35	13.62 ± 10.14	35.52 ± 12.95
	治疗后	36	5.16 ± 2.56	12.43 ± 9.36	30.75 ± 13.67

注: MMP2, 基质金属蛋白酶 2; MMP9, 基质金属蛋白酶 9; VEGF, 血管内皮生长因子; 与本组治疗前比较, * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较, $\Delta P < 0.05$

4 讨论

大量研究表明^[5], 大肠癌的复发转移能力与其诱导产生蛋白酶降解细胞外基质和基底膜的能力有关。MMPs 是一组锌离子依赖性内肽酶, 几乎可以分解细胞外基质的各种成分, 其在促进肿瘤侵袭转移及血管生成中起重要作用, 其中 MMP2、MMP9 的表达与大肠癌新生血管的形成有密切联系, 能够分泌 MMP2、MMP9 的大肠癌具有较强的侵袭转移能力, 从而证实了 MMPs 在大肠癌侵袭转移中起到了重要的促进作用^[6]。

VEGF 是人体内最强的一种血管生长促进因子^[7], VEGF 可通过与其受体及一些低分子量血管内皮生长因子受体相结合, 引起血管内皮细胞分裂增生并形成新生血管^[8], 为组织细胞生长提供营养和氧份, 并减少细胞凋亡^[9]。有研究已经证实, VEGF 水平能够反映大肠癌病变进展情况^[10], 因此检测大肠癌患者 VEGF 表达水平有助于对患者病情的判断, 也有助于了解大肠癌治疗的疗效。

肠益煎方中太子参, 甘、微苦, 性平, 补气健脾, 生津润肺; 白术、茯苓、木香、枳实共奏健脾理气之效; 半枝莲、蜀羊泉均有清热解毒之效; 甘草, 性甘平, 归心、肺、脾、胃经, 调和诸药, 功在补脾益气, 缓急止痛, 清热解毒。细观本方, 其中蕴含四君子汤之经典方剂。四君子汤为益气健脾代表方, 甘温和缓, 培补后天之本, 健脾胃运化, 以助生化之源; 佐以半枝莲、蜀羊泉清热解毒抗肿瘤, 全方各药合用, 凉中有温, 共奏健脾益气、化湿解毒之功。前期研究显示, 应用肠益煎加减治疗晚期大肠癌或术后患者, 可改善患者的生存质量、提高免疫功能、延长生存期^[11]; 能明显改善患者乏力、眩晕、面色少华、纳呆、腹泻等症状, 提高

患者生存质量, 并无明显毒副作用^[3]。

本实验研究表明, 肠益煎能抑制大肠癌化疗患者血清 MMP2 水平 ($P < 0.05$), 其可能是抑制肿瘤血管生成可能是其作用机理之一。由于本研究样本例数较少, 加之中药复方在人体内起作用的机制复杂, 因此, 可通过扩大样本量, 并对肠益煎药物提取血清进行体内、体外实验, 进一步的明确其作用机理。

参考文献

- [1] 王磊, 宋顺心, 汪建平, 等. 结直肠癌实验研究现状及展望 [J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(3): 429-430.
- [2] 代珍, 郑荣寿, 邹小农, 等. 中国结直肠癌发病趋势分析和预测 [J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(7): 598-603.
- [3] VAN CUTSEM E, COSTA F. Progress in the adjuvant treatment of colon cancer: has it influenced clinical practice [J]. JAMA, 2005, 294(21): 2758-2760.
- [4] 中华人民共和国卫生部医政司. 中国常见恶性肿瘤诊疗规范 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1991: 72-74.
- [5] 上海市卫生局. 上海市中医病证诊疗常规 [M]. 2 版. 上海: 上海中医药大学出版社, 2003: 133-134.
- [6] 张本华. 临床肿瘤学 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2007: 110-112.
- [7] NCCN. The NCCN Colon carcinoma clinical practice guidelines in oncology (version 1. 2008) [EB/OL]. 2008 [2008-07-29]. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.

- [8] LIOTTA LA, STETLER STEVEN WG. Tumor invasion and metastasis an imbalance of positive and negative regulation [J]. Cancer Res, 1991, 51(11): 5054-5059.
- [9] 张明林, 许建明, 梅俏, 等. MMP2、MMP9 蛋白在结肠癌中的表达 [J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(20): 2494-2497.
- [10] KRAIZER Y, MAWASI N, SEAGAL J, et al. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin in liver regeneration [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 287(1): 209-215.
- [11] SHALABY F, ROSSANT J, YAMAGUCHI TP, et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in FLK-1-deficient mice [J]. Nature, 1995, 376(14): 62-66.
- [12] WIDENFALK J, LIP SON A, JUBRAN M, et al. Vascular endothelial growth factor improves functional outcome and decreases secondary degeneration in experimental spinal cord contusion injury [J]. Neuroscience, 2013, 120(4): 951-960.
- [13] 邓立春, 周龙兴, 沈伟生, 等. 结直肠癌患者血清 VEGF 含量测定的临床意义 [J]. 山东医药, 2009, 49(36): 116.
- [14] 李佳, 王文海, 曾宝珠. 肠益煎对大肠癌化疗患者增效减毒作用的临床研究 [J]. 时珍国医国药杂志, 2015, 26(3): 638-640.
- [15] 王文海. 肠益煎治疗大肠癌术后 50 例临床观察 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2000, 10(6): 325-326.

The Effect of *Changyi Jian* (肠益煎) on Serum Matrix Metalloproteinases-2, Matrix Metalloproteinases-9 and Vascular Endothelial Growth Factor in Patients with Colorectal Cancer during Chemotherapy

LI Jia¹, WANG Wenhai², ZENG Baozhu¹

(1. Chinese Medicine Hospital of Zhengzhou, Henan 450000; 2. Shuguang Hospital affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To observe possible mechanism of *Changyi Jian* in the treatment of colorectal cancer as an adjuvant therapy. **Methods** Eighty cases of patients with colorectal cancer during chemotherapy were randomly divided into the treating group and the control group, with 40 cases in each. The control group was only given chemotherapy, fourteen days was one circle, for two circles totally; The treating group was given Chinese medicine decoction *Changyi Jian* while accepting chemotherapy, one dose per day, for 28 days in total. Variation of serum levels of matrix metalloproteinases-2 (MMP2), matrix metalloproteinases-9 (MMP9) and vascular endothelial growth factor (VEGF) of patients in two groups were observed before and after treatment. **Results** There were no statistically significant differences in serum levels of MMP2, MMP9 and VEGF between the two groups before treatment ($P > 0.05$). Serum levels of MMP2, MMP9 and VEGF in the treatment group after treatment all remarkably decreased compared with that before treatment ($P < 0.05$). There were no statistically significant differences in all indexes in the control group between before and after treatment ($P > 0.05$). MMP2 level in the treatment group after treatment was remarkably lower than that in the control group when comparing two groups after treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** *Changyi Jian* could inhibit serum level of MMP2 in patients with colorectal cancer during chemotherapy, which may be one of its function mechanism of treating colorectal cancer as an adjuvant therapy.

Keywords colorectal cancer; *Changyi Jian*; metalloproteinases-2 (MMP2); matrix metalloproteinases-9 (MMP9); vascular endothelial growth factor (VEGF)

(收稿日期: 2015-05-21; 修回日期: 2015-07-16)

编辑: 叶 晨