

文章编号 1006-8147(2014)05-0366-04

论著

卡铂联合多西他赛治疗非小细胞肺癌 CECs 变化

闫庆贺¹, 宋世辉¹, 彭民², 张鹏¹, 赵娜³

(天津医科大学总医院 1.心胸外科;2.重症医学科,3.普外科研究所,天津 300052)

摘要 目的:探索用卡铂联合多西他赛作为一线方案治疗晚期非小细胞肺癌(NSCLC),静脉血中循环内皮细胞(CECs)数目在预测化疗有效性中的作用。方法:采用卡铂联合多西他赛治疗晚期 NSCLC 病人 53 例,用流式细胞术测定 NSCLC 病人外周静脉血中 CECs 数目,同样方法测定健康人静脉血中 CECs 数目。结果:NSCLC 病人化疗前的外周静脉血中 CECs 数目[(1 798±970)个/mL]明显高于健康人[(135±150)个/mL]。将化疗前 CECs 数目视为基线值,IV 期病人的基线 CECs 数目高于 IIIB 病人($P=0.036$)。基线 CECs 数目和肿瘤体积呈明显正相关性($r_s=0.556, P<0.001$)。化疗后病人 CECs 数目明显下降[化疗第 22 天为(704±603)个/mL],其中临床获益病人 CECs 数目下降较明显,病情进展(PD)病人 CECs 数目无明显下降。临床获益病人基线 CECs 数目明显高于 PD 病人($P=0.011$)。结论:CECs 数目可用来预测卡铂联合多西他赛治疗晚期 NSCLC 的有效性。

关键词 循环内皮细胞;非小细胞肺癌;化疗

中图分类号 R734.2

文献标志码 A

Changes of circulating endothelial cells in non-small cell lung cancer patients treated with carboplatin plus docetaxel

YAN Qing-he¹, SONG Shi-hui¹, PENG Min², ZHANG Peng¹, ZHAO Na³

(1. Department of Cardiothoracic Surgery; 2. Department of Critical Care Medicine, 3. Research Institute of General Hospital, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Abstract Objective: To investigate the role of circulating endothelial cells (CECs) as a marker to predict the effect of a carboplatin and docetaxel based first line chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** Fifty-three NSCLC patients were treated with carboplatin combined with docetaxel. Levels of CECs were measured by flow cytometry. **Results:** The CECs count before chemotherapy (baseline value) was significantly higher in NSCLC patients than in healthy volunteers[(1 798±970)/mL and (135±150)/mL, respectively]. The baseline CECs values of patients with stage IV NSCLC were significantly higher than those in patients with stage IIIB NSCLC ($P=0.036$). The correlation between the baseline CECs count and tumor volume was positive ($r_s=0.556, P<0.001$). CECs were decreased by chemotherapy as compared to baseline values [(704±603)/mL, d22]. The decrease was more significant in patients with clinical benefit while the PD group patients didn't show this change. CECs values of clinical benefit group was significantly higher than PD group ($P=0.011$). **Conclusion:** As a marker, CECs can be useful in predicting the clinical effect of the carboplatin combined with docetaxel on patients with advanced NSCLC.

Key words circulating endothelial cell; non-small cell lung cancer; chemotherapy

20 世纪 70 年代初, Folkman 等^[1]首先提出血管形成在实体肿瘤的生长和转移中起重要作用。不论是肿瘤的发病机制还是治疗靶点,血管生成都会起到重要作用,因此需找到一种标志物能准确反映血管生成的状态及药物针对肿瘤血管系统的治疗效果。循环内皮细胞(CECs)数目是一个有前景的指标。CECs 的表型为 DNA/Syto16⁺, CD45⁻, CD31⁺和 CD146⁺^[2]。多种不同癌症均有 CECs 数目增多的报道,癌症病人的 CECs 数目可以反映肿瘤血管内皮的更新率,提示肿瘤血管生成程度^[3]。Mancuso 等^[4]认为,考虑到 CECs 的动力学及生存能力,可以将其作

为反映对晚期乳腺癌进行抗血管形成化疗有效性的一个有希望的指标。因此,测定 CECs 可作为一个非侵袭性的方法来预测肿瘤化疗的效果。非小细胞肺癌(NSCLC)占肺癌的 80%左右,就诊时约 75%已属晚期,5 年总生存率仅为 10%~15%^[5]。20 世纪 90 年代以来涌现出了第 3 代细胞毒药物(如紫杉醇类、吉西他滨、长春瑞滨、伊立替康),铂类药物和这些新药的联合方案使晚期 NSCLC 的生存期明显提高,也被视为治疗 NSCLC 的标准化疗方案^[6-7]。化疗药物的作用机制多为抑制肿瘤细胞增殖,但紫杉醇类药物可以抑制内皮细胞增殖、迁移、分化和金属蛋白的分泌,导致移植瘤的血管形成受到抑制^[8-9]。本研究中,我们探索了对于晚期 NSCLC 病人,CECs

作者简介 闫庆贺(1987-),男,硕士在读,研究方向:心胸外科;通信作者:宋世辉, E-mail: tjsongshihui@126.com。

数目与卡铂联合多西他赛方案化疗有效性的关系。

1 资料和方法

1.1 研究对象 共收治经细胞学或病理学证实的ⅢB期和Ⅳ期非小细胞肺癌 53 例,PS 评分均为 0~1 分。排除标准:(1)已行任何有关治疗,如:放疗、靶向治疗、生物治疗、热疗、对症治疗、中医中药治疗等;(2)经任何诊断性质的麻醉手术,如:胸腔镜手术、开胸活检等;(3)伴有其他血管性疾病,如动脉硬化、系统性脉管炎、动静脉血栓形成等。病人的临床特点见表 1。对照组健康人共 32 例,无急慢性疾病,其中男性 19 例,女性 13 例,年龄分布为 32~65 岁,中位年龄为 53 岁,平均年龄为(56±6)岁。

表 1 非小细胞肺癌病人的临床资料[n(%)]

Tab 1 Basic characteristics of the NSCLC patients[n(%)]

例数	性别		年龄/岁		分期		组织学		
	男	女	中位年龄	年龄分布	ⅢB	Ⅳ	腺癌	鳞癌	其他
53	32(60)	21(40)	54	37~67	14(26)	39(74)	36(68)	11(21)	6(11)

1.2 治疗方法 多西他赛(泰索帝),75 mg/m²,静脉滴注 1 h,1 d 前口服地塞米松,每天 16 mg,持续 3 d;卡铂,剂量按照 AUC=5 计算,单次输注。本方案每 3 周重复 1 次,直至 4~6 周期。化疗中如出现重度骨髓抑制等严重毒副作用,则停止化疗,采用靶向治疗、中医中药等其它治疗方法;如病情进展,则更换方案,予以培美曲塞单药二线化疗或靶向治疗;如随访中出现病情进展,则重复本方案。化疗同时予常规止吐、护肝等治疗。

1.3 评价标准 病人化疗前均行 CT 检查,2 个周期化疗后再次复查 CT,进行疗效评价。近期疗效参照 WHO 实体瘤疗效评价标准进行疗效评价(不包括肿瘤标志物部分),分为完全缓解(CR),部分缓解(PR),稳定(SD),进展(PD)。每两个周期后作评价,如初步评价为 CR、PR 则于 4 周后再次评价确认。化疗有效包括临床 CR 和 PR 两部分,临床获益包括 CR、PR、SD 三部分。

1.4 CECs 的测定 主要试剂:红细胞裂解液(BD 公司)、PBS 缓冲液、HU CD146 FITC MAB 100TST PIH12 (Cat No:560846, BD 公司)、同型对照 IgGα-FITC (Cat No:550315, BD 公司)、HU CD45 PE MAB 100TST HI30 (Cat No:555483, BD 公司)。主要仪器:流式细胞仪(BD 公司 FACs Canto II)。取 NSCLC 病人和健康自愿者的血样置于 EDTA 抗凝管中,所有标本 6 h 内处理并用流式细胞仪测定 CECs。NSCLC 病人分别于化疗前、化疗第 22 天(d22)采取血样。本研究中,定义 CD146 FITC⁺、CD45 PE⁻细胞

为 CECs。同时取血样检验血常规,获取白细胞数目,用双平台法计算 CECs 绝对值。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 19.0 医学统计分析软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,化疗组和健康对照组 CECs 的比较、不同临床分期病人之间的 CECs 的比较、临床获益组与进展组 CECs 的比较采用独立样本 *t* 检验;化疗过程中 CECs 的变化采用配对 *t* 检验;CECs 与肿瘤体积的关系采用 spear-mans 相关性分析。全部检验均为双侧检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。统计图表的绘制采用 SPSS 19.0 和 Excel 2003。

2 结果

所有病人均按照本方案完成 2 周期化疗,其中 9 例病人第 3 周期化疗后出现重度骨髓抑制,后终止化疗;10 例病人完成 2 周期化疗后复查发现为 PD,其中,7 例行培美曲塞单药化疗,3 例行凯美纳靶向治疗;其余病人完成 4~6 周期化疗后复查 CT 均为临床获益病人。随访中,PD 者重复本方案,本方案无效后行培美曲塞单药化疗或靶向治疗。最终,19 例病人行培美曲塞单药化疗,11 例行靶向治疗,9 例行中医中药治疗,其余病人失访。

2.1 NSCLC 病人与健康对照组 CECs 数目的比较

53 例晚期 NSCLC 病人,基线 CECs 数目从 112 个/mL 到 4 562 个/mL 不等,平均值为(1 798±970)个/mL。健康人检测 32 例,平均数为(135±150)个/mL,相比大部分 NSCLC 病人的 CECs 数目升高,*P*<0.001,差异有统计学意义。临床分期为Ⅱ期的病人基线 CECs 数目[(1 965±932)个/mL]高于ⅢB 期病人[(1 335±952)个/mL],*P*=0.036,差异有统计学意义。

2.2 基线 CECs 和肿瘤体积的关系 所有入组病人的基线 CECs 数目与肿瘤体积呈显著正相关,用 spear-mans 相关性分析得出 *r_s*=0.556,*P*<0.001,二者关系散点图见图 1。

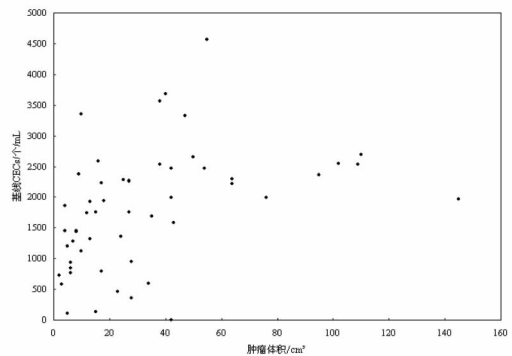


图 1 NSCLC 病人基线 CECs 数目和肿瘤体积关系的散点图

Fig 1 Scatter plot analysis to determine the correlation between CECs amount at baseline and tumor volume in NSCLC patients

2.3 化疗前后病人的 CECs 比较 对于所有入组病人,化疗后外周静脉血中的 CECs 数目较化疗前降低, $P<0.001$,差异具有统计学意义。值得注意的是,临床获益亚组病人外周血 CECs 数目较基线值明显降低, $P<0.001$,差异有统计学意义;而 PD 亚组病人外周血 CECs 较基线值无明显降低($P=0.572$)(表 2)。

表 2 NSCLC 病人基线 CECs 数目和化疗 d22 比较

Tab 2 The comparison of CECs amount at baseline and d22 in NSCLC patients

组别	例数	CECs 数目/(个/mL)		P
		基线 CECs 数目	d22CECs 数目	
所有病人	53	1 798±970	704±603	<0.001
临床获益	43	1 959±966	589±448	<0.001
PD	10	1 107±652	1 196±912	0.572

2.4 基线 CECs 和近期疗效的关系 所有入组病人均完成 2 周期化疗,并行 CT 检查评价瘤体大小,其中表现为 CR 为 2 例(3.8%),PR 为 23 例(43.4%),SD 为 18 例(34.0%),PD 为 10 例(18.9%),临床获益 43 例(81.1%)。临床获益病人基线 CECs 数目高于 PD 病人, $P=0.011$,差异有统计学意义。

3 讨论

本研究中,笔者探索了以卡铂联合多西他赛为方案,化疗前及化疗第 22 天病人的 CECs 数目变化,发现 NSCLC 病人的基线 CECs 数目明显高于正常人[分别为(1 798±970)个/mL 和(135±150)个/mL],并且,NSCLC 病人基线 CECs 数目和肿瘤体积呈明显正相关($r_s=0.556$, $P<0.001$),所以我们认为这些增加的 CECs 可能来自肿瘤病灶。之前的一个研究表明,在动物移植瘤实验中,CECs 数目和瘤体的体积呈明显的相关性^[10]。Kawaiishi 等^[11]的研究没有发现 CECs 数目和肿瘤体积的相关性,这也可以理解,因为 CECs 的数目受很多因素的影响,包括肿瘤血管,新血管形成和肿瘤的部位等。本研究中,所有入组病人化疗第 22 天的 CECs 数目明显下降,我们关注了该领域的其他几个临床研究,有的研究结果为化疗可使 CECs 数目下降,而有的研究结果为化疗可以升高 CECs 数目^[12-13]。本研究发现 IV 期病人的基线 CECs 数目高于 III 期病人[分别为(1 965±932)个/mL 和(1 335±952)个/mL],所以我们认为较高的基线 CECs 数目和转移瘤有一定的关系,Rowand 等^[14]的临床试验也证明了这一点。本研究还发现,临床获益病人的基线 CECs 数目明显高于 PD 病人。肿瘤病人增加的 CECs 主要来源于新生肿瘤血管,紫杉醇类药物能抑制内皮细胞的增生,有强大的抗血管生成能力,故 CECs 数目多、肿瘤血管密度大的病

人对卡铂联合多西他赛方案有较好的反应性,治疗效果较 CECs 数目少者更为明显,所以才会出现临床获益病人的基线 CECs 数目更高的结果。黄纯等^[15]在恩度联合长春瑞滨顺铂治疗晚期 NSCLC 的研究中,发现 7 例临床获益病人治疗后 CECs 明显降低,而 4 例 PD 病人 CECs 升高,认为 CECs 能较好地预测化疗联合抗血管生成治疗的疗效。尽管每一种非铂类抗癌药物的作用机制不同,并且每个肿瘤的生物特点不同,但我们却不能依据肿瘤的不同特点而个体化的选择药物。根据本研究,笔者认为基线 CECs 数目可以用来预测病人对卡铂联合多西他赛方案化疗的临床疗效。有研究发现基线 CECs 数目和较长的无进展生存期(PFS)有关^[11]。由于本院收治的病人较多为外地人口,随诊困难,故没有得到完整的生存期的数据,相信基线 CECs 数目和生存期的关系研究更值得期待。如果 CECs 数目是血管生成和反应肿瘤新血管生成的标志物,那么治疗后较高的 CECs 数目与病人的不良预后和抗血管生成治疗无效有相关性,这让我们能更好地为 NSCLC 病人提供个体化化疗方案。

以 VEGF 路径为靶点的抗血管生成治疗(比如贝伐单抗和 VEGFR 阻滞剂)已经为实体肿瘤的治疗带来了希望^[16]。这些药物通过抑制 VEGF 途径来抑制内皮细胞。最近的研究发现卡铂联合紫杉醇+贝伐单抗方案比单用卡铂联合紫杉醇方案能给病人带来更长的生存期^[17]。抗血管生成药物价格很高,我们设想通过 NSCLC 患者治疗前后 CECs 的变化,来了解掌握 NSCLC 患者是否存在血管生成与抗血管生成的失衡,从而指导临床医生针对患者采取更为有效的治疗方案,取得更好疗效的同时可避免抗血管生成药物的不必要应用。自 2000 年 Hanahan 等^[18]首次提出节律性化疗(continuous low dose chemotherapy, LDM)的概念以来,对 LDM 的研究给肿瘤的治疗带来了一个新的视角,治疗的靶点由针对增殖的肿瘤细胞变为主要针对肿瘤内生长中的血管内皮细胞,是一种全新的化疗方法^[19]。本研究中的 CECs 测定可以成为抗血管生成治疗和 LDM 治疗有效性的一个监测指标,这还需要更多的临床试验来证明。

综上所述,临床研究表明,基线 CECs 能较好地预测本方案化疗的近期疗效,但需要更多的临床试验来证实这个观点。我们也将应用类似的方法,去研究更多的抗血管内皮治疗以及 LDM 治疗。

参考文献:

- [1] Folkman J. Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors[J]. Ann Surg, 1972,175(3):409

- [2] Mancuso P, Antoniotti P, Quarna J, et al. Validation of a standardized method for enumerating circulating endothelial cells and progenitors: flow cytometry and molecular and ultrastructural analyses [J]. *Clin Cancer Res*, 2009,15(1):267
- [3] Fleitas T, Martínez-Sales V, Gómez-Codina J, et al. Circulating endothelial and endothelial progenitor cells in non-small-cell lung cancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2010,12(8):521
- [4] Mancuso P, Colleoni M, Calleri A, et al. Circulating endothelial-cell kinetics and viability predict survival in breast cancer patients receiving metronomic chemotherapy[J]. *Blood*, 2006,108(2):452
- [5] Laskin J J, Sandler A B. First-line treatment for advanced non-small cell lung cancer[J]. *Oncology (Williston Park)*, 2005,19(13):1671
- [6] Baggstrom M Q, Stinchcombe T E, Fried D B, et al. Third-generation chemotherapy agents in the treatment of advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis[J]. *J Thorac Oncol*, 2007,2(9):845
- [7] Ohe Y, Ohashi Y, Kubota K, et al. Randomized phase III study of cisplatin plus irinotecan versus carboplatin plus paclitaxel, cisplatin plus gemcitabine, and cisplatin plus vinorelbine for advanced non-small-cell lung cancer: Four-Arm Cooperative Study in Japan [J]. *Ann Oncol*, 2007,18(2):317
- [8] Wang J, Lou P, Lesniewski R, et al. Paclitaxel at ultra low concentrations inhibits angiogenesis without affecting cellular microtubule assembly[J]. *Anticancer Drugs*, 2003,14(1):13
- [9] Vacca A, Ribatti D, Iurlaro M, et al. Docetaxel versus paclitaxel for antiangiogenesis[J]. *J Hematother Stem Cell Res*, 2002,11(1):103
- [10] Mancuso P, Calleri A, Cassi C, et al. Circulating endothelial cells as a novel marker of angiogenesis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2003,522:83
- [11] Kawaiishi M, Fujiwara Y, Fukui T, et al. Circulating endothelial cells in non-small cell lung cancer patients treated with carboplatin and paclitaxel[J]. *J Thorac Oncol*, 2009,4(2):208
- [12] Rademaker-Lakhai J M, Beerepoot L V, Mehra N, et al. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the oral protein kinase C beta-inhibitor enzastaurin in combination with gemcitabine and cisplatin in patients with advanced cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007,13(15 Pt 1):4474
- [13] Mcauliffe J C, Trent J C. Biomarkers in gastrointestinal stromal tumors: should we equate blood-based pharmacodynamics with tumor biology and clinical outcomes[J]. *Clin Cancer Res*, 2007,13(9):2643
- [14] Rowand J L, Martin G, Doyle G V, et al. Endothelial cells in peripheral blood of healthy subjects and patients with metastatic carcinomas[J]. *Cytometry A*, 2007,71A(2):105
- [15] 黄纯, 李凯. 重组人血管内皮抑素联合 NP 方案治疗晚期非小细胞肺癌的临床观察[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2008,15(4):283
- [16] Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004,350(23):2335
- [17] Sandler A, Gray R, Perry M C, et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2006,355(24):2542
- [18] Hanahan D, Bergers G, Bergsland E. Less is more, regularly: metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumor angiogenesis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2000,105(8):1045
- [19] 吴宏菊, 辛彦. 节律化疗抗血管生成效应的研究进展[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2011,18(6):473

(2014-03-05 收稿)

+++++

 +++++

(上接第 362 页)

- lymphoma BJAB cell line and alters its gene expression profile[J]. *Oncogene*, 2009,28(20):2100
- [6] Gasperini P, Barbierato M, Martinelli C, et al. Use of a BJAB-derived cell line for isolation of human herpesvirus 8[J]. *J Clin Microbiol*, 2005,43(6):2866
- [7] Van Meerloo J, Kaspers G J, Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay[J]. *Methods Mol Biol*, 2011,731(3):237
- [8] Edwards B S, Young S M. High-content screening: flow cytometry analysis [J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 486(10):151
- [9] Moreira C F, Brito L C Jr, Lemos J A. Flow cytometry for diepoxybutane test analysis[J]. *Genet Mol Res*, 2008,7(4):1353
- [10] Xuan W, Wu B, Chen C, et al. Resveratrol improves myocardial ischemia and ischemic heart failure in mice by antagonizing the detrimental effects of fractalkine[J]. *Crit Care Med*, 2012,40(11):3026
- [11] Ku C R, Lee H J, Kim S K, et al. Resveratrol prevents streptozotocin-induced diabetes by inhibiting the apoptosis of pancreatic β -cell and the cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase[J]. *Endocr J*, 2012,59(2):103
- [12] 陆瑶, 黄志军, 袁洪. 白藜芦醇对细胞色素 P450 酶活性影响的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2013,38(5):653
- [13] Malhotra A, Nair P, Dhawan D K. Curcumin and resveratrol synergistically stimulate p21 and regulate cox-2 by maintaining adequate zinc levels during lung carcinogenesis[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2011, 20(5):411
- [14] Liu Z, Li Y, Yang R. Effects of resveratrol on vascular endothelial growth factor expression in osteosarcoma cells and cell proliferation [J]. *Oncol Lett*, 2012,4(4):837
- [15] Mo W, Xu X, Xu L, et al. Resveratrol inhibits proliferation and induces apoptosis through the hedgehog signaling pathway in pancreatic cancer cell[J]. *Pancreatology*, 2011,11(6):601
- [16] García-Zepeda S P, García-Villa E, Díaz-Chávez J, et al. Resveratrol induces cell death in cervical cancer cells through apoptosis and autophagy[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2013,22(6):577
- [17] Lin X, Wu G, Huo W Q, et al. Resveratrol induces apoptosis associated with mitochondrial dysfunction in bladder carcinoma cells[J]. *Int J Urol*, 2012,19(8):757
- [18] Jazirehi A R, Bonavida B. Resveratrol modifies the expression of apoptotic regulatory proteins and sensitizes non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma cell lines to paclitaxel-induced apoptosis[J]. *Mol Cancer Ther*, 2004,3(1):71

(2014-01-02 收稿)