

论 著

· 临床研究 ·

华蟾素胶囊联合吉非替尼对晚期肺癌患者
临床疗效及血清 miR-221 表达的影响*王颖¹ 唐晓男¹ 王会宜¹ 崔艳慧¹ 曹飞² 康小红^{1**}

(1. 新乡医学院第一附属医院肿瘤科, 河南 新乡 453100;

2. 平顶山市第一人民医院肿瘤研究中心, 河南 平顶山 467000)

摘要:目的 探讨华蟾素胶囊联合吉非替尼对晚期表皮生长因子受体(EGFR)突变的非小细胞肺癌患者临床疗效及血清 miR-221 的影响。方法 选取 2016 年 6 月—2018 年 6 月就诊于新乡医学院第一附属医院肿瘤科的晚期 EGFR 突变的 NSCLC 患者 75 例, 随机分为吉非替尼治疗组(对照组, 37 例)和华蟾素胶囊 + 吉非替尼治疗组(治疗组, 38 例), 观察两组患者临床疗效、不良反应、无疾病生存期(PFS)及血清 miR-221 表达情况。结果 对照组部分缓解(PR)为 62.1%, 疾病稳定(SD)为 21.6%, 疾病进展(PD)为 8.1%, 客观有效率(ORR)为 62.1%, 疾病控制率(DCR)为 83.7%; 治疗组 PR 为 65.8%, SD 为 26.3%, PD 为 5.2%, ORR 为 65.8%, DCR 为 92.1%, 两组相比, ORR 无明显差异, 但 DCR 差异显著($P < 0.01$); 对照组中位 PFS 为 10.1 个月, 治疗组中位 PFS 为 12.6 个月, 两组相比, 差异显著($P < 0.01$); 两组患者皮疹、腹泻、肝功能损伤等不良反应发生率方面比较, 无明显差异($P > 0.05$); 对照组疾病进展后 miR-221 相对表达水平为 8.05 ± 0.06 , 与治疗前 3.01 ± 0.02 相比, 显著升高($P < 0.01$); 治疗组患者疾病进展后 miR-221 相对表达水平为 6.32 ± 0.03 , 与对照组相比 8.05 ± 0.06 , 显著降低($P < 0.05$)。结论 华蟾素胶囊联合吉非替尼可提高 EGFR 突变的晚期非小细胞肺癌临床疗效, 延长 PFS, 下调血清 miR-221 表达水平, 具有延缓吉非替尼耐药的作用。

关键词: 肺癌; 华蟾素胶囊; 吉非替尼; 微小 RNA-221; 耐药

中图分类号: R734.2 文献标识码: A 文章编号: 2096-1340(2021)06-0084-05

DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2021.06.017

Effect of Cinobufagin Capsule Combined with
Gefitinib on Clinical Efficacy and Serum miR-221
Expression in Patients with Advanced Lung CancerWANG Ying¹ TANG Xiaonan¹ WANG Huiyi¹ CUI Yanhui¹ CAO Fei² KANG Xiaohong¹

(1. Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Henan Xinxiang 453100, China;

2. Cancer Research Center of Pingdingshan First People's Hospital, Henan Pingdingshan 467000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of cinobufagin capsule combined with gefitinib on the clinical efficacy and serum miR-221 of patients with advanced epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation in non-small cell lung

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82074268, 81503414, 81874392, 82074231); 河南省医学科技攻关项目(SB201903014, LHGJ20191263)

** 通讯作者: 康小红, 副主任医师。E-mail: kxhhgd@163.com

cancer. **Methods** 75 NSCLC patients with advanced EGFR mutation treated in the oncology department of the First Affiliated Hospital of Xixiang Medical College from June 2016 to June 2018 were randomly divided into gefitinib treatment group (control group, 37 cases) and Cinobufacin capsule + gefitinib treatment group (treatment group, 38 cases). The clinical efficacy, adverse reactions and disease-free survival (PFS), the expression of serum miR-221 of the two groups were observed. **Results** In the control group, the partial remission (PR) was 62.1%, the disease stability (SD) was 21.6%, the disease progression (PD) was 8.1%, the objective effective rate (ORR) was 62.1%, and the disease control rate (DCR) was 83.7%; In the treatment group, PR was 65.8%, SD was 26.3%, PD was 5.2%, ORR was 65.8% and DCR was 92.1%. There was no significant difference in ORR between the two groups, but there was significant difference in DCR ($P < 0.01$); The median PFS in the control group was 10.1 months and that in the treatment group was 12.6 months. There was significant difference between the two groups ($P < 0.01$); There was no significant difference in the incidence of skin rash, diarrhea and liver function injury between the two groups ($P > 0.05$); The relative expression level of miR-221 in the control group was 8.05 ± 0.06 , which was significantly higher than that before treatment (3.01 ± 0.02) ($P < 0.01$); The relative expression level of miR-221 in the treatment group was 6.32 ± 0.03 , which was significantly lower than that in the control group (8.05 ± 0.06) ($P < 0.05$). **Conclusion** Cinobufacin capsule combined with gefitinib can improve the clinical efficacy of EGFR mutant advanced non-small cell lung cancer, prolong PFS, down regulate the expression level of serum miR-221, and delay the drug resistance of gefitinib.

Key words: Lung cancer; Cinobufacin capsule; Gefitinib; miR-221; Drug resistance

肺癌是全球发病率和死亡率最高的恶性肿瘤,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancers, NSCLC)约占85%^[1]。由于缺乏成熟的早期诊断和筛查方案,大部分患者在初诊时已发展至晚期,五年生存率不到15%^[2]。近年来,以驱动基因为靶点的精准治疗为晚期NSCLC患者开启了“希望之门”,如第一代表皮生长因子受体酪氨酸酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)吉非替尼可显著提高EGFR突变患者的中位无进展生存期(progression free survival, PFS),降低死亡风险^[3],但不幸地是,几乎所有初治有效的患者均在一年之内产生耐药。尽管第三代EGFR-TKIs奥希替尼能够克服因T790M突变导致的耐药,c-MET抑制剂可克服因c-MET扩增导致的耐药^[4],但这些药物价格昂贵,临床检测耐药突变或扩增的费用高昂,且后续耐药机制更为复杂,因此,寻找可延缓或逆转吉非替尼获得性耐药的联合治疗方案是临床亟需解决的问题。本研究观察华蟾素胶囊联合吉非替尼对比单药吉非替尼一线治疗晚期EGFR突变的NSCLC的临床疗效、PFS、不良反应及血清miR-221相关表达水平,以期克服或延缓吉非替尼耐药提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 病例选择

1.1.1 诊断标准 NSCLC诊断参照《原发性肺癌诊疗规范(2018年版)》^[5]中相关标准,经病理学或脱落细胞学明确诊断。分期采用国际肺癌研究协会2016年第八版分期标准进行TNM分期^[6]。

1.1.2 纳入标准 ①符合NSCLC诊断标准,临床分期为不可手术的Ⅲb-Ⅳ期的初诊患者,未接受过化疗、放疗、靶向及中医药等治疗;②年龄为20~75岁;③ECOG-PS评分:0~1分,预计生存期大于3个月;④根据实体瘤疗效评价标准(RECIST 1.1)^[7],至少有一个可测量病灶;⑤组织学或细胞学或外周血EGFR基因检测为19外显子缺失突变或21外显子L858R突变;⑥无严重心、肝、肾等重要脏器功能异常;⑦知情同意,依从性好,病历资料完整。

1.1.3 排除标准 ①对吉非替尼或华蟾素胶囊过敏或有用药禁忌证者;②妊娠期及哺乳期妇女;③合并脑、脑膜或中枢神经系统转移者;④患有精神残疾或严重的情绪或精神障碍者。

1.1.4 脱落标准 ①治疗过程中因突然死亡或其他因素不能完成者;②依从性差;③资料不完整,无法疗效评估者。

1.2 资料来源 纳入2016年6月—2018年6月

就诊于新乡医学院第一附属医院肿瘤科的晚期 EGFR 突变的 NSCLC 患者 80 例,按照随机数字表法分为吉非替尼治疗组(对照组)和华蟾素胶囊联合吉非替尼治疗组(治疗组),每组 40 例。治疗期间,对照组脱落 3 例,治疗组脱落 2 例,最终纳入病例 75 例。两组患者在年龄、性别、EGFR 突变状态、吸烟史、ECOG-PS 评分、miR-221 表达水平等方面无统计学差异($P>0.05$)(见表 1)。本项目经新乡医学院第一附属医院伦理委员会批准(审批号:2015023)。

1.3 治疗方法 对照组给予吉非替尼(阿斯利康贸易有限公司,250 mg/次,每天一次,口服)治疗;治疗组在接受吉非替尼治疗的同时给予华蟾素胶囊(陕西东泰制药有限公司,500 mg/次,每天三次,口服)。两组患者接受治疗直至肿瘤进展而

终止。
1.4 观察指标及检测方法

1.4.1 疗效评估 两组患者接受治疗后,每 2 月行 CT 等相关检查进行疗效评估,根据 RECIST1.1 实体瘤疗效评价标准,分为完全缓解(complete response,CR)、部分缓解(partial response,PR)、疾病进展(progressive disease,PD)、疾病稳定(stable disease,SD)。客观缓解率(objective response rate,ORR)=(CR+PR)例数/总例数 $\times 100\%$,疾病控制率(disease control rate,DCR)=(CR+PR+SD)例数/总例数 $\times 100\%$ 。无进展生存时间(progression-free survival,PFS):从接收治疗开始,到疾病进展或因任何原因导致死亡的时间,研究结束时疾病未进展者,以最后一次肿瘤评估日期计算。

表 1 两组患者基线水平(n)

组别	n	性别		年龄 (岁)	吸烟史		ECOG/PS		临床分期		EGFR 突变		miR-221
		男	女		有	无	0~1	2	Ⅲb	Ⅳ	19Del	L858R	
对照组	37	20	17	62.6	20	17	32	5	10	27	19	18	3.01 \pm 0.02
治疗组	38	22	16	60.8	18	20	32	6	9	29	23	15	2.96 \pm 0.04
P 值		0.639		0.783	0.813		32		0.842		0.675		0.715

1.4.2 不良反应 根据美国国家癌症研究所(National Cancer Institute,NCI)毒副作用评价标准(CTCAE 4.03)^[8]对药物相关的皮疹、腹泻、肝功能损伤、间质性肺炎等不良反应进行评价。

1.4.3 血清 miR-221 表达水平 患者在接受治疗前采集空腹外周静脉血 4 mL,离心后收集血清,应用 miRNeasy Serum/Plasma Kit(QIAGEN,德国)提取血清中的 microRNA,检测血清 miR-221 表达水平,应用 SYBR Green PCR kit(QIAGEN,德国)检测 miR-221 表达水平,以 5s rRNA 为内参,microRNA-221-3p 引物为 5'-AGCTACATTGTCTGCTGGGTTTC-3',5s rRNA 的引物为上游:5'-TCTGATCTCGGAAGCTAAGCA-3',下游:5'-CCTACAGCACCCG

GTATTCC-3'。miR-221-3p 相对表达水平应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,数据以均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示,计量资料两组间比较采用独立样本 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,应用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,Log-rank 法比较组间差异,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 治疗 6 月后评估近期疗效。两组相比,ORR 无明显差异,但治疗组的 DCR 显著高于对照组($P<0.01$,见表 2)。

表 2 两组患者临床疗效比较[$n(\%)$]

组别	n	CR	PR	SD	PD	ORR(%)	DCR(%)
对照组	37	0(0.00)	23(62.10)	8(21.60)	3(8.11)	62.16	83.78
治疗组	38	0(0.00)	25(65.79)	10(26.32)	2(5.26)	65.79	92.11
P 值		0.326	0.285	0.043	0.618	0.002	

2.2 两组患者中位 PFS 比较 对照组的中位 PFS 为 10.1 个月(95% CI:8.7~12.3 个月),治疗组的中位 PFS 为 12.6 个月(95% CI:11.6~16.8 个月),两组相比,差异显著($P<0.01$,见图 1)。

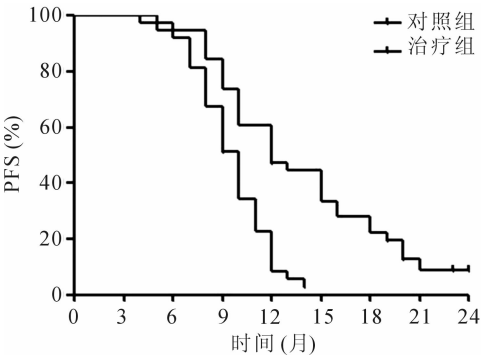


图 1 两组患者中位 PFS 比较

2.3 两组患者血清 miR-221 表达水平比较 对照组患者治疗前血清 miR-221 相对表达水平为 3.01 ± 0.02 ,疾病进展后 miR-221 相对表达水平为 8.05 ± 0.06 ,治疗前及耐药后相比,差异显著($P<0.01$);治疗组患者治疗前血清 miR-221 相对表达水平为 2.96 ± 0.04 ,疾病进展后 miR-221 相对表达水平为 6.32 ± 0.03 。治疗组患者耐药 miR-221 相对表达水平与对照组耐药后相比,显著下调($P<0.05$,见表 3)。

表 3 两组患者血清 miR-221 相对表达水比较

组别	n	治疗前	耐药后	P 值
对照组	37	3.01 ± 0.02	8.05 ± 0.06	<0.0001
治疗组	38	2.96 ± 0.04	6.32 ± 0.03	0.007
P 值	0.715	0.032		

2.4 两组患者不良反应比较 治疗后两组患者主要的不良反应为 I-II 级皮疹、腹泻、肝功能损伤,给予对症处理后,症状均缓解。两组患者均未发生药物相关性死亡和间质性肺炎。皮疹、腹泻、肝功能损伤的发生率两组相比,无明显差异($P>0.05$,见表 3)。

表 4 两组患者 I-II 级不良反应比较[n(%)]

组别	n	皮疹	腹泻	肝功能损伤
对照组	37	7(18.9)	9(24.3)	5(13.5)
治疗组	38	6(15.8)	10(26.3)	4(10.5)
P 值		0.619	0.089	

3 讨论

第一代 EGFR-TKI 吉非替尼对 EGFR 突变的晚期非小细胞肺癌患者有良好的临床疗效,目前

被美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network,NCCN)、中国临床肿瘤学会(Chinese Society of Clinical Oncology,CSCO)等指南推荐为晚期 EGFR 突变的 NSCLC 患者一线用药,但吉非替尼获得性耐药是严重限制患者临床获益的瓶颈,探索克服或延缓吉非替尼耐药是肺癌精准治疗时代亟待解决的问题。

华蟾素胶囊是由中药干蟾皮(中华大蟾蜍或黑眶蟾蜍等全皮)制成的口服制剂,具有“解毒,消肿,止痛”功效,被临床广泛用于治疗胰腺癌、骨肉瘤、肺癌等恶性肿瘤^[9-11]。药理研究发现,华蟾素胶囊的有效成分为蟾毒灵、华蟾酥毒基及脂蟾毒配基^[12]。课题组在前期实验研究中发现,蟾毒灵不仅具有显著的抗肺癌作用,而且可通过抑制 EGFR-PI3K/AKT 信号通路逆转吉非替尼耐药^[13],可通过阻断 HGF/cMET 通路克服阿法替尼耐药^[14],那么华蟾素胶囊在临床应用中是否可延缓或逆转吉非替尼耐药,目前未见相关报道。

本研究结果显示,华蟾素胶囊联合吉非替尼一线治疗 EGFR 突变的 NSCLC 患者,客观缓解率(ORR)与单用吉非替尼相比无明显差异,但是疾病控制率(DCR)明显提高(92.11% vs 83.78%),提示在近期疗效方面,华蟾素胶囊联合吉非替尼具有协同增效的作用。此外,华蟾素胶囊联合吉非替尼治疗后,患者的中位 PFS 为 12.6 个月,显著高于单用吉非替尼治疗的 10.1 个月,提示华蟾素胶囊可延缓吉非替尼耐药。在药物不良反应方面,本研究发现,华蟾素胶囊联合吉非替尼后,皮疹、腹泻及肝功能损伤发生率等方面与单用吉非替尼相比,无显著差异,提示华蟾素胶囊联合吉非替尼未增加吉非替尼的毒副作用,安全性良好。

近年来研究发现,miR-221 在肿瘤发生发展过程中起重要作用,如 Liu M^[15]、Zheng Q^[16]等研究显示,在肝癌、前列腺癌中 miR-221 的表达水平显著升高,提示其具有致癌作用;此外,课题组在前期的研究中也发现 miR-221 过表达可诱导吉非替尼耐药^[17],提示抑制 miR-221 可能是逆转吉非替尼耐药的有效手段。因此,本研究观察 miR-221 在吉非替尼治疗过程中变化情况及华蟾素胶囊对 miR-221 表达的影响,结果显示,吉非替尼耐药后血清 miR-221 表达水平显著高于耐药前,华蟾素胶

囊联合吉非替尼治疗组血清 miR-221 表达水平显著低于单用吉非替尼治疗组,提示华蟾素胶囊延缓吉非替尼耐药的机制可能与下调 miR-221 表达水平有关。

综上所述,华蟾素胶囊联合吉非替尼可提高晚期 EGFR 突变 NSCLC 患者 DCR 和中位 PFS,降低血清 miR-221 表达水平,未增加吉非替尼的毒副作用,安全性良好,是一种值得临床推广的联合治疗方案。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] Ohashi K, Maruyka YE, Michor F, et al. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-resistant disease [J]. J Clin Oncol, 2013, 31(8): 1070-1080.
- [3] Maione P, Sacco PC, Sgambato A, et al. Overcoming resistance to targeted therapies in NSCLC: current approaches and clinical application [J]. Ther Adv Med Oncol, 2015, 7(5): 263-273.
- [4] Popat S. Osimertinib as First-Line Treatment in EGFR-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer [J]. N Engl J Med, 2018, 378(2): 192-193.
- [5] 原发性肺癌诊疗规范(2018 年版) [J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2019, 5(3): 100-120.
- [6] Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer [J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(1): 39-51.
- [7] Eisenhauer EA, 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.
- [8] Shimizu T, Saijo N. Common toxicity criteria: version 2.0, an improved reference for grading the adverse reaction of cancer treatment [J]. Nihon Rinsho, 2003, 61(6): 937-942.
- [9] 樊李瀛, 衡立松, 段虹昊, 等. 骨肉瘤患者肿瘤组织中 PLOD2 基因表达水平及其对肿瘤细胞迁移/侵袭的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(24): 2589-2593.
- [10] 朱必胜, 田红岸, 舒诚荣, 等. 华蟾素胶囊联合放疗治疗晚期胰腺癌的临床效果观察 [J]. 中国医药, 2020, 15(5): 749-752.
- [11] 李现忠. 华蟾素胶囊联合化疗对晚期非小细胞肺癌患者的疗效 [J]. 实用中西医结合临床, 2020, 20(3): 47-48.
- [12] 陈进宝, 殷佩浩. 蟾毒灵抗肿瘤作用分子机制的研究进展 [J]. 河北中医, 2019, 41(1): 140-145.
- [13] Kang XH, Xu ZY, Gong YB, et al. Bufalin Reverses HGF-Induced Resistance to EGFR-TKIs in EGFR Mutant Lung Cancer Cells via Blockage of Met/PI3k/Akt Pathway and Induction of Apoptosis [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013: 243859.
- [14] 康小红, 路平, 崔艳慧, 等. 蟾毒灵对肝细胞生长因子诱导的阿法替尼耐药的逆转作用 [J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(7): 490-496.
- [15] Liu M, Liu J, Wang L, et al. Association of serum microRNA expression in hepatocellular carcinomas treated with transarterial chemoembolization and patient survival [J]. PLoS One, 2014, (9): e109347.
- [16] Zheng Q, Peskoe SB, Ribas J, et al. Investigation of miR-21, miR-141, and miR-221 expression levels in prostate adenocarcinoma for associated risk of recurrence after radical prostatectomy [J]. Prostate, 2014, (74): 1655-1662.
- [17] 高园园, 康小红, 王颖, 等. 微 RNA-221 诱导 PC-9 肺癌细胞对吉非替尼的耐药机制 [J]. 中华医学杂志, 2018, 98(42): 3447-3452.

(收稿日期: 2021-04-19 编辑: 方亚利)