

[文章编号] 1007-385X(2004)02-0142-03

## 重组人肿瘤坏死因子 $\alpha$ 衍生物 3a( rh-TNF $\alpha$ D3a )联合化疗药物治疗晚期恶性肿瘤临床研究

余新民<sup>1</sup>, 徐农<sup>2</sup>, 范云<sup>1</sup>, 黄建瑾<sup>3</sup>, 张沂平<sup>1</sup>, 朱利明<sup>1</sup>, 马胜林<sup>1</sup>(1. 浙江省肿瘤医院, 杭州 310022; 2. 浙江大学医学院附属第一医院, 杭州 310003; 3. 浙江大学医学院附属第二医院; 杭州 310009)

天然肿瘤坏死因子(natural tumor necrosis factor, nTNF)是激活的单核-巨噬细胞所产生的一种细胞素。由于 nTNF 的用量大和毒性作用强,其在临床的应用受到限制<sup>[1]</sup>,因此国内外学者均广泛应用基因或蛋白工程技术对天然肿瘤坏死因子(nTNF)进行改造构以期降低其毒副作用,增加临床疗效。第二军医大学应用蛋白质工程技术改造 nTNF 制成的重组改构人肿瘤坏死因子 $\alpha$ 衍生物 3a( rh-TNF $\alpha$ D3a)为具有高活性,低毒性的基因工程 TNF。根据国家卫生部(98)制申体第 09 号文件批示,由天津市肿瘤医院临床药理基地组织对常州药业股份有限公司申报的 rh-TNF $\alpha$ D3a 进行 III 期临床观察。现将我们 3 家医院研究结果报告如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验设计

本试验为多中心临床研究,采用平行、随机、阳性对照的研究方法。全部试验病例 32 例,试验组 16 例、对照组 16 例,包括晚期乳腺癌、非霍奇金氏淋巴瘤 2 个病种。

##### 1.1.1 病例入选标准:

① 经病理组织学或细胞学确诊的晚期复治乳腺癌、非霍奇金氏淋巴瘤患者;② 年龄 18 ~ 75 岁;③ KPS 评分  $\geq 60$  分,预计生存期 3 个月以上;④ 有可测量病灶(CT  $\geq 2$  cm $\phi$ , 体检  $\geq 1$  cm $\phi$ , B 超  $\geq 1$  cm $\phi$ );⑤ 距上一化疗周期间隔至少 1 个月;⑥ 入组前 WB  $\geq 4.0 \times 10^9$ /L, Plat  $\geq 100 \times 10^9$ /L, Hb  $\geq 10$  g/L;⑦ 肝功能(ALT, AST 及 ALP  $\leq 1.25$  倍正常值上限),肾功能(BUN, Cr  $\leq 1.25$  倍正常值上限),心电图检查正常;⑧ 签署知情同意书。

##### 1.1.2 病例排除标准

① 骨髓造血功能异常;② 怀孕或哺乳期妇女;③ 不符合入选标准;④ 单纯脑转移或有精神疾患者。

##### 1.1.3 病例剔除标准

① 治疗方案与剂量与本研究计划不一致者;② 病

人依从性差,未获得有效数据;③ 研究期间合并其它抗肿瘤治疗者。

#### 1.1.4 药物来源

试验用 rh-TNF $\alpha$ D3a 由常州药业股份有限公司提供,剂型为粉针剂,规格为每支  $1 \times 10^6$  U, 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

#### 1.2 试验方案

1.2.1 试验组:乳腺癌:① TA 方案:紫杉醇 135 mg/m<sup>2</sup>第 1 天,阿霉素 50 mg/m<sup>2</sup>第 1 天(或表阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup>第 1 天),每 21 天为 1 周期,连续 2 个周期。② NP 方案:顺氯氨铂 80 mg/m<sup>2</sup>第 1 天(或分 2 ~ 3 d)长春瑞滨 25 mg/m<sup>2</sup>第 1 天,5,每 21 天为 1 周期,连续 2 个周期。非霍奇金氏淋巴瘤:① DICE 方案:异环磷酰胺 1 g/m<sup>2</sup>第 1 ~ 4 天,顺氯氨铂 25 mg/m<sup>2</sup>第 1 ~ 4 天,足叶乙甙 100 mg/m<sup>2</sup>第 1 ~ 4 天,地塞米松 10 mg/m<sup>2</sup>第 1 ~ 4 天,每 21 ~ 28 天为 1 周期,连续 2 个周期。② PE 方案:顺氯氨铂 30 mg/m<sup>2</sup>第 1 ~ 3,足叶乙甙 60 mg/m<sup>2</sup>第 1 ~ 5 天,每 21 天为 1 周期,连续 2 个周期。rh-TNF $\alpha$ D3a 的每次给药剂量为 200 万 IU,加入生理盐水 500 ml 中,静滴 4 h,于化疗结束后 24 h 开始,连续给药 10 d。以上方案需至少完成 2 个周期,有效病例可重复上述治疗。

#### 1.2.2 对照组

提前每个病种化疗方案同试验组,每例至少完成 2 个周期,观察疗效。

#### 1.2.3 疗效评价标准

完全缓解(CR):可见的病变完全消失,时间不少于 4 周。部分缓解(PR):肿块缩小 50% 以上,时间不少于 4 周。无变化(NC):肿块缩小不及 50% 或增大未超过 25%。进展(PD):一个或多个病变增大 25% 以上或出现新病变。

#### 1.2.4 药物毒副反应按 WHO 标准分度

#### 1.2.5 统计学处理

病例的一般资料比较用  $X^2$  检验,临床疗效比较用  $X^2$  检验或精确概率法,与 TNF 有关的不良反就应分析

用  $X^2$ 。

## 2 结果与讨论

2.1 对照组病例的一般资料比较:共纳入 32 例,试验组和对照组各 16 例,两组患者均为至少接受一种化疗方案治疗后复发或进展的晚期恶性淋巴瘤或乳腺癌患者,两组患者性别、年龄、治疗前 KPS 评分以及病种分布均无显著性差异 ( $P > 0.05$ , 见表 1)。

表 1 试验组与对照组病例的一般资料

项目	试验组	对照组
男性	6	9
女性	10	7
年龄范围	20 ~ 69	32 ~ 65
中位年龄	46	45
治疗前 KPS 评分中位评分	80.1 ± 7.9	79.5 ± 8.0
恶性淋巴瘤	9	9
乳腺癌	7	7

试验组与对照组 ( $P > 0.05$ )

## 2.2 临床疗效

2.2.1 试验组 16 例患者,其中可评价疗效 15 例,非霍奇金氏淋巴瘤出组 1 例,总有效率为 40.0% (6/15),霍奇金氏淋巴瘤 8 例,有效率 37.5% (3/8);乳腺癌 7 例,有效率 42.9% (3/7)。对照组 16 例,其中可评价疗效 16 例,总有效率为 6.3% (1/16),霍奇金氏淋巴瘤 8 例,有效率 0.0% (0/9);乳腺癌 7 例,有效率 14.3% (1/7)。试验组与对照组疗效比较,非霍奇金氏淋巴瘤试验组疗效与对照组相比有统计学显著性差异,乳腺癌试验组疗效与对照组相比略高但无统计学显著性差异(见表 2)。

表 2 试验组与对照组疗效比较

分组	病例数	有效(CR + PR)	P
非霍奇金淋巴瘤	试验组	3	0.04
	对照组	0	
乳腺癌	试验组	3	0.23
	对照组	1	

2.2.2 2 组不良反应比较,试验组主要不良把应为发热(12 例)、寒战(10 例)、I 度血压下降 2 例、III 度粒细胞减少症(3 例),发热、寒战、低血压与 TNF 输注相

关,均无需特殊处理,可自行缓解。对照组主要不良反应为 III 度粒细胞减少症 2 例,2 组其它不良把应均少见。

## 2.3 讨论

肿瘤坏死因子(TNF)是激活的单核/巨噬细胞所产生的一种细胞素。研究表明 TNF 的抗肿瘤作用主要通过以下方式实现:① 可特异性地直接杀伤肿瘤细胞,② 诱导肿瘤细胞凋亡,③ 逆转肿瘤细胞多药耐药,增加化疗敏感性,④ 抗肿瘤血管生成,⑤ 增加免疫效应细胞对肿瘤细胞的杀伤作用<sup>[2,3]</sup>。但赵文华等<sup>[4]</sup>报道免疫功能的改善与临床疗效缺乏相关性。然而,由于天然肿瘤坏死因子(nTNF)纯度低,用量大,毒性作用强等诸多因素的影响,主要用于隔离性肢体和肝脏灌注治疗<sup>[1]</sup>,限制了天然肿瘤坏死因子(nTNF)在临床上的推广应用。第二军医大学应用生物工程技术改造 nTNF 制成的重组人肿瘤坏死因子  $\alpha$  衍生物 3a(rh-TNF $\alpha$ D3a)为一高活性,低毒性的基因工程 TNF 为克服天然 TNF 的毒性,提高临床疗效奠定了基础。

本研究采用产新药国重组人肿瘤坏死因子  $\alpha$  衍生物 3a(rh-TNF $\alpha$ D3a)与化疗药联合治疗乳腺癌,非霍奇金氏淋巴瘤,比单用化疗治疗显示了一定的差异。其中联合治疗乳腺癌有效率为 42.9%,单化疗治疗有效率为 14.3%,但统计学分析无显著差异。联合治疗非霍奇金氏淋巴瘤有效率为 37.5%,单化疗治疗有效率为 0%,统计学分析有显著差异。总计:重组人肿瘤坏死因子  $\alpha$  衍生物 3a(rh-TNF $\alpha$ D3a)与化疗药联合治疗有效率为 40%,单用化疗治疗有效率为 6.25%,但统计学分析无显著差异。显示 rh-TNF $\alpha$ D3a 与化学治疗药物联合应用有一定的协同作用和化疗增敏作用。增加的与 rh-TNF $\alpha$ D3a 输注相关的毒副作用寒战、发热多为轻度,且呈一过性,无特殊处理即可缓解。

综上所述,rh-TNF $\alpha$ D3a 联合化疗治疗晚期复治乳腺癌,非霍奇金氏淋巴瘤与单用化疗相比显示一定的协同和化疗增敏作用。rh-TNF $\alpha$ D3a 的毒性反应轻微,主要为寒战、发热,但多为 I ~ II 度,病人可耐受,其他毒性反应少见且轻微。临床上安全可靠。

[关键词] 重组人肿瘤坏死因子;联合化疗;非霍奇金氏淋巴瘤;乳腺癌;临床试验

[中图分类号] R730.51 [文献标识码] A

## [参考文献]

- [1] 陆琼君,曹 伟,喻德洪. 肿瘤坏死因子在肿瘤研究和治疗领域中的新进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2002, 9(4): 297-299.

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2004 )02-0144-02

## 鼻咽癌患者血循环 Endostatin 的水平

刘陶文<sup>1</sup>, 陈煌基<sup>1</sup>, 常捷燕<sup>2</sup>, 李西融<sup>3</sup>( 1. 广西壮族自治区南溪山医院肿瘤科, 桂林 541002; 2. 桂林市人民医院耳鼻喉科, 桂林 541002; 3. 广西壮族自治区南溪山医院病理科, 桂林 541002 )

血管生成是恶性肿瘤生长、转移的关键环节。Endostatin 是迄今发现作用最强的抑制血管生长因子, 国外学者对几种恶性肿瘤患者血液 Endostatin 的检测结果很不一致<sup>[1-3]</sup>, 而我国尚缺乏这方面的研究。已观察到鼻咽癌( Nasopharyngeal Carcinoma, NPC )患者血清中血管内皮生长因子水平升高, 但抑制血管生长因子的存在情况未见报道。本研究检测了 140 例 NPC 患者血循环 Endostatin 水平并探讨其对 NPC 转归的影响。

### 1 材料与与方法

#### 1.1 观察对象

2002 年 5 月 ~ 2003 年 8 月广西壮族自治区南溪山医院肿瘤科收治的 140 例 NPC 患者, 其中男性 110 例, 女性 30 例, 年龄 18 ~ 74 岁, 中位年龄 46 岁。其中初治者 63 例( 治疗前组 ), 按 1992 年福州会议关于 NPC 的 TNM 分期标准进行分期: I 期 1 例, II 期 18 例, III 期 29 例, IV a 期 15 例。复发组 36 例: 其中单纯原发灶和( 或 ) 颈部复发 21 例, 远处转移 15 例( 以骨、肝、肺为主 )。完全缓解( CR ) 41 例。并排除患者在观察期间存在明显炎症或组织创伤。

健康对照 40 例为我院健康体检合格者, 男性 31 例, 女性 9 例, 年龄 21 ~ 67 岁, 中位年龄 44 岁。

#### 1.2 标本采集

分别取 2 ml 外周静脉血, 置室温自然凝固后, 2 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 置 -80℃ 保存, 备测。

#### 1.3 血清 Endostatin 的测定方法

严格按照商品化的人类 Endostatin 检测试剂盒( 美国 CHEMICON 公司产品, 购自深圳晶美生物工程有限公司 ) 说明书进行操作。该检测原理是采用酶免

疫吸附试验( EIA ) 测定游离状态的人类 Endostatin 蛋白, 该试剂盒说明书所标注的检测灵敏性为 1.95 ng/ml。检测仪器为 Labosystems Dragon Wellscan MK3 酶标仪( 芬兰产 )。

#### 1.4 统计学处理

Endostatin 测定值以(  $\bar{x} \pm s$  ) 表示, 多组间差异采用方差分析、*q* 检验, 两组间的差异采用 *t* 检验。以 *P* < 0.05 判定为差异有显著性意义。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 健康对照和 NPC 患者血清 Endostatin 水平

63 例初治、41 例 CR、36 例复发 NPC 患者的血清 Endostatin 水平分别为: (  $295.6 \pm 50.2$  ), (  $308.9 \pm 47.4$  ), (  $316.4 \pm 39.2$  )  $\mu\text{g/L}$ , 均显著高于健康对照的 (  $250.9 \pm 25.4$  )  $\mu\text{g/L}$  ( *P* < 0.01 ) ( *F* = 17.91, *P* < 0.01 )。上述各组患者的相互比较其差异无显著性意义 ( *P* > 0.05 )。

#### 2.2 治疗前不同临床分期 NPC 患者血清 Endostatin 水平

临床 II, III 和 IV a 期 NPC 患者血清 Endostatin 水平均显著高于健康对照组 ( *P* < 0.05 ) ( *F* = 4.59, *P* < 0.01 )。尽管 Endostatin 水平随着 TNM 分期的提高而呈上升趋势, 但上述各期相互比较其差异无显著性意义 ( *P* > 0.05, 表 1 )。

[ 基金项目 ] 广西壮族自治区科学技术攻关项目( 桂科攻 0322025-4 ) 和桂林市科学技术攻关项目( 攻关 20020431 ) 基金资助

[ 2 ] Lasek W, Giermasz A, Kue K, et al. Potentiation of antitumor effect of actinomycin D by tumor necrosis factor alpha in mice: Correlation *in vitro* and *in vivo* result[ J ]. Int J cancer, 1996, 66 ( 3 ): 374-379.

[ 3 ] Lee KY, Chang W, Qiu D, et al. PG490( triptolide ) cooperates with tumor necrosis factor- $\alpha$  to induce apoptosis in tumor cells

[ J ]. J Biol Chem, 1999, 274( 19 ): 134521-134555.

[ 4 ] 赵文华, 阎昭, 佟仲生, 等. 192 例恶性肿瘤患者应用重组人肿瘤坏死因子-免疫功能与疗效的相关性分析[ J ]. 中国肿瘤临床, 2003, 30( 4 ): 276 - 279.

[ 收稿日期 ] 2004 - 01 - 20

[ 修回日期 ] 2004 - 03 - 08

表1 治疗前临床各期 NPC 患者血清 Endostatin 水平

分期	例数	Endostatin( $\mu\text{g/L}$ )
健康对照	40	250.9 $\pm$ 25.4
I	1	333.8
II	18	282.4 $\pm$ 34.5*
III	29	289.3 $\pm$ 75.3*
IVa	15	292.7 $\pm$ 49.5*

\* 与健康对照比较  $P < 0.05$ 

### 2.3 局部复发和远处转移 NPC 患者血清 Endostatin 水平的比较

36 例复发性 NPC 患者中, 21 例局部复发者的血清 Endostatin 水平为( 306.7  $\pm$  32.8 ) $\mu\text{g/L}$ , 15 例远处转移者为( 329.9  $\pm$  43.2 ) $\mu\text{g/L}$  (  $P > 0.05$  )。

### 2.4 血清 Endostatin 水平对 NPC 预后的影响

以血清 Endostatin 值大于健康对照的  $\bar{x} + 2s$ , 即相当于 300  $\mu\text{g/L}$  定为其水平升高, 则 CR 组有 22 例( 22/41, 53.7% ), 局部复发组有 11 例( 11/21, 52.3% ), 远处转移组有 10 例( 10/15, 66.7% )。对患者进行 3~12 个月随访, 显示血清 Endostatin 水平高于上述界值的 CR 患者更易复发, 而处于高水平 Endostatin 的复发性 NPC 患者的疗效及预后较差。

### 2.5 讨论

近 30 年来, 研究证实新生血管形成是恶性肿瘤进展的生物学基础。Endostatin 是胶原 X VIII 羧基端的一个分子量为 20 kD 的片段, 国内学者称之为内皮抑素。已明确弹性蛋白酶和胱氨酸蛋白酶 Cathepsin L 可裂解胶原 X VIII 而产生 Endostatin。Endostatin 可诱导血管内皮细胞凋亡, 使其  $G_1$  期阻滞和抑制该细胞迁移, 而非直接影响肿瘤细胞的生长。通过抑制肿瘤血管生长, 导致肿瘤缺氧和营养而凋亡、坏死。

本研究结果显示, 治疗前、完全缓解或复发状态 NPC 患者血清 Endostatin 水平均显著高于健康对照。而随着肿瘤进展, 尤其是远处转移, 患者血清 Endostatin 水平呈上升趋势, 近似于最近国内学者对荷 NPC 裸鼠血浆 Endostatin 含量的检测<sup>[4]</sup>。Feldman 等<sup>[1]</sup>观察到软组织肉瘤患者血清 Endostatin 水平升高。这些结

果均提示血液 Endostatin 水平与恶性肿瘤的侵袭转移及结局有关。但有报道外阴鳞癌和肝细胞癌患者血清 Endostatin 水平不升高<sup>[2]</sup>。而 Bertolini 等<sup>[3]</sup>观察到 CR 与复发状态 NHL 患者血清 Endostatin 水平无差异, 此与本组 NPC 患者的研究结果一致。不同恶性肿瘤对 Endostatin 产生水平的不一致性可能受多种因素影响, 包括肿瘤组织的起源、类型及正常组织细胞成份的比例。

NPC 患者血液 Endostatin 水平升高的原因未明, 可能是由于肿瘤发展伴随更多的蛋白酶被激活而裂解胶原 X VIII, 继而使 Endostatin 生成增加; 而且, 也正是同样的蛋白酶在促血管生成中起主要作用。此外, 机体对肿瘤的防御性反应及肿瘤细胞本身也可能产生 Endostatin。值得重视的是, Ratel 等<sup>[5]</sup>检测到恶性肿瘤患者血清中存在内源性抗 Endostatin 抗体, 这提示机体对肿瘤组织高表达 Endostatin 产生体液免疫反应, 这无疑有助于肿瘤的侵袭以及削弱应用 Endostatin 治疗恶性肿瘤的生物学效应。而且, 这种抗体可能会干扰对 Endostatin 水平的免疫学检测。Endostatin 及其抗体在 NPC 患者体内的存在关系及其临床意义如何, 尚值得进一步探讨。

[关键词] 鼻咽癌; Endostatin; 血管生长因子

[中图分类号] R739.63; R730.43 [文献标识码] A

### [参考文献]

- [1] Feldman AL, Pak HO, Yang JC, *et al.* Serum endostatin levels are elevated in patients with soft tissue sarcoma [ J ]. *Cancer*, 2001, 91(8): 1525-1528.
- [2] Tamagata M, Shiratori Y, Dan Y, *et al.* Serum endostatin levels in patients with hepatocellular carcinoma[ J ]. *Ann Oncol*, 2000, 11(6): 761-762.
- [3] Bertolini F, Paolucci M, Peccatori F, *et al.* Angiogenic growth factors and endostatin in non-Hodgkin's lymphoma [ J ]. *Brit J Haematol*, 1999, 106(2): 504-509.
- [4] 杨惠玲, 余妙容, 马志楷, 等. 荷人鼻咽癌裸鼠内皮抑素的水平变化[ J ]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(10): 1238-1240.
- [5] Ratel D, Nasser V, Dupre I, *et al.* Antibodies to endostatin in a multifocal glioblastoma patient [ J ]. *Lancet*, 2000, 356(9242): 1656-1657.

[收稿日期] 2003-12-09

[修回日期] 2004-03-20