

[文章编号] 1671-587X(2012)01-0135-04

ATP 生物荧光肿瘤体外药敏检测技术在治疗非小细胞肺癌 胸水中的临床应用

王 静, 赵建军, 李运霞, 谭 平, 徐珊珊
(吉林大学中日联谊医院呼吸科, 吉林 长春 130033)

[摘 要] 目的: 研究三磷酸腺苷-生物荧光肿瘤体外药敏检测技术(ATP-TCA)在非小细胞肺癌(NSCLC)化疗中的应用, 为临床治疗方案的选择提供依据。方法: 选择 52 例伴有胸水的 NSCLC 患者, 根据患者及家属治疗意愿分为经验治疗组和药敏治疗组。经验治疗组 20 例患者根据经验给予(紫杉醇联合卡铂, PTX+CBP)标准方案全身化疗; 药敏治疗组 32 例患者对胸水标本分别进行顺铂(DDP)、诺维本(NVB)、紫杉醇(PTX)、卡铂(CBP)、健择(GEM)、PTX+CBP、NVB+CBP、GEM + DDP 体外药敏检测, 根据体外药敏检测结果选用化疗方案, 比较 2 组患者治疗有效率。结果: 体外药敏试验, 单一用药中 NVB 和 PTX 对 NSCLC 的体外敏感率最高, 均为 28.1%; GEM 的体外敏感率次之, 为 25%; CBP 的体外敏感率为 21.9%; DDP 的体外敏感率最低, 为 17.6%。联合用药方案显示较好的治疗效果, 其中 GEM + DDP 的体外敏感率最高, 达 55.9%; PTX+CBP 的体外敏感率次之, 达 50%; NVB+CBP 的体外敏感率最低, 为 40.6%。药敏治疗组患者有效率为 65.6%, 经验治疗组有效率为 40.0%, 两组有效率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 不同化疗药物对 NSCLC 的体外敏感率不同; 根据药敏试验结果选择化疗方案可取得更好的临床治疗效果。

[关键词] 三磷酸腺苷-生物荧光肿瘤体外药敏检测技术; 癌, 非小细胞肺; 体外药敏试验; 胸水

[中图分类号] R734.2 [文献标志码] B

Clinical application of ATP - tumor chemosensitivity assay of *in vitro* susceptibility test in treatment of pleural fluid in patients with non-small cell lung cancer

WANG Jing, ZHAO Jian-jun, LI Yun-xia, TAN Ping, XU Shan-shan

(Department of Respiratory Medicine, China-Japan Union Hospital, Jilin University, Changchun 130033, China)

Abstract: **Objective** To study the application of ATP-tumor chemosensitivity assay of *in vitro* susceptibility test in the chemotherapy of non-small cell lung cancer (NSCLC), and provide basis for selection of clinical therapy program. **Methods** 52 samples of NSCLC with pleural fluid were selected and divided into two groups. The patients in experience treatment group ($n=20$) were given the standard program based on experience [Paclitaxel (PTX) + Caboplatin (CBP)]; the pleural fluid specimens in susceptibility treatment group ($n=32$) were given *in vitro* susceptibility test for cisplatin (DDP), navelbine (NVB), PTX, CBP, gemcitabine (GEM), PTX+CBP, navelbine and NVB+CBP, GEM + DDP, the chemotherapy program was selected according to the results of *in vitro* susceptibility test; and the efficiency was compared between two groups. **Results** A single medication, NVB and PTX had the highest efficiency of 28.1% to NSCLC *in vitro*, the efficiency of GEM was 25%, the efficiency of CBP was 21.95%, the efficiency (17.6%) of DDP was the lowest. Combined program showed good

[收稿日期] 2011-09-07

[基金项目] 吉林省长春市科技局科技计划项目资助课题(08SF48)

[作者简介] 王 静(1976-), 女, 山东省新泰市人, 主治医师, 医学博士, 主要从事慢性阻塞性肺病发病机制的研究。

[通信作者] 谭 平(Tel: 0431-84995860, E-mail: tanping_jd@126.com)

therapeutic effect, in which GEM + DDP had the highest efficiency of 55.9% *in vitro*, and PTX + CBP up to 50%. NVB+CBP had the lowest efficiency (40.6%) *in vitro*. The efficiency (65.6%) in susceptibility treatment group was higher compared with experience treatment group (40.0%) ($P < 0.05$). **Conclusion** The efficiencies of different chemotherapy drugs for NSCLC *in vitro* are different. The chemotherapy program based on susceptibility test can achieve better clinical efficacy than experience chemotherapy program.

Key words: adenosine-triphosphate-tumor chemosensitivity assay; cancer, non-small cell lung; *in vitro* susceptibility test; pleural fluid

肿瘤化学治疗是治疗肿瘤的主要手段之一, 临床上肿瘤患者的化疗存在着明显的个体差异, 不同个体肿瘤组织对同一化疗药物或化疗方案反应性不同, 因此肿瘤化疗疗效仍然较低。有效提高肿瘤化疗疗效的关键是能在患者化疗前检测出该患者肿瘤细胞对药物的敏感性, 筛选相对有效的抗肿瘤药物, 提高化疗药物的针对性, 准确预测治疗效果。三磷酸腺苷-生物荧光肿瘤体外药敏检测技术(adenosine-triphosphate tumor chemosensitivity assay, ATP-TCA)是一种先进的肿瘤体外药敏检测技术, 国内外在临床肿瘤治疗研究和药物筛选研发中已广泛应用^[1-2]。目前国内已有用于指导乳腺癌^[3]、胃癌^[4]、肠癌^[5]等实体瘤患者的化疗方案筛选的文献报道, 但在非小细胞肺癌(non-small cell carcinoma, NSCLC)胸水患者中应用的报道较少^[6]。本研究应用 ATP-TCA 技术, 体外检测 32 例患者胸水标本对 5 种抗癌药的药物敏感性, 比较根据体外药敏试验选择治疗方案与经验性选用治疗方案的临床治疗效果, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 对象 胸水标本来源于 2008 年 1 月—2009 年 5 月本院住院且伴有胸水的 NSCLC 患者 52 例, 男 26 例, 女 26 例, 患者年龄 40~72 岁, 平均 54.3 岁。患者均经胸水定性检查明确细胞类型为腺癌, 肿瘤临床分期采用国际肺癌研究协会(IASLC) 2009 年第 7 版分期标准(IASLC 2009)^[7], 均为 IV 期。

1.2 主要试剂及仪器 ATP 生物荧光肿瘤药物敏感性检测试剂盒为北京金紫晶生物医药技术有限公司产品。MPL21 型荧光测定仪为德国 Berthold 公司产品。选用诺维本(Navelbine, NVB, 法国皮尔伯制药公司产品)、健择(Gemzer, GEM, LILLY FRANCE 公司产品)、紫杉醇(Paclitaxel, PTX, Bristol Myers Squibb SRL 公司产品)分别与顺铂(Cisplatin, DDP, 江苏豪森

药业公司产品)、卡铂(Caboplatin, CBP, 齐鲁制药公司产品)联合用药。

1.3 药敏试验方法 无菌取胸腔积液标本 100~200 mL, 作抗凝处理。细胞接种于 96 孔板, 加不同浓度的待测药物(DDP, NVB, CBP, GEM, PTX, PTX+CBP, NVB+CBP, GEM+CBP), 并设无药对照和最大抑制对照(本底)。培养 5 d, 提取 ATP 后加荧光素和荧光酶混合液, 在荧光扫描仪上测定荧光强度, 将结果传输计算机, 经配套分析软件自动计算药物各浓度抑制率、绘制抑制曲线和 IC_{50} 、 IC_{90} , 按照设定好的评估标准评估药物作用。

1.4 患者分组和治疗方法 根据患者及家属的意愿将患者分为经验治疗组[20 例患者根据经验给予标准方案(PTX-CBP)全身化疗]和药敏治疗组(32 例患者根据药敏检测结果选用化疗方案), 治疗 2 周期后进行疗效的评价。两组患者性别、年龄差异无统计学意义。

1.5 结果判定标准 ATP-TCA 结果判定参考 Kurbacher 等^[8]和周载平等^[9]标准, 根据药物的血浆峰值浓度(plasma peak concentration, PPC)将药物对肿瘤的作用分为 4 个等级: 强敏感(SS), $IC_{50} < 25\% \text{ PPC}$ 及 $IC_{90} < 100\% \text{ PPC}$; 中度敏感(IS), $IC_{50} < 25\% \text{ PPC}$ 及 $IC_{90} > 100\% \text{ PPC}$; 轻度敏感(MS), $IC_{50} > 25\% \text{ PPC}$ 及 $IC_{90} < 100\% \text{ PPC}$; 耐药(R), $IC_{50} > 25\% \text{ PPC}$ 及 $IC_{90} > 100\% \text{ PPC}$ 。SS 和 IS 为在体外敏感, MS 和 R 为在体外无效, 计算敏感率。药物在体内的临床疗效按照 WHO 统一标准评价^[6], 分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、无变化(NC)、进展(PD)。CR 和 PR 均为临床治疗有效, NC 和 PD 则为临床治疗无效, 计算临床有效率。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 10.0 统计软件处理, 体外敏感率和临床有效率组间比较采用卡方检验。

2 结 果

2.1 化疗药物对 NSCLC 患者胸水癌细胞的体外敏感率 药敏试验组中 32 例标本分别进行体外药敏检测, 5 种 8 组化疗药物 (DDP、NVB、CBP、GEM、PTX、PTX + CBP、NVB + CBP 和 GEM+CBP 对 32 例非小细胞肺癌的体外敏感率见表 1。单一用药中 NVB 和 PTX 对 NSCLC 的体外敏感率最高, 均为 28.1%; GEM 的体外敏感率次之, 为 25.0%; CBP 的体外敏感率为 21.9%, DDP 的体外敏感率最低, 为 17.6%。联合用药方案显示较好的治疗效果, 其中 GEM + DDP 的体外敏感率最高, 达 55.9%; PTX+CBP 的体外敏感率次之, 达 50%; NVB+CBP 的体外敏感率最低, 为 40.6%。

2.2 药敏治疗组与经验治疗组疗效比较 药敏试验组完全缓解率 0% (0/32), 部分缓解率 (NC)

65.6% (21/32), 总有效率为 65.6% (21/32), 经验治疗组完全缓解率 0% (0/20), 部分缓解率有效 40% (8/20), 总有效率 40.0% (8/20), 2 组有效率比较差异有统计学意义。见表 2。

表 1 8 组化疗药物对 NSCLC 患者胸水癌细胞体外敏感率比较

Tab.1 Comparison of efficiency *in vitro* of 8 groups of chemotherapy drugs in treatment of NSCLC patients

Drug	Sensitivity				Efficiency (η /%)
	SS	IS	MS	R	
DDP	1	5	10	16	17.6
NVB	3	6	9	14	28.1
CBP	2	5	18	7	21.9
GEM	3	5	19	5	25.0
PTX	4	5	18	5	28.1
PTX+CBP	5	12	7	8	50.0
NVB+CBP	4	9	15	4	40.6
GEM+CBP	4	14	6	8	55.9

表 2 药敏治疗组与经验治疗组疗效比较

Tab.2 Comparison of efficacy between susceptibility treatment group and experience treatment group [$n(\eta/\%)$]

Group	n	Efficacy of chemotherapy				Efficiency
		CR	PR	NC	PD	
Susceptibility treatment	32	0	21(65.6)	8(25.0)	3(9.3)	21(65.6)*
Experience treatment	20	0	8(40.0)	6(30.0)	6(30.0)	8(40.0)

* $P < 0.05$ compared with experience treatment group.

3 讨 论

恶性胸水是肺癌常见症状之一, 临床治疗比较困难。由于患者个体差异以及肿瘤细胞耐药性突变, 选用合适的药物是肺癌患者治疗的关键。由于癌性胸水易于取材, 不易污染, 肿瘤细胞易于纯化等优点, 可作为肺癌患者体外药敏试验的理想标本。多年来, 医学界建立的各种体外药敏试验为肿瘤的临床个体化治疗提供越来越多的选择, 寻找与临床相关性好、敏感、标准化、快速、简易的治疗方法是药敏试验的方向。ATP-TCA 是近年来发展起来的药敏检测法, 其理论为 ATP 是活细胞的基本能量单位, 当细胞的代谢受损时, ATP 合成下降, 细胞死亡时受酶的作用, ATP 迅速水解消失, ATP 水平与活细胞数量呈正相关关系, 因此测定细胞内源性 ATP 含量, 可反映细胞活性和活细胞的数量。ATP-TCA 法是通过检测细胞内 ATP 荧光素-荧光素酶复合物作用产生可测荧光 (波长 562 nm), 经测定荧光值计算出化疗药物对肿瘤细胞生长的抑制作用^[10]。ATP-TCA 是一种测定胞

内 ATP 含量的技术; 当细胞死亡后, 细胞内 ATP 被迅速水解, 测得的 ATP 水平可以反映出存活细胞量; 能反应出药物对不同细胞周期的作用, 同时该方法可检测出多种药物及同种药物各种不同浓度的杀伤作用^[11]。应用该技术可大大提高肿瘤治疗的针对性和疗效。

本研究对 32 例 NSCLC 患者胸水标本进行了体外药敏检测, 32 例 NSCLC 胸水患者体外对 DDP、NVB、PTX、CBP 和 GEM 敏感性不同, 单一用药中 NVB 和 PTX 对 NSCLC 的体外敏感率最高, 联合用药方案中 GEM + DDP 的体外敏感率最高, PTX + CBP 的体外敏感率次之, 提示 NSCLC 对抗癌药物的敏感程度存在异质性。根据药敏试验结果选择化疗方案组有效率高于经验性选用化疗方案, 提示 ATP-TCA 指导化疗与经验性给予标准化疗方案比较有更高的有效率; ATP-TCA 技术可为 NSCLC 胸水患者选择合适的化疗药物。文献^[1,12]报道: NSCLC 一线化疗有效率为 30% ~ 50%, 部分患者化疗无效或化疗后短期内复发, 因此化疗前或化疗后疾病进展对化疗药物产

生耐药时,检测该患者肿瘤细胞对药物的敏感性,为患者筛选出有效化疗药物,实现循证医学指导下的个体化治疗。

[参考文献]

- [1] Ugurel S, Tilgen W, Reinhold U. Chemosensitivity testing in malignant melanoma [J]. *Recent Results Cancer Res*, 2003, 161 (21): 81-92.
- [2] 张 伟. 生物荧光肿瘤体外药敏检测技术的临床应用及其探讨 [J]. *癌症进展杂志*, 2005, 9 (5): 427-435.
- [3] 张 涛, 张保守, 张 伟, 等. ATP生物荧光肿瘤体外药敏检测在乳腺癌中的应用 [J]. *肿瘤防治杂志*, 2004, 31 (12): 765-767.
- [4] 张 浩, 金钦文, 陈建思. 胃癌组织 ATP生物荧光肿瘤体外药物敏感试验 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2011 (1): 58-61.
- [5] 田海梅, 李艳芬, 吴健雄, 等. 应用 ATP生物荧光肿瘤体外药敏检测技术研究大肠癌药敏的异质性 [J]. *癌症进展*, 2005, 9 (5): 436-441.
- [6] Zhu J, Ma LX, Cheng Y. ATP-bioluminescence assay indicates the treatment of recurrent non-small cell lung cancer combined with malignant pleural effusion [J]. *Chin-German J Clin Oncol*, 2008, 9 (8): 441-443.
- [7] Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours [J]. *J Thorac Oncol*, 2007, 2 (8): 706-714.
- [8] Kurbacher CM, Cree IA, Bruckner HW. Use of an ex vivo ATP luminescence assay to direct chemotherapy for recurrent ovarian cancer [J]. *Anticancer Drugs*, 1998, 9 (1): 51-57.
- [9] 周载平, 胡泽民, 季明芳. 三磷酸腺苷生物荧光法检测肿瘤药敏的价值 [J]. *肿瘤防治杂志*, 2003, 10 (7): 689-691.
- [10] Miller AB, Hoogetraten MB, Staquet M, et al. Reporting result of cancer treatment [J]. *Cancer*, 1981, 47 (1): 207-214.
- [11] Cree IA, Kurbacher CM. ATP-based tumor chemosensitivity testing: assisting new agent development [J]. *Anticancer Drugs*, 1999, 10 (5): 431-435.
- [12] Andreotti PE, Cree IA, Kurbacher CM, et al. Chemosensitivity testing of human tumors using a microplate adenosine triphosphate luminescence assay: clinical correlation for cisplatin resistance of ovarian carcinoma [J]. *Cancer Res*, 1995, 55 (22): 5276-5282.
- [13] 汤钊猷. 现代肿瘤学 [M]. 2版. 上海: 复旦大学出版社, 2008: 3-4.

认知行为治疗脑卒中后抑郁症的疗效分析

武警吉林省总队医院心理科(吉林 长春 130052) 周 磊, 张 虹, 曹 雷

脑血管病患者易并发抑郁症。为探讨认知行为治疗对该类患者的疗效, 本文作者对 60 例脑卒中后抑郁症患者采用抗抑郁药物治疗的同时给予认知行为治疗, 现将结果报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 2008 年 1 月—2011 年 1 月从本院神经内科及精神心理科住院患者中筛选 60 例脑卒中后抑郁症患者, 男性 42 例, 女性 18 例, 年龄 35~67 岁, 平均年龄(51.6±2.3)岁。所有病例均为首次发病, 患者均符合以下标准: ①符合《中国精神障碍分类与诊断标准》第 3 版(CCMD-3)关于脑卒中后抑郁症的诊断标准; ②汉密尔顿抑郁量表(HMAD)17 项版本总分≥18 分; ③无严重的除脑卒中外的其他躯体器质性疾病; ④住院治疗时间>8 周。上述患者随机分为观察组 30 例和对照组 30 例, 2 组患者的性别、年龄、病程、病变性质患者构成比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 治疗方法 2 组均给予同一种抗抑郁药物治疗, 研究组同时给予认知行为治疗, 每周 3 次, 每次约 30 min, 疗程 8 周。采用 HAMD 对干预前、干预后第 4 周及第 8 周末 2 组效果评定。评定标准: HAMD 减分率≥75%为显效, 50%~74%为有效, 25%~49%为进步, <25%为无效, HAMD 总分≤7 分为痊愈。

1.3 治疗结果 研究组痊愈 16 例, 显著进步 7 例, 进步 5 例, 无效 2 例, 显效率为 93.3%; 对照组痊愈 10 例, 显著进步 7 例, 进步 6 例, 无效 7 例, 显效率为 74.4%。HAMD 评分比较显示: 第 4 周和第 8 周研究组 HAMD 评分与对照组 HAMD 评分比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

2 讨 论

脑卒中后抑郁症的发生主要与大脑神经系统受到损伤导致的相对应肢体的运动功能受限、生活质量下降、工作能力丧失及对疾病治疗丧失信心等因素有关。单纯的抗抑郁药物治疗虽然能缓解患者的焦虑、抑郁症状, 但对疾病的治愈率低, 并且由于上述诱因的存在, 脑卒中后抑郁症的复发率较高, 因此提高疗效、减少复发是治疗重点和难点。认知行为疗法是一种通过改变思维或信念和行为的方法来调整个体不良认知, 达到消除不良情绪和困难心境的短程心理治疗方法。通过与患者交谈, 寻找导致患者产生不良认知的心理机制, 向患者详细地介绍病情, 针对性地解释治疗措施细节及所需时间, 提高患者对疾病的认识程度, 引导患者以合理的认知来代替歪曲了的认知, 消除焦虑、忧郁等负性情绪。本研究结果显示: 第 4 周和第 8 周 HAMD 评分研究组与对照组比较差异有统计学意义, 说明在有效药物治疗的同时, 积极的认知行为治疗可明显提高脑卒中后抑郁患者治疗的有效率, 对不良的认知行为方式给予治疗性纠正, 减少负性情绪, 降低疾病的复发, 提高患者的生活质量。总之, 认知行为治疗对脑卒中后抑郁患者的治疗起着积极的促进作用, 值得临床推广应用。