

DOI:10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2009. 06. 012

血浆内皮素-1 与放射性肺损伤的关系

刘安文,涂海燕,谭立名,蔡 婧

Relationship between Plasma Endothelin-1 Level and Radiation-induced Lung Injury

LIU An-wen, TU Hai-yan, TAN Li-ming, CAI Jing

Department of Oncology, The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To investigate the relationship among the plasma ET-1 levels at pre-, treatment 40Gy and posttreatment stages. Lung Dose-Volume Histogram Parameters V20 and radiation-induced lung injury. **Methods** Forty-eight non-small cell lung cancer patients receiving 3DCRT were included in this study. The radiation was delivered in 2Gy per fraction, 5 fractions per week with the total dose ranging plasma ET-1 at 62~66Gy. The percentage of both lung volume receiving 20Gy or more (V20) was restricted to 30% or less, and the dose of spinal cord was restricted to 45Gy. We use the methods of ELISA to quantitate the concentration of among pre-, 40Gy and posttreatment stages. **Results** The totle radiation-induced injury was noted among 27. 1% (13/48) of patients. The incidence of the radiation induced lung injury was 41. 7% among patients with ET-1 levels elevated when received 40Gy, and this was significantly higher than those with normal ET-1 levels (12. 5%) (P=0. 023). The incidence of the radiation-induced lung injury was 44% among patients with elevated posttreatment. ET-1 levels were significantly higher than those with normal ET-1 levels (8. 7%) (P=0. 006). The radiation-induced lung injury developed in 69. 2% of patients with V20≥25% and elevated post-treatment ET-1 levels, and this was significantly higher than those of other groups. Those patients with V20<25% and normal post-treatment ET-1 levels have 5. 9% developped radiation-induced lung injury, which was significantly lower than those of other groups. **Conclusion** Radiation-induced lung injury is significantly related to the concentration of plasma ET-1 during and afterradiotherapy. Patients with V20≥25% and elevated posttreatment ET-1 levels are at especially high risk to develop radiation-induced lung injury. It may be regarded as a factor to predict radiation-induced lung injury and is worthy of clinical generalization and further clinical observation.

Key words: Radiation-induced lung injury; ET-1; V20; Lung cancer

摘要:目的 探讨肺癌放疗前、中、后血浆内皮素-1(ET-1)的水平和肺剂量体积因素 V20 与发生放射性肺损伤的相关性。**方法** 接受三维适形放疗的 48 例原发性非小细胞肺癌患者,肿瘤总照射剂量 62~66Gy,常规分割 2Gy/次,5 次/周。计划控制 V20≤30%,脊髓剂量≤45Gy。ELISA 方法对每位患者放疗前、放疗 40Gy 及放疗后血浆 ET-1 的

收稿日期:2008-08-12;**修回日期:**2008-12-03
作者单位:330006 南昌大学第二附属医院肿瘤科
作者简介:刘安文(1967-),女,博士,主任医师,主要从事肿瘤放射和化学治疗的基础与临床研究

[7] Xu JH,Guo XZ, Ren LN, et al. KAI1 is a potential target for anti-metastasis in pancreatic cancer cells[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(7): 1126-1132.

[8] Dong JT, Suzuki H, Pin SS, et al. Downregulation of the KAI1 metastasis suppressor gene during the progression of human prostatic cancer in-frequently involves gene mutation or allelic loss[J]. Cancer Res, 1996, 56(19): 4387-4390.

[9] Tagawa K, Arihiro K, Takeshima Y, et al. Down regulation of KAI1 messenger RNA expression is not associated with loss of heterozygosity of the KAI1 gene region in lung adenocarcinoma [J]. Jpn J Cancer Res, 1999, 90(4): 970-976.

[10] Miyazaki T, Kato H, Shitara Y, et al. Mutation and expression of the metastasis suppressor gene KAI1 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer, 2000, 89(5): 955-962.

[11] 王新允,刘婷,朱丛中,等. 应用组织芯片技术检测 KAI1、MRP-1、FAK 蛋白在肺癌组织中的表达[J]. 癌症, 2005, 24(9): 1091-1095.

[12] Wu Q, Ji Y, Zhang MQ, et al. Role of tumor metastasis suppressor gene KAI1 in digestive tract carcinomas and cancer cells[J]. Cell Tissue Res, 2003, 314(2): 237-249.

[13] Jee BK, Park KM, Surendran S, et al. KAI1/CD82 suppresses tumor invasion by MMP9 inactivation via TIMP1 up-regulation in the H1299 human lung carcinoma cell line[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 342(2): 655-661.

[编辑:贺 文;校对:安 凤]

浓度进行定量检测。**结果** 全组放射性肺损伤的发生率为 27.1%(13/48)。放疗 40Gy 时,ET-1 升高的患者放射性肺损伤的发生率为 41.7%,高于 ET-1 水平正常者 12.5%($P=0.023$);放疗结束时 ET-1 水平升高者放射性肺损伤发生率为 44%,显著高于 ET-1 水平正常者的 8.7%($P=0.006$); $V20\geq 25\%$,放疗结束时 ET-1 升高,放射性肺损伤的发生率为 69.2%,明显高于其他组别;而 $V20<25\%$,放疗结束时 ET-1 正常的患者放射性肺损伤的发生率为 5.9%,明显低于其他组别。**结论** 放疗中及放疗结束后血浆内皮素-1 水平升高与放射性肺损伤密切相关。 $V20\geq 25\%$ 同时放疗结束时血浆 ET-1 升高者,属于发生放射性肺损伤的高危人群,可作为放射性肺损伤的预测指标,值得临床进一步研究。

关键词:放射性肺损伤;血浆内皮素-1;V20;肺癌

中图分类号:R734.2;R730.55 **文献标识码:**A

文章编号:1000-8578(2009)06-0493-04

0 引言

随着放射治疗在肺癌综合治疗中的广泛应用,放射线对正常肺组织的损伤也日益明显。三维适形放疗的肺癌患者可以通过治疗计划系统计算正常肺组织受照射的剂量和体积,作为评估放疗计划可行性的一项参考指标^[1]。近来研究结果表明,细胞因子在放射性肺损伤的发生中起重要作用,其中血浆内皮素-1(ET-1)是其中具有代表性的细胞因子之一。本研究试图通过观察放疗前、放疗中(40Gy 时)和放疗后血浆 ET-1 的变化,结合肺受照射的剂量和体积因素,探讨 ET-1 与放射性肺损伤的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2006 年 6 月 18 日~2007 年 12 月 9 日南昌大学第二附属医院肿瘤科收治经病理或细胞学确诊、无法手术或拒绝手术的原发性非小细胞肺癌患者 48 例,其中男 36 例,女 12 例。年龄 33~70 岁,中位年龄 62 岁;肺鳞癌 33 例,肺腺癌 13 例,腺鳞癌 1 例,含小细胞成份的鳞癌 1 例;原发灶位于左肺 21 例,右肺 27 例;采用放化疗结合治疗 29 例,单纯放疗 19 例。所有患者均无慢性阻塞性肺疾病及心血管病病史。

1.2 治疗方法

单纯放疗采用三维适形放疗技术:采用真空体模固定患者体位,首先进行增强 CT 定位扫描,通过网络将图像传递到三维 TPS 进行三维计划设计,在三维 TPS 中勾画可见肿瘤体积(Gross Target Volume, GTV);包括肺内可见肿瘤病灶(肺窗)及纵隔淋巴结(纵隔窗);临床靶体积(Clinical Target Volume, CTV):为 GTV 外扩 5~7 mm,包括考虑的亚

临床灶及预防淋巴结照射区;计划靶体积(Planning Target Volume, PTV):CTV 在左右、前后方向外扩 5 mm,在头尾方向外扩 10~15 mm,考虑肺的呼吸运动及摆位的重复误差、以及正常肺、脊髓等危及器官的轮廓。肿瘤总照射剂量 62~66 Gy,常规分割 2 Gy/次,5 次/周。通过 TPS 控制 V20(受照剂量 ≥ 20 Gy 的肺体积与全肺体积之比) $\leq 30\%$,脊髓剂量 ≤ 45 Gy。放疗计划确定后在模拟定位机上进行射野模拟验证,然后将计划传递到直线加速器上,采用 6MV X 射线及全自动多叶准直器实施三维适形放射治疗。

放化疗结合采用同期放化疗,放疗第一天开始全身化疗,每三周为一个周期,共化疗两周期。化疗方案:TP 方案:多西他赛(江苏恒瑞制药厂生产) 65 mg/m²,第 1 天静滴;顺铂 65 mg/m²,分 3 天静滴。多西他赛用药前常规预处理,地塞米松 8 mg 口服,2 次/日,连用 3 d。静滴前 30 min 肌注苯海拉明 40 mg,静滴甲氧咪呱 400 mg,虽然多西他赛过敏反应较紫杉醇明显减低,但临床中我们仍常规用药,预防紫杉类药物过敏反应。辅以止吐、对症支持治疗。放化综合治疗是目前被广泛接受的局部晚期非小细胞肺癌的治疗模式,其治疗效果优于单纯放疗而同步放化疗则在疗效方面优于序贯和交替治疗,但同时也带来治疗并发症的增加^[2]。

1.3 血浆 ET-1 的测量

所有患者均在放疗前、放疗 40 Gy 时和放疗后采集血标本,检测血浆 ET-1。使用 EDTA(依地酸)试管于放疗前、放疗中及放疗后空腹抽取患者静脉血 2 ml,4℃低温冷藏,2 h 内以 3 000 r/min(离心半径:15 cm)进行离心 15 min,上清液超低温冰柜-80℃冻存备用。检测细胞因子时在室温下融化后 2 h 内测量。ET-1 的浓度定量采用上海森雄公司提供的 ET-1 检测试剂盒,技术方法为 ELISA 中的双抗体夹心法。本组将每位患者自身放疗前血浆 ET-1 值作为个体基础参考值,检测所有血浆样品 ET-1 的浓度,放疗中或放疗后血浆 ET-1 高于放疗前的为升高,低于或等于基础参考值的为血浆 ET-1 正常。

1.4 放射性肺损伤的判定标准及随访

放射性损伤的评定和分级采用 RTOG/EORTC 1997 年共同制定的急性放射性肺炎及放射性肺损伤的分级标准。放射性肺损伤临床症状必须与肺内感染及肺内病变进展所致的症状相鉴别,若已有肺内感染等肺部基础疾病,则相关症状至少应较放疗前加重 1 级才可诊断为放射性肺损伤。患者在放疗结束后每 1~2 月进行临床检查和胸部

CT 扫描。本组随访期为 1~7 月,中位随访时间为 4.5 月。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,单因素分析采用 χ^2 检验,多因素分析应用 Binary Logistic 回归模型,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

全组患者随访期间发生放射性肺损伤 13 例,占 27.1%(13/48),其中 I 级 7 例,II 级 6 例,II 级或 II 级以上的发生率为 12.5%(6/48)。所有患者放疗前血浆 ET-1 中位值为 46.5 pg/ml;放疗 40 Gy 时 ET-1 中位值为 60.5 pg/ml;放疗结束时血浆 ET-1 中位值为 70.5 pg/ml。放射性肺损伤的相关影响因素见表 1。

表 1 放射性肺损伤的影响因素

Table 1 The factors of Radiation-induced Lung Injury					
Factors	Cases	Developed lung-injury (%)	Undeveloped lung-injury (%)	<i>P</i> Single-factor	<i>P</i> Multil-factor
Ages(years)					
>60	30	6(20)	24(80)	0.154	
≤60	18	7(38.9)	11(61.1)		
Gender					
Male	36	9(25)	27(75)	0.574	
Female	12	4(33.3)	8(66.7)		
Tumor site					
Left lung	21	5(23.8)	16(76.2)	0.653	
Right lung	27	8(29.6)	19(70.4)		
Therapy					
Chem-radiotherapy	29	11(37.9)	18(62.1)	0.037	0.01
Radiotherapy	19	2(10.5)	17(89.5)		
When 40Gy					
ET-1 rise	24	10(41.7)	14(58.3)	0.023	
ET-1 normal	24	3(12.5)	21(87.5)		
After-radiotherapy					
ET-1 rise	25	11(44)	14(56)	0.006	0.044
ET-1 normal	23	2(8.7)	21(91.3)		
V20					
≥25%	19	10(52.6)	9(47.3)	0.001	0.001
<25%	29	3(10.3)	26(89.7)		

2.1 血浆 ET-1 水平与放射性肺损伤的关系

见表 2。

2.2 放疗结束时血浆 ET-1 水平和 V20 与放射性肺损伤的关系

具体见表 3。经单因素分析结合 Binary Logistic 回归模型进行多因素分析,发现 $V20\geq 25\%$ 、放疗结束时血浆 ET-1 升高、同步化疗与放射性肺损伤的发生有显著相关性($P=0.001$ 、 $P=0.044$ 及 P

$=0.01$),而性别、年龄、病灶位置与放射性肺损伤的发生率均无明显相关,见表 1。

表 2 血浆 ET-1 水平与放射性肺损伤的关系(例,%)

Table 2 The relationship between Endothelin-1 And Radiation-induced Lung Injury(<i>n</i> , %)					
ET-1	Cases	Radiation-induced Lung Injury(%)		χ^2	<i>P</i>
		Developed	Undeveloped		
When 40Gy					
Rise	24	10(41.7)	14(58.3)	5.169	0.023
Normal	24	3(12.5)	21(87.5)		
Post-radiotherapy					
Rise	25	11(44)	14(56)	7.561	0.006
Normal	23	2(8.7)	21(91.3)		

表 3 放疗结束时血浆 ET-1 和 V20 与放射性肺损伤的关系

Table 3 The relationship among Endothelin-1 after radio- therapy、V20 And Radiation-induced Lung Injury					
	Cases	Radiation-induced Lung Injury(%)		χ^2	<i>P</i>
		Developed	Undeveloped		
$V20\geq 25\%$	19	10(52.6)	9(47.3)	4.55	0.033
ET-1 rise	13	9(69.2)	4(30.8)		
ET-1 normal	6	1(16.7)	5(83.3)		
$V20<25\%$	29	3(10.3)	26(89.7)	0.882	0.553
ET-1 rise	12	2(16.7)	10(83.3)		
ET-1 normal	17	1(5.9)	16(94.1)		

3 讨论

在肺癌等胸部肿瘤的放射治疗中,正常肺组织常受到高剂量照射。目前对放射性肺损伤的研究已由传统的病理形态学向分子水平转变。近来研究结果表明,细胞因子在放射性肺损伤的发生中起重要作用,其中血浆内皮素-1(ET-1)是具有代表性的细胞因子之一。ET-1 作为 ET 的一种亚型,主要由肺脏的内皮细胞、平滑肌细胞、气道表皮细胞分泌,是很重要的前炎性因子,能刺激或激活体内多种炎性因子尤其是 $TNF-\alpha$ 和转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)的表达,促进多种细胞(肺成纤维细胞、平滑肌细胞、内皮细胞)的增生作用,调节细胞外基质,参与肺纤维化的发生发展^[3]。

生理情况下,循环血中的 ET-1 含量很低,而当肺组织受到照射后,过量的 ET-1 漏入血液循环,引起外周血中的 ET-1 水平升高,故支气管肺泡灌洗液和外周血中 ET-1 水平的变化可间接反映肺组织损伤的状况。Jain R^[4]等在原发性肺纤维化的研究中发现,ET-1 可以刺激 TGF- $\beta 1$ 的生成,ET-1 是

肺泡上皮细胞向上皮间质细胞转变的重要介导因子,实验证实了 ET-1 在肺纤维化发生发展中的重要作用。Shi-Wen X^[5]等通过对大鼠的研究发现阻断 ET-1 或磷脂酰肌醇激酶的级联反应可以明显降低肺纤维化的生成,表明 ET-1 与肺纤维化的生成密切相关。Rubin^[6]等研究肺照射后的细胞因子变化,发现肺Ⅱ型细胞和内皮细胞受照射后,释放促炎性细胞因子 IL-1、TGF-β1、TNFα 等合成大量增加,这些细胞因子已经被证实可增加 ET-1 的合成和释放,从而刺激成纤维细胞增生和合成细胞基质蛋白,促进肺纤维化的形成。戚好文^[7]等在研究 ET-1 作为早期放射性肺损伤标志物的探讨试验中发现,ET-1 水平可能反映放射性肺损伤的严重程度。夏书月^[8]在研究内皮素的表达与鼠肺纤维化的关系中发现鼠肺肺炎期和纤维化期血浆 ET-1 含量明显高于正常对照组。因此得出结论:放疗前后动态观察外周血中 ET-1 的水平对预测放射性肺损伤有重要临床意义。在本组资料中,发现放疗 40Gy 和放疗结束时血浆 ET-1 水平与放射性肺损伤的发生显著相关,与相关文献报道基本一致。

肺组织受照射的剂量和体积与放射性肺损伤的发生有密切关系^[9]。Tsujino K 等^[1]前瞻性研究中单因素和多因素分析均显示 V20 与放射性肺炎的发生有相关性。Inoue A^[10]等一项回顾性研究结果显示 V20、V30 是放射性肺损伤的预测和独立预后因子。但将 V20 或 V30 与分子生物学因素结合来探讨放射性肺损伤发生的相关性研究则不多。尤其是血浆内皮素-1 结合 V20 与放射性肺损伤的关系目前国内外鲜有报道。本研究结合分析肺 V20 和放疗后血浆 ET-1 水平与放射性肺损伤的关系发现:V20≥25%同时放疗结束时血浆 ET-1 升高的患者,放射性肺损伤的发生率为69.2%,属于放射性肺损伤的高危人群;而 V20<25%,放疗结束时血浆 ET-1 水平正常者放射性肺损伤发生率只有5.9%,属于放射性肺损伤的低危人群,因此结合肺 V20 及放疗结束时血浆 ET-1 可以作为肺癌放射治疗剂量推量的理论参考依据之一。

临床研究发现放射性肺损伤还与许多因素有关。Rancati T 等^[11]报告了 84 例行 3DCRT 的肺癌病例。在性别、年龄、手术、化疗药物、COPD 和 KPS 等诸多因素中,经多因素分析显示,只有化疗药物丝裂霉素和 COPD 是放射性肺损伤的高危因素。本组资料结合 Binary Logistic 回归模型进行多因素分析发现同步放化疗与放射性肺损伤的发生显著相关性,而性别、年龄、病灶位置与放射性肺损伤

的发生均无明显关系,这可能与本组患者的病例数较少有关。

由此可见,结合肺剂量体积因素 V20 及放疗前、中和放疗后血浆 ET-1 水平预测与放射性肺损伤的关系比单独分析这些因素与放射性的关系具有更高的敏感性,放疗中、放疗后血浆 ET-1 水平和 V20 与放射性肺损伤的发生存在密切相关性。不过,放射性肺损伤的发生是一个有多种因素参与、多种细胞因子调控的复杂过程,同时本研究由于病例数较少,要得出准确结论,今后还有待临床加大样本含量和延长随访时间以更深一步地进行探讨。

参考文献:

[1] Tsujino K, Hirota S, Endo M, et al. Predictive Value of Dose-Volume Histogram Parameters for Predicting Radiation Pneumonitis after Concurrent Chemoradiation for Lung Cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2003, 55(1): 110-115.

[2] 张红云, 张国庆. EP、DP 方案加同步放疗治疗局部晚期非小细胞肺癌观察[J]. 肿瘤防治研究, 2008, 35(9): 662-664.

[3] Sato Y, Hogg JC, English D, et al. Endothelin-1 changes polymorphonuclear leukocytes' s deformability and CD11B expression and promotes their retention in the lung[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2000, 23(3): 404-410.

[4] Jain R, Shaul PW, Borok Z, et al. Endothelin-1 Induces Alveolar EMT Through ET-A-mediated Production of Transforming Growth Factor-β1[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2007, 37(1): 38-47.

[5] Shi-Wen X, Chen Y, Denton CP, et al. Endothelin-1 promotes myofibroblast induction through the ETA receptor via a rac/phosphoinositide 3-kinase/Akt-dependent pathway and is essential for the enhanced contractile phenotype of fibrotic fibroblasts[J]. Am J Mol Biol Cell, 2004, 15(6): 2707-2719.

[6] Rubin P, Finkelstein J, Shapiro D, et al. Molecular biology-mechanisms in the radiation Induction of pulmonary injury syndromes: interrelationship between the alveolar macrophage and the septal fibroblast[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1992, 24(1): 93-101.

[7] 戚好文, 叶江枫, 宋立强, 等. 血清内皮素-1 作为早期放射性肺损伤标志物的探讨[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2005, 21(3): 356-361.

[8] 夏书月, 李振华, 佟显明, 等. 内皮素的表达与鼠肺纤维化的关系[J]. 中国病理学杂志, 1999, 15(9): 844-846.

[9] Claude L, Perol D, Ginestet C, et al. A prospective study on radiation pneumonitis following conformal radiation therapy in non-small-cell lung cancer. Clinical and dosimetric factors analysis[J]. Radiother Oncol, 2004, 71(2): 175.

[10] Inoue A, Kunitoh H, Sekine I, et al. Radiation pneumonitis in lung cancer patients: a retrospective study of risk factors and the long-term prognosis[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001, 49(3): 649.

[11] Rancati T, Ceresoli GL, Gagliardi G, et al. Factors Predict in Radiation Pneumonitis in Lung. Cancer Patients: a Retrospective Study[J]. Radiother Oncol, 2003, 67(3): 275-283.

[编辑:周永红;校对:安 凤]