

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.04.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211230.0945.003.html\(2021-12-30\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211230.0945.003.html(2021-12-30))

吉西他滨联合 PD-1 单抗对肺癌小鼠肿瘤体内增殖能力的影响*

杨雅萌¹, 罗丹凤²

(1. 泉州医学高等专科学校临床医学学院, 福建泉州 362011; 2. 中国人民解放军联勤保障部队

第九一〇医院肿瘤内科, 福建泉州 362008)

[摘要] **目的** 探究吉西他滨(GEM)联合程序性死亡受体-1(PD-1)单抗对肺癌小鼠肿瘤体内增殖能力的影响。**方法** 制备肺癌小鼠模型,将 40 只小鼠分为空白对照组(NC 组)、PD-1 组、GEM 组和联合组,分别给予磷酸盐缓冲液(200 μ L/kg)、GEM 溶液(50 mg/kg)、PD-1 抗体(100 μ g/kg)、GEM 溶液和 PD-1 抗体(GEM 溶液:50 mg/kg、PD-1 抗体:100 μ g/kg)干预。比较 4 组小鼠肿瘤质量、体积、生长情况及生长抑制率;检测肿瘤微血管密度(MVD)和肿瘤细胞凋亡情况;免疫组织化学法检测肿瘤组织中血管内皮生长因子(VEGF)的阳性表达率。**结果** 与 NC 组相比,PD-1 组、GEM 组和联合组小鼠肿瘤质量、体积均不同程度降低($P < 0.05$),小鼠肿瘤的生长抑制率均不同程度增加($P < 0.05$);且联合组小鼠肿瘤质量、体积最小,肿瘤生长抑制率[(58.5 \pm 3.21)%]最高($P < 0.05$);PD-1 组和 GEM 组肿瘤质量、体积及生长抑制率无明显差异($P > 0.05$)。联合组小鼠肿瘤 MVD(7.43 \pm 1.20)低于 PD-1 组(45.90 \pm 4.51)和 GEM 组(41.88 \pm 4.32),差异均有统计学意义($P < 0.05$),且 PD-1 组和 GEM 组无明显差异($P > 0.05$)。TUNEL 结果显示,联合组小鼠肿瘤细胞凋亡率[(63.15 \pm 9.56)%]高于 PD-1 组[(17.35 \pm 6.41)%]和 GEM 组[(17.98 \pm 6.23)%],差异均有统计学意义($P < 0.05$),且 PD-1 组和 GEM 组无明显差异($P > 0.05$)。免疫组织化学结果发现,与 NC 组相比,PD-1 组(82.54 \pm 6.31)%、GEM 组(80.98 \pm 6.78)%和联合组(29.76 \pm 7.65)%肿瘤组织中 VEGF 阳性表达率均不同程度降低($P < 0.05$),且联合组明显低于 PD-1 组和 GEM 组($P < 0.05$),PD-1 组和 GEM 组无明显差异($P < 0.05$)。**结论** GEM 联合 PD-1 单抗可发挥协同作用抑制肺癌小鼠体内肿瘤生长,降低 MVD 及 VEGF 表达。

[关键词] 肺癌;吉西他滨;抗 PD-1 单克隆抗体;增殖;小鼠**[中图分类号]** R734.27**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)04-0551-06

Effect of gemcitabine combined with PD-1 monoclonal antibody on tumor proliferation in mice with lung cancer*

YANG Yameng¹, LUO Danfeng²

(1. School of Clinical Medicine, Quanzhou Medical College, Quanzhou, Fujian 362011, China;

2. Department of Oncology, the 910th Hospital of PLA Joint Logistics

Support Force, Quanzhou, Fujian 362008, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of gemcitabine (GEM) combined with programmed death receptor-1 (PD-1) monoclonal antibody on tumor proliferation of mice with lung cancer. **Methods** A mouse model of lung cancer was prepared, and a total of 40 mice were divided into the blank control group (NC group), the PD-1 group, the GEM group and the combination group, and were given phosphate buffer (200 μ L/kg), GEM solution (50 mg/kg), PD-1 antibody (100 μ g/kg), GEM solution and PD-1 antibody (GEM solution: 50 mg/kg, PD-1 antibody: 100 μ g/kg) intervention, respectively. The tumor mass, volume, growth and growth inhibition rate of the four groups of mice were compared. Tumor microvessel density (MVD) and tumor cell apoptosis were measured. The positive expression rate of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the tumor tissues was detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with the NC group, the tumor mass and volume of mice in the PD-1, GEM and combination groups were all reduced to different degrees ($P < 0.05$), and the growth inhibition rate of tumors in mice were all increased to different degrees ($P < 0.05$). The combined group had the lowest tumor mass and volume, and the highest tumor growth

inhibition rate $[(58.5 \pm 3.21)\%]$ ($P < 0.05$). There was no significant difference in tumor mass, volume and growth inhibition rate between the PD-1 and GEM groups ($P > 0.05$). The tumor MVD in the combined group (7.43 ± 1.2) was lower than that in the PD-1 group (45.90 ± 4.51) and the GEM group (41.88 ± 4.32), and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). And there was no significant difference between the PD-1 and GEM groups ($P > 0.05$). The TUNEL results showed that the apoptosis rate of tumor cells in the combined group ($63.15 \pm 9.56\%$) was higher than that of the PD-1 group ($17.35 \pm 6.41\%$) and GEM group ($17.98 \pm 6.23\%$), and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). No statistically significant difference was found in the apoptosis rate of tumor cells between the PD-1 group and the GEM group ($P > 0.05$). Immunohistochemical results revealed that compared with the NC group, the VEGF positive expression rate in tumor tissues was reduced to different degrees in the PD-1 group ($82.54 \pm 6.31\%$), the GEM group ($80.98 \pm 6.78\%$) and the combination group ($29.76 \pm 7.65\%$) ($P < 0.05$), the combination group was significantly lower than the PD-1 and GEM groups ($P < 0.05$), and no statistically significant difference was found between the PD-1 group and the GEM group ($P < 0.05$). **Conclusion** GEM combined with PD-1 monoclonal antibody can exert a synergistic effect to inhibit lung cancer tumor growth and reduce MVD and VEGF expression.

[Key words] lung carcinoma; gemcitabine; anti-PD-1 monoclonal antibody; proliferation; mice

肺癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 有较高的患病率和病死率, 严重威胁人类生命健康。根据国家癌症中心 2017 年公布的最新数据显示, 我国肺癌发病率和病死率均位居癌症第一位^[1]。2018 年美国统计数据 displays, 肺癌新发病例数在男、女性中均位居第二位, 在恶性肿瘤病死率中位居第一位^[2-3]。由此可见, 肺癌是全球范围内对人类健康威胁最大的肿瘤。由于在早期没有明显的临床症状和体征, 大多数患者确诊时已经处于晚期。晚期肺癌传统的治疗手段主要包括化疗与靶向治疗, 但疗效非常有限。近年来, 免疫治疗在肿瘤治疗中的价值引起了大量的关注, 尤其是免疫检查点抑制剂更是在临床多肿瘤中得到应用, 其中抗程序性死亡受体-1(programmed death 1, PD-1)抗体是研究和应用最为广泛的免疫检查点抑制剂^[4-5]。PD-1 是一种共刺激分子, 属于 B7-CD28 超家族成员, 通常表达于活化的淋巴细胞和单核细胞^[6]。PD-1 有两个配体, PD-L1 和 PD-L2 均表达于抗原呈递细胞上。PD-1 与 PD-L1 或 PD-L2 结合可通过多种机制削弱 T 淋巴细胞反应, 肿瘤细胞能够利用这一特点逃避 T 淋巴细胞介导的杀伤作用^[7]。近年来研究发现, 肺癌具有很强的异质性, 携带大量编码新抗原的肿瘤突变负荷^[8]。然而, 由于肿瘤免疫逃逸的存在, 机体的免疫系统却无法将这些肿瘤清除。免疫检查点抑制剂抗 PD-1/PD-L1 抗体的出现为该病的治愈带来了希望。虽然抗 PD-1 抗体治疗比化疗使患者具有更高的客观缓解率和更长的生存时间, 让部分患者达到持久缓解, 但接受单一的抗 PD-1 抗体治疗的肺癌患者中仅有少数有效, 大部分仍然不能从治疗中获益, 还有一部分初始有效后肿瘤还是再次出现。吉西他滨(GEM)为一种新的胞嘧啶核苷衍生物, 在临床

上应用非常广泛, 是常用的治疗非小细胞肺癌的化疗药物^[9-10]。本研究用 GEM 联合抗 PD-1 抗体对肿瘤小鼠模型进行干预治疗, 观察其对肿瘤的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物及细胞株

本实验所用小鼠均为 C57BL/6 纯系雌性小鼠, 共 40 只, 8~10 周龄, 体重 18~21 g, 所有小鼠均购自北京维通利华实验动物有限公司[动物许可证号 SCXK(京)2016-0002], 小鼠饲养在无特殊病原体(SPF)环境中。本实验符合一般动物实验伦理学原则。本实验所用 Lewis 肺癌细胞系(LCC)购自中国科学院上海细胞生物研究所, 与 C57BL/6 纯系雌性小鼠具有相同的遗传背景。

1.1.2 仪器与试剂

胎牛血清(货号:16000-044)、DMEM 培养基(货号:C11995500BT)和胰酶溶液(货号:25200-072), 均购自美国 Gibco 公司;磷酸盐缓冲液(PBS, 货号:BF-0011, 北京鼎国昌盛生物技术有限公司);PD-1 抗体(货号:BE0146, 美国 BioXcell 公司);CD33 PE-Cy7 荧光单克隆抗体试剂、CytoFLEX 型流式细胞仪(美国 BD Biosciences 公司);310 直热式 5% CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司);Lecia DM11 型倒置显微镜(德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

取复苏后适量的 LCC 接种于 100 mL 的培养皿中, 放入 10 mL 含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和链霉素的 DMEM 高糖培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 孵育箱中培养。细胞贴壁并覆盖 90% 皿底

时弃去培养基,3 mL 胰酶溶液消化 3 min,5 mL 培养基终止消化,进行细胞传代。待细胞状态较好并处于对数生长期时,胰酶消化收集细胞,使用 PBS 调整细胞浓度为 5×10^6 /mL,置于冰上保存备用。

1.2.2 Lewis 动物模型建立及分组

取处于对数期的 LCC,调整细胞浓度至 1×10^6 /mL,用计数板对细胞悬浮液进行计数,接种细胞悬液于小鼠的右大腿上,每只小鼠 0.1 mL,并且保证细胞悬液没有渗出,才能确保每只小鼠均有肿瘤形成。10 d 后所有小鼠体内均有肿瘤形成,当肿瘤在体内增长至 $100 \sim 200 \text{ mm}^3$,用游标尺测量小鼠肿瘤的体积。采用随机数字法把 40 只小鼠分为空白对照组(NC 组)、GEM 组、PD-1 抗体组(PD-1 组)和 GEM 联合 PD-1 抗体组(联合组),每组 10 只。NC 组小鼠腹腔注射 200 $\mu\text{L}/\text{kg}$ 的 PBS 溶液干预,GEM 组小鼠腹腔注射 50 mg/kg GEM 溶液干预治疗^[11],PD-1 组小鼠腹腔注射 PD-1 抗体 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,联合组小鼠腹腔注射 50 mg/kg GEM 溶液和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ PD-1 抗体干预治疗^[12],每周 2 次,共 4 次。

1.2.3 肿瘤生长体积的测定

造模后第 2 天,用游标尺测量小鼠皮下肿瘤的最大长径和短径,每 2 天 1 次,同时计算小鼠体内的肿瘤体积均数,绘制肿瘤的生长曲线。

1.2.4 肿瘤生长抑制率测定

实验 14 d 后,处死所有小鼠取出肿瘤,测量肿瘤体积,计算肿瘤生长抑制率。抑制率 = (对照组平均瘤体积 - 治疗组平均瘤体积) / 对照组平均瘤体积 $\times 100\%$ 。

1.2.5 肿瘤微血管密度(MVD)

干预治疗后,处死小鼠并取出皮下肿瘤,将新鲜的肿瘤组织用多聚甲醛进行固定。固定好的组织经脱水、透明、石蜡包埋后,将组织用切片机制成 4 μm 石蜡切片,将切片放在显微镜下观察,每张切片取 6 个高倍视野,计数切片中的微血管数,并计算其平均值。

1.2.6 TUNEL 检测肿瘤细胞凋亡

处死小鼠后,取出小鼠肿瘤组织并固定于 4% 多聚甲醛溶液中,24 h 后采用乙醇进行梯度脱水,二甲苯透明、石蜡包埋,采用石蜡切片机切制成 5 μm 左右的冠状切面。操作步骤严格按照试剂盒说明书进行,细胞核中有棕黄色颗粒为凋亡细胞,在普通光学显微镜下,随机选取 3 个视野计数 TUNEL 染色后细胞的总数量,即为凋亡的细胞数量。

1.2.7 免疫组织化学法检测血管内皮生长因子(VEGF)的表达

处死小鼠后,将肿瘤组织取出,用多聚甲醛固定后经石蜡包埋,用免疫组织化学法对组织中的 VEGF

表达进行检测,以上操作均按照试剂盒说明书进行。最后结果以 VEGF 阳性所占百分比为标准,随机取 5 个 VEGF 分布密集的区域,在高倍显微镜下对其进行计数,阳性 VEGF 表达为棕黄色或褐色,阴性 VEGF 表达为淡黄色或无色。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件进行统计分析。各组肿瘤生长体积、肿瘤生长抑制率、肿瘤 MVD、肿瘤细胞凋亡率及 VEGF 表达水平用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠一般情况比较

NC 组和 PD-1 组一般情况可见,小鼠饮食、大便均显示正常,未见小鼠消瘦,但可见皮下脂肪减少;GEM 组和联合组小鼠均出现一过性消瘦,皮下脂肪也明显减少,实验期间无小鼠死亡。

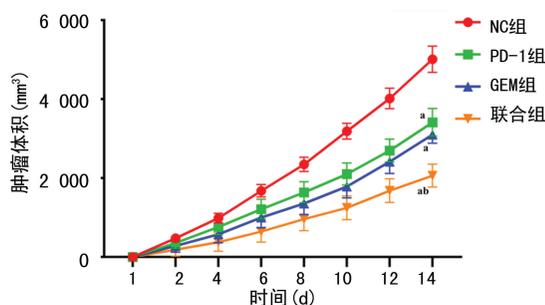
2.2 各组小鼠肿瘤生长体积比较

NC 组、PD-1 组、GEM 组和联合组小鼠肿瘤质量和肿瘤体积相比较,差异均有统计学意义($F_{\text{质量}} = 70.72, F_{\text{体积}} = 163.4, P < 0.001$);且 PD-1 组、GEM 组和联合组小鼠肿瘤生长均受到不同程度的抑制($P < 0.05$),见表 1、图 1。与 NC 组相比,PD-1 组、GEM 组和联合组小鼠肿瘤质量和体积均明显降低($P < 0.05$);且联合组小鼠肿瘤质量和体积均明显小于 PD-1 组和 GEM 组($P < 0.05$),PD-1 组和 GEM 组小鼠肿瘤质量和体积无明显差异($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组小鼠肿瘤质量和肿瘤体积比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肿瘤质量(g)	肿瘤体积(mm^3)
NC 组	10	19.31 \pm 2.57	5 010.21 \pm 334.32
PD-1 组	10	11.27 \pm 1.48 ^{ab}	3 413.81 \pm 349.14 ^{ab}
GEM 组	10	11.18 \pm 1.18 ^{ab}	3 101.80 \pm 217.22 ^{ab}
联合组	10	8.21 \pm 1.81 ^a	2 063.54 \pm 289.32 ^a
F		70.72	163.40
P		<0.001	<0.001

^a: $P < 0.05$,与 NC 组比较;^b: $P < 0.05$,与联合组比较。

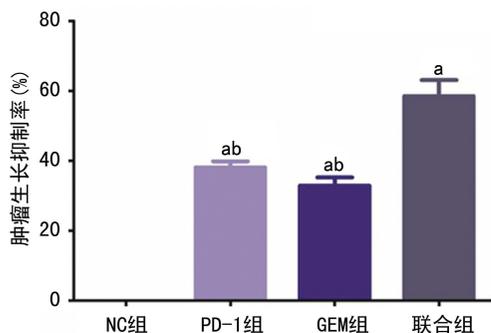


^a: $P < 0.05$,与 NC 组比较;^b:与 PD-1 组、GEM 组比较。

图 1 各组小鼠肿瘤生长曲线图

2.3 各组小鼠肿瘤生长抑制率比较

NC组、PD-1组、GEM组及联合组小鼠肿瘤生长抑制率分别为0、(38.1±1.51)%、(32.9±4.11)%、(58.5±3.21)%，差异有统计学意义($F=813.5, P<0.05$)；与NC组相比，PD-1组、GEM组和联合组小鼠肿瘤生长抑制率明显增加($P<0.05$)；联合组小鼠肿瘤生长抑制率明显高于PD-1组和GEM组($P<0.05$)，见图2。



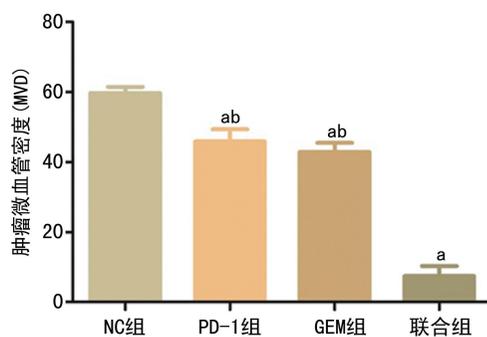
^a: $P<0.05$, 与NC组比较; ^b: $P<0.05$, 与联合组比较。

图2 各组小鼠肿瘤生长抑制率比较

2.4 各组小鼠肿瘤 MVD 比较

NC组、PD-1组、GEM组及联合组小鼠肿瘤MVD分别为(59.74±5.34)、(45.90±4.51)、(41.88±4.32)、(7.43±1.20)个/mm²，差异有统计学意义($F=286.3, P<0.001$)；与NC组相比，PD-1组、GEM组和联合组小鼠肿瘤MVD明显降低($P<$

0.05)；联合组小鼠肿瘤MVD明显低于PD-1组和GEM组($P<0.05$)，且PD-1组和GEM组小鼠肿瘤MVD无明显差异($P>0.05$)，见图3。



^a: $P<0.05$, 与NC组比较; ^b: $P<0.05$, 与联合组比较。

图3 各组小鼠肿瘤 MVD 比较

2.5 各组小鼠肿瘤细胞凋亡率比较

NC组、PD-1组、GEM组及联合组小鼠肿瘤细胞凋亡率分别为(4.21±1.42)%、(17.35±6.41)%、(17.98±6.23)%、(63.15±9.56)%，差异有统计学意义($F=153.4, P<0.001$)；与NC组相比，PD-1组、GEM组和联合组小鼠肿瘤细胞凋亡率均不同程度增加($P<0.05$)；联合组小鼠肿瘤细胞凋亡率比PD-1组和GEM组明显增加($P<0.05$)，PD-1组和GEM组小鼠肿瘤细胞凋亡率无明显差异($P>0.05$)，见图4、5。

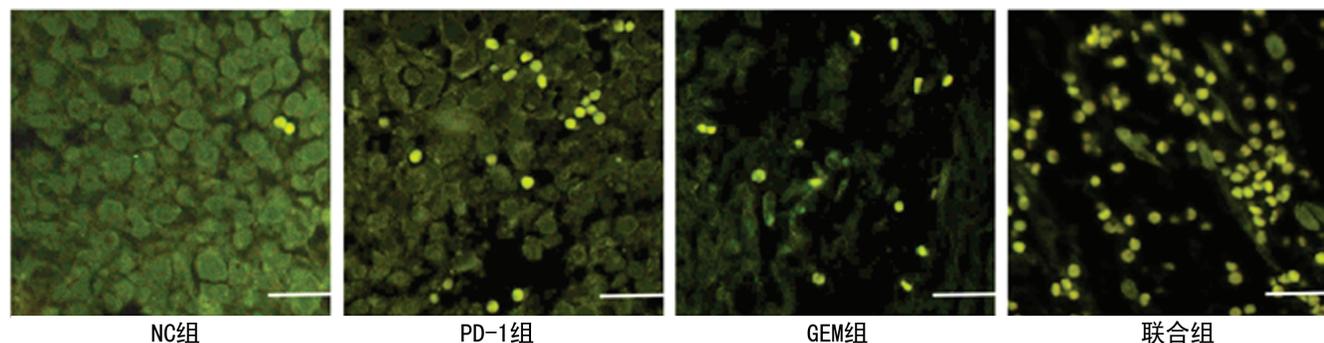
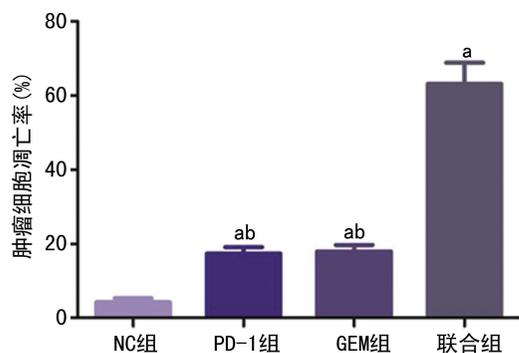


图4 TUNEL 检测肿瘤细胞凋亡率(×200)



^a: $P<0.05$, 与NC组比较; ^b: $P<0.05$, 与联合组比较。

图5 各组小鼠肿瘤细胞凋亡率比较

2.6 各组小鼠 VEGF 表达比较

NC组、PD-1组、GEM组及联合组小鼠肿瘤组织中VEGF阳性表达率分别为(90.21±6.42)%、(82.54±6.31)%、(80.98±6.78)%、(29.76±7.65)%，差异有统计学意义($F=171.0, P<0.001$)；与NC组相比，PD-1组、GEM组和联合组小鼠肿瘤组织中VEGF阳性表达率均不同程度降低($P<0.05$)；PD-1组和GEM组小鼠肿瘤组织中VEGF阳性表达率无明显差异($P>0.05$)；与PD-1组、GEM组比较，联合组小鼠肿瘤组织中VEGF阳性表达率明显降低($P<0.05$)，见图6、7。

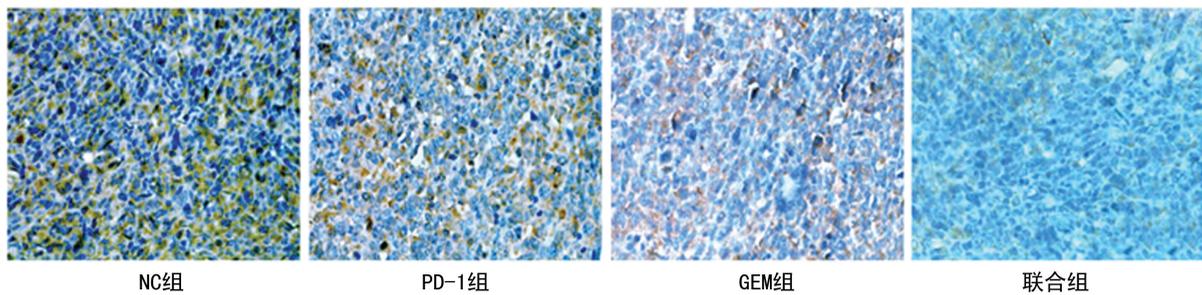
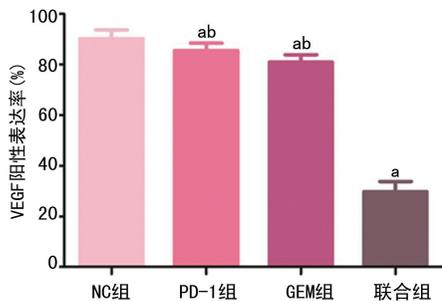


图 6 各组免疫组织化学 VEGF 阳性表达(×400)



^a: $P < 0.05$, 与 NC 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与联合组比较。

图 7 各组小鼠肿瘤组织 VEGF 阳性表达率比较

3 讨论

肺癌是一种常见的恶性肿瘤,其病死率已位居癌症病死率之首,近年来肺癌的发病率持续上升,严重威胁人们的健康^[11]。其中非小细胞肺癌占肺癌的 70%~80%,且大部分患者确诊时基本处于肺癌晚期。化疗是肺癌晚期的主要治疗方法,但由于化疗药物的不良反应,以及肿瘤患者的血管无序性可阻碍化疗药物进入组织等情况,一定程度上降低了化疗药物的治疗效果^[12]。

恶性肿瘤的治疗目的是能够清除肿瘤细胞而又不伤及健康组织。传统治疗如手术、放疗和化疗等在杀死肿瘤细胞的过程中,会不可避免地对人体正常组织造成损伤,而且缺乏特异性,无法彻底清除微小残留病灶或残存的肿瘤细胞,导致其治愈率低,复发率和病死率高。利用免疫系统能够区分“自我”与“非我”、正常组织与恶性肿瘤的特点,来提高治疗效率,减少不良反应,已被称为肿瘤治疗的第 4 种模式^[13-14]。近年来,关于恶性肿瘤的免疫治疗研究取得了重大进展。其中最为瞩目的免疫治疗方式是以 PD-1 抗体为代表的免疫检查点抑制剂。PD-1 是机体内非常重要的免疫检查点,它可通过与两个配体 PD-L1 和 PD-L2 的结合来抑制 T 淋巴细胞的活化、增殖及细胞因子的产生,该机制对于机体维持免疫耐受发挥重要作用,并且在多种实体瘤中显示出卓越的抗肿瘤疗效^[15]。然而,80% 的患者单用免疫治疗是无效的(原发性耐药),而且一小部分有效的患者中还会存在部分患者出现复发(继发性耐药)。因此原发性耐药和继发性耐药是应用 PD-1 抗体治疗肿瘤的最大困

扰。为了进一步提高疗效,越来越多的临床研究聚焦于联合治疗,包括与化疗药物联合、与抗血管抑制剂联合及与其他免疫治疗药物联合等^[16]。肺癌一线药物 GEM 是细胞周期特异性抗代谢药物,介导着 DNA 的合成,和铂类药物联合使用效果最佳,但仍有一部分患者对联合化疗不耐受,这也一定程度地降低了患者的疗效^[17]。

本文建立肺癌小鼠模型,分别用 GEM、PD-1 及 GEM 联合 PD-1 对肺癌小鼠进行干预治疗,肿瘤生长情况比较结果显示,联合组小鼠的肿瘤质量和体积均小于 GEM 组和 PD-1 组,且肿瘤生长得到了明显的延缓,肿瘤生长抑制率明显升高;但 GEM 组和 PD-1 组小鼠的生长情况无明显差异,可见 GEM 联合 PD-1 可有效延缓肿瘤的生长,降低肿瘤的质量和体积,明显提高抗肿瘤效应。李源等^[18]研究发现,阿帕替尼联合 GEM 组肿瘤体积、最高标准摄取值(SUV_{max} 值)及血管内皮生长因子受体 2(VEGFR-2)阳性表达均明显低于阿帕替尼组和 GEM 组,阿帕替尼联合 GEM 可对 Lewis 肺癌移植瘤产生协同抗肿瘤效应。肿瘤血管生成对肿瘤的生长和发展至关重要,早有研究证实血管的新生可为肿瘤提供一定的营养,促进了肿瘤的生长、转移等。因此,抑制肿瘤血管的生成可有效抑制肿瘤的生长。本研究结果显示,GEM 和 PD-1 共同干预的联合组小鼠肿瘤 MVD 均低于 PD-1 组和 GEM 组,可见 GEM 联合 PD-1 可有效抑制血管生成,进而抑制肿瘤的生长。刘相良等^[19]研究证实,VEGF 靶向药物贝伐珠单抗注射液可抑制肿瘤血管生成,在肿瘤耐药后仍然取得较好的临床疗效,可将化疗联合贝伐珠单抗注射液作为五线化疗方案治疗肺腺癌肝转移所致的高胆红素血症。VEGF 是重要的促血管生成因子,能增加血管通透性,促进皮内细胞迁移、增生和肿瘤新生血管生成,促进肿瘤生长和转移。本研究结果显示,联合组小鼠肿瘤组织中 VEGF 阳性表达率明显低于 GEM 组和 PD-1 组,但 GEM 组和 PD-1 组无明显差异,可见 GEM 和 PD-1 产生协同作用,共同抑制肿瘤中 VEGF 的阳性表达。有研究表明,阻断 VEGF 和 VEGF 受体可促进肿瘤血管结构的正常化,也可改变肿瘤的微环境^[20]。

综上所述,GEM 联合 PD-1 单抗可发挥协同作用抑制肺癌肿瘤的生长,降低 MVD 及 VEGF 的表达。

参考文献

- [1] 周洁琦,徐圣杰,高莉蓉,等. 去整合素金属蛋白酶 15 通过 AKT/ERK 通路和 MMP9 影响肺癌细胞的增殖,迁移和侵袭[J]. 临床肺科杂志, 2021,26(11):1707-1712.
- [2] LAMBROS L, GUIBOURG B, FLAHEC G L, et al. The rarity of concomitant genetic alterations in lung cancer[J]. Mod Pathol, 2018, 31: 539-540.
- [3] LIN C, ZHANG X, CHEN H, et al. Dual-ligand modified liposomes provide effective local targeted delivery of lung-cancer drug by antibody and tumor lineage-homing cell-penetrating peptide[J]. Drug Deliv, 2018, 25(1): 256-266.
- [4] 李娜,王玉珠,杨进波. PD-1/PD-L1 抗体临床药理学研究的考虑[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(4): 390-397.
- [5] 韩笑,林沛楠,王标,等. PD-1/PD-L1 通路及其抗体耐药机制的研究进展[J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(6): 563-568.
- [6] 刘康,钟小娟,袁火忠,等. PD-1/PD-L1 抑制剂联合治疗在癌症免疫治疗中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(24): 4488-4494.
- [7] 胡琪,于雪峰,黎雨,等. 抗 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂的皮肤免疫相关不良反应的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(4): 133-136.
- [8] 殷悦,张羽白,邢丽娜. 肿瘤突变负荷对非小细胞肺癌免疫治疗疗效的预测价值[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018, 17(9): 717-720.
- [9] ALKHATIB M H, ALKHAYYAL N S. The apoptotic effect of gemcitabine-loaded-microemulsion (isopropyl myristate/tween 80/span 20/water/ethanol) on A549 non-small cell lung cancer cells[J]. Cytologia, 2016, 81(4): 423-429.
- [10] 彭星辰,李杭,谭诗生,等. 重组内皮抑素联合吉西他滨对小鼠肺癌移植瘤生长的抑制作用[J]. 山东医药, 2010, 50(21): 27-28.
- [11] 姜运峰,董晓鹏,赵小刚. PD-1 单克隆抗体联合血管内皮抑素在 Lewis 肺癌小鼠的抗肿瘤效应[J]. 山东大学学报(医学版), 2018, 56(9): 11-16.
- [12] LI L, LV Y, ZHANG Y, et al. Expression and clinical significance of Oct-4 and E-cad in non-small-cell lung cancer[J]. Oncol Lett, 2016, 11(1): 234-236.
- [13] HAMILTON G, RATH B. Pharmacogenetics of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer: predictive validity of polymorphisms of ERCC1 [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2018, 14(1): 17-24.
- [14] ASSI R, KANTARJIAN H, RAVANDI F, et al. Immune therapies in acute myeloid leukemia: a focus on monoclonal antibodies and immune checkpoint inhibitors[J]. Curr Opin Hematol, 2018, 25(2): 136-145.
- [15] WANG L Y, YAO R X, XU Q Q, et al. Prospect of combination of anti-PD-1/PD-L1 therapy and other therapeutics for treatment of lung cancer[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2019, 33(10): 888.
- [16] 胡舜英,杨芊,陈韵岱. 程序性死亡蛋白-1 及配体在心肌炎发病中的作用[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2019, 18(10): 784-787.
- [17] ZHANG B, DENG S M, GUO L C, et al. Effect of gemcitabine on the uptake of (18)F-fluorodeoxyglucose and (18)F-fluorothymidine in lung adenocarcinoma A549 cells and the animal tumor model[J]. J Cancer Res Ther, 2016, 12(1): 271-276.
- [18] 李源,秦蓉声,范娟. 阿帕替尼联合吉西他滨对 Lewis 肺癌的实验研究[J]. 医学综述, 2019, 25(5): 1036-1040.
- [19] 刘相良,纪伟,李理,等. 盐酸厄洛替尼片及耐药后化疗联合贝伐珠单抗注射液治疗肺腺癌 1 例报告并文献复习[J]. 吉林大学学报(医学版), 2017, 43(5): 1019-1024.
- [20] 刘浩,方素萍,赵志正,等. 扶正解毒方选择性抑制肿瘤血管生成及调控 VEGF/VEGFR-2 信号通路的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2015, 22(6): 626-628.