

公示材料

一、项目名称：益气健脾法治疗消化系肿瘤的临床应用和疗效机制

二、项目主要完成人：肖海娟，范忠泽，杨林，邓皖利，千维娜，魏辉，乔喜婷，王少辉，杨洋，方瑜

三、提名者：陕西省中医药管理局

四、提名意见：

化疗在临幊上是延长中晚期消化系统肿瘤患者生存期的重要治疗手段，但化疗耐药严重影响了化疗疗效，因此研究其耐药机制对于改善患者预后至关重要。中医理论认为，消化系统肿瘤为本虚标实之证，脾胃虚弱为发病之本，痰、湿、热、瘀、毒为发病之标，故益气健脾法为防治本病的根本大法，兼顾利湿化痰、活血化瘀、清热解毒、软坚散结。研究发现益气健脾法能够改善消化系统肿瘤患者化疗不良反应，增加临床疗效，尤其是在逆转铂类耐药方面具有优势，进一步阐述了益气健脾类方药增加肿瘤细胞化疗敏感性的分子机制，为临幊应用提供了循证学依据，丰富了益气健脾治疗消化系统肿瘤的科学内涵，提升了临幊治疗水平，具有很好的科研创新性及临幊应用前景。

该项目基于国家级名老中医经验方及益气健脾经典方剂为基础加减的方剂，观察其在胃癌、结直肠癌、肝癌、胆囊癌的临幊获益，通过体内、体外实验，运用分子生物学技术手段，研究了肠胃清方逆轉人结肠癌化疗耐药的分子机制及长链非编码 RNA Loc554202 对大肠癌、肝癌侵袭能力负反馈调节作用，为临幊应用益气健脾法治疗消化系统肿瘤提供了科学依据。该项目开展期间，课题组先后完成国家自然科学基金 4 项，陕西省自然科学基金 2 项，中国博士后科学基金 1 项，上海市科委中药现代化专项资助课题 1 项，陕西中

医药大学创新团队基金资助项目 1 项；获国家发明专利 7 项、实用新型专利 2 项；发表学术论文 100 余篇，其中 SCI 收录 30 篇；培养博士后 1 名，博士生 10 名，硕士研究生 15 名。

该项目形成了益气健脾法在消化系统肿瘤应用的病证结合中医药诊疗方案及医疗机构制剂，在省内及省外多家医疗机构推广应用，产生了较大的经济和社会效益。肠胃清在制剂工艺(肠胃清颗粒、肠胃清口服液)的不断改造完善，提高了中医药的推广与使用，带动了医院制剂中心发展，对临床应用及科研创新有重要意义。

因此，提名该项目为陕西省科学技术进步奖二等奖。

五、项目简介：

肿瘤是全球性的公共卫生问题，我国每年新发恶性肿瘤超过 300 万例，每年因恶性肿瘤死亡病例高达 210 万。最新研究数据显示，在致死人数最多的十大恶性肿瘤中，消化系肿瘤占了 5 个（胃癌居第 2 位，食管癌第 3 位，肝癌第 4 位，结直肠癌第 5 位，胰腺癌第 10 位），发生率占人体实体瘤的近 60%，严重危害了人民健康。化疗是目前治疗肿瘤的主要手段之一，逐渐出现的化疗耐药及毒副作用限制了其临床应用，据美国癌症协会（ACS）统计，90% 以上的肿瘤患者死于不同程度的耐药。因此，如何逆转化疗耐药，明确耐药分子机制，提高患者生存质量，延长生存期是抗肿瘤治疗亟需解决的重点、难点问题。中医治疗消化系统肿瘤方面具有优势，应用“益气健脾法”联合化疗治疗消化系统肿瘤，我们发现患者的临床症状改善明显，化疗毒副反应显著降低，进一步的研究提示益气健脾类方药可协同化疗药物增敏，提高抗肿瘤疗效。故研究益气健脾法治疗消化系统肿瘤的临床应用与分子机制，为明确中药复方的作用靶点，揭示中医药增效减毒的物质基础，丰富中医药治疗方法，提供新的研究思路和实验依据，具有重大的临床应用价值。

在“益气健脾法”的基础上，本项目以国家级名老中医范忠泽教授健脾解毒方（肠胃清）、陕西省名中医陈光伟教授扶正抗癌方及益气健脾经典方剂四君子汤进行加减（益气健脾方、益气通腑汤）对胃癌、结直肠癌、肝癌、胆囊癌的临床疗效为研究目标，通过

临床研究发现益气健脾方剂均具有良好的临床疗效，尤其是在减轻化疗药物毒副作用，增加化疗药物敏感性方面具有优势，基于此，我们进一步开展了关于益气健脾方剂在逆转消化道肿瘤化疗耐药方面的机制研究。

该项目从以下几个方面研究了益气健脾法治疗消化系统肿瘤的分子机制与临床应用：

1.益气健脾法的临床研究

- (1) 健脾解毒方肠胃清对晚期结直肠癌 FOLFOX4 方案化疗有增加近期疗效、提高生活质量、减少不良反应的作用；
- (2) 益气健脾方联合 FOLFOX4 方案，可抑制胃癌术后脾胃虚弱证患者新生血管再生、提高机体免疫功能、减轻化疗相关不良反应，从而改善预后；
- (3) 扶正抗癌方联合化疗治疗胆囊癌，可显著延长患者的无疾病进展生存期，减轻化疗不良反应，降低肿瘤标志物水平，防止肿瘤复发转移；
- (4) 益气通腑汤可预防结直肠癌根治术后复发转移，通过降低 CEA、CA199 血清肿瘤标志物含量和 VEGF、MMP-9、OPN 复发转移相关蛋白含量，减轻化疗毒副反应，从而提高临床疗效。

2.益气健脾法的疗效机制研究

(1) 肠胃清逆转人结肠癌化疗耐药的分子机制研究

通过体内、体外实验，建立人肠癌裸鼠皮下移植瘤模型、体外培养人结肠癌 HCT116/L-OHP 耐药细胞，运用分子生物学手段，采用细胞生物学、分子生物学、药物动力学等技术，运用分子克隆、siRNA、Real-time PCR、Westernblot、ICP-MS、FCM 技术等方法研究肠胃清方如何逆转人结肠癌化疗耐药的分子机制，我们发现：中药复方肠胃清具有逆转胃癌、结直肠癌多药耐药（MDR）的作用，尤其是对铂类耐药具有良好的逆转作用，其分子机制为：①HCT116/L-OHP 细胞具有稳定的耐药性，其耐药机制可能与细胞耐药蛋白

表达、细胞周期和 p53 信号通路表达上调有关; ②肠胃清含药血清可以逆转人结肠癌 HCT116 /L-OHP 耐药细胞对 L-OHP 的耐药性, 逆转指数 (RI) 为 2.63 倍, 其机制与肠胃清促进肿瘤细胞 DNA 损伤、诱导凋亡有关; ③肠胃清通过促进 P53、Bax 基因、抑制 Bcl-2 基因蛋白, 抑制胃癌 SGC7901 细胞增殖, 并诱导细胞凋亡; ④肠胃清联合奥沙利铂能显著抑制 HCT116 /L-OHP 耐药细胞的增殖和侵袭能力, 其侵袭抑制作用与 ADAM-17、MMP-2、MMP-9、BCL-2 蛋白下调表达有关。

（2）大肠癌、肝癌中长链非编码 RNA Loc554202 的基因表达研究

通过临床病理标本对比, 课题组发现长链非编码 RNA Loc554202 对大肠癌侵袭能力起负反馈调节作用, 可以作为大肠癌预后的生物学标志; 进一步研究发现, Loc554202 在肝癌标本中表达明显上调, 沉默 Loc554202 可靶向 miR-485-5p/BSG 轴, 从而抑制肝癌细胞的增殖转移, 诱导细胞凋亡, 故 Loc554202/miR-485-5p/BSG 轴可能是一种有效的替代治疗方法, 用于预测肝癌患者的诊断和预后。

该项目探索了益气健脾法治疗消化系统肿瘤的临床应用与疗效机制, 为指导临床应用中医药以增加肿瘤化疗敏感性提供了新的研究思路和实验依据。基于此研究方向, 课题组先后完成国家自然科学基金 4 项, 陕西省自然科学基金 2 项, 中国博士后科学基金 1 项, 上海市科委中药现代化专项资助课题 1 项, 陕西中医药大学创新团队基金资助项目 1 项; 获国家发明专利 7 项、实用新型专利 2 项; 发表学术论文 100 余篇, 其中 SCI 收录 30 篇; 培养博士后 1 名, 博士生 10 名, 硕士研究生 15 名, 该项目有力推动了学科建设及科技创新, 具有重要的临床应用前景。

六、客观评价:

1. 同行评议及课题验收

（1）国家自然科学基金委员会的同行评议、按期顺利结题

同行评议: 2013 年 08 月 20 日, 国家自然科学基金委员会对“ADAM-17 激活 EGFR 信号通路介导大肠癌化疗耐药及肠胃清对其

作用的研究”（项目编号：81303135）进行同行评议，评审意见如下：申请者选择中药增加肿瘤细胞化疗敏感性的作用机制为研究方向，选题科学，能够充分挖掘中医药的应用优势，有良好的应用前景，创新性好，研究方案合理，项目组的研究能力较强，有一定的研究基础。该课题拟利用敏感与耐药人肠癌细胞株中 ADAM-17 的表达差异，探讨中药调节肠癌多药耐药的作用机制，选题有较好的科学意义和应用前景，学术思想有一定的创新性，项目主持人有较好的前期研究基础。该项目从 ADAM-17/EGFR 信号通路的角度研究大肠癌化疗耐药的发生机制并应用中药肠胃清进行干预，以期寻找逆转肿瘤细胞耐药的方法，具有比较重要学术意义和实用价值。该项目总体思路清晰，技术路线合理，重点突出，应用了 RNA 干扰及基因过表达的实验手段和方法，通过敏感细胞和耐药细胞进行对比研究。课题组有一定的工作基础，研究人员配备合理，实验进度和经费预算合理。

结题通知：2017 年 03 月 13 日国家自然科学基金委员会医学科学部对资助项目准予结题通知：肖海娟同志承担的自然科学基金项目：(ADAM-17 激活 EGFR 信号通路介导大肠癌化疗耐药及肠胃清对其作用的研究)，批准号：(81303135)，按有关规定，以审核完毕，准予结题。

结题概述：本实验通过分子克隆的方法构建靶向 ADAM-17 基因的 siRNA 质粒，转染 HCT116/L-OHP 耐药细胞 4h，用 L-OHP 治疗 48h 后，realtime-PCR 验证成功沉默 ADAM-17 基因，Western blot 证实 ADAM-17 基因的上调激活 EGFR 信号通路是大肠癌发生多药耐药的重要机制。发现健脾解毒中药复方肠胃清具有抑制 ADAM-17 蛋白编码，阻断 EGFR 信号通路激活的调节作用；证实肠胃清通过 ADAM-17/EGFR/BCL-2 凋亡通路增加大肠癌化疗敏感性，逆转耐药的抗肿瘤作用。为指导临床应用中医药增加肿瘤细胞化疗敏感性的作用机制提供了新的研究思路和实验依据。此外，我们发现肠胃清联合奥沙利铂能显著抑制 HCT116/L-OHP 耐药细胞的侵袭能力，其机制与 ADAM-17 蛋白下调有关，该成果发表在《中国临床药理学杂志》上（2016,32（23）：2166-2169）。我们还通过临床病理标本对比发现长链非编码 RNA Loc554202 对大肠癌侵袭能力起负反馈的调节作用，可以作为大肠癌预后的生物学标志，该研究成果发表在

European Review for Medical and Pharmacological Sciences (2016; 20: 4243-4247, IF: 1.575) 杂志。标注该课题的文章 5 篇，其中 SCI 收录 1 篇。培养硕士研究生 2 名。

（2）陕西省科学技术厅的结题概述

结题通知：2018 年 07 月 23 日陕西省科学技术厅对资助项目准予结题通知：肖海娟女士承担的陕西省自然科学研究计划项目结题材料已收悉，按照陕西省自然科学基础研究计划结题项目评价指标和有关规定，经审查，符合结题要求，同意结题。项目名称：Annxin A3 介导结肠癌化疗耐药及肠胃清对其作用的研究；项目编号：2015JQ8288；评价结果：验收通过。

结题概述：本课题通过分子克隆的方法构建靶向 AnnexinA3 基因的 siRNA 质粒，转染 HCT116/L-OHP 耐药细胞 4h，用 L-OHP 治疗 48h 后，realtime -PCR 验证成功沉默 AnnexinA3 基因，Western blot 证实 AnnexinA3 基因的上调抑制 P53 信号通路是大肠癌发生多药耐药的重要机制。发现健脾解毒中药复方肠胃清具有抑制 AnnexinA3 蛋白编码，激活 P53 信号通路激活的调节作用；证实肠胃清通过 AnnexinA3/P53/Caspase3 凋亡通路增加大肠癌化疗敏感性，逆转耐药的抗肿瘤作用。为指导临床应用中医药增加肿瘤细胞化疗敏感性的作用机制提供了新的研究思路和实验依据。标注该课题的文章 5 篇，其中 SCI 收录 1 篇。培养硕士研究生 2 名。

2. 科技查新

该项目经教育部科技查新工作站综合分析(Z08)，所查范围内未发现与国内相同的文献报道。此项目主要查新点是：（1）健脾扶正中药复方肠胃清能够逆转大肠癌化疗多药耐药，尤其是铂类耐药；（2）中药复方肠胃清通过 ADAM-17/EGFR 凋亡通路增加大肠癌化疗敏感性，逆转耐药的抗肿瘤作用。

七、应用情况：（陕西省自然科学奖不列）

1. 应用推广

该项目从益气健脾法治疗消化系统肿瘤入手，进行了相关的分子机制与临床应用研究，为临床抗肿瘤治疗提供了应用价值。益气解毒方(肠胃清)、扶正抗癌方已在临床运用 40 余年，益气健脾方、益气通腑汤已在临床运用 10 余年，肠胃清在制剂工艺(肠胃清颗粒、肠胃清口服液)的不断改造完善，加强了药物的推广及使用力度，以上方剂先后在上海中医药大学附属普陀医院、陕西中医药大学附属医院、咸阳市中心医院、西安国际医学中心广泛使用，疗效确切、应用安全、质量可靠、使用便捷，在治疗消化系统肿瘤方面取得了良好的临床疗效，实现减轻患者临床症状，提高生活质量 (KPS 评分)，延长生存期(OS)，尤其在逆转化疗耐药方面优势突出，明确了健脾类中药复方治疗消化系统肿瘤的作用靶点及疗效机制，寻找临床治疗新靶点、新的预测因子，为临床应用打下基础，进一步明确中医药逆转化疗耐药机制，为临床更好的应用和开发中医药治疗肿瘤提供科学依据。

2. 学术推广和人才培养

本项目研究成果已发表在《Cancer Gene Therapy》、《European Review for Medical and Pharmacological Sciences》、《上海中医药杂志》、《中国临床药理学杂志》、《肿瘤》等国际、国内核心杂志上，共发表学术论文 100 余篇，其中 SCI 收录 30 篇。培养博士后 1 名，博士生 10 名，硕士研究生 15 名，推动了中医药学术成果的发展及人才培养建设。

八、主要知识产权和标准规范等目录（限 10 条）（科学技术进步奖、技术发明奖、创新驱动秦创原奖填写）

序号	知识 产 权 类 别	知识 产 权 具 体 名 称	国家 (地 区)	授权号	授权日期	证书编号	权利人	发明人
1	论文	FOXO3-induced lncRNA LOC554202 contributes to hepatocellular carcinoma progression via the miR-485-5p/BSG axis	英国	2022, 29: 326–340	2022	Cancer Gene Therapy	陕西中医药大学附属医院；咸阳市中心医院	<u>Lin Yang</u> , <u>Wan-li Deng</u> , Bao-guo Zhao, Yao Xu, Xiao-wen Wang, <u>Yu Fang</u> , <u>Hai-juan Xiao</u> *

2	论文	Long non-coding RNA Loc554202 expression as a prognostic factor in patients with colorectal cancer	欧洲	2016, 20 (20): 4243-4247	2016	European Review For Medical And Pharmacological Sciences	陕西中医药大学附属医院; 咸阳市中心医院	<u>Lin Yang, Hui Wei, Hai-juan Xiao*</u>
3	论文	肠胃清含药血清对人结肠癌 HCT116/L-OHP 耐药细胞凋亡作用的影响	中国	2016, 50(02):79-83	2016.02.10	上海中医药杂志, 2016, 50(02): 79-83	陕西中医药大学附属医院; 上海中医药大学附属普陀医院	<u>肖海娟, 孙珏, 许建华, 范忠泽</u>
4	论文	益气健脾方辅助 FOLFOX4 化疗方案治疗胃癌术后脾胃虚弱证临床研究	中国	2020, 27(05): 12-17	2020.02.23	中国中医药信息杂志, 2020, 27(05): 12-17	陕西中医药大学附属医院	<u>千维娜, 李治, 赵艳莉, 王院春, 司海龙, 任革, 肖海娟, 方瑜</u>
5	论文	肠胃清粗提物协同奥沙利铂抑制人结肠癌 HCT116 细胞及其作用机制研究	中国	2012, 34(05): 804-807	2012.05.20	中成药, 2012, 34(05): 804-807	上海中医药大学附属普陀医院	<u>肖海娟, 金泉克, 陆海, 孙珏, 许建华, 范忠泽</u>
6	论文	人结肠癌奥沙利铂耐药细胞株 HCT116/L-OHP 的建立及其耐药机制初探	中国	2011, 31(08): 675-681	2011.08.25	肿瘤, 2011, 31(08): 675-681	上海中医药大学附属普陀医院	<u>陆海, 孙珏, 许建华, 范忠泽</u>
7	论文	肠胃清联合奥沙利铂对人结肠癌耐药细胞株 HCT116/L-OHP 侵袭作用的影响	中国	2016, 32(23): 2166-2169	2016.12.17	中国临床药理学杂志, 2016, 32(23): 2166-2169	陕西中医药大学附属医院; 上海中医药大学附属普陀医院	<u>肖海娟, 杨林, 潘改燕, 胡双双, 张锦, 范忠泽</u>
8	论文	中药复方肠胃清含药血清对胃癌 SGC7901 细胞凋亡的影响	中国	2012, 19(05): 32-35	2012.05.15	中国中医药信息杂志, 2012, 19(05): 32-35	上海中医药大学附属普陀医院	<u>金泉克, 肖海娟, 孙珏, 李琦, 许建华, 高虹, 范忠泽</u>
9	论文	益气通腑汤预防结直肠癌根治术后复发转移疗效研究	中国	2019, 40(11): 1513-1515	2019.11.05	陕西中医, 2019, 40(11): 1513-1515	咸阳市中心医院	<u>乔喜婷, 邱春丽, 肖海娟, 代引海, 杨林, 方瑜</u>
10	论文	扶正抗癌方联合 GP 方案治疗胆囊癌	中国	2019, 34(08): 1745-1749	2019.07.27	中医学报, 2019, 34(08): 1745-1749	陕西中医药大学附属医院; 西安国际医学中心医院	<u>杨洋, 王少辉, 陈光伟, 王鹏利</u>

九、主要完成人情况:

排名	姓名	职称	职务	工作单位	完成单位	对本项目（学术性/技术创造性）贡献	曾获科技奖励情况
----	----	----	----	------	------	-------------------	----------

1	肖海娟	主任医师	科主任	陕西中医药大学附属医院	陕西中医药大学附属医院	该项目的主要负责人, 总体设计, 主持, 实施, 成文	无
2	范忠泽	主任医师	无	上海中医药大学附属普陀医院	上海中医药大学附属普陀医院	项目指导, 结果分析, 评价论证	2014 年教育部高等学校科学技术进步奖二等奖(第二完成人); 2014 年上海市科技进步奖二等奖(第二完成人); 2011 年 中华中医药学会科技进步奖二等奖(第一完成人); 2010 年中华中医药学会科技进步奖(第一完成人), 2020 年获上海市中医药杰出贡献奖
3	杨林	副主任医师	无	咸阳市中心医院	咸阳市中心医院	临床标本收集, 基础实验, 数据采集	2015 年 陕西省科技进步三等奖(第 5 完成人), 2019 年陕西省科技进步奖三等奖(第 5 完成人), 2021 陕西省科技进步奖三等奖(第 5 完成人)
4	邓皖利	主任医师	科主任	上海中医药大学附属普陀医院	上海中医药大学附属普陀医院	临床与实验研究方案的制定	无
5	千维娜	主治医师	无	陕西中医药大学附属医院	陕西中医药大学附属医院	基础实验研究, 临床资料分析	无
6	魏辉	主任医师	无	陕西中医药大学附属医院	陕西中医药大学附属医院	组织实施, 结果讨论分析	咸阳市科学技术三等奖; 咸阳市科学技术二等奖
7	乔喜婷	副主任医师	无	咸阳市中心医院	咸阳市中心医院	临床资料收集, 项目结果评价	无
8	王少辉	副主任医师	无	陕西中医药大学附属医院	陕西中医药大学附属医院	临床资料收集, 结果讨论分析	无
9	杨洋	副主任医师	无	西安国际医学中心医院	西安国际医学中心医院	临床资料收集, 参与课题的实验研究	无

10	方瑜	副教授	教研室主任	陕西中医药大学	陕西中医药大学	临床资料收集, 参与课题的实验研究	无
----	----	-----	-------	---------	---------	-------------------	---

十、主要完成单位(学术性/创新推广)贡献

排名	完成单位	单位性质	法定代表人	联系人/电话	通讯地址	邮政编码	对本项目主要贡献
1	陕西中医药大学附属医院	事业单位	李哲	周锋 /029-33320868	陕西省咸阳市渭阳西路副2号	712000	在空间和经费上的全力支持, 配备相关设备和人员, 协调后勤处, 科研处, 临床科室全力配合, 推动项目实施。
2	上海中医药大学附属普陀医院	事业单位	黄德魁	王雄彪 /021- 62572723	上海市普陀区兰溪路164号	200063	组织并配合项目开展, 促进项目实施
3	咸阳市中心医院	事业单位	徐晓峰	朱海云 /029-33288692	陕西省咸阳市渭城区人民东路78号	712000	组织并配合项目开展, 协助临床实验
4	西安国际医学中心医院	民营企业	孙文国	许鹏 /029-68301914	西安市高新区西太路777号	710100	临床资料收集, 参与课题的实验研究
5	陕西中医药大学	公办高校	孙振霖	王晶 /029-38185083	陕西省西咸新区世纪大道中段	712046	参与项目的组织实施

十一、完成人合作关系说明

序号	合作方式	合作者/项目排名	合作起始和完成时间	合作成果
----	------	----------	-----------	------

1	论文合著	范忠泽/第二	2012.5~2016.12	与肖海娟完成了论文3, 论文5, 论文7, 论文8; 与杨林完成了论文7
2	论文合著	杨林/第三	2016.12~2021.3	与肖海娟完成了论文1, 论文2, 论文7, 论文9; 与方瑜完成了论文1; 与邓皖利完成了论文1; 与魏辉完成了论文2; 与范忠泽完成了论文7; 与乔喜婷完成了论文9;
3	论文合著	邓皖利/第四	2011.3~2021.5	与肖海娟完成了论文1; 与杨林完成了论文1; 与方瑜完成了论文1;
4	论文合著	千维娜/第五	2020.2~2021.5	与肖海娟完成了论文4; 与方瑜完成了论文4;
5	论文合著	魏辉/第六	2016.3~2021.5	与肖海娟完成了论文2; 与杨林完成了论文2;
6	论文合著	乔喜婷/第七	2019.11~2021.5	与肖海娟完成了论文9; 与杨林完成了论文9;
7	论文合著	王少辉/第八	2019.7~2021.5	与杨洋完成了论文10;
8	论文合著	杨洋/第九	2019.7~2021.5	与王少辉完成了论文10;
9	论文合著	方瑜/第十	2019.11~2021.5	与肖海娟完成了论文1、论文4; 与千维娜完成了论文4;