

参苓白术散加减治疗肺癌骨转移的疗效及作用机制探讨

罗悦琼 李琦

(简阳市中医院肿瘤科,简阳,641400)

摘要 目的:观察参苓白术散治疗肺癌骨转移的临床疗效并分析其发挥作用的部分机制。方法:将本院2008年1月至2014年8月60例肺癌骨转移患者纳入研究,根据是否使用参苓白术散将常规组(31例)及中药组(29例),2组均接受含铂两药联合化疗,唑来磷酸4 mg + 0.9% NaCl 100 mL 静脉滴注,每3周1次,连续治疗15周。中药组在上述治疗基础上加用参苓白术散加味,1剂/d,连续治疗15周。治疗结束后比较2组患者骨痛、外周血Th17细胞百分率的变化。结果:1)经过治疗后2组骨痛VAS评分均较治疗前均有所下降,其中中药组下降的趋势更为明显,与常规组比较具有统计学意义($P < 0.05$)。2)随访过程中发现中药组发生SREs于首次出现处先叙述其中文全称,然后在其后括号内注明中文缩略语、英文全称及英文缩略语,三者间用“,”分开。的时间明显较常规组延长,2组比较差异具有统计学意义($t = 4.39, P = 0.034 < 0.05$)。中药组SREs发生率与常规组比较明显下降,差异具有统计学意义($\chi^2 = 5.01, P = 0.01 < 0.05$)。3)经过治疗后2组Th17细胞百分比均较治疗前均有所下降,其中中药组下降的趋势更为明显,与常规组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论:参苓白术散可明显缓解肺癌骨转移患者的临床症状,其作用机制可能与降低外周血Th17细胞从而促进免疫能力表达有关。

关键词 肺肿瘤;骨转移;Th17;参苓白术散

The Curative Effect of Modified Shenling Baizhu Decoction in the Treatment of Bone Metastases from Lung Cancer and Its Mechanism

Luo Yueqiong, Li Qi

(Oncology Department of Jianyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jianyang 641400, China)

Abstract Objective: To observe the curative effect of modified Shenling Baizhu decoction in the treatment of bone metastases from lung cancer and to analyze its mechanism. **Methods:** Sixty cases of lung cancer patients with bone metastases (enrolled in our hospital from January 2008 to August 2014) were selected in the study. According to whether use modified Shenling Baizhu decoction, they are divided into the conventional group (31 cases) and TCM (Traditional Chinese Medicine) group (29 cases), and both of the two groups accepted chemotherapy of allied two medicines containing Pt. 4 mg zoledronic acid + 0.9% NaCl 100 mL intravenous drip, once every three weeks, lasting for 15 weeks. TCM group was given Shenling Baizhu decoction on the basis of the above treatment, 1 dose/day, lasting for 15 weeks. To compare bone pain, peripheral blood Th17 cell percentage changes between the two groups. **Results:** 1) After treatment, the bone pain VAS scores of the two groups decreased, the decline degree of TCM group is more obvious than that of the conventional group ($P < 0.05$). 2) In the process of follow-up, it was found that the appearance of SREs in TCM group is significantly faster than that of the conventional group with statistical difference ($t = 4.39, P = 0.034 < 0.05$). The incidence of SREs in TCM group decreased obviously than the conventional group with statistical difference ($\chi^2 = 5.01, P = 0.01 < 0.05$). 3) After treatment, the Th17 cells in the two groups decreased significantly than before, and the downward trend was more apparent than the conventional group with statistical differences ($P < 0.05$). **Conclusion:** Shenling Baizhu power can obviously relieve the clinical symptoms of patients with bone metastases from lung cancer. This may due to the fact that it can decrease Th17 cells in peripheral blood and promote immunity.

Key Words Lung cancer; Bone metastases; Th17; Shenling Baizhu power

中图分类号:R242;R285;R273

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.07.028

肺癌在临床具有较高发病率,其中约有30%~40%^[1]的肺癌患者发生骨转移事件,骨转移发生后

出现的骨痛、病理性骨折、脊髓压迫等一系列并发症严重影响患者的生存质量,甚至缩短其生存期。不

少患者因难以耐受放化疗所致的不良反应而放弃治疗,抑或因患者机体本身的状态不佳而经化疗后加速死亡。因此,寻求新的化疗用药方案具有现实意义^[2-3]。随着以细胞为核心的免疫治疗技术逐渐成熟,为肿瘤患者带来新的靶向治疗方案,而肿瘤免疫治疗的核心细胞即 Th 淋巴细胞,其中 Th17 属于 Th 细胞家族的重要成员之一。

参苓白术散源自《太平惠民和剂局方》,不少文献证实该方经过化裁可在一定程度上抑制肺癌骨转移,但其抗癌机制仍未明了,本研究设想:参苓白术散治疗肺癌骨转移是否通过 Th17 细胞进行桥接?因此我们进行了一系列观察研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2008 年 1 月至 2014 年 8 月 60 例肺癌骨转移患者,其中男 38 例,女 22 例,年龄 38~73 岁,平均(51.98±3.4)岁。其中腺癌 48 例,鳞癌 8 例,腺鳞癌 4 例。根据是否使用参苓白术散将 60 例患者分为常规组(31 例)及中药组(29 例),2 组患者在年龄、性别、组织学分期等一般情况差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 入组标准 1)临床表现、影像学及病理学诊断均符合 2009 年肺癌国际诊断标准;2)病理学证实肺癌骨转移经 CT/MRI 或者病理学证实存在骨转移;3)心、肝、肾等重要脏器功能正常;4)生存期大于 3 个月;5)未使用过放、化疗或已停用 ≥ 4 周。

1.3 治疗方法 2 组患者均接受含铂两药联合化疗,以 3 周为 1 个疗程,唑来磷酸(艾瑞宁,由国药集团国瑞药业生产,规格:4 mg×2 瓶,国药准字 H20064298)4 mg+0.9% NaCl 100 mL 静脉滴注,每 3 周 1 次,连续治疗 15 周。中药组在上述治疗方案基础上加用参苓白术散加味,方药组成:党参 12 g,黄芪 30 g,茯苓 15 g,白术(炒)15 g,山药 9 g,白扁豆 9 g,莲子 9 g,薏苡仁 9 g,砂仁 9 g,桔梗 6 g,神曲 6 g,白花蛇舌草 9 g,甘草 6 g,水煎药方 200 mL,1 剂/d,早晚分服,温服,连续治疗 15 周。

1.4 观察指标 观察 2 组治疗前后骨痛、外周血 Th17 细胞百分率的变化。

1.5 检测方法

1.5.1 骨痛症状的变化 依据“疼痛 VAS 线段分级法”对骨痛症状进行量化动态观察^[2]。疼痛症状的评定使用疼痛视觉模拟(VAS)方法,具体如下:0~3 分有轻微疼痛,可以忍受,不影响休息;4~6 分疼痛影响睡眠,应给予一定的处理;7~10 分疼痛难以忍受,影响食欲,影响睡眠。

1.5.2 Th17 细胞流式检测 1)标本留取和细胞分离:分别抽取 2 组患者治疗前后前臂外周抗凝血 10 mL,用人淋巴细胞分离液提取外周血单核细胞(PBMC, 1×10^6 /mL)400 μ L,置于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,用于 Th17 细胞流式检测。2)主要试剂与仪器:T 淋巴细胞流式抗体 CD4 (CD4-FITC),BD FACSVerserTM System 流式细胞仪及配套试剂,美国 BD Biosciences 公司,人淋巴细胞分离液:天津市灏洋生物制品科技有限责任公司。3)Th17 细胞检测:根据 T 淋巴细胞流式抗体 CD4 (CD4-FITC)检测试剂盒说明书进行操作:将 1)步骤收集的单核细胞置于 37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 培养箱中培养 4~6 h,并将培养后的细胞集中至 EP 管中,用预冷的 0.01M 磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗细胞 1 次,将 EP 管置于 4 $^{\circ}$ C,1 000 g 条件下快速离心 2 min,将上清液去掉,加入流式染色缓冲液重悬细胞 25 min,并加入 CD⁴-FITC 流式抗体 5 μ L,避光培养 30 min,重复流式染色缓冲液重悬细胞,将细胞置于 4 $^{\circ}$ C,1 000 g 条件下快速离心 2 min,将上清液去掉,加入 500 μ L 的破膜剂孵育 30 min 后再次加入预冷的 0.01M PBS 冲洗细胞 1 次,将细胞置于 4 $^{\circ}$ C,1 000 g 条件下快速离心 2 min,将上清液去掉,并加入 IL-17 (IL-17A—APC)相对应的标记物孵育 30 min,再用预冷的 0.01M PBS 重悬细胞,采用流式细胞仪检测。

1.6 统计学方法 全部数据采用 SPSS 17.0 和 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析,所有数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。数据比较先进行正态性和方差齐性检验。若两者均符,采用单因素方差分析和 LSD-*t* 检验进行多样本均数间的两两比较。若有一项不符,则采用 Kruskal-Wallis H 检验和 Dunn's 多重检验对各组数据进行统计分析。以 $\alpha=0.05$ 作为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组骨痛的变化 经过治疗后 2 组骨痛 VAS 评分均较治疗前均有所下降,其中中药组下降的趋势更为明显,与常规组比较具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 2 组治疗后 VAS 评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后
中药组	29	7.28 \pm 0.77	3.55 \pm 0.31
常规组	31	7.42 \pm 0.49	5.89 \pm 0.48
<i>t</i>	-	5.29	3.38
<i>P</i>	-	0.37	0.03

2.2 骨相关事件(SREs)的发生情况 2 组接受治

疗期间均无 SREs 发生,所有患者治疗结束后复查 ECT,其中中药组有 1 例患者骨转移病灶消失,2 例患者骨转移病灶数目减少,余 26 例病情稳定;常规治疗 1 例骨转移病灶数目减少,余下 30 例病情稳定。随访 12 个月后发现中药组发生 SREs 时间为 (4.42 ± 0.23) 个月,常规组 (5.89 ± 9.52) 个月,2 组比较差异具有统计学意义 ($t = 4.39, P = 0.034 < 0.05$)。中药组 2 例骨转移病灶增多,1 例出现脊髓压迫, SREs 发生率 10.34%,常规组 5 例骨转移病灶增多,1 例病理性骨折,2 例脊髓压迫, SREs 发生率 25.82%,2 组 SREs 发生率比较具有统计学意义, $\chi^2 = 5.01, P = 0.01 < 0.05$ 。

2.3 参苓白术散能显著抑制肺癌骨转移患者外周血中 Th17 细胞的表达 对不同治疗组患者外周血进行流式细胞术检测 CD4⁺IL-17⁺ 结果显示:中药组治疗后 CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分率 $(2.38 \pm 0.15)\%$,显著低于治疗前 $(5.5 \pm 0.38)\%$,差异具有统计学意义, $P = 0.018, t = 4.39$,常规组治疗后 CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分率 $(3.28 \pm 0.38)\%$,低于治疗前 $(5.7 \pm 0.36)\%$,差异具有统计学意义, $P = 0.024, t = 4.88$ 。2 组治疗后比较中药组 CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分率明显低于常规组,差异具有统计学意义, $P = 0.034, t = 5.11$ 。具体见图 1。

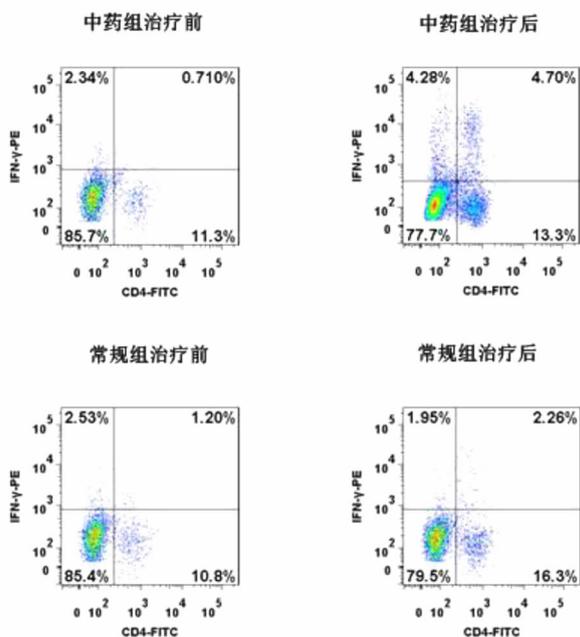


图 1 2 组治疗前后 Th17 流式检测结果

3 讨论

目前在发病率及病死率位方面肺癌远高于其他各类恶性肿瘤,严重威胁人类的健康和生命安全。骨骼组织是肺癌转移最常发生的部位,约有 85% ~

90% 的肺癌患者在确诊 2 ~ 3 年内发生肺癌骨转移,机制研究显示肿瘤细胞通过各种途径和到达骨骼组织微环境,随后产生的各类细胞因子与骨骼组织原有的细胞因子产生效应,破坏正常骨骼组织中成骨细胞/破骨细胞之间的动态平衡,导致骨组织过度溶解或者骨量过度增加,其中破坏性骨转移是肺癌骨转移最常见的类型,当骨质破坏到一定程度时可破坏骨质,当破坏到一定程度时,骨痛随之发生^[4-8],因此我们认为骨痛的缓解可体现干预手段对骨质的修复能力。在本研究中 2 组患者在接受干预手段治疗后骨痛的 VAS 评分均出现不同程度的下降,其中使用了参苓白术散的患者骨痛改善的更为明显,我们有理由相信参苓白术散可在一定程度修复肺癌骨转移患者的骨质,丰哲等利用免疫组化手段证实参苓白术散确可抑制肿瘤细胞对骨骼组织的进一步侵袭,与本研究所得结果基本一致。

机体的免疫系统分为体液免疫和细胞免疫,它们相互联系共同发挥监视肿瘤的作用,其中细胞免疫在监视肿瘤发生、浸润、转移方面占据主导位置,随着研究的深入,肿瘤的“免疫逃逸”逐渐被熟知,由于机体的免疫监视能力下降导致无法完全清除肿瘤细胞,因此“肿瘤患者机体处于免疫抑制状态”这一说法得到广泛认同,因此我们认为提高机体的免疫能力,可促进宿主及时发现肿瘤细胞并将之彻底清除^[9-11]。发挥细胞免疫应答系统的主要环节即 Th 淋巴细胞,Th 淋巴细胞亚群可以调节肿瘤微环境,调动杀伤性 T 淋巴细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞的聚集,对肿瘤细胞进行监视和灭杀,Th17 细胞是近年发现的一种新的不同于 Th1、Th2 的 CD4⁺T 细胞亚群,研究发现,Th17 可能是重要的自身免疫性的主要调节者,发挥着促进炎症反应发展、免疫应答等多种功能。因此,Th17 细胞分化和免疫功能的调控研究具有重要的基础和临床应用价值,且有文献^[12-13]证实肿瘤患者 Th 淋巴细胞的数量逐渐下降,活性亦受到抑制,在研究中我们发生 2 组肺癌骨转移患者的外周血 Th17 的百分率分别为 $(5.5 \pm 0.38)\%$ 及 $(5.7 \pm 0.36)\%$,明显高于其他文献报道的正常人群的 Th17 细胞百分比,这说明肺癌骨转移患者体内的 Th17 数量明显增多,导致机体无法充分发挥免疫功能,经过为期 15 周的治疗后 2 组患者的 Th17 细胞百分比均有所下降,这说明干预手段抑制了 Th17 的活性,恢复机体部分免疫功能,同时我们发现服用参苓白术散的中药组患者 Th17 细胞数量下降得更为明显。

中医学认为肺癌的主要病机是正气不足,外邪内侵,肺失宣降,无形之痰与邪毒聚结成毒,主要治疗原则应以补益肺脾,扶正祛邪为主。参苓白术散首载于《太平惠民和剂局方》,是培土生金的经典方剂,方中党参、黄芪、白术、茯苓共奏益气健脾之功,山药、莲子助健脾益气,薏苡仁可加强健脾渗湿的功效,佐以砂仁醒脾和胃、行气化滞,桔梗宣肺行气,且载诸药上达肺所,神曲健脾胃促消食,白花蛇舌草清热解毒,甘草不仅可健脾和中,且能调节诸药药性。现代药理学研究亦显示党参、白术、茯苓可明显改善机体的物质代谢及微循环,并且可增强蛋白的合成,促进网状内皮系统吞噬肿瘤细胞的能力,从而产生明显的抑癌效应,薏苡仁提取物可上调 T 淋巴细胞的整体活性,白花蛇舌草可促进肿瘤细胞的凋亡,抑制其增殖^[14-15]。因此我们认为参苓白术散不论从中医学角度还是现代药理层面均体现了“养正积自除”。

通过本研究我们有理由相信参苓白术散确实对肺癌骨转移患者的免疫功能产生促进作用,从而改善患者预后。在伦理学的指导下,本研究仅凭患者已接受的治疗方案做为分组的标准,并未进行随机分组,结果可能在一定程度上存在偏倚,另一方面可能此次入选样本量较小有关,故有待于增加样本量,进一步扩大研究予以证实参苓白术散对于改善变异性肺癌骨转移患者的免疫功能的明确机制,为指导临床治疗提供参考。

参考文献

[1] 谭彪彬,冯学知. 肺癌骨转移的临床特征及影响预后相关因素分析[J]. 现代诊断与治疗,2014,24(1):53-54.

[2] 贾慧民,房新志,张国庆,等. 白介素 17 与 FOXP3 在 III A 期肺癌和腺癌中的表达及与预后的关系研究[J]. 中国全科医学,2012,15(12):1345-1349.

[3] 楠楠,申东兰,陈晓秋,等. 355 例恶性肿瘤骨转移的临床分析[J]. 中华肿瘤杂志,2010,32(3):203-207.

[4] 贺学荣. 肺癌骨转移的诊断和临床特征分析[J]. 中华肺部疾病杂志,2009,2(1):17-19.

[5] 尤健,王长利. 肺癌的免疫治疗进展[J]. 中国肿瘤临床,2008,35(17):1015-1017.

[6] 李哲,王大伟,黄有荣,等. 参苓白术散方合四物汤加味改善转移性骨肿瘤患者生存质量的近期临床观察[J]. 新中医,2013,29(4):10.

[7] Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW. Vascular specific growth factors and blood vessel formation[J]. Nature,2000,407(6801):242.

[8] Holzer G, Obermair A, Koschat M, et al. Concentration of Vascular endothelial growth factor(VEGF) in the sel31m of patients with malignant bone tumors[J]. Med pediatr Oncol,2011,36(6):601.

[9] 郑海燕,李赞,王兴芬,等. Gp96 与免疫相关基因 CTLA-4, CD8 肺癌组织芯片中的表达及意义[J]. 中国肺癌杂志,2010,13(8):790-794.

[10] 李慧艳,彭大为,谢贤和,等. 化疗对肺癌患者细胞免疫功能影响的研究[J]. 现代预防医学,2011,38(19):4093-4095.

[11] 立彦,傅雷,林艳丽,等. 肿瘤病人细胞免疫功能状态及其临床意义[J]. 放射免疫学杂志,2010,23(3):330-332.

[12] Tabatabaia F; Dougherty K; Di Fulvio M; Gomez-Cambronero J; Mammalian target of rapamycin(mTOR) and S6 kinase down-regulate phospholipase D2 basal expression and function[J]. Biol Chem. 2010,285(25):18991-19001.

[13] Baker AJ. Adrenergic signaling in heart failure: a balance of toxic and protective effects[J]. Pflugers Arch,2014,3:14.

[14] 宋惠风,金火星. 参苓白术散的现代临床应用概述[J]. 中成药,2013,35(2):379-383.

(2015-09-27 收稿 责任编辑:徐颖)

(上接第 1260 页)

[10] 张桂华. 宫炎康胶囊治疗慢性盆腔炎及对超敏 C 反应蛋白影响的临床观察[J]. 海南医学院学报,2011,30(7):966-967.

[11] 陈艺菲,蔡一铃. 盆腔炎患者血清 MCP-1、CRP、GM-CSF、前炎因子及血液流变学的变化研究[J]. 临床和实验医学杂志,2014,54(24):2068-2070.

[12] 刘洪,郑桃晓. 中医辨证结合理治疗慢性盆腔炎疗效观察[J]. 中医学报,2012,17(9):1197-1198.

[13] 谷风,严英,陶红星. 利湿化痰中药对慢性盆腔炎血液流变学及血清 C-反应蛋白的影响[J]. 中华中医药杂志,2011,17(5):1102-1105.

[14] 赵俊慧,朱颖. 桂枝茯苓丸临床应用体会[J]. 河南中医,2013,33(12):2071-2072.

[15] 张海琴,刘瑞芬. 桂枝茯苓胶囊对慢性盆腔炎大鼠 T 细胞亚群和红细胞免疫功能的影响[J]. 中药药理与临床,2013,29(2):6.

[16] 张珍珍,张新庄,李娜,等. 桂枝茯苓胶囊及其活性成分组合物抗炎作用与机制研究[J]. 中国中药杂志,2015,31(6):993-998.

[17] 以敏,邓家刚,郝二伟,等. 桃仁提取物对不同病因所致大鼠血液循环障碍的影响[J]. 中草药,2013,21(7):858-862.

(2016-01-22 收稿 责任编辑:洪志强)