

黄芪注射液对Ⅲ期胃癌的疗效及对机体免疫功能的影响

赵为民 刘 林 方 法 杨新辉 王海江

(新疆医科大学附属肿瘤医院胃肠外科, 乌鲁木齐, 830011)

摘要 目的:观察黄芪注射液对Ⅲ期胃癌的疗效,并探讨其对机体免疫功能的影响。方法:将我院2008年1月至2010年11月60例Ⅲ期胃癌患者随机分为对照组和观察组,并将同期30例健康体检者设为健康对照组。2组Ⅲ期胃癌均接受胃癌根治术,并在术后常规给予化疗,以30d为1个疗程,观察组在常规治疗基础上加用黄芪注射液30mL加入0.9%氯化钠溶液250mL中静脉滴注,1次/d,连续治疗30d。治疗结束后2组胃癌患者的生活质量(Karnofsky评分)及累积生存率。检测3组患者外周血Th1、Th2细胞百分比变化。结果:1)黄芪注射液可以明显提高Ⅲ期胃癌患者的生活质量,同时提高患者的累积生存率。2)胃癌患者Th1/Th2比值明显低于健康对照组,经过治疗后2组患者Th1/Th2比值均有所下降,其中观察组下降的趋势更明显($P < 0.05$)。结论:Ⅲ期胃癌患者体内出现 $CD4^+$ T细胞平衡失调,黄芪注射液可以通过纠正 $CD4^+$ T细胞的水平达到提高患者生活质量的目的。

关键词 Ⅲ期胃肿瘤;黄芪注射液;Th1/Th2

The Effect of Huangqi Injection on Stage III Gastric Carcinoma and its Function on Body's Immunity

Zhao Weimin, Liu Lin, Fang Fa, Yang Xinhui, Wang Haijiang

(Gastrointestinal Surgery Department of Tumor Hospital affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

Abstract Objective: To observe the curative effect of Huangqi injection on stage III gastric cancer and its effects on the body's immune function. **Methods:** A total of 60 patients in stage III gastric carcinoma admitted in our hospital during January 2009 to January 2014 were randomly divided into the control group and the observation group. Also, 30 cases of healthy people were recruited as healthy control group. Both of the two groups had received radical operation and took the conventional EOF scheme chemotherapy after surgery. The observation group was given Huangqi injection 30 mL with 250 mL 0.9% sodium chloride solution by intravenous drip on the basis of conventional treatment, 1 time/day, 20 days. After treatment, compared the two groups in the aspects of quality of life (Karnofsky score), peripheral blood mononuclear cells, and the accumulative survival rate. Detected the peripheral blood Th1, Th2, and the cell percentage change of the three groups. **Results:** 1) Huangqi injection could obviously increase the quality of life in the patients in stage III gastric cancer, and simultaneously increase the accumulative survival rate of the patients. 2) Th1/Th2 ratio in the patients with gastric cancer was significantly lower than that of the healthy control group. However, Th1/Th2 ratio of the two groups both decreased after treatment, and the descending trend in the observation group was more obvious ($P < 0.05$). **Conclusion:** For patients in stage III gastric carcinoma, $CD4^+$ T cells are abnormal and Huangqi injection can improve the quality of the patients' life by regulating the levels of $CD4^+$ T cells.

Key Words Stage III gastric carcinoma; Huangqi injection; Th1/Th2 ratio

中图分类号: R273 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.06.011

胃癌具有极高的临床发病率,其死亡率亦是高居癌症死因第2位,是人类生命健康的主要杀手。多数癌症患者确诊时已处于中晚期,早期胃癌患者术后5年生存率接近90%^[1],而中晚期胃癌患者目前尚未达到根治目标,因此如何提高中晚期胃癌患者术后生存率一直是胃癌临床研究的热点话题。近年来中医以其抗癌效应较强、安全性良好的优势被医学界所重视。黄芪具有补益气血的功效,是诸多

医家治疗癌症术后的良药。黄芪注射液是由黄芪中提取的有效成分精制而成,我们在临床实践研究中发现黄芪注射液可以提高癌症患者的生活质量,为了进一步探讨其作用机制,本团队进行了一系列研究,具体情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将2008年1月至2010年11月60例Ⅲ期胃癌(根据第7版TNM分期)且接受胃大部

分切除术者纳入研究,所有患者均为本院初次就诊并经组织病理学确诊。60 例患者随机分为对照组和观察组,每组各 30 例,2 组患者的病理类型、组织分级、年龄、病程等一般情况比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。同时选择同期健康体检者 30 例设为健康对照组。本研究方案经过医院伦理学委员会审查批准,所有受试对象均知情同意。

1.2 纳入、排除及剔除标准 纳入标准:1) 年龄 <75 岁且为初治患者;2) Karnofsky 评分 ≥ 70 ;3) 组织病理学确诊的胃癌,并参照 FIGO 分期标准处于 IIIa 期至 IIIc 期者;4) 无心、脑、肾等重大脏器疾病者,且无转移;5) 签署知情同意书者。

排除及剔除标准:1) 不符合上述标准者;2) 具有免疫缺陷性疾病者;3) 出现严重并发症者;4) 治疗过程不予合作者。

1.3 治疗方法 所有患者均接受胃大部分切除术后接受常规化疗,亚叶酸钙 200 mg/m^2 ,氟脲苷 15 mg/kg ,奥沙利铂 130 mg/m^2 ,以 30 d 为 1 个疗程。与此同时,观察组患者加用黄芪注射液 30 mL 配 0.9% 氯化钠溶液 250 mL 静脉滴注,1 次/d,连续治疗 30 例。

1.4 观察指标 治疗结束后 2 组胃癌患者的生活质量(Karnofsky 评分)及累积生存率。检测 3 组患者外周血 Th1、Th2 细胞百分比变化。

1.5 流式细胞检测

1.5.1 主要试剂与仪器 RPMI 1640 培养基(美国 Thermo 公司)、胎牛血清(美国 Thermo 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);佛波酯(PMA)、离子霉素(Ion 美国 Sigma 公司)、布雷杆氏菌素 A(BFA 美国 eBioscience 公司)、破膜剂,酶标仪,流式染色缓冲液 CD4-FITC、IFN- γ -PE 流式抗体(均购自美国 eBioscience 公司)、Transwell 小室($0.1 \mu\text{m}$ 北京乐博生物技术有限公司、流式细胞仪(Partec GmbH 德国产品型号:YZB/GEM 946-40)。

1.5.2 标本采集及细胞分离 分别抽取健康对照组、对照组及观察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, $1 \times 10^6/\text{mL}$) $400 \mu\text{L}$,均分为 2 份,置于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,用于 Th1 及 Th2 流式检测。

1.5.3 Th1、Th2 细胞流式检测方法 加入刺激剂佛波醇乙酯(PMA)及离子霉素工作液,使其终浓度分别为 50 ng/mL 、 $1 \mu\text{g/mL}$,置于 37°C 、 $5\% \text{ CO}_2$ 培

养箱中培养 $4 \sim 6 \text{ h}$,再加入终浓度为 $2 \mu\text{g/mL}$ BFA,再次置于 37°C 、 $5\% \text{ CO}_2$ 培养箱中培养 4 h ,将培养皿中细胞收集至 EP 管,用预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗离心收集细胞,在 4°C 、 $500 \times g$ 条件下离心 3 min ,摒弃上清液。再使用 $100 \mu\text{L}$ 流式染色缓冲液重悬细胞 30 min 后加入 CD4-FITC 流式抗体各 $5 \mu\text{L}$,避光 4°C 环境中孵育 30 min ,再加入流式染色缓冲液 1 mL 洗涤 1 次,在 4°C 、 $500 \times g$ 条件下离心 3 min ,摒弃上清液,再加入 $600 \mu\text{L}$ 破膜剂,避光 4°C 环境中孵育 30 min 后预冷 PBS 冲洗 1 次,再用 $100 \mu\text{L}$ 破膜剂重悬细胞后加入 $2 \mu\text{L}$ 藻红蛋白标记的各 T 淋巴细胞亚群相对应的标记物(IFN- γ -PE、IL-4-APC),避光 4°C 环境中孵育 30 min ,再用 1 mL 破膜剂冲洗 1 次后使用预冷 PBS $200 \mu\text{L}$ 重悬细胞,操作按试剂盒说明书进行,采用流式细胞仪检测各细胞。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件对实验数据进行分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析(One-way Analysis Of Variance, ANOVA)检验,对于不正态分布的数据,采用 Mann-Whitney U 检验。生存分析采用 Kaplan-Meier 法,生存率的比较采用 log-rank 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Karnofsky 评分及生存率比较 完成治疗后 2 组胃癌患者 Karnofsky 评分均较治疗前有所提高,其中观察组提高的趋势更为明显($P<0.05$)。对照组中位生存期 40.23 ,观察组为 59.12 ,2 组差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 1 及图 1。

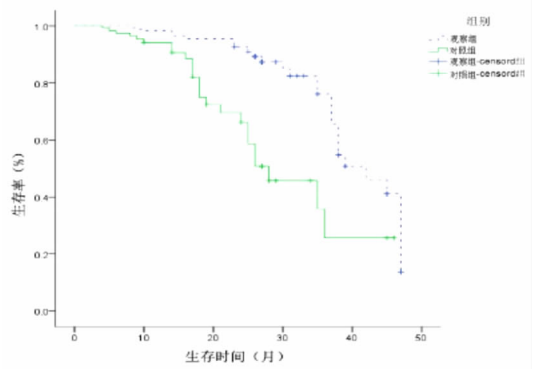


图 1 2 组生存曲线比较

表 1 2 组治疗前后 Karnofsky 评分比较(分)

组别	Karnofsky	
	治疗前	治疗后
对照组	63.87 ± 2.52	72.44 ± 1.93
观察组	62.91 ± 3.67	82.55 ± 3.28
t	4.33	3.82
P	0.41	0.03

2.2 黄芪注射液能显著上调Ⅲ期胃癌患者外周血中 Th1/Th2 比值 对不同治疗组患者外周血进行流式细胞术检测 $CD4^+IFN-\gamma^+$ 及 $CD4^+IL-4^+$ 结果显示:2 组Ⅲ期胃癌 $CD4^+IFN-\gamma^+$ 均较健康对照组降低 ($|t| = 4.19, P = 0.002 < 0.05$), 且彼此间无统计学意义 ($|t| = 3.92, P = 0.028 > 0.05$)。经过治疗后 2 组Ⅲ期胃癌患者 $CD4^+IFN-\gamma^+$ 细胞百分率均有所提升,但仍低于健康对照组 ($|t| = 2.71, P = 0.03 < 0.05$), 其中观察组治疗后 $CD4^+IFN-\gamma^+$ 细胞百分率提高的幅度明显高于对照组 ($|t| = 5.18, P = 0.016 < 0.05$)。2 组Ⅲ期胃癌患者治疗前后 $CD4^+IL-4^+$ 细胞百分率均与健康对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。经过治疗干预后 Th1/Th2 比值有所升高,其中观察组升高的趋势更明显,具体见图 2、图 3。

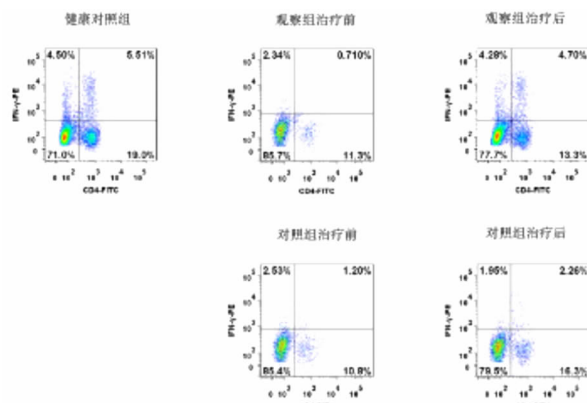


图2 3组 $CD4^+IFN-\gamma^+$ 细胞百分率变化

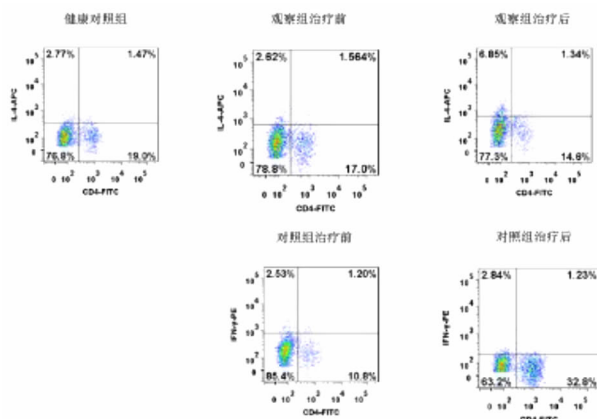


图3 3组 $CD4^+IL-4^+$ 细胞百分率变化

3 讨论

化疗是目前治疗Ⅲ期胃癌术后的主要治疗方式,但是化疗药物均具有明显的不良反应,如骨髓抑制、外周神经毒性等,甚至可导致心脑血管事件发生,故部分患者因无法耐受不良反应而放弃化疗甚至加速死亡^[2-4],因此我们认为寻求可行的胃癌术后辅助治疗方案具有重要的现实意义。

中医学认为,化疗药物容易伤津耗气,对机体的气血、津液及五脏六腑均具有影响。黄芪属于中药经典的“补药”,属于“补药之长”,具有补气升阳、益卫固表、托毒生肌、利水消肿等功效,其有效成分黄芪总苷在体内动物模型^[5]实验中具有逆转免疫抑制作用,因此被视为生物反应调节剂。根据目前临床研究得知,免疫失调是肿瘤的主要病理特征之一,病原体持续刺激下 $CD4^+$ T 细胞分化成调节性 T 细胞和效应 T 细胞两类,介导机体的免疫,同时还调控炎症反应的过程。正常机体 Th1/Th2 处于动态平衡的状态,两类 Th 细胞通过刺激分泌不同的细胞因子,形成一个庞大的细胞网络,彼此交叉应答又相互制约。Th1 及其相关细胞因子可对细胞产生毒性而发挥杀伤作用,同时介导细胞免疫应答,当 Th1 表达上调时细胞免疫应答处于明显优势,影响了机体的体液免疫应答。Th2 及其主要表达的细胞因子通过促进机体抗体的生成而介导体液免疫,当 Th2 处于优势时体液免疫较细胞免疫强势,从而抑制了 Th1 细胞应答,导致肿瘤免疫逃逸。因此当表达优势偏重于 Th1 或 Th2 时成为 Th1/Th2 漂移, Th1/Th2 漂移的出现可促发肿瘤细胞逃逸机体免疫的监视,从而导致病情发展恶化^[6-14]。

本研究通过流式检测手段发现外周血 Th1 细胞百分率明显较健康对照组下降,而 Th2 浓度表达并未发生明显改变, Th1/Th2 比值明显下调,提示了中晚期宫颈癌患者外周血中有 Th1 介导的细胞免疫受到明显抑制, Th1 表达的偏移可能是宫颈癌患者机体肿瘤细胞逃逸免疫抑制的机制之一。同时有学者发现胃癌组织中 Th1 表达变化不明显, Th1/Th2 比值并未发生改变,这说明肿瘤逃逸现象在外周血表现的更为活跃,外周血发挥的抗肿瘤免疫明显较微弱。有研究显示当肿瘤患者体内 Th2 细胞逐渐向 Th1 细胞转化后集体对肿瘤细胞的毒杀作用增强,同时降低了患者出现淋巴结转移的发生率,这就说明了 Th1/Th2 比值的检测是观察肿瘤发展动向的良好指标。研究中我们对Ⅲ期胃癌术后患者进行治疗干预,发现 2 种干预手段患者 Th1 细胞百分率均有所上调,因此 Th1/Th2 比值均有改善,其中联合使用深度热疗的患者改善更为明显,因此我们认为黄芪注射液的介入可调整 Th1/Th2,促使其恢复 Th1/Th2 的表达平衡。

总之,我们认为在黄芪注射液可明显改善Ⅲ期胃癌术后患者的生活质量,其机制可能与提高机体免疫防御作用有关。

参考文献

- [1] 所剑, 王大广, 刘泽锋. 早期胃癌诊断和治疗[J]. 中国实用外科杂志, 2011, 8(31): 717-718.
- [2] 张露, 沈洪. 中药诱导胃癌及癌前病变细胞凋亡研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(5): 70-72.
- [3] 张扶莉, 杨利生. 升白方与黄芪注射液治疗化疗后白细胞减少症疗效观察[J]. 陕西中医, 2011, 32(8): 1023-1024.
- [4] 桂金川, 方向东, 宋红梅, 等. 奥沙利铂、氟尿嘧啶联合亚叶酸钙治疗晚期胃癌的疗效及安全性评价[J]. 中外医学研究, 2012, 10(17): 3-4.
- [5] 骆曼, 冯觉平, 卜佳珏, 等. 黄芪注射液治疗奥沙利铂所致神经毒性的疗效观察[J]. 湖北中医药大学学报, 2012, 14(3): 49-50.
- [6] 曾瑞红, 房桂珍, 魏林. CD4⁺ T 细胞在肿瘤免疫治疗中的作用[J]. 细胞生物学杂志, 2008, 30(1): 30-34.
- [7] 崔乃鹏. 基因半相合肿瘤特异性 T 淋巴细胞在肿瘤免疫治疗中的应用研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2012.
- [8] 吴寒. 肝癌患者 CD4⁺ + CD25⁺ + CD127⁺ (low/-) CD49d⁺ - 调节性 T 细胞与肝癌复发转移关系的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2012.

- [9] 徐林. CD4⁺ + CD25⁺ (bright) CCR6⁺ + 调节性 T 细胞在肿瘤免疫逃逸中的作用及其机制研究[D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [10] 沈彦伟. 肿瘤微环境中 CD4⁺ + T 细胞调控及 Treg 细胞亚型与肿瘤相关性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [11] 于益芝, 曹雪涛. 调节性 T 细胞在肿瘤免疫和肿瘤免疫治疗中的作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2010, 17(1): 1-6.
- [12] HOU F, LI Z, MA DX, et al. Distribution of Th17 cells and Foxp3-expressing T cells in tumor-infiltrating lymphocytes in patients with uterine cervical cancer[J]. Clinica Chimica Acta, 2012, 413(23-24): 1848-1854.
- [13] Uhlenhaut NH, Treier M. Forkhead transcription factors in ovarian function[J]. Reproduction, 2011, 142(4): 489-495.
- [14] Song L. Correlation analysis of T lymphocyte subsets and NK cell in peripheral blood and clinical stage of cervical cancer[J]. Cancer Prevention and Cure, 2013, 40(2): 177-179.

(2015-12-21 收稿 责任编辑: 王明)

(上接第 981 页)

经根张力、改善病变节段的应力平衡, 快速解除神经的刺激症状^[8]。针刀椎管外软组织减压松解术时, 主要针对项韧带、颈部夹肌、小关节及肩背部软组织病变, 达骨面后稍提起, 行纵行切割、横行剥离, 松解部分肌纤维, 解除痉挛, 减轻间盘压力。从西医角度, 应用针刀治疗有助于松解颈部病变部位及周围的软组织, 改善和解除局部组织的粘连、挛缩、疤痕堵塞等病理变化, 使血管神经等受压得以解除, 维持颈椎内外环境的平衡, 使颈椎生物力学平衡得以重新建立, 组织的正常新陈代谢活动得以顺畅进行, 促进炎性致痛物质的排出, 进而消除各种颈椎病的临床症状^[9]。另外, 针刀治疗还起到局部穴位刺激的作用, 使经络疏通, 气血得畅; 同时恢复重建、调节生物力学解剖平衡及生理代谢平衡^[10]。

本研究结合以上多种治疗方式, 着眼立体观念, 将颈椎前路射频热凝联合臭氧消融椎间盘、椎旁阻滞以及针刀松解术结合, 从内而外地进行多靶点治疗, 取得较理想的疗效, 本研究显示: 立体微创治疗后 12 个月后总有效率达 97.8%, 要显著高于药物治疗。另外, 立体微创对疼痛的长期控制也要明显优于药物治疗。因此, 通过“靶点”为治疗引导方向、“立体微创”为中心的治疗理念, 可以有效地多方位地解决病变关键因素, 同时解决了椎管内的突出致压物与神经根周围炎性反应, 椎管外的卡压与软组织的痉挛与应力失衡, 达到最小创伤最佳治疗

“性价比”, 以较小的医源性损伤换取最大的治疗效果, 拓宽了神经根型颈椎病的中西医结合“立体微创”治疗思路。

参考文献

- [1] 陈超. 探讨不同的影像学方法诊断颈椎病的临床价值[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(20): 2694-2695.
- [2] Macnab I. Negative disc exploration. An analysis of the causes of nerve-root involvement in sixty-eight patients[J]. J Bone Joint Surg Am, 1971, 53(5): 891-903.
- [3] Thoomes EJ, Scholten-Peeters GG, de Boer AJ, et al. Lack of uniform diagnostic criteria for cervical radiculopathy in conservative intervention studies: a systematic review[J]. Eur Spine J, 2012, 21(8): 1459-1470.
- [4] 王葵光, 胡有谷. 腰椎间盘突出症的自身免疫状态[J]. 中华骨科杂志, 1994, 14(5): 258.
- [5] 卢振和, 高崇荣. 射频技术在疼痛治疗中的应用[J]. 实用疼痛学杂志, 2005, 1(2): 105-110.
- [6] Alexandre A, corol, Azuelos A, et al. Intradiscal injection of oxygenozone gas mixture for the treatment of cervical disc herniations[J]. Acta Neurochir. Suppl, 2005, 97(92): 79-82.
- [7] 李浪平, 朱婵, 李传明, 等. 颈神经阻滞治疗神经根型颈椎病的临床研究[J]. 上海医学, 2011, 34(12): 960-961.
- [8] 朱汉章. 针刀医学原理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 126-167.
- [9] 张义, 郭长青. 针刀医学的学科属性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(28): 5297-5300.
- [10] 王雪苔. 针刀医学与中医现代化[J]. 科学之友, 2007, 23(8): 26, 30.

(2016-02-04 收稿 责任编辑: 王明)