

痰热清注射液对肺鳞状细胞癌患者放疗后淋巴细胞的影响

马鸣, 刘丽华, 杨兴肖, 李曙光, 单保恩*
(河北医科大学第四医院, 石家庄 050011)

[摘要] 目的: 研究痰热清注射液对肺鳞状细胞癌患者放疗后淋巴细胞的影响。方法: 随机选择肺鳞癌放疗患者 70 例, 其中 35 例为对照组, 单纯进行放疗; 35 例为治疗组, 放疗过程中联合注射痰热清注射液 1 次/d, 20 mL/次。治疗前后对两组病人进行相关实验室检查, 观察两组患者外周血常规指标的变化。同时, 观察两组患者放射性食管炎及放射性肺炎的发病情况。通过流式细胞术检测患者的外周血淋巴细胞亚群, 并通过银染色法检测患者淋巴细胞中核仁形成区嗜银蛋白含量 (AgNORs) 的相对含量 (I. S%)。结果: 放疗后, 两组患者血常规指标均明显减低, 但联合痰热清治疗组患者的 Hb, WBC 及淋巴细胞计数明显高于对照组 ($P < 0.05$)。放疗后, 痰热清组患者放射性食管炎及放射性肺炎的发病率均明显低于对照组 ($P < 0.05$)。放疗后, 痰热清组患者外周血淋巴细胞各亚群比例及 I. S% 均较对照组明显改善 ($P < 0.01$)。结论: 痰热清注射液对肺鳞癌放疗患者的淋巴细胞具有一定的免疫调节作用, 并对放疗造成的免疫功能受损有明显改善作用。同时, 痰热清注射液对放射性食管炎及放射性肺炎有一定的预防作用。

[关键词] 肺鳞癌; 痰热清注射液; 放疗; 免疫调节

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0291-04

Effect of Tanreqing-injection on Lymphocytes in Patients with Squamous Cell Carcinoma of Lung after Radiotherapy

MA Ming, LIU Li-hua, YANG Xing-xiao, LI Shu-guang, SHAN Bao-en*
(Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Tanreqing-injection on lymphocytes in patients for squamous cell carcinoma of lung after radiotherapy. **Method:** Seventy cases with squamous cell carcinoma of lung treated by radiotherapy were divided equally into two groups: control group and test group treated by Tanreqing-injection, at the same time both groups were treated by radiotherapy. The patients of both groups were subjected to relevant laboratory examination to observe the routine blood indexes and simultaneously peripheral blood lymphocytes were detected by flow cytometry (FCM) before or after medication. The ordinary silver staining

[收稿日期] 20120704(005)

[第一作者] 马鸣, 硕士, 主管技师, 从事肿瘤分子诊断学研究, Tel: 13933199370, E-mail: yangxingxiao2007@sina.com

[通讯作者] * 单保恩, 博士, 教授, 博士生导师, 从事肿瘤免疫学研究, Tel: 0311-86095283, E-mail: baoenshan@yahoo.com.cn

减少抗菌素使用。前期试验研究显示该方能降低 COPD 大鼠模型肺组织 MMP-2, MMP-9 和 TIMP-1 的含量, 提示理肺益肾方具有抑制 COPD 大鼠模型肺气道基质的重构作用^[3]。

[参考文献]

- [1] 蔡柏蔷. 慢阻肺诊断、处理和全球策略[J]. 中华呼吸结核杂志, 2002, 25(4): 13.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 中药新药临床指导原则[S]. 北

京: 中国医药科技出版社, 2002: 53.

- [3] 程世和. 龙麻止喘合剂治疗慢性阻塞性肺疾病[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 263.
- [4] 高振, 李风森, 杨剑, 等. 近 10 年慢性阻塞性肺病中医证治用药规律的文献研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 286.
- [5] 张晓梅, 吴建军, 姜良铎, 等. 安肺益肾方对慢性阻塞性肺疾病大鼠模型肺气道重建的影响[J]. 环球中医药, 2009, 3(2): 3.

[责任编辑 邹晓翠]

technology was to measure the relative content (I. S) of AgNORs in lymphocytes. The incidence of radiation esophagitis and radiation pneumonia for the both groups was also investigated. **Result:** After radiotherapy, the routine blood indexes of the both groups reduced, but Hb, WBC and lymphocyte count in Tanreqing-injection group were obviously higher than control group ($P < 0.05$). The incidence of radiation esophagitis and radiation pneumonia in Tanreqing group were obviously lower than control group ($P < 0.05$). Meanwhile the improvement of peripheral-blood lymphocytes subset and I. S% value of test group patients was observed more notably powerful than control group's ($P < 0.01$). **Conclusion:** Tanreqing-injection has certain immunoregulation action on lymphocytes in patients with squamous cell carcinoma of lung after radiotherapy. Tanreqing-injection also possess prophylaxis prevention action on radiation esophagitis and radiation pneumonia caused by radiotherapy.

[**Key words**] squamous cell carcinoma of lung; Tanreqing-injection; radiotherapy; immunoregulation

近 30 余年,我国肺癌发病率和死亡率呈现持续上升趋势,已成为恶性肿瘤中第一位死因。肺鳞状细胞癌是肺癌中最常见的病理类型,对于中、晚期肺鳞癌患者放疗是最主要治疗方法之一,然而放疗具有较多的副作用,且对患者免疫功能影响较大,患者经放疗后,并发症发病率也较高,这些因素在很大程度上影响了患者的生活质量。痰热清注射液由黄芩、金银花、熊胆粉等提取精制而成,是一种具有清热解毒、驱邪扶正作用的中药制剂。本文就河北医科大学第四医院 2011~2012 年诊治的肺鳞癌放疗患者联合使用痰热清注射液治疗后对患者淋巴细胞的免疫调节作用及患者主要并发症的发病情况作一回顾性研究。

1 资料及方法

1.1 病例选择 临床选取经病理证实 III~IV 期肺鳞状细胞癌患者 70 例作为观察对象,对照组和痰热清组各 35 例,其中对照组:男性患者 25 例,女性患者 10 例,年龄在 39~72 岁,中位年龄 60 岁。痰热清组:男性患者 22 例,女性患者 13 例,年龄在 41~69 岁,中位年龄 58 岁。

1.2 治疗 对照组:根据影像学确定肺病变部位,并结合淋巴结转移情况设野,采用三维适形或调强放射治疗,进行常规分割照射,放射分次剂量为 200 cGy/次,总剂量为 60~65 Gy。痰热清组:放疗方法及剂量同对照组,同时注射痰热清注射液(上海凯宝药业有限公司,批号 Z20030054)每次 20 mL+5%葡萄糖注射液 250 mL 进行治疗,滴速控制在 60 滴/min,每日 2 次。

1.3 实验室观察指标 治疗前、后分别抽取患者外周血 2 mL,检测血常规,主要观察患者外周血血红蛋白(hemoglobin, Hb)含量、白细胞(white blood cells, WBC)计数、血小板(platelet, Plt)计数及淋巴细胞分类计数。

1.4 临床观察指标 两组观察期均从放疗开始至放疗结束后 6 个月,主要观察患者放射性食管炎及放射性肺炎的发病情况。放射性食管炎及放射性肺炎的诊断及分级标准分别参照文献[1-2],本文仅重点观察患者 II 级以上放射性食管炎及放射性肺炎的发病情况。

1.5 患者免疫功能检测

1.5.1 患者外周血淋巴细胞亚群分析 在放疗前、后,取两组患者外周血 2 mL, EDTA 抗凝,采用流式细胞术分析患者外周血淋巴细胞中 CD3⁺细胞、CD3⁺CD4⁺细胞、CD3⁺CD8⁺细胞及 CD3⁻CD56⁺细胞(NK 细胞)的比例,并计算 CD4/CD8。

1.5.2 患者外周血淋巴细胞核仁形成区嗜银蛋白含量(AgNORs)的测定 参照文献[3]首先在治疗前、后分别取患者外周血,用 Ficoll 淋巴细胞分离液分离患者外周血淋巴细胞,与 PHA 共培养 72 h 后,使淋巴细胞 AgNORs 表达增加,应用 KL 细胞形态图像仪,测定 AgNORs 区面积与所在核仁区总面积之比(I. S%)。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 11.5 统计学分析软件进行统计分析和处理,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料两样本之间比较采用配对 *t* 检验,计数资料样本间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前、后血常规改变情况 与放疗前相比,两组患者放疗后外周血 WBC, Hb, Plt 及淋巴细胞计数均明显减低($P < 0.05$),但痰热清组患者的 Hb, WBC 及淋巴细胞计数明显高于对照组($P < 0.05$),而 Plt 计数则与对照组相比,无明显差异。这提示放疗过程中联合使用痰热清注射液,能够明显改善患者造血功能及免疫力受损的程度。见表 1。

表1 两组患者治疗前、后血常规检查改变情况($\bar{x} \pm s, n = 35$)

组别	时间	WBC/ $\times 10^9/L$	Hb/ $g \cdot L^{-1}$	Plt/ $\times 10^9/L$	淋巴细胞计数/ $\times 10^9/L$
对照	治疗前	7.25 \pm 1.62	129.30 \pm 16.61	164.02 \pm 58.79	1.73 \pm 0.90
	治疗后	4.25 \pm 1.62 ⁴⁾	98.77 \pm 15.14 ⁴⁾	105.33 \pm 35.87 ⁴⁾	0.63 \pm 0.46 ⁴⁾
痰热清	治疗前	7.03 \pm 1.66	131.02 \pm 12.88	171.5 \pm 58.08	1.59 \pm 0.62
	治疗后	5.11 \pm 1.13 ^{1,4)}	108.32 \pm 14.91 ^{1,4)}	110.43 \pm 32.59 ⁴⁾	1.28 \pm 0.45 ^{2,3)}

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与本组治疗前比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表2~4同)。

2.2 两组患者治疗前、后发生放射性肺炎及放射性食管炎情况 如表2所示,对照组患者放疗后发生Ⅱ级以上放射性食管炎及放射性肺炎的例数分别为16,13例,发病率分别为45.71%、37.14%。而痰热清组患者放疗后,发生Ⅱ级以上放射性食管炎及放射性肺炎患者分别为7,5例,发病率为20.00%、14.29%,均明显低于对照组($P < 0.05$)。

2.3 两组患者外周血淋巴细胞亚群的变化分析 如表3所示,放疗前,痰热清组与对照组相比,T细胞各亚群、NK细胞比例及CD4/CD8均无明显差

表2 两组患者放射性肺炎及放射性食管炎发病情况($\bar{x} \pm s, n = 35$)
例(%)

组别	放射性食管炎	放射性肺炎
对照	16(45.71)	13(37.14)
痰热清	7(20.00) ¹⁾	5(14.29) ¹⁾

异。但放疗后,痰热清组CD3⁺细胞、CD3⁺CD4⁺细胞、NK细胞比例及CD4/CD8均明显高于对照组($P < 0.01$),而CD3⁺CD8⁺细胞比例与对照组相比没有明显差异,这提示应用痰热清注射液治疗组患者淋巴细胞亚群比例较对照组明显改善。

表3 两组治疗前、后外周血淋巴细胞亚群变化情况($\bar{x} \pm s, n = 35$)

组别	时间	CD3 ⁺ 细胞	CD3 ⁺ CD4 ⁺ 细胞	CD3 ⁺ CD8 ⁺ 细胞	CD4/CD8	NK细胞
对照	治疗前	65.63 \pm 5.76	33.78 \pm 4.77	30.37 \pm 5.19	1.18 \pm 0.29	13.13 \pm 3.77
	治疗后	56.26 \pm 6.30 ⁴⁾	25.63 \pm 6.59 ⁴⁾	27.59 \pm 3.67 ³⁾	0.93 \pm 0.27 ⁴⁾	8.95 \pm 2.19 ⁴⁾
痰热清	治疗前	64.96 \pm 5.61	34.04 \pm 5.06	29.67 \pm 5.88	1.21 \pm 0.35	12.85 \pm 3.18
	治疗后	60.69 \pm 4.08 ^{2,4)}	31.07 \pm 3.97 ^{2,3)}	26.61 \pm 4.66 ³⁾	1.17 \pm 0.40 ²⁾	10.95 \pm 2.04 ^{2,4)}

2.4 两组患者外周血淋巴细胞 AgNORs 含量 如表4所示,经PHA刺激后,放疗前两组患者淋巴细胞AgNORs含量没有明显差异,但放疗后,两组淋巴细胞AgNORs含量均较放疗前明显减低($P < 0.01$),而痰热清组患者放疗后外周血淋巴细胞AgNORs含量明显高于对照组($P < 0.01$)。

表4 两组患者外周血淋巴细胞 I.S 值($\bar{x} \pm s, n = 35$)

组别	放疗前	放疗后
对照	5.68 \pm 0.63	3.73 \pm 0.82 ⁴⁾
痰热清	5.56 \pm 0.68	4.59 \pm 0.94 ^{2,4)}

3 讨论

放疗是晚期肺鳞癌患者的主要治疗手段之一,然而放疗在发挥治疗作用的同时,也损伤了患者的免疫系统,同时也易引起放射性食管炎及放射性肺炎等并发症。如何在发挥放疗抗肿瘤作用的同时,减轻或避免放疗患者的免疫系统损伤及并发症一直是医务工作者研究的课题。痰热清注射液由黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花、连翘等中药提取而成。其中黄芩、熊胆粉、山羊角等具有清热燥湿,泻火解

毒、化痰解痉等功效;金银花和连翘则不仅具有广谱抗菌作用,而且具有明显的免疫调节功能。全方五味相互匹配,具有清热解毒、驱邪扶正、化痰及抗菌消炎等功效^[4-5]。本组研究发现,放疗后两组患者血象均明显下降,这主要是由于放疗使骨髓造血功能受抑所致,淋巴细胞对放疗极为敏感,经放疗后患者淋巴细胞计数也出现显著下降。但痰热清组患者WBC、Hb及淋巴细胞数量均明显高于对照组,而Plt计数虽均值有增高趋势,但差异无统计学意义,这提示痰热清注射液能够明显减轻放疗对机体造血及免疫功能的损伤。放射性食管炎和放射性肺炎是肺癌放疗后最常见的并发症^[6-9],本实验同时发现,在观察期内对照组放射性食管炎和放射性肺炎的发病率分别为45.71%、37.14%,而痰热清组患者发病率分别为20.00%、14.29%,均明显低于对照组。因此,本研究提示痰热清注射液还具有预防放疗患者并发放射性食管炎和放射性肺炎的作用,这与相关文献的报道^[8-9]是一致的。由于放疗过程中联合应用痰热清注射液,具有安全可靠、不良反应及并发症

少等优点,值得在今后的临床治疗工作中予以使用及推广。

细胞免疫是机体抗肿瘤免疫的主要方式,该作用主要由 T 细胞和 NK 细胞介导^[10-13]。正常情况下,T 细胞中各亚群及 NK 细胞的相对比例均保持在一定范围内,而恶性肿瘤患者常伴有淋巴细胞各亚群比例异常,该异常主要表现为 CD3⁺ 细胞、CD3⁺CD4⁺ 细胞比例的减低和 CD3⁺CD8⁺ 细胞比例的相对增多,以及由此造成的 CD4/CD8 值比例减低,同时,NK 细胞比例的减低也常见于肿瘤患者^[11-13]。而放疗后初期由于其对淋巴细胞的损伤,常导致淋巴细胞各亚群比例异常的加剧。我们的研究也发现,放疗后,对照组患者外周血淋巴细胞中 CD3⁺ 细胞、CD3⁺CD4⁺ 细胞、CD3⁺CD8⁺ 细胞比例,CD4/CD8 值及 NK 细胞比例均明显低于放疗前,但痰热清组患者外周血的淋巴细胞亚群 CD3⁺ 细胞、CD3⁺CD4⁺ 细胞、CD4/CD8 值及 NK 细胞比例均明显高于对照组,而 CD3⁺CD8⁺ 细胞比例则没有明显差异,这说明痰热清注射液能显著纠正肺鳞癌放疗患者淋巴细胞亚群比例紊乱,从而增强肿瘤患者淋巴细胞抗肿瘤活性的功能。

核仁形成区(NORs)是淋巴细胞核糖体 DNA(rDNA)转录的调节蛋白,其含量可以反映淋巴细胞 rDNA 转录活性,NORs 经银染后,形成 AgNORs,计算 I.S% 就可以代表 AgNORs 相对的含量,I.S% 可反映恶性肿瘤患者淋巴细胞的免疫应答能力及增殖活性^[14-15]。肿瘤患者外周血淋巴细胞经多克隆活化剂刺激后,其表达 AgNORs 的水平明显减低,这可能与肿瘤患者外周血中抑制性细胞因子水平增高抑制了淋巴细胞的 rDNA 转录,导致 AgNORs 降低有关。本实验则发现,与放疗前相比,两组患者放疗后淋巴细胞表达 AgNORs 的水平明显减低,这说明放疗后初期患者淋巴细胞 rDNA 转录活性受到明显抑制,而痰热清组患者表达 AgNORs 的水平明显高于对照组,这也从另外一个角度说明,痰热清能够有效提高患者淋巴细胞的免疫活性,从而对肿瘤患者机体的抗肿瘤免疫力具有促进作用。

本研究通过对比放疗前、后肺鳞癌患者的血象、免疫功能检测及并发症的发生情况,发现痰热清注射液不仅能够有效预防放疗后并发症的发生,而且对患者机体抗肿瘤免疫力有明显的促进作用,因而提示该药在临床上可能具有更广泛的应用空间。同时,本文也为肺鳞癌放疗副作用的预防提供了一定的新思路。

[参考文献]

- [1] 陈多才,康兆君,李秀冬. 肺癌伴糖尿病患者放射性肺炎发生率的临床观察[J]. 吉林医学,2012, 33(8):1368.
- [2] 张洁,张莉,王军,等. 芍根汤防治急性放射性食管炎的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志,2010,30(12):1272.
- [3] 胡晓明,赵武述,丛笑. 肿瘤病人 T 细胞核仁嗜银蛋白和辅助性 T 细胞亚群变化[J]. 中华检验医学杂志,2003, 26(1):1596.
- [4] 周耀辉,朱丽萍. 痰热清注射液与其他药物的配伍禁忌及其防治[J]. 实用中西医结合临床,2011,11(4):92.
- [5] 钱董文,方忠宏. 痰热清临床应用进展[J]. 医药导报,2011,8(suppl):93.
- [6] 杨薇,刘芬娣. 自拟利咽方防治放射性食道炎[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):238.
- [7] 柏茂树,黄杰,沈红梅,等. 放射性食管炎中医研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(20):293.
- [8] 杨军生,张强,郭明亮. 痰热清治疗 30 例胸部肿瘤放疗损伤的观察[J]. 肿瘤基础与临床,2006,19(1):63.
- [9] 于洪,赵玉霞,温凤云,等. 痰热清注射液对放射性肺炎的预防作用[J]. 现代肿瘤医学,2009,17(8):1450.
- [10] 刘丽华,刘登湘,马鸣,等. 五味子提取物预防辐射所致免疫损伤的实验研究[J]. 癌变·畸变·突变,2012,24(2):108.
- [11] Karakurt Z. Other causes of pulmonary arterial hypertension: pulmonary veno-occlusive disease, pulmonary capillary hemangiomatosis, porto-pulmonary hypertension, HIV-associated pulmonary arterial hypertension [J]. Anadolu Kardiol Dreg, 2010, 10(suppl1):63.
- [12] Piero Dalerba, Cristina Maccalli, Chiara Casati, et al. Immunology and immune otherapy of colorectal cancer [J]. Criti Rev Oncol Hematol,2003, 46(1):33.
- [13] 桂曼曼,张李峰,李雪嫣,等. 同一复方用黄芪与用红芪对小鼠免疫功能影响的比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(21):203.
- [14] 赵继懋,杜林栋,张玉海,等. 泌尿系肿瘤患者 T 淋巴细胞核仁组织嗜银蛋白应用价值的研究[J]. 中华泌尿外科杂志,2005,26(6):415.
- [15] 呼健,冯宇,曹科. 益元活血汤对恶性肿瘤患者免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(21):245.

[责任编辑 邹晓翠]