

扶正益气法对乳腺癌辅助化疗患者 Th1/Th2 细胞漂移的影响研究

丘嫦, 陈前军, 戴燕, 关若丹, 徐飏, 宋雪, 王婷

广东省中医院乳腺科, 广东 广州 510120

[摘要] 目的: 观察扶正益气法对乳腺癌术后辅助化疗患者 Th1/Th2 细胞漂移的影响, 为进一步探讨扶正益气法通过改善肿瘤生存的内环境而对化疗起“减毒增效”的作用机制提供理论基础。方法: 采用随机对照研究, 将 68 例患者分为观察组和对照组各 34 例。2 组均行 6 周期 TEC 方案化疗 (21 天/周期), 观察组加用参芪扶正液静脉滴注。观察比较 2 组第 1 周期化疗前、第 6 周期化疗后第 7 天血清 Th1 细胞因子 (IL-2、TNF- α 、IFN- γ) 及 Th2 细胞因子 (IL-4、IL-6、IL-10) 的水平。结果: 乳腺癌患者化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 均较化疗前降低, 差异有显著性或非常显著性意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); Th2 细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 仍呈高表达强势, 与化疗前比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。对照组化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 均较化疗前降低, 差异均有非常显著性意义 ($P < 0.01$)。观察组化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 与化疗前比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。2 组在化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 比较, 差异有显著性或非常显著性意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。对照组化疗后 Th2 细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 变化不明显, 与化疗前比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。观察组化疗后 Th2 细胞因子 IL-6、IL-10 变化不明显, 与化疗前比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$); 而 IL-4 与化疗前比较, 差异有非常显著性意义 ($P < 0.01$)。化疗后观察组 Th2 细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 降低较对照组明显, 但差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。结论: 化疗可降低 Th1 细胞因子的水平, 而 Th2 呈高表达强势, 提示 Th1 向 Th2 漂移, 表明辅助化疗可导致进一步的免疫抑制。参芪扶正液可改善辅助化疗患者的 Th1 细胞因子水平, 抑制使其在化疗后进一步降低, 提示扶正益气法可以抑制 Th1 向 Th2 漂移, 有效改善机体免疫抑制和纠正免疫紊乱。

[关键词] 乳腺癌; 化疗; 扶正益气法; Th1/Th2 漂移

[中图分类号] R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 08-0139-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.08.065

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率呈逐年上升趋势。目前, 化疗已成为乳腺癌的常规治疗手段之一。化疗作为杀伤性治疗手段, 虽然对恶性肿瘤细胞有杀伤作用, 但对高度敏感的淋巴细胞也有杀伤作用, 这对内环境的免疫平衡有“致虚”作用, 这一定程度上降低了化疗疗效。因此, 通过改善内环境的免疫平衡, 提高化疗疗效具有极其重要的意义。“种子-土壤”学说的提出明确了肿瘤细胞和靶组织两个因素的关系, 表明肿瘤只有在一定的“土壤”中才能生长。意即化疗药物起效的过程其本质是化疗药物改变了内环境, 而内环境对肿瘤细胞进行了筛选的过程。基于这一学说, 可以得知: 化疗的疗效取决于化疗对内环境的正面影响与化疗对机体内环境的负面影响, 正面影响如造成肿瘤细胞不适合生存的内环境; 而负面影响则是造成体内适合肿瘤细胞逃逸、生长的环境, 如内环境中免疫功能的抑制等。肿瘤生存的内环境即存在多种因素导致免疫不应答或免疫低下, 而 Th1/Th2 漂移作为免疫逃

逸的重要机制之一, 影响着内环境的免疫平衡。因此, 通过研究 Th1/Th2 漂移与化疗的关系, 可以充分了解免疫平衡与化疗的关系, 为应用各种免疫治疗方法逆转 Th1、Th2 失衡, 进而提高化疗疗效提供理论依据。运用扶正益气法中药参与肿瘤治疗已越来越广泛, 扶正益气法是中医药防治肿瘤及转移的最基本治则。研究表明, 中医药扶正益气法治疗可以提高机体免疫功能^[1]。本研究对乳腺癌化疗联合与不联合扶正益气法干预对 Th1/Th2 细胞漂移的影响, 探讨中医学扶正益气法对乳腺癌化疗过程中 Th1/Th2 漂移的影响, 为进一步探索扶正益气法通过改善肿瘤生存的内环境, 达到增效的机制作前期临床研究。现将研究结果介绍如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 病例来源 观察病例为 2011 年 1 月~2012 年 3 月于广东省中医院乳腺科住院接受化疗的乳腺癌患者, 均为女性,

[收稿日期] 2013-12-10

[基金项目] 广东省中医药局建设中医药强省项目 (编号: 20112115); 第八届广东省中医院拔尖人才专项基金资助项目 (编号: E00552106)

[作者简介] 丘嫦 (1985-), 女, 医学硕士, 住院医师, 研究方向: 中西医结合防治乳腺癌。

[通讯作者] 陈前军, E-mail: cqj55@163.com。

共 68 例。将符合纳入标准的患者随机分为对照组及观察组各 34 例，2 组患者年龄、体表面积、月经状态、病理分期、手术方式、内分泌治疗反应性、人表皮生长因子受体-2 (Her-2)、细胞增殖抗原(Ki-67)及运用重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF)剂量等经统计学处理，差异均无显著性意义($P > 0.05$)，具有可比性。

1.1.2 纳入标准 乳腺癌诊断符合《乳腺癌及女性生殖器官肿瘤病理学和遗传学》^[2]中浸润性导管癌标准；经组织病理学诊断确诊为浸润性乳腺癌；符合《乳腺癌临床 NCCN 实践指南·2011》辅助化疗适应症范围；Karnofsky 评分 > 70 分；知情同意者。

1.1.3 排除标准 治疗前使用过其他抗肿瘤治疗或免疫增强剂；伴精神心理障碍无法合作者；妊娠或哺乳期乳腺癌；合并严重心脑血管或肝肾疾病者；合并其他脏器或组织恶性肿瘤者；合并其他免疫系统疾病者；炎性乳腺癌。

1.1.4 中止和退出临床试验标准 不能耐受化疗，未达 6 周期化疗者；试验期间因其他疾病需免疫治疗及其它可能影响免疫的药物；试验期间对照组中接受扶正法治疗者；纳入试验后未能按照试验要求给药、复查各项指标者；随访病例脱落者。

1.2 研究材料

1.2.1 药物 参芪扶正液(丽珠集团利民制药厂，批号：Z19990065)；注射用多西他赛(江苏恒瑞医药，批号：12020412)；注射用盐酸表柔比星[辉瑞制药(无锡)有限公司，批号：111201411]；注射用环磷酰胺(山西普德药业，批号：04120102)；重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF，北京四环生物工程制品厂，批号：国药准字 S20020051)。

1.2.2 试剂与试验仪器 试剂：BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2 Cytokine Kit 试剂盒(批号：GZPO04532-1-GZ)，购自美国 Becton Dickinson 公司。试验仪器：BD 流式细胞仪，美国 BD 公司，型号 BD FACSCanton。

1.3 治疗方法

1.3.1 对照组 行 TEC 方案(多西他赛，75 mg/m²；表柔比

星，75 mg/m²；环磷酰胺，500 mg/m²，静脉滴注，第 1 天)，每 21 天为 1 周期，均治疗 6 周期。同时给予 G-CSF 常规支持治疗[根据 WHO 抗癌药物急性及亚急性毒性反应分度标准，~ 级骨髓抑制予治疗性用药 5 μg/(kg·d)，既往有骨髓抑制病史可给予预防性用药 2.5 μg/(kg·d)]。

1.3.2 观察组 在对照组治疗方法的基础上，于化疗当天至化疗后第 3 天(共 4 天)，静脉滴注参芪扶正液，250 mL/d。疗程同对照组。

1.4 观察指标及检测方法 采用流式细胞分析技术(FCM)，检测患者第 1 周期化疗前、第 6 周期化疗后第 7 天的外周血清 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ 水平。

1.5 统计学方法 运用 SPSS17.0 软件包建立数据库，计数资料组间比较采用 χ^2 检验，计量资料比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 Th1 细胞表达水平分析

2.1.1 乳腺癌患者化疗前后 Th1 细胞因子表达水平分析 见表 1。对 68 例患者化疗前后 Th1 细胞因子表达水平进行配对 t 检验，化疗后乳腺癌患者 Th1 细胞因子 IL-2、TNF-α、IFN-γ 均较化疗前降低，差异有显著性或非常显著性意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 1 乳腺癌患者化疗前后 Th1 细胞因子表达水平分析($\bar{x} \pm s$) pg/mL

项目	n	化疗前	化疗后	t 值	P 值
IL-2	68	1.802 ± 0.969	1.262 ± 1.080	2.691	0.011
TNF-α	68	1.735 ± 2.227	0.832 ± 1.305	3.961	0.000
IFN-γ	68	2.432 ± 1.081	1.819 ± 1.065	2.681	0.011

2.1.2 2 组化疗前后 Th1 细胞因子表达水平比较 见表 2。2 组分别进行化疗前后配对 t 检验，结果显示，对照组化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF-α、IFN-γ 均较化疗前降低，差异均有非常显著性意义($P < 0.01$)。观察组化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF-α、IFN-γ 与化疗前比较，差异均无显著性意义($P > 0.05$)。2 组在化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF-α、IFN-γ 比较，差异有显著性或非常显著性意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 2 2 组化疗前后 Th1 细胞因子表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组(n=34)				观察组(n=34)			
	化疗前	化疗后	t 值	P 值	化疗前	化疗后	t 值	P 值
IL-2	2.090 ± 0.832	1.128 ± 1.087	4.154	0.001	1.514 ± 1.033	1.925 ± 0.770	-1.423	0.171
TNF-α	1.818 ± 2.058	0.765 ± 0.858	2.952	0.009	1.652 ± 2.445	1.650 ± 1.460	0.007	0.995
IFN-γ	2.620 ± 0.795	1.364 ± 0.928	5.555	0.000	2.225 ± 1.320	2.621 ± 0.795	-1.148	0.268

与对照组化疗后比较，① $t = -2.467$, $P = 0.019$ ；② $t = -2.152$, $P = 0.039$ ；③ $t = -4.246$, $P = 0.000$

2.2 Th2 细胞表达水平分析

2.2.1 乳腺癌患者化疗前后 Th2 细胞因子表达水平分析 见表 3。对 68 例患者化疗前后 Th2 细胞因子表达水平进行配对

t 检验，化疗后乳腺癌患者 Th2 细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 仍呈高表达强势，与化疗前比较，差异均无显著性意义($P > 0.05$)。

表3 乳腺癌患者化疗前后 Th2 细胞因子表达水平分析($\bar{x} \pm s$) pg/mL

项目	n	化疗前	化疗后	t 值	P 值
IL-4	68	1.088 ± 1.063	0.843 ± 0.894	1.549	0.131
IL-6	68	3.472 ± 2.824	2.695 ± 1.168	1.545	0.132
IL-10	68	1.76 ± 0.984	1.59 ± 0.786	0.769	0.448

2.2.2 2组化疗前后 Th2 细胞因子表达水平比较 见表4。2

表4 2组化疗前后 Th2 细胞因子表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

pg/mL

项目	对照组(n=34)				观察组(n=34)			
	化疗前	化疗后	t 值	P 值	化疗前	化疗后	t 值	P 值
IL-4	0.803 ± 1.012	0.912 ± 1.018	-0.433	0.671	1.374 ± 1.065	0.774 ± 0.777	3.820	0.002
IL-6	4.023 ± 3.732	2.745 ± 1.371	1.336	0.200	2.921 ± 1.371	2.644 ± 0.963	0.887	0.388
IL-10	1.651 ± 1.272	1.640 ± 0.845	0.009	0.993	1.871 ± 0.595	1.537 ± 0.744	1.428	0.173

与对照组化疗后比较, ① $t=-0.433$, $P=0.661$; ② $t=-0.294$, $P=0.805$; ③ $t=-0.407$, $P=0.687$

3 讨论

3.1 中医学“因虚致瘤”与现代医学肿瘤“种子-土壤”学说的认识 中医学在历代医家对肿瘤的认识中,形成了多种学说,其中“因虚致瘤”学说与现代医学肿瘤“种子-土壤”学说具有异曲同工之妙。邪正相争,正不抑邪是“因虚致瘤”学说的本质内涵,强调正气与邪气两个因素。而“因虚致瘤”包括二层含义,即正气亏虚影响肿瘤的发生与发展。英国 Paget 在 1889 年提出的“种子-土壤”学说强调肿瘤细胞和靶组织两个因素。肿瘤发生、发展的过程则不断打破机体平衡,如果改变肿瘤的内环境因素,肿瘤生长则可受到抑制^[9]。反之,则可能促进肿瘤的生长。而在肿瘤进行性生长时,肿瘤患者的免疫功能受到抑制,两者可互为因果,双方各因素的消长对肿瘤的发展起着重要的作用^[4-5]。2010 年美国 ASCO 会议,有专家对该学说有了进一步的丰富,认为化疗疗效的获取过程可以解读为内环境对肿瘤细胞的筛选过程,即化疗是运用药物改变了“土壤”,使肿瘤细胞(“种子”)不再适应于经过化疗药物改变后的土壤中生存。而化疗对机体内环境的改变除了产生上述的正面作用以外还存在不良的一面,及对机体内环境中自身抗肿瘤因子也会产生破坏,即破坏“土壤”。因此,化疗后乳腺癌细胞的残存不仅仅是因为肿瘤细胞本身发生某些分子生物学行为的变化而对化疗药物耐药,亦有可能是化疗药物导致内环境发生某些改变而适合肿瘤生存。亦即化疗的疗效取决于化疗对内环境的正面影响与化疗对机体内环境的负面影响,如内环境中免疫功能的抑制等。因此,运用扶正法提高化疗患者的免疫功能和疗效已成为中医药治疗肿瘤疾病的重要目标。

3.2 化疗对 Th1 细胞免疫功能的影响 Th1 亚群主要通过分泌 IL-2、TNF- α 、IFN- γ ,促进机体的细胞免疫功能,大量的研究证据表明,Th1 型细胞因子具有重要的抗肿瘤作用^[6-7]。化疗的目的是直接杀伤肿瘤细胞或诱导肿瘤细胞凋亡,但对机

体免疫功能的影响文献报道不一。狄松波等^[8]通过对 43 例非小细胞肺癌的研究发现,化疗在减少肿瘤负荷、缓解由肿瘤细胞直接诱导的免疫抑制的同时,对机体免疫系统也进行非选择性攻击,使肿瘤患者本已降低的免疫功能尤其是细胞免疫功能进一步下降。本研究显示,化疗后乳腺癌患者 Th1 细胞因子 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 较化疗前降低,差异均有显著性意义($P < 0.05$),提示抗肿瘤化疗会导致进一步免疫抑制,与文献报道一致。

3.3 化疗对 Th2 细胞免疫功能的影响 Th2 亚群主要分泌 IL-4、IL-6、IL-10,具有抑制抗肿瘤免疫应答的作用。李岩等^[9]研究发现,化疗分别可使胃癌和结肠癌患者 Th2 类细胞因子的表达向 Th1 类逆转。但有一些研究表明,化疗使机体免疫功能进一步抑制,Th1 细胞因子下降,而 Th2 维持高表达强势,提示抗肿瘤化疗会导致进一步免疫抑制^[10]。本研究显示,化疗后乳腺癌患者 Th2 细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 与化疗前比较,差异均无显著性意义($P > 0.05$),仍呈高表达强势,表明化疗后 Th1 向 Th2 漂移,免疫功能进一步抑制。提示抗肿瘤化疗会导致进一步免疫抑制,可以得知化疗联合免疫治疗可以打破患者的免疫耐受和免疫抑制状态。而目前对于应用各种免疫治疗方法逆转 Th1、Th2 失衡现象仍需深入研究。

3.4 扶正益气法对 Th1 细胞免疫功能的影响 动物试验研究表明,参芪扶正注射液可以增加 Th1 类细胞因子,减少 Th2 类细胞因子,使 Th2 向 Th1 漂移,这可能是该药延长荷瘤大鼠生存期的机制之一^[11]。本研究显示,对照组化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 与化疗后比较进一步降低,差异均有显著性意义($P < 0.05$)。而观察组化疗后 Th1 细胞因子 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 与化疗后比较,差异均无显著性意义($P > 0.05$)。对照组与观察组在化疗后的组间比较,结果显示,对照组 Th1 细胞因子 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 与观察组比较,差异均有显著性意义($P < 0.05$)。结果表明,参芪扶正液可改善

肿瘤患者的 Th1 细胞因子功能，抑制使其在化疗后进一步降低，对改善机体免疫抑制和纠正免疫调节机能紊乱状态有独特的积极作用。

3.5 扶正益气法对 Th2 细胞免疫功能的影响 张春玲等^[12]观察到，黄芪可明显促进正常人分泌 IL-2，可显著下调肺癌患者的 Th2 类细胞因子水平，具有 Th2 向 Th1 逆转，杨冬花等^[13]研究四君子汤治疗脾虚证模型大鼠时，观察到 IFN- γ mRNA 表达水平明显低于正常对照组，IL-4 mRNA 表达水平则明显增高($P < 0.05$)，Th2 细胞占优势。经四君子汤治疗后，IFN- γ mRNA 表达水平上调，IL-4 mRNA 表达水平下调恢复正常。补中益气汤已被证实通过削减 Th2 优势影响机体 Th1/Th2 平衡，从而在治疗中气虚等证中发挥重要作用^[14]。本研究显示，观察组化疗后 Th2 细胞因子 IL-4 降低，差异有显著性意义($P < 0.05$)。而 IL-6、IL-10 与化疗前比较，虽然差异均无显著性意义($P > 0.05$)，但有下降趋势。提示参芪扶正液可能对 Th2 细胞表达水平有抑制作用，但这需要扩大样本或增加参芪扶正液用药疗程进行进一步研究。

本研究结果显示，化疗可使 Th1 细胞向 Th2 细胞漂移，提示抗肿瘤化疗导致进一步免疫抑制，扶正益气法可改善肿瘤患者的 Th1 细胞因子水平，抑制使其在化疗后进一步降低，这一结论为下一步探讨 Th1/Th2 漂移是否会影 响化疗的疗效，阐释扶正法在肿瘤治疗中的“减毒增效”机制提供理论依据。

[参考文献]

[1] Zheng LM, Ojcius DM, Garaud F, et al. Interleukin-10 inhibits tumor metastasis through an NK cell-dependent mechanism [J]. *J Exp Med*, 1996, 184(2): 579-584.

[2] 程虹. 乳腺癌及女性生殖器官肿瘤病理学和遗传学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 6-64.

[3] Fang JS, Gillies RD, Gatenby RA. Adaptation to hypoxia and acidosis in carcinogenesis and tumor progression [J]. *Semin Cancer Biol*, 2008 (18): 330-334.

[4] L.G. dePillis, W. Gu, A.E. Radunskaya. Mixed im-

munotherapy and chemotherap of, tumors: dmoeling, applications and biological interpretations[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2006, 238(4): 841-862.

[5] HF Sewell, CF Halbert, RA Robins. Chemotherapy-induced differential changes in lymphocyte subsets and natural-killer-cell function in patients with advanced breast cancer [J]. *Journal of Cancer*, 1993(55): 735-738.

[6] 张圣林, 邱法波, 吴力群, 等. Th1/Th2 偏移与恶性肿瘤关系的研究进展 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2005, 21 (suppl): 113.

[7] Elenkov IJ. Glucocorticoids and the Tn1/Th2 balance [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2004, 10(2): 138.

[8] 狄松波, 陈清勇. 非小细胞肺癌患者化疗前后细胞免疫功能的变化 [J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(14): 2341-2342.

[9] 李岩, 梁婧, 刘文波, 等. 化疗对胃癌 Th1 和 Th2 类细胞因子漂移的影响及临床意义 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2004, 26(12): 732-734.

[10] 王英丽, 张阳, 齐红, 等. Th1 和 Th2 类细胞因子在化疗前后卵巢癌中的表达及临床意义 [J]. *中国实验诊断学*, 2010, 14(6): 947-948.

[11] 朱世杰, 于莉莉. 参芪扶正注射液对荷瘤动物生存期影响的免疫机制研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2009(4): 23-25.

[12] 张春玲, 肖伟. 黄芪对正常人及肺癌病人外周血 Th1/Th2 状态的影响 [J]. *上海医药*, 2000, 21(8): 37-39.

[13] 杨冬花, 李家邦, 郑爱华, 等. 脾气虚证模型大鼠 Th1/Th2 细胞因子的失衡以及四君子汤的干预作用 [J]. *中国医师杂志*, 2004, 6(2): 181-183.

[14] 张莉, 周勇, 王旭丹, 等. 芩夏止咳颗粒对哮喘小鼠 T 细胞活化和细胞因子水平的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2002, 18(1): 21-23.

(责任编辑: 黎国昌)



· 书讯 · 《〈内经〉临证温课与辅导》由广州中医药大学黎敬波教授编著，人民卫生出版社出版。本书针对目前中医经典教学与临床实践相脱节的问题，力图贴近临床，深度挖掘《内经》临证思想，以指导解决临床实际问题。本书的特点是精简、实用和归真，书中引用原文较广泛，是对本科学学习经文的扩展，书中对原文的解释尽量精简，点到即止。全书与疾病及诊治的相关内容较多，分析解释也尽量做到联系实际，实用与归真并重是本书的特点。每本 35 元（含包装邮寄费），欲购者请汇款至广州市机场路 12 号大院广州中医药大学《新中医》编辑部发行科，邮政编码：510405。