

生脉散加减对气虚阴亏型乳腺癌术后放疗患者 细胞免疫功能及细胞因子的影响

——附 73 例临床资料

王 婷 董 敏 马 璐

(南京中医药大学附属医院, 江苏南京 210029)

摘要 目的:观察在放疗同时口服由生脉散化裁的中药汤剂对气虚阴亏型乳腺癌术后患者细胞免疫功能、细胞因子及急性放射性损伤的影响。方法:采用前瞻性队列研究,将符合纳入标准的124例乳腺癌术后拟行放疗的气虚阴亏证患者根据是否愿意服用中药的意愿分为治疗组和对照组,最终治疗组完成73例,对照组完成48例。对照组行放疗并予常规防护,治疗组在对照组治疗的基础上于放疗开始当天至放疗结束后1个月予中药汤剂生脉散加减口服。观察并比较放疗前及放疗结束后1个月时2组患者细胞免疫功能指标(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、Th1/Th2、Treg)以及白细胞介素(IL)-2、IL-6、IL-8、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等细胞因子的变化情况;比较2组患者放疗开始3个月内急性放射性肺炎及放射性皮炎的发生率。结果:放疗结束后1个月,2组患者血清CD3⁺、CD4⁺、IL-2水平及CD4⁺/CD8⁺、Th1/Th2比值均较本组治疗前明显降低($P < 0.05$),血清Treg、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 水平较本组治疗前明显升高($P < 0.05$);治疗组患者血清CD3⁺、CD4⁺、IL-6水平及CD4⁺/CD8⁺比值明显高于同期对照组($P < 0.05$),血清Treg、IL-6水平明显低于同期对照组($P < 0.05$)。化疗开始3个月内,治疗组急性放射性肺炎及放射性皮炎发生率分别为1.37%、4.11%,对照组分别为6.25%、14.58%,治疗组放射性皮炎发生率明显低于对照组($P < 0.05$)。结论:中药汤剂生脉散加减能够减轻放疗对气虚阴亏型乳腺癌术后患者细胞免疫功能的负性影响,调节血清炎症因子平衡,降低急性放射性皮炎的发生率。

关键词 生脉散;乳腺癌;放疗;细胞免疫;细胞因子

基金项目 国家自然科学基金青年科学基金项目(81703758);江苏省卫生健康委员会2022年医学科研面上基金(M2022061)

世界卫生组织国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)发布的2020年全球最新癌症数据报告显示,女性乳腺癌已经超过肺癌成为全球第一大癌^[1],严重威胁女性健康。放疗是乳腺癌治疗的重要方法,放射线杀死癌细胞的同时激活了肿瘤微环境及靶区内正常组织中存在的炎症因子,这些炎症因子被释放到组织中,通过多种途径使正常组织受到损伤,产生炎症反应^[2]。除此之外,放射线也可杀伤体内免疫细胞,使机体免疫功能下降。相关研究表明,中药生脉散能改善放疗患者生活质量,预防及减轻放疗副反应^[3-4],但关于其对放疗患者炎症因子及细胞免疫功能的影响鲜有报道。本研究选择气虚阴亏型乳腺癌术后拟行放疗的患者,在放疗期间及放疗结束后1个月内予中药汤剂生脉散加减口服,观察中药对乳腺癌术后放疗患者细胞免疫功能、细胞因子及放射性损伤的干预作用,并与常规放疗者进行疗效对比,现报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 选择2021年5月至2022年8月间就诊于江苏省中医院确诊为乳腺癌,术后需要进行放疗,且中医辨证为气虚阴亏证的患者124例,根据患者是否愿意服用中药汤剂分为治疗组76例和对照组48例,治疗组有3例患者后期脱落,其余患者均按计划完成治疗。2组患者年龄、病理类型、TNM分期、化疗情况等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,详见表1。本研究经江苏省中医院伦理委员会审核批准(伦理批件号2022NL-185-02)。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 乳腺癌诊断通过术后病理以明确。乳腺癌病理分类参照2019年世界卫生组织(WHO)乳腺肿瘤分类^[5],TNM分期标准根据第8版美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)乳腺肿瘤分期指南^[6]。

表1 治疗组与对照组一般资料比较

项目	治疗组 (n=73)	对照组 (n=48)	t/ χ^2	P
年龄 ($\bar{x} \pm s$) / 岁	48.64 ± 10.50	50.42 ± 10.60	0.117	0.367
病理类型 / 例				
导管原位癌	4	3		
浸润性导管癌	61	41	0.243	0.970
浸润性小叶癌	6	3		
其他	2	1		
T分期 / 例				
Tis	4	3		
T1	40	24		
T2	28	20	0.325	0.955
T3	1	1		
N分期 / 例				
N0	37	29		
N1	23	12	1.915	0.590
N2	10	4		
N3	3	3		
手术方式 / 例				
保乳	39	24	0.136	0.712
根治	34	24		
是否化疗 / 例				
是	61	39	0.108	0.743
否	12	9		

1.2.2 中医辨证标准 按照《中医常见证诊断标准(下)》^[7]中气虚阴亏证辨证标准。

1.3 纳入标准 行乳腺癌改良根治术或乳腺癌保乳术,术后经病理明确诊断为乳腺癌,且为原发癌;TNM分期MO期,即未出现远处转移;符合乳腺癌术后放疗适应证;中医辨证符合气虚阴亏证;年龄18~70岁,女性;功能状态评分,即卡氏(Karnofsky, KPS)评分 ≥ 70 分;行化疗的患者化疗结束2周;患者自愿参加本研究,签署知情同意书,并积极配合治疗及随访。

1.4 排除标准 有严重的原发性心、肝、肺、肾、血液系统疾病或影响患者生存的严重疾病者;本次发病后已使用其他中药汤剂或中成药治疗者;有急性感染征象者;过敏体质,如对两种或两种以上药物过敏者;已知对本研究使用药物的成分过敏者;既往有放疗史者;由于智力或行为障碍不能给予充分知情同意者。

1.5 脱落标准 治疗过程中出现严重不良反应,导致治疗无法进行及不能坚持治疗者。

2 治疗方法

2.1 对照组 采用适形调强放疗(IMRT)。乳腺癌改良根治术后放疗方案为患侧胸壁+患侧锁骨上下区 \pm 患侧腋窝照射,6MV-X线,50 Gy/25 f, 5 f/周;乳腺癌保乳术后放疗方案为同步加量调强放疗(SIB-IMRT),患侧乳房48.6 Gy/27 f,患侧乳房瘤床(根据术

中钛夹标记)59.4 Gy/27 f, 5 f/周。放疗期间采用医用射线防护喷剂保护放射野皮肤预防放射性皮炎。

2.2 治疗组 在对照组治疗的基础上,于放疗开始当天至放疗结束后1个月,加用中药汤剂生脉散加减口服。生脉散药物组成:生晒参9 g(因原方人参可及性有限,临床以生晒参代之),麦冬9 g,五味子6 g。药物加减:口干甚者,加玉竹15 g、石斛10 g;大便秘结者,加全瓜蒌12 g、麻子仁12 g;盗汗明显者,加生地15 g、熟地黄15 g;乏力明显者,加山药15 g、炒白术15 g;失眠明显者,加炒酸枣仁15 g、琥珀3 g;胸闷不适者,加合欢皮15 g、薤白6 g;干咳少痰者,加百合15 g、浙贝母6 g。中药饮片均来自江苏省中医院中药房。每日1剂,早晚分服。

3 疗效观察

3.1 观察指标

3.1.1 免疫功能指标 分别于放疗开始当天及放疗结束后1个月时,采集2组患者清晨空腹静脉血5 mL,使用流式细胞术检测并记录患者血清CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T细胞绝对计数及CD4⁺/CD8⁺比值、Treg细胞占比、Th1/Th2比值。

3.1.2 细胞因子指标 分别于放疗开始当天及放疗结束后1个月时,采集2组患者清晨空腹静脉血5 mL,采用流式细胞术测定血清白细胞介素(IL)-2、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等细胞因子水平。

3.1.3 急性放射性损伤 以放疗开始后3个月内患者放射性肺炎及放射性皮炎的发生率作为评价急性放射性损伤的主要指标。放射性肺炎及放射性皮炎分级标准采用美国肿瘤放射治疗协作组制定的急性放射性损伤分级标准^[8]。

3.2 统计学方法 采用SPSS 23.0统计学软件对数据进行统计学分析。计数资料以例数及/或百分比进行描述,采用卡方检验及Fisher精确概率法。所有计量资料先进行正态性检验,符合正态分布者以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,比较采用t检验;不符合正态分布者以中位数(四分位数)[M(P25, P75)]描述,比较采用非参数检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

3.3 治疗结果

3.3.1 2组患者放疗前后细胞免疫功能比较 放疗前2组患者血清CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、Treg水平及CD4⁺/CD8⁺、Th1/Th2比值比较差异均无统计学意义(P>0.05)。放疗结束后1个月,2组患者血清CD3⁺、CD4⁺水平和CD4⁺/CD8⁺、Th1/Th2比值均较治疗前明显降低(P<0.05),Treg水平较治疗前明显升高(P<0.05);治疗组Treg水平明显低于对照组

($P < 0.05$), $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 水平和 $CD4^+/CD8^+$ 比值明显高于对照组($P < 0.05$)。详见表2。

3.3.2 2组患者放疗前后细胞因子水平比较 放疗前2组患者血清IL-2、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 水平比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。放疗结

束后1个月,2组患者血清IL-2水平较治疗前明显降低($P < 0.05$),IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 水平较治疗前明显升高($P < 0.05$);治疗组IL-6水平明显低于对照组($P < 0.05$),IL-2水平明显高于对照组($P < 0.05$)。详见表3。

表2 治疗组与对照组患者放疗前与放疗结束后1个月时细胞免疫功能指标比较[M(P25, P75)]

组别	例数	时间	CD3 ⁺ (个/ μ L)	CD4 ⁺ (个/ μ L)	CD8 ⁺ (个/ μ L)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	Treg/%	Th1/Th2
治疗组	73	放疗前	795.00 (588.00, 972.50)	504.00 (376.00, 755.50)	332.00 (236.00, 503.00)	1.58 (1.22, 2.09)	3.79 (3.12, 5.83)	1.40 (1.09, 1.93)
		放疗结束后1个月	562.00 (451.00, 745.00) [#]	450.00 (367.00, 572.00) [#]	332.00 (220.50, 452.50)	1.42 (1.12, 1.76) [#]	6.84 (5.45, 9.06) [#]	1.22 (0.95, 1.59) [*]
对照组	48	放疗前	814.50 (692.25, 933.00)	521.00 (372.25, 753.00)	331.50 (276.00, 374.50)	1.50 (1.37, 1.85)	3.91 (3.22, 5.87)	1.49 (1.13, 2.09)
		放疗结束后1个月	487.50 (357.00, 644.50) [*]	371.00 (277.25, 473.00) [*]	311.00 (230.25, 391.50)	1.22 (1.02, 1.45) [*]	12.87 (10.92, 15.19) [*]	1.19 (0.93, 1.52) [*]

注:与本组放疗前比较,^{*} $P < 0.05$;与放疗结束后1个月时对照组比较,[#] $P < 0.05$ 。

表3 治疗组与对照组患者放疗前与放疗结束后1个月时细胞因子水平比较[M(P25, P75)]

组别	例数	时间	IL-2/ (pg/mL)	IL-6/ (pg/mL)	IL-8/ (pg/mL)	IL-10/ (pg/mL)	TNF- α / (pg/mL)
治疗组	73	放疗前	1.37 (1.01, 1.79)	2.72 (1.58, 4.05)	1.33 (0.22, 2.89)	1.48 (1.02, 2.43)	1.41 (1.10, 2.31)
		放疗结束后1个月	1.13 (0.79, 1.41) [#]	8.53 (5.99, 10.67) [#]	8.84 (5.71, 11.47) [*]	4.23 (3.00, 6.39) [*]	15.38 (12.14, 17.51) [*]
对照组	48	放疗前	1.33 (0.98, 1.80)	3.10 (1.79, 4.32)	1.20 (0.11, 3.33)	1.65 (1.11, 2.64)	1.27 (1.07, 2.17)
		放疗结束后1个月	0.91 (0.52, 1.25) [*]	11.77 (10.28, 15.87) [*]	7.46 (3.54, 11.27) [*]	4.06 (3.24, 5.49) [*]	15.73 (11.30, 17.52) [*]

注:与本组放疗前比较,^{*} $P < 0.05$;与放疗结束后1个月时对照组比较,[#] $P < 0.05$ 。

3.3.3 2组患者急性放射性损伤情况比较 放疗开始后3个月内,治疗组放射性肺炎发生率低于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$);放射性皮炎发生率明显低于对照组($P < 0.05$)。详见表4。

表4 治疗组与对照组放疗开始后3个月内急性放射性损伤发生情况比较

组别	例数	放射性肺炎			放射性皮炎		
		I~II级/例	III~IV级/例	发生率/%	I~II级/例	III~IV级/例	发生率/%
治疗组	73	1	0	1.37	3	0	4.11 [#]
对照组	48	3	0	6.25	6	1	14.58

注:与对照组比较,[#] $P < 0.05$ 。

4 讨论

术后放疗是乳腺癌重要的辅助治疗方式之一,但放射线作为一种电离辐射,在抑制肿瘤细胞生长的同时会导致正常细胞功能紊乱或死亡,进而发生组织、器官的损伤和功能紊乱,出现放射性损伤,其中炎性细胞的浸润和炎症因子的释放是引起放射性损伤的重要病理特征^[9, 2]。目前临床上对于细胞免疫功能低下的干预主要依靠胸腺肽类药物,同时在放疗期间使用医用射线防护喷剂以预防放射性皮炎的发生,这些措施虽然减轻了放射性副反应的发生,但因其昂贵的费用在一定程度上限制了临床应用。研究表明,中医药对放射性损伤具有较好的预防和治疗效果^[10]。

中医学认为,放射线属火热邪毒,易伤人体津液,致使机体气阴两虚,因此治疗当以益气养阴为主。生脉散出自张元素《医学启源》。方中人参益元气、生津液为君药,麦冬清热养阴生津为臣药,五味子生津止

渴止汗为佐药。纵观全方,三味药一补一润一敛,既可补气阴之虚,又可敛气阴之散。现代药理学研究表明,人参皂苷RB2能抑制核因子 κ B (NF- κ B)的激活,下调脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤新生小鼠炎症因子IL-6、IL-1 β 和TNF- α 含量,进而调节其介导的免疫反应^[11];麦冬的主要活性成分麦冬多糖能够通过提高巨噬细胞活化能力,刺激Th1依赖性免疫反应及调控miR-14来调节Kupffer细胞(KCs)中一氧化氮(NO)、诱导型一氧化氮合酶(INOS)、活性氧(ROS)的分泌和CD14、主要组织相容体复合物II(MHC II)的表达,从而发挥免疫活性作用^[12];五味子主要活性成分五味子甲素可以通过抑制IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、NO的表达而发挥其抗炎及免疫调节作用^[13]。

IL-6、IL-8、TNF- α 是体内反映炎症变化的重要指标,且具有显著的促炎作用。多项研究结果表明,接受放疗的肿瘤患者中,IL-6、IL-8、TNF- α 的升高与放射性肺炎、放射性皮炎的发生发展密切相关^[14-15]。IL-10具有强大的抗炎作用,可通过激活巨噬细胞抑制炎症因子IL-6、IL-8、TNF- α 的表达^[16]。IL-2主要由效应T细胞分泌,在免疫系统中起重要作用,对T细胞的增殖、分化和存活至关重要。有研究表明,放疗期间联合重组人白细胞介素2(rhIL-2)能有效提高肿瘤患者放疗的临床疗效^[17]。本研究结果显示,放疗结束后1个月,2组患者血清IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 水平均较放疗前明显升高,IL-2水平较放疗前明显降低,提示放射线辐射会引起促炎因子和抗

炎因子的表达同时被启动,并抑制机体免疫功能。

T淋巴细胞是人体免疫系统最重要的细胞群,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺是代表机体细胞免疫水平的常用指标,CD4⁺/CD8⁺降低说明机体免疫功能下降^[18-19]。Treg细胞的聚集是放疗后肿瘤控制不良的机制之一,剥夺放疗后瘤内Treg细胞可以提高放疗对肿瘤的远隔效应^[20]。Th1/Th2失衡在恶性肿瘤患者放疗期间时有存在,导致机体免疫功能紊乱。本研究结果显示,放疗结束后1个月,2组患者血清CD3⁺、CD4⁺水平及CD4⁺/CD8⁺、Th1/Th2比值均较放疗前明显降低,Treg水平较放疗前明显升高,反映乳腺癌患者在放疗期间普遍处于免疫功能抑制状态。而相较于对照组,治疗组患者放疗结束后1个月IL-2、CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平/比值更高,IL-6、Treg水平更低,表明生脉散加减能够减轻放疗对乳腺癌患者细胞免疫功能的负性影响,平衡血清细胞因子。

在急性放射性损伤方面,放疗开始后3个月内,治疗组放射性皮炎的发生率明显低于对照组($P < 0.05$),放射性肺炎发生率低于对照组,但差异无统计学意义,考虑与本研究纳入样本量有限有关。

综上,生脉散加减能够降低气虚阴亏型乳腺癌术后患者放疗后急性放射性损伤的发生率,其可能的作用机制为对细胞免疫功能和血清炎症因子的调节。后续我们将继续收集病例,扩大样本量以进一步证实生脉散基础方加减的临床疗效,同时开展体外细胞实验,探讨生脉散引导炎性因子表达及提高免疫力的具体机制。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71 (3): 209.
- [2] CONSTANZO J, FAGET J, URSINO C, et al. Radiation-induced immunity and toxicities: the versatility of the cGAS-STING pathway[J]. Front Immunol, 2021, 12: 680503. doi: 10.3389/fimmu.2021.680503.
- [3] 尹强, 黄英昌, 陈玉, 等. 生脉注射液减轻放射性肺损伤的临床观察[J]. 肿瘤防治杂志, 2002, 9 (5): 506.
- [4] 羌曹霞. 生脉散防治食管癌放疗后气阴两虚证的临床观察[D]. 苏州: 苏州大学, 2019.
- [5] TAN P H, ELLIS I, ALLISON K, et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast[J]. Histopathology, 2020, 77 (2): 181.
- [6] GIULIANO A E, EDGE S B, HORTOBAGYI G N. Eighth edition of the AJCC cancer staging manual: breast cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2018, 25 (7): 1783.
- [7] 朱文锋, 袁肇凯, 周小青, 等. 中医常见证诊断标准(下)[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28 (6): 3.
- [8] COX J D, STETZ J, PAJAK T F. Toxicity criteria of the radiation therapy oncology group (RTOG) and the European organization for research and treatment of cancer (EORTC)[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1995, 31 (5): 1341.
- [9] 李曙芳, 安全, 黄立群, 等. 我国急性放射病防治研究进展[J]. 辐射防护通讯, 2013, 33 (5): 13.
- [10] 任素娟, 周瑞, 唐志书, 等. 中医药辅助放疗与化疗减毒增效研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37 (12): 7233.
- [11] 杨钊, 郑毅文, 周有祥, 等. 人参皂甙RB2抑制NF- κ B的激活对LPS诱导的新生小鼠急性肺损伤的免疫调节作用[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35 (9): 1070.
- [12] 潘兴学, 吕一舟, 王文丽, 等. MiR-14对麦冬多糖脂质体调节枯否氏细胞免疫活性的影响[J]. 动物医学进展, 2022, 43 (1): 71.
- [13] 杨德峰, 刘志辉, 陈一夫, 等. 五味子甲素对单核巨噬细胞炎症相关介质表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33 (23): 5911.
- [14] ARPIN D, PEROL D, BLAY J Y, et al. Early variations of circulating interleukin-6 and interleukin-10 levels during thoracic radiotherapy are predictive for radiation pneumonitis[J]. J Clin Oncol, 2005, 23 (34): 8748.
- [15] CROHNS M, SAARELAINEN S, LAINE S, et al. Cytokines in bronchoalveolar lavage fluid and serum of lung cancer patients during radiotherapy—association of interleukin-8 and VEGF with survival[J]. Cytokine, 2010, 50 (1): 30.
- [16] PENG H, WANG W, ZHOU M, et al. Role of interleukin-10 and interleukin-10 receptor in systemic lupus erythematosus[J]. Clin Rheumatol, 2013, 32 (9): 1255.
- [17] 鲍而文, 车俊, 周乐源, 等. rhIL-2联合rhGM-CSF治疗食管癌放疗后放射性食管炎临床观察[J]. 山东医药, 2022, 62 (25): 80.
- [18] OH D Y, FONG L. Cytotoxic CD4⁺ T cells in cancer: expanding the immune effector toolbox[J]. Immunity, 2021, 54 (12): 2701.
- [19] PHILIP M, SCHIETINGER A. CD8⁺ T cell differentiation and dysfunction in cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2022, 22 (4): 209.
- [20] 戴夕超, 刘丽琴, 汪步海, 等. 放疗对鼻咽癌患者外周血髓源性抑制细胞和调节性T细胞的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39 (8): 579.

第一作者: 王婷(1997—), 女, 硕士研究生在读, 中西医结合肿瘤内科学专业。

通讯作者: 马璐, 医学博士, 主任医师, 硕士研究生导师。fsyy00643@njucm.edu.cn

收稿日期: 2022-12-21

编辑: 吴宁