

槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗对三阴性乳腺癌患者术后免疫功能及预后的影响

熊英 朱玉琳 徐旭东*

【摘要】 目的 探讨槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗对三阴性乳腺癌患者术后免疫功能及预后的影响。方法 92 例 I ~ IIIA 期三阴性乳腺癌患者按均衡随机化方法随机分为对照组和研究组,对照组 42 例仅行单纯 TAC 方案化疗,研究组 50 例给予槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗,分别于治疗前 1d 及治疗后 1d 检测两组患者外周静脉血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞的水平。同时观察两组患者 5 年无病生存率和总生存率情况。结果 治疗前 1d,研究组与对照组 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺、IL-2 比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);治疗后 1d,对照组 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞比例分别为 $(38.16 \pm 5.71)\%$ 、 $(28.68 \pm 4.06)\%$,研究组 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞比例分别为 $(44.67 \pm 6.47)\%$ 、 $(22.85 \pm 3.22)\%$,两者之间比较差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。对照组 NK 细胞比例为 $(15.75 \pm 3.47)\%$,研究组 NK 细胞比例为 $(19.46 \pm 4.22)\%$,两者之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对照组三阴性乳腺癌患者 5 年无病生存率为 28.6%,研究组三阴性乳腺癌患者 5 年无病生存率为 42.0%,两组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对照组三阴性乳腺癌患者 5 年总生存率为 52.4%,研究组三阴性乳腺癌患者 5 年总生存率为 72.0%,两组之间差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论 槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗可以显著提高三阴性乳腺癌患者术后的免疫功能,并改善患者的预后和生活质量,为中西医结合抗肿瘤治疗提供积极的探索。

【关键词】 槐耳颗粒;化疗;三阴性乳腺癌;免疫功能;预后

Effects of Huaier Granule combined with TAC chemotherapy on immunologic function and prognosis in triple negative breast cancer patients after operation

Xiong Ying, Zhu Yulin, Xu Xudong*. Department of Pharmacy, Fifth Hospital of Wuhan, Wuhan 430050, China

Corresponding author: Xu Xudong, Department of Thyroid and Breast Surgery, Fifth Hospital of Wuhan, Wuhan 430050, China, Email: georgexd@126.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of Huaier Granule combined with TAC chemotherapy on immunologic function and prognosis in triple negative breast cancer patients after operation. **Methods** Ninety-two cases of I - IIIA stage triple negative breast cancer patients entered the study. They were randomly divided into control group and research group. Only TAC chemotherapy was affected in control group of 42 cases, while Huaier Granule combined with TAC chemotherapy was applied in research group of 50 cases. And we gave Huaier Granule to patients in the first day of chemotherapy. The changes of T cell subset, NK cell were detected in the patients respectively in the first day before therapy and after therapy. The five-year disease-free survival rate and overall survival rate were also observed in two groups. **Results** Compared with control group, the changes of T cell subset, NK cell had no significant differences in research group in the first day before therapy ($P > 0.05$). In the first day after therapy, the level of CD4⁺ ($38.16 \pm 5.71\%$) in control group was significantly lower than that ($44.67 \pm 6.47\%$) in research group ($P < 0.05$). However, the percentage of CD8⁺T cells ($28.68 \pm 4.06\%$) in control group was markedly higher than that ($22.85 \pm 3.22\%$) in research group ($P < 0.05$). The level of NK cell ($15.75 \pm 3.47\%$) in control group was obviously lower than that ($19.46 \pm 4.22\%$) in research group ($P < 0.05$). The five-year disease-free survival rate is 28.6% in control group, however the five-year disease-free survival rate is 42.0% in research group, there were significant differences between two groups ($P < 0.05$). Furthermore, the five-year overall survival rate in research group was obviously higher than that in control group ($P < 0.01$). **Conclusions**

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2015.09.010

作者单位:430050 武汉,武汉市第五医院药学部(熊英、朱玉琳),甲乳外科(徐旭东)

通信作者:徐旭东,Email:georgexd@126.com

Huaier Granule combined with TAC chemotherapy not only enhances immune function but also improves prognosis and quality of life in triple negative breast cancer patients after operation. It provides a positive exploration for anti-cancer research by integration of traditional and western medicine.

【Key words】 Huaier Granule; Chemotherapy; Triple negative breast cancer; Immunologic function; Prognosis

中西医结合治疗肿瘤已成为肿瘤治疗的新趋势,并且受到越来越多的学者所推崇。槐耳颗粒是一种新型抗肿瘤新药,其主要成分为槐耳多糖蛋白,已被证实具有显著的抗肿瘤活性^[1]。目前研究发现,槐耳颗粒不仅能增强癌细胞对化疗的敏感性,逆转癌细胞的耐药作用,同时还可以提高机体的免疫功能^[2]。三阴性乳腺癌(Triple negative breast cancer, TNBC)作为预后较差的乳腺癌,术后极易复发、转移,目前尚无专门针对 TNBC 的治疗指南可供参考,治疗非常困难。本研究拟借助槐耳颗粒相关的抗肿瘤活性,采用槐耳颗粒联合术后辅助化疗的方法,探讨其对 I ~ III 期 TNBC 患者术后免疫功能及预后的影响。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集武汉市第五医院甲乳外科 2005 年 5 月 - 2009 年 5 月收治的 92 例 TNBC 患者的病例资料,所有病例均行手术或空芯针穿刺活检病理诊断为浸润性乳腺癌,所有病例均行乳腺癌改良根治术, TNM 分期均为 I ~ IIIA 期。入选标准:(1)经病例确诊为浸润性乳腺癌, ER、PR、Her-2 均为阴性;(2)年龄 18 ~ 70 岁;(3)无严重的心、肺、肝、肾、骨髓等器官功能障碍,也无免疫及代谢性疾病;(4)术前均未行乳腺癌新辅助化疗,且均未行蒽环类及紫衫类药物化疗;(5)术前经相关检查排除远处及其他组织器官转移。所有患者按均衡随机化方法随机分为对照组和研究组。对照组 42 例,年龄 19 ~ 65 岁,中位年龄 40.2 岁,其中浸润性导管癌 25 例、髓样癌 6 例、黏液癌 5 例、其他类型 6 例;绝经前患者 28 例,绝经后患者 14 例;肿瘤最大径 ≤ 2.0 cm 者 10 例,肿瘤最大径为 2.1 ~ 5.0 cm 者 27 例,肿瘤最大径 ≥ 5.0 cm 者 5 例。研究组 50 例,年龄 20 ~ 67 岁,中位年龄 39.6 岁,其中浸润性导管癌 28 例、髓样癌 8 例、黏液癌 6 例、其他类型 8 例;绝经前患者 32 例,绝经后患者 18 例;肿瘤最大径 ≤ 2.0 cm 者 9 例,肿瘤最大径为 2.1 ~ 5.0 cm 者 34 例,肿瘤最大径 ≥ 5.0 cm 者 7 例。两组患者年龄、绝经状态、TNM 分期、肿瘤病理类型等方面经统计学分析差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 治疗方法

所有患者按照病情需要术后均接受相应的辅助化疗,辅助化疗方案以蒽环类和多西他赛类为主的

TAC(多西他赛/多柔比星/环磷酰胺)方案。其中多西他赛 75 mg/m²,于第 1 天静脉滴注,表阿霉素 75 mg/m²,于第 1 天静脉滴注,环磷酰胺 500 mg/m²,于第 1 天静脉滴注,每 21 天为 1 个周期,连续应用 6 个周期。化疗期间监测血常规、肝肾功能、心电图、心脏彩超等。对照组仅给予 TAC 方案辅助化疗,研究组在辅助化疗的同时应用槐耳颗粒,20 g/次,3 次/d,于化疗第 1 天开始应用,直至化疗结束。两组其他治疗参照 NCCN 指南进行。槐耳颗粒购于江苏启东盖天力制药有限公司。本项目实施期间均不应用免疫调节剂。

1.3 T 细胞免疫功能及 NK 细胞的检测

所有病例均于全身化疗前 1 d(治疗前)采集外周静脉血标本检测 T 细胞亚群及 NK 细胞的水平,于化疗结束后 1d(治疗后)分别检测对照组和研究组患者外周静脉血 T 细胞亚群及 NK 细胞的水平。T 细胞亚群检测应用美国 BD 公司提供的流式细胞仪分析,试剂购于上海生物工程技术有限公司。NK 细胞的检测采用美国库尔特公司提供的 XL/3CL 型流式细胞仪分析,所用试剂由美国 IMMUNOTECH 公司提供。在研究期间,患者因死亡或其他原因退出研究项目则不计算在入组病例范围之内。

1.4 预后的判断

所有患者随访至 2014 年 9 月,中位随访 46 个月,记录患者的无病生存时间和总生存时间。无病生存时间指从手术后的第 1 天开始至第 1 次复发或转移的时间或未次随访时间,总生存时间指从治疗第 1 天开始至死亡或未次随访的时间。复发指临床及组织学显示同侧乳腺或区域淋巴结复发,转移指临床及影像学检查显示有远处转移病灶。TNBC 预后较差,患者多在 5 年内死亡。本研究以 5 年为研究时限,判断患者的无病生存率(Disease-free survival rate, DFS)和总生存率(Overall survival rate, OS)。

1.5 统计学分析

所有数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差表示,组内比较采用配对 *t* 检验,组间比较采用 *t* 检验。采用 Kaplan-Meier 方法分析生存资料,采用 log-rank 检验进行生存率比较。*P* < 0.05 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗对三阴性乳腺癌患者术后 T 细胞亚群和 NK 细胞的影响

全身化疗前 1 d, 研究组与对照组 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺、NK 细胞比较, 差异均无统计学意义 ($t = 2.56, P > 0.05$)。槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗后, 研究组 CD4⁺T 细胞比例、CD4⁺/CD8⁺ 明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 CD8⁺T 细胞比例明显降低, 差异有统计学意义 ($t = 9.38, P < 0.05$)。NK 细胞的变化趋势与 CD4⁺T 细胞是一致的, 槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗后研究组与对照组比较差异有统计学意义 ($t = 7.16, P < 0.05$, 表 1)。

2.2 槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗对三阴性乳腺癌患者 5 年 DFS 及 OS 的影响

对照组 42 例患者, TNBC 患者 5 年 DFS 为 28.6%; 研究组 50 例, TNBC 患者 5 年 DFS 为 42.0%; 两组之间差异有统计学意义 ($t = 6.25, P < 0.05$)。对照组 TNBC 患者 5 年 OS 为 52.4%, 研究组 TNBC 患者 5 年 OS 为 72.0%, 两组之间差异有统计学意义 ($t = 14.06, P < 0.01$)。

3 讨论

乳腺癌是一种高度异质性恶性肿瘤, 表现为病理、分子生物学及预后等方面的明显差异性。TNBC 是指雌激素受体 (Estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (Progesterone receptor, PR) 和人类表皮生长因子受体 2 (Human epidermal growth factor receptor-2, Her-2) 都是阴性的乳腺癌^[3]。TNBC 占乳腺癌的 8.3% ~ 11.5%, 多见于 40 岁以下的绝经前妇女, 其病理类型多为浸润性导管癌^[4]。因其侵袭性强, 术后易复发、转移, TNBC 患者往往预后不佳。Goh 等^[5]对大量乳腺癌病例研究发现, TNBC 患者较非 TNBC 患者的无病生存期和总生存期显著降低。由于 TNBC 患者不能从内分泌治疗和针对 Her-2 基因的分子靶向治疗中获益, 化疗成为患者术后唯一的系统治疗手段。

Yldz 等^[6]研究认为, TNBC 基因组具有高度不稳定性, 并且缺失 DNA 双链损伤修复机制, 故而对烷化剂比较敏感。同时, 大量临床试验显示, 紫衫类及蒽环类对 TNBC 均具有较高的敏感性。因此, TNBC 患者术后多采用 TAC 方案联合化疗以期改善预后。然而, 大量回顾性研究表明, TNBC 虽然对化疗比较敏感, 其远期预后仍然很差, 3 年 DFS 和 OS 均明显差于非 TNBC^[7]。为改善 TNBC 患者的预后, 迫切需要寻找一种新的治疗方法来解决这一难题。槐耳颗粒作为抗肿瘤新药, 已被证实具有强大的免疫增强作用, 并广泛应用于多种肿瘤的治疗^[8]。本研究针对 TNBC 患者, 以槐耳颗粒联合术后 TAC 方案辅助化疗联合应用, 以期达到提高患者免疫力, 改善患者远期预后的目的。

T 细胞亚群是反映机体免疫力的重要指标, T 细胞介导的细胞免疫在机体抗肿瘤效应中发挥重要作用。T 细胞按其表面标志分为 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞, 即辅助性 T 细胞和抑制性 T 细胞。CD4⁺/CD8⁺ 常作为判断机体免疫状态的一项指标, 该指标按一定比例互相协调, 若比例失调则机体免疫调节功能紊乱。恶性肿瘤患者免疫功能低下, 手术和化疗进一步加剧免疫功能的损害, 患者 T 淋巴细胞功能往往处于抑制状态^[9]。国内外研究报道, 恶性肿瘤患者外周血 T 细胞亚群会发生明显改变, CD4⁺/CD8⁺ 明显降低甚至倒置^[10]。有研究显示, 槐耳颗粒能刺激 T、B 淋巴细胞的增殖活化, 增强 T 淋巴细胞的杀伤肿瘤作用。并且, 槐耳颗粒在 IFN- γ 的协同作用下可增强 NK 细胞活性, 从而提高细胞毒性 T 淋巴细胞 (Cytotoxic lymphocyte, CTL) 对肿瘤细胞的杀伤作用^[11]。本研究发现, 槐耳颗粒联合 TAC 化疗后 CD4⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ T 细胞明显高于单纯 TAC 化疗, CD8⁺T 细胞明显低于单纯 TAC 化疗, 此结果表明槐耳颗粒对 TNBC 患者术后的细胞免疫功能有积极的促进作用, 这与相关文献对槐耳颗粒干预 TNBC 治疗效果的报道也是一致的^[12]。NK 细胞是机体天然免

表 1 两组乳腺癌患者 T 细胞亚群 ($\bar{x} \pm s, \%$) 和 NK 细胞 ($\bar{x} \pm s, \%$) 的变化

	对照组 (n=42)		研究组 (n=50)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
CD4 ⁺ T 细胞	35.26 ± 5.25	38.16 ± 5.71	36.56 ± 5.37	44.67 ± 6.47 ^a
CD8 ⁺ T 细胞	29.22 ± 4.15	28.68 ± 4.06	30.32 ± 4.36	22.85 ± 3.22 ^a
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.29 ± 0.34	1.38 ± 0.48	1.26 ± 0.28	1.89 ± 0.45 ^a
NK 细胞	15.36 ± 3.36	15.75 ± 3.47	15.21 ± 3.25	19.46 ± 4.22 ^a

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

疫的主要承担者,是在肿瘤免疫应答中最早发挥作用的效应细胞,不需要预先接触抗原,不依赖抗体或补体即可直接杀伤肿瘤细胞。活化的 NK 细胞也可直接行使抗原呈递功能,从而促进 T 细胞免疫应答。现有研究表明,NK 细胞可以抑制某些肿瘤在人体内的进展^[13]。本研究中,槐耳颗粒联合 TAC 化疗后,NK 细胞水平明显高于单纯 TAC 化疗,这与 CD4⁺ T 细胞的变化趋势是一致的。本研究结果表明,槐耳颗粒联合 TAC 化疗患者术后自身的抗肿瘤能力明显提高,这有利于机体自行清除体内残存的癌细胞,有利于抑制肿瘤的复发和转移。至于 NK 细胞的变化和 T 细胞亚群的变化是否是协同的,以及两者之间的联系,目前尚不能确定,需要大样本的分子机制方面的研究予以证实。

DFS 和 OS 是体现 TNBC 患者术后生活质量和远期预后的直接依据。TNBC 由于病理类型的特殊性,且治疗手段非常有限,其预后一般都不理想。Datta 等^[14]报道 TNBC 中位生存期为 31.6 个月,术后 3 年病死率为 33.4%。另有 Sharma 等^[15]研究发现,TNBC 患者术后 5 年 DFS 为 28.4%,术后 5 年 OS 为 48.6%。本研究显示,槐耳颗粒联合 TAC 化疗 TNBC 患者 5 年 DFS 和 OS 均明显高于单纯 TAC 化疗。此研究结果提示,通过将槐耳颗粒和术后辅助化疗联合应用,可以显著提高 TNBC 患者预后,这一点极其重要,这对增强患者治愈肿瘤的信心很有必要,而且在一定程度上帮助患者恢复受到创伤的免疫系统。同时,患者的总生存率显著提高,预后明显改善,这可能与槐耳颗粒直接的抗肿瘤效应有关。当然,本研究设定的随访时间有限,TNBC 病例数也比较有限,研究结果可能会有一定的局限性。除外槐耳颗粒的抗肿瘤作用和提高免疫力的功能,是否还有其他因素在本研究中影响 TNBC 患者的预后的问题尚需要进一步的试验证实。

总之,槐耳颗粒联合 TAC 方案化疗可以明显提高 TNBC 患者术后的免疫功能,并且对 TNBC 患者的生活质量和远期预后具有积极的意义。随着中西医结合抗肿瘤理论和实践的进一步完善,TNBC 的预后有望得到更大的改善。至于其发挥作用的分子机制,尚有待更深入的探索。

参 考 文 献

[1] Zheng J, Li C, Wu X, et al. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) shRNA sensitizes Huaier polysaccharide (HP)-induced anti-metastatic potency via inactivating downstream PI3K/Akt pathway as well as augmenting cell-mediated immune response [J]. *Tumour*

Biol, 2014, 35(5): 4219-4224.

- [2] Zhang T, Wang K, Zhang J, et al. Huaier aqueous extract inhibits colorectal cancer stem cell growth partially via downregulation of the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(4): 1171-1176.
- [3] Kim D, Koo JS, Lee S. Overexpression of Reactive Oxygen Species Scavenger Enzymes Is Associated with a Good Prognosis in Triple-Negative Breast Cancer [J]. *Oncology*, 2014, 88(1): 9-17.
- [4] Tas F, Bilgin E, Karabulut S, et al. Clinical significance of serum epidermal growth factor receptor (EGFR) levels in patients with breast cancer [J]. *Cytokine*, 2014, 71(1): 66-70.
- [5] Goh W, Sleptsova-Freidrich I, Petrovic N. Use of proton pump inhibitors as adjunct treatment for triple-negative breast cancers. An introductory study [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2014, 17(3): 439-446.
- [6] Yldz B, Fidan E, Ozdemir F, et al. Clinicopathological Characteristics of Triple-negative Breast Cancers in the Northeast Region of Turkey [J]. *Balkan Med J*, 2014, 31(2): 126-131.
- [7] Sasaki A, Tsunoda Y, Tsuji M, et al. Decreased miR-206 expression in BRCA1 wild-type triple-negative breast cancer cells after concomitant treatment with gemcitabine and a poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(9): 4893-4897.
- [8] Xu X, Wei Q, Wang K, et al. Anticancer effects of Huaier are associated with down-regulation of P53 [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2011, 12(9): 2251-2254.
- [9] Gotoh K, Kariya R, Matsuda K, et al. A novel EGFP-expressing nude mice with complete loss of lymphocytes and NK cells to study tumor-host interactions [J]. *Biosci Trends*, 2014, 8(4): 202-205.
- [10] Yoshida M, Kawakami S, Kono Y, et al. Enhancement of the anti-tumor effect of DNA vaccination using an ultrasound-responsive mannose-modified gene carrier in combination with doxorubicin-encapsulated PEGylated liposomes [J]. *Int J Pharm*, 2014, 475(1/2): 401-407.
- [11] Wang X, Zhang N, Huo Q, et al. Huaier aqueous extract suppresses human breast cancer cell proliferation through inhibition of estrogen receptor α signaling [J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(1): 321-328.
- [12] 张玉宝, 张国强, 王劲松, 等. 槐耳颗粒在乳腺癌综合治疗中的作用及其机制 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2014, 11(6): 512-515.
- [13] Roy AD, Tuli IP, Joshi D. NK/T cell lymphoma with inverted papilloma: A rare coexistence [J]. *Australas Med J*, 2014, 7(8): 318-322.
- [14] Datta A, Loo SY, Huang B, et al. SPHK1 regulates proliferation and survival responses in triple-negative breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(15): 5920-5933.
- [15] Sharma P, Stecklein SR, Kimler BF, et al. The prognostic value of $\lt i \gt BRCA1 \lt /i \gt$ promoter methylation in early stage triple negative breast cancer [J]. *J Cancer Ther Res*, 2014, 3(2): 1-11.

(收稿日期:2015-08-01)