

# 槐耳颗粒对食管癌细胞凋亡及免疫功能的影响

李保庆, 李 勇, 王其彰, 刘俊峰, 王福顺

(河北医科大学第四医院, 河北 石家庄 050011)

## The Impact of Huaier Granule on Apoptosis and the Immunity in Patients with Esophageal Carcinoma

LI Bao-qing, LI Yong, WANG Qi-zhang, et al.

**摘 要:** [目的] 探讨槐耳颗粒对食管癌患者肿瘤细胞的凋亡作用及对免疫功能的影响。 [方法] 2000年8月至2002年1月间食管鳞状细胞癌40例。实验组20例, 手术前口服槐耳颗粒20克/次, 3次/日, 15~20日, 术后第8天继续口服30天; 对照组20例, 手术前至实验结束未给予任何化疗药及提高免疫力的药物。应用流式细胞技术测定肿瘤细胞的凋亡, 电镜观察肿瘤细胞凋亡形态的改变, 应用外周血T淋巴细胞嗜银染色技术(Ag-NORs)观察外周血T淋巴细胞的活性, 应用SAP法测定T细胞亚群 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$ 、 $CD_4^+/CD_8^+$ 。SPSS10.0统计分析。 [结果] 实验组与对照组肿瘤细胞凋亡率分别为 $(7.1\pm 2.9)\%$ 、 $(5.2\pm 2.6)\%$ , 两者相比有显著性差异( $P<0.05$ )。电镜下观察, 实验组肿瘤细胞有明显凋亡形态改变。实验组与对照组术前、术后第14天外周血T淋巴细胞Ag-NORs和T细胞亚群 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$ 、 $CD_4^+/CD_8^+$ 相比无显著性差异( $P$ 均 $>0.05$ ); 术后第45天两组相比有显著性差异( $P<0.05$ )。实验组手术前后外周血白细胞相比无明显差异( $P>0.05$ )。 [结论] 口服槐耳颗粒可以引起食管癌患者肿瘤细胞的凋亡增加; 对患者的免疫功能有调节作用; 无明显骨髓抑制副作用。

**关键词:** 槐耳颗粒; 食管肿瘤; 免疫功能; 细胞凋亡

中图分类号: R735.1

文献标识码: B

文章编号: 1004-0242(2003)12-0752-02

随着现代肿瘤免疫理论的发展, 人们致力于研究开发具有抗肿瘤作用, 同时又能调节机体免疫力, 增强机体自身抗肿瘤功能的中药, 特别是手术前后的患者, 由于手术等因素的不利影响, 限制了毒性较大的化疗药物的应用。槐耳颗粒由南京中医药大学对槐耳子实体进行提取分离制成, 其主要活性成分是一种多糖蛋白(PS-T)<sup>[1]</sup>。本研究对食管癌患者手术前后应用槐耳颗粒, 研究其对食管癌肿瘤细胞的凋亡作用和对患者免疫功能的影响。

## 1 材料与方 法

### 1.1 研究对象

所采用病例均为2000年8月至2002年1月期间在河北医科大学第四医院住院病人, 经病理证实均为食管鳞状细胞癌。所有病例均为II~III期(pTNM分

期), 临床检查未发现远处转移癌灶。平均年龄为56.59岁, 年龄范围40岁~76岁。实验组20例, 其中男性10例, 女性10例, 手术前口服槐耳颗粒20克/次, 3次/日, 15~20日, 术后第8天继续口服30天; 对照组20例, 其中男性10例, 女性10例, 手术前至本实验结束未给予任何化疗药及提高免疫力的药物。

### 1.2 试验所用主要试剂、仪器及方法

FACS420型流式细胞仪(美国BD公司); 日立7500型透射电镜(日本日立公司); KL型肿瘤免疫图像分析仪(北京健尔康公司); 小鼠抗人 $CD_4^+$ 单抗及小鼠抗人 $CD_8^+$ 单抗、生物素标记羊抗小鼠IgG(IgG/BIO)、碱性磷酸酶标记链霉素卵白素(S-A/AP)(美国ZYMED公司)。

流式细胞技术测定细胞凋亡, 透射电镜观察凋亡形态, 严格按照操作流程进行。细胞免疫功能用外周血淋巴细胞嗜银染色法(Ag-NORs)和SAP法测定, 按操作说明书进行。用美国BECKMAN COUL-

收稿日期: 2003-07-15; 修回日期: 2003-09-16

TER全自动分析仪计数血细胞数。

### 1.3 统计学处理

统计学处理通过SPSS10.0统计软件完成,应用t检验和配伍组方差分析检验, $P<0.05$ 时有显著意义。

## 2 结果

### 2.1 凋亡率

实验组凋亡率为 $(7.1\pm 2.9)\%$ ,对照组肿瘤细胞的凋亡率为 $(5.2\pm 2.6)\%$ ,两组相比有显著性差异( $P<0.05$ )。

### 2.2 电镜下形态

实验组肿瘤细胞可见明显的细胞核染色质边集现象,还可见细胞核固缩,胞浆浓缩,均为细胞凋亡的典型形态改变。

### 2.3 外周血免疫功能的变化

外周血T淋巴细胞(Ag-NORs)及T细胞亚群实验组与对照组手术前的比较,见表1,两组相比差异无显著性( $P>0.05$ )。术后第14天,两组相比差异无显著性( $P>0.05$ ),见表2。术后第45天,两组相比差异有显著性( $P<0.05$ ),见表3。

表1 手术前实验组与对照组免疫指标比较

组别	例数	Ag-NORs(%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>
实验组	20	5.12±0.72	41.1±10.3	40.4±9.1	1.03±0.25
对照组	20	5.09±0.91	39.3±9.9	41.3±10.5	1.00±0.40

注:各组比较  $P$ 均 $>0.05$

表2 术后14天实验组与对照组免疫指标的变化

组别	例数	Ag-NORs(%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>
实验组	20	5.02±1.00	41.6±8.6	35.4±12.7	1.23±0.36
对照组	20	5.24±0.84	40.3±7.9	35.1±12.4	1.15±0.29

注:各组比较  $P$ 均 $>0.05$

表3 术后45天实验组与对照组免疫指标的变化

组别	例数	Ag-NORs(%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>
实验组	20	6.15±0.81	50.7±4.6	27.2±5.5	1.88±0.25
对照组	20	5.25±0.78	44.3±5.4	33.7±6.4	1.34±0.38

注:各组比较  $P$ 均 $<0.05$

### 2.4 外周血细胞

实验组与对照组手术前、术后14天、术后45天,3次外周血白细胞、红细胞和血小板相比无显著性差异( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

本研究应用较温和的抗肿瘤新药槐耳颗粒对围手术期的食管癌患者进行辅助治疗,限制和减少

围手术期肿瘤细胞的生长扩散,调节患者受损的免疫功能,增强机体自身的抗肿瘤作用,避免手术造成免疫损伤而导致的肿瘤细胞的扩散。

本研究发现,食管癌患者口服槐耳颗粒45天后,可引起肿瘤细胞凋亡率增加,与未服用槐耳颗粒的食管癌患者相比差异显著。与文献报道<sup>[2,3]</sup>食管癌肿瘤细胞自然凋亡率相比凋亡率较高。说明围手术期应用槐耳颗粒能够引起肿瘤细胞的凋亡,限制肿瘤细胞生长,有望提高患者的术后生存率。

恶性肿瘤患者的免疫功能比正常人低,并随着病情的发展,免疫功能进一步下降,手术和麻醉更能加重机体免疫功能的损伤<sup>[4,5]</sup>。研究发现,食管癌患者口服槐耳颗粒在术后14天与对照组相比并没有表现出免疫功能的增强,可能与服用槐耳颗粒时间较短,加之术后8天内停止服用槐耳颗粒,导致实验组患者未能连续服用药物,再加上食管癌手术、全身麻醉对机体免疫功能的影响,手术后一系列复杂因素对免疫功能的影响有关。随着术后规律服用槐耳颗粒的时间增加,并且排除了手术、麻醉对机体免疫功能的影响,至术后第45天实验组患者的免疫功能较对照组有了明显提高,这证明槐耳颗粒对食管癌患者的免疫功能有一定调节作用。

本实验对槐耳颗粒食管癌患者组应用前、应用中、应用一个疗程后的外周血细胞进行了对比,发现外周血白细胞、红细胞和血小板均在正常值范围内,3次对比无明显差异,可以认为应用槐耳颗粒无明显骨髓抑制作用。

总之,通过本研究发现槐耳颗粒能够诱导食管癌肿瘤细胞凋亡,对患者机体有一定的免疫调节作用。但对槐耳颗粒的抗肿瘤作用机制,以及围手术期应用槐耳颗粒对食管癌手术的预后影响,还有待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 庄毅.抗癌新药槐耳冲剂的研究[J].中国药学杂志,1998,33(5):273-275.
- [2] Ikeguchi M, Sakatani T, Ueta T. The expression of thymidine phosphorylase suppresses spontaneous apoptosis of cancer cells in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Pathobiology, 2001, 69 (1):36-43.
- [3] Hibakita M, Tachibana M, Dhar DK. Spontaneous apoptosis in advanced esophageal carcinoma: its relation to Fas expression [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(12):4755-4759.
- [4] 程邦昌, 陈克能, 梅强, 等. 食管癌患者外周血T淋巴细胞亚群、肿瘤坏死因子的改变及其相关因素研究[J]. 中华实验外科杂志, 1998, 15(3):226-228.
- [5] 侯建民, 陈克能, 王社军, 等. 全麻下经胸食管癌切除前后病人外周血TNF、T淋巴细胞及其亚群的改变[J]. 中华麻醉学杂志, 1998, 18(5):283-285.