

· 临床论著 ·

双黄升白冲剂对化疗引起骨髓抑制的临床研究 及小鼠骨髓超微结构的观察^{*}

徐振晔¹ 朱晏伟¹ 周卫东¹ 张 晖¹ 鞠艳芳¹ 赵丽红¹
邓海滨¹ 吴 继¹ 沈德义² 张蕙心³

内容提要 目的:观察中药双黄升白冲剂对肿瘤化疗患者的升白疗效及对小鼠骨髓造血微环境的作用。方法:选择主要为复治的非小细胞肺癌及乳腺癌、胃癌、肠癌患者,随机分为4组。治疗1组(28例)为化疗同时服用双黄升白冲剂;治疗2组(27例)为WBC $<4\times 10^9/L$ 始用双黄升白冲剂;对照1组(33例)为化疗同时服用茜草双酯;对照2组(24例)为WBC $<4\times 10^9/L$ 始用茜草双酯。并做实验研究电镜观察小鼠骨髓超微结构。结果:升白疗效总有效率治疗1组为75.00%,治疗2组为88.89%;对照1组为54.55%,对照2组为58.33%。治疗组与对照组比较差异有显著性($P<0.01$)。双黄升白冲剂对小鼠骨髓有良好的保护、改善造血微环境的作用。结论:中药双黄升白冲剂对化疗后骨髓受抑制肿瘤患者具有明显的保护和治疗作用。

关键词 双黄升白冲剂 化疗骨髓抑制 升白细胞 骨髓微环境

Clinical and Experimental Study on Effect of Shuanghuang Shengbai Granule on Myelosuppression Induced by Chemotherapy and Ultrastructure Observation of Bone Marrow in Mice XU Zhen-ye, ZHU Yan-wei, ZHOU Wei-dong, et al *Department of Oncology, Longhua Hospital, Shanghai University of TCM, Shanghai (200032)*

Objective: To observe the leukocyte increasing effects of Shuanghuang Shengbai Granule (SHSBG) in tumor patients treated by chemotherapy (CT) and its function on bone marrow hematopoietic microenvironment in mice. **Methods:** Patients of non-small-cell lung cancer and breast, gastric or intestinal cancer, who were retreated with CT, were enrolled and divided into 4 groups randomly. The 28 cases in the treated group 1 received SHSBG and CT simultaneously. The 27 cases in the treated group 2 also received firstly CT, and SHSBG started when WBC count lowered to less than $4\times 10^9/L$ after CT. The control group 1 and 2 ($n=33$ and $n=24$) was treated by the method similar to that applied to the treated group 1 and 2 respectively but with Rubidate instead of SHSBG. Experimental study of observing bone marrow ultrastructure in mice was also conducted with electron microscopy. **Results:** The total leukocyte increasing effective rate occurred in the treated group 1 was 75.00%, that in the treated group 2 was 88.89%, in the control group 1 was 54.55% and in the control group 2 was 58.33%. There was significant difference between the treated groups and the control groups ($P<0.01$). Experimental study showed that SHSBG has good bone marrow hematopoietic microenvironment protecting and improving effect in mice. **Conclusion:** SHSBG has obvious protecting and treating effect on CT caused bone marrow suppression in tumor patients.

Key words Shuanghuang Shengbai Granule, chemotherapy caused bone marrow suppression, increasing leukocyte, bone marrow microenvironment

^{*} 上海市科委科研基金资助课题 (No. 964019037)

1. 上海中医药大学附属龙华医院(上海 200032); 2. 河北省肿瘤医院; 3. 上海第二医科大学电镜室

中医中药对防治化疗骨髓抑制有一定的疗效,但多数用于初治或骨髓抑制程度比较轻的病例。致力于研制对骨髓抑制比较重者确有升白疗效的中药制剂,是作者研究和努力目标。本研究采用前瞻性随机对照

的方法,对双黄升白冲剂防治主要为复治的肺癌及其他一些肿瘤化疗患者骨髓抑制进行了严格的临床研究,并对之进行小鼠骨髓超微结构的观察。现将研究结果报告如下。

临 床 研 究

1 临床资料

1.1 病例收集标准

1.1.1 纳入标准 凡经 X 线、CT、细胞学、病理学等确诊为肺癌及乳腺癌、胃癌、肠癌,中医辨证为气阴(血)两虚、气虚;年龄 ≥ 18 岁,性别不限;Karnofsky 氏评分标准在 50 分以上,预计可完成全程治疗并同意接受化疗的患者。

1.1.2 排除标准 化疗期间应用其他任何升白药物者;合并严重心、肝、肾、血液系统疾病患者;感染患者及妊娠患者;有药物及食物过敏史者。

1.2 病例选择

1996 年 6 月~2000 年 8 月上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科及胸外科住院患者中,观察 112 例恶性肿瘤患者,95.5% 为复治患者。采用拆信封的方法随机分为 4 组。治疗 1 组 28 例,男 19 例,女 9 例,年龄 41~77 岁;治疗 2 组 27 例,男 17 例,女 10 例,年龄 42~75 岁;对照 1 组 33 例,男 21 例,女 12 例,年龄 37~77 岁;对照 2 组 24 例,男 13 例,女 11 例,年龄 38~76 岁。治疗 1 组肺癌 20 例,其他癌 8 例;治疗 2 组肺癌 24 例,其他癌 3 例;对照 1 组肺癌 23 例,其他癌 10 例;对照 2 组肺癌 20 例,其他癌 4 例。治疗前化疗次数:治疗 1 组 0 次 1 例,1 次 13 例,2 次 6 例,3 次 2 例,4 次 2 例,5 次以上 4 例;治疗 2 组依次为 0、8、10、4、1、4 例;对照 1 组依次为 4、11、10、1、3、4 例;对照 2 组依次为 0、5、6、5、2、6 例。两组患者平均化疗疗程,治疗组为 2.54 个疗程,对照组为 2.86 个疗程。

两组资料性别、年龄、病种、化疗疗程无统计学差异,具有可比性。

2 治疗方法

化疗方案随病种和病理分型而不同,均为有效,且对骨髓抑制作用明显的化疗方案。非小细胞肺癌用 MVP 方案[MMC(丝裂霉素) $6\sim 8\text{mg}/\text{m}^2$,VDS(长春花碱酰胺) $2.5\sim 3\text{mg}/\text{m}^2$ d_1 , d_8 ,DDP(顺铂) $70\sim 80\text{mg}/\text{m}^2$,或 NP 方案[NVB(诺维本) $25\sim 40\text{mg}/\text{m}^2$ d_1 , d_8 ,DDP $70\sim 80\text{mg}/\text{m}^2$];胃癌采用 L-MFP 方案[CF(四氢叶酸) $100\sim 200\text{mg}$ $\text{d}_1\sim \text{d}_5$,MMC(丝裂霉素) $6\sim 8\text{mg}/\text{m}^2$,5-Fu(5-氟尿嘧啶) 500mg $\text{d}_1\sim \text{d}_5$,DDP 80mg];乳腺癌用 NF 方案[NVB $25\sim 40\text{mg}/\text{m}^2$ d_1 , d_8 ,E-ADM

(表阿霉素) $50\sim 60\text{mg}/\text{m}^2$];肠癌同胃癌方案。

治疗 1 组:化疗的同时服用双黄升白冲剂(上海中药一厂生产,由生黄芪、黄精、女贞子、天花粉、骨碎补等 6 味组成,每包含生药 15g),每次 2 包冲服,1 日 2 次,2~3 周为 1 个疗程。治疗 2 组:化疗后 WBC $<4.0\times 10^9/\text{L}$ 开始服用双黄升白冲剂,每次 2 包,1 日 2 次,2 周为 1 个疗程。对照 1 组:化疗的同时服用茜草双酯(上海天平制药厂),每次 4 片,1 日 3 次,2~3 周为 1 个疗程。对照 2 组:化疗后 WBC $<4.0\times 10^9/\text{L}$ 开始服用茜草双酯,每次 4 片,1 日 3 次,2 周为 1 个疗程。

观察期间不得输血,不能用其他任何对白细胞有影响的药物。

3 观察项目

3.1 临床升白疗效

3.2 临床证候、症状改善情况

3.3 外周血白细胞计数 化疗期间每周常规查两次,白细胞 $\leq 1.0\times 10^9/\text{L}$ 者,每日检查。固定时间,固定方法,固定部位,固定仪器查血。

3.4 治疗前后检查尿、粪常规,X 线,心电图,肝功能,肾功能,并进行肝脾超声波检查。

4 统计学分析 SAS 软件, χ^2 检验,分析采用扩展的 M-H χ^2 检验(Cmh χ^2 检验)秩和检验。

5 结果

5.1 疗效标准

5.1.1 中医疗效标准 中医症状分级按无、轻、中、重分别用(-)(+)(++)(+++)表示。评分方法:无(-)为 0 分,轻(+)为 1 分,中(++)为 2 分,重(+++)为 3 分。疗效标准:治疗后临床证候积分值下降 $\geq 2/3$ 为明显改善。治疗后临床证候积分值下降 $\geq 1/3$,但 $<2/3$ 为部分改善。治疗后临床证候积分值下降 $<1/3$ 为无改善。

5.1.2 西医疗效标准 根据国家卫生部制订的《药物临床研究指导原则》中升高白细胞(WBC)疗效标准^[1]。显效:WBC 总数 $>4.0\times 10^9/\text{L}$,并在疗程中能维持疗效直至停药 1 周,临床症状显著减轻或消失;有效:WBC 总数 $<4.0\times 10^9/\text{L}$,但比治疗前上升($0.5\sim 1.0\times 10^9/\text{L}$)并在疗程中能维持疗效直至停药 1 周,临床症状好转;无效:WBC 总数增高 $<0.5\times 10^9/\text{L}$,临床症状无好转。

5.2 西医疗效 治疗 1 组显效 17 例,有效 4 例,无效 7 例,显效率 60.71%,总有效率 75.00%;治疗 2 组显效 9 例,有效 15 例,无效 3 例,显效率 33.33%,总有效率 88.89%;对照 1 组显效 9 例,有效 9 例,无效 15 例,显效率 27.27%,总有效率 54.55%;对照 2

组显效 1 例,有效 13 例,无效 10 例,显效率 4.17%,总有效率 58.33%。治疗 1 组与对照 1 组比较,治疗 2 组与对照 2 组比较,差异均有显著性。

5.3 两组患者治疗前后 WBC 变化情况 见表 1。治疗后 3 周 WBC 差值治疗组与对照组差异有显著性($P < 0.0239 < 0.05$)。治疗组 WBC 的回升明显高于对照组。

表 1 两组患者治疗前后的 WBC 变化情况 ($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后 1 周	治疗后 2 周	治疗后 3 周
治疗组	54	5.82 \pm 1.38	3.75 \pm 1.58	3.55 \pm 1.62	5.07 \pm 1.34
对照组	57	6.30 \pm 1.42	3.69 \pm 1.62	3.36 \pm 1.65	4.35 \pm 1.31
秩和检验 H 值		0.0853	0.0570	1.0602	5.0998
P		0.7206	0.8114	0.3032	0.0239

5.4 中医证候改善情况见表 2。治疗 1 组与对照 1 组比较、治疗 2 组与对照 2 组比较差异均有显著性($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

治疗前后治疗组与对照组证候变化情况:治疗组明显改善 25 例,部分改善 19 例,无改善 11 例,改善率 80.00%;对照组明显改善 10 例,部分改善 19 例,无改善 28 例,改善率 50.88%。治疗组与对照组在改善证候方面有明显差异。

表 2 4 组中医证候改善情况 (例)

组别	例数	明显改善	部分改善	无改善	改善率(%)
治疗 1	28	17	6	5	82.14*
治疗 2	27	8	13	6	77.78 Δ
对照 1	33	8	10	15	54.55
对照 2	24	2	9	13	45.83

注:与对照 1 组比较,* $P < 0.01$;与对照 2 组比较, $\Delta P < 0.05$

5.5 药物不良反应

应用双黄升白冲剂及茜草双酯后均未发现其对心、肝、肾功能的影响。

实验研究

1 实验动物

C₅₇BL/6J 纯系小鼠,雌性,体重 18~20g,8~10 周龄,购自中外合资上海西普尔必凯实验动物有限公司。合格证号:医动字第 02-49-1 号,动物饲养于正压净化层流动物房内,温度(25 \pm 2) $^{\circ}$ C,自由进食与饮水。

2 分组及用药

C₅₇BL/6J 小鼠 144 只,随机分为 4 组,每组 36 只,分别为双黄升白组、茜草双酯组、生理盐水组、正常组。双黄升白组:每天每只小鼠胃饲给药 0.4ml,相当于生药 40g/kg;茜草双酯组:每天每只小鼠胃饲给药 0.4ml,相当于生药 100mg/kg;生理盐水组:每天每只

小鼠胃饲给药 0.4ml 生理盐水;正常组:不做任何处理。

以上除正常组外,均连续给药 7 天(从实验第 1 天开始),同时腹腔注射 CTX(上海华联制药有限公司)100mg/kg,连续 3 天。

3 实验方法

3.1 电镜标本制备 分别于给药的第 2、4、6、8 天,每组各取 9 只小鼠脱颈椎处死,钝性分离肌肉,取出股骨,迅速浸泡于 2.5% 戊二醛内,充分固定后,用 1% 锇酸后固定 1.5h,丙酮逐级脱水,EPON 812 环氧树脂包埋,LKB-V 型超薄切片机切片,醋酸铀和枸橼酸铅双重染色。

3.2 电镜下骨髓超微结构观察 在 H-500 型透射电镜下观察各组小鼠第 2、4、6、8 天超微结构变化。

4 结果

电镜下正常组小鼠骨髓可见各个不同分化阶段的粒系、红系造血岛,细胞排列整齐,边界清晰,易见早期未分化型细胞。造血岛中细胞膜完整,胞浆内粗面内质网、线粒体等细胞内器结构完整,窦腔内可见各种成熟的血细胞,能见到小血管的三层结构,窦皮内细胞以重叠或插入的方式连合,内皮外覆以外皮细胞,间以基质薄层。

实验第 4 天,各用药组小鼠骨髓细胞明显减少,粒系受损严重,镜下可见少量红系造血岛。中药组细胞膜完整,胞浆中线粒体略有肿胀,核内染色质无较大变化,茜草双酯组细胞膜较完整,线粒体亦肿胀;生理盐水组镜下一片荒芜,很少见到骨髓粒细胞,只见少量红系早期造血细胞。茜草双酯组、生理盐水组髓内血窦壁破裂或呈波浪状弯曲变性,窦内皮细胞胞浆呈泡状突起脱落,线粒体肿胀。

实验第 6 天,中药组镜下见骨髓细胞密集,边界清晰,并可见各个不同阶段的血细胞,细胞膜规整,胞浆中内器丰富,内质网络有扩张,线粒体肿胀;茜草双酯组见少量骨髓血细胞,细胞膜破裂,染色质外泻,血窦内皮细胞胞浆扭曲断裂,线粒体肿胀;生理盐水组骨髓内血细胞数量少,细胞膜不规整,核内异染色质凝集成块状。

实验第 8 天,中药组细胞内线粒体肿胀程度减轻;茜草双酯组镜下见造血细胞较前增多,胞浆内质网扩张明显,甚则成囊泡状,有的细胞核膜不完整,异染色质凝集成斑块状,常染色质分布不均匀;生理盐水组骨髓内血细胞较前增多,细胞膜不规整,胞浆中内质网扩张,线粒体肿胀明显,嵴减少,甚则成大泡状。

讨 论

化疗是治疗癌症的主要手段之一。众所周知,一些化疗药物对骨髓抑制比较严重,导致化疗中断,亦有并发重度感染而死亡。近年来国内外肿瘤学者及厂家,纷纷研制生产造血细胞因子,如 G-CSF、GM-CSF,在肿瘤治疗中发挥较好的辅助作用,但这些造血细胞因子的价格比较贵,且有反跳现象。有报道该药与化疗同用可降低化疗的疗效。还有报道集落刺激因子除可引起骨痛、发热等副作用外,还可刺激某些恶性细胞的生长⁽²⁾。近十余年来,我们致力于中医中药对肿瘤化疗患者升白作用的临床与实验研究,取得了一些进展。我们体会到中医中药不仅可以单独防治骨髓抑制程度比较重的肿瘤患者,而且还能体现出中医中药的优势和特色,改善和提高癌症患者中医证候和生活质量,这是 G-CSF、GM-CSF 造血细胞因子所不具备的。我们研制的双黄升白冲剂升白疗效比较明显,而且还能改善中医证候和症状。

20 多年来临床实践,我们观察到化疗的肿瘤患者大多数表现为乏力、口干、腰膝酸软、食欲不振、脉象虚软等气阴两虚证,故研制的双黄升白冲剂其组方原则为益气养阴、扶正培本,调整肿瘤化疗患者机体内在的阴阳、气血平衡。

双黄升白冲剂其组方原则为益气养阴。中医学认为气血来源于脏腑,两者相互滋生、相互依附,不可分离。气中有血,血中有气,气以生血养血,血以养气载气,气无血则不生,血无气则不长。所以补气能生血,阴血同源,生血也即生阴。所以双黄升白冲剂在临床上同样适用于气虚患者,并取得了较为满意的效果。双黄升白冲剂另一个组方原则是重用补肾生髓的中药,以保护化疗患者的骨髓造血功能,这是作者防治骨髓抑制升白经验的独特之处。方由生黄芪、黄精、女贞子、天花粉、骨碎补等 6 味中药组成,益气养阴、重在补

骨生髓,药味精简,重点突出,特点较为明显。

作者在临床上对比观察双黄升白冲剂有明显的升白作用之外,并通过动物实验进行了一些有益的作用的机理探讨。1970 年 Trentin⁽³⁾首先提出造血微环境(hematopoietic microenvironment HME)的概念。HME 在结构上分为基质细胞和细胞外基质,基质细胞与造血细胞的直接连接传递转换信息分子的作用。有人认为基质细胞与造血的连接同基质细胞分泌细胞因子的作用相互关联,共同参与诱导造血细胞的分化和增殖,Knospe 等⁽⁴⁾把造血微环境比喻为“土地”,把造血干细胞比喻为“种子”,造血微环境对造血功能起着不可忽视的作用。

本实验第 4 天,电镜下观察,茜草双酯、生理盐水组小鼠骨髓的血窦遭到严重破坏,内皮细胞扭曲破裂,第 6 天,仍没有恢复正常,这两组小鼠造血功能恢复较慢很可能与血窦等造血微环境受损有关。相反,双黄升白冲剂组造血功能恢复较快,说明双黄升白方作用机制之一是通过保护和改善骨髓造血微环境而起升白作用的。

(本文统计承蒙复旦大学医学院卫生统计教研室刘晓云博士大力协助,特此致谢)

参 考 文 献

1. 翁晓生. 纯黄芪制剂治疗白细胞减少症 115 例疗效分析. 中国中西医结合杂志 1995;15(8):462.
2. 汤钊猷主编. 现代肿瘤学. 上海:上海医科大学出版社,1993:388.
3. Gorden As: Regulation of Hematopoiesis, vol. 1. 1st Ed, 1970:176.
4. Knospe WH, Hussein SG, Fried W. Hematopoiesis on cellulose ester membranes XI. Induction of new bone and a hematopoietic microenvironment by matrix factors secreted by marrow stromal cell. Blood, 1989;72:66—70.

(收稿 2000-11-24 修回 2001-02-07)