

天佛参口服液治疗中晚期恶性肿瘤的临床与实验研究

孔平孝¹ 陈光伟¹ 王希胜¹ 朱德生² 刘文英² 姜清林² 李新民³

内容提要 目的 观察天佛参口服液(TFS)对中晚期恶性肿瘤的临床疗效并探讨其作用机理。方法 对用TFS治疗的71例恶性肿瘤患者按实体瘤疗效标准进行疗效分析,评定其生存质量、3年存活率及免疫功能的变化。并经实验用集落形成法测定对人胃癌(MGC₈₀₃)细胞、人肝癌(SMMC₇₇₂₁)细胞、小鼠乳腺癌(EMT₆)细胞肿瘤克隆原细胞的抑制作用和应用以上3种肿瘤染料排斥实验测定对肿瘤细胞生长率的影响。结果 临床观察71例患者总缓解率为45.1%,有效率为71.8%,生存质量改善,机体免疫力增强,治疗1、2及3年的生存率分别为78.5%、38.5%及10.8%,中位生存时间24.2个月。实验研究表明,TFS不但有直接杀伤肿瘤细胞的作用和抑制单个细胞克隆的增殖能力,并且具有广谱的抗肿瘤作用和一定的量效关系,与对照药物比较差异有显著性($P<0.05$)。结论 TFS对中晚期恶性肿瘤有明显疗效,其抗癌作用与机体免疫力增强和直接抑杀肿瘤细胞有关。

关键词 天佛参口服液 恶性肿瘤 人胃癌细胞 人肝癌细胞 小鼠乳腺癌细胞

Clinical and Experimental Study on Treatment of Moderate and Advanced Malignant Tumors with Tianfoshen Oral Liquid KONG Ping-xiao, CHEN Guang-wei, WANG Xi-sheng, et al *Affiliated Hospital of Shaanxi College of TCM, Xianyang, Shaanxi (712083)*

Objective: To investigate the clinical efficacy of Tianfoshen oral liquid(TFS) in treating moderate and advanced malignant tumors and its mechanism. **Methods:** Therapeutic effect of TFS in treating 71 patients of malignant tumor was analyzed with the criteria, including quality of life, 3-year survival rate and immune function. And experimental studies of inhibitory effect on tumor clone primordial cells and tumor growth rate of TFS on human gastric tumor(MGC₈₀₃) cell, human liver cancer(SMMC₇₇₂₁) cell and mice galactophore cancer(EMT₆) cell by colony forming method and dye exclusion test respectively were also conducted. **Results:** Clinical study showed that in the 71 cases treated, the total remission rate was 45.1%, the effective rate 71.8%, with improvement in quality of life and immune function, the 1-, 2- and 3-year survival rate being 78.5%, 38.5% and 10.8% respectively and the mean survival time 24.2 months. Experimental study showed that TFS could kill the cancer cells directly, inhibit the proliferation of single clonogenic cell, and had a broad-spectrum dose-dependent inhibitory action on various tumors with significant difference in comparing with the effects of the control($P<0.05$). **Conclusion:** TFS had obvious therapeutic effect to moderate and advanced tumors, its anti-tumor effect was related to the enhancement of immune function and tumor inhibiting or direct killing action.

Key words Tianfoshen oral liquid, malignant tumor, human gastric cancer cell, human liver cancer cell, mice galactophore cancer cell

天佛参口服液(简称TFS)是我们开发研制的抗肿瘤药物,目前正在Ⅱ期临床(中华人民共和国卫生部药政管理局(1997)ZL-35号)中。1991年以来用TFS治疗3种中晚期恶性肿瘤71例,取得较为明显的

疗效,并对人和动物肿瘤细胞进行了体外抑制效应的实验,现报告如下。

临床研究

1 临床资料 本组71例,男43例,女28例,年龄38~84岁,平均53.4岁。其中食管癌25例,未手术者18例,术后复发者7例;胃癌(包括贲门癌)29

1. 陕西中医学院附属医院(陕西咸阳 712083) 2. 第四军医大学;
3. 陕西中医学院
万方数据

例,未手术 10 例,短路手术 4 例,术后复发 9 例,剖腹探查术 6 例,原发性肝癌 17 例。根据国际国内对这些肿瘤的分期法^(1,2),Ⅱ期 5 例,Ⅲ期 58 例,Ⅳ期 8 例。食管癌和胃癌全部经组织活检证实。原发性肝癌根据卫生部医政司《中国常见恶性肿瘤诊治规范》中的诊断标准和临床分期标准⁽³⁾。估计可存活 3 个月以上,能坚持服用 TFS 者纳入本研究。

2 治疗方法 TFS 由陕西中医学院制剂教研室提供)是由天门冬、佛手、西洋参、倒卵叶五加、猕猴桃根、蟾酥等配伍制成,每支 20ml,含生药 50g,呈棕黄色液体。每次 1 支,每天 3 次,饭前 30min 口服,连续治疗 30 天为 1 个疗程。可连续服用。患者治疗前后均测定肝肾功能、血常规、免疫功能(淋巴细胞转化率、E-玫瑰花环形成率用形态学方法⁽⁴⁾,NK 细胞用 SPA 花环法⁽⁵⁾,IL-2 用³H-TdR 掺入法⁽⁶⁾,试剂盒均购自白求恩医科大学免疫学教研室),食管癌、胃癌作 X 线和胃镜或 CT,原发性肝癌作 B 超、CT 等评定疗效,治疗期间观察药物毒副反应,并作随访。

3 结果

3.1 对患者生存质量和主要症状的影响 生存质量以 Karnofsky 标准计分为依据,疗程结束后评分增加>10 分者为提高,减少>10 分者为降低,增加或减少<10 分者为稳定。本组提高 44 例(61.9%),稳定 15 例(21.1%),降低 12 例(16.9%)。体重:疗程结束后增加>1.5kg 者为增加,减少>1.5kg 者为降低,增加或减少<1.0kg 者为稳定。本组体重增加者 36 例(50.7%),稳定 13 例(18.3%),降低 22 例(31.0%)。3 种肿瘤引起的症状综合考核如下:25 例食管癌如进行性吞咽困难、胸背部疼痛、返食等消失 11 例,好转 13 例;29 例胃癌如胃脘部包块、疼痛、纳差、恶心呕吐、黑便等消失 15 例,好转 11 例;17 例原发性肝癌肝区包块、腹胀、食欲不振、出血、乏力等消失 10 例,好转 2 例。

3.2 近期疗效 按照 1988 年卫生部药政局制定的抗癌药物临床研究指导原则客观疗效评定标准⁽⁷⁾,分完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、好转(MR)、稳定(NC)、病变进展(PD)。本组 71 例经 TFS 治疗后,CR 10 例(14.1%),PR 22 例(31.0%),MR 19 例(26.7%),NC 11 例(15.5%),PD 9 例(12.7%)。总缓解率(CR+PR)为 45.1%,总有效率(CR+PR+MR)为 71.8%。3 种肿瘤近期疗效见表 1。

治疗效果与疗程:本组治疗 1 个疗程 39 例,2 个疗程 18 例,3 个疗程 14 例,最长服用 420 天。有效率分别为 61.5%(24/39 例),72.2%(13/18 例)和

表 1 3 种肿瘤近期疗效 (例)

类别	例数	CR	PR	MR	NC	PD
食管癌	25	3	9	7	5	1
胃癌	29	7	8	7	4	3
原发性肝癌	17	—	5	5	2	5

71.4%(10/14 例)。

3.4 治疗前后细胞免疫功能检测结果比较 见表 2。71 例中对 51 例做了治疗 1 个疗程前后的细胞免疫测定,其中食管癌 20 例,胃癌 21 例,原发性肝癌 10 例,各类癌瘤比较差异无显著性($P>0.05$)。结果显示经 TFS 治疗后淋巴细胞转化率、E-玫瑰花环形成率、NK 细胞活性及 IL-2 活性均有提高($P<0.01$, $P<0.05$)。

表 2 51 例患者治疗前后各项免疫指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

例数	淋巴细胞转化率(%)	E-玫瑰花形成率(%)	NK 细胞活性(%)	IL-2 活性(OD 值)
治前 51	36.41±1.35	36.13±7.24	17.53±1.54	0.77±0.02
治后 51	48.67±1.62*	47.24±8.32*	33.21±1.68**	1.12±0.03*

注:与治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.5 随访结果 本组随访患者最短 3 个月,最长为 36 个月,平均 16.6 个月,随访率 91.5%(65/71 例)。治疗后生存 1 年以上者 51 例,2 年以上者 25 例,3 年者 7 例,分别占 78.5%,38.5%和 10.8%。中位生存时间 24.2 个月。

3.6 毒副反应 根据毒副反应评价标准⁽⁸⁾分为 0~Ⅳ级。TFS 为 0 级,末梢血象、心、肝、肾等脏器功能未见异常改变。

实验研究

1 材料和方法

1.1 细胞株 人胃癌 MGC₈₀₃ 细胞,人肝癌 SMMC₇₇₂₁ 细胞,小鼠乳腺癌 EMT₆ 细胞,由第四军医大学中心实验室提供。

1.2 药物 TFS 每毫升含生药 2.5g,以 RPMI₁₆₄₀ 培养液稀释并将其调至 pH7.0~7.2 之间;阴性对照药物选用 RPMI₁₆₄₀ 培养液;阳性对照药物选用天仙胶囊(吉林长白山制药厂生产,批号为 910714),同样以 RPMI₁₆₄₀ 培养液将其稀释过滤后提取药液并调至 pH7.0~7.2 之间,同时过滤除菌。将 TFS 做成 6 个稀释度为原液(2.5g/ml)的 1/10 倍、1/100 倍、1/1000 倍、1/10 000 倍、1/100 000 倍,每个稀释液做 10ml 备用;天仙胶囊也同时做 6 个稀释度,取天仙胶囊 12 粒将其溶于 RPMI₁₆₄₀ 中制备成为 12ml 即为原液(2.5g/ml),再稀释为 1/10 倍、1/100 倍、1/1 000 倍、1/10 000 倍、1/100 000 倍。

1.3 试剂及设备 Giemsa 染液(北京化工厂,批

号 780826) 0.4% 台盼蓝染液(上海化学试剂分装厂, Chroma 进口分装 85-91-05) 0.25% 胰蛋白酶消化液(DLFco 进口分装(上海采购站分装)) RPMI₁₆₄₀ 粉购自(USA Sigma) 按其要求配制 RPMI₁₆₄₀ 培养液, 其中含氢离子缓冲剂 HEPES 购自(USA Sigma), 最终使用浓度为 10mmol/L。CO₂ 培养箱(购自 USA Forma scientific) 超净工作台(购自苏州净化设备厂); 倒置显微镜(购自日本 Olympus); 离心机(购自北京医用设备厂)。

1.4 染料排斥法实验步骤 分别取生长良好的 MGC₈₀₃ 细胞, SMMC₇₇₂₁ 细胞, EMT₆ 细胞经胰酶消化离心, 计数细胞浓度调至 1×10^4 /ml, 分别加入 25ml 培养液中, 每瓶 4ml, 即每瓶细胞数为 4×10^4 。每种细胞为 1 组, 而每个药物稀释度为 1 剂量组, 每个剂量组设对照药物, 每个剂量组为 3 瓶。将每个稀释度的药物 40ml 分别加入相应各个剂量组的培养液瓶中。在含 5% CO₂ 37℃ 培养箱中培养 4 天。4 天后分别取各瓶细胞经胰酶消化后加 RPMI₁₆₄₀ 吹打均匀, 取细胞悬液 0.4ml 加 0.4% 台盼蓝染液 0.1ml, 室温内作用 5min, 以血细胞计数板计活细胞数, 本染色为活细胞, 死细胞呈蓝色。

1.5 集落形成法测定药物对肿瘤克隆原细胞抑制实验方法 分别取 MGC₈₀₃、SMMC₇₇₂₁、EMT₆ 对数生长期的肿瘤细胞, 经胰酶消化, 离心, 台盼蓝染色计数, 调至 500 个/ml 活细胞。取 15ml 培养瓶, 每瓶中

加细胞悬液 2ml, 即 1000 个活细胞, 并分别加不同受试药物 20 μ l 摇匀。在 5% CO₂ 37℃ 培养箱中培养 7 天。弃培养液, 用 Giemsa 染液染色, 镜下计数含有 50 个细胞以上的集落。

1.6 观察指标 求出各浓度组的生长率, 绘制实验组与对照药物组的生长率曲线。生长率 = 各实验组活细胞数/对照组活细胞数 $\times 100\%$ 。凡超过 50 个细胞的团块为一个集落, 计算各不同浓度组集落形成率, 并绘制细胞集落形成率曲线。集落形成率 = 集落形成数/所接种细胞数 $\times 100\%$ 。

2 结果

2.1 TFS 对细胞生长率的影响 见图 1~3。如图 1~3 可看出细胞生长率随着 TFS 药物对数浓度的增加而呈下降趋势, 经统计学处理呈高度负相关(r 值 0.8~0.7 之间, $P < 0.01$), 与天仙胶囊组相差显著($P < 0.05$)。TFS 对 MGC₈₀₃ 细胞, SMMC₇₇₂₁ 细胞, EMT₆ 细胞半数抑制浓度(LC₅₀)分别为 4 μ l/ml, 6 μ l/ml, 3 μ l/ml, 而对照组药物对上述三种细胞 LC₅₀ 分别为 6 μ l/ml, 8 μ l/ml, 5 μ l/ml。

2.2 TFS 对肿瘤细胞集落形成的影响 见图 4~6。TFS 具有抑制细胞集落形成的能力, 随着药物浓度的增加对集落形成抑制率也相应增加, 呈现正相关, 而与细胞集落形成率呈负相关, 与对照药物相差显著($P < 0.05$), 但其 LC₅₀ 均小于 10 μ l/ml, 提示有进一步实验的价值。

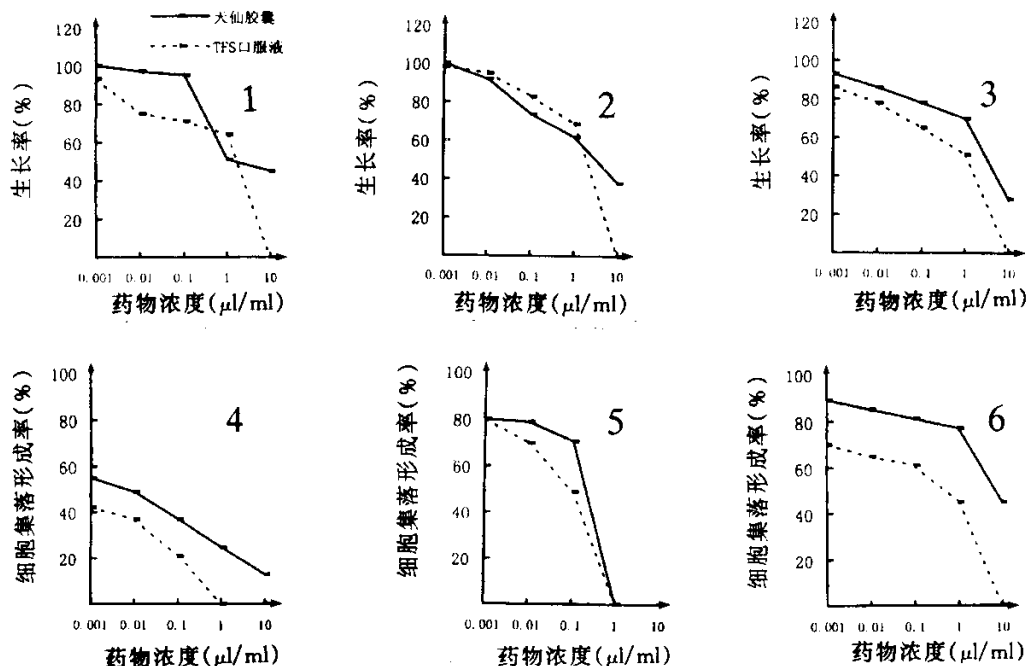


图 1 MGC₈₀₃ 生长曲线 图 2 SMMC₇₇₂₁ 生长曲线 图 3 EMT₆ 生长曲线 图 4 MGC₈₀₃ 细胞集落形成率曲线 图 5 SMMC₇₇₂₁ 细胞集落形成率曲线 图 6 EMT₆ 细胞集落形成率曲线

讨 论

恶性肿瘤是严重危害人类生命健康的三大疾病之一,由于其病因不清,早期症状隐匿等,临床确定诊断病情多已到中晚期,外科治疗多不易根除,且易复发,特别转移较早,治疗更为困难。我们根据中医“扶正”、“祛邪”的理论研制的中药复方天佛参口服液,具有扶正抗癌、养阴益气、清热解毒等功效。经对 71 例恶性肿瘤患者的临床观察,有效率为 71.8%,总缓解率为 45.1%,说明 TFS 可不同程度地抑杀肿瘤,达到延长患者生存期的目的。

另外,恶性肿瘤,尤其是中晚期患者,免疫功能一般均为低下^[9]。实验证明 TFS 对移植瘤小鼠 NK 细胞和 IL-2 活性有明显的促进作用,并能促进 T 淋巴细胞转化,促进腹腔巨噬细胞吞噬功能,增加脾脏、胸腺的重量^[10]。经 TFS 治疗后,不但患者生存质量普遍提高和主要症状大多缓解,而且细胞免疫水平均有显著提高,使低下的免疫状态得到纠正而延长患者的生命。为了验证 TFS 的抗癌作用,进行了对三株人和动物肿瘤细胞集落形成的抑制实验,结果表明,该药不但具有直接杀伤肿瘤细胞的作用而且体外实验证明具有抑制单个细胞克隆的增殖能力;并且具有广谱的抗肿瘤作用和一定的量效关系;对照药物天仙胶囊的 $LC_{50} < 10\mu\text{l/ml}$,而 TFS 的 $LC_{50} < 6\mu\text{l/ml}$,其在肿瘤药物研究

方面均有进一步探讨的价值。

参 考 文 献

1. 黄国俊,谷铎之,王正颜,等.关于修改食管癌分段分期标准建议.中华肿瘤杂志 1988;10(4):316.
2. Kennedy BJ. Evolution of the international gastric cancer staging classification. Scand J Gastroenterol 1987;22(Suppl 133):8.
3. 中华人民共和国卫生部医政司.中国常见恶性肿瘤诊治规范(第二分册,原发性肝癌).北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1991:2—12.
4. 叶应妩,王毓三.全国临床检验操作规程.南京:东南大学出版社,1991:315—316.
5. 叶应妩,王毓三.全国临床检验操作规程.南京:东南大学出版社,1991:321—322.
6. 朱忠勇.实用医学检验学.北京:人民军医出版社,1992:833—834.
7. 韩 锐.肿瘤化学预防及药物治疗.北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1991:433—434.
8. 《实用肿瘤学》编辑委员会编.实用肿瘤学.北京:人民卫生出版社,1978:468.
9. 柏 洁,蔡定芳.中医药对放化疗免疫抑制的影响.中国中西医结合杂志 1999;19(3):124—126.
10. 陈 凯,李新民.天佛参口服液对移植肿瘤小鼠免疫功能的影响.中国中西医结合杂志 1993;13(3):171—172.

(收稿 2000-09-19 修回 2001-03-23)

《中国中西医结合杂志》第六届编委会名单

名誉总编 季钟朴

总 编 辑 陈可冀

副总编辑 沈自尹 肖培根 陈维养(常务)

顾 问 吴咸中 辛育龄 关幼波 邓铁涛 尚天裕 王永炎 侯 灿

编辑委员 马必生 王一涛 王书臣 王今达 王宁生 王 阶 王学美 王 佩 王宝恩

王硕仁 王雪苍 尹光耀 史大卓 史载祥 刘干中 刘建勋 刘耕陶 刘猷枋

危北海 匡调元 朱 兵 吕爱平 吕维柏 齐清会 孙 燕 李 恩 李乃卿

李大金 李玉光 李连达 李廷谦 李国贤 李国栋 李鸣真 李顺成 李恩宽

杨任民 杨秀伟 时毓民 陈士奎 陈小野 陈冬燕 陈香美 吴伟康 陆付耳

张大钊 张之南 张永祥 张伯礼 张国玺 张亭栋 张荣华 张家庆 张梓荆

林求诚 林志彬 林瑞超 郁仁存 周文泉 周 俊 周霭祥 金益强 赵伟康

唐由之 顾振纶 郭赛珊 徐治鸿 梁晓春 黄晓愚 曹小定 葛秦生 谢宗万

谢竹藩 董福慧 曾晓春 雷 燕 蔡定芳 裴正学 黎磊石 廖家桢 廖福龙

戴瑞鸿