

肝癌患者中医辨证分型与肝癌细胞体外化疗药物敏感性的关系

皇甫超¹ 刘 彬¹ 李鲁娟² 殷明伟¹ 陈传波²

摘要 目的:观察不同中医辨证分型肝癌患者肝癌细胞体外化疗药物敏感性。方法:选取 60 例肝癌切除标本,利用 MTT 法测定不同证型肝癌患者对 6 种常用化疗药物的体外敏感性。结果:脾气虚组、肝气郁结组、瘀血阻络组之间各药敏感性有逐步下降趋势,但无统计学意义;各药在肝瘀脾虚阻络组敏感性明显下降。结论:不同中医辨证分型肝癌患者对化疗药物的敏感性存在一定差异,中西医结合个体化治疗肝癌,就是要根据具体患者药敏实验结果结合辨证论治设计治疗方案。

关键词 肝肿瘤/诊断 肝肿瘤/药物治疗 辨证分型

Relation of TCM Syndrome Types of the Patient of Liver Cancer with Sensitivity of Liver Cancer Cells to Chemotherapeutic Drugs in Vitro

Huangfu Chaoshen¹, Liu Bin¹, Li Lujuan², et al.

(1. Institute of Digestive Diseases, Medical College of Henan University, Henan Province 475001; 2. First Affiliated Hospital of Henan University)

Objective: To observe sensitivity of liver cancer cells of the patient of liver cancer with different TCM syndromes to chemotherapeutic drugs in vitro. **Methods:** 60 specimens from removed liver cancer were taken and the sensitivity of the hepatic cells from patients of live cancer with different TCM syndromes to 6 commonly-used chemotherapeutic drugs in vitro were determined by MTT method. **Results:** The sensitivity to the drugs in the deficiency of the spleen Qi-deficiency group, the liver-Qi stagnation group and the group of obstruction of blood stasis in collaterals had the tendency to gradually decrease with no statistically significant difference; the sensitivity to various drugs in the groups of stasis of blood in the liver, deficiency of the spleen and obstruction in collateral decreased significantly. **Conclusion:** The patients of liver cancer with different TCM syndromes have a certain difference in the sensitivity to chemotherapeutic drugs, so treatment of liver cancer should be based on the patients' sensitivity to therapeutic drugs and TCM syndromes.

Key Words Hepatic tumor/diagnosis; Hepatic tumor/drug therapy; Typing of TCM syndromes

为了开展中西医结合个体化治疗肝癌,很有必要了解不同中医辨证分型肝癌患者肝癌细胞对化疗药物的敏感性。为此,本课题组自 1999 年 5 月至 2003 年 5 月,选取了 60 例肝癌切除标本,利用 MTT 法比较了不同证型肝癌患者对常用 6 种化疗药物体外敏感性。

1 资料

1.1 诊断辨证标准:肝癌分期采用 1999 年第四届全国肝癌学术会议提出的原发性肝癌诊断标准与分期标准(草案)^[1];中医辨证参照卫生部 1988 年颁布的《新药(中药)治疗原发性肝癌临床研究指导原则》^[2]和朱文锋主编的《中医诊断学》(第 6 版)^[3]中的辨证标准进行诊断辨证。

1.2 一般资料:60 例原发性肝癌患者中男性 52 例,女性 8 例;年龄 35~66 岁,平均 45.6 岁;56 例伴有不

同程度的肝硬化,57 例表现为 HBsAg(+),49 例甲胎球蛋白(AFP)阳性;病程 1 个月~1 年,Ⅰ期 7 例,Ⅱ期 23 例,Ⅲ期 30 例;临床根治 38 例,姑息切除 22 例;中医辨证为脾气虚证 18 例,肝气郁结 12 例,瘀血阻络证 9 例,肝瘀脾虚阻络证 21 例。

1.3 试剂与药物:培养液 MPRI-1640(GIBCO)含 20%灭活小牛血清、青霉素 105IU/L 和链霉素 0.1g/L;四甲基偶氮唑盐(MTT),胶原酶 I 型(Sigma);二甲亚砜(DMSO,本溪化工厂)。抗癌药物:顺铂(DDP,锦州第一制药厂),卡铂(Car,齐鲁制药厂),丝裂霉素(MMC,浙江海正制药厂),阿霉素(ADM,浙江海门制药厂),氟脲嘧啶(5-FU,上海海普药厂),甲氨喋呤(MTX,上海第十二制药厂)。

2 方法

2.1 肝癌组织单个细胞悬液的制备:无菌条件下切取 2~4g 无坏死肿瘤组织块,迅速置于含青霉素的无菌 1640 培养液中,尽快送实验室, Hank's 液冲洗 2~3 次,机械方法制成细胞悬液,梯度离心分离癌细胞,台盼蓝染色计死、活细胞数,用 RPMI-1640 培养液制成单细胞悬液,调节细胞浓度为 5×10^4 /ml。

基金项目:河南省 2002 年科技攻关项目(124170229)

1 河南大学医学院消化疾病研究所,河南省开封市西门大街 356 号(475001)

2 河南大学第一附属医院

收稿日期:2003-11-03;修回日期:2004-01-15

附表 不同中医证型患者化疗药物对肝癌细胞的抑制率(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	DDP	Car	MMC	ADM	5-FU	MTX
脾气虚组	16	53.0±16.4*	22.3±16.0*	48.0±16.5*	46.0±15.7*	37.6±15.1*	35.7±16.9*
肝气郁结组	10	49.6±17.8*	20.6±19.8*	45.6±13.6*	41.0±16.4*	27.0±16.0*	30.5±16.0*
瘀血阻络组	9	43.2±16.2	18.7±15.2	37.5±16.3	25.0±15.3	20.3±11.6	21.4±12.0
肝瘀脾虚阻络组	14	19.3±15.7	11.6±16.7	16.1±18.8	23.0±19.1	18.9±16.8	19.7±13.0
F 值		5.77	4.38	6.28	3.98	4.52	4.33

* 与肝瘀脾虚阻络组比较, $P<0.05$

2.2 MTT 比色法药物敏感试验:将上述两种细胞悬液分别接种入 96 孔细胞培养板中,每孔 100 μ l,37℃,CO₂ 培养箱中预培养 4 小时,然后分别加入相当于血药浓度 10 倍的化疗药物,每孔 20 μ l,每药及对照均设 3 孔,混匀后继续培养 48 小时,快速翻板法,弃去上清液,每孔加入 MTT 20 μ l(5g/L),再培养 4 小时后,弃上清,每孔加入二甲亚砷 100 μ l,振荡器振荡,酶标仪 490nm 波长处吸光度测吸光度(A)值。抑制率=(细胞对照孔 A 值-加药孔 A 值)/细胞对照孔 A 值×100%。淋巴细胞的相对抑制率大于 20%,肿瘤细胞的相对抑制率大于 30%,判断为药敏阳性。

2.3 统计学方法:所有数据均经 SPSS11.5 软件处理,组间比较采用 F 检验及 q' 检验。

3 结果

3.1 药敏实验的成功率:采用 MTT 法对 60 例肝癌细胞做了 6 种肝癌常用化疗药物的体外药敏实验,获得满意成功者 49 例,成功率 82%。6 例因取材不当,坏死组织较多,培养中细胞生长不良,结果无法分析。2 例因取材后在冰盒放置过久,细胞经机械酶消化时溶解,无法培养。3 例因细菌污染中途放弃。说明要提高药敏实验成功率,正确取材和防止细菌污染是关键。

3.2 不同中医证型患者化疗药物对肝癌细胞的抑制率:见附表。实验结果表明,同一证型对不同化疗药物的敏感性明显不同,与临床上不同化疗药物对同一种肿瘤患者治疗效果不一致的现象吻合。总的来看,各组对 DDP、MMC、ADM 相对敏感;脾气虚组、肝气郁结组、瘀血阻络组之间各药敏感性有逐步下降趋势,但无统计学意义;各药在肝瘀脾虚阻络组敏感性明显下降。

4 讨论

目前临床上采用中医辨证结合常规的化疗方案治疗肝癌,其缓解率一般不超过 20%^[1]。经积极治疗后 5 年生存率仅 36.6%^[5]。这是由于肝癌细胞普遍表达多药耐药基因和存在其他的耐药机制,对化疗药物多不敏感。肝癌对化疗药物的敏感性可能与两个因素有关,一是肿瘤的异质性,这是一个生物学的问题,具体表现在同一类肿瘤的细胞分子生物学改变上,二是每个患

者的具体情况、具体状态,这是一个涉及患者功能状态、心理状况乃至社会影响的问题^[4]。也就是说肝癌不同的证型、病理分型、分化程度、临床分期以及是否转移与化疗药物的敏感性有关。用核素 HTdR 掺入法研究 210 例非小细胞肺癌患者发现,Ⅰ、Ⅱ期患者化疗药物敏感率明显高于Ⅲ期患者^[6],这些结果符合临床上化疗对晚期肿瘤患者效果差的经验。

对肝癌患者来讲,临床分期与中医辨证分型都偏重于对临床症状和体征的描述,尽管中西医理论体系不同,但两者之间存在着密切关系。大量临床观察发现,原发性肝癌病机演变规律是由肝气郁结→肝瘀脾虚→肝肾阴虚→死亡;免疫状态也从 T 细胞→B 细胞→NK 细胞单一下降,发展到全面崩溃^[7]。肝癌患者病机属正虚邪实,早期多表现为脾气虚和肝气郁结,但以实为主;中期虚实夹杂,表现为气滞血瘀间有脾虚毒盛,晚期邪盛正虚,多表现为肝胆湿热或肝肾阴虚^[8]。本实验结果也显示,不同中医辨证分型肝癌患者对化疗药物敏感性存在一定差异,在肝瘀脾虚阻络组化疗药物敏感性明显下降。这与临床上单纯肝瘀脾虚型肝癌患者中西医结合治疗效果比肝胆湿热或肝肾阴虚型较好相符^[9]。

参考文献

- 1 杨秉辉.第四届全国肝癌学术会议概况及关于原发性肝癌诊断标准及分期问题的讨论.中华普通外科杂志,2000,15(4):238~239.
- 2 中华人民共和国卫生部.新药(中药)治疗原发性肝癌临床研究指导原则.中国肿瘤,1993,2(7):11~13.
- 3 朱文锋.中医诊断学.上海:上海科学技术出版社,1995:138~141.
- 4 林丽珠.中医药在原发性肝癌综合治疗中对生存质量的维护作用.中华肿瘤杂志,2003,25(2):202~203.
- 5 王学江,钱英,丰平,等.槲芪散抗肝癌前病变的实验研究.北京中医,2001,20(4):42~43.
- 6 廖美琳,周允中,丁嘉安,等.非小细胞肺癌生物学特性,药敏实验及术后辅助治疗研究.上海医学,1999,22(12):720~724.
- 7 王榕平,王莹.原发性肝癌西医新旧临床分期与中医辨证分型的评价.福建中医学院学报,2003,13(3):1~2.
- 8 李东涛,孙桂芝.中医药治疗原发性肝癌研究进展.中医杂志,2003,44(6):470~472.
- 9 黄立中,曾松林,蒋益兰.肝复乐片治疗原发性肝癌 31 例疗效观察.湖南中医杂志,1997,13(1):4~5.