

临床报道

扶正抑癌冲剂配合化疗治疗微小残留白血病的 临床与实验研究

王乙忠¹ 周霁祥² 王志平³ 展昭明⁴ 马 军⁴ 郭晓峰⁵

摘要 扶正抑癌冲剂是治疗微小残留白血病(MRL)的有效药物,治疗后患者全身状况及并发症有明显的改善,该方显著提高MRL患者的免疫功能,提高完全缓解率及生存质量,延长患者生存期。对DNA指数、DNA非整倍体率、ph⁺染色体、BCR/ABL基因等各项指标研究表明,该方具有抑制或消除恶性克隆的作用。体外细胞培养证实,本方具有刺激正常骨髓细胞增殖作用,但对白血病细胞无刺激作用。动物实验表明,该方可明显延长MRL动物模型的生存期。

主题词 白血病/中医药疗法 @ 扶正抑癌冲剂

微小残留白血病(Minimal residual leukemia, 简称MRL),是指白血病经过有效的化疗或骨髓移植,达到临床和血液学的完全缓解(CR),体内残留微量白血病细胞的状态。残存白血病细胞的再度增殖和播散,是白血病复发、死亡的主要原因、目前,现代医学对MRL的治疗主要靠维持化疗与骨髓移植(BMT),虽然部分患者取得了较好的疗效,但大部分患者仍不可避免地死于白血病复发。为此,我们在总结多年来用中医药对白血病缓解后治疗经验的基础上,组成扶正抑癌冲剂,用其对35例MRL患者进行了临床与实验研究,并与15例单纯化疗组进行比较,取得了较好疗效。

1 临床研究

1.1 临床资料:50例白血病患者,均符合《血

液病诊断及疗效标准》^[1]关于白血病的诊断标准,确诊为白血病。其中男性34例,女性16例。年龄7~59岁,平均34岁。病程1~24个月,平均病程为7个月。初诊29例,复诊21例。将50例白血病患者随机分为实验组(中药组)与对照组(化疗组)。实验组35例,其中急性非淋巴细胞白血病(ANLL)17例(M₁3例,M₂4例,M₃4例,M₄2例,M₅2例,M₆1例,M₇1例),急性淋巴细胞白血病(ALL)11例(L₁6例,L₂3例,L₃2例),慢性粒细胞白血病(CML)7例。对照组15例,其中ANLL8例(M₁1例,M₂1例,M₃4例,M₄1例,M₅1例),ALL3例(L₁2例,L₂1例),CML4例。

1.2 治疗方法:全部病例均按常规化疗(ANLL用DA或HA方案,个别加用6-TG、VP16、CTX;ALL用VDP方案,个别加用CTX、L-ASP;CML用羟基脲或马利兰。实验组自化疗之日起加服扶正抑癌冲剂,每日3次,每次15g,连续服用30天。对照组单用化疗。治疗结束后观察白血病细胞残留情况。扶正抑癌冲剂主要由炙黄芪、当归、女贞子、旱莲草、生地、何首乌等组成,由中国中医研究院西苑医院药厂制成冲剂,每袋15g,约含生药60g。

1.3 观察指标和方法:

1.3.1 全身状况及对化疗反应:观察患者倦怠、乏力等全身精神状况和呕吐、恶心等消化道反应。

1.3.2 化疗的并发症情况:观察有无发热、感染、出血、贫血等并发症及轻重程度。

1.3.3 完全缓解情况:根据临床及骨髓象观察完全缓解情况。

1 中国中医研究院西苑医院,现在航天部医院,北京玉泉路(100039)

2 中国中医研究院西苑医院

3 山西化工厂医院

4 哈尔滨市血液病研究所

5 大同市中医院

收稿日期:1996-01-10;修回日期:1996-04-15

1.3.4 外周血象变化:观察化疗过程中外周血象的变化。

1.3.5 T 细胞亚群变化:用流式细胞仪检测用药前后 T 细胞数量及亚群的变化,详细方法见文献^[2]。

1.3.6 NK 细胞活性:检测用药前后患者 NK 细胞活性的变化,详细方法见文献^[3]。

1.3.7 DNA 指数及非整倍体率变化:用流式细胞仪检测治疗前后 DNA 含量及非整倍体率的变化,详细方法见文献^[4]。

1.3.8 ph' 染色体的测定:我们用 G 显带技术检测了实验组与对照组中 11 例 CMLph' 染色体治疗前后的变化,详细方法见文献^[5]。

1.3.9 PCR 检测 BCR/ABL:用 PCR 检测治疗后 11 例 CML 的 BCR/ABL 融合基因残留情况,详细方法见文献^[5]。

表 2 并发症情况比较

组别	例数	发热		感染		出血		贫血	
		轻(%)	重(%)	轻(%)	重(%)	轻(%)	重(%)	轻(%)	重(%)
实验组	35	2(5.7)	0	2(5.7)	0	3(8.6)	0	4(11.4)	2(5.7)
对照组	15	6(40.0)	1(6.7)	7(46.7)	1(6.7)	4(26.6)	2(13.3)	5(33.3)	3(20.0)

注:轻度发热 $<38^{\circ}\text{C}$,重度发热 $>38^{\circ}\text{C}$;

轻度感染指局部感染,重度感染指全身或脏器感染;轻度出血指局部粘膜或皮肤散在出血点,重度出血指脏器或全身广泛出血;轻度贫血 $\text{Hb}>80\text{g/L}$,重度贫血 $\text{Hb}<80\text{g/L}$ 。

1.4.3 完全缓解率比较:实验组 35 例,完全缓解 32 例(91.4%),部分缓解 1 例,总有效率 94.3%;对照组 15 例,完全缓解 10 例(66.7%),部分缓解 2 例,总有效率 80.0%。实验组疗效明显优于对照组($P<0.05$)。

1.4.4 化疗中外周血细胞降低程度的比较:实验组 35 例,白细胞 $<3.0\times 10^9/\text{L}$ 5 例(14.3%),血红蛋白 $<80\text{g/L}$ 2 例(5.7%),血小板 $<60\times 10^9/\text{L}$ 3 例(8.6%);对照组 15 例,分别为 7 例(46.7%),5 例(33.3%),5 例(33.3%)。两组三项指标例数比较,均有显著性差异(P 均 <0.05)。

1.4.5 T 细胞亚群的变化:结果表明,治疗前 T 细胞及亚群较正常人明显减低,尤以 T 辅助

1.4 结果:

1.4.1 全身状况及消化道反应:表 1 示,本方对改善白血病患者全身状况以及化疗药引起的消化道反应,有明显的作用。经统计学处理,与对照组之间均有显著性差异($P<0.05$ 和 $P<0.01$)。

表 1 两组全身状况及消化道反应比较

组别	例数	全身状况(倦怠乏力)		消化道症状(恶心、呕吐)	
		轻(%)	重(%)	轻(%)	重(%)
实验组	35	9(25.7)	5(14.3)	4(11.4)	3(8.6)
对照组	15	5(33.3)	6(40)	5(33.3)	4(26.7)

1.4.2 并发症情况比较:治疗组白血病患者发热、感染、出血、贫血等并发症的发生率,明显减少即使个别患者伴有并发症,症状亦较轻微,与对照组比较有极显著性差异。见表 2。

(Th)细胞降低为明显,使 Th/Ts(T 抑制细胞)的比值减低,治疗前 T 细胞及亚群之间两组比较无显著性差异。治疗后两组之间有极显著性差异。实验组 Th 细胞比例明显升高,Ts 细胞比例降低,使 Th/Ts 比值恢复正常,但对照组 Th/Ts 比值恢复不太明显,尤其是 Ts 细胞比例治疗前后变化不大。说明对照组虽然免疫功能有所恢复,但仍存在缺陷。见表 3。

表 3 T 细胞亚群的变化

分组	T _总	Th	Ts
实验组			
治疗前	44.2 $\pm$ 10.0	14.9 $\pm$ 8.4	32.4 $\pm$ 3.6
治疗后	70.5 $\pm$ 7.8 Δ	50.5 $\pm$ 7.4 Δ	19.6 $\pm$ 2.7 Δ
对照组			
治疗前	40.8 $\pm$ 5.3	9.9 $\pm$ 3.4	33.1 $\pm$ 2.8
治疗后	58.7 $\pm$ 5.2 Δ	28.0 $\pm$ 4.3 Δ *	30.5 $\pm$ 5.9*

注:表中数据为均值 $\pm$ 标准差,以下表同

Δ 治疗前后比较 $P<0.001$

* 实验组与对照组比较 $P<0.001$

1.4.6 NK 细胞活性的变化:治疗前两组白血病患者 NK 活性明显降低,与文献报道基本一致^[3,4,6]实验组治疗前为 $8.1 \pm 3.5\%$,治疗后升至 $36.9 \pm 7.5\%$ ($P < 0.001$);对照组治疗前为 $7.9 \pm 4.2\%$,治疗后升至 $21.4 \pm 2.5\%$ ($P < 0.05$)。治疗后两组 NK 细胞活性比较,实验组明显高于对照组 ($P < 0.001$)。

1.4.7 DNA 指数及非整倍体率的变化:治疗前实验组 35 例 DNA 指数为 1.19 ± 0.25 ,对照组 15 例为 1.17 ± 0.27 ,两组无显著差异 ($P > 0.05$)。治疗后实验组为降至 1.02 ± 0.05 ,对照组降至 1.10 ± 0.04 ;实验组 DNA 指数降低优于对照组 ($P < 0.05$)。治疗前实验组 DNA 非整倍体率为 40% (14 例),治疗后为 2 例 (5.7%);对照组治疗前为 33.3% (5 例),治疗后为 3 例 (20.0%)。治疗后实验组 DNA 非整倍体率明显低于对照组 ($P < 0.05$)。表明本方有消除异常克隆作用。

1.4.8 对 CML ph' 染色体的影响:11 例 CML 患者,实验组 7 例,对照组 4 例,治疗前检查 ph' 染色体全部为阳性。实验组治疗 3 个月 ph' 染色体阳性为 $59.8 \pm 10.4\%$,9 个月为 $47.5 \pm 30.6\%$,其中有 1 例 ph' 染色体已转阴。对照组治疗后 3 个月为 $80.7 \pm 6.5\%$,9 个月时为 $86.6 \pm 14.3\%$ 。统计学处理,实验组均优于对照组 (P 均 < 0.05)。说明该方对恶性克隆有明显的抑制或消灭作用。

1.4.9 对 CML BCR/ABL 融合基因的影响:11 例 CML 患者,实验组 7 例,对照组 4 例,9 个月时用 PCR 检查 BCR/ABL 融合基因全部为阳性,虽然有 1 例 (实验组) 患者染色体检查已阴性,但 PCR 检查仍阳性,说明还未达到分子缓解程度。到 12 个月时,这例患者 PCR 检测已阴性,说明恶性克隆消失亦有个时限问题;对照组 4 例,PCR 无一例转阴。

2 实验研究

2.1 细胞培养:为了探讨本方在体外对正常人骨髓 CFU-GM、白血病患者骨髓 L-CFU 及 K562 白血病细胞株的影响,我们分空白对照组、中药组、中药加化疗组、化疗组四组观察

了对细胞培养情况。其中空白组不加药,中药组加扶正抑癌冲剂 20mg/ml 体系,中药加化疗组即上述两种药物按相同剂量同时加入。具体方法及剂量选择参照文献^[8,9]。

2.2 小鼠 L7212MRL 模型的体内实验:为了探讨本方对 MRL 的作用,我们用本方对 L7212MRL 模型生命延长率进行了观察。方法参照文献^[10]。

2.3 结果:

2.3.1 扶正抑癌冲剂组及化疗组对 15 例正常人骨髓 CFU-GM 的影响:实验结果说明,本方对正常骨髓细胞有明显的刺激作用 (203.1 ± 61.7),与空白对照组 (154.9 ± 50.5) 比较有显著性差异 ($P < 0.05$),化疗组 (73.7 ± 22.6) 对正常骨髓细胞有显著的抑制作用,与空白对照组比较有极显著性差异 ($P < 0.001$),中药组加化疗组 (83.7 ± 26.8) 比单用化疗组集落有所增加,说明化疗药配合中药可缓解其毒性,同时刺激正常细胞增生,但统计学上尚无差别,或许与体外某些生物反应不复存在有关。

2.3.2 中药组及化疗组对 K562 白血病细胞株的影响:中药组 (17.2 ± 2.6) 无刺激 K562 白血病细胞生长的作用,与空白对照组 (18.6 ± 3.4) 比较无差别 ($P > 0.05$)。中药加化疗组 (7.2 ± 1.9) 与单纯化疗组 (7.6 ± 2.7) 比较亦无差别 ($P > 0.05$)。说明中药在体外直接杀伤白血病细胞的作用不大,推测其作用可能与体内介导的生物反应调节作用有关。

2.3.3 中药组及化疗组对白血病患者 L-CFU 集落产生的影响:中药组 (108 ± 139.7) 与空白对照组 (103.5 ± 134.5) 差别不大,中药加化疗组 (35.2 ± 47.2) 与化疗组 (31.5 ± 41.8) 亦无差别 ($P > 0.05$),说明扶正中药在体外对白血病细胞作用不大。

2.3.4 中药组对小鼠 L7212 MRL 模型的影响:我们按文献^[10]给 615 小鼠皮下接种 106L7212 白血病细胞后,第 3 天一次腹腔内注射环磷酰胺 (CTX) 250mg/kg,制成 MRL 模型,第 4 天开始用中药灌胃,分三个剂量组 (0.5、1.0、1.5g),连续用药 10 天,对照组用等量

生理盐水灌胃。观察小鼠生存期,共观察 35 天。小剂量组平均生存 21 天,小剂量组为 29 天,大剂量组为 28.5 天,比对照组(17.1 天)生存期明显延长。到观察结束中药大、中剂量组仍各有 2 只小鼠生存。从而表明,本方在体内确有治疗 MRL,延长生存期的作用。

3 讨论

MRL 是白血病复发的根源,消灭 MRLC 是治愈白血病的关键。目前治疗主要靠维持化疗与骨髓移植,但绝大多数仍难免复发死亡^[11]。故寻找有效的治疗 MRL 的方法,是非常重要的课题。我们根据多年来治疗 CR 后白血病患者的经验,认为当白血病缓解后,邪气相对不著,而正气由于邪毒及放化疗的影响,损伤气血、消耗阴液较明显,临床多表现出面色㿗白,倦怠乏力,气短懒言,精神欠佳,骨蒸潮热,五心烦热,舌淡,舌尖红,苔白,脉沉细或细数等气阴两虚证,故此时必须予补气血、滋阴液为主要治疗,以扶助正气抗邪外出。本文的临床研究表明,本方确可提高患者免疫功能,增强抗病能力,改善全身状况,减轻或消除并发症,增强药物敏感性,提高患者对化疗药物的耐受性,充分发挥化疗药物的治疗效果,使完全缓解率提高,且提高了患者的生存质量。实验研究证实,本方体外能明显刺激正常细胞增殖,而不刺激白血病细胞,说明了扶正药物的选择性。虽然体外本方对白血病细胞的直接杀伤作用不明显,但动物体内实验可明显延长 MRL 模型的生存期,说明本方可能是通过提高机体的免疫功能,促进某些生物反应的调节,增强免疫监视与免疫杀伤作用,提高生物反应的效应,来达到扶助正气,消灭 MRL 的目的。当前受到广泛重视的肿瘤生物学反应调节疗法(BRMT),对 MRL 的治疗有很大潜力,但由于生物反应调节剂(BRM)价格昂贵,副作用较大而使用受限。现已证实许多中药,尤其是扶正中药具有 BRM 样作用或诱生 BRM 的作用,这也可能是本方取得较好疗效的机理之一。

在非整倍体恶性肿中,DNA 非整倍体随肿

瘤细胞的杀灭而消失,随肿瘤细胞的复发而再现,因此 DNA 非整倍体的消失可作为白血病细胞被杀灭的标志,也可作为疗效制定的标准之一。用本方治疗后,DNA 指数及非整倍体率均呈现下降或恢复正常,可见本方作用于 DNA 水平,具有抑制或破坏白血病细胞 DNA 合成的功效,从而起到治疗 MRL 的作用。

ph' 染色体是 CML 恶性克隆的特有标志,它是 9 号染色体与 22 号染色体相互移位的结果,其分子基础是 ABL 基因与 BCR 基因融合形成的 BCR/ABL 融合基因。这个基因的持续消失,即可认为 CML 已彻底治愈。我们研究结果表明,中药组治疗后,7 例 CML、ph' 染色体阳性率随时间过长而逐渐减少,9 个月时有 1 例 ph' 染色体全部转阴;用 PCR 检测 BCR/ABL 基因,到 12 个月时 7 例中有 1 例已转阴。对照组中虽然 ph' 染色体也有减少,但没有中药组明显,PCR 检测 BCR/ABL 基因无转阴者。说明本方通过益气养阴,调动机体内在的抗病能力,介导生物反应调节作用,对消灭残留白血病细胞、治疗 MRL 确有疗效。

4 参考文献

- 1 张之南主编. 血液病诊断及疗效标准. 天津科技出版社, 第 1 版, 1991: 152.
- 2 河本圭司, 等. フローサイトメトリー入門. 东京医学书院, 第 1 版, 1989: 36.
- 3 武永吉, 等. 急性白血病患者自然杀伤细胞活性的研究. 中华血液学杂志. 1992; (8): 424.
- 4 左连富, 等. 流式细胞仪在白血病化疗中的作用. 中华血液学杂志 1991; (3): 131.
- 5 王衡文主编. 实验肿瘤学基础. 人民卫生出版社, 第 1 版, 1992: 184.
- 6 王波, 等. 用 PCR 检测骨髓移植后 CML 微量残留病. 中华血液学杂志 1993; (7): 355.
- 7 王长印, 等. 急慢性白血病患者外周血 NK 细胞活性测定. 上海免疫学杂志. 1994; (11): 348.
- 8 万景华, 等. ANLL 综合药敏试验的研究. 中华血液学杂志 1989; (5): 247.
- 9 赵昕, 等. 骨髓 L-CFU 培养法体外药敏试验在 ANLL 治疗中的意义. 临床血液学杂志 1992; (2): 66.
- 10 褚建新, 等. MRL 的实验研究. 中华血液学杂志 1991; (8): 394.
- 11 褚建新. 微量残留白血病的研究. 引自临床血液学进展, 北医协和联合出版社, 第 1 版, 1992: 168.

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Clinical and Experimental Studies on Micro — Residual Leukemia Treated with Fuzheng Yilai (Resistance—supporting Tumor— inhibiting) Infusion Coordinated with Radiotherapy.

Wang Yizhong, Zhou Ai'xiang, Wang Zhiping, et al
Fuzheng Yilai Infusion is an effective remedy for micro — residual leukemia (MRL). It yields marked mitigation on the general condition of the patient and prevents complications by substantially improves the patients immunity, elevates the rate of total remission and living quality, prolongs the survival period. Studies on the indices including DNA index, rate of DNA non — euploid, ph' chromosome, and BCR/ABL gene, showed that the recipe can inhibit or eliminate the actions of malignant clone. In vitro cultivation of cells proved that the recipe yields stimulating action on the proliferation of normal marrow cells, yet yields no stimulating action on leukemic cells. Animal experiments reveal this recipe markedly prolongs the survival period of MRL animal models.

Authors' Address: Xiyuan Hospital, China Academy of TCM, Beijing 100091

Key Words: Leukemia/TCM therapy @ Fuzheng Yiliu Infusion

(Original article on page 535)

Perspiration on the Head. A Special Manifestation in Severely icteric Chronic Hepatitis. Report of 124 Cases.

Wang Chengbai, He Jiangping

Of the 411 hepatitis with severe jaundice admitted, 124 (30, 17%) had head perspiration. Based on Zhang Zhongjing's etiologic — pathogenic conception, 102 cases of such patients were treated by the principle of cooling and activating blood, benefitting Qi and Yin. 89 cases had jaundice eliminated, 13 cases had residual jaundice. All 22 cases of chronic severe hepatitis survived. Of them, 9 early stage cases were all survived, 7 of the 8 cases of intermediate stage survived, only 1 out of 5 cases of late stage survived.

Authors' Address: Department of Integrated Medicine, 304 Hospital PLA, Beijing 100039

Key Words: Hepatitis viral, human/TCM therapy

Jaundice/TCM Therapy chronic disease

(Original article on page 539)

Chronic Glomerular Nephritis Treated with Chinese Materia medica of Antioxidation Remedies

Cheng Xiaoxia, Wang Yongjun

Chinese remedies with antioxidation action such as Radix Astragali seu Hedysari, Caulis Polygoni Multiflori were administered for treatment of 30 cases of chronic glomerular nephritis. Results revealed that 17 cases were markedly effective, 9 effective, 4 cases ineffective, the results being apparently superior to the control group treated by vit. E. For the treatment group, the 24 — hour Ccr, 24 — hour quantitative protein in urine, erythrocytic SOD, MDA were all markedly improved. Again, these results after treatment were all superior to that of the control group.

Authors' Address: Hangzhou Munciple Hospital of TCM, Hangzhou 310006

Key Words: Glomerular nephritis/TCM therapy @ Chinese antioxidation remedies

(Original article on page 542)

Clinical Observation on Infantile Gastritis and Peptic Ulcer with Positive HP.

Yan Huimin, Li Shuting, Chen Zhaoding, et al

Thirty cases were treated with Weiping Mixture plus berberine for observation. Another 30 cases were treated with Dele Infusion plus berberine. All cases were 5 — 14 years of age with positive tests of urease of gastric mucosa, and with pathological changes of peptic ulcer or superficial gastritis. After 3 months of treatment, the efficacy on clinical symptoms total effectiveness, effect on lesions, test on gastric mucosal urease were basically the same in both groups. (all $P > 0.05$)

Authors' Address: Beijing Children's Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100045

Key Words: Gastritis/integrated Chinese and Western medicine peptic ulcer/integrated Chinese and Western medicine

(Original article on page 548)