

· 论 著 ·

加味养阴清肺汤防治急性放射性口腔炎的疗效及对细胞因子的影响*

沈红梅¹, 黄 杰¹, 贾立群², 周映伽¹, 黄 菁¹(1. 昆明医学院第三附属医院, 云南省肿瘤医院中西医结合肿瘤
临床研究中心, 昆明 650118; 2. 卫生部中日友好医院, 北京 100029)

摘要:目的 探讨加味养阴清肺汤防治急性放射性口腔炎的疗效及对炎症细胞因子的影响。方法 将 80 例鼻咽癌行根治性放疗的患者随机分为治疗组和对照组, 每组各 40 例。治疗组每天含服中药加味养阴清肺汤, 对照组从放疗剂量达 20 Gy 后每天含漱西药漱口水。观察两组患者放射性口腔炎发生率, 同时检测患者唾液中 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-1 β 、IL-8 含量水平。结果 随着放疗剂量增加, 两组患者 III、IV 度口腔黏膜反应的发生率显著增加 ($P < 0.05$)。但治疗组患者 III、IV 度口腔黏膜反应的发生率始终低于对照组 ($P < 0.05$)。放疗前两组细胞因子水平无显著差别 ($P > 0.05$)。在放疗剂量达 40 Gy 时: 两组细胞因子水平均较放疗前升高, 但治疗组升高不明显 ($P > 0.05$), 治疗组各细胞因子水平均明显低于对照组 ($P = 0.000$)。在放疗剂量达 70 Gy 时: 治疗组 IL-10 较放疗前升高不明显 ($P = 0.055$), 而对照组明显升高 ($P = 0.000$), 治疗组 IL-10 水平明显低于对照组 ($P = 0.000$); 两组 IL-4 均低于放疗前 ($P = 0.000$), 治疗组 IL-4 明显低于对照组 ($P = 0.001$); 两组 IFN-g、TNF- α 、IL-2、IL-6 均显著低于放疗前 ($P = 0.000$), 治疗组 IL-2、IL-6、IL-1 β 、IL-8 明显低于对照组 ($P < 0.05$)。结论 加味养阴清肺汤对急性放射性口腔黏膜炎的预防性治疗效果显著, 可能通过调节多个炎症细胞因子水平发挥其作用。

关键词:加味养阴清肺汤; 放射性口腔炎; 炎症细胞因子

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.24.005

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)24-2469-03

Effect on cytokines and clinical outcomes of treatment of acute radiation-induced stomatitis by Modified Yangyin Qingfei decoction*

Shen Hongmei¹, Huang Jie¹, Jia Liqun², Zhou Yingjia¹, Huang Jing¹(1. The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Cancer Clinical Research Center of Integrated
Traditional and Western Medicine, Kunming, Yunnan 650118, China; 2. China-Japan, Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

Abstract: Objective To investigate the effect on cytokines and clinical outcomes of treatment of acute radiation-induced stomatitis by Modified Yangyin Qingfei decoction. **Methods** 80 cases with a radical radiotherapy were divided into two groups randomly, 40 cases in the treatment group and 40 cases in the controlled group. The treatment group was treated by Modified Yangyin Qingfei decoction after the initiation of radiotherapy. The controlled group was treated by the mouthwash after DT=20 Gy. The incidence rates of stomatitis and the levels of IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-1 β and IL-8 in saliva were measured. **Results** With the increasing dose of radiotherapy, the incidence rates of III-degree and IV-degree stomatitis were significantly increased in the two groups ($P < 0.05$). The incidence rate of the treatment group, however, was lower than that of the controlled group ($P < 0.05$). The levels of cytokines in two groups indicated no differences before the initiation of radiotherapy ($P > 0.05$). The levels of cytokines in two groups at DT = 40 Gy increased compared with previous radiotherapy, but the increase of cytokines was not obvious in the treatment group ($P > 0.05$), and it was remarkably lower than that of the controlled group ($P = 0.000$). At DT = 70 Gy, the increase of IL-10 was not obvious in treatment group compared with previous radiotherapy ($P = 0.055$), the level of IL-10 increased remarkably in the controlled group ($P = 0.000$), and the level of IL-10 in treatment group was remarkably lower than that of the controlled group ($P = 0.000$); The level of IL-4 in the two groups were both lower than the previous radiotherapy ($P = 0.000$), The level of IL-4 in treatment group was significantly lower than that in the controlled group ($P = 0.001$); The levels of IFN-g, TNF- α , IL-2, IL-6 in two groups were remarkably lower than those of the previous radiotherapy ($P = 0.000$). The levels of IL-2, IL-6, IL-1 β , IL-8 in treatment group were lower than those in controlled group ($P < 0.05$). **Conclusion** The acute radiation-induced stomatitis is significantly improved after prophylactic therapy of Modified Yangyin Qingfei decoction. The mechanism might be that the drug regulated the expression of multiple inflammatory cytokines.

Key words: Modified Yangyin Qingfei decoction; radiation-induced stomatitis; inflammatory cytokines

口腔黏膜炎定义为口腔黏膜的炎症和溃疡伴假膜形成^[1]。鼻咽癌是中国常见恶性肿瘤之一, 放射治疗为其主要治疗手段, 在放疗过程中患者几乎都发生或轻或重的急性放射性口腔炎, 除了对症处理, 目前尚无临床可应用的有效防治措施^[2-3]。提高急性放射性口腔炎的临床诊治水平是临床上迫切需要解决的重大课题^[4]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 3 月至 2011 年 10 月昆明医学

院第三附属医院住院治疗、病理确诊为鼻咽鳞状细胞癌(根据临床 TNM 分期, M 分期为 M₀)、首次接受根治性放疗的患者 80 例。肿瘤患者生存质量(PS)评分均小于或等于 2 分, 预计生存期在 8 周以上。随机分为治疗组 40 例和对照组 40 例。治疗组男 31 例, 女 9 例, 年龄 23~64 岁, 中位年龄 51.50 岁, 平均(50.22±10.17)岁; 对照组男 29 例, 女 11 例, 年龄 21~69 岁, 中位年龄 50.65 岁, 平均(50.65±11.25)岁。两组患者的性别构成比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.267$, $P = 0.606$); 年

* 基金项目: 云南省自然科学基金资助项目(2009CD182); 云南省卫生厅科技计划基金资助项目(2010NS086); 云南省教育厅科学研究基金资助项目(07Y10626)。

表 1 急性放射性口腔炎分度标准

| 项目 | I度 | II度 | III度 | IV度 |
|----|---------|-------------------|-------------------|------------|
| 症状 | 轻度疼痛 | 中度疼痛,能进流质饮食 | 重度疼痛,吞咽困难 | 重度疼痛,不能进食 |
| 体征 | 黏膜充血、红斑 | 片状黏膜炎,炎性分泌物、水肿或溃疡 | 黏膜融合的纤维性黏膜炎、水肿、溃疡 | 黏膜溃疡、出血、坏死 |

龄比较差异无统计学意义($P=0.860$)。治疗组 I 期 2 例, II 期 24 例, III 期 14 例; 对照组 I 期 3 例, II 期 24 例, III 期 13 例, 两组临床分期具有可比性($\chi^2=0.237, P=0.888$)。

1.2 治疗方法 全部患者的放射治疗均予直线加速器采用 6 MV X 射线常规分割照射, 即每周照射 5 次, 每次靶区吸收剂量为 2 Gy, 照射范围依据临床体征和影像学检查结果而定, 包括原发病灶和区域淋巴结, 以面颈联合野为主, 放疗总剂量为 70~74 Gy, 约 7~8 周完成。所有患者在接受放射治疗前, 均进行口腔卫生宣教、牙周洁治与菌斑控制、拔除影响放射治疗及无保留价值的患牙等基础治疗。治疗组: 用中药加味养阴清肺汤(黄芩、金银花、麦冬、生地、玄参、贝母、丹皮、白芍各 15 g, 黄芪 30 g, 薄荷、甘草各 6 g, 水煎成 500 mL 药液过滤后装容器内冷藏备用), 从放疗开始每日 1 剂, 每天 6 次含服, 每次含漱 10~15 min 后将药液慢慢咽下。对照组: 放疗剂量达 20 Gy 后均采用生理盐水 250 mL、2% 盐酸利多卡因注射液 2 mL、地塞米松磷酸钠注射液 5 mg 和硫酸庆大霉素注射液 8 万 U(除生理盐水为四川科伦药业股份有限公司产品, 其余各药均为西南药业股份有限公司产品)含漱, 每天 6 次。

1.3 主要仪器及试剂 用流式细胞仪及微球流式芯片技术(cytometric bead array)检测唾液 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10, 流式细胞仪及 CBA 试剂盒均为美国 BD 公司产品; ELISA 法检测 IL-1 β 、IL-8, 试剂盒为上海依科赛试剂公司产品。按说明书操作。

1.4 唾液采集方法 于 DT 为 0、40、70 Gy 时, 将 10~30 min 内流出并积于口腔前庭的非刺激性混合唾液收集到带有刻度的带塞试管。取唾液 2 mL, 充分振荡混匀, 置于离心机以 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液置 -20 °C 冰箱中冻存备用。

1.5 观察指标 口腔黏膜炎出现的情况: 由临床医师根据急性放射性口腔炎分度标准, 于 DT 为 0、40、70 Gy 时, 在冷光源照射下, 观察口腔黏膜反应情况并分度记录; 于放疗剂量 DT 为 0、40、70 Gy 时, 用流式细胞仪及 CBA 试剂盒分别检测患者唾液 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10, ELISA 法检测 IL-1 β 、IL-8。

1.6 评价标准 放射性口腔炎诊断标准按中华人民共和国卫

生部 GBZ 162-2004 中华人民共和国国家职业卫生标准-放射性口腔炎诊断标准执行(表 1)。

1.7 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计分析软件进行数据的统计学处理, 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间计量资料采用 t 检验, 组间计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同放疗剂量口腔黏膜反应分度比较 在放射治疗过程中, 随着放疗剂量增加, 两组患者 III、IV 度口腔黏膜反应的发生率增加, 口腔黏膜反应的程度加重($P < 0.05$)。但治疗组 III、IV 度口腔黏膜反应的发生率始终低于对照组($P < 0.05$)。至放疗剂量达 70 Gy 时, 治疗组患者中绝大多数的口腔黏膜反应局限在 II、III 度范围内, 仅有 2 例发生 IV 度黏膜反应。而对照组除有 14 例黏膜反应属于 II 度外, 其余均出现在 III、IV 度范围内(表 2)。

2.2 两组患者不同放疗剂量唾液中细胞因子比较 放疗前(即放疗剂量 DT 为 0 时)两组 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-1 β 、IL-8 无差别($P > 0.05$)。对照组: 在放疗剂量达 40 Gy 时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-1 β 、IL-8 均较放疗前明显升高($P = 0.000$); 在放疗剂量达 70 Gy 时 IL-10 较放疗前明显升高($P = 0.000$), IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6 均显著低于放疗前($P = 0.000$), IL-1 β 较放疗前略降低($P = 0.790$), IL-8 均较放疗前略升高($P = 0.753$), 差异无统计学意义。治疗组: 在放疗剂量达 40 Gy 时 IFN- γ ($P = 0.059$)、TNF- α ($P = 0.093$)、IL-2($P = 0.451$)、IL-4($P = 0.070$)、IL-6($P = 0.096$)、IL-10($P = 0.294$)、IL-1 β ($P = 0.371$)、IL-8($P = 0.229$)均较放疗前升高, 差异无统计学意义, 但均明显低于对照组($P = 0.000$); 在放疗剂量达 70 Gy 时 IL-10 较放疗前升高, 但差异无统计学意义($P = 0.055$), IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-1 β 、IL-8 均低于放疗前, 差异有统计学意义($P = 0.000$), 但与对照组相比 IFN- γ ($P = 0.495$)、TNF- α ($P = 0.058$)差异无统计学意义, IL-2($P = 0.036$)、IL-4($P = 0.001$)、IL-6($P = 0.035$)、IL-10($P = 0.000$)、IL-1 β ($P = 0.002$)、IL-8($P = 0.000$)明显低于对照组(表 3)。

表 2 不同放疗剂量口腔黏膜反应分度比较[n(%)]

| 照射剂量(Gy) | 治疗组(n=40) | | | | 对照组(n=40) | | | | χ^2 | P |
|----------|-----------|-----------|----------|---------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|-------|
| | I度 | II度 | III度 | IV度 | I度 | II度 | III度 | IV度 | | |
| 40 | 19(47.50) | 16(40.00) | 5(12.50) | 0(0.00) | 2(5.00) | 24(60.00) | 12(30.00) | 2(5.00) | 20.244 | 0.000 |
| 70 | 5(12.50) | 24(60.00) | 9(22.50) | 2(5.00) | 0(0.00) | 14(35.00) | 19(47.50) | 7(17.50) | 13.981 | 0.003 |
| χ^2 | | 12.910 | | | | | 8.990 | | | |
| P | | 0.005 | | | | | 0.025 | | | |

表 3 两组患者不同放疗剂量唾液中细胞因子(pg/mL)比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 照射剂量(Gy) | IFN- γ | TNF- α | IL-10 | IL-6 | IL-4 | IL-2 | IL-1 β | IL-8 |
|-----|----------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 治疗组 | 0 | 77.35 \pm 11.17 | 43.28 \pm 5.34 | 13.98 \pm 2.83 | 24.20 \pm 3.84 | 22.20 \pm 3.25 | 42.03 \pm 5.47 | 153.72 \pm 29.44 | 445.36 \pm 33.29 |
| | 40 | 81.79 \pm 10.31 [#] | 45.06 \pm 4.75 [#] | 14.91 \pm 3.63 [#] | 25.76 \pm 5.68 [#] | 23.52 \pm 3.85 [#] | 42.82 \pm 5.16 [#] | 159.72 \pm 32.52 [#] | 458.50 \pm 40.80 [#] |
| | 70 | 52.65 \pm 9.73* | 23.68 \pm 3.93* | 15.69 \pm 5.07 [#] | 15.48 \pm 2.20* [#] | 13.85 \pm 2.44* [#] | 21.12 \pm 3.15* [#] | 120.08 \pm 27.36* [#] | 357.17 \pm 66.78* [#] |
| 对照组 | 0 | 82.97 \pm 17.66 | 43.55 \pm 5.85 | 14.16 \pm 4.17 | 23.58 \pm 4.58 | 22.58 \pm 4.29 | 39.80 \pm 6.92 | 141.43 \pm 29.91 | 441.54 \pm 36.89 |
| | 40 | 106.56 \pm 22.59* | 56.70 \pm 7.84* | 22.08 \pm 4.54* | 33.26 \pm 5.39* | 29.17 \pm 5.96* | 48.14 \pm 7.28* | 203.39 \pm 37.41* | 539.31 \pm 70.09* |
| | 70 | 54.12 \pm 9.58* | 25.61 \pm 4.98* | 30.01 \pm 4.74* | 17.01 \pm 3.93* | 16.54 \pm 4.01* | 23.54 \pm 6.41* | 139.52 \pm 28.20 | 445.36 \pm 50.30 |

* $P < 0.01$, 与同组放疗前比较; [#] $P < 0.05$, 与对照组相同照射剂量时比较。

3 讨 论

肿瘤在放射治疗期间可以发生再增殖,故其疗程的延长可使肿瘤的局部控制率明显下降。Pajak 等^[5]报道头颈部肿瘤疗程如果延长 14 d,其局部控制率下降 13.0%~24.0%。另有研究结果显示,在鼻咽癌常规连续放射治疗过程中,总疗程每延长 1 d,其 5 年局部控制率即下降 2.0%^[6]。因此,防治口腔黏膜的放射性损伤,确保放疗计划的顺利完成,避免疗程延长,对提高头颈部肿瘤的局部控制率有着至关重要的临床意义。本研究显示,随着放疗剂量增加,两组患者Ⅲ、Ⅳ度口腔黏膜反应的发生率增加,口腔黏膜反应的程度加重。但在放疗过程中,中药治疗组患者Ⅲ、Ⅳ度口腔黏膜反应的发生率始终低于对照组。说明加味养阴清肺汤不仅可以延缓急性放射性口腔黏膜炎的发生,而且还能减轻口腔黏膜反应的程度,对急性放射性口腔黏膜炎的预防性治疗效果显著,有利于放疗计划的顺利完成。

急性放射性口腔炎的中医病机特点是火热为患、气阴亏虚。临床上轻者口腔黏膜出现充血水肿,患者表现为口干咽痛、吞咽不适等症状;重者口腔黏膜出现白膜反应,甚至出现溃疡和渗血,患者表现为烦躁不安、咽痛、声音嘶哑和吞咽困难等症状,部分患者则合并有程度不同的低热和呼吸困难,患者大都舌红少津。针对此病机特点,治疗遵从“扶正祛邪”的原则,辨病与辨证相结合,以清热解毒、益气养阴为治则。中药养阴清肺汤处方出自《重楼玉钥》,由麦冬、生地、玄参、贝母、丹皮、白芍、薄荷、甘草组成。加味养阴清肺汤由养阴清肺汤加金银花、黄芩、黄芪。方中金银花味甘寒,归肺胃之经,有清气血热毒之功;黄芩入肺经,善清泄上焦湿热及肺火;两药合用以加强清热解毒之力,共奏清利口腔虚实火热之功。麦冬润肺养阴;生地滋阴益肾;贝母润肺化痰;白芍敛阴泄热;玄参清虚火而解毒;丹皮凉血而消肿;黄芪补益脾肺之气、脱毒生肌;少佐薄荷疏散上焦风热;甘草和药解毒。全方谨守病机,清热解毒、益气养阴,攻邪而不伤正,扶正而不留邪,达到防治急性放射性口腔炎的目的。

Sonis 等^[7-9]提出将放、化疗引起的口腔黏膜炎的发生过程分为 4 个阶段的病理过程模型。随着研究的进一步深入,该模型完善为 5 个阶段:起始阶段、初始损伤反应阶段、信号放大阶段、溃疡阶段、愈合阶段。射线的直接作用、氧化应激、转录因子、促炎性细胞因子、病原微生物均参与放射性口腔黏膜炎的发病过程^[10]。

细胞因子是一类具有生物活性的小分子蛋白或多肽的总称。炎症细胞因子分为促炎细胞因子和抗炎细胞因子。前者主要包括 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-8、IL-6、IL-12、IL-1 β 、巨噬细胞移动抑制因子(MIF)等,具有促进炎症的作用。后者主要包括 IL-4、IL-13、IL-10、转化生长因子(TGF)- β 、IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)及各种促炎细胞因子的可溶性受体等,主要表现为抑制炎症作用。抗炎细胞因子如 IL-10、IL-4 主要由 Th2 细胞产生,同时具有抗炎和抑制机体免疫力的双重属性,既可以抑制 Th1 细胞亚群的细胞因子,如 TNF- α 、IL-2 等促炎因子的合成,抑制过度的炎症反应,保护机体,但如果过量释放,又会引起免疫功能降低和易感染性增加。促炎与抗炎细胞因子相互作用形成复杂的网络,其动态平衡决定了炎症的发展与结局。

本研究同时检测了促炎和抗炎细胞因子,结果显示:放疗前两组 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-1 β 、IL-8 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。在放疗剂量达 40 Gy 时,两组细胞因子水平均较放疗前升高,但治疗组升高不明显

($P>0.05$),治疗组各细胞因子水平均明显低于对照组($P=0.000$)。在放疗剂量达 70 Gy 时,治疗组 IL-10 较放疗前升高不明显($P=0.055$),而对照组明显升高($P=0.000$),治疗组 IL-10 水平明显低于对照组($P=0.000$);两组 IL-4 均低于放疗前($P=0.000$),治疗组 IL-4 明显低于对照组($P=0.001$);两组 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-6 均显著低于放疗前($P=0.000$),治疗组 IL-2、IL-6、IL-1 β 、IL-8 明显低于对照组($P<0.05$)。说明中药加味养阴清肺汤能够调节急性放射性口腔黏膜炎患者唾液中多个炎症细胞因子水平,对促炎、抗炎性免疫反应具有类似的抑制作用。在放疗剂量为 40、70 Gy 时中药治疗组对促炎细胞因子 IL-2、IL-6、IL-1 β 、IL-8 和抗炎细胞因子 IL-4 的抑制作用均明显强于对照组;中药治疗组抗炎细胞因子 IL-10 水平则较对照组呈缓慢变化趋势,在放疗过程中升高不如对照组明显,因此,推测中药加味养阴清肺汤具有双向调节 IL-10 水平的作用,过低时升高,抑制炎症反应;过高时抑制,防止机体出现免疫麻痹。加味养阴清肺汤对急性放射性口腔黏膜炎患者的双向免疫异常具有同时矫正作用,既能有效抑制炎症介质的产生和释放,减轻炎症反应对机体的损伤,又能防止机体出现免疫麻痹,有助于免疫异常状态的回复,从而达到调控急性放射性口腔黏膜炎的炎症进程、延缓急性放射性口腔黏膜炎的发生、减轻口腔黏膜反应程度的作用。

参考文献:

- [1] Scardina GA, Pisano T, Messina P. Oral mucositis. Review of literature[J]. N Y State Dent J, 2010, 76(1): 34-38.
- [2] Worthington H, Clarkson J, Glennly AM. Preventive intervention possibilities in radiotherapy-and chemotherapy-induced oral mucositis: results of meta-analyses[J]. J Dent Res, 2006, 85(12): 1085-1089.
- [3] 程斌,李春阳,夏娟. 放射性口腔黏膜炎诊断与治疗[J]. 中国实用口腔科杂志, 2008, 1(9): 513-516.
- [4] Dorothy M, Mark M, Linda S, et al. Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis[J]. Cancer, 2007, 109(5): 820-831.
- [5] Pajak TF, Laramor GE, Marcial VA, et al. Elapsed treatment days: a critical item for radiotherapy quality control review in head and neck trials (RTOG report) [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1991, 20(1): 13-20.
- [6] 邹雨荷,谭丽蓉. 中药防治鼻咽癌患者急性放射性口咽炎的临床研究[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2006, 26(1): 77-81.
- [7] Sonis ST. Pathobiology of oral mucositis: novel insights and opportunities[J]. J Support Oncol, 2007, 5(9 Suppl 4): 3-11.
- [8] Sonis ST. Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis[J]. Oral Oncol, 2009, 45(12): 1015-1020.
- [9] Sonis ST. New thoughts on the initiation of mucositis[J]. Oral Dis, 2010, 16(7): 597-600.
- [10] 杜清华,王仁生. 放射性口腔黏膜炎的发病过程[J]. 国际肿瘤学杂志, 2011, 38(6): 465-467.