

巴西蘑菇提取物增强妇科癌症病人在化疗期间的NK细胞活性从而提高生活质量

W-S AHN, D-J. KIM, G-T. CHAE, J-M. LEE, S-M. BAES, J-I. SINS, Y-W. KIMS, S-E. NAMKOONG and I. P. LEE
韩国首尔 韩国加图立大学 慢性疾病研究机构与医学天主教研究机构 妇产科学系及医学统计学系

摘要: 巴西蘑菇提取物增强妇科癌症病人在化疗过程中的NK细胞活性从而提高生活质量。

Int/Gynecol Cancer 2004;14:598-594

据研究, ABMK 有抗机体突变和抗肿瘤的作用。在这里, 我们研究发现, 服用 ABMK 对于遭受化疗的癌症病人在提高免疫和改善生活质量方面有很好的效果。对 100 个患有子宫颈, 卵巢, 子宫内膜癌的病人进行分别处理。病人中的一部分在每三周服用顺二氨络 (300mg/m²) 和 VP16 依托泊甙 (100mg/m²) 治疗的同时每天服用 ABMK, 另一部分则是在服用顺二氨络 (300mg/m²) 和 VP16 依托泊甙 (100mg/m²) 的同时每天服用安慰剂, 连续三个周期。另一组中一部分每三周服用顺二氨络 (300mg/m²) 和紫杉醇 (175mg/m²) 同时每天服用 ABMK, 另一部分用顺二氨络 (300mg/m²) 和紫杉醇 (175mg/m²) 同时每天服用安慰剂, 连续三个周期。我们发现, 在服用了 ABMK 的一组患者中的NK活性明显高于服用安慰剂的一组, 但是, 我们发现, 在服用 ABMK 和没有服用 ABMK 的患者中的淋巴因子激活杀伤细胞, 单核细胞及特殊的免疫细胞族群的数目没有很明显的区别。然而, 化疗涉及到的副作用, 如, 食欲, 脱发, 情绪及身体虚弱这些方面, 在通过服用 ABMK 后都可以得到改善。因此, 本文认为服用 ABMK 对于进行化疗的妇科癌症病人是非常有益的。

在世界范围内, 妇科癌症是导致女性死亡的主要原因。宫颈癌是由于人类感染了高危型人乳头瘤病毒 HPV, 尤其是 E6 和 E7 两个致癌因子, 在诱发宫颈癌中起了关键作用。他们分别与 P53 和 pRB 相互作用, 使这些调节蛋白失去活性。对于宫颈癌, 多模态化疗是一种有效的治疗模式。卵巢癌也具有较高致死率。由于早期的病发无症状的原因, 多数患者都是在后期才被诊断出来。尽管近 30 年, 对妇科癌症的治疗取得了一些进展, 但是癌症的复发仍然很难解决。化疗在治疗癌症中起了非常重要的作用, 但是它会产生对生命造成威胁的一系列副作用。如严重的免疫力抑制和骨髓抑制, 因此, 应该注重食物疗法从而减轻化疗所带来的副作用。

据报到, ABMK 有抗突变的作用, ABMK 拥有杀伤肿瘤细胞和增强免疫的作用。研究表明, 肿瘤内 ABMK 注射可以使 NK 渗入肿瘤细胞从而增加 NK 的活性。ABMK 的抗肿瘤的功效主要归功于 D-葡聚糖。由于巴西蘑菇的治疗功效, 目前, 已经作为食物和茶叶在全球范围内销售。

本文主要研究 ABMK 是否对于在化疗期间的妇科癌症病人产生有益的效果。在顺二氨络 (300mg/m²) 和 VP16 依托泊甙 (100mg/m²) 治疗的同时加入 ABMK, 或者在顺二氨络 (300mg/m²) 和紫杉醇 (175mg/m²) 治疗同时加入 ABMK。我们发现 ABMK 对于化疗期间患者原有的 NK 活性及生活质量上都产生了积极的作用。这个临床发现说明了 ABMK 可以使癌症患者在化疗期间维持其免疫能力, 进一步改善生活质量。

材料和方法

为了这次实验, Kangnam st. Mary' Hosptial 在 1999-2001 三年时间里召集了 100 个前来咨询的妇科疾病患者作为研究对象。这些病人分别用 ABMK 和安慰剂进行随机处理治疗。病人详细情况见表 1。

表 1 病员分类详情

病员数量	100
年龄 岁	
平均年龄	52
年龄范围	26-79
诊断	病员数
子宫颈癌	61
Ia, b	18
IIa, b	32
IIIa, b	11
卵巢癌	35
Ia, b	3
IIa, b	8
IIIa, b	24
子宫内膜癌	4

治疗	病员数
ABMK	39
Carbo-VP16 顺二氨络, 依托泊甙	29
Carbo-Taxol 顺二氨络, 紫杉醇	10
对照组	61
Carbo-VP16 顺二氨络, 依托泊甙	39
Carbo-Taxol 顺二氨络, 紫杉醇	22

ABMK, 协和发酵产巴西蘑菇提取物

治疗方案

把病人分为两大组, 一组病人中一部分每三周在使用顺二氨络 (300mg/m²) 和 VP16 依托泊甙 (100mg/m²) 治疗的同时再每天口服 ABMK (三包/天, 1包/1次), 进行治疗, 另一部分用顺二氨络 (300mg/m²) 和 VP16 依托泊甙 (100mg/m²) 再每天服用安慰剂进行代替, 连续三个周期。另一组中一部分每三周在使用顺二氨络 (300mg/m²) 和紫杉醇 (175mg/m²) 的同时再每天口服 ABMK (三包/天, 1包/1次) 进行治疗, 另一部分用顺二氨络 (300mg/m²) 和紫杉醇 (175mg/m²) 加安慰剂, 连续三个周期。接下来, 在第一次化疗前一天和第2次化疗前一天分别采集病人的血液。并对NK和LAK细胞的活性, 白细胞, 淋巴因子, 单核细胞, CD3⁺ CD4⁺ CD8⁺ CD48⁺ CD56⁺ 细胞及H2O₂的生成水平进行分析。

免疫细胞的数量

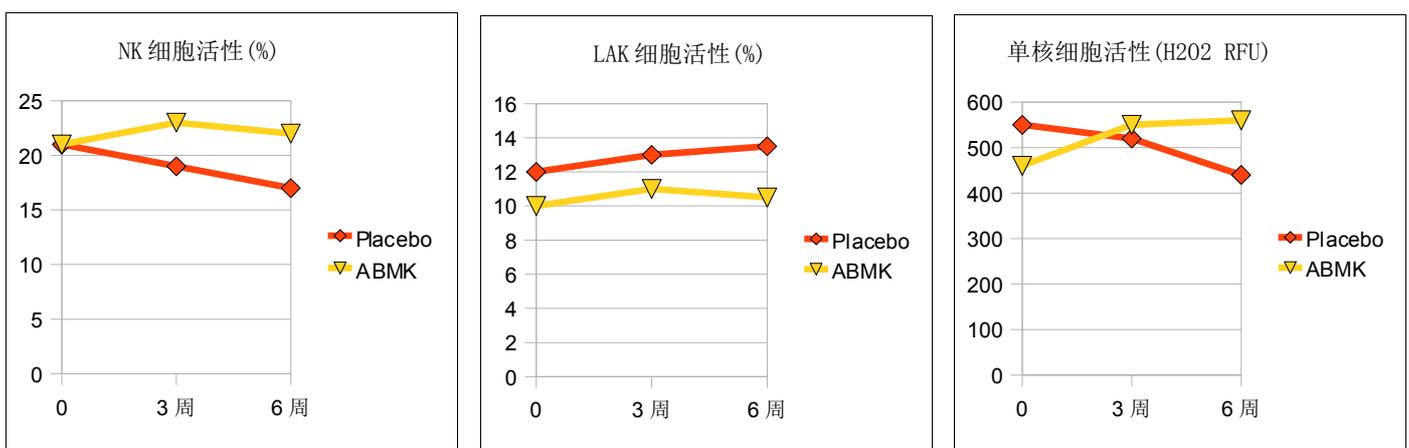
用仪器XE-2100 (Sysmex, Kobe, Japan) 测定WBCs, 淋巴因子, 和单核细胞的数目。用流式细胞仪 (FACS) 对CD3⁺ CD4⁺ CD8⁺ CD48⁺ CD56⁺ 细胞进行分析, 用异硫氰酸荧光素标记单克隆抗体CD3, CD4, CD8, CD48, CD56细胞 (从DiNona购买)

外周血单核细胞分离

外周血单核细胞 (PBMCs) 可以通过Ficoll-Paque密度梯度离心从患者的白细胞黄层 (自Kangnam st. Mary' Hosptia患者) 中得到, 单核细胞用磷酸盐缓冲液冲洗2次, 并用于进一步的选择纯化细胞族群。

NK和LAK细胞毒素的测定

按照厂家说明, 利用CD56微孔板从PBMCs中纯化NK细胞。通过FACS对纯化的NK细胞进行检测, 纯度达95%。接下来, 让NK细胞与靶细胞K562在37度相对细胞数比为20:1下相互作用4小时。对LAK活性进行研究时发现, 当NK细胞与人的白细胞介素IL-2 (400U/ml) 相结合24小时后, 可发现纯化的NK细胞将首先进入活化状态, 然后LAK细胞再与靶细胞Daudi在37度相互作用3小时 (相对细胞数比为3:1)。温育后, 收集细胞表层液体, 通过细胞毒素检测仪进行分析。接下来, 在490/630nm下, 检测乳酸脱氢酶活性的光密度值。



单核细胞的H2O₂检测

利用CD14微孔板从PBMCs中纯化单核细胞。FACS检测表明单核细胞纯化率为95%。单核细胞与稀释了50倍的2', 7'-二氯荧光乙酰乙酸盐 (10ug/ml) 在37度下作用1小时。用细胞荧光测量仪在波长485/535nm下测定其光学密度。以相对荧光度为单位。测定H₂O₂的生成率。

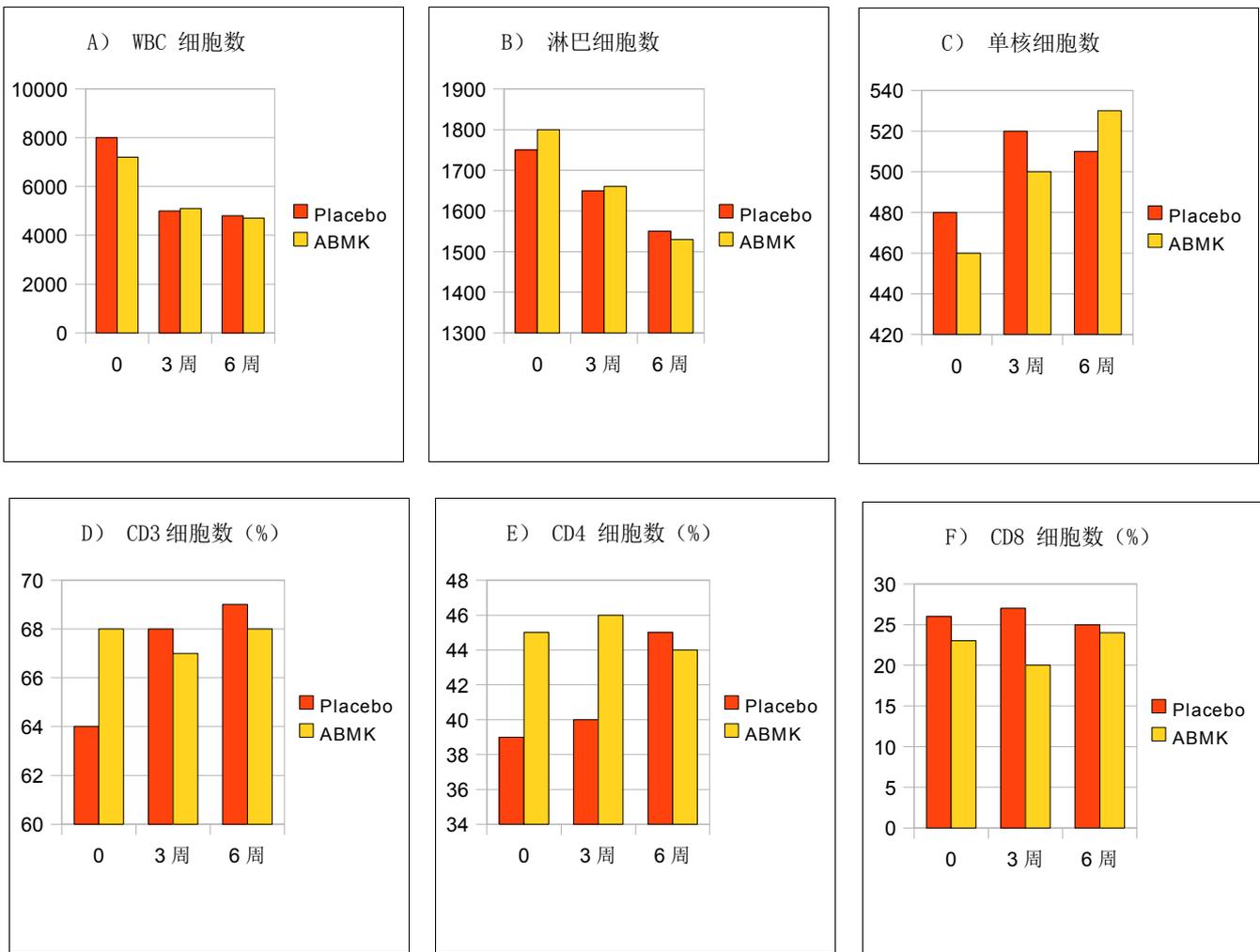
调查表

当 ABMK 治疗结束的时候，我们让所有的参与者完成了一份调查表，这份调查表是为了收集患者在身体和情绪方面上的一些信息。包括：失眠，食欲不振，脱发，体重下降，恶心，不安，体力减弱等方面。问题被分为两大部分，每个问题都给予三个答案。（身体状况：好，不好，没变化；情绪方面：没用，有用，很有用），此调查以百分比的形式表示出来。

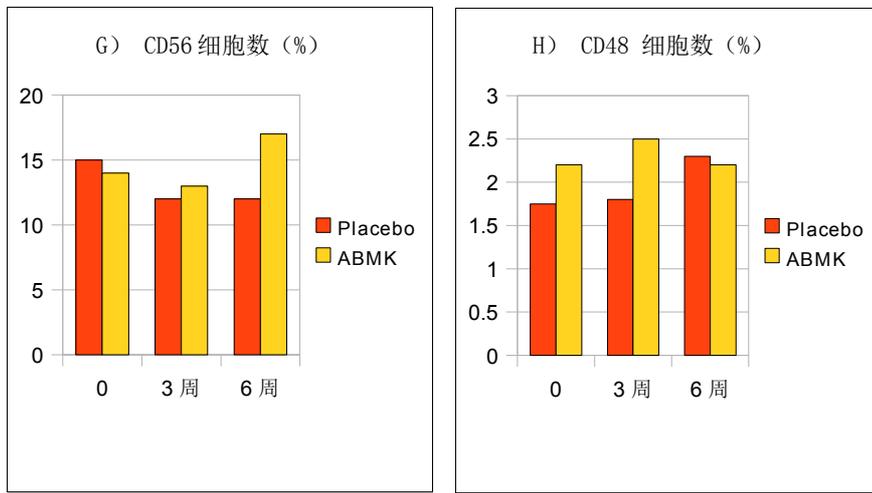
结果

用双盲法把妇科癌症患者分为两组。这些病人都给予系统性用药处理，一部分用药顺二氨络和 VP16。另一部分用药顺二氨络和紫杉醇。在这些病人当中一组接受 ABMK 治疗，另一组用安慰剂代替。从这些患者身上采集血样测定其 NK 细胞的活性。如图 1 所示，在 3 到 6 周阶段里接受 ABMK 的一组患者的 NK 细胞毒素活性高于使用安慰剂的一组，然而在接受 ABMK 治疗之前，我们观察到 NK 细胞活性并没有什么改变。这就表明，使用 ABMK 有助于维持妇科癌症患者在化疗期间 NK 细胞活性。然而患者的 LAK 细胞毒活性在使用 ABMK 和使用安慰剂两组患者中没有很明显的差别。

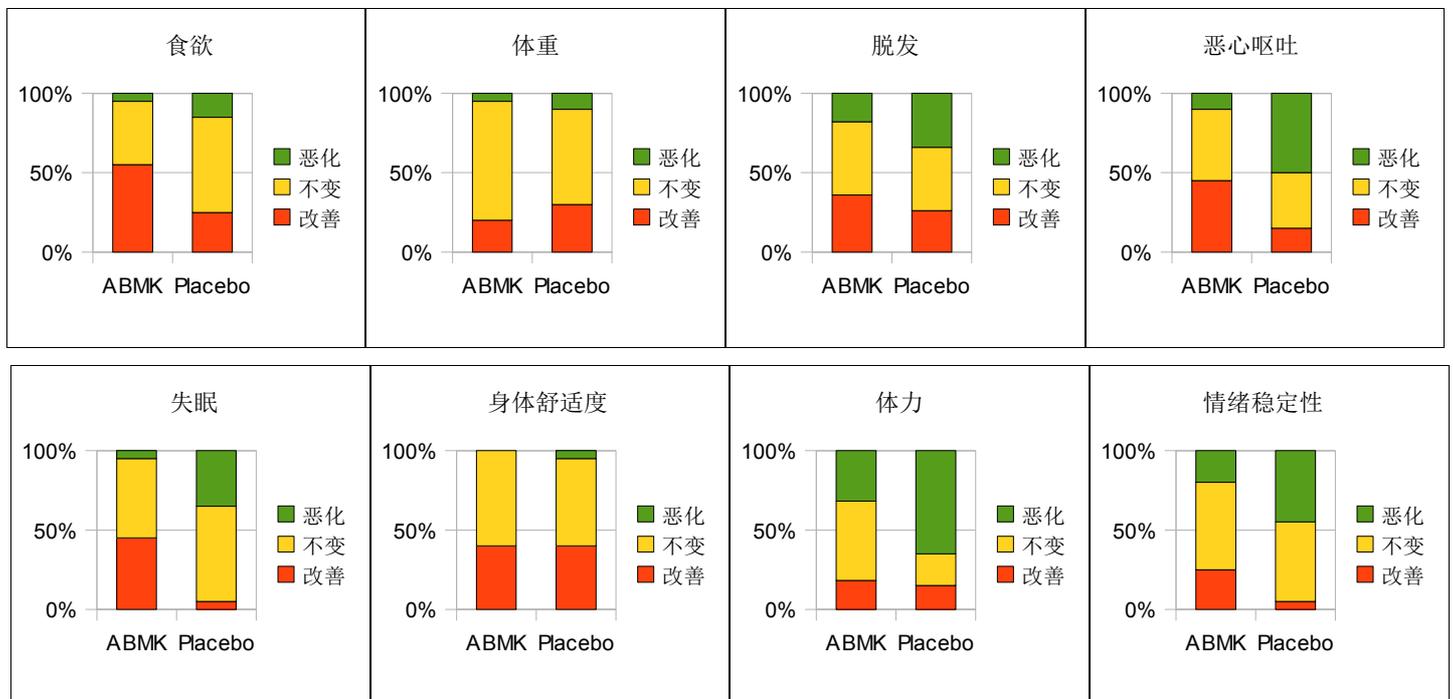
我们对妇科癌症患者在化疗期间服用 ABMK 后，单核细胞的活性产生了兴趣。我们通过测定 H2O2 的产生程度作为指标来衡量单核细胞的活性。如图 1 所示，使用 ABMK 和使用安慰剂两组患者中 H2O2 的生成率都维持在一个相类似的状态。因此，单核细胞的活性在使用 ABMK 和使用安慰剂两组患者中没有很明显的差别。



为了确定 ABMK 的使用是否对化疗患者免疫细胞族群产生影响。接下来我们对特殊的免疫细胞族群如白细胞，淋巴因子，单核细胞， $CD3^+ CD4^+ CD8^+ CD48^+ CD56^+$ 细胞进行记数。如图 2 所示，化疗期间，患者的 WBC 会减少。然而在服用 ABMK 后，WBC 也并没有增加。此外，在使用 ABMK 和使用安慰剂两组患者中，淋巴因子，单核白细胞，T 细胞， $CD48^+ CD56^+$ 细胞都没有明显的变化。（图 2 A-H）



通过问卷调查，我们能够对在化疗期间使用 ABMK 和不用 ABMK 的癌症患者的身体和情绪方面进行评价。我们收集了关于失眠，食欲不振，脱发，体重下降，恶心，不安，体力减弱等方面的数据。如图 3 所示，在接受 ABMK 治疗的患者和没有接受的患者相比，上述情况得到了明显的改善。



讨论

通过动物实验的研究表明，很多天然的真菌类提取物都有抗肿瘤活性。尤其是，肿瘤内注射和口服 ABMK 能够使肿瘤消退。当 ABMK 用酸处理以后其抗肿瘤的活性会加强，说明了 ABMK 提取物的化学状态很重要。同时我们也发现，妇科癌症患者在化疗期间口服 ABMK 后 NK 细胞的活性维持在一个相对比较高的水平。这说明，ABMK 有益于增强化疗期间妇科癌症患者的自身免疫力。这也和临床前期的研究相一致，临床前期研究表明使用 ABMK 可以使 NK 渗入肿瘤区域从而增加 NK 的活性。NK 细胞在识别主要组织相容性 1 类阴性靶细胞中起了非常重要的作用，这些细胞能够逃脱细胞毒素 T 细胞的监控。NK 细胞在抑制肿瘤生长和肿瘤转移方面发挥着很重要的作用。控制 NK 细胞毒作用的机理逐渐被阐明，但是仍不完整。NK 细胞除了直接溶解靶细胞外，它还表达 CD16 抗原，该抗原可以参与肿瘤细胞表层免疫球蛋白的抗体依赖型细胞毒作用。据研究表明，ABMK 肿瘤内注射可以诱导肿瘤细胞的凋亡并阻止细胞循环。类似的，ABMKA 可以激活巨噬细胞从而诱导产生肿瘤坏死因子- α ，IL-8 和一氧化氮。以此为基础，我们发现 ABMK 对治疗癌症病人是有好处。ABMK 的使用是否对化疗中的妇科癌症病人的身体和情绪产生影响，我们对此进行了调查。总体上看，失眠，食欲不振，脱发，体重下降，恶心，不安，体力减弱等方面的症状都得到了改善，表明 ABMK 的使用可以减轻化疗期间药物所带来的副作用。据猜测，化疗药物可能与 ABMK 相互作用，从而降低化疗药物在患者体内产生的效果。然而，静脉注射的化疗药物不可能和口服的 ABMK 成分相结合。这还需要对可能的病发症进行研究。

总而言之，口服 ABMK 可以作为一种可选的治疗模型，它可以维持自身 NK 细胞活性，减轻由化疗副作用带给妇科癌症病人的痛苦。