

藓化饮对口腔黏膜癌前病变的逆转作用

许彦枝¹, 尚丽乔², 刘铁军¹, 刘健¹, 刘凤英¹, 王士杰¹

Reversal Action of XianHuaYin on Premalignant Lesion of Oral Mucosa

XU Yan-zhi¹, SHANG Li-qiao², LIU Tie-jun¹, LIU Jian¹, LIU Feng-ying¹, WANG Shi-jie¹

1. Department of Stomatology, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China; 2. Department of Stomatology, Shijiazhuang Qiaoxi Hospital

Corresponding Author: Wang Shi-jie, E-mail: w_sj2008 @26. com

Abstract :Objective To detect indicatrix high risk of canceration of OLP and the reversal action of precancerous lesion of OLP with XianHua Yin. **Methods** Micronucleus rate of oral mucosal exfoliated cells, -HBDH content in saliva, and labelled rate of telomere enzyme in peripheral blood were detected in 36 OLP patients of treatmenting before and after with XianHua Yin, 32 normal people and 30 cancer patients. **Results** Micronucleus rate of oral mucosal exfoliated cells, -HBDH content in saliva, and labelled rate of telomere enzyme in peripheral blood in OLP patients were higher than those of normal control group. There were obviously no difference to compare cancer patients. These indicatrixs of 36 OLP obviously declined after treatment. Immune function of patients obviously is improved. **Conclusion** Micronucleus rate of oral mucosal exfoliated cells, -HBDH content in saliva, immune functional status and labelled rate of telomere enzyme in peripheral blood may reflect their changes of OLP and may be of significance on monitoring the high risk phase of OLP. XianHua Yin could reverse the lesion precancerous of OLP.

Key words: Oral Lichen Planus; Cortex phellodendri; Tuckahoo; Micronucleus; -HBDH; Telomerase
摘要:目的 探讨检测口腔扁平苔藓(OLP)癌变高危相的指标及藓化饮对 OLP 癌前病变的逆转作用。方法 对 36 例 OLP 患者、32 例正常人和 30 例癌症病人进行口腔黏膜脱落细胞微核率、唾液中 -羟丁酸脱氢酶(-HBDH)含量、外周血免疫功能和端粒酶标记率检测;并对 OLP 患者采用藓化饮治疗,观察治疗前后的效果。结果 OLP 患者组脱落细胞微核率、唾液 -HBDH 含量、外周血端粒酶标记率均高于正常对照组,而与癌症对照组无明显差异。OLP 患者组经用藓化饮治疗后三项指标均明显降低,患者免疫功能状态明显改善。结论 脱落细胞微核率、唾液 -HBDH 含量、外周血端粒酶标记率在反映 OLP 患者病情变化和 OLP 高危相方面可能有意义,藓化饮对 OLP 癌前病变具有逆转作用。

关键词:口腔扁平苔藓;黄柏;茯苓;微核;-羟丁酸脱氢酶;端粒酶

中图分类号:R781.5⁺9 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2008)12-0874-04

0 引言

口腔扁平苔藓(Oral Lichen Planus, OLP)是常见的口腔黏膜病,不易治愈,具有癌变倾向,其癌变率为 1%~10%^[1]。OLP 患者的上皮萎缩性改变和慢性迁延病程都与癌变有着密切关系,部分 OLP 病损中存在上皮异常增生或局部癌变^[2],WHO 将 OLP 归为癌前状态。如何及早发现癌前病变的高危相,并逆转癌前病变的发生发展,已成为口腔临床医学领域的重要课题。为了寻求一种简便易行,患

者易于接受,并可及时反映致癌因素作用于组织后变化的检测方法,本研究选择口腔黏膜脱落细胞的微核率、唾液中 -羟丁酸脱氢酶(-HBDH)的含量、外周血免疫功能和端粒酶标记率作指标,检测它们在 OLP 患者、正常人和癌症病人中的表达情况,并通过藓化饮治疗 OLP 癌前病变,观察治疗前后这些指标的变化及对癌前病变的逆转作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取河北医科大学第四医院口腔科 2005 年 6 月~2006 年 12 月间门诊就诊的患者,根据临床病损特点及病理报告符合 OLP 诊断并伴有上皮不典型增生者共 36 例作为试验组。其中男 10 例(28%),女 26 例(72%),年龄 24~67 岁,平均年

收稿日期:2008-01-17;修回日期:2008-06-03
基金项目:河北省高校强势学科肿瘤学基金资助项目(2006-2010)
作者单位:1. 050011 石家庄,河北医科大学第四医院口腔科;2. 石家庄市桥西医院口腔科
通信作者:王士杰, E-mail: w_sj2008 @126. com
作者简介:许彦枝(1954-),女,博士,教授,主要从事口腔黏膜癌前病变的研究

龄47.62岁。所有入选患者必须符合下列条件:无其他口腔黏膜病,无严重牙周病及唾液腺疾病,无全身系统性疾病,近3月未用过与免疫有关的药物。

选取正常人32例作为正常对照组。其中男9例(28%),女23例(72%),年龄25~65岁,平均年龄47.58岁。入选者口腔黏膜正常,无牙周病及唾液腺疾病,无全身疾病。

选取癌症病人30例作为癌症对照组。其中男9例(30%),女21例(70%),年龄30~65岁,平均年龄50.25岁。癌症病例来自河北医科大学第四医院口腔科病房已确诊口腔鳞癌的术前患者且尚未做过放化疗。

1.2 观察指标

1.2.1 脱落细胞微核率的检测 用竹制刮舌板刮取口腔病变区脱落细胞,均匀涂于载玻片上,自然干燥10min,95%酒精中固定15min,巴氏染色。正常对照组取颊黏膜区域的黏膜脱落细胞。在高倍显微镜下,将每张涂片计数500个细胞,记录带有微核的细胞数,将结果转化为每1000个细胞中含有微核的细胞数(%),取平均值做记录。

1.2.2 唾液-HBDH含量的检测 唾液采集于上午9:30~10:30进行。取静坐位,留10min内存积口腔内的非刺激性混合全唾液3ml,放入-20℃冰箱保存标本,一周内完成检测。将留取的唾液室温解冻后以3000r/min离心10min,取上清液使用美国BECKMAN LX20PRO型全自动生化分析仪,自动测定唾液中-HBDH活性。

1.2.3 外周血免疫功能及端粒酶标记率的测定 外周血采集同样于上午9:30~10:30进行。抽取患者肘静脉新鲜全血1ml,置入添加剂为EDTA-K2的2ml真空采血管中,试剂管倒转5~6次。新鲜标本1h内送流式细胞检测室,采用美国BD公司生产的Epic^s-XL⁻型流式细胞仪,测定外周血免疫功能及端粒酶的标记率。

1.3 药物用法

藜化饮配方主要由黄柏、砂仁、佩兰、茯苓、蝉衣等组成。每日一剂,水煎分两次口服,10天为一个疗程,六个疗程后观察各项指标和临床效果。

1.4 疗效评定标准

根据中华口腔医学会黏膜病专业委员会2004年关于口腔扁平苔藓(萎缩型和糜烂型)疗效评价标准^[3]

1.5 统计学方法

采用SAS 10.0统计软件,试验组与对照组的比较采用多个独立样本比较的K-W秩和检验,OLP

患者治疗前后比较采用配对t检验或配对符号秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 口腔黏膜脱落细胞微核率

光镜下观察,可见胞核呈蓝色,核仁呈红色;表层及中间层网状核细胞胞浆均染成蓝绿色,表层固缩核细胞胞浆染成淡红色或淡蓝色。在有微核存在的细胞中,微核颜色深浅与主核相似,呈圆形或卵圆形,包含于胞浆中,小于主核的1/5,并与主核不相连。在显微镜下转动微调时,微核与主核处于同一水平面,见图1、2。

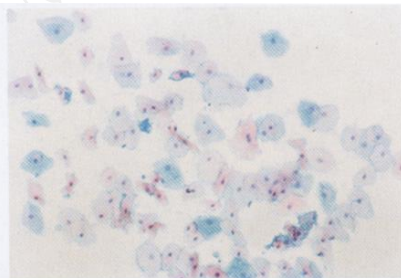


图1 扁平苔藓患者口腔黏膜脱落细胞涂片(巴氏×100)

Fig 1 Oral mucosal exfoliated cells smear of a OLP case(Pap staining×100)

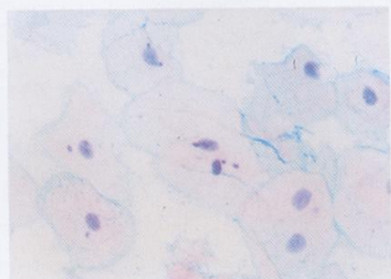


图2 扁平苔藓患者口腔黏膜脱落细胞涂片(巴氏×400)

Fig 2 Oral mucosal exfoliated cells smear of OLP cases(Pap staining×400)

OLP患者组微核率最高值为12.58%,最低值为5.72%;正常对照组微核率最高值为2.56%,最低值为0.33%。OLP患者脱落细胞微核率高于正常人对对照组,两组比较 $P < 0.05$ 。

2.2 唾液中-HBDH的含量和外周血端粒酶标记率 结果见表1。

2.3 藜化饮治疗OLP癌前病变的疗效

36例OLP患者经中药治疗8周后,除3例外,其余患者自觉症状都有不同程度的改善或消失,糜烂、充血、斑纹减轻或消失。其中痊愈15例(41.7%),显效12例(33.3%),好转6例(16.7%),总有效率91.7%。

表 1 OLP 患者与口腔鳞癌病人及正常人 -HBDH 含量和端粒酶标记率的比较

Tab 1 Comparison of -HBDH contents and telomerase enzyme labelling rates in them of OLP, oral cavity carcinosis and health adult

Group	-HBDH		Telomerase enzyme	
	Highest (u/L)	Nadir (u/L)	Highest (u/L)	Nadir (u/L)
OLP	326	42	26.53	1.96
Health adult	116	18	1.44	0.49
Oral cavity carcinosis	342	46	30.89	1.85

Note: -HBDH: Comparison of OLP and health adult, $\chi^2 = 59.14, P < 0.05$; Comparison of health adult and oral cavity carcinosis, $\chi^2 = 37.16, P < 0.05$; Comparison of OLP and oral cavity carcinosis, $\chi^2 = 1.73, P = 0.422$

telomerase enzyme labelling rates: Comparison of OLP and health adult, $\chi^2 = 42.85, P < 0.05$; Comparison of health adult and oral cavity carcinosis, $\chi^2 = 29.34, P < 0.05$; Comparison of OLP and oral cavity carcinosis, $\chi^2 = 0.75, P = 0.688$

治疗前后口腔黏膜脱落细胞微核率的比较,采用配对 *t* 检验,见表 2。口腔黏膜脱落细胞微核率治疗后降低 ($P < 0.05$)。

表 2 OLP 患者治疗前后口腔脱落细胞微核率的比较

Tab 2 Comparison of micronuclear rates of oral mucosal exfoliated cells with OLP in pretherapy and post-treatment

Groups	n	Micronuclear rates (%)		<i>t</i>	<i>P</i>
		Highest	Nadir		
Pretherapy	36	12.58	5.72	42.068	< 0.05
Post-treatment	36	7.24	0.38		

治疗前后唾液中 -HBDH 的含量、外周血中端粒酶标记率的比较,采用配对符号秩和检验,见表 3。治疗后唾液中 -HBDH 的含量和外周血中端粒酶标记率降低 ($P < 0.05$)。

表 3 OLP 患者治疗前后端粒酶标记率和 -HBDH 含量的比较

Tab 3 Comparison of -HBDH contents and telomerase enzyme labelling rates with OLP in pretherapy and post-treatment

Groups	n	Telomerase enzyme labelling rates		-HBDH					
		Highest	Nadir	<i>t</i>	<i>P</i>	Highest	Nadir	<i>t</i>	<i>P</i>
Pretherapy	36	26.53	1.85	18	< 0.05	326	42	18	< 0.05
Post-treatment	36	22.13	1.29			237	28		

治疗前后外周血免疫功能各项指标的比较采用配对 *t* 检验,差值 *d* 的计算均用治疗前的数据减去治疗后的数据,见表 4。治疗后 CD3 +、CD56 + 升高;CD8 + 降低;CD4 + 治疗前后差别没有统计学意

义。CD4 + / CD8 + 比值升高,治疗前后差别有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 5。

表 4 OLP 患者治疗前后免疫功能的比较

Tab 4 Comparison of immune function with OLP in pretherapy and post-treatment

Index	均值 ± s	<i>t</i>	<i>P</i>
CD3 +	-0.773 ± 1.366	3.396	0.0017
CD4 +	-0.219 ± 1.195	1.102	0.2780
CD8 +	1.852 ± 0.517	21.510	< 0.05
CD56 +	-1.793 ± 0.477	22.536	< 0.05

表 5 OLP 患者治疗前后 CD4+ / CD8+ 的比较

Tab 5 Comparison of CD4+ / CD8+ with OLP in pretherapy and post-treatment

Groups	n	CD4 + / CD8 +	<i>t</i>	<i>P</i>
Pretherapy	36	1.28 ± 0.63	-17	< 0.05
Post-treatment	36	1.45 ± 0.15		

3 讨论

3.1 评价反映 OLP 高危相的指标

微核是染色体受损后的断片或有丝分裂后期滞后的染色体,其存在可能影响细胞的正常分裂和增殖,最终导致细胞的异常增殖。微核的数目可反映靶细胞中 DNA 受损伤的程度,是细胞癌变过程的一项早期生物学标志。孙正等研究结果表明,口腔白斑患者黏膜脱落细胞中的微核率明显高于正常人^[4]。OLP 与白斑同属癌前病变,但 OLP 患者中黏膜脱落细胞微核率的表达情况报道较少。本研究结果显示 OLP 患者口腔黏膜脱落细胞微核率明显高于正常人。说明 OLP 同白斑一样,上皮细胞中同样存在染色体的损伤,也具有癌变的潜能。

唾液具有多种功能,是机体防御机制中的重要环节。唾液成分的改变与口腔疾病有密切关系。近年来有报道癌症患者血清中 -HBDH 含量增高,认为是肿瘤自身增生及破坏分解的结果,是肿瘤病情活动性的一项指标^[5]。-HBDH 用于诊断癌瘤在临床上越来越受到人们的关注。本研究结果表明 OLP 患者和癌症病人唾液中 -HBDH 的含量均高于正常人,但 OLP 患者和癌症病人未显示有明显差别。-HBDH 在 OLP 患者唾液中含量增高的原因,可能是由于 OLP 患者出现上皮细胞不典型增生时,细胞中酶的生成增加,细胞一旦破坏受损,其通透性增加而使酶释放入唾液中所致。

端粒是真核细胞染色体末端的重复 DNA 序列,对维持体细胞的稳定及寿命具有重要的作用。端粒酶是一种核糖核蛋白,它的激活使端粒长度保持稳定,细胞获得无限增殖能力,最终发展成肿瘤细

胞。端粒酶活性在不同细胞中相差很大,正常情况下端粒酶活性检出率仅 4%左右,在恶性肿瘤组织中端粒酶活性的检出率高达 80%以上,黏膜红斑组织与白斑组织中端粒酶阳性率达 40%左右,癌前病变组织中端粒酶阳性率明显低于癌组织,端粒酶阳性率与组织的恶性潜能呈正相关^[6]。OLP 属于癌前病变,其病变组织或外周血中端粒酶表达尚未见报道。本研究结果表明 OLP 患者和癌症病人端粒酶标记率均高于正常人,外周血中端粒酶标记率升高,说明其细胞增殖加快甚至会有异常增殖。

3.2 藜化饮对 OLP 癌前病变的逆转作用

祖国医学认为 OLP 是因脾失健运、湿热蕴郁、肝气内郁进而气滞血瘀而诱发^[7]。藜化饮配方中,黄柏、砂仁、茯苓清热燥湿、健脾化湿;蝉蜕疏风透疹,佐以丹参、赤芍理气活血共奏健脾清热化湿、理气活血化瘀之效。有研究证明 OLP 患者的红细胞电泳时间、全血粘度、红细胞、血小板聚集指数均高于正常人^[8]。本方剂中丹参、赤芍、川芎可降低血液黏度、红细胞聚集指数及血浆粘度^[9]。大量研究表明 OLP 患者存在免疫功能异常。本方剂中蝉蜕具有非特异性免疫抑制作用,可稳定肥大细胞膜,阻滞过敏介质释放,抑制 I 型、II 型变态反应^[10]。管志江^[11]曾采用口服自制蝉蜕胶囊及局部封闭蝉蜕注射剂治疗 OLP,有效率 81%,其结果初步说明蝉蜕制剂可能成为治疗 OLP 的免疫抑制药物。丹参、赤芍能降低细胞免疫反应,促进吞噬细胞功能,并对细胞免疫损伤有保护作用,还可通过改善和恢复机体免疫调节网络达到免疫自稳^[12]。本研究患者服用藜化饮后,病情明显改善,黏膜脱落细胞中微核率、唾液中 α -HBDH 的含量、端粒酶标记率在治疗后均明显降低,提示 OLP 患者治疗后受损的上皮细胞得到修复,细胞异常增殖得到逆转。但药物成分对损伤上皮细胞的逆转作用以及控制细胞异常增殖的机制有待于进一步研究。

扁平苔藓长期反复发作,在上皮固有层内有淋巴细胞浸润带,主要为 T 淋巴细胞。外周血 T 细胞亚群中 CD4⁺、CD8⁺ 是免疫调节环路中两种重要的免疫调节细胞因子,CD4⁺/CD8⁺ 比值和 CD56⁺ 细胞可反映机体细胞免疫功能状态。刘春玲^[13]

对 32 例 LP 患者以抗人 T 细胞单克隆抗体碱性磷酸酶-抗碱性磷酸酶法检测外周血 T 淋巴细胞亚群,结果表明 CD4⁺/CD8⁺ 显著降低,说明循环中 CD4⁺ 阳性细胞减少和 CD8⁺ 阳性细胞增加,进而造成外周血 T 淋巴细胞对抗原刺激的增殖能力降低,使全身细胞免疫状态失调。本研究中 OLP 患者治疗后,CD56⁺ 百分率明显升高,CD8⁺ 百分率降低,其抑制巨噬细胞活化的能力降低,吞噬能力增强,从而提高了患者的免疫功能。藜化饮正是利用中药稳定持久的免疫调节作用,抑制机体异常细胞免疫反应的发生,有效调节了 OLP 患者的机体免疫状态。

本研究对 OLP 高危相检测指标和藜化饮对 OLP 癌前病变的逆转作用进行了初步探讨,但这些指标的高低与 OLP 病变程度的关系及藜化饮的药理作用机制还有待深入研究。

参考文献:

- [1] 李秉琦. 实用口腔黏膜病学[M]. 第 1 版. 成都:四川科学技术出版社,1987. 185.
- [2] 徐静,姚希. 细胞周期蛋白 D1 与口腔扁平苔藓癌变关系研究进展[J]. 医学综述,2006,12(13):782-783.
- [3] 中华口腔医学会口腔黏膜病专业委员会. 口腔扁平苔藓疗效评价标准[J]. 中华口腔医学杂志,2005,40(2):92-93.
- [4] 孙正,李宁. 吸烟口腔白斑患者黏膜脱落细胞和外周血淋巴细胞 DNA 损伤关系的研究[J]. 癌变·畸变·突变,2000,12(2):102-105.
- [5] 李必强,颜耀斌. 胃肠癌症患者 α -羟丁酸脱氢酶变化及临床意义[J]. 临床医学,2001,21(3):6-7.
- [6] Mutirangura A, Supiyaphum P, Trirekanan S. Telomerase activity in oral leukoplakia and head and neck squamous cell[J]. Cancer Res,1996,56:3530-3533.
- [7] 许国祺,李秉琦,李辉. 口腔癌前病变—白斑与扁平苔藓[M]. 第 1 版,北京:中国医药科技出版社,1992. 194-196.
- [8] 徐治鸿,孙晓平. 扁平苔藓的微循环及血液流变学观察[J]. 中华口腔医学杂志,1991,26(5):309-311.
- [9] 廖福龙,黄深,李文,等. 活血化瘀药物药性的血流变学研究[J]. 中西医结合杂志,1986,6(2):103-106.
- [10] 马世平,瞿融,杭秉茜,等. 蝉蜕的免疫抑制和抗过敏作用[J]. 中医中药杂志,1998,14(1):42-45.
- [11] 管志江,刘振卿,孙强,等. 蝉蜕治疗 OLP 的临床效果[J]. 前卫医药杂志,1998,15(4):250.
- [12] 黄沁. 免疫药理学[M]. 第 1 版. 上海:上海科技出版社,1986, 223.
- [13] 刘春玲,陈懿德,王婕,等. 扁平苔藓外周血 T 细胞及亚群的研究[J]. 中国皮肤性病杂志,1996,10(6):330-331.

[编辑:周永红;校对:安凤]