

中医药对肿瘤免疫抑制微环境的调控作用及分子机制研究

李 杰 郭秋均 林洪生

(中国中医科学院广安门医院肿瘤科,北京,100053)

摘要 中医药是我国肿瘤治疗的重要手段之一,其治疗肿瘤的主要优势在于改善机体的内环境,重塑肿瘤相关微环境。该作用特点与近年来现代医学对肿瘤的治疗研究以肿瘤微环境为治疗新靶标的研究策略不谋而合。本文介绍了肿瘤免疫抑制微环境的形成和作用,并从重塑肿瘤微环境免疫抑制细胞和增强肿瘤免疫应答两方面介绍了中医药对肿瘤免疫微环境的调控作用及其分子机制,揭示了中医药调节肿瘤免疫微环境的双向性和多靶点机制,为中医药抗肿瘤和临床实践提供新的理论依据。

关键词 中医药;免疫编辑;肿瘤微环境;免疫重塑

Regulating Effects and Molecular Mechanisms of Traditional Chinese Medicine in the Tumor Immune Suppressive Environment

Li Jie, Guo QiuJun, Lin Hongsheng

(*Oncology of Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China*)

Abstract Traditional Chinese medicine (TCM) is an important approach for treating cancer in China. Its mechanisms relate to regulate the body's internal environment and remodel the tumor microenvironment (TME), which coincided with modern cancer treatment views targeting on the TME. Here we introduce how TME reforming and its functions in tumorigenesis, and furthermore illustrate the effects and mechanisms of TCM regulating TME via reshaping immunosuppressive cells and enhancing anti-tumor immune responses. We also reveal the TCM's bidirectional and multi-targeting functions on regulating TME. Hopefully, it provides new theoretical basis for TCM clinical practice in the cancer treatment and prevention.

Key Words Traditional Chinese medicine (TCM); Immunoediting; Tumor microenvironment (TME); Immune Remodeling

中图分类号:R273;R730.3 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.07.005

中医药是我国肿瘤治疗的重要手段之一,近 50 年的临床实践显示:中医药治疗肿瘤的主要优势在于改善机体的内环境,尤其重塑肿瘤相关的微环境,带瘤生存和防治肿瘤的转移复发。该作用特点与近年来现代医学对肿瘤的治疗研究逐渐从单纯的杀伤肿瘤细胞转移至干预其发生、发展的微环境,以肿瘤微环境为治疗新靶标的研究策略不谋而合。

肿瘤微环境是由肿瘤细胞、间质细胞和细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)、细胞因子、趋化因子共同组成的一个复杂的混合体,是肿瘤发生发展和转移过程中赖以生存的内环境,微环境的基质细胞组成可以分为 3 个部分:血管生成细胞、免疫细胞和肿瘤相关的成纤维细胞。肿瘤微环境中的免疫细胞功能下调,促进了新生血管形成、肿瘤进展和转移。这些基质细胞和其周围由细胞外基质蛋白、生长因子、细胞趋化因子及一些基质降解酶类组成的肿瘤基质共同包绕着肿瘤,构成了肿瘤的整体^[1]。

近年来越来越多的证据显示:慢性炎症和免疫抑

制是肿瘤微环境的两个核心特征^[2]。慢性炎症能够致癌,炎症性肠病与结直肠癌、幽门螺旋杆菌感染和胃癌、乙型和丙型肝炎病毒感染和肝细胞癌的流行病学证据证实了这一点;另一方面,微环境低氧、低 pH 值、高压以及致炎因子如:肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、PGE-2、M-CSF、基质金属蛋白酶(MMP-3、MMP-13、MMP-14)等的持续刺激共同维持并不断加重肿瘤微环境的炎性特征。在免疫系统对肿瘤细胞进行重塑的同时,肿瘤细胞及其释放的肿瘤源性免疫抑制细胞及因子也在对免疫细胞进行“反塑形”,如肿瘤相关的巨噬细胞(TAM)在肿瘤微环境中被修饰,失去吞噬肿瘤细胞或者将肿瘤细胞递呈给 T 细胞的能力,促血管和微淋巴管形成发挥促肿瘤增殖和转移作用。因此,调控免疫抑制微环境,预防肿瘤的转移复发,揭示中医药的作用机制及科学内涵具有十分重要的意义。

1 肿瘤免疫抑制微环境的形成

1.1 肿瘤免疫抑制微环境的形成假说 肿瘤免疫豁

基金项目:国家自然科学基金(编号:81072802,81273946),人力资源和社会保障部 2011 年留学人员科技活动优秀类项目

作者简介:李杰(1971.06—),男,医学博士,主任医师,主要研究方向:中西医结合防治肿瘤复发和转移,电话:(010)88001500;E-mail:drjieli2007@126.com

免学说 (Tumor Immune Privilege): 肿瘤细胞通过分泌免疫抑制因子, 抑制树突状细胞迁移成熟、T 细胞、巨噬细胞促炎性表型表达以及促进巨噬细胞和淋巴细胞向免疫抑制表型的分化, 在肿瘤局部诱导免疫抑制微环境, 使肿瘤局部形成免疫豁免区域^[3-4]。

免疫编辑学说 (Tumor Immunoediting): 传统的免疫监视学说认为人体的免疫系统对癌细胞具有一定抑制作用, 可以阻止肿瘤的发生, 如果人体的免疫水平低下, 失去监视作用就可能发生肿瘤。但随后的实验发现裸鼠与正常小鼠的肿瘤发病率相似, 免疫监视学说也受到一定质疑。2002 年 Schreiber 等在免疫监视学说基础上提出免疫编辑学说, 将肿瘤与免疫细胞的相互作用分为 3 个阶段: 免疫清除 (elimination), 免疫平衡 (equilibrium), 免疫逃逸 (escape)。其中在免疫平衡阶段, 免疫细胞对肿瘤细胞有一“筛选”的过程, 称为免疫重塑 (immune sculpture)。经过重塑的肿瘤细胞免疫原性低, 恶性程度高, 使肿瘤的发展最终突破免疫平衡过程, 形成免疫逃逸。免疫逃逸阶段的肿瘤细胞自身抗原低表达, 使免疫活性细胞很难识别, 同时产生大量免疫抑制因子, 将免疫原性细胞“同化”为免疫抑制细胞, 产生肿瘤为环境中的免疫抑制状态^[5-6]。

1.2 肿瘤免疫抑制微环境形成的分子机制 在肿瘤微环境中, 肿瘤细胞并不表达经典的 MHC-I 分子, 而是过表达 HLA-G/E/F 等人白蛋白抗原, 从而导致免疫系统无法正常识别肿瘤细胞, 与肿瘤进展和不良预后密切相关^[7]。同时, 肿瘤组织表达多种免疫抑制因子, 如白介素-10、IL-6、转化生长因子- β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β) 等, 刺激 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、树突状细胞等向免疫抑制表型转化, 产生调节性 T 细胞 (Regulatory T Cell, Treg)、调节性 B 细胞 (Regulatory B Cell, Breg)、肿瘤相关巨噬细胞 (Tumor-associated Macrophage, TAM)、调节性树突状细胞 (Regulatory dendritic cell), 使髓系免疫抑制细胞 (Myeloid Derived Suppressor cells, MDSCs) 增殖。这些免疫抑制细胞间相互作用, 表达更多的免疫抑制因子和促肿瘤生长因子, 消耗促炎性因子 (IL-2、TNF 等), 促进抗肿瘤效应 T 细胞凋亡、降低 NK 细胞抗肿瘤活性, 产生基质金属蛋白酶 (Matrix Metalloproteinases, MMPs)、血管内皮生长因子 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) 等促进肿瘤侵袭和血管生成, 形成促进肿瘤发展和免疫抑制微环境相互作用的恶性循环^[8-10]。

2 肿瘤免疫抑制微环境促进肿瘤发生发展

2.1 促进肿瘤生长 肿瘤免疫抑制微环境与肿瘤发生和肿瘤细胞生长有着密切的关系。我科实验室的研

究发现, 肿瘤相关巨噬细胞、髓源性免疫抑制细胞的浸润与胃癌、肺癌、乳腺癌等恶性肿瘤细胞的增殖有着密切的联系^[11-13]。进一步的研究发现, 肺癌组织中的巨噬细胞可以通过 Erk 和 Akt 通路的激活, 产生胰岛素样生长因子-1 (Insulin-like Growth Factor-1, IGF-1) 直接刺激肿瘤的增殖和生长^[14]; 胃 B 细胞淋巴瘤组织中浸润的 TAM 可以分泌一种名为增殖诱导配体 (AProliferation Inducing Ligand, APRIL) 的细胞因子, 直接促进肿瘤细胞的增殖^[15]; 同时, TAM 还可以通过分泌“外体”的方式直接与肿瘤细胞进行信息传递, 促进肿瘤的生长和侵袭^[16]。

2.2 促进肿瘤血管和淋巴管生成 肿瘤的血管和淋巴管生成成为肿瘤的新陈代谢和生长转移提供了物质运输的基础, 免疫细胞在其形成过程中发挥着重要作用。在肿瘤组织乏氧微环境中, TAMs、DCs、MDSCs、中性粒细胞等细胞分泌多种促血管和淋巴管生成因子 (VEGF、Ang2、VEGF-C、MMP-9、TGF- β 、COX-2 等) 促进血管和淋巴管生成^[17-18]。近年来的研究还发现 TAM 的一种亚型 TEM 在分泌细胞因子基础上, 在 Ang-Tie2 通路介导下直接与血管内皮细胞发生串话, 促进血管生成^[19]; 同时巨噬细胞作为内皮细胞的祖细胞, 可以在一定条件下转分化为淋巴管内皮细胞, 从而直接参与淋巴管的生成^[20]。

2.3 促进肿瘤侵袭 肿瘤细胞的侵袭能力是肿瘤局部浸润和远处转移的基础, 对细胞外基质的重塑是肿瘤细胞局部侵袭和远处转移的前提。肿瘤组织间质中的 TAM、Th-17、DC 等细胞可以分泌 MMPs、TGF- β 等因子促进肿瘤细胞外胶原蛋白溶解, 重塑细胞外基质。TAM 还可以从 MMPs 依赖基质模型迁移转化为阿米巴样模型, 阻断多种蛋白水解酶抑制剂, 结合肿瘤-巨噬细胞旁分泌系统, 重塑细胞外基质, 促进乳腺癌 SUM159PT 细胞的浸润^[21]。肿瘤细胞上皮间质转化是其远处转移的形态学变化过程, 研究表明 TAM 可以通过 TLR4/IL-10 信号通路介导肿瘤细胞的上皮间质转化, 促进肿瘤细胞的侵袭^[22]。MDSCs 通过 TGF- β 、EGF、HGF 等信号通路促进肿瘤细胞的上皮间质转化^[23]。

2.4 促进肿瘤干细胞侵袭增殖 肿瘤干细胞 (Cancer Stem-like Cell, CSC) 是近年来的肿瘤研究热点之一, 很多研究将 CSC 视为肿瘤发生和转移的“种子细胞”, CSC 具有不断自我更新、增殖和不完全分化的能力, 对放疗有抵抗性, 外源性凋亡信号通路失常, 抗凋亡信号通路强表达, 并分泌多种免疫抑制因子, 成为肿瘤免疫逃逸和肿瘤复发的根源。在脑胶质瘤中, TAM 可以

分泌 TGF- β 等细胞因子促进脑胶质瘤干细胞侵袭生长,并可通过激活 TGFBR2,可以上调脑胶质瘤干细胞中 MMP-9 的表达水平,进而促进肿瘤的侵袭^[24]。TAM 还可通过 EGFR/Stat3/Sox-2 通路调节乳腺癌干细胞的功能^[25]。

3 中医学对肿瘤微环境的认识

中医学认为,肿瘤的发生是在脏腑功能失调的基础上,受内外多种因素诱导生成致病因素导致气血阴阳紊乱,与痰、瘀、湿、热等病理因素蓄积,体内平衡状态被打破的恶性循环过程,形成了有利于肿瘤发生、发展的机体内环境。这与现代医学对肿瘤微环境的认识是一致的。我国著名中医学大家、国医大师周仲瑛教授提倡癌毒病机理论,认为癌毒属毒邪之一,是在内外多种因素作用下,人体脏腑功能失调基础上产生的一种对人体有明显伤害性的病邪,是导致肿瘤发生、发展的一种特异性致病因子。其中免疫抑制微环境与癌毒病机中的正气亏虚,炎性微环境与癌毒病机中热毒的表现,高凝血症与癌毒病机理论中的血瘀特点,肿瘤微环境中大量的黏附因子与癌毒病机中痰湿黏滞重浊、随气流窜的特点有诸多的相符和类似之处^[26]。

免疫抑制微环境与正气亏虚密切相关,有学者提出脾虚是肿瘤抑制微环境的关键病机^[2]。临床研究也证实:肠癌、胃癌、肝癌乃至肺癌的脾虚患者存在免疫抑制和炎症特征。张仲景《金匮要略·脏腑经络先后病脉证并治》已明确强调,“脾旺则四季不受邪”,脾虚是免疫功能减弱之本的学术观点也得到了较广泛的认同。从造字结构上来讲“癌”字构成之意即为外邪侵蚀脾胃之病^[27]。张元素《活法机要》曰:“壮人无积,虚人则有之,脾胃虚弱,气血两衰,四时有所感,皆能成积”。故目前公认癌症的病机为本虚标实,本虚以脾胃亏虚为主,如《景岳全书》曰:“脾肾不足及虚弱失调之人,多有积聚之病”,标实以毒聚、痰凝和瘀滞为主。我国中西医结合肿瘤学科的创始人余桂清主任很早就提出:“恶性肿瘤重在调脾胃,养胃气,脾肾并治”,北京中医院肿瘤科郁仁存教授也认为:“肿瘤内虚,宜益气健脾为本”。益气健脾为主,化痰祛瘀、解毒抗癌中药联合应用干预肿瘤免疫抑制微环境,从整体多维的角度观察分析肿瘤微环境与中医药调控免疫的关系具有重要的临床意义。

4 中医药对肿瘤免疫抑制微环境的重塑作用

4.1 T 细胞 T 淋巴细胞表达与特异性识别和信号传导相关的 TCR/CD3 复合体,依据其功能可分为细胞毒性 T 细胞(CD3⁺CD8⁺)、辅助性 T 细胞(CD3⁺CD4⁺)、调节抑制性 T 细胞(CD3⁺CD4⁺CD25⁺)等。T

淋巴细胞是人体参与适应性肿瘤免疫的主要部分,CD4⁺T 细胞可以产生 IL-2、IL-15 等辅助 CD8⁺CTL 的激活、维持 CTL 的活性,活化固有免疫细胞(NK 细胞、树突状细胞),部分活化的 CD4⁺T 细胞还具有直接杀伤肿瘤细胞的能力。CD8⁺T 细胞可以通过释放穿孔素和颗粒酶等溶解肿瘤细胞,还可通过 Fas/FasL 通路启动肿瘤细胞凋亡。目前认为调节性 CD4⁺CD25⁺Treg 是一种具有免疫抑制功能的细胞群,Treg 细胞通过分泌大量免疫抑制因子(IL-10、TGF- β)抑制效应细胞、与效应 T 细胞竞争消耗 IL-2 并影响效应 T 细胞代谢、下调树突状细胞共刺激信号等途径抑制肿瘤免疫微环境。增强 T 细胞抗肿瘤效能,抑制 Treg 细胞数量和功能是调节肿瘤免疫的关键,也是评价中医药调节免疫功能的重要指标。

我们研究发现,养胃抗癌冲剂可以降低外周血 T 淋巴细胞的凋亡能力,对增殖能力则有增强作用,从而提高机体的细胞免疫功能^[28]。我科实验室还建立小鼠 Lewis 肺癌肿瘤模型,研究发现:黄芪、苏木等益气活血药与模型组、活血药组相比可以通过减少小鼠脾 CD4⁺CD25⁺T 细胞数量改善小鼠体内存在的免疫耐受状态,并通过减少 CTLA-4、Foxp3 mRNA 表达从而抑制 Treg 细胞在淋巴组织和肿瘤微环境中的免疫抑制作用^[29]。人工蛹虫草子实体(CCM)与模型组相比,CD4⁺CD25⁺T 细胞增高缓慢,CCM 组肺转移灶组织 Foxp3 和 TGF- β mRNA 的表达也明显低于模型组^[30]。说明补益类、活血类中药可以通过下调 Treg 细胞免疫抑制功能来调节免疫抑制微环境的。也有研究表明,益气补血方(生黄芪、党参、白术、茯苓、半夏、陈皮、薏苡仁、怀山药、当归、枸杞子、女贞子、地黄、何首乌)治疗肺癌化疗患者,可使患者外周血 CD4⁺T 细胞含量增加,稳定 CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺T 细胞比例,从而提高机体免疫功能^[31]。

近年来在肿瘤免疫微环境中发现的 Th17 细胞是一类与辅助性/调节性 T 细胞不同的新型效应 CD4⁺T 细胞,其既可以分泌 IL-17A/F、IL-22、VEGF、MMP-9 等因子促进肿瘤进展,又可以通过 IL-17/IL-17R、TNF- α 、IL-8 等抑制肿瘤的进展^[32]。我科实验室针对中医药作用于 Th-17/Treg 的情况亦做了初步探究,发现益气活血中药对 Th-17 的分布比例及功能有一定的干预作用^[33]。通过研究中医药对肿瘤组织中 Th-17 的双向调节作用,可以更好的揭示中医药调控免疫微环境的内在机制。

4.2 自然杀伤细胞(Natural Killer Cell,NK 细胞) NK 细胞是人体固有免疫细胞的重要组成部分,是一类在

肿瘤发生早期起非特异性免疫的效应细胞,是机体对抗肿瘤的第一道防线。NK 细胞通常表达 $CD16^+$ 、 $CD56^+$ (人) 和 $NK1.1$ 、 $NK1.2$ (部分小鼠) 分子,可以识别下调了 MHC-I 表达的肿瘤细胞,并可以激活肿瘤细胞表面抗原。NK 细胞可以分泌穿孔素和颗粒酶,诱导肿瘤细胞发生半胱氨酸蛋白酶依赖性的凋亡;与肿瘤细胞接触,通过 TNF 和 Fas 介导的通路促进肿瘤细胞凋亡;分泌一系列效应因子,如:具有细胞毒作用的 $IFN-\gamma$ 、具有促进杀伤效应的 NO 等;NK 细胞可以破坏肿瘤组织微血管系统,使抗肿瘤因子渗入肿瘤组织,引起肿瘤出血坏死;NK 细胞还可以 IgG 为桥梁,产生抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用杀伤肿瘤细胞。

中医药可以通过增强 NK 细胞的抗肿瘤效能,减轻免疫微环境对 NK 细胞的抑制促进机体对肿瘤细胞的固有免疫。边士昌^[34]等研究固本抑瘤法(黄芪、党参、茯苓、熟地黄、何首乌、菟丝子、法半夏)联合卡培他滨方案(治疗组)与单纯卡培他滨方案化疗(对照组)对大肠癌术后患者的免疫功能的影响。治疗后治疗组的近期有效率及中药对化疗的减毒增效作用在细胞免疫、体液免疫方面均显著提高,其中 NK 细胞活性明显高于对照组($P < 0.05$)。崔激^[35]等探讨了三氧化二砷(As_2O_3)、川芎嗪(LHC)、黄芪(AMB)、氧化苦参碱(MOX)、猪苓多糖(PUPS)、青蒿琥酯(ART)等 6 种抗肿瘤中药制剂逆转结直肠癌所致 NK 细胞免疫抑制的作用靶分子机制,发现 AMB 对 NK 细胞抑制的逆转作用最强;LHC 对 $CD3\epsilon-\zeta$ + 表达抑制的逆转作用最强。对 NK 细胞抑制的逆转, As_2O_3 、AMB、PUPS 和 ART 的靶分子为 TGF- $\beta 1$,LHC 的靶分子为 TGF- $\beta 1$ 和 IL-10;对 $CD3\epsilon-\zeta$ + 表达抑制的逆转,AMB 和 MOX 的靶分子为 IL-10。

4.3 肿瘤相关的巨噬细胞(Tumor-associated Macrophages, TAM) 肿瘤组织中的巨噬细胞(Macrophage, $M\Phi$)主要来源于外周血迁移而来的单核细胞,肿瘤微环境决定着单核-巨噬细胞的分化倾向; $IFN-\gamma$ 等诱导 M1 型经典活化(classic activation, ca),ca $M\Phi$ 具有促炎、抗原呈递和抗肿瘤效应,可以通过分泌溶细胞酶、TNF、 IFN 、激活 T 细胞免疫应答等抑制肿瘤细胞;IL-4、IL-13 等诱导 M2 型替代活化(alternative activation, aa),aa $M\Phi$ 表现出免疫抑制作用,促进肿瘤的进展和转移。肿瘤微环境中的 $M\Phi$ 称为肿瘤相关巨噬细胞(TAM),约占肿瘤间质细胞的 30%~50%,近年来的研究表明 TAM 多表现为倾向于 M2 型 aa $M\Phi$ 的促瘤表型,通过刺激肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤免疫微环境、促

进基质重塑以及肿瘤血管和淋巴管形成等多个环节,促进了肿瘤的侵袭和转移^[36]。

逆转 TAM 免疫抑制表型,发挥其抗肿瘤作用,是中医药调控肿瘤免疫抑制微环境的重要环节。我科实验室在前期临床基础上,通过实验发现扶正解毒方(黄芪、党参、白术、何首乌、枸杞子、草河车、白花蛇舌草、藤梨根等)可以降低 615 小鼠前胃癌术后原位复发率以及淋巴结、远处器官转移率,延长小鼠生存期,其机制与通过增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能,提高机体免疫系统的监视能力,降低肿瘤细胞免疫逃逸有关,其中小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的提高主要表现为 M1 型巨噬细胞的功能,扶正解毒中药可能具有将 M2 型巨噬细胞向 M1 型细胞转化的潜在作用^[37]。进一步的实验分别建立荷前胃癌(MFC)小鼠荷瘤模型和术后复发模型,发现扶正解毒方联合化疗能有效抑制小鼠前胃癌生长,减轻荷瘤小鼠肺转移程度,延长生存期,改善荷瘤小鼠预后,其作用机制在于减轻肿瘤组织中 $CD68^+$ 巨噬细胞浸润程度,减少 M2 型巨噬细胞的含量;降低血清中 M2 型巨噬细胞诱导因子及所分泌的免疫抑制因子 IL-4、IL-10、IL-13、TGF- β 的含量;降低肿瘤组织、转移淋巴结及脾脏中免疫抑制细胞($CD11b^+F4/80^+$ 巨噬细胞)的含量,逆转上述组织中 TAM 的免疫抑制表型,重塑机体免疫功能^[11]。同时,通过对小鼠 A549 肺癌模型的观察,我们发现肺瘤平膏(西洋参、冬虫夏草、黄芪、党参、北沙参、麦冬、仙鹤草、拳参、败酱草、白花蛇舌草、桃仁、杏仁、川贝母等)可以有效抑制 TAM 所致炎性环境下 A549 细胞的增殖和侵袭迁移能力^[38]。

4.4 树突状细胞(Dendritic Cell, DC) DC 是机体内专职的抗原呈递细胞,从而活化初始 T 细胞,介导细胞毒性的获得性肿瘤免疫。最近的研究发现,肿瘤微环境中存在一群可以诱导免疫抑制的树突状细胞亚群,即调节性 DC 或肿瘤相关 DC。调节性 DC 抗原呈递能力低,能够诱导 T 细胞向 Treg 亚群分化、下调 Th 细胞的比值,抑制效应 T 细胞功能并通过活性氧、IDO 等途径诱导效应 T 细胞凋亡,还可以分泌大量免疫抑制因子(IL-10、NO)^[39]。另外,调节性 DC 还参与肿瘤血管生成、促进肿瘤细胞的增殖和侵袭能力^[40]。

近年来的研究表明 DC 与 $M\Phi$ 有着相似的两极分化倾向,调控 DC 的抗肿瘤活性和抗原呈递功能是中医药作用的关键。我科临床研究表明,肺瘤平膏可提高晚期肺癌患者的 1 年生存率,改善生活质量,延长生存期,同时可以明显升高肿瘤患者外周血 DC1 比例和 DC1/DC2 比值,改善机体免疫功能。进一步的实验室

研究发现肺瘤平膏、益气中药可促进肺癌 Lewis 小鼠 DC 的迁移,而解毒中药抑制 DC 迁移,其机制在于不同中药对 DC 表面趋化因子受体表达影响不同,益气药促进其表达,解毒药抑制其表达;肺瘤平膏、益气中药均可促进 DC 与 T 细胞混合培养后免疫突触(IS)的形成,延长其结合时间,从而促进 T 细胞增殖^[41]。更进一步研究表明,肺瘤平膏可上调 DC 与抗原递呈功能相关膜分子 MHC - II、CD80、CD83、CD86 及 CD40 的表达,并促进 DC 分泌 IL - 12,还可增强 DC - LPAK 杀伤肿瘤细胞的作用^[42-43]。

4.5 髓系免疫抑制细胞 (Myeloid Derived Suppressor Cells, MDSCs) MDSCs 是在恶性肿瘤中大量增殖的一类特殊的细胞种群,其显著特点是抑制 T 细胞肿瘤相关免疫应答,诱导 T 细胞凋亡,为炎症介导肿瘤复发转移提供重要机制。近年来研究显示它是一群异质性细胞,包括未成熟的巨噬细胞、树突状细胞和粒细胞,具有很强的免疫抑制作用,是引起肿瘤免疫逃逸的重要细胞群体。在一些病理条件下,如恶性肿瘤、炎症等阻滞幼稚骨髓细胞分化为成熟骨髓细胞,即导致了 MDSCs 的扩张,促成免疫应答的负向调控,并可催化肿瘤血管和转移灶的生成。MDSCs 表达多种促血管生成因子(VEGF、MMPs、TGF - β 等)促进肿瘤血管生成,还可以通过高表达 Arg1、iNOS、Ros 等抑制 T 细胞介导的获得性肿瘤免疫以及 M Φ 介导的天然抗肿瘤免疫,分泌 IL - 10 抑制 M Φ 及 DC 的功能^[44]。

自 2007 年我们与美国 NCI 分子免疫调节实验室完成的实验研究已显示扶正中药具有一定抑制髓系抑制细胞表型及功能的作用^[45]。在该研究基础上,近期完成的研究生课题通过对乳腺癌患者外周血中 MDSCs% 的流式检测,认为其外周血中 MDSCs 水平与疾病进展密切相关,伴有高抑郁障碍评分的患者 MDSCs% 具有增高趋势,单用疏肝健脾方(柴胡、杭白芍、郁金、八月札、夏枯草、生黄芪、三七、甘草)或合并吉西他滨化疗可以抑制 MDSC 细胞增殖,降低 IL - 13 水平,减缓 CD8⁺ T 细胞早期凋亡,提高机体免疫力^[13]。接下来的研究还发现 NKT 细胞通过分泌 IL - 13,与 MDSCs 共同参与负向免疫调节机制,诱导 CD8⁺ T 细胞早期凋亡,从而抑制 T 细胞免疫应答,促进肿瘤进展,进一步探索中医药对 MDSCs 及其与 NKT 细胞相互影响的调控作用,揭示中医药重塑免疫抑制微环境的内涵。

5 中医药增强肿瘤细胞免疫应答

5.1 对 Fas/FasL 细胞凋亡通路的调控 Fas/FasL 系统是细胞凋亡的重要途径之一,正常情况下杀伤性 T

细胞表达 FasL,与靶细胞表达的 Fas 相结合,从而介导了靶细胞的凋亡。肿瘤细胞表达无功能的 Fas 或低/不表达 Fas,从而阻止了细胞毒性 T 细胞对其的杀伤作用。与此同时,肿瘤细胞高表达 FasL,可以与效应 T 细胞的 Fas 结合,反过来诱导效应 T 细胞凋亡,促进免疫逃逸^[46]。我们在前期临床实践基础上,建立人 MGC - 803 胃癌细胞模型,发现养胃抗癌方(生黄芪、人参、白花蛇舌草、草河车、三七、苏木等)可以通过调节肿瘤细胞 FasL 和 Bax/Bcl - 2 等 mRNA 的表达情况,有效的逆转肿瘤细胞 Fas^{low}FasL^{high}的表达情况,增强了肿瘤细胞对 Fas/FasL 凋亡通路的敏感性^[47]。

5.2 调控肿瘤细胞主要组织相容性复合体 (Major Histocompatibility Complex, MHC) 的表达 MHC 是免疫过程中重要的识别分子 MHC - I 分子通过将肿瘤抗原提呈给 TCR,CTL 识别抗原肽和 MHC - I 分子,从而启动一系列反应导致肿瘤细胞的裂解。在抗原提呈及 T 细胞识别抗原的过程中,MHC - I 分子起到了关键作用。MHC - II 分子可以将肿瘤抗原提呈给 CD4⁺ T 辅助淋巴细胞,启动细胞介导的免疫应答。肿瘤细胞多不表达典型的 MHC - I/II 分子,通过 MHC 表达的多态性表达非典型的 MHC 分子,降低肿瘤免疫原性,阻止 CTL 等细胞攻击,向 NK 细胞传递阴性信号,阻止 NK 细胞对肿瘤的杀伤。曹颖^[48]等以 HPV18 阳性的宫颈癌细胞系 HeLa 为研究对象,发现中药清毒栓及中药单体 β - 榄香烯可以促进 HeLa 细胞表面 HLA - I 蛋白表达, β - 榄香烯及清毒栓可上调 HLA - A、BmRNA 表达;中药清毒栓、中药单体 β - 榄香烯可增加 HeLa 细胞内抗原呈递通路相关分子 TAP1、TAP2、LMP2、LMP7 的蛋白表达,其中清毒栓可上调 4 种分子的基因表达。认为中药清毒栓、中药单体 β - 榄香烯均可通过调节抗原呈递通路相关分子的蛋白及基因表达,起到促进抗原呈递的作用,可能是中医药抗肿瘤和促进肿瘤免疫的作用机制之一。

5.3 调控 CSC 的免疫抑制作用 CSC 虽然高水平表达 MHC - I 类分子,而 HLA - DR 和共刺激分子 CD80、CD86 几乎无表达。干细胞球 Fas 和 FasL 分子表达均明显低于贴壁生长细胞,约 10% 左右的肿瘤球表达 B7 - H1,几乎所有的肿瘤球均高水平表达膜补体调节蛋白以及 FoxP3。肿瘤球的肿瘤相关抗原 hTERT 和 HER2 分子表达明显下调。研究还表明肿瘤球具有显著诱导正常人 T 细胞凋亡、诱导 Treg 细胞和 MDSC 生成^[49]。我科的研究表明中药苦参的有效成分氧化苦参碱对乳腺癌 MCF - 7 细胞系中 SP 细胞(干细胞池)数量有干预作用,降低其自我更新能力,并能下调与肿

瘤干细胞生物学行为密切相关的 Wnt 通路的活性^[50]。多项研究也表明中医药可能潜在的具有调控干细胞的功能,中医药调控 CSC 的途径可能是其重塑肿瘤免疫功能的新靶点^[51]。

6 展望

近些年的研究表明中医药在防治肿瘤进展转移、延长肿瘤患者生存期方面具有一定的作用,其作用机制与调控肿瘤免疫抑制微环境关系密切。肿瘤免疫微环境的形成和动态变化是一个多方面多靶点的过程,涉及到多种不同类型的细胞,NF- κ B、Notch、mTOR、JAK-STATs 等多条信号通路也参与其中。我们的研究表明多种中药复方及单体对肿瘤微环境中炎性信号通路具有干预作用^[35,47],这是中医药调控肿瘤免疫微环境多靶点作用的集中体现。同时,我们发现中医药具有调节改善 M1/M2 表型巨噬细胞、Fas/FasL、CTL/Treg、DC/DCreg 等双向免疫功能细胞的作用,重塑他们的免疫表型,逆转肿瘤免疫抑制微环境。针对肿瘤免疫抑制微环境的特点,充分发挥中医药调节免疫的多靶点、双向调节等作用优势,将更好的指导临床实践和实验研究。相信通过我们不懈的努力,可以进一步揭示中医药调控肿瘤免疫微环境的本质。

参考文献

- [1] Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z. Tumors as organs; complex tissues that interface with the entire organism[J]. *DevCell*, 2010, 18: 884-901.
- [2] 韩钦芮,符秀琼,禹志领,等. 肿瘤微环境的脾虚本质探讨[J]. *中医杂志*, 2014, 5(4): 292-295.
- [3] O'Connell J, Bennett MW, O'Sullivan GC, The Fas counterattack: a molecular mechanism of tumor immune privilege[J]. *Mol Med*, 1997, 3(5): 294-300.
- [4] Wahl SM, Wen J, Moutsopoulos N. TGF- β : a mobile purveyor of immune privilege[J]. *Immunol Rev*, 2006, 213: 213-227.
- [5] Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape[J]. *Nat Immunol*, 2002, 3(11): 991-998.
- [6] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting[J]. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22: 329-360.
- [7] Kochan G, Escors D, Breckpot K, et al. Role of non-classical MHC-class I molecules in cancer immunosuppression[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(11): e26491.
- [8] Fremd C, Schuetz F, Sohn C, et al. B cell-regulated immune responses in tumor models and cancer patients[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(7): e25443.
- [9] Lindau D, Gielen P, Kroesen M, et al. The immunosuppressive tumour network: myeloid-derived suppressor cells, regulatory T cells and natural killer T cells[J]. *Immunology*, 2013, 138(2): 105-115.
- [10] Suzanne Ostrand-Rosenberg, Pratima Sinha, Daniel W. Beury, et al. Cross-talk between myeloid-derived suppressor cells(MDSC), macrophages, and dendritic cells enhances tumor-induced immune suppres-

- sion[J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(4): 275-281.
- [11] 黎磊. 扶正解毒方对小鼠前胃癌所诱导的肿瘤相关巨噬细胞干预作用研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [12] 樊慧婷, 林洪生, 李杰, 等. Lewis 肺癌荷瘤小鼠 CD4 $\sim$ +CD25 $\sim$ +Foxp3 $\sim$ +调节性T细胞及髓样抑制细胞与肿瘤生长的关系[J]. *现代免疫学*, 2009, 29(5): 370-375.
- [13] 吕雨桐. 抑郁障碍对 MDSC 诱导乳腺癌免疫重塑的影响及疏肝健脾方干预作用观察[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [14] Fritz JM, Dwyer-Nield LD, Malkinson AM. Stimulation of neoplastic mouse lung cell proliferation by alveolar macrophage-derived, insulin-like growth factor-1 can be blocked by inhibiting MEK and PI3K activation[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10: 76.
- [15] MUNARIF, LONARDI S, CASSATELLA M A, et al. Tumor-associated macrophages as major source of APRIL in gastric MALT lymphoma[J]. *Blood*, 2011, 117(24): 6612-6616.
- [16] Yang M, Chen J, Su F, et al. Microvesicles secreted by macrophages shuttle invasion-potentiating microRNAs into breast cancer cells[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10: 117.
- [17] Chambers SE1, O'Neill CL, O'Doherty TM, et al. The role of immune-related myeloid cells in angiogenesis[J]. *Immunobiology*, 2013, 218(11): 1370-1375.
- [18] 罗玉妍, 何正飞, 戴小军. 肿瘤微环境在肿瘤淋巴管生成中的作用[J]. *中国肿瘤临床*, 2013, 40(21): 1337-1340.
- [19] De Palma M, Naldini L. Angiopoietin-2 TIEs up macrophages in tumor angiogenesis[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(16): 5226-5232.
- [20] Ran S, Montgomery KE. Macrophage-mediated lymphangiogenesis: the emerging role of macrophages as lymphatic endothelial progenitors[J]. *Cancers (Basel)*, 2012, 4(3): 618-657.
- [21] GUIET R, VAN GOETHEM E, COUGOULE C, et al. The process of macrophage migration promotes matrix metalloproteinase-independent invasion by tumor cells[J]. *J Immunol*, 2011, 187(7): 3806-3814.
- [22] Liu CY, Xu JY, Shi XY, et al. M2-polarized tumor-associated macrophages promoted epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells, partially through TLR4/IL-10 signaling pathway[J]. *Lab Invest*, 2013, 93(7): 844-854.
- [23] Toh BI, Wang X, Keeble J, et al. Mesenchymal transition and dissemination of cancer cells is driven by myeloid-derived suppressor cells infiltrating the primary tumor[J]. *PLoS Biol*, 2011, 9(9): e1001162.
- [24] 叶显宗. 肿瘤相关巨噬细胞促进胶质瘤干细胞侵袭及其机制研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2012.
- [25] Yang J, Liao D, Chen C, et al. Tumor-associated macrophages regulate murine breast cancer stem cells through a novel paracrine EGFR/Stat3/Sox-2 signaling pathway[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(2): 248-258.
- [26] 程海波, 沈卫星, 吴勉华, 等. 基于肿瘤微环境的癌毒病机理论研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2014, 30(2): 105-107.
- [27] 高少才, 任娟莉, 刘龙. 癌症考辨与“脾衰”是癌症发病之本初探[J]. *陕西中医*, 2009, 30(10): 1354-1355.
- [28] 李杰, 林洪生, 王晓瞳, 等. 中医药对肿瘤免疫编辑过程重塑的分子机制研究[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2009, 11(5): 747-752.
- [29] 于明薇. 活血药、益气活血药对肿瘤生长转移过程中调节性T细胞介导的免疫逃逸影响研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.

- [16] 芦莲菊. 痛舒膏外敷治疗肝癌疼痛[J]. 山东中医杂志, 1998, 17(5): 214-215.
- [17] 花海兵, 林苏. 消症膏治疗肺癌疼痛 60 例[J]. 中医外治杂志, 1999, 8(1): 16.
- [18] 赵玉香, 赵玉玲, 胡遵荣. 疏络膏穴位外敷缓解癌症疼痛的临床研究[J]. 中国外治杂志, 2003, 12(2): 12-13.
- [19] 苏寅, 李荣. 辨证穴贴治疗骨转移癌疼痛临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2003, 11(5): 46-48.
- [20] 楼建, 吴敏华, 周月芬. 艾迪注射液联合芬太尼透皮贴治疗难治性癌痛 10 例[J]. 传统医药, 2013, 22(14): 102-103.
- [21] 罗素霞, 姚亚民, 王黎. 康莱特注射液治疗癌性疼痛的临床观察[J]. 中国肿瘤临床, 2002, 29(4): 124-126.
- [22] 盛军章, 王学芬. 华蟾酥注射液治疗癌性疼痛 90 例临床观察[J]. 中国医药论坛, 2005, 3(4): 92.
- [23] 赵玉华, 倪慧. 复方苦参注射液联合羟考酮缓释片治疗中晚期癌痛的疗效观察[J]. 临床合理用药, 2013, 6(9A): 52-53.
- [24] 陈仲杰, 郭宇鹏, 吴中朝. 以痛为腧针刺治疗癌性疼痛疗效观察[J]. 中国针灸, 2008, 28(4): 251-253.
- [25] 洪晓瑜. 耳针对中晚期肝癌疼痛的治疗体会[J]. 中国临床康复, 2002, 6(14): 2136-2137.
- [26] 秦飞虎, 秦宇航. 按灸疗法治疗原发性肝癌疼痛 36 例[J]. 中国针灸, 2001, 21(9): 540.
- [27] 冯小林. 温针灸疗法对 6 例晚期癌症痛的临床观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(S1): 185-186.
- [28] 邱富华. 穴位埋线治疗癌痛的临床疗效观察[D]. 广州: 广州中医药大学, 2009.
- [29] 孙丽华, 郭田秀, 于秋, 等. 穴位按摩缓解肝癌患者疼痛临床观察[J]. 中国临床医生杂志, 2008, 36(6): 38-39.
- [30] 王建华. 癌症晚期的手法镇痛作用[J]. 按摩与导引, 2006, 22(10): 9-10.
- [31] 万永慧, 毛宗福, 邱艳茹. 音乐疗法对癌症病人焦虑、抑郁及疼痛的影响[J]. 护理研究, 2009, 23(5): 1172-1175.
- [32] 胡卫, 万信念. 华蟾素瘤周注射对癌痛模型小鼠癌痛行为的影响及外周机制研究[C]. 第九次全国中西医结合基础理论研究学术研讨会论文汇编, 2013: 267-275.
- [33] 许玲. 藤康通络凝胶外用对骨癌痛大鼠痛觉行为学及其作用机制的研究[C]. BIT's 11th Annual Congress of International Drug Discovery Science & Technology, 2013: 359.
- [34] 赵文麟, 赵文树. 电针对骨癌痛模型大鼠下丘脑 β -内啡肽的影响[J]. 针灸临床杂志, 2013, 29(5): 69-72.

(2014-06-19 收稿 责任编辑: 洪志强)

(上接第 850 页)

- [30] 樊慧婷, 林洪生, 李杰, 等. 人工蛹虫草子实体对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的影响[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2009, 16(15): 1130-1134.
- [31] 李雁. 益气补血方辨证治疗联合化疗对 NSCLC 患者 T 细胞亚群的影响[J]. 中国中医药科技, 2013, 20(6): 657.
- [32] Qi W, Huang X, Wang J. Correlation between Th17 cells and tumor microenvironment[J]. Cell Immunol, 2013, 285(1-2): 18-22.
- [33] 刘声, 何立丽, 张丽娜, 等. 活血药、益气活血药对不同阶段 Lewis 肺癌转移影响的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(12): 1638-1641.
- [34] 边士昌, 洪亮, 万红娟. 固本抑瘤法联合卡培他滨治疗大肠癌术后患者及对免疫功能的影响[J]. 江西中医药, 2013, 44(04): 30-32.
- [35] 崔澈, 王润田, 胡建军, 等. 抗肿瘤中药制剂逆转结直肠癌 NK 细胞免疫抑制的靶分子探讨[J]. 江苏医药, 2011, 44(356): 509-512.
- [36] 郭秋均, 李杰. 肿瘤相关巨噬细胞在重塑肿瘤免疫微环境中的作用[J]. 肿瘤, 2013, 33(10): 922-927.
- [37] 孙桂芝. 扶正培本系列方药在胃癌综合治疗中的应用[J]. 中医杂志, 2009, 50(6): 553-555.
- [38] 陈赐慧. 肺癌平膏调控 NF- κ B 相关炎性信号通路防止肺癌转移的分子机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [39] Seliger B, Massa C. The Dark Side of Dendritic Cells: Development and Exploitation of Tolerogenic Activity That Favor Tumor Outgrowth and Immune Escape[J]. Front Immunol, 2013, 4: 419.
- [40] Yang Ma, Galina V. Shurin, Dmitriy W. Gutkin, et al. Tumor Associated Regulatory Dendritic Cells[J]. Semin Cancer Biol, 2012, 22(4): 298-306.
- [41] 周雍明. 中药肺癌平膏对树突状细胞免疫调控的研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2008.
- [42] 郑红刚, 朴炳奎, 林洪生, 等. 中药复方肺癌平膏对树突状细胞功能影响的拆方研究[J]. 北京中医药大学学报, 2007, 33(8): 525-528, 549, 577.
- [43] 周雍明, 朴炳奎, 郑红刚, 等. 肺癌平膏及其拆方对 DC 刺激 LPAK 抗肿瘤活性的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2013, 40(1): 3-6.
- [44] Khaled YS, Ammor BJ, Elkord E. Myeloid-derived suppressor cells in cancer: recent progress and prospects[J]. Immunol Cell Biol, 2013, 91(8): 493-502.
- [45] Jie Li, Xin Chen, Hong Sheng Lin, et al. Inhibitory Effect of herbal medicine Sheng Qi Formula (SQF) on Gr1CD11b⁺ Myeloid Immunosuppressive Cells in the 4T1 Murine Mammary Cancer Model (Abstract) [C]. 2008 AACR Annual Meeting, San Diego, CA, USA.
- [46] Villa-Morales M, Fernández-Piqueras J. Targeting the Fas/FasL signaling pathway in cancer therapy[J]. Expert Opin Ther Targets, 2012, 16(1): 85-101.
- [47] Li J, Sun GZ, Lin HS, et al. The herb medicine formula "Yang Wei Kang Liu" improves the survival of late stage gastric cancer patients and induces the apoptosis of human gastric cancer cell line through Fas/Fas ligand and Bax/Bcl-2 pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2008, 8(9): 1196-1206.
- [48] 曹颖. 中药清毒栓对 HR-HPV 感染宫颈上皮细胞 MHC-I 抗原呈递通路及阴道免疫微环境的调节[D]. 北京: 北京中医药大学, 2012.
- [49] 钟永. 人肾癌细胞系干细胞分离及其免疫逃逸机制初步探讨[D]. 北京: 北京协和医学院, 2011.
- [50] 张英. 苦参提取物对人乳腺癌 MCF-7 细胞系肿瘤干细胞样细胞生物学行为的干预研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.
- [51] 林洪生, 许炜茹, 张英. 肿瘤干细胞对传统肿瘤治疗理念提出新的挑战[J]. 中国肿瘤, 2011, 20(8): 593-596.

(2014-06-19 收稿 责任编辑: 洪志强)