

· 思路与方法学 ·

扶正培本治则方药调节肿瘤微环境免疫
与血管正常化的思路研究熊 露¹ 田少霞²

摘要 “血管正常化时间窗”的发现是目前抗肿瘤血管生成领域研究的热点之一。将现代肿瘤微环境学说与抗肿瘤血管生成领域研究热点相结合,提出应用扶正培本治则方药调节肿瘤微环境免疫与血管的正常化的理论构想,主张通过扶正培本为主导的中药复方对肿瘤“微环境免疫与血管正常化”的调节作用与机制研究,探索中晚期非小细胞肺癌中医药抗血管生成治疗“血管正常化时间窗”,为阐明扶正培本方药为主导的抗肿瘤侵袭与转移机制,联合放化疗最佳时机的选择,中医药抗血管生成疗效评价方法,提供初步的理论与实验依据,指导临床用药。

关键词 肿瘤微环境免疫;血管正常化时间窗;扶正培本;中药抗血管生成疗效评价

A Concept of Regulating Tumor Microenvironment Immune and Normalizing Angiogenesis by Chinese Medicine Drug Therapy for Supporting Zheng-qi to Prop up Root XIONG Lu and TIAN Shao-xia *Department of Oncology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053)*

ABSTRACT Antiangiogenic therapy can generate a “normalization window” for tumor vasculature. This normalization process prunes immature vessels and improves the integrity and function of the remaining vasculature by enhancing the perivascular cell and basement membrane coverage in tumor, therefor creates a window of opportunity for improved sensitivity to ionizing radiation and the delivery of chemotherapeutic drugs. It provides a rational basis for the combination therapy of traditional Chinese drugs with radiation and perhaps other forms of chemotherapy. Antiangiogenic therapy with the traditional Chinese drug interfering in the the mechanisms of the normalization window in humans maybe harness a new approach to improve the sensitivity of tumors to radio- and chemotherapy.

KEYWORDS immunity in tumor microenvironment; normalization window for tumor vasculature; supporting body resistance; evaluation on therapeutic effect of antiangiogenic therapy with the traditional Chinese drug

抗血管生成治疗中血管正常化窗口期(normalization window)的发现与研究,已成为抗血管生成领域研究的热点之一。理论上,趋于“正常化”的肿瘤微血管系统可能更利于氧气和药物的输送,在提高了放化疗疗效的同时,又能阻止肿瘤细胞脱落到循环系统中,而抑制肿瘤转移^[1,2],表明只要能够纠正肿瘤血管的结构和功能,我们就有可能使肿瘤的微环境正常化,然后最终能够改善对肿瘤的治疗^[3-5]。该假说已得到了大量临床证据的支持^[6]。以扶正培本为主导的恶性肿瘤的中医治疗,已初步显示具有明确的调节机体免疫

功能,抑制肿瘤新生血管形成的作用^[7-9],应用扶正培本治则方药调节肿瘤微环境免疫与血管的正常化,可望为阐明扶正培本为主的抗肿瘤血管生成、提高放化疗疗效的作用与机制研究,提供新的研究思路。

1 微环境中免疫功能抑制与新生血管形成是肿瘤赖以生长与转移的关键环节之一 肿瘤侵袭微生态系统(TIMES)中微血管网络,淋巴系统,免疫细胞[尤其树突状细胞(DC),杀伤性T细胞]与肿瘤细胞间形成了相对独立的微环境^[10]。其中促新生血管形成因子与抑制因子之间的失衡,导致肿瘤新生血管形成,微环境中免疫抑制,被认为是促进肿瘤生长与转移最为重要的前提条件之一。

肿瘤新生血管形成与微环境中免疫抑制在促肿瘤生长与转移中密切相关。目前发现的最为重要的促血管生长因子——血管内皮生长因子(vascular endothe-

作者单位:1. 中国中医科学院广安门医院肿瘤科(北京 100053);

2. 陕西省咸阳市中医肿瘤医院

通讯作者:熊 露, Tel: 010 - 88001013, E-mail: jiaoxiong@163.

com

lial growth factor, VEGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF- β)等可通过旁分泌或自分泌作用,促进血管生成的同时,抑制细胞因子,如白细胞介素-12(IL-12)、干扰素(IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)分泌,抑制免疫细胞的增殖,抑制 DC 的分化与成熟,使 T 细胞对凋亡敏感性增高,诱导 T 细胞凋亡,从而启动宿主的免疫抑制,最终导致肿瘤微环境中免疫监视机制失衡或无能^[10,11]。而成熟 DC 却可通过分泌 IL-12 下调 VEGF 及成纤维细胞生长因子(bFGF)表达抑制肿瘤的血管生成,在促血管因子优势的微环境中,DC 的功能受抑,IL-12 分泌水平下调,则可能促进肿瘤的生长与转移^[12]。

同时,新生肿瘤血管结构与功能的不成熟性,缺乏固定的周细胞,具有高度膨胀和渗透性,造成肿瘤组织缺氧、流体静压(IFP)增高,一方面降低了肿瘤细胞对放化疗的敏感性,另一方面阻碍了化疗药物与肿瘤组织的充分接触,最终降低了放化疗疗效^[3,5],客观上形成有利于肿瘤侵袭与转移的微环境。因此,微环境中免疫功能抑制与新生血管形成是肿瘤赖以生长与转移的关键环节^[10,11]。

2 抗血管生成治疗可以形成一个独特的“血管正常化窗口期”,为阐明抗血管生成药物的作用机制,提供了重要的理论依据 2004 年 Lin M 等^[1]发现,抗血管生成药物能够通过募集周细胞到达肿瘤微血管,从而带来短暂的血管稳定,改善肿瘤局部血供与供氧,产生一个血管正常化的窗口期,从而有利于肿瘤细胞与细胞毒药物充分接触,增强放化疗疗效。血管正常化的分子机制还不十分清楚。有学者^[1,4]采用 DC101 阻断 VEGF-2 受体方法,初步阐明血管正常化机制:(1)抗血管生成药物早期可以去除只有少量周细胞覆盖的不成熟的肿瘤血管;(2)通过对周细胞向肿瘤血管的募集,使得剩余的血管功能得以强化,从而使肿瘤的血管系统正常化。(3)正常化了的血管扭曲程度得以改善,周细胞和基底膜的覆盖也较为均一。(4)正常化的血管通透性降低,诱发在肿瘤血管内外产生渗透压和流体静压梯度,而所产生的流体静压梯度又会促进大分子(如细胞毒类药物)在肿瘤内的渗透。概而言之,这些变化包括血管形态,血管壁结构以及肿瘤血管的功能所发生的多参数变化。

在血管正常化窗口期,肿瘤血管抗转移能力增强,肿瘤供血、供氧增加,微环境中细胞免疫功能及其对放化疗的敏感性增强,为药物的干预提供了一个非常关键的治疗“窗口期”^[13-5]。该发现为抗血管生成药物

选择最佳时间、最佳剂量与细胞毒药物的联合应用,亦为阐释抗血管生成药物的作用机制,提供了重要的理论依据。

3 采用 CT、MRI 评价肿瘤血管生成能够定量反映肿瘤微血管特征及与肿瘤血管生成相关功能变化 肿瘤血管生成就是新生血管在肿瘤现有血管上形成的过程^[10]。这些新生血管不但能促进肿瘤生长和转移,还会引起血容积、灌注量及毛细血管通透性等变化,因此,要想实现对肿瘤早期诊断及准确疗效评价,不仅要求对肿瘤可视的表现特征进行监测,更需要深入到肿瘤循环及代谢情况进行探究。其中多种影像学成像方法(CT、MRI、PET、US),尤其是 MRI 血管功能成像,作为一种无创的影像学技术,拥有定量反应肿瘤微血管特征及与肿瘤血管生成相关功能变化,为分子水平研究肿瘤血管开创了新的前景,已成为临床与实验研究的热点,目前已初步应用于临床,国内外学者相继对动态增强和灌注成像的影像学参数与肿瘤血管生成之间相关性进行了大量的研究,表明 CT 影像参数组织血流量(BF)、血容量(BV)、平均通过时间(MTT)、峰值时间(TTP)、毛细血管通透分数(CPE)等参数能反映组织器官的灌注状态,反映肿瘤新生血管的状况^[13-16]。目前采用 CT、MRI 评价肿瘤血管生成已发展成为一个独特的新领域,显示出巨大的应用潜力。

但目前国内外尚缺乏准确评价抗血管生成疗效的标准与体系,传统细胞毒药物疗效评价方法难以评估抗血管生成治疗效果。充分发挥影像学检测优势,利用 MRI 技术无创、方便、可操作性好的特点,在国内系统开展中医药抗血管生成治疗的临床 MRI 检测技术与方法研究,对建立中医药抗血管生成疗效评价体系的探索性研究,具有重要的实践意义。

4 调节肿瘤微环境免疫与血管的正常化的构想,为阐明扶正培本为主的抗肿瘤血管生成的基础与临床研究,提供新的研究思路 多年来,在扶正培本治则指导下,扶正培本治则调节机体体液与细胞免疫的研究业已相当深入,但抗肿瘤血管生成与调节肿瘤微环境中免疫功能方面的临床与基础研究尚有待深入。2006—2007 中国版肺癌 NCCN 指南中将人参皂苷 Rg3 作为靶向抗肿瘤新生血管药物推荐为联合化疗的一线用药,成为扶正培本中药单体调节肿瘤新生血管形成的成功范例。

中药调节肿瘤微环境免疫与血管的正常化的构想的理论依据是:肿瘤微环境中免疫抑制与血管生成既然是影响肿瘤生长与转移的两个重要因素,那么针对该作用环节,调节其免疫与血管的正常化,可能对抑制

肿瘤生长与转移发挥协同作用。

抗血管生成药物如贝伐单抗(Avastin)治疗中晚期非小细胞肺癌(NSCLC),经 ECOG4599 等多项临床研究显示出联合化疗的协同优势^[6]。抗肿瘤血管治疗可以调节肿瘤间质促进/抑制血管生成因子恢复平衡,促使肿瘤血管及其微环境的正常化。同时由于下调了 VEGF 表达,减少了对微环境中 DC 与 T 细胞功能的抑制^[10],间接达到调节微环境免疫功能的目的,从而打破肿瘤微环境屏障,提高疗效,抑制转移。而扶正培本方药的拆方研究初步表明,单纯扶正方与解毒通络法的联合应用,调节细胞免疫与抗转移作用更佳^[17-19],调节肿瘤微环境免疫与血管正常化的理论构想显示出了较好的研究前景。

因此,应用现代影像学技术发展的最新成果,采用国内外先进的单/双光子激光共聚焦显微镜成像技术、从临床与基础两方面着手,在扶正培本治则指导下,对中药复方调节肿瘤微环境免疫与血管正常化的深入研究,观察中药对肿瘤微环境中细胞免疫及肿瘤微血管结构与功能变化的影响,可望为既往学术界争论多年的“活血化瘀(通络)药物可能促肿瘤生长与转移”,或扶正培本方药能改善患者全身体质状况,而不少患者瘤体仍然增大的困惑,提供理论与临床证据。同时也为扶正培本治则方药是否可以通过不同于单纯调节机体免疫途径,达到提高放化疗疗效,寻找新的作用途径。并为深化中晚期肺癌的病机理论、确立适用于中医药抗血管生成疗效评价标准,联合放化疗最佳治疗时机与方案的选择,探索新的研究思路。

5 扶正解毒通络法可能通过调节肿瘤微环境细胞免疫与肿瘤血管正常化,发挥抗肿瘤生长与转移作用 VEGF 作为最重要的促进血管新生的细胞因子,与肺癌的生长和转移密切相关。肺癌患者瘤组织高表达 VEGF(阳性率达 92.3%),血清中可溶性 VEGF 亦高达 664 ng/L。NSCLC 患者血浆 VEGF 浓度显著高于正常人及肺部良性病变者,并且血浆 VEGF 浓度与 NSCLC 的 TNM 分期和远道转移呈正相关,尤其是 IV 期患者 VEGF 浓度增高最显著^[20]。近年来,国内不少学者相继开展了扶正解毒、活血通络中药复方抗肺癌血管生成的研究。2003 年田菲等^[7]证实益气解毒、活血通络方肺一丸可通过抑制肺癌血管生成,降低肿瘤血管密度,发挥抗转移作用。2001 年高勇等^[8]证实益气扶正药物人参皂苷 Rg3 可抑制新生血管形成。2006 年刘嘉湘等^[9]研究证实,益气养阴解毒方可降低 NSCLC 血清 VEGF 水平,缩小稳定瘤灶,提高免疫功能,但均缺乏深入的临床与基础研究。

广安门医院肿瘤科从 20 世纪 80 年代起,先后承担的国家“六五”、“七五”攻关“益气养阴清热解毒之剂治疗晚期原发性肺癌的临床与实验研究”,及“十五”攻关、首都医学发展基金多项多中心研究表明,肿瘤平膏可明显提高巨噬细胞吞噬功能,提高自然杀伤(NK)细胞活性,改善肺癌患者体液免疫及细胞免疫功能,具有确切的抗肿瘤、抗复发与抗转移作用。2003—2006 年课题组^[17-19]通过国家自然科学基金“中药复方调节肺癌树突状细胞抗原递呈功能的研究”表明,肿瘤组织微环境浸润 DC(TIDC)的数量与 VEGF 表达水平与 Lewis 肺癌的转移具有一定的相关性。益气养阴、解毒通络方(肿瘤平膏 II 号)可通过上调 DC 膜分子表达,诱导 DC 分化与成熟,促进 DC 分化与成熟,上调 DC 分泌 IL-12,调节外周血 IL-1、TNF- α 表达,促进体外 DC 与 T 细胞结合 IS 的形成,并最终促进 T 细胞增殖,增强 CTL、DC-LPAK 杀伤活性,上调肿瘤微环境 TIDC 数量,抑制 VEGF 表达,显示出一定抑制肿瘤生长及抗肿瘤转移作用。在抑制 VEGF 表达方面,肿瘤平膏全方(益气解毒、活血通络法)的作用更为明显,表明扶正培本、解毒通络法组方具有调节机体免疫,抑制肿瘤新生血管形成的双重或多重机制,调节肿瘤微环境细胞免疫功能与肿瘤血管正常化,发挥抗肿瘤转移作用。

6 结论 迄今为止,大多数临床试验的设计主要是观测肿瘤大小的变化,却没有关注肿瘤内血管生物学的改变。异常的肿瘤血管系统和由其所产生的异常的微环境给肿瘤治疗药物的运输和疗效造成很大的障碍。任何能够重新建立起促血管生成因子和抗血管生成因子之间平衡的治疗都可以诱使肿瘤血管正常化,从而有效突破肿瘤微环境屏障,提高放化疗疗效。“血管正常化时间窗”的发现,为抗血管生成药物与细胞毒药物联合应用选择最佳时间、最佳剂量的选择,提供了重要的理论依据。以扶正培本为主导的中药复方在调节机体微环境免疫与抗肿瘤血管生成方面显示出较好的应用与研究前景。深化该领域的临床与基础研究,对探索中晚期非小细胞肺癌中医药抗血管生成治疗“血管正常化时间窗”,阐明扶正培本方药为主导的抗肿瘤侵袭与转移机制,联合放化疗最佳时机的选择,中医药抗血管生成疗效评价方法,提供重要的理论与实验依据,开辟新的研究思路。

参 考 文 献

- [1] Lin M, Sessa W. Antiangiogenic therapy creating a unique “window” of opportunity [J]. Cancer Cell, 2004, 6(6): 529-531.

- [2] Jain RK, Duda DG, Clark JW, et al. Lessons from phase III clinical trials on anti-VEGF therapy for cancer[J]. Nat Clin Pract Oncol, 2006,3(1):24-40.
- [3] Tong RT, Boucher Y, Kozin SV, et al. Vascular normalization by vascular endothelial growth factor receptor 2 blockade induces a pressure gradient across the vasculature and improves drug penetration in tumors[J]. Cancer Res, 2004,64(11):3731-3736.
- [4] Jain RK. Normalization of tumor vasculature; an emerging concept in antiangiogenic therapy[J]. Science, 2005,307(5706):58-62.
- [5] Fukumura D, Jain RK. Tumor microvasculature and micro-environment; targets for anti-angiogenesis and normalization[J]. Microvasc Res, 2007,74(23):72-84.
- [6] 李恩孝主编. 恶性肿瘤分子靶向治疗[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007:201-214.
Li EX, ed. Treatment on molecular targets of malignant tumor[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007:201-214.
- [7] 田菲, 贾英杰, 陈军, 等. 肺丸对肺癌血管生成及转移影响的实验研究[J]. 天津中医药, 2003,20(5):56-58.
Tian F, Jia YJ, Chen J, et al. Experimental research about the effect of Feiyi Wan on angiogenesis and metastasis in patients with lung cancer transfer[J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2003,20(5):56-58.
- [8] 高勇, 王杰军, 许青, 等. 人皂甙 Rg3 抑制肿瘤新生血管形成的研究[J]. 第二军医大学学报, 2001,22(1):40-42.
Gao Y, Wang JJ, Xu Q, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rg3 on tumor neoangiogenesis[J]. Academic J Second Military Med Univ, 2001,22(1):40-42.
- [9] 刘嘉湘, 牛红梅. 益气养阴解毒方对肺癌患者血清血管内皮生长因子及免疫功能的影响[J]. 中医杂志, 2006,43(3):190-192.
Liu JX, Niu HM. Effects of Yiqi Yangyin Jiedu Fang on Serum Vascular Endothelial Growth Factor and Immunologic Function in the Patient of Lung Cancer[J]. J Tradit Chin Med, 2006,43(3):190-192.
- [10] Stuhler G, Walden P. Cancer immune therapy[M]. Beijing: The Chemistry Industry Publishing House, 2004:85-95.
- [11] Yamaguchi YH, Tsumura M. Cotrasting effects of TGF- β , and TNF- α on the development of dendritic cells from progenitors in mouse bone marrow[J]. Stem Cells, 1997,15:144.
- [12] Duda DG, Sunamura M, Nozonschi L, et al. Direct *in vitro* evidence *in vivo* analysis of the antiangiogenesis effects of interleukin 12[J]. Cancer Res, 2000,60(4):1111-1116.
- [13] Preda A, Novikov V, Moglich M, et al. MRI monitoring of av-astin antigangiogenesis therapy using B22956/1, a new blood pool contrast agent, in an experimental model of human cancer[J]. J Magn Reson Imaging, 2004,20(5):865-873.
- [14] Ma SH, Xu K, Xiao ZW, et al. Peripheral lung cancer: relationship between multi-slice spiral CT perfusion imaging and tumor angiogenesis and cyclin D1 expression[J]. Clin Imaging, 2007,31(3):165-177.
- [15] Wang JH, Min PQ, Wang PJ, et al. Dynamic CT evaluation of tumor vascularity in renal cell carcinoma[J]. Am J Roentgenol, 2006,186(5):1423-1430.
- [16] Kan Z, Phongkitkarun S, Kobayashi S, et al. Functional CT for quantifying tumor perfusion in antiangiogenic therapy in a rat model[J]. Radiology, 2005,237(1):151-158.
- [17] 郑宏刚, 熊露, 朴炳奎, 等. 肺瘤平膏及其拆方对 Lewis 肺癌移植瘤的抑瘤作用及对 S-100 蛋白和 VEGF 表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007,13(5):370-372.
Zheng HG, Xiong L, Piao BK, et al. Inhibitory effect of Feiliuping extractum and its modified formulas on transplantation tumor of Lewis lung cancer and expiession of S-100 protein and VEGF. Chin J Basic Medicine Tradit Chin Med, 2007,13(5):370-372.
- [18] 熊露, 郑宏刚. 肺癌之络病观[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007,13(2):86-90.
Xiong L, Zheng HG. Expression of collateral disease of lung cancer[J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2007,13(2):86-90.
- [19] 郑红刚, 朴炳奎, 林洪生, 等. 中药复方肺瘤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, 2007,30(8):525-528.
Zheng HG, Piao BK, Lin HS, et al. Influence of Feiliuping Extractum and its modified formulas on function of dendritic cells[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2007,30(8):525-528.
- [20] 周清华主编. 肺癌基础研究与临床治疗进展[M]. 北京: 科学出版社, 1999:110-130.
Zhou QH, ed. Progress of clinical treatment and basic study of lung cancer[M]. Beijing: Science Press, 1999:110-130.

(收稿:2009-01-04 修回:2009-11-10)