

· 理论探讨 ·

肺癌中医抗血管生成研究的几个关键问题

熊 露¹ 田少霞²

(1. 中国中医科学院广安门医院肿瘤科 11 区病房, 北京市宣武区北线阁 5 号, 100053; 2. 陕西省咸阳市中医肿瘤医院)

[摘 要] 中西医尚缺乏公认的适用于抗肿瘤血管生成药物的临床疗效评价体系与标准, 中医药抗肿瘤血管生成领域的研究仍处于实验研究阶段, 临床研究报道更为罕见。主张结合现代肿瘤微环境理论、中医肺癌络病说, 应用影像学血管功能多参数评价新技术与方法, 深化中医药抗肿瘤血管生成领域临床与基础研究, 探索适用中医药抗肿瘤血管生成的临床疗效评价标准与体系。

[关键词] 肺癌; 血管生成; 肿瘤微环境理论; 中医肺癌络病说

1 肿瘤微环境理论有望阐明肺癌络病病机的现代生物学基础

作为现代血管依赖性疾病之一, 肺癌的抗血管生成的研究, 客观上要求对肿瘤微环境有深入的认识。肿瘤微环境理论认为, 细胞作为机体结构与功能的基本单位, 仍处于由细胞外基质 (ECM)、ECM 合成与降解酶类、细胞因子等组成的信息网络之中^[1]。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^[2]。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以及微环境的免疫抑制, 被认为是促进肿瘤生长与转移的重要前提条件之一。肺间质则由肺内结缔组织、血管、淋巴管和神经组成。间质中的巨噬细胞具有游走性, 通过分泌和吞噬功能, 发挥免疫防御作用。肺循环的动静脉系统直至肺泡隔内, 约 2800 亿条毛细血管形成了密集的毛细血管网络。肺癌细胞乃处于由肺间质、淋巴循环、细胞免疫及其分泌的各种细胞因子组成的信息调节网络之中, 是肺癌赖以生存与转移的重要条件。

肺癌络病与肿瘤微环境异常具有相对统一性。传统络病学说认为, “脉络—血管系统”可能是中医络脉、络病的重要物质基础^[3]。而现代络病学说则认为, 络脉系统作为脏腑气机、气化的基本功能与结构单位, 其结构载体不仅仅是目前所认识的“脉络—血管系统”, 还应深入到细胞、亚细胞, 蛋白质组, 基因组学等功能与结构单位^[4,5]。不仅应涵盖微循环、神经、体液、内分泌等结构系统, 还应包括细胞因子调节网络、神经—内分泌—免疫调节网络等更高层次的功能态网络系统。不少学者认为, 络脉络病病理机制是多种疑难病症形成

与发展的共同的病理特征与病理转归^[4,6-10]。因此, 肺癌“络病”不仅包括肿瘤血管系统本身的改变, 还应该深入到以血管生成为中心的, 促进/抵制血管生成因子失衡, 细胞外基质、淋巴系统, 尤其细胞免疫 (树突状细胞 DC、杀伤性 T 细胞) 系统所发生的一系列病理改善。

“邪盛谓之毒”^[6], 络毒蕴结, 则病势胶着缠绵, 常规治疗乏效, 预后不佳。瘀、痰、毒作为影响肺癌生长、转移最重要的病理因素, 在肺癌生长与转移中的作用与机制, 还远未得到阐释。因此, 与现代肿瘤微环境理论的最新成果相结合, 有望对阐明肺癌现代络病机制的生物学本质, 深化肺癌中医学病机认识, 揭示更为广泛的作用途径与治疗靶点, 进一步提高疗效, 指导临床用药, 具有重要理论与实践意义。

2 阐明肿瘤微环境细胞免疫抑制与肺癌虚证的内在联系

肿瘤新生血管形成, 被认为是促进肿瘤生长与转移的重要的前提条件^[2,11]。以肿瘤新生血管形成为核心的肿瘤微环境的改变, 形成肿瘤赖以生长与转移的重要条件。伴随新生血管的形成, 肿瘤及间质分泌的促血管生长因子——血管内皮生长因子 (VEGF)、TGF- β 等通过旁分泌或自分泌作用, 抑制细胞因子 (IL-12、IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF) 分泌, 抑制免疫细胞的增殖, 尤其是抑制了树突状细胞 (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, 免疫监视机制的失衡或无能, 实现肿瘤免疫逃逸。在促血管因子优势的微环境中, DC 的功能受损, IL-12 分泌水平下调, 最终促进肿瘤的生长与转移^[12]。因此, 肿瘤微环境中以新生血管形成为中心, 伴随细胞免疫功能的低下, 导致肿瘤免疫逃逸, 则是导致肿瘤生长与转移的又一重要因素。《灵枢·百病始生》谓: “是故虚邪之中人也, 始于皮肤, ……留而不去, 传舍于肠胃之外, 募原之间, 留著

于脉,稽留而不去,息而成积,或著孙脉,或著络脉。”清代王清任《医林改错》指出“元气既虚,必不能达于血管,血管无力,必停留瘀。”叶天士《临证指南医案》云:“极虚之处,便是留邪之所”,《外证医案》则明确提出“正气虚则成岩”。均强调了正气亏虚在肺癌发生与转移中的基础性作用。

我们通过对 40 例肺癌患者外周血 DC 与 T 细胞亚群检测发现,肺癌患者与健康人比较,CD3⁺ 细胞数量显著降低($P < 0.01$),CD4⁺/CD8⁺ 比值亦下降($P < 0.05$),免疫功能明显低下^[12]。Lewis 肺癌动物实验研究证实^[13],肿瘤组织微环境浸润 DC(TIDC) 的数量明显下降,与 VEGF 表达水平与 Lewis 肺癌的生长与转移具有一定的相关性,表明肿瘤存在着局部(微环境)“虚证”。在肿瘤疾病进展与转移过程中,伴随着全身虚证,同时肿瘤局部微环境中存在着免疫功能的低下,挑战了我们以往认为肿瘤系全身属虚、局部属实的传统观念。研究还发现,扶正培本联合解毒通络方与单纯解毒通络方比较,在调节 TIDC 数量,抑制 VEGF 表达,调节 DC 分泌 IL-12 水平,调节 DC 膜分子表达,诱导 DC 分化与成熟,促进体外 DC 与 T 细胞结合免疫突触(IS),促进 T 细胞增殖,增强 CTL、DC-LPAK 杀伤活性的形成方面,均显示出了明显的优势,与我们以扶正培本为主导的中医临床实践相吻合,表明肿瘤微环境中免疫抑制与肺癌“虚证”具有一致性。

“络虚”与“络毒”是肺癌发病机制的正、邪两个层面。然而正气亏虚是肺癌的发病学基础,现代中医临床扶正培本方药在抗复发与转移方面已显示出有效性,但在抗肿瘤免疫治疗肺癌复发与转移方面,其有效性尚有待进一步证实。因此,深入揭示微环境中免疫抑制与肺癌虚证的内在联系,阐明肿瘤微环境“虚证”的生物学基础,则可能更接近于对肺癌“络虚”的本质认识,对深化肺癌“虚证”病机、治则的研究有着重要意义。

3 肿瘤新生血管形成的络病机制研究有待深化

现代肿瘤细胞生物学研究表明,正常细胞(通常指一个干细胞)的癌变是由遗传损伤和表型改变驱动的,由启动、生长、促进、演变、播散以及侵袭与转移构成的级联(cascade)过程。包括多基因(癌基因、抑癌基因及 DNA 修复基因等)突变或缺失,细胞因子网络及神经-内分泌-免疫调节网络的失衡,肿瘤新生血管形成,免疫功能抑制等一系列极为复杂的病理改变。大多肿瘤的临床前时间,需要大约 8~20 年的时间,具有空间和时间上的时序性和逐进性^[14],符合中医“久病入络”病理特征。

当肿瘤直径达 2~3 mm 时,在促血管因子优势的微环境中,肿瘤新生血管形成,肿瘤得以迅速生长,并获得了恶性表型与转移特征。肿瘤新生血管具有结构

与功能的不成熟性,缺乏固定的周细胞,肿瘤血管扭曲,具有高度膨胀和渗透性,循环紊乱,造成肿瘤组织缺氧、流体静脉压(IFP)增高,一方面,由于缺氧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^[15-17]。这种促进/抑制血管生成因子的失衡,新生血管结构的高度异质性,流体静脉压(IFP)增高,微环境的酸碱失衡,客观上具备了“络毒”的致病特征^[18]。肿瘤细胞向周围组织的侵袭,以及突破血管壁实现血行转移,则以络脉损伤为前提。肿瘤血管形态和功能的改变,符合现代络病“络脉阻滞”、“络脉绌急”的基本病理改变。多项研究证据表明^[19-21],针对其“虚”、“滞”、“毒”、“损”的病机特征,采用扶正、解毒、通络、化瘀的综合应用,发挥其多靶点治疗优势,可能达到一定抑制肿瘤血管生成的作用。扶正培本、解毒通络治法方药靶向肿瘤血管可能的作用机制是:①通过驱除邪毒,减少毒邪对正常组织络脉(血管)的损伤,改善或促进正常组织功能;②扶正解毒通络治法方药可能通过驱除邪毒,减少毒邪对肿瘤络脉(血管)的刺激,调节促进/抑制血管生成因子平衡,抑制肿瘤新生血管形成。③扶正活血通络方药可直接疏通或修复肿瘤络脉(血管),使肿瘤血管发生正常化,抑制肿瘤转移,并通过促进细胞毒内药物与肿瘤组织的充分接触,提高放化疗疗效。④抑制骨髓干细胞向肿瘤血管内皮的分裂和迁移等。目前对中药复方更为深入的作用机制尚有待研究。

由于肿瘤形成与转移过程的复杂性,肺癌络病尚不能完整诠释肿瘤新生血管形成所发生的一系列细胞生物学变化过程。活血化瘀、解毒通络方药在促进全身血液循环、抑制血小板聚集的同时,也势必会扩张肿瘤血管,改善肿瘤组织的供血和供氧,可能促进肿瘤的生长和肿瘤的转移,并可能导致肿瘤组织的出血而危及生命。但也可能同时扩张或改善肿瘤周围正常组织供血,促进正常组织侧枝循环的建立,减少肿瘤血供,间接抑制肿瘤生长或转移。我们既往研究提示,以扶正培本为主导,与解毒通络法的合理配伍,较之单纯解毒通络法在抑制肿瘤血管生成方面具有一定优势。因此,肺癌络病学说如能完整地诠释肿瘤新生血管形成的生物学机制,对于揭示中医药抗血管生成机制,指导扶正培本、活血化瘀、解毒通络等治法的合理用药,具有重要的研究价值。

4 建立中医药抗肿瘤血管生成的临床疗效评价体系

目前中西医均缺乏公认的适用于抗肿瘤血管生成药物的临床疗效评价标准,中医药抗肿瘤血管生成的研究仍处于实验研究阶段,中医该领域的临床研究尚未见报道。因此,深化该领域基础研究,探索建立中医药抗肿瘤血管治疗的疗效评价标准与临床疗效评价体

系,显得尤为迫切。

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。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过程中进行探究。其中可采用多种影像学成像方法,如 CT、MRI、PET,尤其是 MRI 血管功能成像,作为一种无创方便的影像学技术,它可定量反映肿瘤微血管特征及与肿瘤血管生成相关功能的变化,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^[22-24]。目前采用 CT、MRI 评价肿瘤血管生成已显示出巨大的应用潜力。

5 结语

目前,抗肿瘤血管生成药物联合化疗显示出了一定优势,但单独使用疗效较差,表明肿瘤血管生成机制远未揭示肿瘤生长与转移的全部生物学内涵。在传统中医理论指导下,结合现代肿瘤微环境理论与现代肿瘤血管生成研究的最新成果,应用现代肿瘤影像学血管功能评价新技术,揭示肺癌络病机制,对于深化肺癌中医病机理论,建立合理的中医药抗血管生成疗效评价体系,开展中医药抗肿瘤血管生成基础与临床研究,具有一定理论与临床研究价值。

参考文献

- [1] Gullberg D, Ekblom P. Extracellular matrix and its receptors during development [J]. *Int J Dev Biol*, 1995, 39(5): 845-854.
- [2] Stuhler G, Walden P. Cancer Immune Therapy [M]. Beijing: The Chemistry And Industry Publishing House, 2004: 85-95.
- [3] 李岩, 赵燕, 黄启福, 等. 中医络病的现代认识[J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(3): 2.
- [4] 李岩, 赵燕, 黄启福, 等. 中医络病的现代认识[J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(3): 1-5.
- [5] 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): 86-89.
- [6] 王永炎. 关于提高脑血管疾病疗效难点的思考[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(2): 195-196.
- [7] 雷燕, 黄启福, 王永炎. 论瘀毒阻络是络病形成的病理基础[J]. 北京中医药大学学报, 1999, 22(2): 8-11.
- [8] 熊露, 田少霞, 范吉平, 等. 中医药治疗缺血性中风研究探讨[J]. 中医杂志, 2004, 45(1): 5-8.
- [9] 李岩, 赵燕, 黄启福, 等. 糖尿病肾病络病机制研究[J]. 中国

中医基础医学杂志, 2002, 8(3): 68-70.

- [10] 冯淬灵, 武维屏. 络病理论与慢性阻塞性肺疾病气道重塑[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(4): 75-76.
- [11] Yamaguchi Y, Tsumura H. Cotrasting effects of TGF-beta¹ and TNF-alpha on the development of dendritic cells from progenitors in mouse bone marrow [J]. *Stem Cells*, 1997, 15(2): 144-153.
- [12] 郑宏刚, 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): 525-527.
- [13] 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.
- [14] 孙燕, 汤钊猷译. UICC 临床肿瘤学手册[M]. 北京, 人民卫生出版社, 2006: 4-8.
- [15] Tong RT, Boucher Y, Kozin SV, et al. Vascular normalization by vacular endothelial growth factor receptor² blockade induces a pressure gradient across the vasculature and improves drug penetration in tumors [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11): 3731-3736.
- [16] Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. *Science*, 2005, 307(5706): 58-62.
- [17] Fukumura D, Jain RK. Tumor microvasculature and microenvironment: targets for anti-angiogenesis and normalization [J]. *Mircovasc Res*, 2007, 74(2/3): 72-84.
- [18] 熊露, 林洪生, 朴炳奎, 等. 调节 DC 抗原递呈功能: 中西医结合抗肿瘤治疗思路研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(8): 621-623.
- [19] 田菲, 贾英杰, 陈军, 等. 肺一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.
- [20] 高勇, 王杰军, 许青, 等. 人参皂甙 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.
- [21] 刘嘉湘, 丰红梅. 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(1): 190-192.
- [22] Preda A, Novikov V, Moglich M, et al. MRI monitoring of Avastin antigangiogenesis threrapy 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.
- [23] 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.
- [24] 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.

(收稿日期: 2009-02-12; 修回日期: 2009-05-26)

【编辑: 黄健】