

从中医阴阳观探究肿瘤表型辨识

孙磊涛¹, 余洁茹², 张乐吟¹, 张光霁², 沈敏鹤^{3*}

(1. 浙江中医药大学第一临床医学院, 浙江省杭州市滨江区滨文路 548 号, 310053; 2. 浙江中医药大学基础医学院; 3. 浙江中医药大学附属第一医院)

摘要 肿瘤表型是一种从微观角度认识肿瘤发生发展的重要研究手段。从中医阴阳观探讨肿瘤表型的概念, 阐述肿瘤表型的可分性、嵌套性、通用性, 并将其分为阴盛、阳衰两大类以及阴中之阳、阳中之阴两种特殊类型进行辨识, 认为肿瘤表型的阴阳失衡表现为肿瘤阴盛与机体阳衰的动态病理变化, 为阴阳观指导下的肿瘤“微观辨证”提供新思路。

关键词 恶性肿瘤; 肿瘤表型; 阴阳学说; 黄帝内经; 微观辨证

肿瘤功能表型是一种从微观角度认识肿瘤发生发展的重要研究手段, 但目前缺少中医学对其内在规律的辨识。阴阳观贯穿于中医理论体系的形成和发展之中, 是历代医家学术思想和诊疗实践的基石, 因此, 从中医阴阳观探讨肿瘤表型的概念、特性与辨识方法, 构建中医整体观与微观分子生物学的桥梁, 是肿瘤“微观辨证”的新思路。

1 肿瘤表型的更新、验证与未来

表型 (phenotype) 又称表现型, 对于具有特定基因型的生物个体而言, 是其处于一定环境条件下所表现出来的性状特征的总和, 显示了该生物的各种形态、生理特点。

肿瘤表型即肿瘤的功能表型, 是肿瘤的标志。肿瘤表型是由肿瘤基因型决定的, 必然遵循孟德尔遗传规律, 但在持续的演变过程中, 由于表观遗传的作用, 肿瘤进化产生了多种表型, 即环境选择物种。为了更好地解释肿瘤复杂性和异质性的原因, 麻省理工学院 Weinberg 在 2000 年即对人类肿瘤的多级发展过程所形成的六个生物功能进行了总结^[1], 认为它们构成了肿瘤的基本表型, 包括自给自足的生长信号、不敏感的抗生长信号、逃避凋亡、无限复制、持续血管新生以及组织侵袭转移。到了 2011 年, 其续作又对肿瘤表型进行了更新和补充, 并将基因突变、促瘤炎症、代谢异常和免疫

逃逸四个新特征列入肿瘤表型^[2]。然而该论著并没有囊括细胞重编程、肠道微生物等肿瘤新兴研究热点。随着细胞自噬^[3]、生物昼夜规律^[4]研究热潮的出现以及免疫治疗^[5-6]的日益成熟, 这些内容是否会续写肿瘤表型研究的历史并得到更深入的研究和新的诠释, 值得我们期待。

2 阴阳观与肿瘤表型的特性

中医阴阳观源于古代哲学, 是古人对宇宙万物两种相反相成性质的抽象概括, 属于宇宙对立统一及思维辩证法则的哲学范畴。《黄帝内经》是我国现存最早的医学典籍之一, 对中医阴阳观有着较为详尽的记载, 如《灵枢·阴阳系日月》曰“阴阳, 有名而无形”, 说明阴阳是指抽象的概念而不是具体物质。《素问·金匱真言论篇》曰“此皆阴阳表里、内外、雌雄相输应也, 故以应天之阴阳也”; 《素问·生气通天论篇》曰“生之本, 本于阴阳”, 突出了生命体系隶属于自然界的一部分, 生命本源亦在于阴阳, 显示着阴阳从哲学定义到医学概念的升华。

《素问·阴阳离合论篇》曰“阴阳者, 数之可十, 推之可百, 数之可千, 推之可万, 万之大, 不可胜数, 然其要一也。”肿瘤的表型特征亦符合阴阳观的一般规律, 即无限可分。随着肿瘤基础研究的深入, 肿瘤表型细化出更多更细致的标签, 如肿瘤十大经典表型之一的侵袭转移。肿瘤转移是个多阶段多系统的复杂过程, 当前的研究将其分为 5 个较为独立的步骤 (表型)^[7]: 1) 肿瘤细胞从癌

基金项目: 国家自然科学基金 (81573902); 浙江省中医药科技计划 (2015ZZ013)

* 通讯作者: shenminhe@zcmu.edu.cn, 13758186666

体组织向外浸润，即上皮间质转化（EMT）表型；2）肿瘤细胞穿过血管屏障，进入淋巴循环或血液循环；3）肿瘤细胞在区别于组织环境的循环系统中存活，即细胞干性（CS）表型；4）肿瘤细胞从血管渗出，归巢于待转移的靶器官；5）肿瘤细胞适应靶器官微环境，即间质-上皮转化（MET）表型。这就是肿瘤表型的第一个特性，可分性。

表型的可分性决定了不同肿瘤表型之间具有相关性，这种内在的紧密联系就是肿瘤表型的嵌套性，亦称交互作用（crosstalk），即“阴中有阳，阳中有阴”。此外，表型具有通用性，可以跨越疾病。《素问·阴阳离合论篇》曰“阴阳之变，其在人者，亦数之可数。”人体是一个不可分割的整体，肿瘤作为一个多系统多器官的复杂疾病，其功能表型与循环、免疫、神经内分泌表型等密不可分，因此，在肿瘤表型的研究上可以借鉴其他系统的基础表型研究，从阴阳观的角度以辩证法取象比类，分析归纳并指导实践。

3 用阴阳观辨识肿瘤表型

复杂繁琐的肿瘤表型因受到西医微观与中医宏观沟通的局限性，很难进行中医“微观辨证”^[8]。然而从“阴静阳躁”“阳杀阴藏”以及“阳化气，阴成形”的中医阴阳观不难看出，肿瘤久积，有形，属阴，其增生、侵袭、转移及易复的表型剽悍霸道，即肿瘤自身阳的功能增强，故肿瘤体阴而用阳，为阴盛。阳者“卫外而为固也”，阳气“一日而主外”，即机体、正气属阳。但“阳气者，烦劳则张”，其抵御、清除、杀伤癌毒的功能相对减弱，导致出现抗生长信号低下，凋亡、免疫、代谢异常的表型，故体阳而用不足，为阳衰。基于此，将肿瘤表型按其特征归属分为阴盛、阳衰两类进行辨识，并从中列出阴中之阳、阳中之阴两个特殊表型单独进行辨识（见图1）。

3.1 阴盛表型

恶性肿瘤最基本的表型是持久的细胞增殖能力^[9]。这种增殖的激活是肿瘤阴盛的首要表现，主要包括两种方式：1）肿瘤本身产生大量的生长因子；2）肿瘤通过信号传导刺激正常细胞并反馈各类生长因子。从增殖激活表型不难看出，肿瘤本身并没有阳的属性，而是通过增加细胞表面受体蛋白表达，激活下游通路对有限配体产生更高反应性，弱化增殖信号负反馈系统以及抑制抗增殖机制来保证高水平的增殖状态，即“用阳”，达到瘤体



图1 肿瘤表型阴阳辨识示意图

阴盛的目的，这解释了杨永等^[10]对癌毒本质阴阳归属的疑虑。

增殖激活是打开肿瘤无限复制表型的钥匙，与增殖不同的是，肿瘤通过克服DNA末端端粒的缩短现象形成无限复制，其途径为上调端粒表达或选择性重组端粒^[11]。尽管两种表型的机制大不相同，但都可以归结为肿瘤行使表型功能所产生的阴盛状态。

有学者认为，阴平阳秘是血管新生的最佳状态^[12]。与正常脉管系统的偶尔启动不同，肿瘤的血管产生开关总是开启。其机制包括炎症微环境，致癌基因Ras、Myc上调血管生成因子以及免疫诱导的协同调控等，最终产生补偿因子如血管内皮细胞生长因子A（VEGF-A）^[13]，形成血管新生表型。《素问·阴阳应象大论篇》曰“壮火之气衰，少火之气壮。”我们认为，生理状态下新生血管以“少火”的身份参与组织重构和伤口修复；而在恶性肿瘤当中，血管新生表型则为“壮火”，属病理之火，其实质是“阴火”。持续新生的血管为固定不移的肿瘤提供源源不断的能量输送和向外侵袭转移的路径，这也是肿瘤本体属阴，功能用阳的有力证据之一。

侵袭转移是目前表型辨识当中最后的阴盛表型。一方面，此表型的形成是前三种表型共同作用所产生的级联反应，多见于肿瘤晚期阶段；另一方面，当转移发生后，多属“阴盛极、阳微弱”，甚至可以辨为“亡阳”，即现代医学所谓的癌症晚期和终末期患者。研究发现，EMT广泛调节着肿瘤的侵袭转移，Snail、Slug、Twist、Zeb1/2等转录因子均参与EMT的过程。而EMT最具特征的改变是钙黏附蛋白E（E-cadherin）的缺失，表现为癌细

胞形状的改变和对细胞外基质黏附能力的减弱。更为惊人的是,此过程中,作为机体生理的间质细胞与癌细胞的侵袭竟是相互促进^[4]的关系(用阳)。当侵袭转移表型形成后,肿瘤也就完成了从瘤体局部阴盛到整个机体阴盛的转变。

3.2 阳衰表型

机体针对肿瘤增殖激活和无限复制表型的第一道防线是生理性的增殖抑制,涉及 RB、TP53 等抑癌基因。RB 负责传导胞外生长抑制信号,TP53 则接受胞内生长抑制信号,它们的异常是肿瘤躲避抗生长信号的主要方式。通过体外培养还可以发现,癌细胞具有抵抗接触抑制的能力,这与肿瘤回避机体抑制增殖的转化生长因子 β (TGF- β) 通路密切相关。《素问·生气通天论篇》曰“凡阴阳之要,阳密乃固。”两者的缺陷是机体属阳的防御功能下降的表现,即“阳不能密”。细胞周期进程失去守卫,进入“阳衰”状态,产生死亡抵抗表型。此外,机体抗生长信号的不敏感在一定程度上也促进了肿瘤增殖复制的阴盛表型,即“阳愈弱,阴愈盛”。

细胞凋亡是机体通过 Bcl-2 家族调控促凋亡和抗凋亡平衡状态的表型。触发细胞凋亡的条件很多,与肿瘤相关的有:1) 具备 DNA 损害感受器,通过 TP53 抑癌基因起效;2) 生长因子不充足,通过 Bim 诱导凋亡;3) 肿瘤高度活化信号,如 Myc 直接触发凋亡。凋亡信号的多样化使得携带肿瘤的机体进化出多种逃避凋亡的机制:1) TP53 功能缺陷;2) 提高生长因子或抗凋亡调控因子 Bcl-2、Bcl-xl 等的表达水平;3) 减弱外部配体诱导或降低促凋亡因子 Bax、Bim、Puma 等表达。自噬与凋亡非常相似,如 Beclin-1 蛋白作为凋亡调节蛋白家族成员也会触发自噬以及生长因子,通过 PI3K-AKT-mTOR 信号通路能阻止凋亡和自噬。在肿瘤初期,自噬发挥抑癌作用,到了后期,则保护癌细胞逃避放疗与化疗的杀伤作用,癌细胞进入可逆性休眠,躲避抗肿瘤药物,等待下一次激活生长。坏死则与前两者不同,它在裂解时向组织微环境释放促炎信号和生物活性调节因子如白细胞介素 1α (IL-1 α),刺激肿瘤细胞增殖及新生血管生成,促进阴盛表型。《黄帝内经》云“阳气者,精则养神,柔则养筋”,显而易见的是,在肿瘤当中“阳气”失去“精”“柔”的生理功能,不能抵御内外邪毒,原本机体清除异常细胞的凋亡、自噬和坏死程序均出现了改变,表现为清除功能的下降,这也是机体阳衰的具体表型之一。

正常细胞向肿瘤细胞转化的过程中往往伴随着能量代谢途径的重塑。《素问·生气通天论篇》曰“高粱之变,足生大丁”“营气不从,逆于肉理,乃生痈肿”,可以看出,一旦“高粱”“营气”这些机体摄取、转化、利用的营养物质出现异常,就会产生“大丁”“痈肿”等病理产物。这说明原本在生命进程中提供能量的葡萄糖等物质会发生变化产生非生理性的供能。为了适应肿瘤高耗能的阴盛表型,机体能量代谢重编程,营养物质更少为人体生理所利用,更多的是通过上调葡萄糖载体 (GLUT),尤其是 GLUT1 促进大量葡萄糖进入肿瘤胞质,为其供能^[5],因此,从整个机体角度来看,代谢异常也属于阳衰表型。

免疫系统是机体与肿瘤博弈的最后战场。机体对肿瘤的免疫抑制效应在很大程度上决定了癌细胞能否成功实现免疫逃逸。近年来肿瘤治疗的研究热点如程序性细胞死亡蛋白 1 (PD-1) 及其配体 PD-L1 抑制剂即是通过操纵免疫细胞的免疫检查点来抑制肿瘤。《素问·刺法论篇》曰“正气存内,邪不可干。”当机体阳衰表型发展到一定程度,便会出现免疫抑制的减弱,形成免疫逃逸表型。而免疫逃逸一旦出现,预示着肿瘤会发生较快的增殖复制和侵袭转移,进一步加快阳衰表型的进程,进入生命终末期。

3.3 阴中之阳、阳中之阴

基因突变和炎症反应是肿瘤发生发展过程中最为关键的两个因素,分别隶属于阴盛和阳衰表型,然而上述单纯的阴阳二分法并不能诠释两者的功能特征,故对其另行辨识。从图 1 可见,表型层面,肿瘤不是独阴无阳,机体亦非纯阳无阴,病理性的阴(盛)中之阳、阳(衰)中之阴恰好扮演了肿瘤阴盛和机体阳衰驱动者的角色。

基因组的不稳定性是人类癌细胞的固有特征,这种缺陷对肿瘤来说却是选择性优势,从根本上为其积累有利表型并加快了恶性进程。我们认为,基因突变是肿瘤阴盛的动力源,应辨为阴中之阳。“阴”限定了突变表型属于肿瘤体阴的本质,“阳”则将其无形、多变、起始、促进等特点与肿瘤固定有形的性质作出区别。并且这种“阴中之阳”的驱动性是肿瘤先天具备的,与其外在的“功能用阳”又完全不同。换句话说,肿瘤阴盛表型是被阴中之阳的基因突变表型所驱使的,即突变使癌细胞在过度生长的组织微环境中获得优势地位,多级肿瘤进程中的每个表型都可能被一个突变基因所触

发,这也就奠定了其促因表型的地位。

在肿瘤基础研究的早期,科学家发现,癌细胞能够引起机体的炎症反应,并认为这是机体清除肿瘤的积极手段。而当前越来越多的证据表明,这种机体产生的炎症会促进肿瘤的生成和演化,为肿瘤微环境提供生物活性因子如白细胞介素 6 (IL-6)、核因子 κ B (NF- κ B)、信号转导与转录活化因子 3 (STAT3) 等,并有助于维持癌细胞增殖复制,促进血管生成,产生侵袭转移等^[6-17]。“炎”性热属阳,炎症反应表型固然属于机体“阳”的功能之一。《素问·生气通天论篇》曰“阳气者,若天与日,失其所则折寿而不彰,故天运当以日光明。”从中可以看出机体与炎症的关系,譬如“天”与“日”,日当其位,则天运如常。而与其他阳衰表型相区别的是,一方面,机体的炎症反应并没有减弱;另一方面,炎症“失其所”,其形成的局部炎性微环境反而推动了肿瘤阴盛表型的出现,促进死亡抵抗、逃避凋亡、代谢异常等,即发生了向阴的转化,最终导致“折寿而不彰”,故将其辨为阳中之阴。并且这种驱动作用贯穿于整个肿瘤进程之中,癌症演化初期,炎症即可促其成熟,释放的活性氧簇协同癌基因使之成为恶性程度更高的肿瘤,因此,炎症反应与基因突变共同构成了肿瘤的促因表型。

4 肿瘤表型阴阳动态辨识

《素问·生气通天论篇》曰“阴平阳秘,精神乃治;阴阳离决,精气乃绝。”与正常机体生理的阴阳动态平衡相反,肿瘤表型的阴阳失衡表现为阴阳变化的逆行(见图2),属于肿瘤阴盛与机体阳衰的同步表型改变。在肿瘤基础表型当中,基因突变与炎症反应作为促因表型分别以阴中之阳和阳中之阴的角色担任阴盛和阳衰表型的先导。具体而言,突变产生了肿瘤增殖激活、无限复制及血管新生等,最终导致了肿瘤的形成和侵袭转移;而炎症推动着整个阳衰的进程,在炎性微环境的影响下,机体逐步或同时出现死亡抵抗、逃避凋亡、代谢异常等,进一步引起免疫系统对肿瘤识别、杀伤、清除的功能障碍表型。这种“阴外溢,阳不能守;阳内陷,阴不能使”的动态病理变化即肿瘤表型的本质。

5 肿瘤表型阴阳辨治的运用和展望

阴阳理论在恶性肿瘤病因病机、临床诊治中已有部分应用。如徐尚文等^[18]以肿瘤局部与全身整

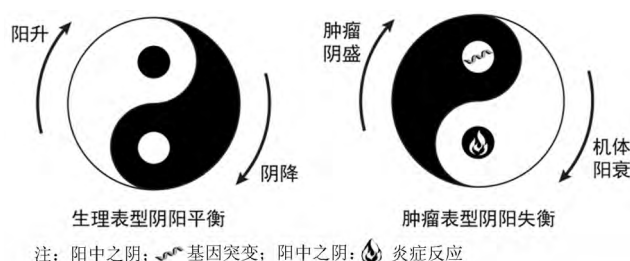


图2 肿瘤表型与正常生理动态辨识图

体进行阴阳辨证,认为阴阳失序是癌症形成的关键;卢燊等^[19]认为,在恶性肿瘤中阴阳辨证是纲领,调和阴阳是总则;刘传波等^[20]提出,以药物阴阳偏性纠正人体阴阳失衡,可预防肿瘤再发。我们认为,在临床和基础研究当中,通过阴阳辨识,利用已知表型阴阳分类推测未知的新兴肿瘤表型,利用已知表型阴阳属性探究未知的表型嵌套关系,以及利用动态的表型阴阳变化解释肿瘤微环境的机制不失为一种前瞻性策略。更为重要的是,这种肿瘤表型阴阳辨治的方法可能会成为中医临证遣方用药及中西医结合诊治恶性肿瘤的新路径。

参考文献

- [1] HANAHAN D, WEINBERG RA. The hallmarks of cancer [J]. Cell, 2000, 100(1): 57-70.
- [2] HANAHAN D, WEINBERG RA. Hallmarks of cancer: The next generation [J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [3] BAEK SH, KIM KI. Epigenetic control of autophagy: Nuclear events gain more attention [J]. Mol Cell, 2017, 65(5): 781-785.
- [4] SONG BJ, ROGULJA D. Snapshot: Circadian clock [J]. Cell, 2017, 171(6): 1468-1468.
- [5] TOPALIAN SL, TAUBE JM, ANDERS RA, et al. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2016, 16(5): 275-287.
- [6] THIERY JP, ACLOQUE H, HUANG RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease [J]. Cell, 2009, 139(5): 871-890.
- [7] BAO Y, CAO X. Epigenetic control of B cell development and B-cell-related immune disorders [J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2016, 50(3): 301-311.
- [8] 陈赐慧,花宝金. 肿瘤炎性微环境与中医阴阳动态平衡关系初探 [J]. 中医杂志, 2012, 53(19): 1626-1628, 1650.
- [9] WEINBERG RA. The Biology of Cancer [M]. second edition. New York: W. W. Norton & Company, 2013: 131-174.
- [10] 杨永,杨霖,于明薇,等. 癌毒阴阳辨 [J]. 中医杂

- 志, 2016, 57(17): 1522-1523.
- [1] ZENG S, XIANG T, PANDITA TK, et al. Telomere recombination requires the MUS81 endonuclease [J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(5): 616-623.
- [2] 周霞, 刘炬, 杨晓妮, 等. 从阴平阳秘角度探讨血管新生 [J]. 中医杂志, 2015, 56(20): 1716-1719.
- [3] ZHAO D, PAN C, SUN J, et al. VEGF drives cancer-initiating stem cells through VEGFR-2/Stat3 signaling to upregulate Myc and Sox2 [J]. Oncogene, 2015, 34(24): 3107-3119.
- [4] ERDOGAN B, WEBB DJ. Cancer-associated fibroblasts modulate growth factor signaling and extracellular matrix remodeling to regulate tumor metastasis [J]. Biochem Soc Trans, 2017, 45(1): 229-236.
- [5] DENG D, XU C, SUN P, et al. Crystal structure of the human glucose transporter GLUT1 [J]. Nature, 2014, 510(7503): 121-125.
- [6] ZHOU F, DRABSCH Y, DEKKER TJ, et al. Nuclear receptor NR4A1 promotes breast cancer invasion and metastasis by activating TGF- β signalling [J]. Nat Commun, 2014, 5: 3388. doi: 10.1038/ncomms4388.
- [7] LI TJ, JIANG YM, HU YF, et al. Interleukin-17-producing neutrophils link inflammatory stimuli to disease progression by promoting angiogenesis in gastric cancer [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(6): 1575-1585.
- [8] 徐尚文, 黄源鹏. 肿瘤病机阴阳辨 [J]. 中医杂志, 2015, 56(23): 1993-1995, 2001.
- [9] 卢燊, 薛娇, 张晓莹, 等. 从“阴阳”视角辨识恶性肿瘤 [J]. 中医杂志, 2018, 59(21): 1828-1831.
- [10] 刘传波, 周天, 胡凯文. 阴阳理论指导下恶性肿瘤治疗思路的探索 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(9): 3985-3987.

Primary Identification of Tumor Phenotype from Perspective of *Yin* and *Yang* in Traditional Chinese Medicine

SUN Leitao¹, YU Jieru², ZHANG Leyin¹, ZHANG Guangji², SHEN Minhe³

(1. The First Clinical Medical College of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, 310053; 2. College of Basic Medical Science, Zhejiang Chinese Medical University; 3. The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University)

ABSTRACT Tumor phenotype is an important research method to understand tumors from the microscopic perspective. This paper discussed the concept of tumor phenotype from the theory of *yin* and *yang* in traditional Chinese medicine (TCM), and expounded its indivisible, nested and universal characters, and classified it into two types of *yin* excessiveness and *yang* declining, and two special types of *yang* in the *yin* and *yin* in the *yang* for identification. It is believed that the imbalance of *yin* and *yang* in tumor phenotype is the dynamic phenotype change between *yin* sufficiency and *yang* deficiency. It provides a novel insight for “microscopic syndrome differentiation” of tumor guided by the theory of *yin* and *yang*.

Keywords malignant tumor; tumor phenotype; *yin* and *yang* theory; *Inner Canon of Yellow Emperor*; microscopic syndrome differentiation

(收稿日期: 2019-01-11; 修回日期: 2019-02-15)

编辑: 黄健

欢迎邮购《中医杂志》光盘合订本

1951—1986 年(4 张光盘) 480 元; 1987—1994 年(1 张光盘) 260 元; 1995—2004 年(1 张光盘) 280 元; 2005—2013 年(1 张光盘) 300 元。

光盘合订本为计算机用数据光盘, 收入了同期出版的全部《中医杂志》内容, 可对所有文章进行任意字检索, 方便实用。

汇款地址: 北京东直门内南小街 16 号中医杂志社, 邮政编码: 100700, 收款人: 杨秋雷

电话: (010) 64035632

网址: <http://www.jtcm.net.cn>