

• 综 述 •

以中药诱导肿瘤休眠作为肿瘤防治策略的探讨

王爱云², 樊贤超², 陆茵^{1*}, 张伟伟¹, 郑仕中¹

1. 南京中医药大学药学院, 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 江苏 南京 210029

2. 南京市第一医院, 江苏 南京 210006

摘 要: 肿瘤休眠中断引起的转移复发是肿瘤患者死亡的主要原因。肿瘤休眠是肿瘤细胞在宿主体内持续存在又没有明显生长的一种状态, 这种状态的打破最终引起肿瘤转移复发。肿瘤休眠使得在无法根除肿瘤细胞的情况下, 允许通过诱导其休眠防止肿瘤复发或通过靶定存活机制、耐药机制来诱导残留休眠细胞死亡; 休眠标志物的发现还有助于判断预后。因此肿瘤休眠研究日益受到重视。目前肿瘤休眠疗法在临床抗癌治疗中已获得明显的进展。中医药在肿瘤患者术后或放化疗后的无病阶段使用极为普遍, 中医药有可能通过诱导或维持肿瘤休眠状态, 从而防止肿瘤复发。

关键词: 中药; 肿瘤休眠; 肿瘤转移; 细胞休眠; 血管休眠; 免疫监视

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2011)03-0598-04

Discussion on inducing tumor dormancy by Chinese materia medica as a preventive and therapeutic strategy

WANG Ai-yun², FAN Xian-chao², LU Yin¹, ZHANG Wei-wei¹, ZHENG Shi-zhong¹

1. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Pharmaceutical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

2. Nanjing First Hospital, Nanjing 210006, China

Key words: Chinese materia medica; tumor dormancy; tumor metastasis; cellular dormancy; angiogenic dormancy; immunosurveillance

肿瘤休眠(tumor dormancy)是肿瘤细胞在宿主体内持续存在又没有明显生长的一种状态, 是癌症进程的一个阶段。一般认为肿瘤休眠以两种方式存在^[1]: ①单个肿瘤细胞脱离细胞周期, 停止增殖(G₀/G₁ arrest), 细胞增殖标识染色阴性; ②微小肿瘤细胞团的肿瘤细胞进入缓慢的增殖周期并与凋亡取得平衡。

1 肿瘤休眠的打破引起肿瘤转移复发

早期的转移模型认为, 肿瘤细胞的生长是一个不间断的过程, 一旦癌细胞扩散入血就将不可避免地形成远处转移并导致患者死亡。然而近年来研究表明, 在肿瘤转移过程中存在一些限制癌细胞生长速度的环节, 即肿瘤转移是一个低效的过程, 任何一个环节脱节都会导致癌细胞进入休眠状态^[2-3]。休

眠的肿瘤细胞可以在原发灶切除后很长一段时间不被机体杀死, 又没有明显的增殖和细胞群体数量的增加, 但仍具有活跃增殖分裂的能力, 可能在几年至几十年后, 再被激活, 开始增殖, 导致肿瘤的转移复发。

Eyles等^[4]证实, 肿瘤转移起源于早期播散的肿瘤细胞, 休眠的打破使肿瘤转移形成, 这就打破了经典的肿瘤转移多步骤过程的假说^[5]。因此肿瘤休眠的研究日益受到重视, 关于肿瘤休眠的文献逐年递增^[6]。目前的研究提出了肿瘤休眠的3种机制, 即细胞休眠(cellular dormancy)、血管休眠(angiogenic dormancy)和免疫监视(immunosurveillance)^[7]。

1.1 细胞休眠

细胞休眠是由于休眠肿瘤细胞退出细胞周期进

收稿日期: 2010-10-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(30772766); 江苏省自然科学基金项目(BK2010562, BK2010085); 江苏省教育厅重大专项(09KJA360002); 江苏省中医药局项目(LZ09022); 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室开放课题(P09013)

作者简介: 王爱云(1974—), 女, 江苏东海人, 博士, 助理研究员, 从事中医药抗肿瘤研究。Tel: (025)86798154 Fax: (025)86798188

E-mail: way9815@163.com

*通讯作者 陆茵 Tel: (025)86798154 Fax: (025)86798188 E-mail: luyingreen@126.com

入G₀期或开始分化所致。休眠的肿瘤细胞缺乏从微环境中转导生长信号的表面受体(如uPAR、 $\alpha 5\beta 1$ integrin、EGFR),导致产生应激信号(低FAK-Ras-ERK、高CDC42-p38活性),然后导致休眠^[8]。播散的肿瘤细胞CK(细胞角蛋白)阳性,uPAR、ErbB2低表达,休眠或增殖标记可能为阴性;如果uPAR和/或ErbB2再表达会使这些细胞脱离休眠^[9-10],导致肿瘤转移复发。

1.2 血管休眠

血管休眠表现为瘤块缺乏血供而持续维持原来的大小。当肿瘤块生长到一定尺寸,正常血管不能支持供血,它将高度依赖能够获得的营养和氧气,导致血管床感应低氧或缺氧状态,招募新生血管。肿瘤细胞对低氧反应的能力,促进了新血管生成并打断了血管休眠,被称为血管生成开关^[11-12]。血管生成因子[如血管内皮生长因子(VEGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)]和抗血管生成因子[血小板反应素(TSP)、内皮抑制素(endostatin)、血管抑制素(vasculostatin)、血管生成抑制因子(angiostatin)]之间的平衡控制这个开关^[13-14]。如果有增殖活性程序的肿瘤细胞群缺乏血管生成或低氧反应程序,瘤块可能会进入血管休眠阶段^[13]。维持血管休眠途径的遗传改变或外生血管植入能恢复肿瘤的生长,可导致肿瘤转移复发。致癌基因RAS能诱导活化VEGF和抑制TSP,而应激活化的激酶p38和肿瘤抑制基因p53能诱导TSP和抑制VEGF。P53和/或p38功能缺失会触发平衡转向促进血管生成的方向,导致肿瘤转移复发。

1.3 免疫监视

增殖的肿瘤细胞通过有效的免疫系统维持极低的数量^[15]。免疫系统能靶定并杀死大部分攻击的肿瘤细胞^[16],这些反应大部分是由细胞毒性CD₈⁺T淋巴细胞介导的^[16-17]。肿瘤免疫监控不仅能控制原发瘤的生长,还能阻止转移灶的扩增^[4]。免疫监控可以诱导播散的肿瘤细胞通过细胞因子信号进行的细胞周期阻滞产生单个细胞休眠^[5]。肿瘤细胞还通过下调特异性肿瘤相关抗原或通过表达诱导细胞毒性CD₈⁺T淋巴细胞凋亡的共刺激分子,打破肿瘤休眠来逃避免疫系统的控制,从而引起肿瘤转移复发。

尽管肿瘤休眠研究日益受到重视,科学家们已经对其机制开展了大量研究,但迄今为止,对于肿瘤休眠发生的机制仍未完全阐明。

2 诱导肿瘤休眠可以作为预防肿瘤转移复发的策略

癌症的致命之处就在于癌细胞具有向人体其他器官转移的能力,一旦癌细胞从其原发部位向其他部位扩散,治疗的希望就十分渺茫。由于肿瘤休眠中断是转移复发的关键机制^[18],而肿瘤转移是导致肿瘤患者死亡的主要原因^[19],因此肿瘤休眠的研究对肿瘤治疗具有重要意义,研究肿瘤细胞进入并维持休眠的机制可以成为肿瘤防治的新策略^[20]。

首先,在无法根除肿瘤细胞的情况下,可以通过诱导其休眠防止肿瘤复发。尽管人类经过上百年的努力,试图彻底攻克癌症这一顽症,但时至今日,发达国家癌症治愈率为45%~50%,发展中国家治愈率更低。在我国,癌症平均治愈率只有20%左右^[21]。如果能通过诱导肿瘤休眠来阻止肿瘤复发,不失为一种姑息疗法。

其次,可以通过靶定成活机制来诱导残留休眠细胞死亡,从而根除肿瘤细胞。休眠的肿瘤细胞形成了逃避免疫系统识别和消除的机制而幸存下来。如果明确细胞的成活机制,就可以针对相应的靶点进行干预,杀死成活的细胞。

再次,可以通过靶定耐药机制来诱导残留休眠细胞死亡,解决耐药相关的复发问题。研究显示,用绿色荧光蛋白标记对阿霉素耐药的乳腺癌细胞,显示出生长停滞^[22],可能是因为休眠状态的肿瘤细胞不分裂,因此对药物没有反应,从而造成了多药耐药^[23]。

此外,通过对肿瘤休眠的研究来发现肿瘤休眠的生物标记物,可以作为肿瘤预后的指标。Almog等^[24]发现了新的肿瘤休眠特异性生物标记物如H2BK、EphA5,这将有助于鉴定新的早期癌症生物标记,并为促进肿瘤休眠治疗策略的发展提供理论指导。

在不到10年的时间里,肿瘤休眠疗法(tumor dormancy therapy, TDT)在临床抗癌治疗中已取得明显的进展^[25-26]。目前应用的主要有低剂量连续化疗、抗血管生成疗法和免疫疗法。

3 中药诱导肿瘤休眠作为预防肿瘤转移复发策略的现状

转移行为是恶性肿瘤最本质的特性,防止肿瘤转移是降低肿瘤死亡率的重要途径之一。中医药有关肿瘤转移复发的机制大致可归属于中医的“病复”、“传舍”等理论范畴。在肿瘤切除或放化疗后,运用中药治疗也符合祖国医学提倡的“治未病”、“既病防变”思想。目前临床上抗肿瘤中药的应用也多

是在手术和放化疗之后进行的,也就是肿瘤休眠所处的“无病阶段(disease-free)”,很多患者在此期间长期服用中药,以避免肿瘤转移复发。中药有可能通过诱导或维持肿瘤休眠状态,从而防止肿瘤复发。中医通常认为,肿瘤之所以会出现转移复发,是由于“瘤毒未尽”、“有伏邪”,即使术后也会存在微小隐匿性转移灶,因此治疗上强调“截断传舍之势”。

对中药抗肿瘤作用机制的研究目前多集中于诱导细胞凋亡、细胞毒作用、调节细胞信号转导、逆转多药耐药、抑制端粒酶活性、对免疫功能的调节作用、对肿瘤血管生成的影响、对肿瘤侵袭和转移的影响等方面^[27-29]。而在肿瘤休眠疗法中,目前正在研究中的具体方法主要有抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡和抑制肿瘤血管生成。

包素珍等^[30]研究发现,十全大补汤方对小鼠 Lewis 肺癌有抑制作用,作用机制是通过影响 c-myc 的表达,从而影响细胞从 G₀/G₁ 期进入 S 期,有效地将细胞周期阻滞于 G₁ 期,诱导肿瘤细胞凋亡。Kim 等^[31]研究显示,十全大补汤还能通过调节拓扑异构酶-I 抑制肿瘤血管生成。李立等^[32]研究显示,半边旗提取物 5F 所诱导的 HepG2 细胞凋亡与 p53 及 Caspase 3 活化、VEGF 负调控有关。金璋等^[33]考察黄芪多糖对肿瘤患者细胞免疫功能的影响,发现治疗后患者 CD3⁺、CD4⁺、NK 淋巴细胞比例及 CD4⁺/CD8⁺ 值明显提高,可以明显改善 II-III 期非小细胞肺癌放疗患者的细胞免疫功能。

本课题组开展的初步研究结果^[34]也显示,十全大补汤具有抑制血管内皮细胞迁移和管腔结构形成的作用。采用 MTT 法、内皮细胞迁移和大鼠动脉环培养等方法检测十全大补汤对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的增殖、迁移和大鼠动脉环血管生成的影响。结果显示,十全大补汤各组与对照组比较,MTT 的平均吸光度值升高,迁移的细胞数目减少,管腔结构形成数目减少。因此,认为十全大补汤对内皮细胞迁移和管腔结构的形成均表现出抑制作用,也就是诱导了血管休眠,从而抑制肿瘤转移。

由此推测,中药可通过抑制肿瘤细胞增殖或诱导肿瘤细胞凋亡以及抑制肿瘤血管生成来诱导肿瘤休眠。但目前尚无人对中药诱导肿瘤休眠进行系统研究,也没有建立肿瘤休眠动物模型来考察中药对休眠肿瘤复发的影响。

4 展望

近年来,随着肿瘤治疗观念的转变,尤其是

2006 年世界卫生组织将肿瘤定为可控性疾病,认为肿瘤是一种慢性病的观念逐渐被人们接受。由于肿瘤诊断的复杂性和目前诊断水平的局限性,肿瘤患者确诊往往已是中晚期,丧失了治愈性治疗的最佳时机,因而采取姑息疗法,“带瘤生存”的观念已成为中西医肿瘤学界的一个广泛共识,客观上推动并反映了肿瘤治疗策略的转变,并从观念上摒弃了肿瘤的“过度治疗”,使无法治愈的肿瘤患者保持良好的生活质量,促进了肿瘤的合理化和人性化治疗。恶性肿瘤的姑息性治疗在多数肿瘤患者中都占有重要的地位,而且其内涵已远远突破了以往消极、被动、局限、滞后等特点,正成为恶性肿瘤治疗的重要组成部分。中医学的“扶正治疗”因其丰富的内涵和外延,无论是联合姑息性放化疗,还是在临终关怀中越来越显示出其广泛的应用前景,并且已经在恶性肿瘤的姑息治疗中占据了重要的地位^[35]。

而不断研究报道的中药对血管休眠的影响^[36],对肿瘤免疫的影响^[37],对细胞凋亡和增殖的影响^[38],以及临床上中药的广泛应用^[39],都为中药与肿瘤休眠的相关性研究提供了契机。近年来,随着生物技术的不断改进,影像学技术不断提高,从外周血或骨髓中富集肿瘤细胞等新技术的不断涌现,为研究中与肿瘤休眠的关系提供了更有效的工具。中药诱导肿瘤休眠的研究目前还处在起步阶段,但从中药中寻找诱导肿瘤休眠的药物应该是一项具有前景的工作。

参考文献

- [1] Fehm T, Mueller V, Marches R, *et al.* Tumor cell dormancy: implications for the biology and treatment of breast cancer [J]. *APMIS*, 2008, 116(7-8): 742-753.
- [2] Wittekind C, Neid M. Cancer invasion and metastasis [J]. *Oncology*, 2005, 69(Suppl 1): 14-16.
- [3] Ruiter D J, van Krieken J H, van Muijen G N, *et al.* Tumour metastasis: is tissue an issue? [J] *Lancet Oncol*, 2001, 2(2): 109-112.
- [4] Eyles J, Puaux A L, Wang X, *et al.* Tumor cells disseminate early, but immunosurveillance limits metastatic outgrowth, in a mouse model of melanoma [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(6): 2030-2039.
- [5] Röcken M. Early tumor dissemination, but late metastasis: insights into tumor dormancy [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(6): 1800-1803.
- [6] Allan A L, Vantyghem S A, Tuck A B, *et al.* Tumor dormancy and cancer stem cells: implications for the biology and treatment of breast cancer metastasis [J]. *Breast Dis*, 2006-2007;26: 87-98.
- [7] Aguirre-Ghiso J A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2007,

- 7(11): 834-846.
- [8] Aguirre-Ghiso J A, Ossowski L, Rosenbaum S K. Green fluorescent protein tagging of extracellular signal-regulated kinase and p38 pathways reveals novel dynamics of pathway activation during primary and metastatic growth [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(20): 7336-7345.
- [9] Aguirre-Ghiso J A, Liu D, Mignatti A, et al. Urokinase receptor and fibronectin regulate the ERK(MAPK) to p38(MAPK) activity ratios that determine carcinoma cell proliferation or dormancy *in vivo* [J]. *Mol Biol Cell*, 2001, 12(4): 863-879.
- [10] Cristofanilli M, Mendelsohn J. Circulating tumor cells in breast cancer: Advanced tools for "tailored" therapy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(46): 17073-17074.
- [11] Naumov G N, Akslen L A, Folkman J. Role of angiogenesis in human tumor dormancy: animal models of the angiogenic switch [J]. *Cell Cycle*, 2006, 5(16): 1779-1787.
- [12] Bergers G, Benjamin L E. Tumorigenesis and the angiogenic switch [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(6): 401-410.
- [13] Naumov G N, Bender E, Zurakowski D, et al. A Model of human tumor dormancy: an angiogenic switch from the nonangiogenic phenotype [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98: 316-325.
- [14] Semenza G L. Targeting HIF-1 for cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(10): 721-732.
- [15] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(4): 263-274.
- [16] Finn O J. Human tumor antigens, immunosurveillance, and cancer vaccines [J]. *Immunol Res*, 2006, 36(1-3): 73-82.
- [17] Farrar J D, Katz K H, Windsor J, et al. Cancer dormancy. VII. A regulatory role for CD8⁺ T cells and IFN- γ in establishing and maintaining the tumor-dormant state [J]. *J Immunol*, 1999, 162(5): 2842-2849.
- [18] Fehm T, Mueller V, Marches R, et al. Tumor cell dormancy: implications for the biology and treatment of breast cancer [J]. *APMIS*, 2008, 116(7-8): 742-753.
- [19] Steeg P S. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges [J]. *Nat Med*, 2006, 12 (8): 895-904.
- [20] Quesnel B. Dormant tumor cells as a therapeutic target [J]. *Cancer Lett*, 2008, 267(1): 10-17.
- [21] 张 丽, 张 华. 晚期癌症的中医姑息治疗 [J]. 徐州医学院学报, 2006, 26 (3): 282.
- [22] Naumov G N, Townson J L, MacDonald I C, et al. Ineffectiveness of doxorubicin treatment on solitary dormant mammary carcinoma cells or late-developing metastases [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2003, 82(3): 199-206.
- [23] Pantel K, Brakenhoff R H. Dissecting the metastatic cascade [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(6): 448-456.
- [24] Almog N, Ma L, Raychowdhury R, et al. Transcriptional switch of dormant tumors to fast-growing angiogenic phenotype [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 836-844.
- [25] Iguchi H, Uyama T, Kanazawa A, et al. A successful case of advanced nasal adenocarcinoma treated with tumor dormancy therapy with S-1 alone [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2008, 35(13): 2389-2391.
- [26] Tang Y, Wang M T, Chen Y, et al. Down regulation of vascular endothelial growth factor and induction of tumor dormancy by 15-lipoxygenase-2 in prostate cancer [J]. *Int J Cancer*, 2008, 124(7): 1545-1551.
- [27] 刘华钢, 刘丽敏, 黄慧学, 等. 抗肿瘤中药动物模型及机制研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(7): 1334-1337.
- [28] 赵 峰, 刘培勋. 中药抗肿瘤及其转移机制研究进展 [J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 21(2): 178-181.
- [29] 钱文慧, 陆 茵, 陈 磊, 等. 血小板活化介导的肿瘤转移及丹参治疗的前景展望 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 311-314.
- [30] 包素珍, 郑小伟, 孙在典, 等. 从干预 C-myc 基因的表达探讨十全大补汤对 Lewis 肺癌转移的影响 [J]. 中国中医急症, 2006, 15(6): 637-639.
- [31] Kim S H, Lee T H, Yang D C, et al. Shiquandabutang-jia weibang inhibits tumor metastasis and angiogenesis via regulation of topoisomerase-1 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 98(1-2): 157-162.
- [32] 李 立, 吕应年, 刘 义, 等. 半边旗提取物 5F 诱导 HepG2 细胞凋亡与 p53 活化及血管内皮生长因子抑制有关 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 241-245.
- [33] 金 璋, 沈 洁. 注射用黄芪多糖对 II-III 期非小细胞肺癌放疗患者免疫功能的影响 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 611-612.
- [34] 邵 明, 张伟伟, 吴家明, 等. 十全大补汤对体外血管生成的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(2): 101-103.
- [35] 李万辉. 中医扶正疗法在恶性肿瘤姑息治疗中的地位 [J]. 北京中医药, 2008, 27(2): 112-114.
- [36] Pang X, Yi Z, Zhang J, et al. Celastrol suppresses angiogenesis-mediated tumor growth through inhibition of AKT/mammalian target of rapamycin pathway [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(5): 1951-1959.
- [37] Zhang J, Tang Q, Zhou C, et al. GLIS, a bioactive proteoglycan fraction from *Ganoderma lucidum*, displays anti-tumour activity by increasing both humoral and cellular immune response [J]. *Life Sci*, 2010, 87(19-22): 628-37.
- [38] Yang Z, Li C, Wang X, et al. Dauricine induces apoptosis, inhibits proliferation and invasion through inhibiting NF-kappaB signaling pathway in colon cancer cells [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 225(1): 266-275.
- [39] Engdal S, Steinsbekk A, Klepp O, et al. Herbal use among cancer patients during palliative or curative chemotherapy treatment in Norway [J]. *Support Care Cancer*, 2008, 16(7): 763-769.