

# Traditional Chinese Medicine Regulates Immune Microenvironment and Delays the Recurrence and Metastasis of Hepatocellular Carcinoma\*

Hanchen Xu<sup>1,2</sup>, Haiyan Song<sup>1,2</sup>, Jinkun Yang<sup>3</sup>, Guang Ji<sup>1,2#</sup>

<sup>1</sup>Institute of Digestive Disease, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

<sup>2</sup>Department of Gastroenterology, Longhua Hospital, University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

<sup>3</sup>Department of Oncology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

Email: #jiliver@vip.sina.com

Received Apr. 15<sup>th</sup>, 2013; revised Apr. 18<sup>th</sup>, 2013; accepted May 6<sup>th</sup>, 2013

Copyright © 2013 Hanchen Xu et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Abstract:** Hepatocellular carcinoma is one of the most common malignant tumor in clinical. Surgery, interventional therapy and stereotactic conformal radiotherapy in recent years all have good short-term curative effects, but cannot solve the problem of recurrence and metastasis of hepatocellular carcinoma. Traditional Chinese medicine has become the principal means of adjuvant treatment of cancer, which effectively improves the symptoms of cancer patients, prolongs the survival time, improves the life quality and delays the recurrence and metastasis. In this article, on the basis of outlining the relationship between the recurrence and metastasis of hepatocellular carcinoma and the immunological function, we summarize the current situation of traditional Chinese medicine regulating immune microenvironment and delaying the recurrence and metastasis of hepatocellular carcinoma in recent five years.

**Keywords:** Hepatocellular Carcinoma; Immune Microenvironment; Recurrence and Metastasis

## 中医药调节免疫微环境延缓肝癌复发转移\*

徐汉辰<sup>1,2</sup>, 宋海燕<sup>1,2</sup>, 杨金坤<sup>3</sup>, 季光<sup>1,2#</sup>

<sup>1</sup>上海中医药大学脾胃病研究所, 上海

<sup>2</sup>上海中医药大学附属龙华医院消化内科, 上海

<sup>3</sup>上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科, 上海

Email: #jiliver@vip.sina.com

收稿日期: 2013年4月15日; 修回日期: 2013年4月18日; 录用日期: 2013年5月6日

**摘要:** 肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 手术、介入治疗及近年开展的立体定向适形放射治疗等均有良好的近期疗效, 但都不能解决肝癌的复发和转移问题。中医药已经成为肿瘤辅助治疗的主要手段, 有效地改善了肿瘤患者的症状、延长生存期、提高生活质量、延缓复发和转移。本文在简述肝癌的复发转移与机体免疫功能的关系基础上, 总结近五年中医药调节免疫微环境延缓肝癌复发转移的研究现状。

**关键词:** 肝癌; 免疫微环境; 复发和转移

### 1. 引言

原发性肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 全

\*基金资助: 国家自然科学基金(81202667); 上海市教委重点学科(J50305)。

#通讯作者。

世界每年新发肝癌患者约六十万, 居恶性肿瘤的第五位, 目前我国发病人数占全球肝癌病人的55%, 已经成为严重威胁我国人民健康和生命的一大杀手, 其危险性不容小视<sup>[1]</sup>。当前肝癌临床治疗仍以手术为主,

结合放疗、生物治疗、局部治疗、靶向治疗等方法综合治疗<sup>[2]</sup>。但所有的疗法，均无法避免治疗后转移复发这个问题。资料表明，手术后半年复发率为 30.9%，1 年复发率为 36.2%<sup>[3]</sup>。近年来的研究表明，机体免疫微环境紊乱与肝癌的复发转移关系密切。中医药具有调节肿瘤患者机体免疫的优势，通过改善免疫微环境延缓肝癌患者的复发和转移成为近期研究的热点，并取得一定进展。

## 2. 中医学对肝癌发病的理论认识

肝癌属祖国医学“癥瘕”、“积聚”、“臃胀”、“黄疸”、“胁痛”、“肝积”、“肥气”、“胆胀”、“痞满”、“岩”等范畴，历代医家对其临床症状及病因病机有所论述。《灵枢·邪气脏腑病形篇》记载：“肝脉微急为肥气，在胁下，若覆杯”；《圣济总录》中提到“积气在腹中，久不瘥，牢固推之不移者也，饮食不节，致脏腑气虚弱，饮食不消，按之其状如杯盘牢结，久不已，令人身瘦而腹大，至死不消”；《诸病源候论·积聚病诸候》认为：“积聚者，由阴阳不和，脏腑虚弱，受于风邪，搏于脏腑之气所为也”，《中脏经·积聚癥瘕杂虫》中载：“积聚癥瘕杂虫者，皆五脏六腑真气失而邪气并，遂乃生焉”，这些论述表明了古代中医认识到了肝癌是由于脏腑虚弱，受之外邪而成。虽然现代医家对肝癌的病因病机有很多不同看法，但归其基本病机不外于本虚标实，本虚主要是正气亏虚，脏腑失调，标实是指气滞、血瘀、痰凝、水湿、湿热、热毒诸症。刘嘉湘教授<sup>[4]</sup>，认为，该病主要因肝郁气滞，久而化火生毒致瘀，气瘀毒互结而成；曹继刚等<sup>[5]</sup>提出“脏虚络痹”为肝癌基本病机，认为肝癌脏腑定位在肝脾，其基本病机不外虚实两端，脏虚络痹是其基本病机，肝脾失调是肝癌发生发展的根本原因，络痹是肝癌发生发展的重要因素；但是恶性肿瘤的发生、发展、转归及预后有其别于他病的特殊规律，仅仅用传统的气虚、气滞、血瘀、热毒、痰浊等，难以反映肿瘤的特点。因此现代医家结合现代科技对肿瘤的认识，发展和完善了“癌毒”理论<sup>[6]</sup>。所谓“癌毒”是恶性肿瘤发生发展、浸润转移的最根本因素，既是传统痰、湿、瘀是肝癌发生发展的病理产物，又是恶性肿瘤发生发展、浸润转移的最根本因素。凌昌全<sup>[7]</sup>认为“癌毒”是有形之邪，是已经形成和不断新生的癌细胞，或以癌细胞为主体形成的积块。贾小强等<sup>[8]</sup>认为癌毒为阴

毒，其性深伏，为病缠绵，癌毒为实邪，但非外邪，是由内而生的特殊之毒，不同于一般意义上的毒邪，其病理特性体现在强侵袭性、快进展性、重耗散性、易转移性、高致命性，而肿瘤转移则是癌毒传舍的过程，邪毒互结是肿瘤转移的必要条件。

## 3. 免疫微环境与肝癌的复发转移

现代医学认为，免疫功能下降，机体不能识别和清除突变细胞，继而突变细胞逐步获得癌细胞的功能，并不断增殖，形成肿瘤。而肿瘤的产生，又进一步抑制了机体的免疫功能，使病情向更深一步的发展。顾健人<sup>[9]</sup>认为肿瘤是一种以局部组织细胞异常生长为特征的全身系统性疾病，其形成和复发转移是机体神经、内分泌、免疫调控发生缺陷或错乱的结果。机体神经、内分泌、免疫等系统的失调或调控异常是导致肿瘤复发转移的重要因素。大量的免疫学研究证明<sup>[10]</sup>，肿瘤一旦在机体内发生发展，机体的免疫系统可能通过多种途径参与肿瘤的免疫效应，包括细胞免疫应答和体液免疫应答。机体内具有抗肿瘤、抗病毒、发挥免疫监督功能的 3 种细胞。第一道防线是自然杀伤细胞(NK 细胞)，其次，由巨噬细胞非特异性的吞噬消除突变细胞，第三是 T 淋巴细胞的特异作用。以上 3 道防线细胞相互配合，完成抗肿瘤作用。而研究发现，肿瘤细胞在与机体免疫系统相互作用的过程中，不仅会不断发生突变，产生新的变种的肿瘤细胞来逃避机体免疫的攻击，还会获得对免疫监视的抗性，甚至是对机体抗肿瘤免疫反应的抑制能力，从而不受限制地快速扩增，以至最后发生临床可见的肿瘤。大量临床证据显示：临床肿瘤组织处于免疫抑制环境，浸润的免疫效应细胞表现为不同程度的免疫功能低下，甚至是严重缺陷。肿瘤细胞几乎可以利用免疫系统自身的所有负调控机制，建立起肿瘤微环境的免疫抑制网络<sup>[11]</sup>。肿瘤微环境免疫状态的紊乱，从而加速了肿瘤的复发和转移。因此可见肝癌的发生、扩散、转移和预后与宿主免疫状态密切相关，对于延缓肿瘤的复发和转移，除了现有的手段，更应该注重对免疫微环境的调节。

## 4. 中医药对免疫微环境的调节

### 4.1. 提高 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>效应细胞表达

一般认为 CD8<sup>+</sup>T 细胞在杀伤肿瘤细胞中起主要

作用, 它可识别由自身 MHC.I 呈递的自身抗原, 而以此种方式呈递的外源性抗原将被清除<sup>[12]</sup>。而 CD4<sup>+</sup>T 细胞在肿瘤免疫中起重要的辅助作用, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值可直接反应出机体的细胞免疫功能状态。白广德<sup>[13,14]</sup>等研究发现中药抗癌方与自拟益肝方均可以明显提高原发性中晚期肝癌患者的免疫功能及生存质量, 表现为 T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 均有明显提高, 其与西医联合治疗后的复发转移率明显低于单纯西医治疗方法。黄智芬等<sup>[15]</sup>应用健脾消积口服液配合西药治疗期晚期肝癌 40 例, 显示健脾消积口服液具有良好的免疫调节作用, 尤其以改善 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 为明显, 结果表明, 健脾消积口服液延缓肝癌患者的复发转移, 并有稳定瘤体作用, 有效地控制病情。

#### 4.2. 对细胞因子 TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 的免疫调节作用

细胞免疫在体内抗肿瘤免疫的发生过程中起重要作用, 而细胞因子作为细胞免疫的主导, 参与疾病的发展过程, 主要的细胞因子包括白细胞介素(IL)、肿瘤坏死因子(TNF)、转化生长因子(TGF)、干扰素(INF- $\gamma$ )等。TNF 具有直接杀伤肿瘤细胞的能力, 有研究者分离部分 HCC 患者肿瘤浸润细胞进行多因素分析发现: TNF 基因高表达是 HCC 患者生存期的独立因素, 即肿瘤微环境中高水平 TNF 患者带瘤存活期更长<sup>[16]</sup>。Lei Liu 等<sup>[17]</sup>运用丹参提取物对肝癌荷瘤小鼠进行其抗肿瘤机制的研究, 结果表明丹参提取物可以抑制 H-22 肝癌细胞的增殖是通过刺激 TNF- $\alpha$  的分泌来实现的。X.-N. Wang 等<sup>[18]</sup>研究发现小檗碱和吴茱萸碱能够抑制人肝癌细胞 SMMC-7721 的增殖, 其抑制人肝癌细胞 SMMC-7721 的增殖来延缓转移的机制是通过刺激 TNF- $\alpha$  的分泌实现的。Guo-Ping Sun 等<sup>[19]</sup>研究芍药苷对肝癌小鼠细胞凋亡及免疫微环境的作用时发现, 芍药苷导致肝癌小鼠肿瘤细胞凋亡是刺激了其免疫微环境中 IL-2、TNF- $\alpha$  的分泌。INF- $\gamma$  作为一种重要免疫效应因子, 是一种多功能细胞因子, 在机体的抗感染、抗肿瘤免疫反应中发挥重要作用。作为一种重要免疫效应因子, 其主要表现为抑制肿瘤的生长<sup>[20]</sup>。Xia Ding 等<sup>[21]</sup>研究龙葵提取物的抗肿瘤作用时发现其可以明显增强 H22 荷瘤小鼠血清中 IL-2、INF- $\gamma$  的分泌, 来达到抑制肿瘤生长的作用来延缓肝癌细胞

的转移。Huisheng Li 等<sup>[22]</sup>将乌头中提取的多糖应用于 H22 荷瘤小鼠的治疗中, 发现乌头多糖可以有效的延缓小鼠肝癌细胞的转移并延长了小鼠的生存期, 并发现乌头多糖可以刺激细胞因子的分泌, 如 IL-2, TNF- $\alpha$  和 INF- $\gamma$ , 因此, 乌头多糖的延缓肝癌细胞转移和延长生存期的作用可能是通过增强了 IL-2, TNF- $\alpha$  和 INF- $\gamma$  的分泌来实现的。

#### 4.3. 降低 Treg 细胞免疫抑制

肝癌患者的外周血淋巴细胞和肿瘤浸润淋巴细胞中调节性 T 细胞增高, 通过不同机理调节性 T 细胞可以抑制一系列免疫反应, 最后可以促使 HCC 肿瘤细胞免疫耐受、逃逸机体免疫系统的打击。与正常人相比较, 肝癌患者的肿瘤组织和外周血的 Treg 细胞显著增高。在肿瘤微环境中, IL-10 和 TGF- $\beta$  被高表达, 而 INF- $\gamma$  低表达。Treg 细胞显著抑制了 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞的增殖和功能, 而研究表明, 肿瘤微环境中 Treg 细胞的功能增加和肝癌 TNM 分期是相关的<sup>[23]</sup>。肿瘤局部微环境中聚集的 Treg 细胞是微环境免疫抑制网络形成的重要机制之一。有学者对肝癌患者进行临床多因素研究发现, 调节性 T 细胞比例增高是肝癌患者预后差独立危险因素<sup>[24]</sup>。Qiang Li 等<sup>[25]</sup>研究黄芪多糖对肝癌患者免疫微环境中 Treg 细胞的作用并明确其作用机制, 选取了 31 例肝癌患者的组织样本, 并选择 CD4、CD25、CD127 作为 Treg 细胞的标记, 分析了 FoxP3 mRNA 的表达情况以及检测了细胞因子如 IL-4、IL-10、INF- $\gamma$  和 SDF-1 的分泌。结果表明, 黄芪多糖可以显著抑制 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞的增殖, 其作用机制是通过 CXCR4/CXCL12 路径来切断 SDF-1 及其受体。

#### 4.4. 对肝癌转移复发相关基因/蛋白表达的影响

肝癌的发生发展与基因蛋白的累积性改变密切相关, 所以对基因蛋白的调控可以很好地抑制肿瘤细胞的增殖和迁移。Yun Lu 等<sup>[26]</sup>研究薏苡仁注射液对肝癌细胞的作用时发现, 其诱导肝癌细胞凋亡是通过调节半胱天冬酶-8 的表达来实现的。Zhixiang Cheng 等<sup>[27]</sup>对汉防己碱的抗肿瘤作用进行蛋白质分析时, 发现其可以通过调节磷酸甘油酸变位酶(PGAM1)的表达来抑制肝癌细胞的增殖和迁移。左金丸由中药黄连和吴茱萸组成, De-Cheng Chao 等<sup>[28]</sup>在研究左金丸有效

成分(小檗碱和吴茱萸碱)对肝癌细胞的抑制作用时发现,其主要是切断激活蛋白 1(AP-1)及核转录因子 kb 来实现的。

#### 4.5. 提高固有免疫 NK 细胞及巨噬细胞的作用

固有免疫是生物体在长期种系进化过程中形成的一系列防御机制,可对侵入病原体产生非特异性免疫应答,其中 NK 细胞就是具有多种免疫学功能的淋巴样细胞。NK 细胞是在肿瘤早期发挥作用的效应细胞,不需要预先接触抗原,无 MHC 限制性,不依赖抗体或补体即可直接杀伤 MHC I 类分子表达低下或缺如的肿瘤细胞,被称为抵抗肿瘤生长的第一道防线,其还可以释放细胞因子活化和调节其他效应细胞间接发挥抗肿瘤作用<sup>[29]</sup>。刘彦平等<sup>[30]</sup>研究发现,枸杞多糖能够促进自然杀伤细胞的活性,因此增强荷瘤鼠的免疫微环境中 NK 细胞的活性并对免疫逃逸有一定的干预可能是枸杞多糖抑制肝癌复发转移的效应机制。巨噬细胞在免疫应答起始阶段是抗原提呈细胞,将抗原提呈给 T 细胞,但在免疫效应阶段其又可以分泌肿瘤生长抑制因子来抑制肿瘤增殖。廉晓红等<sup>[31]</sup>发现香茅草提取物口服液对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力和对自然杀伤细胞的活性均有比较明显的提高,发挥了逆转肿瘤细胞免疫逃逸从而抑制肿瘤转移的作用。山广志等<sup>[32]</sup>应用补阳还五汤治疗肝癌术后患者 35 例,发现补阳还五汤通过增强单核巨噬细胞系统吞噬功能,发挥对肿瘤细胞的抑杀效应,干预了肿瘤细胞的免疫逃逸,五年生存率达 85.71%,减少了肝癌的复发。

#### 5. 小结

中医药可以调节免疫微环境来延缓肝癌的复发转移。肝癌的高复发转移率是影响肝癌预后的最主要原因之一,因此延缓肝癌的复发转移就成为了当务之急。肝癌患者的免疫微环境的紊乱越来越受到人们的重视,而中医药作为我国的传统医学,拥有其独特的辩证论治体系,中医药已经不局限于干预细胞本身而将研究重点置于免疫微环境中,从而更好地达到延缓肝癌复发转移的作用。在今后的研究中,应加强前瞻性、大样本的队列设计研究,提供中医药调节免疫微环境抑制肝癌复发转移的临床证据,同时加强对有效药物(复方、单味药、组分药物和成分药物)深入的机

理研究,提高中医药在肝癌复发和转移治疗领域的研究水平。

#### 参考文献 (References)

- [1] 陆再英,钟南山. 内科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:457-462.
- [2] 郭武华,张吉翔. 肝癌综合治疗的现状[J]. 世界华人消化杂志,2008,16:2199-2203.
- [3] 卢欣,赵海涛,毛一雷等. 肝细胞肝癌患者术后早期复发情况[J]. 中国医学科学院学报,2008,30(4):415-419.
- [4] 李朝军. 刘嘉湘教授治疗肝癌经验[J]. 山西中医杂志,2009,25(12):9-10.
- [5] 曹继刚,邱幸凡,陈月雀等. 原发性肝癌的基本病机及治则探讨[J]. 中医学报,2008,36(4):28-29.
- [6] 黄学武,代兴斌. 癌毒诊治探讨[J]. 新中医,2008,40:6-7.
- [7] 张金峰. 凌昌全癌毒学说运用经验[J]. 中医杂志,2008,49(8):693.
- [8] 贾小强,黄乃健,邱辉忠. 恶性肿瘤转移的中医病机研究思路 and 策略[J]. 中医药临床杂志,2005,17(1):60-61.
- [9] 顾健人,杨胜利. 要用系统性疾病的观念重新认识癌症[J]. 中华医学杂志,2005,85:505-507.
- [10] 何维. 医学免疫学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:348.
- [11] D. Gabrilovich. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. Annual Review of Immunology, 2007, 25: 267-296.
- [12] R. M. Hershberg, L. F. Mayer. Antigen processing and presentation by intestinal epithelial cells-polarity and complexity. Immunology Today, 2000, 21(3): 123-128.
- [13] 白广德,练祖平,黄丁平等. 中西医结合防治中晚期肝癌复发转移的临床研究[J]. 吉林中医药杂志,2010,30(8):674-675.
- [14] 白广德,练祖平,黄丁平等. 自拟益肝方配合西医治疗中晚期肝癌 30 例[J]. 陕西中医,2008,29(1):16-19.
- [15] 黄智芬,黎汉忠,施智严. 健脾消积口服液结合西药治疗晚期肝癌 40 例的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志,2003,23(3):192-194.
- [16] V. Chew, C. Tow, M. Teo, et al. Inflammatory tumour microenvironment is associated with superior survival in hepatocellular carcinoma patients. Journal of Hepatology, 2010, 52(3): 370-379.
- [17] L. Liu, J. Jia, G. Zeng, et al. Studies on immunoregulatory and anti-tumor activities of a polysaccharide from salvia miltiorrhiza Bunge. Carbohydrate Polymers, 2013, 92: 479-483.
- [18] X.-N. Wang, X. Han, L.-N. Xu, et al. Enhancement of apoptosis of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells through synergy of berberine and evodiamine. Phytomedicine, 2008, 15(12): 1062-1068.
- [19] G.-P. Sun, H. Wang, S.-P. Xu, et al. Anti-tumor effects of paeonol in a HepA-hepatoma bearing mouse model via induction of tumor cell apoptosis and stimulation of IL-2 and TNF- $\alpha$  production. European Journal of Pharmacology, 2008, 584: 246-252.
- [20] G. Dranoff, R. C. Mulligan. Gene transfer as cancer therapy. Advances in Immunology, 1995, 58: 417-454.
- [21] X. Ding, F. S. Zhu, S. G. Gao, et al. Purification, antitumor and immunomodulatory activity of water-extractable and alkali-extractable polysaccharides from *Solanum nigrum* L. Food Chemistry, 2012, 131(2): 677-684.
- [22] H. Li, M. Sun, J. Xu, et al. Immunological response in H22 transplanted mice undergoing Aconitum coreanum polysaccharide treatment. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 55: 295-300.
- [23] X. H. Shen, N. Li, H. Li, et al. Increased prevalence of regula-

- tory T cells in the tumor microenvironment and its correlation with TNM stage of hepatocellular carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2010, 136(11): 1745-1754.
- [24] N. Kobayashi, N. Hiraoka, W. Yamagami, et al. FOXP3 + regulatory T cells affect the development and progression of hepatocarcinogenesis. *Clinical Cancer Research*, 2007, 13(3): 902-911.
- [25] Q. Li, J.-M. Bao, X.-L. Li, et al. Inhibiting effect of Astragalus polysaccharides on the functions of CD4<sup>+</sup> CD25 high Treg cells in the tumor microenvironment of human hepatocellular carcinoma. *Chinese Medical Journal* 2012; 125(5): 786-793.
- [26] Y. Lu, B.-Y. Zhang, Z.-X. Jia, et al. Hepatocellular carcinoma HepG2 cell apoptosis and caspase-8 and Bcl-2 expression induced by injectable seed extract of *Coix lacryma-jobi*. *Hepato-biliary & Pancreatic Diseases International*, 2011, 3(10): 303-307.
- [27] Z. X. Cheng, K. M. Wang, J. Wei, et al. Proteomic analysis of anti-tumor effects by tetrandrine treatment in HepG2 cells. *Phytomedicine*, 2010, 17(13): 1000-1005.
- [28] D.-C. Chao, L.-J. Lin, S.-T. Kao, et al. Inhibitory effects of Zuo-Jin-Wan and its alkaloidal ingredients on activator protein 1, nuclear factor- $\kappa$ B, and cellular transformation in HepG2 cells. *Fitoterapia*, 2011, 82(4): 696-703.
- [29] 汤钊茜. 现代肿瘤学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2011: 288.
- [30] 刘彦平, 李积东. 枸杞多糖对小鼠 NK 细胞和白细胞活性的免疫调节作用[J]. 青海医学院学报, 2001, 22(1): 1-2.
- [31] 廉晓红, 李德山, 窦玉琴等. 香茅草提取物的免疫调节作用与肿瘤抑制作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(4): 295-297.
- [32] 山广志, 凌仕良. 应用补阳还五汤维持治疗肝癌术后患者 35 例[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(2): 164-165.