

芪玉三龙汤平衡肺癌小鼠 Th1/Th2 漂移相关机制

张星星^{1,2,3}, 童佳兵^{2,3}, 杨程^{2,3}, 王传博^{2,3}, 李泽庚^{2,3*}

- (1. 湖北中医药大学, 武汉 430065;
2. 国家中医药管理局重点学科, 安徽中医药大学 中医肺病学科, 合肥 230031;
3. 安徽省中医药科学院, 中医呼吸病防治研究所, 合肥 230038)

[摘要] 目的:探讨芪玉三龙汤对肿瘤细胞的促凋亡作用以及对肺癌小鼠辅助 T 细胞(Th cells)因子免疫生物调节作用。方法:采用 Lewis 肺癌细胞培养移植法(LLC)建立肺癌荷瘤小鼠模型,模型成功后随机分为模型组、化疗组、芪玉三龙汤组、联合组,每组 8 只,另设 8 只正常小鼠为空白组;观察小鼠的生存状态,称取瘤重,计算抑瘤率;透射电镜观察肿瘤细胞超微结构的变化,判断芪玉三龙汤是否可诱导肿瘤细胞凋亡;采用酶联免疫(ELISA)法检测各组小鼠脾脏中白细胞介素(IL)-2,干扰素- γ (IFN- γ),IL-4,IL-10 含量的变化;实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)检测肿瘤组织 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax) mRNA 的转录水平。结果:中药组、联合组生存状态明显优于化疗组。与模型组比较,芪玉三龙汤组、化疗组和联合组能显著抑制肿瘤生长($P < 0.01$)。芪玉三龙汤组电镜下可见肿瘤细胞的变化以凋亡为主,亦有坏死,化疗组电镜下可见多个凋亡小体,联合组电镜下可见典型坏死细胞。各组 Bcl-2 mRNA 表达水平显著低于模型组($P < 0.01$);与化疗组比较,芪玉三龙汤组和联合组 Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低($P < 0.01$)。各组 Bax mRNA 表达水平较模型组明显升高($P < 0.05$)。与模型组和化疗组比较,芪玉三龙汤组 IL-2,中药组、联合组的 IFN- γ 含量显著增加($P < 0.01$)。芪玉三龙汤组及联合组 IL-4,IL-10 较模型组明显降低($P < 0.05$),而联合组较化疗组 IL-4,IL-10 浓度显著降低($P < 0.01$)。结论:芪玉三龙汤可以改善肺癌小鼠的生存状态,诱导肺癌细胞凋亡,凋亡机制可能与下调 Bcl-2,上调 Bax 有关。芪玉三龙汤能够增加 IL-2,IFN- γ ,降低 IL-4,IL-10 表达,从而平衡 Th1/Th2 漂移,改善免疫功能,抑制肿瘤细胞的免疫逃逸。

[关键词] 芪玉三龙汤; 肺癌; Th 细胞; B 淋巴细胞瘤-2; 白细胞介素; 干扰素- γ

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)11-0131-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016110131

Effect of Qiyu Sanlong Decoction on Balancing Th1/Th2 Drift in Mice with Lung Cancer

ZHANG Xing-xing^{1,2,3}, TONG Jia-bing^{2,3}, YANG Cheng^{2,3}, WANG Chuan-bo^{2,3}, LI Ze-geng^{2,3*}

(1. Hubei University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Wuhan 430065, China;

2. National Key Disciplines of Lung Disease of Anhui University of TCM,
State Administration of TCM, Hefei 230031, China;

3. Respiratory Disease Institute, Anhui Provincial Academy of TCM, Hefei 230038, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the pro-apoptosis effects of Qiyu Sanlong decoction (QYSL) and its biological immunoregulation effect on Helper T cells in mice with lung cancer. **Method:** The mice models of lung cancer were established in C57BL/6 mice using lewis lung carcinoma cells line (LLC) by culture and transplantation method. After successful modeling, the mice were randomly divided into model group, chemotherapy group, QYSL group and combination group, 8 cases in each group, another 8 cases normal mice were used as blank group. The survival state of mice was observed, the tumor was weighed and tumor inhibition

[收稿日期] 20151101(004)

[基金项目] 国家中医药管理局肺气虚证重点研究室项目(国中医药函[2009]95号)

[第一作者] 张星星,博士,从事中医药防治呼吸系统疾病研究,E-mail:415377615@qq.com

[通讯作者] *李泽庚,教授,主任医师,博士生导师,从事中医药防治呼吸系统疾病研究,Tel:0551-65169269,E-mail:li6609@126.com

rate was calculated. Transmission electron microscope was used to observe the ultrastructural changes of tumor cells and determine whether QYSL can induce apoptosis of tumor cells. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure the levels of interleukin (IL)-2, interferon (IFN)- γ , IL-4 and IL-10 in the spleen of mice. The transcriptional level of Bcl-2 and Bax mRNA expressions in tumor tissues was detected by Real-time PCR assay. **Result:** The survival state of QYSL group and combination group was significantly superior to that of chemotherapy group. As compared with the model group, tumor growth could be significantly inhibited by QYSL group, chemotherapy group and combination group, with significant differences ($P < 0.01$). Under electron microscope, the tumor cells change was mainly based on apoptosis and necrosis was also present in QYSL group, multiple apoptotic bodies were visible, typical necrotic cells were visible in combination group. Expression level of Bcl-2 mRNA in various treatment group was significantly lower than that in model group ($P < 0.01$). Bcl-2 mRNA expression level in QYSL group and combination group was lower than that in chemotherapy group ($P < 0.01$). Expression of Bax mRNA in treatment groups was significantly higher than that in model group, and the expression of Bax mRNA in combination group was increased as compared with the chemotherapy group. As compared with the model group and chemotherapy group, the IL-2 level in QYSL group and IFN- γ level in combination group were increased ($P < 0.01$). The IL-4 and IL-10 levels in QYSL group and combination group were lower than those in model group ($P < 0.05$), while above two levels in combination group were significantly lower than those in chemotherapy group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Qiyu Sanlong decoction can improve the survival state and induce apoptosis of lung cancer cells in mice with lung cancer, and the apoptosis mechanism may be related to the down-regulation of Bcl-2 level and up-regulation of Bax level. Qiyu Sanlong decoction can also improve the immune function and inhibit the tumor immune escape by increasing IL-2, IFN- γ levels and decreasing IL-4, IL-10 levels to balance Th1/Th2 drift.

[**Key words**] Qiyu Sanlong decoction; lung cancer; Th cells; interleukin; interferon- γ

肺癌是呼吸系统最常见恶性肿瘤,肺癌的病理分型中最常见的是非小细胞肺癌(NSCLC),约占肺癌的 85% 左右^[1]。其起病隐匿的特点使 80% 的患者在确诊时已处于临床中晚期,失去手术治疗的机会,以化疗药物为主的综合治疗仍是晚期肺癌的主要治疗手段^[2]。化疗杀死癌细胞的同时会带来诸多毒副反应,因此寻找高效低毒的药物尤为重要,研究证明中医药治疗肺癌具有一定优势,能够一定程度抑制肿瘤生长,并且减少毒副反应,增强免疫功能,改善患者的生活质量^[3-5]。Th 细胞是机体重要的免疫调节细胞,包括 Th1, Th2 两个不同的亚群,正常机体的 Th1/Th2 型细胞因子处于动态平衡状态,但 NSCLC 患者体内多分泌 Th2 型细胞因子,发生 Th1/Th2 平衡失调,即 Th1/Th2 向 Th2 产生了漂移现象。基于长期临床实践,在国家级名老中医韩明向教授临床经验方基础上,芪玉三龙汤由安徽中医药大学李泽庚教授研究团队进行基础研究并多次优化而成,本方临床上治疗肺癌患者获得良好效果,但其疗效的具体机制仍需验证,本研究拟从诱导肿瘤细胞凋亡减毒以及平衡 Th1/Th2 漂移角度探讨该方抗肿瘤及增强免疫的作用,为临床运用并推广

芪玉三龙汤治疗肺癌提供实验依据。

1 材料

1.1 药物 芪玉三龙汤由黄芪 30 g,玉竹 10 g,壁虎 6 g,地龙 6 g,龙葵 20 g,白花蛇舌草 20 g,薏苡仁 20 g,泽漆 6 g,莪术 10 g,川贝母 6 g 组成,由安徽中医药大学第一附属医院中药房提供,常规水煎,第 1 次 10 倍水,第 2 次 8 倍水,合并 2 次煎煮液,浓缩至生药含量为 $4.024 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。注射用顺铂(DDP,齐鲁制药有限公司,国药准字 H37021357), 20 mg/瓶,用生理盐水稀释至 $0.367 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2 动物 SPF 级近交系 C57BL/6 小鼠 40 只,鼠龄 6~8 周,雄性,体重 $(20 \pm 2) \text{ g}$,购自常州卡文斯实验动物有限公司,合格证号 SCXK(苏)2011-0003,饲养于安徽中医药大学省部共建教育部重点实验室动物房,小鼠自由采食和饮水。

1.3 瘤株 小鼠 Lewis 肺癌细胞株,购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库,培养于 DMEM 高糖培养基中,置于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 5% CO_2 饱和湿度培养箱培养。

1.4 主要试剂和仪器 DMEM 培养基(HyClone 公司,批号 NAA1321),Trizol 试剂(Invitrogen 公司,批

号 87801), Revert Aid™ first Strand cDNA Synthesis Kit(Thermo 公司,批号 00174486),小鼠白细胞介素(IL)-2,干扰素- γ (IFN- γ),IL-4,IL-10 酶联免疫(ELISA)检测试剂盒(上海源叶生物技术有限公司,批号分别为 E-21452,E-18256,E-10256,E-10255)。MCO-175 型 CO₂ 细胞培养箱(日本 Sanyo 公司),CKX41 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司),JEM-1230 型透射电子显微镜(日本电子株式会社),K960 型普通 PCR 仪(杭州晶格科学仪器有限公司),Pikoreal 96 型荧光定量 PCR 仪(Thermo 公司)。

2 方法

2.1 模型制备 取对数生长期 Lewis 肺癌细胞,胰酶消化后离心收集细胞,用无血清 DMEM 培养基调整细胞密度为 1×10^7 个/mL,取细胞悬液 0.2 mL 注射于 C57BL/6 小鼠左侧腋部皮下,以皮下摸到 $3 \sim 5 \text{ mm}^3$ 的米粒样硬物说明造模成功。

2.2 分组及给药 接种 10 d 后,将成瘤小鼠随机分为模型组、化疗(顺铂)组、芪玉三龙汤组、联合(芪玉三龙汤+顺铂)组,每组 8 只。另设 8 只正常小鼠为空白组。正常组正常喂养;模型组 ig 生理盐水 10 d,并分别在第 1,3,5 天腹腔注射生理盐水 0.4 mL;化疗组 ig 生理盐水 10 d,并分别在第 1,3,5 天腹腔注射 DDP 溶液 0.4 mL(含有 DDP 0.146 8 mg);中药组 ig 芪玉三龙汤 $80.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (临床成人日用量的 4 倍)10 d,并分别在第 1,3,5 天腹腔注射生理盐水 0.4 mL;联合组 ig $80.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 芪玉三龙汤 10 d,并分别在第 1,3,5 天腹腔注射 DDP 溶液 0.4 mL。

2.3 观察一般情况 观察各组小鼠进食、精神状态、活动状态、消瘦程度、脱毛及死亡情况等。

2.4 计算抑瘤率 给药第 11 天处死小鼠,完整剥取腋部皮下肿瘤组织,称重,分别计算各组抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = (\text{平均瘤重}_{\text{模型组}} - \text{平均瘤重}_{\text{给药组}}) / \text{平均瘤重}_{\text{模型组}} \times 100\%$$

2.5 透射电镜观察肺癌细胞的超微结构变化 取 1 mm^3 肿瘤组织,2.5% 戊二醛溶液固定,梯度脱水,环氧树脂浸透 2~3 h,纯环氧树脂包埋后烤片,修块后超薄切片,铜网捞片,铅、铀染色,日产 JEM-1230 型透射电镜观察记录图像。

2.6 实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)检测肿瘤组织 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)mRNA 表达水平 称取肿瘤组织 0.1 g,液氮研磨,加入 Trizol 1 mL 提取总 RNA。根据 Revert Aid™ first Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒逆转录

成 cDNA,扩增,引物由 Invitrogen 公司合成,内参 β -肌动蛋白(β -actin)(111 bp):上游 5'-GGAATGGGTCAGAAGGA CTC-3',下游 5'-CATGTCGTC CCAGTTGGTAA-3';Bax(104 bp):上游 5'-AGGC CTCCTCTCCTACT TCG-3',下游 5'- CTCAGCCC ATCTTCTTCCAG-3';Bcl-2(84 bp):上游 5'-CCTG GCTGTCTCTGAAG ACC-3',下游 5'- CTCACTTGT GGCCAGGTAT -3'。

Relative Quantification Study 为分析方法,最终计算取 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。

2.7 ELISA 法检测各组小鼠脾脏中 IL-2,IFN- γ ,IL-4,IL-10 含量的变化 给药第 11 天处死小鼠,完整剥取各组小鼠脾脏,称取 0.1 mg,用生理盐水研磨,离心取上清。具体步骤严格参照试剂盒说明书执行。计算各样本浓度值。

2.8 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,模型组与空白组比较采用独立样本 *t* 检验;模型组与用药组比较采用单因素方差分析,数据符合方差齐性检验,采用最小显著差法(LSD)方法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芪玉三龙汤对各组小鼠生存状态的影响 造模 10 d 后,小鼠成瘤率 100%。造模后给药第 5 天时,化疗组进食情况及精神状态最差,活动度开始下降,毛色无光,之后活动度持续下降,喜好扎堆,毛色渐渐干枯无光,呈缕状,脱毛严重,反应迟钝,倦卧懒动,极度消瘦。模型组小鼠第 8 天开始活动度有所下降,有扎堆现象,精神状态一般,毛色暗淡无光,进食尚佳。芪玉三龙汤组小鼠进食一直尚好,精神状态明显优于化疗组,消瘦不明显,有轻微脱毛现象。联合组小鼠的生存状态较中药组比较欠佳,但明显优于化疗组。

3.2 芪玉三龙汤对各组小鼠瘤重及抑瘤率的影响 药物干预 10 d 后,芪玉三龙汤组、化疗组、联合组荷瘤小鼠平均瘤重低于模型组($P < 0.05$),抑瘤率均明显高于模型组($P < 0.01$)。见表 1。

3.3 芪玉三龙汤对各组小鼠肺癌细胞超微结构的影响 模型组呈现典型恶性肿瘤细胞特征,细胞核增大畸形,核浆比例失调,核膜有凹陷皱缩,胞质内线粒体结构完整,粗面内质网未见扩张,可见较多糖原颗粒。细胞排列紊乱,细胞间连接结构清晰。芪玉三龙汤组镜下可见肿瘤细胞以凋亡为主,亦有坏死,肿瘤细胞固缩,核碎裂,形成被膜包绕的含有核和细胞质碎片的小体,即凋亡小体,胞浆结构消失,

表 1 芪玉三龙汤对各组小鼠瘤重及抑瘤率的影响 (n=8)

Table 1 Effect of QYSL on tumor weight and tumor inhibition rate of mice (n=8)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	瘤重($\bar{x} \pm s$)/g	抑瘤率/%
模型	-	5.45 ± 0.94	-
芪玉三龙汤	80.48	4.15 ± 1.05 ¹⁾	23.86 ²⁾
化疗	0.367 ³⁾	1.53 ± 0.72 ²⁾	71.87 ²⁾
联合	80.48 + 0.367 ³⁾	1.53 ± 0.77 ²⁾	71.90 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01; ³⁾0.367 g·L⁻¹。

坏死明显。化疗组细胞核碎裂,形成多个凋亡小体。联合组肿瘤细胞坏死显著,核内染色质浓聚,边集,线粒体空泡变性,有些细胞器全部消失,胞浆水肿。见图 1。

3.4 芪玉三龙汤对肿瘤组织 Bcl-2, Bax mRNA 表达的影响 药物干预 10 d 后,各组 Bcl-2 mRNA 表达水平显著低于模型组(P < 0.01),与化疗组比较,芪玉三龙汤组和联合组 Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低(P < 0.01)。与模型组比较,各组 Bax mRNA 表达水平显著升高(P < 0.01),与化疗组比较,联合组 Bax mRNA 表达有升高趋势。见表 2。

表 2 芪玉三龙汤对肿瘤组织 Bcl-2, Bax mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 2 Effect of QYSL on expressions of Bcl-2, Bax mRNA in tumor tissues ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Bcl-2 mRNA	Bax mRNA
模型	-	1.01 ± 0.15	1.00 ± 0.06
芪玉三龙汤	80.48	0.30 ± 0.02 ^{1,2)}	1.40 ± 0.06 ¹⁾
化疗	0.367 ³⁾	0.58 ± 0.03 ¹⁾	1.54 ± 0.04 ¹⁾
联合	80.48 + 0.367 ³⁾	0.35 ± 0.02 ^{1,2)}	1.67 ± 0.13 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾P < 0.01;与化疗组比较²⁾P < 0.01; ³⁾0.367 g·L⁻¹。

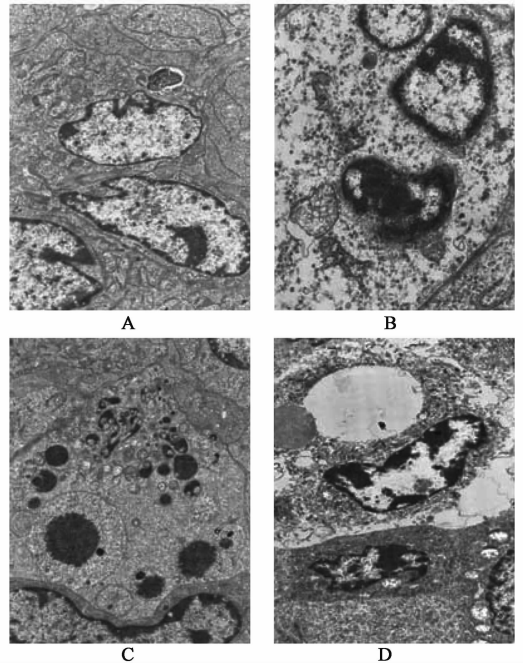
3.5 芪玉三龙汤对各组小鼠脾脏中 IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-10 含量的影响 药物干预 10 d 后,各组 IL-2, IFN- γ 均低于空白组,IL-4, IL-10 均高于空白

表 3 芪玉三龙汤组对小鼠脾脏 IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-10 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 3 Effect of QYSL on IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-10 levels in spleen of mice ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-2	IFN- γ	IL-4	IL-10
空白	-	372.51 ± 8.22 ²⁾	739.93 ± 10.91 ²⁾	50.12 ± 2.08 ²⁾	180.28 ± 9.93 ²⁾
模型	-	181.58 ± 18.84	414.70 ± 14.04	122.61 ± 3.23	357.18 ± 7.00
芪玉三龙汤	80.48	318.57 ± 5.56 ^{2,4)}	620.22 ± 27.81 ⁴⁾	70.78 ± 4.85 ^{2,4)}	207.88 ± 8.45 ^{2,4)}
化疗	0.367 ⁵⁾	120.93 ± 3.42	336.25 ± 14.70	136.27 ± 3.44 ²⁾	373.12 ± 12.27 ¹⁾
联合	80.48 + 0.367 ⁵⁾	132.83 ± 8.01	489.88 ± 18.87 ⁴⁾	114.81 ± 7.8 ^{1,4)}	317.3 ± 12.04 ^{2,4)}

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01;与化疗组比较³⁾P < 0.05, ⁴⁾P < 0.01; ⁵⁾0.367 g·L⁻¹。



A. 模型组, B. 芪玉三龙汤组, C. 化疗组, D. 联合组

图 1 芪玉三龙汤对各组小鼠肺癌细胞超微结构的影响 (电镜, ×5 000)

Fig.1 Effect of QYSL on ultrastructural changes in tumor cells of mice(EM, ×5 000)

组。与模型组及化疗组比较,芪玉三龙汤组 IL-2 含量显著升高(P < 0.01);芪玉三龙汤组及联合组的 IFN- γ 浓度较模型组和化疗组均显著升高(P < 0.01)。芪玉三龙汤组及联合组 IL-4, IL-10 含量较模型组明显降低(P < 0.05, P < 0.01);芪玉三龙汤和联合组较化疗组 IL-4, IL-10 浓度显著降低(P < 0.01)。见表 3。

4 讨论

肺癌属于中医学的“肺积”、“息贲”、“咳嗽”等范畴^[6]。其中医病因病机多认为是在脏腑正气亏虚的基础上,外感六淫邪毒,内伤饮食情志,肺之功能失常,导致气滞、血瘀、痰凝、毒聚等病理因素作用于肺,日久形成肺部有形积块。芪玉三龙汤方中黄

芪补肺益气,龙葵解毒抗癌,共为君药;壁虎、地龙、泽漆解毒消积、活血散结,与黄芪、龙葵相须为臣;白花蛇舌草清热解毒、活血化瘀,莪术破血行气、消积止痛,薏苡仁补益肺脾,玉竹养阴生津,共为佐药,川贝母化痰润肺、消肿散结为使。肺癌发病本质乃本虚标实,肺气虚损为本,血瘀、痰凝、毒聚为标。以上诸药合用,共奏益气养阴、化痰祛瘀、解毒消积之功,体现中医药治疗肺癌扶正祛邪的优势。本次研究采用电镜观察肿瘤细胞的超微结构改变,判断芪玉三龙汤是否可诱导肿瘤细胞凋亡,促进其坏死,结果显示芪玉三龙组镜下可见肿瘤细胞既有凋亡亦有坏死,化疗组可见多个凋亡小体,联合组镜下肿瘤细胞以坏死显著,说明芪玉三龙汤有抗肿瘤的功效,联合化疗药能够协同促进肿瘤细胞的凋亡和坏死。

Bcl-2 是 Tsujimoto 等^[7]于 1984 年在 B 细胞淋巴瘤克隆得到的第 1 个细胞凋亡抑制因子。随后相继有 20 多个家族成员被发现,这些成员按其功能和结构主要分为对抗凋亡作用,促进凋亡作用,特殊成员等,虽然特殊成员在结构上与促凋亡成员有差异,但是其功能基本相同^[8-9]。总的来说,Bcl-2 家族主要还是抗凋亡和促凋亡两类,Bcl-2 和 Bax 是两类中典型的抗凋亡和促凋亡蛋白。Bcl-2 蛋白在很多类型的癌细胞包括 NSCLC 中均存在高表达^[10],其逃避正常的细胞凋亡,促进肿瘤细胞的生存,被认为是肿瘤生长的关键^[11]。有报道 Bcl-2 表达上调还可导致肿瘤细胞对化疗药物的耐药,体外实验也发现了抑制 Bcl-2 表达可以有效提高 NSCLC 对顺铂的敏感性^[12]。这些表明抑制 Bcl-2 蛋白不仅可以抑制肺癌细胞的生存使之死亡,而且还可以增加肺癌细胞对化疗药物的敏感性。Bax 是 Oltvai 等^[13]于 1993 年发现的一种能与 Bcl-2 共沉淀的蛋白质。Bax 具有对抗 Bcl-2 抑制凋亡的作用^[14],细胞中高表达的 Bax 蛋白可以抑制 Bcl-2 的功能,加速细胞凋亡^[15]。所以,Bax 被认为是重要的促凋亡因子,Bax 与 Bcl-2 之间呈凋亡拮抗作用,呈现负相关性。研究表明 Bax 蛋白在 NSCLC 中的表达低于正常肺组织,在高、中分化患者中的表达高于低分化者^[16]。提示 Bax 表达下调可能与肿瘤的恶性程度及预后相关,表明 Bax 作为重要的促凋亡因子通过其对凋亡的介导干预肿瘤的发生发展和预后。所以 Bcl-2, Bax 可作为肺癌治疗和预后的重要指标。

癌症恶病质属于中医学“虚劳”范畴,中医学认为正气是抵御外邪入侵及防治疾病的根本,机体正气强盛对疾病的转归和维持正常生命活动具有重要

意义^[17],正气强盛则机体免疫功能强^[18],机体的免疫状态与肿瘤的发生发展关系密切。Th 细胞是机体重要的免疫调节细胞,Th1/Th2 平衡失调并向 Th1 或 Th2 方向转化时,称之为 Th1/Th2 漂移^[19]。研究表明 Th1/Th2 漂移与肺癌密切相关^[20]。Th1 型细胞分泌 IL-2, IFN- γ , 主要介导细胞免疫、移植排斥反应和自身免疫疾病等,Th2 型细胞分泌 IL-4, IL-10 等,主要介导体液免疫^[21]。Th1/Th2 在机体内相互拮抗,相互作用,维持正常机体内亚群细胞因子的动态平衡,当 Th1 向 Th2 漂移,机体的抗肿瘤免疫调节功能将会紊乱^[22]。肺癌患者本身存在免疫低下,肿瘤细胞能以多种方式逃避机体免疫系统监视形成免疫逃逸,反之肿瘤细胞又可加重机体的免疫抑制,文献研究证实 NSCLC 患者外周血中 IFN- γ , IL-2 分泌减少,IL-4, IL-10 分泌增加,说明 NSCLC 多分泌 Th2 型细胞因子,Th1/Th2 向 Th2 产生了漂移^[20]。当 Th2 型细胞因子在 NSCLC 患者外周血中占优势状态时,患者的免疫功能呈现免疫耐受状态^[23-24]。有研究证实中药能够平衡 Th1/Th2 向 Th2 漂移的状态,改善肺癌患者的免疫功能^[4]。

综上所述,肺癌患者 Th2 优势表达可降低机体抗肿瘤免疫功能,致使肿瘤细胞逃避机体的细胞免疫应答,发生肿瘤免疫逃逸。以上均提示可以通过调节 Th1/Th2 的平衡对肺癌进行免疫治疗。所以,本研究提出芪玉三龙汤可以平衡 Th1/Th2 漂移、增强抗肿瘤免疫抑制的观点,选择肺癌皮下移植瘤模型,通过药物干预,实验表明中药和联合用药能明显改善荷瘤小鼠生存状态,下调 Bcl-2,上调 Bax 表达来诱导肺癌细胞凋亡,同时本次研究还发现,荷瘤小鼠脾脏的 IL-10 含量明显高于 IL-2 含量,产生了 Th1/Th2 漂移的现象,而芪玉三龙汤可以显著提高 Th1 细胞水平,并且可以降低 Th2 细胞含量,对上述漂移现象有平衡和逆转的功能。

本研究认为芪玉三龙汤可以诱导肺癌细胞的凋亡来达到抗肿瘤目的,能够改善荷瘤小鼠的生存状态并且增强其免疫功能,抑制肿瘤的免疫逃逸,为接下来进一步研究芪玉三龙汤的抗肿瘤作用及其机制奠定了基础。

[参考文献]

- [1] Bender E. Epidemiology: The dominant malignancy[J]. Nature, 2014, 513(7517): S2-S3.
- [2] 于飞, 刘晓晴, 李晓燕, 等. 培美曲塞单药或联合铂类三线及以上治疗晚期非鳞型非小细胞肺癌的临床观

- 察[J]. 中国肺癌杂志, 2012, 15(2): 117-121.
- [3] Wu C H, Chen A Z, Yen G C. Protective effects of glycyrrhizic acid and 18 β -glycyrrhetic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity in BALB/c mice[J]. J Agr Food Chem, 2015, 63(4): 1200-1209.
- [4] Ma J, Liu H, Wang X. Effect of ginseng polysaccharides and dendritic cells on the balance of Th1/Th2 T helper cells in patients with non-small cell lung cancer[J]. JTCM, 2014, 34(6): 641-645.
- [5] 谢劲松, 汪建飞, 奚肇庆. 中医药对肺癌患者生活质量和生存期的影响[J]. 中医学报, 2015, 30(11): 1563-1565.
- [6] 李丛煌, 花宝金. 肺积(肺癌)古代医论[J]. 四川中医, 2008, 26(4): 40-41.
- [7] Tsujimoto Y, Finger L R, Yunis J, et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation [J]. Science, 1984, 226(4678): 1097-1099.
- [8] Adams J M, Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy[J]. Oncogene, 2007, 26(9): 1324-1337.
- [9] Huang Z. Bcl-2 family proteins as targets for anticancer drug design[J]. Oncogene, 2000, 19(56): 6627-6631.
- [10] Pezzella F, Turley H, Kuzu I, et al. Bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma[J]. New Engl J Med, 1993, 329(10): 690-694.
- [11] Hanahan D, Weinberg R A. The hallmarks of cancer [J]. Cell, 2000, 100(1): 57-70.
- [12] Huang Z, Lei X, Zhong M, et al. Bcl-2 small interfering RNA sensitizes cisplatin-resistant human lung adenocarcinoma A549/DDP cell to cisplatin and diallyl disulfide[J]. Acta Bioch Bioph Sin, 2007, 39(11): 835-843.
- [13] Oltvai Z N, Milliman C L, Korsmeyer S J. Bcl-2 heterodimerizes *in vivo* with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death[J]. Cell, 1993, 74(4): 609-619.
- [14] Ben-Ezra J M, Kornstein M J, Grimes M M, et al. Small cell carcinomas of the lung express the Bcl-2 protein [J]. Am J Pathol, 1994, 145(5): 1036-1040.
- [15] Korsmeyer S J, Shutter J R, Veis D J, et al. Bcl-2/Bax: a rheostat that regulates an anti-oxidant pathway and cell death[J]. Semin Cancer Biol, 1993, 4(6): 327-332.
- [16] 刘瑞芬, 蒋军广, 张晓燕, 等. 凋亡相关基因 Bax 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(9): 2002-2004.
- [17] Gueta I, Altman A, Shoenfeld Y. The effect of blocking TNF-alpha in patients with cancer-related cachexia and anorexia[J]. Harefuah, 2010, 149(8): 512-514.
- [18] 杨兰. 中医正气学说探析[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(2): 113-114.
- [19] Nagai H, Miyaki D, Matsui T, et al. Th1/Th2 balance: an important indicator of efficacy for intra-arterial chemotherapy [J]. Cancer Chemoth Pharm, 2008, 62(6): 959-963.
- [20] Li J, Wang Z, Mao K, et al. Clinical significance of serum T helper 1/T helper 2 cytokine shift in patients with nonsmall cell lung cancer[J]. Oncol Lett, 2014, 8(4): 1682-1686.
- [21] Cherwinski H M, Schumacher J H, Brown K D, et al. Two types of mouse helper T cell clone. III. Further differences in lymphokine synthesis between Th1 and Th2 clones revealed by RNA hybridization, functionally monospecific bioassays, and monoclonal antibodies[J]. J Exp Med, 1987, 166(5): 1229-1244.
- [22] 乔治, 李荣, 徐迎新, 等. Th1/Th2 及 Tc1/Tc2 在胃癌患者外周血中的漂移及意义[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(12): 1238-1240.
- [23] 陈刚, 王清睿, 胡少明. 老年非小细胞肺癌患者 Th1/Th2 漂移状态与 T-bet/GATA3 基因表达的关系[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2011, 40(5): 509-512.
- [24] Ito N, Suzuki Y, Taniguchi Y, et al. Prognostic significance of T helper 1 and 2 and T cytotoxic 1 and 2 cells in patients with non-small cell lung cancer [J]. Anticancer Res, 2005, 25(3B): 2027-2031.

[责任编辑 张丰丰]