

龟鹿二仙胶抗肿瘤机制研究进展

朱文豪 童东昌 郭垠梅 张 振 宁迪敏 田雪飞

(湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南长沙 410208)

摘 要 肿瘤目前已成为危害人类生命健康的主要疾病之一。研究表明, 龟鹿二仙胶可通过增强机体对肿瘤细胞的免疫、降低肿瘤细胞耐药性、改善骨髓抑制, 从而发挥抗肿瘤作用, 而成方中单药抗肿瘤作用亦可通过诱导细胞凋亡、抑制新生血管形成等多种途径来实现。虽然龟鹿二仙胶抗肿瘤机制研究已取得一定进展, 但主要聚焦于免疫系统, 今后需进一步研究其相关作用机制, 为肿瘤临床治疗拓宽思路和方法。

关键词 龟鹿二仙胶; 抗肿瘤剂(中药); 药理学; 综述

中图分类号 R289.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X (2021) 07-0079-03

基金项目 国家自然科学基金资助项目(82074450); 湖南中医药大学“一方”研究生创新项目课题资助项目(2020YF04); 湖南省高层次卫生人才“225”工程培养项目(湘卫函〔2019〕196号); 中医方证研究转化医学湖南省重点实验室项目(2018TP1021)

龟鹿二仙胶又名龟鹿二仙膏, 药名首见于明代医家王三才《医便》, 将鹿角、龟甲、人参、枸杞子经复杂工序熬制成膏。“鹿得天地之阳气最全”, 鹿角补阳之效宏; “龟得天地之阴气最厚”, 龟甲滋阴之功专; 人参“善于固气”; 枸杞子“善于滋阴”。诸药合用, 滋阴补阳、益气生精, 无偏胜之忧, 有平和之美, 主治真元虚损、精血阴阳不足之证。

肿瘤可归属于中医学“癥瘕”“积聚”等范畴, 疾病后期又可出现“虚劳”之证。《诸病源候论》云: “虚劳之人, 阴阳伤损, 血虚凝涩, 不能宣通经络, 故积聚于内也。”肿瘤后期患者血气受损, 阴阳两虚, 血行不畅, 搏结于脏腑, 促使病情恶化。近年来龟鹿二仙胶被广泛应用于治疗肿瘤患者, 收效明显, 总结其抗肿瘤机制可为龟鹿二仙胶的进一步开发和应用提供理论依据。

研究显示, 龟鹿二仙胶抗肿瘤作用可通过增强机体对肿瘤细胞的免疫、降低肿瘤细胞耐药性、改善骨髓抑制来实现, 而成方中单药亦可通过诱导细胞凋亡、抑制新生血管形成等多种途径发挥抗肿瘤作用。现将近年来龟鹿二仙胶的抗肿瘤作用机制研究进展概述如下。

1 调节免疫功能

人体的免疫功能与肿瘤发生发展密切相关。人体免疫功能低下或受抑制时, 肿瘤的发病率增高, 而肿瘤患者的免疫功能也因肿瘤本身及放、化疗等而受到抑制, 形成恶性循环。在机体抗肿瘤过程中, 免疫系统发挥重要作用, 其中又主要以细胞免疫为主导, 发挥免疫效应的细胞主要包括T细胞、NK细胞、巨噬

细胞等。其中, T细胞介导的免疫应答在对免疫原性较强的肿瘤细胞所产生的免疫应答中起重要作用, 且参与抗肿瘤免疫的T细胞亚群主要以CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞为主。故增强患者的免疫功能以达到杀伤肿瘤细胞的目的成为目前抗肿瘤治疗的重要方向。

1.1 提高CD4⁺/CD8⁺比值 抗肿瘤免疫以细胞免疫为主, T淋巴细胞在细胞免疫中占据核心地位, 在体液免疫中亦发挥重要的辅助作用。CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞维持平衡状态有利于稳定机体细胞免疫。目前认为, CD4⁺/CD8⁺比值是反映T淋巴细胞抗肿瘤功能状态的主要指标。研究表明, 宫颈癌组织中CD4⁺/CD8⁺比值明显低于周围血液^[1], 与宫颈癌存活者相比, 死亡患者CD4⁺/CD8⁺比值明显较低, 且在5年生存率较低的患者中, CD4⁺/CD8⁺比值亦与其年生存率成正比^[2]。在长期非小细胞肺癌患者存活期中CD4⁺/CD8⁺比值亦呈高趋势状态^[3]。钱均等^[4]研究发现, 非小细胞肺癌患者化疗时, T细胞亚群中CD4⁺亚群功能减弱, CD8⁺亚群功能增强, 引起亚群间比例混乱, 而服用龟鹿二仙汤后, 治疗组辅助性T细胞Th (CD4⁺) 升高, 抑制性T细胞Ts (CD8⁺) 降低, CD4⁺/CD8⁺的比值得到提高。赵旻等^[5]研究龟鹿二仙胶巴布剂对结直肠癌化疗患者免疫功能的影响, 结果发现化疗14 d后, 龟鹿二仙胶巴布剂组CD4⁺/CD8⁺比值明显高于单一化疗组。

1.2 下调PD-1表达 程序性死亡受体1(programmed death receptor 1, PD-1)由充当免疫调节分子的活化T细胞表达, 负责T细胞活化及外周耐受的负反馈调

节,除了有效抑制T细胞外,PD-1还具有调节B细胞和单核细胞反应的作用^[6]。PD-1可干扰保护性免疫应答,诱导抑制信号阻止肿瘤特异性T细胞增殖,使肿瘤细胞逃避机体免疫监视和杀伤,导致抗肿瘤免疫下降、癌细胞增生^[7]。由此可见,抑制PD-1可恢复肿瘤微环境内T细胞免疫杀伤作用,从而达到抗肿瘤目的,目前已有PD-1阻滞剂应用于临床。钟亚珍等^[8]研究发现,使用龟鹿二仙胶干预肝癌荷瘤小鼠后,龟鹿二仙胶呈剂量依赖抑制皮下瘤的生长,且高、中剂量组的PD-1表达阳性细胞比明显低于生理盐水组和顺铂组,高、中、低剂量组小鼠T淋巴细胞凋亡比例亦低于顺铂组。张海桥^[9]使用相同的实验方法,结果发现龟鹿二仙胶可能通过下调PD-1表达,抑制T细胞凋亡,从而提高细胞免疫力,抑制和杀伤肿瘤细胞。综上,龟鹿二仙胶可能通过下调肿瘤周围T淋巴细胞PD-1表达,减少T淋巴细胞凋亡,增强机体免疫力,从而抑制和杀伤肿瘤细胞,发挥抑制肿瘤生长的作用。

1.3 抑制T细胞自噬 自噬 (autophagy) 是受损的细胞器及其他胞质成分被包裹在双层膜囊泡中形成自噬体并被溶酶体酶降解,降解形成的亚基再循环被细胞利用的一种分解代谢过程^[10]。陆金华等^[11]研究发现,龟鹿二仙胶含药血清可下调大鼠T细胞化疗后自噬蛋白ATG5、Class III PI3K、Class I PI3K、mTOR的表达,从而抑制T细胞自噬,增强免疫功能。

2 调控耐药性

肿瘤的远处转移和治疗的耐药性是导致肿瘤死亡和复发的主要原因^[12]。师林等^[13]研究发现,加味龟鹿二仙胶汤可减少肺癌组织中耐药相关基因P-糖蛋白 (P-gp)、多药耐药相关蛋白1 (MRP1) 的表达,通过提高白细胞介素-7 (IL-7) 抑制分泌型糖蛋白 (Wnt) / β -连环蛋白 (β -catenin) 通路的过度激活,增强肺癌顺铂化疗疗效,从而发挥抗肿瘤作用。

3 改善骨髓抑制

化疗是肿瘤治疗的重要手段,但化疗药物可损伤造血细胞亦可破坏造血微环境,引起骨髓抑制^[14]。目前临床常用粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF) 治疗骨髓抑制,此类药物虽起效快,但可导致骨痛、肌肉痛、发热等不良反应^[15]。林胜友等^[16-17]研究表明,龟鹿二仙胶可有效上调bcl-2 mRNA的表达,抑制脾脏T细胞、骨髓CD34⁺造血干/祖细胞的凋亡,从而有效抑制化疗小鼠脾脏T淋巴细胞凋亡,减轻化疗后免疫功能受损。王珏等^[18-19]研究表明,龟鹿二仙胶可能通过抑制p16Ink4a-Rb信号通路中p16蛋白的表达,增加CDK4/6及pRb蛋白的表达,从而减少细胞周期阻滞,逆转化疗所致骨髓造血干细胞

(hematopoietic stem cell, HSC) 衰老;龟鹿二仙巴布剂亦能减轻大肠癌化疗患者化疗后白细胞、中性粒细胞减少,改善中医证候,延缓患者Karnofsky (KPS) 评分下降趋势。

4 龟鹿二仙胶单药抗肿瘤作用机制

研究表明,龟甲提取物可抑制TNFR2/PI3K/AKT信号通路^[20],而该信号通路的激活可促进肿瘤生长^[21]。陈铭阳等^[22]发现,龟甲中所含的miRNA具有治疗早幼粒细胞白血病的潜在药理活性。动物实验研究表明,鹿角多肽对小鼠肝癌、乳腺癌细胞具有抑制作用^[23-24]。全天一等^[25-26]研究发现,鹿角霜对改善肿瘤患者放、化疗后骨髓抑制效果显著且安全性好;郜玉钢等^[27]研究发现,鹿角提取物可通过诱导肿瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤作用。人参皂苷及人参多糖为人参抗肿瘤作用的主要成分,研究表明,人参皂苷Rg3可通过抑制胃癌细胞中Wnt/ β 联蛋白通路激活从而抑制其侵袭、迁移以及血管生成拟态的形成^[28];人参皂苷CK可通过抑制TGF- β 1/Smads通路诱导肝癌细胞凋亡^[29];人参多糖则可通过诱导肝癌细胞分化从而抑制其增殖^[30]。枸杞子主要活性成分为枸杞多糖,枸杞多糖可通过诱导凋亡^[31]、抑制新生血管形成^[32]、降低端粒酶活性^[33]等多种途径发挥抗肿瘤作用。

5 结语

目前对龟鹿二仙胶成方抗肿瘤作用机制的研究主要聚焦于免疫系统,然该方单药可通过诱导凋亡和抑制血管新生等多种途径、多种靶点发挥抗肿瘤作用,因此龟鹿二仙胶成方后期研究思路可参考单药的研究成果。而临床研究与动物实验研究的靶点不同,故进行临床实验与动物实验、体内与体外实验相结合的研究可作为下一步研究的方向。龟鹿二仙胶主要用于改善肿瘤患者化疗后骨髓抑制状态,应用范围不可谓广,然该方阴阳气血同补,而虚证又为肿瘤患者常见证型,故临床研究可聚焦于拓宽该方在肿瘤治疗上的应用,充分发挥其扶正、抗肿瘤作用。

参考文献

- [1] DAS D, SARKAR B, MUKHOPADHYAY S, et al. An altered ratio of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes in cervical cancer tissues and peripheral blood - A prognostic clue? [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2018, 19 (2): 471.
- [2] SHAH W, YAN X, JING L, et al. A reversed CD4/CD8 ratio of tumor-infiltrating lymphocytes and a high percentage of CD4⁺FOXP3⁺regulatory T cells are significantly associated with clinical outcome in squamous cell carcinoma of the cervix [J]. Cell Mol Immunol, 2011, 8 (1): 59.
- [3] JACKUTE J, ZEMAITIS M, PRANYS D, et al. The prognostic influence of tumor infiltrating Foxp3⁺CD4⁺, CD4⁺ and

- CD8⁺ T cells in resected non-small cell lung cancer[J]. J Inflamm (Lond), 2015, 12: 63.
- [4] 钱钧, 林胜友. 龟鹿二仙汤对非小细胞肺癌患者化疗后外周血白细胞与细胞免疫功能的影响研究[J]. 江苏中医药, 2014, 46 (4): 35.
 - [5] 赵旻, 刚丽丽, 于宇. 龟鹿二仙胶巴布剂治疗结肠癌化疗后不良反应的临床效果[J]. 世界中医药, 2017, 12 (11): 2611.
 - [6] SALMANINEJAD A, KHORAMSHAHI V, AZANI A, et al. PD-1 and cancer: molecular mechanisms and polymorphisms[J]. Immunogenetics, 2018, 70 (2): 73.
 - [7] PYO J S, KANG G, KIM J Y. Prognostic role of PD-L1 in malignant solid tumors: a meta-analysis[J]. Int J Biol Markers, 2017, 32 (1): e68.
 - [8] 钟亚珍, 林贤雷, 陆金华, 等. 龟鹿二仙胶通过调控PD-1表达抑制H22荷瘤小鼠肿瘤生长的研究[J]. 中国现代医生, 2018, 56 (36): 1.
 - [9] 张海桥. 龟鹿二仙胶调控PD-1表达抑制H22荷瘤小鼠肿瘤生长的机制研究[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2018.
 - [10] KIMMELMANA C, WHITEE. Autophagy and tumor metabolism[J]. Cell Metab, 2017, 25 (5): 1037.
 - [11] 陆金华, 钟亚珍, 王珏, 等. 龟鹿二仙胶含药血清干预大鼠T细胞化疗后自噬的初步研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2017, 41 (7): 612.
 - [12] 弭苗苗, 魏晓楠, 姜慧慧, 等. LncRNA在乳腺癌发生、发展中的相关作用机制研究进展[J]. 检验医学与临床, 2021, 18 (6): 844.
 - [13] 师林, 黄圆圆, 柯斌. 加味龟鹿二仙胶汤联合顺铂对Lewis肺癌小鼠耐药相关基因及IL-7介导的Wnt/ β -catenin信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志: 1-7 (2021-01-20) [2021-03-17]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20210623>.
 - [14] WANGX B, WUD J, CHENW P, et al. Impact of radiotherapy on immunological parameters, levels of inflammatory factors, and clinical prognosis in patients with esophageal cancer[J]. J Radiat Res, 2019, 60 (3): 353.
 - [15] STEPHENS J M, LI X, REINER M, et al. Annual patient and caregiver burden of oncology clinic visits for granulocyte-colony stimulating factor therapy in the US[J]. J Med Econ, 2016, 19 (5): 537.
 - [16] 林胜友, 沈敏鹤, 陈健, 等. 龟鹿二仙胶抵抗化疗小鼠脾T淋巴细胞凋亡的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28 (4): 339.
 - [17] 林胜友, 沈敏鹤, 刘振东, 等. 龟鹿二仙胶抵抗化疗小鼠骨髓CD₃₄⁺细胞凋亡的研究[J]. 中国中医药科技, 2008, 15 (3): 172.
 - [18] 王珏, 陈朝辉, 邵科钉, 等. 龟鹿二仙胶逆转化疗诱导的造血干细胞衰老的机制研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2018, 42 (6): 419.
 - [19] 王珏, 徐凯, 高聚伟, 等. 龟鹿二仙胶巴布剂对化疗后患者白细胞减少的干预作用[J]. 浙江中西医结合杂志, 2015, 25 (7): 665.
 - [20] SHENG Y, REN H, HUANG J J, et al. Plastrumtestudinis extracts promote BMSC proliferation and osteogenic differentiation by regulating let-7f-5p and the TNFR2/PI3K/AKT signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47 (6): 2307.
 - [21] ZHAO T, LI HH, LIU ZF. Tumor necrosis factor receptor 2 promotes growth of colorectal cancer via the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Oncol Lett, 2017, 13 (1): 342.
 - [22] 陈铭阳, 胡小松, 许贞, 等. 龟甲中具有潜在药理活性的miRNA初步筛选[J]. 中国现代中药, 2018, 20 (4): 395.
 - [23] 胡薇, 田玉华, 孟星宇, 等. 梅花鹿角脱盘多肽的分离纯化及对乳腺癌细胞端粒酶活性的影响[J]. 上海中医药杂志, 2014, 48 (1): 85.
 - [24] 陈思, 郜玉钢, 臧埔, 等. 鹿角脱盘5种提取部位对H22荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51 (8): 87.
 - [25] 全天一, 陈文裕, 黄国虹, 等. 鹿角霜治疗恶性肿瘤白细胞减少症的临床效果[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35 (10): 2715.
 - [26] 全天一, 陈文裕, 黄国虹, 等. 鹿角霜治疗恶性肿瘤放疗后白细胞减少症的临床疗效及安全性评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31 (19): 1934.
 - [27] 郜玉钢, 史宇楨, 陈思, 等. 鹿角脱盘5种提取部位对H22荷瘤小鼠抗肿瘤作用研究[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45 (2): 412.
 - [28] 李烨婷, 唐有为. 人参皂苷Rg3体外通过抑制Wnt/ β 联蛋白通路阻止胃癌SGC7901细胞血管生成拟态的形成[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26 (5): 518.
 - [29] 闫岩, 张斯琳, 陈佳欣, 等. 人参皂苷CK通过抑制TGF- β 1/smads通路诱导人肝癌SMMC-7721细胞凋亡的作用[J]. 药学报, 2019, 54 (9): 1606.
 - [30] 乔洪旺, 何军, 郭林娜. 小剂量人参多糖对人肝癌BEL-7402细胞生长抑制与诱导分化作用初探[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38 (14): 1484.
 - [31] CHEN S, LIANG L, WANG Y, et al. Synergistic immunotherapeutic effects of Lycium barbarum polysaccharide and interferon- α 2b on the murine Renca renal cell carcinoma cell line in vitro and in vivo[J]. Mol Med Rep, 2015, 12 (5): 6727.
 - [32] 尹逊天, 王巍, 朱玉峰, 等. 枸杞多糖对人脐静脉血管内皮细胞的增殖、迁移及血管形成的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36 (8): 1819.
 - [33] 张鸣号, 王秀玉, 王秀梅, 等. 枸杞多糖对小鼠移植性肝癌端粒酶活性及hTERT蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23 (10): 2438.
- 第一作者:** 朱文豪 (1995—), 男, 硕士研究生在读, 研究方向: 中西医结合防治肿瘤。
- 通讯作者:** 田雪飞, 医学博士, 教授, 博士生导师. 003640@hnucm.edu.cn
- 收稿日期: 2021-03-17
编辑: 傅如海 蔡 强