

# 十全大补汤抑制 Lewis 肺癌原发瘤切除后转移瘤的研究

郭刚,许建华\*,韩建宏,梁芳,张勇,张强,孙珏,范忠泽

(上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科,上海 200062)

**[摘要]** 目的:探讨十全大补汤对小鼠 Lewis 肺癌原发瘤(先前接种肿瘤)切除后转移瘤生长及血管生成的影响,并探讨可能的机制。方法:构建 C57/BL6 小鼠 Lewis 肺癌肺转移模型,随机分为原发瘤切除组(TR)、原发瘤未切除组(TP)、十全大补汤组(Shiquan Dabu Tang group, SDT)。采用切除原发瘤及十全大补汤  $31.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  治疗 10 d,摘除眼球取血,剥出肺脏,应用组织切片苏木素-伊红染色法,观察肺部转移瘤情况。链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结(SP)免疫组织化学法检测转移瘤微血管密度(MVD)及细胞增殖。酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测治疗后小鼠血清中血管内皮生长因子(VEGF)、血管抑素(AS)和内皮抑素(ES)的表达水平。结果:治疗 10 d 后,小鼠肺转移灶数与原发瘤切除组( $47.30 \pm 5.57$ )个比较,十全大补汤组( $8.28 \pm 5.28$ )个及原发瘤未切除组( $10.71 \pm 3.30$ )个均明显降低( $P < 0.01$ );小鼠肺脏质量与原发瘤切除组( $0.57 \pm 0.05$ )g 比较,十全大补汤组( $0.26 \pm 0.05$ )g 及原发瘤未切除组( $0.28 \pm 0.05$ )g 均明显降低( $P < 0.01$ )。原发瘤切除组、原发瘤未切除组和十全大补汤组转移瘤 Ki67 表达分别为( $55.10 \pm 6.51$ )%, ( $34.60 \pm 4.95$ )%, ( $27.10 \pm 4.56$ )%, CD34 表达分别为( $35.40 \pm 2.46$ )%, ( $30.60 \pm 6.54$ )%, ( $22.09 \pm 5.89$ )%, 十全大补汤组降低明显,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。ELISA 检测显示,与原发瘤切除组比较,十全大补汤能够降低血清中 VEGF 及上调 ES 的表达,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。结论:原发瘤切除可使荷瘤小鼠体内的 VEGF 和 ES 比例失衡,有利于肿瘤血管生成及促进转移。十全大补汤明显抑制小鼠原发瘤切除后转移瘤生长,明显抑制转移瘤血管生成以及与之相关的血管生成调节因子的作用。

**[关键词]** 十全大补汤;肿瘤;转移;血管生成

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0279-06

**[收稿日期]** 20111031(002)

**[第一作者]** 郭刚,2009 级硕士研究生,E-mail:sirius0403@sina.com

**[通讯作者]** \*许建华,博士,主任医师,博士生导师,从事中西医结合防治肿瘤的临床及基础研究,Tel:021-62572723-8173,E-mail:xujianhua50@yahoo.com.cn

## [参考文献]

[1] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志,2008,31(3):177.

[2] Kankaanranta H, Lindsay M A, Giembyez M A, et al. Delayed eosinophil apoptosis in asthma[J]. Allergy Clin Immunol,2000,106(1):77.

[3] 邹渭洪,刘鑫. 柴朴平喘干糖浆的制备与疗效观察[J]. 中药材,2001,24(5):390.

[4] 张秀峰,戴爱国,胡瑞成. Nrf2 在支气管哮喘豚鼠炎症细胞中调控-谷氨酰半胱氨酸合成酶的表达[J]. 中国病理生理学杂志,2008,24(9):1779.

[5] 曾泽戎,崔德建,梁延杰等. 哮喘豚鼠模型细支气管和肺组织的病理学研究[J]. 中华内科杂志,2001,40(3):158.

[6] O'Reilly M A, Staversky R J, Huyck H L, et al. Bcl-2 family gene expression during severe hyperoxia induced

lung injury[J]. Lab Invest,2000,80(12):1845.

[7] Yang J, Liu X, Bhalla K, et al. Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked[J]. Science,1997,275(5301):1129.

[8] Mermigkis C M, Tsakanika K, Polychronopoulos V, et al. Expression of bcl-2 protein in bronchoalveolar lavage cell populations from patients with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Acta Cytol,2001,45(6):914.

[9] An-Soo Jang, Inseon-SChoi, Soong Lee, et al. Bcl-2 expression in sputum eosinophils in patients with acute asthma[J]. Thorax, 2000,55(5):370.

[10] El-Gamal Y, Heshmat N, Mahran M, et al. Expression of the apoptosis inhibitor Bcl-2 in sputum eosinophils from children with acute asthma[J]. Clin Exp Allergy,2004,34(11):1701.

[责任编辑 聂淑琴]

## Inhibitory Effect of Shiquan Dabu Tang on Lewis Pulmonary Metastasis after Primary Tumor Excision in Mice

GUO Gang, XU Jian-hua\*, HAN Jian-hong, LIANG Fang, ZHANG Yong,  
ZHANG Qiang, SUN Jun, FAN Zhong-ze  
(Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University  
of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China)

**[ Abstract ] Objective:** To investigate the effects of Shiquan Dabu Tang on Lewis pulmonary metastasis angiogenesis and pulmonary metastasis after primary tumor excision, and explore its possible mechanism and clinical significance. **Method:** The C57/BL6 mouse Lewis pulmonary metastasis model was established, and mice randomly divided into primary tumor resection group (TR), primary tumor preserve group (TP) and Shiquan Dabu Tang group (SDT). Microvessel density (MVD) and cell multiplication of pulmonary metastasis was detected with SP immunohistochemical staining. The level of vascular endothelial growth factor (VEGF), angiostatin (AS) and endostatin (ES) was examined by ELISA assay. **Result:** The number of pulmonary metastasis, incidence of metastases and MVD were evidently inhibited by Shiquan Dabu Tang. Ki67 expression was significantly lower than control group. **Conclusion:** The excision of primary tumor can promote pulmonary metastasis angiogenesis and pulmonary metastasis, and application of Shiquan Dabu Tang after operation has instructive clinical significance in preventing tumor metastasis.

**[ Key words ]** Shiquan Dabu Tang; tumor; metastasis; angiogenesis

肿瘤转移是导致肿瘤患者死亡的主要原因,难以控制。肿瘤的原发灶可以通过手术切除、放射治疗或其他的局部治疗得以控制或治愈,肿瘤的转移灶往往难以控制。有数据显示 80% 以上的恶性肿瘤患者最终死于转移。所以认识和治疗转移瘤便成为肿瘤治疗的关键。肿瘤转移是一个涉及多层面、不同步骤的序贯性的复杂过程,转移瘤与原发瘤之间存在着复杂的调控关系,肿瘤转移对靶器官具有高度选择性,转移瘤在靶器官长时间“休眠”而在一定条件被“激活”。转移瘤虽然从形态上是一个孤立的病灶,正如许多临床医生感觉有时原发瘤的切除会导致转移瘤的迅速生长。虽然手术是肺癌的首选治疗,但临床研究表明,手术切除可能并不总是有益,对部分患者来说,手术对已有可见或不可见转移灶,原发瘤的切除可加速转移灶的发展<sup>[1]</sup>。在术后转移瘤模型中,十全大补汤在促进术后恢复得同时,是否对转移瘤的生长也有抑制作用? 本研究通过 Lewis 肺癌肺转移模型,观察十全大补汤对其有何影响,并进一步揭示十全大补汤对原发瘤切除后转移瘤的作用机制。

### 1 材料

**1.1 细胞株培养** 小鼠 Lewis 肺癌细胞系,为小鼠

高转移细胞株,购自中国医学科学院实验动物研究所,合格证号 SCXK(京)2004-0001,液氮冷冻保存。细胞培养于含 100 mL · L<sup>-1</sup> 胎牛血清(FBS,美国 Gibco 公司)、青霉素 100 U · mL<sup>-1</sup>、链霉素 100 mg · L<sup>-1</sup> 的 DMEM 中,在 37 °C 含 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱中培养,按常规方法复苏冻存的鼠型肿瘤细胞并传代扩增。

**1.2 动物** 纯系 C57/BL6 小鼠 30 只,雌性,黑色,4~6 周龄,体重 18~20 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(沪)2008-0016,动物合格证编号 0060536,饲养于上海中医药大学附属普陀医院动物实验中心,合格证编号 SYXK(沪)2008-0055,在无特定病原体条件下分笼饲养,食基础饲料。

**1.3 药物及试剂** 十全大补汤由黄芪 12 g,肉桂 3 g,人参 6 g,茯苓 9 g,白术 9 g,甘草 3 g,熟地黄 12 g,白芍 9 g,川芎 6 g,当归 9 g 组成,原料药均购自上海中医药大学附属普陀医院门诊中药房,经鉴定均为正品,符合《中国药典》标准(2010 年版),药材洗净后除肉桂需后下外,其他 9 味药加水浸泡 0.5 h,水煎煮 2 次,每次 1.5 h,过滤后将 2 次滤液合并,浓缩成 1 mL 含生药 2 g,4 °C 冰箱保存备用。

用蒸馏水稀释,经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤,配制成实验用药剂量为 31.2  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  稀释液。DMEM 培养基(美国 Gibco 公司);小鼠(VEGF, AS, ES)ELISA 试剂盒(美国 Bio Sources 公司);山羊抗小鼠 CD34 mAb, Ki67 单克隆抗体工作液(美国 R&D 公司);超敏 SP 鼠试剂盒(美国 R&D 公司)。

**1.4 仪器** CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(英国 Galaxy 公司 170200 PLUS),垂直流超净工作台(新加坡 ESCO 公司 SVE-6A1),倒置显微镜(日本 Olympus 公司 CKX41SF),台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司 5804R),电动升降手术台(苏州医疗器械厂 YT-2A),轮转式病理切片机(常州中威电子仪器厂 RM51),病理组织包埋机(常州中威电子仪器厂 BMJ-III)。

## 2 方法

**2.1 小鼠 Lewis 肺癌肺转移模型的制作及分组给药** 取对数生长期的 Lewis 肺癌细胞株,以适当的浓度混悬在磷酸缓冲盐(PBS)中,制成单细胞悬液,台盼蓝检测活细胞数大于 95%。取 0.2 mL 悬液(约含  $5 \times 10^6$  个细胞)接种于 C57BL/6 小鼠右腋下皮下视作原发瘤。当皮下肿瘤生长至 500  $\text{mm}^3$  左右时,随机选取 20 只小鼠切除原发瘤,分为 I 原发瘤切除组及 III 原发瘤切除十全大补汤组,其余 10 只作为 II 原发瘤未切除组。I, II 组分别灌注生理盐水 0.4  $\text{mL}\cdot\text{d}^{-1}$ ; III 组灌注十全大补汤 0.4  $\text{mL}\cdot\text{d}^{-1}$ ,实验用药剂量为 31.2  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,连续治疗 10  $\text{d}^{[2]}$ 。第 11 天摘除眼球取血,处死小鼠,剥出肺脏并称取肺质量,固定于 10% 甲醛液,24 h 后在 4 倍立体显微镜下对肺表面转移灶计数,48 h 常规石蜡包埋切片,观察病理变化。根据转移灶大小及数目进行肺转移程度分级: I 级:单个小转移结节 1~5 个(直径 < 1 mm); II 级:小转移结节在肺内呈弥散分布,有 6~11 个,或有 1~2 个中等转移结节(直径 1~2 mm); III 级:小转移结节在肺内呈广泛分布,或有几个大转移灶(直径 > 2 mm)。

**2.2 肿瘤组织苏木素-伊红染色** 取材组织块,经 40  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  甲醛溶液固定后,常规石蜡包埋,取完整的组织蜡块以最大面积 4  $\mu\text{m}$  厚切片。在 100 倍光镜下随机选择 3 个高倍视野进行拍照,在专业图像处理软件 Image Pro Plus 6.0 的辅助下观察肿瘤组织及血管形态学。

**2.3 SP 免疫组织化学染色观察 CD34 表达** 取存档蜡块制成 4  $\mu\text{m}$  连续切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,将切片依次经内源性过氧化物酶清除、抗原

修复、正常血清封闭、抗体结合、DAB 染色、蒸馏水洗涤,再经苏木素衬染,烟酸乙醇分化,稀氨水蓝化,递增梯度乙醇脱水,二甲苯透明,常规树脂封片。所用一抗为 1:50 稀释的山羊抗小鼠 CD34 mAb,二抗为 1:200 生物素标记,显色时加入 1:200 辣根酶标记链霉卵白素,3 种试剂均以磷酸盐缓冲液稀释。MVD 的检测方法按 Weidner<sup>[3]</sup>进行: ①CD34 阳性以血管内皮细胞呈棕黄色或棕色染色为标准;②切片在 100 倍光镜下挑选微血管分布最高密度区域,在 200 倍光镜下计数不重复视野中被 CD34 染成棕黄色或棕色的微血管数,取其平均值作为 MVD。③每个与邻近微血管明显分离的阳性染色的血管内皮细胞或血管内皮细胞簇都视为独立的微血管;只要结构不相连,其分支结构也计作一个血管计数。

**2.4 SP 免疫组织化学染色观察 Ki67 表达** 采用免疫组织化学 SP 法检测 Ki67 的表达,具体方法参照 2.3,所用一抗为 1:50 稀释的 Ki67 单克隆抗体工作液,二抗为 1:100 快捷型酶标羊抗鼠 IgG 聚合物。Ki67 以细胞核染色呈棕褐色或棕黄色颗粒为阳性,每例标本观察 10 个高倍视野,计算其中 Ki67 标记指数<sup>[4]</sup>(labeling index, Ki67-LI)。

**2.5 ELISA 法检测血清中 VEGF, AS 和 ES 水平** 将经眼球静脉丛取出的各组小鼠血液样本,4  $^{\circ}\text{C}$  保存过夜后 10 000  $\times g$  离心 10 min,收集上清(血清),采用小鼠 ELISA 检测试剂盒分别测定各组小鼠血清 VEGF, AS 和 ES 表达情况,具体检测方法参照美国 Bio Source 公司提供的试剂盒说明书进行。VEGF, AS 和 ES 的测定分别按照试剂盒提供的标准试剂所得到的标准曲线进行测定,计算出各检测孔中的浓度值。

**2.6 统计学处理** 应用 SPSS 17.0 分析软件建立数据库并进行统计分析,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示。先采用单因素方差分析比较各组均数,再用最小显著差数法(LSD)分析每两组之间差异,以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对原发瘤切除后转移瘤生长的影响** 各组小鼠初次接种 Lewis 肺癌细胞后 9~12 d 全部成瘤,肿瘤大小无统计学差异。治疗后第 11 天,处死小鼠,肺脏称重,十全大补汤组及原发瘤未切除组肺转移灶数明显低于原发瘤切除组( $P < 0.01$ ),十全大补汤组及原发瘤未切除组肺质量明显低于原发瘤切除组( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 Lewis 肺癌肺转移瘤模型治疗后肺转移情况 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	肺质量 /g	肺转移结 节数 /个	转移瘤 发生率 /%	肺转移 度分级
原发瘤切除	-	0.57 ± 0.05	47.30 ± 5.57	100	III
原发瘤未切除	-	0.28 ± 0.05 <sup>1)</sup>	10.71 ± 3.30 <sup>1)</sup>	70	II
十全大补汤	31.2	0.26 ± 0.05 <sup>1)</sup>	8.28 ± 5.28 <sup>1)</sup>	70	II

注:与原发瘤切除组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ 。

3.2 HE 染色 原发瘤切除组及原发瘤未切除组肿瘤组织中细胞排列紧密,肿瘤实质和间质分界不清,核质比增大,细胞形状不规则,病理性核分裂相

多见。十全大补汤组肿瘤组织排列疏松,瘤灶内出现片状坏死,位于组织中心有许多空隙,其间可见蛋白样物质及细胞碎片。

3.3 对小鼠原发瘤切除后转移瘤的细胞增殖及微血管密度的影响 治疗后十全大补汤组细胞核 Ki67 的表达水平以及微血管新生抑制作用均明显低于原发瘤切除组及原发瘤未切除组 ( $P < 0.01$ ),提示十全大补汤对原发瘤切除后转移瘤的抑制作用可能与下调 Ki67 的表达继而抑制肿瘤细胞增殖以及下调 CD34 的表达继而抑制肿瘤血管生成有关,见表 2,图 1。

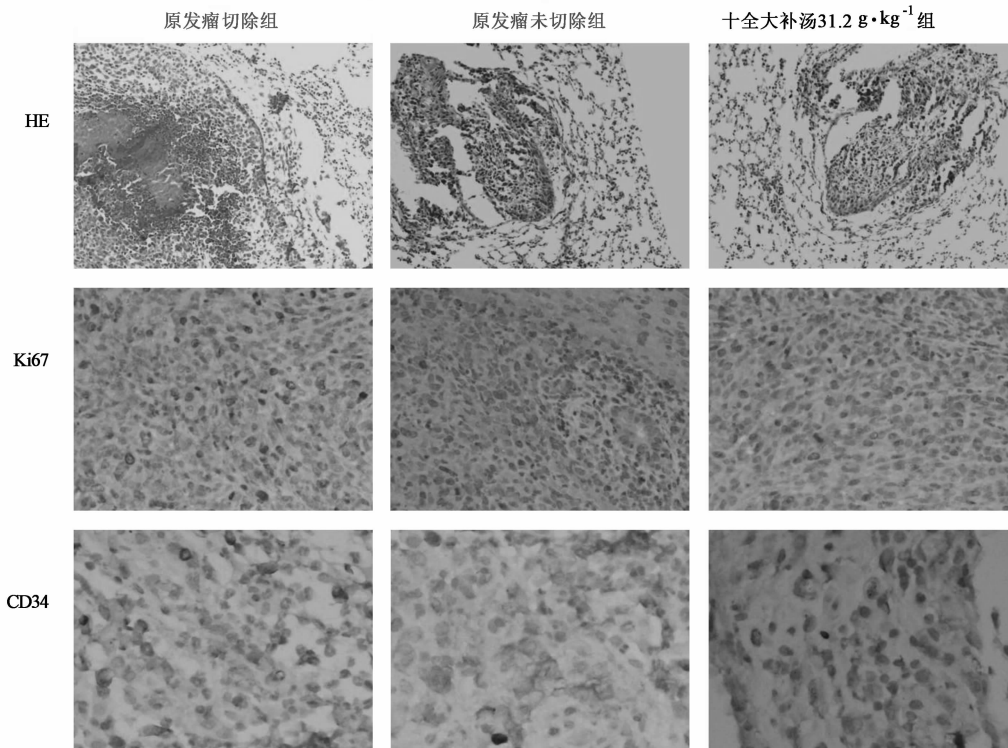


图 1 Lewis 肺癌肺转移模型中各组小鼠肺脏病理切片转移情况 (HE 染色, ×100), Ki67 及 CD34 表达水平 (SP 染色, ×200)

表 2 治疗后 Lewis 肺癌肺转移瘤细胞 Ki67 标记指数及微血管生长情况 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Ki67-LI /%	MVD/个/视野
原发瘤切除	-	55.10 ± 6.51	35.40 ± 2.46
原发瘤未切除	-	34.60 ± 4.95 <sup>1)</sup>	30.60 ± 6.54
十全大补汤	31.2	27.10 ± 4.56 <sup>1,2)</sup>	22.90 ± 5.89 <sup>1,2)</sup>

注:与原发瘤切除组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与原发瘤未切除组比较<sup>2)</sup> $P < 0.01$  (表 3 同)。

3.4 对血管生成促进因子,抑制因子的影响 治疗 10 d 后小鼠眼球取血,十全大补汤组及原发瘤未切除组血清 VEGF 的浓度明显低于原发瘤切除组 ( $P < 0.01$ )。原发瘤切除组、原发瘤未切除组及十

全大补汤组三者对 AS 的作用无明显统计学差异。十全大补汤组血清 ES 的浓度明显高于原发瘤切除组 ( $P < 0.01$ ) 及原发瘤未切除组 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

#### 4 讨论

原发瘤对转移瘤的抑制作用以及原发瘤切除对转移瘤生长的促进作用,20 世纪前就有文献报道。DeWys 根据移植瘤的生长动力学观点,提出当原发瘤存在时,转移瘤及模拟转移瘤的生长速度缓慢。Ehrlich 等在双侧接种肉瘤大鼠模型中发现,次后接种的肿瘤生长明显滞后于先前接种(原发)的肿瘤。

表 3 各组 C57/BL6 小鼠治疗后血清中 VEGF, AS, ES 表达水平( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	VEGF/pg·L <sup>-1</sup>	AS/ng·L <sup>-1</sup>	ES/ng·L <sup>-1</sup>
原发瘤切除	-	114.35 ± 15.47	1 913.19 ± 78.73	80.18 ± 26.57
原发瘤未切除	-	82.43 ± 11.52 <sup>1)</sup>	1 983.35 ± 332.67	66.25 ± 20.87
十全大补汤	31.2	83.83 ± 10.32 <sup>1)</sup>	2 075.76 ± 49.61	147.18 ± 26.74 <sup>1,2)</sup>

Marie 等则在实验中发现,接种的肿瘤如果任其自然生长,极少发生自发转移,但如对原发瘤进行不完全切除,则常导致转移瘤的发生。半个世纪前对原发瘤切除与自发转移瘤的研究发现,切除原发瘤的小鼠转移的发生率与转移数目要比未切除组低,但同时发现,切除组转移灶比对照组大<sup>[5-6]</sup>,既往曾有 Li<sup>[7]</sup>等将 Lewis 肺癌细胞株接种到 C57BL/6 裸鼠体内建立肿瘤转移模型,结果显示,原发瘤切除组转移瘤的体积明显大于对照组,且转移瘤的微血管密度和细胞增殖指数也明显超过对照组,而肿瘤坏死指数则低于对照组。其他肿瘤如直肠癌、胰腺癌和乳腺癌等,也存在原发瘤抑制转移瘤生长的现象<sup>[8-10]</sup>。作者解释认为,原发瘤的切除阻止了新的肿瘤细胞种植,减少了转移的发生,但另一方面又让已经发生转移的肿瘤长得更大。我们的 Lewis 肺癌肺转移模型,从动物实验角度证实原发肿瘤对转移瘤具有抑制作用,在原发瘤切除后转移瘤的发生率和瘤质量均比未切除组明显增加。

手术最易耗血伤气,所以益气补血是中医对术后患者常用的治疗方法,十全大补汤是最常用的经典方。十全大补汤出自宋代《太平惠民和剂局方》,由补气代表方“四君子汤”和补血代表方“四物汤”(两者合并即为气血双补的八珍汤),再加上黄芪和肉桂共计 10 味药组成。该方临床主要用于贫血、食欲减退、疲乏、全身衰弱、术后恢复、脾肾亏虚等<sup>[11]</sup>。日本学者实验研究证实,十全大补汤可抑制结肠癌细胞的肝转移,在抗肿瘤转移器官选择性方面,与人参养荣汤相比,十全大补汤明显抑制结肠癌肝转移,并具有抑制血管生成的作用<sup>[12-14]</sup>。在本研究中采用 Lewis 肺癌肺转移模型,观察原发瘤(先前接种)切除后,十全大补汤对肺内转移瘤生长的影响,我们首次发现十全大补汤可明显抑制手术切除原发瘤对转移瘤生长的促进作用。原发瘤切除后肺内转移瘤 100% 形成肿瘤结节,而十全大补汤组肺转移瘤的发生率以及瘤质量均较对照组明显减小。

肿瘤的形成,是由于细胞增殖与细胞凋亡之间的动态平衡失调的结果。作者采用免疫组化技术检

测转移瘤组织中 Ki67 以反映肿瘤细胞增殖活性,作者发现原发瘤切除后,十全大补汤组 Ki67 的表达明显低于其他两组,表明十全大补汤可抑制原发瘤切除后转移瘤的 Ki67 表达继而抑制转移瘤的细胞增殖。Ki67 的功能主要与细胞合成代谢有关,是增殖期细胞所表达的一种核抗原,它能很好的反应肿瘤增殖活性,在细胞周期的 G<sub>1</sub> 后期、S 期、G<sub>2</sub> 期和 M 期细胞核表达,G<sub>0</sub> 期则缺乏 Ki67 蛋白。

研究表明,当转移瘤超过数毫米后进一步生长就必须依赖新生血管,根据转移瘤新生血管形成情况,可以将其分为无血管期(avascular phase)和血管期(vascular phase),无血管期肿瘤直径 < 1 ~ 2 mm,为隐匿的亚临床病灶,保持细胞增殖和凋亡的动态平衡,肿瘤可以在无血管供应的状态下长期处于“休眠”状态。原发瘤切除可以激活无血管期转移瘤进入血管期,一旦进入血管期,肿瘤呈对数生长<sup>[15]</sup>。本研究发现肺癌原发瘤切除后转移瘤发生率及瘤重均较未切除组明显增加,血管密度也明显增加,提示肺癌原发瘤的切除可触发转移瘤的生长,血管生成与肿瘤的生长密切相关。作者发现十全大补汤在原发瘤切除模型中均有明显降低血管密度的作用。

O' Reilly<sup>[2,16]</sup>认为,原发瘤同时分泌血管生成促进因子-血管内皮生长因子 VEGF 和血管生成抑制因子,目前对转移瘤血管生成有影响的抑血管生成因子主要是血管抑素 AS 和内皮抑素 ES。在原发瘤微环境中,肿瘤的不断生长需要新生血管,促进因子明显超过抑制因子,当血管生成促进因子和抑制因子同时从瘤床进入血液循环,但血管内皮生长因子 VEGF 的半衰期较短,内皮抑素 ES 的半衰期较长,在血液循环中可累计并维持相对稳定的水平,从而形成一个全身性的抑制微血管生成环境,抑制微小转移灶的血管生成并促使这些转移瘤维持较小和休眠(dormancy)。原发瘤切除后,由原发瘤分泌至血液循环中的抑制因子水平快速下降,先前休眠的转移灶快速生长<sup>[17-18]</sup>。因此,抑制肿瘤血管生成,促使肿瘤细胞进入休眠状态或抑制肿瘤细胞增殖是

治疗肿瘤的有效途径之一。作者研究发现 Lewis 肺癌原发瘤切除后,血管生成促进因子-血管内皮生长因子 VEGF 增加,血管生成抑制因子-血管抑素 AS、内皮抑素 ES 减少,首次发现十全大补汤对原发瘤切除的小鼠可降低外周血 VEGF,提高 AS、ES 水平。十全大补汤如何影响原发瘤肿瘤切除后循环中的血管生成因子有待进一步阐明。

综上所述,肿瘤转移机制的研究是一个复杂庞大的生物工程,短时间内无法破解,而原发瘤的切除与转移瘤生长之间的关系是一个相对薄弱的环节。十全大补汤对小鼠 Lewis 肺癌原发瘤切除后转移瘤的生长具有明显抑制作用,其机制可能是通过直接或间接降低 VEGF 及上调 ES 的水平、减少血管生成以及抑制细胞增殖。结合实验结果,作者认为肺癌患者在原发瘤切除后,及时应用十全大补汤对抑制临床或亚临床转移灶生长具有潜在的临床价值。

#### [参考文献]

[ 1 ] van der Bij G J, Oosterling S J, Beelen R H, et al. The perioperative period is an underutilized window of therapeutic opportunity in patients with colorectal cancer [J]. *Ann Surg*, 2009, 249(5):727.

[ 2 ] O'Reilly M S, Holmgren L, Shing Y, et al. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma [J]. *Cell*, 1994, 79(2):315.

[ 3 ] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1995, 36(2):169.

[ 4 ] Kontogeorgos G. Classification and pathology of pituitary tumors [J]. *Endocrine*, 2005, 28(1):27.

[ 5 ] Demicheli R, Retsky M W, Hrushesky W J, et al. The effects of surgery on tumor growth: a century of investigations [J]. *Ann Oncol*, 2008, 19(11):1821.

[ 6 ] Retsky M, Demicheli R, Hrushesky W, et al. Surgery triggers outgrowth of latent distant disease in breast cancer: an inconvenient truth? [J]. *Cancers*, 2010, 2(2):305.

[ 7 ] Li T S, Kaneda Y, Ueda K, et al. The influence of tumour resection on angiostatin levels and tumour growth: an experimental study in tumour-bearing mice [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37(17):2283.

[ 8 ] Kisker O, Onizuka S, Banyard J, et al. Generation of multiple angiogenesis inhibitors by human pancreatic

cancer [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(19):7298.

[ 9 ] Binda M M, Matar P, González A D, et al. Differential production of angiostatin by concomitant antitumoral resistance-inducing cancer cells [J]. *Int J Cancer*, 2002, 100(1):14.

[ 10 ] Scharovsky O G, Binda M M, Rozados V R, et al. Angiogenic and antiangiogenic balance regulates concomitant antitumoral resistance [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2004, 21(2):177.

[ 11 ] Zee-Cheng R K. Shi-quan-da-bu-tang (ten significant tonic decoction), SQT. A potent Chinese biological response modifier in cancer immunotherapy, potentiation and detoxification of anticancer drugs [J]. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 1992, 14(9):725.

[ 12 ] Ohnishi Y, Fujii H, Hayakawa Y, et al. Oral administration of a Kampo (Japanese herbal) medicine Juzen-taiho-to inhibits liver metastasis of colon 26-L5 carcinoma cells [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1998, 89(2):206.

[ 13 ] Matsuo M, Tani T, Saiki I. Organ selectivity of Juzen-taiho-to and Ninjin-yoei-to in the expression of anti-metastatic efficacy [J]. *J Traditional Medicines*, 2002, 19(3):93. (Japanese)

[ 14 ] Kamiyama H, Takano S, Ishikawa E, et al. Anti-angiogenic and immunomodulatory effect of the herbal medicine "Juzen-taiho-to" on malignant glioma [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(11):2111.

[ 15 ] Harford A C, Gohongi T, Fukumura D, et al. Irradiation of a primary tumor, unlike surgical removal, enhance angiogenesis suppression at a distal site: potential role of host-tumor interaction [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(8):2128.

[ 16 ] O'Reilly M S, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth [J]. *Cell*, 1997, 88(2):277.

[ 17 ] Justinger C, Schlüter C, Oliviera-Frick V, et al. Increased growth factor expression after hepatic and pancreatic resection [J]. *Oncol Rep*, 2008, 20(6):1527.

[ 18 ] Peeters C F, de Geus L F, Westphal J R, et al. Decrease in circulating anti-angiogenic factors (angiostatin and endostatin) after surgical removal of primary colorectal carcinoma coincides with increased metabolic activity of liver metastases [J]. *Surgery*, 2005, 137(2):246.

[责任编辑 聂淑琴]