

胃癌中医基础实验研究现状*

孙大志, 徐晶钰 指导: 魏品康

(第二军医大学长征医院, 上海 200003)

〔摘要〕胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 严重威胁着我国人民的生命健康。中医药在治疗胃癌上具有很大的优势。为了解胃癌中医基础实验研究现状, 对胃癌中医证型实验动物模型建立以及中医治疗胃癌机理研究进行了系统综述, 并对中医药防治胃癌进行了评价与展望。

〔关键词〕胃癌; 中医; 基础研究; 综述

中图分类号: R256.32 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2010)03-0065-04

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 据2000年资料统计, 全球每年新发胃癌87万例, 占有新发癌症病例的9%, 仅次于肺癌、乳腺癌和肠癌之后, 居第4位。每年约有64万人因胃癌死亡, 居癌症死因的第2位^[1]。外科手术是目前治疗胃癌的主要方法, 也是有可能治愈胃癌的重要途径, 但其治愈率不到30%^[2], 严重威胁着我国人民的生命健康。中医药在治疗胃癌上具有很大的优势。能缓解临床症状, 配合手术治疗, 减轻放疗、化疗的毒副作用, 提高治疗效果, 延长生存时间。在胃癌中医基础实验研究方面, 国内外有关学者已做了大量工作, 现将此方面研究概况作一综述。

1 胃癌中医证型实验动物模型建立

日前胃癌与中医证型的动物模型, 即胃癌的病证结合的动物模型报道较少, 其中痰瘀互结的胃癌动物模型与脾虚证动物模型有所报道。

1.1 脾虚证动物模型

沈克平等精神状态及呕吐作为脾虚证的基本条件, 应用Beagle犬, 以ENNG作为致癌剂, 每条犬每天喂服75mL, 连续1年。待胃癌形成后行胃癌根治手术, 术后存活1月以上归入脾虚与对照组, 以观察犬精神状态及呕吐变化情况^[3]。

张宏等以过食酸味法建立脾气虚证动物模型, 并在此基础上连续灌胃2-乙基亚硝胺120d。成功建立了脾虚胃癌病证结合动物模型。造模成功后小鼠出现了摄食量、自发活动减少, 体重下降, 被毛蓬松、腹部胀大、大便变溏或呈小干颗粒状^[4]。

1.2 痰证动物模型

魏品康教授认为有形之邪胃癌肿块从病因病机上可看作痰的病理产物, 裸小鼠皮下移植传代, 局部接种, 形成肿块, 造模形成痰证动物模型^[5], 后在此基础上加用OB生物胶改良^[6], 造模成功率高。

2 中医治疗胃癌机理研究

在日前胃癌的机理研究中, 很少有医家根据胃癌动物模型的中医证型进行相应研究, 中医治疗胃癌的机理研究主要从以下7个方面进行:

2.1 对动物移植实体瘤和接种胃癌细胞生长抑制作用的观察

对动物移植实体瘤和接种胃癌细胞抑制率的观察是日前中医药防治胃癌实验研究的常用指标。魏品康等用消痰散结方对裸鼠MKN-45灌胃发现抑癌率与化疗组无明显差异^[5], 认为消痰散结方可以降低痰瘀互结胃癌动物模型细胞膜上EGFR的表达, 阻断其持续激活, 影响信号传导通路, 从而影响DNA的合成与分裂, 抑制胃癌细胞的旺盛增殖^[7]。金氏等以上海中医药大学钱伯文教授治疗消化道肿瘤的钱氏验方水煎剂灌胃, 对小鼠S₁₈₀实体瘤的生长情况进行了观察, 结果表明, 由人参、茯苓等多味中药组成的钱氏验方能有效地抑制S₁₈₀实体瘤的生长, 抑制率为34%~40%, 与对照组比较呈显著性差异, 亦观察了其对人胃癌裸小鼠(SGC7901)移植瘤的影响, 发现生药为20g/kg剂量组的抑瘤效果最好, 抑瘤率达75%^[8]; 王冠庭等报道由党参、生黄芪、生白术等组成的扶正抗癌冲剂对人胃癌低分化细胞株MKN-45

*基金项目: 国家自然科学基金资助项目(重大研究计划)(NO: 90709044)

收稿日期: 2010-02-25 修回日期: 2010-03-26

作者简介: 孙大志(1977~), 男, 山东海阳人, 主治医师, 主要从事消化道肿瘤的防治工作。

有较强的抑制作用,抑制率达 74.7%^[9]。周丹等以消癌平片生药 18, 9, 4.5g/kg 剂量灌胃给药,连续 3 次重复实验,发现对小鼠体内移植的 S₁₈₀、胃癌、P₃₈₈ 有明显抑制作用^[10],马虹等报道玉米提取物,特殊香味浸膏(ESM)对人胃癌细胞 SCC 抑瘤率达 90.7%,提示玉米须有较好抗癌作用^[11]。钱晶晶等报导复方参七汤(参三七、人参、黄芪、黄精、当归、陈皮、木香、茯苓、甘草、川贝、草乌、半边莲、半枝莲、谷麦芽、佛手花等)对人胃癌细胞株 BGC-823 细胞具有直接杀伤效应;对 BGC-823 细胞的有丝分裂有抑制作用^[12];王海波等报导蔡氏扶正消癌汤(人参、黄芪、温莪术、藤梨根、露蜂房、苏铁叶、八月扎、白茅根、徐长卿等组成)在抑制人胃癌细胞 SGC-7901 体外增殖基础上,能够增加胃癌细胞 SGC-7901 表面 E-Cadherin 的表达,减少胃癌细胞 SGC-7901 表面 CD44 和 CD54 的表达,并在计量和效应间存在联系,说明蔡氏扶正消癌汤能阻止胃癌 SGC-7901 细胞对邻近正常组织的浸润及远处转移,从而发挥抗癌作用^[13]。

2.2 对胃癌血象的观察

中医理论认为,饮食和精神等因素引起机体气血郁结是胃癌形成的关键^[14]。周氏通过实验观察到抗胃癌药“扶正抗癌方”能降低肿瘤小鼠的全血粘度($P < 0.01$),改善肿瘤小鼠的高凝状态^[15]。苏氏等通过观察大蒜对 MNNG 所诱发实验性大鼠胃癌及癌前病变过程中血 TCh、LDL、HDL 的影响,发现 MNNG 组血 TCh 与 LDL 明显低于正常对照组($P < 0.01$),而 HDL 则高于对照组($P < 0.05$),证明实验性胃癌及癌前病变组伴有低 TCh、LDL 血症和高 HDL 血症;大蒜治疗组 TCh、LDL 明显高于 MNNG 组($P < 0.01$),但 HDL 则相近,无显著性差异,其诱癌率却明显低于 MNNG 组($P < 0.01$),而两组 HDL 则无显著性差异,从而说明大蒜对 MNNG 诱发实验性胃癌具有抑制与逆转效果^[16]。

2.3 对免疫调节因子影响的观察

近年研究表明,胃癌预后与机体肿瘤的免疫功能密切相关。许氏报道扶正消瘤液能促进 rIL-2 诱导的 LAK 细胞增殖,达到免疫学抗肿瘤效应,又能降低成本,减少大剂量 rIL-2 所致的毒副反应^[17]。

2.4 对肿瘤血管内皮生长因子的影响

恶性肿瘤的血管形成过程是受血管形成因子和抑制因子严密控制的,多种肿瘤都高表达 VEGF,正常组织极少表达,而且肿瘤组织 VEGF 的表达水平与肿瘤复发、浸润转移^[18]和预后密切相关。实验研究表

明消痰散结方可明显抑制痰瘀互结型胃癌细胞 VEGF 的表达,抑制血管形成,而且对血管内皮细胞没有细胞毒作用。研究发现伴区域淋巴结转移或远处器官转移胃癌微血管计数明显高于无区域淋巴结转移或器官转移者。统计分析表明消痰散结方组微血管计数明显低于空白组($P < 0.05$)。消痰散结方可能通过降低胃癌组织中微血管的密度,一方面减少肿瘤生长所必需的营养供应,影响肿瘤的增殖;另一方面减少癌细胞进入循环通路,在阻断肿瘤转移中发挥一定的作用^[7];李庆明等报导以不同剂量的中药复方胃康宁制剂给 SD 大鼠灌胃制备含药血清,然后以含药血清培养胃癌细胞,共同培养两代后,分别用免疫组化法和 RT-PCR 检测不同剂量组胃癌细胞中 VEGF 及其受体 Fit、KDR 的表达情况,结果示中药胃康宁对胃癌细胞血管内皮生长因子及其受体 Fit、KDR 的表达有抑制作用^[19];闵存云等报导中药健脾导滞中药(党参、半枝莲、五灵脂等)对内皮生长因子及其受体 Fit、KDR 的表达有抑制作用^[20];席蓓莉等运用药物血清学方法、免疫组织化学方法、mtr 以及形态学方法观察益气活血清热方对各指标的变化情况。结果:益气活血清热方(由黄芪、白术、莪术、薏苡仁、黄芩、白花蛇舌草)对胃癌细胞株有明显的促凋亡作用,并改变凋亡相关基因 P53、VEGF 的表达,并随浓度的增加而增加 F 表达^[21]。

2.5 对 DNA 指数及细胞分裂周期影响的观察

流式细胞术是评价肿瘤异质性及增殖状态的先进手段之一,研究表明,DNA 与肿瘤细胞增殖分裂有密切关系,核酸增加是肿瘤细胞迅速生长的物质基础,而细胞增殖周期的 S 期和 G2/M 期细胞比例的增高是反映肿瘤迅速生长的重要指标。随着肿瘤细胞 DNA 含量的增加,其 S 期和 G2/M 期细胞数亦增加^[22-23]。张氏等通过改良幽门处插弹簧法造模,观察了消痞灵冲剂(党参、三七、莪术、白花蛇舌草等)对大鼠胃癌前病变 DNA 含量和细胞动力学的影响,结果发现消痞灵冲剂预防组和治疗组的 DNA 指数, S 期及 G2/M 期细胞数、细胞增殖指数与正常组比较均无显著性差异($P > 0.05$),作者从而认为消痞灵冲剂对大鼠胃癌前病变有明显的抑制作用^[24];何涛等报道 SPEE 对 DNA 合成抑制上与 β -胡萝卜素比较显著增强^[25];孙钰等报道消癌平在体内外实验基础上,用流式细胞仪检测,发现消癌平对人胃癌(SGC-7901)有明显抑制作用,主要使癌细胞停留在 G1 期,形态学提示,细胞呈现分化趋势^[26];苏勉诚等研究表明,癌宁可诱导人胃癌 SGC-7901 细胞

的凋亡,其机制与下调癌基因及细胞因子 TGF- β 、Fas、Fas-l 的表达有关^[27]。

2.6 对胃粘膜螺旋杆菌感染的影响观察

幽门螺杆菌感染与胃癌前期病变和胃癌的发生密切相关。张氏等通过改良幽门处插弹簧法造模观察了中药消痞灵冲剂对实验性胃癌前期病变大鼠胃粘膜螺旋杆菌感染的防治作用,结果显示,模型组和自然恢复组大鼠胃螺旋杆菌感染数量明显高于正常对照组,而大、中、小3个剂量组的消痞灵冲剂则对其感染有明显的抑制作用。说明对胃螺旋杆菌的抑制作用可能是消痞灵冲剂发挥抗癌作用的机制之一^[28]。

2.7 对胃癌相关基因蛋白表达影响的观察

随着现代分子生物学技术的不断应用和发展,针对药物对胃癌形成相关基因的研究已成为当前有关胃癌研究的重点,中医药在此方面的作用已有报道。魏品康等研究消痰散结方对胃癌组织中转移抑制因子 nm23 的影响示: nm23RNA 水平低者,癌细胞转移高,进而证实消痰散结方可通过增强胃癌组只中 nm23 的阳性表达,影响细胞的活动与粘连,从而降低肿瘤细胞的转移^[7]。陈蔚文等采用 LSAB 免疫组化技术观察了中药连黛片(由黄连、吴茱萸、青黛等组成)对由 MNNG 诱发的实验性大鼠胃癌 P21、ras、c-erb-B2、Rb、P53 基因蛋白表达的影响,结果发现,以连黛片 1.5g/kg 剂量灌胃给药 12w 后,不仅降低了胃癌的发生率(中药组 1/18,模型组 5/18),且所检测连黛片组 1 例胃癌组织,其 P21、ras、c-erb-B2 蛋白表达均呈阴性,而同样方法检测 3 例空白对照组胃癌组织的 P21、ras、c-erb-B2 两个癌基因蛋白均呈阳性表达^[29];徐力等报道应用三物白散加味方含药物血清加入人胃癌 SGC7901 细胞中,观察 P53、bcl-2、rasp21 及 CD44 基因表达,结果示:可以降低上述基因表达率,从而认为三物白散加味抗胃癌作用与影响胃癌相关基因有关^[30];邱佳信等用 PC-SSCP 法检测健脾为主的中药对 Lovo 氏瘤生长过程中 P53 基因第七外显子点突变阻断作用,其结果是肯定的,与以往的对健脾为主中药具有反突变、反启动作用作用的研究不谋而合,从而论证了健脾法在胃癌的防治中具有重要意义^[31];赵爱光等发现中药复方胃肠安(WCA)通过活化 caspase-9 和 caspase-3 而诱导人胃癌 SGC-7901 细胞裸小鼠皮下移植瘤细胞的凋亡,其机制可能与下调 stat3 和 bcl-2 的 mRNA 表达,抑制 P-stat3 和 bcl-2 蛋白在细胞内的表达有关^[32];刘培民等报导复方阿胶浆血清可显著降低胃癌细胞 Bcl-2 基因表达,因而具有诱导肿瘤细胞凋

亡的作用^[33];蔡朔等利用血清药理学方法制备胃复康、DDP 药物血清,作用 48h 后,应用免疫细胞化学方法和图像分析方法观察胃复康、DDP 对人 SCC-7901 胃癌细胞株 p53、bcl-2 基因表达影响。结果示血清上调 p53 和下调 bcl-2 的表达可能是其抑制胃癌细胞株 SGC-7901 的作用机制之一^[34]。

3 评价与展望

胃癌作为常见的恶性肿瘤之一,有必要建立动物模型,进行前瞻性研究以探讨胃癌的发病机理,并进行抗癌药的药理研究。胃癌中医病证结合动物模型目前研究仍为空白,主要原因为:(1)胃癌造模形成后病程进展较快,证候造模没有时间;(2)既然已经形成癌症,其病情发展可能主要与癌症而不是与证候有关;(3)辨证反证治疗对肿瘤不一定有直接抑制作用,给反证效果的评价带来困难。可见胃癌模型的建立对于胃癌的进一步研究,是至关重要的。建立理想的胃癌动物模型应同时具备以下几个条件:(1)实验周期短,致癌率高;(2)致癌方法简单;(3)诱发胃癌的尽可能与人胃癌接近,即病理类型、生物学行为、电镜下表现及组织化学改变等应与人体癌肿相类似。以 MNNG 诱发建立的大鼠实验性胃癌模型基本上符合上述条件,因而在胃癌的实验研究中被广泛采用。通过实验已证实胃癌的发生和发展是一个多因素、多阶段的过程,而胃粘膜损伤、亚硝基化合物攻击及幽门螺杆菌感染等因素与胃癌的发生发展密切相关。实验结果亦表明,MNNG 结合胃癌其它相关因素的联合攻击,能明显提高诱癌率,并缩短胃癌的形成时间。因此进一步仔细研究选择多因素联合攻击致癌,将是今后有关胃癌动物模型研究的重点方向之一。转基因胃癌模型,由于是直接调控胃癌的相关基因转染到动物胚胎中而形成形态特性与人胃癌相类似的肿瘤,因此是一种最为理想的胃癌模型。随着现代分子生物学的不断发展,它必将成为未来研究胃癌的主要模型。目前中医药防治胃癌的研究大多为临床研究,相应的实验研究大多数较为粗略,不够深入,现代分子生物学认为,胃癌的发生和发展是一个多因素、多阶段演变的过程,而相关基因的改变和缺失起着决定性的作用。在运用现代分子生物学有关技术寻找胃癌相关基因的基础上寻找中医药防治胃癌的靶基因,以达到对其进行基因调控的目的,应成为今后研究的重要方向之一。

[参考文献]

- [1] 徐飏,王建明. 胃痛流行病学研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2006, 13 (1): 1-7.
- [2] Hohenberger P, Gretschel S. Gastric Cancer [J]. Lan-

- cet, 2003, 362 (9380): 305-315.
- [3] 沈克平, 韩颖益, 赵海磊. 健脾法延长胃癌患者生存期之探讨 [J]. 辽宁中医杂志, 2001, 28 (12): 725-726.
- [4] 张宏, 林代华, 余成浩, 等. 脾虚胃癌病证结合动物模型的建立 [J]. 四川动物, 2007, 26 (3): 699-700.
- [5] 郭晓东, 魏品康, 许玲. 消痰散结方对裸鼠 MKN-45 胃腺癌组织中 PCNA 表达的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17 (2): 152-154.
- [6] 陈亚琳, 魏品康, 许玲, 等. 采用 OB 胶粘贴法建立人胃癌裸鼠原位种植转移模型 [J]. 癌症, 2005, 24 (2): 246-249.
- [7] 魏品康, 许玲, 秦志丰, 等. 胃癌从痰论治的机理与临床研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, (2): 18-20.
- [8] 金锦娣, 胡月娟, 钟健, 等. 钱氏验方对实验性肿瘤的影响 [J]. 上海中医药杂志, 1995, (10): 44.
- [9] 王冠庭, 朱金水, 徐文玉, 等. 扶正抗癌冲剂结合化疗治疗晚期胃癌的临床与实验研究 [J]. 华人消化杂志, 1998, 6 (3): 214-218.
- [10] 周丹, 韩大庆, 刘伟, 等. 消癌平片抗胃癌作用研究 [J]. 吉林中医药, 2002, 22 (1): 57-58.
- [11] 马虹, 高凌. 玉米须提取物 ESM 对 K562 和 SGC 细胞的作用 [J]. 南京中医药大学学报, 1998, 14 (1): 28-29.
- [12] 钱晶晶, 沈洪薰. 复方参七汤对、结直肠癌抑制作用的实验研究 [J]. 南通大学学报, 2008, 28 (5): 332-334.
- [13] 郎玮, 王海波, 吴建波, 等. 蔡氏扶正消痰汤对胃癌 SGC-7901 细胞黏附分子表达的影响 [J]. 温州医学院学报, 2009, 39 (4): 342-344.
- [14] 刘友章, 丁向民. 胃癌的中医药临床研究进展 [J]. 新中医, 1996, 28 (12): 51.
- [15] 周阿高, 丁钰熊, 王家冲, 等. 扶正抗癌方抗肿瘤的实验研究 [J]. 浙江中医杂志, 1992, (12): 564.
- [16] 苏琦, 罗招阳, 腾化, 等. 大蒜对 MNNG 诱发实验性胃癌及癌前病变过程中血 Tch、LDL、HDC 的影响 [J]. 中国肿瘤临床, 1996, 23 (2): 130.
- [17] 许运明. 扶正消瘤液增强 LAK 抗肿瘤活性的实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 1998, 25 (4): 188-189.
- [18] Kanedo T, Konno H, Baba M, Tanaka T, Nakamura S. Urokinase type plasminogen activator expression correlates with tumor angiogenesis and poor outcome in gastric cancer [J]. Clin Sci, 2003, Jan, 94 (1): 43-49.
- [19] 闵存云, 李庆明, 吴伟康, 等. 中药复方胃康宁对人胃癌细胞 VEGF 及其受体表达的作用 [J]. 世界华人消化道杂志, 2004, 12 (3): 533-536.
- [20] 闵存云, 刘和强, 李庆明. 健脾导滞中药对胃癌细胞 VEGF 及其受体表达的作用 [J]. 中华实用中西医杂志, 2005, 18 (9): 1351-1352.
- [21] 席蓓莉, 蒋凤荣, 黄玉芳, 等. 益气活血清热方对胃癌细胞株 P53 VEGF 表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27 (3): 594-595.
- [22] 左连富, 高国栋, 孰建文, 等. 胃癌前病变细胞 DNA 倍体的研究 [J]. 中华肿瘤杂志, 1991, 13: 180.
- [23] 李勇, 丛庆文, 马志学, 等. 胃癌及其癌前期病变的流式细胞光度分析 [J]. 实用肿瘤学杂志, 1991, 5: 16.
- [24] 张旭晨, 赵凤志, 代欣, 等. 消痞灵冲剂对大鼠胃癌前病变 DNA 含量和细胞动力学影响的定量研究 [J]. 北京中医药大学学报, 1995, 18 (1): 45.
- [25] 何涛, 黄承钰, 侯蕴华. 菠菜粉脂溶性粗提物对人胃癌细胞的体外抑制作用 [J]. 营养学报, 1998, 20 (1): 53-57.
- [26] 孙珏, 沈建华, 朱关华, 等. 消痞平对人胃癌细胞治疗作用的实验研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2000, 14 (2): 41-43.
- [27] 苏勉诚, 戴萍, 吕晓英, 等. 癌宁对人胃腺癌细胞 SGC-7901 细胞因子及 Fas 基因表达的影响 [J]. 现代预防医学, 2001, 28 (1): 52.
- [28] 张旭晨, 赵凤志, 代欣, 等. 消痞灵冲剂对实验性胃癌前病变大鼠胃粘膜胃螺旋杆菌感染的防治作用 [J]. 北京中医药大学学报, 1995, 18 (4): 59.
- [29] 陈蔚文, 徐勤, 李茹柳, 等. 连黛片对 MNNG 诱发大鼠胃癌基因的作用 [J]. 中国医药学报, 1997, 12 (增刊): 123.
- [30] 徐力, 王明艳, 许冬青, 等. 三物白散加味方影响胃癌相关基因表达的实验研究 [J]. 南京中医药大学学报 (自然科学版), 2002, 18 (3): 158-160.
- [31] 沈克平, 郑坚, 赵海磊, 等. 邱佳信治疗胃癌的研究思路 [J]. 上海中医药杂志, 1999 (8): 20-21.
- [32] 赵爱光, 杨金坤, 尤圣富, 等. 中药胃肠安诱导根鼠胃癌移植瘤细胞凋亡的途径及基因调控的研究 [J]. 中西医结合学报, 2007, 5 (3): 287.
- [33] 刘培民, 郭建平, 李龙华, 等. 复方阿胶浆含药血清对胃癌 SGC7901 细胞 Bcl-2 基因表达作用实验 [J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35 (2): 185-187.
- [34] 蔡溯, 刘山. 胃复康对人 SGC-7901 胃癌细胞株 p53、bcl-2 基因表达的影响 [J]. 解剖科学进展, 2009, 15 (1): 50-52.

(编辑: 左媛媛)