

健脾法调整肝癌宿主肠道菌群增强免疫检查点抑制剂疗效的机制研究*

田春红, 王雄文

广州中医药大学, 广东 广州 510405

摘要: 肠道菌群的变化可以预测或影响免疫检查点抑制剂的疗效。脾虚与肝癌的发生发展、转归有关。在微观层面,“脾虚”的实质为肠道微生态的改变。健脾法可调整肝癌患者肠道菌群发挥抗肿瘤作用。因此,在使用免疫检查点抑制剂的基础上,中医健脾法可通过调整肝癌患者肠道菌群提高免疫治疗的疗效。基于调整宿主肠道菌群探讨健脾法联合免疫检查点抑制剂的增效机制可丰富“肝病实脾”的科学内涵,也为中西医结合防治恶性肿瘤提供契合点和证据。

关键词: 健脾法; 肠道菌群; 免疫检查点抑制剂; 肝癌; 脾虚; 肝病实脾

DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2024.11.372

中图分类号: R273.57 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-8999(2024)11-2278-04

Mechanism Study on Adjusting Intestinal Flora of Hepatocellular Carcinoma Hosts with Spleen Strengthening Method to Enhance Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors

TIAN Chunhong, WANG Xiongwen

Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou Guangdong China 510405

Abstract: Changes in intestinal flora can predict or influence the efficacy of immune checkpoint inhibitors. Spleen deficiency is related to the development and regression of hepatocellular carcinoma. At the microscopic level, the essence of "Spleen deficiency" is the change of intestinal microecology. Strengthening the spleen can adjust the intestinal flora of hepatocellular carcinoma patients to exert anti-tumor effects. Therefore, based on the use of immune checkpoint inhibitors, Chinese medicine spleen strengthening method can improve the efficacy of immunotherapy by adjusting the intestinal flora of hepatocellular carcinoma patients. Exploring the efficacy of the splenic method in combination with immune checkpoint inhibitors based on the adjustment of the host's intestinal flora can enrich the scientific connotation of "strengthening Spleen in treatment of Liver disease", and provide a point of convergence and evidence for the combination of integrative medicine in prevention and treatment of malignant tumors.

Key words: Spleen strengthening method; intestinal flora; immune checkpoint inhibitor; hepatocellular carcinoma; spleen deficiency; strengthening Spleen in treatment of Liver disease

70%左右的肝癌患者确诊时即为中晚期,需要以系统抗肿瘤治疗为主(包括分子靶向药物治疗、免疫治疗、化学治疗和中医中药治疗等)^[1]。近年来,以程序性死亡蛋白 1(programmed death protein

1,PD-1)/PD-L1 为代表的免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors,ICIs)在肝癌系统治疗的后线及一线均广受指南推荐。随着 ICIs 的运用,肠道菌群的改变影响免疫治疗的疗效,调节肠道菌群组成或者补充肠道益生菌可提高肝癌 ICIs 治疗的疗效^[2]。因此,基于调整宿主肠道菌群探讨健脾

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(82274605);广东省重点领域研发计划项目(2020B1111100011)

法联合 ICI 的增效机制可丰富“肝病实脾”的科学内涵,也为中西医结合防治恶性肿瘤提供契合点和证据。

1 脾虚与肝癌的发生、发展及预后密切相关

1.1 脾虚影响肝癌的发生发展 脾胃居中焦,升清降浊,为后天之本,若脾失健运,生痰聚湿成瘀,日久酿毒,积聚成矣。《诸病源候论》曰:“凡脾胃不足,虚弱失调之人,多有积聚之病。”肝癌发展的各个阶段基本伴随着脾虚证候。早期是肝郁脾虚湿阻;中期是脾阳虚弱,脾虚与水湿互结夹血瘀;晚期是脾肾阳虚水泛为主。《金匱要略》云:“见肝之病,知肝传脾,当先实脾。”根据五行生克制化规律,肝木易犯脾土。尽管肝癌患者在疾病早期未表现出明显的脾虚症状,也要注意顾护脾胃,“四季脾旺不受邪”,可防止疾病进一步传变。另外,中晚期肝癌综合治疗手段中化疗及抗血管生成靶向治疗等手段易伤中土之气,中晚期患者脾肾阳虚症状明显,兼夹痰湿与血瘀、血虚等。正气不足,难以御邪,土虚木乘,木郁土壅,肝脾二脏互为因果,影响疾病进展。

1.2 脾虚是肝癌的预后不良指征 脾胃为后天之本,脾胃功能强盛对于人体正气充盛至关重要。《素问·平人氣象论》云:“人无胃气曰逆,逆者死。”肝癌患者常伴随的症状如营养不良、免疫低下、体能状态评分低等都属于中医脾虚范畴。晚期肝癌患者若胃气强盛,诊治得当,亦可带瘤生存。而某些患者尽管处于早期,若脾土衰败,中气不足,疾病进展较快。此外,肝癌病机复杂,虚实夹杂,基于整体观念指导,在疾病动态的变化过程中,评估患者脾虚程度可指导医者判断病势预后。顾护脾胃,攻补得当,抓住疾病先机,也可带病延年。“有胃气则生”是经典的中医预后观^[3],这与现代医学已经在不同恶性肿瘤临床研究中证实的体力状况评分、恶病质评分与不良预后相关有相似的内涵。

2 脾虚证与肠道菌群失调

《素问·灵兰秘典论》云:“脾胃者,仓廩之官,五味出焉。”脾虚患者主要有脘腹胀满、纳差、便溏等消化系统症状以及神疲乏力等正虚表现。作为人类“第二大基因组”的肠道菌群可调节机体营养物质代谢和免疫功能,与中医之“脾”的功能不谋而合。因而对肠道菌群的研究成为脾虚证内涵研究及健脾疗效机制研究的前沿与热点。

2.1 肠道菌群 人体肠道内生存着数以万计的菌

群,胃肠道内的细菌细胞数量比人类细胞多 10 倍,微生物组数量比人类基因组数量多 100 倍以上,被称为“人体肠道元基因组”^[4]。这些庞大的细菌大致可以分为 3 类:益生菌、致病菌、条件致病菌。益生菌包括双歧杆菌、乳酸杆菌等;致病菌包括葡萄球菌、变形杆菌、梭状芽孢杆菌、铜绿假单胞菌等;条件致病菌包括肠球菌、大肠埃希菌、拟杆菌等。这些肠道菌群相互依存、相互制约,参与机体的免疫和代谢,与人类健康息息相关。健康人体中肠道菌群的结构虽然十分复杂,但保持相对稳态,一旦稳态被打破,肠道菌群失调,就会产生疾病。

2.2 脾虚证与肠道菌群失调 人的肠道微生态中存在许多生理性细菌,其代谢产物的消化吸收为机体提供各种能量来源。当肠道微生态平衡被打乱时,菌群的种类和丰度发生变化,阻碍食物的消化和吸收,出现纳差、腹胀、便秘等胃肠不适症状。这与中医“脾虚证”的病机与临床表现类似。

脾虚患者与健康人肠道菌群特征存在显著差异,且随着脾虚程度加重,肠道微生态的失衡表现更为明显。刘先姜^[5]通过观察乙型肝炎相关性慢性肝病患者不同疾病阶段“脾虚”证候者与健康人肠道菌群间的差异,发现健康人群优势菌未发生明显变化,肝病组中如毛螺菌科和脱硫弧菌目等相关条件致病菌增多,而像瘤胃球菌科等相关的有益菌则减少或缺如。闫蕴孜^[6]研究发现,随着结直肠癌临床分期加重,优势菌种呈动态变化,拟杆菌属比例呈不断下降趋势,而志贺菌属、普雷沃菌属及粪球菌属比例呈上升趋势。此外,徐由立^[7]发现,慢性乙型肝炎脾胃湿热证和肝郁脾虚证患者肠道菌群紊乱,均表现为双歧杆菌丰度降低,而肠杆菌丰度升高。

3 肠道菌群与 ICI 治疗

肠道菌群失调会破坏肠黏膜屏障,导致机体免疫功能紊乱。ICI 通过调节机体免疫发挥抗肿瘤作用,肠道菌群可预测和影响 ICI 的疗效。调整肠道菌群可使有助于免疫治疗效果的菌群在肠道富集,这为预测肝癌 ICI 治疗的反应提供一个新的靶点。

3.1 肠道菌群调节机体免疫 肠道作为人体最大的免疫器官,产生全身近 80% 的抗体,可作为人体重要的疾病防御屏障。肠道菌群在与宿主长期的共同进化中形成了互利共生的复杂关系。一方面,肠道微生物对局部黏膜免疫系统的发育非常重要。无菌动物肠道淋巴组织数量减少、发育不全,为无菌动

物引入正常的肠道菌群可以恢复肠道组织结构^[8]。另一方面,肠道菌群可调节免疫细胞的组成和功能。多种肠道菌群(枸橼酸杆菌、大肠埃希杆菌等)均可调节T淋巴细胞的增殖与分化,并促进各细胞亚群分泌不同的细胞因子^[9]。肠道菌群还可通过刺激调节性B细胞(regulatory B cell, Breg)产生白细胞介素-10、肿瘤生长因子- β 等抑制性细胞因子抑制炎症的发生,防止过度免疫^[10]。

3.2 肠道菌群预测和影响肝癌ICIs治疗疗效 肠道菌群在肿瘤免疫治疗中扮演着重要角色。CTLA-4拮抗剂的抗肿瘤作用依赖于特定种类的拟杆菌属,经抗生素治疗的小鼠或无菌小鼠中的肿瘤对CTLA阻断没有反应。通过脆弱拟杆菌管饲、脆弱拟杆菌多糖免疫或过继转移脆弱拟杆菌特异性T细胞可克服这一缺陷^[11]。此外,给予肠道菌群组成欠佳的小鼠双歧杆菌可提高免疫治疗效果^[12]。将对PD-1治疗有效的患者粪便样本移植到GF小鼠身上成功地复制了优势表型:接受有效反应者粪便小鼠的治疗效果优于接受无应答患者粪便小鼠^[13]。

由于肝脏与肠道通过门静脉相互联系。肝脏是最容易受肠道菌群影响的器官,肝癌患者也多有肠道菌群失调的表现。有研究发现,肠道微生物群可能对肝细胞癌患者抗PD-1免疫治疗的反应有重要影响^[14-15]。肠道微生物群的动态变化特征可能为肝癌免疫治疗的早期预后提供预测,对疾病监测和治疗决策至关重要。晚期肝细胞癌患者中,有反应者和无反应者之间的肠道菌群多样性差异在治疗期间减弱,肠道菌群影响了免疫治疗的疗效^[16]。ICIs的耐药性与肠道菌群有关系。Routy等^[17]发现,对ICIs的主要耐药性可归因于异常的肠道微生物,口服补充嗜黏蛋白阿克曼菌,可增加白细胞介素-12,恢复PD-1阻断的疗效。

4 调整肝癌宿主肠道菌群可能是健脾法联合ICIs的增效机制

4.1 健脾法调节肝癌患者肠道菌群 中医药联合西医可增效减毒、提高患者生活质量,发挥多靶点作用。Li等^[18]发现,加味逍遥散可能通过调节肠道菌群中的厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门而发挥治疗肝癌的作用。冉云等^[19]发现,黄芪、白术等含健脾中药的正肝方联合西药治疗,可有效改善肝癌患者肝功能和免疫功能,效果优于常规西药组;治疗组患者肠道内乳酸杆菌明显升高,而肠杆菌降低。刘珍

等^[20]发现,原发性肝癌模型小鼠存在肠道微生物失衡的情况,肝复方干预模型小鼠后能减少双歧杆菌、乳酸杆菌、大肠埃希菌、肠球菌的数量,与益生菌疗效相当,其可能作用机制是肝复方通过调控肠道微生物平衡,激活机体免疫系统,从而达到预防或抑制原发性肝癌的目的。

4.2 健脾法调整肝癌宿主肠道菌群 LYU等^[21]发现,葛根芩连汤通过调整肠道菌群和重塑肿瘤微环境,增强PD-1在结直肠癌中的作用。Huang等^[22]研究发现,人参多糖联合PD-1单抗可通过将肠道微生物区系从无应答者向应答者重塑,使接受粪便微生物移植的小鼠对PD-1抑制剂的反应更加敏感。目前,在许多肠道菌群与ICIs疗效的基础研究中,大多采用增加肠道内益生菌使ICIs增效。而在临床研究中,因为个体差异,能使免疫治疗效果更好的肠道菌群状态尚无规律可循。但这些研究提示,调整肠道菌群、恢复紊乱的肠道微生态是使ICIs增效的关键。中医健脾法可扶植肝癌患者肠道益生菌,抑制有害菌,可使失衡的肠道菌群恢复正常,趋向于更适合免疫治疗的状态。中医药具有辨证论治的特色,可根据患者证候,评估邪正盛衰关系,或攻或补或攻补兼施,从整体调节益生菌、致病菌等多种肠道菌群的种类和丰度。健脾方药除了能使ICIs增效外,还能提高肿瘤患者的疾病控制率、功能状态评分,改善中医证候^[23]。这提示健脾方药的应用使患者的获益是多维度的,不仅使免疫治疗的效果提高,也发挥了“健脾”功效,使患者的生存质量更高,疾病预后更好。

5 结语

近年来,中医药协同治疗肿瘤在增效减毒、减少不良反应等方面发挥了很大作用。中医重视整体观念,根据“肝病实脾”理论,历代医家重视健脾在肝癌中的运用。在微观层次上,肠道菌群失调与脾虚证相对应。健脾法可通过调整患者肠道菌群发挥抗肿瘤作用。因此,健脾法有望靶向作用于肠道菌群以提高ICIs疗效。此外,中医药联合ICIs是一种能使免疫治疗增效的策略,健脾法靶向作用于肠道菌群使ICIs治疗增效机制还有待于进一步验证。总之,中医药健脾法有望通过调整肝癌患者肠道菌群使ICIs治疗增效,这不仅体现了中医整体观念的思维,也证明了“肝病实脾”理论的科学内涵,为临床中西医结合运用治疗肝癌提供了思路。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 原发性肝癌诊疗指南(2022 年版)[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2022, 8 (2): 16 – 53.

[2] 张鑫, 梁斌. 肠道菌群与肝癌免疫治疗的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2022, 30(3): 147 – 151.

[3] 王威, 贺凡, 王雄文. “有胃气则生”的肿瘤预后观[J]. 中医药导报, 2018, 24(22): 33 – 35, 64.

[4] WAKITA Y, SHIMOMURA Y, KITADA Y, et al. Taxonomic classification for microbiome analysis, which correlates well with the metabolite milieu of the gut[J]. BMC Microbiol, 2018, 18(1): 188.

[5] 刘先姜. 基于肠道菌群特征探讨 HBV 相关性慢性肝病“脾虚”实质的研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2021.

[6] 闫蕴孜. 基于不同临床分期的结直肠癌脾气虚特征与肠道菌群相关性研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.

[7] 徐由立. 慢性乙型肝炎脾胃湿热证和肝郁脾虚证患者肠道菌群的变化及其与甲基化相关蛋白的关联性研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.

[8] BOUSKRA D, BREZILLON C, BERARD M, et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis[J]. Nature, 2008, 456(7221): 507 – 510.

[9] ATARASHI K, TANOUE T, ANDO M, et al. Th17 cell induction by adhesion of microbes to intestinal epithelial cells[J]. Cell, 2015, 163(2): 367 – 380.

[10] YU Q, JIA A N, LI Y, et al. Microbiota regulate the development and function of the immune cells[J]. Int Rev Immunol, 2018, 37(2): 79 – 89.

[11] VETIZOU M, PITT J M, DAILLIERE R, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA – 4 blockade relies on the gut microbiota[J]. Science, 2015, 350(6264): 1079 – 1084.

[12] SIVAN A, CORRALES L, HUBERT N, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti – PD – L1 efficacy[J]. Science, 2015, 350(6264): 1084 – 1089.

[13] MATSON V, FESSLER J, BAO R Y, et al. The commensal microbiome is associated with anti – PD – 1 efficacy in metastatic melanoma patients[J]. Science, 2018, 359(6371): 104 – 108.

[14] ZHENG Y, WANG T T, TU X X, et al. Gut microbiome affects the response to anti – PD – 1 immunotherapy in patients with hepatocellular carcinoma[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 193.

[15] SHEN Y C, LEE P C, KUO Y L, et al. An exploratory study for the association of gut microbiome with efficacy of immune checkpoint inhibitor in patients with hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatocell Carcinoma, 2021, 8: 809 – 822.

[16] WU H W, ZHENG X R, PAN T, et al. Dynamic microbiome and metabolome analyses reveal the interaction between gut microbiota and anti – PD – 1 based immunotherapy in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2022, 151(8): 1321 – 1334.

[17] ROUTY B, LE CHATELIER E, DEROSA L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD – 1 – based immunotherapy against epithelial tumors[J]. Science, 2018, 359(6371): 91 – 97.

[18] LI Z X, ZHAO Y X, CHENG J L, et al. Integrated plasma metabolomics and gut microbiota analysis: the intervention effect of Jiawei Xiaoyao San on liver depression and spleen deficiency liver cancer rats[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 906256.

[19] 冉云, 吕锦珍, 胡世平, 等. 中医正肝方治疗肝癌的疗效及对患者肝功能、肠道菌群和免疫功能的影响[J]. 海南医学, 2021, 32(14): 1821 – 1824.

[20] 刘珍, 邓天好, 尹抗抗, 等. 肝复方对原发性肝癌模型小鼠肠道菌群影响的实验研究[J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(7): 167 – 169.

[21] LYU J, JIA Y T, LI J, et al. Gegen Qinlian decoction enhances the effect of PD – 1 blockade in colorectal cancer with microsatellite stability by remodelling the gut microbiota and the tumour microenvironment[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(6): 415.

[22] HUANG J M, LIU D, WANG Y W, et al. Ginseng polysaccharides alter the gut microbiota and kynurenine/tryptophan ratio, potentiating the antitumour effect of antiprogrammed cell death 1/programmed cell death ligand 1 (anti – PD – 1/PD – L1) immunotherapy[J]. Gut, 2022, 71(4): 734 – 745.

[23] 张志涛. 自拟健脾除积方联合免疫检查点抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌的临床观察[D]. 承德: 承德医学院, 2022.

收稿日期: 2024 – 07 – 12

作者简介: 田春红(1999 –), 女, 河南驻马店人, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合防治肿瘤。

通信作者: 王雄文(1986 –), 男, 医学博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 中西医结合防治肿瘤。E – mail: awen681029@163.com

编辑: 秦小川