DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.04.027

从抑制肿瘤微环境中癌相关纤维细胞探讨固本清源方延缓前列腺癌新型内分泌治疗耐药作用机制

陈浩然[1],刘浩[1],朱旭东[1],王家政[1],陈亚飞[2],王艺林[2]
(1.中国中医科学院广安门医院,北京 100053;2.北京中医药大学研究生院,北京 100029)

摘要:目的 探讨固本清源方抑制恩扎卢胺耐药过程中癌相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast,CAF)的作用研究。方法 建立前列腺癌恩扎卢胺耐药细胞荷瘤小鼠模型,观察固本清源方联合恩扎卢胺干预对荷瘤小鼠肿瘤生长的影响以及肿瘤组织中CAF的影响;采用免疫荧光检测固本清源方对CAF诱导转化的影响,CCK8法检测固本清源方对CAF增殖的影响,酶联免疫吸附试验检测固本清源方对CAF衍生因子的影响。结果 固本清源方联合恩扎卢胺干预对恩扎卢胺耐药细胞荷瘤小鼠肿瘤的抑制率在29%~47%,其中中、高剂量固本清源方联合恩扎卢胺组与恩扎卢胺组比较差异具有显著统计学意义($P<0.01$)。免疫荧光及免疫组化结果显示恩扎卢胺耐药细胞荷瘤小鼠肿瘤组织中CAF的标志物成纤维细胞激活蛋白(fibroblast activation protein-α,FAP)、α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin,α-SMA)表达显著高于接种前列腺癌C4-2B细胞组,中、高剂量固本清源方联合恩扎卢胺组能抑制FAP、α-SMA表达,与恩扎卢胺组比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。免疫荧光显示中、高剂量固本清源方含药血清能抑制体外CAF的FAP、α-SMA表达;采用固本清源方含药血清干预CAF 48、72 h后,中、高剂量固本清源方组的抑制率显著升高,与对照组比较差异具有统计学意义($P<0.05$);进一步研究显示固本清源方能抑制CAF上清液中转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1,TGF-β1)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1,SDF-1)、无翅/集成基因(wingless/integrated-3a,Wnt3a)、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2,MMP-2)的含量。结论 固本清源方对延缓前列腺癌新型内分泌治疗恩扎卢胺耐药具有一定作用,作用靶点与CAF有关。

关键词:前列腺癌;新型内分泌治疗;治疗耐药;癌相关成纤维细胞;中医药;固本清源方
中图分类号:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)04-0124-09

Exploring Mechanism of Delayed Resistance to Novel Endocrine Therapy for Prostate Cancer by Guben Qingyuan Prescription(固本清源方) From inhibition of CAF in Tumor Microenvironment

CHEN Haoran[1],LIU Hao[1],ZHU Xudong[1],WANG Jiazheng[1],CHEN Yafei[2],WANG Yilin[2]
(1. Guang'anmen Hospital,China Academy of Chinese Medical Sciences,Beijing 100053,China;
2. Graduate School,Beijing University of Chinese Medicine,Beijing 100029,China)

Abstract:*Objective* To investigate the effect of Guben Qingyuan Prescription(固本清源方) on inhibiting cancer-associated fibroblast (CAF) in the development of resistance to enzalutamide. *Methods* A tumor-bearing mouse model of enzalutamide-resistant prostate cancer cells was established to observe the effects of Guben Qingyuan Prescription combined with enzalutamide on tumor growth and CAF in tumor tissues. The effects of Guben Qingyuan Prescription on CAF transformation were assessed using immunofluorescence. CAF proliferation was evaluated by the CCK8 assay,and the influence of Guben Qingyuan Prescription on CAF-derived factors was measured via enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). *Results* The tumor inhibition rate of the Guben Qingyuan Prescription combined with enzalutamide ranged from 29% to 47%. In the medium- and high-dose groups,the combination treatment showed a statistically significant difference compared to the enzalutamide-only group($P<0.01$). Immunofluorescence and immunohistochemistry results demonstrated that the expressions of CAF markers fibroblast activation protein-α(FAP) and α-smooth muscle actin(α-SMA) in tumor tissues of enzalutamide-resistant mice were significantly higher than those in the group inoculated with prostate cancer C4-2B cells. The medium- and high-dose

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81873171);国家中医药管理局全国中医药创新骨干人才项目(国中医药人教函〔2019〕128号)
作者简介:陈浩然(1995-),男,广东广州人,博士在读,研究方向:中西医结合治疗前列腺癌临床与转化。
通讯作者:刘浩(1975-),男,河北保定人,主任医师,博士研究生导师,博士,研究方向:中西医结合治疗前列腺癌。E-mail:drliuhao@126.com。

Guben Qingyuan Prescription combined with enzalutamide groups significantly inhibited the expressions of FAP and α－SMA compared to the enzalutamide－only group ($P<0.05$). Additionally, immunofluorescence showed that serum containing medium－ and high－dose Guben Qingyuan Prescription groups could inhibit the expressions of FAP and α－SMA in vitro. After 48 and 72 hours of treatment, the inhibition rates of the medium－ and high－dose Guben Qingyuan Prescription groups significantly increased, with a statistically significant difference compared to the control group ($P<0.05$). Further studies revealed that Guben Qingyuan Prescription reduced the concentrations of transforming growth factor－β1 (TGF－β1), tumor necrosis factor－α (TNF－α), stromal cell－derived factor－1 (SDF－1), Wingless/Integrated－3a (Wnt3a) and matrix metalloproteinase 2 (MMP2) in CAF supernatants. *Conclusion* Guben Qingyuan Prescription has a significant effect in delaying resistance to enzalutamide, a novel endocrine therapy for prostate cancer, and its mechanism of action may be related to the inhibition of CAF.

Keywords: prostate cancer; novel endocrine therapy; drug resistance; CAF; Chinese medicine; Guben Qingyuan Prescription (固本清源方)

前列腺癌是常见的男性恶性肿瘤[1]。目前，内分泌治疗是中晚期前列腺癌的标准疗法，但部分患者在接受雄激素剥夺治疗18～36个月后发展为去势抵抗性前列腺癌(castration－resistant prostate cancer, CRPC)[2－3]，以恩扎卢胺为代表的新型内分泌治疗已成为治疗CRPC的一线选择[4－5]。新型内分泌治疗虽然可以延迟CRPC的进展，然而恩扎卢胺等新型内分泌治疗仍无法完全阻断前列腺癌进展，这与新型内分泌治疗耐药密切相关[6]。

中医药是前列腺癌治疗的重要手段，既往研究[7－9]显示中医药能一定程度改善前列腺癌治疗抵抗。癌相关成纤维细胞(cancer－associated fibroblast, CAF)是肿瘤微环境中的重要成分，其潜藏在肿瘤微环境中，诱发前列腺癌对新型内分泌治疗抵抗，CAF在前列腺癌新型内分泌治疗耐药中所发挥的作用正体现了中医“伏毒”的性质和特点。“固本清源”出自《汉书·刑法志》“岂宜惟思所以清原正本之论”，将固本清源引入前列腺癌治疗体现了中医标本兼治的特色与优势，成为延缓前列腺癌耐药的重要法则[10]。因此我们根据“固本清源”理论、临床用药经验以及现代研究进展总结出固本清源方，针对“伏毒”一方面以苦参清热化湿解毒、姜黄祛瘀解毒，另一方面以人参培补元气、黄精补脾益肾、灵芝益气安神，诸药合用扶正固本、清除伏毒。前期研究显示固本清源方具有控制去势抵抗性前列腺癌的作用[11－12]，在此基础上进一步探究固本清源方干预对前列腺癌治疗过程中CAF的影响。

1 材料

1.1 动物与细胞

前列腺癌C4－2B细胞(北纳生物科技有限公司，批号：BNCC341733)。人前列腺肌成纤维WPMY－1细胞(上海盖宁生物科技有限公司，批号：CM－H017)。雄性SD大鼠、SPF级6～8周龄的雄性NSG小鼠(北京唯尚立德生物科技有限公司，批号：VSR1000、VSM20002)。本次动物实验经中国中医科学院广安门医院伦理委员会批准(批号：IACUC－GAMH－2024－058－SQ)，所有操作均严格按照中国伦理委员会有关动物研究指导原则进行。

1.2 药物与试剂

固本清源方：人参、黄精、灵芝、苦参、姜黄(实验所用中药由中国中医科学院广安门医院药剂科提供，由中国中医科学院广安门医院陈维药师鉴定符合2020年版《中华人民共和国药典》质量要求，批号分别为200990011、20110099、20010167、20070144、20090006)，将其熬制成浸膏，按浓度梯度配制成低、中、高剂量分别为2、20、40 g·kg^{-1}，冷冻保存备用。恩扎卢胺胶囊(日本安斯泰来制药有限公司，批号H20190056)，醋酸戈舍瑞林(英国阿斯利康制药有限公司，批号H20160259)。RPMI 1640基础培养基、10%胎牛血清(美国ThermoFisher公司，批号：2186792、AB20171102S)、成纤维细胞激活蛋白(fibroblast activation protein－α, FAP)(E1V9V) Rabbit mAb(美国Cell Signaling Technology公司，批号：66562S)；抗－α－平滑肌肌动蛋白(anti－α－smooth muscle actin, anti－α－SMA)(英国Abcam公司，批号：ab7817)；Human转化生长因子－β1(transforming growth factor－β1, TGF－β1)(美国PeproTech公司，批号：96－100－21C－2)；辣根过氧化物酶羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(美国LI－COR公司，批号C50331)；TGF－β1、TNF－α、基质细胞衍生因子－1(stromal cellderived factor－1, SDF－1)、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP－2) ELISA Kit检测试剂盒(杭州联科生物有限公司，批号：EK981、EK182、EK1119)；无翅/集成基因(wingless/Integrated－3a, Wnt3a) ELISA试剂盒(上海酶联生物有限公司，批号：ml027566)；CCK8试剂盒(日本同仁化学研究所，批号：CK04)。

2 方法

2.1 体内实验

2.1.1 观察固本清源方联合恩扎卢胺对前列腺癌新型内分泌治疗耐药的影响 取前期建立的恩扎卢胺耐药细胞，细胞计数后加入适量PBS配制成1×10^7个/mL的细胞悬液，于36只雄性NSG小鼠右侧背部皮下注射0.1 mL细胞悬液，于SPF环境下饲养。

分组及给药：当瘤体体积达到50 mm^{3}左右，A、B两组给予等量生理盐水灌胃，其余C～F组均给予恩扎卢胺新型内分泌治疗：根据“人和小鼠等效剂量系数”予以恩扎卢胺，浓度为30 mg·kg^{-1}，每日灌胃1次，每次0.1 mL；第10天于皮下注射0.1 mL醋酸戈舍瑞林1次，浓度为0.36 mg·kg^{-1}(根据NCCN及CSCO指南，新型内分泌治疗需联合醋酸戈舍瑞林等雄激素剥夺治疗)；D～F组在上述基础上分别给予2、20、40 g·kg^{-1}剂量固本清源方药，每日灌胃2次，每次0.2 mL。其间观测荷瘤小鼠肿瘤生长情况，绘制肿瘤生长曲线，用药24 d后将小鼠处死后分离瘤组织，称重，计算抑瘤率，肿瘤抑制率=(生理盐

水组平均瘤质量－各用药组平均瘤质量)/生理盐水组平均瘤质量×100%。

2.1.2 免疫荧光检测各组小鼠肿瘤组织中FAP、α－SMA的表达 组织切片经常规处理后,采用95 ℃柠檬酸缓冲液修复抗原5 min,内源性过氧化物酶阻断剂和动物非免疫血清处理后,37 ℃加入FAP(1∶50)、α－SMA(1∶400)抗体孵育1 h,加入TRITC标记的羊抗兔IgG荧光二抗,并在室温下孵育40 min。荧光信号在荧光显微镜下观察,并用Simple PCI软件将信号进行量化。

2.1.3 免疫组化法检测小鼠肿瘤组织中FAP、α－SMA表达 以FAP、α－SMA标记CAF,染色程度提示CAF在肿瘤组织中的含量。肿瘤组织石蜡包埋切片后,二甲苯脱蜡,乙醇水化,双氧水猝灭过氧化物酶,乙二胺四乙酸修复抗原,山羊血清封闭,一抗4 ℃孵育,滴加辣根酶标记山羊抗兔IgG(1∶100)孵育,并通过二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染,脱水,封片,镜下观察。免疫组化半定量分析:使用Image J软件计算每个视野下阳性结果的积分吸光度IA和面积。

2.2 体外观察固本清源方对CAF的影响

2.2.1 诱导及鉴别CAF 参照文献[13]选用TGF－β1诱导CAF:将处于对数生长期的人前列腺肌成纤维基质细胞(WPMY－1细胞)消化离心后计数,使用完全培养基调整至浓度为2.5×10^4个/mL,以5×10^4个细胞/(2 mL·每孔)铺入6孔板,摇匀平铺后放回培养箱培养48 h取出培养板,移除旧培养基,1 mL PBS洗2遍后分别换入含TGF－β1浓度0、10、20 ng/mL的完全培养基,以24、48、72 h为时间点观察细胞形态。根据最佳细胞状态与形态确定TGF－β1干预浓度与干预时间,采用细胞免疫荧光鉴定CAF。

2.2.2 免疫荧光检测固本清源方含药血清对CAF的FAP、α－SMA表达影响 含药血清的制备:参照文献[14]将12只雄性大鼠按照随机数字表法分为4组,每组3只。生理盐水组给予等量生理盐水外,低、中、高剂量固本清源方组分别给予浓度为2、20、40 g·kg^{-1}的固本清源方药,每日灌胃1次,每次2 mL;第10天中药灌胃前12 h禁食,不禁水,给药2 h后腹腔注射3%戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉,用采血管经腹主动脉取血,静置3 h,4 ℃ 3000 r/min离心15 min后分离含药血清,放置56 ℃水浴锅中30 min,在超净台中用0.22 μm的微孔膜过滤含药血清,－20 ℃冻存供以后使用。

将相关处理细胞收集后混悬于PBS,在盖玻片上滴取少许细胞,用冷的无水甲醇固定5 min,PBS洗涤;再用0.5%的Triton X－100通透细胞5 min,PBS洗涤;然后用含10%胎牛血清的PBS室温封闭6 h之后加入一抗室温温育4 h,用洗涤缓冲液洗涤10次;再用二抗(1∶100稀释)室温温育1 h,洗涤后用含DAPI的封片剂封片,用Olympus倒置荧光显微镜观察和拍照。

2.2.3 CCK8法检测固本清源方含药血清对WPMY－1细胞以及CAF的抑制率 取对数生长期的WPMY－1细胞以及CAF,消化后重悬浓度为2.5×10^4/mL的细胞悬液,以每孔100 μL接种于96孔板中,外围孔加入等量的PBS,设置空白组,生理盐水组,低、中、高剂量固本清源方组,其中空白组不接种细胞。放置恒温培养箱培养24 h,待细胞贴壁后用200 μL枪头吸弃培养液,空白组和生理盐水组各加入100 μL含正常SD大鼠血清的完全培养基,其余组分别加入100 μL相对应的含药血清完全培养基,每组设6个复孔,分别在培养24、48、72 h后用200 μL枪头吸弃培养液,加入100 μL含10 μL CCK8试剂的基础培养基,在恒温培养箱中放置4 h后采用酶标仪测定其在波长450 nm处的吸光度(optical density,OD)。抑制率=(生理盐水组OD值－各用药组OD值)/(生理盐水组OD值－空白组OD值)×100%

2.2.4 ELISA法检测固本清源方干预后CAF的分泌能力 将WPMY－1细胞、CAF分别离心后取上清液,采用ELISA法测定上清液中TGF－β1、TNF－α、SDF－1、Wnt3a、MMP－2的含量,按照试剂盒说明操作。

2.3 统计学方法

采用SPSS 25.0统计软件进行数据分析,各组实验数据采用$\bar{x}\pm s$表示,多组间比较采用单因素方差分析(one－way ANOVA);两组间比较采用t检验,以$P<0.05$为差异有统计学意义。不符合正态性分布数据、不满足t检验条件时,采用Wilcoxon秩和检验,$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 固本清源方联合恩扎卢胺对恩扎卢胺耐药荷瘤小鼠肿瘤生长具有抑制作用

接种恩扎卢胺耐药荷瘤小鼠瘤质量较接种前列腺癌C4－2B细胞荷瘤小鼠显著增加($P<0.05$),进一步研究显示高、中、低剂量固本清源方药联合恩扎卢胺组的抑瘤率分别为46.90%、41.44%、29.05%,中、高剂量固本清源方联合恩扎卢胺组抑瘤率显著高于恩扎卢胺组($P<0.05$)。见插页Ⅻ图1。

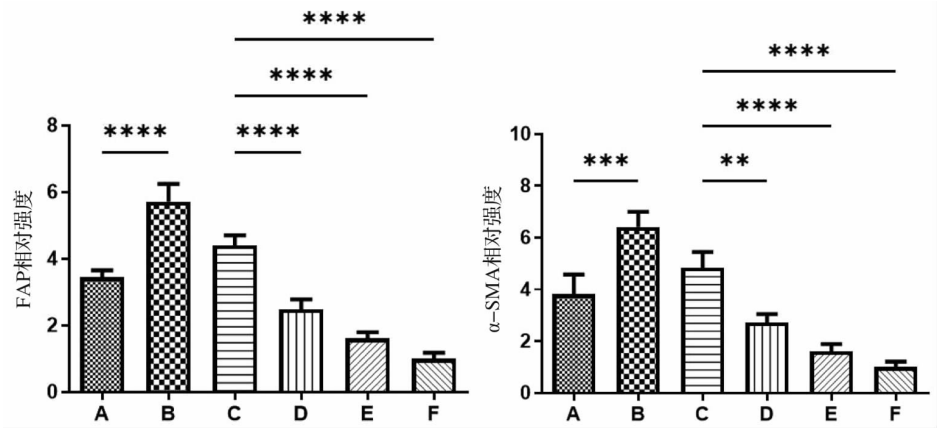
3.2 固本清源方联合恩扎卢胺能抑制荷瘤小鼠肿瘤组织中CAF的表达

结果显示,恩扎卢胺耐药细胞荷瘤小鼠肿瘤组织中CAF标志物FAP、α－SMA的表达显著高于C4－2B细胞荷瘤小鼠,提示恩扎卢胺耐药小鼠肿瘤组织中存在活化的CAF。其中中、高剂量固本清源方联合恩扎卢胺能降低肿瘤组织中FAP、α－SMA的表达,与恩扎卢胺组比较具有显著性差异,证明固本清源方抑制肿瘤生长可能与靶向CAF有关。见插页Ⅻ图2、图3、插页Ⅻ图4、图5。

3.3 固本清源方体外具有抑制CAF的作用

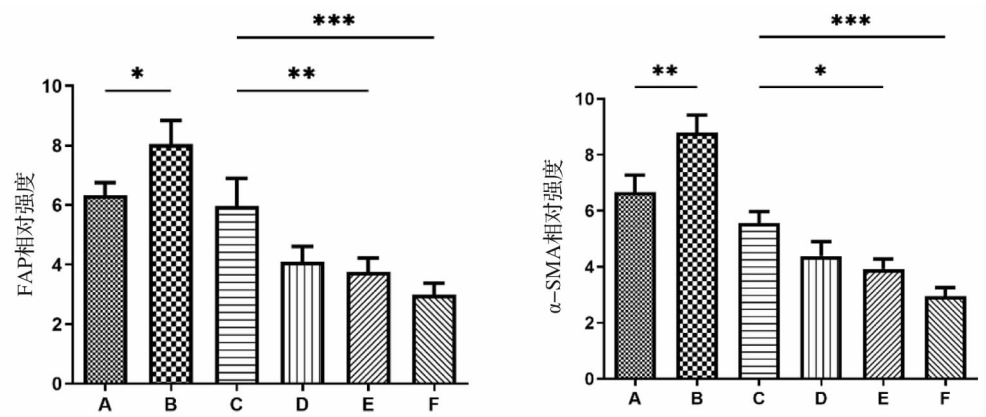
3.3.1 固本清源方具有抑制CAF表型活化的作用 WPMY－1细胞采用TGF－β1干预24 h后,CAF组FAP(红色荧光)与α－SMA(绿色荧光)的信号明显增加,说明TGF－β1诱导可以引起前列腺成纤维细胞出现CAF特异性标志物表达,符合CAF特征(见插页Ⅻ图6)。采用固本清源方含药血清干预后,中、高剂量能显著抑制CAF的FAP、α－SMA的表达($P<0.05$)。见插页Ⅻ图6、图7。

3.3.2 固本清源方具有抑制癌相关成纤维细胞(CAF)的作用 结果显示在诱导CAF形成阶段,固本清源方干预正常前列腺成纤维细胞后,细胞活力与正常前列腺肌成纤维基质细胞(WPMY－1细胞)对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),而CAF对照组在48 h后细胞增殖率显著升高,与其余两组比



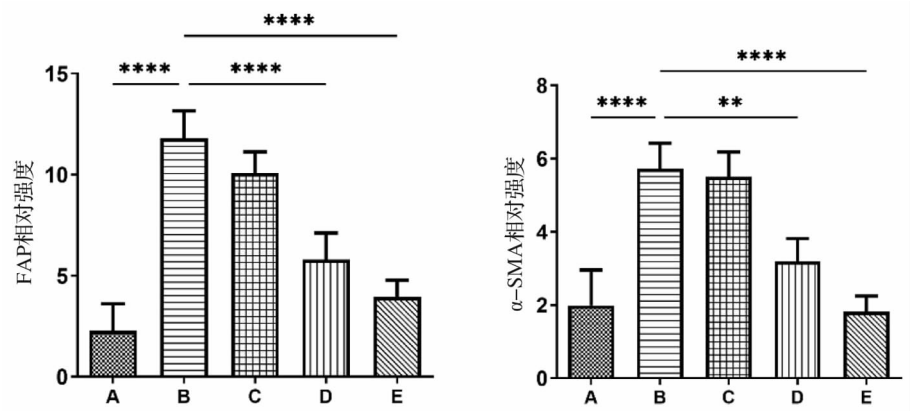
注:A组接种前列腺癌C4-2B细胞,给予生理盐水;B~F组接种恩扎卢胺耐药细胞,其中B组给予生理盐水;C~F组给予恩扎卢胺;D~F组依次给予低、中、高剂量固本清源方;**P<0.01、***P<0.001、****P<0.0001。

图3 不同剂量固本清源方联合恩扎卢胺对α-SMA、FAP表达的影响(免疫荧光)



注:A组接种前列腺癌C4-2B细胞,给予生理盐水;B~F组接种恩扎卢胺耐药细胞,其中B组给予生理盐水;C~F组给予恩扎卢胺;D~F组依次给予低、中、高剂量固本清源方;*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001。

图5 不同剂量固本清源方联合恩扎卢胺对α-SMA、FAP表达的影响(免疫组化)



注:A组为WPMY-1细胞;B~E组为CAFs;C~E组依次给予低、中、高剂量固本清源方含药血清;**P<0.01、****P<0.0001。

图7 不同剂量固本清源方含药血清对体外CAF的α-SMA、FAP表达影响

较差异具有统计学意义(P<0.05)。进一步观察低、中、高剂量固本清源方含药血清对癌相关成纤维细胞(CAF)的抑制率,结果显示各处理组干预CAF细胞48、72 h后,中、高剂量固本清源方组的抑制率显著升高,与对照组比较差异具有统计学意义(P<0.05),其中高剂量固本清源方组48 h抑制率最高,取该剂量时间用于进一步实验。上述实验初步显示固本清源方能够抑制CAF增殖。见插页Ⅻ图8、表1。

3.3.3 固本清源方具有抑制CAF分泌细胞因子能力 固本清源方含药血清干预后,与CAF组比较,中、高剂量固本清源方对CAF分泌的TGF-β、SDF-1、MMP2、Wnt3a水平有显著

表 1 固本清源方对 CAF 细胞的抑制率($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/($g \cdot kg^{-1}$)	24 h	48 h	72 h
低剂量固本清源方组	6	2	9.15 ± 1.26	12.49 ± 1.56	15.18 ± 2.94
中剂量固本清源方组	6	20	12.43 ± 0.87	28.38 ± 2.55 *	33.33 ± 2.96 *
高剂量固本清源方组	6	40	20.18 ± 2.94	49.08 ± 2.88 *	41.21 ± 3.51 *

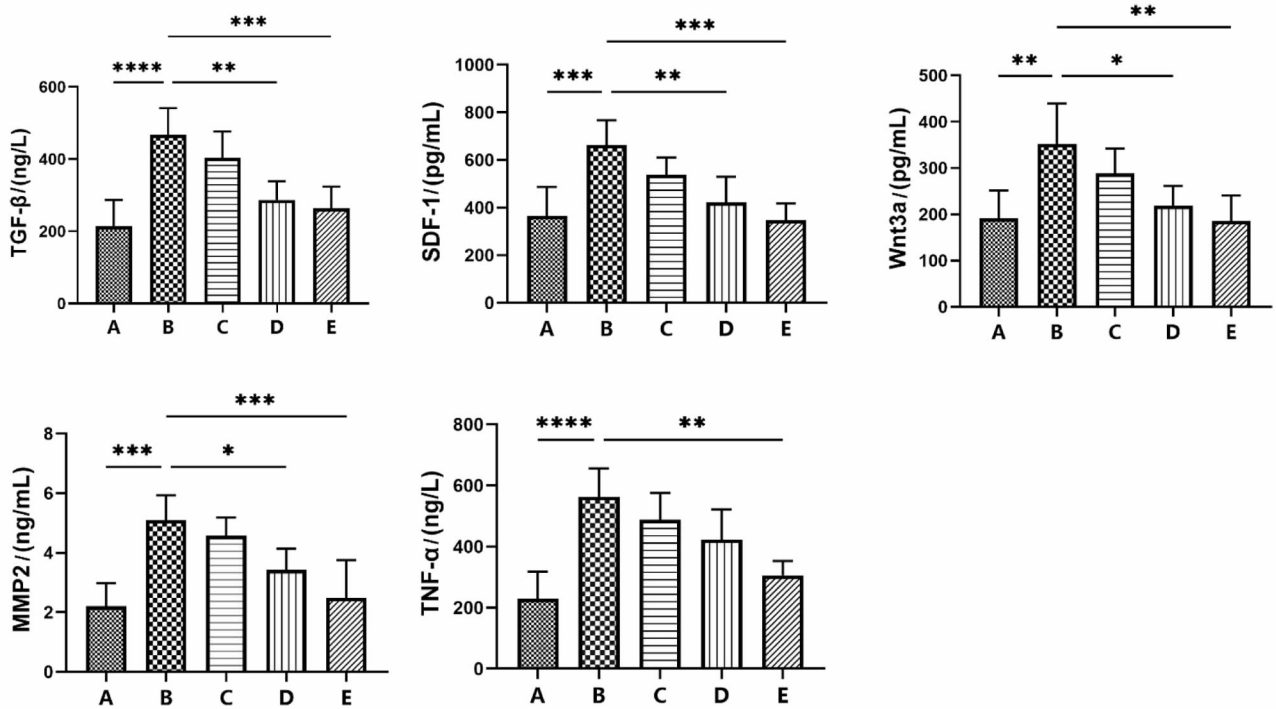
注:* 与低剂量固本清源方组比较,$P < 0.05$。

抑制作用,高剂量组对 CAF 的 TNF - α 分泌量有显著抑制作用,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 9。

4 讨论

以恩扎卢胺为代表的新型内分泌治疗是目前去势抵抗性前列腺癌(Castration - resistant prostate cancer,CRPC)的一线治疗方法,尽管新型内分泌治疗可有效延长 CRPC 患者的生存时间,但大部分患者在接受治疗 24 个月内会出现继发耐药[15],后续即使采用多西他赛化疗、奥拉帕利靶向治疗等仍无法完全阻断肿瘤进展[16-17],因此新型内分泌治疗耐药是制约前列腺癌疗效的瓶颈。固本清源方源自名老中医传承项目[18],由人参、黄精、灵芝、苦参、姜黄组成,既往研究[7-9]显示固本清源方中有效成分如苦参碱、姜黄素等能一定程度逆转前列腺癌治疗耐药。本研究结果表明,固本清源方联合恩扎卢胺能够控制恩扎卢胺耐药细胞荷瘤小鼠肿瘤生长,高、中、低剂量固本清源方药联合恩扎卢胺组抑瘤率分别为 46.90%、41.44%、29.05%,其中中、高剂量固本清源方联合恩扎卢胺组与恩扎卢胺组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。基于上述研究,我们发现 CAF 在前列腺癌新型内分泌治疗耐药过程中发挥重要作用,既往研究也显示 CAF 参与了前列腺癌新型内分泌治疗耐药[19]。我们研究发现新型内分泌治疗耐药细胞荷瘤小鼠肿瘤组织中 CAF 的标志物 FAP、α - SMA 表达显著高于前列腺癌 C4 - 2B 细胞组,这验证了前列腺癌新型内分泌治疗耐药可能与 CAF 有关。CAF 是肿瘤基质中最丰富的细胞类型之一,一方面,CAF 通过旁分泌信号促进前列腺癌耐药,CAF 的条件培养基可促进前列腺癌细胞在去雄激素环境下的生存[20];另一方面,CAF 通过细胞外基质(ECM)的重塑来增加肿瘤微环境的僵硬度和压力,降低药物的渗透性和有效性[21],从而在前列腺癌细胞与治疗药物之间形成物理屏障[22]。

肿瘤微环境中的 CAF 在前列腺癌新型内分泌治疗耐药中发挥关键作用,这些体现了中医“伏毒”的性质和特点。周仲瑛等[23-24]认为“伏毒”潜藏人体,具有伏而不觉、发时始显的特点,同时又表现为毒性猛烈,导致病情快速进展,甚至危及生命。CAF 潜藏在肿瘤微环境中,诱发前列腺癌对新型内分泌治疗抵抗,表现为“毒根深藏,因毒致病”。中医药具有多靶点整体调节的作用特点,与西医治疗不同,中医药抗肿瘤的优势不在于直接针对前列腺癌细胞,而在于靶向肿瘤微环境。因此我们针对伏毒——CAF,以固本清源方作为干预手段,相关研究显示固本清源方中的有效成分具有抑制 CAF 的作用,苦参碱减少 CAF 外泌体 circSLC7A6 的分泌,通过调节趋化因子 CXCR5 抑制肿瘤的增殖[25]。姜黄素通过下调 CAF 特异性标志物 α - SMA 的表达,抑制 TGF - β1、MMP - 2 和 SDF - 1 等致癌细胞因子的分泌,将 CAF 的表型逆转为肿瘤周围成纤维细胞样细胞[26-27]。姜黄素也通过诱导细胞凋亡和 G2 - M 期细胞周期停滞来选择性抑制前列腺 CAF[28]。黄精多糖对前列腺 CAF 的生长有选择性抑制作用,研究发现黄精多糖刺激前列腺癌 CAF 的自噬从而抑制前列腺癌 CAF 的生长[29]。我们研究发现高、中、低剂量固本清源方联合恩扎卢胺能抑制恩扎卢胺耐药细胞荷瘤小鼠肿瘤组织中FAP、α - SMA的表达,表明



注:A 组为 WPMY - 1 细胞;B ~ E 组为 CAF;C ~ E 组依次采用低、中、高剂量固本清源方含药血清干预;* $P < 0.05$、* * $P < 0.01$、* * * $P < 0.001$、* * * * $P < 0.000\ 1$。

图 9 固本清源方含药血清对 CAF 分泌 TGF - β、SDF - 1、Wnt3a、MMP2、TNF - α 的影响

CAF 可能是固本清源方延缓前列腺癌新型内分泌治疗耐药的潜在作用靶点。据此我们采用固本清源方含药血清干预 CAF，中、高剂量固本清源方能显著抑制 CAF 的 FAP、α－SMA 的表达（$P<0.05$），提示固本清源方具有抑制 CAF 表型活化的作用。另一方面，中、高剂量固本清源方组在干预 CAF 48、72 h 后的抑制率显著升高，与 CAF 对照组比较差异具有统计学意义（$P<0.05$），而固本清源方含药血清干预 WPMY－1 细胞后细胞活力与 WPMY－1 细胞对照组比较差异无统计学意义（$P>0.05$），表明固本清源方能抑制 CAF 的增殖，且对正常人前列腺成纤维细胞无毒性作用。进一步研究发现中、高剂量固本清源方对 CAF 分泌的 TGF－β、SDF－1、Wnt3a、MMP2 水平有显著抑制作用，高剂量组对 CAF 的 TNF－α 分泌量有显著抑制作用，这些结果提示固本清源方具有抑制 CAF 表型活化和功能的潜力。综上所述，实验初步显示固本清源方延缓新型内分泌治疗耐药可能与其抑制 CAF 有关。

前列腺癌新型内分泌治疗耐药是制约前列腺癌疗效的瓶颈，通过探讨中药延缓前列腺癌新型内分泌治疗耐药作用机制，为中医药与新型内分泌治疗发挥协同作用提供依据，提高前列腺癌整体治疗效果。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA A Cancer J Clinicians, 2021, 71(3): 209－249.

[2] ZHU Y, MO M, WEI Y, et al. Epidemiology and genomics of prostate cancer in Asian men[J]. Nat Rev Urol, 2021, 18(5): 282－301.

[3] 卞晓洁，叶定伟. 前列腺癌雄激素剥夺治疗的新思路——睾酮最大控制临床研究新进展[J]. 中国癌症杂志，2021，31(12)：1209－1214.

[4] SCHAEFFER E, SRINIVAS S, ADRA N, et al. NCCN Guidelines? Insights: Prostate Cancer, Version 1. 2023. [J]. Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN, 2022, 20(12): 1288－1298.

[5] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)前列腺癌诊疗指南 2022[M]. 北京：人民卫生出版社，2022：21－22.

[6] JACOB A, RAJ R, ALLISON D B, et al. Androgen receptor signaling in prostate cancer and therapeutic strategies[J]. Cancers, 2021, 13(21): 5417.

[7] LI Q, XU J, HE Z, et al. The effects of matrine in combination with docetaxel on castration－resistant(androgen－independent) prostate cancer[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 10125－10133.

[8] 刘浩，张培宇，张葛. 复方苦参注射液对局部晚期前列腺癌内分泌治疗耐药改善作用的临床研究[J]. 中国中医药科技，2016，23(4)：385－387.

[9] HU H, ZHOU H, XU D F. A review of the effects and molecular mechanisms of dimethylcurcumin(ASC－J9) on androgen receptor－related diseases[J]. Chem Biol Drug Des, 2021, 97(4): 821－835.

[10] 刘浩，林洪生. 林洪生主任固本清源治疗肿瘤学术思想[J]. 世界中医药，2016，11(01)：102－103.

[11] 陈浩然，方素萍，张迪，等. 从 AR/AR－V7 信号通路探讨固本清源方联合雄激素剥夺治疗控制去势抵抗性前列腺癌的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志，2021，27(15)：16－21.

[12] 陈浩然，方素萍，张迪，等. 从肿瘤干细胞 Wnt 通路探讨固本清源方药联合雄激素剥夺治疗控制去势抵抗性前列腺癌[J]. 中华中医药学刊，2023，41(3)：111－115.

[13] TUXHORN J A, AYALA G E, SMITH M J, et al. Reactive stroma in human prostate cancer: induction of myofibroblast phenotype and extracellular matrix remodeling1[J]. Clinical Cancer Research, 2002, 8: 2912－2923.

[14] 陈赐慧，花宝金. 关于中药血清药理学实验的几个问题和探讨[J]. 中华中医药学刊，2013，31(1)：46－48.

[15] MEDINA C A, RITTER C D. Innovative alternatives for metastatic CRPC after enzalutamide[J]. Lancet Oncol, 2023, 24(1): e9.

[16] VAN SOEST R J, DE MORRÉE E S, KWELDAM C F, et al. Targeting the androgen receptor confers *in vivo* cross－resistance between enzalutamide and docetaxel, but not cabazitaxel, in castration－resistant prostate cancer[J]. Eur Urol, 2015, 67(6): 981－985.

[17] MAUGHAN B L, ANTONARAKIS E S. Olaparib and rucaparib for the treatment of DNA repair－deficient metastatic castration－resistant prostate cancer[J]. Expert Opin Pharmacother, 2021, 22(12): 1625－1632.

[18] 刘浩，林洪生. 中医肿瘤平衡治疗[J]. 世界中西医结合杂志，2015，10(7)：1006－1008.

[19] NEUWIRT H, BOUCHAL J, KHARAISHVILI G, et al. Cancer－associated fibroblasts promote prostate tumor growth and progression through upregulation of cholesterol and steroid biosynthesis[J]. Cell Commun Signal, 2020, 18(1): 11.

[20] CULIG Z, PUHR M. Interleukin－6 and prostate cancer: Current developments and unsolved questions[J]. Mol Cell Endocrinol, 2018, 462: 25－30.

[21] FENG B, WU J Z, SHEN B, et al. Cancer－associated fibroblasts and resistance to anticancer therapies: status, mechanisms, and countermeasures[J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1): 166.

[22] HENKE E, NANDIGAMA R, ERGÜN S. Extracellular matrix in the tumor microenvironment and its impact on cancer therapy[J]. Front Mol Biosci, 2020, 6: 160.

[23] 周仲瑛. “伏毒”新识[J]. 世界中医药，2007，2(2)：73－75.

[24] 叶古晃，周仲瑛. 周仲瑛教授的“伏毒”学说[J]. 中国中医药现代远程教育，2005，3(12)：36.

[25] GU C, LU H G, QIAN Z H. Matrine reduces the secretion of exosomal circSLC7A6 from cancer－associated fibroblast to inhibit tumorigenesis of colorectal cancer by regulating CXCR5[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 527(3): 638－645.

[26] BA P F, XU M C, YU M, et al. Curcumin suppresses the proliferation and tumorigenicity of Cal27 by modulating cancer－associated fibroblasts of TSCC[J]. Oral Dis, 2020, 26(7): 1375－1383.

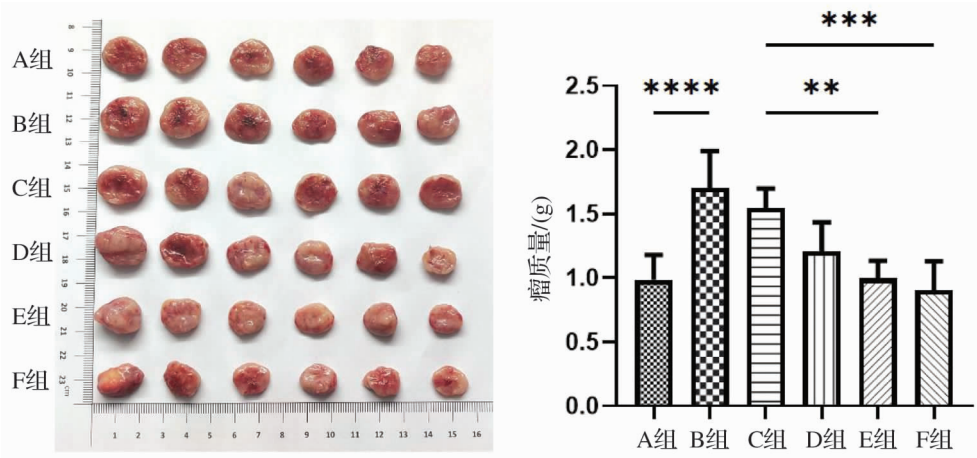
[27] JALILIAN E, ABOLHASANI－ZADEH F, AFGAR A, et al. Neutralizing tumor－related inflammation and reprogramming of cancer－associated fibroblasts by Curcumin in breast cancer therapy[J]. Sci Rep, 2023, 13: 20770.

[28] ZENG Y Q, DU Q D, ZHANG Z W, et al. Curcumin promotes cancer－associated fibroblasts apoptosis *via* ROS－mediated endoplasmic reticulum stress[J]. Arch Biochem Biophys, 2020, 694: 108613.

[29] HAN S, HU M, QI G, et al. Polysaccharides from polygonatum inhibit the proliferation of prostate cancer－associated fibroblasts[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016, 17(8): 3829－3833.

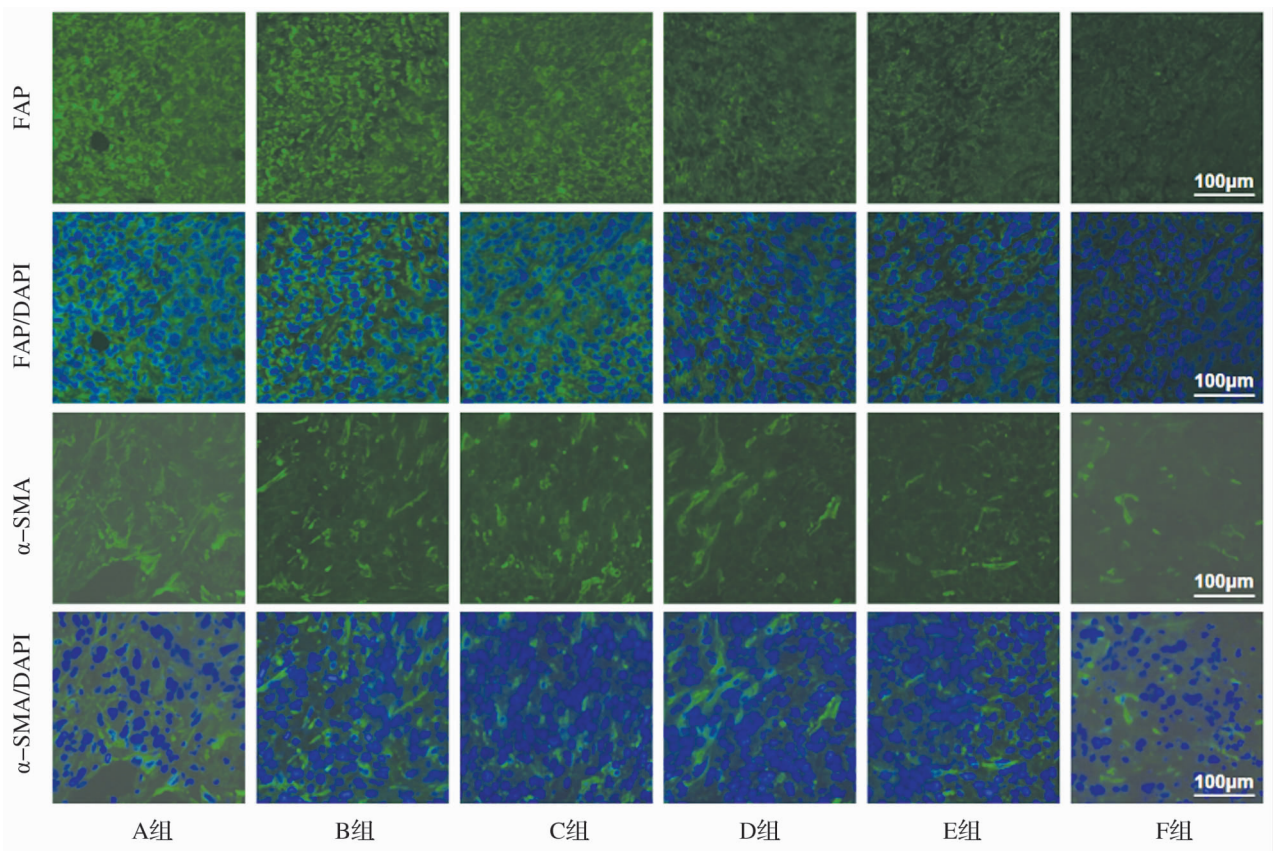
从抑制肿瘤微环境中 CAF 探讨固本清源方延缓前列腺癌新型内分泌治疗耐药作用机制

（正文见 124－129 页）



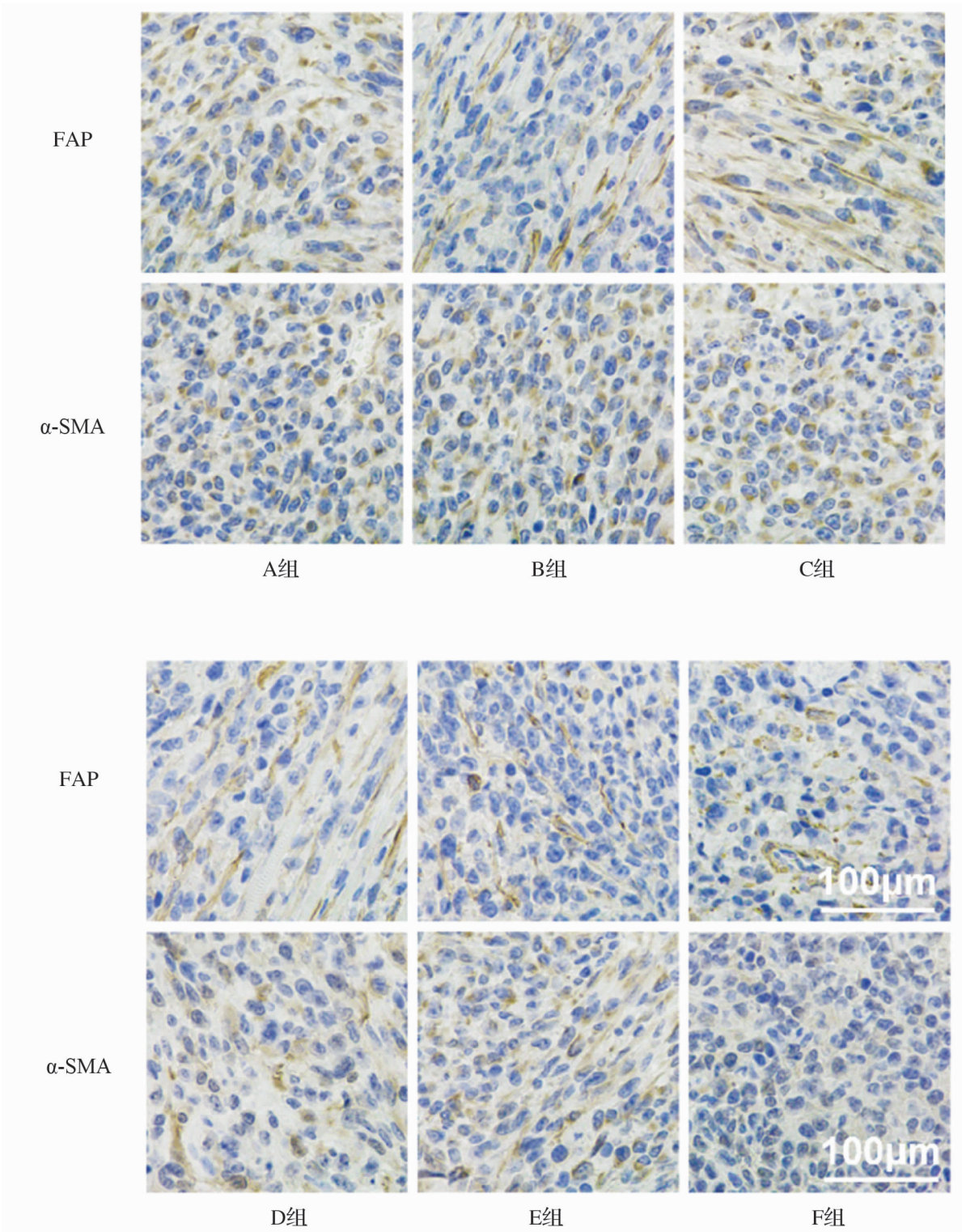
注：A 组接种前列腺癌 C4－2B 细胞，给予生理盐水；B～F 组接种恩扎卢胺耐药细胞，其中 B 组给予生理盐水；C～F 组给予恩扎卢胺；D～F 组依次给予低、中、高剂量固本清源方；＊＊$P<0.01$、＊＊＊$P<0.001$、＊＊＊＊$P<0.000\ 1$。

图 1　不同剂量固本清源方联合恩扎卢胺对荷瘤小鼠瘤质量的影响



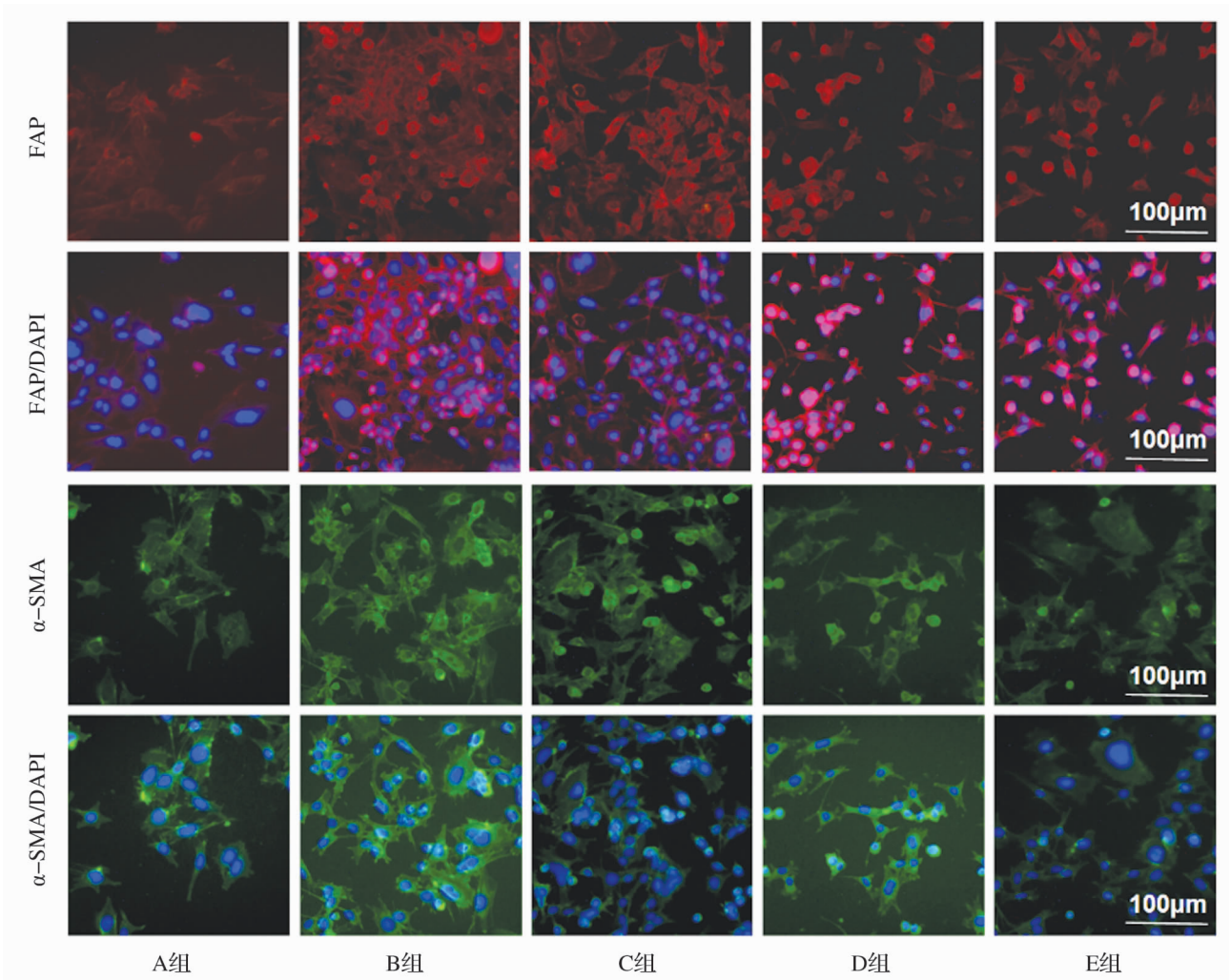
注：A 组接种前列腺癌 C4－2B 细胞，给予生理盐水；B～F 组接种恩扎卢胺耐药细胞，其中 B 组给予生理盐水；C～F 组给予恩扎卢胺；D～F 组依次给予低、中、高剂量固本清源方；＊＊$P<0.01$、＊＊＊$P<0.001$、＊＊＊＊$P<0.000\ 1$。

图 2　各组荷瘤小鼠肿瘤组织免疫荧光检测（×100）



注：A 组接种前列腺癌 C4－2B 细胞，给予生理盐水；B～F 组接种恩扎卢胺耐药细胞，其中 B 组给予生理盐水；C～F 组给予恩扎卢胺；D～F 组依次给予低、中、高剂量固本清源方。

图 4 各组荷瘤小鼠肿瘤组织免疫组化检测（×100）



注：A组为WPMY－1细胞；B～E组为CAFs；C～E组依次给予低、中、高剂量固本清源方含药血清。

图6 两组细胞FAP与α－SMA表达情况（×100）

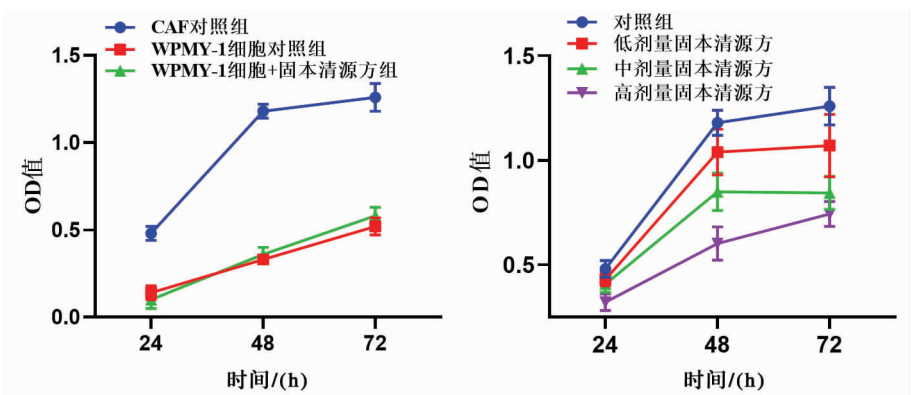


图8 固本清源方对WPMY－1细胞以及CAF增殖的影响