引用:周志华,李耀伟,王志琪,李跃辉,何苗,丛梦静. 肺复方联合顺铂对气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的影响[J]. 湖南中医杂志,2022,38(3):165-170.

肺复方联合顺铂对气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的影响

周志华[1,2],李耀伟[1],王志琪[1,2],李跃辉[3],何　苗[1,2],丛梦静[1]
(1. 湖南中医药大学,湖南　长沙,410208;
2. 湖南省中药饮片标准化及功能工程技术研究中心,湖南　长沙,410208;
3. 湖南省中医药研究院,湖南　长沙,410006)

[**摘要**]　目的:研究气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤模型小鼠的行为学特征、饮水量、摄食量、体质量及肺复方对上述指标及脏器指数的影响。方法:取 C57BL/6J 小鼠 40 只,将其随机分为空白组 8 只、造模组 32 只。造模组灌服热性中药水煎液合并烟熏制备气阴两虚模型(造模第一阶段,共 14 d),于第 15 天移植 Lewis 肺癌细胞(造模第二阶段,共 14 d),按性别、体质量分层随机分为模型组、顺铂组、肺复方组及顺铂+肺复方组(联用组),连续进行药物干预 14 d。以造模每阶段及药物干预第 1 天的体质量、饮水量和摄食量分别作为基础体质量、基础饮水量和基础摄食量。并于固定时间,每 2 d 记录动物饮水量和摄食量,每 3 d 记录动物体质量,药物干预结束后处理动物,测量、计算其去瘤体质量和肝、脾及胸腺的脏器指数。结果:造模第一阶段小鼠饮水量和摄食量减少,造模第二阶段小鼠体质量增加,气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤模型小鼠脾脏和肝脏指数升高,胸腺指数降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。药物干预后各组小鼠活动量增加,肺复方组饮水量、体质量增加,顺铂组小鼠摄食量、体质量减少,脾脏指数、去瘤体质量降低,联用组小鼠饮水量增加、摄食量减少,脾脏、胸腺指数升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤模型小鼠的饮水量和摄食量减少,体质量增加;肺复方可缓解模型动物口干少饮、形体羸瘦等症状,改善顺铂引起的不良反应,增加模型小鼠脾脏和胸腺指数;肺复方干预肺癌的作用机制可能与其增强机体免疫功能有关。

[**关键词**]　肺复方;气阴两虚型;Lewis 肺癌;饮水量;摄食量;体质量;脏器指数
[**中图分类号**]R285.5　[**文献标识码**]A　DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2022.03.040

Effect of Feifufang combined with cisplatin on tumor-bearing mice with Lewis lung cancer with deficiency of both Qi and Yin

ZHOU Zhihua[1,2], LI Yaowei[1], WANG Zhiqi[1,2], LI Yuehui[3], HE Miao[1,2], CONG Mengjing[1]
(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China;
2. Hunan Engineering Technology Center of Standardization and Function of Chinese Herbal Decoction Pieces, Changsha 410208, Hunan, China;
3. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, China)

[**Abstract**]　Objective: To investigate the behavioral features, water consumption, food intake, and body weight of tumor-bearing mice with Lewis lung cancer with deficiency of both Qi and Yin and the effect of Feifufang on the above indices and visceral index. Methods: A total of 40 C57BL/6J mice were randomly divided into blank

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81473617);国家自然科学基金项目(81503492);湖南省自然基金科药联合项目(2020JJ9013);湖南省中医药科研计划重点项目(201921);国家级大学生创新项目(201910541019)

第一作者:周志华,女,2019 级硕士研究生,研究方向:中药药理学
通讯作者:王志琪,女,教授,硕士研究生导师,研究方向:中药药理学,E-mail:wzqx2004@126.com

group with 8 mice and modeling group with 32 mice. The mice in the modeling group were given water decoction of hot traditional Chinese medicine by gavage combined with fumigation to establish a model of deficiency of both Qi and Yin (the first stage of modeling lasting 14 days), and Lewis lung cancer cells were inoculated on day 15 (the second stage of modeling lasting 14 days); after stratification based on sex and body weight, the mice were randomly divided into model group, cisplatin group, Feifufang group, and cisplatin+Feifufang group, and drug intervention was given for 14 consecutive days. Body weight, water consumption, and food intake on the first day of each modeling stage and drug intervention were used as basic body weight, basic water consumption, and basic food intake, respectively. Water consumption and food intake were recorded at a fixed time point every 2 days, and body weight was recorded at a fixed time point every 3 days; the mice were sacrificed after drug intervention to measure and calculate tumor-free body weight and visceral index of the liver, the spleen, and the thymus. Results: There were reductions in water consumption and food intake in the first stage of modeling, and there was an increase in body weight in the second stage of modeling; the tumor-bearing mice with Lewis lung cancer with deficiency of both Qi and Yin showed increases in spleen and liver indices and a reduction in thymus index ($P<0.05$ or $P<0.01$). The mice in each group showed an increase in activity after drug intervention; the Feifufang group had increases in water consumption and food intake, the cisplatin group had reductions in water consumption, food intake, spleen index, and tumor-free body weight, and the cisplatin+Feifufang group had an increase in water consumption, a reduction in food intake, and increases in spleen index and thymus index ($P<0.05$ or $P<0.01$). Conclusion: There are reductions in water consumption and food intake and an increase in body weight in a tumor-bearing mouse model of Lewis lung cancer with deficiency of both Qi and Yin. Feifufang can alleviate the symptoms of dry mouth and thin body, improve the adverse reactions caused by cisplatin, and increases spleen index and thymus index in model mice. Feifufang exerts an interventional effect on lung cancer possibly by enhancing immune function.

[**Keywords**] Feifufang; deficiency of both Qi and Yin; Lewis lung cancer; water consumption; food intake; body weight; visceral index

原发性支气管肺癌(以下简称肺癌)是以咳嗽、咯血、胸痛、发热、气急为主要临床表现的一种恶性疾病。目前,肺癌的中医证型尚无统一标准[1],根据其起病及临床表现,以气阴两虚证最为常见[2],治疗时常采用益气养阴方药[3]。肺复方系湖南省中医药研究院附属医院协定方,由重楼、党参等12味中药组成,具有益气养阴、化瘀解毒、化痰散结之功效[4],对气阴两虚型肺癌有效,但其基础研究较少。本实验首先观察附子等热性中药水煎液灌胃合并烟熏及移植 Lewis 肺癌细胞对小鼠行为学特征、饮水量、摄食量、体质量的影响,再以模型动物饮水量、摄食量、体质量、去瘤体质量及脏器指数为指标,开展肺复方的基础药理研究,以期为其进一步研发提供实验依据。

1 实验材料

1.1 动物及细胞株 SPF 级 C57BL/6J 小鼠40只,体质量 20~25 g,雌雄各半,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[许可证号:SCXK(湘)2019-0004],饲养于湖南中医药大学实验动物中心。动物实验获得湖南中医药大学动物伦理委员会批准,伦理编号:LLBH-201912050001;小鼠 Lewis 肺癌细胞购于普诺赛生命科技有限公司(批号:7KU5ZI2YS)。

1.2 药物 麻黄、制附子、细辛和天南星饮片均由湖南省中医药研究院附属医院提供;肺复方浸膏粉由湖南省中医药研究院中药研究所提供;注射用顺铂(冻干型,齐鲁制药有限公司,批准文号:国药准字 H20023460,规格:10 mg/支)。

热性中药水煎液制备:依据文献[5],麻黄、制附子、细辛、天南星按照 1∶1∶1∶1配伍,各取 27 g,麻黄先加入 3000 ml 圆底烧瓶,10 倍蒸馏水浸泡 30 min,回流提取 15 min,去浮沫;另取圆底烧瓶加入制附子,煎煮过程同上,纱布过滤,取滤液加入麻黄中,将提前浸泡 30 min 的细辛、天南星连同蒸馏水加入,煮沸后再煎煮 30 min,纱布过滤,减压旋转蒸发浓缩,浓缩液定容至 108 ml,药液按药材计含

量为 1 g/ml。4℃冰箱保存,备用。肺复方浸膏溶液配制:取适量肺复方浸膏粉装入 50 ml 离心管中,加入超纯水超声 30 min,制成浓度为 0.55 g/ml 的肺复方浸膏溶液。4℃冰箱保存,备用。顺铂溶液配制:依据文献[6],1 支 10 mg 的顺铂冻干粉加入 0.9%氯化钠注射液稀释,制成浓度为 0.12 mg/ml 的溶液,现配现用。

1.3 主要仪器 恒温水浴锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂,型号:SSW-420-2S4);超净工作台(赛默飞世尔科技有限公司,型号:SW-CJ-2FD);倒置显微镜(OLYMUS,型号:BX51);高速离心机(EPPENDORF,型号:5180R);电子天平(中国凯丰集团,型号:KFS-400);数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,型号:KQ-800DE);旋转蒸发器(上海雅荣生化设备仪器有限公司,型号:RE-52AA);超纯水机(ELGA,型号:PURELAB Chorus 1/2/3)。

2 实验方法

2.1 模型制备 本实验动物模型复制分为 2 个阶段,第一阶段(第 1~14 天):小鼠灌服热性中药水煎液后烟熏 15 min;第二阶段(第 15~28 天):移植小鼠 Lewis 肺癌细胞。

2.1.1 气阴两虚型动物模型的制备 参照文献[5],以灌胃热性中药加烟熏制备气阴两虚型小鼠模型。将 40 只小鼠适应性喂养 3 d 后随机分为空白组 8 只、造模组 32 只。空白组常规饲养,造模组按固定灌胃剂量 0.4 ml/只,连续 14 d 灌服热性中药水煎液制备小鼠阴虚证模型。灌胃后将小鼠置于透明箱中,点燃 15 支香烟(庐山牌,批号:CSYC430101171524)熏 15 min,模拟刨花烟熏法制备小鼠气虚证模型。为防止烟雾浓度过大,烟熏前需在透明箱前、后、左、右四面各划开 2 个通气窗口(5 cm×5 cm)。

2.1.2 小鼠 Lewis 肺癌细胞培养及移植 在 37℃,5% CO_2 的条件下,将小鼠 Lewis 肺癌细胞在含有 10% FBS 的 DMEM 培养基中培养,每 2 d 更换一次培养液。将完成 2.1.1 项的造模组小鼠用 2.5 ml 一次性注射器在左前肢腋下皮下移植密度为 2×10^7 个/ml Lewis 肺癌细胞悬液 2 ml,接种后继续饲养 14 d。

2.2 动物分组 32 只造模小鼠按性别体质量分层,随机分为模型组、顺铂组、肺复方组及肺复方+顺铂组(联用组),每组各 8 只,雌雄各半。

2.3 干预方法 肺复方临床用量为成人每天 77.5 g/70 kg,根据体表面积法,换算小鼠给药剂量为 10.1 g/kg。课题组对肺复方浸膏进行安全性评价,肺复方浸膏小鼠灌胃给药的最大耐受量为 237 g/kg,经折算剂量相当于临床拟用量(1.11 g/kg)的 213 倍。故本实验肺复方组剂量按 50.5 g/kg 生药量设置,即 5 倍临床等效量。顺铂成人常用量为 1.3~2.6 mg/kg,参照文献[5]和体表面积法,本实验小鼠顺铂给药剂量为 6 mg/kg。各药物具体给药方法如下:顺铂组于药物干预第 1、7 天腹腔注射顺铂(0.1 ml/10 g);肺复方组按 0.3 ml/10 g 灌胃肺复方,每天 1 次,连续 14 d;联用组灌胃肺复方(同肺复方组),干预第 1、7 天腹腔注射顺铂(同顺铂组);空白组按 0.3 ml/10 g 灌胃 0.9%氯化钠注射液,每天 1 次,连续 14 d。

2.4 观察指标

2.4.1 小鼠行为学 观察并记录不同造模阶段及药物干预后各组小鼠的活动状态、精神状态、呼吸状态、毛发状态等情况。

2.4.2 小鼠饮水量、摄食量、体质量 将造模每阶段及药物干预第 1 天的体质量、饮水量和摄食量分别作为基础体质量、基础饮水量和基础摄食量。于每天早上 8:30 更换水和饲料,每 2 d 记录小鼠饮水量、摄食量,每 3 d 称重并记录体质量。

2.4.3 小鼠去瘤体质量和脏器指数 动物完成药物干预第 14 天当日禁食禁水 12 h,于次日早晨 9:00 称量体质量后,以脊椎脱臼法处死动物,迅速摘取脾脏、胸腺、肝脏和瘤体称量湿重。去瘤体质量及脏器指数计算公式如下:去瘤体质量(g)=体质量(g)-瘤体质量(g);脏器指数(mg/g)=脏器质量(mg)/小鼠体质量(g)。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,先对数据进行正态性检验及方差齐性检验,若服从正态分布且满足方差齐性,则各组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-t 检验;若服从正态分布而不满足方差齐性,则进行单因素方差分析,各组数据之间采用 Games-Howell 多重比较;若不满足正态分布则进行非参数检验,采用 Kruskal-Wallis H 检验

法成对比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 小鼠行为学特征 空白组小鼠精神状态良好,活动正常;造模组小鼠在造模第一阶段均出现精神倦怠、行动迟缓、呼吸急促、毛色暗淡无光、舌头呈现黑紫色等情况;造模第二阶段第 14 天,造模小鼠左腋下接种部位均可触及约 5 mm^3 大小瘤体。按照分组进行药物干预后,顺铂组、肺复方组、联用组小鼠喜聚集,活动量较模型组增多。

3.2 造模后各组饮水量、摄食量及体质量比较

3.2.1 造模第一阶段 造模第一阶段中,与第 1 天比较,第 3、9、11、13 天造模组小鼠饮水量减少;第 7、9、11、13 天小鼠摄食量减少,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);造模第一阶段,小鼠体质量无明显变化。数据回归分析表明,摄食量随造模天数增加而减少,线性回归方程为 $Y=-0.3879X+11.866$($R^2=0.8088$)。(见表 1、2)

3.2.2 造模第二阶段 造模第二阶段中,与第 1 天比较,第 3、5、7、9、11、13 天小鼠饮水量和摄食量及第 4、7、10 天体质量差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);第 13 天体质量较第 1 天体质量增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。数据回归分析表明,体质量随造模天数增加而增加,线性回归方程为 $Y=0.465X+20.825$($R^2=0.9519$)。(见表 3、4)

表 1 造模第一阶段各组饮水量、摄食量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	指标	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 13 天
空白组	8	饮水量(ml)	18.50±2.12	18.50±0.71	17.50±0.71	18.50±2.12	18.50±0.71	17.50±0.71	18.50±0.71
		摄食量(g)	12.80±0.85	13.15±0.64	13.45±0.49	12.45±0.07	12.35±0.21	12.75±0.21	13.40±0.42
造模组	32	饮水量(ml)	18.00±2.14	12.63±2.26[a]	15.00±2.39[c]	17.63±5.68[c]	12.75±2.12[a]	12.38±3.11[a]	14.38±3.38[b]
		摄食量(g)	12.04±1.60	10.39±1.07[c]	10.63±1.15[c]	10.30±1.39[b]	10.29±1.30[b]	9.33±1.24[a]	9.24±1.17[a]

注:与本组第 1 天比较,[a]$P<0.01$,[b]$P<0.05$,[c]$P>0.05$。

表 2 造模第一阶段各组体质量比较($\bar{x}\pm s$,g)

组别	只数	第 1 天	第 4 天	第 7 天	第 10 天	第 13 天
空白组	8	20.74±2.95	20.92±3.22	20.97±3.06	21.27±3.17	21.51±3.39
造模组	32	21.11±2.68	20.80±2.67[a]	20.69±2.75[a]	20.98±3.04[a]	20.88±2.80[a]

注:与本组第 1 天比较,[a]$P>0.05$。

表 3 造模第二阶段各组饮水量、摄食量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	指标	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 13 天
空白组	8	饮水量(ml)	18.50±0.71	19.00±2.83	18.50±0.71	18.00±1.41	17.50±0.71	18.00±1.41	18.50±0.71
		摄食量(g)	12.80±1.27	13.00±0.71	13.85±0.07	13.00±0.28	12.90±2.12	13.10±0.71	13.75±0.21
模型组	32	饮水量(ml)	15.13±4.26	15.25±1.49[a]	15.00±1.77[a]	12.75±1.16[a]	14.88±1.55[a]	14.75±2.25[a]	14.63±2.83[a]
		摄食量(g)	10.06±0.78	10.29±1.39[a]	10.28±2.18[a]	10.26±1.66[a]	10.29±0.92[a]	10.08±0.72[a]	10.21±0.88[a]

注:与本组第 1 天比较,[a]$P>0.05$。

表 4 造模第二阶段各组体质量比较($\bar{x}\pm s$,g)

组别	只数	第 1 天	第 4 天	第 7 天	第 10 天	第 13 天
空白组	8	21.66±3.31	22.08±2.94	21.94±3.09	22.26±2.62	22.62±3.16
模型组	32	21.25±3.19	21.97±3.46[a]	22.03±3.41[a]	22.58±3.08[a]	23.27±3.09[b]

注:与本组第 1 天比较,[a]$P>0.05$,[b]$P<0.05$。

3.3 干预后各组饮水量、摄食量及体质量比较 与模型组比较,肺复方组干预第 3、7、13 天,联用组干预第 13 天小鼠饮水量增加,顺铂组和联用组小鼠干预第 9 天摄食量减少,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。第 10、13 天,模型组、肺复方组体质量较第 1 天增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。干预第 13 天,顺铂组体质量较模型组减轻($P<0.05$)。数据回归分析显示,联用组饮水量随干预天数增加而增加,线性回归方程为 $Y=1.4286X+12.714$($R^2=0.949$),模型组、肺复方组体质量随干预天数增加而增加,线性回归方程分别为 $Y=1.089X+22.115$($R^2=0.9925$)、$Y=1.083+22.449$($R^2=0.9909$)。(见表 5、6、7)

表 5　干预后各组饮水量比较($\bar{x}\pm s$,ml)

组别	只数	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 13 天
空白组	8	18.50±0.71	19.50±0.71	21.00±1.41	19.50±0.71	22.00±0.00	21.00±4.24	22.50±0.71
模型组	8	14.00±1.41	14.00±2.83	17.00±1.41	17.50±2.12	19.50±0.71	18.50±3.54	17.00±2.83
顺铂组	8	15.50±0.71	18.50±2.12	19.00±7.07	20.00±0.00	17.50±2.12	19.00±1.41	20.50±0.71
肺复方组	8	14.50±3.54	29.00±7.07[a]	26.50±7.78	26.00±2.83[a]	21.50±0.71	20.50±0.71	22.00±0.00[b]
联用组	8	14.50±0.71	15.00±1.41	17.00±4.24	19.00±1.41	20.00±1.41	20.00±0.00	23.50±2.83[a]

注:与模型组比较,[a]$P<0.01$,[b]$P<0.05$。

表 6　干预后各组摄食量比较($\bar{x}\pm s$,g)

组别	只数	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 13 天
空白组	8	12.70±3.11	12.75±4.31	13.70±0.57	12.60±2.26	12.60±0.85	13.00±2.83	13.25±3.04
模型组	8	11.75±1.91	12.00±0.85	11.85±2.05	13.50±0.28	12.50±0.85	12.30±2.55	12.00±0.28
顺铂组	8	11.75±2.19	7.35±2.19	9.30±3.39	11.95±0.35	9.45±0.35[a]	9.35±0.35	10.95±0.07
肺复方组	8	11.65±1.06	9.95±0.35	10.90±0.00	13.10±2.12	11.10±0.28	10.80±0.14	13.25±1.34
联用组	8	12.10±2.26	7.25±0.78	11.10±1.41	11.60±1.41	9.50±0.42[a]	9.95±3.61	10.70±2.26

注:与模型组比较,[a]$P<0.01$。

表 7　干预后各组体质量比较($\bar{x}\pm s$,g)

组别	只数	第 1 天	第 4 天	第 7 天	第 10 天	第 13 天
空白组	8	22.66±3.48	22.89±3.51	23.14±3.51	23.44±3.51	23.94±3.52
模型组	8	23.28±2.81	24.10±2.83	25.43±3.01	26.65±3.20[a]	27.45±2.74[b]
顺铂组	8	23.05±3.50	23.63±3.77	23.39±3.67	23.27±3.19	23.42±2.68[c]
肺复方组	8	23.58±2.61	24.49±2.87	25.66±2.66	27.04±2.63[a]	27.72±2.50[b]
联用组	8	23.03±3.49	24.26±3.68	25.18±3.78	26.15±4.25	26.60±3.72

注:与本组第 1 天比较,[a]$P<0.05$,[b]$P<0.01$;与模型组比较,[c]$P<0.05$。

3.4　干预后各组小鼠脏器指数和去瘤体质量比较

与空白组比较,模型组小鼠脾脏和肝脏指数升高,胸腺指数降低,去瘤体质量降低,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组比较,顺铂组小鼠脾脏指数、去瘤体质量均降低($P<0.01$);联用组小鼠脾脏、胸腺指数升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表 8)

表 8　干预后各组脏器指数和去瘤体质量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	脏器指数(mg/g)			去瘤体质量(g)
		脾脏指数	胸腺指数	肝脏指数	
空白组	8	2.77±0.25	1.79±0.22	43.76±1.20	22.82±2.37
模型组	8	8.72±2.70[a]	0.66±0.50[a]	47.86±5.74[b]	20.10±2.07[b]
顺铂组	8	4.53±1.01[c]	0.44±0.37	49.07±5.20	18.77±2.24[c]
肺复方组	8	10.53±1.87	0.69±0.46	45.91±3.76	20.60±2.38
联用组	8	11.72±3.66[d]	1.53±1.08[c]	48.22±3.58	19.73±3.07

注:与空白组比较,[a]$P<0.01$,[b]$P<0.05$;与模型组比较,[c]$P<0.01$,[d]$P<0.05$。

4　讨　论

铂类药物治疗是西医治疗肺癌的一线化疗方案,但其不良反应严重影响肿瘤治疗效果[7-8]。中西结合治疗肿瘤的特色和优势是增效减毒。研究表明,联用益气养阴方药可减轻肺癌患者因多西他赛和顺铂治疗所致的毒性反应[9]。因此,研究益气养阴方药对肺癌发生发展的作用及机制可为科学指导其临床应用提供基础。

本实验采用气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型探究肺复方的药效作用。因气阴两虚型肺癌患者常伴有咳嗽气短、食欲不振、神疲乏力、形体羸瘦、口干少饮等症状[10],故以用药前后精神状态、饮水量、摄食量及体质量变化为指标判断模型动物的症状是否改善。

刨花烟熏难以控制烟雾含量,不易观察小鼠行为,故本实验采用密闭空间,使用香烟替代刨花烟熏法。动物模型复制实验研究结果显示:造模第一阶段,小鼠体质量无明显变化。造模第 1~3 天小鼠饮水量减少,第 5~7 天小鼠饮水量恢复,原因可能为小鼠初次烟熏引起不适,致饮水量暂时减少;造模第 9~13 天小鼠饮水量、摄食量均减少。数据回归分析发现,小鼠摄食量在造模期内随灌服热性中药水煎液加烟熏天数增加而减少($R^2=0.8088$);且伴随有精神倦怠、毛色暗淡无光、舌头呈现黑紫色等状态,这与气阴两虚证中神疲乏力、口干少饮及食欲不振的临床特征基本一致。结果提示,饮水量和摄食量减少可能是气阴两虚小鼠模型的特征指标。造模第二阶段,小鼠饮水量和摄食量均无明显变化,体质量增加。数据回归分析发现,造模小鼠体质量随造模天数增加而增加,且线性关系良好

($R^2=0.9519$),表明植瘤成功。气阴两虚 Lewis 肺癌模型动物复制结果提示,灌服热性中药水煎液加烟熏的天数是影响气阴两虚模型症状的重要因素;移植肺癌细胞后的天数是 Lewis 肺癌模型成功的关键因素。

模型小鼠经肺复方干预后活动量增加,摄食量无明显变化,肺复方组、联用组均可明显增加模型小鼠饮水量,且饮水量与联用组给药天数成正比($R^2=0.949$)。结果提示,Lewis 肺癌荷瘤小鼠气阴两虚证的主要特征为活动量和饮水量减少;肺复方可改善气阴两虚模型动物神疲乏力、口干少饮的症状。

药物干预对模型小鼠体质量及去瘤体质量影响的研究结果显示,模型组小鼠因植瘤成功和增殖,其体质量增加,并且在模型组小鼠体质量随植瘤天数成线性增加的同时($R^2=0.9925$),其去瘤体质量下降,结果提示,瘤体消耗机体营养物质是导致小鼠去瘤体质量减轻的原因。与模型组比较,肺复方组小鼠体质量随干预天数成线性增加($R^2=0.9909$),但去瘤体质量无明显差异,且肺复方对模型小鼠摄食量无明显影响,以上实验结果提示,肺复方改善气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤模型动物形体羸瘦症状的原因与其促进机体对营养物质的吸收增加小鼠体质量有关。已有研究发现,人体体质量的调节约有 40%是由免疫系统决定的[11],结合肺复方对模型动物体质量、去瘤体质量等的作用,初步预测肺复方益气养阴功效是通过增强机体免疫功能所表现的。

脏器指数的变化可反映药物对机体的影响,其中,脾和胸腺等免疫器官脏器指数升高意味着免疫功能增强[12-13],脾、胸腺和肝脏等造血器官脏器指数升高则表明骨髓功能受到抑制[14]。本实验脏器指数研究结果表明:灌服热性中药水煎液加烟熏后移植 Lewis 肺癌使小鼠胸腺指数降低,脾脏和肝脏指数升高,提示复制此模型可能损伤机体免疫器官,同时引发病理性髓外造血作用导致造血器官肿大[15]。研究发现,铂类药物在杀灭肿瘤细胞的同时,对正常造血细胞和免疫细胞亦有不同程度的损害,从而影响免疫功能和骨髓功能[16-17],顺铂联用肺复方后脾脏和胸腺指数升高,表明肺复方减轻顺铂引起的器官毒性,机制可能与其正向调节小鼠免疫功能有关。

综上所述,本研究证实,小鼠灌服热性中药水煎液加烟熏合并腋下移植 Lewis 肺癌细胞可成功复制气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤动物模型,该模型小鼠饮水量和摄食量减少。肺复方可增加气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤模型小鼠的活动量和饮水量,改善其口干少饮、形体羸瘦等症状,还可改善顺铂引起的动物免疫器官损伤,肺复方上述作用可能与其增强机体免疫功能有关,具体机制还有待进一步研究。

参考文献

[1] 郭继龙,李斌,李亚玲,等. 益气养阴汤联合化疗治疗气阴两虚型中晚期非小细胞肺癌 30 例[J]. 西部中医药,2017,30(8):84-86.

[2] 贾丹,王文萍. 浅析原发性肺癌患者中医证型分布规律[J]. 山西中医,2019,35(11):48-50.

[3] 顾军花,刘嘉湘. 刘嘉湘教授“扶正治癌”理论核心及运用方法[J]. 中国中西医结合杂志,2017,37(4):495-499.

[4] 李跃辉,彭艳梅,王志琪,等. 基于 QbD 理念的肺复方颗粒醇提工艺研究[J]. 湖南中医杂志,2021,37(1):155-159.

[5] 吴海良,田静. 气阴两虚型肺癌动物模型的建立和评价[J]. 浙江中西医结合杂志,2012,22(12):941-942.

[6] 李杨,杨玲玲,白彦丽,等. 黄芪多糖对气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤生长、转移及细胞周期的影响[J]. 肿瘤防治研究,2018,45(3):131-137.

[7] 原发性肺癌诊疗规范(2018 年版)[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志,2019,5(3):100-120.

[8] 魏科,陈勇超,周家豪,等. 茯苓多糖辅助抗肺癌及免疫调节作用研究[J]. 中华中医药杂志,2020,35(10):4937-4940.

[9] 王茹稼,陈华群. 益气养阴汤联合化疗对晚期非小细胞肺癌患者生活质量的影响[J]. 新中医,2021,53(3):121-124.

[10] 蒋锐沅,满婷婷,莫春梅,等. 真实世界气阴两虚型肺癌患者的临床特征及用药分析[J]. 中医药导报,2020,26(1):79-85.

[11] LYNCH L,HOGAN AE,DUQUETTE D,et al. INKT cells Induce FGF21 for thermogenesis and are required for maximal weight loss in GLP1 therapy[J]. Cell Metabolism,2016,24(3):510-519.

[12] 刘文立,莫海云. 白及多糖通过调节免疫作用抑制结肠癌 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长[J]. 中国免疫学杂志,2021,37(8):941-945.

[13] TAGHADOSI M,SAMIMI Z,ASSAR S,et al. Plasma leptin does not reflect the effect of high body mass index on disease activity in rheumatoid arthritis[J]. Immunological Investigations,2020,49(1-2):32-45.

[14] 初秋博. 基于免疫调控的贞芪扶正颗粒促造血及抗结直肠癌活性的研究[D]. 长春:吉林大学,2020.

[15] 张娜,田燕歌,刘学芳,等. 小鼠移植性肺癌转移模型研究进展[J]. 中国实验动物学报,2020,28(4):557-562.

[16] 徐骏,耿美玉,黄敏. 化疗药调控肿瘤免疫应答机制研究进展[J]. 药学学报,2019,54(10):1741-1748.

[17] 广东省药学会. 铂类药物临床应用与不良反应管理专家共识[J]. 今日药学,2019,29(9):577-585.

(收稿日期:2021-06-24)