

· 基础研究 ·

# 健脾益肾颗粒对 Lewis 肺癌小鼠免疫功能的影响

陈晓波<sup>1,2</sup> 郝世凯<sup>1</sup> 王玉亮<sup>2</sup> 武文杰<sup>1,3</sup> 苏相相<sup>1</sup> 姜爱娜<sup>1</sup> 刘志霁<sup>4</sup>

**摘要** **目的** 观察健脾益肾颗粒对 Lewis 肺癌小鼠免疫功能的影响。**方法** 将 80 只 C<sub>57</sub>BL/6J 小鼠按随机数字表法分为 4 组:正常组、模型组、健脾益肾组和顺铂组,每组 20 只。除正常组外,其余各组小鼠右腋下皮下接种 Lewis 肺癌细胞。正常组不干预,模型组予磷酸盐缓冲液(PBS) 0.2 mL/d 灌胃,健脾益肾组予健脾益肾颗粒 10 mg/(kg·d)灌胃,顺铂组予顺铂 0.5 mg/(kg·d)灌胃,均 2 天 1 次。持续 2 周后,取瘤重并计算抑瘤率;观察药物干预后肿瘤细胞的增殖能力、血中白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、中性粒细胞(NEU)、血小板(Pt)、血红蛋白(HGB)及脾中 NK 细胞活性;检测 IFN- $\gamma$  和 IL-10 含量及 T 淋巴细胞比值。**结果** 与正常组比较,模型组体重增量变低,RBC 数量降低,WBC、NEU、Pt 数量增加,NK 细胞活性抑制,IFN- $\gamma$  水平降低,IL-10 水平升高,CD4<sup>+</sup>T 细胞数量 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 比值降低(均  $P < 0.05$ )。与模型组比较,健脾益肾组和顺铂组小鼠体重增加,肿瘤重量降低,抑瘤率升高,肿瘤细胞数量于干预后第 5 天开始出现下降,且健脾益肾组体重增量、肺癌细胞数量干预优于顺铂组(均  $P < 0.05$ );健脾益肾组 RBC 数量升高,WBC、NEU 以及 Pt 数量下降,NK 细胞活性增加(均  $P < 0.05$ ),IFN- $\gamma$  水平升高,IL-10 水平降低,CD4<sup>+</sup> 细胞数量和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值增加(均  $P < 0.05$ )。**结论** 健脾益肾颗粒对 Lewis 肺癌肿瘤具有免疫抑制作用。

**关键词** 健脾益肾颗粒; Lewis 肺癌; 小鼠模型; 细胞免疫

Effect of Jianpi Yishen Granule on Immunological Function of Lewis Lung Cancer Mice Model  
CHEN Xiao-bo<sup>1,2</sup>, HAO Shi-kai<sup>1</sup>, WANG Yu-liang<sup>2</sup>, WU Wen-jie<sup>1,3</sup>, SU Xiang-xiang<sup>1</sup>, JIANG Ai-na<sup>1</sup>, and LIU Zhi-pei<sup>4</sup>  
1 Cell Storage Center, Vcanbio Cell & Gene Engineering Corp., Ltd, Tianjin (300000); 2 Department of Hematology, Tianjin First Center Hospital, Tianjin (300000); 3 Institute of Hematology, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin (300020); 4 Vcanbio Cell & Gene Engineering Corp., Ltd, Tianjin (300000)

**ABSTRACT** **Objective** To observe the stimulative effect of Jianpi Yishen Granule on immunology of Lewis cancer mice model. **Methods** A Total of 80 C<sub>57</sub>BL/6J mice were randomly divided into 4 groups: normal group, model group, Jianpi Yishen (JPYS) group, and Cisplatin group, 20 in each group. Mice in each group were inoculated with Lewis cancer cells, except for normal group, which did not receive any treatment. Model group received intragastric administration with 0.2 mL phosphate buffer solution (PBS) per day. The mice in JPYS group were treated with 10 mg/(kg·d) JPYS Granule, while Cisplatin group were treated with 0.5 mg/(kg·d) every per twice day for 2 weeks. Mice were then sacrificed for the further examination of tumor weight and tumor inhibitory rate. MTT assay was performed to evaluate the tumor cell proliferation; serum red blood cell (RBC), white blood cell (WBC), neutrophil (NEU), and platelet (Pt), as well as splenic NK cell activity were detected; ELISA assay was utilized to examine the IFN- $\gamma$ , IL-10, and T lymphocyte proportion. **Results** Compared with normal group, model groups displayed obvious weight loss, decreased RBC number, and increased WBC, NEU, Pt and HGB quantity. Meanwhile, NK cell activity in model group was significantly decreased. IFN- $\gamma$  level was reduced whereas IL-10 increased. CD4<sup>+</sup>T cell number and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio was decreased (all  $P < 0.05$ ). Compared with

作者单位:1.中源协和生物细胞存储服务(天津)有限公司(天津 300000);2.天津市第一中心医院血液科(天津 300000);3.中国医学科学院血液病研究所(天津 300020);4.中源协和基因科技有限公司(天津 300000)

通讯作者:刘志霁, Tel: 15001220683, E-mail: liuzhipei54321@163.com

DOI: 10.7661/j.cjtm.20180612.057

model group, mice in JPYS group and Cisplatin group showed significant weight gain, reduction of tumor weight and high tumor inhibitory rate, Lung cancer cell number began to decrease at day 5 after drug administration. JPYS group performed better than Cisplatin group in weight gain and tumor cell quantity intervene (all  $P < 0.05$ ). In JPYS group, RBC number was increased, while WBC, NEU, and Pt number were decreased. Meanwhile, NK cell activity in this group obviously increased. IFN- $\gamma$  level was augmented while IL-10 was reduced. CD4<sup>+</sup>T cell number and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio was significantly increased ( $P < 0.05$ ). Conclusion JPYS Granule showed an immune-suppressing effect on Lewis lung cancer.

KEYWORDS Jianpi Yishen Granule; Lewis lung cancer; mouse model; cellular immunity

肺癌严重威胁着人类的健康,但由于缺乏充分早期诊断,大多数患者在诊断时已是局部晚期。据报道,手术切除后的 5 年生存率仅为 20%~25%<sup>[1]</sup>。放射疗法虽是晚期患者的主要治疗方法,但放疗疗效差且不良反应大,5 年生存率据报道仅为 10%左右<sup>[2]</sup>。近年来,中药在治疗肺癌方面展现出可靠的疗效,如柴胡龙牡汤和中药扶正方在临床上治疗非小细胞肺癌和 Lewis 肺癌有肯定的疗效<sup>[3-5]</sup>。根据中医学理论肺癌属“肺积”、“息贲”、“肺癰”、“息积”等范畴,是全身性疾病的局部表现。而健脾益肾颗粒是根据“肾为先天之本,脾为后天之本”的理论组方而成,有培补脾肾、益气生血,促进造血及免疫功能的恢复,抑制肿瘤细胞转移等作用。已有研究发现健脾益肾颗粒有提高含铂双药化疗(GEM+DDP)对晚期非小细胞肺癌疗效的具有提高作用,有效率可达 50%以上<sup>[6]</sup>。

Lewis 肺癌小鼠是在原发性肺癌实验研究中最常用的动物模型,肺癌的发生与发展与机体免疫息息相关,细胞免疫是机体免疫系统的重要组成部分,在抗肿瘤免疫反应中发挥了重要作用。本研究利用 Lewis 小鼠模型,观察健脾益肾颗粒对 Lewis 肺癌的疗效,并探讨其对细胞机体免疫系统的影响。

## 材料与方法

1 动物与细胞 SPF 级 C<sub>57</sub>BL/6J 近交系小鼠 80 只,鼠龄为 6~8 周,体重为 18~20 g。雌雄各半,购于北京维通利华实验动物有限公司[许可证号 SCXK(京)2006-0009,质量合格证编号 0230988]。实验伦理声明:本设施的环境条件符合中国国家标准《实验动物环境及设施》(GB14925-2001)对普通动物实验设施的有关标准,动物饲养管理和动物实验操作符合《北京市实验动物管理条例》等法规的要求。Lewis 肺癌细胞株由中国协和医科大学细胞中心免疫实验室惠赠。

2 药物 健脾益肾颗粒剂配方由生地 10 g 熟地 10 g 首乌 10 g 女贞子 15 g 旱莲草 15 g 茯

苓 12 g 太子参 12 g 扁豆 12 g 山茱萸 10 g 淫羊藿 12 g 组成。江阴天江药业有限公司提供。顺铂(10 mg,批号:S209002)购自山东齐鲁制药厂。

3 主要试剂及仪器 GIBCO RPMI 1640 培养液(12633012),小鼠 IFN- $\gamma$  ELISA 试剂盒(批号:BS20193),小鼠 IL-10 ELISA 试剂盒(批号:BS31010)均购自美国 Biosensor 公司;AR1141 电子天平,DW 超低温冰箱,BP II 型药物天平,Ependorf 5810R 式台式低速离心机,多功能酶标仪,Attune NxT 流式细胞仪。

4 动物的造模方法 参照参考文献[3],小鼠右腋下皮下接种 Lewis 肺癌细胞 10<sup>7</sup>个。将 Lewis 肺癌 C<sub>57</sub>BL/6J 荷瘤小鼠,脱颈椎处死,无菌剥离瘤组织。选取生长良好、淡粉色的肿块以生理盐水研磨,调整细胞悬液浓度至 1×10<sup>7</sup>个/mL,C<sub>57</sub>BL/6J 小鼠右前腋下皮下接种 Lewis 肺癌细胞悬液 0.2 mL/只<sup>[3]</sup>。本研究的造模过程中动物无死亡。

5 动物分组及干预方法 将 80 只小鼠按随机数字表法分为 4 组:正常组、模型组、健脾益肾组和顺铂组,每组 20 只。除正常组外,其余各组小鼠右腋下皮下接种 Lewis 肺癌细胞<sup>[7,8]</sup>,本研究中造模成功率为 100%。健脾益肾组小鼠给予健脾益肾颗粒剂量按 2010 版《中华人民共和国药典》并结合临床经验<sup>[9]</sup>,为 10 mg/(kg·d)灌胃给药。模型组小鼠给予 PBS 0.2 mL/d 灌胃,顺铂组小鼠实施顺铂治疗每天 0.5 mg/kg,为临床剂量的 0.1%,各组均 2 天 1 次,持续干预 2 周。

## 6 检测指标及方法

6.1 小鼠体重的测量 在小鼠干预结束后颈椎脱臼法处死小鼠,去除肺脏中的肿瘤组织,并对其小鼠干预前后进行称重。

6.2 抑瘤率的测定 抑瘤率(%)=(1-给药组平均瘤重/对照组平均瘤重)×100%<sup>[3]</sup>。

6.3 MTT 实验检测细胞活性 用含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养液将待测肺癌细胞配成单细

胞悬液,以每孔约 1 000 个细胞接种于 96 孔培养板中。同时设溶剂对照。每个剂量设 3 个平行孔。常规培养 24 h 后,加入受试药物(以 1:100 同等稀释的各药物)。置于 37 ℃,5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 96 h,向每孔加入 MTT 液 10 μL(5 mg/mL),震荡混匀后继续孵育 4 h,加入 100 μL DMSO,利用酶标仪测定 OD<sub>570</sub> nm 的吸光度值。

**6.4 细胞含量测定** 红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、中性粒细胞(NEU)、血小板(Pt)以及血红蛋白(HGB)用流式细胞仪测定血中各细胞含量,并计算数值。

**6.5 NK 细胞活性的测定** 利用 Beckman Coulter 流式细胞仪采用 CD16 和 PI 双色检测。2 mL 全血加于淋巴细胞分离液 2 mL 表面,2 000 r/min,离心 20 min。吸取中间单个核细胞,PBS 洗涤 1 次并重悬。利用荧光标记的 CD16 和 CD3 单抗,室温避光孵育 15~30 min。PBS 洗涤细胞,PI 染色 3~5 min。

**6.6 IFN-γ 和 IL-10 含量的检测** 血标本用离心机离心,3 000 r/min,15 min,移液管取上清液,用 ELISA 方法测定外周血血清中 IFN-γ 和 IL-10 含量。将各组肺癌肿瘤细胞分别接种于 12 孔培养板中,每孔加入细胞悬液 1 mL,并设置 3 个平行孔。将培养板置于 37 ℃,5% CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 72 h。双抗体夹心 ELISA 法严格按试剂盒说明书操作。终止反应后,在酶标仪上测量 OD<sub>450</sub> nm 下各孔的吸光度值作定量测定。绘制标准曲线,计算出样品中 IFN-γ 及 IL-10 浓度。

**6.7 细胞组分含量检测** 将肺癌肿瘤细胞悬液调整成细胞浓度 5 × 10<sup>7</sup>/mL 的单细胞悬液。在各组中避光加入 FITC-tag anti-CD4 抗体和 PE-tag anti-CD8 抗体各 1 μL。同时,设置阴性对照组以及 CD4 和 CD 单抗对照组。4 ℃ 避光孵育抗体 20 min,随后每样品管加入 2 mL 的 PBS(含 2% 胎牛血清),4 ℃ 下 1 500 × g 离心 8 min,弃上清后再加入 0.5 mL 的 PBS(含 2% 胎牛血清)并上机检测。利用流式细胞术检测 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> 和 CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> 细胞的百分率,并计算其比值。

**7 统计学方法** 数据分析采用 SPSS 11.0 软件。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。组内比较采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD。P < 0.05 为差异有统计学意义。

**结 果**

**1 各组小鼠干干预前后体重比较(表 1)** 与正常组比较,模型组体重增量变低(P < 0.05);与模型组比较,顺铂组体重减少,健脾益肾组体重增加明显(P < 0.05)。与顺铂组比较,健脾益肾组的体重增量更大(P < 0.05)。

表 1 各组小鼠干干预前后体重比较 (g,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	干干预前体重	干干预后体重	增量
正常	20	18.35 ± 0.38	20.23 ± 0.87	19.20 ± 0.60
模型	20	19.67 ± 0.21	21.10 ± 0.17	1.43 ± 0.06*
健脾益肾	20	19.90 ± 0.40	25.11 ± 0.44	5.21 ± 0.79 <sup>△</sup>
顺铂	20	19.67 ± 0.50	17.47 ± 0.65	-2.21 ± 1.15 <sup>△</sup>

注:与正常组比较,\*P < 0.05;与模型组比较,<sup>△</sup>P < 0.05;与顺铂组比较,<sup>▲</sup>P < 0.05

**2 各组小鼠肿瘤重及抑瘤率比较** 健脾益肾组和顺铂组肿瘤重分别为(1.68 ± 0.14) g 和(1.24 ± 0.12) g,均低于模型组[(2.93 ± 0.32) g,P < 0.05];健脾益肾组抑瘤率(42.6 ± 0.3)% 低于顺铂组的[(57.5 ± 1.2)% ,P < 0.05]。

**3 各组肿瘤细胞增殖水平比较(表 2)** 与模型组比较,健脾益肾组肿瘤细胞数量第 3 天开始出现下降(P < 0.05),顺铂组第 5 天下降明显(P < 0.05)。

表 2 各组肿瘤细胞增殖水平比较 (OD<sub>570</sub>,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	0 天	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
模型	20	0.57 ± 0.10	0.62 ± 0.03	0.79 ± 0.09	0.86 ± 0.22	0.99 ± 0.21
健脾益肾	20	0.56 ± 0.09	0.61 ± 0.14	0.59 ± 0.02	0.57 ± 0.15*	0.53 ± 0.01*
顺铂	20	0.57 ± 0.09	0.65 ± 0.23	0.65 ± 0.14	0.48 ± 0.11*	0.40 ± 0.12*

注:与模型组比较,\*P < 0.05

**4 各组 RBC、WBC、NEU、Pt 及 NEU 及 HGB 比较(表 3)** 与正常组比较,模型组 RBC 数量降低(P < 0.05),WBC、Pt 及 NEU 数量增加(P < 0.05)。

表 3 各组 RBC、WBC、NEU、Pt 及 HGB 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	n	RBC(×10 <sup>10</sup> /L)	WBC(×10 <sup>9</sup> /L)	NEU(×10 <sup>10</sup> /L)	Pt(×10 <sup>9</sup> /L)	HGB(×g/L)
正常	—	20	9.93 ± 0.89	3.22 ± 0.88	1.23 ± 0.21	91.30 ± 5.69	151.69 ± 10.11
模型	—	20	8.12 ± 1.25*	12.56 ± 2.28*	7.98 ± 1.00*	223.23 ± 13.17*	145.25 ± 11.11
健脾益肾	干干预前	20	7.15 ± 0.59	14.69 ± 1.26	8.10 ± 0.74	195.65 ± 22.14	150.12 ± 9.85
	干干预后		8.89 ± 0.40 <sup>△</sup>	7.11 ± 1.87 <sup>△</sup>	3.14 ± 0.63 <sup>△</sup>	101.21 ± 9.95 <sup>△</sup>	156.58 ± 11.25
顺铂	干干预前	20	8.29 ± 0.56	12.99 ± 1.44	8.00 ± 0.22	214.98 ± 17.35	150.22 ± 11.33
	干干预后		12.69 ± 0.88 <sup>△</sup>	19.15 ± 2.19 <sup>△</sup>	11.55 ± 2.62 <sup>△</sup>	112.54 ± 13.65 <sup>△</sup>	165.00 ± 21.01

注:与正常组比较,\*P < 0.05;与模型组比较,<sup>△</sup>P < 0.05

与模型组比较,干预后健脾益肾组小鼠 RBC 数量升高,WBC、NEU、Pt 数量下降( $P < 0.05$ );顺铂组 RBC、WBC 及 NEU 增加,Pt 数量降低( $P < 0.05$ )。各组间 HGB 比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

5 各组 NK 细胞活性比较(表 4) 与正常组比较,模型组 NK 细胞活性明显受到抑制( $P < 0.05$ )。与模型组比较,健脾益肾组 NK 细胞活性增加( $P < 0.05$ ),顺铂组 NK 细胞活性降低( $P < 0.05$ )。

表 4 各组 NK 细胞活性比较 (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	NK 细胞活性
正常	20	49.65 ± 3.47
模型	20	35.16 ± 2.23*
健脾益肾	20	74.15 ± 5.44 <sup>△</sup>
顺铂	20	27.48 ± 2.66 <sup>△</sup>

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

6 各组小鼠 IFN- $\gamma$  和 IL-10 水平比较(表 5) 与正常组比较,模型组 IFN- $\gamma$  水平降低,IL-10 水平升高( $P < 0.05$ )。模型组比较,健脾益肾组 IFN- $\gamma$  水平升高,IL-10 水平则降低( $P < 0.05$ );顺铂组两种细胞因子水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 5 各组 IFN- $\gamma$  和 IL-10 水平比较 (pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IFN- $\gamma$	IL-10
正常	20	89.45 ± 9.54	98.14 ± 16.85
模型	20	38.14 ± 3.59*	245.24 ± 4052*
健脾益肾	20	80.47 ± 9.29 <sup>△</sup>	111.27 ± 14.63 <sup>△</sup>
顺铂	20	41.29 ± 5.68	257.10 ± 21.36

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

7 各组脾脏内 T 淋巴细胞亚群比较(表 6) 与正常组比较,模型组 CD4<sup>+</sup> T 细胞数目和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,健脾益肾组 CD4<sup>+</sup> T 细胞数目和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值升高( $P < 0.05$ ),顺铂组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与顺铂组比较,健脾益肾组 CD4<sup>+</sup> T 细胞数目增加( $P < 0.05$ ),CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值升高( $P < 0.05$ )。各组小鼠脾脏内 CD8<sup>+</sup> T 数目比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 6 各组脾脏内 T 淋巴细胞亚群比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
正常	20	20.59 ± 0.51	17.95 ± 1.89	116.43 ± 3.83
模型	20	13.13 ± 3.01*	18.66 ± 2.45	70.36 ± 0.58*
健脾益肾	20	25.14 ± 1.25 <sup>△△</sup>	19.21 ± 1.95	130.87 ± 5.49 <sup>△△</sup>
顺铂	20	13.25 ± 2.59	18.54 ± 2.63	71.45 ± 2.91

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ;与顺铂组比较,<sup>△△</sup> $P < 0.05$

## 讨 论

原发性支气管肺癌是常见的恶性肿瘤之一,在所有恶性肿瘤之中,其发病率和死亡率居首。而因为缺乏对于肿瘤早期诊断手段,约有 2/3 的患者在确诊后已属于肿瘤晚期<sup>[9]</sup>。对此严峻态势,寻找新的抗肺癌药物已是迫在眉睫。而近年来,伴随着技术方法的一系列突破,中药复方制剂抗肿瘤研究兴起,关于中药制剂拮抗肿瘤的相关研究已经达到了分子水平,理论研究成果也取得很大突破。根据文献报道,中药复方主要是通过增强机体免疫功能、调控细胞周期行为和信号转导通路、抗血管生成和癌细胞黏附、诱导肺癌细胞凋亡等作用机制发挥抗肿瘤作用。此外,中药复方同化疗药的联用,还可改善并减轻化疗药的不良作用<sup>[10]</sup>。目前已有多种中药药剂应用于临床研究中并证实其对 Lewis 肺癌模型有抑制效果,如槲皮素、健脾益肺化痰方、长必安胶囊、益肺抗瘤饮、消积饮、十全大补汤等。这些中药的主要抑制机理集中在抑制肺癌细胞的关键蛋白表达,进一步抑制肺癌细胞的生长和增殖;或纠正免疫微循环紊乱;或影响肿瘤细胞凋亡;或抑制激素因子的表达;或使微血管减少可导致肿瘤组织内缺血缺氧等,由此诸多方面影响肿瘤的增殖和迁移等<sup>[10,11]</sup>。

健脾益肾颗粒是根据“肾为先天之本,脾为后天之本”的理论组方而成,有培补脾肾、益气生血,促进造血及免疫功能的恢复,抑制肿瘤细胞转移等作用。其中党参、白术健脾益气,补后天之本;女贞子、菟丝子、枸杞子可补骨脂补肾、温肾益髓填精,补先天之本。全方组合能培补脾肾、益气生血,促进造血及免疫功能的恢复。本研究发现,健脾益肾颗粒在肺癌小鼠模型上的应用能够有效地减轻 Lewis 肺癌的瘤重并降低肿瘤细胞的增殖能力。提示荷瘤小鼠的生活质量得到一定改善,化疗组小鼠体重下降提示顺铂化疗影响小鼠的生活质量。然而在此两方面尽管健脾益肾组的表现同模型组比较差异显著,但效果仍不及化疗药物顺铂,提示化疗药物在抑制肿瘤生长复制方面仍较中药效果突出。一般认为,中药的内含物较多因此导致其作用靶点相较化疗药物则更为分散,造成的药物剂量不足现象使得中药在单一抑制肿瘤增殖方面表现并不突出;当然,这也可能是由于本研究中中药给药周期短,使之未发挥长期有效功能所致。

另一方面,在研究药物对小鼠免疫系统影响的研究中,发现健脾益肾颗粒能够有效增强血液中 RBC 的数量。而据报道 RBC 免疫是机体免疫系统的重要组成部分,在抗肿瘤免疫进程中发挥关键作用。肿瘤

细胞可旁路激活并黏附补体,而 RBC CR1 和 CR3 则可粘附已激活黏附补体的肿瘤细胞;而 RBC 膜内 SOD 酶及过氧化氢酶对肿瘤细胞也具有杀伤灭活作用;RBC 不仅可以激发 T 细胞免疫功能,增强 IL-2 受体表达,增加 IFN- $\gamma$  分泌;激活 B 细胞生长因子;促进 NK 细胞活性<sup>[12, 13]</sup>。降低 WBC 和 NEU 的数量可以有有效的抑制化疗药物处理后出现的发炎症状,可同化疗药物联用以降低其副作用。

本研究发现,同模型组和顺铂组比较,健脾益肾颗粒可提高脾脏 NK 细胞活性以及 IFN- $\gamma$  表达水平并降低脾脏中 IL-10 表达水平,差异有统计学意义。这说明在提高体内免疫系统活性方面,健脾益肾颗粒的效果显著,提示健脾益肾对于肿瘤细胞增殖能力的抑制功能可能不是直接靶向在肿瘤细胞本身而是通过调整机体的免疫系统使之能够避免肿瘤增长所引起的炎症反应或者提高细胞免疫等方面抑制肿瘤的生长增殖的。此外据报道称,肿瘤细胞会分泌免疫抑制因子,从而增加 CD8<sup>+</sup> T 细胞的数目,同时减少 NK 细胞和 CD4<sup>+</sup> T 细胞数目,导致机体免疫功能紊乱<sup>[14, 15]</sup>。本研究还发现,模型组内荷瘤小鼠的 CD4<sup>+</sup> T 细胞数量明显下降,但 CD8<sup>+</sup> T 细胞数量无明显变化,提示 T 细胞免疫功能已经紊乱。而经过健脾益肾颗粒的治疗之后,CD4<sup>+</sup> T 细胞的数量提高,在一定程度上改善了肿瘤细胞诱导的免疫紊乱,使得细胞免疫机能得到有效恢复,然而其具体机制还有待进一步研究。

综上,健脾益肾颗粒的应用一方面能够降低肿瘤细胞的增殖能力;一方面又可以通过增强 NK 细胞活性、提高 CD4<sup>+</sup> T 细胞数量,改善受损免疫系统。本研究结果可为中医药制剂治疗肺癌提供一定的理论依据。

利益冲突:在文章数据获取和发表过程中,不存在在其他单位或个人与作者之间的经济、雇佣关系、专利等各方面的利益冲突。

#### 参 考 文 献

[1] 李蔚勃. 100 例肺癌患者的临床特征及生存率分析[J]. 临床医学研究与实践, 2016, (27): 10-11.

- [2] 谢红, 吴敬波, 向莉. 用近距离放射疗法治疗非小细胞肺癌的研究进展[J]. 当代医药论丛, 2016, 14(1): 14-17.
- [3] 程晓东, 郭峰, 刘嘉湘, 等. 中药扶正方对小鼠 Lewis 肺癌的疗效及其免疫学机理的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(2): 88-90.
- [4] 黄艳, 刘鑫, 廖端芳. 柴胡龙牡汤对小鼠 Lewis 肺癌的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(10): 1344-1347.
- [5] 赵楠楠, 张宁苏. 柴胡龙牡汤加减改善气机阻滞型肺癌系统综述[J]. 实用中医内科杂志, 2013, 6(6): 1-4.
- [6] 杨吉荣. 健脾益肾颗粒联合化疗对晚期非小细胞肺癌的疗效研究[J]. 浙江中医杂志, 2012, 47(7): 478-479.
- [7] 李春艳, 王颖, 刘浩, 等. C<sub>57</sub>BL/6 近交系小鼠 Lewis 肺癌动物模型: 建设性描述肺癌损害程度的指标[J]. 中国临床康复, 2003, 7(26): 3582-3583.
- [8] 曾玉兰. 钩吻素子对 Lewis 大鼠类风湿关节炎急性期和慢性期的治疗作用[D]. 福州: 福建医科大学, 2015.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 国医药科技出版社, 2010: 363-364.
- [10] 张映梅, 刘琼. 柴胡龙牡汤联合西药治疗广泛性焦虑症临床观察[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(1): 69-70.
- [11] 魏文静, 刘同祥, 张冠庆, 等. 中药复方抗 Lewis 肺癌药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2013, 36(2): 138-141.
- [12] 刘静. 中药抗小鼠 Lewis 肺癌实验研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(S1): 112-116.
- [13] 丁艳, 郭海, 顾武军. 红细胞免疫在肿瘤研究中的进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(1): 68-69.
- [14] 季宇彬, 汲晨锋. 黄芪多糖对肿瘤模型小鼠红细胞免疫功能的影响[J]. 现代食品科技, 2013, 29(9): 2042-2046.
- [15] 宁军, 龚浩. 中晚期肿瘤患者 T 淋巴细胞和 NK 细胞检测的临床意义[J]. 实用全科医学, 2007, 5(7): 587-588.
- [16] 朱小玉, 陈运贤, 钟雪云, 等. 参芪扶正注射液对化疗后小鼠免疫功能的保护作用研究[J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(10): 925-928.

(收稿: 2017-05-01 在线: 2018-08-31)

责任编辑: 白霞