

# 益肺消瘤颗粒延缓 免疫衰老防治肺癌的 实验研究

魏冬梅<sup>1\*</sup>, 陈宏<sup>1,2</sup>, 姜梅<sup>1</sup>, 尹钢<sup>1</sup>, 陈沫岚<sup>1</sup>, 刘玲玲<sup>1</sup>, 周旭东<sup>1</sup>,  
苏悦<sup>1</sup>, 孙玺媛<sup>1#</sup>

<sup>1</sup>齐齐哈尔市第一医院, 黑龙江 齐齐哈尔

<sup>2</sup>黑龙江省中医药科学院, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2022年12月28日; 录用日期: 2023年1月24日; 发布日期: 2023年1月31日

## 摘要

目的: 探讨益肺消瘤颗粒对免疫衰老小鼠肺癌移植瘤的防治作用。方法: C57BL/6J雄性小鼠随机分为空白组, 生理盐水组和益肺消瘤组, 益肺消瘤颗粒组、生理盐水组小鼠予以D-半乳糖500 mg/(kg·d)皮下注射建立免疫衰老模型, 连续42天, 同时益肺消瘤组小鼠每天灌服益肺消瘤颗粒52 g/kg/d (终体积0.2 mL), 空白组及生理盐水组小鼠每天灌服等体积的生理盐水。检测小鼠血清超氧化物歧化酶活力和丙二醛的含量, 摘取小鼠胸腺, 计算器官指数; 流式细胞术检测小鼠胸腺T细胞免疫衰老相关膜分子表达。再次C57BL/6J雄性建立免疫衰老小鼠模型, 左侧腋下前部接种肺癌细胞LL2-Luc-M38建立肺癌皮下移植瘤模型, 并随机分为生理盐水组、益肺消瘤颗粒预防组和益肺消瘤颗粒防治组进行干预, 每组取10只小鼠予以移植瘤造模, 14 d后处死, 检测瘤体质量; 其余小鼠观察成瘤时间、计算生存期。结果: 1) 与空白组比较, 生理盐水组小鼠胸腺指数下降( $P < 0.01$ ), 血清SOD活力明显下降( $P < 0.01$ ), MDA含量明显上升( $P < 0.01$ ), CD3+CD25+、CD3+CD28+、CD3+CD45RA+的表达下降( $P < 0.001$ 或 $P < 0.01$ ), CD3+CD196+、CD4+CD25+的表达上升( $P < 0.01$ 或 $0.05$ ); 益肺消瘤颗粒干预后, 与生理盐水组比较, 益肺消瘤颗粒组小鼠胸腺指数增加( $P < 0.05$ ), 血清SOD活力明显增加( $P < 0.01$ ), MDA含量明显下降( $P < 0.01$ ), CD3+CD25+、CD3+CD28+、CD3+CD45RA+的表达上升( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ ), CD3+CD196+、CD4+CD25+的表达下降( $P < 0.05$ ); 2) 免疫衰老小鼠皮下接种肺癌细胞后, 益肺消瘤颗粒预防组小鼠的成瘤时间长于生理盐水组( $P < 0.05$ ), 益肺消瘤颗粒防治组的成瘤时间、生存期延长更为明显( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ ), 益肺消瘤颗粒预防组移植瘤体质量明显小于生理盐水组( $P < 0.05$ )和防治组( $P < 0.01$ ), 益肺消瘤颗粒预防组的成瘤时间小于防治组( $P < 0.05$ )、瘤重大于防治组( $P < 0.05$ )。结论: D-半乳糖可诱导小鼠免疫衰老发生; 益肺消瘤颗粒可延缓小鼠免疫衰老, 从而防治肺癌的发生发展及延长小鼠生存期。

## 关键词

免疫衰老, 肺癌, 中医药, 肿瘤预防, 肿瘤治疗

\*第一作者。

#通讯作者。

# Experimental Study of Yifeixiaoliu Granulesto Delays Immunosenescence and Prevents Senile Lung Cancer

Dongmei Wei<sup>1\*</sup>, Hong Chen<sup>1,2</sup>, Mei Jiang<sup>1</sup>, Gang Yin<sup>1</sup>, Molan Chen<sup>1</sup>, Lingling Liu<sup>1</sup>, Xudong Zhou<sup>1</sup>, Yue Su<sup>1</sup>, Xiyuan Sun<sup>1#</sup>

<sup>1</sup>The First Hospital of Qiqihar, Qiqihar Heilongjiang

<sup>2</sup>Heilongjiang Academy of Chinese Medical Sciences, Harbin Heilongjiang

Received: Dec. 28<sup>th</sup>, 2022; accepted: Jan. 24<sup>th</sup>, 2023; published: Jan. 31<sup>st</sup>, 2023

## Abstract

**Objective:** To study the preventive and therapeutic effect of Yifeixiaoliu Granules on lung carcinoma in immunosenescent mice induced. **Methods:** C57BL/6J male mice were randomly divided into blank group, normal saline solution group and Yifeixiaoliu Granules group, C57BL/6J male mice in Yifeixiaoliu granules group and normal saline solution group were subcutaneously injected with 500 mg/(kg·d) D-galactose to establish an immunosenescent mice for 42 consecutive days. At the same time, C57BL/6J male mice in Yifeixiaoliu granules group were given 52 g/kg/d (final volume 0.2 mL) of Yifeixiaoliu granule every day, while C57BL/6J male mice in blank group and normal saline group were given the same volume of normal saline every day. The activity of SOD and the content of malondialdehyde MDA in serum of mice were detected, mouse thymus was extracted and organ index was calculated. Flow cytometry was used to detect the expression of immunosenescence related membrane molecules in mouse thymus T cells. Again, C57BL/6J male mice model of immunosenescence was established, and LL2-Luc-M38 was inoculated in the left anterior armpit to establish the subcutaneous lung carcinoma transplant tumor model, and they were randomly divided into normal saline solution group, Yifeixiaoliu granules prevention group and Yifeixiaoliu granule prevention treatment group, 10 mice from each group were taken for tumor transplantation model 14 days later, they were killed. Tumor mass was detected. Tumor formation time and survival time of other mice were observed. **Results:** 1) Compared with blank group, the thymus index of mice in normal saline solution group was decreased ( $P < 0.01$ ), the activity of SOD in serum was decreased ( $P < 0.01$ ), and the content of MDA was increased ( $P < 0.01$ ). The expressions of CD3+CD25+, CD3+CD28+ and CD3+CD45RA+ were decreased ( $P < 0.001$  or  $P < 0.01$ ), while the expressions of CD3+CD196+ and CD4+CD25+ were increased ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). After an intervention of Yifeixiaoliu Granules, compared with normal saline group, the thymus index of mice in Yifeixiaoliu granules group was increased ( $P < 0.05$ ), the activity of SOD in serum was significantly increased ( $P < 0.01$ ), and the content of MDA was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). The expressions of CD3+CD25+, CD3+CD28+ and CD3+CD45RA+ were increased ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ), while the expressions of CD3+CD196+ and CD4+CD25+ were decreased ( $P < 0.05$ ). 2) After subcutaneous inoculation of lung carcinoma cells in immunosenescent mice, the tumor formation time of mice in Yifeixiaoliu granules prevention group was longer than that in normal saline solution group ( $P < 0.05$ ). The tumor formation time and survival time of Yifeixiaoliu granules prevention treatment group were more significantly extended ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). The tumor transplantation weight of Yifeixiaoliu granules prevention group was significantly lower than that of normal saline solution group ( $P < 0.05$ ) and prevention group ( $P < 0.01$ ). The tumor formation time of Yifeixiaoliu granules prevention group was smaller than that of prevention treatment group ( $P < 0.05$ ), and the carcinoma weight was greater than that of prevention treatment group

( $P < 0.05$ ). **Conclusion: The immunosenescence of mouse can be induced by D-galactose; can time-dependently delay the immunosenescence of mouse, by which Yifeixiaoliu Granules can prevent the occurrence and development of lung cancer, and can prolong survival period of the mice bearing lung tumor.**

## Keywords

**Immunosenescence, Lung Cancer, Traditional Chinese Medicine, Tumor Prevention, Tumor Therapy**

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



## 1. 引言

伴随着人口老龄化,老年恶性肿瘤的发病率、死亡率逐年提升[1][2],原因之一在于增龄性的免疫衰老,发生免疫耐受、免疫无能,导致免疫监视、免疫清除功能低下促进恶性肿瘤的发生、发展[3]。益肺消瘤颗粒(原名养阴扶正方)是陈宏教授临床治疗肺癌的经验总结方,研究显示该方能够改善非小细胞肺癌患者的临床症状稳定肺部瘤灶,总有效率 76.3%,改善患者生活质量[4],抑制肿瘤血管的生成[5],调控 PD-1/PD-L1 通路逆转 T 细胞耗竭[6],对化疗药物能够增效减毒[7],提高宿主的免疫功能[5],抑制肺癌细胞的有氧糖酵解[8]。“治未病”是中医药防治疾病的核心理念,未病先防,先安未受邪之地,扶助正气,本研究在前期基础上,探索益肺消瘤颗粒是否能够延缓免疫衰老防治老年肺癌。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 动物、细胞株、药物、试剂

动物: 6~8 周龄 SPF 级 C57BL/6J 小鼠 15 只,购自上海杰思捷实验动物有限公司,动物合格证号: SCXK(沪)2018-0004。动物饲养于 40%~60%湿度, 21℃~26℃环境中,自由饮食饮水。

细胞株: LL2-Luc-M38 小鼠源肺癌细胞系购于 ATCC,货号: CRL-1642-LUC2。

药物: 益肺消瘤颗粒: 黄芪、党参、沙参、天冬、麦冬、生白术、山药、白花蛇舌草、拳参、绞股蓝、茯苓、莪术组成,齐齐哈尔市第一医院中草药局提供。

试剂: D-半乳糖购自德国 Sigma 公司(批号: SLBH4855V),MDA 试剂盒(货号: A003-1,南京建成生物科技有限公司)、SOD 试剂盒(货号: A003-1,南京建成生物科技有限公司)、FITC 标记的抗小鼠 CD4、PE 标记的抗小鼠 CD45RA 和 CD28、PerCP-Cy5.5 标记的抗小鼠 CD3、APC 标记的抗小鼠 CD25 及 Alexa-647 标记的抗小鼠 CD196 均购自美国 BD 公司。

### 2.2. 主要仪器

酶标仪(MK3 型, THERMO 公司)、DNP9082 恒温孵育箱(精宏仪器设备有限公司)、全自动多色分析流式细胞仪系统(型号: FACSVerser)购自美国 BD 公司, CO<sub>2</sub> 培养箱(型号: MCO-18AIC)购自日本 SANYO 公司,细胞计数仪(型号: Cedex XS)购自瑞士 Roche 公司,电子分析天平(型号: BAS323SCW)购自德国 Sartorius 公司。

## 2.3. 细胞培养

LL2-Luc-M38 小鼠源肺癌细胞用含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基在温度 37℃, 湿度 95%, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。每隔 2 天换液 1 次。待细胞长至 80%~90%的密度进行细胞传代, 用 0.25%的胰酶于 37℃进行消化, 待细胞开始变圆后加两倍以上培养基终止消化, 将细胞吹打后 1000 r/min 离心 5 min 后去上清, 细胞用新培养基重悬后传代于培养皿中。细胞 3 d 左右传一代。

## 2.4. 免疫衰老小鼠模型的建立与验证

### 2.4.1. 免疫衰老小鼠模型的建立

15 只 C57BL/6J 雄性小鼠适应性饲养 3 天后, 随机分为空白组, 益肺消瘤组和生理盐水组, 5 只/组。益肺消瘤组、生理盐水组小鼠每日右侧胸部靠近颈部处皮下注 D-半乳糖 500 mg/(kg·d), 连续注射 42 d, 同时予以益肺消瘤颗粒干预, 益肺消瘤组小鼠每天灌服益肺消瘤颗粒 52 g/kg/d (终体积 0.2 mL), 空白组及生理盐水组小鼠每天灌服等体积的生理盐水。

### 2.4.2. 免疫衰老小鼠模型验证

#### 1) 各组小鼠胸腺指数的测定

注射 D-半乳糖第 42 天将空白组、生理盐水组及益肺消瘤颗粒组小鼠脱颈处死、称重, 固定, 胸部医用酒精消毒, 立即摘取小鼠胸腺, 剔除多余组织; 置于一次性弯盘中, 用生理盐水清洗后, 放在干净的纱布上, 吸去多余水分; 将电子天平去皮归零, 读取质量数值计算公式[9]: 器官指数 = 器官质量(mg)/体质量(g)。

#### 2) ELISA 法检测各组小鼠血清中 MDA、SOD 的含量

各组小鼠摘眼球取血, 离心。采用 Elisa 方法, 按照试剂盒说明书进行操作, 检测各组小鼠血清中 SOD 的活力、MDA 的含量。

#### 3) 流式细胞术检测小鼠胸腺 T 细胞膜分子

参照参考文献[10]方法, 将胸腺以 200 目筛网充分研磨后, 用 5 毫升生理盐水冲洗筛网, 使细胞穿过筛网, 用一次性吸管将细胞悬液移入 15 ml 离心管中; 1200×g 离心 5 min; 弃上清, 再加 2 ml PBS, 清洗 2 遍, 最后加入 1 ml PBS 重悬, 制成胸腺单细胞悬液。取 10 ul 胸腺单细胞悬液放入 EP 管, 吸取 10 ul 锥虫蓝, 将二者混匀; 取 10 ul 混匀后的液体放入细胞计数板上, 计数后, 加入适量的 PBS, 将细胞密度调整至  $2 \times 10^5$  个/ml; 加入相应的抗体混匀后, 室温孵育 30 min; 加 1 ml PBS 清洗 2 次, 1200 ×g 离心 5 min; 每个流式管中加入 600 ul PBS 重悬, 上机检测, 重复检测 3 次。

## 2.5. 益肺消瘤颗粒对免疫衰老小鼠肺癌的预防

60 只小鼠分为生理盐水组(20 只)、益肺消瘤颗粒预防组 20 只及益肺消瘤颗粒防治组(20 只), 采用 1.4.1 方法建立免疫衰老模型鼠并同时予以益肺消瘤颗粒干预; 至 42 天时皮下接种小鼠肺癌细胞 LL2-Luc-M38, 每只小鼠接种  $2 \times 10^6$  个瘤细胞, 建立皮下移植瘤模型, 记录小鼠成瘤情况, 若在接种瘤细胞的部位触摸明显突起的结节或者肿块, 再继续观察 2 天, 若肿块仍存在, 则确定小鼠成瘤, 把第一次触及肿块的时间作为成瘤日期。其中, 益肺消瘤颗粒预防组灌服益肺消瘤颗粒 52 g/kg/d (终体积 0.2 mL) 共 42 d, 益肺消瘤防治组按照同样剂量灌服益肺消瘤颗粒 52 g/kg/d (终体积 0.2 mL) 共 56 d。其中 30 只(每组 10 只)小鼠在造模第 56 d 处死, 观察瘤体质量, 其余 30 只(每组 10 只)小鼠自然死亡, 记录生存期, 小鼠自然死亡的日期作为生存期的时间截点。

### 3. 数据分析

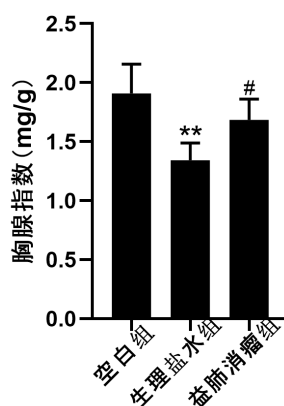
采用 SPSS17.0 统计软件, 计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 t 检验, 用 KaplanMeier 法作生存期分析,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$  表示差异有统计学意义。

## 4. 结果

### 4.1. 免疫衰老小鼠模型的验证

#### 4.1.1. 各组小鼠胸腺指数的测定

见表 1、图 1, 与空白组比较, 生理盐水组的胸腺指数低于空白组, 有统计学差异; 与生理盐水组比较, 益肺消瘤组胸腺指数高于生理盐水组, 有统计学差异。



\*\* $P < 0.01$  vs 空白组; # $P < 0.05$  vs 生理盐水组

**Figure 1.** Expression of thymus index of mice in each group

**图 1.** 各组小鼠胸腺指数的表达

**Table 1.** Expression of thymus index in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

**表 1.** 各组胸腺指数的表达( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 胸腺指数            |
|-------|-----------------|
| 空白组   | 1.908 ± 0.249   |
| 生理盐水组 | 1.342 ± 0.147** |
| 益肺消瘤组 | 1.908 ± 0.249#  |

\*\* $P < 0.01$  vs 空白组; # $P < 0.05$  vs 生理盐水组。

#### 4.1.2. ELISA 法检测各组小鼠血清中 SOD 活力、MDA 的含量

见表 2、图 2, 与空白组比较, 生理盐水组的 SOD 活力显著低于空白组、MDA 含量显著高于空白组, 有统计学差异; 益肺消瘤组 SOD 活力高于生理盐水组、MDA 含量低于生理盐水组, 有统计学差异。

**Table 2.** Contents of SOD and MDA in serum of mice in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

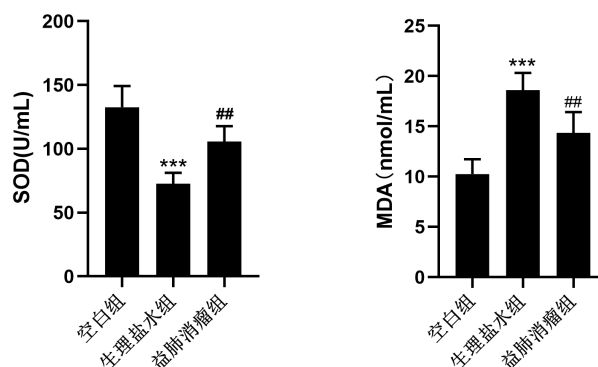
**表 2.** 各组小鼠血清 SOD、MDA 的含量( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | SOD (U/mL)       | MDA (nmol/l)   |
|-----|------------------|----------------|
| 空白组 | 132.642 ± 16.677 | 10.262 ± 1.468 |

Continued

|       |                    |                   |
|-------|--------------------|-------------------|
| 生理盐水组 | 72.760 ± 8.504***  | 18.617 ± 1.701*** |
| 益肺消瘤组 | 105.695 ± 12.083## | 14.355 ± 2.062##  |

\*\*\*P &lt; 0.001 vs 正常组; ##P &lt; 0.01 vs 生理盐水组。



\*\*\*P &lt; 0.001 vs 空白组; ##P &lt; 0.01 vs 生理盐水组。

Figure 2. Contents of SOD and MDA in serum of mice in each group

图 2. 各组小鼠血清 SOD、MDA 的含量

#### 4.1.3. 流式细胞术检测小鼠胸腺 T 细胞亚群

见表 3、图 3，生理盐水组胸腺 T 细胞膜分子 CD3+CD25+、CD3+CD28+、CD3+CD45RA+ 的表达低于空白组，有统计学差异；CD3+CD196+、CD4+CD25+ 的表达高于空白组，有统计学差异；益肺消瘤组胸腺 T 细胞膜分子 CD3+CD25+、CD3+CD18+、CD3+CD45RA+ 的表达高于生理盐水组，有统计学差异，CD3+CD196+、CD4+CD25+ 的表达低于空白组，有统计学差异。

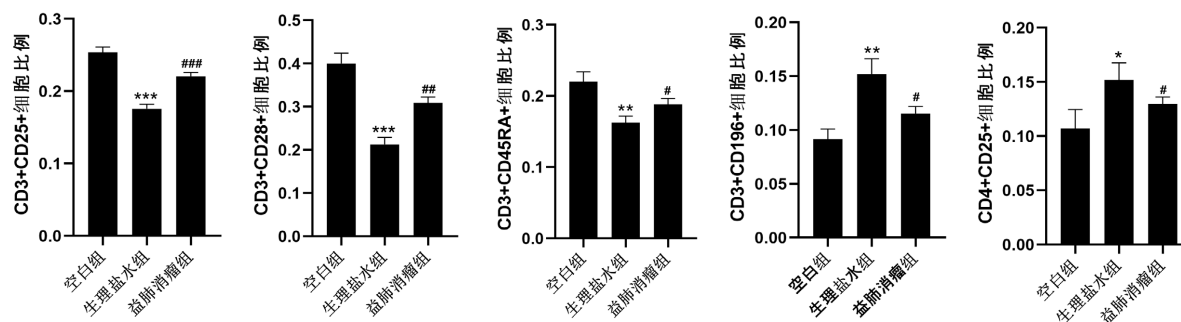


Figure 3. Distribution of T cell subsets of mice in each group

图 3. 各组小鼠 T 细胞亚群的分布情况

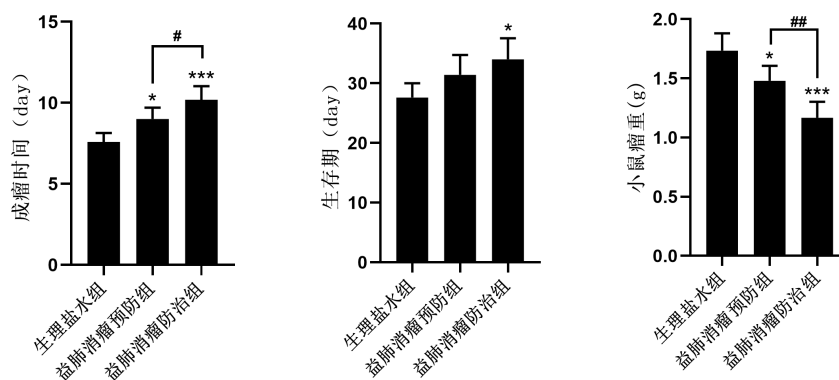
Table 3. Distribution of thymic T cell subsets of mice in each group ( $\bar{x} \pm s$ )表 3. 各组小鼠胸腺 T 细胞亚群的分布情况( $\bar{x} \pm s$ )

| 分组    | CD3+CD25+         | CD3+CD28+         | CD3+CD45RA+   | CD3+CD196+     | CD4+CD25+     |
|-------|-------------------|-------------------|---------------|----------------|---------------|
| 空白组   | 25.40% ± 0.72%    | 40.03% ± 2.37%    | 22.03 ± 1.37  | 9.15 ± 0.95    | 10.73 ± 1.72  |
| 生理盐水组 | 17.57% ± 0.64%*** | 21.27% ± 1.63%*** | 16.3 ± 0.89** | 15.20 ± 1.42** | 15.20 ± 1.57* |
| 益肺消瘤组 | 22.07% ± 0.55###  | 30.90% ± 1.39%##  | 18.83 ± 0.84# | 11.53 ± 0.67#  | 13.00 ± 0.62# |

\*P &lt; 0.05, \*\*P &lt; 0.01, \*\*\*P &lt; 0.001 vs 空白对照组; #P &lt; 0.05, ##P &lt; 0.01, ###P &lt; 0.001 vs 衰老模型组。

## 4.2. 益肺消瘤颗粒对免疫衰老小鼠肺癌的预防

见表 4、图 4，与生理盐水组比较，益肺消瘤预防组、益肺消瘤防治组的成瘤时间、生存期长于生理盐水组、瘤重低于生理盐水组，有统计学差异。益肺消瘤颗粒预防组的成瘤时间小于防治组( $P < 0.05$ )、瘤重大于防治组( $P < 0.05$ )。



**Figure 4.** Incremental inhibition of Yifei Xiaoliu Granule on transplanted lung cancer in immune aging mice

**图 4.** 益肺消瘤颗粒对免疫衰老小鼠肺癌移植瘤的增值抑制作用

**Table 4.** Incremental Inhibition of Yifei Xiaoliu Granule on Lung Cancer Transplantation in Immune Aging Mice ( $\bar{x} \pm s$ )

**表 4.** 益肺消瘤颗粒对免疫衰老小鼠肺癌移植瘤的增值抑制作用( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 成瘤时间(天)                 | 生存期(天)            | 瘤重(g)                     |
|---------|-------------------------|-------------------|---------------------------|
| 生理盐水组   | $7.6 \pm 0.55$          | $27.6 \pm 2.41$   | $1.734 \pm 0.147$         |
| 益肺消瘤预防组 | $9.0 \pm 0.71^*$        | $31.4 \pm 3.36$   | $1.48 \pm 0.126^*$        |
| 益肺消瘤防治组 | $10.2 \pm 0.84^{***,#}$ | $34.0 \pm 3.54^*$ | $1.168 \pm 0.135^{***,#}$ |

\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs 生理盐水组; # $P < 0.01$  vs 益肺消瘤预防组。

## 5. 讨论

1969年, Walford提出“免疫衰老”的概念,认为在肿瘤发病过程中起到重要的作用[11]。随着年龄的增长,免疫系统的应答、监视、清除功能紊乱、低效或无效,直接导致机体感染、肿瘤以及自身免疫型疾病的发病率和死亡率的增加[12]。衰老导致的免疫系统功能性改变主要是T细胞免疫,当机体衰老时胸腺萎缩,T细胞发育、分化、成熟出现障碍,胸腺向外周输出幼稚T细胞数目减少,而记忆性T细胞增多,进而降低老年人的免疫应答水平。研究表明,衰老过程中T细胞系统包括T淋巴细胞数量、细胞膜表面分子、T淋巴细胞亚群数量及功能的变化会导致使机体的免疫功能下降或出现异常[13]。T细胞衰老的一个重要特征是效应T细胞表面协同刺激分子表达的改变,如CD28表达下调,CD28的表达下调显著影响了机体的免疫应答水平。本研究采用D-半乳糖建立免疫衰老小鼠模型[14],生理盐水组小鼠血清SOD活力下降、MDA含量上升,表明注射D-半乳糖的小鼠清除氧自由基的能力下降,同时生理盐水组小鼠胸腺指数降低,胸腺是T细胞生成的场所,研究中生理盐水组小鼠T细胞膜分子记忆性T细胞CD3+CD196+、调节性T细胞CD4+CD25+的表达量上升,原始T细胞CD3+CD45RA+、CD3+CD25+、协同刺激分子CD3+CD28+的表达量下降,表明生理盐水组小鼠存在免疫衰老。

免疫衰老使宿主免疫监视能力和免疫清除能力下降,导致免疫应答受限,发生免疫逃逸,引起肿瘤

发生, 而肿瘤细胞及免疫抑制的肿瘤微环境会诱导免疫检查点信号的表达改变, 导致 T 细胞活化受到抑制, 引起肿瘤进展, 免疫治疗主要通过对抗检查点信号, 增强免疫应答, 达到对抗肿瘤的目的。益肺消瘤颗粒(养阴扶正方)是本课题组治疗非小细胞肺癌的经验总结方, 由黄芪、党参、沙参、天冬、麦冬、生白术、山药、白花蛇舌草、拳参、绞股蓝、等药物组成, 具有益气养阴、化痰通络、散瘀解毒的功效。本研究显示益肺消瘤组小鼠胸腺指数高于生理盐水组, 改组的 T 细胞膜分子记忆性 T 细胞 CD3+CD196+、调节性 T 细胞 CD4+CD25+ 的表达量低于生理盐水组, 原始 T 细胞 CD3+CD45RA+、CD3+CD25+、协同刺激分子 CD3+CD28+ 的表达量高于生理盐水组, 表明益肺消瘤颗粒能够调控 T 细胞亚群, 延缓免疫衰老, 增强了 T 细胞的免疫应答, 使免疫衰老小鼠移植瘤成瘤时间延长, 生存期延长, 瘤体重量降低。Lee 等[15]研究指出, Tim-3 的表达与衰老所致 CD8+T 细胞的耗竭密切相关, 靶阻断 PD-1 (programmed death-1, PD-1)及 Tim-3 可以增强衰老 T 细胞的免疫应答, 益肺消瘤颗粒能够调控 PD-1/PD-L1 通路, 降低荷瘤鼠 Tim3 的表达[6], 因此, 益肺消瘤颗粒通过多途径、多靶点延缓免疫衰老、增强 T 细胞免疫应答, 未病先防, 防治肺癌的发生、发展。

## 基金项目

黑龙江省自然科学基金联合项目 LH2020H138。

## 参考文献

- [1] 陈万青, 孙可欣, 郑荣寿, 等. 2013 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(1): 1-7.
- [2] Siegel, R., Ma, J.M., Zou, Z.H., et al. (2014) Cancer Statistics, 2014. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **64**, 9-29. <https://doi.org/10.3322/caac.21208>
- [3] Foster, A.D., Sivarapatna, A. and Gresss, R.E. (2011) The Aging Immune System and Its Relationship with Cancer. *Aging Health*, **7**, 707-718. <https://doi.org/10.2217/ahc.11.56>
- [4] 陈宏. 《养阴扶正汤调控肿瘤 PI3K-AKT 信号通路防止肺癌转移到机制研究》结题鉴定材料, 2013[Z].
- [5] 魏冬梅, 尹钢, 陈禹含, 田林晓, 费洪新, 陈宏. 养阴扶正汤调控肿瘤细胞黏附蛋白因子抗肺癌的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 378-380.
- [6] 陈宏, 孙玺媛, 魏冬梅, 等. 养阴扶正方调控 PD-1/PD-L1 通路逆 T 细胞耗竭的机制研究[J]. 中国中医药科技, 2022, 29(2): 190-194.
- [7] Wei, D.M., Wang, L., Chen, Y.H., et al. (2018) Yangyin Fuzheng Decoction Enhances Anti-Tumor Efficacy of Cisplatin on Lung Cancer. *Journal of Cancer*, **9**, 1568-1574. <https://doi.org/10.7150/jca.24525>
- [8] 陈宏, 孙玺媛, 魏冬梅, 姜梅, 陈禹含, 尹钢, 刘锐. A549、MRC-5 的有氧糖酵解及养阴扶正汤对 A549 有氧糖酵解的干预[J]. 世界肿瘤研究, 2019, 9(1): 6-12.
- [9] 萧能, 余瑞元, 袁明秀, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 2006: 240-242.
- [10] 张彦君, 朱华亭, 黄赛男, 等. D-半乳糖致衰老小鼠胸腺 T 细胞重要膜型分子的变化及意义[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2012, 28(2): 130-132.
- [11] Palmer, S., Albergante, L., Blackburn, C.C., et al. (2018) Thymic Involution and Rising Disease Incidence with Age. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **115**, 1883-1888. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714478115>
- [12] Saavedra, D., García, B., Lorenzo-Luaces, P., et al. (2015) Biomarkers Related to Immunosenescence: Relationships with Therapy and Survival in Lung Cancer Patients. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **65**, 37-45. <https://doi.org/10.1007/s00262-015-1773-6>
- [13] Romanyukha, A.A., Yashin, A.I. (2003) Age Related Changes in Population of Peripheral T Cells: Towards a Model of Immunosenescence. *Mechanisms of Ageing and Development*, **124**, 433-443. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(03\)00019-8](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(03)00019-8)
- [14] 龚国清, 徐戴本. 小鼠衰老模型研究[J]. 中国药科大学学报, 1991, 22(2): 101-103.
- [15] Lee, K.A., Shin, K.S., Kim, G.Y., et al. (2016) Characterization of Age Associated Exhausted CD8+ T Cells Defined by Increased Expression of Tim-3 and PD-1. *Aging Cell*, **15**, 291-300. <https://doi.org/10.1111/accel.12435>