

癌性腹水模型制备方法及其在中医药作用机制研究中的应用[△]

姚芳*,曹雨诞,张楷承,姜东京,张丽[△](南京中医药大学&江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心,南京 210023)

中图分类号 R730.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)06-0856-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.06.31

摘要 目的:探讨癌性腹水模型的制备方法及其在中医药作用机制研究中的应用,以期为中医药治疗癌性腹水的基础研究提供实验参考。方法:检索中国知网、万方数据知识服务平台、维普网、PubMed中于1985年1月至2017年8月国内外公开发表的有关中医药治疗癌性腹水的文献,最终纳入60篇文献。分别介绍了常用的4种癌性腹水实验动物模型(Walker-256细胞株大鼠腹水模型、H22细胞株小鼠腹水模型、S180细胞株小鼠腹水模型、艾氏腹水瘤小鼠腹水模型)的制备方法和模型特点,并对不同动物模型应用于中药药理学研究、峻下逐水药的毒效研究、中药复方研究等进行了综述。结果与结论:癌性腹水主要是由于恶性肿瘤渗透物或分泌物侵犯浆膜,引起腹膜腔液异常累积而形成,其治疗困难、预后较差。近年来,中医药用于治疗癌性腹水显示出一定优势,前景良好。而癌性腹水动物模型作为中医药作用机制研究的重要载体,能恰当地模拟癌性腹水形成、发展的病理过程,有助于开展中药治疗方法的相关基础研究。常用的4种癌性腹水实验动物模型制备方法基本相同,多采用腹腔注射癌细胞株,操作简单,成模率高。4种腹水型癌细胞株各有特点,可根据实验需要进行选择。但由于癌性腹水证候复杂多变,因此尚需探索建立与中医证候相结合的新的癌性腹水动物模型,为中药治疗癌性腹水的机制研究提供更多选择。

关键词 动物模型;癌性腹水;中医药;机制研究

癌性腹水,又称恶性腹腔积液,是中晚期癌症常见的临床表现之一,其发生机制非常复杂,主要是由于恶性肿瘤渗透物或分泌物侵犯浆膜,引起腹膜腔液异常累积,从而导致腹水贮留^[1-2]。癌性腹水具有量大、顽固、反复出现的特点,且治疗困难、预后差,严重降低了患者的生存质量;其发病和加重会导致患者异常腹胀和胸腔压迫,且通常为不良预后的信号^[3]。目前,临床上已经使用各种治疗策略以缓解这一癌症并发症,如用于缓解症状的简单腹水引流、利尿药、水盐控制摄入和输注白蛋白,以及用于治疗相关恶性肿瘤的化疗配合反复穿刺抽液和手术等^[4]。然而,由于上述治疗方式的作用时间短,以及不可避免的副作用如肠梗阻、脓毒症和感染等,故并未取得令人满意的效果。因此,迫切需要更有效和安全的治疗方式来减轻癌性腹水患者的痛苦并延长其生存期。近年来,中医药在癌性腹水的治疗上已取得初步成果,如研究发现甘遂、京大戟、芫花等单味中药和十枣汤、舟车丸等中药复方在治疗腹水和改善患者生存状况方面有一定的优势^[6-10],其良好的综合疗效已初步显现,已成为新的研究热点和开发方向。基于中药研究的特

殊性,要求所构建的中医病证结合药理模型能尽可能地通过实验动物模拟患者的临床特征,以体现中医临床的诊疗特点^[11];此外,又因癌性腹水机制复杂,需通过动物模型来阐述药物的作用机制,因此中医药治疗癌性腹水中动物模型的选择就显得尤为重要。基于此,本文对常用的4种癌性腹水实验动物模型的制备方法及其在中医药作用机制研究中的应用情况进行了综述,旨在为中医药治疗癌性腹水的基础研究提供实验参考。

1 文献来源

1.1 纳入与排除标准

纳入标准:(1)研究内容为癌性或恶性腹水模型及作用机制的文献;(2)治疗方法采用中医药的文献。排除标准:(1)不符合纳入标准的文献;(2)重复发表的论文,仅取1篇,其余排除。

1.2 检索方式及检索范围

以“癌性腹水模型”“恶性腹水模型”“Cancerous ascites model”“Malignant ascites model”等中英文关键词检索中国知网(www.cnki.net)、万方数据知识服务平台(www.wanfangdata.com.cn)、维普网(www.cqvip.com)、PubMed(www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)从1985年1月至2017年8月国内外公开发表的有关癌性腹水的文献(因相关文献较少,所以时间跨度较大,但以近10年发表的文献为主)。结果,经检索并按照文献纳入与排除标准,共纳入60篇文献。

2 癌性腹水形成机制的中医观点

癌性腹水可归属为中医“臌胀”之范畴,为肿瘤的常

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81673599,81503250、81373972);江苏高校优势学科建设工程项目(No.苏政办发[2014]37号);江苏高校品牌专业建设工程项目(No.PPZY2015A070)

* 硕士研究生。研究方向:中药炮制与质量控制。电话:025-85811519。E-mail:18936796232@163.com

通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中药炮制与质量控制。电话:025-85811519。E-mail:zhangliguanxiong@163.com

见并发症,是“血不利则为水”及“水不利则为血”两种机制共同作用的病理状态。癌性腹水一般是由肺、脾、肾功能失调导致阳虚气滞从而出现水泛滥的结果,有关记载最早见于中医典籍《灵枢·水肿》。究其发病原因,多指虚实交错、本虚标实、气血水液运行受阻,水积于胸腹而形成;或因正虚邪毒乘虚而入日久而成;又因肿瘤伤精败血、损及元气、气血双亏,或手术放疗、化疗后大伤气阴,使正气不足、脾虚气虚、水湿不化而致。传统治疗方法为行气、活血、利水^[12-13]。宋凤丽等^[14]依据中医理论分析认为,“水停”应责之于脾肾阳虚,尤其以肾阳虚衰为疾病的根本;加之病程较长,水为阴邪,易伤阳气;此外,还有失治误治,使脾肾阳气损伤的原因。肾阳不足则不能化气行水,脾阳虚弱则不能运化水湿,因此则生“臌胀”。中医专家章永红认为,癌性腹水以气阴亏虚为主,脾虚而使运化失职、水湿内停而生腹水,并总结出“癌毒为本、腹水为标”的病机认识^[15]。以上中医观点认为,此病的病源是水运行受阻、蓄积于胸腹而形成的。

3 癌性腹水形成机制的现代医学观点

癌性腹水形成机制复杂,目前已有研究归纳出的病因为以下几类:(1)叶晶琳、李岩、徐珩等^[16-18]认为肿瘤血管新生和血管通透性增高在癌性腹水形成过程中的作用至关重要。各种实体瘤转移形成腹水的机制本质上是相同的,癌性腹水形成的主要原因是血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶(MMPs)、血管内皮抑素(ES)、细胞黏附分子(CAMs)及胰岛素样生长因子 I 型受体(IGF-IR)等物质导致新生血管形成及血管通透性增加。以肿瘤血管内皮细胞为靶点的靶向治疗可以使新生血管得到控制,可有效抑制多种肿瘤引起的腹水,且不良反应较小。孙晓敏^[19]也认为高水平 VEGF、细胞黏附分子 CD44 剪接变异体 6(CD44v6)以及高活性 MMP-2、MMP-9 可能参与了癌性腹水形成,并可能在癌性腹水形成过程中起协同促进作用。(2) β_1 肾上腺素受体(ADRB1)表达的增强或激活,可引起腹水的产生^[20]。(3)磷脂酰肌醇 3-激酶 γ 亚基(PIK3CG)作为磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶(AKT)途径的主要成分,已被报道参与了癌症发生和癌性腹水形成的过程^[21-22]。(4)肾素-血管紧张素-醛固酮系统-内分泌水平的改变也与癌性腹水生成紧密相关^[23]。研究癌性腹水的形成机制,对探索其可能的治疗途径并揭示药物的作用机制具有重要意义,而建立稳定、可靠的癌性腹水动物模型则是进行后续深入研究的关键。

4 常用癌性腹水动物模型

在药物有效性评价中,实验动物模型是最常用、最可靠的工具之一^[24]。目前,建立癌性腹水动物模型的方法多采用腹腔注射癌细胞株,不同点在于所选择的动物的类别与癌细胞株的种类及浓度。常用癌性腹水实验

动物模型主要归为 4 类^[25]:(1)Walker-256 细胞株大鼠腹水模型;(2)H22 细胞株小鼠腹水模型;(3)S180 细胞株小鼠腹水模型;(4)艾氏腹水瘤(EAC)小鼠腹水模型。不同类别癌性腹水动物模型详见表 1。

表 1 不同类别癌性腹水动物模型比较

动物模型类别	细胞株类型	常用动物种类	优点
Walker-256 细胞株大鼠腹水模型	Walker-256 乳腺癌细胞株	SD 大鼠、Wistar 大鼠	模型性质稳定,制作方法简单,成模率高(>95%),周期短(7~10 d)
H22 细胞株小鼠腹水模型	H22 肝癌细胞株	昆明种、ICR、BALB/c 小鼠	细胞侵袭力强,瘤细胞计数容易,模型可重复性强
S180 细胞株小鼠腹水模型	S180 肉瘤细胞株	昆明种、BALB/c 小鼠	成本低,腹水产生均匀,造模周期较短
EAC 小鼠腹水模型	EAC 细胞株	昆明种小鼠	操作简单,成模率高,个体差异小

4.1 模型制备

上述 4 种模型的造模步骤大致相同,即抽取腹水、细胞计数、接种。具体造模方法^[25-27]:将冻存的细胞株在 37℃ 下迅速解冻复苏,离心 5 min,弃去上清液,用生理盐水悬浮沉淀调节细胞至一定浓度,待用;对动物(大鼠或小鼠)腹腔注射细胞悬液进行细胞传代,7~10 d 后,腹水生成明显;挑选腹水多的动物,脱颈椎处死,浸入酒精中浸泡 5 min 后置于蜡板上,在超净台内于无菌条件下用碘酒、酒精消毒动物腹部,抽取乳白色浓稠液体腹水为瘤源;以后每 7 d 动物体内传代 1 次,形成稳定的传代体系,直至传代约 3~5 代即可进行实验。将传代后获得的活体腹水细胞用生理盐水稀释,摇匀,然后用台盼蓝染色,于显微镜下进行细胞分类计数,其中存活的瘤细胞比例应不低于 95%。另取动物,以 75% 乙醇消毒腹部,腹腔注射活体腹水细胞悬液(调整细胞浓度至适当范围),制备癌性腹水模型。

4.2 Walker-256 细胞株大鼠腹水模型

Walker-256 乳腺癌细胞株是由 Walker 在 1928 年培育得到的^[28],其来源于大鼠乳腺组织自发性肿瘤,接种于大鼠腹腔内便可自行繁殖。该模型制作方法简单、性质稳定、周期短(7~10 d),且成模率高(>95%),动物自然生存时间为 3~4 周,因此被广泛应用于建立癌性腹水模型和肿瘤相关动物模型^[29-30]。曹亮亮等^[31]用 Walker-256 瘤株较成功地复制了大鼠癌性腹水模型,以用于泻水逐饮中药药效研究。

4.3 H22 细胞株小鼠腹水模型

H22 肿瘤瘤株系 1952 年苏联医学科学院肿瘤研究院用致癌剂氨基-2,3-偶氮甲苯(OAAT)涂 C3H 小鼠的皮肤 100 次后诱发的肝脏实体型瘤株。1963 年由中国科学院上海药物研究所引进了皮下传代的 H22 肝脏实体型瘤株,并转变成腹水型瘤株(腹水型瘤株又称 Hca、HAC 或 HepA),并在昆明种小鼠腹腔内常规保存。H22 瘤细胞移植于小鼠腹腔呈腹水型增长^[32-33]。该腹水模型的特点为:H22 细胞株侵袭力强,瘤细胞计数容易,模型可重复性强^[34]。但有文献报道,国内外各实验机构在以

往的造模过程中,常因无法很好地解决H22细胞腹腔接种和腹水形成的技术问题从而导致造模失败^[35]。克祯或等^[36]通过观察小鼠的体质量变化,对雌雄小鼠的腹水生长状况进行研究发现,不同性别H22腹水型肝癌模型小鼠的腹水形成有一定差异,雌性小鼠的腹水形成速度较雄性小鼠快。李永强等^[37]利用荷H22腹水瘤小鼠的癌细胞成功制备了癌性腹水模型。

4.4 S180细胞株小鼠腹水模型

S180为肉瘤细胞株,常应用于腹水肿瘤模型的研究。肉瘤种系细胞差异小、适用性广,其腹水瘤细胞具有成本低、活性高、分裂快、易被诱导凋亡及融合、纯度较高等优势^[38-39]。石跃进^[40]采用S180癌性小鼠腹水模型,研究了加味五苓散治疗癌性腹水的作用机制。

4.5 EAC小鼠腹水模型

EAC细胞株属移植性肿瘤细胞。动物对该瘤株的敏感度较高,具有操作简单、成模率高、个体差异小、较符合临床特征等优点^[41-42]。

上述4种癌性腹水模型动物的腹水产生量均与接种瘤细胞数有密切关系^[43]。李勇等^[44]比较了不同浓度的肿瘤腹水接种动物后腹水产生的差异,得出结论:不适当地增加肿瘤细胞的腹水浓度并不能增加模型动物产生腹水的可能性,反而有可能激活动物本身的细胞和免疫功能,使腹水内的肿瘤细胞被消灭,导致产生腹水的成功率降低。这也提示,动物在进行腹腔肿瘤细胞传代过程中,不要一味追求进入传代动物腹腔的细胞数量,因为肿瘤细胞数量及异体蛋白太多均有可能激活接种动物的细胞和体液免疫,从而抑制腹水的生成;但同样需注意,进入动物腹腔的肿瘤数量也不宜太少,否则会明显延长肿瘤细胞在接种动物腹腔内扩增的时间,从而延长腹水的生成时间。

5 癌性腹水模型在中医药作用机制研究中的应用

5.1 中药药理活性研究

陈丽宏等^[45]将S180腹水型肉瘤细胞株接种于小鼠腹腔,制备癌性腹水模型,然后以化学药环磷酰胺作为对照,研究中药芦荟对癌性腹水模型小鼠的作用。结果表明,芦荟全叶汁、皮汁、凝胶汁均可显著抑制癌性腹水小鼠体质量的快速增加,减少腹水中白蛋白含量,并可使恶性肿瘤细胞生长停滞于细胞周期的S期,从而抑制癌性腹水的产生,实现对癌性腹水的治疗作用;且芦荟汁对正常细胞没有直接毒副作用,与环磷酰胺等细胞周期非特异性药物的作用机制不完全一样。这提示,芦荟可能有助于临床癌性腹水的治疗。

井小会^[46]通过建立小鼠肝癌H22腹水瘤动物模型,研究人参皂苷Rg₃对小鼠癌性腹水的治疗效果。结果发现,人参皂苷Rg₃可通过下调荷瘤小鼠体内VEGF和腹膜瘤结节微血管密度(MVD),降低微血管的通透性和

抑制腹膜微血管形成,从而抑制癌性腹水的形成。

5.2 峻下逐水药的毒效研究

峻下逐水药为中医泻下药的一个门类,其作用峻猛,服药后能引起剧烈腹泻,有的兼能利尿,使体内滞留的水饮通过二便排出体外从而消除肿胀,常用于全身水肿、大腹胀满以及停饮等正气未衰之证,代表药物有甘遂、京大戟、芫花等^[47]。由于该类中药大多苦寒有毒,使其临床应用目前被西药和其他治疗措施代替^[48]。近年来,该类有毒中药研究大多是在正常动物体内进行,割裂了中医“药-证”之间的关联,忽略了中医“有故无殒”的辨证思想,孤立地去评价药物的毒性。因而制备符合中医“证”的癌性腹水模型,比较峻下逐水类有毒中药在生理与病理状态下的毒副作用差异,探寻该类中药药效物质基础及作用机制,可为该类有毒中药临床安全有效应用提供更为科学的依据^[49]。

曹亮亮等^[50]考察了不同提取部位的醋甘遂对癌性腹水模型大鼠的泻水逐饮功效。结果表明,醋甘遂粉末与醋甘遂的混合提取物(醇提取与水提取物)对癌性腹水模型大鼠均有较显著的泻水逐饮作用,醋甘遂二萜类成分可能是其活性作用成分。Zhang Y等^[51-52]研究发现,虽然甘遂、京大戟与甘草的配伍属于“中药十八反”的范畴,但甘遂和甘草以1:0.39的比例组合可通过调节ADRB1-PIK3CG-血管加压素V2受体(AVPR2)信号轴,在一定程度上减少癌性腹水;而大戟和甘草以1:2的比例配伍,可能通过靶向酪氨酸相关激酶(Frk)-尿苷酸解离抑制因子(Arhgdib)-磷酸肌醇-5-磷酸酶(Inpp5d)-AVPR2-水通道蛋白4(Aqp4)信号轴,对癌性腹水发挥治疗作用,这一作用与调节加压素介导的水再吸收过程相关。

5.3 中药复方的研究

中药复方是祖国医学遗产中的宝贵经验之一,对于癌性腹水的治疗,中药复方通过方中药物的配伍取得了良好的临床疗效,且不良反应小。而在非临床药物评价中,只有将特定功效的复方与证候病理模型二者结合,才能真实反映复方的治疗作用^[53]。

石跃进^[40]研究发现,中药复方加味五苓散用于S180腹水模型小鼠,能通过提高小鼠外周血中白细胞介素2(IL-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)的水平,从而抑制癌性腹水的增长。张瑛男^[54]研究发现,加味消水方用药前后,S180腹水模型小鼠的腹围明显降低,说明加味消水方有消腹水、利尿的作用,对缓解小鼠腹水症状的效果较好。蔚林兰等^[55]研究发现,水律汤(由水律草、土茯苓、北三七、蝼蛄等组成)能使H22肝癌腹水模型小鼠尿中钠、钾、氯离子排出增加,减轻水钠潴留,这可能是水律汤消除腹水的作用机制之一。王茜等^[56]研究发现,醋甘遂与炙甘草以1:15的比例配伍

的甘遂半夏汤对癌性腹水模型大鼠可能有较好的利尿及抗细胞因子作用。熊忠太等^[57]研究发现,调营饮能明显促进S180肝癌腹水模型小鼠腹膜淋巴孔开放面积的增大、周长和分布密度的增加,这可能是其消除腹水的作用机制之一。张萍等^[58]基于“软肝消水方”组方基础(甘遂、三七、肉桂等,此组方体现了中医“以攻为主、攻补兼施”的施治理念),利用现代制剂技术,开发出方便临床使用的巴布剂型,并以腹水模型动物验证其消退腹水的作用。结果表明,软肝消水巴布剂对S180腹水模型小鼠有明显的治疗作用,且在适当剂量下疗效显著、毒副作用较低;其可能是通过改善肝肾功能、调节体内渗透压及电解质平衡、调节活性因子水平等途径实现的上述作用。李航森等^[59]探究十枣汤对EAC腹水模型小鼠的生存期和腹水产生的影响,结果发现十枣汤能显著延长小鼠生存期、减缓腹水产生等。杨赛琳等^[60]建立H22荷瘤小鼠癌性腹水模型,探讨人参二苓汤有效部位灌胃给药对癌性腹水的疗效以及相关机制,结果发现人参二苓汤能够提高H22腹水模型小鼠的生存质量,抑制腹水中VEGF、MMP-2和MMP-9的表达,从而抑制H22荷瘤小鼠的癌性腹水。

6 结语

癌性腹水的病因复杂,至今尚未完全阐明,目前临床多以利尿、腹腔反复穿刺抽液等方法治疗,但疗效并不理想。近年来中医药治疗癌性腹水显示出疗效较好、价格低廉、副作用小等优点,逐渐为大多数患者所接受,因此治疗癌性腹水的高效低毒的中药已成为近年来研究的重点和热点。临床上癌性腹水大多呈腹腔扩散方式转移,而癌性腹水动物模型能恰当地模拟此病理过程,有助于开展中药治疗方法的相关基础研究。因此,在研究与揭示中药治疗癌性腹水的作用机制中,动物模型的建立和应用显得尤为关键。然而,国内外关于癌性腹水实验动物模型的建立方法有限,使得中药治疗癌性腹水实验动物模型的研究受到限制。本文综述了常用的4种癌性腹水实验动物模型,其制备方法基本相同,多采用腹腔注射癌细胞株,操作简单,成模率高。4种腹水型瘤细胞株各自的特点,可根据实验需要进行选择。但癌性腹水证候复杂多变,本文列出的4种模型远不能满足中医药的研究,因此还需要进一步深入探索建立与中医证候相结合的新的癌性腹水动物模型,为中药治疗癌性腹水的机制研究提供更多的选择。

参考文献

[1] 张诗军.肿瘤中医生物养生治疗学[M].广州:广东科技出版社,2013:237-238.

[2] CAVAZZONI E, BUGIANTELLA W, GRAZIOSI L, et al. Malignant ascites: pathophysiology and treatment[J]. *Int J Clin Oncol*, 2013, 18(1):1-9.

[3] JIA W, ZHU Z, ZHANG T, et al. Treatment of malignant ascites with a combination of chemotherapy drugs and intraperitoneal perfusion of verapamil[J]. *Cancer Chemother*

er Pharmacol, 2013, 71(6):1585-1590.

[4] SAIF MW, SIDDIQUI IA, SOHAIL MA. Management of ascites due to gastrointestinal malignancy[J]. *Ann Saudi Med*, 2009, 29(5):369-377.

[5] 张欣,贾英杰.恶性腹水的临床治疗进展[J]. *中国中医急症*, 2008, 17(4):536-537.

[6] 柳海艳,钟赣生,刘云翔,等.接近临床应用剂量下甘遂半夏汤加减甘遂甘草反药组合对腹水大鼠利尿作用的影响[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(14):2726-2731.

[7] 许瑞,陶伟伟,段金殿,等.基于对小鼠利尿与泻下作用探讨京大戟与甘草配伍禁忌的理论依据[J]. *中草药*, 2014, 45(14):2056-2059.

[8] 许方沂.芫花散贴脐治疗肝硬化腹水50例[J]. *河南中医*, 2015, 35(5):1005-1007.

[9] 李航森,肖曼丽.十枣汤对抑制小鼠艾氏腹水的实验研究[J]. *中医药临床杂志*, 2012, 24(8):771-773.

[10] 段红梅,马占学,张浩军.舟车丸加软肝汤治疗肝硬化腹水29例疗效观察[J]. *光明中医*, 2006, 21(5):39-40.

[11] 蔡小军,俞云,陆一.代谢组学在病证结合药理模型研究中的应用[J]. *中药药理与临床*, 2011, 27(4):95-96.

[12] 鱼潇宁,杨亦奇,由凤鸣,等.癌性腹水治疗之血水辨析[J]. *云南中医中药杂志*, 2016, 37(7):14-16.

[13] 姜晓艳,宋岩,刘宝伟,等.“入经引导方”外敷治疗癌性腹水的临床研究[J]. *中国实用医药*, 2016, 11(25):196-197.

[14] 宋凤雨,朱旭,高辰,等.温阳消水方治疗癌性腹水的临床观察及机制研究[J]. *中华中医药杂志*, 2016(4):1513-1516.

[15] 李玉莲.章永红治疗癌性腹水的经验探析[J]. *江苏中医药*, 2013, 45(10):19-21.

[16] 叶晶琳.恶性腹水的中医学学术源流及中医治疗研究[D].北京:北京中医药大学,2016.

[17] 李岩,胡冰.恶性腹水的抗血管生成治疗进展[J]. *安徽医药*, 2013, 17(4):541-543.

[18] 徐珩,李平,陈姣,等.恶性腹水的发生机制及中医药治疗概况[J]. *中医杂志*, 2011, 52(14):1249-1252.

[19] 孙晓敏. VEGF、CD44V6和MMP-2、-9对恶性腹水的诊断价值及形成作用的研究[D].武汉:武汉大学,2004.

[20] LADMAKHI MH, BUYS N, VANDERPOOTEN A, et al. Myocardial beta-adrenergic receptor characteristics in T(3)-induced ascites and in broiler lines differing in ascites susceptibility[J]. *Avian Pathol*, 1997, 26(2):293-303.

[21] TAPIA-ABELLÁN A, RUIZ-ALCARAZ AJ, ANTÓN G, et al. Regulatory role of PI3K-protein kinase B on the release of interleukin-1 β in peritoneal macrophages from the ascites of cirrhotic patients[J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 178(3):525-536.

[22] TAPIA-ABELLÁN A, RUIZ-ALCARAZ AJ, HERNÁNDEZ-CASELLES T, et al. Role of MAP kinases and PI3K-Akt on the cytokine inflammatory profile of peritoneal macrophages from the ascites of cirrhotic patients[J]. *Liver Int*, 2013, 33(4):552-560.

[23] 李小江,贾英杰,孙一予,等.活血化癥法治疗恶性腹水探

- 析[J].光明中医,2010,25(3):412-413.
- [24] 成龙,申竹芳,孙桂波,等.糖尿病动物模型研究进展及在中药研究中的应用[J].药科学,2015,50(8):951-958.
- [25] 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2010:1581-1588.
- [26] 崔史杰.17AAG对肝癌腹水瘤(H22)模型小鼠横膈膜管外通路的影响及干预机制的研究[D].石家庄:河北医科大学,2012.
- [27] 王海生,高玉敏,石树君,等.Walker-256腹水大鼠单个核细胞IFN- γ 、IL-4基因表达研究[J].科学技术与工程,2009,9(5):1240-1242.
- [28] SIMPKINS H, LEHMAN JM, MAZURKIEWICZ JE, et al. A morphological and phenotypic analysis of Walker 256 cells[J].*Cancer Res*,1991,51(4):1334-1338.
- [29] 高雅丽.Walker256大鼠乳腺癌骨转移性癌瘤模型的建立及伊班膦酸钠作用机制的探讨[D].石家庄:河北医科大学,2009.
- [30] 胡卫,陈涛.鼠移植性肝癌模型研究进展[J].肿瘤基础与临床,2003,16(6):463-466.
- [31] 曹亮亮,王文晓,张丽,等.基于“有故无殒”思想的醋甘遂毒性研究[J].中国中药杂志,2015,40(16):3249-3255.
- [32] 盛庆寿.青蒿琥酯对H22肝癌小鼠的抑瘤作用及对肿瘤组织VEGF、FasL的影响[D].广州:广州中医药大学,2008.
- [33] 张宏颖,唐建武,朱文婷,等.小鼠腹水型肝癌淋巴道高转移细胞系HCa-P/L6细胞模型的建立及其药物敏感性的评价[J].大连医科大学学报,2008,30(4):297-304.
- [34] 范艳敏,伍烽,杜永洪.小鼠H22移植性肝癌中晚期动物模型的建立[J].广西医学,2010,32(9):1037-1039.
- [35] 侯杰,罗兰,焦成斌,等.H22昆明鼠肝癌原位模型的建立[J].黑龙江医药科学,2015,38(1):78-79.
- [36] 克祯或,杨桐,付大富,等.H22腹水型肝癌荷瘤小鼠耐受性的性别差异[J].现代生物医学进展,2015,15(20):3835-3838.
- [37] 李永强,潘高津,刘志辉,等.利用荷H22腹水瘤小鼠恶性腹水模型比较培美曲塞腹腔用药与静脉用药的疗效[J].世界华人消化杂志,2012,20(36):3767-3772.
- [38] 薛雅蓉,庄重.小鼠S180腹水瘤细胞在细胞生物学实验教学中的应用及注意问题[J].中国细胞生物学学报,2014,36(2):287-292.
- [39] 汤宇,崔雪梅,袁玫,等.小鼠移植性S180肉瘤模型的建立及温和加热对热休克蛋白70表达的影响[J].中国矫形外科杂志,2004,12(10):768-770.
- [40] 石跃进.加味五苓散对S180腹水型小鼠免疫因子影响的实验研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2014.
- [41] 何欣.配伍温热药在益气散结泄肺利水复方治疗恶性胸腔积液中的作用的实验研究[D].长沙:湖南中医学院,2004.
- [42] 王珏.泻肺逐饮汤对恶性胸腔积液大鼠TGF- β 1、AQP1、CTLA-4和PFP的影响[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2012.
- [43] 程廷楷,李秀华.EAC及SL II腹水细胞分裂特征的研究[J].南昌大学学报(医学版),1985,27(1):1-5.
- [44] 李勇,宋祥福,杨海山,等.不同浓度Walker-256癌性腹水腹腔接种对大鼠免疫功能的影响[J].中国比较医学杂志,2005,15(6):387-389.
- [45] 陈丽宏,路凡,沈新,等.芦荟对小鼠恶性腹水模型的影响[J].第四军医大学学报,2006,27(6):495-497.
- [46] 井小会.人参皂苷Rg₃治疗小鼠恶性腹腔积液的实验研究[D].昆明:昆明医学院,2007.
- [47] 钟赣生.中药学[M].9版.北京:中国中医药出版社,2012:151-152.
- [48] 张超.峻下逐水中药抗白血病作用研究进展[J].药学研究,2014,33(4):219-221.
- [49] 曹亮亮,丁安伟,窦志华,等.醋甘遂的研究进展[J].中成药,2015,37(6):1317-1320.
- [50] 曹亮亮,王文晓,张丽,等.醋甘遂不同提取部位对癌性腹水大鼠泻水逐饮功效比较研究[J].中草药,2015,46(17):2593-2598.
- [51] ZHANG Y, LIN Y, ZHAO H, et al.Revealing the effects of the herbal pair of Euphorbia kansui and glycyrrhiza on hepatocellular carcinoma ascites with integrating network target analysis and experimental validation[J].*Int J Biol Sci*,2016,12(5):594-606.
- [52] ZHANG Y, YAN C, LI Y, et al. Therapeutic effects of Euphorbia pekinensis and glycyrrhiza glabra on hepatocellular carcinoma ascites partially via regulating the frk-arhg-dib-inpp5d-avpr2-aqp4 signal axis[J].*Scientific Reports*,2017. DOI:10.1038/srep41925
- [53] 任建勋,郭浩,李磊,等.以功效为基础的中药复方毒性研究思路与方法探索[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(4):203-207.
- [54] 张瑛男.加味消水方对恶性腹腔积液治疗作用的实验研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2014.
- [55] 蔚林兰,冯明辉,杜发斌,等.水律汤对小鼠H22肝癌腹水模型尿中K⁺、Na⁺、Cl⁻离子浓度的影响[J].湖北中医药大学学报,2010,12(2):10-11.
- [56] 王茜,钟赣生,王宏蕾,等.甘遂半夏汤中甘遂与甘草不同比例配伍对癌性腹水模型大鼠生物效应影响的研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(4):177-181.
- [57] 熊忠太,唐成,黄崇政.调营饮对小鼠S180肝癌腹水模型腹膜淋巴孔直径、面积、周长及密度的影响[J].中国医疗前沿,2012,7(17):17-18.
- [58] 张萍,任永申,付强,等.软肝消水巴布剂对S180腹水模型小鼠的治疗作用[J].解放军药科学学报,2007,23(4):259-262.
- [59] 李航森,肖曼丽.十枣汤对抑制小鼠艾氏腹水的实验研究[J].中医药临床杂志,2012,24(8):771-773.
- [60] 杨赛琳,刘彩霞,舒艳,等.人参二苓汤对小鼠移植瘤腹水的治疗作用研究[J].江西中医药大学学报,2014,26(4):74-77.

(收稿日期:2017-10-07 修回日期:2018-01-26)

(编辑:段思怡)