

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.02.07

❖ 论著 ❖

# 复方半边莲口服液对乳腺癌荷瘤小鼠抗肿瘤免疫的影响

夏雪竹<sup>1</sup>,董永强<sup>1</sup>,刘翠红<sup>2</sup>,管涛<sup>3</sup>,陈占功<sup>1</sup>

(1.北京中医医院药学部,北京 100010;2.首都医科大学附属北京佑安医院药学部,北京 100069;3.北京医院国家老年医学中心药学部,北京 100730)

**【摘要】目的:**探究复方半边莲口服液对乳腺癌荷瘤小鼠的肿瘤抑制和改善肿瘤免疫的作用。**方法:**将 24 只 BALB/C 雌鼠原位接种 4T1 乳腺癌细胞,待瘤体体积超过 40 mm<sup>3</sup> 时,随机分成对照组、复方半边莲口服液低、中、高剂量组,连续给药。每天测量荷瘤小鼠肿瘤大小,观察复方半边莲口服液对小鼠瘤体体积的影响;连续给药 30 d 后,处死荷瘤小鼠,通过测量不同组处理后荷瘤小鼠肿瘤重量,计算复方半边莲口服液各剂量组的抑瘤率;将肿瘤组织剪碎,经胶原酶处理成单细胞,并分离其中的淋巴细胞,使用流式分析仪检测肿瘤微环境中淋巴细胞的比例。**结果:**与对照组相比,复方半边莲口服液中、高剂量组于给药第 10 天、20 天瘤体体积均降低( $P < 0.05$ ),给药 30 d,低、中、高剂量组瘤体体积均明显降低( $P < 0.01$ );低、中、高剂量组肿瘤重量明显降低( $P < 0.01$ ),抑瘤率分别为 17.95%、28.77%、49.43%;低、中、高剂量组 CD3<sup>+</sup>T 细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞比例明显升高( $P < 0.01$ ),中、高剂量组 CD8<sup>+</sup>T 细胞比例明显升高( $P < 0.01$ ),而低、中、高剂量组调节性 T 细胞比例明显降低( $P < 0.01$ )。**结论:**复方半边莲口服液能够抑制乳腺癌荷瘤小鼠肿瘤的生长,增强荷瘤小鼠抗肿瘤免疫功能,值得临床推广应用。

**【关键词】**复方半边莲口服液;乳腺癌;抑瘤率;肿瘤微环境;抗肿瘤免疫

**【中图分类号】**R285.5 **【文献标志码】**A

## Effect of compound oral liquid of *Lobelia chinensis* Lour on anti-tumor immunity in breast cancer-bearing mice

XIA Xue-zhu<sup>1</sup>, DONG Yong-qiang<sup>1</sup>, LIU Cui-hong<sup>2</sup>, GUAN Tao<sup>3</sup>, CHEN Zhan-gong<sup>1</sup>

(Department of Pharmacy, 1. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010; 2. Beijing You'an Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100069; 3. National Geriatric Center of Beijing Hospital, Beijing 100730, China)

**【Abstract】Objective:** To examine the anti-tumor activity and immune-regulatory effect of compound oral liquid of *Lobelia chinensis* Lour in mice. **Methods:** 24 BALB/C female mice were inoculated into 4T1 breast cancer cells in situ. When the tumor volume exceeded 40 mm<sup>3</sup>, 24 tumor-bearing mice were randomly divided into control group and compound oral liquid of *Lobelia chinensis* Lour low, medium and high dose groups. The tumor size of tumor-bearing mice was measured every day, and the anti-tumor effect of compound oral liquid of *Lobelia chinensis* Lour solution to the tumor volume of mice was observed. After 30 days of continuous administration, the tumor-bearing mice were sacrificed. And then, the tumors were weighed and measured as inhibition rate of each treated group. The tumor tissues were cut, treated with collagenase into single cells, and the lymphocytes were isolated, and the proportion of lymphocytes in the tumor microenvironment was detected by flow. **Results:** In terms of tumor volume, compared with the control group, the volume of tumor in the medium and high dose groups of compound oral liquid of *Lobelia chinensis* Lour were decreased on the 10 d and 20 d after administration ( $P < 0.05$ ). On the 30 d after administration, all the tumor volumes in treated group were significantly decreased ( $P < 0.01$ ). The tumor weight in the low, medium and high dose groups was significantly reduced ( $P < 0.01$ ), and the tumor inhibition rates were 17.95%, 28.77%, and 49.43%, respectively. The proportion of CD3<sup>+</sup>T cells and CD4<sup>+</sup>T cells in the low, medium and high dose groups increased significantly ( $P < 0.01$ ). The proportion of CD8<sup>+</sup>T cells in the medium and high dose groups increased significantly ( $P < 0.01$ ), the proportion of regulatory T cells in the low, medium and high dose groups decreased significantly ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Compound oral liquid of *Lobelia chinensis* Lour can inhibit the growth of tumor in breast cancer-bearing mice and enhance the anti-tumor immunity of tumor-bearing mice, which is worthy of clinical application.

**【Key words】** *Lobelia chinensis* Lour; Breast cancer; Tumor inhibition rate; Tumor microenvironment; Anti-tumor immune

近年来,我国女性乳腺癌发病率及死亡率逐年升高<sup>[1]</sup>,已经位列女性恶性肿瘤之首,是女性恶性肿瘤中致死率最高的一类肿瘤<sup>[2]</sup>。随着肿瘤治疗理念和科学技术的不断进步,乳腺癌的治疗已经有了长足的发展,包括手术切除治疗、放化疗结合疗法、肿瘤免疫疗法等多种颇具效果的治疗手段<sup>[2-3]</sup>。中国传统中医学对于癌症的治疗亦有其独到之处,从传统中药或者天然植物中寻找、分离、鉴定及提纯有效的抗肿瘤组分已经成为研究热点之一<sup>[4]</sup>。复方半边莲口服液由半边莲、半枝莲、白花蛇舌草等组成,具有清热解毒、消肿止痛的功效<sup>[5]</sup>。现代药理学研究<sup>[6-8]</sup>发现,半边莲和半枝莲有抗肿瘤、调节免疫能力的功效,白花蛇舌草也能够提高小鼠免疫调节的能力。为研究通过对复方半边莲口服液治疗后乳腺癌荷瘤小鼠给药后的肿瘤生长和抗肿瘤免疫细胞比例的检测,探讨其对乳腺癌的抑制作用及抗肿瘤免疫的调节效果,借以完善复方半边莲口服液的免疫药理学内容,并为临床应用提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞与主要实验药品

小鼠乳腺癌细胞 4T1 购于 ATCC,用含 10% 胎牛血清(美国 Gibco 公司)、100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素(美国 Gibco 公司)的 RPMI-1640 培养基(美国 Hyclone 公司)在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。复方半边莲口服液由河南同源制药有限公司生产。生理盐水,红细胞裂解液购于 Biosharp 公司。荧光标记的抗小鼠 CD3、CD4、CD8、CD25、FoxP3 抗体、破膜固定液、转录因子染色试剂盒购于 BioLegend 公司。Ficoll 淋巴细胞分离液购于 GE Healthcare 公司。实验动物 BALB/C 小鼠,雌性,18~21 g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0009。饲养温度 25 °C,湿度 50%。

### 1.2 方法

1.2.1 肿瘤细胞培养 将冻存的 4T1 细胞从液氮罐中取出,在 37 °C 水浴锅中迅速溶解,之后将解冻的细胞冻存液转移至含有 3 mL RPMI-1640 完全培养基(含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素)的离心管中,1 200 rpm 离心 3 min。将上清液弃去,加入完全 RPMI-1640 培养基,轻轻吹散混匀细胞沉淀后,加至 T25 细胞培养瓶中,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。待细胞长满整个瓶底后,用 1 mL 胰蛋白酶消化 3 min,按 1:4 传代,每 3 d 传代 1 次。

1.2.2 乳腺癌原位瘤造模 取生长状态良好的对数期 4T1 细胞,将培养基弃去,PBS 清洗两遍,用胰酶消化,离心收集细胞,加入无血清 RPMI-1640 培

养基,将单细胞悬液浓度调整至  $6 \times 10^6$  个/mL。于 BALB/C 雌性小鼠第四对乳腺下方的脂肪垫处接种 50 μL 小鼠 4T1 乳腺癌细胞( $3 \times 10^5$  个细胞)。1 周后观察,若小鼠乳腺脂肪垫处肿瘤长出,则视为造模成功。

1.2.3 分组与给药处理 取造模成功的 24 只荷瘤小鼠随机分为 4 组,即复方半边莲口服液低、中、高剂量组(10 g/kg、20 g/kg、40 g/kg),空白对照组(同体积生理盐水),每组各 6 只。每天灌胃给药 1 次,连续给药 30 d。给药前及给药后每 10 d 使用游标卡尺测量各组荷瘤小鼠的肿瘤长径和短径,计算肿瘤体积( $V = 1/2 \times \text{长径} \times (\text{短径})^2$ ),同时测量每只小鼠体重。最后 1 次给药 24 h 后,引颈处死小鼠,剥取肿瘤组织,PBS 漂洗后称重,计算抑瘤率。

1.2.4 肿瘤组织淋巴细胞提取与检测 将小鼠肿瘤组织在含有 1 mg/mL I 型胶原酶的 RPMI-1640 培养基中用剪刀剪成 2 mm × 2 mm 的小块,置于 37 °C 消化 1 h。将组织过 2 次 70 μm 细胞筛,使用红细胞裂解液裂红,PBS 清洗 2 遍,3 000 rpm 离心 5 min,PBS 重悬后得到肿瘤组织单细胞混悬液。按照使用说明书,使用 Ficoll 淋巴细胞分离液,从单细胞混悬液中分离得到淋巴细胞。用 CytoFLEX 流式细胞仪检测肿瘤淋巴细胞,操作如下:将得到的淋巴细胞用 2% BSA/PBS 于 4 °C 封闭 30 min,之后取  $1 \times 10^6$  细胞(100 μL 体积)加入荧光标记的抗小鼠 CD3、CD4 和 CD8 抗体,离心,PBS 重悬后上机检测 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 细胞比例。对于调节性 T 细胞(Treg 细胞),先于 4 °C 避光孵育 30 min 染 CD25 抗体,之后使用破膜固定液对细胞进行固定、破膜,再使用转录因子染色试剂盒对细胞进行破核处理,加入 FoxP3 抗体,于 4 °C 避光孵育 30 min,最后离心,PBS 重悬后上机检测调节性 T 细胞比例。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行分析处理,数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间均数的比较使用单因素方差分析(One Way ANOVA),进一步采用最小显著差数法(LSD 法)进行多重两两比较。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 复方半边莲口服液对肿瘤生长的影响

各组荷瘤小鼠的肿瘤体积均随着时间推移呈增长趋势。与对照组相比,各个剂量复方半边莲口服液给药组的肿瘤体积增长明显变慢。灌胃给药第 10 天、20 天,中剂量和高剂量组的肿瘤体积明显小于对照组( $P < 0.05$ );给药处理 30 d 后,低、中、高剂量组的肿瘤体积均明显小于对照组( $P < 0.01$ )。见表 1。

表1 各组对荷瘤小鼠瘤体积的影响( $\bar{x} \pm s, \text{mm}^3$ )

组别	0 d	10 d	20 d	30 d
对照组(n=6)	46.17 ± 8.31	114.50 ± 14.58	473.70 ± 17.94	753.21 ± 24.58
低剂量组(n=6)	46.83 ± 9.60	98.50 ± 8.92	454.70 ± 23.24	689.24 ± 24.91 <sup>#</sup>
中剂量组(n=6)	47.83 ± 5.35	94.50 ± 8.55 <sup>*</sup>	272.30 ± 22.02 <sup>△</sup>	547.58 ± 32.21 <sup>△</sup>
高剂量组(n=6)	47.17 ± 7.71	81.33 ± 13.26 <sup>△</sup>	199.52 ± 9.83 <sup>△</sup>	455.06 ± 28.54 <sup>△</sup>

\*  $P < 0.05$ 、<sup>#</sup> $P < 0.01$ 、<sup>△</sup> $P < 0.001$ ,与对照组比较。

## 2.2 复方半边莲口服液对肿瘤重量的影响

各个剂量的复方半边莲口服液组对于肿瘤生长均有不同程度的抑制作用。给药处理30 d后,将荷瘤小鼠引颈处死,剥离肿瘤组织进行拍照与称重。与对照组相比,复方半边莲口服液低、中、高剂量组的肿瘤重量均明显降低( $P < 0.001$ ),对肿瘤的抑制率分别为17.95%、28.77%及49.42%。见表2、图1。

表2 各组对荷瘤小鼠瘤重及抑瘤率的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	瘤重(g)	抑瘤率(%)
对照组(n=6)	1.17 ± 0.11	
低剂量组(n=6)	0.96 ± 0.06	17.95
中剂量组(n=6)	0.83 ± 0.05	28.77
高剂量组(n=6)	0.59 ± 0.07	49.43

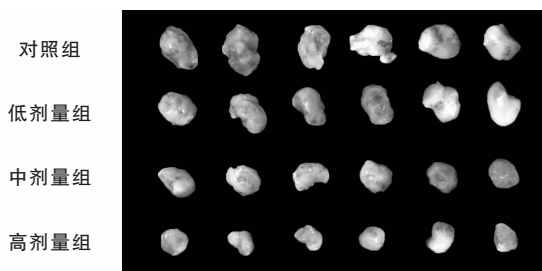


图1 各组对荷瘤小鼠肿瘤大小的影响

## 2.3 复方半边莲口服液对荷瘤小鼠体重的影响

随着时间延长,各组小鼠的体重也在增加。与对照组相比,不同剂量的复方半边莲口服液处理组荷瘤小鼠的体重差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。说明复方半边莲口服液无明显毒副作用。见表3。

表3 各组对荷瘤小鼠体重的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	0 d	10 d	20 d	30 d
对照组(n=6)	16.89 ± 1.38	18.50 ± 1.58	23.70 ± 1.94	25.78 ± 2.58
低剂量组(n=6)	16.83 ± 1.90	18.75 ± 1.92	24.21 ± 2.04	26.24 ± 1.91
中剂量组(n=6)	17.83 ± 2.35	19.10 ± 1.35	23.30 ± 2.02	25.58 ± 2.21
高剂量组(n=6)	17.07 ± 2.71	18.63 ± 2.24	23.52 ± 1.83	25.06 ± 2.54

## 2.4 复方半边莲口服液对肿瘤淋巴细胞的影响

复方半边莲口服液能够增强小鼠抗肿瘤免疫功能。与对照组相比,低、中、高剂量组均能够明显增加 $\text{CD3}^+$ 、 $\text{CD4}^+$ T细胞比例,中、高剂量组的 $\text{CD8}^+$ T细胞比例明显上升,且低、中、高剂量组的调节性T细胞比例都明显下降( $P < 0.01$ )。见表4。

表4 各组对肿瘤微环境中免疫细胞的影响( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	$\text{CD3}^+$ T细胞	$\text{CD4}^+$ T细胞	$\text{CD8}^+$ T细胞	Treg细胞 ( $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{FoxP3}^+$ )
对照组(n=6)	47.83 ± 3.43	32.50 ± 1.64	23.00 ± 1.43	10.93 ± 1.02
低剂量组(n=6)	53.83 ± 3.19 <sup>*</sup>	37.71 ± 0.91 <sup>*</sup>	24.28 ± 0.79	9.517 ± 0.56 <sup>*</sup>
中剂量组(n=6)	59.83 ± 2.14 <sup>#</sup>	40.32 ± 0.85 <sup>#</sup>	26.53 ± 0.52 <sup>#</sup>	8.25 ± 0.48 <sup>#</sup>
高剂量组(n=6)	69.17 ± 2.48 <sup>△</sup>	47.10 ± 3.21 <sup>△</sup>	29.61 ± 1.18 <sup>△</sup>	6.99 ± 0.29 <sup>△</sup>

\*  $P < 0.05$ 、<sup>#</sup> $P < 0.01$ 、<sup>△</sup> $P < 0.001$ ,与对照组比较。

## 3 讨论

乳腺癌是在女性中经常发生的恶性肿瘤,发病率居于全球女性恶性肿瘤之首<sup>[9]</sup>。据统计,每年全球新发乳腺癌占有所有新发恶性肿瘤的24.2%,乳腺癌的病死率占恶性肿瘤病死率的15%,严重威胁着女性生活治疗和身体健康<sup>[9]</sup>。有调查研究<sup>[3]</sup>表明,中国是乳腺癌发病率增长速度最快的国家之一,并且发病人群显示出年轻化趋势。乳腺癌病死率居我国女性恶性肿瘤的第六位<sup>[10]</sup>。随着医疗和科技的发展,目前对于乳腺癌治疗方法主要包括化学治疗、放射治疗、靶向治疗、内分泌治疗、免疫治疗等<sup>[11]</sup>。但是由于乳腺癌是一种恶性程度、侵袭性、转移性、复发性均较高的肿瘤,往往单一的治疗方法并不能得到有效的抑制效果,所以需要多种疗法的联合使用<sup>[11]</sup>。

免疫在肿瘤的发生、发展过程中具有重要作用。肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrates lymphocytes, TILs)是最早被发现的免疫细胞<sup>[12]</sup>。TILs分泌IL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ ,并同时表达多种表面激活物质,发挥对肿瘤的杀伤作用<sup>[13]</sup>。其中 $\text{CD8}^+$ 细胞毒性T淋巴细胞可不借助抗原呈递细胞直接溶解杀伤肿瘤细胞。 $\text{CD4}^+$ T的主要功能是启动并维持细胞抗肿瘤免疫,可大量分泌白细胞介素-2和 $\gamma$ 干扰素等细胞因子,并协同 $\text{CD8}^+$ 细胞毒性和自然杀伤细胞功能,诱导肿瘤细胞主要组织相容性复合体II类分子的表达,形成肿瘤免疫记忆细胞,从而充分发挥体液免疫和细胞免疫功能,达到长时间的抗肿瘤免疫作用<sup>[14]</sup>。调节性T细胞(Treg)可以分泌能够抑制效应性T细胞功能的细胞因子IL-10和TGF- $\beta$ <sup>[15]</sup>。IL-10会抑制CD28配体以及单核细胞CD80等细胞表面分子的表达;TGF- $\beta$ 能够抑制IL-1、IL-2等促炎细胞因子分泌,进而抑制机体的抗肿瘤免疫功能<sup>[16]</sup>。

中医药扶正祛邪,具有调节机体阴阳平衡,增强机体免疫能力的功能,可以提高人体抵御和祛除病邪的能力<sup>[17]</sup>。采用中药进行抗肿瘤治疗,是由于其具有多靶点、多环节、多效应的特点,同时中药成分毒性低、不易产生耐药性,使其成为近年科研工作者研究的焦点之一<sup>[18]</sup>。多项研究表明,中医药在免疫器官、免疫细胞、免疫分子等多方面调节肿瘤免疫功

能<sup>[19]</sup>。

复方半边莲口服液由半边莲、半枝莲、白花蛇舌草等成分组成,具有消肿止痛、清热解毒的效果,在支气管炎、呼吸道感染等疾病方面有很好的治疗效果。现代药理研究发现半边莲的主要活性成分为生物碱类和黄酮类,有解热、镇痛、消炎、抗肿瘤等作用<sup>[6,20]</sup>。半枝莲有抗肿瘤、抗氧化及免疫调节等作用<sup>[7,21]</sup>。研究发现,半枝莲提取物能够显著增加小鼠胸腺指数和脾脏指数<sup>[22]</sup>,增加小鼠外周血中 Th1 型细胞因子 IL-2 和 INF- $\gamma$  的含量<sup>[23]</sup>,通过调节改善荷瘤小鼠低下的免疫功能发挥抗肿瘤作用。白花蛇舌草主要成分有槲皮素、齐墩果酸、豆甾醇及多糖类、黄酮类等物质,可以有效增强小鼠淋巴细胞的增殖,增强机体免疫应答能力<sup>[24]</sup>。此外,白花蛇舌草还被证实具有抗氧化、抗炎的作用<sup>[8,25]</sup>。上述结果表明,以半边莲、半枝莲和白花蛇舌草为主要成分的复方半边莲口服液具有增强机体免疫能力、抑制肿瘤生长的潜能。

中医认为乳腺癌的基本病理是正气亏虚,包括气滞、痰浊、瘀血、邪毒等在内的病理因素于乳房相互作用而形成肿块,可分为肝郁气滞型、脾虚痰湿型、冲任失调型、毒热蕴结型和气虚亏虚型等证型,治疗以扶正祛邪为主,辅以疏肝理气、健脾祛湿、调任冲、清热解毒、补益气血等疗法<sup>[26]</sup>。而复方半边莲口服液具有非常好的消肿止痛、清热解毒的疗效。本实验在这些基础上,进一步评价复方半边莲口服液对乳腺癌的抑制作用和对小鼠抗肿瘤免疫功能的影响。

在本实验中,复方半边莲口服液能够显著减缓乳腺癌荷瘤小鼠的肿瘤生长速度,降低肿瘤体积,对肿瘤生长具有明显的抑制作用,而且对小鼠没有明显的毒副作用。在抗肿瘤免疫方面,复方半边莲口服液能够显著提高具有肿瘤杀伤效果的 CD4 +、CD8 + T 细胞比例,降低有助于肿瘤免疫抑制性微环境的调节性 T 细胞比例,提高了荷瘤小鼠的抗肿瘤免疫能力。

综上,复方半边莲口服液能够提高小鼠的抗肿瘤免疫能力,抑制肿瘤的增殖,而且对小鼠自身没有明显毒副作用,值得临床推广应用。

#### 参考文献

[1] 陈万青,郑荣寿.中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况[J].中国肿瘤临床,2015,42(13):668-674.  
[2] 张卫红,李甜,周钱梅.益气扶正复方联合依维莫司对三阴性乳腺癌 MDA-MB-468 细胞株裸鼠移植瘤的影响[J].上海中医药杂志,2018,52(10):105-110.  
[3] 王宽宇,孔祥定,陈静,等.复方三金胶囊对人乳腺癌荷瘤裸鼠

瘤组织中线粒体凋亡通路蛋白表达的影响[J].中医药学报,2018,46(2):40-43.  
[4] 王晓松,严展鹏,安振涛,等.龙葵碱抗肿瘤作用的研究进展[J].吉林中医药,2016,10(31):1075-1077.  
[5] 刘保松,白明,张雪侠,等.复方半边莲口服液增强小鼠免疫调节及急性毒性研究[J].时珍国医国药,2019,30(4):839-841.  
[6] 张玉杰,李明春,张华,等.半边莲药理作用及机制的研究进展[J].中国药师,2015,18(8):1376.  
[7] 林靖怡,刘韶松,明艳林.半枝莲化学成分及药理活性研究进展[J].亚热带植物科学,2015,44(1):77.  
[8] 瞿俊勇,田梦,贺建华,等.白花蛇舌草多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节作用研究[J].中药材,2015,38(9):1942.  
[9] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2018, 68(6):394-424.  
[10] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2016, 66(2):115-132.  
[11] 彭晓燕.转移性三阴性乳腺癌的治疗进展[J].中国医药科学,2019,9(16):56-58.  
[12] 周玉川,肖东琴,冯刚,等.T 淋巴细胞用于肿瘤过继细胞治疗的研究进展[J].川北医学院学报,2017,32(3):461-465,474.  
[13] Yamaguchi T, Kishi A, Osaki M, et al. Construction of self-recognizing regulatory T cells from conventional T cells by controlling CTLA-4 and IL-2 expression[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(23):E2116-E2125.  
[14] Kim HJ, Cantor H. CD4 T-cell subsets and tumor immunity: the helpful and the not-so-helpful[J]. Cancer immunology research, 2014, 2(2):91-98.  
[15] 胡子龙,何长征,邢晓伟,等.CD4 + CD25 + 调节性 T 细胞在肿瘤免疫中的研究进展[J].川北医学院学报,2018,33(1):134-137.  
[16] 祝丽晶,侯盼飞,潘艳,等.调节性 T 细胞与肿瘤放疗[J].现代肿瘤医学,2019,27(22):4128-4130.  
[17] 宋卿,季青,李琦.中医药调节肿瘤免疫的临床及机制研究[J].中华中医药杂志,2018,33(10):4542-4545.  
[18] 王宽宇,冯月男,孔祥定,等.复方三金胶囊对乳腺癌荷瘤裸鼠瘤组织细胞增殖的影响[J].吉林中医药,2019,39(1):80-83.  
[19] 肖鹏,曹雪涛,王青青.恶性肿瘤免疫治疗的现状及展望[J].实用肿瘤杂志,2016,31(1):5-9.  
[20] 韩佳颖.半边莲抗肿瘤作用研究进展[J].山西中医学院学报,2016,17(2):71-72.  
[21] 满其倩,左琳,吕青涛.半枝莲抗肿瘤作用及机制研究进展[J].辽宁中医杂志,2015,42(11):2251-2253.  
[22] 窦锦明,荆汉卫.半枝莲黄酮类有效部位体内抗肿瘤实验研究[J].药学与临床研究,2015,23(1):21-22.  
[23] 贡涛.基于 Th17/Treg 失衡的补正益气消癥方对肺癌免疫调节的临床与基础研究[D].南京:南京中医药大学,2015.  
[24] 金钟大,陈江华.含白花蛇舌草血清对大鼠淋巴细胞和混合培养淋巴细胞增殖影响的实验研究[J].新中医,2014,46(7):186-189.  
[25] 闫辉,吕青涛.白花蛇舌草,半枝莲及其药对抗肿瘤活性的研究进展[J].现代肿瘤医学,2015,3(22):3353-3356.  
[26] 朱明玥,吕志刚.近代名老中医治疗乳腺癌经验浅析[J].中华中医药杂志,2019(7):92.

(收稿日期:2019-11-14)

学术编辑:杨健)