

# 消积抑癌外敷方对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠抑瘤效果和肿瘤血管生成的影响

张春<sup>1</sup>, 丁甜甜<sup>2</sup>, 李慧<sup>2</sup>, 刘远婷<sup>2</sup>, 郑茜<sup>2</sup>

(1. 新疆医科大学动物实验中心; 2. 新疆医科大学第七附属医院中医科, 新疆 乌鲁木齐 830000)

**【摘要】目的:** 探讨消积抑癌外敷方对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠抑瘤效果、肿瘤血管生成、血管内皮生长因子(VEGF)蛋白及 mRNA 表达的影响。**方法:** 将 20 只健康雌性 C57BL/6 小鼠随机分为荷瘤对照组和治疗组, 每组各 10 只。采用动物移植肿瘤实验法制备 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型。对照组小鼠瘤体表面外敷面粉, 治疗组小鼠瘤体表面外敷消积抑癌膏, 疗程均为 30 d。疗程结束后剥离肿瘤组织称重瘤质量, CD34 染色标记微血管计数微血管密度, 免疫组化法检测 VEGF 蛋白表达, Western blot 检测 VEGF 蛋白表达量, RT-qPCR 检测 VEGF mRNA 表达量。**结果:** 治疗组瘤质量少于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且微血管密度低于对照组 ( $P < 0.05$ )。对照组和治疗组的 VEGF 表达均为阳性, 且治疗组 VEGF 表达的阳性等级低于对照组 ( $P < 0.05$ )。治疗组 VEGF 蛋白和 mRNA 表达量均低于对照组 ( $P < 0.05$ )。**结论:** 消积抑癌外敷方可下调 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 VEGF 表达, 抑制肿瘤血管生成, 减少瘤质量, 有一定的抗肿瘤作用。

**【关键词】** Lewis 肺癌荷瘤; 血管内皮生长因子; 消积抑癌外敷方; 小鼠

**【中图分类号】** R285.5; R734.2 **【文献标志码】** A

## Influence of Xiaoji Yi'ai external application recipe on anti-tumor effect and tumor angiogenesis in tumor-bearing Lewis lung cancer mice

ZHANG Chun<sup>1</sup>, DING Tian-tian<sup>2</sup>, LI Hui<sup>2</sup>, LIU Yuan-ting<sup>2</sup>, ZHENG Qian<sup>2</sup>

(1. Animal Laboratory Center, Xinjiang Medical University; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, the Seventh Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China)

**【Abstract】Objective:** To explore the influence of Xiaoji Yi'ai external application recipe on anti-tumor effect, tumor angiogenesis, protein and mRNA expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in tumor-bearing Lewis lung cancer mice. **Methods:** 20 healthy female C57BL/6 mice were randomly divided into tumor-bearing control group and treatment group, with 10 mice in each group. The tumor-bearing Lewis lung cancer mouse model was prepared by animal tumor transplantation experiment method. The tumor-bearing control group was given external application of batter on tumor surface, the treatment group was given external application of Xiaoji Yi'ai ointment on tumor surface, the course of treatment was 30 days. After treatment, tumor tissues were stripped, the mass of tumor was measured, paraffin sections were prepared, microvessels were marked by CD34 staining, and microvessel density was calculated. Tumor tissue homogenate was collected to detect the expression level of VEGF protein by Western blot, and VEGF mRNA was detected by RT-qPCR. **Results:** The mass of tumor and microvessel density in the treatment group were lower than those in the tumor-bearing control group ( $P < 0.05$ ). The expression of VEGF was positive in tumor-bearing control group and treatment group. The positive expression grade of VEGF in treatment group was lower than that in tumor-bearing control group ( $P < 0.05$ ). The expression level of VEGF protein and VEGF mRNA in treatment group were lower than those in tumor-bearing control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Xiaoji Yi'ai external application recipe can down-regulate the expression of VEGF in tumor-bearing Lewis lung cancer mice, inhibit tumor angiogenesis, reduce tumor quality, and have a certain anti-tumor effect.

**【Key words】** Tumor-bearing Lewis lung cancer; Vascular endothelial growth factor; Xiaoji Yi'ai external application recipe; Rats

肺癌发病率居全球恶性肿瘤前列, 发病率高达 45.39%<sup>[1]</sup>, 由于肺癌诊断时多处于中晚期, 治疗效果不甚理想, 5 年生存率 < 20%<sup>[2]</sup>。手术、放疗及

靶向药物治疗是主要治疗方式, 但手术治疗对适应证的要求较高, 仅限于 I ~ III 期肺癌<sup>[3]</sup>; 放疗及靶向药物治疗伴随的不良反应明显, 部分患者不耐

受<sup>[4]</sup>。中医药防治肿瘤已有数千年历史,积累了宝贵经验,根据中医辨证施治可恢复和增强机体自然免疫力,扶正固本,起到辅助抗肿瘤作用。肿瘤的生长与扩散具有血管依赖性<sup>[5]</sup>,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在肿瘤发生发展中起到关键作用<sup>[6-7]</sup>,抗肿瘤血管生成药物成为肺癌不可或缺的治疗手段之一,其可使现有肿瘤血管退化,并抑制肿瘤新生血管生成,从而阻断肿瘤生长必须的营养供给<sup>[8]</sup>。本研究拟采用 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型观察消积抑癌外敷方对肿瘤血管生成及 VEGF 表达的影响,探讨消积抑癌外敷方的抗肿瘤效果和作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康雌性 C57BL/6 小鼠 20 只,体质量(20 ± 2)g, 4~6 周龄,购自新疆医科大学动物实验中心[许可证号:SCXK(新)2018-0002]。Lewis 肺癌细胞株选自新疆医科大学动物实验中心。

### 1.2 主要实验仪器和试剂

SSB-2 超净台(上海净化设备厂)、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(美国力高公司)、倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司)、低温高速离心机(上海医用分析仪器厂)、HR-200 型电子天平(日本 LIMITED 公司)、细胞培养瓶(德国 Greiner 公司)、Prism7000 型荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(美国 ABI 公司)、组织包埋机和石蜡切片机(德国 Leica 公司)。VEGF 单克隆抗体试剂盒(上海信裕生物科技有限公司);荧光定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)配套试剂盒和总核糖核酸(RNA)抽提试剂购自美国 Thermo Scientific 公司;VEGF 信使核糖核酸(mRNA)引物由生工生物工程(上海)有限公司合成。

消积抑癌外敷方:当归 30 g、川芎 30 g、乳香 30 g、没药 30 g、红花 30 g、赤芍 30 g、五灵脂 60 g、莪术 120 g、苦参 120 g、山慈菇 120 g、透骨草 60 g、全蝎 40 g、蜈蚣 40 条、猪蹄甲 30 g、土鳖虫 40 g、商陆 120 g、元胡 120 g、青黛 60 g、拳参 40 g、仙鹤草 60 g、丹皮 60 g、白鲜皮 60 g、丹参 30 g、浙贝母 120 g、乌梅 120 g、蜂房 120 g、蛇莓 60 g、冰片 9 g,将冰片溶解于 46°白酒 500 mL 中制备成冰片酒。上述中药材研成粉末,用 46°冰片酒调和成膏状,消毒灭菌装瓶,制成外敷膏剂。外敷膏剂由新疆医科大学第七附属医院中药房制备,鉴定及方剂质量控制由新疆医科大学药学院负责,采用薄层色谱法鉴别外敷膏剂的活性成分,其中当归、川芎、乳香、没药、红花等

中药成分的分离度较好、专属性较强,阴性对照无明显干扰。外敷膏剂成型性好,具有适宜的机械强度和黏附性,制备工艺稳定合理,质量控制方法准确、可靠、专属性强,质量评价较优。

### 1.3 实验方法

1.3.1 模型制备及分组 实验前 C57BL/6 小鼠适应性喂养 7 d。采用动物移植肿瘤实验法制备 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型<sup>[9]</sup>。将 Lewis 肺癌细胞株的冻存管从液氮中取出,迅速放入 37 °C 的水浴锅中至内容物完全融化,约 3 min 快速复苏,置于完全培养基中,移入 37 °C 恒温、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养并传代。当细胞处于指数生长期时,取生长良好的细胞经胰酶消化后,用计数板计数,将浓度调整至 1 × 10<sup>7</sup> 个/mL 以供注射。将 2 × 10<sup>6</sup> 个 Lewis 肺癌细胞接种于每只小鼠皮下,制备 Lewis 肺癌小鼠模型,每天检查肿瘤生长情况,接种 8 d 后开始实验。20 只 C57BL/6 小鼠随机分为荷瘤对照组和治疗组,每组各 10 只。

1.3.2 治疗方法 对照组小鼠瘤体表面外敷面糊(面粉 + 生理盐水调成糊状物),面糊加热至 30 °C 使用,30 min/次,3 次/d,连续 30 d。治疗组小鼠瘤体表面外敷消积抑癌膏,按照 0.79 mL/20 g 体重标准给药,膏药加热至 30 °C 使用,30 min/次,3 次/d,连续 30 d。

### 1.4 检测指标

(1) 疗程结束后处死小鼠,剥离肿瘤组织称重瘤质量;将肿瘤组织分为两部分,一部分用多聚甲醛固定,另一部分冷冻于液氮中备用;(2) 免疫组化法检测 CD34 和 VEGF 蛋白表达量,多聚甲醛固定组织,经过脱水、固定、包埋等步骤制作石蜡切片,石蜡切片浸泡于 500 mL 的抗原修复工作液,加热煮沸 20 min 后冷却至室温,取出组织切片用磷酸盐缓冲液冲洗 3 min、自来水冲洗 3 min。组织切片晾干后滴加 10% 非免疫羊血清,孵育 30 min。链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶连结法(SP)进行免疫组化染色;加入 CD34 和 VEGF 单克隆抗体试剂盒中的一抗工作液 40 μL,4 °C 孵育过夜,加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的 CD34 和 VEGF 二抗工作液,37 °C 孵育 30 min,磷酸盐缓冲液冲洗 3 次,每次 5 min。滴加二氨基联苯胺显色液 50 μL,染色时间大约 5~10 min,显微镜下观察。CD34 染色标记微血管进行微血管密度计数,计算肿瘤组织中 CD34 染色的微小血管。(3) Western blot 检测 VEGF 蛋白表达,100 mg 液氮冷冻的肿瘤组织,加入蛋白裂解液 1 mL,1 000~3 000 rpm 高速匀浆 3 次,离心取上清液,调整所有蛋白样本至等浓度。聚丙烯酰胺凝胶电泳,

然后转移到硝酸纤维束薄膜上,封闭,加入 VEGF 一抗,4 ℃ 孵育过夜。取膜,磷酸盐缓冲液洗涤 3 次,每次 5 min。再加入辣根过氧化物酶标记的 VEGF 二抗,封口,37 ℃ 孵育 1 h。磷酸盐缓冲液洗涤 3 次,每次 10 min。采用辣根过氧化物酶化学发光法(HRP-ECL)曝光,将膜置于曝光板上,取出胶片浸入显影液至完全曝光,清水冲净晾干。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参照计算 VEGF 蛋白的相对表达量。(4)RT-qPCR 法检测 VEGF mRNA 相对表达量,100 mg 液氮冷冻的肿瘤组织用 0.25% 胰蛋白酶消化细胞,10 000 rpm 离心弃上清,加入 Trizol 试剂抽提细胞总 RNA,干燥 RNA 沉淀物,保存于-20 ℃ 待检。VEGF 上游引物:5'-TCA GGT CTG CTC AT TCT TA-3',下游引物:5'-CAG CCA TTC AGT CTA CGT-3',扩增片段 474 bp,β-actin 为内参基因,上游引物:5'-CTC CAT CCT GGC CTC GCT GT-3',下游引物:5'-GCT GTC ACC TTC ACC GTT CC-3',扩增片段 268 bp。将相关试剂(逆转录酶 10 U、核糖核酸抑制酶 2 μmol/L、dNTP 2.5 μmol/L、Taq DNA 聚合酶 5 μmol/L、引物 5 μmol/L 等,反应体积 100 μL)置于冰盒上,混匀。将离心管置于预热的 Prism7000 型荧光定量 PCR 仪,RT-qPCR 反应条件:96 ℃ 4 min,94 ℃ 30 s,58 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,40 个循环。按照 RT-qPCR 说明书,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 VEGF mRNA 相对表达量。

### 1.5 VEGF 蛋白评分标准

由病理中心两名医师独立阅片,采用 Bresalier 半定量法分两部分评分<sup>[10]</sup>:(1)染色深浅度评分:0 分为不显色,1 分为浅黄色,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色;(2)阳性细胞数评分:0 分为阳性细胞数 < 5%,1 分为阳性细胞数 5~25%,2 分为阳性细胞数 26%~50%,3 分为阳性细胞数 51%~75%,4 分为阳性细胞数 ≥76%。累计得分 0~1 分为(-),2~3 分为(+),4~5 分为(++),6~7 分为(+++)。

### 1.6 统计学分析

使用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )描述,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以[n(%)]描述,不同等级比较采用 Kruskal-Wallis 检验。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组小鼠瘤质量比较

治疗组的瘤质量(1.37 ± 0.28)g 低于荷瘤对照组(0.61 ± 0.15)g,差异有统计学意义(*t* = 7.566, *P* < 0.001)。见图 1。

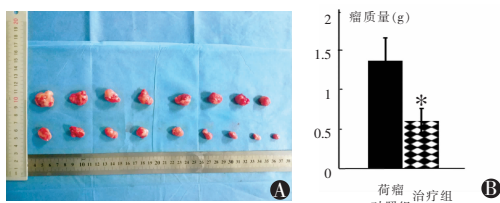


图 1 两组小鼠瘤体实物图及瘤质量比较

A. 小鼠剥离的瘤体,上为对照组,下为治疗组;B. 两组小鼠的瘤质量比较的柱状图。\**P* < 0.05,与荷瘤对照组比较。

### 2.2 两组微血管密度计数比较

治疗组的微血管密度计数(43.59 ± 8.33)小于荷瘤对照组(30.34 ± 6.45),差异有统计学意义(*t* = 3.977, *P* = 0.001)。见图 2。

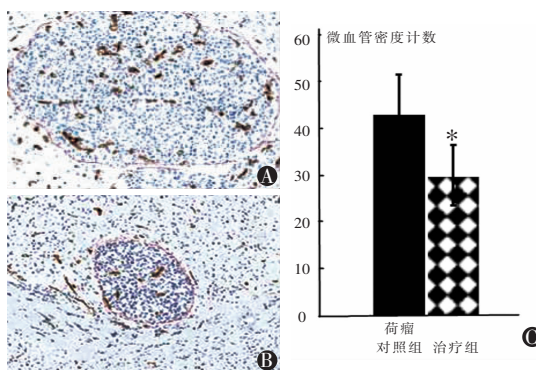


图 2 两组小鼠微血管密度计数比较

A. 荷瘤对照组小鼠组织切片 CD34 染色可见大量微血管(×100);B. 治疗组小鼠组织切片 CD34 染色可见少量微血管(×100);C. 两组小鼠肺癌组织的微血管密度计数的柱状图。\**P* < 0.05,与荷瘤对照组比较。

### 2.3 两组 VEGF 蛋白表达水平比较

对照组和治疗组的 VEGF 表达均为阳性,且治疗组 VEGF 表达的阳性等级低于对照组。治疗组的 VEGF 蛋白表达量(1.07 ± 0.26)低于荷瘤对照组(0.76 ± 0.19),差异有统计学意义(*t* = 3.044, *P* = 0.007)。见表 1、图 3 及图 4。

表 1 免疫组化 VEGF 蛋白表达水平比较 [n(%)]

组别	-	+	++	+++
对照组(n=10)	0	0	4 (40.00)	6 (60.00)
治疗组(n=10)	0	2 (20.00)	5 (50.00)	3 (30.00)

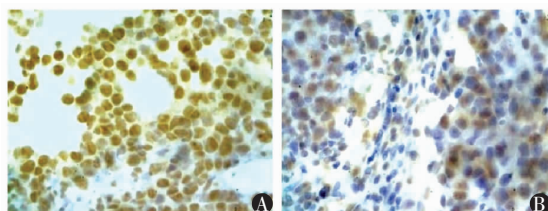


图 3 两组小鼠肺癌组织免疫组化法检测 VEGF 表达(×400)

A. 对照组,阳性(+++),大部分细胞染成棕黄色;B. 治疗组,阳性(++),部分细胞染成棕黄色。

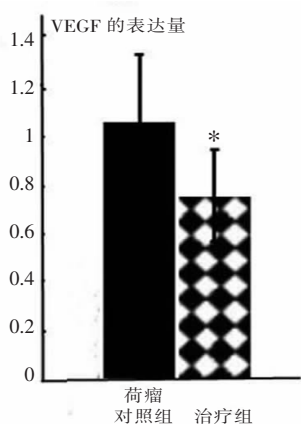
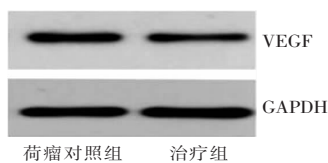


图4 Western blot 检测荷瘤对照组和治疗组 VEGF 蛋白表达量

\* $P < 0.05$ , 与荷瘤对照组比较。

#### 2.4 两组 VEGF mRNA 表达量比较

治疗组的 VEGF mRNA 相对表达量 ( $1.93 \pm 0.47$ ) 低于对照组 ( $1.35 \pm 0.34$ ), 差异有统计学意义 ( $t = 3.162, P < 0.005$ )。见图 5。

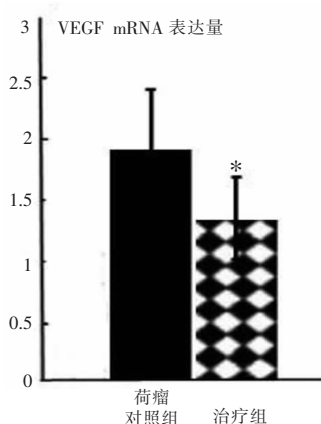


图5 两组小鼠肺癌组织 RT-qPCR 法检测 VEGF mRNA 含量的柱状图

\* $P < 0.05$ , 与荷瘤对照组比较。

### 3 讨论

本研究探讨消积抑癌外敷方对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的肿瘤血管生成以及 VEGF 表达的影响, 结果显示, 治疗组的微血管密度计数小于荷瘤对照组, 说明消积抑癌外敷方可以抑制肿瘤血管生成。荷瘤对照组、治疗组的 VEGF 表达均为阳性, 但治疗组 VEGF 表达的阳性等级低于荷瘤对照组, 并且治疗组的 VEGF 蛋白表达量以及 VEGF mRNA 低于荷瘤对照组, 上述可以证明消积抑癌外敷方可下调 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 VEGF 表达, 具有抗肿瘤潜力。

中医药理认为肺癌的发病以脏腑亏虚、气血失调、正气不足为内因, 内邪伏留易致外邪侵袭, 在各种致癌因素的作用下, 外感病日久不愈, 邪气伏着不解, 成为内伏之邪, 内外合邪发病, 引起人体气滞血瘀, 痰凝毒结, 形成肿瘤<sup>[11]</sup>。瘀血、痰浊是肺癌的主要病机, 因此肺癌的治疗应从整体观念出发, 采用活血化瘀的治疗方法<sup>[12]</sup>。本研究所采用的消积抑癌方多选用虫类药甚至有有毒的药物以通络消积、以毒攻毒, 如全蝎、蜈蚣、猪蹄甲、土鳖虫; 选用活血破瘀消积类药物以清瘀毒, 如当归、川芎、乳香、没药、红花、赤芍、五灵脂、莪术、丹参、透骨草; 选用清热解毒散结类药物如苦参、山慈菇、商陆、元胡、青黛、拳参、仙鹤草、丹皮、白鲜皮; 浙贝母、乌梅、蜂房、蛇莓; 辅以冰片、白酒的辛散透皮, 引药到达病所。上述药物组方严谨, 君臣佐使, 诸药配伍共奏清热解毒、活血消积、以毒攻毒之功效。从西医病理机制的角度分析, 肿瘤血管生成为肿瘤迅速生长、侵袭和转移提供营养和能量。VEGF 是肿瘤血管生成刺激因子, 可促进血管内皮细胞增殖, 诱导肿瘤新生血管形成, 提高血管通透性, 加速肿瘤细胞的转移扩散<sup>[13-14]</sup>。本研究发现, 治疗组的微血管密度计数、瘤质量、VEGF 蛋白和 VEGF mRNA 表达量均少于对照组, 说明消积抑癌外敷方可抑制肿瘤血管生成和肿瘤生长, 具有抗肿瘤潜力。孙国钧等<sup>[15]</sup>指出由黄芪、白术、石见穿、蜂房等中药组成的益气消征方, 可行气活血、散瘀止痛、攻毒效果, 降低 Lewis 荷瘤小鼠 VEGF 蛋白和 VEGF mRNA 的表达, 减慢肿瘤的生长速度, 降低肿瘤血管形成率; Zhang 等<sup>[16]</sup>也表示大黄酚活性成分通过调节 ROS/HIF-1 $\alpha$ /VEGF 信号通路, 抑制 CD31、CD34 和血管生成素的表达, 进而阻碍肺癌肿瘤血管生成, 上述两项报道均与本研究结论一致。这可能是因为: 消积抑癌外敷方的中药成分如当归、苦参、川芎等能够有效抑制 VEGF, 从而阻断肿瘤血管生成, 抑制肿瘤生长, 作用机制可能与阻断 JAK2/STAT3 信号通路、减轻机体免疫抑制、下调瘤组织基质金属蛋白酶 13 和成纤维细胞生长因子 2 的表达有关<sup>[17]</sup>。

综上所述, 消积抑癌外敷方可下调 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 VEGF 表达, 抑制肿瘤血管生成, 减轻瘤质量, 为临床治疗提供新的思路法。

#### 参考文献

- [1] Zhang Y, Ren JS, Huang HY, *et al.* International trends in lung cancer incidence from 1973 to 2007 [J]. *Cancer Medicine*, 2018, 7 (4): 1479 - 1489.
- [2] Lin HT, Liu FC, Wu CY, *et al.* Epidemiology and survival outcomes of lung cancer: A population-based study [J]. *Biomed Research In-*

ternational, 2019, 12(28):8148-8156.

- [3] Simone CB, Bogart JA, Cabrera AR, *et al.* Radiation therapy for small cell lung cancer; An astro clinical practice guideline [J]. *Practical Radiation Oncology*, 2020, 10(3):158-173.
- [4] Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, *et al.* Lung cancer; Current therapies and new targeted treatments [J]. *Lancet*, 2017, 389(10066):299-311.
- [5] Lugano R, Ramachandran M, Dimberg A. Tumor angiogenesis; Causes, consequences, challenges and opportunities [J]. *Cellular and Molecular Life Science*, 2020, 77(9):1745-1770.
- [6] Eguchi R, Wakabayashi I. HDGF enhances VEGF-dependent angiogenesis and FGF-2 is a VEGF-independent angiogenic factor in non-small cell lung cancer [J]. *Oncology Reports*, 2020, 44(1):14-28.
- [7] Peravali M, Wang H, Kim C, *et al.* Combined inhibition of EGFR and VEGF pathways in patients with EGFR-mutated non-small cell lung cancer; A systematic review and meta-analysis [J]. *Current Oncology Reports*, 2020, 22(12):119-122.
- [8] Teleanu RI, Chircov C, Grumezescu AM, *et al.* Tumor angiogenesis and anti-angiogenic strategies for cancer treatment [J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, 9(1):84-86.
- [9] Ma Y, Li G, Sun X, *et al.* Huayu wan prevents lewis lung cancer metastasis in mice via the platelet pathway [J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 7(27):1306-1307.
- [10] Sukswai N, Khoury JD. Immunohistochemistry innovations for diagnosis and tissue-based biomarker detection [J]. *Current Hematologic Malignancy Reports*, 2019, 14(5):368-375.
- [11] 李白坤, 湛宇灿, 李庆林, 等. 中医药治疗肺癌作用机制研究进展 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2018, 37(3):90-93.
- [12] 陈晶, 孙艾琳, 闫珺. 中西医结合治疗非小细胞肺癌研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2020, 22(9):12-15.
- [13] Chen Y, Mathy NW, Lu H. The role of VEGF in the diagnosis and treatment of malignant pleural effusion in patients with non-small cell lung cancer (Review) [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17(6):8019-8030.
- [14] Zhou W, Wu Y, Pan M, *et al.* Proliferation and migration of lung cancer could be inhibited by oxymatrine through the regulation for miR-520/VEGF [J]. *American Journal of Chinese Medicine*, 2019, 47(4):865-878.
- [15] 孙国钧, 张蕴萍, 宋静, 等. 不同剂量益气消征方对 Lewis 荷瘤小鼠肿瘤生长及 VEGF 表达影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21(10):64-67.
- [16] Zhang J, Wang Q, Wang Q, *et al.* Chrysophanol exhibits anti-cancer activities in lung cancer cell through regulating ROS/HIF-1 $\alpha$ /VEGF signaling pathway [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2020, 393(3):469-480.
- [17] 李秀. 当归多糖与黄芪多糖配伍对腹腔注射环磷酰胺小鼠骨髓造血干细胞影响的研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2017.

(收稿日期: 2021-09-28

修回日期: 2021-10-15)