

# 大小承气汤制作大鼠脾虚肝癌模型的比较

孙保国, 项婷, 李玉龙, 陈泽雄

(中山大学附属第一医院, 广州 510080)

**【摘要】** 目的 探索大小承气汤为基础的多因素大鼠脾虚模型和脾虚肝癌模型的制作方法和成模差别。方法 采用苦寒泻下、寒湿环境、劳累、隔天禁食的方法制作脾虚大鼠模型,其中苦寒泻下因素采用大承气汤和小承气汤分别干预;Walker256 大鼠肝癌细胞经裸鼠皮下增殖后移植入大鼠肝脏,制作肝癌模型。大鼠随机分为正常组、空白肝癌组、大承气汤组、小承气汤组,每组 15 只 3 周龄 Wistar 雄性大鼠,脾虚因素干预 30 d 后恢复 7d 制作肝癌模型并观察 35 d。实验过程中观察动物脾虚程度、体重变化、成瘤情况、生存时间等。**结果** 大、小承气汤组动物在脾虚造模过程中相对于对照组( $P < 0.01$ ),体重增长受到明显抑制,脾虚造模前 20 d 大承气汤组动物体重均高于小承气汤组( $P < 0.05$ ),之后二者无差别( $P > 0.05$ )。大、小承气汤组动物平均脾虚积分高于空白肝癌组,小承气汤组最高( $P < 0.01$ )。肝癌模型总成瘤率 91.1%,空白肝癌组为 80%,大、小承气汤组均为 93.3%。小承气汤组大鼠平均生存天数小于肝癌组和大承气汤组( $P < 0.01$  和 0.05)。生存分析提示脾虚积分高的肝癌模型和小承气汤组肝癌模型的生存能力明显下降( $P < 0.05$ )。**结论** 小承气汤在多因素制作脾虚模型过程中致脾虚作用比大承气汤强,脾虚明显是肝癌模型预后不良的重要因素。

**【关键词】** 脾虚;肝脏肿瘤;大承气汤;小承气汤;动物模型

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 02-0020-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.02.005

## Comparison of the rat models of liver cancer spleen deficiency established by Dachengqi and Xiaochengqi decoctions

SUN Bao-guo, XIANG Ting, LI Yu-long, CHEN Ze-xiong

(The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the establishing methods and differences of rat models of spleen deficiency and spleen deficiency liver cancer using the traditional Chinese medicine Dachengqi and Xiaochengqi decoctions. **Methods** Spleen-deficiency rat models were developed by multifactor methods: bitter-cold purgation (Dachengqi or Xiaochengqi decoction), cold-wet environment, tiredness, and fasting on alternate days for 30 days. Seven days after spleen-deficiency modeled, liver cancer in the spleen-deficiency rats and normal rats was developed by subcutaneously inoculation of Walker-256 carcinoma cell line in nude mice and then transplanted into rat livers. Liver cancer models were observed for 35 days. Sixty 3-week old male Wistar rats were randomly distributed into 4 groups: normal group, liver cancer model group, and Dachengqi and Xiaochengqi decoction groups. Degree of spleen deficiency, changes of the body-weight, survival time and tumor formation were recorded. **Results** Spleen deficiency rat models were successfully established. The weight gain of rats in the spleen-deficiency groups was significantly inhibited ( $P < 0.01$ ), and during the first 20 days (but not later) the average body weight of the Dachengqi decoction group was significantly higher than that of the Xiaochengqi decoction group ( $P < 0.05$ ). Spleen-deficiency scores of rats in the Xiaochengqi and Dachengqi groups were higher than those in the blank tumor group, especially in the Xiaochengqi group ( $P < 0.01$ ). The total tumor formation rate was 91.1% and 80% in the

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(编号 81102581);广东省中医药局立项资助科研课题(编号 20111161)。

[作者简介] 孙保国(1979年-),男,主治医师,研究方向:中西医结合肝病。E-mail: sunbaogu666@126.com。

[通讯作者] 陈泽雄,男,主任医师,研究方向:中西医结合肝病, E-mail: zexiong333@163.com。

blank tumor groups, and 93.3% in both Xiaochengqi and Dachengqi groups, respectively. The average survival time of Xiaochengqi group was lower than that of the blank tumor and Dachengqi groups ( $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ ). The cumulative survival rate of the Xiaochengqi group and rats with a higher spleen-deficiency score was lower than that of the other groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Xiaochengqi decoction may induce spleen deficiency more seriously than Dachengqi decoction, and spleen deficiency may be an important unfavorable prognostic factor for rat models of liver cancer.

**【Key words】** Spleen deficiency; Liver cancer; Dachengqi decoction; Xiaochengqi decoction; Animal model; Rat.

长期以来脾虚模型的制备都是一个难点。本质上讲,关于脾虚模型的制备理论出发点有两个,一个是病因出发点,一个是症状出发点。前者主要强调模型在病因病机上与临床脾虚的一致性,如饮食饥饱过度,偏食寒凉、肥腻,劳累过度,思虑过度,睡眠剥夺等;后者主要强调模型症状与临床脾虚的一致性,如倦怠、懒言、精神不振、失眠、纳差、腹泻便溏、出血、水肿、腹水等,经典的造模方法是利血平副作用法。脾虚是中医认识人体体质和证的一个综合表现,脾虚证的病因千差万别,而临床症状却多具有一致性,研究中应该根据不同的疾病选择合理的造模方法。本研究针对肝癌的一般病因:外感湿浊,脾胃内伤,阻滞气机,肝气郁结,痰瘀毒结,制作模型过程中突出湿浊外受、饮食饥饱过度及寒凉劳力伤中的原则制备脾虚模型;并在此基础上采用原位移植方法将瘀血痰毒植入肝脏,形成脾虚肝癌模型;尽量在病因和病理上模拟肝癌的发生发展过程,做到合情合理。并探索了苦寒药物大承气汤和小承气汤在模型中的差别。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 药材

中药材购自广州市药材公司,基源鉴定符合 2010 年《中华人民共和国药典·第一部》标准。小承气汤浓缩膏:大黄、枳实、厚朴按照生药重量 2:1:1 的比例配制;大承气汤浓缩膏:大黄、枳实、厚朴、芒硝按照生药重量 2:3:4:1 配制;药物由广州中医药大学产业科技园有限公司制成浓缩膏定容为 2 克生药/毫升,收集挥发油水溶液用于稀释浓缩膏。

#### 1.1.2 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠 60 只,雄性,3 周龄,体重 60~70 g,购于中山大学实验动物中心【SCXK(粤)2011-0029】。SPF 级 BALB/c 裸小鼠 1 只,雄性,4 周龄, Walker-256 大鼠肝癌细胞株购于中山大学实验动物中心【SCXK(粤)2011-0029】。所有实验在中山大学实验动物中心 SPF 实验室完成并获得许

可【SCXK(粤)2012-0081】。实验动物的使用按 3R 原则给予人道的关怀。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物分组

在 SPF 级屏障环境中,大鼠随机分为 4 组:正常组(同步饲养作脾虚造模的平行对照)、空白肝癌组(非脾虚,制作肝癌模型后作为脾虚肝癌模型的对照)、大承气汤组(大承气汤作为多因素脾虚模型制作中的苦寒泻下因素)、小承气汤组(小承气汤作为多因素脾虚模型制作中的苦寒泻下因素),每组 15 只,自由进食饮水 1 周,之后开始造模。

#### 1.2.2 脾虚模型<sup>[1-3]</sup>

对照组和肝癌组正常干燥环境,自由饮食,给与生理盐水 1 mL/100g 体重每天 1 次。大承气汤组和小承气汤组,垫料每天在常温水淘洗一次捞出至不滴水,每天常温游泳至力竭(沉入水底 2~3 s),隔日禁食(如每周 1、3、5 上午 8 时清空饲料,仅留饮水,24 h 后添加饲料),分别给予大小承气汤 1 g/100 g 体重,每天 1 次,连续 30 d。每天观察大鼠体重变化(研究中对动物体重每 4 d 进行一次统计,计算 4 d 中的平均体重,方差分析各时间点大鼠体重的变化。)、精神状态、进食量、大便脏尾情况等,脾虚评分量表<sup>[4,5]</sup>评价脾虚严重程度(表 1 各项目得分相加即为脾虚积分)。

#### 1.2.3 肝癌模型<sup>[6-8]</sup>

Walker-256 细胞株以 100 万个细胞接种于裸鼠颈背部,3 周后肿瘤长至直径 0.5 cm 时,水合氯醛麻醉裸鼠,取出肿瘤去除坏死组织,将鱼肉样组织在生理盐水中切割成 1 mm<sup>3</sup> 见方的小块,置于冰上待用。脾虚大鼠停止造模后 7d,肝癌组和脾虚组大鼠以乙醚吸入麻醉,剑突下脱毛膏去毛,75% 医用酒精消毒局部,切开皮肤、钝性分离腹肌,充分暴露肝脏,套管针吸取肿瘤组织,以 45° 斜角刺入肝脏左叶深处,每只动物植入肝脏 1 mm<sup>3</sup> 瘤块,压迫止血,复位肝脏,分层缝合。观察动物生存情况,濒死动物及时处死解剖,并留取标本,肝癌造模后 35d 处死所有动物。

表 1 表观指标分级标准<sup>[4]</sup>Tab.1 The phenotypic index grading standards<sup>[4]</sup>

项目 Items	1 级	2 级	3 级	4 级
异味 Smell	无异味 No	淡臭 Light bad smell	臭 Bad smell	恶臭 Stench
精神状态 Expression	正常 Normal	倦怠 Lassitude	朦胧欲睡 Hazy sleepy	多怒撕咬 Irritability and biting
体寒热 Heat and cold	正常 Normal	蜷缩 Curl up	畏寒喜暖 Chills	拱背发抖 Back arch
呼吸状况 Respiration	正常 Normal	气喘 Asthma	喘急 Ecphysestis	呼吸微弱 Shallow breathing
毛色 Hair color	正常 Normal	无光泽 Dull	竖毛蓬松 Piloerection	枯黄稀少 Brown hair sparse
大便 Stool	正常 Normal	偏湿 Wet	湿烂 Wet rot	粘液便 Mucous

注:总分 $\leq 6$ 为无脾虚,  $7 \leq$ 总分 $\leq 12$ 为轻度脾虚,  $13 \leq$ 总分 $\leq 18$ 为典型脾虚,  $19 \leq$ 总分 $\leq 24$ 为重度脾虚。

Note: Total score  $\leq 6$  means no spleen deficiency,  $7 \leq$  total score  $\leq 12$  means slight spleen deficiency,  $13 \leq$  total score  $\leq 18$  means typical spleen deficiency and  $19 \leq$  total score  $\leq 24$  means serious spleen deficiency.

#### 1.2.4 统计学方法

采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析, 正态计量资料采用方差分析, 计数资料采用  $\chi^2$  检验, 生存率采用 Kaplan-Meier 生存分析,  $P < 0.05$  认为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 脾虚模型

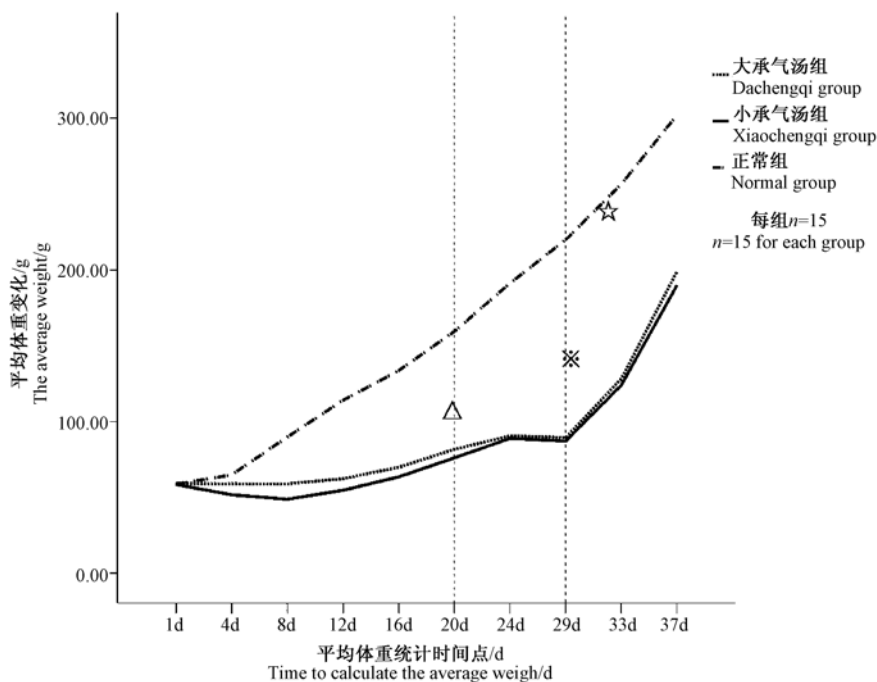
#### 2.1.1 各组脾虚积分比较

脾虚积分结果提示与空白组 ( $4.67 \pm 2.85$ ) 比较, 小承气汤组和大承气汤组脾虚积分明显升高 ( $P$

$< 0.01$ ), 并且平均分分别为 ( $18.67 \pm 5.04$ ) 和 ( $17.13 \pm 5.44$ ) 符合典型脾虚模型的分值范围。说明多因素制作脾虚模型中小承气汤和大承气汤均可以获得典型的脾虚模型。

#### 2.1.2 各组脾虚造模过程中体重变化

与正常动物比较, 造模过程中脾虚动物体重增长受到明显抑制, 体重增长曲线平缓, 第 30 天停止造模后大鼠体重快速增加, 但仍低于正常组 ( $P < 0.01$ )。第 20 天之前各时间点小承气汤组大鼠体重均低于大承气汤组 ( $P < 0.05$ ), 之后二者体重接近 (见图 1)。



注: 单因素方差分析,  $\star$  脾虚大鼠体重增长受到明显抑制  $P < 0.01$ ;  $\triangle$ : 20 d 之前小承气汤对大鼠体重抑制较大承气汤明显,  $P < 0.05$ ;  $\ast$ : 30d 后停止造模。

图 1 脾虚大鼠体重变化

Note: One-way ANOVA test shows: Growth of body weight of the spleen deficiency rats was significantly inhibited,  $\star P < 0.01$ . The growth of body weight is significantly more inhibited by Xiaochengqi than that by Diaochengqi decoction before the 20th day,  $\triangle P < 0.05$ .  $\ast$ : Stopped modeling after the 30th day.

Fig.1 Changes of body weight in the spleen deficiency rats.

2.2 肝癌模型

2.2.1 各组大鼠,肝、脾、胸腺重量及肿瘤体积的比较

空白肝癌组和脾虚组(大承气汤组、小承气汤组)大鼠的肝、脾、胸腺重量相当( $P > 0.05$ );而与正常组比较空白肝癌组和脾虚组大鼠的肝、脾、胸腺重

量明显降低( $P < 0.01$  或  $0.05$ )(见表 2)。各组大鼠肝癌体积无差异( $P > 0.05$ )。说明肝癌造模后动物内脏重量的增长受到抑制,此时可能由于脾虚造模因素停止,因此没有显示出脾虚肝癌模型与空白肝癌模型在内脏重量方面的差异。

表 2 各组大鼠肝、脾、胸腺重量及肿瘤体积的比较( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Tab.2 Comparison of the weight of liver, spleen and thymus and tumor volume in each group

项目 Items	脾重/g Spleen weight	肝重/g Liver weight	胸腺重/g Thymus weight	肿瘤体积均数/cm <sup>3</sup> Tumor volume
空白肝癌组 Blank liver cancer	0.32 ± 0.07 *	7.48 ± 1.56 *	0.18 ± 0.08 *	2.43 ± 2.87
小承气汤组 Xiaochengqi	0.32 ± 0.07 *	7.92 ± 1.23 *	0.20 ± 0.08 *	2.51 ± 2.50
大承气汤组 Dachengqi	0.36 ± 0.06 *	8.13 ± 1.15 #	0.21 ± 0.06 *	2.56 ± 2.08
正常组 Normal	0.57 ± 0.03	11.25 ± 1.75	0.41 ± 0.06	-

注:单因素方差分析,肝癌模型和脾虚模型脏器重量明显低于正常大鼠,脾重  $F = 15.175, P = 0.000$ ;肝重  $F = 10.473, P = 0.000$ ;胸腺重  $F = 19.342, P = 0.000$ 。与正常组比较, \*  $P < 0.01$ , #  $P < 0.05$ 。

Note: One-way ANOVA test indicates that organ weight in the liver cancer models and spleen deficiency models is significantly lower than that of the normal rats: Spleen weight,  $F = 15.175, P = 0.000$ ; Liver weight,  $F = 10.473, P = 0.000$ ; and thymus weight,  $F = 19.342, P = 0.000$ . Compared with the normal group, \*  $P < 0.01$  and #  $P < 0.05$ .

2.2.2 各组大鼠成瘤率比较

大鼠成瘤率结果说明总的成瘤率可以达到 91.1%,大小承气汤脾虚模型的成瘤率均为 93.3%

高于空白肝癌组的 80%,脾虚积分高的动物成瘤率高于脾虚积分低的动物,但均无统计学差异(见表 3)。

表 3 各组肝癌模型不同脾虚积分下成瘤率/%

Tab.3 Tumor formation rate of the rats with different spleen deficiency scores

项目 Items	脾虚积分 ≤ 6 Spleen deficiency scores ≤ 6	7 ≤ 脾虚积分 ≤ 15 7 ≤ Spleen deficiency scores ≤ 15	16 ≤ 脾虚积分 ≤ 24 16 ≤ Spleen deficiency scores ≤ 24	合计 Total
空白肝癌组 Blank liver cancer	80.0	0	0	80.0
小承气汤组 Xiaochengqi	0	67.0	100.0	93.3
大承气汤组 Dachengqi	0	80.0	100.0	93.3
合计 Total	80.0	87.5	100.0	91.1

注:脾虚积分指脾虚造模期间的脾虚积分。 $\chi^2$  检验,成瘤率各组比较无统计学差异, $P > 0.05$ 。

Note: Spleen deficiency score refers to the scores during the spleen deficiency modeling period.  $\chi^2$  test indicates  $P > 0.05$ .

2.2.3 不同脾虚积分及各组肝癌模型平均生存天数比较

表 4 的数据提示脾虚积分高的动物生存时间明显低于脾虚积分低的动物;其中小承气汤组脾虚积

分在 16 ~ 24 的肝癌大鼠生存时间低于该分数段大承气汤组的肝癌大鼠,也低于空白肝癌组的大鼠;小承气汤组脾虚肝癌大鼠的生存时间也低于空白肝癌组和大承气汤组。

表 4 不同脾虚积分各组肝癌模型平均生存天数( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.4 The mean survival days of rats with different spleen deficiency scores in each group (d)

项目 Items	脾虚积分 ≤ 6 Spleen deficiency scores ≤ 6	7 ≤ 脾虚积分 ≤ 15 7 ≤ Spleen deficiency scores ≤ 15	16 ≤ 脾虚积分 ≤ 24 16 ≤ Spleen deficiency scores ≤ 24	合计 Total
空白肝癌组 Blank liver cancer	25.33 ± 5.73 (n = 15)	0	0	25.33 ± 5.73 (n = 15) *
小承气汤组 Xiaochengqi	0	20.00 ± 10.44 (n = 3)	15.92 ± 4.40 (n = 12)	16.73 ± 5.80 (n = 15)
大承气汤组 Dachengqi	0	23.80 ± 7.73 (n = 5)	21.40 ± 3.31 (n = 10) *	22.20 ± 5.05 (n = 15) #
合计 Total	25.33 ± 5.73 (n = 15) $\Delta$	22.38 ± 8.31 (n = 8)	18.41 ± 4.76 (n = 22)	21.42 ± 6.49 (n = 45)

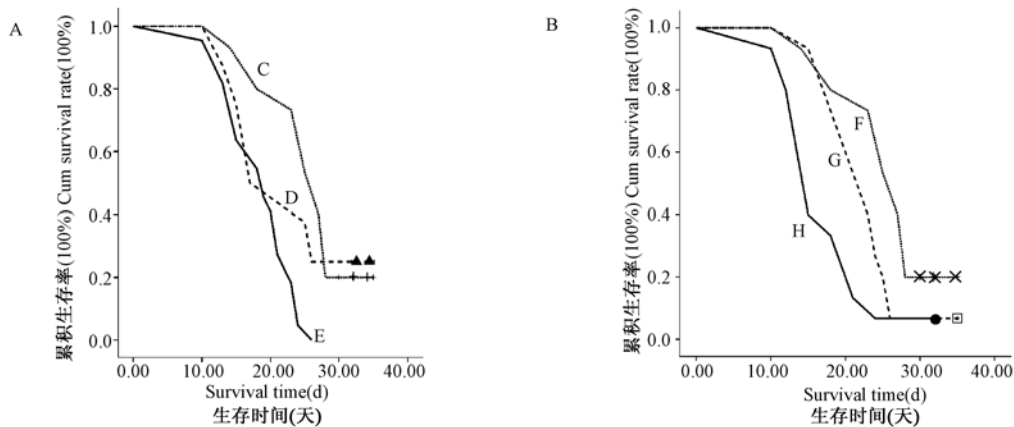
注:脾虚积分指脾虚造模期间的脾虚积分。单因素方差分析,组间合计数据  $F = 9.276, P = 0.000$ ,小承气汤组合计平均生存天数低于空白肝癌组(\*  $P = 0.000$ )和大承气汤组(#  $P = 0.010$ );不同脾虚积分合计数据  $F = 6.461, P = 0.004$ ,脾虚积分 16 - 24 合计平均生存天数低于脾虚积分小于 6 的大鼠( $\Delta P = 0.001$ );脾虚积分 16 - 24 大鼠在大承气汤组平均生存天数高于小承气汤组(\*  $F = 3.197, P = 0.040$ )。

Note: Spleen deficiency score refers to the scores during spleen deficiency modeling period. One-way ANOVA test indicates the average survival days of rats in different groups,  $F = 9.276, P = 0.000$ . The average survival days of the Xiaochengqi group is significantly lower than that of the blank liver cancer group, \*  $P = 0.000$  and that of the Dachengqi group, #  $P = 0.010$ . One-way ANOVA test indicates  $F = 6.461, P = 0.004$  for average survival days of the rats with different spleen deficiency scores, and compared with those with spleen deficiency scores < 6,  $\Delta P = 0.001$ . Average survival days of rats with different spleen deficiency scores in the Diaochengqi group were higher than that of the Xiaochengqi group, \*  $F = 3.197, P = 0.040$ .

### 2.2.4 不同脾虚积分各组肝癌模型生存分析

A: 不同脾虚积分肝癌大鼠生存分析:脾虚积分 $\leq 6$ 的肝癌大鼠生存率明显高于脾虚积分 $\geq 16$ 的肝癌大鼠, $\chi^2 = 16.587, P = 0.000$ ;脾虚积分为 7-15 分者生存率高于脾虚积分为 16-24 分者, $\chi^2 = 3.440, P = 0.064$ ;脾虚积分 7-15 者与脾虚积分 $\leq 6$ 者生存率相当, $\chi^2 = 0.114, P = 0.736$ 。B:不同组大

鼠生存分析:空白肝癌组生存率高于小承气汤组( $\chi^2 = 10.687, P = 0.001$ )和大承气汤组( $\chi^2 = 4.639, P = 0.031$ );大承气汤组生存率高于小承气汤组( $\chi^2 = 4.887, P = 0.027$ )。结果提示,脾虚积分高的肝癌大鼠生存率低于脾虚积分低的肝癌大鼠;小承气汤组的生存率低于大承气汤组及空白肝癌组。



注:图 2A:F. 空白肝癌组;G. 大承气汤组;H. 小承气汤组;×空白肝癌组-consored;●小承气汤组-consored;□大承气汤组-consored。每组  $n = 15$ 。图 2B:C. 脾虚积分 $\leq 6(n = 15)$ ;D.  $7 \leq$ 脾虚积分 $\leq 15(n = 8)$ ;E.  $16 \leq$ 脾虚积分 $\leq 24(n = 22)$  + 脾虚积分 $\leq 6$ -consored;▲ $7 \leq$ 脾虚积分 $\leq 15$ -consored。

图 2 生存分析

Note: Fig2A: C. Spleen-deficiency score $\leq 6(n = 15)$ ; D.  $7 \leq$ Spleen-deficiency scores $\leq 15(n = 8)$ ; E.  $16 \leq$ Spleen-deficiency scores $\leq 24(n = 22)$ ; + Spleen-deficiency scores $\leq 6$ -consored; ▲ $7 \leq$ Spleen-deficiency scores $\leq 15$ -consored. Fig2B: F. Blank liver cancer model group; G. Xiaochengqi group; H. Dachengqi group( $n = 15$  for each group); × Blank liver cancer model group-consored; ● Xiaochengqi group-consored; □ Dachengqi group-consored.

Fig.2 Results of survival analysis.

### 2.2.5 动物模型外观和组织图像

图 3A 和图 3B 可见脾虚模型扎堆、脏尾的表现;图 3C 和图 3D 可见肝癌大鼠腹水和肿瘤形成;图 3E 为正常肝组织 HE 染色 200 倍镜下图像,肝小叶结构完整,肝细胞结构正常;图 3F 为肝癌组织肝组织 HE 染色 200 倍镜下图像,癌组织结构紊乱,癌细胞无序堆积(图 3 见彩插 8)。

## 3 讨论

本研究中,大鼠经过寒湿外受、劳累、饮食饥饱过度、苦寒攻下连续 30d 的造模,大鼠主要表现为体重生长缓慢、脏尾、扎堆、被毛竖立等(图 3A,图 3B)。脾虚积分结果提示,大承气汤组和小承气汤组脾虚积分明显高于空白肝癌组。体重变化结果提示多因素造模下,相对于正常组脾虚大鼠体重增长受到明显抑制,但是,停止造模后 1 周内大鼠脾虚症状逐渐消退,体重增加显著。大承气汤作为苦寒攻

下因素,在造模中大鼠体重增长在整个实验过程中均高于小承气汤,在 20d 前各时间点  $P < 0.05$ ,而之后则无统计学差异(图 1)。因此,本研究采用的多因素造模方法可以获得符合中医脾虚理论的脾虚模型,并且小承气汤对脾胃的损伤作用可能较大承气汤明显。

大鼠接种肝癌后,可在 1 周内迅速长出肿瘤,部分大鼠逐渐出现腹水、消瘦、被毛竖立、体重下降、精神萎靡的表现(图 3C)。上述症状在 2~3 周达到高峰,模型往往在此期间因体能不支而接受处死,被采集标本。肝癌动物呈现肝脏巨块肝癌及腹腔转移(图 3D),空白肝癌组肝癌体积与大承气汤组、小承气汤组无明显差别,但肝癌动物脾脏和胸腺往往萎缩明显,肝脏重量也低于正常动物(表 2)。研究中,解剖证实总的成瘤率为 91.1%(肝癌形成肝脏肿块或腹腔种植肝癌结节,不包括腹水形成而后消退的动物),脾虚动物与正常动物差别无统计学差异(表

3)。这些情况说明,本研究中移植性肝癌可以在大鼠肝脏内形成肿瘤,获得与中晚期临床肝癌相似的肝癌模型。虽然大鼠体重与内脏重量有一定的相关性,但并非总是线性相关,本研究中正常大鼠体重明显高于肝癌模型和脾虚肝癌模型大鼠,计算内脏重量指数后,正常组的内脏相对重量反而低于肝癌和脾虚肝癌模型组,因此,本研究中只计算内脏的原始重量,模型组大鼠内脏萎缩的意义也还有待进一步研究。

有少数动物(空白肝癌组有 3 只大鼠、大承气汤组和小承气汤组各 1 只大鼠)可以安全渡过这段时间,腹胀、腹水逐渐减轻并最终缓解,解剖后接种肿瘤仅留下一个 1 mm 大小乳白色疤痕,但脾虚积分高的大鼠成瘤率较高(表 3)。这些情况提示移植性肝癌受到机体的排斥有一定的消退趋势,但脾虚可能不利于移植瘤的消退。

对肝癌模型平均生存时间的分析提示,空白肝癌组和大承气汤组的模型平均生存天数高于小承气汤组, $P < 0.05$ ;小承气汤组脾虚积分 16~24 的肝癌模型生存天数也少于大承气汤组, $P < 0.05$ ;脾虚积分  $\leq 6$  分的肝癌模型生存天数多于脾虚积分 16~24 的动物(表 4)。进一步对于不同脾虚积分肝癌模型生存分析也提示脾虚积分高的肝癌模型和小承气汤组肝癌模型的生存能力明显下降(图 2A、图 2B)。这说明脾虚严重不利于肝癌模型的生存,小承气汤制作脾虚的作用可能比大承气汤强。由于脾虚积分是在制作脾虚模型期间评价的,停止造模后

脾虚动物的体重有明显恢复,但是脾虚严重的动物在后期肝癌模型中的生存情况较差,说明大鼠脾虚证可能没有随着体重恢复而明显恢复。

总之,本研究的结果提示小承气汤在多因素制作脾虚模型过程中致脾虚作用比大承气汤强,脾虚明显是肝癌模型预后不良的重要因素。

(本文图 3 见彩插 8。)

#### 参 考 文 献

- [1] 刘友章,王昌俊,周俊亮,等. 长期脾虚模型大鼠细胞线粒体的研究 [J]. 中医药学刊, 2006, 24(3):391-394.
- [2] 王卓,彭颖,李晓波,等. 四君子汤对两种脾虚模型大鼠肠道菌群紊乱的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(9):825-829.
- [3] 王德山,张宇,王哲,等. 脾虚模型大鼠结肠上皮细胞水通道蛋白 8 表达变化 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2008, 16(2):71-73.
- [4] 李勇敏,韩育明,朱克俭,等. 饮食失节法脾虚模型小鼠症状的综合评价及缺陷研究 [J]. 湖南中医杂志, 2011, 27(4):126-127.
- [5] 姜晓文,于文会,张红蕾,等. 小鼠脾虚模型的制作及其评价 [J]. 中国兽医医药杂志, 2006, 25(3):41-43.
- [6] 宋祥福,吕喆,刘欣,等. 两种方式接种肝癌模型比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(2):96-98.
- [7] 李晓娟,白云峰,崔智,等. 常用实验动物肝癌模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(4):73-77.
- [8] 王书杰,韦艾凌,张永琴,等. 癌痛消方调控大鼠移植性肝癌细胞 Survivin 及 Bel-2 的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(12):1652-1657.

[收稿日期] 2013-10-28