谭骏岚, 易健, 王飞英, 等. 病证结合模式下肺癌实验动物模型的研究进展［J］. 中国比较医学杂志, 2022, 32(1): 111-119.
Tan JL, Yi J, Wang FY, et al. Progress in experimental lung cancer animal model under the combination of disease and syndrome［J］. Chin J Comp Med, 2022, 32(1): 111-119.
doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 01. 015

病证结合模式下肺癌实验动物模型的研究进展

谭骏岚[1],易 健[1,3],王飞英[1],万佳婧[1],覃 丽[1,2*],戴爱国[1,3*]

(1.湖南中医药大学医学院-血管生物学与转化医学湖南省高校重点实验室,长沙 410208;
2.湖南中医药大学干细胞中药调控与应用实验室,长沙 410208;
3.湖南中医药大学第一附属医院呼吸科,长沙 410021)

【摘要】 肺癌(lung cancer)的高发病率与高死亡率对人民健康造成了极大的危害。中医药在恶性肿瘤的防治方面具有广泛的临床经验,在治疗肺癌方面也显示出明显的优势。实验动物模型是肺癌研究领域中必不可少的一部分。构建中医特色的病证结合动物模型是以中医辨证论治理论为基础,将中医证候纳入了评价标准,使动物模型既符合西医疾病特征又具备中医证候的特点。本文总结了当前常用的肺癌动物模型和病证结合动物模型的构建方法与特点,以期为从事肺癌科学研究的中西医科研工作者提供参考。

【关键词】 肺癌;病证结合;实验动物模型;造模方法
【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856 (2022) 01-0111-09

Progress in experimental lung cancer animal model under the combination of disease and syndrome

TAN Junlan[1], YI Jian[1,3], WANG Feiying[1], WAN Jiajing[1], QIN Li[1,2*], DAI Aiguo[1,3*]

(1. Hunan Provincial Key Laboratory of Vascular Biology and Translational Medicine, Medical School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China. 2. Division of Stem Cell Regulation and Application, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208. 3. Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410021)

【**Abstract**】 Lung cancer is a malignant tumor with high mortality and morbidity and causes great harm to human health. Traditional Chinese medicine (TCM) has extensive clinical experience in the prevention and treatment of malignant tumor, and it also shows clear advantages in the treatment of lung cancer. Experimental animal models are an essential part of the lung cancer research field. The construction of the animal model of disease and syndrome combination with TCM characteristics is based on the the theory of syndrome differentiation and treatment in TCM, and the TCM symptoms are included in the evaluation criteria, so that the animal model conforms to the characteristics of western medicine disease and has the characteristics of TCM symptoms. This review summarizes the method and characteristics of commonly used lung cancer animal models and disease syndrome combination models to provide a reference for researchers engaged in lung cancer experimental research.

【**Keywords**】 lung cancer; integration of disease and syndrome; animal model; modeling method

---

[基金项目]国家自然科学基金(81973668);血管生物学与转化医学湖南省普通高等学校重点实验室(湘教通[2021]241 号)。
[作者简介]谭骏岚(1995—),男,博士研究生,研究方向:呼吸系统疾病中西结合防治研究。E-mail: 369580297@qq.com
[通信作者]覃丽(1977—),女,博士,教授,博士生导师,研究方向:中药抗肿瘤药理。E-mail: lqin1011@126.com
戴爱国(1966—)男,博士,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:呼吸系统疾病中西结合防治研究。
E-mail: daiaiguo@126.com
*共同通信作者

肺癌(lung cancer)主要包括小细胞肺癌(small cell lung cancer,SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC),是临床常见的呼吸系统恶性肿瘤。据最新的全球癌症流行病学调查显示[1]:全球肺癌的总体发病率排所有癌症中的第 2 位,约占 11.4%,而我国肺癌的发病率和死亡率仍位居所有肿瘤中的第 1 位。化疗、靶向治疗、手术治疗、放疗以及新兴的免疫治疗是当前现代医学对肺癌的主要治疗手段[2],但治疗的有效性、复发率及药物所产生的耐药问题和不良反应,尤其是相当一部分患者无法承担高昂的治疗费用,使肺癌的治疗仍面对较大挑战。中医药作为肺癌综合治疗中的重要组成部分,在提高肺癌晚期患者的生存期[3]及生活质量[4]、减轻放化疗毒副反应[5-6]、缓解临床症状[7]、调节免疫[8-9]方面发挥了重要作用。

动物模型是医学实验研究的重要载体。由于当前现代医学中的肺癌动物模型并不能较好的贴合中医临床辨证论治的核心特点,使得当前中医药治疗肺癌的机制研究零散及滞后,且缺乏全面系统的深入研究[10]。近年来,随着既符合西医疾病特征又具备中医证候特点的肺癌病证结合动物模型的构建成功,并逐渐应用于中医药治疗肺癌的机制研究,为充分揭示中医药治疗肺癌的疗效及深入了解其作用的相关机制奠定了基础。

1　肺癌动物模型

临床上,肺癌的发病机制较为复杂,因其高发病率与高死亡率,所以肺癌一直是肿瘤领域的研究热点。经过长期的研究探索,肺癌动物模型的构建技术已趋于成熟和稳定。目前肺癌动物模型的种类较多,常用的动物也具有多样性,常用的有裸鼠、A/J 小鼠、C57BL/6 小鼠、SD 大鼠、Wistar 大鼠、BABL/c 小鼠、转基因鼠等。目前肺癌动物模型中应用最多的为小鼠,因为其基因与人类的同源性高达 90%以上,常被用于制备移植性肺癌模型。其中肺癌鼠类模型如:化学诱导小鼠肺癌模型(苯并芘诱导[11-12]、香烟烟雾诱导[13-14]、N-甲基-N-硝基亚脲(MNU)诱导[15-16]、氨基甲酸乙酯诱导法[17-18]、反式-2,4-癸二烯醛(tt-DDE)诱导[19]、4-(甲基亚硝胺基)-1-(3-吡啶)-1-丁酮(NNK)诱导[20])、化学诱导大鼠肺癌模型(3-甲基胆蒽(MCA)+二乙基亚硝胺(DEN)诱导[21]、二甲基苯并蒽(DMBA)诱导[22]等)、肺癌异位移植模型[23-26]、肺癌原位移植模型[27-29]、基因修饰肺癌模型[30-31]、肺癌转移模型[32-34](见表 1)。不同肺癌动物模型的造模时间具有较大区别,化学诱导的肺癌模型和基因修饰肺癌动物模型的成瘤周期较长,而肺癌移植模型成瘤周期较短。不同的肺癌动物模型因研究的内容不同而具有各自不同的特点,如化学诱导的大、小鼠肺癌模型常适用于肿瘤预防药物的相关研究。转基因及移植性肺癌模型常用于肺癌病因学的研究。肺癌转移模型可用于新药研发。总的来说,理想的肺癌模型需具备以下特点:(1)模型的构建方法简单,可操作性强,造模周期适中,能较好的模拟肺癌病理过程。(2)模型具有较强的可重复性和稳定性,能较好的反映人体的机能状态,且模型构建费用适合。目前对于肺癌动物模型的评价方法主要通过动物的症状、生物荧光显像、肿瘤组织病理学及影像学的检查来进行评价[35]。

2　病证结合肺癌动物模型

中医古籍中虽没有出现“肺癌”这一病名,但在众多古书籍中所记载的“肺痈”、“肺积”、“息贲”与现代医学中肺癌的临床特点相符。正气不足是肺癌的主要发病机制和病因,正如《内经》云“正气存内,邪不可干”、“邪之所凑,其气必虚”。当机体肺气亏虚,邪毒可乘虚入肺,进而邪滞胸中,肺气郁闭,宣降功能失调,气机不畅,血行瘀滞,津液输布失调,聚而为痰,痰凝气滞,阻塞络脉,久则痰瘀胶结于肺而形成肺积。肺癌的发生发展是多个脏腑共同作用所致,病位虽在肺,与脾、肾密切相关。肺、脾、肾 3 脏相互联系、相互影响,共同参与肺癌的病理生理全过程。总的来说,肺癌属“本”虚“标”实,虚实夹杂性疾病,“本”虚为气阴两虚,“标”实为痰浊、瘀血、气滞。肺癌虚证以气阴两虚证、阴虚证为多见,实证以血瘀、气滞、痰凝为主。中医药治疗肺癌疗效确切,临床上根据肺癌的病因病机特点常以“扶正祛邪”为主要治法,“扶正”以补肺益气养阴、健脾益肾为主,“祛邪”以活血化瘀、清热解毒、化痰散结为要[36],姜怡等[37]研究表明通过益气养阴以扶正固表,清热解毒标本兼顾的方法并基于此理论指导下的益气养阴解毒方可以抑制小鼠肺癌原位移植瘤模型的肿瘤生长,并延长小鼠的生存期,其他的经典名方如具有清燥润肺、益气养阴功效的清燥救肺汤的临床疗效同样显著[38],并能通过干扰肺癌细胞的能量代谢来抑制 Lewis 肺癌荷瘤小

鼠肿瘤的增殖[39]。陈晓波等[40]根据“肾为先天之本、脾为后天之本”的理论创立的脾肾颗粒，具有培补脾肾、益气生血功效，可通过增强 NK 细胞的活性、提高 $CD4^+T$ 细胞数目和 $CD4^+/CD8^+$ 比值来抑制 Lewis 肺癌小鼠肿瘤的增殖。

动物模型已成为医学研究的重要手段。近年来，不断有研究者在基于中医基础理论上建立了具有中医特色的病证结合肺癌动物模型。目前肺癌病证结合动物模型有 4 种：气阴两虚证、脾气虚证、肾虚证、气滞血瘀证（见表 2）。

表 1　肺癌常见动物模型的构建方法

Table 1　Common animal model construction method for lung cancer

模型类型 Model types	造模方法 Modeling methods	动物类型 Animal types	特点 Characteristics	评价 Evaluations	参考文献 References
化学诱导小鼠肺癌模型 Chemical induced lung cancer mice models	苯并芘诱导法：小鼠腹腔内注射苯并芘。 Benzopyrene induction method, mice were injected intraperitoneally with benzopyrene. 香烟烟雾诱导法：小鼠暴露于香烟烟雾中。 Cigarette smoke induction method, mice are exposed to cigarette smoke. MNU 诱导法：小鼠腹腔内注射 MNU。 MNU induction method, mice are injected with MNU intraperitoneally. 氨基甲酸乙酯诱导法：小鼠腹腔注射氨基甲酸乙酯。 Ethyl carbamate induction method, mice were injected with ethyl carbamaten intraperitoneally. tt-DDE 诱导法：小鼠气管内灌注油烟中主要致癌成分 tt-DDE。 tt-DDE induction method, tt-DDE, the main carcinogenic component of oil fume perfused into the trachea of mice. NNK 诱导法：腹腔注射烟草中致癌物 NNK。 NNK induction method, intraperitoneal injection of the carcinogen NNK in tobacco.	A/J 小鼠、裸鼠、C57BL/6 小鼠 A/J mice, nude mice, C57BL/6 mice	利用生活中的化学致癌物诱导小鼠产生自发性肿瘤。 Use of chemical carcinogens in life to induce spontaneous tumors in mice.	此类模型临床吻合度高，能较好的模拟肿瘤微环境的形成，但造模周期较长，基因不稳定且不能发生转移。 This type of model has a high degree of clinical anastomosis and can better simulate the for mation of the tumor microenvironment but the modeling cycle is long, the gene is unstable, and the tumor cannot metastasize.	[11-20]
化学诱导大鼠肺癌模型 Chemical induced lung cancer rat models	MCA+DEN 诱导法：MCA 和 10% DEN 碘化油混悬液经气管插管喷入大鼠肺中； MCA + DEN induction method, a suspension of MCA and 10% DEN iodized oil was sprayed into the lungs of rats through a tracheal intubation. DMBA 诱导法：大鼠气管内滴注 DMBA。 DMBA induction method, instill DMBA into the trachea of rats.	Wistar 大鼠、SD 大鼠 Wistar rat, SD rat	化合物通过诱导基因突变导致肺癌的发生。 Compound induces the occurrence of lung cancer by inducing gene mutation.	此方法能很好的模拟临床 NSCLC 的形成过程，但造模周期长且不能发生转移。 This method can simulate the formation process of clinical NSCLC very well, but the modeling cycle is long and the metastasis cannot occur.	[21-22]

续表 1

模型类型 Model types	造模方法 Modeling methods	动物类型 Animal types	特点 Characteristics	评价 Evaluations	参考文献 References
肺癌异位移植模型 Lung cancer heterotopic transplantation models	将肺癌细胞悬液或者肺癌肿瘤组织碎块移植到小鼠的腋下、背部或后肢等。 Lung cancer cell suspension or lung cancer tumor tissue fragments were transplanted into the armpit, back or hind limbs of mice.	C57BL/6、BABL/c 小鼠、裸鼠等 C57BL/6, BABL/c mice, nude mice, etc	肿瘤在皮下生长成瘤。 Tumor cells grow into tumors under the skin.	此造模方法简单，有较高的成瘤率，能较好的模拟人肺癌组织病理学，但临床吻合度低，很难发生转移且与肺脏本身的肿瘤微环境存在差异。 This modeling method is simple, has a high tumor formation rate, and can better simulate the histopathology of human lung cancer. However, the clinical anastomosis is low, metastasis is difficult to occur, and the tumor microenvironment of the lung itself is different.	[23-26]
肺癌原位移植模型 Lung cancer orthotopic transplantation models	将肺癌细胞悬液或肺癌组织碎块注射接种于小鼠的支气管或肺内。 Lung cancer cell suspension or lung cancer tissue fragments were injected into the bronchus or lungs of mice.	裸鼠、C57 小鼠等 Nude mice, C57 mice, etc	在肺脏和支气管内形成肿瘤。 Tumors form in the lungs and bronchi.	此方法临床吻合度高，具有很高的成瘤率，能发生侵袭转移，较好的模拟了人体肺癌的肿瘤微环境。但操作难度大，容易导致小鼠气胸死亡。 This method has high clinical anastomosis, high tumor formation rate, invasion and metastasis, and agood simulation of the tumor microenvironment of human lung cancer. But the operation is difficult, and it is easy to cause the death of mice pneumothorax.	[27-29]
基因修饰肺癌模型 Genetically modified lung cancer models	特异性敲除某特定基因或将某基因过表达导入老鼠体内从而构建肺癌动物模型。 Knock out a specific gene or introduce overexpression of a gene into mice to construct an animal model of lung cancer.	转基因鼠 Transgenic mice	在老鼠特定组织或全身过表达癌基因，或敲除抑癌基因从而形成肿瘤。 Overexpress oncogenes in specific tissues or the whole body of mice, or knock out tumor suppressor genes to form tumors.	该模型临床吻合度高，老鼠所呈现的肿瘤微环境很接近自发肿瘤状态，但成瘤时间长，小鼠间异质性差异大使得重复率低于同系肿瘤模型。 This model has a high degree of clinic alanastomosis. The tumor microenvironment presented by the mice is very close to the spontaneous tumor state, but the tumor formation time is long, and the heterogeneity difference between mice is so large that the repetition rate is lower than that of the homologous tumor model.	[30-31]
肺癌转移模型 Lung cancer metastasis models	将肺癌细胞悬液可通过尾静脉注射或通过右后肢胫骨结节注射到老鼠体内构建肺癌转移瘤模型。 Lung cancer cell suspension can be injected into mice through the tail vein or through the tibial tubercle of the right hind limb to construct a lung cancer metastasis model.	裸鼠、NOD/SCID 小鼠、C57BL/6 小鼠、BALB/c 小鼠 Nude mice, NOD/SCID mice, C57BL/6 mice, BALB/c mice	肿瘤细胞通过形成血管内的癌栓经血液循环到肺组织，并粘附在血管上，逐步侵入肺实质演变成肺转移瘤。 Tumor cells circulate to the lung tissues through the blood through the formation of tumor thrombi in blood vessels, and adhere to the blood vessels, gradually invade the lung parenchyma and evolve into lung metastases.	尾静脉注射的转移率高，造模周期短，但容易出现过早转移。通过胫骨结节注射所构建的模型更符合人类肿瘤发生肺转移的临床病理过程，但操作难度较大。 Tail vein injection has a high metastasis rate and a short modeling cycle, but it is prone to premature metastasis. The model constructed by the tibial tubercle injection is more in line with the clinical pathological process of lung metastasis of human tumors, but the operation is more difficult.	[32-34]

2.1　气阴两虚证

气阴两虚证是肺癌患者临床最为常见的证型[41],通过肺癌病证结合动物模型对该证型的模拟具有广泛的应用价值。吴海良等[42]采用温热中药给予小鼠灌胃加“刨花烟熏”与 Lewis 肺癌荷瘤模型结合起来构建了肺癌气阴两虚病证结合模型,并通过观察小鼠的症状体征,检测白细胞介素 1(interleukin-1,IL-1)、丙二醛(malonaldehyde,MDA)水平及对肿瘤组织进行病理学检测等方法对模型进行评价。与对照组相比,病证结合模型组小鼠出现毛发逐渐脱落,无光泽,运动量下降,饮食减少,疲倦乏力,体重下降,气短等气阴两虚症状,且 IL-1、MDA 水平升高,病理学观察瘤组织均呈现中低分化的腺癌特征,肿瘤细胞呈浸润生长,坏死较少。同时进行以方测证,采用具有益气养阴作用的金复康口服液进行干预,发现益气养阴中药组的小鼠肿瘤相比较对照组明显缩小,进一步验证了气阴两虚肺癌模型的构建成功。除此之外,后续逐渐也有学者在此模型基础上,进行了益气养阴中药治疗肺癌的作用机制研究[43-48]。因此初步判断,该造模方法具有一定的稳定性和可靠性。

2.2　脾气虚证

脾为肺之母,“脾气散精,上归于肺”,所以肺癌病位虽在肺,但与脾密切相关,脾气虚证在肺癌患者中也是十分常见[41,49]。钱钧等[50]采用“苦寒泻下法+饥饿法+疲劳法”建立小鼠脾气虚证模型,可在造模 3、4 d 后陆续观察到小鼠的脾虚症状,并在造模后第 15 天通过血清检测发现脾气虚模型组小鼠血清 D-木糖和胃泌素水平明显低于对照组。随后将小鼠 Lewis 肺癌肿瘤细胞株接种于小鼠右腋皮下构建脾气虚肺癌模型。该课题组的其他成员也同样采取此方法构建脾气虚证肺癌模型,并以此为基础来对益气健脾中药如黄芪建中汤[51]、加味黄芪建中汤[52]、加味四君子汤[53]进行抗肺癌的作用机制研究。

2.3　肾虚证

肺癌乃“本虚标实”之疾病,而正气亏虚之根本在于肾虚[54],因此肾虚所形成的机体内环境也可能是导致肺癌发生发展的重要病因。豆萌萌等[55]采用手术去势和 Lewis 肺癌荷瘤模型结合构建肺癌肾虚病证结合模型,并动态观察小鼠的行为表现、肿瘤生长情况,检测雌二醇、睾酮和肿瘤组织病理等。结果发现肾虚肺癌模型小鼠出现怕光、胆小易惊,毛发干枯且光泽度降低,体重下降,活动时间减少等肾虚证候。与假手术组相比,肾虚肺癌模型组小鼠的肿瘤增长速度明显增快、肿瘤体积明显增大,血清雌二醇、睾酮明显下降,肺内转移率升高和肺转移结节数量增多,结果表明此模型是可行的,并且干扰因素较少,使模型的可操作性和可控性较强。

2.4　气滞血瘀证

吸烟、环境污染等可导致肺失宣降,气机失常,血行瘀滞,瘀毒气血胶结导致肺癌的发生[56],所以气滞血瘀证也是肺癌患者主要证型之一。彭召云等[57]采用“肾上腺素+束缚法”与 Lewis 肺癌荷瘤模型结合构建了肺癌气滞血瘀病证结合模型,动态观察小鼠的行为表现、并通过检测小鼠的瘤体体积和重量来进行评价。结果发现气滞血瘀肺癌模型组小鼠出现聚堆、易激惹、形体消瘦,进食量和活动量减少,口周、爪甲、肛周及耳缘出现散在脉络瘀血等与临床证候类似的气滞血瘀证候表现,与对照组相比,气滞血瘀肺癌模型组小鼠的肿瘤体积增大,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)的表达升高,该模型在一定程度上与临床的发病特点相符合,具备可行性。

3　讨论和展望

病证结合动物模型是病证结合药理学研究体系中的关键一环,也是中医药现代化研究中的重要组成部分。

3.1　病证结合肺癌动物模型的关键问题

肺癌病证结合动物模型在当前已有的疾病造模的基础上虽取得了一定的研究进展与成绩,但同时也存在较多的问题与争议。(1)造模思路单一,均采用“先证后病”的造模方法。目前肺癌的病证结合动物模型基本都是在先根据中医的病因建立证候模型,然后再通过皮下注射 LEWIS 肺癌细胞细胞复制肺癌疾病模型。该方法可能存在人为所施加的干预因素对疾病模型造成改变,且病与证二者相互影响并非独立,增加了干扰因素从而降低了模型的稳定性和准确性。“先证后病”的复合造模方法与中医临床的病证结合存在偏差。临床上辨证常通过“望、闻、问、切”四诊合参全面收集患者的诊疗信息,而在肺癌病证结合动物模型中,研究者大多只通过对动物的简单观察或进行一些相关检测来收集证候信息,因而无法对肺癌临床证型进行客观的复制。此外,“先证后病”的造模方法无法阐明

表 2 肺癌常用病证结合模型总结

Table 2 Summary of the syndrome combination model commonly used in lung cancer

辨证分型 Syndrome Differentiation	造模方法 Modeling methods	周期 Cycles	症状 Symptoms	评价 Evaluations	参考文献 References
气阴两虚证 Dual deficiency of qi yin syndrome	C57BL/6 小鼠用温热中药(麻黄、制附子、细辛、天南星各 9 g,灌胃浓度为 20 g/kg)灌胃加"刨花烟熏"(每天 1 次,每次 10 min)持续干预 10 d,然后将小鼠 Lewis 肺癌肿瘤细胞株接种于小鼠右腋皮下。 C57BL/6 mice were treated with warm traditional Chinese medicine (Ephedra, Fuzi, Asarum, Araceae, 9 g each, with an intragastric cconcentration of 20 g/kg) plus "shaving smoked" (1 time a day, every 10 minutes) continuous intervention After 10 days, the mice Lewis lung cancer tumor cell line was inoculated into the right axillary skin of the mice.	3 周左右 About 3 weeks	小鼠表现出明显的气阴两虚症状,如毛发脱落、竖立、无光泽,运动力明显下降,反应灵敏度降低,气短喘粗、神疲乏力、体重下降、饮食减少等。 Mice showed obvious symptoms of deficiency of both qi andyin, such as hair loss and dullness, significantly decreased exercise capacity, decreased response sensitivity, shortness of breath, breath lessness, fatigue, weight loss, and reduced diet.	操作简单,但干扰因素多,临床证型模拟度一般。 This method issimple to operate, but there aremany interfering factors, and the degree of clinical syndrome simulation is average.	[42-48]
脾气虚证 Spleen qi deficiency syndrome	C57BL/6 小鼠用大黄浓缩液灌胃(每只小鼠 50 mL/(kg·d),同时每天游泳至力竭、间隔 1 d 节食(下午 4:00 至第二天早晨 8:30),连续干预 14 d,随后在小鼠右腋皮下接种 Lewis 肺癌瘤株。 C57BL/6 mice were gavaged with rhubarb concentrate (50 mL/(kg·d) per mice), and at the same time, they swim to exhaustion every day, and eat at intervals of 1 day (4:00 pm to the next morning 8: 30), continuous intervention for 14 days, followed by inoculationof Lewis lung cancer strain into the right axilla of mice.	3~4 周左右 3~4 weeks	开始建立脾虚证模型后第 2、3 天起,小鼠出现便溏,并逐渐出现食欲减退、嗜卧、蜷缩、不好动、反应迟钝、毛色微发黄。 From the twice and third days after the establishment of the spleen-deficiency syndrome model, the mice developed loose stools, and gradually appearedloss of appetite, lying down, curled up, not moving, unresponsive, and slightly yellowish coat.	该方法与临床证型的模拟度相对较高,但操作步骤复杂,干扰因素多。 This method has a relatively high degree of simulation with clinical syndromes, but the operation stepsare complicatedand there are many interference factors.	[50-53]
肾虚证 Kidney deficiency syndrome	雄性 C57BL/6 小鼠,剥离并结扎输精管和摘除睾丸予以去势,2 周后在小鼠右腋皮下接种 Lewis 肺癌瘤株。 Male C57BL/6 mice were castrated by stripping and ligating the vas deferens and removing the testicles. Two weeks later, the mice were inoculated with the Lewis lung cancer strain under the skin of the right axilla.	5 周左右 About 5 weeks	小鼠怕光、胆小易惊、活动时间较少,毛色光亮度和体重下降。肾虚肺癌组小鼠相比较对照组成瘤速度更快,肿瘤体积更大。 Mice appear to be afraid of light, timid and easily startled, less active time, brilliance of coat color and weight loss. In addition, mice in the kidney-deficiency lung cancer group formed tumors faster andlarger tumors than the control.	干扰因素少,可重复性高,但模拟度一般,具有一定的操作难度。 There are few interference factors and high repeatability, butthe simulation degree is average and it has certain operation difficulty.	[55]

续表 2

辨证分型 Syndrome Differentiation	造模方法 Modeling methods	周期 Cycles	症状 Symptoms	评价 Evaluations	参考文献 References
气滞血瘀证 Qi stagnationand blood stasis syndrome	C57BL/6 小鼠,使用 0.1%盐酸肾上腺素按照 0.08 mg/kg 剂量注射到颈背部皮下,每天 1 次,0.2mL/d,同时用绷带细条束缚小鼠四肢,并加笼外木棒敲击 5 min,连续干预 1 周后在小鼠右腋皮下接种 Lewis 肺癌瘤株。In C57BL/6 mice, 0.1% epinephrine hydrochloride was injected into the back of the neck subcutaneously at a dose of 0.08 mg/kg, once a day, 0.2 mL/d. At the same time, the limbs of the mice were restrained with a thin bandage and added outside the cage knock on the wooden stick for 5 min, and after continuous intervention for 1 week, inoculate the Lewis lung cancer strain into the right axilla of the mice.	3 周左右 About 3 weeks	小鼠聚堆、易激惹、活动少、进食量减少,体重明显减轻,形体显瘦,毛发散乱,口周、齿印、爪甲、耳缘以及肛周有 1~3 处不同程度的脉络瘀血。Mice are crowded, irritable, less active, eating less, weight loss is obvious, the body is thin, the hair is scattered, there are 1~3 different levels of veins around the mouth, tooth prints, paw nails, ears and perianal. Blood stasis.	操作简单,但与临床证型的模拟度不高。Operation is simple, but the degree of simulation with the clinical syndrome is not high.	[57]

不同肺癌病理类型与证型之间的关联性。(2)缺乏客观、统一的模型评价标准。在肺癌病证结合动物模型中,造模目前主要采用肿瘤组织病理学、血液学指标检测等手段,对动物的证候评价主要通过观察动物的一般行为、宏观表征及行为学,缺乏成熟完善的证候指标评价体系。所以,目前学术界对病证结合动物模型的认可度不高。(3)肺癌疾病模型单一,病证结合模型应用较少。目前报道的肺癌病证模型中肺癌的疾病模型均是采用的肺癌异位移植模型,且细胞原位移植模型等其他肺癌疾病模型未见报道。目前报道的肺癌病证结合模型有 4 种,运用较多的为气阴两虚证、和脾气虚证,而"瘀血"致病理论在肺癌的发病中同样意义重大,但目前报道较少。此外,肺癌本质上来说是本虚标实,虚实夹杂性疾病,而目前虚证与实证相结合的复合证型模型尚未见报道。

3.2　病证结合肺癌动物模型的发展思路

在未来肺癌病证结合动物模型的研究中,笔者认为:(1)造模思路与方法上认为可以尝试采用将病因和证因同时干预模型动物,从而达到病证同期的造模效果。这样更为贴合临床上病证的演变规律,减少了干扰因素。但同时也得注意多因素的同时干预可能会造成动物的死亡,从而降低模型构建的成功率。同时可以引入单因素造模方法,即在不同病理类型的肺癌动物模型上动态观察动物的行为表征以及进行相关的指标检测等来判断"证"的类型,这样表现出来的"证"是疾病演变过程中自然的证候表现,符合中医临床"证"的概念,同时也能观察到不同病理类型的肺癌模型所表现出来的证的异同,并能在一定程度上能揭示肺癌不同证型与病理类型的关系。(2)动物的物种存在差异,造模因素繁杂各异,不同证型之间界定存在分歧等问题,可借助临床指南的制定思路对动物的类别的选择及不同证型的干预手段进行标准化建设去实现肺癌病证结合动物模型的"病-证-症"统一。(3)在模型评价方面,可以借助现代的系统生物学技术。系统生物学的"整合"思想与中医学的整体观念相切合,且弥补了传统四诊方法的不足与局限[58]。当肺癌病证结合模型建立后,一方面收集小鼠的行为学表现特征,另一方面利用代谢组学、蛋白质组学、基因组学技术筛选模型动物不同证候的特异性生物标记物从而将中医的证候指标进行客观的量化,并可以此为药物靶点用以检验方药的有效性。同时,"以方测证"反向验证评价肺癌模型缺乏针对性,且方证之间的紧密性不足,所以当使用"以方测证"反向验证法时,应当充分考虑到中药多靶点和一方可治疗对证的特点,因此需设置对照试验来增加研究结果的特异性。

综上所述,肺癌病证结合动物模型目前仍处于起步的摸索阶段,动物模型的总体稳定性较差,且模型构建操作技术不够成熟。因此,必须在遵循动物模型必备的稳定性、可重复性、可行性、客观真实

性等原则条件下,不断去优化现有的肺癌病证结合模型构建技术和方法,并借助现代分子生物学技术完善模型的评价标准,加大研发力度,提高肺癌病证模型的创新性,构建出符合中医临床辨证特点的高认可度的肺癌病证结合动物模型。

参考文献:

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] Thai AA, Solomon BJ, Sequist LV, et al. Lung cancer [J]. Lancet, 2021, 398(10299): 535-554.

[3] Liao YH, Li CI, Lin CC, et al. Traditional Chinese medicine as adjunctive therapy improves the long-term survival of lung cancer patients [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2017, 143(12): 2425-2435.

[4] 王学谦, 侯炜, 郑佳彬, 等. 中医综合治疗方案维持治疗晚期非小细胞肺癌的多中心、大样本、前瞻性队列研究 [J]. 中医杂志, 2020, 61(8): 690-694.

[5] Li Y, Xiong C, Qin E, et al. Effectiveness of traditional Chinese medicine on chemo-radiotherapy induced leukaemia in patients with lung cancer: a meta-analysis [J]. J Tradit Chin Med, 2018, 38(5): 661-667.

[6] Shen S, Jiang S. Chinese herbal medicines of supplementing Qi and nourishing Yin combined with chemotherapy for non-small cell lung cancer: a meta-analysis and systematic review [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(6): 8841-8848.

[7] Yang J, Zhu X, Yuan P, et al. Efficacy of traditional Chinese medicine combined with chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC): a meta-analysis of randomized clinical trials [J]. Support Care Cancer, 2020, 28(8): 3571-3579.

[8] Wen J, Yang T, Wang J, et al. Kanglaite injection combined with chemotherapy versus chemotherapy alone for the improvement of clinical efficacy and immune function in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020(1): 8586596.

[9] 张朋, 刘苓霜, 姜怡, 等. 病证结合的中医药维持治疗方案干预晚期非小细胞肺癌免疫逃逸的临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(11): 5234-5239.

[10] 王菊勇, 郑展, 王青, 等. 肺癌病证结合动物模型研究的思考 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(6): 1256-1258.

[11] Alzahrani AM, Rajendran P. Pinocembrin attenuates benzo(a) pyrene-induced CYP1A1 expression through multiple pathways: an *in vitro* and *in vivo* study [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2021, 35(4): e22695.

[12] Lou Y, Guo Z, Zhu Y, et al. *Houttuynia cordata* Thunb. and its bioactive compound 2-undecanone significantly suppress benzo (a) pyrene-induced lung tumorigenesis by activating the Nrf2-HO-1/NQO-1 signaling pathway [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 242.

[13] Cedillo JL, Bordas A, Arnalich F, et al. Anti-tumoral activity of the human-specific duplicated form of α7-nicotinic receptor subunit in tobacco-induced lung cancer progression [J]. Lung Cancer, 2019, 128: 134-144.

[14] Wang GZ, Zhang L, Zhao XC, et al. The Aryl hydrocarbon receptor mediates tobacco-induced PD-L1 expression and is associated with response to immunotherapy [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1125.

[15] Saggese P, Martinez CA, Tran LM, et al. Genotoxic treatment enhances immune response in a genetic model of lung cancer [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(14): 3595.

[16] Westcott PM, Halliwill KD, To MD, et al. The mutational landscapes of genetic and chemical models of Kras-driven lung cancer [J]. Nature, 2015, 517(7535): 489-492.

[17] Jiang Y, Martin J, Alkadhimi M, et al. Olaparib increases the therapeutic index of hemithoracic irradiation compared with hemithoracic irradiation alone in a mouse lung cancer model [J]. Br J Cancer, 2021, 124(11): 1809-1819.

[18] Zheng J, Guo X, Nakamura Y, et al. Overexpression of PRDX4 modulates tumor microenvironment and promotes urethane-induced lung tumorigenesis [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 8262730.

[19] Wang CK, Chang LW, Chang H, et al. Pulmonary changes induced by trans, trans-2,4-decadienal, a component of cooking oil fumes [J]. Eur Respir J, 2010, 35(3): 667-675.

[20] Stabile LP, Farooqui M, Kanterewicz B, et al. Preclinical evidence for combined use of aromatase inhibitors and NSAIDs as preventive agents of tobacco-induced lung cancer [J]. J Thorac Oncol, 2018, 13(3): 399-412.

[21] Zhang T, Chen Y, Ge Y, et al. Inhalation treatment of primary lung cancer using liposomal curcumin dry powder inhalers [J]. Acta Pharm Sin B, 2018, 8(3): 440-448.

[22] Kumar K, Ghanghas P, Sanyal SN. Chemopreventive action of Imatinib, a tyrosine kinase inhibitor in the regulation of angiogenesis and apoptosis in rat model of lung cancer [J]. Mol Cell Biochem, 2018, 447(1-2): 47-61.

[23] Konen JM, Rodriguez BL, Padhye A, et al. Dual inhibition of MEK and AXL targets tumor cell heterogeneity and prevents resistant outgrowth mdiated by the epithelial-to-mesenchymal transition in NSCLC [J]. Cancer Res, 2021, 81(5): 1398-1412.

[24] Wang J, Chen H, Li W, et al. Cordyceps acid alleviates lung cancer in nude mice [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2021, 35(3): e22670.

[25] Zheng Y, Wang Z, Wei S, et al. Epigenetic silencing of chemokine CCl_2 represses macrophage infiltration to potentiate tumor development in small cell lung cancer [J]. Cancer Lett, 2021, 499: 148-163.

[26] 司海龙, 陈玉, 苟涛, 等. 培元抗癌汤通过 PI3K-AKT-mTOR

信号通路调节 Lewis 肺癌自噬抑制肿瘤生长和转移的实验研究［J］. 北京中医药大学学报, 2021, 44(8): 722-728.
［27］ Ishiwata T, Seki T, Gregor A, et al. A preclinical research platform to evaluate photosensitizers for transbronchial localization and phototherapy of lung cancer using an orthotopic mouse model［J］. Transl Lung Cancer Res, 2021, 10(1): 243-251.
［28］ Nakajima T, Anayama T, Matsuda Y, et al. Orthotopic lung cancer murine model by nonoperative transbronchial approach［J］. Ann Thorac Surg, 2014, 97(5): 1771-1775.
［29］ 杨晓华, 郭莉莉, 路丽明. 耐紫杉醇肺原位小鼠移植瘤模型的建立和鉴定［J］. 中国实验动物学报, 2021, 29(3): 275-283.
［30］ Augert A, Mathsyaraja H, Ibrahim AH, et al. MAX functions as a tumor suppressor and rewires metabolism in small cell lung cancer［J］. Cancer Cell, 2020, 38(1): 97-114.
［31］ Mollaoglu G, Jones A, Wait SJ, et al. The lineage-defining transcription factors SOX2 and NKX2-1 determine lung cancer cell fate and shape the tumor immune microenvironment［J］. Immunity, 2018, 49(4): 764-779.
［32］ Li B, Zhu L, Lu C, et al. circNDUFB2 inhibits non-small cell lung cancer progression via destabilizing IGF2BPs and activating anti-tumor immunity［J］. Nat Commun, 2021, 12(1): 295.
［33］ Uzunalli G, Dieterly AM, Kemet CM, et al. Dynamic transition of the blood-brain barrier in the development of non-small cell lung cancer brain metastases［J］. Oncotarget, 2019, 10(59): 6334-6348.
［34］ 王静, 刘芳, 杨晓琼. BMP9 对裸鼠非小细胞肺癌骨转移的影响［J］. 检验医学与临床, 2018, 15(23): 3566-3569.
［35］ 张娜, 刘学芳, 冯素香, 等. 肺癌骨转移动物模型研究进展［J］. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 128-131, 137.
［36］ 王丹阳, 闫斌, 田国庆. 近五年中医药治疗原发性支气管肺癌临床研究概况［J］. 中医杂志, 2021, 62(18): 1643-1647.
［37］ 姜怡, 张朋, 蔡雨晴, 等. 益气养阴解毒方及其联合抗 CTLA-4 单抗对肺癌原位模型小鼠生存期及瘤体组织 Foxp3、CTLA-4 蛋白表达的影响［J］. 中医杂志, 2021, 62(10): 908-913.
［38］ 顾芳红, 周建伟, 谢立芳. 清燥救肺汤加减对晚期非小细胞肺癌化疗患者生活质量和生存期的影响［J］. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(11): 142-147.
［39］ 陈江涛, 余功, 谢斌. 清燥救肺汤对肺癌磷酸戊糖能量代谢途径的关键酶 G6PD 活性及其调控因子的影响［J］. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(4): 59-63.
［40］ 陈晓波, 郝世凯, 王玉亮, 等. 健脾益肾颗粒对 Lewis 肺癌小鼠免疫功能的影响［J］. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(2): 237-241.
［41］ 刘文瑞, 冯贞贞, 李建生. 基于文献的不同分期非小细胞肺癌患者中医证候、证素分布规律研究［J］. 中医杂志, 2021, 62(18): 1635-1639.
［42］ 吴海良, 田静. 气阴两虚型肺癌动物模型的建立和评价［J］. 浙江中西医结合杂志, 2012, 22(12): 941-942.
［43］ 蓝巧玉, 蒋锐沅, 姚菲, 等. 基于 HMGB1/TLR4/NF-κB 通路探究补肺消积饮对气阴两虚型炎症肺癌荷瘤小鼠的肿瘤抑制作用［J］. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 524-528.
［44］ 李杨, 杨玲玲, 白彦丽, 等. 黄芪多糖对气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤生长、转移及细胞周期的影响［J］. 肿瘤防治研究, 2018, 45(3): 131-137.
［45］ 师林, 黄圆圆, 柯斌. 加味龟鹿二仙胶汤联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠免疫功能的影响［J］. 中药材, 2021, 27(18): 454-457.
［46］ 师林, 黄圆圆, 柯斌. 加味龟鹿二仙胶汤联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠耐药相关基因及 IL-7 介导的 Wnt/β-catenin 信号通路的影响［J］. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 66-72.
［47］ 师林, 柯斌, 黄圆圆, 等. 加味龟鹿二仙胶汤联合顺铂对小鼠 Lewis 肺癌组织、骨髓组织 TGF-β_1/Smad 信号通路的影响［J］. 中药材, 2017, 40(10): 2419-2423.
［48］ 师林, 柯斌, 黄圆圆, 等. 加味龟鹿二仙胶汤联合顺铂对小鼠 Lewis 肺癌 PI3K/AKT/mTOR 通路的影响［J］. 中成药, 2017, 39(10): 2148-2152.
［49］ 郭雯, 冯贞贞, 王露, 等. 基于文献的肺癌常见中医证候研究［J］. 中医杂志, 2021, 62(16): 1447-1454.
［50］ 钱钧, 姜涛, 包素珍, 等. 加味黄芪建中汤通过 miR-574-5p 对脾气虚 Lewis 肺癌小鼠 Wnt/β-catenin 信号转导途径的调控机制研究［J］. 中华中医药杂志, 2019, 34(1): 298-301.
［51］ 艾叶盛, 包素珍. 黄芪建中汤抑制脾气虚证肺癌小鼠肿瘤转移的实验研究［J］. 山西中医学院学报, 2013, 14(2): 16-18.
［52］ 包素珍, 张誉引, 陈淇. 加味黄芪建中汤对脾虚证肺癌小鼠 VEGF 的表达及 MVD 的影响［J］. 陕西中医药大学学报, 2016, 39(1): 99-101.
［53］ 包素珍, 李恒楠. 加味四君子汤干预脾气虚肺癌 survivin 基因研究［J］. 山西中医学院学报, 2015, 16(6) :8-10.
［54］ 田建辉, 上官文姬. 补肾治则在肺癌治疗中应用探讨［J］. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(4): 9-11.
［55］ 豆萌萌, 王淑玲, 周学良, 等. 去势小鼠肾虚肺癌模型建立后性激素对肺癌发生的作用机制探讨［J］. 肿瘤, 2017, 37(9): 917-923, 952.
［56］ 徐杉智, 余功, 谢斌. 肺癌的病机分析及方剂应用探索［J］. 辽宁中医杂志, 2018, 45(2): 270-272.
［57］ 彭召云, 郑心, 鲁兴隆. 肺抑瘤膏对气滞血瘀质 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长及 VEGF-C 表达的影响［J］. 时珍国医国药, 2015, 26(12): 2895-2896.
［58］ 袁顺, 王宁, 孟丹丹, 等. 系统生物学在中医证候模型评价方法中的应用与研究进展［J］. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(10): 1252-1257.

〔收稿日期〕2021-11-04