

雪峰虫草不同提取部位对诱导 NB4 和 U937 细胞凋亡的影响

蔡 媛, 杜 青*, 谢芳一, 张水寒
(湖南省中医药研究院中药研究所, 湖南长沙 410006)

摘要: 目的 探讨雪峰虫草不同提取部位对诱导 NB4 和 U937 细胞凋亡的影响机制。方法 将对数期 2 种细胞随机分为正常组、DMSO 组、水提取物组、乙酸乙酯提取物组和醇提取物组, 采用流式细胞仪检测雪峰虫草不同提取物诱导 NB4、U937 细胞凋亡作用, 采用 Western blot 法检测 NB4、U937 细胞内 Bcl-2、Cyt C、Bax、caspase-9 蛋白表达。结果 正常组与 DMSO 组无统计学差异 ($P>0.05$), 与 DMSO 组比较, 水提取物组、乙酸乙酯提取物组和醇提取物组 NB4、U937 细胞凋亡增加 ($P<0.05$, $P<0.01$); 相较水提取物组和醇提取物组, 乙酸乙酯提取物组诱导细胞凋亡作用更为明显 ($P<0.05$, $P<0.01$); NB4、U937 细胞内 Cyt C、Bax 和 caspase-9 蛋白表达增加 ($P<0.05$, $P<0.01$), Bcl-2 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 雪峰虫草不同提取物皆能诱导 NB4、U937 细胞凋亡, 且乙酸乙酯提取物效果最佳, 其作用机制可能与线粒体凋亡途径中细胞内 Bax/Bcl-2 蛋白表达比例失调, 胞质中 Cyt C 分泌增多, caspase-9 蛋白表达增加有关。

关键词: 雪峰虫草; NB4; U937; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)08-2169-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.08.036

急性淋巴细胞性白血病 (Acute lymphocytic leukemia, ALL) 是一种进行性造血系统恶性肿瘤, 约占肿瘤发病率 5%, 且多发于儿童^[1]。目前, 对急性白血病的治疗主要是化疗、骨髓移植、靶向治疗及细胞免疫治疗、CAR-T 治疗等, 但其有损伤机体正气、排异反应、细胞因子风暴等不良反应^[2]。因此, 临床迫切需求能够扶正祛邪、杀伤肿瘤细胞的药物。临床实践证明中医药治疗肿瘤有其独特优势, 具有疗效好、多靶点、低毒性等特点, 从中药中寻找高效、低毒、不产生耐药性的抗肿瘤药物是一个切实可行的途径^[3]。虫草类资源因其含核苷、多肽、萜类、多糖、甾醇等化合物, 具有不同程度抗肿瘤活性, 一直是肿瘤药物研发的热点^[4], 但因其稀缺, 价格昂贵, 在临床上使用受限。雪峰虫草是线虫草菌科真菌雪峰虫草菌 (*Ophiocordyceps xuefengensis*) 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的干燥复合体, 与冬虫夏草亲缘关系极近^[5], 是一种新的虫草资源, 具有显著的防癌治癌的效果。课题组前期发现雪峰虫草, 对 NB4 和 U937 细胞的 IC_{50} 为 3.76 和 1.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 根据《国家新药 (西药) 临床前研究指导原则汇编》规定可判定其在体外对细胞具有杀伤作用^[6], 初步认定雪峰虫草具有较强的体外抗肿瘤活性, 但其主要药效物质基础及具体的机制尚未明确。为了探究雪峰虫草物质组成, 明确其高效抗肿瘤活性物质的分布, 本实验以早

幼粒白血病细胞 NB4 和 U937 为研究对象, 采用不同极性溶剂对雪峰虫草进行萃取后给药干预, 初探其主要药效成分群, 并分析其抗肿瘤可能的作用机制。

1 材料

1.1 细胞株 早幼粒白血病细胞株 (NB4 和 U937), 购于中国科学院上海细胞库。

1.2 药物与试剂 雪峰虫草采于湖南省洞口县雪峰山脉, 经湖南省中医药研究院中药研究所生药室刘浩副主任鉴定为雪峰虫草 *Ophiocordyceps xuefengensis*。胎牛血清 FBS (美国 Gibco 公司, 批号 42A0071K); DMEM 高糖培养基 (美国 Gibco 公司, 批号 8117165); 兔抗小鼠 Cyt C 抗体 (bs-4563R)、兔抗小鼠 Bcl-2 抗体 (10993-1-AP)、兔抗小鼠 Bax 抗体 (50599-2-Ig)、兔抗小鼠 caspase-9 抗体 (10380-1-AP) 均为美国 proteintech 公司; FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit 购自美国 BD 公司。

1.3 仪器 IX71 型荧光倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 超低温冰箱 (青岛海尔电器国际股份有限公司); 三气培养箱 (德国 Eppendorf 公司); 高压蒸汽灭菌锅 (美国 Zealway 公司); 流式细胞仪 (美国 BD 公司); 电泳仪、蛋白印迹成像和定量分析系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 药物制备 将雪峰虫草烘干研末, 称定后置于

收稿日期: 2020-03-19

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81503197); 湖南省自然科学基金项目 (2018JJ3310); 湖南省中医药管理局项目 (201810); 湖南省中医药研究院科研计划项目 (201705)

作者简介: 蔡媛 (1988—), 女, 硕士, 助理研究员, 从事中药学研究。E-mail: tcmuanyuan@163.com

* 通信作者: 杜青 (1991—), 女, 硕士, 助理研究员, 从事中药药理学研究。E-mail: tcmqingqing@163.com

2 000 mL圆底烧瓶, 加入 8 倍量蒸馏水回流提取 2 次, 每次 2 h, 滤过, 收集滤液并冷冻干燥得到水提取物, 1 g 提取物相当于生药 122 g。残渣加入 6 倍量 75% 乙醇回流提取 2 次, 每次 2 h, 滤过, 收集滤液冷冻干燥得到醇提取物, 1 g 提取物相当于生药 126 g。取醇提取物冷冻干燥粉用 1.5 倍体积乙酸乙酯连续萃取至乙酸乙酯层近无色, 合并萃取液, 冷冻干燥至粉末获得乙酸乙酯提取物, 1 g 提取物相当于生药 138 g。精密称定 5 mg 不同提取物溶于 25 μ L DMSO, 再定容至 0.5 mL, 超声 15 min, 0.22 μ m 微孔滤膜过滤除菌, 得到终质量浓度 10 倍的提取物母液 (10 mg/mL), 后续稀释至所需质量浓度进行给药干预。

2.2 细胞培养 将 NB4、U937 细胞培养于含有 DMEM 高糖培养基、10% FBS、1% 双抗和 1% L-谷氨酰胺制成的培养液中, 放置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱, 取对数期细胞进行实验。

2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡情况 取对数生长期的 NB4、U937 细胞, 离心, 弃上清, 用 Binding Buffer 重悬细胞, 按照 FITC Annexin V/PI 凋亡试剂盒说明书操作, 加入荧光染料 PI 和 FITC Annexin V 孵育后, 流式细胞仪上机检测。此实验重复 3 次。左下象限 Q4 区代表活细胞 (Annexin V⁻/PI⁻), 左上象限 Q1 区代表死亡细胞 (Annexin V⁻/PI⁺), 右下象限 Q3 区代表早期凋亡细胞 (Annexin V⁺/PI⁻), 右上象限 Q2 区代表晚期凋亡细胞 (Annexin V⁺/PI⁺)。

2.4 Western blot 法检测 NB4、U937 细胞内凋亡蛋白表达 取对数生长期的 NB4、U937 细胞, 并接种至 96 孔板中, 将两种细胞均随机分为正常组、DMSO 组、水提取物组、乙酸乙酯提取物组和醇提取物组, 合计 10 组。细胞静置培养 24 h 后, 收集细胞悬液, 1 200 r/min 离心 5 min, 重悬细胞, 然后按分组详情分别加入 0.5% DMSO、1 mg/mL 水提取物、1 mg/mL 乙酸乙酯提取物、1 mg/mL 醇提取物,

正常组则给予等量培养液。所有组细胞继续培养干预作用 24 h 后, 收集细胞悬液, 1 500 r/min 离心 10 min, 去上清, 加入蛋白酶抑制剂 PMSF 和 RIPA 细胞裂解液 (1 : 100) 的蛋白质抽提试剂, 于冰上裂解 2 h, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清、分装, -80 $^{\circ}$ C 保存、备用。采用 BCA 试剂盒分别测定蛋白浓度, 并根据各蛋白分子量大小选择合适电泳分离胶和浓缩胶。待蛋白样本与上样缓冲液混匀、变性后, 进行上样处理, 经电泳、转膜、封闭后, 加入一抗稀释液, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 加入 HRP 标记的二抗缓冲液, 室温振荡孵育 1 h, 最后采用 ECL 化学发光检测, 并通过蛋白印迹成像和定量分析系统进行扫描, 并计算各蛋白的相对光密度值。

2.5 统计学处理 采用 SPSS Statistics 17.0 软件进行分析, 实验数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示。数据满足正态性且组间方差齐, 则采用单因素方差分析; 以 Bonferroni 法进行两组间的比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 雪峰虫草不同提取物对 NB4、U937 细胞凋亡的影响 与正常组比较, DMSO 组细胞凋亡率无明显变化, 说明 DMSO 溶剂对细胞的凋亡无影响, 其余提取物组 NB4、U937 细胞凋亡率均增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 相较水提取物组和醇提取物组, 乙酸乙酯提取物组诱导细胞凋亡作用更为明显。见图 1~2。

3.2 雪峰虫草不同提取物对 NB4、U937 细胞凋亡蛋白表达的影响 正常组与 DMSO 组无明显差异, 与正常组比较, 水提取物组、乙酸乙酯提取物组和醇提取物组 NB4、U937 细胞内 Cyt C、Bax 和 caspase-9 蛋白表达增加, Bcl-2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 相较水提取物组, 乙酸乙酯提取物组 NB4、U937 细胞内 Cyt C、Bax 和 caspase-9 蛋白表达增加, Bcl-2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1~2、图 3~4。

表 1 雪峰虫草不同提取物对 NB4 细胞凋亡蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

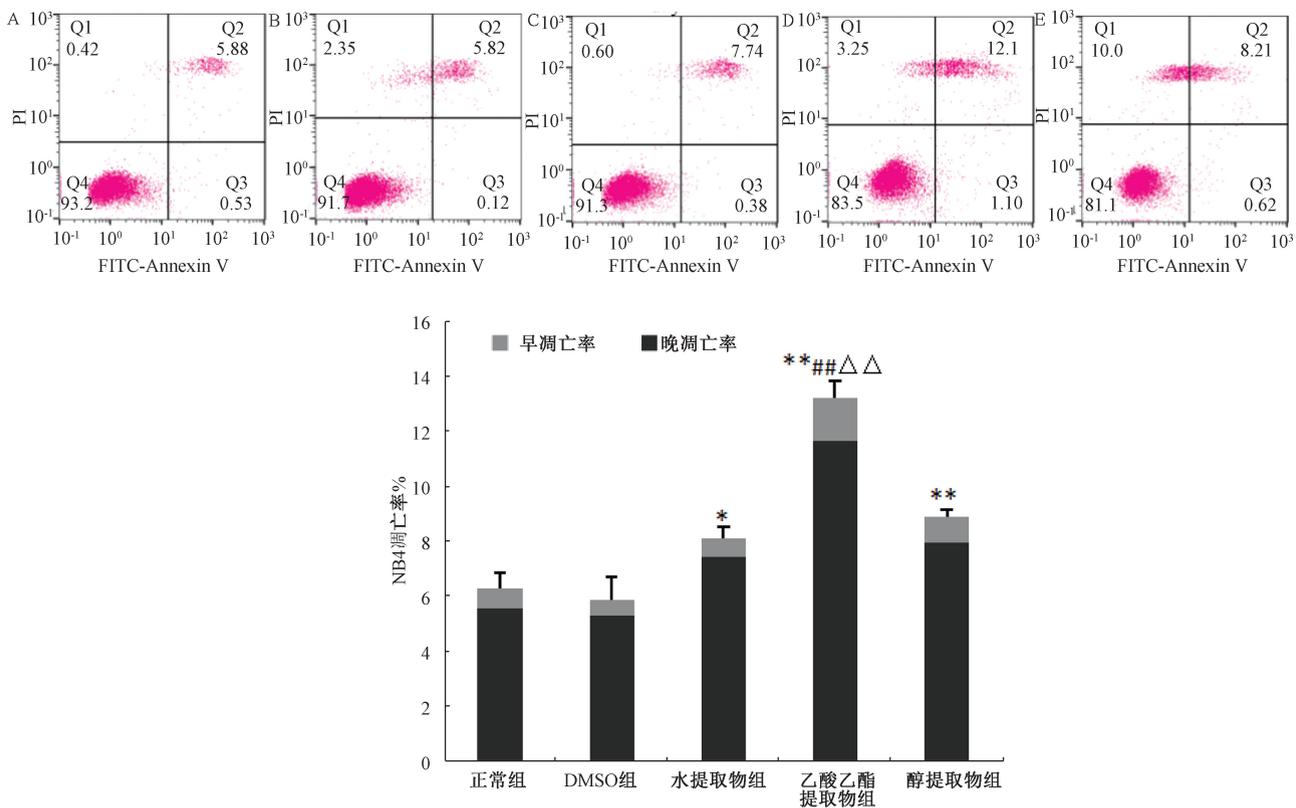
组别	Bax	Bcl-2	caspase-9	Cyt C
正常组	0.48 \pm 0.09	0.74 \pm 0.06	0.40 \pm 0.05	0.34 \pm 0.11
DMSO 组	0.52 \pm 0.05	0.73 \pm 0.08	0.38 \pm 0.09	0.38 \pm 0.08
水提取物组	0.82 \pm 0.07**	0.52 \pm 0.12*	0.82 \pm 0.07**	0.75 \pm 0.10**
乙酸乙酯提取物组	1.02 \pm 0.09** Δ	0.31 \pm 0.04***	1.07 \pm 0.12** $\#$	0.97 \pm 0.11**
醇提取物组	0.86 \pm 0.08**	0.29 \pm 0.10**	1.03 \pm 0.09**	0.92 \pm 0.10**

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与水提取物组比较, $\#P < 0.05$;与醇提取物组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

表 2 雪峰虫草不同提取物对 U937 细胞凋亡蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

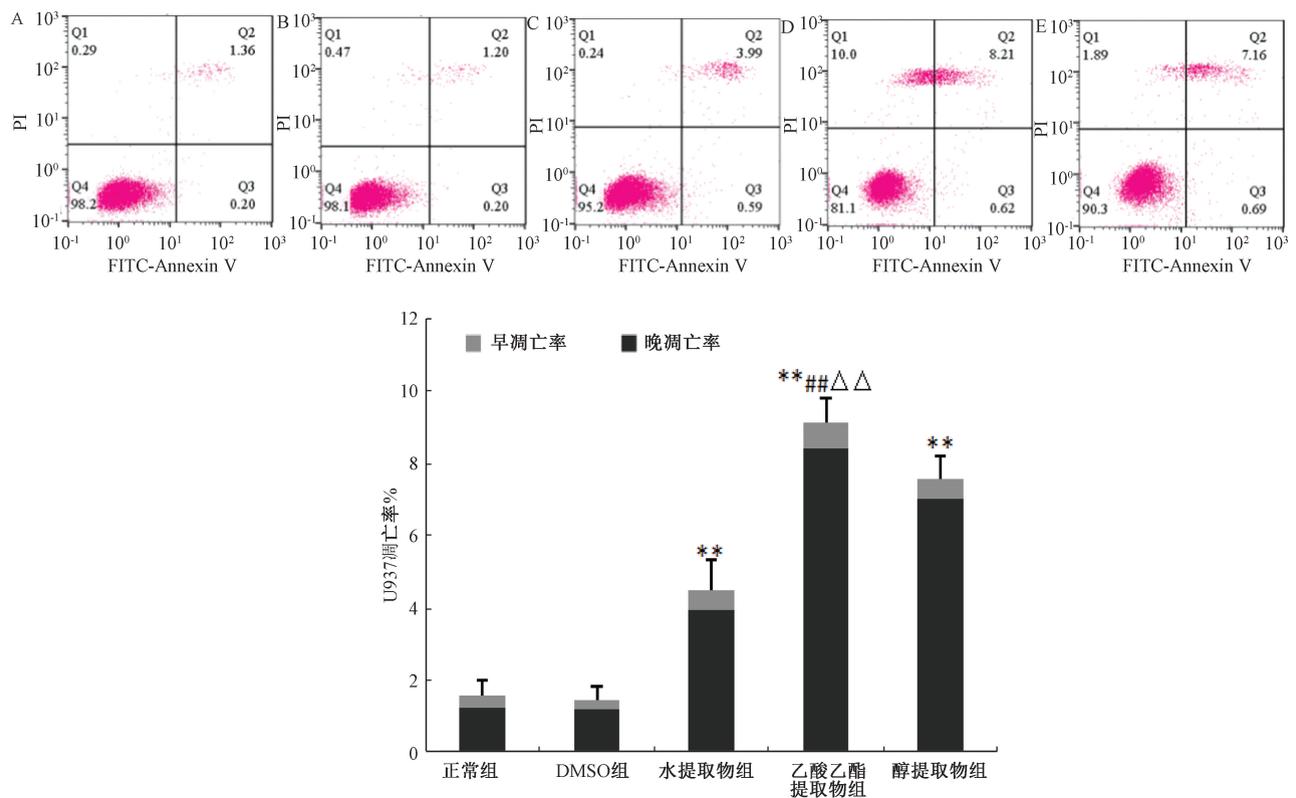
组别	Bax	Bcl-2	Caspase-9	Cyt C
正常组	0.22 \pm 0.07	0.90 \pm 0.08	0.41 \pm 0.07	0.13 \pm 0.04
DMSO 组	0.17 \pm 0.02	0.78 \pm 0.05	0.37 \pm 0.11	0.14 \pm 0.03
水提取物组	0.43 \pm 0.11*	0.58 \pm 0.07**	0.59 \pm 0.09*	0.31 \pm 0.03**
乙酸乙酯提取物组	0.76 \pm 0.10** $\#$	0.42 \pm 0.03***	0.82 \pm 0.06** $\#$	0.54 \pm 0.06***
醇提取物组	0.77 \pm 0.08**	0.42 \pm 0.08**	0.76 \pm 0.11**	0.52 \pm 0.09**

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与水提取物组比较, $\#P < 0.05$,*** $P < 0.01$ 。



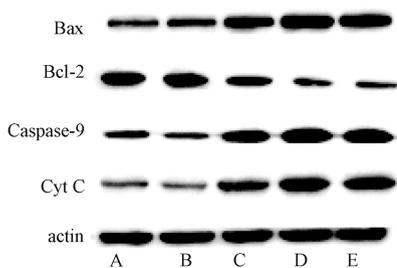
注：A~E 分别为正常组、DMSO 组、水提取物组、乙酸乙酯提取物组、醇提取物组。与正常组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与水提取物组比较，## $P < 0.01$ ；与醇提取物组比较， $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

图1 雪峰虫草不同提取物对 NB4 细胞凋亡率的影响 (n=3)



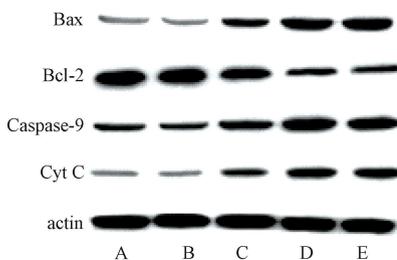
注：A~E 分别为正常组、DMSO 组、水提取物组、乙酸乙酯提取物组、醇提取物组。与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与水提取物组比较，## $P < 0.01$ ；与醇提取物组比较， $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

图2 雪峰虫草不同提取物对 U937 细胞凋亡率的影响 (n=3)



注：A~E分别为正常组、DMSO组、水提取物组、乙酸乙酯提取物组、醇提取物组。

图3 雪峰虫草不同提取物对NB4细胞凋亡蛋白的影响



注：A~E分别为正常组、DMSO组、水提取物组、乙酸乙酯提取物组、醇提取物组。

图4 雪峰虫草不同提取物对U937细胞凋亡蛋白的影响

4 讨论

我国虫草类药物资源一直是抗肿瘤药物研发热点，虫草中含有核苷、多肽、生物碱、萜类、多糖、甾醇等化合物，具有良好的抗肿瘤活性^[7-8]。有研究表明，冬虫夏草对肺癌、前列腺癌、神经母细胞瘤等，都显示出不同程度的抑制作用，可与抗癌药物联用，共同发挥肿瘤抑制作用。但因虫草资源稀缺，市场价格昂贵，在临床上尚未得到广泛应用。雪峰虫草作为第四次全国中药资源普查发现的一种虫草新资源，具有生态适应幅度广，资源量大等优势，与冬虫夏草的亲缘关系最近。经主要功效成份与药理学对比研究，具有相同的腺苷、虫草素、虫草酸、氨基酸等化学成分及类似的功效，在洞口县瑶族民间作为冬虫夏草代用品有近百年应用历史，效果显著，是冬虫夏草最有前景的代用品。

目前，抗肿瘤药物诱导肿瘤细胞凋亡的最主要机制是影响信号传导途径，即死亡受体途径和线粒体途径^[9]。大量基因或相关蛋白以直接或间接的方式参与了凋亡信号的传导与调控。在细胞凋亡的内源途径中，线粒体处于中心地位^[10]，当线粒体产生能量代谢障碍，线粒体膜完整性发生改变，能促使线粒体细胞色素C(Cyt C)释放入胞质中，与凋亡因子Apaf-1结合并通过caspases募集结构域招募caspase-9形成Cyt-C-Apaf-1-caspase-9前体“凋亡体”，激发caspase级联反应，进而导致细胞凋亡^[11-12]。另外，凋亡因子Cyt C的释放源于线粒体外膜通透性的改变，其主要受到Bcl-2蛋白家族的调控，其主要包括Bcl-2亚家族蛋白中的抑凋亡蛋白Bcl-2和Bax亚家族的促凋亡蛋白Bax

等，在线粒体途径信号传导中起着重要作用^[13]。本实验通过采用雪峰虫草不同提取物作用于U937和NB4细胞，通过FLC检测细胞增殖和凋亡情况，发现不同提取物对淋巴细胞具有不同程度的抑制，其中乙酸乙酯提取部位最为明显。为了验证雪峰虫草提取物是否通过调控线粒体途径通路诱导U937和NB4细胞发生凋亡，利用Western blot实验对通路相关蛋白Bax、caspase-9、Cyt C、Bcl-2表达情况进行检测，发现雪峰虫草不同提取物均可以上调Bax、caspase-9、Cyt C蛋白的表达，下调Bcl-2蛋白的表达，且乙酸乙酯部位和醇提部位效果最为显著。本实验对雪峰虫草的三个主要有效提取部位促进体外U937和NB4细胞凋亡和机制进行了探讨，综上所述，雪峰虫草乙酸乙酯提取部位诱导U937和NB4细胞发生线粒体依赖性凋亡效果最为明显，可能与调节凋亡相关蛋白，特别是Bax的表达有关。

初步探讨了雪峰虫草不同提取物对急性早幼粒细胞性白血病细胞NB4和U937的促凋亡作用，并证明其诱导NB4和U937细胞发生线粒体依赖性凋亡，初步阐明了雪峰虫草对急性淋巴白血病体外作用机理，为急性淋巴白血病的治疗与新药开发提供了科学依据。下一步研究重点将对乙酸乙酯部位进行药效成分定性定量分析及药效评价，为深入研究雪峰虫草药效物质基础及建立其谱效关联方法提供思路。

参考文献：

- [1] Wiernik P H, Dutcher J P, Gertz M A, et al. Epidemiology and hereditary aspects of acute leukemia [M]. New York: Springer New York, 2018: 199-212.
- [2] 金婷婷, 裴仁治. 儿童急性早幼粒细胞白血病的诊疗进展[J]. 中国医学创新, 2019, 16(4): 165-168.
- [3] 朱元章, 张贵彪, 朱国福. 中药复方抗肿瘤机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16): 227-234.
- [4] Li-Weber M. Targeting apoptosis pathways in cancer by Chinese medicine[J]. *Cancer Letters*, 2013, 332(2): 304-312.
- [5] Wen T C, Zhu R C, Kang J C, et al. *Ophiocordyceps xuefengensis* sp. nov. from larvae of *Phassus nodus* (Hepialidae) in Hunan Province, southern China [J]. *Phytotaxa*, 2013, 123(1): 41-50.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编[M]. 北京: 中华人民共和国卫生部药政局, 1993.
- [7] Zhu Z Y, Liu X C, Tang Y L, et al. Effects of cultural medium on the formation and antitumor activity of polysaccharides by *Cordyceps gunnii* [J]. *J Biosci Bioeng*, 2016, 122(4): 494-498.
- [8] Mei Y X, Yang W, Zhu P X, et al. Isolation, characterization, and antitumor activity of a novel heteroglycan from cultured mycelia of *cordyceps sinensis* [J]. *Planta Med*, 2014, 80(13): 1107-1112.
- [9] Li S, Zheng M X, Xu H C, et al. Mitochondrial pathways are involved in eimeria tenella-induced apoptosis of chick embryo

- cecal epithelial cells [J]. *Parasitol Res*, 2017, 116(1): 225-235.
- [10] 刘丽君, 彭建新, 洪华珠, 等. 线粒体在细胞凋亡中的变化与作用[J]. 中国细胞生物学杂志, 2005, 27(2): 117-120.
- [11] 张丙信. Apaf-1、Caspase-9、Bax、Bel-2 和 p53 在基底细胞样乳腺癌中的表达及临床意义[D]. 承德: 承德医学院, 2015.
- [12] Luo J M, Yu L, Xie G C, et al. Study on the mitochondrial apoptosis pathways of small cell lung cancer H446 cells induced by trichinella spiralis muscle larvae ESPs [J]. *Parasitology*, 2017, 144(6): 793-800.
- [13] Venkatachalam P, Nadumane V K. Modulation of Bax and Bel-2 genes by secondary metabolites produced by penicillium rubens JGIPR9 causes the apoptosis of cancer cell lines [J]. *Mycology*, 2019, 12(2): 69-81.

益气养阴解毒方及黄芪甲苷体外对 CTLA-4 介导的肺癌免疫逃逸的影响

姜 怡^{1,2}, 蔡雨晴^{1,2}, 张 朋¹, 沈丽萍¹, 刘苓霜^{1*}, 刘嘉湘¹

(1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032; 2. 上海中医药大学研究生院, 上海 200120)

摘要: **目的** 探讨益气养阴解毒方及黄芪甲苷在体外肿瘤细胞和淋巴细胞共培养体系中下调膜型细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (mCTLA-4) 和可溶性 CTLA-4 (sCTLA-4)、提高 CD8⁺T 淋巴细胞水平、抑制小鼠 Lewis 肺癌细胞生长的作用, 及其与抗 CTLA-4 单抗联用的协同增效作用。**方法** 小鼠脾脏淋巴细胞与 Lewis 肺癌细胞体外接触式共培养 24 h, 益气养阴解毒方、黄芪甲苷及抗 CTLA-4 单抗的给药浓度分别为 500、50、5 μg/mL, 分为空白对照组、黄芪甲苷组 (单体组)、益气养阴解毒方组 (复方组)、抗 CTLA-4 单抗组 (单抗组)、黄芪甲苷+抗 CTLA-4 单抗组 (单体+单抗组)、益气养阴解毒方+抗 CTLA-4 单抗组 (复方+单抗组)。流式细胞术检测淋巴细胞表面 mCTLA-4 及 CD8⁺T 细胞的表达, ELISA 法检测 sCTLA-4 的水平, CCK-8 法检测 Lewis 肺癌细胞的增殖情况。**结果** 与空白对照组比较, 单体组、复方组、单抗组、单体+单抗组和复方+单抗组均可下调 mCTLA-4 及 sCTLA-4 的表达 ($P < 0.01$), 提高 CD8⁺T 细胞水平 ($P < 0.05$), 降低 Lewis 肺癌细胞的存活率 ($P < 0.01$), 与抗 CTLA-4 单抗联合给药作用更优 ($P < 0.05$)。**结论** 益气养阴解毒方及黄芪甲苷通过下调 mCTLA-4 及 sCTLA-4 表达提高抗肺癌免疫应答、逆转 CTLA-4 介导的肺癌免疫逃逸, 与抗 CTLA-4 单抗联合给药具有协同增效的作用。

关键词: 益气养阴解毒方; 黄芪甲苷; 共培养体系; 肺癌; 细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4; 免疫逃逸

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)08-2173-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.08.037

在我国, 肺癌发病率和死亡率均居恶性肿瘤首位^[1], 严重危害人类健康。忽视机体免疫系统在肺癌发生发展中的重要作用是阻碍临床疗效提高的重要原因之一。细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4) 是介导肿瘤免疫逃逸的重要抑制性分子, 主要表达在活化的 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞表面, 组成性地表达于调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 表面, 与 CD28 竞争性地结合抗原提呈细胞表面的 B7 分子发挥免疫抑制作用, 且 CTLA-4 与 B7 分子的亲和力高于 CD28^[2-3]。

可溶性 CTLA-4 (soluble CTLA-4, sCTLA-4) 存在于外周循环中, 与淋巴细胞表面的膜型 CTLA-4 (membrane-bound CTLA-4, mCTLA-4) 具有相同的生物学效应。

国医大师刘嘉湘教授创立的“扶正治癌”学术思想指导肺癌治疗取得了显著的临床疗效, 其作用机制与免疫调节密切相关^[4]。益气养阴解毒方是“扶正法”治疗肺癌的代表方, 全方位益气养阴以扶正固本, 清热解毒标本兼顾。作者课题组前期研究发现, 益气养阴解毒方及其类方可以提高肺癌患者生活质量、稳定瘤灶和延长生存期, 作用机

收稿日期: 2020-08-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81703987); 上海市卫生和计划生育委员会面上项目 (201840158); 上海市科学技术委员会科研项目 (19401971200); 刘嘉湘国医大师传承工作室建设项目 (DSGZS-2017002); 上海申康医院发展中心科研项目 (SHDC12018124)

作者简介: 姜 怡 (1982—), 女, 博士生, 副主任医师, 从事中医药防治肺癌的临床及基础研究。Tel: (021) 64385700-8103, E-mail: jjjzz@shutem.edu.cn

* **通信作者:** 刘苓霜 (1965—), 女, 硕士, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药防治肺癌的临床及基础研究。Tel: (021) 64385700-8102, E-mail: liuls107@163.com