

史晓伟,陈静静,余国彦,等. 猫棒束孢联合环磷酰胺对 H22 荷瘤小鼠的治疗作用 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(3): 362-368.

SHI X W, CHEN J J, YU G Y, et al. Therapeutic effects of *Isaria felina* combined with cyclophosphamide in hepatoma H22 tumor-bearing mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(3): 362-368.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.03.010

猫棒束孢联合环磷酰胺对 H22 荷瘤小鼠的治疗作用

史晓伟¹,陈静静¹,余国彦¹,张艺尹¹,陈丽霞²,赵莉莉²,杨永明²,
王靖²,阎磊²,杨喜花^{1,2*}

(1. 山西医科大学公共卫生学院,太原 030001;2. 山西医科大学附属肿瘤医院实验动物中心,太原 030013)

【摘要】 目的 研究冬虫夏草来源的猫棒束孢 (*Isaria felina*, IF) 联合环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX) 对肝癌 H22 荷瘤小鼠的治疗作用。**方法** 建立 H22 荷瘤小鼠模型,随机分组,设正常对照组 (NC group, 蒸馏水)、模型对照组 (MC group, 蒸馏水)、CTX 组 (CTX group, 25 mg/kg)、IF 组 (IF group, 400 mg/kg) 和 IF + CTX 组 (IF + CTX group, IF 400 mg/kg + CTX 25 mg/kg), 每组 5 只小鼠;蒸馏水、IF 灌胃给药,CTX 腹腔注射给药,连续给药 10 d。实验结束后,计算各组小鼠平均肿瘤体积和瘤重、抑瘤率、q 值、免疫器官脏器指数;检测血常规和血清细胞因子含量;观察肿瘤组织苏木精-伊红 (HE) 染色病理形态变化。**结果** 各给药组小鼠的肿瘤体积和重量均显著低于 MC 组 ($P < 0.05$)。CTX 组、IF 组、IF + CTX 组小鼠的抑瘤率分别为 49.3%、34.2%、72.8%, q 值为 1.09。IF + CTX 组白细胞 (WBC)、淋巴细胞 (Lymph)、血小板 (PLT) 数量显著高于 CTX 组 ($P < 0.05$)。MC 组小鼠的脾指数显著高于 NC 组, IF + CTX 组小鼠脾指数显著低于 MC 组 ($P < 0.05$)。MC 组小鼠的血清 IFN- γ 水平显著低于 NC 组, IF 组和 IF + CTX 组的 IFN- γ 水平显著高于 MC 组和 CTX 组 ($P < 0.05$)。MC 组肿瘤细胞生长状态良好,数量多,排列紧密;CTX 组、IF 组和 IF + CTX 组肿瘤组织可见肿瘤细胞排列松散,多处肿瘤细胞灶性坏死,坏死细胞核固缩碎裂。**结论** IF 和 CTX 联用对 H22 荷瘤小鼠有相加的抑瘤作用,可减轻小鼠的免疫功能抑制,具有免疫调节功能。

【关键词】 猫棒束孢;H22 荷瘤小鼠;联合给药;免疫调节

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 03-0362-07

Therapeutic effects of *Isaria felina* combined with cyclophosphamide in hepatoma H22 tumor-bearing mice

SHI Xiaowei¹, CHEN Jingjing¹, YU Guoyan¹, ZHANG Yiyin¹, CHEN Lixia², ZHAO Lili², YANG Yongming²,
WANG Jing², YAN Lei², YANG Xihua^{1,2*}

(1. School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. Experimental Animal Center, the Affiliated Cancer Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030013, China)

Corresponding author: YANG Xihua. E-mail: yangxihua@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the therapeutic effects of *Isaria felina* derived from *Cordyceps sinensis* combined with cyclophosphamide (CTX) in hepatoma H22 tumor-bearing mice. **Methods** An H22 tumor-bearing mouse

【基金项目】 山西省卫生健康委员会科研课题计划 (2021072)。

Funded by the Health Commission of Shanxi Provincial Research Project (2021072).

【作者简介】 史晓伟,女,在读硕士研究生,研究方向:营养与食品卫生学。Email:3058359880@qq.com

【通信作者】 杨喜花,女,硕士生导师,研究方向:肿瘤学。Email:yangxihua@126.com

model was established and mice were divided randomly into a normal control group (NC group, distilled water), model control group (MC group, distilled water), positive control group (CTX group, 25 mg/kg), *Isaria felina* group (IF group, 400 mg/kg), and combined administration group (IF + CTX group, IF 400 mg/kg + CTX 25 mg/kg), with 5 mice in each group. Distilled water and IF were administered by gavage, and CTX was administered by intraperitoneal injection. The administration cycle was 10 days. At the end of the experiment, the mean tumor volume and weight, tumor inhibition rate, q value, and immune organ index were calculated, and routine blood indexes and cytokine levels were determined. Histopathological changes in tumor tissues were observed by HE staining. **Results** The tumor volume and mass were significantly lower in mice in each treatment group compared with those in mice in the MC group ($P < 0.05$). The tumor inhibition rates in the CTX, IF, and IF + CTX groups were 49.3%, 34.2%, and 72.8%, respectively, and the q value was 1.09. The numbers of white blood cells, Lymph, and platelets were significantly higher in the IF + CTX group than in the CTX group ($P < 0.05$). The spleen index was significantly higher in the MC group compared with that in the NC group, and significantly lower in the IF + CTX group compared with that in the MC group ($P < 0.05$). Serum interferon- γ levels were significantly lower in the MC group than in the NC group, and were significantly higher in the IF and IF + CTX groups compared with those in the MC and CTX groups ($P < 0.05$). Pathologically, tumor cells in the MC group grew well and were numerous and closely arranged, while cells in the CTX, IF, and IF + CTX groups were arranged loosely, with focal necrosis and nuclear pyknosis of necrotic cells in many places. **Conclusions** The combination of IF and CTX has an additive anti-tumor effect on H22 tumor-bearing mice, which can alleviate immunosuppression and have an immunomodulatory function.

【Keywords】 *Isaria felina*; H22 tumor-bearing mice; combined administration; immunomodulation
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的原发性肝癌, 是全球第六大常见的肿瘤类型, 也是癌症相关死亡的第二大原因, 5 年生存率也只有 20%^[1-3]。化疗是肝癌治疗的主要方式之一, 环磷酰胺是应用最广泛的传统化疗药物之一, 抗癌谱广、疗效较好。但易产生免疫抑制、骨髓抑制、肝肾损伤等严重的毒副反应, 造成白细胞水平下降, 免疫力降低, 其应用受到限制^[4-6]。冬虫夏草 (*cordyceps sinensis*) 是中国传统名贵中药材, 也是国家二级保护药用真菌和功能性食品, 含有虫草素、虫草酸、虫草多糖、SOD 和氨基酸等多种生物活性物质, 具有抗肿瘤、免疫调节、抗氧化、保肝护肾等广泛的药理作用^[7-8]。猫棒束孢 (*Isaria felina*, IF) 是从冬虫夏草虫草体中经菌种分离后培养得到的一种真菌, 具有类似冬虫夏草的功能。研究发现, 抗肿瘤中药和化疗药物联合治疗可增强化疗药物的疗效并降低不良反应和耐药性^[9]。因此, 中药和化疗药物联用对肝癌治疗有积极的作用。实验室前期研究发现猫棒束孢培养物对小鼠移植性肉瘤 S180、肝癌 H22 和 Lewis 肺癌均有显著的抑制作用^[10-12]。为进一步探索 IF 在体内抗肝癌作用, 本研究通过建立 H22 荷瘤小鼠模型, 研究 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用, 为 IF 的临床合理应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

25 只雌性 SPF 级 KM 小鼠, 4 周龄, 体重 18 ~ 22 g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司【SCXK (京) 2019-0010】, 饲养在山西省肿瘤医院实验动物中心 SPF 级动物实验室【SYXK (晋) 2022-0003】。饲养环境: 12 h 昼夜交替, 温度为 22 ~ 24 ℃, 湿度 40% ~ 60%, 自由进食和饮水。本实验所有操作均经山西省肿瘤医院动物伦理委员会审批 (IACUC 2022040)。

1.1.2 细胞

小鼠 H22 肝癌细胞株, 由河北医科大学实验动物中心馈赠。

1.1.3 主要试剂与仪器

IF (山西省肿瘤医院实验动物中心自制, 批次: 20220806); 注射用 CTX (江苏盛迪医药有限公司, 批号: 1H491A); 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ -干扰素 (IFN- γ) (凡科维商城, 批号分别为: Aug 2022、Aug 2022)。BC-2800Vet 型兽用全自动血液细胞分析仪 (Mindray 公司); KDC-2044 型低速冷冻离心机 (科大创新股份有限公司); JJ2000 型电子天平 (常

熟市双杰测试仪器厂);311 型 CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司);Sun Rise 酶标仪(奥地利 Tecan 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组、给药及处理

用生理盐水将培养的 H22 细胞稀释成悬液(每毫升含 1×10^6 个细胞),对小鼠右前肢腋窝皮下进行接种(每只 0.1 mL),建立 H22 荷瘤小鼠模型^[13],24 h 后,随机分组,设正常对照组(NC group,蒸馏水)、模型对照组(MC group,蒸馏水)、CTX 组(CTX group,25 mg/kg)、IF 组(IF group,400 mg/kg)和 IF + CTX 组(IF + CTX group,IF 400 mg/kg + CTX 25 mg/kg),每组 5 只小鼠。蒸馏水、IF 灌胃给药,CTX 腹腔注射给药,每天 1 次,给药容量为 0.1 mL/10 g,连续给药 10 d,每天观察小鼠、称重,并用游标卡尺测量肿瘤直径,计算肿瘤体积。

1.2.2 小鼠抑瘤率及脏器指数计算

末次给药 24 h 后,称重小鼠,取血,一部分储存于 EDTA-K2 抗凝管中用于血液常规指标测定,一部分用于 IFN- γ 及 TNF- α 水平测定。颈椎脱臼法处死小鼠,完整剥离瘤块、脾、胸腺和肝,称重,分别计算抑瘤率、脾及胸腺指数。 $\text{肿瘤体积/mm}^3 = ab^2/2$ (a:长径;b:短径); $\text{抑瘤率/\%} = [1 - (\text{给药组平均瘤重}/\text{模型组平均瘤重})] \times 100\%$ 。

两药联合应用时可能表现为拮抗、相加或协同,可以通过计算 q 值来具体确定两药联合应用时相互间的作用^[14], $q = EAB / (EA + EB - EA \times EB)$,EA 为 CTX 的抑瘤率,EB 为 IF 的抑瘤率,EAB 为联合用药组两药合用的抑瘤率,当 $q < 0.85$ 表示两药拮抗, $q = 0.85 \sim 1.25$ 表示两药作用相加,当 $q > 1.25$ 表示两药作用增强(或协同)。脏器指数 = 脏器重量(mg)/小鼠体重(g)。

1.2.3 血液常规指标测定

取“1.2.2”项下分装的小鼠血液,采用全自动血细胞分析仪测定各组小鼠血液中白细胞(white blood cell, WBC)、淋巴细胞(Lymph)、血小板(platelet,PLT)、红细胞(red blood cell,RBC)数量。

1.2.4 血清 IFN- γ 、TNF- α 水平测定

取“1.2.2”项下分装的小鼠血液,室温静置 30 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 、3500 r/min 离心 10 min,取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书操作,测定小鼠血清中的 IFN- γ 、TNF- α 的含量。

1.2.5 HE 染色观察小鼠肿瘤组织病理学变化

将小鼠肿瘤组织固定于 4%多聚甲醛缓冲液中过夜,常规石蜡包埋、脱水、切片。取组织切片进行苏木精-伊红(HE)染色,光学显微镜下观察肿瘤组织形态学变化。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 28.0 软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布,以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。用 GraphPad Prism 8.0 软件作图。

2 结果

2.1 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长的影响

接种 H22 瘤株第 3 天,所有荷瘤小鼠右腋窝处均出现瘤组织,并逐天增大,表明模型复制成功。在实验期间,所有荷瘤小鼠无自然死亡情况。肿瘤生长结果如表 1 所示,各给药组小鼠的肿瘤体积和重量均低于 MC 组,差异具有显著性($P < 0.05$);与 CTX 组相比,IF + CTX 组小鼠肿瘤体积减小,差异具有显著性($P < 0.05$)。CTX 组、IF 组、IF + CTX

表 1 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长的影响

Table 1 Effects of IF combined with CTX on growth of tumor in H22 tumor-bearing mice

组别 Groups	肿瘤体积/mm ³ Tumor volume/mm ³	平均瘤重/g Average tumor weight/g	抑瘤率/% Tumor inhibition rate/%
MC 组 MC group	1179.19 $\pm$ 146.94	0.98 $\pm$ 0.15	—
CTX 组 CTX group	515.31 $\pm$ 67.37 *	0.49 $\pm$ 0.15 *	49.3
IF 组 IF group	528.79 $\pm$ 73.78 *	0.64 $\pm$ 0.17 *	34.2
IF + CTX 组 IF + CTX group	341.91 $\pm$ 42.91 * Δ	0.27 $\pm$ 0.04 *	72.8

注:与 MC 相比,* $P < 0.05$;与 CTX 组相比, $\Delta P < 0.05$ 。(下图同)
Note. Compared with the MC group, * $P < 0.05$. Compared with the CTX group, $\Delta P < 0.05$. (The same in the following figures)

组小鼠的抑瘤率分别为 49.3%、34.2%、72.8%。联合用药的 q 值为 1.09,表明联合用药疗效具有相加效应,提示 IF 对环磷酰胺的抑瘤效果有增效作用。

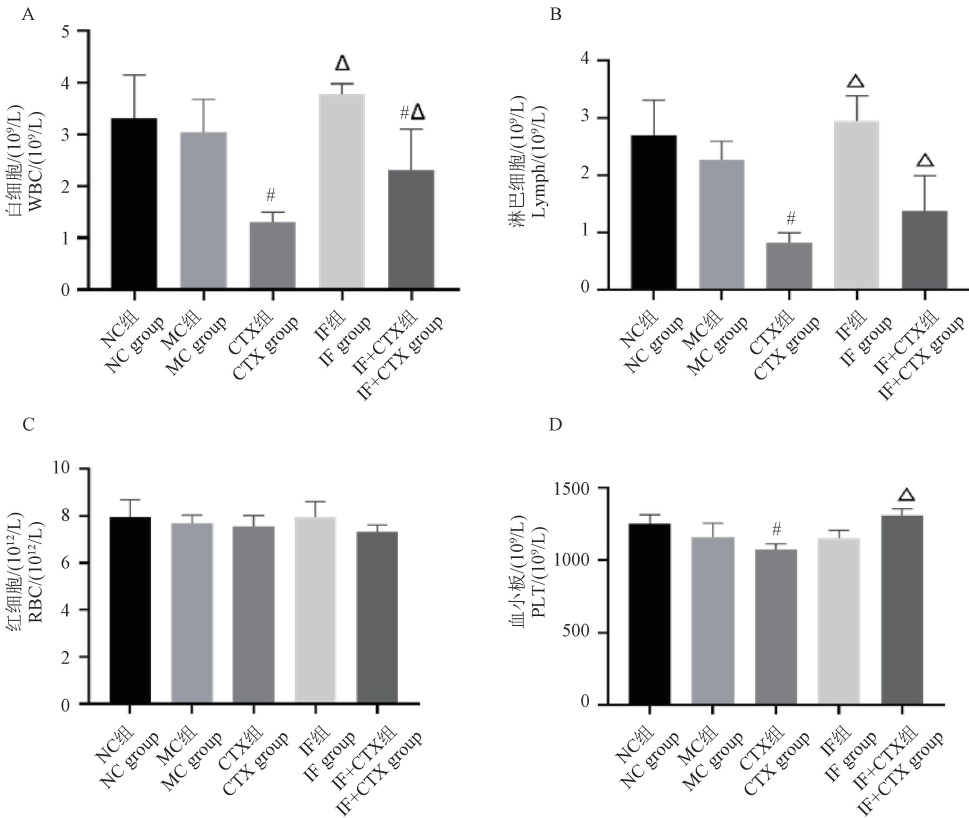
2.2 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠血细胞数量的影响

结果如图 1 所示:CTX 组小鼠的 WBC、Lymph、PLT 数量低于 NC 组,差异具有显著性($P < 0.05$)。IF + CTX 组的 WBC、Lymph、PLT 数量高于 CTX 组,

差异具有显著性($P < 0.05$)。各组小鼠 RBC 数量差异无显著性($P > 0.05$)。

2.3 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠免疫器官的影响

结果如图 2 所示,MC 组小鼠的胸腺指数低于 NC 组、脾指数显著高于 NC 组,差异具有显著性($P < 0.05$)。IF 组小鼠的胸腺指数高于 MC 组,差异具有显著性($P < 0.05$);CTX 组、IF + CTX 组脾指数低于 MC 组,差异均具有显著性($P < 0.05$)。



注:与 NC 组相比,[#] $P < 0.05$ 。(下图同)

图 1 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠血细胞数量的影响

Note. Compared with the NC group, [#] $P < 0.05$. (The same in the following figures)

Figure 1 Effects of IF combined with CTX on blood cell numbers of H22 tumor-bearing mice

2.4 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠血清细胞因子的影响

结果如图 3 所示,MC 组小鼠血清 IFN- γ 、TNF- α 水平低于 NC 组,差异均具有显著性($P < 0.05$)。IF 组和 IF + CTX 组的 IFN- γ 水平高于 MC 组和 CTX 组,差异均具有显著性($P < 0.05$);IF 组和 IF + CTX 组的 TNF- α 水平与 MC 组和 CTX 组相比,无统计学意义($P > 0.05$)。

2.5 IF 联合 CTX 对肿瘤组织病理的影响

肿瘤组织病理学变化如图 4 所示,MC 组肿瘤

细胞生长状态良好,数量多,排列紧密,细胞核深染,核质比高,可见核分裂象,肿瘤间质内可见多量的粒细胞浸润,未见明显细胞坏死;CTX 组、IF 组和 IF + CTX 组肿瘤组织肿瘤细胞排列松散,多处可见肿瘤细胞灶性坏死,坏死细胞核固缩碎裂。

3 讨论

化疗是肝癌综合治疗的主要手段之一,但存在不良反应、耐药性、预后差、生存期短等问题。抗肿瘤中草药和化疗药物联合应用具有增效减毒的作

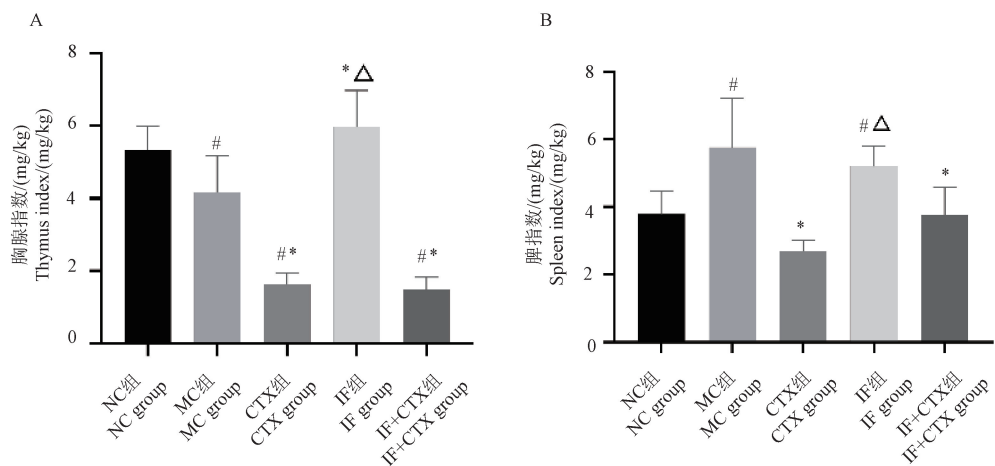


图 2 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠免疫器官指数的影响

Figure 2 Effects of IF combined with CTX on immune organ index in H22 tumor-bearing mice

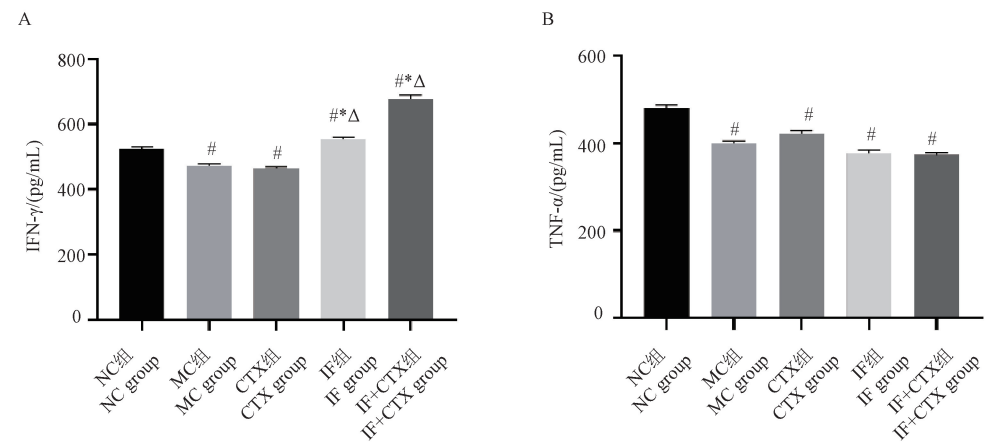


图 3 IF 联合 CTX 对 H22 荷瘤小鼠血清细胞因子的影响

Figure 3 Effects of IF combined with CTX on serum cytokines in H22 tumor-bearing mice

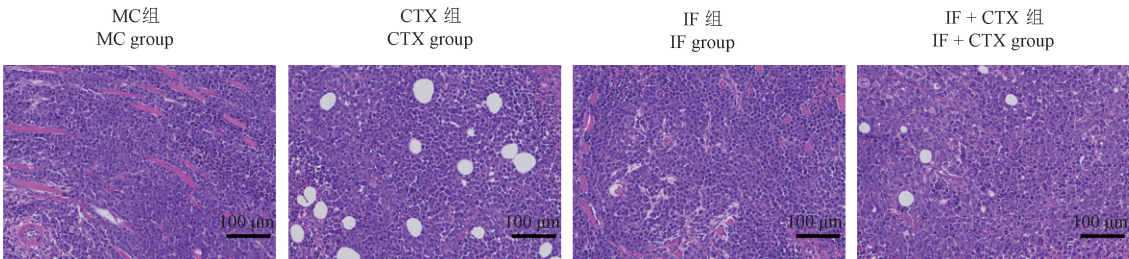


图 4 H22 小鼠肿瘤组织 HE 染色切片

Figure 4 HE stained sections of tumor tissues from H22 tumor-bearing mice

用,在临床上应用愈来愈广泛,已成为抗肿瘤药物研究的一大热点^[15-16]。肝癌 H22 细胞小鼠皮下移植瘤模型是筛选和评价抗肿瘤药物应用较广的模型之一,具有操作简单、周期短、成本低、成模率高、重复性好等优点^[17]。本实验以 H22 荷瘤小鼠为模型,初步探索了 IF 与 CTX 联合用药治疗肝癌的效

果。实验结果表明:CTX 组和 IF 组的抑瘤率分别为 49.3%、34.2%,而 IF + CTX 组的抑瘤率显著提高为 72.8%,符合抗肿瘤中草药有效性标准(抑瘤率 > 30%)的要求^[18],且 IF + CTX 组的 q 值为 1.09,在 0.85 ~ 1.15 内,表明两药联用时呈相加的抑瘤作用。CTX 组小鼠的 WBC、Lymph、PLT 数量明显降

低,提示荷瘤小鼠出现骨髓抑制;IF + CTX 组小鼠 WBC、PLT 相比 CTX 组显著升高,表明 IF 和 CTX 联用可以减小 CTX 所致的骨髓抑制毒性,改善免疫功能。

脾和胸腺是最主要的免疫器官。胸腺是 T 淋巴细胞产生、发育、分化和成熟的场所;脾是机体最大的外周免疫器官,胸腺指数和脾指数的大小直接反应机体免疫水平的高低^[19]。本实验中,IF 组的胸腺指数显著高于 MC 组和 CTX 组,表明 IF 可能通过增加免疫器官胸腺的重量,增强机体的免疫力,从而抑制肿瘤生长。MC 组小鼠可见脾明显肿大,这与小鼠荷瘤后免疫细胞转移并滞留在脾中有直接的关系,提示机体进入负免疫调节阶段^[20-21]。IF + CTX 组小鼠脾指数显著低于 MC 组,表明 IF 与 CTX 联用可改善荷瘤小鼠脾损伤,调节免疫功能。

IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子水平与机体免疫能力关系密切^[22]。IFN- γ 是参与抗肿瘤免疫最重要的细胞因子,主要由 Th1 细胞分泌,其表达水平升高代表激活了免疫应答指标^[23]。IFN- γ 能直接抑制肿瘤的生长,已被证明在调节抗肿瘤免疫反应以及抑制肿瘤生长方面发挥着重要的作用,并已在临床前、体外和体内以及恶性疾病免疫治疗的患者中进行了广泛的测试^[24]。TNF- α 是已知抑瘤作用最强的细胞因子,能直接杀伤肿瘤细胞并抑制肿瘤细胞增殖,但对正常细胞无明显的毒性^[25]。本研究显示,与 NC 组相比,MC 组小鼠血清 IFN- γ 、TNF- α 水平降低;与 MC 组相比,IF 组和 IF + CTX 组小鼠血清 IFN- γ 升高;与 CTX 组相比,IF 组和 IF + CTX 组小鼠血清 IFN- γ 水平升高。大部分研究显示环磷酰胺治疗 H22 荷瘤小鼠使 TNF- α 水平有所升高,而本研究中 CTX 组小鼠血清 TNF- α 水平略高于 MC 组,但无统计学意义,这可能与机体的免疫状态有关。本研究中 CTX 注射剂量相对较大,对小鼠造成的免疫损伤也较大,因此可能使小鼠血清 TNF- α 水平升高不显著。冬虫夏草可抑制 TNF- α 的表达,从而减缓肝纤维化的发生并改善肾和肠道的损伤^[26-27]。IF 组和 IF + CTX 组小鼠血清 TNF- α 水平与 MC 组相比有降低的趋势。推测 IF 可能通过升高 IFN- γ 细胞因子水平,调节机体免疫功能,发挥抗肿瘤作用。

本研究的不足在于 IF 联合 CTX 发挥相加增效作用的具体机制尚未明确,后续应开展更深入的研究来探索联合用药后肿瘤相关细胞通路的变化,为

IF 的临床应用提供更多理论基础。综上所述,IF 和 CTX 联用具有相加的抑瘤作用,可减轻机体免疫功能抑制,具有免疫调节功能。

参 考 文 献(References)

- [1] KANG K J, AHN K S. Anatomical resection of hepatocellular carcinoma: a critical review of the procedure and its benefits on survival [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23 (7): 1139-1146.
- [2] HAO X, SUN G, ZHANG Y, et al. Targeting immune cells in the tumor microenvironment of HCC: new opportunities and challenges [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 775462.
- [3] REN F, ZHANG Y, QIN Y, et al. Taraxasterol prompted the anti-tumor effect in mice burden hepatocellular carcinoma by regulating T lymphocytes [J]. Cell Death Discov, 2022, 8(1): 264.
- [4] 庄雅云, 周成合, 王渝芳, 等. 氮芥类抗肿瘤药物研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(17): 1281-1287.
ZHUANG Y Y, ZHOU C H, WANG Y F, et al. Advances of nitrogen mustard compounds in antitumor agents [J]. Chin Pharm J, 2008, 43(17): 1281-1287.
- [5] CAI Y, LIU X, HUANG W, et al. Synergistic antitumor effect of TRAIL and IL-24 with complete eradication of hepatoma in the CTGVT-DG strategy [J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2012, 44 (6): 535-543.
- [6] LIU Y H, QIN H Y, ZHONG Y Y, et al. Neutral polysaccharide from *Panax notoginseng* enhanced cyclophosphamide antitumor efficacy in hepatoma H22-bearing mice [J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 37.
- [7] YUE K, YE M, ZHOU Z, et al. The genus *Cordyceps*: a chemical and pharmacological review [J]. J Pharm Pharmacol, 2013, 65(4): 474-493.
- [8] ZHANG M, SUN X, MIAO Y, et al. *Cordyceps cicadae* and *Cordyceps gunnii* have closer species correlation with *Cordyceps sinensis*: from the perspective of metabonomic and MaxEnt models [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 20469.
- [9] 朱宏. 参芪扶正注射液配合化疗治疗恶性肿瘤的临床效果分析 [J]. 中国现代药物应用, 2018, 12(1): 85-86.
ZHU H. Clinical analysis of Shenqi Fuzheng injection combined with chemotherapy in the treatment of malignant tumor [J]. Chin J Mod Drug Appl, 2018, 12(1): 85-86.
- [10] 任宝生, 任连生, 张燕. 细棒束孢培养物对小鼠移植性肿瘤抑制作用的实验研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2 (12): 699-702.
REN B S, REN L S, ZHANG H. Experimental study on the inhibitory action of *Isaria feline* culture on the transplantation tumor of mice [J]. World J Integr Tradit West Med, 2007, 2 (12): 699-702.
- [11] 杨喜花, 张燕, 任连生, 等. 猫棒束孢多糖对小鼠 S180 肉瘤和 H22 肝癌的抑制作用 [J]. 中国药物与临床, 2015, 15 (2): 185-186.
YANG X H, ZHANG H, REN L S, et al. Inhibitory effect of

- Corynebacterium felis* polysaccharide on S180 sarcoma and H22 liver cancer in mice [J]. Chin Remedies Clin, 2015, 15(2): 185–186.
- [12] YANG X, YANG Y, ZHAO L, et al. Enrichment of *Isaria felina* culture with selenium enhances its *in vivo* antitumor effects on H22 hepatoma *via* decreasing the expression of vegf [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2023, 23(14): 1689–1696.
- [13] 杨玉萍, 段永强, 梁建庆, 等. 基于 ERK 介导 C-Myc/PD-L1 协同作用探讨参芪抑瘤方联合顺铂对 H22 肝癌荷瘤小鼠的抑瘤机制 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(14): 2069–2073.
- YANG Y P, DUAN Y Q, LIANG J Q, et al. Study on the anti-tumor effect of Shenqi Yiliu decoction combined with cisplatin on H22 liver cancer-bearing mice [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2022, 39(14): 2069–2073.
- [14] 刘永琦, 闫德祺, 李应东, 等. 参归丸对顺铂化疗 H22 荷瘤小鼠的减毒增效作用及其机制 [J]. 肿瘤防治研究, 2014, 41(6): 552–556.
- LIU Y Q, YAN D Q, LI Y D, et al. Attenuated and synergistic effects of *Angelica sinensis* and *Radix sophorae flavescentis* decoction on H22 tumor-bearing mice treated with cisplatin and its mechanism [J]. Cancer Res Prev Treat, 2014, 41(6): 552–556.
- [15] 黄天敏, 杨映霞, 张宏亮, 等. 蛭蝻提取物对环磷酰胺治疗肝癌的增效减毒作用 [J]. 中国药房, 2021, 32(1): 17–23.
- HUANG T M, YANG Y X, ZHANG H L, et al. Effect of increasing efficacy and decreasing toxicity of *Limax* extract on cyclophosphamide in the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. Chin Pharm, 2021, 32(1): 17–23.
- [16] 潘翠柳, 陆小莲, 吴捷梅, 等. 藤茶双氢杨梅树皮素联合环磷酰胺抗肿瘤作用研究 [J]. 广西中医药, 2020, 43(3): 65–68.
- PAN C L, LU X L, WU J M, et al. Study on synergistic effect of ampelopsin combined with cyclophosphamide in anti-tumor therapy [J]. Guangxi J Tradit Chin Med, 2020, 43(3): 65–68.
- [17] 王春玲, 张瑜, 文晓东, 等. 八月札乙醇提取物通过 PI3K/Akt 通路抑制 H22 细胞增殖并诱导其凋亡 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(9): 73–77, 267–268.
- WANG C L, ZHANG Y, WEN X D, et al. Extract of *Akebia trifoliata* inhibits proliferation and induces apoptosis of H22 liver cancer mice cell via PI3K/akt signaling pathway [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2022, 40(9): 73–77, 267–268.
- [18] 廖子君, 克俊, 韩军. 现代肿瘤治疗药理学 [M]. 北京: 世界图书出版社; 2002.
- LIAO Z J, KE J, HAN J. Modern tumor therapy pharmacology [M]. Beijing: World Book Publishing Press; 2002.
- [19] 刘艳之, 王艳, 刘凯丽, 等. 西黄丸对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤作用及其机制研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(7): 754–761.
- LIU Y Z, WANG Y, LIU K L, et al. Inhibition and mechanism of Xihuang pill on mice bearing hepatoma H22 tumor [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2022, 27(7): 754–761.
- [20] 吕建敏, 龚金炎, 刘士旺. 秀珍菇粉对 H22 荷瘤小鼠体内抗肿瘤作用研究 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(2): 216–223.
- LYU J M, GONG J Y, LIU S W. Anti-tumor activities of *Pleurotus geesteranus* fruit body powder on H22 tumor-bearing mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(2): 216–223.
- [21] 董慧, 郑国强, 滕安国, 等. 荷瘤小鼠脾脏过度增大的机制 [J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(8): 940–943.
- DONG H, ZHENG G Q, TENG A G, et al. Mechanism of splenic excess augmentation in tumor-bearing mice [J]. Cancer Res Prev Treat, 2012, 39(8): 940–943.
- [22] 韩佳彤, 田菲, 林方圆, 等. 扶正散结方联合顺铂对腹水瘤小鼠免疫调节作用的研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2023, 42(3): 334–338.
- HAN J T, TIAN F, LIN F Y, et al. Effect of Fuzheng Sanjie Recipe on H22 liver ascitic tumor mice and its immunological regulation [J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med, 2023, 42(3): 334–338.
- [23] 吕长玲, 杜华钰, 周杰, 等. 美洲大蠊多肽 PAP-2 对 Balb/c 小鼠肝癌原位移植瘤免疫微环境的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(7): 994–998.
- LYU C L, DU H Y, ZHOU J, et al. Effect of *Periplaneta Americana* polypeptide PAP-2 on the immune microenvironment of Balb/c mice with epatocellular carcinoma *in situ* transplanted tumors [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2023, 39(7): 994–998.
- [24] KURSUNEL M A, ESENDAGLI G. The untold story of IFN- γ in cancer biology [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2016, 31: 73–81.
- [25] 李香颖, 林乐珍, 蓝焱焱, 等. 罗汉松实多糖对小鼠肝癌 H22 细胞移植瘤生长的影响及其机制 [J]. 山东医药, 2022, 62(36): 44–49.
- LI X Y, LIN L Z, LAN Y Y, et al. Effect of polysaccharide from PSP on growth of xenograft tumor in mouse liver cancer H22 cells [J]. Shandong Med J, 2022, 62(36): 44–49.
- [26] 崔兵兵, 李季, 刘可春, 等. 冬虫夏草多糖抑制肝纤维化作用机制的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 228–234.
- CUI B B, LI J, LIU K C, et al. Anti-hepatic fibrosis mechanism of *Cordyceps* polysaccharide [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2019, 25(15): 228–234.
- [27] 窦婷, 杨静雯, 杨昊, 等. 冬虫夏草介导 SLC7A11/GPX4/ACSL4 轴抑制铁死亡抵抗放射性直肠炎研究 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(9): 1882–1888.
- DOU T, YANG J W, YANG H, et al. Study of *Cordyceps sinensis*-mediated SLC7A11/GPX4/ACSL4 inhibition of ferroptosis against radiotherapy-induced proctitis [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(9): 1882–1888.