

大黄廔虫丸治疗肝癌的研究进展

朱燃培¹ 李小青¹ 张华¹ 张亚玲² 孙婷婷¹ 屈浩然¹ 郑玉玲¹

(1. 河南中医药大学 河南 郑州 450046; 2. 河南中医药大学第一附属医院 河南 郑州 450099)

摘要: 大黄廔虫丸出自《金匱要略》,是治疗“虚劳干血”类疾病的经典名方,近年来广泛用于多种恶性肿瘤尤其是肝癌的综合治疗中。检索整理近20年文献,从中医组方特色、临床应用、分子机制三方面总结大黄廔虫丸治疗肝癌的相关研究,发现大黄廔虫丸在中医组方上具有虫类逐瘀、草本养虚、肝脾同调、两脏兼顾、蜜丸为剂、峻药缓图等特色,配伍严谨,用药精当。在临床上无论是联合经动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)还是联合静脉化疗,均可减轻治疗不良反应,提高临床有效率,延长患者生存时间;此外,对于晚期原发性肝癌患者以及肝转移癌患者,单药应用也可明显改善症状,提高生活质量,延长终末期患者带瘤生存时间,临床疗效确切,且可长期应用,安全性较高。机制研究中发现大黄廔虫丸具有抗肝癌前病变、保护肝细胞、调节肝功能、抗肝癌细胞转移、抑制肿瘤血管新生、促进血管正常化、调节免疫等相关机制,分子机制明确。通过以上三方面,全面详细阐述了大黄廔虫丸治疗肝癌的研究现状,并对目前的临床和实验研究提出不足与改进,以期后续深入研究及抗肿瘤新药的研发提供思路和依据。

关键词: 大黄廔虫丸; 肝癌; 研究进展; 中医药; 综述

中图分类号: R273.359

文献标志码: A

文章编号: 1673-7717(2024)01-0166-08

Research Progress on Treatment of Liver Cancer with Dahuang Zhechong Pill(大黄廔虫丸)

ZHU Ranpei¹, LI Xiaoqing¹, ZHANG Hua¹, ZHANG Yaling², SUN Tingting¹, QU Haoran¹, ZHENG Yuling¹

(1. Henan University of Chinese Medicine Zhengzhou 450046, Henan, China;

2. The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine Zhengzhou 450099, Henan, China)

Abstract: Dahuang Zhechong Pill(大黄廔虫丸), derived from *Synopsis of The Golden Chamber*, is a classic formula for treating diseases such as “deficiency, fatigue and dryness of blood”. In recent years, it has been widely used in the comprehensive treatment of various malignant tumors, especially liver cancer. In this paper, the literature of nearly 20 years was searched and sorted out, the relevant research on the treatment of liver cancer by Dahuang Zhechong Pill was summarized from three aspects: the characteristics of traditional Chinese medicine(TCM) formulation, clinical application and molecular mechanism. It is found that Dahuang Zhechong Pill in TCM has the characteristics of removing blood stasis by insects, nourishing deficiency by herbs, harmonizing liver and spleen, taking both liver and spleen into consideration, honeyed bolus making, drastic herbs slowly and gently and so on, both the compatibility is rigorous and the medication is precise. In clinic, transcatheter arterial chemoembolization(TACE) and intravenous chemotherapy can reduce the adverse reactions, improve the clinical efficiency and prolong the survival time of patients. In addition, for patients with advanced primary liver cancer and liver metastases, single drug application can also significantly improve symptoms and the quality of life, and prolong the survival time of end-stage patients. The clinical efficacy is definite, and it also can be used for a long time with high safety. In the mechanism study, it is found that Dahuang Zhechong Pill has anti-liver cancer prelesion, protecting liver cells, regulating liver function, anti-liver cancer cell metastasis, inhibiting tumor angiogenesis, promoting vascular normalization, regulating immunity and other related mechanisms. The molecular mechanism is clear. Through the above three aspects, this paper comprehensively elaborated the research status of Dahuang Zhechong Pill in the treatment of liver cancer and put forward the shortcomings and improvements of the current clinical and experimental studies, in order to provide ideas and basis for the subsequent in-depth research of this prescription and the development of new anti-tumor drugs.

Keywords: Dahuang Zhechong Pill(大黄廔虫丸); live cancer; research progress; traditional chinese medicine; review

基金项目: 国家中医药人才支持计划: 中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)——岐黄学者项目(国中医药人教函(2018)284号); 全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教函(2022)75号); 全国名中医传承工作室建设项目(国中医药办人教函(2022)245号)

作者简介: 朱燃培(1997-), 女, 河南南阳人, 博士在读, 研究方向: 中医药防治肿瘤疾病。

通讯作者: 郑玉玲(1955-), 女, 河南商丘人, 教授, 博士研究生导师, 博士, 研究方向: 中医药防治肿瘤疾病。E-mail: zhengyl@hactcm.edu.cn。

肝癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤,最新流行病学数据指出2020年,我国肝癌年新发病例数41万,占全球45.3%,死亡39.1万人,占全球47.1%,约为世界平均水平的2倍^[1]。近年来,虽然免疫、靶向等新方法给肝癌的治疗带来了希望,但5年生存率仅为12.1%,远低于总体癌症平均水平,预后极差^[2],给病人及国家带来了沉重的经济负担。中医学秉持“天人合一”“辨证论治”等观念,在预防肝癌、改善临床症状、减轻治疗不良反应、改善患者预后方面有显著优势^[3-4],特别是古方和经方,凭借其配伍严谨、药简力专的特点,在肝癌的防治中发挥了一定作用^[5-6]。

大黄廔虫丸出自《金匱要略·卷上·血痹虚劳病脉证并治第六》,原文记载“五劳虚极羸瘦,腹满不能饮食,食伤、忧伤、饮伤、房室伤、饥伤、劳伤,经络营卫气伤,内有干血,肌肤甲错,两目黯黑。缓中补虚,大黄廔虫丸主之。”全方由大黄、黄芩、甘草、桃仁、杏仁、芍药、干地黄、干漆、虻虫、水蛭、蛭蟥、廔虫等12味药物组成^[7],具有祛瘀生新、缓中补虚之功,主治“虚劳干血”类疾病。近年来中药制剂手段的发展和革新,在一定程度上推动了中药成药的发展^[8],大黄廔虫丸被用于多种恶性肿瘤,尤其是肝癌的综合治疗^[9]。本文整理检索近20年大黄廔虫丸治疗肝癌的中英文相关文献,从中医组方特色、临床研究、分子机制研究等三方面展开论述,以期临床相关新药的研发提供思路和依据。

1 大黄廔虫丸治疗肝癌的组方特色分析

1.1 虫类逐瘀,草本养虚

仲景组方中使用虫类药的为数不多,大黄廔虫丸就是其中之一。方中选用大毒之水蛭、虻虫、廔虫、蛭蟥,一则取虫类性烈峻猛之性,破体内积聚之毒邪,二则血肉有情之品,化瘀通络之力尤佳,如此方可称之为“大毒治病”。除仲景外,历代医家在治疗癥瘕积聚时,也善用虫类药物,如孙思邈《备急千金药方》中治疗胁下邪气积聚就使用了廔虫、蜚虻;王肯堂《证治准绳》记载用斑蝥、鳖甲等治疗癥瘕;叶天士在《临证指南医案》中指出“借虫蚁搜剔以攻通邪结”^[10],可见古人已经意识到对于积聚肿块癌瘤之疾,非虫药逐瘀不可。仲景用药讲究配伍严谨,既施以大毒迅猛之品祛瘀,必辅加草木柔和之药养虚,本方12味药物,虫类仅4味,又配地黄、芍药、甘草养血补虚扶正,杏仁、桃仁滋润血涸之燥结,大黄、黄芩、干漆清理瘀阻之热结,祛瘀方可生新补虚。尤再注将此方概括为“润以濡其干,虫以动其瘀,通以去其闭”。

1.2 肝脾同调,两脏兼顾

《金匱要略》开篇便提出“上工治未病”“见肝之病,知肝传脾”等治疗原则,大黄廔虫丸作为金匱经典方剂之一,组方中无不体现。肝癌患者直接病位在肝,间接病位可涉及脾、肾等脏,肝木克脾土,肝癌患者固护脾土尤为重要。条文中指出本方之症可见“腹满不能饮食”,治疗原则又含“缓中补虚”之义,缓者,宽也,中者,乃中焦之脾胃也。大黄主宽解腹满,甘草补养中脏,地黄补土健胃,虚实之证均可适用^[11]。肝主藏血,脾主统血,破瘀养血,散结通滞也不离肝脾两脏。综上,本方配伍中彰显的肝脾同调之义,既是治未病理念的体现,也是瘀血内阻

病机治疗的重点。

1.3 蜜丸为剂,峻药缓图

原方“炼蜜和丸”,以蜜制药,佐制虫类药之峻猛毒性,且蜂蜜味甘性温质润,补养中脏之功尤佳;以丸为用,丸者,缓也,使峻药缓攻不伤正气。肝癌为慢性疾患,当长期用药,丸药亦可长期服用,符合本病特点^[12],也从侧面表明古代医家已经认识到此类“虚劳干血”疾病,非朝夕之间可除,必须长期服药,缓慢图之。

2 大黄廔虫丸治疗肝癌的临床研究

2.1 大黄廔虫丸联合抗肝癌治疗

2.1.1 联合经动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE) TACE被认为是中晚期肝癌患者安全有效的姑息治疗方法,但也存在术后发热、腹胀、疼痛等不良反应,影响治疗效果^[13],中西医结合是规避不良反应的有效治疗措施^[14]。戴朝明等^[15-16]应用大黄廔虫丸丸药联合TACE治疗中晚期原发性肝癌患者,观察组有效率达88.99%,各项指标好转,受益率达94.87%,且术后不良反应发生率明显减少;侯宝松等^[17-18]应用大黄廔虫丸加减水煎剂联合TACE治疗原发性肝癌患者,收效良好,疾病控制率达90%,患者免疫功能得到提高,中医证候明显改善;王海峰等^[19]和冯海群等^[20]的研究也得出相似结论。此外,谢美清等^[21]应用大黄廔虫丸丸药联合TACE治疗肝癌介入后肝纤维化患者,发现大黄廔虫丸可下调透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层黏蛋白(laminin, LN)、肝胆酸(glucocoholic acid, CG)、三型前胶原原肽(procollagen type III, PCIII)等肝纤维化相关指标,并有效延缓疾病进展。见表1。

2.1.2 联合静脉化疗 虽然TACE已作为肝癌治疗的重要手段,但对于具有TACE禁忌证的患者来说,静脉化疗依然是此阶段的主要治疗手段。根据文献检索,大黄廔虫丸联合静脉化疗在临床中也收到了良好疗效。杨昭等^[22]应用大黄廔虫丸加减水煎剂联合静脉化疗治疗老年原发性肝癌患者45例,客观缓解率达88.89%,疾病控制率达95.56%;杨军民等^[23]和吴洁等^[24]应用大黄廔虫丸丸药联合CAFI化疗方案、周利^[25]应用大黄廔虫丸丸药联合GEMOX方案,治疗组有效率均得到提高,且治疗不良反应明显降低,患者生活质量得到保障。见表1。

2.2 大黄廔虫丸单药抗肝癌治疗

临床中有小部分患者确诊时已为晚期,体质极差,难以耐受西医治疗,此时中医药则发挥主要作用。临床观察发现,大黄廔虫丸单药应用也可使晚期肝癌患者受益,如赵宁宁等^[26]使用大黄廔虫丸胶囊治疗肝癌患者15例,服药1月余,患者症状减轻,肿块缩小;李颂华^[27]治有晚期肝癌患者1例,服药2月余,患者肝区疼痛几乎消失;文汉英等^[28]使用大黄廔虫丸加减汤药治疗1例Ⅲ期肝癌患者,疗效明显,患者带瘤生存5年余,病情稳定;杨勤龙^[29]应用汤药制剂治疗1例肝癌伴大量腹水患者,症状改善明显。除肝脏原发肿瘤外,大黄廔虫丸对肝脏转移肿瘤也有一定疗效,文汉英等^[28]应用汤药制剂治疗胃癌肝转移患者1例,收效良好,患者带瘤生存3年余。此外,大黄廔虫丸单药应用,对于防治肿瘤晚期并发症也有疗效,许树

表1 大黄廔虫丸抗肝癌临床研究

治疗药物	入组患者	治疗结果	文献
大黄廔虫丸丸药 + TACE(奥沙利铂 + 表柔比星 + 碘油)	中晚期原发性肝癌患者 36 例(中医辨证为瘀血阻络型)	观察组总有效率 88.99% ,AFP、AFP - L3、CA199、VEGF、TGF - β 1 等标志物水平下降 转移风险、TACE 术后不良反应发生率明显降低	[15]
大黄廔虫丸丸药 + TACE(奥沙利铂 + 表柔比星 + 碘油)	II 期、III 期原发性肝癌患者 39 例(中医辨证为瘀血阻络型)	观察组总有效率 87.18% ,获益率 94.87% ; 治疗后患者 AFP、CA199 等肿瘤指标和 ALT、TBiL 等肝功能指标以及 MP - 2、TGF - β 1、VEGF 等均降低; CD_4^+ 、 CD_3^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 等免疫学指标升高 不良反应发生率明显降低	[16]
大黄廔虫丸合逍遥散加减水煎剂 + TACE(顺铂 + 氟尿嘧啶 + 吡柔比星 + 碘油)	原发性肝癌患者 40 例(中医辨证为肝郁脾虚型)	治疗组疾病控制率 90.0% ; CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IL - 2、IFN - γ 、Th1 /Th2 比值均较前升高 , CD_8^+ 、IL - 4、IL - 10 较前降低 生活质量评分改善	[17]
大黄廔虫丸合逍遥散加减水煎剂 + TACE(顺铂 + 氟尿嘧啶 + 吡柔比星 + 碘油)	原发性肝癌患者 60 例(中医辨证为肝郁脾虚型)	治疗组有效率 86.67% ,对照组为 66.67% 治疗组甲胎蛋白、中医证候均有改善 ,1 年生存率为 53.33% ,对照组仅为 33.33%	[18]
大黄廔虫丸合逍遥散加减水煎剂 + TACE(顺铂 + 氟尿嘧啶 + 表柔比星 + 碘油)	原发性肝癌患者 47 例	治疗组总有效率为 87.23% ,对照组为 70.21% ,能提高患者的 ORR 和 DCR 水平 改善 AST、ALT、TBiL 等肝功能指标 降低中医证候积分和 AFP、CA199、CYFRA21 - 1 等肿瘤标志物水平 且安全性良好	[19]
大黄廔虫丸丸药 + TACE(奥沙利铂 + 紫杉醇 + 碘油)	中晚期原发性肝癌患者 48 例	治疗组患者治疗后肝功能指标水平(AST、ALP、DBIL) 及相关标志物(VIM、GP - 73、CXCL1) 均低于对照组 治疗效果可 患者肝功能显著改善 且降低西医治疗不良反应	[20]
大黄廔虫丸丸药 + TACE(丝裂霉素 + 5 氟尿嘧啶 + 顺铂 + 碘油) + 丹参注射液	肝癌介入治疗后肝纤维化患者 20 例	治疗后观察组肝纤维化指标 HA 明显下降 ,LN、CG、PCIII 等也有下降 对延缓疾病发展有一定作用	[21]
大黄廔虫丸丸药合消瘿汤煎剂 + 静脉化疗(吉西他滨 + 奥沙利铂)	晚期原发性肝癌老年患者 45 例	治疗组客观缓解率 88.89% 疾病控制率 95.56% ,临床症状、血液生化指标均好转	[22]
大黄廔虫丸丸药 + 静脉 CAFI 化疗方案(顺铂 + 氟尿嘧啶 + 干扰素 + 阿霉素)	II b 期和 III a 期原发性肝癌患者 35 例	治疗组总有效率 37.14% 半年生存率 85.71% ; 对照组分别为 16.67%、76.67% ; 治疗组免疫学指标改善明显	[23]
大黄廔虫丸丸药 + 静脉 CAFI 化疗方案(顺铂 + 氟尿嘧啶 + 干扰素 + 阿霉素)	晚期原发性肝癌患者 26 例	治疗组总有效率 23.07% ,半年生存率 80.77% ,1 年生存率 42.3% ; 观察组分别为 7.69%、69.27%、19.23% ; 且明显降低化疗不良反应	[24]
大黄廔虫丸丸药 + 静脉 GEMOX 化疗方案(吉西他滨 + 奥沙利铂)	原发性肝癌患者 30 例	治疗组总有效率为 66.67% ,对照组为 43.33% 治疗组不良反应减低 临床症状减轻 生活质量显著改善	[25]

才等^[30]应用大黄廔虫丸胶囊剂治疗 IV 期肿瘤患者 230 例(包含肝癌患者 30 例) 以服用 3 周、休息 1 周为 1 个疗程 共计服用 12 个疗程 观察患者静脉血栓发生率 结果表明 治疗组静脉血栓发生率为 0.55% 远低于对照组的 4.77% 这为大黄廔虫丸的临床扩展应用提供了新思路。见表 2。

3 大黄廔虫丸治疗肝癌的分子机制研究

3.1 抗肝癌前病变

二乙酰氨基芴(2 - acetylaminofluorene 2 - AAF) 是常见的大鼠肝癌诱导剂 可诱导大鼠肝细胞癌的发生 且与人类肝癌过程类似。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen , PCNA) 是细胞增殖周期中 DNA 合成的必要蛋白 反映细胞增殖的速度 也与肝癌的发生、分化、大小密切相关^[31]。郝传铮^[32]和施公胜等^[33]应用大黄廔虫丸、鳖甲煎丸及华蟾素干预

2 - AAF 引起的实验性肝癌 结果表明联合用药可抑制肝癌结节发生发展、降低 PCNA 指数 减少动物死亡率 推测其机制与抑制癌前变细胞 DNA 复制及细胞增殖有关。

3.2 保护肝细胞 调节肝细胞功能

肝胆显像是一种通过放射性核素标记肝细胞生理代谢类似物 示踪显示肝细胞摄取、排泄等功能过程的无创性检测方法 可定量评价肝细胞功能^[34]。程木华等^[35]对 19 例口服大黄廔虫丸治疗 6 个月的肝炎肝硬化患者进行了肝胆显像分析 结果显示治疗后转氨酶、胆红素、球蛋白等指标明显下降 肝细胞摄取和排泄能力明显提高 肝病患者特征面容得到改善 临床症状明显减轻。从而得出大黄廔虫丸可以保护肝细胞 改善肝病患者肝功能 调节肝细胞功能的结论 并认为其机制可能与降低肝内球蛋白 调节肝脏内免疫反应 减少肝细胞损伤 从

表2 大黄廔虫丸单药抗肝癌相关研究

药物剂型	服药疗程	患者	中医证型	治疗结果	文献
大黄廔虫丸胶囊	每粒0.5 g, 3 g/次, 3次/d, 共服用1.5个月	原发性肝癌患者15例		治疗后患者症状减轻者消失, 肿瘤较前缩小, 甲胎蛋白和碱性磷酸酶明显下降	[26]
大黄廔虫丸丸药	8 g/次, 3次/d, 服用2个月余	晚期肝癌患者1例	瘀血内阻型	肝区疼痛基本消失, 消瘦、乏力、呕吐等症状减轻, 肝脏肿块缩小(原8.9 mm × 9.2 mm, 现7.9 mm × 8.0 mm)	[27]
大黄廔虫丸加减汤药	水煎服, 1剂/d, 早晚分服	Ⅲ期原发性肝癌患者1例	正虚血瘀型	服药1月余, 症状减轻, 黄疸消退, 腹水消失; 继续服用3月余, 整体情况好转, 复查肿块减小(原3.5 mm × 5.0 mm, 现1.5 mm × 2.5 mm), 后连续服用5年余, 病情稳定	[28]
大黄廔虫丸加减汤药	1剂/d, 3次/d, 服用半年余	原发性肝癌患者1例	久病伤正, 瘀阻肝络, 湿邪困脾, 水饮内停证	肝区疼痛、乏力、腹泻、腹胀等症状缓解, 病情稳定	[29]
大黄廔虫丸加减汤药	水煎服, 1剂/d, 早晚分服	胃癌术后肝转移患者1例	正虚血瘀型	服用2个月余, 肝区胀痛、腹泻、腹水消失, 饮食大增; 继续服用半年余, 病情稳定, 复查肝区肿块未见增大, 已带瘤生存3年余	[28]
大黄廔虫丸胶囊	每粒0.4 g, 1.6 g/次, 2次/d, 口服21 d, 休息1周, 共服用12个月	Ⅳ期肿瘤患者230例, 其中包含肝癌患者30例		治疗组静脉血栓发生率0.55%, 远低于对照组4.77%	[30]

而保护肝细胞有关。

3.3 抗肝癌细胞转移

肝癌细胞的转移是疾病复发和进展的主要原因, 如何预防癌症转移也是当下研究的热点。吴翠珍等^[36]和吕翠霞等^[37]通过构建H22肝癌小鼠模型, 证实了大黄廔虫丸具有抗肝肿瘤转移的作用, 具体机制可能与以下有关。

3.3.1 抗肝纤维化 组织纤维化的发生促进了循环中癌细胞在继发部位的定植和生长^[38]。CHEN C等^[39]通过结肠癌肝转移小鼠模型已经证实纤维连接蛋白的表达与转移灶数目和大小呈正相关, 而大黄廔虫丸可显著抑制肝组织中胶原含量的积聚, 减轻肝脏纤维化程度, 从而减少肝脏转移; 趋化因子受体2 (CC chemokine receptor 2, CCR2) 通过增加小鼠的巨噬细胞募集来促进肝纤维化, CHEN C等研究还证实了大黄廔虫丸可特异性抑制CCR2阳性巨噬细胞, 减少纤维化巨噬细胞在肝脏中的募集, 从而抑制肝转移。李文新等^[40]和吕小燕等^[41]的实验研究也验证了大黄廔虫丸具有明确的抗肝纤维化作用。

3.3.2 抑制外泌体 抑制转移前生态位形成 外泌体是细胞通过多囊泡体与细胞膜融合而分泌的盘状囊泡, 直径在40~100 nm, 内含蛋白质、mRNA、脂质等多种活性成分, 参与机体免疫应答、肿瘤侵袭、药物传递等多个生物学过程^[42-43]。外泌体还是上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的重要介质, 可将癌细胞转化为更具侵袭性的表型, 促进癌症进展及转移^[44]。转移前生态位是原发肿瘤在次级器官和组织部位为后续转移创造的适宜土壤, 促进了肿瘤细胞在远处的定植和生长。趋化因子配体2(CC chemokine ligand 2,

CCL2)可募集巨噬细胞, 并促进IL-10产生, 诱导巨噬细胞向M2表型转变, QIAN B Z等^[45]和BAECK C等^[46]研究证明了CCL2驱动巨噬细胞在肝脏中募集和渗透, 在促进肿瘤转移方面起关键作用。CHEN C等^[39]研究证实外泌体通过CCL2启动肝脏转移前生态位的形成, 而大黄廔虫丸可以阻断外泌体介导的CCL2-CCR2在肝脏中的激活, 从而有效抑制转移前生态位的形成。

3.4 抑制线粒体能量代谢, 逆转细胞耐药性

P-糖蛋白(P-glyco protein, P-gp)介导的药物外流增强被认为是耐药的主要机制^[47], 但近年研究表明, 线粒体能量代谢的激活同样与肿瘤耐药密切相关^[48], WU L等^[49]通过细胞实验证实, SMMC-7721耐药细胞和敏感细胞的代谢表型存在显著差异, 与敏感细胞相比, 耐药细胞的线粒体能量代谢显著增强, 抑制线粒体能量代谢, 是逆转肝癌耐药的重要途径之一。吴丽等^[50-51]进行了体外细胞学实验, 证明大黄廔虫丸含药血清可以抑制SMMC-7721细胞线粒体能量代谢, 降低细胞内ATP水平; 紧接着WU L等^[52]又构建阿霉素(DOX)耐药的SMMC-7721肝癌细胞株模型小鼠, 灌服大黄廔虫丸悬液, 结果显示大黄廔虫丸可显著抑制耐药肝癌细胞线粒体能量代谢酶的表达, 显著降低肿瘤组织中的ATP水平, 并可下调P-gp表达, 从而促进DOX在肿瘤组织中聚集, 逆转肝癌细胞耐药性。

3.5 对肿瘤血管的作用

肝癌是一种高度血管化的实体肿瘤, 血管生成是其发生侵袭、转移的必要条件, 抑制肿瘤新生血管生成, 促进血管正常化

是肝癌药物研发的靶点之一^[53-54]。CHEN H等^[55]通过体内外实验证实大黄廔虫丸内的多种有效成分均可作用于缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管生成素2(angiotensin-2, Ang-2)、血管生成素酪氨酸激酶蛋白受体2(TEK receptor tyrosine kinase, Tie2)等与血管正常化有关的靶点^[56],从而抑制病理性血管增殖,促进肿瘤血管正常化。宋荣强^[57]通过体外实验证明大黄廔虫丸可以降低鸡胚新生血管指数,具有抑制新生血管形成的作用。大黄廔虫丸抑制新生血管生成并促进血管正常化的作用,也恰是中医理论“祛瘀生新”的体现。

3.6 调节免疫

肿瘤免疫逃逸是肿瘤细胞通过多种机制逃避免疫系统的识别、攻击而在体内存活的过程^[58]。调节性T细胞(Tregs)细胞是一类具有负调节作用的T细胞亚群,有关研究表明,肿瘤组织中Tregs细胞的数量与肝癌的发生密切相关^[59],并且Tregs细胞的大量渗透和CD8⁺T细胞的缺失是导致肝癌免疫逃逸的重要因素^[60]。元勇^[61]的体内实验表明大黄廔虫丸可以提高荷瘤小鼠脾脏、胸腺指数,提高免疫力。CHEN T等^[62]经过动物实验证实大黄廔虫丸可促进肝癌小鼠外周血和脾组织产生Th1细胞,分泌IFN- γ 激活CD8⁺T细胞,抑制Treg细胞的产生,从而逆转T细胞失衡,改善Th1/Treg平衡,其机制与

表3 大黄廔虫丸抗肝癌实验研究及其机制

药物	实验对象	给药方式	实验结果	相关机制	文献
大黄廔虫丸 + 鳖甲煎丸 + 华蟾素注射液	0.05% 2 - AAF 造模 SD 大鼠	A	减轻肝功能的损害及肝细胞的癌变,抑制肝癌发生	抑制肝癌前病变细胞 DNA 复制及细胞增殖,抑制 PCNA 表达	[32]
大黄廔虫丸 + 鳖甲煎丸 + 蟾蜍制剂	0.05% 2 - AAF 造模 SD 大鼠	A	治疗组肝癌发生率和 PCNA 指数低于模型组	抑制 PCNA 表达,有效抑制肿瘤细胞增殖	[33]
鳖甲煎丸胶囊剂	原发性肝癌终末期患者 21 例	A	治疗组 Ang II、LN、HA、AFP、肾脏血流均有明显改善,鳖甲煎丸可以抑制 RAS 系统,从而改善肝肾综合征、延缓肝癌复发	保护肝细胞,恢复患者肝功能	[35]
大黄廔虫丸悬液	H22 肝癌小鼠	A	抑制肿瘤生长,增加胸腺、脾脏重量,增加抗肿瘤能力		[36]
大黄廔虫丸水丸	H22 肝癌小鼠	A	抑制肿瘤肺转移、淋巴结转移		[37]
大黄廔虫丸悬液	C57BL/6J 小鼠脾被膜下注射 MC38 - EGFP 细胞(结肠癌肝脾转移动物模型)	A	转移瘤数量减少,有效抑制肝转移,具有较强的抗肿瘤活性	1. 下调趋化因子和炎症因子表达(CCL2、SAA4 等),调节外泌体介导的信号传导,改善肝转移前微环境 2. 抑制肝组织中 CCL2 及 CCR2 表达,抑制转移前生态位形成 3. 降低 TGF- β 1 的表达,减少肝组织中纤维连接蛋白含量和胶原沉积,减轻 M2 细胞极化,减少肝脏巨噬细胞浸润,从而抑制肝脏转移	[39]
大黄廔虫丸含药血清	肝癌 SMMC - 7721 细胞株	B	抑制细胞活力,逆转耐药指数	抑制线粒体能量代谢、降低细胞内 ATP 水平	[50]
大黄廔虫丸含药血清	肝癌 SMMC - 7721 细胞株	B	肿瘤细胞活力下降,凋亡率增高	可抑制氧化磷酸化过程中几种关键酶的表达,降低细胞内 ATP 水平	[51]
大黄廔虫丸悬液	阿霉素耐药的 SMMC - 7721 细胞株肝癌模型小鼠	A	显著缩小转移瘤的体积和重量,与 DOX 合用,可增加肿瘤细胞凋亡率,逆转对 DOX 耐药性	1. 调控多种凋亡相关蛋白的表达,涉及多种如 Bel - 2 家族、TNF 家族、免疫炎症因子家族等 2. 上调血管内皮抑素表达,下调 MMP - 9 表达,与 DOX 合用后,显著下调尿激酶受体、血管内皮生长因子 2、3 表达 3. 与小剂量 DOX 联合应用,可逆转 DOX 升高的能量代谢酶,特别是抑制 HK2、OGDH、CII 和 CIV 的表达;抑制三羧酸循环中关键酶的表达,降低线粒体氧化磷酸化蛋白的表达,降低瘤组织中 ATP 含量	[52]

续表3 大黄廔虫丸抗肝癌实验研究及其机制

药物	实验对象	给药方式	实验结果	相关机制	文献
大黄廔虫丸悬液	DEN 诱导的大鼠肝癌模型	A	造模后小鼠病变血管明显增殖,大黄廔虫丸能显著抑制微血管和病变动脉的血管生成,减少出血和渗漏,维持血管功能的正常,抑制病理性血管增殖。并从药物组大鼠血清中分离出多种促进血管正常化的有效成分	作用于 HIF-1 α 、VEGF、Ang2、Tie2 等多种与血管正常化有关的靶点,从而促进肿瘤血管正常化,具有多组分、多靶点的特点	[55]
大黄廔虫丸主要药效成分	HepG2/HUVEC 细胞悬液	B	有效成分具有促进血管正常化作用;在 HepG2 细胞中有 7 个成分可显著抑制 HIF-1 α 表达,11 种成分抑制 VEGF 表达;在 HUVEC 细胞中抑制 VEGF、Ang2、Tie2 的成分分别有 11、14、12 个,有效成分占 80% 以上	作用于 HIF-1 α 、VEGF、Ang2、Tie2 等多种与血管正常化有关的靶点,从而促进肿瘤血管正常化,具有多组分、多靶点的特点	[55]
大黄廔虫丸悬液	H22 肝癌小鼠	A	抑制肿瘤生长,延长小鼠生存期	抑制新生血管,从而遏制肿瘤生长	[57]
大黄廔虫丸含药血清	鸡胚	B	实验组鸡胚血管数减少,血管指数降低	抑制新生血管,从而遏制肿瘤生长	[57]
大黄廔虫丸悬液	H22 肝癌小鼠	A	试验组脾脏、胸腺指数升高,瘤重减轻	调节免疫、诱导凋亡	[61]
大黄廔虫丸悬液	7402 型人肝癌细胞	B	抑制细胞生长	调节免疫、诱导凋亡	[61]
大黄廔虫丸悬液	Hepal-6 肝癌细胞造模小鼠	A	瘤体生长受抑,CD ₄ ⁺ T 和 CD ₈ ⁺ T 细胞水平提高,比例达到平衡	刺激 IL-2、IL-12 表达,促进 Th1 细胞分化和 IFN- γ 的分泌,减少局部 Treg 的浸润,改善 Th1/Treg 平衡,从而激活 CD ₈ ⁺ T 细胞	[62]
大黄廔虫丸悬液	H22 肝癌小鼠	A	促进 T 淋巴细胞增殖,小鼠临床症状减轻,生存时间延长,生存质量明显改善	调节 Th1/Th2 比值,逆转 Th1 向 Th2 漂移	[12]
大黄廔虫丸的 4 种极性成分(水溶性组分(PW)、乙酸乙酯(PE)、正丁醇(PB)和石油醚(PP))	肝癌细胞系 H22 造模的 C57BL/6 小鼠	A	小鼠一般情况可,肿瘤体积和重量显著减少;PW、PE 组上调 Th1 细胞的数量,下调 Treg 细胞的水平;在 PW 组中 Treg/Th1 比率反转	PE 组中 Th1 细胞分泌细胞因子 TNF- γ 增加,Tregs 分泌的 TGF- β 和 IL-10 水平降低,可能通过调节 TGF- β /smad 通路等途径,可抑制 Tregs 的分化,逆转 Treg/Th1 平衡,提高免疫功能,显著减小肿瘤体积和重量	[63]
	肝癌 Hepal-6 细胞株	B	在生理条件下,DHSCP 对幼稚的 CD ₄ ⁺ T 细胞分化无明显影响。单纯的 CD ₄ ⁺ T 细胞与 Hepal-6 细胞共培养 72 h 后,即使在 Th1 抗诱导下,仍有更大的向 Treg 细胞分化的倾向。PW、PE 对 Treg 细胞的分化抑制明显,并伴随着 Treg/Th1 比率的逆转。PW、PE 通过抑制 Treg 的分化,逆转 Treg/Th1 的平衡,影响肝癌免疫系统,显著减小肿瘤体积和重量,而 PP、PB 部分则无上述作用	PB 处理后,PI3K 和 AKT 的磷酸化水平增加,表明 PB 状态下 Th1 样 Treg 细胞数量的增加可能是由于 PI3K/AKT 通路的激活所致;PW 主要通过影响肝癌细胞代谢、改善肿瘤微环境酸度、谷氨酰胺耗竭等途径抑制 Treg 细胞的分化;PE 主要通过调节 TGF- β /Smad 途径抑制 Treg 细胞的分化	

注: A: 体内实验, B: 体外实验。

降低转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 的表达,减弱 γ -干扰素(interferon, IFN- γ) 的抑制作用有关。

翟俊红^[12]和 WU L 等^[63]的体内实验也证实了大黄廔虫丸具有激活 CD₈⁺T 细胞、抑制 Tregs 细胞、减轻肿瘤免疫逃逸、提高

机体免疫力的作用。大黄廔虫丸具备的免疫调节作用,是其“寓攻于补,祛邪扶正”的中医特色治法的体现。

因篇幅有限,笔者归纳文中提及的体内外实验研究,对其给药类型、实验对象、实验方式、相关机制进行总结。见表3。

4 小结

本文从中医组方特色、临床研究、分子机制研究等三方面对大黄廔虫丸抗肝癌作用机制进行总结,发现大黄廔虫丸有明确的抗肝癌作用,疗效可靠,无论是联合TACE或静脉化疗,还是单用治疗肝癌终末期患者或肝转移癌患者,均可改善症状、延长患者生命,提高临床受益率。但目前对大黄廔虫丸的研究仍存在不足之处:①原方为蜜丸,当今市面上有胶囊剂、片剂等多种剂型,失去原方之义,不利于药效发挥,亟待剂型的统一;②本方含有大量虫类药物,药材的选取、炮制的不同,对最终成分及药效都有影响,制剂工艺及审批标准亟待规范和统一;③作为成药制剂,本方治疗肝癌的适用证型及临床症状未统一,临床不能规范应用本方,何期进行中药干预?何时使用本方?疗程如何?都有待进一步研究;④目前关于本方的临床研究大多为单中心、小样本研究,缺乏多中心、大样本的随机对照试验,研究结果国际信服力不够;⑤中药复方,成分复杂,机制颇多,不同机制之间是否具有关联性、协同性?中药与化疗药物同用时,之间的联系如何,是否有新的靶点通路,目前尚未可知;⑥本方的分子机制研究和靶点均较局限且不够深入,近年来并没有新的相关研究成果,不利于本方的进一步探索。综上,本方治疗肝癌疗效确切,价格低廉,适合肝癌患者长期应用,但在临床和分子机制研究中仍然存在不足之处,这将是未来本方的重点探究方向。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, 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] ZENG H, CHEN W, ZHENG R, et al. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries[J]. Lancet Glob Health, 2018, 6(5): 555-567.

[3] 赵文霞, 陈欣菊. 原发性肝癌中医药诊疗原则及方案构建[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(9): 2005-2008.

[4] 姚依勃, 龚亚斌. 中医药防治肝癌复发转移的研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(5): 871-875.

[5] 侯超, 张晓春, 吴吟秋, 等. 《伤寒杂病论》经方抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(1): 308-310.

[6] 邹建华, 肖战说, 李刘生, 等. 《金匱要略》类方在肝癌治疗中的应用[J]. 山东中医杂志, 2021, 40(12): 1297-1301.

[7] 张仲景. 何任等. 整理. 金匱要略[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 24.

[8] 吴丽, 付传奎, 张子蒙, 等. 大黄廔虫丸动物药质量标志物的含量测定[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(11): 1720-1725.

[9] 郑文利, 郑祎, 李慧杰, 等. 大黄廔虫丸抗肿瘤作用机制及临床应用研究进展[J]. 国际中医中药杂志, 2020, 42(6): 609-611.

[10] 卢艺, 王刚, 张静静, 等. 浅析虫类药治疗妇人癥瘕历史沿革

及应用机理[J]. 新中医, 2022, 54(6): 197-200.

[11] 徐爽, 李志鸣, 钟相根. 《金匱要略》大黄廔虫丸“缓中补虚”探析[J]. 中医学报, 2020, 35(1): 23-26.

[12] 翟俊红. 大黄廔虫丸对H₂肿瘤小鼠免疫调节的实验研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2007.

[13] 吕艳杭, 吴姗姗, 王振常, 等. 柔肝化纤解毒颗粒联合TACE治疗原发性肝癌疗效及其血清指标和免疫功能的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(4): 2386-2390.

[14] 孙志刚, 李佳, 焦勤书, 等. 动脉置管灌注华蟾素注射液联合索拉非尼治疗经动脉化疗栓塞术后原发性肝癌患者近期疗效观察[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(5): 223-226.

[15] 戴朝明, 靳松. 大黄廔虫丸对原发性肝癌瘀血阻络型患者AFP-L3、VEGF、TGF-β1及免疫功能的影响[J]. 浙江中医杂志, 2021, 56(5): 313-314.

[16] 戴朝明, 靳松, 张济周. 大黄廔虫丸联合TACE术对原发性肝癌患者(瘀血阻络型)VEGF、MMP-2、TGF-β1及免疫功能的影响[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(3): 722-729.

[17] 侯宝松, 刘霞, 王海峰, 等. 逍遥方合大黄廔虫方加减联合肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌肝郁脾虚证患者免疫功能和生活质量的影响[J]. 河北中医, 2020, 42(9): 1346-1350.

[18] 侯宝松, 王海峰, 徐海晶, 等. 逍遥方合大黄廔虫方加减联合TACE治疗原发性肝癌的疗效观察[J]. 医学信息, 2019, 32(2): 59-62.

[19] 王海峰, 侯宝松, 徐海晶, 等. 逍遥方合大黄廔虫方加减联合肝动脉栓塞术对原发性肝癌患者肝功能的影响[J]. 中国药业, 2021, 30(1): 79-82.

[20] 冯海群, 苏静. 大黄廔虫丸联合肝动脉栓塞术对原发性肝癌肝功能的影响[J]. 实用中医内科杂志, 2022, 36(7): 45-47.

[21] 谢美清, 赵晓芳, 刘旭东. 大黄廔虫丸对肝癌介入治疗致肝纤维化相关指标的影响[J]. 广西中医药, 2014, 37(2): 46-47.

[22] 杨昭, 张岚. 大黄廔虫丸合消瘿汤对老年晚期原发性肝癌患者生存率的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(10): 2098-2101.

[23] 杨军民, 何耀辉, 马宝梅. 大黄廔虫丸联合化疗治疗原发性肝癌35例[J]. 西部中医药, 2018, 31(10): 83-85.

[24] 吴洁, 申弘道. 大黄廔虫丸联合化疗治疗中晚期原发性肝癌的临床观察[J]. 西部中医药, 2011, 24(10): 54-55.

[25] 周利. 大黄廔虫丸联合吉西他滨及奥沙利铂方案治疗原发性肝癌临床观察[J]. 新中医, 2014, 46(2): 161-163.

[26] 赵宁宁, 陶汉华, 陈树全. 大黄廔虫丸治疗原发性肝癌15例[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(11): 1463.

[27] 李颂华. 大黄廔虫丸为主治疗肝癌一例[J]. 内蒙古中医药, 1991, 10(3): 19.

[28] 文汉英, 雒亚群, 杨晓梅. 大黄廔虫丸为主治疗晚期恶性肿瘤[J]. 陕西中医学院学报, 2004, 27(5): 53-54.

[29] 杨勤龙. 大黄廔虫丸为主治疗晚期恶性肿瘤[J]. 中医临床研究, 2013, 5(19): 16-17.

[30] 许树才, 李权, 王虚实. 大黄廔虫丸预防晚期肿瘤患者静脉血栓的临床观察[J]. 贵阳中医学院学报, 2009, 31(5): 34-35.

[31] 陈嘉璐, 李湧健, 张蕾, 等. 四逆汤对肝癌细胞PCNA和cyclinD1影响的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(5):

- 1162-1165.
- [32] 郝传铮, 施公胜, 朱建华, 等. 鳖甲煎丸大黄廔虫丸联合华蟾素预防实验性肝癌的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 10(24): 3203-3204.
- [33] 施公胜, 郝传铮, 黄丹顾, 等. 联合中药治法抑制大鼠肝癌的实验研究[J]. 河南肿瘤学杂志, 2005, 18(4): 275-276.
- [34] KORUK M, OZKILIC S, SAVAS M C, et al. Evaluation of hepatic functions and biliary dynamics in patients with liver cirrhosis by quantitative scintigraphy [J]. *Hepatogastroenterology*, 2003, 50(54): 1803-1805.
- [35] 程木华, 潘志恒, 饶国辉, 等. 肝胆显像分析大黄廔虫丸对肝细胞功能的影响[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(5): 564-566.
- [36] 吴翠珍, 亓勇, 陶汉华. 大黄廔虫丸抗肝肿瘤复发转移的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(6): 939-940.
- [37] 吕翠霞, 翟俊红. 大黄廔虫丸抗 H₂₂ 肝癌模型小鼠转移实验研究[J]. 山东中医杂志, 2010, 29(9): 632-633.
- [38] LIU Y, CAO X. Characteristics and significance of the pre-metastatic niche [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(5): 668-681.
- [39] CHEN C, YAO X, XU Y, et al. Dahuang Zhechong Pill suppresses colorectal cancer liver metastasis via ameliorating exosomal CCL2 primed pre-metastatic niche [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 238: 111878.
- [40] 李文新, 车念聪, 王金光, 等. 大黄丸加黄芪、水红花子对拮抗大鼠肝纤维化作用的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(12): 5320-5322.
- [41] 吕小燕, 刘强, 苏娟萍, 等. 大黄廔虫丸对免疫性肝纤维化大鼠血流变及微循环的影响[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(4): 867-869.
- [42] TENG Y, REN Y, HU X, et al. MVP-mediated exosomal sorting of miR-193a promotes colon cancer progression [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 14448.
- [43] CHEN R, XU X, TAO Y, et al. Exosomes in hepatocellular carcinoma: a new horizon [J]. *Cell Commun Signal*, 2019, 17(1): 1.
- [44] YANG B, FENG X, LIU H, et al. High-metastatic cancer cells derived exosomal miR92a-3p promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis of low-metastatic cancer cells by regulating PTEN/Akt pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2020, 39(42): 6529-6543.
- [45] QIAN B Z, LI J, ZHANG H, et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis [J]. *Nature*, 2011, 475(7355): 222-225.
- [46] BAECK C, WEHR A, KARLMARK K R, et al. Pharmacological inhibition of the chemokine CCL2 (MCP-1) diminishes liver macrophage infiltration and steatohepatitis in chronic hepatic injury [J]. *Gut*, 2012, 61(3): 416-426.
- [47] SARASWATHY M, GONG S. Different strategies to overcome multidrug resistance in cancer [J]. *Biotechnol Adv*, 2013, 31(8): 1397-1407.
- [48] DOMENIS R, BISETTO E, ROSSI D, et al. Glucose-modulated mitochondria adaptation in tumor cells: a focus on ATP synthase and inhibitor Factor 1 [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(2): 1933-1950.
- [49] WU L, ZHAO J, CAO K, et al. Oxidative phosphorylation activation is an important characteristic of DOX resistance in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cell Commun Signal*, 2018, 16(1): 6.
- [50] 吴丽, 倪子惠, 赵佳妤, 等. 大黄廔虫丸含药血清对肝癌 SMMC-7721 细胞能量代谢的影响[J]. 中成药, 2018, 40(7): 1473-1478.
- [51] WU L, ZHAO J, CAI H, et al. Dahuang zhechong pill combined with doxorubicin induces cell death through regulating energy metabolism in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 6279576.
- [52] WU L, CAO K X, NI Z H, et al. Effects of Dahuang zhechong pill on doxorubicin-resistant SMMC-7721 xenografts in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 222: 71-78.
- [53] 朱婷婷, 程紫薇, 邢东炜, 等. 基于 HIF-1 α /VEGF/NF- κ B 信号通路探讨天冬多糖调控 COMMD3 抑制肝癌血管生成的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(5): 2836-2841.
- [54] 张鹏, 刘春英, 苗玉荣, 等. 血管内皮生长因子在肝癌治疗及预后中的研究[J]. 中医药学刊, 2006, 24(2): 282-283.
- [55] CHEN H, YANG F, FU C, et al. Study on the material basis of Dahuang Zhechong pill of anti-hepatoma effect by promoting vascular normalization [J]. *Biomedical Chromatography*, 2022, 36(5): 5305.
- [56] MELINCOVICI C S, BOSCA A B, SUSMAN S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2018, 59(2): 455-467.
- [57] 宋荣强. 大黄廔虫丸抗肝肿瘤机理研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2011.
- [58] ZELIGS K P, NEUMAN M K, ANNUNZIATA C M. Molecular pathways: the balance between cancer and the immune system challenges the therapeutic specificity of targeting nuclear factor- κ B signaling for cancer treatment [J]. *Clinical Cancer Research*, 2016, 22(17): 4302-4308.
- [59] LIN Z, WU L, XIE Y, et al. The expression levels of transcription factors T-bet, GATA-3, ROR γ t and FOXP3 in peripheral blood lymphocyte (PBL) of patients with liver cancer and their significance [J]. *International Journal of medical Sciences*, 2015, 12(1): 7-16.
- [60] ZHENG C, ZHENG L, YOO J, et al. Landscape of infiltrating t cells in liver cancer revealed by single-cell sequencing [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1342-1356.
- [61] 亓勇. 大黄廔虫丸抗肝癌作用的机理研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2004.
- [62] CHEN T, DU S, WANG S, et al. Dahuang Zhechong pills inhibit liver cancer growth in a mouse model by reversing Treg/Th1 balance [J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2022, 20(2): 102-110.
- [63] WU L, YANG F, XING M, et al. Multi-material basis and multi-mechanisms of the Dahuang Zhechong pill for regulating Treg/Th1 balance in hepatocellular carcinoma [J]. *Phytomedicine*, 2022, 100: 154055.