

## 鳖甲煎丸化裁方对肝癌 HCCLM3 细胞增殖和凋亡的影响\*

高业博<sup>1,2</sup> 李卫东<sup>1</sup> 刘瑞<sup>1</sup> 郭秋均<sup>1</sup> 蒋树龙<sup>1,3#</sup>

(1 中国中医科学院广安门医院肿瘤科 北京 100053; 2 中国中医科学院望京医院肿瘤科;  
3 济宁市第一人民医院肿瘤科)

**摘要:**目的 探讨鳖甲煎丸化裁方对肝癌 HCCLM3 细胞增殖和凋亡的影响。方法 采用 SD 大鼠每天灌胃鳖甲煎丸化裁方(21 g/kg) 7 d 后腹主动脉取血离心获得含药血清。96 孔板加入不同浓度鳖甲煎丸化裁方含药血清,分别干预 24、48、72 h 后,每孔加入 10 μL MTT 溶液,继续培养 4 h 检测各含药血清对 HCCLM3 增殖的影响;培养 HCCLM3 细胞后,向各孔内分别加入 5%、10%、20% 的鳖甲煎丸化裁方含药血清及葫芦素 I 培养 24、48 h 后,Annexin V-FITC/PI 法检测含药血清对 HCCLM3 凋亡的影响。结果 鳖甲煎丸化裁方各浓度含药血清在干预 24 h 后 5%、10% 含药血清对细胞增殖的影响不大,与对照组相比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在各给药组干预 48 h 后,10%、20% 含药血清组的增殖率分别为 87.86% 和 84.60%,与对照组相比较,对细胞的增值率影响具有统计学差异( $P < 0.05$ )。各给药组在干预 24 h 后 5% 含药血清组对细胞造成的凋亡与对照组相比较,无统计学差异( $P > 0.05$ ),而 10%、20% 含药血清及葫芦素 I(0.5 μmol/L) 的凋亡率分别为 7.90%、12.22% 和 15.36%,具有统计学差异( $P < 0.05$ )。各给药组在干预 48 h 后 鳖甲煎丸代裁方含药血清 5%、10%、20% 组及葫芦素 I(0.5 μmol/L) 的凋亡率分别为 8.08%、11.95%、13.89% 和 19.02%,与对照组比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 鳖甲煎丸化裁方含药血清具有明显抑制 HCCLM3 增殖并促进其凋亡的作用,作用效果随剂量增加而增强。

**关键词:** 鳖甲煎丸化裁方; 肝癌; HCCLM3 细胞; 细胞增殖; 凋亡

中图分类号: R285.5 doi: 10.3969/j.issn.1006-2157.2018.06.006

## Effects of modified *biejiajian* pill on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma HCCLM3 cells\*

Gao Yebo<sup>1,2</sup>, Li Weidong<sup>1</sup>, Liu Rui<sup>1</sup>, Guo Qiujuan<sup>1</sup>, Jiang Shulong<sup>1,3#</sup>

(1 Department of Oncology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; 2 Department of Oncology, Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China; 3 Department of Oncology, Jinan No. 1 People's Hospital, Shandong 272111, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of modified *biejiajian* (Turtle Shell Decoction, BJJ) pill on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma HCCLM3 cells. **Methods** Modified BJJ pill was orally administered to SD rats at 21 g/kg dosage for 7 days. Blood samples were drawn from the rat abdominal aorta at d7 and then centrifuged to prepare medicated serum. Modified BJJ medicated serum at different concentrations were added into 96-well-plates. At 24 h, 48 h, 72 h, 10 μL MTT solution was further added into each well, incubated for another 4h, and effects of medicated serum on the proliferation of HCCLM3 were then observed; Cultured HCCLM3 cells were administered with

高业博,女,博士,住院医师

# 通信作者: 蒋树龙,男,博士,主任医师,研究方向: 中医药抗肿瘤机制研究, E-mail: jnsljiang@163.com

\* 国家自然科学基金资助项目( No. 81403346), 中国博士后科学基金项目( No. 2014M550132), 山东省自然科学基金资助项目( No. ZR2014HL095)

National Natural Science of China ( No. 81403346), China Postdoctoral Science Foundation Project ( No. 2014M550132), Shandong National Science Foundation Project ( No. ZR2014HL095)

Chinese medicine (CM) medicated serum (5%, 10%, 20%) and cucurbitacin I, then the cells were incubated for 24h and 48h, on which Annexin V-FITC/PI was used to evaluate the effects of medicated serum on HCCLM3 apoptosis. **Results** At 24h after treated with BJJ at different concentrations, 5% and 10% of BJJ had little effect on HCCLM3 cell proliferation, and the difference was not statistically significant compared with the control group ( $P > 0.05$ ). After 48-h treatment of BJJ, cell proliferation rates were significantly higher in the BJJ and BJJ groups (87.86%, 84.60% respectively) compared with the control group ( $P < 0.05$ ). 5% BJJ had little effect on HCCLM3 cell apoptosis, and the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ) compared with control group. Apoptosis rates were 7.90%, 12.22% and 15.36% in 10% BJJ, 20% BJJ and cucurbitacin I (0.5 μmol/l) groups respectively with significant difference compared with the control group ( $P < 0.05$ ). After 48-h treatment, apoptosis rates in the 5%, 10% and 20% BJJ, and cucurbitacin I (0.5 μmol/l) groups were 8.08%, 11.95%, 13.89% and 19.02% respectively, statistically higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Modified BJJ medicated serum could inhibit the proliferation and increase the apoptosis rates of HCCLM3 cells. The effects were dose-dependent.

**Keywords:** *biejiajian* pill; hepatocellular carcinoma; HCCLM3 cell; proliferation; apoptosis

肝癌是临床常见恶性肿瘤,其早期症状隐匿,恶性程度较高,病情进展快,早期诊断率较低,确诊时多数已发展为中、晚期,发生局部侵袭及远处转移。治疗颇为棘手。现有资料表明<sup>[1]</sup>,在肝癌治疗的不同阶段,中医药的介入能够改善患者生存质量,延长患者生存期。本研究采用鳖甲煎丸化裁方的肝癌临床治疗效验方,通过观察其对人高转移肝癌细胞 HCCLM3 增殖和凋亡的影响,为其临床应用提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 细胞和动物

人高转移肝癌 HCCLM3 细胞由中国中医科学院肿瘤医院研究所提供。

SD 大鼠购于北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号: SCXK(京)2012-0001,动物质量合格证号: 11400700045647。

### 1.2 伦理审查

遵照“实验动物环境及设施 GB14925-2001”,遵守实验动物福利与伦理原则,研究方案获得中国中医科学院广安门医院实验动物伦理委员会批准并全过程跟踪。

### 1.3 药物、试剂与仪器

DMEM 培养基(美国 Hyclone 公司),胎牛血清(美国 Gibco 公司),多功能酶标仪(美国 Biotek 公司,型号 Synergy HT),CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(日本 Sanyo 公司,型号 MCO-18AIC),血细胞计数板(上海精密仪器仪表有限公司),恒温微孔板快速振荡器(江苏

海门其林贝尔仪器制造有限公司,型号 QB-9006),FACS420 流式细胞仪(美国 Becton-Dickinson 公司),Axiovert25 倒置相差显微镜(德国 Carl Zeiss 公司,型号 Axiovert25)。

鳖甲煎丸化裁方组成:姜半夏 9 g、丹参 15 g、浙贝 9 g、麝虫 9 g、炙鳖甲 15 g、厚朴 9 g、壁虎 4.5 g、人参 9 g、绞股蓝 15 g。

## 2 方法

### 2.1 鳖甲煎丸代裁方含药血清及葫芦素 I 溶液制备

20 只健康 SD 大鼠,随机分为 2 组:空白组、鳖甲煎丸代裁方组,每组 10 只,分组当天开始给药,鳖甲煎丸代裁方组给予药物浓缩液灌胃(含生药量 2.1 g/mL,10 mL/kg,按正常成人临床等效剂量的 2 倍×人与大鼠药物剂量换算系数 6.71 倍,以成人体重 60 kg 计算),空白组给予等量生理盐水,每天 1 次,连续给药 7 d,末次给药 1 h 后腹主动脉取血,低温 4 °C 离心(3 000 r/min,5 min),取上层血清,分装,保存于 -80 °C 冰箱,作用于细胞培养体系前置于 56 °C 水浴中 30 min 灭活。

JAK2/STAT3 抑制剂 葫芦素 I 溶液:用 DMSO 溶解并配成储存液(5 g/L)避光保存于 -20 °C 冰箱中,DMSO 的处理细胞终浓度 ≤ 0.1%。

### 2.2 细胞分组

空白血清组,20% 鳖甲煎丸代裁方含药血清组,10% 鳖甲煎丸代裁方含药血清组,5% 鳖甲煎丸代裁方含药血清组;JAK2/STAT3 抑制剂葫芦素 I 0.125、

0.25、0.5、1.0  $\mu\text{mol/L}$ 不同浓度组。

### 2.3 细胞增殖实验

收集对数生长期细胞,调整细胞悬液浓度,准备3个96孔板,每孔加入100  $\mu\text{L}$ ,铺96孔板使待测细胞密度调至 $5 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ ,(边缘孔用无菌PBS填充)。5%  $\text{CO}_2$  37  $^\circ\text{C}$  孵育,至细胞贴壁(96孔板)后,吸净培养基,加入90  $\mu\text{L}$  无血清高糖DMEM。调零孔加入100  $\mu\text{L}$  无细胞无血清DMEM,其余各孔加入不同浓度含药血清培养液,每组设5个复孔。5%  $\text{CO}_2$  37  $^\circ\text{C}$  孵育,倒置显微镜下观察。分别于24、48、72 h分别取一块培养板,每孔加入10  $\mu\text{L}$  MTT溶液,继续培养4 h。终止培养,小心吸去孔内培养液。每孔加入150  $\mu\text{L}$  二甲基亚砜,置水平振荡器上低速振荡10 min,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪490 nm处测量各孔的吸光值。重复实验3次。

细胞增殖率的计算方法:细胞增值率=(给药组OD值-调零孔OD值)/(空白组OD值-调零孔OD值)。

### 2.4 细胞凋亡实验

培养HCCLM3细胞,向各孔内分别加入鳖甲煎丸化裁方含药血清及葫芦素I培养24、48 h后,胰酶消化,制成HCCLM3细胞悬液,用冰PBS缓冲液洗2遍;用1  $\times$  Binding Buffer(纯水:原Binding Buffer=9:1)重悬细胞,用移液枪轻轻打散细胞团,混匀振荡,用血细胞计数器计数;向流式管内加入100  $\mu\text{L}$  各组细胞悬液( $1 \times 10^6$  个/管);在避光条件下,向已加好细胞悬液的流式管内各加入5  $\mu\text{L}$  FITC Annex-

in V和10  $\mu\text{L}$  PI,用振荡器混匀振荡,避光孵育15 min;向各流式管内加入400  $\mu\text{L}$  1  $\times$  Binding Buffer,混匀;用滤纸过滤到另一新的标记好的流式管内;1 h内FACSCalibur Flow Cytometer System上机待测。重复实验3次。

### 2.5 统计方法

数据采用SPSS 22.0软件进行分析,数据描述采用均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验。所有的统计检验均采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 鳖甲煎丸化裁方含药血清在不同时间点对于HCCLM3细胞增殖的影响

各给药组在干预24 h后,与空白血清组相比较,鳖甲煎丸代裁方组和葫芦素I 4个浓度梯度均可以明显抑制细胞增殖,具有统计学意义( $P < 0.05$ )。在各给药组干预48、72 h后,与空白血清组相比较,10%、20%鳖甲煎丸代裁方组对细胞的增值率影响具有统计学差异( $P < 0.05$ )。干预48 h后,10%、20%鳖甲煎丸代裁方组的增殖率分别为87.86%和84.60%,而葫芦素I 4个浓度梯度对细胞的增值率影响与空白血清组相比明显抑制细胞增值率,且葫芦素I在浓度为0.5  $\mu\text{mol/L}$ 时干预48 h后对细胞增殖的抑制率约为50%,在后续的实验中选用葫芦素I IC50为0.5  $\mu\text{mol/L}$ 作用于细胞。鳖甲煎丸化裁方含药血清对HCCLM3增殖的抑制呈剂量依赖。结果见表1。

表1 各组在给药24、48、72 h HCCLM3增殖率(%; $\bar{x} \pm s$ ;  $n=3$ )

Table 1 Proliferation rates of HCCLM3 at 24, 48, 72 h in all groups(%; $\bar{x} \pm s$ ;  $n=3$ )

组别 Groups	剂量( $\mu\text{mol/L}$ ) Dose	24 h	48 h	72 h
空白血清组 Blank serum group		97.190 $\pm$ 11.681	95.263 $\pm$ 6.559	94.743 $\pm$ 6.192
5% 鳖甲煎丸代裁方组 5% Modified BJJ group		96.334 $\pm$ 7.081	93.237 $\pm$ 4.529	88.921 $\pm$ 4.549*
10% 鳖甲煎丸代裁方组 10% Modified BJJ group		94.318 $\pm$ 4.876	87.869 $\pm$ 7.286*	84.263 $\pm$ 5.729**
20% 鳖甲煎丸代裁方组 20% Modified BJJ group		86.836 $\pm$ 6.001*	84.605 $\pm$ 8.018*	83.221 $\pm$ 7.436**
葫芦素I组 Cucurbitacin I group	0.125	78.250 $\pm$ 3.291**	76.283 $\pm$ 11.229**	72.325 $\pm$ 9.588**
葫芦素I组 Cucurbitacin I group	0.25	76.210 $\pm$ 8.105***	71.472 $\pm$ 7.931***	65.898 $\pm$ 4.463***
葫芦素I组 Cucurbitacin I group	0.5	60.129 $\pm$ 9.238***	53.727 $\pm$ 9.101***	42.258 $\pm$ 2.987***
葫芦素I组 Cucurbitacin I group	1.0	41.260 $\pm$ 5.467***	32.167 $\pm$ 3.358***	28.962 $\pm$ 3.456***
F		77.72	94.31	132.31
P		0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较 \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$ 。

Note: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$  compared with blank serum group.

### 3.2 鳖甲煎丸化裁方在不同时间点对 HCCLM3 细胞凋亡率的影响

采用 Annexin V-FITC/PI 法检测空白血清组, 20%、10%、5% 鳖甲煎丸化裁方组及葫芦素 I (0.5  $\mu\text{mol/L}$ ) ,分别在细胞培养 24、48 h 后,对于高转移肝癌细胞系 HCCLM3 细胞凋亡的影响。结果表明,各给药组在干预 24 h 后,与空白血清组相比较,5% 鳖甲煎丸化裁方组对细胞造成的凋亡无差异,而

10%、20% 鳖甲煎丸化裁方组及葫芦素 I 组的凋亡率分别为 7.90%、12.22% 和 15.36% ,具有统计学差异 ( $P < 0.05$ ) 。各给药组在干预 48 h 后,与空白血清组相比较,5%、10%、20% 鳖甲煎丸化裁方组及葫芦素 I 组的凋亡率分别为: 8.08%、11.95%、13.89% 和 19.02% ,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) 。结果见表 2、图 1。

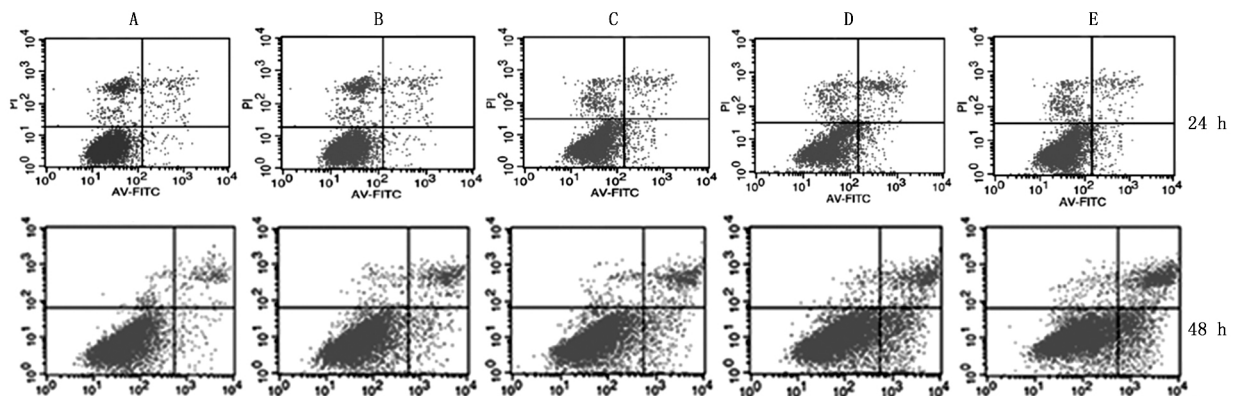
表 2 各组在不同时间点 HCCLM3 细胞凋亡率( % ;  $\bar{x} \pm s$  ;  $n = 3$ )

Table 2 Apoptosis rates of HCCLM3 at 24 , 48 h in all groups( % ;  $\bar{x} \pm s$  ;  $n = 3$ )

组别 Groups	剂量( $\mu\text{mol/L}$ ) Dose	24 h	48 h
空白血清组 Blank serum group		5.293 $\pm$ 0.688	5.726 $\pm$ 0.696
5% 鳖甲煎丸代裁方组 5% Modified BJJ group		6.033 $\pm$ 0.970	8.087 $\pm$ 1.966*
10% 鳖甲煎丸代裁方组 10% Modified BJJ group		7.900 $\pm$ 0.885*	11.957 $\pm$ 0.951**
20% 鳖甲煎丸代裁方组 20% Modified BJJ group		12.223 $\pm$ 0.319***	13.890 $\pm$ 1.844**
葫芦素 I 组 Cucurbitacin I group	0.5	15.360 $\pm$ 1.935***	19.027 $\pm$ 2.088***
F		45.86	30.91
P		0.000	0.000

注: 与空白血清组比较 \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$ 。

Note: \*  $P < 0.05$  , \*\*  $P < 0.01$  , \*\*\*  $P < 0.001$  compared with blank serum group.



A: 空白血清组; B: 5% 鳖甲煎丸代裁方组; C: 10% 鳖甲煎丸代裁方组; D: 20% 鳖甲煎丸代裁方组; E: 葫芦素 I 组。

A: Blank serum group; B: 5% Modified BJJ group; C: 10% Modified BJJ group; D: 20% Modified BJJ group; E: Cucurbitacin I group.

图 1 各组在 24、48 h 时对 HCCLM3 细胞凋亡率的影响

Fig.1 Apoptosis rate of HCCLM3 cells at 24 , 48 h in all groups

## 4 讨论

现代研究表明,痰瘀与肿瘤的发生、发展、侵袭和转移密切相关,化痰祛瘀法是中医防治肿瘤复发转移的常用治疗法则<sup>[2]</sup>。目前国内诸多医家的研究支持从“痰瘀”角度对肝癌进行防治<sup>[3-5]</sup>。鳖甲煎丸是《金匱要略》中的经典方剂,具有行气活血、祛湿化痰、软坚散结消癥之功效,在多项临床及实验研究中鳖甲煎丸及其化裁方显示了有效的抗肿瘤作用<sup>[6-8]</sup>。

本研究团队采用鳖甲煎丸化裁方是具有行气化

瘀、软坚散结功效的抗肿瘤经验方,方中姜半夏、丹参化痰祛瘀散结为君;配伍廔虫咸寒入血,主入肝经,破血逐瘀,浙贝母、炙鳖甲化痰软坚散结,增强化痰祛瘀散结之力,均为臣药;更用厚朴燥湿消痰,下气宽中,壁虎活络散结,人参、绞股蓝益气健脾扶正,祛邪而不伤正,俱为佐使药。以上诸药合用,共奏化痰祛瘀消癥之功效。我们既往研究显示,鳖甲煎丸化裁方不但明显改善肝癌患者的肝功能、生活质量及中医证候指标,同时联合经导管肝动脉化疗栓塞术(TACE)治疗中晚期肝癌较单独应用 TACE 近期

总有效率提高了 23.29%<sup>[9]</sup>。

本研究初步探讨了鳖甲煎丸化裁方含药血清对于高转移潜能肝癌细胞 HCCLM3 的增殖和凋亡的影响。研究结果显示,细胞培养 24 h 后 5% 鳖甲煎丸化裁方含药血清对于 HCCLM3 细胞增殖的影响不大,与空白血清组相比无统计学差异。在各给药组干预 48、72 h 后,10%、20% 鳖甲煎丸化裁方含药血清对细胞的增值率影响差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。干预 48 h 后,10%、20% 鳖甲煎丸化裁方含药血清组的增殖率分别为 87.86% 和 84.60%。在凋亡实验中,各给药组在干预 24 h 后,与空白血清组相比较 5% 鳖甲煎丸化裁方对细胞造成的凋亡无差异,而 10%、20% 鳖甲煎丸化裁方的凋亡率分别为 7.90%、12.22%,具有统计学差异。各给药组在干预 48 h 后,与空白血清组相比较,5%、10%、20% 鳖甲煎丸化裁方的凋亡率分别为 8.08%、11.95%、13.89%,差异具有统计学意义。综上,本研究发现 20%、10%、5% 鳖甲煎丸化裁方含药血清对肝癌 HCCLM3 具有明显的抑制增殖并促进其凋亡的作用,且作用效应呈现剂量依赖性。然而鳖甲煎丸化裁方含药血清是通过何种途径实现上述作用的,其具体作用机制尚待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 蒋树龙,刘瑞,花宝金. 中医药联合 TACE 治疗原发性肝癌的系统评价[J]. 辽宁中医杂志,2013,40(12): 2406-2409.  
Jiang SL, Liu R, Hua BJ. Systematic review of TCM combined with TACE in treatment for primary liver carcinoma [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 40(12): 2406-2409.
- [2] 蒋树龙,花宝金. 肿瘤发生发展痰瘀本质及其与肿瘤微环境关系探析[J]. 中国中医基础医学杂志,2015,21(11): 1417-1419.  
Jiang SL, Hua BJ. Essence of phlegm-stasis leading to the genesis and development of tumor and the dialectical relationship between phlegm-stasis and tumor microenvironment [J]. Journal of Basic Chinese Medicine, 2015, 21(11): 1417-1419.
- [3] 孔怡琳,张海波,张玉佩,等. 从痰瘀角度探析肝癌的发病与防治思路[J]. 中国药物经济学,2012,7(2): 364-366.  
Kong YL, Zhang HB, Zhang YP, et al. To explore and analyze the pathogenesis and prevention methods of liver

cancer from the point of phlegm and blood stasis [J]. China Journal of Pharmaceutical Economics, 2012, 7(2): 364-366.

- [4] 王书杰,张永琴,韦艾凌. 浅论痰瘀在原发性肝癌发生、发展及转移中的作用[J]. 中国中医基础医学杂志,2012,18(9): 957-958.  
Wang SJ, Zhang YQ, Wei AL. Discussion on the role of phlegm and blood stasis in primary hepatocellular carcinoma occurrence, development and metastasis [J]. Journal of Basic Chinese Medicine, 2012, 18(9): 957-958.
- [5] 吕萍,沈丹,牟重临. 从脾虚夹痰瘀毒论治中晚期肝癌探讨[J]. 浙江中医杂志,2012,47(12): 859-860.  
Lyu P, Shen D, Mou ZL. Discussion on the treatment of advanced liver cancer from the perspective of spleen deficiency with phlegm and stasis [J]. Zhejiang journal of traditional Chinese medicine, 2012, 47(12): 859-860.
- [6] 姚世勇. 鳖甲煎丸加减治疗原发性肝癌 54 例[J]. 辽宁中医药大学学报,2009,11(6): 161-162.  
Yao SY. Modified Biejia decoction therapeutic effect on 54 patients with primary liver cancer [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2009, 11(6): 161-162.
- [7] 王丹,宋昊. 鳖甲煎丸含药大鼠血清对人肝癌 HEPG2 细胞 p53 和 Bcl-2 表达影响的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2010,28(7): 1507-1509.  
Wang D, Song H. The rat's blood serum of Biejia decoction for gene expression of human's liver HEPG2 cell p53 and bcl-2 to study [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2010, 28(7): 1507-1509.
- [8] 何秀兰,肖俐,刘传波,等. 鳖甲煎丸化裁与局部微创相结合治疗原发性肝癌 38 例临床观察[J]. 中国中医基础医学杂志,2013,19(4): 470-472.  
He XL, Xiao L, Liu CB, et al. Clinical observation of 38 primary liver cancer cases treated by the combination of varied Turtle Shell Decocted Pill and local minimally invasive method [J]. Journal of Basic Chinese Medicine, 2013, 19(4): 470-472.
- [9] 文庆贤,郭萍,蒋树龙. 化痰祛瘀方联合肝动脉化疗栓塞术治疗中晚期原发性肝癌[J]. 吉林中医药,2015,35(2): 150-153.  
Wen QX, Guo P, Jiang SL. HuaTanQuYu prescription combined with TACE treatment for advanced primary liver cancer. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2015, 35(2): 150-153.

(收稿日期:2018-08-02)