
道生（DAOSHENG）联合伊利替康治疗结肠癌作用 及小鼠生存研究结题报告

实验负责人：邓丽娟

实验人员：何臻伟、肖佳汶、杨福芹、黄晓、刘鹏程

实验日期：2026.03.03-2026.09.31

实验单位：暨南大学中医学院

联系电话：15521258158

联系人：邓丽娟

Email: lj Deng@jnu.edu.cn

填表日期：2026 年 月 日

主要缩略词中英文对照表		
英文缩写	英文全称	中文全称
CPT-11	Irinotecan Hydrochloride	伊利替康
DAB	3,3'-diaminobenzidine	二氨基联苯胺
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	DMEM 培养基
DMSO	Dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
DS	DAOVIVA DIGESTIVE CARE	道生
ECL	Electrochemiluminescence	化学发光
ECM	Extracellular matrix	细胞外基质
FBS	Fetal Bovine Serum	胎牛血清
HCT	Hematocrit	红细胞压积
HCT116	Human Colon Tumor 116	人结肠肿瘤细胞
H&E	Hematoxylin and Eosin	苏木素和伊红
HGB	Haemoglobin	血红蛋白
IHC	Immunohistochemistry	免疫组织化学
PBS	Phosphate buffer saline	磷酸盐缓冲液

目录

实验一：探索道生最大无毒耐受剂量	4
一、 实验材料	4
1.1 实验动物	4
1.2 实验样品以及给药剂量	4
二、 实验方法	4
三、 实验结果	5
1.1 道生对小鼠生存状态的影响	5
1.2 道生对小鼠体重的影响	5
1.3 道生对小鼠肝、肾功能的影响	6
四、 实验小结	7
实验二：道生（DAOSHENG）联合伊利替康治疗结肠癌作用及小鼠生存研究 8	
一、 实验材料和方法	8
二、 实验结果	14
1. 道生改善伊利替康引起的的毒副作用	14
2. 道生协同增强伊利替康的抗肿瘤作用	20
3. 实验结果汇总	22

实验一：探索道生最大无毒耐受剂量

一、实验材料

1.1 实验动物

6-8 周龄的雄性 C57BL/6 野生型雄性小鼠，25 只，25-30g，由珠海百试通生物科技有限公司提供（使用许可证号码：SYXK(粤)2022-0174），（生产许可证号码：SCXK(粤)2025-0051）。小鼠饲养于暨南大学方证研究中心，以每笼 5 只的密度饲养。动物的垫料、水瓶及其他在动物房中使用的物品均经过高温灭菌，饲养动物的饲料为经过真空包装处理的辐照维持饲料，动物饮用的水均经过净化处理。实验室环境温度为 20-26℃，相对湿度为 40%-70%，12h/12h 明暗交替。本实验的所有动物实验操作和研究均遵循《暨南大学动物实验伦理委员会指南》。

1.2 实验样品以及给药剂量

道生由美国 AAA Nutrition America, Inc. 公司提供。

依据人用剂量 5 g/60 kg，结合小鼠与人的剂量换算系数 9.01，经计算得出小鼠基础用药剂量为 0.75 g/kg（换算过程： $5000\text{ mg}/60\text{ kg}\times 9.01=750\text{ mg/kg}$ ，即 0.75 g/kg）。基于该基础剂量，实验设置 5 个组别，空白对照组、基础剂量的 1/5 倍（0.15 g/kg）、1 倍（0.75 g/kg）、5 倍（3.75 g/kg）及 15 倍（11.25 g/kg）。需特别说明的是，原定 25 倍安全剂量因道生粉末配置的药液过于浓稠，无法完成小鼠灌胃操作，为保障实验顺利开展并充分测试药物安全性，故调整为 15 倍作为最大测试剂量，可有效筛选药物安全剂量范围。

二、实验方法

小鼠正常饲养一周后，分为五组，分别是：CTL 组、0.15/g/kg 组、0.75/g/kg 组、3.75/g/kg 组、11.25/g/kg 组。对照组给等体积的生理盐水，其他组别按照上述剂量灌胃样品 13 天，观察体重、肾肝功能（检测血象指标）、有无死亡，确定安全使用剂量。

三、 实验结果

预实验期间，对各组小鼠的一般生理状态、体重变化、进食情况及肝肾功能指标进行系统监测，实验结果如下：

1.1 道生对小鼠生存状态的影响

实验全程经过 13 天饲养各组小鼠均无死亡情况，且日常进食情况良好，未出现进食量减少或拒食现象，说明道生在上述给药剂量下未影响小鼠进食功能；同时，观察到各剂量组小鼠日常活动正常、精神状态良好，无嗜睡、烦躁、运动异常等异常行为，提示道生药物未对小鼠正常生理活动产生抑制或干扰（图 1）。

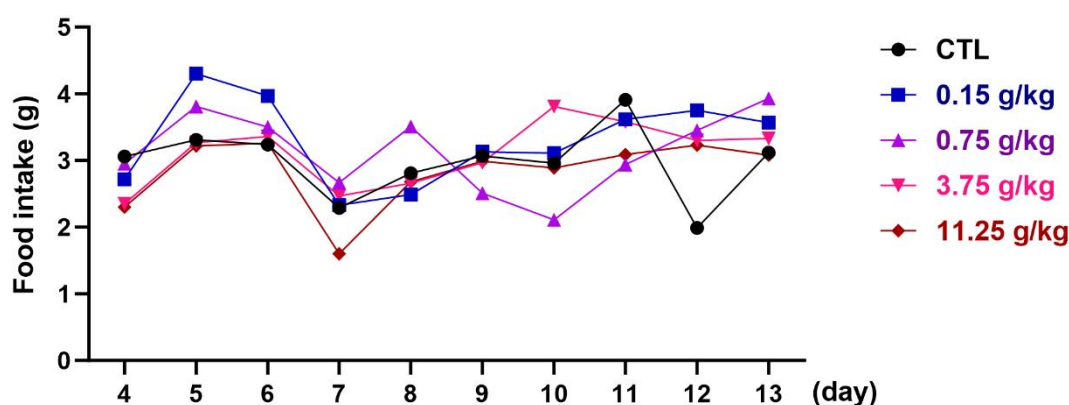


图 1 实验期间小鼠进食情况

1.2 道生对小鼠体重的影响

与空白对照组（CTL 组）相比，道生各剂量组小鼠未出现明显体重异常，组间 T 检验结果均为无显著性差异（ $p>0.05$ ），且实验最后一日小鼠体重与 CTL 组对比，T 检验结果亦为无显著性差异（ $p>0.05$ ），表明道生各剂量给药均未对小鼠体重增长造成不良影响（图 2）。

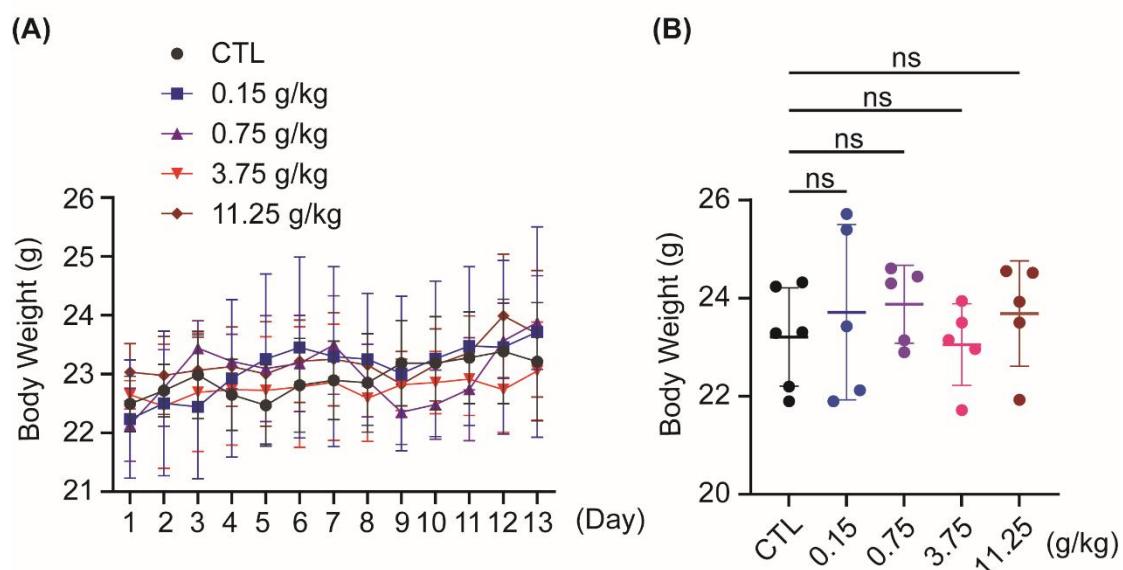


图 2 实验期间小鼠体重变化情况

1.3 道生对小鼠肝、肾功能的影响

小鼠连续服用道生药物 13 天后，取血检测肝、肾功能相关指标，结果显示丙氨酸氨基转移酶（ALT）与天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、尿素氮（Urea）、肌酐（Cre）和尿酸（UA）的指标与 CTL 组相比均未出现显著性差异，表明道生在本次实验设定的各剂量范围内，不会对小鼠肝、肾功能造成损伤，安全性良好，证明道生在实验期内无明显毒副作用（图 3）。

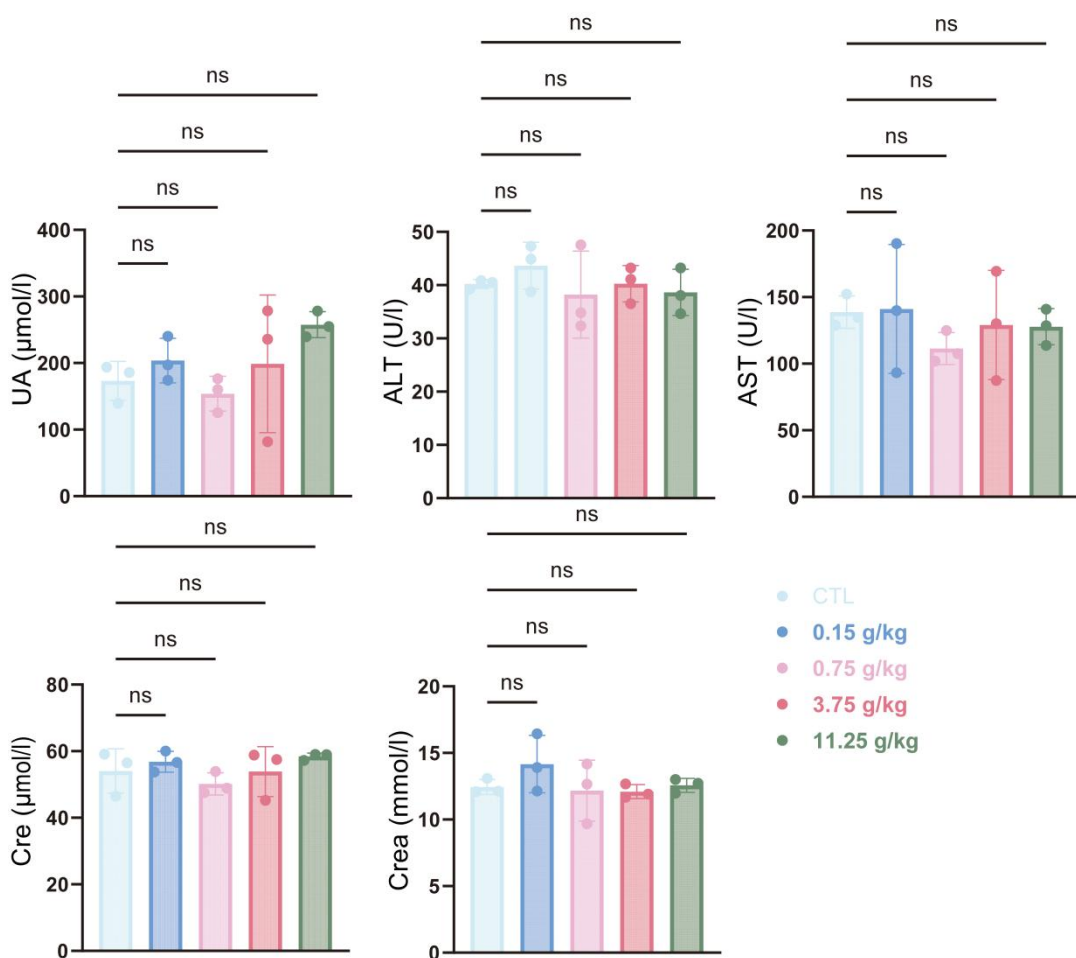


图 3 小鼠生化指标

四、 实验小结

本次预实验完成了道生药物小鼠给药剂量的优化与安全性验证，明确了道生药物在 0.15 g/kg 至 11.25 g/kg 剂量范围内，对小鼠的体重增长、进食功能、日常活动及肝肾功能均无不良影响，且无小鼠死亡情况发生，药物安全性得到初步证实。

本次预实验的结果不仅为后续道生联合伊利替康治疗结肠癌的正式实验提供了可靠的剂量参考和安全性依据，也验证了实验方案的可行性，为后续深入探究道生联合伊利替康的抗结肠癌作用奠定了坚实基础，同时通过优化给药剂量，减少了后续正式实验的动物损耗，体现了动物伦理审查的核心要求。后续可基于本次预实验确定的安全剂量范围，开展正式实验，进一步探究道生联合伊利替康对结肠癌的治疗效果及相关作用机制。

实验二：道生（DAOSHENG）联合伊利替康治疗结肠癌 作用及小鼠生存研究

一、实验材料和方法

一. 实验材料

1.1 实验细胞株

人结肠肿瘤细胞株 HCT116 于上海中国科学院生物化学与细胞生物学研究所购买。

1.2 实验动物

SPF 级 4-6 周龄的雄性 BALB/c Nude 裸鼠购买于广东药康生物科技有限公司（许可证号：）。小鼠在暨南大学实验动物管理中心（许可证号：20260409-01）以每笼五只的密度饲养。动物的垫料、水瓶及其他在动物房中使用的物品均经过高温灭菌，饲养动物的饲料为经过真空包装处理的辐照维持饲料，动物饮用的水均经过净化处理。本实验的所有动物实验操作和研究均遵循《暨南大学动物实验伦理委员会指南》。

1.3 实验主要试剂

表 1. 实验主要试剂清单

名称	产商
DAOVIVA DIGESTIVE CARE	美国 AAA 公司
DMEM 培养基	美国 Gibco 公司
胎牛血清	北京中生奥邦生物科技有限公司
0.25 %胰蛋白酶	美国 Gibco 公司
1 %青-链霉素	广东易优生物医药有限公司
二甲苯	美国 Sigma 公司
无水乙醇	美国 Sigma 公司
甲醇	美国 Sigma 公司
吐温-80 (tween-80)	美国 Sigma 公司

PEG300	美国 Sigma 公司
苏木素染液	武汉赛维尔生物科技有限公司
伊红染液	武汉赛维尔生物科技有限公司
20×抗原修复液 (pH 6.0/9.0)	武汉赛维尔生物科技有限公司
DAB 显色试剂盒	武汉赛维尔生物科技有限公司
苏木素分化液	武汉赛维尔生物科技有限公司
苏木素返蓝液	武汉赛维尔生物科技有限公司
0.9 %NACL 氯化钠注射液	武汉赛维尔生物科技有限公司
4 %多聚甲醛固定液	武汉赛维尔生物科技有限公司
StarScript III 一步法 RT-PCR 试剂盒	北京康润生物科技有限公司
2×RealStar Fast 染料法 qPCR 预混液	北京康润生物科技有限公司
Matrigel 基质胶	南京诺唯赞生物科技股份有限公司
QuickBlock™免疫染色封闭液	中国碧云天生物技术公司
内源性过氧化物酶封闭液	中国碧云天生物技术公司
QuickBlock™免疫染色一抗稀释液	中国碧云天生物技术公司
QuickBlock™免疫染色二抗稀释液	中国碧云天生物技术公司
中性树胶	中国碧云天生物技术公司
结晶紫粉末	中国碧云天生物技术公司
异氟烷	深圳市瑞沃德生命科技有限公司

1.4 实验用抗体

表 2. 实验用抗体清单

抗体名称	厂商	货号
Ki-67 (8D5) Mouse Monoclonal Antibody		
PCNA (PC10) Mouse mAb		
Cleaved Caspase-3 Rabbit mAb		
ZO-1 (D6L1E) Rabbit Monoclonal Antibody		
Occludin (E6B4R) Rabbit Monoclonal Antibody		
Claudin-5 (E5D9Y) Rabbit Monoclonal Antibody		

1.5 实验主要仪器和耗材

50 mL 离心管购买于上海生工生物有限公司；在美国康宁公司购买适配 24 孔培养板的 8.0 μm Transwell 嵌套小室；一次性的细胞培养皿、培养板、共聚焦小皿购买于无锡耐思公司；各种量程规格的一次性枪头购买于上海科进公司；0.45 μm PVDF 转印膜采购于美国 Millipore 公司；组织匀浆管购买于美国 Miltenyi Biotec 公司。

表 3.实验仪器清单

名称	产商	型号
垂直超净生物工作台	美国 Nuaire 公司	Nu435-400E
CO ₂ 恒温细胞培养箱	美国 Thermo Scientific	HERAcell 150i
液氮罐	青岛海尔生物公司	YDS-175-216
-80 °C 冰箱	美国 Thermo Scientific	HFU 586 basic
恒温水浴锅	韩国 Daihan Scientific 公司	WB-6
常温离心机	德国 Eppendorf 公司	5810
冷冻离心机	德国 Eppendorf 公司	5430R
石蜡包埋机	德国 Leica 公司	HistoCore Arcadia H
切片机	德国 Leica 公司	HistoCore BIOCUT
数字病理切片扫描仪	3DHISTECH	Pannoramic MIDI
高温灭菌锅	韩国 Daihan Scientific 公司	WAC-80
纯水和超纯水系统	法国 Merck Millipore	Milli-Q Integral 5
正置研究级显微镜	日本 Olympus 公司	BX53

1. 实验用试剂的配制

2.1 实验药物

①空白对照溶液：吸取 2.4 mL 的生理盐水注射液于 4 °C 保存备用。

②DS：用分析天平称取一定量的 DS 药材粉末，0.9% NaCl 溶液定容至一定体积，充分混匀，后放入 37°水浴锅超声，使得药液充分溶解,配制为 DS 药液。

③伊利替康：动物给药的药物溶液现配现用，用分析天平称取一定量的伊利替康粉末，溶于 DMSO，充分涡旋使得溶液充分溶解，后加入一定体积的 0.9% NaCl 溶液，充分摇匀至药物溶解呈澄清透明溶液。

2.2 实验用 1 %戊巴比妥钠溶液配制

称取 0.1 g 戊巴比妥粉末，加入 10 mL 生理盐水，涡旋使其完全溶解，随后用 0.2 μ m 的微孔滤膜过滤除菌，置于 4 $^{\circ}$ C 存放备用。

2. 实验方法

3.1 细胞培养和传代

HCT116 细胞用高糖 DMEM 培养，培养基均辅以 10% FBS 和 1 %青霉素-链霉素。所有细胞置于含 5% CO₂ 的 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养。待贴壁细胞生长至融合度约 80 %，弃去培养液，用无菌 PBS 缓冲液洗涤后，加入适量 0.25% 胰蛋白酶进行消化，镜下观察细胞呈亮圆，加入适量培养基终止消化，900 rpm 离心 2 min，吸走上清，加入新鲜培养基重悬细胞，取适量细胞种于新培养皿中。悬浮细胞传代首先收集所有培养液于离心管中，900 rpm 离心 2 min，弃去上清，用 PBS 缓冲液重悬细胞沉淀进行洗涤，再次离心弃去上清，加入新鲜培养基重悬细胞，取适量细胞进行传代培养。

3.2 体内实验

构建 BABL/c Nude 裸鼠皮下移植瘤模型：胰酶消化收集对数生长期的结肠癌细胞，PBS 缓冲液洗涤 3 次，用适量 PBS 缓冲液重悬备用。异氟烷麻醉裸鼠，用无菌注射器将 1×10^6 个细胞接种于 BABL/c Nude 裸鼠右侧腋下，待皮下瘤体积长至 100 mm³ 后，随机分为溶剂对照组、CPT-11 组、CPT-11 联合用药 DS-H 组、CPT-11 联合用药 DS-L 组。每天灌胃给药，定期记录小鼠体重及测量瘤径。将小鼠死亡或肿瘤体积超过 1500 mm³ 判定为实验终点，收集肿瘤组织提取原代肿瘤细胞或包埋切片作进一步分析。

3.3 免疫组织化学实验

①组织石蜡包埋：将 2.3.3 体内实验所得组织尽量吸干固定液后置于包埋盒中，组织依次置于 70%、80%、90%、95%乙醇中浸泡 0.5 h，于 100%乙醇I、100%乙醇II中浸泡 1 h，于二甲苯I、二甲苯II中浸泡 0.5 h，于低熔点（58-60 $^{\circ}$ C）

蜡、高熔点蜡（60-62℃）I、高熔点蜡II中浸泡 1 h。使用组织石蜡包埋机将组织包埋在模具中，待其冷却，冷却后将其从模具槽剥下即可。

②组织切片的制备：将包埋好的组织置于-20℃过夜冷冻，用石蜡切片机将组织蜡块切成 4 μm 厚度的切片，摊片后置于 60℃烤片机中蒸去多余水分，室温存放于切片盒中。

③脱蜡：将切片放置在铁架中，65℃烘箱中烤片 30 min，然后迅速浸泡在二甲苯I中，15min 后换至二甲苯II继续浸泡 15 min。

④水化：依次浸泡于梯度乙醇（100%乙醇、95%乙醇、90%乙醇、85%乙醇、80%乙醇、75%乙醇）复水 5 min。

⑤抗原修复：将稀释成 1×的 pH=9.0 的柠檬酸钠抗原修复液混匀后加入抗原修复盒子中，放置在微波炉中加热煮沸，同时煮沸高压锅中的水。将水化完成的切片放入抗原修复盒中，然后将切片置于高压锅内，高压锅上汽后加热 5 min，取出抗原修复盒，放凉至室温。

⑥透膜：切片用免疫组化笔围绕组织画疏水圈，滴加适量的 0.1%Triton X-100 覆盖组织，室温透膜 15 min，PBS 洗涤。

⑦内源性过氧化物酶封闭：滴加适量的内源性过氧化物酶封闭液，覆盖组织，封闭 5 min。

⑧封闭：PBS 清洗 3 次，滴加适量免疫染色封闭液，室温封闭 1 h，用 PBS 清洗 3 次。

⑨抗体孵育：将切片置于湿盒中，滴加适量的一抗，在 4℃孵育过夜。第二天用 PBS 震荡清洗 3 次，滴加对应的辣根过氧化物酶（HRP）结合的二抗孵育，室温孵育 1 h，完成后 PBS 震荡清洗 3 次。

⑩DAB 显色：在切片上滴加配制为 1×的 DAB 显色液，逐片进行显色，观察阳性染色后，立即使用纯净水终止反应。

⑪苏木素染色：将切片进行苏木素染色 2 min，流水浸洗，分化、返蓝，显微镜下观察直至细胞核颜色变为蓝色即可。

⑫封片：依次用 75%乙醇、80%乙醇、85%乙醇、90%乙醇、95%乙醇、100%乙醇浸泡 5 min 脱水，二甲苯II、二甲苯I浸泡 10 min，滴加中性树脂封片，正置显微镜拍照观察。

3.4 H&E 染色实验

将所得肝脏切片经二甲苯去蜡，梯度乙醇复水后，用蒸馏水洗 3 次。随后使用苏木素染色 2 min 至细胞核呈蓝色，流水浸洗，显微镜观察。随即用伊红液染色 2 min 后，流水浸洗。程序脱水后用中性树胶封片，显微镜下拍照。

3.5 统计学分析

数据结果采用 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 表示。两组数据之间的比较分析采用 t -test 检验比较，多组的组间对比采用 one-way ANOVA 中的 Tukey's 检验比较。当 $p < 0.05$ 时认为数据具有统计学差异。

二、实验结果

1. 道生改善伊利替康引起的的毒副作用

1.1 道生对伊利替康治疗后小鼠一般生存状态及生存率的影响

为了深入研究道生（DS）治疗伊利替康导致腹泻，我们利用人源结肠癌 HCT116 构建伊利替康治疗结肠癌腹泻模型。待皮下移植瘤体积长至 100 mm^3 左右后，随机分为 CTL 组、CPT-11 组、CPT-11+DS-L 组、PT-11+DS-H 组、DS2 组。实验期间，CPT-11 组小鼠精神萎靡，战栗，活动迟缓；CPT-11+DS-L 组小鼠精神良好，个别小鼠有轻微战栗、活动较为缓慢，但整体状态相较于 CPT-11 组状态更为良好，个别小鼠活动自如；PT-11+DS-H 组鼠整体状态相较于 CPT-11+DS-L 组近似，状态活跃的小鼠数量更多；CTL 组状态活跃，行动自如；DS2 组相较于 CTL 组，状态更为活跃，行动矫健，整体状态更好。

观察期内 CTL 组与 DS2 组小鼠无死亡，生存率 100%，说明 DS-2 单体药物自身无明显体内毒副作用，安全性良好。CPT-11 组自给药第 10 天起小鼠批量死亡，到第 12 天时，该组小鼠存活率为 20%；联合 DS 低剂量组生存率上升至 44.4%；联合 DS 高剂量组生存率上升至 50%（图 4 和表 4）。以上实验结果提示，DS 在一定程度上可以缓解 CPT-11 引起的毒副反应。

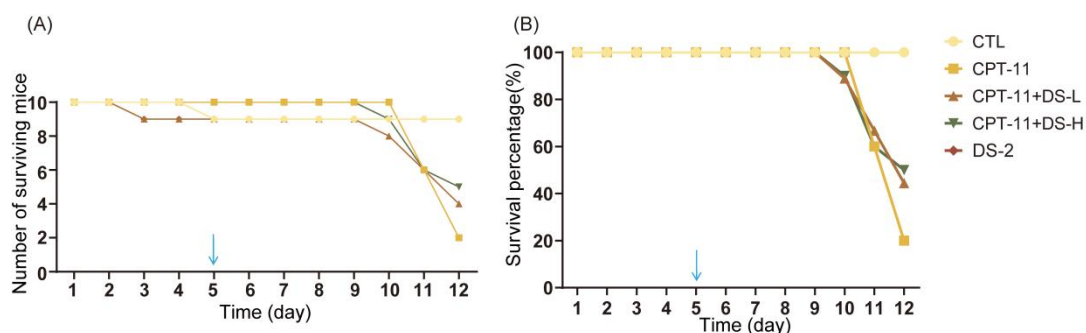


图 4 实验期间小鼠存活情况

表 4 小鼠存活率

	CTL	CPT-11	CPT-11+DS-L	CPT-11+DS-H	DS2
Day 5	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)
Day 6	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)
Day 7	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)
Day 8	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)
Day 9	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)	10 (100%)	9 (100%)
Day 10	9 (100%)	10 (100%)	8 (88.9%)	9 (90%)	9 (100%)
Day 11	9 (100%)	6 (60%)	6 (66.7%)	6 (60%)	9 (100%)
Day 12	9 (100%)	2 (20%)	4 (44.4%)	5(50%)	9 (100%)

1.2 道生对伊利替康治疗后小鼠进食量的影响

CTL 组与 DS2 组实验期间每日进食量无明显差异，再次证实 DS2 不影响小鼠进食。在 CPT-11 组中，小鼠给药后进食量持续性大幅下降，表明 CPT-11 可显著抑制小鼠食欲；相较 CPT-11 组，联用 DS 后进食下降幅度明显放缓、后期采食回升，DS 可显著改善 CPT-11 诱发的食欲抑制（图 5）。

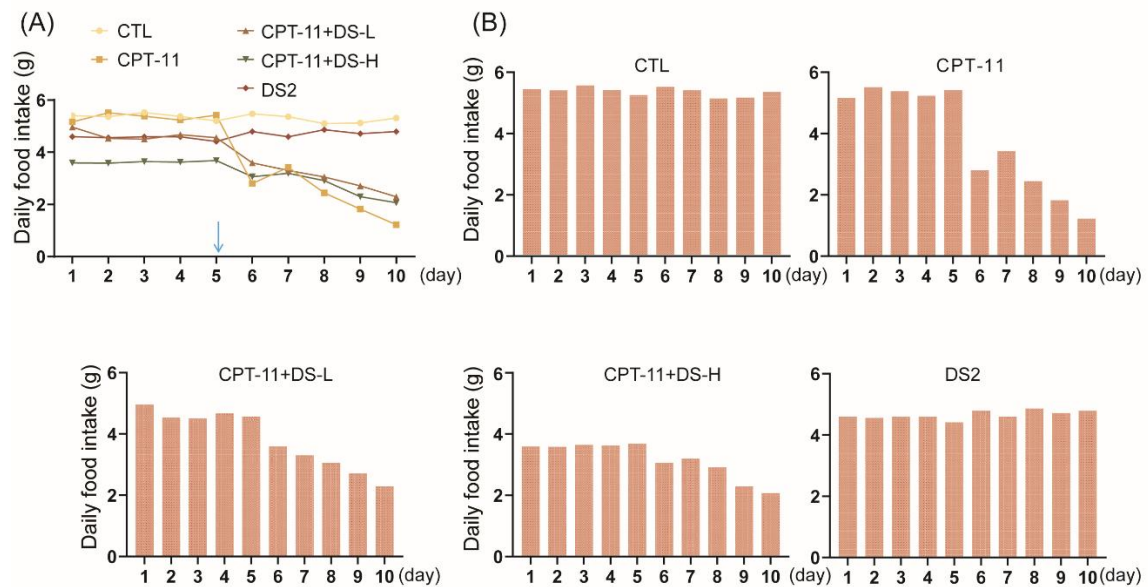


图 5 实验期间小鼠进食量

1.3 道生对伊利替康治疗后小鼠体重的影响

实验周期内 CTL 组与 DS2 组小鼠体重无明显下降，提示 DS2 不影响小鼠正常生长。CPT-11 模型组随给药时间，体重持续性显著下降，实验结束前一天小鼠体重相较于给药第一天体重，下降约 25%，CPT-11 化疗后，小鼠体重下降；与单独 CPT-11 组相比，联合 DS 给药之后小鼠体重显著回升，证实 DS 能够有效缓解 CPT-11 化疗诱发的小鼠体重降低（图 6）。

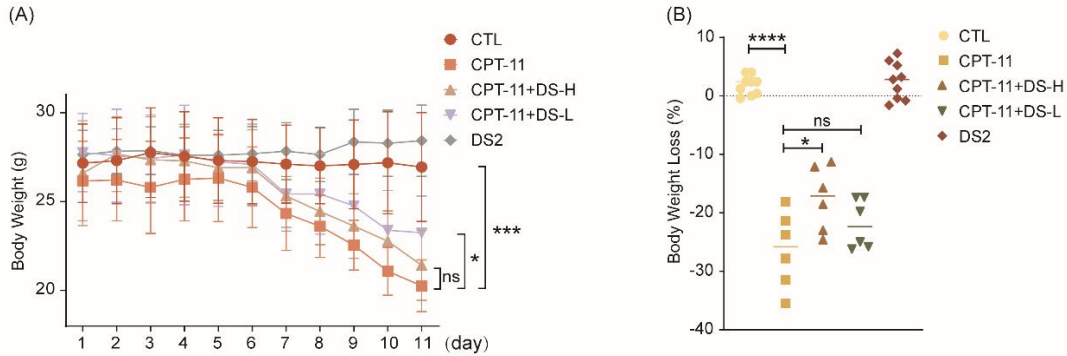


图 6 实验期间小鼠体重变化

1.4 道生对伊利替康治疗后小鼠肝、肾功能的影响

CPT-11 组的 ALT（丙氨酸氨基转移酶）、UA（尿酸）明显高于 CTL 组，提示 CPT-11 造成轻微肝损伤、肾功能异常；联合给药组 ALT、UA 较 CPT-11 组显著回落至正常区间，说明 DS 能够改善 CPT-11 诱发的肝肾生化指标异常，减轻化疗肝、肾损伤（图 7）。各组中，AST（天门冬氨酸氨基转移酶）、CRE（肌酐）、UREA（尿素）无统计学变化，且 DS2 组所有生化指标和 CTL 无差异，无肝肾毒性。

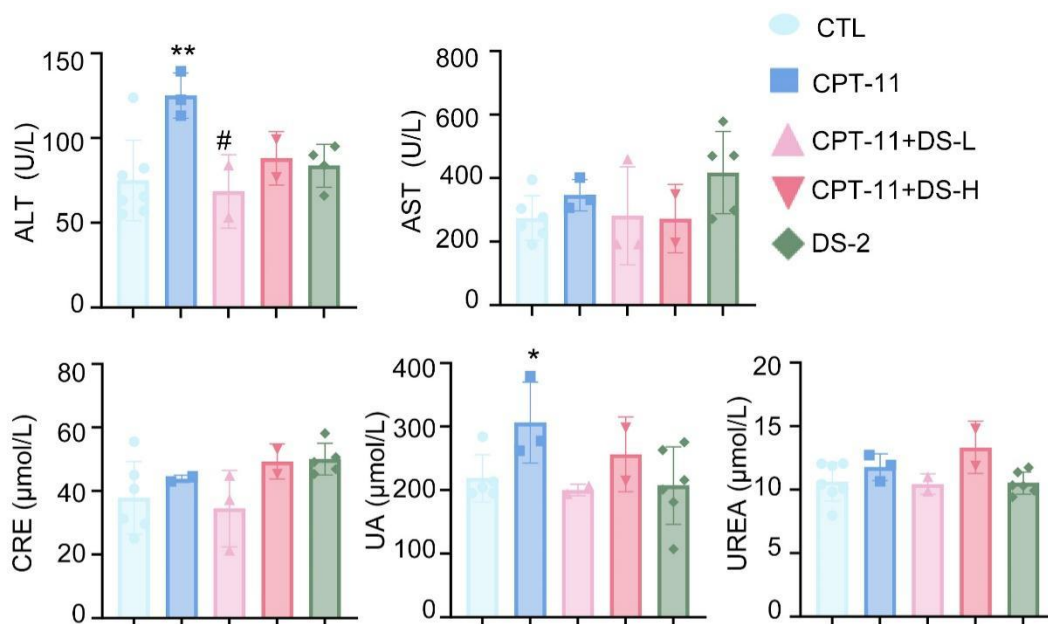


图 7 实验期间小鼠肝、肾功能变化

1.5 道生对伊利替康治疗后小鼠免疫功能的影响

与 CTL 组相比，CPT-11 组中 WBC（白细胞）、NEUT（中性粒细胞）显著降低，RBC（红细胞）、HGB（血红蛋白）、HCT（红细胞积压）同步下降，说明 CPT-11 化疗造成骨髓抑制，引发机体白细胞减少、贫血，是化疗典型血液毒性。联合用 DS 后，白细胞、中性粒细胞、红细胞、血红蛋白较 CPT-11 组显著回升，趋近正常水平，提示 DS 可改善 CPT-11 诱导的骨髓抑制，缓解化疗所致血象降低与贫血（图 8）。DS2 组全项血常规与 CTL 无明显差异，证明单用 DS 不影响造血系统，无血液毒性。

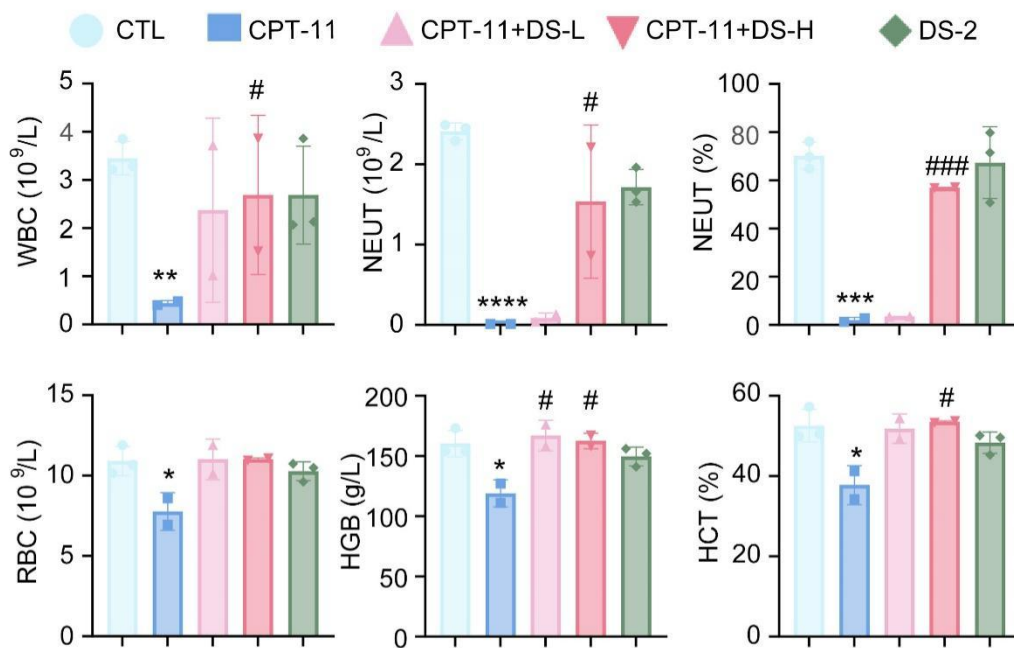


图 8 实验期间小鼠免疫功能变化

1.6 道生对伊利替康治疗后小鼠腹泻情况的影响

实验数据汇总肛周腹泻肉眼表型（图 9）：CTL 组肛周洁净，无粪便黏附，无腹泻表现；CPT-11 组肛周大量粪便黏附、肛周红肿溃烂，严重腹泻表型；CPT-11+DS-L 组肛周污物、损伤较单纯 CPT-11 略减轻；CPT-11+DS-H 组肛周病变、粪便附着程度优于 CPT-11 及低剂量组，腹泻损伤改善更明显。

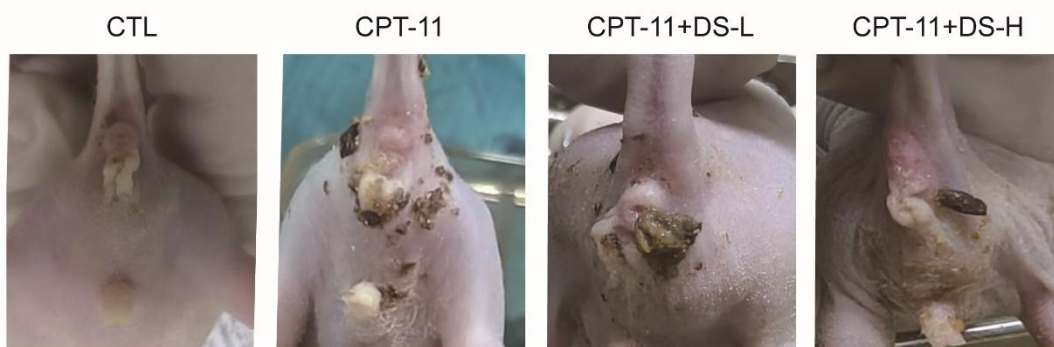


图 9 实验期间小鼠腹泻变化

CPT-11 组可稳定诱发小鼠进行性迟发性腹泻，伴随高死亡率；联合用药低、高剂量组同时间点腹泻、死亡数量低于单纯 CPT-11 组，且改善腹泻情况呈剂量依赖性，说明 DS 可缓解 CPT-11 诱导腹泻与死亡（表 5）。单独 DS2 无致泻毒副

作用。综上所述，DS 联合给药可剂量依赖性缓解 CPT-11 化疗诱导的腹泻症状、减少小鼠死亡，肛周大体标本肉眼形态与临床腹泻统计结果一致，佐证 DS 对 CPT-11 相关性肠损伤腹泻具有保护作用。

表 5 小鼠腹泻情况

组别\时间	Day 8	Day 9	Day 10	Day 11	Day 12
CTL	正常	正常	正常	正常	正常
CPT-11	正常	■ ×4	■ ×6 ■ ×3	■ ×1 ■ ×4 ■ ×1 Ø ×1	■ ×2 Ø ×8
CPT-11+DS-L	正常	■ ×3	■ ×3 ■ ×1 Ø ×2	■ ×3 ■ ×1 ■ ×1 Ø ×4	■ ×1 ■ ×2 ■ ×1 Ø ×6
CPT-11+DS-H	正常	■ ×2	■ ×2 ■ ×1 Ø ×1	■ ×2 ■ ×1 Ø ×4	■ ×4 ■ ×1 Ø ×5
DS2	正常	正常	正常	正常	正常

注：正常：粪便干燥呈圆粒，垫料洁净，肛周干净无污物；
■轻度腹泻：粪便变软、外形尚完整，垫料少量潮湿，肛周偶见零星粪污；
■中度腹泻：粪便糊状无固形颗粒，垫料片状浸湿，肛周被粪便黏连、毛发脏污；
■重度腹泻：粪便完全水样，垫料大面积湿透，肛周及尾部黏附大量稀便，小鼠蜷缩、被毛蓬乱脱水；
Ø死亡。

1.7 道生对伊利替康治疗后小鼠其他脏器的影响

取材后，脏器系数结果表明，CPT-11 组脾脏重量、脾脏系数（Spleen/Body weight ratio）较 CTL 组显著下降（图 10），说明化疗药 CPT-11 可引发小鼠脾脏萎缩、免疫脏器损伤；CPT-11+DS-L 联合给药组脾脏重量与脾体比较 CPT-11

模型组呈现回升趋势，提示 DS 可改善 CPT-11 诱导的脾脏损伤，缓解化疗所致免疫脾脏萎缩。

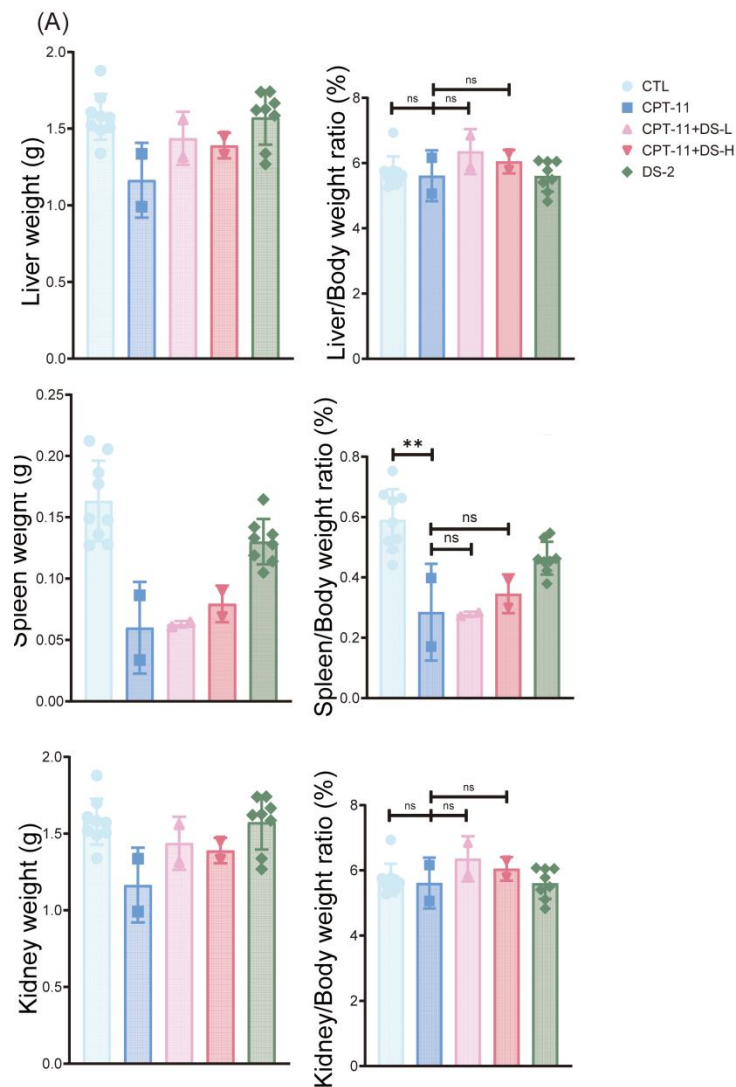


图 10 小鼠各脏器情况

2. 道生协同增强伊利替康的抗肿瘤作用

2.1 移植瘤生长

CPT-11 可显著抑制肿瘤生长，肿瘤体积、瘤重及瘤体系数均明显下降；DS2 单药无直接抑瘤活性。相较 CPT-11 单用，DS-L 与 DS-H 联合用药组可进一步缩减肿瘤体积与 CPT-11 组呈显著性差异，但瘤重与瘤体占总体重百分比虽呈下降趋势但无统计学差异。以上结果表明，DS 可协同提升 CPT-11 体内抑瘤

效果（图 11）。CTL 组、DS2 组肿瘤体积大；CPT-11 化疗后瘤体明显缩小；联用组肿瘤体积进一步小于 CPT-11 组，直观印证 DS 可协同化疗缩小瘤块，具备抑瘤增效作用。

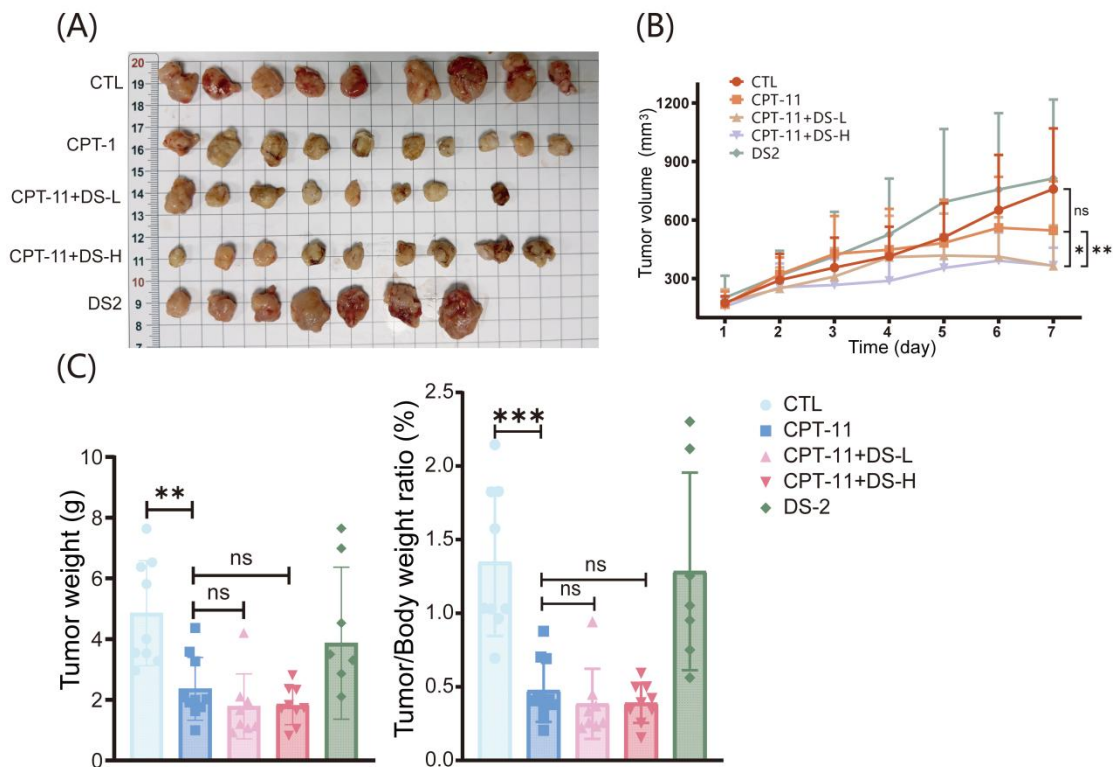


图 11 小鼠肿瘤情况

2.2 免疫组化指标检测

肠道粘膜损伤情况（免疫组化检测标志物表达：ZO-1 (D6L1E) Rabbit Monoclonal Antibody、Occludin (E6B4R) Rabbit Monoclonal Antibody、Claudin-5 (E5D9Y) Rabbit Monoclonal Antibody）。

肿瘤细胞增殖情况（免疫组化检测标志物表达：Ki-67 (8D5) Mouse Monoclonal Antibody、PCNA (PC10) Mouse mAb）；

肿瘤细胞凋亡情况（免疫组化检测标志物表达：Cleaved Caspase-3 Rabbit mAb）

3. 实验结果汇总

本研究依托 HCT116 结肠癌荷瘤裸鼠模型，探究 DS 联合伊利替康（CPT-11）的化疗增效与减毒作用。动物整体观测显示，单药 CPT-11 化疗会造成荷瘤小鼠体重骤降、进食量锐减、生存率显著下降，还可诱发严重迟发性腹泻、脾脏萎缩、骨髓抑制及肝肾功能异常；DS 单独给药无体内毒性，小鼠体重、采食、血常规与肝肾生化指标均与空白对照组无差异，用药安全性良好。在抗肿瘤疗效上，CPT-11 能够有效抑制肿瘤生长，联用高、低剂量 DS 后可进一步缩小肿瘤体积，实现化疗协同抑瘤效果。毒副作用改善层面，DS 可剂量依赖性缓解 CPT-11 所致小鼠体重下降、食欲衰退，修复化疗引发的脾脏免疫器官损伤，逆转骨髓抑制带来的白细胞、血红蛋白等血象指标降低，改善肝肾功能异常；同时能够明显减轻小鼠肛周红肿溃烂、粪便黏附等腹泻表型，减少腹泻发生率与动物死亡数量，高剂量 DS 的腹泻保护与生存改善效果更突出。综上，DS 既可协同伊利替康提升体内抗结肠癌药效，又能全方位缓解化疗诱发的胃肠道损伤、骨髓抑制、脏器损伤等多种毒副反应，具备化疗增效减毒双重药理价值。