

五谷麒麟膏调控 Bcl-xl/Bak 促进肛瘘术后创面愈合机制研究*

苗 咪¹, 冯文哲^{2△}, 阴新元¹, 柴小琴², 朱建东¹

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712000; 2. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000)

摘要: **目的** 观察五谷麒麟膏对大鼠感染创面组织 Bcl-xl/Bak 的调控作用, 探讨五谷麒麟膏促进肛瘘术后创面愈合的细胞凋亡机制。**方法** 选取 SD 大鼠, 除空白组外其余大鼠制备为全层皮肤缺损模型, 创面淋洒大鼠粪便混悬液造成急性感染创面。造模成功后观察各组大鼠基本情况、创面愈合率, 并检测创面肉芽组织中新生长毛细血管、细胞凋亡率及 Bcl-xl/Bak 的比值。**结果** 用药后第 1 周实验组大鼠的基本情况良好, 京万红组及模型组欠佳, 此后无明显差异; 治疗后第 3、7、11 天实验组大鼠创面愈合率、细胞凋亡率均高于模型, 治疗后第 15 天实验组细胞凋亡率低于模型组; 实验组 Bcl-xl/Bak 的比值低于模型组; 京万红组与低浓度组无统计学差异。**结论** 五谷麒麟膏可以通过降低 Bcl-xl/Bak 的比值, 抑制创面肉芽组织细胞的过度凋亡, 促进肛瘘术后创面的愈合, 其中以高浓度组效果最佳。

关键词: 五谷麒麟膏; 肛瘘术后创面; Bcl-xl/Bak; 细胞凋亡; 创面愈合

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2019)01-0013-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2019.01.003

Study on the Mechanism of Regulating Bcl-xl/Bak and Promoting Wound Healing after Anal Fistula by Wugu Kirin Ointment

MIAO Mi¹, FENG Wenzhe², YIN Xinyuan¹, CHAI Xiaoqin², ZHU Jiandong¹

(1. Fujian Academy of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, China;

ABSTRACT: **Objective** To observe the regulatory effect of Wugu Kirin ointment on Bcl-xl/Bak in infected wound tissue of rats, and to explore the apoptosis mechanism of Wugu Kirin ointment in promoting wound healing after anal fistula. **Methods** SD rats were selected and the other rats except the blank group were made into full-thickness skin defect model. The acute infected wounds were caused by drenching the fecal suspension of the rats. After successful establishment of the model, the basic situation, wound healing rate, new capillaries, apoptosis rate and Bcl-xl/Bak ratio in granulation tissue of each group were observed. **Results** In the first week after treatment, the basic condition of the rats in the experimental group was good, while that in the Jingwanhong group and the model group was not good, but there was no significant difference since then. On the 3rd, 7th and 11th day after treatment, the wound healing rate and apoptosis rate of the experimental group were higher than those of the model group, and the apoptosis rate of the experimental group was lower than that of the model group on the 15th day after treatment, and the ratio of Bcl-xl/Bak in the experimental group was lower than that of the model group. There was no significant difference between Jingwanhong group and low concentration group. **Conclusion** Wugu Kirin ointment can inhibit the excessive apoptosis of granulation tissue cells and promote the wound healing after anal fistula by reducing the ratio of Bcl-xl/Bak, and the high concentration group has the best effect.

KEY WORDS: Wugu Kirin ointment; wound healing after anal fistula; Bcl-xl/Bak; apoptosis; wound healing

肛瘘, 中医称之为“肛漏”, 是指肛管、直肠与肛门周围皮肤之间所形成的异常通道, 目前关于其发病机制说法较多, 但大众较为认可的学说是由于肛窦感染

引起, 其为肛痈未及时处理或处理不当所致^[1]。肛瘘自愈较为困难, 为临床极其常见、多发的肛肠疾病, 尤其以男性居多^[2]。古代医家认为漏病的病因有三: 一

收稿日期: 2019-01-12

* 基金项目: 咸阳市科学技术研究计划项目(2018k02-97)

第一作者简介: 苗咪(1994-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医肛肠疾病的临床及实验研究。

△通信作者: 冯文哲, E-mail: szfygck@163.com

是由痔形成,二是漏病多由痈溃后形成,三是久咳引起^[3]。明代《永类铃方》首创挂线疗法治疗肛瘘,说明自古以来手术就是肛瘘的主要治疗方法。肛瘘发病多因湿热邪毒而引起,湿与热滞留于术后创面,阻碍气血运行,而导致创面难以愈合,此乃肛瘘创面不易愈合的病因病机^[2]。因而寻求一种能够有效的促进术后创面愈合的方法显得尤为重要。肛瘘术后外治法主要是基于化腐生肌理论的治疗。如果伤口分泌物较少,肉芽生长缓慢,则主要以“煨脓长肉”法为主。煨脓长肉法是中医外科的特色疗法,目前在临床上常用来治疗一些慢性难愈性创面^[4]。本课题将“煨脓长肉”理论作用下拟定的五谷麒麟膏应用于促进 SD 大鼠肛瘘创面模型愈合的实验研究,扩大了“煨脓长肉”法的运用范围,我们以细胞凋亡为切入点,通过 Bcl-xl、Bak 蛋白表达水平,从分子水平论述五谷麒麟膏促进创面愈合的机理。

1 材料与方法

1 材料

1.1.1 实验动物及分组 120 只雄性 SPF 级 SD 大鼠,体质量 20~150 g,由西安交通大学医学部实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(陕)2017-003。饲养于陕西中医药大学医学实验动物中心。饲养温度:20~25℃,相对湿度:40%~60%。实验期间,动物可以自由饮水并喂普通饲料(西安交通大学医学部实验动物中心提供)。按完全随机法随机分为 6 组:模型组 20 只、京万红阳性对照组 20 只、五谷麒麟膏高、中、低药物浓度组 20 只,另设 20 只为正常对照组。适应性喂养 2 周,待体质量达 80~200g 左右后开始实验。

1.1.2 药物与制剂 五谷麒麟膏组分为:五谷虫 30 g、血竭(又名血麒麟)30 g、紫草 15 g、蛋黄油、麻油等。制备所需中药均来自陕西中医药大学附属医院中药房。制作方法先将五谷虫粉、紫草两味入混合油内浸 3d,然后文火熬枯去渣。再入血竭化尽,次入白蜡微火化开,待油温后,再入研细轻粉搅匀,冷却后即凝成膏。五谷麒麟膏含药剂量分组:五谷麒麟膏低浓度组:10%浓度;五谷麒麟膏中浓度组:20%浓度;五谷麒麟膏高浓度组:40%浓度。京万红软膏采用由天津达仁堂二药业有限公司生产。凡士林采用商丘市伟康医用品厂生产的白凡士林,每瓶 400 g。

1.1.3 试剂与实验仪器 Bcl-xl 试剂盒(货号 2764 s,购自 CST);Bak 试剂盒(货号 bs-1284R,购自

Bioss);苏木素试剂盒(货号 H9627,购自 Sigma);伊红 Y(水溶性)试剂盒(货号 71014544,购自国药集团);脱水机(武汉俊杰 JT-12J 电脑生物组织脱水机);蜡块包埋机;病理切片机(德国 Leica RM 2016 轮转式切片机);切片刀(日本羽毛 R35 一次性刀片);组织摊烤片机(武汉俊杰 JK-6 生物组织摊烤片机);载玻片及盖玻片(江苏世泰实验器材有限公司);显微镜(奥林巴斯 BX53 型生物显微镜);抗原修复用电陶炉(SKG)。

1.2 方法

1.2.1 模型制备 采用付小兵等方法制造污染性伤口愈合的动物模型,制造模拟肛瘘术后创面的动物模型^[5-6]。将实验组、京万红组、模型组大鼠背部手术区域备皮,并用 5%水合氯醛溶液(0.007 mL/g)腹腔注射麻醉,碘伏棉球常规消毒,剪去边长为 3.0 cm 大小方形皮肤,破坏皮肤全层及皮下浅筋膜直至肌层,止血后将大鼠粪便混悬液淋洒在伤口表面。创面部位敷以创面相应大小的油纱敷料,用纱布包扎以止血,24 h 后去除覆盖物。每日伤口淋洒粪便混悬液,72 h 后见伤口有脓性分泌物,渗液较多,创缘皮色发红,即造模成功。此时创面为一个“急性、开放、渗血、感染”创面,类似于临床肛瘘术后的创面。

1.2.2 给药方法 制作伤口模型成功后,模型组大鼠的创面外敷凡士林 0.2 g;阳性药物京万红组外敷京万红 0.2 g;治疗组五谷麒麟膏高、中、低浓度各组分别外敷五谷麒麟膏高、中、低浓度药膏,每个创面 0.2 g,分组喂养。每日下午定时换药 1 次,正常对照组常规饲养,未做任何治疗。

1.2.3 取材 用药后 3 d、7 d、11 d、15 d,用透明薄膜紧密敷贴于创口上,用较细记号笔画出伤口的边缘,然后将透明薄膜平铺在 ECG 纸上,计算出创面面积数值(cm^2)^[7]。在无菌条件下取创面中心至创缘正常皮肤间的新生肉芽组织,洗去表面血液然后固定于 10%中性福尔马林溶液。后经过脱水、透明、石蜡包埋制成蜡块,并连续 4 μm 切片以备后期使用。

1.2.4 检测指标和方法 一般情况:每次换药时,通过目视检查记录大鼠生命体征和伤口,包括大鼠的喂养和活动情况,伤口的颜色和质地,及渗液、周围组织水肿、痂皮等情况^[8]。

创面愈合率:第 n 天伤口愈合百分比(%)=(原始伤口面积-第 n 天伤口面积)/原始伤口面积 ×

100%^[9]。在术后第 3、7、11、15 天测量并记录伤口面积大小,并计算伤口愈合百分比。其中术后第 1 天的伤口面积为原始伤口面积。

创面组织学观察:将切好的蜡片常规 HE 染色后光学显微镜观察新生毛细血管数。

免疫组化检测 Bcl-xl/Bak 比值:采用免疫组化 SAP(碱性磷酸酶法)方法进行免疫组化染色。光学显微镜下拍照后用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件半定量分析 Bcl-xl 及 Bak 的值,然后计算 Bcl-xl/Bak 比值。

细胞凋亡率:采用 TUNEL 法进行染色。光学显微镜下拍照后用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件定量分析细胞凋亡数及细胞总数。第 n 天细胞凋亡率(%)=细胞凋亡数/总细胞数×100%。

1.3 统计学方法 实验数据用 SPSS24.0 统计分析软件处理。所有实验数据均为计数资料。计数资料数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示多组间样本均数比较用方差分析,两两比较用配对 t 检验。以 $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较 造模后当天各组大鼠进食较少,此后各组大鼠进食均有所增加,3-10 d 京万红组及实验组各大鼠的进食及活动情况均优于模型组;3-7 d 实验组各大鼠创面肉芽新鲜红活,局部渗液较多,京万红组大鼠创面颜色淡红,伤口渗液较多,模型组大鼠创面颜色淡白,局部渗液较少;7-15 d 各组大鼠创面开始结痂,分泌物逐渐减少,其中实验组大鼠伤口痂皮较厚,范围较大,京万红组次之,模型组较差。正常组无阳性症状。

2.2 各组大鼠不同时期创面愈合率比较 创面愈合率可直接反映大鼠伤口愈合程度,进而反映不同药膏对大鼠创面愈合的影响。实验结果表明,实验组及京万红组大鼠创面愈合率均优于模型组,且高浓度组愈合率优于中浓度组,中浓度组优于京万红组与低浓度组,差异有统计学意义($P < 0.05$),京万红组与低浓组间无明显差异,差异无统计学意义。见表 1。

表 1 各组大鼠不同时期创面愈合率比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别\时间(d)	3	7	11	15
模型组	21.43±2.45	40.00±3.15	68.40±2.75	85.41±1.96
京万红组	21.82±1.68	53.83±2.09 ^a	81.47±4.02 ^a	93.25±3.69 ^a
低浓度组	21.89±1.15	54.42±1.98 ^a	82.36±2.21 ^a	93.61±1.94 ^a
中浓度组	22.14±2.95	57.40±3.24 ^{abc}	85.59±3.02 ^{abc}	97.34±1.46 ^{abc}
高浓度组	22.40±1.49	60.58±3.36 ^{abcd}	88.71±4.14 ^{abcd}	99.07±3.36 ^{abcd}

注:与模型组相比,^a $P < 0.05$;与京万红组相比,^b $P < 0.05$;与低浓度组相比,^c $P < 0.05$;与中浓度组相比,^d $P < 0.05$

2.3 创面组织学观察

在伤口愈合过程中,肉芽组织形成和伤口收缩是创面愈合的重要环节。肉芽组织主要由毛细血管、炎症细胞、成纤维细胞和肌成纤维细胞所组成^[9]。组织切片后常规 HE 染色,通过观察 400 倍镜下新生毛细血管数量可判断创面肉芽组织生长情况,间接反映不同药物促进创面愈合的程度。见图 1。

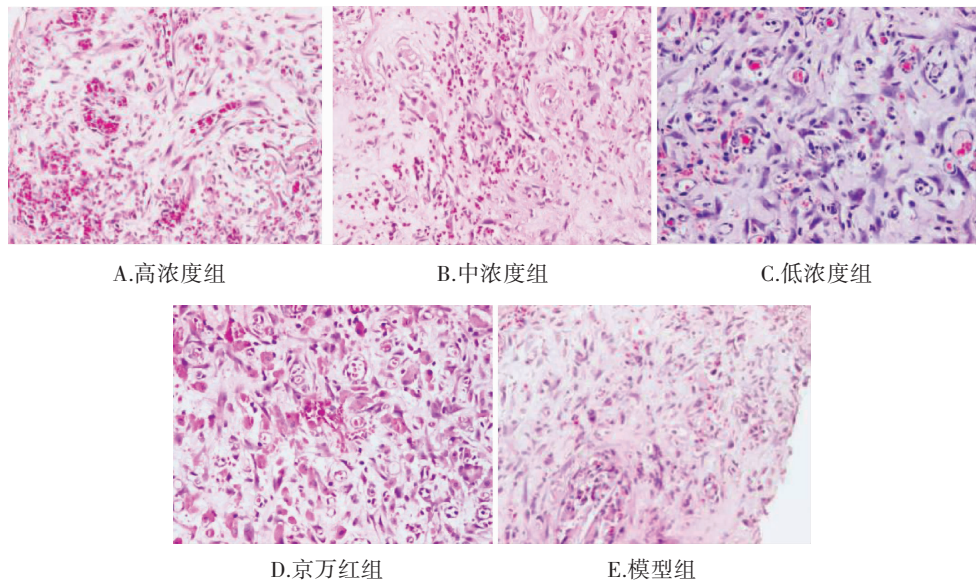


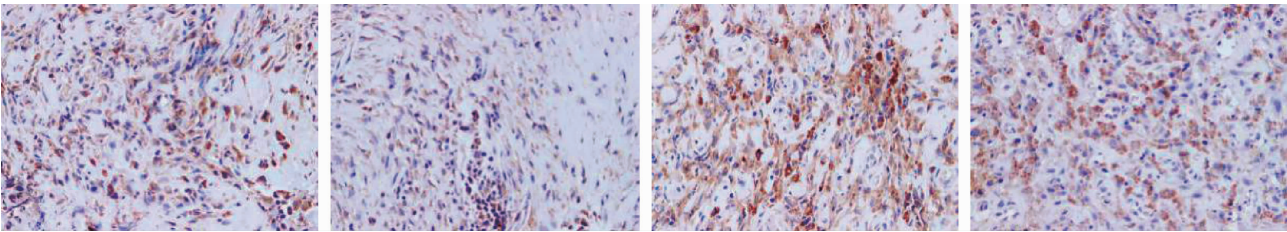
图 1 用药后 11d 各组大鼠创面新生毛细血管数量

2.4 Bcl-xl/Bak 比值 模型组大鼠创面肉芽组织中 Bcl-xl 及 Bak 蛋白表达均低于阳性对照组及实验组, 且 Bcl-xl/Bak 比值最高差异有统计学意义 ($P<0.05$); 高浓度组 Bcl-xl 及 Bak 蛋白表达最高, Bcl-xl/Bak 比值最低, 中浓度组次之, 低浓度组高于中浓度组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。低浓度组与京万红组无明显差异, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2、图 2。

表 2 各组大鼠不同时期创面肉芽组织中 Bcl-xl/Bak 比值($\bar{x}\pm s, \%$)

组别 \ 时间(d)	3	7	11	15
模型组	2.16±0.03	2.87±0.16 ^a	2.52±0.28 ^a	2.51±0.19 ^{abc}
京万红组	2.02±0.01	2.13±0.09 ^a	1.91±0.11 ^a	2.04±0.20 ^{abc}
低浓度组	2.03±0.11	2.24±0.14 ^a	1.95±0.09 ^a	2.09±0.04 ^{abc}
中浓度组	1.78±0.05	1.66±0.03 ^a	1.51±0.01 ^a	1.38±0.11 ^{abc}
高浓度组	1.50±0.05	1.43±0.01	1.24±0.13	1.25±0.02

注:与模型组相比,^a $P<0.05$;与京万红组相比,^b $P<0.05$;与低浓度组相比,^c $P<0.05$;与中浓度组相比,^d $P<0.05$



A.模型组 Bcl-xl B.模型组 Bak C.高浓度组 Bcl-xl D.高浓度组 Bak

注:棕黄色为目标蛋白

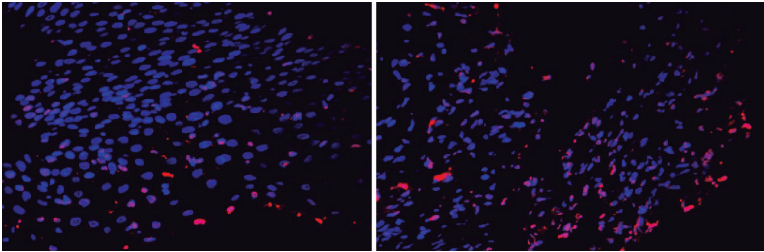
图 2 用药后 11d 大鼠创面 Bcl-xl 及 Bak 表达情况

2.5 细胞凋亡率 用药后第 3 d 各组大鼠创面细胞凋亡率无明显差异;第 7、11 d 细胞凋亡率明显增加, 其中第 11 d 凋亡率达到最大, 且实验组均高于模型组;第 15 d 各组细胞凋亡率降低, 且实验组凋亡率低于模型组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。低浓度组与京万红组无明显差异。见表 3、图 3。

表 3 各组大鼠不同时期细胞凋亡率比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别 \ 时间(d)	3	7	11	15
模型组	2.10±0.45	16.19±2.38	27.38±1.69	26.75±3.01
京万红组	3.44±0.28 ^a	23.49±1.68 ^a	38.79±1.42 ^a	21.58±0.97 ^a
低浓度组	2.36±0.15 ^a	25.98±1.15 ^a	38.62±2.21 ^a	20.06±1.33 ^a
中浓度组	3.91±0.23 ^{abc}	30.98±2.56 ^{abc}	40.4±1.06 ^{abc}	18.5±1.08 ^{abc}
高浓度组	6.1±0.29 ^{abcd}	37.4±1.82 ^{abcd}	47.6±3.16 ^{abcd}	16.4±0.96 ^{abcd}

注:与模型组相比,^a $P<0.05$;与京万红组相比,^b $P<0.05$;与低浓度组相比,^c $P<0.05$;与中浓度组相比,^d $P<0.05$



A.模型组 B.高浓度组

注:红色代表凋亡细胞,蓝色代表所有细胞

图 3 用药后 11 d 大鼠创面 Bcl-xl 及 Bak 表达情况

3 讨论

肛瘘是肛管直肠与肛门周围皮肤之间的异常通道,也称为肛管直肠瘘^[10]。由于其特殊的病变部位和病理改变,肛瘘多需手术治疗。肛瘘术后创面一般为开放性伤口,易受粪便污染,因此伤口愈合缓慢是临床中较为棘手的问题^[9]。中医药在创面愈合方面有着独特的优势,尤其对创伤后期的愈合起着十分显著的作用^[11]。因此,开发能加速创面修复及缩短愈合时间的药物具有重要的临床及社会价值。

中医药在促进伤口愈合方面有着悠久的历史。早在战国时期的《周礼·天官》就已有记载:“疡医掌肿疡、溃疡、金疡、折疡”,说明此时的疡医已经掌握了治疗疮疡的方法,如理气、活血、解毒、利湿中药内服,结合去腐生肌等中药外用。关于“煨脓长肉”的讨论,首次出现在申斗垣《外科启玄·明疮疡宜贴膏药论》中:“在凡疮毒已平,脓水来少,开烂已定,…至此强壮诸疮,岂能致于败坏乎?”^[12]。五谷麒麟膏是我们在前期“煨脓长肉”法理论研究的基础上,经过查阅大量的相关文献以及结合我们的临床经验所研制的外用油膏^[13]。主要成分有:五谷虫、血竭、紫草等。五谷虫,味咸,性寒,归脾、肺经,现代药理研究认为五谷虫具有抑菌、抗炎、促进创面愈合等作用,临床可用于创面愈合,关节炎等^[14-15]。血竭,又名血麒麟,味甘、咸,性平,归心、肝经,现代医药研究发现血竭主要含有黄烷类、三萜类等成分,包括:血竭红素和血竭素等,它具有止血、镇痛、促进组织愈合等药理作用^[16]。紫草,味甘、咸,性寒,归心、肝经。紫草中含有萘醌类,单萘苯酚及苯醌类等多种化学成分,其药理作用主要体现在促进伤口愈合、抗流感病毒、抗肿瘤、抗癌等方面^[17]。

创面愈合是人体内一系列正常的病理生理过程,是指组织因创伤或其他原因而受损或离断,局部组织通过再生、重建得到修复^[18]。该过程由主要有炎症细胞、修复细胞、细胞外基质以及多种细胞因子共同参与并互相调控而完成^[19]。细胞增殖在创面愈合过程中的作用已被研究得深入且透彻。目前,细胞凋亡在创面愈合方面是研究的热点话题。细胞凋亡是生命的基本现象,是为维持内环境稳定,由基因控制的细胞自主的有序死亡。细胞凋亡是多基因参与、控制的过程,包括 Bcl-2 家族、Caspase 家族、癌基因 C-myc、抑癌

基因 P53 等,这些基因在种属之间非常保守。其中凋亡相关蛋白中的 Bcl-2 家族是细胞凋亡的关键调节因子,其抗凋亡和促凋亡成员协同作用,发挥着细胞凋亡“开关”的作用。在众多凋亡途径中,线粒体途径是主要的内在途径,在此途径中 Bcl-2 家族起着相当重要的作用。Bcl-2 家族分 2 类,其中凋亡抑制基因有 Bcl-2、Bcl-xl、Bcl-W 等,凋亡促进基因有 Bax、Bak、Bcl-Xs、Bax、Bik/Nbk、Bid 等^[20]。Bcl-xl/Bak 的比值决定组织受到创伤后组织修复的快慢。此值越小则细胞趋于存活,创面愈合越快;值越大则细胞趋于凋亡,创伤修复较慢^[21]。本实验创面肉芽组织中 Bcl-xl/Bak>1,且高浓度组的比值最低,中浓度组次之,低浓度组高于中浓度组,低浓度组与京万红组无明显差异,说明高浓度组创面愈合最快,模型组最慢,故该膏可加速创面的愈合,且以高浓度组最优。

本次研究结果表明,实验组大鼠创面中 Bcl-xl 及 Bak 的表达均高于模型组,且 Bcl-xl/Bak 比值优于模型组。由此表明五谷麒麟膏能通过调控创面肉芽组织中 Bcl-xl/Bak 的表达,抑制创面肉芽组织细胞的过度凋亡,加速各创伤细胞的修复,进而对创面愈合发挥治疗作用。该油膏具有缓解止痛、止血、促进伤口愈合的良好效果。可以将五谷麒麟膏用于临床肛瘘术后创面促愈,并且有较好的推广应用前景。

参考文献:

- [1] 李逵,熊家青,宾东华. 象皮生肌膏治疗糖尿病型肛瘘疗效观察[J]. 世界中西医结合杂志,2018,13(1):131-134.
- [2] 关威,李师,张晓明. 穴位灸结合创面灸法对低位肛瘘术后愈合疗效观察 [J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(5):107-110.
- [3] 梁宏涛,陆金根. 复杂性肛瘘的中医文献研究[J]. 山东中医药大学学报,2015,39(5):401-403.
- [4] 杨建华,吴本升,张一辉. 煨脓长肉法治疗肛瘘术后创面的临床疗效观察及安全性分析 [J]. 时珍国医国药,2018,29(1):127-128.
- [5] 姚庆君,胡大海,陈璧,等. 一种大鼠烫伤后皮肤移植模型的建立[J]. 华南国防医学杂志,2005,19(2):25-26.
- [6] 秦晓静,丁博文,刘学,等. 益气化瘀法对大鼠肛周脓肿术后创面组织中 VEGF 表达的影响[J]. 云南中医中药杂志,2016,37(6):68-70.
- [7] 刘晓晓. 自制生肌散对低位单纯性肛瘘术后创面促愈的

- 临床疗效观察[D]. 南京:南京中医药大学,2016.
- [8] 张玉萱,徐玲玲,李斌,等. 生肌化瘀膏对小鼠创面修复期肉芽组织总 IL-1 β 和 I、III 型胶原的影响[J]. 中国药师, 2018,21(2):246-250.
- [9] 冯文哲,石鹏,雷彪,等. 生物补片瘘道内口填塞治疗低位单纯性肛瘘的临床研究 [J]. 中国肛肠病杂志,2017,37(6):22-24.
- [10] 陈红凤. 中医外科学[M]. 新世纪第 4 版. 北京:中国中医药出版社,2018:252.
- [11] 田力,安超. 肛瘘的诊断及中医治疗研究[J]. 中医学报, 2016,31(6):795-798.
- [12] 郭冬婕,陈瑜,李斌,等. “煨脓长肉”理论的临床运用与理性思考 [J]. 中华中医药杂志,2017,32(11):4812-4814.
- [13] 张茜. 五谷麒麟膏促进 SD 大鼠创面愈合实验研究[D]. 咸阳:陕西中医药大学,2018.
- [14] 牛君,程轩轩,杨全,等. 中药五谷虫的研究进展[J]. 中国现代中药,2016,18(10):1371-1375.
- [15] 张振,刁云鹏,王寿宇,等. 中药五谷虫促进创面愈合及血管内皮生长因子表达的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2013,31(4):761-763.
- [16] 崔建蓉. 血竭的药理作用、临床作用研究[J]. 四川生理科学杂志,2004,26(3):136-137.
- [17] 崔晓秋. 中药紫草化学成分及药理作用最新研究进展 [J]. 济宁医学院学报,2015,38(5):356-358.
- [18] 夏国伟. 创伤愈合与细胞凋亡[J]. 国外医学(生理、病理科学与临床分册),1999(3):41-44.
- [19] 柏书博,王国栋,吴洋. 细胞因子对创伤愈合的影响[J]. 现代生物医学进展,2011,11(17):3370-3372.
- [20] 陈伟,谢敏,李焱,等. 观察参麦对脓毒症患者外周血淋巴细胞抗凋亡因子 Bcl-2 及促凋亡因子 caspase-3 的影响[J]. 中外医学研究,2017,15(20):149-153.
- [21] 张妙,邱晓晓,朱长玲,等. 补肾益冲抗衰汤对卵巢储备功能下降大鼠卵巢颗粒细胞凋亡因子 Bcl-2、Bax、Caspase-3 的影响 [J]. 浙江中医药大学学报,2014,38(1):68-72.