

益肾解毒方对肺腺癌骨转移裸鼠 JNK/Bcl-2 信号传导通路的影响

孙凯 张平 李永秀 胡佩岩 陈冠敏

【摘要】 目的 探讨益肾解毒方对肺腺癌骨转移裸鼠 JNK/Bcl-2 信号传导通路的影响。**方法** 本研究在前期成功建立的裸鼠肺腺癌转移模型的基础上,运用免疫组织化学染色法检测各组 JNK、Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白的表达,图像分析使用 MIA 4.0 图像分析软件,观察和测量显微镜 400 倍视野下表达的阳性物质的光密度值。**结果** 模型组与益肾解毒方高剂量组 JNK 蛋白的表达最低,两者无统计学差异 ($P>0.05$);帕米磷酸二钠组 JNK 蛋白的表达最高,低剂量组、中剂量组及中+西药组次之,与模型组和高剂量组相比都有统计学差异 ($P<0.05$);模型组 Bcl-2 蛋白的表达最高,其次是益肾解毒方高剂量组、中剂量组、帕米磷酸二钠组,Bcl-2 蛋白表达最低的是低剂量组与中+西药组,与模型组比较得出,各实验组 Bcl-2 蛋白表达显著降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$);模型组 Bax 蛋白表达最低,与其他实验组比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$),中+西药组 Bax 蛋白表达最高,其次是帕米磷酸二钠组、低剂量组、高剂量组、中剂量组;益肾解毒方高剂量组与中剂量组比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$);益肾解毒方低剂量组 Caspase-3 蛋白表达最高,其次是中剂量组、中+西药组、帕米磷酸二钠组,益肾解毒方高剂量组和模型组 Caspase-3 蛋白表达最低;与模型组相比,除高剂量组外其余各实验组均有统计学差异 ($P<0.05$)。**结论** 肺腺癌骨转移与 JNK/Bcl-2 信号传导通路密切相关。本实验结果表明益肾解毒方对该信号通路上的关键分子 JNK、Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 蛋白有明显的调控作用,证实了这可能是其促进肿瘤细胞凋亡的关键环节,为中医药临床有效防治恶性肿瘤提供了一定的理论依据。

【关键词】 益肾解毒方; c-Jun 氨基末端激酶; B 淋巴细胞瘤-2; B 淋巴细胞瘤-2 相关的 X 蛋白; 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3; 肺腺癌骨转移

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.11.010

Effects of Yishen Jiedu decoction on JNK / Bcl-2 signaling pathway in nude mice with bone metastasis of lung adenocarcinoma SUN Kai, ZHANG Ping, LI Yongxiu, et al. Department of pathology, Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China
Corresponding author: ZHANG Ping, E-mail: pinglele@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of Yishen Jiedu decoction on JNK / Bcl-2 signal transduction pathway in nude mice with bone metastasis of lung adenocarcinoma. **Methods** The expression of JNK, Bcl-2, Bax and Caspase-3 protein in each group was detected by immunohistochemical staining on the basis of the established model of lung adenocarcinoma in nude mice. The image analysis was performed by MIA 4.0 Software to observe and measure the optical density of the positive substance expressed in the 400-fold field of view of the microscope. **Results** The expression of JNK protein in model group and Yishen Jiedu high group was the lowest, and there was no significant difference between them

基金项目: 中国中医科学院中央级公益性科研院所科研基本业务费自主选题(ZZ070805)

作者单位: 100102 北京,中国中医科学院望京医院病理科[孙凯(硕士研究生)、张平、李永秀(硕士研究生)、陈冠敏(硕士研究生)],关节科(胡佩岩)

作者简介: 孙凯(1991-),2015 级在读硕士研究生。研究方向:中西医结合肿瘤的诊疗与治疗研究。E-mail: 1163262599@qq.com

通信作者: 张平(1973-),女,博士,主任医师,硕士生导师。研究方向:中西医结合防治肿瘤疾病的临床和基础研究。E-mail: pinglele@sina.com

($P>0.05$)。The expression of JNK protein was the highest in Pamidium phosphate disodium group, the expression of JNK protein in low dose group, middle dose group and Chinese medicine + western medicine group was next, and compared with model group and high dose group, there was significant difference ($P<0.05$)。The expression of Bcl-2 protein in the model group was the highest, the high dose group, the middle dose group and Pamidium phosphate disodium group was followed, the low dose group and the Chinese medicine + western medicine group was the lowest。The expression of Bcl-2 protein in each experimental group was significantly lower than that in the model group ($P<0.05$)。The expression of Bax protein was the lowest in the model group, and the difference was statistically significant compared with other experimental groups ($P<0.05$)。The expression of Bax protein was the highest in the Chinese medicine + western medicine group, the disodium group of pamidronate, low dose group, high dose group, middle dose group was followed。There was no significant difference between the high dose group and the middle dose group ($P>0.05$)。The expression of Caspase-3 protein was the highest in the low dose group, the middle dose group, the Chinese medicine + western medicine group, the pamidium phosphate disodium group was followed。The expression of Caspase-3 protein was the lowest in the high dose group and the model group。Compared with the model group, there were significant differences between the other experimental groups except the high dose group ($P<0.05$)。 **Conclusion** Bone metastasis of lung adenocarcinoma is closely related to JNK / Bcl-2 signaling pathway。The results of this study show that *Yishen Jiedu* decoction can regulate JNK, Bcl-2, Bax and Caspase-3 proteins in this signal pathway, which may be a key step in promoting tumor cell apoptosis and provides a theoretical basis for the effective prevention and treatment of malignant tumors。

【Key words】 *Yishen Jiedu* decoction; JNK; Bcl-2; Bax; Caspase-3; Lung adenocarcinoma bone metastasis

肺癌是威胁人类生命健康的重大疾病之一,其发病率和死亡率均居首位^[1]。骨相关组织是癌症发生远处转移的好发部位,是肺癌主要的血行转移部位之一^[2],肺癌骨转移可引起病理性骨折、局部功能受限等一系列与骨相关的并发症,严重影响患者的生存时间和生活质量^[3]。JNK 信号通路是 MAPK (mitogen activated protein kinase) 一条经典的信号通路, JNK/Bcl-2 信号传导通路与肿瘤细胞的凋亡密切相关,在肿瘤的研究当中具有举足轻重的地位。有研究表明, JNK 通过诱导 Bcl-2 磷酸化,激活 Caspase-3 蛋白,促进细胞凋亡,抑凋亡基因 Bcl-2 与促凋亡基因 Bax 二者的相互拮抗作用共同决定肿瘤细胞的归宿, Caspase-3 蛋白作为执行分子,在调控细胞凋亡的过程中同样发挥着关键作用^[4-7]。本实验采用的益肾解毒方为中国中医科学院广安门医院朴炳奎教授临床经验方,课题组在前期研究中证明其具有较好的临床疗效^[8]。肺癌溶骨性骨转移的中医病机为肺肾亏虚、邪毒壅滞不通,治疗以益气补肾、通络散结、活血解毒为主。本实验在前期基础上,观察益肾解毒方对凋亡相关蛋白 JNK、Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 调控的作用,进一步探讨其在促进癌细胞凋亡中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物为 8~10 周龄雄性裸鼠共 60 只,体重每只为 18~20 g,在上海市西浦尔-必凯实验动物有限公司购买[SCXK(沪)2008-0043]。购回后在 SPF 环境下饲养。

1.2 主要实验仪器

BX51 显微镜(日本 OLYMPUS 公司); Ti-U (TE2000-S)型倒置显微镜(日本 Nikon 株式会社); EG1150H 包埋机(德国 LEICA 公司); RM2235 切片机(德国 LEICA 公司); H II 210 摊片机(德国 LEICA 公司); 不锈钢高压蒸汽锅(北京中科试验仪器公司); 小型台式离心机(郑州仪器设备有限公司)等。

1.3 试剂及药品

1.3.1 试剂 乙醇(北京市化工厂,规格:500 mL,批号:20120507); 苏木素染液(北京市世济合力生物科技有限公司,规格:1.5 L,批号:20121203); EDTA(北京市化工厂,规格:250 g,批号:20120418); 二抗(德国 DAKO 公司,规格:15 mL,批号:10063211); DAB(德国 DAKO 公司,规格:5 mL,

批号:00080066);JNK 抗体(北京博士德生物技术有限公司,规格:0.1 mL,批号:A04297);Bcl-2 抗体(北京市博士德生物技术有限公司,规格:0.2 mL,批号:BM4985);Bax 抗体(北京博士德生物技术有限公司,规格:0.2 mL,批号:BM3964);Caspase-3 抗体(北京博士德生物技术有限公司,规格:0.2 mL,批号:BM3937)。

1.3.2 药物 帕米磷酸二钠(规格:5 mL:15 g,浙江奥托康制药集团生产,批号:120106);中药“益肾解毒方”:主要由熟地黄 20 g、怀山药 15 g、茯苓 10 g、山茱萸 15 g、骨碎补 10 g、牡丹皮 10 g、白僵蚕 10 g、泽泻 10 g、白花蛇舌草 10 g、半枝莲 10 g 组成。

由中医科学院望京医院中药煎药室负责药物煎煮、浓缩、过滤等,按浓度差异制成高、中、低剂量实验组。制备每克浸膏剂折合成生药量为 3.4 g,保留于 4℃ 冰箱中备用。

1.4 分组及给药

将裸鼠按照随机分组原则随机分为 6 组,每组 6 只,按不同分组进行药物干预。给药浓度按照临床实际用药剂量,即成人每日服 1 剂算,并根据人与小鼠体表面积进行换算,给药剂量如下:模型组:生理盐水 0.5 mL,2 次/周×5 周,皮下注射;同时 1 mL,1 次/日×5 周,灌胃;低剂量组:益肾解毒中药浸膏剂混悬液 3 g/kg,1 次/日×5 周,灌胃;中剂量组:益肾解毒中药浸膏剂混悬液 12 g/kg,1 次/日×5 周,灌胃;高剂量组:益肾解毒中药浸膏剂混悬液 24 g/kg,1 次/日×5 周,灌胃;西药组:帕米磷酸二钠 4.5 mg/kg,2 次/周×5 周,皮下注射给药;中+西药组:益肾解毒中药浸膏剂混悬液 3 g/kg,1 次/日×5 周,灌胃;同时帕米磷酸二钠 4.5 mg/kg,2 次/周×5 周,皮下注射给药。

1.5 免疫组织化学染色

将裸鼠脱颈处死,分别取每只裸鼠的椎骨、鄂骨、胸骨、肩胛骨(左右)、肱骨(左右)、股骨(左右)共 9 个部位的组织,乙二胺四乙酸进行脱钙,脱钙总时长约为 45 日,浓度为 10% 每 3 天换一次,pH 值 7.0~7.4 之间,然后进行取材、脱水、包埋、切片及组织染色,石蜡切片厚度为 3 μm。烤片温度 72℃,30 分钟;在显微镜下分别观察各实验组裸鼠骨转移癌及周围骨组织 Bcl-2、Bax 蛋白的表达,运用 MIA 4.0 图像分析软件,观察和测量显微镜 400 倍视野下切片表达的阳性物质的光密度值。

免疫组织化学染色步骤:按照免疫组化染色方

法,脱蜡放入蒸馏水中,用 PBS 洗 2~3 次各 5 分钟后进行抗原修复,PBS 洗 2~3 次,每次各 5 分钟,3% 过氧化氢孵育 10 分钟,PBS 再冲洗 2~3 次,每次 5 分钟,加入一抗(1:200 稀释),在一抗作用下 37℃ 2 小时取出,PBS 洗 3 次,每次各 5 分钟,滴加二抗,在二抗作用下 37℃ 1 小时取出,PBS 洗 3 次,每次各 5 分钟,DAB 显色 5 分钟,PBS 冲洗,运用哈瑞苏木素复染色,分色,返蓝,脱水,最后封片,镜检。

1.6 统计学处理

数据分析采用统计学软件 SPSS 16.0 进行,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较在进行方差齐性检验后采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 益肾解毒方对 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

模型组 Bcl-2 蛋白的表达最高,与模型组比较,各实验组 Bcl-2 蛋白表达显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);低剂量、中+西药组、帕米磷酸二钠组三者间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),结果表明中药益肾解毒方和帕米磷酸二钠能够显著降低 Bcl-2 蛋白的表达。见图 1、表 1。

模型组 Bax 蛋白表达最低,与其他实验组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);中+西药组 Bax 蛋白表达最高,其次是帕米磷酸二钠组、低剂量组、高剂量组、中剂量组;益肾解毒方高剂量组与中剂量组比较无统计学差异($P > 0.05$);结果表明益肾解毒方与帕米磷酸二钠能促进 Bax 蛋白的表达。见图 2、表 1。

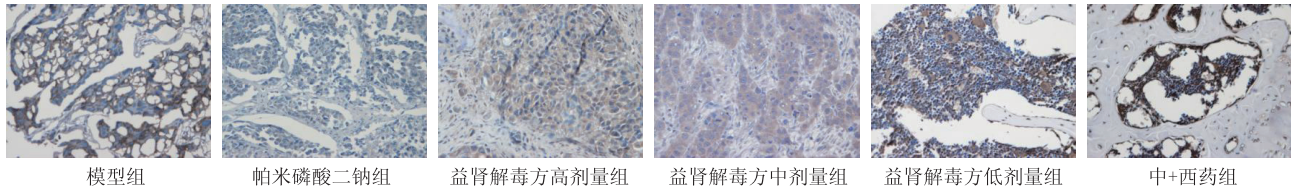
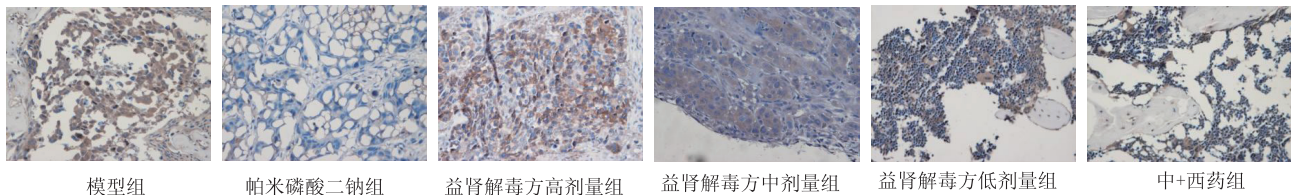
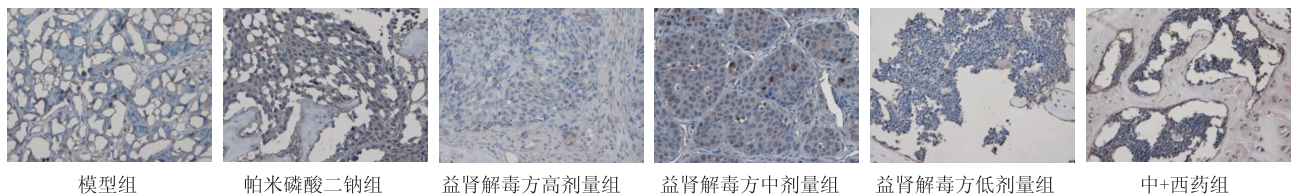
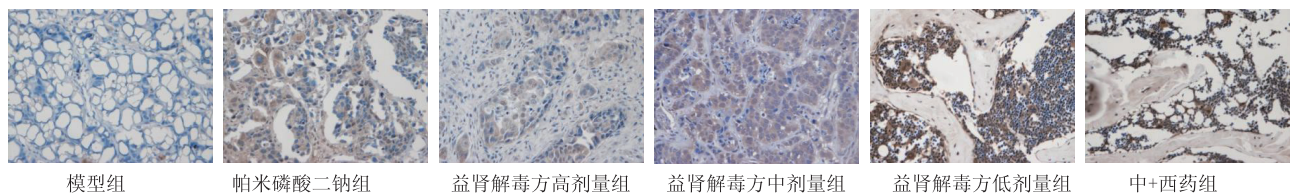
2.2 益肾解毒方对 JNK、Caspase-3 蛋白表达的影响

帕米磷酸二钠组 JNK 蛋白的表达最高,益肾解毒方低剂量组、中剂量组及中+西药组次之,与模型组和益肾解毒方高剂量组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明益肾解毒方与帕米磷酸二钠能够增强 JNK 蛋白的表达。见图 3、表 2。

益肾解毒方低剂量组 Caspase-3 蛋白表达最高,其次是中剂量组、中+西药组、帕米磷酸二钠组,益肾解毒方高剂量组和模型组 Caspase-3 蛋白表达最低;与模型组相比,益肾解毒方低剂量组、中剂量组、帕米磷酸二钠组及中+西药组均有统计学差异($P < 0.05$),但是高剂量组与模型组相比无统计学差异($P > 0.05$);结果表明,益肾解毒方与帕米磷酸二钠能够促进 Caspase-3 蛋白的表达。见图 4、表 2。

表 1 益肾解毒方对 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Bcl-2 蛋白 OD 值	Bax 蛋白 OD 值
模型组	6	62.5650 \pm 20.66174	14.6925 \pm 3.56258
帕米磷酸二钠组	6	9.9970 \pm 3.85420 ^a	46.7918 \pm 13.51796 ^a
益肾解毒方高剂量组	6	35.6188 \pm 15.78747 ^a	30.7762 \pm 4.98790 ^a
益肾解毒方中剂量组	6	14.8211 \pm 2.88819 ^a	28.5344 \pm 5.18311 ^a
益肾解毒方低剂量组	6	9.6108 \pm 3.50706 ^a	40.5424 \pm 5.26547 ^a
中+西药组	6	8.8540 \pm 2.56048 ^a	50.6052 \pm 3.74862 ^a

注:与模型组比较,^a $P<0.05$ 。图 1 益肾解毒方对 Bcl-2 蛋白表达的影响 (IHC $\times 400$)图 2 益肾解毒方对 Bax 蛋白表达的影响 (IHC $\times 400$)图 3 益肾解毒方对 JNK 蛋白表达的影响 (IHC $\times 400$)图 4 益肾解毒方对 Caspase-3 蛋白表达的影响 (IHC $\times 400$)表 2 益肾解毒方对 JNK 蛋白及 Caspase-3 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s$)

组别/蛋白	n	JNK 蛋白 OD 值	Caspase-3 蛋白 OD 值
模型组	6	12.7040 \pm 2.9223	12.8767 \pm 2.5632
帕米磷酸二钠组	6	56.1708 \pm 13.5775 ^a	29.5660 \pm 6.6281 ^a
益肾解毒方高剂量组	6	10.4420 \pm 5.8176	14.4222 \pm 3.4353
益肾解毒方中剂量组	6	40.0200 \pm 6.6574 ^a	39.1989 \pm 7.8919 ^a
益肾解毒方低剂量组	6	40.5244 \pm 5.8562 ^a	40.8956 \pm 5.4865 ^a
中+西药组	6	39.8956 \pm 4.8245 ^a	38.1256 \pm 6.5246 ^a

注:与模型组比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨论

肿瘤是机体在各类致癌因素的作用下,局部组织细胞基因调控处于异常状态,细胞异常增生或凋亡不足导致的。在肿瘤发生演变过程中,JNK/Bcl-2 信号传导通路扮演着非常重要的角色,JNK 参与调控细胞的增殖分化、凋亡等多种反应,JNK 磷酸化后可以调节线粒体外膜促凋亡基因和抑凋亡基因的磷酸化水平,使抑凋亡基因 Bcl-2 (B cell lymphoma/leukemia-2) 的表达下调或促凋亡基因 Bax 蛋白 (B cell lymphoma/leukemia-2 associated X protein) 表达上调^[9-10]。Bcl-2 是从淋巴瘤中最早被发现且被证明具有抑制凋亡作用的基因,Bcl-2 的过表达会导致细胞凋亡与增殖失去平衡,阻止细胞色素 C 从线粒体向胞质内释放,抑制 caspase 蛋白的活化途径和降解。Bax 是一种与 Bcl-2 共沉淀的蛋白质,它自身并不能阻止凋亡发生,而是具有拮抗 Bcl-2 蛋白抑制凋亡的功能。提高 Bcl-2 表达水平或降低 Bax 的表达水平能抑制肿瘤细胞的凋亡,因此,Bcl-2/Bax 表达的比率决定着细胞的“命运”^[11-15]。研究表明,Bcl-2 与下游 Caspase-3 蛋白在凋亡过程中关联密切,Caspase-3 被活化后通过降解细胞内相关的底物形成凋亡小体而诱导细胞死亡,是细胞凋亡过程中蛋白酶级联反应的关键步骤和最终执行分子^[8,16-17]。因此,深入研究 JNK/Bcl-2 信号通路中的关键蛋白 JNK、Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白之间的相互作用及中药复方对其调控作用,对于进一步提高肿瘤治疗效果具有非常重要的价值。中医学认为,肿瘤的发生发展由“虚、毒、痰、瘀”所致,正气亏损,邪气乘虚而入,痰、毒、瘀凝结在脏腑、经络而使人体阴阳气血失调,经络痹阻,日久而形成肿瘤。著名中西医结合肿瘤专家朴炳奎教授总结临床经验,认为“正气内虚”是癌症发病的基础,肿瘤之“虚”与人体自身细胞免疫等调节的失衡有着密切的联系^[18]。本实验在前期裸鼠肺腺癌骨转移模型研究的基础上,从微观进一步证实了中药“益肾解毒方”能够有效调控 JNK/Bcl-2 信号通路,增强上游调控分子 JNK 的表达,下调抑凋亡基因 Bcl-2 的表达,提高促凋亡基因 Bax 和下游 Caspase-3 蛋白的表达,产生一系列的级联反应进而在细胞凋亡层面促进癌细胞的死亡。沈宏伟等^[19]研究表明在膀胱癌的发生和细胞凋亡的调控方面降低 Bcl-2 蛋白的表达与增强 Caspase-3 蛋白的表达可能发挥着重要作用。

李敬瑜等^[20]通过实验证明健脾解毒中药方能够下调 Bcl-2 mRNA 的表达和上调 Bax mRNA 的表达,通过 Bax 和 Bcl-2 途径促进肠癌细胞的凋亡,这与课题组的实验研究结果具有一致性。

综上所述,本研究通过观察中药益肾解毒方对 JNK/Bcl-2 信号通路上关键分子 JNK、Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 蛋白的调控作用,证实了这可能是其促进肿瘤细胞凋亡的关键环节,提示我们干预其相关信号转导途径或许可以成为减轻肺腺癌骨转移骨质破坏发生的有效手段之一,但尚缺乏大样本、多中心的临床研究及深层次的实验理论研究,且中药复方有效成分整体作用于生物体系的机制更为复杂,仍需要不断探索和深入研究。

参 考 文 献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Weber MH, Goltzman D, Kostenuik P, et al. Mechanisms of tumor metastasis to bone[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2000, 10(3): 281-302.
- [3] Coleman RE. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(20): 6243-6249.
- [4] 朱玉侠, 赵明星, 姜登鸽, 等. 抑癌基因 p53、凋亡抑制基因 Bcl-2、促凋亡基因 Bax 在胃癌及癌前病变中的表达[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2016, 25(9): 1040-1043.
- [5] DR McIlwain, T Berger, TW Mak. Caspase Functions in Cell Death and Disease[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2015, 7(4): 962-968.
- [6] SH Lee, SW Park, CW Pyo, et al. Requirement of the JNK-associated Bcl-2 pathway for human lactoferrin-induced apoptosis in the Jurkat leukemia T cell line[J]. Biochimie, 2009, 91(1): 102-108.
- [7] 孙曼, 蒋军广, 张晓燕, 等. 凋亡相关基因 caspase-3 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 中国老年学, 2014, 34(1): 17-19.
- [8] 张平. 益肾骨康方治疗骨转移癌痛临床研究及对骨转移瘤信号转导机制作用[D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.
- [9] DN Dhanasekaran, EP Reddy. JNK signaling in apoptosis[J]. Oncogene, 2008, 27(48): 6245-6251.
- [10] 徐云峰, 刘松坚. Bcl-2 家族的研究进展[J]. 中国疗养医学, 2014, 23(10): 884-886.
- [11] H Li, X Li, M Bai, et al. Matrine inhibited proliferation and increased apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells via up-regulation of Bax and downregulation of Bcl-2[J]. International Journal of Clinical & Experimental Pathology, 2015, 8(11): 14793-14799.
- [12] Y Li, S Zhang, JX Geng, et al. Curcumin inhibits human non-small cell lung cancer A549 cell proliferation through regulation

- of Bcl-2/Bax and cytochrome C [J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention Apjcp, 2013, 14(8):4599-4602.
- [13] FM Wensveen, NL Alves, IAM Derks, et al. Apoptosis induced by overall metabolic stress converges on the Bcl-2 family proteins Noxa and Mcl-1 [J]. Apoptosis, 2011, 16(7):708-721.
- [14] 王卫东, 陈正堂. Bcl-2/Bax 比率与细胞“命运”[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 14(4):393-396.
- [15] J Yang, J Ning, L Peng, et al. Effect of curcumin on Bcl-2 and Bax expression in nude mice prostate cancer [J]. International Journal of Clinical & Experimental Pathology, 2015, 8(8):9272-9278.
- [16] J Yuan, BA Yankner. Apoptosis in the nervous system [J]. Nature, 2000, 407(6805):802-809.
- [17] 张臻年, 李继英, 赵杨, 等. 通脑活络针刺疗法对大鼠急性脑梗死 Bcl-2 及 Caspase-3 的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(5):646-650.
- [18] 朴炳奎. 对中医肿瘤个体化治疗的思考 [C]//中国中西医结合学会肿瘤专业委员会. 第三届国际中医、中西医结合肿瘤学术交流大会暨第十二届全国中西医结合肿瘤学术大会论文汇编, 2010:4.
- [19] 沈宏伟, 易路, 汪小明, 等. Caspase-3 与 Bcl-2 蛋白在膀胱移行细胞癌中的表达及意义 [J]. 癌症, 2004, 23(2):181-184.
- [20] 李敬瑜, 万光升, 李萍, 等. 健脾解毒方对裸鼠皮下移植瘤 Bax、Bcl-2 mRNA 表达的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(10):77-80.

(收稿日期:2017-02-07)

(本文编辑:董历华)