

牛黄解毒片配伍对雄黄肝毒性的影响及其与凋亡调控的关系

董菊¹, 项馨立², 王子好¹, 詹臻^{1*}

(1. 南京中医药大学基础医学院, 南京 210046; 2. 南京中医药大学信息技术学院, 南京 210046)

[摘要] **目的:**探讨牛黄解毒片方中中药配伍能否减低雄黄的肝毒性及其与肝细胞凋亡的关系。**方法:**40只ICR小鼠随机分为雄黄组,牛黄解毒片全方组(7.8 g·kg⁻¹),牛黄解毒片全方去甘草黄芩大黄组(3.8 g·kg⁻¹),牛黄解毒片全方去雄黄组(7.3 g·kg⁻¹)和正常组5组,雄黄组剂量设置为0.5 g·kg⁻¹,根据《中国药典》的牛黄解毒片组方比例,设置其他给药组剂量(含等效雄黄量),各组经口给药9周,观察小鼠肝组织病理变化与氧化损伤,并应用末端转移酶标记技术(TUNEL)和免疫组化法检测肝细胞原位凋亡和凋亡相关分子Bcl-2和Bax的表达情况。**结果:**雄黄组小鼠肝组织出现显著水肿,且局部有坏死,而牛黄解毒片全方组及其他给药组的肝组织未见明显异常;与正常组比较,雄黄组的丙二醛(MDA)明显升高($P < 0.05$);TUNEL凋亡指数,Bax表达平均吸光度A明显增加,Bcl-2表达平均A明显减少($P < 0.05$);与雄黄组比较,牛黄解毒片全方组的MDA明显降低($P < 0.05$),TUNEL凋亡指数,Bax表达平均A明显下降,Bcl-2表达平均A明显增加($P < 0.05$);全方去甘草、黄芩、大黄后,凋亡指数较全方组增加,Bax表达亦明显增加,但Bcl-2表达无明显变化。**结论:**牛黄解毒片方中中药配伍可减低雄黄的肝毒性,抑制雄黄诱导的肝细胞凋亡可认为是牛黄解毒片配伍减低雄黄肝损伤的分子机制之一,抑制过程可能是通过促进Bcl-2表达而阻碍Bax表达来实现的,抑制药物与甘草、黄芩、大黄3味中药有关。

[关键词] 牛黄解毒片; 雄黄; 凋亡调控; 配伍; 肝损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)24-0079-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015240079

Influence of Niuhuang Jiedu Tablet Compatibility on Realgar' Hepatotoxicity and Its Relationship with Apoptosis Regulation DONG Ju¹, XIANG Xin-li², WANG Zi-yu¹, ZHAN Zhen^{1*} (1. Department of Basic Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. School of Information Technology, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the influence of Niuhuang Jiedu tablet compatibility on realgar hepatotoxicity and its relationship with apoptosis regulation. **Method:** Forty ICR mice were randomly divided into realgar group, Niuhuang Jiedu tablet whole prescription group (7.8 g·kg⁻¹), Niuhuang Jiedu tablet whole prescription excluding Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Scutellariae Radix and Rhei Radix et Rhizoma group (3.8 g·kg⁻¹), Niuhuang Jiedu tablet whole prescription excluding realgar group (7.3 g·kg⁻¹), and normal group. The dose of realgar group was set to 0.5 g·kg⁻¹, and doses of other groups were set (including the equivalent amount of realgar) according to the prescription ratio of Niuhuang Jiedu tablet in Chinese pharmacopoeia. Mice were administrated by oral for 9 weeks, then their pathological changes and oxidative damages in liver tissues were observed, and the terminal transferase labeling (TUNEL) and immunohistochemical methods were used to detect the hepatocyte apoptosis and the expression of apoptosis-related molecules in situ Bcl-2 and Bax. **Result:** Significant edema and local necrosis were found in liver tissue of realgar group mice, but the whole prescription group and other administration groups showed no significant abnormalities. Compared with the normal group,

[收稿日期] 20141023(010)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81201187);江苏省高校自然科学基金项目(11KJD360001);江苏省高校优势学科建设工程资助项目

[第一作者] 董菊,博士,副教授,从事中西医结合基础研究,Tel:025-85811556,E-mail:dong_jv2007@163.com.cn

[通讯作者] *詹臻,教授,从事中西医结合基础研究,Tel:025-85811925,E-mail:zhanzhan5607@sina.com

malondialdehyde (MDA) level was decreased was significantly increased in realgar group ($P < 0.05$). TUNEL apoptosis index and the average optical density for expression of Bax were increased significantly, while the average optical density for expression of Bcl-2 was significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the realgar group, MDA level ($P < 0.05$), TUNEL apoptosis index and the average optical density for expression of Bax were significantly decreased in Niuhuang Jiedu tablet whole prescription group, while the average optical density for expression of Bcl-2 was significantly increased ($P < 0.05$). TUNEL apoptosis index was increased in whole prescription excluding Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Scutellariae Radix and Rhei Radix et Rhizoma compared with the whole prescription, Bax expression was also increased significantly, but Bcl-2 expression had no apparent changes. **Conclusion:** The compatibility for Niuhuang Jiedu tablet could decrease the hepatotoxicity induced by realgar, and inhibiting hepatocyte apoptosis may be one of its mechanisms, and such inhibition may be achieved by promoting Bcl-2 expression and inhibiting Bax expression. The inhibition drugs may be associated with Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Scutellariae Radix, Rhei Radix et Rhizoma in the whole prescription.

[**Key words**] Niuhuang Jiedu tablet; realgar; apoptosis regulation; compatibility; hepatotoxicity

雄黄是卫生部颁布的 28 种毒性药材之一,其肝损伤作用已被较多研究所证实^[1-2]。牛黄解毒片是一含雄黄成方,由人工牛黄、雄黄、石膏、大黄、黄芩、桔梗、冰片和甘草 8 味药按一定的工艺炮制而成,是中成药清热解毒剂的代表药。现代研究表明^[3-4],牛黄解毒片全方配伍后,可明显降低雄黄中可溶性砷含量,从而对雄黄引起的肝损伤可能有减低作用。大量研究提示^[5-6],细胞凋亡在肝细胞损伤过程中发挥重要作用,抑制细胞凋亡可达到保护肝细胞损伤的目的。那么,雄黄引起肝组织损伤是否与诱导肝细胞凋亡有关,牛黄解毒片配伍能否通过抑制肝细胞凋亡而达到减低雄黄肝损伤作用。为探讨这些问题,本研究拟以小鼠为研究对象,牛黄解毒片全方及其不同拆方经口亚慢性给药后,观察并分析不同给药组肝损伤及细胞凋亡和凋亡相关分子的表达。

1 材料

1.1 动物 健康 18~22 g 成年健康 ICR 小鼠,40 只,清洁级,雌雄各半,购自上海斯莱克实验动物有限公司,合格证号 SCXK(沪)2007-0005。

1.2 药物及试剂 雄黄样品由南京中医药大学门诊部提供;人工牛黄、石膏、大黄、黄芩、桔梗、冰片及甘草,购自江苏省中医院药剂科中药房,由南京中医药大学中药鉴定学教研室乐巍副教授鉴定为正品。兔抗 Bax 抗体(批号 RAB-0092),兔抗 Bcl-2 抗体(批号 RAB-0014),即用型快速免疫组化 MaxVision™ 试剂盒(批号 KIT-5030),DAB 显色试剂(批号 KIT-5030)等均由福州迈新生物公司提供;TUNNEL 细胞原位凋亡检测试剂盒(In Situ Cell Death Detection Kit)(瑞士 Roche 公司,批号 11684809910)。

1.3 仪器 RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),RM2235 型石蜡切片机(德国 Leica 公司产品),CS-VI 型摊片烤片机(湖北孝感宏业医用仪器有限公司),Tissue-Tek TEL 型组织包埋中心(日本 Sakura 公司产品),DM 1000 型光学显微镜(德国 Leica 公司产品)。

2 方法

2.1 分组与剂量设置 将 40 只小鼠称重标记,随机分为雄黄组、牛黄解毒片全方组、牛黄解毒片全方去甘草黄芩大黄组、牛黄解毒片全方去雄黄组及正常组 5 组,雌雄分开,每组 8 只。根据预实验结果,雄黄组剂量为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,牛黄解毒片全方组剂量为 $7.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (含雄黄 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,石膏 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,大黄 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,黄芩 $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,桔梗 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,冰片 $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,甘草 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),牛黄解毒片去甘草黄芩大黄组剂量为 $3.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (牛黄 $0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,雄黄 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,石膏 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,桔梗 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,冰片 $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),牛黄解毒片去雄黄组剂量为 $7.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (牛黄 $0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,石膏 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,大黄 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,黄芩 $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,桔梗 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,冰片 $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,甘草 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),正常组给予双蒸水。

2.2 给药 每组小鼠按每 10 g 体重给药 0.1 mL 给药,经口给予上述配好的各种药物,连续 9 周,每周 6 d,每周称量体重 1 次,换垫料 1 次,同时观察小鼠的行为表现,并根据体重变化,调整给药量。

2.3 肝脏组织病理观察 给药结束后,取小鼠肝脏,10% 中性甲醛固定,石蜡包埋,常规切片,HE 染色,中性树脂封片,显微镜观察。

2.4 肝组织氧化损伤的检测 取小鼠肝组织少许(1 g 左右),采用匀浆机,按组织(g)-生理盐水

(mL) 1:9 制备 10% 组织均浆,进行谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),丙二醛(MDA)含量测定,严格按照试剂盒说明书方法进行测定。

2.5 肝细胞原位凋亡检测 石蜡切片常规脱蜡、水化后,用细胞凋亡检测试剂盒检测,按说明书步骤进行。最后常规 DAB 显色,苏木素复染,中性树脂封固。采用显微镜观察,每组随机观察 5 张切片,每张组织切片随机观察 3 个高倍视野,记数并计算原位凋亡指数^[7]。TUNEL 阳性信号细胞为蓝紫色或紫黑色,位于胞核,呈小圆形或环形。TUNEL 阳性细胞大多在形态学上表现为原位凋亡的细胞。

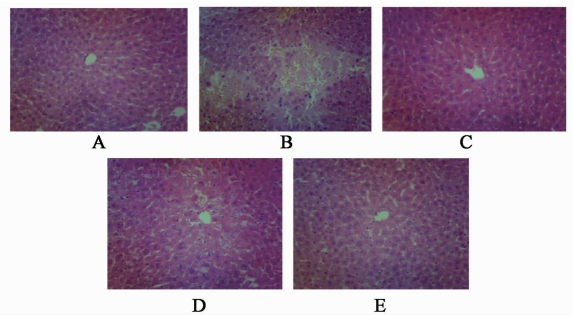
2.6 肝细胞凋亡相关分子 Bax 和 Bcl-2 的检测 石蜡切片常规脱蜡、水化,以进行免疫组化试剂盒检测,步骤按说明书进行。采用光学显微镜观察 Bax 和 Bcl-2 基因蛋白的阳性表达(细胞浆与细胞膜显示为棕黄色),每组随机观察 5 张切片,每片随机拍照 3 个视野,然后采用 Image-Pro Plus 图像分析系统测定不同组 Bax 和 Bcl-2 表达阳性细胞的平均吸光度 A^[8]。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,若满足方差分析条件,采用成组设计的方差分析,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多重比较采用 dunnet *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠肝脏组织病理学的影响 雄黄组小鼠肝组织细胞出现了显著水肿,血窦扩张,且有局部坏死,坏死区域呈淡红染色,细胞核溶解消失,坏死区域有出血,坏死灶周边肝细胞有轻度嗜酸性变,肝细胞核染色加深,体积变小;正常组所有小鼠的肝组织结构均较清楚,以中央静脉为中心呈放射状排列,未见明显炎细胞浸润,肝窦未扩张,肝细胞核、浆比例未见异常;牛黄解毒片组、牛黄解毒片去雄黄组所有小鼠肝脏组织亦未见明显异常,牛黄解毒片去甘草、黄芩、大黄组可见部分轻度水肿。见图 1。

3.2 对小鼠肝脏组织 GSH-Px 和 MDA 的影响 与正常组比较,雄黄组肝 GSH-Px 水平明显降低($P < 0.05$),与正常组和全方组比较,雄黄组肝 MDA 水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明雄黄给药 9 周可引起小鼠肝组织氧化损伤;牛黄解毒片全方配伍后可能对雄黄引起的肝组织氧化损伤有抑制作用。本实验条件下,全方去甘草、黄芩、大黄组及全方去雄黄组的 GSH-Px,MDA 水平和正常组及全方组比较,差异未见有统计学意义。见表 1。



A. 正常组;B. 雄黄组;C. 全方组;D. 全方去甘草组;E. 全方去雄黄组(图 2~4 同)

图 1 牛黄解毒片配伍对小鼠肝脏组织病理学的影响(HE, ×100)
Fig.1 Effects of Niu Huang Jie Du tablet compatibility on liver tissue pathology in mice(HE, ×100)

表 1 牛黄解毒片配伍对小鼠肝组织 GSH-Px 和 MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effects of Niu Huang Jie Du tablet compatibility on oxidative stress in mice liver ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | 肝 | |
|-----------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | MDA/μmol·L ⁻¹ | GSH-Px/μmol·L ⁻¹ |
| 全方 | 7.8 | 0.88 ± 0.12 | 25.33 ± 3.79 |
| 全方去甘草、 黄芩、大黄 | 3.8 | 0.77 ± 0.11 | 25.77 ± 3.34 |
| 雄黄 | 0.5 | 1.27 ± 0.34 ^{1,2)} | 22.99 ± 2.16 ¹⁾ |
| 全方去雄黄 | 7.3 | 0.82 ± 0.26 | 24.68 ± 3.17 |
| 正常 | - | 0.76 ± 0.11 | 26.20 ± 3.68 |

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与全方组比较²⁾ $P < 0.05$ (图 2~4 同)。

3.3 对小鼠肝细胞原位凋亡的影响 雄黄组有很多细胞核被深染为蓝黑色的凋亡细胞,正常组亦可见原位凋亡细胞,但数目较少。与正常组和全方组比较,雄黄组的原位凋亡指数显著增高($P < 0.05$),提示雄黄可引起肝细胞凋亡增加,而牛黄解毒片全方配伍后对雄黄引起的肝细胞凋亡有降低作用($P < 0.05$)。全方去甘草、黄芩、大黄组及全方去雄黄的凋亡指数较正常组和全方组亦明显增加($P < 0.05$),提示方中雄黄外,其他中药也可能引起肝细胞凋亡增加。见表 2,图 2。

表 2 牛黄解毒片配伍对小鼠肝细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)
Table 2 Effects of Niu Huang Jie Du tablet compatibility on hepatocyte apoptosis in mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 原位凋亡指数 |
|-------------|-----------------------|------------------------------|
| 全方 | 7.8 | 10.57 ± 2.27 ¹⁾ |
| 全方去甘草、黄芩、大黄 | 3.8 | 15.02 ± 3.29 ^{1,2)} |
| 雄黄 | 0.5 | 18.07 ± 2.35 ^{1,2)} |
| 全方去雄黄 | 7.3 | 15.53 ± 3.78 ^{1,2)} |
| 正常 | - | 7.87 ± 1.33 |

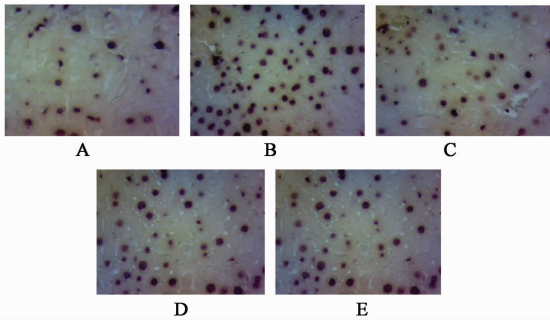


图 2 牛黄解毒片配伍对小鼠肝细胞凋亡的影响 (TUNEL, $\times 200$)
Fig. 2 Effects of Niu Huang Jiedu tablet compatibility on hepatocyte apoptosis in mice (TUNEL, $\times 200$)

3.4 对小鼠肝细胞凋亡相关分子 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的影响

3.4.1 对小鼠肝组织 Bax 蛋白表达的影响 正常组肝细胞可见很少的棕黄色阳性表达细胞,颜色较浅;雄黄组可见大片阳性表达细胞,表达颜色较深。全方组、全方去甘草、黄芩、大黄组及全方去雄黄亦可见阳性表达细胞,但表达面积和强度和雄黄组存在差异。见图 3。与正常组比较,雄黄组 Bax 阳性表达明显较高 ($P < 0.05$),表明雄黄可能具有促进 Bax 表达的作用,牛黄解毒片配伍后,Bax 阳性表达降低 ($P < 0.05$);全方去甘草、黄芩、大黄组 Bax 阳性表达比雄黄组明显降低 ($P < 0.05$),但比全方组要高,提示甘草、黄芩、大黄这 3 味中药可能在全方抑制 Bax 表达中发挥作用。见表 3。

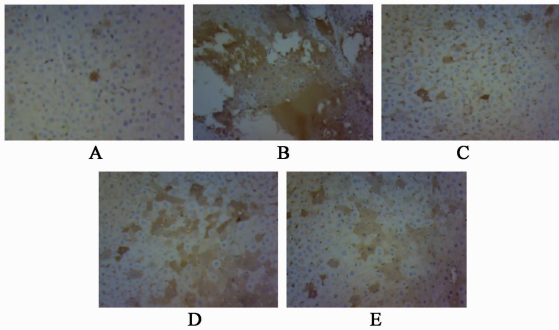


图 3 牛黄解毒片配伍对小鼠肝细胞凋亡因子 Bax 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 100$)
Fig. 3 Effects of Niu Huang Jiedu tablet compatibility on Bax protein expression in mice liver cell (IHC, $\times 100$)

3.4.2 对小鼠肝组织 Bcl-2 蛋白表达的影响 雄黄组棕黄色阳性表达细胞较少,而正常组表达相对较多,见图 4。与正常组比较,雄黄组平均 A 明显减少,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),表明雄黄可能具有抑制 Bcl-2 表达作用;牛黄解毒片全方配伍后,与雄黄组比较,Bcl-2 表达增加 ($P < 0.05$);但全方去

表 3 牛黄解毒片配伍对小鼠肝组织细胞 Bax 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Effects of Niu Huang Jiedu tablet compatibility on hepatocyte Bax protein expression in mice liver cell ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | Bax 蛋白 |
|-------------|-----------------------|-----------------------------|
| 全方 | 7.8 | 0.46 ± 0.02 |
| 全方去甘草、黄芩、大黄 | 3.8 | 0.48 ± 0.02 ¹⁾ |
| 雄黄 | 0.5 | 0.50 ± 0.01 ^{1,2)} |
| 全方去雄黄 | 7.3 | 0.48 ± 0.01 |
| 正常 | - | 0.37 ± 0.02 |

甘草、黄芩、大黄组与全方组比较,差异未见有统计学意义。见表 4。

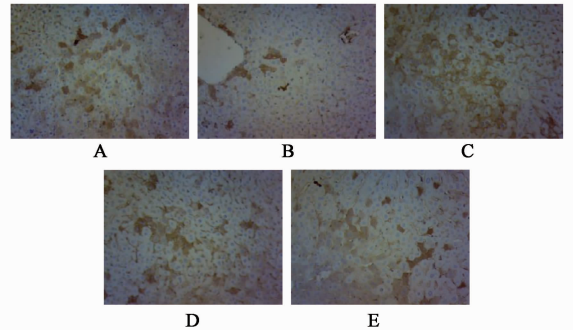


图 4 牛黄解毒片配伍对小鼠肝细胞凋亡因子 Bcl-2 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 100$)

Fig. 4 Effects of Niu Huang Jiedu tablet compatibility on Bcl-2 protein expression in mice liver cell (IHC, $\times 100$)

表 4 牛黄解毒片配伍对小鼠肝组织细胞 Bcl-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effects of Niu Huang Jiedu tablet compatibility on hepatocyte Bcl-2 protein expression in mice liver cell ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | Bcl-2 蛋白 |
|-------------|-----------------------|-----------------------------|
| 全方 | 7.8 | 0.55 ± 0.03 |
| 全方去甘草、黄芩、大黄 | 3.8 | 0.52 ± 0.02 |
| 雄黄 | 0.5 | 0.49 ± 0.03 ^{1,2)} |
| 全方去雄黄 | 7.3 | 0.53 ± 0.04 |
| 正常 | - | 0.53 ± 0.04 |

4 讨论

研究表明^[3-4],牛黄解毒片全方配伍后,可明显降低雄黄中可溶性砷含量,表明该方对雄黄引起的砷毒性可能有减低作用。本研究首次采用动物实验研究,探讨了小鼠体内牛黄解毒片对雄黄引起肝损伤的影响及其与凋亡调控的关系,研究结果既可为牛黄解毒片的安全使用提供理论依据,也可为雄黄砷毒性的控制提供一定的参考,因此具有重要意义。目前,TUNEL 被广泛用于石蜡包埋组织切片、冰冻组织切片、培养的细胞和从组织中分离的细胞的调

亡测定^[9-10]。它可将分子生物学与形态学相结合,对完整的单个凋亡细胞核或凋亡小体进行原位染色,进而检测出极少量的凋亡细胞。在所有的凋亡途径中,线粒体被认为是肝细胞凋亡的中心执行者^[10]。线粒体途径主要由 Bcl-2 家族蛋白调控,其中 Bcl-2 为凋亡抑制蛋白, Bax 为凋亡促进蛋白,当细胞受到凋亡诱导因子刺激后,两者共同决定细胞是否存活^[11]。因此,为探讨雄黄引起肝组织损伤是否与诱导肝细胞凋亡有关,以及牛黄解毒片配伍能否通过抑制肝细胞凋亡而达到减低雄黄肝损伤作用,本研究采用 TUNNEL 法检测了小鼠肝细胞凋亡,并采用免疫组织化学方法检测了肝组织细胞 Bax 与 Bcl-2 基因蛋白的表达。结果表明,牛黄解毒片配伍可以减低雄黄引起的肝损伤,诱导肝细胞凋亡增加可能是雄黄引起肝组织损伤的重要机制,牛黄解毒片全方配伍后,对雄黄的诱导凋亡作用产生了抑制作用,抑制过程可能是通过促进 Bcl-2 表达而阻碍 Bax 表达来实现,但牛黄解毒片方中甘草、黄芩、大黄 3 味中药在抗凋亡中的作用仍需进一步研究。本研究中亦存在一些不足。首先,牛黄解毒片是一含 8 味药的方剂,本研究只是采用简单地撤药拆方设计,设置了全方组、单味雄黄组、全方去甘草、黄芩、大黄组、全方去雄黄 4 个给药组和正常组,研究结果虽可初步探讨全方配伍对雄黄有无减毒作用,若有作用,作用是否与甘草、黄芩、大黄有关,但是无法回答全方中其他药味对雄黄肝损伤的影响如何。其次,药味之间往往是存在相互作用的,那么,方中药味之间的相互作用如何以及在减低雄黄引起的肝损伤过程中是否可发挥协同作用,这些问题还需要进一步优化研究设计深入研究。

[参考文献]

- [1] 张秀娟,白雪莹,陆童,等. 雄黄对小鼠肝功能损伤的初步研究[J]. 中药药理与临床,2014,30(1):56-58.
- [2] 董菊,吴娟,王明艳,等. 雄黄及其复方的毒理学研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2011,25(6):601-604.
- [3] 董菊,陈辉,吴娟,等. 原子荧光光谱法检测牛黄解毒片及其拆方可溶性砷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):67-71.
- [4] 徐智,俞珊珊,黄可龙. 牛黄解毒片中不同单味组分对雄黄可溶性砷含量影响的比较研究[J]. 中国生化药物杂志,2009,30(2):121-123.
- [5] 洪莉,蔡威. 凋亡与肝细胞损伤机制的研究进展[J]. 临床小儿外科杂志,2006,5(1):42-46.
- [6] Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dy-namics during apoptosis by Bcl-2 family proteins:a key in Bak? [J]. Cell Cycle,2007,6(24):3043-3047.
- [7] 郭雅,段佳佳,文张,等. 肝缺血再灌注后 HSP70 mRNA 的表达及其与凋亡关系的临床研究[J]. 中国癌症防治杂志,2009,1(2):114-120.
- [8] 关燕清,邱李莉,王文文. 共固定化细胞因子诱导的 HeLa 细胞凋亡中 Bax、Bcl-2、P53 基因的表达[J]. 生物医学工程学杂志,2009,26(1):138-143.
- [9] 李晶媛,李树臣,杨维良. TNF- α 诱导肝细胞凋亡机制的回顾与展望[J]. 世界华人消化杂志,2007,15(6):606-616.
- [10] Archana M, Bastian, Yogesh T L, et al. Various methods available for detection of apoptotic cells--a review[J]. Indian J Cancer, 2013,50(3):274-283.
- [11] Youle R J, Strasser A. The Bcl-2 protein family: opposing activities that mediate cell death[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008,9(1):47-59.

[责任编辑 周冰冰]