

茵黄合剂对雌孕激素共诱导妊娠肝内胆汁淤积症大鼠胆汁酸转运蛋白 MRP2 与 BSEP 表达的影响

刘佳,侯莉莉*,赵翠英
(南京市妇幼保健医院,南京 210004)

[摘要] 目的:观察茵黄合剂对雌孕激素共诱导妊娠肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy,ICP)大鼠胆汁酸转运蛋白多药耐药相关蛋白 2(multidrug resistance-associated protein 2,MRP2)与胆盐输出泵(bile salt export pump,BSEP)表达的影响,探讨茵黄合剂治疗妊娠肝内胆汁淤积症可能的分子机制。方法:运用雌孕激素联合的方法建立孕鼠妊娠肝内胆汁淤积症模型,随机分为正常组、模型组、茵黄合剂低剂量组($9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,ig)和茵黄合剂高剂量组($18\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,ig),分别给予生理盐水、低剂量与高剂量的茵黄合剂 5 d,取血,检测血清总胆汁酸(total bile acid,TBA)、总胆红素(total bilirubin,TBil)、丙氨酸转氨酶(alanine transaminase,ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)活性,留取肝脏组织,置于液氮中保存,分别运用实时定量 PCR 法及蛋白免疫印迹法检测胆汁酸转运蛋白 MRP2 BSEP mRNA 与蛋白表达情况。结果:与正常组比较,模型组大鼠血清 TBA,TBil 水平增加,MRP2,BSEP mRNA 与蛋白表达水平降低($P<0.01$),模型组 ALT,AST 含量与正常组比较虽有增加,但差异无统计学意义。与模型组比较,茵黄合剂低、高剂量均能降低妊娠肝内胆汁淤积症模型大鼠血清 TBA,TBil 水平($P<0.01$),并且可明显增加肝脏组织 MRP2,BSEP mRNA 与蛋白表达水平, $P<0.01$ 。结论:茵黄合剂治疗妊娠肝内胆汁淤积症的分子机制可能是通过增加肝脏组织胆汁酸转运蛋白 MRP2,BSEP mRNA 与蛋白表达水平实现的。

[关键词] 妊娠肝内胆汁淤积症;茵黄合剂;多药耐药相关蛋白 2;胆盐输出泵

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0225-05

[doi] 10.11653/syjf2013170225

Effect of Yinhuang Mixture on Expression of MRP2 and BSEP in Rats with Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy Induced by Estrogen and Progesterone

LIU Jia, HOU Li-li*, ZHAO Cui-ying

(Nanjing Mother and Child Care Courtyard, Nanjing 210004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Yinhuang mixture on the expression of multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) and bile salt export pump (BSEP) in rats with intrahepatic cholestasis of pregnancy induced by estrogen and progesterone. **Method:** The animal model of intrahepatic cholestasis of pregnancy was induced by 17- α -ethinylestradiol and progesterone and these rats were randomly divided into four groups, including normal group, model group, low dosage and high dosage of Yinhuang mixture groups, either saline or low and high dosage of Yinhuang mixture were given. The serum levels of total bile acid (TBA) total bilirubin (TBil) alanine transaminase (ALT) aspartate aminotransferase, (AST) were examined, and the expression of MRP2 and BSEP were detected by real-time RT-PCR and Western blotting analysis. **Result:** Compared with the model group, the serum levels of TBA and TBil were remarkably decreased in low dosage and high dosage of Yinhuang mixture groups, in addition, the expression of MRP2 and BSEP were significantly

[收稿日期] 20130219(010)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81102611)

[第一作者] 刘佳,硕士,医师,从事临床妇科疾病诊治工作,Tel:025-52226744,E-mail:liujia_miss@126.com

[通讯作者] *侯莉莉,博士,副主任医师,从事临床妇科疾病诊治工作,Tel:025-52226744,E-mail:hlldoctor@sohu.com

increased in these groups. **Conclusion:** The therapeutic effects of Yinhuang mixture on intrahepatic cholestasis of pregnancy may upregulate the expression of MRP2 and BSEP.

[**Key words**] intrahepatic cholestasis of pregnancy; Yinhuang mixture; MRP2; BSEP

妊娠肝内胆汁淤积症(ICP)是妊娠中晚期特有的并发症,因可引起胎儿宫内窘迫、早产、新生儿缺氧窒息、死胎及死产等,对围生儿造成严重危害。ICP的发病机制尚未阐明,但目前的研究认为其发生与胆汁酸合成、摄取、转运及排泄过程中的一些载体蛋白功能异常有关。许多实验研究表明多药耐药相关蛋白 2(MRP2)与胆盐输出泵(BSEP)是胆汁酸转运过程中的重要载体蛋白,参与胆汁酸的转运及排泄,是构成胆汁流的主要部分^[1],雌、孕激素可抑制 MRP2 与 BSEP 的表达,导致肝细胞胆汁淤积^[2]。因此,通过增加肝细胞 MRP2 与 BSEP 的表达,有望为 ICP 的治疗提供新的思路和方法。

江苏省名老中医,南京市妇幼保健医院中医科主任医师赵翠英,“茵黄合剂”专利权人,将“茵黄合剂”用于临床 ICP 的治疗已有 10 余年,疗效确切,无明显毒副作用,患者依从性高。前期临床观察证实茵黄合剂可明显改善 ICP 患者瘙痒、黄疸症状,降低血总胆汁酸(TBA)、总胆红素(TBIL)、丙氨酸转氨酶(ALT)及天冬氨酸转氨酶(AST)水平,还可显著降低产后出血、剖宫产、胎儿宫内窘迫症及羊水粪染的发生率^[3]。

因此,本研究拟采用雌孕激素共诱导大鼠肝内胆汁淤积症模型,观察茵黄合剂对 ICP 大鼠血清 TBA, TBIL, ALT, AST 水平的影响,进一步研究茵黄合剂对胆汁淤积模型大鼠肝脏 MRP2 与 BSEP mRNA 与蛋白表达的影响,初步探讨茵黄合剂治疗 ICP 的分子机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 孕鼠,体重 200 ~ 250 g,购自上海斯莱克实验动物责任公司,许可证号 SCXK(沪)2007-0005。

1.2 药品与试剂 茵黄合剂(由杜仲、茵陈蒿、制大黄、田基黄、栀子、黄芩等组成),按剂量配制组方,水煎,药液浓缩为含生药 1.8 g·mL⁻¹,每付药均配制成 50 mL 药液,由南京市妇幼保健医院药剂科提供。17- α 乙炔雌二醇(美国 Sigma 公司,批号 M063103)。孕酮(上海通用药业股份有限公司,批号 H31021401)。Trizol 液(Invitrogen 公司,批号 B3 505-1)。Takara PrimeScript™ RT reagent Kit、SYBR® Premix ExTaq™ II [宝生物工程(大连)有限公司,批

号 AK1801]。BCA 蛋白测定试剂盒、ECL 化学发光检测试剂盒(Pierce 公司,批号分别为 JK127667 MJ161892A)。抗 MRP-2 单克隆抗体(Abcam 公司,批号 927043),抗 BSEP 单克隆抗体(Santa Cruz 公司,批号 F0410),抗 β -actin 抗体与羊抗小鼠第二抗体(Cell Signaling technology,批号分别为 H2906 GR44808-4)。

1.3 仪器 FB1405657 型 LightCycler1.5 实时定量 PCR 仪(罗氏诊断公司)。EXL800 型酶标仪(BioTek 公司)。EPS 2A200 型电泳仪、TE77 型半干转膜仪(Amersham 公司)。逆转录用 PCR 仪、核酸蛋白测定仪、高速离心机(德国 Eppendorf 股份有限公司,型号分别为 Mastercycler BioPhotomete 5810R)。

2 方法

2.1 动物分组及模型建立 清洁级 SD 孕鼠 40 只,随机分为 2 组,分别为正常组(N, $n = 10$),模型组($n = 30$),自孕第 13 天起,正常组孕鼠 sc 精制植物油 2 mL·kg⁻¹·d⁻¹;模型组孕鼠 sc 孕酮 75 mg·kg⁻¹·d⁻¹和 17- α 乙炔雌二醇 1.25 mg·kg⁻¹·d⁻¹,至孕第 17 天。自孕第 17 天起模型组分为 3 组,分别为模型组(M, $n = 10$)、茵黄合剂低剂量组(YL, 9 g·kg⁻¹·d⁻¹, $n = 10$)、茵黄合剂高剂量组(YH, 18 g·kg⁻¹·d⁻¹, $n = 10$)。参考文献标准体重动物剂量折算表,成人与大鼠的换算系数为 6.17,则大鼠等效剂量为 9 g·kg⁻¹·d⁻¹,为茵黄合剂低剂量组,茵黄合剂高剂量组按照 2 倍剂量计算为 18 g·kg⁻¹·d⁻¹,给予 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ ig,正常组及模型组孕鼠予以等体积生理盐水 ig,每日 2 次,连续 5 d。

2.2 血清总胆汁酸等生化指标检测 孕第 22 天眼眶静脉取血,分离血清,放射免疫法测定 TBA 含量,全自动生化分析仪测定 TBil, ALT, AST 含量。

2.3 肝脏组织胆汁酸转运蛋白 MRP2, BSEP mRNA 水平测定 称取肝脏组织,按照 Takara 总 RNA 抽提试剂盒说明加入 Trizol 液抽提总 RNA。MRP2 引物序列:上游:5'-CCAATGTTTTGAATGCCGAG-3',下游:5'-AGGATCGATGAGGTCACCATG-3';BSEP 引物序列:上游:5'-CACTGGCCTTCTGGTATGGT-3',下游:5'-GCTTGTAGCCGTCTCCTGAC-3';GAPDH 引物序列:上游:5'-AATGTATCCGTTGTGGATCTGA-3',下游:5'-GCCTGCTTACCACCTTCT-3'。RNA 经逆

转录反应合成cDNA,逆转录反应体系及实时荧光定量反应体系按照试剂盒说明进行。

2.4 肝脏组织胆汁酸转运蛋白MRP2, BSEP蛋白表达水平测定 称取肝脏组织,按照碧云天组织蛋白抽提试剂盒说明加入RIPA裂解液,充分裂解肝脏组织。4℃, 13 000 r·min⁻¹,离心30 min,吸取上清,用BCA法检测蛋白样品浓度。加入上样缓冲液,95℃变性5 min,用10% SDS-PAGE分离蛋白,转膜后用5%脱脂奶粉室温封闭2 h,相应一抗4℃孵育过夜,相应二抗室温杂交2 h,洗膜后,压片显影检测蛋白。

表1 茵黄合剂对ICP孕鼠血清TBA, TBil, ALT, AST水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	TBA/μmol·L ⁻¹	TBil/μmol·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹
正常	-	1.85 ± 0.58	1.74 ± 0.33	132.6 ± 6.4	150.7 ± 6.1
模型	-	3.55 ± 0.89 ¹⁾	3.65 ± 0.42 ¹⁾	133.6 ± 3.4	155.7 ± 4.8
茵黄合剂	9	2.12 ± 0.72 ²⁾	1.92 ± 0.23 ²⁾	126.1 ± 5.5	156.4 ± 5.3
	18	2.18 ± 0.76 ²⁾	1.95 ± 0.3 ²⁾	126.8 ± 3.6	156.0 ± 5.7

注:与正常组比较¹⁾P < 0.01,与模型组比较²⁾P < 0.01。

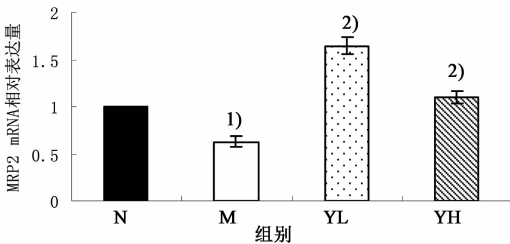
3.2 各组孕鼠肝脏组织MRP2, BSEP mRNA水平比较 与N组比较, M组孕鼠肝脏组织胆汁酸转运蛋白MRP2, BSEP mRNA水平明显降低, P < 0.01, 低、高剂量的茵黄合剂干预后均显著增加其表达, 与M组比较P < 0.01。见图1~2。

2.5 数据统计学分析 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 12.0软件进行统计分析,组间差异比较采用t检验, P < 0.05认为具有统计学显著意义。

3 结果

3.1 各组孕鼠血清TBA, TBil, ALT, AST含量比较 与N组比较, M组孕鼠血清TBA, TBil水平显著增加,低剂量与高剂量的茵黄合剂干预均能降低妊娠肝内胆淤积症模型大鼠血清TBA, TBil水平,与M组比较差异具有统计学意义, P < 0.01。与N组比较, M组、低剂量与高剂量的茵黄合剂组孕鼠血清ALT, AST含量均无明显差异。见表1。

3.3 各组孕鼠肝脏组织MRP2, BSEP蛋白表达水平比较 与N组比较, M组孕鼠肝脏组织胆汁酸转运蛋白MRP2, BSEP表达显著降低(P < 0.01), 低、高剂量的茵黄合剂干预均能明显增加其表达, 与M组比较, 差异有统计学意义(P < 0.01), 见图3, 4。



N. 正常组; M. 模型组; YL. 茵黄合剂 9 g·kg⁻¹·d⁻¹组; YH. 茵黄合剂 18 g·kg⁻¹·d⁻¹组; 与N组比较¹⁾P < 0.01; 与M组比较²⁾P < 0.01 (图2~4同)

图1 茵黄合剂对ICP孕鼠肝脏组织MRP2 mRNA相对表达量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

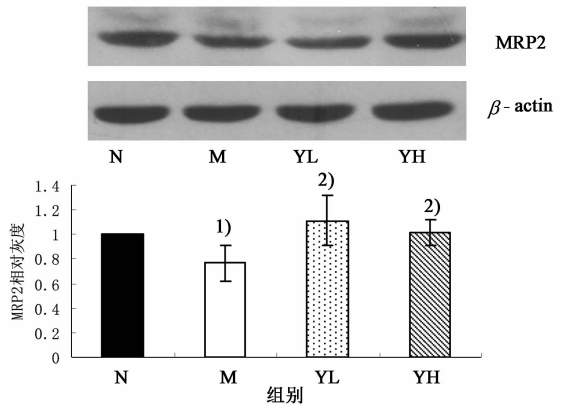


图3 茵黄合剂对ICP孕鼠肝脏组织MRP2蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

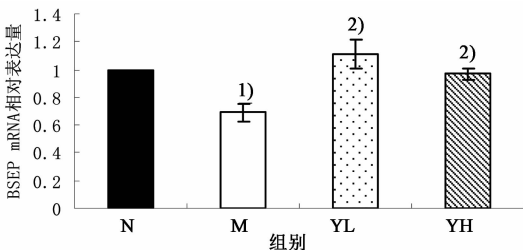


图2 茵黄合剂对ICP孕鼠肝脏组织BSEP mRNA相对表达量($\bar{x} \pm s, n = 10$)

4 讨论

ICP是妊娠中晚期特有的并发症,以皮肤瘙痒、黄疸、血清胆汁酸升高为特征,常引起胎儿宫内窘迫、早产、死胎、死产及新生儿缺氧窒息等,严重影响母儿健康。本病的发病机制尚未完全阐明,但有研究表明ICP的发生与表达肝胆管转运蛋白的基因突变、妊娠期高雌孕激素水平和环境因素等密切相关^[4]。

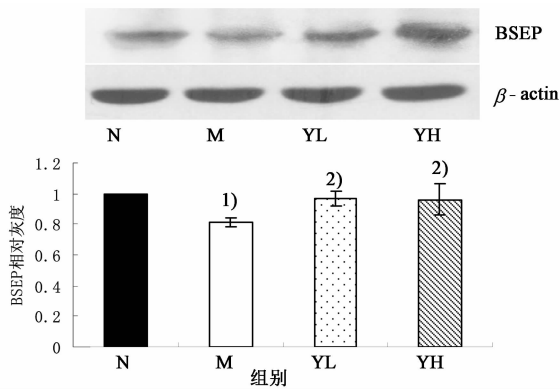


图 4 茵黄合剂对 ICP 孕鼠肝脏组织 BSEP 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

生理情况下,胆汁酸在肝细胞、肝胆管、毛细胆管及血液间的转运与一系列膜蛋白相关,并由此形成了胆汁酸分泌的分子通路。进入肝细胞内的胆汁酸,与相关蛋白结合后,运载至肝细胞毛细胆管侧,再通过与硫酸及牛磺酸结合排入毛细胆管,这一过程主要依赖 MRP2 载体的转运,与此同时,与氨基酸结合的胆汁酸的转运则主要依赖 P 型糖蛋白类似物,即胆汁酸盐输出泵 BSEP。实验性胆汁淤积症的模型大鼠不仅表现出 MRP2 介导的胆汁酸转运减弱,MRP2 的表达也下调,并且其位置也发生改变,提示 MRP2 是胆汁流的重要驱动力^[1]。介导胆盐排泄的 BSEP 是胆汁流的另外一个重要组成部分,BSEP 在转录和转录后水平对胆汁的形成起到重要的调节作用^[5]。

ICP 通常发生在妊娠中晚期,即雌孕激素合成的高峰阶段,因此,导致 MRP2, BSEP 等转运蛋白表达异常的因素多认为与雌孕激素及其代谢产物有关。有研究表明,雌激素可减弱哺乳动物 MRP2 与 BSEP 的表达和功能。雌激素的代谢产物雌二醇-17 β -D 葡萄糖醛酸化物在 MRP2/BSEP 共表达的 Sf9 细胞能抑制 ATP 依赖的牛磺胆酸盐向毛细胆管的转运,而在 MRP2 缺陷的毛细胆管膜和只选择性表达 BSEP 的 Sf9 细胞却没有这一作用^[2],提示 MRP2 是雌激素代谢产物雌二醇-17 β -D 葡萄糖醛酸化物造成肝内胆汁淤积所必需的条件。与此同时,孕激素及其代谢产物也被证实具有显著的致胆汁淤积作用。有研究发现,虽然 ICP 患者体内孕激素的总量与正常妊娠女性比较没有差异,但是其血清和尿液中其孕激素的单硫酸盐和重硫酸盐代谢产物水平都是过量的^[6],表明这些代谢产物在肝细胞毛细胆管膜的排泄是减少的,而异常合成是增加的。

本研究采用雌孕激素联合的方法造成孕鼠肝内胆汁淤积症模型^[7-8],结果显示与正常组比较,模型组孕鼠血清 TBA, TBil 水平显著增加,具有胆汁淤积的特征。并且,研究还发现与正常组比较,模型组孕鼠肝脏组织 MRP2, BSEP, mRNA 与蛋白表达水平均明显下降,进一步证实了胆汁淤积症时胆汁酸转运功能的异常,与其他文献报道一致^[6, 9]。

“茵黄合剂”组方依据中医“肾主生殖”、“肝主疏泄”的理论,以“杜仲”补肾安胎,“茵陈蒿”、“田基黄”清热祛湿,利胆退黄为主,从 20 世纪 70 年代运用至今,多次临床及动物实验研究均表明本方为治疗 ICP 的有效方药^[3, 10-11],患者依从性高,对母儿安全性良好。本实验参考有关药理实验中人与动物之间有效剂量换算关系的文献^[12],确定茵黄合剂低剂量组与高剂量组的给药剂量,研究结果证实,与模型组比较,低剂量与高剂量的茵黄合剂均能显著降低 ICP 大鼠血清 TBA, TBil 水平,并且其肝脏组织胆汁酸转运蛋白 MRP2, BSEP, mRNA 与蛋白表达水平明显增加,然而,两者之间比较差异无统计学意义,提示茵黄合剂对 ICP 的治疗作用可能是通过增加肝脏组织 MRP2, BSEP, mRNA 与蛋白表达水平实现的。但是关于茵黄合剂有效剂量 3 倍甚至更高剂量对妊娠肝内胆汁淤积症大鼠的治疗及毒性作用没有涉及,有待进一步的研究证实。至此,这些研究结果为茵黄合剂更好的应用于临床提供了有效的实验数据,为进一步深入探索茵黄合剂治疗 ICP 的分子机制提供了思路和方法。

[参考文献]

- [1] Trauner M, Arrese M, Soroka C J, et al. The rat canalicular conjugate export pump (MRP2) is down-regulated in intrahepatic and obstructive cholestasis [J]. *Gastroenterology*, 1997, 113(1):255.
- [2] Geier A, Dietrich C G, Gerloff T, et al. Regulation of basolateral organic anion transporters in ethinylestradiol-induced cholestasis in the rat [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1609(1):87.
- [3] 赵翠英, 陈静琴, 陈华. 茵黄合剂治疗妊娠肝内胆汁淤积症的临床研究 [J]. *江苏中医*, 2000, 21(3):8.
- [4] Arrese M, Macias R I, Briz O, et al. Molecular pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2008, 28(10):e9.
- [5] Stieger B, Meier Y, Meier P J. The bile salt export pump [J]. *Pflügers Arch*, 2007, 453(5):611.

补中益气汤含药血清对 A549/DDP 中 p-Akt 和 P-gp 表达的影响

易佳丽, 井欢, 王莹, 刘亚莉, 刘春英*

(辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847)

[摘要] 目的:研究补中益气汤含药血清逆转人肺癌顺铂耐药细胞株(A549/DDP)耐顺铂(DDP)作用及其对磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(p-Akt)和 P-糖蛋白(P-gp)表达的影响。方法:采用血清药理学方法制备含药血清,随机对照法将 24 只 SD 大鼠分为空白对照组(给生理盐水 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),补中益气汤高、中、低剂量组($11.34, 5.67, 2.84 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),每日 ig 给药 1 次,连续 7 d 后提取血清。将 A549/DDP 分为空白血清组,补中益气汤高、中、低剂量含药血清组,阻滞剂组,高剂量含药血清联合阻滞剂(LY294002)组,MTT 法检测各组细胞对 DDP 的 IC50,并计算耐药逆转倍数。免疫细胞化学法检测各组细胞中 p-Akt 和 P-gp 蛋白的表达;逆转录-多聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测各组细胞中 Akt 和 P-gp 的 mRNA 表达。结果:与空白血清组比较,补中益气汤中剂量以上的含药血清可明显降低 A549/DDP 对 DDP 的 IC50 ($P < 0.05$),并呈浓度依赖效应,与阻滞剂联合效果最佳 ($P < 0.05$);与 A549/DDP 空白血清组相比,补中益气汤中、高剂量含药血清组,阻滞剂组和高剂量联合阻滞剂组的 p-Akt 和 P-gp 的表达显著下降 ($P < 0.01, P < 0.05$),其中以高剂量联合阻滞剂组下降最多 ($P < 0.01$);与 A549/DDP 空白血清组相比,中、高剂量含药血清组,阻滞剂组和高剂量联合阻滞剂组的 P-gp 的 mRNA 表达量都显著减少 ($P < 0.01, P < 0.05$),中、高剂量含药血清组,高剂量联合阻滞剂组的 p-Akt 的 mRNA 表达量也显著减少 ($P < 0.05$)。结论:补中益气汤含药血清可逆转 A549/DDP 细胞的顺铂耐药,与 LY294002 联合应用效果更佳,其逆转机制可能与减少细胞内 p-Akt 和 P-gp 的表达,增强 A549/DDP 对 DDP 的敏感性有关。

[关键词] A549/DDP 细胞株;磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶;P-糖蛋白;补中益气汤;多药耐药;

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0229-06

[doi] 10.11653/syjf2013170229

[收稿日期] 20120502(014)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072743);辽宁省教育厅项目(L2010355)

[第一作者] 易佳丽,硕士研究生, Tel:18604917931, E-mail:7812303@qq.com

[通讯作者] *刘春英,教授,博士生导师,从事中西医结合基础教学及科研工作, Tel:024-31207061, E-mail:chunying99@163.com

- [6] Stieger B, Fattinger K, Madon J, et al. Drug-and estrogen-induced cholestasis through inhibition of the hepatocellular bile salt export pump (Bsep) of rat liver [J]. *Gastroenterology*, 2000, 118(2):422.
- [7] 时青云, 孔北华, 张向丽, 等. 熊去氧胆酸对雌激素诱导的肝内胆汁淤积孕鼠血生化指标 肝脏病理及肝细胞膜 ATP 酶的影响 [J]. *实用妇产科杂志*, 2004, 20(2):110.
- [8] Pauli-Magnus C, Meier P J, Stieger B. Genetic determinants of drug-induced cholestasis and intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Semin Liver Dis*, 2010, 30(2):147.
- [9] Diao L, Li N, Brayman T G, et al. Regulation of MRP2/ABCC2 and BSEP/ABCB11 expression in sandwich cultured human and rat hepatocytes exposed to inflammatory cytokines TNF- α , IL-6, and IL-1 β [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(41):31185.
- [10] 刘学华, 赵翠英, 陆茵. 茵黄合剂治疗妊娠肝内胆汁淤积症的实验研究 [J]. *江苏中医*, 2000, 21(7):39.
- [11] 侯莉莉, 夏卫军. 茵黄合剂对雌激素诱导肝内胆汁淤积大鼠血生化的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2009, 11(12):165.
- [12] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志杨, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9):1069.

[责任编辑 聂淑琴]