

加味附子理中免煎颗粒对急性马兜铃酸肾病大鼠细胞凋亡的影响

史伟^{1*}, 黄仁发², 陈延强¹

(1. 广西中医学院第一附属医院肾内科, 南宁 530023;

2. 广西中医学院附属瑞康医院肾内科, 南宁 530011)

[摘要] **目的:**通过研究加味附子理中免煎颗粒对急性马兜铃酸肾病(AAN)大鼠肾小管上皮细胞凋亡的影响探讨其治疗急性AAN的作用机制。**方法:**将90只SD大鼠随机分为正常组、模型组、中药组、强的松组、中药+强的松组,其中正常组10只,其余各组均为20只。模型组、中药组、强的松组及中药+强的松组按 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 剂量予马兜铃酸A纯品连续ig 3 d建立AAN模型;从实验第6天开始,中药组予加味附子理中免煎颗粒(按生药量为 $3.55\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)ig,强的松组予强的松($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)ig,中药+强的松组予加味附子理中免煎颗粒($3.55\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)+强的松($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)ig,模型组和正常组则予蒸馏水 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ig;连续给药3周后处死各组大鼠。以RT-PCR检测各组大鼠肾组织Bcl-2 mRNA, Bax mRNA的表达,免疫组化法及Western blot法检测各组大鼠肾组织Bcl-2, Bax蛋白的表达,原位末端标记法(TUNEL)检测肾小管上皮细胞凋亡。**结果:**模型组大鼠肾组织Bcl-2 mRNA和蛋白表达明显减少,而Bax mRNA和蛋白表达增多;与模型组比较,中药组、强的松组和中药+强的松组均能不同程度增加Bcl-2 mRNA和蛋白的表达,降低Bax mRNA和蛋白的表达,差异均有统计学意义($P < 0.05$);其中以中药+强的松组的作用最佳($P < 0.05$)。TUNEL结果显示,正常组大鼠肾小管可见少量凋亡细胞,模型组则有大量凋亡的肾小管上皮细胞,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,中药组、强的松组和中药+强的松组凋亡细胞数均减少($P < 0.05$);而中药+强的松组凋亡细胞数减少最为明显($P < 0.05$)。**结论:**肾小管上皮细胞凋亡参与了急性马兜铃酸肾病的发病,加味附子理中免煎颗粒能减轻急性马兜铃酸肾病大鼠肾小管上皮细胞的凋亡,但联合强的松治疗疗效更佳。

[关键词] 加味附子理中免煎颗粒;急性马兜铃酸肾病;细胞凋亡;Bcl-2;Bax

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0190-05

Influence of Jiawei Fuzi Lizhong Extract Granule on Apoptosis of Renal Tubular Epithelial Cells in Aristoloch Acid Nephropathy Rats

SHI Wei^{1*}, HUANG Ren-fa², CHEN Yan-qiang¹

(1. Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital Of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530023, China; 2. Department of Nephrology, Ruikang Hospital Of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Jiawei Fuzi Lizhong granule preparation on Bcl-2 and Bax gene expression in rats with aristolochic ACID nephropathy (AAN). **Method:** Ninety SD rats were divided into 5 groups randomly: normal control group ($n = 10$), model group ($n = 20$), Jiawei Fuzi Lizhong group ($n = 20$), prednisone group ($n = 20$), and Jiawei Fuzi Lizhong plus prednisone group ($n = 20$). Experimental model of AAN was established by intragastric administration of aristoloch acid ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) for three days in SD rats. Rats

[收稿日期] 20110209(001)

[基金项目] 广西自然科学基金项目(桂科自0832173)

[通讯作者] *史伟, Tel:0771-5600815, E-mail: wangfei0997@163.com

in each group were intragastric administrated of distilled water ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), distilled water ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), Jiawei Fuzi Lizhong granule preparation ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), prednisone ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and Jiaweifuzilizhong granule preparation ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) plus prednisone ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), respectively. Three weeks later, Bcl-2 and Bax expression was examined. Renal tubular epithelial cells apoptosis was determined by TUNEL method. **Result:** Bcl-2 mRNA and protein expressions were obvious decreased, while Bax expressions increased. There was significant difference in Bcl-2 and Bax expressions between model group and the other experimental groups ($P < 0.05$). Jiawei Fuzi Lizhong granule preparation plus prednisone group showed the strongest effect ($P < 0.05$). The renal tubular epithelial cells apoptosis was obvious in model group. There were statistic differences in renal tubular epithelial cells apoptosis between model group and the other experimental groups ($P < 0.05$). The Jiawei Fuzi Lizhong granule preparation plus prednisone group had the best effect on alleviating apoptosis ($P < 0.05$). **Conclusion:** The Jiawei Fuzi Lizhong granule preparation had effect on reducing apoptosis rate in AAN rats. Furthermore, combination of Jiawei Fuzi Lizhong granule preparation and prednisone showed the best effect.

[**Key words**] Jiawei Fuzi Lizhong granule preparation; aristolochic acid nephropathy; apoptosis; Bcl-2; Bax

急性马兜铃酸肾病 (aristolochic acid nephropathy, AAN) 是指一次或短期大量服用马兜铃酸所致的急性肾衰竭 (acute renal failure, ARF), 是 AAN 的一种重要的病理类型, 其主要病理表现为肾小管上皮细胞的坏死和/或凋亡^[1]。我们的前期临床研究表明, 急性 AAN 患者的临床症状绝大多数表现为脾阳虚的证候, 经加味附子理中汤治疗后, 患者的症状明显缓解, 肾功能得到稳定^[2]。动物实验研究表明^[3], 加味附子理中免煎颗粒能改善 AAN 大鼠模型肾脏的病理改变, 降低尿 NAG 酶的排出, 提示加味附子理中免煎颗粒对 AAN 具有肾保护作用, 但其机制尚需进一步阐明。因此, 本研究从肾小管上皮细胞凋亡途径来探讨加味附子理中免煎颗粒治疗急性 AAN 的作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级 (SPF 级) SD 大鼠 90 只, 雌雄各半, 体重 (250 ± 20) g, 购自上海斯莱克景达实验动物有限公司长沙分公司, 动物合格证号 SCXK (湘) 2009-0004。

1.2 试剂

1.2.1 药物 加味附子理中汤 (制附子 8 g, 干姜 6 g, 人参 12 g, 白术 15 g, 茯苓 12 g, 制大黄 6 g, 法半夏 6 g, 制甘草 6 g, 此为生药剂量), 采用中药配方颗粒配制 (江苏江阴天江药业有限公司), 称取与 1 付生药等效的中药配方颗粒溶于 200 mL 蒸馏水中制成加味附子理中溶液, 按生药量计为 $0.355 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 醋酸泼尼松片, 广东阿特维斯药业有限公司, 批

号 0810535。

1.2.2 仪器和试剂 BX-50 型生物光学显微镜、全自动紫外分光光度仪、PCR 仪、水平电泳槽。SP 免疫组化试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司)、凋亡检测试剂盒 (天津灏阳公司)、TRIZOLRNA 抽提试剂盒 (北京天根生化科技有限公司)、溴化乙啶 (美国 sigma 公司)、琼脂糖 (西班牙 biowest 公司)、兔抗鼠多克隆 Bcl-2 抗体和兔抗鼠多克隆 Bax 抗体 (武汉博士德生物技术有限公司)、 β -actin 多克隆抗体 (碧云天生物公司)、逆转录试剂盒 (日本东洋纺公司)、DNA Marker (北京天根生化科技有限公司)。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药方法 按文献报道^[4]方法制作 AAN 大鼠模型, 将 90 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、中药组、强的松组、中药 + 强的松组五组, 其中正常组 10 只正常进食进水, 未予以特殊处理, 其余各组均为 20 只。模型组、中药组、强的松组及中药 + 强的松组按 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量予马兜铃酸 A 纯品连续 ig 3 天建立急性马兜铃酸肾病模型; 从实验第 6 天开始, 中药组予加味附子理中免煎颗粒 ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) ig, 强的松组予强的松 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) ig, 中药 + 强的松组予加味附子理中免煎颗粒 ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) + 强的松 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) ig, 模型组和正常组则予蒸馏水 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ig; 连续给药 3 周, 给药期间大鼠自由进食、饮水。实验完毕, 将大鼠用水合氯醛溶液麻醉后

处死,摘取肾脏,生理盐水清洗干净血液后存至 -70℃ 冰箱待检。

2.2 RT-PCR 检测各组大鼠肾组织 Bcl-2 mRNA, Bax mRNA 的表达 取各组大鼠肾组织约 100 mg 并迅速剪碎,按照 Trizol 法抽提肾组织总 RNA,吸取 2 μL 所提取的 RNA 溶液,稀释至 100 μL 后,用紫外分光计分别测定其在 260, 280 nm 波长处的吸光度后,对 RNA 的纯度进行鉴定,其纯度符合要求后再进入下一步实验。各引物序列、产物长度及退火温度如下: Bcl-2 上游 5'-TGGGATACTGGAGATGAAGACT-3' 下游 5'-CCACCGAACTCAAAGAAGG-3',产物长度 378 bp,退火温度 55℃,Bax 上游 5'-CAGGATCGAGCAGA GAGGAT -3',下游 5'-CCTTGAGCACCAGTTTGCTA -3',产物长度 278 bp,退火温度 53℃,GAPDH 上游 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3',下游 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA -3'。根据逆转录试剂盒说明合成 cDNA 文库,之后取 cDNA 2 μL 配成 25 μL 体系按下述条件进行 PCR 反应,94℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 1 min,退火(各基因退火温度见前)30 s,72℃ 延伸 1 min,72℃ 延伸 10 min,共 35 个循环。取 PCR 产物 5 μL,经 2% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色,凝胶分析系统摄像,条带用 IPP 图像分析软件检测其 A,以 $A_{目的基因}/A_{GAPDH}$ 代表 Bcl-2, Bax mRNA 相对量。

2.3 免疫组化法检测 各组大鼠肾组织 Bcl-2, Bax 蛋白的表达 将保存的肾组织用 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h 后,制成石蜡切片,将空白切片常规脱蜡和水化,以检测 Bcl-2, Bax 蛋白的表达;免疫组化程序按试剂盒提供的使用方法进行。

2.4 Western blot 法检测 各组大鼠肾组织 Bcl-2, Bax 蛋白的表达 取保存的肾组织 50~100 mg 在冰上剪成碎片,加入蛋白裂解液提取组织总蛋白。BCA 法检测蛋白浓度。之后按 Western blot 步骤进行电泳、转膜,之后进行 Bcl-2 多克隆抗体(1:300), Bax 多克隆抗体(1:300)的免疫检测,蛋白条带用 IPP 图像分析软件检测其 A,用 β -actin 蛋白作为内参照,通过计算比值($A_{目的蛋白}/A_{\beta-actin}$)即目的蛋白的表达量的来分析 Bcl-2, Bax 蛋白相对表达水平。

2.5 原位末端标记法(TUNEL)检测细胞凋亡 切片常规脱蜡至水,经双氧水处理、蛋白酶 K 室温消化后,加入 TdT 和 Dig dUTP,在 37℃ 下温育 2 h,用体

积分数为 3% 的牛血清白蛋白封闭,再加生物素化抗地高辛抗体洗涤;加辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素,3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色,HE 衬染。镜下细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性凋亡细胞。每张切片观察 10 个视野,计算阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$,取其平均值作为各组大鼠肾小管上皮细胞凋亡数。

2.6 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 15.0 软件进行单因素方差分析,如方差齐,组间采用 SNK 法进行多样本均数间两两比较, $P < 0.05$ 有统计学意义。如方差不齐,则用非参数检验。

3 结果

3.1 各组大鼠肾组织 Bcl-2 mRNA, Bax mRNA 的表达 RT-PCR 结果显示,正常组大鼠肾组织可见少量 Bcl-2, Bax mRNA 的表达。经马兜铃酸 A 处理后,模型组大鼠肾组织 Bcl-2 表达减少,而 Bax 表达增多。与模型组比较,加味附子理中组、强的松组和中药 + 强的松组均能不同程度增加 Bcl-2 mRNA 的表达,同时降低 Bax mRNA 的表达($P < 0.05$),其中以中药 + 强的松组的作用最明显,强的松组次之(表 1)。

表 1 各组大鼠肾组织 Bcl-2 和 Bax mRNA

组别	剂 量		表达的 比较 ($\bar{x} \pm s$)		$A_{目的基因}/A_{GAPDH}$
	$/g \cdot kg^{-1}$	n	Bcl-2	Bax	
正常	-	10	1.02 \pm 0.15	0.24 \pm 0.08	
模型	-	20	0.40 \pm 0.23 ¹⁾	1.25 \pm 0.13 ¹⁾	
中药	3.55	20	0.68 \pm 0.06 ²⁾	0.73 \pm 0.02 ²⁾	
强的松	5×10^{-4}	20	0.97 \pm 0.04 ^{2,3)}	0.51 \pm 0.01 ^{2,3)}	
中药 + 强的松	$3.55 + 5 \times 10^{-4}$	20	1.48 \pm 0.16 ^{2,3,4)}	0.37 \pm 0.03 ^{2,3,4)}	

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;与中药组比较³⁾ $P < 0.05$;与强的松组比较⁴⁾ $P < 0.05$ (表 2~3 同)。

3.2 各组大鼠肾组织 Bcl-2, Bax 蛋白的表达 免疫组化结果显示,正常组大鼠肾小管间质可见少量 Bcl-2, Bax 蛋白在胞浆表达,胞核呈淡蓝色,肾小球未见表达。模型组大鼠肾组织 Bcl-2 仅可见少量表达,但 Bax 阳性蛋白表达明显增多,尤以受损的远端肾小管着色最深,主要表达在胞浆,胞核也可见少量阳性蛋白表达,管腔中脱落的细胞也可见阳性表达。然而,中药组、强的松组及中药 + 强的松组大鼠的 Bcl-2 蛋白表达均不同程度增加,而 Bax 蛋白表达则减弱。

Western blot 定量结果显示,与正常组相比较,模型组大鼠 Bcl-2 蛋白降低, Bax 蛋白表达增高,差

异有统计学意义($P < 0.05$);而与模型组相比较,中药组、强的松组、中药+强的松组 Bcl-2 蛋白表达增高,Bax 蛋白表达减少($P < 0.05$);其中以中药+强的松组的作用最明显,强的松组次之(见表2)。

表2 各组大鼠肾组织 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	比较($\bar{x} \pm s$)	
			Bcl-2	Bax
正常组	-	10	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.02
模型	-	20	0.20 ± 0.03 ¹⁾	0.87 ± 0.03 ¹⁾
中药	3.55	20	0.29 ± 0.04 ²⁾	0.73 ± 0.02 ²⁾
强的松	5 × 10 ⁻⁴	20	0.64 ± 0.02 ^{2,3)}	0.65 ± 0.01 ^{2,3)}
中药+强的松	3.55 + 5 × 10 ⁻⁴	20	0.88 ± 0.06 ^{2,3,4)}	0.41 ± 0.03 ^{2,3,4)}

3.3 各组大鼠肾组织肾小管上皮细胞的凋亡

TUNEL 结果显示,正常组大鼠肾小管可见少量凋亡细胞。而模型组可见大量凋亡的肾小管上皮细胞,与正常组相比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,中药组、强的松组和中药+强的松组的凋亡细胞数均减少($P < 0.05$);强的松组和中药+强的松组减少肾小管上皮细胞凋亡的作用要强于中药组($P < 0.05$);其中中药+强的松组作用最佳(见表3)。

表3 各组大鼠肾组织 TUNEL 阳性细胞比较表($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	凋亡细胞/%
正常	-	10	2.3 ± 0.71
模型	-	20	29.1 ± 0.77 ¹⁾
中药	3.55	20	23.7 ± 0.72 ²⁾
强的松	5 × 10 ⁻⁴	20	13.3 ± 1.27 ^{2,3)}
中药+强的松	3.55 + 5 × 10 ⁻⁴	20	9.8 ± 0.44 ^{2,3,4)}

4 讨论

关于 AAN 发病机制存在多种观点,主要有细胞毒假说,肾缺血假说,免疫反应假说及 AA DNA 加合物(adducts)致病假说等,但在上述假说中除细胞毒假说外,其他均缺乏充足证据^[7]。目前认为,细胞凋亡是 ARF 时肾小管上皮细胞死亡的重要形式。各种损伤因素引起的损伤程度决定了细胞死亡的形式,损伤重则引起细胞坏死,损伤轻则发生细胞凋亡。Balachandran 对体外培养的肾小管上皮细胞用马兜铃酸处理后发现,凋亡蛋白酶-3(cysteine-containing aspartate-specific protease-3, caspase-3)的活化增高,细胞凋亡增多,表明细胞凋亡在马兜铃酸

引起的肾毒性损害中扮演了关键的角色^[6]。大量的研究表明,凋亡信号传导至核内引起凋亡相关基因如 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)的合成减少而 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)增加,Bcl-2 是一种膜结合蛋白,主要的生理作用是抑制细胞凋亡,Bax 是 Bcl-2 的同源蛋白,具有促进细胞凋亡的作用,如 Bax-Bax 同源二聚体增多,Bcl-2/Bax 异源二聚体减少,最终引起线粒体渗透性转移孔(permeability transition pore, PTP)开放,细胞色素 C 从线粒体中释放出来,与凋亡蛋白激活因子(apoptosis protein activate factor 1, Apaf-1)相结合,最初激活凋亡蛋白酶-9(cysteine-containing aspartate-specific protease-9, caspase-9),然后激活级联瀑布,最终激活 caspase-3,细胞即发生凋亡^[7-9]。

马兜铃酸是马兜铃属植物主要的肾毒性物质,含有马兜铃酸的常用中药有关木通、广防己、马兜铃、青木香等,这类中药性味多为苦寒。在我们的临床和实验研究中发现^[2-3],脾阳虚衰是 AAN 的关键病机。加味附子理中免煎颗粒通过温补脾阳可改善 AAN 的临床症状,改善肾脏病理改变,显示较好的肾保护作用。加味附子理中免煎颗粒由附子理中汤加茯苓、制大黄、法半夏而成。现代药理研究表明,方中人参、附子等药均能减少机体细胞凋亡;人参化学成分中的人参总甙对肾脏有较好的保护作用,可明显抑制缺血-再灌注损伤所引起的 MDA 升高及 SOD 活性降低,可促进细胞凋亡抑制基因 Bcl-2 的高表达,抑制凋亡促进基因 Bax 的表达,减少肾小管上皮细胞的凋亡^[10];而附子通过提高 SOD 活性、清除氧自由基、抗脂质过氧化而减少心肌细胞凋亡^[11]。因此我们在本研究中从细胞凋亡角度进一步探讨,加味附子理中免煎颗粒治疗 AAN 的机制。

我们的实验结果显示,经马兜铃酸 A 处理后,大鼠的肾小管上皮细胞凋亡显著增加,同时 Bcl-2 mRNA 和蛋白表达均下调,而 Bax mRNA 和蛋白表达则上调,而且免疫组化研究发现,Bcl-2 和 Bax 主要表现在受损伤的肾小管,表明肾小管上皮细胞凋亡参与了 AAN 的发病,Bcl-2 和 Bax 参与了马兜铃酸 A 致急性肾损伤时肾小管上皮细胞凋亡的调控。加味附子理中免煎颗粒和强的松均能上调 Bcl-2 mRNA 和蛋白的表达,下调 Bax mRNA 和蛋白的表达,减轻 AAN 大鼠肾小管上皮细胞的凋亡,提示二

者的肾保护作用可能与抑制细胞凋亡有关。我们的研究进一步发现,强的松组与中药组大鼠的 Bcl-2 和 Bax 表达的水平有显著性差异,提示强的松的疗效优于单纯中药组。但加味附子理中免煎颗粒联合强的松治疗更能明显减轻肾小管上皮细胞凋亡、上调 Bcl-2 的表达和降低 Bax 的表达,表明二者联合治疗的疗效最佳。强的松是目前治疗 AAN 的有效药物,我们的研究为强的松联合加味附子理中汤临床治疗 AAN 提供了理论依据,值得在临床上进一步推广,但尚需大规模和多中心的临床研究进一步证实。

[参考文献]

[1] 万晨旭,张金元. 川芎嗪、泼尼松和贝那普利对马兜铃酸致大鼠急性肾小管坏死的干预作用比较[J]. 中华肾脏病杂志,2006, 22 (7):426.

[2] 史伟,李振宗,吴金玉,等. 加味附子理中免煎颗粒治疗马兜铃酸肾病临床探讨[J]. 药物不良反应杂志, 2006,8(4):254.

[3] 谢永祥,史伟. 温阳健脾法对急性马兜铃酸肾病大鼠肾功能影响的研究[J]. 四川中医,2010,12(27):18.

[4] 李恒,刘志红,裘奇,等. 马兜铃酸-I 所致大鼠急性肾损伤的实验研究[J]. 中华肾脏病杂志,2002, 18 (1):53.

[5] 谌贻璞,陈文. 马兜铃酸肾病的研究进展[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2002,11(1):65.

[6] Balachandran P, Wei F, Lin R C, et al. Structure activity relationships of aristolochic acid analogues: toxicity in cultured renal epithelial cells [J]. *Kidney Int*,2005,67(5):1797.

[7] Zamzami N, Marzo I, Susin S A, et al. The thiol crosslinking agent diamide overcomes the apoptosis-inhibitory effect of Bcl-2 by enforcing mitochondrial permeability transition [J]. *Oncogene*, 1998, 16 (8):1055.

[8] Wolter K G, Hsu Y T, Smith C L, et al. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis [J]. *J Cell Biol*,1997,139(5):1281.

[9] Maurer M, Tsai M, Metz M, et al. A role for Bax in the regulation of apoptosis in mouse mast cells [J]. *J Invest Dermatol*,2000,114(6):1205.

[10] 姚红,朱玲,孙向华. 人参总苷对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 同济大学学报:医学版,2001,22 (1):28.

[11] 郑曙云,徐建国,李明. 参附注射液对大鼠心肌缺血再灌注心肌细胞凋亡的影响[J]. 南京大学学报:自然科学版,2003,40(2):192.

[责任编辑 聂淑琴]

本刊欢迎网上投稿

《中国实验方剂学杂志》2010 年正式施行网上投稿,请登录本刊网站 [www. syfjxzz. com](http://www.syfjxzz.com) 注册会员,登陆采编系统之后按照提示在线投稿。本刊对网上来稿免收稿件处理费。编辑部对来稿有修改权。经审后,如录用,请按通知要求交纳论文发表费。详见本刊稿约。