

孙晓峰,刘涛,曾贵荣,等. 左归丸对磷酸胺氮芥体外诱导损伤颗粒细胞自噬与凋亡的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(1): 22-26.

Sun XF, Liu T, Zeng GR, et al. Effect of Zuogui pill on autophagy and apoptosis of injured granulosa cells induced by phosphoramid mustard *in vitro* [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(1): 22-26.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.01.004

左归丸对磷酸胺氮芥体外诱导损伤颗粒细胞 自噬与凋亡的影响

孙晓峰¹, 刘 涛², 曾贵荣³, 陈勇超², 伍参荣^{4*}, 乔 江⁵

(1.湖南中医药大学医学院组织学与胚胎学教研室,长沙 410208; 2.湖南中医药大学医学院临床医学专业,长沙 410208; 3.湖南省药物安全评价研究中心 & 新药药效与安全性评价湖南省重点实验室,长沙 410331; 4.湖南中医药大学医学院免疫学教研室,长沙 410208; 5.湖南中医药大学附属第一医院妇产科,长沙 410007)

【摘要】 目的 探讨磷酸胺氮芥(phosphoramid mustard, PM)诱导卵巢颗粒细胞损伤的机制及左归丸含药血清对受损颗粒细胞自噬与凋亡的影响。**方法** 制备左归丸含药血清,体外培养原代大鼠卵巢颗粒细胞,待细胞生长至底壁的 75%~80%时随机分为 4 组:①对照组(Control);②模型组(M);③左归丸含药血清组(10%ZGW);④模型+左归丸含药血清组(M+10%ZGW)、以 PM 处理②④组 24 h 建立化疗源性颗粒细胞损伤模型后,①②组中加入 10%正常大鼠血清,③④组中加入 10%左归丸含药血清,37℃,5% CO₂ 条件下培养 24 h。流式细胞术检测各组颗粒细胞凋亡率,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测卵巢自噬启动因子 Beclin-1、微管结合蛋白轻链 3(LC3B)、自噬受体蛋白 P62、凋亡蛋白 Bax、Caspase3 的表达。**结果** 与对照组相比:模型组细胞凋亡率明显上升,Beclin-1、LC3B、Bax 及 Caspase3 蛋白表达量增高,P62 蛋白表达量下降,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。10%左归丸含药血清可显著降低模型组颗粒细胞凋亡率,下调受损颗粒细胞中 Beclin-1、LC3B、Bax 及 Caspase3 蛋白的表达,上调受损颗粒细胞中 P62 蛋白的表达,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** PM 诱导了卵巢颗粒细胞损伤,促进了颗粒细胞凋亡,激活了颗粒细胞自噬/溶酶体降解途径;10%左归丸含药血清可降低化疗损伤性颗粒细胞凋亡率,与自噬相关蛋白的表达相关。

【关键词】 左归丸含药血清;磷酸胺氮芥;颗粒细胞;自噬;凋亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 01-0022-05

Effect of Zuogui pill on autophagy and apoptosis of injured granulosa cells induced by phosphoramid mustard *in vitro*

SUN Xiaofeng¹, LIU Tao², ZENG Guirong³, CHEN Yongchao², WU Canrong^{4*}, QIAO Jiang⁵

(1. Department of Histoembryology, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China.

2. Clinical Medical Undergraduate, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208.

3. Hunan Center of Drug Safety Evaluation and Research of Drugs&Hunan Key Laboratory of Pharmacodynamics and Safety Evaluation of New Drugs, Changsha 410331.

4. Department of Immunology, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208.

5. Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of traditional Chinese Medicine, Changsha 410007)

【基金项目】 湖南省自然科学基金(2018JJ2290);国家自然科学基金(81774362,81303004)。

【作者简介】 孙晓峰(1975—),女,副教授,博士,硕士生导师,从事生殖内分泌疾病及肿瘤基础性研究工作。E-mail:2642724115@qq.com

【通信作者】 伍参荣(1951—),女,教授,博士生导师,从事生殖免疫研究工作。E-mail:001194@hnetcm.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the mechanism of phosphoramidate mustard (PM)-induced ovarian granulosa cell damage and the effect of serum containing Zuogui pill on autophagy and apoptosis of damaged granulosa cells. **Methods** Serum containing Zuogui pill was prepared and primary rat ovarian granulosa cells were cultured *in vitro*. At 75% ~ 80% confluence, the cells were divided into four groups: group 1: control; group 2: model (M); group 3: serum containing Zuogui pill (10% ZGW); and group 4: model + serum containing Zuogui pill (M + 10% ZGW). The model of chemotherapy-induced granulosa cell injury was established in groups 2 and 4 after PM treatment for 24 hours. In groups 1 and 2, 10% normal rat serum was added. In groups 3 and 4, 10% serum containing Zuogui pill was added, followed by culture for 24 hours at 37°C with 5% CO₂. Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate of granulosa cells in each group and expression of Beclin-1, LC3B, P62, Bax, and Caspase-3 was detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the apoptosis rate of the model group was increased significantly, expression of Beclin-1, LC3B, Bax, and Caspase-3 protein was increased, and expression of P62 protein was decreased ($P < 0.05$). The 10% serum containing Zuogui pill significantly reduced the apoptosis rate of granulosa cells in the model group, downregulated the expression of Beclin-1, LC3B, Bax, and Caspase-3 protein in damaged granulosa cells, and upregulated the expression of P62 protein in damaged granulosa cells ($P < 0.05$). **Conclusions** PM damages ovarian granulosa cells, promotes apoptosis of granulosa cells, and activates the autophagy/lysosome degradation pathway in granulosa cells. The 10% serum containing Zuogui pill reduces the apoptosis rate of chemotherapy-treated granulosa cells, which is related to expression of autophagy proteins.

【Keywords】 serum containing Zuogui pill; phosphoramidate mustard; granulosa cells; autophagy; apoptosis

卵巢早衰 (Premature ovarian failure, POF) 是指各种因素导致的女性卵巢储备功能下降,由此引发提前绝经(40 岁之前)以及低雌激素、高促性腺激素症状。近年来医源性因素逐渐发展为 POF 的重要因素^[1-2],化疗为其中之一,常见药物有环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)、顺铂等。化疗所造成的 POF 给女性患者带来严重的生理问题和心理困扰^[3]。因此,如何恢复化疗后女性卵巢功能,从而提高患者生存质量显得尤为重要。颗粒细胞围绕在卵母细胞周围,不仅为卵母细胞提供营养支持,而且对卵泡的发育和成熟起重要作用^[4-5]。大量研究证实:CTX 在体内被激活成具有活性的细胞毒性代谢物丙烯醛和 PM,通过形成共价 DNA 加合物造成 DNA 结构破坏,从而阻断 DNA 复制,抑制细胞的增殖,甚至诱导其凋亡。左归丸是中医妇科临床治疗 POF 的常用方药,临床多以其为基本方加减。本课题组前期药效学研究的卵巢组织免疫组化检测结果显示:在体内动物实验中,左归丸降低了化疗源性 POF 小鼠颗粒细胞凋亡^[6]。自噬与凋亡能通过多种通路相互协调转化,共同促进细胞死亡,而目前关于 CTX 损伤颗粒细胞以及左归丸保护颗粒细胞的机制中是否存在自噬过程的研究甚少。本实验以 PM(CTX 的体外活性成分)建立化疗源性体外颗粒细胞损伤模型,通过流式细胞术和 Western blot 检测各实验组颗粒细胞凋亡率及自噬与凋亡相关蛋白如卵巢自噬启动因子 Beclin-1、微管结合蛋

白轻链 3(LC3BI/LC3BII)、自噬受体蛋白 P62、凋亡蛋白 Bax、Caspase3 的表达,进一步探讨 CTX 的活性成分——PM 建立体外诱导颗粒细胞损伤模型以及左归丸含药血清对颗粒细胞损伤的保护作用及相关机制,为进一步揭示此过程中是否存在自噬与凋亡的交叉对话关系奠定基础,以期临床靶向治疗提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

雌性 SD 大鼠 60 只,SPF 级,体重 250~270 g,8 周龄,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[SCXK(湘)2019-0004],在湖南省药物安全评价研究中心 & 新药药效与安全性评价湖南省重点实验室 SPF 级实验室饲养[SYXK(湘)2015-0016]。动物实验经湖南省药物安全评价研究中心伦理委员会批准(2019024),过程中遵循实验动物学的 3R 原则。

1.1.2 实验细胞

原代大鼠卵巢颗粒细胞,批号:iCell201910027,赛百慷上海生物技术股份有限公司产品。

1.2 主要试剂与仪器

左归丸方剂由熟地、山药、枸杞、山茱萸、川牛膝、菟丝子、鹿角胶、龟板胶组成,购自湖南中医药大学附属第一医院,按照 8:4:4:3:4:4:4:4 比例制成

生药 1 g/mL 的中药浸膏备用;PM(江苏倍达医药科技有限公司合成,批号 20180908);电泳仪,北京六一公司产品;化学发光仪,博路腾公司产品;流式细胞仪, CytoFlex 公司产品;倒置显微镜, OLYMPUS IX71 产品; Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒,批号:640914, Biolegend 产品;BCA 蛋白定量试剂盒,批号:P0012S,碧云天产品;RIPA 蛋白裂解液,批号:P0013B,碧云天产品;二抗:Anti Rabbit IgG/HRP,批号:AS014Abclonal 公司产品。一抗:兔抗 P62,批号:A19700、兔抗 BECLIN,批号:A7353、兔抗 CASP3,批号:A19654、兔抗 BAX,批号:A19684、兔抗 LC3B,批号:A19665,均为 Abclonal 公司产品; β -actin 内参,批号:AC026, Abclonal 公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 造模与分组

将原代大鼠卵巢颗粒细胞接种于 96 孔板中,待细胞生长至底壁的 75%~80%时,将细胞分为 4 组:①对照组(Control);②模型组(M);③左归丸含药血清组(10%ZGW);④模型+左归丸含药血清组(M+10%ZGW)。除对照组及左归丸含药血清组外,其余 2 组每孔加入 200 μ L 终浓度为 30 μ mol/L 的 PM 进行处理,37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂ 细胞培养箱,培养 24 h。

1.3.2 左归丸含药血清制备与给药

SD 大鼠 60 只随机分为 2 组:即正常血清组和 ZG 血清组各 30 只。1 g/mL 的 ZG 浸膏,根据成人与大鼠体表面积,换算成大鼠的用量,相当于临床等效剂量的 9 倍,即按照 245.7 g/(kg·d),每天分两次给 ZG 血清组大鼠灌服,连续 3 d,正常血清组给予等量纯净水,于末次灌胃后 2~2.5 h 麻醉后腹主动脉采血,静置 30 min,离心后,无菌分离血清,-20 $^{\circ}$ C 保存,实验前 56 $^{\circ}$ C 30 min 灭活,0.22 μ m 滤器过滤后使用。PM 处理相应组 24 h 后,Control 组及 M 组加入 10% 正常大鼠血清;10%ZGW 组及 M+10%ZGW 组加入 10% 左归丸含药血清,37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 细胞培养箱,培养 24 h。

1.3.3 流式细胞术测定细胞凋亡情况

各组细胞离心收集,用 4 $^{\circ}$ C 预冷 PBS 洗涤 2 次,然后用 500 μ L 结合缓冲液重悬细胞,调节其浓度为 10⁶/mL,取 100 μ L 细胞悬浮于 5 mL 流式管中,加入 5 μ L Annexin V-APC 混匀后,再加入 5 μ L Propidium Iodide 混匀,于室温避光孵育 15 min,随后重悬于 400 μ L PBS,400 目筛网过滤,加样于流式

细胞仪(FACS)检测细胞凋亡。获得细胞凋亡数据后用 ModFitLT 软件进行细胞凋亡相对定量分析。实验重复 3 次,结果取 3 次平均值。

1.3.4 Western blot 检测各组目标蛋白的表达

用胰酶消化好各组细胞后加入新鲜培养基,反复吹打使其脱壁并分散,制成细胞悬液,取各组适量细胞悬液置于已编号的 EP 管内经 1000 r/min 的速度离心 5 min 后,弃去上清液,加入适量生理盐水再次离心,弃去生理盐水。在 EP 管内加入一定量 RIPA 蛋白裂解液提取蛋白后,以 14000 r/min 的速度离心 10 min,取上清液。按照相应的稀释倍数将上样缓冲液加入上清液中,在 105 $^{\circ}$ C 环境中变性蛋白 10 min,备用。变性后的各组蛋白经 SDS 凝胶电泳(1~2 h)、转膜(60~80 min)、封闭(30~60 min)、孵一抗(4 $^{\circ}$ C 过夜)、洗膜(10 min $\times$ 3 次)、孵二抗(60 min)、再次洗膜(10 min $\times$ 3 次)等步骤后,使用 ECL 显影液进行显影,处理图像,定性和定量分析各组条带 Beclin-1、LC3B、Bax 及 P62 的表达。实验重复 3 次,结果取 3 次平均值。

1.4 统计学方法

计量资料以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示,采用 SPSS 16.0 进行统计分析,统计学意义的水平设定为 $P < 0.05$,用 Leven's test 方法检验正态性和方差齐性,如果符合正态性和方差齐性,用单因素方差分析(ANOVA)和 LSD- t 进行统计分析。

2 结果

2.1 左归丸含药血清对颗粒细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测凋亡结果见表 1、图 1。可知:模型组较对照组颗粒细胞早期和晚期凋亡率上升,差异具有统计学意义。而 10%左归丸含药血清不仅能降低正常颗粒细胞的凋亡率,还可以降低 PM 诱发的卵巢颗粒细胞凋亡,且早期凋亡率有近 4 倍差异,晚期凋亡率也有超过 2 倍的差异,差异具有统计学意义。

2.2 左归丸含药血清对 Bax、LC3B、Beclin-1、P62 及 Caspase3 蛋白表达的影响

如图 2、表 2 所示,模型组较对照组 Bax、LC3B、Beclin-1 及 Caspase3 蛋白表达上升,P62 蛋白表达下降,差异具有统计学意义;而 10%左归丸含药血清可降低正常和受损颗粒细胞 Bax、LC3B、Beclin-1 及 Caspase3 蛋白表达,升高正常和受损颗粒细胞 P62 蛋白表达,差异具有统计学意义。

表 1 左归丸含药血清对颗粒细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 1 Effect of serum containing Zuogui Pill on apoptosis of granule cells

分组 Groups	对照组 Control	左归丸含药血清组 10%ZGW	模型组 M	模型组+左归丸含药血清组 M+10%ZGW
早期凋亡率(%) Early apoptosis rate	3.21±0.29	1.43±0.07 *	9.12±0.84 *	2.41±0.13 #
晚期凋亡率(%) Late apoptosis rate	31.86±2.17	9.51±0.49 *	48.92±0.65 *	22.44±0.50 #
总凋亡率(%) Total apoptosis rate	35.07±2.19	10.95±0.56 *	58.04±0.90 *	24.85±0.47 #

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$. Compared with the model group, # $P < 0.05$.

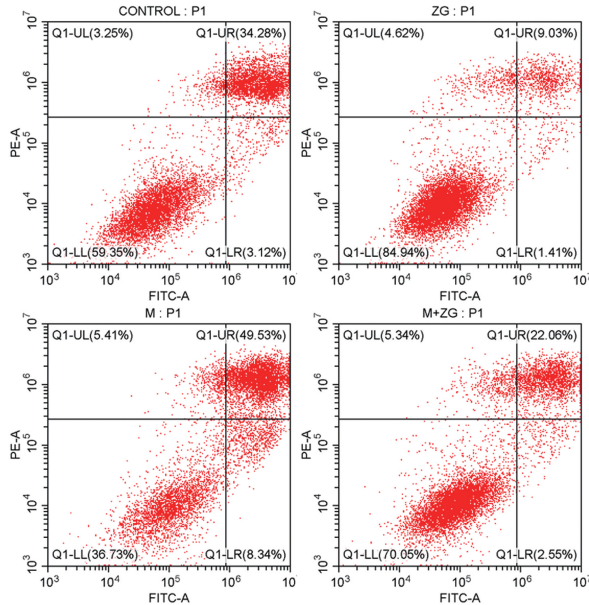


图 1 各组细胞周期分布

Figure 1 cell cycle distribution of each group

表 2 各组目标蛋白灰度分析数值统计 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 2 Gray level analysis value statistics of target protein in each group

分组 Groups	对照组 Control	左归丸含药血清组 10%ZGW	模型组 M	模型组+左归丸含药血清组 M+10%ZGW
P62/β-actin	1.13 ± 0.22	1.70 ± 0.29 *	0.69 ± 0.05 *	0.92 ± 0.06 #
BECLIN-1/β-actin	0.94 ± 0.11	0.60 ± 0.12 *	1.83 ± 0.18 *	1.30 ± 0.16 #
CASP3/β-actin	0.91 ± 0.07	0.46 ± 0.16 *	1.98 ± 0.29 *	1.09 ± 0.06 #
BAX/β-actin	1.06 ± 0.29	0.71 ± 0.14 *	2.55 ± 0.72 *	1.34 ± 0.53 #
LC3B/β-actin	0.97 ± 0.06	0.65 ± 0.08 *	1.95 ± 0.24 *	1.40 ± 0.21 #

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$. Compared with the model group, # $P < 0.05$.

3 讨论

随着肿瘤发病的年轻化以及自身免疫性疾病发病率的升高,化疗药物的使用也随之上升,由此对女性患者所带来的 POF 问题引起许多学者的关注。化疗药物对卵巢的影响主要与其对颗粒细胞和卵母细胞的损害有关,且呈剂量依赖性^[7]。CTX 是基础的化疗药物,其可影响卵巢血供^[8]、诱导颗粒细胞凋亡^[9]以及形成卵巢氧化应激损伤^[10],大多数研究集中在 CTX 诱导颗粒细胞凋亡这一机制上。

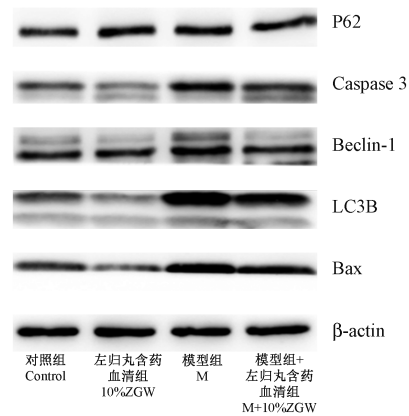


图 2 左归丸含药血清对 Bax、LC3B、Beclin-1、P62 及 Caspase3 蛋白表达的影响

Figure 2 Effects of serum containing Zuogui Pill on protein expression of Bax, LC3B, Beclin-1, P62 and Caspase3

细胞自噬和凋亡被认为是代表细胞死亡机制的连续部分;自噬为凋亡所必需,自噬先于凋亡,进而促进凋亡;或自噬抑制凋亡;或者自噬与凋亡共同促进细胞死亡,抑制其中之一都会转变为另一种细胞死亡途径。自噬作为真核细胞内广泛存在的降解和再循环系统,在废物清除、结构重建、细胞生长发育、蛋白代谢平衡维持和细胞内环境稳定中起重要作用^[11]。Beclin-1 是自噬启动关键因子;LC3B 是自噬体的标记蛋白,新合成的 LC3B 蛋白经加工后成为 LC3B-I,位于细胞质中,随后 LC3B-I 与磷脂

酰乙醇胺连接,通过泛素化样酶促反应成为 LC3B-II,与自噬体的内膜和外膜均结合,自噬体内膜的 LC3B-II 在自噬溶酶体中被降解而进入再循环,LC3B 的合成、LC3B-I 到 LC3B-II 的转化率是检测自噬的通用指标;自噬底物的降解通过标记细胞内部受体蛋白 P62 的降解来佐证自噬的完成,P62 蛋白水平高低与自噬活性成反比,其增加提示自噬/溶酶体降解途径被抑制,其表达量变化可用于监测自噬流^[12]。研究发现自噬与凋亡存在着分子联系,在死亡受体和线粒体介导的细胞凋亡通路中,自噬的调控蛋白 Beclin1 是 Caspase-3、-7、-8 的剪切对象^[13],而 Bax 属于 Bcl-2 家族成员之一,可作为 Caspase-3 的上游调控蛋白,启动 Caspase 级联反应^[14]。目前尚未有研究揭示 PM 损伤颗粒细胞的机制中是否同时存在自噬与凋亡现象?二者是否存在交叉对话?

中医临床上治疗 POF 时针对不同病因并无特定的治疗方法,而是从辩证论治出发,以补肾填精为主、活血理气为辅,左归丸是补肾填精的主要方剂。课题组前期研究及其他相关研究证实:以 CTX 为代表的一些化疗药物可通过上调 Bax 蛋白的表达、下调 Bcl-2 蛋白的表达、促进卵巢颗粒细胞凋亡而造成卵巢损伤。而左归丸可降低化疗源性 POF 小鼠颗粒细胞凋亡率,保护卵巢功能^[6,15-16]。本实验建立 PM 体外诱导原代卵巢颗粒细胞损伤模型,使用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率并通过蛋白表达角度观察颗粒细胞中自噬相关蛋白如 Beclin-1、LC3BI/LC3BII 及凋亡相关蛋白 Bax、Caspase3 的表达情况。结果显示:①模型组颗粒细胞凋亡率较对照组而言显著升高,10%左归丸含药血清可降低颗粒细胞凋亡率;②自噬相关蛋白如 Beclin-1、LC3BI/LC3BII 及凋亡相关蛋白 Bax、Caspase3 在 PM 作用的颗粒细胞中,相对于对照组而言有高表达,10%左归丸含药血清可下调上述蛋白在模型组中的表达;然而受体蛋白 P62 的表达较对照组降低,10%左归丸含药血清可上调模型组 P62 蛋白的表达。以上结果说明 PM 可通过促进凋亡、激活自噬/溶酶体降解途径的机制损伤颗粒细胞;10%左归丸含药血清能缓解由此带来的损伤,同时影响了颗粒细胞自噬和凋亡过程,二者同时存在,且可能存在交叉对话。

综上所述,PM 促进了颗粒细胞的凋亡过程,与自噬相关,二者可能存在交叉对话。左归丸含药血清抑制了化疗损伤源性卵巢颗粒细胞凋亡,降低此过程中自噬与凋亡的活性,为下一步深入探讨自噬

与凋亡间交叉对话点奠定了实验基础,同时为左归丸的药效学研究提供了新的理论及实验基础,也为 POF 的防治提供新理论。如能选择性地抑制卵巢细胞的自噬与凋亡过程,保护卵巢逃避化疗药物的作用或化疗后帮助恢复卵巢功能,则能极大地造福于化疗后 POF 患者,对于临床具有重要意义。

参考文献:

- [1] 薛晴,曾诚,周应芳. 妇科手术及放化疗与卵巢早衰[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2015, 31(8): 713-717.
- [2] 吴结英,胡卫华. 卵巢早衰的病因学研究进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2019, 38(4): 332-336, 344.
- [3] Chen H, Xiao L, Li J, et al. Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian failure in premenopausal women [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2019, 3(3): CD008018.
- [4] 吴玉萍,赵茵茵,周玉霞,等. 颗粒细胞在卵母细胞发育成熟中的作用[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2017, 36(6): 503-506.
- [5] Tang ZR, Zhang R, Lian ZX, et al. Estrogen-receptor expression and function in female reproductive disease [J]. Cells, 2019, 8(10): 1123.
- [6] 阳松威,孙晓峰,贺又舜,等. 左归丸对化疗致卵巢早衰小鼠卵巢功能的影响[J]. 中成药, 2016, 38(4): 717-722.
- [7] Petru E. Fertility preservation and infertility treatment in breast cancer patients [J]. Wien Med Wochenschr, 2010, 160(19-20): 487-492.
- [8] Meirou D, Biederman H, Anderson RA, et al. Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction [J]. Clin Obstet Gynecol, 2010, 53(4): 727-739.
- [9] 火夏琴,荀元凤,周利军,等. 化疗致卵巢早衰分子机制及药物预防的研究进展[J]. 现代妇产科进展, 2018, 27(10): 796-798.
- [10] 张婷,贺婉红,俸灵林. 化疗药物卵巢毒性的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(8): 879-885.
- [11] Yim WW, Mizushima N. Lysosome biology in autophagy [J]. Cell Discov, 2020, 6(1): 6.
- [12] Jiang P, Mizushima N. LC3- and p62-based biochemical methods for the analysis of autophagy progression in mammalian cells [J]. Methods, 2015, 75: 13-18.
- [13] Cao Y, Han X, Pan H, et al. Emerging protective roles of shengmai injection in septic cardiomyopathy in mice by inducing myocardial mitochondrial autophagy via Caspase-3/Beclin-1 axis [J]. Inflamm Res, 2020, 69(1): 41-50.
- [14] 许国平,杨鹏,祁宏. Bcl-2 蛋白家族调节凋亡和自噬信号通路的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41(6): 1127-1134.
- [15] 曹金凤,郝红娟,王惠兰,等. 顺铂、依托泊苷、长春新碱、博来霉素对人卵巢颗粒细胞影响及其机制[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012, 28(11): 835-838.
- [16] 梁嘉丽,邝兆民,杨静,等. 补肾阴及补肾阳法对化疗诱导的卵巢早衰大鼠外周血 TNF- α 、IFN- γ 水平及卵巢颗粒细胞凋亡的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(1): 139-142.

[收稿日期]2020-05-12