

清络通痹颗粒含药血清对破骨细胞骨吸收的影响

周玲玲, 梁晓雯, 柳璋璞, 方泰惠, 周学平*

(南京中医药大学, 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 南京 210029)

[摘要] 目的: 确定清络通痹颗粒(QLT) 含药血清的制备方法并观察其对体外培养破骨细胞的活性和骨吸收的影响。方法: 选用高效液相色谱外标一点法测定, QLT 含药血清中青藤碱的含量以确定含药血清的制备条件; 乳鼠破骨细胞 $1 \times 10^8 / \text{mL}$ 加入 96 孔板, 将 QLT 3.6, 7.2, 14.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药的大鼠含药血清 1:10 稀释, 分别加入各孔培养 48 h, 观察其对破骨细胞增殖、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP) 活性及破骨细胞形成的骨吸收陷窝的影响。结果: QLT 7.2, 14.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药的含药血清可明显抑制破骨细胞的增殖能力和吸收陷窝面积($P < 0.05$, $P < 0.01$), QLT 3.6, 7.2, 14.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药的含药血清可明显抑制破骨细胞的 TRAP 活性($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论: QLT 含药血清可抑制破骨细胞增殖、TRAP 活性和骨吸收能力, 对破骨细胞引起的骨质破坏产生抑制作用。

[关键词] 清络通痹颗粒; 含药血清; 破骨细胞; 骨吸收

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0168-05

Effects of Qingluo Tongbi Granule-containing Serum on Bone Resorption by Osteoclasts

ZHOU Ling-ling, LIANG Xiao-wen, LIU Zhang-pu, FANG Tai-hui, ZHOU Xue-ping*

(Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Pharmacology
and Safety Evaluation of Material Medica, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effects of Qingluo Tongbi granule-containing serum on bone resorption of osteoclasts *in vitro*. **Method:** The content of sinomenine in Qingluo Tongbi granule-containing serum was detected by HPLC in different time point to decide the method for obtaining the drug-containing serum. The osteoclasts from newborn rats were cultured and the proliferation, TRAP activity and bone resorption were detected. **Result:** The rats were given the drugs for 7 days and the drug-containing serum was obtained one hour after the last administration. The serum could inhibit the proliferation, TRAP activity and bone resorption area of osteoclasts. **Conclusion:** Qingluo Tongbi granule-containing serum could restore the bone erosion by inhibiting proliferation, TRAP activity and bone resorption ability.

[Key words] Qingluo Tongbi granule; drug-containing sera; osteoclast; bone resorption

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA) 关节的局部骨质侵蚀是其重要的特点之一, 也是导致关节功能障碍的重要因素。在 RA 早期即可发生骨质破坏, 而关节骨质破坏是关节畸变的重要因素, 阻止其

发生和进展可直接改善患者的预后。破骨细胞(osteoclast, OC) 作为骨吸收的主要功能细胞, 在 RA 的发生与发展中起重要作用, 在 RA 的骨损伤处, 特别是增殖的滑膜向骨内侵入的最前线, 可见大量破

[收稿日期] 20110321(008)

[基金项目] 江苏省高校自然科学基金项目(08KJB360006); 教育部留学回国人员科研基金项目(2006331)

[第一作者] 周玲玲, 副教授, 博士, 从事中药药理学、免疫药理学研究, Tel: 025-86798155, 025-85811515, E-mail: llzhou74@163.com

[通讯作者] * 周学平, 教授, 博士, 从事中医药防治风湿免疫病的研究, E-mail: zxp@njutcm.edu.cn

骨细胞^[1]。破骨细胞的数量与功能状态可影响骨质破坏的程度,因此抑制破骨细胞活性及减少破骨细胞生成是RA防治研究的一个重要方面。

清络通痹颗粒(Qingluo Tongbi granule, QLT)是周仲瑛教授经过多年的临床实践选药组方,并运用无机陶瓷膜微滤技术精制而成的中药新制剂。该药临床疗效确切,前期实验证实对大鼠实验性关节炎有较好的治疗作用,可减轻关节炎大鼠的骨质破坏^[2]。为了进一步研究其阻止RA骨质破坏的机制,课题组选用高效液相色谱(HPLC)外标一点法确定含药血清的制备条件,制备清络通痹颗粒的含药血清;采用体外培养的破骨细胞,观察其对破骨细胞增殖、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)活性及破骨细胞骨吸收的影响,以了解QLT对破骨细胞的调控作用。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,新生2~3 d SD乳鼠,由南京中医药大学实验动物中心提供,合格证号SYXK(苏)2005-0009。

1.2 药品与试剂 清络通痹颗粒(QLT):由南京中医药大学植物药深加工工程中心提供,含3 g生药/mL,批号20070714。雷公藤多苷片(T_H):浙江得思德制药有限公司,批号0701115。噻唑蓝(MTT):美国Invitrogen公司。acid phosphatase leukocyte:美国Sigma公司。牙质片层:英国Immunodiagnostic Systems Limited(IDS Ltd)。

1.3 仪器 Water515 高效液相色谱仪:715型双元泵,2487双波长紫外检测器,HW-2000色谱工作站,上海惠普公司。680型全自动酶标仪:美国BIO-RAD伯乐公司。3111型CO₂培养箱:FORMA SCIENTIFIC产品。IX71相差显微镜:Olympus公司产品。

2 方法

2.1 清络通痹颗粒含药血清的制备及血药浓度的测定^[3]

2.1.1 青藤碱标准溶液的配制精密称取106℃干燥至恒重的青藤碱一定量,用盐酸溶液0.1 mol·L⁻¹溶解。蒸馏水稀释,配制成50 μg·mL⁻¹的贮备液,精密吸取贮备液一定量,分别配制成每1 mL含青藤碱0.25,0.5,1.0,5.0,10.0,15.0,20.0 μg的浓度系列标准液。

色谱条件:色谱柱:Hedera C₁₈(4.6 mm×250

mm, 5 μm),淮阴汉邦科技公司;流动相:乙腈-0.06%二乙胺(30:70);柱温:30℃;流速:1.00 mL·min⁻¹;进样量:5 μL;检测波长:262 nm。

2.1.2 大鼠标准血清的处理 精取大鼠血清0.5 mL,加入10.0 μg·mL⁻¹青藤碱标准液0.5 mL,加NaOH溶液(0.1 mol·L⁻¹)0.5 mL,摇匀,再加入CHCl₃ 1.0 mL,旋涡振荡10 min,离心5 min(3 000 r·min⁻¹),吸取CHCl₃提取液0.5 mL,70℃水浴下氮气流吹干,残渣用50 μL甲醇溶解,取20 μL进样,以不加青藤碱标准液的血清同法操作作空白对照,分别进行色谱分析。

2.1.3 青藤碱血药标准曲线的制备 精取大鼠血清0.5 mL,精密加入不同浓度的青藤碱标准液0.5 mL,使青藤碱的血浆浓度分别为0.25,0.5,1.0,5.0,10.0,15.0,20.0 μg·mL⁻¹,分别进行色谱分析。

2.1.4 大鼠药后血清中青藤碱的测定 SD大鼠40只,分5组,每组8只,雌雄各半。即①正常对照组;②阳性对照组: T_H 7.5 mg·kg⁻¹;③QLT低剂量组生药3.6 g·kg⁻¹;④QLT中剂量组生药7.2 g·kg⁻¹;⑤QLT高剂量组14.4 g·kg⁻¹。各组按10 mL·kg⁻¹连续ig给药,正常对照组给予等体积生理盐水。分别于给药第1,3,7,14天后1 h,每组取雌雄大鼠两只颈总动脉放血,离心取血清,分别进行色谱分析,外标法计算血清中青藤碱的含量和绝对回收率。

2.2 大鼠破骨细胞的分离、培养和鉴定^[4] 出生2~3 d的SD乳鼠5只,无菌取四肢长骨,参照文献,暴露骨干内侧,用吸管反复吹打5~10 min,细胞计数后用含15%胎牛血清的MEM培养液配制,移入培养瓶,每瓶接种细胞约1×10⁸个/mL,5%CO₂ 37℃培养12 h后换液,以去除红细胞和未贴壁细胞,以后每2 d换1次液,观察并照相。

以上法获取的破骨细胞直接加入预置了10 mm×10 mm盖玻片的24孔板中,每孔1 mL,5%CO₂ 37℃培养7 d。取出细胞爬片用固定液固定5~10 min。参照说明书进行染色,倒置显微镜下观察,TRAP⁺部位呈棕红色颗粒。

2.3 破骨细胞增殖反应的测定 破骨细胞配制成1×10⁸/mL加入96孔板中,每孔0.1 mL,12 h后换液,将各含药血清用MEM以1:10稀释,分别加入各孔,每孔0.1 mL,5%CO₂ 37℃培养48 h,以MTT法检测各孔A值,并计算抑制率。

抑制率 = $\frac{[A_{\text{正常对照孔}} - A_{\text{样品孔}}]}{[A_{\text{正常对照孔}} - A_{\text{空白对照孔}}]} \times 100\%$

2.4 抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP) 活性检测^[9] 破骨细胞制成 1×10^8 /mL 加入 96 孔板中, 每孔 0.1 mL, 12 h 后换液, 将各含药血清用 MEM 以 1:10 稀释, 分别加入各孔, 每孔 0.1 mL, 5% CO₂ 37 ℃ 培养 48 h, 收获各孔培养上清, TRAP 活性测定操作按试剂盒说明书进行。

2.5 破骨细胞所致骨吸收陷窝面积的影响^[9] 准备已消毒的牙质片层并置于 96 孔板的微孔中, 每孔一个牙质片层, 使用消毒磷酸盐缓冲液预加湿至少 1 h。去除预加湿液后, 加入 0.1 mL 含 10% 胎牛血清的 MEM 到每个预湿的牙质片层孔中, 再加入破骨细胞悬液 1×10^8 /mL。培养 7 d 后换液, 将各含药血清用 MEM 以 1:10 稀释, 分别加入各孔, 每孔 0.1 mL, 5% CO₂ 37 ℃ 培养 48 h, 取出骨片, 2.5% 戊二醛固定液固定, 扫描电镜下观察整张骨片, 用 Leica 图像分析系统计算骨吸收陷窝的面积。

2.6 数据处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.5 软件包完成。计量资料进行单因素方差 (ANOVA) 分析比较各组间的差异, $P < 0.05$ 为显著性差异。

3 结果

3.1 清络通痹颗粒含药血清的制备及检测

3.1.1 青藤碱血药标准曲线的制备 青藤碱的峰面积与浓度在 $0.25 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好, 回归方程: $Y = -0.094 58 + 1.506 4 X$ ($r = 0.999 8, P < 0.001$)。

3.1.2 大鼠 ig 给药后血清中青藤碱浓度的测定 绝对回收率 = 44.15%。

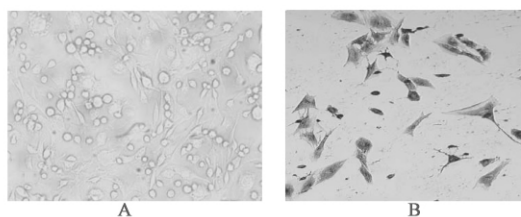
3.1.3 清络通痹颗粒含药血清不同时间点有效成分的含量测定 QLT 含药血清中有效成分青藤碱的含量在给药 1~7 d 随着给药时间的增加而增加, 第 7 天后, 血药浓度开始趋于恒定; QLT 含药血清中青藤碱的含量与给药浓度成正比; 雌性大鼠高于同时期同组别雄性大鼠。见表 1。根据上述结果, 后续实验选择给药 7 d 同一性别的大鼠血清进行实验。

3.2 原代大鼠破骨细胞形态学观察及 TRAP 染色鉴定 刚刚分离的大鼠原代破骨细胞数量较多, 绝大多数是单核细胞, 1~2 h 开始贴壁。第 2 天开始逐渐出现多核细胞, 有片状或丝状伪足。至第 5~7 天, 此种细胞约占 50%, 14 d 后出现大部分细胞死亡。改良偶氮偶联染色法 (Sigma 公司) TRAP 染色, 胞浆呈棕红色颗粒状, 核为阴性, 核仁清晰。见

图 1。

表 1 QLT 给药的大鼠血清中有效成分青藤碱的含量

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	mg·L ⁻¹			
		第 1 天	第 3 天	第 7 天	第 14 天
QLT 雄性	3.6	0.15	0.13	0.12	0.14
QLT 雌性	3.6	0.35	0.21	0.19	0.18
QLT 雄性	7.2	0.17	0.22	0.32	0.38
QLT 雌性	7.2	0.19	0.28	0.45	0.47
QLT 雄性	14.4	0.25	0.12	0.50	0.56
QLT 雌性	14.4	0.56	0.24	0.74	0.75



A. 培养 7 d; B. TRAP 染色

图 1 大鼠破骨细胞培养光镜观察及 TRAP 染色鉴定 (HE, ×100)

3.3 清络通痹颗粒含药血清对破骨细胞增殖反应的影响 表 2 显示, QLT 7.2, 14.4 g·kg⁻¹ 给药的大鼠含药血清均可明显抑制破骨细胞的增殖, 与正常对照组比较差异显著 ($P < 0.01$)。

表 2 清络通痹颗粒对大鼠破骨细胞增殖反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	增殖反应/A	抑制率/%
正常对照	—	0.46 ± 0.060	—
T _{II}	7.5×10^{-3}	$0.28 \pm 0.035^{2)}$	43.71
QLT	3.6	0.34 ± 0.045	29.62
QLT	7.2	$0.28 \pm 0.046^{2)}$	43.36
QLT	14.4	$0.19 \pm 0.068^{2)}$	66.24

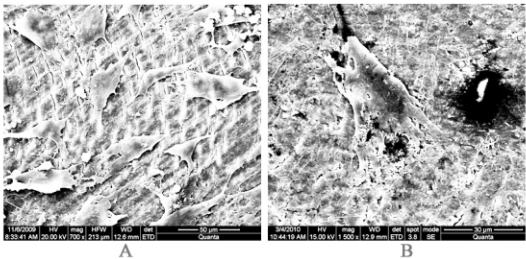
注: 与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 3~4 同)。

3.4 清络通痹颗粒对大鼠破骨细胞 TRAP 活性的影响 表 3 显示, QLT 3.6, 7.2, 14.4 g·kg⁻¹ 给药的大鼠含药血清可抑制破骨细胞的 TRAP 活性, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

3.5 清络通痹颗粒含药血清对破骨细胞骨吸收的影响 图 2 显示, 破骨细胞加入预置骨片的培养板培养 7 d 后可见破骨细胞在骨片上贴附生长, 伸出片状或丝状伪足, 骨片上出现大小不等的骨吸收陷窝。表 4 显示, QLT 7.2, 14.4 g·kg⁻¹ 给药的大鼠含药血清可抑制破骨细胞所致骨吸收陷窝面积, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

表3 清络通痹颗粒对大鼠破骨细胞 TRAP 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TRAP 活性 /U·L ⁻¹
正常对照	-	6.90 ± 0.49
T _{II}	7.5 × 10 ⁻³	2.90 ± 0.31 ¹⁾
QLT	3.6	5.21 ± 0.51 ¹⁾
QLT	7.2	2.90 ± 0.23 ²⁾
QLT	14.4	2.37 ± 0.14 ²⁾



A. 骨片电镜(×700) B. 骨片电镜(×1 500)

图2 破骨细胞与骨片培养7 d 骨片电镜检查

表4 清络通痹颗粒对破骨细胞所致骨吸收陷窝面积的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	吸收陷窝面积 / μm ²
正常对照	-	23.00 ± 5.11
T _{II}	7.5 × 10 ⁻³	9.56 ± 2.33 ²⁾
QLT	3.6	17.93 ± 3.96
QLT	7.2	11.06 ± 5.14 ¹⁾
QLT	14.4	5.23 ± 2.14 ²⁾

4 讨论

清络通痹颗粒是针对热痹型类风湿性关节炎阴虚热郁、风湿痹阻、痰瘀互结的病机研制而成,由青风藤、生地黄、炙僵蚕、露蜂房、络石藤等组成,临床疗效确实^[1]。该药尚有延缓 RA 病人骨质破坏的作用,前期研究也证实其可以减轻关节炎大鼠的关节病变。本课题为了进一步研究 QLT 阻止骨质破坏的机制,制备其含药血清进行了体外研究。课题选择方中君药青风藤的主要成分青藤碱进行含药血清的制备,采用 HPLC 外标一点法对 QLT 含药血清中青藤碱的含量进行测定,并根据预试,在后续的实验选择了给药 7 d 的同一性别大鼠血清进行实验。

破骨细胞是 RA 骨破坏的重要因素之一,在病灶部位有大量的成熟破骨细胞及破骨细胞前体。另

外,活性淋巴细胞、巨噬细胞、成骨细胞和其他细胞表达的多种细胞因子,作用于破骨细胞生成、分化、活化、凋亡各个环节,使其过度增殖或异常活跃,使骨破坏占据优势^[2]。有实验证明,在破骨细胞功能障碍或数量不足时,实验性关节炎动物关节破坏程度显著降低^[3]。因此课题体外培养了原代破骨细胞^[4],并进一步观察了 QLT 对破骨细胞增殖和活性的影响,目前认为 TRAP 直接参与破骨细胞的骨吸收过程,有研究表明 TRAP 活性的减弱,与吸附骨片的破骨细胞数量显著减少有关^[1]。QLT 含药血清能明显抑制破骨细胞的 TRAP 活性。结果显示: QLT 含药血清可抑制破骨细胞增殖,说明其对破骨细胞生长有直接的抑制作用。

另外,破骨细胞的骨吸收能力也是反映其活性的主要指标,其主要检测方法是骨片上吸收陷窝形态分析法^[12]。本课题研究明显抑制破骨细胞骨吸收功能,骨片上破骨细胞数量减少,骨吸收陷窝变少变小,并且具有剂量依赖性。说明 QLT 对破骨细胞生长、TRAP 活性和骨吸收功能的抑制具有一致性。上述结果表明: QLT 含药血清可明显抑制破骨细胞生长、TRAP 活性和骨吸收功能,从而抑制破骨细胞的骨侵蚀作用。前期研究已表明,其对关节炎大鼠和 RA 病人的滑膜炎症状均有明显改善作用,可调节多种炎症性细胞因子的表达^[13-14],因此 QLT 抑制破骨细胞的作用除了对破骨细胞的直接作用外,与调控细胞因子间接抑制破骨细胞的增殖也有一定相关性,其具体的调控因子有待进一步研究。

参考文献

[1] Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: Interactions of the bone and immune system [J]. Endocr Rev, 2008, 29(4): 403.

[2] 韩越,王逸萍,周玲玲. 清络通痹颗粒对佐剂性关节炎大鼠骨质破坏影响的研究 [J]. 中国药房, 2007, 18: 2814.

[3] 孟李,王宁生. 含药血清的制备方法研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 2(2): 1.

[4] Sang Y H, Jong R L, Young K K, et al. Ostreae Testa prevent ovariectomy-induced bone loss in mice by osteoblast activations [J]. J Ethnopharmacology, 2007, 114: 400.

[5] 薛立伟,张君,王旭霞,等. 肿瘤坏死因子-α 对大鼠成骨细胞生长影响的实验研究 [J]. 华西口腔医学杂志, 2009, 27(4): 378.

雷至胶囊对嘌呤霉素氨基核苷肾病的减毒增效作用

李春庆¹, 孙伟^{2*}, 邵家德², 周栋², 张露², 高坤², 万毅刚³

(1. 无锡市第三人民医院肾内科, 江苏 无锡 214000; 2. 江苏省中医院
肾内科, 南京 210029; 3. 南京市鼓楼医院中医科, 南京 210000)

摘要 目的: 探讨雷至胶囊(雷公藤多苷 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + 女贞子、墨旱莲 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 在治疗嘌呤霉素氨基核苷(PAN)肾病的减毒增效作用。方法: 80 只雄性大鼠随机分为 8 组: 空白组、模型组、雷至胶囊高、低剂量组、雷公藤多苷高、低剂量组、雷公藤甲素组和缬沙坦组, 每组 10 只。颈静脉注射 PAN $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 建立 PAN 肾病模型。空白组颈静脉注射等量生理盐水。其余各治疗组造模后第 2 天开始每日分别 ig 给药, 持续 10 d。第 11 天, 处死大鼠, 摘取肝肾, 用于光镜、免疫荧光及透射电镜检测。结果: 一般情况: 模型鼠第 5 天尿量减少、腹水, 而水肿不明显, 体重下降。第 7~10 天腹水明显, 24 h 尿蛋白增加, 死亡率 30% (3/10)。病理改变: 模型鼠肾小管上皮细胞变性, 电镜下, 可见足细胞足突融合、消失, 而空白组足细胞结构正常。各药物治疗组 24 h 尿蛋白、血生化、血红蛋白均有不同程度改善, 各治疗组血尿素氮轻度升高 ($P < 0.05$)。雷至胶囊及雷公藤多苷 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组降蛋白尿、改善贫血、降低 AST 疗效优于其余各组, 电镜下, 雷至胶囊高剂量组足突融合减轻, 足突明显恢复。结论: 雷至胶囊可能通过降低 PAN 肾病大鼠蛋白尿、改善贫血、降低 AST、减轻足细胞足突融合及肾小管上皮细胞变性等发挥减毒增效作用。

关键词 雷至胶囊; 雷公藤多苷; 嘌呤霉素氨基核苷肾病; 雷公藤减毒

中图分类号 R285.5 **文献标识码** A **文章编号** 1005-9903(2011)22-0172-06

Experimental Study on Leizhi Capsule via Reducing Toxicity and Increasing Effects of Tripterygium Glucosides in PAN Nephrosis Rats

LI Chun-qing¹, SUN Wei^{2*}, SHAO Jia-de², ZHOU Dong², ZHANG Lu², GAO Kun², WAN Yi-gang²

(1. Nephrology Department of Wuxi No. 3 Hospital, Wuxi 214000, China; 2. Nephrology
Department of Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;
3. Chinese Medicine Department of Drum Tower Hospital of Nanjing University, Nanjing 210008, China)

收稿日期 20110417(003)

基金项目 江苏省研究生科研创新计划项目(2010-463); 江苏省自然科学基金项目(BK2009462)

第一作者 李春庆, 医学博士, 副主任医师, 从事中西医结合肾脏病基础与临床研究, Tel: 15301516387, E-mail: lichunqingwuxi@126.com

通讯作者 * 孙伟, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中西医结合肾脏病的临床和实验研究, Tel: 13505199810, E-mail: sunyb59@yahoo.com.cn

- [6] 魏鹏, 焦磊, 秦路平, 等. 小柴碱对大鼠骨髓原性破骨细胞的分化及骨吸收功能的影响 [J]. 中西医结合学报, 2009, 7(4): 342.
- [7] 周学平. 类风湿性关节炎阴虚络热证辨治初探 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(1): 53.
- [8] Redlich K, Hayer S, Ricci R, et al. Osteoclasts are essential for TNF- α -mediated joint destruction [J]. J Clin Invest, 2002, 110(10): 1419.
- [9] Feige U, Hu Y L, Bolon B. Osteoclast numbers in joints of rats with adjuvant arthritis are decreased by treatment with IL-1ra and/or prglutated sTNF-RI [J]. Ann Rheum Dis, 2001, 60(suppl): Abstr OP0016.
- [10] 史凤芹, 于世凤. 体外破骨细胞分离培养方法的建立 [J]. 中华骨科杂志, 1994, 14(1): 43.
- [11] Moss D W. Changes in enzyme expression related to differentiation and regulatory factors: the acid phosphatase of osteoclasts and other macrophages [J]. Clin Chim Acta, 1992, 209: 131.
- [12] Dost P, Ten Cate W J, Wiemann I. Osteoblast-like cell cultures from human stapes [J]. Acta Otolaryngol, 2002, 122(8): 836.
- [13] 周学平, 梁卫, 周玲玲, 等. 清络通痹颗粒对胶原性关节炎大鼠滑膜细胞凋亡相关基因 p53 和 bcl-2 表达的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(8): 718.
- [14] 周玲玲, 方泰惠, 周学平, 等. 清络通痹颗粒给药的关节炎大鼠滑膜上清对软骨细胞的影响 [J]. 福建中医药, 2005, 36(6): 53.

责任编辑 聂淑琴