

# “内异消”对子宫内膜异位症大鼠 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4 活性的影响

冯彬彬<sup>1,2</sup>, 张建海<sup>1,2\*</sup>, 徐晓玉<sup>3</sup>

<sup>1</sup>重庆三峡医药高等专科学校; <sup>2</sup>重庆市抗肿瘤天然药物工程技术研究中心, 重庆 404120; <sup>3</sup>西南大学, 重庆 400716

**摘要:** 本文主要考察“内异消”对子宫内膜异位症大鼠肝微粒体 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4 活性的影响。将 16 只 SD 大鼠随机分为空白对照组、正常给药组, 16 只模型 SD 大鼠随机分为模型对照组和模型给药组。正常给药组和模型给药组每天灌胃给予“内异消”, 空白对照组和模型对照组灌胃给予羧甲基纤维素钠溶液, 均连续给药 7 d, 于第 8 d 给予“Cocktail”探针药物咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平药物, 通过 HPLC 检测 Cocktail 探针药物的代谢率评价各组 CYP450 及 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4 活性。结果表明, 与正常组比较, 模型对照组和模型给药组咖啡因、氯唑沙宗的  $t_{1/2}$  减小, 硝苯地平的  $t_{1/2}$  延长, 均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 与正常组比较, 模型对照组和模型给药组咖啡因、氯唑沙宗的  $AUC_{(0-t)}$  显著升高 ( $P < 0.05$ ), 硝苯地平的  $AUC_{(0-t)}$  的增加无显著性。说明“内异消”对子宫内膜异位症大鼠 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4 的活性不存在显著的相互作用。

**关键词:** 内异消; 细胞色素 P450; 肝微粒体

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.10.024

## Effect of Neiyixiao on Hepatic CYP1A2, CYP2E1, CYP3A4 in Rats with Endometriosis

FENG Bin-bin<sup>1,2</sup>, ZHANG Jian-hai<sup>1,2\*</sup>, XU Xiao-yu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Chongqing Three Gorges Medical College; <sup>2</sup>Chongqing Engineering Research

Center of Antitumor Natural Drugs, Chongqing 404120, China; <sup>3</sup>Southwest University, Chongqing 400716, China

**Abstract:** To observe the effects on the activity CYP 1A2, CYP2E1 and CYP3A4 in model rats of endometriosis following administration “Neiyixiao”. 16 Sprague-Dawley rats were randomly divided into 2 groups: normal control group and normal administration group. 16 Sprague-Dawley model rats were randomly divided into 2 groups: model control group and model administration group. All the rats of control group were given CMC-Na and all the rats of administration group were given “Neiyixiao” for seven days. After eight days, the plasma concentrations of Cocktail probe drugs of CYP1A2, CYP2E1 and CYP3A4 were determined by HPLC. Compared with normal control group, the level of  $t_{1/2}$  of caffeine and chlorzoxazone in model control group and model administration group had diminished ( $P > 0.05$ ), the level of  $t_{1/2}$  of nifedipine had prolonged ( $P > 0.05$ ). The level of  $AUC_{(0-t)}$  of caffeine and chlorzoxazone in model control group and model administration group was increased significantly ( $P < 0.05$ ), the level of  $AUC_{(0-t)}$  of nifedipine was not significant. The results showed that “Neiyixiao” cannot interact with CYP 1A2, CYP2E1 and CYP3A4 in model rats of endometriosis.

**Key words:** Neiyixiao; CYP450; liver microsome

细胞色素 P450 酶 (CYP) 是肝微粒体混合功能氧化酶系的主要成分, 是多种药物在体内代谢的最主要酶系<sup>[1]</sup>。CYP3A4 是成人肝微粒体中最重要的成分, 约占 CYP450 总量的 30% ~ 40%<sup>[2]</sup>, 由于该酶

含量及酶活性存在较大的个体差异, 因此利用探针药物测量 CYP3A4 的体内活性有助于个体给药和药物给药剂量的控制。CYP2E1 主要参与许多小分子化合物及药物、前致癌物和前毒物在体内的代谢, 含量约占肝脏总量的 7%, 另外人类的 CYP2E1 与大鼠高度相似<sup>[3,4]</sup>; 而 CYP1A2 是肝脏中 I 相反应 (包括氧化、还原、水解) 的主要代谢酶, 还是许多广泛应用于临床的药物的一个重要代谢酶<sup>[5]</sup>。子宫内

膜异位症(Endometriosis, EMs)是一种育龄妇女常见的良性病,但是由于其难以治愈且极大的影响妇女的生活质量,被世界卫生组织称为疑难杂症之一,发病率高达10%~15%<sup>[6,7]</sup>,目前没有理想的治疗方法和可供临床使用的药物。中药新药“内异消”的组成来源于活血化瘀中药三棱丸中的三种单体成分川芎嗪(Tetramethylpyrazine, TMP)、阿魏酸(Ferulic Acid, FA)、延胡索乙素(Tetrahydropalmatine, THP),是针对子宫内膜异位症的病理特点组成的。新药“内异消”已经进行过最佳配方的筛选,该药的主要疗效评价、作用机制及药代动力学也已经进行了研究<sup>[8-14]</sup>,为了进一步探索“内异消”的体内代谢过程和体内分布情况,根据3种肝药酶特点,本试验采用“Cocktail”探针法来预测“内异消”对大鼠体内3种肝药酶亚型的影响,探索该方对实验大鼠肝微粒体CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4活性的影响。本实验探针药物包括咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平,分别检测P450酶系的3种CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4的活性。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

美国Agilent1200;智能柱温箱;MWD紫外检测器;EL-204电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];H1650-W台式微量高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);WH-2微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器厂);U-3010紫外分光光度计(日本日立);J-30I高速冷冻离心机 Backman; Millipore 纯水系统。

### 1.2 药品

硝苯地平对照品(批号:100338-200502)、咖啡因对照品(批号:171215-200507)、川芎嗪对照品(批号:110817-200305)、阿魏酸对照品(批号:110773-200611)、延胡索乙素对照品(批号:110726-200610)均购于中国药品生物制品检定院;氯唑沙宗对照品(批号:BH-GN0101002);安替比林(内标)对照品(批号:BH-B14066)均购于上海瀚鸿化工科技有限公司;阿魏酸原料药、川芎嗪原料药、延胡索乙素原料药(购自南京泽朗有限责任公司,含量均在98%以上);甲醇为色谱纯(购自迪马公司);羧甲基纤维素钠(批号:20060402,成都市科龙化工试剂厂);水为去离子水;其他试剂均为分析纯。

### 1.3 实验动物

SD大鼠,清洁级,雌性,体重为 $220 \pm 20$  g,由重庆医科大学实验动物中心提供,合格证号:SCXK(渝)2007-0001。

## 2 实验方法

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent SB-C<sub>18</sub> ODS(250 × 4.6 mm, 5 μm);咖啡因和氯唑沙宗的流动相:甲醇:水(52:48);流速:0.9 mL/min;检测波长:λ = 280 nm;温度:30 °C;硝苯地平的流动相:甲醇:水(55:45);流速:1.0 mL/min;检测波长:λ = 237 nm;温度:30 °C。

### 2.2 标准曲线的制备

取一定量的咖啡因、氯唑沙宗、硝苯地平和安替比林对照品,精密称定。用色谱级甲醇溶液配成咖啡因母液浓度为0.45 mg/mL、氯唑沙宗母液浓度为0.58 mg/mL、硝苯地平母液浓度为0.51 mg/mL、安替比林母液浓度为0.44 mg/mL。取咖啡因母液分别配成0.11、0.45、1.80、3.60、9.00、18.00、36.00 μg/mL;取氯唑沙宗母液分别配成0.15、0.58、2.32、4.64、9.28、46.40、92.80 μg/mL;安替比林母液稀释为:29.20 μg/mL。然后取8份100 μL空白血浆,分别加上上述咖啡因各浓度100 μL、氯唑沙宗各浓度100 μL,加入内标100 μL,然后涡旋2 min,10000 rpm离心5 min,取上清液过微孔膜,备用。同样方法,将硝苯地平母液配成0.13、0.51、2.04、4.08、8.16、20.40、40.80、81.60 μg/mL,处理方法同上,取10 μL进样,以咖啡因、氯唑沙宗、硝苯地平和内标的峰面积之比与咖啡因、氯唑沙宗、硝苯地平浓度作回归方程,绘制标准曲线。

### 2.3 回收率试验

精密吸取大鼠空白血浆100 μL,分别加入低、中、高不同浓度的咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平标准溶液各100 μL,再加入100 μL安替比林溶液,每个浓度平行3份,配制成咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平浓度分别为0.45、2.25、4.50 μg/mL;0.58、2.32、11.60 μg/mL和1.02、5.10、10.20 μg/mL三个浓度,按“2.2标准曲线的制备”项下方法处理测定,代入各自标准曲线分别计算咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平在血浆中的浓度,并计算回收率。

### 2.4 精密度试验

样品配制同“2.3回收率试验”,9份样品各以1d内测得的咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平浓度计算

日内精密度的,以1周内3次测定的各物质计算日间精密度的。

## 2.5 血浆样品的采集

取SD雌性大鼠分为空白对照组、正常给药组、模型对照组和模型给药组,每组8只。子宫内膜异位大鼠模型建立参考文献复制<sup>[15,16]</sup>。正常给药组和模型给药组每天按A 50 mg/kg + B 100 mg/kg + C 30 mg/kg的剂量灌胃给予“内异消”,空白对照组和模型对照组按照180 mg/kg灌胃给予羧甲基纤维素钠溶液,均连续给药7 d。给药期间对大鼠进行正常喂养。给药第7天于大鼠右侧颈静脉处做插管手术,次日给予Cocktail探针药物咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平(将探针药物混合在一起,其中咖啡因和氯唑沙宗按照10 mg/kg的剂量给药,硝苯地平按照3 mg/kg的剂量给药)。给药后1、5、10、30、60、90、

120、240、360、480、600 min于插管处取静脉血0.5 mL,采集的所有血液均放入有肝素钠的EP管中,10000 rpm离心5 min;取血浆放-20℃冰箱保存,用于血药浓度的检测。

## 2.6 血浆样品处理

精密吸取大鼠血浆样品100 μL,加100 μL内标和200 μL甲醇,按“2.2标准曲线的制备”项下的处理方法处理。

## 3 实验结果

### 3.1 方法专属性考察

分别取空白血浆、咖啡因标准溶液、氯唑沙宗标准溶液、硝苯地平标准溶液和内标标准溶液及各样品溶液,在上述色谱条件下分别测定,测得的色谱图,见图1。

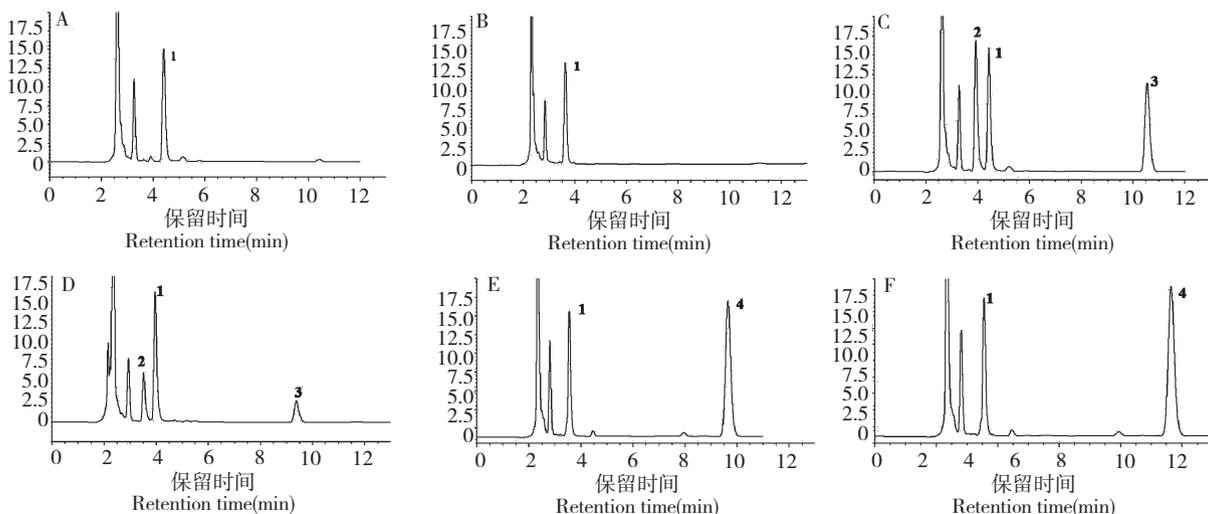


图1 咖啡因和氯唑沙宗空白(A)、硝苯地平空白(B)、咖啡因和氯唑沙宗标准品(C)、咖啡因和氯唑沙宗样品(D)、硝苯地平标准品(E)、硝苯地平样品(F)的HPLC色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of sample without caffeine and chlorzoxazone (A), sample without nifedipine (B), caffeine and chlorzoxazone standard (C), caffeine and chlorzoxazone sample (D), nifedipine standard (E) and nifedipine sample (F)

1 内标安替比林 antipyrine, 2 咖啡因 caffeine, 3 氯唑沙宗 chlorzoxazone, 4 硝苯地平 nifedipine

### 3.2 标准曲线及线性范围

根据2.2项下的方法绘制标准曲线。以咖啡因浓度为横坐标,以咖啡因和内标的峰面积之比为纵坐标绘制标准曲线,得其回归方程为: $y = 0.1085x + 0.0329$ ,  $r = 0.9995$ , 咖啡因在0.03 ~ 9.00 μg/mL浓度范围内线性关系良好。同理,氯唑沙宗回归方程为: $y = 0.049x + 0.0125$ ,  $r = 0.9997$ , 氯唑沙宗在0.04 ~ 23.20 μg/mL浓度范围内线性关系良好。硝苯地平回归方程: $y = 0.0889x + 0.0032$ ,  $r = 0.9996$ , 表明硝苯地平在0.03 ~ 20.40 μg/mL浓度范围内

线性关系良好。

### 3.3 回收率试验

根据“2.3”项下的步骤测定咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平的回收率,结果见表1。

由表1可以看出咖啡因、氯唑沙宗及硝苯地平平均回收率均在80% ~ 120%之间, RSD均小于10%,表明该方法回收率符合要求。

### 3.4 精密度试验

根据“2.3”项下的步骤测定咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平的精密度,结果见表2。

表1 咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平回收率 ( $\bar{x} \pm SD, n=3$ )Table 1 The recovery for caffeine, chlorzoxazone and nifedipine ( $\bar{x} \pm SD, n=3$ )

	浓度	回收率	平均回收率	RSD (%)
	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Recovery (%)	Average recovery (%)	
咖啡因 Caffeine	0.45	88.70	87.73 $\pm$ 0.02	2.41
		85.31		
		89.19		
	2.25	112.75	106.59 $\pm$ 0.05	5.01
		103.27		
		103.75		
	4.50	102.84	100.42 $\pm$ 0.03	3.20
		101.65		
		96.77		
氯唑沙宗 Chlorzoxazone	0.58	103.17	98.54 $\pm$ 0.06	5.61
		92.43		
		100.02		
	2.32	110.72	108.09 $\pm$ 0.05	4.25
		110.76		
		102.78		
	11.60	102.58	101.44 $\pm$ 0.02	1.52
		99.68		
		102.06		
硝苯地平 Nifedipine	1.02	104.98	98.50 $\pm$ 0.06	5.82
		96.46		
		94.07		
	5.10	91.83	92.07 $\pm$ 0.03	3.02
		89.41		
		94.96		
	10.20	99.33	106.63 $\pm$ 0.06	5.93
		110.16		
		110.40		

表2 咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平的精密度 ( $\bar{x} \pm SD, n=5$ )Table 2 The precision for caffeine, chlorzoxazone and nifedipine ( $\bar{x} \pm SD, n=5$ )

	浓度 Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	日内 Intra-day			日间 Inter-day		
		<i>n</i>	浓度 Precision ( $\mu\text{g/mL}$ )	RSD (%)	<i>n</i>	浓度 Precision ( $\mu\text{g/mL}$ )	RSD (%)
咖啡因 Caffeine	0.45	5	0.31 $\pm$ 0.03	9.47	5	0.25 $\pm$ 0.01	5.69
	2.25	5	2.51 $\pm$ 0.08	3.05	5	2.64 $\pm$ 0.05	2.45
	4.50	5	4.38 $\pm$ 0.24	5.49	5	4.48 $\pm$ 0.14	3.01
氯唑沙宗 Chlorzoxazone	0.58	5	0.62 $\pm$ 0.06	10.22	5	0.59 $\pm$ 0.05	7.91
	2.32	5	2.57 $\pm$ 0.10	3.74	5	2.45 $\pm$ 0.09	3.53
	11.60	5	11.43 $\pm$ 0.46	3.98	5	11.38 $\pm$ 0.25	2.19
硝苯地平 Nifedipine	1.02	5	0.72 $\pm$ 0.07	9.26	5	0.74 $\pm$ 0.05	7.09
	5.10	5	3.09 $\pm$ 0.22	7.04	5	2.41 $\pm$ 0.10	4.03
	10.20	5	13.46 $\pm$ 0.76	5.63	5	9.56 $\pm$ 0.71	7.48

由表 2 可以看出咖啡因、氯唑沙宗及硝苯地平低、中、高浓度精密度 RSD 均小于 15%, 表明精密度良好, 符合生物样品精密度要求。

### 3.5 药代动力学参数

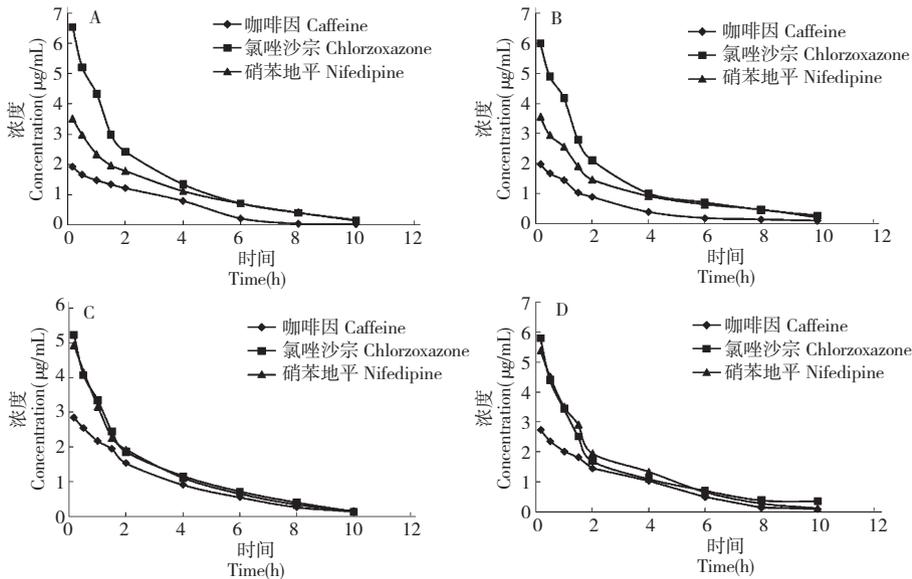


图 2 模型对照组 (A)、模型给药组 (B)、正常对照组 (C) 及正常给药组 (D) 探针药物大鼠药-时曲线图

Fig. 2 The C-T curves for caffeine, chlorzoxazone and nifedipine in rats from control group in model rats (A), administration group in model rats (B), control group in normal rats (C) and administration group in normal rats (D)

表 3 咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平药代动力学参数比较

Table 3 Comparison of pharmacokinetic parameters for caffeine, chlorzoxazone and nifedipine in rats

参数 Parameter		正常对照组 Control group in normal rats	正常给药组 Administration group in normal rats	模型对照组 Control group in model rats	模型给药组 Administration group in model rats
咖啡因 caffeine	AUC <sub>(0-t)</sub> (mg · h/L)	9.49 ± 2.96	7.53 ± 3.12	6.30 ± 1.45 *	4.91 ± 1.92 * <sup>Δ</sup>
	t <sub>1/2</sub> (h)	2.16 ± 0.57	2.04 ± 0.33	2.01 ± 0.54	1.92 ± 0.66
氯唑沙宗 chlorzoxazone	AUC <sub>(0-t)</sub> (mg · h/L)	13.26 ± 2.81	13.29 ± 1.71	16.19 ± 4.34 * <sup>Δ</sup>	14.86 ± 3.20
	t <sub>1/2</sub> (h)	2.72 ± 0.56	3.07 ± 2.01	2.36 ± 0.38	2.29 ± 2.11
硝苯地平 nifedipine	AUC <sub>(0-t)</sub> (mg · h/L)	10.66 ± 2.62	12.17 ± 2.57	11.55 ± 1.72	13.88 ± 4.92
	t <sub>1/2</sub> (h)	1.92 ± 0.59	1.97 ± 0.36	2.17 ± 1.78	2.70 ± 0.57

注:与正常对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与正常给药组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

Note:Compared with control group in normal,\* $P < 0.05$ ;Compared with administration group in normal, $\Delta P < 0.05$ 。

从图 2 和表 3 可以看到,与正常组比较,模型对照组和模型给药组咖啡因、氯唑沙宗的  $t_{1/2}$  减小,硝苯地平的  $t_{1/2}$  延长,均无显著性差异 ( $P > 0.05$ );与正常组比较,模型对照组和模型给药组咖啡因、氯唑沙宗的 AUC<sub>(0-t)</sub> 显著升高 ( $P < 0.05$ ),硝苯地平的 AUC<sub>(0-t)</sub> 的增加无显著性。

## 4 讨论

由图 2 和表 3 中可以看出:在正常大鼠体内试验中,“内异消”对 CYP1A2 探针药物咖啡因的代谢

采用 DAS 2.0 药代动力学程序进行数据处理,大鼠探针药物咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平的药物浓度与时间曲线图见图 2;咖啡因、氯唑沙宗和硝苯地平的药代动力学参数见表 3。

有诱导作用,对 CYP2E1 酶探针药物氯唑沙宗的代谢没有影响,对 CYP3A4 酶探针药物硝苯地平的代谢有潜在的抑制作用。在模型大鼠体内试验中,“内异消”对 CYP1A2、CYP2E1 两种 P450 酶探针药物均有潜在的诱导作用,对 CYP3A4 有潜在的抑制作用。另外,对 CYP1A2 酶,模型对照大鼠 AUC (6.30 ± 1.45 mg · h/L) 显著低于正常对照大鼠 (9.49 ± 2.96 mg · h/L),对 CYP2E1 模型对照大鼠 AUC (16.19 ± 4.34 mg · h/L) 显著高于正常对照大鼠 (13.26 ± 2.81 mg · h/L),提示病理状态下大鼠

体内 CYP1A2 和 CYP2E1 酶活性与正常大鼠体内存在显著差异。因此,利用 Cocktail 探针药物不仅可以同时检测多种药物代谢酶的活性,而且还可以根据酶活性的改变了解到药物对某种特异性酶的诱导或抑制,从而为临床安全用药提供科学的依据。

根据以上实验结果,当其他药物与“内异消”合用时,要根据“内异消”对 P450 诱导或抑制作用的强弱,适当增加或减少用药量,从而达到满意的疗效和减轻不良反应。本实验有助于进一步研究药物相互作用和进行人体试验提供参考和实验依据,还可以为临床合理安全用药、预测药物潜在的相互作用提供数据和参考。

#### 参考文献

- 1 Wienkers LC, Heath TG. Predicting *in vivo* drug interactions from *in vitro* drug discovery data. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4:825.
- 2 Sellers EM, Tyndale RF, Fernandes LC. Decreasing smoking behavior and risk through CYP2A6 inhibition. *Drug Discov Today*, 2003, 8:487-493.
- 3 Krajcinovic M, Sinnott H, Richer C, *et al.* Role of NQO1, MPO and CYP2E1 genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Cancer*, 2002, 97:230-236.
- 4 Wu ZL(伍忠奎), Xie HG(谢红光), Zhou HH(周宏灏). Recent advance of cytochrome P450 2E1. *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 1997, 13:57-62.
- 5 Xu ZH(许振华), Zhou HH(周宏灏). Cytochrome P4501A2 in Drug Metabolism. *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 1996, 12:115-121.
- 6 DW Bullimore. Eneometriosis is sustained by tumour necrosis factor-alpha. *Med Hypotheses*, 2003, 60(1):84-88.
- 7 Ferrero S, Abbamonte HL, Anserini P, *et al.* Future perspectives in the medical treatment of nedometriosis. *Obstet Gynecol Surv*, 2005, 60:817-826.
- 8 Ye L(叶兰), Xu XY(徐晓玉), Li RH(李荣亨), *et al.* Effect of medicated serum of Sangleng and Eshu on human umbilical vein vascular endothelial growth factor and vascular endothelial cells. *J Third Mil Med Univ* (第三军医大学学报), 2007, 29:121-124.
- 9 Chen Y(陈怡), Xu XY(徐晓玉), Ye L(叶兰), *et al.* Inhibitory effects of Sanleng Pellet on angiogenesis of endometriosis in rats. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2008, 33:303-307.
- 10 Qiu CW(邱才炜), Xu XY(徐晓玉), Zhu HF(祝慧凤). The Studies on the anti-inflammatory and analgesia effects of SLW. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2008, 24(5):7-10.
- 11 Feng BB(冯彬彬), Zhang JH(张建海), Xu XY(徐晓玉). Comparative study on the pharmacokinetics of ferulic acid in different combinations of rats. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26:2050-2053.
- 12 Feng BB(冯彬彬), Zhang JH(张建海), Zhang JF(张继芬), *et al.* Comparative study on pharmacokinetics of tetramethylpyrazine, ferulic acid and their compatibility. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2010, 35:900-903.
- 13 Feng BB(冯彬彬), Zhang JH(张建海), Zhang JF(张继芬), *et al.* Effect of different compatibility of tetramethylpyrazine on its pharmacokinetics *in vivo*. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2012, 37:1311-1313.
- 14 Feng BB(冯彬彬), Zhang JH(张建海), Xu XY(徐晓玉). Effects of tetramethylpyrazine and ferulic acid on pharmacokinetics of tetrahydropalmatine in rats. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2014, 45:2664-2668.
- 15 Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. *Fertil Steril*, 1985, 44:684-694.
- 16 Chang N(常暖), Han B(寒冰), Li TX(李同玺). Endometriosis modeling and pathological observation in rats. *J Clin Exp Pathol* (临床与实验病理学杂志), 1998, 14:67-69.