

·药效与毒理学研究·

当归芍药散对慢性盆腔炎大鼠外周血 Th、Tc 细胞和 NO、IL-4、IL-10 的影响

高升^{1,2}, 高飞³, 闫亚楠¹, 任存霞¹ (1. 内蒙古医科大学中医学院, 内蒙古 呼和浩特市 010110; 2. 卓资县人民医院中医科, 内蒙古 卓资 012300; 3. 乌兰察布市中心医院, 内蒙古 乌兰察布市 010026)

摘要: 目的 从 T 细胞亚群及细胞因子的角度探究当归芍药散对慢性盆腔炎大鼠模型的作用机制。方法 采用混合菌感染合并机械损伤法制备慢性盆腔炎大鼠模型, 对 60 只雌性大鼠随机分为正常组, 模型组, 金刚藤胶囊组, 当归芍药散高、中、低剂量组。用药 14 d 后, 观测子宫病理组织改变; 流式细胞术测定外周血 CD3、CD4、CD8 细胞, 辅助性淋巴细胞(Th 细胞), 细胞毒性淋巴细胞(Tc 细胞)细胞数量百分比; 测定血清中一氧化氮(NO)、白细胞介素(IL)-4、IL-10 的含量。结果 光学显微镜观测显示, 当归芍药散高、中、低剂量组可以降低大鼠子宫内膜的炎症细胞浸润, 促进病变上皮细胞增生修复; 当归芍药散高、中剂量组可以显著性升高 Th、CD3、CD4 细胞, Th/Tc, CD4/CD8, 降低 Tc 细胞, CD8 细胞($P < 0.05$); 当归芍药散高、中剂量组可以显著性升高 IL-4、IL-10 含量, 降低 NO 含量($P < 0.05$); 与金刚藤胶囊组比较, 高剂量组可以非常显著升高 IL-4 含量($P < 0.01$), 显著降低 NO 含量($P < 0.05$)。结论: 当归芍药散可能通过改善免疫状态, 降低炎症反应以发挥治疗慢性盆腔炎的作用。

关键词: 当归芍药散; 慢性盆腔炎; 辅助性淋巴细胞、细胞毒性淋巴细胞; 一氧化氮、白细胞介素-4、白细胞介素-10

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2016)04-

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783. 2016. 04

Effect of Danggui-Shaoyao-San on Th, Tc cell and nitric oxide, interleukin-4, interleukin-10 levels in peripheral blood of rats with chronic pelvic inflammatory disease

Gaosheng^{1, 2}, Gaofei³, Yan Yanan¹ Ren Cunxia¹ (1. College of traditional Chinese medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, 010110 Inner Mongolia, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Zhuozhi People's Hospital, Wulanchabu, 012300 Inner Mongolia, China; 3. Traditional Chinese medicine pharmacy, Wulanchabu Central Hospital, Wulanchabu, 010026 Inner Mongolia, China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of Danggui Shaoyao San (DSS) on chronic pelvic inflammatory disease (CPID) through T-cell subsets and cytokines. Methods: Rat models of CPID were established by mixed bacterial infection and mechanical damage, sixty female rats were randomized into the normal group, CPID model group, Jingangteng capsule group, and high-, medium-, and low-dose DSS group. After 14 days of treatment, pathological changes of the uterus was observed, the percentage of CD3, CD4, CD8, Th, Tc in peripheral blood was measured by flow cytometry, the levels of nitric oxide (NO), interleukin-4 (IL-4) and IL-10 in the blood serum were examined. Results: DSS at the 3 doses reduced the inflammatory cell infiltration in the endometrium, promoted epithelial cell proliferation. High and medium doses of DSS significantly increased Th, CD4, CD3, Th/Tc, CD4/CD8, while markedly decreased Tc, CD8 ($P < 0.05$). High and medium doses of DSS obviously increased IL-4,

收稿日期: 2015-11-18

作者简介: 高升, 男, 硕士, 研究方向: 经方治疗妇科疾病及免疫机制研究。Email: gaosheng8766@163.com。通讯作者: 任存霞, 女, 教授, 研究方向: 经方治疗妇科疾病及免疫机制研究。Email: rcxss@163.com。

项目基金: 内蒙古自治区自然科学基金(2014MS0837)

邮箱为gaosheng8766@qq.com

IL-10 expression level, and markedly decreased NO expression level ($P < 0.05$). Compared with Jingangteng capsule group, IL-4 levels of rats in high-dose DSS group increased obviously ($P < 0.01$), and NO levels decreased dramatically ($P < 0.05$). Conclusion: DSS can improve the immune state and reduce the inflammatory reaction, which may play major roles in treatment of CIPD.

Keywords: Danggui Shaoyao San; Chronic pelvic inflammatory disease; Helper T Lymphocytes; Cytotoxic T Lymphocytes; nitric oxide; interleukin-4; interleukin-10

慢性盆腔炎(Chronic Pelvic Inflammatory Disease, CPID)是一种妇科常见的临床综合征,是发生在女性内生殖器及周围结缔组织的慢性非特异性的炎症性疾病,包括子宫内膜炎、输卵管炎、盆腔腹膜炎等^[1]。该病较顽固,易反复发作,迁延难愈,可能导致慢性盆腔痛、不孕、异位妊娠、输卵管卵巢脓肿等,并且增加患输卵管癌、卵巢癌和卵巢边缘肿瘤的风险^[2-3]。当归芍药散出自仲景《金匱要略》,为治疗“妇人腹中痛”而设,具有调血疏肝、健脾利湿的功效。现在该方已被广泛运用于诸如月经不调、不孕、痛经、子宫内膜异位症等妇科疾病^[4]。在慢性盆腔炎的治疗过程中,当归芍药散也显示出很好的疗效^[5],同时具有免疫调节和消除氧自由基的作用^[6-7]。本实验通过复制慢性盆腔炎大鼠模型,从免疫学角度阐述当归芍药散治疗慢性盆腔炎的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级 Wistar 大鼠 60 只,雌性,体质量(200 ± 20)g,由内蒙古大学动物研究中心提供,许可证号:SCXK(蒙)2001-0001。实验前将动物在动物饲养房适应性喂养 7 d,室温 $18 \sim 24\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $50\% \sim 70\%$ 。

1.2 药物 当归芍药散(当归 10 g,赤芍 30 g,川芎 15 g,白术 12 g,茯苓 12 g,泽泻 15 g),饮片由内蒙古乌兰察布市中心医院中药房提供并鉴定。按汤剂制备方法煎煮,水煎液浓度 $2.19\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,为生药量。金刚藤胶囊,湖北福人药业股份有限公司,批号:20141125。

1.3 试剂 大肠埃希菌(菌株号:ATCC35218)、金黄色葡萄球菌(菌株号:ATCC25923)、乙型溶血性链球菌(菌株号:ATCC21059),由内蒙古医科大学微生物实验室复苏菌株。临用前将大肠埃希菌、溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌按体积 $2:1:1$ 用无菌生理盐水配制成菌液浓度为 $3 \times 10^9\text{ mL}^{-1}$ 的混合悬液;水合氯醛,国药集团化学试剂有限公司,批号:20150203;Anti-Rat CD3 FITC(批号:E00052-1634),Anti-Rat

CD4 PE(批号:E17435-102),Anti-Rat CD8a PE(批号:E01045-1634),Flow Cytometry Staining Buffer Solution(批号:E00015-1643),RBC Lysis Buffer (Multi-species)10 $\times$ (批号:E12748-111),美国 eBioscience 公司;白介素-4(IL-4)ELISA 检查试剂盒(批号:20150513),白介素-10(IL-4)ELISA 检查试剂盒(批号:20150609),武汉基因美生物科技有限公司;一氧化氮(NO)测试盒(批号:20150605),南京建成生物工程研究所。

1.4 仪器 BD FACSCalibur 流式细胞仪,美国 BD 公司;RT-6000 酶标分析仪,深圳雷杜公司,DR6000 分光光度计,美国 HACH 公司;Eclipse E200 显微镜,日本 Nikon 公司。

1.5 分组、CPID 模型复制及给药 大鼠适应性饲养 14 d,除正常组 10 只大鼠外,余下大鼠均采用混合细菌感染加机械损伤法造模,实验前禁食不禁水 12 h,用 10%水合氯醛($30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)进行腹腔注射麻醉,用刀片刮去腹部被毛,碘伏消毒 2 遍,下腹部耻骨联合上方 1.0 cm 处正中纵向切开约 $1 \sim 1.5\text{ cm}$ 小口,开腹后暴露子宫。抽取 0.2 mL 混合细菌悬液,每侧宫腔注入 0.1 mL 菌液,注入菌液之前用针头划伤子宫内膜,注毕,将子宫回纳腹腔,分层缝合切口,再次消毒手术区^[8]。动物苏醒后,常规喂养,将 CPID 模型大鼠随机分为模型组,当归芍药散高、中、低剂量组(按成人体质量以 60 kg 计,每天临床用药量为 94 g,剂量为 $1.57\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,大鼠给药高、中、低剂量分别按临床用量的 14, 7, 3.5 倍计算,即含生药量分别为 21.94 、 10.97 、 $5.49\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),金刚藤胶囊组(按临床用量的 7 倍计算,为 $0.7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。灌胃给药,给药体积为 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。正常组及模型组给予等量生理盐水,每日 1 次,连续用药 14 d。于造模后 30 d 开始给药。

1.6 观测指标 于给药第 15 天,大鼠眼眶采血,用微量采血管(0.1% 肝素溶液浸泡风干)导引收取抗凝全血 0.5 mL,进行流式细胞学检查,具体步骤严格按照流式细胞术规定步骤进行^[9],以测定各组全血中

T淋巴细胞亚群的比例;以10%水合氯醛(30 mg·kg⁻¹)腹腔注射麻醉大鼠后,心脏取血3~5 mL,静置30 min,离心后抽取血清做IL-4、IL-10和NO含量测定。IL-4和IL-10含量测定采用酶联免疫法,NO含量测定采用硝酸还原酶法,均按照试剂说明书测定;摘取双侧子宫,浸泡于福尔马林液中固定,石蜡包埋切片,HE常规染色,光学显微镜下观测子宫的病理学改变情况,包括子宫腔壁结构改变,上皮细胞增生,炎性细胞浸润及内膜充血等,依据炎性细胞浸润及腺上皮改变情况,进行组织学评分,分为无(-)、轻度(+)、中度(++)、重度(+++)4级,分别记为0,1,2,3分^[10]。

1.7 统计学处理 使用软件SPSS13.0进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较,方差齐时采用LSD检验,方差不齐时采用Dunnett's T3法;病理评分采用非参数的秩和检验。 $P<0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 子宫组织病理学观测

光学显微镜下观测显示,

正常组子宫内膜完整,无充血及水肿表现,腔壁各层结构清晰,腺体结构正常(图1A);模型组子宫内膜充血、水肿,腔壁结构紊乱,黏膜固有层变薄,甚至消失,腺体萎缩减少,上皮细胞部分变形坏死或脱落,全层见慢性炎细胞浸润,以淋巴细胞多见(图1B);金刚藤胶囊组子宫内膜轻微充血,黏膜固有层变薄,腺体上皮轻度增生,固有层有中等量慢性炎细胞浸润(图1C);当归芍药散低剂量组子宫内膜充血,黏膜固有层变薄,腺体上皮增生,腺体减少,固有层和肌层仍有慢性炎细胞浸润(图1D);当归芍药散汤剂中剂量组子宫内膜轻微充血,腺体上皮极性排列,轻度增生,固有层有少量慢性炎细胞浸润(图1E);当归芍药散汤剂高剂量组腔壁结构轻度改变,大部分腺体恢复,腺体上皮轻度增生,固有层轻微慢性炎细胞浸润(图1F)。子宫病理组织积分结果显示,与模型组相比较,当归芍药散汤剂中、高剂量组子宫病理变化显著改善($P<0.05$),且有一定的量效关系。金刚藤胶囊组也有显著的治疗作用($P<0.05$),但淋巴细胞减少及浸润改善情况不如当归芍药散汤剂高剂量组明显,见表1。

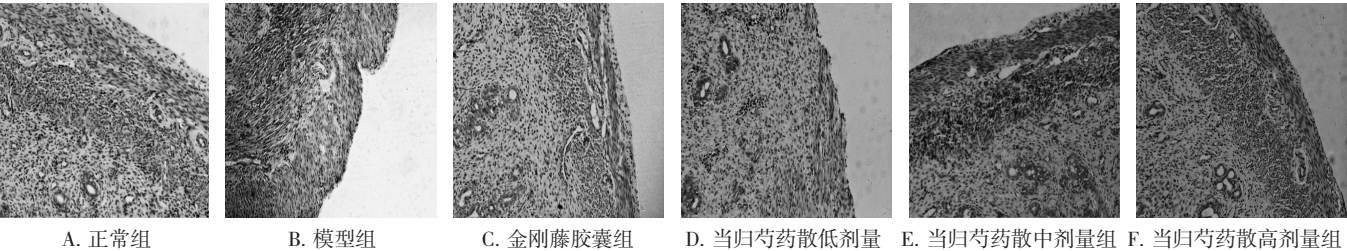


图1 大鼠子宫组织病理学观测(HE染色, ×100倍)

Figure 1 Pathological observation by HE staining in rat uterine tissues

表1 当归芍药散对各组大鼠子宫病理组织积分的影响

Table 1 Effect of DSS on uterine Pathological scores

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	HE染色结果例数				阳性 积分	平均 秩次
		-	+	++	+++		
正常组		18	2	0	0	2	15.40
模型组		0	2	4	14	52	91.90*
金刚藤组	0.70	1	4	11	4	38	67.75#
当归芍药散低剂量组	21.94	0	3	8	9	46	81.25
当归芍药散中剂量组	10.97	2	5	11	2	33	59.65#
当归芍药散高剂量组	5.49	4	7	9	0	25	47.05#

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

2.2 全血T淋巴细胞亚群的阳性率检查 CD3淋巴细胞亚群的流式术检测散点图见图2、图3。Q2+Q3区为CD3细胞比例。CD4淋巴细胞亚群的流式术检测

散点图见图2。Q2区为辅助性淋巴细胞(Th细胞)比例;Q1+Q2区为CD4细胞比例;CD8淋巴细胞亚群的流式术检测散点图见图3。Q2区为辅助细胞毒性淋巴细胞(Tc细胞)比例;Q1+Q2区为CD8细胞比例。与正常组比较,模型组外周血Th细胞、CD3细胞、CD4细胞、Th/Tc、CD4/CD8显著升高,Tc细胞、CD8细胞显著下降($P<0.01$)。当归芍药散高、中剂量组可以显著性升高Th细胞、CD3细胞、CD4细胞、Th/Tc、CD4/CD8,降低Tc细胞、CD8细胞($P<0.01$, $P<0.05$),见表2、表3。

2.3 血清IL-4、IL-10和NO水平检测 与正常组比较,模型组血清IL-4、IL-10明显下降,NO水平明显上升($P<0.01$)。当归芍药散高、中剂量组可以显

加入“HE染色结果例数”。

5.49

21.94

21.94

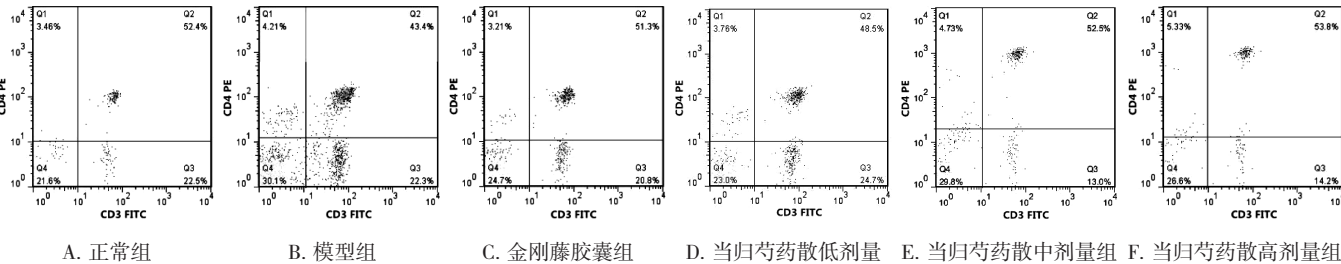


图 2 CD4 淋巴细胞亚群流式鉴定

Figure 2 Detection of CD4 lymphocyte subpopulation by flow cytometry

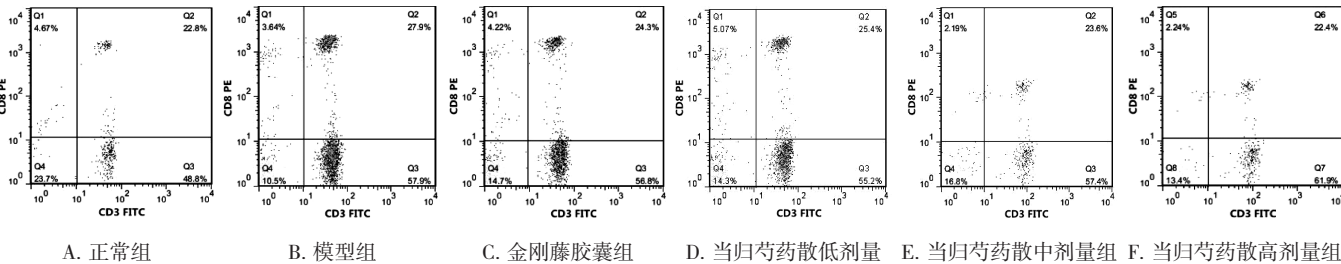


图 3 CD8 淋巴细胞亚群流式鉴定

Figure 3 Detection of CD8 lymphocyte subpopulation by flow cytometry

表 2 当归芍药散对大鼠 CPID 模型外周血 Th 细胞、Tc 细胞比例的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of DSS on proportion of Th and Tc cell in peripheral blood of the CPID model rats

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Th 细胞 /%	Tc 细胞 /%	Th/Tc
正常组		52.72 ± 4.58	22.03 ± 2.91	2.43 ± 0.41
模型组	5.49	44.45 ± 5.18**	27.78 ± 2.09**	1.61 ± 0.22**
金刚藤组	0.7	50.81 ± 4.03 ^{##}	23.84 ± 2.37 ^{##}	2.15 ± 0.30 ^{##}
当归芍药散低剂量组	21.94	48.30 ± 4.49	25.55 ± 2.51 [#]	1.91 ± 0.27 [#]
当归芍药散中剂量组	10.97	49.67 ± 3.61 [#]	24.90 ± 2.64 [#]	2.01 ± 0.24 ^{##}
当归芍药散高剂量组	5.49	52.78 ± 4.11 ^{##}	22.06 ± 2.17 ^{##}	2.42 ± 0.32 ^{##}

注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ 。

21.94

著性升高 IL-4、IL-10 含量，降低 NO 含量($P < 0.05$)。高剂量组对 IL-4、NO 的作用优于金刚藤组($P < 0.01, P < 0.05$)，见表 4。

3 讨论

CPID 是盆腔及周围组织炎症性疾病的终末阶段，由急性炎症演变发展而来，研究发现疾病此阶段大部分已无病原体存在，发病机制是由于病原体感染后，机体发生免疫反应所致，免疫失衡、免疫功能异常是慢性盆腔炎发病的根本原因^[1]。

目前，CPID 动物模型构建多采用机械损伤加细菌感染，此造模方法更贴近人类慢性盆腔炎的形成过程^[12-13]。本实验中，模型组可以观测到子宫与周围组织发生黏连，子宫充血水肿，甚至出现盆腔积液；

表 3 当归芍药散对各组大鼠外周血 CD3 细胞、CD4 细胞、CD8 细胞比例的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of DSS on proportion of CD3, CD4 and Tc cell in peripheral blood of the CPID model rats

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	CD3/%	CD4/%	CD8/%	CD4/CD8
正常组		73.14 ± 4.65	56.24 ± 4.03	27.23 ± 3.06	2.09 ± 0.26
模型组	5.49	65.81 ± 4.37**	48.70 ± 4.74**	32.77 ± 2.87**	1.50 ± 0.19**
金刚藤组	0.7	70.79 ± 3.98 [#]	54.81 ± 4.69 ^{##}	28.39 ± 2.65 ^{##}	1.95 ± 0.25 ^{##}
当归芍药散低剂量组	21.94	68.27 ± 4.95	51.65 ± 3.33	30.12 ± 3.15	1.74 ± 0.25 [#]
当归芍药散中剂量组	10.97	69.88 ± 3.85 [#]	53.30 ± 3.56 [#]	29.20 ± 3.40 [#]	1.85 ± 0.23 ^{##}
当归芍药散高剂量组	5.49	73.93 ± 4.58 ^{##}	56.47 ± 4.21 ^{##}	26.64 ± 2.60 ^{##}	2.13 ± 0.19 ^{##}

注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ，与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ 。

21.94

表 4 当归芍药散对各组大鼠血清 NO、IL-4、IL-10 含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of DSS on expression of NO, IL-4 and IL-10 in serum of the CPID model rats

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹	IL-4/ng·L ⁻¹	IL-10/ng·L ⁻¹
正常组		35.74 ± 5.35	118.92 ± 8.94	75.62 ± 6.32
模型组	5.49	69.80 ± 12.73**	67.80 ± 6.10**	61.72 ± 5.23**
金刚藤组	0.7	53.23 ± 7.25 [#]	90.83 ± 6.54 ^{##}	71.70 ± 4.69 ^{##}
当归芍药散低剂量组	21.94	60.30 ± 7.88	85.38 ± 5.41 ^{##}	64.97 ± 5.52
当归芍药散中剂量组	10.97	51.98 ± 6.13 [#]	91.17 ± 7.00 ^{##}	68.63 ± 6.31 [#]
当归芍药散高剂量组	5.49	42.14 ± 5.24 ^{##△}	101.72 ± 3.85 ^{##△△}	73.75 ± 6.94 ^{##}

注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ ；与金刚藤组比较，[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ 。

21.94

病理 HE 染色图片显示, 子宫组织结构紊乱, 腺体破坏减少, 炎症细胞浸润, 提示造模成功。当归芍药散汤剂中、高剂量组对 CPID 病理损伤有较明显的作用, 当归芍药散高剂量组效果优于金刚藤胶囊组, 中剂量组效果与金刚藤胶囊组大致相同。

在慢性盆腔炎中, 外周血中 T 淋巴细胞亚群比例和数量可影响和反应局部组织的免疫功能和状态, T 细胞参与调节子宫组织黏膜中各类抗体分泌细胞的定向分化和细胞因子的分泌, 这对子宫组织病理改变及修复起重要作用^[14]。研究^[15]发现, CPID 模型大鼠 CD4/CD8 比值下降, 免疫细胞平衡失调, 免疫功能减弱。本研究结果也证实这一点, 与正常组比较, 模型组大鼠出现 Th、CD3、CD4 细胞比例减少, Th/Tc、CD4/CD8 比值下降, Tc、CD8 细胞增加, 提示 CPID 存在 Th 淋巴细胞功能减弱, Tc 淋巴细胞功能亢进, T 淋巴细胞亚群失衡现象。这导致炎性因子持续存在并且损伤组织, 引起子宫组织黏膜增生和黏连。经过药物治疗后, Th/Tc、CD4/CD8 比值升高, 其中, 当归芍药散中、高剂量组可以显著地提高 Th/Tc、CD4/CD8 比值, 使 T 淋巴细胞亚群恢复平衡, 免疫功能趋于正常。

本研究中, 模型组大鼠抗炎因子 IL-4、IL-10 降低, NO 升高。NO 在慢性盆腔炎局部组织大量产生可能是导致组织损伤的重要原因之一^[16], 提示 CPID 存在细胞因子表达紊乱。而当归芍药散中、高剂量组可以显著地升高 IL-4、IL-10 含量, 降低 NO 含量。本研究前期显示^[12], 模型组大鼠子宫组织炎性因子 IL-1、TNF- α 升高, 当归芍药散可显著降低 CPID 模型大鼠子宫组织 IL-1 及 TNF- α 的表达含量, 表明其具有降低炎性因子损伤组织的作用。综上所述, 慢性盆腔炎发生发展过程中, 存在炎性因子与抗炎因子的动态平衡紊乱, 当归芍药散可以纠正抗炎因子/致炎因子失衡。

研究表明, 当归芍药散对 CPID 大鼠病理损伤有明显治疗作用, 可以明显改善 CPID 免疫状态, 降低炎症反应。推测其作用机制可能有以下几点: ①提高 Th 细胞, 使免疫趋向稳定, 降低 Tc 细胞, 减少对组织细胞的损伤; ②提高抗炎因子的含量, 抑制炎症的发展, 促进组织再生和修复; ③降低 NO 含量,

减少其对细胞的毒性反应, 保护细胞免受侵害。

参考文献:

- [1] Mitchell C, Prabhu M. Pelvic inflammatory disease: current concepts in pathogenesis, diagnosis and treatment[J]. Infectious Disease Clinics of North America, 2013, 27(4): 793-809.
- [2] Zardawi IM. Primary fallopian tube carcinoma arising in the setting of chronic pelvic inflammatory disease [J]. Case Reports in Medicine, 2014, 2014: 645045.
- [3] Rasmussen CB, Faber MT, Jensen A, et al. Pelvic inflammatory disease and risk of invasive ovarian cancer and ovarian borderline tumors[J]. Cancer Causes & Control, 2013, 24(7): 1459-1464.
- [4] 刘娟, 杨正望. 当归芍药散治疗妇科疾病举隅[J]. 河南中医杂志, 2013, 29(3): 82-83.
- [5] 戴璐, 张思超. 当归芍药散治疗慢性盆腔炎 40 例[J]. 山东中医药大学报, 2011, 35(1): 49-50.
- [6] 华永庆, 段金廛. 当归芍药散调控神经-内分泌-免疫网络研究进展[J]. 药学与临床研究, 2009, 17(5): 390-393.
- [7] Liu IM, Tzeng TF, Liou SS, et al. Beneficial effect of traditional chinese medicinal formula danggui-shaoyao-san on advanced glycation end-product-mediated renal injury in streptozotocin-diabetic rats [J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2012, 2012(1): 153-174.
- [8] 李丹平, 涂志超, 聂晶, 等. 中华秋海棠对大鼠慢性盆腔炎的作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(10): 166-169.
- [9] Jones RC, Capen DE, Cohen KS, et al. A protocol for phenotypic detection and characterization of vascular cells of different origins in a lung neovascularization model in rodents[J]. Transplantation, 2008, 3(3): 388-397.
- [10] 张海琴. 慢性盆腔炎的证候规律调查及活血化痰法调节 T 细胞亚群和红细胞免疫的实验研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2006: 44-45.
- [11] 李世蓉, 张三元. 盆腔炎性疾病发病机制的现代研究[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26: 4298-4301.
- [12] 张志鹏, 高升, 任存霞. 当归芍药散对慢性盆腔炎模型大鼠分子免疫调控的影响[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(11): 2684-2686.
- [13] 黄丽, 孙培文, 罗隽, 等. 慢性盆腔炎模型的建立与评价[J]. 中南药学, 2010, 8(6): 469-471.
- [14] 杨义娣, 王少蕾. 坤复康胶囊对盆腔炎大鼠 T 细胞亚群的影响[J]. 吉林医学, 2008, 29(11): 921-922.
- [15] 张海琴, 刘瑞芬. 桂枝茯苓胶囊对慢性盆腔炎大鼠 T 细胞亚群和红细胞免疫功能的影响[J]. 中国药理与临床, 2013, 29(2): 6-7.
- [16] 闻莉. 慢盆宁对实验性盆腔炎性疾病组织中一氧化氮参与非特异性免疫损伤的研究[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(6): 577.

(编辑: 梁进权)

细胞后面
插入“比
例”二
字。