

# 刺五加调控 p38MAPK 信号通路对顺铂所致小鼠耳毒性的防护作用

胡文良 孙学威 郑艳秋

(内蒙古医科大学附属医院耳鼻喉头颈外科,呼和浩特,010000)

**摘要** 目的:探讨刺五加对顺铂所致小鼠耳毒性的防护作用及对 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号通路的调控作用。方法:将 BALB/c 小鼠根据随机数字表法随机分为空白组、模型组和实验组,每组 15 只。除空白组小鼠外,其余 3 组小鼠均腹腔注射顺铂 4 mg/kg,同时实验组预先给予腹腔注射刺五加 4 mL/kg,空白组给予等量生理盐水干预,3 组小鼠干预 5 d 后进行指标的检测及评价。检测 3 组小鼠听性脑干反应(ABR)阈值及耳蜗组织细胞凋亡情况,蛋白免疫印迹法检测 3 组小鼠耳蜗组织细胞 p38MAPK 信号通路相关蛋白表达情况。结果:与空白组比较,模型组 8 Hz、12 Hz、24 Hz 小鼠 ABR 阈移升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与模型组比较,实验组 ABR 阈移降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。空白组、模型组和实验组小鼠螺旋神经节细胞凋亡指数(AI)分别为(2.33 ± 0.54)、(19.76 ± 0.84)、(6.97 ± 0.77),蛋白免疫印迹法检测显示,空白组、模型组及实验组螺旋神经节 p-p38MAPK 蛋白相对表达分别为(0.22 ± 0.03)、(0.93 ± 0.02)、(0.64 ± 0.04);磷酸化环磷腺苷反应元件结合蛋白(p-CREB)相对表达分别为(0.19 ± 0.04)、(0.84 ± 0.05)、(0.43 ± 0.02),与模型组比较,空白组和实验组 AI 及螺旋神经节 p-p38MAPK、p-CREB 蛋白表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:刺五加可对顺铂所致小鼠耳毒性起到保护作用,其机制与调控 p38MAPK 信号通路蛋白表达抑制耳蜗细胞凋亡程序的发生有关。

**关键词** 刺五加;耳毒性;顺铂;p38MAPK 信号通路;细胞凋亡

## Protective Effects of Radix et Caulis Acanthopanax Senticosi on Cisplatin-Induced Ototoxicity in Mice by Regulating p38MAPK Signaling Pathway

Hu Wenliang, Sun Xuewei, Zheng Yanqiu

(Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, China)

**Abstract Objective:** To investigate the protective effect of Radix et Caulis Acanthopanax Senticosi on cisplatin-induced ototoxicity in mice and the regulation of p38MAPK signaling pathway. **Methods:** According to body mass stratification, BALB/c mice were divided into a blank group, a model group and an experimental group, with 15 mice in each group. In addition to the blank group, all the mice in the other groups were intraperitoneally injected with DDP 4 mg/kg, while the experimental group was given the same amount of saline in advance by intraabdominal injection of Radix et Caulis Acanthopanax Senticosi 4 mL/kg. The indexes were detected and evaluated after 5 days of intervention in each group. The threshold of auditory brainstem response (ABR) and apoptosis of cochlear tissue cells were detected. The expression of p38MAPK signal pathway-related protein in cochlear tissue cells was detected by Western blot. **Results:** Compared with the blank group, the ABR threshold shift in the model group increased at 8 Hz, 12 Hz and 24 Hz ( $P < 0.05$ ), and compared with model group, ABR threshold in the experimental group decreased ( $P < 0.05$ ). The AI of spiral ganglion cells in the blank group, the model group and the experimental group were (2.33 ± 0.54), (19.76 ± 0.84), (6.97 ± 0.77), respectively. WB detection showed that the relative expression of p-p38MAPK protein in spiral ganglion cells in the blank group, the model group and the experimental group were (0.22 ± 0.03), (0.93 ± 0.02), (0.64 ± 0.04), and the relative expression of p-CREB protein was (0.19 ± 0.04), (0.84 ± 0.05), (0.43 ± 0.02), respectively. Compared with the model group, the expression levels of AI and p-p38MAPK, p-CREB in the spiral ganglion of the blank group and the experimental group were significantly different ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Radix et Caulis Acanthopanax Senticosi has protective effect on cisplatin-induced ototoxicity in mice. Its mechanism is related to regulating the expression of p38MAPK signaling pathway and inhibiting the apoptotic process of cochlear cells.

**Key Words** Radix et Caulis Acanthopanax Senticosi; Ototoxicity; Cisplatin; p38MAPK signaling pathway; Apoptosis

中图分类号:R283 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.11.017

基金项目:内蒙古医科大学科技百万工程项目(KJbw2013014)

作者简介:胡文良(1969.04—),男,硕士研究生,主任医师,研究方向:鼻息肉及耳聋耳鸣的治疗,E-mail:13664881598@163.com

顺铂(Cisplatin)化学名称为二氯二氨合铂,是目前国内外公认的具有广谱抗癌作用的一线药物,其是以二价铂为中心的一种重金属络合物,与多种抗肿瘤药物相协同且无交叉耐药性,广泛用于临床多种实体肿瘤的治疗,如头颈癌、肺癌和卵巢癌等<sup>[1-2]</sup>。然而临床不容忽视的一个问题是顺铂耳毒性不良反应较为严重,可导致双侧耳不可逆性听力丧失<sup>[3]</sup>,且目前相关作用机制尚不明确。刺五加又名五加参,是五加科植物刺五加的根或茎,性温、味辛、微苦、归脾、肾、心经;主要应用于冠心病心绞痛、脑出血、高脂血症、眩晕症、慢性气管炎及围绝经期综合征等多种疾病的临床治疗<sup>[4-5]</sup>。因此,尝试采用刺五加治疗顺铂所致小鼠耳毒性,并初步观察其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 健康清洁级 BALB/c 小鼠,8 周龄,体质量 20 ~ 25 g;购于中国医科大学实验动物中心,许可证号:SYXK(辽)2018-0008。小鼠均分笼饲养,普通饲料喂养,自由饮水,动物房温度 18 ~ 25 °C,湿度 50% ~ 75%,12 h 交替光照。

1.1.2 药物 刺五加注射液(黑龙江金九药业股份有限公司,国药准字 Z23020808);顺铂(南京制药有限公司,国药准字 H20080177,批号:20131004)。

1.1.3 试剂与仪器 磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38 MAPK)、磷酸化环磷腺苷反应元件结合蛋白(p-CREB)抗体(美国 Santa Cruz 公司)等;CKX-31 荧光倒置相差显微镜,日本 Olympus 公司;FZ-10002 电子天平,上海凡展衡器有限公司;TDZ4-WS/TDZ4WS 台式低速自动平衡离心机,湖南湘仪离心机厂;PAC1000 型蛋白电泳及转印系统,美国 Bio-Rad 公司。

### 1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 将 BALB/c 小鼠根据随机数字表法随机分为空白组、模型组和实验组,每组 15 只。除空白组小鼠外,其余 3 组小鼠均腹腔注射顺铂 4 mg/kg,1 次/d,连续注射 5 d。

1.2.2 给药方法 实验组小鼠在腹腔注射顺铂前 30 min 预先给予腹腔注射刺五加 4 mL/kg,空白组给予等量生理盐水干预,3 组小鼠干预 5 d 后进行指标的检测及评价。

1.2.3 检测指标与方法 1)3 组小鼠听性脑干反应(ABR)阈值的检测:将 3 组小鼠腹腔麻醉后,参考相关文献<sup>[6]</sup>进行 ABR 阈值的检测,刺激声为疏密相

交替的次/秒的短声,测试强度从 95 dB nHL 开始,5 dB 为 1 档逐级下降进行测试,ABR 阈值判定以刚有 I 波为准,同一刺激频率下给药前后的反应阈差值记为 ABR 阈移。2)3 组小鼠耳蜗组织细胞凋亡情况:断头处死 3 组小鼠,暴露耳蜗,小心将蜗内组织及蜗轴取出,一部分置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,并制备石蜡切片,切片常规脱蜡至水,加入蛋白酶 K 工作液 37 °C 反应 30 min,磷酸缓冲盐溶液(PBS)漂洗后浸入封闭液中,室温封闭 10 min,滴加 50 μL 末端脱氧核苷酸转移酶反应液,37 °C 湿润避光反应 60 min。滴加 50 μL 链霉亲和素-辣根过氧化物酶工作液,37 °C 湿润避光反应 30 min。滴加 DAB 工作液,室温显色反应 10 min。苏木素复染,常规脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。参照 TUNEL 试剂盒的操作说明,以细胞核呈棕黄色或棕褐色染色为凋亡细胞,分别计数高倍视野下 100 个细胞中凋亡细胞数为凋亡指数(AI)。3)检测 3 组小鼠耳蜗组织 p38MAPK 通路蛋白表达情况<sup>[7]</sup>:取部分蜗内组织,加入裂解液后冰上裂解 30 min,BCA 法定量后,取 50 μg 进行常规蛋白免疫印迹法(WB)检测,经图像分析系统分析 3 组细胞 p-p38MAPK、p-CREB 表达情况。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据,计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用独立样本 *t* 检验,计数资料用频数表示,用  $\chi^2$  检验;以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 3 组小鼠 ABR 阈值的影响 与空白组比较,模型组 8 Hz、12 Hz、24 Hz 小鼠 ABR 阈移升高( $P < 0.05$ ),与模型组比较,实验组 ABR 阈移降低( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 3 组小鼠 ABR 阈移比较( $\bar{x} \pm s$ , dB)

组别	8 Hz	12 Hz	24 Hz
空白组( $n=15$ )	2.78 ± 1.32	1.69 ± 1.21	2.56 ± 1.03
模型组( $n=15$ )	56.62 ± 10.32*	62.34 ± 11.25*	59.36 ± 11.28*
实验组( $n=15$ )	32.15 ± 5.69* <sup>△</sup>	30.26 ± 6.48* <sup>△</sup>	29.68 ± 7.12* <sup>△</sup>

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

2.2 3 组小鼠螺旋神经节细胞凋亡比较 空白组螺旋神经节细胞形态清晰,细胞凋亡现象少;模型组螺旋神经节细胞核呈现棕黄色,凋亡现象明显,实验组凋亡现象较模型组明显减少,细胞形态清晰。模型组小鼠螺旋神经节 AI 较空白组升高,且实验组低于模型组( $P < 0.05$ )。见表 2。

2.3 3 组小鼠螺旋神经节中 p38MAPK 信号通路相

关蛋白表达比较 模型组螺旋神经节 p-p38MAPK、p-CREB 蛋白相对表达量较空白组升高,而实验组较模型组降低( $P < 0.05$ )。见表 3、图 2。

表 2 3 组小鼠螺旋神经节细胞 AI 比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	AI
空白组( $n=15$ )	2.33 ± 0.54
模型组( $n=15$ )	19.76 ± 0.84*
实验组( $n=15$ )	6.97 ± 0.77* $\Delta$

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

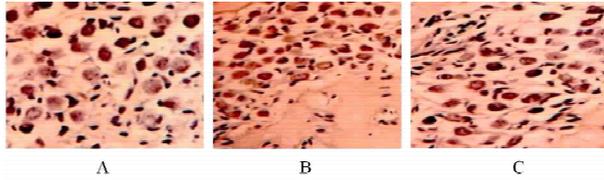


图 1 3 组小鼠螺旋神经节细胞凋亡情况 (TUNEL 染色法,  $\times 400$ )

注:A:空白组;B:模型组;C:实验组

表 3 3 组小鼠螺旋神经节 p38MAPK 信号通路 相关蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	p-p38MAPK/GADPH	p-CREB/GADPH
空白组( $n=15$ )	0.22 ± 0.03	0.19 ± 0.04
模型组( $n=15$ )	0.93 ± 0.02*	0.84 ± 0.05*
实验组( $n=15$ )	0.64 ± 0.04* $\Delta$	0.43 ± 0.02* $\Delta$

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

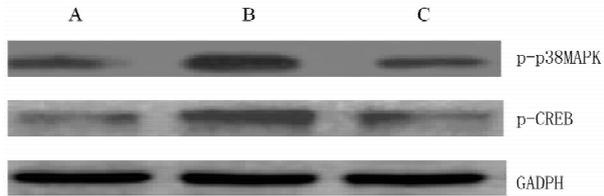


图 2 3 组螺旋神经节中 p38MAPK 信号通路 相关蛋白表达比较

注:A:空白组;B:模型组;C:实验组

### 3 讨论

铂类化疗药物在临床应用中除对肿瘤的高活性外,胃肠道毒性、神经毒性、肾毒性、耳毒性等不良反应也是不容忽视的问题,严重影响肿瘤患者的生活质量<sup>[8]</sup>。近临床已采取相应措施防控铂类药物的肾毒性,但对于耳毒性的防治手段则较为落后,主要是因为对铂类药物耳毒性的发生机制尚不清楚。因此深入探讨铂类药物耳毒性机制对于耳毒性的防治提供依据尤为重要。

顺铂耳毒性的基本病因之一是内耳微循环障碍造成耳蜗缺血、缺氧、自由基产生增多而使耳蜗内的结构受到损伤,刺五加注射液主要成分为刺五加总黄酮,是由刺五加的茎叶制成中药制剂,多用于治疗缺血性心脑血管疾病,其药理作用包括扩张血管、促

进和改善微循环、增加器官的血流量、减少组织耗氧量、清除自由基、调节机体新陈代谢和提高组织对缺氧的耐受性等<sup>[9-10]</sup>。本研究结果显示,连续 5 d 腹腔注射顺铂后,模型组小鼠 8 Hz、12 Hz、24 Hz 小鼠 ABR 阈移明显高于空白组,表明经顺铂干预后小鼠出现明显的听力下降现象,而在实验组经刺五加注射液预处理后小鼠 ABR 阈移显著低于模型组。提示刺五加注射液可能通过增加耳蜗的血液循环、改善内耳缺血缺氧状态而减轻顺铂所致的毒性作用。研究指出,顺铂可诱导耳蜗 NOX3 表达水平的升高,促使细大量生成活性氧及发生脂质过氧化,进而 MAPK/c-Jun 氨基末端激酶细胞凋亡信号级联,激活 Bcl-2 家族中促凋亡成员,使线粒体内细胞色素 C 释放入胞质,使 caspase-9 和 caspase-3 蛋白转录激活后诱导耳蜗细胞发生凋亡,最终造成听力丧失<sup>[11-13]</sup>。研究表明,刺五加多糖具有抗肿瘤、增强免疫力等作用<sup>[14-15]</sup>;刺五加叶皂苷通过开放 ATP 敏感性钾通道保护缺血心肌组织,降低组织损伤程度。张珊等<sup>[16]</sup>研究认为,刺五加注射液能抑制受损心肌细胞凋亡、减轻氧化应激损伤,有关有效减轻阿霉素诱导的大鼠心肌组织超微结构损伤,改善心功能。贾琳琳等<sup>[17]</sup>研究显示,刺五加注射液可通过抑制谷氨酸及其受体在耳蜗螺旋神经节中的过度表达,对螺旋神经节细胞起到保护作用。

本研究经 TUNEL 检测显示,模型组螺旋神经节细胞核呈棕黄色,凋亡现象明显,凋亡指数明显高于空白组,而实验组凋亡现象较模型组明显减少,细胞形态清晰,凋亡指数也较模型组明显降低。MAPK 是调控细胞多种生理病理过程的重要信号传导途径,在细胞外信号的刺激下 p38 MAPK 信号通路磷酸化,激活下游转录因子,进而调控细胞的增殖、炎症反应和凋亡<sup>[18]</sup>。顺铂可激活 MAPK 信号通路<sup>[19]</sup>;刘瑞婷等<sup>[20]</sup>发现,p38 MAPK 通路的激活可导致神经细胞凋亡,p38 MAPK 被磷酸化激活后,使效应细胞分泌多种细胞因子参与介导神经细胞损伤的过程。本研究结果显示,经刺五加注射液干预后实验组螺旋神经节 p-p38MAPK、p-CREB 蛋白相对表达量较模型组降低,提示其对顺铂导致的耳毒性的作用机制与调控 p38MAPK 信号通路蛋白表达抑制耳蜗细胞凋亡程序的发生有关。

综上所述,从听力学及耳蜗组织形态学等方面,本研究初步探讨了刺五加注射液拮抗顺铂耳毒性的作用,在后续的实验会增加关于刺五加注射液作用浓度及作用时间的研究,进一步明确药物的最佳

给药时间、浓度及方式等。

### 参考文献

- [1] 明帮春, 张书芳. 紫杉醇 + 顺铂化疗联合调强放疗治疗鼻咽癌的临床观察[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(8): 1254-1256.
- [2] 刘玲, 钟世寿, 李国苗. 复方苦参注射液联合顺铂治疗恶性胸腔积液疗效及不良反应观察[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(2): 230-232, 233.
- [3] 李鹏, 张奕, 符秋养, 等. 鼓室注射地塞米松拮抗顺铂耳毒性的研究[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2016, 24(4): 382-385.
- [4] 侯雅竹, 李志君, 毛静远, 等. 中药刺五加心血管药理研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(20): 2546-2549.
- [5] 徐向青, 徐向东, 宋婷, 等. 药对刺五加对慢性应激抑郁模型大鼠大脑 PKC-IP<sub>3</sub> 信号通路的影响[J]. 中医杂志, 2017, 58(5): 414-417.
- [6] 许露, 李燕. TUNEL 法探讨以“肝脾”为核心对高催乳激素血症模型大鼠卵巢颗粒细胞凋亡的影响[J]. 贵阳中医学院学报, 2017, 39(4): 11-14.
- [7] 蒋浩贤, 卢宇涵, 朱香菇, 等. 金匮肾气丸对庆大霉素致聋豚鼠耳蜗 GABA<sub>A</sub> 受体表达的影响[J]. 中国听力语言康复科学杂志, 2018, 16(2): 104-107.
- [8] Her ůdková J, Paruch K, Khirsariya P, et al. Chk1 Inhibitor SCH900776 Effectively Potentiates the Cytotoxic Effects of Platinum-Based Chemotherapeutic Drugs in Human Colon Cancer Cells[J]. Neoplasia, 2017, 19(10): 830-841.
- [9] 石雁, 陈勇新. 刺五加注射液合并氟西汀治疗阿尔茨海默病伴发抑郁的效果[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(1): 56-61.
- [10] 张中良, 罗素珍. 活血化痰汤加刺五加注射液治疗急性脑梗塞疗效观察[J]. 山西中医, 2017, 33(5): 37-38.
- [11] Sarafraz Z, Ahmadi A, Daneshi A. Transtympanic Injections of N-acetylcysteine and Dexamethasone for Prevention of Cisplatin-Induced Ototoxicity: Double Blind Randomized Clinical Trial[J]. Int Tinnitus

J, 2018, 22(1): 40-45.

- [12] Kim SJ, Park C, Lee JN, et al. Protective roles of fenofibrate against cisplatin-induced ototoxicity by the rescue of peroxisomal and mitochondrial dysfunction[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2018, 353: 43-54.
- [13] Benkafadar N, Menardo J, Bourien J, et al. Reversible p53 inhibition prevents cisplatin ototoxicity without blocking chemotherapeutic efficacy[J]. EMBO Mol Med, 2017, 9(1): 7-26.
- [14] 张娜, 毛迪, 安柏松, 等. 刺五加多糖对免疫性肝损伤 BALB/c 小鼠 IL-2、IL-4、INF- $\gamma$  细胞因子及 mRNA 表达的影响[J]. 药物评价研究, 2018, 41(4): 557-561.
- [15] 宋海玖, 石月萍. 刺五加叶皂苷对大鼠心肌缺血-再灌注损伤细胞凋亡及 p-ERK1/2 表达的影响[J]. 解放军医学院学报, 2014, 35(3): 273-275, 282.
- [16] 张珊, 郝春华, 葛一蒙, 等. 刺五加注射液改善阿霉素诱导大鼠心脏收缩功能下降的作用研究[J]. 中草药, 2018, 49(17): 4071-4077.
- [17] 贾琳琳, 张涤, 李佳明, 等. 刺五加注射液对庆大霉素耳中毒豚鼠耳蜗螺旋神经节中谷氨酸及其受体表达的影响[J]. 中成药, 2016, 38(1): 181-183.
- [18] Menon MB, Gropengießer J, Fischer J, et al. p38MAPK/MK2-dependent phosphorylation controls cytotoxic RIPK1 signalling in inflammation and infection[J]. Nat Cell Biol, 2017, 19(10): 1248-1259.
- [19] 刘玲, 李孟森, 李淑艳, 等. 低剂量顺铂通过 p38MAPK 介导的 DNMT1 下调降低 p21 与 p16 启动子甲基化上调 p21 与 p16 表达[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2016, 32(6): 649-655.
- [20] 刘瑞婷, 朱文瑛, 张琳, 等. p38MAPK 抑制剂对高糖诱导神经母细胞瘤细胞凋亡的作用及机制[J]. 山东医药, 2019, 59(1): 38-41.

(2019-09-05 收稿 责任编辑: 杨觉雄)

(上接第 2901 页)

- [7] 宋华, 佟奎鸿. 胃肠内外营养支持联合应用于老年肺癌化疗的效果观察[J]. 中国现代药物应用, 2018, 12(22): 18-19.
- [8] 刘宇, 毛正发, 杜波, 等. 营养支持治疗对肝癌患者术后恢复及远期生存的影响[J]. 肝胆胰外科杂志, 2018, 30(6): 457-461.
- [9] 丁叶. 早期肠内外营养支持及护理干预对食管癌根治术患者营养状态及胃肠道功能的影响[J]. 河南医学研究, 2018, 27(19): 3643-3644.
- [10] 刘文佳, 齐元富. 齐元富运用补中益气汤辨治肝癌验案 1 则[J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(6): 113-114.
- [11] 吴建业, 周欣雯, 丰银平. 加味补中益气汤联合苦参素注射液对进展期胃癌术后患者血清 sIL-2R、VEGF 水平变化及生存周期的影响[J]. 中国现代医生, 2018, 56(10): 5-7, 11.
- [12] 宋振民, 宋会群, 宋沛沛. 补中益气汤加减对胃癌术后气虚血瘀证胃肠功能恢复的影响[J]. 光明中医, 2018, 33(2): 215-217.
- [13] 李华. 参苓白术散联合补中益气汤加减治疗肿瘤化疗后红细胞、白细胞及血小板减少的临床分析[J]. 中国药物经济学, 2014(6): 36-37.
- [14] 郑操, 张荣胜, 潘勇, 等. 金龙胶囊与介入治疗原发性肝癌的疗

效及对 T 淋巴细胞亚群、肿瘤免疫因子的影响[J]. 现代消化及介入诊疗, 2018, 23(4): 506-509.

- [15] 王全晖, 张元浩, 袁守信, 等. 腹腔镜下肝部分切除术治疗原发性肝癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群和血清细胞因子水平的变化[J]. 实用肝脏病杂志, 2018, 21(5): 753-756.
- [16] 郭存丽, 毕玉美, 刘钊, 等. 肝细胞肝癌患者外周血 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞凋亡相关机制探讨[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(14): 2151-2155.
- [17] 范鏊钰, 刘琳, 饶咏梅. 调节性 B 淋巴细胞在肝脏疾病中的研究进展[J]. 免疫学杂志, 2017, 33(3): 258-262.
- [18] 张鹭, 李国坚, 吴继周. T 淋巴细胞亚群、自然杀伤细胞及 B 淋巴细胞的变化对肝癌家族聚集性影响的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(8): 1827-1829.
- [19] 于兰, 韩涛, 葛静. 胸腺肽  $\alpha_1$  联合肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌血清 IL-2、IL-4、T 细胞亚群影响[J]. 临床军医杂志, 2018, 46(8): 897-899, 902.
- [20] 陈巧玲, 杨秀云. 血清 TNF- $\alpha$  和 IL-6 含量联合检测在乙型肝炎和乙肝后肝癌中的诊断价值[J]. 社区医学杂志, 2018, 16(2): 7-8.

(2018-12-29 收稿 责任编辑: 杨觉雄)