

脾胃培源灌肠方 对 UC 大鼠 DOR、 β -arrestin1、Bcl-2 表达的影响

李学军¹, 俞红五¹, 吴婧¹, 陈亮亮¹, 金月萍¹, 李玉凤²

(1. 安徽中医药大学第二附属医院, 安徽 合肥, 230061;

2. 安徽中医药大学, 安徽 合肥, 230038)

[摘要] 目的: 研究脾胃培源灌肠方对 UC 大鼠 δ 阿片受体(DOR)、 β -arrestin1、Bcl-2 在结肠组织中表达的影响。方法: 雄性 SD 健康大鼠 120 只, 随机分为正常组, 模型组, 脾胃培源灌肠方大、中、小剂量组, 美沙拉嗪组, 每组 20 只。除正常组外, 其余组均采用 TNBS/乙醇法建立溃疡性结肠炎大鼠模型。正常组和模型组予 0.9% 氯化钠注射液 3mL/d 灌肠; 美沙拉嗪组予美沙拉嗪悬浊液 3mL/d 灌肠; 脾胃培源灌肠方大、中、小剂量组分别按含不同生药浓度(0.56g/L、0.28g/L、0.14g/L)的药液 3mL/d 灌肠, 持续 15d, 第 16 天处死大鼠。采用免疫组织化学法和 Real time-PCR 检测大鼠结肠组织 DOR、 β -arrestin1、Bcl-2 免疫阳性细胞表达及基因表达。结果: 与正常组比较, 模型组结肠组织 DOR、 β -arrestin1、Bcl-2 免疫阳性细胞表达和 mRNA 表达显著升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 脾胃培源灌肠方大、中、小剂量组和美沙拉嗪组 DOR、 β -arrestin1、Bcl-2 免疫阳性细胞表达和 mRNA 表达均降低($P < 0.05$)。结论: 脾胃培源灌肠方通过对 UC 大鼠 DOR、 β -arrestin1、Bcl-2 表达的影响从而发挥其治疗作用。

[关键词] 溃疡性结肠炎; 大鼠; DOR; β -arrestin 1; Bcl-2; 脾胃培源灌肠方; 实验研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.10.071

Effect of Piwei Peiyuan enema prescription on the expression of delta opioid receptor, β -arrestin 1, and Bcl-2 in rats with ulcerative colitis

LI Xue-jun¹, YU Hong-wu¹, WU Jing¹, CHEN Liang-liang¹, JIN Yue-ping¹, LI Yu-feng²

(1. The Second Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230061, Anhui, China;

2. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui, China)

Abstract: Objective: To investigate the effect of Piwei Peiyuan enema prescription on the expression of delta opioid receptor(DOR), β -arrestin 1, and Bcl-2 in colon tissue in rats with ulcerative colitis(UC). Methods: A total of 120 healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal group, model group, low-, medium-, and high-dose Piwei Peiyuan enema prescription groups, and mesalazine group, with 20 rats in each group. All rats except those in the normal group were treated with 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid/ethanol to establish a rat model of UC. The rats in the normal group and the model group were given enema with 0.9% sodium chloride injection, those in the mesalazine group were given enema with mesalazine suspension at a dose of 3mL/day, and those in the high-, medium-, and low-dose Piwei Peiyuan enema prescription groups were given enema with Piwei Peiyuan enema prescription 3mL/day at concentrations of crude drug of 0.56, 0.28, and 0.14 g/L, respectively; the course of treatment was 15 consecutive days for all groups, and the rats were sacrificed on day 16. Immunohistochemistry and real-time PCR were used to measure the number of DOR/ β -arrestin 1/Bcl-2-immunoreactive cells and the mRNA expression of DOR, β -arrestin 1, and Bcl-2. Results: Compared with the normal group, the model group had significant increases in the number of DOR/ β -arrestin 1/Bcl-2-immunoreactive cells and the mRNA expression of DOR, β -arrestin 1, and Bcl-2 in colon tissue($P < 0.05$). Compared with the model group, the high-, medium-, and low-dose Piwei Peiyuan enema prescription groups and the mesalazine group had significant reductions in the number of DOR/ β -arrestin 1/Bcl-2-immunoreactive cells and the mRNA expression of DOR, β -arrestin 1, and Bcl-2 in colon tissue($P < 0.05$). Conclusion: Piwei Peiyuan enema prescription exerts a therapeutic effect on rats with UC by affecting the expression of DOR, β -arrestin 1, and Bcl-2.

Key words: ulcerative colitis; rat; delta opioid receptor; β - arrestin 1; Bcl - 2; Piwei Peiyuan enema prescription; experimental study

溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)是由环境、感染和免疫等多种因素引起的慢性非特异性疾病^[1]。目前细胞因子在诸多信号转导通路中扮演着重要角色,在慢性非特异性疾病中的作用也至关重要。在细胞因子作用下, δ 阿片受体能通过多种方式诱导 β - arrestin1 转移至细胞核内, β - arrestin1 通过其对组蛋白乙酰化酶 p300 的募集等途径,促使促成 Bcl - 2 蛋白表达等路径,从而增加细胞因子凋亡抵抗,进而肠道黏膜的平衡被打破,最终导致 UC 的发生^[2-5]。目前 UC 的西医治疗存在疗效不稳、易复发等不足,临床经验方脾胃培源灌肠方通过灌肠方式治疗 UC,在改善患者症状、生活质量及肠镜下病变等方面疗效较好。本实验旨在研究脾胃培源灌肠方对 DOR、 β - arrestin1、Bcl - 2 表达的影响,以初步探讨该方治疗 UC 的作用机制。

1 实验材料

1.1 动物 雄性 SD 健康大鼠 120 只,体质量(210 $\pm$ 20)g,由安徽省实验动物中心提供,使用许可证号:SCXK(皖)2017 - 001,饲养于安徽中医药大学动物饲养中心。

1.2 药材及主要试剂 脾胃培源灌肠方药物组方中各味中药购自安徽中医药大学第二附属医院中药房;美沙拉嗪:法国爱的发制药集团生产(批号:161213);5% 的 2,4,6 - 三硝基苯磺酸(TNBS);Sigma 公司(批号:SLBT1675);DOR 多克隆抗体:bioss(批号:AD05213645); β - arrestin1 多克隆抗体:bioss(批号:AE061841);Bcl - 2 多克隆抗体:bioss(批号:AD072914);通用型二抗试剂盒(PV - 6000):北京中杉(批号:K136830B);逆转录试剂盒(RevertAidTM first Strand cDNA Synthesis Kit):Thermo 公司(批号:03.2018);QuantiFast SyBr Green PCR kit;Qiagen(批号:20180323);引物合成由生工生物工程(上海)股份有限公司生产。各检测指标引物序列如下:

rat β - actin Amplicon Size	Forward primer 5' - CCCATCTATGAGCGTTACCG - 3' Reverse primer 5' - TTTAATGTCACGCACGATTTC - 3'
rat DOR Amplicon Size	Forward primer 5' - GTGAGCACTGTGACATCGAC - 3' Reverse primer 5' - TCCAGGAAGCGTAGAGAAC - 3
rat β - arrestin - 1 Amplicon Size	Forward primer 5' - TCTGTGCTGAGAACCTGGAG - 3' Reverse primer 5' - TGAGGAAGTGTCTGCTGGTC - 3
rat BCL - 2 Amplicon Size	Forward primer 5' - GCATGCCAGCTCTGTTTGAT - 3' Reverse primer 5' - CAGGTATGCACCCAGACTGA - 3

1.3 仪器 荧光定量 PCR 仪:Thermo PIKOREAL 96 ;微量移液器:德国 Eppendorf;普通 PCR 仪:杭州晶格科学仪器有限公司(型号:K960);Multiskan MK2 型酶标仪:芬兰 Lab-system 公司;凝胶成像系统:Bio - rad;低速迷你离心机:海门市其林贝尔仪器制造有限公司 LX 300 型;高速台式冷冻离心机:安徽嘉文仪器装备有限公司 JW - 3021HR;微孔板迷你离心机:杭州奥盛仪器有限公司(型号:MINI - P25)。

2 实验方法

2.1 动物分组与模型建立 将 120 只 SD 大鼠随机分为正

常组,模型组,脾胃培源灌肠大、中、小剂量组(以下简称为中药大、中、小剂量组),美沙拉嗪组(简称西药组),每组 20 只。对除正常组外的其余组大鼠采用 TNBS/乙醇法复制 UC 大鼠模型^[6]。

2.2 药物干预及标本采集 造模成功后,中药大、中、小剂量组分别按含不同生药浓度(0.56g/L、0.28g/L、0.14g/L)的脾胃培源灌肠方 3mL/d 灌肠,美沙拉嗪组予美沙拉嗪悬浊液 3mL/d 灌肠,模型组与正常组均予 0.9% 氯化钠注射液 3mL/d 灌肠;持续 15d。第 16 天禁食不禁水 24h 后处死大鼠,取大鼠全部结肠,同时将结肠剖开,大致观察结肠黏膜,选取最明显的病变结肠,将取出的结肠分 2 份,一部分取至少 1 块组织标本在炎症溃疡或较重处,放入甲醛试剂中保存,后期用于免疫组化检测;另一部分取结肠标本放入液氮冰冻保存,用于 Real time - PCR 检测。

2.3 免疫组化检测结肠组织中 DOR、 β - arrestin1 和 Bcl - 2 免疫阳性细胞表达 免疫组化染色按照试剂盒说明书操作。石蜡切片机做连续切片,片厚 5 μ m,石蜡切脱蜡后按 ABC 法依次加相应抗体,DOR、 β - arrestin1 和 Bcl - 2 单克隆抗体按照 1:500 稀释,阴性对照任选用 0.01M PBS 液代替一抗染色,过氧化物酶标记的 IgG,DAB 显色,苏木精复染。选取不重复的 5 个高倍视野,用专业图像分析系统测定每个视野中阳性细胞数。

2.4 Real time - PCR 检测结肠标本中 DOR、 β - arrestin1 和 Bcl - 2 mRNA 表达 (1) RNA 的提取。称取组织 50 ~ 100mg,剪碎,液氮研磨,加入 1mL TRIzol 匀浆;4 $^{\circ}$ C,12000rpm 离心 10min,以去除未完全裂解的组织以及脂肪等;加入 0.2mL 氯仿,振荡 15s,室温放置 3min;4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 15min,取上清(约 500 μ L)加入到另一 EP 管中;加入 0.5mL 异丙醇,温和混匀,室温放置 10min;4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 10min,弃去上清。加入 1mL 75% 乙醇(DEPC 水配制)。4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 5min,弃上清。室温放置 30min 干燥 RNA 沉淀;加入 20 ~ 50 μ L DEPC 水,55 $^{\circ}$ C 促溶 10min, - 80 $^{\circ}$ C 保存备用。(2) RT 反应。在 0.2mL EP 管中,加入总 RNA(质量为 1 μ g)、10 μ M Oligo(dT)1 μ L、DEPC 水补足至 12 μ L,轻轻混匀、点动离心。PCR 仪上 65 $^{\circ}$ C 加热 5min,立即冰浴 3min。在上述 EP 管中加入 5 $\times$ Reaction Buffer 4.0 μ L、10mM dNTP Mix 2 μ L、Ribolock TM Rnase inhibitor 1 μ L、RevertAid TM M - MuLV Reverse Transcriptase 1 μ L。42 $^{\circ}$ C 60min,70 $^{\circ}$ C 5min。取出上述反应液,即为 cDNA, - 80 $^{\circ}$ C 保存备用。(3) 荧光定量 PCR 反应,取出 cDNA 作为荧光定量的模板。①反应体系如下:2 $\times$ SYBR Green mixture 5 μ L,上下游引物各 1 μ L,c DNA(10 倍稀释)1 μ L,RNase Free water 2 μ L,总体积 10 μ L。②反应条件如下:95 $^{\circ}$ C 5min,95 $^{\circ}$ C 2s,60 $^{\circ}$ C 10s,第 2 步开始至第 3 步 40 个循环,4 $^{\circ}$ C 终止反应。PCR 扩增使用 Step One TM Softwarev 2.1 扩增仪。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计学分

析,计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。单因素方差分析比较适用于实验结果多组间均数比较,LSD 法适用于 2 组间均数比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠结肠黏膜组织 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 免疫阳性细胞表达的比较 与正常组比较,模型组结肠组织 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 免疫阳性细胞数目明显增加;与模型组比较,中药大、中、小剂量组和西药组 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 免疫阳性细胞数目明显减少,差异均有统计学意义。(见表 1)

表 1 各组大鼠结肠黏膜组织 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 免疫阳性细胞表达的比较($\bar{x} \pm s$,个/mm ²)				
组别	n	DOR	β - arrestin1	Bcl - 2
正常组	20	8.629 ± 9.41	11.45 ± 7.63	12.29 ± 6.91
模型组	20	23.53 ± 9.93 ^a	35.62 ± 3.86 ^a	25.18 ± 12.25 ^a
西药组	20	12.74 ± 10.56 ^b	17.73 ± 5.17 ^b	13.13 ± 4.96 ^b
中药大剂量组	20	11.04 ± 6.92 ^b	16.95 ± 4.65 ^b	12.42 ± 5.12 ^b
中药中剂量组	20	10.54 ± 3.71 ^b	15.31 ± 3.73 ^b	11.48 ± 4.35 ^b
中药小剂量组	20	12.36 ± 3.15 ^b	16.93 ± 6.53 ^b	14.64 ± 5.27 ^b

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

3.2 各组大鼠结肠黏膜组织中 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 mRNA 表达的比较 与正常组比较,模型组结肠组织 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 mRNA 表达明显增高;与模型组比较,中药大、中、小剂量组和西药组 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 mRNA 表达降低,差异均有统计学意义。(见表 2)

表 2 各组大鼠结肠黏膜组织中 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 mRNA 表达的比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	DOR	β - arrestin1	Bcl - 2
正常组	20	1.435 ± 1.015	1.092 ± 0.569	1.243 ± 2.024
模型组	20	10.134 ± 2.570 ^a	10.581 ± 2.375 ^a	5.316 ± 1.873 ^a
西药组	20	5.158 ± 1.985 ^b	5.274 ± 1.579 ^b	1.867 ± 0.358 ^b
中药大剂量组	20	4.835 ± 0.141 ^b	4.983 ± 0.926 ^b	1.761 ± 0.654 ^b
中药中剂量组	20	3.982 ± 0.783 ^b	3.864 ± 0.821 ^b	1.413 ± 0.315 ^b
中药小剂量组	20	3.052 ± 0.645 ^b	4.147 ± 0.293 ^b	1.782 ± 0.359 ^b

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

4 讨 论

UC 是一种自身免疫性疾病,其发生可能与细胞因子免疫功能失调相关^[7]。Bcl - 2 蛋白和 Bax 蛋白表达异常是导致本病形成的关键;其中抗凋亡相关基因 Bcl - 2 通过与 Bax 结合,从而降低 Bcl - 2 活性,调控细胞凋亡^[8]。机体内 β - arrestin1 普遍表达,尤其是在免疫系统高表达,同时其调节细胞凋亡和增殖,Bcl - 2 也是其调控的靶基因。活化的 DOR 能诱导 β - arrestin1 将信号向细胞核内传递,并聚集在 p27 启动子区,进而组蛋白 H4 被乙酰化,促进 p27 和 Bcl - 2 的基因转录,并且招募介导组蛋白乙酰化酶 p300,实现调控基因表达^[9]。肠道微环境改变后,肠道中菌群失调,突破肠上皮屏障,激活 DOR - β - arrestin1 - Bcl - 2 信号转导通路,大量炎性细胞因子分泌,导致肠黏膜内 T 淋巴细胞集聚,从而

增加细胞因子凋亡抵抗,肠道黏膜的平衡被打破,最终导致 UC 的发生^[10]。

UC 归属于中医学“休息痢”“泄泻”“肠风”“肠癖”等范畴,其发病的根本原因是脾虚。脾胃培源灌肠方由茯苓、薏苡仁、石榴皮、黄芪、炒白术、大黄炭、白及、地锦草、败酱草和青黛组成。其中茯苓和薏苡仁健脾渗湿,石榴皮涩肠止泻,白术和黄芪健脾益气,大黄炭和白及止血,地锦草解毒,败酱草和青黛清热凉血解毒凉血。诸药合用,共奏健脾止泻之效。

本实验发现,正常组结肠组织 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 免疫阳性细胞及 mRNA 低表达,模型组结肠组织 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 免疫阳性细胞及 mRNA 高表达,说明 DOR - arrestin1 - Bcl - 2 信号通路被激活,通过信号传导途径介导细胞因子调控细胞凋亡,最终导致 UC 形成。经治疗后,脾胃培源灌肠方大、中、小剂量组和美沙拉嗪组均能使 DOR、β - arrestin1、Bcl - 2 免疫阳性细胞及 mRNA 低表达,说明脾胃培源灌肠方及美沙拉嗪均能对 UC 大鼠起到治疗作用。由此推测,DOR - arrestin1 - Bcl - 2 信号转导通路在 UC 发病过程中起重要作用,脾胃培源灌肠方通过对 DOR - arrestin1 - Bcl - 2 信号通路及其相关细胞因子的影响从而发挥对 UC 的治疗作用。

参考文献

[1] Bamias G, Pizarro TT, Cominelli F. Pathway - based approaches to the treatment of inflammatory bowel disease[J]. Transl Res, 2016, 167(1):104 - 115.

[2] Monteleone G, Caprioli F. T - cell - directed therapies in inflammatory bowel diseases[J]. Clin Sci (Lond), 2010, 118(12): 707 - 715.

[3] Atreya R, Neurath MF. New therapeutic strategies for treatment of inflammatory bowel disease[J]. Mucosal Immunol, 2008, 1(3): 175 - 182.

[4] 张晶. 兰茵凤扬化浊解毒方对溃疡性结肠炎大鼠 DOR - p - arrestin1 - Bcl - 2 信号转导通路干预作用的实验研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2015:30 - 33.

[5] 廖奕. 氧化苦参碱对溃疡性结肠炎大鼠 β - arrestin1/2 相关信号转导通路的影响[D]. 武汉:华中科技大学,2010:25 - 27.

[6] 贺海辉,沈洪,宋宣宣,等. 2,4,6 - 三硝基苯磺酸/乙醇法诱导建立溃疡性结肠炎大鼠模型[J]. 中国老年学杂志,2015,35(8):4138 - 4140.

[7] Seidelin JB, Nielsen OH. Epithelial apoptosis: cause or consequence of ulcerative colitis[J]. Stand J Gastroenterol, 2009, 44(12):1429 - 1434.

[8] D Cvejic, S Selemetjev, S Sawin, et al. Apoptosis and proliferation related molecules (Bcl - 2, Bax, P53, PCNA) in papillary microcarcinoma versus papillary carcinoma of the thyroid[J]. Pathology, 2008(5):475 - 480.

[9] 张丽娟. 复方苦参汤对溃疡性结肠炎大鼠 DOR - β - arrestin1 - Bcl - 2 信号转导通路的干预作用研究[D]. 武汉:华中科技大学,2012:17 - 19.

[10] 陈小艳,范恒,张丽娟,等. DOR - β - arrestin1 - Bcl - 2/NF - κB 信号转导通路在溃疡性结肠炎发病机制中的研究[J]. 中西医结合研究,2011,3(4):197 - 200.

降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠血常规的影响

程华初¹,程婉红¹,王芳婷¹,唐聪聪¹,王一飞¹,尹抗抗¹,唐标¹,徐琦²

(1. 湖南中医药大学,湖南长沙,410208;

2. 湖南省中医药研究院,湖南长沙,410006)

[摘要] 目的:观察降脂理肝汤对非酒精性脂肪肝(NAFLD)大鼠血常规的影响,探讨降脂理肝汤对NAFLD的作用机制。方法:将SD大鼠随机分为正常组、模型组和降脂理肝汤组,通过高脂饮食诱导NAFLD大鼠模型,分别灌胃给予0.9%氯化钠注射液、降脂理肝超微汤剂,干预18周后取材,腹主动脉采血,用CA-500血液自动分析仪测定大鼠血常规数据。结果:模型组大鼠的红细胞压积、平均红细胞体积、红细胞体积分布宽度、血红蛋白、平均血红蛋白量、血小板数、白细胞数、单核细胞总数和淋巴细胞总数与正常组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);降脂理肝汤组大鼠红细胞体积分布宽度、血红蛋白、血小板数、白细胞数和单核细胞总数与模型组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),与正常组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);提示已恢复正常水平,说明治疗有效。结论:降脂理肝汤对NAFLD大鼠的红细胞、血小板和白细胞的各项指标均有一定恢复作用,具有改善贫血、减少血小板凝集、降低血液黏稠度和脂质沉积、减少肝脏炎症反应的作用。

[关键词] NAFLD;大鼠;降脂理肝汤;血常规;实验研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:**10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.10.072

Effect of Jiangzhi Ligan decoction on routine blood test results in rats with nonalcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet

CHENG Hua-chu¹, CHENG Wan-hong¹, WANG Fang-ting¹,

TANG Cong-cong¹, WANG Yi-fei¹, YIN Kang-kang¹, TANG Biao¹, XU Qi²

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

2. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China)

Abstract: Objective: To investigate the effect of Jiangzhi Ligan decoction on routine blood test results in rats with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) induced by high-fat diet and the mechanism of action of Jiangzhi Ligan decoction on NAFLD. Methods: Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal group, model group, and Jiangzhi Ligan decoction group. High-fat diet was given to rats to establish a rat model of NAFLD. The rats were given 0.9% sodium chloride injection or ultrafine Jiangzhi Ligan decoction by gavage. Related samples were collected after 18 weeks of intervention. Blood samples were collected from the abdominal aorta and the CA-500 automatic blood analyzer was used to obtain routine blood test results. Results: There were significant differences between the model group and the normal group in hematocrit, mean corpuscular volume, red blood cell volume distribution width, hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin, platelet count, leukocyte count, total monocyte count, and total lymphocyte count ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There were significant differences between the Jiangzhi Ligan decoction group and the model group in red blood cell volume distribution width, hemoglobin, platelet count, leukocyte count, and total monocyte count ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), while there were no significant differences between the Jiangzhi Ligan decoction group and the normal group ($P > 0.05$), suggesting that these indices had returned to normal and the treatment was effective. Conclusion: Jiangzhi Ligan decoction helps with the recovery of the indices of

基金项目:湖南省中医药科研计划项目(编号:201664,201844);湖南省卫计委科研计划项目(编号:C2017028);湖南省大学生研究性学习与创新性实验计划项目(湘教办通[2017]116号,序号311)

第一作者:程华初,男,2015级博士研究生,研究方向:中医治则与治法

通讯作者:唐标,男,副教授,研究方向:中药药理,E-mail:njtangbiao@126.com

徐琦,女,医学硕士,助理研究员,研究方向:中医治则与治法,E-mail:332576547@qq.com