

· 基础研究 ·

通脉方对精索静脉曲张模型大鼠精液质量及
睾丸生精细胞 HSP60、HSP90 表达的作用陈志威¹ 赵家有¹ 宋春生²

摘要 目的 观察通脉方对精索静脉曲张 (VC) 模型大鼠精液质量及睾丸生精细胞热休克蛋白 (HSP) 60、HSP90 表达的影响, 并探讨其作用机制。**方法** 将 60 只雄性 SD 大鼠随机分为空白对照组 12 只和模型组 48 只, 模型组建立模型后随机分为模型对照组, 通脉方低、中、高剂量组, 每组 12 只。造模 30 天后开始给药, 通脉方组分别给予浓度为 0.545、1.089、2.178 g/mL 的通脉方水煎液灌胃, 其余 2 组给予生理盐水灌胃, 干预 48 天后取左侧睾丸与附睾, 采用 HE 染色观察大鼠睾丸病理变化, 采用免疫组化法、Western Blot 法检测睾丸组织 HSP60、HSP90 的表达, 分析附睾精子浓度与精子总活力。**结果** 模型对照组可见曲细精管排列紊乱, 生精上皮细胞脱落变性, 精子少见, 通脉方各剂量组不同程度好转。与空白对照组比较, 模型对照组 HSP60、HSP90 表达、精子浓度及精子总活力降低 ($P<0.05$), 与模型对照组比较, 通脉方各剂量组 HSP60、HSP90 表达、精子浓度及精子总活力改善 ($P<0.05$)。在 HSP90 表达方面通脉方呈现剂量依赖性。**结论** 通脉方可上调 VC 模型大鼠 HSP60、HSP90 表达, 抑制睾丸组织细胞凋亡, 改善精液质量。

关键词 通脉方; 精索静脉曲张; 热休克蛋白; 细胞凋亡

Effect of Tongmai Formula on Sperm Quality and Expressions of HSP60 and HSP90 in Testicular Spermatogenic Cells of Varicocele Model Rats CHEN Zhi-wei¹, ZHAO Jia-you¹, and SONG Chun-sheng² *1 Graduate school of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100700); 2 China Press of Traditional Chinese Medicine Co., Ltd, Beijing (100176)*

ABSTRACT Objective To observe the effect of Tongmai Formula (TMF) on semen quality and expression of heat shock protein (HSP) 60, HSP90 in testicular spermatogenic cells of varicocele (VC) model rats. **Methods** Sixty male SD rats were randomly divided into blank control group (n=12) and model group (n=48). VC model were established in model group, and the 48 rats were randomly divided into model control group, TMF low, medium and high dose groups, 12 in each group. Thirty days after establishing model, drugs were intervened for 48 days, TMF groups were gavaged with 0.545, 1.089 and 2.178 g/mL of TMF decoction, respectively, and the other 2 groups were gavaged with normal saline. The left testis and epididymis were taken, the pathological changes of testis were observed by HE staining, the expressions of HSP60 and HSP90 in testis tissue were detected by immunohistochemistry and Western Blot. The concentration of epididymis sperm and total sperm motility were analyzed. **Results** In the model control group, there were disordered arrangement of seminiferous tubules, abscission and degeneration of spermatogenic epithelial cells, and rare sperms. In different TMF groups, the sperms were improved to varying degrees. Compared with the blank control group, the expressions of HSP60, HSP90, the sperm concentration and total sperm motility of the model control group decreased ($P<0.05$). Compared with the model control group, the expressions of HSP60, HSP90, the sperm concentration and total sperm motility of both TMF group improved ($P<0.05$), and showed dose-dependent

基金项目: 北京市中医药科技发展资金项目 (No. JJ2016-76); 中国科学技术协会青年人才托举工程项目 (No. YESS20160138)

作者单位: 中国中医科学院研究生院 (北京 100700); 2. 中国中医药出版社有限公司 (北京 100176)

通讯作者: 宋春生, Tel: 010-64405682, E-mail: sonchun@vip.163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20210308.092

phenomenon in expressions of HSP90. **Conclusion** TMF could up-regulate the expression of HSP60 and HSP90, inhibit testicular tissue cell apoptosis, and improves sperm quality in VC model rats.

KEYWORDS Tongmai Formula; varicocele; heat shock protein; apoptosis

精索静脉曲张 (varicocele, VC) 是指精索内蔓状静脉丛的异常扩张、伸长和迂曲, 可导致疼痛不适及进行性睾丸功能减退^[1]。目前, VC 致不育症的机制尚未确切阐明, 相关研究表明睾丸局部温度升高、睾丸缺氧、氧化应激反应、生精细胞凋亡等多种机制可能共同导致男性不育症^[2]。VC 属于中医学“筋瘤”“筋疝”“偏坠”等范畴, 与肝、脾、肾关系密切。笔者基于临床诊疗经验认为脾虚肝郁、湿瘀互结为 VC 基本病机, 在“异病同治”治则指导下, 遵循“有是证用是药”, 以完带汤和桂枝茯苓丸加减组成通脉方, 共奏健脾疏肝, 利湿化瘀, 兼补肾精之功^[3]。

热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 是指所有生物细胞在温度、病原体、细胞因子及理化生物等应激原刺激后, 发生热休克反应 (heat shock response, HSR) 激活 HSP 基因时产生的一类伴随细胞内功能性蛋白的伴侣蛋白分子^[4]。在热应激状态下, HSP 能帮助正确折叠蛋白质以及直接删除不能修复的错误蛋白, 以维持人体细胞的存活^[5]。研究发现 HSP 可作为线粒体调控凋亡、细胞衰老、男性不育的分子标志物, HSP 参与了精子发生、精子分化成熟、精子顶体反应、精子获能等过程^[6]。有研究表明 HSP90 可在氧化应激条件下保护细胞, 激活一氧化氮合酶, 有利于保护精子活力^[7]。HSP60 可从多个环节影响细胞凋亡, 并可表现出抗凋亡和促凋亡的双向作用^[8]。本研究主要基于睾丸组织 HSP60、HSP90 表达和精液质量分析, 研究通脉方对精索静脉曲张大鼠睾丸组织生精功能的影响。

材料与方

1 动物 60 只 7 周雄性 SD 大鼠, 体重 290~330 g, 许可证号: SCXK (京) 2016-0006, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 常规饲养, 本研究通过中国中医科学院中医基础理论研究所实验动物福利伦理审查委员会审批 (No. 2017-87)。

2 药物 通脉方由白术 10 g 茯苓 30 g 陈皮 6 g 柴胡 10 g 荆芥 10 g 白芍 10 g 桂枝 10 g 牡丹皮 10 g 覆盆子 15 g 枸杞子 10 g 生甘草 6 g 组成。中药材均由河北百草康神药业有限公司进行质检, 委托中国中医科学院西苑医院制剂室加工制备为流浸膏, 制备后的流浸膏 1 g 相当于 2.75 g

生药, 4 ℃ 保存备用, 灌胃给药时按给药方案进行稀释调配。

3 试剂与仪器 HSP60 一抗, 批号: 12165, 购于美国 CST 公司; HSP90 一抗, 批号: Ab203126, 购于美国 ABCam 公司。生物组织脱水机 (Tissue-TEK VIP6)、生物组织包埋机 (Tissue-TEK TEC)、组织切片机 (Leica RM2235)、捞片仪 (Leica HI1210)、烤片仪 (Leica HI1220)、自动染色机 (Leica ST5020)、自动封片仪 (Leica CV5030)、显微镜 (Olympus BX51)、垂直电泳仪及转印系统 (Bio-Rad Mini-PROTEAN) 等。

4 分组与造模 60 只大鼠称重后按随机数字表法分为空白对照组 12 只和模型组 48 只, 模型组建立模型后采用随机数字表法分为模型对照组及通脉方低、中、高剂量组, 每组各 12 只。参考 Najari BB 等^[9] 研究造模方法, 采用腹腔注射 5% 水合氯醛 (0.7 mL/100 g) 麻醉后, 无菌操作下, 于腹中线左侧约 1 cm 处取纵行切口。用游标卡尺测量左精索静脉直径后, 于大鼠下腔静脉外侧、输尿管静脉及精索内静脉内侧下穿一根 4-0 丝线备用, 将直径约 0.8 mm 的金属杆平行置于该段左肾静脉上, 并与左肾静脉一起结扎, 缓慢拔出针头, 使肾静脉复通, 造成左肾静脉部分狭窄, 左肾静脉直径约缩窄至结扎前的 1/2。用显微外科器械分离性腺静脉与左髂总静脉、精索内静脉入口处, 于性腺静脉与左髂总静脉、精索内静脉交汇处中间用显微外科缝合线进行结扎, 再次用游标卡尺测量左精索静脉直径, 左肾静脉直径约缩窄至结扎前 1/2 表明造模成功。所有操作在两人讨论确认无异议后、互相监督下进行。造模完成后, 还纳腹腔内容物, 逐层缝合皮肤。

5 干预方法 造模成功后 30 天, 各组大鼠以给药体积 1 mL/100 g 体重进行灌胃给药, 1 次/天, 共 48 天。模型对照组、空白对照组灌服等体积生理盐水。通脉方低、中、高剂量组给药浓度分别为 0.545、1.089、2.178 g/mL 通脉方水煎液, 1 次/天。按照体表面积换算法^[10], 通脉方低、中、高剂量组给药剂量分别相当于临床用药剂量的 1/2、临床用药等剂量及临床用药剂量的 2 倍。

6 取材 灌胃给药 48 天后, 将实验大鼠用 5% 水合氯醛 (0.7 mL/100 g) 腹腔注射进行麻醉, 手术

经腹无菌采集睾丸, 剪除附着脂肪组织和筋膜, 生理盐水冲洗后用滤纸拭干, 电子天平称量记录。将睾丸组织切成两半, 一半组织浸泡于 10% 中性福尔马林固定液, 另一半组织放置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

7 检测方法

7.1 HE 染色 睾丸组织固定于 10% 中性福尔马林固定液 24 h 后, 常规石蜡包埋。5 μm 厚切片, 脱蜡, 水化后, 用苏木精和 HE 染色后封片。

7.2 精液质量检测 取大鼠左侧附睾置于 2 mL 生理盐水 ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴箱中预热, 温度恒定) 中, 将附睾剪碎、混匀, 并在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴箱中孵育 5 min, 轻轻摇晃使精子充分游出, 即刻检测, 采用 CASA 技术应用 WLJY-9000 伟力彩色精子质量检测系统对精子活力、浓度进行检测。

7.3 免疫组化检测蛋白表达 所有步骤严格按照说明书要求进行, 睾丸组织经免疫组化染色后, HSP60、HSP90 阳性细胞表现为细胞胞浆和胞核呈现为黄色或棕黄色。每张切片随机选定 5 个视野, 设定基线标准染色强度的判定标准后, 使用 IPP 6.0 软件测定 5 个视野下的平均光密度值, 将每例 5 个视野平均光密度的平均值作为该例的测定值, 其值越大, 染色越深, 反映细胞内蛋白表达量越高。

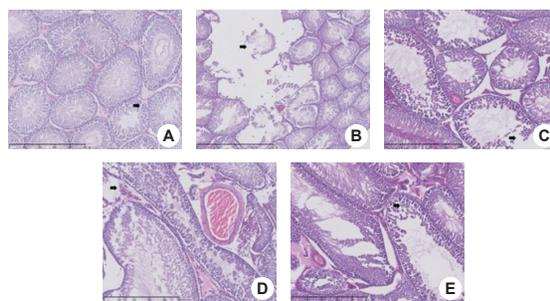
7.4 Western Blot 检测蛋白表达 每组采用随机数字表选取 6 只大鼠睾丸组织, 提取睾丸组织蛋白, 测定组织总蛋白含量。制备 10% 浓度的分离胶, 将样品加入样品槽内。电泳浓缩胶 80 V, 分离胶 120 V。半干式电转移法转膜到 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 洗涤后, 分别加 1:1 000 稀释的兔抗 HSP60 抗体、兔抗 HSP90 抗体、兔抗 β -actin 抗体 (1:500), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育摇床过夜。洗涤后, HRP 标记的山羊抗兔二抗 (1:5 000), 孵育 1 h, 洗涤后, 试剂盒显色剂显示蛋白条带, 用 ECL 法摄取图像, Image J 分析仪测定并分析蛋白条带。

8 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对数据进行方差齐性检验和正态分布检验, 若两项均符合, 则采用单因素方差分析进行数据统计处理, 两组间比较采用 LSD-t 检验; 若不符合任意一种检验, 则将分析数据取对数后, 再用单因素方差分析进行数据统计处理, 组间比较采用 LSD-t 检验, 运用 GraphPad Prism 5.0 软件绘制统计图, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠睾丸组织形态学比较 (图 1) 普通

光学显微镜下, 空白对照组: 曲细精管边界整齐, 未见萎缩和塌陷; 间质细胞未见增生, 生精小管之间连接紧密, 基底膜完整; 支持结构丰富, 管腔中可见大量成熟精子。模型对照组: 曲细精管排列紊乱, 生精上皮细胞脱落变性, 精子少见; 间质水肿, 间质细胞增生, 间质小血管充血, 管壁增厚明显, 管腔狭窄。通脉方低剂量组: 曲细精管排列较有序规整, 大小较一致; 少量生精上皮细胞脱落变性, 精子可见; 间质细胞增生, 间质水肿, 间质小血管偶见充血。通脉方中剂量组: 曲细精管排列有序规整, 边界整齐, 可见各级生精上皮细胞, 精子可见; 少见间质细胞增生及间质水肿, 管壁增厚不明显。通脉方高剂量组: 曲细精管排列有序规整, 大小较一致, 见各级生精上皮细胞, 管腔有大量精子; 少见间质水肿及间质细胞增生。



注: A 为空白对照组; B 为模型对照组; C 为通脉方低剂量组; D 为通脉方中剂量组; E 为通脉方高剂量组; 箭头所指为曲细精管排列紊乱, 生精上皮细胞脱落变性

图 1 各组大鼠睾丸组织形态学比较 (HE, $\times 100$)

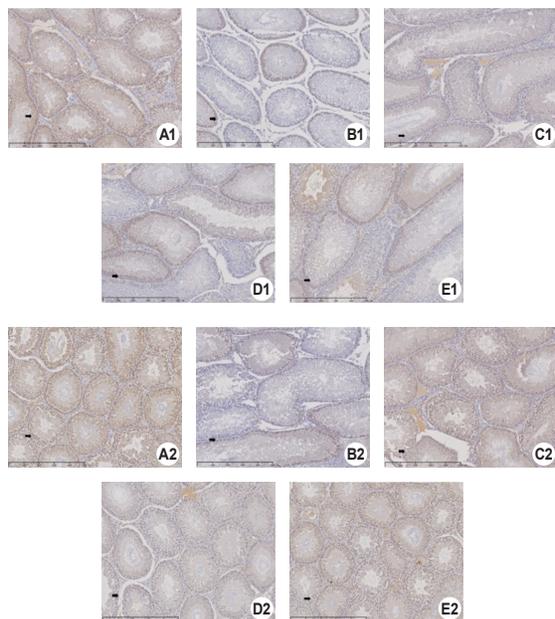
2 各组大鼠精子浓度及总活力比较 (表 1) 与空白对照组比较, 模型对照组精子浓度、精子总活力显著降低 ($P < 0.05$); 与模型对照组比较, 通脉方各剂量组精子浓度、精子总活力显著改善 ($P < 0.05$)。通脉方各剂量组间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但随着剂量增加, 精子浓度及总活力呈现上升趋势。

表 1 各组大鼠附睾组织精子浓度及总活力比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	浓度 ($\times 10^6/\text{mL}$)	总活力 (%)
空白对照	6	39.81 ± 2.61	52.87 ± 11.77
模型对照	6	$23.85 \pm 7.22^*$	$20.91 \pm 5.36^*$
通脉方低剂量	6	$32.78 \pm 10.92^\Delta$	$40.05 \pm 10.19^\Delta$
中剂量	6	$36.15 \pm 2.92^\Delta$	$42.61 \pm 11.41^\Delta$
高剂量	6	$39.03 \pm 3.71^\Delta$	$47.86 \pm 8.54^\Delta$

注: 与空白对照组比较, $^*P < 0.05$; 与模型对照组比较, $^\Delta P < 0.05$

3 各组免疫组化法检测结果比较 (图 2, 表 2) 模型对照组较少见阳性细胞的表达, 散在见于各级生精细胞和精子细胞。通脉方各剂量组、空



注：①为 HSP60；②为 HSP90；A 为空白对照组；B 为模型对照组；C 为通脉方低剂量组；D 为通脉方中剂量组；E 为通脉方高剂量组；箭头所指为 HSP60/HSP90 阳性细胞

图 2 各组大鼠睾丸组织 HSP60、HSP90 表达比较 (免疫组化, ×100)

表 2 各组大鼠睾丸组织 HSP60、HSP90 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HSP60 (1×10^4)	HSP90 (1×10^4)
空白对照	6	1.50 ± 0.17	7.31 ± 0.66
模型对照	6	0.27 ± 0.07*	0.34 ± 0.18*
通脉方低剂量	6	1.64 ± 0.04 [△]	1.02 ± 0.78 [△]
中剂量	6	0.67 ± 0.09 ^{△▲}	1.57 ± 0.58 [△]
高剂量	6	1.38 ± 0.14 ^{△▲○}	4.36 ± 0.21 ^{△▲○}

注：与空白对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型对照组比较，[△] $P < 0.05$ ；与通脉方低剂量组比较，[▲] $P < 0.05$ ；与通脉方中剂量组比较，[○] $P < 0.05$

白对照组均可见到阳性细胞的表达。

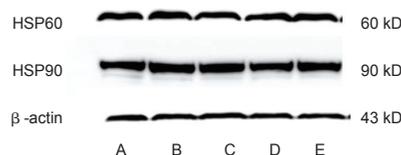
与空白对照组比较，模型对照组 HSP60、HSP90 表达降低 ($P < 0.05$)。与模型对照组比较，通脉方各剂量组 HSP60、HSP90 表达增高 ($P < 0.05$)。与通脉方低剂量组比较，通脉方中、高剂量组 HSP60 表达降低 ($P < 0.05$)，通脉方高剂量组 HSP90 表达增高 ($P < 0.05$)。与通脉方中剂量组比较，通脉方高剂量组 HSP60、HSP90 表达升高 ($P < 0.05$)。

4 各组 Western Blot 检测结果比较 (表 3, 图 3) 与空白对照组比较，模型对照组大鼠睾丸组织 HSP60、HSP90 表达水平降低 ($P < 0.05$)；与模型对照组比较，通脉方各剂量组 HSP60、HSP90 表达增高 ($P < 0.05$)。与通脉方低剂量组比较，通脉方

表 3 各组大鼠睾丸组织 HSP60、HSP90 表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HSP60	HSP90
空白对照	6	0.76 ± 0.13	1.02 ± 0.09
模型对照	6	0.30 ± 0.04*	0.31 ± 0.05*
通脉方低剂量	6	0.71 ± 0.11 [△]	0.54 ± 0.10 [△]
中剂量	6	0.51 ± 0.14 ^{△▲}	0.76 ± 0.06 [△]
高剂量	6	0.71 ± 0.20 ^{△○}	0.87 ± 0.07 ^{△▲}

注：与空白对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型对照组比较，[△] $P < 0.05$ ；与通脉方低剂量组比较，[▲] $P < 0.05$ ；与通脉方中剂量组比较，[○] $P < 0.05$



注：A 为空白对照组；B 为模型对照组；C 为通脉方低剂量组；D 为通脉方中剂量组；E 为通脉方高剂量组

图 3 各组大鼠睾丸组织蛋白表达比较

中剂量组 HSP60 表达降低 ($P < 0.05$)，通脉方高剂量组 HSP90 表达增高 ($P < 0.05$)。与通脉方中剂量组比较，通脉方高剂量组 HSP60 表达升高 ($P < 0.05$)。

讨 论

VC 引起的局部温度升高被认为是男性不育的发病机制^[11]，研究表明 VC 引起的睾丸温度升高可干扰精子生成，提高氧化应激反应，降低抗氧化能力，最终发育为染色体异常的精子，降低生育能力^[12]。HSP60 对细胞凋亡的抑制或促进作用可能与细胞种类、所受刺激类型、细胞状态、HSP60 含量和活性等多种因素有关^[13]。精原细胞内 HSP60 在男性不育患者睾丸中表达下调，且表达越低，生精功能越差^[6]。本研究结果表明各剂量组通脉方可上调 HSP60，通脉方低剂量组显示更好疗效。

HSP90 是一种高度保守的分子伴侣，在细胞中含量很高，非应急状态下约占总蛋白的 1%~2%。研究表明 HSP90 在大鼠和人的生精细胞减数分裂前期中高度表达，HSP90 热激后表达受到抑制，可通过泛素-蛋白酶体途径降解进而抑制细胞的生长，促进细胞凋亡，提示 HSP90 表达的下调与生精细胞的促凋亡有关^[14]。本研究结果表明，模型对照组大鼠睾丸组织 HSP90 表达显著下降，提示 HSP90 热激后表达受到抑制。本研究中药干预各组大鼠睾丸组织 HSP90 表达增加，通脉方干预后可通过上调 HSP90 来抑制生精细胞凋亡，提高精子功能和活力，并呈现

了剂量依赖性, 通脉方高剂量组疗效更好。

通脉方由桂枝、牡丹皮、茯苓、白芍、白术、陈皮、柴胡、荆芥、覆盆子、枸杞子、生甘草组成, 该方由桂枝茯苓丸和完带汤化裁而成。笔者在辨证论治前提下运用桂枝茯苓丸加味、完带汤治疗 VC、男性勃起功能障碍、男性不育症等男科疾病^[15,16], 收获较好疗效, 将两方化裁为通脉方。本研究结果也显示, 通脉方可以提高精索静脉曲张大鼠模型精液质量, 疗效确切。方中桂枝气温, 通血脉寒滞, 牡丹皮气寒, 通血脉热结, 此两味共为君药以达散血瘀清热邪之功。白芍养血疏肝, 缓急止痛, 破瘀不伤正; 茯苓、白术健脾益气、燥湿利水, 此 3 味共为臣药以健脾疏肝, 活血散瘀, 加强君药功效。陈皮理气和中, 柴胡、荆芥之升散, 得白术可升发脾胃清阳, 配白芍可疏达肝气以适肝性, 覆盆子滋养真阴、枸杞子滋补肝肾, 共为佐药。生甘草和中调药, 为使药。诸药相配, 使脾气健运, 肝气条达, 清阳得升, 湿浊得化, 血脉通畅, 共奏健脾疏肝、活血化瘀、兼补肾精之功。

本研究结果显示, 通脉方可能通过上调 HSP60、HSP90 表达, 抑制生精细胞凋亡, 恢复实验性精索静脉曲张大鼠睾丸生精功能。但由于在改善精液质量方面缺乏明确有效的阳性对照药物, 故本研究采用自身前后对照的方法, 未来有待进一步大规模临床随机对照研究为本方治疗 VC 提供循证医学证据。

利益冲突: 本文不存在任何利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 邓春华, 商学军. 精索静脉曲张诊断与治疗中国专家共识[J]. 中华男科学杂志, 2015, 21(11): 1035-1042.
- [2] Hassanin AM, Ahmed HH, Kaddah AN. A global view of the pathophysiology of varicocele[J]. Andrology, 2018, 6(5): 654-661.
- [3] 陈兴强, 赵家有, 宋春生. 辨治精索静脉曲张验案三则[J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(5): 715-716.
- [4] Chebotareva N, Bobkova I, Shilov E. Heat shock proteins and kidney disease: perspectives of HSP therapy[J]. Cell Stress Chaperon, 2017, 22(3): 319-343.
- [5] Ikwegbue PC, Masamba P, Oyinloye BE, et al. Roles of heat shock proteins in apoptosis, oxidative stress, human inflammatory diseases, and cancer[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2017, 11(1): 2.
- [6] 何森, 李强, 卓晖. 热休克蛋白在男性不育中的研究进展[J]. 中华男科学杂志, 2013, 19(5): 464-467.
- [7] Li K, Sun P, Wang Y, et al. HSP90 interacts with Cdc37, is phosphorylated by PKA/PKC, and regulates Src phosphorylation in human sperm capacitation[J]. Andrology, 2021, 9(1): 185-195.
- [8] 付青贤, 叶钦勇. 热休克蛋白 60 在神经系统疾病作用的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2019, 46(3): 341-345.
- [9] Najari BB, Li PS, Ramasamy R, et al. Microsurgical rat varicocele model[J]. J Urology, 2014, 191(2): 548-553.
- [10] Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited[J]. Faseb J, 2008, 22(3): 659-661.
- [11] Sogaard M, Norgaard M, Dethlefsen C, et al. Temporal changes in the incidence and 30-day mortality associated with bacteremia in hospitalized patients from 1992 through 2006: a population-based cohort study[J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(1): 61-69.
- [12] Erfani Majd N, Sadeghi N, Tavalae M, et al. Evaluation of oxidative stress in testis and sperm of rat following induced varicocele[J]. Urol J, 2019, 16(3): 300-306.
- [13] Caruso Bavisotto C, Alberti G, Vitale AM, et al. HSP60 post-translational modifications: functional and pathological consequences[J]. Front Mol Biosci, 2020, 4(7): 95.
- [14] Taiyab A, Rao C. HSP90 modulates actin dynamics: inhibition of HSP90 leads to decreased cell motility and impairs invasion[J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1813(1): 213-221.
- [15] 赵家有, 宋春生. 桂枝茯苓丸加味治疗精索静脉曲张探析[J]. 北京中医药, 2014, 33(9): 674-675.
- [16] 陈兴强, 宋春生, 赵家有. 完带汤治疗男科疾病举隅[J]. 北京中医药, 2014, 33(1): 60-61.

(收稿: 2019-02-21 在线: 2021-05-07)

责任编辑: 邱禹