

当归多糖对表皮细胞促创面愈合的调控作用

王刚, 杜士明, 杨光义*, 张秀华, 张玲, 常明泉, 肖森生, 袁胜浩, 李涛
(湖北医药学院附属太和医院药学部, 湖北 十堰 442000)

[摘要] **目的:** 考察当归多糖通过对人表皮角质形成细胞(HKC)相关细胞因子和真皮成纤维细胞中胶原分泌的调控作用, 研究当归在皮肤创面愈合中的作用。**方法:** 采用含 10% 胎牛血清 DMEM 培养基, 37 °C, 5% CO₂ 细胞培养箱中培养人表皮角质形成细胞和真皮成纤维细胞, 加入当归多糖处理后, 采用噻唑蓝比色法检测细胞增殖活性; 免疫组化方法检测角质形成细胞分泌的转化生长因子- β (TGF- β)及白介素- 1α (IL- 1α)的表达情况, 观测对成纤维细胞的增殖及Ⅲ型胶原分泌的作用。**结果:** 当归多糖作用后, HKC 促 FC 增殖作用增强; 随着当归多糖浓度增高, HKC 促增殖作用渐增强, 在 0.2 g·L⁻¹ 时达高峰。当归多糖调控角质形成细胞 TGF- β 及 IL- 1α 的分泌呈剂量依赖性, 且能促进成纤维细胞增殖, 增加胶原合成。**结论:** 当归多糖通过对角质形成细胞 TGF- β 及 IL- 1α 的表达具有显著的调节作用, 影响真皮成纤维细胞Ⅲ型胶原的分泌, 从而促进成纤维细胞增殖, 提示角质形成细胞和真皮成纤维细胞参与了皮肤创面愈合过程, 当归多糖可能在皮肤创面愈合中起重要作用。

[关键词] 创面愈合; 当归多糖; 角质形成细胞; 成纤维细胞; 转化生长因子- β ; 白介素- 1α ; Ⅲ型胶原

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0150-05

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110622.1306.011 **[网络出版时间]** 2011-06-22 13:06

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110622.1306.011.html>

Regulation Effect of Angelica Sinensis Polysaccharides on Epidermal Cell in Wound Healing

WANG Gang, DU Shi-ming, YANG Guang-yi*, ZHANG Xiu-hua, ZHANG Ling,
CHANG Ming-quan, XIAO Miao-sheng, YUAN Sheng-hao, LI Tao

(Department of Pharmacy, Taihe Affiliated Hospital of Hubei Medical College, Shiyan 442000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the regulation effect of angelica sinensis polysaccharides on cytokines of human keratinocyte (HKC) and procollagen secretion of fibroblast cells (FC) in dermis, and to investigate the effect of angelica sinensis polysaccharides in skin wound healing. **Method:** HKC and FC were cultured in DMEM medium with 10% FBS in an incubator containing 5% CO₂ at 37 °C. And pretreated with extract of Angelica Sinensis polysaccharides, The proliferation of fibroblast cells was measured by monotetrazolium (MTT) colourmetric assay. The expression of transforming growth factor-beta (TGF- β) and interleukin-1 alpha(IL- 1α) was evaluated by immunohistochemistry. The effect on fibroblast cells proliferation and collagen type III excretion was observed. **Result:** Angelica sinensis polysaccharides could directly stimulate the HKC's proliferation effect on FC. Results showed that HKC's proliferation effect was increased with the concentration of angelica sinensis polysaccharides arising and the peak of HKC's proliferation effect was obtained with 0.2 g·L⁻¹. The angelica sinensis polysaccharides could regulate excretion of TGF- β and IL- 1α in a dose-dependent manner, and proliferation of fibroblast and synthesis of collagen could be enhanced. **Conclusion:** Angelica sinensis polysaccharides can regulate

[收稿日期] 20101220(001)

[基金项目] 湖北医药学院附属太和医院基金项目(2009D30)

[第一作者] 王刚, 博士, 副主任药师, 从事中药药理与中药制剂开发研究, Tel:0719-8801393, E-mail:wangan139@163.com

[通讯作者] * 杨光义, 博士, 副主任药师, 从事中药活性成分研究, Tel:0719-8801393, E-mail: ygy966@163.com

the expression of TGF- β and IL-1 α on keratinocyte and collagen type III excretion, so as to stimulate proliferation of fibroblasts. It indicates that human keratinocyte and fibroblast are involved in wound healing. Angelica Sinensis polysaccharides plays an important role in wound healing process.

[**Key words**] wound healing; angelica sinensis polysaccharides; keratinocyte; fibroblast; transforming growth factor-beta; interleukin-1 alpha; collagen type III

皮肤创面愈合是一个动态、有序的生理进程^[1],主要包括炎症反应、细胞增殖或结缔组织形成、创面收缩和创面重塑几个阶段;其中再上皮化和真皮重建构成了创面愈合的重要环节^[2]。人角质形成细胞(human keratinocytes, HKC)是表皮的主要构成细胞,占表皮细胞的90%以上,近年来的研究表明表皮与间质相互作用,特别是角质形成细胞与成纤维细胞(FC)的相互作用,在创伤愈合及瘢痕形成中具有极其重要的作用。在创伤愈合中,角质形成细胞通过分泌的TGF- β 和IL-1发生变化,从而使其对成纤维细胞发生作用促进创面愈合^[3]。研究表明当归能明显降低创面组织内成纤维细胞数量及胶原含量,瘢痕纤维化明显减轻^[4],当归多糖是从当归中分离、提取的药用有效成分,具有广泛的免疫生物学活性,皮肤创面愈合涉及到角质形成细胞对成纤维细胞基因表达进行调节的重要细胞因子,而当归多糖通过对角质形成细胞分泌的TGF- β 和IL-1调节作用与影响成纤维细胞在皮肤创面愈合中的作用关系却少有报道。本研究采用HKC细胞株和真皮成纤维细胞,研究当归多糖在此两种细胞之间的相关蛋白表达调控情况及其关系,为深入阐明当归在皮肤创面愈合中的作用提供依据。

1 材料

1.1 药物 当归粉碎,过60目筛,80℃热水提取2次,每次2h。合并上清液,用乙酸调pH4.5,离心,上清液浓缩后加乙醇至体积分数为75%,过滤,沉淀依次用无水乙醇、丙酮和乙醚洗涤,得到水溶性当归多糖粗品。将当归粗多糖溶于水,Sevage法去游离蛋白后,流水透析2d,去离子水透析2d,离心,减压浓缩后,冷冻干燥得初步纯化当归多糖^[4]。

1.2 细胞与试剂 HKC细胞由湖北医药学院附属太和医院皮肤科馈赠;HKC无血清培养基(K-SFM, Gibco公司);DMEM培养基(Gibco公司);胰蛋白酶和DispaseII酶(Gibco公司);表皮生长因子(Gibco公司);新生胎牛血清(FBS,杭州四季清生物制品公司,批号100628);IL-1 α ELISA试剂盒(R&B公司,

批号20101101A);TGF- β 抗体(Chemical公司);生物素化兔抗山羊IgG和ABC复合物(美国vector公司);人III型前胶原(PCIII)放免试剂盒(上海海军医学研究所,批号20100629);Cell counting kit-8(日本tojinto公司);羟脯氨酸(hydroxyproline, HYP)测试盒(南京建成生物工程研究所,批号20100629)。

1.3 仪器 倒置显微镜(重庆光学仪器厂);超净工作台(上海市川沙县明星电子设备厂);BX-60F3荧光显微镜(日本奥林巴斯);505型酶标仪(奥地利safire多功能酶标仪);二氧化碳孵箱(Thermo公司);Epics-XL II型流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司);20PR-52D全自动高速冷冻离心机(日本HITACHI公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 用HKC无血清培养基和含10%胎牛血清的FBS培养基10mL,将HKC混匀后移入40mL培养瓶中,置入37℃,5%CO₂细胞培养箱中培养,每2~3d换液1次,进行传代。选择生长旺盛、形态良好的细胞接种于培养皿或培养板中用于进一步实验。真皮成纤维细胞培养基为含体积分数为10%小牛血清的DMEM,置于37℃,5%CO₂细胞培养箱中培养,每2~3d换液传代,取第6代以后的细胞进行试验。

2.2 分组与药物孵育^[5] 将上述培养获得的HKC和(FC)分成6组,I组:HKC对照组;II组:HKC和FC共同培养组;III,IV,V组:当归多糖高、中、低剂量+HKC和FC共同培养组;HKC和FC共同培养后上清液中分别加入当归多糖(0.2,0.1,0.02g·L⁻¹);VI组:FC组。

2.3 指标观察与检测

2.3.1 MTT法测定FC的增殖 真皮FC组:取对数生长期的FC,胰酶消化,含10%FBS的DMEM调整细胞密度为5×10⁴/mL,每孔200μL接种于96孔中,过夜后弃去上清,每孔加入DMEM培养24h,细胞处于70%~80%融合状态,弃上清,再加入不同浓度条件培养液或DMEM150μL,共4组,每组

重复 6 孔,继续培养 24 h 后加入 MTT($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) $20 \mu\text{L}$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$, $5\% \text{ CO}_2$ 孵育 3 ~ 4 h, 终止培养, 吸弃上清, 每孔加入 $150 \mu\text{L}$ DMSO, 振荡 10 min, 在 450 nm 处测吸光度(A)值。

HKC 培养液对真皮 FC 共育组:取对数生长期的 FC, 胰酶消化, 含 10% 胎牛血清的 DMEM 调整细胞密度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$, 每孔 $200 \mu\text{L}$ 接种于 96 孔中, 过夜后弃去上清, 每孔加入 DMEM 培养 24 h, 细胞处于 70% ~ 80% 融合状态, 弃上清, 再加入不同浓度条件培养液 $180 \mu\text{L}$ ($90 \mu\text{L}$ HKC 上清液 + $90 \mu\text{L}$ 含不同浓度抗体的 DMEM), 以 50% 浓度 HKC 上清液组(CM 组)为对照组($90 \mu\text{L}$ HKC 上清液 + $90 \mu\text{L}$ DMEM), 共 4 组, 每组重复 6 孔, 继续培养 24 h 后加入 CCK-8 $10 \mu\text{L}$, 2 ~ 3 h 后在 450 nm 处测 A。III, IV, V 组: 将以上方法共同培养的 HKC 和真皮 FC 分别加入当归多糖($0.2, 0.1, 0.02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 共 4 组, 每组重复 6 孔, 继续培养 24 h 后加入 CCK-8 $10 \mu\text{L}$, 2 ~ 3 h 后在 450 nm 处测 A。

2.3.2 FC 上清液中胶原含量测定 取各组对数生长期 FC, 调节细胞密度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$, 接种于 48 孔板中, 每孔 $200 \mu\text{L}$, 过夜后弃去上清换为不同浓度的条件培养液, 继续培养 1 d, 取上清液 $100 \mu\text{L}$, 用放免法测定上清液中胶原 III(PC III) 的含量。

2.3.3 免疫组化方法测定 HKC 源 IL-1 α 将盖玻片置于 6 孔板中, 加入角质形成细胞(二代)。当细胞爬片融合近 80% 时, 取出, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 浸洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次, 4% 多聚甲醛固定 15 min , 再次 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 浸洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次, 山羊抗 IL-1 抗体($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 孵育切片, 室温下 24 h, 再用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 浸洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次; 生物素化的兔抗山羊 IgG($1:400$) 孵育切片, 室温下 4 h, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 浸洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次; 生物素-卵白素-辣根过氧化物酶复合物(ABC, $1:500$) 孵育切片, 室温 2 h。苏木精染液行细胞核衬染, 中性树胶封片, 光镜下观察。阴性对照: 一抗用牛血清白蛋白稀释液替代。

2.3.4 免疫组化方法测定 HKC 源 TGF- β_1 将盖玻片置于 6 孔板中, 加入 HKC(二代), 当细胞爬片融合近 80% 时, 取出, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液(Phosphate_buffered saline, PBS) 浸洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次, 4% 多聚甲醛固定 15 min , 再次 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 浸洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次, 鼠抗人 TGF- β_1 抗体($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 孵育切片, 室温 24 h $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 浸洗 $5 \text{ min} \times 3$

次; 生物素化羊抗鼠 IgG($1:400$) 孵育切片, 室温 4 h, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 浸洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次; ABC 复合物($1:500$) 孵育切片, 室温 2 h。苏木精染液行核衬染, 中性树胶封片, 光镜下观察。阴性对照: 一抗用牛血清白蛋白稀释液替代, 二抗、ABC 复合物同其他免疫组化反应切片。

2.3.5 CCK-8 试剂盒测定 TGF- β_1 对 FC 增殖的作用 取对数生长期的 FC, 胰酶消化, 含 10% 胎牛血清的 DMEM 调整细胞密度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$, 每孔 $200 \mu\text{L}$ 接种于 96 孔中, 过夜后弃去上清, 每孔加入 DMEM 培养 24 h, 细胞处于 70% ~ 80% 融合状态, 弃上清, 再加入不同浓度条件培养液 $180 \mu\text{L}$ ($90 \mu\text{L}$ 角质形成细胞上清液 + $90 \mu\text{L}$ 含不同浓度抗体的 DMEM, 抗体浓度分别为 $12\%, 25\%, 50\%$), 以 50% 浓度 HKC 上清液组(CM 组)为对照组($90 \mu\text{L}$ HKC 上清液 + $90 \mu\text{L}$ DMEM), 共 4 组, 每组重复 6 孔, 继续培养 24 h 后加入 CCK-8 $10 \mu\text{L}$, 2 ~ 3 h 后在 450 nm 处测 A。

2.4 统计学方法 采用 Muticycle AV 进行数据处理, 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 行 t 检验; 率的比较行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 当归多糖对 FC 增殖的影响 FC 组与 HKC + FC 组相比差异均有显著性意义($P < 0.05$), 显示 HKC 对 FC 增殖有明显的促进作用, 以当归多糖作用后, HKC 促 FC 增殖作用增强; 随着当归多糖浓度增高, HKC 促增殖作用渐增强, 在 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达高峰($0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 组与 $0.02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 组相比 $P < 0.05$; $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 组相比 $P > 0.05$), 见表 1。

表 1 当归多糖对成纤维细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$A_{450 \text{ nm}}$
FC	-	0.56 ± 0.06
HKC 对照	-	$0.80 \pm 0.07^{1)}$
HKC 和 FC 共孵育	-	$1.02 \pm 0.13^{1)}$
当归多糖	0.2	$1.56 \pm 0.21^{3)}$
	0.1	$1.37 \pm 0.16^{3)}$
	0.02	$1.15 \pm 0.15^{3)}$

注: 与 FC 组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与 HKC + FC 组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

3.2 当归多糖对 HKC 源 IL-1 α 与 FC 分泌 III 前胶原的影响 HKC 组与 FC 组 IL-1 α 分泌量有显著差

异($P < 0.01$);以当归多糖作用后,HKC 促 FC 增殖作用增强,且胶原分泌增加;随着当归多糖浓度增高,HKC 分泌 IL-1 α 降低,FC 分泌胶原浓度增高,在 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达高峰。

表2 当归多糖对 HKC 细胞分泌 IL-1 α 与 FC 分泌 III 型胶原的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	质量浓度 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-1 α	PC III
FC	-	23.2 ± 1.56	88.3 ± 4.37
HKC 对照	-	$171.68 \pm 6.94^{3)}$	$46.62 \pm 2.51^{3)}$
HKC 和 FC 共孵育	-	$96.26 \pm 4.83^{1)}$	$105.74 \pm 5.25^{1)}$
当归多糖	0.2	$52.61 \pm 2.78^{3)}$	$173.45 \pm 7.14^{3)}$
	0.1	$76.58 \pm 4.11^{2)}$	$149.67 \pm 6.03^{2)}$
	0.02	$89.26 \pm 4.66^{2)}$	$132.37 \pm 5.46^{2)}$

3.3 当归多糖对 HKC 源 TGF- β_1 与 FC 分泌 III 型胶原的影响 FC 组与 HKC + FC 组胶原分泌量差异有统计学意义($P < 0.01$);以当归多糖作用后,TGF- β_1 分泌增高,分泌胶原随之增高;随着当归多糖浓度增高,HKC 分泌 TGF- β_1 和 FC 分泌胶原浓度渐增高,在 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达高峰。

表3 当归多糖对 HKC 源 TGF- β_1 与 FC 分泌 III 型胶原的影响 ($\bar{x} \pm s$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	质量浓度 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	TGF- β_1	PC III
FC	-	63.2 ± 3.16	68.3 ± 3.34
HKC 对照	-	$110.68 \pm 5.28^{1)}$	$112.62 \pm 5.36^{1)}$
HKC 和 FC 共孵育	-	$96.46 \pm 4.84^{1)}$	$105.74 \pm 5.25^{1)}$
当归多糖	0.2	$152.61 \pm 6.23^{3)}$	$173.45 \pm 7.14^{3)}$
	0.1	$136.58 \pm 5.94^{2)}$	$149.67 \pm 6.03^{2)}$
	0.02	$119.26 \pm 5.47^{2)}$	$132.37 \pm 5.76^{2)}$

4 讨论

正常皮肤主要由 HKC,FC 及细胞外基质组成,FC 在创伤愈合的过程中发挥了重要的作用,是创伤愈合中的最主要细胞。创伤愈合主要通过 2 种可能的机制来实现:①HKC 分泌细胞生长因子,直接或间接调节成纤维细胞的胶原合成,细胞增殖;②角质形成细胞合成胶原酶或其他的基质金属蛋白酶促进胶原的降解^[6]。其中 IL-1 α 及 TGF- β_1 是 2 种极为重要的物质,两者都可促进 FC 增殖,但 TGF- β_1 促进

成纤维细胞胶原分泌,而 IL-1 α 则抑制胶原分泌^[7-8],从而使其对 FC 作用发生变化,这对创伤愈合及异常瘢痕形成均有重要意义。

HKC 可分泌大量的 IL-1 α ,在皮肤生理中发挥重要作用,是角质形成细胞与成纤维细胞间互相作用的纽带。IL-1 α 是角质形成细胞对成纤维细胞基因表达进行调节的重要细胞因子之一^[9]。本实验表明随着当归多糖浓度增高,HKC 分泌 IL-1 α 降低,FC 分泌胶原浓度增高,这主要是由于 IL-1 α 可引起 FC 分泌大量的 MMP-1,MMP-3,促进了胶原的降解。

现在认为,FC 与 HKC 之间是一个相互作用,相互促进的关系,只有同时存在时,才能形成完整的皮肤结构,出现多层分化表皮及基底膜等结构^[10]。我们的研究发现未融合的即上皮化前的 HKC,可分泌大量的 TGF- β_1 ,而这种 HKC 源性的 TGF- β_1 能促进 FC 增殖,同时使 FC 分泌更多胶原。这与 HKC 源 TGF- β_1 可能就是 FC 促增殖因子相一致^[11]。故可认为此时的 HKC 是激活创伤愈合中 FC 的因素之一,通过促进细胞增殖及增加胶原分泌,加速创伤愈合。

我们发现当归多糖可通过 HKC 促 FC 增殖是多种因子作用的结果。故我们推测 FC 与 HKC 间的调节环路可能是多种因子介导的,即“角质形成细胞-各种角质细胞源活性因子(IL-1 α 等)-成纤维细胞-各种成纤维细胞源活性因子(TGF- β_1 等)-角质形成细胞”,但是其具体作用机制有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] P Martin. Wound healing aiming for perfect skin regeneration[J]. Science,1997,276(5309):75.
- [2] 岳海岭,彭代智.电刺激促进创面愈合的研究进展[J].中华烧伤杂志,2006,22(5):394.
- [3] Nowinski D, Koskela A, Kiwanuka E, et al. Inhibition of connective tissue growth factor/CCN2 expression in human dermal fibroblasts by interleukin-1 α and beta[J]. J Cell Biochem, 2010,10(5):1226.
- [4] 刘德五,苏子毅.当归对增生性瘢痕的治疗作用[J].中药药理与临床,1998,14(6):30.
- [5] 杨兴斌,梅其炳,周四元,等.当归多糖对小鼠腹腔巨噬细胞释放细胞效应分子的诱导作用[J].细胞与分子免疫学杂志,2004,20(6):747.
- [6] 刘娟,彭仁秀,乐江,等.当归多糖的分离纯化及其部

蒲黄炭对血瘀大鼠血液流变性、凝血时间及舌象体征的影响

李芳, 孔祥鹏, 陈佩东, 张丽, 丁安伟*

(南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室, 南京 210046)

[摘要] **目的:** 观察蒲黄炭对急性血瘀模型大鼠血液流变性、凝血时间及舌象体征的影响。**方法:** SD 大鼠随机分为 6 组, 分别为正常组, 模型组, 云南白药组, 蒲黄炭高、中、低剂量 ($15, 6, 3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组。除正常组外, 其余组复制急性血瘀大鼠模型, 并比较蒲黄炭对其血液流变性、凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血酶原时间 (APTT)、凝血酶时间 (TT)、纤维蛋白原含量 (FIB) 及舌象体征的影响。**结果:** 蒲黄炭高、中、低剂量组均能明显降低血瘀大鼠全血低切黏度、血沉、红细胞刚性指数。在凝血时间影响方面, 蒲黄炭高、中剂量组均能明显延长 TT, PT, 缩短 APTT, 降低 FIB 的含量。蒲黄炭低剂量组能明显缩短 PT, APTT。在舌象体征方面, 蒲黄炭在所设剂量下对舌水肿、出血均有一定的治疗作用, 高剂量效果最好, 其次是中、低剂量。**结论:** 蒲黄炭能够改善血瘀大鼠异常的血液流变学指标, 缩短 APTT, 降低纤维蛋白原含量, 改善舌象血瘀体征, 而表现出一定的化瘀止血功效。蒲黄炭高、中剂量组使血瘀大鼠 PT, TT 延长, 在一定程度上表现出剂量对止血的双向调节作用。

[关键词] 蒲黄炭; 血液流变性; 凝血; 舌象体征

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0154-04

Effects of Carbonized Typhae Pollen on Hemorheological Parameters, Clotting Time and Tongue Presentations in Rats with Blood-stasis

LI Fang, KONG Xiang-peng, CHEN Pei-dong, ZHANG Li, DING An-wei*

(Jiangsu Key laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research,
Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of carbonized Typhae Pollen on the hemorheological parameters, clotting time and tongue presentations in acute blood-stasis model of rat. **Method:** The SD rats were divided into control, model, Yunnan White Drug-power, carbo power of Typhae Pollen (high, middle and low

[收稿日期] 20110307(008)

[基金项目] 国家中医药管理局公益性行业科研专项 (HY11076631)

[第一作者] 李芳, 硕士研究生, 研究方向: 中药复方及中药炮制机制研究, Tel: 15150566196, E-mail: lifang19870801@126.com

[通讯作者] *丁安伟, 博士生导师, Tel: 025-85811523, E-mail: awding105@163.com

生理化学性质的研究 [J]. 华西药理学杂志, 2004, 19 (6): 412.

[7] Koskela A, Engström K, Hakelius M, et al. Regulation of fibroblast gene expression by keratinocytes in organotypic skin culture provides possible mechanisms for the antifibrotic effect of reepithelialization [J]. Wound Repair Regen, 2010, 18(5): 452.

[8] Shirakata Y. Regulation of epidermal keratinocytes by growth factors [J]. J Dermatol Sci, 2010, 59(2): 73.

[9] Hayashi N, Kido J, Kido R, et al. Regulation of calprotectin expression by interleukin-1alpha and

transforming growth factor-beta in human gingival keratinocytes [J]. J Periodontal Res, 2007, 42(1): 1.

[10] Aden N, Nuttall A, Shiwen X, et al. Epithelial cells promote fibroblast activation via IL-1alpha in systemic sclerosis [J]. J Invest Dermatol, 2010, 130(9): 2191.

[11] Lian X, Yang L, Gao Q, et al. IL-1alpha is a potent stimulator of keratinocyte tissue plasminogen activator expression and regulated by TGF-beta1 [J]. Arch Dermatol Res, 2008, 300(4): 185.

[责任编辑 聂淑琴]