

人参提取物对 C57 小鼠生发作用的影响

刘莉, 陈育尧, 张璐, 张春芳, 刘强, 朱红霞*

(南方医科大学中医药学院, 广州 510515)

[摘要] **目的:** 研究人参提取物对 C57BL/6J 小鼠毛发生长促进作用及其机制。**方法:** 实验分为阳性对照组(章光 101)、空白对照组、人参提取物高、中、低(2, 1, 0.5 g·mL⁻¹)剂量组。小鼠脱毛, 通过观察脱毛区肤色的变化和组织学检查, 研究人参提取物对小鼠毛发生长周期的影响; 采用红外测温仪观察对小鼠皮肤温度的影响; 采用浊度法和底物发色法, 观察其抗血小板聚集的作用, 初步探讨其促进毛发生长的机制。**结果:** 人参各剂量组均能诱导 C57BL/6J 小鼠毛发生长, 使其从休止期进入生长期, 但对毛发的最终长度无影响, 且呈现一定的剂量依赖作用($P < 0.01$), 高剂量组与阳性组无显著性差异; 组织学检查显示人参提取物可以刺激毛囊生长, 产生黑色素; 给药 20, 60 min 后, 人参各剂量组均能显著提高小鼠的体温($P < 0.01$), 120 min 后, 恢复到给药前水平; 人参高、中、低剂量组对血小板活化因子(PAF)诱导的大鼠 5 min 时血小板聚集率分别为 49.41%, 27.80%, 18.39% (均 $P < 0.01$), 且呈现一定的剂量依赖作用, 与阳性对照组则无显著性差异; 其抗血小板聚集的作用与抗凝血酶有关, 人参高、中、低剂量组的凝血酶抑制率分别为(20.24 ± 2.72)%, (15.42 ± 1.03)%, (8.61 ± 0.80)% ($P < 0.01$)。 **结论:** 人参提取物具有明显的促进毛发生长的作用, 其机制与扩张皮肤毛细血管、改善局部微循环有关。

[关键词] 人参; C57BL/6J 小鼠; 毛发生长周期; 皮肤温度; 血小板聚集; 抗凝血酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0250-05

[doi] 10.11653/zgsyfyjxzz2013070250

Experimental Study on the Effects of the Extract of Ginseng Radix et Rhizoma on Hair Growth of C57BL/6J Mice

LIU Li, CHEN Yu-yao, ZHANG Lu, ZHANG Chun-fang, LIU Qiang, ZHU Hong-xia*,

(College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects and mechanism of the extract of Ginseng Radix et Rhizoma on hair growth of C57BL/6J mice. **Method:** This experiment had 5 groups: positive control group (zhanguang 101), blank control group, high dose group (2 g·mL⁻¹), medium dose group (1 g·mL⁻¹), low dose group (0.5 g·mL⁻¹). The skin color and histological examination of hairless mice were investigated to study the effects of promoting hair growth. The skin temperature at different time was measured with infrared radiation thermometers and platelet aggregation rate *in vitro* was surveyed with nephelometry and chromogenic substrate to preliminarily study the mechanism. **Result:** All dose groups could induce the hair growth of C57BL/6J mice in a dose-dependent manner from resting stage to growing period, but had no effect on final length of the hair. The differences were significant ($P < 0.01$) between the therapeutic groups and the controls, but no significant between high dose group and positive control group. Histologic examination showed that the extract of Radix Ginseng could produce melanin and induce C57BL/6 mice hair follicle to enter from telogen into anagen. Twenty and sixty minutes after administration, all dose groups can significantly improve the temperature of mice ($P < 0.01$), however, one hundred and twenty minutes later, the temperature recovered to initial time. The blood platelet aggregation induced by platelet activating factor (PAF) at five minutes could significantly and concentration-

[收稿日期] 2012-07-03

[基金项目] 广州市白云区科技计划重点项目(2011-KQ-23); 广东省高校中药化妆品工程中心建设项目(GCZX-A1007)

[第一作者] 刘莉, 博士, 副教授, 从事中药外用制剂研究, Tel: 13430359298, E-mail: shyshLL@163.com

[通讯作者] * 朱红霞, 主治医师, 从事中医临床研究, Tel: 020-61648264, E-mail: sysLL@fimmu.com

dependently be inhibited by all dose groups, the platelet aggregation rates of different doses were 49.41%, 27.80%, 18.39%, respectively, and the differences were significant between the therapeutic groups and the blank control group ($P < 0.01$), but there were no significant differences between the Ginseng Radix et Rhizoma groups and the positive control group. The platelet aggregation activity was partially related to antithrombin and the thrombin inhibition rates of different doses were $(20.24 \pm 2.72)\%$, $(15.42 \pm 1.03)\%$, $(8.61 \pm 0.80)\%$, respectively. The differences were significant between the therapeutic groups and the blank control group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The mechanism of the extract of Ginseng Radix et Rhizoma on hair growth of C57BL/6J could be connected with expanding skin capillary and improving local microcirculatory perfusion.

[Key words] Ginseng Radix et Rhizoma; C57BL/6J mice; growing phase of hair cycle; skin temperature; platelet aggregation; antithrombase

人参性平、味甘、微苦、微温。归脾、肺经、心经。具有“大补元气，补脾益肺，安神益智”之功效。清《医林改错·通窍活血汤所治之症目》曰“头发脱落，各医书皆言伤血，不知皮里肉外血瘀，阻塞血络，新血不能养发，故发脱落。”脾胃为气血化生之源，源头匮乏则发失所养而脱落；心主血脉，若血不足脉不通则发亦失所养。“肺者，其华在毛，其主在皮。”若肺宣散卫气功能减弱，则皮毛无所濡润，肌肤干燥，毛发枯萎脱落。因此，人参不仅是滋补强壮剂，而且具有良好的生发和护发作用^[1]。本文对其生发作用进行了药效学研究，并对其机制进行了初步探讨。

1 材料

1.1 动物 7~8 周龄雌性 C57BL/6J 小鼠 (SPF 级), 体重 18~22 g, 中山大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(粤)2011-0029; 6 周龄 Wistar 大鼠, 南方医科大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(粤)2006-0015。

1.2 试药与仪器 人参 75% 乙醇提取物 (由南方医科大学中药制剂学教研室提供), 章光 101B 防脱发剂 (北京章光 101 集团公司, 批号 20120201), 血小板活化因子 (PAF), Sigma 公司, 批号 128k5207v), 凝血酶 (Thrombin, sigma 公司, 批号 041m7007v), 发色底物 S-2238 (chromogenic substrate S-2238, Larodan 公司, 批号 N0827256), 红外测温仪 (香港希玛), Nikon ECLIPSE Ti-S 型双端口倒置显微镜 (日本尼康)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 动物饲养 1 周后, 分为 5 组, 阳性对照组 (涂抹章光 101)、空白对照组 (涂抹蒸馏水), 人参提取物高、中、低剂量组, 参照预试验结果和参考文献[2-3], 确定剂量分别为 2, 1, 0.5 g·mL⁻¹。给药前 24 h 将小鼠背部用温和脱毛剂^[4]脱毛, 去毛面积 4 cm², 每日涂 1 次药液 (7.5 mL·

kg⁻¹), 连续涂至背部去毛区毛全部长出。

2.2 小鼠毛发生长情况 每天观察小鼠皮肤及被毛生长情况, 记录每只小鼠去毛区皮肤颜色由粉红色变成灰色的时间和由灰色至长满毛的时间。拍照记录。

2.3 小鼠皮肤组织学检查 于用药后第 1, 8, 14, 26 天, 取小鼠背部皮肤, 10% 甲醛固定, 沿毛囊纵向切面连续取 2 块组织, 每块长 1.5 cm, 进行常规组织脱水、石蜡包埋、HE 染色, 光镜下观察小鼠毛囊的皮肤组织学变化。

2.4 对小鼠皮肤温度的影响^[5] 于恒温恒湿空调屋内, 采用红外测温仪测量不同组药物给药前、给药后不同时间点 (20, 60, 120 min) 的皮肤温度。

2.5 对血小板凝聚作用的影响^[6-7] Wistar 大鼠, 麻醉, 下腔静脉采血 5 mL 至抗凝管中, 离心 (1 000 r·min⁻¹, 10 min), 得富血小板血浆 (PRP), 将下层再离心 (3 000 r·min⁻¹, 15 min), 得贫血小板血浆 (PPP), 聚集诱导剂采用 PAF (终质量浓度 0.42 mg·L⁻¹)。每管 250 μL PRP 中加入 101 育发液及不同浓度的人参提取物 10 μL, 空白对照组 PRP 中加入生理盐水 10 μL, 37 °C 温育 5 min, 然后加入 10 μL 诱导剂, 浊度法测定血小板聚集率, 计算血小板聚集抑制率。

2.6 抗凝血酶作用 抗凝血酶活性采用发色底物 S-2238^[8] 10 μL, 2.6 项下 PPP 加 30 μL 1 mol·L⁻¹ S-2238 和 80 μL pH 8.4 的缓冲液混合均匀。另取 10 μL 6 U·mL⁻¹ 凝血酶溶液, 加待测样品的溶解缓冲液 30 μL 混合均匀。反应从以上两种混合物混合开始, 37 °C 孵育 45 min, 加入 60% 乙酸结束反应。在 405 nm 处测定吸光度 (A)。

$$\text{凝血酶抑制率} = (1 - A_{\text{抑制剂}}) / A_{\text{生理盐水}}$$

2.7 统计方法 采用 SPSS 软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单向方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 人参提取物育发效果

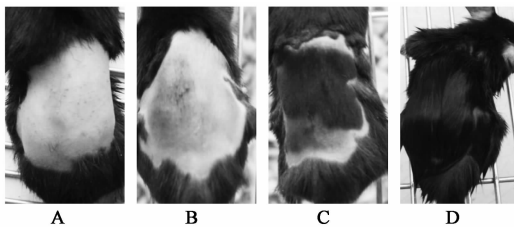
3.1.1 小鼠毛发生长情况 小鼠脱毛后,皮肤呈现粉红色,毛发进入休止期,由表 1 可以看出,涂药 7~10 d 后,阳性对照组皮肤开始发黑,8~14 d 后人参提取物各组开始变黑,14~16 d 后,空白组开始变黑,空白对照组与各组之间均有显著性差异,阳性对照组与人参高剂量组之间无显著性差异,与人参中、低剂量组有显著性差异,人参各剂量组之间也存

在显著性差异。涂药 12~14 d 后,阳性对照组黑色皮肤开始长出毛发,15~18 d 后,人参提取物各组开始长出毛发,19~21 d 后,空白组开始长出毛发。各组间差异同皮肤发黑时间,提示人参的生发作用有一定剂量依赖性。给药 26~30 d,阳性对照组及人参各组均长满毛发,空白对照组与各组之间均有显著性差异,阳性对照组与人参高、中剂量组之间无显著性差异,人参高、中剂量组与低剂量组之间有显著性差异。结果见表 1,图 1。

表 1 人参提取物对 C57 小鼠毛发生长的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	皮肤粉红到变灰的时间	灰色皮肤长出毛的时间	皮肤长满毛的时间
对照	-	15.04 ± 1.05	20.42 ± 1.31	45.02 ± 2.12
人参提取物	15	9.41 ± 0.58 ¹⁾	15.16 ± 1.19 ¹⁾	27.61 ± 2.47 ¹⁾
	7.5	11.22 ± 0.91 ^{1,2)}	16.32 ± 1.21 ^{1,3)}	28.09 ± 1.71 ^{1,3)}
	3.75	13.28 ± 1.78 ^{1,2)}	17.86 ± 1.16 ^{1,2)}	29.66 ± 1.66 ^{1,2)}
章光 101	7.5	8.59 ± 0.87 ¹⁾	14.94 ± 0.98 ¹⁾	27.39 ± 1.23 ¹⁾

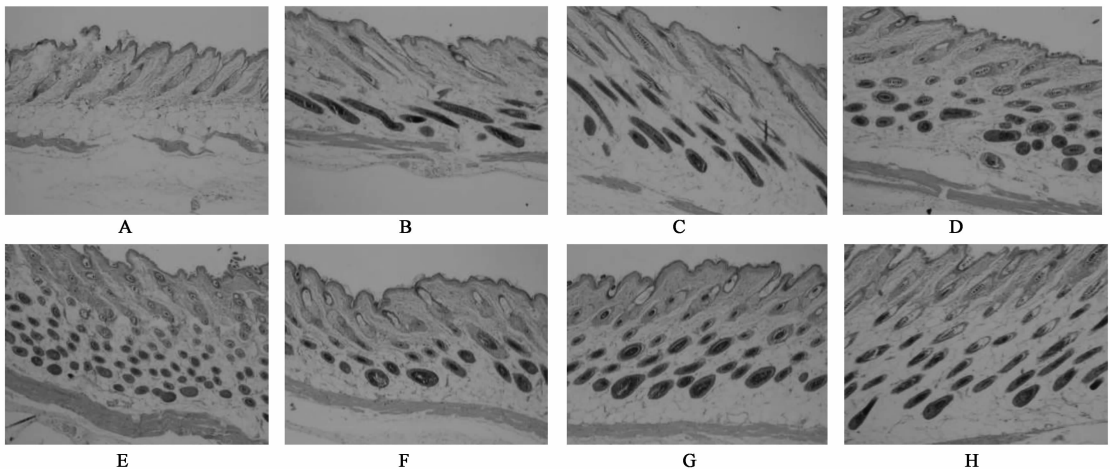
注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与阳性对照组比较²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.05$ (表 2~3 同)。



A. 进入休止期的皮肤(粉红色); B. 皮肤开始变灰;
C. 皮肤开始长毛; D. 背部全部长满毛

图 1 人参提取物对小鼠无毛区皮肤变化的影响

3.1.2 皮肤组织学检查 8 周龄左右的小鼠脱毛后显示毛囊下段已经退化,毛囊进入休止期的静止状态;涂药后第 8 天新的毛发结构形成,毛乳头逐渐被毛球包绕,并随毛囊向下生长至皮下组织深层;阳性对照组毛乳头数较给药组少;第 14 天毛囊数量增多,发育日趋成熟,黑色素形成明显;阳性对照组数目也增多,但黑色素形成,不如给药组明显;至第 26 天,给药组与阳性对照组毛囊分布更密集,新的毛发已经形成,并长出毛囊。结果见图 2。



A. 空白对照组第 1 天; B. 空白对照组第 26 天; C. 阳性对照组第 8 天; D. 阳性对照组第 14 天; E. 阳性对照组第 26 天;
F. 受试药 15 g·kg⁻¹ 组第 8 天; G. 受试药 7.5 g·kg⁻¹ 组第 14 天; H. 受试药 3.75 g·kg⁻¹ 组第 26 天

图 2 人参提取物对小鼠局部皮肤毛囊组织病理学变化的影响(HE 染色, ×100)

3.2 对毛细血管血液循环的影响

3.2.1 对小鼠皮肤温度的影响 给药 20 min 后,阳性对照组和人参各剂量组小鼠皮肤温度较空白组均有显著性差异。人参各剂量组之间也存在显著性差异。给药 60 min 后,阳性组与人参各剂量

组小鼠皮肤温度仍然有显著性差异,提示较阳性对照组,人参提取物对皮肤温度的提高较弱,人参各剂量组之间仍然呈显著性差异,表明了一定的剂量依赖性。120 min 后,各组恢复给药前水平。结果见表 2。

表 2 人参提取物对小鼠不同时间皮肤温度变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	20 min	60 min	120 min
对照	-	0.00	0.00	0.00
人参提取物	15	$1.62 \pm 0.14^{1,2)}$	$1.90 \pm 0.15^{1,3)}$	0.04 ± 0.05
	7.5	$1.05 \pm 0.23^{1,2)}$	$1.10 \pm 0.2^{1,2)}$	0.05 ± 0.07
	3.75	$0.32 \pm 0.13^{1,2)}$	$0.33 \pm 0.13^{1,2)}$	0.03 ± 0.05
章光 101	7.5	$2.13 \pm 0.28^{1)}$	2.15 ± 0.44	0.03 ± 0.04

3.2.2 对血小板凝聚作用的影响 人参高、中、低剂量组对 PAF 诱导的大鼠 5 min 时血小板聚集有显著抑制作用,与空白对照组对比均有显著性差异($P < 0.05$),且呈浓度的依赖作用。人参中剂量组与 101 育发组效果相当,无显著性差异。结果见表 3。

表 3 人参提取物对大鼠血小板凝聚率的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	血小板聚集率/%	聚集抑制率/%
对照	-	67.64 ± 2.05	-
人参提取物	2	$34.22 \pm 2.15^{1,2)}$	49.41
	1	$48.84 \pm 1.70^{1)}$	27.80
	0.5	$55.20 \pm 2.32^{1,2)}$	18.39
章光 101	2	$46.22 \pm 2.39^{1)}$	31.67

3.2.3 人参提取物抗凝血酶作用 凝血酶抑制实验表明人参提取物对凝血酶有一定的抑制作用,但抑制率较低,表明人参抑制血小板聚集的机制除与凝血酶有一定亲和力以外,还可能与其他途径。结果见表 4。

表 4 人参提取物的抗凝血酶作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	凝血酶抑制率/%
对照	-	0
人参提取物	2	$20.24 \pm 2.72^{1)}$
	1	$15.42 \pm 1.03^{1,2)}$
	0.5	$8.61 \pm 0.80^{1,2)}$
章光 101	2	$19.24 \pm 1.33^{1)}$

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与章光 101 组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

实验选用了章光 101 生发液为阳性对照药,章光 101 生发液为生发行业领军企业——北京章光

101 集团公司旗下产品。其主要成分是中药,不含西药成分,生发效果明显,因此选用其作为阳性对照药^[9-10]。

实验采用了整体药效学,选用 C57BL/6J 小鼠为模型研究人参提取物的育发作用,C57BL/6J 黑毛小鼠出生 7 周后,毛发生长进入休止期,皮肤呈现粉红色,毛囊进入生长期后,皮肤变为灰色,渐渐长出再生毛^[11]。因此观察 7~8 周龄小鼠的毛发生长情况可以了解药物对小鼠毛发生长的影响。目前已有研究表明,人参皂苷单体 Rb₁、Rb₂ 在毛囊中有非常集中的分布,人参浸提液对生长期的毛囊起代谢促进作用,并且很容易头皮和头发所吸收^[1]。我们从整体药效学实验上证实了人参提取物能诱导 C57BL/6J 小鼠毛发生长,使其从休止期进入生长期,在生长期早期可加速毛发的生长,但对毛发的最终长度无影响。此外,还观察到人参提取物可使小鼠新生毛发颜色加深,黑色素较对照组增多,可见其还有一定的乌发作用。但对人参生发作用机制的报道尚不多见。脱发的病因病机与多种因素有关,目前认为其中比较主要的原因是血液循环不良,养分不足,因此我们从皮肤温度、微循环 2 个因素进行研究,结果表明,人参提取物可部分影响凝血酶活性而抑制血小板的聚集作用,促进血液循环。同时能扩张皮下毛细血管,提高皮肤温度,改善微循环,从而可加强毛囊的营养,促进毛发再生。

[参考文献]

- [1] 刘建明,卫永第,尹笠全,等. 人参生发液的生发作用[J]. 吉林大学学报:医学版,1986,10(3):204.
- [2] 张榕文,李耿,刘丹丹. 中药育发液对肾上腺素致小鼠耳廓微循环障碍的影响研究[J]. 中国当代医药,2011,18(30):7.

大黄蛭虫丸对动脉粥样硬化鼠 NF- κ B 通路及炎症因子影响

司秋菊¹, 张艳慧¹, 王鑫国¹, 江玉娟², 王贵娟¹

(1. 河北医科大学, 石家庄 050091; 2. 沧州市中心医院感染科, 河北沧州 061001)

[摘要] 目的: 观察大黄蛭虫丸(DHZCP)对动脉粥样硬化(AS)大鼠炎症相关因子表达的影响, 探讨 DHZCP 抗 AS 免疫炎症的机制。方法: SD 雄性大鼠 32 只随机分为对照组、模型组、DHZCP 高剂量、低剂量(1.4, 0.7 g·kg⁻¹)组, 每组 8 只。采用高脂饲料联合维生素 D₃ (VitD₃) 复制大鼠 AS 模型, 21 d 后, 用 DHZCP 灌胃 8 周, 观察各组大鼠甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)及血清肿瘤坏死因子(TNF- α), HE 染色观察主动脉病理变化, 免疫组织化学染色观察核因子- κ B(NF- κ B)及细胞间黏附分子(ICAM-1)蛋白表达, 并采用半定量计算机图像分析计算 NF- κ B 及 ICAM-1 阳性细胞率。结果: 模型组血脂、血清 TNF- α 升高; 主动脉内膜显著增厚, 可见纤维帽和胆固醇结晶; NF- κ B 及 ICAM-1 蛋白表达阳性细胞率分别是(47.35 ± 5.18)%, (55.92 ± 0.40)%, 明显高于 DHZCP 治疗组(P < 0.01, P < 0.05)。DHZCP 2 个剂量组血清脂质、TNF- α 明显低于模型组; DHZCP 高剂量组主动脉病变较较低剂量组轻, 明显优于模型组; NF- κ B 及 ICAM-1 蛋白表达阳性细胞率(16.71 ± 4.43)%, (19.73 ± 0.28)%, 明显低于模型组(P < 0.01, P < 0.05)。结论: DHZCP 通过下调 NF- κ B 信号通路的蛋白表达, 减少 TNF- α , ICAM-1 等炎症因子释放, 抑制炎症反应, 发挥抗 AS 作用。

[关键词] 动脉粥样硬化; 核因子- κ B; 大黄蛭虫丸; 肿瘤坏死因子; 细胞间黏附分子-1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0254-05

[doi] 10.11653/zgsyfyjxzz2013070254

Effects of Dahuang Zhechong Pill on the Expression of NF- κ B Pathway and Inflammatory Factors in Atherosclerosis Rats

SI Qiu-ju¹, ZHANG Yan-hui¹, WANG Xing-guo¹, JIANG Yu-juan², WANG Gui-juan¹

(1. Hebei Medical University, Shijiazhuang 050091, China;

2. Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061001, China)

[Abstract] **Objective:** This experiment is mainly to estimate the expression nuclear factor-kappa B and

[收稿日期] 20120723(013)

[基金项目] 河北省教育厅项目(20042011); 河北省中医管理局项目(05163)

[第一作者] 司秋菊, 教授, 从事中西医结合心脑血管疾病临床、教学和科研工作, Tel: 0311-86265393, E-mail: siqiuju@163.com

[3] 蒋薇, 杨键, 裴志胜, 等. 中药制剂促毛发生作用观察[J]. 中国临床康复, 2005, 9(30): 158.

[4] 余建强, 闫琳, 郑萍, 等. 实验动物脱毛剂的改良与应用[J]. 宁夏医学院学报, 2001, 23(4): 296.

[5] 张榕文, 王玉华, 赵冉, 等. 中药育发液提高皮肤微循环的药效学研究[J]. 中国医药导报, 2011, 8(8): 55.

[6] 仇锦春, 廖清船, 张永, 等. 香丹注射液对急性血瘀模型大鼠血液流变性及血小板聚集的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 137.

[7] 蒋海峰, 宿树兰, 欧阳臻, 等. 乳香、没药提取物及其配伍对血小板聚集与抗凝血酶活性的影响[J]. 中国

实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 160.

[8] 赵荣乐. 一种测定凝血酶抑制活性的新方法[J]. 喀什师范学院学报, 2003, 24(6): 52.

[9] 薛芬, 赵章光, 赵胜霞, 等. 章光 101 生发系列产品对 C57BL/6J 小鼠触须毛囊体外培养的研究[J]. 延安大学学报: 医学科学版, 2009, 7(3): 7.

[10] 赵章光. 章光牌 101 毛发再生精治疗脂溢性脱发 328 例的观察报告[J]. 中医杂志, 1988, 29(9): 51.

[11] 李卫江. 银杏叶萃取物的生发效果和改善毛细血管血液循环效果[J]. 日用化学工业译丛, 1994(4): 36.

[责任编辑 李玉洁]