

- [6] 李卫民,倪红.他克莫司软膏治疗面部糖皮质激素依赖性皮炎临床疗效观察[J].解放军医学杂志,2015,40(8):686-686.
- [7] 孙文兰,魏焯平,于腾阳,等.综合疗法治疗面部激素性皮炎的疗效观察[J].华南国防医学杂志,2015,29(5):398-399.
- [8] 中国医师协会皮肤科分会美容专业组.激素依赖性皮炎诊治指南[J].临床皮肤科杂志,2009,38(8):549-550.
- [9] Simon D,Vassina E,Yousefi S,et al.Inflammatory cell numbers and cytokine expression in atopic dermatitis after topical pimecrolimus treatment[J].Allergy,2015,60(7):944-951.
- [10] Sang-Chul Han,Dong-Hwan Koo,Na-Jin Kang,et al.Docosahexaenoic Acid Alleviates Atopic Dermatitis by Generating Tregs and IL-10/TGF- β -Modified Macrophages via a TGF- β -Dependent Mechanism[J].Journal of Investigative Dermatology,2015,135(6):1556-1564.
- [11] 袁宏伟,苗玉良,张芝娟,等.0.1%他克莫司软膏治疗面部激素依赖性皮炎疗效观察[J].实用皮肤病学杂志,2015,8(6):422-424.
- [12] 邱慧娟,孙明翠,王晖,等.中西医结合治疗面部糖皮质激素依赖性皮炎效果观察[J].现代中西医结合杂志,2015,24(9):981-983.
- [13] 蒋玲钰,杨雪源.面部糖皮质激素依赖性皮炎中西医结合疗法进展[J].陕西中医,2015,36(4):509-511.
- [14] 张才茂.薇诺娜舒敏保湿修复霜联合复方甘草酸苷片、0.03%他克莫司软膏治疗面部激素依赖性皮炎疗效观察[J].延边医学,2015,4(11):227-228.
- [15] 柏志芳,丁小杰.青蒿鳖甲汤为主联合窄谱强脉冲光治疗面部激素依赖性皮炎的疗效观察[J].实用临床医药杂志,2015,19(24):170-172.
- [16] 张斌.甘草酸二铵肠溶胶囊联合一清胶囊治疗面部激素依赖性皮炎临床疗效观察[J].中国实用医药,2016,11(14):134-135.
- [17] 莫惠芳,储开宇,崔瑞莹,等.Q开关Nd:YAG激光治疗面部激素依赖性皮炎临床分析[J].中国现代医生,2015,4(15):87-89.
- [18] 谷晓广,王艺萌,马莎莎,等.调Q 1064nmNd:YAG激光联合LED红光治疗面部糖皮质激素依赖性皮炎疗效分析[J].中国美容医学杂志,2016,13(1):48-50.
- [19] 金燕.长脉冲Nd:YAG激光治疗面部激素依赖性皮炎[J].中国激光医学杂志,2010,20(6):103-105.
- [20] 蒋俊祥.解毒靛颜中药汤配伍盐酸西替利嗪治疗面部激素依赖性皮炎的临床疗效观察[J].吉林医学,2012,11(26):5652-5652.

中药提取物“域发生发液”促进小鼠毛发生长的研究

通拉嘎,青玉,萨如拉,温达茹

(内蒙古民族大学附属医院皮肤美容中心,内蒙古 通辽 028000)

【摘要】目的 观察中药提取物“域发生发液”促进小鼠毛发生长的作用及其机制。**方法** 小鼠随机分为5个组,外用“域发生发液”,与外用“米诺地尔酊”及空白组做对照,观察小鼠毛发生长的进展,同时进行HE染色及免疫组化实验进一步说明其作用机制。**结果** 治疗后第7天,空白组小鼠毛囊仍在静止期,其余4组小鼠毛囊明显提前进入生长期;治疗后第14天,空白组小鼠毛囊才进入生长期,对每组进入生长期的毛囊进行计数统计,每个治疗组与空白组间比较有统计学意义。在毛囊生长期检测到毛发生长相关通路蛋白 β -catenin及Shh蛋白的特异性表达。**结论** “域发生发液”通过使静止期毛发提前进入生长期,促进毛发生长。

【关键词】 域发生发液; β -catenin 白;Shh 蛋白

中图分类号: R242; R334⁺.5 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1002-1310.2018.04.004

毛发的生长周期分三个阶段,分别为生长期、退行期和休止期。人的头发数量一年四季基本上保持不变,是因为每根头发维持其各自的生长周期,使头发的脱落与生长保持着动态平衡,保持头发总数量大体不变。但是某些较低等动物如小鼠与人类不同,全身所有毛发的生长周期基本上是同步的。可以利用小鼠构建毛发周期模型做毛发生长相关研究。假如不给予任何刺激或干扰,大约(6~7)周至(12~13)周左右小鼠毛发处于静止期,在这期间,毛囊细胞受到药物或其它因素的刺激,可能会提前进入生长期^[1]。从静止期进入生长期的过渡时期,毛芽细胞首先开始分裂,紧接着隆突区毛囊干细胞开始分裂,多条信号通路参与调控毛囊干细胞的自我更新、增殖分化。近几年研究较多的信号通路主要包括Wnt信号通路、Shh信号通路,Notch信号通路及BMP/TGF- β 信号通路等,这些信号通路通过相互调节,共同维持毛囊干细胞的稳态^[2]。本次实验选

择静止期毛发的小鼠,观察中药提取物:“域发”是否有促进小鼠毛发生长的作用,并对重要通路中起主要作用的 β -catenin蛋白及Shh蛋白进行检测,研究其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验药物 中药提取物“域发生发液”(广州市庚晖精细化工有限公司馈赠),由何首乌,人参,绞股蓝,当归及日本樟芽菜等天然植物提取物组成。

1.2 动物 7周龄雄性C57BL/6J小鼠75只,体重约(18~20)g

1.3 试剂 β -catenin兔抗鼠单克隆抗体,Shh兔抗鼠单克隆抗体(英国Abcam公司)

1.4 实验方法 使用电推子剃掉小鼠后背约2cm×3cm区毛发,将小鼠随机分为5个组,分别为对照组、2%米诺地尔组、域发组,5%米诺地尔组及纳晶导入域发组;对照组:不给予任何处理;2%米诺地尔组:整个后背脱发区外喷2%米诺地尔液,

1次/d,每次用量大约0.2ml;域发组:整个后背脱发区外喷域发液,1次/d,每次用量大约0.2ml;5%米诺地尔组:整个后背脱发区外喷5%米诺地尔液,1次/d,每次用量大约0.2ml;纳晶导入域发组:小鼠后背脱发区给予纳晶导入域发液,1次/d,每次用量大约0.2ml,所有的治疗直至治疗组所有小鼠毛发长出为止。每天观察每组小鼠表皮颜色变化并用数码相机拍摄,记录每组小鼠不同时间点进入生长期的小鼠数目。同时在治疗前、治疗后7天、14天、21天及28天分别对每组小鼠提取组织标本,进行HE染色,观察毛囊生长的状态,并免疫组化的实验方法检测促进毛发生长相关的两种蛋白。

2 结果

2.1 促进毛发生长的疗效结果 小鼠躯干皮肤的黑素细胞只存在于毛囊中,仅于生长期时合成黑素传递给角质形成细胞,使皮肤变为黑色。至退行期,黑素的生成减少,皮肤呈灰色;至休止期黑素的生成完全停止,使皮肤变为粉红色,因此可简单地根据皮肤的颜色来判断毛发周期的变化^[3]。该实验进行到第7天,根据小鼠表皮颜色的变化,判断进入生长期的小鼠数每组依次分别为0,8,9,11,10;第14天,进入生长期的小鼠数每组依次分别为4,13,13,15,15,(见图1a、图1b)。



图1a 不同的时间点每组小鼠毛发生长的情况

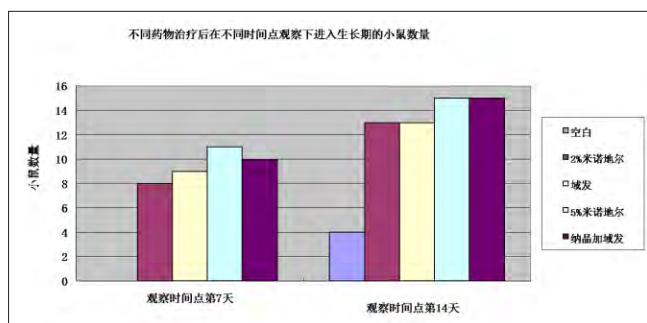


图1b 治疗后第7天及14天每组毛囊进入生长期的小鼠数量

2.2 HE染色结果 毛囊生长周期分为生长期、退行期和休止期3个阶段。进入休止期的毛囊,毛囊下段退化,毛乳头上移至立毛肌附着处水平,进入生长期的毛囊生长速度快,毛囊向下生长至皮下组织深层^[4]。根据HE染色结果,治疗前5个组小鼠毛囊深度在真皮层,均处于静止期,治疗后第7天,除了对照组小鼠毛囊仍在真皮层,其余4组小鼠毛囊已向下长至皮下组织,明显提前进入生长期,治疗后第14天,对照组小鼠毛囊也开始进入生长期,实验对每

组进入生长期的毛囊进行计数统计,发现5%米诺地尔及纳晶导入域发组每倍视野毛囊数明显多于其它组,且每个治疗组与对照组间比较有统计学意义。HE染色结果与小鼠表皮颜色的改变一致。(见图2a、图2b)。

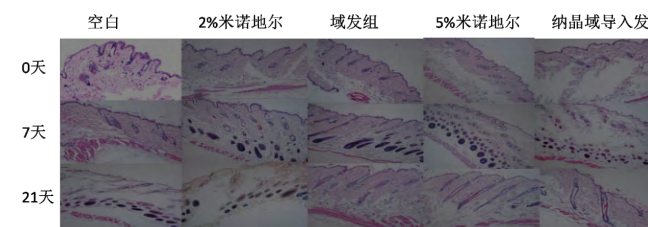


图2a 治疗前每组小鼠毛囊在真皮层,处于静止期,治疗后第7天,除了空白组小鼠毛囊仍处于静止期,其余4组小鼠毛囊已伸入皮下组织,进入生长期;治疗后第14天,空白组小鼠毛囊也从真皮层伸入皮下组织,进入生长期。

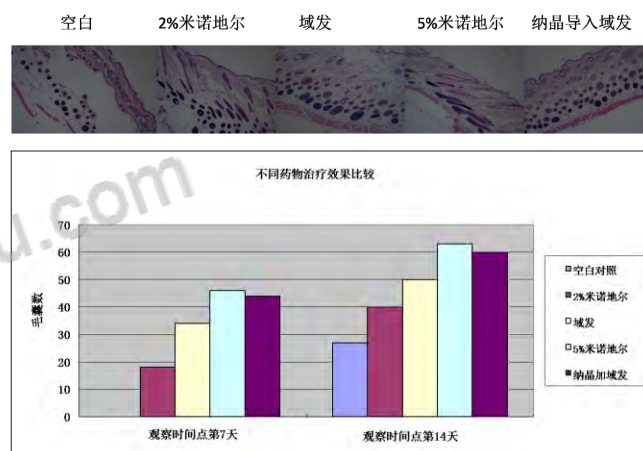


图2b 治疗后第14天,每组进入生长期的毛囊进行计数统计,发现5%米诺地尔及纳晶导入域发组每倍视野毛囊数明显多于其它组,且每个治疗组与对照组间比较 $P < 0.05$

2.3 免疫组化实验结果 治疗前每组小鼠均处于静止期,免疫组化结果显示除了皮脂腺的非特异性表达外,未发现 β -catenin蛋白及Shh蛋白特异性表达;在治疗后第7天,除了对照组小鼠毛囊内未表达,其余小鼠毛囊毛母质细胞及内根鞘内有表达;治疗后21天每个组小鼠毛囊都有特异性表达。(见图3a、图3b)。

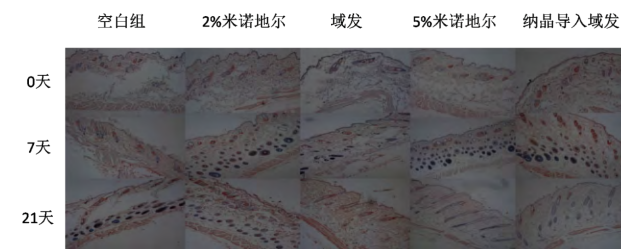


图3a 治疗前每组小鼠除了皮脂腺的非特异性表达外,未发现 β -catenin蛋白特异性表达;在治疗后第7天,除了空白组小鼠毛囊内未表达,其余小鼠毛囊毛母质细胞及内根鞘内有表达;直到21天每个组小鼠毛囊都有特异性表达

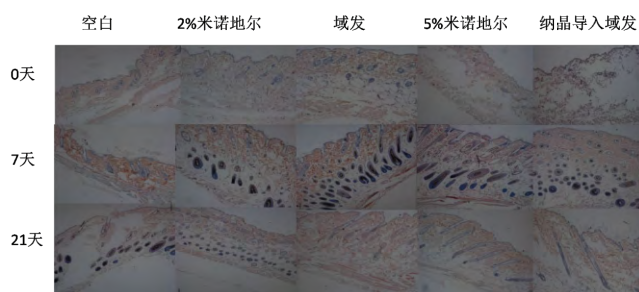


图 3b 治疗前每组小鼠除了皮脂腺的非特异性表达,未发现 Shh 蛋白特异性表达;在治疗后第 7 天,除了对照组小鼠毛囊内未表达,其余小组小鼠毛囊母质细胞及内根鞘内有表达;直到 21 天每个组小鼠毛囊都有特异性表达。

3 讨论

各种形式的脱发如斑秃、雄激素源性脱发等,不仅影响患者外表美观而且严重影响部分患者的心理健康和社会交往。很多报告指出外用米诺地尔通过诱导静止期毛囊进入生长期可治疗各型脱发,但这种药物可能引起皮肤的不良效应,如瘙痒、干燥、脱屑、局部刺激和皮炎^[5],传统药物治疗方法受到很多限制。随着越来越多的研究者发现中草药也有促进毛发生长的作用,且极少或没有副作用或毒性^[6]。域发生发液分别以何首乌、人参、绞股蓝、当归及日本樟芽菜等天然植物提取物成分为主要原料,治疗各种类型脱发。其主要通过扩张血管,增加局部微循环,改善头皮微环境^[7-8],增强 Shh 及 β -catenin 蛋白表达,促进毛囊由休止期向生长期转变,延长毛囊生长期,促进毛囊黑色素合成^[9-10],减少毛囊细胞凋亡数。通过激活毛乳头部 ERK 和 AKT 信号通路,促进毛乳头细胞分化增殖的同时为毛囊生长提供营养支持^[11-13]。毛囊再生过程中各种信号通路及相关蛋白起很重要的作用,其中 Wnt/ β -catenin 信号通路是经典途径, β -catenin 蛋白是此通路中最关键的转录因子,激活此通路后将提高细胞质内 β -catenin 蛋白浓度,随后高浓度的蛋白转移入细胞核,激活特定基因的转录^[14]。Joerg Huelsken 等^[15]用 Cre/loxP 技术在小鼠胚胎期引起 β -catenin 基因突变后发现毛囊的基板形成受阻。如果毛发完全长出后删掉 β -catenin 基因,之后的第一个循环周期毛发会完全脱落。在正常发育过程中,Shh 信号对于毛囊的生长和形态发生是必要的。小鼠的 Shh 基因敲除后,毛囊发育到钉突阶段就停止了,但毛囊发育的起始阶段是正常的。这就表明这 2 个蛋白对基板向下生长是非常重要的,Shh 基因突变鼠的毛囊毛乳头较小,并且毛乳头的成熟依靠 Shh 信号。这些都说明 Shh 对毛囊形态发生的启动并不是必须的,但它会影响上皮细胞和真皮细胞的增殖以及调控上皮细胞进一步向下生长及毛乳头的形成^[16]。本次实验也证明进入生长期的毛囊毛母质细胞及内根鞘内有特异性表达,

进一步说明“域发生发液”促进毛发生长可能与上述蛋白的表达有关,但需要进一步研究证明。

参考文献:

- [1] Sven MuÈller-RoÈver, Bori Handjiski, Carina vander Veen, et al. A Comprehensive Guide for the Accurate Classification of Murine Hair Follicles in Distinct Hair Cycle Stages[J]. The Journal of Investigative Dermatology, 2001, (117): 3-13.
- [2] Nguyen H, Merrill BJ, Polak L, et al. Tcf3 and Tcf4 are essential for long-term homeostasis of skin epithelia[J]. Nat Genet, 2009, 41(10): 1068-1075.
- [3] Slominski A, Paus R, Plonka P, et al. Melanogenesis during the anagen-catagen-telogen transformation of the murine hair cycle. 1994, 102(6): 862-869.
- [4] Slominski A, Paus R. Melanogenesis is coupled to murine anagen: toward new concepts for the role of melanocytes and the regulation of melanogenesis in hair growth[J]. J Invest Dermatol, 1993, (101): 90-97.
- [5] DeVillez RL. The therapeutic use of topical minoxidil[J]. Dermatol Clin, 1990, 8(2): 3673-3675.
- [6] Nan-nan Zhang, Dong Ki Park, Hye-Jin Park. Hair growth-promoting activity of hot water extract of Thuja orientalis[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2013, (13): 9.
- [7] 胡衡. 樟芽菜属药用植物的生药鉴别及图像分析研究[D]. 湖北中医学院, 2003.
- [8] 张晓丽, 朱自平. 绞股蓝总苷对小鼠微循环障碍的改善作用[J]. 中国农业, 2005, 8(5): 19-20.
- [9] 何红梅, 朱红霞, 刘强, 等. 何首乌提取物对 C57BL/6L 小鼠毛囊生长和毛发生长周期的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 216-219.
- [10] Yunfei Li, Mingnuan Han, Pei Lin, et al. Hair Growth Promotion Activity and Its Mechanism of Polygonum multiflorum[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 1-10.
- [11] 刘莉, 陈育, 张璐, 等. 人参提取物对 C57 小鼠生发作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 250-254.
- [12] 吴巧云, 吴贤杰, 吕中法, 等. 红花和当归等中药煎剂对体外培养的鼠毛囊毛发生长与毛球部细胞增殖的影响[J]. 浙江大学学报, 2006, 35(4): 435-439.
- [13] Gyeong-Hun Park, Ki-young Park, Hong-il Cho, et al. Red Ginseng Extract Promotes the Hair Growth in Cultured Human Hair Follicles[J]. J Med Food, 2015, 18(3): 354-362.
- [14] Reddy S, Andl T, Bagasra A, et al. Characterization of Wnt gene expression in developing and postnatal hair follicles and identification of Wnt5a as a target of Sonic hedgehog in hair follicle morphogenesis[J]. Mech Dev, 2001, (107): 69-82.
- [15] Joerg Huelsken, Regina Vogel, Erdmann B, et al. β -Catenin Controls Hair Follicle Morphogenesis and Stem Cell Differentiation in the Skin[J]. Cell, 2001, (105): 533-545.
- [16] Wang L C, Liu Z Y, Gambardella L, et al. Regular articles: conditional disruption of hedgehog signaling pathway defines its critical role in hair development and regeneration[J]. J Invest Dermatol, 2000, 114(5): 901-908.



知网查重限时 7折 最高可优惠 120元

本科定稿，硕博定稿，查重结果与学校一致

立即检测

免费论文查重: <http://www.paperyy.com>

3亿免费文献下载: <http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重: http://www.paperyy.com/reduce_repetition

PPT免费模版下载: <http://ppt.ixueshu.com>
