

# 回阳生肌拆方对糖尿病小鼠慢性皮肤溃疡创面愈合及巨噬细胞表型转化的影响

蒙玉娇 林 燕 王洪艳 薛 妍 何秀娟 李 萍

**摘 要** **目的** 研究回阳生肌拆方(益气温阳拆方和活血通络拆方)对糖尿病小鼠慢性皮肤溃疡创面愈合及创面巨噬细胞表型转化的影响。**方法** db/m 小鼠 10 只为正常组,db/db 小鼠 30 只,随机分为模型组、益气温阳组、活血通络组,每组 10 只。制备背部创面,外用药物贴敷,隔天换药,创面拍照并测定创面面积;创伤后 7 天处死小鼠背部取创面组织。采用苏木素-伊红(HE)和马松(Masson)染色法对创面组织染色并观察病理学改变;采用实时定量 PCR 法检测创面局部 M1 型与 M2 型细胞因子 mRNA 相对表达。**结果** 模型组创面面积明显大于正常组( $P < 0.05$ );回阳生肌益气温阳拆方与活血通络拆方组创面面积均明显小于模型组( $P < 0.05$ )。模型组 IL-12、TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平高于正常组( $P < 0.05$ ),VEGF、TGF- $\beta$  mRNA 表达水平低于正常组( $P < 0.05$ );益气温阳与活血通络组 IL-12、TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平低于模型组( $P < 0.05$ ),VEGF、TGF- $\beta$  mRNA 表达水平高于模型组( $P < 0.05$ )。益气温阳组 IL-12、TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平低于活血通络组( $P < 0.05$ ),TGF- $\beta$  mRNA 表达水平高于活血通络组( $P < 0.05$ )。**结论** db/db 小鼠存在创面愈合迟缓;回阳生肌拆方可促进 db/db 小鼠创面愈合;减少 M1 型巨噬细胞含量,升高 M2 型巨噬细胞含量,可能是其作用机制之一;对于糖尿病慢性皮肤溃疡小鼠,益气温阳拆方促进巨噬细胞表型转化作用优于活血通络拆方。

**关键词** 回阳生肌方 糖尿病性皮肤病 益气温阳拆方 活血通络拆方 巨噬细胞

**中图分类号** R587 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.02.014

**Effects of Modified Formulae for Huiyangshengji Ointment on Wound Heal and Macrophage Phenotype Transformation in Diabetic Mice.**

Meng Yujiao, Lin Yan, Wang Hongyan, et al. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated Capital Medical University, Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China

**Abstract Objective** To study the effect of modified formulae for Huiyangshengji ointment (YQWY and HXTL) on wound healing and macrophage phenotype transformation in diabetic mice. **Methods** 10db/m mice regarded as normal group, 40 db/db mice were randomly divided into the model group, YQWY group and HXTL group, 10 in each group. Surgical operation on the back was made to prepare experimental wound models. External medicines were applied and changed dressings every other day, with wound photographs and measurement. Wound tissues were gained when animals were sacrificed by anesthesia 7 days later. Pathological changes were observed by HE and Masson staining methods, while RT-PCR method was used to detect the mRNA expressions of M1/M2 type cytokines of the wound tissues. **Results** Blood sugar of db/db was higher than the db/m (the normal group). Compared with the normal group, the wound area of db/db was significantly greater than the normal group ( $P < 0.05$ ), while YQWY group and HXTL group less than the model group ( $P < 0.05$ ). Relative expression of IL-12mRNA and TNF- $\alpha$  mRNA in model group were higher than the normal group ( $P < 0.05$ ), while VEGFmRNA and TGF- $\beta$ mRNA lower. Compared with the model group, mRNA relative expression of inflammatory cytokines of YQWY and HXTL groups were all lower( $P < 0.05$ ), while the growth factor were significantly higher ( $P < 0.05$ ). Expressions of IL-12mRNA and TNF- $\alpha$ mRNA in YQWY group were lower than the HXTL group ( $P < 0.05$ ), with higher expression of TGF- $\beta$ mRNA ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Wound healing of db/db mice was delayed and modified formulae for Huiyangshengji ointment (YQWY and HXTL) had effects on wound healing. The way by decreasing the M1 type inflammatory factors and improving the M2 type growth factors might be one of the mechanisms for wound healing. YQWY group was superior than HXTL group for diabetic mice in promoting the transformation of macrophage phenotype.

**Key words** Huiyangshengji formulae; Diabetic skin ulcer; YQWY; HXTL; Macrophage

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81273768、81403409、81403270)

作者单位:100010 北京中医药大学、首都医科大学附属北京中医医院、北京市中医研究所、银屑病中医临床基础研究北京市重点实验室(BZ0375)

通讯作者:李萍,教授,博士生导师,电子信箱:liping411@126.com;何秀娟,副研究员,电子信箱:hexiujuan75@sina.com

慢性皮肤溃疡是糖尿病、周围血管病、微生物感染、放疗等常见的并发症,其中糖尿病由于持续高血糖改变机体内环境,引起血管、神经病变,使皮肤对营养物质利用下降,导致伤口愈合能力降低而形成慢性皮肤溃疡。近年来伴随全球糖尿病发生率的增加,由其引起的慢性皮肤溃疡因长期不愈、反复发作,成为患者致残、截肢的主要原因,是国内外医学界的关注热点<sup>[1,2]</sup>。回阳生肌方是北京中医医院名老中医赵炳南、王玉章临证总结、效果显著的方剂,文献资料及笔者前期研究成果明确了回阳生肌方能改善创面微环境、促进创面愈合的作用<sup>[3-5]</sup>。研究表明巨噬细胞表型转化障碍是导致慢性创面愈合迟缓的重要原因<sup>[6-8]</sup>。为了进一步明确回阳生肌方的作用机制,进行临床处方的优化,根据回阳生肌方的临床治疗原则,笔者将其拆为益气温阳方与活血通络方,对其疗效机制做进一步研究。

### 材料与方法

1. 实验动物:db/m 小鼠雄性,10 只,体重 18 ~ 22g;db/db 小鼠雄性,30 只,体重 38 ~ 42g,8 ~ 12 周龄,购自南京大学国家遗传工程小鼠资源库,实验动物合格证号:SCXK(苏)2011-0003。SPF 级动物室,IVC 鼠盒,无菌饲料单笼饲养,恒温(22 ~ 24℃),湿度 40% ~ 60%,光照周期 12h:12h 循环。

2. 药物及试剂:回阳生肌方益气温阳拆方(人参、黄芪、鹿茸、肉桂等)、回阳生肌方活血通络拆方(川芎、当归、松香、血竭等),饮片由首都医科大学附属北京市中医医院中药房提供,经北京市中医研究所中药室中药专家鉴定后制备醇提物,步骤如下:10 倍量 75% 乙醇回流提取 2h 后,滤尽药液,然后用 8 倍量 75% 乙醇回流提取 2h,合并两次的提取液,浓缩后蒸干;益气温阳组 100g 生药提取 37.20g;活血通络组 100g 生药提取 34.90g。将药物溶于生理盐水制备含药物明胶敷料(剂量为 0.018g 生药量/cm<sup>2</sup>);明胶海绵(南京金陵制药厂);一次性无菌敷料贴(山东东华医疗科技有限公司);HE 染色液、Masson 染色液(北京中杉金桥公司)。

3. 仪器:三诺公司血糖仪,超纯 RNA 提取试剂盒,ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪,高效反转录酶 VcDNA 第一链合成试剂盒,超低温冰箱,脱水机,包埋机,石蜡切片机,图像分析系统设备,佳能数码相机等。

4. 实验方法:(1)动物分组:db/m 小鼠 10 只作为正常组。db/db 小鼠 30 只,适应性饲养 1 周后进

行血糖检测,分为模型组、益气温阳组、活血通络组。(2)糖尿病皮肤溃疡模型制备:参考 Khanna 等<sup>[9]</sup>的方法,实验前小鼠戊巴比妥钠麻醉,制备直径 11mm 全厚皮切除伤口,面积 95mm<sup>2</sup>,单笼饲养。(3)给药方案:造模后,将含药的明胶海绵外敷于伤口,正常组、模型组外敷生理盐水,100 微升/只,以一次性无菌敷料贴包扎,隔天换药 1 次并拍照,于小鼠皮肤创面形成后第 7 天,处死后取伤口组织,一部分 10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋切片;一部分立即放入液氮,待检。(4)检测指标及方法:①血糖值测试:小鼠适应性饲养 7 天后,于造模前 1 天剪尾测血糖;②计算小鼠创面面积:小鼠皮肤创面形成后用数码相机拍照,用图像软件 IPP 6.0 分析计算创面面积;③创面组织病理学观察:伤口皮肤取材后,10% 甲醛溶液固定 48h,常规脱水、石蜡包埋、切片。经苏木素-伊红(HE)染色,马松(Masson)染色,观察创面皮肤表皮细胞、炎症细胞及肉芽组织新生情况;④创面组织 M1/M2 型巨噬细胞细胞因子 mRNA 相对表达检测:取小鼠创面组织,用超纯 RNA 提取试剂盒提取组织样本中总 RNA,采用 HiFi-MMLVcDNA 第一链合成试剂盒进行反转录成 cDNA,取 5μl cDNA 进行 PCR 扩增,以 ACTIN 为内参照,各细胞因子 PCR 引物见表 1。扩增程序为:95℃ 10min;95℃ 15s,60℃ 60s,45 个循环。扩增产物取 5μl 行 1% 琼脂糖凝胶电泳,选取样本 cDNA 进行 5 倍梯度稀释,稀释后样品各取 2μl 作模板,分别用目的基因引物和内参照基因引物进行扩增,同时在 60 ~ 95℃ 进行融解曲线分析,结果显示各标准曲线的 R<sup>2</sup> 均达到 0.99,说明线性相关度很高,且扩增效率均在 90% 以上。PCR 采用 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪进行,采用 2<sup>-ΔΔCT</sup>法进行数据的相对定量分析。

表 1 不同细胞因子 PCR 引物

| 细胞因子  | 引物序列(5'→3')                    |
|-------|--------------------------------|
| IL-12 | 上游引物 TCAACGCAGCACTTCAGAATCACAA |
|       | 下游引物 GAAGCGCTGAAGCAGGATGCAGAGC |
| TNF-α | 上游引物 CCCAGACCCTCACTCAGATCATC   |
|       | 下游引物 GTTGCTTCTCTTTGAGATCCATGCC |
| VEGF  | 上游引物 TGTGCAGGCTGCTGTAACGATGA   |
|       | 下游引物 GTGCTGGCTTTGCTGAGGTTTGAT  |
| TGF-β | 上游引物 GCCCTGGATACCAACTATTGCTTCA |
|       | 下游引物 CAGAAGTTGGCATGCT          |

5. 统计学方法:使用 SPSS 15.0 统计学软件进行统计分析处理,计量数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表

示,组间比较采用单因素方差分析(*ANOVA*),进一步做两两比较用 *LSD* 方法,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

1. 糖尿病小鼠一般表现及血糖值检测:与 db/m 小鼠相比,db/db 小鼠体重较大,贪食、饮水多、尿多,行动迟缓。db/db 糖尿病小鼠血糖明显高于 db/m 小鼠 ( $P < 0.05$ );db/db 糖尿病小鼠各组血糖值差异无统计学意义,详见图 1。

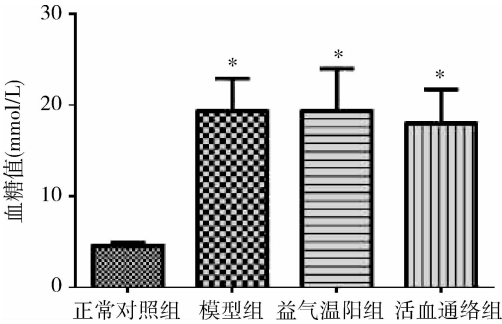


图 1 各组小鼠血糖值检测  
与正常对照组比较, \*  $P < 0.01$

2. 创面面积检测:创面形成后 0 天、7 天分别测量创面面积及观察创面愈合情况,7 天后各组内与 0 天相比创面均开始出现皱缩,创面面积有不同程度减小;模型组创面面积明显大于正常对照组 ( $P < 0.05$ ),出现愈合迟缓;益气温阳组与活血通络组创面面积小于模型组 ( $P$  均  $< 0.05$ ),详见图 2、图 3。

3. 回阳生肌拆方对糖尿病皮肤溃疡小鼠创面组织病理学改变的影响:(1)HE 染色结果:创面形成后 7 天,各组创面边缘均开始出现增厚表皮细胞,正常组创面有肉芽组织形成,同时见大量成纤维细胞和新生毛细血管,细胞密集;模型组细胞稀疏,且成纤维细胞杂乱,未形成完整表皮结构;益气温阳组、活血通

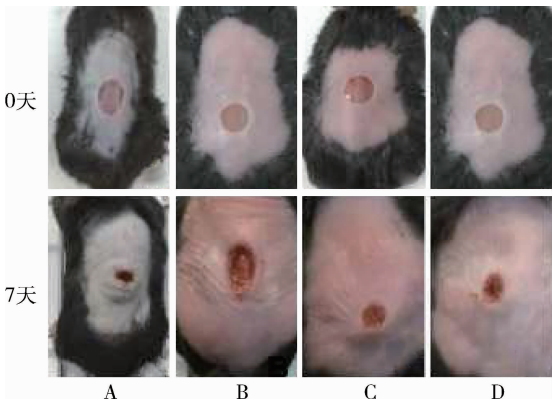


图 2 回阳生肌拆方对糖尿病小鼠创面愈合影响  
A. 正常对照组;B. 模型组;C. 益气温阳组;D. 活血通络组

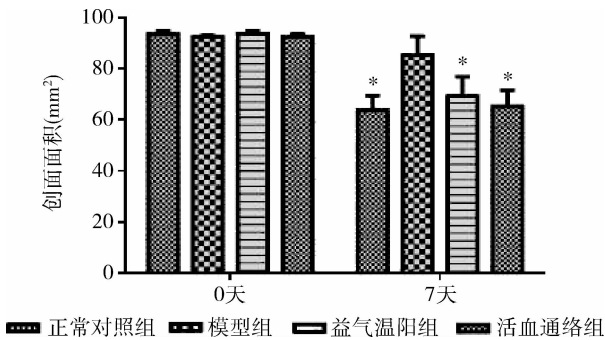


图 3 回阳生肌拆方对糖尿病小鼠创面愈合的影响  
A. 正常对照组;B. 模型组;C. 益气温阳组;  
D. 活血通络组;与模型组比较, \*  $P < 0.05$

组可见较厚表皮细胞增生,向伤口去延伸,同时新生肉芽组织致密,并见丰富毛细血管,详见图 4。(2) Masson 染色结果:与正常组对照比较,模型组绿色胶原纤维分布稀疏,仅存在于靠近周围皮肤组织处,排列杂乱无规则。与模型组比较,各给药组胶原纤维明显增多,致密,创面新生组织处分布广泛,排列成疏网状,详见图 5。

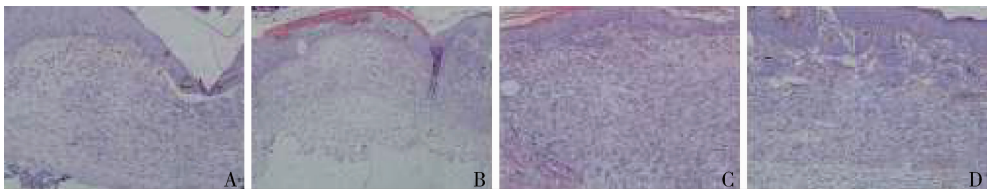


图 4 回阳生肌膏拆方对糖尿病慢性皮肤溃疡小鼠创面愈合影响的病理表现 (HE,  $\times 200$ )  
A. 正常对照组;B. 模型组;C. 益气温阳组;D. 活血通络组

4. M1/M2 型巨噬细胞细胞因子 mRNA 检测:(1)M1 型巨噬细胞细胞因子 mRNA 检测:创面形成后 7 天,模型组 IL - 12mRNA、TNF -  $\alpha$ mRNA 均高于

正常对照组 ( $P < 0.05$ );益气温阳组、活血通络组 IL - 12mRNA、TNF -  $\alpha$ mRNA 均低于模型组 ( $P < 0.05$ );益气温阳组 IL - 12mRNA、TNF -  $\alpha$ mRNA 表

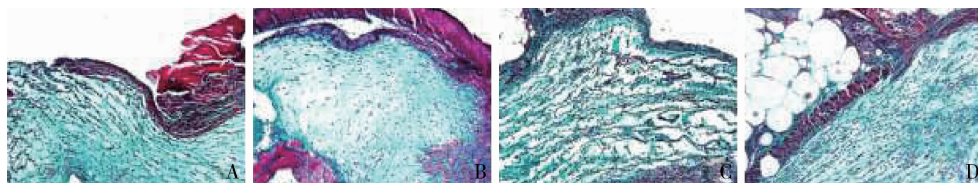


图5 回阳生肌膏拆方对糖尿病慢性皮肤溃疡小鼠创面愈合影响的病理表现 (Masson,  $\times 200$ )

A. 正常对照组; B. 模型组; C. 益气温阳组; D. 活血通络组

达水平低于活血通络组,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。(2) M2型巨噬细胞细胞因子 mRNA 检测:创面形成后7天,模型组 VEGFmRNA、TGF- $\beta$ mRNA 均低于正常组( $P < 0.05$ );益气温阳组、活血通络组 VEGFm-

RNA、TGF- $\beta$ mRNA 均高于模型组( $P < 0.05$ );益气温阳组 TGF- $\beta$ mRNA 表达水平高于活血通络组,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),详见图6。

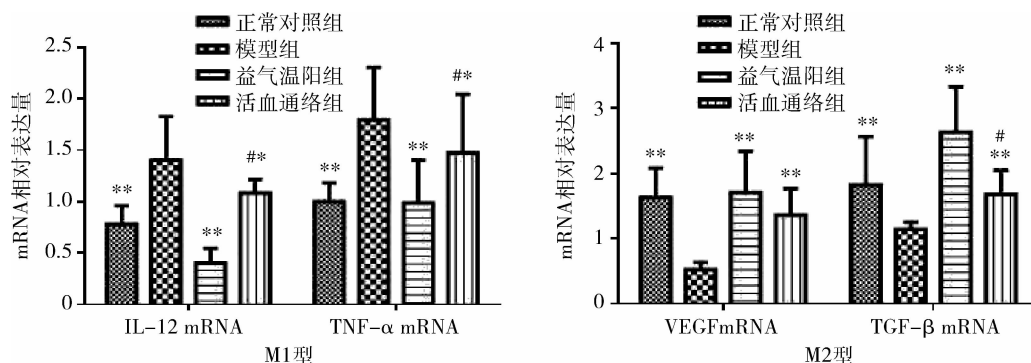


图6 回阳生肌拆方对糖尿病小鼠创面组织 M1/M2 型巨噬细胞细胞因子 mRNA 相对表达量的影响

与模型组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与益气温阳组比较, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$

## 讨 论

回阳生肌方是北京中医医院名老中医赵炳南、王玉章根据丰富的临床经验,针对病机为阳气虚衰、精血不足的慢性难愈合创面“阴证”研制的外用药,治宜益气温阳、活血通络、生肌敛疮,疗效显著<sup>[10]</sup>。糖尿病皮肤溃疡患者由于糖代谢紊乱,使破溃皮肤组织对糖元的利用下降,局部生长因子及受体活性下降,从而导致溃疡创面修复迟缓,致数月或数年难愈<sup>[11]</sup>。临床中糖尿病慢性皮肤溃疡患者多表现为创面平塌或下陷、渗液清稀如水、光亮如镜、创周紫黯,而糖尿病患者多因阴虚热盛,耗气伤阴而伴神疲气少等全身症状,中医多认为此症属“阴证”疮疡。

db/db 小鼠属于瘦素蛋白受体缺失小鼠,由 C57BL/KsJ 近亲交配株常染色体隐性遗传衍化而来,出生6周后开始变胖、贪食,伴随高血糖,随后形成2型糖尿病模型<sup>[12]</sup>。临床中糖尿病性皮肤溃疡患者是由于皮肤及血管在长期高血糖环境,导致创面愈合迟缓,实验发现,与 db/m 小鼠相比,db/db 小鼠体重较大,贪食、饮水多、尿多、大便溏稀、腥臭,尾冷、行动迟缓,同时 db/db 小鼠血糖明显高于 db/m 小鼠( $P <$

0.01),而 db/db 糖尿病小鼠各组血糖值无差异,符合糖尿病高血糖这一临床指标,且高血糖表现稳定。

糖尿病发病常因先天禀赋不足或后天饮食失调,病在脾胃;糖尿病皮肤溃疡常伴有阳虚表现,尤以脾胃气血亏虚为常见,且伴随肾经虚衰<sup>[13]</sup>。回阳生肌方即起到“助胃壮气、使根本坚固”作用,同时顾护肾气,防止新发溃疡迁延,从而达到缩短创面修复时间,促进创面愈合的作用<sup>[14]</sup>。实验中,益气温阳组、活血通络组创面面积均明显小于模型组,愈合率明显升高,说明回阳生肌治则拆方活血通络拆方、益气温阳拆方对糖尿病皮肤溃疡均有促进创面愈合的作用。从创口愈合表现来看,与模型组创面颜色晦暗、渗液清稀相比,用药组创面颜色鲜活,渗液浓稠,创面出现由“阴”转“阳”的趋势。

回阳生肌方益气温阳组拆方药物主要组成为人参、黄芪、肉桂等,人参性味甘、温,可治一切虚证,肉桂性味辛、热,补元阳、除积冷,黄芪性味甘、温,健脾补中、托疮生肌、升阳举陷,配伍后可以起到益气温阳作用;活血通络组主要组成为川芎、当归等,川芎性味辛、温,行气开郁、活血祛瘀,当归性味甘、辛、温,补血

活血、止痛,两药配伍,可以起到活血通络作用。研究表明 db/db 小鼠存在巨噬细胞功能障碍<sup>[15, 16]</sup>,PCR 结果显示,益气温阳组、活血通络组 M1 型巨噬细胞细胞因子(IL-12、TNF- $\alpha$ ) 低于模型组,M2 型巨噬细胞细胞因子(VEGF、TGF- $\beta$ ) 高于模型组,表明回阳生肌拆方可以减少炎症因子释放,增加抑炎因子与生长因子,使修复型细胞因子向伤口趋化,从而减轻创面的炎症反应,促进创面由炎症期过渡到修复期,从而达到促进创面愈合的目的。同时,结果显示,益气温阳组 TGF- $\beta$  含量显著高于活血通络组,IL-12、TNF- $\alpha$  含量均明显低于活血通络组,进一步证明益气温阳组在提高 db/db 小鼠创面修复型因子、降低炎症因子效果优于活血通络组。

巨噬细胞来源于分化的单核细胞,是机体非特异性免疫的重要组成部分,具有吞噬功能,能够对细胞残片或者病原体进行吞噬及消化,激活淋巴细胞等免疫细胞,诱导免疫应答产生,从而发挥免疫作用。在不同细胞因子的调控下,巨噬细胞可产生不同活化模式,成为具有不同生物学特征的亚型,创面炎症因子含量的升高,导致 M1 型巨噬细胞向 M2 型型转化的障碍,创面局部炎症巨噬细胞数量增加,进一步促进了炎症因子的分泌,形成恶性循环,导致创面处于持续炎症阶段,而无法进入修复阶段出现愈合迟缓。创面局部微环境的巨噬细胞及其细胞因子一直是国内外研究如何提高慢性皮肤溃疡愈合的治疗靶标。虽然大家对巨噬细胞来源的生长因子调节创伤愈合的作用进行了广泛的研究。但是由于慢性创面各种蛋白酶活性的增高,生长因子在临床上取得的疗效很有限,并且某些生长因子促进创伤愈合的作用还需要细胞的介导作用<sup>[17, 18]</sup>。因此在伤口局部激活、提高巨噬细胞促修复功能,即促进巨噬细胞表型转化,减少 M1 型巨噬细胞含量,提升 M2 型巨噬细胞含量,从而替代分子治疗是临床用药的前景之一。

益气温阳拆方中,人参、黄芪、肉桂是主要成分,包含了黄芪多糖、人参皂苷、桂皮醛等有效成分。前期体外实验中笔者发现,黄芪多糖、桂皮醛对糖尿病大鼠伤口来源的成纤维细胞、人正常成纤维细胞和慢性疮疡创周的成纤维细胞都表现出促增殖作用<sup>[19~21]</sup>。外用疡愈涂剂对糖尿病大鼠创面 PCNA 表达及成纤维细胞影响的实验表明,由黄芪多糖、桂皮醛、川芎嗪、麝香酮组成疡愈涂剂可以通过促进糖尿病大鼠细胞增殖而加速创面的愈合<sup>[22]</sup>。

创面修复是个复杂而又有序的病理、生理过程,

巨噬细胞的活性及数量对于糖尿病慢性创面的整个愈合过程具有不可替代的调控作用,其表型转化功能障碍是治疗糖尿病皮肤溃疡的靶标之一<sup>[23, 24]</sup>。目前对糖尿病皮肤溃疡的研究多集中在血管内皮细胞、成纤维细胞、胶原合成及氧化应激等方面,而针对巨噬细胞表型转化功能障碍的药物干预研究较少,本研究为疾病的临床治疗提供了新思路,并为回阳生肌方的临床应用提供了新的理论依据:巨噬细胞表型转化是回阳生肌方启动糖尿病皮肤溃疡创面愈合的分子机制之一,临床中在伤口局部激活、提高巨噬细胞促修复功能逐渐替代了分子治疗。

回阳生肌法是临床糖尿病皮肤溃疡的治疗大法,北京中医医院著名的皮外科专家名老中医赵炳南、王玉章通过 60 年的医疗实践,据此法遣方用药,形成回阳生肌膏等外治代表方药,临床疗效显著。对比化腐生肌、活血生肌,回阳生肌与其共同点是活血通络,不同点在于益气温阳作用。益气温阳与活血通络为回阳生肌方的治则拆方,通过实验表明益气温阳拆方在促进巨噬细胞表型转化方面优于活血通络方,而在促进创面愈合方面,两者无差异,结合前期研究成果,说明活血通络拆方在糖尿病皮肤溃疡创面愈合的作用机制体现在对成纤维细胞及血管内皮细胞的作用上。这一基础研究为回阳生肌方的临床应用提供了科学依据,并为进一步研究回阳生肌方拆方对不同愈合迟缓动物模型的作用,提供了证据与方向。

#### 参考文献

- 1 朱万博. 糖尿病患者创面难愈机制及治疗研究进展. 中国糖尿病杂志, 2016, 24(12): 1135-1139
- 2 Herman WH. The economic costs of diabetes: is it time for a new treatment paradigm[J]. Diabetes Care, 2013, 36(12): 775-776
- 3 赵光明, 董建勋, 李媛, 等. 回阳生肌方药对糖尿病皮肤溃疡大鼠创面愈合的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(7): 495-499
- 4 贾连成, 吕培文. 吕培文应用回阳生肌法治疗慢性难愈性皮肤溃疡经验总结[J]. 中国医药导报, 2015, 12(28): 85-88
- 5 张颖, 李萍, 王芳, 等. 回阳生肌膏提取物对正常皮肤及慢性溃疡创缘成纤维细胞增殖的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(9): 1808-1810
- 6 Koh TJ, DiPietro LA. Inflammation and wound healing: The role of the macrophage[J]. Expert Rev Mol Med, 2013, 13: e23
- 7 Stan Grinberg, Gyorgy Hasko, Dianqing Wu, et al. Suppression of PLC2 by Endotoxin Plays a Role in the Adenosine A<sub>2A</sub> Receptor-Mediated Switch of Macrophages from an Inflammatory to an Angiogenic Phenotype[J]. Am J Pathol, 2009, 175(6): 2439-2453
- 8 Ivashkiv LB. Inflammatory signaling in macrophages: Transitions from acute to tolerant and alternative activation states[J]. Eur J Immunol, 2011, 41(9): 2477-2481

(下转第 68 页)



- 理卫生杂志,2003,57(7):431-452
- 5 纪平,陈盛菊. 儿童多动症 135 例临床治疗分析[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(26):3171-3172
  - 6 占雪梅,周云芳,邹晓华. 托莫西汀与利他林治疗儿童多动症的临床对照研究[J]. 中国药业,2009,18(11):72-73
  - 7 Rochfort S. Metabolomics reviewed: a new "omics" platform technology for systems biology and implications for natural products research[J]. J Nat Prod, 2005, 68(12):1813-1820
  - 8 Nicholson JK, Holmes E, Kinross JM, *et al.* Metabolic phenotyping in clinical and surgical environments[J]. Nature, 2012,491(7424):384-392
  - 9 杨雯晴,蒋海强,李运伦,等. 卡托普利干预自发性高血压大鼠血清代谢组学研究[J]. 中国药理学通报,2016,32(7):998-1003
  - 10 中华医学会精神科分会. 中国精神障碍分类与诊断标准[M]. 3版. 济南:山东科学技术出版社,2001:151
  - 11 Wang XJ, Yang B, Zhang AH, *et al.* Potential drug targets on insomnia and intervention effects of Jujuboside A through metabolic pathway analysis as revealed by UPLC/ESI-SYNAPT-HDMS coupled with pattern recognition approach[J]. J Proteom, 2012, 75(4):1411-1427
  - 12 俞建峰,刘文明,蒋建红,等. 乳酸代谢及乳酸清除率对重症中暑患者预后的评估价值[J]. 实用临床医药杂志,2015,19(23):44-47
  - 13 王静. 乳酸在运动型中枢疲劳中的作用及机制研究[D]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院,2005,5:41
  - 14 王凤阳,刘艳庭,张海峰,等. 递增负荷运动下血乳酸丙酮酸的动态变化规律及乳酸阈机制探讨[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007,11(6):3193-3196
  - 15 魏源,王革,王翔. 试论乳酸代谢与运动训练的关系[J]. 湖南工程学院学报,2012,12(4):76-80
  - 16 张风华,洪昭毅. 注意缺陷多动障碍的神经生物学研究进展[J]. 中国行为医学科学,2001,10(6):629-631
  - 17 李腾,彭靖,吕尚军,等. 甘氨酸对烧伤大鼠心肌细胞能量代谢的影响[J]. 重庆医学,2012,41(33):3476-3477
  - 18 Kopple JD. Phenylalanine and tyrosine metabolism in chronic kidney failure[J]. J Nutr,2007,137(Suppl 1):1586-1590
  - 19 Rath T, Roth E, Keidl R. Phenylalanine: total amino acid ratio in 45 burn patients[J]. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg,1987,21(3):297-300
  - 20 Liu Y, Zhang L, Wei S, *et al.* Song, endogenous L-carnosine level in diabetes rat cardiac muscle[J]. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2016,2016:1-7
  - 21 Shui SF, Shen SJ, Huang RQ, *et al.* Metabonomic analysis of biochemical changes in the plasma and urine of carrageenan-induced rats after treatment with Yi-Guan-Jian decoction[J]. J Chromatography B, 2016, 1033-1034:80-90
  - 22 魏涌. 医学生物化学[M]. 北京:世界图书出版公司,1998:208-216
  - 23 伏洁,周士新,刘光陵,等. 儿童多动症遗传因素的研究进展[J]. 中国全科医学,2006,9(9):758-761

(收稿日期:2017-04-21)

(修回日期:2017-05-22)

(上接第 57 页)

- 9 Khanna S, Biswas S, Shang Y, *et al.* Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice[J]. PLoS One, 2010, 5(3):e9539
- 10 贾连城,盛巡,孙明杰,等. 回阳生肌膏治疗慢性难愈性皮肤溃疡疗效观察及作用机制探讨[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(10):9-12
- 11 陆树良,谢挺,牛轶雯,等. 糖尿病合并创面难愈的机制研究[J]. 药品研究,2011,8(7):17-21
- 12 朱加明,刘志红,黄燕飞,等. 大黄酸对 db/db 小鼠糖尿病肾病疗效的观察[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2002,11(1):3-10
- 13 贾连成. 吕培文学术思想总结及应用回阳生肌法治疗阴证皮肤溃疡的临床研究[D]. 北京:北京中医药大学,2016
- 14 王广宇,王伏声,丁毅,等. 回阳生肌膏对慢性皮肤溃疡形态变化的初步研究[J]. 中国医药导报,2014,11(22):90-93
- 15 Reddy MA, Zhuo Chen, Park JT, *et al.* Regulation of inflammatory phenotype in macrophage by a diabetes-induced long noncoding RNA[J]. Diabetes, 2014, 63:4249-4261
- 16 Tang Y, Zhang MJ, Hellmann J *et al.* Proresolution therapy for the treatment of delayed healing of diabetic wounds[J]. Diabetes, 2013, 60(2):618-627
- 17 Zhou D, Huang C, Lin Z, *et al.* Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways[J]. Cell Signal, 2014, 26(2):192-197
- 18 Mirza RE, Fang MM, Ennis WJ, *et al.* Blocking interleukin-1 $\beta$  induces a healing-associated wound macrophage phenotype and improves healing in type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2013, 62(7):2579-2587
- 19 李光善,李萍,盛巡,等. 黄芪多糖、桂皮醛、川芎嗪对实验性糖尿病大鼠创面成纤维细胞增殖作用的影响[J]. 中国中医基础理论杂志,2004,10(4):20-22
- 20 李萍,何秀娟,张颖,等. 黄芪多糖对细胞增殖及对血管内皮细胞与白细胞粘附作用的影响[J]. 中国病理生理杂志,2004,20(9):1677-1680
- 21 张颖,王芳,李萍,等. 回阳生肌膏提取物对慢性皮肤溃疡创缘成纤维细胞的促增殖作用及对 c-fos、c-myc 表达的影响[J]. 中西医结合外科杂志,2006,12(4):391-394
- 22 李萍,李光善,韩秋萍,等. 疡愈涂剂对糖尿病大鼠创面 PCNA 表达及成纤维细胞的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,23(3):44-47
- 23 Seebach E, Freischmidt H, Holschbach J, *et al.* Mesenchymal stroma cells trigger early attraction of M1 macrophages and endothelial cells into fibrin hydrogels, stimulating long bone healing without long-term engraftment[J]. Acta Biomater, 2014, 10(11):4730-4741
- 24 He L, Marneros AG. Macrophages are essential for the early wound healing response and the formation of a fibrovascular scar[J]. Am J Pathol, 2013, 182:2407-2417

(收稿日期:2017-05-09)

(修回日期:2017-05-29)