

血竭提取物促进成纤维细胞增殖及胶原分泌

李丹¹, 惠瑞², 胡永武³, 韩岩¹, 郭树忠⁴ (1解放军总医院整形修复科, 北京市 100853; 2解放军海军总医院神经外科, 北京市 100048; 解放军第四军医大学附属西京医院, 3药剂科, 4整形外科, 陕西省西安市 710032)

文章亮点:

实验的特点在于通过对比传统中药血竭不同有机溶液提取物, 获得最适合成纤维细胞生长的血竭提取物——2 g/L 乙酸乙酯提取物, 发现其能促进成纤维细胞融合, 增加细胞增殖及 S 期的细胞比例, 还能减少 III 型前胶原的表达, 提示血竭乙酸乙酯提取物既可促进创面愈合, 又不致于过度增生形成病理性瘢痕。

关键词:

组织构建; 成纤维细胞; 血竭; 创面愈合; 细胞增殖; III型前胶原; 中药

主题词:

成纤维细胞; 中草药; 植物提取物; 细胞增殖

摘要

背景: 血竭为传统医学中生肌方剂的主要成分, 长期应用于临床治疗多种难愈性创面, 具有确切的疗效, 但血竭在创面愈合过程中对正常成纤维细胞分泌胶原的影响, 目前未见报道。

目的: 观察血竭提取物对成纤维细胞增殖及胶原分泌的作用。

方法: 应用氯仿、乙酸乙酯、乙醇对血竭依次回流提取得到血竭提取液, 用 DMEM 培养液稀释后培养成纤维细胞。将人正常皮肤来源成纤维细胞分别培养于血竭氯仿提取液(氯仿提取组)、血竭乙酸乙酯提取液(乙酸乙酯提取组)、血竭乙醇提取液(乙醇提取组)含 1% 二甲亚砜 DMEM(含 1% 二甲亚砜 DMEM 组)和正常培养(对照组)条件下。MTT 法检测不同血竭提取物在不同质量浓度(0.002, 0.02, 0.2, 2, 20 g/L)培养条件下, 确定最适合成纤维细胞生长的血竭提取物, 并检测在此条件下, 成纤维细胞形态、生长曲线、细胞周期、分泌 III 型前胶原水平的变化。

结果与结论: 血竭乙酸乙酯提取物在 0.2-2 g/L 范围内, 可以促进正常人成纤维细胞增殖, 在 2 g/L 浓度值时促进增殖作用最显著, 因此 2 g/L 乙酸乙酯提取物为最适合成纤维细胞生长的一组血竭提取物。与对照组相比, 2 g/L 乙酸乙酯提取组成纤维细胞的细胞融合现象增多, 细胞浓度增加, S 期的细胞比例增加, 减少 III 型前胶原表达。提示血竭乙酸乙酯提取物既可促进创面愈合, 又不致于过度增生形成病理性瘢痕。

李丹, 惠瑞, 胡永武, 韩岩, 郭树忠. 血竭提取物促进成纤维细胞增殖及胶原分泌[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(46):7437-7441.

Effects of Dragon's blood extracts on fibroblast proliferation and procollagen type III

Li Dan¹, Hui Rui², Hu Yong-wu³, Han Yan¹, Guo Shu-zhong⁴ (1Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; 2Department of Neurosurgery, Navy General Hospital of PLA, Beijing 100048, China; 3Department of Pharmacy, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University of PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China; 4Department of Plastic Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University of PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Dragon's blood is the main ingredient of traditional medicine prescription for promoting granulation, which has been used in clinical treatment of a variety of refractory wounds and achieved the exact effects. But the Dragon's blood effect on collagen secretion from normal fibroblasts has not been reported.

OBJECTIVE: To investigate the effects of Dragon's blood extract on the proliferation and secret function of fibroblasts *in vitro*.

METHODS: Dragon's blood was extracted by extracts chloroform, acetoacetic ester, and alcohol in turn. Normal human fibroblasts were respectively cultured in Dragon's blood extracts of chloroform, acetoacetic ester, and alcohol, DMEM containing 1% dimethyl sulfoxide, and normal culture medium. Then, the fibroblasts were cultured *in vitro* in different media containing gradient dilutions of Dragon's blood extracts (0.002, 0.02, 0.2, 2, 20 g/L), which was followed by cell proliferation determination assessed with MTT assay. Under the optimal concentration, the cell growth curves were drawn and the flow cytometry was used to determine the changes of cell cycle. The concentration of procollagen type III in the supernatant of the fibroblast culture systems was measured by radioimmunoassay.

RESULTS AND CONCLUSION: 0.2 g/L-2 g/L dilution of Dragon's blood extracted by acetoacetic ester enhanced the proliferation of fibroblasts in a dose-dependent manner. The 2 g/L was the optimal dilution of Dragon's blood extracted by acetoacetic ester, and it increased the ratio of S cells in cell cycle than control group

李丹, 女, 汉族, 2009 年北京协和医学院毕业, 博士, 主治医师, 主要从事创面愈合、皮瓣显微外科方面的研究。

通讯作者: 郭树忠, 博士, 主任医师, 解放军第四军医大学附属西京医院整形外科, 陕西省西安市 710032

通讯作者: 韩岩, 解放军总医院整形修复科, 北京市 100853

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.46.012
[http://www.crter.org]

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2014)46-07437-05

稿件接受: 2014-10-19

Li Dan, M.D., Attending physician, Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: Guo Shu-zhong, M.D., Chief physician, Department of Plastic Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University of PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Corresponding author: Han Yan, Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Accepted: 2014-10-19

and decreased procollagen type III. These findings indicate that Dragon's blood acetoacetic ester extract can improve the proliferation of cultured human fibroblasts *in vitro*, and decrease the secretion of procollagen type III of fibroblasts, and it can be beneficial to improve wound healing and inhibit hypertrophic scar.

Subject headings: fibroblasts; drugs, chinese herbal; plant extracts; cell proliferation

Li D, Hui R, Hu YW, Han Y, Guo SZ. Effects of Dragon's blood extracts on fibroblast proliferation and procollagen type III. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(46):7437-7441.

0 引言 Introduction

血竭为传统医学中治疗皮肤疮疡和创伤的常用药物。由于具有显著的活血化瘀和促进生肌作用, 作为生肌方剂的主要成分长期应用于临床治疗多种难愈性创面, 且疗效显著^[1-7]。近年来, 血竭的化学成分和药理作用逐渐受到国内外学者的重视。Vaisberg等^[8]已报道南美洲血竭提取物有促进成纤维细胞迁移的作用。但血竭在创面愈合过程中对正常成纤维细胞增殖及分泌胶原的影响, 目前报道较少。作者所在课题组应用溶剂提取法将血竭中黄酮类化合物和萜类化合物等主要成分进行初步分离血竭素(dracorhodin, C₁₇H₁₄O₃)、血竭红素(dracorubin, C₃₂H₂₄O₅)等黄酮类化合物及海松酸(pimaric acid)、异海松酸(iso-pimaric acid)、脱氢松香酸(dehydroabietic acid)等三萜类化合物^[9-10]。本实验拟将血竭提取物直接应用于成纤维细胞培养液, 观察其对成纤维细胞增殖及分泌细胞外基质III型前胶原的影响。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 细胞学对比观察。

时间及地点: 实验于2005年1至6月在解放军第四军医大学附属西京医院整形外科实验室完成。

材料:

组织: 应用正常皮肤成纤维细胞来源于健康人体植皮手术残留皮肤, 供者3人, 均为青年男性年龄在19-31岁之间, 所有供者均自愿参加, 对实验过程完全知情同意并签署“知情同意书”, 实验方案及操作获解放军第四军医大学附属西京医院伦理委员会批准。

血竭提取物促进成纤维细胞增殖及胶原分泌实验用主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
DMEM, 胰蛋白酶	美国 Gibco 公司
胎牛血清	杭州四季青公司
二甲基亚砜	美国 Sigma 公司
MTT	美国 Amresco 公司
III型前胶原放免试剂盒	上海海研医学生物技术中心
倒置显微镜	日本 Olympus 公司
酶联免疫分析仪	芬兰 Labsystem 公司
流式细胞仪	ELITE Esp Coulter 公司
FMJ 182 型放射免疫 γ 自动计数仪	上海医疗仪器厂

药物: 血竭为棕榈科植物麒麟竭果实和藤茎中的树脂, 购自印度尼西亚皇冠公司。

方法:

成纤维细胞分离培养: 应用皮肤标本3例组织贴块法进行原代培养^[5], 实验用3-5代细胞。

血竭提取物制备: 由西京医院药剂科协助完成。将血竭捣碎后经氯仿、乙酸乙酯、体积分数95%乙醇依次回流提取, 得到氯仿提取液、乙酸乙酯体提取液、乙醇提取液, 经水浴挥干, 以二甲基亚砜助溶得到质量浓度为200 g/L的溶液, 流通蒸汽灭菌30 min, 常温保存。使用时将氯仿提取液、乙酸乙酯体提取液、乙醇提取液三种提取液分别溶解于DMEM培养液, 配制成稀释质量浓度为0.002, 0.02, 0.2, 2, 20 g/L的溶液。实验分为氯仿提取组、乙酸乙酯提取组、乙醇提取组、含1%二甲基亚砜DMEM组和对照组。含1%二甲基亚砜DMEM组为含体积分数1%二甲基亚砜的DMEM(氯仿提取组、乙酸乙酯提取组及乙醇提取组均需要二甲基亚砜助溶)。其中氯仿提取组、乙酸乙酯提取组和乙醇提取组3个组又分别分0.002, 0.02, 0.2, 2, 20 g/L 5个亚组。

选择最适生长浓度: 采用MTT比色法分析^[11]。分别将对数生长期的成纤维细胞接种于96孔板, 每孔200 μ L, 细胞浓度为 $5 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$, 于37 $^{\circ}\text{C}$, 体积分数5%CO₂培养箱中孵育24-48 h, 待细胞完全贴壁后, 吸弃培养液, 加入各组溶液(150 μ L/孔)进行培养, 每组均设6个平行孔。于37 $^{\circ}\text{C}$, 体积分数5%CO₂培养箱中培养24 h后, 每孔加5 g/L MTT 10 μ L, 孵箱中培养4 h, 吸弃培养液, 加入二甲基亚砜(150 μ L/孔), 震荡10 min。酶联免疫检测仪在450 nm波长下读取吸光度值。筛选出最适合成纤维细胞生长的一组血竭提取物。

绘制细胞生长曲线: 将最适合成纤维细胞增殖的一组血竭提取物浓度下培养成纤维细胞, 采用MTT比色分析法, 检测0, 8, 16, 24, 32, 40, 48 h的吸光度值反映细胞数量, 绘制生长曲线。

细胞周期检测: 采用流式细胞术, 取6瓶对数生长期的成纤维细胞, 每瓶计数约 2.5×10^5 。弃去培养液, 加入最适培养浓度血竭提取液5 mL, 对照组加入5 mL DMEM培养液, 在37 $^{\circ}\text{C}$, 体积分数5%CO₂培养箱内孵育24 h, 弃液, 加入0.25%胰酶消化2 min, 用含体积分数10%胎牛血清的DMEM终止消化, 收集细胞, 1 000 r/min离心5 min, 加入PBS洗涤2次, 离心(800-1 000 r/min, 5 min), 弃上清,

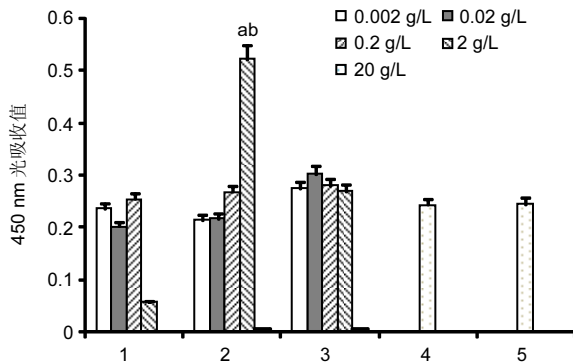


图1 血竭不同提取物对成纤维细胞增殖的影响

Figure 1 Effect of different Dragon's blood extracts on fibroblast proliferation

图注: 图中 1-5 分别为氯仿提取组、乙酸乙酯提取组、乙醇提取组、含 1% 二甲基亚砜 DMEM 组和对照组。与含 1% 二甲基亚砜 DMEM 组和对照组相比, $^aP < 0.05$; 与 0.002, 0.02, 0.2, 20 g/L 相比, $^bP < 0.05$ 。

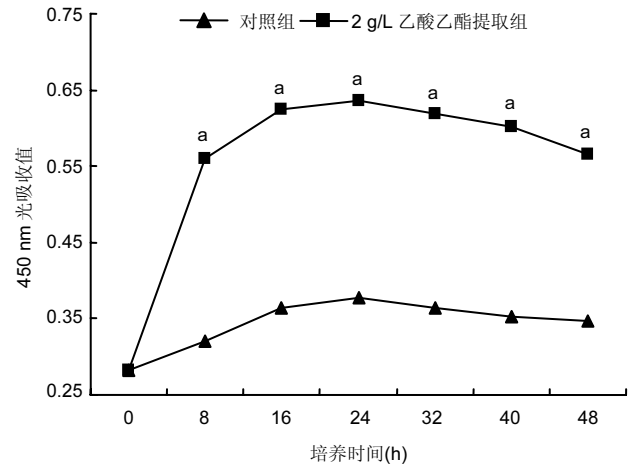


图3 血竭提取物最佳浓度条件下成纤维细胞的生长曲线

Figure 3 Cell growth curve of fibroblasts under the optimal concentration of Dragon's blood extract

图注: 与对照组相比, $^aP < 0.05$ 。

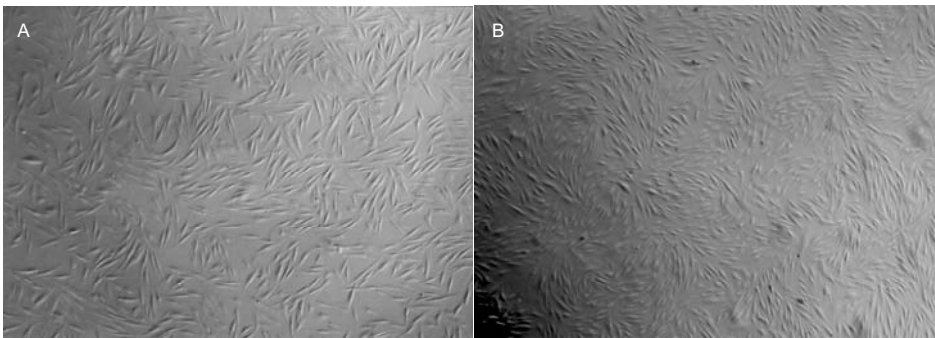
图2 血竭提取物对成纤维细胞形态的影响($\times 100$)

Figure 2 Effect of Dragon's blood extracts on fibroblast morphology ($\times 100$)

图注: 图中 A 为对照组, 未出现明显成纤维细胞融合现象; B 为 2 g/L 乙酸乙酯提取组, 出现明显细胞融合。

加入 1 mL PBS 吹散细胞团块, 加入冰乙醇 2 mL 固定后碘化丙啶避光染色 15 min, 置入流式细胞仪检测细胞周期。

III型前胶原水平测定: 采用放射免疫分析法采用放射免疫分析法对成纤维细胞培养上清液中的 III 型前胶原水平进行检测^[12-16]。分别将对数生长期的成纤维细胞接种于 96 孔板, 细胞浓度 $5 \times 10^7 L^{-1}$, 每孔 200 μL , 于 37 $^{\circ}C$, 体积分数 5% CO_2 培养箱中孵育 24-48 h, 待细胞完全贴壁后, 吸弃培养液, 实验组加入最适浓度血竭提取物条件培养液 (200 μL /孔), 对照组加入 DMEM 培养液 (200 μL /孔), 每组均设 3 个平行孔。于 37 $^{\circ}C$, 体积分数 5% CO_2 培养箱中培养, 分别于 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 h, 吸取上清液 150 μL /孔, 按照 III 型前胶原放免试剂盒说明步骤加样, 绘制标准曲线并测定样品。III 型前胶原的水平在放射免疫 γ 自动计数器上测得。

主要观察指标: MTT 法检测血竭提取物对成纤维细胞增殖的影响, 并绘制最适浓度下生长曲线, 流式细胞术检测最适浓度条件下成纤维细胞细胞周期, 放射免疫法检测最适条件下培养的成纤维细胞分泌 III 型前胶原的情况。

统计学分析: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。实验所得数据采用统计分析软件 SPSS 13.0 软件 (美国 SPSS 公司) 进行分析, 应用

组间比较采用 Student t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 血竭提取物对成纤维细胞增殖的影响及最适浓度筛选 氯仿提取组及乙醇提取组在各种浓度条件下, 对成纤维细胞增殖的影响与对照组相比, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。乙酸乙酯提取物在浓度为 0.2-2 g/L 时均有不同程度促进成纤维细胞增殖的作用, 并且呈剂量依赖关系, 2 g/L 时促进成纤维细胞作用最显著 ($P < 0.05$), 故 2 g/L 血竭乙酸乙酯提取物为促进成纤维细胞增殖的最适浓度。含 1% 二甲基亚砜组与对照组无显著差异 ($P > 0.05$; 图 1)。因此 2 g/L 乙酸乙酯提取物为最适合成纤维细胞生长的一组血竭提取物, 后面的实验仅探讨其与对照组的差异。

2.2 血竭提取物对成纤维细胞形态的影响 光学显微镜下可见, 在质量浓度为 2 g/L 的乙酸乙酯提取物培养 24 h 后, 成纤维细胞的细胞融合现象较对照组明显, 对照组仅部分成纤维细胞散在融合 (图 2)。

2.3 血竭提取物最佳浓度条件下的成纤维细胞生长曲线 成纤维细胞在血竭乙酸乙酯提取物最佳浓度 2 g/L 条件下

表 1 血竭乙酸乙酯提取物对成纤维细胞细胞周期的影响

Table 1 Effect of Dragon's blood acetoacetic ester extract on fibroblast cell cycle ($\bar{x} \pm s$, %)

细胞周期	对照组	2 g/L 血竭乙酸乙酯提取物组
G ₀ -G ₁	72.17±0.91	58.93±3.45 ^a
S	8.40±0.30	26.00±2.59 ^a
G ₂ -M	19.43±1.31	15.07±0.55

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$ 。

培养, 可见培养8 h时其吸光度值明显高于对照组($P < 0.05$), 且随时间的延长而逐渐增大, 在24 h时2组的吸光度值均达到峰值($P < 0.05$), 而后2组的吸光度值逐渐下降, 但2 g/L血竭乙酸乙酯提取物组细胞的吸光度值仍明显高于对照组($P < 0.05$; 图3)。

2.4 血竭提取物对成纤维细胞细胞周期的作用 流式细胞术检测到, 培养24 h后, 2 g/L血竭乙酸乙酯提取物组成纤维细胞处于G₁期的比例明显低于对照组($P < 0.05$), 但S期的细胞比例则明显高于对照组($P < 0.05$); 见表1。

2.5 血竭提取物对成纤维细胞分泌III型前胶原的影响 在培养0-72 h时, 2 g/L血竭乙酸乙酯提取物组与对照组成纤维细胞中III型前胶原水平均呈持续递增的趋势, 且其中2 g/L血竭乙酸乙酯提取物组成纤维细胞中III型前胶原水平在24-72 h低于对照组($P < 0.05$); 见表2。

3 讨论 Discussion

血竭是中国传统医学中常用的生肌类药物, 在临床上, 被用于治疗糖尿病性溃疡、压疮、术后切口愈合不良等难愈性创面, 具有确切可靠的疗效。在南美洲民间医学中也有大量对创面止血促进愈合方面的应用。目前, 学者们将血竭的此类功效归结为其具有活血化瘀、抗菌消炎、促进表皮细胞游走、抗脂质过氧化等作用^[17-22]。本实验观察到, 血竭乙酸乙酯提取物具有显著促进成纤维细胞增殖的作用。

血竭属于树脂类中药, 主要含有血竭素、血竭红素等黄酮类化合物及三萜类化合物等多种复杂成分, 且溶解度差异较大。本实验采取溶剂提取法经氯仿、乙酸乙酯和乙醇依次回流提取, 将血竭不同极性成分进行初步分类, 旨在缩小对于血竭单一有效成分的研究范围。本实验结果表明, 氯仿及乙醇提取物对于成纤维细胞无明显作用, 血竭乙酸乙酯提取物具有显著促进成纤维细胞增殖的作用, 且在0.2-2 g/L浓度范围内呈剂量依赖关系。国内有学者报道, 将血竭经石油醚、氯仿、乙酸乙酯回流提取在乙酸乙酯部位可以分离到黄酮类化合物^[23-27], 提示本实验中血竭乙酸乙酯提取物发挥作用的部分可能为黄酮类化合物。

成纤维细胞在创面修复过程中发挥重要作用, 其在伤口愈合过程中经过迁移、增殖、分泌大量的胶原纤维和基质成分, 与新生毛细血管等共同组成肉芽组织, 修复组织

表 2 血竭提取物对成纤维细胞分泌III型前胶原的影响

Table 2 Effect of Dragon's blood extract on fibroblast secreted procollagen type III ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/L}$)

培养时间(h)	对照组	2 g/L 血竭乙酸乙酯提取物组
0	< 1	< 1
12	1.5±0.5	2.9±1.3
24	21.1±10.7	4.0±1.7 ^a
36	35.2±4.1	14.4±0.6 ^a
48	45.1±1.0	28.1±2.6 ^a
60	49.5±9.2	32.6±2.9 ^a
72	53.5±4.7	38.0±3.8 ^a

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$ 。III型前胶原的表达量 $< 1 \mu\text{g/L}$, 仪器只标注 < 1 , 不能显示具体数值。

缺损, 为表皮细胞的覆盖创造条件^[28], 是创面愈合中的关键步骤, 其中成纤维细胞增殖分化是最重要的细胞活动之一。本实验观察到, 在质量浓度为2 g/L时, 血竭乙酸乙酯提取物对成纤维细胞具有显著促进增殖的作用, 流式细胞仪检测发现细胞周期中G₁期比例降低, S期比例比对照组增加, 证实了血竭乙酸乙酯提取物可以促进正常人成纤维细胞越过在G₁期中间存在一个细胞分裂的限制点, 进入增殖状态。结合文献报道, Vaisberg等^[8]研究发现南美洲血竭Taspine成分在50 ng/L浓度显著促进人成纤维细胞迁移, 作者认为血竭对于肉芽组织填充过程中成纤维细胞迁移、增殖的显著促进作用, 可能是其直接促进创面愈合的机制。

细胞外基质大体上可以分为胶原、蛋白聚糖、糖蛋白三大类^[29]。在创伤修复过程中, 成纤维细胞是它们最重要的来源。成纤维细胞过度增殖和分泌, 导致细胞外基质异常沉积, 造成病理性瘢痕。因此在组织修复过程中, 促进创面愈合和减少瘢痕形成在临床治疗上常存在着一定矛盾。本实验发现血竭乙酸乙酯提取物可以显著促进成纤维细胞增殖, 却降低了其细胞外基质III型前胶原的分泌量, 可能是血竭促进创面成纤维细胞增殖并产生一定量细胞外基质, 既促进创面愈合, 又不致于过度增生形成病理性瘢痕的原因。该作用是否与某些多肽生长因子的作用机制相同, 值得深入探讨。血竭乙酸乙酯提取物中发挥作用的是否为黄酮类物质, 尚待进一步证实。

作者贡献: 所有作者共同参与实验的设计实施及评估。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 实验获得解放军第四军医大学附属西京医院伦理学委员会的批准。

学术术语: 溶剂提取法—一般指从中草药中提取有效部位的方法, 根据中草药中各种成分在溶剂中的溶解性, 选用对活性成分溶解度大、对不需要溶出成分溶解度小的溶剂, 而将有效成分从药材组织内溶解出来的方法。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] 颜燕良,何振辉.古籍文献中以生肌类功效命名的外用古方浅析[J].广州中医药大学学报,2002,19(3):234-235.
- [2] Vaisberg AJ, Milla M, Planas MC, et al. Taspine is the cicatrizant principle in Sangre de Grado extracted from *Croton lechleri*. *Planta Med.* 1989;55(2):140-143.
- [3] Jones K. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*)--a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections, and wounds: traditional uses to clinical research. *J Altern Complement Med.* 2003;9(6):877-896.
- [4] Williams JE. Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of the Peruvian rainforest with a particular emphasis on *Una de Gato* and *Sangre de Grado*. *Altern Med Rev.* 2001;6(6):567-579.
- [5] Final report on the safety assessment of capsicum annuum extract, capsicum annuum fruit extract, capsicum annuum resin, capsicum annuum fruit powder, capsicum frutescens fruit, capsicum frutescens fruit extract, capsicum frutescens resin, and capsaicin. *Int J Toxicol.* 2007;26 Suppl 1:3-106.
- [6] Cosmetic Ingredient Review Expert Panel. Final report on the safety assessment of Glycyrrhetic Acid, Potassium Glycyrrhetinate, Disodium Succinoyl Glycyrrhetinate, Glyceryl Glycyrrhetinate, Glycyrrhetinyl Stearate, Stearyl Glycyrrhetinate, Glycyrrhizic Acid, Ammonium Glycyrrhizate, Dipotassium Glycyrrhizate, Disodium Glycyrrhizate, Trisodium Glycyrrhizate, Methyl Glycyrrhizate, and Potassium Glycyrrhizate. *Int J Toxicol.* 2007;26 Suppl 2:79-112.
- [7] Cosmetic Ingredient Review Expert Panel. Final report on the safety assessment of Aloe Andongensis Extract, Aloe Andongensis Leaf Juice, Aloe Arborescens Leaf Extract, Aloe Arborescens Leaf Juice, Aloe Arborescens Leaf Protoplasts, Aloe Barbadensis Flower Extract, Aloe Barbadensis Leaf, Aloe Barbadensis Leaf Extract, Aloe Barbadensis Leaf Juice, Aloe Barbadensis Leaf Polysaccharides, Aloe Barbadensis Leaf Water, Aloe Ferox Leaf Extract, Aloe Ferox Leaf Juice, and Aloe Ferox Leaf Juice Extract. *Int J Toxicol.* 2007;26 Suppl 2:1-50.
- [8] Liu H, Lin S, Xiao D, et al. Evaluation of the Wound Healing Potential of *Resina Draconis* (*Dracaena cochinchinensis*) in Animal Models. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013; 2013:709865.
- [9] 杨云,张晶.天然药物化学成份提取分离手册[M].北京:中国中医药出版社,2004:301.
- [10] 林安平,屠鹏飞.剑叶龙血树含树脂木材的生药学研究[J].中国中药杂志,1994,19(11):648-649.
- [11] 赵凯,屠文震.中药对成纤维细胞增殖及胶原合成的抑制作用研究概况[J].中国中医药信息杂志,2003,10(1):81-83.
- [12] 潘继承,朱建一,吕志刚,等.III型前胶原、IV型胶原、透明质酸及层粘连蛋白在诊断肝纤维化中的意义[J].临床检验杂志, 2005, 23(2):143-144.
- [13] Wardle N. Glomerulosclerosis: the final pathway is clarified, but can we deal with the triggers? *Nephron.* 1996;73(1):1-7.
- [14] Border WA, Noble NA. TGF-beta in kidney fibrosis: a target for gene therapy. *Kidney Int.* 1997;51(5):1388-1396.
- [15] Kuncio GS, Neilson EG, Haverty T. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int.* 1991;39(3):550-556.
- [16] Schena FP, Gesualdo L, Grandaliano G, et al. Progression of renal damage in human glomerulonephritides: is there sleight of hand in winning the game? *Kidney Int.* 1997;52(6): 1439-1457.
- [17] Heo SK, Yi HS, Yun HJ, et al. Ethylacetate extract from *Draconis Resina* inhibits LPS-induced inflammatory responses in vascular smooth muscle cells and macrophages via suppression of ROS production. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48(5):1129-1136.
- [18] Choy CS, Hu CM, Chiu WT, et al. Suppression of lipopolysaccharide-induced of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 by *Sanguis Draconis*, a dragon's blood resin, in RAW 264.7 cells. *J Ethnopharmacol.* 2008;115(3): 455-462.
- [19] Tsai WJ, Hsieh HT, Chen CC, et al. Characterization of the antiplatelet effects of (2S)-5-methoxy-6-methylflavan-7-ol from *Draconis Resina*. *Eur J Pharmacol.* 1998;346(1):103-110.
- [20] Lin AP. Pharmacognostic studies on *Sanguis lignum Dracaenae cochinchinensis*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 1994;19(11):648-650, 701.
- [21] Vachálková A, Novotný L, Nejedlíková M, et al. Potential carcinogenicity of homoisoflavonoids and flavonoids from *Resina sanguinis draconis* (*Dracaena cinnabari* Balf.). *Neoplasma.* 1995;42(6):313-316.
- [22] Xu HQ, Liang CR, Feng J, et al. Treatment of Ota's nevus and melanosis by xuejiebiandou (resina draconis, semen dolichoris album) decoction. *J Tradit Chin Med.* 1982;2(4): 289-292.
- [23] 唐人九,文旭东,韦宏,等.广西血竭石油醚和醋酸乙酯部位中的化学成分[J].中国中药杂志,1995,20(7):421-423.
- [24] Li Y, Xiao W, Qin J, et al. Simultaneous determination of five active components in *resina draconis* and its extract by HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2012;37(7):929-933.
- [25] Gong W, Cao Y, Wang Y. Analysis of pharmaceutical samples of *Resina Draconis* by HPLC-PAD. *Phytochem Anal.* 2008; 19(6):499-505.
- [26] Shen CC, Tsai SY, Wei SL, et al. Flavonoids isolated from *Draconis Resina*. *Nat Prod Res.* 2007;21(4):377-380.
- [27] Lu H, Teng J, Wu H. [A review on the study of *Resina Draconis* produced in China]. *Zhong Yao Cai.* 2003;26(6): 459-461.
- [28] 宋述强,程天民.创面愈合与组织修复的生物学过程.创伤愈合与组织修复[M].济南:山东科学技术出版社,1998:7-27.
- [29] 成军.细胞外基质概论.细胞外基质的分子生物学与临床疾病[M].北京:北京医科大学出版社,1999:1.