

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00399

苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞 RAW264.7 表达 CD91、CD13 和分泌 TNF- α 的抑制作用

刘太华^{1*}, 刘德芳², 王 骏¹, 汪晓军¹, 罗 陈¹

1. 成都军区总医院皮肤科, 成都 610083

2. 成都军区总医院中医科, 成都 610083

[摘要] **目的** 探讨苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞 RAW264.7 表达 CD91、CD13 和分泌 TNF- α 的抑制作用。**方法** (1)用 6 孔板培养巨噬细胞 RAW264.7, 制作细胞爬片, 然后与不同浓度(0、12.5、25、50、100、200 mg/L)的苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱共培养, 细胞爬片免疫组化染色, 检测 CD91 和 CD13 的表达情况, 并采用 Media Cybernetics 公司的图像分析系统进行定量分析, 测量积分光密度(IOD)值。(2)6 孔培养板培养巨噬细胞 RAW264.7, 加入不同浓度的苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱与巨噬细胞共培养 1 d 后, 收集培养孔中的培养液, 采用 ELISA 方法检测培养液中 TNF- α 的含量。**结果** 苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱均能抑制巨噬细胞表达 CD91 和 CD13, 其抑制作用随浓度变化也有不同, 苦参碱更明显。不同浓度的苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞分泌 TNF- α 有抑制作用, 苦参碱对巨噬细胞 RAW264.7 分泌 TNF- α 的抑制作用更明显。**结论** 苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞表达 CD91、CD13 和分泌 TNF- α 有明显的抑制作用。

[关键词] 苦参碱; 氧化苦参碱; 槐定碱; 巨噬细胞; CD91; CD13; 肿瘤坏死因子 α ; 银屑病

[中图分类号] R 758.63 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)04-0399-05

Matrine, oxymatrine and sophordine inhibit secretion of TNF- α and expression of CD91 and CD13 in macrophage RAW264.7

LIU Tai-hua^{1*}, LIU De-fang², WANG Jun¹, WANG Xiao-jun¹, LUO Chen¹

1. Department of Dermatology, General Hospital, PLA Chengdu Military Area Command, Chengdu 610083, Sichuan, China

2. Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital, PLA Chengdu Military Area Command, Chengdu 610083, Sichuan, China

[Abstract] **Objective** To observe the inhibitory effects of matrine, oxymatrine and sophordine on expression of CD91 and CD13 and secretion of TNF- α in macrophage RAW264.7. **Methods** Macrophages were cultured in 6-hole plate and coverslip was prepared. Then macropages were cultured one day with different concentrations(0, 12.5, 25, 50, 100, 200 mg/L) of matrine, oxymatrine and sophordine; the expression of CD91 and CD13 by immunohistochemical dyeing was analyzed by Image-Pro plus system (Media Cybematic, Inc., 6.0 edition). Meanwhile, the levels of TNF- α in the culture medium of macrophages were examined by ELISA. **Results** Matrine, oxymatrine and sophordine could all inhibit CD91 and CD13 expression in macrophage RAW264.7, and the inhibition varied with the concentrations of matrine, oxymatrine and sophordine; the inhibitory effect of matrine was the most prominent one. Moreover, matrine, oxymatrine and sophordine also inhibited the secretion of TNF- α . **Conclusion** Matrine, oxymatrine and sophordine can greatly inhibit expression of CD91 and CD13 and secretion of TNF- α in macrophage RAW264.7.

[Key words] matrine; oxymatrine; sophordine; macrophage; CD91; CD13; tumor necrosis factor- α ; psoriasis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(4):399-403]

CD91 是热休克蛋白(HSPs)的共同受体, 通过 T 淋巴细胞、巨噬细胞、朗格汉斯细胞等, 在诱导银屑病发病中起重要作用^[1]。CD13 能强烈地影响

[收稿日期] 2009-08-09 **[接受日期]** 2009-12-02

[基金项目] 军队“十一五”医药卫生科研基金(06MB193)。Supported by Foundation of “11th Five-year Plan” for Medical Science Research of PLA(06MB193).

[作者简介] 刘太华, 硕士生, 副主任医师。

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 028-86571107, E-mail: thliu1966@yahoo.cn

免疫细胞的增殖、分化和功能,其抑制剂具有治疗银屑病、表皮角化异常及炎症疾病的潜能^[2]。本研究观察了苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对培养的巨噬细胞 RAW264.7 表达 CD91、CD13 和分泌 TNF- α 的影响,以寻找对银屑病有治疗作用的中药成分。

1 材料和方法

1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 细胞株 巨噬细胞系 RAW264.7 由四川瑞生科技有限公司提供。

1.1.2 实验试剂 苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱(中国药品生物制品检定所),二甲基亚砷(Sigma 公司),RPMI 1640 培养液(Gibco 公司),新生小牛血清(中美合资兰州民海生物工程有限公司),磷酸盐缓冲液(北京中杉金桥生物技术有限公司),即用型 SABC 免疫组化试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),兔抗鼠 CD13 抗体、兔抗鼠 CD91 抗体、ELISA 试剂盒(USCN Life Science & Technology Company),II 型胶原酶(Gibco 公司),EDTA(Sigma 公司)。

1.1.3 实验仪器 超净工作台(苏州净化设备有限公司),脱色摇床(江苏南达生物技术公司),倒置显微镜(日本奥林巴斯公司),二氧化碳孵箱(日本 SANYO, MCO-15A 型),酶标定量测定仪(Thermo Electron Corporation)。

1.2 实验方法

1.2.1 含苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱不同浓度培养液的配制 以苦参碱为例,取 20 mg 苦参碱,用微量 HCl 溶解,加 NaOH 调 pH 值,加入含 10% 小牛血清的 100 ml RPMI 1640 培养液中,使其充分混匀,即为 200 mg/L 的含药培养液,然后用含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液,按倍比稀释的原则,分别稀释为 100 mg/L、50 mg/L、25 mg/L 和 12.5 mg/L 等浓度。

1.2.2 制备细胞悬液 复苏 RAW264.7 细胞,培养,传代,用第 3 代细胞做实验,当细胞长满瓶底 80% 时,弃去培养液,加 PBS 液漂洗 2 次;加入含胰酶和 EDTA 的消化液 12 ml,37℃ 消化约 25 min,镜下见细胞呈圆形回缩即中止消化,弃消化液加 PBS 漂洗 2 次;加入新培养液 10 ml,制备细胞悬液,反复吹打混悬细胞。

1.2.3 铺板和细胞爬片 将制备好的细胞悬液按

1×10^4 1×10^5 /ml 的密度加入 6 孔板,每孔细胞密度必须一致,然后每孔轻轻从边缘加入 3 ml 含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液,加之前在 6 孔板内放入盖玻片(在放之前滴 12 滴培养液,使盖玻片紧贴 6 孔板底,防止两面爬片),放入 37℃、5% CO₂ 孵箱培养。

1.2.4 给药 每个培养板爬片按 16 序号进行编号,细胞培养 2 d 后,细胞爬满 6 孔板中玻片 80% 左右时,弃去培养液,分别加入苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱,按 15 序号加各自终质量浓度为 200、100、50、25、12.5 mg/L 的含药培养液,每孔加 3 ml,另每组 6 号设为空白对照孔,加含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液,每块板加一种药,继续培养 1 d。

1.2.5 免疫组化染色 将培养好的 RAW264.7 细胞爬片做免疫组化,具体步骤如下:用 PBS 清洗标本 1 min \times 3,清洗前在 37℃ 恒温箱预热 PBS,防止细胞遇冷收缩,影响实验进程;再用 4% 多聚甲醛固定 15 min;空气干燥 5 min;PBS 清洗标本 2 min \times 3;0.5% Triton-100(PBS 配)孵育 20 min;0.3% 过氧化氢甲醇溶液室温浸泡 30 min[0.3% 过氧化氢甲醇溶液(10 ml)的配制:0.3% 过氧化氢:甲醇:0.01 mol/L PBS = 0.1 ml:8 ml:2 ml];PBS 清洗标本 2 min \times 3;封闭血清孵育 20 min,用滤纸吸干,按设计分别加 CD13 和 CD91 的一抗湿盒孵育 4℃ 过夜,阴性对照用 PBS;PBS 清洗标本 2 min \times 3;二抗湿盒孵育 37℃ 30 min;PBS 清洗标本 2 min \times 3;SABC 液 37℃ 30 min;PBS 清洗标本 5 min \times 3;DAB 显色 35 min;(1 ml 蒸馏水+A、B、C 各 1 滴),时间不超过 30 min。不时在显微镜下进行观察,待细胞着色而背底颜色较淡时马上吸去显色液,蒸馏水迅速冲 3 次后加入 0.01 mol/L 终止反应;蒸馏水 2 min \times 3;苏木精复染 0.51 min;自来水洗 30 min;脱水、透明;封片。以上步骤中所加抗体量及其他孵育液量均为 50 μ l。

1.2.6 巨噬细胞 RAW 264.7 分泌 TNF- α 的检测 用 RPMI 1640 培养液培养 RAW264.7 细胞,细胞长满瓶底 80% 时,弃去培养液,加 PBS 液漂洗 2 次;加入含胰酶和 EDTA 的消化液 1~2 ml,37℃ 消化约 2 min,镜下见细胞呈圆形回缩即中止消化;弃消化液加 PBS 液漂洗 2 次,加入新培养液 10 ml,反复吹打混悬细胞,细胞密度调整为 1×10^5 /ml;以每孔 1 ml 细胞悬液将细胞接种到 6 孔板,每孔再加 RPMI 1640 培养液 4 ml;然后将 6 孔板放入 5% CO₂ 孵箱 37℃ 培养 2 d,待细胞长满瓶底 80% 时,弃去上

清液,分别加入苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱,按15序号加各自终浓度为200、100、50、25、12.5 mg/L的含药培养液4 ml,继续培养1 d。收集每孔培养液2 ml,1 000 r/min(离心半径12.5 cm)离心20 min,取上清液,-20 $^{\circ}$ C保存,留作检测TNF- α 。TNF- α 的检测按TNF- α ELISA试剂盒说明书操作,每组设复孔4个。

1.2.7 图像分析 采用Media Cybernetics公司的图像分析系统(软件及版本:Image-Pro plus 6.0)对细胞爬片免疫组化染色图像进行分析。使用免疫组化专用检测插件Pathology检测积分光密度(IOD)。

1.3 统计学处理 采用SAS 9.1软件,用Means过程计算各组均数和标准差,组间比较采用方差分析。

2 结果

2.1 CD13和CD91的表达 不同浓度苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱作用于巨噬细胞RAW264.7后,CD13和CD91的表达减少,免疫组化染色浅,呈淡黄色,且染色颗粒少,随药物浓度降低,免疫组化染色逐渐加深,当苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱浓度为0时,免疫组化染色最深,呈棕黄色,染色颗粒也增多。高倍镜下见染色颗粒位于细胞膜(图1)。

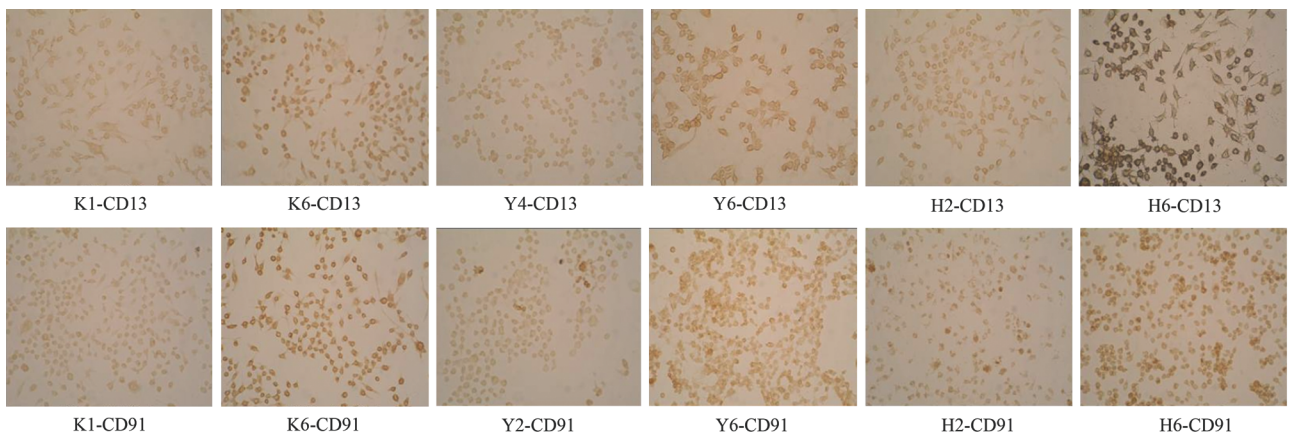


图1 苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞RAW264.7表达CD13、CD91抑制作用的免疫组化染色

Fig 1 Immunohistochemical dyeing for CD91 and CD13 expression in macrophage

RAW264.7 after treatment with matrine, oxymatrine, and sophoridine

K1: Matrine 200 mg/L; K6: Matrine 0 mg/L; Y4: Oxymatrine 25 mg/L; Y2: Oxymatrine 100 mg/L; Y6: Oxymatrine 0 mg/L; H2: Sophoridine 100 mg/L; H6: Sophoridine 0 mg/L. Original magnification: $\times 200$

图像分析提示,苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞RAW264.7表达CD1和CD91均有抑制作用,但抑制作用的强弱与药物浓度的高低似乎不呈线性关系,而是在某个浓度抑制作用最强。按IOD计算,以药物浓度为0组为参照,苦参碱为200 mg/L时,对巨噬细胞表达CD13抑制了73.65%,表达CD91抑制了73.93%。氧化苦参碱为25 mg/L时,对巨噬细胞表达CD13抑制了57.07%;氧化苦参碱为100 mg/L时对表达CD91抑制了47.53%。槐定碱为100 mg/L时,对巨噬细胞表达CD13抑制了56.74%,表达CD91抑制了60.81%。见图2。采用方差双因素分析法比较不同浓度苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对CD13和CD91的抑制作用,对CD13,不同药物之间 $P=0.0336$,不同浓度之间 $P=0.0166$;对CD91,不同药物之间 $P=0.0081$,不同浓度之间 $P=0.0235$ 。说明不同药物和药物的不同浓度对巨噬细胞表达CD13和CD91

的抑制作用其差异均有统计学意义,苦参碱的抑制作用更强。

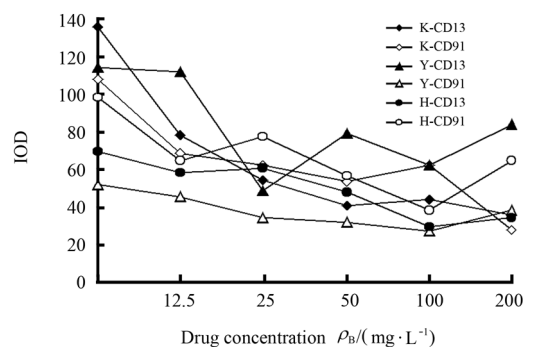


图2 免疫组化染色图像分析结果(IOD值)

Fig 2 Analysis of immunohistochemical dyeing results

K-CD13: Matrine inhibiting CD13; K-CD91: Matrine inhibiting CD91; Y-CD13: Oxymatrine inhibiting CD13; Y-CD91: Oxymatrine inhibiting CD91; H-CD13: Sophoridine inhibiting CD13; H-CD91: Sophoridine inhibiting CD91

2.2 TNF- α ELISA 检测结果 苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱作用于培养的巨噬细胞 RAW264.7, EILSA 检测巨噬细胞分泌 TNF- α 的水平,采用方差双因素分析比较不同浓度的苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞分泌 TNF- α 的抑制作用,不同药物之间 $P=0.1524$,不同浓度之间 $P=0.0193$,提示不同药物对巨噬细胞分泌 TNF- α 的抑制作用其差别无统计学意义,但不同药物浓度对巨噬细胞分泌 TNF- α 的抑制作用其差别有统计学意义。再用单因素方差分析法比较同一药物不同浓度对巨噬细胞

分泌 TNF- α 的抑制作用,苦参碱 200 mg/L 组与 50 mg/L 组,100 mg/L 组与 25 mg/L 组其组间差别无统计学意义,其余组间差别有统计学意义 ($P<0.05$);氧化苦参碱 200 mg/L 组、25 mg/L 组与 12.5 mg/L 组,100 mg/L 组与 50 mg/L 组其组间差别无统计学意义,其余组间差别有统计学意义 ($P<0.05$);槐定碱 200 mg/L 组与 50 mg/L 组其组间差别无统计学意义,其余组间差别有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 TNF- α ELISA 检测结果

Tab 1 Determination of TNF- α level in culture medium by ELISA

[$n=5, \bar{x} \pm s, \rho_B / (\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1})$]

Drug concentration $\rho_B / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Matrine group	Oxymatrine group	Sophoridine group
200	4.716 \pm 0.412*	14.310 \pm 0.923*	6.910 \pm 0.520*
100	9.924 \pm 0.854*	12.391 \pm 0.836*	3.620 \pm 0.315*
50	4.990 \pm 0.435*	12.665 \pm 0.823*	6.087 \pm 0.502*
25	10.876 \pm 0.867*	14.310 \pm 0.915*	15.608 \pm 0.986*
12.5	20.066 \pm 1.235*	14.584 \pm 1.101*	9.376 \pm 0.673*
0	23.081 \pm 1.311	19.512 \pm 1.214	17.600 \pm 0.991

* $P<0.05$ vs 0 mg \cdot L $^{-1}$ drug group

3 讨论

研究提示银屑病皮损组织中 HSP60、HSP90、IL-2、IL-6 大量表达,且 HSP60、HSP90 的表达与 IL-6 的表达正相关^[3]。IL-2、IL-6 与 TNF- α 一样均为诱发和维持银屑病症状的重要细胞因子之一。CD91 为 HSPs 的共同受体,位于抗原提呈细胞的细胞膜上,当 CD91 被 HSPs 激活后参与抗原的提呈和细胞因子的分泌等一系列免疫应答的过程^[4]。CD91 的抑制剂具有治疗银屑病的价值。另一项研究提示,银屑病外周血淋巴细胞和皮损组织中 CD13 的表达明显高于健康人^[5],CD13 是一种细胞膜糖蛋白,又名氨基肽酶 N(aminopeptidase N),因能够从肽、酰氨和芳酰氨的 N 端水解氨基酸而得名,参与很多生理病理调节过程。CD13 在 T 淋巴细胞激活、抗原提呈和血管发生等方面均有作用,推测 CD13 在银屑病的发病中也发挥一定的作用。Gabrilovac 等^[6]观察到 CD13 可调节角质形成细胞的生长,CD13 的抑制剂可抑制角质形成细胞的生长,因此可能具有治疗银屑病的作用。

某些具有免疫调节功能的细胞因子结合位点的阻断剂或细胞因子的阻断剂具有治疗银屑病的价值,按此原理已经成功开发了多个生物制剂并且在

银屑病治疗上取得了可喜的成功,如 TNF 阻断剂依那西普、英利昔单抗、阿达木单抗等,但其价格都非常昂贵。研究发现苦参中含有大量的生物碱,包括苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱等,这些生物碱具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤生长、抗病毒等作用^[7-8],可用于治疗多种皮肤病,在治疗银屑病时常作为主药之一,也可单用苦参治疗银屑病,但其治疗机制不明。本实验的目的就是寻找具有抗炎作用的苦参生物碱类物质治疗银屑病的机制,从而寻找具有治疗银屑病有效且价廉的中药成分。近年来研究发现,皮肤组织中巨噬细胞能促进淋巴细胞激活和角质细胞异常,从而在银屑病发病过程中发挥着重要的作用^[9-10]。同时,银屑病早期病变之一是皮损组织内 T 淋巴细胞和巨噬细胞的出现,继而产生大量的炎性介质和细胞因子如 TNF- α 、GM-CSF、IL-1、IL-6、IL-8 等,尤其 TNF- α 在银屑病发病及银屑病症状维持方面起重要的作用^[11],而皮损中 TNF- α 主要是由巨噬细胞产生的^[12]。银屑病皮损的另一个特征是血管异常,血管新生的一个关键环节是基底膜和细胞外基质的降解,以利于增殖的内皮细胞向外迁移,基底膜和细胞外基质的降解过程需要各种酶的作用,其中最重要的是基质金属蛋白酶,皮肤中巨噬细胞是产生基质金属蛋白酶的主要细胞之一^[13]。

近年神经免疫在银屑病发病中的作用越来越受到重视,P物质作为重要的神经递质可刺激巨噬细胞释放一系列细胞因子,巨噬细胞上有P物质的受体^[14]。故本实验采用在银屑病发病和病情维持均有重要作用的巨噬细胞作为研究的靶细胞,用不同浓度的苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱作用于巨噬细胞,检测苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞表达CD13和CD91的抑制情况,结果提示,苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱均能抑制巨噬细胞CD13和CD91的表达,且随药物浓度的增加抑制作用越强,但抑制作用和药物浓度似乎不呈线性关系,在某个药物浓度其抑制作用最强(其机制有待进一步研究),其中苦参碱20 mg/100 ml时对巨噬细胞表达CD13抑制率达73.65%,表达CD91抑制了73.93%,抑制作用最强。

总结关于巨噬细胞、树突细胞及抗TNF- α 药物对银屑病的治疗等方面的新的研究数据,得出结论:抗原提呈细胞在诱导银屑病形成以及银屑病病情的维持等方面均发挥着重要的作用^[15]。银屑病皮损组织中TNF- α 明显表达,广泛表达于表皮全层和真皮浅层^[11],巨噬细胞是银屑病皮损组织中TNF- α 的主要来源之一。TNF阻断剂(如依那西普、英利昔单抗、阿达木单抗)在银屑病的治疗中取得令人鼓舞的疗效。本研究采用苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱分别作用于培养的巨噬细胞RAW 264.7,结果显示苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对巨噬细胞的活性有抑制作用,对巨噬细胞分泌TNF- α 有明显的抑制作用。

本实验结果提示,苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱可作为治疗银屑病有效且廉价的候选中药成分,其中苦参碱可能最具治疗价值。

[参考文献]

- [1] Boyman O, Conrad C, Dudli C, Kielhorn E, Nickoloff B J, Nestle F O. Activation of dendritic antigen-presenting cells expressing common heat shock protein receptor CD91 during induction of psoriasis[J]. *Br J Dermatol*, 2005, 152: 1211-1218.
- [2] Thielitz A, Bukowska A, Wolke C, Vetter R, Lendeckel U, Wrenger S, et al. Identification of extra- and intracellular alanyl aminopeptidases as new targets to modulate keratinocyte growth and differentiation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 321: 795-801.
- [3] 刘太华,刘德芳,汪新红,陈易华. 银屑病皮损组织中HSP60、HSP90与IL-2、IL-6表达的相关性研究[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2009, 23: 140-141.
- [4] Stebbing J, Gazzard B, Bower M. The role of CD91 and heat shock proteins in psoriasis[J]. *Br J Dermatol*, 2005, 152: 1095-1097.
- [5] Liu T H, Liu D F, Chen Y H, Hu Z H, Chen L, Luo C, et al. CD13/APN expression in peripheral blood lymphocytes and skin lesion in patients with advanced psoriasis vulgaris[J]. *J Med Coll PLA*, 2009, 24: 25-30.
- [6] Gabrilovac J, Cupi ć B, Breljak D, Zekusi ć M, Borani ć M. Expression of CD13/aminopeptidase N and CD10/neutral endopeptidase on cultured human keratinocytes[J]. *Immunol Lett*, 2004, 91: 39-47.
- [7] 樊宏伟,卢继红,张蓉. 苦参碱类生物碱的体外抑菌、抑病毒及诱生干扰素的实验研究[J]. *中医药信息*, 2000, 4: 75-76.
- [8] 黄秀梅,李波. 氧化苦参碱对TNF α 、IL-6和IL-8的影响[J]. *中成药*, 2003, 25: 903-906.
- [9] Wang H, Peters T, Kess D, Sindrilaru A, Oreshkova T, Van Rooijen N, et al. Activated macrophages are essential in a murine model for T cell-mediated chronic psoriasisiform skin inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116: 2105-2114.
- [10] Stratis A, Pasparakis M, Rupec R A, Markur D, Hartmann K, Scharffetter-Kochanek K, et al. Pathogenic role for skin macrophages in a mouse model of keratinocyte-induced psoriasis-like skin inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116: 2094-2104.
- [11] 冯峥,葛萍,李恒进,黎燕. 银屑病患者血清TNF- α 浓度及其在皮损中的表达研究[J]. *军医进修学院学报*, 2005, 26: 81-83.
- [12] 茹雪莹,徐丽敏,吴泰相. 肿瘤坏死因子- α 与银屑病发病相关研究的Meta分析[J]. *中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2007, 6: 44-50.
- [13] 李敬,徐丽敏,肖尹,薛丑文,王庆文. 银屑病患者皮损和血清中血管内皮生长因子的表达分析[J]. *中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2009, 8: 210-212.
- [14] 齐宝全,陆洁,段昕所,于立勤,于忠蛟. 银屑病皮损处角质形成细胞中P物质的研究[J]. *临床皮肤科杂志*, 2004, 33: 415-416.
- [15] Sabat R, Sterry W, Philipp S, Wolk K. Three decades of psoriasis research: where has it led us[J]? *Clin Dermatol*, 2007, 25: 504-509.

[本文编辑] 尹茶