

胃康宁对 VDAC1、ATP 在能量代谢中干涉效应的影响研究

刘燕君¹ 鲁思凡² 刘亭亭² 常玉娟¹ 张平¹ 刘涛¹ 史海霞¹ Aimin 周³
魏茹涵³ 陈建德⁴ 魏玮¹ 佟丽²

【摘要】 目的 探讨胃康宁对细胞内电压依赖性离子通道(VDAC1)的调节和三磷酸腺苷(ATP)水平的干涉效应及其之间的联系。方法 体外培养人胃黏膜上皮细胞(GES-1),实验分为空白对照组、阳性对照组(多潘立酮),胃康宁低、中、高剂量组,用逆转录荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)和 Western blot 法检测 VDAC1 的 mRNA 和蛋白表达,生物发光法分别检测给药后细胞内能量 ATP 的含量;制备功能性消化不良大鼠模型,检测胃康宁对功能性消化不良大鼠胃组织中 ATP 代谢相关的 $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ 酶的影响。结果 (1)胃康宁在基因和蛋白水平上促进 VDAC1 的表达和细胞内 ATP 含量。(2)胃康宁促进功能性消化不良大鼠胃组织 $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ 酶活性升高。结论 VDAC1 在基因和蛋白水平上表达增加是胃康宁诱导细胞内能量 ATP 水平升高的分子机制之一,并且体内实验证明胃康宁促进 $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ 酶活性,从而对 ATP 的产生有一定的保护作用,胃康宁作用机制有可能通过能量代谢的途径对功能性消化不良进行治疗。

【关键词】 胃康宁;能量代谢;辛开苦降;VDAC1;ATP

【中图分类号】 R285.5

【文献标识码】 A

Study on Weikangning Intervention on Voltage - dependent Anion Channel 1(VDAC1) and ATP in Energy Metabolism

LIU Yan - jun¹ ,LU Si - fan² ,LIU Ting - ting² ,CHANG Yu - juan¹ ,ZHANG Ping¹ ,LIU Tao¹ ,SHI Hai - xia¹ ,ZHOU Ai - min³ ,WEI Ru - han³ ,CHEN Jian - de⁴ ,WEI Wei¹ ,TONG Li²

(1. Wangjing Hospital ,China Academy of Chinese Medical Sciences ,Beijing 100103; 2. Life and Science , Beijing Normal University ,Beijing 100875; 3. Chemistry Faculty ,Cleveland University ,Cleveland 44115; 4. Digestive System Department ,Medical School of The Johns Hopkins University ,Maryland 21218)

【Abstract】 Objective To study Weikangning (WKN) on Voltage - dependent anion channel 1 (VDAC1) and ATP and explore their relationship. **Methods** Human gastric epithelia cells GES - 1 were cultivated in vitro ,and they were divided into five groups ,namely were blank group ,positive control group (Domperidone) ,low dosage of WKN ,medium dosage of WKN ,high dosage of WKN. Expression of protein and mRNA of VDAC1 were measured by RT - PCR method and western blot. ATP was measured by bioluminescent. Model rats of functional dyspepsia were made ,and influence of WKN to ATP and $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ synthase were tested. **Results** 1. WKN promoted level of VDAC1 and ATP in cells in terms of gene and protein. 2. WKN stimulated $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ synthase in tissue gastric of FD rat model. **Conclusion** The increase of VDAC1 is one of the molecular mechanisms that WKN can activate $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ synthase leading to the protection on ATP.

【Key words】 Weikangning; Energy Metabolism; Acrid Opening and Bitter Descending; VDAC1; ATP

DOI: 10. 13935 /j. cnki. sjzx. 151034

基金项目: 国家自然科学基金(81273746);北京市科技计划培育项目(Z13110200400000);国家自然科学基金(81072800)

作者单位: 1. 中国中医科学院望京医院,北京 100102; 2. 北京师范大学生命科学院,北京 100875; 3. 克利夫兰大学化学系,美国克利夫兰州 44115; 4. 约翰·霍普金斯大学医学院消化内科,美国马里兰州 21218

通讯作者: 魏玮,Email: sxxy@sina.com

功能性消化不良(functional dyspepsia,FD)是一个临床上很常见的证候群,该病是全球性多发病、常见病。统计资料表明,FD患者为内科病人总数的2%~3%,占消化系统疾病的20%~40%^[1]。其发病机制及治疗一直是临床亟待解决的重要课题,虽经多年研究,目前仍未找到有效的治疗手段。由于中药具有多途径、多靶点、毒副作用低等优点,已成

为治疗这种功能性胃肠病研究的热点之一。

胃康宁是治疗 FD 的中药复方,临床疗效明确,效果显著^[2]。研究表明胃康宁对 FD 大鼠的治疗作用是通过调节胃壁肌电活动和自主神经功能实现的^[3]。电压依赖性阴离子通道(Voltage-dependent anion channel 1,VDAC1),位于在线粒体上的结合位点的线粒体外膜蛋白,同时可以促进 ATP 的释放,从整体上调节细胞的能量代谢水平^[4]。FD 大鼠模型的蛋白组学研究表明,模型组大鼠胃组织中 VDAC1 表达水平下降,而胃康宁对其则有促进作用^[5],但胃康宁对 VDAC1、ATP 在能量代谢方面干预作用尚不清楚。本实验通过将胃康宁分别作用于胃细胞和 FD 大鼠,研究药物在体外实验中对 VDAC1 表达、ATP 含量的影响和体内体外实验对 ATP 酶含量的影响,进而研究药物在能量代谢方面干预作用,以期能够在调控机体能量代谢和治疗功能性消化不良方面提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验试剂 DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶购自 GIBCO 公司产品。胃康宁由中国中医科学院望京医院提供。碘代乙酰和蔗糖胺购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司,VDAC1 抗体为 CST 公司产品。Trizol 总 RNA 抽提试剂,Taq DNA 聚合酶,OligodT,RNasin 购自日本 TaKaRa 公司。ATP 酶检测试剂由南京建成生物技术有限公司提供。引物由上海生工生物技术有限公司合成。ATP 试剂盒为普罗瑞林公司产品。

1.1.2 实验仪器 MILLIQ ACADEMIC 水机(Millipore 公司),倒置显微镜(日本 Olympus 公司),二氧化碳培养箱(Mapco 公司),Scout SE 便携式天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司],微型旋涡混合仪(上海沪西分仪器厂),THS-15 数控超级恒温槽(宁波天恒仪器厂),冰箱(Haiar);蛋白凝胶电泳仪(北京六一仪器厂),POLARstar Omega 多功能酶标仪(德国 BMG 公司),7500 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)、戊巴比妥钠(上海化学试剂厂)。

1.1.3 实验药物 胃康宁由清半夏、黄芩、黄连、干姜、砂仁等组成,由中国中医学科学院望京医院药剂科提供,按传统方法煎煮,浓缩至 400 ml,为动物灌胃用药。按上述方法再制备 400 ml 粗提物药液,真空冷冻干燥获得干粉,使用前用 PBS 溶解至 10

mg/ml 储液,经⁶⁰Co 辐射灭菌,并离心(12 000 转/min 20 min)以去除不溶性成分。阳性对照药选用多潘立酮,用 PBS 配置成 2.5 μmol/L 溶液为贮存待用。

1.1.4 细胞培养 人胃黏膜上皮细胞(GES-1)购自中国科学院培养物保藏委员会细胞库,GES-1 用含 10% 胎牛血清 DMEM 培养培养,37 °C 条件下 5% CO₂ 培养箱中培养,传代 3 次后进行细胞实验。

1.2 实验方法

雄性 10 日龄 Wistar 小鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司) 26 只,随机分为空白对照组(6 只)和造模组(20 只)。采用 0.1% 碘代乙酰 + 0.2% 蔗糖灌胃诱导大鼠 FD 模型,大鼠 8 周龄时,选取造模成功的 18 只大鼠随机分模型组(6 只)、胃康宁组(6 只)、阳性对照组(6 只),与空白对照组大鼠(6 只)一起进行灌胃。大鼠体重约 250~300 g,依据体表面积换算公式,计算出大鼠服用胃康宁等效剂量为 3.6 g/(Kg·d)。按传统工艺减压浓缩胃康宁汤剂为 1.2 g/ml 的中药溶液。多潘立酮片用蒸馏水配制成 0.3 mg/ml 浓度溶液。空白对照组与模型组予以 0.9% 氯化钠溶液 1 ml/100 g 灌胃,胃康宁组、阳性药组按 1 ml/100 g 灌胃,分别给予胃康宁和多潘立酮溶液灌胃,均为每日 2 次,给药 7 d。

1.3 Western 检测

胰酶消化细胞后配成细胞悬液按 1.5×10^6 个种入 6 孔板,37 °C、5% CO₂ 的培养箱内培养 4 h,待细胞贴壁之后进行细胞分组。①空白对照组:不加任何药物。②阳性对照组:多潘立酮 2.5 μmol/ml。③胃康宁低剂量组:0.025 μg/μl。④胃康宁中剂量组:0.1 μg/μl。⑤胃康宁高剂量组:0.3 μg/μl。药物作用 24 h 后收集细胞,加入 60 μl 蛋白裂解液,于液氮中反复冻融 3 次后,12 000 r/min 4 °C 离心 20 min 取上清,用 BCA 法测定蛋白浓度,之后加入 loading buffer 变性 10 min。取 50 μg 样品总蛋白,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,分离的蛋白带电转至 PVDF 膜上,经 5% BSA 37 °C 封闭 1 h,加入 β-actin 和 VDAC1 的单克隆抗体,4 °C 过夜,洗膜 3 次。再分别加入羊抗鼠和羊抗兔二抗,37 °C 孵育 1 h,洗膜 3 次。化学发光显色检测分析结果,对蛋白条带灰度进行相对定量分析。

1.4 RT-PCR 检测

药物作用 24 h 后用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA,逆转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板 PCR 扩

增 VDAC1 β -actin 为内参照基因。VDAC1 上游引物 5'-AGGGCTATGGATTTGGCTTA-3', 下游引物 5'-CCGTCACCTTTGGTGGTCTC-3'; β -actin 上游引物 5'-CGGAAATCGTGCCTGAC-3', 下游引物 5'-GAAGGAAGGCTGGAAGAGTG-3'。荧光定量 PCR 主要采用 Takara 公司生产的 SYBR Premix 在 ABI 7500 Real Time PCR system (Applied Biosystems) 上完成。

1.5 ATP 生物发光检测试剂盒检测细胞能量代谢

以 1×10^4 个细胞铺 96 板, 按照“1.2”中分组, 每组 5 个平行孔, 向板中加入对应药物继续培养 24 h, 向每孔中加入 100 μ l 检测液(含荧光素酶), 至于摇床上慢摇 2 min 使检测液与细胞充分接触, 室温放置 10 min 稳定荧光信号; 将孔中液体对应转移到黑色聚苯乙烯 96 孔板中, 放入酶标仪(POLARstar Omega) 检测化学发光强度 检测时间 0.5 s。

1.6 FD 大鼠胃组织中 ATP 酶的检测

每组大鼠胃组织 100 mg 置匀浆器中, 加无水乙醇与生理盐水按 1:9 比例制成 10% 的匀浆, 1000 ~ 1500 r/min 离心 10 min, 取上清 0.2 ml 加 0.8 ml 生理盐水稀释成 2% 的匀浆, 测定 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性。以上测定严格按 ATP 检测试剂盒要求操作。

1.7 统计学处理

用 SPSS19.0 软件进行统计学处理, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验或单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Western blotting 分析

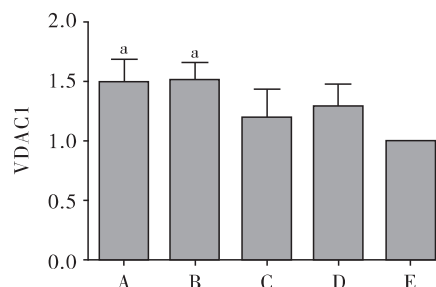
胃康宁对 VDAC1 蛋白表达量的影响, 阳性对照组与空白对照组比较差异无统计学意义, 而胃康宁低、中剂量组与空白对照组相比, VDAC1 表达量显著增加。结果见图 1。

2.2 胃康宁对 GES-1 细胞中 VDAC1 基因表达量的影响

阳性对照组与空白对照组 GES-1 细胞中 VDAC1 基因表达量相比差异无统计学意义, 胃康中剂量组对 GES-1 细胞中 VDAC1 基因表达有显著促进作用, 而胃康宁低、高剂量组促进作用不显著。结果见图 2。

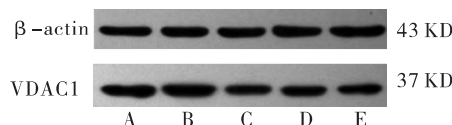
2.3 胃康宁对 GES-1 细胞内 ATP 含量的影响

阳性对照组与空白对照组相比 ATP 的含量无统



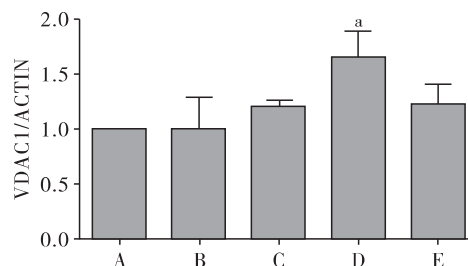
A - 胃康宁低剂量组; B - 胃康宁中剂量组; C - 胃康宁高剂量组; D - 阳性对照组; E - 空白对照组

注: 与空白对照组比较, $^{\#}P < 0.05$



A - 胃康宁低剂量组; B - 胃康宁中剂量组; C - 胃康宁高剂量组; D - 阳性对照组; E - 空白对照组

图 1 胃康宁对 VDAC1 蛋白表达的影响

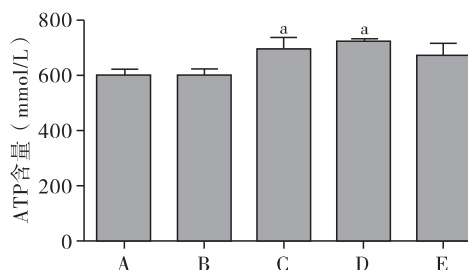


A - 空白对照组; B - 阳性对照组; C - 胃康宁低剂量组; D - 胃康宁中剂量组; E - 胃康宁高剂量组

注: 与空白对照组比较, $^{\#}P < 0.05$

图 2 胃康宁对 VDAC1 基因相对表达的影响

计学意义, 胃康宁低剂量组和中剂量组 ATP 含量较空白对照组显著增加。结果见图 3。



A - 空白对照组; B - 阳性对照组; C - 胃康宁低剂量组; D - 胃康宁中剂量组; E - 胃康宁高剂量组

注: 与空白对照组比较, $^{\#}P < 0.05$

图 3 胃康宁对 GES-1 细胞 ATP 含量的影响

2.4 对 FD 大鼠胃组织 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响

与空白对照组相比, 模型组 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活降低; 与模型组相比, 胃康宁组 Ca^{2+} - Mg^{2+} -

ATP 酶活性显著升高 ($P < 0.05$) ; 阳性对照组与模型组 $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ 酶活性比较差异无统计学意义。结果见图 4。

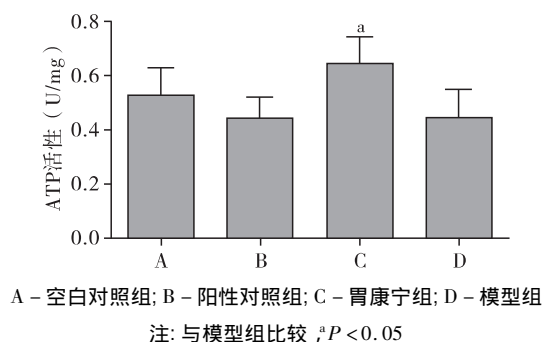


图 4 胃康宁对 FD 大鼠胃组织中 ATP 酶活性的影响

3 讨论

医学界对治疗 FD 的发病机制尚无统一定论, 大量研究表明, 胃肠运动障碍、胃酸分泌异常、内脏高敏感以及特定基因型的改变、幽门螺杆菌感染、社会心理因素等多方面与 FD 的发生和发展密切相关^[6-7]。胃肠运动障碍有可能导致胃壁细胞能量的改变^[8], 从而影响细胞生存的稳态环境, 影响机体病理进程。

FD 归属中医“痞症”等范畴, 痞症的发生与肝、脾、肺密切相关, “脾胃升降失司”是其主要病机^[9]。辛开苦降法调畅气机的作用机制正符合中医“痞症”的病因病机, 早在《伤寒论》中就有过此法的记载, 系指将苦寒与辛温两类不同性味与功用的药物相互配伍合用的一种复法^[10]。辛开苦降法代表方剂胃康宁是魏玮教授的经验方, 已在临床中应用 20 余年, 具有寒热互用以和阴阳, 苦辛并进以调其升降, 补泻兼施以固其虚实的配伍特点^[11]。胃康宁对 FD 大鼠血浆 MTL、胃体 MTL、ICC 及 SMC 胃动力及胃电节律均有调节作用^[12-13], 因此其治疗 FD 可通过调整脾胃气机升降达到改善胃肠动力, 而作用机制可能与调节能量代谢有关^[5]。

细胞的正常的生理活动是一种能量消耗过程, 能量的来源主要是 ATP, 而线粒体是氧化代谢产生能量的主要细胞器官, 是细胞内氧化磷酸化和形成 ATP 的主要场所, VDAC1 是电压依赖性阴离子通道, 可以从整体上调节细胞能量代谢的水平, 利于维持细胞内能量代谢的水平。本研究采用 RT-PCR 和 Western-blot 分别从基因水平和蛋白水平上分析胃康宁在体外实验中对胃上皮细胞中

VDAC1 的含量及表达的影响, 结果一致表明, 胃康宁在蛋白和基因水平上对 VDAC1 均起到促进作用。 $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ 酶是一类广泛存在于细胞膜上的重要膜结合酶, 它可以水解 ATP, 以维持细胞内相对较低的 Ca^{2+} 浓度, 这是维持细胞稳态的重要机制之一, 也是细胞功能得以正常发挥的基础, 而 $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ 酶活性如果降低可引起细胞的离子跨膜转运障碍及胞浆内 Ca^{2+} 的积聚, 导致细胞的形态、结构和功能的异常^[14]。对胃肠组织作用而言, $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$ 酶是胃肠细胞组织主动转运的关键, 是组织抗损伤的重要屏障。胃肠组织能量代谢紊乱和离子平衡失调, 导致 ATP 短缺, 膜离子泵功能障碍, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 分布异常, 最终造成胃肠黏膜细胞肿胀、坏死等损伤^[15-16]。在体内实验结果也表明, 与对照组比较, 胃康宁可以促进 FD 大鼠胃组织中 ATP 酶活性, 体外实验的 ATP 检测中, 与对照组比较, 胃康宁可提高胃上皮细胞中 ATP 的含量。也就是说胃康宁在体内体外均可以提高机体和细胞的 ATP 含量, 且目前已有研究表明 VDAC1 表达量上升有助于 ATP 的产生^[17]。由此结果推测, 胃康宁可以在分子层面上的调节 VDAC1 的表达, 对 ATP 的产生有一定的促进作用, 对细胞的能量代谢的平衡有一定的保护作用, 胃康宁的这种在能量代谢方面的干预调控的作用或许是其治疗 FD 的作用机制的分子基础, 鉴于能量代谢对 FD 的发生发展尤其是对胃动力异常方面具有重要意义。因此, 本研究为胃康宁调节能量代谢功能行使其对 FD 治疗提供了依据。另外, 实验可以继续研究相关转录因子的表达, 深入探讨辛开苦降法调控这些蛋白质表达的作用机制, 并通过相应的 siRNA 沉默转录因子后进一步确证实验结果, 为中医辛开苦降法治疗 FD 的机制研究提供新的依据。

参 考 文 献

[1] Camilleri M, Dubois D, Coulie B, et al. Prevalence and socioeconomic impact of upper gastrointestinal disorders in the United States: results of the US upper gastrointestinal study [J]. Clin Gastroenterol Hepatol 2005 (3) : 543 - 552.

[2] 李依洁. 辛开苦降法治疗寒热错杂型功能性消化不良临床疗效观察 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.

[3] 魏玮, 郝建军, 田俊. 辛开苦降法对功能性消化不良大鼠胃壁肌电活动和自主神经功能的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23 (9) : 837 - 839.

[4] Haridas V, Li X, Mizumachi T, et al. Avicins, a novel plant-derived metabolite lowers energy metabolism in tumor cells by targeting the

- outer mitochondrial membrane [J]. *Mitochondrion* ,2007 ,7(3) : 234 - 240.
- [5] Wei W ,Li X ,Hao J ,et al. Proteomic analysis of functional dyspepsia in stressed rats treated with traditional Chinese medicine “Wei Kangning” [J]. *Journal of gastroenterology and hepatology* ,2011 ,26(9) : 1425 - 1433.
- [6] J K ,EM Q. Functional dyspepsia: the role of visceral hypersensitivity in its pathogenesis [J]. *World journal of gastroenterology* ,2006 ,12(17) : 2672 - 2676.
- [7] Takamori KM ,Mizuta YM ,Takeshima FMP ,et al. Relation among plasma ghrelin level ,gastric emptying ,and psychologic condition in patients with functional dyspepsia [J]. *Journal of Clinical Gastroenterology* ,2007 ,41(5) : 477 - 483.
- [8] 刘娟 ,吴巧凤 ,孙博 ,等. 利用气质联用方法研究功能性消化不良患者血浆代谢谱的变化 [J]. *军事医学* ,2011 ,35(6) : 454 - 458.
- [9] 吴坚. 辛开苦降法在功能性消化不良治疗中的运用 [J]. *实用中医药杂志* ,2009 ,25(3) : 186 - 186.
- [10] 魏玮 ,郝建军. 辛开苦降法治疗脾胃病机制初探 [J]. *北京中医药* ,2010 ,29(1) : 41 - 42.
- [11] 魏玮 ,郝建军 ,杜武成 ,等. 胃康宁胶囊治疗功能性消化不良临床观察 [J]. *山西职工医学院学报* ,2004 ,14(1) : 36 - 39.
- [12] 魏玮 ,郝建军 ,田俊 ,等. 辛开苦降法对功能性消化不良大鼠胃窦黏膜 CGRP 和 SP 影响的实验研究 [J]. *世界中西医结合杂志* ,2008 ,3(3) : 137 - 138.
- [13] 张蓉. VDAC - 1、 α - enolase、SOD2、GSTP2 在中医治疗 FD 模型中的意义研究 [D]. 武汉: 华中科技大学 ,2009.
- [14] K M ,N L ,JM S ,et al. Analysis of the membrane domain of the gastric $H^+ /K^+ - ATPase$ [J]. *Journal of Experimental Biology* ,2000(1) : 161 - 170.
- [15] 樊凯芳 ,唐迎雪 ,曹淑霞 ,等. 三化汤对脑缺血 - 再灌注老龄大鼠胃肠组织 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性及 $Ca^{2+} - ATP$ 酶活性的影响 [J]. *时珍国医国药* ,2009 ,20(6) : 1367 - 1368.
- [16] SV B ,IG S ,AM B ,et al. Kinetic model for Ca^{2+} - induced permeability transition in energized liver mitochondria discriminates between inhibitor mechanisms [J]. *Journal of Biological Chemistry* ,2008 ,283(2) : 665 - 676.
- [17] Okada SF ,O'Neal W K ,Huang P ,et al. Voltage - dependent anion channel - 1(VDAC - 1) contributes to ATP release and cell volume regulation in murine cells [J]. *Journal of General Physiology* ,2004 ,124(5) : 513 - 526.

(收稿日期: 2015 - 04 - 19)

(上接第 1441 页)

- [J]. *中华血液学杂志* ,2011 ,32(3) : 214 - 216.
- [2] 陈灏珠. 实用内科学 [M]. 13 版. 北京: 人民卫生出版社 ,2009: 2223.
- [3] 李林 ,张燕 ,曾友志 ,等. 仙鹤丹皮汤剂治疗肿瘤化疗后血小板减少症的临床观察 [J]. *西部医学* ,2011 ,6(23) : 1055 - 1056.
- [4] 张晓芬 ,李林 ,马春蓉 ,等. 仙鹤丹皮汤联合西药治疗特发性血小板减少性紫癜的疗效观察 [J]. *医药前沿* ,2012 ,2(16) : 45 - 46.
- [5] 李林 ,马春蓉 ,何秋莲 ,等. 仙丹升血方用于原发免疫性血小板减少症的疗效观察 [J]. *中华全科医学* ,2013 ,3(11) : 435 - 437.
- [6] 国家中医药管理局. 中医病症诊断疗效标准 [S]. 南京: 南京大学出版社 ,1994: 11.
- [7] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社 ,2002: 180 - 185.
- [8] 张之南 ,沈悌. 血液病诊断及疗效标准 [M]. 北京: 科学出版社 ,2008: 172 - 176.
- [9] 刘婷. 特发性血小板减少性紫癜的中医研究简论 [J]. *光明中医* ,2009 ,24(3) : 518 - 519.
- [10] Provan D ,Stasi R ,Newland AC ,et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia [J]. *Blood* ,2010(115) : 168 - 186.
- [11] 封蔚莹 ,刘忠民 ,钟永根. 维血宁联合泼尼松治疗特发性血小板减少性紫癜的研究 [J]. *现代中西医结合杂志* ,2004 ,13(16) : 2122 - 2123.
- [12] 白玉盛 ,刘伟 ,秦兰 ,等. 滋阴清热法在 C1P 激素撤减治疗中的临床意义与作用研究 [J]. *实用中医内科杂志* ,2008 ,22(3) : 5 - 6.
- [13] 吴雪琴 ,白玉盛. 益气活血方治疗难治性特发性血小板减少性紫癜的临床观察 [J]. *新疆中医药* ,2010 ,28(2) : 31 - 33.
- [14] 李锦玲. 仙鹤草的药性与临床应用 [J]. *云南中医中药杂志* ,2004 ,25(2) : 24 - 25.
- [15] 王建 ,白秀珍 ,杨学东 ,等. 墨旱莲对小鼠热盛胃出血止血作用的研究 [J]. *数理医药学杂志* ,2005 ,18(4) : 375 - 376.
- [16] 钱煦岱 ,高瑞兰 ,马珂 ,等. 三七皂苷对人骨髓 CD_{34}^+ 造血干/祖细胞的增殖分化作用 [J]. *中国实验血液学杂志* ,2003 ,11(2) : 120 - 123.

(收稿日期: 2015 - 03 - 19)