

白蜡及白蜡高级烷醇对人真皮乳头细胞生长的影响

王占娣, 冯颖, 李娴, 丁伟峰, 马李一, 陈晓鸣*

(中国林业科学院资源昆虫研究所, 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室, 云南昆明 650224)

摘要: [目的] 明确白蜡及白蜡高级烷醇吐温水溶液对人真皮乳头细胞(HFDPCs)生长的影响。[方法] 采用台盼蓝法测定细胞的接种数量, 接种第2天给药, 给药48h后采用MTS法研究不同浓度吐温80、白蜡及白蜡高级烷醇吐温水溶液对人真皮乳头细胞的作用。[结果] 人真皮乳头细胞在吐温80用量 $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内能正常生长。在安全范围内, 白蜡(增溶量为 $0.31 \sim 1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)吐温水溶液、白蜡高级烷醇(增溶量为 $3.12 \sim 12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)吐温水溶液均能促进人真皮乳头细胞的增殖, 其中, 水溶液中含有 $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 吐温80和 $1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白蜡、水溶液中含有 $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 吐温80和 $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白蜡高级烷醇时细胞的增殖率明显高于非那雄胺。[结论] 吐温80作为增溶剂, 其用量低于 $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时对人真皮乳头细胞安全。在保证吐温80对细胞安全的条件下, 白蜡及白蜡高级烷醇可显著促进人真皮乳头细胞的增殖。

关键词: 白蜡; 白蜡高级烷醇; 吐温80; 人真皮乳头细胞

中图分类号: S899.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2017)01-0041-05

Effect of White Wax and Policosanol from White Wax Tween Aqueous Solution on HFDPCS

WANG Zhan-di, FENG Ying, LI Xian, DING Wei-feng, MA Li-yi, CHEN Xiao-ming

(Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Key laboratory of Cultivating and Utilization of Resources Insects of State Forestry Administration, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: [Objective] To investigate the cell proliferation effect of white wax and policosanol from white wax tween aqueous solution in human dermal papilla cells (HFDPCs). [Method] The cell seeding density was decided by Trypan blue test. Next day, change fresh medium which including treatment agent for HFDPCs. MTS assay was used to compare the proliferation effects of different concentrations of tween80, white wax and policosanol from white wax tween80 aqueous solutions on HFDPCs tween aqueous solution after 48 h. [Result] HFDPCs could grow well when the concentration of tween 80 was $1.56 - 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. In the concentration range, white wax (solubility in water was from $0.31 - 1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) and policosanol from white wax (solubility in water was $3.125 - 12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) tween aqueous solutions had the cell proliferation effect for HFDPCs. In which, the white wax aqueous solution including $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80 and $1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax, and the policosanol aqueous solution which including $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80 and $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ policosanol increased significantly the proliferation of HFDPCs comparing with finasteride. [Conclusion] The selected concentration of tween80 is below $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ in HFDPCs culture when tween80 is used as a solubilizing agent. In the optimistic concentration range of tween80, the white wax and policosanol from white wax could increase the proliferation of HFDPCs remarkably.

Keywords: white wax; policosanol from white wax; tween80; human dermal papilla cells

收稿日期: 2016-09-19

基金项目: 国家公益性林业科研专项(201204602); 国家863项目(2014AA021800)

作者简介: 王占娣(1981—), 女, 河北任丘, 在读博士, 主要从事资源昆虫研究. E-mail: zhdwang@163.com.

* 通讯作者.

白蜡虫(*Ericerus pela* (Chavannes))是一种重要的林业资源昆虫,其主要寄主植物为白蜡树(*Fraxinus chinensis* Roxb.)和女贞(*Ligustrum lucidum* Ait.)。白蜡虫雄性二龄幼虫在寄主植物上分泌的次生代谢物质为白蜡。白蜡是我国的一种重要林副产品,采用氯化铝锂还原法或皂化法提炼后能够得到高级烷醇^[1-2]。高级烷醇能降低胆固醇,促进细胞成熟^[3-4];但是白蜡和高级烷醇均不溶于水,限制了人们对白蜡及高级烷醇的开发和利用。笔者通过研究发现:白蜡和白蜡高级烷醇能溶解到含有吐温 80 的水溶液中,但吐温 80 易诱导细胞的脱粒作用^[5]。因此,用吐温作为白蜡及高级烷醇的增溶剂进行生物活性筛选时需要考虑其对细胞的安全性。

人真皮乳头细胞是毛囊生长调节的重要细胞,它存在于毛囊的基底部位,调控毛囊的生长、循环,指导毛基质细胞分化形成毛干,决定毛发的直径^[6]。因此,人真皮乳头细胞成为体外筛选脱发药物的首选细胞。考察药物对细胞生长的影响通常采用的方法有 MTT 法和 MTS 法,这 2 种方法均是采用比色法检测细胞的生长,其原理是 MTT 和 MTS 试剂被活细胞内的脱氢酶产生的 NADPH 或 NADH 还原为有色的甲臜,而死细胞不能产生脱氢酶,因此,死细胞不能产生颜色。活细胞数量越多,产生的甲臜越多,培养基的颜色越深^[7],表明细胞增殖越旺盛。相对于 MTT 法,MTS 法检测时间短,安全性高,重复性好^[8]。因此,本文采用 MTS 法研究不同用量的吐温 80 对人真皮乳头细胞生长的影响,并考察在吐温 80 安全用量范围内白蜡及白蜡高级烷醇在水中的增溶量对人真皮乳细胞的增殖作用,为白蜡及白蜡高级烷醇产品的开发和利用奠定理论基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

白蜡及白蜡高级醇由本课题组提供;人真皮乳头细胞(批号 2365)、真皮乳头细胞生长培养基(批号 184)、包被液(批号 361)、消化液(批号 322)购自美国 Cell Applications。非那雄胺(M1122A)购自大连美仑生物科技有限公司。吐温 80(分析纯)购自天津市风船化学试剂科技有限公司。DMSO(批号:302A0328)购自北京索莱宝科技有限公司。倒置显微镜,日本基恩士,型号 VHX-1000。

1.2 细胞培养

人真皮乳头细胞保存在液氮中,临用前从液氮

中取出,在 37℃ 水浴中融化后,转移到用包被液处理过的 T-75 培养瓶中,37℃,5% CO₂ 培养箱内培养过夜,第 2 天更换完全培养基,继续培养,待细胞融合度达到 90%,用消化液消化,采用台盼蓝法测定细胞的活力,备用。

1.3 测试药液的配置

1.3.1 吐温 80 水溶液 将吐温 80 配制成浓度为 5% (w/v) 的水溶液,用灭菌水稀释成浓度 250.00、125.00、62.50、31.25、15.60 μg · mL⁻¹ 水溶液。

1.3.2 白蜡水溶液 将白蜡溶解到 5% 吐温水溶液中,制备成浓度 1.00 mg · mL⁻¹ 的白蜡水溶液(制备方法已申请专利),用灭菌水稀释成浓度 3.10、6.30、12.50、25.00、50.00 μg · mL⁻¹ 的白蜡水溶液;

1.3.3 白蜡高级烷醇水溶液 将白蜡高级烷醇溶解到 1% 吐温水溶液中,制备成浓度 2.00 mg · mL⁻¹ 的白蜡高级烷醇水溶液(制备方法已申请专利),用灭菌水稀释成浓度 31.20、62.50、125.00、250.00、500.00 μg · mL⁻¹ 的白蜡高级烷醇水溶液。

非那雄胺溶解到 DMSO 中配置成浓度 0.74 μg · mL⁻¹ 的溶液。

将上述溶液与培养基按 1:9 混匀后,备用。

1.4 吐温 80、白蜡及白蜡高级烷醇液对人真皮乳头细胞生长的影响

人真皮乳头细胞(2.5 × 10³ 个 · 孔⁻¹)接种到 96 孔板中,过夜,更换含有不同浓度的吐温 80 培养基(终浓度为 25.00、12.50、6.25、3.12、1.56 μg · mL⁻¹)、白蜡培养基(终浓度为 0.31、0.63、1.25、2.50、5.00 μg · mL⁻¹)和白蜡高级烷醇培养基(终浓度为 3.12、6.25、12.50、25.00、50.00 μg · mL⁻¹),同时设阴性对照(90 μL 细胞悬液 + 10 μL 培养基)、空白对照₁(100 μL 培养基)和空白对照₂(90 μL 培养基 + 10 μL 相应浓度的吐温 80 水溶液),阳性对照(0.074 μg · mL⁻¹ 非那雄胺),每个处理 4 个平行孔,继续在 37℃,5% CO₂ 培养箱内培养 48 h 后,每孔加 20 μL MTS 试剂,继续培养 4 h,用酶标仪 490 nm 测定各孔光密度(OD),计算细胞增殖率,吐温 80 对细胞作用效果计算公式^[10]为:

$$\text{细胞增殖率} = \frac{\text{实验组 OD} - \text{空白对照组}_1 \text{OD}}{\text{阴性对照组 OD} - \text{空白对照组}_1 \text{OD}} \times 100\%$$

白蜡及白蜡高级烷醇对细胞作用效果计算公式为:

$$\text{细胞增殖率} = \frac{\text{实验组 OD} - \text{空白对照组}_2 \text{OD}}{\text{阴性对照组 OD} - \text{空白对照组}_2 \text{OD}} \times 100\%$$

同时采用倒置显微镜观察细胞生长情况。

1.5 统计分析

采用 SAS9.1 统计软件中的 ANOVA 分析不同处理组细胞的增殖率和抑制率的平均值 \pm SE, $P < 0.05$ 表明有显著性差异。

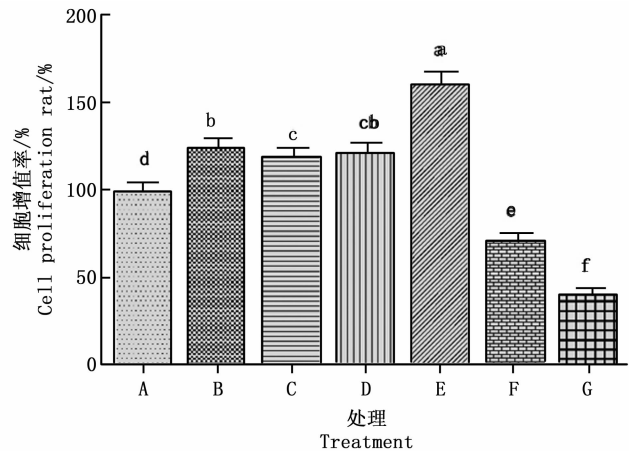
2 结果与分析

2.1 不同用量吐温 80 对人真皮乳头细胞生长的影响

吐温 80 对人真皮乳头细胞生长的影响与其剂量存在明显量效关系。吐温 80 用量 $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,人真皮乳头细胞为梭形,生长良好,其生长状态与阴性细胞差异不明显,细胞融合度达到 $70\% \sim 80\%$,细胞增值率明显高于阴性对照,并且随着吐温 80 用量的增加而增加。吐温 80 用量在 $12.50 \sim 25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,人真皮乳头细胞溶胀、变圆、破裂,有明显的细胞碎片,细胞融合度只有 $5\% \sim 20\%$,吐温 80 对细胞具有明显的抑制作用,其抑制作用随着吐温 80 用量的增加而增加(图 1)。结果表明:吐温 80 用量在 $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内人真皮乳头细胞能安全生长。

2.2 白蜡对真皮乳头细胞的增殖作用

吐温 80 安全用量分别为 $1.56, 3.12, 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,白蜡在水中相应的增溶量分别为 $0.31, 0.63, 1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,人真皮乳头细胞生长良好,细胞成梭形,生长状态与阴性细胞相似,细胞融合度达 $80\% \sim 90\%$,白蜡对人真皮乳头细胞具有明显的增殖效果,其增殖率随着剂量的增加而增加。白蜡的增溶量为 $1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对人真皮乳头细胞的增殖效果最明显,其增殖率明显高于阴性对照和阳性对照;白蜡增溶量为 $0.63 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对人真皮乳头细胞的增殖率与阳性对照(非那雄胺)差异不明显;增溶量为 $0.31 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对人真皮乳头细胞的增殖作用明显低于阳性对照,而高于阴性对照。吐温 80 用量为 $12.50 \sim 25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,相应的白蜡增溶量分别为 $2.5, 5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,人真皮乳头细胞溶胀、变圆、破裂,有明显的细胞碎片,细胞的融合度只有 $5\% \sim 20\%$,人真皮乳头细胞的增值率明显降低,且随着白蜡和吐温 80 用量的增加,细胞的增殖率降低(图 2)。这表明,在吐温 80 安全用量范围内, $0.31 \sim 1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白蜡对真皮乳头细胞有明显的增殖作用。



不同字母表示不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$, 下同), A: 阴性对照; B: 非那雄胺; C: 处理药剂中吐温 80 浓度 $1.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; D: 处理药剂中吐温 80 浓度 $3.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; E: 处理药剂中吐温 80 浓度 $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; F: 处理药剂中吐温 80 浓度 $12.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; G: 处理药剂中吐温 80 浓度 $25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

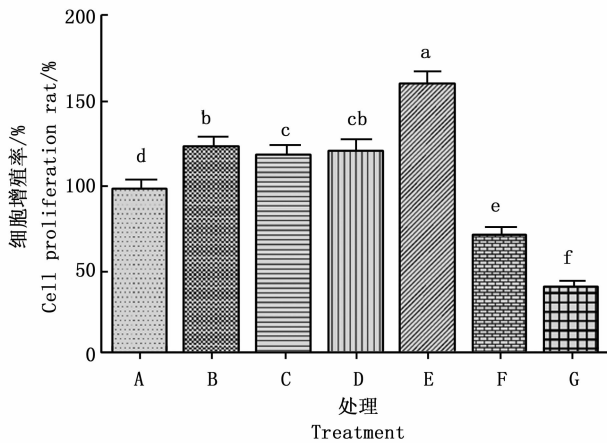
Different lowercase were significantly different according to One-way analysis of variance ($P < 0.05$, the same below). A: Negative control; B: Finasteride; C: Treatment agent including $1.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80; D: Treatment agent including $3.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80; E: Treatment agent including $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80; F: Treatment agent including $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80; G: Treatment agent including $25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80.

图 1 不同处理吐温 80 对人真皮乳头细胞增殖的影响

Fig. 1 The proliferation of human dermal papilla cells in difference tween80

2.3 白蜡高级烷醇对人真皮乳头细胞的增殖作用

吐温 80 用量为 $1.56 \sim 12.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,白蜡高级烷醇在水中相应的增溶量分别为 $3.12, 6.25, 12.50, 25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,人真皮乳头细胞成梭形,生长良好,细胞融合度达到 $90\% \sim 95\%$ 。白蜡高级烷醇对人真皮乳头细胞具有明显的增殖作用,其中,白蜡高级烷醇增溶量为 $12.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,人真皮乳头细胞的增殖率最高,其次为白蜡高级烷醇增溶量为 $25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,其对人真皮乳头细胞的增殖率明显高于阴性对照和阳性对照。吐温 80 用量为 $25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,白蜡高级烷醇的增溶量为 $50.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,人真皮乳头细胞溶胀变圆,部分细胞破碎,细胞的融合度为 50% 左右。细胞的增殖率明显降低(图 3)。这表明,吐温 80 用量为 $1.56 \sim 12.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, $3.12 \sim 25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白蜡高级烷醇对真皮乳头细胞有明显的增殖作用。

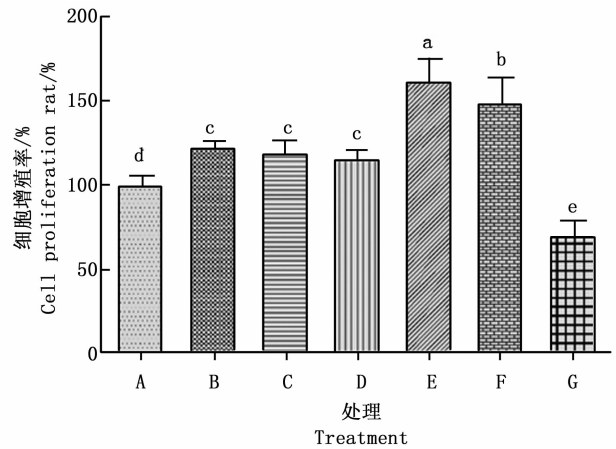


A: 阴性对照; B: 非那雄胺; C: 处理药剂中吐温 80 和白蜡的浓度分别为 $1.56, 0.31 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; D: 处理药剂中吐温 80 和白蜡的浓度分别为 $3.12, 0.63 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; E: 处理药剂中吐温 80 和白蜡的浓度分别为 $6.25, 1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; F: 处理药剂中吐温 80 和白蜡的浓度分别为 $12.5, 2.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; G: 处理药剂中吐温 80 和白蜡的浓度分别为 $25.00, 5.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

A: Negative control; B: Finasteride; C: Treatment agent including $1.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween 80 and $0.31 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax; D: Treatment agent including $3.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80 and $0.63 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax; E: Treatment agent including $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80 and $1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax; F: Treatment agent including $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80 and $2.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax; G: Treatment agent including $25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween80 and $5.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax.

图2 白蜡对人真皮乳头细胞的增殖作用

Fig. 2 The proliferation of human dermal papilla cells in difference white wax



A: 阴性对照; B: 非那雄胺; C: 处理药剂中吐温 80 和白蜡高级烷醇的浓度分别为 $1.56, 3.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; D: 处理药剂中吐温 80 和白蜡高级烷醇的浓度分别为 $3.12, 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; E: 处理药剂中吐温 80 和白蜡高级烷醇的浓度分别为 $6.25, 12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; F: 处理药剂中吐温 80 和白蜡高级烷醇的浓度分别为 $12.50, 25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; G: 处理药剂中吐温 80 和白蜡高级烷醇的浓度分别为 $25.00, 50.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

A: Negative control; B: Finasteride; C: treatment agent including $1.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween 80 and $3.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax; D: treatment agent including $3.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween 80 and $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax; E: treatment agent including $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween 80 and $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax; F: treatment agent including $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween 80 and $25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax; G: treatment agent including $25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ tween 80 and $50.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ white wax.

图3 白蜡高级烷醇对人真皮乳头细胞的增殖作用

Fig. 3 The proliferation of human dermal papilla cells in difference policosanol of white wax

3 讨论

白蜡和白蜡高级烷醇化学成分复杂,分子量较大,质轻,在水中不溶,影响了其开发利用。本研究发现,白蜡及白蜡高级烷醇能溶解在以吐温 80 作为增溶剂的水溶液中,但吐温 80 中含有的杂质或降解产物容易对细胞产生毒害作用^[9],而且不同细胞对吐温 80 的敏感程度不同,如吐温 80 用量在 $0.1\% \sim 2\%$ 时对红细胞有溶血作用^[10];用量为 1% 时对卵巢癌 SKOV3 有明显的抑制作用^[11];而吐温 80 用量为 $0.05\% \sim 0.10\%$ 时对 Caco-2 细胞没有明显的毒害^[12]。虽然吐温 80 对细胞的生长有一定的毒害作用,但某些中药以吐温 80 作为增溶剂后,其水溶液对红细胞的毒害作用小于吐温 80 本身对红细胞的作用,如含有吐温 80 的细辛脑注射液对红细胞的溶血作用小于吐温 80 本身^[13]。由此可见,针对不同的细胞类型筛选合适的吐温剂量非常必要。本研究

发现,吐温 80 用量在 $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (含量为 $0.003\% \sim 0.006\%$) 时对人真皮乳头细胞没有明显的毒害,可用于试验。在吐温 80 用量为 $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,白蜡水溶液浓度为 $0.31 \sim 1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,白蜡高级烷醇水溶液浓度为 $3.12 \sim 12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对人真皮乳头细胞的增殖率随水溶液中白蜡及白蜡高级烷醇用量的增加而增加,表明白蜡和白蜡高级烷醇可促进人真皮乳头细胞的增殖,白蜡和白蜡高级烷醇对人真皮乳头细胞的增殖效应还可能降低吐温 80 对人真皮乳头细胞的伤害。

《本草纲目》中记载白蜡能够促进毛发的生长^[14],但未见文献报道白蜡在细胞水平上对毛发生长的促进作用。高级烷醇自 1949 年被发现后,其生物活性被大量而深入的研究和开发^[15-17],而高级烷醇对毛发生长作用方面的研究鲜见报道。此外,对高级烷醇活性的研究多取材于植物,如小麦^[18]、甘

蔗^[19]的高级烷醇,而对于昆虫的高级烷醇生物活性的研究鲜有报道。本研究以人真皮乳头细胞作为模式细胞,研究白蜡及白蜡中提取的高级烷醇对毛发生长的促进作用,结果表明,在吐温 80 作为增溶剂条件下,白蜡用量为 $0.31 \sim 1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、高级烷醇用量为 $3.12 \sim 25.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时能促进体外人真皮乳头细胞的增殖。毛发的生长和脱发原因与多种因子相关,本文虽然从体外细胞水平上证明白蜡和高级烷醇能促进人毛发的生长,但对其更全面的科学评价,还需要从动物模型等研究进一步明确其作用效果及作用机理。

4 结论

(1)吐温 80 作为增溶剂,用量为 $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时人真皮乳头细胞能安全生长。

(2)吐温 80 用量为 $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,白蜡的增容量为 $0.31 \sim 1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、白蜡高级烷醇的增容量为 $3.12 \sim 12.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,白蜡及白蜡高级烷醇水溶液能明显促进人真皮乳头细胞的增殖。

参考文献:

[1] 马李一,王有琼,张重权,等. 虫白蜡还原法制备高级烷醇混合物研究[J]. 林产化学与工业, 2009,29(5): 6-10.

[2] 马李一,王有琼,张重权,等. 虫白蜡制备高级烷醇工艺研究[J]. 食品工业科技, 2008,29(2): 179-181.

[3] Menendez R, Mas R, Amor AM, *et al.* Effects of policosanol treatment on the susceptibility of low density lipoprotein (LDL) isolated from healthy volunteers to oxidative modification in vitro[J]. *British journal of clinical pharmacology*, 2000,50(3): 255-262.

[4] Borg J. The neurotrophic factor, n-hexacosanol, reduces the neuronal damage induced by the neurotoxin, kainic acid[J]. *Journal of neuroscience research*, 1991,29(1): 62-67.

[5] 张嘉,李澎,李贻奎,等. 吐温 80 诱导 RBL-2H3 细胞脱颗

粒作用研究[J]. *现代免疫学*, 2009,29(3): 240-245.

- [6] J. Lee, T. Tumbar. Hairy tale of signaling in hair follicle development and cycling[J]. *Seminars in cell & developmental biology*, 2012, 23(8): 906-916.
- [7] 刘艳秋,张可华,王运良,等. CCK-8 和 MTS 法检测人羊膜上皮细胞增殖的比较[J]. *中国康复理论与实践*, 2012(9): 827-830.
- [8] 李红艳,夏启胜,徐梅,等. MTT、MTS、WST-1 在细胞增殖检测中最佳实验条件的研究[J]. *中国康复医学杂志*, 2005(11): 824-826.
- [9] 程欧,高鹏,涂家生,等. 吐温 80 质量与致敏性关系的研究[J]. *中国药科大学学报*, 2010,41(3): 244-247.
- [10] 贺煜星,丁选胜. 吐温 80 体外溶血研究[J]. *安徽医药*, 2014, 18(3): 444-446.
- [11] 陈艳华,黎丹戎,侯华新,等. 不同溶剂和受试物颜色对 MTT 实验的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2007,24(1): 17-19.
- [12] 吴懿,朱容慧,赵军宁,等. 3 种表面活性剂对 Caco-2 细胞的细胞毒性研究[J]. *中药药理与临床*, 2010,26(5): 157-158.
- [13] 牛慧玲,李庆忠,陈志勇,等. 含吐温 80 的不同注射剂溶血试验研究[J]. *中国药品标准*, 2012,13(2): 108-111.
- [14] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:华夏出版社,2006:345.
- [15] Borg J, Kesslak P J, Cotman C W. Peripheral administration of a long-chain fatty alcohol promotes septal cholinergic neurons survival after fimbria-fornix transection[J]. *Brain research*, 1990, 518(1):295-298.
- [16] Menendez R, Amor A M, Rodeiro I, *et al.* Policosanol modulates HMG-CoA reductase activity in cultured fibroblasts[J]. *Archives of medical research*, 2001, 32(1): 8-12.
- [17] Banerjee S, Ghoshal S, Porter T D. Activation of AMP-kinase by policosanol requires peroxisomal metabolism[J]. *Lipids*, 2011, 46(4): 311-321.
- [18] 陈宏艳. 从米糠蜡提取分离高级脂肪醇的研究[D]. 杭州:浙江大学,2003:21-36.
- [19] 陈赶林,游建华,林波,等. 甘蔗天然活性高级醇的柱层析纯化制备与分析[J]. *食品工业科技*, 2010,31(10): 82-84.

(责任编辑:张玲)