

砒冰纳米乳对烧伤表皮干细胞增殖分化的影响^{*}

熊家青¹, 刘丽芳^{2△}, 范洪桥², 周 亮², 王 月², 谭慧红², 李 逵²

(1. 湖南中医药大学研究生院, 湖南 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学第一附属医院中医外科, 湖南 长沙 410007)

摘要: 目的 观察砒冰纳米乳对烧伤表皮干细胞(ESCs)增殖分化的调控作用。方法 利用酶解法分离表皮和真皮,用 IV 胶原贴壁法获得 ESCs 进行离体培养,用 MTT 法检测不同浓度(8.15mg/L、16.3mg/L、32.6mg/L)的砒冰纳米乳及湿润烧伤膏(MEBO)在不同时间点(24h、48h、72h、96h)对 ESCs 增殖的影响,免疫荧光法检测砒冰纳米乳干预前后 ESCs 角蛋白 19(CK19)及整合素 $\beta 1$ 的表达。结果 所培养的细胞免疫荧光检测整合素 $\beta 1$ 和 CK19 双重染色,80.12%细胞为双标记阳性细胞,即 ESCs。MTT 法发现砒冰纳米乳及 MEBO 均能促进 ESCs 的增殖和分化,MEBO 明显优于砒冰纳米乳各组,但与 8.15mg/L 的砒冰纳米乳比较没有统计学意义($P>0.05$),与其他各组比较有显著地统计学意义($P<0.05$),8.15mg/L 的砒冰纳米乳在 72h 的增殖率为 $(86.498\pm 0.333)\%$,调控作用最明显。免疫荧光发现 8.15mg/L 的砒冰纳米乳阳性细胞评分 4.50 ± 0.577 ,与 MEBO 比较没有统计学意义($P>0.05$),与其他各组比较有统计学意义($P>0.05$)。结论 MEBO 和砒冰纳米乳均对烧伤表皮干细胞增殖分化有调控作用,8.15mg/L 为砒冰纳米乳的最优浓度,与 MEBO 比较疗效相当,没有统计学意义。

关键词: 表皮干细胞; 砒冰纳米乳; 湿润烧伤膏; 角蛋白 19; 整合素 $\beta 1$

中图分类号: R285.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2015)04-0010-05

烧伤是物理、化学、放射等诸多因素作用于机体所造成的一种极其复杂的外伤性疾病,其治疗机制尚未明确^[1]。目前中医药在治疗烧伤方面有一定的优势,导师刘丽芳在我院院内制剂砒冰液的模型基础上,应用纳米技术,以纳米乳为载体,制成的砒冰纳米乳在临床上治疗烧伤疗效确切^[2-3]。具体作用机制尚不明确,可能与它调控烧伤表皮干细胞的增殖分化有关,本实验利用体外培养分离 ESCs,探讨砒冰纳米乳对 ESCs 增殖分化的影响。

1 材料与方法

1.1 一般资料

烧伤患者植皮术后的剩余皮片(来源于湖南中医药大学第一附属医院烧伤整形科,年龄为 10~20 岁的健康青年人)、不同浓度的砒冰纳米乳(院内制剂)、湿润烧伤膏(汕头美宝制药)、角质细胞无血清培养基 Defind K-SFM(Gibco, 10744019)、IV 型胶原(Sigma)、胰蛋白酶(Gibco)、中性蛋白酶(北京索莱

宝)、兔抗人 $\beta 1$ 整合素单克隆抗体(abcam)、鼠抗人 CK19 单克隆抗体(abcam)、山羊抗兔、鼠二抗(GeneCopoeia)

1.2 主要试剂的配制

将湿润烧伤膏 1g 加入乳化剂(吐温 80)0.5mL,搅拌均匀后,加入 1mL 的 PBS 稀释,高压蒸汽消毒灭菌,4℃保存备用。

1.3 ESCs 的分离

用含有 1%双抗(青、链霉素)的 PBS 冲洗皮片 8~10 次,无菌条件下剔除皮下组织,将皮片剪成 $1.0\text{cm}\times 0.5\text{cm}$,置 0.25g/L 中性蛋白酶中,4℃条件下消化 12~15h,吸弃上清液,分离表皮和真皮。把分离好的表皮置于培养皿中,用 PBS 冲洗 1 次,加入 0.25%胰蛋白酶在 37℃的恒温箱中消化 5~10min,并充分搅拌均匀,后加入含有 10%胎牛血清的 DMEM 终止消化,置于离心机中,1 000r/min,10min,离心后吸去上层液体,用 $70\mu\text{m}$ 的滤膜过滤

^{*} 基金项目: 湖南省中医药管理局重点项目(201401)

收稿日期: 2015-06-18

作者简介: 熊家青(1990-),女,湖南益阳人,在读研究生,主要从事中医外治法的研究。

△通信作者: 刘丽芳, E-mail: liuliff@126.com

2次, 然后加入 DefinedK-SFM 吹打成单细胞悬液。接种于预先铺有 IV 型胶原的培养瓶中, 置于 37℃、5%的CO₂ 恒温培养箱中孵育 20min 使细胞贴壁, 吸去未贴壁的角朊细胞后, 加入 DefinedK-SFM 继续培养为实验组即表皮干细胞组, 将吸出的角朊细胞加入含 10%胎牛血清的 DMEM 作为克隆形成率的对照组即角朊细胞组, 均置 37℃、5%的 CO₂ 恒温培养箱中静置培养。第 2 天换液, 后隔日换液 1 次。待长满 80%左右传代^[4-5]。

1.3.1 细胞克隆形成率测定

取第 2 代快速贴壁细胞按 200 个/孔的密度接种至 IV 型胶原包被的培养板中, 行平板克隆形成实验。培养 2 周后, 计数克隆数和克隆维持时间, 并计算克隆形成率 (克隆形成率=细胞克隆数/接种细胞数×100%)^[6]。

1.3.2 整合素 β1 和角蛋白 19 的表达

取第 2 代快速贴壁细胞爬片, 40g/L 多聚甲醛室温下固定 10min, 所有爬片均采用 Envision 两步法进行免疫组织化学染色, 以角朊细胞作为对照。滴加体积分数为 0.03 的 H₂O₂, 37℃孵育 10min, 以消除内源性过氧化物酶活性。用非免疫性动物血清封闭后滴加一抗, 角蛋白 19 单抗 (1:30), 整合素 β1 多抗 (1:60), 同时设空白对照, 以磷酸盐缓冲液代替一抗; 4℃过夜, 滴加辣根过氧化物酶标记的二抗, 37℃孵育 20min (以上各步均均以磷酸盐缓冲液充分振洗), DAB 显色, 苏木精复染, 常规脱水、透明、封固。荧光显微镜观察角蛋白 19 和整合素 β1 的表达, DAB 显色按无着色、淡黄色、棕黄色和棕褐色分别计 0~3 分; 阳性细胞百分比计分; 无阳性细胞为 0 分, 阳性细胞 <25% 为 1 分, 25%~50% 为 2 分, >50% 为 3 分。上述两者相加, 得 0~2 分为阴性表达, 3~6 分为阳性表达。β1 整合素与角蛋白 19 同时染色后呈阳性, 且具有干细胞的非成熟特征, 如慢周期性、强增殖潜能、强克隆形成力等, 故所培养细胞为 ESCs^[7]。

1.4 砒冰纳米乳干预前后表皮干细胞增殖率的测定

实验 1、2、3 组分别加入含有不同浓度 (8.15, 16.3, 32.6mg/L) 砒冰纳米乳的表皮干细胞培养基继续培养诱导 ESCs 增殖分化; 对照 A 组以湿润烧伤膏为阳性对照; 对照 B 组单纯加入 DefinedK-SFM 进行自由增殖分化, 为空白对照。将

ESCs 分别消化分散成单细胞悬液, 细胞密度为 1×10⁷ L⁻¹。接种在 96 孔细胞培养板上, 每孔 200μL (2 000 个细胞/孔)。每个药物浓度及对照都设 3 个复孔, 重复 2 次实验。在 37℃, 体积分数为 0.05 的 CO₂ 的恒温培养箱中培养, CO₂ 培养箱中分别培养 24、48、72 和 96h 后每孔分别加入 20mg/L MTT (5μg/μL) 37℃继续孵育, 4 h 后终止培养。小心吸去培养基, 加入溶解液 DMSO 100μL/孔, 37℃孵育 10min, 测定前震荡 5min, 使结晶充分溶解, 用 MTT 法在酶标仪上分别测定各孔 OD 值, 测定波长为 490nm。计算每个药物浓度及对照组对 ESCs 的增殖率。结果以 [(各浓度药物的 OD 值-空白对照的 OD 值)/空白对照的 OD 值×100%] 表示。

1.5 免疫荧光染色法检测干预后 ESCs 标志物角蛋白 19 和整合素 β1 的表达的变化

5 组细胞培养 6d 后行二步法进行免疫荧光染色。步骤: 3% H₂O₂ 室温孵育 10min; 然后分别滴加角蛋白 19 和整合素 β1 一抗, 4℃过夜; PBS 充分冲洗后, 滴加辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温放置 30min; PBS 冲洗后, DAB 染色; 苏木精复染; 荧光显微镜观察免疫荧光结果。

1.6 统计学方法

数据用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。应用 SPSS19.0 统计软件分析, 组间比较用方差分析, 两两比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 ESCs 体外培养的形态学观察及鉴定

原代分离的人 ESCs 呈贴壁生长, 呈露珠状, 孵育培养 24h 后, 贴壁细胞逐渐形成铺路石样改变。原代表皮干细胞生长周期缓慢, 在 DefinedK-SFM 培养基中需 10~14d 才能铺满 80%左右的培养瓶底。克隆形成率在整合素 β1 和 K19 免疫荧光双抗标记结果显示所培养的细胞免疫荧光双抗标记染色阳性, 如下图 1、2, 其阳性细胞数比较有统计学意义, 如表 2。表皮干细胞克隆形成率较对照组明显, 如表 1。

表 1 2 组细胞的克隆形成率 ($\bar{x} \pm s$)

组别	接种细胞数/个	克隆数/个	克隆形成率/%
表皮干细胞组	200	21.8±1.9#	11.13#
角朊细胞组	200	10.2±1.7	5.07

注: 与角朊细胞组比较, **P*<0.05

表 2 2 组细胞阳性细胞评分($\bar{x} \pm s$)

组别	整合素 $\beta 1$	角蛋白 19
表皮干细胞组	$5.0 \pm 0.577^*$	$4.5 \pm 0.577^*$
角朊细胞组	1.0 ± 0.577	1.5 ± 0.500

注:与角朊细胞组比较,* $P < 0.05$

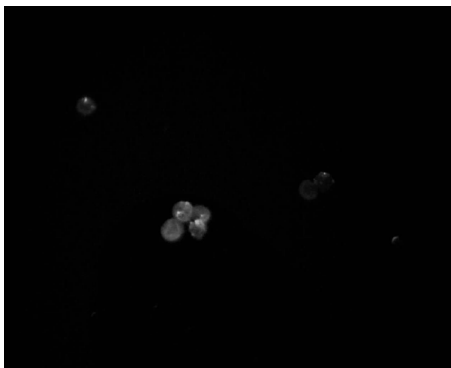
图 1 表皮干细胞组免疫荧光染色后整合素 $\beta 1$ 的表达情况

图 2 表皮干细胞组角蛋白 19 的表达情况

2.2 硃冰纳米乳干预前后各组细胞增殖率的测定

时间和分组都是影响增殖率的主要因素 ($P < 0.01$, 有显著的统计学意义)。如表 3, 对照 A 组对 ESCs 增殖率的影响优于各实验组, 但实验 1 组与对照 A 组两者比较差别没有统计学意义 ($P = 0.081 > 0.05$)。实验 1 组与实验 2 组、3 组比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。实验 2、3 组 ESCs 增殖率比较差别没有统计学意义 ($P = 0.073 > 0.05$)。实验 1 组第 72h 的 ESCs 增殖率最优为 (86.498 ± 0.333)%。

2.3 各组角蛋白 19 和整合素 $\beta 1$ 的表达的变化

角蛋白 19 和整合素 $\beta 1$ 在对照 A 组阳性表达率最高, 实验 1 组较实验 2 组、3 组及对照 B 组阳性表达高。实验 1 组和对照 A 组比较没有统计学意义 ($P > 0.05$) 实验 2 组、3 组两组之间比较没有统计学意义 ($P > 0.05$)。阳性细胞评分表如下表 4。

表 3 各组在不同时间点增殖率的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	24h	48h	72h	96h
实验组 1 组	$67.482 \pm 1.428^*$	$68.029 \pm 1.225^*$	$86.498 \pm 0.333^*$	$61.871 \pm 1.575^*$
实验组 2 组	$58.911 \pm 1.955^{**}$	$43.499 \pm 6.252^{**}$	$60.620 \pm 1.592^{**}$	$35.068 \pm 0.815^{**}$
实验组 3 组	$50.717 \pm 2.023^{**}$	$37.503 \pm 1.061^{**}$	$46.812 \pm 0.811^{**}$	$28.396 \pm 0.637^{**}$
对照 A 组	$74.014 \pm 1.729^*$	$74.195 \pm 13.038^*$	$93.399 \pm 3.878^*$	$75.803 \pm 1.789^*$

注:与对照 A 组比较,* $P < 0.05$;与实验 1 组比较,* $P < 0.05$;与实验 2 组比较,* $P < 0.05$

表 4 不同实验组阳性细胞评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	角蛋白 19	整合素 $\beta 1$
实验组 1 组	$4.50 \pm 0.577^{\# \Delta}$	$4.5 \pm 0.577^{\# \Delta}$
实验组 2 组	$3.25 \pm 0.957^{** \#}$	$3.5 \pm 0.577^{** \#}$
实验组 3 组	$3.25 \pm 0.500^{** \#}$	$3.25 \pm 0.500^{** \#}$
对照 A 组	$5.5 \pm 0.577^{\# \Delta}$	$5.5 \pm 0.577^{\# \Delta}$
对照 B 组	$1.5 \pm 0.577^{** \# \Delta}$	$1.75 \pm 0.500^{** \# \Delta}$

注:与对照 A 组比较,* $P < 0.05$;与对照 B 组比较,* $P < 0.05$;与实验 1 组比较,* $P < 0.05$;与实验 2 组比较,* $P < 0.05$

3 讨论

烧伤是物理、化学、放射等诸多因素作用于机体所造成的一种及其复杂的外伤性疾病。烧伤在中医称为水火烫伤,自古以来中医就有很多关于烧伤的记载^[8],在治疗烧伤方面积累了丰富的经验,很多方法沿用至今,且效果明显。烧伤的病因病机在中医看来是由于强热作用于人体,热毒入侵,气血瘀滞,经络阻塞,轻者皮肉腐烂,重者热毒炽盛,伤及体内阴液,或热毒内攻脏腑,以致脏腑失和,阴阳失调。因此中医辨证治疗烧伤主要是清热解毒、益气养阴。硃冰液由等量明矾和冰片溶于水制成,具有清热解毒、凉血活血、收敛止痛之效^[9]。而硃冰纳米乳是以传统中药制剂硃冰液为模型药物,以纳米乳为载体,制备的水包油型复合纳米乳,油相载冰片,水相载白矾,充分提高了冰片的溶解度和分散度,并发挥与白矾的协同作用,增加了药物的透皮吸收,提高了皮肤的贮药浓度,延长了药物作用时间,达到了提高载药量、提高疗效等目的。

表皮干细胞是皮肤的特异性干细胞,它具有自我更新、增殖分化的潜能,是皮肤再生修复、重塑的关键^[10]。整合素 β 和 K19 是常用的鉴定表皮干细胞的表面标志物^[11]。表皮干细胞约占基底细胞的 1%~10%^[12]。而表皮干细胞一般处于静止状态,只有当皮肤受到损伤比如烧伤的时候才会通过分裂形成表皮细胞,从而进入到有丝分裂的过程中^[13]。表皮细胞

的自我更新依赖于表皮干细胞的增殖和分化, 本实验发现砒冰纳米乳作用于烧伤的机制与调节表皮干细胞的增殖分化有关。但其具体通路和调节机制有待进一步的研究和探索, 可能与调控 OPN 基因有关。

目前烧伤治疗过程中的四大难题是创面疼痛、进行性坏死、感染、瘢痕愈合^[14]。砒冰纳米乳抗炎、清热解毒止痛的作用, 能够缓解早期烧伤患者的创面疼痛, 预防感染, 其能调节表皮干细胞的机制也能缓解患者预后瘢痕的形成。烧伤治疗的中心环节是创面的再生修复^[15], 徐荣祥教授曾提出了原位再生医学理论及技术。原位再生医学技术的关键是在创面上形成生理湿润环境, 通过培植原位干细胞, 修复受损组织, 促进肉芽组织的生长, 实现烧伤创面的生理性再生修复和愈合^[16]。本实验本应采用 MEBO-2 作为对照 A 组, MEBO-2 专门用于培养皮肤的一种培养基, 能够激活和诱导具有干细胞潜能的细胞增殖, 也能在一定程度上调节表皮干细胞的增殖和再生等作用, 它是一种多种成分的组合, 但是目前仍在商业秘密阶段^[17], 因此本实验只能采用湿润烧伤膏的成品油膏加上吐温 80 进行乳化, 从而得到的乳化剂产品进行实验, 虽然结果不一定能够达到最优效应, 但是采用吐温 80 乳化湿润烧伤膏在最大程度上保留了湿润烧伤膏的有效成分, 不失为进行临床实验研究的一种方法。吐温 80 是一种非离子型表面活性剂, 在药物、食品广泛应用, 含量从 1%~12% 不等^[18]。国内外对其安全性积累了很多资料^[19]。砒冰纳米乳的治疗机制与徐荣祥教授的原位再生医学理论及技术不谋而合, 本实验发现, 虽然在增殖率、相应标志物表达, 湿润烧伤膏均优于砒冰纳米乳各组, 但是湿润烧伤膏与 8.15mg/L 的砒冰纳米乳比较, 没有统计学意义, 说明两者在临床上疗效相当。现通过实验研究, 证明 8.15mg/L 的砒冰纳米乳对烧伤表皮干细胞增殖分化的调控作用最明显, 为应用中医药治疗烧伤及纳米中药的推广方面提供了更多的实验依据。

参考文献:

- [1] 赵亮, 李敏. 创面生物敷料及人工皮肤的研究进展[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2011, 27(1): 120-124.
- [2] 刘丽芳, 张琳玲, 周亮, 等. 砒冰纳米乳对大鼠烫伤模型的疗效及创面 EGF 表达的影响 [J]. 中成药, 2011, 30(4): 574-577.
- [3] 刘丽芳, 张阳德, 魏云, 等. 砒冰纳米乳对大鼠深 II 度烫伤创面治疗作用的研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(16): 2425-2429.
- [4] Li A, Simmons PJ, Kaur P. Identification and isolation of candidate human keratinocyte stem cells based on cell surface phenotype [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(7): 3902-3907.
- [5] Bickenbach JR, Chism E. Selection and extended growth of murine epidermal stem cells in culture [J]. Exp Cell Res, 1998, 244(1): 184-195.
- [6] Kaur P, Li A. Adhesive properties of human basal epidermal cells: an analysis of keratinocyte stem cells, transit amplifying cells, and postmitotic differentiating cells [J]. J Invest Dermatol, 2000, 114(3): 413-420.
- [7] 李澄, 吕红莉, 李燕, 等. 表皮干细胞 K19、Bcl-2 及 PKB 蛋白的表达[J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(13): 2019-2021.
- [8] 杨志波. 中医疮疡病学[M]. 长沙: 湖南中医学院出版社, 2002: 176-184.
- [9] 周亮, 刘丽芳. 砒冰纳米乳外用治疗带状疱疹 45 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010(8): 55.
- [10] Cotsarelis G, Kaur P, Dhouailly D, et al. Epithelial stem cell in the skin: definition, markers, localization and function[J]. Exp Dermatol, 1999, 8(1): 80-88.
- [11] Larouche D, Hayward C, Cuffley K, et al. Keratin 19 as a stem cell marker in vivo and in vitro[J]. Methods Mol Biol, 2005, 289: 103-110.
- [12] Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, et al. Involvement of follicular stem cells in informing not only the follicle but also the epidermis[J]. Cell, 2000, 102(4): 451-461.
- [13] Sherley JL. Asymmetric cell kinetics genes: the key to expansion of adult stem cells in culture [J]. Stem Cells, 2002, 20(6): 561-572.
- [14] 高步英. 烧伤治疗仍需走出困境[J]. 医学与哲学, 2000, 4(21): 5-7.
- [15] 徐荣祥. 烧伤医疗技术蓝皮书(第一卷)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000: 13-41.
- [16] 陈永翀, 肖摩, 王洪生, 等. 再生医学技术在多学科的临床应用与展望[J]. 中国烧伤疮疡杂志, 2006, 18(2): 97-111.
- [17] 徐荣祥, 许增禄. 成体干细胞原位再生修复深度烧伤创面的研究[J]. 中国烧伤疮疡杂志, 2002, 14(2): 71-77.
- [18] Daher CF, Baroody GM, Howland RJ. Effect of a surfactant, Tween 80, on the formation and secretion of chylomicrons in the rat[J]. Food Chem Toxicol, 2003, 41(4): 575-582.
- [19] 王庆利, 彭健. 吐温 80 的安全性研究进展[J]. 毒理学杂志, 2006, 20(4): 262-264.

(编辑: 杨阳)

The Effect of Alum Nanoemulsion to Burn Epidermal Stem Cell' Proliferation and Differentiation

XIONG Jiaqing¹, LIU Lifang^{2△}, FAN Hongqiao², ZHOU Liang², WANG Yue², TAN Huihong², LI Kui²

(1. Hunan University of TCM, Changsha 410007, China;

2. Brest Surgery in the First Affiliated Hospital of Hunan University of TCM, Changsha 410007, China)

ABSTRACT: Objective To observe the regulation of alum ice nanoemulsion to burn epidermal stem cells (ESCs) of proliferation and differentiation. **Methods** Using the enzymatic method to separate the material taken epidermis and dermis. using the method of type IV collagen to isolate and purified the epidermal stem cells. Observe the proliferation of epidermal stem cells using MTT assay; perform change detection corresponding markers by immunofluorescence method. **Results** The cultured cells is double marked with $\beta 1$ integrin and CK19 by immunofluorescence, the percent of double-labeled cells was 80.12%, The positive cells was ESCs. MTT assay was found Alum nanoemulsion and MEBO can promote the proliferation and differentiation of ESCs, MEBO was superior to alum ice nanoemulsion each group, but with 8.15mg/L of alum ice nanoemulsion comparison was not statistically significant ($P > 0.05$), It was significant statistical significance with the other groups ($P < 0.05$), 8.15mg/L of alum ice nanoemulsion's proliferation rate was $(86.498 \pm 0.333)\%$ after 72h. Immunofluorescence found 8.15mg / L of alum ice nanoemulsion-positive cell score 4.50 ± 0.577 , was not statistically significant comparison with MEBO ($P > 0.05$), compared with the other groups were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** MEBO and alum were nanoemulsion ice have regulatory role in burn epidermal stem cell' proliferation and differentiation, 8.15mg/L as the optimal concentration of alum ice nanoemulsion with MEBO comparison was not statistically significant.

KEY WORDS: epidermal stem cells; alum ice nanoemulsion; MEBO; keratin 19; $\beta 1$ integrin

(原文见第 6 页)

Effect of Polygonum Cuspidatum on Expression of TNF- α and IL-1 β in Acute Lung Injury Albino Rats

XU Xiaoxiao¹, YANG Junchao^{2△}, WANG Yuguan², CAO Yu²

(1. Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China;

2. The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: Objective To observe the influence of the Polygonum Cuspidatum(PC) decoction on Acute Lung Injury(ALI) of TNF- α , IL-1 beta expression in LPS induced Wistar rat, and to explore The PC decoction for the treatment of Acute Lung Injury. **Methods** 60 Wistar rats randomly divided into 6 groups, each group of 10, respectively, blank control group, model control group, hormone control, PC low, medium and high dose group. Building before 12 h and 24 h, 12 h, 24 h and after building 36 h respectively to the blank control group and model control group to 0.9% saline 8 ml/kg one time to fill the stomach; Hormone control group to prednisone 6.25 mg/kg lavage. PC low, medium and high dose group respectively for the giant knotweed decoction of 2.6 g/kg, 5.2 g/kg, 13.1 g/kg to fill the stomach by the way. Building to be put to death in the rat after 48 h, collecting samples, measured and pathological biopsy. With ELISA method to detect ALI rats bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissue of TNF- α , IL-1 β . **Results** PC low, medium and high dose group of concentration of TNF- α are (112.6 ± 3.2) pg/mL, (110.9 ± 4.0) pg/mL, (108.9 ± 3.4) pg/mL, IL-1 β concentration for (122.4 ± 3.9) pg/mL, (118.7 ± 2.8) pg/mL, (117.2 ± 2.3) pg/mL, compared with model control group, except for the PC low dose group of IL-1 β concentration has no obvious change ($P > 0.05$), the rest were significantly lower ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) in BALF; PC low, medium and high dose group of TNF- α concentration in the lung tissue (81.9 ± 3.9) pg/mL, (77.3 ± 6.4) pg/mL, (76.6 ± 2.9) pg/mL, IL-1 β concentration respectively (66.7 ± 6.1) pg/mL, (65.1 ± 1.9) pg/mL, (62.8 ± 3.8) pg/mL, compared with model control group, except for the PC low dose group of IL-1 β concentration has no obvious change ($P > 0.05$), were significantly lower ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion** The PC decoction can inhibit the production of the inflammatory cytokine TNF- α and IL-1 β , it could be a PC mechanism of decoction in treatment of acute lung injury.

KEY WORDS: PC; acute lung injury; LPS; TNF- α ; IL-1 β