

紫花牡荆素对浅Ⅱ度烧伤大鼠创面愈合的影响及机制研究^Δ

张国辉^{1,2,3*}, 张海博³, 曹东升^{1,2#}(1. 安徽医科大学第二附属医院整形与创面修复外科, 合肥 230601; 2. 安徽医科大学第二临床医学院, 合肥 230601; 3. 滨州医学院附属医院美容医学部, 山东 滨州 256603)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)21-2603-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.21.05



摘要 **目的** 基于磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路探究紫花牡荆素(CAS)促进大鼠浅Ⅱ度烧伤创面愈合的作用机制。**方法** 将大鼠随机分为对照组(生理盐水), 模型组(5%羧甲基纤维素钠空白基质), CAS低、高剂量组(15 mL浓度为30、60 mmol/L的CAS药液), CAS高剂量+LY294002组[15 mL CAS药液(60 mmol/L)和PI3K抑制剂LY294002溶液(20 μmmol/L)的混合溶液]和阳性对照组(厚涂京万红软膏0.5~1.0 cm), 每组15只。除对照组外, 其余各组均通过点燃皮肤表面混合烧伤燃料来构建浅Ⅱ度烧伤大鼠模型, 并于烧伤后2 h内涂抹给药。给药28 d后, 计算大鼠烧伤创面愈合率, 观察大鼠烧伤创面中央组织病理变化, 检测大鼠血清中肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素1β(IL-1β)、IL-6和基质金属蛋白酶2(MMP-2)、MMP-9、血管内皮生长因子(VEGF)水平, 检测大鼠烧伤组织中PI3K/AKT/mTOR信号通路相关蛋白的磷酸化水平。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠皮肤组织表皮层和真皮浅层损伤、愈合状态较差, 存在炎症细胞浸润且组织结构不完整等情况; 血清中IL-6、IL-1β、TNF-α、MMP-2、MMP-9水平均显著升高($P<0.05$), 血清中VEGF水平和烧伤创面中央组织中PI3K、AKT、mTOR蛋白的磷酸化水平均显著降低($P<0.05$); 与模型组比较, CAS低、高剂量组大鼠上述病理变化及血清和烧伤创面中央组织中上述指标水平均显著逆转($P<0.05$), 且CAS高剂量组上述指标的变化较CAS低剂量组更明显($P<0.05$); PI3K抑制剂LY294002的加入可逆转CAS对大鼠浅Ⅱ度烧伤创面愈合的促进作用($P<0.05$)。**结论** CAS可促进大鼠浅Ⅱ度烧伤创面的愈合, 其作用机制可能与激活PI3K/AKT/mTOR信号通路有关。

关键词 紫花牡荆素; 浅Ⅱ度烧伤; 创面愈合; PI3K/AKT/mTOR信号通路

Effect and mechanism of casticin on wound healing in rats with superficial second-degree burn

ZHANG Guohui^{1,2,3}, ZHANG Haibo³, CAO Dongsheng^{1,2}(1. Dept. of Plastic and Wound Repair Surgery, the Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China; 2. The Second School of Clinical Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230601, China; 3. Dept. of Cosmetic Medicine, Binzhou Medical University Hospital, Shandong Binzhou 256603, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the mechanism by which casticin (CAS) promotes wound healing in superficial second-degree burned rats through phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. **METHODS** Rats were randomly assigned to a control group (physiological saline), a model group (5% sodium carboxymethyl cellulose blank matrix), low- and high-dose CAS groups (15 mL of CAS solution at concentrations of 30 and 60 mmol/L, respectively), a high dose CAS plus LY294002 group [a mixture of 15 mL CAS solution (60 mmol/L) and PI3K inhibitor LY294002 solution (20 μmmol/L)], and a positive control group (thick application of Jingwanhong ointment 0.5-1.0 cm), with 15 rats in each group. Except for the control group, the other groups were subjected to a superficial second-degree burn rat model by igniting a mixture of burn fuel on the skin surface, and the administration was applied topically within two hours after the burn. After 28 days of administration, the wound healing rate of the burned rats was calculated, the histopathological changes in the central tissue of the rat's burned wound were observed, and the levels of tumor necrosis factor α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), IL-6, matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the serum of rat were detected. The phosphorylation levels of related proteins in the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in the burned tissue of the rats were also detected. **RESULTS** Compared with the control group, the rats in the model group showed epidermal and superficial dermal damage in skin tissue, poor healing status, inflammatory cell infiltration, and incomplete tissue structure. The levels of IL-6, IL-1β, TNF-α, MMP-2 and MMP-9 in the serum were significantly increased ($P<0.05$), and the levels of VEGF in the serum and the phosphorylation levels of PI3K, AKT, mTOR proteins in the central tissue of the

Δ 基金项目 安徽省自然科学基金面上项目(No.1808085MH282)

* 第一作者 副主任医师, 博士研究生。研究方向: 烧伤整形与医学美容。电话: 0543-3258462

通信作者 主任医师, 教授, 博士生导师。研究方向: 医学美容、创面修复、血管瘤发生发展及治疗机制。电话: 0551-63869597。
E-mail: caodongsheng@ahmu.edu.cn

burned wound were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the pathological changes and the levels of the above indicators in the serum and central tissue of the burned wound in the CAS low- and high-dose groups were significantly reversed ($P<0.05$), and the changes in the CAS high-dose group were significantly more pronounced than those in the CAS low-dose group ($P<0.05$). The addition of the PI3K inhibitor LY294002 could reverse the promoting effect of CAS on the wound healing of superficial second-degree burned rats ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** CAS can promote the healing of superficial second-degree burned wounds in rats, and its mechanism of action may be related to the activation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway.

KEYWORDS casticin; superficial second-degree burn; wound healing; PI3K/AKT/mTOR signaling pathway

烧伤是由火焰、热液等外界因素造成的外伤性损伤,浅Ⅱ度烧伤则是指烧伤程度至表皮生发层及真皮层,患者通常表现出烧伤部位皮肤红肿、表面有水疱及渗液等症状,其疼痛程度高、创面愈合缓慢且治疗周期长,会对患者的身体及心理健康造成不良影响^[1-2]。目前临床针对浅Ⅱ度烧伤患者通常给予清创以及抗感染治疗,若处理不当,极易引发感染,严重者甚至会发展至全身感染,增加多器官功能衰竭的发生风险^[3-4]。因此,寻找能够促进烧伤创面愈合的药物具有重要意义。

紫花牡荆素(casticin,CAS)是一种从蔓荆子中分离并提取出的黄酮类化合物,既往已有研究报道CAS具有抗癌、抗氧化等多种生理活性^[5-6]。此外,CAS还被证实能够抑制神经元损伤、膝骨关节炎等炎性疾病的发生及发展^[7-8]。因此笔者推测CAS可抑制烧伤创面炎症反应的发生并促进创面愈合。磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)/蛋白激酶B(protein kinases,AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)信号通路是一条经典的信号传导通路,可调控包括冠状动脉内膜增殖、关节炎等在内的炎性疾病的发生发展^[9-11],但目前尚无CAS作用于PI3K/AKT/mTOR信号通路对浅Ⅱ度烧伤创面愈合影响的相关报道。因此,本研究将基于PI3K/AKT/mTOR信号通路探究CAS对浅Ⅱ度烧伤创面愈合的促进作用及可能机制,以期CAS的进一步开发利用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

MD spectraMax Plus 384型全波长光吸收酶标仪(上海远耀生物科技有限公司);HM450型切片机(上海聚慕医疗器械有限公司);TGear HC15型高速离心机(北京天根生化科技有限公司);IV-73P1F型显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 主要药品与试剂

本研究所用的主要药品与试剂有:CAS对照品(批号220605,纯度98.2%,上海甄准生物科技有限公司);PI3K抑制剂LY294002对照品(批号210822,纯度99.8%,上海联迈生物工程有限公司);京万红软膏[批号

215094,规格30 g/支,津药达仁堂京万红(天津)药业有限公司];苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(批号231119,上海翌圣生物科技有限公司);白细胞介素6(interleukin-6,IL-6;批号230604)、IL-1 β (批号221014)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α ;批号201126)、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2,MMP-2;批号230608)、MMP-9(批号230709)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF;批号231118)酶联免疫吸附检测(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司;兔抗磷酸化PI3K(p-PI3K,批号201216)、兔抗PI3K(批号200605)、兔抗磷酸化AKT(p-AKT,批号221123)、兔抗AKT(批号221129)和兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,批号200903)一抗均购自英国Abcam公司;鼠抗磷酸化mTOR(p-mTOR,批号2000514)、鼠抗mTOR(批号220624)一抗均购自美国Cell Signaling公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(批号201129)、HRP标记的山羊抗鼠IgG二抗(批号201112)均购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级雄性SD大鼠,共90只,体重230~250 g,购自常州卡文斯实验动物有限公司,动物生产许可证号为SCXK(苏)2021-0013。所有大鼠均于通风良好、温度25℃、相对湿度50%的条件下适应性饲养1周后开展后续实验,饲养期间自由饮水和摄食。该研究经安徽医科大学实验动物伦理委员会批准(编号LLSC20221357),符合《实验动物护理和使用指南》中的相关要求。

2 方法

2.1 造模与分组

将大鼠按随机数字表法分为对照组,模型组,CAS低、高剂量组,CAS高剂量+LY294002组和阳性对照组,每组15只。除对照组外,其余各组均构建浅Ⅱ度烧伤大鼠模型,具体造模方式如下:腹腔注射戊巴比妥钠溶液(40 mg/kg)对大鼠进行麻醉,剔除其背部毛发(面积约为2 cm \times 4 cm),用自制烧伤模具(石棉网)固定烧伤区域,

并均匀涂抹约 0.5 mL 混合烧伤燃料(配方为普通汽油 25 mL、95%乙醇 60 g、松香 60 g、生胶 6 g),随后点火,燃烧 15 s 后用湿布迅速扑灭火焰。以烧伤创面皮肤发红,出现水泡及渗液为建模成功标准^[12]。

造模成功后,每组均选取 10 只大鼠进行后续实验。造模大鼠于烧伤后 2 h 内给药,其中模型组涂抹 5% 羧甲基纤维素钠空白基质,CAS 低、高剂量组分别涂抹 15 mL 浓度为 30、60 mmol/L 的 CAS 药液(以生理盐水为溶剂,根据前期实验结果并结合相关文献^[13]确定给药量),CAS 高剂量+LY294002 组涂抹 15 mL CAS 药液(浓度为 60 mmol/L)和 LY294002 溶液(以二甲基亚砜为溶剂,浓度为 20 μ mmol/L)的混合溶液^[14],阳性对照组涂抹京万红软膏(厚涂药膏 0.5~1.0 cm)。同时选取对照组大鼠 10 只,涂抹等体积生理盐水。每天涂抹给药 1 次,连续 28 d。

2.2 大鼠烧伤创面愈合率测定

测量各组大鼠药物干预前及给药 28 d 后创面面积,并计算烧伤创面愈合率。烧伤创面愈合率=(药物干预前创面面积-给药 28 d 后创面面积)/药物干预前创面面积 \times 100%。

2.3 大鼠血清中炎症因子水平测定

在首次给药后次日及末次给药后次日,于小鼠腹主动脉取血 2 mL,在 3 000 r/min 条件下离心 10 min,收集上层血清,保存至-80 $^{\circ}$ C 下,备用。采用 ELISA 法按照各检测试剂盒说明书规定步骤,测定各组大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

2.4 大鼠血清中血管生成相关因子表达水平测定

取“2.3”项下血清,常规解冻后,按照 ELISA 试剂盒说明测定大鼠血清中 MMP-2、VEGF、MMP-9 水平。

2.5 大鼠烧伤创面病理变化观察

各组随机选择 5 只大鼠,断颈处死。对照组大鼠取正常皮肤组织,其他组大鼠取烧伤创面中央组织,以 4% 多聚甲醛溶液固定,备用;另外 5 只大鼠取同样部位皮肤组织,冻存于液氮中,备用。

取上述用 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h 的对照组大鼠正常皮肤组织以及其他组大鼠烧伤创面中央组织,经脱水、石蜡包埋、切片后,进行常规 HE 染色及封片处理,随后置于显微镜下观察其组织病理学变化。

2.6 大鼠烧伤组织中 PI3K/AKT/mTOR 信号通路相关蛋白表达测定

取“2.5”项下冻存的对照组大鼠正常皮肤组织以及其他组大鼠烧伤创面中央组织,加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度,以 95 $^{\circ}$ C 煮 10 min 使蛋白变性。取变性蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后转至聚偏二氟乙烯膜上,采用 5% 脱脂

奶粉在 37 $^{\circ}$ C 条件下封闭 1 h;再于 4 $^{\circ}$ C 下与一抗 PI3K(稀释倍数为 1:1 000)、p-PI3K(稀释倍数为 1:1 000)、p-AKT(稀释倍数为 1:500)、AKT(稀释倍数为 1:1 000)、p-mTOR(稀释倍数为 1:1 000)、mTOR(稀释倍数为 1:1 000)和 GAPDH(稀释倍数为 1:2 000)孵育过夜,随后继续与 HRP 标记的山羊抗兔或抗鼠 IgG 二抗(稀释倍数均为 1:1 000)于 37 $^{\circ}$ C 条件下孵育 2 h。最后采用 ECL 试剂盒显色,通过凝胶成像系统和 Image J 软件分析蛋白条带的灰度值。以目的蛋白与内参(GAPDH)蛋白条带灰度值的比值表示目的蛋白的表达水平,以磷酸化蛋白与未磷酸化蛋白表达水平的比值表示该蛋白的磷酸化水平。

2.7 统计学方法

采用 GraphPad Prism 9.0 软件对数据进行统计分析。计量资料首先进行正态分布检验,符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Tukey's 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 大鼠烧伤创面愈合率测定结果

与模型组[烧伤创面愈合率(30.39 \pm 3.26)%]比较,CAS 低、高剂量组和阳性对照组大鼠烧伤创面愈合率[分别为(48.22 \pm 5.11)%、(65.06 \pm 6.92)%、(62.15 \pm 6.55)%]均显著升高($P<0.05$),且 CAS 高剂量组与阳性对照组大鼠烧伤创面愈合率差异无统计学意义($P>0.05$);与 CAS 高剂量组比较,CAS 高剂量+LY294002 组大鼠烧伤创面愈合率[(38.29 \pm 4.03)%]显著降低($P<0.05$)。

3.2 大鼠血清中炎症因子水平测定结果

与对照组比较,模型组大鼠首次给药后次日及末次给药后次日血清中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,CAS 低、高剂量组和阳性对照组大鼠首次给药后次日及末次给药后次日血清中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均显著降低,其中 CAS 高剂量组较 CAS 低剂量组降低更为明显($P<0.05$),且 CAS 高剂量组上述指标水平与阳性对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$);与 CAS 高剂量组比较,CAS 高剂量+LY294002 组大鼠首次给药后次日及末次给药后次日血清中上述指标水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表 1。

3.3 大鼠血清中血管生成相关因子水平测定结果

与对照组比较,模型组大鼠血清中 VEGF 水平显著降低($P<0.05$),MMP-2、MMP-9 水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,CAS 低、高剂量组和阳性对照组大鼠血清中 VEGF 水平均显著升高($P<0.05$),MMP-2、MMP-9 水平均显著降低($P<0.05$),其中 CAS 高剂量组上述指标变化较 CAS 低剂量组更明显($P<0.05$),且

表1 各组大鼠血清中炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$, pg/mL)

组别	IL-6		IL-1 β		TNF- α	
	首次给药	末次给药	首次给药	末次给药	首次给药	末次给药
	后次日	后次日	后次日	后次日	后次日	后次日
对照组	15.05 \pm 2.25	14.03 \pm 2.06	15.19 \pm 3.02	16.65 \pm 2.11	41.96 \pm 4.79	40.26 \pm 4.95
模型组	48.22 \pm 4.69 ^a	40.06 \pm 4.36 ^a	58.34 \pm 6.14 ^a	45.92 \pm 4.82 ^a	90.54 \pm 8.87 ^a	79.54 \pm 8.16 ^a
CAS低剂量组	39.14 \pm 4.03 ^b	32.15 \pm 3.51 ^b	47.64 \pm 4.87 ^b	33.36 \pm 3.66 ^b	77.49 \pm 7.64 ^b	65.81 \pm 6.87 ^b
CAS高剂量组	26.43 \pm 2.95 ^{bc}	19.85 \pm 2.06 ^{bc}	31.29 \pm 2.84 ^{bc}	20.14 \pm 2.51 ^{bc}	62.03 \pm 6.05 ^{bc}	49.03 \pm 5.03 ^{bc}
阳性对照组	25.06 \pm 2.84 ^{bc}	19.96 \pm 2.33 ^{bc}	29.06 \pm 3.01 ^{bc}	21.03 \pm 2.69 ^{bc}	60.05 \pm 5.94 ^{bc}	51.65 \pm 5.64 ^{bc}
CAS高剂量+LY294002组	46.95 \pm 4.52 ^d	38.26 \pm 4.12 ^d	51.46 \pm 5.06 ^d	39.55 \pm 4.26 ^d	82.31 \pm 8.26 ^d	66.44 \pm 6.98 ^d

a: 与对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与CAS低剂量组比较, $P < 0.05$; d: 与CAS高剂量组比较, $P < 0.05$ 。

CAS高剂量组大鼠上述指标水平与阳性对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); 与CAS高剂量组比较, CAS高剂量+LY294002组大鼠血清中上述指标变化趋势均发生逆转($P < 0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠血清中血管生成相关因子水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$, pg/mL)

组别	VEGF	MMP-2	MMP-9
对照组	47.03 \pm 5.03	12.59 \pm 1.69	10.15 \pm 1.22
模型组	21.36 \pm 2.36 ^a	35.92 \pm 3.76 ^a	36.77 \pm 3.85 ^a
CAS低剂量组	31.52 \pm 3.44 ^b	27.49 \pm 2.96 ^b	25.69 \pm 2.91 ^b
CAS高剂量组	44.16 \pm 4.62 ^{bc}	15.22 \pm 1.66 ^{bc}	13.48 \pm 1.56 ^{bc}
阳性对照组	42.69 \pm 4.41 ^{bc}	16.89 \pm 1.87 ^{bc}	14.06 \pm 1.66 ^{bc}
CAS高剂量+LY294002组	26.03 \pm 2.88 ^d	33.49 \pm 3.66 ^d	30.56 \pm 3.29 ^d

a: 与对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与CAS低剂量组比较, $P < 0.05$; d: 与CAS高剂量组比较, $P < 0.05$ 。

3.4 大鼠烧伤皮肤组织病理变化观察结果

对照组大鼠正常皮肤组织表皮层和真皮层完整, 基底层细胞排列整齐; 模型组大鼠皮肤组织表皮层和真皮浅层损伤, 愈合状态较差, 存在炎症细胞浸润, 且组织结构不完整, 上皮细胞分化、生长情况不良; 与模型组比较, CAS低、高剂量组和阳性对照组大鼠创面愈合良好, 炎症细胞浸润程度明显减轻, 且上皮细胞生长良好, 新生胶原纤维排列整齐; 与CAS高剂量组比较, CAS高剂量+LY294002组大鼠创面愈合状态不佳, 组织结构不完整, 仍有炎症细胞浸润。结果见图1。

3.5 大鼠皮肤组织中PI3K/AKT/mTOR信号通路相关蛋白表达水平测定结果

与对照组比较, 模型组大鼠皮肤组织中PI3K、AKT、mTOR蛋白的磷酸化水平均显著降低($P < 0.05$); 与模型组比较, CAS低、高剂量组和阳性对照组大鼠皮肤组织中上述蛋白的磷酸化水平均显著升高($P < 0.05$), 其中CAS高剂量组较CAS低剂量组升高更明显($P < 0.05$), 且CAS高剂量组上述蛋白的磷酸化水平与阳性对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); 与CAS高剂量组比较, CAS高剂量+LY294002组大鼠皮肤组织中上述蛋白的磷酸化水平均显著降低($P < 0.05$)。结果见图2、表3。

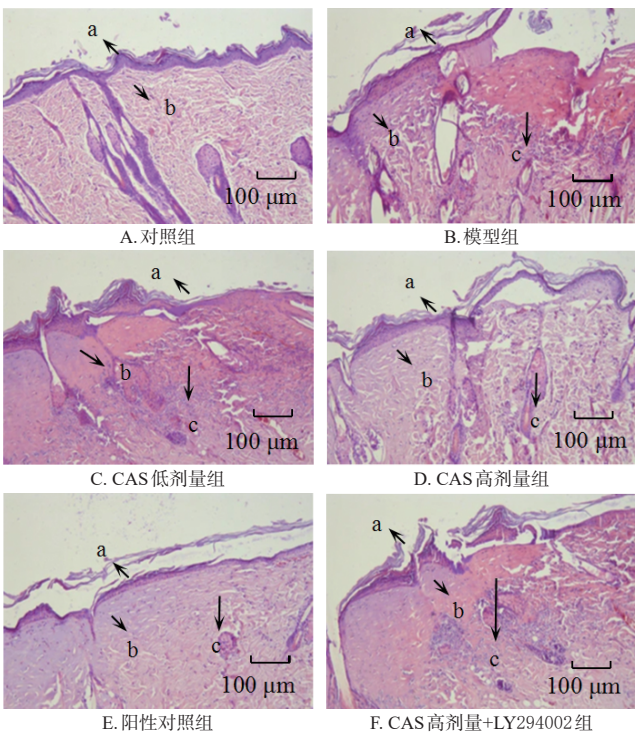
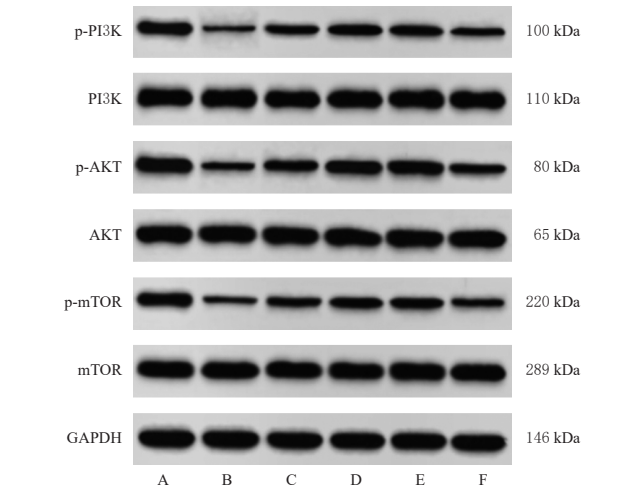


图1 各组大鼠烧伤创面皮肤观察显微图(HE染色)
a: 皮肤表皮层、真皮层; b: 基底层细胞; c: 炎症细胞浸润。



A: 对照组; B: 模型组; C: CAS低剂量组; D: CAS高剂量组; E: 阳性对照组; F: CAS高剂量+LY294002组。

图2 各组大鼠皮肤组织中PI3K/AKT/mTOR信号通路相关蛋白表达的电泳图

表3 各组大鼠皮肤组织中PI3K/AKT/mTOR信号通路相关蛋白的磷酸化水平比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT	p-mTOR/mTOR
对照组	0.62 \pm 0.05	0.83 \pm 0.07	0.75 \pm 0.06
模型组	0.20 \pm 0.01 ^a	0.34 \pm 0.02 ^a	0.26 \pm 0.01 ^a
CAS低剂量组	0.36 \pm 0.02 ^b	0.48 \pm 0.03 ^b	0.42 \pm 0.03 ^b
CAS高剂量组	0.49 \pm 0.03 ^{bc}	0.65 \pm 0.05 ^{bc}	0.58 \pm 0.03 ^{bc}
阳性对照组	0.46 \pm 0.03 ^{bc}	0.67 \pm 0.05 ^{bc}	0.55 \pm 0.04 ^{bc}
CAS高剂量+LY294002组	0.26 \pm 0.01 ^d	0.40 \pm 0.02 ^d	0.35 \pm 0.02 ^d

a: 与对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与CAS低剂量组比较, $P < 0.05$; d: 与CAS高剂量组比较, $P < 0.05$ 。

4 讨论

烧伤是急救医学中的主要疾病之一。皮肤被烧伤后,创伤部位会伴有炎症细胞浸润,促使炎症反应的发生,不利于伤口的愈合^[15-16]。本研究中构建的浅Ⅱ度烧伤大鼠皮肤组织表皮层和真皮浅层均损伤,愈合状态较差,存在炎症细胞浸润、组织结构不完整及上皮细胞分化、生长情况不良等情况。相较于对照组,模型组大鼠血清中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MMP-2、MMP-9水平均显著升高,VEGF水平降低。其中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 均为炎症因子,其水平的升高表明创面炎症反应较强,不利于伤口愈合^[17]。MMP-2、MMP-9、VEGF则是影响创面组织增生及修复的重要因子,其表达水平也与组织损伤、创面愈合密切相关^[18]。其中MMP-2、MMP-9与细胞外基质的形成有关,二者表达水平的升高会破坏基质的正常结构,加快其降解速度,进而影响创面组织血管新生^[19];VEGF则是血管形成的关键因子,其表达水平的升高能够促进血管形成及创面修复^[20]。本研究结果提示,模型组大鼠烧伤创面存在严重炎症损伤,从而导致大鼠创面愈合情况差。

京万红软膏是临床常用的用于轻度水、火烫伤,疮疡肿痛,创面溃烂的药物,因此本研究以其为阳性对照药物。本研究结果显示,相较于模型组,CAS低、高剂量组大鼠创面愈合良好,烧伤创面愈合率升高,上皮细胞生长良好,新生胶原纤维排列整齐,血清中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MMP-2、MMP-9水平降低,血清中VEGF水平升高,且CAS高剂量组大鼠各项指标与阳性对照组比较差异均无统计学意义。该结果表明,CAS可通过减轻烧伤创面炎症反应,促进伤口的愈合。

PI3K/AKT/mTOR信号通路是常见的细胞间信号传导通路,该信号通路在多种疾病的发生及恶性进展中均发挥着重要调控作用。PI3K可被生长因子受体激活,活化的PI3K可使磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸快速磷酸化,得到磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸;AKT是PI3K的下游蛋白之一,其可被磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸募集,并被3-磷酸肌醇依赖性激酶磷酸化;然后,p-AKT可以调节p-mTOR蛋白水平,促进细胞生长和增殖,有助于促进烧伤伤口的愈合^[21-22]。本研究结果显示,模型组大鼠烧伤创面中央组织中PI3K、AKT、mTOR蛋白的磷酸化水平相较于对照组大鼠正常皮肤组织显著降低;相较于模型组,CAS低、高剂量组大鼠烧伤创面中央组织中上述蛋白的磷酸化水平均显著升高,且CAS高剂量组与阳性对照组作用效果相当;而PI3K信号通路抑制剂LY294002的加入则逆转了高剂量CAS对大鼠烧伤创面愈合的促进效果。该结果提示,CAS能够通过激活PI3K/AKT/mTOR信号通路促进烧伤创面的愈合。

综上所述,CAS能够促进大鼠浅Ⅱ度烧伤创面的愈合,其作用机制可能与激活PI3K/AKT/mTOR信号通路有关。本研究也存在一定不足,如未及时拍照留存大鼠创面及愈合过程照片、烧伤创面的取样较少未进行表征胶原实验等,在后续的研究中笔者将拍照留存实验过程照片和影像用于分析创面组织病理变化,并继续探究CAS促进烧伤伤口愈合的其他作用机制。

参考文献

- [1] 李飞龙,黄赵刚,程钢,等.制痂酊对大鼠深Ⅱ度烧伤的创伤修复及作用机制[J].中国药理学通报,2021,37(8):1164-1168.
LI F L, HUANG Z G, CHENG G, et al. The protective effect of Medicoscab tincture on deep partial thickness burn rats and its mechanism[J]. Chin Pharmacol Bull, 2021, 37(8):1164-1168.
- [2] ALBAYRAK Y, TEMİZ A, ALBAYRAK A, et al. A retrospective analysis of 2 713 hospitalized burn patients in a burns center in Turkey[J]. Turk J Trauma Emerg Surg, 2018, 24(1):25-30.
- [3] 林喜凤,戴心怡,董肇杨.Ⅱ度烧伤患者血清促红细胞生成素、细胞间黏附分子-1水平变化及与创面愈合程度的相关性分析[J].中国现代医学杂志,2022,32(20):78-82.
LIN X F, DAI X Y, DONG Z Y. Serum levels of erythropoietin and intercellular adhesion molecule-1 in patients with second-degree burns and their relationship with the degree of wound healing[J]. China J Mod Med, 2022, 32(20):78-82.
- [4] OUYANG W J, WANG M, JIN L L. The effect of vacuum sealing drainage after early wound abrasion on wound healing in diabetic patients with deep second degree burn and its influence on the inflammatory response[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(8):9814-9819.
- [5] LANG S J, SCHMIECH M, HAFNER S, et al. Chryso-splenol d, a flavonol from *Artemisia annua*, induces ERK1/2-mediated apoptosis in triple negative human breast cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11):4090.
- [6] 卢丽君,田辉,郑洋,等.紫花牡荆素对BEAS-2B细胞氧化应激损伤的作用研究[J].中国临床药理学杂志,2023,39(1):42-46.
LU L J, TIAN H, ZHENG Y, et al. Study on the effect of casticin on oxidative stress injury in BEAS-2B cells[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2023, 39(1):42-46.
- [7] 宋海龙,徐东为,余秋男,等.紫花牡荆素调节cAMP/PKA信号通路对OGD/R诱导的神经元损伤的影响[J].卒中与神经疾病,2023,30(6):557-562,576.
SONG H L, XU D W, YU Q N, et al. Impact of casticin on OGD/R-induced neuronal damage by regulating the cAMP/PKA signaling pathway[J]. Stroke Nerv Dis, 2023,

30(6):557-562,576.

- [8] LI X C, MEI W, HUANG Z Q, et al. Casticin suppresses monoiodoacetic acid-induced knee osteoarthritis through inhibiting HIF-1 α /NLRP3 inflammasome signaling[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 86:106745.
- [9] 徐聪聪, 陈浩. PI3K/Akt/mTOR 信号通路在皮肤鳞状细胞癌中的研究进展[J]. *中华皮肤科杂志*, 2022, 55(3): 264-267.
- XU C C, CHEN H. Research progress of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cutaneous squamous cell carcinoma[J]. *Chin J Dermatol*, 2022, 55(3):264-267.
- [10] 李友乾, 尉希清, 宋秉春, 等. 黄芪甲苷对大鼠颈总动脉内膜增殖、炎症反应及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(4):677-683.
- LI Y Q, WEI X Q, SONG B C, et al. Effect of astragaloside IV on neointimal hyperplasia, inflammatory response and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in carotid arteries of rats[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2023, 39(4):677-683.
- [11] 孙广瀚, 朱俊, 许霞, 等. 程氏蠲痹汤通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路激活减轻胶原蛋白诱导关节炎(CIA)大鼠炎症[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2023, 39(11): 961-966.
- SUN G H, ZHU J, XU X, et al. Cheng's Juanbi decoction alleviates the inflammation in collagen-induced arthritis (CIA) rats via inhibiting activation of PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Chin J Cell Mol Immunol*, 2023, 39(11): 961-966.
- [12] 张莉, 杨建宇, 杨艳, 等. 三七总皂苷调节 PDGF-BB/PDGFR- β 的表达促进大鼠浅表 II $^{\circ}$ 烧伤创面愈合[J]. *昆明医科大学学报*, 2021, 42(6):7-15.
- ZHANG L, YANG J Y, YANG Y, et al. PNS promotes the wound-healing of superficial second-degree burn rats by regulating PDGF-BB/PDGFR- β expression[J]. *J Kunming Med Univ*, 2021, 42(6):7-15.
- [13] SUN C, YAN H M, JIANG K J, et al. Protective effect of casticin on experimental skin wound healing of rats[J]. *J Surg Res*, 2022, 274:145-152.
- [14] ZHANG H Y, CHEN S Y, YAN X R, et al. Egg white-derived peptide KPHAEVVLR promotes wound healing in rat palatal mucosa via PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Peptides*, 2023, 168:171074.
- [15] 尚念胜, 崔炳环, 王成, 等. 水凝胶敷料在深 II 度烧伤创面磨削痂术后应用效果的前瞻性随机对照研究[J]. *中华烧伤杂志*, 2021, 37(11):1085-1089.
- SHANG N S, CUI B H, WANG C, et al. A prospective randomized controlled study of the application effect of hydrogel dressings on deep partial-thickness burn wounds after dermabrasion and tangential excision[J]. *Chin J Burns*, 2021, 37(11):1085-1089.
- [16] LADHANI H A, YOWLER C J, CLARIDGE J A. Burn wound colonization, infection, and sepsis[J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2021, 22(1):44-48.
- [17] 潘翔, 韩思婕, 陈可琢, 等. 复方鳄鱼油烧伤膏对浅 II 度烧伤皮肤的修复及抗炎镇痛作用[J]. *中国药房*, 2021, 32(20):2467-2472.
- PAN X, HAN S J, CHEN K Z, et al. Study on repair, anti-inflammation and analgesia effects of compound crocodile oil burn ointment on superficial second-degree burned skin [J]. *China Pharm*, 2021, 32(20):2467-2472.
- [18] NASCIMENTO G C, DE PAULA B B, GERLACH R F, et al. Temporomandibular inflammation regulates the matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in limbic structures[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(9):6571-6580.
- [19] 李月姍, 孙永, 王华. 糖尿病足溃疡创面感染患者 MMP-2, TIMP-2, Smad3 蛋白表达状况及其诊断价值分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(3):289-292.
- LI Y S, SUN Y, WANG H. The expression of MMP-2, TIMP2 and Smad3 in diabetic foot ulcer patients with wound infection and its diagnostic value[J]. *J Clin Exp Med*, 2020, 19(3):289-292.
- [20] 牛晓暉, 李建友, 李田田, 等. AgNP 敷料促进深度烧伤致慢性难愈性创面修复的效果及 VEGF/MMP-9 信号通路机制研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2022, 21(11): 1208-1211.
- NIU X W, LI J Y, LI T T, et al. Effect of AgNP dressing on the healing of chronic refractory wounds caused by deep burn and the mechanism of VEGF/MMP-9 signaling pathway[J]. *J Clin Exp Med*, 2022, 21(11):1208-1211.
- [21] GAN D L, SU Q Y, SU H W, et al. Burn ointment promotes cutaneous wound healing by modulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:631102.
- [22] 陈琳珊, 冯甜, 陆震丰, 等. 白藜芦醇调节 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对急性牙髓炎大鼠炎症反应的影响[J]. *中国中医急症*, 2023, 32(7):1150-1153, 1158.
- CHEN L S, FENG T, LU Z F, et al. Influence of resveratrol on inflammatory response in rats with acute pulpitis by regulating PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2023, 32(7):1150-1153, 1158.

(收稿日期:2024-06-26 修回日期:2024-10-02)

(编辑:林 静)