

基于Wnt/ β -catenin信号通路的三七/白及胶海绵促进糖尿病足溃疡模型大鼠创面愈合的作用机制研究[△]

雷 霆*, 孙东旭, 周 军#, 魏海梁, 张习禄, 陈志国(陕西中医药大学附属医院普通外科, 陕西 咸阳 712000)

中图分类号 R269;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)04-0483-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.04.11

摘要 目的:研究三七/白及胶海绵促进糖尿病足溃疡(DFU)模型大鼠创面愈合的作用机制。方法:取健康SD大鼠,采用高脂高糖饲料喂养、一次性腹腔注射链脲佐菌素建立糖尿病模型,再以钕铁硼磁铁压轧大鼠背部制作溃疡创面造成DFU模型。将60只DFU模型大鼠随机分为A组(空白组,即生理盐水纱布组)、B组(凡士林纱布组)、C组(明胶海绵组)、D组(三七/白及胶海绵组),每组15只。各组大鼠分别给予相应纱布/敷料覆盖创面进行干预治疗,每1~2天换药1次。干预治疗后第3、7天时,分别肉眼观察各组大鼠创面愈合情况并计算创面愈合率;采集创缘组织制作苏木精-伊红(HE)染色切片,在显微镜下进行组织病理学观察;采用实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-PCR)法测定创面组织中 β -连环素(β -catenin)、糖原合成激酶-3 β (GSK-3 β)、R-脊蛋白3(Rspo3)的mRNA表达水平。结果:干预治疗后第3、7天时,与A、B、C组分别比较,D组大鼠创面愈合率显著升高($P < 0.05$);创面组织的炎细胞浸润、胶原纤维沉积、毛细血管和肉芽组织生长均明显增加; β -catenin、Rspo3的mRNA表达水平均有升高,GSK-3 β 的mRNA表达水平均有降低,且除了干预治疗后第3天时的 β -catenin和第7天时的GSK-3 β 与C组比较差异不显著外,其余指标差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:三七/白及胶海绵可有效促进DFU模型大鼠溃疡创面愈合;其作用机制可能与Wnt/ β -catenin通路中 β -catenin、Rspo3的mRNA表达的上调和GSK-3 β 的mRNA表达的下调相关。

关键词 三七/白及胶海绵;糖尿病足溃疡;创面;促愈合;Wnt/ β -catenin通路;机制;大鼠

Study on the Mechanism of Wound Healing Promotion of *Panax notoginseng*-*Bletilla striata* Gum Sponge on Diabetic Foot Ulcer Model Rats Based on Wnt/ β -catenin Signal Pathway

LEI Ting, SUN Dongxu, ZHOU Jun, WEI Hailiang, ZHANG Xilu, CHEN Zhiguo (Dept. of General Surgery, the Affiliated Hospital of Shaanxi University of TCM, Shaanxi Xianyang 712000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the mechanism of wound healing promotion of *Panax notoginseng*-*Bletilla striata* gum sponge on diabetic foot ulcer (DFU) model rats. METHODS: Healthy SD rats were selected and given high-lipid and high-glucose diet, intraperitoneal injection of streptozotocin once to establish diabetes model. Neodymium-iron-boron magnet was used to press the back of rats to make ulcer wound then established DFU model. Totally 60 DFU model rats were randomly divided into group A (blank group, i.e. normal saline gauze group), group B (vaseline gauze group), group C (gelatin sponge group) and group D (*P. notoginseng*-*B. striata* gum sponge group), with 15 rats in each group. The rats were given corresponding gauze/sponge to cover

- [7] 姜溪,陈芙蓉,任雷鸣,等.注射用复方骨肽的药效学及其作用机制研究[J].现代药物与临床,2017,32(6):961-966.
- [8] 徐杰,姜文月,王美慧,等.颈腰康胶囊镇痛药效物质基础研究[J].中药药理与临床,2018,34(5):112-115.
- [9] 沈舒,王琼,李友宾.牛膝的化学成分和药理作用研究进展[J].海峡药学,2011,23(11):1-6.
- [10] 常允平,韩英梅,张俊艳.乳香的化学成分和药理活性研究进展[J].现代药物与临床,2012,27(1):52-59.
- [11] 沈涛,娄红祥.没药的化学成分及其生物活性[J].天然产物研究与开发,2008,20(2):360-366.
- [12] 唐敏,伍冠一,朱婵,等.马钱子碱镇痛研究进展[J].中草

- 药,2014,45(12):1791-1795.
- [13] 祁艳,陈军,蔡宝昌,等.马钱子总生物碱提取纯化工艺及抗肿瘤研究[J].中成药,2010,32(3):405-408.
- [14] 蔡卓亚,周自桂,李萍,等.伸筋草化学成分及药理作用研究进展[J].中草药,2015,46(2):297-304.
- [15] 杨欣欣,包永睿,王帅,等.防己生物碱类成分提取纯化工艺研究[J].中成药,2014,36(6):1306-1309.
- [16] 扈晓佳,殷莎,袁婷婷,等.红花的化学成分及其药理活性研究进展[J].药学实践杂志,2013,31(3):161-168,197.
- [17] 彭双,韩立峰,王涛,等.骨碎补中的化学成分及药理作用研究进展[J].天津中医药大学学报,2012,31(2):122-125.
- [18] 王利萍,刘建利.香加皮的化学成分和药理作用研究进展[J].中草药,2009,40(3):493-496.

(收稿日期:2018-05-29 修回日期:2018-12-24)

(编辑:段思怡)

△ 基金项目:陕西省重点研发计划项目(No.2017SF-320)

* 副主任医师,硕士。研究方向:周围血管病。电话:029-33321623。E-mail:554631847@qq.com

通信作者:主任医师。研究方向:中西医结合诊疗外科疾病。电话:029-33321832。E-mail:13629106789@163.com

the wound for intervention treatment, changing dressing once every 1-2 days. On the 3rd and 7th day after intervention, the wound healing of rats in each group was observed with naked eyes, and the wound healing rate was calculated. The wound margin tissue was collected to obtain HE staining section, and histopathological observation was conducted under microscope. mRNA expression of β -catenin, GSK-3 β and Rspo3 in wound tissue were determined by RT-PCR. RESULTS: On the 3rd and 7th day after intervention, compared with group A, B, C, healing rate of group D was increased significantly ($P < 0.05$); inflammatory cell infiltration, collagen deposition, capillary and granulation tissue growth in wound tissue increased significantly. The mRNA expression levels of β -catenin and Rspo3 all increased, and those of GSK-3 β all decreased; except for the difference of β -catenin at the 3rd day and GSK-3 β at the 7th day after intervention between group D and group C were not significant, the difference of other indicators was statistically significant ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: *P. notoginseng-B. striata* gum sponge can effectively promote the wound healing in DFU model rats, the mechanism of which may be associated with up-regulating the expression of β -catenin and Rspo3 mRNA and down-regulating the expression of GSK-3 β mRNA.

KEYWORDS *Panax notoginseng-Bletilla striata* gum sponge; Diabetic foot ulcer; Wound; Healing promotion; Wnt/ β -catenin pathway; Mechanism; Rat

糖尿病足溃疡(Diabetic foot ulcer, DFU)是糖尿病的严重并发症之一。据统计,约有12%~25%的糖尿病患者可能在病程中出现足部溃疡,而因DFU导致的截肢率约比普通患者高出14倍,严重时可能引发脓毒症导致患者死亡^[1]。DFU诊疗的关键在于及早给予干预治疗、避免病情恶化,而在糖尿病早期促进DFU创面修复是目前临床上亟待解决的难题。

祖国医学采用生肌止血类药物治创面愈合性疾病的历史久远、疗效独特。《疮疡科纲要》中指出:“疮疡为病,发见于外,外治药尤为重要”^[2]。临病辨证运用中药外敷于DFU,可使药物直接作用于创面,在其周围形成平衡湿润的环境,可改善溃疡局部的血液循环,增加局部血供,加快机体代谢,促进肉芽组织生长和肌纤维组织增生,从而促进创面愈合。我院自制制剂三七/白及胶海绵是一种新型的创面敷料,在前期临床实践中发现,该敷料能够促进早期DFU创面血管增生、使局部组织血管内皮生长因子(VEGF)表达水平升高^[3],但其具体作用机制和治疗靶点尚不明确。已有研究证实,Wnt/ β -连环素(β -catenin)信号通路在DFU的肉芽组织增生阶段起关键作用^[4]。因此,本课题组通过观察Wnt信号通路中 β -catenin、糖原合成激酶3 β (GSK-3 β)、R-脊椎蛋白3(Rspo3)调控基因的表达来探讨三七/白及胶海绵治疗DFU的作用机制,为该敷料用于临床提供更可靠的理论依据。

1 材料

1.1 仪器

BSA822型电子天平[赛多利斯(中国)有限公司];DF-101型实验室恒温磁力加热搅拌器(巩义市科瑞仪器有限公司);稳豪型血糖测试仪(强生中国医疗器械有限公司);CM1950型冷冻切片机(德国LEICA公司);R104型快速匀浆器(德国IKA公司);QQMK-10型干式恒温器(上海启前电子科技有限公司);qTOWER 2.2型实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-PCR)仪(德国JENA公司);-80℃低温冰箱(美国Thermo Fisher Scientific公司);钕铁硼磁铁(上海健茨商贸有限公司)。

1.2 药品与试剂

明胶、白及胶、三七粉、甘油、戊二醇、25%戊二醇溶液(本院药剂科提供);明胶海绵、凡士林纱布、生理盐水纱布(本院设备科提供);链脲佐菌素(STZ,美国Sigma公司);TRNzol总RNA提取试剂、FastKing cDNA第一链合成试剂盒、SuperReal荧光定量预混试剂[天根生化科技(北京)有限公司];0.1 mol/L柠檬酸钠缓冲液(西安市索欧实验器材销售公司);本实验用水符合三级水标准。

1.3 动物

健康SD大鼠80只,雌雄各半,体质量(200±20)g,购于西安交通大学实验动物中心,动物生产许可证号:SCXK(陕)2012-002。动物在陕西中医药大学基础医学院动物中心清洁级动物房进行饲养;标准饲料由河南天驰实验动物饲料有限公司提供,高糖高脂饲料由西安灏洋生物技术有限公司提供。

2 方法

2.1 三七/白及胶海绵的制备

取明胶3 g溶于装有100 mL纯水的烧杯中,在50℃水浴条件下使其充分溶解;加入白及胶1 g,置于磁力搅拌器上进行搅拌,使白及胶在明胶溶液中溶解混匀;再依次加入三七粉1 g、甘油(保湿剂)3 mL、25%戊二醛溶液(交联剂)4 mL,继续搅拌混匀。将溶液倒入金属冻干圆盘(直径20 cm,高4 cm),放置待冷却,以保鲜膜覆盖,置于-20℃冰箱中预冻24~36 h后放入真空冷冻干燥机中冷冻(≥48 h)。冷冻完毕后取出,裁剪成1.0 cm×1.0 cm大小,密封包装,以钴60射线辐照灭菌消毒即得。

2.2 分组、造模和干预治疗

2.2.1 大鼠DFU模型建立 大鼠适应性喂养1周后,自第2周开始实验。随机选取10只大鼠作为空白组;其余70只大鼠作为模型组,建立DFU模型。空白组大鼠给予普通饲料喂养,模型组大鼠给予高糖高脂饲料喂养。每周称量各组大鼠体质量,并于大鼠尾静脉采血检测大鼠随机血糖。第5周起,除空白组大鼠一次性腹腔注射等体积0.1 mol/L柠檬酸钠缓冲液外,其余组大鼠一次性

腹腔注射1%STZ溶液(30 mg/kg,以0.1 mol/L柠檬酸缓冲液配制)以建立糖尿病模型。注射STZ溶液后第3、7、14、21天时,称量大鼠体重并检测随机血糖。当随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L则认为糖尿病模型建立成功^[5](自他开始,模型组大鼠换用普通饲料进行喂养;同时为防止大鼠死亡,当血糖 ≥ 25 mmol/L时给予适量胰岛素控制血糖)。取成功建立糖尿病模型的大鼠以10%水合氯醛溶液腹腔注射麻醉后,制作溃疡创面:采用钕铁硼磁铁在大鼠背部左右两侧压出直径为1 cm的圆形全层皮肤组织缺失,可深至筋膜层,达到实验动物创面溃疡的慢性损伤程度^[5]即为DFU模型成功建立。

2.2.2 DFU模型大鼠的创面干预治疗 取DFU模型大鼠60只,随机分为A组(空白组,即生理盐水纱布组)、B组(凡士林纱布组)、C组(明胶海绵组)、D组(三七/白及胶海绵组),每组15只。各组大鼠先分别以相应纱布/敷料覆盖创面后,再在上面覆盖无菌纱布,然后最外层以绷带包扎,每1~2天换药一次。干预治疗后,大鼠单笼饲养,保持饲养环境通风良好、环境温度和湿度适宜,每日明暗交替各12 h;给予纯净水、普通饲料喂养。密切观察大鼠有无撕咬纱布/敷料等情况,并及时处理。

2.3 大鼠创面愈合情况及组织病理学观察

干预治疗后第3、7天时,肉眼观察各组大鼠的创面愈合情况,包括创面色泽、渗出、组织水肿程度等情况。然后将带有网格的透明膜贴在大鼠创面处,采用扫描仪扫描并以Adobe Photoshop CS6软件测算创面面积,计算创面愈合率[愈合率=(DFU造模时创面面积-干预治疗后第n天创面面积)/DFU造模时创面面积 $\times 100\%$]。同时,每组取5只大鼠,采集创缘组织,在4%多聚甲醛溶液中固定后,制作苏木精-伊红(HE)染色切片,然后在显微镜下观察创面组织中炎细胞、毛细血管和肉芽组织等情况。

2.4 大鼠创面组织中 β -catenin、GSK-3 β 、Rspo3的mRNA表达水平检测

干预治疗后第3、7天时,每组取5只大鼠,采集创面边缘组织,迅速用生理盐水冲洗干净,滤纸吸干水分,放入无菌无酶的EP管中,置入冰盒并于-80℃条件下保存待测。采用RT-PCR法检测。首先按照试剂(盒)说明书步骤提取组织总RNA并反转录成cDNA,再以cDNA为模板进行PCR扩增(引物序列列表1)。扩增条件(反应体系为25 μ L):95℃预变性15 min;95℃变性10 s,55℃退火30 s,72℃延伸32 s,40个循环。PCR产物用1.0%琼脂糖凝胶进行电泳、染色、成像。

2.5 统计学方法

采用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 造模过程中大鼠体质量和血糖水平变化

注射STZ前,与空白组比较,模型组大鼠体质量增

表1 引物序列

Tab 1 Primer sequence

基因	序列
β -catenin	正向5'-CTGACCAAAGTCTAAATGACG-3'
	反向5'-GTGGTGATGGCGTAGAACAGTA-3'
GSK-3 β	正向5'-CACCAACAAGGGAGCAA-3'
	反向5'-GCCTGAGGAGGATAAGG-3'
Rspo3	正向5'-CTCCAAACCTTTGCTGTCTAGA-3'
	反向5'-CAGCGAGACAAGAACGTGTA-3'
β -actin	正向5'-TCTGAACCCTAAGGCCAACCC-3'
	反向5'-CAGAGGCATACAGGGACAACA-3'

长速度略快;注射STZ后,空白组大鼠体质量仍稳步增长,而模型组大鼠体质量未见明显增长甚至有所下降。注射STZ前,与空白组比较,模型组大鼠的随机血糖水平差异无统计学意义($P > 0.05$);注射STZ后,与空白组比较,模型组大鼠随机血糖水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。造模过程中大鼠体质量变化见表2,血糖水平变化见表3(注:由于模型组大鼠在造模过程中时有死亡,因此数量有不同程度的减少)。

表2 造模过程中大鼠体质量变化($\bar{x} \pm s, g$)

Tab 2 Changes of body weight of rats during modeling($\bar{x} \pm s, g$)

时期	空白组(n=10)	模型组(n=62~70)
第1周	190.4 \pm 9.2	193.0 \pm 8.8
第2周	200.6 \pm 5.2	210.0 \pm 2.9
第3周	214.8 \pm 2.8	227.6 \pm 2.1
第4周	227.2 \pm 8.9	241.2 \pm 7.4
第5周	240.0 \pm 9.5	263.8 \pm 6.1
第6周	255.0 \pm 10.2	278.2 \pm 10.3
第7周	270.6 \pm 9.4	253.0 \pm 10.7*
第8周	280.0 \pm 11.1	251.4 \pm 9.3*

注:第1周为适应性饲养,第2~5周为模型组高糖高脂饲养,第6~8周为注射STZ至干预治疗前;与空白组比较,* $P < 0.05$

Note: adaptive feeding in the first week, high-glucose and high-lipid diet for model group during the 2nd to 5th week, STZ injection during the 6th to 8th week until intervention treatment; vs. blank group, * $P < 0.05$

表3 造模过程中大鼠血糖水平变化($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

Tab 3 Changes of glucose blood levels in rats during modeling($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

时期	空白组(n=10)	模型组(n=62~70)
STZ注射前	5.88 \pm 0.33	6.08 \pm 0.15
注射STZ后第3天	6.10 \pm 0.43	28.20 \pm 2.56*
注射STZ后第7天	6.39 \pm 0.29	26.56 \pm 2.71*
注射STZ后第14天	6.25 \pm 0.28	27.88 \pm 2.01*

注:与空白组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. blank group, * $P < 0.05$

3.2 各组DFU模型大鼠的创面愈合率

干预治疗后第3、7天时,与A组(空白组)比较,其余各组大鼠创面愈合率均显著升高;与B组比较,C组和D组大鼠的创面愈合率均显著升高;与C组比较,D组大鼠的创面愈合率显著升高,以上差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组DFU模型大鼠的创面愈合率见表4。

表4 各组DFU模型大鼠的创面愈合率($\bar{x} \pm s, n=15, \%$)

Tab 4 Wound healing rate of DFU model rats in each group($\bar{x} \pm s, n=15, \%$)

组别	干预治疗后第3天	干预治疗后第7天
A组(空白组)	4.78 ± 0.44	31.98 ± 1.12
B组	5.68 ± 0.93 [▲]	35.90 ± 1.41 [▲]
C组	10.72 ± 1.11 ^{▲#}	40.38 ± 1.44 ^{▲#}
D组	14.04 ± 0.92 ^{▲##}	46.02 ± 1.90 ^{▲##}

注:与A组比较,▲ $P < 0.05$;与B组比较,# $P < 0.05$;与C组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. group A, ▲ $P < 0.05$; vs. group B, # $P < 0.05$; vs. group C, * $P < 0.05$

3.3 各组DFU模型大鼠创面组织病理学变化

干预治疗后第3天,A组(空白组)大鼠创面组织有少量炎细胞,新生毛细血管最少;B组大鼠创面组织有少量炎细胞浸润,新生毛细血管很少;C组大鼠创面组织炎细胞浸润较多,有较少量新生毛细血管;D组大鼠创面组织炎细胞浸润较多,有少量新生毛细血管及肉芽组织生长。干预治疗后第7天,A组(空白组)大鼠创面组织可见炎细胞浸润,有少量新生毛细血管和少量胶原纤维;B组大鼠创面组织新生毛细血管数量稍显增加,可见炎细胞浸润及少量胶原纤维;C组大鼠创面组织可见少量炎细胞浸润,毛细血管数量增加,有较多胶原纤维沉积;D组大鼠创面组织的炎细胞较少,有大量胶原纤维沉积,肉芽组织增多,新生毛细血管数量明显增加。各组DFU模型大鼠组织病理学显微图见图1。

3.4 各组DFU模型大鼠创面组织中 β -catenin、GSK-3 β 、Rspo3的mRNA表达水平

干预治疗后第3、7天时,与A组(空白组)比较,其余各组大鼠创面组织中 β -catenin、Rspo3的mRNA表达水平均有升高,GSK-3 β 的mRNA表达水平均有降低,除干预治疗后第3天时B组的GSK-3 β 外,其余指标差异均有统计学意义($P < 0.05$);与B组比较,C组和D组大鼠创面组织中 β -catenin、Rspo3的mRNA表达水平均有升高,GSK-3 β 的mRNA表达水平均有降低,除干预治疗后第3天时C组的GSK-3 β 外,其余指标差异均有统计学意义($P < 0.05$);与C组比较,D组大鼠创面组织中 β -catenin、Rspo3的mRNA表达水平均有升高,GSK-3 β 的mRNA表达水平均有降低,除干预治疗后第3天时的 β -catenin和第7天时的GSK-3 β 外,其余指标差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组DFU模型大鼠创面组织中 β -catenin、Rspo3、GSK-3 β 的mRNA表达水平见图2~图4。

4 讨论

慢性溃疡创面愈合是多因素共同作用的结果,新生血管作为肉芽组织重要的组成部分,为创面的愈合提供血氧供应,因此血管生成的多少及快慢能影响DFU创面愈合^[6]。传统中医同样也认为“创面难愈”关键在于肉芽生长期的气虚血瘀。只有气血足、局部瘀滞祛除,才能断生腐之源、生长皮,故临床治疗常以“祛瘀生新”为治

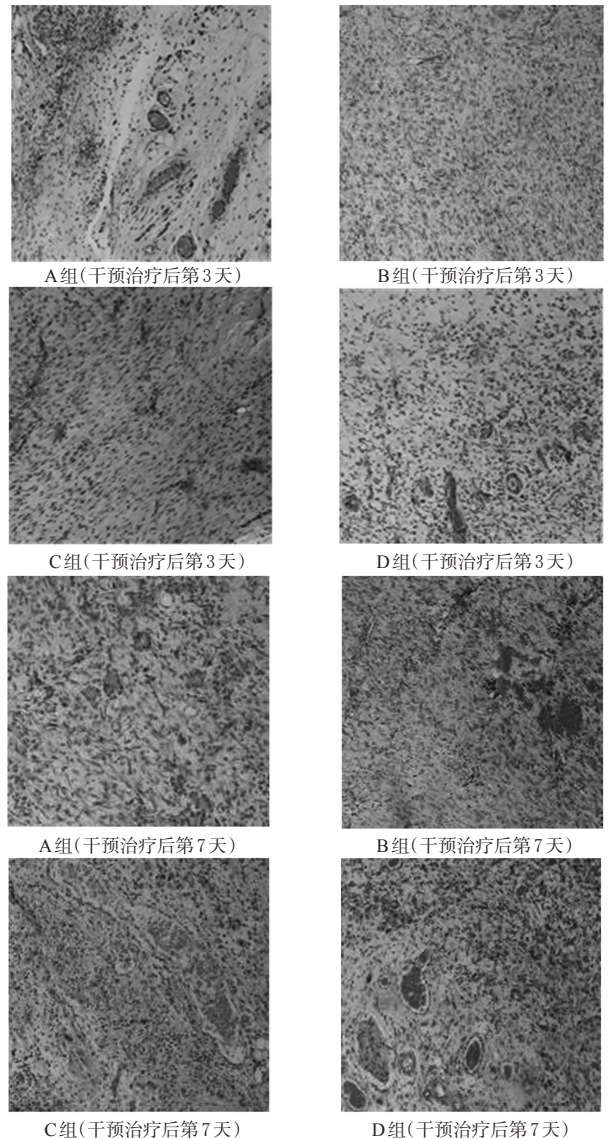
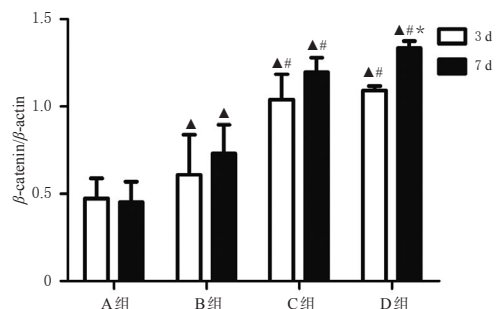


图1 各组DFU模型大鼠组织病理学显微图(HE染色,×40)

Fig 1 Histopathological micrograph of DFU model rats in each group (HE staining, ×40)

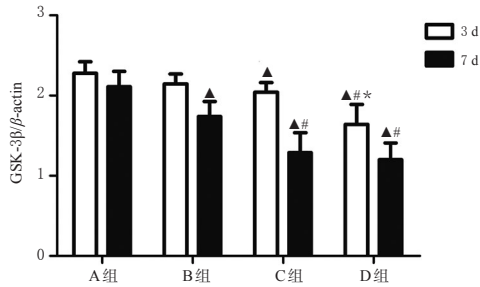


注:与A组比较,▲ $P < 0.05$;与B组比较,# $P < 0.05$;与C组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. group A, ▲ $P < 0.05$; vs. group B, # $P < 0.05$; vs. group C, * $P < 0.05$

图2 各组DFU模型大鼠创面组织中 β -catenin的mRNA表达水平($\bar{x} \pm s, n=15$)

Fig 2 mRNA expression levels of β -catenin in wound of DFU model rats in each group($\bar{x} \pm s, n=15$)

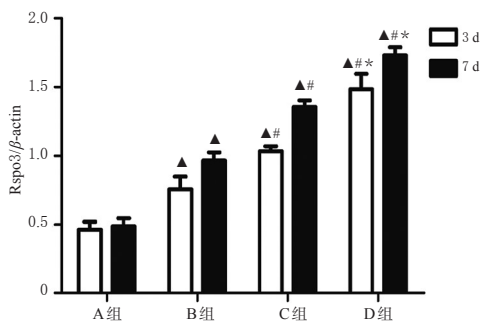


注:与A组比较, ^ $P < 0.05$;与B组比较, * $P < 0.05$;与C组比较, * $P < 0.05$

Note: vs. group A, ^ $P < 0.05$; vs. group B, * $P < 0.05$; vs. group C, * $P < 0.05$

图3 各组DFU模型大鼠创面组织中GSK-3β的mRNA表达水平($\bar{x} \pm s, n=15$)

Fig 3 mRNA expression levels of GSK-3β in wound of DFU model rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=15$)



注:与A组比较, ^ $P < 0.05$;与B组比较, * $P < 0.05$;与C组比较, * $P < 0.05$

Note: vs. group A, ^ $P < 0.05$; vs. group B, * $P < 0.05$; vs. group C, * $P < 0.05$

图4 各组DFU模型大鼠创面组织中Rspo3的mRNA表达水平($\bar{x} \pm s, n=15$)

Fig 4 mRNA expression levels of Rspo3 in wound of DFU model rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=15$)

法。结合“祛瘀生肌”经典理论^[7],本课题组选取止血生肌类白及/三七药对研制出三七/白及胶海绵用于DFU创面愈合治疗。近5年来临床实践证明该中药敷料疗效显著,但因其作用机制尚不明确,故限制了其临床转化和推广。

经典Wnt/ β -catenin通路被认为具有促进创面血管新生及上皮重塑等多方面的功能,在创面修复早期的肉芽组织增生阶段可能起到关键作用^[7]。而DFU创面组织中呈现出的纤维母细胞、毛细血管减少等特点,也与 β -catenin编码基因表达水平降低^[8]相一致。DFU创面组织中GSK-3 β 表达水平升高,这与其作为Wnt信号通路负性调控因子的生理作用是相符的^[9]。Rspo3蛋白作为Wnt信号通路的激活因子,在DFU创面组织中呈现低表达^[9-10]。因此,Wnt/ β -catenin信号通路可能在DFU的肉芽组织增生阶段起关键作用,这为治疗DFU提供了新的治疗靶点。

笔者查阅文献发现,目前尚无基于Wnt信号通路的中药敷料促进DFU创面愈合作用的机制研究。因此本

课题组首先在动物造模时,通过实时动态监测实验大鼠体质量和血糖水平的变化,以确保在5周时间内成功建立大鼠DFU模型;同时,在干预治疗阶段对模型大鼠通过饮食、胰岛素进行血糖控制,为其创面愈合打好生理基础。随机分组给予生理盐水纱布、凡士林纱布、明胶海绵、三七/白及胶海绵进行干预治疗。在干预治疗第3、7天时进行观察,结果显示给予三七/白及胶海绵干预治疗的DFU模型大鼠创面愈合率高,肉芽组织生成及毛细血管数量增加、胶原纤维沉积表达明显增多;Wnt信号通路中 β -catenin、Rspo3 mRNA表达水平较其余各组均显著升高,负调控因子GSK-3 β 的mRNA表达水平较其余各组均显著降低。

综上,三七/白及胶海绵可促进DFU模型大鼠溃疡创面肉芽组织生长、血管增生和胶原纤维沉积,加快慢性溃疡创面愈合;其作用机制可能与Wnt/ β -catenin通路中 β -catenin、Rspo3的mRNA表达上调和GSK-3 β 的mRNA表达下调相关。三七/白及胶海绵是否还可能通过其他途径对Wnt/ β -catenin信号通路进行调节,又或者对其他因子进行交叉调节来促进DFU的愈合,还需要进一步研究论证。

参考文献

- [1] SHAKIL S, KHAN AU. Infected foot ulcers in male and female diabetic patients: a clinico-bioinformative study[J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2010. DOI: 10.1186/1476-0711-9-2.
- [2] 李淑梅,胡承晓.糖尿病足的中药外治研究进展[J]. *中医外治杂志*, 2010, 19(5): 54-56.
- [3] 雷霆,司明明,周军,等.明胶/白及胶-微米三七海绵材料对创面愈合影响的实验研究[J]. *临床医学研究与实践*, 2016, 1(11): 1-5.
- [4] 韩昌鹏,姜文成,李福伦.Wnt信号通路与创面愈合[J]. *中国美容医学*, 2012, 21(7): 1257-1260.
- [5] 马亚楠.糖尿病大鼠创面感染的铜绿假单胞菌与自噬相互作用的实验研究[D].天津:天津医科大学, 2017: 27-38.
- [6] 汤灵翼.疮灵液对难愈性糖尿病性创面愈合及血管新生的影响及机理研究[D].南京:南京中医药大学, 2017: 19-20.
- [7] 芦阳,刘宏伟.血管内皮细胞的自分泌和旁分泌与创面愈合的相关性[J]. *感染、炎症、修复*, 2017, 18(3): 169-174.
- [8] 姚军.活血化瘀在糖尿病血管并发症的应用依据[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2009, 11(9): 22-24.
- [9] CHEN CH, DIXON RA, KE LY, et al. Vascular progenitor cells in diabetes mellitus: roles of Wnt signaling and negatively charged low-density lipoprotein[J]. *Cir Res*, 2009, 104(9): 1038-1040.
- [10] ITO M, YANG Z, ANDL T, et al. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding[J]. *Nature*, 2007, 447(7142): 316-320.

(收稿日期:2018-06-26 修回日期:2019-01-01)

(编辑:段思怡)