

本文引用: 陆文洪, 刘丽芳, 王真权, 罗雯鹏. 砒冰纳米乳调节 Wnt/ β -catenin 通路对糖尿病型肛瘘术后创面愈合的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(5): 810-817.

砒冰纳米乳调节 Wnt/ β -catenin 通路对糖尿病型 肛瘘术后创面愈合的影响

陆文洪¹, 刘丽芳², 王真权¹, 罗雯鹏^{1*}

1. 湖南中医药大学第二附属医院, 湖南 长沙 410005; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410021

[摘要] **目的** 观察砒冰纳米乳对糖尿病型肛瘘术后大鼠创面愈合及 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路相关蛋白表达的影响, 探讨其促进创面修复的作用机制。**方法** 将 72 只 SPF 级 SD 雌性大鼠随机分为假手术组、模型组、砒冰纳米乳组和湿润烧伤膏组(每组 18 只), 均建立糖尿病大鼠模型。除假手术组外, 其余各组再建立糖尿病肛瘘术后创面模型。模型组每天予局部覆盖生理盐水纱条, 砒冰纳米乳组每天予局部覆盖砒冰纳米乳纱条, 湿润烧伤膏组每天予局部覆盖湿润烧伤膏纱条, 连续干预 21 d。分别于第 7、14、21 天观察各组大鼠体质量、精神状态、活动能力及创面愈合率; HE 染色检测创面组织病理变化及毛细血管计数; Western blot 检测创面组织中 Wnt1、 β -catenin、细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)、癌基因 C-myc(C-myc)、血管内皮生长因子(VEGF)、血管内皮生长因子受体 2(VEGFR2)及糖原合酶激酶 3 β (GSK-3 β)蛋白表达水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠体质量、创面愈合率降低($P < 0.05$); 组织炎症浸润增加, 毛细血管计数减少($P < 0.05$); 第 21 天 Wnt1、 β -catenin、Cyclin D1、C-myc 蛋白表达水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), VEGF、VEGFR2 和 GSK-3 β 表达水平下降($P < 0.01$)。与模型组比较, 砒冰纳米乳组与湿润烧伤膏组大鼠体质量、创面愈合率上升($P < 0.01$); 炎症细胞减少、毛细血管计数增加($P < 0.05$); 第 21 天 Wnt1、 β -catenin、C-myc、Cyclin D1、VEGF 与 VEGFR2 蛋白表达水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), GSK-3 β 表达水平下降($P < 0.01$)。**结论** 砒冰纳米乳可能通过激活 Wnt/ β -catenin 通路的相关蛋白, 从而改善创面组织病理状态, 促进创面愈合。

[关键词] 砒冰纳米乳; Wnt/ β -catenin 信号通路; 糖尿病; 肛瘘; 术后创面

[中图分类号] R275

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.05.005

Effects of alum-ice nanoemulsion on wound healing after surgery for diabetic anal fistula by regulating Wnt/ β -Catenin pathway

LU Wenhong¹, LIU Lifang², WANG Zhenquan¹, LUO Wenpeng^{1*}

1. The Second Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China; 2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] **Objective** To observe the effects of alum-ice nanoemulsion on postoperative wound healing in diabetic rats with anal fistula and the expression of proteins related to the Wnt/ β -catenin signaling pathway in rats after surgery for diabetic anal fistula, and to explore its mechanism of action in promoting wound repair. **Methods** Seventy-two SPF-grade female SD rats were randomly divided into sham-operated group, model group, alum-ice nanoemulsion group, and Moist Burn Ointment (MBO) group, with 18 rats in each group. A diabetic rat model was established in all groups. Subsequently, a postoperative wound model of

[收稿日期] 2024-12-25

[基金项目] 湖南省中医药管理局一般资助项目(B2023149); 湖南省卫生健康委员会卫生科研课题一般资助项目(B202304136861); 湖南省教育厅优秀青年项目(24B0360); 湖南中医药大学研究生创新课题(2024CX009); 湖南中医药大学校院联合基金教学改革研究重点项目(2022-LHJG003)。

[通信作者] * 罗雯鹏, 女, 博士, 副主任医师, E-mail: 320044@hnuem.edu.cn。

diabetic anal fistula was created in all groups except the sham-operated group. The model group received daily local coverage with saline-soaked gauze, the nanoemulsion group received alum-ice nanoemulsion-soaked gauze, and the MBO group received MBO-soaked gauze. The treatments were applied for 21 consecutive days. The body weight, mental status, activity ability, and wound healing rate of the rats in each group were observed on the 7th, 14th, and 21st days respectively. HE staining was used to examine the pathological changes and capillary density in the wound tissue. Western blot was employed to check the expression levels of Wnt1, β -catenin, Cyclin D1, C-myc, vascular endothelial growth factor (VEGF), vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2), and glycogen synthase kinase 3 β (GSK-3 β) proteins in wound tissue. **Results** Compared with the sham-operated group, rats in the model group showed decreased body weight and wound healing rate ($P<0.05$), increased inflammatory cell infiltration, and reduced capillary count in the wound tissue ($P<0.05$). On day 21, the expression levels of Wnt1, β -catenin, Cyclin D1, and C-myc proteins were significantly elevated ($P<0.05$, $P<0.01$), while the expression levels of VEGF, VEGFR2, and GSK-3 β significantly decreased ($P<0.01$). Compared with the model group, both the alum-ice nanoemulsion group and the MBO group showed increased body weight and wound healing rate ($P<0.05$), reduced inflammatory cell infiltration, and increased capillary count ($P<0.05$). On day 21, the expression levels of Wnt1, β -catenin, Cyclin D1, C-myc, VEGF, and VEGFR2 proteins were significantly upregulated ($P<0.05$, $P<0.01$), while GSK-3 β expression was significantly downregulated ($P<0.01$). **Conclusion** Alum-ice nanoemulsion may promote wound healing by activating proteins related to the Wnt/ β -catenin signaling pathway, thereby improving the histopathological condition of the wound tissue.

[**Keywords**] alum-ice nanoemulsion; Wnt/ β -catenin signaling pathway; diabetes; anal fistula; postoperative wound

肛瘘是一种慢性肛周疾病,典型特征为肛管或直肠与肛周皮肤之间形成异常的瘘管,通常由慢性感染所致,瘘管多伴有上皮化;作为肛肠科常见病之一,其主要治疗方式为手术治疗^[1]。流行病学数据显示,2020年全球糖尿病患者总数为4.63亿,预计到2030年将增加至5.78亿,2045年将达到7亿^[2]。长期的病理性血糖升高会导致体内晚期糖基化终产物的生成,为细菌生长提供良好的营养环境,增加伤口感染与组织坏死的风险,阻碍伤口愈合,所以糖尿病是导致肛瘘手术后伤口愈合缓慢的风险因素之一^[3]。在治疗肛瘘术后创面愈合等方面,中医药外治法凭借其良好的临床疗效和安全性被广泛应用^[4]。其中,湿润烧伤膏被证实在促进肛瘘术后创面黏膜愈合、预防感染、水肿及渗血等方面具有显著疗效,是目前临床用于肛瘘术后创面愈合最为常见的药物之一^[5-6]。前期研究表明,矾冰纳米乳通过调节创面微环境、促进细胞生长和血管生成等方式可促进创面愈合^[7-9]。临床研究表明,矾冰纳米乳有利于肛瘘患者手术创面的恢复^[10],但其在糖尿病型肛瘘术后创面中的作用机制尚不明确。

研究表明,Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路在创面修复中起重要作用^[11]。因此,本研究拟从Wnt/ β -catenin信号通路入手,分析矾冰纳米乳对糖尿病型肛瘘术后创面愈合的影响及干预机制作用,旨在为临床制订相关治疗方案提供循证依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验选用SPF级6~8周龄SD雌性大鼠72只,体质量(200.00 \pm 15.00)g。大鼠均购自湖北贝恩特生物科技有限公司,动物质量合格证编号为:SCXK(鄂)2021-0027。在室温(22 \pm 1) $^{\circ}$ C、相对湿度50% \pm 5%、12h昼夜交替的环境条件下饲养。实验方案已通过湖北省安评中心实验动物伦理委员会审核批准[受理编号:IACUC(准)-BNT-2022-005]。

1.2 主要药品及试剂

矾冰纳米乳(湖南中医药大学第一附属医院制剂室,批号:20230730);湿润烧伤膏(汕头美宝制药有限公司,批号:2301012A)。

链脲佐菌素(北京索莱宝科技有限公司,批号:20221015);水合氯醛(北京鼎国生物技术有限公司,批号:09180023);HE染色、总蛋白提取、Western blot印迹荧光发光检测试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号:0318-8、1002-2、0824-11);BCA蛋白浓度测定试剂盒、Trizol试剂盒(上海碧云天生物公司,批号:100231、231109);预染蛋白maker(美国MBI公司,批号:231010009);Cyclin D1抗体、 β -catenin抗体、GSK3 β 抗体、Wnt1抗体、GAPDH抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:10060004、222693901、23091125、22001041、100674471);PVDF膜(美国

MILLIPORE 公司,批号:21012-005)。

1.3 主要仪器

组织破碎匀浆机(武汉赛维尔生物科技有限公司,型号:Kz-II);倒置荧光显微镜(德国蔡司股份公司,型号:zEISS Axio vert A1);蛋白电泳仪[伯乐生命医学产品(上海)有限公司,型号:Mini-PROTEAN TGX];电子分析天平(德国赛多利斯股份公司,型号:BT-124s);烤箱(上海惠泰仪器制造有限公司,型号:HG-9140A);全波长酶标仪、酶标仪(美国赛默飞生物有限公司,型号:Varioskan LUX、Multiskan FC);石蜡切片机(上海徠卡仪器有限公司,型号:RM2016);凝胶成像系统(广州博鹭腾生物科技有限公司,型号:GelView 6000 Pro II)。

1.4 药液制备

根据团队前期研究^[12],本课题组采用优化后的砒冰纳米乳制备方法,具体方法如下:取冰片 2.5 g 研细后加入乙酸乙酯 6 g 溶解,加入乳化剂聚氧乙烯醚氢化蓖麻油 16 g 搅拌均匀,加入蒸馏水,混合物随水量增加从黏稠凝胶逐渐变稀,最终呈透明至半透明状,带淡蓝色乳光。另取白砒 13.8 g 和氯化钠 9 g 溶于适量蒸馏水中过滤后缓缓加入上述混合液,并用蒸馏水补至总容量 1 000 mL,搅拌均匀后过滤、灌封,115.5 °C 灭菌 30 min,制得浓度为 16.3 mg/mL 的砒冰纳米乳。成品粒径均匀(平均 26.1 nm),包封率超过 80%,药物载药量为 16.3 mg/mL,外观透明至半透明,稳定性和透皮吸收性能显著优于传统制剂,置于 4 °C 冰箱保存备用。

1.5 造模方法

参照文献^[13]建立糖尿病大鼠模型。糖尿病模型通过腹腔注射 50 mg/kg 的链脲佐菌素进行诱导,注射前禁食 12 h,注射后 24 h 内监测血糖水平。链脲佐菌素成功诱导糖尿病后,血糖水平持续大于 16.7 mmol/L,确认模型建立成功^[13]。

糖尿病模型建立后,在大鼠肛周臀部进行手术操作:依次切开皮肤全层、皮下组织及浅筋膜,直至肌层,形成直径约 2.0 cm 的圆形手术切口。随后,将 1.0 McFarland 单位金黄色葡萄球菌与大肠埃希菌按 1:1 比例混合的菌液浸湿纱布,覆盖于创面,以模拟肛瘘术后感染性环境。术后 24 h 移除纱布,并观察创面情况。若出现脓性分泌物、红肿等典型感染

表现,表明类糖尿病肛瘘术后创面模型构建成功^[14]。为维持创面持续感染状态,于每次治疗前 0.5 h 向创面滴加 0.1 mL 上述标准混合菌液。为防止大鼠相互舔舐及撕咬影响创面,每只大鼠单独饲养。

1.6 分组及给药方法

72 只健康 SPF 级 SD 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为假手术组、模型组、砒冰纳米乳组、湿润烧伤膏组,每组 18 只,均建立糖尿病大鼠模型。除假手术组外,其余 3 组在糖尿病模型的基础上制备肛瘘感染性创面模型。假手术组则不进行细菌感染处理,仅在同一解剖部位按相同方法制备直径约 2.0 cm 的创面,保持无菌操作,以模拟单纯创伤环境。模型组滴加混合菌液后覆盖生理盐水纱布;砒冰纳米乳组与湿润烧伤膏组同样滴加混合菌液,并分别覆盖砒冰纳米乳纱布或湿润烧伤膏纱布。各组换药 2 次/d,连续换药 3 周。在干预结束后的第 7、14、21 天,对大鼠进行称重。通过注射过量麻醉药将其处死,分别采集创面内部组织及其毗邻皮肤组织的样本,以进行后续实验分析。

1.7 观察各组大鼠一般情况

记录各组大鼠精神状态、活动能力、摄食与饮水量,以及笼内垫料潮湿情况。在干预结束后的第 7、14、21 天,记录每组大鼠的体质量,以评估大鼠的整体健康状况和实验干预的效果。

1.8 观察各组创面愈合情况

观察并记录创面出血、渗液及水肿情况,同时观察肉芽组织的生长进度以及愈合状态。计算各组大鼠干预第 7、14、21 天后的创面愈合率。此过程采用透明胶片描记法测定各组动物的局部创面面积,并对所得数据进行详细记录,用以评估各组创面的动态愈合情况。创面愈合率=[(原始创面面积-未愈合创面面积)/原始创面面积]×100%。

1.9 HE 染色观察创面组织的病理变化

分离并收集创面组织样本,固定在 4% 多聚甲醛中,随后嵌入石蜡。嵌入的组织切片,在 100%、95%、80% 和 70% 的乙醇中浸泡,每次 5 min,然后在蒸馏水中浸泡 5 min 进行再水化。组织切片使用 HE 染色试剂盒进行染色,所有步骤均严格按照操作规定流程进行。切片在苏木精染液中染色 5 min,自来水中冲洗 5 min;1% 盐酸-乙醇溶液中分化 30 s,自来水

冲洗 1 min;伊红染液染色 1 min,自来水冲洗 1 min。然后,切片依次在 70%、80%、95%、100%的乙醇中脱水,每次 5 min;二甲苯透明 2 次,每次 10 min;最后用中性树胶封片。所有步骤均严格按照操作规定流程进行。所有切片由两名病理学专家盲法评估,在 200 倍光镜下随机选取 5 个非重叠视野,计数每个视野中管腔结构完整(内皮细胞围合、含红细胞)的毛细血管,取平均值作为毛细血管密度(个/视野);在 400 倍光镜下采用 Image-Pro Plus 软件计算单位面积(mm^2)内梭形或星形细胞核的成纤维细胞数量。

1.10 Western blot 检测创面组织中相关的蛋白表达

将新鲜或冷冻的组织样本切成小块,在预冷的 RIPA 缓冲液中使用匀浆器匀浆。离心去除未裂解的组织。收集上清液,采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。取 20 μg 样本 100 $^\circ\text{C}$ 煮沸,通过 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,并转移到硝酸纤维素膜上。将膜置于含有 5% milk/TBST 缓冲液中,室温摇床封闭 1 h。继续用含有一抗的杂交袋将膜封闭,4 $^\circ\text{C}$ 冰箱过夜。所用一抗及其稀释比例如下:抗 β -catenin 抗体(1:1 000)、糖原合酶激酶-3 β 抗体(glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)(1:1 000)、细胞周期蛋白 D1 抗体(Cyclin D1)(1:1 000)、癌基因 C-myc 抗体(C-myc)(1:1 000)、血管内皮生长因子抗体(vascular endothelial growth factor, VEGF)(1:1 000)、血管内皮生长因子受体 2 抗体(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)(1:1 000)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶抗体(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)(1:2 000)。二抗使用辣根过氧化物酶标记的抗兔 IgG 抗体(horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit IgG antibody, HRP-IgG)(1:5 000),于室温下孵育。利用化学发光成像系统检测目标蛋白的表达量。

1.11 统计学分析

采用 GraphPad Prism 10.1 软件进行数据分析。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,符合正态性和方差齐性时,采用 one-way ANOVA 进行组间比较;对于重复测量数据,统计检验采用双因素方差分析,并进行 Tukey 事后检验评估不同时间点的差异。若数据不符合正态性和(或)方差齐性时,采用 Kruskal-Wallis H 检验进行组间比较,且对于重复测量数据,采用

Friedman 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较

与假手术组比较,模型组大鼠体质量第 7、14、21 天降低($P<0.05$),精神萎靡、活动减少、摄食饮水量下降;与模型组比较,矾冰纳米乳组和湿润烧伤膏组大鼠体质量第 7、14、21 天升高($P<0.05$),精神状态改善,活动量及摄食饮水量接近正常水平。与第 7 天比较,第 14、21 天假手术组、模型组、矾冰纳米乳组和湿润烧伤膏组大鼠体质量升高($P<0.05$);与第 14 天比较,第 21 天假手术组、模型组、矾冰纳米乳组和湿润烧伤膏组体质量升高($P<0.05$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠体质量比较($\bar{x}\pm s, n=6, \text{g}$)

Table 1 Comparison of body weight among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \text{g}$)

组别	第 7 天	第 14 天	第 21 天
假手术组	298.01 \pm 12.92	350.04 \pm 12.07 [▲]	428.63 \pm 8.24 ^{▲●}
模型组	254.23 \pm 10.32*	289.61 \pm 9.85* [▲]	351.52 \pm 4.69* ^{▲●}
矾冰纳米乳组	287.07 \pm 14.32 [#]	331.63 \pm 6.58* [▲]	397.15 \pm 6.97* ^{▲●}
湿润烧伤膏组	287.52 \pm 8.96 [#]	349.96 \pm 5.29* [▲]	398.63 \pm 7.08* ^{▲●}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与第 7 天比较,[▲] $P<0.05$;与第 14 天比较,[●] $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠创面愈合率比较

与假手术组比较,模型组大鼠创面愈合率第 7、14、21 天降低($P<0.05$);与模型组比较,矾冰纳米乳组和湿润烧伤膏组大鼠创面愈合率第 7、14、21 天升高($P<0.05$)。与第 7 天比较,第 14、21 天假手术组、模型组、矾冰纳米乳组和湿润烧伤膏组大鼠创面愈合率升高($P<0.05$);与第 14 天比较,第 21 天假手术组、模型组、矾冰纳米乳组和湿润烧伤膏组大鼠创面愈合率升高($P<0.05$)。详见图 1、表 2。

表 2 各组大鼠创面愈合率比较($\bar{x}\pm s, n=6, \%$)

Table 2 Comparison of wound healing rate among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \%$)

组别	第 7 天	第 14 天	第 21 天
假手术组	65.32 \pm 12.14	91.17 \pm 12.14 [▲]	96.69 \pm 3.51 ^{▲●}
模型组	42.39 \pm 6.41*	63.35 \pm 11.25* [▲]	73.00 \pm 4.29* ^{▲●}
矾冰纳米乳组	66.80 \pm 7.83 [#]	83.63 \pm 6.29* [▲]	91.78 \pm 4.08* ^{▲●}
湿润烧伤膏组	61.02 \pm 6.10 [#]	83.63 \pm 6.29* [▲]	91.17 \pm 12.14* ^{▲●}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与第 7 天比较,[▲] $P<0.05$;与第 14 天比较,[●] $P<0.05$ 。

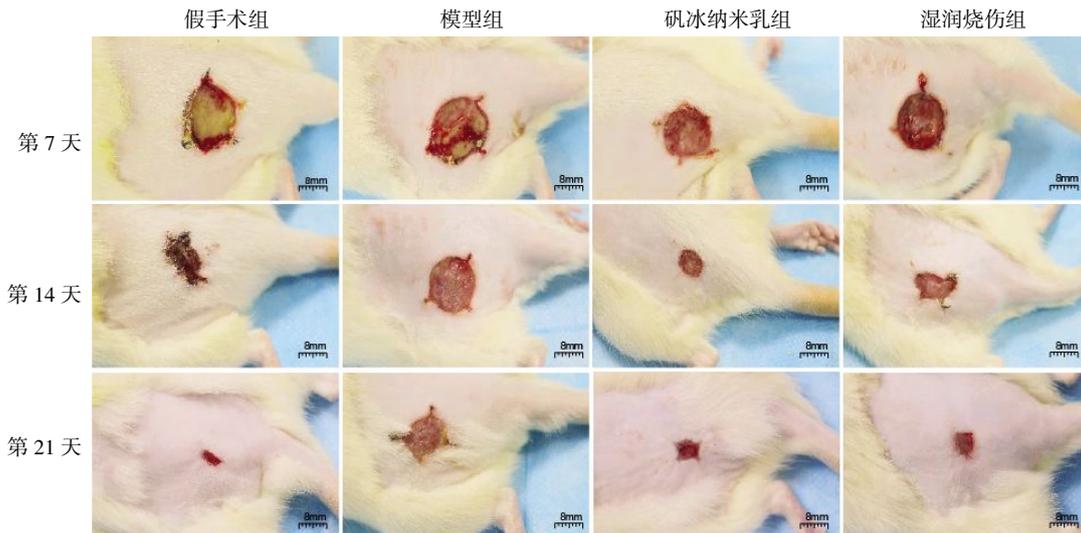


图 1 各组大鼠创面愈合情况

Fig.1 Wound healing status in each group of rats

2.3 各组大鼠创面病理学观察

假手术组大鼠创面组织排列较为整齐, 结构规整, 组织形态保持相对完整, 未见显著炎症细胞浸润, 提示其创面愈合处于相对稳定状态。模型组大鼠创面组织结构显著紊乱, 伴大量炎症细胞浸润, 肌纤维可见坏死碎片、空泡样变性, 肉芽组织增生紊乱, 且存在显著的胶原纤维肿胀、断裂及溶解等病理变化, 反映出显著的组织损伤及炎症反应。湿润烧伤膏组大鼠创面亦可见一定程度的炎症细胞浸润, 部分区域组织纤维呈现肿胀、横断、溶解及空泡样变性等病理改变。矾冰纳米乳组大鼠创面组织中, 仅可见轻度炎症细胞浸润, 散在分布少量成纤维细胞, 胶原纤维结构相对完整, 断裂程度显著减轻, 且基本未见空

泡变性现象。详见图 2。

与假手术组比较, 模型组第 7、14、21 天毛细血管数量减少 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 矾冰纳米乳组、湿润烧伤膏组第 7、14、21 天毛细血管数量增加 ($P < 0.05$); 与湿润烧伤膏组比较, 矾冰纳米乳组毛细血管计数第 7、21 天降低 ($P < 0.05$), 第 14 天升高 ($P < 0.05$)。与第 7 天比较, 第 14 天假手术组、湿润烧伤膏组毛细血管计数升高 ($P < 0.05$); 第 21 天矾冰纳米乳组、湿润烧伤膏组毛细血管计数升高 ($P < 0.05$), 假手术组毛细血管计数降低 ($P < 0.05$)。与第 14 天比较, 第 21 天假手术组、湿润烧伤膏组毛细血管计数降低 ($P < 0.05$)。详见表 3。

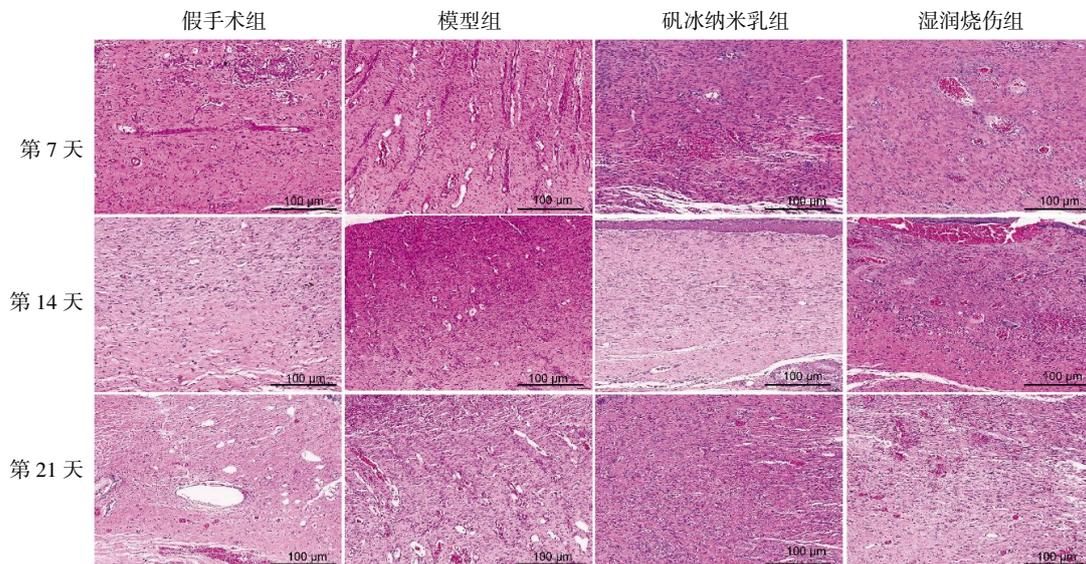


图 2 大鼠创面皮肤组织 HE 病理染色情况(×200)

Fig.2 HE staining of wound skin tissue of rats (×200)

表3 各组大鼠创面皮肤组织毛细血管计数比较

 $(\bar{x}\pm s, n=6, 10^{-4}/\mu\text{m}^2)$ Table 3 Comparison of capillary counts in wound skin tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, 10^{-4}/\mu\text{m}^2$)

组别	第7天	第14天	第21天
假手术组	75.33±3.30	82.33±1.25	68.00±2.45
模型组	28.00±2.16*	33.33±3.30*	31.33±3.40*
砒冰纳米乳组	53.33±4.99*#	54.33±3.86*#	59.67±3.09*#▲
湿润烧伤膏组	49.67±2.87*#	58.00±2.16*#▲	53.00±2.83*#▲●

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与砒冰纳米乳组比较,* $P<0.05$;与第7天比较,▲ $P<0.05$;与第14天比较,● $P<0.05$ 。

2.4 各组大鼠创面组织 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白表达量比较

与假手术组相比,模型组第7、14、21天 Wnt1、 β -catenin 升高($P<0.01$),VEGF 和 VEGFR2 降低($P<0.01$);第21天 Cyclin D1 升高($P<0.05$);第14、21天 C-myc 升高($P<0.05, P<0.01$),GSK-3 β 降低($P<0.05$)。与模型组比较,砒冰纳米乳组第14、21天 Wnt1 升高($P<0.01$),湿润烧伤膏组第14天 Wnt1 降低($P<0.05$)、第21天升高($P<0.05$);砒冰纳米乳组、湿润烧伤膏组第7、14、21天 β -catenin、C-myc、VEGF、VEGFR2 升高($P<0.05, P<0.01$)且 GSK-3 β 降低($P<0.01$),第21天 Cyclin D1 升高($P<0.05$)。与砒冰纳米乳组比较,湿润烧伤膏组第14、21天 Wnt1、C-myc 降低($P<0.05$);第7天 β -catenin 降低($P<0.05$),VEGF 升高($P<0.05$);第14天 VEGFR2 升高($P<0.01$),GSK-3 β 降低($P<0.05$)。详见图3、图4。

3 讨论

创面修复是机体恢复组织完整性和功能的关键过程,有效的创面修复可防止创面细菌感染,并恢复肛门括约肌的正常收缩功能、局部感觉功能及皮肤屏障保护作用,对健康至关重要。临床上,创面愈合不良可能导致慢性伤口和其他并发症,增加患者痛苦和经济负担。因此,研究创面修复机制并开发有效的治疗方法具有重要意义。Wnt/ β -catenin 信号通路在调控细胞增殖、迁移和分化方面发挥关键作用,可促进伤口愈合^[15-16]。本研究分析了砒冰纳米乳在糖尿病型肛瘘术后创面愈合中的作用,发现其干预后,大鼠体质量未受影响,创面愈合率提高,炎症细胞浸润减少,组织纤维断裂改善。此外,砒冰纳米乳

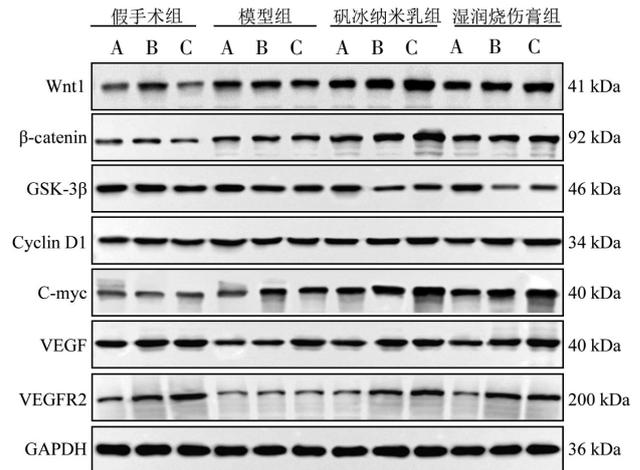


图3 Western blot 检测 Wnt/ β -Catenin 信号通路关键分子表达

Fig.3 Western blot analysis of the expression of key molecules in wnt/ β -Catenin signaling pathway

注:A.第7天;B.第14天 C.第21天。

通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,可能促进糖尿病型肛瘘术后创面的愈合。

砒冰纳米乳是一种新型中药纳米制剂,将传统中药与现代纳米技术相结合,在创面修复领域具有潜在应用价值,其主要成分为白矾与冰片。白矾在中医学中归肝经、胃经,具有收敛固护、燥湿止痒、消肿解毒的作用,适用于湿热毒邪引起的疾病^[17];冰片具有通窍散结、清热消肿、止痛明目的作用,并能改善局部微循环,促进组织再生^[18]。二者药性互补,配伍使用可产生协同增效作用,从而通过同时实现收敛和散邪,改善创面微环境,促进肉芽组织生成,加速伤口修复^[19]。借助纳米乳技术,白矾被加工成纳米级液滴,显著提高了其渗透性、稳定性和溶解性,从而提升了生物利用度和治疗效果^[20]。实验和临床研究均表明,砒冰纳米乳可促进细胞增殖、迁移和分化,调控炎症反应,从而有效加速创面愈合和组织再生^[21]。临床数据显示,在肛瘘术后使用砒冰纳米乳可显著减轻水肿和疼痛,减少渗液,缩短愈合时间,并提高总体治疗效果^[22]。曹晖等^[23]发现,在大鼠肛瘘模型中砒冰纳米乳能提高创面愈合率并缩短愈合时间。本研究结果提示砒冰纳米乳组在创面愈合过程中,表皮细胞分化、增殖及迁移均优于对照组,并在干预后第7、14、21天,病理切片显示成纤维细胞和新生毛细血管的数量显著增加,进一步证实其通过促进胶原蛋白合成,加速伤口修复,与形态学观察结果相符。

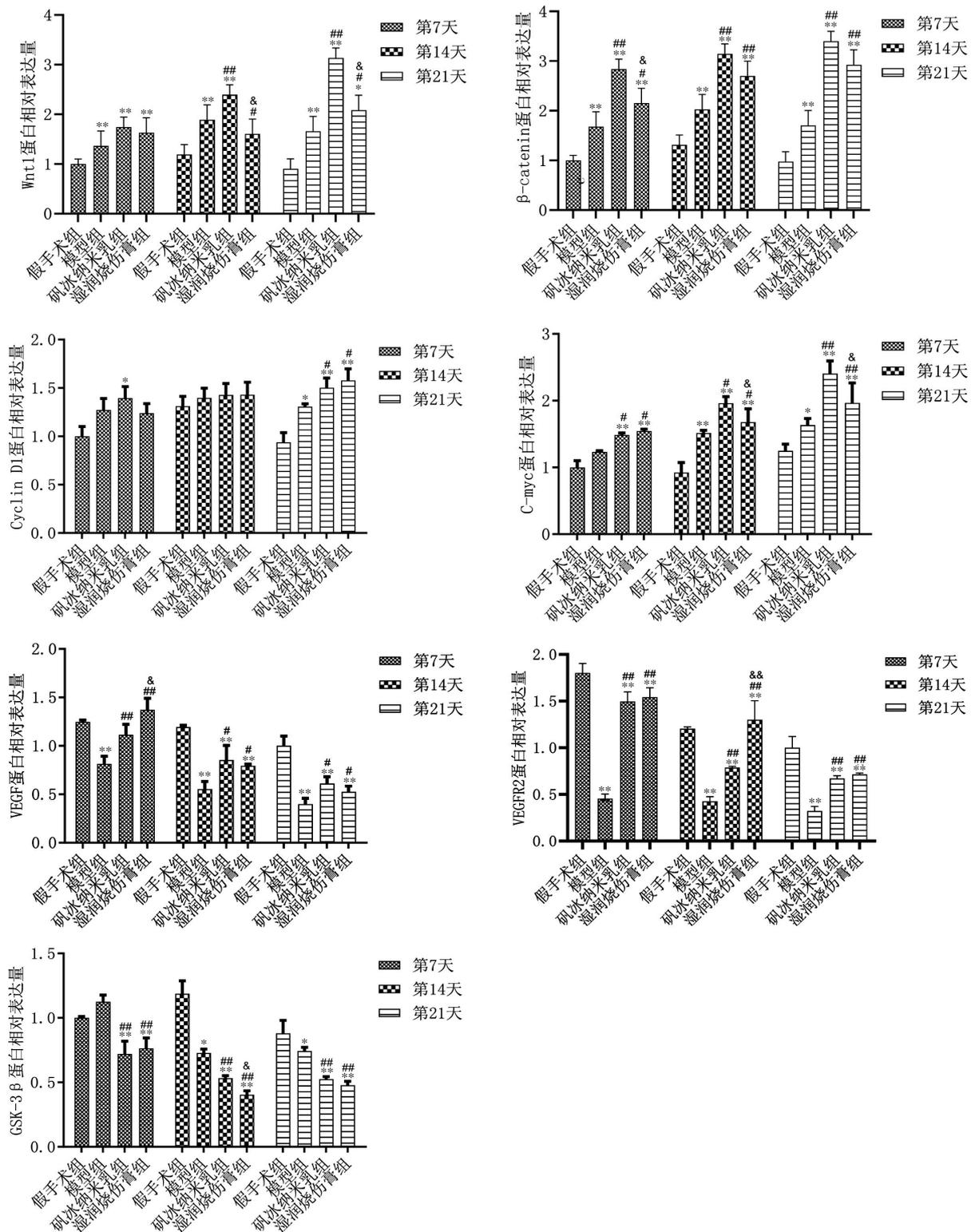


图 4 各组 Wnt/β-catenin 信号通路关键分子表达量比较

Fig.4 Comparison of key molecule expression levels in the Wnt/β-Catenin signaling pathway among different groups

注:与假手术组比较,*P<0.05,**P<0.01;与模型组比较,#P<0.05,##P<0.01;与砒冰纳米乳组比较,\$P<0.05。

研究表明,Wnt/β-catenin 信号通路在伤口愈合过程中通过促进成纤维细胞增殖、迁移及胶原合成发挥重要作用,并可通过调控 VEGF 及其受体 VEGFR,促进血管新生与成熟^[13]。本研究首次探讨砒冰纳米乳对 Wnt/β-catenin-VEGF 信号轴的调控作用,

结果显示其可显著激活该通路,促进糖尿病型肛瘘术后创面修复。Cyclin D1 与 C-myc 为该通路关键下游基因,参与细胞周期调控与增殖,是组织再生的重要分子基础^[24]。本研究证实,砒冰纳米乳可显著上调 Wnt1、β-catenin、Cyclin D1 和 C-myc 的表达,增

强细胞增殖能力,改善创面愈合效果。同时,在大鼠肛瘘模型中,矾冰纳米乳亦能上调转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)表达,进一步促进创面愈合并缩短修复时间^[23]。研究表明, TGF- β 1 与 Wnt/ β -catenin 通路在细胞分化及组织修复中协同作用,联合促进成纤维细胞活化、血管生成及细胞外基质重建。因此,矾冰纳米乳可能通过协同激活 TGF- β 1 与 Wnt/ β -catenin 信号通路,加速糖尿病创面的愈合进程。

综上所述,本研究探讨了矾冰纳米乳在创面愈合中的作用及其相关机制,首次明确了矾冰纳米乳通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进创面愈合,并激活创面纤维化反应。本次研究结果为矾冰纳米乳在糖尿病慢性创面等难愈性创面治疗中的潜在临床应用提供了实验依据。

参考文献

- [1] TYRELL S, COATES E, BROWN S R, et al. A systematic review of the quality of reporting of interventions in the surgical treatment of Crohn's anal fistula: An assessment using the TI-DiER and Blencowe frameworks[J]. *Techniques in Coloproctology*, 2021, 25(4): 359-369.
- [2] WILLIAMS R, KARURANGA S, MALANDA B, et al. Global and regional estimates and projections of diabetes-related health expenditure: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2020, 162: 108072.
- [3] 尹和宅, 金 焱, 沈丽冬, 等. 肛瘘合并糖尿病患者病原菌分布及耐药性分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2023, 33(9): 1063-1066.
- [4] 王 昆. 中医治疗肛瘘 20 例疗效分析[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2015, 36(7): 978-979.
- [5] 翟 敏, 盛卫星, 张永安. 湿润烧伤膏在肛瘘术后创面的临床应用[J]. *中国烧伤创疡杂志*, 2010, 22(6): 455-457.
- [6] 刘 飞, 董黎艳, 王 晓, 等. 湿润烧伤膏在肛瘘术后创面中的应用效果分析[J]. *中国烧伤创疡杂志*, 2024, 36(6): 477-481.
- [7] 范洪桥, 刘丽芳, 吴雨薇, 等. 基于 Notch 信号通路探讨矾冰纳米乳对增生性瘢痕的影响[J]. *国际中医中药杂志*, 2023, 45(3): 308-314.
- [8] 范洪桥, 胡金辉, 刘丽芳, 等. 矾冰纳米乳对增生性瘢痕 VEGF、Ang-1、TGF- β 1 与 MMP-2 表达的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2022, 42(3): 361-366.
- [9] 刘丽芳, 张琳玲, 周 亮, 等. 矾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, 33(4): 574-577.
- [10] 范洪桥, 李松莲, 刘丽芳, 等. 矾冰纳米乳对肛瘘术后创面愈合影响的临床研究[J]. *中医药导报*, 2019, 25(20): 109-111.
- [11] 唐 钰, 李 春, 黎湘君, 等. 龟板提取物激活 wnt/ β -catenin 通路促大鼠触须部皮肤创面修复[J]. *中药新药与临床药理*, 2017, 28(3): 298-303.
- [12] 高双双, 刘丽芳, 杨春萍. 矾冰纳米乳外治丹毒 70 例的疗效观察[J]. *湖南中医药大学学报*, 2016, 36(5): 58-60.
- [13] 李为明, 孙大力, 李奕俊, 等. 深层海水促进糖尿病模型小鼠创面愈合: 激活 Wnt/ β -catenin 通路的机制研究[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(31): 5017-5022.
- [14] 王 进, 许向彤, 曹 勇, 等. 熏洗 I 号对 SD 大鼠肛瘘术后创面 EGF 表达影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(4): 26-29.
- [15] 袁忠行, 陈 丽, 丁雅容, 等. 解毒生肌膏调控 GSK-3 β / β -catenin 减轻炎症反应促糖尿病 SD 大鼠慢性创面修复的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2023, 48(9): 1069-1077.
- [16] 徐凤英, 梁萍萍, 廖若夷. 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路探讨益气生肌剂对慢性难愈性创面大鼠模型修复愈合的影响及作用机制[J]. *环球中医药*, 2023, 16(3): 453-459.
- [17] 子建文, 高 峰, 黄文祥. 白矾对厌氧菌和真菌的抑制作用研究[J]. *云南中医杂志*, 1990, 11(3): 26.
- [18] 姚美村, 邵建芳, 邹佳丽, 等. 冰片作用特点研究综述[J]. *临床医药实践*, 2009, 18(8S): 1977-1980.
- [19] 范洪桥. 矾冰纳米乳对低位单纯型肛瘘术后创面促愈作用的临床观察[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014.
- [20] 张冀莎. 矾冰纳米乳的制备处方优化及质量标准的研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2011.
- [21] 刘丽芳, 张阳德, 周 青, 等. 矾冰纳米乳治疗浅 II 度烧伤 60 例临床观察[J]. *中医杂志*, 2010, 51(10): 895-897.
- [22] 曹 晖, 宾东华, 王爱华. 矾冰纳米乳促肛瘘术后创面修复 50 例临床分析[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2016, 14(10): 57-59.
- [23] 曹 晖, 宾东华, 刘丽芳, 等. 矾冰纳米乳对大鼠肛瘘术后创面愈合中 TGF- β 1 的影响[J]. *中医药导报*, 2016, 22(2): 37-39.
- [24] 钟清玲. 糖尿病大鼠表皮干细胞 β -catenin 和 cyclinD1 的表达及其在创面修复中的作用研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2011.

(本文编辑 田梦妍)