

引用:蔡诗敏,黄子歆,邹晓玲,胡清睿,张玲玉,黄雨萱,刘向男,郭子莘,熊武,杨楠.基于“护场理论”研究黄芪甲苷对糖尿病大鼠皮肤溃疡创面愈合的影响[J].中医药导报,2025,31(12):48-53.

基于“护场理论”研究黄芪甲苷对糖尿病大鼠皮肤溃疡创面愈合的影响*

蔡诗敏^{1,2},黄子歆²,邹晓玲¹,胡清睿²,张玲玉²,黄雨萱²,刘向男³,郭子莘²,熊武¹,杨楠¹

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410021;

2.湖南中医药大学中西医结合学院,湖南长沙 410208;

3.湖南中医药大学针灸推拿与康复学院,湖南长沙 410208)

[摘要] 目的:基于“护场理论”研究黄芪甲苷(AS-IV)对糖尿病大鼠皮肤溃疡组织中氧化应激因子、促炎因子和血管生成因子表达的影响,为临床开发AS-IV用于糖尿病皮肤溃疡的治疗奠定基础。方法:复制2型糖尿病大鼠模型,在造模成功的糖尿病大鼠脊柱两侧深筋膜上切除直径2 cm的圆形全层皮肤以制成糖尿病大鼠皮肤溃疡模型(DSU),并随机分为实验组[DSU+AS-IV(50 mg/kg)]、模型组(DSU+0.9% NaCl),另设正常组(0.9% NaCl),均采用腹腔注射给药。采集第10天大鼠皮肤溃疡组织,流式细胞术测定活性氧(ROS)水平,比色法检测总抗氧化能力(T-AOC),酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的含量。结果:与正常组比较,模型组创面愈合情况差,皮肤溃疡组织中ROS含量增多,T-AOC表达下降,促炎因子IL-1β、IL-6、TNF-α表达水平上升,血管生成因子VEGF、bFGF表达水平下降,差异均有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,实验组创面愈合情况优于模型组,皮肤溃疡组织中ROS含量减少,T-AOC表达上升,促炎因子IL-1β、IL-6、TNF-α表达水平下降,血管生成因子VEGF、bFGF表达水平上升,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论:AS-IV可通过抑制创面ROS导致的氧化应激反应和炎症反应,促进创面血管新生达到“护场效应”,从而为糖尿病皮肤溃疡创面愈合创造条件。

[关键词] 糖尿病皮肤溃疡;护场理论;黄芪甲苷;创面愈合;氧化应激;炎症;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)12-0048-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.12.008

Effect of Astragaloside IV on Skin Ulcer Wound Healing in Diabetic Rats Studied Under the Guidance of "Focus Field Protection Theory"

CAI Shimin^{1,2}, HUANG Zixin², ZOU Xiaoling¹, HU Qingrui², ZHANG Lingyu²,

HUANG Yuxuan², LIU Xiangnan³, GUO Zixin², XIONG Wu¹, YANG Nan¹

(1.The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410021, China;

2.School of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China; 3.School of Acupuncture, Massage and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of Astragaloside IV (AS-IV) on the expression of oxidative stress factor, pro-inflammatory factor and angiogenic factor in diabetic skin ulcer tissue based on the "focus field protection theory", and to lay a foundation for the clinical development of AS-IV for the treatment of diabetic skin ulcer. Methods: The type 2 diabetic rat model was replicated, and the round full-layer skin was removed with a diameter of 2 cm from the deep fascia on both sides of the spine to make the diabetic rat skin ulcer model (DSU). The DSU model rats were randomly divided into experimental group [DSU+ AS-IV

*基金项目:湖南中医药大学本科生科研创新基金项目(2023BKS002);国家自然科学基金面上项目(82374276);湖南省自然科学基金科卫联合项目(2021JJ70033);湖南省科技厅临床医疗技术创新引导项目(2021SK51412);湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202310541040)

通信作者:杨楠,女,主管护师,研究方向为慢病管理研究

(50 mg/kg)] and model group (DSU+0.9% NaCl), and a normal group (0.9% NaCl) was set. Intraperitoneal injection was used in all groups. The skin ulcer tissue was collected on the 10th day. Reactive oxygen species (ROS) levels in skin ulcer tissue were measured by flow cytometry, and total antioxidant capacity (T-AOC) in skin ulcer tissue was detected by colorimetry. Vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in skin ulcer tissue were detected by enzyme-linked immunoassay (ELISA). Results: Compared with the normal group, the model group exhibited significantly impaired wound healing, increased ROS content in the skin ulcer tissue, decreased T-AOC expression, elevated levels of the pro-inflammatory cytokines (IL-1β, IL-6, and TNF-α), and reduced expression levels of the angiogenic factors (VEGF and bFGF), with all differences being statistically significant ($P<0.01$). Compared with the model group, the experimental group exhibited superior wound healing outcomes, characterized by reduced ROS content, increased T-AOC expression, decreased levels of the pro-inflammatory cytokines (IL-1β, IL-6, and TNF-α), and elevated expression levels of the angiogenic factors (VEGF and bFGF) in the skin ulcer tissue. All these differences were statistically significant ($P<0.05$). Conclusion: Astragaloside IV can reduce the oxidative stress and inflammation caused by excessive ROS in wound, promote wound angiogenesis to achieve "field protection effect", then lead to create conditions for diabetic skin ulcer wound healing.

[Keywords] diabetic skin ulcer; focus field protection theory; Astragaloside IV; wound healing; oxidative stress; inflammation; rat

目前研究发现,组织细胞在高糖环境中生成过量活性氧^[1-2](reactive oxygen species,ROS)引起的氧化应激增强和炎症反应过度而导致的血管新生困难是糖尿病皮肤溃疡迁延难愈的原因所在^[3]。李宇宏等^[4]研究证实糖尿病足患者存在创面愈合相关因子如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的表达异常。王肯堂的《证治准绳》^[5]言：“疗之四围赤肿，名曰护场可治。”说明正邪交争中机体调动正气约束邪气进而阻滞其扩散、深陷,而“护场理论”在指导中医药治疗糖尿病皮肤溃疡方面具有巨大潜力^[6]。本团队前期研究发现黄芪甲苷(astragaloside IV, AS-IV)在外周血管新生和慢性创面愈合方面具有强大的潜力,特别是能为糖尿病皮肤溃疡修复提供一个稳定的、血供良好的创面愈合环境^[7-9],且探索出黄芪甲苷促进糖尿病皮肤溃疡创面愈合的最佳剂量(50 mg/kg)^[10]。相关实验表明,黄芪甲苷通过抗氧化应激反应,促进损伤的人内皮祖细胞(EPCs)向内皮细胞(ECs)分化和成管,从而发挥血管新生的作用^[11]。此外,细胞实验证实,黄芪甲苷的抗氧化应激作用是通过激活核因子E2相关因子2(Nrf2)/抗氧化反应元件(ARE)信号通路来实现的^[12]。本研究是在前期研究基础上,进一步探讨AS-IV是否能通过抗创面ROS生成,降低氧化应激反应和炎症反应,促进血管生长因子表达,进而形成“护场”,以促进糖尿病皮肤溃疡愈合,旨在为AS-IV的临床开发应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级成年雄性健康Sprague-Dawley大鼠共计36只,体质量180~220 g,均自湖南斯莱克景达实验动物有限公司购买。实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004。实验动物质量合格证号:430727211101157458,

430727211102433273。于湖南中医药大学含浦校区动物实验中心进行饲养,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2019-0009。为期1周的适应性饲养,饲养环境:温度18~26 ℃,湿度40%~70%,正常12 h/12 h明暗周期,通风换气8~12次/h。实验方案和操作经湖南中医药大学动物实验动物伦理委员会审核并批准(LLBH-202108300001)。

1.2 药物与试剂 黄芪甲苷(上海源叶生物科技有限公司,批号:S31401,含量≥98%);链脲佐菌素(streptozocin, STZ)(北京索莱宝科技有限公司,批号:S8050);戊巴比妥钠(德国Merck KGaA公司,批号:P3761-5);活性氧检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:S0033);DMEM培养基(美国SIGMA公司,批号:D5796-500ML);总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)测定试剂盒(南京建成生物工程研究有限公司,批号:A015-1);大鼠血管内皮细胞生长因子(VEGF)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号:CSB-E04757r)、大鼠碱性成纤维生长因子(bFGF)ELISA试剂盒(批号:CSB-E08002r)、大鼠白介素-1β(IL-1β)ELISA试剂盒(批号:CSB-E08055r)、大鼠白介素-6(IL-6)ELISA试剂盒(批号:CSB-E04640r)、大鼠肿瘤坏死因子-α(TNF-α)ELISA试剂盒(批号:CSB-E11987r)均购自武汉华美生物工程有限公司。

1.3 主要仪器 流式细胞仪(美国Beckman公司,型号:A00-1-1102);台式高速冷冻离心机(型号:H1650R)、多管架自动平衡离心机(型号:L530)均购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;全自动酶标洗板机(型号:PW-812)、多功能酶标分析仪(型号:MB-530)均购自深圳市汇松科技发展有限公司;紫外可见分光光度计(上海天普分析仪器有限公司,型号:752)。

1.4 造模与分组

1.4.1 糖尿病模型的建立 结束适应性饲养1周后的36只SD大鼠随机分为造模组(24只)和正常组(12只)。造模组用高脂

饲料(基础饲料+10.0%蔗糖+10.0%猪油+1.0%胆固醇+0.3%胆酸钠)喂养2周。造模组造模前禁食不禁水12~16 h,称体质量,腹腔注射30 mg/kg的临时配置的1.0%STZ溶液^[10,13]。每天监测随机血糖,视连续3 d随机血糖浓度均>16.7 mmol/L并伴有“三多一少”典型症状的大鼠为2型糖尿病模型建立成功,剔除死亡及未成模的大鼠。正常组腹腔注射等体积不含STZ的柠檬酸缓冲液。

1.4.2 皮肤溃疡模型的建立 待2型糖尿病模型构建成功,持续观察14 d,再将造模成功大鼠和正常组大鼠建立皮肤溃疡模型。采用腹腔注射2%戊巴比妥钠(3 mL/kg)麻醉大鼠,腰背部毛发经6%硫化钠溶液外涂除去,皮肤经75%酒精消毒,完整切除至深筋膜的圆形皮肤(半径1 cm)以建立糖尿病皮肤溃疡模型^[14-15]。术前24 h和术后48 h,为预防感染给予大鼠肌肉注射4万单位青霉素。

1.4.3 实验分组、给药与标本采集 按照随机数表法将建立成功的糖尿病皮肤溃疡大鼠平均分为实验组、模型组。建立了皮肤溃疡模型而未建立糖尿病模型的大鼠为正常组。连续10 d,1次/d,采用腹腔注射给予实验组溶于生理盐水的AS-IV(50 mg/kg)^[10],以0.9% NaCl处理模型组和正常组。每日用络合碘消毒和生理盐水清洗创面,结束后用无菌纱布并包扎固定。10 d后采用腹腔注射过量2%戊巴比妥钠实施大鼠安乐死,剪取其腰背部皮肤溃疡部位样本。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 流式细胞术检测各组皮肤溃疡组织中ROS水平 采用ROS试剂盒检测组织ROS水平。将皮肤溃疡组织剪成碎片转移至15 mL离心管,加入7 mL消化液(胶原酶I配置成0.2 mg/mL),37 °C下,100 r/min摇床消化30 min,加入2 mL DMEM完全培养基终止消化。将消化的细胞悬液用70 μm的细胞滤网过滤,用5 mL DMEM完全培养基洗涤过滤网,400×g离心5 min后,弃去上清液,然后用PBS洗涤细胞沉淀一次,再400×g离心5 min。细胞沉淀中加入200 μL稀释终浓度为10 μmol/L的DCFH-DA重悬细胞,经37 °C细胞培养箱孵育30 min使探针与细胞充分作用,无血清细胞培养液单次洗涤细胞,采用流式细胞仪检测分析。

1.5.2 比色法检测T-AOC的表达 称取质量100 g的剪碎的皮肤溃疡组织,按质量(g)与体积(mL)比为1:9的比例,加入9倍体积生理盐水,于冰水浴中制备10%的匀浆液,然后1000×g离心10 min,收集其上清液,并用考马斯亮蓝法测定匀浆蛋白浓度。检测前将分光光度计预热30 min并调零,试剂二和五放置37 °C水浴锅中水浴加热5 min,严格按照试剂盒说明书,加入相应试剂后混匀,于37 °C放置10 min。设定波长520 nm,光径1 cm,双蒸水调零,测定各管吸光度值。

1.5.3 ELISA法检测IL-1β、IL-6、TNF-α、VEGF、bFGF的含量于组织研磨器中放入剪碎的100 g皮肤溃疡组织,依据特定质量体积比添加PBS并制成匀浆,-20 °C静置过夜。2次反复冻融破坏细胞膜,将组织匀浆于2 °C、5 000×g离心5 min,取上清液用于检测。将IL-1β、IL-6、TNF-α、VEGF、bFGF的ELISA试剂盒在室温下放置30 min。取目标板条设标准品孔和样本孔。使用待测蛋白样品相匹配的稀释液稀释标准品,同时配置BCA工作液;加入稀释好的标准品或待测蛋白样本100 μL至标记

好的96孔板微孔中,混匀,封板膜封板,37 °C孵育2 h,弃液,甩干;各项操作严格按照试剂盒说明书进行,加入50 μL终止液后,在5 min内用已设定450 nm波长的酶标仪测定光密度(OD值),依据数据绘制标准曲线并计算蛋白浓度水平。

1.6 统计学方法 应用SPSS 25.0统计软件分析处理数据。计量资料采用“均数±标准差”($\bar{x} \pm s$)呈现,经检验满足正态性和方差齐性的数据采用One-Way ANOVA检验分析整体差异,再用LSD-t检验两两比较;不满足正态性或方差齐性的数据则选用Kruskal-Wallis H检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 造模和创面愈合情况 本次实验共造模成功糖尿病皮肤溃疡大鼠16只,成模率66.7%,死亡4只,死亡率16.7%,另外4只未达到糖尿病成模标准,予以剔除;共成功建立皮肤溃疡模型32只,成模率100%,为保证各组别实验动物数量一致,正常组剔除4只大鼠。对比造模后第7天、14天各组创面愈合情况,结果表明:正常组渗液最少,血运最好,愈合最快;模型组创面渗出最明显,血运最差,愈合最慢;用AS-IV干预后实验组与正常组比较,愈合情况稍差,而与模型组相比呈现显著愈合优越性。(见图1)

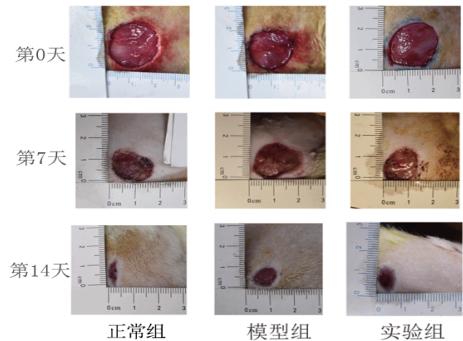


图1 各组大鼠创面愈合情况

2.2 各组大鼠皮肤溃疡组织中ROS水平 与正常组比较,实验组大鼠皮肤溃疡组织中ROS水平升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$),而模型组大鼠皮肤溃疡组织中ROS水平明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,实验组大鼠皮肤溃疡组织中ROS水平明显降低($P < 0.05$)。(见图2、表1)

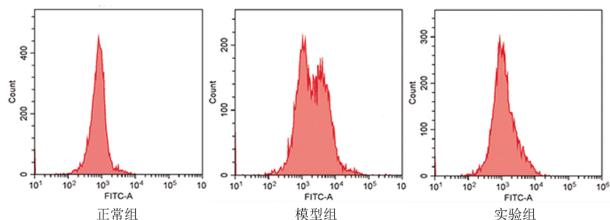


图2 各组大鼠皮肤溃疡组织中ROS含量

表1 各组大鼠创面皮肤组织中ROS的含量($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | ROS荧光强度 |
|-----|---|--------------------------------|
| 正常组 | 8 | 1 347.53±214.37 |
| 模型组 | 8 | 6 160.03±2 297.55 ^a |
| 实验组 | 8 | 2 379.43±405.90 ^b |
| F | | 10.525 |
| P | | 0.011 |

注:与正常组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠皮肤溃疡组织中T-AOC水平 与正常组比较,模型组、实验组大鼠皮肤溃疡组织中的T-AOC的含量均下降($P<0.001$);与模型组比较,实验组大鼠皮肤溃疡组织中的T-AOC的含量显著上升($P<0.01$)。(见表2)

表2 各组大鼠创面皮肤组织中T-AOC的含量
($\bar{x}\pm s$, U/mgprot)

| 组别 | n | T-AOC |
|-----|---|--------------------------|
| 正常组 | 8 | 23.82±2.00 |
| 模型组 | 8 | 11.31±1.71 ^a |
| 实验组 | 8 | 15.70±1.29 ^{ab} |
| F | | 55.952 |
| P | | 0.000 |

注:与正常组比较,^a $P<0.001$;与模型组比较,^b $P<0.01$ 。

2.4 各组大鼠皮肤溃疡组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平 与正常组比较,模型组和实验组大鼠皮肤溃疡组织中的IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量均增加($P<0.01$);与模型组比较,实验组大鼠皮肤溃疡组织中的IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量均显著下降($P<0.01$)。(见表3)

表3 各组大鼠创面皮肤组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量
($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

| 组别 | n | IL-1 β | IL-6 | TNF- α |
|-----|---|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 正常组 | 8 | 0.23±0.02 | 56.95±1.76 | 51.71±3.17 |
| 模型组 | 8 | 0.53±0.05 ^b | 84.03±4.63 ^b | 134.19±13.60 ^b |
| 实验组 | 8 | 0.34±0.04 ^{ad} | 66.56±8.56 ^{bc} | 97.77±8.07 ^{bd} |
| F | | 59.706 | 42.235 | 78.849 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

注:与正常组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.001$;与模型组比较,^c $P<0.01$,^d $P<0.001$ 。

2.5 各组大鼠皮肤溃疡组织中VEGF、bFGF水平 与正常组比较,模型组和实验组大鼠皮肤溃疡组织中的VEGF、bFGF的含量均下降($P<0.01$);与模型组比较,实验组大鼠皮肤溃疡组织中的VEGF、bFGF的含量均显著增加($P<0.05$)。(见表4)

表4 各组大鼠创面皮肤组织中VEGF、bFGF的含量
($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

| 组别 | n | VEGF | bFGF |
|-----|---|----------------------------|-------------------------|
| 正常组 | 8 | 176.91±14.50 | 1.31±0.13 |
| 模型组 | 8 | 68.15±5.48 ^b | 0.44±0.07 ^b |
| 实验组 | 8 | 106.44±16.09 ^{bd} | 0.81±0.24 ^{ac} |
| F | | 73.200 | 27.943 |
| P | | 0.000 | 0.000 |

注:与正常组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.001$;与模型组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ 。

3 讨论

糖尿病皮肤溃疡修复是氧化还原平衡恢复、炎症反应、血管新生及各种细胞、细胞因子等多因素相互调控和相互作用的,以修复创面连续性和完整性、维持内环境动态平衡为目标的一系列复杂生物学调控过程,任何环节的出现均可能导致创面愈合周期延长^[16-17]。这与中医学“护场理论”强调的通过扶助机体正气,增强抵御驱除邪气能力,促使疮疡之

邪外泄,同时依托逐步恢复且充盛的气血加速皮肤溃疡愈合的观念是一致的^[18]。《中医外科学》^[19]对护场的描述为:“所谓护场,是指在疮疡的正邪交争中,正气能够约束邪气,使之不至于深陷或扩散所形成的局部作肿范围。”“护”是机体自带的防护机制,“场”是正邪交争的场所,即自身防护系统在局部确立的防御范围。

糖尿病皮肤溃疡是由于患者本消渴日久,正气亏虚,气血不畅,经脉不通,脏腑失和导致肌肤失养,此时外邪入侵,正不胜邪,血脉瘀阻加重,瘀久化热,热盛则肉腐脓成,从而破溃坏死^[20]。糖尿病皮肤溃疡的“护场”形成和稳定是复杂的,存在于糖尿病皮肤溃疡各个阶段,对指导用药使正气增强以抗邪起到重要作用^[6]。刘琼琼等^[21]认为疮疡治疗中护场的形成与否和整体正气调动度、抵御外邪促进伤口愈合的能力等密切相关。且研究表明糖尿病皮肤溃疡创面“护场”形成与氧化应激指标、炎症指标密切相关,而创面愈合、肉芽组织状态与新生血管密切相关^[22-24]。享有“疮家圣药”美誉的黄芪具有“托毒生肌”之功效,而AS-IV是黄芪的主要活性成分之一^[25]。现代药理研究表明AS-IV具有抗氧化应激作用^[26]。本团队前期研究发现,AS-IV能明显改善间充质干细胞的黏附和迁移功能,抑制其死亡,且能促进其分泌大量与血管生成相关因子如VEGF、血管生成素-1(Ang-1)、Ang-2等发挥血管新生作用^[9];同时研究发现AS-IV可改善高糖诱导损伤的内皮祖细胞的增殖、迁移及成管能力^[27],并促使其分泌携带血管生成相关miRNAs外泌体实现血管新生效能^[28-29]。可见AS-IV具有促进血管新生的作用,在创面修复方面具有潜在的应用价值。国内多项糖尿病足、糖尿病足溃疡的指南和专家共识^[16,30-31]并未明确指出哪项药物对于“护场”建立有具体效果,而本研究主要目的在于探究AS-IV发挥血管新生的作用机制是否与其抗创面氧化应激和炎症反应有关,故本研究设置正常组、模型组、实验组,以正常大鼠皮肤组织和糖尿病大鼠皮肤溃疡组织中氧化应激因子、促炎因子、血管生成因子的表达,来探究AS-IV发挥血管新生、促进创面“护场”形成以促进创面愈合的作用机制。

研究^[32-33]发现,高糖诱导的氧化应激,是由于过量的ROS导致内皮细胞通透性增加,从而引发细胞功能损伤,其特征是氧化应激增加、血管生成受损和炎症因子水平升高,最终导致糖尿病溃疡创面愈合延迟。本实验研究发现模型组大鼠与正常组比较,皮肤溃疡组织中ROS水平明显升高,代表机体总抗氧化物质与抗氧化酶的能力的T-AOC水平^[34]明显降低,皮肤溃疡愈合能力明显降低。可见过量的ROS是引起氧化应激,不利于创面愈合的“邪气”。姚美竹^[24]临床研究发现若糖尿病足患者炎症指标水平升高不利于护场形成,更易发生感染而截肢。张朝晖等^[35]研究发现在“护场”理论指导下应用红肿消于皮肤肿胀大鼠,可通过增加IL-10表达,下调IL-1 β 含量,增强机体免疫力、抑制炎症反应,从而促进护场形成,使创面愈合。有研究^[36]表明,降低ROS活性水平以抑制NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)对半胱天冬酶-1(Caspase-1)的激活,可以抑制内皮细胞的焦亡,促进血管的形成加速创面愈合。本实验研究发现,与正常组比较,模型组大鼠皮肤溃

疡组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平明显升高,炎症反应剧烈。可见被视为“邪气”的过量的ROS通过引起氧化应激,使抗氧化系统被抑制,加剧炎症反应,是阻碍“护场”形成的主要因素,不利于创面愈合。王飞等^[37]研究表明,黄芪甲苷可通过抑制Toll样受体4(TLR4)核转录因子 κ B(NF- κ B)信号通路,降低血清中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 表达水平,有效抑制组织过氧化和减轻炎症反应。LIU L C等^[38]创新性设计并制成了以负载黄芪甲苷和黑磷的介孔二氧化硅纳米颗粒和聚乙二醇为基础(mesoporous silica nanoparticles-polyethylene glycol@astragaloside IV/black phosphorus, MSN-PEG@AS/BP)的纳米喷雾,其促进血管生成效果明显,且可以缓解创面微环境的炎症状态,有利于新的肉芽组织生成。而本研究实验组大鼠用AS-IV干预后与模型组比较结果显示,ROS水平明显降低,T-AOC水平明显升高,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平明显降低;且唯一作用于血管内皮细胞且促血管生长作用最强的VEGF^[39]和促毛细血管新成并诱导成纤维细胞向创面迁移的bFGF^[40]的含量显著增加,同时实验组的创面愈合情况明显优于模型组。故可以认为AS-IV通过减少ROS生成,降低氧化应激和炎症反应以“祛邪”;同时修复或改善创面组织细胞的功能,增强了机体的“正气”以促进“护场”形成,从而促进血管新生以利于创面愈合。

综上所述,AS-IV可通过清除过量的ROS调控糖尿病皮肤溃疡组织氧化应激,减轻炎症反应及促进血管生成因子生成,扶助正气,增强机体免疫力以形成“护场效应”,从而加速创面愈合的进程。然本实验仍存在一定局限性,未找到针对“护场理论”公认有效的对照药物,但本团队前期研究^[10,41-42]能间接验证本实验系统有效性,仍能为临幊上开发并使用AS-IV用于糖尿病皮肤溃疡的治疗提供科学依据和理论依据。后续本团队将对于AS-IV清除过量ROS、降低氧化应激和炎症反应及促进血管生成因子生成的具体机制进行更深入科学的研究。

参考文献

- [1] ZHANG W Q, CHEN L, XIONG Y, et al. Antioxidant therapy and antioxidant-related bionanomaterials in diabetic wound healing[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9: 707479.
- [2] YANG H, LV D M, QU S Q, et al. A ROS-responsive lipid nanoparticles release multifunctional hydrogel based on microenvironment regulation promotes infected diabetic wound healing[J]. Adv Sci, 2024, 11(43): 2403219.
- [3] 胡钟元.基于Nrf信号通路的透明质酸寡糖软膏促进糖尿病创面愈合机制研究[D].锦州:锦州医科大学, 2022.
- [4] 李宇宏,索芳芳.生肌玉红膏联合活血化瘀中药离子导入对糖尿病足患者足部血流、创面愈合的影响[J].中西医结合研究, 2021, 13(2): 85-88.
- [5] 王肯堂.证治准绳:疡医证治准绳[M].施仲安,点校.北京:人民卫生出版社, 2014.
- [6] 牛少辉,李贝,方毅娜,等.基于“护场”理论论治糖尿病足溃疡经验[J].四川中医, 2023, 41(7): 32-34.
- [7] 刘钰,周建大,张熙,等.黄芪甲苷通过SDF-1 α /CXCR4轴促进高糖受损人内皮祖细胞迁移的研究[J].中华中医药杂志, 2022, 37(8): 4714-4719.
- [8] 白雪,吴玉娟,邹晓玲,等.生信分析筛选间充质干细胞外泌体中与血管新生相关微小RNAs及黄芪甲苷干预的研究[J].中国临床药理学杂志, 2022, 38(1): 31-34, 39.
- [9] 乔雅君,朱晨鸿,张熙,等.黄芪甲苷对人间充质干细胞黏附、迁移、凋亡和分泌血管生成相关生长因子的影响[J].辽宁中医杂志, 2023, 50(1): 143-146, 226.
- [10] 张璐瑶,蔡诗敏,张熙,等.黄芪甲苷促糖尿病皮肤溃疡大鼠骨髓内皮祖细胞动员的机制[J].中国医师杂志, 2024, 26(3): 376-381.
- [11] 刘向男,梁译文,周思源,等.黄芪甲苷促过氧化氢诱导损伤的人内皮祖细胞向内皮细胞分化和成管的实验研究[J].辽宁中医杂志, 2025, 52(10): 138-141, 222-223.
- [12] 陈艳,高入春,广可颜,等.黄芪甲苷抗高糖受损内皮祖细胞氧化应激损伤的机制研究[J].中医药导报, 2025, 31(1): 8-12, 19.
- [13] 赵凌云,钟成元,戴保民.链脲佐菌素实验性糖尿病研究:Ⅰ.链脲佐菌素诱发大鼠糖尿病模型[J].四川医学院学报, 1985, 16(4): 289-291.
- [14] 赵富生,武庚,张晓莉,等.人胎盘粉外敷对糖尿病大鼠皮肤溃疡愈合的影响[J].智慧健康, 2019, 5(8): 36-39.
- [15] 潘晴,蔡诗敏,胡清睿,等.黄芪甲苷通过抑制氧化应激和铁死亡促糖尿病大鼠皮肤溃疡愈合[J].吉林中医药, 2025, 45(7): 830-835.
- [16] 中华医学会内分泌学分会,中国内分泌代谢病专科联盟.糖尿病足溃疡创面治疗专家共识(2024)[J].中华内分泌代谢杂志, 2024, 40(7): 565-569.
- [17] HUANG F, LU X Y, YANG Y, et al. Microenvironment-based diabetic foot ulcer nanomedicine[J]. Adv Sci, 2023, 10(2): 2203308.
- [18] 李品川,张朝晖,马静,等.护场理论指导下顺应向心托举规律加速慢性难愈性溃疡愈合的体会[J].辽宁中医杂志, 2013, 40(8): 1576-1577.
- [19] 陈红风.中医外科学[M].2版.上海:上海科学技术出版社, 2021.
- [20] 郭宇晴.基于护场理论探讨文蛤膏治疗湿热毒盛型糖尿病足感染患者的临床疗效[D].天津:天津中医药大学, 2024.
- [21] 刘琼琼,庞然,陈月莹,等.基于疮疡理论辨治间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征[J].中医杂志, 2024, 65(16): 1712-1716.
- [22] 王雪皖.箍围膏改善糖尿病足创周炎症反应的临床研究[D].北京:北京中医药大学, 2023.
- [23] 祝艳丹,曹烨民,杨建飞,等.扶正和营方治疗重度糖尿病足溃疡合并营养不良的临床效果[J].中国中西医结合外科杂志, 2023, 29(5): 638-643.
- [24] 姚美竹.Wagner4级以上糖尿病足患者的临床特点及其护场形成与理化指标的相关性研究[D].天津:天津中医药大学

大学,2021.

- [25] HAO J F, ZHANG X Y, HU R X, et al. Metabolomics combined with network pharmacology reveals a role for astragaloside IV in inhibiting enterovirus 71 replication via PI3K–AKT signaling[J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 555.
- [26] 赵小强,赵静,张浩波,等.黄芪甲苷的提取、分离、纯化及其药理作用的研究进展[J].华西药学杂志,2022,37(6): 711–716.
- [27] 余亦程,熊武,蔡响,等.黄芪甲苷改善高糖受损内皮祖细胞生物学功能的实验研究[J].世界中医药,2020,15(21): 3244–3249.
- [28] 熊武,白雪,肖慧,等.黄芪甲苷对人内皮祖细胞分泌外泌体及表达微小RNA-126的影响[J].中华烧伤杂志,2020, 36(12):1183–1190.
- [29] ZOU X L, XIAO H, BAI X, et al. Astragaloside IV drug-loaded exosomes (AS-IV EXOs) derived from endothelial progenitor cells improve the viability and tube formation in high-glucose impaired human endothelial cells by promoting miR-214 expression[J]. *Endokrynol Pol*, 2022, 73(2):336–345.
- [30] 谷涌泉,冉兴无,郭连瑞,等.中国糖尿病足诊治指南[J].中国临床医生杂志,2024,52(11):1287–1296.
- [31] 冉倩,徐蔚蔚,孙航,等.伤口愈合协会2023年《糖尿病足溃疡治疗指南(第3版)》解读[J].护理研究,2025,39(7): 1062–1067.
- [32] 许彪,王军.糖尿病足溃疡发生过程中氧化应激介导的细胞凋亡及骨形态发生蛋白4的调控作用研究进展[J].中国中西医结合外科杂志,2023,29(4):445–449.
- [33] DENG L L, DU C Z, SONG P Y, et al. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:8852759.
- [34] YAGHOUBI N, YOUSSEFI M, JABBARI AZAD F, et al. Total antioxidant capacity as a marker of severity of COVID-19 infection: Possible prognostic and therapeutic clinical application[J]. *J Med Virol*, 2022, 94(4):1558–1565.
- [35] 张朝晖,马静,朱朝军,等.护场理论指导下的箍围法对皮肤脓肿大鼠血浆IL-10,IL-1 β 的影响[J].天津中医药大学学报,2017,36(1):38–42.
- [36] ZHANG K L, CHAI B, JI H, et al. Bioglass promotes wound healing by inhibiting endothelial cell pyroptosis through regulation of the connexin 43/reactive oxygen species (ROS) signaling pathway[J]. *Lab Invest*, 2022, 102(1):90–101.
- [37] 王飞,田阳,徐骁然,等.黄芪甲苷通过调控TLR-4/NF- κ B信号通路对大鼠皮瓣缺血再灌注损伤的影响[J].中国皮肤性病学杂志,2021,35(5):497–503.
- [38] LIU L C, WANG W F, HONG W H, et al. Photothermal 2D nanosheets combined with astragaloside IV for antibacterial properties and promoting angiogenesis to treat infected wounds[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 9:826011.
- [39] YADAV J P, SINGH A K, GRISHINA M, et al. Insights into the mechanisms of diabetic wounds: Pathophysiology, molecular targets, and treatment strategies through conventional and alternative therapies[J]. *Inflammopharmacology*, 2024, 32(1):149–228.
- [40] LIU Y, LIU Y Q, DENG J Y, et al. Fibroblast growth factor in diabetic foot ulcer: Progress and therapeutic prospects[J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12:744868.
- [41] XIONG W, BAI X, ZHANG X, et al. Endothelial progenitor-cell-derived exosomes induced by astragaloside IV accelerate type I diabetic-wound healing via the PI3K/AKT/mTOR pathway in rats [J]. *Front Biosci*, 2023, 28(11):282.
- [42] 熊武,全文娟,尹初长,等.黄芪注射液静脉滴注加创面外敷治疗糖尿病足临床疗效评价[J].中国医师杂志,2018, 20(6):916–918.

(收稿日期:2025-01-03 编辑:刘国华)