

加味泻心汤膏剂促进小鼠深Ⅱ度烫伤创面愈合的机制

刘长河¹, 菅单单^{1*}, 李华妮¹, 王艳艳¹, 刘弘毅²

(1. 河南省中西医结合医院, 郑州 450004; 2. 河南中医药大学, 郑州 450046)

[摘要] **目的:**探讨加味泻心汤膏剂对深Ⅱ度烫伤模型小鼠烧伤创面抗感染、促愈合的药效作用及其作用机制。**方法:**构建深Ⅱ度烫伤小鼠模型,并随机分为空白组,模型组,阳性药组(京万红软膏组)($0.1\text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$),加味泻心汤膏剂低、中、高剂量组($0.05, 0.1, 0.2\text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$),每组10只,给药16 d;拍照记录创面恢复情况,并计算创面愈合率;苏木素-伊红(HE)染色法检测各组小鼠烫伤创面组织病理形态学变化;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测炎症因子白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平;免疫组化技术评估创面血管内皮生长因子(VEGF)和血小板-内皮细胞黏附分子(CD31)的表达水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测神经生长因子(NGF)及其高亲和力受体酪氨酸激酶受体A(TrKA)和低亲和力受体神经生长因子受体(NGFR)蛋白的表达水平。**结果:**与空白组比较,烧伤部位在造模当天肿胀、发白,次日创面皮肤硬化、结痂,且第2天的HE染色病理切片可见真皮层组织受损,胶原纤维肿胀、病变,均质红染,部分毛囊及皮脂腺被破坏,并有炎症细胞在真皮层内浸润,造模成功。与模型组比较,给药第8天开始,加味泻心汤膏剂低、中、高剂量组均能显著提高烧伤创面愈合率($P<0.01$)。与模型组比较,加味泻心汤膏剂低、中、高剂量组均能显著促进新生表皮层增厚、减少出血现象、降低炎症细胞数量及增加新生血管数量。与模型组比较,加味泻心汤膏剂各剂量组均能显著降低创面组织中促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平($P<0.01$)。同时,加味泻心汤膏剂低、中、高剂量组均能显著提升小鼠烧伤创面组织中血管新生蛋白VEGF、CD31水平($P<0.01$)。与模型组比较,加味泻心汤膏剂中剂量组NGF、NGFR、TrKA蛋白表达明显增加($P<0.05, P<0.01$);随着给药剂量增加,加味泻心汤膏剂高剂量组NGF、NGFR、TrKA蛋白表达水平均显著增加($P<0.01$)。**结论:**加味泻心汤膏剂对深Ⅱ度烫伤模型小鼠皮肤创面有抗感染、促愈合的作用,其机制可能与通过调节VEGF、CD31、NGF、TrKA及NGFR蛋白表达水平,减轻烫伤创面炎症反应、促进创面部位血管及神经因子新生有关。

[关键词] 加味泻心汤膏剂; 深Ⅱ度烫伤; 创面愈合; 炎症因子; 神经生长因子(NGF)

[中图分类号] R264;R275;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)18-0134-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251728

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250804.1743.006>

[网络出版日期] 2025-08-05 09:06:30



Mechanisms of Modified Xiexintang Ointment in Promoting Healing of Deep Second-degree Scald Wounds in Mice

LIU Changhe¹, JIAN Dandan^{1*}, LI Huani¹, WANG Yanyan¹, LIU Hongyi²

(1. Henan Integrative Medicine Hospital, Zhengzhou 450004, China;

2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the pharmacological effects of modified Xiexintang ointment on anti-infection and promotion of wound healing in mice with deep second-degree scalds, as well as its underlying mechanisms. **Methods:** A mouse model of deep second-degree scald was established and mice were randomly divided into six groups: blank group, model group, positive control group (Jingwanhong ointment, $0.1\text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$), low-, medium-, and high-dose modified Xiexintang ointment group ($0.05, 0.1, \text{ and } 0.2\text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$), with 10 mice in each group. Treatment was administered for 16 days. Wound recovery was recorded by photography, and the wound healing rate was calculated. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe histopathological changes in the scalded skin tissues. The levels of inflammatory cytokines, including interleukin-1 β (IL-1 β),

[收稿日期] 2025-04-02

[基金项目] 河南省中医药科研重大专项(20-21ZYD18);全国老药工传承工作室建设项目(国中医药人教函[2024]255号)

[第一作者] 刘长河,研究员,从事中医药外用制剂促进烧伤后创面愈合的研究, E-mail: liuchhn371@163.com

[通信作者] * 菅单单,硕士,药师,从事中西医结合促进创面愈合的基础及临床研究, E-mail: 1977729799@qq.com

interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α), were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Immunohistochemistry was used to evaluate the expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and cluster of differentiation 31 (CD31) in wound tissues. Western blot analysis was performed to determine the protein expression levels of nerve growth factor (NGF), its high-affinity receptor tropomyosin receptor kinase A (TrkA), and its low-affinity receptor nerve growth factor receptor (NGFR). **Results:** Compared with the blank group, the burn site in the model group showed swelling and whitening on the day of modeling, followed by hardening and scab formation on the next day. HE staining on day 2 revealed dermal tissue damage, swelling and degeneration of collagen fibers with homogeneous eosinophilic staining, partial destruction of hair follicles and sebaceous glands, and inflammatory cell infiltration in the dermis, indicating successful model establishment. Compared with the model group, from day 8 of treatment, the low-, medium-, and high-dose groups of modified Xiexintang ointment significantly increased the wound healing rate ($P<0.01$). Compared with the model group, all dose groups significantly promoted thickening of the newly formed epidermis, reduced hemorrhage, decreased inflammatory cell infiltration, and increased neovascularization. Compared with the model group, all dose groups significantly reduced the levels of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α in wound tissues ($P<0.01$). Meanwhile, the expression levels of angiogenesis-related proteins VEGF and CD31 in wound tissues were significantly increased in all dose groups ($P<0.01$). Compared with the model group, the protein expression levels of NGF, NGFR, and TrkA were increased in the medium-dose group ($P<0.05$, $P<0.01$). With increasing dosage, the high-dose group showed a more pronounced increase in NGF, NGFR, and TrkA expression compared with the model group ($P<0.01$). **Conclusion:** Modified Xiexintang ointment exerts anti-infective and wound-healing effects on skin wounds in mice with deep second-degree scalds. The underlying mechanisms may be related to the regulation of VEGF, CD31, NGF, TrkA, and NGFR protein expression, thereby reducing inflammation and promoting angiogenesis and nerve regeneration at the wound site.

[Keywords] modified Xiexintang ointment; deep second-degree scald; wound healing; inflammatory factors; nerve growth factor(NGF)

烧伤是指因暴露于高温、化学品、电击或辐射及其他热力因素而对皮肤和黏膜组织造成的损伤^[1]。烧伤后预防感染及促进创面愈合是烧伤治疗的首要问题,这一复杂的生命活动涉及多种细胞因子的协同作用。金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯氏菌、大肠埃希菌和鲍曼不动杆菌是导致烧伤感染的主要菌群^[2-3],白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)是参与炎症反应的主要细胞因子;血管内皮生长因子(VEGF)和血小板-内皮细胞黏附分子(CD31)在血管新生过程中发挥重要作用,能够刺激内皮细胞的增殖、迁移和分化,从而促进新血管的形成和肉芽组织的生成^[4-6];此外,神经生长因子(NGF)及其对应的受体酪氨酸激酶受体A(TrkA)、神经生长因子受体(NGFR)均在神经系统中扮演着重要的生物活性角色,不仅能够促进创面部位神经纤维的再生过程,还参与调节造血功能和免疫反应等多个生理环节,并通过调节炎症细胞的活性及其功能特性加速伤口愈合。虽然NGF、NGFR和TrkA蛋白在正常皮肤中也有一定的表达,但其水平通常低于创面愈合皮肤,在创面愈合过程中,表达水平随着伤口愈合进程逐渐升高^[7-8]。因此,抑制病原菌感染、调控炎症因子水平和创面新生相关细胞因子表达水平对促进创面愈合具有重要意义。

加味泻心汤膏剂是在张仲景《金匮要略》泻心汤(黄连、黄芩、大黄)的基础上^[9],加以黄芩、栀子、

当归、地榆、赤芍、川贝母、虎杖、煅珍珠母、冰片、乳香、没药所配制。该方临床广泛应用于创面的恢复治疗,具有抗菌、活血化瘀、止痛、收敛等功效,对烧伤、烫伤疗效可靠,但其治疗机制尚缺乏基础研究支持^[10-11]。本研究旨在探讨加味泻心汤膏剂对烧伤创面抗感染、促愈合的作用及其潜在的分子机制,以为临床治疗烧伤提供理论依据。

1 材料

1.1 药品 加味泻心汤膏剂药物组成为黄连 50 g、黄柏 50 g、黄芩 50 g、大黄 50 g、栀子 50 g、当归 30 g、地榆 30 g、赤芍 50 g、川贝母 10 g、虎杖 50 g、煅珍珠母 30 g、冰片 3 g、乳香 10 g、没药 10 g,上述药材饮片经河南省中西医结合医院张留记研究员鉴定符合 2025 年版《中华人民共和国药典》相关规定。加味泻心汤膏剂制法如下:黄连、黄柏加纯水 6 倍量,浸泡 0.5 h,加热回流提取 3 次,每次 1 h,合并滤液,滤液浓缩至相对密度为 1.20~1.30(50~55 $^{\circ}\text{C}$)的清膏(清膏得率 30%),备用;剩余除煅珍珠母、冰片外的黄芩、大黄等 9 味药材加水 6 倍量,加热回流提取 3 次,每次 1 h,合并滤液,滤液浓缩至相对密度为 1.20~1.30(50~55 $^{\circ}\text{C}$)的清膏(清膏得率 50%),上述清膏分别加入黄凡士林,最后加入煅珍珠母及冰片,制成 1 000 g,混合搅拌均匀。

1.2 试剂 京万红软膏(天津达仁堂京万红药业有限公司,批号 212675,规格 20 g/支);TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒[爱必信

(上海)生物有限公司,批号分别为J0725W01、J0606W01、J0731R01];VEGF抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号26415-1-AP);CD31抗体、苏木素染液、伊红染色液(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为GB14036、CR2410157、CR2405074);甘油醛-3-磷酸脱氢酶抗体(GAPDH,杭州贤至生物科技有限公司,批号AB-P-R001);NGF、NGFR、TrkA、辣根过氧化物酶(HRP)抗体(美国Affinity公司,批号分别为DF6061、DF6821、DF6822、S0001)。

1.3 仪器 HF160W CO₂型培养箱(上海力申科学仪器公司);JXFSTPRP-CL型冷冻研磨仪(上海净信发展有限公司);ELX800型酶标仪(美国BioTek公司);RM2016型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);CKX53型荧光倒置显微镜(日本OLYMPUS公司);BVE-4型电泳仪、BVT-4型转膜仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);Fluor Chem R型凝胶成像分析仪(美国Protein Simple公司)。

1.4 动物 10周龄雄性KM小鼠,SPF级,体质量为(25±3)g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,合格证号为SCXK(辽)2020-0001,在实验过程中,所有小鼠均可自由饮用清水和摄取食物。

1.5 伦理 该实验计划已获得河南中西医结合医院动物管理委员会的正式批准(批准文号HNTCNDW-20230701)。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药 参照文献[12]建立深Ⅱ度小鼠烧伤模型,8%硫化钠溶液浸润小鼠背部毛发10s进行脱毛,脱毛面积约为2cm×2cm。脱毛24h后,除空白组(不造模,不给药)的10只小鼠外,其余小鼠腹腔注射3%戊巴比妥钠(30mL·kg⁻¹)麻醉,将直径为1.6cm的平底玻璃试管装满热水,在95℃恒温水浴锅中加热10min,取出后迅速擦干试管外壁水分,立即将试管底部置于脱毛部位15s,建立深Ⅱ度烧伤模型。当创面皮肤出现肿胀、发白现象,且次日创面皮肤的苏木素-伊红(HE)染色病理切片可见真皮层组织受损,并伴有炎症细胞的浸润时,代表造模成功。

未造模的10只小鼠设定为空白组,将成功建立深Ⅱ度烧伤模型的小鼠按照随机数字表法分为模型组、京万红软膏组、JWXXTG-L组、JWXXTG-M组和JWXXTG-H组,每组10只。各组小鼠自造模成功次日开始涂抹给药,给药剂量参考既往文献报道^[11]结合《中医外科学》中提及的四黄类制剂剂量

建议,JWXXTG-L、M、H剂量组分别按:低剂量0.05g·cm⁻²,用药面积为2cm²;中剂量0.10g·cm⁻²,用药面积为2cm²,高剂量0.20g·cm⁻²,用药面积为2cm²;京万红软膏组小鼠按每只涂抹给药0.1g·cm⁻²,用药面积为2cm²,模型组小鼠涂抹等量凡士林,每天1次,给药16d。

2.2 创面愈合率的测定 每天给药前拍照记录并观察各组小鼠烧伤创面愈合情况。通过Image J软件测量照片中的创面面积,利用公式:创面愈合率=(初始烧伤面积-未愈合创面面积)/初始烧伤面积×100%。计算创面愈合率,进而评估创面愈合情况。

2.3 样本采集 给药末日,麻醉小鼠后取创面中央组织,一部分组织用生理盐水清洗后,-80℃保存,用于ELISA及蛋白免疫印迹法(Western blot)检测。4%多聚甲醛固定另一部分组织,用以创面病理形态学观察和免疫组化检测。

2.4 HE染色 取固定后的创面皮肤组织,制作HE染色切片,倒置显微镜下观察并拍照记录小鼠烧伤创面皮肤组织的病理形态改变。

2.5 ELISA检测 取冻存的创面皮肤组织,经裂解、4℃12000r·min⁻¹离心5min(离心半径10cm)、取上清,依据ELISA试剂盒的使用说明,定量检测上清液中IL-1β、IL-6和TNF-α,以评估各组创面皮肤组织中炎症因子的表达水平。

2.6 免疫组化染色 取固定后的创面组织,制备石蜡切片;经溶蜡、脱蜡、脱水、抗原修复、血清封闭后加入稀释比例为1:50的VEGF和CD31一抗4℃孵育过夜,加入稀释比例为1:1000的二抗,在37℃下孵育50min,3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色、复染、再次梯度脱水、封固后,显微镜下观察切片。棕黄色区域表示阳性表达,倒置显微镜采集图像,Image J计算平均积分吸光度,评估VEGF、CD31蛋白表达水平。

2.7 Western blot 提取创面皮肤组织总蛋白,聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)法测定总蛋白浓度。经电泳分离,转膜,封闭,4℃孵育一抗(NGF、TrkA、NGFR,1:1000,GAPDH,1:5000)过夜,洗膜后室温孵育二抗(1:5000)1h,再次洗膜后进行ECL化学发光技术显色处理并采集图像,使用Image J软件对图像中的条带灰度值进行分析,以定量评估目标蛋白的表达水平。

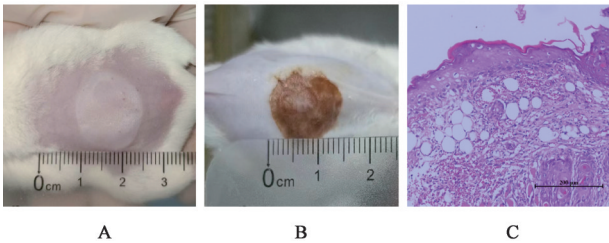
2.8 统计学分析 Graphpad Prism9.0软件进行统计学数据分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两间比较采用独立t检验,以P<

0.05表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 深Ⅱ度烧伤模型构建 与空白组比较,造模当天,造模小鼠烧伤部位出现肿胀、发白现象,次日烧伤创面皮肤硬化、结痂,且烧伤第2天的HE染色病理切片可见真皮层组织受损,胶原纤维肿胀、病变,均质红染,部分毛囊及皮脂腺被破坏,并有炎症细胞在真皮层内浸润,表示成功建立深Ⅱ度烧伤小鼠模型。见图1。

3.2 加味泻心汤膏剂对烧伤创面愈合率的影响 给药第4天,各组小鼠烧伤创面硬化,结痂,与模型组小鼠烧伤创面比较,各给药组能与创面较好地黏合,创面均比较湿润、柔软,创面愈合率无显著性差异。给药第8天开始,各组小鼠创面均不同程度地好转,与模型组比较,加味泻心汤膏剂低、中、高组的愈合率显著升高($P<0.01$),且具有剂量依赖

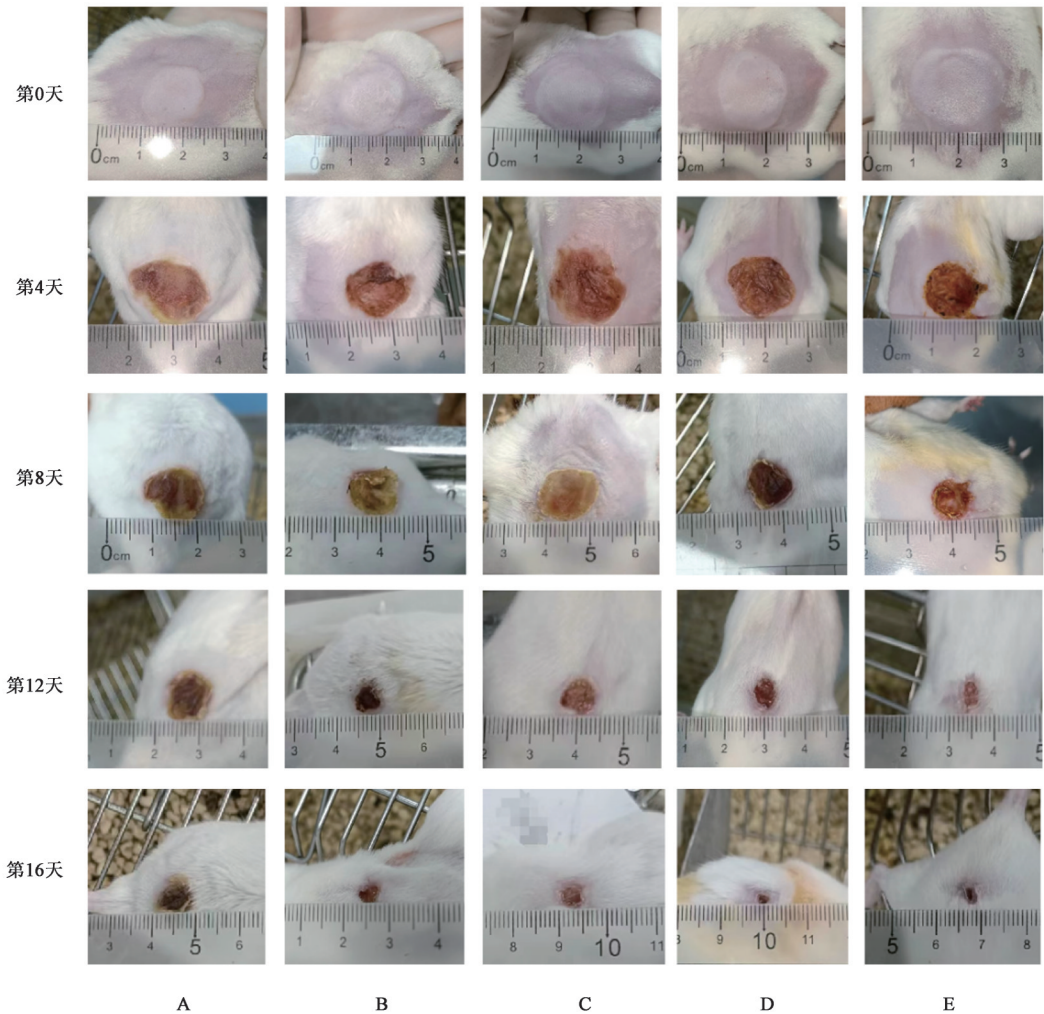


注:A.第1天;B.第2天;C.第2天创面病理切片

图1 深Ⅱ度烧伤模型成功构建表征

Fig. 1 Deep second-degree scald model was successfully constructed and characterized

性。给药第12天,与模型组比较,加味泻心汤膏剂低、中、高剂量均能显著促进小鼠创面的愈合,差异具有统计学意义($P<0.01$);特别是在第16天时,与模型组比较,加味泻心汤膏剂低、中、高剂量能够显著提高愈合率,差异具有统计学意义($P<0.01$)。见图2、表1。



注:A.模型组;B.京万红软膏组;C.JWXXTG-L组;D.JWXXTG-M组;E.JWXXTG-H组

图2 加味泻心汤膏剂对小鼠烧伤创面的愈合情况的影响

Fig. 2 Effect of modified Xiexintang ointment on healing of burn wounds of mice

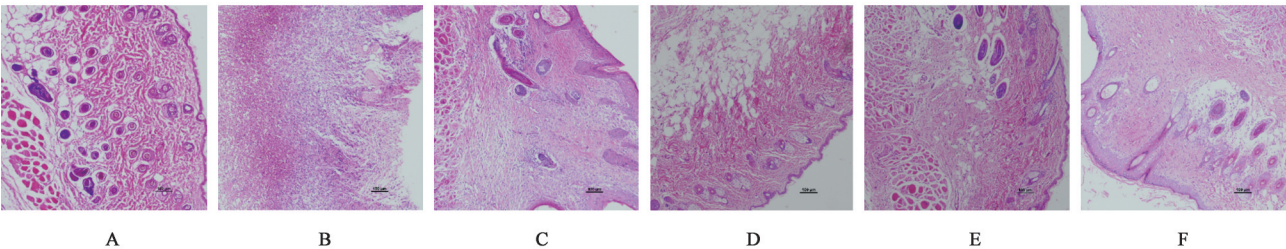
表1 加味泻心汤膏剂对烧伤创面愈合率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of modified Xiexintang ointment on healing rate of burn wound ($\bar{x}\pm s, n=10$)						%
组别	剂量/g·cm ⁻²	第4天愈合率	第8天愈合率	第12天愈合率	第16天愈合率	
模型组		3.51±0.26	26.53±0.66	49.40±2.44	54.62±3.57	
京万红软膏组	0.1	4.61±0.17	56.46±0.84 ¹⁾	79.17±3.25 ¹⁾	88.92±2.98 ¹⁾	
JWXXTG-L组	0.05	4.11±0.19	53.00±0.92 ¹⁾	75.27±3.39 ¹⁾	85.64±2.86 ¹⁾	
JWXXTG-M组	0.1	4.51±0.22	59.74±0.91 ¹⁾	80.07±3.11 ¹⁾	91.02±2.99 ¹⁾	
JWXXTG-H组	0.2	4.71±0.18	61.69±0.60 ¹⁾	88.13±3.34 ¹⁾	93.12±3.26 ¹⁾	

注:与模型组比较¹⁾ $P<0.01$

3.3 加味泻心汤膏剂对创面组织病理学改变的影响 空白组的表皮结构清晰、完整,复层鳞状上皮细胞排列整齐且形态正常,胶原纤维排列紧密且均匀,未见异常炎症反应,毛囊和皮脂腺等附属器官均正常可见。与空白组比较,模型组小鼠皮肤表层出现显著的广泛性溃疡,真皮层中的胶原纤维组织变性坏死,且伴有大量炎症细胞浸

润和弥漫性出血,仅有少量新生血管。加味泻心汤膏剂在不同剂量组的小鼠皮肤组织中表现出显著的修复效果,包括促进新生表皮层增厚、减少出血现象、降低炎症细胞数量及增加新生血管数量,胶原纤维组织清晰可见,与模型组形成鲜明的对比,且病理损害随给药剂量的增加而减轻。见图3。



注:A.空白组;B.模型组;C.京万红软膏组;D.JWXXTG-L组;E.JWXXTG-M组;F.JWXXTG-H组(图4-图6同)

图3 给药第16天烧伤创面组织病理形态学比较(HE,×100)

Fig. 3 Comparison of histopathology of burn wound on 16th day of administration (HE,×100)

3.4 加味泻心汤膏剂对创面组织炎症因子水平的影响 与空白组比较,模型组小鼠烧伤创面组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著升高($P<0.01$)。与模型

组比较,加味泻心汤膏剂各给药组小鼠烧伤创面组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著降低($P<0.01$),且具有剂量依赖性。见表2。

表2 加味泻心汤膏剂对烧伤创面相关炎症因子水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of modified Xiexintang ointment on level of inflammatory factors related to burn wound ($\bar{x}\pm s, n=10$)					ng·L ⁻¹
组别	剂量/g·cm ⁻²	IL-1 β	IL-6	TNF- α	
空白组		36.20±3.53	92.44±7.46	40.85±7.76	
模型组		692.80±16.06 ¹⁾	959.73±29.49 ¹⁾	306.02±15.13 ¹⁾	
京万红软膏组	0.1	266.08±15.85 ²⁾	229.70±14.66 ²⁾	60.94±6.35 ²⁾	
JWXXTG-L组	0.05	281.10±17.00 ²⁾	258.67±15.64 ²⁾	59.99±6.81 ²⁾	
JWXXTG-M组	0.1	308.13±16.17 ²⁾	287.14±16.07 ²⁾	84.52±7.23 ²⁾	
JWXXTG-H组	0.2	319.30±18.88 ²⁾	310.96±15.08 ²⁾	85.73±6.87 ²⁾	

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$ (表3同)

3.5 加味泻心汤膏剂对创面组织中血管新生蛋白水平的影响 与空白组比较,模型组小鼠创面组织中VEGF、CD31水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,加味泻心汤膏剂各剂量组创面组织中VEGF、CD31水平均显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$)。见图4、图5、表3。

3.6 加味泻心汤膏剂对创面组织中神经生长因子表达水平的影响 与空白组比较,模型组烧伤创面组织中NGF及其受体NGFR和TrKA蛋白表达水平均显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,加味泻心汤膏剂低剂量组NGF、NGFR、TrKA的蛋白表达差异无统计学意义,但加味泻心

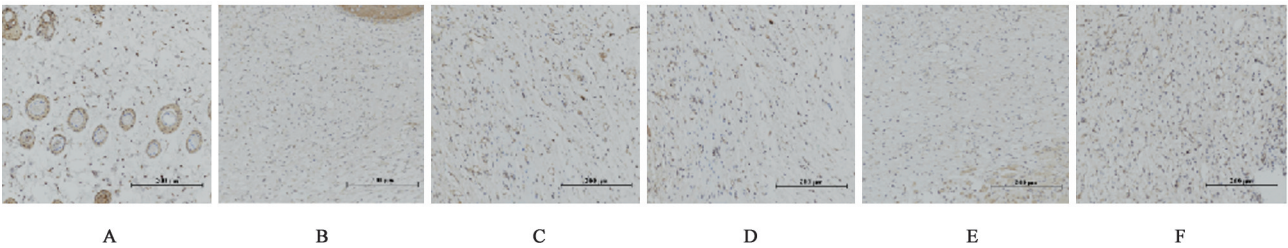


图4 加味泻心汤膏剂对创面组织中 VEGF 蛋白表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 4 Effect of modified Xiexintang ointment on expression of VEGF in wound tissue (IHC, ×400)

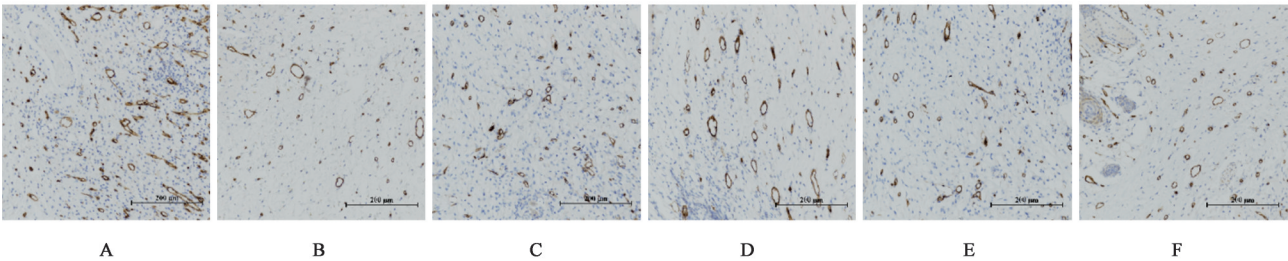


图5 加味泻心汤膏剂对创面组织中 CD31 蛋白表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 5 Effect of modified Xiexintang ointment on expression of CD31 in wound tissue (IHC, ×400)

表3 加味泻心汤膏剂对烧伤创面血管新生相关蛋白表达的影响
($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of modified Xiexintang ointment on expression of protein related to angiogenesis in burn wound ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·cm ⁻²	VEGF	CD31
空白组		0.54±0.02	0.58±0.02
模型组		0.37±0.02 ¹⁾	0.27±0.03 ¹⁾
京万红软膏组	0.1	0.49±0.02 ²⁾	0.40±0.01 ²⁾
JWXXTG-L组	0.05	0.45±0.02 ²⁾	0.38±0.02 ²⁾
JWXXTG-M组	0.1	0.48±0.02 ²⁾	0.39±0.02 ²⁾
JWXXTG-H组	0.2	0.51±0.02 ²⁾	0.41±0.02 ²⁾

汤膏剂中、高剂量组 NGF、NGFR 及 TrKA 的蛋白表

达明显增加,差异具有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。见图6、表4。

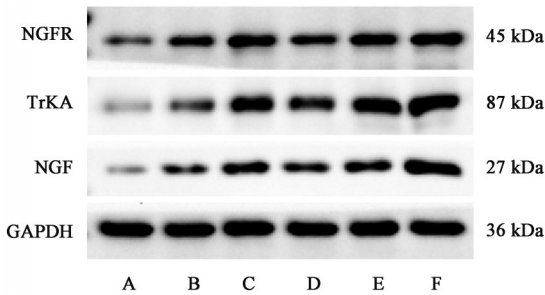


图6 各组小鼠烧伤创面组织中 NGF、TrKA 及 NGFR 蛋白电泳

Fig. 6 Electrophoresis of NGF, TrKA and NGFR in burn wound tissue of mice in each group

表4 加味泻心汤膏剂对烧伤创面血管新生相关蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of modified Xiexintang ointment on expression of proteins related to angiogenesis in burn wound ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·cm ⁻²	NGF/GAPDH	TrKA/GAPDH	NGFR/GAPDH
空白组		1.00±0.10	1.00±0.08	1.00±0.10
模型组		2.60±0.21 ¹⁾	2.47±0.12 ¹⁾	1.66±0.13 ¹⁾
京万红软膏组	0.1	3.88±0.16 ²⁾	3.85±0.23 ³⁾	2.36±0.20 ³⁾
JWXXTG-L组	0.05	3.39±0.15	3.26±0.19	1.58±0.21
JWXXTG-M组	0.1	3.87±0.12 ²⁾	4.24±0.20 ³⁾	2.06±0.17 ²⁾
JWXXTG-H组	0.2	5.77±0.15 ³⁾	5.46±0.24 ³⁾	2.55±0.17 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$

4 讨论

烧伤长期以来都受到医疗界特别是外科医生的密切关注^[13]。烧伤发生后往往伴随着创面感染、炎症反应和创面修复反应,而这3种反应主要涉及

烧伤创面优势菌群、细胞炎症因子、血管新生相关生长因子和神经生长因子之间的相互作用与烧伤创面愈合密切相关^[14-16]。烧伤的发生往往伴随着免疫反应、创面感染甚至是多器官衰竭,其中烧伤创

面感染是烧伤患者面临的主要并发症之一,伤患一旦发生感染,会延缓病情,甚至造成烧伤创面加深^[17-19]。而中医药在干预烧伤创面感染、调节机体免疫、减轻炎症反应及促进创面修复等诸多方面展现出独特优势,治疗该疾病疗效显著,为烧伤患者的康复带来了新的希望与有效的解决方案。

加味泻心汤膏剂是以《金匱要略》泻心汤(黄连、黄芩、大黄)为基础加减而来,其中,黄连清热燥湿、泻火解毒;黄芩清上焦肺火及胆火等;大黄荡涤肠胃积热,三者合用清泻三焦火热,为创面恢复营造良好环境。加入栀子、当归、地榆、赤芍、川贝母等药协同增效,栀子辅助清热泻火、利湿解毒;当归活血化瘀促循环;地榆凉血止血、敛疮;赤芍清热凉血、化瘀止痛;川贝母清解肺热、消肿。佐以虎杖、煅珍珠母、冰片、乳香、没药等药促进愈合,虎杖加强解毒散瘀;煅珍珠母生肌收口;冰片止痛助吸收;乳香、没药活血行气、消肿生肌,共同助力烧伤创面更快愈合。

课题组前期研究中利用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)技术,对加味泻心汤膏剂处方中的大黄酸、大黄素、黄连碱、黄柏碱、表小檗碱等活性成分进行了测定及分析,结合相关研究证实,以上活性成分在创面愈合及创面炎症因子调控方面具有显著作用^[10,20]。本研究发现,加味泻心汤膏剂可显著减少烫伤创面皮肤组织的炎症细胞浸润,有效促进表皮层和血管新生,进而提升小鼠创面愈合率。同时,该药膏能够降低创面皮肤组织中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等炎症因子水平,还可提高组织中VEGF、CD31、NGF、TrKA及NGFR蛋白表达水平。

在炎症反应过程中,TNF- α 、IL-1 β 及IL-6起着重要作用,高浓度的TNF- α 阻碍细胞因子诱导成纤维细胞增殖^[21],且在创面皮肤中具有始动效应,炎症因子IL-1 β 和IL-6的分泌可被其诱导,造成血管通透性改变,从而导致微循环障碍,影响创面皮肤的修复^[22-23]。本研究发现,小鼠烧伤皮肤组织经加味泻心汤膏剂干预16 d后,TNF- α 、IL-1 β 及IL-6水平显著降低,且创面愈合率显著升高,提示加味泻心汤膏剂可能通过抑制创面炎症反应,进而促进烧伤创面的愈合。VEGF和CD31是在皮肤中有效地促血管生成的生长因子^[24],是血管新生的标志物,其表达水平的高低可以影响皮肤修复的质量和速度^[25-27]。本研究结果显示,小鼠烧伤皮肤组织在使用加味泻心汤膏剂后,生长因子VEGF和CD31蛋

白的表达水平显著增加,这说明加味泻心汤膏剂能够促进新生血管的形成,从而加速烧伤创面的愈合过程。烧伤伤口的修复是一个复杂的过程,包括炎症反应、细胞的增殖、肉芽组织的形成及组织的重塑等多个阶段。每个阶段都有特定的细胞和分子参与,共同促进伤口的愈合和功能恢复^[28-30]。大量研究表明,NGF在各阶段均发挥了重要作用,促进创面愈合和功能恢复^[31-33]。NGF及其受体TrKA、NGFR存在潜在的抗炎功能,有研究证实,NGF通过与特异性受体TrKA结合,激活下游信号通路,如磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK),从而发挥抗炎作用,此外,NGF还能通过下调促炎因子如TNF- α 、IL-1 β 及IL-6的表达,并增加抗炎因子IL-10的分泌,从而抑制炎症反应^[34-36]。NGFR不仅参与NGF信号传导,还通过调控核转录因子- κ B受体活化因子配体/骨保护素(RANKL/OPG)信号通路影响骨关节炎中的炎症反应,NGFR的缺失会导致炎症加剧^[37]。因此,NGF、NGFR及TrKA在炎症调控中具有重要作用。NGF是一种多效性分子,在创面中,NGF和其受体TrKA和NGFR通过特定的细胞机制被显著增加,进而缩短愈合时间和提高瘢痕质量来影响伤口愈合。NGF及其受体TrKA和NGFR在皮肤上皮化、血管生成及细胞外基质(ECM)的形成中起着关键作用,能够加速伤口愈合并减少瘢痕形成^[38]。而本研究发现,加味泻心汤膏剂能显著增加创面组织中NGF、TrKA及NGFR的蛋白表达,这表明加味泻心汤膏剂可通过抑制创面炎症反应,促进烧伤创面部位神经生长相关因子的生成,进而促进烧伤创面愈合。

综上,加味泻心汤膏剂对烧伤创面的优势菌群有一定的抑制作用,能减少感染的发生;且能促进深Ⅱ度烧伤模型小鼠创面的愈合,其机制可能与下调炎症因子TNF- α 、IL-1 β 及IL-6水平进而减轻烧伤创面炎症反应,上调血管新生相关蛋白VEGF和CD31及神经生长因子相关蛋白NGF、TrKA及NGFR表达水平进而促进创面修复,然而,加味泻心汤膏剂药效成分所作用的具体细胞靶点尚不清楚,有待后续深入研究及实验验证,为该方的临床应用提供更深层的理论依据,以充分解释其在创面愈合中的作用。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] GOH M, DU M, PENG W R, et al. Advancing burn wound treatment: Exploring hydrogel as a transdermal drug delivery system[J]. *Drug Deliv*, 2024, 31(1):2300945.
- [2] GAO S, LENG Y, QIU Z, et al. Burn-induced gut microbiota dysbiosis aggravates skeletal muscle atrophy by tryptophan-kynurenine mediated AHR pathway activation[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12(14):e2409296.
- [3] HOISINGTON A J, CHOY K, KHAIR S, et al. Recent alcohol intake impacts microbiota in adult burn patients[J]. *Alcohol*, 2024, 118:25-35.
- [4] 刘娇, 梁潇, 胡涛, 等. 枢续烫伤膏对深Ⅱ度烧伤模型大鼠皮肤的修复作用及机制[J]. *中国药房*, 2023, 34(11):1320-1325.
- LIU J, LIANG X, HU T, et al. Repair effect and mechanism of Zhixu burn ointment on skin of deep second-degree burn model rats[J]. *China Pharm*, 2023, 34(11):1320-1325.
- [5] 靳丽丽, 王瑞萍, 孙梦, 等. 外源性促进大鼠Ⅱ度烫伤创面中晚期愈合[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2019, 28(3):221-227.
- JIN L L, WANG R P, SUN M, et al. Exogenous promotion of mid-late healing of second-degree scald wounds in rats[J]. *Chin J Histochem Cytochem*, 2019, 28(3):221-227.
- [6] LIU L, ZHENG C X, ZHAO N, et al. Mesenchymal stem cell aggregation-released extracellular vesicles induce CD31⁺ EMCN⁺ vessels in skin regeneration and improve diabetic wound healing [J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(20):2300019-2300024.
- [7] LIU Z, WU H, HUANG S. Role of NGF and its receptors in wound healing (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(6):599.
- [8] STEINACHER C, NISHIO S Y, USAMI S I, et al. Expression of neurotrophins and its receptors during fetal development in the human cochlea[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(23):13007.
- [9] 苗婷婷. 三黄泻心汤研究进展[J]. *湖南中医杂志*, 2016, 32(3):190-192.
- MIAO T T. Research progress of Sanhuang xiexin decoction [J]. *Hunan J Tradit Chin Med*, 2016, 32(3):190-192.
- [10] 刘长河, 营单单, 陈胜虎, 等. 基于HPLC指纹图谱与主成分分析相结合的四黄烧伤膏提取工艺研究[J]. *中国药师*, 2023, 26(12):374-381.
- LIU C H, JIAN D D, CHEN S H, et al. Extraction process of Sihuang burn ointment based on HPLC fingerprint combined with principal component analysis[J]. *China Pharm*, 2023, 26(12):374-381.
- [11] 庄云霞, 耿平. 四黄烧伤膏制备与临床疗效观察[J]. *辽宁中医杂志*, 2006, 33(5):582.
- ZHUANG Y X, GENG P. Preparation and clinical efficacy observation of Sihuang burn ointment [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2006, 33(5):582.
- [12] WU R, DU D, BO Y, et al. Hsp90 α promotes the migration of iPSCs-derived keratinocyte to accelerate deep second-degree burn wound healing in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 520(1):145-151.
- [13] WILLIAMS V A, PERREAULT L R, YAZBECK C T, et al. Impact of wildfires on cardiovascular health [J]. *Circ Res*, 2024, 134(9):1061-1082.
- [14] 高兵, 曲滨, 李巍, 等. 扩创植皮联合封闭负压引流技术治疗大面积烧伤感染难愈创面的疗效[J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(10):1536-1540.
- GAO B, QU B, LI W, et al. Efficacy of debridement and skin grafting combined with vacuum sealing drainage in the treatment of refractory infected wounds after extensive burn [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2020, 30(10):1536-1540.
- [15] 罗喻超, 刘辰鹏, 黄明浩, 等. 裸花紫珠治疗烧烫伤模型大鼠活性部位的筛选及其作用机制研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(4):711-716.
- LUO Y C, LIU C P, HUANG M H, et al. Screening of active parts from *Callicarpa nudiflora* for treating burn and scald model rats and its mechanism [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2019, 31(4):711-716.
- [16] SON B, LEE S, KIM H, et al. Low dose radiation attenuates inflammation and promotes wound healing in a mouse burn model [J]. *J Dermatol Sci*, 2019, 96(2):81-89.
- [17] AGHAYAN S S, MOGADAM H K, FAZLI M, et al. The effects of berberine and palmatine on efflux pumps inhibition with different gene patterns in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn infections [J]. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2017, 9(1):2-6.
- [18] BURGESS M, VALDERA F, VARON D, et al. The immune and regenerative response to burn injury [J]. *Cells*, 2022, 11(19):3073.
- [19] 邓茹, 王艳霞. 浸浴疗法在烧伤病人难愈创面治疗中的应用 [J]. *护理研究*, 2018, 32(2):276-277.
- DENG R, WANG Y Y. Application of immersion bath therapy in treatment of refractory wound healing in burn patients [J]. *Chin Nurs Res*, 2018, 32(2):276-277.
- [20] 赵敏娟. 湿润烧伤膏联合莫匹罗星软膏对四肢Ⅱ度烧伤创面愈合、瘢痕形态的影响 [J]. *新中医*, 2024, 56(12):62-65.
- ZHAO M J. Effect of moist exposed burn ointment combined with mupirocin ointment on wound healing and scar morphology of second-degree burn of extremities [J]. *New Chin Med*, 2024, 56(12):62-65.
- [21] 刁建新, 钟超, 罗华丽, 等. 山稔子油敷剂对深Ⅱ度烧伤小鼠TNF- α 、ICAM-1的影响 [J]. *中药新药与临床药理*, 2015, 26(4):472-476.
- DIAO J X, ZHONG C, LUO H L, et al. Effect of *Rhodomyrtus tomentosa* oil dressing on TNF- α and ICAM-1 in mice with deep second-degree burn [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2015, 26(4):472-476.
- [22] KUNIMURA K, MIKI S, TAKASHIMA M, et al. S-1-propenylcysteine improves TNF- α -induced vascular

- endothelial barrier dysfunction by suppressing the GEF-H1RhoARac pathway[J]. *Cell Commun Signal*, 2021, 19(1): 1-14.
- [23] ALHILALI M J, PARHAM A, ATTARANZADEH A, et al. Prognostic role of follicular fluid tumor necrosis factor alpha in the risk of early ovarian hyperstimulation syndrome [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2020, 4(20): 1-7.
- [24] 蒋南红, 谢卫国, 王晖, 等. 低分子肝素对电烧伤大鼠组织血管内皮生长因子与血小板内皮细胞黏附分子表达的影响[J]. *中华损伤与修复杂志电子版*, 2012, 7(3): 255-259.
- JIANG N H, XIE W G, WANG H, et al. Effects of low molecular weight heparin on the expression of vascular endothelial growth factor and platelet endothelial cell adhesion molecule in electric burn rat tissues [J]. *Chin J Inj Repair Wound Healing (Electron Ed)*, 2012, 7(3): 255-259.
- [25] EBRAHIMNASERI A, SADEGZADEH M, MOSHAII A, et al. Combination treatment of dendrosomal nanocurcumin and low-level laser therapy develops proliferation and migration of mouse embryonic fibroblasts and alters TGF- β , VEGF, TNF- α and IL-6 expressions involved in wound healing process [J]. *PLoS One*, 2021, 16(5): 7098-7103.
- [26] XU Z, LIU G, HUANG J, et al. Novel glucose-responsive antioxidant hybrid hydrogel for enhanced diabetic wound repair [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(6): 7680-7689.
- [27] 杨春艳, 柳研, 李艳, 等. 复方芙蓉花叶提取物对烧伤后创面感染大鼠创面愈合的影响及其作用机制[J]. *中华医院感染学杂志*, 2023, 33(12): 1783-1787.
- YANG C Y, LIU Y, LI Y, et al. Effect of compound Fusonghua leaf extract on wound healing and its mechanism in rats with post-burn wound infection [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2023, 33(12): 1783-1787.
- [28] BARON J M, GLATZ M, PROKSCH E. Optimal support of wound healing: New insights [J]. *Dermatology*, 2020, 236(6): 593-600.
- [29] 陆树良. 把握创面修复的规律和特征促进创面愈合[J]. *中华烧伤杂志*, 2021, 37(5): 401-403.
- LU S L. Grasp the rules and characteristics of wound repair to promote wound healing [J]. *Chin J Burns*, 2021, 37(5): 401-403.
- [30] ZHA K, YANG Y, TIAN G, et al. Nerve growth factor (NGF) and NGF receptors in mesenchymal stem/stromal cells: Impact on potential therapies [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(7): 1008-1020.
- [31] 吕国忠, 陈玉林, 杨敏杰, 等. 神经生长因子调控烧伤创面的实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2000, 14(5): 29-31.
- LYU G Z, CHEN Y L, YANG M J, et al. Experimental study on nerve growth factor regulating burn wound [J]. *Chin J Reporative Reconstr Surg*, 2000, 14(5): 29-31.
- [32] 刘程伟, 田浩, 么荣荣, 等. 神经生长因子促大鼠缺血后肢血管再生的实验研究[J]. *黑龙江医药科学*, 2012, 35(1): 1-2.
- LIU C W, TIAN H, YAO R R, et al. Experimental study on nerve growth factor promoting angiogenesis in ischemic hindlimb of rats [J]. *Heilongjiang Med Pharm Sci*, 2012, 35(1): 1-2.
- [33] 孙瀚驰, 徐强, 孙旭, 等. 化腐再生法对糖尿病大鼠肌腱变性坏死溃疡创面 NGF, TrkA, SP 表达的影响及促筋之血化过程实验研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2021, 48(4): 203-206, 228-230.
- [34] SUN H C, XU Q, SUN X, et al. Effect of Huaifu regeneration method on expression of NGF, TrkA and SP in diabetic rats with tendon degeneration and necrotic ulcer and its process of tendon-blood transformation [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2021, 48(4): 203-206, 228-230.
- [35] ZHANG Y, HUANG Z, LI K, et al. TrkA promotes MDM2-mediated AGPS ubiquitination and degradation to trigger prostate cancer progression [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 16.
- [36] 产翠翠, 马同军, 王继胜, 等. 天麻素注射液通过 NGF/TrkA 通路减轻大鼠脑缺血所致肺损伤[J]. *南方医科大学学报*, 2022, 42(1): 116-122.
- CHAN C C, MA T J, WANG J S, et al. Gastrodin injection attenuates lung injury induced by cerebral ischemia in rats through NGF/TrkA pathway [J]. *J South Med Univ*, 2022, 42(1): 116-122.
- [37] TERRACINA S, FERRAGUTI G, TARANI L, et al. Nerve growth factor and autoimmune diseases [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2023, 45(11): 8950-8973.
- [38] ZHAO L, LAI Y, JIAO H, et al. Nerve growth factor receptor limits inflammation to promote remodeling and repair of osteoarthritic joints [J]. *bioRxiv*, 2023, doi: 10.1101/2023.12.21.572937.
- [责任编辑 张丰丰]