

•基础研究•

•论著•

## 基于MAPK/NF- $\kappa$ B通路探讨脐带血富血小板血浆对糖尿病大鼠创面愈合及炎症的影响

陶茂锦<sup>1</sup>, 李强<sup>2</sup>, 程洋<sup>1</sup>, 金培生<sup>2</sup>

(1.徐州医科大学第二附属医院烧伤整形科 江苏 徐州 221000; 2.徐州医科大学附属医院整形外科 江苏 徐州 221000)

**[摘要]**目的: 基于MAPK/NF- $\kappa$ B通路探讨脐带血富血小板血浆 (PRP) 对糖尿病大鼠创面愈合及炎症的影响。方法: 将72只大鼠随机分为正常创面组、模型组、湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组、脐带血PRP+p79350组 (p38MAPK激活剂), 每组12只, 除正常创面组, 其余组大鼠均构建糖尿病大鼠创伤模型; 观察计算给药后第3、7、14天创面愈合率; ELISA检测血清炎症因子水平; HE染色及Masson染色观察创面组织病理形态及胶原生成; 免疫组化检测创面组织VEGF、bFGF表达; Western blot检测创面组织MAPK/NF- $\kappa$ B通路相关蛋白表达。结果: 模型组较正常创面组创面组织炎性细胞浸润明显, 上皮细胞分化生长不佳, 肉芽组织仅有少许胶原纤维, 且明显断裂, 排列紊乱, 结构完整度较差, TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平及p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达升高, 创面愈合率、VEGF、bFGF表达降低 ( $P < 0.05$ ); 湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组较模型组创面组织炎性细胞基本消退, 毛细血管闭塞减少, 肉芽组织生长旺盛, 存在大量胶原纤维, 排列整齐分布均匀, 蓝色着色较深, 组织结构完整度好, TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平及p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达降低, 创面愈合率、VEGF、bFGF表达升高 ( $P < 0.05$ ); 脐带血PRP+p79350组较脐带血PRP组创面组织新生胶原纤维较少, 蓝色着色较浅, 结构完整度较差, TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平及p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达升高, 创面愈合率、VEGF、bFGF表达降低 ( $P < 0.05$ )。结论: 脐带血PRP可抑制炎症反应, 促进糖尿病大鼠创面愈合, 与抑制MAPK/NF- $\kappa$ B通路有关。

**[关键词]** MAPK/NF- $\kappa$ B通路; 脐带血富血小板血浆; 糖尿病; 创面愈合; 炎症

**[中图分类号]** R622 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-6455 (2026) 07-0001-06

## Exploring the Effects of Umbilical Cord Blood Platelet-rich Plasma on Wound Healing and Inflammation in Diabetic Rats Based on the MAPK/NF- $\kappa$ B Pathway

TAO Maojin<sup>1</sup>, LI Qiang<sup>2</sup>, CHENG Yang<sup>1</sup>, JIN Peisheng<sup>2</sup>

(1. Department of Burn and Plastic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, Jiangsu, China; 2. Department of Plastic Surgery, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, Jiangsu, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the effects of umbilical cord blood platelet-rich plasma (PRP) on wound healing and inflammation in diabetic rats based on the MAPK/NF- $\kappa$ B pathway. **Methods** Seventy-two rats were randomly divided into the normal wound group, the model group, the moist burn ointment group, the PRP group, the umbilical cord blood PRP group, and the umbilical cord blood PRP+p79350 group (p38MAPK activator). Each group consisted of 12 rats. Except for the normal wound group, the trauma models of diabetic rats were constructed for the rats in the other groups. Wound healing rates were observed and calculated on days 3, 7 and 14 post-treatment. ELISA was used to detect the levels of serum inflammatory factors. HE staining and Masson staining were used to observe the pathological morphology of the wound tissue and collagen production. Immunohistochemical was used to detect the expressions of VEGF and bFGF in the wound tissue. Western blot was used to detect the expression of MAPK/NF- $\kappa$ B pathway-related proteins in wound tissues. **Results** Compared with the normal wound group, the wound tissue of the model group showed significant infiltration of inflammatory cells, poor differentiation and growth of epithelial cells, and only a small amount of collagen fibers in the granulation tissue, which were significantly

基金项目: 徐州市卫健委彭城英才-医学重点人才培养项目 (编号: XWRCHT20220067)

通信作者: 金培生, 主任医师、二级教授; 研究方向为创面修复、间充质干细胞基础研究及临床应用研究。E-mail: jinps2006@163.com

第一作者: 陶茂锦, 主治医师; 研究方向为创面修复。E-mail: jsxztmj@163.com

broken, disordered in arrangement, and had poor structural integrity. The levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , and the expressions of p-P38 MAPK/p38 MAPK and p-P65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B were increased, while the wound healing rate, and the expressions of VEGF and bFGF were decreased ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, the wound tissues in the moist burn ointment group, the PRP group, and the umbilical cord blood PRP group showed a significant reduction in inflammatory cells, a decrease in capillary occlusion, vigorous growth of granulation tissue, abundant collagen fibers, neatly arranged and evenly distributed, with deep blue coloration, and good integrity of the tissue structure. The levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , and the expressions of p-P38 MAPK/p38 MAPK and p-P65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B were decreased, while the wound healing rate, and the expressions of VEGF and bFGF were increased ( $P<0.05$ ). Compared with the umbilical cord blood PRP group, the umbilical cord blood PRP+p79350 group had fewer new collagen fibers in the wound tissue, with lighter blue coloration and poorer structural integrity. The levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , and the expressions of p-P38 MAPK/p38 MAPK and p-P65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B were increased, while the wound healing rate, and the expressions of VEGF and bFGF were decreased ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Umbilical cord blood PRP can inhibit inflammatory responses, promote wound healing in diabetic rats, and is related to the inhibition of the MAPK/NF- $\kappa$ B pathway.

**Key words:** MAPK/NF- $\kappa$ B pathway; umbilical cord blood platelet-rich plasma; diabetes; wound healing; inflammation

糖尿病慢性创面是糖尿病常见的并发症之一，主要是高血糖引发炎症失衡、细胞修复功能障碍、血管病变等，促使伤口愈合延缓，极易反复感染，严重者可发展为坏疽甚至截肢、死亡，威胁患者生命安全<sup>[1-2]</sup>。目前主要通过清创、抗生素、药物等进行治疗，但效果有限，无法满足组织再生需求，亟需新型生物治疗手段<sup>[3]</sup>。炎症是导致伤口难以愈合的关键，抑制炎症是治疗糖尿病慢性创面的重要举措。MAPK/NF- $\kappa$ B通路作为调控炎症反应的重要途径，在糖尿病伤口的发病机制、愈合过程等进程中发挥重要作用<sup>[4]</sup>。其中抑制MAPK/NF- $\kappa$ B通路的激活可下调炎症细胞因子的表达，减少伤口组织中巨噬细胞和中性粒细胞的浸润，加快糖尿病小鼠伤口愈合<sup>[5]</sup>。富血小板血浆（PRP）是自身血液离心得到的富含血小板的血浆，而血小板激活可释放大生长因子，相互协同促进细胞增殖分化及细胞外基质合成，增强组织再生修复能力，广泛应用于伤口愈合/组织再生领域<sup>[6]</sup>。脐带血离心制备的PRP中含有更为丰富的生长因子，且其可促进糖尿病大鼠难愈合皮肤创口修复<sup>[7]</sup>，推测其可能在伤口愈合/组织再生领域具有更好的治疗效果。本研究拟通过探究脐带血PRP对糖尿病大鼠创面愈合与炎症及MAPK/NF- $\kappa$ B通路的影响，丰富脐带血PRP对糖尿病伤口愈合的治疗机制。

## 1 材料和方法

1.1 主要材料：SPF级雄性SD大鼠（6~8周龄，体重180~220 g）[领致生物科技（昆山）有限公司，SCXK（苏）2024-0005]，本研究已获得领致生物科技（昆山）有限公司动物伦理委员会审批（批号：LZ20250089）；p79350（Ca21570，美国Calbiochem公司）；TNF- $\alpha$ 、IL-6 ELISA检测试剂盒（ER9113S、ER20298V，上海威奥生物科技有限公司）；IL-1 $\beta$  ELISA检测试剂盒（E02I0010，上海蓝基生物科技有限公司）；VEGF抗体（AV202，上海碧云天生物技术股份有限公司）；bFGF抗体（C00157H，南京

赛戈巍生物科技有限公司）；p-p38 MAPK、p38 MAPK抗体（GTX24822、GTX27952，GeneTex）；p-p65 NF- $\kappa$ B、p65 NF- $\kappa$ B抗体（orb1496029、orb1154873，武汉博欧特生物科技有限公司）。

### 1.2 方法

1.2.1 脐带血PRP及PRP制备：人脐带血由脐带血造血干细胞库按照《脐带血造血干细胞库技术规范（试行）》（卫办医2002-80号）采集并提供。将脐带血分装到无菌离心管，550 $\times$ g离心10 min使白细胞和红细胞沉降，再将上清液转置新的离心管中，2 000 $\times$ g离心15 min，得到脐带血PRP，备用。

取SD大鼠腹主动脉取血，4 $^{\circ}$ C下200 $\times$ g离心15 min，转移上清液及交界层以下3 mm溶液至新的离心管中，摇匀后置4 $^{\circ}$ C下500 $\times$ g离心10 min，弃约3/4上层血浆，余下层1/4约1 ml的血浆、血小板及少量红细胞混合物，即PRP。

1.2.2 糖尿病大鼠创伤模型构建：给予造模大鼠连续4周高脂饲料喂养，次日给予50 mg/kg STZ腹腔注射，然后连续测量第3天血糖，随机血糖 $>16.7$  mmol/L表明糖尿病大鼠模型构建成功。然后再麻醉大鼠，在背部肋骨与股骨之间区域的两侧对称部位进行4 cm $\times$ 4 cm大小的正方形区域剃毛备皮，分别剪掉两侧对称部位直径为1 cm圆形全层皮肤，深达筋膜，随后连续3 d股部肌肉注射20 mg/kg氢化可的松注射液<sup>[8]</sup>。

1.2.3 组别与处理：本研究共84只大鼠参与实验，其中72只大鼠进行造模，造模期间死亡12只，造模成功60只，其余12只作为正常创面组；将大鼠随机分为正常创面组、模型组、湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组、脐带血PRP+p79350组（p38MAPK激活剂），除正常创面组，其余组大鼠均构建糖尿病大鼠创伤模型；湿润烧伤膏组<sup>[9]</sup>：将湿润烧伤膏均匀涂抹于医用纱条（0.2 g/cm<sup>2</sup>）并敷在模型创口处，再用两层干纱布覆盖固定，早晚各换药1次；PRP组、脐带血PRP组<sup>[7]</sup>：先将PRP、脐带血PRP分别按体积

9:1的比例加入凝血酶激活剂迅速活化成胶状,然后敷在模型创口处,每2 d更换1次药;脐带血PRP+p79350组<sup>[10]</sup>:将脐带血PRP活化成胶状敷在模型创口处并将1  $\mu$ g 60 mg/L p79350外涂创面,每2 d涂1次;正常创面组、模型组使用生理盐水代替。

1.2.4 创面愈合率:给药后第3、7、14天肉眼观察大鼠的创面愈合情况,计算创面愈合率(观察时间点创面面积/原始创面面积 $\times$ 100%)。

1.2.5 炎症因子水平:给药后第14天,麻醉大鼠,腹主动脉取血,4℃离心后取上清液,ELISA试剂盒检测血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平。

1.2.6 创面组织病理观察:给药后第14天各组任选6只大鼠处死,取创面组织并用4%多聚甲醛浸泡固定,石蜡包埋制备4  $\mu$ m组织切片,脱蜡复水并分别进行HE染色与Masson染色,观察创面组织形态变化。

1.2.7 免疫组化检测创面组织VEGF、bFGF表达:将上述创面组织石蜡切片,脱蜡复水后进行抗原修复,然后灭活封闭,加入一抗4℃下反应一夜,清洗后,加入二抗转置37℃下反应1 h, DAB显色处理后,采集图像并用Image软件分析创面组织VEGF、bFGF的平均光密度值。

1.2.8 Western blot检测创面组织MAPK/NF- $\kappa$ B通路相关蛋白表达:给药后第14天各组将剩余6只大鼠处死,取创面组织并制成匀浆与预冷的蛋白裂解液冰上充分反应,离心取上清,提取总蛋白,然后定量,取30  $\mu$ g蛋白沸水浴变性后凝胶电泳分离,再转置PVDF膜上封闭,4℃下将封闭膜与一抗反应一夜,然后转置37℃加入二抗反应1 h, ECL可视化显影后,采集图像并进行灰度分析。

1.3 统计学分析:采用SPSS 25.0软件分析数据,计量资料符合正态分布用平均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,单因素方差分析进行多组间比较,SNK-q检验进行两组间比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 脐带血PRP对糖尿病大鼠创面愈合的影响:给药后第3天,创面皮肤轻微红肿,出现渗出物,开始萌生出幼嫩的肉芽组织;给药后第7天,创面红肿基本消失,被痂壳覆盖,创面面积明显缩小;给药后第14天,除模型组与脐带血PRP+p79350组,其余组创面愈合较好,创面面积显著缩小,其中脐带血PRP组改善最显著;而且给药后第14天,模型组较正常创面组创面愈合率降低( $P < 0.05$ );湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组较模型组创面愈合率升高,其中脐带血PRP组改善最显著( $P < 0.05$ );脐带血PRP+p79350组较脐带血PRP组创面愈合率降低( $P < 0.05$ )。见图1、表1。

2.2 脐带血PRP对糖尿病大鼠血清炎症因子水平的影响:模型组较正常创面组TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平升高( $P < 0.05$ );湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组较模型组TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平降低,其中脐带血PRP组改善最显著( $P < 0.05$ );

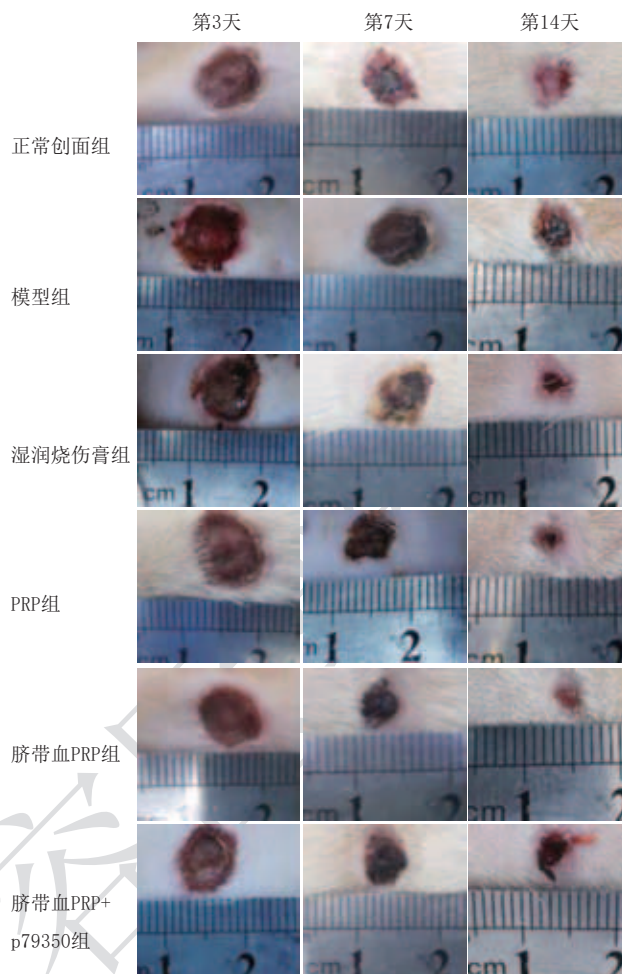


图1 各组大鼠创面愈合情况

表1 各组大鼠创面愈合率比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别                        | 第3天                          | 第7天                          | 第14天                         |
|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 正常创面组 ( $n=12$ )          | 0.19 $\pm$ 0.03              | 0.44 $\pm$ 0.05              | 0.79 $\pm$ 0.09              |
| 模型组 ( $n=12$ )            | 0.16 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> | 0.35 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup> | 0.52 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup> |
| 湿润烧伤膏组 ( $n=12$ )         | 0.17 $\pm$ 0.03              | 0.40 $\pm$ 0.05              | 0.75 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup> |
| PRP组 ( $n=12$ )           | 0.18 $\pm$ 0.03              | 0.42 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup> | 0.80 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup> |
| 脐带血PRP组 ( $n=12$ )        | 0.21 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup> | 0.49 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup> | 0.88 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup> |
| 脐带血PRP+p79350组 ( $n=12$ ) | 0.18 $\pm$ 0.03              | 0.41 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup> | 0.73 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup> |
| F值                        | 3.956                        | 9.556                        | 25.065                       |
| P值                        | <0.001                       | <0.001                       | <0.001                       |

注:<sup>a</sup>表示与正常创面组比较, $P < 0.05$ ;<sup>b</sup>表示与模型组比较, $P < 0.05$ ;

<sup>c</sup>表示与脐带血PRP组比较, $P < 0.05$ 。

脐带血PRP+p79350组较脐带血PRP组TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平升高( $P < 0.05$ )。见表2。

2.3 脐带血PRP对糖尿病大鼠创面组织病理形态的影响:正常创面组创面组织炎细胞浸润逐渐消退,毛细血管数量丰富,管腔内红细胞数量较多;模型组创面组织炎性细胞浸润明显,上皮细胞分化生长不佳,肉芽组织仅有少许胶原纤维,结构完整度较差;湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组创面组织炎性细胞基本消退,毛细血管闭塞减少,肉芽组

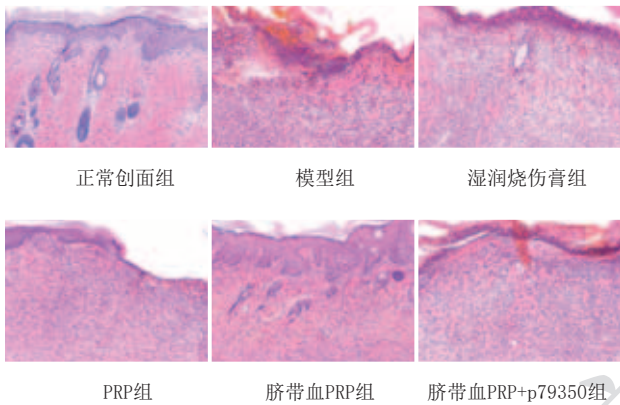


表2 各组大鼠血清炎症因子水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/ml)

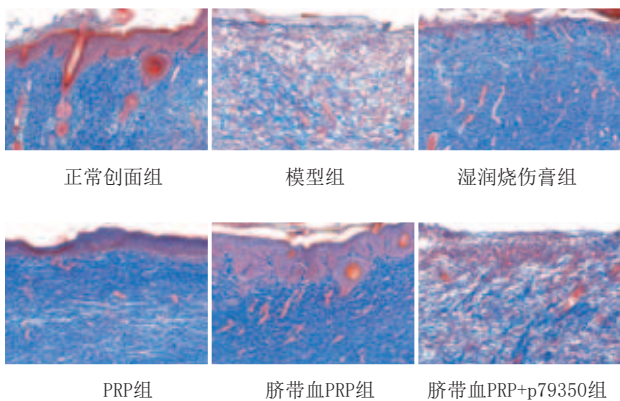
| 组别                    | TNF- $\alpha$                 | IL-6                          | IL-1 $\beta$                  |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 正常创面组 (n=12)          | 31.06 $\pm$ 3.45              | 13.42 $\pm$ 1.50              | 20.58 $\pm$ 2.24              |
| 模型组 (n=12)            | 74.85 $\pm$ 7.69 <sup>a</sup> | 41.76 $\pm$ 4.32 <sup>a</sup> | 63.79 $\pm$ 6.53 <sup>a</sup> |
| 湿润烧伤膏组 (n=12)         | 49.67 $\pm$ 5.13 <sup>b</sup> | 22.54 $\pm$ 2.41 <sup>b</sup> | 34.15 $\pm$ 3.69 <sup>b</sup> |
| PRP组 (n=12)           | 41.08 $\pm$ 4.36 <sup>b</sup> | 19.38 $\pm$ 2.16 <sup>b</sup> | 27.51 $\pm$ 2.87 <sup>b</sup> |
| 脐带血PRP组 (n=12)        | 35.22 $\pm$ 3.71 <sup>b</sup> | 15.62 $\pm$ 1.70 <sup>b</sup> | 23.19 $\pm$ 2.51 <sup>b</sup> |
| 脐带血PRP+p79350组 (n=12) | 43.17 $\pm$ 4.58 <sup>c</sup> | 20.86 $\pm$ 2.25 <sup>c</sup> | 30.47 $\pm$ 3.19 <sup>c</sup> |
| F值                    | 116.003                       | 187.718                       | 206.972                       |
| P值                    | <0.001                        | <0.001                        | <0.001                        |

注: <sup>a</sup>表示与正常创面组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>b</sup>表示与模型组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>c</sup>表示与脐带血PRP组比较,  $P < 0.05$ 。

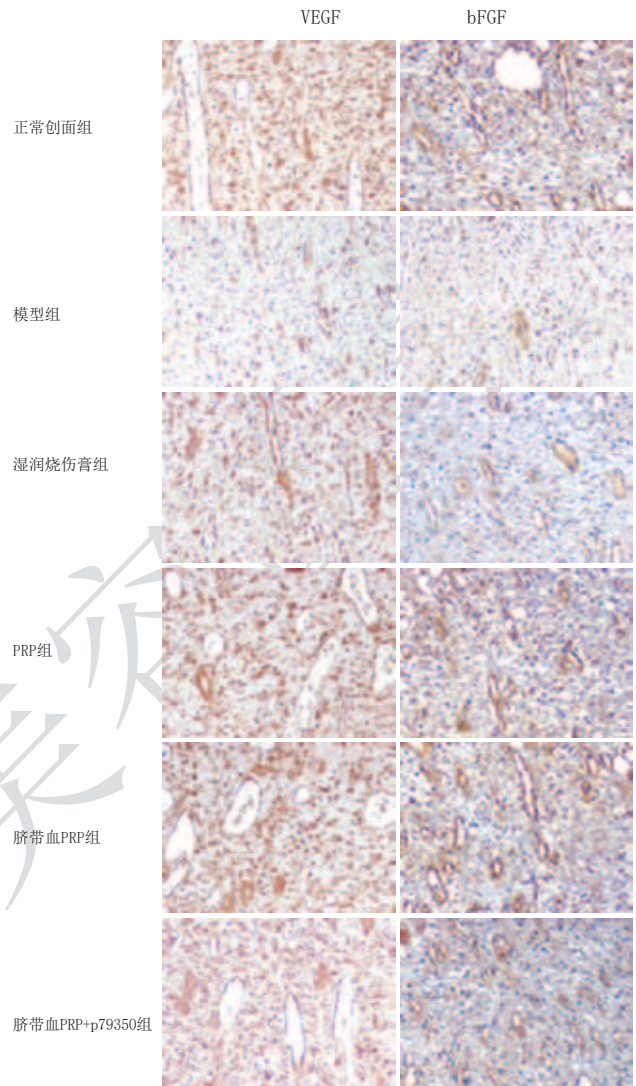
织生长旺盛, 存在大量胶原纤维, 组织结构完整度好; 脐带血PRP+p79350组创面组织结构完整度较差。见图2。

图2 HE染色观察各组创面组织病理形态 (100 $\times$ )

2.4 脐带血PRP对糖尿病大鼠创面组织胶原生成的影响: 正常创面组创面组织可见少量新生胶原纤维, 蓝色着色明显; 模型组创面组织胶原纤维明显断裂, 排列紊乱, 蓝色着色较浅, 胶原生成较少; 湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组创面组织新生胶原纤维粗壮且排列整齐分布均匀, 蓝色着色较深, 大量胶原生成; 脐带血PRP+p79350组新生胶原纤维较少, 蓝色着色较浅。见图3。

图3 Masson染色观察各组创面组织胶原生成情况 (100 $\times$ )

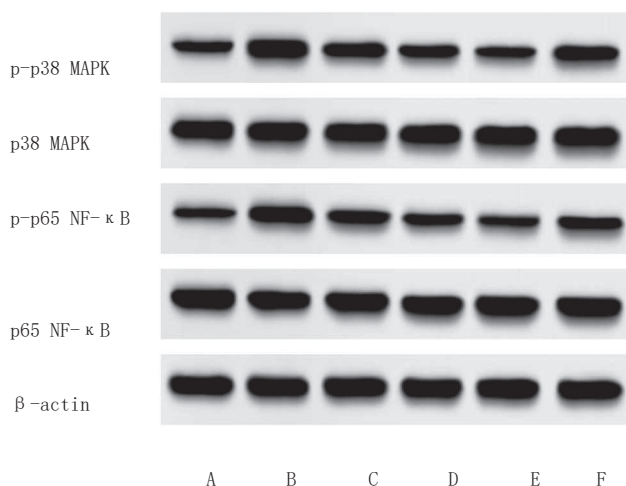
2.5 脐带血PRP对糖尿病大鼠VEGF、bFGF表达的影响: 模型组较正常创面组VEGF、bFGF表达降低 ( $P < 0.05$ ); 湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组较模型组VEGF、bFGF表达升高 ( $P < 0.05$ ); 脐带血PRP+p79350组较脐带血PRP组VEGF、bFGF表达降低 ( $P < 0.05$ )。见图4、表4。

图4 免疫组化检测各组创面组织VEGF、bFGF表达 (200 $\times$ )表4 各组大鼠创面组织VEGF、bFGF平均光密度值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别                   | VEGF                         | bFGF                         |
|----------------------|------------------------------|------------------------------|
| 正常创面组 (n=6)          | 0.63 $\pm$ 0.07              | 0.54 $\pm$ 0.06              |
| 模型组 (n=6)            | 0.25 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> | 0.13 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup> |
| 湿润烧伤膏组 (n=6)         | 0.50 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup> | 0.29 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup> |
| PRP组 (n=6)           | 0.68 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup> | 0.48 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup> |
| 脐带血PRP组 (n=6)        | 0.75 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup> | 0.59 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup> |
| 脐带血PRP+p79350组 (n=6) | 0.61 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup> | 0.35 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup> |
| F值                   | 39.250                       | 68.576                       |
| P值                   | <0.001                       | <0.001                       |

注: <sup>a</sup>表示与正常创面组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>b</sup>表示与模型组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>c</sup>表示与脐带血PRP组比较,  $P < 0.05$ 。

2.6 脐带血PRP对糖尿病大鼠MAPK/NF- $\kappa$ B通路的影响: 模型组较正常创面组p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达升高( $P<0.05$ ); 湿润烧伤膏组、PRP组、脐带血PRP组较模型组p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达降低( $P<0.05$ ); 脐带血PRP+p79350组较脐带血PRP组p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达升高( $P<0.05$ )。见图5、表5。



注: A. 正常创面组; B. 模型组; C. 湿润烧伤膏组; D. PRP组; E. 脐带血PRP组; F. 脐带血PRP+p79350组

图5 Western blot检测p38 MAPK、p-p38 MAPK、p65 NF- $\kappa$ B、p-p65 NF- $\kappa$ B表达

表5 各组大鼠创面组织p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达比较

| 组别                   | NF- $\kappa$ B表达比较           |                                         | (x $\pm$ s) |
|----------------------|------------------------------|-----------------------------------------|-------------|
|                      | p-p38 MAPK/p38 MAPK          | p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B |             |
| 正常创面组 (n=6)          | 0.50 $\pm$ 0.06              | 0.39 $\pm$ 0.05                         |             |
| 模型组 (n=6)            | 1.06 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup> | 0.98 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>            |             |
| 湿润烧伤膏组 (n=6)         | 0.85 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup> | 0.76 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>            |             |
| PRP组 (n=6)           | 0.64 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup> | 0.53 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>            |             |
| 脐带血PRP组 (n=6)        | 0.42 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup> | 0.28 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>            |             |
| 脐带血PRP+p79350组 (n=6) | 0.70 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup> | 0.56 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>            |             |
| F值                   | 49.935                       | 70.537                                  |             |
| P值                   | <0.001                       | <0.001                                  |             |

注: <sup>a</sup>表示与正常创面组比较,  $P<0.05$ ; <sup>b</sup>表示与模型组比较,  $P<0.05$ ;

<sup>c</sup>表示与脐带血PRP组比较,  $P<0.05$ 。

### 3 讨论

本研究通过糖尿病大鼠全层皮肤缺损方法模拟糖尿病慢性难愈性创面, 发现造模大鼠创面周围肿胀、渗出, 存在化脓现象, 而且病理观察发现创面组织结构完整度较差, 胶原纤维明显断裂, 排列紊乱, 炎性细胞浸润明显, 提示糖尿病慢性创面大鼠模型构建成功。糖尿病慢性创面发生与长期高糖及其相关炎症、生长因子失调密切相关。主要是高糖可激活炎症相关通路, 释放大量的促炎因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6等, 促使炎症期延长, 抑制VEGF、

bFGF等生长因子的表达, 限制血管生成和肉芽组织形成, 阻碍组织重塑, 进而延缓糖尿病伤口愈合。本研究发现, 糖尿病慢性创面大鼠体内TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平升高, VEGF、bFGF表达降低。TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 作为参与炎症反应的常见促炎因子, 发现TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平上调可加剧炎症反应, 进而促使小鼠糖尿病溃疡的愈合停滞<sup>[11]</sup>。降低TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平可抑制炎症反应, 加速糖尿病小鼠伤口愈合, 促进肉芽组织再生<sup>[12]</sup>。抑制TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平还可抑制炎症反应和细胞凋亡, 促进糖尿病大鼠皮肤创伤的修复<sup>[13]</sup>。另外生长因子VEGF、bFGF作为糖尿病慢性难愈性创面的保护性因素, 发现较高水平的血清VEGF、bFGF有助于降低糖尿病慢性难愈性伤口的发生率<sup>[14]</sup>。而且降低TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平可抑制炎症, 促进VEGF、bFGF表达, 进而促进血管生成, 促进大鼠糖尿病皮肤溃疡组织的愈合和受损周围神经的再生<sup>[15]</sup>。推测抑制炎症及促进生长因子表达有助于促进糖尿病大鼠创面愈合。

PRP作为自身血液离心得到的富含正常人体3~5倍血小板的血浆, 其可通过抑制炎症和促进血管生成, 在伤口愈合、组织修复和再生过程中发挥重要作用, 进而被广泛应用于各种再生医学领域<sup>[16-17]</sup>。研究显示, PRP可通过降低TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 含量, 升高VEGF表达水平, 缩短创面愈合时间, 减轻大鼠烧伤疼痛<sup>[18]</sup>。还可增加bFGF水平, 加快肛门创伤愈合<sup>[19]</sup>。对于糖尿病相关难治性伤口, PRP也可通过抑制炎症, 升高bFGF水平, 促进血管生成, 减轻T2DM引起的伤口愈合障碍, 对T2DM大鼠溃疡发挥治疗作用<sup>[20-21]</sup>。推测PRP对糖尿病大鼠创面愈合发挥促进作用。而脐带血是胎儿娩出、脐带结扎并离断后残留在胎盘和脐带中的血液, 其中含有造血干细胞可重建人体造血和免疫系统, 而其离心制备的PRP中含有更为丰富的生长因子, 可能对于再生医学领域疾病的治疗和机体的修复具有更好的效果。而且本研究发现, 脐带血PRP不管是抑制炎症、促进生长因子表达及对糖尿病大鼠创面愈合的促进作用均优于PRP, 另外研究还发现脐带血PRP对糖尿病大鼠难愈合皮肤创口修复的效果优于外周血<sup>[7]</sup>。提示脐带血PRP可能成为未来治疗糖尿病慢性创面的重要选择。

MAPK/NF- $\kappa$ B通路作为炎症性相关通路, 在糖尿病伤口愈合进程中发挥重要作用。当机体受到高糖刺激可激活p38 MAPK并发生磷酸化, 激活下游核转录因子NF- $\kappa$ B, 使其发生磷酸化后进入核内, 结合靶基因启动子区域的特定序列, 促进炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6等的表达与释放, 引发一系列的炎症级联反应<sup>[22]</sup>。本研究发现糖尿病慢性创面大鼠体内p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达升高, 脐带血PRP治疗可下调p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-p65 NF- $\kappa$ B/p65 NF- $\kappa$ B表达。另有研究显示, 抑制MAPK/NF- $\kappa$ B通路可促进巨噬细胞从促炎性M1型向抗炎性M2表型的极化, 从而促进伤口处

表皮和血管的再生,加速小鼠皮肤伤口的愈合<sup>[23]</sup>。抑制MAPK/NF- $\kappa$ B通路可抑制TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 炎症因子生成,减少炎症反应,进而促进角质细胞和血管内皮细胞的增殖的迁移,加快小鼠全层伤口修复<sup>[24]</sup>。推测脐带血PRP治疗可通过抑制MAPK/NF- $\kappa$ B通路促进糖尿病大鼠创面愈合。为此进行功能回复实验,发现p79350处理部分逆转脐带血PRP对糖尿病大鼠创面愈合及炎症的改善作用。

综上,脐带血PRP可能抑制炎症,促进糖尿病大鼠创面愈合,与抑制MAPK/NF- $\kappa$ B通路有关。本研究为糖尿病慢性创面治疗提供新的理论参考。

#### [参考文献]

- [1]Swoboda L, Held J. Impaired wound healing in diabetes[J]. J Wound Care, 2022, 31(10):882-885.
- [2]Burgess J L, Wyant W A, Abdo Abujamra B, et al. Diabetic wound-healing science[J]. Medicina (Kaunas), 2021, 57(10):1072.
- [3]Okur M E, Bülbul E Ö, Mutlu G, et al. An updated review for the diabetic wound healing systems[J]. Curr Drug Targets, 2022, 23(4):393-419.
- [4]Kamal R, Awasthi A, Pundir M, et al. Healing the diabetic wound: Unlocking the secrets of genes and pathways[J]. Eur J Pharmacol, 2024, 975:176645.
- [5]Li Shiyang, Yang Ping, Ding Xiaofeng, et al. Puerarin improves diabetic wound healing via regulation of macrophage M2 polarization phenotype[J]. Burns Trauma, 2022, 10:tkac046.
- [6]Verma R, Kumar S, Garg P, et al. Platelet-rich plasma: a comparative and economical therapy for wound healing and tissue regeneration[J]. Cell Tissue Bank, 2023, 24(2):285-306.
- [7]杜为, 张莉, 张凯悦, 等. 脐带血富血小板血浆促进糖尿病大鼠难愈合创口修复作用研究[J]. 药物评价研究, 2021, 44(4):715-720.
- [8]袁忠行, 陈丽, 丁雅容, 等. 解毒生肌膏调控GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -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.
- [9]赖沁, 刘新红, 叶茂, 等. 生肌创愈膏通过p38MAPK信号通路促进大鼠创面愈合的机制[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2024, 38(12):1318-1326.
- [10]李树松, 马滢, 吴晓明, 等. 胸腺素 $\beta$ 4联合水胶体敷料对深II度烧伤大鼠创面愈合及p38丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路的影响[J]. 河北医科大学学报, 2024, 45(7):832-838.
- [11]Xue Tingting, Cha H J, Liu Qingkai, et al. Sirtuin-6 knockout causes exacerbated stalled healing of diabetic ulcers in mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2024, 726:150235.
- [12]Chen Jia, Ma Huikue, Meng Yujia, et al. Analysis of the mechanism underlying diabetic wound healing acceleration by Calycosin-7-glycoside using network pharmacology and molecular docking[J]. Phytomedicine, 2023, 114:154773.
- [13]Fang Chunjuan, Rong Xiaojuan, Jiang Wenwen, et al. Geniposide promotes wound healing of skin ulcers in diabetic rats through PI3K/Akt pathway[J]. Heliyon, 2023, 9(11):e21331.
- [14]Wang Xuanyu, Que Huaifa. Diagnostic significance of serum VEGF, bFGF, and wound tissue EGFR in diabetic chronic refractory wounds[J]. Int J Low Extrem Wounds, 2025, 17:1534734624131010.
- [15]Xing Nan, Yang Jincun, Wang Haitao, et al. Stromal vascular fraction gel promoted wound healing and peripheral nerve repair in diabetic rats via TLRs/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. J Biomater Appl, 2023, 38(1):146-156.
- [16]Everts P, Onishi K, Jayaram P, et al. Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(20):7794.
- [17]Everts P A, Lana J F, Alexander R W, et al. Profound properties of protein-rich, platelet-rich plasma matrices as novel, multi-purpose biological platforms in tissue repair, regeneration, and wound healing[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(14):7914.
- [18]Ren Zhaoqi, Du Bin, Dong Haijiao, et al. Autologous platelet-rich plasma repairs burn wound and reduces burn pain in rats[J]. J Burn Care Res, 2022, 43(1):263-268.
- [19]Sujana R S, Sulmiati, Mariana N, et al. The effect of stromal vascular fraction and platelet-rich plasma combination on basic fibroblast growth factor serum level during anal trauma healing in a wistar rat model[J]. Ann Med Surg (Lond), 2022, 76:103375.
- [20]Zhou Danlian, Liang Qiu, Ge Xiuyu, et al. Allogeneic platelet-rich plasma inhibits ferroptosis in promoting wound repair of type 2 diabetic ulcers[J]. Free Radic Biol Med, 2024, 215:37-47.
- [21]赵景峰, 虞晓晔, 李涛, 等. PRP联合VSD对糖尿病足溃疡创面皮片移植患者创面愈合及bFGF和TGF- $\beta$ 水平的影响[J]. 中国美容医学, 2025, 34(6):39-43.
- [22]Wang Yanying, Zhu Jiayan, Chen Jing, et al. The signaling pathways induced by exosomes in promoting diabetic wound healing: a mini-review[J]. Curr Issues Mol Biol, 2022, 44(10):4960-4976.
- [23]Feng Guizhu, Zhou Xiaoyan, Fang Xiaojie, et al. A non-bactericidal glycine-rich peptide enhances cutaneous wound healing in mice via the activation of the TLR4/MAPK/NF- $\kappa$ B pathway[J]. Biochem Pharmacol, 2025, 236:116912.
- [24]Zhou Xiaoyan, Shen Huan, Wu Shuxin, et al. An amphibian-derived cathelicidin accelerates cutaneous wound healing through its main regulatory effect on phagocytes[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 129:111595.

[收稿日期]2025-09-24

本文引用格式: 陶茂锦, 李强, 程洋, 等. 基于MAPK/NF- $\kappa$ B通路探讨脐带血富血小板血浆对糖尿病大鼠创面愈合及炎症的影响[J]. 中国美容医学, 2026, 35(7):1-6.