复黄生肌愈创油调控角质形成细胞 Wnt/β-Catenin 信号通路促进糖尿病溃疡小鼠上皮化愈合

袁思敏[1]，屈可伸[1,2]*
（1. 陕西中医药大学第二临床医学院，陕西咸阳 712046；2. 陕西中医药大学第二附属医院皮肤科，陕西咸阳 712000）

摘要：目的 探讨复黄生肌愈创油对糖尿病溃疡的疗效，以及其促进糖尿病溃疡创面上皮化愈合的作用机制。**方法** 选取36只db/db小鼠，联合外科手术切除皮肤全层的方式构建糖尿病溃疡动物模型。造模成功后，分为模型组、复黄油组以及生长因子组，每组12只，db/m对照小鼠12只。每组均治疗14 d。观察各组小鼠创面一般变化，记录创面愈合率；苏木精-伊红染色检测创面组织病理及炎症反应；免疫组化法检测血管新生标志物CD34表达；EdU法检测创面细胞增殖情况；免疫荧光法检测上皮化标志物Cytokeratin14并分别与β-Catenin、GSK-3β进行共定位；定量聚合酶链反应、免疫印迹法检测组织中Wnt/β-Catenin信号通路的表达。**结果** 与正常组比较，模型组在D3、7、14及21的创面愈合率明显降低（$P<0.01$），愈合时间明显延长（$P<0.01$）；与模型组比较，复黄油组、生长因子组分别在用药后D3、7、14及21创面愈合率明显增高（$P<0.05$），愈合时间明显缩短（$P<0.01$）。与模型组比较，复黄油组、生长因子组创面组织中CD34表达明显增多（$P<0.05$）；复黄油组与生长因子组之间无统计学差异（$P>0.05$）。与模型组比较，复黄油组、生长因子组Cytokeratin14表达明显增高（$P<0.05$）。与模型组比较，复黄油组、生长因子组小鼠创面中β-Catenin、C-myc、CyclinD1蛋白和mRNA表达明显升高（$P<0.05$），GSK-3β蛋白和mRNA表达明显降低（$P<0.05$）。**结论** 外用复黄生肌愈创油能通过调控角质形成细胞的Wnt/β-Catenin信号通路促进糖尿病溃疡小鼠上皮化愈合。

关键词：糖尿病溃疡；复黄生肌愈创油；Wnt/β-Catenin信号通路
中图分类号：R-33；R587.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188(2026)03-0262-011
引用：袁思敏, 屈可伸. 复黄生肌愈创油调控角质形成细胞Wnt/β-Catenin信号通路促进糖尿病溃疡小鼠上皮化愈合[J]. 世界临床药物, 2026, 47(3): 262-272. DOI：10.13683/j.wph.2026.03.006

Fuhuang Shengji Yu Ointment regulates the Wnt/β-Catenin signaling pathway of keratinocytes to promote epithelialized healing in mice with diabetic ulcers

YUAN Simin[1], QU Keshen[1,2]*
（*1. The Second Clinical Medical College, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi Province, China; 2. Department of Dermatology, The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China*）

Abstract: ***Objective*** To explore the therapeutic effect of Fuhuang Shengji Yu Ointment on diabetic ulcers, as well as the mechanism by which it promotes the epithelialization healing of diabetic ulcer wounds. ***Methods*** A total of 36 db/db mice were selected to establish diabetic ulcer animal model by surgical removal of full-thickness skin. After the model was successfully established, the mice were divided into the model group, the Fuhuang Ointment group, and the growth factor group, with 12 mice in each group, and 12 db/m control mice. Observe the general changes of the wound surfaces in each group of mice, record the wound healing rate; perform hematoxylin-eosin staining to detect the histopathology and inflammatory response of the wound tissues; use immunohistochemistry to detect the expression of vascular

收稿日期：2025-06-06
作者简介：袁思敏，住院医师，研究方向：皮肤病的基础及临床应用研究。
通信作者：屈可伸，硕士研究生导师，研究方向：中医药促创面修复临床应用研究。
基金项目：国家自然科学基金项目(8220152371)

proliferation marker CD34. Use EdU method to detect the cell proliferation status of the wound; use immunofluorescence to detect the epithelialization marker Cytokeratin14 and perform co-localization with β-Catenin and GSK-3β. conduct quantitative polymerase chain reaction and immunoblotting to detect the expression of the Wnt/β-Catenin signaling pathway in the tissues. Compared with the normal group, the wound healing rate of the model group was significantly lower at D3, D7, D14 and D21 ($P<0.01$), and the healing time was significantly longer ($P<0.01$). compared with the model group, the Fuhuang Ointment group and the growth factor group showed significantly higher wound healing rates at D3, D7, D14 and D21 after medication ($P<0.05$), and significantly shorter healing time ($P<0.01$). Compared with the model group, the expression of CD34 in the wound tissues of the Fuhuang Ointment group and the growth factor group was significantly increased ($P<0.05$). there was no statistical difference between theFuhuang Ointment group and the growth factor group ($P>0.05$). Compared with the model group, the expression of Cytokeratin 14 in the Fuhuang Ointment group and the growth factor group was significantly increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the expressions of β-Catenin, C-myc, CyclinD1 proteins and mRNAs in the wound areas of mice in the Fuhuang Ointment group and the growth factor group were significantly increased ($P<0.05$), while the expressions of GSK-3β protein and mRNA were significantly decreased ($P<0.05$). ***Conclusion*** The topical compound Fuhuang Shengji Yu Ointment can promote the epithelialization and healing of diabetic ulcers in mice by regulating the Wnt/β-Catenin signaling pathway of keratinocytes.

Key words: diabetic ulcer; Fuhuang Shengji Yu Ointment; Wnt/β-Catenin signaling pathway

糖尿病溃疡是糖尿病患者常见的、严重的并发症之一。据统计，全球约有 34% 的糖尿病患者会出现足部溃疡，其中约 20% 患者需截肢，且 5 年内病死率高达 50% ～ 70%[1-2]。长期高血糖环境导致周围神经病变，局部皮肤感觉丧失，增加损伤概率。创面血管生成受阻、持续炎症反应、高活性氧水平和细菌感染等因素，使自然愈合障碍，逐渐发展为慢性、难愈的皮肤全层溃疡[3-4]。再上皮化进程的启动是创面愈合中“肌平皮长”阶段的关键环节，表皮细胞在该阶段被大量与增殖、生长相关的蛋白激活，快速覆盖裸露的皮肤和黏膜以重建上皮屏障，而再上皮化进程障碍和缺失是糖尿病溃疡难以愈合的主因[5-6]。创面持续的高血糖环境会显著抑制 Wnt/β-Catenin 信号通路的活性，促使创周细胞增殖、迁移能力受损，炎症反应失调，血管生成障碍，最终导致伤口上皮化愈合障碍[7-8]。因此，恢复 Wnt/β-Catenin 信号通路的正常活性可能成为治疗糖尿病溃疡的潜在策略。本研究通过自发型糖尿病小鼠联合外科手术建立糖尿病溃疡模型探讨复黄生肌愈创油治疗作用，并进一步证实该传统中药制剂可通过调节角质形成细胞 Wnt/β-Catenin 信号通路活化促进糖尿病溃疡的长皮化愈合。

1 材料与方法

1.1 材料

6 周龄 SPF 级 db/db 小鼠 36 只，体质量 40 ～ 60 g，db/m 对照小鼠 12 只，体质量 20 ～ 30 g，均购买自集萃药康生物有限公司，合格证号：511214900021889，生产许可证：SCXK（川）2020-0034，使用许可证：SYXK（陕）2021-001。本研究涉及的动物试验操作均在陕西中医药大学动物试验中心进行，维持饲料喂养，相对湿度 60%，温度 22 ℃，每日 12 h 光照。经过陕西中医药大学伦理协会审核批准（SUCMDL20220304021），且整个过程符合动物伦理条例。

复黄生肌愈创油：准确称取蛋黄 500 g、制大黄 150 g、血竭 75 g、珍珠粉 9 g、紫草 100 g、龙骨 75 g。先将大黄、紫草及龙骨用 1 000 mL 麻油浸没 3 d，文火榨枯，冷却至 60 ℃，过滤后四层纱

布过滤去渣后收集滤液。将血竭 75 g 放入少量麻油 500 mL，加热熔融趁热四层纱布过滤去渣，收滤液。另取蛋黄 500 g 碾碎后置 60 ℃，烘箱 1 ～ 2 h 去除水分，将蛋黄用微火熬至微枯，出油为止，纱布滤过收集滤液。全部合并称取体积。待冷却至 20 ℃后加入 1 000 mL 0.3% 氢氧化钙，电动搅拌机边搅拌边加入珍珠粉。该中药制剂已经过质量控制。

阳性对照药：重组人表皮生长因子 10 mL/ 含 5 万 IU，10066340140416，上海昊海生物科技股份有限公司。

5- 乙炔基 -2'- 脱氧尿苷（5-Ethynyl-2'-deoxyuridine，EdU）（C0071S）购自碧云天；辣根过氧化物酶 - 羊抗兔免疫球蛋白 G（BA1054），Anti-β-Actin Antibody（BM3873），Anti- 糖原合成酶激酶（glycogen synthase kinase，GSK）3β Antibody（BM3904），Anti-CTNNB1 Antibody（BA0426），Anti-C-MYC/MYC Antibody（MA00026），Anti-CCND1 Antibody（BM4272）均购自武汉博士德；小动物麻醉机（Matrx VMR）购自 MIDUARK；电转仪（DYCZ-40G）购自北京六一生物科技有限公司；电泳仪（BIO RAD POWER PAC 3000）、多功能化学发光成像系统（ChemiScope6000 Pro）均购自 BIO-RAD；梯度聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）仪（Veriti DX）购自 ThermoFisher。

1.2 方法

1.2.1 分组

36 只 db/db 小鼠按随机化方法分为模型组、复黄油组及生长因子组，每组 12 只。12 只 db/m 小鼠为正常组。

1.2.2 糖尿病溃疡小鼠模型建立

所有 db/db 小鼠适应性喂养 1 周。具体操作为：固定小鼠并用温水浸泡尾部扩张血管，从尾尖取约 20 ～ 30 μL 血液，通过血糖仪检测小鼠随机血糖，若血糖≥ 16.7 mmol/L，视为糖尿病小鼠模型。手术当天禁食，使用脱毛膏于小鼠背部脱毛。无菌条件下，在小鼠脊柱两侧用直径 6 mm 打孔器制作创面，每只小鼠背部 4 个孔。造模次日，切除创面进行病理组织切片，造模后 D3、7、14 及 21 记录创面，并计算创面愈合率。切片提示小鼠皮肤全层缺损，且各时间点所有 db/db 小鼠创面愈合率均小于正常组，视为糖尿病溃疡模型造模成功。

1.2.2 给药

造模后次日开始给药，各组给药前均外用生理盐水冲洗，复黄油组予以复黄生肌愈创油外用，浓度 1.17 g/mL，一日 1 次；生长因子组予以重组人表皮生长因子外用，浓度 5 000 IU/mL，给药量均为 0.1 mL/cm^2，一日 1 次。

1.2.3 创面取材

造模给药后 D14，腹腔注射水合氯醛对各组小鼠进行麻醉，用直径 8 mm 打孔器背部取下完整的创面组织。将取下的创面组织四等分。带有正常组织的一份放入含有焦碳酸二乙酯的 4% 多聚甲醛组织固定液中，固定至少 24 h，以便进行后续试验。剩余组织块在称重后被放入冻存管中，保存在 −80 ℃冰箱中，以备后续试验使用。

1.3 检测指标

1.3.1 创面愈合率

每组小鼠观察创面一般情况，分别在给药 D3、7、14 及 21 拍照记录创面以及用药起到创面再上皮化愈合所需时间。使用 Image J 软件评估创面大小，计算创面愈合率。$R_{愈合}=(A_{原始}-A_{现有})/A_{原始}\times 100\%$，$R_{愈合}$为创面愈合率，$A_{原始}$为原始创面面积，$A_{现有}$为现有创面面积。

1.3.2 苏木精 - 伊红（hematoxylin eosin，HE）染色

将各组组织切片放入二甲苯中，进行脱蜡至水，用 HE 进行染色，观察细胞核、细胞质、胶原纤维、炎症细胞浸润和局部血管变化。

1.3.3 EdU 细胞增殖检测

将各组组织切片放入干燥箱中烤片，后通过二甲苯脱蜡，乙醇复水，抗原修复等步骤，观察创面

细胞增殖情况，计算创面阳性增殖细胞数。$R_{愈合}=n_p/n_{tot}\times100\%$，$R_{愈合}$为 EdU 阳性细胞率，$n_p$ 为 EdU 阳性细胞数，n_{tot} 为总细胞数。

1.3.4 免疫组化

图像经标准化获取与定标后，导入 Image J 软件分析。依次使用“analyze”和“calibrate”功能，将灰度值转为光密度值（optical density，OD）。通过“set measurements”设置阳性区域自动识别，并调整阈值以减少误判，确认参数后进行分析。可选择全图或局部区域，测量阳性面积和 OD 值，计算平均 OD（average OD，AOD）。每图分析至少 3 个视野，取平均值用于统计。观察创面新生血管情况。

1.3.5 免疫荧光双定位

给足组织切片采用双重免疫荧光染色，Cytokeratin14 呈绿色荧光，β-Catenin 和 GSK-3β 呈红色荧光。利用 Image J 软件对荧光图像进行分析，测量 Cytokeratin14、β-Catenin、GSK-3β 的平均荧光强度（mean fluorescence intensity，MFI），以评估创面角质形成细胞的迁移活性。

1.3.6 免疫印迹法（western blotting，WB）

WB 检测 β-Catenin、C-myc、CyclinD1、GSK-3β 蛋白的表达。将皮肤组织剪碎研磨清洗；通过组织裂解以释放细胞内的蛋白质；离心提取上层蛋白清液；用 BCA 法对蛋白浓度进行定量，加入上样缓冲液；蛋白质在沸水中变性；按照不同蛋白需要配制 10%、8% 的十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳凝胶；上样、电泳、转膜以及封闭；孵育一抗、二抗；加入增强化学发光液于成像系统曝光，Image J 图像分析系统对条带灰度值进行分析。

1.3.7 定量聚合酶链反应（quantitative polymerase chain reaction，qPCR）

qPCR 法检测 β-Catenin、C-myc、CyclinD1 以及 GSK-3β mRNA 的表达。按 Trizol 法提取总 RNA，以总 RNA 1 μL 为模版，逆转录为 cDNA，以 cDNA 为模版继续扩增，依次为 25 ℃（5 min）、42 ℃（60 min）、70 ℃（5 min）。以 β-actin 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 β-Catenin mRNA、C-myc mRNA、CyclinD1 mRNA 以及 GSK-3β mRNA 表达水平。参考 Gene Bank 数据库中的目的基因序列，使用 NCBI Primer-blast 设计引物。具体引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primers sequence

引物		序列（5'，-3'）	长度/bp
β-actin	上游	GCCCTGAGGCTCTTTTCCAG	51
	下游	TGCCACAGGATTCCATACCC	
C-myc	上游	TCAGACACGGAGGAAAACGA	63
	下游	GTTCCTCCTCTGACGTTCCA	
CyclinD1	上游	CCTGGAGCCCTTGAAGAAGA	67
	下游	CTTAGAGGCCACGAACATGC	
β-Catenin	上游	CCCTGAGACGCTAGATGAGG	175
	下游	TGTCAGCTCAGGAATTGCAC	
GSK-3β	上游	GTCTGCTGGAGTACACACCT	81
	下游	GGTCCCGCAATTCATCGAAA	

1.4 统计学分析

运用 Graphpad Prism 软件进行绘图及统计学分析，多组计量资料如服从正态分布且方差齐，组内比较采用 t 检验。多组间比较采用 One-way ANOVA 分析，进一步两两比较采用 LSD-t 检验。数据采用（$\bar{x}\pm s$）表示，$P<0.05$ 为统计学有意义。

2 结果

2.1 创面愈合率、愈合时间的影响

与正常组比较，模型组在 D3、7、14 及 21 的创面愈合率明显降低（$P<0.01$），愈合时间明显延长（$P<0.01$）；与模型组比较，复黄油组、生长因子组分别在用药后的 D3、7、14 及 21 创面愈合率明显增高（$P<0.05$），愈合时间明显缩短（$P<0.01$）。见表 2、3。

2.2 创面组织病理学

用药后 D14，正常组愈合良好，表皮完整覆盖创面；模型组表皮缺失，可见少量的毛细血管及纤

表 2 各组小鼠创面愈合率比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 2 Comparison of wound healing rate in each group of mice（$\bar{x}\pm s$）

组别	D0	D3	D7	D14
正常组（n=12）	0.50±0.04	0.85±0.01	0.91±0.02	0.98±0.00
模型组（n=12）	0.04±0.01**	0.18±0.05**	0.47±0.05**	0.92±0.00*
复黄油组（n=12）	0.25±0.01**▲▲	0.40±0.04**▲▲	0.72±0.09*▲	0.96±0.16*▲
生长因子组（n=12）	0.37±0.08**▲▲	0.45±0.03**▲▲	0.73±0.06*▲	0.98±0.01▲
F值	152.847	186.521	113.074	98.714
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与正常组比较，*P＜0.05，**P＜0.01；与模型组比较，▲P＜0.05，▲▲P＜0.01。

Note: vs. the normal group, *P＜0.05, **P＜0.01; vs. the model group, ▲P＜0.05, ▲▲P＜0.01.

表 3 各组小鼠创面愈合天数比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 3 Comparison of wound healing days in each group of mice（$\bar{x}\pm s$）

组别	愈合天数/d
正常组（n=12）	16.00±1.89
模型组（n=12）	20.00±1.36**
复黄油组（n=12）	18.00±2.01▲▲
生长因子组（n=12）	18.00±1.56▲▲
F值	12.534
P值	＜0.001

注：与正常组比较，*P＜0.05，**P＜0.01；与模型组比较，▲P＜0.05，▲▲P＜0.01。

Note: vs. the normal group, *P＜0.05, **P＜0.01; vs. the model group, ▲P＜0.05, ▲▲P＜0.01.

表 4 各组小鼠创面组织细胞增殖比较（$\bar{x}\pm s$，单位：%）

Table 4 CComparison of cell proliferation in wound tissues of mice in each group（$\bar{x}\pm s$, unit: %）

组别	阳性细胞比例
正常组（n=12）	38.20±4.21
模型组（n=12）	15.80±3.62**
复黄油组（n=12）	31.50±3.60▲▲
生长因子组（n=12）	33.50±2.15▲▲
F值	25.471
P值	＜0.001

注：与正常组比较，*P＜0.05，**P＜0.01；与模型组比较，▲P＜0.05，▲▲P＜0.01。

Note: vs. the normal group, *P＜0.05, **P＜0.01; vs. the model group, ▲P＜0.05, ▲▲P＜0.01.

维母细胞分布，少量炎细胞浸润；复黄油组和生长因子组中明显可见新生表皮覆盖，肉芽组织、纤维母细胞活跃，毛细血管丰富，见图 1。

2.3 创面组织细胞增殖情况

用药后 D14，与模型组相比，复黄油组、生长因子组创面组织中阳性细胞计数明显增高（P＜0.01），复黄油组与生长因子组间比较无明显差异（P＞0.05），见图 2、表 4。

2.4 创面血管新生情况

用药后 D14，对比正常组，模型组创面组织中 CD34 表达明显减少（P＜0.05）；与模型组比较，复黄油组、生长因子组创面组织中 CD34 表达明显增多（P＜0.05）；复黄油组与生长因子组比较，无统计学差异（P＞0.05），见图 3、表 5。

2.5 各组小鼠上皮迁移情况

用药后 D14，Cytokeratin14 主要定位在表皮层和真皮附属器，GSK-3β 和 β-Catenin 定位在创面的表皮层和部分真皮层。

与正常组比较，模型组创面组织中 Cytokeratin14 表达显著减少（P＜0.01）；与模型组比较，复黄油组、生长因子组 Cytokeratin14 表达明显增高（P＜0.05），提示外用复黄生肌愈创油能明显促进糖尿病溃疡小鼠创面的上皮迁移，图 4、5，表 6。

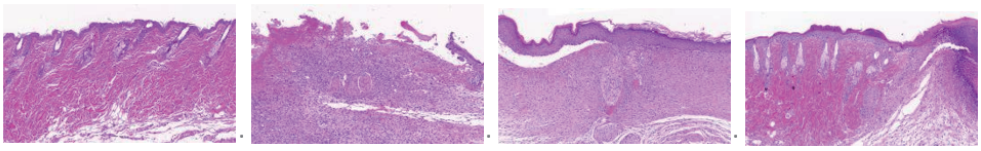


图 1　用药后 D14 各组小鼠创面 HE 染色（×10）
Figure 1　HE staining of wounds of mice in each group at D14 after treatment（×10）

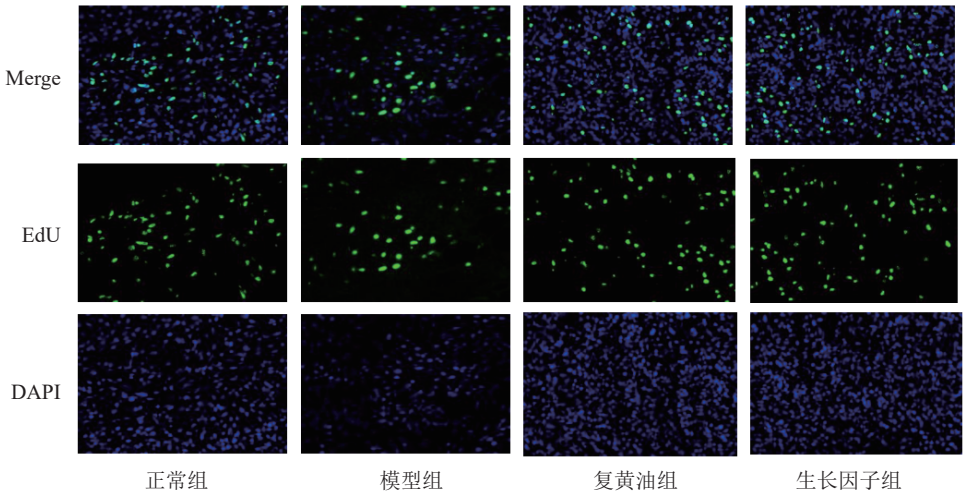


图 2　EdU 法检测各组小鼠创面细胞增殖情况（×40）
Figure 2　EdU method was used to detect cell proliferation in the wounds of mice in each group（×40）

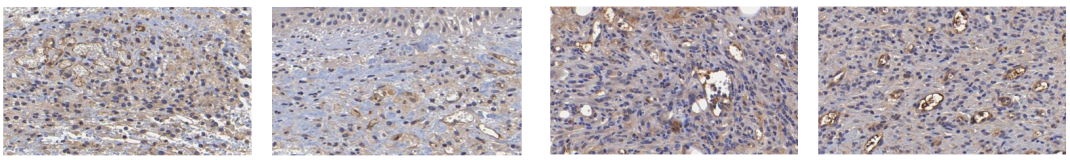


图 3　各组小鼠创面 CD34 表达情况（×40）
Figure 3　CD34 expression in wound of mice in each group（×40）

2.6　各组小鼠创面 Wnt/β-Catenin 信号通路的影响

对比正常组，模型组、复黄油组、生长因子组小鼠创面中 β-Catenin、C-myc、CyclinD1 蛋白和 mRNA 表达水平明显降低（$P < 0.05$），GSK-3β 蛋白和 mRNA 表达水平明显升高（$P < 0.05$）；对比模型组，复黄油组、生长因子组小鼠创面中 β-Catenin、C-myc、CyclinD1 蛋白和 mRNA 表达水平明显升高（$P < 0.05$），GSK-3β 蛋白和 mRNA 表达水平明显降低（$P < 0.05$）。见图 6，表 7、8。

3　讨论

糖尿病溃疡作为糖尿病严重的并发症之一[9]。同时，该病的治疗作为世界性难题，亟需要出现新

表 5 各组小鼠创面组织 CD34 AOD 值比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 5 Comparison of CD34 AOD values in wound tissues of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	AOD值
正常组（n=12）	0.51±0.15
模型组（n=12）	0.23±0.05*
复黄油组（n=12）	0.47±0.09▲
生长因子组（n=12）	0.49±0.11▲
F值	8.974
P值	0.003

注：与正常组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，▲P<0.05，▲▲P<0.01。

Note: vs. the normal group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, ▲P<0.05, ▲▲P<0.01.

表 6 各组小鼠创面组织 Cytokeratin14 平均荧光强度比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 6 Comparison of the average fluorescence intensity of Cytokeratin14 in wound tissues of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	平均荧光强度
正常组（n=12）	45.30±1.20
模型组（n=12）	28.20±2.40**
复黄油组（n=12）	39.80±3.50▲▲
生长因子组（n=12）	40.20±2.20▲▲
F值	31.056
P值	<0.001

注：与正常组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，▲P<0.05，▲▲P<0.01。

Note: vs. the normal group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, ▲P<0.05, ▲▲P<0.01.

的突破。《医学源流论》有言道：“外科之法，最重外治”[10]。“煨脓长肉法”是中医外科治疗疮疡的特色疗法。其强调慢性溃疡应外敷中草药膏以抵抗外邪侵袭、增强防御能力以促进创面愈合。“顾氏外科”基于“煨脓长肉法”提出“煨脓长肉湿润法”治疗糖尿病溃疡，认为慢性创面修复需在湿润环境中，“津液”不足时，则皮毛、肌肉失其濡润，溃

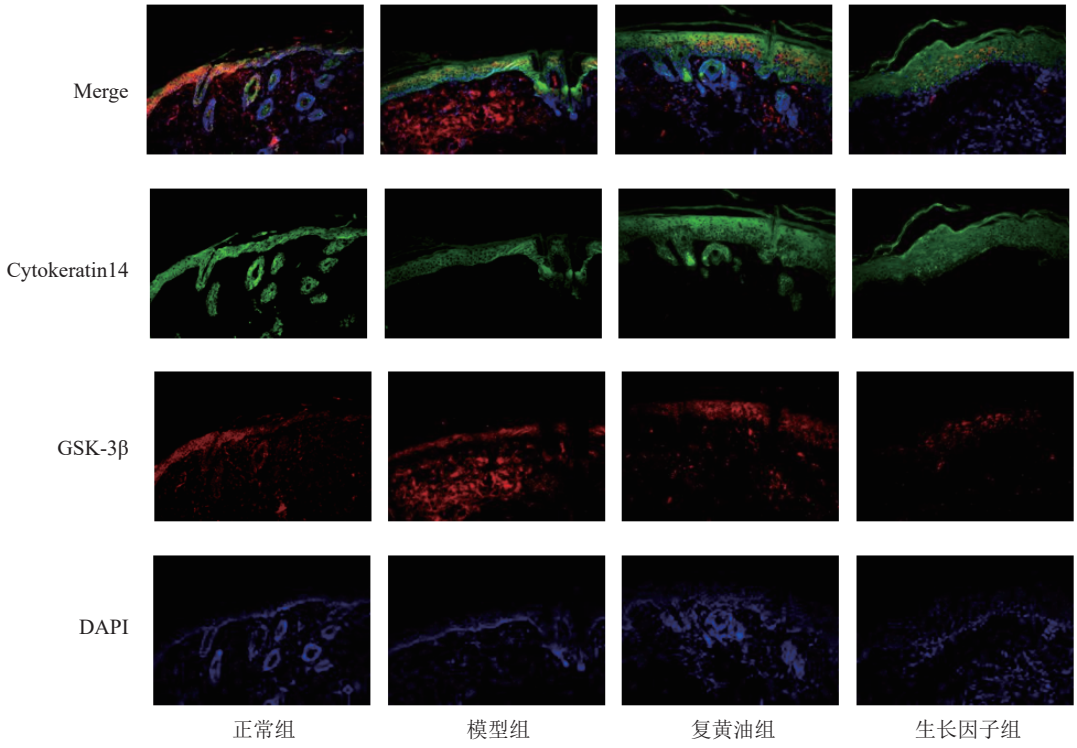


图 4 各组小鼠创面 Cytokeratin14、GSK-3β 情况（×40）

Figure 4 Cytokeratin14 and GSK-3β in the wounds of mice in each group（×40）

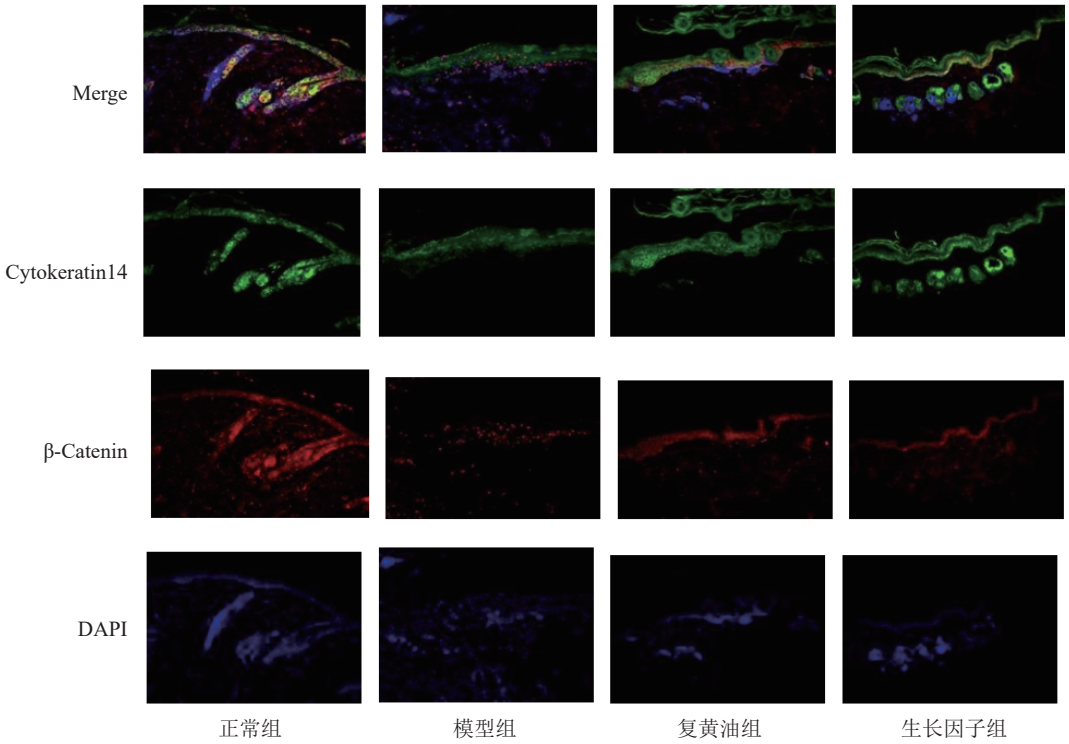


图 5　各组小鼠创面 Cytokeratin14、β-Catenin 情况（×40）
Figure 5　Cytokeratin14 and β-Catenin in the wounds of mice in each group（×40）

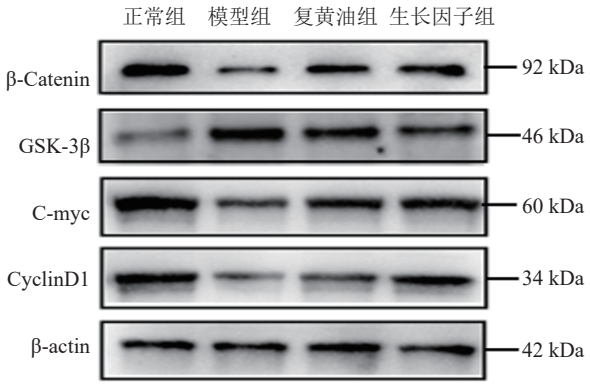


图 6　各组小鼠蛋白表达水平比较
Figure 6　Comparison of protein expression levels in each group of mice

疡难以愈合。“煨脓长肉湿润法”能通过药疮交互作用，促进创面对药物的充分吸收，使局部气血通畅，脓液渗出增多，载邪外出，同时保持创面湿润，主动创造一个适宜修复愈合的微环境[11]。现代研究[12]表明创面愈合湿润疗法极大利于肉芽组织生长与血管新生。因此，该理论的提出与现代医学提出的“湿润疗法”理念虽不谋而合，但仍不尽相同。复黄生肌愈创油正是在“煨脓长肉湿润法”的治疗原则指导下研制而成，方中君药大黄，发挥活血、补虚、生肌的作用；血竭为散瘀血、生新血之要药，用于“一切恶疮疥癣久不合者”；紫草凉血活血，两者合用助大黄祛瘀止痛之效；珍珠粉助蛋黄油生肌、长皮、收口，佐以龙骨敛疮生肌，利用麻油配伍鸡子黄油作为药物基质和赋形剂，具有生肌润肤之功效，不仅能油萃出上述中药的有效成分，还对创面刺激小且渗透性强。此外，中药油萃剂可在创面形成保护膜，保持创面湿润，抑制细菌繁殖，缓解疼痛。诸药合用，祛瘀与补虚相结合，通过药疮交互促进中药有效活性成分经透皮吸收直达创面，

表 7 各组小鼠创面 Wnt/β-Catenin 信号通路相关蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 7 Comparison of the expression levels of proteins related to the Wnt/β-Catenin signaling pathway in the wounds of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	β-Catenin	GSK-3β	C-myc	CyclinD1
正常组（n=12）	1.00	1.00	1.00	1.00
模型组（n=12）	0.41±0.01**	1.79±0.06**	0.52±0.01**	0.51±0.07**
复黄油组（n=12）	0.75±0.05**▲▲	1.59±0.01**▲	0.76±0.04*▲	0.73±0.02*▲
生长因子组（n=12）	0.78±0.06*▲▲	1.25±0.06*▲	0.81±0.05*▲	0.87±0.05*▲
F值	8.216	7.354	6.431	7.448
P值	0.006	0.009	0.013	0.008

注：与正常组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，▲P<0.05，▲▲P<0.01。

Note: vs. the normal group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, ▲P<0.05, ▲▲P<0.01.

表 8 各组小鼠创面 Wnt/β-Catenin 信号通路相关 mRNA 表达水平比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 8 Comparison of mRNA expression levels related to the Wnt/β-Catenin signaling pathway in wound surfaces of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	β-Catenin	GSK-3β	C-myc	CyclinD1
正常组（n=12）	1.75±0.05	3.29±0.05	6.52±0.09	6.88±0.01
模型组（n=12）	0.96±0.25**	5.31±0.08**	5.89±0.37**	6.05±0.36*
复黄油组（n=12）	1.50±0.03*▲▲	4.19±0.02*▲	6.20±0.08*▲	6.33±0.16*▲
生长因子组（n=12）	1.61±0.03*▲▲	3.83±0.09*	6.29±0.07*▲	6.53±0.59*▲
F值	5.482	8.268	3.662	4.599
P值	0.018	0.006	0.049	0.029

注：与正常组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，▲P<0.05，▲▲P<0.01。

Note: vs. the normal group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, ▲P<0.05, ▲▲P<0.01.

并提供有利于愈合的湿润微环境，以刺激肉芽组织及皮岛组织生长。

糖尿病溃疡的难愈因素与血管新生障碍、肉芽组织生成不良、再上皮化延迟有关。CD34 是血管内皮细胞的标志物之一，当机体发生创伤后，CD34 表达阳性的内皮祖细胞可分化为内皮细胞，参与新生血管的形成[13-14]。皮肤组织再生修复离不开新生血管提供的营养物质与氧气，若血管新生不足则会引起创面持续缺氧，加重严重反应[15]。EdU 是一种胸腺嘧啶核苷类似物，能在细胞增殖过程中替代胸腺嘧啶掺入到新合成的 DNA 中[16]。通过 EdU 检测糖尿病溃疡创面组织，可直观地了解细胞的增殖情况，监测创面愈合的状态判断疗效。Cytokeratin14 是上皮迁移的特异性标志物之一，主要表达在基底细胞层的角质形成细胞中[17]。糖尿病溃疡患者皮肤组织中 Cytokeratin14 受到高血糖的影响表达异常，导致皮肤细胞骨架结构受损，皮肤屏障功能减弱，易受到细菌侵袭，加重溃疡程度[18]。本研究结果显示，模型组小鼠溃疡创面愈合率、愈合时间较对照组明显减慢；D14 后证实，模型组小鼠创面炎症反应、新生血管、细胞增殖和上皮化迁移程度均较正常组明显减少，证明糖尿病溃疡模型造模成功。通过外用复黄生肌愈创油干预后，创面愈合率、愈合时间、局部炎症情况、新生血管、细胞增殖以及上皮化迁移程度较模型组均得到明显改善。提示复黄生肌愈创油可加速糖尿病溃疡的愈合，且对创面修复增生期的效果更显著。

Wnt 信号通路具有促进创面血管新生及上皮重

塑等多方面的功能，与创面愈合密切相关[19]。当该信号通路被激活时，能显著促进角质形成细胞、成纤维细胞、表皮干细胞以及内皮细胞等多种创面关键细胞的增殖、分化和迁移，促进肉芽增殖、血管新生以及上皮化愈合进程，从而促进创口闭合[20]。Wnt/β-Catenin 信号通路在正常情况下处于关闭状态，创面上皮化愈合进程被启动，Wnt 蛋白与其受体结合，造成 GSK-3β 活性降低，使 β-Catenin 无法被磷酸化降解，大量累积到胞质内，当达到一定浓度后进入细胞核内，与转录活化因子结合，启动下游靶基因 *C-myc*、*CyclinD1* 等的表达，进而调节细胞增殖分化。研究[21]显示，高血糖环境可显著抑制 Wnt/β-Catenin 信号通路的活性，从而导致创周细胞增殖、迁移力受损，炎症反应失调，血管生成障碍，创面难以愈合。由于 Wnt/β-Catenin 信号通路对创面愈合的多个环节均有重要调节作用，糖尿病溃疡局部组织创面存在 Wnt/β-Catenin 信号通路通常的异常状态[22]。因此，恢复其正常活性可能成为治疗糖尿病溃疡的潜在策略。本研究结果表明，与正常组相比，模型组创面组织中 β-Catenin、C-myc 以及 CyclinD1 表达水平均降低，GSK-3β 表达升高，提示糖尿病溃疡创面组织中存在 Wnt 信号通路负性调控因子—GSK-3β 活性升高，加速 β-Catenin 被磷酸化降解，使其无法进入胞核内与转录活化因子结合，阻碍下游靶基因 *C-myc*、*CyclinD1* 的启动，使 Wnt/β-Catenin 信号通路活性被抑制，进而无法调节创面细胞的生物学功能，该结果与先前报道的试验研究一致。外用复黄生肌愈创油后，在创面增殖期阶段时，β-Catenin 及下游靶基因 *C-myc*、*CyclinD1* 表达均明显上调，GSK-3β 表达降低，提示复黄生肌愈创油能够促进创面组织中 Wnt/β-Catenin 信号通路被激活。

4 结论

基于本试验结果，表明外用复黄生肌愈创油能通过调控 Wnt/β-Catenin 信号通路促进糖尿病溃疡小鼠创面上皮化愈合。

参考文献：

[1] MOHSIN F, JAVAID S, TARIQ M, *et al*. Molecular immunological mechanisms of impaired wound healing in diabetic foot ulcers (DFU), current therapeutic strategies and future directions[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 139: 112713.

[2] WANG L, WANG C, HUANG C, *et al*. Role of microRNAs in diabetic foot ulcers: Mechanisms and possible interventions[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2024, 217: 111858.

[3] JEFFCOATE W, BOYKO EJ, GAME F, *et al*. Causes, prevention, and management of diabetes-related foot ulcers[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2024, 12(7): 472-482.

[4] ARMSTRONG DG, TAN TW, BOULTON AJM, *et al*. Diabetic foot ulcers: a review[J]. J Am Med Assoc, 2023, 330(1): 62-75.

[5] WHITE EK, UBEROI A, PAN JT, *et al*. *Alcaligenes faecalis* corrects aberrant matrix metalloproteinase expression to promote reepithelialization of diabetic wounds[J]. Sci Adv, 2024, 10(26): eadj2020.

[6] ÁLVARO-AFONSO FJ, SANZ-CORBALáN I, LáZARO-MARTíNEZ JL, *et al*. Adipose-derived mesenchymal stem cells in the treatment of diabetic foot ulcers: a review of preclinical and clinical studies[J]. Angiology, 2020, 71(9): 853-863.

[7] SONG J, ZHAO T, WANG C, *et al*. Cell migration in diabetic wound healing: molecular mechanisms and therapeutic strategies (review) [J]. Int J Mol Med, 2025, 56(2): 126.

[8] GUMEDE DB, ABRAHAMSE H, HOURELD NN. Targeting Wnt/β-catenin signaling and its interplay with TGF-β and Notch signaling pathways for the treatment of chronic wounds[J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 244.

[9] XIAO F, RUI S, ZHANG X, *et al*. Accelerating diabetic wound healing with Ramulus Mori (Sangzhi) alkaloids via NRF2/HO-1/eNOS pathway[J]. Phytomedicine, 2024, 134: 155990.

[10] 边洪昌. 自拟温经通络熏洗方对糖尿病足溃疡创面血管

新生及足背动脉血流动力学的影响[J]. 国医论坛, 2021, 36(4): 22-24.

[11] 刘胜, 唐汉钧, 陆德铭. “煨脓长肉”法在中医外科中的应用[J]. 中医杂志, 2000, (7): 443.

[12] 王娜, 许建成, 戚文月, 等. 煨脓长肉理论在肛肠疾病术后中的应用及安全性分析[J]. 河北中医药学报, 2024, 39(1): 14-16.

[13] LI S, HU M, LORENZ H P. Treatment of full-thickness skin wounds with blood-derived $CD34^+$ precursor cells enhances healing with hair follicle regeneration[J]. Adv Wound Care (New Rochelle), 2020, 9(5): 264-276.

[14] NUUTILA K, SINGH M, KRUSE C, *et al*. Wound healing from dermal grafts containing $CD34^+$ cells is comparable to wound healing with split-thickness skin micrografts[J]. Plast Reconstr Surg, 2017, 140(2): 306-314.

[15] 陈蕾, 李大勇. 中西医治疗对糖尿病性溃疡炎性因子的调节作用[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(7): 136-140.

[16] FLOMERFELT FA, GRESS RE. Analysis of cell proliferation and homeostasis using EdU labeling[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1323: 211-220.

[17] JI H, YUAN L, JIANG Y, *et al*. Visualizing Cytokeratin-14 levels in basal-like breast cancer via immunoSPECT imaging[J]. Mol Pharm, 2022, 19(10): 3542-3550.

[18] PHANG S J, TEH H X, LOOI M L, *et al*. PVA/PVP nanofibres incorporated with *Ecklonia cava* phlorotannins exhibit excellent cytocompatibility and accelerate hyperglycaemic wound healing[J]. Tissue Eng Regen Med, 2024, 21(2): 243-260.

[19] 伍倩, 谭晓宇, 王怡佳, 等. Wnt/β连环蛋白信号通路在体表创面愈合中的作用机制研究进展[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2023, 39(2): 190-195.

[20] 王莹, 吴玲民, 刘晓婷, 等. Wnt/β-Catenin信号通路的中药调控与创面愈合[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2024, 33(2): 176-183.

[21] 卢静怡, 张承中, 俞莹, 等. Wnt信号通路在糖尿病皮肤溃疡中的研究进展[J]. 南通大学学报(医学版), 2025, 45(1): 47-51.

[22] 孙晓磊, 马亚蓉, 王晓燕, 等. β-Catenin去磷酸化介导的Wnt信号通路功能低下在1型糖尿病大鼠创面难愈中的作用[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2016, 32(4): 321-326.

（编辑：沈佳婕）