

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research水菖蒲通过抑制 MAPK/NF- κ B 信号通路对
大鼠放射性皮肤损伤创面愈合的研究Research of *Acorus calamus* L. inhibiting MAPK/NF- κ B signaling pathway on
healing of radioactive skin injury in rats武晓丹^{1a,1b,1c,1d}, 童亚楠^{1a,1b,1c,1d},
战莹^{1a,1b,1c,1d}, 张文文^{1a,1b,1c,1d},
王治国^{1a,1b,1c,1d}, 张国旭^{1a,1b,1c,1d}

(1. 中国人民解放军北部战区总医院, a. 核医学科; b. 核背景复合战创伤救治实验室; c. 辽宁省核医学分子影像重点实验室; d. 联勤医学优质学科, 辽宁 沈阳 110016)

WU Xiao-dan^{1a,1b,1c,1d},
TONG Ya-nan^{1a,1b,1c,1d},
ZHAN Ying^{1a,1b,1c,1d},
ZHANG Wen-wen^{1a,1b,1c,1d},
WANG Zhi-guo^{1a,1b,1c,1d},
ZHANG Guo-xu^{1a,1b,1c,1d}(1. a. Department of Nuclear Medicine;
b. Nuclear Background Compound War
Trauma Treatment Laboratory; c.
Liaoning Key Laboratory of Nuclear
Medicine Molecular Imaging; d. High
Quality Disciplines of Department of
General Logistics Medicine, General
Hospital of Northern Theater Command,
Shenyang 110016, Liaoning Province,
China)基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目
(82102744); 辽宁省民生科技计划
联合计划基金资助项目(2022JH2/
101500021)作者简介: 武晓丹(1991-), 女, 主管药师, 主要
从事放射性皮肤损伤辐射防护的相关研究

通信作者: 张国旭, 主任医师, 博士生导师

Tel: (024) 28856372

E-mail: zhangguoxu502@sina.com

摘要:目的 基于丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/核因子 κ B(NF- κ B)信号通路探讨水菖蒲对大鼠放射性皮肤损伤创面愈合的作用。方法 用放射性核素照射法构建放射性皮肤损伤大鼠模型,将造模成功的大鼠随机分为模型组、对照组和高、中、低剂量实验组,每组12只;另取12只正常大鼠作为正常组。高、中、低剂量实验组分别外敷600、400、200 g $\cdot$ kg⁻¹水菖蒲;对照组外敷400 g $\cdot$ kg⁻¹三乙醇胺乳膏;正常组和模型组均外敷0.9% NaCl。6组大鼠每天给药1次,连续给药45 d。比较各组大鼠创面愈合率,用酶联免疫吸附试验法检测血清中白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 以及创面组织中羟脯氨酸(HYP)含量,用蛋白质印迹法测定创面组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、丝裂原活化蛋白激酶(p38)和核因子 κ B p65亚单位(p65)蛋白的表达水平。结果 高、中、低剂量实验组和对照组、模型组的创面愈合率分别为(70.24 $\pm$ 3.17)%、(62.41 $\pm$ 4.52)%、(49.89 $\pm$ 4.61)%、(50.35 $\pm$ 2.44)%和(29.42 $\pm$ 4.23)%;高、中、低剂量实验组和对照组、模型组和正常组血清中IL-1 β 水平分别为(41.22 $\pm$ 2.98)、(52.35 $\pm$ 1.69)、(61.32 $\pm$ 2.74)、(45.26 $\pm$ 3.12)、(79.24 $\pm$ 5.64)和(28.85 $\pm$ 2.11) pg $\cdot$ L⁻¹, IL-6水平分别为(25.68 $\pm$ 1.65)、(32.55 $\pm$ 2.64)、(51.23 $\pm$ 2.34)、(32.32 $\pm$ 1.56)、(61.12 $\pm$ 2.35)和(18.88 $\pm$ 1.12) pg $\cdot$ L⁻¹, TNF- α 水平分别为(62.38 $\pm$ 5.66)、(73.56 $\pm$ 4.52)、(88.63 $\pm$ 5.68)、(68.33 $\pm$ 4.32)、(112.48 $\pm$ 6.52)和(55.21 $\pm$ 3.89) pg $\cdot$ L⁻¹, 创面组织中HYP水平分别为(3.77 $\pm$ 0.41)、(3.51 $\pm$ 0.26)、(2.98 $\pm$ 0.39)、(3.62 $\pm$ 0.37)、(2.21 $\pm$ 0.48)和(4.22 $\pm$ 0.55) μ g $\cdot$ mg⁻¹, IL-1 β 蛋白相对表达水平分别为0.31 $\pm$ 0.04、0.43 $\pm$ 0.07、0.60 $\pm$ 0.03、0.51 $\pm$ 0.04、0.69 $\pm$ 0.06和0.11 $\pm$ 0.07, IL-6蛋白相对表达水平分别为0.50 $\pm$ 0.03、0.60 $\pm$ 0.04、0.69 $\pm$ 0.04、0.62 $\pm$ 0.07、0.83 $\pm$ 0.08和0.28 $\pm$ 0.06, TNF- α 蛋白相对表达水平分别为0.49 $\pm$ 0.06、0.61 $\pm$ 0.03、0.73 $\pm$ 0.06、0.59 $\pm$ 0.04、0.83 $\pm$ 0.05和0.28 $\pm$ 0.04, 磷酸化p38/p38比值分别为0.46 $\pm$ 0.06、0.56 $\pm$ 0.04、0.67 $\pm$ 0.03、0.56 $\pm$ 0.05、0.84 $\pm$ 0.04和0.34 $\pm$ 0.08, 磷酸化p65/p65比值分别为0.37 $\pm$ 0.06、0.54 $\pm$ 0.03、0.63 $\pm$ 0.04、0.47 $\pm$ 0.05、0.79 $\pm$ 0.04和0.32 $\pm$ 0.06。高、中剂量实验组的上述指标与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 P <0.05)。结论 水菖蒲能够促进大鼠放射性皮肤损伤创面愈合,抑制创面组织的炎症水平,促进胶原蛋白沉积,其机制可能与调节MAPK/NF- κ B通路有关。

关键词: 水菖蒲;放射性皮肤损伤;丝裂原活化蛋白激酶/核因子 κ B信号通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.016

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)08-1138-06

Abstract: Objective To investigate the effect of *Acorus calamus* L. on

wound healing of radioactive skin injury in rats based on the mitogen – activated protein kinase (MAPK)/nuclear factor κ B (NF – κ B) signaling pathway. **Methods** A rat model of radioactive skin injury was induced by the radionuclide irradiation, the successful model rats were randomly divided into the model group, the control group, and the experimental – H, – M, – L groups with 12 rats in each group, and another 12 normal rats were taken as the normal group. Experimental – H, – M, – L groups was applied with *Acorus calamus* L. 600, 400, 200 g · kg⁻¹, respectively. Control group was applied with triethanolamine cream 400 g · kg⁻¹ on rat wounds; normal and model groups were treated with 0.9% NaCl. Six groups were treated once a day for 45 days. The healing rate of wounds was compared among the six groups. The levels of interleukin (IL) – 1 β , IL – 6 and tumor necrosis factor (TNF) – α in serum and hydroxyproline (HYP) in wound tissue were measured by enzyme linked immunosorbent assay. The protein levels of IL – 1 β , IL – 6, TNF – α , mitogen – activated protein kinase (p38) and nuclear factor κ B p65 subunit (p65) were detected by Western blot. **Results** The wound healing rates of experimental – H, – M, – L groups, control group and model group were (70.24 ± 3.17)%, (62.41 ± 4.52)%, (49.89 ± 4.61)%, (50.35 ± 2.44)% and (29.42 ± 4.23)%, respectively. The levels of IL – 1 β in experimental – H, – M, – L groups, control group, model group and normal group were (41.22 ± 2.98), (52.35 ± 1.69), (61.32 ± 2.74), (45.26 ± 3.12), (79.24 ± 5.64) and (28.85 ± 2.11) pg · L⁻¹; the levels of IL – 6 were (25.68 ± 1.65), (32.55 ± 2.64), (51.23 ± 2.34), (32.32 ± 1.56), (61.12 ± 2.35) and (18.88 ± 1.12) pg · L⁻¹; the levels of TNF – α were (62.38 ± 5.66), (73.56 ± 4.52), (88.63 ± 5.68), (68.33 ± 4.32), (112.48 ± 6.52) and (55.21 ± 3.89) pg · L⁻¹; the levels of HYPs of (3.77 ± 0.41), (3.51 ± 0.26), (2.98 ± 0.39), (3.62 ± 0.37), (2.21 ± 0.48) and (4.22 ± 0.55) μ g · mg⁻¹; the relative expression levels of IL – 1 β were 0.31 ± 0.04, 0.43 ± 0.07, 0.60 ± 0.03, 0.51 ± 0.04, 0.69 ± 0.06 and 0.11 ± 0.07; the relative expression levels of IL – 6 were 0.50 ± 0.03, 0.60 ± 0.04, 0.69 ± 0.04, 0.62 ± 0.07, 0.83 ± 0.08 and 0.28 ± 0.06; the relative expression levels of TNF – α were 0.49 ± 0.06, 0.61 ± 0.03, 0.73 ± 0.06, 0.59 ± 0.04, 0.83 ± 0.05 and 0.28 ± 0.04; the phosphorylated p38/p38 ratios were 0.46 ± 0.06, 0.56 ± 0.04, 0.67 ± 0.03, 0.56 ± 0.05, 0.84 ± 0.04 and 0.34 ± 0.08; the phosphorylated p65/p65 ratios were 0.37 ± 0.06, 0.54 ± 0.03, 0.63 ± 0.04, 0.47 ± 0.05, 0.79 ± 0.04, and 0.32 ± 0.06, respectively. Compared with model group, the above indexes in the experimental – H, – M groups were statistically significant (all P < 0.05). **Conclusion** *Acorus calamus* L. can promote the healing of radioactive skin injury in rats, inhibit the inflammation level of the wound tissue, and promote collagen deposition, and its mechanism may be related to the regulation of MAPK/NF – κ B pathway.

Key words: *Acorus calamus* L.; radiation skin reaction; mitogen – activated protein kinase/nuclear factor kappa – B signaling pathway

放射性皮肤损伤是肿瘤患者放射治疗中的常见并发症,临床表现为皮肤表面脱屑、红斑、反复发作的坏死性溃疡,晚期容易引起皮肤恶变^[1]。目前,放疗过程中约 95% 的患者会出现放射性皮肤损伤,且 58.1% 的放射性皮肤损伤患者因中、重度的皮肤损伤终止放疗,临床尚无有效的放射性皮肤损伤防治药物^[2]。水菖蒲是一种传统中药,主要化学成分为萜类、黄酮类、苯丙素类及生物碱类等,具有抗炎、抗氧化、抗癌、抗辐射、促进伤口愈合等多种药理作用^[3]。研究表明,丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen – activated protein kinase, MAPK)/核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF – κ B) 信号通路是机体炎症反应机制中的重要途径,在伤口愈合过程中具有重要作用^[4]。本研究通

过建立大鼠放射性皮肤损伤动物模型,观察水菖蒲对大鼠放射性皮肤损伤创面的促愈作用及对 MAPK/NF – κ B 通路的影响,初步探讨水菖蒲治疗放射性皮肤损伤的作用机制。

材料与方法

1 材料

动物 雄性清洁级 SD 大鼠,鼠龄 6 ~ 8 周,体重 200 ~ 225 g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司。动物许可证号:SCXK (辽) 2020 – 0001。本实验经北部战区总医院伦理委员会批准 (伦理批号:第 2023 – 04 号)。

药品与试剂 水菖蒲,批号:01,采自辽宁沈阳南湖,经沈阳药科大学孙启时教授鉴定为 *Acorus calamus* L.。三乙醇胺乳膏,规格:每支 46.5 g,含量:0.67%,批号:X938250,注册证号:H20120425,法国 Janssen Cilag 公司生产;磷[^{32}P]酸钠盐口服溶液,规格:每瓶 1 850 MBq,批号:20220410,批准文号:国药准字 H10960242,原子高科股份有限公司生产。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)、白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)、IL-1 β 试剂盒,均购自北京索莱宝科技有限公司;丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)-p38 抗体、磷酸化 p38(phosphorylated p38, p-p38)抗体、核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB)-p65 抗体、磷酸化 p65(phosphorylated p65, p-p65)抗体、内参 β -actin、二抗,均购自英国 Abcam 公司;苏木精-伊红、Masson 试剂盒,均购自 Servicebio(中国)公司。

仪器 MK3 酶标仪,美国赛默飞世尔科技公司产品;E200 光学显微镜,日本 Nikon 公司产品;1645070 电泳仪,美国 Bio-Rad 公司产品。

2 实验方法

2.1 药物提取

新鲜水菖蒲植物根茎部洗净阴干,粉碎成 40 目粗粉,用 95% 乙醇室温提取 24 h,提取液置于旋转蒸发仪中,减压回收溶剂,得到浸膏,纯度: $\geq 99\%$,膏体置于 4℃ 冰箱中保存,备用。

2.2 模型构建、动物分组与给药方法

将 SD 大鼠随机分为正常组(12 只)和造模组(60 只)。造模组用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射进行麻醉,按照文献[5]的方法构建大鼠放射性皮肤损伤模型。成功造模后,随机分为模型组、对照组和低、中、高剂量实验组,每组 12 只。低、中、高剂量实验组创面分别外敷 600、400、200 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水菖蒲;对照组创面外敷 400 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 三乙醇胺乳膏[6];正常组和模型组均外敷 0.9% NaCl。6 组大鼠每天给药 1 次,连续给药 45 d。

2.3 测定大鼠创面愈合程度[7]

于给药第 0 天,拍照记录各组大鼠皮肤创面面积(S_0),末次给药后 24 h 后,拍照记录各组大鼠皮肤创面面积(S_1),计算创面愈合率。创面愈合率 = $(S_0 - S_1) / S_0 \times 100\%$ 。

2.4 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法观察创面病理变化[8]

取创面组织,石蜡包埋、切片、脱蜡至水,进行 HE

染色、光学显微镜下拍照,观察创面病理学改变,计算皮肤表皮厚度及炎性细胞数量。

2.5 Masson 染色法观察创面胶原纤维变化[9]

取创面组织,石蜡包埋、切片、脱蜡至水,进行 Masson 染色、在光学显微镜下拍照,计算创面组织胶原纤维含量。

2.6 ELISA 法检测创面组织中羟脯氨酸的含量[10]

取创面组织,加入裂解液裂解,制成匀浆后,在 4℃ 下,以 8 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,用 ELISA 法测定创面 HYP 含量。

2.7 ELISA 法检测大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的水平[11]

各组大鼠取血 10 mL,静置 60 min,在 4℃ 下,以 3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,备用。用 ELISA 法测定血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的水平。

2.8 蛋白质印迹法检测大鼠创面组织中目的蛋白的表达水平[12]

取创面组织,加入组织裂解液裂解,BCA 试剂盒测定总蛋白浓度。每组取总蛋白样本 20 μg 上样,电泳后转膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,分别加入一抗 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、p38、p-p38、p65 和 p-p65 (均为 1:1 000),4℃ 孵育过夜,二抗室温下孵育 1 h,用 TBST 清洗 3 次,用化学发光液在成像仪中成像显影,以 β -actin 为内参,计算各蛋白的相对表达水平。

3 统计学处理

用 SPSS 26.0 及 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较用独立样本 t 检验,多组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 水菖蒲对大鼠创面愈合率的影响

高、中、低剂量实验组分别外敷水菖蒲 600、400、200 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;对照组外敷 400 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 三乙醇胺乳膏;正常组和模型组均外敷 0.9% NaCl。

造模成功后,模型组大鼠皮肤依次出现干性脱皮、湿性脱皮、红肿、溃疡、结痂症状,符合放射性皮肤损伤表征;经治疗后,高、中、低剂量实验组和对照组大鼠的创面损伤程度均明显减轻。高、中、低剂量实验组和对照组、模型组的创面愈合率分别为 $(70.24 \pm 3.17)\%$ 、 $(62.41 \pm 4.52)\%$ 、 $(49.89 \pm 4.61)\%$ 、 $(50.35 \pm 2.44)\%$ 和 $(29.42 \pm 4.23)\%$,高、中、低剂量实验组的创面愈合率与模型组比较,在统计学上差异

均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2 水菖蒲对大鼠创面病理学的影响

正常组大鼠皮肤完整,无病理学改变。模型组大鼠创面组织可见表皮增厚、坏死,组织水肿、大量炎症细胞浸润,实验组及对照组大鼠创面组织水肿、炎性细胞浸润显著减轻,结构较清晰。模型组与正常组比较,大鼠表皮厚度和炎症细胞数量均显著增加,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);高、中、低剂量实验组及对照组的表皮厚度和炎症细胞数量均较模型组显著减少,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表 1 和图 1。

3 水菖蒲对大鼠创面组织胶原纤维及羟脯氨酸的影响

正常组大鼠皮肤胶原纤维排列整齐,模型组大鼠胶原纤维排列紊乱,断裂明显;高、中、低剂量实验组及对照组胶原纤维沉积均较模型组明显增加,排列较整齐,形态更完整。结果见图 2。

高、中、低剂量实验组和对照组、模型组、正常组创面组织中羟脯氨酸分别为 (3.77 ± 0.41) 、 (3.51 ± 0.26) 、 (2.98 ± 0.39) 、 (3.62 ± 0.37) 、 (2.21 ± 0.48) 和 $(4.22 \pm 0.55) \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。模型组与正常组比较,大鼠创面组织中羟脯氨酸含量显著降低,在统计学上差异有统计学意义(均 $P < 0.05$);高、中、低剂量实验组及对照组创面组织中羟脯氨酸含量均较模型组显著增加,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

4 水菖蒲对大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的影响

模型组与正常组比较,大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);高、中、低剂量实验组和对照组血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平均较模型组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表 2。

5 水菖蒲对大鼠创面组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白表达的影响

高、中、低剂量实验组和对照组、模型组、正常组创面组织中 IL-1 β 蛋白相对表达水平分别为 0.31 ± 0.04 、 0.43 ± 0.07 、 0.60 ± 0.03 、 0.51 ± 0.04 、 0.69 ± 0.06 和 0.11 ± 0.07 ,IL-6 蛋白相对表达水平

表 1 各组大鼠表皮厚度及炎症细胞数量比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of epidermal thickness and inflammatory cells in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (g · kg ⁻¹)	n	Epidermal thickness (μm)	Inflammatory cells (pg · L ⁻¹)
Normal	-	12	40.08 ± 3.52	19.83 ± 5.49
Model	-	12	220.17 ± 10.82 *	149.58 ± 12.03 *
Control	400	12	120.25 ± 7.91 #	88.83 ± 12.26 #
Experimental - H	600	12	103.24 ± 8.31 #	76.67 ± 9.20 #
Experimental - M	400	12	130.41 ± 10.22 #	91.92 ± 8.39 #
Experimental - L	200	12	150.03 ± 10.51 #	109.83 ± 7.92 #

Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$.

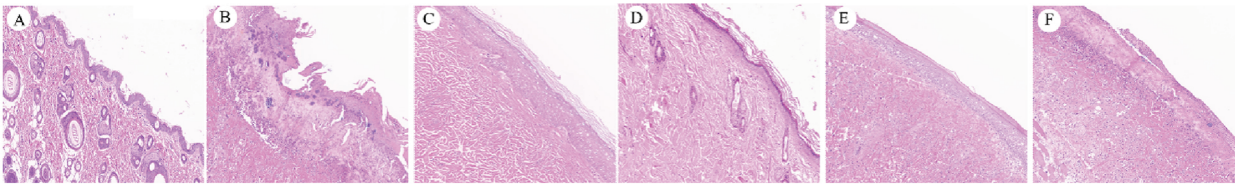


图 1 各组大鼠创面病理形态学改变(苏木精-伊红染色, ×100)
Figure 1 Pathological changes of wound in each group of rats(hematoxylin-eosin staining, ×100)
A: Normal group; B: Model group; C: Control group; D, E, F: Experimental - H, - M, - L groups, respectively.

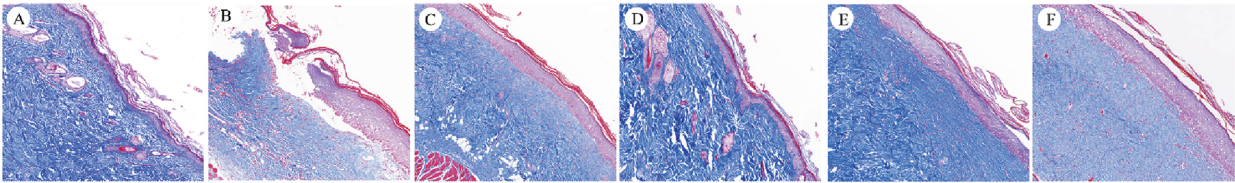


图 2 各组大鼠创面胶原纤维的变化(Masson 染色, ×100)
Figure 2 Collagen fibers changes of wound in each group of rats(Masson staining, ×100)
A - F refer to figure 1.

表2 各组大鼠血清中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum levels interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	IL-1 β (pg $\cdot$ L $^{-1}$)	IL-6 (pg $\cdot$ L $^{-1}$)	TNF- α (pg $\cdot$ L $^{-1}$)
Normal	28.85 $\pm$ 2.11	18.88 $\pm$ 1.12	55.21 $\pm$ 3.89
Model	79.24 $\pm$ 5.64 *	61.12 $\pm$ 2.35 *	112.48 $\pm$ 6.52 *
Control	45.26 $\pm$ 3.12 #	32.32 $\pm$ 1.56 #	68.33 $\pm$ 4.32 #
Experimental-H	41.22 $\pm$ 2.98 #	25.68 $\pm$ 1.65 #	62.38 $\pm$ 5.66 #
Experimental-M	52.35 $\pm$ 1.69 #	32.55 $\pm$ 2.64 #	73.56 $\pm$ 4.52 #
Experimental-L	61.32 $\pm$ 2.74 #	51.23 $\pm$ 2.34 #	88.63 $\pm$ 5.68 #

Dose and n refer to table 1; Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$.

分别为 0.50 ± 0.03 、 0.60 ± 0.04 、 0.69 ± 0.04 、 0.62 ± 0.07 、 0.83 ± 0.08 和 0.28 ± 0.06 , TNF- α 蛋白相对表达水平分别为 0.49 ± 0.06 、 0.61 ± 0.03 、 0.73 ± 0.06 、 0.59 ± 0.04 、 0.83 ± 0.05 和 0.28 ± 0.04 。高、中、低剂量实验组和对照组创面组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白相对表达水平均较模型组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图3。

6 水菖蒲对大鼠创面组织中 p38、p-p38、p65 和 p-p65 蛋白表达的影响

高、中、低剂量实验组和对照组、模型组、正常组创面组织中 p-p38/p38 比值分别为 0.46 ± 0.06 、 0.56 ± 0.04 、 0.67 ± 0.03 、 0.56 ± 0.05 、 0.84 ± 0.04 和 0.34 ± 0.08 , p-p65/p65 比值分别为 0.37 ± 0.06 、 0.54 ± 0.03 、 0.63 ± 0.04 、 0.47 ± 0.05 、 0.79 ± 0.04 和

0.32 ± 0.06 , 高、中、低剂量实验组和对照组创面组织中 p-p38/p38、p-p65/p65 比值均较模型组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图4。

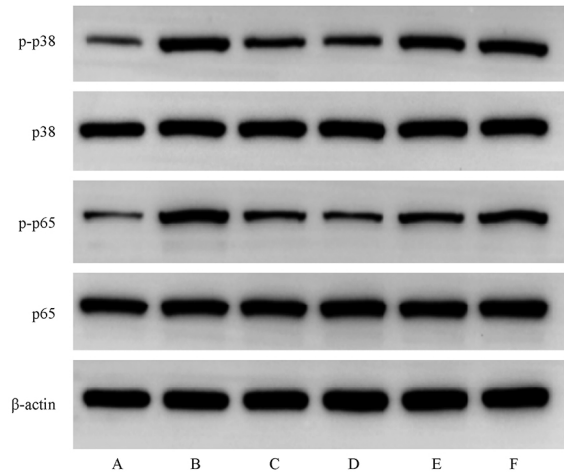


图4 各组 p38、磷酸化(p-)p38、p65 和 p-p65 蛋白情况的比较

Figure 4 Comparison of p38, phosphorylated(p-)p38, p65 and p-p65 proteins in each group

A-F refer to figure 1.

讨 论

放射性皮肤损伤创面难愈机制与电离辐射导致皮肤过度炎症及胶原蛋白合成减少等密切相关^[13]。IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 是辐射后创面组织中主要的促炎因子,其持续过度表达会抑制细胞增殖和组织修复,是导致放射性皮肤创面难以愈合的原因之一^[14-15]。辐射会引起皮肤组织胶原纤维代谢障碍,使胶原蛋白合成减少,进而阻碍创面愈合。研究发现,提高胶原蛋白表达水平能够促进伤口快速愈合^[16]。羟脯氨酸在胶原蛋白中含量最高,其含量能够间接反映创面组织中胶原蛋白的水平^[17]。本研究发现,高、中、低剂量实验组与模型组比较,大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平均显著降低,创面组织中羟脯氨酸水平均显著升高,这提示水菖蒲能够抑制创面炎症介质过度表达以及增加胶原蛋白含量,从而促进细胞增殖、迁移及创面肉芽组织形成,加快创面愈合。HE 和 Masson 结果显示,水菖蒲能够减少创面炎症细胞浸润、增加胶原纤维沉积,愈合速度较模型组明显加快。

MAPK 信号通路在电离辐射诱导的炎症中起着

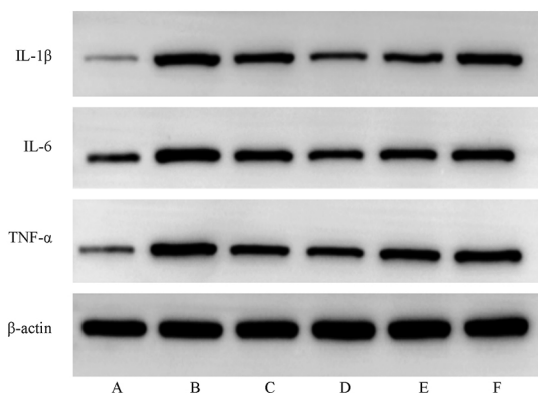


图3 各组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白情况的比较

Figure 3 Comparison of IL-1 β , IL-6 and TNF- α proteins in each group

A-F refer to figure 1.

关键作用^[18]。电离辐射过程中产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)可以激活 MAPK 信号通路,磷酸化 MAPK 进一步激活下游转录因子 NF- κ B。NF- κ B 是一种重要的早期核转录因子, NF- κ B p65 磷酸化入核后与靶基因启动子区域的特定序列结合,诱导下游炎症因子(如 IL-1 β 、IL-6、TNF- α)的表达,引发一系列的炎症级联反应^[19-20]。YANG 等^[21]研究发现,抑制 MAPK/NF- κ B 通路能够显著抑制创面组织炎症因子的释放,进而促进创面的愈合。本研究发现,模型组大鼠创面组织中 p-p38、p-p65 蛋白相对表达水平均明显升高,经水菖蒲干预后,创面组织中 p-p38 和 p-p65 蛋白相对表达水平均显著降低,且呈现一定的剂量依赖性。这提示中药水菖蒲能够呈剂量性地抑制 MAPK/NF- κ B 通路的异常激活,进而降低 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等关键促炎因子的表达,促进创面快速愈合。

本研究提示:水菖蒲能够促进大鼠放射性皮肤损伤创面愈合,抑制创面组织的炎症水平及促进胶原蛋白沉积,其机制可能与 MAPK/NF- κ B 信号通路有关,可为水菖蒲治疗放射性皮肤损伤的进一步临床应用提供实验依据。

参考文献:

- [1] BEHROOZIAN T, BONOMO P, PATEL P, *et al.* Multinational Association of Supportive Care in Cancer (MASCC) clinical practice guidelines for the prevention and management of acute radiation dermatitis: International Delphi consensus - based recommendations [J]. *Lancet Oncol*, 2023, 24(4): 172—185.
- [2] YANG X J, REN H R, GUO X M, *et al.* Radiation - induced skin injury: Pathogenesis, treatment, and management [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(22): 23379—23393.
- [3] ZHAO Y, LI J, CAO G, *et al.* Ethnic, botanic, phytochemistry and pharmacology of the *Acorus L.* genus: A review [J]. *Molecules*, 2023, 28(20): 7117—7147.
- [4] YANG S, LI F Y, LU S Y, *et al.* Ginseng root extract attenuates inflammation by inhibiting the MAPK/NF- κ B signaling pathway and activating autophagy and p62 - Nrf2 - Keap1 signaling *in vitro* and *in vivo* [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283: 114739. 2022 - 01 - 30 [2024 - 07 - 20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34648903/>.
- [5] 武晓丹, 王治国, 战莹, 等. ³²P- β 射线致急性放射性皮肤损伤模型的建立及损伤机制[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(14): 2173—2179.
- [6] 段紫钰, 李建国, 袁星海, 等. TLR4/MyD88/NF- κ B 通路中双草油对大鼠放射性皮炎模型的保护机制[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2020, 34(8): 861—866.
- [7] 沙前坤, 张成伟, 程竞, 等. 虎黄烧伤搽剂联合硫酸庆大霉素对深二度烧伤大鼠创面愈合及免疫系统变化的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(2): 157—161.
- [8] 葛雨欣, 曾小玲, 黄钰, 等. 脂肪干细胞在糖尿病大鼠急性放射性皮肤损伤治疗中的作用[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2023, 52(4): 445—452.
- [9] ZHOU Y, SHENG X W, DENG F Y, *et al.* Radiation - induced muscle fibrosis rat model: Establishment and valuation [J]. *Radiat Oncol*, 2018, 13(1): 160—171.
- [10] SHENG X W, ZHOU Y, WANG H, *et al.* Establishment and characterization of a radiation - induced dermatitis rat model [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5): 3178—3189.
- [11] 李春颖, 尹燕燕, 季梦垚, 等. 基于 MAPK/NF- κ B 信号通路探讨调气止咳方对咳嗽变异性哮喘大鼠气道炎症的影响及机制[J]. *中药新药与临床药理*, 2024, 35(7): 1008—1015.
- [12] ZHANG Z Z, CHEN T H, LIU W, *et al.* Paeonol accelerates skin wound healing by regulating macrophage polarization and inflammation in diabetic rats [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2023, 27(5): 437—448.
- [13] LIN Z X, ZHAO C Y, LEI Z J, *et al.* Epidermal stem cells maintain stemness via a biomimetic micro/nanofiber scaffold that promotes wound healing by activating the Notch signaling pathway [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 341—353.
- [14] 张春, 王锦姝, 王寿宇, 等. 大黄素调控 TLR4/NF- κ B 信号通路对大鼠感染性创面愈合的研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(10): 1483—1487.
- [15] ZULHENDRI F, LESMANA R, TANDEAN S, *et al.* Recent update on the anti - inflammatory activities of propolis [J]. *Molecule*, 2022, 27(23): 8473.
- [16] GUPTA V, TYAGI A, BHATNAGAR A, *et al.* Topical application of Jatyadi Ghrita and Jatyadi Taila accelerates wound healing in Sprague - Dawley rats: A study in gamma - radiation - induced skin wound model [J]. *Int J Radiat Biol*, 2021, 97(7): 1003—1019.
- [17] WANG J, XIE K H, REN W, *et al.* Huanglian Jiedu plaster ameliorated X - ray - induced radiation dermatitis injury by inhibiting HMGB1 - mediated macrophage - inflammatory interaction [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 302(Pt B): 115917.
- [18] CHEN G, YU Z, ZHANG Y, *et al.* Radiation - induced gastric injury during radiotherapy: Molecular mechanisms and clinical treatment [J]. *J Radiat Res*, 2023, 64(6): 870—879.
- [19] TAO R, MAO Y W, LI Y, *et al.* Connexin26 modulates radiation - induced skin damage by regulating chemokine CCL27 through MAPK signaling [J]. *Radiat Res*, 2023, 200(3): 281—288.
- [20] 曹静, 刘海波, 安琪, 等. 二甲双胍缓解小鼠放射性皮炎引起的病理性疼痛: 基于抑制 p38 MAPK/NF- κ B 信号通路[J]. *南方医科大学学报*, 2023, 43(10): 1815—1820.
- [21] YANG X Y, GAO X L, DU B Z, *et al.* Ilex asprella aqueous extracts exert *in vivo* anti - inflammatory effects by regulating the NF- κ B, JAK2/STAT3, and MAPK signaling pathways [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 225: 234—243. 2018 - 10 - 28 [2024 - 07 - 20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29981433/>.

(收稿日期 2024 - 10 - 30)