DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.03.036

一效膏促进糖尿病性溃疡愈合的抗焦亡机制研究

陈蕾[1],李大勇[2]
(1.辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847;2.辽宁中医药大学附属医院,辽宁 沈阳 110032)

摘要:目的 探讨一效膏通过抑制细胞焦亡促进糖尿病大鼠皮肤溃疡愈合的作用机制。方法 72只SPF级雄性SD大鼠随机分为空白组、模型组,模型组大鼠以高脂高糖饲料喂养联合小剂量STZ腹腔注射的方法诱导糖尿病模型,1个月后各组大鼠分别切开皮肤造成开放创面构建糖尿病大鼠溃疡模型。造模成功后,将模型组分为模型对照组、一效膏组、表皮生长因子组,每组18只大鼠,分别连续14 d给予生理氯化钠注射液、一效膏或人表皮生长因子凝胶等干预后,观察皮肤溃疡创面愈合情况,采用酶联免疫吸附测定(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay,ELISA)检测血清中白介素-1(IL-1)、白介素-18(IL-18)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)表达水平,采用Western blot及逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)、半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、核因子κB(NF-κB)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)蛋白水平及mRNA的表达。结果 创面肉眼观察可发现一效膏组大鼠溃疡皮肤愈合明显。与模型对照组相比,一效膏组IL-1、IL-18、TNF-α水平显著下降,NLRP3、Caspase-1、NF-κB、ASC蛋白表达降低。结论 一效膏能够促进糖尿病溃疡性皮肤愈合,其作用机制可能与其降低炎性反应,抑制细胞焦亡有关。

关键词:糖尿病性溃疡;一效膏;炎性反应;细胞焦亡
中图分类号:R255.4 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)03-0189-07

Study on Anti-Pyroptosis Mechanism of Yixiao Ointment(一效膏) in Promoting The Healing of Diabetic Ulcer

CHEN Lei[1],LI Dayong[2]
(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Shenyang 110847,Liaoning,China;
2. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Shenyang 110032,Liaoning,China)

Abstract:*Objective* To investigate the mechanism of Yixiao Ointment(一效膏) in promoting the healing of skin ulcers in diabetic rats by inhibiting pyroptosis. *Methods* Seventy-two male SD rats of SPF grade were randomly divided into blank group and model group,and the diabetes model was induced by high-fat and high-sugar chow combined with small-dose streptozotocin(STZ) intraperitoneal injection in the model group. One month later,the rats in each group were cut into the skin to create open wounds to construct the diabetic rat ulcer model. After successful modeling,the model group was divided into a model control group(physiological sodium chloride injection),a Yixiao Ointment group(Yixiao Ointment) and an epidermal growth factor group(human epidermal growth factor gel) with 18 rats in each group. After intervention for 14 consecutive days,the healing of skin ulcerations was observed. Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was used for detecting the expression levels of interleukin-1(IL-1),interleukin-18(IL-18) and tumor necrosis factor-α(TNF-α) in serum, and the protein levels and mRNA expression levels of NOD-like receptor thermoprotein structural domain-associated protein 3(NLRP3),cysteine protease-1(Caspase-1),nuclear factor κB (NF-κB),apoptosis-associated speck-like protein(ASC) were detected by Western blot and reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR). *Results* Visual observation of the ulcer surface showed that the ulcerated skin of rats in the Yixiao Ointment group healed significantly. Compared with those of the model control group, the levels of IL-1,IL-18 and TNF-α were significantly decreased in the Yixiao Ointment group,and the protein expressions of NLRP3,Caspase-1,NF-κB and ASC were decreased in the Yixiao Ointment group. *Conclusion* Yixiao Ointment can promote the healing of diabetic ulcerated skin,and its mechanism of action may be related to its ability to reduce the inflammatory response and inhibit cellular death.

Keywords:diabetic ulcer;Yixiao Ointment(一效膏);inflammatory response;cellular death

随着社会生活水平的提高,糖尿病已成为全球十大死亡原因之一,有四分之一的糖尿病患者会发生糖尿病溃疡并难以愈合[1],糖尿病性溃疡(DU)作为发病率很高的一种糖尿病常见并发症,其可导致的后果包括功能状态下降、感染、下肢截肢和死亡[2]。近年来,DU已成为一个重要的临床问题,DU患者的伤口愈合受到影响,进而形成慢性伤口,是造成下肢截肢的高风险因素,同时会缩短患者的预期寿命,据统计85%的下肢截肢者在截肢前有足溃疡[3-4]。与非糖尿病伤口相比,糖尿病伤口的特点是炎症时间长、血管生成障碍和伤口闭合延迟,这些

基金项目:国家重大科技专项(2019YFC1709303)
作者简介:陈蕾(1991-),女(朝鲜族),辽宁兴城人,博士在读,研究方向:疮疡及周围血管疾病。
通讯作者:李大勇(1972-),男,辽宁丹东人,主任中医师,博士研究生导师,博士,研究方向:疮疡及周围血管疾病。E-mail:sylidy@126.com。

会导致伤口正常的愈合阶段无法进展，糖尿病患者的伤口组织中产生的大量炎症细胞可能会强烈限制伤口的闭合过程，有文献报道，高血糖条件下会抑制抗炎细胞因子如白介素－10（IL－10）的表达，而加剧促炎细胞因子（如TNF－α、IL－1）的表达[5-6]。

糖尿病性溃疡属中医“脱疽”“筋疽”范畴，其描述最早见于《灵枢·痈疽》曰：“发于足趾，名曰脱痈”。而其病名首次出现于《针灸甲乙经》曰：“发于足趾名曰脱疽，其状赤黑、不死、治之不衰、急斩去之、治不去必死矣”，本病病机多认为是“虚、邪、瘀”三者相互作用[7]。一效膏为我院院内制剂，具有活血化瘀、祛邪生肌的功效，课题组前期研究发现，一效膏外用于糖尿病性溃疡，创面愈合情况较好，渗出减少，并可有效清除坏死创面组织而促进肉芽组织新生，认为可能与其抑制局部炎症反应有关，但未进行深入研究[8]。本研究建立糖尿病皮肤溃疡大鼠模型，探讨一效膏促进伤口愈合与其干预炎症反应的作用，为进一步明确一效膏的作用机制提供依据。

1 材料

1.1 动物

SPF级雄性SD大鼠72只，体质量180～220 g，购置于辽宁长生生物技术股份有限公司，许可证号：SCXK（辽）2020－0001。饲养于辽宁中医药大学动物实验中心（SPF级），本研究经辽宁中医药大学动物伦理委员会审查批准，批号：21000042022087，动物于实验室1周适应性喂养后进行实验。

1.2 药物

一效散（批号：辽药制字Z05010275），辽宁中医药大学附属医院制剂中心；人表皮生长因子凝胶（批号：国药准字S20020112），桂林华诺威基因药业有限公司；生理氯化钠注射液（批号：国药准字H20083400），四川科伦药业股份有限公司。

1.3 主要试剂与仪器

主要试剂：IL－1、IL－18、TNF－αELISA试剂盒（型号：FT－PD5713S、FT－P9S590X、FT－P32761R，上海梵泰生物科技有限公司），NLRP3 Antibody、Caspase－1 Antibody、NF－κB p65 Antibody、ASC Antibody、beta Actin Antibody（型号：#DF15549、#AF5418、#AF5006、#DF6304、#AF7018，江苏亲科生物研究生心有限公司），BCA蛋白浓度测定试剂盒（型号：P0010，上海碧云天生物技术股份有限公司），Trizol裂解液［型号：15596026CN，赛默飞世尔科技（中国）有限公司］。

主要仪器：酶标仪［型号：MK3；厂家：赛默飞世尔（上海）仪器有限公司］，电泳仪（型号：EPS300；厂家：上海天能科技有限公司），垂直电泳槽（型号：VE－180；厂家：上海天能科技有限公司），转印槽（型号：VE－386；厂家：上海天能科技有限公司），荧光定量PCR仪（型号：ABI StepOne；厂家：Applied Biosystems公司），凝胶成像分析系统（Tanon－4200SF；厂家：上海天能科技有限公司），组织脱水机（型号：LELCA ASP 300；厂家：德国Leica公司生产），组织包埋机，（型号：LELCA EG 1150H；厂家：德国Leica公司生产），组织切片机（型号：Histo-Core BIOCUT R；厂家：德国Leica公司生产）。

2 方法

本研究方案如图1所示。

2.1 分组方法

SPF级雄性大鼠72只采用随机数字法分为空白组及模型组，空白组大鼠18只，模型组分为模型对照组、一效膏组及表皮生长因子组，每组各18只大鼠。

2.2 建立糖尿病大鼠溃疡模型

模型组大鼠给予高糖高脂饲料喂养，喂养8周，每28 d记录大鼠体质量，尾尖采血检测血糖值，并进行记录。此后禁食12 h，模型组大鼠予腹腔内注射溶解链脲佐菌素（STZ）溶液，血糖大于16.7 mmol/L，并出现典型的“三多一少”（多饮、多食、多尿、消瘦）症状，则建立糖尿病大鼠模型。维持高血糖状态4周后，于大鼠后背剪去直径2 cm×2 cm的皮毛，全层皮肤切除开放创面，深达肌肉形成缺损性创面，即糖尿病大鼠溃疡皮肤模型造模成功。

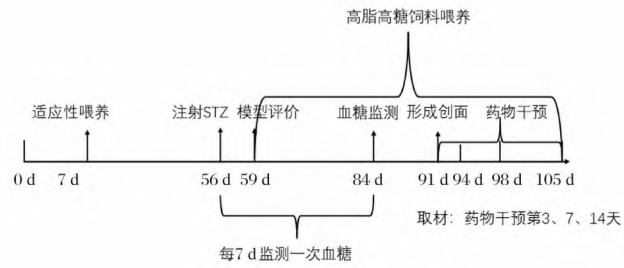


图1 研究方案

2.3 模型评价

模型组大鼠在第4周时即开始表现出“多饮、多食、多尿”的糖尿病典型临床表现，随着病程逐渐加长，模型组大鼠毛色逐渐出现干枯发黄、体质量减轻、反应灵敏度降低等症状，注射STZ后，监测大鼠血糖值均高于16.7 mmol/L，观察12周后，血糖值仍能维持在较高水平，手术后肉眼可观察到符合溃疡创面表现（见插页XXXV图2）。

2.4 干预方法

将造模成功后的大鼠分为模型对照组、一效膏组及表皮生长因子组，每组大鼠18只。模型对照组在局部创面常规消毒后，外用0.9%氯化钠注射液冲洗，外敷无菌纱布。一效膏组在局部创面常规消毒后，外涂一效膏约2 mm厚度于溃疡创面，外敷无菌纱布。表皮生长因子组在局部创面常规消毒后，外涂人表皮生长因子凝胶2 mm厚度于溃疡创面，外敷无菌纱布。各组每日换药一次。

2.5 取材

分别于第3天、第7天、第14天观察创面生长情况，每组随机选取6只大鼠，取创面皮肤组织及周围肉芽组织，进行相应指标检测，并做病理。

2.6 观测指标

2.6.1 肉眼观察 分别于给药第3天、第7天、第14天后，观察创面愈合趋势，并拍照留存。

2.6.2 HE染色 将4%多聚甲醛溶液固定好的组织块取出，制备石蜡切片，脱蜡，首先将切片放入苏木精中染色，自来水下充分冲洗，再置入1%盐酸乙醇液中褪色，切片由蓝变红，颜色较浅即可，再放入自来水流水中使其恢复蓝色。浸泡于伊红溶液中染色，再次用自来水冲洗，经梯度乙醇（浓度由低及高）脱水，分别为70%、80%、90%、95%、100%，每个浓度浸泡2 min，最后，用二甲苯Ⅰ、Ⅱ各浸泡10 min，以中性树胶封片，镜下观察组织的病理变化。

2.6.3 ELISA检测血清中IL－1、IL－18及TNF－α含量 ELISA试剂盒检测指标含量，检测前将试剂盒取出置于室温中，标准品稀释，加入检测溶液后以封板膜封闭酶标板，置于恒温水浴锅中孵育，用酶标仪在450 nm波长测量各孔的吸光度值（OD值）。

2.6.4 Western blot检测皮损组织中NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC蛋白表达水平 采用western－blot法检测糖尿病大鼠溃疡组织中NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC蛋白表

达水平，取新鲜的溃疡组织剪碎，加入 WB 及 IP 细胞裂解液，离心后取上清液测定总蛋白浓度。经过电泳，转印，封闭，孵育，采集图像后，用凝胶成像分析系统中软件测定各条带灰度值，并计算目的蛋白条带灰度值与内参的比值，进行统计分析。

2.6.5 RT－PCR 检测 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASCmRNA 表达水平 利用总 mRNA 提取试剂盒提取大鼠溃疡组织样本总 mRNA，采用荧光定量 PCR 按照 2－ΔΔCt 相对定量计算公式，计算各样品组织中炎症小体及炎症相关蛋白 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASCmRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

引物名称		引物序列(5′－3′)
NLRP3	上游	5′－GTCATCGGGTGGAGTCACTGTC－3′
	下游	5′－AAGTGAGGTGGCTGTTCACCAA－3′
Caspase－1	上游	5′－GGAGGGAATATGTGGGATCA－3′
	下游	5′－AACCTTGGGCTTGTCTTTCA－3′
NF－κB	上游	5′－GGCAGCACTCCTTATCAAC－3′
	下游	5′－GGTGTCGTCCCATCGTAG－3′
ASC	上游	5′－GTTCTTGCAGGTCAGGTTCC－3′
	下游	5′－TTGCTGGATGCTCTGTATGG－3′
β－actin	上游	5′－TGGCACCCAGCACAATGAA－3′
	下游	5′－CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA－3′

2.7 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析，计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，组间比较采用单因素方差分析，$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 肉眼观察

大鼠创面干预 3 d 后，肉眼观察到各组大鼠创面面积减小，创面干燥，干预 7 d 后，各组大鼠创面可见棕黑色结痂，并可观察到新生肉芽组织呈颗粒状、少量分泌物，肉眼观察创面有愈合趋势，干预 14 d 后，肉眼观察表皮生长因子组及一效膏组大鼠创面结痂脱落，与模型对照组相比愈合趋势明显。见插页 XXXV 图 3。

3.2 病理结果

各组大鼠组织染色可见插页 XXXVI 图 4。干预 3 d，模型对照组、一效膏组、表皮生长因子组大鼠溃疡组织炎性细胞浸润明显；干预 7 d，与模型对照组相比，一效膏组炎性细胞浸润减少，新生血管相对增多，偶见新生肉芽组织；干预 14 d，模型对照组表皮层薄，炎性细胞浸润仍然明显，一效膏组表皮增厚，见少量炎性细胞浸润，新生血管增多，新生肉芽组织增多。

3.3 各组大鼠血清中 IL－1、IL－18、TNF－α 含量

与空白组相比，模型对照组的 IL－1、IL－18、TNF－α 的含量在 3 d、7 d、14 d 升高显著($P < 0.01$)；与模型对照组相比，一效膏组的 IL－1、IL－18、TNF－α 的含量在 3 d、7 d、14 d 均明显降低($P < 0.01$)。见表 2、表 3 和表 4。

3.4 各组大鼠皮肤组织中 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 蛋白表达水平

与空白组相比，模型对照组的 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 的蛋白水平在 3 d、7 d、14 d 均较高($P < 0.01$)；与模型对照组相比，一效膏组的 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 的蛋白表达水平在 3 d、7 d、14 d 均降低($P < 0.01$ 及 $P < 0.05$)。见表 5、表 6、表 7、图 5。

表 2 各组大鼠血清中 IL－1、IL－18、TNF－α 含量(3 d)($\bar{x} \pm s$)

单位：pg/mL

组别	n	IL－1	IL－18	TNF－α
空白组	6	34.73 ± 3.21	35.05 ± 2.35	35.76 ± 3.27
模型对照组	6	69.41 ± 6.27**	69.62 ± 6.6**	69.56 ± 7.28**
表皮生长因子组	6	52.94 ± 5.08**##	54.19 ± 3.87**##	53.57 ± 5.97**##
一效膏组	6	40.65 ± 4.25*##	41.48 ± 3.38*##	42.15 ± 3.90*##

注：*与空白组相比，$P < 0.05$；**与空白组相比，$P < 0.01$；##与模型对照组相比，$P < 0.01$。

表 3 各组大鼠血清中 IL－1、IL－18、TNF－α 含量(7 d)($\bar{x} \pm s$)

单位：pg/mL

组别	n	IL－1	IL－18	TNF－α
空白组	6	33.31 ± 2.00	33.98 ± 3.01	33.37 ± 3.10
模型对照组	6	107.21 ± 17.87**##	102.13 ± 1327**##	104.54 ± 12.55**##
表皮生长因子组	6	50.49 ± 3.83**##	55.48 ± 5.02**##	58.73 ± 29.08**##
一效膏组	6	38.48 ± 4.32##	41.74 ± 2.61##	40.17 ± 2.45##

注：*与空白组相比，$P < 0.05$；**与空白组相比，$P < 0.01$；##与模型对照组相比，$P < 0.01$。

表 4 各组大鼠血清中 IL－1、IL－18、TNF－α 含量(14 d)($\bar{x} \pm s$)

单位：pg/mL

组别	n	IL－1	IL－18	TNF－α
空白组	6	35.76 ± 2.76	36.55 ± 3.25	35.72 ± 2.85
模型对照组	6	53.98 ± 4.94**	57.08 ± 4.82**	53.58.56 ± 4.49**
表皮生长因子组	6	43.60 ± 3.30**##	52.21 ± 5.08**	50.09 ± 4.20**
一效膏组	6	39.75 ± 2.92##	41.75 ± 3.46*##	41.98 ± 3.82*##

注：*与空白组相比，$P < 0.05$；**与空白组相比，$P < 0.01$；##与模型对照组相比，$P < 0.01$。

表 5 各组大鼠皮肤组织中 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 蛋白水平(3 d)($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NLRP3	Caspase－1	NF－κB	ASC
空白组	6	0.21 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01
模型对照组	6	0.58 ± 0.01**	0.62 ± 0.04**	0.60 ± 0.02**	0.61 ± 0.01**
表皮生长因子组	6	0.44 ± 0.01**##	0.45 ± 0.03**##	0.46 ± 0.02**##	0.46 ± 0.03**##
一效膏组	6	0.38 ± 0.01**##	0.38 ± 0.02**##	0.37 ± 0.01**##	0.38 ± 0.01**##

注：**与空白组相比，$P < 0.01$；##与模型对照组相比，$P < 0.01$。

表 6 各组大鼠皮肤组织中 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 蛋白水平(7 d)($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NLRP3	Caspase－1	NF－κB	ASC
空白组	6	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.01
模型对照组	6	0.62 ± 0.04**	0.62 ± 0.03**	0.60 ± 0.02**	0.61 ± 0.01**
表皮生长因子组	6	0.38 ± 0.01**##	0.40 ± 0.03**##	0.40 ± 0.01**##	0.38 ± 0.02**##
一效膏组	6	0.30 ± 0.02**##	0.30 ± 0.02**##	0.29 ± 0.02**##	0.30 ± 0.01**##

注：**与空白组相比，$P < 0.01$；##与模型对照组相比，$P < 0.01$。

3.5 各组大鼠皮肤组织 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 的 mRNA 含量

与空白组相比，模型对照组的 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 的 mRNA 含量在 3 d、7 d、14 d 均较高($P < 0.01$)；与模型对照组相比，一效膏组的 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 的 mRNA 含量在 3 d、7 d、14 d 均降低($P < 0.01$)。见表 8、表 9 和表 10。

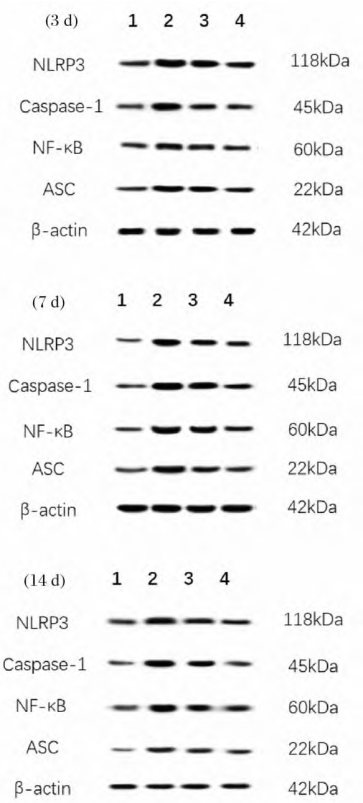
4 讨论

本病属中医“脱疽”“筋疽”等范畴，发病的根本在于气血阴阳两虚，气虚则无力推动血液运行，血虚亦不能养气载气，则

表 7 各组大鼠皮肤组织中 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 蛋白水平(14 d)($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NLRP3	Caspase－1	NF－κB	ASC
空白组	6	0.21±0.02	0.21±0.02	0.21±0.02	0.21±0.01
模型对照组	6	0.39±0.01**	0.39±0.02**	0.39±0.02**	0.37±0.01**
表皮生长因子组	6	0.34±0.01**#	0.35±0.02**	0.33±0.01**	0.34±0.02**
一效膏组	6	0.31±0.02**##	0.32±0.02**##	0.31±0.04**##	0.32±0.01**#

注：**与空白组相比，$P<0.01$；#与模型对照组相比，$P<0.05$；##与模型对照组相比，$P<0.01$。



注：1. 空白对照组；2. 模型对照组；3. 表皮生长因子组；4. 一效膏组。

图 5 各组大鼠蛋白表达电泳图

表 8 各组大鼠皮肤组织中 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASCmRNA 表达水平(3 d)

组别	n	NLRP3mRNA	Caspase－1mRNA	NF－κBmRNA	ASCmRNA
空白组	6	0.21±0.02	0.21±0.02	0.21±0.02	0.21±0.01
模型对照组	6	0.39±0.01**	0.39±0.02**	0.39±0.02**	0.37±0.01**
表皮生长因子组	6	0.34±0.01**#	0.35±0.02**	0.33±0.01**	0.34±0.02**
一效膏组	6	0.31±0.02**##	0.32±0.02**##	0.31±0.04**##	0.32±0.01**#

注：**与空白组相比，$P<0.01$；#与模型对照组相比，$P<0.05$；##与模型对照组相比，$P<0.01$。

表 9 各组大鼠皮肤组织中 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASCmRNA 表达水平(7 d)

组别	n	NLRP3mRNA	Caspase－1mRNA	NF－κBmRNA	ASCmRNA
空白组	6	1.00±0.04	1.00±0.04#	0.99±0.06	0.99±0.05
模型对照组	6	3.88±0.11**	3.75±0.12**	3.47±0.15**	3.63±0.08**
表皮生长因子组	6	2.47±0.12**##	2.54±0.15**##	2.30±0.75**##	2.38±0.14**##
一效膏组	6	1.95±0.09**##	2.07±0.13**##	1.87±0.08**##	1.79±0.11**##

注：**与空白组相比，$P<0.01$；#与模型对照组相比，$P<0.05$；##与模型对照组相比，$P<0.01$。

表 10 各组大鼠皮肤组织中 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASCmRNA 表达水平(14 d)

组别	n	NLRP3mRNA	Caspase－1mRNA	NF－κBmRNA	ASCmRNA
空白组	6	0.99±0.54	1.00±0.05	1.00±0.05	1.00±0.04
模型对照组	6	2.36±0.13**	2.19±0.18**	2.67±0.13**	2.21±0.15**
表皮生长因子组	6	1.78±0.14**##	1.76±0.12**##	1.90±0.18**##	1.74±0.18**##
一效膏组	6	1.45±0.11**##	1.41±0.13**##	1.59±0.12**##	1.37±0.14**##

注：**与空白组相比，$P<0.01$；##与模型对照组相比，$P<0.01$。

血脉瘀阻[9]。一效膏是辽沈名医“疮王”王品三发明的，由一效散混合适量香油而成，其主要成分为炉甘石(煅)、朱砂、冰片及滑石粉[10]。炉甘石甘、平，具有解毒明目退翳，收湿止痒敛疮的作用，可用于溃疡不敛，脓水淋漓等；朱砂甘、微寒，有毒，有清心镇惊，安神，明目之功，可用于口疮，疮疡肿毒等；冰片辛、苦，微寒，功效为开窍醒神，清热止痛，可用于口疮，耳道流脓等；滑石粉甘、淡、寒，外用祛湿敛疮，外治可用于湿疮等[11]，现代药理学研究发现，炉甘石煅烧后，具有抗菌、消炎、防腐、生肌、收敛等作用[12]，朱砂外用有抑制和杀菌作用，滑石粉有保护创面，吸收分泌物，促进结痂的作用[13]，前期研究证实，一效膏能够促进糖尿病皮肤溃疡小鼠创面愈合，并且将其外用于糖尿病足患者时，亦能够加快创面愈合[14－15]，但关于其抑制炎症反应的作用机制尚未进行深入研究。一效膏广泛应用于我科门诊及住院治疗糖尿病性皮肤溃疡，疗效显著，本研究肉眼观察到一效膏组大鼠，与模型对照组相比，愈合趋势明显。

糖尿病性溃疡是一种严重的慢性伤口，通常发生在下肢远端，治疗较难，是大多数非创伤性截肢的原因之一[16]，目前针对本病的治疗措施包括常规清创换药、负压伤口疗法、自体富血小板凝胶疗法和干细胞疗法等[17]。糖尿病患者的慢性伤口愈合不良，其发病机制尚不明确，可能与多种因素有关，包括炎症持续时间长、氧化应激增加、细菌感染严重、细胞迁移和增殖受损、缺血、感染、免疫功能受损、纤维化和血管问题等，这些情况都会导致溃疡伤口愈合效果不佳[18－19]。炎症对伤口愈合的影响已有诸多研究，典型的伤口愈合过程包括止血、炎症、增殖和重塑。糖尿病溃疡是糖尿病患者常见的并发症，导致糖尿病伤口难治的一个关键因素是慢性、持续性炎症，在炎症过程中，糖尿病患者的炎症因子和生长因子之间的失衡是伤口慢性炎症反应的原因，研究表明，在糖尿病伤口中，真皮和血管周围有更多的炎症细胞浸润，释放出大量的活性氧和蛋白水解酶，继续破坏正常组织，此外，在糖尿病伤口中，炎症因子(如 TNF－α、IL－1)的表达也持续偏高，糖尿病患者血清和组织中的高级糖化终产物(AGEs)增加，导致 NF－κB 活化增加，同时还诱导内皮细胞释放多种趋化因子和促炎细胞因子，加剧炎症反应[20－22]。多项研究报道，糖尿病患者血清和局部伤口中炎症因子增加，包括 C 反应蛋白、巨噬细胞迁移抑制因子、IL－1、白介素－6(IL－6)、白介素－8(IL－8)和 TNF－α[23]，TNF－α是一种众所周知的促炎细胞因子，由巨噬细胞和单核细胞产生，参与炎症反应和免疫反应[24]。IL－18 是一种促炎细胞因子，被归类为 IL－1 细胞因子家族的一员[25]，IL－18 水平失衡会导致炎症和各种疾病[26]。我们研究发现，一效膏组的 IL－1、IL－18、TNF－α 的含量，与模型组相比，在 3、7、14 d 均明显降低。

焦亡是细胞一种炎性死亡方式，通常由炎性小体 NLRP3 引发，过程主要由 Caspase－1 信号通路介导。NLRP3 炎症体

在所有已发现的炎症体中研究最为广泛，它在炎症和抗病毒反应中都发挥着重要作用，NRLP3 炎症体的激活将导致 NF－κB 的激活，炎症小体是一种多分子蛋白质复合物，由可溶性 PRR 通常称为 ASC 的适配蛋白（含有 Caspase 招募结构域的凋亡相关斑点样蛋白）和蛋白酶 Caspase－1 组成，Caspase－1 的激活会导致细胞焦亡程序，促使膜孔形成并释放成熟的 IL－1 和 IL－18[27－29]。与非糖尿病患者相比，糖尿病溃疡患者伤口组织中 NLRP3、Caspase－1 和 IL－1 的表达量明显更高，目前已认识到，IL－1 介导的炎症反应可降低胰岛素敏感性并损伤血管内皮细胞，导致伤口愈合较难[30]，糖尿病伤口中活化的 NLRP3 炎症小体（包括 IL－1 和 TNF－α）引起的多种促炎细胞因子升高，导致修复和血管生成不足，破坏角质形成细胞的增殖和迁移，从而严重损害伤口愈合，这些研究表明，炎症蛋白 NLRP3 是糖尿病伤口的有效治疗靶点[31]。本研究发现，一效膏能够显著下调 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 的蛋白表达水平及 mRNA 含量。

本实验结果表明，应用一效膏治疗糖尿病皮肤溃疡大鼠，其炎性因子及相关蛋白含量明显降低，并可观察到溃疡创面明显愈合。本研究发现，与模型对照组相比，一效膏组的 IL－1、IL－18、TNF－α 的表达水平明显降低，NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 蛋白水平下降，差异具有统计学意义。

综上所述，一效膏可以促进糖尿病溃疡伤口的愈合，降低血清炎性因子水平，可能是通过下调 NLRP3、Caspase－1、NF－κB、ASC 蛋白表达水平，抑制细胞焦亡实现的。目前关于一效膏能够抑制炎症反应促进糖尿病溃疡伤口的研究较少，本研究尚具有一定的局限性，后续可进一步探讨。

参考文献

[1] 杨雅量，葛星月，李文武，等. 基于网络药理学及分子对接探讨湿润烧伤膏促进糖尿病溃疡愈合的作用机制[J]. 海南医学院学报，2023，29(22)：1724－1733.
[2] KATHERINE M D，FANG M，BOULTON A，et al. Etiology，epidemiology，and disparities in the burden of diabetic foot ulcers[J]. Diabetes Care，2023，46(1)：209－221.
[3] LIU Y Q，ZHANG D D，DENG J Y，et al. Preparation and safety evaluation of centella asiatica total glycosides nitric oxide gel and its therapeutic effect on diabetic cutaneous ulcers [J]. Evid Based Complement Alternat Med，2022(12)：1419146.
[4] KAIRYS A，PAULIUKIENE R，RAUDONIS J V，et al. Towards home－based diabetic foot ulcer monitoring：a systematic review[J]. Sensors (Basel)，2023，23(7)：3618.
[5] DONG J，CHEN L H，ZHANG Y，et al. Mast cells in diabetes and diabetic wound healing [J]. Adv Ther，2020，37(11)：4519－4537.
[6] CHEN X Y，JIANG W W，LIU Y L，et al. Anti－inflammatory action of geniposide promotes wound healing in diabetic rats[J]. Pharm Biol，2022，60(1)：294－299.
[7] 刘欣，王云飞. 中医药治疗糖尿病足溃疡的研究进展[J]. 海南医学学报，2021，27(16)：1277－1280.
[8] 宋珊珊，李大勇，李鑫，等. 一效膏治疗糖尿病足临床研究[J]. 陕西中医，2021，42(9)：1236－1239.
[9] 刘涛，魏晓涛，何志军，等. 血管新生在糖尿病溃疡中的作用及中药干预研究进展[J]. 中国中药杂志，2023，48(7)：1731－1738.
[10] 王宇，王海波，王艳华. 一效膏治疗压疮[J]. 长春中医药大学学报. 2019，35(6)：1101－1103.
[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：四部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020.
[12] 周灵君，张丽，路长珍，等. 市售生、煅炉甘石的成分分析及质量评价[J]. 中国药房，2010，21(27)：2534－2536.
[13] 高学敏. 中药学[M]. 北京：中国中医药出版社，2007.
[14] 柴政，李大勇，吕延伟. 一效膏对糖尿病皮肤溃疡小鼠创面组织愈合相关因子不同时相影响[J]. 辽宁中医药大学学报，2016，18(7)：38－40.
[15] 侯俊杰，李大勇，王晶. 一效膏配合负压封闭引流治疗重度糖尿足临床经验总结[J]. 中国中西医结合外科杂志，2019，25(4)：614－616.
[16] IVANOV E，AKHMETSHINA M，ERDIAKOV A，et al. Sympathetic system in wound healing：multistage control in normal and diabetic skin[J]. Int J Mol Sci，2023，24(3)：2045.
[17] SAWAYA A P，STONE R C，BROOKS S R，et al. Deregulated immune cell recruitment orchestrated by FOXM1 impairs human diabetic wound healing[J]. Nat Commun，2020，11：4678.
[18] MO J M，HUANG Y J，WANG Q，et al. Autologous wound margin point columnar full－thickness skin grafting combined with negative pressure wound therapy improves wound healing in refractory diabetic foot ulcers[J]. Int Wound J，2023，20(5)：1506－1516.
[19] XIANG K T，CHEN J，GUO J H，et al. Multifunctional ADM hydrogel containing endothelial cell－exosomes for diabetic wound healing [J]. Mater Today Bio，2023，23：100863.
[20] LIU Y，LIU Y Q，HE W J，et al. Fibroblasts：Immunomodulatory factors in refractory diabetic wound healing[J]. Front Immunol，2022，13：918223.
[21] LI S Y，DING X F，YAN X，et al. ceAF ameliorates diabetic wound healing by alleviating inflammation and oxidative stress via TLR4/NF－κB and Nrf2 pathways[J]. J Diabetes Res，2023：2422303.
[22] HUANG Y M，DING Y J，WANG B Z，et al. Neutrophils extracellular traps and ferroptosis in diabetic wounds[J]. Int Wound J，2023，20(9)：3840－3854.
[23] WAN T，LLI L C，ZHU Z Y，et al. Scorpion venom active polypeptide may be a new external drug of diabetic ulcer[J]. Evid Based Complement Alternat Med，2017(9)：5161565.
[24] DENG P，LIANG H，WANG S，et al. Combined metabolomics and network pharmacology to elucidate the mechanisms of Dracorhodin Perchlorate in treating diabetic foot ulcer rats[J]. Front Pharmacol，2022，13：1038656.
[25] YASUDA K，NAKANISHI K，TSUTSUI H. Interleukin－18 in health and disease[J]. Int J Mol Sci，2019，20(3)：649.
[26] LEE J H，CHO D H，PARK H J. IL－18 and cutaneous inflammatory diseases[J]. Int J Mol Sci，2015，16(12)：29357－29369.
[27] ZHAO C Y，ZHAO W. NLRP3 inflammasome—a key player in antiviral responses[J]. Front Immunol，2020，11：211.
[28] SEOANE P I，LEE B，HOYLE C，et al. The NLRP3－inflammasome as a sensor of organelle dysfunction[J]. J Cell Biol，2020，219(12)：e202006194.
[29] IHIM S A，ABUBAKAR S D，ZIAN Z. Interleukin－18 cytokine in immunity，inflammation，and autoimmunity：Biological role in induction，regulation，and treatment [J]. Front Immunol，2022，13：919973.
[30] ZHAO Y，WANG Q B，YAN S. Bletilla striata polysaccharide promotes diabetic wound healing through inhibition of the NLRP3 inflammasome[J]. Front Pharmacol，2021，12：659215.
[31] LV D M，CAO X L，ZHONG L. Targeting phenylpyruvate restrains excessive NLRP3 inflammasome activation and pathological inflammation in diabetic wound healing [J]. Cell Rep Med，2023，4(8)：101129.

一效膏促进糖尿病性溃疡愈合的抗焦亡机制研究

（正文见 189 – 193 页）

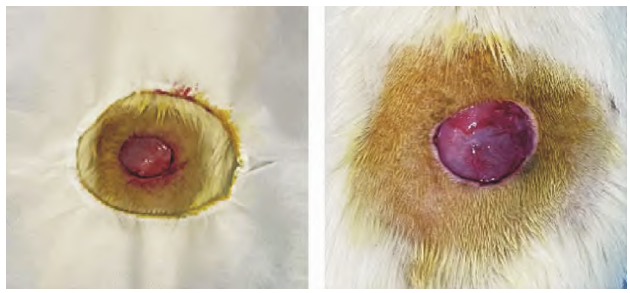


图 2　糖尿病大鼠溃疡创面

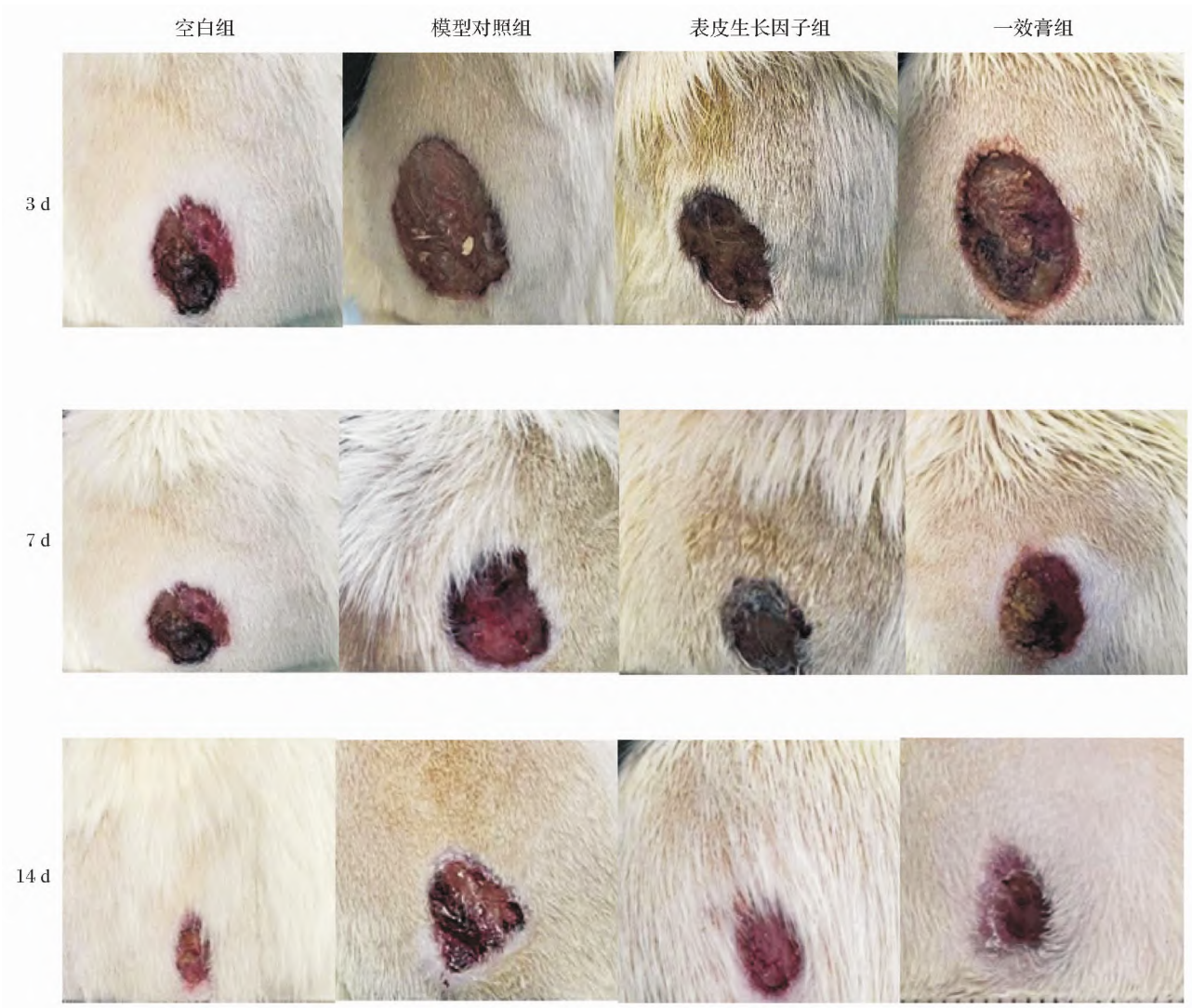


图 3　各组大鼠创面情况

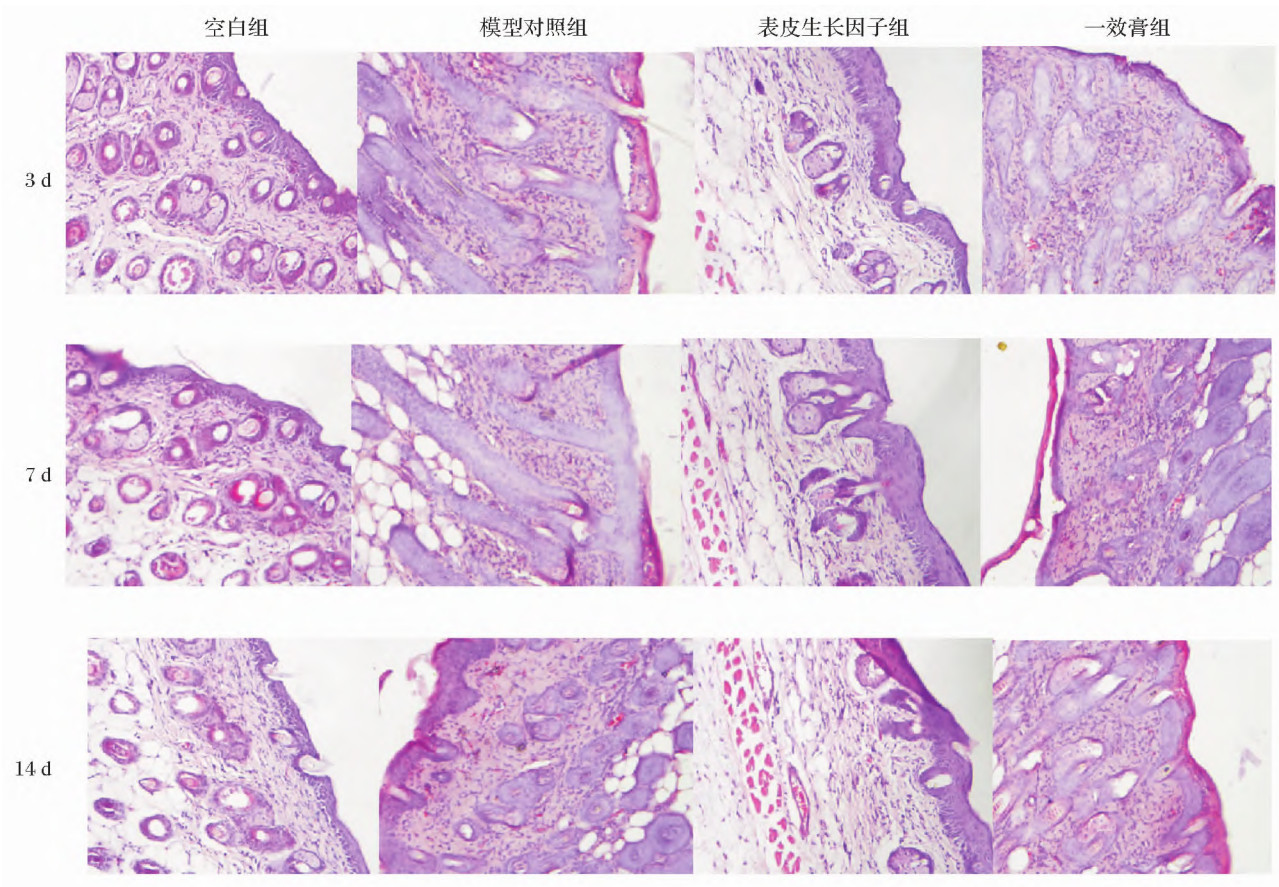


图 4　各组大鼠 HE 染色结果

超声介入射频消融术联合莲芪煎剂治疗原发性肝癌的疗效观察

（正文见 231 – 234 页）

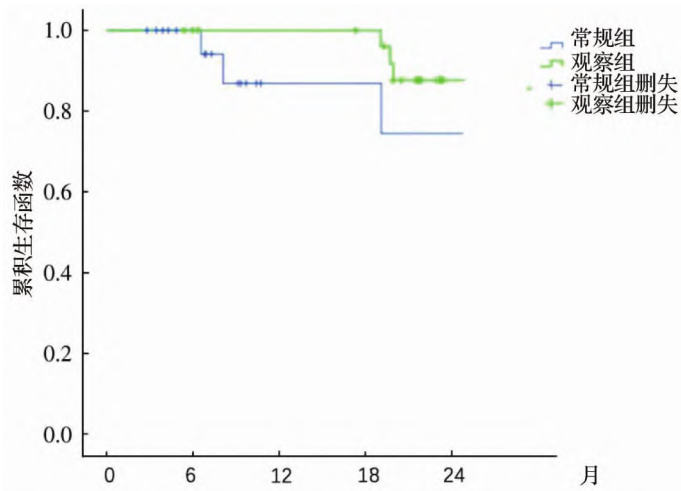


图 1　两组原发性肝癌患者治疗随访 24 个月生存曲线情况