DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.02.020

海螵蛸含药血清对高糖诱导的血管内皮细胞增殖及血管生成的影响

王国威[1],卓涛[1],吴思贤[1],郑全伟[1],李梦颖[2],李杰辉[3],刘建航[2]
(1.广西中医药大学,广西 南宁 530000;2.广西中医药大学附属北海医院,广西 北海 536000;
3.广西中医药大学第一附属医院,广西 南宁 530000)

摘要:目的 探究海螵蛸含药血清调控PI3K/Akt/eNOS信号通路对高糖诱导血管内皮细胞(HUVECs)增殖、凋亡及血管生成的影响。方法 选取20只SD大鼠,随机对10只大鼠灌胃海螵蛸水煎剂,10只灌胃等量生理盐水,末次给药后2 h制备相应血清。体外培养HUVECs,筛选最佳造模高糖浓度,对细胞诱导24 h,建立高糖损伤模型。根据诱导情况分为空白对照组(Control组)、模型组(Model组)、海螵蛸低剂量组(CLG组)、海螵蛸中剂量组(CMG组)、海螵蛸高剂量组(CHG组),相应血清干预24 h。采用CCK-8法检测各组细胞增殖情况;细胞划痕实验评估各组细胞的迁移能力;流式细胞术检测各组细胞的凋亡情况;体外成管实验检测各组血管生成情况;采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)测定各组细胞mRNA表达;采用蛋白免疫印迹法检测磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、p-PI3K、蛋白激酶B(Akt)、p-Akt、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、人体抑癌基因(p53)蛋白表达情况。结果 高糖诱导内皮细胞损伤的最佳浓度为30 mmol/L;与Control组比较,Model组细胞活性下降,划痕愈合率降低,体外成管数量减少,凋亡率及p53蛋白表达升高,p-PI3K、p-Akt、eNOS蛋白表达降低,PI3K、Akt、eNOS mRNA表达降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);与Model组对比,CLG、CMG、CHG组细胞存活率上升,划痕愈合率提高,体外成管数量增加,凋亡率及p53蛋白表达下降,p-PI3K、p-Akt、eNOS蛋白表达及PI3K、Akt、eNOS mRNA表达均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 海螵蛸含药血清可介导PI3K/Akt/eNOS信号通路,从而促进血管内皮细胞的增殖、迁移及血管生成。

关键词:海螵蛸;高糖;人脐静脉内皮细胞;PI3K/Akt/eNOS通路;增殖;血管生成
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)02-0111-08

Effects of Drug-Containing Serum of Haipiaoxiao(Cuttlebone) on Proliferation and Angiogenesis of HUVEC Induced by High Glucose

WANG Guowei[1],ZHUO Tao[1],WU Sixian[1],ZHENG Quanwei[1],LI Mengying[2],LI Jiehui[3],LIU Jianhang[2]
(1. Guangxi University of Chinese Medicine,Nanning 530000,Guangxi,China;
2. Beihai Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine,Beihai 536000,Guangxi,China;
3. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine,Nanning 530000,Guangxi,China)

Abstract:*Objective* To observe the effect of Haipiaoxiao(Cuttlebone) drug-containing serum regulating PI3K/Akt/eNOS signaling pathway on proliferation,apoptosis and angiogenesis of vascular endothelial cells(HUVECs) induced by high glucose. *Method* Twenty SD rats were selected,10 rats were randomly gavaged with Haipiaoxiao(Cuttlebone) water decoction and 10 rats with the same amount of normal saline. The corresponding serum was prepared 2 h after the last administration. HUVECs were cultured in vitro,the optimal high glucose concentration was screened,and the cells were induced for 24 h to establish a high glucose damage model. According to the induction conditions,they were divided into blank Control group,Model group,Haipiaoxiao(Cuttlebone) low group,Haipiaoxiao(Cuttlebone) medium group group,Haipiaoxiao(Cuttlebone) high group,and the corresponding serum was treated for 24 h. The cell proliferation was detected by CCK-8 method. Cell migration ability was evaluated by cell scratch assay. The apoptosis of cells in each group was detected by flow cytometry. Angiogenesis of each group was detected by in vitro tube formation. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction(qRT-PCR) was used to determine the mRNA expression of each group. The expressions of phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K),p-PI3K,protein kinase B(Akt),p-Akt,endothelial nitric oxide synthase(eNOS) and human tumor suppressor gene(p53) protein were detected by Western blot. *Result* The optimal concentration of high glucose induced endothelial cell injury was 30 mmol/L. Compared with those of the Control group,the cell activity,wound-healing rate,the number of angiogenesis experiment in vitro were decreased,

基金项目:国家自然科学基金项目(82360931);北海市科学研究与技术开发项目(北科合2023258021);广西中医药大学研究生教育创新计划项目(YCBXJ2023036)
作者简介:王国威(1993-),男,河南永城人,医师,博士,研究方向:中医骨伤科学。
通讯作者:刘建航(1976-),男,广西苍梧人,教授、主任医师,博士研究生导师,博士,研究方向:中医骨伤科学。E-mail:liujianhang@163.com。

the apoptosis rate and p53 protein expression were increased, the protein expressions of p-PI3K, p-Akt and eNOS were decreased, and mRNA expressions of PI3K, Akt and eNOS were decreased in the Model group. The differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with the Model group, Haipiaoxiao (Cuttlebone) low, medium and high dose groups increased the cell survival rate, improved the wound-healing rate, increased the number of angiogenesis experiment, decreased the apoptosis rate and p53 protein expression, increased the protein expressions of p-PI3K, p-Akt and eNOS and the mRNA expressions of PI3K, Akt and eNOS. The differences were statistically significant ($P<0.05$). *Conclusion* Haipiaoxiao (Cuttlebone) drug-containing serum can mediate PI3K/Akt/eNOS signaling pathway to promote the proliferation, migration and angiogenesis of vascular endothelial cells.

Keywords: Haipiaoxiao (Cuttlebone); high glucose; human umbilical vein endothelial cells; PI3K/Akt/eNOS pathway; proliferation; angiogenesis

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种常见多发的慢性代谢性疾病,而糖尿病溃疡是糖尿病最严重的慢性并发症之一,其发病率高至19%~34%[1],属难愈性创面首要病因,严重影响患者生存质量。糖尿病溃疡成因复杂,涉及血管病变、神经系统功能障碍、代谢紊乱等因素[2],另外创面微环境中致病菌与共生菌的失衡状态亦影响糖尿病溃疡创面的修复[3],故如何改善糖尿病溃疡的创面愈合疗效仍是当前医学界亟需解决的问题。

海螵蛸(Cuttlebone)是乌贼科动物的干燥内壳,具有收敛止血、制酸止痛等功效[4],现代药理学研究多聚焦海螵蛸甲壳素及壳聚糖,且已被证实具有止血及促进组织修复的作用[5-6]。磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)是一条参与细胞生长、增殖、代谢等过程的经典信号通路,如一氧化氮合酶(eNOS)受Akt磷酸化激活后可促进一氧化氮(NO)的生成,进而促进血管扩张与血管生成;抑癌因子p53调节细胞凋亡,维持细胞的基因组稳定性等[7]。然而海螵蛸对高糖诱导下的血管内皮细胞增殖、迁移等功能的影响及作用机制尚未明确。本研究旨在探索海螵蛸含药血清对人脐静脉内皮细胞(HUVECs)的增殖、凋亡、促血管生成的影响,并验证与PI3K/Akt通路之间的关系,为糖尿病溃疡的治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物、细胞

动物:6周龄SPF级雄性SD大鼠20只,体质量210~250 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可号:SCXK(湘)2019-0004;实验单位使用许可证编号:SYXK桂2024-0004。所有大鼠均饲养于SPF级动物房,饲养期间自由饮食水,保证每天光照12 h,温度20~22 ℃,相对湿度50%~70%。本研究符合一般动物实验伦理学原则。

细胞:人脐静脉内皮细胞(HUVEC),购于上海葵赛生物科技有限公司。

1.2 药品及试剂

海螵蛸药典品(500 g/袋)购自北海市中医医院;原代内皮细胞培养体系(货号8003)购自上海葵赛生物科技有限公司;细胞基础培养基(货号G4511)、胎牛血清(货号G8003)、胰蛋白酶消化液(货号G4011)、PBS缓冲液(货号G4250)、CCK-8试剂盒(货号G4103)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒(货号KGA108)购自南京凯基生物科技发展有限公司;基质胶(货号356234)购自北京Solarbio公司;P53(货号ab26)、eNOS(货号ab199956)、PI3K(货号ab180967)、Akt(货号ab179463)抗体均购自美国Abcam公司;p-PI3K(货号AF3242)、p-Akt(货号AF0016)抗体均购自美国Affinity公司;GAPDH(货号60004-1-Ig)购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 主要实验仪器

二氧化碳(CO_2)培养箱(美国Thermo),VICTOR Nivo多功能酶标仪(美国Perkin Elmer),CKX41倒置显微镜(日本Olympus),通用电泳仪(美国Bio-Rad),凝胶成像系统(美国Bio-Rad),荧光定量PCR仪(美国罗氏)。

1.4 方法

1.4.1 含药血清与含药血清培养基配制 含药血清制备:取10 g海螵蛸与100 mL蒸馏水混合,浸泡1 h后煎煮1.5 h,滤出药液,过滤后的药渣再加100 mL蒸馏水重复煎煮1.5 h,合并2次滤液,浓缩制成终质量浓度为200 mg/mL的海螵蛸水煎剂。20只SD大鼠随机分为空白组(10只)和药物组(10只),分别灌胃生理盐水(5 mL/kg)和海螵蛸水煎剂(生药含量1 g/kg),连续灌胃7 d,药物剂量等效于临床剂量(按照人和动物表面积折算等效剂量比率计算)。末次给药前大鼠禁食不禁水12 h,末次给药后2 h处死大鼠,腹主动脉取血,静置2 h后经离心机4000 r/min,4 ℃,离心15 min,分离血清;过滤血清,56 ℃水浴灭活30 min,分装,置于-80 ℃冰箱备用。

含药血清培养基配制:将空白血清及含药血清用无血清的基础培养基(无糖DMEM)按比例配成终浓度为5%、10%、20%的培养基。

1.4.2 细胞培养 在37 ℃、5% CO_2的培养箱中,以含有10%胎牛血清与100 mg/L青-链霉素的DMEM完全培养基培养HUVECs。当细胞融合度达到80%左右时,胰酶消化传代,收集3~5代对数期生长的细胞进行后续研究。

1.4.3 高糖模型的制备 将HUVECs接种于96孔板,5.0×10^4个/孔,200 μL/孔,随机分为对照组和模型组,D-葡萄糖终浓度为:对照组(5.5 mmol/L),模型组(10、20、30、40 mmol/L),每组设置6个平行复孔,培养箱中培养24 h后,加入CCK-8溶液10 μL/孔,培养箱中继续孵育1 h。用酶标仪在450 nm波长下测量吸光度(OD)值,计算细胞存活率,存活率(%)=(样品OD值-空白OD值)/(对照OD值-空白OD值)×100%。最终选取存活率为50%左右的高糖浓度建立HUVECs损伤模型。

1.4.4 含药血清干预后细胞活力检测 收集1.4.3中使用30 mmol/L D-葡萄糖诱导24 h的HUVECs,接种于96孔板,5.0×10^4个/孔,随机分为空白对照组(Control组)、模型组(Model组)、海螵蛸低剂量组(CLG组)、海螵蛸中剂量组(CMG组)、海螵蛸高剂量组(CHG组),用1.4.1制备的空白血清及不同浓度含药血清培养基处理相对应的不同组别的细胞24 h,采用CCK-8法检测细胞活力,方法同前。

1.4.5 含药血清干预后细胞凋亡检测 收集1.4.2中的HUVECs接种于6孔板,1.0×10^5个/孔,按照1.4.4的方法干预不同组别的细胞,分别收集细胞培养液于离心管中备用,胰酶

(不含 EDTA)消化细胞,PBS 洗涤、重悬细胞,将细胞悬液、Annexin V/FITC 和 PI 溶液加入 5 mL 流式管中,混合后轻微振荡,室温避光环境下孵育 15 min,流式细胞仪进行检测。

1.4.6 细胞划痕实验 弃去培养瓶中的培养基,PBS 清洗,胰酶消化,细胞计数后接种于 6 孔板中,1.0×10^5 个/孔。待细胞扩散至孔板底部,用无菌枪头在板底部中间垂直划痕后采用 1.4.4方法干预各组细胞 24 h,每组设 6 个复孔,倒置显微镜下拍照,Image J 软件测量 24 h 划痕宽度计算各组平均愈合率。愈合率 = (0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度 ×100%。

1.4.7 体外血管生成实验 取对数期生长的 HUVECs 按照 1.4.4 方法干预各组细胞 24 h,提前取 Matrigel 基质胶铺于 24 孔板中,250 μL/孔,静置 1 h 备用;收集给药干预后的各组细胞制成细胞悬液,加入 24 孔板中,500 μL/孔,培养 4 h。倒置显微镜下随机选取不同视野观察细胞成管状态。

1.4.8 Western Blot 蛋白印迹分析 采用 1.4.4 方法进行分组、铺板,使用海螵蛸含药血清干预后,将 RIPA 裂解液加入细胞内,提取蛋白,采用 BCA 法测定总蛋白含量。通过 SDS - PAGE 电泳分离蛋白,湿转法将蛋白转至 PVDF 膜上,快速封闭液封闭 15 min,与稀释比例为 1∶1500 的 p - PI3K、PI3K、p - Akt、Akt、eNOS、p53 抗体孵育过夜;次日 TBST 漂洗 3 次,加入二抗(1∶5000),4 ℃孵育 1 h。ECL 显色,曝光条带,保存图片,导出数据进行下一步分析。

1.4.9 qRT - PCR 提取 1.4.4 各组细胞总 RNA,并利用反转录试剂盒得到 cDNA。采用 SYBR Premix Ex Taq GC 在 7300 Real - time PCR 系统中进行测定。反应条件:95 ℃预变性 5 min;95 ℃变性 15 s,60 ℃退火延伸 1 min(40 个循环)。引物由南宁捷尼斯生物科技有限公司合成,PI3K:上游 5' - GGGACAAAATAGGAATGA - 3',下游 5' - GCACAGGAATAAACGAAT - 3';Akt:上游 5' - GCTCTTCTTCCACCTGTC - 3',下游 5' - AGCCCAAAATCTGTAATCT - 3';eNOS:上游5' - CAGCACATTTGGGAATGGGG - 3',下游 5' - GAGGACACCAGTGGGTCTGA - 3';p53 上游 5' - CTGCTCAGATAGCGATGG - 3',下游5' - ACAAACACGCACCTCAAA - 3'。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 24.0 统计学软件进行数据分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用 SNK - q 检验;计数资料组间比较采用 χ^2 检验。$P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

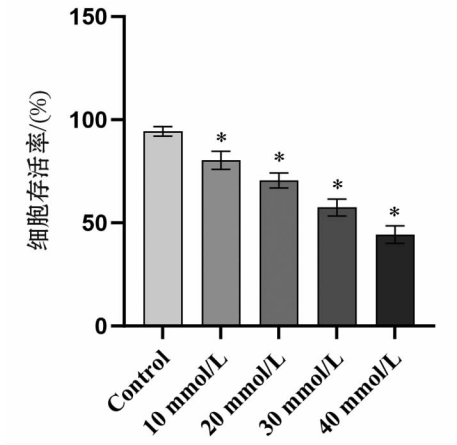
2 结果

2.1 高糖诱导对 HUVECs 增殖抑制作用

与 Control 组比较,经高糖干预后的 HUVECs 的细胞存活率随着作用浓度和时间的增加逐渐下降,细胞存活率分别为(94.33 ± 2.316)%、(80.31 ± 4.425)%、(70.55 ± 3.609)%、(57.44 ± 4.116)%、(44.35 ± 4.268)%($P<0.05$);作用 24 h 后 30 mmol/L 高糖干预后的 HUVECs 细胞存活率高于 50%;40 mmol/L 高糖干预后的 HUVECs 细胞存活率低于 50%。为了更好地检测海螵蛸含药血清的作用,选取存活率为 50% 左右的高糖浓度建立 HUVECs 损伤模型,因此,选取 30 mmol/L 高糖干预 HUVECs 24 h 为最佳造模条件。见图 1。

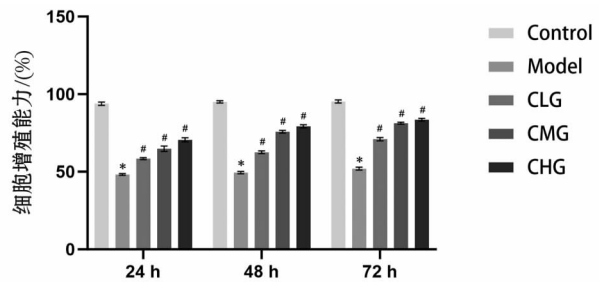
2.2 海螵蛸含药血清对高糖诱导的 HUVECs 活力的作用

比较海螵蛸低、中、高剂量含药血清和无海螵蛸血清处理后 24、48、72 h 的高糖诱导的 HUVECs 活性,结果显示,与 Control 组比较,Model 组细胞活性下降($P<0.05$);与 Model 组相比,CLG、CMG、CHG 组 HUVECs 存活率依次升高($P<0.05$),呈现剂量依赖性。见图 2。



注:* 与 Control 组比较,$P<0.05$。

图 1 不同浓度高糖对 HUVECs 增殖抑制作用



注:* 与 Control 组比较,$P<0.05$;# 与 Model 组比较,$P<0.05$。

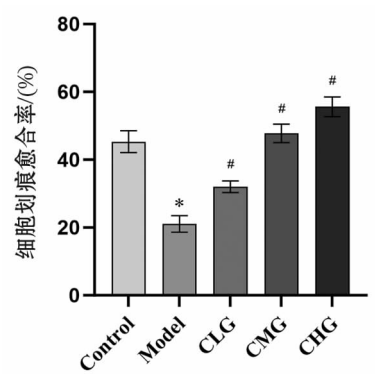
图 2 海螵蛸含药血清对高糖诱导的 HUVECs 活力的影响

2.3 海螵蛸含药血清对高糖诱导的 HUVECs 凋亡的影响

流式细胞结果显示,与 Control 组比较,Model 组细胞凋亡率升高($P<0.05$);与 Model 组比较,CLG、CMG、CHG 组 HUVECs 的凋亡率均降低($P<0.05$),呈现剂量依赖性。见插页XX图 3。

2.4 海螵蛸含药血清对高糖诱导的 HUVECs 迁移的作用

与 Control 组比较,Model 组 HUVECs 细胞划痕愈合率下降($P<0.05$);与 Model 组比较,CLG、CMG、CHG 组均能促进 HUVECs 的细胞迁移,细胞划痕愈合率依次升高($P<0.05$),呈现剂量依赖性。见插页XX图 4、图 5。



注:* 与 Control 组比较,$P<0.05$;# 与 Model 组比较,$P<0.05$。

图 5 不同组别 HUVECs 细胞划痕愈合率

2.5 海螵蛸含药血清对高糖诱导的 HUVECs 血管生成能力的影响

体外血管成管实验结果显示,与 Control 组比较,Model 组

环形管状结构减少，管腔呈破碎状；与 Model 组比较，CLG、CMG、CHG 剂量组环形管状结构逐渐增多，成管的长度及分支点数量提高，促进血管生成。见插页XXII图6。

2.6 海螵蛸含药血清对高糖诱导的 HUVECs 相关蛋白表达的影响

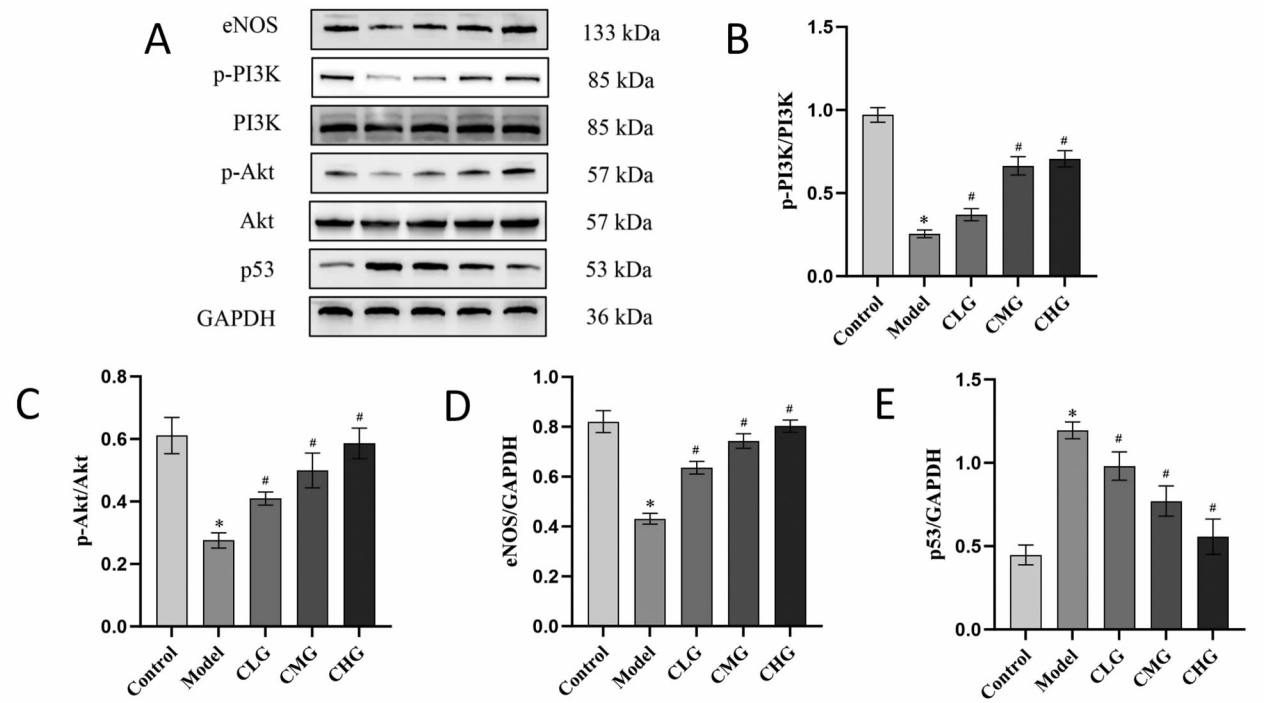
Western blot 结果显示：与 Control 组比较，Model 组 p－PI3K、p－Akt、eNOS 蛋白表达均降低，p53 蛋白表达升高（$P<0.05$）；与 Model 组比较，CLG、CMG、CHG 组 p－PI3K、p－Akt、eNOS 蛋白表达依次升高，p53 蛋白表达依次降低（$P<0.05$），呈现剂量依赖性。见图7。

2.7 海螵蛸含药血清对高糖诱导的 HUVECs mRNA 表达的影响

qRT－PCR 结果显示：与 Control 组比较，Model 组 PI3K、Akt、eNOS mRNA 表达均降低，p53 mRNA 表达升高（$P<0.05$）；与 Model 组比较，CLG、CMG、CHG 组 PI3K、Akt、eNOS mRNA 表达依次升高，p53 mRNA 表达依次降低（$P<0.05$），呈现剂量依赖性。见图8。

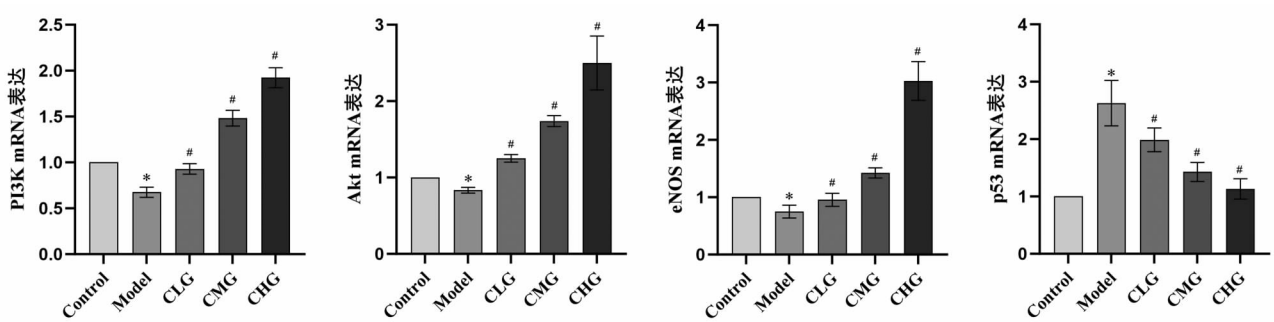
3 讨论

国内一项调查显示，2020 年我国老年人口占总人口的18.4%，其中约1/3老年人罹患糖尿病[8]，其所诱发的血管并发症是导致患者病死率高的首要因素，而血管内皮细胞功能受损和血管修复受限是血管并发症发展的核心机制之一[9]。血管内皮细胞是构成血管内壁的一层细胞，它们在维持血管功能和结构完整性方面起着重要作用[10]。健康的血管内皮细胞能够分泌多种生物活性物质，如一氧化氮（NO），调节血管的收缩和舒张，维持血管的正常张力等。长期高血糖会引发氧化应激反应，生成大量活性氧（ROS），直接损伤内皮细胞的脂质、蛋白质和 DNA[11]；此外，高血糖还会促进晚期糖基化终产物（AGEs）的形成，与内皮细胞上的受体结合后，调控一系列细胞信号通路，增加炎症和氧化应激[12]，致使血管通透性增加，加重内皮细胞的损伤，无法维持正常的生理功能。本实验为探究中药能否逆转高糖诱导下内皮细胞损伤的作用机制，通过预先构建高糖损伤模型，设置不同浓度梯度筛选最佳造模浓度，最终选取 30 mmol/L 高糖干预 HUVECs 24 h 为最佳造模条件。



注：A：蛋白印迹实验条带；B：p－PI3K/PI3K 蛋白印迹条带的定量分析；C：p－Akt/Akt 蛋白印迹条带的定量分析；D：eNOS/GAPDH 蛋白印迹条带的定量分析；E：P53/GAPDH 蛋白印迹条带的定量分析。＊与 Control 组比较，$P<0.05$；#与 Model 组比较，$P<0.05$。

图7 不同组别 p－PI3K、p－Akt、PI3K、Akt、eNOS、p53 蛋白表达比较



注：＊与 Control 组比较，$P<0.05$；#与 Model 组比较，$P<0.05$。

图8 不同组别 PI3K、Akt、eNOS、p53 mRNA 表达比较

海螵蛸,又称乌贼骨,药用部分来源于乌贼科动物的干燥内壳,具有收敛止血、制酸止痛等功效[13]。现代研究发现海螵蛸含有多种无机物和有机物,其中碳酸钙为主要成分,约占其中的 80% ~85%[5],可用于成骨、止血、制酸[14-16]等;此外,海螵蛸中还含有如氨基酸、多肽、多糖等有机物质,具有抗菌、抗炎、促进创面愈合等作用[17-18]。XU G L 等[19]为突出海螵蛸衍生基质底物特性在生物医学应用的潜力,发现其可维持良好的细胞生长微环境从而促进内皮细胞增殖和体外血管生成。JANG K J 等[20]提出海螵蛸提取物具有促进大鼠烧伤创面愈合的作用,猜测与其所含的多种微量元素和生物活性化合物有关,能够调节局部蛋白质代谢,促进细胞增殖和组织再生。本研究结果提示,海螵蛸含药血清能够促进高糖诱导下 HUVECs 细胞迁移及体外成管能力,这与前者研究结果一致。因此,海螵蛸有望成为改善 DM 血管并发症,促进创面修复的有效海洋中药之一。

血管内皮细胞的增殖及促血管生成是一个复杂的过程,其中涉及多种因子的相互作用与调控,如 Akt、eNOS、p53 等,可通过 PI3K/Akt 信号通路促进内皮细胞的增殖、迁移与细胞存活。PI3K 激活后产生磷脂酰肌醇 -3,4,5 - 三磷酸(PIP3),PIP3 进一步激活下游 Akt,而 Akt 活化后能够抑制细胞凋亡并促进细胞增殖[21]。p53 作为一种转录因子,能够上调磷酸酶及张力蛋白磷酸酶同源物(PTEN)的表达,而 PTEN 可以将 PIP3 去磷酸化为 PIP2,抑制 PI3K/Akt 通路,继而抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡[22]。高糖条件下,p53 可能会通过上调 PTEN 而抑制 Akt 活性,减少内皮细胞的增殖和血管生成[23]。本研究中,HUVECs 暴露在高糖环境中,p - PI3K、p - Akt、eNOS 蛋白表达降低,但 p53 蛋白表达升高,表明高糖可能抑制 PI3K/Akt 信号通路,上调 p53 表达。经海螵蛸含药血清干预后,p - PI3K、p - Akt、eNOS 蛋白表达升高,而 p53 蛋白表达降低,提示海螵蛸可能通过激活 PI3K/Akt/eNOS 通路活性,增加 p - PI3K、p - Akt、eNOS 蛋白表达,降低 p53 蛋白表达,改善创面愈合情况。由于高糖条件下血管内皮细胞与肿瘤血管内皮细胞在细胞内环境方面(基因表达谱、代谢状态等)存在显著差异,而本研究结果同样表明海螵蛸含药血清对高糖环境中血管内皮细胞的增殖和血管生成作用存在剂量和时间的依赖性,由此猜测其可能通过特定的生物途径选择性地促进正常血管的形成,而不过度激活肿瘤相关的异常路径,未达到促进血管内皮细胞瘤形成的阈值,主要体现在正常血管与创面的修复及愈合功能的恢复。此外,根据现有文献,尚未记载使用海螵蛸而出现或促进血管内皮细胞瘤发生、恶化的证据,这也支持了海螵蛸在合理剂量和控制下使用的安全性。

综上,海螵蛸含药血清可以增强 HUVECs 细胞迁移、增殖、成管等能力,减少细胞凋亡,这可能与抑制 p53 的表达从而激活 PI3K/Akt 信号通路有关,表明海螵蛸在治疗 DM 血管并发症及创面修复等方向存在研究价值,为后续开拓海洋中药应用前景提供了前期研究基础。本研究亦存在不足,如研究时间有限,未对 72 h 后的细胞增殖、凋亡等情况展开对比研究,在今后的研究中,可延长实验观测时间,补充实验组别,多维度探讨海螵蛸对治疗 DM 血管并发症疗效的影响。

参考文献

[1] STRATMAN S, SCHNEIDER C, KIRSNER R S. New therapies for the treatment of diabetic foot ulcers: updated review of clinical trials [J]. Surg Technol Int, 2020, 37: 37 - 47.
[2] 赵亚男, 魏建梁, 李秋, 等. 基于“皮 - 肠轴”理论探讨肠道菌群与糖尿病溃疡的关系[J]. 中国病理生理杂志, 2024, 40(6): 1128 - 1133.
[3] 李英, 赵跃斌. 溃疡微生物在糖尿病足伤口愈合中的作用[J]. 大连医科大学学报, 2024, 46(2): 149 - 154.
[4] 王建, 张冰. 临床中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 6.
[5] 王丹, 王晶娟. 海螵蛸止血作用的现代研究进展[J]. 中医药学报, 2018, 46(6): 113 - 118.
[6] 袁晓菲, 夏兆芳, 孙庆. 海螵蛸在创面修复中作用机制的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2021, 27(4): 645 - 647.
[7] GLAVIANO A, FOO A S C, LAM H Y, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 138.
[8] 《中国老年型糖尿病防治临床指南》编写组. 中国老年 2 型糖尿病防治临床指南(2022 年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2022, 30(1): 2 - 51.
[9] CASANOVA F, GOODING K M, SHORE A C, et al. Weight change and sulfonylurea therapy are related to 3 year change in microvascular function in people with type 2 diabetes[J]. Diabetologia, 2020, 63(6): 1268 - 1278.
[10] CHUNG A S, LEE J, FERRARA N. Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis[J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10: 505 - 514.
[11] 王永琪, 季华, 唐颖, 等. 内皮祖细胞外泌体中 miRNA - 222 - 3p 对糖尿病小鼠皮肤伤口愈合的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(7): 1195 - 1200.
[12] 徐晶晶, 童世红, 舒国斌, 等. 康复新液对糖尿病难愈合创面中 AGEs、RAGE 及 HIF - 1 表达水平的影响[J]. 广东医学, 2024, 45(2): 231 - 235.
[13] 陈蔚文. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2011:408.
[14] TATTANON T, PONGPRAYOON T, ARPORNMAEKLONG P, et al. Development of hydroxyapatite from cuttlebone and gelatin - based hydrogel composite for medical materials[J]. J Polym Res, 2022, 29(9): 364.
[15] JANAHMADI Z, MOMENI S, MANOOCHEHRI H, et al. Development of an efficient hemostatic material based on cuttlefish ink nanoparticles loaded in cuttlebone biocomposite[J]. J Mater Chem B, 2024, 12(17): 4172 - 4183.
[16] 肖志健, 梁怡, 吴菀仪, 等. 国家专利数据库中药专利复方治疗胃溃疡用药规律研究[J]. 中国中医药图书情报杂志, 2024, 48(4): 137 - 141.
[17] RAMASAMY P, SEKAR S, PARAMASIVAM S, et al. Sulfation of chitosan from *Sepia kobiensis* as potential anticoagulant and antibacterial molecule[J]. Nat Prod Res, 2022, 36(12): 3216 - 3222.
[18] 王戈. 白芨和海螵蛸对细菌感染小鼠创面愈合影响的实验研究[D]. 大连: 大连医科大学, 2022.
[19] XU G L, LI H, MA X Y, et al. A cuttlebone - derived matrix substrate for hydrogen peroxide/glucose detection[J]. Biosens Bioelectron, 2009, 25(2): 362 - 367.
[20] JANG J K, LEE O S, KANG T J, et al. Wound healing effect of cuttlebone extract in burn injury of rat[J]. Food Sci Biotechnol, 2013, 22(1): 99 - 105.
[21] FRUMAN D A, CHIU H, HOPKINS B D, et al. The PI3K pathway in human disease[J]. Cell, 2017, 170(4): 605 - 635.
[22] CHEN C Y, CHEN J Y, HE L N, et al. PTEN: tumor suppressor and metabolic regulator[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2018, 9: 338.
[23] RASCIO F, SPADACCINO F, ROCCHETTI M T, et al. The pathogenic role of PI3K/AKT pathway in cancer onset and drug resistance: an updated review [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(16): 3949.