

[文章编号] 1000- 4718(2005)08- 1508- 06

疡愈涂剂对糖尿病大鼠创面 I、III 胶原合成及 MMPs、TIMP- 1 表达的影响*

盛 巡¹, 李光善^{1,2}, 李 萍^{1,Δ}, 王 芳¹, 梁代英¹, 刘 欣¹, 黄启福²(¹北京市中医研究所病理生理学, 北京 100010; ²北京中医药大学, 北京 100029)

[摘 要] 目的: 观察疡愈涂剂促进糖尿病迟缓愈合伤口的修复作用及其分子机制。方法: 实验分为对照组、模型组、疡愈涂剂高、中、低剂量组。除对照组外, 大鼠腹腔注射链脲佐菌素(STZ) 55 mg/kg, 造成实验性高血糖。30 d 后, 各组动物复合背部全厚皮切除直径为 1.6 cm 的伤口。分别观察疡愈涂剂对创面愈合时间、愈合率的影响; 天狼星红染色法以及免疫组化法观察 I、III 型胶原含量及 I、III 型胶原比值, 并观察金属蛋白酶- 1、- 13(MMP- 1、- 13)、金属蛋白酶抑制剂- 1(TIMP- 1) 水平及 MMP- 1、- 13 与 TIMP- 1 比值。结果: 疡愈涂剂各剂量组创面愈合时间明显短于模型组($P < 0.01$), 愈合率明显高于模型组($P < 0.01$, $P < 0.05$)。在伤口用药的第 3、7、11 d, 高、中剂量组创面 I 型胶原含量以及 I、III 型胶原比值显著高于模型组($P < 0.01$)。在伤口用药第 3 d 疡愈涂剂中剂量、第 7、11 d 各剂量组创面 III 型胶原显著高于模型组($P < 0.01$)。各剂量组在第 7 d 创面 MMP- 1、- 13 均高于模型组($P < 0.01$, $P < 0.05$), 而 MMP- 1 在第 11 d 与模型组趋于一致且 MMP- 13 明显低于模型组($P < 0.01$, $P < 0.05$)。各剂量组在 3、7、11 d 创面 TIMP- 1 均明显高于模型组($P < 0.01$, $P < 0.05$), 在第 11 d 各剂量组 MMP- 1、TIMP- 1 比值明显低于模型组($P < 0.01$), 在第 3、7 d 高、中剂量组创面 MMP- 13、TIMP- 1 比值高于模型组($P < 0.01$), 而到第 11 d 高、中、低各剂量组均明显低于模型组($P < 0.01$); 第 11 d 高、中剂量组 MMP- 13、TIMP- 1 比值低于低剂量组($P < 0.05$)。结论: 疡愈涂剂可能通过调节影响胶原代谢的 MMPs、TIMPs 表达平衡, 促进胶原的合成和沉积, 从而加速创面的愈合。

[关键词] 胶原 I 型; 胶原 III 型; 基质金属蛋白酶; 糖尿病; 金属蛋白酶 1 组织抑制剂

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Yangyu Tuji on content of type I, III collagen and the expression of MMPs and TIMP- 1 in wound caused by streptozotocin in rats

SHENG Xun¹, LI Guang-shan^{1,2}, LI Ping¹, WANG Fang¹, LIANG Dai-ying¹, LIU Xin¹, HUANG Qi-fu²(¹Department of Pathophysiology, Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China; ²Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[ABSTRACT] **AIM:** To study the effects of Yangyu Tuji (YYTJ) on delayed healing wound of diabetic rats caused by streptozotocin (STZ). **METHODS:** SD male rats were randomly divided into control group (control), model group (model); and 3 different dose groups of YYTJ. 55 mg/kg STZ were given by intraperitoneal injection except for control group. After 30 days, a round skin of 1.6 cm diameter was excised on all dorsal back of rats. The healing time and healing rate were observed according to re-epithelization. The content of collagen I and III was observed by Picric acid-Sirius red staining, Matrix metalloproteinase-1, -13 (MMP-1, -13), tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) by immuno-histochemistry assay. All data were analyzed by IPP software. **RESULTS:** The healing time in each group treated with YYTJ was shorter than that in model group ($P < 0.01$), and the healing rate was increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Content of type I collagen, ratio of type I and III collagen of high and mid dose group were significantly higher than that in model group ($P < 0.01$) at 3rd, 7th, 11th day. The expression of MMP-1, -13 of each groups were higher than that in model group at 7th day ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and MMP-1 trend to equal with model group at 11th day. MMP-13 was significantly lower than that in model group at 11th day ($P < 0.01$, $P < 0.05$). TIMP-1 of each group of wound was higher than that in model group at 3rd, 7th, 11th day ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The ratio of type I and III collagens in each group was lower than that in model group at 11th day ($P < 0.01$). Ratio of MMP-13 and

[收稿日期] 2005- 01- 18 [修回日期] 2005- 03- 24

* [基金项目] 北京市中医药科技项目(No. JJ2001- 01)

Δ 通讯作者 Tel: 010- 64016677- 679; E- mail: liping411@yahoo.com.cn

TIMP-1 of high dose group and mid dose group were higher than that in model group at 3rd and 7th day ($P < 0.01$). The ratio of each group was lower than that in model group at 11th day ($P < 0.01$). Meanwhile, ratio of MMP-13 and TIMP-1 of high dose group and mid dose group were lower than that of lower dose group ($P < 0.05$). **CONCLUSION:** It is possible that YYTJ accelerates wound healing by increasing collagen content of type I and III, especially type I, as well as improves collagen deposition by regulating the balance of MMP and TIMP.

[KEY WORDS] Collagen type I; Collagen type III; Matrix metalloproteinases; Diabetes mellitus; Tissue inhibitor of metalloproteinases-1

慢性皮肤溃疡的阴证创面当以益气、温阳、活血为治则。赵炳南、王玉章创制的回阳生肌膏、回阳生肌散、回阳熏药捻等体现了这一治则,临床疗效颇佳。这些方剂中以人参、黄芪补脾益气;肉桂、鹿茸温阳通络;血竭、川芎、当归、麝香活血养血通络。我们在临床研究的基础上,经过体外拆方研究,以各组药物的主要成分黄芪多糖、桂皮醛、川芎嗪、麝香酮按照不同的比例配制成新的方剂—疡愈涂剂,在糖尿病复合愈合迟缓性伤口模型上观察其对创面愈合中胶原代谢中金属蛋白酶及金属蛋白酶抑制剂水平的调节,探讨“回阳生肌”的作用基础。

材 料 和 方 法

1 材料

链脲佐菌素(streptozotocin, STZ),天青石蓝(celestine blue),天狼星红(sirius red)购自Sigma公司;金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinases-1, MMP-1)一抗由武汉博士德生物工程有限公司提供;金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinases-13, MMP-13)和金属蛋白酶抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)一抗由北京莱博生物实验材料研究所提供;免疫组化两步法试剂盒由北京中山生物技术有限公司提供;黄芪多糖、川芎嗪、桂皮醛和麝香酮由中国药品生物制品检定所提供;疡愈涂剂(YYTJ)由以上药物溶解后按一定比例配伍,经微孔滤膜过滤除菌。高剂量组(YYTJ-H)为1.2 g/mL,中剂量组(YYTJ-M)为0.6 g/mL,低剂量组(YYTJ-L)为0.3 g/mL。血糖仪(美国Lifescan Smart Scan 稳灵型);显微镜(日本Olympus BX51);美国Image-Pro Plus Version 4.5.1(IPP)图像分析软件。

2 方法

2.1 实验分组 健康SD雄性大鼠200只,体重225-250 g, SPF级,由中国生物制品检定所提供。实验随机分成5组:(1)对照组;(2)模型组;(3)疡愈涂剂高剂量组(YYTJ-H);(4)疡愈涂剂中剂量组(YYTJ-M);(5)疡愈涂剂低剂量组(YYTJ-L)。

2.2 糖尿病复合皮肤创面模型复制 参照付小兵等^[1]的方法制作糖尿病复合皮肤创面模型用一次性

无菌敷料敷贴,无菌纱布固定包扎伤口,单笼饲养,隔日换药。

2.3 观察指标

①创面愈合时间 观察记录创面完全上皮覆盖所需要的时间。

②创面愈合率 在复合创伤第3、7、11 d用数码相机照相,经图像分析计算愈合面积。创面愈合率= $[(\text{原始创面面积}-\text{现创面面积})/\text{原始创面面积}] \times 100\%$ 。

③创面I、III胶原染色 大鼠在复合创面第3、7、11 d取材,甲醛固定,石蜡包埋。切片厚度4 μm 。苦味酸-天狼星红染色,在偏振光显微镜下观察并照相,用IPP图像分析软件(Image-Pro Plus Version 4.5.1)分析计算视野中0.15 mm \times 0.15 mm区域中I、III型胶原面积(结果以 μm^2 显示)。

④创面MMP-1、MMP-13和TIMP-1表达 取创面第3、7、11 d组织,甲醛固定,石蜡包埋。切片厚度4 μm 。采用免疫组化二步法染色。DAB显色,自来水终止反应,中性树脂封片。

3 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用SPSS 10.0软件分析,多组间比较采用方差分析(ANOVA)进行处理。

结 果

1 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口愈合率及愈合时间的影响

从表1显示。创面愈合第3、7和11 d模型组创面愈合率明显小于对照组。疡愈涂剂高、中剂量组在各时点均高于模型组。第7、11 d,疡愈涂剂高、中剂量组均显著高于低剂量组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。模型组大鼠创面愈合时间明显长于对照组。疡愈涂剂高、中、低剂量组明显短于模型组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。高、中剂量组创面愈合时间也显著短于低剂量组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

3 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口I、III型胶原合成的影响

结果见表2、3。表2显示创伤后3 d、7 d、11 d模型组I、III型胶原含量明显低于对照组($P < 0.01$)。

疡愈涂剂高、中剂量组创面 I 型胶原含量在 3 d、7 d、11 d 均明显高于模型组 ($P < 0.01$), 而高剂量组 II 型胶原在 7 d、11 d 明显高于模型组 ($P < 0.01$), 中剂量组 II 型胶原在 3 d、7 d、11 d 明显高于模型组 ($P < 0.01$)。

表 3 显示各实验组在创伤后 3、7 和 11 d 随时间

延长各创面 I、II 型胶原比值逐渐增大, 以 I 型胶原量逐渐增多为主。模型组在各时点的比值明显低于对照组 ($P < 0.01$)。疡愈涂剂高、中剂量组创面 I、II 型胶原比值在各时点明显高于模型组 ($P < 0.01$); 在第 11 d 疡愈涂剂低剂量组 I、II 型胶原比值明显高于模型组。

表 1 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口愈合率及愈合时间的影响

Tab 1 Effect of Yangyu Tuji on healing rate and healing time of the wound of diabetic rats caused by STZ ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Group	Healing rate(%)			Healing time (d)
	3 d	7 d	11 d	
Control	8.45 ± 0.91**	42.61 ± 4.13**	72.48 ± 5.11**	15.65 ± 1.67**
Model	6.05 ± 0.74	22.96 ± 3.24	32.21 ± 3.42	27.13 ± 1.81
YYTJ- H	9.06 ± 1.17**	37.70 ± 2.92** #	65.48 ± 5.32** #	16.38 ± 1.19** # #
YYTJ- M	8.88 ± 1.14**	38.11 ± 2.01** #	66.46 ± 3.70** #	17.50 ± 1.20** # #
YYTJ- L	6.61 ± 1.76*	32.94 ± 3.32**	56.59 ± 3.91**	21.38 ± 1.30**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs YYTJ- L group.

表 2 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口 I、II 型胶原含量的影响

Tab 2 Effect of Yangyu Tuji on collagen I, III content of wound of diabetic rats caused by STZ ($\mu\text{m}^2 \times 10^3$, $\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Group	Collagen I			Collagen III		
	3 d	7 d	11 d	3 d	7 d	11 d
Control	23.41 ± 3.92*	32.91 ± 2.60*	42.36 ± 5.61*	76.24 ± 1.62*	74.62 ± 1.56*	35.64 ± 2.52*
Model	9.54 ± 0.35	9.55 ± 0.47	16.75 ± 0.24	63.70 ± 1.41	65.24 ± 6.54	75.18 ± 1.81
YYTJ- H	16.26 ± 2.87*	32.92 ± 0.83*	112.67 ± 3.15*	73.11 ± 5.43	113.01 ± 3.48*	117.76 ± 7.48*
YYTJ- M	17.10 ± 2.07*	32.92 ± 1.93*	70.17 ± 3.32*	78.53 ± 15.18*	114.41 ± 1.68*	91.51 ± 0.82*
YYTJ- L	9.69 ± 0.87	9.92 ± 0.13	17.55 ± 0.27	69.53 ± 2.18	83.70 ± 9.34*	87.28 ± 1.78*

* $P < 0.01$ vs model group.

表 3 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口 I、II 型胶原比值的影响

Tab 3 Effect of YangYuFuji on the ratio of collagen I, III of wound of the diabetic rats caused by STZ ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Group	Collagen I / collagen III		
	3 d	7 d	11 d
Control	0.31 ± 0.05**	0.43 ± 0.09**	1.19 ± 0.16**
Model	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.22 ± 0.01
YYTJ- H	0.23 ± 0.05**	0.32 ± 0.01**	0.96 ± 0.07**
YYTJ- M	0.22 ± 0.05**	0.29 ± 0.02**	0.78 ± 0.03**
YYTJ- L	0.14 ± 0.09	0.12 ± 0.01	1.18 ± 0.16**

** $P < 0.01$ vs model group.

4 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口 MMP-1、MMP-13 表达的影响

结果见表 4。表 4 可见对照组与模型组大鼠创面 MMP-1 有不同表达, 对照组创面 MMP-1 于创伤后第 3 d 大量表达, 第 7 d 达到高峰, 随后明显下降; 模型组创面 MMP-1 表达缓慢增多, 到第 11 d 达到高峰。而且对照组在创伤第 3、7 d 比模型组表达水平明显增高; 第 11 d 模型组 MMP-1 表达又明显高

于对照组。疡愈涂剂各治疗组 MMP-1 表达与对照组相似, 高剂量组在创面 3、7、11 d 均明显高于模型组; 中、低剂量组在创伤第 7 d MMP-1 表达也高于模型组。

大鼠创面 MMP-13 的表达与 MMP-1 相似。对照组创伤后第 3 d 创面 MMP-13 大量表达, 第 7 d 达到高峰, 随后明显减少; 模型组创面 MMP-13 表达缓慢增加, 在创伤后第 3、7 d 明显低于对照组, 于第 11 d 达到高峰。疡愈涂剂各治疗组在创伤后第 3、7 d MMP-13 明显高于对照组; 在创伤后第 11 d 又明显低于模型组。

5 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口 TIMP-1 表达的影响

结果见表 5。对照组 TIMP-1 在创伤后第 7 d 大量表达; 于第 11 d 达到高峰。模型组在创伤后第 3、7、11 d TIMP-1 的表达明显低于对照组。

疡愈涂剂高、中、低剂量组 TIMP-1 表达, 在创伤后第 3、7、11 d 均明显高于模型组。创伤第 7 d, 疡愈涂剂高、中剂量组 TIMP-1 表达达到高峰, 随后缓

慢下降;而模型组和低剂量组处于低水平缓慢增高 于低剂量组。
 状态。第 7、11 d,高、中剂量组 TIMP- 1 表达明显多

表 4 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口 MMP- 1 和 MMP- 13 表达的影响

Tab 4 Effect of YangYuTuJi on the levels of the MMP- 1 and MMP- 13 of the wound of the diabetic rats caused by STZ (μm^2 , $\bar{x} \pm s$, $n= 8$)

Group	MMP- 1			MMP- 13		
	3 d	7 d	11 d	3 d	7 d	11 d
Control	86.76 ± 6.03**	88.36 ± 2.10**	28.85 ± 4.41*	27.32 ± 6.03**	34.58 ± 3.07**	13.54 ± 2.89**
Model	27.05 ± 3.45	29.90 ± 5.64	35.80 ± 4.61	11.08 ± 2.41	18.55 ± 2.78	19.65 ± 3.14
YYTJ- H	31.84 ± 3.84*	52.53 ± 4.70**	40.09 ± 2.44	37.89 ± 4.80**	80.25 ± 6.68**	13.79 ± 1.29**
YYTJ- M	29.17 ± 2.06	47.13 ± 5.65**	36.60 ± 3.55	25.02 ± 2.38**	58.71 ± 4.56**	11.61 ± 1.50**
YYTJ- L	28.58 ± 3.74	42.61 ± 5.44*	34.86 ± 3.12	17.76 ± 4.13*	26.75 ± 4.69*	16.08 ± 1.32*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group.

表 5 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口 TIMP- 1 表达的影响

Tab 5 Effect of YangYuTuJi on the levels of the TIMP- 1 of the wound of diabetic rats caused by STZ (μm^2 , $\bar{x} \pm s$, $n= 8$)

Group	TIMP- 1		
	3 d	7 d	11 d
Control	41.95 ± 5.01**	78.28 ± 9.33**	83.03 ± 5.76**
Model	25.71 ± 2.66	40.72 ± 5.77	47.43 ± 4.18
YYTJ- H	37.22 ± 4.09**	73.46 ± 3.56** #	64.72 ± 4.44** #
YYTJ- M	39.78 ± 5.29**	82.75 ± 7.45** #	62.51 ± 7.98** #
YYTJ- L	33.55 ± 3.20*	50.85 ± 4.08**	58.26 ± 3.63**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs YYTJ- L group.

6 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口 MMP- 1、13/TIMP- 1 比值的影响

结果见表 6。创面 MMP- 1/TIMP- 1 比值比较显示,在第 11 d 高、中、低剂量组 MMP- 1/TIMP- 1 比值明显低于模型组;高、中、低剂量组之间相比, MMP- 1/TIMP- 1 比值无显著差异 ($P > 0.05$)。创面 MMP- 13/TIMP- 1 比值比较显示在第 3、7、11 d 高、中、低剂量组 MMP- 13/TIMP- 1 比值明显低于模型组,第 11 d 高、中剂量组与低剂量组相比 MMP- 13/TIMP- 1 比值具有显著差异;高、中剂量组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 6 疡愈涂剂对糖尿病大鼠复合皮肤创面伤口 MMP- 1、13/TIMP- 1 比值的影响

Tab 6 Effect of Yangyu Tuji on the ratio of MMP- 1/TIMP- 1 and MMP- 13/TIMP- 1 of the wound of the diabetic rats caused by STZ ($\bar{x} \pm s$, $n= 8$)

Group	MMP- 1/TIMP- 1			MMP- 13/TIMP- 1		
	3 d	7 d	11 d	3 d	7 d	11 d
Control	2.09 ± 0.24**	1.14 ± 0.14**	0.35 ± 0.07**	0.65 ± 0.13*	0.45 ± 0.08	0.17 ± 0.04
Model	1.06 ± 0.16	0.75 ± 0.20	0.76 ± 0.13	0.44 ± 0.13	0.47 ± 0.11	0.42 ± 0.06
YYTJ- H	0.87 ± 0.16	0.72 ± 0.08	0.62 ± 0.06**	1.02 ± 0.12**	1.10 ± 0.13**	0.21 ± 0.02** #
YYTJ- M	0.75 ± 0.13	0.57 ± 0.28	0.59 ± 0.06**	0.64 ± 0.13**	0.71 ± 0.06**	0.19 ± 0.04** #
YYTJ- L	0.85 ± 0.29	0.84 ± 0.13	0.60 ± 0.05**	0.54 ± 0.15	0.53 ± 0.11	0.28 ± 0.01**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group; # $P < 0.05$ vs YYTJ- L group.

讨 论

在创面组织愈合中成纤维细胞是创面愈合过程中的主要修复细胞,其所合成的胶原是细胞外基质的主要组分,胶原代谢的结果直接影响创面的修复质量^[2]。在创面愈合过程中起主要作用的是 I、III 型胶原。I 型胶原起支架作用,III 型胶原决定胶原纤维的直径大小和弹性好坏, I、II 型胶原含量的比值关系到最终的修复结果^[3]。

糖尿病由于神经病变、血管病变及血管神经病变,常导致皮肤局部营养障碍,易发生皮肤受损、溃

疡感染。糖尿病慢性皮肤溃疡的形成与组织缺血、缺氧密不可分。糖尿病所致的机体周围动脉粥样硬化造成广泛的小血管内皮增生及毛细血管基底膜增厚,引起血管舒缩障碍,血流量减少,局部出现缺血,进而引起组织细胞缺氧。创面组织的缺氧必然会影响到组织细胞增殖及基质的合成与分泌,从而阻碍伤口和创面的愈合^[4,5]。已有研究报道,成纤维细胞在长时间缺氧下其增殖减弱, I、II 型胶原合成明显减少^[6]。通过对糖尿病患者成纤维细胞体外培养,发现糖尿病成纤维细胞表现出选择性能力下降,即对组织修复包括细胞迁移, VEGF 的产生及对

缺氧的反应性都减弱。STZ 引起糖尿病大鼠的结肠伤口中 II 型胶原含量变化不明显, 而 I 型胶原明显降低^[7]。I、II 型胶原比下降是伤口愈合能力下降的重要原因。在治疗 STZ 诱导的糖尿病大鼠伤口上证实单一局部应用 EGF 可促进 I 型胶原的早期合成, 进而改变胶原 I、II 的比例, 促进糖尿病伤口愈合, 证实外源性的治疗作用可能通过调节胶原合成而促进创面愈合^[8]。

在本实验中发现 STZ 可引起大鼠皮肤伤口愈合时间明显延迟, 创面愈合率增大明显缓慢。在各个时点上 I / II 型胶原比值都比对照组有明显的降低; 而降低的主要原因为 I 型胶原合成减少。

调节胶原代谢的酶类主要有基质金属蛋白酶家族(MMPs)和金属蛋白酶组织抑制剂(TIMPs)。MMPs 是一类活性依赖于金属锌离子的蛋白酶。它以酶原形式被分泌, 经激活后降解胶原等 ECM。体内 MMPs 酶原主要由纤溶酶活化, 其活性主要受 TIMPs 的抑制。这两类蛋白酶的平衡关系最终决定胶原以及其它细胞外基质的合成与降解的平衡。TIMPs 能预防过度的基质降解, 而 TIMPs 的不足可导致不愈合或慢性的伤口形成。

研究发现糖尿病足部溃疡与外伤性创口的活检相比, MMP-1 的浓度增高了 65 倍, MMP-2 浓度增加了 3 倍, MMP2 增加了 6 倍, MMP8 增加了 2 倍, MMP-9 增加了 14 倍。而且, 糖尿病创口 TIMP-2 比非糖尿病患者创伤的 TIMP-2 下降了 2 倍。从而表明慢性糖尿病足部溃疡 MMPs 与 TIMPs 比例失调是导致创面难以愈合的重要因素^[9]。

本研究发现对照组创面 MMP-1、-13、TIMP-1 在第 3 d 就有较高水平表达, 3 者随着时间的推移均增加。MMP-1、-13 表达达到第 7 d 达到高峰, 继而到第 11 d 下降, 而 TIMP-1 的表达第 11 d 时达到表达高峰。STZ 诱导的糖尿病大鼠伤口创面 MMP-1、-13、TIMP-1 的表达高峰均延迟。同时在创伤后期模型组 MMP-1、TIMP-1、MMP-13、TIMP-1 的比值均明显高于模型组。表明糖尿病大鼠创面 MMP-1、-13 的相对增高及 TIMP-1 相对降低也是影响糖尿病大鼠创面愈合的原因之一。

疡愈涂剂以黄芪多糖、桂皮醛、川芎嗪、麝香酮组成, 在前期的体外研究中我们发现黄芪多糖、桂皮醛对糖尿病大鼠伤口来源的成纤维细胞、人正常成纤维细胞和慢性溃疡疮周的成纤维细胞都表现出促增殖作用^[10]; 另外桂皮醛对皮肤血管有很强的扩张作用, 而且能升高皮温, 有“温阳通络”的作用; 黄芪多糖还抑制中性粒细胞与 TNF 活化的血管内皮细胞

的粘附, 从而有抑制炎症的作用^[10]。

高、中、低剂量的疡愈涂剂尤其是高、中剂量的疡愈涂剂能明显缩短糖尿病大鼠创面愈合时间, 提高创面愈合率和创面 I、II 型胶原比值。分析创面 MMP-1、MMP-13、TIMP-1 的表达, 发现高、中剂量的疡愈涂剂治疗后创面 MMP-1、MMP-13、TIMP-1 表达在第 3、7 d 均明显高于模型组; MMP-1、MMP-13 在第 7 d 达到高峰, 随后表达明显低于模型组。

进一步研究 MMPs、TIMPs 的比值, 我们分析了 MMP-1、TIMP-1、MMP-13、TIMP-1 比值发现, 在创伤第 3、7 d 各治疗组的 MMP-1、TIMP-1 比值与模型组无明显差异; 而高、中剂量的药物组 MMP-13、TIMP-1 比值明显高于模型组。但在第 11 d, 各药物组无论 MMP-1、TIMP-1 还是 MMP-13、TIMP-1 都明显低于模型组。提示在创伤早期疡愈涂剂增加 MMPs 的相对活性, 可能有助于创面坏死组织的清除; 而在后期降低 MMPs 的相对活性, 从而促进胶原的沉积, 有利于创面的修复。

以上结果证实疡愈涂剂可通过影响创面胶原的代谢从而促进糖尿病大鼠伤口的愈合。但其调节的机制还需深入研究。

[参 考 文 献]

[1] 付小兵, 王亚平, 孙同柱, 等. 糖尿病慢性难愈合创面大鼠模型的制备[J]. 上海实验动物科学, 1997, 17(4): 217-219.

[2] Hemdor DN, Barrow RE, Kunkel KP, et al. Regulation of fibroplasias in coetaneous wound repair[J]. Ann Surg, 1990, 212(4): 424-429.

[3] Chiang T, McBride J, Chou MY, et al. Molecular cloning of the complementary DNA encoding for the hamster TGF- α mature peptide[J]. Carcinogenesis, 1991, 12(3): 529-532.

[4] Kern P, Moczar M, Robert L, et al. Biosynthesis of skin collagens in normal and diabetic mice[J]. Biochem J, 1979, 182(2): 337-345.

[5] Hennessey PJ, Black CT, Andrassy RJ, et al. EGF increases short-term type I collagen accumulation during wound healing in diabetic rats[J]. J Pediatr Surg, 1990, 25(8): 893-897.

[6] Yamanaka M, Ishikawa O. Hypoxic conditions decrease the mRNA expression of pro α 1(I) and (III) collagens and increase matrix metalloproteinases-1 of dermal fibroblasts in three-dimensional cultures[J]. J Dermatol Sci, 2000, 24(2): 99-104.

[7] Onodera H, Ikeuchi D, Nagayama S, et al. Weakness of anastomotic site in diabetic rats is caused by changes in the integrity of newly formed collagen[J]. Dig Surg, 2004, 21(2): 146-151.

- [8] Hennessey PJ, Black CT, Andrassy RJ, et al. EGF increases short-term type I collagen accumulation during wound healing in diabetic rats[J]. *J Pediatr Surg*, 1990, 25(8): 893- 897.
- [9] 胡大海, 陈璧. 基质金属蛋白酶在皮肤创面愈合中的作用[J]. *中华烧伤杂志*, 2001, 15(5): 317- 320.
- [10] Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G, et al. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients[J]. *Diabetologia*, 2002, 45(7): 1011- 1016.
- [11] 李萍, 何秀娟, 张颖, 等. 黄芪多糖对细胞增殖及血管内皮细胞与白细胞粘附作用的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2004, 20(9): 1677- 1680.

中国病理生理学会第七届 5 次常务理事会 及专业委员会主任委员联席会会议纪要

中国病理生理学会第七届 5 次常务理事会及专业委员会主任委员联席会于 2005 年 6 月 29 日- 7 月 2 日在重庆第三军医大学召开, 到会的常务理事及专业委员会主任委员有黄启福、陆大祥、卢建、吴立玲、朱广瑾、李楚杰、吴其夏、余应年、汤特、凌亦凌、金惠铭、王树人、高广道、张海鹏、高钰琪、郑世民、王建枝、赵克森、钱振超、张幼怡、王建中、李永渝、萧正伦(代表陈德昌)、刘秀华(代表田牛)、姜志胜(代表杨永宗), 本次会议是历次常务理事会出席人员最多的一次。此外, 张立克副秘书长和中国病理生理杂志编辑部主任王华东列席会议, 韩启德理事长和唐佩弦教授因事、因病未能出席会议。开幕式上, 第三军医大学吴灿校长和科研部何部长到会并发表了热情洋溢的讲话, 黄启福副理事长代表韩启德理事长, 对学校领导的大力支持, 对高钰琪教授及其工作班子所付出的辛勤劳动表示衷心的感谢。会议由黄启福、吴立玲和陆大祥、卢建分段主持, 讨论了以下的中心议题:

一、第五届国际病理生理大会(ISP2006)的筹备工作进展

1. ISP2006 通知的发放工作: ISP2006 的第一轮通知 2 000 份(纸本)已经发出, 其中 1 000 份在美国召开的国际生理大会上发放, 其余广泛发至国内外有关人员。计划于今年 10 月底至 11 月初发出第二轮通知。参会的人员并不限于病理生理专业, 尤其欢迎临床人员参加。

2. ISP2006 定于 2006 年 6 月 29- 7 月 1 日在北京的中国国际会议中心召开。按照国际会议的层次, 中、外宾的收费标准将尽快在国际网站(<http://www.isp2006.org.cn>)和国内网站(<http://www.capchina.org.cn>)上分别发布。注册费定为外宾 450 美元, 中宾 1 200 元人民币, 中国学生 900 元人民币, 2006 年 3 月 1 日前交费者优惠为外宾 380 美元、中宾 950 元和中国学生 700 元人民币。

3. 大会报告人选及专题会的组织: ISP2006 的会议形式有大会和专题分会两种, 大会报告可以分成 3 类, 即: ①特邀报告, 报告人将由会议提供往返国际机票、全部食宿并免除注册费。目前已经确定了 6 位特邀报告人, 他们是: 美国心脏学会(AHA)理事、辛辛那提大学医学院血管生物学主任 Litsa Kranias 教授; 美国心脏学会(AHA)心血管研究会主席、美国加州大学圣地亚哥分校分子医学研究所所长 Kenneth Randall Chien 教授; 国际生理学会主席、国际生物流变学会主席、美国科学院院士、加州大学圣地亚哥分校生物医学工程系主任 Shu Chien 教授; 国际实验血液学会主席、美国明尼苏达干细胞研究中心主任 Gatherine Verfaillie 教授; 美国科学院外籍名誉院士、诺贝尔医学、生理学奖评审委员会委员、瑞典卡洛琳斯卡研究所生物技术主任、营养学系主任 Jan- Ake Gustafsson 教授; 诺贝尔医学、生理学奖评审委员会委员、瑞典卡洛琳斯卡研究所临床神经科学和药理学教研室主任 Huddinge 大学老年医学系主任 Bergt Winblad 教授; ②大会发言或专题研讨会主持人, 发言人由会议提供食宿并免除注册费, 名额初步定为 20 名, 将根据候选人的情况陆续决定。请大家继续将被推荐人的材料送唐佩弦教授审定; ③其他发言, 如果还能请到好的发言, 可以加设一类, 亦即发言人免除注册费。希望各专业委员会组织与其研究领域相关的分会, 并推荐中国代表在大会上做英文报告。

4. 关于组稿工作: ISP2006 提供了向国际展示中国病理生理学科的面貌和成果的平台, 发言和稿件一定要精心组织和审定, 壁报要制作精美。此外, 报告的内容应有病理生理的特色。请大家查看网上的英文征稿要求, 稿件集中在张幼怡教授处。征稿截至到 2005 年 12 月 20 日, 2006 年初召开审稿会。届时, 由中国病理生理杂志出版专刊刊登论文摘要。

5. 2006 年 6 月 28 日将召开中国病理生理学会第八届全国代表大会, 上午有开幕式、理事会报告、选举等议程, 下午为学术报告, 请国内外著名专家做研究进展报告(中文)。

6. 有关经费问题: 希望我会的理事及会员进行广泛宣传, 能多联系赞助。学会还将从中国科协和国家自然科学基金委等渠道申请专款。