

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.19.006
文章编号: 1005-8982 (2026) 19-0038-08

实验研究·论著

富血小板血浆凝胶联合象皮生肌膏对糖尿病大鼠创面愈合及TGF- β 1/Smad3信号通路的影响*

巫双, 张海涛, 陈丹丹

[湖南省第二人民医院(湖南省脑科医院) 内分泌科, 湖南 长沙 410007]

摘要: **目的** 观察富血小板血浆(PRP)凝胶联合象皮生肌膏对糖尿病大鼠创面愈合的影响,并从转化生长因子 β 1(TGF- β 1)/Smad家族成员3(Smad3)信号通路的角度探讨其可能的机制。**方法** 将60只SPF级大鼠按抽签法随机分为正常对照组(涂抹无菌氯化钠溶液)、PRP组、生肌膏组和联合组,每组15只。复制糖尿病大鼠创面模型,PRP组、生肌膏组和联合组分别给予PRP凝胶、象皮生肌膏、PRP与象皮生肌膏治疗,连续21 d。第7、14、21天治疗结束后,观察4组大鼠创面面积变化,计算愈合率;第21天治疗结束后经大鼠腹主动脉取血,检测大鼠血清血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、TGF- β 1和白细胞介素-6(IL-6)的表达。采用CD34免疫组织化学染色检测大鼠创面组织微血管密度。采用Western blotting法检测大鼠创面组织TGF- β 1/Smad3通路相关蛋白表达。**结果** 联合组、生肌膏组、PRP组、正常对照组治疗后第7、14、21天大鼠创面愈合率比较,结果:①不同时间点大鼠创面愈合率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);②4组大鼠创面愈合率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);③4组大鼠不同时间点创面愈合率变化趋势比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗7、14、21天后,PRP组、生肌膏组和联合组的大鼠创面愈合率均高于正常对照组($P < 0.05$)。正常对照组、PRP组、生肌膏组和联合组的VEGF、bFGF、TGF- β 1和IL-6水平,创面组织微血管密度, TGF- β 1、Smad3和pSmad3蛋白相对表达量比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与正常对照组比较,PRP组、生肌膏组和联合组大鼠血清VEGF、bFGF、TGF- β 1水平均上升,IL-6水平下降($P < 0.05$);PRP组、生肌膏组和联合组大鼠的创面组织微血管密度均上升($P < 0.05$);PRP组、生肌膏组和联合组TGF- β 1、Smad3和pSmad3蛋白相对表达量均升高($P < 0.05$)。**结论** PRP和象皮生肌膏可通过调控TGF- β 1/Smad3的表达,促进新血管生成,减轻炎症反应而促进大鼠创面的愈合。

关键词: 糖尿病;富血小板血浆凝胶;创面愈合;TGF- β 1/Smad3通路

中图分类号: R587.1;R365

文献标识码: A

Effects of platelet-rich plasma gel combined with Xiangpi Shengji Ointment on wound healing and the TGF- β 1/Smad3 signaling pathway in diabetic rats*

Wu Shuang, Zhang Hai-tao, Chen Dan-dan

[Department of Endocrinology, The Second People's Hospital of Hunan Province (Hunan Provincial Brain Hospital), Changsha, Hunan 410007, China]

Abstract: Objective To observe the effect of platelet-rich plasma (PRP) gel combined with Xiangpi Shengji Ointment on wound healing in diabetic rats and explore its possible mechanism from the perspective of the transforming growth factor β 1 (TGF- β 1)/Smad family member 3 (Smad3) signaling pathway. **Methods** Sixty rats

收稿日期: 2026-01-12

* 基金项目: 湖南创新型省份建设专项项目(S2021SFYLJS0418)

[通信作者] 陈丹丹, E-mail: Chendandan20130324@163.com

were randomly divided into four groups (15 rats in each group): the normal control group (topical application of sterile sodium chloride solution), the PRP group, the Xiangpi Shengji Ointment group, and the combined treatment group. A diabetic wound model was established in all rats. The PRP group received PRP gel, the Xiangpi Shengji Ointment group received Xiangpi Shengji Ointment, and the combined treatment group received both PRP gel and Xiangpi Shengji Ointment. All treatments lasted for 21 consecutive days. Changes in wound area were observed and healing rates were calculated on day 7, day 14, and day 21 after the initiation of treatment. On day 21, blood samples were collected from the abdominal aorta of rats to measure serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), TGF- β 1 and interleukin-6 (IL-6). CD34 immunohistochemical staining was used to detect microvessel density in wound tissues. Western blotting was used to determine the expression of TGF- β 1/Smad3 signaling pathway-related proteins in wound tissues. **Results** Repeated-measures analysis of variance showed significant time, group, and time-by-group interaction effects on wound healing rates ($F = 4\,028.000, 387.200, \text{ and } 84.130$, respectively; all $P < 0.05$). After 7, 14 and 21 days of treatment, wound healing rates in the PRP gel group, the Xiangpi Shengji Ointment group and the combined treatment group were significantly higher than those in the normal control group ($P < 0.05$). Analysis of variance found statistically significant differences in levels of VEGF, bFGF, TGF- β 1 and IL-6, microvessel density in wound tissues, and protein expression levels of TGF- β 1, Smad3 and p-Smad3 among the normal control group, the PRP group, the Xiangpi Shengji Ointment group, and the combined treatment group ($P < 0.05$). Compared with the normal control group, the three treatment groups showed significantly increased serum VEGF, bFGF and TGF- β 1 levels, and significantly decreased IL-6 levels ($P < 0.05$). Microvessel density in wound tissues was significantly higher in the PRP, Xiangpi Shengji Ointment, and combined treatment groups than in the normal control group ($P < 0.05$). Compared with the normal control group, the expression levels of TGF- β 1, Smad3 and p-Smad3 proteins were higher in the three treatment groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Platelet-rich plasma gel combined with Xiangpi Shengji Ointment may regulate the TGF- β 1/Smad3 pathway, promote angiogenesis, reduce inflammation, and accelerate wound healing in diabetic rats.

Keywords: diabetes; platelet-rich plasma gel; wound healing; TGF- β 1/Smad3 pathway

糖尿病发病率近年来随着人们生活习惯改变有明显增高趋势,目前全球糖尿病患者约有 8 亿人,在 10 ~ 15 年内糖尿病患者预计增加 20% ~ 50%^[1]。糖尿病足溃疡是糖尿病最严重、治疗费用最高的慢性并发症之一,其核心病理特征在于持续的高糖与炎性微环境导致创面愈合程序紊乱,表现为生长因子缺乏、炎症反应失调、血管新生障碍及细胞外基质重塑异常,形成“难愈性”创面^[2-6]。富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)凝胶作为一种自体来源的生物制剂,富含多种生长因子,理论上可模拟并增强生理性愈合,促进血管新生与肉芽组织形成^[7]。中医外治法代表方剂生肌膏,有抑制细菌繁殖、减轻炎性渗出、改善创面微环境等作用^[8]。理论上,PRP 与生肌膏联合应用,可能从“补充关键效应分子”与“改善局部应答环境”两个层面协同,更全面地纠正糖尿病创面的愈合失衡。

转化生长因子 β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)/Smad 家族成员 3 (mothers against decapentaplegic homolog 3, Smad3) 信号通路是调控成纤维细胞增殖、分化及细胞外基质合成的核心通

路,在创面愈合的炎症后期与组织重塑阶段起关键作用,其在糖尿病状态下常发生失调^[9]。然而,PRP 联合生肌膏是否通过调控该通路发挥协同促愈作用,尚未明确。因此,本研究通过复制糖尿病大鼠皮肤全层缺损模型,旨在系统评估 PRP 凝胶联合象皮生肌膏对创面愈合速率、组织学修复的影响,并探究该联合疗法对创面局部 TGF- β 1/Smad3 信号通路关键分子表达及活化的调控作用,以期为 PRP 联合象皮生肌膏在糖尿病创面的临床治疗提供分子生物学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60 只 SPF 级健康雄性 SD 大鼠,10 周龄,体重 (250 ± 10) g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[实验动物生产许可证:SCXK(湘)2009-0004,实验动物使用许可证:SYXK(湘)2024-0163]。大鼠饲养于 SPF 级动物房,温度 20 ~ 25 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 40% ~ 70%,12 h/12 h 明暗循环,自由饮水摄食。本实验方案经湖南省第二人民医院动物实验伦理委员会批

准(HN20240105),实验操作遵循《实验动物护理和使用指南》。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 药物与试剂 注射用异戊巴比妥钠(上海上药新亚药业有限公司,国药准字H31021725),象皮生肌膏(湖南中医药大学第一附属医院,湘药制字Z20070276),链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)(上海联硕生物科技有限公司,货号:S0130),枸橼酸钠抗凝剂(酶联生物有限公司,货号:ml093616),4%多聚甲醛(上海源叶生物科技有限公司,货号:R20495),HE染色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,货号:AR1180-100),血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)(货号:CSB-E08524Rb)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)(货号:CSB-E08000h)、TGF- β 1(货号:CSB-EL023446HO)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)(货号:CSB-E12899B)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(武汉华美生物科技有限公司),BCA蛋白浓度检测试剂盒(上海翌圣生物科技股份有限公司,货号:20201ES76),蛋白Marker(上海生工生物工程有限公司),兔抗大鼠TGF- β 1多克隆抗体[西宝生物科技(上海)股份有限公司,货号:LS-C10855],兔抗大鼠Smad3多克隆抗体(Cell Signaling Technology公司,货号:CSB-PA00363A0Rb),兔抗大鼠磷酸化Smad3(Ser423/425)多克隆抗体(美国细胞信号技术有限公司,货号:9513),兔抗大鼠GAPDH单克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:9520),HRP标记的羊抗兔IgG二抗(稀释比例为1:2 000,武汉三鹰生物技术有限公司,货号:PR30011)。

1.2.2 主要实验仪器 酶标仪(型号:Cytation 5,美国伯腾仪器有限公司),正置光学显微镜(型号:E100,日本尼康公司),化学发光成像系统(型号:Bio-Rad ChemDoc,伯乐生命医学产品有限公司),血糖仪(型号:GM01JAA,上海颂柯医疗器械有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 2型糖尿病大鼠模型复制及皮肤全层缺损创面制备 预留15只大鼠为正常对照组,继续给予普通饲料喂养,其余45只大鼠采用高脂高糖饲料喂养4周,诱导胰岛素抵抗。4周后,禁食(不禁水)12 h,

按60 mg/kg的剂量一次性腹腔注射新鲜配制的STZ溶液(溶于0.1 mol/L, pH 4.5的柠檬酸钠-柠檬酸缓冲液)。注射后,提供10%葡萄糖水饮用24 h以防止低血糖休克。于STZ注射后第7天及第14天,采用便携式血糖仪测量大鼠尾静脉空腹血糖(fasting blood glucose, FBG),以连续2次FBG $\geq$ 16.7 mmol/L且糖化血红蛋白 $\geq$ 6.5%为成模标准,同时计算胰岛素抵抗指数。胰岛素抵抗指数=空腹胰岛素(μ u/mL) $\times$ 空腹血糖(mmol/L)/22.5。记录三多一少(多饮、多食、多尿、体重减轻)症状。成模大鼠需持续FBG $\geq$ 16.7 mmol/L。2型糖尿病大鼠模型稳定1周后,对所有大鼠(包括正常对照组)进行创面手术。大鼠腹腔注射3%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,背部剃毛并皮肤消毒。于脊柱两侧对称位置,各制备1个直径8 mm的圆形全层皮肤缺损创面,深度至浅筋膜,彻底止血并避免损伤深层肌肉及大血管。

1.3.2 PRP的制备与激活 所有大鼠在模型复制及创面制备后,于干预前即刻,采用自体静脉血,根据改良Cascade-Esforax法^[9],制备PRP凝胶。①采血:大鼠经3%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后,仰卧固定,颈前区备皮消毒。用经3.8%枸橼酸钠溶液预润过的1 mL注射器,行颈静脉穿刺,采集静脉血1 mL。血液采集后,立即轻柔颠倒混匀8~10次,使抗凝充分。②制备:室温下将抗凝全血以8 000 r/min离心20 min;离心后,可见血液分3层:底层为红细胞,顶层为贫血小板血浆,中间层为PRP。用移液器小心吸取中间层PRP及紧邻其下的少量白细胞,转移至新管,避免吸入底层红细胞。③激活与凝胶化:在吸取的PRP中加入10%体积的50 mg/mL氯化钙溶液,轻轻吹打混匀,置于37℃温箱中静置30 min,即可形成PRP凝胶,备用。④质控:随机选取5份制备样本,使用全自动血细胞分析仪分别计数全血及PRP中的血小板浓度。计算血小板富集度(PRP血小板浓度/全血血小板浓度)与血小板回收率(PRP中血小板总量/全血中血小板总量)。本实验制备的PRP平均富集度为(4.79 $\pm$ 0.48),平均回收率为(72.35 $\pm$ 5.63)%,符合参考文献[10]的质控标准,表明制备成功。

1.3.3 分组与干预 将45只大鼠按抽签法随机分为PRP组、生肌膏组和联合组,每组15只。正常对照组、PRP组、生肌膏组、联合组大鼠均用0.5%碘伏

消毒溃疡创面后,正常对照组创面涂抹无菌氯化钠溶液,PRP 组创面涂抹 PRP 凝胶,生肌膏组创面涂抹象皮生肌膏,联合组创面先涂抹象皮生肌膏、再覆盖自体 PRP 凝胶。所有创面均以无菌凡士林纱布及干纱布覆盖,并用弹力绷带固定。每 2 天更换 1 次敷料,并重复上述干预,直至实验终点(治疗后第 21 天)。治疗期间,所有大鼠单笼饲养,自由摄食饮水。

1.3.4 大鼠创面愈合评估 观察大鼠的全层皮肤缺损创面情况,在给药治疗第 1、7、14、21 天时使用数码相机(固定焦距与拍摄距离)对所有大鼠创面进行标准化拍照。利用 Image J 软件根据刻度尺设定像素/实际尺寸比例,由一位不知分组的研究者手动勾勒各创面边缘,软件自动计算创面面积,计算大鼠创面愈合率。以第 1 天测得的创面面积为初始创面面积,各时间点的创面愈合率=[(初始创面面积-当前时间点创面面积)/初始创面面积] $\times$ 100%。创面愈合定义为创面被新生上皮组织完全覆盖,形成完整的皮肤屏障。

1.3.5 大鼠血清生长因子和炎症因子指标检测 治疗后第 21 天,大鼠腹主动脉采血 5 mL,采血后处死大鼠。血液样本置于不含抗凝剂的采血管中,室温静置 30 min。4 $^{\circ}\text{C}$,8 000 r/min 离心 5 min,小心吸取上层血清,分装于 EP 管中,-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,待统一检测。采用双抗夹心法检测各组大鼠血清 VEGF、bFGF、TGF- β 1、IL-6 水平,严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作。使用酶标仪于 450 nm 波长下测定各孔的吸光度值。

1.3.6 CD34 免疫组织化学染色检测大鼠创面组织微血管密度 治疗后第 21 天取大鼠创面组织,常规予以脱水、石蜡包埋、切片、脱蜡后进行 CD34 免疫组化染色。使用 pH 6.0 柠檬酸盐缓冲液进行抗原修复。一抗克隆号为 QBEnd/10,一抗稀释比例为 1:200。滴加适量稀释好的一抗工作液,完全覆盖切片组织,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜孵育。孵育后 PBS 充分漂洗 3 次,5 min/次。二抗室温孵育 30 min,孵育后 PBS 充分漂洗 3 次,5 min/次。按照 DAB 试剂盒说明书,将 DAB 显色液 A、B 液等比例混合,滴加至切片上。显微镜下实时观察显色过程,血管内皮细胞胞膜会呈现清晰的棕黄色至棕褐色,然后将切片浸入自来水中终止显色。采用苏木精进行细胞核复染,染色 1 min,然后脱水、透明、封片。在低倍(40 $\times$)下识别整个感兴趣区域,然后在高倍(200 $\times$)下,系统随机

选取若干个不重叠视野进行计数。任何被 CD34 抗体染成棕黄色的独立内皮细胞或内皮细胞簇,无论是否形成管腔,均计为 1 个微血管。计算 5 个视野微血管数的平均值,作为该样本的微血管密度。

1.3.7 Western blotting 法检测大鼠创面组织中 TGF- β 1/Smad3 信号通路相关蛋白的表达 治疗后第 21 天,取大鼠创面组织 500 mg 剪碎,加入含 1% PMSF 的 RIPA 强裂解液,冰上匀浆,裂解 30 min(每 10 min 涡旋振荡 1 次),4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min,取上清液。使用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取 30 μg 蛋白样品经 10% SDS-PAGE 电泳分离,转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 1.5 h。分别加入以下一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜:兔抗大鼠 TGF- β 1 多克隆抗体(1:1 000)、兔抗大鼠 Smad3 多克隆抗体(1:1 000)、兔抗大鼠磷酸化 Smad3(Ser423/425)多克隆抗体(1:1 000)、兔抗大鼠 GAPDH 单克隆抗体(1:1 000)。TBST 洗涤 3 次,10 min/次,加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗室温孵育 2 h,TBST 洗涤后 ECL 化学发光法显影。使用 Image J 软件分析条带灰度值,以 GAPDH 为内参,计算目标蛋白相对表达量。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,比较用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析,组间两两比较用 SNK-q 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PRP 凝胶联合象皮生肌膏治疗对糖尿病大鼠创面愈合率的影响

正常对照组、PRP 组、生肌膏组和联合组治疗后第 7、14、21 天大鼠创面愈合率比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点大鼠创面愈合率比较,差异有统计学意义($F=4\,028.000$, $P=0.000$);②4 组大鼠创面愈合率比较,差异有统计学意义($F=387.200$, $P=0.000$);③4 组大鼠不同时间点创面愈合率变化趋势比较,差异有统计学意义($F=84.130$, $P=0.000$)。见图 1 和表 1。

2.2 PRP 凝胶联合象皮生肌膏治疗对糖尿病大鼠血清生长因子和炎症因子的影响

正常对照组、PRP 组、生肌膏组和联合组 VEGF、bFGF、TGF- β 1 和 IL-6 水平比较,经方差分

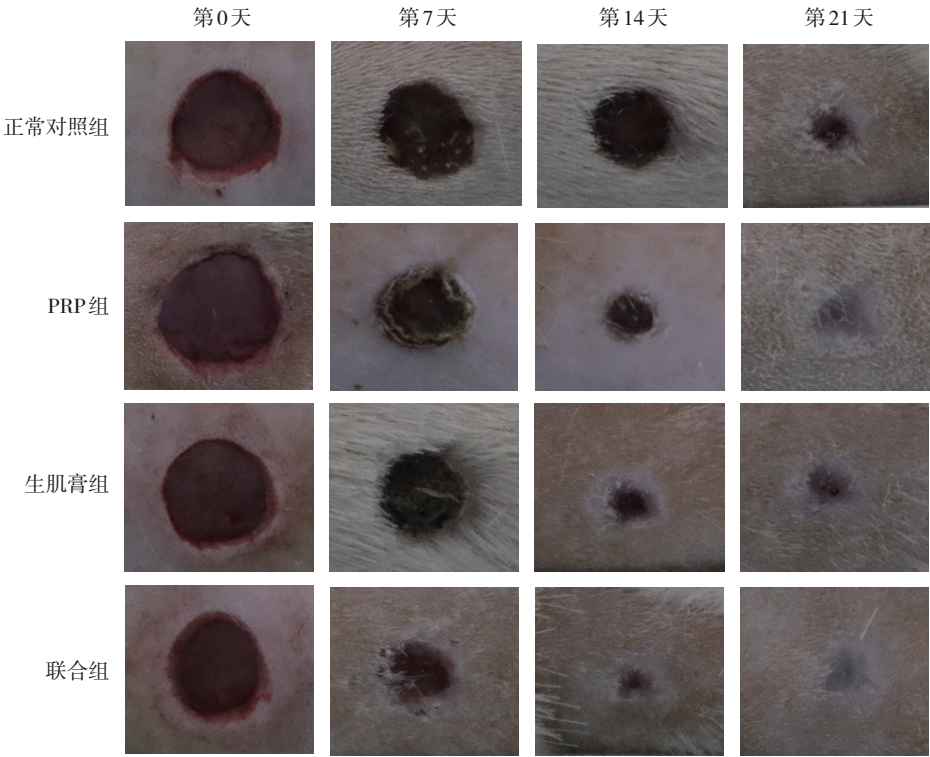


图 1 各组大鼠溃疡创面愈合情况

表 1 各组大鼠创面愈合率比较 (n=15, %, $\bar{x} \pm s$)

组别	第7天	第14天	第21天
正常对照组	34.78 ± 3.67	56.95 ± 1.67	85.45 ± 2.45
PRP组	48.37 ± 4.62 ^①	65.45 ± 2.04 ^①	89.78 ± 1.65 ^①
生肌膏组	47.33 ± 2.45 ^①	64.78 ± 1.29 ^①	87.98 ± 4.32 ^①
联合组	48.68 ± 1.15 ^①	90.60 ± 2.78 ^{①②③}	97.02 ± 2.44 ^{①②③}
F值	15.234	45.678	12.345
P值	0.000	0.000	0.000

注：①与正常对照组比较, $P < 0.05$; ②与PRP组比较, $P < 0.05$; ③与生肌膏组比较, $P < 0.05$ 。

析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。联合组、生肌膏组、PRP组大鼠血清 VEGF、bFGF、TGF- β 1 水平均高于正常对照组, IL-6 水平低于正常对照组 ($P < 0.05$); 联合组大鼠血清 VEGF、bFGF、TGF- β 1 水平高于生肌膏组、PRP组 ($P < 0.05$), IL-6 水平低于生肌膏组、PRP组 ($P < 0.05$)。生肌膏组与PRP组的 VEGF、bFGF、TGF- β 1 和 IL-6 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠血清生长因子和炎症因子的比较 (n=15, ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	VEGF	bFGF	TGF- β 1	IL-6
正常对照组	7.35 ± 1.12	1.47 ± 0.42	14.32 ± 1.47	28.61 ± 4.32
PRP组	14.32 ± 2.21 ^①	2.88 ± 0.12 ^①	18.33 ± 2.21 ^①	20.17 ± 4.11 ^①
生肌膏组	14.99 ± 2.46 ^①	2.90 ± 0.23 ^①	18.45 ± 1.44 ^①	21.33 ± 3.46 ^①
联合组	18.17 ± 2.14 ^{①②③}	3.78 ± 0.36 ^{①②③}	25.38 ± 3.22 ^{①②③}	16.25 ± 3.22 ^{①②③}
F值	26.372	43.071	36.223	19.051
P值	0.000	0.000	0.000	0.000

注：①与正常对照组比较, $P < 0.05$; ②与PRP组比较, $P < 0.05$; ③与生肌膏组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 PRP 凝胶联合象皮生肌膏治疗对糖尿病大鼠创面组织微血管密度的影响

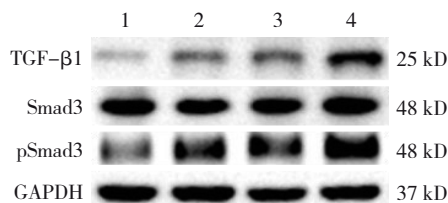
正常对照组大鼠创面组织微血管密度为

(35.33 ± 5.27) 个/HPF、PRP组 (64.48 ± 6.29) 个/HPF、生肌膏组 (78.32 ± 6.55) 个/HPF、联合组 (101.24 ± 7.28) 个/HPF, 各组大鼠创面组织微血管密度比较,

经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=279.046, P=0.000$)。正常对照组大鼠创面组织微血管密度小于 PRP 组、生肌膏组、联合组 ($P<0.05$); PRP 组大鼠创面组织微血管密度小于生肌膏组、联合组 ($P<0.05$); 生肌膏组大鼠创面组织微血管密度小于联合组 ($P<0.05$)。

2.4 PRP 凝胶联合象皮生肌膏治疗对糖尿病大鼠创面组织 TGF-β1/Smad3 信号通路影响

正常对照组、PRP 组、生肌膏组和联合组 TGF-β1 和 pSmad3、Smad3 的比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。联合组、生肌膏组、PRP 组的 TGF-β1 和 pSmad3 蛋白相对量均高于正常对照组 ($P<0.05$); 联合组的 TGF-β1 和 pSmad3 蛋白相对量均高于生肌膏组、PRP 组 ($P<0.05$); 生肌膏组与 PRP 组的 TGF-β1 和 pSmad3、Smad3 蛋白相对量比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 3 和表 3。



1: 正常对照组; 2: PRP 组; 3: 生肌膏组; 4: 联合组。

图 3 各组大鼠创面组织 TGF-β1/Smad3 信号通路相关蛋白表达

表 3 各组大鼠 TGF-β1、pSmad3、Smad3 蛋白相对表达量比较 ($n=15, \bar{x} \pm s$)

组别	TGF-β1	pSmad3	Smad3
正常对照组	0.48 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.53 ± 0.15
PRP 组	0.69 ± 0.04 ^①	0.45 ± 0.01 ^①	0.63 ± 0.11 ^①
生肌膏组	0.67 ± 0.07 ^①	0.44 ± 0.06 ^①	0.67 ± 0.09 ^①
联合组	0.84 ± 0.02 ^{①②③}	0.63 ± 0.01 ^{①②③}	0.87 ± 0.10 ^{①②③}
F 值	186.857	220.357	23.188
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与正常对照组比较, $P<0.05$; ②与 PRP 组比较, $P<0.05$; ③与生肌膏组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

糖尿病是由于胰岛素分泌缺乏或减少所致的血糖升高的疾病, 患者典型症状为多尿、多饮、消瘦等, 糖尿病发病率随着年龄增大而提升^[11]。糖尿病足是糖尿病最为严重的并发症之一, 具体表现为周

围神经病变、局部血管病变从而导致足部组织破坏、感染和溃疡等, 严重会导致截肢, 我国糖尿病足每年的截肢率高达 22%^[12]。由于局部新生毛细血管和外周血流减少, 溃疡创面愈合缓慢, 因此新生血管生成在糖尿病足溃疡创面修复中起到重要作用^[13]。

PRP 是自体全血经 2 次离心后得到的富含血小板制品^[14], 具有多种生长因子和纤维蛋白, 在创面使用 PRP 可使出血部位获取混合的血小板和冷沉淀物, 补充了外源生长因子, 促进了新生血管形成。PRP 中的纤维蛋白可促进细胞修复, 刺激软组织再生, 促进了伤口愈合和防止感染^[15]。中医中糖尿病被称为“消渴”, 象皮生肌膏作为可清热解毒、活血止痛的药膏也用于糖尿病足溃疡的治疗中^[16]。本研究结果显示, 治疗 7 d 后, PRP 组、生肌膏组和联合组的大鼠创面愈合率均显著高于正常对照组, 且 PRP 组、生肌膏组和联合组无显著差异; 在治疗第 14、21 天, PRP 组、生肌膏组和联合组大鼠创面愈合率高于正常对照组, 联合组的大鼠创面愈合率高于 PRP 组和生肌膏组, 这表明对于创面愈合治疗, PRP 与象皮生肌膏联合的作用更强。这是由于 PRP 中大量的生长因子为创面修复提供良好的微环境, 加快上皮细胞增殖, 促进血管生成; 象皮生肌膏中象皮、当归可起到止血敛疮的功效, 地黄可起到清热凉血功效, 而 PRP 联合象皮生肌膏治疗创面功效更佳。

TGF-β1 是创面修复中重要的因子, 也作为调控 TGF-β1/Smad3 通路的核心因子^[17]。有研究结果显示, 创面修复涉及 TGF-β1/Smad3 信号通路^[18], TGF-β1/Smad3 信号通路在皮肤创面修复中起到关键作用, Smad3 蛋白作为信号通路中的枢纽, 可将信号传导至细胞核^[19], 高表达 TGF-β1 促进 Smad3 蛋白磷酸化, 激活下游信号通路^[20]。本研究探究了 PRP、象皮生肌膏和 PRP 联合象皮生肌膏对糖尿病大鼠创面模型的作用及其对 TGF-β1/Smad3 通路的影响。VEGF、bFGF 是重要的促血管生成的生长因子, 抗可诱导血管内皮细胞增殖迁移, 促进毛细血管生长^[21]。TGF-β1 作为刺激创面成纤维细胞的细胞因子在创面愈合中起到关键作用, 可刺激多种基质蛋白表达, 介导炎症反应, 促进形成创面肉芽组织^[22]。而 IL-6 是一种促炎因子, 可诱导 B 细胞增殖, 增强机体的炎症反应^[23]。而本研究显示, PRP 组、生肌膏组、

联合组 VEGF、bFGF 和 TGF- β 1 的水平均高于对照组,且联合组的水平均高于 PRP 组、生肌膏组,而 IL-6 水平呈相反趋势。从创面组织上看,正常对照组血管密度低、炎症细胞少,PRP 和象皮生肌膏治疗后新生血管密度增多,炎症细胞减少。表明 PRP 和象皮生肌膏可促进新生血管生成,减少炎症反应,联合作用效果更佳。PRP 和象皮生肌膏都通过促进 TGF- β 1 的表达激活 Smad3 蛋白磷酸化,从而激活 TGF- β 1/Smad3 信号通路达到创面修复的效果。

本研究中,联合组在治疗第 14 天和 21 天的创面愈合率高于 PRP 组、生肌膏组,且微血管密度和 TGF- β 1/Smad3 通路关键蛋白表达水平均呈现协同增强效应。杨景哲等^[24]研究表示,PRP 可促进糖尿病足溃疡愈合,这可能是因为 PRP 虽能通过释放 VEGF、bFGF 等生长因子促进血管生成,但其抗炎作用有限,难以完全抑制糖尿病创面的慢性炎症反应。孙之中等^[25]研究表示,象皮生肌膏能促进糖尿病大鼠创面组织内上皮-间质转化过程,加快愈合速度。本研究揭示了 PRP 与象皮生肌膏的协同效应与 TGF- β 1/Smad3 通路密切相关,其具体机制为 TGF- β 1 作为通路核心因子,可能通过与细胞膜上的 TGF- β 受体 II 结合,激活磷酸化受体 I,进而促进 Smad3 蛋白表达。PRP 与象皮生肌膏通过协同激活 TGF- β 1/Smad3 通路,形成“促修复-抑炎症-促血管生成”的三重作用机制,显著提升糖尿病创面的愈合效率。

综上所述,PRP 和象皮生肌膏可有效促进创面愈合,上调糖尿病大鼠 TGF- β 1 和 pSmad3 蛋白表达,可能与 PRP、象皮生肌膏可激活 TGF- β 1/Smad3 表达从而促进创面溃疡修复有关。

参 考 文 献 :

- [1] NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants[J]. *Lancet*, 2024, 404(10467): 2077-2093.
- [2] McDermott K, Fang M, Boulton A J M, et al. Etiology, epidemiology, and disparities in the burden of diabetic foot ulcers[J]. *Diabetes Care*, 2023, 46(1): 209-221.
- [3] Rubitschung K, Sherwood A, Crisologo A P, et al. Pathophysiology and molecular imaging of diabetic foot infections[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11552.
- [4] 张盼,魏媛媛,王浩,等.裸花紫珠调控 M2 型巨噬细胞极化对糖尿病足溃疡大鼠伤口愈合及 PI3K/AKT/mTOR 通路的影响[J]. *实用临床医药杂志*, 2025, 29(4): 44-49.
- [5] 王冰雪,林婷,吴静,等.糖尿病足溃疡患者住院时间延长风险预测模型构建及验证[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2024, 55(4): 972-979.
- [6] 齐昆青,程团结,朴金龙,等.自体血小板凝胶在糖尿病足溃疡治疗中的应用研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 22(12): 1102-1105.
- [7] 王宇泽,梁浩,苏燕,等.富血小板血浆治疗糖尿病足溃疡的荟萃分析[J]. *实用临床医药杂志*, 2025, 29(11): 20-25.
- [8] 雷宇.象皮生肌膏对糖尿病皮肤溃疡修复和 IL-6、TNF- α 表达的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2022.
- [9] Dong X, Miao J, Wu L, et al. Diabetic wound healing breakthrough: theaflavin-3, 3'-digallate nanoparticles hydrogel activates the TGF- β 1/SMAD3 pathway[J]. *Phytomedicine*, 2025, 6(141): 156617.
- [10] 程志祥,田德民,樊肖冲,等.自体富血小板血浆制备技术规范中国疼痛学专家共识(2022 版)[J]. *中华疼痛学杂志*, 2022, 18(6): 725-736.
- [11] 余舒欣,薛慧,杜伟,等.机器学习在社区糖尿病管理中的应用[J]. *中华糖尿病杂志*, 2024, 16(8): 925-929.
- [12] 李鑫蕊,张新军,孙新茹,等.中药外用制剂治疗糖尿病足研究进展[J]. *中成药*, 2024, 46(7): 2292-2296.
- [13] 谭娟,于海亮,陈彬.高压氧联合硫辛酸治疗糖尿病足对血管生成因子水平、周围神经传导速度及血小板的影响[J]. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2023, 30(1): 63-66.
- [14] Izzo P, De Intinis C, Molle M, et al. Case report: the use of PRP in the treatment of diabetic foot: case series and a review of the literature[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1286907.
- [15] Pixley J N, Cook M K, Singh R, et al. A comprehensive review of platelet-rich plasma for the treatment of dermatologic disorders[J]. *J Dermatolog Treat*, 2023, 34(1): 2142035.
- [16] 张月娟,李木清,刘梨,等.象皮生肌膏对 2 型糖尿病大鼠溃疡肉芽组织转化生长因子 β 及纤维结合蛋白表达影响的实验研究[J]. *护理研究*, 2015(31): 3872-3875.
- [17] Liang Y X, Tang X, Zhang X, et al. Adipose mesenchymal stromal cell-derived exosomes carrying MiR-122-5p antagonize the inhibitory effect of dihydrotestosterone on hair follicles by targeting the TGF- β 1/SMAD3 signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6): 5703.
- [18] 曹鹏,王运帷,官浩,等.机械张力对兔耳增生性瘢痕的形成及转化生长因子 β 1/Smad 信号通路的影响[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2022, 38(12): 1162-1169.
- [19] 王畅,陈炜,王宝家.阿魏酸钠对人皮肤增生性瘢痕成纤维细胞增殖和凋亡的调控作用及其信号机制[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2022, 38(5): 471-480.
- [20] Zhao Q S, Xu J M, Han X, et al. Growth differentiation factor 10 induces angiogenesis to promote wound healing in rats with diabetic foot ulcers by activating TGF- β 1/Smad3 signaling pathway[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 13: 1013018.
- [21] Wu Y F, Sun J, Chen M, et al. Combined VEGF and bFGF

loaded nanofiber membrane protects against neuronal injury and hypomyelination in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 125(Pt A): 11108.

- [22] 于文霞, 姚彬, 姜文慧, 等. 中药熏蒸治疗炎症坏死期糖尿病足溃疡的疗效及对创面渗出液中 TGF- β 1、IL-1 β 、MMP-9、TIMP-1 水平的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2024, 51(5): 94-98.
- [23] 王海鹏, 齐宝奎, 臧兆萍, 等. 白藜芦醇对脑小血管疾病大鼠神经细胞损伤及免疫因子白细胞介素-6、白细胞介素-10 水平的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(16): 30-35.
- [24] 杨景哲, 陈晓妍, 暴海洋, 等. 富血小板纤维蛋白凝胶外敷对糖尿病足创面的修复效果观察[J]. *山东医药*, 2024, 64(32): 51-55.
- [25] 孙之中, 刘朝红, 陈其华, 等. 象皮生肌膏对糖尿病足溃疡大鼠

创面组织内上皮-间质转化过程的影响[J]. *陕西中医*, 2022, 43(12): 1664-1668.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 巫双, 张海涛, 陈丹丹. 富血小板血浆凝胶联合象皮生肌膏对糖尿病大鼠创面愈合及 TGF- β 1/Smad3 信号通路的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2026, 36(19): 38-45.

Cite this article as: Wu S, Zhang H T, Chen D D. Effects of platelet-rich plasma gel combined with Xiangpi Shengji Ointment on wound healing and the TGF- β 1/Smad3 signaling pathway in diabetic rats[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2026, 36(19): 38-45.