

## 益气化瘀法促进慢性难愈性创面修复愈合的机制研究

阙华发,唐汉钧,王林扬,代红雨,张士云,秦海洸,刘晓鹤,向寰宇,张 臻

(上海中医药大学龙华医院中医外科,上海 200032)

[关键词] 溃疡;伤口愈合;益气化瘀法

[中图分类号] R242.2 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2005)03-0243-04

### Study on wound healing mechanism of replenishing qi and dissipating stagnation therapy for chronic skin ulcers

QUE Hua-Fa, TANG Han-Jun, WANG Lin-Yang, DAI Hong-Yu, ZHANG Shi-Yun, QIN Hai-Guang, LIU Xiao-Dong, XIANG Huan-Yu, ZHANG Zhen

(Department of Chinese Traditional Surgery, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China )

KEY WORDS ulcer; wound healing; replenishing qi and dissipating stagnation therapy

J Chin integr Med, 2005, 3 (3): 243-246

慢性难愈性创面,如糖尿病、动脉供血不足、静脉回流不畅以及压迫、放射损伤、外伤等引起的溃疡创面,是中医外科常见病、多发病。因其反复发作,长期不愈,形成顽固性难愈性溃疡,愈后又极易复发,少数尚有癌变可能,因此,慢性难愈性创面是临床创面修复的一大难题。西医学多集中在防止创面感染和对创面进行保护,如抗感染、外科清创术、植皮术、多种敷料和创面覆盖物、维生素类和锌制剂等治疗措施上,以期使难愈性创面获得自然愈合。随着对创面愈合认识的深化,人们已从被动等待状态转向主动调控,多采用外用生长因子以调控创面愈合,有一定效果,但仍缺乏安全有效的加速创面愈合的积极措施。我们在传统“祛腐生肌”、“祛瘀生新”治疗原则的基础上,提出慢性难愈性创面“虚、邪、瘀、腐”的致病学说,以及以“补虚生肌”、“化瘀生肌”为治疗大法的学术观点。在临床应用益气化瘀法治疗慢性难愈性创面取得显著疗效基础上,开展了一系列的实验研究,在大鼠或家兔背部体表成功复制出创伤、创伤加塑料环肉芽肿、创伤加氢化可的松、糖尿病加创伤、糖尿病加创伤及气虚血瘀证等五种符合临床发病因素和主要病理生理特征的皮肤难愈性溃疡的动物模型,探讨了益气化瘀法促进慢性

难愈性创面修复愈合的机制。

#### 1 益气化瘀法治疗慢性难愈性创面的中医理论基础

慢性难愈性创面属中医学“溃疡”范畴。中医学对溃疡治疗有着悠久的历史和良好的疗效,历代医学文献对此都作过阐述,不仅积累了丰富的临床经验,总结了卓有成效的大量方药和有关剂型,并且上升到了理论高度,确定了溃疡形成的病因病机和辨证论治的方法,形成了具有特色的理论体系。如总结出了“腐祛肌生、肌平皮长”的溃疡愈合规律;重视溃疡早期祛腐,后期煨脓长肉;并且认识到局部创面的气血盛衰、气血瘀滞对创面愈合至为重要。但对“腐”去“新肌”不生或难生及疤痕形成等难题尚不能得到解决。

我们在长期临床和实验研究的基础上,发现慢性难愈性创面多有疮口下陷,脓液稀少,肉芽灰白或黯淡,疮周皮肤色暗黑、板滞木硬等“虚”、“瘀”之象,认为“久病必虚”、“久病必瘀”、“虚多致瘀,瘀久必虚”。慢性难愈性创面病机演变的特点为“因虚感邪,邪气致瘀,瘀阻伤正,化腐致损”,形成了虚、邪、瘀、腐相互作用,互为因果的变化。其中“虚”是受邪条件及血瘀伤正的结果,为发病的根本原因及决定

[基金项目] 上海市青年科技启明星培养计划(No.03QB14047)资助项目;国家教育部重点学科、上海市教委重点学科、上海市临床医学中心资助项目

[作者简介] 阙华发(1968-),男,博士,教授,主任医师。

Correspondence to: QUE Hua-Fa, MD, Professor. E-mail: quehuafa@hotmail.com

因素;“邪”既可以是在“虚”的基础上的外因,又可以是血瘀后的病理产物,为发病的重要条件;“瘀”为虚、邪的病理产物及生腐之源,为发病的关键。治疗上我们主张“祛瘀生新”,提出“化瘀生肌”、“补虚生肌”理论,据此确立了“益气化瘀”的治疗大法<sup>[1]</sup>。唐汉钧教授以此为组方原则研制的复黄生肌愈创油膏及扶正化瘀方治疗慢性难愈性创面可以明显促进与加速创面愈合,减少疤痕形成,提高愈合质量,取得了显著效果,解决了传统中医学“祛腐生肌”疗法“腐净而肌难生或不生”的临床难题,拓宽了慢性难愈性创面治疗的途径,完善和发展了传统中医学的“愈创理论”。

## 2 益气化瘀法促进慢性难愈性创面修复愈合的机制

### 2.1 调控生长因子的合成和分泌 创面修复愈合

是一个连续的复杂过程,包括创面炎症反应期、细胞增殖分化及肉芽组织增生期、组织重塑期等主要过程。各种生长因子作用于创面修复不同过程,产生趋化作用、合成分泌作用、增殖分化作用、诱导凋亡、刺激新生血管形成等多种生物效应,从而明显促进创面修复。生长因子与创面愈合过程的量效关系的研究也表明,只有创面保持一定量的生长因子才对创面修复有促进作用,当创面内源性生长因子种类与含量正常平衡失调或其受体活性呈下调状态时可导致创面修复困难,最终形成难愈性创面<sup>[2]</sup>。应用益气化瘀法(复黄生肌愈创油膏)作用于大鼠背部全层皮肤缺损以及使用醋酸氢化可的松复制的慢性难愈性创面模型,结果使局部创面组织胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor- $\alpha$ , IGF- $\alpha$ ) mRNA、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) mRNA、表皮生长因子受体 (receptor of epidermal growth factor, EGFR)、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) mRNA 表达呈明显上调,优于模型组,提示益气化瘀法有促进局部创面组织细胞分泌多种内源性生长因子的作用,从而加速创面的愈合过程。

转化生长因子 $\beta_1$  (transforming growth factor- $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ ) 是一类对创面修复有重要调控作用的多功能的生长因子,能够趋化炎性细胞和组织修复细胞向创面聚合,促进成纤维细胞增殖,刺激肉芽组织生长以及修复后期的组织重建等,与创面愈合密切相关<sup>[3]</sup>。应用益气化瘀法(复黄生肌愈创油膏)作用于大鼠背部全层皮肤缺损创面模型,结果使创面修复初中期 TGF- $\beta_1$  mRNA 高表达,修复后期 TGF- $\beta_1$  mRNA 的表达明显下降,说明中药有良好的调控修复过程中 TGF- $\beta_1$  mRNA 表达的作用,进

而调控修复进程中的胶原合成,修复初中期促进胶原合成、修复后期抑制胶原的过度合成,从而发挥良好的促进创面愈合,减少疤痕形成的作用。

2.2 促进细胞分裂增殖 创面愈合的关键之一是修复细胞的增殖。细胞的增殖受多种环境因素的影响,其中最重要的已知因素为创面愈合过程中相关的生长因子。生长因子表达与创面细胞周期存在相互调控作用。研究表明,在 G<sub>1</sub> 期中间存在一个细胞分裂的限制点, G<sub>1</sub> 期细胞停留在限制点内则处于休止状态,一旦越过限制点就进入增殖状态。生长因子主要影响细胞是否能越过 G<sub>1</sub> 期中的限制点,一旦超越限制点就进入分裂增殖状态,进行 DNA 的复制合成;在 DNA 复制的 S 期,生长因子的基因表达处于高峰期,以促进创面细胞的增殖;在细胞进入分裂相,复制的细胞分裂达到高峰,不再需要相关生长因子的促分裂作用, G<sub>2</sub> 和 M 期细胞就可能反馈性下调其基因表达。研究表明 bFGF 促使细胞越过限制点而进入细胞周期, EGF 则使越过限制点的细胞顺利完成而后的细胞周期,这两类因子具有相互协同作用,共同完成细胞周期<sup>[4]</sup>。临床研究证实,益气化瘀法(复黄生肌愈创油膏)能明显促进新生肉芽组织及上皮组织生长,应用它作用于大鼠背部全层皮肤缺损以及使用醋酸氢化可的松复制的慢性难愈性创面模型,结果使新生肉芽组织 S 期细胞数、 G<sub>2</sub> 和 M 期细胞数及 DNA 含量明显增高,同时 EGF mRNA 和 bFGF mRNA 表达亦呈上调状态,与模型组相比差异有显著性意义,提示中药作用于局部创面组织,通过对多种生长因子的协同作用,促进 DNA 合成,进而促进细胞增殖,加速创面愈合。

### 2.3 刺激创面新生血管形成,改善创面的血液循环

局部组织的缺血可直接影响创伤愈合的程度及其预后,血管再生是创面修复愈合过程中的重要机制,为创面修复愈合的关键环节。临床研究发现,益气化瘀法(复黄生肌愈创油膏)对慢性难愈性创面局部颜色的改变(由紫暗至暗红至淡红至红润)有明显的影 响,创面颜色转至红润的速度加快和病例数增加,肉芽组织温度与周围皮肤温度之差增大,均明显优于白玉膏组。应用益气化瘀法(复黄生肌愈创油膏)作用于大鼠背部全层皮肤缺损以及使用醋酸氢化可的松复制的慢性难愈性创面模型,结果使局部组织毛细血管通透性及创面中点血流值明显提高,病理形态学发现新生毛细血管数量较多,结合中药能上调诱导血管生成的生长因子 EGF mRNA、 bFGF mRNA 的表达,提示中药能刺激创面新生血管形成,改善创面血供及组织血液灌注量;同时应用益气化瘀法(复黄生肌愈创油膏)作用于小鼠耳廓,结果

使耳廓细动脉、细静脉口径扩张,细静脉血流速度加快,毛细血管开放量明显增加,提示中药能改善小鼠耳廓微循环<sup>[5]</sup>。

2.4 调控胶原的合成及代谢 成纤维细胞是创面愈合过程中的主要修复细胞,其生物学效应在创面修复中有至关重要的作用。成纤维细胞所合成的胶原在创面修复中是构成修复组织的主要细胞外基质成分,胶原代谢的结果直接影响创面的修复质量。胶原成分主要为 I、III 型胶原,二者共同组成胶原原纤维,其中 I 型胶原是主体, III 型胶原包绕于外周;但 III 型胶原比例决定胶原纤维的直径大小及弹性好坏, I 型胶原含量越高,胶原纤维越细,弹性越好,瘢痕越轻,表明 I、III 型胶原比例与创面修复质量好坏密切相关<sup>[4]</sup>。应用益气化痰法(复黄生肌愈创油膏)作用于大鼠背部全层皮肤缺损模型,病理超微形态学发现成纤维细胞的胞核规则,胞质内线粒体、内质网、核糖体等没有明显的扩张,分泌到细胞外的胶原纤维呈有序排列,粗细适中,似正常皮肤结构。模型组成纤维细胞的胞核大,胞质内有数量较多的扩张的粗面内质网存在,游离核糖体和线粒体较多,基质内胶原纤维数量多、密集、粗大、排列紊乱。提示中药组成纤维细胞未呈现明显的合成状态,而模型组成纤维细胞表现合成胶原比较旺盛的功能状态,并且胶原粗大、排列紊乱;还发现在创面修复初中期中药有明显促进胶原合成的作用,且优于模型组,在修复后期,中药组胶原含量增加趋势明显降低,接近正常皮肤组,而模型组未见明显降低趋势,其胶原含量明显高于中药组和正常皮肤组,有非常显著性差异,说明中药在修复后期有抑制成纤维细胞合成胶原的功能,这在一定程度上直接抑制了胶原的过度合成。同时发现,在创面修复初中期中药组和模型组 I 型和 III 型胶原比例无明显差异,但均较正常皮肤对照组高,在修复后期,中药组 I 型和 III 型胶原比例明显高于模型组,但不及正常皮肤对照组,提示中药能提高 I 型胶原比例。

此外,应用益气化痰法(复黄生肌愈创油膏)作用于兔耳腹面全层皮肤缺损模型,结果发现中药能降低 I 型前胶原 mRNA 的表达,从而降低 I、III 型前胶原 mRNA 的比值及总体胶原的合成;同时我们检测了瘢痕组织中降解胶原的胶原酶活性,发现在正常皮肤中没有检测到胶原酶活性,中药组的胶原酶活性最低,模型组最高,呈现瘢痕肿块越大,胶原酶活性越高的趋势。提示瘢痕形成后,胶原的过度沉积或继续合成,通过某种机制反馈性地激活胶原酶的活性。说明中药减少瘢痕形成的机制是在于其在促进愈合过程中就减少了胶原的过度沉积,而不

是在瘢痕的改建过程中实现的。

2.5 调控创面修复过程中 TGF- $\beta$  信号转导分子修复基因 Smad3 的表达 研究表明,TGF- $\beta$  在溃疡创面组织中含量的变化对溃疡发生、修复愈合发挥核心和关键作用。Smad 是细胞内特异转导 TGF- $\beta$  调控信息的信号转导分子,它们可将 TGF- $\beta$  信号直接从细胞膜转入细胞核内,并激活靶基因的转入。其中修复基因 Smad3 可以调节创面愈合,Smad3 基因的失控是创面愈合延迟、不愈合或瘢痕过度增生的真正原因<sup>[6,7]</sup>。应用益气化痰法(复黄生肌愈创油膏)作用于大鼠背部全层皮肤缺损以及使用链脲佐菌素复制的慢性难愈性创面模型,结果发现,在创面愈合早中期,中药减少 TGF- $\beta$  信号转导分子 Smad3 的表达,从而抑制早期的炎症反应及加速中期创面上皮化,促进创面愈合。

2.6 调节创面修复基质形成 细胞外基质对创面修复过程中细胞增殖有很大影响,纤维连结蛋白(fibronectin, FN)是一类分子量约 440~550 kD 的糖蛋白,与纤维原、纤维蛋白原、肝素及硫酸肝素和胶原相结合,共同形成基质,在创面修复中起着重要作用。FN 参与创面愈合过程的所有阶段,其重要作用有作为趋化因子诱导外周血中的单核细胞、巨噬细胞、上皮细胞、成纤维细胞向伤口运动,可加速创面的清创,促进肉芽的形成,加速创面上皮化;FN 介导人成纤维细胞、单核细胞、巨噬细胞、上皮细胞等与各种细胞外基质的结合,在细胞的移行、上皮化过程中起支架作用;FN 对基质的产生有调节作用<sup>[4]</sup>。应用益气化痰法(复黄生肌愈创油膏)作用于大鼠背部全层皮肤缺损模型,结果使局部组织 FN 含量同模型组相比明显增多,从而促进创面愈合<sup>[8]</sup>。

2.7 营养创面 创面营养、微量元素对创面愈合有一定的作用。肉芽组织增生是创面修复愈合的主要环节。肉芽组织中各种氨基酸含量与肉芽组织生长好坏及表皮再生密切相关;微量元素 Zn 是 DNA 聚合酶和 RNA 聚合酶的辅酶成分,与细胞的分裂及蛋白质的合成有密切关系;Cu 为胶原的形成提供必需的辅助因子。应用益气化痰法(复黄生肌愈创油膏)作用于大鼠背部全层皮肤缺损模型,结果使肉芽组织中合成胶原所必需的甘氨酸、脯氨酸、赖氨酸等 11 种氨基酸的含量明显提高;作用于大鼠塑料环肉芽肿模型,结果使局部组织中 Zn 含量明显上升,而 Cu 含量无明显变化,从而为创面“生肌”提供或积累了物质基础,起到促进创面愈合的作用<sup>[9,10]</sup>。

2.8 其它 临床研究发现,益气化痰法(复黄生肌愈创油膏)治疗慢性难愈性创面,治疗前后炎症带宽

度明显缩小,创面渗液细菌培养阳性率较低;动物实验发现益气化瘀法(复黄生肌愈创油膏)组组织病理切片中炎性细胞较少,表明中药有一定的抗感染作用。此外,益气化瘀法(复黄生肌愈创油膏)可改变溃疡创面的 pH 值,使其更接近于中性,以利于肉芽组织的生长;可使创面渗出液较多且黏稠,以保持一个湿润环境,促进创面愈合。

### 3 结 语

综上所述,益气化瘀中药通过调控生长因子的合成和分泌,促进细胞分裂增殖,改善创面的血液循环,调控胶原的合成及代谢,调控创面修复过程中 TGF- $\beta$  信号转导分子修复基因 Smad3 的表达,调节创面修复基质形成,营养创面等而发挥多途径、多靶点、多环节、多层次的综合调控作用,从而提高机体本身修复能力,并创造一种既利于修复,同时又不破坏正常组织修复进程的生理环境,促进难愈性创面愈合,有效地预防或减少疤痕形成,提高愈合质量。随着生物技术的发展,以生理性再生修复为基础,追求无疤痕的创面愈合方式已成为愈合研究的趋势和主导潮流。我们应当在发扬中医药治疗优势的同时,借助于现代的高科技及生物学成果,建立符合中医特点的病证结合的慢性难愈性创面实验模型,对中医药促进创面生理性修复及组织再生的机制进行深入系统研究,开发符合国际标准和要求的应用于创面修复愈合的高效药物。

### [参考文献]

- 1 阙华发,唐汉钧,向寰宇,等.益气化瘀法治疗糖尿病皮肤溃疡 38 例临床观察[J].中西医结合学报,2004,2(1):63-64.
- 2 付小兵,李校坤,赵建钢.创伤修复的分子生物学[A].见:付小兵,王德文主编.现代创伤修复学[M].北京:人民军医出版社,1999.162-213.
- 3 陈伟,付小兵,孙同柱,等.溃疡组织中转化生长因子- $\beta$  异构体与其受体含量的变化及其对创面修复的影响[J].中国危重病急救医学,2002,14(2):93-95.
- 4 黎君友,王会信,付小兵,等.创伤修复的生化与代谢[A].见:付小兵,王德文主编.现代创伤修复学[M].北京:人民军医出版社,1999.133-162.
- 5 王林扬,唐汉钧.复黄生肌愈创油膏对皮肤溃疡修复作用的实验研究[J].中医外治杂志,1999,8(4):8-9.
- 6 王正国.创伤修复的分子生物学研究[J].中华创伤杂志,2000,16(6):326-327.
- 7 谷庆阳,王德文.TGF- $\beta$  及其信号分子 SMAD3 在伤口愈合过程中的作用[J].国外医学 生理、病理科学与临床分册,2002,22(1):67-69.
- 8 章学林,唐汉钧,黄灶华.复黄生肌膏对肉芽组织及血液中纤维连接蛋白的影响[J].天津中医,1999,16(4):27-28.
- 9 李斌,唐汉钧,金若敏.复黄生肌愈创油膏对大鼠新生肉芽组织中羟脯氨酸、DNA 含量的影响[J].上海中医药杂志,1996,30(12):40-41.
- 10 李斌,唐汉钧.祛瘀生肌法对创面微量元素 Zn、Cu 的影响[J].新中医,2001,33(1):75-76.

[收稿日期] 2005-03-21 [本文编辑] 周庆辉

## 《中西医结合学报》杂志社编辑招聘启事

《中西医结合学报》是由上海市中西医结合学会和上海第二军医大学长海医院主办的中西医结合学术性科技期刊。本刊于 2003 年 5 月创刊,是中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊。创刊伊始,杂志社便以国际化为目标,致力于树立高质量、高品位、高水准的品牌形象,倾心打造医学期刊中的精品。2004 年荣登“上海市科协系统优秀科技期刊奖”榜首。创刊仅 1 年时间便被国际最权威的医学检索系统——美国国立医学图书馆的《医学索引》(Index Medicus/Medline/PubMed)以及美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、美国《国际药学文摘》(International Pharmaceutical Abstracts, IPA)、俄罗斯《文摘杂志》(VINITI Abstracts Journal)等国际著名数据库收录。

杂志社由于本刊迅速发展的需要,拟在全国范围内公开招聘专职编辑 2 名。岗位要求:(1)年龄 40 周岁以下,男女不限;(2)身体健康,热爱编辑工作,具有高度的团队协作精神;(3)已获得医学博士学位或 2005 年即将毕业的在读医学博士研究生,中医、西医、中西医结合各专业不限,有无编辑工作经验不限,或者已获得医学硕士学位并有 3 年以上医学专职编辑工作经历;(4)具有较强的汉语和英语书面表达能力;(5)同时具有临床工作和实验室工作经历者优先。(6)具体待遇面议。

应聘者请于 2005 年 7 月 1 日之前向杂志社寄送个人简历一份。欢迎来函来电咨询。杂志社地址:上海市长海路 174 号长海医院科技楼 1105 室。邮政编码:200433。电话/传真:021-25074637。E-mail: jcim@smmu.edu.cn。联系人:编辑部主任周庆辉。

中西医结合学报杂志社