



中国比较医学杂志
Chinese Journal of Comparative Medicine
ISSN 1671-7856, CN 11-4822/R

《中国比较医学杂志》网络首发论文

题目： 黄芪甲苷调节 Notch1/Twist1 信号通路对深Ⅱ度烧伤大鼠创面愈合的影响
作者： 吴晓伟，张科伟，路婕，马亚楠，王献珍
收稿日期： 2025-10-24
网络首发日期： 2026-05-27
引用格式： 吴晓伟，张科伟，路婕，马亚楠，王献珍. 黄芪甲苷调节 Notch1/Twist1 信号通路对深Ⅱ度烧伤大鼠创面愈合的影响[J/OL]. 中国比较医学杂志.
<https://link.cnki.net/urlid/11.4822.r.20260526.1502.010>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

黄芪甲苷调节 Notch1/Twist1 信号通路对深Ⅱ度烧伤大鼠创面愈合的影响

吴晓伟, 张科伟, 路 婕, 马亚楠, 王献珍✉

(青海大学附属医院烧伤整形与创面修复中心, 青海 810000)

*通信作者 王献珍 (1973—), 男, 硕士, 主任医师, 研究方向: 烧伤整形与创面修复。E-mail: nmgwuxiaowei@163.com

摘要 目的 探究黄芪甲苷 (ASIV) 调节缺口受体 1 (Notch1) /扭曲螺旋转录因子 1 (Twist1) 信号通路对深Ⅱ度烧伤大鼠创面愈合的影响。方法 将 SD 大鼠随机分为 Con 组、Model 组、ASIV 低剂量组 (L-ASIV 组)、ASIV 高剂量组 (H-ASIV 组)、阳性药物组 (湿润烧伤膏组)、ASIV 高剂量+Notch1 抑制剂 DAPT 组 (DAPT 组), 每组各 15 只, Con 组除外, 剩余组均建立深Ⅱ度烧伤大鼠模型。检测各组大鼠烧伤创面愈合率和含水量; 检测各组大鼠血清 IL-8、IL-18、IL-6 水平; 检测各组大鼠烧伤创面组织病理、细胞凋亡变化; 检测各组大鼠烧伤创面组织表皮生长因子 (EGF)、碱性成纤维细胞因子 (b-FGF)、VEGF、血小板-内皮细胞黏附分子 CD31 以及 Notch1/Twist1 通路蛋白表达情况。结果 Model 组与 Con 组比较, 大鼠烧伤创面组织出现明显水肿状态, 结构完整性受损且炎性细胞浸润, 含水量、IL-8、IL-18、IL-6、细胞凋亡率、EGF、b-FGF 平均荧光强度增加, VEGF、CD31 平均光密度值、Notch1、Twist1 蛋白表达降低 ($P<0.05$); L-ASIV 组、H-ASIV 组、湿润烧伤膏组与 Model 组比较, 大鼠烧伤创面组织水肿和炎性细胞浸润减轻, 结构完整性恢复, 创面愈合率、EGF、b-FGF 平均荧光强度、VEGF、CD31 平均光密度值、Notch1、Twist1 表达升高, 含水量、IL-8、IL-18、IL-6、细胞凋亡率降低 ($P<0.05$); DAPT 组与 H-ASIV 组比较, 大鼠烧伤创面组织水肿和炎性细胞浸润加重, 结构完整性破坏, 创面愈合率、EGF、b-FGF 平均荧光强度、VEGF、CD31 平均光密度值、Notch1、Twist1 表达降低, 含水量、IL-8、IL-18、IL-6、细胞凋亡率升高 ($P<0.05$)。结论 ASIV 可能通过激活 Notch1/Twist1 信号通路, 促进深Ⅱ度烧伤大鼠创面愈合。

关键词 黄芪甲苷; 缺口受体 1/扭曲螺旋转录因子 1; 深Ⅱ度烧伤; 创面愈合

中图分类号 R644; R285.5; R363 **文献标志码** A

Effect of astragaloside IV on wound healing in deep second-degree burn rats via the Notch1/Twist1 signaling pathway

WU Xiaowei, ZHANG Kewei, LU Jie, MA Yanan, WANG Xianzhen

(Center of Burn Plastic and Wound Repair, Qinghai University Affiliated Hospital, Qinghai 810000, China)

Abstract Objective To investigate the effect of astragaloside IV (ASIV) on wound healing in rats with deep second-degree burns via the Notch receptor 1/Twist-related protein 1 (Twist1) signaling pathway. Methods Sprague-Dawley rats were assigned randomly into Con group, Model group, low-dose ASIV (L-ASIV) group, high-dose ASIV (H-ASIV) group, positive drug group (Shirun Shaoshang ointment group), and high-dose ASIV+Notch1 inhibitor DAPT (DAPT) group ($n=15$ rats per group). Second-degree burns were established in all groups except the Con group. The healing rate and moisture content of burn wounds were detected and serum levels of interleukin (IL)-8, IL-18, and IL-6 were measured in each group. Histopathological and apoptotic changes in burn-wound tissues were measured and expression levels of epidermal growth factor (EGF), basic fibroblast growth factor (b-FGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet endothelial cell adhesion molecule CD31, and Notch1/Twist1 pathway proteins in burn-wound tissues were also measured in each group. Results Compared with the Con group, rats in the Model group showed clear edema, structural integrity damage, and inflammatory cell infiltration in the burn-wound tissue, increased water content, IL-8, IL-18, IL-6, apoptosis rate, and average

收稿日期: 2025-10-24

基金项目: 青海省卫生健康委指导性计划课题 (2024-wjzdx-108)

作者简介: 吴晓伟 (1982—), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 烧伤整形与创面修复。E-mail: ucwwe5@sina.com

网络首发时间: 2026-05-27 08:42:27 网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.4822.r.20260526.1502.010>

fluorescence intensities of EGF and b-FGF, and decreased average optical densities of VEGF and CD31 and Notch1 and Twist1 protein expression levels ($P < 0.05$). Compared with the Model group, rats in the L-ASIV group, H-ASIV group, and Shirun Shaoshang ointment group showed reduced tissue edema and inflammatory cell infiltration in burn wounds, restored structural integrity, increased wound-healing rate, average fluorescence intensities of EGF and b-FGF, average optical densities of VEGF and CD31, and expression levels of Notch1 and Twist1, and decreased water content, IL-8, IL-18, IL-6, and cell apoptosis rate ($P < 0.05$). Compared with the H-ASIV group, rats in the DAPT group showed increased tissue edema and inflammatory cell infiltration in burn wounds, structural integrity damage, reduced wound-healing rate, average fluorescence intensities of EGF and b-FGF, average optical densities of VEGF and CD31, and expression of Notch1 and Twist1, and increased water content, IL-8, IL-18, IL-6, and cell apoptosis rate ($P < 0.05$). Conclusions ASIV may promote wound healing in rats with deep second-degree burns by activating the Notch1/Twist1 signaling pathway.

Key words Astragaloside IV; Notch receptor 1/Twist-related protein 1; deep second-degree burns; wound healing

深Ⅱ度烧伤在临床中较为常见, 不仅破坏表皮全层, 更深入真皮层, 导致皮肤保护屏障遭到严重破坏, 造成显著组织结构损伤^[1,2]。深Ⅱ度烧伤创面的愈合过程涉及组织再生与修复的复杂机制, 其中瘀滞带的转归一直是创面修复中备受关注的课题。适度炎症反应有助于创面愈合, 但过度炎症反应可能导致修复延迟和疤痕形成, 且成纤维细胞也扮演着调控修复进程的关键角色^[3,4]。因此, 改善炎症反应和成纤维细胞活化可能对创面修复具有重要意义。黄芪甲苷 (Astragaloside IV, ASIV) 是从传统中药黄芪中分离提取的四环三萜皂苷类化合物, 其具有免疫系统调节、促进成纤维细胞增殖和血管新生以及代谢调控等作用^[5]。有研究发现, ASIV能够促进角质形成细胞迁移和增殖, 加速伤口愈合过程^[6]。猜测 ASIV可能对深Ⅱ度烧伤创面愈合有潜在治疗作用, 但其在深Ⅱ度烧伤创面愈合中的具体效应和机制尚未见研究报道。缺口受体 1 (notch receptor 1, Notch1) /扭曲螺旋转录因子 1 (twist-related protein 1, Twist1) 信号通路在胚胎发育和组织重塑过程中发挥重要作用^[7]。研究表明, 激活 Notch1/Twist1 信号通路, 能够促进皮肤溃疡大鼠伤口愈合^[8]。所以, 本研究构建深Ⅱ度烧伤大鼠模型, 基于 Notch1/Twist1 信号通路探讨 ASIV对深Ⅱ度烧伤大鼠创面愈合的潜在药理作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用 90 只无特定病原体 SD 雄性大鼠, 6~8 周龄, 体质量范围 190~220 g, 来源于泰安鸿菲尔生物科技有限公司[SCXK(鲁)2024-0006]。所有动物正式实验前均接受不少于 7 d 的环境适应期, 饲养于青海省畜牧兽医科学院 SPF 实验动物房[SYXK(青)2024-0001]。实验严格遵循《实验动物管理条例》, 遵守 3R 原则, 并通过青海大学附属医院实验动物伦理委员会专业批准 (P-SL-202158)。

1.2 主要试剂与仪器

ASIV (纯度≥98%) (FT-84687-43-4) 购自上海梵态生物科技; 湿润烧伤膏 (moist exposed burn ointment, MEBO, T230622) 购自佛山美宝制药公司; Notch1 抑制剂 DAPT (DAPT-050) 购自北京阿斯雷尔生物技术; 大鼠白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8)、IL-18 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (DMD0250、DMD0566) 购自上海笃玛生物科技有限公司; 大鼠 IL-6 ELISA 试剂盒 (KI-E680R) 购自上海康朗生物科技; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色液 (BIR615) 购自北京博尔西科技公司; TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒 (JK-048a) 购自上海经科化学科技公司; 免疫组化试剂盒 (PK-6100) 购自杭州昊鑫生物科技; 免疫荧光试剂盒 (YB006) 购自上海攸碧艾生物技术公司; 表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、碱性成纤维细胞因子 (fibroblast growth factor-basic, b-FGF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板内皮细胞黏附分子 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1, CD31)、Notch1、Twist1 抗体 (bs-4568R-1、bs-0217R-2、A00045、BM4213、bs-11976R-1、K005165P) 购自上海恒斐生物科技。控温烫伤仪器 (YLS-5Q) 购自北京众实迪创科技; 倒置荧光显微镜 (Revolve) 购自苏州艾普拜生物科技; 凝胶成像系统 (Dolphin-Doc) 购自北京金艮生物科技。

1.3 实验方法

1.3.1 深Ⅱ度烧伤大鼠模型建立及分组处理

按照刘娇等^[9]文献方法构建深Ⅱ度烧伤大鼠模型。首先,采用腹腔注射方式给予 3%戊巴比妥钠麻醉大鼠后,在肩胛骨远端 2 cm 处标记 3 cm×3 cm 区域,使用电动剃毛器进行脱毛处理,脱毛后使用生理盐水清洁皮肤表面。采用控温烫伤仪器接触压力 500 g 恒压,温度设定 105 °C、作用时长 18 s,烫头与皮肤完全垂直接触,保持稳定的压力值,避免烫头滑动,皮肤呈现白色改变,出现明显界限的烫伤轮廓,24 h 后烫伤区域皮革样硬化,典型焦痂形成,提示模型构建成功。而 Con 组大鼠只进行脱毛处理。

造模成功后的大鼠随机分为 Model 组、ASIV 低剂量组 (L-ASIV 组)、ASIV 高剂量组 (H-ASIV 组)、阳性药物组 (湿润烧伤膏组)、ASIV 高剂量+Notch1 抑制剂 DAPT 组 (DAPT 组),每组各 15 只。本研究根据文献^[10]中大鼠 ASIV 使用剂量,提前通过生理盐水配制浓度为 20 g/L、100 g/L ASIV 溶液。其中 L-ASIV 组、H-ASIV 组大鼠均通过局部外敷给药法,使用 1 mL 注射器准确吸取 1 mL 20 g/L、100 g/L ASIV 溶液,创面面积在实验动物间保持高度一致,分别使用无菌棉签先纵向后横向均匀涂抹于创面区域,确保药物分布均匀,涂药后所有动物均立即佩戴颈圈,笼具采用特殊设计防止动物摩擦创面,创面每日用生理盐水清洁后再给药一次,且均单笼饲养;湿润烧伤膏组大鼠每日创面均匀涂抹湿润烧伤膏涂药量 0.02 mL/cm²; DAPT 组每日创面均匀涂抹 1 mL 100 g/L ASIV 溶液和每 2 d 腹腔注射 10 mg/kg Notch1 抑制剂 DAPT^[11]。Con 组和 Model 组大鼠均用生理盐水创面涂抹,每日 1 次,给药周期 2 周。

1.3.2 大鼠创面愈合率检测

大鼠造模成功后烧伤面积作为初始创面面积。在治疗第 7 天和第 14 天,使用灭菌处理的半透明涤纶膜进行创面覆盖,固定后使用图像分析软件进行创面大小计算,通过 (造模成功后创面面积-药物处理后创面面积)/造模成功后创面面积×100% 计算创面愈合率。

1.3.3 大鼠创面含水率检测

药物处理 2 周后,每组随机选取 5 只大鼠,进行腹腔注射 3%戊巴比妥钠溶液麻醉,剪取创面区域的完整皮肤样本,并置于生理盐水进行漂洗,使用无菌滤纸吸除表面液体,称重后移至恒温干燥箱,持续烘干 24 h。烘干结束后,将样本置于干燥器中冷却至室温,进行干重测量, (初始重量-干重)/初始重量即为创面含水率。

1.3.4 大鼠血清 IL-8、IL-18、IL-6 水平检测

药物处理 2 周后,从各组剩余大鼠经过腹主动脉获取全血样本,然后离心收集血清,根据试剂盒标准操作处理稀释后血清和标准品,酶标仪进行吸光度检测,对获得的数据进行分析和计算 IL-8、IL-18、IL-6 水平。

1.3.5 大鼠创面组织病理变化

从检测完血清的 10 只大鼠中随机选取剩余 5 只大鼠,安乐死后,完整剥离创面区域皮肤组织样本,立即置入固定液中,在 4 °C 恒温环境下固定 24 h,脱水、透明处理后,置于 60 °C 恒温石蜡中进行浸蜡包埋,切片机制备 5 μm 厚切片。取部分切片经过 HE 试剂染色后,使用显微镜进行观察评估大鼠创面组织病理改变情况。

1.3.6 大鼠创面组织细胞凋亡变化

取 1.3.5 中部分石蜡切片,室温下使用 0.1% Triton X-100 透化处理,应用 5% BSA 封闭液进行封闭。预处理后,切片与 TUNEL 染色液避光条件下孵育 90 min,DAPI 避光复染 15 min,封片后使用共聚焦显微镜进行观察,使用软件分析细胞凋亡变化 (绿色荧光表示凋亡细胞)。

1.3.7 大鼠创面组织 EGF、b-FGF 表达检测

将部分石蜡切片进行脱蜡及复水处理,使用 0.01 mol/L 枸橼酸钠缓冲液进行微波抗原修复,3% 过氧化氢甲醇溶液室温孵育 5 min,1% Triton X-100 室温透化 15 min,EGF、b-FGF 抗体 (1:300),4 °C 湿盒内缓慢孵育过夜,并通过荧光标记二抗室温避光条件 1 h,15 min DAPI 核染,共聚

焦显微镜下观察拍照, Image J 分析 EGF、b-FGF 平均荧光强度, 重复次数 3 次。

1.3.8 大鼠创面组织 VEGF、CD31 表达检测

取 1.3.5 中石蜡组织切片, 采用高压热修复法和柠檬酸钠缓冲液进行抗原修复, 3%过氧化氢甲醇溶液避光条件下室温孵育, 一抗 VEGF、CD31 (1:50 稀释), 湿盒过夜, 选用 HRP 标记相应种属二抗, 37 °C 孵育 1 h (需避光), DAB 显色后, 蒸馏水终止反应, 使用显微镜观察以及软件分析 VEGF、CD31 平均光密度值, 重复次数 3 次。

1.3.9 大鼠创面组织 Notch1/Twist1 通路蛋白表达检测

在完成创面组织病理学检测后, 将剩余各组 5 只大鼠通过注射高剂量 3%戊巴比妥钠溶液实施安乐死, 收集创面组织, 采用 RIPA 高效裂解缓冲液进行裂解, 通过低温离心 (4 °C, 12 000 ×g, 15 min) 获取总蛋白上清液, 试剂盒对样本进行标准化定量。取等量蛋白样本在 12%凝胶中进行电泳分离, 湿转法将分离蛋白转移至膜, 5%脱脂奶粉-TBST 封闭液室温封闭 2 h, 对应蛋白条带置于 Notch1 (1:1 000)、Twist1 (1:1 000)、 β -actin (1:2 000) 抗体稀释液, 4 °C 摇床过夜, 对应二抗室温孵育 1 h, 滴加显色液进行蛋白条带显影, 凝胶成像系统获取信号, 软件进行灰度值分析并以 β -actin 为内参计算 Notch1、Twist1 蛋白表达, 重复次数 3 次。

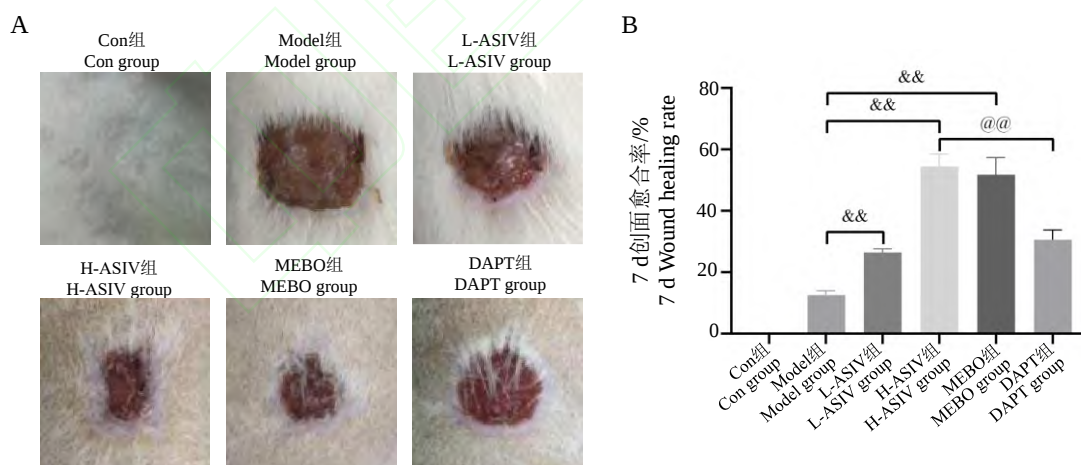
1.4 统计学方法

SPSS 27.0 统计软件进行所有数据分析, 数据均采用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 三组及以上的数据比较, 选用单因素方差分析作为主要统计方法, 以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性, 得出显著性结果后, 为进一步明确具体组间差异, 选用 SNK- q 检验进行两两比较, 设定检验水准 $\alpha = 0.05$ 作为统计学显著性的判断标准。

2 结果

2.1 ASIV对大鼠创面愈合率的影响

L-ASIV组、H-ASIV组、湿润烧伤膏组大鼠创面愈合率高于 Model 组 ($P < 0.05$); DAPT 组大鼠创面愈合率低于 H-ASIV组 ($P < 0.05$), 见图 1、图 2。

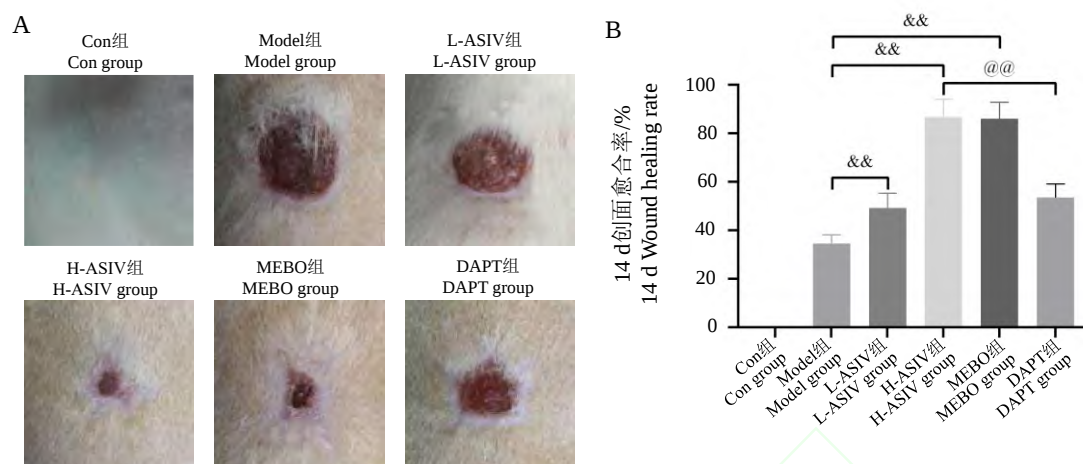


注: A: 第 7 天大鼠创面组织图; B: 各组大鼠创面愈合率比较。与 Model 组相比, $\&\&P < 0.01$; 与 H-ASIV 组相比, $\&\&P < 0.01$ 。

图 1 第 7 天大鼠创面组织图及创面愈合率比较

Note. A, Wound tissue images of rats on day 7. B, Comparison of wound healing rate in each group. Compared with the Model group, $\&\&P < 0.01$. Compared with the H-ASIV group, $\&\&P < 0.01$.

Figure 1 Wound tissue morphology and wound healing rate of rats on day 7



注：A：第 14 天大鼠创面组织图；B：各组大鼠创面愈合率比较。与 Model 组相比， $&&P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比， $@@P<0.01$ 。

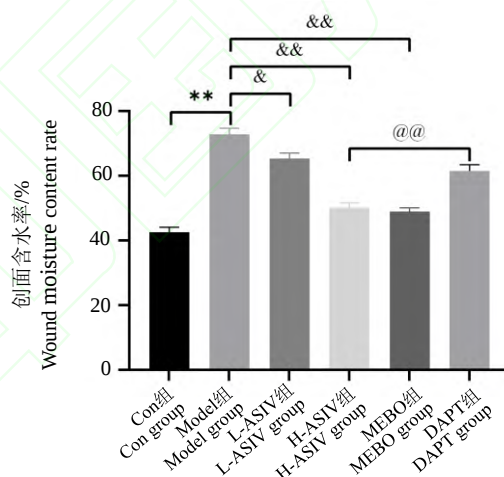
图 2 第 14 天大鼠创面组织图及创面愈合率比较

Note. A, Wound tissue images of rats on day 14. B, Comparison of wound healing rate in each group. Compared with the Model group, $&&P<0.01$. Compared with the H-ASIV group, $@@P<0.01$.

Figure 2 Wound tissue morphology and wound healing rate of rats on day 14

2.2 ASIV对大鼠创面含水率的影响

与 Con 组比较，Model 组大鼠创面含水率增加 ($P<0.05$)；与 Model 组比较，L-ASIV组、H-ASIV组、MEBO 组大鼠创面含水率减少 ($P<0.05$)；与 H-ASIV组比较，DAPT 组大鼠创面含水率增加 ($P<0.05$)，见图 3。



注：与 Con 组相比， $**P<0.01$ ；与 Model 组相比， $&P<0.05$ ， $&&P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比， $@@P<0.01$ 。

图 3 各组大鼠创面含水率比较

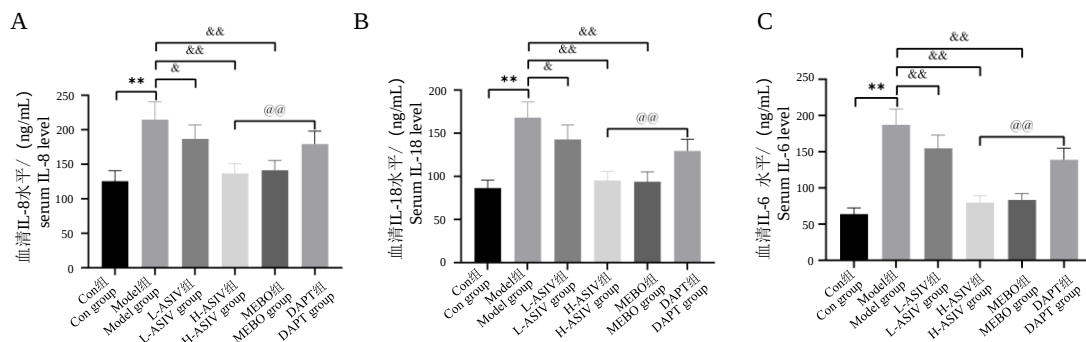
Note. Compared with the Con group, $**P<0.01$. Compared with the Model group, $&P<0.05$ ， $&&P<0.01$. Compared with the H-ASIV group, $@@P<0.01$.

Figure 3 Comparison of wound water content rate of rats in each group

2.3 ASIV对大鼠血清 IL-8、IL-18、IL-6 水平影响

Model 组大鼠血清 IL-8、IL-18、IL-6 水平均比 Con 组高 ($P<0.05$)；L-ASIV组、H-ASIV组、MEBO 组大鼠血清 IL-8、IL-18、IL-6 水平均比 Model 组低 ($P<0.05$)；DAPT 组大鼠血清 IL-8、IL-

18、IL-6 水平均比 H-ASIV 组高 ($P<0.05$)，见图 4。



注：A：血清中 IL-8 水平；B：血清中 IL-18 水平；C：血清中 IL-6 水平。与 Con 组相比，** $P<0.01$ ；与 Model 组相比，& $P<0.05$ ，&& $P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比，@@ $P<0.01$ 。

图 4 各组大鼠血清 IL-8、IL-18、IL-6 水平比较

Note. A, Serum IL-8 level. B, Serum IL-18 level. C, Serum IL-6 level. Compared with the Con group, ** $P<0.01$. Compared with the Model group, & $P<0.05$, && $P<0.01$. Compared with the H-ASIV group, @@ $P<0.01$.

Figure 4 Comparison of serum IL-8, IL-18 and IL-6 levels of rats in each group

2.4 ASIV对大鼠创面组织病理变化的影响

Con 组大鼠创面组织表皮层结构完整，角质层排列整齐。与 Con 组比较，Model 组大鼠创面组织显著的炎性细胞浸润并伴有细胞间质水肿，基质结构破坏；与 Model 组比较，L-ASIV 组、H-ASIV 组、MEBO 组大鼠创面组织炎性细胞浸润和细胞间质水肿减轻，基质结构改善；与 H-ASIV 组比较，DAPT 组大鼠创面组织病理损伤显著加重，见图 5。

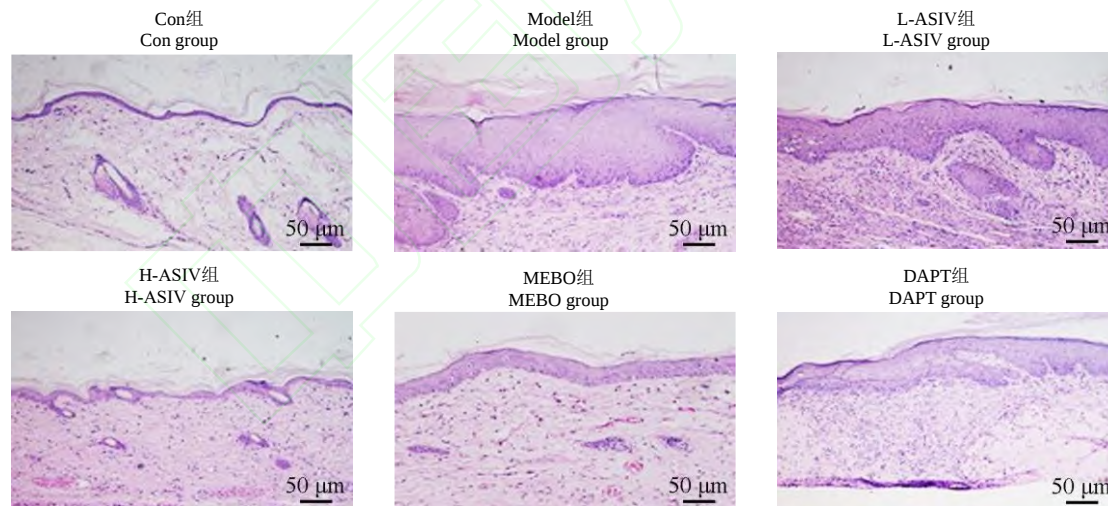
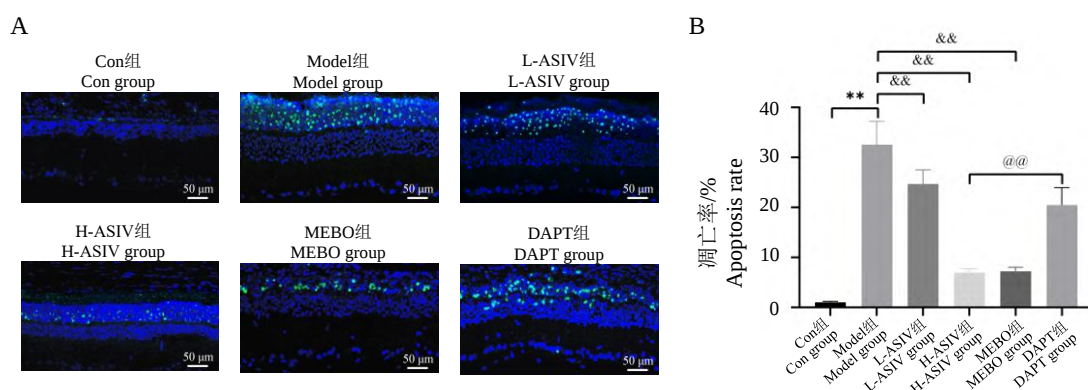


图 5 创面组织病理变化 (HE, 200×)

Figure 5 Pathological changes of wound tissue (He, 200 ×)

2.5 ASIV对大鼠创面组织细胞凋亡水平的影响

Model 组大鼠创面组织细胞凋亡率高于 Con 组 ($P<0.05$)；L-ASIV 组、H-ASIV 组、MEBO 组大鼠创面组织细胞凋亡率低于 Model 组 ($P<0.05$)；DAPT 组大鼠创面组织细胞凋亡率高于 H-ASIV 组 ($P<0.05$)，见图 6。



注：A：创面组织细胞凋亡变化（TUNEL，200×）；B：各组大鼠创面组织细胞凋亡率比较。与 Con 组相比，** $P<0.01$ ；与 Model 组相比，&& $P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比，@@ $P<0.01$ 。

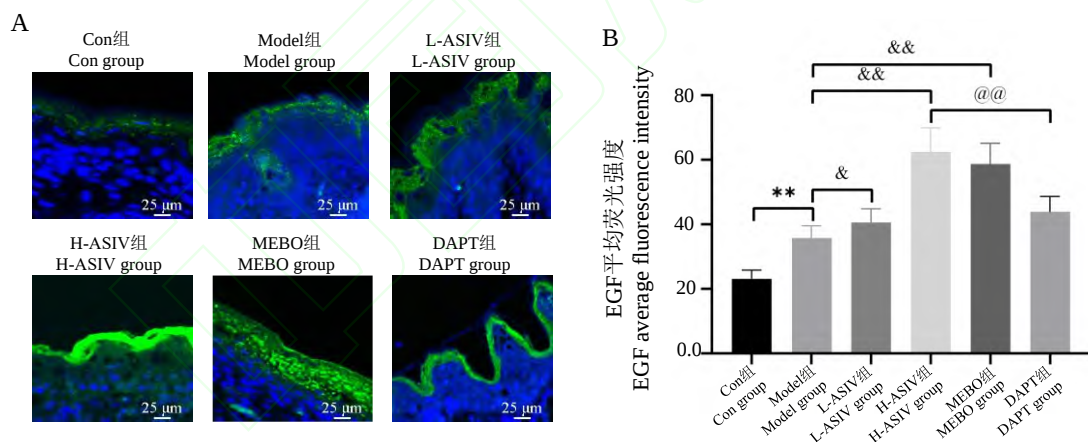
图 6 创面组织细胞凋亡变化及细胞凋亡率比较

Note. A, Changes of cell apoptosis in wound tissue (TUNEL, 200×). B, Comparison of apoptosis rate in wound tissue of rats in each group. Compared with the Con group, ** $P<0.01$. Compared with the Model group, && $P<0.01$. Compared with the H-ASIV group, @@ $P<0.01$.

Figure 6 Changes of cell apoptosis and comparison of apoptosis rate in wound tissue

2.6 ASIV对大鼠创面组织 EGF、b-FGF 表达的影响

与 Con 组相比，Model 组大鼠创面组织 EGF、b-FGF 平均荧光强度增加（ $P<0.05$ ）；与 Model 组相比，L-ASIV 组、H-ASIV 组、MEBO 组大鼠创面组织 EGF、b-FGF 平均荧光强度进一步增加（ $P<0.05$ ）；与 H-ASIV 组相比，DAPT 组大鼠创面组织 EGF、b-FGF 平均荧光强度减少（ $P<0.05$ ），见图 7、图 8。

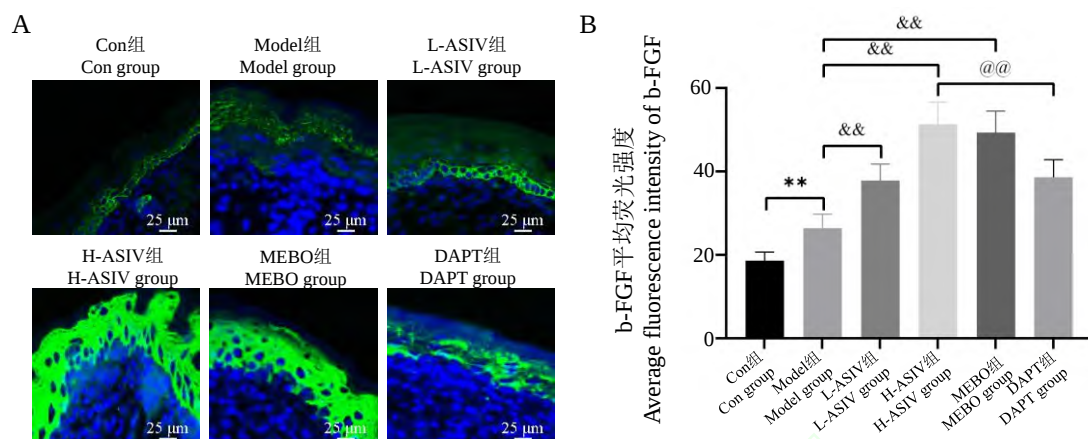


注：A：创面组织 EGF 变化（免疫荧光，400×）；B：创面组织 EGF 平均荧光强度。与 Con 组相比，** $P<0.01$ ；与 Model 组相比，& $P<0.05$ ，&& $P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比，@@ $P<0.01$ 。

图 7 各组大鼠创面组织 EGF 平均荧光强度比较

Note. A, Changes of EGF in wound tissue (immunofluorescence, 400×). B, Comparison of average fluorescence intensity of EGF in wound tissue. Compared with the Con group, ** $P<0.01$. Compared with the Model group, & $P<0.05$, && $P<0.01$. Compared with the H-ASIV group, @@ $P<0.01$.

Figure 7 Comparison of average fluorescence intensity of EGF in wound tissue of rats in each group



注：A：创面组织 b-FGF 变化（免疫荧光，400×）；B：创面组织 b-FGF 平均荧光强度。与 Con 组相比，** $P<0.01$ ；与 Model 组相比，&& $P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比，@@ $P<0.01$ 。

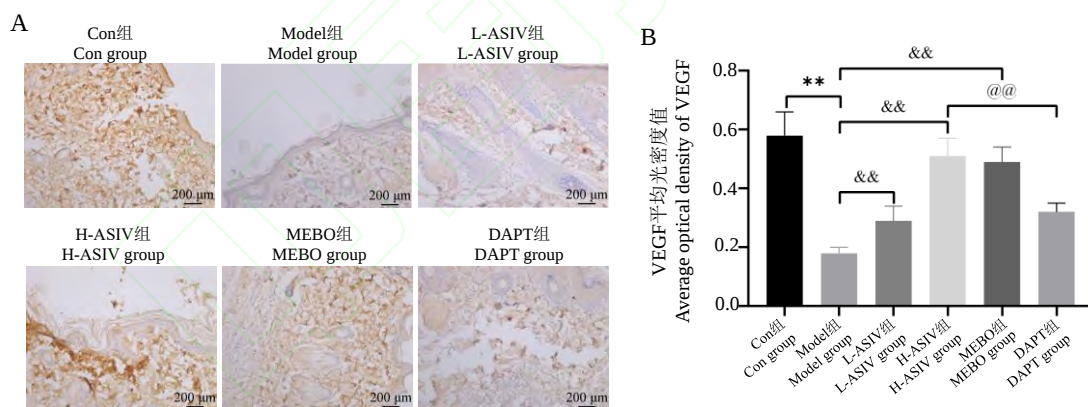
图 8 各组大鼠创面组织 b-FGF 平均荧光强度比较

Note. A, Changes of b-FGF in wound tissue (immunofluorescence, 400 ×). B, Comparison of average fluorescence intensity of b-FGF in wound tissue. Compared with the Con group, ** $P<0.01$. Compared with the Model group, && $P<0.01$. Compared with the H-ASIV group, @@ $P<0.01$.

Figure 8 Comparison of average fluorescence intensity of b-FGF in wound tissue of rats in each group

2.7 ASIV对大鼠创面组织 VEGF、CD31 表达的影响

Model 组大鼠创面组织 VEGF、CD31 平均光密度值低于 Con 组 ($P<0.05$)；L-ASIV 组、H-ASIV 组、MEBO 组大鼠创面组织 VEGF、CD31 平均光密度值高于 Model 组 ($P<0.05$)；DAPT 组大鼠创面组织 VEGF、CD31 平均光密度值低于 H-ASIV 组 ($P<0.05$)，见图 9、图 10。

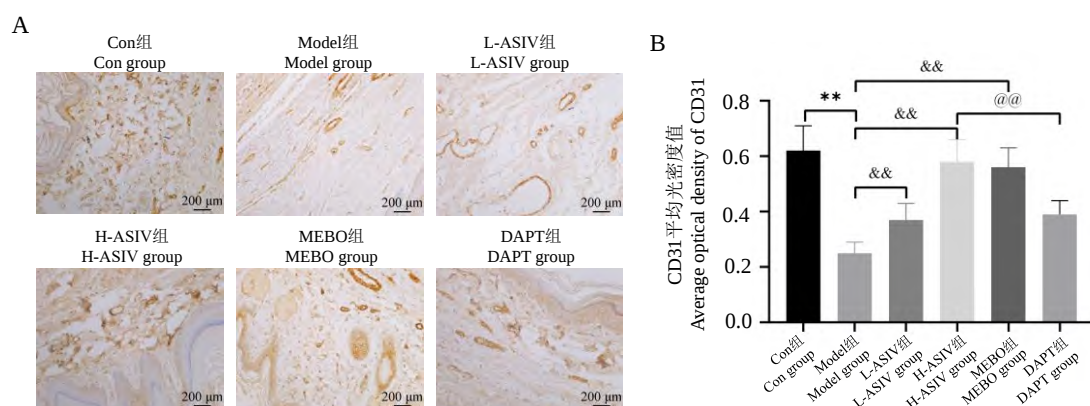


注：A：创面组织 VEGF 变化（免疫组化，40×）；B：创面组织 VEGF 平均光密度值。与 Con 组相比，** $P<0.01$ ；与 Model 组相比，&& $P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比，@@ $P<0.01$ 。

图 9 各组大鼠创面组织 VEGF 平均光密度值比较

Note. A, Changes of VEGF in wound tissue (immunohistochemistry, 40 ×). B, Mean optical density of VEGF in wound tissue. Compared with the Con group, ** $P<0.01$. Compared with the Model group, && $P<0.01$; Compared with the H-ASIV group, @@ $P<0.01$.

Figure 9 Comparison of average optical density values of VEGF in wound tissues of rats in each group



注：A：创面组织 CD31 变化（免疫组化，40×）；B：创面组织 CD31 平均光密度值。与 Con 组相比，** $P<0.01$ ；与 Model 组相比，&& $P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比，@@ $P<0.01$ 。

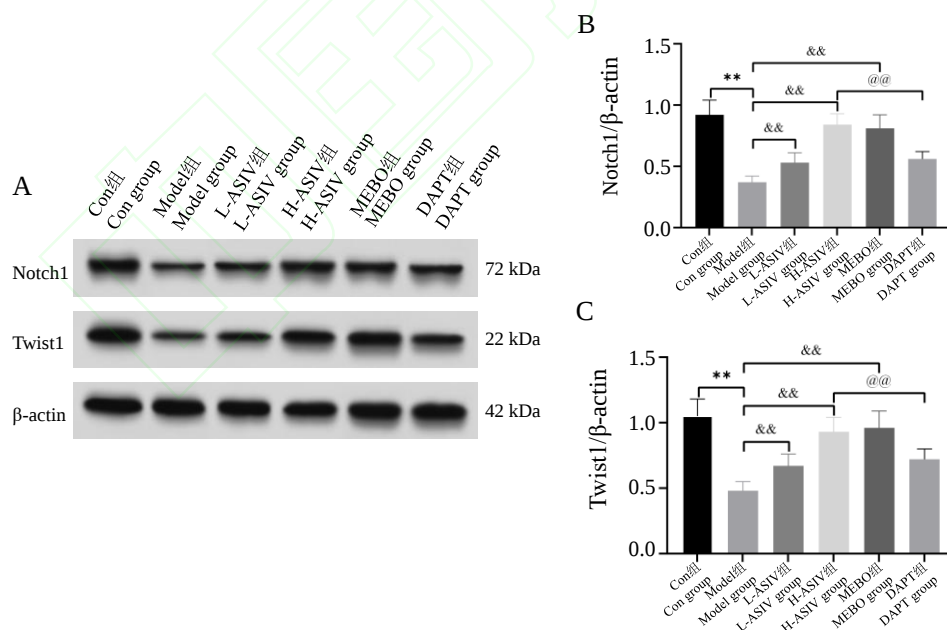
图 10 各组大鼠创面组织 CD31 平均光密度值比较

Note. A, Changes of CD31 in wound tissue (immunohistochemistry, 40×). B, Mean optical density of CD31 in wound tissue. Compared with the Con group, ** $P<0.01$. Compared with the Model group, && $P<0.01$. Compared with the H-ASIV group, @@ $P<0.01$.

Figure 10 Comparison of average optical density values of CD31 in wound tissues of rats in each group

2.8 ASIV对大鼠创面组织 Notch1/Twist1 通路蛋白表达的影响

与 Con 组比较，Model 组大鼠创面组织 Notch1、Twist1 蛋白表达降低（ $P<0.05$ ）；与 Model 组比较，L-ASIV组、H-ASIV组、MEBO 组大鼠创面组织 Notch1、Twist1 蛋白表达升高（ $P<0.05$ ）；与 H-ASIV组比较，DAPT 组大鼠创面组织 Notch1、Twist1 蛋白表达降低（ $P<0.05$ ），见图 11。



注：A：Notch1、Twist1 Western blot 检测图；B：Notch1 蛋白相对表达量；C：Twist1 蛋白相对表达量。与 Con 组相比，** $P<0.01$ ；与 Model 组相比，&& $P<0.01$ ；与 H-ASIV 组相比，@@ $P<0.01$ 。

图 11 Western blot 检测 Notch1、Twist1 表达。

Note. A, Western blot detection images of Notch1, Twist1. B, Relative expression of Notch1 protein. C, Relative expression of Twist1 protein. Compared with the Con group, ** $P<0.01$. Compared with the Model group, && $P<0.01$. Compared with the H-ASIV group, @@ $P<0.01$.

Figure 11 Western blot detection of the expressions of Notch1 and Twist1.

3 讨论

深Ⅱ度烧伤是一种累及真皮网状层的严重皮肤损伤,其典型特征为表皮全层及部分真皮组织坏死,但仍保留部分关键皮肤附属器官如毛囊、汗腺等的结构完整。若干预治疗不当,可能造成继发性感染风险,严重者甚至可能引发脓血症等致命并发症^[12,13]。然而,目前传统药物对深Ⅱ度烧伤创面愈合疗效不佳,亟需开发新型治疗药物。本研究通过控温烫伤仪建立深Ⅱ度烧伤大鼠模型发现,大鼠创面组织含水量增加,且 HE 染色结果显示创面组织显著的炎性细胞浸润并伴有细胞水肿等现象,与童海东等^[14]研究结果相似,进一步表明深Ⅱ度烧伤大鼠模型的建立成功。

ASIV作为中药黄芪中最具有代表性的活性成分,其能够促进 VEGF 分泌,维持血管稳态,在创伤修复领域展现出显著疗效^[15]。LIU T 等^[16]研究表明,ASIV能够通过抑制人表皮角质形成细胞异常增殖和炎症因子过度分泌,改善咪喹莫特诱导的小鼠牛皮癣样皮肤损伤。DENG X 等^[17]研究发现,ASIV通过发挥其抗氧化、抗炎、促血管生成和调节巨噬细胞极化的作用,加速慢性创面愈合,在治疗慢性难治性伤口方面具有巨大潜力。本研究结果显示,经过不同剂量治疗深Ⅱ度烧伤大鼠后,大鼠创面病理损伤改善,创面愈合率显著增加,以及创面含水率减少,提示 ASIV可能在促进深Ⅱ度烧伤创面愈合方面具有潜在疗效。当机体遭受烧伤创伤时,会促进 IL-6 等促炎因子分泌显著升高,进而诱发系统性炎症反应。本研究结果显示,深Ⅱ度烧伤大鼠血清 IL-8、IL-18、IL-6 水平增加,与凌书建等^[18]研究结果相似。经过 ASIV治疗后,大鼠血清炎症因子水平改善,提示 ASIV能够抑制深Ⅱ度烧伤大鼠过度炎症反应。烧伤创面的修复涉及多种生长因子的协同调控和细胞信号传导,其中 EGF 能够刺激角质形成细胞增殖迁移,激活成纤维细胞代谢活性;b-FGF 能够促进真皮组织再生,又能加速创面再上皮化进程。而且血管新生是创伤修复的关键环节,VEGF 和 CD31 是血管新生的重要标志物,其表达水平与创面愈合密切相关。本研究结果显示,深Ⅱ度烧伤大鼠创面组织中 EGF、b-FGF 表达升高,VEGF、CD31 表达降低,与前人^[9,19]研究结果相似。经过 ASIV治疗后,大鼠创面组织中 EGF、b-FGF、VEGF、CD31 表达增加,提示 ASIV能够显著促进烧伤创面组织中血管生成,加速创面愈合。通过这些研究结果表明 ASIV 能够通过抑制炎症反应,促进血管新生,进而促进烧伤创面组织愈合。

Notch1 作为经典跨膜受体,通过配体与受体相互作用调控下游基因表达。Twist1 属于碱性螺旋-环-螺旋转录因子家族,能够受到 Notch1 的调控,在皮肤创面修复过程中发挥关键作用。林志晓等^[20]研究发现,激活 Notch1 信号通路能够加速大鼠全层皮肤缺损创面的愈合。蒋晓蕾等^[8]研究表明,激活 Notch1/Twist1 信号通路,降低炎症因子水平,增加转化生长因子- β 和羟脯氨酸水平,能够促进皮肤溃疡大鼠伤口愈合。本研究结果显示,深Ⅱ度烧伤大鼠创面组织 Notch1、Twist1 蛋白表达降低。经过 ASIV治疗后,大鼠创面组织 Notch1、Twist1 蛋白表达升高,推测 ASIV能够促进深Ⅱ度烧伤创面愈合,可能与激活 Notch1/Twist1 通路有关。所以本研究继续在高剂量 ASIV治疗的同时引入 Notch1 抑制剂 DAPT,结果发现 DAPT 逆转 ASIV对创面愈合的促进作用,进一步证实 ASIV可能通过激活 Notch1/Twist1 通路,促进深Ⅱ度烧伤创面愈合。

综上所述,ASIV能够通过激活 Notch1/Twist1 通路,抑制过度炎症反应,增加 EGF、b-FGF、VEGF、CD31 表达,促进烧伤创面愈合。但本研究仅采用动物实验模型进行验证,缺乏细胞水平验证实验,且聚焦于特定信号通路分子机制探讨,未评估其他潜在调控因子,较为局限。后续我们将建立成纤维细胞培养体系验证 ASIV直接作用为后续验证重点,并采用 siRNA 敲低或过表达实验进一步验证通路关系。

吴晓伟,张科伟,路婕,等.黄芪甲苷调节 Notch1/Twist1 信号通路对深Ⅱ度烧伤大鼠创面愈合的影响[J].中国比较医学杂志,2026,36(12).

Wu XW, Zhang KW, Lu J, et al. Effect of astragaloside IV on wound healing in deep second-degree burn rats via the Notch1/Twist1 signaling pathway [J]. Chin J Comp Med, 2026, 36(12).

参考文献:

[1] HU J, LIN Y, CUI C, et al. Clinical efficacy of wet dressing combined with chitosan wound dressing in the treatment of deep second-degree

- burn wounds: a prospective, randomised, single-blind, positive control clinical trial [J]. *Int Wound J*, 2023, 20(3): 699-705.
- [2] COSTA DE OLIVEIRA SOUZA C M, DE SOUZA C F, MOGHARBEL B F, et al. Nanostructured cellulose-gellan-xyloglucan-lysozyme dressing seeded with mesenchymal stem cells for deep second-degree burn treatment [J]. *Int J Nanomed*, 2021, 16: 833-850.
- [3] ATIBA A, ABDO W, ALI E, et al. Topical and oral applications of *Aloe vera* improve healing of deep second-degree burns in rats via modulation of growth factors [J]. *Biomarkers*, 2022, 27(6): 608-617.
- [4] HUANG C, DONG L, ZHAO B, et al. Tunable Sulfated Alginate-based Hydrogel Platform with enhanced anti-inflammatory and antioxidant capacity for promoting burn wound repair [J]. *J Nanobiotechnol*, 2023, 21(1): 387.
- [5] LIANG Y, CHEN B, LIANG D, et al. Pharmacological effects of astragaloside IV: a review [J]. *Molecules*, 2023, 28(16): 6118.
- [6] WANG D D, ZHANG L Z, PANG C J, et al. Astragaloside IV promotes keratinocyte proliferation and migration through upregulating lncRNA H19 recruited ILF3 to enhance the stability of CDK4 mRNA [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2023, 39(8): 811-823.
- [7] 汤娟, 柯洁, 付裕, 等. Ⅱ型肺泡上皮细胞间质转分化中的 Notch-1/Twist-1 信号通路机制 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, 37(6): 577-583, 682.
- TANG J, KE J, FU Y, et al. Effects of Notch-1/Twist-1 axis in the process of epithelial-mesenchymal transition of type II alveolar epithelial cell and its mechanism [J]. *Chin J Appl Physiol*, 2021, 37(6): 577-583, 682.
- [8] 蒋晓蕾, 朱立宏. 复方黄柏液激活 Notch1/Twist1 轴对皮肤溃疡大鼠伤口愈合的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(12): 2560-2565.
- JIANG X L, ZHU L H. Influence of compound Huangbai liquid on wound healing in rats with skin ulcer by activating Notch1/Twist1 axis [J]. *Chin J Immunol*, 2023, 39(12): 2560-2565.
- [9] 刘娇, 梁潇, 胡涛, 等. 枢续烫伤膏对深Ⅱ度烧伤模型大鼠皮肤的修复作用及机制 [J]. *中国药房*, 2023, 34(11): 1320-1325.
- LIU J, LIANG X, HU T, et al. Repair effects and mechanism of Zhixu burn ointment on deep second-degree burned model rats [J]. *China Pharm*, 2023, 34(11): 1320-1325.
- [10] 崔梦迪, 高加巍, 朱吕群, 等. 基于 SIRT1 和 PI3K/Akt 信号通路探讨黄芪甲苷对慢性难愈性创面大鼠模型修复愈合的影响及作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(6): 101-108.
- CUI M D, GAO J W, ZHU L Q, et al. Exploring effect and mechanism of astragaloside on repair and healing in chronic non-healing wound rat model based on SIRT1 and PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2024, 30(6): 101-108.
- [11] 鲁子瑜, 李健英, 蒋碧辉, 等. 黄连解毒汤通过 Notch1/NF- κ B 信号通路改善大鼠高血压性心肌肥厚 [J]. *医学研究杂志*, 2025, 54(2): 123-131.
- LU Z Y, LI J Y, JIANG B H, et al. Huanglian Jiedu decoction improves hypertensive cardiac hypertrophy in rats through the Notch1/NF- κ B signaling pathway [J]. *J Med Res*, 2025, 54(2): 123-131.
- [12] ZHANG C, LI Z, ZHANG Q, et al. Application of minimally invasive debridement for deep second-degree facial burns in the early postburn phase [J]. *BMC Surg*, 2025, 25(1): 17.
- [13] CHEN G, ZHOU Y, DAI J, et al. Calcium alginate/PNIPAAm hydrogel with body temperature response and great biocompatibility: Application as burn wound dressing [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 216: 686-697.
- [14] 童海东, 陈骅. 芹菜素对深Ⅱ度烧伤创面氧化应激和炎症反应的影响及机制研究 [J]. *中国中医药科技*, 2021, 28(4): 560-564.
- TONG H D, CHEN H. Effects of apigenin on oxidative stress and inflammatory response in deep II degree burn wounds and its mechanism [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol*, 2021, 28(4): 560-564.
- [15] 刘东波, 李卫, 何藻鹏, 等. 黄芪甲苷调节 PI3K/AKT/eNOS 信号通路对糖尿病大鼠皮肤缺损的影响 [J]. *中医药导报*, 2022, 29(7): 20-26.
- LIU D B, LI W, HE Z P, et al. Effects of astragaloside IV regulating PI3K/AKT/ENOS signaling pathway on skin defects in diabetic rats [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharmacol*, 2022, 29(7): 20-26.
- [16] LIU T, AI L, JIANG A, et al. Astragaloside IV suppresses the proliferation and inflammatory response of human epidermal keratinocytes and ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin damage in mice [J]. *Allergol Immunopathol*, 2024, 52(5): 44-50.
- [17] DENG X, WU Y, TANG Y, et al. Microenvironment-responsive smart hydrogels with antibacterial activity and immune regulation for accelerating chronic wound healing [J]. *J Control Release*, 2024, 368: 518-532.
- [18] 凌书建, 杨丽萍, 陶剑光, 等. 大蒜素对大鼠深Ⅱ度烧伤创面氧化应激和炎症反应的影响 [J]. *中国现代中药*, 2021, 23(1): 77-82.
- LING S J, YANG L P, TAO J G, et al. Effects of allicin on oxidative stress and inflammatory response in rats with deep second degree burns [J]. *Mod Chin Med*, 2021, 23(1): 77-82.
- [19] 刘中波, 陶凯. 大黄素对深Ⅱ度烧伤感染大鼠创面愈合的作用机制 [J]. *解剖科学进展*, 2022, 28(2): 136-140.
- LIU Z B, TAO K. The mechanism of emodin improving microcirculation, inhibiting inflammatory response and promoting wound healing in rats infected with deep second-degree burns [J]. *Prog Anat Sci*, 2022, 28(2): 136-140.
- [20] 林志晓, 张玉恒, 黄容, 等. 负载大鼠表皮干细胞的聚己内酯-乙酸纤维素纳米纤维支架对大鼠全层皮肤缺损创面愈合的影响及其机制 [J]. *中华烧伤杂志*, 2021, 37(5): 460-468.
- LIN Z X, ZHANG Y H, HUANG R, et al. Effects and mechanisms of polycaprolactone-cellulose acetate nanofiber scaffold loaded with rat epidermal stem cells on wound healing of full-thickness skin defects in rats [J]. *Chin J Burns*, 2021, 37(5): 460-468.