

化瘀止痛贴膏调节 IL-6/STAT3 信号通路 对急性软组织损伤大鼠炎症反应的影响*

王适 胡立志 左姿 王敏 聂孝平

(湖南中医药大学第二附属医院药剂科, 湖南 长沙 410005)

【摘要】 目的 探讨化瘀止痛贴膏调节白细胞介素-6(IL-6)/信号转导与转录激活子 3(STAT3)信号通路对急性软组织损伤(ASTI)大鼠炎症反应的影响。方法 将 SPF 级 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组、精制狗皮膏组。利用机械冲击挫伤法建立 ASTI 动物模型,建模成功后,各组贴敷相应药物,1 次/d,每次给药 8 h,连续 7 d。对大鼠进行 ASTI 损伤评分;采用血液流变检测仪检测血液流变学指标;苏木精和伊红(HE)染色法观察大鼠损伤部位肌肉组织病理变化;酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组大鼠损伤部位肌肉组织中 IL-6、IL- β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平;实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测损伤部位肌肉组织中 IL-6 与 STAT3 mRNA 表达;蛋白免疫印迹(Western blot)法检测大鼠损伤部位肌肉组织中 IL-6/STAT3 信号通路蛋白表达。结果 与对照组比较,模型组大鼠软组织损伤评分、全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、肌肉组织病理学评分、IL-6、IL- β 、TNF- α 水平、IL-6 与 STAT3 mRNA 表达水平及 IL-6、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平升高(均 $P < 0.05$);与模型组比较,化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组和狗皮膏药组大鼠软组织损伤评分、全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、肌肉组织病理学评分、IL-6、IL- β 、TNF- α 水平、IL-6 与 STAT3 mRNA 表达水平及 IL-6、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平降低(均 $P < 0.05$);化瘀止痛贴膏高剂量组与精制狗皮膏组大鼠以上指标差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 化瘀止痛贴膏可能通过下调 IL-6/STAT3 信号通路缓解 ASTI 大鼠的炎症反应。

【关键词】 化瘀止痛贴膏;白细胞介素-6/信号转导与转录激活子 3;急性软组织损伤;炎症反应

【中图分类号】 R274.3 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2024.06.007

Effect of Huayu Zhitong Plaster on inflammatory response in rats with acute soft tissue injury by regulating IL-6/STAT3 signal pathway

WANG Shi, HU Lizhi, ZUO Zi, WANG Min, NIE Xiaoping

(Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Human University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410005, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of Huayu Zhitong Plaster on inflammatory response in rats with acute soft tissue injury (ASTI) by regulating the interleukin-6 (IL-6)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signal pathway. **Methods** SPF grade SD rats were randomly grouped into control group, model group, low, medium and high dose Huayu Zhitong plaster groups, and Goupigao group. ASTI animal model was established by mechanical impact contusion method. After successful modeling, each group applied corresponding drugs once a day for 8 hours each time for 7 days. The rats were scored with ASTI damage; the hemorheology indexes were measured by hemorheology detector; the pathological changes of muscle tissue at the injured site were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to detect the levels of interleukin (IL)-6, IL- β and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the muscle tissue of the injured rats in each group; the expression of IL-6 and STAT3 mRNA in muscle tissue of the injured site was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR); Western blot was applied to detect the expression of IL-6/STAT3 signal pathway protein in the injured muscle tissue of

基金项目:湖南省中医药管理局科研项目(B2023052)

通讯作者:聂孝平,主任药师,E-mail:454470952@qq.com

引用本文:王适,胡立志,左姿,等.化瘀止痛贴膏调节 IL-6/STAT3 信号通路对急性软组织损伤大鼠炎症反应的影响[J].西部医学,2024,36

(6):820-825. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2024.06.007

rats. **Results** Compared with the control group, the soft tissue injury score, whole blood viscosity, plasma viscosity, hematocrit, muscle histopathological score, the IL-6, IL- β , TNF- α levels, the IL-6 and STAT3 mRNA expression levels, and the IL-6 and p-STAT3/STAT3 protein expression levels in the model group were increased ($P < 0.05$); compared with the model group, the soft tissue injury score, whole blood viscosity, plasma viscosity, hematocrit, muscle histopathological score, the IL-6, IL- β , TNF- α levels, the IL-6 and STAT3 mRNA expression levels, and the IL-6 and p-STAT3/STAT3 protein expression levels in the low, medium and high dose Huayu Zhitong Plaster groups and the Goupigao group were decreased ($P < 0.05$); there was no obvious difference in the above indexes between the high dose Huayu Zhitong Plaster groups and the Goupigao group ($P > 0.05$). **Conclusion** Huayu Zhitong Plaster may alleviate the inflammatory reaction of ASTI rats by down-regulating IL-6/STAT3 signal pathway.

【Key words】 Huayu Zhitong Plaster; Interleukin-6/signal transduction and transcription activator 3; Acute soft tissue injury; Inflammatory reaction

急性软组织损伤(Acute soft tissue injury, ASTI)是临床常见的运动性损伤,以无菌性炎症为特征,可引起局部水肿、淤青、疼痛、肌纤维断裂、瘀点等^[1-2]。研究^[3]表明,靶向过度的炎症级联反应被认为是改善 ASTI 的有效方法。化瘀止痛贴膏为湖南中医药大学第二附属医院基于临床经验方研发的院内制剂,具有化瘀解毒、消肿止痛的功效。临床上长期应用于闭合型骨折、脱臼、运动、跌打等所致软组织损伤的治疗。虽然该制剂疗效显著,但目前对于其治疗软组织损伤作用机制的研究相对匮乏。已有研究表明,白细胞介素-6(IL-6)/信号转导与转录激活子 3(Signal transduction and transcription activator 3, STAT3)信号通路不仅参与细胞增殖、分化、免疫调节等多种重要的生物学进程,且在骨骼肌损伤修复中发挥重要作用。研究^[4]发现,高压氧通过调节 IL-6/STAT3 信号通路,可减少炎症,为受伤的肌肉充氧,并通过巨噬细胞和卫星细胞活化使骨骼肌再生。王伟军等^[5]发现,抑制炎症反应,有助于缓解 ASTI 大鼠的损伤修复。IL-6/STAT3 通路已被证明可促进炎症反应,但化瘀止痛贴膏通过调节 IL-6/STAT3 信号通路对 ASTI 大鼠炎症反应的影响尚不清楚,因此,本研究旨在探讨化瘀止痛贴膏对 ASTI 大鼠炎症反应的影响及潜在的作用机制,为临床治疗 ASTI 提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠购自长沙市天勤生物技术有限公司[生产许可编号:SCXK(湘)2019-0014],5~7 周龄,体重范围在 180~200 g 之间,适应性喂养一周,设置饲养温度为 22 °C,湿度为 55%~60%,12 h 光暗循环。不禁水食。本研究通过医院伦理委员会审核。

1.2 实验药物 化瘀止痛贴膏为湖南中医药大学第二附属医院院内制剂(备案号:湘药制备字 20220593000),由黄柏、赤芍、大黄、白芍、当归等 14 味中药组成。精致狗皮膏(国药准字 Z20174026)河南羚锐制药

股份有限公司,主要成分:生川乌、防己、山柰、透骨草、延胡索、干姜、辣椒、蟾酥、樟脑、冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯。

1.3 主要试剂与仪器 HE 染色试剂盒(货号:G1120-100)北京索莱宝科技有限公司;IL-6 及 IL- β 货号:E-EL-R0015c、E-EL-R0012c, TNF- α 货号:E-EL-R2856c;ELISA 试剂盒武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;兔抗 IL-6(货号:ab259341)、STAT3(货号:ab68153)、p-STAT3(货号:ab30647)、3-磷酸甘油醛脱氢酶(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH,货号:ab9485)一抗抗体美国 Abcam 公司;辣根酶标记羊抗兔二抗(货号:XY0650)上海信裕生物科技有限公司;蛋白提取试剂盒(货号:YT8951)北京伊塔生物科技有限公司;IL-6 与 STAT3 引物购于北京擎科生物科技有限公司;多功能酶标仪(型号:LD-96A)山东莱恩德智能科技有限公司;离心机(型号:5424)艾本德中国有限公司;实时荧光定量 PCR 仪(型号:CFX96 Touch)上海艾研生物科技有限公司;血液流变检测仪(型号:MEN-C80)济南东方美洋商贸有限责任公司;光学显微镜(型号:CX31)日本奥林巴斯公司。

1.4 实验方法

1.4.1 动物建模、分组和给药 采用机械冲击挫伤法建立 ASTI 动物模型,具体操作参考文献^[6],击打部位出现淤青肿胀但皮肤不破损、散在出血点则造模成功^[7]。选取皮肤完整且无骨折的大鼠为实验对象。将造模成功大鼠随机分为模型组、化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组、精致狗皮膏组,每组 10 只,另选 10 只不进行打击作为对照组。将药物裁剪成 1.5 cm×1.5 cm 的尺寸,精致狗皮膏组,化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组在造模部位贴敷相应药物(化瘀止痛贴膏给药量分别为 0.16 g、0.32 g、0.64 g/贴,以生药计),1 次/d,每次给药 8 h,连续给药 7 d,对照组、模型组不作处理。

1.4.2 ASTI 损伤症状评分 各组大鼠在药物治疗后,观察各组击打部位皮肤颜色、肌肉肿胀度、皮下瘀血情况、疼痛反应情况进行 ASTI 损伤症状评分,具体评分标准参考文献^[6]进行。

1.4.3 血液流变学指标检测 腹腔注射 1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉大鼠后,腹主动脉取血、加肝素抗凝,采用血液流变检测仪检测大鼠全血黏度、血浆黏度、红细胞压积。

1.4.4 HE 染色及肌肉组织病理学评分 药物治疗结束后,脱颈处死大鼠,分离出损伤部位肌肉组织,部分损伤部位肌肉组织经固定、脱水、包埋切片、脱蜡和水化后进行 HE 染色,最后在显微镜下随机选取 5 个视野观察大鼠损伤组织的病理学变化。肌肉组织病理学评分参照文献评分标准^[8]进行评分。剩余损伤组织用于 ELISA 和 western blot。

1.4.5 大鼠肌肉组织中炎性因子的检测 损伤部位肌肉组织经研磨充分后,离心取上清、严格根据 IL-6、IL-β、TNF-α ELISA 试剂盒检测大鼠肌肉组织中 IL-6、IL-β、TNF-α 水平。

1.4.6 qRT-PCR 检测 IL-6 与 STAT3 mRNA 表达 提取损伤部位肌肉组织的总 RNA、反转录后以 cDNA 为模板配置 qRT-PCR 反应体系。IL-6 上游引物:5'-CATCCAGTTGCCTTCTTG-3'和下游引物:5'-TATCCAGTTTGGTAGCATCC-3';STAT3 上游引物:5'-TGTTGGAGCAGCATTCTTC-3'和下游引物:5'-GGTCACAGACTGGTTGTTTC-3';GAPDH 上游引物:5'-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3'和下游引物:5'-TTTGAGGGTGCAGCGAACTT-3';IL-6、STAT3 以 GAPDH 为内参,以 2^{-ΔΔCT}法计算各基因相对表达量。

1.4.7 Western blot 方法检测大鼠肌肉组织中 IL-6、STAT3、p-STAT3 蛋白表达 提取各组大鼠损伤部位肌肉组织总蛋白,对蛋白进行定量、电泳分离。转 PVDF 膜后室温封闭 2 h,最后再分别加 IL-6(1:2000)、STAT3(1:1000)、p-STAT3(1:1000)、GAPDH(1:2000)一抗在 4℃条件下孵育过夜,加入二抗

(1:1000)在 37℃条件下孵育 90 min。最后 Image J 软件分析蛋白条带的灰度值,然后计算各个蛋白的相对表达水平。

1.5 统计学分析 实验数据用 Graphpad Prism 9.0 软件进行分析。实验数据的表现方式以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间的比较用单因素方差分析,SNK-*q* 检验用于进一步两组间的比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 化瘀止痛贴膏对大鼠软组织损伤评分的影响 与对照组比较,模型组大鼠软组织损伤评分增加($P < 0.05$);与模型组比较,化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组和精制狗皮膏组大鼠软组织损伤评分降低(均 $P < 0.05$);化瘀止痛贴膏高剂量组与精制狗皮膏药组大鼠软组织损伤评分差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠软组织损伤评分的比较($\bar{x} \pm s, n=10$,分)

组别	ASTI 损伤程度评分
对照组	0.00±0.00
模型组	5.61±0.58 ^①
化瘀止痛贴膏低剂量组	4.35±0.42 ^②
化瘀止痛贴膏中剂量组	3.16±0.36 ^③
化瘀止痛贴膏高剂量组	1.85±0.28 ^{②③④}
精制狗皮膏组	1.68±0.25 ^{②③④}
F	310.827
P	<0.001

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏低剂量组比较,③ $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏中剂量组比较,④ $P < 0.05$ 。

2.2 化瘀止痛贴膏对大鼠血液流变学指标的影响 与对照组比较,模型组大鼠全血黏度、血浆黏度、红细胞压积增加(均 $P < 0.05$);与模型组比较,化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组和精制狗皮膏组大鼠全血黏度、血浆黏度、红细胞压积降低(均 $P < 0.05$);化瘀止痛贴膏高剂量组与精制狗皮膏组大鼠全血黏度、血浆黏度、红细胞压积差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠全血黏度、血浆黏度、红细胞压积的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of whole blood viscosity, plasma viscosity and hematocrit of rats in each group

组别	全血黏度(mPa·s)			血浆黏度(mPa·s)	红细胞压积($\times 10^{-2}$)
	低切	中切	高切		
对照组	15.64±1.25	9.12±0.96	5.03±0.41	1.03±0.10	43.21±2.47
模型组	28.64±2.13 ^①	16.37±1.05 ^①	7.96±0.63 ^①	1.87±0.12 ^①	55.08±2.69 ^①
化瘀止痛贴膏低剂量组	24.10±1.86 ^②	13.14±1.12 ^②	6.98±0.52 ^②	1.58±0.15 ^②	51.72±2.13 ^②
化瘀止痛贴膏中剂量组	21.45±1.37 ^③	11.63±1.02 ^③	5.73±0.46 ^③	1.34±0.11 ^③	48.21±2.25 ^③
化瘀止痛贴膏高剂量组	17.36±1.18 ^{③④}	10.31±0.87 ^{③④}	5.31±0.43 ^③	1.16±0.09 ^{③④}	44.52±2.18 ^{③④}
精制狗皮膏组	17.15±1.06 ^{③④}	10.28±0.92 ^{③④}	5.35±0.46 ^③	1.18±0.10 ^{③④}	43.92±2.15 ^{③④}
F	107.103	69.748	55.638	76.296	42.861
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏低剂量组比较,③ $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏中剂量组比较,④ $P < 0.05$ 。

2.3 化瘀止痛贴膏对大鼠肌肉组织病理的影响 对照组大鼠肌纤维结构完整、排列整齐;与对照组比较,模型组大鼠肌肉组织病理学评分增加($P < 0.05$),肌纤维断裂、增粗肿胀、变性坏死、可见大量的炎性细胞浸润和淤血渗出;与模型组比较,化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组和精制狗皮膏药组大鼠肌肉组织病理学评分降低(均 $P < 0.05$),随着化瘀止痛贴膏剂量升高,

肌肉组织损伤症状有所缓解,肌纤维结构逐渐恢复,排列趋向整齐,炎性浸润和淤血渗出减少;化瘀止痛贴膏高剂量组与精制狗皮膏药组大鼠肌肉组织病理学评分差异无统计学意义($P > 0.05$),化瘀止痛贴膏高剂量组急性软组织损伤症状明显得到改善,缓解程度与精制狗皮膏药组相当。见图 1、表 3。

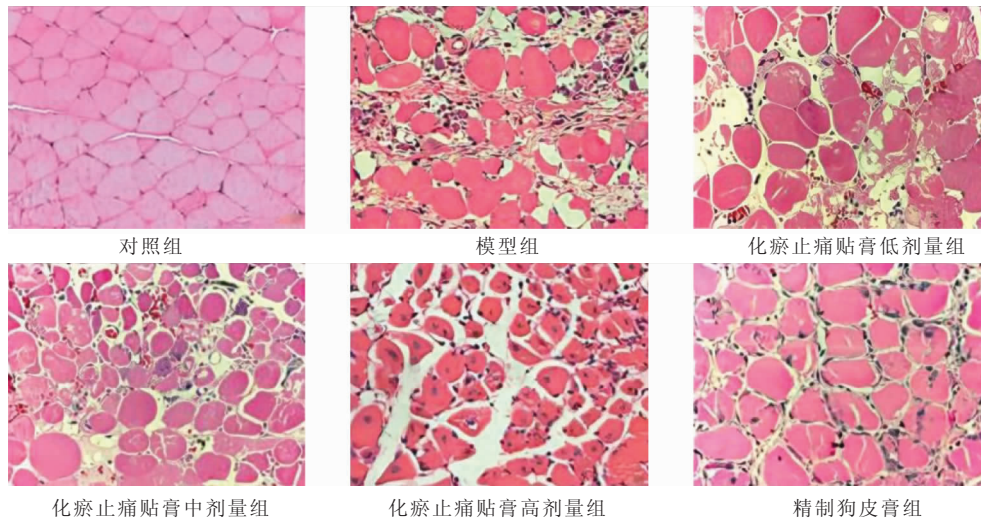


图 1 HE 染色观察各组大鼠肌肉组织损伤情况(400×)

Figure 1 HE staining was used to observe the damage of muscle tissue in each group

表 3 各组大鼠肌肉组织病理学评分的比较($\bar{x} \pm s, n=10$, 分)

Table 3 Comparison of pathological scores of muscle tissue in rats of each group

组别	病理学评分
对照组	0.00±0.00
模型组	3.24±0.36 ^①
化瘀止痛贴膏低剂量组	2.61±0.27 ^②
化瘀止痛贴膏中剂量组	2.28±0.31 ^{②③}
化瘀止痛贴膏高剂量组	1.72±0.23 ^{②③④}
精制狗皮膏组	1.68±0.21 ^{②③④}
F	186.009
P	<0.001

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏低剂量组比较,③ $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏中剂量组比较,④ $P < 0.05$ 。

表 4 各组大鼠肌肉组织中 IL-6、IL-β、TNF-α 水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Comparison of IL-6, IL-β and TNF-α levels in muscle tissue of rats in each group

组别	IL-6(pg/mg)	IL-β(pg/mg)	TNF-α(pg/mg)
对照组	17.53±1.29	215.37±18.86	3.68±0.41
模型组	46.61±3.25 ^①	579.28±25.75 ^①	16.37±1.58 ^①
化瘀止痛贴膏低剂量组	39.78±3.82 ^②	512.36±23.84 ^②	13.15±1.24 ^②
化瘀止痛贴膏中剂量组	32.14±3.25 ^{②③}	445.61±21.87 ^{②③}	9.98±1.02 ^{②③}
化瘀止痛贴膏高剂量组	24.82±2.01 ^{②③④}	342.96±20.62 ^{②③④}	4.72±0.65 ^{②③④}
精制狗皮膏组	24.96±2.14 ^{②③④}	337.83±23.31 ^{②③④}	4.68±0.54 ^{②③④}
F	150.823	347.537	276.897
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏低剂量组比较,③ $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏中剂量组比较,④ $P < 0.05$ 。

2.4 化瘀止痛贴膏对大鼠肌肉组织中 IL-6、IL-β、TNF-α 水平的影响 与对照组比较,模型组大鼠肌肉组织中 IL-6、IL-β、TNF-α 水平升高(均 $P < 0.05$);与模型组比较,化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组和精制狗皮膏药组大鼠肌肉组织中 IL-6、IL-β、TNF-α 水平降低(均 $P < 0.05$);化瘀止痛贴膏高剂量组与精制狗皮膏组大鼠肌肉组织中 IL-6、IL-β、TNF-α 水平差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 4。

2.5 化瘀止痛贴膏对大鼠肌肉组织中 IL-6 与 STAT3 mRNA 表达的影响 与对照组比较,模型组大鼠肌肉组织中 IL-6 与 STAT3 mRNA 表达水平升高($P < 0.05$);与模型组比较,化瘀止痛贴膏低、中、高

剂量组和精制狗皮膏药组大鼠肌肉组织中 IL-6 与 STAT3 mRNA 表达水平降低(均 $P < 0.05$); 化瘀止痛贴膏高剂量组与精制狗皮膏药组大鼠肌肉组织中 IL-6 与 STAT3 mRNA 表达水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 各组大鼠肌肉组织中 IL-6 与 STAT3 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Comparison of IL-6 and STAT3 mRNA expression in muscle tissue of rats in each group

组别	IL-6mRNA	STAT3mRNA
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	2.35±0.16 ^①	1.97±0.15 ^①
化瘀止痛贴膏低剂量组	1.94±0.18 ^②	1.72±0.10 ^②
化瘀止痛贴膏中剂量组	1.62±0.15 ^{②③}	1.41±0.12 ^{②③}
化瘀止痛贴膏高剂量组	1.27±0.11 ^{②③④}	1.08±0.09 ^{②③④}
精制狗皮膏组	1.25±0.13 ^{②③④}	1.07±0.10 ^{②③④}
F	138.639	146.760
P	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏低剂量组比较,③ $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏中剂量组比较,④ $P < 0.05$ 。

2.6 化瘀止痛贴膏对大鼠肌肉组织中 IL-6、STAT3、p-STAT3 蛋白表达的影响 与对照组比较,模型组大鼠肌肉组织中 IL-6、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平升高(均 $P < 0.05$);与模型组比较,化瘀止痛贴膏低、中、高剂量组和精制狗皮膏药组大鼠肌肉组织中 IL-6、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平降低(均 $P < 0.05$);化瘀止痛贴膏高剂量组与精制狗皮膏组大鼠肌肉组织中 IL-6、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见图 2、表 6。

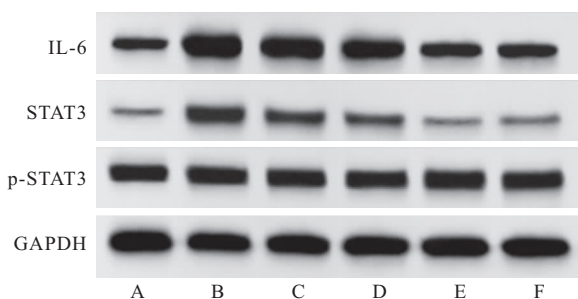


图 2 Western blot 检测各组肌肉组织中 IL-6、STAT3、p-STAT3 蛋白表达

Figure 2 Western blot was used to detect the expression of IL-6, STAT3 and p-STAT3 protein in muscle tissue of each group

注:A. 对照组;B. 模型组;C. 化瘀止痛贴膏低剂量组;D. 化瘀止痛贴膏中剂量组;E. 化瘀止痛贴膏高剂量组;F. 精制狗皮膏组。

3 讨论

ASTI 是骨科常见临床病症,通常是由外界压力超过软组织负荷引起的,其特征是局部皮下软组织的一系列急性挫伤或撕裂,包括肌肉、韧带、筋膜、肌腱、

表 6 各组大鼠肌肉组织中 IL-6、STAT3、p-STAT3 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Comparison of IL-6, STAT3 and p-STAT3 protein expression in muscle tissue of rats in each group

组别	IL-6/GAPDH	p-STAT3/STAT3
对照组	0.42±0.05	0.07±0.02
模型组	1.67±0.15 ^①	0.91±0.12 ^①
化瘀止痛贴膏低剂量组	1.31±0.11 ^②	0.72±0.08 ^②
化瘀止痛贴膏中剂量组	0.92±0.10 ^{②③}	0.41±0.06 ^{②③}
化瘀止痛贴膏高剂量组	0.58±0.06 ^{②③④}	0.15±0.01 ^{②③④}
精制狗皮膏组	0.54±0.05 ^{②③④}	0.14±0.03 ^{②③④}
F	275.985	279.814
P	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏低剂量组比较,③ $P < 0.05$;与化瘀止痛贴膏中剂量组比较,④ $P < 0.05$ 。

滑膜、关节囊、周围神经和血管的急性损伤^[9-10]。由于高速或高能量创伤和运动相关损伤的频繁发生,严重软组织创伤的患病率持续增加,影响着患者的健康和生活^[11]。

中医学认为 ASTI 归属于“伤筋”病证范畴,其中医病机为气滞血瘀,络脉不和,多以活血化瘀、疏通经络、消肿止痛为治疗原则^[12-13]。随着研究的深入,中医外治法治疗 ASTI 成为大多数患者的首选,可协助缓解、减轻患者临床不适,缩短治疗时间,降低并发症、后遗症的发病率,且简便、经济、不良反应少、可操作性强^[14-15]。因此,人们越来越重视天然抗炎药物的应用。

化瘀止痛贴膏由十四味中药组成。其中黄柏具有燥湿泻火解毒的功效。赤芍、大黄具有泄热逐瘀,和营止痛等功效。白芍补血敛阴,柔肝和营,当归补血活血,止痛。栀子亦能清热燥湿,与黄柏合用,使后者燥湿解毒之功大增。石膏增强君药清热泻火,亦有生津之效。牡丹皮辛苦性寒,苦寒以清血热,辛散以行瘀血,功善凉血祛瘀,具有凉血不留瘀,活血而不动血之特点。柴胡善疏散少阳半表之邪,又能疏肝解郁。黄芩可燥湿泻火解毒。红花皆有活血消肿止痛之效,为伤科常用药。姜黄、香附为常用药对,行气破瘀止痛之效显著。龙胆草性沉而降,清热燥湿。纵观全方,具有化瘀解毒、消肿止痛、亦可防治热毒瘀久,耗液伤津等治疗效果,临床上长期应用于闭合型骨折、脱臼、运动、跌打等所致软组织损伤的治疗。本研究发现,化瘀止痛贴膏可降低全血黏度、血浆黏度及红细胞压积,显著改善大鼠血液流变学指标,恢复肌纤维结构,减少炎症浸润和淤血渗出,缓解肌肉组织病理损伤症状。

ASTI 的特征是促炎因子产生过多和继发性损

伤,炎症反应伴随着 ASTI 的发生发展进程,IL-6、IL- β 、TNF- α 等为代表的促炎因子介导和引发的炎症级联反应在 ASTI 中起着至为关键的作用^[16-17]。IL-6 是一种多效性细胞因子,从局部病变向全身发送炎症信号,它刺激免疫细胞募集,包括单核细胞/巨噬细胞,反过来,这些免疫细胞产生更多的炎症因子(IL- β 、TNF- α)来募集更多的巨噬细胞,驱动炎症级联反应,引起持续的组织损伤,STAT3 可以介导响应 IL-6 细胞因子家族的基因转录^[18-20]。研究^[4,21-23]表明,抑制 IL-6/STAT3 信号通路,可降低 IL-6、IL- β 、TNF- α 等炎症因子的水平,进而减轻心力衰竭小鼠、膝骨关节炎兔、肌肉挫伤大鼠和类风湿性关节炎软骨的炎症损伤。本研究还发现,化瘀止痛贴膏可降低 ASTI 大鼠损伤部位肌肉组织中 IL-6、IL- β 、TNF- α 炎症因子的水平、IL-6 与 STAT3 mRNA 及 IL-6、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平。提示化瘀止痛贴膏可能通过抑制 IL-6/STAT3 信号通路,降低炎症反应,从而起到缓解 ASTI 大鼠肌肉组织病理损伤的作用。

4 结论

化瘀止痛贴膏可能通过调控 IL-6/STAT3 信号通路,缓解 ASTI 大鼠的炎症反应,说明化瘀止痛贴膏有望成为临床上治疗 ASTI 的备选药。然而本研究仅验证了化瘀止痛贴膏通过调节 IL-6/STAT3 信号通路对 ASTI 大鼠炎症反应的缓解作用,并未验证化瘀止痛贴膏对其他通路、靶点的作用,后续将进一步验证化瘀止痛贴膏对 ASTI 症状改善作用的具体机制,为临床治疗 ASTI 提供实验依据。

【参考文献】

- [1] YANG H, ZHOU J, PAN H, *et al.* Mesenchymal stem cells derived-exosomes as a new therapeutic strategy for acute soft tissue injury[J]. *Cell Biochem Funct*, 2021, 39(1):107-115.
- [2] WANG Z R, NI G X. Is it time to put traditional cold therapy in rehabilitation of soft-tissue injuries out to pasture[J]. *World J Clin Cases*, 2021, 9(17):4116-4122.
- [3] JIANG S, CHEN Z, LAI W, *et al.* Decoction of Heat-Clearing, Detoxifying and Blood Stasis Removing Relieves Acute Soft Tissue Injury via Modulating MiR-26b-5p/COX2 Axis to Inhibit Inflammation[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(12):1-10.
- [4] OYAIZU T, ENOMOTO M, YAMAMOTO N, *et al.* Hyperbaric oxygen reduces inflammation, oxygenates injured muscle, and regenerates skeletal muscle via macrophage and satellite cell activation[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):1-12.
- [5] 王伟军,杨傲飞,汪伟,等.桃红四物汤对急性软组织损伤大鼠的保护作用及机制研究[J].*中国中西医结合杂志*,2022,42(10):1207-1212.
- [6] 王青华,唐映红,朱敏丰,等.基于 OPG/RANKL/RANK 骨代谢通路探讨伤科黄水对急性软组织损伤模型大鼠的保护机制[J].*中药材*,2020,43(9):2264-2268.
- [7] 徐海燕,李子鸿,雷凯君,等.伤科黄水治疗急性软组织损伤的药效学研究[J].*中药药理与临床*,2017,33(6):124-130.
- [8] 刘永利,谢芳,戴斌玉,等.治伤巴布剂对大鼠急性软组织损伤模型 P38MAPK、AKT 信号通路的影响[J].*世界科学技术-中医药现代化*,2022,24(2):694-704.
- [9] GAMSTON J. Pressure induced skin and soft tissue injury in the emergency department[J]. *Emerg Med J*, 2019, 36(10):631-634.
- [10] YANG H, ZHOU J, WANG J, *et al.* Circulating Exosomal MicroRNA Profiles Associated with Acute Soft Tissue Injury[J]. *Cell J*, 2021,23(4):474-484.
- [11] 钟静,蒋顺琬,余锐豪,等.清热化痰与清热益气化痰中药巴布膏对 PGE2 在新西兰兔急性软组织损伤模型中的影响[J/OL].*中华中医药学刊*,2023:1-11.
- [12] 甘曙光,王雨来,熊永坚,等.神农镇痛膏治疗急性软组织损伤多中心临床研究[J].*时珍国医国药*,2020,31(10):2429-2432.
- [13] 陈曦彤,陈智鹏,李宇熙,等.活血止痛胶囊联合双氯芬酸钠治疗急性软组织损伤的临床研究[J].*现代药物与临床*,2022,37(12):2860-2863.
- [14] 蔡艳丽,齐文斌,裴玲,等.外用消肿止痛中药硬膏治疗急性软组织损伤的中医护理体会[J].*中国实用医药*,2014,9(5):249-250.
- [15] 邢界红,龙洪泉,邓伟明.蒙红贴膏治疗急性软组织损伤临床观察[J].*北方药学*,2020,17(8):67-68.
- [16] 刘永利,何运恒,卢昌怀,等.治伤巴布剂对大鼠急性软组织损伤模型炎症因子及氧化应激的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2022,42(6):893-898.
- [17] 冯宇,王莉,张妹妹,等.“秦氏疼痛方”外敷治疗下肢急性软组织损伤大鼠模型的实验研究[J].*组织工程与重建外科*,2021,17(3):190-194,211.
- [18] WANG Y, SANG X, SHAO R, *et al.* Xuanfei Baidu Decoction protects against macrophages induced inflammation and pulmonary fibrosis via inhibiting IL-6/STAT3 signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283(1):1-12.
- [19] LUO P, WANG Y, ZHAO C, *et al.* Bazedoxifene exhibits anti-inflammation and anti-atherosclerotic effects via inhibition of IL-6/IL-6R/STAT3 signaling[J]. *Eur J Pharmacol*, 2021,893(1):1-11.
- [20] MADARO L, PASSAFARO M, SALA D, *et al.* Denervation-activated STAT3-IL-6 signalling in fibro-adipogenic progenitors promotes myofibres atrophy and fibrosis[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(8):917-927.
- [21] HUO S, SHI W, MA H, *et al.* Alleviation of Inflammation and Oxidative Stress in Pressure Overload-Induced Cardiac Remodeling and Heart Failure via IL-6/STAT3 Inhibition by Raloxifene[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021(1):6699054-6699068.
- [22] 沈锦涛,华茂奇,张北,等.由 IL-10/JAK2/STAT3 通路探讨养血柔筋方对兔膝关节炎软骨损伤的研究[J].*中国骨质疏松杂志*,2023,29(6):796-801.
- [23] 孙标,邓翠翠,王加,等.黄芩苷对大鼠类风湿性关节炎软骨损伤的影响[J].*广州中医药大学学报*,2021,38(7):1440-1446.

(收稿日期:2023-06-07;修回日期:2023-12-31;编辑:王小菊)