

复方五凤草液负压滴灌治疗Ⅲ-Ⅳ期压力性损伤的疗效及其作用机制

曹丽敏, 黄子慧^{*}, 王裕玲, 钱佳燕, 高贝贝, 陈思琪, 翁嘉晨

南京中医药大学附属南京市中西医结合医院瘰癧科, 江苏南京 210014

[中图分类号] R632.1 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2664.2023.0822

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 曹丽敏, 黄子慧, 王裕玲, 等. 复方五凤草液负压滴灌治疗Ⅲ-Ⅳ期压力性损伤的疗效及其作用机制[J]. 解放军医学杂志, 2024, 49(4): 396-407.

[收稿日期] 2022-12-27 [录用日期] 2023-02-23 [上线日期] 2023-08-22

[摘要] **目的** 观察复方五凤草液负压滴灌治疗(NPWTi)Ⅲ-Ⅳ期压力性损伤(PI)的临床疗效, 并初步探索其作用机制。**方法** (1)临床研究: 选取2019年1月—2022年10月于南京市中西医结合医院瘰癧科病区及伤口护理门诊就诊的60例PI患者, 随机分为生理盐水NPWTi组与复方五凤草液NPWTi组, 每组30例。两组均在全身基础治疗的前提下进行NPWTi, 分别于治疗前及治疗第1、2、3周拆除负压装置后统计PI愈合计分量表(PUSH)评分、创面细菌培养检出率及创面愈合时间, 并用ELISA法检测创面组织血管内皮生长因子(VEGF)的含量。(2)动物实验: 24只SD大鼠随机分为空白组、模型组、生理盐水NPWTi组与复方五凤草液NPWTi组, 每组6只, 通过局部组织缺血/再灌注损伤法建立PI大鼠模型, 每天治疗结束后将负压装置拆除。分别于治疗前及治疗3、7、10 d观察各组大鼠创面形态, HE染色观察创面组织病理情况, 免疫组化检测创面组织CD34阳性细胞百分比, 并用ELISA法及RT-qPCR分别检测各组大鼠血液、创面组织中p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)、核因子- κ B p65(NF- κ B p65)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、精氨酸酶-1(Arg-1)、转化生长因子- β (TGF- β)的表达水平。**结果** (1)临床研究: 两组均能有效降低PUSH评分和创面细菌培养检出率, 缩短创面愈合时间, 促进创面组织VEGF表达, 复方五凤草液NPWTi组优于生理盐水NPWTi组($P<0.05$)。(2)动物实验: 与空白组相比, 模型组大鼠创面炎症反应及组织损伤明显, CD34阳性细胞百分比, 以及血液和创面组织p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 水平明显升高, Arg-1、TGF- β 水平明显降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 与模型组相比, 生理盐水NPWTi组与复方五凤草液NPWTi组治疗7 d后创面形态评分明显降低, 组织病理学形态明显改善, CD34阳性细胞百分比明显升高, 血液及创面组织p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 水平明显降低, Arg-1、TGF- β 水平明显升高, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 且复方五凤草液NPWTi组优于生理盐水NPWTi组($P<0.05$)。**结论** 复方五凤草液NPWTi可有效促进PI创面的愈合, 其作用机制可能是通过抑制p38 MAPK/NF- κ B信号通路的活化及表达, 进而调节M1/M2巨噬细胞极化平衡。

[关键词] 压力性损伤; 负压滴灌治疗; 复方五凤草液; 巨噬细胞极化; p38 MAPK/NF- κ B信号通路

Efficacy and mechanism of compound Wufengcao liquid combined with negative pressure wound therapy with instillation in treatment of stage III-IV pressure injury

Cao Li-Min, Huang Zi-Hui^{*}, Wang Yu-Ling, Qian Jia-Yan, Gao Bei-Bei, Chen Si-Qi, Weng Jia-Chen

Department of Scrofula, Nanjing Municipal Hospital of Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210014, China

^{*}Corresponding author, E-mail: candy73zihui@sina.com

This work was supported by the Key Project of Jiangsu Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine (ZD202105), the Key Projects of Nanjing Municipal Health Commission (ZKX20049), and the Xu Zhiyin National Famous Traditional Chinese Medicine

[基金项目] 江苏省中医药管理局重点项目(ZD202105); 南京市卫健委重点项目(ZKX20049); 许芝银全国名中医专家工作室([宁卫财务2019]26号)

[作者简介] 曹丽敏, 硕士研究生, 主要从事甲乳、疮疡方面的研究

[通信作者] 黄子慧, E-mail: candy73zihui@sina.com

Expert Studio ([Ningwei Finance 2019] No. 26)

[Abstract] Objective To observe the clinical efficacy of compound Wufengcao liquid combined with negative pressure wound therapy with instillation (NPWTi) for the treatment of stage III-IV pressure injury (PI), and to preliminarily explore its action mechanism. **Methods** (1) Clinical research: from January 2019 to October 2022, 60 PI patients who were admitted to the Scrofula Department and Wound Care Clinic at Nanjing Municipal Hospital of Traditional Chinese and Western Medicine were randomly divided into normal saline NPWTi group and compound Wufengcao liquid NPWTi group, with 30 cases in each group. Both groups underwent NPWTi under the premise of systemic basic treatment, before treatment, after removing the negative pressure device in the 1st, 2nd and 3rd weeks of treatment, the pressure ulcer scale for healing (PUSH) score, the wound bacterial culture detection rate and the wound healing time were counted, and the vascular endothelial growth factor (VEGF) content of wound tissue was detected by ELISA method. (2) Animal experiments: 24 SD rats were randomly divided into blank group, model group, normal saline NPWTi group and compound Wufengcao liquid NPWTi group, 6 rats in each group. PI rat model was established by local tissue ischemia/reperfusion injury method, and the negative pressure device was removed at the end of each day of treatment. Before treatment and 3, 7 and 10 days after treatment, the wound morphology of each group of rats was observed, the wound histopathology was observed by HE staining, the CD34 positive cells rate of wound tissue was detected by immunohistochemistry, and the expressions of p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK), nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B p65), inducible nitric oxide synthase (iNOS), tumor necrosis factor- α (TNF- α), arginase-1 (Arg-1) and transforming growth factor- β (TGF- β) in rat blood and wound tissue were detected by ELISA and RT-qPCR. **Results** (1) Clinical research: Both groups could effectively reduce the PUSH score and the wound bacterial culture detection rate, shorten the wound healing time, and promote the expression of VEGF in wound tissue, the compound Wufengcao liquid NPWTi group was better than the normal saline NPWTi group ($P < 0.05$). (2) Animal experiments: Compared with blank group, the rats in the model group showed obvious wound inflammatory response and tissue damage, and the CD34 positive cells rate, blood and wound tissue p38 MAPK, NF- κ B p65, iNOS and TNF- α levels were significantly increased, Arg-1 and TGF- β level was significantly reduced ($P < 0.05$); Compared with model group, after 7 days of treatment, the normal saline NPWTi group and the compound Wufengcao liquid NPWTi group significantly decreased the wound morphology score, the histopathological morphology was significantly improved, the CD34 positive cells rate was significantly increased ($P < 0.05$), the levels of blood and wound tissue p38 MAPK, NF- κ B p65, iNOS, and TNF- α were significantly reduced, and the levels of Arg-1 and TGF- β were significantly increased ($P < 0.05$), and the compound Wufengcao liquid NPWTi group was better than that of the normal saline NPWTi group ($P < 0.05$). **Conclusion** Compound Wufengcao liquid combined with NPWTi can effectively promote the healing of PI wounds, and its mechanism of action may be by inhibiting the activation and expression of p38 MAPK/NF- κ B signaling pathway, thereby regulating the polarization balance of M1/M2 macrophages.

[Key words] pressure injury; negative pressure wound therapy with instillation; compound Wufengcao liquid; macrophage polarization; p38 MAPK/NF- κ B signaling pathway

压力性损伤 (pressure injury, PI), 又称压疮、褥疮或压力性溃疡, 由于骨突出处受到持续而长久的压力导致组织缺血缺氧、坏死, 是皮肤和(或)皮下组织的局限性损伤, 也是临床常见的慢性难愈性伤口^[1-2]。感染是PI常见的并发症, 可能导致蜂窝织炎、骨髓炎、脓毒症等, 严重时甚至危及患者生命^[3-4]。研究发现, 我国住院患者PI患病率为1.67%^[5], 而在养老性医疗机构中高达10.4%^[6]。目前PI患病率呈上升趋势, 成为临床治疗难题, 病程长、成本高, 给社会带来了沉重的医疗负担, 亟须临床工作者关注。

巨噬细胞是创面修复过程中组织动态平衡和炎症反应的关键细胞^[7], 在不同微环境刺激下可极化为促炎M1型或抗炎/修复M2型巨噬细胞^[8]。p38丝裂原活化蛋白激酶/核因子- κ B (p38 mitogen-activated protein kinase/nuclear factor- κ B, p38 MAPK/NF- κ B)是巨噬细胞极化过程中的重要通路, 在PI中, p38

MAPK和NF- κ B水平升高, 诱导巨噬细胞向M1型极化, M2型极度损耗, 加重创面炎症反应, 导致压疮创面难以愈合^[9-10]。负压滴灌治疗 (negative pressure wound therapy with instillation, NPWTi) 是治疗慢性创面的一种新型手段, 在传统负压伤口治疗 (negative pressure wound therapy, NPWT) 的基础上, 将灌注液滴注于创面, 有助于炎性分泌物及坏死组织的清除, 从而减轻创面细菌负荷, 促进肉芽组织形成, 现已被用于各种慢性难愈性创面的治疗^[11]。目前国内常用的灌注液包括生理盐水、中药制剂等, 中药滴灌治疗可有效调节创面组织细胞的功能, 改善创面愈合环境, 加速创面愈合, 疗效显著^[12], 受到临床工作者的青睐。外用中药复方五凤草液为南京市中西医结合医院协定方, 可有效促进结核性溃疡、PI等慢性创面愈合^[13-14]。近年来复方五凤草液被用于PI的NPWTi中, 临床观察显示疗效满意, 但其作用机制尚不明确。为此, 本研究构建大鼠PI模型, 基于

p38 MAPK/NF- κ B 信号通路调控 M1/M2 巨噬细胞极化探索复方五凤草液 NPWTi 治疗 PI 的疗效及其作用机制。

1 资料与方法

1.1 主要试剂及仪器 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、p38 MAPK、NF- κ B p65、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、精氨酸酶-1(arginase-1, Arg-1)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) ELISA 试剂盒均购自上海江莱生物科技有限公司; TRIzol Reagent 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; PrimeScript™ PT Master Mix(Perfect Real Time)试剂盒购自日本 TaKaRa 公司; ChamQ SYBR qPCR Master Mix (Without ROX)试剂盒购自南京诺唯赞生物科技有限公司; CD34 抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG(H+L)二抗、苏木精-伊红(HE)染色试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司。37℃ 恒温箱购自上海一恒公司; 多功能酶标仪购自美国 Molecular Devices 公司; 高速低温离心机购自德国 Hettich 公司; 实时荧光定量 PCR 仪购自瑞士罗氏公司; 显微镜购自德国徕卡微系统有限公司。

1.2 临床研究

1.2.1 研究对象 选取 2019 年 1 月—2022 年 10 月于南京市中西医结合医院瘰癧科病区及伤口护理门诊就诊的 60 例 PI 患者。采用随机数字表法分为生理盐水 NPWTi 组与复方五凤草液 NPWTi 组, 每组 30 例。纳入标准: (1)符合 III、IV 期 PI 诊断标准; (2)年龄 50~95 岁; (3)创面面积 16~36 cm²; (4)血糖及营养状况良好, 配合治疗。排除标准: (1)过敏性体质及对本研究药物过敏; (2)严重代谢性疾病影响创面愈合; (3)合并免疫系统或心、脑、肝、肾等器官严重原发性疾病及继发疾病; (4)糖尿病溃疡、癌性、结核性或其他特异性溃疡; (5)精神疾病。脱落标准: 一系列原因导致疗程未完全结束即死亡或退出治疗。本研究获得南京市中西医结合医院伦理委员会审批(伦理号 2022018), 患者均签署知情同意书。

参照 2016 年美国压力性损伤咨询委员会(NPUAP)指南^[15]及《中医外科学》的有关诊断标准: III 期 PI 是指皮肤全层缺损, 脂肪组织外露, 没有筋膜、肌肉、肌腱、韧带、软骨和(或)骨的外露, 通常可见肉芽组织或创缘内卷, 可能出现潜行腔隙和窦道; IV 期 PI 是指全层皮肤和组织缺损形成的溃疡, 伴有可见或可触及的筋膜、肌肉、肌腱、韧带、软骨或骨外露, 通常伴有创缘内卷、潜行腔隙和(或)窦道, 局部也可有腐肉和(或)焦痂, 溃疡深度因

解剖部位而异。

1.2.2 复方五凤草液制备 (1)将五凤草、猫爪草、白及按 8.33:1.67:1 的比例于纯水中浸泡 1 h, 然后加适量纯水煎煮 1 h, 获得第一提取液; (2)将药渣在纯水中浸泡后煎煮 40 min, 获得第二提取液; (3)将第一提取液与第二提取液浓缩成一份, 沉淀 24 h, 取上清液灭菌处理, 即得复方五凤草液(院协编号 20181026)。由南京市中西医结合医院制剂室提供, 由该院药剂科徐德荣医师进行鉴定。

1.2.3 治疗方法 生理盐水 NPWTi 组给予生理盐水 NPWTi, 复方五凤草液 NPWTi 组给予复方五凤草液 NPWTi。两组均积极治疗基础疾病, 加强抗感染、营养支持和维持水电解质平衡。在全身基础治疗的前提下, 压疮创面采用药物负压滴灌技术。彻底清创后, 根据创面的形状及大小修剪合适的黑海绵敷料, 完全填充覆盖创面床, 半透膜固定并密封, 修剪开口后粘贴吸盘。将吸盘与冲洗管道分别置于伤口最长径两端, 冲洗管道垂直嵌入敷料中直至与伤口床表面接触, 吸盘位于最长径相对低位的端点附近, 保证溶液可完全接触并冲洗伤口床, 吸盘连接集液罐并与负压伤口治疗仪连接, 冲洗管道通过静脉输液装置与冲洗液连接。设置负压治疗仪参数为间歇负压治疗模式(吸引 5 min、间停 2 min), 负压值为 -125 mmHg。冲洗前关闭负压封闭引流装置, 将药物以 30~40 滴/min 的速度从冲洗管中滴注至海绵敷料, 以完全不滴出为度, 停留 0.5 h 后持续间断低压吸引 2~4 h, 此为 1 次灌洗过程, 每天重复 4~6 次。根据引流量及引流液的颜色更换负压装置。通过以上治疗完成术前创面床准备, 然后根据创面肉芽情况择期进行皮瓣修复术。

1.2.4 观察指标 收集患者性别、年龄、血浆白蛋白水平、压疮分期及创面面积等基线资料, 并分别于治疗前及治疗第 1、2、3 周拆除负压装置后观察以下指标。

(1)采用压疮愈合计分量表^[16](pressure ulcer scale for healing, PUSH)评估伤口面积、渗液量、组织类型(附表 1: <https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.2664.2023.0822FJ>)。根据上述三项指标评估伤口, 计算三项得分, 并汇总为 PUSH 评分。

(2)创面细菌培养检出率: 记录温度、渗液 pH 值后, 采集伤口细菌进行培养。为避免杂菌污染等干扰因素, 用 0.5% 碘伏对伤口进行常规消毒, 生理盐水清洁伤口床 2 或 3 次, 无菌棉签取样。采用 Levine 技术取样, 即在伤口 1 cm 区域内用足够的压力转动棉签拭子, 从伤口组织中挤出流体采样。创面细菌培养检出率(%)=伤口细菌培养阳性例数/伤口总例数 \times 100%。

(3) VEGF 含量检测: 取适量创面组织, 加入 PBS 缓冲液后充分研磨匀浆, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 采用 ELISA 法检测 VEGF 含量, 严格按照试剂盒说明书步骤操作。

(4) 创面愈合时间: 记录 PI 患者从开始治疗至创面完全愈合的天数。

1.3 动物实验

1.3.1 实验动物及分组 SD 大鼠 24 只由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供[实验动物生产许可证号: SCXK(浙)2019-0002], 雌雄各半, 体重(250±20) g, 在安静环境下适应性饲养 1 周, 室温(22±2) °C, 相对湿度 55%~60%, 给予充足清洁饮水, 自由摄食。将 24 只大鼠随机分为空白组、模型组、生理盐水 NPWTi 组与复方五凤草液 NPWTi 组, 每组 6 只。实验过程符合国家和单位有关实验动物的管理和使用规定。

1.3.2 PI 大鼠模型建立 参照朱思洵等^[14]的缺血/再灌注损伤法建立 PI 大鼠模型。模型组、生理盐水 NPWTi 组、复方五凤草液 NPWTi 组大鼠建立 PI 模型, 空白组大鼠仅背部备皮处理。模型建立成功后, 大鼠单笼饲养, 保证日常自由饮水、摄食。自然暴露 1 d, 第 2 天开始进行药物干预, 实验周期为 10 d。空白组备皮处局部每天予以生理盐水清洗; 模型组每天予以生理盐水清洗创面; 生理盐水 NPWTi 组每天予以生理盐水 NPWTi; 复方五凤草液 NPWTi 组每天予以复方五凤草液 NPWTi。

NPWTi 操作: 彻底清创后, 根据创面形状及大小修剪合适的黑海绵敷料, 并将敷料完全覆盖创面床, 冲洗管道垂直嵌入敷料中直至与伤口床表面接触, 再用半透膜固定并密封, 修剪开口后粘贴吸盘。将吸盘接集灌洗液并与负压伤口治疗仪连接, 冲洗管道通过静脉输液装置与冲洗液连接。打开负压伤口治疗仪电源, 治疗模式设置为持续吸引, 负压值为 -75 mmHg^[17], 每天持续吸引 8 h。治疗结束后, 拆除负压装置, 将大鼠放回饲养笼中, 次日治疗时重复上述操作。治疗期间, 如出现贴膜脱落或漏气、冲洗管道漏气或堵塞不通时, 需及时更换。

1.3.3 标本采集 治疗前及治疗 3、7、10 d, 生理盐水 NPWTi 组和复方五凤草液 NPWTi 组大鼠拆除负压装置后, 分别采集血液及皮肤/创面组织, 血液标本 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液于 -80 °C 冰箱备存, 用于 ELISA 检测; 其中一部分皮肤/创面组织固定在 4% 多聚甲醛溶液中, 用于病理学观察及免疫组化检测, 另一部分于 -80 °C 冰箱保存用于 RT-qPCR 检测。

1.3.4 观察指标

1.3.4.1 创面形态评分 分别于治疗前及治疗 3、7、

10 d 对大鼠创面进行大体观察, 主要包括创面颜色、肿胀程度、渗液量等, 并根据创面形态评分标准表^[18]进行评分(附表 2: <https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.2023.0822FJ>)。

1.3.4.2 组织病理学 HE 染色 皮肤/创面组织经过 4% 多聚甲醛溶液固定后, 经脱水、透明、浸蜡、包埋后制成石蜡切片(厚度 4~6 μm), 将切片脱蜡、水化后, 行 HE 染色, 观察皮肤/创面组织病理学变化。

1.3.4.3 免疫组化检测皮肤/创面组织 CD34 阳性细胞百分比 皮肤/创面组织经 4% 多聚甲醛溶液固定后制成石蜡切片, 再经常规烤片、脱蜡水化、抗原修复、阻断、加一抗过夜、加二抗、加链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液、DAB 显色、苏木精复染后, 于镜下观察, 采用 ImageJ 软件进行灰度分析, 计算 CD34 阳性细胞百分比。

1.3.4.4 ELISA 法检测血液中 p38 MAPK、NF-κB p65、iNOS、TNF-α、Arg-1、TGF-β 蛋白的表达水平 取大鼠血液上清, 采用 ELISA 法检测 p38 MAPK、NF-κB p65、iNOS、TNF-α、Arg-1、TGF-β 水平, 严格按照 ELISA 试剂盒说明书要求操作, 根据标准曲线计算各蛋白表达水平。

1.3.4.5 RT-qPCR 检测创面组织中 p38 MAPK、NF-κB p65、iNOS、TNF-α、Arg-1、TGF-β mRNA 的表达水平 创面组织室温解冻后, 加入 TRIzol 裂解液后研磨至无明显块状组织, 4 °C 下 3000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 提取创面组织总 RNA, 反转录合成 cDNA, 采用 RT-qPCR 检测相应指标 mRNA 的表达。引物序列如表 1 所示, 由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验; 非正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示, 组间比较采用秩和检验; 计数资料以例(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床研究

2.1.1 两组 PI 患者基线资料比较 治疗过程中复方五凤草液 NPWTi 组脱落 4 例, 生理盐水 NPWTi 组脱落 3 例, 最终纳入 53 例(复方五凤草液 NPWTi 组 26 例和生理盐水 NPWTi 组 27 例)。53 例 PI 患者中, 男 28 例, 女 25 例; 年龄 60~95 岁, 平均(76.2±4.6)岁; 血浆白蛋白(33.47±4.21) g/L; 压疮部位均为骶尾部; 压疮分期为 III、IV 期; 创面面积为(26.23±7.41) cm²。两组性别、年龄、血浆白蛋白水平、压疮分期及创

表1 RT-qPCR引物序列

Tab.1 Primer sequences of RT-qPCR

基因	上游引物	下游引物
p38 MAPK	5'-AGCTTACCGATGACCACGTT-3'	5'-CACGTAGCCGGTCATTTTCGTC-3'
NF- κ B p65	5'-GACGATCTGTTTCCCCTCAT-3'	5'-GCTTCTCTCCCCAGGAATAC-3'
iNOS	5'-TTCAGCTACGCCTTCAACACC-3'	5'-CTCCATTGCCAAATGTGCTTG-3'
TNF- α	5'-CTACTCCCAGGCTCTTCAA-3'	5'-GCTGACTTCTCTCTGTGTGA-3'
Arg-1	5'-CATATCTGCCAAGGACATCGT-3'	5'-TCCATCACTTTGCCAATTC-3'
TGF- β	5'-CGGAATACAGGGCTTTCGCT-3'	5'-TCGACGTTTGGGACTGATCC-3'
GAPDH	5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTG-3'	5'-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'

p38 MAPK, p38 丝裂原活化蛋白激酶; NF- κ B p65, 核因子- κ B p65; iNOS, 诱导型一氧化氮合酶; TNF- α , 肿瘤坏死因子- α ; Arg-1, 精氨酸酶-1; TGF- β , 转化生长因子- β

面面积比较差异均无统计学意义($P>0.05$, 表2)。

表2 两组PI患者基线资料比较

Tab.2 Comparison of baseline data between two groups of PI patients

指标	生理盐水 NPWTi组(n=27)	复方五凤草液 NPWTi组(n=26)	P
性别[例(%)]			0.349
男	16(59.3)	12(46.2)	
女	11(40.7)	14(53.8)	
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	77.1 \pm 6.8	79.6 \pm 8.3	0.475
血浆白蛋白(g/L, $\bar{x}\pm s$)	32.93 \pm 5.21	34.62 \pm 5.39	0.251
压疮分期[例(%)]			0.459
III期	11(40.74)	8(30.8)	
IV期	16(59.3)	18(69.2)	
创面面积(cm ² , $\bar{x}\pm s$)	27.1 \pm 5.62	25.57 \pm 5.29	0.311

PI, 压力性损伤; NPWTi, 负压滴灌治疗

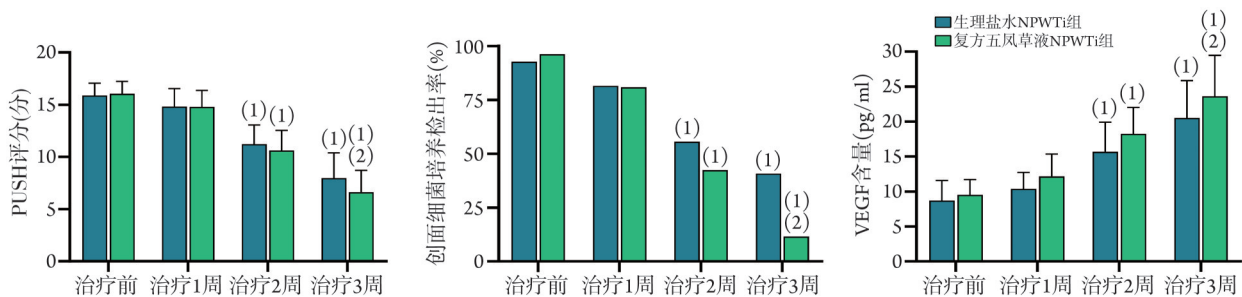
2.1.2 两组 PUSH 评分比较 与治疗前比较, 两组治疗第2、3周 PUSH 评分均降低, 差异有统计学意义($P<0.05$); 治疗第1、2周, 两组 PUSH 评分比较差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗第3周, 复方五凤草液 NPWTi 组 PUSH 评分低于生理盐水 NPWTi 组($P<0.05$, 图1)。

2.1.3 两组创面细菌培养检出率比较 与治疗前比较, 两组治疗第2、3周创面细菌培养阳性率均降低, 差异有统计学意义($P<0.05$); 治疗第1、2周, 两组创面细菌培养阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗第3周, 复方五凤草液 NPWTi 组创面细菌培养阳性率低于生理盐水 NPWTi 组($P<0.05$, 图1)。

2.1.4 两组创面组织 VEGF 含量比较 ELISA 法检测结果显示, 治疗第1、2周, 两组创面组织 VEGF 含量比较差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗第2、3周, 两组创面组织 VEGF 含量均高于治疗前, 差异有统计学意义($P<0.05$); 治疗第3周, 复方五凤草液 NPWTi 组创面组织 VEGF 含量高于生理盐水 NPWTi 组($P<0.05$, 图1)。

2.1.5 两组创面愈合时间比较 复方五凤草液 NPWTi 组创面愈合时间明显短于生理盐水 NPWTi 组, 差异有统计学意义[(28.92 \pm 3.33) d vs. (36.85 \pm 2.58) d, $P<0.05$]。

2.1.6 典型病例 患者男, 79岁, 因“骶尾区皮肤破损1个月余”入院, 诊断为骶尾区IV期PI。住院期间在全身基础治疗的前提下, 应用复方五凤草液 NPWTi, 随后进行带蒂肌皮瓣移植术, 术后皮瓣成



PI, 压力性损伤; PUSH, 压疮愈合计分量表; VEGF, 血管内皮生长因子; NPWTi, 负压滴灌治疗; 与治疗前比较, (1) $P<0.05$; 与生理盐水 NPWTi 组比较, (2) $P<0.05$

图1 两组PI患者 PUSH 评分、创面细菌培养检出率及创面组织 VEGF 含量比较

Fig.1 Comparison of the PUSH score, the wound bacterial culture detection rate, and the VEGF content of wound tissue between two groups of PI patients

活, 伤口一期愈合(图2)。

2.2 动物实验

2.2.1 各组大鼠创面形态评分比较 治疗前及治疗3 d, 各组大鼠创面形态评分比较差异无统计学意义

($P>0.05$); 治疗7、10 d, 生理盐水 NPWTi 组、复方五凤草液 NPWTi 组创面形态评分低于模型组 ($P<0.05$); 治疗10 d, 复方五凤草液 NPWTi 组创面形态评分低于生理盐水 NPWTi 组 ($P<0.05$, 图3)。



PI. 压力性损伤; NPWTi. 负压滴灌治疗; A. 2022-01-17 入院时创面; B. 2022-01-26 保守性锐器清创后; C. 2022-01-27 复方五凤草液 NPWTi; D. 2022-02-14 拆除负压装置+邻近皮瓣修复+带蒂皮瓣移植术; E. 2022-03-01 间断拆线; F. 2022-04-15 (出院后随访) 伤口愈合良好

图2 复方五凤草液 NPWTi 治疗 IV 期 PI 典型病例(患者男, 79 岁)

Fig.2 Compound Wufengcao liquid combined with NPWTi treatment of stage IV pressure ulcer patient

2.2.2 各组大鼠皮肤/创面组织病理学变化

HE 染色结果显示, 治疗3 d, 空白组皮肤结构完整, 表皮无坏死脱落, 无出血、无炎性细胞浸润; 模型组皮下组织见多量中性粒细胞浸润, 少量新生毛细血管和成纤维细胞, 伴充血; 生理盐水 NPWTi 组皮下组织见中等至大量中性粒细胞浸润, 伴纤维素样坏死及浅表溃疡形成, 血管及成纤维细胞明显增生; 复方五凤草液 NPWTi 组皮下组织见中等量中性粒细胞浸润, 伴纤维素样坏死及浅表溃疡形成, 血管及成纤维细胞明显增生。治疗10 d, 空白组皮肤结构完整, 无出血及炎性细胞浸润; 模型组皮下组织见中等量炎性细胞浸润, 轻至中等量毛细血管及成纤维细胞增生, 伴充血水肿; 生理盐水 NPWTi 组皮下组织见少量炎性细胞浸润, 多量新生毛细血管及成纤维细胞增生; 复方五凤草液 NPWTi 组皮下组织见少量炎性细胞浸润, 多量新生毛细血管及成纤维细胞增生; 复方五凤草液 NPWTi 组情况优于生理盐水 NPWTi 组(图4)。

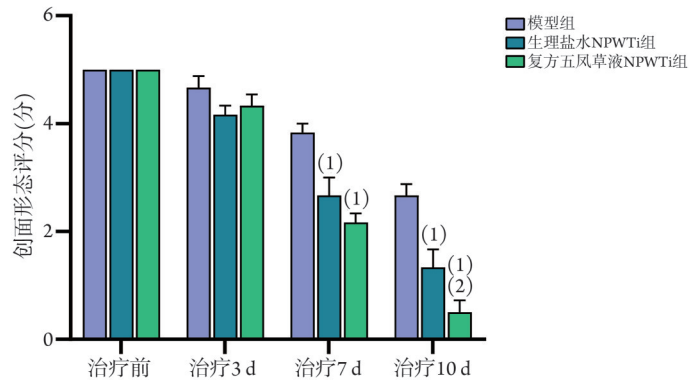
2.2.3 各组大鼠皮肤/创面组织 CD34 阳性细胞百分比比较

免疫组化检测结果显示, 治疗3 d, 模型组、生理盐水 NPWTi 组与复方五凤草液 NPWTi 组创面组织 CD34 阳性细胞百分比比较差异无统计学意义

($P>0.05$); 治疗3、10 d, 模型组、生理盐水 NPWTi 组与复方五凤草液 NPWTi 组创面组织 CD34 阳性细胞百分比明显高于空白组 ($P<0.05$); 治疗10 d, 生理盐水 NPWTi 组和复方五凤草液 NPWTi 组创面组织 CD34 阳性细胞百分比明显高于模型组 ($P<0.05$), 且复方五凤草液 NPWTi 组高于生理盐水 NPWTi 组 ($P<0.05$, 图5)。

2.2.4 各组大鼠血液 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 、Arg-1、TGF- β 水平比较

ELISA 法检测结果显示, 治疗前及治疗3 d, 模型组、生理盐水 NPWTi 组与复方五凤草液 NPWTi 组大鼠血液 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 、Arg-1、TGF- β 水平比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗前及治疗3、7 d, 模型组、生理盐水 NPWTi 组和复方五凤草液 NPWTi 组大鼠血液 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 水平明显高于空白组 ($P<0.05$), Arg-1、TGF- β 水平明显低于空白组 ($P<0.05$)。与治疗前比较, 治疗3、7、10 d, 空白组大鼠血液 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 、Arg-1、TGF- β 水平差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗7、10 d, 与模型组比较, 生理盐水 NPWTi 组和复方五凤草液 NPWTi 组大鼠血液 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 水平明显



NPWTi 负压滴灌治疗; 与模型组比较, (1) $P<0.05$; 与生理盐水 NPWTi 组比较, (2) $P<0.05$

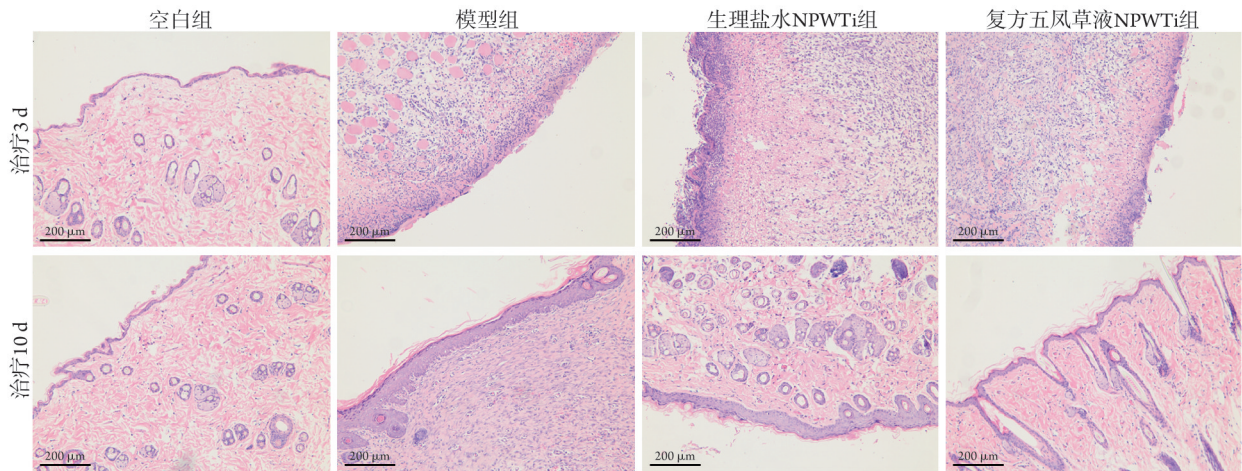
图3 各组大鼠创面情况及创面形态评分比较($n=6$)

Fig.3 Comparison of wound status and wound morphology scores in each group of rats ($n=6$)

降低($P<0.05$), Arg-1、TGF- β 水平明显升高($P<0.05$); 与生理盐水 NPWTi 组比较, 复方五凤草液 NPWTi 组大鼠血液 iNOS、TNF- α 水平明显降低($P<0.05$)。治疗 10 d, 与生理盐水 NPWTi 组比较, 复方五凤草液 NPWTi 组大鼠血液 p38 MAPK、NF- κ B p65 水平明显降低($P<0.05$), Arg-1、TGF- β 水平明显升高($P<0.05$)

(图6)。

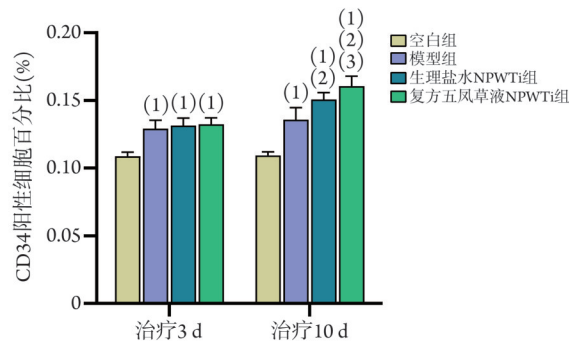
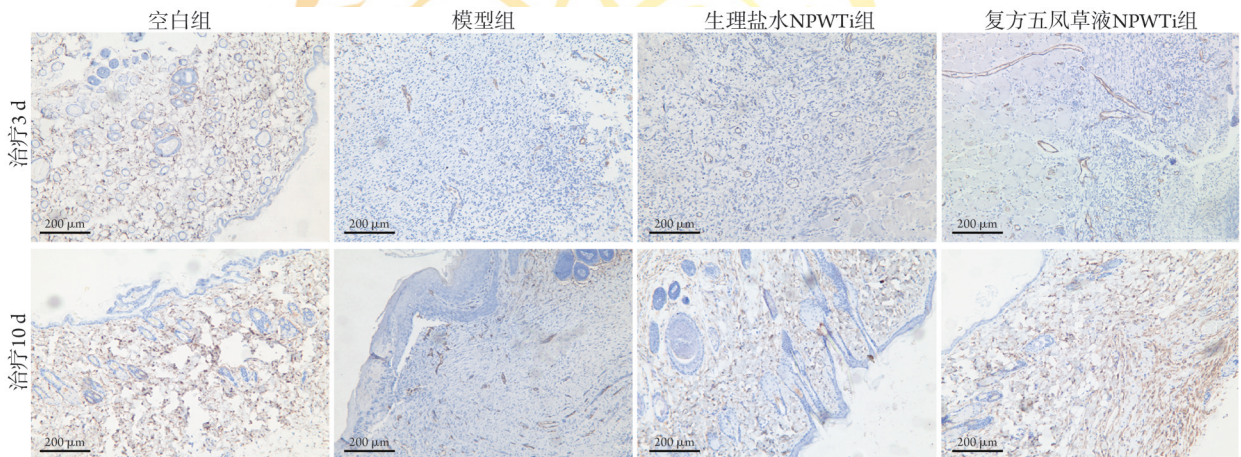
2.2.5 各组大鼠创面组织中 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 、Arg-1、TGF- β mRNA 水平比较 RT-qPCR 检测结果显示, 治疗前及治疗 3 d, 模型组、生理盐水 NPWTi 组与复方五凤草液 NPWTi 组大鼠创面组织 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α mRNA



NPWTi 负压滴灌治疗

图4 各组大鼠创面组织病理学变化(HE)

Fig.4 Pathological changes in wound tissue of rats in each group (HE)



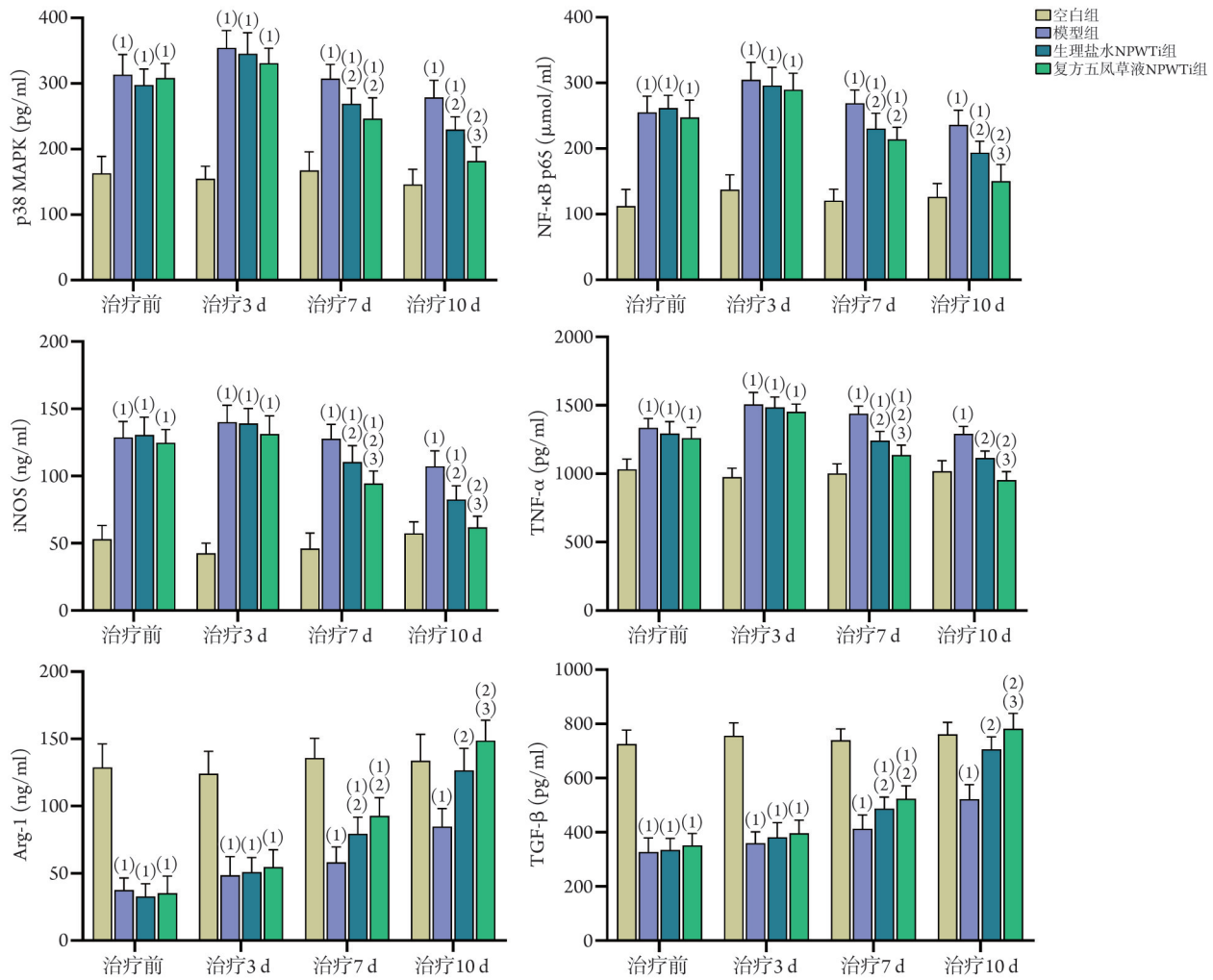
NPWTi 负压滴灌治疗; 与空白组比较, (1) $P < 0.05$; 与模型组比较, (2) $P < 0.05$; 与生理盐水 NPWTi 组比较, (3) $P < 0.05$

图5 各组大鼠创面组织免疫组化染色图及 CD34 阳性细胞百分比比较

Fig.5 Comparison of immunohistochemical staining and CD34 positive cells rate of rat wound tissue in each group

相对表达水平明显高于空白组 ($P < 0.05$), *Arg-1*、*TGF-β* mRNA 相对表达水平明显低于空白组 ($P < 0.05$); 模型组、生理盐水 NPWTi 组与复方五凤草液 NPWTi 组大鼠创面组织 *p38 MAPK*、*NF-κB p65*、*iNOS*、*TNF-α*、*Arg-1*、*TGF-β* mRNA 相对表达水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与治疗前比较, 治疗 3、7、10 d 空白组大鼠创面组织 *p38 MAPK*、*NF-κB p65*、*iNOS*、*TNF-α*、*Arg-1*、*TGF-β* mRNA 相

对表达水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗 7 d, 与模型组比较, 生理盐水 NPWTi 组和复方五凤草液 NPWTi 组大鼠创面组织 *p38 MAPK*、*NF-κB p65*、*iNOS*、*TNF-α* mRNA 相对表达水平明显降低 ($P < 0.05$), 复方五凤草液 NPWTi 组大鼠创面组织 *Arg-1*、*TGF-β* mRNA 相对表达水平明显升高 ($P < 0.05$)。治疗 10 d, 与模型组比较, 生理盐水 NPWTi 组和复方五凤草液 NPWTi 组大鼠创面组织 *p38 MAPK*、*NF-κB p65*、



p38 MAPK, p38 丝裂原活化蛋白激酶; NF- κ B p65, 核因子- κ B p65; iNOS, 诱导型一氧化氮合酶; TNF- α , 肿瘤坏死因子- α ; Arg-1, 精氨酸酶-1; TGF- β , 转化生长因子- β ; NPWTi, 负压滴灌治疗; 与空白组比较, (1) $P < 0.05$; 与模型组比较, (2) $P < 0.05$; 与生理盐水 NPWTi 组比较, (3) $P < 0.05$

图6 各组大鼠血液 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 、Arg-1、TGF- β 水平比较($n=6$)

Fig.6 Comparison the levels of blood p38 MAPK, NF- κ B p65, iNOS, TNF- α , Arg-1 and TGF- β in each group of rats ($n=6$)

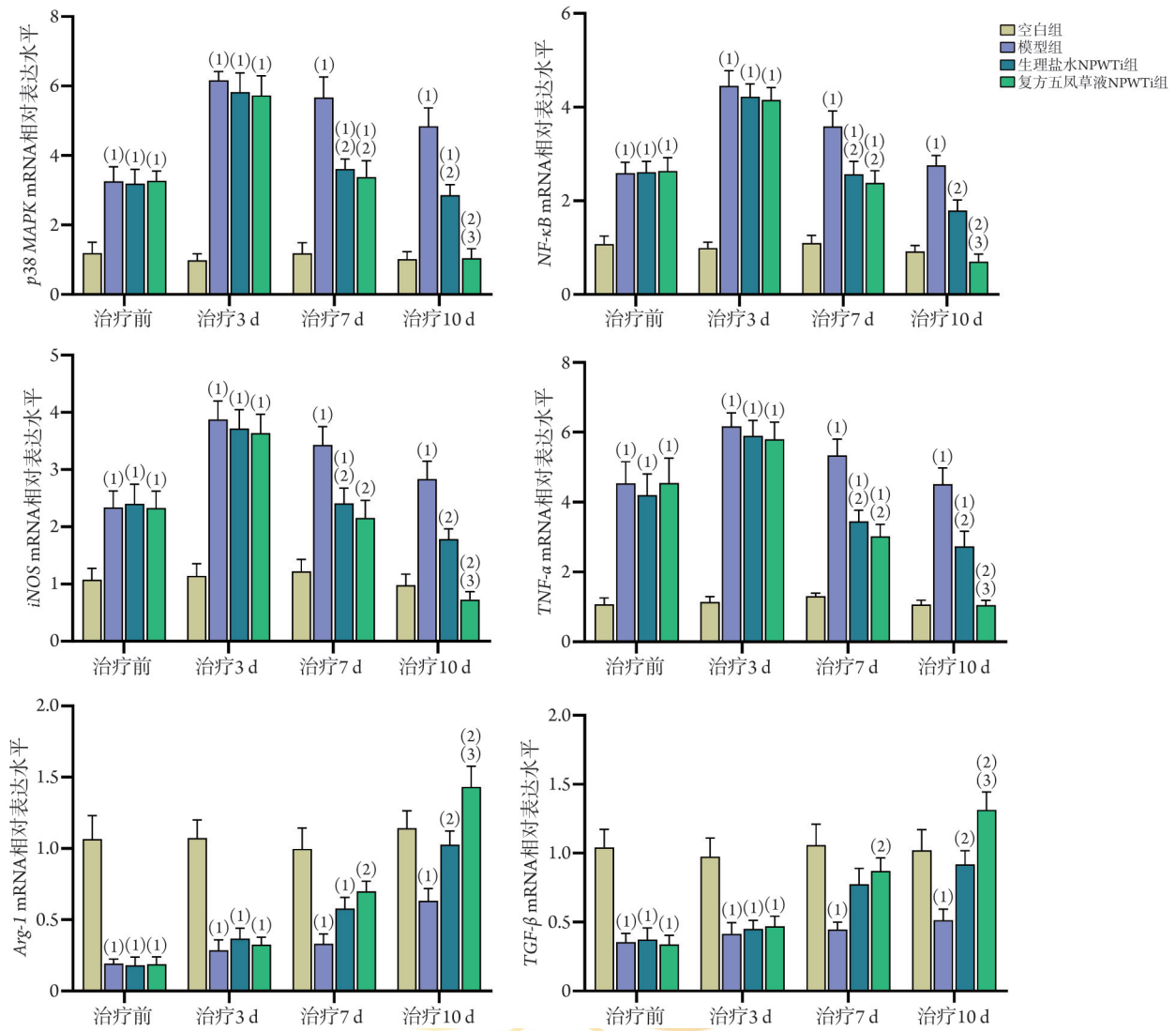
iNOS、TNF- α mRNA 相对表达水平明显降低($P < 0.05$), Arg-1、TGF- β mRNA 相对表达水平明显升高($P < 0.05$); 与生理盐水 NPWTi 组比较, 复方五凤草液 NPWTi 组大鼠创面组织 p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α mRNA 相对表达水平明显降低($P < 0.05$), Arg-1、TGF- β mRNA 相对表达水平明显升高($P < 0.05$)(图7)。

3 讨论

PI 属于中医学“席疮”范畴,《外科启玄》载:“席疮乃久病着床之人,挨擦磨破而成”。多因久病气血两虚,经络瘀滞,肌肤失养,化腐致损,治疗需解毒祛腐、敛疮生肌。复方五凤草液中五凤草行水杀虫,祛腐解毒;白及敛疮止血,消肿生肌;猫爪草解毒消肿,诸药合用,使泄毒祛腐和生肌化新同时进行,毒邪得泄,气血得以化生则可生肌收

口^[19]。复方五凤草液前期主要用于治疗结核性溃疡,疗效显著^[13],后将其扩展应用于PI等慢性难愈性创面的治疗,也有较好疗效,且临床发现其联合负压封闭治疗效果更佳^[14]。

NPWT 使用多孔泡沫敷料覆盖创面并联合生物半透膜将创面由开放性转为闭合性,进行间歇性或持续性吸引,变被动引流为主动吸引引流,是治疗急、慢性创面和感染创面的重要方法^[20]。NPWTi 将 NPWT 与局部伤口滴注相结合,周期性地溶液输送到伤口床,使液体彻底覆盖创面,稀释、溶解并清除炎性分泌物及坏死组织,从而清洁伤口^[21]。研究发现,与常规 NPWT 相比,使用 NPWTi 更有利于伤口清洁和肉芽组织形成,且 NPWTi 在常规 NPWT 治疗失效后的复杂伤口中有效^[20]; NPWTi 现已作为创面封闭之前的替代疗法,用于治疗各种大面积、



p38 MAPK. p38 丝裂原活化蛋白激酶; NF-κB p65. 核因子-κB p65; iNOS. 诱导型一氧化氮合酶; TNF-α. 肿瘤坏死因子-α; Arg-1. 精氨酸酶-1; TGF-β. 转化生长因子-β; NPWTi. 负压滴灌治疗; 与空白组比较, (1) $P < 0.05$; 与模型组比较, (2) $P < 0.05$; 与生理盐水 NPWTi 组比较, (3) $P < 0.05$

图7 各组大鼠创面组织中 p38 MAPK、NF-κB p65、iNOS、TNF-α、Arg-1、TGF-β mRNA 相对表达水平比较 (n=6)

Fig.7 Comparison of relative levels of p38 MAPK, NF-κB p65, iNOS, TNF-α, Arg-1, TGF-β mRNA in rat wound tissue in each group (n=6)

慢性、复杂、深度难愈性创面^[11]。有临床研究报道, 24 例压疮患者采用 NPWTi 治疗后, 14 例成功进行了皮瓣移植, 其中 1 例 NPWT 治疗 1 个月无效, 但在 NPWTi 治疗 2 周后成功进行皮瓣移植^[22]。本研究发现, 复方五凤草液 NPWTi 能有效降低 PI 患者 PUSH 评分和创面细菌培养阳性率, 提高创面组织 VEGF 含量, 缩短创面愈合时间, 较生理盐水 NPWTi 更有利于压疮创面愈合, 但其具体作用机制尚不明确。

在慢性创面修复过程中, 巨噬细胞通过调节多种炎性因子和生长因子的分泌, 使愈合过程从炎症阶段过渡到增殖阶段以促进创面愈合, 充当了总指挥的作用^[8]。当组织受到损伤后, 巨噬细胞可迅速分化成促炎的 M1 型, 产生促炎介质 iNOS、TNF-α 等, 以杀灭入侵的病原体。随后, 这些 M1 型巨噬细胞

胞极化成抗炎/修复的 M2 型, 通过产生抗炎细胞因子 Arg-1、TGF-β 等, 来介导炎症消退和组织修复^[23]。正常情况下, M1 和 M2 型巨噬细胞极化处于动态平衡状态, 而在 PI 中, 巨噬细胞极化失衡, M1 到 M2 表型转化中断, 导致促炎因子的积累和抗炎因子的缺乏, 最终导致创面愈合受损^[9]。因此, 促进巨噬细胞 M1 型向 M2 型转换是慢性创面愈合的关键。

本课题组前期从巨噬细胞极化平衡角度对复方五凤草液治疗慢性创面的作用机制进行了初步探索, 发现复方五凤草液可能是通过调节 M1 型巨噬细胞向 M2 型极化来促进慢性创面的愈合^[24]。但巨噬细胞的极化过程涉及多条经典的信号通路, 其中 p38 MAPK/NF-κB 信号通路尤为重要^[10]。p38 MAPK 是调

节外周组织炎症性疾病中促炎细胞因子产生的最成熟的信号转导级联反应之一^[25]；该通路在低氧及紫外线等刺激下可发生磷酸化，从细胞质转移至细胞核内，激活下游NF- κ B信号通路，诱导巨噬细胞向M1型极化，导致巨噬细胞极化失衡^[10]。NF- κ B p65是NF- κ B中分布最广、作用最强的亚基，其磷酸化后既可减少抗炎因子的释放，又可增加炎症因子的活性，影响细胞组织修复功能^[26]。已有研究表明，p38 MAPK和NF- κ B水平升高是导致PI发生的重要原因^[27]，且p38 MAPK/NF- κ B在组织修复过程中参与M1到M2的转化过程，并调节巨噬细胞表型相关因子的表达^[28]，通过调控p38 MAPK/NF- κ B信号通路可以抑制巨噬细胞向M1型极化，并促进其向M2型极化。

本研究动物实验表明，复方五凤草液NPWTi能降低大鼠创面形态评分，改善创面组织病理学形态，促进创面组织血管生成标志物CD34的表达，并能有效降低血液及创面组织炎症因子p38 MAPK、NF- κ B p65、iNOS、TNF- α 水平，增高抗炎因子Arg-1、TGF- β 水平，治疗效果明显优于生理盐水NPWTi。由此推测，复方五凤草液NPWTi能有效地减轻创面炎症反应，刺激新生血管生成，促进创面组织修复，其作用机制可能是通过降低p38 MAPK、NF- κ B p65的表达，进而抑制巨噬细胞向M1型极化以及促进其向M2型极化来实现的。本课题组前期药理研究表明，复方五凤草液中含有没食子酸、原儿茶酸、对羟基苯甲酸、槲皮素、柚皮素等化学成分^[29]，其中没食子酸和槲皮素对p38 MAPK、NF- κ B的活化具有抑制作用^[30-31]，且没食子酸可以通过抑制巨噬细胞向M1型的极化而发挥抗炎作用^[32]，与本研究结果一致。

综上所述，复方五凤草液NPWTi可有效促进压疮创面的愈合，其作用机制可能是通过抑制p38 MAPK/NF- κ B信号通路的活化及表达，进而调节M1/M2巨噬细胞极化平衡。但p38 MAPK/NF- κ B信号通路与巨噬细胞极化之间的具体作用靶点尚不清晰，且复方五凤草液发挥主要有效成分有待深入研究。未来可对复方五凤草液的有效化学单体成分进行筛选，并开展化学单体成分对压疮的实验研究，以阐明复方五凤草液NPWTi对PI的具体调控机制。

【参考文献】

- Team V, Jones A, Teede H, et al. Pressure injury surveillance and prevention in australia: monash partners capacity building framework[J]. *Front Public Health*, 2021, 9: 634669.
- 沈鸣雁, 韩琳秋, 冯志仙. 我国医院内压力性损伤护理信息化管理研究的可视化分析[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2023, 39(11): 1083-1089.
- Hajhosseini B, Longaker MT, Gurtner GC. Pressure injury[J]. *Ann Surg*, 2020, 271(4): 671-679.
- 韩琳秋, 沈鸣雁, 唐心怡, 等. 成年住院烧伤患者压力性损伤预防策略的最佳证据总结[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2023, 39(9): 867-873.
- 郭艳侠, 梁珣, 朱文, 等. 我国住院患者压疮现患率及医院获得性压疮现患率的Meta分析[J]. *中国护理管理*, 2018, 18(7): 907-914.
- 涂仙凤, 孙成武, 庞国梅. 社区养老院压疮现患率调查与护理干预策略[J]. *国际医药卫生导报*, 2018, 24(19): 3039-3043.
- 贺伟峰, 闫凌峰. 巨噬细胞在创面愈合中的调节作用及其相关机制[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2023, 39(2): 106-113.
- Yu T, Gao M, Yang P, et al. Insulin promotes macrophage phenotype transition through PI3K/Akt and PPAR-gamma signaling during diabetic wound healing[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4217-4231.
- Toita R, Shimizu E, Murata M, et al. Protective and healing effects of apoptotic mimic-induced M2-like macrophage polarization on pressure ulcers in young and middle-aged mice[J]. *J Control Release*, 2021, 330: 705-714.
- Wu YX, Jiang FJ, Liu G, et al. Dehydrocostus lactone attenuates methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-induced inflammation and acute lung injury via modulating macrophage polarization[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(18): 9754.
- Kim PJ, Attinger CE, Constantine T, et al. Negative pressure wound therapy with instillation: International consensus guidelines update[J]. *Int Wound J*, 2020, 17(1): 174-186.
- 闫程程, 鞠上, 曹欣, 等. 复方黄柏液负压滴灌治疗对糖尿病足感染创面及相关炎症因子的影响[J]. *中华糖尿病杂志*, 2018, 10(7): 460-464.
- 黄子慧, 洪练青, 张国英, 等. 复方五凤草液对结核性溃疡的临床研究[J]. *陕西中医*, 2018, 39(9): 1257-1259.
- 朱思洵, 黄子慧, 何玲, 等. 复方五凤草液对大鼠慢性溃疡的药效学筛选研究[J]. *江西中医药*, 2020, 51(3): 61-64.
- Edsberg LE, Black JM, Goldberg M, et al. Revised national pressure ulcer advisory panel pressure injury staging system: revised pressure injury staging system[J]. *J Wound Ostomy Continence Nurs*, 2016, 43(6): 585-597.
- Günes UY. A prospective study evaluating the pressure ulcer scale for healing (PUSH tool) to assess stage II, stage III, and stage IV pressure ulcers[J]. *Ostomy Wound Manage*, 2009, 55(5): 48-52.
- Torbrand C, Anesäter E, Borgquist O, et al. Mechanical effects of negative pressure wound therapy on abdominal wounds - effects of different pressures and wound fillers[J]. *Int Wound J*, 2018, 15(1): 24-28.
- 李璐璐, 李蜀平, 孙道涵, 等. 芙蓉软膏对大鼠皮肤疮疡影响的药效学研究[J]. *上海中医药杂志*, 2018, 52(10): 78-81.
- 高敏行, 黄子慧, 朱思洵, 等. 泄毒生新外治法治疗溃疡型淋巴结核的临床疗效观察[J]. *现代中医临床*, 2021, 28(5): 28-33.
- Arowajolu OA, Wirth GA. Sacral and ischial pressure ulcer management with negative-pressure wound therapy with instillation and dwell[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2021, 147(1S-1): 61S-67S.
- Dale AP, Saeed K. Novel negative pressure wound therapy with instillation and the management of diabetic foot infections[J]. *Curr*

- Opin Infect Dis, 2015, 28(2): 151-157.
- [22] Fluieraru S, Bekara F, Naud M, *et al.* Sterile-water negative pressure instillation therapy for complex wounds and NPWT failures[J]. *J Wound Care*, 2013, 22(6): 293-294, 296, 298-299.
- [23] Orecchioni M, Ghosheh Y, Pramod AB, *et al.* Macrophage polarization: different gene signatures in M1(LPS+) *vs.* classically and M2(LPS-) *vs.* alternatively activated macrophages[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1084.
- [24] 高璐珺, 黄子慧, 朱思洵, 等. 复方五凤草液对创面愈合和巨噬细胞极化的影响[J]. *中成药*, 2022, 44(5): 1612-1617.
- [25] Xing B, Bachstetter AD, van Eldik LJ. Microglial p38 α MAPK is critical for LPS-induced neuron degeneration, through a mechanism involving TNF α [J]. *Mol Neurodegener*, 2011, 6: 84.
- [26] Xu J, Xiao C, Xu H, *et al.* Anti-inflammatory effects of *Ganoderma lucidum* sterols *via* attenuation of the p38 MAPK and NF-kappaB pathways in LPS-induced RAW 264.7 macrophages[J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 150: 112073.
- [27] Niemiec SM, Louiselle AE, Liechty KW, *et al.* Role of microRNAs in pressure ulcer immune response, pathogenesis, and treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1): 64.
- [28] Zhu G, Zhao G, Lin J, *et al.* FCN-A mediates the inflammatory response and the macrophage polarization in *Aspergillus fumigatus* keratitis of mice by activating the MAPK signaling pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106473.
- [29] 钱佳燕, 黄子慧, 陈肯, 等. UPLC-PDA法同时测定复方五凤草液中7种成分[J]. *中成药*, 2020, 42(1): 37-40.
- [30] Kim SH, Jun CD, Suk K, *et al.* Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells[J]. *Toxicol Sci*, 2006, 91(1): 123-131.
- [31] Yin G, Wang Z, Wang Z, *et al.* Topical application of quercetin improves wound healing in pressure ulcer lesions[J]. *Exp Dermatol*, 2018, 27(7): 779-786.
- [32] Ahn CB, Jung WK, Park SJ, *et al.* Gallic acid-g-chitosan modulates inflammatory responses in LPS-stimulated RAW264.7 cells *via* NF-kappaB, AP-1, and MAPK pathways[J]. *Inflammation*, 2016, 39(1): 366-374.

(责任编辑: 纪方方)

