

DOI: 10.20098/j.cnki.1001-5132.2025.1008

丝素蛋白激活 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路促进皮肤创面愈合

刘 栋, 刘俊杰, 刘聪莹, 曲 鹏, 陶 然, 杨利敏*
(大连大学 医学院, 辽宁 大连 116622)

摘要: 探讨丝素蛋白通过调控核因子 E2 相关因子 2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/Kelch 样 ECH 关联蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)/血红素加氧酶-1 (Hemoglobin oxygenase-1, HO-1) 信号通路促进皮肤创面愈合的作用机制。采用 3~4 周龄雌性 SPF 级 BALB/c-nu 裸小鼠, 建立背部全皮层创面模型, 随机分为正常对照组、凡士林组、5%丝素蛋白组、维生素 E 组及 SP+Nrf2 抑制剂 Brusatol 组, 连续 21 d 每日局部给药 1 次。第 0、7、14、21 天测量创面面积, 第 21 天取皮 H&E 染色、Masson 染色并检测 Nrf2/Keap1/HO-1 蛋白表达, 第 21 天取血清检测总超氧化物歧化酶 (Total Superoxide Dismutase, T-SOD)、丙二醛 (Malonaldehyde, MDA)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 含量。与对照组及凡士林组相比, 5%丝素蛋白组能显著缩小创面面积, 促进表皮及真皮结构修复和胶原增生, 增加 T-SOD 及 CAT 并降低 MDA 水平, 上调 Nrf2/HO-1 和下调 Keap1 蛋白表达 (均 $P < 0.05$), 说明丝素蛋白可激活 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路和调节氧化应激促进皮肤创面愈合。

关键词: 丝素蛋白; 创面愈合; 氧化应激; Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路

中图分类号: R722.14+2; R966

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2026) 02-0059-08

Silk fibroin activates Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway to promote skin wound healing

LIU Dong, LIU Junjie, LIU Congying, QU Peng, TAO Ran, YANG Limin*
(Medical College, Dalian University, Dalian 116622, China)

Abstract: This paper aims to investigate the mechanism by which silk fibroin promotes skin wound healing through regulation of Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway. 3–4 week-old female SPF-grade BALB/c-nu nude mice were used to establish dorsal full-thickness skin wound models. Groups were randomly assigned as follows: normal control, vaseline, 5% silk fibroin, vitamin E and SP+Nrf2 inhibitor brusatol. Topical application was administered once daily for 21 consecutive days. Wound area measurements were taken on days 0, 7, 14, and 21. On day 21, skin samples were harvested for H&E staining, Masson's trichrome staining, and detection of Nrf2, Keap1, HO-1 protein expression. On day 21, serum samples were collected to measure T-SOD, MDA and CAT levels. Compared with control and vaseline groups, the 5% silk fibroin group significantly reduced wound area, promoted epidermal and dermal structural repair and collagen proliferation, increased T-SOD and CAT levels while decreasing MDA levels, and upregulated Nrf2 and HO-1 protein expression while downregulating Keap1 expression (all $P < 0.05$). The results demonstrated that silk fibroin activates Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway and modulates oxidative stress to promote skin wound healing.

Keywords: silk fibroin; wound healing; oxidative stress; Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway

收稿日期: 2025-10-17

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journal.lg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 辽宁省教育厅科学研究项目 (L2019602)

第一作者: 刘 栋, 硕士/主管药师, 主要研究方向为神经生物学和药理学。E-mail: 845518225@qq.com

*通信作者: 杨利敏, 博士/教授, 主要研究方向为神经生物学和药理学。E-mail: yanglimin@dlu.edu.cn

皮肤创面愈合是由多种生物活性物质共同参与的复杂病理生理过程,涉及止血、抗炎、增殖和再上皮化等阶段,与炎症反应、氧化应激及细胞凋亡等机制密切相关^[1-3]。目前临床面临自然愈合周期长、疗效欠佳、易继发感染等问题,且针对皮肤创伤的有效治疗药物仍较为匮乏,因此迫切需要开发新型天然药物并探索其作用靶点。Nrf2 作为调控氧化应激的核心转录因子,在生理状态下与胞质中 Keap1 结合。当组织受损引发氧化应激时, Nrf2 与 Keap1 解离并转位入核,并且启动下游抗氧化基因 HO-1、T-SOD、CAT 的表达,通过清除氧自由基、降低脂质过氧化产物(如 MDA)等途径来减轻组织损伤^[4-7]。该通路已成为促进创面愈合的重要调控靶点。与 NF-KB、MAPK 等炎症信号通路由于激活促炎因子后放大炎症反应的正性调控相比, Nrf2 信号通路属于负性调控,即通过激活抗氧化基因进而抑制氧化应激反应,同时,激活 Nrf2 信号通路的核心功能是维持氧化还原动态平衡,而炎症反应主要介导免疫应答,过度激活反而会导致组织损伤,并且两者在作用机制、功能定位和疾病关联等方面差异明显。丝素蛋白作为一种天然生物聚合物,主要由丝素蛋白和丝胶蛋白构成,具有优异生物相容性、高保湿性及透气性^[8-9],其是否能通过调控 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路促愈合尚未明确。

前期研究^[10-11]表明,丝素蛋白可通过抑制炎症因子表达加速创面修复。本课题组前期实验证实,5%与 10%丝素蛋白制剂在抗炎功效上无显著性差异,因此本研究选择 5%丝素蛋白进行后续机制探索,希望通过建立裸小鼠全皮层创口模型,系统评价其对创面愈合进程、组织形态重建、胶原增生及氧化应激关键指标的影响,旨在阐明其基于 Nrf2/Keap1/HO-1 通路的分子作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

30 只雌性 SPF 级 BALB/c-nu 裸小鼠, (20±2) g, 3~4 周龄(辽宁长生生物技术股份有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(辽)2020-0001),饲养于 SPF 级动物房,自由饮食饮水,昼夜节律正常,所有操作均符合动物实验伦理规范(大连大学实验动物福利伦理审查编号 K2024-021)。

1.2 试剂与仪器

医用级白凡士林,青岛锦麒生物科技有限公司;丝素蛋白,西安沣禾生物科技有限公司;维生素 E 软胶囊,江西天之海药业股份有限公司;Brusatol,美国 MedChemExpress 公司;中性多聚甲醛固定液,辽宁吉加生物科技有限责任公司;苏木素-伊红(H&E)、马松(Masson)染色试剂盒,江苏凯基生物科技股份有限公司;总超氧化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;β-Actin 一抗,美国 Affinity Biosciences 公司;Nrf2 一抗、Keap1 一抗、HO-1 一抗、HRP 标记的二抗,武汉爱博泰克生物科技有限公司;RM2016 病理切片机,上海徕卡仪器有限公司;Nikon Eclipse C1 正置白光显微镜、NIS_F_Ver43000_64bit_E 显微镜成像软件、NIKON digital sight DS-Fi2 显微镜成像系统,日本尼康株式会社;BIO-RAD ChemiDoc XRS+ 凝胶成像系统,美国伯乐公司;DYY-6C 型电泳仪,北京六一生物科技有限公司;Bio Tek Synergy H1 多功能酶标仪,美国安捷伦公司。

1.3 建立创口模型及分组给药

30 只裸小鼠随机分为 5 组(每组 6 只),各组裸小鼠麻醉、消毒后行背部中央全皮层切除术,切取创口为 1.0 cm×0.5 cm,术后行创口消毒及体温复苏,待术后鼠醒且未出现其他异常时,即为造模成功。具体给药方式如下:正常对照组(CON 组,不做任何处理,自然愈合)、凡士林组(VSL 组,每天背部创口处均匀涂抹凡士林 0.5 g/只)、5%丝素蛋白组(SP 组,每天背部创口处均匀涂抹 5%丝素蛋白 0.5 g/只);5%丝素蛋白配置方法:将 5.0 g 丝素蛋白混匀在 35℃预热融化后的 100.0 mL 凡士林溶液后,迅速置于 4℃低温凝固即得)、维生素 E 阳性组(VE 组,每天背部创口处均匀涂抹 VE 0.05 g/只)、SP+Nrf2 抑制剂 Brusatol 组(SP+Bru 组,每天腹腔注射 2 mg/kg Brusatol,该抑制剂属于 Nrf2 特异性抑制剂,按说明书用法用量进行操作),除 CON 组外,其余各组均每天在 12:00~14:00 给药 1 次,连续 21 d。

1.4 测定创面面积

给药第 0、7、14、21 天分别对裸小鼠背部创面拍照记录,使用医用透明皮肤面积评估软膜测量

创面面积 (单位 cm^2)。

1.5 H&E 染色观察皮肤创面组织形态

第 21 天处死鼠后取其皮肤创面组织,多聚甲醛 4°C 固定 48 h,梯度乙醇脱水浸蜡,石蜡包埋, $4\mu\text{m}$ 切片,脱蜡至水, H&E 染色 (按试剂盒说明书操作),脱水并中性树胶封片,显微镜镜检并采集图像,观察创面组织形态学变化。采用 Image J 软件进行表皮和真皮厚度测定,并计算真皮与表皮之比 (S),计算公式如下:

$$S = S_r / S_s$$

式中: S_r 为真皮厚度, mm; S_s 为表皮厚度, mm。

1.6 Masson 染色观察皮肤胶原纤维面积分布情况

按 Masson 染色试剂盒说明书操作,其余步骤同 1.5 章节,观察创面组织的胶原纤维变化,采用 Image J 软件进行面积测定并计算胶原容积分数 (Collagen Volume Fraction, CVF),算式如下:

$$R_{\text{CVF}} = R_{\text{CFA}} / R_{\text{TA}}$$

式中: R_{CVF} 为胶原容积分数; R_{CFA} 为胶原纤维面积, cm^2 ; R_{TA} 为组织总面积, cm^2 。

1.7 生化反应检测皮肤创面组织 T-SOD、MDA、CAT 含量

第 21 天处死鼠后取血,离心取血清按 T-SOD、MDA、CAT 检测试剂盒说明书进行操作,酶标仪进行吸光度测量,按试剂盒说明书进行含量计算。

1.8 Western Blot 检测皮肤创面组织 Nrf2、Keap1、HO-1 蛋白表达

第 21 天处死鼠后取皮肤创面组织,冰上研磨后加入蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂、RIPA 蛋白裂解液提取蛋白,BCA 蛋白定量,进行聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳、转膜, PBST 洗膜 3

次,每次 5 min, 5% 牛奶室温封闭 2 h, PBST 洗膜 6 次,每次 5 min, 一抗 $\beta\text{-Actin}$ (1:10 000)、Nrf2 (1:1 000)、HO-1 (1:2 000), 4°C 孵育过夜, PBST 洗膜 6 次,每次 5 min, HRP 标记的二抗 (1:5 000) 室温孵育 2 h, PBST 洗膜 6 次,每次 5 min, 超敏 ECL 化学发光液显影,显影仪拍片,采用 Image J 软件对条带进行灰度值分析,并计算出蛋白相对表达量。

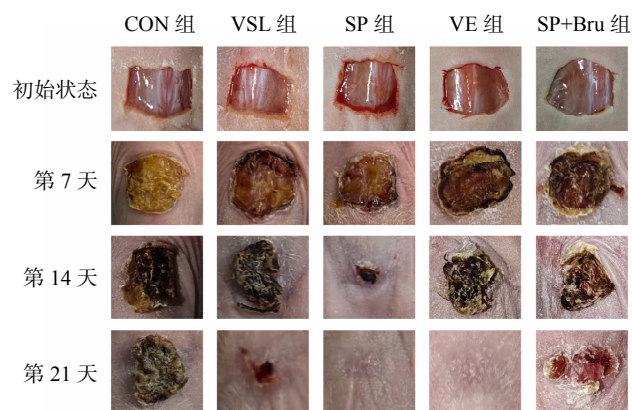
1.9 统计学分析

数据经 Graphpad Prism 6.01 软件处理,采用单因素方差分析结合 Tukey 事后检验进行统计学分析,并绘制出相关统计图。实验结果以 ($\bar{X} \pm S$) 表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义的判定标准。

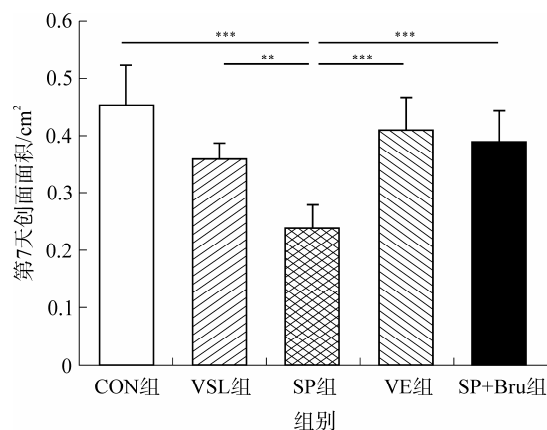
2 结果

2.1 丝素蛋白可促进皮肤创面愈合

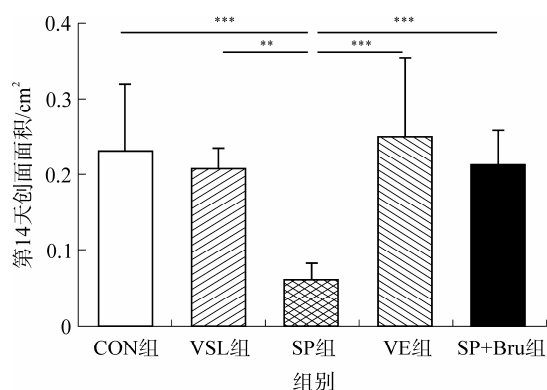
如图 1 所示,在给药第 7 天,各组裸小鼠背部创面均出现结痂和表面干燥等愈合表现。与 CON 组相比, SP 组创面面积明显缩小 ($P < 0.001$),且 SP 组的愈合效果优于 VSL 组 ($P < 0.01$) 和 VE 组 ($P < 0.001$)。第 14 天, SP 组创面面积仍显著小于 CON 组 ($P < 0.001$)、VSL 组 ($P < 0.01$) 和 VE 组 ($P < 0.001$)。第 21 天, SP 组创面面积较 CON 组明显减小 ($P < 0.001$),周围毛发逐渐恢复生长,且 SP 组创面愈合程度优于 VSL 组 ($P < 0.01$),并与 VE 组无统计学差异 ($P > 0.05$)。此外, SP 组与 SP+Bru 组在各时间点创面面积均有统计学差异 ($P < 0.001$), SP 组整体创面面积持续缩小,愈合趋势更为明显。综上,丝素蛋白能有效促进裸小鼠皮肤创面收缩与愈合,其疗效优于凡士林和维生素 E。



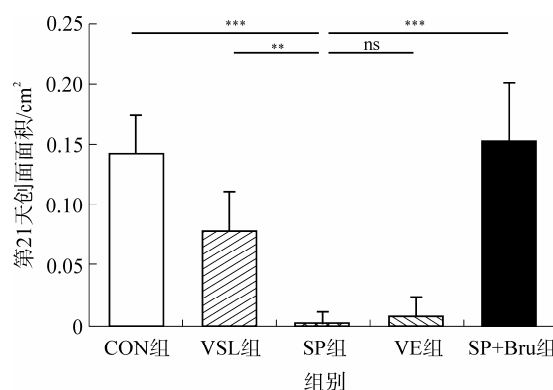
(a) 各组小鼠皮肤不同时间下的创面照片



(b) 第7天各组小鼠创面面积统计



(c) 第14天各组小鼠创面面积统计



(d) 第21天各组小鼠创面面积统计

* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; ns: 差异无统计学意义; CON组: 正常对照组; VSL组: 凡士林组; SP组: 丝素蛋白组; VE组: 维生素E组; SP+Bru组: 丝素蛋白+Nrf2抑制剂组; 下图同。

图1 皮肤创面愈合情况及创面面积

2.2 丝素蛋白促进皮肤创面组织结构重建及附属器再生

如图2(a)所示, H&E染色结果显示, 给药第21天, CON组、SP组和VE组裸小鼠皮肤创面修复效果较好, 表皮层与真皮层组织结构排列整齐、层次清晰, 真皮层较薄, 能够观察到毛囊等皮肤附属结构, 提示组织修复较为完善。相比之下, VSL组和SP+Bru组皮肤创面真皮层出现明显结构紊乱和异常增生, 皮层明显变厚, 毛囊等皮肤附属器缺失, 表明愈合质量较差。如图2(b)所示, 与SP组相比, CON组、VE组真皮与表皮比(S)之间均无显著性差异($P>0.05$), 但与VSL组($P<$

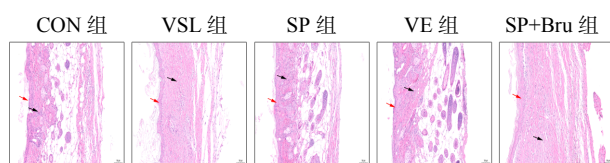
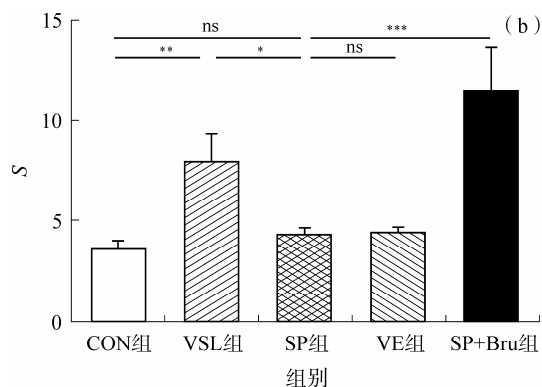
(a) 皮肤创面 H&E 染色结果 (放大倍数 $\times 100$, 表皮为红色箭头, 真皮为黑色箭头)

图2 皮肤创面染色结果及创面真皮与表皮比

0.05)、SP+Bru组($P<0.001$)之间有显著性差异, 提示愈合皮肤中真皮层出现明显异常弥散性增厚。由此可见, 丝素蛋白能显著改善创面局部组织的结构重建, 促进表皮和真皮有序修复, 并有助于皮肤附属器的再生, 其愈合效果优于VSL组及SP+Bru组, 显示出良好的组织修复促进作用。

2.3 丝素蛋白促进创面胶原有序再生并抑制过度增生

如图3所示, 第21天Masson染色及胶原容积分数(CVF)定量分析结果显示, CON组和SP组创面区新生胶原纤维分布均匀、排列有序, CVF之间无显著性差异($P>0.05$), 提示胶原沉积处于正常生理范围。相比之下, VSL组、VE组及SP+Bru

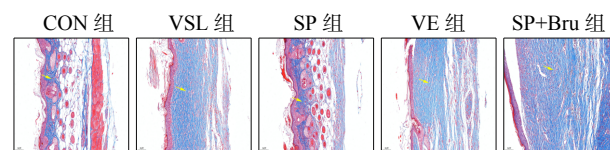
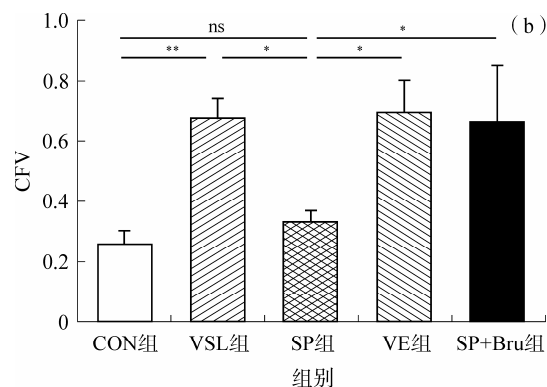
(a) 皮肤创面 Masson 染色 (放大倍数 $\times 100$, 胶原为黄色箭头)

图3 皮肤创面 Masson 染色结果及创面 CVF 统计

组新生胶原纤维分布紊乱, 呈现明显的弥漫性和过度增生, CVF 均显著高于 SP 组 ($P<0.05$)。上述结果表明, 丝素蛋白能够有效促进创面胶原纤维的有序再生, 避免不利的异常增生, 从而有助于皮肤组织的功能性修复。

2.4 丝素蛋白对皮肤创面组织 T-SOD、MDA、CAT 含量的影响

如图 4 所示, 治疗 21 天后, SP 组裸小鼠创面组织中 T-SOD、MDA 及 CAT 含量均表现出较高水平。与 SP 组相比, CON 组和 VE 组的 MDA 和 CAT 含量无显著性差异 ($P>0.05$), VE 组的 T-SOD 含量也与 SP 组无显著差异 ($P>0.05$)。而 VSL 组和 SP+Bru 组的 MDA 含量均显著高于 SP 组 ($P<0.01$,

$P<0.001$), T-SOD 和 CAT 含量则均显著低于 SP 组 ($P<0.001$)。此外, CON 组和 SP+Bru 组的 T-SOD 含量均明显低于 SP 组 ($P<0.001$)。综上, 丝素蛋白能够有效提高创面组织抗氧化酶活性, 降低脂质过氧化产物水平, 其抗氧化效果明显优于 VSL 组和 SP+Bru 组, 与 VE 组和 CON 组相当, 提示其在促进创面愈合过程中具有显著抗氧化作用。

2.5 丝素蛋白对皮肤创面组织 Nrf2、Keap1、HO-1 蛋白表达的影响

如图 5 所示, SP 组裸小鼠创面组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平显著上调。与 SP 组相比, CON 组和 VE 组的 Nrf2 蛋白表达量均无显著差异 ($P>0.05$), 但 CON 组表达量呈减少趋势, VSL 组和 SP+Bru 组的 Nrf2 蛋白表达量均显著低于 SP 组 ($P<0.05$)。在 Keap1 蛋白表达方面, CON 组 ($P<0.01$)、VSL 组 ($P<0.05$) 及 SP+Bru 组 ($P<0.001$) 均显著高于 SP 组, 而 VE 组与 SP 组相比, Keap1 蛋白无显著性差异 ($P>0.05$)。在 HO-1 蛋白表达方面, 与 SP 组相比, CON 组和 VE 组均无显著差异 ($P>0.05$), 但两者蛋白表达量均呈下降趋势, 同时 VSL 组和 SP+Bru 组均显著低于 SP 组 ($P<0.05$)。上述结果显示, 丝素蛋白能显著增强皮肤创面中 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路的激活水平, 很可能是其促进创面愈合的重要分子机制之一。

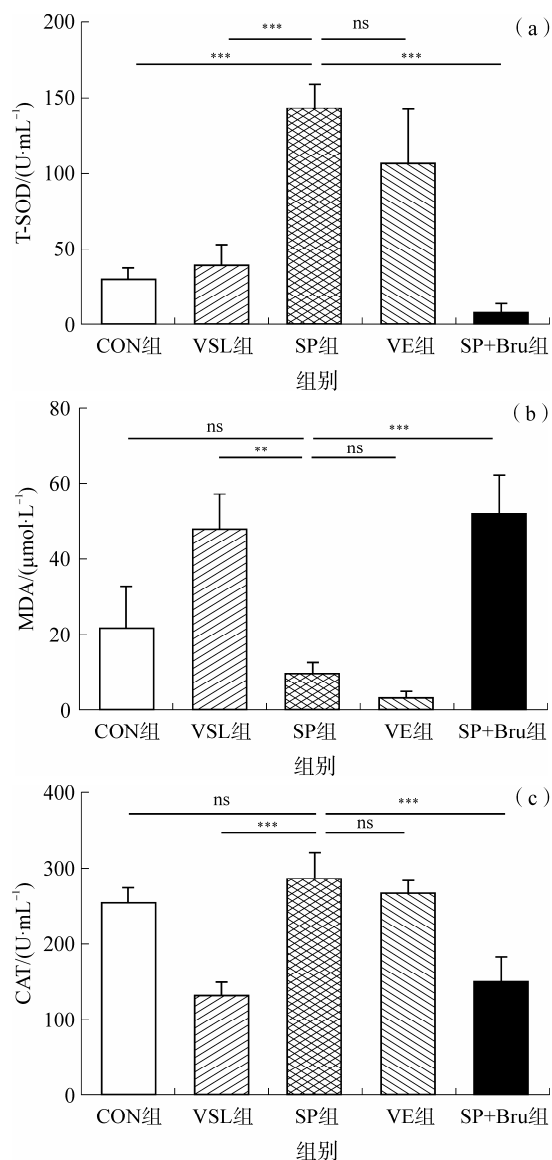
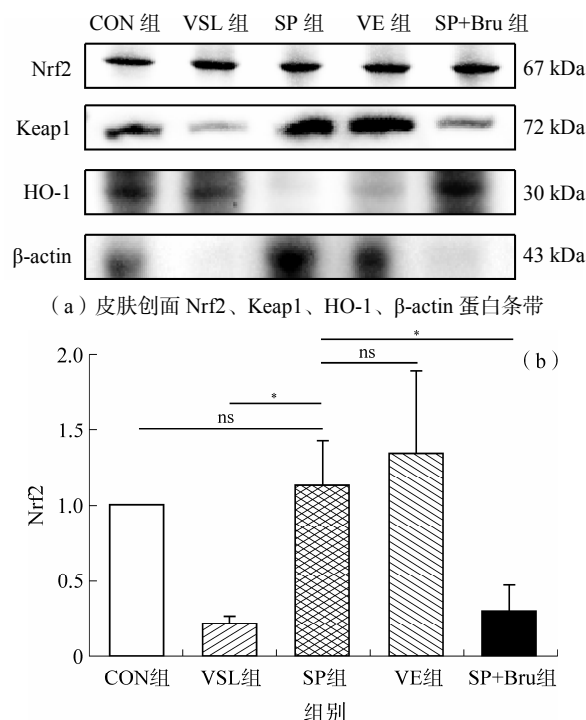


图4 皮肤创面 T-SOD、MDA、CAT 统计



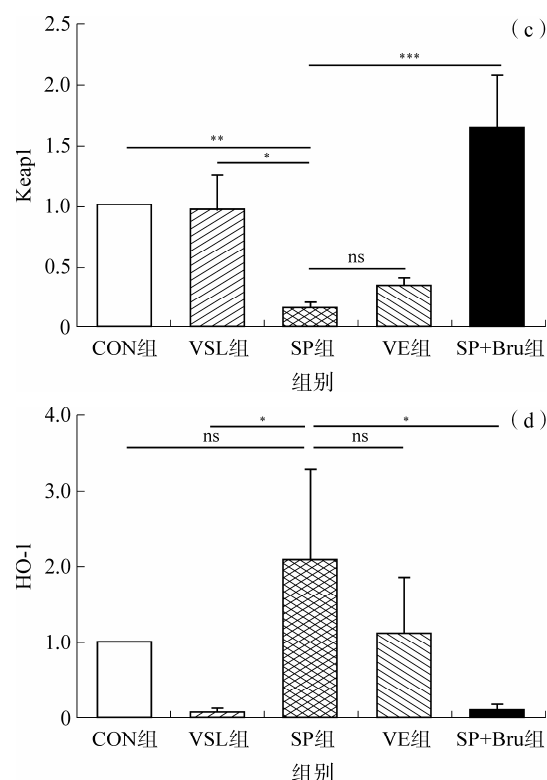


图5 皮肤创面 Nrf2、Keap1 和 HO-1 蛋白表达情况

3 讨论

本研究系统探讨了丝素蛋白促进皮肤创面愈合的机制,重点阐明了 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路在该过程中的作用,并与传统抗氧化剂进行比较。结果显示,SP 组能显著加速小鼠皮肤创面的愈合,其收敛速度和组织修复效果均优于 VSL 组、VE 组和 SP+Bru 组,并在多个评价指标上展现出独特优势。组织学分析表明,SP 组创面在愈合后期,表皮与真皮层结构排列有序、层次分明,毛囊等皮肤附属器再生完整,接近正常皮肤形态,而 VSL 组和 SP+Bru 抑制剂组则普遍出现真皮失序、显著增生及皮肤附属器丢失,提示丝素蛋白在推动高质量结构重建方面作用突出^[12]。胶原染色结果进一步佐证了 SP 组对胶原沉积的调节作用,其创面新生胶原纤维排列有序,CVF 值接近正常水平,有助于组织力学性能恢复,能有效避免因过度沉积导致的瘢痕形成^[13]。相比之下,VSL 组、VE 组和 SP+Bru 组均表现出胶原纤维弥散性增生,CVF 显著高于 SP 组和对照组,反映出愈合质量的不足。在抗氧化方面,SP 组不仅显著提升了 SOD 与 CAT 活性,

降低了 MDA 水平,还与氧化应激相关损伤减少、修复环境优化密切相关^[14-16];该抗氧化效应与 VE 组相当,但显著优于 VSL 组和 SP+Bru 组。蛋白表达结果显示,SP 组特异性增强了 Nrf2 及下游 HO-1 的表达,促进了 Keap1 与 Nrf2 的解离,且在 Nrf2 通路被抑制后,该抗氧化与修复优势消失,进一步确证了 Nrf2/Keap1/HO-1 通路在丝素蛋白促进皮肤愈合中的关键枢纽作用^[17-18]。结合上述各种结果可见,丝素蛋白通过上调 Nrf2 信号,激活 HO-1 表达,从而提升皮肤局部抗氧化酶活性,减轻氧化损伤,促进胶原纤维有序重塑及组织结构功能重建,最终实现高质量的创面修复^[19-20]。

Nrf2 是细胞响应氧化应激的关键转录因子,在维持细胞内源性稳态中扮演着核心角色,其功能可被视为细胞抗氧化防御网络的主导。当细胞受到活性氧或亲电试剂攻击时,Nrf2 通路激活后上调一系列包含抗氧化酶、II 相解毒酶在内的细胞保护基因的表达,是细胞启动自我保护程序的标志性事件,可协同增强细胞的存活能力和修复效果^[21-22]。因此,检测 Nrf2 的活化水平已成为评估外界刺激能否激发细胞内在防御机制的关键指标之一。Nrf2 活性受到其胞质抑制蛋白 Keap1 的精密调控,在稳态下,Keap1 作为 E3 泛素连接酶的适配体,介导 Nrf2 的持续泛素化与蛋白酶体降解,使其维持在低水平。当发生氧化应激时,通常通过作用于 Keap1 的特定半胱氨酸残基诱导其构象改变或与其竞争结合,从而瓦解 Keap1 介导的 Nrf2 泛素化降解复合物,或解离与 Nrf2 的联结;还可通过分解 Keap1 造成与 Nrf2 的分离,从而释放出大量游离态 Nrf2 于细胞质中,实现 Nrf2 活化、稳定蓄积与核转位,进一步识别并结合靶基因启动子区的抗氧化反应元件,招募组蛋白乙酰转移酶等共激活因子,强力启动下游抗氧化基因的转录^[23-24]。Nrf2 下游效应因子众多,其中直接抗氧化蛋白代表性物质如 HO-1、SOD、CAT 等,此类蛋白能够直接中和活性氧和活性氮,是抗氧化防御的最直接途径和第一道防线。在 Nrf2 庞大的靶基因网络中,HO-1 占据尤为重要的地位,研究 HO-1 必须关联 Nrf2。首要原因在于两者存在直接转录调控关系,HO-1 基因的启动子区含有典型的抗氧化反应元件序列,是 Nrf2 的经典下游靶点;其次从机制完整性角度,任何对 HO-1

的上游诱导信号探究,其最终通路常都汇聚于 Nrf2 的激活;最后在功能验证方面,利用 Nrf2 基因敲除模型可明确证实 HO-1 的诱导是 Nrf2 依赖性途径所必需的^[25-26]。因此,通过上游调控因子 Nrf2 观察下游效应因子 HO-1 的表达变化可阐明其根本机制。由本研究对 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路检测可以发现,SP 能直接高效降解 Keap1,使 Nrf2 解偶联后被释放,从而激活 Nrf2 通路,促进胞质中 Nrf2 快速累积,并转位入核启动抗氧化基因转录,最终增加相关下游抗氧化信号因子(如 HO-1、SOD 与 CAT)的表达。

皮肤形态学方面,在皮肤组织重建与附属器再生中,适量 Nrf2 可通过减轻氧化应激、控制炎症和促进肉芽组织形成来驱动高效伤口愈合、减少疤痕;在炎症期,Nrf2 通过抑制 NF- κ B 信号通路来减轻过度炎症反应,为修复创造有利环境;在增殖期,其下游靶基因(如 HO-1 等)通过促进血管生成和角质形成细胞迁移,加速再上皮化和肉芽组织的形成。同时,毛囊再生依赖于毛囊干细胞及其信号微环境的精确调控,Nrf2 适度活化对于维持这些干细胞的自我更新能力和存活至关重要。通过维持毛囊干细胞及周围细胞的内环境稳态,能保护干细胞免受代谢和氧化损伤,缩短毛囊再生周期,并刺激新生毛囊的形成^[27-28]。本研究的 H&E 结果体现出 Nrf2 不仅是损伤应答的调控者,更是引导修复从简单的瘢痕愈合转向包含功能性附属器二次再生的核心分子开关。不仅如此,Nrf2 还是调控皮肤胶原蛋白代谢平衡的关键因子,适量激活 Nrf2 能使其通过双重机制促进胶原新生,且不过度发展成瘢痕组织。一方面,通过减轻氧化应激,直接保护成纤维细胞功能,抑制基质金属蛋白酶对胶原蛋白的过度降解;另一方面,Nrf2 下游的 HO-1 等因子也能创造出更有利的微环境,间接刺激成纤维细胞合成,并分泌更多的胶原蛋白,从而恢复皮肤内胶原结构和增加胶原密度,改善皮肤组织结构和促进损伤修复效果^[29-30]。本研究还进一步发现,SP 可通过激活适当水平的 Nrf2 来调控受损区域新生胶原纤维的有序再生,并使其趋近正常组织状态,从而避免如 VE 作用下因抗氧化系统过度活跃及过氧化反应失衡引发的瘢痕形成问题。值得注意的是,SP 的促愈特性与 VE 存在显著差异。SP 起效迅速

(7 d 即可显现效果),作用过程温和,在较低体内药物载量时便可发挥强大的促愈和维稳效能;而 VE 作用缓慢(14 d 后才出现明显作用),且作用过程强烈,不仅需要较高的体内药物载量才能起效,而且体现出高浓度药物累积下的急骤型、过度型愈合,造成皮肤组织与胶原结构修复进程紊乱,最终呈现愈合周期长、内部形态异常等不良现象。上述结果表明,SP 促愈路径与 VE 相比具有显著独特性,且在修复效果与生物相容性方面更具优势。

丝素蛋白有效弥补了凡士林缺乏抗氧化与组织重塑功能的问题,维生素 E 虽具抗氧化作用,但促结构重建能力有限,还进一步明确了其修复效能与 Nrf2 信号的直接关联,为开发高效、安全的新型创面敷料奠定了坚实的理论基础。当然,本研究仍存在一定局限性,如机制研究尚未覆盖全部 Nrf2 下游效应因子,动物实验结果的有效性及其安全性仍需在更大样本背景下进一步验证。未来研究应结合体内外多维实验、纳米递送等新策略,深入阐明其分子机制,加快向临床转化的步伐。

参考文献:

- [1] 阙平鑫毅,肖湘,曾立,等. 探讨皮粘散调控 Wnt4/ β -catenin 信号通路促进慢性皮肤溃疡小鼠创面愈合的作用机制[J]. 北京中医药大学学报, 2025, 48(2):205-215.
- [2] RODRIGUES M, KOSARIC N, BONHAM C A, et al. Wound healing: a cellular perspective[J]. *Physiological reviews*, 2019, 99(1):665-706.
- [3] 曹文海. 富血小板血浆来源外泌体通过 JAK2/STAT3 通路缓解成纤维细胞凋亡促进糖尿病伤口愈合的机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2023.
- [4] 胥晓倩,欧阳欣,郭龄,等. 丙泊酚调控 Nrf2/HO-1 通路对缺氧/复氧诱导心肌细胞铁死亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(6):1442-1447.
- [5] WAN Y Z, GAO Q, YE B, et al. Multifunctional hydrogel loaded with 4-octyl itaconate and exosomes to induce bone regeneration for diabetic infected bone defect via Keap1-Nrf2 pathway[J]. *Materials today bio*, 2025, 31: 101588.
- [6] 冯隽龙,王彬,孙松,等. 基于 Keap1/Nrf2/HO-1 通路探讨菟丝子黄酮对少弱精子症大鼠生精功能的影响[J/OL]. 辽宁中医杂志, 2025:1-11. [2025-04-13]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1128.r.20250312.1900.040.html>.
- [7] KUNDU J K, SURH Y J. Nrf2-Keap1 signaling as a potential target for chemoprevention of inflammation-

- associated carcinogenesis[J]. *Pharmaceutical research*, 2010, 27(6):999-1013.
- [8] 李熙, 金子敏, 李小龙, 等. 蚕丝蛋白对人皮肤成纤维细胞的保湿性能[J]. *染整技术*, 2024, 46(11):21-26.
- [9] 李燕威. 蚕丝蛋白新材料的制备及其用于花青素稳定性和创面修复的研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2023.
- [10] 黎麟玉, 严小飞, 田伟. 再生蚕丝蛋白纤维的湿法制备及医学应用现状[J]. *棉纺织技术*, 2022, 50(8):80-84.
- [11] 李萌萌, 王自立, 高玉洁, 等. 慢性炎症伤口的蚕丝基敷料研究进展[J]. *丝绸*, 2023, 60(1):40-48.
- [12] YAN Y, LI M, GUO L, et al. Silk fibroin hydrogel with recombinant silk fibroin/NT3 protein enhances wound healing by promoting type III collagen synthesis and hair follicle regeneration in skin injury[J]. *Materials today bio*, 2025, 33:101957.
- [13] 杨利霞, 刁立琴, 李华, 等. 重组III型人源化胶原蛋白改善大鼠光老化皮肤的调控机制[J]. *中国组织工程研究*, 2026, 30(8):1988-2000.
- [14] 张孝炜, 闫炳翰, 仇道迪, 等. 天然产物调控氧化应激治疗脊髓损伤[J]. *中国组织工程研究*, 2025, 29(12):2560-2568.
- [15] QU C F, LIANG S X, WANG K P, et al. EPA-enriched lipid from *Apostichopus japonicus* byproducts mitigates UVB-induced oxidative stress and inflammation by gut-skin axis[J]. *Food research international*, 2025, 208:116085.
- [16] 杨雅, 徐磊, 刘荣昌, 等. 薰衣草总黄酮对皮肤光损伤小鼠氧化应激的影响[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(1):172-179.
- [17] 刘冬恋, 赵玉玺, 秦星宇, 等. 黄芩苷对糖尿病小鼠皮肤创口愈合及 Nrf2/HO-1 信号通路的影响[J]. *中成药*, 2024, 46(12):4157-4163.
- [18] 郝国雄, 靳晓杰, 徐倩, 等. 中医药通过调控 Keap1/Nrf2 信号通路对急性肺损伤氧化应激的保护作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2025, 41(5):727-731.
- [19] 江波, 牟艳杰, 孙勤国, 等. 滋阴补肾方调控 Nrf2/HO-1 通路抑制糖尿病性骨质疏松大鼠的氧化应激[J]. *中国老年学杂志*, 2025, 45(12):2947-2951.
- [20] GENG X, LI W, QU J, et al. Modified fish-skin-collagen-based hydrogels with antioxidant and antibacterial functions for diabetic wound healing[J]. *Advanced healthcare materials*, 2025, 14(21):e2501456.
- [21] ZHOU Q H, CEN P P, CHEN Z, et al. Roles of the Keap1/Nrf2 pathway and mitophagy in liver diseases[J]. *Journal of Zhejiang university: science B*, 2025, 26(10):972-994.
- [22] XIAO D, LI R Z, LIN X T, et al. A functional drug discovery in ameliorating cardiac remodeling based on NRF2-regulated oxidative stress[J/OL]. *Food science and human wellness*, 2025:1-20. [2025-05-14]. <https://link.cnki.net/urlid/10.1750.TS.20250218.1011.004>.
- [23] 倪晓琦, 陈锡威, 金晓锋. E3 泛素连接酶接头蛋白 Keap1 的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2022, 49(2):328-348.
- [24] LIU X, XU W, LI Z, et al. SNAPIN facilitates progression of hepatocellular carcinoma by hindering ferroptosis through KEAP1 degradation promotion[J]. *Cancer science*, 2025. DOI:10.1111/cas.70244.
- [25] LIU C X, GUO X Y, ZHOU Y B, et al. Therapeutic role of Chinese medicine targeting Nrf2/HO-1 signaling pathway in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Chinese journal of integrative medicine*, 2024, 30(10):949-960.
- [26] YANG W Q, WEN W, CHEN H, et al. Zhongfeng Xingnao Liquid ameliorates post-stroke cognitive impairment through sirtuin1(SIRT1)/nuclear factor erythroid 2-related factor 2(Nrf2)/heme oxygenase 1(HO-1) pathway [J]. *Chinese journal of natural medicines*, 2025, 23(1):77-89.
- [27] 梁佳, 彭辉, 宗尤佳, 等. Nrf2 与自噬在皮肤损伤中的调控作用[J]. *中国皮肤性病杂志*, 2024, 38(9):1047-1052.
- [28] NEGM W A, ELEKHNAWY E, HABIB D A, et al. Targeting ferroptosis and oxidative stress: *Ipomoea pes-caprae*-synthesized selenium nanoparticles accelerate healing in infected wounds via Nrf2/HO-1 activation[J]. *Journal of drug delivery science and technology*, 2026, 115:107694-107694.
- [29] XIAO Y, HUANG Z Z, WANG W W, et al. Xanthohumol attenuates collagen synthesis in *Scleroderma* skin fibroblasts by ROS/Nrf2/TGFβ1/Smad3 pathway[J]. *European journal of pharmacology*, 2024, 963:176227.
- [30] SALAMITO M, GILLET B, SYX D, et al. Nrf2 shortage in human skin fibroblasts dysregulates matrisome gene expression and affects collagen fibrillogenesis[J]. *Journal of investigative dermatology*, 2023, 143(3):386-397.

(责任编辑 章践立)