·论　　著·　　DOI：10.3969/j.issn.1672-9455.2026.20.006

不同剂量枸杞多糖对糖尿病创面小鼠创面愈合、m6A 水平及铜死亡的影响*

高　剑[1]，马国续[1]，郑晓慧[1]，李晓亮[1]，夏　琨[2△]
宁夏回族自治区人民医院/宁夏医科大学附属自治区人民医院骨科中心：
1.手足和重建显微外科；2.运动医学科，宁夏银川 750002

摘　要：目的　分析不同剂量枸杞多糖（LBP）对糖尿病创面小鼠创面愈合、N6-甲基腺嘌呤（m6A）水平及铜死亡的影响。**方法**　将 60 只小鼠随机分为对照组、模型组、LBP 低剂量组（25 mg/kg LBP）、LBP 中剂量组（50 mg/kg LBP）和 LBP 高剂量组（100 mg/kg LBP），每组 12 只。通过给予高热量饲料并结合腹腔注射链脲佐菌素的方式制备糖尿病动物模型，之后在其背部制作全层皮肤损伤创口。建模成功后，各组小鼠连续灌胃给药 14 d，对照组和模型组给予生理盐水。比较各组体质量、血糖、创面愈合率、创面组织病理形态变化及细胞凋亡情况；检测各组创面组织中血小板衍生生长因子（PDGF）、血管内皮生长因子（VEGF）、α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）mRNA 表达水平，m6A 水平、m6A 相关蛋白［甲基转移酶样蛋白 3（METTL3）、脂肪与肥胖相关蛋白（FTO）］及铜死亡相关蛋白［铁氧化还原蛋白 1（FDX1），溶质载体家族 31 成员 1（SLC31A1）］的表达。**结果**　与对照组相比，模型组血糖升高，创面愈合率降低，差异均有统计学意义（$P<0.05$）；LBP 中、高剂量组创面愈合率高于模型组，且 LBP 中、高剂量组创面愈合率高于 LBP 低剂量组，LBP 高剂量组创面愈合率高于 LBP 中剂量组，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。HE 染色结果显示，LBP 可明显改善模型小鼠创面病理学改变，且 LBP 高剂量组创面组织病理改善更优。与对照组相比，模型组创面组织细胞凋亡数量较多，PDGF、VEGF、α-SMA mRNA 水平下降，m6A 甲基化水平及 METTL3、FDX1 和 SLC31A1 蛋白水平升高，差异均有统计学意义（$P<0.05$）；与模型组相比，LBP 中、高剂量组创面组织细胞凋亡数量减少，PDGF、VEGF 和 α-SMA mRNA 水平升高，m6A 甲基化水平及 METTL3、FDX1、SLC31A1 蛋白水平下降，且 LBP 高剂量组上述指标改变幅度更大，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。**结论**　LBP 可通过下调 METTL3 介导的 m6A 甲基化，抑制铜死亡相关蛋白表达，促进血管生成相关因子表达及减少细胞凋亡，从而促进糖尿病创面愈合。

关键词：糖尿病；　枸杞多糖；　创面愈合；　N6-甲基腺嘌呤；　铜死亡
中图法分类号：R285.5；R446.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9455(2026)20-2773-06

Effects of different doses of lycium barbarum polysaccharides on wound healing, m6A level and cuproptosis in mice with diabetic wounds*

Gao Jian[1], *Ma Guoxu*[2], *Zheng Xiaohui*[2], *Li Xiaoliang*[2], *Xia Kun*[2△]
1. *Department of Orthopedic Center, Hand, Foot, and Reconstructive Microsurgery*; 2. *Department of Orthopedic Center, Sports Medicine, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia* 750002, *China*

Abstract: Objective　To analyze the effects of different doses of lycium barbarum polysaccharides (LBP) on wound healing, N6-methyladenosine (m6A) level and cuproptosis in mice with diabetic wounds. **Methods**　A total of 60 mice were randomly divided into control group, model group, low-dose LBP group (25 mg/kg LBP), medium-dose LBP group (50 mg/kg LBP) and high-dose LBP group (100 mg/kg LBP), 12 cases in each group. The diabetes models were constructed by feeding high-fat and high-sugar food and intraperitoneal injection of streptozotocin, and then full thickness wounds on the back were designed. After successful modeling, mice in each group were given continuous intragastric administration of LBP for 14 d, while control group and model group were given normal saline. The body mass, blood glucose, wound healing rate, changes in pathological morphology of wound tissues, apoptosis, the mRNA levels of platelet-derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and α-smooth muscle actin (α-SMA) in wound tissues of

*　**基金项目：**宁夏自然科学基金项目计划（2025AAC030345；2025AAC030425）。
作者简介：高剑，男，主治医师，主要从事手足显微外科常见病、多发病诊治方向的研究。　△　**通信作者**，E-mail：xiakun0013@126.com。
中文引用格式：高剑，马国续，郑晓慧，等. 不同剂量枸杞多糖对糖尿病创面小鼠创面愈合、m6A 水平及铜死亡的影响[J]. 检验医学与临床，2026，23(20)：2773-2778.
英文引用格式：Gao J，Ma G X，Zheng X H，et al. Effects of different doses of lycium barbarum polysaccharides on wound healing，m6A level and cuproptosis in mice with diabetic wounds[J]. Lab Med Clin，2026，23(20)：2773-2778.

each group were detected, m6A level, expressions of m6A related proteins [methyltransferase-like protein 3 (METTL3), fat mass and obesity-associated protein (FTO)] and cuproptosis related proteins [ferredoxin 1 (FDX1), solute carrier family 31 member 1 (SLC31A1)] in different groups were compared. **Results** Compared with control group, blood glucose was increased, and wound healing rate was decreased in model group ($P<0.05$). The wound healing rate in medium-dose LBP group and high-dose LBP group was higher than that in model group, the wound healing rate in the medium and highdose LBP groups was higher than that in the lowdose LBP group, and the highdose LBP group had a higher wound healing rate than the mediumdose LBP group; all differences were statistically significant ($P<0.05$). The results of HE staining showed that LBP could significantly improve pathological changes of wounds, the pathological improvement of wound tissue was better in the highdose LBP group. Compared with control group, number of apoptosis cells in wound tissues was increased, mRNA levels of PDGF, VEGF and α-SMA were decreased, methylation level of m6A, and levels of METTL3, FDX1 and SLC31A1 proteins were increased in model group ($P<0.05$). Compared with model group, number of apoptosis cells in wound tissues was decreased, mRNA levels of PDGF, VEGF and α-SMA were increased, methylation level of m6A, and levels of METTL3, FDX1 and SLC31A1 proteins were decreased in medium-dose LBP group and high-dose LBP group, and the change amplitude was greater in high-dose LBP group ($P<0.05$). **Conclusion** LBP can inhibit expressions of cuproptosis-related proteins, promote expressions of angiogenesis-related factors and reduce apoptosis by down-regulating methylation of METTL3-mediated m6A, which thus can promote the healing of diabetic wounds.

Key words: diabetes mellitus; lycium barbarum polysaccharides; wound healing; N6-methyladenosine; cuproptosis

糖尿病创面难愈是糖尿病常见且严重的并发症，以高发病率、高致残率及高医疗成本为特征，已成为糖尿病患者致残和死亡的主要原因之一，严重威胁患者生存质量[1-2]。目前，糖尿病创面难愈的治疗主要依赖抗菌药物控制感染、外科清创，以及各种生长因子、细胞治疗等方法，但存在疗效不稳定、治疗周期长等问题。因此，深入探讨糖尿病创面难愈的发病机制，寻找新的治疗靶点，对于提高糖尿病患者的治疗效果具有重要意义。枸杞多糖（LBP）是从枸杞中提取的一类水溶性多糖，具有抗氧化、抗炎、免疫调节、抗凋亡等多种生物活性，这些活性物质可减轻氧化应激、调节免疫反应和抑制炎症过程[3-4]，但 LBP 对糖尿病创面的作用及机制尚未完全阐明。近年来的研究表明，表观转录组学修饰，尤其是 N6-甲基腺嘌呤（m6A）修饰在细胞分化、代谢及应激反应中扮演关键角色[5]，可能参与糖尿病及其并发症的病理进程。铜死亡作为一种新近发现的、铜依赖性调节的细胞死亡方式，与线粒体代谢密切相关，其在糖尿病相关组织损伤中的作用初步被发现[6]。本研究假设 LBP 可能通过调节 m6A 甲基化水平及抑制铜死亡通路来促进糖尿病创面愈合。为此，本研究通过构建糖尿病创面小鼠模型，系统探讨不同剂量 LBP 对创面愈合、m6A 甲基化及铜死亡的影响，为糖尿病创面的天然药物治疗提供实验依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 杜氏改良伊格尔培养基（DMEM）高糖培养基、胎牛血清购于美国 Gibco 公司；链脲佐菌素购于北京索莱宝科技有限公司；苏木精-伊红（HE）染色试剂盒、TUNEL 染色试剂盒、RNA 提取试剂 TRIzol 购于广州济恒医药科技有限公司；逆转录试剂盒购于上海梵态生物科技有限公司；EpiQuik m6A RNA 甲基化定量试剂盒购于美国 Epigentek 公司；甲基转移酶样蛋白 3（METTL3）抗体、脂肪与肥胖相关蛋白（FTO）抗体、铁氧化还原蛋白 1（FDX1）抗体、溶质载体家族 31 成员 1（SLC31A1）抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）多克隆抗体以及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白 G（H＋L）二抗均购于上海康朗生物科技有限公司。酶标仪购于日本 Olympus 公司。

1.2 菌株来源 60 只无特定病原体（SPF）级 C57BL/6 小鼠纳入实验，6～8 周周龄，体质量 18～22 g，雌雄个体数量均等。实验动物由北京维通利华实验动物技术有限公司供应，生产许可证：SCXK（鄂）2022-0030。所有小鼠均饲养于环境温度（22±2）℃、湿度（50±5）% 的 SPF 级动物房，采用 12 h 明暗交替的昼夜周期，自由摄食饮水。本研究涉及的全部实验操作均已通过动物伦理委员会审核批准［审批号：（2025）-NZR-154］，且严格遵循实验动物福利相关准则及伦理要求。实验结束后，小鼠采用颈椎脱臼法安乐死处理，符合动物伦理规范。

1.3 糖尿病创面小鼠模型构建 通过高糖高脂饲养结合链脲佐菌素腹腔注射，并在诱导糖尿病后于实验动物背部制作全层皮肤损伤构建糖尿病创面动物模型[7-8]。在动物实验开始前，所有小鼠均接受为期 1 周的适应性饲养。实验动物被随机分为 5 组：对照组、模型组以及 LBP 低、中、高剂量组，每组 12 只。根据实验设计，除对照组外，其余各组均接受为期 4 周高糖高脂饲料喂养。该饲料为高糖高脂配方，具体成分为 20% 蔗糖、10% 猪油、2.5% 胆固醇及 0.5% 胆酸钠，用以建立胰岛素抵抗状态。饲喂结束后，禁食 12 h，经腹腔单次注射溶于 0.1 mol/L 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液（pH 4.5）的链脲佐菌素溶液，给药剂量为 50

mg/kg；对照组则注射等体积的上述缓冲液。注射 72 h 后，于禁食状态下采集尾静脉血检测血糖水平。为确保模型一致性，将空腹血糖持续高于 16.7 mmol/L（监测 10 d）作为 2 型糖尿病成模标准。首次注射后未达标的小鼠，接受 1 次相同剂量的链脲佐菌素补充注射，并经再次检测，直至所有参与造模的个体均符合上述血糖要求。成功建模后，继续维持高血糖状态 4 周，以稳定模型。

糖尿病小鼠复制成功后，实验动物经戊巴比妥钠（50 mg/kg）腹腔注射麻醉后，对其背部区域进行备皮与消毒。使用无菌手术剪在该部位制备一直径为 10 mm 的圆形全层皮肤缺损创面，并对创缘进行修整。随后，在创口周围安置一个内径 10～12 mm、厚 0.5 mm 的硅胶环，并以透明敷料封闭覆盖。术后每日使用 5 g/L 碘伏溶液对创面进行常规消毒。当创面出现典型溃疡表现时，即视为糖尿病创面模型建立成功[9]。所有小鼠进行单笼饲养，自由进食、饮水。

1.4　给药干预[10]　建模成功后，对照组和模型组仅用生理盐水清理创面，LBP 低剂量组小鼠每日灌胃 25 mg/kg LBP；LBP 中剂量组小鼠每日灌胃 50 mg/kg LBP，LBP 高剂量组小鼠每日灌胃 100 mg/kg LBP，均连续灌胃 14 d。每只小鼠单笼饲养，避免互相影响愈合速度。

1.5　体质量、血糖及创面愈合率观察　在灌胃第 14 d，对各组小鼠进行以下指标评估：使用电子天平测定体质量；通过尾静脉采血测定小鼠空腹血糖值；同时使用游标卡尺精确测量创面的最大横向直径，并据此计算创面愈合率。计算公式为：愈合率（%）＝（原始创面面积－当前未愈合面积）/原始创面面积×100%。

1.6　HE 染色　在灌胃第 14 d，麻醉状态下取小鼠创面组织，经 4%多聚甲醛固定 24 h 后，依次进行梯度脱水、石蜡包埋及切片制备（厚度 5 μm）。切片经 HE 染色后，于光学显微镜下观察并分析创面区域的病理形态结构[11]。

1.7　TUNEL 染色　在灌胃第 14 d，麻醉状态下取小鼠创面组织，标本经 4%多聚甲醛固定后，按常规流程进行石蜡包埋，并制备厚度为 5 μm 的组织切片。将切片置于预热的柠檬酸钠缓冲液中进行微波修复 20 min，随后自然冷却。经磷酸盐缓冲液（PBS）漂洗 3 次后，吸干切片周围液体，用免疫组化笔圈出组织范围。滴加 TUNEL 反应混合液覆盖组织，置于 37 ℃恒温孵箱内避光反应 60 min。最后在荧光显微镜下观察，每张切片随机选取 3 个视野进行 TUNEL 阳性细胞计数。

1.8　血管新生相关基因检测　采用逆转录聚合酶链式反应检测血管新生相关基因[血小板衍生生长因子（PDGF）、血管内皮生长因子（VEGF）和 α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）]的 mRNA 水平。在灌胃第 14 d，麻醉状态下取小鼠创面组织，充分研磨后应用 TRIzol 试剂提取总 RNA，并使用紫外分光光度计测定其浓度与纯度。随后，严格按照逆转录试剂盒操作指南，以所提 RNA 为模板合成 cDNA，产物于 4 ℃短期保存。使用所得 cDNA 进行实时荧光定量 PCR 扩增，反应在 PCR 仪中完成，所有循环参数均按实验方案预先设定。以 GAPDH 为内参，引物序列见表 1。$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示目标 mRNA 的相对表达量。

表 1　引物序列

基因	正向引物	反向引物
PDGF	5′-TGGCTCGAAGTCAGATCCACA-3′	5′-TTCTCGGGCACATGGTTAATG-3′
VEGF	5′-AGGCAGACTATTCAGCGGACT-3′	5′-CCTCCTCAAACCGTTGGCA-3′
α-SMA	5′-GGCACCACTGAACCCTAAGG-3′	5′-ACAATACCAGTTGTACGTCCAG-3′
GAPDH	5′-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG -3′	5′-GGGGTCGTTGATGGCAACA -3′

1.9　创面组织中总 m6A 水平检测　在灌胃第 14 d，麻醉状态下取小鼠创面组织，采用总 RNA 提取试剂盒提取组织总 RNA 采用 EpiQuik m6A RNA 甲基化定量试剂盒检测创面组织 RNA m6A 修饰水平。

1.10　蛋白免疫印迹法检测创面组织中 m6A 甲基化标志蛋白及铜死亡标志蛋白水平　在灌胃第 14 d，麻醉状态下取小鼠创面组织，使用 RIPA 裂解液提取总蛋白。采用 BCA 法对各组蛋白样品进行定量并调整至相同浓度，取 20 μg 蛋白样品与 SDS 上样缓冲液混合，100℃加热处理 10 min。随后进行 SDS-PAGE 电泳并将蛋白转印至 PVDF 膜。用 5%脱脂牛奶室温封闭 60 min 后，加入以封闭液稀释的一抗（FTO 抗体 1∶3 000 稀释，METTL3 抗体 1∶6 000 稀释，FDX1 抗体 1∶1 000 稀释和 SLC31A1 抗体 1∶1 000 稀释），4 ℃孵育过夜。次日使用 PBST 洗涤膜 6 min，重复 3 次，随后加入 HRP 标记的羊抗兔二抗（1∶1 000）室温孵育 60 min，再次以 PBST 洗涤 3 次。最后使用增强化学发光液显影。实验以 GAPDH 作为内参。

1.11　统计学处理　应用 SPSS29.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料均以 $\bar{x}\pm s$ 表示，多组间差异比较采用单因素方差分析，多组间两两比较采用 LSD-t 检验；检验水准为 $\alpha=0.05$，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　各组小鼠体质量、血糖及创面愈合率比较　模型组小鼠血糖水平高于对照组（$P<0.05$）。模型组、LBP 低、中、高剂量组血糖水平比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。各组体质量比较均差异无统计学意义（$P>0.05$）。模型组创面愈合率低于对照组（$P<0.05$）；LBP 中、高剂量组创面愈合率高于模型组（$P<0.05$），且 LBP 中、高剂量组创面愈合率高于 LBP 低剂量组（$P<0.05$），LBP 高剂量组创面愈合率高于 LBP 中剂量组（$P<0.05$）。模型组和 LBP 低剂

量组创面愈合率比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表 2。

2.2　各组小鼠创面组织病理学的影响　HE 染色结果显示，对照组创面可见结构紧密的新生肉芽组织，其间分布有大量新生微血管，胶原纤维水平较高；模型组创面表皮层连续性中断，肉芽组织生长稀少，胶原排列稀疏且分布分散；LBP 中剂量组和 LBP 高剂量组创面表皮再生明显，肉芽组织丰富，炎症细胞浸润显著减少，新生血管数量增加。LBP 高剂量组创面组织病理改变更优。见图 1。

2.3　各组小鼠创面组织细胞凋亡情况比较　TUNEL 阳性细胞主要分布在表皮，少数与真皮层相关。与对照组创面组织细胞凋亡数量（98.65±10.03）相比，模型组细胞凋亡数量（267.58±27.54）较多（$P<0.05$）；与模型组相比，LBP 中、高剂量组创面组织细胞凋亡数量（分别为 174.57±18.35、121.35±13.48）减少，且 LBP 高剂量组减少幅度更大（$P<0.05$）。见图 2。

2.4　各组小鼠创面组织中 PDGF、VEGF、α-SMA mRNA 水平比较　模型组 PDGF、VEGF、α-SMA mRNA 水平低于对照组（$P<0.05$）。LBP 中、高剂量组 PDGF、VEGF 和 α-SMA mRNA 水平高于模型组，且 LBP 高剂量组 PDGF、VEGF、α-SMA mRNA 水平高于 LBP 中剂量组（$P<0.05$）。见表 3。

表 2　各组小鼠体质量、血糖及创面愈合率比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	n	血糖（mmol/L）	体质量（g）	创面愈合率（%）
对照组	12	14.35±1.55	19.55±2.01	64.84±7.55
模型组	12	26.48±2.77*	19.86±2.03	60.45±6.63*
LBP 低剂量组	12	26.11±2.83*	19.03±2.08	62.78±7.49*
LBP 中剂量组	12	26.67±2.74*	18.97±1.98	88.64±8.77$^{*\#\&}$
LBP 高剂量组	12	27.09±2.83*	19.23±2.10	95.32±10.12$^{*\#\&\triangle}$
F		53.712	0.403	40.973
P		<0.001	0.806	<0.001

注：与对照组相比，$^{*}P<0.05$；与模型组相比，$^{\#}P<0.05$；与 LBP 低剂量组相比，$^{\&}P<0.05$；与 LBP 中剂量组相比，$^{\triangle}P<0.05$。

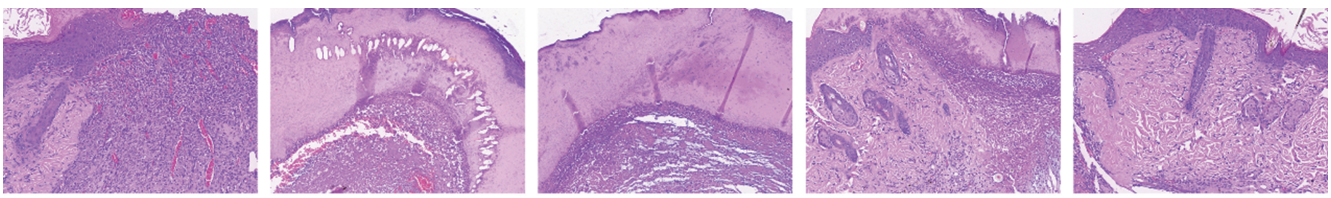


图 1　各组小鼠创面组织病理（HE 染色，×100）

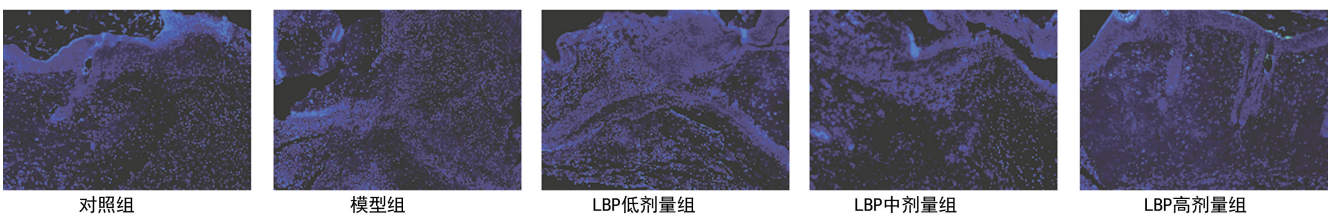


图 2　各组小鼠创面组织细胞凋亡情况（TUNEL 染色，×200）

表 3　各组小鼠创面组织中 PDGF、VEGF、α-SMA mRNA 水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	n	PDGF mRNA	VEGF mRNA	α-SMA mRNA
对照组	12	1.00±0.03	1.00±0.04	1.00±0.06
模型组	12	0.81±0.09*	0.79±0.08*	0.88±0.10*
LBP 低剂量组	12	1.06±0.07	1.08±0.09	1.05±0.08
LBP 中剂量组	12	2.96±0.35$^{\#\&}$	1.56±0.18$^{\#\&}$	1.47±0.15$^{\#\&}$
LBP 高剂量组	12	4.41±0.48$^{\#\&\triangle}$	1.96±0.20$^{\#\&\triangle}$	1.77±0.19$^{\#\&\triangle}$
F		409.11	152.44	111.53
P		<0.001	<0.001	<0.001

注：与对照组相比，$^{*}P<0.05$；与模型组相比，$^{\#}P<0.05$；与 LBP 低剂量组相比，$^{\&}P<0.05$；与 LBP 中剂量组相比，$^{\triangle}P<0.05$。

2.5　各组小鼠创面组织 m6A 水平及相关蛋白表达水平比较　模型组 m6A 甲基化水平高于对照组（$P<0.05$）。LBP 中、高剂量组 m6A 甲基化水平低于模型组，且 LBP 高剂量组低于 LBP 中剂量组（$P<0.05$）。模型组 METTL3 蛋白水平明显高于对照组（$P<0.05$），而 FTO 蛋白水平与对照组比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。LBP 中、高剂量组 METTL3 蛋白表达水平均较模型组下降（$P<0.05$），而 FTO 蛋白水平与模型组比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表 4 和图 3。

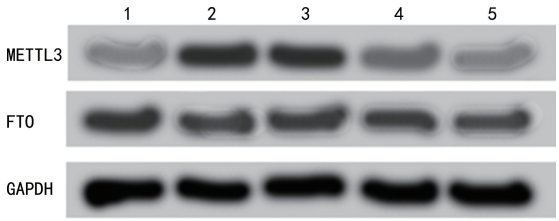
表 4　不同剂量 LBP 对小鼠创面组织 m6A 水平及相关基因的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	n	总 m6A 相对水平	METTL3 蛋白	FTO 蛋白
对照组	12	0.018±0.001	0.86±0.14	1.02±0.12
模型组	12	0.041±0.002*	2.03±0.18*	1.06±0.14*
LBP 低剂量组	12	0.030±0.001	1.96±0.09	0.96±0.11
LBP 中剂量组	12	0.026±0.001$^{\#\&}$	1.53±0.16$^{\#\&}$	1.01±0.10$^{\#\&}$
LBP 高剂量组	12	0.020±0.001$^{\#\&\triangle}$	1.02±0.10$^{\#\&\triangle}$	1.05±0.12$^{\#\&\triangle}$
F		630.00	177.32	1.319
P		<0.001	<0.001	0.274

注：与对照组相比，$^{*}P<0.05$；与模型组相比，$^{\#}P<0.05$；与 LBP 低剂量组相比，$^{\&}P<0.05$；与 LBP 中剂量组相比，$^{\triangle}P<0.05$。

2.6　各组小鼠创面组织铜死亡相关蛋白表达水平比较　与对照组相比，模型组 FDX1 和 SLC31A1 蛋白水平明显上调（$P<0.05$）。与模型组相比，LBP 中、高剂量组 FDX1 和 SLC31A1 蛋白水平明显下调 $P<$

0.05）。见表 5。



注：1 为对照组；2 为模型组；3 为 LBP 低剂量组；4 为 LBP 中剂量组；5 为 LBP 高剂量组。

图 3　各组小鼠创面组织 m6A 水平及相关蛋白表达水平

表 5　各组小鼠创面组织铜死亡相关蛋白表达水平比较（$\overline{x}\pm s$，$n=12$）

组别	n	FDX1	SLC31A1
对照组	12	0.89±0.10	0.92±0.11
模型组	12	2.20±0.24*	2.46±0.25*
LBP 低剂量组	12	2.11±0.23	2.37±0.21
LBP 中剂量组	12	1.77±0.18$^{\#\&}$	1.68±0.17$^{\#\&}$
LBP 高剂量组	12	1.08±0.11$^{\#\&\triangle}$	1.11±0.12$^{\#\&\triangle}$
F		129.44	183.62
P		<0.001	0.274

注：与对照组相比，$^{*}P<0.05$；与模型组相比，$^{\#}P<0.05$；与 LBP 低剂量组相比，$^{\&}P<0.05$；与 LBP 中剂量组相比，$^{\triangle}P<0.05$。

3　讨　论

糖尿病创面是糖尿病常见的慢性并发症之一，形成与发展源于高糖环境引发的多重病理过程[12-13]。糖尿病创面愈合延迟常涉及多种病理环节，主要包括感染难以有效控制、局部过度炎症反应、巨噬细胞功能异常、细胞外基质异常堆积，以及表皮屏障结构与成纤维细胞活性受损[14]。同时，长期血糖升高会促进晚期糖基终末产物的生成并释放大量促炎性细胞因子，由此引发的氧化应激可损害神经功能，包括运动、自主和感觉神经，从而进一步加重创面病情。LBP 作为天然活性多糖，已被证实具有多靶点调控组织损伤修复的作用，本研究系统探讨了其对糖尿病创面愈合、m6A 甲基化及铜死亡的影响，为其临床应用提供了新的理论支撑。

本研究中，糖尿病创面模型小鼠创面愈合明显延迟，伴有血糖水平升高，但体质量未发生明显变化，这与临床 2 型糖尿病特征相符。组织病理学及细胞凋亡检测结果显示，模型组创面肉芽组织稀疏、胶原沉积减少、新生血管不足，且细胞凋亡显著增加，说明糖尿病状态抑制了组织再生与修复，同时加重了细胞损伤，从而严重影响了创面的整体愈合进程。进一步发现，糖尿病创面小鼠经中、高剂量的 LBP 干预后显著提高创面愈合率，改善创面病理结构，提示 LBP 可保留充足的成纤维细胞、血管内皮细胞，为肉芽组织新生提供细胞储备，从而促进创面的整体愈合进程。既往研究显示，丹黄散可有效促进糖尿病创面愈合，改善创面病理状态[15]，这与本研究结果类似。细胞凋亡异常增多是糖尿病创面难愈的重要原因之一，过度凋亡可导致创面修复细胞（成纤维细胞、血管内皮细胞）数量减少，阻碍愈合进程。TUNEL 染色结果显示，模型组创面组织凋亡细胞显著增多，而 LBP 中、高剂量组可显著减少凋亡细胞数量，表明 LBP 具有抑制糖尿病创面组织过度凋亡的作用，为创面修复提供了充足的细胞基础，这与既往研究结果类似[16]。血管新生是创面愈合的关键环节，PDGF 可促进成纤维细胞增殖及胶原合成，VEGF 是调控血管内皮细胞增殖、迁移的核心因子，α-SMA 作为肌成纤维细胞标志物，参与创面收缩及组织重塑[17-18]。本研究中，LBP 中、高剂量组可显著上调 PDGF、VEGF 及 α-SMA mRNA 表达，表明 LBP 可能通过促进血管新生相关因子的表达，加速肉芽组织形成及创面收缩，从而改善愈合进程。分析其可能的机制：LBP 上调 VEGF 能够诱导内皮细胞增殖、出芽形成新生微血管，改善创面局部缺血缺氧微环境，PDGF 上调加速成纤维细胞增殖与胶原基质合成，α-SMA 升高推动成纤维细胞向肌成纤维细胞转化，加速创面收缩闭合，3 种因子协同作用，从血管再生、胶原沉积、创面收缩 3 个维度加快创面修复进程。

m6A 甲基化属于 RNA 层面的表观遗传修饰，在高等真核生物中，它是 mRNA 聚腺苷酸尾部内部最为普遍的化学修饰之一，该修饰通过调控 mRNA 的稳定性、核输出及蛋白翻译等过程，影响基因表达[19-20]。本研究中，模型组创面组织 m6A 水平及 METTL3 蛋白表达明显上调，FTO 蛋白无明显变化，提示糖尿病创面 m6A 甲基化异常主要由 METTL3 上调介导。高糖诱导 METTL3 过表达后，可对 PDGF、VEGF 等修复基因 mRNA 进行过度 m6A 修饰，加速靶 mRNA 降解，造成促血管生成因子合成不足，这是糖尿病创面血管生成障碍的重要表观机制；LBP 通过下调 METTL3 蛋白表达降低全组织 m6A 修饰水平，减少血管相关基因 mRNA 降解，在转录后水平稳定靶基因表达，进而提升 VEGF、PDGF 等因子水平，串联表观修饰与血管新生通路。而 LBP 中、高剂量组可明显下调 m6A 水平及 METTL3 蛋白表达，FTO 表达仍无明显变化，表明 LBP 可能通过抑制 METTL3 的表达，降低创面组织 m6A 甲基化水平，进而调控下游修复相关基因的表达，促进愈合。既往研究显示，m6A 甲基转移酶在高糖诱导的人脐静脉内皮细胞中表达升高，通过表观遗传学调节 DNA 甲基转移酶 1 的 m6A 修饰，从而影响糖尿病伤口愈合[21]。基于此推测 LBP 可能通过下调 METTL3 依赖的 m6A 修饰，提高 PDGF、VEGF 等 mRNA 的稳定性或翻译效率，但其具体靶基因及调控机制需通过 m6A 测序等技术进一步验证。Cu^{+} 是细胞内必需的微量元素，参与多项生理过程，但其过量蓄积会产生细胞毒性，并可能进一步诱导铜死亡[22]。已有研究证实[23]，铜死亡参与心肌损伤、肾病等疾病的病理过程，但在糖尿病创面中的作用尚未明确。本研究中，模型组创面组织 FDX1 及 SLC31A1 蛋白表达显著上调，提示糖尿病创面存在铜死亡激活，过量 Cu^{+} 累积及铜死亡可能导致修复细胞损伤，阻碍愈合；而 LBP 中、高剂量组可显著下调 FDX1 及 SLC31A1 蛋白表达。SLC31A1 是细胞膜铜离子转运关键蛋白，高糖刺激

使其异常升高后会大量介导细胞外铜内流,造成细胞内铜离子过载;过量铜蓄积进一步上调 FDX1,启动线粒体脂质过氧化反应,诱发修复细胞发生铜死亡,进一步加剧创面细胞凋亡、新生血管匮乏。LBP 中、高剂量可同步下调 SLC31A1 与 FDX1,一方面限制铜离子跨膜内流、阻断细胞内铜蓄积源头,另一方面抑制 FDX1 介导的铜死亡程序,减少内皮细胞与成纤维细胞程序性死亡,从细胞死亡调控层面辅助创面愈合,该结果明确 LBP 可靶向铜死亡通路改善糖尿病创面损伤。本研究表明 LBP 可能通过抑制 SLC31A1 介导的 Cu^+ 摄取,减少细胞内 Cu^+ 累积,同时下调 FDX1 表达,抑制脂质过氧化反应,从而抑制铜死亡,减少修复细胞损伤,促进创面愈合。这证实 LBP 可通过调控铜死亡通路促进糖尿病创面愈合,为其作用机制提供了新的视角。

综上所述,LBP 可显著促进糖尿病创面小鼠的创面愈合,减少创面细胞凋亡,上调 PDGF、VEGF 及 α-SMA mRNA 表达,促进血管新生和肉芽组织形成;降低 m6A 甲基化水平,下调 METTL3 蛋白表达,抑制铜死亡,减少修复细胞损伤。本研究为糖尿病创面的天然药物治疗提供了实验依据,也为 LBP 的临床应用拓展了新方向。本研究为动物实验,LBP 的临床最佳剂量、给药方式及长期安全性需通过临床研究验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献 高剑、马国续:负责实验设计与实施、数据采集与分析、论文撰写;郑晓慧、李晓亮:负责数据整理、统计分析及文献查阅;夏琨:负责课题设计指导、论文审阅与修改。

参考文献

[1] 崔晓倩,李威,刘明俐,等. 中医药基于 PI3K/Akt 信号通路改善糖尿病创面修复的研究进展[J]. 感染、炎症、修复,2025,26(1):64-68.

[2] 黄英荷,招冠钰,孙阳,等. 2 型糖尿病创面愈合中巨噬细胞代谢调控的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版),2025,45(6):792-799.

[3] 陈柳,段傲宜,李宜静,等. 枸杞多糖的生物活性及应用研究进展[J]. 食品工业科技,2025,46(19):455-467.

[4] Zhou B,Xia H,Yang L,et al. The effect of lycium barbarum polysaccharide on the glucose and lipid metabolism:a systematic review and Meta-analysis[J]. J Am Nutr Assoc,2022,41(6):618-626.

[5] 林书慧,钱萌森,朱静,等. METTL3 介导的 KIF11 mRNA m6A 修饰通过 PI3K/AKT 信号通路促进结直肠癌进展[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2025,45(11):1546-1562.

[6] 林玉婷,余昆,陈飞,等. 基于"气络学说"探讨铜死亡对糖尿病心肌病的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2025,27(8):2176-2182.

[7] 李文惠,樊炜静,柳国斌. 高通量测序分析紫朱软膏对糖尿病小鼠溃疡组织 miRNA 表达谱的影响[J]. 中国组织工程研究,2026,30(17):4337-4346.

[8] 张锐,房志锐,任秀云,等. 肉桂酸促进糖尿病小鼠创面愈合及创口修复细胞迁移作用研究[J]. 中草药,2024,55(10):3388-3398.

[9] 苗明三,方晓艳,闫晓丽,等. 慢性皮肤疮疡动物模型制备规范(草案)[J]. 中华中医药杂志,2018,33(1):193-197.

[10] 俞林花,聂绪强,潘会君,等. 白及多糖对糖尿病溃疡创面愈合的作用研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(11):1487-1491.

[11] 张定安,仲晓宁,张超,等. 丹黄散对糖尿病大鼠创面愈合及新生皮肤中 CK14、CK15 表达的影响研究[J]. 现代中西医结合杂志,2020,29(7):702-709.

[12] Yan C,Chen J,Wang C,et al. Milk exosomes-mediated miR-31-5p delivery accelerates diabetic wound healing through promoting angiogenesis[J]. Drug Deliv,2022,29(1):214-228.

[13] Samarawickrama P N,Zhang G,Zhu E,et al. Clearance of senescent cells enhances skin wound healing in type 2 diabetic mice[J]. Theranostics,2024,14(14):5429-5442.

[14] Lin Z,Li LY,Chen L,et al. Lonicerin promotes wound healing in diabetic rats by enhancing blood vessel regeneration through Sirt1-mediated autophagy[J]. Acta Pharmacol Sin,2024,45(4):815-830.

[15] 董源源,张春玲,赵伟,等. 丹黄散对糖尿病小鼠皮肤创面愈合的促进作用及调节细胞自噬机制[J]. 陕西中医,2024,45(5):579-582.

[16] 蔺莉,徐旭英,于芳宁,等. 回阳生肌汤通过加速树突状细胞胞葬功能促进糖尿病小鼠阴证创面愈合的作用机制研究[J]. 南京中医药大学学报,2025,41(2):203-212.

[17] Pan X,You C,Wu P,et al. The optimization of PLGA knitted mesh reinforced-collagen/chitosan scaffold for the healing of full-thickness skin defects[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater,2023,111(4):763-774.

[18] Amansyah F,Budu B,Achmad M H,et al. Secretome of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells promotes liver regeneration and anti-fibrotic effect in liver fibrosis animal model[J]. Pak J Biol Sci,2024,27(1):18-26.

[19] Liang D,Lin W J,Ren M,et al. m6A reader YTHDC1 modulates autophagy by targeting SQSTM1 in diabetic skin[J]. Autophagy,2022,18(6):1318-1337.

[20] Peng J,Zhu H,Ruan B,et al. miR-155 promotes m6A modification of SOX2 mRNA through targeted regulation of HIF-1α and delays wound healing in diabetic foot ulcer in vitro models[J]. J Diabetes Investig,2025,16(1):60-71.

[21] Xiao R J,Wang T J,Wu D Y,et al. N6-methyladenosine methyltransferase Wilms tumor 1-associated protein impedes diabetic wound healing through epigenetically activating DNA methyltransferase 1[J]. World J Diabetes,2025,16(3):102126.

[22] Fukai T,Ushio-Fukai M,Kaplan J H. Copper transporters and copper chaperones:roles in cardiovascular physiology and disease[J]. Am J Physiol Cell Physiol,2018,315(2):C186-C201.

[23] 常瑾瑾,岳燕凤,赵卓. 丹酚酸 C 激活 Nrf2/HO-1 信号通路减轻心肌梗死后心肌细胞铜死亡水平和炎症损伤[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2025,39(5):332-342.

(收稿日期:2025-12-10 修回日期:2026-05-08)
(编辑:伍晓敏 陈秋莲)