

莪术二酮对增生性瘢痕成纤维细胞的作用及机制探讨

张 浩¹, 林 川¹, 周建敏¹, 陈如俊^{2*}

1. 温州市人民医院 整形外科, 浙江 温州 325000

2. 解放军第 118 医院 烧伤科, 浙江 温州 325000

摘 要: **目的** 探讨莪术二酮调节增生性瘢痕成纤维细胞增殖、转化、胶原分泌的作用及机制。**方法** 采用人源增生性瘢痕成纤维 (HSF) 细胞进行培养, 加入不同浓度的莪术二酮进行干预。MTT 法检测细胞增殖抑制率, ELISA 法检测细胞上清中 I 型胶原蛋白 (COL-I)、III 型胶原蛋白 (COL-III)、基质金属蛋白酶抑制剂-1 (TIMP-1) 及基质金属蛋白酶 1 (MMP-1) 水平, 免疫组化分析细胞 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 表达情况, Western blotting 法检测细胞内 PI3K/Akt/mTOR 通路及转化生长因子 β 1 (TGF- β 1)/Smads 通路相关分子表达情况。**结果** 莪术二酮可有效抑制 HSF 细胞增殖; 与对照组比较, 不同浓度莪术二酮可明显减少细胞 TIMP-1、COL-I 及 COL-III 的分泌 ($P < 0.05$ 、 0.01), 促进 MMP-1 合成 ($P < 0.05$ 、 0.01), 同时莪术二酮能明显抑制 PI3K、Akt、mTOR、Smad3 的磷酸化及 TGF- β 1、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且呈浓度依赖性。**结论** 莪术二酮可通过下调 PI3K/Akt/mTOR 及 TGF- β 1/Smads 信号传导通路, 同时抑制 HSF 细胞增殖、转化, 减少胶原分泌, 促进胶原酶解, 继而有效改善增生性瘢痕的发生与发展。

关键词: 莪术二酮; 增生性瘢痕; 成纤维细胞; PI3K/Akt/mTOR 通路; TGF- β 1/Smads 通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)08-1854-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.018

Pharmacological analysis of curdione on hypertrophic scar fibroblast

ZHANG Hao¹, LIN Chuan¹, ZHOU Jian-min¹, CHEN Ru-jun²

1. Department of Plastic Surgery, Wenzhou People's Hospital, Wenzhou 325000, China

2. Department of Burn, the 118th Hospital of the People's Liberation Army, Wenzhou 325000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of curdione on the HSF proliferation, transformation, and collagen secretion. **Methods** After the human HSF was treated with curdione, the proliferation inhibition ratio was measured using MTT method. Meanwhile, the TIMP-1, MMP-1, COL-I, and COL-III were detected by ELISA method, the α -SMA was analyzed by IHC technology, and the PI3K/Akt/mTOR and TGF- β 1/Smads related molecular were evaluated by Western blotting. **Results** Curdione could reduce the proliferation inhibition ratio. Compared with control group, the TIMP-1, COL-I, and COL-III secretion were inhibited by curdione significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while the MMP-1 levels was significantly increased by curdione ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The results also indicated that the expression levels of p-PI3K, p-Akt, p-mTOR, p-Smad3, TGF- β 1, and α -SMA were significantly suppressed by curdione with concentration dependence ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Curdione could effectively improve the hypertrophic scar by inhibiting the HSF proliferation, transformation, and collagen secretion, and accelerating the collagen enzymolysis via PI3K/Akt/mTOR and TGF- β 1/Smads pathways.

Key words: curdione; hypertrophic scar; fibroblast; PI3K/Akt/mTOR pathway; TGF- β 1/Smads pathway

增生性瘢痕常发生于烧烫伤及手术治疗之后, 通过成纤维细胞异常增殖、促纤维化因子大量表达及细胞外基质分泌失衡, 最终导致增生性瘢痕的形成^[1]。中国人群增生性瘢痕发病率约为 74.7%, 发病率高于西方, 且女性高于男性^[2], 是临床常见而难治的皮肤纤维化疾病, 在不同程度上影响着患者

容貌与健康^[3]。治疗增生性瘢痕常用措施主要包括: 切除、冷冻、激光、硅胶膜制品贴敷和瘢痕内注射激素类药物等^[3]。尽管如此, 由于缺乏有效治疗手段, 增生性瘢痕仍可常见。而中医药治疗瘢痕具有悠久历史及丰富经验。因此, 对中药的深入研究对于增生性瘢痕的临床治疗具有重大意义。

收稿日期: 2018-01-18

作者简介: 张 浩, 副主任医师, 温州市人民医院整形外科, 主要从事烧烫伤后瘢痕整形、颅颌面部外伤整形、颜面部美容整形。

Tel: 13857703355 E-mail: 799181@qq.com

*通信作者 陈如俊, 副主任医师, 主要从事各类烧烫伤创面的辨别与处理、各种植皮术及各种皮瓣整形修复术的操作。E-mail: gxh1204@163.com

莪术为姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val.、广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎，味辛苦、性温，归肝、脾经，具有行气破血、消积止痛等功效，常用于抗肿瘤、抗血栓、抗炎及抗纤维化组织增生等^[4-6]。莪术二酮是莪术中重要药效组成，具有抗炎、镇痛及防血栓等作用^[7]。作为传统抗组织纤维化药物，莪术中莪术二酮是否为其主要药效成分尚未见报道。本实验拟在体外培养人源增生性瘢痕成纤维细胞（hypertrophic scar fibroblast, HSF），采用不同浓度莪术二酮进行干预，检测其对 HSF 增殖、转化、基质分泌的影响与机制，为莪术二酮治疗增生性瘢痕的临床开发应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

CO₂ 恒温孵育箱，日本 Sanyo 公司；多功能酶标仪，美国 Bio-Tek 公司；电泳仪、半干转膜仪，美国 Bio-Rad 公司；低温高速离心机，美国 Sigma 公司；倒置荧光显微镜，日本 Nikon 公司；全自动图像分析系统，美国 GE 公司。

1.2 药品与试剂

莪术二酮（质量分数 99.99%，批号 E-009-150317），成都瑞芬思生物科技有限公司；DMEM 培养基、胎牛血清，美国 Hyclone 公司；MTT 试剂，美国 Sigma 公司；ECL 化学发光显影试剂盒，美国 Thermo 公司；HRP 标记山羊抗兔 IgG 及 GAPDH 抗体，南京巴傲得生物科技有限公司； α -平滑肌肌动蛋白（ α -SMA）、PI3K、Akt、mTOR、Samd3、PI3K、p-Akt、p-PI3K、p-Samd3 及转化生长因子- β 1（TGF- β 1）抗体，美国 CST 公司；I 型胶原蛋白（COL-I）、III 型胶原蛋白（COL-III）、基质金属蛋白酶抑制剂-1（TIMP-1）及基质金属蛋白酶 1（MMP-1）ELISA 试剂盒，上海酶联生物科技有限公司；其余试剂购自北京索莱宝科技有限公司。

2 方法

2.1 细胞培养与传代

HSF 细胞（购自上海素尔生物科技有限公司）在 37℃、5% CO₂ 的饱和湿度下培养。每日检查细胞贴壁和生长的情况，每 2 天更换新鲜培养基，当细胞融合至 80%~90%，滴加 0.25% 胰酶进行消化，经重悬后按 1:3 进行传代培养。后续实验采用第 3~5 代细胞。

2.2 MTT 法检测细胞增殖

取对数生长期 HSF 细胞，滴加 0.25% 胰酶进行

消化，经重悬后稀释细胞浓度至 $5 \times 10^4/\text{mL}$ ，按每孔 100 μL 接种至 96 孔板，37℃、5% CO₂ 饱和湿度孵育箱中继续培养，待细胞完全贴壁后更换含不同终浓度莪术二酮（0、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ ）的培养基，设 6 个复孔。继续培养 24 h 后每孔加入 MTT（5 g/L）溶液 20 μL ，孵育 4 h 后吸弃上清液，加入 DMSO 200 μL 振荡 2 min。采用酶标仪检测 490 nm 波长下的吸光度（A）值，计算各组细胞增殖抑制率。

$$\text{增殖抑制率} = 1 - A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

2.3 ELISA 法检测细胞上清液中 TIMP-1、MMP-1、COL-I 及 COL-III 水平

细胞培养、分组及加药处理同“2.2”项，加药继续培养 24 h 后提取细胞上清液，根据 ELISA 试剂盒说明书步骤检测各组细胞上清液中 TIMP-1、MMP-1、COL-I 及 COL-III 的分泌量。采用酶标仪检测 450 nm 波长下各孔 A 值。

2.4 免疫组化法检测细胞中 α -SMA 表达

取对数生长期 HSF 细胞，滴加 0.25% 胰酶进行消化，经重悬后稀释细胞浓度至 $1 \times 10^5/\text{mL}$ ，加入 24 孔板中进行爬片。经莪术二酮（0、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ ）干预 24 h 后 PBS 清洗，4% 多聚甲醛固定 20 min、脱水、冲洗，加入内源性过氧化物酶阻断剂，山羊血清封闭，冲洗后加一抗低温孵育过夜；二抗继续孵育 30 min。经 DAB 显色、复染、梯度脱水、透明及封片后进行观察。采用 IPP 6.0 图像软件进行分析。

2.5 Western blotting 法检测 PI3K/Akt/mTOR 与 TGF- β 1/Smad3 信号通路相关蛋白表达

取对数生长期 HSF 细胞，滴加 0.25% 胰酶进行消化，经重悬后稀释细胞浓度至 $5 \times 10^4/\text{mL}$ ，按每孔 2 mL 接种至 6 孔板，37℃、5% CO₂ 饱和湿度孵育箱中继续培养，待细胞完全贴壁后更换含不同终浓度莪术二酮（0、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ ）的培养基干预细胞 6 h，加入蛋白裂解液提取胞内蛋白。低温裂解细胞 30 min 并离心收集上清，BCA 试剂盒进行蛋白定量。常规 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、5% BSA 封闭 2 h 及一抗孵育过夜（一抗稀释比例为 1:2 000，4℃）。二抗继续孵育 30 min（1:5 000，常温），ECL 化学发光及显影、定影。扫描胶片，ImageQuant 软件分析比较目标条带与内参条带灰度值比值，各蛋白检测实验重复 3 次。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件进行单因素方差分析，

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 莪术二酮对 HSF 细胞增殖的影响

经 MTT 法检测发现, 不同浓度的莪术二酮可有效抑制 HSF 细胞增殖。随莪术二酮浓度升高, 其增殖抑制率在 33%~70% 内递增, 其中以 40 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮的抑制作用最强。结果见图 1。

3.2 莪术二酮对 HSF 细胞 COL-I 和 COL-III 分泌的影响

检测细胞上清液中 COL-I 后发现, 10、20 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮可有效抑制 HSF 细胞分泌 COL-I, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$), 40 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮可显著降低 COL-I 水平 ($P < 0.01$); COL-III 含量检测

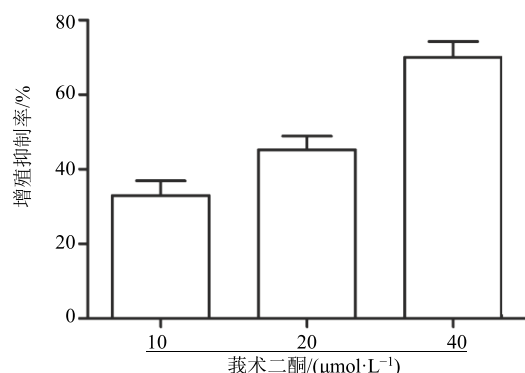


图 1 莪术二酮对 HSF 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of curdione on cell proliferation of HSF ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 1 莪术二酮对 HSF 细胞上清液中 COL-I、COL-III、MMP-1 及 TIMP-1 分泌水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of curdione on COL-I, COL-III, MMP-1, and TIMP-1 secretion levels of HSF ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	COL-I/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	COL-III/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	MMP-1/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	TIMP-1/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
对照	—	31.60 ± 3.67	11.48 ± 0.81	4.94 ± 0.26	32.67 ± 3.86
莪术二酮	10	23.65 ± 3.21*	10.61 ± 1.12	5.47 ± 0.55	25.89 ± 2.64
	20	21.32 ± 2.84*	9.06 ± 0.89*	5.92 ± 0.47*	23.20 ± 2.85*
	40	17.26 ± 1.63**	6.78 ± 0.68**	6.88 ± 0.54**	20.40 ± 2.31*

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group, same as below

结果表明, 各浓度莪术二酮可抑制 COL-III 分泌, 其中 20、40 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮抑制作用较强, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01)。结果见表 1。

3.3 莪术二酮对 HSF 细胞 MMP-1 和 TIMP-1 分泌的影响

在 HSF 细胞中加入不同浓度莪术二酮可有效增加 MMP-1 的分泌, 其中 20、40 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮促进作用较强, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01); 在 TIMP-1 分泌方面, 与对照组比较, 20、40 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮可明显降低细胞 TIMP-1 的含量 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

3.4 莪术二酮对 HSF 细胞中 α -SMA 表达的影响

莪术二酮可有效减少 HSF 细胞中 α -SMA 的表达水平。20、40 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮的抑制作用较强, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.01$)。结果见图 2 和 3。

3.5 莪术二酮对 HSF 细胞中 TGF- β 1/Smad3 信号通路相关蛋白的调控作用

加入莪术二酮干预后, HSF 细胞中 TGF- β 1/Smad3 信号传导减弱。在 Smad3 方面, 20、40 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮可明显抑制 Smad3 磷酸化, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01); 在 TGF- β 1 表达上, 各浓度莪术二酮均可下调 TGF- β 1 表达水平, 其中以 40 $\mu\text{mol/L}$ 莪术二酮干预效果最佳, 与对照组相比差异显著 ($P < 0.01$)。结果见图 4。

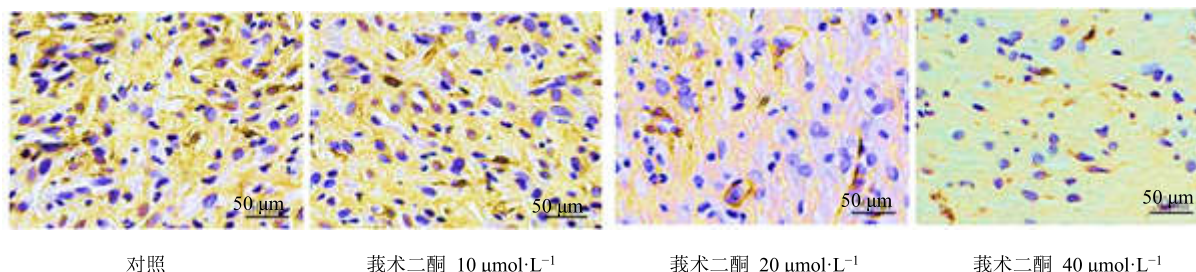


图 2 莪术二酮对 HSF 细胞中 α -SMA 表达的影响 (免疫组化)

Fig. 2 Effect of curdione on α -SMA expression of HSF (immunohistochemistry)

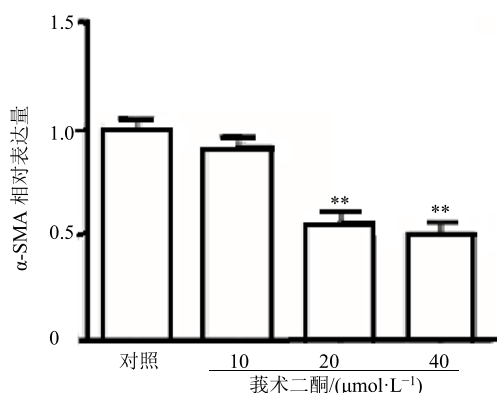


图 3 莪术二酮对 HSF 细胞中 α -SMA 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of curdione on α -SMA expression level of HSF ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

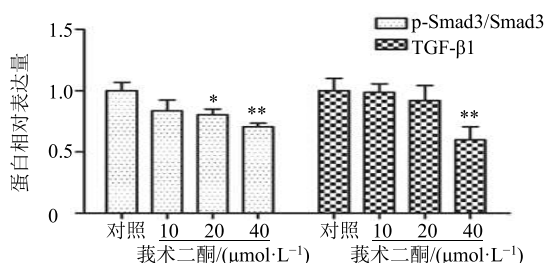
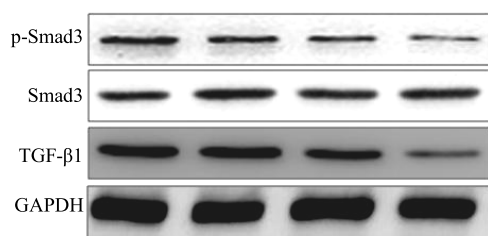


图 4 莪术二酮对 HSF 细胞中 p-Smad3 及 TGF- β 1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of curdione on p-Smad3 and TGF- β 1 protein expression of HSF ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

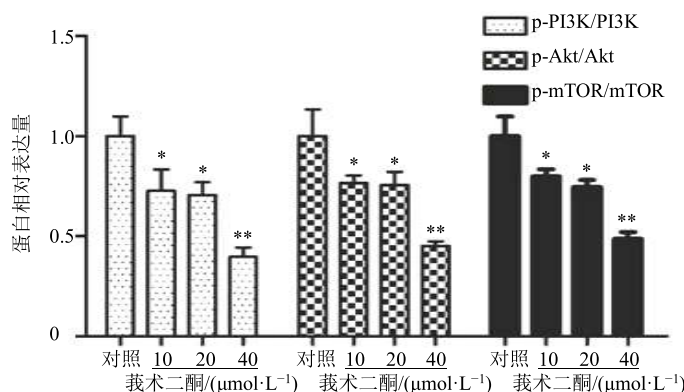
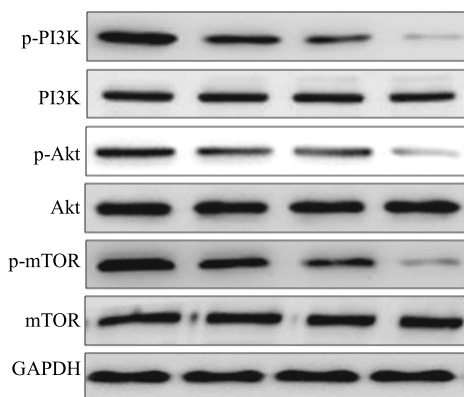


图 5 莪术二酮对 HSF 细胞中 p-PI3K、p-Akt 及 p-mTOR 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of curdione on p-PI3K, p-Akt, and p-mTOR protein expression of HSF ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

成纤维细胞在增生性瘢痕形成过程中占重要角色,通过细胞增殖、分化及胶原合成等途径发挥创面修复作用,其功能亢进可导致增生性瘢痕的形成^[1,8],因此通过调控成纤维细胞,抑制细胞增殖、转化及细胞外基质产生、集聚,继而发挥改善增生

3.6 莪术二酮对 HSF 细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白的调控作用

加入莪术二酮干预后,HSF 细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号传导减弱,不同浓度莪术二酮可抑制 PI3K、Akt 及 mTOR 的磷酸化,且呈浓度依赖性。在 PI3K 方面,10、20、40 μ mol/L 莪术二酮可有效抑制 p-PI3K 表达,与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01),其中 40 μ mol/L 莪术二酮抑制作用最强;在 Akt 方面,与对照组比较,各浓度莪术二酮均能明显抑制 p-Akt 表达 ($P < 0.05$ 、 0.01),其中 40 μ mol/L 莪术二酮抑制作用最强;在 mTOR 方面,与对照组比较,10、20 μ mol/L 莪术二酮可明显抑制 mTOR 磷酸化 ($P < 0.05$),40 μ mol/L 莪术二酮可显著抑制 mTOR 磷酸化 ($P < 0.01$)。结果见图 5。

性瘢痕的作用^[9]。中医药在增生性瘢痕防治中具有历史久远、经验丰富等优势,对其辨证机制亦存在独特见解。中医认为增生性瘢痕的治疗以活血化瘀、软坚散结、清热解毒、益气养血、疏风止痒等为主,而莪术是活血化瘀、软坚散结治疗的代表性药物,常用于治疗癥瘕痞块、瘀血经闭和食积胀痛等^[10-11]。

现代药理研究亦发现, 莪术具有广谱抗肿瘤、抗血栓、抗炎、抗病毒、抗早孕、抗菌、保肝、抗纤维组织增生等作用^[4], 而其中代表性成分莪术二酮已作为莪术质量评价指标^[12]。莪术二酮具有抗炎、镇痛、抗肿瘤等功效, 但莪术二酮在其他药理活性及机制研究方面仍为空白, 因此极具研究必要。结合莪术抗纤维组织增生能力, 将深入探讨其代表性成分莪术二酮在调控相关信号传导, 改善增生性瘢痕的作用与机制。

HSF 异常增殖在瘢痕形成过程中发挥重要作用^[8]。大量研究表明, 当 PI3K 激活后, 介导 Akt 发生磷酸化, 而 mTOR 处于 Akt 的下游信号, 是调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的关键因子, 在细胞增殖、分化中起中心调控作用^[13-14]。当 PI3K/Akt/mTOR 信号通路激活后可上调细胞周期、诱导细胞增殖, 而过度激活则使细胞生存/凋亡平衡失调, 导致健康细胞恶性转化, 引起恶性肿瘤侵袭、转移等^[15]。因此, 阻断 PI3K/Akt/mTOR 信号传导已然成为抑制 HSF 异常增殖的必要途径。研究结果显示, 莪术二酮可显著抑制 HSF 增殖; Western blotting 法检测发现不同浓度莪术二酮能有效阻断 PI3K、Akt 及 mTOR 的磷酸化。由此表明, 莪术二酮可通过下调 PI3K/Akt/mTOR 信号传导, 抑制 HSF 增殖, 防止增生性瘢痕形成。

增生性瘢痕的发生、发展与胶原代谢紊乱紧密联系。健康状态下胶原生成与消融处于动态平衡, 若该平衡上调则可导致基质聚集、堆积, 继而诱发皮肤纤维化病变^[16]。因此抑制胶原合成、促进胶原降解是改善增生性瘢痕的重要手段。研究表明, TGF- β 1/Smad3 信号通路贯穿早期炎症因子释放、中期创面愈合及后期瘢痕形成中各个环节, 从而影响整个创面愈合过程。TGF- β 1 作为增生性瘢痕形成的重要调控因子, 在 HSF 活化及基质分泌、积聚过程中发挥重要调控作用^[17]。Smad3 是 TGF- β 1 下游关键因子, 在基质合成、积聚中发挥正向调控作用, 处于纤维化病变关键环节^[18]。与此同时, 人体皮肤中主要包含 COL-I 和 COL-III, 是细胞外基质重要成分。当增生性瘢痕发生时, 基质中 COL-I 和 COL-III 合成增加, 胶原纤维错乱排列。作为 COL-I 和 COL-III 降解的关键酶, MMP-1 可被 TIMP-1 结合形成复合体, 失去降解胶原能力^[19]。因此通过调控 TGF- β 1/Smad3 信号通路介导的 MMP-1/TIMP-1 平衡可缓解增生性瘢痕形成进程。结果显示, 莪

术二酮可有效降低 TGF- β 1 与 p-Smad3 表达水平, 减少 TIMP-1、COL-I、COL-III 分泌量, 增加 MMP-1 合成。由此提示, 莪术二酮通过下调 TGF- β 1/Smad3 信号传导: 一方面降低 COL-I、COL-III 分泌量, 减少胶原积聚; 另一方面增加 MMP-1 合成、保护 MMP-1 活性 (解除 TIMP-1 干扰), 促进胶原降解。通过减少细胞外基质分泌与聚集, 发挥改善增生性瘢痕的作用。另有研究发现, 通过 TGF- β 1/Smad3 通路可促进成纤维细胞转为具有 α -SMA 标志的肌成纤维细胞^[20-21], 其中 α -SMA 通过促进细胞移动和收缩, 在创面收缩、瘢痕挛缩等增生性瘢痕病理性形成过程中发挥关键角色^[22]。由于成纤维细胞转化是增生性瘢痕形成的必要条件, 因此研究莪术二酮可否抑制 HSF 转化在改善瘢痕形成方面具有一定意义。免疫组化结果表明莪术二酮可有效抑制细胞中 α -SMA 积累。提示莪术二酮可抑制成纤维细胞向肌成纤维细胞转化, 改善创面收缩与瘢痕挛缩, 从而进一步缓解增生性瘢痕的发生与发展。

综上所述, 莪术二酮可通过调控 PI3K/Akt/mTOR 与 TGF- β 1/Smad3 信号传导, 同时抑制 HSF 增殖、转化、胶原分泌与聚集, 为莪术二酮作为改善增生性瘢痕的潜在活性成分奠定理论基础, 为中药莪术在增生性瘢痕的临床应用提供科学依据。然而增生性瘢痕病变机制及信号传导网络错综复杂, 后续有待在体内及体外开展深入研究。

参考文献

- [1] Gauglitz G G, Korting H C, Pavicic T, *et al*. Hypertrophic scarring and keloids: Pathomechanisms and current and emerging treatment strategies [J]. *Mol Med*, 2011, 17(1/2): 113-125.
- [2] Li-Tsang C W, Lau J C, Chan C C. Prevalence of hypertrophic scar formation and its characteristics among the Chinese population [J]. *Burns J Int Soc Burn Inj*, 2005, 31(5): 610-616.
- [3] Hu D H, Liu J Q. A long way to go in scar research-further enhancement of basic and clinical research of the scar [J]. *Chin J Burns*, 2011, 27(27): 407-410.
- [4] 孔一凡, 史克莉. 莪术研究概述 [J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(1): 47-49.
- [5] 李金慈, 陆兔林, 毛春芹, 等. 莪术醋制前后抗复合因素致大鼠肝纤维化作用的比较研究 [J]. 中草药, 2013, 44(19): 2710-2716.
- [6] 赵志梅, 张立杰, 夏 天, 等. 莪术主要单体成分抗

- 炎、抗肿瘤作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(1): 119-124.
- [7] 吴丽敏, 徐志, 顾青青, 等. 莪术二酮的研究进展 [J]. 药物生物技术, 2011(4): 369-371.
- [8] Sarrazy V, Billet F, Micallef L, *et al.* Mechanisms of pathological scarring: Role of myofibroblasts and current developments [J]. *Wound Rep Reg*, 2011, 19(S1): 10-15.
- [9] 蔡景龙. 现代瘢痕学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [10] 蔡景龙. 中西医结合美容技术在皮肤瘢痕防治上的应用 [A] // 中国中西医结合医学美容学术会议、中国中西医结合学会医学美容专业委员会暨海峡两岸微整形学术研讨会论文集 [C]. 西安: 中国中西医结合学会医学美容专业委员会, 2015.
- [11] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [12] 毛春芹, 陆兔林, 姜国非, 等. HPLC 法测定不同主产地莪术饮片中莪术二酮、莪术醇、吉马酮和 β -榄香烯 [J]. 中草药, 2013, 44(3): 305-308.
- [13] Shaw R J, Cantley L C. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth [J]. *Nature*, 2006, 441(7092): 424-430.
- [14] Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR [J]. *Genes Develop*, 2004, 18(16): 1926-1945.
- [15] Graham T R, Otero-Marah V A, Chung L W, *et al.* PI3K/Akt-dependent transcriptional regulation and activation of BMP-2-Smad signaling by NF- κ B in metastatic prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2009, 69(2): 168-180.
- [16] Huang C, Murphy G F, Akaishi S, *et al.* Keloids and hypertrophic scars: Update and future directions [J]. *Plast Recons Surg Glob Open*, 2013, 1(4): e25.
- [17] Pohlers D, Brenmoehl J, Löffler I, *et al.* TGF- β and fibrosis in different organs — molecular pathway imprints [J]. *Biochim Et Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2009, 1792(8): 746-756.
- [18] 于蓉, 岑瑛. TGF- β_1 /Smad3 信号转导通路与创伤后瘢痕形成 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2012, 26(3): 330-335.
- [19] Tandara A A, Mustoe T A. MMP- and TIMP-secretion by human cutaneous keratinocytes and fibroblasts-impact of coculture and hydration [J]. *J Plast Recons Aesth Surg Jpr*, 2011, 64(1): 108-116.
- [20] van Beurden H E, Jw V D H, Torensma R, *et al.* Myofibroblasts in palatal wound healing: Prospects for the reduction of wound contraction after cleft palate repair [J]. *J Dent Res*, 2005, 84(10): 871-880.
- [21] Leask A, Abraham D J. TGF- β signaling and the fibrotic response [J]. *The FASEB J*, 2004, 18(7): 816-827.
- [22] Bettinger D A, Yager D R, Diegelmann R F, *et al.* The effect of TGF-beta on keloid fibroblast proliferation and collagen synthesis [J]. *Plast Recons Surg*, 1996, 98(5): 827-833.