

蜂胶促进创(烧)伤修复作用及其机制研究进展

曹雪萍,张江临,胡福良

浙江大学动物科学学院,杭州 310058

摘要:蜂胶是西方蜜蜂从植物幼芽或树干损伤处采集的树脂,并混入其上颚腺的分泌物和蜂蜡等加工而成的一种具有芳香气味的胶状物质。蜂胶的化学成分复杂,生物学活性广泛。创伤修复作用作为蜂胶的重要生物活性之一,很早就被人们发现和应用。随着研究的逐步深入,蜂胶促进创伤修复作用也逐渐受到人们的关注。本文从创面再上皮化、肉芽形成、伤口收缩以及细胞外基质生成四个方面对近年来蜂胶及其提取物对创(烧)伤修复作用的相关研究及其促创伤修复作用的可能机制进行了综述,并对今后的研究方向进行了展望,以期对蜂胶创伤修复作用的进一步研究提供参考。

关键词:蜂胶;创伤修复;细胞因子

中图分类号:S896.6

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.11.027

Effect and Mechanism of Propolis on Promoting Wound (Burn) Healing: A Review

CAO Xue-ping, ZHANG Jiang-lin, HU Fu-liang*

College of Animal Sciences, Zhejiang University, Zhejiang Hangzhou 310058, China

Abstract: Propolis is a gelatinous substance with aromatic odor. It is a mixture of resin collected by *Apis mellifera* from plant shoots or trunk lesions, mandibular gland secretions and beeswax. Propolis has complex chemical compositions and extensive biological activities, one of which is improving wound healing discovered long time ago. With new advances in research, the effect of propolis on wound healing has gradually come to focus. In this article, recent advance in understanding propolis' effect on wound (burn) healing as well as its probable mechanism, covering re-epithelization, granulation formation, wound contraction and extracellular matrix generation were reviewed. In addition, future research directions were suggested for colleagues in the field.

Key words: propolis; wound healing; cytokines

蜂胶(Propolis)是蜜蜂采集植物幼芽及树干上的树脂,并混入其上颚腺分泌物和蜂蜡等加工而成的一种具有芳香气味的胶状物质^[1]。蜜蜂用其修补巢房和抵御病原微生物及病虫害的入侵^[2]。蜂胶作为一种古老的民间用药,已有数千年的应用历史。公元前300多年,就有资料记载蜂巢中一种具有刺激性气味的“黑蜡”(蜂胶)能治疗皮肤病、化脓和刀伤^[3]。现今,蜂胶已广泛应用于保健食品、药品、化妆品、日用品等领域^[4]。蜂胶的化学成分复杂,目前研究者已从蜂胶中分离鉴定出二十余类、四百多种天然成分,主要包括类黄酮化合物、酚酸类化合物、醛酮类化合物、萜类化合物、维生素、氨基酸、

木脂素以及脂肪酸等^[5]。蜂胶具有抗炎、抗氧化、抗病原微生物、抗肿瘤、调节免疫、调节血脂、血糖等广泛的生物学活性^[6,7],同时还有助于治疗感冒、皮肤病、胃溃疡、烧伤、高脂血症、糖尿病等多种疾病。

创伤广义上指由理化及生物因素所造成的机体损伤,包括刀器伤、挤压伤、冻伤等。烧烫伤属于创伤的一种,在人群中有着较高的发生率。人们从抗炎、抗菌、防腐等角度对创伤修复的药物进行了大量的研究^[8],并开发出许多临床上治疗局部创(烧)伤的药物,但多数药物的药理活性较单一,并且有可能对机体产生一定的副作用^[9,10]。而蜂胶作为一种能促进组织修复,具有抗炎、抗菌、抗氧化等多种生物学活性的天然产物,在促进创(烧)伤修复中具有明显的优势,取得了较理想的效果。本文对近年来蜂胶在创(烧)伤修复作用上的研究进展及蜂胶促创伤修复作用的可能机制进行了综述,对今后的研究

收稿日期:2014-06-30 接受日期:2014-11-19

基金项目:国家蜂产业技术体系专项(CARS-45)

*通讯作者 Tel:86-571-88982952; E-mail:flhu@zju.edu.cn

方向进行了展望,以期对蜂胶对创伤修复作用的进一步研究提供参考。

1 蜂胶对创(烧)伤组织的作用

经典的创伤修复分为炎症期、组织生长期和组织重塑期^[11]。这三个时期在时空上并非严格分开,而是相互交叠。整个过程是在各种类型的修复细胞、细胞因子、细胞外基质分子及一些蛋白水解酶相互作用紧密协调下完成的。影响创伤修复的因素有很多,其中,伤口炎症反应程度、受细菌感染程度以

及氧化损伤程度是三个非常重要的因素。因此,有人认为蜂胶抗炎、抗菌、抗氧化活性是其促进组织再生和创伤修复的重要原因^[12,13]。近年来,国内外研究者以大鼠和猪的烧伤和切割伤为主要模型开展了一些关于蜂胶促创伤修复活性的研究,这些研究结果表明蜂胶能通过调节细胞外基质(胶原)沉积、加速再上皮化、促进肉芽组织生长等多种方式促进创伤愈合。近年来蜂胶促创伤修复作用的相关研究见表1。

表1 近年来蜂胶促创(烧)伤修复作用的相关研究

Table 1 Related researches on propolis' effect on promoting wound (burn) healing in recent years

年份 Year	蜂胶来源 Propolis source	模型 Model	修复效果 Healing effects	给药方式 Administration methods
2005	土耳其	大鼠三度烧伤模型	抑制炎症反应,促进上皮再生和肉芽组织生长	外敷
2008	澳大利亚	大鼠糖尿病全层皮肤损伤模型	抑制炎症反应,促进上皮再生,使中性粒细胞和巨噬细胞浸润正常化	外敷
2008	土耳其	大鼠结肠切除术结合吻合术诱导的创伤模型	抑制炎症反应,促进成熟肉芽组织的形成,组织清创及胶原的合成	饲喂
2009	巴西	大鼠切割伤模型	抑制炎症反应,促进成纤维细胞增生,胶原纤维沉积和重塑	外敷
2009	巴西	大鼠皮肤切割伤模型	刺激角质细胞增生,促进愈合	外敷
2009	巴西	Swiss 小鼠皮下植入海绵创伤模型	抑制炎症反应,减少胶原沉积,促进I型胶原对III型胶原的取代	灌胃
2010	巴西	大鼠二度烧伤模型	抑制炎症反应,促进组织清创和胶原纤维产生	外敷
2010	伊朗	大鼠全层皮肤烧伤模型	抑制炎症反应,促进伤口收缩和修复	外敷
2012	波兰	家猪烧伤模型	烧伤早期刺激玻连蛋白、层黏黏蛋白和硫酸乙酰肝素/肝素的增加,促进肉芽组织和上皮化及胶原沉积	外敷
2012	巴西	大鼠皮肤穿刺损伤模型	抗菌,促进再上皮化、成纤维细胞增殖及胶原生成	外敷
2013	波兰	家猪烧伤模型	促进烧伤皮肤中软骨素/硫酸皮肤素和透明质酸积累	外敷
2013	巴西	大鼠二度烧伤模型	加速软骨素/硫酸皮肤素结构调整,抑制炎症反应,促进肉芽组织形成,加速上皮形成速率,并促进了I型胶原更早取代3型胶原	外敷
2014	波兰	家猪烧伤模型	既能阻止创面纤连蛋白的生物合成,也能阻止其降解	外敷

1.1 蜂胶对再上皮化的作用

再上皮化是伤口边缘的角质形成细胞及残存的皮肤附属器官如毛囊、汗腺中的角质形成细胞通过增殖、迁移、分化以覆盖创面并最终恢复皮肤完整性和屏障功能的过程^[14,15]。它是创伤修复过程中一个十分重要而复杂的生物学事件,其完成依赖于角质形成细胞的增殖、迁移和分化,而这些过程严格受到相应的生长因子、细胞外基质、蛋白水解酶及细胞表面整合素受体及其相互作用的调节。

近年来,大量有关蜂胶创伤修复作用的研究表明,蜂胶能够通过加速创面的再上皮化达到促进创伤修复的目的。Khorasgani等^[16]利用大鼠全层皮肤烧伤模型,通过组织病理学观察,并对伤口扩张、收

缩以及再上皮化速率进行定性定量评估,对比研究了伊朗蜂胶和磺胺嘧啶银对鼠全层皮肤的烧伤愈合效果,结果表明蜂胶治疗组炎症反应最轻,伤口收缩和再上皮化速率最快。Han等^[17]采用大鼠三度烧伤模型,通过组织病理学观察对比了土耳其蜂胶和磺胺嘧啶银对烧伤大鼠的修复效果,结果表明蜂胶不仅具有良好的抗炎作用,还能促进再上皮化,从而加速烧伤皮肤的愈合,推测可能是蜂胶的抗炎作用促进了再上皮化过程。McLennan等^[18]采用糖尿病全层皮肤创伤模型,研究蜂胶对糖尿病患者上皮闭合、伤口形态、细胞浸润以及血管密度的影响,结果表明蜂胶能明显改善糖尿病大鼠上皮闭合及再上皮化程度低的状况,说明蜂胶能改善糖尿病患者组织

修复过程存在的某些缺陷。该研究还发现蜂胶能有效抑制中性粒细胞浸润以及使糖尿病动物损伤组织巨噬细胞浸润正常化的作用,并以此推测炎症细胞浸润正常化和接下来的上皮闭合率之间可能存在某种关系。de Almeida 等^[19]的研究也观察到巴西蜂胶能明显提高再上皮化速率,并认为这可能是蜂胶中的咖啡酸类物质刺激了角质细胞的迁移,或者与巴西绿蜂胶能在一定条件下激活巨噬细胞免疫调节活性有关,因为激活的巨噬细胞能释放大量的成纤维细胞生长因子(FGF)以及上皮细胞增殖过程相关的一些细胞因子,进而促进再上皮化;也有可能是上皮化与纤维组织形成之间形成联系,从而促进烧伤修复。

总之,蜂胶有可能通过抗炎作用,减少炎症反应中一些细胞因子和炎性介质(自由基等)对再上皮化的抑制作用^[20];或促进一些促上皮化的生长因子的产生,从而起到间接的促上皮化作用;也有可能因为蜂胶中的某些活性成分对角质细胞有刺激作用^[21],直接促进了再上皮化。

1.2 蜂胶对肉芽组织形成的作用

肉芽组织是富含新生毛细血管的纤维结缔组织,由纤维母细胞、毛细血管及一定数量的炎性细胞等有形成分组成。具有抗感染,保护创面,填补创口及其它组织缺损,机化或包裹坏死、血栓、炎性渗出物及其它异物的作用。

大量研究表明,蜂胶通过刺激成纤维细胞和毛细血管内皮细胞增殖以及胶原基质沉积,从而促进肉芽组织生长。高畅等^[22]通过蜂胶对糖尿病大鼠创面新生血管和细胞增殖影响的研究,发现蜂胶能显著促进正常大鼠和糖尿病大鼠创面新生毛细血管生长、细胞增殖和肉芽组织的生长,加速创面愈合。Kilicoglu 等^[23]利用结肠切除术和断端吻合术诱导的大鼠创伤模型,通过透射电镜观察蜂胶经口给药后对大鼠结肠吻合的效果,超微结构的组织病理学分析显示蜂胶能加速创伤修复,刺激成熟肉芽组织的形成及胶原合成。de Almeida 等^[19]的实验也表明了蜂胶对肉芽组织形成和生长的促进作用。这些研究表明,蜂胶不仅能促进正常机体的创伤修复,同时能改善具有修复障碍的糖尿病患者的创伤修复。然而,也有研究^[24,25]发现蜂胶具有抗血管新生的作用。因此,蜂胶调节血管生成的具体机制还有待进一步研究。

1.3 蜂胶促进伤口收缩的作用

伤口收缩主要由肉芽组织内肌成纤维细胞收缩引起。肌成纤维细胞内含有平滑肌肌动蛋白(α -SMA),因而具有较强的收缩能力,此外,它还具有分泌大量胶原基质的能力^[26]。创缘周围结缔组织内的成纤维细胞是它的主要来源,在趋化因子作用下迁移到创面,转变为肌成纤维细胞,这个转变过程受到细胞因子(如 TGF- β)和细胞外基质(纤连蛋白剪接变体 ED-A、胶原)的调节^[26-28]。

蜂胶广泛的生物学活性使其能有效促进伤口收缩。Khorasgani 等^[16]研究表明,蜂胶能降低损伤部位炎症反应,有效促进伤口收缩。Iyyam Pillai 等^[29]的研究也发现印度蜂胶具有明显地促进伤口收缩的作用,其机制尚不是十分清楚。猜测可能是蜂胶上调炎症细胞 TGF- β 1 的产生,由 TGF- β 1 和它介导的基质生成进而促进了肌成纤维细胞的产生和伤口收缩。虽然蜂胶促进伤口收缩方面的报道较少,但有研究^[30-32]表明,一些富含黄酮类、多酚类及萜类的植物性成分具有良好的创伤修复活性,能有效促进伤口的收缩。因此,推测蜂胶中含有的黄酮类、酚类物质与伤口收缩之间可能存在关联。

1.4 蜂胶对细胞外基质生成的作用

皮肤组织缺损以后,为恢复其结构和功能的完整性,各种细胞外基质需要重新被合成和分泌^[33],其中胶原蛋白是细胞外基质最主要的成分,尤其是 I 型和 III 型胶原成分。胶原纤维形成的一系列动态过程是皮肤修复的关键过程。皮肤损伤修复过程中,III 型胶原首先由成纤维细胞产生,用以引导肉芽形成过程中的成纤维细胞和内皮细胞的增殖与迁移,然后 III 型胶原逐渐被 I 型胶原取代,使真皮纤维结缔组织具有更强的张力和机械稳定性^[19]。细胞外基质对机体的重要性,不仅在于它能够作为组织和器官结构成分,为细胞提供附着位点,更在于它能够通过细胞、细胞因子及其它成分相互作用,调节细胞的生长,分化和存活,因此,它们的再生对创伤修复有着极为重要的意义^[33,34]。

许多研究表明蜂胶对细胞外基质的生成有调节作用。de Albuquerque-júnior 等^[35]通过实验证实了蜂胶对细胞外基质 I 型胶原纤维和 III 型纤维沉积的促进作用,进一步发现巴西蜂胶能促进 I 型胶原纤维对 III 型胶原纤维的取代,据此,巴西红蜂胶能通过调节胶原沉积动态过程从而促进组织修复。Pessolato 等^[36]研究了蜂胶和羊膜对大鼠二度烧伤

的再上皮化的影响,结果也表明了蜂胶对胶原生成的促进作用。由于实验时间只进行到 21 d,组织修复尚未完全结束,胶原是否会继续生成直到修复末期并导致疤痕的产生还有待进一步研究。该实验还首次证明了蜂胶具有促进组织清创的效果,推测这可能是由于蜂胶刺激了巨噬细胞的吞噬活性。de Almeida 等^[19]采用大鼠二度烧伤模型,对含有两种蜂胶(巴西红蜂胶和巴西绿蜂胶)水醇提取物的胶原蛋白膜在促进真皮烧伤修复中的适用性进行了研究。结果表明,蜂胶控制组能促进胶原合成、沉积以及成熟的过程,这可能是由于蜂胶刺激成纤维细胞生长因子(FGF)的合成,因为成纤维细胞增生和其合成沉积胶原的过程有 FGF 的参与^[37]。绿蜂胶组促进了 I 型胶原对 III 型胶原的取代,红蜂胶组促进胶原纤维束的逐渐交织,这进一步证实了 Albuquerque 等^[35]的研究。Olczyk 等^[10]利用家猪作为模型,定性定量研究了蜂胶对烧伤组织细胞外基质 I 型和 III 型胶原积累的影响,结果表明蜂胶能增加胶原及其成分表达,特别是在修复的最初阶段,进一步证实了蜂胶对胶原基质生成的调节作用^[35,36]。然而,de Moura 等^[38]利用 Swiss 小鼠皮下植入海绵诱导创伤模型评估巴西绿蜂胶水提物的抗炎和创伤修复效果,结果表明蜂胶抑制修复早期胶原的合成,与其它报道^[10,23]不太一致,这可能与组织特异性、蜂胶提取方式或来源有关。

蜂胶不仅调节胶原基质的生成,对其它胞外基质的生成也有调节作用。Olczyk 等^[39]利用家猪建立烧伤模型,研究了蜂胶在烧伤修复过程中对玻连蛋白、层粘连蛋白、硫酸乙酰肝素/肝素表达的影响,结果表明蜂胶治疗能在烧伤修复早期阶段显著刺激玻连蛋白、层粘连蛋白和硫酸乙酰肝素/肝素的表达,并使它们的含量最终趋向正常皮肤水平,这表明蜂胶能在不影响某些胞外基质在正常组织内的最终含量的情况下,加速组织的修复。该实验也同时观察到蜂胶促进胶原沉积的现象,与他人的研究结果^[19,35,36]一致。Olczyk 等^[40]还研究了蜂胶在烧伤修复过程中对软骨素/硫酸皮肤素和透明质酸积累的影响,结果表明蜂胶能通过刺激肉芽组织生长和损伤闭合所需要的糖胺聚糖的积累,加速组织修复。而且,蜂胶能加速软骨素/硫酸皮肤素结构调整,使其结合生长因子在组织修复中发挥重要作用。这表明蜂胶不仅能促进细胞外基质的产生,还能通过加速其结构的调整,使修复朝有利的方向进行。

上述研究都表明了蜂胶对细胞外基质生成的调节作用,特别是对胶原生成的刺激作用。有研究^[41]表明蜂胶及其活性成分能够上调人类外周血单核细胞(PBMC)和 T 淋巴细胞 TGF- β 1 的产生,而 TGF- β 1 是促进成纤维细胞增生及促进其分泌胶原等基质的十分重要的细胞因子^[42-45]。据此,表明蜂胶可能通过影响一些参与胞外基质生成的细胞因子的合成,如 TGF- β 1 和 FGF 等^[37,41],从而调节胞外基质的生成。

2 蜂胶促创(烧)伤修复作用可能的机制

如前所述,伤口炎症反应程度、受细菌感染程度以及氧化损伤程度是影响创伤修复三个非常重要的因素,因此有人认为蜂胶抗炎、抗氧化、抗菌活性,是其促进组织再生和创伤修复的重要原因^[12,13]

2.1 蜂胶抗炎作用对创(烧)伤修复的影响

创伤发生后炎症反应立即发生,主要作用为抗感染,清除坏死组织,并释放一些趋化因子和细胞因子(TGF- β 1、bFGF、VEGF 等),吸引一些修复细胞进入创面,从而调节创伤组织的修复^[11,20]。然而炎症反应对创伤修复的作用一直存在争议,关于炎症细胞在组织修复中的重要性开展了许多实验,这些实验^[46-49]大多表明无论是中性粒细胞还是巨噬细胞对创伤修复都不是绝对必要的,这些炎症细胞功能的缺失甚至会加速再上皮化和组织修复,减少瘢痕的产生。然而,也有实验表明巨噬细胞功能缺失会使组织因为清创障碍影响创伤修复^[50]。Ashcroft 等^[51]敲除小鼠的 smad3 基因,结果发现小鼠创面局部单核细胞浸润明显减少,而再上皮化速度加快,反映了炎症反应对再上皮化的抑制作用。总的说来,炎症反应能通过抗感染,组织清创,释放一些细胞因子,对创伤修复发挥一定的积极作用,但同时也会对组织修复的某些方面起抑制作用,例如再上皮化过程。所以,过度的炎症反应对创伤修复本身而言是弊大于利^[52]。

严重的烧伤和创伤后,大量变性坏死的组织、细菌的侵入、自由基的大量产生以及应激反应产生往往会引起过度的炎症反应^[53]。大量研究蜂胶组织修复活性的体内实验都观察到蜂胶促进创伤修复的同时伴随着对创面局部炎症反应的抑制(见表 1)。除了蜂胶,其它具有抗炎活性的植物成分对创伤修复的促进作用也有报道^[30,32],揭示了抗炎对创伤修

复的积极作用,并且它们通常也含有黄酮及酚类物质。因此,蜂胶很有可能通过抗炎活性减少过度炎症反应对创伤修复的不利影响,从而促进修复。

蜂胶的抗炎活性已经得到大量的研究证明和报道^[54-57]。蜂胶这一生物学活性的发挥主要与蜂胶中含有大量的黄酮类抗炎物质如槲皮素、高良姜素等以及酚类抗炎物质如咖啡酸、阿魏酸、咖啡酸苯乙酯等有关^[3]。这些抗炎活性成分能通过影响花生四烯酸代谢通路^[58]、L-精氨酸代谢通路抑制一些炎症介质如前列腺素 E2 (PGE2)、一氧化氮(NO)等的产生^[59],并能干扰 NF- κ B 信号通路激活^[60],从而阻止某些炎症相关基因的转录,有效缓解炎症反应对细胞和组织造成的损伤。

2.2 抗氧化作用对创(烧)伤修复的影响

烧伤后,正常的氧化还原平衡被打破,局部组织缺血缺氧,加上大量的炎症因子及细菌的侵入,共同促进了烧伤组织的脂质过氧化反应和大量氧化物质的产生^[61]。这些活性氧类(ROS)和活性氮类(RNS)物质不只是帮助机体消灭细菌^[62],同时参与到血管通透性改变,细胞脂质过氧化,引起局部和系统性的炎症反应,降低巨噬细胞吞噬能力,损伤细胞DNA,及引起花生四烯酸代谢反应在内的多个应激反应^[61,63],而这些应激反应进一步影响创伤修复。有研究^[64]发现,过氧化氢在微摩尔浓度下就能抑制角质细胞迁移,而角质细胞的增生和迁移对再上皮化至关重要。由此可见,创伤后的氧化应激会因为对角质细胞的损伤而抑制再上皮化。总的说来,机体受剧烈损伤后大量产生的自由基会通过延长炎症反应时间,使蛋白酶解反应过度,同时抑制成纤维细胞和角质形成细胞的增生、迁移及细胞外基质的生成,并通过加速它们的衰老和凋亡等多种方式,阻碍创伤修复进程,并最终导致疤痕形成或修复障碍^[65]。因此,抗氧化治疗有利于减轻烧伤对患者的伤害。

蜂胶中丰富的黄酮、酚酸及萜烯类使其具有良好的抗氧化效果,所以,这很可能是蜂胶促进再上皮化和创伤修复的重要原因之一。这些抗氧化活性物质能通过直接清除自由基或提高细胞内一些抗氧化酶活性,甚至通过影响氧化应激相关转录调节因子(如 Nrf-2)的信号转导过程发挥抗氧化活性^[66]。已有相关文献报道了蜂胶或其成分在烧伤组织中的抗氧化作用。Ocakci 等^[67]在蜂胶活性成分咖啡酸苯乙酯(CAPE)对氢氧化钠导致的小鼠食管烧伤的作

用研究中表明 CAPE 组减弱了脂质过氧化,同时也促进抗氧化酶活性的恢复。王元元等^[68]在对蜂蜜、蜂胶对深 II 度烫伤大鼠创面愈合影响的研究中,检测到蜂胶外用能显著提高大鼠血清中超氧化物歧化酶(SOD)含量。Olczyk 等^[69]研究了蜂胶对烧伤组织中自由基的作用,通过电子顺磁共振谱学检测蜂胶治疗组烧伤组织中自由基的浓度,结果表明蜂胶能使烧伤组织自由基浓度相对较低。这些研究表明,蜂胶及其活性成分可能通过促进创伤组织内一些抗氧化酶活性的增加或恢复,并促进其含量的增加以及对自由基的直接清除作用,保护细胞免受氧化损伤,从而发挥促进组织修复的作用。

2.3 抗菌作用对创(烧)伤修复的影响

细菌感染是烧伤患者常见的并发症,往往是造成创伤病理性修复的重要原因之一,同时也是给烧伤患者尤其是大面积严重烧伤患者造成生命威胁的主要因素之一。据报道,烧伤创面感染的病原微生物主要以金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、鲍氏不动杆菌、肺炎克雷伯杆菌等最为常见^[70-73]。近年来,由于抗生素的广泛应用,使金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、鲍氏不动杆菌等致病菌对一些常见的抗菌药如头孢菌素类、大环内酯类、氨基糖苷类、氟喹诺酮类等表现出高耐药性^[74,75]。

蜂胶具有良好的抗菌活性,无一般抗生素的毒副作用,且不产生耐药性。蜂胶对革兰氏阳性菌的作用强于对革兰氏阴性菌的作用,尤其对金黄色葡萄球菌有较强的抗菌作用。此外,蜂胶对大肠杆菌、铜绿假单胞菌杆菌等阴性杆菌也有良好的抗菌效果^[76]。由于地理位置、植物源甚至提取方式的差异,加之蜂胶成分极为复杂,各种实验结果可能并不完全一致^[77],但蜂胶的抗菌效果确实得到大量实验的证实^[78-80]。Berretta 等^[81]通过肉汤大量稀释法用来确定蜂胶配方和提取物对烧伤中常见的微生物,如铜绿假单胞菌、克雷伯氏肺炎菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌的抗菌能力,并用大鼠穿刺损伤模型评估蜂胶的修复活性,结果表明,受试样品中蜂胶浓度达到 3.6% 时表现出最佳的抗菌和损伤修复活性。

蜂胶确切的抗菌机制尚不清楚,很可能是各种物质的协同作用。蜂胶中含有大量的黄酮类(松属素、高良姜素)、有机酸类及其脂类(龙胆酸、阿魏酸、咖啡酸、香豆素酸、咖啡酸脂等)及萜类,这些物质均具有良好的抗菌、杀菌作用^[76,82]。蜂胶有效抑

制微生物对创伤面的感染,抑制微生物对创伤面的损害,同时,降低了因感染而起的炎症,亦有利于维持创伤面的氧化还原平衡。总之,由于创伤修复是包括炎症反应、氧化应激、抗感染等多个事件在内的复杂过程,而这些事件之间存在密切的联系,能相互促进,放大彼此对修复的负作用。所以,蜂胶的各种生物学活性之间的相互协调、相互促进可能是其促进创伤修复最重要的原因。另外,蜂胶中含有的氨基酸、维生素、糖类物质^[83],可以为创伤组织提供局部营养,具有改善局部组织微环境的作用,这可能也是其促进组织修复的原因之一。需要指出的是,蜂胶成分复杂,不同提取方式、不同植物源的蜂胶活性成分差异很大,加之各研究采用的实验模型和给药方式和剂量也不尽相同,导致一些实验结果的不一致。未来的研究有必要在明晰蜂胶药效成分的基础上,综合比较研究不用提取方式、不同植物源蜂胶及其单体成分对创伤修复的效果,从而为蜂胶的临床应用提供参考。

3 研究展望

从近年来对蜂胶促进创伤修复作用的研究报道来看,比起蜂胶抗炎、抗氧化方面的研究,蜂胶的在创伤修复作用方面的研究相对较少,并且主要集中于蜂胶在组织病理学方面的作用和一些临床效果的观察上,而对于蜂胶促进创伤修复作用的内在分子机制却鲜有报道。这可能是因为创伤修复本身是一个十分复杂的过程,涉及的生物学机制和影响因素太多,加大了蜂胶在这一领域的研究难度。从近年来这些研究和报道发表的时间来看(表1),人们对于蜂胶的这一生物作用的关注和研究在逐渐提升。随着人们对于创伤修复及其内在机制的研究越来越透彻,必然会带动蜂胶创伤修复作用研究的进一步深入。

从已报道的蜂胶在组织学水平上的创伤修复作用出发,再结合创伤修复这一领域本身的研究进展,笔者认为对于蜂胶创伤修复作用的进一步研究可以从以下几方面展开:

3.1 蜂胶对创伤修复过程中起重要作用的生长因子及其信号通路作用的研究

生长因子在创伤修复过程中发挥极为重要的作用,组织修复中细胞的迁移、分化和增殖均受到生长因子的调节,不同的生长因子在不同的时期可以通过彼此协同、拮抗或重叠作用于组织和细胞,从而促

进组织修复中三个时期(炎症期、组织形成期、组织重塑期)有条不紊地进行。现有的研究已表明了蜂胶能促进再上皮化、调节以胶原为主要成分的细胞外基质的生成以及刺激肉芽组织的生长等,而再上皮化、肉芽组织的生长及胞外基质的生成和沉积受到细胞因子的调节,因此蜂胶很可能通过对一些生长因子及其受体或信号通路中下游信号分子的表达进行调节,也可能通过影响一些转录因子的磷酸化或进核过程发挥作用。例如,体内实验^[35,81]表明蜂胶能在修复早期促进以胶原为主要成分的胞外基质的生成,而 TGF- β 是调控细胞外基质生成的一种重要的细胞因子。蜂胶是否通过增加 TGF- β 及其受体和其下游信号分子 smad3、辅转录因子 p300 等表达,或通过促进 smad3 磷酸化激活及减少拮抗这条促胶原生成信号通路的相关分子,达到其促修复的目的,有待进一步研究。然而,最近有研究^[84]表明,台湾绿蜂胶中的成分 Propolin G 能抑制 TGF- β 1 诱导下的 TGF-肝星状细胞(HSC)增殖、 α -SMA 及 I 型胶原 α 1 链的表达,主要通过下调 JNK 信号通路以及下调 TGF- β 1 下游的信号分子 smad2/3 的表达,从而揭示蜂胶抗肝纤维化的机理。这与他人的研究有些不一致,这可能与体内实验和体外实验的差异有关,或与蜂胶作用的细胞类型有关,也可能与蜂胶作用成分有关。蜂胶成分复杂,并受植物源、季节等多因素影响,而成分是其发挥生物学活性的基础,不同来源的蜂胶及其成分对皮肤的细胞外基质生成究竟起促进或抑制作用需要进一步探索。

3.2 蜂胶对创伤修复过程中整合素表达的影响

整合素家族是位于细胞表面的一类重要的黏附分子,主要介导细胞与细胞间及细胞与细胞外基质间的黏附,并通过双向信号转导通路调节细胞的生长、增殖、迁移、分化^[85]。创伤修复过程就是各种细胞增殖迁移以恢复组织结构和功能完整性的过程,因此离不开整合素家族的参与。例如,成纤维细胞从富含胶原的基质中迁移到以血纤蛋白、纤连蛋白等为主要成分的血凝块,会上调纤连蛋白受体 α 5 β 1 整合素和 α 3 β 1 整合素,而下调与胶原成分结合的 α 1 和 α 2 型整合素,以利于迁移^[86]。角质形成细胞迁入血凝块的过程,也通过相关的整合素和其配体之间的相互作用而介导^[14]。整合素与基质成分的相互作用还能诱导一些蛋白水解酶的表达^[86]。因此,蜂胶也可能通过调节整合素受体表达从而促进再上皮化和肉芽形成。

3.3 蜂胶对创伤修复过程中相关酶作用的研究

在创伤的整个修复过程中,一些蛋白水解酶如纤溶酶、基质金属蛋白酶类及它们的激活物和抑制剂控制下的蛋白水解过程也起着十分关键的作用。例如,迁移的角质形成细胞往往会表达一些基质金属蛋白酶及纤维溶酶原激活物^[14,15],从而促进血凝块中血纤蛋白等成分的水解,以利于迁移。炎症反应产生的蛋白水解酶能降解变性的蛋白和组织,然而酶解反应一旦过度反而不利于新生基质的沉积,阻碍修复。因此,蜂胶是否影响以及如何影响这些蛋白水解酶的表达,也有待于进一步的研究探索。

参考文献

- Li YJ (李雅晶), *et al.* Mechanisms involved in the antiseptic effect of propolis and its application in food preservation. *Nat Pro Res Dev* (天然产物研究与开发), 2005, 17: 108-112.
- Simone-Finstrom M, Spivak M. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 2010, 41: 295-311.
- Guimarães NSS, *et al.* Baccharis dracunculifolia, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50: 1091-1097.
- Hu X (胡晓), Lin QL (林亲录). Healthcare function and application process of propolis. *Acad Period Farm Prod Proc* (农产品加工学刊), 2007(5): 31-38.
- Huang S (黄帅), *et al.* Research progress in chemical composition of propolis between 2008 and 2012. *Nat Pro Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25: 1146-1153.
- Banskota AH, *et al.* Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res*, 2001, 15: 561-571.
- Hu FL, *et al.* Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacol Res*, 2005, 51: 147-152.
- Farstvedt E, *et al.* Update on topical wound medications. *Clin Tech Equine Pract*, 2004, 3: 164-172.
- Chen J (陈炯), *et al.* Effect of silver nanoparticle dressing on second degree burn wound. *Chin J Surg* (中华外科杂志), 2006, 44: 50-52.
- Olczyk P, *et al.* Propolis modifies collagen types I and III accumulation in the matrix of burnt tissue. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 1-10.
- Gurtner GC, *et al.* Wound repair and regeneration. *Nature*, 2008, 453: 314-321.
- Ramos AFN, Miranda JL. Propolis: A review of its anti-inflammatory and healing actions. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2007, 13: 679-710.
- De Castro SL. Propolis: biological and pharmacological activity. *Ann Rev Biomed Sci*, 2001, 3: 49-83.
- Santoro MM, Gaudino G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. *Exp Cell Res*, 2005, 304: 274-286.
- Adam J, *et al.* Cutaneous wound healing. *New Engl J Med*, 1999, 341: 738-746.
- Khorasgani EM, *et al.* A comparison of healing effects of propolis and silver sulfadiazine on full thickness skin wounds in rats. *Pak Vet J*, 2010, 30(2): 72-74.
- Han MC, *et al.* Effects of Turkish propolis and silversulfadiazine on burn wound healing in rats. *Revue Méd Vét*, 2005, 156: 624-627.
- McLennan SV, *et al.* The anti-inflammatory agent propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound Rep Reg*, 2008, 16: 706-713.
- de Almeida EB, *et al.* The incorporation of Brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147: 419-425.
- Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol*, 2005, 5: 599-607.
- Sehn E, *et al.* Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing. *Anal Chim Acta*, 2009, 635: 115-120.
- Gao C (高畅), *et al.* Effects of propolis on new vessels and cell proliferation of wound of diabetic rats. *Eval Anal Drug Use Hosp Chin* (中国医院用药评价与分析), 2009, 9: 201-204.
- Kilicoglu SS, *et al.* Ultrastructural view of colon anastomosis under propolis effect by transmission electron microscopy. *World J Gastroenterol*, 2008, 14: 4763-4770.
- de Moura SA, *et al.* Brazilian green propolis inhibits inflammatory angiogenesis in a murine sponge model. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011: 182703.
- Song YS, *et al.* Inhibition of angiogenesis by propolis. *Arch Pharm Res*, 2002, 25: 500-504.
- Gabbiani G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *J Pathol*, 2003, 200: 500-503.
- Tateshita T, *et al.* Effects of collagen matrix containing transforming growth factor TGF- β 1 on wound contraction. *J Dermatol Sci*, 2001, 27: 104-113.
- Desmoulière A, *et al.* Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Rep Reg*, 2005, 13: 7-12.
- Iyyam Pillai S, *et al.* Wound healing properties of Indian

- propolis studied on excision wound-induced rats. *Pharm Biol*,2010,48:1198-1206.
- 30 George BP, *et al.* Anti-inflammatory and wound healing properties of *Rubus fairholmianus* Gard. root—An *in vivo* study. *Ind Crop Prod*,2014,54:216-225.
- 31 Atiba A,*et al.* *Aloe vera* oral administration accelerates acute radiation-delayed wound healing by stimulating transforming growth factor- β and fibroblast growth factor production. *Am J Surg*,2011,201:809-818.
- 32 Koca U, *et al.* *In vivo* anti-inflammatory and wound healing activities of *Centaurea iberica* Trev. ex Spreng. *J Ethnopharmacol*,2009,126:551-556.
- 33 Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Rep Reg*, 2009,17:153-162.
- 34 Meredith JE, *et al.* The Extracellular matrix as a cell survival factor. *Mol Biol Cell*,1993,4:953-961.
- 35 de Albuquerque-júnior RLC, *et al.* Effect of bovine type-I collagen-based films containing red propolis on dermal wound Healing in rodent model. *Int J Morphol*, 2009, 27: 1105-1110.
- 36 Pessolato AGT, *et al.* Propolis and amnion reepithelialise second-degree burns in rats. *Burns*,2011,37:1192-1201.
- 37 Barrientos S, *et al.* Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Rep Reg*,2008,16:585-601.
- 38 de Moura SA, *et al.* Aqueous extract of brazilian green propolis: primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges. *Evid Based Complement Alternat Med*,2009,2011:1-8.
- 39 Olczyk P, *et al.* Propolis modulates vitronectin, laminin, and heparan sulfate/heparin expression during experimental burn healing. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)*, 2012,13:932-941.
- 40 Olczyk P, *et al.* Propolis induces chondroitin/ dermatan sulphate and hyaluronic acid accumulation in the skin of burned wound. *Evid Based Complement Alternat Med*,2013,2013:1-8.
- 41 Ansoerge S, *et al.* Propolis and some of its constituents down-regulate DNA synthesis and Inflammatory cytokine production but induce TGF- β 1 production of human immune cells. *Z Naturforsch C*,2003,2003:580-589.
- 42 Faler BJ, *et al.* Transforming growth factor- β and wound healing. *Perspec Vasc Surg Endovasc Ther*,2006,18:55-62.
- 43 Schiller M, *et al.* TGF- β -induced SMAD signaling and gene regulation; consequences for extracellular matrix remodeling and wound healing. *J Dermatol Sci*,2004,35(2):83-92.
- 44 Gressner AM WR, *et al.* Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis. *Front Biosci*,2002,7:793-807.
- 45 Leask A, Abraham DJ. TGF- β signaling and the fibrotic response. *FASEB J*,2004,18:816-827.
- 46 Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair. *J Clin Invest*,1972,51:2009-2023.
- 47 Egozi EI, *et al.* Mast cells modulate the inflammatory but not the proliferative response in healing wounds. *Wound Rep Reg*,2003,11:46-54.
- 48 Dovi JV, *et al.* Accelerated wound closure in neutrophil-depleted mice. *J Leukocyte Biol*,2003,73:448-455.
- 49 Martin P, *et al.* Wound healing in the PU. 1 null mouse-tissue repair is not dependent on inflammatory cells. *Curr Biol*, 2003,13:1122-1128.
- 50 Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair. *Am J Pathol*,1975,78:71-100.
- 51 Ashcroft GS, *et al.* Mice lacking smad3 show accelerated wound healing and an impaired local inflammatory response. *Nat Cell Biol*,1999,1:260-266.
- 52 Dovi JV, *et al.* Neutrophil function in the healing wound: adding insult to injury? *Thromb Haemost*,2004,92:275-280.
- 53 Peng DZ(彭代智). The pathogenesis, molecular mechanisms and prevention countermeasures of the inflammatory response after burns. *Chin J Burns (中华烧伤杂志)*,2005,21:405-409.
- 54 Hu FL (胡福良), *et al.* Study on the effect of propolis extracts on acute pleurisy and its mechanism in rats. *Acta Nutri Sin (营养学报)*,2007,29:189-191.
- 55 Rebiai A, *et al.* *In vitro* evaluation of antioxidant capacity of algerian propolis by spectrophotometrical and electrochemical assays. *Int J Pharmacol*,2011,7:113-118.
- 56 Paulino N, *et al.* Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. *Eur J Pharmacol*,2008,10,587:296-301.
- 57 Borrelli F, *et al.* Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*,2002,73:53-63
- 58 Mirzoeva OK, Calder PC. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostag Leukotr Ess*,1996,55:441-449.
- 59 TAN-NO R, *et al.* Anti-inflammatory effect of propolis through inhibition of nitric oxide production on carrageenin-induced mouse paw edema. *Biol Pharm Bull*,2006,29:96-99.
- 60 Song YS, *et al.* Ethanol extract of propolis inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *J Ethnopharmacol*,2002,80:155-161.
- 61 Parihar A, *et al.* Oxidative stress and anti-oxidative mobiliza-

- tion in burn injury. *Burns*, 2008, 34:6-17.
- 62 Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing. *J Am Soc Hematol*, 1998, 92:3007-3017.
- 63 Youn YK, et al. The role of mediators in the response to thermal injury. *World J Surg*, 1992, 16:30-36.
- 64 Otoole EA, et al. Hydrogen peroxide inhibits human keratinocyte migration. *Dermatol Surg*, 1996, 22:525-529.
- 65 Soneja A, et al. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. *Pharmacol Rep*, 2005, 57:108-119.
- 66 Zhang JL (张江临), et al. Advance in studies on antioxidant activity of propolis and its molecular mechanism. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2013, 38:2645-2652.
- 67 Ocakci A, et al. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against NAOH-induced esophageal burns in rats. *Int J Pediatr Otorhi*, 2006, 70:1731-1739.
- 68 Wang YY (王元元), et al. Effect of honey and propolis on wound healing in rats with second-degree scald. *J Tianjin Univ Chin med* (天津中医药大学学报), 2012, 31:154-156.
- 69 Olczyk P, et al. Positive effect of propolis on free radicals in burn wounds. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013:1-13.
- 70 Luo NR (罗念容), et al. A survey on pathogen infection and its drug resistance in patients' burn wound. *Chin J Misdiagn* (中国误诊学杂志), 2011, 11:1761-1762.
- 71 Wang H (王宏), et al. Bacteriology investigation and its drug resistance analysis of burn wound infection. *Chin Med J Metall Ind* (中国冶金工业医学杂志), 2011, 28:5-6.
- 72 Matsui T, et al. Strong Antihyperglycemic Effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3,4,5-tri-o-caffeoylquinic acid. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27:1797-1803.
- 73 Ozyurt B, et al. A preliminary study of the levels of testis oxidative stress parameters after MK-801-induced experimental psychosis model: Protective effects of CAPE. *Toxicology*, 2007, 230:83-89.
- 74 Yu Y (于勇), et al. Relationship between antibiotic related factors and changes in constituent ratios of main pathogens in burn infection. *Med J Chin PLA* (解放军医学杂志), 2006, 31:1-3.
- 75 Li HJ (黎洪棉), et al. An investigation of bacterial ecology and analysis of bacterial resistance to antibiotics in a burn ward in Nan Ning district. *Chin J Burns* (中华烧伤杂志), 2005, 21:107-110.
- 76 Guo FB (郭芳彬). The antibacterial activity of propolis. *J Bee* (蜜蜂杂志), 2004, (3):10-12.
- 77 Zhang FY (张芳英), et al. Research progress on the antibacterial effect of propolis extract. *China Pharm* (中国药房), 2011, 22:1041-1043.
- 78 Chen HF (陈荷凤), et al. The comparison on bacteriostatic effect between different propolis extracts with different solvent. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2001, 22:18-19.
- 79 Zhou JX (周建新), et al. Study on the antibacterial activity and influencing factors of Propolis. A research on the antibacterial activity of propolis and its influencing factors. *Food Ferm Ind* (食品与发酵工业), 2007, 33(3):41-43.
- 80 Shen HT (申慧亭), Jin YQ (靳月琴). Laboratory research on the antibacterial effect of propolis. *J Chang Zhi Med Coll* (长治医学院学报), 2005, 19:253-254.
- 81 Berretta AA, et al. Propolis standardized extract (EPP-AF(R)), an innovative chemically and biologically reproducible pharmaceutical compound for treating wounds. *Int J Biol Sci*, 2012, 8:512-521.
- 82 Wang X, et al. Structure-activity relationships in the cytoprotective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and fluorinated derivatives: Effects on heme oxygenase-1 induction and antioxidant activities. *Eur J Pharmacol*, 2010, 635(1-3):16-22.
- 83 Qi DM (齐东梅). The pharmacological action and clinical application of propolis. *Capit Med* (首都医药), 2008:44-45.
- 84 Su KY, et al. Taiwanese green propolis and propolin G protect the liver from the pathogenesis of fibrosis via eliminating TGF-beta-Induced Smad2/3 phosphorylation. *J Agric Food Chem*, 2014, 62:3192-201.
- 85 Li JH (李晋辉). Integrin and signal transduction. *J Med Mol Biol* (医学分子生物学杂志), 2007, 4:279-282.
- 86 Steffensen B, et al. Proteolytic events of wound-healing--coordinated interactions among matrix metalloproteinases (MMPs), integrins, and extracellular matrix molecules. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2001, 12:373-398.