

紫草素通过 Wnt 信号通路促进人脐静脉内皮细胞血管生成

周自福* 虎海东 郭涛 张勋

宁夏医科大学总医院烧伤整形美容科 宁夏银川 750004

摘要: 目的 本研究旨在评价紫草素对人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 血管生成的作用, 揭示 GSK-3 β 和 Wnt/ β -Catenin 信号通路参与糖尿病溃疡愈合过程中血管生成的机制。方法 在高糖处理条件下, 用低、中、高 (5、10、20 μ mol/L) 剂量紫草素孵育 HUVECs, 采用 CCK8 法检测细胞活力, TUNEL 实验观察细胞的凋亡水平。ELISA 检测血管生成关键因子 VEGF、VEGFR2、eNOS 的变化, Western Blot 检测血管生成关键因子及 Wnt 信号通路中相关蛋白的表达。结果 在高糖条件下, 高剂量紫草素处理显著提升了细胞增殖水平 ($P<0.01$); 同时 TUNEL 实验显示紫草素处理明显降低了细胞的凋亡水平。紫草素处理也显著提升了 VEGF、VEGFR2、eNOS 的表达水平 ($P<0.05$)。通过 WB 实验, 发现紫草素处理显著抑制了 GSK-3 β 的表达 ($P<0.05$)。给 HUVECs 施以 Wnt 抑制剂, 则得到和紫草素处理相反的结果。结论 紫草素通过 GSK-3 β 介导的 Wnt/ β -Catenin 信号通路的激活, 刺激人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 的增殖, 进而促进内皮细胞血管生成。该研究为深入理解紫草素促进糖尿病溃疡伤口愈合的作用机制提供了一定的理论基础。

关键词: 紫草素; 糖尿病溃疡; Wnt/ β -Catenin 信号通路

前言

糖尿病溃疡 (diabetic ulcer, DU), 特别是足部皮肤溃疡, 是糖尿病的一种严重并发症, 溃疡经久难愈, 反复发作, 最终甚至导致截肢而残废^[1]。伤口愈合受损是糖尿病溃疡患者面临的一个主要临床问题, 糖尿病溃疡愈合的确切机制尚不完全清楚, 但可能包括炎症细胞反应异常、血管生成受损和胶原合成减少^[2, 3]。因此, 解剖糖尿病溃疡情况下伤口愈合的机制, 开发出可靠的治疗糖尿病溃疡的药物, 对糖尿病溃疡患者的健康极为重要。

紫草素 (Shikonin) 是从紫草根组织中提取的一种脂溶性萘醌类化合物, 是紫草的主要活性成分。紫草素具有较高的药用价值和多种药理功能, 如抗癌、抗炎、抗菌等功能^[4-6]。临床及动物研究表明, 紫草素可刺激成纤维细胞和内皮细胞的增殖和迁移, 促进血管生成和组织重塑, 从而加快伤口愈合^[7]。已有的研究表明, 铁/紫草素纳米颗粒嵌入水凝胶, 具有强大的粘附和愈合功能, 可用于治疗糖尿病口腔溃疡^[8]。此外紫草素具有促进伤口愈合的特性使其成为一种极具吸引力的治疗剂, 可用于治疗与损伤相关的肠道炎症^[9]。然而, 紫草素是如何促进伤口的愈合, 以及背后的分子靶点和作用机制, 目前还不甚清楚。

创面愈合是一个复杂而有序的过程, 是涉及炎性细胞、

细胞外基质和细胞因子等多种因素的级联反应^[10-13]。此外创面愈合过程涉及多种功能特化的细胞群体协同作用, 主要包括角质形成细胞 (介导上皮再生)、成纤维细胞 (参与细胞外基质重塑) 及内皮细胞 (驱动新生血管形成)^[14]。随着皮肤组织工程学的发展, 许多学者关注到皮肤伤口愈合信号传导通路的研究, Wnt 信号通路作为其中之一, 被认为与皮肤发育、创伤愈合关系密切^[15-17]。具有调控皮肤及其附属器的发育, 诱导皮肤附件的形态发生, 调节毛囊的周期生长, 促进创面血管新生及上皮重塑等多方面的功能^[18]。亦有研究表明, Wnt 信号通路参与了血管内皮细胞的增生调控, 在保持内皮细胞和内皮祖细胞的功能中发挥了重要作用^[19, 20]。可见 Wnt 信号通路与创面愈合有密切的关系, 它可以通过对多种细胞、多种因子、多种过程的调控来促进创面愈合。亦可通过调控血管内皮细胞的增生参与创面愈合。因此, 通过调节 Wnt 信号通路可能在调控内皮细胞增生中发挥着重要作用, 但紫草素能否通过调控该通路影响血管内皮细胞的增生从而促进糖尿病溃疡创面愈合尚需进一步研究。

因此, 本研究使用体外细胞培养和分子检测技术, 探索紫草素在血管内皮细胞中的功能, 旨在阐明紫草素影响血管内皮细胞的增生, 从而促进糖尿病溃疡创面愈合的作用机制。

1 实验材料与方法

1.1 细胞培养

HUVEC 细胞（购自武汉普诺赛生物科技有限公司，CL-0675）培养于含 10% 胎牛血清、100U/mL 青霉素、100U/mL 链霉素的 DMEM 培养基（Gibco，11995-065）中，并在恒温培养箱中以 37℃、5%CO₂ 以及饱和湿度条件下培养。细胞状态良好、处于对数生长期时进行后续实验操作。细胞分组及处理：共分为 6 组：NG 组（5.5mmol/L 葡萄糖）、HG 组（50mmol/L 葡萄糖）、HG+ 紫草素低剂量组（50mmol/L 葡萄糖+5 μmol/L 紫草素）、HG+ 紫草素中剂量组（50mmol/L 葡萄糖+10 μmol/L 紫草素）、HG+ 紫草素高剂量组（50mmol/L 葡萄糖+20 μmol/L 紫草素）、HG+Wnt 通路抑制剂（50mmol/L 葡萄糖+10 μmol/L IWR-1-endo）组，各处理组均在高糖基础上进行干预，处理时间均为 24 h。

1.2 细胞增殖（CCK8）实验

采用 CCK-8 试剂（购自北京索莱宝科技有限公司，CA1210）检测细胞活力。将细胞以 3×10^4 个/mL 的密度接种于 96 孔板中，每孔加入 200 μL 细胞悬液，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h，使细胞充分贴壁。随后按照实验分组向各孔加入不同浓度的葡萄糖，继续培养 24 h。处理结束后，进一步按照分组加入通路抑制剂及不同浓度的紫草素，继续培养 24 h。处理结束后，弃去各孔培养基，每孔加入 100 μL CCK-8 工作液（按照试剂说明书配制），继续于 37℃、5% CO₂ 条件下孵育 2 h。孵育结束后，使用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度值（OD 值），以评估细胞的代谢活性及增殖能力。

1.3 细胞凋亡（TUNEL）检测实验

各组细胞处理结束后，采用 TUNEL 法检测人脐静脉内皮细胞（HUVECs）的凋亡情况。实验过程中，细胞经固定、通透和酶消化处理后，加入 TUNEL 标记反应液于 37℃湿盒中孵育 60 min，随后进行 PI 染色。操作过程中各步骤均避光进行，反应结束后使用抗荧光淬灭封片剂封片，于荧光显微镜下观察，TUNEL 阳性细胞呈绿色荧光，PI 染色细胞核呈红色荧光。图像采集在 200 倍视野下进行，记录凋亡细胞数与总细胞数。实验具体操作步骤均按照 TUNEL 试剂盒（购自上海七海复泰生物科技有限公司，AT005）说明书进行。

1.4 酶联免疫吸附（ELISA）测定血管新生相关指标

按照实验分组处理细胞后，96 孔板分别在 5% CO₂、

37℃条件下培养 24 小时，随后分别吸取细胞上清液。分别采用酶联免疫吸附法（ELISA）检测细胞分泌的血管内皮生长因子（VEGF）、血管内皮生长因子受体（VEGFR2）及内皮型一氧化氮合酶（eNOS）的表达水平。所有检测均依据各试剂盒（均购自睿信生物公司，RX105003H）说明书操作进行，检测波长为 450 nm。实验重复 3 次，结果取平均值进行统计分析。

1.5 Western blot 检测血管新生相关蛋白相对表达量

将 HUVECs 接种于培养皿中，待细胞融合度达到 80% 时，给予不同处理。弃去培养基，PBS 预冷清洗 2 次后，加入裂解液，置于冰上裂解 20min。以 12000 rpm 离心 20 min，收集上清，采用 BCA 法测定蛋白浓度。各组总蛋白经 SDS-PAGE 电泳分离后，转膜至 PVDF 膜（Millipore，IPVH00010）。PVDF 膜于含 5% 牛奶的 TBST（封闭液）中进行封闭，室温摇床封闭 2 h，随后分别加入一抗，于 4℃孵育过夜。所用一抗信息如下（均购自 Affinity）：VEGFA（AF5131，1:1000 稀释）、VEGFR2（AF6281，1:1000 稀释）、eNOS（AF0096，1:1000 稀释）、β-catenin（AF6266，1:1000 稀释）、p-β-catenin（DF2989，1:1000 稀释）、GSK3β（AF5016，1:1000 稀释）、p-GSK3β（AF2016，1:1000 稀释）。封闭与孵育完成后，用 TBST 洗膜 3 次，每次 10 min；加入 HRP 标记的二抗（1:5000 稀释），室温孵育 60 min，再次用 TBST 洗膜 3 次，每次 10 min。最终用 ECL 化学发光试剂显色，胶片曝光显影后，使用凝胶成像系统进行蛋白条带分析。曝光结束后，用 TBST 充分洗涤 PVDF 膜 3 次，5min/次，膜洗脱再生后，再次进行封闭，内参孵育（GAPDH---1:5000 稀释），加二抗，曝光。

1.6 统计分析

所有数据均来自至少三个独立实验，并以均数 ± 标准差表示。多组间采用 ANOVA 进行统计比较，随后采用 GraphPad Prism9.0 软件进行 Tukey 事后检验。P 值 <0.05 被认为具有显著性差异。

2 结果

2.1 紫草素促进高糖诱导的人脐静脉内皮细胞系（HUVECs）增殖

在 48 h 后测定不同浓度紫草素对高糖诱导下人脐静脉内皮细胞增殖的影响。如图 1 所示，与 NG 组（5.5mmol/L 葡萄糖）相比，HG 组（50mmol/L 葡萄糖）细胞活力显著降

低 ($P < 0.0001$)，表明高糖环境会显著抑制 HUVECs 的增殖，也表明高糖诱导的 HUVECs 模型构建成功。在紫草素处理组别中，发现中剂量 ($10 \mu\text{mol/L}$) 和高剂量 ($20 \mu\text{mol/L}$) 的紫草素均会显著提高高糖诱导下 HUVECs 的活力，其中中剂量 ($10 \mu\text{mol/L}$ 紫草素) 对细胞活力的促进作用最佳 ($P < 0.001$)。添加 Wnt 通路抑制剂后，细胞活力也呈现降低趋势，跟高糖组相比差异不显著 (图 1)。该实验结果表明紫草素可以促进高糖诱导下人脐静脉内皮细胞的增殖。

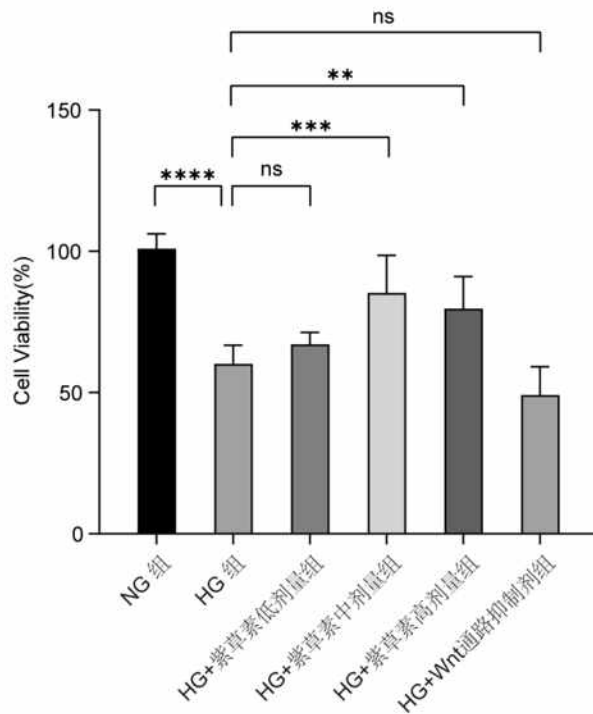


图 1 CCK8 实验检测人脐静脉内皮细胞增殖的情况。ns: 无显著性，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ，**** $P < 0.0001$ 。

2.2 紫草素改善高糖诱导的人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 凋亡

为评估紫草素对高糖诱导下 HUVECs 细胞凋亡的影响，采用 TUNEL 染色检测各组细胞的凋亡情况。PI (红色) 标记所有细胞核，TUNEL 阳性细胞 (绿色) 标识发生 DNA 断裂的凋亡细胞 (图 2)。在正常葡萄糖组 (NG 组)，TUNEL 阳性细胞较少，细胞凋亡率较低；而高糖组 (HG 组) 中，TUNEL 阳性细胞明显增多，提示高糖处理显著诱导了 HUVECs 细胞凋亡。紫草素干预组 (HG+ 紫草素中剂量组、HG+ 紫草素高剂量组) 中，TUNEL 阳性细胞数量较 HG 组明显减少，表明紫草素干预能够有效抑制高糖诱导的

HUVECs 细胞凋亡。该实验结果表明，中剂量和高剂量紫草素处理显著降低了细胞凋亡率，具有一定的细胞保护作用。

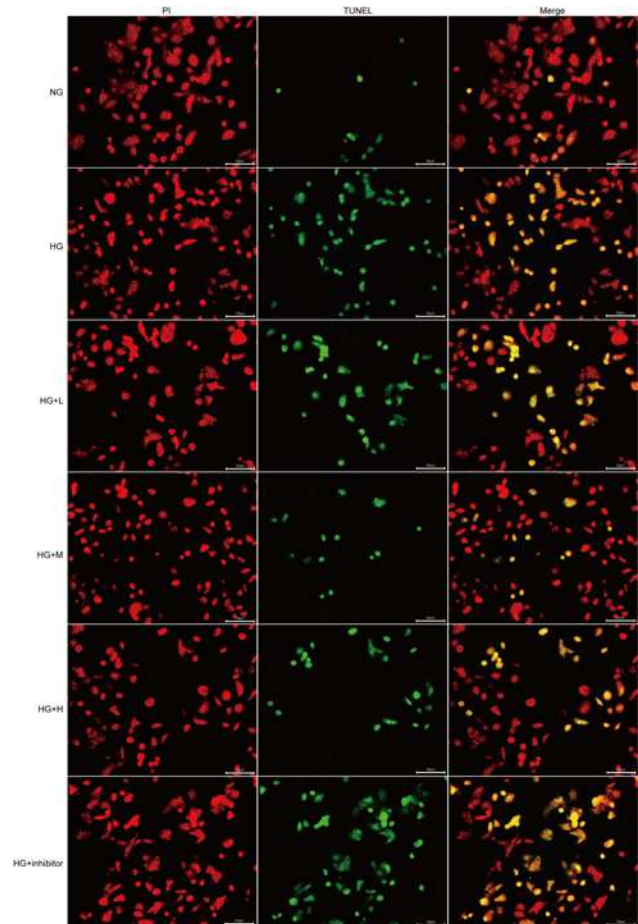


图 2 TUNEL 染色显示不同组别细胞凋亡情况。绿色代表 TUNEL 阳性细胞，红色为 PI 核染。(放大倍数: $\times 200$ ，比例尺: $50 \mu\text{m}$)，HG+L (HG+ 紫草素低剂量组)，HG+M (HG+ 紫草素中剂量组)，HG+H (HG+ 紫草素高剂量组)。

2.3 ELISA 检测结果

为探究紫草素对高糖条件下 HUVECs 细胞分泌因子和血管生成的调节作用，采用 ELISA 方法检测 VEGF、VEGFR2、eNOS 三种蛋白的表达水平。如图 3A 所示，与 NG 组相比，HG 组 VEGF 蛋白水平显著下降 ($P < 0.0001$)，紫草素 ($10 \mu\text{mol/L}$) 干预后，VEGF 蛋白的表达水平显著上升，差异具有统计学意义 ($P < 0.0001$)。VEGFR2 蛋白的检测结果显示 (图 3B)，与 NG 组相比，高糖组 (HG 组) 中 VEGFR2 蛋白水平同样显著下降 ($P < 0.0001$)，而紫草素 ($10 \mu\text{mol/L}$) 处理提高了 VEGFR2 蛋白的表达水平，但差异不显著 ($P > 0.05$)。eNOS 蛋白的检测结果显示

示(图 3C),与 NG 组相比, HG 组中 eNOS 蛋白的表达水平显著下降($P < 0.0001$),紫草素($10 \mu\text{mol/L}$)处理后, eNOS 蛋白的表达水平显著上升($P < 0.0001$)。以上

的研究结果提示,在高糖诱导的 HUVECs 细胞中,紫草素对 VEGF 和 eNOS 两种分泌因子的调控具有一定促进作用,但对 VEGFR2 蛋白的促进效果不显著。

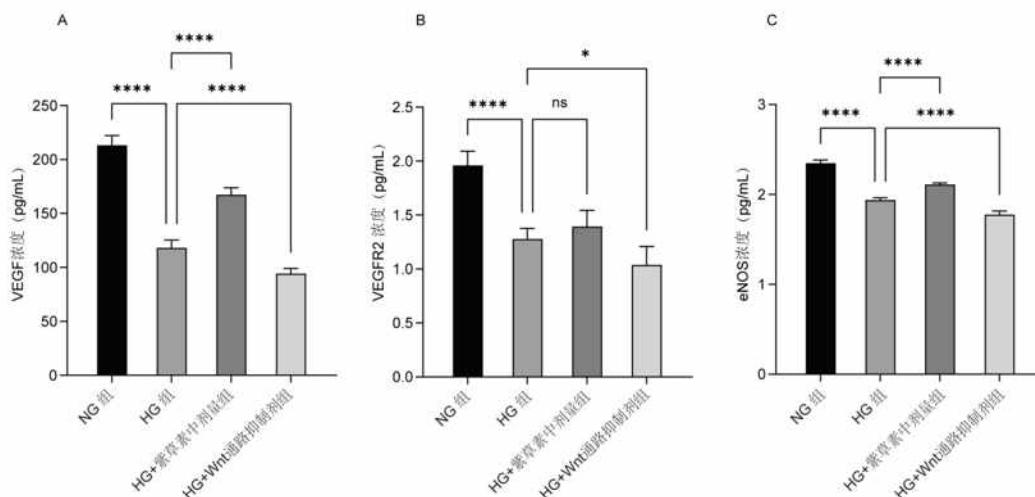


图 3 紫草素对高糖诱导下 HUVECs 细胞中 VEGF, VEGFR2, eNOS 蛋白表达的影响 (ELISA 检测) A.VEGF 蛋白; B.VEGFR2 蛋白; C.eNOS 蛋白。ns: 无显著性, * $P < 0.05$, **** $P < 0.0001$ 。

2.4 Western blot 检测结果

为了探讨紫草素对内皮细胞血管生成的作用机制,采用 Western blot 检测 VEGF、VEGFR2、eNOS、 β -catenin、p- β -catenin、GSK-3 β 和 p-GSK-3 β 蛋白的表达水平(图 4A)。如图所示,与 NG 组相比, HG 组中 VEGFA ($P < 0.05$)、VEGFR2 ($P < 0.01$)、eNOS ($P < 0.05$) 蛋白表达水平明显降低(图 4B-C),而 β -catenin 和 p- β -catenin 表达无显著差异(图 4E-F);与此同时, GSK-3 β ($P < 0.05$) 和 p-GSK-3 β ($P < 0.001$) 蛋白水平显著上升(图 4G-H)。与 HG 组对比,紫草素中剂量干预组(HG+ $10 \mu\text{mol/L}$ 紫草素)中 VEGF、VEGFR2、eNOS、 β -catenin 和 p- β -catenin 蛋白的表达有变化趋势,但变化不显著($P > 0.05$,图 4B-F),而 GSK-3 β ($P < 0.05$) 和 p-GSK-3 β ($P < 0.01$) 蛋白水平显著下降(图 4G-H); Wnt 通路抑制剂处理组中, VEGF、VEGFR2、p- β -catenin、GSK-3 β 和 p-GSK-3 β 蛋白表达水平无显著差异,而 eNOS ($P < 0.01$) 和 β -catenin ($P < 0.05$) 蛋白的表达显著降低。以上结果表明紫草素可能通过抑制 GSK-3 β 通路来影响伤口愈合过程。

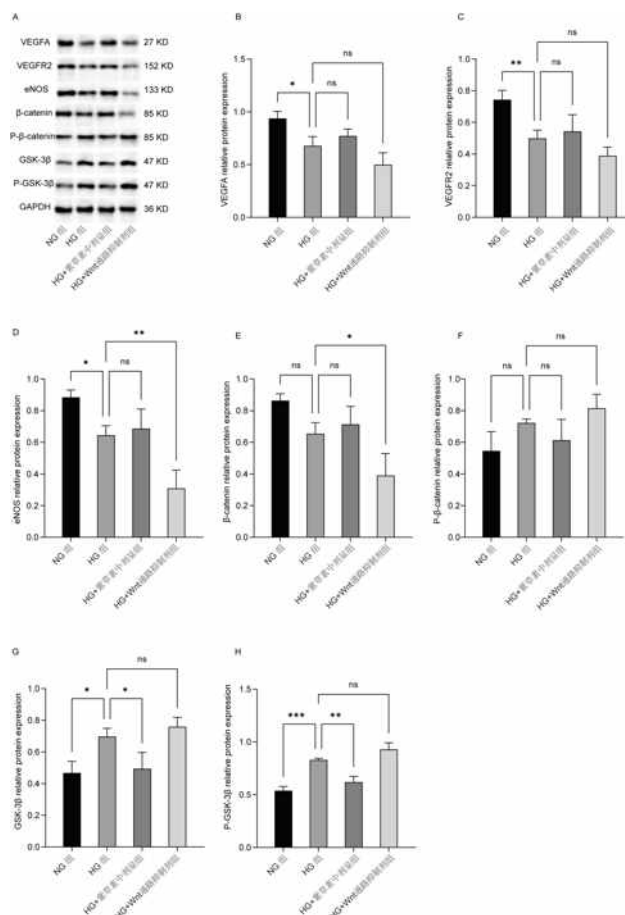


图 4 Western blot 检测 HUVECs 细胞中 VEGFA, VEGFR2,

eNOS, β -catenin, p- β -catenin, GSK-3 β , p-GSK-3 β 蛋白表达水平。A. 蛋白的 Western blot 检测情况; (B-H) 蛋白的相对表达水平。ns: 无显著性, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

3 讨论

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一类全球高发的代谢类疾病, 严重影响患者的身心健康。皮肤溃疡是 DM 的一种常见并发症, 其发病机制涉及多种细胞和分析调控因子。在本研究中, 我们深度探索了紫草素在治疗糖尿病溃疡中的潜在功能, 以及其调控的下游分子靶点。通过在 HUVECs 中建立高糖模型, 发现紫草素处理可显著促进 HUVECs 的活性, 并降低凋亡率。通过探索下游的分子靶点, 发现紫草素处理可显著改变 VEGF 和 GSK-3 β 等分子的表达水平, 揭示了紫草素在治疗 DU 中潜在的分子机制, 为紫草素治疗糖尿病足提供了新的理论基础和潜在的治疗靶点。

紫草素提取于中国传统中药紫草, 并在癌症治疗、抗炎应答、以及伤口愈合中有较多的应用^[15]。在本研究中, 我们发现紫草素在高糖环境下, 可以促进 HUVECs 的增殖, 并抑制其凋亡。HUVECs 是研究血管增生的模式细胞系, 用于在体外模拟血管生成过程^[21]; 我们的结果表明, 紫草素在高糖环境下可能具有促进血管生成的功能, 这虽然与其抗肿瘤的功能结果不符^[22], 但也能说明紫草素在糖尿病溃疡中的潜在功能和作用方式, 也进一步意味着紫草素在多种疾病中的治疗作用。进一步的研究显示, 紫草素可直接影响 VEGFA、VEGFR2 和 eNOS 的表达, 后者是血管生成的关键影响因子^[23]。因此, 我们的研究表明紫草素可能通过影响 VEGFA-VEGFR2 配对关系, 以及 eNOS 的表达, 来促进血管生成, 从而进一步起到促进伤口愈合的功能。

进一步的实验研究表明, 紫草素处理后, 除了会升高 VEGF 等内皮生长因子的表达外, 还会显著降低 GSK-3 β 和 p-GSK-3 β 的表达。以往的研究表明, GSK-3 β 是导致胰岛素缺乏和胰岛素抵抗的关键因素之一, 说明 GSK-3 β 是诱导 DM 病发的关键因子之一^[24]。紫草素在高糖环境下抑制 GSK-3 β 的表达, 进一步说明了紫草素在抑制糖尿病溃疡中的潜在作用机制。与此同时, GSK-3 β 也是 Wnt 通路的上游调控因子, GSK-3 β 通过磷酸化 β -catenin 来抑制其表达, 从而起到了抑制经典 Wnt 通路的功能^[25]。在本研究中, 加入 Wnt 通路抑制剂后, 抑制了血管生成因子 VEGF 的表达, 进而起到抑制血管生成和伤口愈合的功能^[26]。因此,

我们发现紫草素通过 GSK-3 β 介导的 Wnt 通路, 在糖尿病伤口愈合中起到修复和促进的功能。

总的来说, 本研究在进一步证实紫草素促进糖尿病溃疡伤口愈合的基础上, 深入探索了紫草素的下游分子靶标, 以及促进伤口愈合的分子作用机制。通过本研究, 发现紫草素可以促进血管生成中关键蛋白分子的表达, 包括 VEGFA、VEGFR2 和 eNOS。在分子调控机制上, 紫草素可通过抑制 GSK-3 β , 来激活下游的 Wnt 通路, 从而促进了伤口愈合过程。本研究的发现为紫草素在糖尿病溃疡治疗中的功能进行了延申, 其下游的分子靶点可进一步作为治疗的研究对象, 并开发新的药物。

参考文献:

- [1] HOLT R I. Understanding of the causes and management of diabetic foot disease [J]. *Diabet Med*, 2017, 34(3): 303-4.
- [2] GALEANO M, PALLIO G, IRRERA N, et al. Polydeoxyribonucleotide: A Promising Biological Platform to Accelerate Impaired Skin Wound Healing [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2021, 14(11).
- [3] LEE S H, KIM S H, KIM K B, et al. Factors Influencing Wound Healing in Diabetic Foot Patients [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2024, 60(5).
- [4] ANDUJAR I, RIOS J L, GINER R M, et al. Pharmacological properties of shikonin – a review of literature since 2002 [J]. *Planta Med*, 2013, 79(18): 1685-97.
- [5] WANG F, YAO X, ZHANG Y, et al. Synthesis, biological function and evaluation of Shikonin in cancer therapy [J]. *Fitoterapia*, 2019, 134: 329-39.
- [6] GUO C, HE J, SONG X, et al. Pharmacological properties and derivatives of shikonin-A review in recent years [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 149: 104463.
- [7] XUE C, DOU J, ZHANG S, et al. Shikonin potentiates skin wound healing in Sprague-Dawley rats by stimulating fibroblast and endothelial cell proliferation and angiogenesis [J]. *J Gene Med*, 2024, 26(1): e3633.
- [8] CHEN X, LI Z, GE X, et al. Ferric Iron/Shikonin Nanoparticle-Embedded Hydrogels with Robust Adhesion and Healing Functions for Treating Oral Ulcers in Diabetes [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(45): e2405463.

- [9]ANDUJAR I, RIOS J L, GINER R M, et al. Shikonin promotes intestinal wound healing in vitro via induction of TGF- β release in IEC-18 cells [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 49(4): 637-41.
- [10]BEYENE R T, DERRYBERRY S L, JR., BARBUL A. The Effect of Comorbidities on Wound Healing [J]. *Surg Clin North Am*, 2020, 100(4): 695-705.
- [11]SHAIKH-KADER A, HOURELD N N, RAJENDRAN N K, et al. The link between advanced glycation end products and apoptosis in delayed wound healing [J]. *Cell Biochem Funct*, 2019, 37(6): 432-42.
- [12]KIM S Y, NAIR M G. Macrophages in wound healing: activation and plasticity [J]. *Immunol Cell Biol*, 2019, 97(3): 258-67.
- [13]RODRIGUES M, KOSARIC N, BONHAM C A, et al. Wound Healing: A Cellular Perspective [J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(1): 665-706.
- [14]MORBIDELLI L, GENAH S, CIALDAI F. Effect of Microgravity on Endothelial Cell Function, Angiogenesis, and Vessel Remodeling During Wound Healing [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 720091.
- [15]SUN Q, RABBANI P, TAKEO M, et al. Dissecting Wnt Signaling for Melanocyte Regulation during Wound Healing [J]. *J Invest Dermatol*, 2018, 138(7): 1591-600.
- [16]SEO S H, LEE S H, CHA P H, et al. Polygonum aviculare L. and its active compounds, quercitrin hydrate, caffeic acid, and rutin, activate the Wnt/ β -catenin pathway and induce cutaneous wound healing [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(5): 848-54.
- [17]MI Y, ZHONG L, LU S, et al. Quercetin promotes cutaneous wound healing in mice through Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 290: 115066.
- [18]HOUSCHYAR K S, TAPKING C, PULADI B, et al. Wnt signaling in cutaneous wound healing [J]. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 2020, 52(2): 151-8.
- [19]ZHAO Y, RAO W, WAN Y, et al. Overexpression of microRNA-155 alleviates palmitate-induced vascular endothelial cell injury in human umbilical vein endothelial cells by negatively regulating the Wnt signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(4): 3527-34.
- [20]LI Y, MENG R. MicroRNA-154 Targets the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway Following Injury to Human Vascular Endothelial Cells by Hydrogen Peroxide [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 5648-56.
- [21]LIU X, ZHAO N, LIANG H, et al. Bone tissue engineering scaffolds with HUVECs/hBMSCs cocultured on 3D-printed composite bioactive ceramic scaffolds promoted osteogenesis/angiogenesis [J]. *J Orthop Translat*, 2022, 37: 152-62.
- [22]高爱琴. 紫草素通过 MAPK 和 AKT/mTOR 信号通路抑制肿瘤血管生成和肿瘤生长 [D]; 昆明理工大学, 2020.
- [23]DUDLEY A C, GRIFFIOEN A W. Pathological angiogenesis: mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Angiogenesis*, 2023, 26(3): 313-47.
- [24]ZHANG Y, HUANG N Q, YAN F, et al. Diabetes mellitus and Alzheimer's disease: GSK-3 β as a potential link [J]. *Behav Brain Res*, 2018, 339: 57-65.
- [25]LAW S M, ZHENG J J. Premise and peril of Wnt signaling activation through GSK-3 β inhibition [J]. *iScience*, 2022, 25(4): 104159.
- [26]BURGY O, KONIGSHOFF M. The WNT signaling pathways in wound healing and fibrosis [J]. *Matrix Biol*, 2018, 68-69: 67-80.
- 作者简介:** 周自福 (1985—), 男, 汉族, 宁夏, 学士, 宁夏医科大学总医院, 主治医师, 研究方向: 创面感染及修复。
- 基金项目:** 宁夏自然科学基金 (2021AAC03323); 自治区重点研发项目 (2021BEG03078)。