

分类号：
学 号：20222013046

密 级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



PI16、DUSP1 通过调控 NF- κ B 通路对驴皮伤口 愈合的影响研究

学 位 申 请 人	刘磊
指 导 教 师	王艳萍副教授
申请学位门类级别	农学硕士
学 科、专 业 名 称	兽医学
研 究 方 向	基础兽医学
所 在 学 院	动物科技学院

中国·新疆·石河子

2025 年 12 月

分类号：
学 号：20222013046

密 级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



PI16、DUSP1 通过调控 NF- κ B 通路对驴皮伤口 愈合的影响研究

学 位 申 请 人	刘磊
指 导 教 师	王艳萍副教授
申请学位门类级别	农学硕士
学 科、专 业 名 称	兽医学
研 究 方 向	基础兽医学
所 在 学 院	动物科技学院

中国·新疆·石河子

2025 年 12 月

**Effect of PI16 and DUSP1 on Wound Healing in Donkey Skin through
Regulation of the NF- κ B Pathway**

A Dissertation Submitted to
Shihezi University
In Fulfillment of the Requirements
for the Degree of
Master of Agriculture

By

Liu Lei
(Basic Veterinary Medicine)

Dissertation Supervisor: Assoc. Prof. Wang Yan-ping

December, 2025

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：刘磊

时间：2025年11月14日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：刘磊

时间：2025年11月14日

导师签名：王艳萍

时间：2025年11月14日

摘要

皮肤伤口愈合涉及炎症调控、细胞增殖与基质重塑共同参与的动态过程，成纤维细胞通过胶原合成与细胞外基质（ECM）稳态维持发挥核心作用。病理性疤痕的形成与过度活化纤维细胞和胶原代谢不平衡有很大的关系。值得注意的是，驴皮组织虽高表达胶原蛋白却能够实现较少瘢痕愈合，提示其存在独特的胶原代谢调控机制。研究根据课题组前期转录组的测序资料，结合驴皮伤口愈合中出现的特殊现象，筛选驴皮创面愈合增殖期差异表达基因 PI16/DUSP1，构建 PI16/DUSP1 基因表达调控模型，探讨二者与差异表达通路 NF- κ B 通路的潜在关联。NF- κ B 通路作为炎症与修复的核心调控者，其异常激活可导致胶原过度沉积。

目的：本研究旨在通过体外细胞模型与体内动物试验相结合的方法，系统探究 PI16/DUSP1 基因及其调控的 NF- κ B 信号通路在驴皮无瘢痕愈合过程中的作用机制。通过基因操作技术（过表达和 RNA 干扰）构建 PI16/DUSP1 基因差异表达的驴皮肤成纤维细胞模型，深入分析这些基因对成纤维细胞生物学行为（包括增殖、迁移能力）以及细胞外基质（ECM）相关基因（如 COL1A1、COL3A1、FN）表达的影响。探索 PI16/DUSP1 与 NF- κ B 通路（关键分子包括 p50、IKK β 、I κ B α ）之间的相互作用关系。建立驴全层皮肤缺损动物模型，通过局部注射 PI16 基因干扰质粒，观察其对创面愈合过程（包括愈合速度、炎症反应、胶原排列等）的影响。

方法：取新疆毛驴背皮组织，采用组块贴壁的方法分离原代成纤维细胞，经形态学、波形蛋白（vimentin）免疫荧光染色和 PCR 鉴定纯度，将原代成纤维细胞分离出来。构建 PI16/DUSP1 过表达及 shRNA 干扰载体通过慢病毒转染建立稳定表达细胞系，通过 CCK-8、划痕试验检测增殖与迁移能力，RT-qPCR/Western blot 分析 COL1A1、COL3A1、FN 及 NF- κ B 通路分子（p50、IKK β 、I κ B α ）表达水平。结合 NF- κ B 抑制剂（TPCA-1）和激活剂（LPS）验证通路调控作用。建立毛驴全层皮肤缺损模型（直径 1.6cm），局部注射 PI16 干扰质粒（50 μ L， 1×10^7 PFU/ml），观察创面愈合、HE 染色评估炎症反应、Masson 染色分析胶原沉积等。数据采用 SPSS 20.0 进行统计分析。

结果：成功从新疆驴背皮组织中分离培养出原代成纤维细胞（vimentin 阳性率>95%），组织块贴壁培养第 4 天可观察到梭形细胞从组织边缘爬出，第 8 天形成典型的漩涡状分布。经免疫荧光染色鉴定，vimentin 阳性率>95%，并筛选出干扰效果最佳的载体。过表达 PI16/DUSP1 抑制体细胞的增殖（CCK-8 法， $P<0.01$ ）、克隆能力和迁移能力。COL1A1、COL3A1、NFKB1 和 FN 的转录水平（ $P<0.01$ ）同时受到过表达 PI16/DUSP1 的显著抑制。干扰 PI16 显著促进了 COL1A1、COL3A1、NFKB1 和 FN 的转录水平（ $P<0.01$ ）。干扰 PI16 会使 I κ B α 的蛋白表达量升高，而添加通路抑制剂 TPCA-1 后，干扰 PI16 对 IKK β 、p50 的促进作用受抑制，蛋白表达量有所降低。DUSP1 效果相同。建立驴全层皮肤缺损模型（直径 1.6 cm），局部注射 PI16 干扰质粒后观察到，sh-PI16 组愈合速度快于对照组，14 天时干预组上皮化明显，肉芽组织略高于表皮层；HE 染色显示 sh-PI16 组炎症反应较轻，7 天时真皮层细胞密度仍较高；Masson 染色显示干预组胶原沉积增加，纤维束粗大。

结论：本研究成功建立驴皮成纤维细胞体外培养体系，PI16可以通过 NF- κ B 通路抑制驴皮成纤维细胞增殖、迁移及 ECM 沉积；DUSP1 可以通过 NF- κ B 通路抑制驴皮成纤维细胞增殖、迁移及 ECM 沉积；在体内试验中 PI16 干预可加速伤口愈合但导致胶原纤维排列紊乱。这些发现为理解驴皮无瘢痕愈合机制提供了重要依据。

关键词：驴皮；伤口愈合；PI16；DUSP1；信号通路

Abstract

Skin wound healing is a dynamic process involving the coordinated regulation of inflammation, cell proliferation, and extracellular matrix (ECM) remodeling. Fibroblasts play a central role in this process through collagen synthesis and the maintenance of ECM homeostasis. The formation of pathological scars is closely associated with the excessive activation of fibroblasts and an imbalance in collagen metabolism. Notably, donkey skin tissue, despite its high expression of collagen, exhibits minimal scar formation during wound healing, suggesting the presence of unique regulatory mechanisms governing collagen metabolism. Based on previous transcriptomic sequencing data from our research group and the unique phenomena observed during donkey skin wound healing, we identified differentially expressed genes PI16 and DUSP1 during the proliferative phase of donkey skin wound repair. We constructed gene expression regulatory models for PI16 and DUSP1 to explore their potential associations with the NF- κ B signaling pathway, a key regulator of inflammation and tissue repair. Aberrant activation of the NF- κ B pathway can lead to excessive collagen deposition.

Objective: This study aims to systematically investigate the functional mechanisms of the PI16 and DUSP1 genes, as well as their regulated NF- κ B signaling pathway, in the scarless healing process of donkey skin. By combining *in vitro* cell models and *in vivo* animal experiments, we employed genetic manipulation techniques (overexpression and RNA interference) to establish donkey skin fibroblast models with differential expression of PI16 and DUSP1. We analyzed the effects of these genes on fibroblast biological behaviors—including proliferation, migration—and the expression of ECM-related genes such as COL1A1, COL3A1, and FN. Furthermore, we explored the interactions between PI16/DUSP1 and key components of the NF- κ B pathway (p50, IKK β , I κ B α). A full-thickness skin defect model in donkeys was established, and local injection of PI16 interference plasmids was performed to observe the impact on wound healing, including healing rate, inflammatory response, and collagen arrangement.

Methods: Dorsal skin tissues were collected from Xinjiang male donkeys. Primary fibroblasts were isolated using the explant adherence method and characterized by morphology, vimentin immunofluorescence staining, and PCR to confirm purity. Vimentin-positive cells accounted for over 95%, and fibroblasts were observed migrating out from the tissue edges by day 4 and forming a typical vortex-like distribution by day 8. PI16 and DUSP1 overexpression and shRNA interference vectors were constructed and introduced into cells via lentivirus transfection to establish stable expression cell lines. Cell proliferation and migration were assessed using CCK-8 and scratch assays. The expression levels of COL1A1, COL3A1, FN, and NF- κ B pathway molecules (p50, IKK β , I κ B α) were analyzed by RT-qPCR and Western blot. The regulatory role of the NF- κ B pathway was further validated using the NF- κ B

inhibitor TPCA-1 and activator LPS. A full-thickness skin defect model (1.6 cm in diameter) was created in donkeys. PI16 interference plasmids (50 μ L, 1×10^7 PFU/mL) were locally injected into the wound area. Wound healing progression, histological changes (via HE staining), inflammatory responses, and collagen deposition (via Masson's trichrome staining) were evaluated. Statistical analyses were performed using SPSS 20.0.

Results: Primary fibroblasts were successfully isolated and cultured from the dorsal skin of Xinjiang donkeys, with vimentin-positive rates exceeding 95%. Spindle-shaped cells migrated from the tissue edges by day 4 of explant culture and formed a characteristic vortex distribution by day 8. Immunofluorescence confirmed that over 95% of the cells were vimentin-positive. The most effective interference vector was selected based on knockdown efficiency. Overexpression of PI16 and DUSP1 significantly inhibited fibroblast proliferation (CCK-8 assay, $P < 0.01$), clone formation, and migration. The transcriptional levels of COL1A1, COL3A1, NFKB1, and FN were markedly downregulated by PI16/DUSP1 overexpression ($P < 0.01$). In contrast, PI16 knockdown significantly upregulated the transcription of COL1A1, COL3A1, NFKB1, and FN ($P < 0.01$). PI16 knockdown also led to increased protein expression of I κ B α , while treatment with the NF- κ B inhibitor TPCA-1 suppressed the PI16-mediated promotion of IKK β and p50, resulting in reduced protein levels. Similar regulatory patterns were observed with DUSP1. In the *in vivo* full-thickness skin defect model (1.6 cm diameter), local injection of PI16 interference plasmids resulted in faster wound healing in the sh-PI16 group compared to the control. By day 14, the intervention group exhibited significant re-epithelialization, with the granulation tissue slightly elevated above the epidermis. HE staining showed a milder inflammatory response in the sh-PI16 group, with higher dermal cell density at day 7. Masson trichrome staining revealed increased collagen deposition and thicker collagen fibers in the intervention group.

Conclusion: This study successfully established an *in vitro* culture system for donkey skin fibroblasts. PI16 and DUSP1 were found to inhibit fibroblast proliferation, migration, and ECM deposition through the NF- κ B signaling pathway. *In vivo*, PI16 interference accelerated wound healing but led to disorganized collagen fiber arrangement. These findings provide important insights into the molecular mechanisms underlying scarless wound healing in donkey skin.

Key words: Donkey skin; Wound healing; PI16; DUSP1; NF- κ B signaling pathway.

目录

摘要	II
Abstract	IV
目录	VI
缩略词表	X
第一章 绪论	1
1.1 研究目的与意义	1
1.2 伤口愈合国内外研究现状及分析	1
1.2.1 皮肤损伤的修复过程	1
1.2.2 瘢痕的形成	3
1.2.3 成纤维细胞与皮肤损伤修复之间的关系	4
1.3 伤口愈合的分子调控机制	5
1.3.1 PI16 基因	6
1.3.2 DUSP1 基因	7
1.4 研究内容	7
1.5 技术路线	9
第二章 驴皮肤成纤维细胞的原代分离培养与鉴定	1
2.1 试验材料	1
2.1.1 试验主要试剂	1
2.1.2 主要试验仪器	2
2.1.3 试验方法	3
2.2 结果	5
2.2.1 细胞显微结构观察	5
2.2.2 PCR	6
2.2.3 免疫荧光染色	7
2.2.4 生长曲线	7
2.2.5 冻存前后细胞活率检测	8
2.3 讨论	9
2.3.1 组织块贴壁法	9
2.3.2 原代成纤维细胞分离、鉴定	10
2.4 结论	10
第三章 PI16 调控驴皮成纤维细胞生长、迁移及创伤修复相关基因表达中的作用	11

3.1 材料	12
3.1.1 主要试剂	12
3.1.2 主要仪器与设备	12
3.2 试验方法	13
3.2.1 构建载体 pDown-PI16	13
3.2.2 构建载体	14
3.2.3 构建 PI16 干扰载体	15
3.2.4 慢病毒滴度	17
3.2.5 慢病毒感染及抗药性筛选	18
3.2.6 CCK-8	18
3.2.7 细胞划痕	18
3.2.8 平板克隆形成试验	18
3.2.9 RT-qPCR	19
3.2.10 Western blot	19
3.2.11 NF- κ B 信号通路激动剂 (LPS) 与抑制剂 (TPCA-1) 最佳作用浓度的筛选	20
3.2.12 统计	20
3.3 结果	21
3.3.1 PI16 干扰载体	21
3.3.2 过表达载体	21
3.3.3 滴度测定	22
3.3.4 有效干扰片段筛选	23
3.3.5 CCK-8 及克隆形成	23
3.3.6 划痕试验	25
3.3.7 RT-qPCR	26
3.3.8 PI16 对 ECN 沉积和瘢痕形成关键蛋白的影响	26
3.3.9 PI16 对 NF- κ B 通路的影响	27
3.4 讨论	29
3.4.1 PI16 对驴皮成纤维细胞增殖、迁移的影响	29
3.4.2 PI16 对 ECM 沉积和瘢痕形成相关基因的影响	29
3.5 结论	30
第四章 DUSP1 调控驴皮成纤维细胞生长、迁移及创伤修复相关基因表达中的作用	31
4.1 材料	32

4.1.1 主要试剂	32
4.1.2 主要仪器与设备	32
4.2 试验方法	32
4.2.1 干扰载体的构建	32
4.2.2 慢病毒滴度	33
4.2.3 慢病毒感及抗药性筛选	33
4.2.4 CCK-8	33
4.2.5 细胞划痕	33
4.2.6 平板克隆形成试验	33
4.2.7 RT-qPCR	33
4.2.8 Western blot 检测	33
4.3 结果	34
4.3.1 DUSP1 干扰载体	34
4.3.2 过表达载体	34
4.3.3 慢病毒滴度测定	35
4.3.4 有效干扰片段筛选	36
4.3.5 CCK-8 及克隆形成试验	36
4.3.6 划痕试验	38
4.3.7 RT-qPCR	39
4.3.8 DUSP1 对 ECM 沉积和瘢痕形成关键蛋白的影响	39
4.3.9 DUSP1 对 NF- κ B 通路的影响	40
4.4 讨论	41
4.4.1 DUSP1 对驴皮成纤维细胞增殖、迁移的影响	41
4.4.2 DUSP1 对 ECM 沉积和瘢痕形成相关基因的影响	41
4.4.3 DUSP1 与 NF- κ B 通路的互作机制及其潜在应用	42
4.5 结论	42
第五章 创面处干预驴 PI16 基因对伤口愈合的影响	43
5.1 材料	43
5.1.1 试验动物	43
5.1.2 试验主要试剂	44
5.1.3 试验主要仪器	44
5.2 试验方法	45
5.2.1 伤口模型的构建	45
5.2.2 PI16 shNRA 质粒干预	45

5.2.3 测定伤口愈合率	45
5.2.4 HE 染色	45
5.2.5 Masson 染色	45
5.2.6 RT-qPCR	46
5.2.7 数据分析	46
5.3 结果与分析	46
5.3.1 伤口愈合速度及愈合率	46
5.3.2 HE 染色	47
5.3.3 Masson 染色	48
5.3.4 RT-qPCR	48
5.4 讨论	49
5.4.1 PI16 对伤口愈合速度的影响	49
5.5 小结	50
第六章 全文结论	51
附录	61
致谢	64
作者简介	65

缩略词表

Abbreviation

英文缩写	英文全称	中文名称
AMP	Ampicillin	氨苄青霉素
bp	Base pair	碱基对
CCK-8	Cell Counting Kit-8	细胞计数试剂盒-8
cDNA	Complementary Deoxyribonucleic Acid	互补 DNA
COL1	Collagen I	I型胶原蛋白
COL3	Collagen III	III型胶原蛋白
DMEM	Dulbecco's modified eagle medium	细胞培养基
DMSO	Dulbecco's modified eagle medium	二甲基亚砜
ECM	Extracellular matrix	细胞外基质
FBS	Fetal bovine serum	胎牛血清
mRNA	Messenger Ribonucleic acid	信使核糖核酸
min	Minute	分钟
DUSP1	Dual Specificity phosphatase 1	双特异性磷酸酶 1
PI16	Peptidase Inhibitor 16	肽酶抑制蛋白 16
OD	Optical density	光密度
PBS	Phosphate buffered saline	磷酸盐缓冲液
PVDF	Polyvinylidene difluoride	聚偏(二)氟乙烯
qRT-PCR	The quantitative RT-PCR	实时定量 PCR
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction	反转录聚合酶链式反应
shRNA	Short hairpin RNA	短发夹 RNA
WB	Western blot	蛋白质印迹法
SPSS	Statistical Product and Service Solutions	社会科学统计软件包

第一章 绪论

1.1 研究目的与意义

皮肤创伤愈合是机体应对物理性损伤启动的修复过程，其核心机制包括凝血、炎症反应、增殖及基质重塑四个生物学阶段^[1]。这一过程受多细胞协同调控（如表皮细胞、成纤维细胞及血管内皮细胞）及生长因子、细胞因子等信号分子的动态调节^[2]。其中，成纤维细胞通过收缩特性介导的结缔组织生成与重塑，在创面修复中发挥关键作用^[3,4]。

值得注意的是，病理性瘢痕（如瘢痕疙瘩）的形成与成纤维细胞异常活化及胶原代谢失衡密切相关。疤痕疙瘩是以纤维细胞过度增生和胶原蛋白过度合成为特征的真皮纤维化疾病^[5]，是皮肤创面愈合后形成的过度生长的畸形疤痕组织。此类真皮纤维化疾病以胶原蛋白（COL1A1/COL3A1）过度沉积为特征，但其分子调控机制尚未完全阐明^[6]。与此形成鲜明对比的是，驴皮虽高表达胶原蛋白，与此形成鲜明对比的是，驴皮虽然表达胶原蛋白很高，但由于胶原蛋白沉积过多，伤口不会形成明显的增生性疤痕疙瘩，因此在伤口的愈合中可以避免疤痕增生，其原因目前还没有确定^[7,8]。提示其可能存在独特的胶原代谢调控通路。近年研究表明，肽酶抑制因子（PI16）和双特异性磷酸酶（DUSP1）在炎症、伤口愈合、肿瘤等相关疾病中都发挥重要的作用^[9,10]。NF- κ B（nuclear factor kappa-B）通路参与调控促炎因子、免疫应答及细胞增殖相关基因的表达，但其过度激活可能引发慢性炎症，延缓愈合^[11-12]。在此基础上，本研究结合课题组前期驴皮伤口转录组测序资料，筛选增殖期差异表达基因 PI16/DUSP1，构建以分析两者通过 NF- κ B 途径对驴皮纤维细胞胶原合成和无瘢痕愈合的分子机制为目的，以分析驴皮成纤维细胞胶原合成及无瘢痕愈合为目的的 PI16/DUSP1 表达调控模型，为病理性瘢痕的临床靶向治疗提供理论参考。

1.2 伤口愈合国内外研究现状及分析

1.2.1 皮肤损伤的修复过程

皮肤作为人体最大器官，由表皮层与真皮层构成，包含表皮细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞、免疫细胞及角质形成细胞等多种细胞类型^[13]。皮肤创伤修复是一个精密调

控的级联反应,其核心机制依赖于上皮细胞、成纤维细胞与免疫细胞的动态互动,以及生长因子(如 EGF、FGF)、趋化因子(如 CXCL12)和细胞因子(如 IL-6、TNF- α)的协同调控^[13-15]。然而,由于信号通路交叉调控及细胞间旁分泌/自分泌网络的复杂性,创面修复的分子机制仍存在诸多未解之谜^[16,17]。成纤维细胞作为真皮层主要功能细胞,不仅通过分泌胶原蛋白(COL1A1/COL3A1)和纤维连接蛋白(FN)维持组织稳态,还通过 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)介导的收缩特性驱动创面收缩,在组织再生与瘢痕形成中发挥双重作用,同时在皮肤创面修复以及皮肤衰老过程中占主导地位^[18]。

修复肌肤损伤主要分为三个阶段:炎症期,组织成型期,基质再造期。皮肤损伤后的 48h 为炎症的启动,其核心过程为清除病原体、坏死组织,并为后续增殖期的组织再生提供基础。当皮肤屏障受损后,病原相关分子模式(如脂多糖、肽聚糖和外源性核酸, PAMPs)和损伤相关分子模式(DAMPs)通过模式识别受体(如 TLR4)激活局部免疫细胞^[19]。活化的免疫细胞(如肥大细胞)释放组胺,引发血管扩张及通透性增加,促使中性粒细胞、单核细胞等炎症细胞浸润损伤部位^[20]。同时,凝血系统激活,形成纤维蛋白基质,为细胞迁移提供临时支架^[21]。炎症阶段,免疫细胞分泌白介素类(如 IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症介质,激活免疫应答。局部炎症反应对组织有一定的破坏作用,如粒细胞释放的胶原酶可降解结缔组织中的胶原^[22]。但更重要的是,对坏死组织和外来异物的破坏,要通过炎症反应进行清除,为组织的再生和修复打下基础。对损伤后炎症反应采取抑制措施会造成创伤愈合不良或延缓^[23]。通过启动抗炎因子(如 IL-10、TGF- β)调节炎症强度,维持促炎与抗炎因子的动态平衡。在炎症反应的中后期,抗炎因子(IL-10、TGF- β)占据主导地位,抑制过度炎症反应,同时促进组织修复和细胞外基质的重塑^[24]。这种促炎与抗炎因子的动态平衡确保了炎症反应既能有效清除病原体,又能避免对机体造成不必要的损伤,最终实现组织的修复和功能的恢复^[25]。在炎症的最后阶段,抗炎因子发挥主导作用,不仅消除炎症,还促进细胞的增殖与重塑。后炎症阶段,此时起主要作用的细胞是分泌各种炎症因子和细胞因子,如 TNF- α 、IL-6 等^[26]的中性粒细胞和巨噬细胞,从而使创面产生先天性的免疫反应。同时,中性粒细胞和巨噬细胞会在此阶段分泌促进下一阶段所需细胞募集和增殖的血管内皮生长因子(VEGF)、TGF- β 等因子^[27]。

在伤口微环境中,由受损组织释放的转化生长因子- β (TGF- β)和血管内皮生长因子(VEGF)等生物活性因子可介导血管内皮细胞、成纤维细胞与免疫细胞的定向募集。这些因子的协同作用能够诱导三个关键修复事件:表皮细胞向创面迁移实现再上皮化、血管网络重塑的新血管生成过程,以及具有结构支撑功能的肉芽组织形成(其作为临时基质参与修复)^[28]。再上皮化是表皮层修复的核心事件,涉及到角质细胞的活化、迁移、增殖和最后的分化等各个环节。伤口再上皮化是一个动态的过程,包括通过几个生长因子(GFs)的协同作用和多种细胞信号网络,以角质细胞、真皮层纤维细胞及从创面边缘

往创面床上方迁移以复原表皮屏障的免疫细胞为主要参与者。角质形成细胞：从伤口边缘迁移至基底膜上方，形成新生上皮。真皮成纤维细胞分泌细胞外基质（ECM）组分（如胶原、纤连蛋白），并通过旁分泌信号（如 TGF- β ）调控角质形成细胞行为。参与再上皮化过程的最重要分子是细胞生长因子和 TGF- β ，它是促进角质形成细胞等迁移和增殖的核心参与者。通过旁分泌信号作用于角质细胞的因子主要制造者，如真皮层纤维细胞。已经提出了多种递送细胞生长因子的治疗策略，以通过靶向再上皮化来促进伤口愈合^[29]。迁移的角质形成细胞与早期伤口相关的临时细胞外基质密切接触，该细胞外基质主要由纤维蛋白、血浆纤连蛋白（FN）、玻连蛋白和血小板组成。纤连蛋白有两种形式：由肝细胞以可溶形式合成到血浆中的血浆纤连蛋白，以及由纤维细胞、内皮细胞和角质形成细胞或组织纤连蛋白^[30-32]。

创伤愈合的最终阶段为基质重塑期（持续数周至 2 年），其核心特征包括细胞凋亡、胶原纤维重构及组织功能性恢复^[33]。成纤维细胞活化后，细胞外基质成分的变化、血管生成过程的减缓，以及代谢活动的逐渐停止，直到皮肤损伤修复过程结束^[34,35]。创伤愈合在肉芽组织形成并重新上皮后，将进入持续数周至两年的组织重塑阶段，表现为胶原纤维类型由 III 型转变为 I 型，纤维交联增强，多余胶原被胶原酶降解，但胶原纤维比例仍与正常皮肤不同^[36]。肉芽组织中的胶原纤维排列紊乱，交联程度低，导致机械强度较弱，与之相比，正常皮肤的胶原呈规则网状排列，高度交联（如吡啶啉交联），稳定性强^[37]。与正常皮肤的细胞外基质（ECM）处于稳定状态、胶原代谢保持平衡相比，肉芽组织中的 ECM 呈现快速重塑特征，且存在胶原合成与降解失衡现象^[38]。成人皮肤中至少有四种不同的成纤维细胞种群，并非所有种群在空间上都是分离的。特定成纤维细胞亚群的离体扩增或体内消融可能在伤口愈合和以过度纤维化为特征的疾病中具有治疗应用。此阶段毛细血管网逐渐消退，蛋白聚糖与水分含量减少且分布趋于合理，促进肉芽组织向瘢痕组织转化。最终在最大程度上恢复原有的组织特性，通过组织重塑来提高结构强度和功能。

1.2.2 瘢痕的形成

增生的瘢痕与瘢痕疙瘩形成的核心诱因是伤口愈合过程中出现的异常炎症反应^[39]。瘢痕作为创伤修复的终末产物，其病理特征表现为胶原代谢失衡与组织结构紊乱。尽管分子与细胞水平机制已有一定阐述，但靶向性抗瘢痕治疗仍缺乏有效手段^[40]。增生性疤痕可定义为瘢痕体积增大、隆起或伴有挛缩，多发生于感染、缝合张力过高或关节部位。胶原纤维平行排列于皮肤表面，基底膜平坦化，缺乏毛囊与皮脂腺等附属结构。增生性疤痕更可能发生在伤口感染、伤口闭合过度紧张或伤口位于自然高度紧张的皮肤区域（如肩部、颈部和胸骨）之后^[41]。相反，超出原始损伤范围的侵袭性瘢痕，常伴瘙痒与