

表没食子儿茶素-3-没食子酸酯抑制 TNF- α 和 IL- β 在小鼠皮肤烫伤修复期间的表达

张江江, 贾永芳, 李嘉雯, 张亚捷, 王坤英, 李卫国*

(河南师范大学生命科学学院, 新乡 453002)

摘要 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 在创伤修复中起着至关重要的作用. 本研究利用小鼠皮肤深 II 度烫伤模型, 采用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 和酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测烫伤部位组织 *Tnf- α* mRNA 和 *Il-1 β* mRNA 的表达水平以及 TNF- α 和 IL-1 β 的含量, 探讨表没食子儿茶素-3-没食子酸酯 (EGCG) 对小鼠皮肤烫伤修复期间 TNF- α 和 IL-1 β 表达的影响. 结果显示, 用 0.2 mg/g EGCG 膏剂涂敷烫伤皮肤, 处理 12 h 可致组织 *Tnf- α* mRNA 表达水平和 TNF- α 含量下降, 处理 24 h 可致组织 *Il-1 β* mRNA 表达水平和 IL-1 β 含量下降. 上述结果提示 0.2 mg/g EGCG 处理能抑制烫伤组织 TNF- α 和 IL-1 β 的表达, 减弱创伤组织的炎症反应, 有助于创伤组织的修复.

关键词 表没食子儿茶素-3-没食子酸酯; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-1 β ; 烫伤

中图分类号 Q249, Q786, R318

Epigallocatechin-3-gallate Inhibits Expression of Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-1 β During Skin Scald Repair in Mice

ZHANG Jiang-Jiang, JIA Yong-Fang, LI Jia-Wen, ZHANG Ya-Jie,

WANG Kun-Ying, LI Wei-Guo*

(School of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453002, Henan, China)

Abstract The cytokines, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β), play a vital role in wound healing. In the present study, levels of both *Tnf- α* mRNA and *Il-1 β* mRNA were analyzed with reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), and both TNF- α and IL-1 β were detected with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the mice skin model with full-thickness second-degree scald, to understand the effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a main constituent of green tea polyphenols, on the expression of TNF- α and IL-1 β during skin scald repair. The results showed that, after the scald injury skin were treated with 0.2 mg/g EGCG, the levels of both *Tnf- α* mRNA and TNF- α declines at post-scald for 12 hours, and both *Il-1 β* mRNA and IL-1 β decrease at post-scald for 24 hours. The data suggested that 0.2 mg/g EGCG inhibits the expression of *Tnf- α* and *Il-1 β* gene, and attenuates inflammatory reaction at scald injury skin. Thus, EGCG contributes to the scald injury skin repair.

Key words epigallocatechin-3-gallate (EGCG); tumor necrosis factor- α (TNF- α); interleukin-1 β (IL-1 β); scald

收稿日期: 2010-10-29; 接受日期: 2010-12-17

河南省科技攻关计划 (No. 0624410029), 河南省教育厅自然科学基金基础研究计划 (No. 2010A180011), 新乡市科技发展计划项目 (No. 08S044)

* 联系人 Tel: 0373-3326878; E-mail: liwg0618@htu.cn

Received: October 29, 2010; Accepted: December 17, 2010

Supported by Program of Sciences and Technology of Henan Province (No. 0624410029), Natural Sciences Basic Research Plan of Educational Bureau in Henan Province (No. 2010A180011), Science and Technology Development Plan Project of Xinxiang City (No. 08S044)

* Corresponding author Tel: 0373-3326878; E-mail: liwg0618@htu.cn

烫伤是皮肤创伤的常见形式. 创伤修复是一个涉及炎症反应、新组织形成和组织重建的复杂病理生理过程. 皮肤烫伤后, 受损组织中的血管通透性增大, 嗜中性粒细胞以及巨噬细胞等炎症反应细胞溢出血管, 分泌蛋白水解酶和细胞因子, 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 即是主要的细胞因子. TNF- α 和 IL-1 β 由巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞和角质形成细胞等产生, 介导多种细胞的活动, 如诱导中性粒细胞和内皮细胞表面粘附分子的合成, 促进内皮细胞、成纤维细胞、角质形成细胞的增殖, 抑制成纤维细胞的基质合成等^[1-6].

表没食子儿茶素-3-没食子酸酯 (epigallocatechin-3-gallate, EGCG) 是绿茶多酚的主要成分, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎症反应等特性^[7-9]. 研究表明, EGCG 能有效刺激外周血单个核细胞 IL-1 和 TNF 的生成^[10], 但在 BALB/3T3 细胞上则能抑制经冈崎酸处理诱导的 *Tnf- α* 表达以及抑制由 TNF- α 诱导的 IL-1 β 和 IL-10 表达^[11], 在结肠腺癌细胞系 HT29 和 T84 上抑制 TNF- α 诱导的炎症反应^[12], 在人肥大细胞系 HMC-1 上通过抑制细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2) 和核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 激活减少 TNF- α 的生成^[13]. 此外, EGCG 还抑制呼吸道上皮细胞 IL-1 β 依赖的促炎症信号转导作用^[14], 抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的人单核细胞 IL-1 β 释放引起的促炎症反应^[15]. 上述研究均表明, EGCG 能抑制细胞 TNF- α 和 IL-1 β 的表达和生成, 以及由 TNF- α 和 IL-1 β 诱导的炎症反应. 本实验室前期的研究显示, EGCG 抑制皮肤伤口愈合期间 IL-1 β 基因表达、降低组织 IL-1 β 水平^[16], 但能否在皮肤烫伤修复期间影响组织 TNF- α 和 IL-1 β 的表达未见报道. 本研究拟利用逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 和酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 探讨 EGCG 对皮肤烫伤愈合期间 TNF- α 和 IL-1 β 表达的影响, 以期临床运用 EGCG 改善皮肤烫伤修复提供实验依据.

1 材料与方法

1.1 材料

表没食子儿茶素-3-没食子酸酯 (EGCG, 纯度大于 98%) 购于成都普瑞法公司, 二甲基亚砷购于 Sigma 公司. 将 EGCG 用少许二甲基亚砷溶解后, 再

均匀混合于凡士林中, 配制成含 0.2 mg/g EGCG 的膏剂, 置于 4 °C 保存. 美宝湿润烧伤膏 (MEBO) 由汕头市美宝制药有限公司生产. cDNA 第一链合成试剂盒购自 Promega 公司, 总 RNA 抽提试剂盒、2 × Taq plus PCR MasterMix 购自北京天根生物公司, PCR 引物由北京三博远志生物技术公司合成.

实验用昆明系小鼠 66 只由河南省实验动物中心提供, 体重 25 ± 2 g, 雌雄不限, 自由取食, 光照: 黑暗为 12 h: 12 h, 实验室内适应性饲养 1 周后备用. 随机将实验小鼠分为空白对照组、烫伤对照组、阳性治疗组 (用 MEBO 涂敷处理) 和 EGCG 处理组, 除空白对照组为 3 只外, 其余各组均为 21 只. 实验小鼠经脱毛剂于背部脊柱两侧脱毛, 24 h 后使用. 实验小鼠烫伤模型的制备按照常规方法略加修改, 小鼠用乙醚麻醉后于脱毛处消毒, 用置于沸水中的直径 1 cm 的圆柱铁棒压在脊柱两侧脱毛处 8 s 做皮肤烫伤 (组织病理切片鉴定为深 II 度烫伤). 除空白对照组小鼠外, 其余小鼠进行皮肤烫伤; 烫伤对照组小鼠在皮肤烫伤后不进行药物处理, 自行愈合; 阳性治疗组小鼠于烫伤后用 MEBO 涂敷处理 2 次/d; EGCG 处理组小鼠于烫伤后用含 0.2 mg/g EGCG 膏 (根据本实验室前期的研究确定) 涂敷处理^[16] 2 次/d. 实验期间给予实验小鼠标准饲料和饮水.

1.2 皮肤烫伤创面组织材料的制备

根据预实验中小鼠皮肤烫伤修复时程, 将空白对照组小鼠、烫伤对照组、阳性治疗组和 EGCG 处理组小鼠分别于烫伤后 6、12、24、48、120、240 和 336 h 脱颈椎处死, 取烫伤区及周缘皮肤组织 (空白对照组小鼠于对应部位), 面积为 1.5 cm × 1.5 cm, 重约 1 g, 称量后置于冰上剔除结缔组织后迅速投入液氮中保存备用.

1.3 半定量 RT-PCR 检测烫伤组织 *Tnf- α* 和 *Il-1 β* mRNA 水平

用 TRIzol 试剂提取总 RNA, 检测 A_{260} 和 A_{280} 吸光度值, 同时对总 RNA 进行琼脂糖凝胶电泳分析, 确定 RNA 的完整性. 取小鼠损伤皮肤组织总 RNA 2 μ g, oligo (dT)₁₈ 引物 2 μ L, M-MLV 逆转录酶 1 μ L (200 U), 5 × 缓冲液 5 μ L, 核糖核酸酶抑制剂 0.5 μ L (25 U), dNTP 1.25 μ L, 加 DEPC 水至 25 μ L, 按照试剂盒说明书进行 cDNA 第一链的合成. 小鼠目的基因 *Tnf- α* 基因、*Il-1 β* 基因和 β -Actin 基因的上、下游引物序列见 Table 1. PCR 反应体系为: cDNA 模板 2 μ L, 上、下游引物 (20 μ mol/L) 各 0.2 μ L, 2 × Taq plus PCR MasterMix 10 μ L, 终体积

20 μL ; 反应循环参数为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min (对 *Tnf- α* 基因) 或 8 min (对 *IL-1 β* 基因), 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s, 52 $^{\circ}\text{C}$ (β -*Actin* 基因为 56 $^{\circ}\text{C}$) 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 60 s (对 *Tnf- α* 基因) 或 45 s (对 *IL-1 β* 基因), 30 个循环 (β -*Actin* 基因为 28 个循环), 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min (对 *Tnf- α* 基因) 或 8 min (对 *IL-1 β* 基因). PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, ChampGel™ 凝胶成像仪观察, 拍照保存结果. 将扩增后的 *Tnf- α* mRNA 和 *IL-1 β* mRNA 条带灰度经 Genetools 软件测量后, 分别计算两者与 β -*Actin* mRNA 条带灰度的比值, 比较伤口愈合不同时期各组 *Tnf- α* 基因和 *IL-1 β* 基因的表达式.

Table 1 Primer sequences of *Tnf- α* , *IL-1 β* and β -*actin* gene in mice

Gene	Primer sequence(5'-3')	PCR product length/bp
<i>Tnf-α</i>	Forward GGCAGGTCTACTTYGGAGTCATYGC	443
	Reverse ACATTCGAGGCTCCAGTGAATTCGG	
<i>IL-1β</i>	Forward ATTCTGGCTGTGGAGAAG	531
	Reverse TTGTGAGGTGCTGATGTA	
β - <i>Actin</i>	Forward TCATCACTATTGGCAACGAGC	399
	Reverse AACAGTCCGCCTAGAAGCAC	

1.4 ELISA 检测烫伤组织 TNF- α 和 IL-1 β 水平

将实验小鼠断颈处死, 以伤口为中心取 400 mg 左右皮肤, 按 1:1 加入预冷的 PBS (pH7.4), 用组织匀浆机进行匀浆, 制成 50% 匀浆液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 3 000 r/min 离心 20 min, 取上清备用. 依照 RD 公司的小鼠 TNF- α 和 IL-1 β ELISA 试剂盒操作说明对标准品和匀浆后的样品, 测定其在 450 nm 波长下的 A 值, 以 A 值为纵坐标, 相应的标准品浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 待测样品 TNF- α 和 IL-1 β 含量可根据其 A 值, 由标准曲线换算取得.

1.5 数据处理

所有数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 统计处理用 SPSS 14.0 软件进行单因素方差 (one-way ANOVA) 分析, Excel 作图. $P < 0.05$ 为显著性差异, $P < 0.01$ 为极显著性差异.

2 结果

2.1 皮肤烫伤不同时间烫伤组织 TNF- α 表达量的变化

利用半定量 RT-PCR 和 ELISA 方法对小鼠皮肤烫伤前与烫伤后不同时间组织 *Tnf- α* mRNA 水平与

TNF- α 含量变化进行的检测见 Fig. 1. 结果显示, 在皮肤烫伤修复实验的 14 d 中, *Tnf- α* mRNA 水平与 TNF- α 含量变化趋势一致. 烫伤后 6、12、24、48 和 120 h 组织的 *Tnf- α* mRNA 水平与 TNF- α 含量均显著高于烫伤前空白对照组水平, 存在极显著性差异. 小鼠皮肤烫伤后, 组织 *Tnf- α* mRNA 水平与 TNF- α 含量急剧升高, 12 h 时达到峰值, 此时 *Tnf- α* mRNA 水平较烫伤前增加约 8~10 倍, TNF- α 含量增加约 3 倍, 达 57 ng/L; 此后, *Tnf- α* mRNA 水平与 TNF- α 含量逐渐下降, 烫伤后 240 h 时接近烫伤前水平.

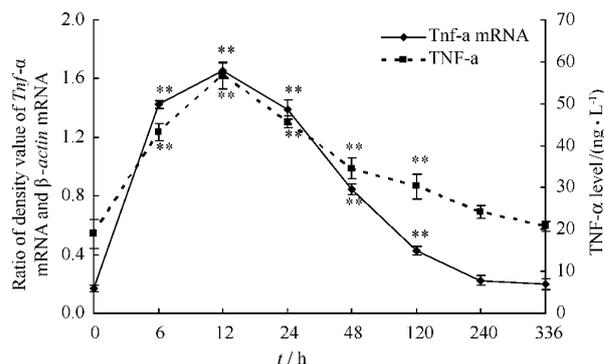


Fig. 1 Levels of both tissue *Tnf- α* mRNA and TNF- α during scalded skin repair in mice

In the skin model with full-thickness second-degree scald, levels of tissue *Tnf- α* mRNA were analyzed with RT-PCR, and levels of tissue TNF- α were detected with ELISA. The black graph represents the relative density ratios of *Tnf- α* mRNA to their β -*Actin* mRNA controls. The dotted graph represents the levels of TNF- α . The data present the mean \pm S. D. derived from three independent experiments. ** $P < 0.01$, compared with before skin scald injury (or 0 h)

2.2 皮肤烫伤不同时间烫伤组织 IL-1 β 表达量的变化

利用半定量 RT-PCR 和 ELISA 方法对小鼠皮肤烫伤前与烫伤后不同时间组织 *IL-1 β* mRNA 水平与 IL-1 β 含量变化进行的检测见 Fig. 2. 结果显示, 在皮肤烫伤修复实验的 14 d 中, *IL-1 β* mRNA 水平与 IL-1 β 含量变化趋势一致, 分别在 24 h 和 120 h 时出现 2 个波峰. 烫伤后 14 d 内的 *IL-1 β* mRNA 水平与 IL-1 β 水平始终高于烫伤前 (空白对照组) 水平, 存在极显著性差异. *IL-1 β* mRNA 水平与 IL-1 β 含量在烫伤后急剧升高, 6、12 和 24 h 时均显著升高, 24 h 时达到峰值. 此时的 *IL-1 β* mRNA 水平较烫伤前增加约 8 倍, IL-1 β 含量增加约 4 倍, 达 120 ng/L; 随后 *IL-1 β* mRNA 水平与 IL-1 β 含量均显著下降, 与烫伤

前相比,48 h 时的 IL- β mRNA 水平仍高约 2~3 倍, IL- β 含量为 50 ng/L。此后 IL- β mRNA 水平与 IL- β 含量再次显著升高,与烫伤前相比,120 h 时的 IL- β mRNA 水平约高 7 倍,IL- β 含量为 110 ng/L; 之后又逐渐下降,但在 14 d 时,组织 IL- β mRNA 水平与 IL- β 含量仍显著高于烫伤前水平。

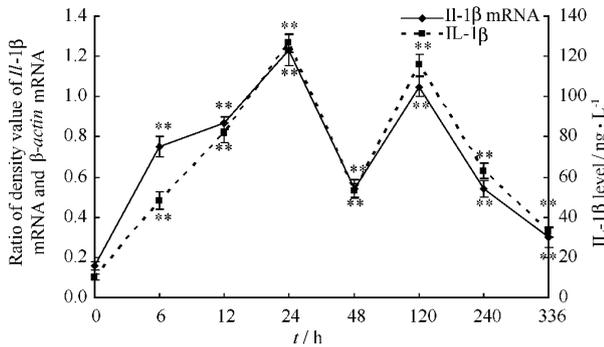


Fig. 2 Levels of both tissue IL- β mRNA and IL- β during scalded skin repair in mice Levels of tissue IL- β mRNA were analyzed with RT-PCR, and levels of tissue IL- β were detected with ELISA. The black graph represents the relative density ratios of tissue IL- β mRNA to their β -Actin mRNA controls. The dotted graph represents the levels of tissue IL- β . The data present the mean \pm S. D. derived from three independent experiments. ** $P < 0.01$, compared with before skin scald injury (or 0 h)

2.3 EGCG 对皮肤烫伤组织 TNF- α 表达量的影响

利用半定量 RT-PCR 方法对小鼠皮肤烫伤面涂敷 0.2 mg/g EGCG 膏剂后,不同时间烫伤组织 *Tnf- α* mRNA 水平变化检测见 Fig. 3。结果显示,在皮肤烫伤修复实验的 14 d 中,烫伤后 12 h 至 120 h 阳性对照组和 EGCG 处理组小鼠的组织 *Tnf- α* mRNA 水平较烫伤对照组小鼠下降,存在极显著性差异;烫伤 240 h 后,阳性对照组和 EGCG 处理组小鼠的组织 *Tnf- α* mRNA 水平与烫伤对照组小鼠相比无显著性差异。相比而言,EGCG 处理组小鼠的组织 *Tnf- α* mRNA 水平较阳性对照组小鼠下降幅度更大。

利用 ELISA 方法检测烫伤小鼠涂敷 0.2 mg/g EGCG 膏剂后不同时间烫伤组织 TNF- α 含量变化的结果见 Fig. 4。结果显示,在皮肤烫伤修复实验的 14 d 中,烫伤后 12 h 阳性对照组和 EGCG 处理组小鼠的组织 TNF- α 水平较烫伤对照组的明显下降,并存在极显著性差异;在 240 h 时,阳性对照组小鼠的组织 TNF- α 水平较烫伤对照组略有下降,而 EGCG 处理组小鼠组织 TNF- α 水平与烫伤对照组相比无差异。相比而言,EGCG 处理组小鼠的 TNF- α 水平下降

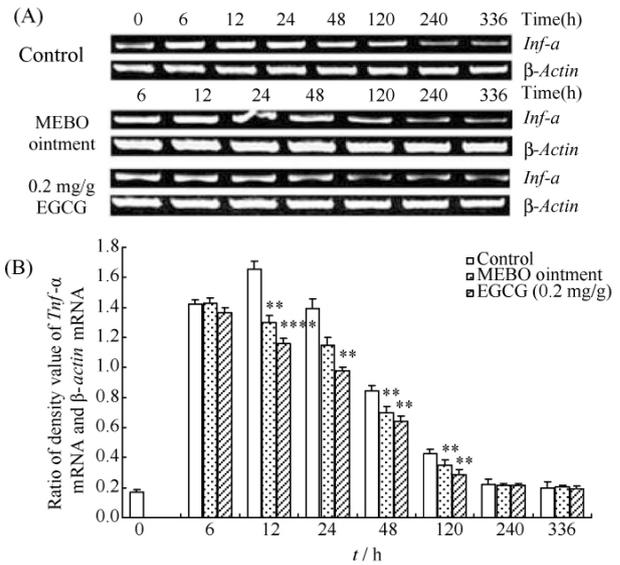


Fig. 3 Effect of 0.2 mg/g EGCG on levels of tissue *Tnf- α* mRNA in scalded skin in mice In the scalded skin model, the scald sites were treated with 0.2 mg/g EGCG. Levels of tissue *Tnf- α* mRNA were analyzed with RT-PCR. (A) was electrophoresis band, and the numbers represent the time post skin scalded. (B) was histogram of ratio of density value. ** $P < 0.01$, compared with control group

幅度略大于阳性对照组小鼠。

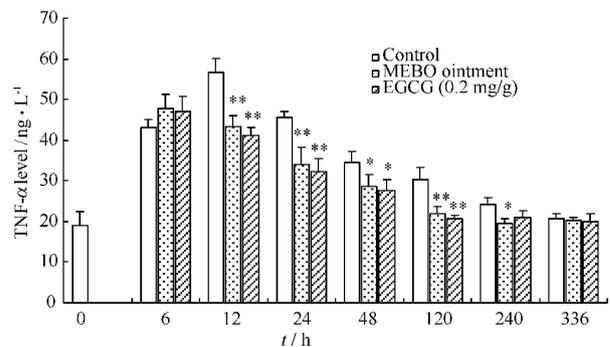


Fig. 4 Effect of 0.2 mg/g EGCG on level of tissue TNF- α in scald injury skin in mice In the scalded skin model, the scald sites were treated with 0.2 mg/g EGCG. Levels of tissue TNF- α were detected with ELISA. * $P < 0.05$, and ** $P < 0.01$, compared with control group

2.4 EGCG 对皮肤烫伤组织 IL- β 表达量的影响

采用半定量 RT-PCR 方法对小鼠皮肤烫伤面涂敷 0.2 mg/g EGCG 膏剂后不同时间烫伤组织 IL- β mRNA 水平变化的检测见 Fig. 5。结果显示,在皮肤烫伤修复实验的 14 d 中,烫伤后 6 h 和 12 h 阳性对照组和 EGCG 处理组小鼠的组织 IL- β mRNA 水平

高于烫伤对照组,12 h 时存在极显著性差异.但在烫伤后 24 h 至 240 h,阳性对照组和 EGCG 处理组小鼠的组织 $IL-1\beta$ mRNA 水平始终低于烫伤对照组,存在极显著性差异.

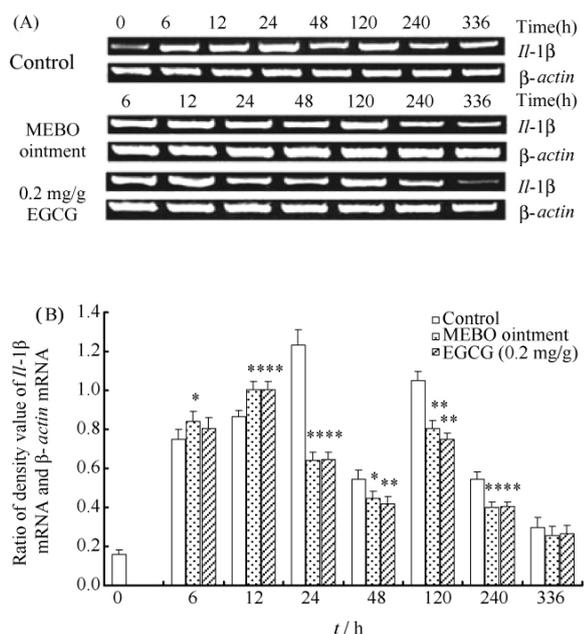


Fig. 5 Effect of 0.2 mg/g EGCG on level of tissue $IL-1\beta$ mRNA in scald injury skin in mice In the scalded skin model, the scald sites were treated with 0.2 mg/g EGCG. Levels of tissue $IL-1\beta$ mRNA were analyzed with RT-PCR. (A) was electrophoresis band, and the numbers represent the time post skin scalded. (B) was histogram of ratio of density value. * $P < 0.05$, and ** $P < 0.01$, compared with control group

采用 ELISA 方法检测小鼠皮肤烫伤面涂敷 0.2 mg/g EGCG 膏剂后不同时间烫伤组织 $IL-1\beta$ 含量变化的结果见 Fig. 6. 结果显示,在皮肤烫伤修复实验的 14 d 中,烫伤后 6 h 和 12 h 阳性对照组和 EGCG 处理组小鼠的组织 $IL-1\beta$ 水平高于烫伤对照组小鼠,12 h 时存在显著性差异;而在烫伤后 24 h,阳性对照组和 EGCG 处理组小鼠的组织 $IL-1\beta$ 水平显著低于烫伤对照组小鼠,存在极显著性差异.烫伤后 120 h 和 240 h,阳性对照组和 EGCG 处理组小鼠的组织 $IL-1\beta$ 水平低于烫伤对照组小鼠,存在极显著性差异或显著性差异. EGCG 处理组与阳性对照组小鼠的 $IL-1\beta$ 水平相比无显著性差异.

3 讨论

炎症反应是组织损伤后促炎症细胞因子和抗炎细胞因子等多种因素相互作用的综合表现, TNF-

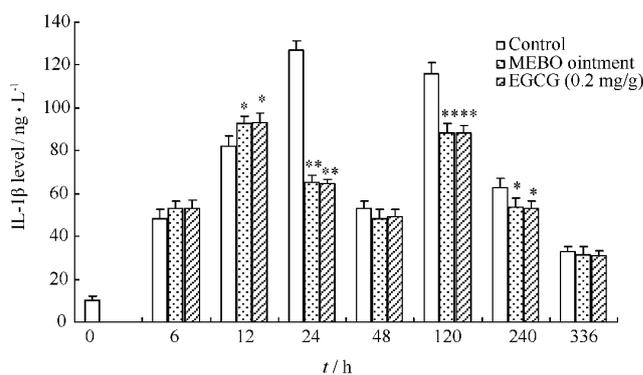


Fig. 6 Effect of 0.2 mg/g EGCG on level of tissue $IL-1\beta$ in scald injury skin in mice In the scalded skin model, the scald sites were treated with 0.2 mg/g EGCG. Levels of tissue $IL-1\beta$ were detected with ELISA. * $P < 0.05$, and ** $P < 0.01$, compared with control group

α 和 $IL-1\beta$ 是促炎症反应的主要细胞因子.烫伤对照组中,小鼠皮肤烫伤后组织 $TNF-\alpha$ 和 $IL-1\beta$ 表达呈现显著上调,这与已有的报道是一致的^[2, 17-20].值得注意的是,皮肤烫伤后组织 $TNF-\alpha$ 和 $IL-1\beta$ 表达呈现出不同的特征. $TNF-\alpha$ 表达呈单波峰现象,烫伤后 $Tnf-\alpha$ mRNA 水平与 $TNF-\alpha$ 含量急剧升高,至 12 h 时达到高峰,此后 $Tnf-\alpha$ mRNA 水平与 $TNF-\alpha$ 含量逐渐下降. $IL-1\beta$ 表达则呈双波峰现象,烫伤后 $IL-1\beta$ mRNA 水平与 $IL-1\beta$ 含量分别在 24 h 和 120 h 时各出现一次高峰,24 h 时 $IL-1\beta$ mRNA 水平和 $IL-1\beta$ 含量分别增加 8 倍和 4 倍;而 120 h 时 $IL-1\beta$ mRNA 水平和 $IL-1\beta$ 含量分别增加 7 倍和 4 倍.这种现象可能与 $TNF-\alpha$ 和 $IL-1\beta$ 的细胞来源有关, $TNF-\alpha$ 主要来源于嗜中性粒细胞、巨噬细胞和单核细胞,参与炎症反应的启动^[1, 5];而 $IL-1\beta$ 除由嗜中性粒细胞、巨噬细胞和单核细胞释放外,还可在新组织形成时相由角质形成细胞产生,参与启动炎症反应和新组织形成^[2-4].皮肤烫伤后,组织 $TNF-\alpha$ 和 $IL-1\beta$ 表达上调还可能与烫伤诱发的氧化应激有关,皮肤烫伤即刻引起受损部位补体的活化和组织胺释放,后者与黄嘌呤氧化酶相互作用,使黄嘌呤氧化酶活性增强,活性氧生成增多,进而加剧了炎症瀑布反应.

美宝湿润烧伤膏 (MEBO) 是临床常用的烧伤治疗药物. EGCG 是绿茶多酚的主要组成成分,具有明显的抗炎反应和促进伤口愈合效应.在本研究中,以 MEBO 作为阳性对照,与 EGCG 处理对烫伤疗效进行对比.结果表明,小鼠烫伤皮肤用 MEBO 或 0.2 mg/g EGCG 膏涂敷治疗 12 h 后,皮肤组织中的

Tnf- α mRNA 水平与烫伤对照组小鼠相比明显下降,并持续至烫伤修复止,表明 MEBO 或 EGCG 对皮肤烫伤后组织 Tnf- α 表达具有明显的抑制作用.同时显示,用 EGCG 处理比 MEBO 对烫伤组织 Tnf- α 表达具有更强的抑制作用.用 MEBO 或 EGCG 膏涂敷治疗烫伤 12 h 时,皮肤组织的 IL- β mRNA 水平比烫伤对照组有所升高;但治疗 24 h 后,皮肤组织中的 IL- β mRNA 水平比烫伤对照组有所下降,此种下降趋势持续至烫伤修复止,表明 MEBO 或 EGCG 对烫伤后组织 IL- β 表达表现出先增强,后持续抑制效应,两者相比无差异.众所周知,TNF- α 和 IL- β 是皮肤烫伤后由巨噬细胞释放的主要促炎症反应因子,因而抑制组织 Tnf- α 和 IL- β 表达及 TNF- α 和 IL- β 释放,将可减弱烫伤诱发的过度炎症反应,从而有利于烫伤组织的修复.

参考文献 (References)

- [1] Feiken E, Rømer J, Eriksen J, *et al.* Neutrophils express tumor necrosis factor-alpha during mouse skin wound healing [J]. *J Invest Dermatol*, 1995, **105**(1):120-123
- [2] Grellner W, Georg T, Wilske J. Quantitative analysis of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α) in human skin wounds [J]. *Forensic Sci Int*, 2000, **113**(1-3):251-264
- [3] Gillitzer R, Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing [J]. *J Leukoc Biol*, 2001, **69**(4):513-521
- [4] Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines [J]. *Physiol Rev*, 2003, **83**(3):835-870
- [5] Noel G, Guo X, Wang Q, *et al.* Postburn monocytes are the major producers of TNF- α in the heterogeneous splenic macrophage population [J]. *Shock*, 2007, **27**(3):312-319
- [6] Weinstein D A, Kirsner R S. Refractory ulcers: the role of tumor necrosis factor- α [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2010, **63**(1):146-154
- [7] Tipoe G L, Leung T M, Hung M W, *et al.* Green tea polyphenols as an anti-oxidant and anti-inflammatory agent for cardiovascular protection [J]. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 2007, **7**(2):135-144
- [8] Navarro-Perún E, Cabezas-Herrera J, Sánchez-Del-Campo L, *et al.* The anti-inflammatory and anti-cancer properties of epigallocatechin-3-gallate are mediated by folate cycle disruption, adenosine release and NF- κ B suppression [J]. *Inflamm Res*, 2008, **57**(10):472-478
- [9] Singh R, Akhtar N, Haqqi T M. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate: inflammation and arthritis [J]. *Life Sci*, 2010, **86**(25-26):907-918
- [10] Sakagami H, Takeda M, Sugaya K, *et al.* Stimulation by epigallocatechin gallate of interleukin-1 production by human peripheral blood mononuclear cells [J]. *Anticancer Res*, 1995, **15**(3):971-974
- [11] Sukanuma M, Sueoka E, Sueoka N, *et al.* Mechanisms of cancer prevention by tea polyphenols based on inhibition of TNF- α expression [J]. *Biofactors*, 2000, **13**(1-4):67-72
- [12] Porath D, Riegger C, Drewe J, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate impairs chemokine production in human colon epithelial cell lines [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, **315**(3):1172-1180
- [13] Shin H Y, Kim S H, Jeong H J, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate inhibits secretion of TNF- α , IL-6 and IL-8 through the attenuation of ERK and NF- κ B in HMC-1 cells [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2007, **142**(4):335-344
- [14] Wheeler DS, Catravas JD, Odoms K, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate, a green tea-derived polyphenol, inhibits IL-1 β -dependent proinflammatory signal transduction in cultured respiratory epithelial cells [J]. *J Nutr*, 2004, **134**(5):1039-1044
- [15] Pajonk F, Riedisser A, Henke M, *et al.* The effects of tea extracts on proinflammatory signaling [J]. *BMC Med*, 2006, **4**:28
- [16] 申羽佳, 李卫国, 张惠, 等. 绿茶多酚对小鼠皮肤伤口愈合时白介素-1 β 表达的影响 [J]. *分子细胞生物学报 (Shen Yujia, Li Weiguo, Zhang Hui, et al. Effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on interleukin-1 β expression in mouse wound healing [J]. *J Mol Cell Biol*), 2009, **42**(3-4):179-185*
- [17] Bryan D, Walker K B, Ferguson M, *et al.* Cytokine gene expression in a murine wound healing model [J]. *Cytokine*, 2005, **31**(6):429-438
- [18] Agay D, Andriollo-Sanchez M, Claeysen R, *et al.* Interleukin-6, TNF- α and interleukin-1 β levels in blood and tissue in severely burned rats [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2008, **19**(1):1-7
- [19] Finnerty C C, Przkora R, Herndon D N, *et al.* Cytokine expression profile over time in burned mice [J]. *Cytokine*, 2009, **45**(1):20-25
- [20] Schwacha M G, Thobe B M, Daniel T, *et al.* Impact of thermal injury on wound infiltration and the dermal inflammatory response [J]. *J Surg Res*, 2010, **158**(1):112-120