

方格星虫胶原肽抗炎作用及其对小鼠皮肤创伤修复的促进机制

黄昊旸¹ 张君怡¹ 沈炜强¹ 曹文红^{1,2,3,4,5} 林海生^{1,2,3,4,5}

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524088; 3. 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 广东 湛江 524088; 4. 国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东 湛江 524088; 5. 南海生物资源开发与利用协同创新中心, 广东 湛江 524088)

摘要: [目的] 探究方格星虫胶原肽对皮肤创伤的修复作用, 明确其抗炎、调节氧化应激及促进创伤修复方面的潜在功效。[方法] 采用热水提法提取方格星虫体壁胶原蛋白, 经酶解和超滤制备方格星虫胶原肽(*Sipunculus nudus* collagen peptide, SNCP); 借助脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的RAW264.7细胞炎症模型与小鼠全皮层创伤炎症模型, 检测SNCP对细胞毒性、形态, 以及小鼠创面组织炎症因子、抗氧化因子、生长水平因子的影响。[结果] 在50~400 $\mu\text{g/mL}$ 的质量浓度范围内SNCP对细胞无毒副作用, 可显著改善受LPS诱导的细胞形态异常, 降低一氧化氮(nitric oxide, NO)水平, 表现出良好的体外抗炎活性; 同时, SNCP能显著提高小鼠创伤全皮层的愈合率, 通过降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和白细胞介素-6(IL-6)水平, 提高过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性, 促进成纤维细胞生长因子(FGF)、转化生长因子 β 1(TGF- β 1)和血管内皮生长因子(VEGF)表达, 进而缓解炎症反应, 减少氧化应激损伤, 促进伤口愈合。[结论] SNCP具有抗炎及促进皮肤修复的作用。

关键词: 方格星虫; 胶原肽; 抗炎; 氧化损伤; 创伤修复; 小鼠

Anti-inflammatory effect of *Sipunculus nudus* collagen peptide and its mechanism in skin wound repair promotion in mice

HUANG Haoyang¹ ZHANG Junyi¹ SHEN Weiqiang¹ CAO Wenhong^{1,2,3,4,5} LIN Haisheng^{1,2,3,4,5}

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 2. Guangdong Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 3. Key Laboratory of Aquatic Products Deep Processing of Guangdong Universities, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 4. National Research and Development Center for Shellfish Processing Technology (Zhanjiang), Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 5. South China Sea Biological Resources Development and Utilization Collaborative Innovation Center, Zhanjiang, Guangdong 524088, China)

Abstract: [Objective] To explore the repairing effect of *Sipunculus nudus* collagen peptide (SNCP) on skin wounds and clarify its potential efficacy in anti-inflammation, oxidative stress regulation, and wound repair promotion. [Methods] Collagen is extracted from the body wall of *S. nudus* via the hot water extraction method, and SNCP is subsequently prepared through enzymolysis and ultrafiltration. Then, the lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 cell inflammation model and the whole cortex wound inflammation model in mice are employed to detect the effect of SNCP on cytotoxicity and cell morphology, as well as the inflammatory, antioxidant, and growth factors in

基金项目: 广东省自然科学基金(编号: 2024A1515012130)

通信作者: 林海生(1985—), 男, 广东海洋大学副教授, 博士。E-mail: haishenglin@163.com

收稿日期: 2025-06-06 **改回日期:** 2026-02-06

引用格式: 黄昊旸, 张君怡, 沈炜强, 等. 方格星虫胶原肽抗炎作用及其对小鼠皮肤创伤修复的促进机制[J]. 食品与机械, 2026, 42(5): 181-188.

Citation: HUANG Haoyang, ZHANG Junyi, SHEN Weiqiang, et al. Anti-inflammatory effect of *Sipunculus nudus* collagen peptide and its mechanism in skin wound repair promotion in mice[J]. Food & Machinery, 2026, 42(5): 181-188.

mouse wound tissues. [Results] At 50 to 400 $\mu\text{g/mL}$, SNCP exhibits no cytotoxicity, significantly improves the LPS-induced abnormal cell morphology, and effectively reduces nitric oxide (NO) level, demonstrating potent *in vitro* anti-inflammatory activity. Additionally, SNCP significantly improves the wound healing rate in the whole mouse cortex. By downregulating tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin- 1β (IL- 1β), and interleukin-6 (IL-6) levels, SNCP upregulates catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities, thus promoting fibroblast growth factor (FGF), transforming growth factor- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression. These collective actions alleviate the inflammatory response, mitigate oxidative stress injury, ultimately promoting wound healing. [Conclusion] SNCP demonstrates anti-inflammation and skin wound repair promotion activities.

Keywords: *Sipunculus nudus*; collagen peptide; anti-inflammation; oxidative damage; wound repair; mouse

炎症反应是生物体对外界损伤产生的一种普遍且复杂的防御机制。适度的炎症反应能促进创伤修复,但过度的炎症反应则可能对机体造成伤害,减缓创伤恢复的进度^[1]。在皮肤的创伤修复进程中,炎症期是创伤修复前期一个重要且关键的阶段^[2]。过度炎症反应是限制创伤正常愈合最主要的因素之一。研究^[3]表明,抗炎剂和抗氧化剂在伤口修复过程中发挥着重要作用,它们能够抑制过度的炎症反应,并帮助降低创面因氧化应激而产生的损伤,从而促进伤口的修复。而现有降低炎症的药物,均具有一定的毒副作用,开发食用天然、无毒的食源性抗炎功能食品,如姜黄、白术^[4]等通过天然活性成分抑制炎症因子达到降低炎症的效果,是降低机体炎症反应的一种有效新途径。近年来,海洋生物因其极端环境适应性成为抗炎活性分子的重要来源,其中海洋活性肽如鱼胶原蛋白、贝类肽等凭借低毒性、高生物相容性及多靶点调控特性,展现出显著的抗炎、抗氧化和免疫调节潜力^[5]。

方格星虫(*Sipunculus nudus*),俗称沙虫,广泛分布于中国沿海地区,其含有丰富的营养成分,味道鲜美,风味独特。研究表明,方格星虫具有多种活性,比如抗氧化活性^[6]、抗抑郁^[7]、抗损伤^[8]、调节免疫能力^[9]、降血糖^[10]、抗炎^[11]、抗肿瘤^[12]、抗菌^[13]、抗光老化^[14]等多种功效,其中抗炎和免疫调节活性与促进创伤修复关系密切。但目前对方格星虫的加工利用相对较少,主要作为餐饮食材或制成干制品。方格星虫体壁富含胶原蛋白,精氨酸是其主要氨基酸组成成分。研究^[15]表明,胶原蛋白和精氨酸均是促进伤口修复的主要功效因子。前期研究已证实,方格星虫酶解物具有调节免疫和促进皮肤创伤修复功能^[2,10],而且方格星虫水提物也具有促进伤口修复和抑制增生性瘢痕生成的作用^[16]。其作用机制与调节炎症因子相关^[16],但方格星虫酶解物和水提物的功效因子和机理尚不明确。

研究拟通过制备方格星虫胶原肽(*Sipunculus nudus* collagen peptide, SNCP),基于脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型,探究其体外抗炎活性,并采用小鼠全皮层创伤模型,进一步探讨其靶向抗炎和抗氧化的促伤口修复作用机制,旨在为方格星虫抗炎肽的筛选和应用研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小鼠巨噬细胞(RAW264.7):赛百慷(上海)生物技术有限公司;

BALB/c 小鼠:SPF 级,体重为(18.0 ± 2.0) g,珠海百试通生物科技有限公司;

方格星虫:湛江市东风市场;

复合蛋白酶: 2×10^5 U/g,诺维信(中国)生物技术有限公司;

胎牛血清、DMEM 基础培养基:美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

三溴乙醇、脂多糖(LPS):美国 Sigma-Aldrich 公司;

蛋白质定量(BCA)试剂盒、一氧化氮试剂盒:碧云天生物技术有限公司;

细胞毒性检测(CCK-8)试剂盒:日本同仁化学研究所;

肿瘤坏死因子 α (TNF- α)ELISA 试剂盒、白细胞介素 6(IL-6)ELISA 试剂盒、白细胞介素 1β (IL- 1β)ELISA 试剂盒、血管内皮生长因子(VEGF)ELISA 试剂盒、转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)ELISA 试剂盒、成纤维细胞生长因子(FGF)ELISA 试剂盒:上海酶联生物科技有限公司;

总超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒、丙二醛(MDA)测定试剂盒、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒:南京建成生物工程研究所;

4%多聚甲醛:北京雷根生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

多功能全自动酶标仪:Varioskan LUX 型,美国 Thermo 公司;

高速落地离心机:Thermo Lynx6000 型,美国 Thermo 公司;

台式冷冻离心机:TGK-20M 型,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;

旋转蒸发仪:R1005DL 型,郑州长城科工贸有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 SNCP 和方格星虫体壁冻干粉制备工艺 SNCP 提取参照庄毓秀等^[17]的方法并稍加修改,清洗方格星虫体

壁表面黏液,组织经修剪后与0.1 mol/L NaOH溶液按1:20 (g/mL)的比例混合,4℃磁力搅拌12 h,4层纱布过滤,用蒸馏水洗涤沉淀至中性。按料液比1:5 (g/mL)加入蒸馏水,90℃下提取,每隔4 h收集滤液并继续按料液比1:5 (g/mL)加入蒸馏水更换提取液直至样品全部溶解,提取液于4℃、8 000 r/min下离心20 min,上清液即为胶原蛋白溶液。对胶原蛋白溶液进行酶解(复合蛋白酶用量5 000 U/g, pH 7, 酶解温度50℃, 酶解时间5 h), 酶解结束后100℃水浴灭酶10 min, 酶解液依次通过截留相对分子质量为 5×10^3 、 3×10^3 的超滤膜, 取相对分子质量 $< 3 \times 10^3$ 的组分旋转蒸发浓缩后冻干(隔板温度-25℃, 真空度15 Pa, 持续72 h)得到SNCP。方格星虫体壁冻干粉(*Sipunculus nudus* body, SNB)是先将方格星虫体壁清洗干净表面黏液, 修剪组织后加水均质冻干(隔板温度-25℃, 真空度15 Pa, 持续72 h)后制成SNB。

1.3.2 细胞培养 按10%胎牛血清与90% DMEM培养基的体积分数配制完全培养基。将细胞冻存管从-80℃超低温冰箱取出, 于37℃水浴锅中解冻。在无菌操作环境下, 吸取适量完全培养基至冻存管中重悬细胞, 转移至无菌离心管中, 离心(1 000 r/min, 10 min)弃去上清液, 加入1 mL完全培养基重悬细胞, 转入装有3 mL完全培养基培养皿, 摇匀, 于37℃、5% CO₂的细胞培养箱中培养。

1.3.3 细胞活力测定 参照姜玉^[18]的方法并修改。挑选生长态势良好且处于对数生长期的RAW264.7细胞, 以约 1×10^5 个/mL的密度将其接种于96孔板。将接种好的96孔板置于37℃、含5% CO₂的细胞培养箱内培养24 h至细胞完全贴壁, 弃去上清液。依据试验设计进行分组处理: 对于空白对照组, 每孔添加100 μL DMEM培养基; 试验组则分别加入质量浓度为50, 100, 200, 400, 800 μg/mL的SNCP溶液, 每孔加入量100 μL。将细胞置于CO₂体积分数为5%的培养箱中于37℃下孵育24 h。孵育结束后, 弃去上清液, 在避光条件下向每孔加入100 μL体积分数为10%的CCK-8溶液, 继续于37℃、5% CO₂培养箱中孵育30 min。在450 nm下测定各组的吸光度值。按式(1)计算细胞活力。

$$S = \frac{A_1 - A_{\text{空}}}{A_0 - A_{\text{空}}} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

S ——细胞活力, %;

A_1 ——样品组在450 nm处的吸光度值;

$A_{\text{空}}$ ——空白孔在450 nm处的吸光度值;

A_0 ——对照组在450 nm处的吸光度值。

1.3.4 NO含量测定 参照姜玉^[18]的方法并修改。选取处于对数生长期的RAW264.7细胞, 以约 3×10^5 个/mL的密度将其接种于24孔板中。将接种好的细胞置于含5% CO₂的37℃培养箱中培养24 h, 小心吸弃各孔中的上清

液。根据试验分组进行处理: 空白组和模型组(LPS组)均加入500 μL DMEM培养基; 试验组则分别加入同等体积质量浓度为100, 200, 400 μg/mL的SNCP溶液。加样完毕后, 将24孔板放回含5% CO₂的37℃培养箱中孵育1 h。除空白组外, 各组分别加入终质量浓度为1 μg/mL的LPS溶液, 于含5% CO₂的37℃培养箱中孵育24 h。吸取各孔上清液, 按照NO试剂盒说明书测定NO含量。

1.3.5 细胞形态分析 细胞培养和加样同1.3.4, 于含5% CO₂的37℃培养箱中孵育1 h后, 在模型组和各试验组中加入终质量浓度为1 μg/mL的LPS溶液, 继续于含5% CO₂的37℃培养箱中孵育12 h。孵育结束后, 使用显微镜观察各组细胞形态并拍照记录。

1.3.6 动物试验分组及处理 将小鼠适应性饲养1周后, 随机分为3组, 分别为空白对照组(NC)、方格星虫胶原肽组(SNCP)和方格星虫体壁组(SNB), 每组15只。每只试验小鼠用300 mg/kg三溴乙醇麻醉后, 背部皮肤脱毛消毒后, 用剪刀在鼠背部打1个8 mm圆孔, 切取全层皮肤, 手术完毕将小鼠单笼饲养, 并做好标记。NC组每天灌胃等量的生理盐水, SNCP、SNB组每天按600 mg/kg BW给药一次, 连续给药9 d, 每隔2 d对小鼠的伤口进行测量拍照。第3、6、9天, 小鼠腹腔注射三溴乙醇(300 mg/kg)进行麻醉, 用无菌的手术剪剪下创面组织的全层皮肤, 一部分置于4%多聚甲醛中进行固定用于组织病理分析, 一部分液氮速冻后迅速转至-80℃冰箱保存, 以备后续试验使用。随后, 小鼠眼球取血, 血样置于室温环境下静置1~2 h后, 离心(4 000 r/min, 10 min, 4℃)吸取上层血清, 置于-80℃下保存。

1.3.7 伤口愈合率测定 每3 d固定高度拍照一次, 用Image J软件分析计算伤口面积愈合率, 按式(2)计算伤口愈合率。

$$S = \frac{S_0 - S_N}{S_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

S ——伤口愈合率, %;

S_0 ——第0天创面面积, mm²;

S_N ——第 N 天($N=0, 3, 6, 9$)创面面积, mm²。

1.3.8 炎症细胞因子水平测定 向皮肤组织中加入预冷生理盐水, 将组织匀浆化并配制成质量分数为10%的组织匀浆液, 4℃、8 000 r/min离心20 min, 收集上清液, 用试剂盒测定TNF- α 、IL-6和IL-1 β 含量。

1.3.9 抗氧化指标测定 通过眼眶后静脉丛采集血液, 收集血清, 用试剂盒测定CAT、SOD活性和MDA含量。

1.3.10 生长因子测定 向皮肤组织中加入预冷生理盐水, 将组织匀浆化并配制成质量分数为10%的组织匀浆液, 4℃、8 000 r/min离心20 min, 收集上清液, 用试剂盒测定TGF- β 1、VEGF、FGF含量。

1.3.11 组织病理学分析 将新鲜的小鼠皮肤组织固定于4%多聚甲醛溶液中,脱水后用石蜡包埋,切片,采用苏木精—伊红染色(HE)和Masson染色方法对样本进行处理,并在显微镜下进行病理学观察。

1.4 数据处理

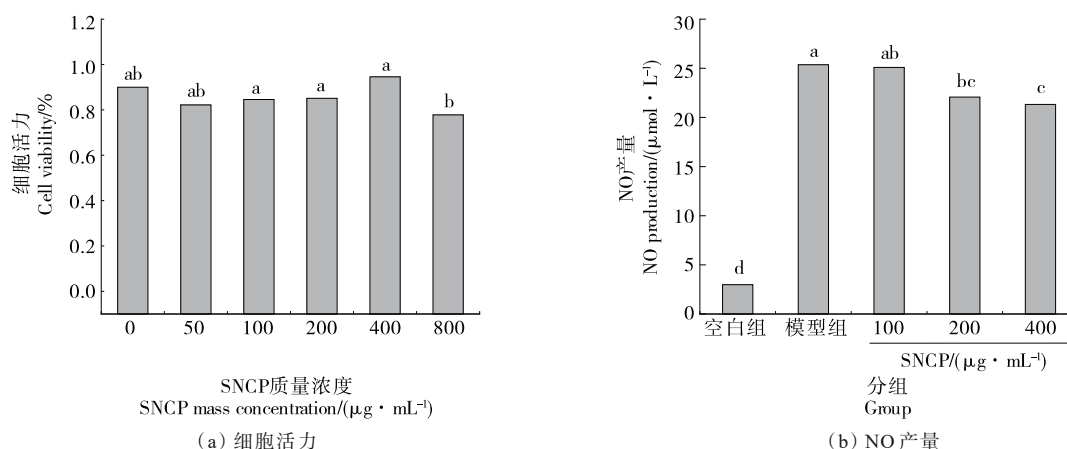
所有试验重复3次,结果均以平均值±标准差表示;使用SPSS 20.0进行分析,组间进行单因素均值比较,选用邓肯法进行显著性分析;使用Origin 2022进行作图。

2 结果与讨论

2.1 SNCP对RAW264.7细胞活力和NO水平的影响

如图1(a)所示,与空白组相比,在800 $\mu\text{g/mL}$ 的质量浓度下可能因为SNCP浓度过高对细胞产生了一定的毒

副作用,从而降低了细胞活力,而质量浓度50~400 $\mu\text{g/mL}$ 时SNCP对细胞活力均无毒副作用。因此,后续考察质量浓度100,200,400 $\mu\text{g/mL}$ 的SNCP溶液对细胞产NO的影响。RAW264.7细胞在受到LPS刺激后会引发炎症反应,并释放多种炎症介质。此外,NO便是其中一种炎症介质,其参与调控多种炎症反应。当细胞产生过量的NO时,机体会产生炎症反应^[19]。如图1(b)所示,与空白组相比,模型组NO水平显著升高,证明造模成功;与模型组相比,试验组均能降低细胞中NO水平,SNCP质量浓度为200,400 $\mu\text{g/mL}$ 时效果显著($P<0.05$),其中400 $\mu\text{g/mL}$ 组的NO含量降低了16%。这与沈金鹏等^[20]的结果相似。综上,SNCP质量浓度为100~400 $\mu\text{g/mL}$ 时对细胞无毒害作用且能降低细胞中NO的产生,说明其具有一定的抗炎活性。



字母不同表示差异显著($P<0.05$)

图1 SNCP对RAW264.7细胞活力和NO水平的影响

Figure 1 Effect of SNCP on the viability and NO levels of RAW264.7 cells

2.2 SNCP对RAW264.7细胞形态的影响

RAW264.7细胞的形态会因其活动状态和功能的变化而发生改变。当这些细胞在生长期间受到LPS的影响后,可能会发生分化并形成伪足^[21]。如图2所示,空白组的RAW264.7细胞呈光滑平整的圆形且排列紧密;模型组的RAW264.7细胞分化长出规则的角,出现极化现象,证明造模成功。细胞在受到LPS影响后,细胞会出现不同程度的极化,而与模型组相比,3个试验组细胞的分化

程度均有不同程度的改善,且呈现出一定的浓度依赖性,使其形态更趋向于正常的形态,证明SNCP能改善细胞受LPS刺激后产生的极化现象。说明SNCP能显著降低细胞炎症反应,这与姬中伟^[22]的发现相似,小米醇溶蛋白肽能够降低受到LPS影响后细胞分化的状态,改善细胞的形态。

2.3 SNCP对皮肤创面愈合的影响

如图3所示,随着时间的延长,各组小鼠创面面积不

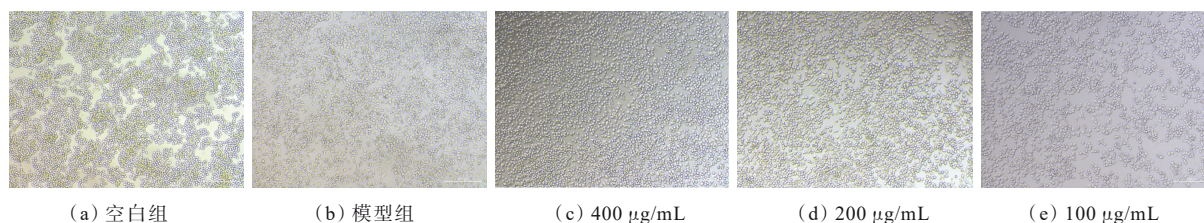
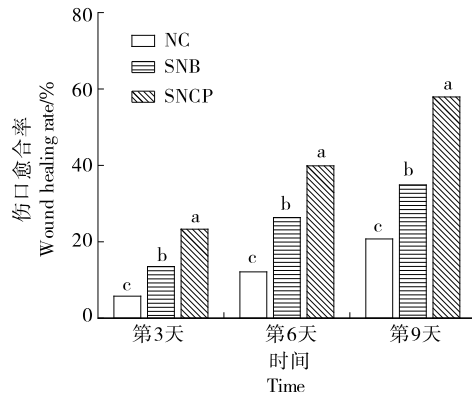


图2 SNCP对RAW264.7细胞形态的影响

Figure 2 Effect of SNCP on LPS-induced RAW264.7 cell morphology

断减小。SNCP组在造模后3~9 d的创面愈合率均显著高于NC组和SNB组。在术后第3天,SNCP组愈合率已达20%以上,而NC组愈合率不到6%,SNB组不到15%,而在术后第6天,SNCP组愈合率提升至约40%,较NC组约12%提高近3倍。说明SNCP和SNB能够加速伤口愈合,缩短愈合周期,且酶解后得到SNCP更容易被吸收,SNCP促进创伤愈合的效果比SNB的更好。



字母不同表示同一时间不同组别之间差异显著($P < 0.05$)

图3 不同组别小鼠皮肤创伤愈合率的变化

Figure 3 Healing rate changes of skin wounds in different groups

2.4 SNCP对创面组织中炎症细胞因子的影响

炎症反应是机体对外源性损伤作出的一般、复杂和有益的免疫反应,并且在创伤前期,过度的炎症反应是限制伤口修复的主要因素^[1]。有研究^[23]表明,降低伤口修复过程中产生的过度炎症,能使伤口迅速度过炎症期,从而加速伤口的修复。在创伤修复过程中,创伤组织中促炎因子越多,其炎症反应越剧烈。如图4所示,与NC组(只灌胃生理盐水)相比,SNB组和SNCP组均能不同程度地使促炎因子水平下降,其中SNCP组的抑制效果最佳。

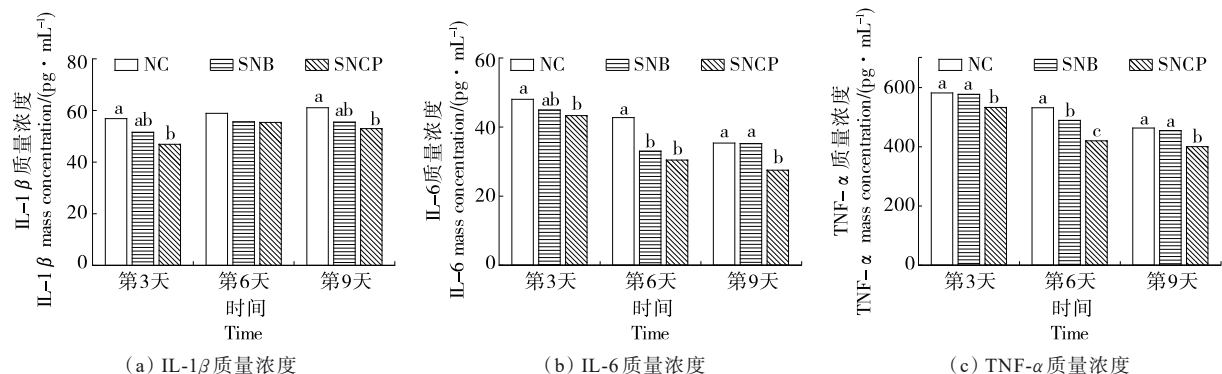
在SNCP组中,TNF- α 、IL-6、IL-1 β 3种促炎因子水平显著降低,在第3天时抑制效果最为显著,3种促炎因子质量浓度分别降低到了(534.6 ± 11.5), (43.4 ± 1.3), (46.9 ± 0.3) pg/mL。结果表明,SNCP通过显著降低创伤前期促炎因子水平,减少伤口修复过程中的炎症反应,使创面组织迅速度过炎症期,有效地提高了创伤的修复速度,与Zhang等^[24]的研究结果相似。SNCP处理对创伤修复时期TNF- α 、IL-6、IL-1 β 3种促炎因子均有抑制作用,同时SNCP可能因为经过酶解后更容易被机体吸收,其抑制3种促炎因子的效果优于SNB,所以效果比SNB的更好。

2.5 SNCP对创面组织中生长因子的影响

皮肤创伤修复过程最显著的特征为成纤维细胞迁移、肉芽组织形成、血管再生以及再上皮化,且在修复过程中,表层损伤通过上皮细胞的增殖与迁移而得到愈合^[25]。如图5所示,与NC组(只灌胃生理盐水)相比,SNB组和SNCP组均能不同程度提高FGF和VEGF水平,特别是SNCP组,说明SNCP提高了创伤修复前期组织的血管生成、细胞增殖和分化的速度,起到了加速伤口创面修复的效果;SNB组和SNCP组均能不同程度降低TGF- β 1水平,其中SNCP组第9天的TGF- β 1质量浓度降低到了(16.8 ± 2.3) μ g/mL,显著降低了创面组织中的TGF- β 1水平。这与郑志鸿等^[2]的研究结果相似。TGF- β 1是主要纤维化驱动因子,与许多异常瘢痕的形成相关^[26-28],SNCP能显著降低TGF- β 1水平,减少创伤修复时期瘢痕的形成。综上,相对于SNB,SNCP能显著提高小鼠创面组织中的FGF和VEGF水平,加速创面修复,同时能降低TGF- β 1水平,减少瘢痕的形成。

2.6 SNCP对血清中氧化应激相关指标的影响

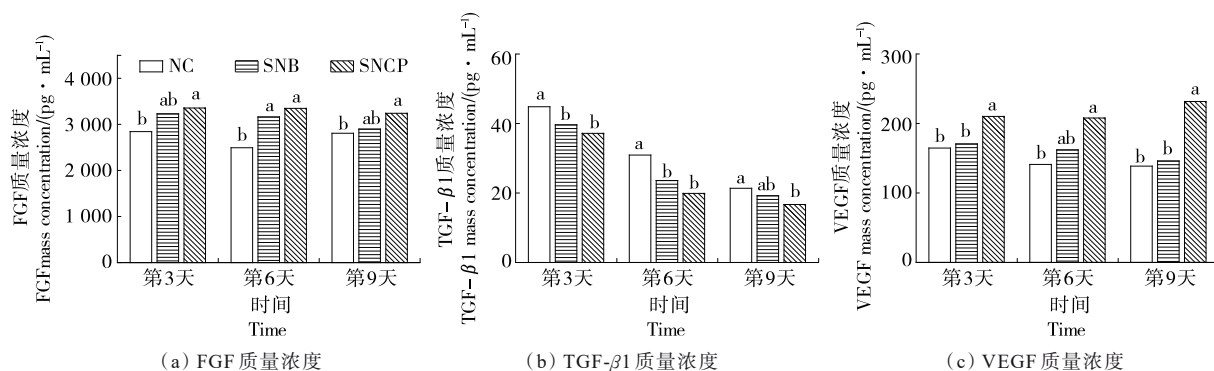
氧化损伤会对细胞膜脂质、蛋白质等生物大分子造成破坏,加剧炎症反应,影响创伤修复。在创伤修复期间,减少氧化应激反应能够有效地维持伤口修复过程中



字母不同表示同一时间不同组别之间差异显著($P < 0.05$)

图4 不同组别小鼠皮肤组织中炎症细胞因子的变化

Figure 4 Inflammatory cytokine level changes in the skin tissues in different groups



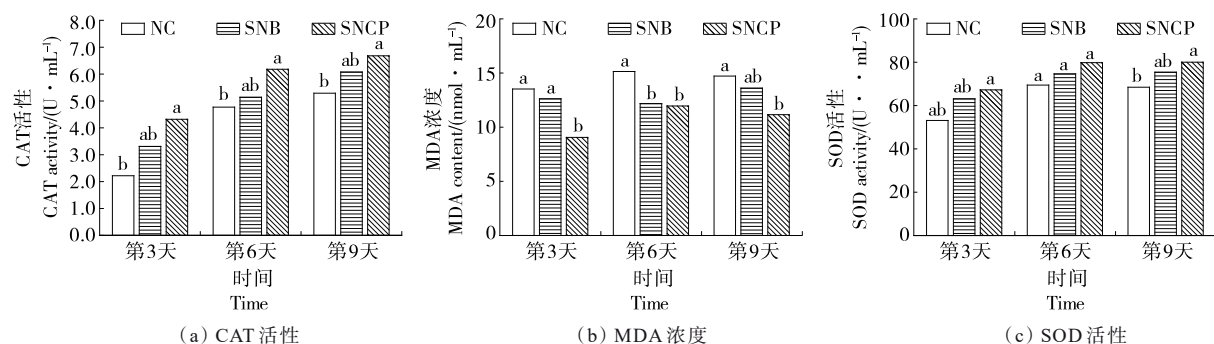
字母不同表示同一时间不同组别之间差异显著 ($P < 0.05$)

图 5 不同组别小鼠皮肤组织中生长因子的变化

Figure 5 Growth factor level changes in the skin tissues in different groups

的氧化还原平衡,从而进一步促进伤口修复^[29-30]。如图 6 所示,与 NC 组(只灌胃生理盐水)相比,SNB 组和 SNCP 组均不同程度地提高了 CAT 和 SOD 活性,且 SNCP 组的效果最优,在创伤修复的不同时间段均能提高两种抗氧化酶的活性,第 9 天 CAT 和 SOD 活性分别为 (6.7 ± 0.7) , (80.6 ± 4.5) U/mL。Ge 等^[31]研究发现,蛋清肽能够提升

修复时期 CAT 等抗氧化酶活性,降低创伤时期的氧化应激损伤。相对于 NC 组,SNCP 组显著降低了血清中 MDA 浓度。综上,SNCP 能调节创伤修复时期的抗氧化因子,在降低创伤导致的氧化应激反应方面具有显著效果,其通过减少伤口修复过程中的氧化损伤反应,避免炎症反应进一步加剧,有效地促进创伤修复。



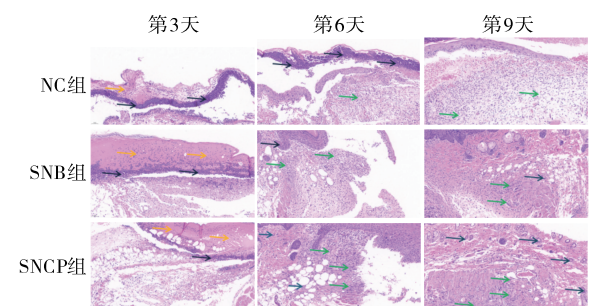
字母不同表示同一时间不同组别之间差异显著 ($P < 0.05$)

图 6 不同组别小鼠血清中氧化应激相关指标的变化

Figure 6 Serum oxidative stress-related indicator changes in different groups

2.7 SNCP对创面组织病理学变化的影响

如图 7 所示,3 组小鼠在受到创伤后均产生不同程度的炎症细胞浸润,第 3 天 NC 组(只灌胃生理盐水)呈现严重炎症反应,能明显看到大量炎症细胞浸润,而 SNB 组和 SNCP 组炎症细胞浸润均有不同程度的减少,其中 SNCP 组炎症细胞减少最为显著。第 6 天时,NC 组仍能明显看到炎症细胞,说明还处于炎症反应时期,而 SNCP 组已经基本度过炎症反应时期,出现了血管和纤维组织,第 9 天出现了大量的血管和纤维组织,并且有新毛囊的出现。SNCP 能显著降低修复时期创面组织的炎症反应,加速创伤修复的进程。如图 8 所示,第 3 天,相对于 NC 组,SNCP 组生成的胶原纤维明显更多;第 9 天,SNCP 组胶原纤维呈



黑色箭头代表炎症细胞,蓝色箭头代表血管,黄色箭头代表炎性坏死渗出物,绿色箭头代表纤维组织增生

图 7 不同组别小鼠伤口组织 HE 切片观察

Figure 7 HE sections of wound tissues in different groups

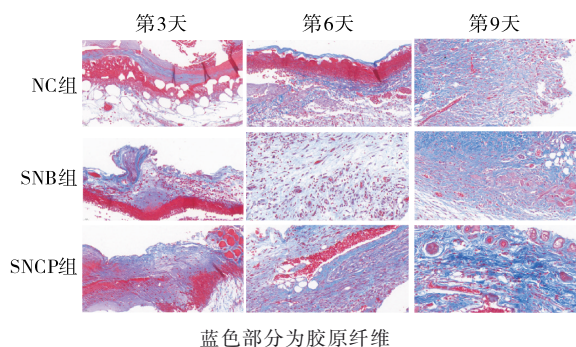


图8 不同组别小鼠伤口组织masson切片观察

Figure 8 Masson sections of wound tissues in different groups

现规则分布,而且出现了毛孔、毛囊等皮肤附属物,而其他组的胶原纤维还较少。综上,SNCP能明显降低修复期的炎症细胞反应,促进纤维组织生成与皮肤附属结构重建,进而修复创伤。

3 结论

该研究评估了方格星虫胶原肽对脂多糖诱导的RAW264.7细胞的抗炎作用,及对小鼠皮肤创伤修复的影响。结果表明,方格星虫胶原肽在50~400 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内无细胞毒性,可明显改善脂多糖损伤细胞的形态,降低细胞中NO水平,具有一定的体外抗炎活性;同时,方格星虫胶原肽在小鼠皮肤创伤修复过程中能显著加快伤口的修复速度,提高伤口愈合率。此外,方格星虫胶原肽能通过降低创伤修复时期的促炎因子,减轻修复时期的炎症反应,调节体内的抗氧化因子和生长因子,减少创伤时期的氧化应激损伤,加速创伤的恢复。综上,方格星虫胶原肽具有降低皮肤创伤时期的炎症反应,减少氧化损伤的效果,加速皮肤创伤修复进程。

参考文献

[1] HOTAMISLIGIL G S. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders[J]. Nature, 2017, 542(7 640): 177-185.

[2] 郑志鸿,章超桦,林海生,等. 方格星虫酶解物对小鼠皮肤创伤修复的作用[J]. 广东海洋大学学报, 2020, 40(1): 97-103.

ZHENG Z H, ZHANG C H, LIN H S, et al. Promoting the skin wound healing in mice using *Sipunculus nudus* hydrolysate[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2020, 40(1): 97-103.

[3] 葛慧芳. 多组学联合解析血清肽加速皮肤创伤愈合分子机制[D]. 长春: 吉林大学, 2022: 47.

GE H F. Joint multi-omics reveal the molecular mechanism of egg white peptides in accelerating skin wound healing[D]. Changchun: Jilin University, 2022: 47.

[4] 陈希平,王亚楠,杨嘉惠,等. 饲料中添加白术提取物对低盐养殖凡纳滨对虾生长、肠道抗氧化及抗炎的影响[J]. 广东海

洋大学学报, 2024, 44(5): 153-162.

CHEN X P, WANG Y N, YANG J H, et al. Effects of dietary extract of *Atractylodes macrocephala* koidz on growth, intestinal antioxidant and anti-inflammatory abilities of *Litopenaeus vannamei* cultured at low salinity[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2024, 44(5): 153-162.

[5] 杨斌,龙洁怡,刘永宏. 海洋来源活性肽及其抗炎活性研究进展[J]. 广西科学, 2020, 27(5): 451-461.

YANG B, LONG J Y, LIU Y H. Research progress of marine bioactive peptides and their anti-inflammation activity[J]. Guangxi Sciences, 2020, 27(5): 451-461.

[6] 刘欢,戚怡,唐晓宁,等. 方格星虫多肽的结构分析及体外抗氧化活性[J]. 中国海洋药物, 2022, 41(5): 49-56.

LIU H, QI Y, TANG X N, et al. Antioxidant activity and structural identification of enzymatic hydrolysis peptides from *Sipunculus nudus* L[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2022, 41(5): 49-56.

[7] 王瑞敏. 方格星虫抗抑郁活性肽筛选及作用机制研究[D]. 湛江: 广东医科大学, 2024: 48.

WANG R M. Screening of anti-depressant active peptides from *Sipunculus nudus* and study on their mechanisms[D]. Zhanjiang: Guangdong Medical University, 2024: 48.

[8] 陶素素,彭志兰,陈晖,等. 方格星虫酶解超滤组分对顺铂所致HK-2人肾小管上皮细胞损伤的保护作用研究[J]. 中国海洋药物, 2024, 43(2): 41-52.

TAO S S, PENG Z L, CHEN H, et al. Protective effect of ultrafiltration fractions of *Sipunculus nudus* enzymatic hydrolysate on cisplatin-induced HK-2 human renal tubular epithelial cell damages[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2024, 43(2): 41-52.

[9] 曹玉坡. 方格星虫(*Sipunculus nudus*)蛋白特性及其糖蛋白免疫调节活性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2022: 101.

CAO Y P. Protein characteristics of *Sipunculus nudus* and the immunoregulatory activity of its glycoproteins[D]. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University, 2022: 101.

[10] 袁华芳,彭志兰,王瑞敏,等. 方格星虫多肽对2型糖尿病小鼠血糖和血脂异常的改善作用研究[J]. 中国海洋药物, 2025, 44(2): 10-16.

YUAN H F, PENG Z L, WANG R M, et al. The potential protective effects of peptides from *Sipunculus nudus* hydrolysate on unconventional plasma glucose level and dyslipidemia in type 2 diabetes mice[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2025, 44(2): 10-16.

[11] 申晓琴. 方格星虫抗炎肽制备及其对糖尿病肾病的作用与机制研究[D]. 湛江: 广东医科大学, 2024: 47.

SHEN X Q. Preparation of anti-inflammatory peptides from *Sipunculus nudus* and their effects on diabetic nephropathy: mechanism study [D]. Zhanjiang: Guangdong Medical University, 2024: 47.

[12] 戚怡,陈起周,王艺瑾,等. 方格星虫三肽对黑色素瘤A375细

- 胞的增殖抑制作用[J]. 广东医科大学学报, 2022, 40(3): 267-271.
- QI Y, CHEN Q Z, WANG Y J, et al. Inhibition effect of tripeptide of *Sipunculus nudus* tripeptide on proliferation of melanoma A375 cells[J]. Journal of Guangdong Medical University, 2022, 40(3): 267-271.
- [13] 董兰芳, 张琴, 童潼, 等. 方格星虫多糖抗菌和抗氧化活性研究[J]. 广西科学, 2013, 20(4): 289-293.
- DONG L F, ZHANG Q, TONG T, et al. Studies on the antimicrobial and antioxidant activities of polysaccharide from *Sipunculus nudus*[J]. Guangxi Sciences, 2013, 20(4): 289-293.
- [14] 林海生, 冯畅, 王雯, 等. 不同方法提取方格星虫胶原蛋白及其酶解物对 HaCaT 细胞的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(6): 1 165-1 175.
- LIN H S, FENG C, WANG W, et al. Different methods of extracting collagen from *Sipunculus nudus* and its effect of enzymatic hydrolysate on HaCaT cells[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2023, 32(6): 1 165-1 175.
- [15] 李珂娴, 沈先荣, 何颖, 等. 方格星虫多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国海洋药物, 2012, 31(1): 46-49.
- LI K X, SHEN X R, HE Y, et al. Effect of *Sipunculus nudus* polysaccharides on immunological function in mice[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2012, 31(1): 46-49.
- [16] 郑志鸿, 章超梓, 林海生, 等. 方格星虫水提物促小鼠皮肤创伤愈合及作用机制的研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2020, 37(3): 460-468, 479.
- ZHENG Z H, ZHANG C H, LIN H S, et al. Wound-healing acceleration of mice skin by *Sipunculus nudus* extract and its mechanism[J]. Journal of Biomedical Engineering, 2020, 37(3): 460-468, 479.
- [17] 庄毓秀, 林海生, 秦小明, 等. 方格星虫体壁明胶的理化特征及功能特性分析[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(17): 226-234.
- ZHUANG Y X, LIN H S, QIN X M, et al. Physicochemical characterisation and functional properties of gelatine from body wall of *Sipunculus nudus*[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(17): 226-234.
- [18] 姜玉. 菲律宾蛤仔抗炎肽的筛选及其对脂多糖诱导的炎症模型的保护作用[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2023.
- JIANG Y. Study on the screening of anti-inflammatory peptides from *Ruditapes philippinarum* and evaluation of the protective effects on lipopolysaccharide-induced inflammation models[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2023.
- [19] 储倩. 醇溶性鲟鱼软骨多肽的制备及抗炎活性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2021: 34.
- CHU Q. Preparation of ethanol-soluble polypeptide from sturgeon cartilage and anti-inflammatory activity[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2021: 34.
- [20] 沈金鹏, 王珂雯, 黄潘钊, 等. 珍珠贝水解肽的制备、氨基酸组成及抗炎活性[J]. 食品与机械, 2023, 39(2): 132-139, 206.
- SHEN J P, WANG K W, HUANG P T, et al. Preparation, amino acid composition and anti-inflammatory activity of hydrolyzed peptides from *Pinctada martensii*[J]. Food & Machinery, 2023, 39(2): 132-139, 206.
- [21] LI J, QIAN W, XU Y H, et al. Activation of RAW 264.7 cells by apolysaccharide isolated from antarctic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. S-5[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 130: 97-103.
- [22] 姬中伟. 小米醇溶蛋白肽的制备及其抗氧化与抗炎活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020: 69.
- JI Z W. Study on the preparation of foxtail millet prolamins peptide and its antioxidant and anti-inflammatory activities[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020: 69.
- [23] ODA Y, TAKAHASHI C, HARADA S, et al. Discovery of anti-inflammatory physiological peptides that promote tissue repair by reinforcing epithelial barrier formation[J]. Science Advances, 2021, 7(47): 6 895-6 895.
- [24] ZHANG J, FU X H, LI W H, et al. Enhancement of nutritional soy protein and peptide supplementation on skin repair in rats [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 75: 104231.
- [25] VELNAR T, BAILEY T, SMRKOLJ V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms [J]. Journal of International Medical Research, 2009, 37(5): 1 528-1 542.
- [26] ARNO A I, GAUGLITZ G G, BARRET J P, et al. New molecular medicine-based scar management strategies[J]. Burns, 2014, 40(4): 539-551.
- [27] ZI Y, LI J, QIAN X P, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes promote elastin production and acute skin wound healing via TGF β 1-Smad pathway[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2025, 480: 4 499-4 511.
- [28] NAKAO A, AFRAKHTI M, MOREN A, et al. Identification of Smad7, a TGF β 2-inducible antagonist of TGF- β signalling[J]. Nature, 1997, 389(6 651): 631-635.
- [29] THANGAVEL P, RAMACHANDRAN B, KANNAN R, et al. Biomimetic hydrogel loaded with silk and l-proline for tissue engineering and wound healing applications[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied biomaterials, 2017, 105(6): 1 401-1 408.
- [30] XU Z J, HAN S Y, GU Z P, et al. Advances and impact of antioxidant hydrogel in chronic wound healing[J]. Advanced Healthcare Materials, 2020, 9(5): e1901502.
- [31] GE H F, YANG Q, LV S W, et al. Egg white peptides accelerating the wound healing process through modulating the PI3K-AKT pathway: a joint analysis of transcriptomic and proteomic[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(8): 4 100-4 115.