

# 不同浓度富硒温泉水对增生性瘢痕成纤维细胞增殖的影响\*\*

胡清泉<sup>1</sup>, 熊慧<sup>2</sup>, 邹立津<sup>3</sup>, 张友来<sup>3</sup>, 李郁葱<sup>1</sup>, 曾元临<sup>3</sup>

## Effects of different doses of selenium-rich water on the proliferation of hypertrophic scar fibroblasts

Hu Qing-quan<sup>1</sup>, Xiong Hui<sup>2</sup>, Zou Li-jin<sup>3</sup>, Zhang You-lai<sup>3</sup>, Li Yu-cong<sup>1</sup>, Zeng Yuan-lin<sup>3</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Clinical studies have shown that selenium-rich water can obviously inhibit hypertrophic scar.

**OBJECTIVE:** To investigate the effects of selenium-rich water on the proliferation of human hypertrophic scar fibroblasts (HSFBs).

**METHODS:** Human HSFBs were cultured by the tissue explants method. Passages 3-5 human HSFBs were cultured with 10%, 20% and 30% selenium-rich water, running water and distilled water for 48 hours. Cell proliferation was measured by MTT method.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Human HSFBs cultured with selenium-rich water were reduced in number, cell processes were shortened to different extents or lacked, and cytoplasm and nucleus were reduced. Different doses of selenium-rich water, running water, and distilled water exhibited inhibitory effects on the proliferation of human HSFBs, in particular selenium-rich water and in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). Results showed that selenium-rich water inhibits the proliferation of human HSFBs in a dose-dependent manner.

Hu QQ, Xiong H, Zou LJ, Zhang YL, Li YC, Zeng YL. Effects of different doses of selenium-rich water on the proliferation of hypertrophic scar fibroblasts. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(37): 6923-6926. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 临床研究证实, 富硒温泉水对增生性瘢痕有明显的抑制作用。

**目的:** 观察富硒温泉水对人增生性瘢痕成纤维细胞增殖的影响。

**方法:** 组织块法体外培养人增生性瘢痕成纤维细胞, 取第3~5代细胞, 用含10%, 20%, 30%富硒温泉水及自来水和蒸馏水的培养基培养48 h, 测细胞增殖情况。

**结果与结论:** 富硒温泉水培养的人增生性瘢痕成纤维细胞数量减少, 突起不同程度的变短或者缺失, 细胞质及胞核浓缩。不同浓度的富硒温泉水、自来水、蒸馏水均对成纤维细胞的增殖有抑制作用, 以富硒温泉水培养基的抑制作用最明显 ( $P < 0.05$ ), 且随浓度的升高, 抑制率增大。说明富硒温泉水可以剂量依赖性地抑制人增生性瘢痕成纤维细胞的增殖。

**关键词:** 富硒温泉水; 硒; 瘢痕; 成纤维细胞; 增殖; 组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.37.020

胡清泉, 熊慧, 邹立津, 张友来, 李郁葱, 曾元临. 不同浓度富硒温泉水对增生性瘢痕成纤维细胞增殖的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(37):6923-6926. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

<sup>1</sup>Medical College of Nanchang University, Nanchang 333006, Jiangxi Province, China; <sup>2</sup>Jiangxi Vocational and Technical College of Nursing, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China; <sup>3</sup>Burn Center, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Hu Qing-quan★, Studying for master's degree, Physician, Medical College of Nanchang University, Nanchang 333006, Jiangxi Province, China huqingquan@126.com

Correspondence to: Zeng Yuan-lin, Professor, Chief physician, Burn Center, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China zengyuanlin777@yahoo.com.cn

Supported by: 2007 Plan Program of Health Department of Jiangxi Province, No.20073200\*

Received: 2011-03-08 Accepted: 2011-04-28

## 0 引言

瘢痕是人体在创伤后组织修复过程中的必然产物, 任何创伤的愈合均伴有轻重不同的瘢痕形成, 有报道称烧伤后增生性瘢痕的发生率为91.4%<sup>[1]</sup>。增生性瘢痕表现为创伤后局部组织的过度修复, 常常造成畸形甚至功能障碍。因此, 对增生性瘢痕的形成机制及抑制方法的研究有很大意义<sup>[2]</sup>。

富硒温泉水是指一种涌出地面的地下水, 一般是由于地下水受到地球内部各种物质运动变化、地温作用、水蒸气压力的影响以及地壳结构的改变而形成的。其平均水温一般高于当地的常年平均气温。富硒温泉水除了较一般水的水温高以外, 一般都含有较高的化学成分,

如碘、硫、铁、硼及一些放射性元素, 同时还包含较多的具有医疗价值的气体, 如二氧化碳、硫化氢和氦气等<sup>[3]</sup>。富硒温泉水浸浴治疗能抑制深度烧伤后瘢痕组织的增生, 临床效果较好<sup>[4]</sup>。

为探讨其作用机制, 实验采用瘢痕成纤维细胞原代培养的方法, 观察不同浓度的富硒温泉水对增生性瘢痕成纤维细胞增殖的影响。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机分组对比观察实验。

**时间及地点:** 于2010-06/09在南昌大学第一附属医院烧伤研究所完成。

**材料:**

**瘢痕组织:** 取自2010-01/06于南昌大学第一附属医院整形外科行整形手术的瘢痕增生患者

<sup>1</sup> 南昌大学医学院, 江西省南昌市 330006; <sup>2</sup> 江西省护理职业技术学院, 江西省南昌市 330006; <sup>3</sup> 南昌大学第一附属医院烧伤中心, 江西省南昌市 330006

胡清泉★, 男, 1986年生, 江西省上饶市人, 汉族, 南昌大学医学院在读硕士, 医师, 主要从事烧伤创面的处理与瘢痕防治的研究。  
huqingquan@126.com

通讯作者: 曾元临, 教授, 主任医师, 南昌大学第一附属医院烧伤中心, 江西省南昌市 330006  
zengyuanlin777@yahoo.com.cn

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2011)37-06923-04

收稿日期: 2011-03-08  
修回日期: 2011-04-28  
(20101206017/WLM · S)

的病变组织。患者年龄小于30岁, 身体健康, 无心、肺、肾、肝等慢性疾病; 患者近3个月内没有使用过激素类药物; 瘢痕组织处于增生生活跃期, 色泽红, 高出皮肤, 经临床和病理证实无恶变, 以前胸、四肢为主。实验征得了患者的知情同意。

**富硒温泉水、自来水及蒸馏水:** 富硒温泉水取自江西省宜春市明月山温泉交通疗养院, 经微孔滤膜除菌后备用; 自来水及蒸馏水取自实验室, 自来水经微孔滤膜除菌后备用。按照体积分数为10%, 20%, 30%分别配制成10%, 20%, 30%的富硒温泉水培养基、自来水培养基及蒸馏水培养基。

**主要试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
DMEM 培养基、0.25% 胰蛋白酶、胎牛血清	GIBCO, 美国
MTT、二甲基亚砷	SIGMA, 美国
CO <sub>2</sub> 孵箱、超净工作台	FISHER, 美国
倒置显微镜及照相分析系统	Olympus, 日本
全自动酶标读数仪	Multiskan Ascent, 芬兰
高速离心机	TS-10, 湖南

**方法:**

**细胞培养:** 将增生性瘢痕组织剪成1 mm×1 mm×1 mm大小的组织块, 培养于含体积分数10%胎牛血清的DMEM培养液(含体积分数1%的青霉素和链霉素)中, 置37℃、体积分数5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度为95%的培养箱中培养, 每两三天换液1次, 待长成致密单层后, 用0.25%的胰蛋白酶消化, 按1:3传代, 取第3~5代细胞用于实验<sup>[5]</sup>。

**分组与干预:** 取处于对数生长期的成纤维细胞, 用0.25%胰蛋白酶消化收集细胞, 将细胞浓度调为5×10<sup>7</sup> L<sup>-1</sup>, 接种于96孔培养板, 每孔加入100 μL的细胞悬液和100 μL的DMEM培养基, 同时设3个复孔, 放入37℃、体积分数5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度为95%的培养箱中培养24 h, 待细胞完全贴壁后弃去原液, 分别加入含终浓度为10%, 20%, 30%的富硒温泉水、自来水及蒸馏水的DMEM培养基(含体积分数10%胎牛血清), 以正常培养的细胞作为对照组。倒置显微镜下观察细胞形态及生长情况。

**MTT法检测:** 各组细胞培养48 h后, 小心弃去原培养基, 每孔加入20 μL MTT溶液继续培养4 h后弃培养液, 每孔加入150 μL二甲基亚

砷, 置微孔振荡器低速振荡10 min。用酶标仪测定490 nm吸光度(A), 以上实验重复3次。

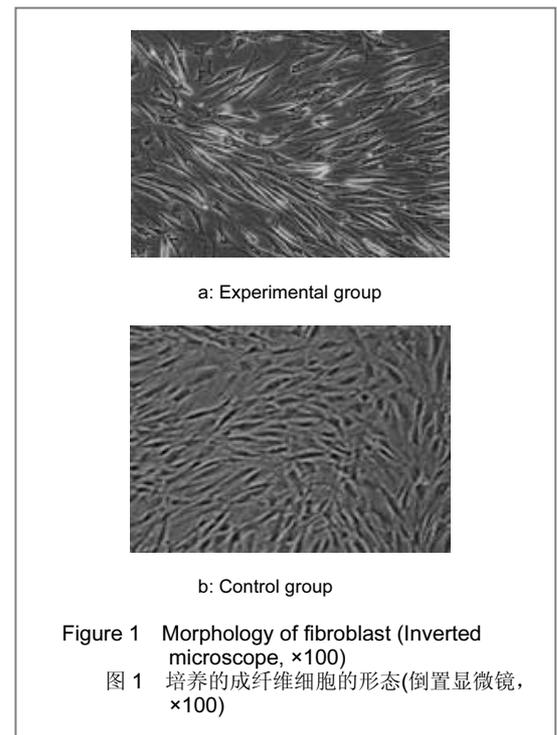
$$\text{细胞抑制率} = (1 - \frac{\text{实验组 } A_{490 \text{ nm}}}{\text{对照组 } A_{490 \text{ nm}}}) \times 100\%$$

**主要观察指标:** 成纤维细胞的形态及生长情况; 成纤维细胞的增殖情况。

**统计学分析:** 实验数据采用SPSS 13.0进行单因素方差分析, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

**2 结果**

**2.1 富硒温泉水对成纤维细胞形态的影响** 未加富硒温泉水的培养基培养的细胞形态规则, 胞核呈椭圆形或圆形, 胞体呈梭形。富硒温泉水培养的细胞数量较少, 细胞突起不同程度的变短或者缺失, 细胞质及胞核浓缩, 见图1。



**2.2 富硒温泉水对瘢痕成纤维细胞增殖的影响** 含不同浓度富硒温泉水、自来水、蒸馏水的培养基培养成纤维细胞48 h后, 使用MTT法检测成纤维细胞增殖的情况, 发现不同浓度的富硒温泉水、自来水、蒸馏水培养基均对成纤维细胞的增殖有抑制作用, 见图2; 其中富硒温泉水培养基的抑制作用最明显( $P < 0.05$ ), 且随浓度的升高, 抑制率增大, 见表1。

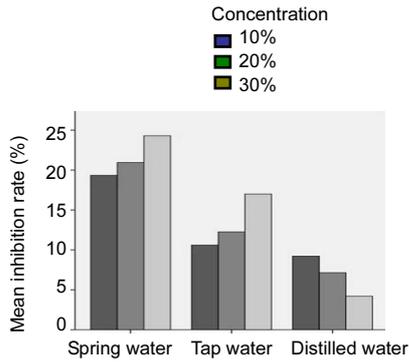


Figure 2 Effect of different concentrations of spring water, tap water and distilled water on inhibition of hypertrophic scar fibroblast (n=3)

图 2 不同浓度富硒温泉水、自来水和蒸馏水对人增生性瘢痕成纤维细胞作用的抑制作用(n=3)

表 1 不同浓度富硒温泉水、自来水和蒸馏水对人增生性瘢痕成纤维细胞作用的抑制率

Table 1 Inhibition rate of different concentrations of spring water, tap water and distilled water on hypertrophic scar fibroblasts (n=3)

Concentration	Absorbance value ( $\bar{x} \pm s$ )		
	Spring water	Tap water	Distilled water
10%	0.385±0.041 <sup>a</sup>	0.426±0.069 <sup>a</sup>	0.433±0.081 <sup>a</sup>
20%	0.378±0.023 <sup>a</sup>	0.419±0.059 <sup>a</sup>	0.443±0.051 <sup>a</sup>
30%	0.362±0.064 <sup>a</sup>	0.396±0.025 <sup>a</sup>	0.457±0.089

Concentration	Inhibition (%)		
	Spring water	Tap water	Distilled water
10%	19.34 <sup>a</sup>	10.60 <sup>a</sup>	9.22 <sup>a</sup>
20%	20.95 <sup>a</sup>	12.25 <sup>a</sup>	7.14 <sup>a</sup>
30%	24.30 <sup>a</sup>	17.00 <sup>a</sup>	4.20 <sup>a</sup>

The absorbance value of control group was 0.477; <sup>a</sup>P < 0.05, vs. control group

### 3 讨论

大面积烧伤患者常常留下明显的瘢痕,特别是烧伤后形成的增生性瘢痕可导致患者畸形、功能障碍、影响美观或奇痒,甚至可恶变成癌或肉瘤<sup>[6-7]</sup>。瘢痕增生机制还不十分清楚,外伤、感染、物理化学损伤及外科手术等均可造成瘢痕形成与增生,其组织学表现为成纤维细胞的过度增殖和细胞外基质的过度聚集<sup>[8]</sup>。成纤维细胞作为细胞增殖和瘢痕增生的主要效应细胞,其活化、增殖、合成胶原以及分化异常,直接导致增生性瘢痕的形成<sup>[9]</sup>。Choi等<sup>[10]</sup>指出成纤维细胞在瘢痕组织中起主要作用,其功能变化对创伤愈合及组织修复起着十分重要的作用,但目前尚未发现一种对不同部位、面积、病程的瘢痕都有效而又可靠的药物及制剂<sup>[10-11]</sup>,国内很多医疗机构发现有些中药在临床上有很好的瘢痕抑制效果,并

且也进行了系列的研究<sup>[12-16]</sup>。

杨立华等<sup>[17]</sup>研究结果证实使用富硒温泉水浸渍治疗可清洁烧伤创面,明显抑制瘢痕增生,促进瘢痕软化,可作为烧伤后瘢痕增生物理康复治疗的一种辅助疗法。曾元临等<sup>[18]</sup>详细阐述了富硒温泉水抑制瘢痕生长的可能机制。实验采用富硒温泉水与自来水、蒸馏水做对比,有效地消除了稀释培养基和富硒温泉水杂质等其他因素导致的细胞生长抑制因素的影响,结果显示富硒温泉水能抑制瘢痕成纤维细胞的增殖。

实验所取富硒温泉水来自江西宜春明月山,该处温泉具有低矿化度、低钠、富硒、偏硅酸含量高等特点,常年水温为62℃,pH 7.8, SiO<sub>2</sub>含量达100 me/L,矿化度2.13 g/L,富含硒、锂、钠、钾、钙、镁、锶、钛等20多种人体所必需的微量元素,水化学类型为HCO<sub>3</sub>-Na<sup>[19]</sup>。其中的硒化合物可以通过氧化应激、活性氧介导、调控癌基因和抑癌基因的表达、调节细胞周期相关蛋白、激活caspase系列酶等途径诱导细胞凋亡<sup>[20-22]</sup>。实验结果显示富硒温泉水具有抑制成纤维细胞增殖的作用,因温泉水成分复杂,是否是因为硒化物导致的成纤维细胞生长抑制,还有待进一步研究。

### 4 参考文献

- LI-TSANG CWP, Feng BB, Li KC. Zhonghua Shaoshang Zazhi. 2010;26(6):411-415. 李曾慧平,冯蓓蓓,李奎成.烧伤后增生性瘢痕压力治疗及相关研究[J].中华烧伤杂志,2010,26(6):411-415.
- van ZPP, Ruurda JJ, van VHA, et al. Collagen morphology in human skin and scar tissue: no adaptations in response to mechanical loading at joints. Burns. 2003;29(5):423-431.
- Ma YL. Huaxue Jiaoyu. 2006;27(4):2-3. 马一岚.温泉的分类及其对人体的物理、化学作用[J].化学教育,2006,27(4):2-3.
- Yang LH, Fu XF, Yao SH, et al. Zhongguo Kangfu Yixue Zazhi. 2009;24(3):272-273. 杨立华,傅晓凤,姚世红,等.温泉水浸浴对烧伤增生性瘢痕组织生物学特征的影响[J].中国康复医学杂志,2009,24(3):272-273.
- Guo R, Liu JT, Liu HF, et al. Mudanjiang Yixueyuan Xuebao. 2010;31(1):31-33. 郭冉,刘洁婷,刘海峰,等.组织贴壁法原代培养人皮肤瘢痕成纤维细胞[J].牡丹江医学院学报,2010,31(1):31-33.
- Yang WX, Wang GJ, Yu GJ, et al. Zhonghua Zhengxing Waiké Zazhi. 2010;26(6):460-461. 杨卫玺,王光军,於国军,等.股前外侧皮瓣修复头部巨大烧伤瘢痕继发鳞状细胞癌[J].中华整形外科杂志,2010,26(6):460-461.
- Li Y, Zhao Y, Tu P, et al. Linchuang Pifuke Zazhi. 2009;38(8):533-534. 李妍,赵昱,涂平,等.烧伤瘢痕继发鳞状细胞癌并广泛转移1例[J].临床皮肤科杂志,2009,38(8):533-534.
- Chen H, Nong XL. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2008;12(42):8358-8361. 陈洪,农晓琳.皮肤病理性瘢痕的基础理论与进展[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(42):8358-8361.
- Tuan TL, Nichter LS. The molecular basis of keloid and hypertrophic scar formation. Mol Med Today. 1998;4(1):19-24.
- Choi W, Kawanabe H, Sawa Y, et al. Effects of bFGF on suppression of collagen type I accumulation and scar tissue formation during wound healing after mucoperiosteal denudation of rat palate. Acta Odontol Scand. 2008;66(1):31-37.
- Akita S, Akino K, Imaizumi T, et al. The quality of pediatric burn scars is improved by early administration of basic fibroblast growth factor. J Burn Care Res. 2006;27(3):333-338.
- Pan S, Li TZ, Li YY, et al. Zhongguo Linchuang Kangfu. 2005;9(10):230-231. 潘姝,利天增,李叶扬,等.积雪草苷对瘢痕成纤维细胞增殖与磷酸化Smad2和Smad7表达的影响[J].中国临床康复,2005,9(10):230-231.
- Xie WG, Jiang HQ, Li HB. Zhonghua Shaoshang Zazhi. 2002;18(1):32-33. 解伟光,姜会庆,李汉保.雷公藤提取物抑制增生性瘢痕成纤维细胞的实验研究[J].中华烧伤杂志,2002,18(1):32-33.

- [14] Tang SY, Li CL, Li DM, et al. Zhongguo Linchuang Kangfu. 2004; 8(35):8040-8041.  
汤苏阳,李春伶,李冬梅,等.苦参碱对瘢痕疙瘩成纤维细胞凋亡的影响[J].中国临床康复,2004,8(35):8040-8041.
- [15] Ren LH, Hao LJ, Duan GX, et al. Shiyong Meirong Zhengxing Waikexue. 2003;14(6):324-327.  
任丽虹,郝立君,段国新,等.五倍子、蜈蚣对瘢痕疙瘩成纤维细胞增殖和胶原合成的影响[J].实用美容整形外科杂志,2003,14(6):324-327.
- [16] Wang LN. Zhongguo Linchuang Kangfu. 2003;7(29):4039.  
王丽娜.大面积烧伤患者采用水浴疗法软化瘢痕[J].中国临床康复,2003,7(29):4039.
- [17] Yang LH, Fu XF, Fu YM, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2008;12(27):5309-5312.  
杨立华,傅晓凤,傅颖梅,等.温泉水浸渍对烧伤增生性瘢痕的转化效应[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(27):5309-5312.
- [18] Zeng YL, Zhang YL, Huang XH, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2008;12(37):7378-7381.  
曾元临,张友来,黄晓辉,等.温泉水矿化水浸泡修复烧伤后难愈性残余创面[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(37):7378-7381.
- [19] Gao B, Sun ZX, Liu JH. Shui Ziyuan Baohu. 2006;22(2):92-94.  
高柏,孙占学,刘金辉.江西省地热温泉开发利用与保护[J].水资源保护,2006,22(2):92-94.
- [20] Kim YS, Jhon DY, Lee KY. Involvement of ROS and JNK1 in selenite-induced apoptosis in Chang liver cells. Exp Mol Med. 2004;36(2):157-164.
- [21] Hu H, Jiang C, Schuster T, et al. Inorganic selenium sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis through superoxide/p53/Bax-mediated activation of mitochondrial pathway. Mol Cancer Ther. 2006;5(7):1873-1882.
- [22] Wu Y, Zhang H, Dong Y, et al. Endoplasmic reticulum stress signal mediators are targets of selenium action. Cancer Res. 2005;65(19):9073-9079.

来自本文课题的更多信息——

**基金资助:** 江西省卫生厅 2007 年计划课题项目, 编号: 20073220, 课题名称: 富硒温泉水浸渍对烧伤疤痕和表皮干细胞的影响程度研究。

**作者贡献:** 胡清泉进行实验设计, 实验实施为胡清泉, 实验评估为邹立津、熊慧, 资料收集为李郁葱, 胡清泉成文, 张友来审核, 曾元临对文章负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理批准:** 实验征得了患者的知情同意。

**本文创新性:**

**提供证据:** 检索 CNKI 数据库, 检索时间为建库至 2011-01, 检索关键词为: “富硒温泉水、富硒、瘢痕、成纤维细胞、增殖”, 未见密切相关文献。

**创新点说明:** 宜春富硒温泉水来源广泛, 价格低廉, 作为瘢痕增生患者的辅助治疗, 具有较好的社会效益和经济收益。采用宜春明月山富硒温泉水抑制瘢痕增生, 从细胞层面探讨富硒温泉水抑制瘢痕生长的机制。



SCI收录的《中国神经再生研究(英文版)》杂志

Neural Regeneration Research(NRR)

国际投稿服务项目部

尊敬的学科专家:

在高品质的国际专业期刊上发表文章——

- 是每个临床医师和科研工作者事业中十分重要的一部分。
- 是中国医师专业领域的学术和技术走向国际参与国际交流的重要平台。
- 是医学科学发展创新成果的鉴定和体现。
- 您是否一直在想着, 如何向SCI收录的优秀期刊投稿?

我们的服务项目与内容

1 提供翻译和语言润色服务:

- ▶ 专业翻译将为您解决时间紧张的烦恼, 并保证润色后语言为地道英语。
- ▶ 不仅能解决语法和拼写的错误, 还有学科专家对稿件提出专业上的修改意见, 使修改后的内容更符合SCI收录期刊的要求。

2 提供选刊服务:

- ▶ 学科内期刊, 相关交叉学科期刊, 有免费项目。
- ▶ 选好合适的目标期刊是稿件能否被采用的第一步。
- ▶ 在专业领域有影响的学术期刊上发表, 还是在学科交叉领域的优秀期刊上发表? 只有经验丰富的专业团队才能向您提出科学的建议。



免费提供作者所在学科SCI收录全部杂志名录及最新影响因子。  
免费提供作者来我社进行实验科研设计的前期研讨,  
免费提供可行性建议或设计思路图。