

TSG-6 促进瘢痕疙瘩成纤维细胞凋亡及其 NF- κ B 信号通路影响的实验研究

王佳妮 李小静 李涛 王瑜

摘要 目的 探讨 TSG-6 预处理对瘢痕疙瘩成纤维细胞凋亡及 NF- κ B 信号通路的影响。方法 标本人瘢痕疙瘩共 3 例,采用酶消化法分离纯化得到人瘢痕疙瘩成纤维细胞(KFs),MTT 法检测 rhTSG-6 蛋白对 KFs 的增殖抑制作用,计算半数抑制浓度(IC₅₀)。流式细胞术检测 KFs(空白对照组)与接近 IC₅₀ rhTSG-6 蛋白处理组(rhTSG-6 实验组)细胞凋亡情况。Western blot 检测各组细胞中 I κ B α 、p-I κ B α 、活化 caspase3 及 caspase8 的表达。凝胶电泳迁移率实验(EMSA)检测各组细胞 NF- κ B DNA 结合活性。结果 rhTSG-6 在体外对 KFs 增殖有明显抑制作用(IC₅₀ 接近 300 ng/ml),细胞凋亡率增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);Western blot 法检测显示 rhTSG-6 实验组 KFs 中 I κ B α 表达增加,p-I κ B α 表达减少,活化 caspase3 和 caspase8 表达明显增多。EMSA 结果显示 rhTSG-6 实验组 NF- κ B DNA 结合活性明显降低。结论 TSG-6 在体外可能通过抑制 NF- κ B 信号通路活性进而抑制 KFs 增殖并促进其凋亡。

关键词 TSG-6;瘢痕疙瘩成纤维细胞;NF- κ B;凋亡

中图分类号 R 619.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)09-1266-05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.09.002

瘢痕疙瘩是一种继发于创伤或感染的真皮结缔组织增生性疾病,伴有瘢痕疙瘩成纤维细胞(keloid fibroblasts, KFs)的大量异常增殖产生并沉积过量的细胞外基质,引起真皮结缔组织发生持久的纤维化,因而 KFs 在瘢痕疙瘩发生发展过程中起着关键的作用^[1]。核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路广泛参与免疫和炎症应答、细胞增殖和凋亡等生物学过程,并在细胞恶性转化、纤维化等过程中起重要作用^[2];已有研究^[3]表明 NF- κ B 信号通路异常活化可能是瘢痕疙瘩发生的机制之一。Tan et

al^[4]发现瘢痕疙瘩中肿瘤坏死因子 α 刺激基因6(tumor necrosis factor alpha stimulated gene-6, TSG-6)表达量稍低于正常瘢痕愈合的真皮组织,提示 TSG-6 蛋白功能的缺失可能是瘢痕疙瘩发生发展的积极因素。课题组前期研究^[5]证实 TSG-6 可通过抑制炎症反应以及促进增生性瘢痕成纤维细胞凋亡以减弱兔耳增生性瘢痕形成。该研究旨在观察 TSG-6 是否是通过调节 NF- κ B 信号通路进而影响人 KFs 的凋亡。

1 材料与方法

1.1 病例资料 瘢痕疙瘩组织标本均来自安徽医科大学第一附属医院整形外科临床诊断的瘢痕疙瘩患者,全部征得患者同意并签署知情同意书,组织标本共 3 例,患者均属于首次治疗,未经其他治疗。

1.2 主要试剂及仪器 rhTSG-6 蛋白(美国 R&D Systems 公司);胎牛血清 FBS、PBS、DMEM(高糖)培养基(美国 HyClone 公司);IV 型胶原酶(美国 Sigma 公司);胰蛋白酶(上海碧云天生物技术有限公司);MTT 试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司);Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡双染试剂盒(上海 Bestbio 贝博公司);流式细胞仪(美国 BD 公司);Western blot 抗体(美国 Abcam 公司);Western blot 检测全套设备(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 KFs 原代培养 3 例瘢痕疙瘩组织于无菌操作下剪碎成小块,置于 IV 型胶原酶溶液中,170 r/min 37 °C 振荡 8~12 h,1 200 r/min 离心 5 min 弃上清液,加入 DMEM 重悬再次离心弃上清液,加入含 20% FBS 的高糖 DMEM 培养液,调整适宜细胞浓度接种于培养皿中,于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内孵育,当细胞铺满培养皿底 80% 左右,予以传代 3~8 代细胞用于实验。

1.3.2 MTT 法检测 rhTSG-6 对 KFs 的细胞毒作用

收集对数期 KFs,调整细胞悬浮液浓度至 1.5 × 10⁴/ml,接种于 96 孔板,每孔 100 μ l,共分 6 组:50、100、200、400 ng/ml rhTSG-6 实验组,空白对照组,

2017-04-11 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81272107)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院整形外科,合肥 230022

作者简介:王佳妮,女,硕士研究生;

李小静,女,主任医师,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: lixiaojing5@163.com

每组 6 个副孔,于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育 2 h,待细胞贴壁,rhTSG-6 实验组加入上述终浓度的 rhTSG-6 继续培养 24、48、72、96 h。终止培养前 4 h,每孔加入 20 μl MTT 溶液,继续孵育 4 h 后弃上清液,避光每孔加入 150 μl DMSO 摇床混匀 10 min,酶标仪检测波长 490 nm 下各孔光密度(optical density, OD)值。相对抑制率(%) = [(对照孔平均 OD 值 - 加药孔平均 OD 值) / 对照孔平均 OD 值] × 100% 求接近半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration of a substance IC₅₀)。实验重复 3 次。

1.3.3 流式细胞术检测细胞凋亡 取第 3 代 KFs, 0.25% 胰酶消化,调整细胞浓度至 1.5 × 10⁵/ml,接种于 6 孔板。实验分为空白对照组和浓度为 IC₅₀ rhTSG-6 实验组(300 ng/ml),分别加入不含 TSG-6 的完全培养基和 rhTSG-6 蛋白终浓度为 300 ng/ml 的培养基。于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内常规培养 48 h。收集空白对照组和实验组细胞至 15 ml 离心管中 2 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,冷 PBS 洗涤 2 次,弃上清液,加入 400 μl AnnexinV 结合液悬浮细胞,转移至流式管中加 5 μl AnnexinV-FITC 混匀 4 °C 避光孵育 15 min,再加入 10 μl PI 混匀 4 °C 避光孵育 5 min,流式细胞仪检测,每组 3 个样本。

1.3.4 Western blot 检测各组细胞中 IκBα、p-IκBα、caspase3 及 caspase8 的表达 收集空白对照组和浓度为 300 ng/ml TSG-6 实验组细胞,提取细胞总蛋白,经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,后转印至 PVDF 膜,5% BSA 室温封闭 2 h,分别加入 1:2 000 稀释的鼠抗人 IκBα 抗体、1:500 稀释的鼠抗人 p-IκBα 抗体、1:500 稀释的鼠抗人 caspase3 抗体及 1:1 000 稀释的鼠抗人 caspase8 抗体,4 °C 孵育过夜,TBST 洗膜,加含二抗的封闭液室温孵育 1 h,振摇洗涤后,加 DAB 显色液,曝光显影并拍照保存,以 β-actin 为内参验证蛋白含量。

1.3.5 凝胶电泳迁移率实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA) 检测各组细胞 NFκB 蛋白的表达 收集空白对照组和浓度为 300 ng/ml TSG-6 实验组细胞,提取各组细胞核蛋白,根据美国 Pierce 公司 EMSA 试剂盒配制结合反应液,加入生物素标记探针 1 μl 室温放置 20 min 后上样,6% 聚丙烯酰胺凝胶 4 °C、100 V 电泳分离,转尼龙膜,化学发光法检测生物素标记的 DNA,曝光显影。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据两两比较采用 *t* 检验,多组均数比较采用方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意

义。

2 结果

2.1 rhTSG-6 抑制 KFs 增殖 MTT 结果显示:rhTSG-6 在体外对 KFs 增殖有抑制作用。与空白对照组相比,200 ng/ml 组在作用 48 h 后对 KFs 的增殖有抑制作用,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见图 1。增加 rhTSG-6 浓度,对 KFs 增殖的抑制作用逐渐增强(*P* < 0.05)。通过 SPSS 17.0 软件计算得出 rhTSG-6 对 KFs1、KFs2、KFs3 的 IC₅₀ 分别为(298.56 ± 0.53)、(290.88 ± 0.41)、(295.42 ± 0.52) ng/ml,差异有统计学意义(*F* = 87.04, *P* < 0.05)。为了操作方便,选取 300 ng/ml 作为后续实验的工作浓度。

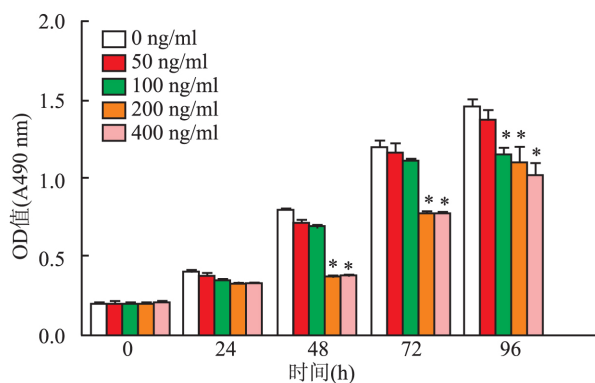


图1 MTT 法检测 rhTSG-6 对 KFs 增殖的影响

2.2 rhTSG-6 促进 KFs 凋亡 流式细胞仪检测结果显示:rhTSG-6 实验组 KFs 在 rhTSG-6 (300 ng/ml) 干预 48 h 后,细胞凋亡率(41.65 ± 0.62)% 明显高于空白对照组 KFs (6.02 ± 0.41)%, rhTSG-6 实验组 KFs 凋亡率较空白对照组增高,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见图 2。Western blot 结果显示,以 β-actin 为内参, rhTSG-6 实验组 KFs 的 cleaved-caspase3 和 caspase8 表达量均明显高于空白对照组,见图 3。以上结果表明 rhTSG-6 可体外诱导或促进 KFs 凋亡。

2.3 rhTSG-6 对 KFs 的 NFκB 信号通路的影响

Western blot 显示,以 β-actin 为内参, rhTSG-6 (300 ng/ml) 干预 48 h 后,实验组 KFs 中 IκBα 表达增加,明显高于空白对照组 KFs,同时实验组中 p-IκBα 表达量减少低于空白对照组,见图 4。EMSA 结果表明, rhTSG-6 实验组 KFs 核蛋白中 NFκB 表达明显低于空白对照组 KFs,见图 5。以上说明 rhTSG-6 可抑制 KFs 中 NFκB 信号通路活化。

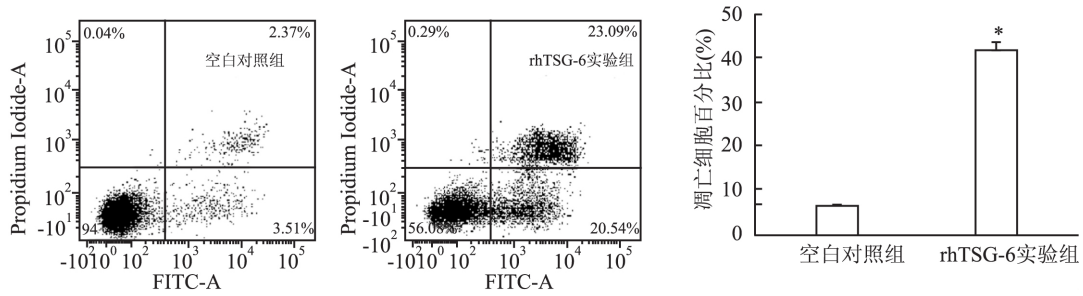


图2 流式细胞术检测 KFs 凋亡情况
与空白对照组比较: * $P < 0.05$

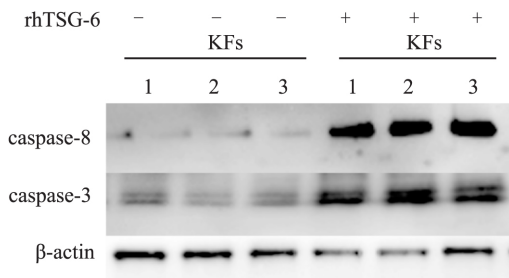


图3 Western blot 检测 caspase8、cleaved-caspase3 表达
1:KFs1 ;2: KFs2 ;3:KFs3

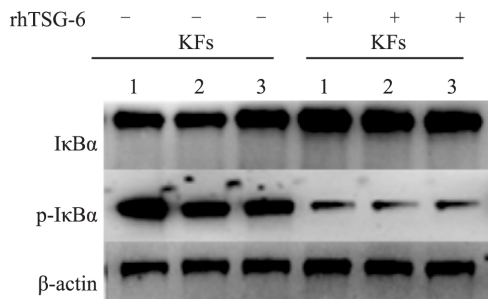


图4 Western blot 检测表达 IκBα、p-IκBα 表达
1:KFs1 ;2:KFs2 ;3:KFs3

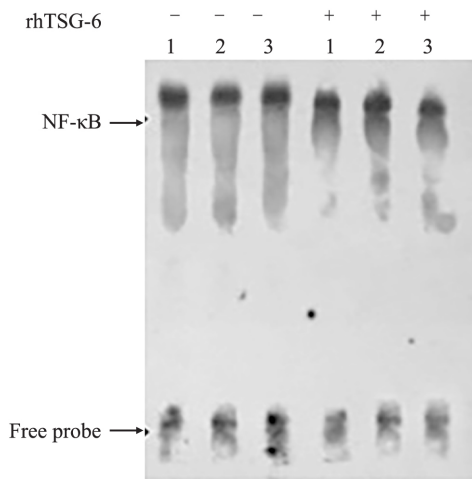


图5 EMSA 检测 rhTSG-6 对 NFκB 表达影响
1:KFs1 ;2:KFs2 ;3:KFs3

3 讨论

瘢痕疙瘩以创伤或感染后过度修复伴过度纤维化及细胞外基质过量沉积为特征,发病与成纤维细胞生长失去调控有关,表现为增殖能力增强,凋亡能力减弱,好发于有色人种,发病机制不明,治疗手段多样,但效果均不显著且复发率高,因而成为整形外科临床亟待解决的难题^[1]。

TSG-6 蛋白属透明质酸结合蛋白家族,主要通过透明质酸、间α胰蛋白酶抑制物 IαI、CD44 等氨基葡聚糖类物质结合,在急性肺损伤、心肌梗死、腹膜炎及角膜损伤等炎症性疾病或炎症性过程中由 MSCs 分泌调节,从而发挥抗炎、细胞外基质重塑^[6-8]及抗纤维化作用^[9];Wang et al^[5]通过建立兔耳病理性瘢痕模型证实局部注射 TSG-6 蛋白可通过减轻炎症反应,进而抑制兔耳瘢痕的增生;张苏文等^[10]研究在体外共培养 TSG-6 与增生性瘢痕成纤维细胞,发现 TSG-6 可促进增生性瘢痕成纤维细胞凋亡。本研究显示 TSG-6 在体外可抑制 KFs 增殖,通过计算得到接近 IC₅₀ 为 300 ng/ml。以接近 IC₅₀ TSG-6 蛋白与 KFs 体外共培养 48 h 后,流式细胞术检测细胞凋亡,结果显示 rhTSG-6 实验组 KFs 凋亡率明显升高。Western blot 结果显示 rhTSG-6 实验组 KFs cleaved-caspase 3、caspase 8 表达量增加。以上结果提示:TSG-6 体外可诱导或促进 KFs 凋亡增加,TSG-6 对 KFs 的 IC₅₀ 接近 300 ng/ml。

NF-κB 是一类具有多向转录调节作用的核蛋白因子,广泛存在,在免疫炎症反应、细胞增殖、凋亡等生理病理过程中发挥重要作用,IκBα 是 NF-κB 的内源性抑制因子,IκB 抑制蛋白家族成员之一,参与 NF-κB 信号通路激活的经典途径,被磷酸化后泛素化水解,致使 p50/p65 核易位从而发挥调节细胞的功能^[2,11]。瘢痕疙瘩的 NF-κB 信号通路的异常激活已在相关研究^[3,12]中证实,并且发现 NF-κB 信号

通路的异常激活可能是导致 KFs 异常增殖并且凋亡能力减弱的机制。Makino et al^[13] 实验证实采用 NF- κ B 抑制剂干预 KFs 可明显抑制其增殖及细胞外 I 型胶原沉积。Choi et al^[14] 实验证实 MSCs 分泌 TSG-6 蛋白明显减弱了酵母聚糖诱导的大鼠腹膜损伤模型的损伤程度,其机制可能与 TSG-6 抑制 NF- κ B 活性有关。Liu et al^[15] 研究显示 TSG-6 可阻断 LPS 诱导处理的小胶质细胞中 NF- κ B 信号通路的激活。以上这些研究提示 TSG-6 诱导或促进 KFs 凋亡的机制可能是通过调节 NF- κ B 信号通路活性,因此,为进一步探究 TSG-6 在 KFs 中对 NF- κ B 信号通路的影响,采用 Western blot 法检测 TSG-6 实验组 KFs 与空白对照组中 I κ B α 及 p-I κ B α 表达量,结果显示实验组 I κ B α 表达量明显高于空白对照组 KFs, p-I κ B α 表达减少低于空白对照组; EMSA 法检测显示 TSG-6 实验组 KFs 核蛋白的 NF- κ B 表达量明显低于空白对照组,证实 TSG-6 可有效抑制 KFs 中 NF- κ B 通道的异常活化,并且通过下调 NF- κ B 通道活性进而诱导或促进 KFs 凋亡。

综上所述, TSG-6 体外可抑制 KFs 的增殖并促进或诱导其凋亡增加,机制可能与 TSG-6 可抑制 KFs 中异常活化的 NF- κ B 通道活性有关。

参考文献

- [1] Gauglitz G G, Korting H C, Pavicic T, et al. Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies[J]. *Mol Med*, 2011, 17(1-2): 113-25.
- [2] Hayden M S, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling[J]. *Cell*, 2008, 132(3): 344-62.
- [3] Messadi D V, Doung H S, Zhang Q, et al. Activation of NF-kappaB signal pathways in keloid fibroblasts[J]. *Arch Dermatol Res*, 2004, 296(3): 125-33.
- [4] Tan K T, McGrouther D A, Day A J, et al. Characterization of hyaluronan and TSG-6 in skin scarring: differential distribution in keloid scars, normal scars and unscarred skin[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2011, 25(3): 317-27.
- [5] Wang H, Chen Z, Li X J, et al. Anti-inflammatory cytokine TSG-6 inhibits hypertrophic scar formation in a rabbit ear model[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 751: 42-9.
- [6] Milner C M, Higman V A, Day A J. TSG-6: a pluripotent inflammatory mediator[J]. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34(Pt 3): 446-50.
- [7] Foskett A M, Bazhanov N, Ti X, et al. Phase-directed therapy: TSG-6 targeted to early inflammation improves bleomycin-injured lungs[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306(2): L120-31.
- [8] 何志刚, 宋郑顺. 间充质干细胞经分泌 TSG-6 抗炎症损伤的研究进展[J]. *同济大学学报*, 2015, 36(1): 125-8.
- [9] Qi Y, Jiang D, Sindrilaru A, et al. TSG-6 released from intradermally injected mesenchymal stem cells accelerates wound healing and reduces tissue fibrosis in murine full-thickness skin wounds[J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134(2): 526-37.
- [10] 张苏文, 李小静, 陈钊, 等. TSG-6 对人病理性瘢痕成纤维细胞增殖与凋亡的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(1): 102-5.
- [11] Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and function of NF-kappaB transcription factors in the immune system[J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 693-733.
- [12] Zhu G, Cai J, Zhang J, et al. Abnormal nuclear factor (NF)-kappaB signal pathway and aspirin inhibits tumor necrosis factor alpha-induced NF-kappaB activation in keloid fibroblasts[J]. *Dermatol Surg*, 2007, 33(6): 697-708.
- [13] Makino S, Mitsutake N, Nakashima M, et al. DHMEQ, a novel NF-kappaB inhibitor, suppresses growth and type I collagen accumulation in keloid fibroblasts[J]. *J Dermatol Sci*, 2008, 51(3): 171-80.
- [14] Choi H, Lee R H, Bazhanov N, et al. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by activated MSCs attenuates zymosan-induced mouse peritonitis by decreasing TLR2/NF-kappaB signaling in resident macrophages[J]. *Blood*, 2011, 118(2): 330-8.
- [15] Liu Y, Zhang R, Yan K, et al. Mesenchymal stem cells inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses of BV2 microglial cells through TSG-6[J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11: 135.

Study on the effects of TSG-6 on the apoptosis of keloid fibroblasts and NF- κ B signaling

Wang Jiani, Li Xiaojing, Li Tao, et al

(Dept of Plastic Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the effects of tumor necrosis factor-stimulated gene 6 (TSG-6) on apoptosis of keloid fibroblasts and detect NF- κ B signaling pathway. **Methods** Fibroblasts derived from keloid were cultured with different concentration of rhTSG-6 (0, 50, 100, 200, 400 ng/ml) *in vitro*. MTT assay was used to detect the inhibitory effect of rhTSG-6 on the proliferation of KFs, and then IC₅₀ value was calculated. Cell apoptosis was deter-

结核杆菌耐热抗原对 A549 细胞分泌 SP-B 和凋亡的影响

孙志晓 沙 泉

摘要 目的 探讨结核杆菌耐热抗原 (Mtb-HAg) 刺激诱导人肺腺癌细胞系 (A549) 细胞后对其肺泡表面活性物质相关蛋白 B (SP-B) 的分泌和凋亡的影响。方法 用不同浓度的 Mtb-HAg 分别刺激诱导 A549 细胞, 相同条件分别培养 24、48 h, 同时设置空白对照组 (对照组 1 和对照组 2) 和阳性对照组 [脂多糖 (LPS) 组和姜黄素组]。运用 ELISA 法检测对照组 1、LPS 组和实验组 1 (2、3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Mtb-HAg 分别诱导 A549 细胞培养 24 h 和 48 h) 培养上清液中的 SP-B 表达量; 使用实时荧光定量 PCR 法检测对照组 1、LPS 组和实验组 1 中基因 SFTPB 的相对表达量; 采用流式细胞技术检测对照组 2、姜黄素组和实验组 2 (2、3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Mtb-HAg 分别诱导 A549 细胞培养 24 h) 中 A549 细胞的凋亡率。结果 刺激诱导相同时间, 实验组 1 的 SP-B 表达量低于对照组 1, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 相同浓度刺激诱导随时间的延长, 实验组 1 中 SP-B 表达量降低的不显著。相同培养时间, 随着 Mtb-HAg 浓度的增加实验组 1 表达 SP-B 的基因 SFTPB 的相对表达量显著低于对照组 1, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而在相同有效刺激浓度下, 其相对表达量随作用时间变化不显著。姜黄素组和实验组 2 中的 A549 细胞凋亡率显著高于对照组 2 ($P < 0.05$)。结论 Mtb-HAg 对 A549 细胞表达 SP-B 的抑制作用明显, 并能诱导 A549 细胞发生凋亡。
关键词 结核杆菌耐热抗原; A549 细胞; 肺泡表面活性物质相关蛋白 B; 凋亡

中图分类号 R 329.43; R 392

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)09-1270-04
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.09.003

结核杆菌耐热抗原 (heat-resistant antigen of *Mycobacterium tuberculosis*, Mtb-HAg) 是从经过热处理培养的结核分枝杆菌中获得的可溶性的混合抗原, 有研究^[1]证实 Mtb-HAg 可以优势刺激 $\gamma\delta\text{T}$ 细胞的活化增殖。迄今为止, 有关结核分枝杆菌感染人体过程中, 肺泡上皮细胞应答的研究还非常有限。肺泡上皮细胞参与固有免疫反应, 在结核分枝杆菌感染人体的过程中发挥重要作用^[2], 而肺泡上皮细胞家族中的人肺泡 II 型上皮细胞, 作为合成分泌肺泡表面活性物质的主要细胞^[3], 为结核分枝杆菌在人体内的复制提供了重要场所^[4]。肺泡表面活性物质中蛋白质主要为相关蛋白 (surfactant-associated protein, SP), 有关研究^[5]已建议将 SP 作为肺泡毛细血管损伤的标志物。人肺腺癌细胞系 (human lung adenocarcinoma cell line, A549) 与人肺泡 II 型上皮细胞有相同的表型和特征^[6], 都能够分泌 SP 中的肺泡表面活性物质相关蛋白 B (pulmonary surfactant-associated protein B, SP-B)。该研究探讨不同浓度的 Mtb-HAg 对 A549 细胞分泌 SP-B 的作用和是否能诱导其发生凋亡, 为结核病的早期诊断治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料 Mtb-HAg (批次: 20130517, 蛋白含量浓

2017-04-11 接收

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (编号: 81273245)

作者单位: 安徽医科大学基础医学院免疫学教研室及过敏与免疫研究中心, 合肥 230032

作者简介: 孙志晓, 男, 硕士研究生;

沙 泉, 女, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: qsha2@yahoo.com

mined by flow cytometry. The expression levels of $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$, $\text{p-I}\kappa\text{B}\alpha$, cleaved-Caspase3 and Caspase8 were determined by Western blot, respectively. $\text{NF-}\kappa\text{B}$ activity was assessed by electrophoretic mobility shift assay (EMSA). **Results** rhTSG-6 showed proliferation inhibition effect against KFs and IC_{50} value of rhTSG-6 to KFs was nearly 300 ng/ml. After treated with rhTSG-6 at the concentration of 300 ng/ml for 48 h, the rate of apoptosis of KFs was increased ($P < 0.05$). The expression level of cleaved-caspase 3 and caspase 8 were significantly increased in rhTSG-6 treated group. In the other hand, the whole $\text{p-I}\kappa\text{B}\alpha$ level was significantly reduced upon rhTSG-6 treatment with marked increase in $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ levels. $\text{NF-}\kappa\text{B}$ activity was decreased significantly compared to the control group. **Conclusion** The data suggest that TSG-6 may induce cell apoptosis in KFs via inhibiting the activation of $\text{NF-}\kappa\text{B}$ pathway

Key words TSG-6; keloid fibroblasts; $\text{NF-}\kappa\text{B}$; apoptosis