

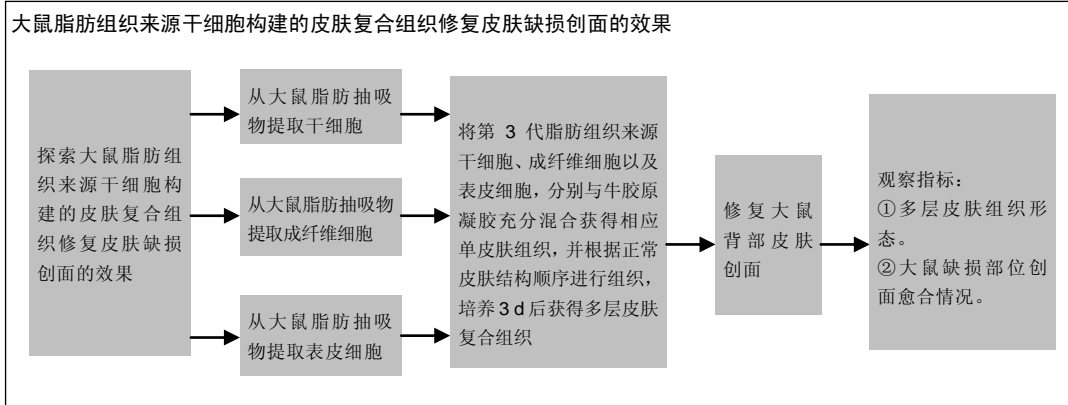
脂肪组织来源干细胞构建皮肤复合组织修复创面缺损

彭希亮, 张玉红, 倪文琼(郑州大学附属郑州中心医院, 河南省郑州市 450007)

引用本文: 彭希亮, 张玉红, 倪文琼. 脂肪组织来源干细胞构建皮肤复合组织修复创面缺损[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(1):8-12.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2016.01.002 ORCID: 0000-0003-3920-1283(彭希亮)

文章快速阅读:



彭希亮, 男, 1970年生, 河南省汝南县人, 2004年华中科技大学毕业, 副主任医师, 主要从事感染性皮肤病和皮肤血管炎的研究。

中图分类号:R394.2

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2016)01-00008-05

稿件接受: 2015-12-01

http://www.crter.org

文题释义:

脂肪组织来源干细胞: 是近年来从脂肪组织中分离得到的一种具有多向分化潜能的干细胞, 具有恢复组织细胞的修复功能, 促进细胞的再生, 恢复年轻面容的同时, 身体机能也得到充分改善, 有效改善亚健康、早衰等疾病, 由内而外真正有效抵抗衰老。脂肪组织来源干细胞能够在体外稳定增殖且衰亡率低, 同时具有取材容易、少量组织即可获取大量干细胞, 适宜大规模培养, 对机体损伤小等优点, 而且其来源广泛, 体内储备量大, 适宜自体移植。

创面缺损: 皮肤是机体的第一道免疫屏障, 皮肤缺损后皮下的组织得不到保护, 一般6-8h会出现创面污染, 但是如果创面污染严重或细菌毒性强, 当细菌浓度达到 $1 \times 10^6/\text{g}$ 组织时易形成细菌种植感染, 在4-6h即可变成感染, 继之导致感染、组织坏死, 甚至最终往往导致截肢的严重后果。临床上对四肢皮肤缺损, 特别是合并感染的创面研究较多。

摘要

背景: 皮下脂肪及干细胞对创面愈合的效果尚未确定。

目的: 探索脂肪组织来源干细胞构建皮肤复合组织及修复皮肤缺损的效果。

方法: 采用表皮细胞、成纤维细胞、脂肪组织来源干细胞作为种子细胞, 并且以牛胶原凝胶作为支架能够构建多种细胞复合物。在大鼠背部两侧建立直径为6mm的圆形皮肤创面模型, 右侧(实验侧)创面缺损部位植入直径为8mm的多层复合组织, 左侧(对照侧)进行简单的创面包扎修复。

结果与结论: ①构建的多层皮肤复合组织表皮层连续并成复层, 真皮层成纤维细胞分布均匀, 而脂肪层则含有脂滴空泡, 且细胞分布均匀, 在不同层交界处存在明显的细胞聚集。②实验侧创面愈合率、肉芽组织厚度、真皮层厚度以及毛细血管密度显著高于对照侧。③结果显示采用表皮细胞、成纤维细胞、脂肪组织来源干细胞作为种子细胞, 以牛胶原凝胶作为支架, 能够构建出具有多种细胞的多层皮肤复合组织, 修复大鼠创面缺损有促进创面的愈合提高真皮层厚度的作用。

关键词:

干细胞; 脂肪干细胞; 皮肤复合组织; 脂肪组织; 皮肤缺损; 修复; 全厚皮片; 创面愈合; 真皮

主题词:

干细胞; 皮下脂肪; 伤口愈合; 组织工程

基金资助:

河南省中医药科研专项课题(2014ZY02082)

Skin composite construction using adipose tissue-derived stem cells for wound healing

Abstract

BACKGROUND: There is no clear understanding on the effects of subcutaneous fat and stem cells on wound healing.

OBJECTIVE: To explore the therapeutic effects of skin composite prepared with adipose tissue-derived stem

Peng Xi-liang, Zhang Yu-hong, Ni Wen-qiong (Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450007, Henan Province, China)

Peng Xi-liang, Associate chief physician, Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450007, Henan Province, China

Subject heading: Stem Cell; Subcutaneous Fat; Wound Healing; Tissue Engineering
Funding: the Scientific Research Project of Traditional Chinese Medicine in Henan Province, No. 2014ZY02082

cells on skin defects.

METHODS: Epidermal cells, fibroblasts, adipose tissue-derived stem cells as seed cells and bovine collagen gel as a scaffold were used to build a complex with a variety of cells. A 6-mm diameter circular skin defect was made on the both sides of the rat back. The right side as experimental side was implanted with an 8-mm diameter multilayer skin composite, and the left side (control side) was only treated with a simple dressing.

RESULTS AND CONCLUSION: For the constructed multi-layer skin composite, the epidermal layer was continuously merged into the multi-layer, the fibroblasts evenly distributed in the corium layer, and lipid droplets existed in the fat layer in which the cells distributed uniformly. Cell aggregation was obviously observed at the junction of different layers. In the experimental side, the rate of wound healing, granulation tissue thickness, the thickness of dermis and the capillary density were significantly higher than those in the control side. Taken together, we can construct multilayer skin composites with a variety of cells as seed cells, such as epidermal cells, fibroblasts and adipose tissue-derived stem cells, and bovine collagen gel as a scaffold, which promote wound healing and increase the thickness of dermis.

Cite this article: Peng XL, Zhang YH, Ni WQ. Skin composite construction using adipose tissue-derived stem cells for wound healing. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(1):8-12.

0 引言 Introduction

烧伤、创伤等均会造成皮肤发生严重的缺损,影响患者美观及生活质量。对于皮肤缺损临床研究主要集中在:①如何采取有效的措施促进创面愈合,减少瘢痕形成。②如何解决皮肤再生问题。③研发具有自体皮功能的皮肤代替物。近年来,随着医疗技术的飞速发展,组织工程化皮肤已经成为当前皮肤组织修复中研究的方向。

从1975年Rheinvald和Green等第一次大规模培养出表皮细胞获得组织工程皮肤代替物^[1]。当前,组织工程皮肤代替物依解剖结构可分为表皮代替物、真皮代替物以及表皮/真皮复合皮代替物3种。表皮代替物缺乏真皮的机械支持和营养,创面愈合后上皮瘢痕增生严重,抗感染能力差、易破溃、弹性欠佳、柔软度不足、移植后易脱落,修复效果难以令人满意^[2]。而真皮代替物虽可减少创面收缩,对创面要求不高,但缺少表皮的防护,使感染概率升高,同时缺少表皮覆盖易造成体内水电解质代谢紊乱,真皮代替物修复后外观欠佳,尤暴露部位明显^[3]。表皮/真皮复合皮代替物在化学行为及代谢方面均类似于人正常皮肤,具有良好的机械性能和移植接受率^[4]。在创面愈合过程中,由于细胞外基质-表皮的相互作用,复合皮移植可缩短真皮有机化合成时间、抑制瘢痕形成,促进皮肤再生,是目前较成熟的双层组织工程皮肤代替物,可达到永久性修复创面的目的^[5-6]。

有人将前脂肪细胞悬液植入Matriderm支架上构建皮下含脂肪层的多层皮肤复合组织,结果显示该支架能够促进皮肤缺损创面的修复,并且能够获得良好的美容效果^[7]。也有实验采用大鼠的脂肪组织切片作为皮下脂肪层,构建了以脂肪组织来源干细胞为截止的皮肤复合组织^[8-10]。脂肪组织来源干细胞在皮肤复合组织中的构建是一个相对复杂的过程,其关键环节是如何构建组织工程化脂肪,并且选择合适的生物支架等,既往对于这些问题有所研究,但是并没有获得理想的解决方法和统一的结论,导致这些核心问题在以往的研究中并没有获得实质性进展^[11-12]。文章拟探索大鼠脂肪组织来源干细胞构建的皮肤复合组织修复皮肤缺损创面的效果。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年2至9月在郑州大学附属郑州中心医院完成。

1.3 材料 清洁级Wistar大鼠10只,鼠龄6个月,雌雄不限,体质量0.13-0.35 kg,平均(0.26±0.01) kg,由郑州大学附属郑州中心医院动物实验中心提供。

实验中对大鼠的处理符合《关于善待实验动物的指导意见》中相关规则,实验均经过医院相关动物伦理委员会批准同意。

1.4 方法

1.4.1 脂肪组织来源干细胞分离及培养 取10 mL大鼠脂肪抽吸物(Sigma公司),1 000 r/min离心3 min,取上部分黄色脂质,剔除血管及结缔组织,PBS冲洗,I型胶原酶裂解红细胞,放入培养箱中培养。当脂肪组织来源干细胞生长融合超过80%时加入0.25%胰蛋白酶(美国Gibco公司)及0.03%EDTA(美国Gibco公司)消化,传代培养,取第3代脂肪组织来源干细胞定向诱导分化^[13-14]。

1.4.2 成纤维细胞分离及培养 将上述步骤中获得的大鼠脂肪组织采用含青霉素链霉素和二性霉素B的PBS冲洗,剪去皮下组织,并利用镊子撕掉表皮,用I型胶原酶消化。当成纤维细胞生长融合达到80%时弃除培养液,并采用PBS洗涤,加入0.25%胰蛋白酶及0.03%EDTA消化,1 200 r/min离心5 min,待原代细胞融合80%时,传代培养^[15-16]。

1.4.3 表皮细胞的分离 将1.4.2中剪去的皮下组织以PBS冲洗,加入0.25%胰蛋白酶消化30 min,100目筛网(Orange公司)过滤后,1 000 r/min离心10 min,采集细胞备用。

1.4.4 多层皮肤复合组织制备 取 5×10^8 L⁻¹第3代脂肪组织来源干细胞、 2.78×10^7 L⁻¹成纤维细胞以及 1.0×10^8 L⁻¹表皮细胞,分别与牛胶原凝胶(HyClone公司)充分混合获得相应单皮肤组织,并根据正常皮肤结构顺序进行组织,培养3 d后获得多层皮肤复合组织^[17]。采用镊子取小块多层皮肤复合组织行苏木精-伊红染色,在显微镜(上海浦拓光电仪器有限公司)镜下观察。

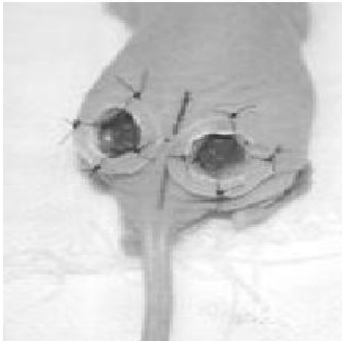


图1 大鼠皮肤创面缺损模型
Figure 1 Rat skin defect model
图注: 右侧为实验侧, 左侧为对照侧。两侧均建立直径为6 mm 的皮肤创面缺损。

表1 皮肤复合组织对大鼠创面愈合的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$, %)

Table 1 Effect of skin composite on wound healing in rats

组别	造模后时间(d)			
	3	4	5	10
实验侧	35.44±6.37	55.55±17.43	61.69±20.05	92.43±8.17
对照侧	16.02±6.83	31.13±11.13	41.7±7.14	81.28±22.68
<i>t</i>	20.43	19.88	23.49	19.56
<i>P</i>	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

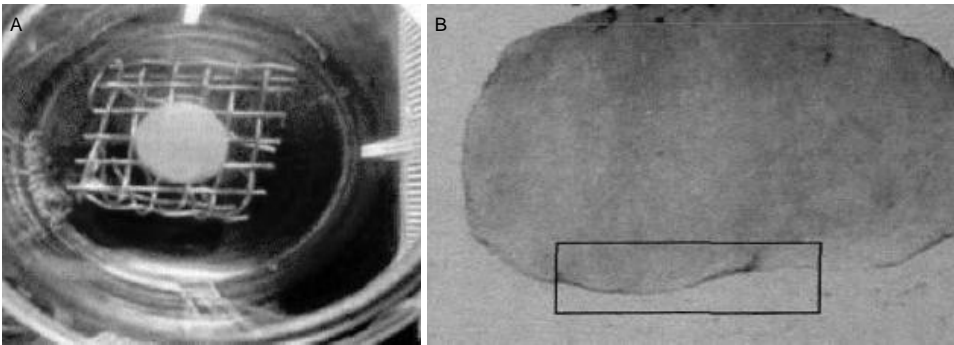


图2 多层皮肤复合组织形态
Figure 2 Morphology of multi-layer skin composite
图注: 图中 A 为多层皮肤复合组织大体形态; B 为多层皮肤复合组织的组织形态, 方框中为脂滴空泡(x40)。

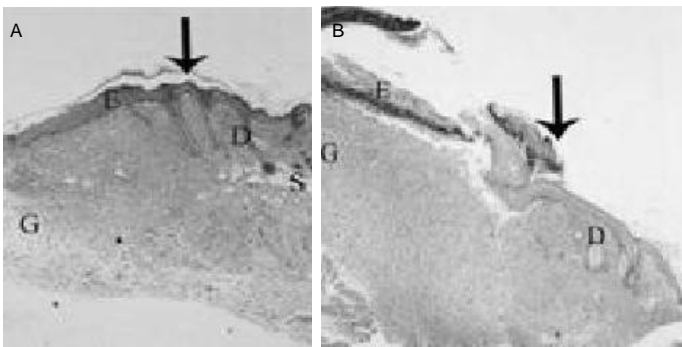


图3 皮肤复合组织对皮肤创面损伤大鼠创面组织形态的影响 (苏木精-伊红染色, x40)
Figure 3 Effect of skin composite on skin wound morphology in rats (hematoxylin-eosin staining, x 40)
图注: 图中 A 为实验侧, B 为对照侧。从图中可以看出: 实验侧 D 点处大鼠创面组织缺损比较明显, 而对照侧组织并未出现愈合现象。箭头指示创面损伤修复部位。G 表示创面组织; E 表示组织边缘; S 表示创面边缘。

表2 皮肤复合组织对皮肤创面损伤大鼠创面组织肉芽组织厚度、真皮层厚度以及毛细血管密度的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)
Table 2 Effects of skin composite on granulation tissue thickness, dermal thickness and capillary density on the wound surface

组别	肉芽组织厚度(μm)	真皮层厚度(μm)	毛细血管密度 (/100 倍视野)
实验侧	762.92±178.98	420.26±72.11	24.75±2.71
对照侧	647.24±141.61	211.58±30.6	15.5±3.25
<i>t</i>	23.49	19.58	21.58
<i>P</i>	< 0.05	< 0.05	< 0.05

1.4.5 皮肤创面模型的建立 所有大鼠背部两侧建立皮肤创面模型。大鼠以水合氯醛麻醉, 保持俯卧姿势, 画出直径为6 mm的圆形设计线, 采用剪刀沿着设计线除去全厚皮肤, 建立大鼠模型(图1)^[18]。

1.4.6 创面修复 大鼠背部右侧为实验侧, 左侧为对照侧。大鼠造模7 d后进行创面修复, 对照侧采用碘伏清洁伤口后进行简单的包扎创面修复, 采用凡士林进行包扎。实

验侧在创面部位采用碘伏清洁伤后在创面缺损部位植入直径为8 mm的多层复合组织, 碘伏清洁伤口^[19-20]。

1.4.7 创面观察 在造模后3, 4, 5, 10 d, 采用数码相机记录创面情况, 采用游标卡尺(上海焱液液压件制造有限公司)对创面愈合情况大小进行测量, 并计算创面愈合率。创面愈合率=(最初创面大小-未愈合创面大小)/最初创面大小×100%^[21]。

1.4.8 创面组织观察 造模7 d后, 采用显微镜观察大鼠两侧创面组织肉芽组织厚度、真皮层厚度以及毛细血管密度。

1.4.9 苏木精-伊红染色 造模7 d后, 取1只大鼠, 采集背部两侧创面组织, 进行石蜡切片3 mm, 并采用苏木精染色2 min, 蒸馏水冲洗1 min, 体积分数1%盐酸乙醇分化, 伊红染色2 min, 常规脱水, 中性树脂封固, 光镜下观察^[22]。

1.5 主要观察指标 多层皮肤组织形态及大鼠缺损部位创面愈合情况。

1.6 统计学分析 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用SPSS 18.0软件

对采集到的数据进行分析, 其中符合正态分布的数据进行单因素方差分析, 以LSD法进一步两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 多层皮肤复合组织形态 实验构建的多层皮肤复合组织表皮层连续并形成复层, 真皮层成纤维细胞分布均匀, 而脂肪层则含有脂滴空泡, 且细胞分布均匀, 在不同层交界处存在明显的细胞聚集(图2)。

2.2 实验动物数量分析 10只Wistar大鼠全部进行结果分析数量, 中途无脱落。

2.3 创面愈合率 大鼠实验侧创面愈合率显著高于对照侧($P < 0.05$; 表1), 说明多层皮肤复合能够促进创面的愈合。

2.4 肉芽组织厚度、真皮层厚度以及毛细血管密度 大鼠实验侧肉芽组织厚度、真皮层厚度以及毛细血管密度显著高于对照侧($P < 0.05$; 表2)。

2.5 创面组织形态 苏木精-伊红染色结果显示, 大鼠实验侧创面肉芽组织和真皮更厚, 血管较为相对丰富, 而对照侧创面肉芽组织和真皮层相对较薄(图3)。

3 讨论 Discussion

皮肤替代物是皮肤创面修复中常用的一种方法, 它属于是一种可以促进创面愈合的材料^[23-24]。皮肤替代物是一组能封闭伤口的异种材料, 依材料性质的不同, 分为暂时性或永久性皮肤替代物。临床上, 在使用标本治疗方法无法取得满意疗效时, 皮肤替代物可代替标准疗法覆盖伤口。按解剖结构, 组织工程皮肤替代物可分为表皮替代物、真皮替代物以及表皮/真皮复合皮替代物3种^[25-26]。Groeber等^[27]从移植类型、细胞来源、生物材料及使用寿命等方面分别总结归纳了已商品化的3种皮肤替代物。表皮替代物缺乏真皮的机械支持和营养, 创面愈合后上皮瘢痕增生严重, 抗感染能力差、易破溃、弹性欠佳、柔软度不足、移植后易脱落, 修复效果难以令人满意。真皮替代物虽可减少创面收缩, 对创面要求不高, 但缺少表皮的防护, 使感染机率升高, 缺少表皮防护也易造成体内水电解质代谢紊乱, 真皮替代物修复后外观欠佳, 尤暴露部位。复合皮具有良好的机械性能和移植接受率, 在创面愈合过程中, 由于间充质-表皮的相互作用, 复合皮移植可缩短真皮机化时间、抑制瘢痕形成, 促进皮肤再生。表皮/真皮复合皮替代物在化学行为及代谢方面均类似于人正常皮肤, 是目前较成熟的双层组织工程皮肤替代物, 复合皮替代物可达到永久性修复创面的目的^[28-29]。当前, 构建真皮替代物中使用较多的细胞为成纤维细胞, 此次实验采用表皮细胞、成纤维细胞、脂肪组织来源于干细胞作为种子细胞, 不仅能够获得免疫率较高的纤维细胞, 并且所获得的多组织具有高度的增殖活性, 传代后能够获得更加纯净的细胞。本实验构

建的多层皮肤复合组织表皮层连续并成复层, 真皮层成纤维细胞分布均匀, 而脂肪层则含有脂滴空泡, 且细胞分布均匀, 在不同层交界处存在明显的细胞聚集。此外, 收缩是真皮替代物最大的特征, 它主要是成纤维细胞产的内生力介导形成, 它与种植细胞的密度呈现出正相关, 与胶原浓度则呈现出反相关, 研究中获得多种细胞的复合物能够在一定程度上提高组织的机械性能^[30-31]。

将获得的脂肪来源组织干细胞修复在大鼠的背部创面后, 创面出现明显的收缩, 并且能够形成较小的瘢痕, 并且能够获得比较成熟的血管^[32]。通过移植真皮替代物能够获得较厚的表皮层和血管, 其原因可能和成纤维细胞促进表皮细胞增殖, 且该真皮替代物能够分泌血管内皮生长因子等, 促进血管内皮细胞增殖; 同时, 该真皮替代物移植后能够迅速血管化, 提高创面的抗感染能力, 从而能够缩短创面的愈合时间, 促进创面组织修复^[33-34]。实验大鼠背部实验侧创面愈合率、肉芽组织厚度、真皮层厚度以及毛细血管密度显著高于对照侧。

综上所述, 采用表皮细胞、成纤维细胞、脂肪组织来源于干细胞作为种子细胞, 并且以牛胶原凝胶作为支架能够构建出具有多种细胞的复合物, 能够促进创面的愈合, 提高真皮层的厚度, 具有重要的研究意义和价值。

作者贡献: 彭希亮进行实验设计, 实验实施为彭希亮、张玉红、倪文琼等, 实验评估为彭希亮, 资料收集为张玉红, 彭希亮成文, 倪文琼审核。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验方案经郑州大学动物实验伦理委员会批准, 批准号为 2014-0127。实验动物在水合氯醛麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Wang H, Zhang LC, Shi T, et al. Properties evaluation of collagen-hydroxyapatite-chondroitin sulfate-bone morphogenetic protein bone substitute material. Beijing Da Xue Xue Bao. 2011;43(5):730-734.
- [2] Delawi D, Kruyt MC, Huipin Y, et al. Comparing autograft, allograft, and tricalcium phosphate ceramic in a goat instrumented posterolateral fusion model. Tissue Eng Part C Methods. 2013;19(11):821-828.

- [3] Gilpin DA, Weidenbecher MS, Dennis JE. Scaffold-free tissue-engineered cartilage implants for laryngotracheal reconstruction. *Laryngoscope*. 2010;120(3):612-617.
- [4] 邢捷, 阙华发. 八珍汤对大鼠慢性难愈性创面肉芽组织增殖细胞核抗原与细胞凋亡的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2011, 25(2): 56-59.
- [5] 樊慧杰, 柴智, 闫润红, 等. 补中益气汤对脾气虚症大鼠伤口肌肉组织 Hyp, VEGF, α -SMA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 214-217.
- [6] 徐杰男, 阙华发, 唐汉钧. 补阳还五汤中不同黄芪剂量对促进大鼠难愈性创面愈合作用的观察[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2011, 17(2): 177-180.
- [7] Zhang Q, Fong CC, Yu WK, et al. Herbal formula Astragali Radix and Rehmanniae Radix exerted wound healing effect on human skin fibroblast cell line Hs27 via the activation of transformation growth factor (TGF- β) pathway and promoting extracellular matrix (ECM) deposition. *Phytomedicine*. 2012; 20(1):9-16.
- [8] 张旭辉, 董建勋, 李健, 等. 回阳生肌方药对慢性皮肤溃疡大鼠创面愈合及炎症因子的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(3): 170-173.
- [9] 赵春霖, 王丽娟, 董小鹏, 等. 生肌玉红膏对大鼠深 II 度烧伤创面愈合过程中羟脯氨酸水平和胶原比例的影响[J]. 中成药, 2013, 35(11): 2329-2332.
- [10] 周倩, 王燕, 肖正华, 等. 黄芪多糖对糖尿病足溃疡成纤维细胞胶原合成的影响[J]. 解剖学研究, 2011, 33(2): 135-137.
- [11] 王振宜, 肖秀丽, 唐汉钧. 复黄生肌愈创油膏对大鼠糖尿病创面中 I 型和 III 型胶原 mRNA 表达的动态影响[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2011, 17(1): 63-66.
- [12] 赵春霖, 王丽娟, 董小鹏, 等. 生肌玉红膏对深 II 度烧伤大鼠创面愈合过程中 I、III 型胶原表达变化的影响[J]. 中国中医药科技, 2013, 20(5): 467-468.
- [13] 李巧芬, 常柏, 李云平, 等. 生肌象皮膏对糖尿病大鼠溃疡愈合中 VCAM-1 与 ICAM-1 的影响[J]. 天津中医药, 2013, 30(12): 735-738.
- [14] 郭光丽, 吴剑箫, 刘梅珍, 等. 紫归解毒膏对大鼠背部粪便污染创面修复作用的实验研究[J]. 河北中医药学报, 2013, 28(3): 4-7.
- [15] Wu XB, Luo XQ, Gu SY, et al. The effects of Polygonum cuspidatum extract on wound healing in rats. *J Ethnopharmacol*. 2012;141(3):934-937.
- [16] Lau TW, Lam FF, Lau KM, et al. Pharmacological investigation on the wound healing effects of Radix Rehmanniae in an animal model of diabetic foot ulcer. *J Ethnopharmacol*. 2009;123(1):155-162.
- [17] 黄德彬, 胡泽华, 余昭芬, 等. 马桑提取物促进大鼠烧伤创面愈合的作用和机制[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(1): 138-144.
- [18] 刘辉辉, 肖丹, 郑晓. 龙血竭提取物促进创面愈合的实验研究[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2013, 9(4): 199-203.
- [19] 江涛, 刘兴太, 张国权, 等. 新型生物创伤敷料的制备与研究[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2011, 6(11): 925-929.
- [20] 赵亮, 李敏. 创面生物敷料及人工皮肤的研究进展[J]. 福建师范大学学报: 自然科学版, 2011, 27(1): 120-124.
- [21] 李宗瑜, 牟斌, 李宜姝, 等. 负压封闭引流技术应用不当二例[J]. 中华烧伤杂志, 2011, 27(4): 286.
- [22] 周红菊, 邓瑞文, 饶忠, 等. 藻酸盐敷料治疗糖尿病足溃疡的临床观察和护理[J]. 护士进修杂志, 2012, 27(13): 1219-1221.
- [23] 邹新华, 李春亭, 冯自波, 等. 甲壳素蜂蜡膏促进大鼠创面愈合的实验研究[J]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2012, 7(2): 52-54.
- [24] 范小莉, 肖蔓, 吴英琼. 银离子联合水凝胶敷料对术后感染伤口治疗效果的前瞻性研究[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2013, 20(2): 209-211.
- [25] Song J, Xu H, Lu Q, et al. Madecassoside suppresses migration of fibroblasts from keloids: involvement of p38 kinase and PI3K signaling pathways. *Burns*. 2012;38(5): 677-684.
- [26] Wang X, Li Q, Hu X, et al. Fabrication and characterization of poly(L-lactide-co-glycolide) knitted mesh-reinforced collagen-chitosan hybrid scaffolds for dermal tissue engineering. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2012;8:204-215.
- [27] 刘洋, 胡大海, 董茂龙, 等. 负压封闭引流治疗小鼠创面铜绿假单胞菌感染的效果及机制[J]. 中华烧伤杂志, 2011, 28(4): 255-259.
- [28] Baldwin C, Potter M, Clayton E, et al. Topical negative pressure stimulates endothelial migration and proliferation: a suggested mechanism for improved integration of Integra. *Ann Plast Surg*. 2009;62(1):92-96.
- [29] 曾丁, 孙可, 陶白江, 等. 改良式封闭负压疗法在难愈性创面中的应用体会[J]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2011, 6(6): 957-959.
- [30] Blume PA, Key JJ, Thakor P, et al. Retrospective evaluation of clinical outcomes in subjects with split-thickness skin graft: comparing V.A.C.® therapy and conventional therapy in foot and ankle reconstructive surgeries. *Int Wound J*. 2010;7(6): 480-487.
- [31] Moiemens NS, Yarrow J, Kamel D, et al. Topical negative pressure therapy: does it accelerate neovascularisation within the dermal regeneration template, Integra? A prospective histological in vivo study. *Burns*. 2010;36(6):764-768.
- [32] Borgquist O, Ingemansson R, Malmström M. Individualizing the use of negative pressure wound therapy for optimal wound healing: a focused review of the literature. *Ostomy Wound Manage*. 2011;57(4):44-54.
- [33] Ortega J, Navarro V, Cassinello N, et al. Requirement and postoperative outcomes of abdominal panniculectomy alone or in combination with other procedures in a bariatric surgery unit. *Am J Surg*. 2010;200(2):235-240.
- [34] 马杰, 郭明峰, 蔡卫林. 负压治疗促进皮肤创面愈合的研究进展[J]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2013, 8(2): 206-209.