

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00954

PDGF-BB、TNF- α 参与电离辐射致小鼠皮肤创面愈合延迟

王国栋^{1△}, 王佳琪^{1△}, 赵云富¹, 柏书博², 陈潇卿¹, 吴洋^{1*}, 汪大林^{3*}

1. 第二军医大学长征医院口腔科, 上海 200003

2. 解放军 85 医院口腔科, 上海 200052

3. 第二军医大学长海医院口腔科, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨电离辐射(ionizing radiation, IR)致小鼠皮肤创面愈合延迟可能的细胞因子机制。**方法** 68 只雌性昆明种小鼠随机分为两组($n=34$);实验组接受 6 Gy ^{60}Co γ 射线全身照射后即刻制作背部皮肤缺损;对照组小鼠不接受照射,同期制作背部皮肤缺损。伤后 2、4、6、8、10、12、14 d 连续描记小鼠($n=10$)伤口面积,观察伤口愈合率变化。伤后 1、3、5、7 d 分别处死小鼠(每个时间点各 6 只小鼠),取创面周围皮肤及下方的薄层肌肉组织,H-E 染色评价伤口愈合情况;免疫组化和 real-time PCR 检测小鼠皮肤缺损组织血小板衍生生长因子 BB (PDGF-BB)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达水平。**结果** 致伤后 14 d 内各时间点,实验组伤口愈合率均低于对照组($P<0.01$);14 d 时实验组伤口愈合率为 61.61%,对照组为 90.13%,差异有统计学意义($P<0.01$)。H-E 染色显示:与对照组相比,实验组伤口内炎性细胞浸润明显,胶原纤维排列无序,成纤维细胞增生减少。免疫组化和 real-time PCR 结果显示:伤后 3~7 d 实验组 PDGF-BB 蛋白表达低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);伤后 3 d,实验组 PDGF-BB 基因表达低于对照组($P<0.01$)。致伤后两组小鼠 TNF- α 蛋白及基因表达均上调,5 d 达高峰,其后开始下降;伤后 7 d 时实验组 TNF- α 蛋白及基因表达均高于对照组($P<0.01$)。**结论** PDGF-BB、TNF- α 参与了 IR 致小鼠背部皮肤缺损愈合延迟。

[关键词] 电离辐射;血小板源性生长因子 BB;肿瘤坏死因子 α ;伤口愈合**[中图分类号]** R 818.895**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2013)09-0954-06

PDGF-BB and TNF- α are involved in delayed skin wound healing in mice exposed to ionizing radiation

WANG Guo-dong^{1△}, WANG Jia-qi^{1△}, ZHAO Yun-fu¹, BAI Shu-bo², CHEN Xiao-qing¹, WU Yang^{1*}, WANG Da-lin^{3*}

1. Department of Stomatology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Stomatology, No. 85 Hospital of PLA, Shanghai 200052, China

3. Department of Stomatology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To explore the possible cytokine mechanism of delayed skin wound healing in mice exposed to ionizing radiation(IR), so as to provide evidence for further research. **Methods** Totally 68 female Kunming mice were randomly divided into two groups. Back skin defect was made in mice of the experimental group ($n=34$) immediately after exposure to 6 Gy ^{60}Co γ whole-body radiation, and mice in the control group ($n=34$) had skin defect but with no radiation exposure. Wound areas were continuously measured and wound healing rates were monitored on day 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 14 after damage ($n=10$). Mice were sacrificed on day 1, 3, 5, and 7 (each time point 6 mice), the skin and thin layer of muscle tissues around the wound were obtained, and H-E staining was used for evaluating wound healing. Platelet derived growth factor-BB (PDGF-BB) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) expression levels in the dermal defects were examined by immunohistochemical methods and real-time PCR. **Results** The wound healing rate in the experimental group was significantly

[收稿日期] 2013-06-17**[接受日期]** 2013-07-15

[基金项目] 全军医学科技“十二五”科研项目(CWS11J300),上海市科委产学研医合作项目(12DZ1940503),上海市科委医学引导类项目(114119b2300),第二军医大学青年启动基金(2010QN21). Supported by PLA Research Project of “the 12th Five-Year Plan” for Medical Science Development (CWS11J300), Key Project on Integration of Industry, Education, Research and Medicine of Science and Technology Committee of Shanghai (12DZ1940503), Guiding Medical Project of Science and Technology Committee of Shanghai (114119b2300), and the Starting Foundation for Young Scholars of Second Military Medical University (2010QN21).

[作者简介] 王国栋,博士生. E-mail: louis_w@126.com; 王佳琪,硕士,住院医师. E-mail: yadandan@hotmail.com

△共同第一作者(Co-first authors).

* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81885944, E-mail: oralwuyang@gmail.com; Tel: 021-81873221, E-mail: wang_dento@163.com

lower than that in the control group within 14 days after damage ($P < 0.01$). On day 14 the wound healing rate in the experimental group was significantly lower than that in the control group (61.61% and 90.13%, $P < 0.01$). H-E staining showed more severe inflammatory cell infiltration, disarranged collagen fibers and less proliferation of fibroblasts in the wound of experimental group compared with that of the control group. Immunohistochemical and real-time PCR results demonstrated that PDGF-BB expression in experimental group was significantly less than that in the control group from day 3 to day 7 ($P < 0.05$). PDGF-BB gene expression in experimental group was less than that in the control group from day 3 ($P < 0.01$). The expression of TNF- α protein and gene was up-regulated in both groups and reached the peak on day 5, then began to decrease. On day 7, TNF- α protein and gene expression in the experimental group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.01$).

Conclusion PDGF-BB and TNF- α participate in delayed wound healing in ionizing radiation mice with dermal defects.

[Key words] ionizing radiation; platelet-derived growth factor-BB; tumor necrosis factor-alpha; wound healing

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(9):954-959]

核爆炸、核事故中电离辐射 (ionizing radiation, IR) 损伤巨大,如日本广岛、长崎核爆炸就造成超过 10 万人死于辐射引起的各种损伤^[1]。其形成的创面常延迟愈合、不愈或反复发作,最终转变为辐射性皮肤溃疡^[2]。IR 后局部创伤伤口愈合是多种细胞因子参与并高度协调、相互调控的复杂过程,其中血小板衍生生长因子 BB (platelet derived growth factor BB, PDGF-BB) 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α) 作为创伤愈合中重要的信使分子及组织者,在伤口愈合的不同时期有明显表达减弱的现象,但具体调控机制尚不清楚。我们的前期研究^[3-4]证实,IR 损伤后局部创面愈合延迟主要是由于伤后炎症反应不足,导致创面修复启动障碍,推测伤口愈合延迟可能与伤口愈合过程中细胞因子的调控密切相关。为了进一步明确 IR 损伤后细胞因子调控伤口愈合的分子机制,本研究通过检测 IR 损伤后皮肤创面组织中 PDGF-BB、TNF- α 的基因和蛋白表达水平探讨其与 IR 损伤小鼠皮肤缺损愈合延迟的关系。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组 第二军医大学实验动物中心提供的 SPF 级雌性昆明种小鼠 68 只,体质量 (20 \pm 2) g [实验动物生产许可证号: SCXK (沪) 2007-0003 号;使用许可证号: SYXK (沪) 2007-0003 号]。所用小鼠经上海市实验动物管理委员会批准。将实验动物随机分为对照组 (单伤组, $n=34$) 和实验组 (全身辐射+伤口组, $n=34$)。

1.2 IR 剂量的确定及动物模型构建 前期研究^[3-4]结果表明,6 Gy ⁶⁰Co γ 射线全身辐射既可引起伤口愈合明显延迟,又不至形成难愈合的放射性溃疡,是研究全身辐射后伤口愈合延迟的最合适剂量。

因此,本实验采用 6 Gy ⁶⁰Co γ 射线进行全身辐射,并参照本课题组前期方法^[4]进行动物模型的构建。

1.3 取材 实验组动物全身辐射后即刻致伤,对照组动物同期致伤,伤后隔日换药,并于动物致伤后 1、3、5、7 d (每个时间点各 6 只小鼠) 以过量麻醉药物 (75 mg/kg 戊巴比妥钠 1 mL) 致死取材,取材范围包括伤口周围正常皮肤和创面下方的薄层肌肉组织,并分为两部分:一部分置于 4% 多聚甲醛溶液内固定,石蜡包埋、切片,进行 H-E 染色和免疫组化检测;另一部分置入液氮中保存,进行 real-time PCR 检测。

1.4 创面愈合评价 伤后 2、4、6、8、10、12、14 d (对照组、实验组各 10 只) 用透明薄膜描记伤口面积,扫描仪扫描后用 Image Pro plus v1.5 图像处理系统进行分析,并按以下公式计算伤口愈合率。伤口愈合率 (%) = (伤口初始面积 - 观察时间点面积) / 伤口初始面积 \times 100%。

1.5 组织学观察 石蜡标本切片后进行 H-E 染色,观察创面的组织学变化。

1.6 免疫组织化学方法检测创面 PDGF-BB 和 TNF- α 蛋白表达 所用 PDGF-BB 及 TNF- α 兔抗鼠多克隆抗体均购自美国 Abcam 公司,1:200 稀释,以 EnVision kit 检测,DAB 显色,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。结果判定:PDGF-BB 主要表达于细胞核和(或)细胞质,胞核和(或)胞质未见着色为阴性(-),部分胞核和(或)胞质呈浅黄色为弱阳性(+),整个胞核和(或)胞质呈明显深褐黄色为强阳性(++),介于弱阳性和强阳性之间为阳性(+++). TNF- α 主要表达于细胞核内,划分等级同 PDGF-BB。于每组各时间点的切片中选取 5 个视野,采用 Leica QTM970 型自动图像分析仪,400 倍镜下测量阳性部位的积分光密度 (IOD) 值,取其平均值。

1.7 Real-time PCR 检测 PDGF-BB 和 TNF- α mRNA 表达 TRIzol 试剂一步法提取组织中总 RNA,按照 real-time PCR 试剂盒说明书扩增获得目的基因。PDGF-BB、TNF- α 基因扩增引物及内参照 GAPDH 扩增引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成,序列如下:PDGF-BB 上游引物 5'-CTC CAT CCG CTC CTT TGA-3',下游引物 5'-GGG CTT CTT TCG CAC AAT-3',PCR 产物大小为 223 bp;TNF- α 上游引物 5'-CAC CAC GCT CTT CTG TCT-3',下游引物 5'-ACT TGG TGG TTT GCT ACG-3',PCR 产物大小为 212 bp;GAPDH 上游引物 5'-GAA GGG TGG AGC CAA AAG-3',下游引物 5'-ACC AGT GGA TGC AGG GAT-3',PCR 产物大小为 223 bp。所有反应均设 3 个复孔。结果判定:对 PCR 结果进行相对定量分析,通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算实验组与对照组之间目标 mRNA 表

达水平的差异。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,经正态性检验和方差齐性检验后,方差齐时采用单因素方差分析,方差不齐时采用秩和检验,组间比较采用独立样本 t 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 IR 损伤小鼠背部皮肤缺损伤口愈合率测定结果 从表 1 可见,实验组与对照组在致伤后 1~14 d,伤口愈合率均呈升高趋势,实验组伤口愈合率始终小于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。对照组的创面愈合在 1 周后开始加快,14 d 时伤口愈合率达 90.13%;而实验组创面愈合速度整个过程中较对照组缓慢,至 14 d 时仅为 61.61%,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 IR 损伤及对照小鼠背部皮肤缺损伤口愈合率的比较

Tab 1 Comparison of wound healing rates in control and experimental mice with back skin defects

%; $n=10, \bar{x} \pm s$

Group	Time after injury						
	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	12 d	14 d
Control	19.64 \pm 7.24	28.07 \pm 8.19	43.68 \pm 10.25	57.14 \pm 10.91	72.55 \pm 15.10	76.55 \pm 1.57	90.13 \pm 5.39
Experimental	9.57 \pm 6.55**	21.49 \pm 8.90**	32.77 \pm 10.98**	45.60 \pm 9.44**	54.61 \pm 7.08**	57.72 \pm 4.94**	61.61 \pm 12.06**

** $P < 0.01$ vs control group at the same time point

2.2 组织病理学结果 伤后 5 d,对照组伤口出现薄层肉芽组织,成纤维细胞增殖活跃,新生毛细血管含量丰富(图 1A);伤后 7 d,对照组伤口炎症反应减弱,肉芽组织增多、增厚,成纤维细胞含量丰富,排列趋于有序,并出现少量纤维细胞,伤口周围新生表皮细胞开始向创面中心生长。实验组伤后 7 d 创面仍覆盖少量坏死组织,底部组织中可见炎性细胞浸润,散在肉芽组织形成,创面底部有出血(图 1B)。

2.3 免疫组织化学结果 PDGF-BB 免疫组化染色结果显示:伤后 3 d,对照组(图 2A)创面炎性渗出物中巨噬细胞胞质呈阳性表达(++),创伤边缘表皮基底细胞、真皮浅层少量血管内皮细胞、成纤维细胞,胞质呈弱阳性表达(+);实验组(图 2B)创面可见少量巨噬细胞和成纤维细胞,胞质呈弱阳性表达(+),创面边缘表皮基底细胞和血管内皮细胞仍未见表达。IOD 定量统计结果显示(图 3A):与对照组相

比,实验组 PDGF-BB 的 IOD 值减少,致伤后 3~7 d 两组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

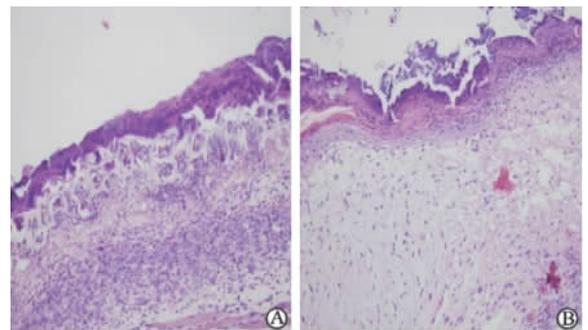


图 1 两组小鼠皮肤创面组织 H-E 染色

Fig1 H-E staining of mice back skin defects

A: Control group on the 5th day, a large amount of fibroblasts and new capillaries were observed in the wound; B: Experimental group on the 7th day, a little necrotic tissues, inflammatory infiltrations and granulation tissues were seen in the wound. Original magnification: $\times 200$

TNF- α 免疫组化染色结果显示: 伤后 5 d, 对照组(图 2C)可见少量巨噬细胞呈强阳性表达(++) , 创面边缘表皮基底细胞及真皮浅层少量成纤维细胞和血管内皮细胞胞质呈弱阳性(+) 表达; 实验组(图 2D)大量巨噬细胞和成纤维细胞, 胞质呈强阳性表达(++),

创面边缘表皮基底细胞、血管内皮细胞呈强阳性表达(++). IOD 定量统计结果显示(图 3B): 实验组伤后 1 d, 与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$); 致伤后 5 d, 实验组 TNF- α 的 IOD 值迅速升高, 7 d 时其 IOD 值略有回落, 但仍高于对照组($P < 0.05$).

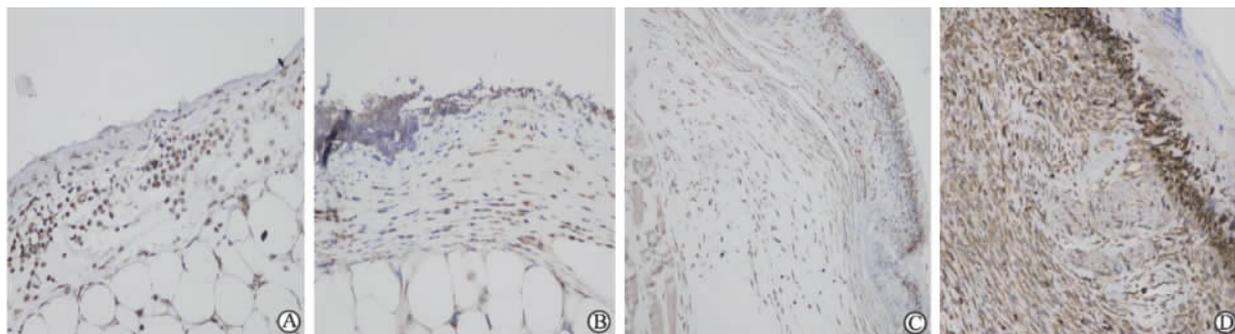


图 2 两组小鼠背部皮肤缺损后不同时间点免疫组化染色结果

Fig 2 Immunohistochemical staining results of mouse skin defects at different time points in control and experimental groups

A: PDGF-BB (3 days after injury) in control group; B: PDGF-BB (3 days after injury) in experimental group; C: TNF- α (5 days after injury) in control group; D: TNF- α (5 days after injury) in experimental group. Original magnification: $\times 200$

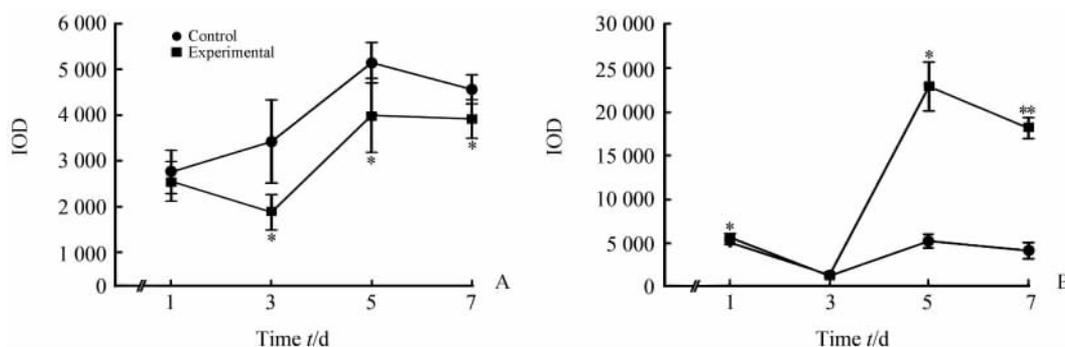


图 3 两组小鼠背部皮肤缺损组织 PDGF-BB、TNF- α 蛋白表达变化

Fig 3 Comparison of PDGF-BB and TNF- α protein in wound tissues on mouse back in both groups

A: PDGF-BB; B: TNF- α . * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; $n = 6$, $\bar{x} \pm s$

2.4 Real-time PCR 结果 结果显示实验组各时间点 PDGF-BB mRNA 的表达均低于对照组, 3 d 时的表达反而较 1 d 时有所降低, 与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$), 5 d 时表达达峰值, 7 d 时

基本回落至初始水平(图 4A)。实验组与对照组 TNF- α mRNA 表达均上调, 5 d 时达高峰, 而后均开始下降, 7 d 时实验组表达高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$, 图 4B)。

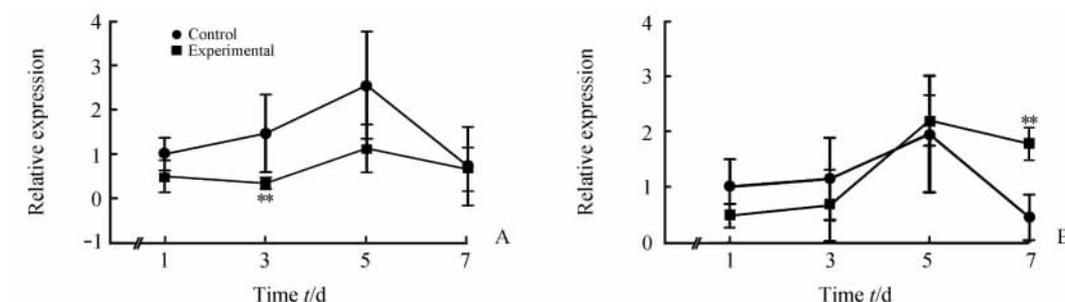


图 4 实验组与对照组小鼠伤口组织 PDGF-BB、TNF- α mRNA 表达变化

Fig 4 Expression of PDGF-BB and TNF- α mRNA in wound tissues in both groups

A: PDGF-BB; B: TNF- α . ** $P < 0.01$ vs control group; $n = 6$, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

相比于正常伤口愈合过程,IR损伤后的伤口愈合有着许多特有的、不利的因素,如早期创面炎症反应不足,导致局部巨噬细胞、中性粒细胞等炎症细胞浸润减少、渗出降低,不能有效清除创面的异物;创面中组织坏死增多、血管破坏严重、内皮细胞变性坏死;肉芽组织形成和成熟减慢,成纤维细胞数量和功能受损,伤口内胶原合成、分泌受到抑制;再上皮化过程延迟,新生血管生成障碍,最终导致IR损伤伤口愈合时间延长^[5-6]。

IR损伤伤口愈合的延迟主要体现在愈合速度和愈合质量的下降,其根本原因可能在于创面修复能力被削弱,从而导致伤口内修复细胞数量减少和功能障碍,分泌的生长因子和胶原合成降低^[7]。我们的前期研究已经证实IR损伤小鼠背部皮肤缺损伤口愈合质量的下降与伤口愈合延迟明显相关^[4]。因此,本研究从伤口愈合率的角度进一步探讨伤口愈合速度延缓与伤口愈合延迟的关系。结果发现:(1)在致伤后1~14 d,实验组伤口愈合率始终小于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);对照组的伤口愈合在伤后7 d时开始加快,14 d时伤口愈合率达90.13%,而实验组至14 d时仅61.61%的创面愈合。(2)在本动物模型上,实验组伤口愈合延迟约5 d。(3)H-E染色结果也显示实验组伤口的炎性程度、成纤维细胞的增殖情况以及组织结构的排列较对照组均呈现递减的趋势。以上实验结果表明:IR损伤使伤口愈合的整个周期延长,并使伤口愈合的启动迟滞于正常伤口3~5 d,这与Hadad等^[8]的研究结果一致。结果说明伤口修复的启动障碍最终决定了肉芽的形成及伤口的愈合速度。

PDGF-BB作为一类重要的生长因子,主要由血小板、巨噬细胞、角质形成细胞分泌,在创伤愈合的各个阶段都发挥着重要作用;创伤发生时,脱颗粒的血小板释放的PDGF-BB存在伤口的渗出液中,诱导中性粒细胞、巨噬细胞、成纤维细胞以及平滑肌细胞增殖并迁移至伤口处,同时还促进巨噬细胞介导的吞噬作用,并参与肉芽组织的形成^[9]。本研究发现在伤口愈合的前7 d中,实验组PDGF-BB mRNA和蛋白的表达水平均低于对照组,这可能是由于IR损伤创面中分泌PDGF-BB的细胞,如角质形

成细胞、巨噬细胞的数量减少,从而导致PDGF-BB表达水平降低。由于PDGF-BB可以趋化不同的炎症细胞至创面参与炎症反应,并能通过诱导外周细胞、血管平滑肌细胞进入毛细血管,增加血管结构的完整性,还可以促进成纤维细胞的增殖及细胞外基质(ECM)的生成^[10]。因此,IR损伤小鼠背部皮肤缺损伤口中PDGF-BB的低表达将严重影响伤口愈合的各个阶段,最终造成伤口愈合延迟。

TNF- α 作为机体重要的免疫、炎症调控因子,在创伤愈合的初始阶段发挥着重要的作用^[11-12]。研究结果显示:在伤后1 d实验组TNF- α 蛋白表达水平低于对照组($P < 0.05$),而在伤后1~3 d内,实验组伤口中TNF- α mRNA表达水平尽管低于对照组,但差异无统计学意义($P = 0.06$);随后TNF- α 表达升高,5 d时达到峰值且实验组高于对照组;伤后第7 d两组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果表明:伤后伤口组织中TNF- α 的蛋白表达水平在初期先降低,后升高再降低;而mRNA表达则呈现为先升高后降低的趋势。这提示在伤口愈合早期(1~3 d),IR损伤小鼠背部皮肤缺损伤口表达的TNF- α 降低,导致伤口的炎症反应减弱,表现为炎症细胞浸润缓慢、炎症细胞数量减少,如中性粒细胞、巨噬细胞等,造成对损伤部位的坏死组织及细菌清除不彻底,伤口愈合启动延迟。此外,本研究还发现,IR损伤小鼠背部皮肤缺损伤口组织中TNF- α 表达出现延迟过表达效应,即其在愈合的第5天表达显著上调,这可能是由于早期炎症反应时的坏死组织、异物或细菌内毒素不能得到有效清除,刺激组织细胞过表达TNF- α 。实验组第7天TNF- α 表达水平仍较高,而此时对照组TNF- α 表达已下调。TNF- α 的持续过表达导致实验组迟发的过度炎症反应,造成实验组未像对照组一样从炎症反应阶段顺利进入伤口组织增生修复阶段,最终导致伤口愈合的延迟。

综上所述,本研究认为IR损伤可以造成皮肤缺损伤口局部多种细胞因子表达紊乱,包括生长因子表达的延迟及降低,直接抑制肉芽组织增生、血管生成;炎症细胞因子表达紊乱造成炎症反应启动延迟,愈合周期延长。细胞因子表达紊乱既是IR损伤的结果,可能也是IR损伤小鼠背部皮肤缺损伤口愈合延迟的原因之一。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Manthous C A, Jackson W L Jr. The 9 • 11 Commission's invitation to imagine: a pathophysiology-based approach to critical care of nuclear explosion victims [J]. *Crit Care Med*, 2007, 35: 716-723.
- [2] Olascoaga A, Vilar-Compte D, Poitevin-Chacón A, Contreras-Ruiz J. Wound healing in radiated skin: pathophysiology and trend opinions [J]. *Int Wound J*, 2008, 5: 246-257.
- [3] 王国栋, 王 良, 柏书博, 刘新元, 吴 洋. γ 射线全身照射降低小鼠切割伤愈合伤口撕裂强度 [J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32: 9-11.
Wang G D, Wang L, Bai S B, Liu X Y, Wu Y. Total body γ -irradiation decreases wound breaking strength during wound healing in rat [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2011, 32: 9-11.
- [4] 柏书博, 王国栋, 王 良, 徐正耘, 吴 洋. 辐射损伤小鼠皮肤缺损模型评价 [J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32: 840-844.
Bai S B, Wang G D, Wang L, Xu Z Y, Wu Y. Evaluation of wound healing of skin defect in mice with radiation injury [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2011, 32: 840-844.
- [5] Brown R L, Breeden M P, Greenhalgh D G. PDGF and TGF- α act synergistically to improve wound healing in the genetically diabetic mouse [J]. *J Surg Res*, 1994, 56: 562-570.
- [6] Tan E M, Rouda S, Greenbaum S S, Moore J H Jr, Fox J W 4th, Sollberg S. Acidic and basic fibroblast growth factors down-regulate collagen gene expression in keloid fibroblasts [J]. *Am J Pathol*, 1993, 142: 463-470.
- [7] Guo W Y, Wang G J, Wang P, Chen Q, Tan Y, Cai L. Acceleration of diabetic wound healing by low-dose radiation is associated with peripheral mobilization of bone marrow stem cells [J]. *Radiat Res*, 2010, 174: 467-479.
- [8] Hadad I, Johnstone B H, Brabham J G, Blanton M W, Rogers P I, Fellers C, et al. Development of a porcine delayed wound-healing model and its use in testing a novel cell-based therapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2010, 78: 888-896.
- [9] Uutela M, Wirzenius M, Paavonen K, Rajantie I, He Y, Karpanen T, et al. PDGF-D induces macrophage recruitment, increased interstitial pressure, and blood vessel maturation during angiogenesis [J]. *Blood*, 2004, 104: 3198-3204.
- [10] Hellberg C, Ostman A, Heldin C H. PDGF and vessel maturation [J]. *Recent Results Cancer Res*, 2010, 180: 103-114.
- [11] Jagetia G C, Rajanikant G K, Baliga M S, Rao K V, Kumar P. Augmentation of wound healing by ascorbic acid treatment in mice exposed to gamma-radiation [J]. *Int J Radiat Biol*, 2004, 80: 347-354.
- [12] Lee R H, Efron D T, Tantry U, Stuelten C, Moldawer L L, Abouhamze A, et al. Inhibition of tumor necrosis factor- α attenuates wound breaking strength in rats [J]. *Wound Repair Regen*, 2000, 8: 547-553.

[本文编辑] 周燕娟, 贾泽军