

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.06.001 [http://www.crter.org]
沈国良, 苏本玄, 林伟, 祁强, 赵小瑜, 陆兴安. β 射线照射皮肤损伤创面注射骨髓间充质干细胞后的创面愈合[J].
中国组织工程研究, 2013, 17(6):951-956.

β 射线照射皮肤损伤创面注射骨髓间充质干细胞后的创面愈合*☆

沈国良, 苏本玄, 林伟, 祁强, 赵小瑜, 陆兴安

苏州大学附属第一医院烧伤整形外科, 江苏省苏州市 215006

文章亮点:

通过 CD31、CK4、成纤维细胞生长因子免疫组织化学的对比分析, 骨髓间充质干细胞悬液皮下及真皮层注射治疗组大鼠创面中毛细血管内皮细胞、表皮细胞、成纤维细胞明显多于注射安慰剂的对照组($P < 0.05$)。作者推测具有分化潜能的骨髓间充质干细胞可在皮肤微环境诱导下直接分化为表皮细胞和血管内皮细胞, 并分泌成纤维细胞生长因子促进创面愈合。

关键词:

干细胞; 骨髓干细胞; 骨髓间充质干细胞; β 射线; 皮肤损伤; 创面; 创面愈合; 大鼠; 成纤维细胞; 组织再生; 组织工程; 其他基金; 干细胞图片文章

摘要

背景: β 射线皮肤损伤创面难愈, 尚无有效的治疗方法。

目的: 观察骨髓间充质干细胞对 β 射线皮肤损伤创面愈合的影响。

方法: ①选用 SD 雌性大鼠 3 只分离培养骨髓间充质干细胞, 传代细胞生长至第 5 代, DAPI 标记细胞, 制备骨髓间充质干细胞悬液。②选 3 月龄清洁级 SD 雌性大鼠 47 只, 随机分为 3 组: 治疗组应用直线加速器产生的 β 射线(45 Gy)单次照射大鼠臀部皮肤 40 mm×30 mm, 建立急性深 II 度 β 射线皮肤损伤动物模型, 创面出现后将骨髓间充质干细胞悬液注入大鼠创面皮下及真皮层; 对照组 β 射线照射同治疗组, 创面出现后注射安慰剂, 用法同治疗组。正常组为正常大鼠。光镜下观察治疗后 1, 2, 3, 4 周各组大鼠创面组织病理学变化, 免疫组织化学方法检测 CD31、CK4、成纤维细胞生长因子含量的动态变化。

结果与结论: 治疗组创面愈合时间比对照组明显加快($P < 0.05$)。治疗组注射骨髓间充质干细胞细胞悬液后 1-4 周 CD31、CK4、成纤维细胞生长因子阳性细胞值明显高于对照组($P < 0.05$)。证实骨髓间充质干细胞能促进 β 射线皮肤损伤创面的愈合, 缩短创面愈合的时间。

Bone marrow mesenchymal stem cell injection for treatment of β -ray-irradiated skin injury in rats

Shen Guo-liang, Su Ben-xuan, Lin Wei, Qi Qiang, Zhao Xiao-yu, Lu Xing-an

Department of Burn and Plastic Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Abstract

BACKGROUND: The β -ray-irradiated skin injury is difficult to heal and there is no effective treatment method for β -ray-irradiated skin injury.

OBJECTIVE: To investigate the effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in treatment of β -ray-irradiated skin injury in rats.

METHODS: Three Sprague-Dawley female rats were killed to isolate and culture the bone marrow mesenchymal stem cells, then the cells were labeled with 4',6-diamidino-2-phenylindole to prepare the

沈国良*☆, 男, 1964 年生, 江苏省吴江市人, 汉族, 1988 年原苏州医学院毕业, 博士, 主任医师, 从事创面修复与组织再生的研究。

sdfyysgl@163.com

中图分类号:R394.2

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2013)06-00951-06

收稿日期: 2012-06-13

修回日期: 2012-07-11

(20120213013/W · C)

Shen Guo-liang☆, Doctor,
 Chief physician, Department of
 Burn and Plastic Surgery, the
 First Affiliated Hospital of
 Soochow University, Suzhou
 215006, Jiangsu Province,
 China
 sdfyysgl@163.com

Supported by: Suzhou Science
 Development Planning Project,
 No. SYS201019*

Received: 2012-06-13
 Accepted: 2012-07-11

bone marrow mesenchymal stem cells suspension after passaged to the fifth generation. Forty-seven Sprague-Dawley female rats of 3 months old and clean grade were randomly divided into three groups: treatment group, control group, and normal group. In the treatment group, single dosage (45 Gy) of β -ray irradiation produced by linear accelerator was applied on buttock skin (40 mm \times 30 mm) in rats, and the acute deep II β -ray-irradiated skin injury model was established. Bone marrow mesenchymal stem cell suspension was injected in the subcutaneous and dermal layers after the wound appeared. The rats in the control group were irradiated as those in the treatment group, and placebo was injected when the wound appeared, with the same method as the treatment group. Rats in the normal group were not irradiated. The pathological changes of wound tissue of rats in each group were observed at 1, 2, 3 and 4 weeks after treatment under light microscope, and the concentration of CD31, CK4 and fibroblast growth factor was detected by immunohistochemistry.

RESULTS AND CONCLUSION: The wound healing time in the treatment group was shorter than that in the control group ($P < 0.05$). Immunohistochemistry showed the number of CD31, CK4 and fibroblast growth factor positive cells in the treatment group at 1-4 weeks after bone mesenchymal stem cell suspension injection was significantly greater than that in the control group ($P < 0.05$). It indicates that bone mesenchymal stem cell injection can promote the wound healing of β -ray-irradiated skin injury and reduce wound healing time.

Key Words: stem cells; bone marrow-derived stem cells; bone marrow mesenchymal stem cells; β ray; skin injury; wound; wound healing; rats; fibroblasts; tissue regeneration; tissue engineering; other grants-supported paper; stem cell photographs-containing paper

Shen GL, Su BX, Lin W, Qi Q, Zhao XY, Lu XA. Bone marrow mesenchymal stem cell injection for treatment of β -ray-irradiated skin injury in rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(6):951-956.

0 引言

近年来随着核技术的发展, β 射线皮肤损伤逐渐成为临床的一种常见病^[1-3]。目前对 β 射线皮肤损伤还没有有效的治疗方法, 随着分子生物学和组织工程学的飞速发展, 通过干细胞移植治疗难愈性创面, 成为目前研究的热点, 骨髓间充质干细胞在创面修复中的作用已受到广泛关注。实验通过直线加速器建立大鼠深II度 β 射线皮肤损伤模型, 将同种异体骨髓间充质干细胞的细胞悬液注入大鼠深II度 β 射线皮肤损伤创面的真皮层及皮下, 观察骨髓间充质干细胞对 β 射线皮肤损伤创面愈合的影响, 通过光镜观察创面各时期的病理变化, 应用免疫组化检测创面组织中的CD31、CK4、成纤维细胞生长因子的表达, 探讨骨髓间充质干细胞促进 β 射线皮肤损伤创面愈合的机制, 为进一步的临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间与地点: 于2010年6月至2011年5月在苏州大学附属第一医院中心实验室与烧伤整形外科实验室完成。

材料:

主要试剂及仪器:

Main reagents and instruments:

试剂及仪器	来源
抗大鼠 CD31、CK4、FGF 单克隆抗体	武汉博士德生物工程公司
西门子 PRIMUS 直线加速器	德国西门子
400 倍光学显微镜 BH-2 型	日本 OLYMPUS 公司
RM2135 切片机	德国 leica
二氧化碳培养箱	美国 Shellab

实验动物: 3 月龄清洁级 SD 雌性健康大鼠 47 只, 体质量 250-300 g; 6-8 周龄清洁级 SD 雌性健康大鼠 3 只, 体质量 180-220 g, 由苏州大学实验动物中心提供, 实验动物使用许可证号: SYXK(苏)2002-0037。

方法:

分组: 3 月龄清洁级健康雌性 SD 大鼠 47 只, 随机分为 3 组: ①治疗组($n=21$), 应用直线加速器产生的 β 射线(45 Gy)单次照射大鼠臀部皮肤 40 mm \times 30 mm, 建立急性深 II 度 β 射线皮肤损伤动物模型。创面出现后将骨髓间充质干细胞悬液(浓度为 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$)1 mL 注入大鼠创面皮下及真皮层, 从周边健康皮肤进针单点注射。②对照组($n=18$), β 射线照射同治疗组, 创面出现后注射安慰剂, 用法同治疗组。③正常组($n=8$), 正常大鼠。

骨髓间充质干细胞的分离与培养^[4]: 选用 6-8 周龄清洁级 SD 大鼠 3 只, 在无菌条件下取出大鼠双股骨和胫骨, 暴露骨髓腔, 用 5 mL 注射器吸取 4 mL 含体积分数 10%胎牛血清的 DMEM 冲出骨髓, 细胞计数板计数, 以 2×10^6 有核细胞/cm² 接种于 25 mL 培养瓶, 37 °C, 体积分数 5%CO₂: 孵箱静置培养。

骨髓间充质干细胞的传代培养: 原代细胞生长至第 7 天达 80%融合时进行传代。

骨髓间充质干细胞的鉴定

^[5-7]:

骨髓间充质干细胞的标记: 选择第 3 代的间充质干细胞的细胞标记。

骨髓间充质干细胞的示踪: ①标记后的骨髓间充质干细胞悬液(浓度为 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$)1 mL 均匀注入深 II 度 β 射线皮肤损伤创面(皮下与真皮层), 从周边健康皮肤进针单点注射。②24 h 后切取创面组织 10 mm \times 10 mm 大小 1 块, 放入生理盐水暂时保存。③做连续冰冻切片。④荧光显微镜下观察骨髓间充质干细胞。未能立即观察的切片可暂时在丙酮液中保存。

β 射线皮肤损伤动物模型的制备: 大鼠深 II 度 β 射线皮肤损伤动物模型的制备: ①大鼠用体积分数 10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉。②以西门子 PRIMUS 直线加速器产生 4 MeV 高能电子 β 射线单次局部照射大鼠臀部, 非照射部位用 10 cm 厚铅板屏蔽。照射面积为 40 mm \times 30 mm, 剂量率为 200 cGy/min, 照射时间为 22.5 min, 照射剂量 45 Gy。

实验取材及处理: 大鼠常规分组饲养, 创面出现后 1, 2, 3, 4 周治疗组及对照组各取大鼠 3 只, 在体积分数 10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉下, 各切取创面组织 10 mm \times 10 mm 大小 1 块。取材部位: 臀部创面。用体积分数 4%甲醛固定, 常规石蜡包埋、切片, 苏木

精-伊红染色, 光镜观察以及免疫组织化学检测。正常组: 8 只一次性取材同治疗组和对照组。

主要观察指标: 观察创面愈合时间及计数创面愈合率; 通过光镜观察创面各时期的病理变化; 免疫组织化学检测创面组织中的 CD31、CK4、成纤维细胞生长因子的表达。

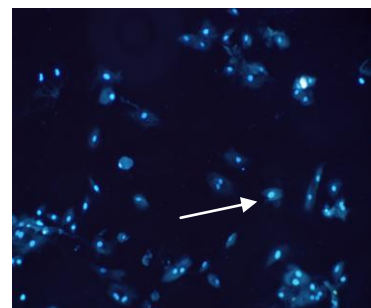
统计学分析: 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 12.0 统计软件, 各组间比较均采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 SD大鼠47只, 分为3组, 实验过程中治疗组死亡2只, 对照组死亡1只, 进入结果分析44只。

2.2 骨髓间充质干细胞形态观察 刚分离出的大鼠骨髓间充质干细胞呈类圆形, 夹杂少量红细胞, 细胞贴壁速度较快。48-72 h后开始伸展, 6-8 d后贴壁细胞数目明显增多, 细胞生长进入指数期, 增殖迅速, 约14 d时细胞长满瓶壁, 即可进行传代。传代细胞在一两天处于静止期, 3 d开始增殖, 4 d进入对数生长期, 第6天达高峰。细胞生长至第3代后, 细胞融合后呈旋涡状排列, 细胞外观呈长梭形的成纤维样细胞样形态, 细胞形态渐趋一致, 连续培养未见钙化及成脂现象。

2.3 骨髓间充质干细胞的DAPI标记、示踪 骨髓间充质干细胞被DAPI标记后, 在荧光显微镜下观察呈蓝色, 见图1。

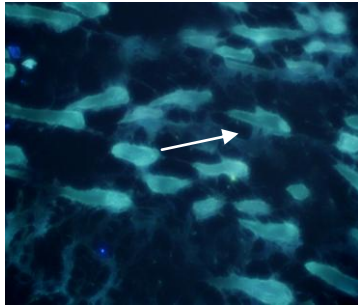


注: 骨髓间充质干细胞被 DAPI 标记后, 在荧光显微镜下观察呈蓝色。

图 1 DAPI 标记后的骨髓间充质干细胞(箭头所指 DAPI 标记后的骨髓间充质干细胞, $\times 400$)

Figure 1 Mesenchymal stem cells after labeled with 4',6-diamidino-2-phenylindole (arrow shows the labeled cells, $\times 400$)

注射前骨髓间充质干细胞核形完整, 染色质均匀。注射后创面组织切片中的骨髓间充质干细胞荧光显微镜下仍可见核形完整的骨髓间充质干细胞, 核形基本完整, 稍有变形, 见图2。



注: 可见核形完整的骨髓间充质干细胞, 稍有变形。

图2 β 射线照射大鼠皮肤损伤创面皮下及真皮层注射骨髓间充质干细胞(箭头所指创面中的骨髓间充质干细胞, $\times 400$)

Figure 2 Subcutaneous and dermal layer injection of bone marrow mesenchymal stem cells in the rat β -irradiated-skin injury wound (arrow shows bone marrow mesenchymal stem cells in wound, $\times 400$)

2.4 创面愈合情况 治疗组创面愈合时间显著短于对照组[(30.40 \pm 1.52), (43.60 \pm 2.70) d, $P < 0.05$, $n=5$]。治疗组与对照组大鼠创面出现后不同时间的创面愈合率比较见表1。

表1 治疗组及对照组大鼠 β 射线照射皮肤损伤创面出现后不同时间的创面愈合率比较

Table 1 Wound healing rate of the treatment and control groups at different time points after β -ray-irradiated skin injury ($\bar{x}\pm s$, %)

时间	对照组($n=17$)	治疗组($n=19$)
1周	15.49 \pm 3.50	21.04 \pm 2.37 ^a
2周	37.39 \pm 1.66	46.40 \pm 2.97 ^a
3周	49.69 \pm 2.57	71.03 \pm 3.17 ^a
4周	65.18 \pm 1.42	90.99 \pm 2.58 ^a

与对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

注: 治疗组创面皮下及真皮层注入骨髓间充质干细胞悬液; 对照组创面注射安慰剂; 结果说明治疗组创面愈合时间显著短于对照组。

2.5 免疫组织化学观察结果

微血管数的测定: 正常组大鼠皮肤微血管内皮细胞表达CD31, 主要分布在真皮层的血管内皮细胞的胞膜及胞浆中, 以CD31阳性即棕黄色血管内皮细胞或细胞簇代表一组单独的微血管。治疗组治疗后1周, 可见溃疡周围微血

管增多, 两三周逐渐增多, 4周微血管数略有回降。对照组1周无明显微血管增多, 2-4周逐渐增多。治疗后1, 2, 3周两组CD31表达水平差异有显著性意义($P < 0.05$)。治疗后4周两组差异无显著性意义($P=0.06$), 见表2。

表2 正常大鼠及治疗组、对照组大鼠 β 射线照射皮肤损伤创面出现后不同时间的微血管计数

Table 2 Microvessel count of normal, treatment and control groups at different time points after β -ray-irradiated skin injury ($\bar{x}\pm s$)

时间	正常组($n=8$)	对照组($n=17$)	治疗组($n=19$)
1周	10.66 \pm 2.08	9.67 \pm 1.53	13.33 \pm 1.53 ^a
2周		13.00 \pm 2.00	18.67 \pm 1.53 ^a
3周		15.33 \pm 2.08	23.33 \pm 2.08 ^a
4周		16.67 \pm 2.08	20.00 \pm 1.00

与对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

注: 正常组大鼠皮肤微血管内皮细胞表达CD31, 主要分布在真皮层的血管内皮细胞的胞膜及胞浆中, 以CD31阳性即棕黄色血管内皮细胞或细胞簇代表一组单独的微血管。治疗组创面皮下及真皮层注入骨髓间充质干细胞悬液; 对照组创面注射安慰剂; 结果说明1, 2, 3周治疗组CD31表达显著高于对照组。

CK4在创面中阳性表达: 正常组CK4阳性细胞排列规律整齐, 分布在角质层、棘细胞层、颗粒层的角质形成细胞细胞质中。治疗后1周, CK4阳性细胞分布在上皮细胞中, 排列不整齐, 量少, 主要分布在角质层, 棘细胞层和颗粒层很少有阳性表达, 治疗组与对照组无明显差异。治疗后2-4周, CK4阳性细胞表达逐渐增多, 排列逐渐整齐, 特别是棘细胞层和颗粒层的阳性表达增多, 治疗组比同期的对照组明显阳性细胞数增多, 排列整齐。

创面愈合过程中成纤维细胞的表达: 见表3。

表3 正常大鼠及治疗组、对照组大鼠 β 射线照射皮肤损伤创面出现后不同时间的成纤维细胞生长因子阳性比较

Table 3 Fibroblast growth factor positive cells in normal, treatment and control groups at different time points after β -ray-irradiated skin injury ($\bar{x}\pm s$)

时间	正常组($n=8$)	对照组($n=17$)	治疗组($n=19$)
1周	25.33 \pm 8.74	18.33 \pm 7.02	26.67 \pm 4.04
2周		33.00 \pm 7.55	73.00 \pm 11.14 ^a
3周		60.67 \pm 4.51	140.00 \pm 16.09 ^a
4周		64.33 \pm 12.59	98.00 \pm 10.15 ^a

与对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

注: 治疗组创面皮下及真皮层注入骨髓间充质干细胞悬液; 对照组创面注射安慰剂; 结果说明治疗后2, 3, 4周治疗组成纤维细胞生长因子表达显著高于对照组。

正常组大鼠皮肤内成纤维细胞主要分布在表皮基底细胞、毛囊上皮细胞、成纤维细胞及血管内皮细胞的胞膜及胞浆中。治疗组治疗后1周, 可见溃疡周围增生上皮细胞、毛囊上皮细胞及基底部血管内皮细胞、成纤维细胞、炎性细胞成纤维细胞生长因子表达, 其阳性细胞数量和强度稍高于对照组; 治疗后2-4周, 对照组创面出现整体阳性度进一步增加, 治疗组其阳性细胞数量到第3周达峰值, 4周时有回落。治疗后2, 3, 4周两组成纤维细胞表达水平差异有显著性意义($P < 0.05$), 第1周差异无显著性意义($P=0.14$)。

3 讨论

就射线产生方式来看, 以往常采用敷贴放射性同位素方法, 易致污染, 剂量也不容易准确掌握, 而采用直线加速器则有剂量容易控制, 无污染等优点。实验采用45 Gy β 射线一次性照射后, 大鼠则于照射后5周全部出现稳定的 β 射线皮肤损伤创面, 即刻切取标本苏木精-伊红染色光学显微镜下观察创面均为深II度。实验再一次证实了采用直线加速器建立大鼠 β 射线皮肤损伤动物模型具有简便、可靠、剂量易控制等优点^[8]; 45 Gy β 射线能制作出可靠的大鼠深II度 β 射线皮肤损伤动物模型, 且死亡率低。实验在预试验中分别用5, 15, 30, 45和60 Gy β 射线照射大鼠臀部皮肤, 经光镜检查证实45 Gy β 射线照射所形成创面为深II度 β 射线皮肤损伤。

骨髓间充质干细胞具有多向及横向分化潜能, 易于自体获得, 移植后无免疫排斥反应, 并易于在体外分离培养和扩增等特点, 在组织工程、细胞移植、基因治疗等方面已被广泛应用^[9-11]。骨髓间充质干细胞虽然具有很强的增殖能力, 但是其在体外培养的增殖能力与和稳定程度与培养条件、供体年龄及状态等因素都有关。实验中选用6-8周龄的SD大鼠的骨髓, 以获得稳定和增殖能力强的标本, 但是有研究证实, 有年龄较大的供体在体外进行扩增培养时发现, 在传代至8代时细胞出现胞体肥大, 变形, 伸展, 胞质内出现空泡, 代谢产物增多等老化迹象。试验中还发现一个问题就是诱导后的细胞增殖能力明显下降。尤其是诱导后形态变化明显的细胞, 最多只能传一代, 约有半数细胞生长减缓, 慢慢凋亡。

骨髓间充质干细胞治疗皮肤损伤有5种途径: ①经静脉注射^[12-13]。②皮下注射^[14]。③真皮层注射^[14]。④直接覆盖创面表面^[15]。⑤注射于创面周围^[16]。实验选用注

射到真皮层及皮下组织, 结合深II度 β 射线皮肤损伤特点, 具有以下优点: ①骨髓间充质干细胞与皮肤损伤创面零距离, 不像静脉注射骨髓间充质干细胞那样需要迁移, 节省了迁移过程进入其他组织的损耗, 更多的骨髓间充质干细胞直接、间接的参加创面的修复。②骨髓间充质干细胞移植暴露于创面, 使骨髓间充质干细胞出于体内与体外交界处, 无法与体内的内环境进行信息传递及物质交换, “孤军深入”, 失去了营养支持。③深II度损伤的真皮层存在大量的瘀滞带^[17], 瘀滞带的微环境更能激发注射骨髓间充质干细胞以最大的潜能向血管内皮细胞、表皮细胞分化, 分泌成纤维细胞生长因子等众多细胞因子参与创面的修复。

β 射线皮肤损伤的坏死性溃疡, 创面经久未愈, 目前其具体机制不明, 没有有效的治疗方法^[18-21]; 骨髓间充质干细胞可以向创面修复细胞分化及分泌创面愈合的刺激因子, 并且异体移植治疗不会引起免疫反应。实验治疗组愈合时间明显比对照组缩短, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 证明了骨髓间充质干细胞治疗 β 射线皮肤损伤创面疗效明显; 通过CD31、CK4、成纤维细胞生长因子免疫组化的对比分析, 治疗组创面中毛细血管内皮细胞、表皮细胞、成纤维细胞明显多于对照组, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。推测具有分化潜能的骨髓间充质干细胞可在皮肤微环境诱导下直接分化为表皮细胞和血管内皮细胞、分泌成纤维细胞生长因子促进创面愈合。

总之, 骨髓间充质干细胞能促进 β 射线皮肤损伤创面的愈合, 其机制可能是: 骨髓间充质干细胞在创面微环境中可以向血管内皮细胞、表皮细胞、成纤维细胞分化, 创面中的骨髓间充质干细胞还可以分泌成纤维细胞生长因子等细胞因子, 从而促进创面愈合。

基金资助: 苏州市科技发展计划(应用基础研究)基金资助项目(SYS201019)。

作者贡献: 实验设计为第一、二作者, 实施与资料收集为第二、三作者, 评估为第四、五作者, 第六作者审校, 第一、二作者对文章负责。

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。

伦理要求: 实验对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部2006年颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》的要求。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Elizabeth M, Kedge. A systematic review to investigate the effectiveness and acceptability of intervention for moist desquamation in radiotherapy patients. *Radiography*. 2009; 15(3):147-257.
- [2] FitzGerald TJ, Jodoin MB, Tillman G, et al. Radiation Therapy Toxicity to the skin. *Dematol Clin*. 2008;26(1):161-172.
- [3] Differ A, mkmansu M, Bora H, et al. The effect of vitamin E On acute skin reaction caused by radiotherapy. *Clin Exp Dermatol*. 2007;32(5):571-573.
- [4] Chen JM, Yao WR, Li Y, et al. *Jiangsu Yiyao*. 2010;36(19): 2306-2308.
陈建梅, 姚荣伟, 李勇, 等. 骨髓间充质干细胞的分离、培养及生物学特性[J]. *江苏医药*, 2010, 36(19):2306-2308.
- [5] Wang YT, Zheng QX, Guo XD, et al. *Huazhong Keji Daxue Xuebao: Yixueban*. 2003;32(5):526-529.
王运涛, 郑启新, 郭晓东, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞的优化获取及生物学鉴定[J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2003;32(5):526-529.
- [6] Hu JB, Zhou Y, Jiang DD, et al. *Xibao Yu Fenzhi Mianyixue Zazhi*. 2006;22(1):7-10.
胡静波, 周燕, 蒋丹丹, 等. 体外扩增过程中人骨髓间充质干细胞的增殖与分化规律[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2006, 22(1):7-10.
- [7] De Ugaae DA, Alfonso Z, Zuk PA, et al. Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol Lett*. 2003;89(23):267-270.
- [8] Shen GL, Lu XA, Tang J, et al. *Zhonghua Fangshe Yixue Yu Fanghu Zazhi*. 2006; 26(6):577-579.
沈国良, 陆兴安, 唐俊, 等. 大鼠急性 β 射线皮肤损伤动物模型的建立与应用[J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2006, 26(6):577-579.
- [9] Hu KX, Sun QY, Guo M, et al. The radiation protection and therapy effects of mesenchymal stem cells in mice with acute radiation injury. *The British Journal of Radiology*. 2010; 83(985):52-58.
- [10] Kuo YR, Wang CT, Cheng JT, et al. Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Enhanced Diabetic Wound Healing through Recruitment of Tissue Regeneration in a Rat Model of Streptozotocin- Induced Diabetes. *Plast Reconstr Surg*. 2011;128(4):872-880.
- [11] Cai Q, Dong F, Liu Y. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2010;14(36):6733-6737.
蔡黔, 董方, 刘毅. 异体骨髓间充质干细胞治疗大鼠糖尿病足溃疡及血管内皮生长因子的表达[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(36):6733-6737.
- [12] Mansilla E, Matin GH, Sturla F, et al. Human mesenchymal stem cells are tolerated by mice and improve skin and spine cord injuries. *Transplant Proc*. 2005;37(1):292-294.
- [13] Zhu HY, Zhang H, Fu JX, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2009;13(32):6303-6308.
朱红燕, 张宏, 傅晋翔, 等. 骨髓间充质干细胞与急性放射性皮肤损伤的修复[J]. *中国组织工程研究与组织康复*, 2009, 13(32):6303-6308.
- [14] Satoh H, Kishi K, Tanaka Y, et al. Transplanted mesenchymal stem cells are effective for skin regeneration in acute cutaneous wounds. *Cell Transplant*. 2004;13(4):405-412.
- [15] Shumakov VI, Onishchchenko YA, Rasulov MF, et al. Mesenchymal bone marrow stem cells more effectively stimulate regeneration of deep burn wounds than embryonic fibroblasts. *Bull Exp Biol Med*. 2003;136(2):192-195.
- [16] Zhong XH, Wang MG, Zhao LP, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2010;14(6): 1019-1022.
钟晓红, 王明刚, 赵李平, 等. 骨髓间充质干细胞在糖尿病创面中向皮肤腺上皮的分化[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(6): 1019-1022.
- [17] Yang ZC. Beijing: People's Medical Publishing House. 2006:92.
杨宗城. *烧伤治疗学*[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 92.
- [18] Shen GL, Lu XA, Tang J, et al. *Jiangsu Yiyao*. 2006;32(11): 1031-1033.
沈国良, 陆兴安, 唐俊, 等. 大鼠急性 β 射线皮肤损伤创面愈合过程中基质金属蛋白酶-2的表达[J]. *江苏医药*, 2006, 32(11): 1031-1033.
- [19] Zhou YH, Wu SL, Wang XZ, et al. *Fushe Fangfu*. 2005; 25(6): 257-261.
周迎会, 吴士良, 王秀珍, 等. β 和 γ 射线放射性皮肤损伤动物模型的初步研究[J]. *辐射防护*. 2005, 25(6):257-261.
- [20] Shen GL, Lu XA, Tang J, et al. *Zhonghua Shaoshang Zazhi*. 2007;23(5):374-375.
沈国良, 陆兴安, 唐俊, 等. 大鼠皮肤 β 射线损伤创面愈合过程中基质金属蛋白酶9的表达[J]. *中华烧伤杂志*, 2007, 23(5):374-375.
- [21] Shen GL, Sun F, Lu XA, et al. *Jiangsu Yiyao*. 2010;36(17): 2045-2047.
沈国良, 孙峰, 陆兴安, 等. 大鼠急性 β 射线皮肤损伤创面愈合过程中PDGF及其受体的表达[J]. *江苏医药*, 2010, 36(17):2045-2047.