

· 基础研究 ·

MEBT/MEBO 通过 PTEN/AKT 通路对慢性难愈合创面中基质金属蛋白酶表达的影响

陈端凯¹ 岑小宁¹ 包崇婵¹ 姜艳^{1,2} 卓臣义¹ 黄汉基³ 许彦³ 唐乾利¹

摘要 目的 通过观察湿润暴露疗法/湿润烧伤膏(MEBT/MEBO)是否通过同源性磷酸酶张力蛋白(PTEN)/磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)通路影响慢性难愈合创面中基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达,探讨 MEBT/MEBO 的作用机制。方法 150 只 Wistar 雄性大鼠被随机分为 5 组,美宝组(30 只)、贝复新组(30 只)、模型组(30 只)、急性组(30 只)和空白组(30 只),并构建创面模型。于造模的第 3、7、14 天观察创面愈合情况,并采取创面标本组织,进行 HE 染色及 Masson 染色观察各组创面组织形态学变化和 Western Blot 检测各组 PTEN、p-AKT、MMP-2 及 MMP-9 蛋白表达情况。结果 (1) 贝复新组及美宝组创面愈合时间显著短于模型组($P<0.05$),创面愈合率高于模型组($P<0.05$),且创面组织染色结果更好;(2) 在造模第 3 天,贝复新组及美宝组中 PTEN 蛋白表达量明显低于模型组($P<0.05$),p-AKT、MMP-2、MMP-9 蛋白表达高于模型组($P<0.05$);第 14 天,与模型组比较,贝复新组及美宝组中 PTEN 蛋白表达增高($P<0.05$),p-AKT、MMP-2、MMP-9 蛋白表达降低($P<0.05$)。结论 MEBT/MEBO 可促进慢性难愈合创面的愈合,其可能作用机制是通过激活 PTEN/AKT 信号通路影响创面组织中 MMP-2、MMP-9 表达,及基底膜(BM)的降解与重塑。

关键词 湿润暴露疗法/湿润烧伤膏;慢性难愈合创面;基质金属蛋白酶 2;基质金属蛋白酶 9;基底膜

MEBT/MEBO Affects the Expressions of MMPs in Chronic Refractory Wounds through PTEN/AKT Pathway CHEN Duan-kai¹, CEN Xiao-ning¹, BAO Chong-chan¹, JIANG Yan^{1,2}, ZHUO Chen-yi¹, HUANG Han-ji³, XU Yan³, and TANG Qian-li¹ 1 Key Laboratory of High incidence Prevention and Control in Western Guangxi, Youjiang Medical University for Nationalities, Guangxi (533000); 2 College of Medicine, Guangxi University, Nanning (530004); 3 First Clinical Medical College, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning (530001)

ABSTRACT Objective To study the specific mechanism of moist exposed burn therapy (MEBT)/moist exposed burn ointment (MEBO) by observing whether MEBT/MEBO affected the expressions of matrix metalloprotease-2 (MMP-2) and matrix metalloprotease-9 (MMP-9) in chronic refractory wounds through phosphatase and tension homology deleted on chromosome ten (PTEN)/phosphorylated protein kinase B (p-AKT) pathway. **Methods** A total of 150 male Wistar rats were randomly divided into five groups: MEBT/MEBO group, Recombinant Bovine Basic Fibroblast Growth Factor Gel (rb-FGF) group, model group, acute wound group, and blank group, 30 in each group, and the wound models were established. The wound specimens were collected on the 3rd, 7th, and 14th day of modeling. HE staining and Masson staining were performed to observe the morphological changes of wound tissue, and Western Blot was used to detect the protein expressions of PTEN, p-AKT, MMP-2 and MMP-9 in each group. **Results** (1) The wound healing period in MEBT/MEBO group was significantly shorter than that in the model group

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81774327);‘广西特聘专家’专项经费资助(No. 桂人才通字[2019]13号);广西医学高层次领军人才培养“139”计划项目资助(No. 桂卫科教发[2018]22号)

作者单位:1. 右江民族医学院/桂西高发防治重点实验室(广西 533000); 2. 广西大学医学院(南宁 530004); 3. 广西中医药大学第一临床学院(南宁 530001)

通讯作者:唐乾利, Tel: 0776-2827008, E-mail: htmgx@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20200110. 136

($P < 0.05$), and the rate of wound healing in MEBT/MEBO group was higher than that in the model group ($P < 0.05$), and the results of wound tissue staining were better. (2) On the 3rd day of modeling, the expression of PTEN in MEBT/MEBO group was significantly lower than that in the model group ($P < 0.05$), and the expressions of p-AKT, MMP-2, and MMP-9 protein were higher than those in the model group ($P < 0.05$). On the 14th day, as compared with the model group, the protein expression of PTEN in MEBT/MEBO group was higher, while the protein expressions of p-AKT, MMP-2, and MMP-9 were lower ($P < 0.05$). **Conclusion** MEBT/MEBO significantly promoted the healing of chronic refractory wounds, which was possibly achieved by activating PTEN/AKT signaling pathway to affect the expressions of MMP-2 and MMP-9 in wound tissues, as well as the degradation and remodeling of basement membrane (BM).

KEYWORDS moist exposed burn therapy/moist exposed burn ointment; chronic refractory wound; matrix metalloproteinase 2; matrix metalloproteinase 9; basement membrane

慢性难愈合创面以炎症因子的过度激活,破坏机体正常结构导致正常修复程序无法进行为主要机制^[1]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一类具有锌离子结构的金属蛋白酶,其主要功能是实现组织的重塑及基底膜(basement membrane, BM)的降解,其中 MMP-2、MMP-9 就能够通过降解毛细血管 BM 来实现血管的生成及细胞的迁移,进而达到创面愈合的目的^[2]。同源性磷酸酶张力蛋白(phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)及磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated protein kinase B, p-AKT) 通路已被广泛证实参与创面愈合的调节。慢性难愈合创面导致伤口长期无法愈合,其病因机制复杂,治疗周期长,且严重影响患者生活质量,故现已成为临床医生面临的难题。

湿润暴露疗法/湿润烧伤膏(moist exposed burn therapy/moist exposed burn ointment, MEBT/MEBO)应用于各种不同程度的烧伤治疗中,且疗效显著。唐乾利教授将该技术扩展应用于慢性难愈合创面的治疗,开展大量基础及临床试验,取得了一定的成果^[3-7]。前期研究已表明,MEBT/MEBO 能够调控 MMPs,但是 MEBT/MEBO 能否通过激活 PTEN/AKT 通路来调节慢性创面中 MMP-2、MMP-9 表达,进而促进愈合? 具体机制仍不明确。

本实验通过建立大鼠慢性难愈合创面模型,探讨 MEBT/MEBO 作用下的慢性难愈合创面中 MMP-2、MMP-9 表达情况,并进一步探讨其在 PTEN/AKT 信号通路中的调控机制,为临床应用 MEBT/MEBO 治疗慢性难愈合创面提供可靠的实验依据。

材料与方法

1 动物 SPF 级 Wistar 大鼠 150 只,雄性,12 周龄,体重 220~250 g,购于长沙天勤公司,许可证

号 SCXK(湘)2014-0011。实验操作过程严格按照动物伦理学标准(No. 2018121301)。

2 药物 MEBO(成分:黄连、黄柏、黄芩、地龙、罂粟壳等,40 g/支,汕头美宝公司,批号:Z20000004),贝复新(重组牛碱性成纤维细胞生长因子凝胶,每支 21 000 IU/5 g,珠海亿胜公司,批号:S20040001),醋酸氢化可的松(5 mL:25 mg,上海通用药业,批号:H31021290)。

3 主要试剂及仪器 PTEN、p-AKT、MMP-2、MMP-9 抗体及 GAPDH 抗体(美国 Proteintech 公司),BCA 工作液(中国碧云天公司),Western Blot 全套系统(型号 Mini-PROTEAN Tetra,美国 Bio-Rad 公司);4 ℃ 离心机(型号 5810R,德国 Eppendorf 公司);显微镜(型号 BX-41,日本 Olympus 公司)。

4 方法

4.1 动物模型的建立 慢性难愈合创面模型的建立是在赵京禹等^[8]的全层皮肤缺损法和沈道修等^[9]的改良塑料环肉芽肿定量法的基础上进行改良。将大鼠进行腹腔注射水合氯醛麻醉,脱毛备皮,用 1.5 cm 圆形大小印章在备好皮的皮肤上进行标记,随后用剪刀剪去大鼠的全层皮肤且深达筋膜层,紧接着对大鼠腹腔注射醋酸氢化可的松(剂量 8 mg/100 g),进行创面常规消毒及包扎无菌干纱布,胶布“丰”型固定。急性组则无需进行醋酸氢化可的松注射。空白组只进行备皮而未做任何创伤处理,可不作消毒换药处理。

4.2 动物分组与用药 将 150 只大鼠饲养 1 周后,按随机数字表法分为 5 组,分别为美宝组(30 只)、贝复新组(30 只)、模型组(30 只)、急性组(30 只)、空白组(30 只)。每组进行早、晚各 1 次的伤口消毒换药处理,美宝组:消毒后,创面涂抹 MEBO(约 1 mm 厚度),加盖两层浸有 MEBO 的纱布块(0.2 g/cm²),再进行消毒干纱布覆盖,胶布固定;贝复新组:消毒后,创

面上涂抹贝复新(262.5 IU/cm²),加盖两层浸有贝复新的纱布块(60.0 IU/cm²),再进行消毒干纱布覆盖,胶布固定;模型组和急性组:消毒后,则需在创面上加盖两层浸有生理盐水的纱布块,再进行消毒干纱布覆盖,胶布固定。

4.3 标本的采集与处理 于造模后的第 3、7、14 天每组随机处死 3 只进行创面上口皮肤的采取,均取相同部位的整个创面及创面周围的肉芽组织。一部分存储于-80℃冰箱,待后期进行 Western Blot 实验检测;另一部分则进行固定包埋,待后期进行切片常规染色。

5 检测指标及方法

5.1 创面愈合情况 各组分别于第 3、7、14 天随机选取 6 只大鼠,用相机拍取创面情况,然后进行后期的创面愈合率计算,公式:(初始日创面大小-选材日创面大小)/初始日创面大小 X100%。

5.2 HE 染色和 Masson 染色 将标本进行固定、脱水、包埋、切片(厚度 4~6 μm)、常规染色处理,在光学显微镜下观察各组组织形态学差异及胶原纤维生成情况。

5.3 Western Blot 法 对采取的标本进行称量,加入组织裂解液(500 mg/mL),然后进行匀浆,离心处理,取上清,再用 BCA 工作液测蛋白浓度,加入蛋白上样缓冲液,煮沸 5 min 变性,于 60 V 40 min 加 120 V 1 h SDS-PAGE 电泳,300 mA 恒流转膜,室温脱脂奶粉封闭 1 h,洗膜 3 次,加入兔种来源一抗(稀释比例:PTEN:1:1 000, p-AKT:1:1 000, MMP-2:1:1 000, MMP-9:1:1 000, GAPDH:1:5 000)4℃冰箱孵育过夜,洗膜 3 次,山羊抗兔二抗(稀释比:1:5 000)孵育,洗膜 3 次,凝胶成像系统 ECL 发光液显影,最后利用 Image J 软件对条带进行分析处理。

6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,对符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较用 LSD 方法,每个实验组至少重复 3 次, P<0.05 为差异有统计学意义。

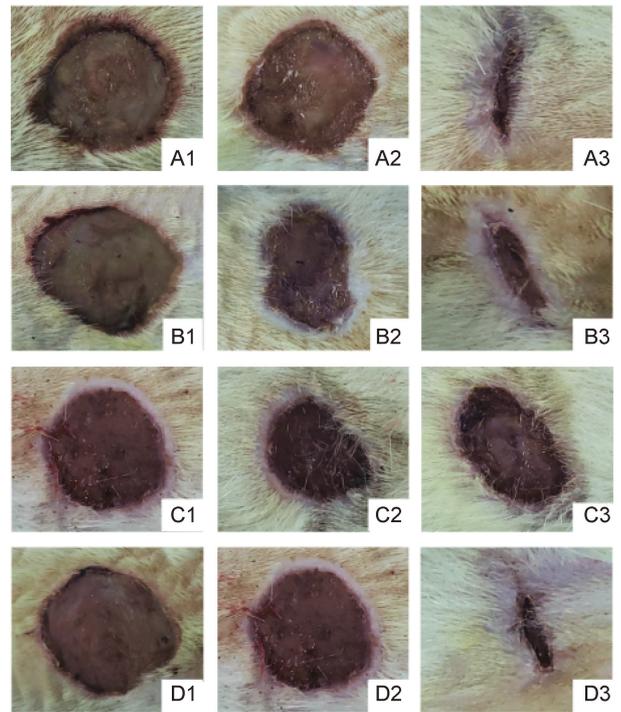
结 果

1 各组大鼠创面愈合情况及愈合率比较(表 1, 图 1) 急性组、美宝组及贝复新组创面愈合时间明显快于模型组(P<0.05);造模第 3、7、14 天,急性组的创面愈合率亦高于模型组(P<0.05);美宝组和贝复新组创面愈合率高于模型组,第 3 天时差异无统计学意义(P>0.05),第 7、14 天差异均有统计学意义(P<0.05)。

表 1 各组大鼠创面愈合时间及愈合率比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	愈合时间(天)	愈合率(%)		
			第 3 天	第 7 天	第 14 天
美宝	6	17.56±1.54 [△]	9.74±1.47	48.32±1.72 [△]	89.85±2.77 [△]
贝复新	6	16.52±2.74 [△]	9.54±1.47	47.73±4.10 [△]	90.84±1.94 [△]
模型	6	20.64±1.91*	8.88±0.42*	34.67±1.05*	71.32±1.97*
急性	6	15.18±0.96	11.63±0.72	60.22±2.86	95.03±4.37

注:与急性组比较,*P<0.05;与模型组比较,[△]P<0.05



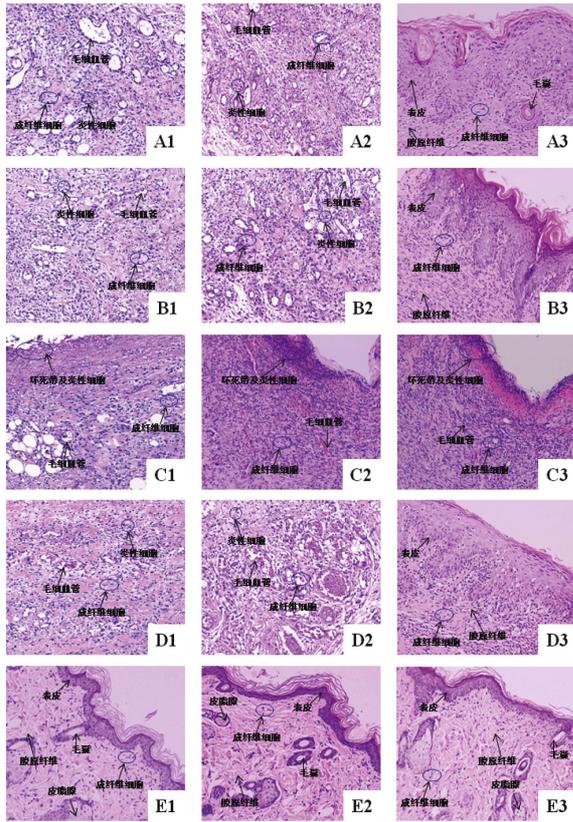
注:A 为美宝组;B 为贝复新组;C 为模型组;D 为急性组;其中 1、2、3 分别为造模第 3、7、14 天

图 1 各组大鼠造模后不同时间创面变化比较

2 组织学观察

2.1 各组大鼠创面肉芽组织学观察(图 2) HE 染色结果显示:空白组结构完整,可见正常的皮肤附属器件;造模第 3 天,急性组、美宝组和贝复新组可见新生的毛细血管生成,且均较模型组丰富;4 组均可见炎性细胞的浸润,未见正常皮肤附件,但只有模型组可见充血带;造模第 7 天,除模型组外,其他 3 组毛细血管呈现排列整齐的存在,炎性细胞数量较前减少;造模 14 天,除模型组外,其余组均愈合完全,切片观察中可见正常的皮肤结构及附件;模型组则仍是表现出充血带及大量炎性细胞浸润的表现。

2.2 各组大鼠创面胶原纤维生成情况(图 3) Masson 染色结果表示:空白组胶原纤维粗大,走向整齐;造模第 3 天,另外 4 组胶原纤维细少,且走向紊乱;造模第 7 天,除模型组外,其余 3 组均见胶原纤维增粗;造模第 14 天,美宝组、贝复新组及急性组可见较粗



注: A 为美宝组; B 为贝复新组; C 为模型组; D 为急性组; E 为空白组; 其中 1、2、3 分别为造模第 3、7、14 天, 图 3 同

图 2 各组大鼠创面肉芽组织学观察 (HE, ×200)

的胶原纤维,且排列整齐;而模型组可见排列紊乱的胶原纤维沉积。

3 各组大鼠创面组织中 PTEN、p-AKT 蛋白表达水平比较(表 2,图 4) 空白组由于未作任何损伤处理,故 PTEN 和 p-AKT 表达较稳定。除了空白组外,其余 4 组 PTEN 的表达均在造模的第 3 天呈现出下降的趋势;美宝组、贝复新组和急性组在第 7 天达到最低水平,第 14 天就呈现出表达升高的趋势;而模型组在造模 14 天则仍是降低的趋势。在造模第 3、7 天,美宝组、贝复新组和急性组 PTEN 表达均低于模型组 ($P < 0.05$);在造模第 14 天,美宝组和贝复新组 PTEN 表达均高于模型组 ($P < 0.05$)。在第 3、7 天,美宝组及贝复新组 p-AKT 表达均高于模型组 ($P < 0.05$);急性组在第 3 天较模型组升高 ($P < 0.05$),第 7 天的差异则无统计学意义 ($P > 0.05$);第 14 天, p-AKT 表达均低于模型组 ($P < 0.05$)。

4 各组创面组织中 MMP-2、MMP-9 表达水平比较(表 3,图 5) 空白组由于未作任何损伤处理,故 MMP-2、MMP-9 基本不表达。除了空白组外,其余 4 组 MMP-2、MMP-9 均在造模的第 3 天呈现出上升的

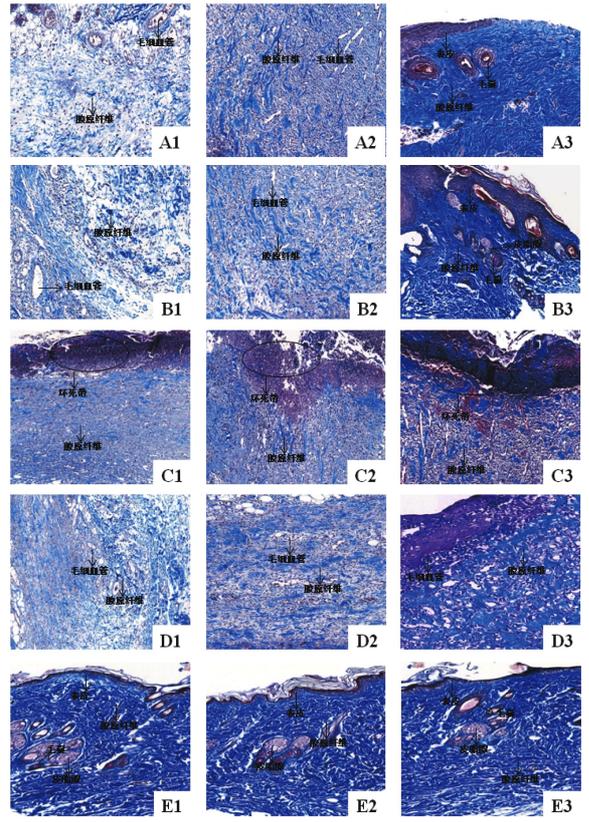


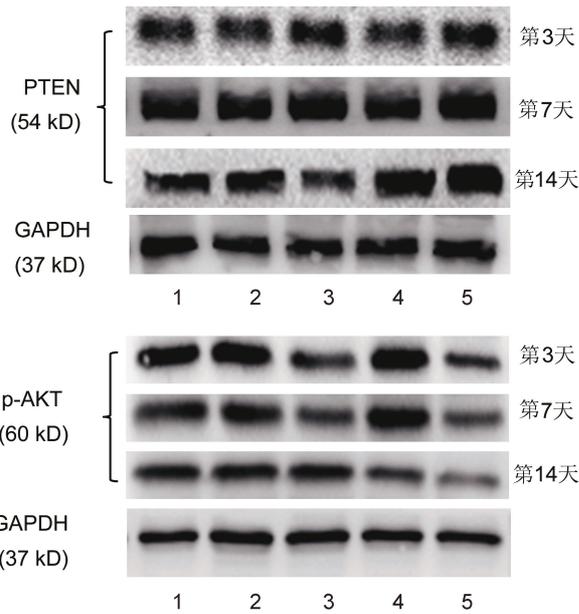
图 3 各组大鼠创面胶原纤维生成情况比较 (Masson, ×200)

表 2 各组大鼠创面组织中 PTEN、p-AKT 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	PTEN	p-AKT
美宝	3	第 3 天	0.84±0.02 [△]	1.12±0.05 [△]
		第 7 天	0.78±0.02 [△]	1.23±0.02 [△]
		第 14 天	0.93±0.01 [△]	1.09±0.18 [△]
贝复新	3	第 3 天	0.84±0.01 [△]	1.24±0.05 [△]
		第 7 天	0.77±0.03 [△]	1.25±0.02 [△]
		第 14 天	0.93±0.02 [△]	1.07±0.07 [△]
模型	3	第 3 天	0.94±0.01 [*]	0.84±0.03 [*]
		第 7 天	0.91±0.02 [*]	0.91±0.04
		第 14 天	0.83±0.01	1.31±0.07 [*]
急性	3	第 3 天	0.81±0.06	1.33±0.01
		第 7 天	0.72±0.03	1.49±0.13
		第 14 天	0.97±0.03	0.92±0.02
空白	3	第 3 天	0.92±0.02	0.80±0.03
		第 7 天	0.95±0.04	0.76±0.06
		第 14 天	0.98±0.02	0.70±0.04

注:与急性组同期比较,* $P < 0.05$;与模型组同期比较,[△] $P < 0.05$

趋势;美宝组、贝复新组和急性组在第 7 天达到最高水平,第 14 天就呈现出下降表达的趋势;而模型组在造模 14 天则仍是升高的趋势。在造模第 3、7 天,美宝组及贝复新组 MMP-2、MMP-9 表达均高于模型组,除了贝复新组在造模第 7 天 MMP-2 表达差异无统计学意义



注：1 为美宝组；2 为贝复新组；3 为模型组；4 为急性组；5 为空白组；图 5 同

图 4 各组大鼠创面组织中 PTEN、p-AKT 蛋白表达比较

表 3 各组大鼠创面组织中 MMP-2、MMP-9 蛋白表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	MMP-2	MMP-9
美宝	3	第 3 天	0.55±0.01 [△]	0.54±0.02 [△]
	3	第 7 天	0.58±0.02 [△]	0.64±0.01 [△]
	3	第 14 天	0.50±0.02 [△]	0.52±0.01 [△]
贝复新	3	第 3 天	0.55±0.02 [△]	0.55±0.02 [△]
	3	第 7 天	0.59±0.05	0.65±0.02 [△]
	3	第 14 天	0.50±0.01 [△]	0.51±0.03 [△]
模型	3	第 3 天	0.45±0.01	0.40±0.01
	3	第 7 天	0.50±0.01	0.52±0.02 [*]
	3	第 14 天	0.65±0.03 [*]	0.66±0.03 [*]
急性	3	第 3 天	0.59±0.03	0.56±0.04
	3	第 7 天	0.67±0.04	0.70±0.03
	3	第 14 天	0.45±0.04	0.46±0.02
空白	3	第 3 天	0.38±0.04	0.33±0.03
	3	第 7 天	0.36±0.03	0.37±0.04
	3	第 14 天	0.31±0.01	0.34±0.03

注：与急性组同期比较，* $P < 0.05$ ；与模型组同期比较，[△] $P < 0.05$

外 ($P > 0.05$)，其余均有统计学意义 ($P < 0.05$)；急性组表达亦高于模型组的表达，在造模第 7 天 MMP-9 表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在造模第 14 天，美宝组、贝复新组和急性组 MMP-2、MMP-9 表达均低于模型组 ($P < 0.05$)。

讨 论

近年来，慢性难愈合创面的增长速度及危重程度

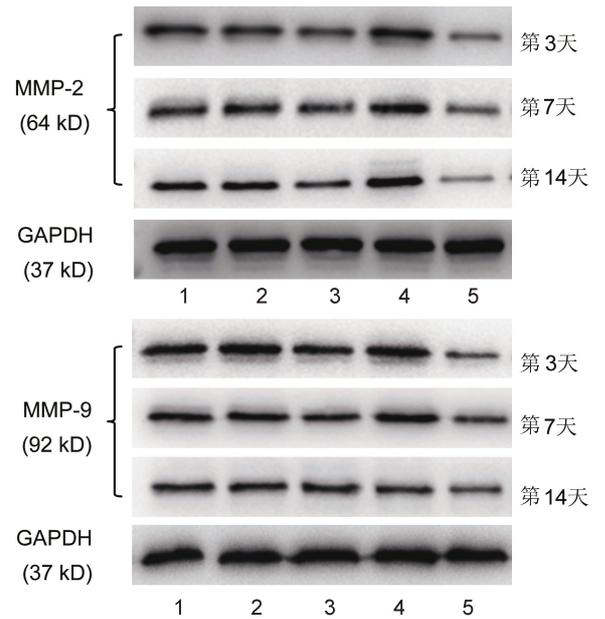


图 5 各组创面组织中 MMP-2、MMP-9 蛋白表达比较

呈现出上升的趋势^[10]；且治疗方式的不确定及疗效的不显著常困扰着临床医生，故寻找新治疗方案亟不可待。MEBT/MEBO 以“液化的方式无损伤的排除坏死组织”和“以原位干细胞培植的方式再生修复创面”为理论指导，MEBO 中活血祛瘀药物可直达病所，加上其中含有祛腐生肌的成分，能祛除局部的腐肉和邪毒，达到腐去新生之效；而 MEBO 药物中的补益之品、营养成分则扶正补虚，为创面组织的再生修复提供营养原料。其组方使损伤创面正胜邪退，邪毒渐除，瘀滞净化，经络复通，脏腑调和，津血正气恢复，气流畅通，起到加速创面愈合的作用。这不仅是对中医学的“去腐生肌”“酿脓生肌”理论的体现，更是以“液化的方式无损伤的排除坏死组织”对传统中医中主要以腐蚀药物去除坏死组织方法的发展和提高。同时，由于 MEBT/MEBO 以其在慢性难愈合创面中的疗效而引发研究者关注，因此，必须通过探究其机制，优化治疗方案，裨益临床。

MMP-2、MMP-9 调节及重塑 BM 的这一功能在创面的修复过程中起到关键的作用。BM 的重塑具有促进血管新生的作用，而血管新生能够更好的为创面部位提供足够的营养促进愈合。既往研究结果已显示，在慢性创面中，早期呈现出 MMP-2、MMP-9 低表达的情况，而晚期表达增高。急性创面中早期 MMP-2、MMP-9 的表达增高，然而随着时间的延长，其表达则降低^[11,12]。同时有研究发现，毛细血管的新生能够很好的为创面提供足够的养分和氧气，促进创面愈合。而毛细血管新生的关键是出芽，出芽的关键则在于 BM 的降解，BM 降解的关键在于 MMPs 的存在，其中 MMP-2、MMP-9 就

起到关键作用^[13,14];且 Masson 染色结果显示出排列整齐的粗大胶原纤维,这提示了,MEBT/MEBO 可能通过影响慢性创面中 MMP-2、MMP-9 表达,促进创面毛细血管和肉芽组织的生成,改善创面微循环,进而以达到创面愈合的目的。

PTEN/AKT 通路常见于肿瘤机制的研究,在创面愈合方面的研究很少提及,但是这样也不可否认其在创面修复方面的作用价值。有研究表明其能够在创面愈合过程中调控细胞增殖、迁移及生长。因此,PTEN/AKT/MMP-2/9 在创面愈合中的作用不容小觑。已有研究发现 PTEN 的抑制,能够增强创面细胞的迁移,进而升高 AKT 的磷酸化高表达,促进创面的愈合^[15-17]。笔者通过创面愈合时间及愈合率的计算急性组创面愈合情况明显高于模型组,PTEN/AKT 通路表达情况,与既往研究结果相一致,提示了 MEBT/MEBO 对慢性创面愈合的调节可能是通过调控 PTEN 来实现的。且已有研究发现了 PTEN 能够负反馈调节 p-AKT 的表达^[11-13],与本实验研究结果相契合;本研究推测,MEBT/MEBO 可能通过 PTEN/AKT 通路的激活,来促进创面的愈合。

综上所述,BM 的调节与慢性难愈合创面发生发展密切相关。本研究结果发现,MEBT/MEBO 可能通过激活 PTEN/AKT 通路来影响慢性创面中 MMP-2、MMP-9 表达,进而达到创面愈合的目的,这为临床治疗慢性难愈合创面提供了新的治疗策略,然而 MEBT/MEBO 的具体机制仍不明确。故本课题组将进行大鼠 PTEN/AKT 信号通路的敲除,观察 MEBT/MEBO 是否通过影响 PTEN/AKT 通路进而影响 MMP-2、MMP-9 的表达是今后研究的方向之一。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Feng Y, Sanders AJ, Ruge F, et al. Expression of the SOCS family in human chronic wound tissues: Potential implications for SOCS in chronic wound healing[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(5): 1349-1358.
- [2] Wang X, Khalil RA. Matrix metalloproteinases, vascular remodeling, and vascular disease [J]. *Adv Pharmacol*, 2017, 81: 241-330.
- [3] 王权胜,唐乾利,张力,等.湿润烧伤膏治疗下肢缺血性慢性溃疡 47 例[J]. *中国烧伤创疡杂志*, 2005, 17(4): 296-297.
- [4] 李杰辉,唐乾利,张力,等. MEBO 对皮肤溃疡修复作用的实验研究[J]. *中国烧伤创疡杂志*, 2007, 19(4): 293-299.
- [5] 唐乾利,郭璐,王权胜,等. MEBO/MEBT 对血管内皮细胞粗面内质网影响的实验研究[J]. *中国烧伤创疡杂志*, 2010, 22(4): 252-257.
- [6] Tang QL, Han SS, Feng J, et al. Moist Exposed Burn Ointment promotes cutaneous excisional wound healing in rats involving VEGF and bFGF[J]. *Molec Med Reports*, 2014, 9(4): 1277-1282.
- [7] 唐乾利,黄欣,王宇,等.湿润暴露疗法/湿润烧伤膏治疗慢性难愈合创面的超微病理及丝裂原活化蛋白激酶激酶和 c-myc mRNA 表达的机制研究[J]. *中国全科医学*, 2015, 18(3): 294-299.
- [8] 赵京禹,付小兵,雷永红,等.大鼠小面积全层皮肤缺损创面模型的制备[J]. *感染·炎症·修复*, 2008, 9(1): 63-64.
- [9] 沈道修,顾月芳,任晓英.一种研究中西药抗炎作用的塑料环肉芽肿定量法[J]. *中西医结合杂志*, 1983, (1): 49-50,67+5.
- [10] 付小兵.如何在中国建立规范化的体表慢性难愈合创面防控培训与教育体系:我们的初步实践与体会[J]. *感染·炎症·修复*, 2019, 20(1): 23-26.
- [11] Reiss MJ, Han YP, Garcia E, et al. Matrix metalloproteinase-9 delays wound healing in a murine wound model [J]. *Surgery*, 2009, 147(2): 295-302.
- [12] Wu X, Yang L, Zheng Z, et al. Src promotes cutaneous wound healing by regulating MMP-2 through the ERK pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(3): 639-648.
- [13] Gould L, Abadir P, Brem H, et al. Chronic wound repair and healing in older adults: current status and future research[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2015, 63(3): 427-438.
- [14] Landén NX, Li D, Stähle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(20): 3861-3885.
- [15] Lusche DF, Buchele EC, Russell KB, et al. Overexpressing TPTE2 (TPIP), a homolog of the human tumor suppressor gene PTEN, rescues the abnormal phenotype of the PTEN^{-/-} mutant[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(30): 21100-21121.
- [16] Parfejevs V, Debbache J, Shakhova O, et al. Injury-activated glial cells promote wound healing of the adult skin in mice[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 236.
- [17] Pulido R. PTEN inhibition in human disease therapy[J]. *Molecules*, 2018, 23(2): 285.

(收稿:2019-10-10 在线:2020-02-19)

责任编辑:段碧芳
英文责编:张晶晶