

低强度脉冲电磁场加速2型糖尿病表皮软组织创伤愈合实验

霍博¹, 丁元钧², 蔡婧², 张美霞³

1. 空军军医大学第一附属医院呼吸内科, 陕西 西安 710032; 2. 空军军医大学军事生物医学工程学系, 陕西 西安 710032; 3. 空军军医大学第一附属医院护理部, 陕西 西安 710032

【摘要】目的:研究低强度的脉冲电磁场(PEMF)对于2型糖尿病软组织创伤愈合的治疗效果。**方法:**32只3月龄雄性2型糖尿病db/db小鼠及16只同背景的野生对照小鼠用于本研究,分为Wild type野生型小鼠组(Wild type)、db/db小鼠组(db/db)及db/db施加以PEMF刺激组(db/db+PEMF),每组16只。分别于创伤模型构建的第5、12、19天处死每组的4只小鼠。全部小鼠均构建背部表皮创伤模型,db/db+PEMF组小鼠施以全身PEMF刺激,每天刺激2 h。分别通过伤口闭合率、伤口组织抗张强度、伤口组织病理和ELISA检测分析评估其作用效果。**结果:**PEMF刺激在术后的第5、12、19天均显著提升了db/db小鼠伤口的愈合速率($P<0.05$),降低了db/db小鼠的伤口总愈合时间($P<0.05$),在术后的第5、12、19天均显著提升了伤口组织的抗张强度($P<0.05$),降低了伤口组织的炎性细胞数量且显著降低了炎性因子IL-1 β 和TNF- α 的表达($P<0.05$),并上调了VEGF和IGF-1的表达($P<0.05$)。**结论:**低强度PEMF能够显著加速2型糖尿病db/db小鼠的软组织修复进程,这一效应可能与PEMF的抗炎性反应及促胶原沉积和血管再生相关。

【关键词】2型糖尿病;软组织创伤;低强度脉冲电磁场;炎性因子;抗张强度

【中图分类号】R318;Q64

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2020)07-0912-06

Low-intensity pulsed electromagnetic fields accelerates skin wound healing in type 2 diabetic mice: an experimental research

HUO Bo¹, DING Yuanjun², CAI Jing², ZHANG Meixia³

1. Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University of PLA, Xi'an 710032, China; 2. Department of Military Biomedical Engineering, Air Force Medical University of PLA, Xi'an 710032, China; 3. Nursing Department, the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University of PLA, Xi'an 710032, China

Abstract: Objective To identify the therapeutic effects of low-intensity pulsed electromagnetic fields (PEMF) on the soft tissue wound healing in type 2 diabetic mice. **Methods** Thirty-two 3-month-old male type 2 diabetic db/db mice and 16 wild type control mice with the same background were assigned to db/db group (db/db) and db/db treated with PEMF group (db/db+PEMF) and wild type group (Wild type), with 16 mice in each group. Four mice in each group were sacrificed on day 5, 12 and 19 after the wound model establishment. The induction of dorsal wound model was performed on all mice. The mice in db/db+PEMF group were subjected to whole-body PEMF stimulation for 2 h per day. The therapeutic effects were evaluated by wound healing rate, wound tensile strength, wound tissue histopathology and ELISA assay. **Results** PEMF stimulation significantly increased the wound healing rate in db/db mice on the 5th, 12nd and 19th day postoperatively ($P<0.05$), and also decreased the overall wound healing period in db/db mice ($P<0.05$). Moreover, PEMF stimulation increased wound tensile strength on the 5th, 12nd and 19th day postoperatively ($P<0.05$), and also decreased the number of inflammatory cells in wound tissues, suppressed the expressions of inflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α ($P<0.05$), increased the expressions of VEGF and IGF-1 ($P<0.05$). **Conclusion** Low-intensity PEMF stimulation is capable of significantly accelerating soft tissue healing in type 2 diabetic db/db mice, which may be related to its anti-inflammatory response and promotion of collagen deposition and vascular regeneration.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; soft tissue wound; low-intensity pulsed electromagnetic field; inflammatory cytokines; tensile strength

【收稿日期】2020-02-27

【基金项目】陕西省自然科学基金(2018JQ8056)

【作者简介】霍博, 护师, 从事护理相关的临床和科研工作, E-mail: 1217912907@qq.com

【通信作者】张美霞, 主任护师, 从事护理相关的临床和科研工作, E-mail: 2556008698@qq.com

前言

糖尿病是一种以机体葡萄糖代谢失衡为主要表现的代谢性的临床疾病。全球约有超过4.2亿人饱受糖尿病折磨,而预期到2030年全球的糖尿病患者可能达到8亿多人。糖尿病主要包括1型糖尿病和2型糖尿病两类,其中2型糖尿病的患者人数占糖尿病总人数约90%。2型糖尿病与遗传学因素、生活方式和饮食结构改变等密切相关,多发生于中老年人群^[1-2]。随着我国人口老龄化进程的加剧,2型糖尿病患者的人数也在逐年增加。2型糖尿病溃疡及创伤愈合困难问题一直是临床上最为棘手的问题,严重影响着病患的生理和心理健康^[3-4]。而目前临床上尚缺乏安全有效的加速2型糖尿病组织损伤修复的治疗方法。低强度的脉冲电磁场(Pulsed Electromagnetic Fields, PEMF)作为一种安全、有效的物理治疗方法,已于20世纪80年代开始应用于临床骨折及骨不连的治疗^[5]。近年来的临床和动物实验研究均发现,PEMF能够加速软组织损伤的修复和愈合进程^[6-7]。也有研究发现,PEMF对于链脲佐菌素诱发的1型糖尿病软组织损伤修复具有积极效果^[8-9]。但是,PEMF对于人口比例最大的2型糖尿病软组织损伤的作用效果如何国内外尚未见研究报道。在本研究中,通过使用瘦素受体缺陷诱导的自发型2型糖尿病db/db小鼠,系统探究低强度PEMF对于2型糖尿病组织损伤修复的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料、试剂和仪器

3月龄雄性2型糖尿病db/db小鼠(C57BKS背景,BKS.Cg-m+/+Lepr^{db}/J)及与其同背景的野生型小鼠(美国Jackson lab);用于麻醉的戊巴比妥钠缓冲液(美国Sigma公司);便携式血糖仪(美国Johnson & Johnson公司);生物组织力学测试系统(东莞昆仑仪器有限公司);数码照相机(日本Canon公司);组织切片机(德国Leica公司);高斯计(美国Lakeshore公司);ELISA试剂盒(武汉华美生物公司);有机玻璃小鼠饲养笼(电磁场研究专用),课题组自制。

1.2 实验设计和分组

本研究中涉及的动物实验程序均由空军军医大学动物伦理委员会授权批准。动物饲养于恒定温度(23℃)、湿度(50%~60%)和12 h/12 h光-暗循环的房间内。在整个实验期间,所有动物均可随意摄取干净自来水和标准鼠粮。动物适应环境1周后,通过尾静脉取血,使用血糖仪测量db/db小鼠的随机血糖值,血糖值高于16.7 mmol/L的小鼠被纳入实验。整个实验分为3组,

分别为Wild type野生型小鼠组(Wild type)、db/db小鼠组(db/db)及db/db施加以PEMF刺激组(db/db+PEMF),每组16只。分别于创伤模型构建的第5、12、19天处死每组的4只小鼠,每组剩余的4只小鼠于伤口完全愈合的时间点处死。全部3组小鼠均构建背部表皮创伤模型,仅db/db+PEMF组小鼠施加以全身的PEMF刺激,每天刺激2 h。

1.3 背部软组织创伤模型的构建

使用戊巴比妥钠麻醉小鼠,并用酒精刮除和清洁其背部。使用皮肤活检针在每只小鼠的背部构建直径为1 cm的圆形伤口,充分分离皮肤、皮下组织和肌纤维膜组织,并覆盖Tegaderm透明伤口敷料,以保持伤口湿润。术后注射青链霉素合剂以防止感染的发生。

1.4 低强度PEMF发生装置

PEMF发生装置为课题组自行研制,整个系统主要包括电磁信号发生器和3-Helmholtz线圈系统两部分。PEMF波形脉冲群波形,频率为15 Hz,该波形已在课题组的先前研究中广泛使用,且其对于机体的积极作用效果也已被大量研究证实^[10-12]。3个线圈(直径80 cm)同轴放置,彼此相距30.4 cm,中心线圈和外部线圈的匝数分别为266和500,该三线圈结构比两个线圈的组装具有更高的磁场均匀性^[10]。塑料笼的底部与线圈的中心对齐,以确保小鼠位于电磁场的中心位置。使用高斯计测量线圈中的电磁场强度,线圈中的峰值磁场强度为2.0 mT,而背景电磁场为(50±2) μT。

1.5 伤口闭合率的检测分析

使用数码相机拍摄各时间点小鼠伤口。在拍摄照片前,动物被固定在观察台上,相机放置于观察台上方20 cm处,数码照片的水平和垂直分辨率分别为2 600和2 000像素。使用Matlab软件对伤口面积进行分析计算。利用颜色阈值、边缘提取等多种图像分析算法对目标信息进行识别和提取。伤口愈合率作为评价伤口愈合过程的标准,按以下公式表示:伤口愈合率=(第0天的原始伤口面积-第n天的伤口面积)/第0天的原始伤口面积。

1.6 伤口组织抗张强度、伤口组织病理和ELISA检测分析

在每个时间点的动物处死后,组织样本被切成3块:一块用于生物力学测试,一块用于组织病理性检测分析,另一块用于ELISA检测。将用于评估伤口抗张强度的组织样本修剪成8 mm×8 mm的方形条带。实验前,将样品浸泡在生理盐水溶液中,以避免组织性能发生变化。采用生物力学材料测试系统进

行组织拉伸实验。皮肤条固定在张力计的两个夹子之间,伤口部位位于两个夹子的中线处。通过两个夹钳的20 mm/min移动,向条带施加拉力。当观察到试样的最终破裂时,记录最大断裂载荷。组织学研究的伤口标本固定于10%中性福尔马林中,随后进行石蜡包埋,用锯片切片机切割5 μm 厚的切片。切片脱皮复水,梅耶尔苏木精伊红染色,光学显微镜下观察载玻片。ELISA检测使用武汉华美生物公司的ELISA商业试剂盒,检测指标分别为IL-1 β 、TNF- α 、VEGF和IGF-1,所有操作严格按照试剂盒的说明执行。

1.7 统计学方法

使用Microsoft SPSS 22.0计算机软件进行数据统计分析,所有数据用均数 \pm 标准差表示,采用单因素方差分析(ANOVA)评估3组之间的差异。一旦发现显著性差异,采用确定Benferoni检验确定两组之

间的差异显著性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低强度的全身PEMF刺激对于db/db小鼠血糖和体质量的影响

3组小鼠在组织创伤模型构建后的第5、12、19天的体质量和血糖水平如图1所示。db/db组和db/db+PEMF组小鼠的体质量值在术后的第5、12、19天均显著高于Wild type组小鼠($P<0.01$),但是db/db组和db/db+PEMF组小鼠的体质量值在各时间点均无统计学差异($P>0.05$)。与Wild type组小鼠相比,db/db组和db/db+PEMF组小鼠的血糖值在术后的第5、12、19天均显著升高($P<0.01$),但是db/db组和db/db+PEMF组小鼠的血糖值在各时间点均无统计学差异($P>0.05$)。结果显示,低强度的全身PEMF刺激并未对db/db小鼠的体质量和血糖产生显著性影响。

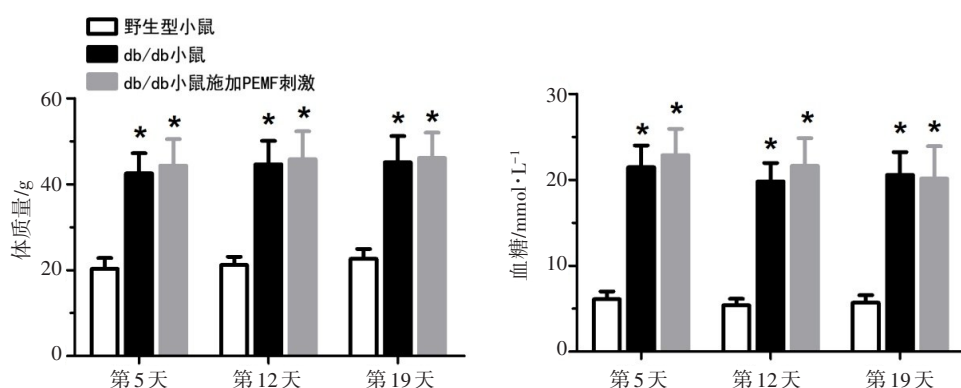


图1 PEMF刺激对于db/db小鼠血糖和体质量的影响

Fig.1 Effects of pulsed electromagnetic field (PEMF) stimulation on blood glucose and body weight in db/db mice

*表示db/db组 vs Wild type组小鼠或db/db+PEMF组小鼠 vs Wild type组小鼠, $P<0.05$

2.2 低强度的全身PEMF刺激对于db/db小鼠伤口愈合速率和总愈合时间的影响

3组小鼠在组织创伤模型构建后的第5、12、19天的伤口愈合率以及伤口组织的创伤总愈合时间如图2所示。结果显示,2型糖尿病的db/db组在术后的第5、12、19天的伤口愈合率均显著低于Wild type组($P<0.01$),而db/db+PEMF组小鼠的伤口愈合率在术后的第5、12、19天均显著高于db/db组(分别增加101.9%、47.1%和39.4%)。db/db组的创伤总愈合时间相比于Wild type组增加了74.2%,而PEMF刺激显著降低了db/db小鼠的伤口总愈合时间(总愈合时间减少31.3%)。

2.3 低强度的全身PEMF刺激对于db/db小鼠伤口组织抗张强度的影响

3组小鼠在组织创伤模型构建后的第5、12、19天

的伤口组织抗张强度如图3所示。结果显示,db/db组小鼠创伤组织的生物力学的抗张强度在术后的第5、12、19天均显著低于Wild type组($P<0.01$),而db/db+PEMF组小鼠的创伤组织的生物力学的抗张强度在术后的第5、12、19天均显著高于db/db组(分别增加97.8%、58.3%和69.2%)。

2.4 低强度的全身PEMF刺激对于db/db小鼠伤口组织病理学的影响

3组小鼠在组织创伤模型构建后的第12天的伤口组织病理学结果如图4所示。结果显示,db/db组小鼠的组织创伤位置在术后的第12天仍可见大量的炎性细胞聚集,而Wild type组小鼠的组织创伤位置的炎性细胞数量较少。而经过低强度的PEMF治疗12 d后,db/db小鼠的组织创伤位置的炎性细胞在术后12 d显著减少。

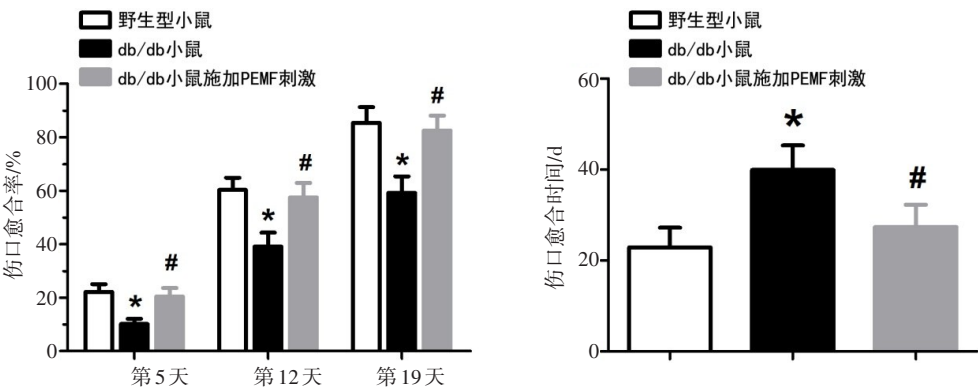


图2 PEMF刺激对于db/db小鼠伤口愈合速率和总愈合时间的影响

Fig.2 Effects of PEMF stimulation on the wound healing rate and overall wound healing period in db/db mice

*表示db/db组小鼠vs Wild type组小鼠, $P<0.05$; #表示db/db+PEMF组小鼠vs db/db组小鼠, $P<0.05$

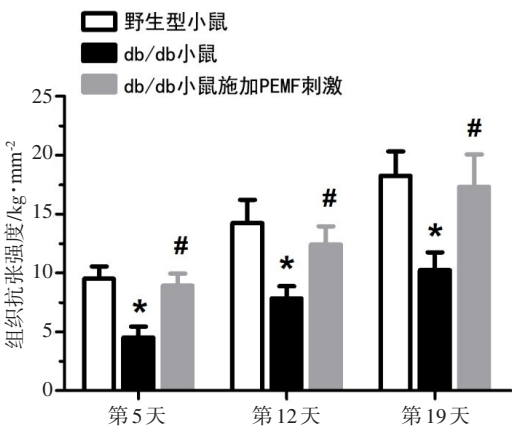


图3 PEMF刺激对于db/db小鼠伤口组织抗张强度的影响

Fig.3 Effects of PEMF stimulation on the wound tensile strength in db/db mice

*表示db/db组小鼠vs Wild type组小鼠, $P<0.05$; #表示db/db+PEMF组小鼠vs db/db组小鼠, $P<0.05$

2.5 低强度PEMF刺激对于db/db小鼠伤口组织中重要细胞因子表达的影响

3组小鼠在组织创伤模型构建后的第5、12、19天的伤口组织中重要细胞因子表达水平如图5所示。ELISA结果显示, Wild type组的炎症相关因子IL-1 β 和TNF- α 的蛋白表达水平呈现出先增后减的变化趋势(以第12天最高)。而db/db组的IL-1 β 和TNF- α 的蛋白表达水平在术后的第5、12、19天均显著高于Wild type组($P<0.01$)。而db/db+PEMF组的IL-1 β 和TNF- α 表达水平在术后的第5、12、19天均显著低于db/db组($P<0.05$), 并且db/db组和db/db+PEMF组的IL-1 β 和TNF- α 的表达水平在术后的第5、12、19天无统计学差异。ELISA结果进一步显示, db/db组的VEGF和IGF-1的表达水平在术后的第5、12、19天均

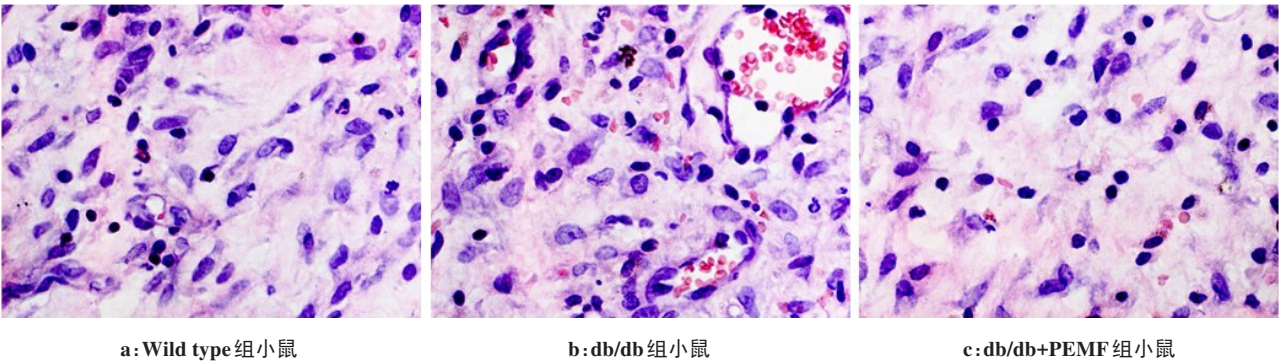


图4 PEMF刺激对于db/db小鼠伤口组织病理学的影响(术后12 d, 40倍镜)

Fig.4 Histopathological effects of PEMF stimulation on the wound tissues in db/db mice (on the 12nd day postoperatively, with 40 \times objective)

显著低于Wild type组($P<0.01$), 而db/db+PEMF组的VEGF和IGF-1表达水平在术后的第5、12、19天均显著高于db/db组($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 PEMF显著改善db/db小鼠创伤愈合能力, 且与其对糖尿病体征的影响无关

目前糖尿病软组织损伤的动物实验大多使用腹腔注射链脲佐菌素的方式构建糖尿病动物模型, 但是该方法构建的糖尿病模型为典型的1型糖尿病体

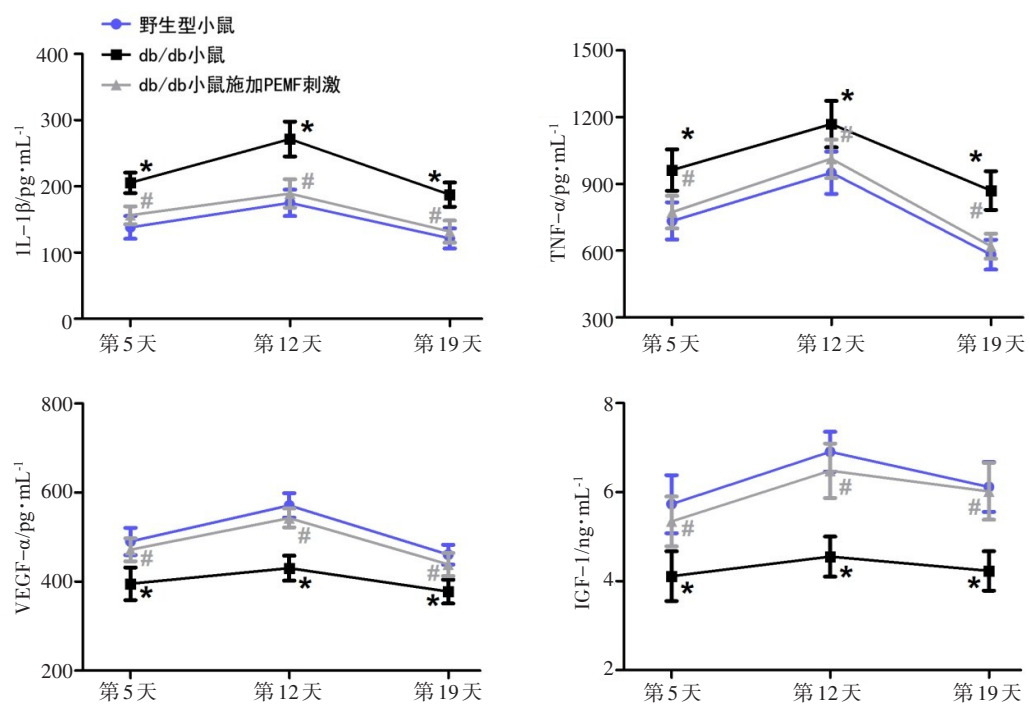


图5 通过ELISA检测PEMF对db/db小鼠伤口组织中重要细胞因子表达的影响

Fig.5 Effects of PEMF stimulation on the expressions of critical cytokines in the wound tissues in db/db mice based on ELISA assay
*表示db/db组小鼠 vs Wild type组小鼠, $P<0.05$; #表示db/db+PEMF组小鼠 vs db/db组小鼠, $P<0.05$

征。在本研究中使用db/db小鼠作为2型糖尿病动物模型。db/db小鼠是一种全身性瘦素受体缺陷小鼠，表现为摄食过度、肥胖、高血糖和高胰岛素血症等典型的2型糖尿病体征。db/db小鼠也是目前研究2型糖尿病及其相关并发症(如心血管疾病、肾病、神经病变、骨骼肌病变、溃疡等)最为理想的动物模型^[13-14]。

本文研究发现,2型糖尿病的db/db小鼠相比于非糖尿病小鼠在软组织损伤模型构建的第5、12、19天表现出伤口愈合修复的显著延迟,并且db/db小鼠的创伤总愈合时间也相比于非糖尿病小鼠显著延长。上述特征与临床上的2型糖尿病患者的软组织创伤愈合特征相似。本研究也进一步揭示,低强度的PEMF刺激从术后的第5天开始即显著加速了db/db小鼠软组织创伤的修复进程,使2型糖尿病的创伤修复速率进程与非糖尿病小鼠类似,并且PEMF将2型糖尿病小鼠的创伤总愈合时间缩短约30%。同时研究也发现,在治疗的全过程中PEMF并未对db/db小鼠的血糖和体质量产生显著影响,提示PEMF对2型糖尿病动物软组织损伤的修复效应与其对糖尿病体征的影响无关。

3.2 PEMF改善db/db小鼠软组织抗张强度,揭示了对胶原结构的潜在优化效应

软组织的抗张强度是评价伤口愈合的重要生物力学指标,能够反映新合成和沉积的胶原蛋白的数

量、质量和排列结构特性^[15]。在伤口愈合过程中,随着组织的持续修复,皮肤的抗张强度会逐渐增加。本研究的生物力学检测结果表明,2型糖尿病大鼠在整个创面愈合全过程中,其软组织的抗张强度明显低于正常大鼠。先前的动物实验研究也报道了类似的实验结果^[16]。更重要的是,本研究发现低强度的PEMF刺激在软组织损伤模型构建的第5、12、19天均显著提升了db/db小鼠软组织的生物力学抗张强度。研究表明,PEMF对于提升2型糖尿病动物的胶原纤维数量、加速胶原纤维沉积、促进胶原纤维的排布和定位具有积极效应,从而有助于改善2型糖尿病软组织的修复速率和修复质量。

3.3 PEMF抑制db/db小鼠伤口组织炎症因子表达、促进血管新生细胞因子表达

伤口愈合是一个系列化的复杂事件,涉及到成纤维细胞、内皮细胞、角质细胞、炎症细胞和细胞外基质之间的合作和相互作用^[17]。组织病理学染色结果显示,2型糖尿病db/db小鼠在组织损伤的修复进程中(术后12 d)其炎症细胞数量显著多于非糖尿病小鼠。本研究发现,2型糖尿病小鼠在软组织创伤后的炎症反应相比于非糖尿病小鼠更为严重,而这种更为剧烈的炎症反应也会进一步阻碍软组织的创伤修复进程。ELISA结果也进一步揭示了2型糖尿病db/db小鼠损伤软组织中促炎性因子IL-1β和TNF-α的表达在术后的第5、12、19天相比于非糖尿病小鼠

均显著增加。而组织病理性结果和ELISA结果均揭示,低强度的PEMF刺激在组织创伤愈合的各阶段均能够抑制2型糖尿病小鼠的过度炎性反应,从而在促进db/db小鼠的组织损伤愈合中发挥积极效应。

血管内皮生长因子VEGF是一种组织创伤愈合的重要细胞因子,它参与血管生成并使毛细血管通透性增加,能够反映创伤修复过程中的血管再生情况^[18]。ELISA结果显示,db/db小鼠损伤软组织中的VEGF表达水平在术后的第5、12、19天均显著低于正常小鼠,提示2型糖尿病破坏了组织损伤修复过程中的血管再生能力。而PEMF刺激在术后的第5、12、19天均显著增加了db/db小鼠损伤组织中的VEGF表达,提示PEMF具有显著的促新生血管再生潜能。其次,胰岛素样生长因子IGF-1作为机体中最重要的促组织生长和修复因子,而IGF-1同样具有促血管再生的作用^[19]。笔者同样发现其在db/db小鼠损伤软组织中表达显著降低。而本研究也发现,PEMF治疗在术后的第5、12、19天均能够显著提升2型糖尿病小鼠软组织中的IGF-1表达,进一步证实PEMF的促组织再生和促血管新生的潜能。

3.4 结论

综上所述,本研究首次揭示了低强度PEMF能够显著加速2型糖尿病db/db小鼠的软组织修复速率并改善组织的生物力学弹性属性,这一效应可能与PEMF的抗炎性反应及促血管再生具有密切关系。本研究结果提示,低强度PEMF作为一种安全、经济的物理作用方式,有望成为临床治疗2型糖尿病组织创伤愈合困难这一棘手问题的新治疗手段。

【参考文献】

- [1] FUCHSBERGER C, FLANNICK J, TESLOVICH T M, et al. The genetic architecture of type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2016, 536 (7614): 41-47.
- [2] CHATTERJEE S, KHUNTI K, DAVIES M J. Type 2 diabetes[J]. *Lancet*, 2017, 389(10085): 2239-2251.
- [3] SALAZAR J J, ENNIS W J, KOH T J. Diabetes medications: impact on inflammation and wound healing [J]. *J Diabetes Complications*, 2016, 30(4): 746-752.
- [4] BONNER T, FOSTER M, SPEARS-LANOIX E. Type 2 diabetes-related foot care knowledge and foot self-care practice interventions in the United States: a systematic review of the literature[J]. *Diabet Foot Ankle*, 2016, 7: 29758.
- [5] DAISH C, BLANCHARD R, FOX K, et al. The application of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) for bone fracture repair: past and perspective findings [J]. *Ann Biomed Eng*, 2018, 46(4): 525-542.
- [6] GOUDARZI I, HAJIZADEH S, SALMANI M E, et al. Pulsed electromagnetic fields accelerate wound healing in the skin of diabetic rats[J]. *Bioelectromagnetics*, 2010, 31(4): 318-323.
- [7] ATHANASIOU A, KARKAMBOUNAS S, BATISTATOU A, et al. The effect of pulsed electromagnetic fields on secondary skin wound healing: an experimental study [J]. *Bioelectromagnetics*, 2007, 28(5): 362-368.
- [8] CHOI M C, CHEUNG K K, LI X, et al. Pulsed electromagnetic field (PEMF) promotes collagen fibre deposition associated with increased myofibroblast population in the early healing phase of diabetic wound[J]. *Arch Dermatol Res*, 2016, 308(1): 21-29.
- [9] CHOI H M, CHEUNG A K, NG G Y, et al. Effects of pulsed electromagnetic field (PEMF) on the tensile biomechanical properties of diabetic wounds at different phases of healing [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191074.
- [10] JING D, CAI J, WU Y, et al. Pulsed electromagnetic fields partially preserve bone mass, microarchitecture, and strength by promoting bone formation in hindlimb-suspended rats[J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(10): 2250-2261.
- [11] JING D, ZHAI M, TONG S, et al. Pulsed electromagnetic fields promote osteogenesis and osseointegration of porous titanium implants in bone defect repair through a Wnt/ β -catenin signaling-associated mechanism[J]. *Sci Rep*, 2016, 24(6): 32045.
- [12] CAI J, LI W, SUN T, et al. Pulsed electromagnetic fields preserve bone architecture and mechanical properties and stimulate porous implant osseointegration by promoting bone anabolism in type 1 diabetic rabbits[J]. *Osteoporos Int*, 2018, 29(5): 1177-1191.
- [13] HINDER L M, MURDOCK B J, PARK M, et al. Transcriptional networks of progressive diabetic peripheral neuropathy in the db/db mouse model of type 2 diabetes: an inflammatory story[J]. *Exp Neurol*, 2018, 305: 33-43.
- [14] JING D, LUO E, CAI J, et al. Mechanical vibration mitigates the decrease of bone quantity and bone quality of leptin receptor-deficient db/db mice by promoting bone formation and inhibiting bone resorption[J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(9): 1713-1724.
- [15] BURKHARDT R, RUIZ MAGAZ V, HÄMMERLE C H, et al. Interposition of a connective tissue graft or a collagen matrix to enhance wound stability-an experimental study in dogs [J]. *J Clin Periodontol*, 2016, 43(4): 366-373.
- [16] LI D, LI L, XU T, et al. Effect of low molecular weight oligopeptides isolated from sea cucumber on diabetic wound healing in db/db mice[J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(1): E16.
- [17] TAKEO M, LEE W, ITO M. Wound healing and skin regeneration [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015, 5(1): a023267.
- [18] SIMONS M, GORDON E, CLAESON-WELSH L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signaling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(10): 611-625.
- [19] CAI W, SAKAGUCHI M, KLEINRIDDERS A, et al. Domain-dependent effects of insulin and IGF-1 receptors on signalling and gene expression[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14892.

(编辑:陈丽霞)