基础研究 文章编号:0253-3626(2010)08-1167-04

大鼠皮肤切创愈合过程中 VEGF,TGF-β1 蛋白的表达

夏 鹏[1],童文祥[2],喻永敏[3],李刚莲[1],马智华[3],杨 里[1],万立华[1]

(1.重庆医科大学基础医学院法医学教研室,重庆 400016;2.重庆市公安局九龙坡区分局刑警支队,重庆 400039;3.重庆市公安局刑警总队技术处,重庆 400042)

【摘 要】目的:通过研究皮肤切创愈合过程中血管内皮生长因子(Vascular endothelial cell growth factor,VEGF)、转化生长因子β1(Transforming growth factor-β1,TGF-β1)的表达与损伤时间的关系,探讨 VEGF、TGF-β1 能否在法医学判断损伤时间方面作为一个指标。方法:用大鼠建立皮肤切创模型,按随机原则分为实验组、正常对照组和死后损伤组,采用免疫组化(Immunohistochemistry,IHC)方法对大鼠皮肤切创愈合过程中 VEGF、TGF-β1 的表达变化进行观察。结果:实验组 VEGF、TGF-β1 在创伤周围组织中的表达高于对照组及死后伤组($P<0.05$);VEGF 在创伤后 3~24 h 主要在中性粒细胞、巨噬细胞和成纤维细胞中表达,阳性表达的强度与创伤后时间正相关;2 d 出现在新生肉芽组织血管内皮细胞、巨噬细胞及成纤维细胞中,呈强阳性表达,于伤后 4 d 达到峰值;以后各组阳性细胞逐渐减少,呈弱阳性表达,与对照组比较差异有显著性($P<0.05$);TGF-β1 的生前伤后变化规律与 VEGF 基本相似。结论:VEGF、TGF-β1 在创伤修复过程中的表达呈现时序性规律,可以为法医学损伤时间推断提供一种新的指标。

【关键词】皮肤切创;VEGF;TGF-β1;损伤时间;免疫组化

【中国图书分类法分类号】R89 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-03-09

Expression of protein vEGF and TGF-β1 in the process of cicatrization of incised wounds on rat skin

XIA Peng, et al

(*Department of Forensic Medical, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate whether the expression of protein VEGF and TGF-β1 can be used as an index to estimate injury age in the field of forensic medicine by approaching the temporal relation of VEGF and TGF-β1 expression with injury in the healing process of the incised wounds on rat skin. *Methods*: Experimental rat models were established by incisions made on the rat skin. the rat models were divided randomly into three groups: the experimental group, the normal group, and the postmortem injured group.The expression of VEGF and TGF-β1 were observed with Immunohistochemical techniques in their process of cicatrization. *Results*: In the experimental group, the expression of VEGF and TGF-β1 were higher than those in the normal control and postmortem injury group ($P<0.05$). The expression of VEGF mainly existed in the neutrophilic granulocyte, macrophages and fibroblasts 3~24 h after injury, and its positive level increased in direct proportion to the wound age. Two days after the injury, the presence of VEGF was observed in the macrophages, fibroblasts, and the vascular endothelial cell of neoformative granulation tissue with strong positive expression, reaching a summit on the 4thday after the injury. The positive cells in both groups then gradually decreased, with the protein expression turning weakly positive. Their difference with the normal control group is significant($P<0.05$). The changing rule of TGF-β1 expression in the experimental group was similar to that of the VEGF expression. *Conclusion*: The expression of VEGF and TGF-β1 during the cicatrization process follows temporal rules, thus can be provided as an new index to judge the Injury age in the field of forensic medicine.

【Key words】Skin Incised wound; VEGF;TGF-β1; Injury age; Immunohistochemistry

创伤修复是一个受多种因素调控的复杂过程[1]。近年来,国内外学者通过研究细胞因子在脑损伤修复中的表达发现细胞因子在脑损伤修复中与损伤时间有密切的关系[2,3]。而针对法医学中最常见的皮肤损伤时间和细胞因子表达的关系研究相对较少。此次实验通过研究血管内皮生长因子(Vascular endothelial cell growth factor,VEGF)和转化生长因子 β1(Transforming growth factor-β1,TGF-β1)在大鼠皮肤切创模型中的表达和损伤时间的关系,来探讨在法医学的损伤时间推断中,VEGF、TGF-β1 能否作为一个指标诊断生前伤及损伤时间。

作者介绍:夏 鹏(1976-),男,硕士,

研究方向:法医病理学。

通讯作者:万立华,男,教授,E-mail:ccsw@cqmu.edu.cn。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

清洁成年 SD 大白鼠 105 只（由重庆医科大学实验动物中心提供），雌雄不限，体重 180～200 g，随机分成正常对照组和实验组。对照组为未造创的大白鼠 5 只，死后即刻取相同部位皮肤；实验组按生前造创和死后造创不同时相点分为生前伤组（伤后即刻、0.5、1、2、3、6、12、24 h、2、3、4、5、6、7、10、12、14 d 共 17 组）和死后伤组（0.5、1、2 h 共 3 组），每组 5 只。

1.2 皮肤切创模型的建立

实验前大鼠背臀部剪毛处理，1%戊巴比妥 30 mg/kg 腹腔注射麻醉。常规手术消毒，于背臀部脊柱两旁 0.5 cm 处，纵行切开皮肤，创口长约 1.5 cm，深达肌层。创面自然止血，不包扎，不施药。造创后送清洁单笼饲养，给予消毒饲料和蒸馏水，并保持创面干燥。于造创后按上述时相点断颈处死，取创口及周围 0.5 cm 皮肤全层及皮下组织。对照组动物不造创，断颈处死后在相同部位取材。

1.3 常规 HE 染色

经造创所取皮肤组织放入 4%多聚甲醛/PBS 中室温固定 24 h，常规脱水、包埋，制成 0.5 μm 厚的切片，HE 染色，光镜观察。

1.4 免疫组化染色

一抗 VEGF、TGF-β1 兔抗鼠单克隆抗体，二抗及 SABC 试剂盒，DAB 显示剂均购自武汉博士德生物技术公司。将所取检材放入 4%多聚甲醛/PBS 中室温固定 24 h，常规脱水、包埋，APES 处理载玻片，制成 0.5 μm 厚的切片。微波抗原修复，PBS 缓冲液清洗。正常羊血清封闭，兔抗鼠 VEGF、TGF-β1 单克隆抗体作为一抗 4℃孵育过夜。SABC 法进行免疫组化染色，DBA 显色。苏木素复染，镜检。按染色强度分为 4 级：阴性：胞浆或胞膜未见着色；弱阳性：胞浆或胞膜着淡黄色；阳性：胞浆或胞膜着黄色或浅褐色；强阳性：胞浆或胞膜着深褐色。各组均以 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.5 数据图像和统计学分析

每张切片随机取 5 个高倍视野（×400），计数视野中包括炎性细胞、成纤维细胞和血管内皮细胞的阳性细胞总数，计算平均每个视野中的阳性细胞数，每组 5 张切片，再计算每组平均每个高倍视野中的阳性细胞数。统计学以各组实验数据 $\bar{x} \pm s$ 表示，应用 SAS8.2 软件进行单因素方差分析及两两比较用 SNK 检验。

2 结 果

2.1 创口皮肤组织基本病理变化

生前伤组损伤后 0.5～1 h 伤口已止血。镜下见真皮层毛细血管扩张充血，周围见少量中性粒细胞浸润，表皮层未见炎性细胞浸润。2～3 h 真皮层毛细血管明显扩张充血，真皮层内炎性细胞浸润增多，仍以中性粒细胞为主，表皮层可见少量炎性细胞浸润（图 1）。

伤后 6～24 h 各组真皮层和表皮层均可见毛细血管明显扩张，大量中性粒细胞、巨噬细胞浸润。2 d 组创缘皮肤已干燥结痂，肉芽组织开始形成，并向创口生长。3～4 d 组大量肉芽组织形成，除炎症细胞外，尚可见大量成纤维细胞（图 2）。5～6 d 组可见创口已基本为肉芽组织填平，炎性细胞少见。以后各组见创口基本愈合，肉芽组织纤维化，向瘢痕组织转变。死后伤各组无生前伤组改变，每只大鼠皮肤均变干、变薄。

2.2 VEGF 免疫组化染色结果

对照组表皮细胞呈弱阳性表达。死后伤 0.5 h 组表皮细胞呈弱阳性表达（图 3），死后 1 h 组与 2 h 组表达呈阴性。生前损伤组中 0～2 h 组在表皮和毛囊呈弱阳性表达，但与对照组比较差异无显著性（$P>0.05$）；伤后 3～24 h，创缘处表皮层、毛囊染色呈阳性，中性粒细胞、巨噬细胞浸润，阳性细胞数随伤后时间增加，与对照组比较差异有显著性（$P<0.05$）；2～4 d 组在新生肉芽组织血管内皮细胞、巨噬细胞及成纤维细胞中呈强阳性表达（图 5），阳性细胞数于伤后 4 d 达到峰值，与对照组比较差异有显著性（$P<0.05$）；5～6 d 组巨噬细胞和成纤维细胞阳性表达的数量开始减少，表达呈阳性；7 d 以后各组阳性细胞逐渐减少，呈弱阳性表达（图 6）；至伤后 14 d 表达部位转变为表皮细胞，但与对照组比较差异有显著性（$P<0.05$）。

2.3 TGF-β1 免疫组化染色结果

对照组及死后伤各组观察结果与 VEGF 表达结果相似。生前伤组 0.5 h 与对照组相似，仍呈弱阳性表达，与对照组比较差异无显著性（$P>0.05$）；1～3 h 组在创缘处表皮、毛囊呈阳性表达（图 7），远离创缘的表皮、真皮免疫染色不增强，此时相组与对照组比较差异有显著性（$P<0.05$）；12 h 组可见大量巨噬细胞、中性粒细胞阳性表达细胞数明显增多（图 8），与对照组比较差异有显著性（$P<0.05$）；2～4 d 组与 VEGF 表达结果相似，呈强阳性（图 9），阳性细胞数于 4 d 达到峰值，与对照组比较差异有显著性（$P<0.05$）。以后各时相点表达强度逐渐降低，至 14 d 表达部位由炎性细胞、修复细胞转变为皮肤表皮（图 10）。

2.4 各组 VEGF、TGF-β1 阳性细胞表达情况见表 1。

3 讨 论

VEGF 是单基因编码高度保守的同源二聚体分泌性多肽因子，通过 VEGF 受体起作用。是一种对血管生成有极强诱导作用的多功能诱导因子，能特异性作用于血管内皮细胞，具有促进血管内皮细胞分裂、增殖、细胞质钙聚集以及诱导血管生成和使血管通透性增强等作用，是已知促血管生成所有因子中最强因子[4]。TGF-β1 是一种具有广泛生物学效应的多肽细胞因子，参与细胞的增殖分化、代谢和内外间质的形成，在组织创伤、修复、炎症、骨质再生、肿瘤发生等病理生理过程中起重要作用[5,6]。

根据本实验观察结果，在皮肤创伤修复过程的早期 VEGF、TGF-β1 的表达呈弱阳性，阳性细胞主要存在于表皮及毛囊，与对照组比较差异无显著性。说明创伤早期的 VEGF、

表 1 各组平均每个高倍视野中的 VEGF、TGF-β1 阳性细胞计数($\bar{x} \pm s$)

组别	VEGF 阳性细胞计数	TGF-β1 阳性细胞计数
对照组	1.62 ± 0.30[a]	2.32 ± 0.45[a]
伤后即刻	1.81 ± 0.38[a]	2.12 ± 0.33[a]
伤后 0.5 h	1.55 ± 0.34[a]	1.98 ± 0.48[a]
伤后 1 h	3.65 ± 0.81[a]	6.22 ± 0.68[b]
伤后 2 h	4.81 ± 0.87[a]	10.32 ± 1.08[b]
伤后 3 h	11.07 ± 1.78[b]	14.54 ± 1.97[b]
伤后 6 h	19.25 ± 3.12[b]	19.87 ± 2.16[b]
伤后 12 h	37.08 ± 4.78[b]	23.55 ± 2.39[b]
伤后 24 h	45.22 ± 4.70[b]	28.77 ± 3.76[b]
伤后 2 d	52.55 ± 5.25[b]	36.75 ± 3.05[b]
伤后 3 d	57.30 ± 4.18[b]	42.70 ± 3.13[b]
伤后 4 d	61.67 ± 5.88[b]	47.66 ± 3.81[b]
伤后 5 d	44.92 ± 4.67[b]	29.11 ± 2.43[b]
伤后 6 d	35.23 ± 3.11[b]	23.46 ± 2.29[b]
伤后 7 d	24.56 ± 3.42[b]	18.07 ± 2.31[b]
伤后 10 d	18.45 ± 2.04[b]	14.66 ± 2.23[b]
伤后 12d	13.78 ± 1.68[b]	10.08 ± 2.10[b]
伤后 14 d	8.92 ± 1.21[b]	6.09 ± 1.44[b]
死后伤 0.5 h	1.52 ± 0.52[a]	2.01 ± 0.44[a]
死后伤 1 h	0.40 ± 0.15[a]	0.31 ± 0.11[a]
死后伤 2 h	0.31 ± 0.11[a]	0.20 ± 0.09[a]

[a]：与对照组及死后伤组比较差异无统计学意义，($P>0.05$)；[b]：与对照组及死后伤组比较差异有统计学意义，($P<0.05$)



图 1 伤后 24 h 创伤区大量炎性细胞浸润，毛细血管扩张 HE × 100

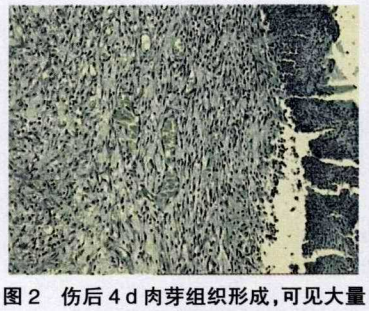


图 2 伤后 4 d 肉芽组织形成，可见大量成纤维细胞 HE × 100



图 3 伤后 2 h 创缘表皮 VEGF 弱阳性表达免疫组化染色 × 200

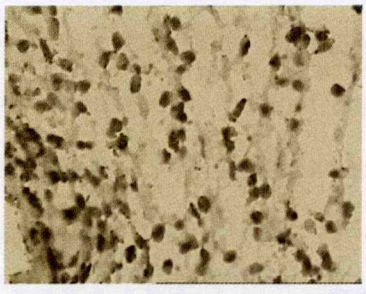


图 4 伤后 12 h 炎症细胞 VEGF 阳性表达免疫组化染色 × 400

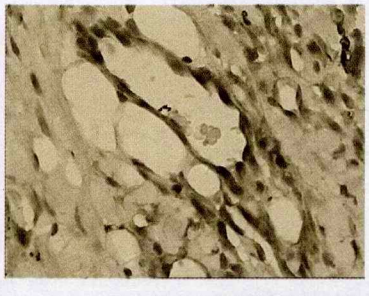


图 5 伤后 4 d 血管内皮细胞和成纤维细胞 VEGF 强阳性表达免疫组化染色 × 400

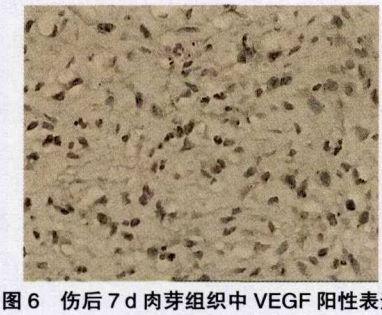


图 6 伤后 7 d 肉芽组织中 VEGF 阳性表达减弱免疫组化染色 × 400

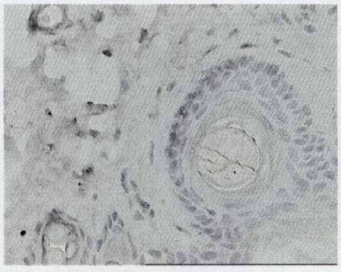


图 7　伤后 2 h 创缘表皮 TGF-β1 阳性表达免疫组化染色 ×400

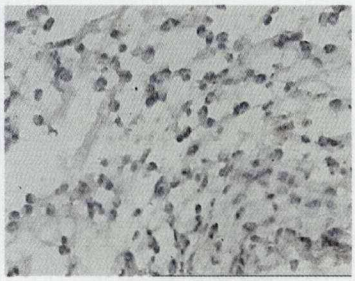


图 8　伤后 12 h 炎症细胞明显增多，TGF-β1 阳性表达免疫组化染色 ×400

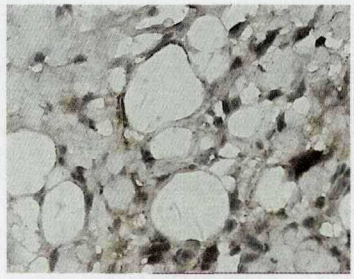


图 9　伤后 4 d 血管内皮细胞和成纤维细胞 TGF-β1 强阳性表达免疫组化染色 ×400

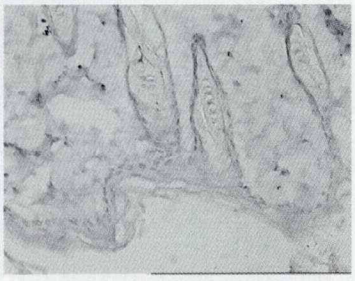


图 10　伤后 14 d 表皮及毛囊 TGF-β1 弱阳性表达免疫组化染色 ×200

TGF-β1 早期表达主要源于损伤的表皮，局部的出血和渗出液，表达强度低，与常态下皮肤表皮细胞因子的表达强度无统计学差异。创口早期表达的 TGF-β1，尚可作为趋化因子，使炎性细胞和成纤维细胞到达创口[7,8]，并通过与受体结合，活化炎性细胞和修复细胞，诱导其它生长因子，对修复起到正向调节作用[9]。TGF-β1 在 3 h 后，VEGF 在 6 h 后的阳性表达主要存在于中性粒细胞和巨噬细胞，表皮及毛囊上皮细胞的表达逐渐减弱，说明由于伤后随炎性细胞的趋化、渗出，VEGF 与 TGF-β1 的来源逐渐转变为巨噬细胞、中性粒细胞。TGF-β1 尚活化了巨噬细胞等炎性细胞，诱导其产生 VEGF 等多种细胞因子参与创伤的愈合过程[10]。实验中可观察到 VEGF、TGF-β1 的阳性表达增强，表达部位也由表皮转变为炎性细胞，特别是巨噬细胞。创伤修复中后期，即造创后 2~4 d，VEGF 和 TGF-β1 呈强阳性主要表达于血管内皮和成纤维细胞中，并于伤后 4 d 同时达到峰值，而病理表现出此时大量肉芽组织形成和成纤维细胞聚积，说明随着肉芽组织的增生和成纤维细胞的大量分化增殖，VEGF 和 TGF-β1 的表达已经由炎性细胞为主转变为肉芽组织和成纤维细胞为主。此时 VEGF 与肉芽组织中血管内皮细胞上的血管内皮细胞因子受体（Vascular endothelial cell growth factor receptor，VEGFR）作用，直接促进内皮细胞分化增殖和迁移，促进血管构建和生成，同时，增生的毛细血管内皮细胞也可能通过自分泌的方式，促进肉芽组织毛细血管的增生。创伤修复晚期，我们观察到炎性细胞、成纤维细胞数目减少，肉芽组织增生逐渐停止，皮下组织的阳性表达逐渐减弱，表皮和毛囊上皮的表达逐渐恢复至与正常皮肤一致。说明 VEGF 和 TGF-β1 的分泌与上述细胞的增殖程度正相关，在炎性细胞和修复细胞分泌高峰之后，VEGF 和 TGF-β1 的分泌也随之下降，表达部位转变为常态下的皮肤表皮。

本实验中观察到对照组的表皮呈现弱阳性表达，说明正常皮肤表皮中有少量 VEGF 和 TGF-β1 的存在，其作用可能与维持自身稳态有关[11,12]。死后伤早期亦出现弱阳性蛋白表达，分析其可能原因：①死后伤早期创口仍会有出血，血液成分细胞中含有少量细胞因子；②死后组织自溶引起的假阳性；③死后伤早期对损伤刺激的超生反应[13,14]。

通过此次实验对 VEGF 和 TGF-β1 的初步研究，显示 VEGF、TGF-β1 在创伤修复中发挥着重要作用，其表达在创伤修复过程中呈现出时序性规律。国内的王慧君，李学锋等[15~17]采用 RT-PCR、斑点杂交、原位杂交和实时 PCR 等技术对大鼠皮肤内 TGF-β1 基因的表达进行了研究，结果表明 TGF-β1mRNA 的表达与损伤时间也具有类似相关性。而 Takaniya[18]和周建清等[19]采用 IHC 方法在对 VEGF 研究中也发现皮肤损伤后 VEGF 随时间的这种单峰变化规律，但峰值表达时间比本次实验提前 48 h 出现，分析可能为实验对象和具体检测方法的不同所影响。Corral 等[20]在研究了皮肤损伤后 VEGFmRNA 的表达后发现 VEGFmRNA 在皮肤损伤发生后表达提高 6~7 倍，可持续至伤后 10 d，认为 VEGF 在局部创伤修复中的作用超过了碱性成纤维细胞转化因子（Basic fibroblast growth factor，bFGF）。作者认为深入研究 VEGF 和 TGF-β1 蛋白和基因表达的时间规律以及它们在创伤修复中的作用，不仅可以为法医学损伤时间推断这一难题提供一种新的指标，而且研究 VEGF、TGF-β1 在脑、骨质等损伤愈合、肿瘤发生发展中的表达和作用，还可以为临床创伤治疗、肿瘤治疗、缺血缺氧性疾病的治疗和整形美容等发现新的途径。

参 考 文 献

[1] 张玲莉，丁云川.创伤修复过程中创缘皮肤细胞因子含量变化与损伤时间的关系[J].中国临床康复，2004，23(8)：4906-4907.

[2] 王慧君，秦启生.脑损伤时间推断研究新进展[J].中国法医学杂志，1999，14(4)：250-251.

[3] 汪　枫.脑损伤时间推断的分子生物学研究进展[J].皖南医学院学报，2003，22(3)：232-234.

[4] 刀吉玫，陈千益.血管内皮细胞在损伤修复中的作用[J].大理学院学报，2007，(6 Suppl)：215-217.

[5] Delarco J E，Todaro G J.Growth factors from murine salt'comavirus. transformed cells[J].Proc Nail Aced Sci USA，1978，75 (8)：4001-4005.

[6] Foster C S.Structural and functional aspects oftrans-forming growth factor in prostate cancer and other human maliomncies[J].Human Patholo-

基础研究 文章编号:0253-3626(2010)08-1171-04

CL 316243 对孕大鼠离体子宫平滑肌收缩的作用

晏 飞[1],董 志[1],傅洁民[2],曾凡新[2]

(1. 重庆医科大学生物化学与分子药理学重点实验室,重庆 400016; 2. 重庆医药工业研究院,重庆 400061)

【摘 要】目的:探讨 β_3-肾上腺素受体(Adrenoreceptor,AR)激动剂 CL 316243 对孕大鼠离体子宫平滑肌收缩的作用及其受体选择性。方法:以 β_2-AR 激动剂沙丁胺醇(Salbutamol)作阳性对照,观察累积加入 CL 316243 和沙丁胺醇对未预处理和经美托洛尔(Metoprolol),ICI 118.551 或 SR 59230A 预处理后的缩宫素诱导的孕大鼠子宫平滑肌收缩的影响。放射免疫法检测 CL 316243 和沙丁胺醇对平滑肌中 cAMP 和 cGMP 浓度的影响。结果:CL 316243 对缩宫素诱导的收缩幅度具有浓度依赖性松弛作用。其松弛作用的 E_{max} 值(48.13% ± 5.61%)显著高于沙丁胺醇(35.52% ± 5.15%)($P < 0.05$)。CL 316243 的松弛作用能被 SR 59230A 拮抗而不被美托洛尔或 ICI 118.551 拮抗,沙丁胺醇则是被 ICI 118.551 拮抗而不被美托洛尔或 SR 59230A 拮抗。相比空白对照组,CL 316243 和沙丁胺醇能增加子宫平滑肌 cAMP 浓度,但 cGMP 浓度增加不显著。结论:CL 316243 激活 β_3-AR,增加细胞内 cAMP 浓度,进而松弛孕大鼠离体子宫平滑肌。

【关键词】β_3-肾上腺受体;CL 316243;沙丁胺醇;cAMP

【中国图书分类法分类号】R71 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-01-13

Effects of CL 316243 on isolated term-pregnant rat myometrial strips in vitro

YAN Fei, et al

(*Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of the selective β_3-adrenoreceptor (AR) agonist, CL 316243, on the contractions and levels of cAMP and cGMP of myometrial strips isolated from term-pregnant rats. *Methods*: Salbutamol, an agonist of β_2-AR, was chosen as positive control. We evaluated the effect of increasing concentrations of CL 316243 and salbutamol on oxytocin-induced myometrial contractions with or without metoprolol, ICI 118.551 and SR 59230A. Effects of CL 316243 and salbutamol on cAMP and cGMP levels in isolated myometrial strips were also evaluated by

作者介绍:晏 飞(1983-),男,硕士,研究方向:新药开发与研究。

通讯作者:董 志,男,教授,E-mail:zhidong073@hotmail.com。

gy,1993,24(1):1-3.

[7] Kondo T,Ohshima T.The Dynamics of inflammatory cytokines in the healing process of mouse skin wound:a preliminary study for possible wound age determination[J].Int J Legal Med,1996,108(5):231-236.

[8] Kulkami A B,HuH C G,Becker D,et al.Transforming growth factor null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death [J].Proc Nail Acad Sci USA,1993,90 (2):770-774.

[9] 谢举临.转化生长因子-β 在创伤愈合过程中的研究进展[J]. 国外医学(创伤与外科问题分册),1999,20(2):76-79.

[10] 付小兵,王德文.创伤修复基础[M].北京:人民军医出版社.1997.121-132.

[11] Schroder J M.Cytokine networks in the skin[J].Invest Dermatol,1995,105(s1):20-24.

[12] 李学锋,李道萍.小鼠皮肤创伤愈合过程中 VEGF、TGF-β、bFGF 表达的免疫组织化学研究[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2003,12(4):367-371.

[13] Chomczynski P,Sacchi N.Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thioeyanate-phenol-chloroform extraction[J].Anal Biochem,1987,162(1):156-159.

[14] 王慧君,杨木兰.超生反应阶段骨骼肌机械性损伤的形态学研究[J].中国法医学杂志,1997,12(4):193-197.

[15] 王慧君.丁云川.RT-PCR 检测不同时间大鼠皮肤切创 TGF-β1mRNA 表达[J].中国法医学杂志,2003,18(2):67-69.

[16] 王慧君,李 东,杨木兰,等.在大鼠皮肤切创愈合过程中 TGF-β1 基因及蛋白表达变化与损伤时间关系的实验研究[J].中国法医学杂志,2001,16(4):193-197.

[17] 李学锋,王慧君,罗 红.皮肤创伤愈合过程中 TGF-β1mRNA 表达与损伤时间关系的实验研究[J].南方医科大学学报,2006,26(1):59-61.

[18] Takamiya M,Saigusa K,Aoki Y.Immunohistochemical study of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor expression for age determ inationof cutaneous wounds[J].Am J Forensic Med Pathol,2002,23(3):264-267.

[19] 周建清,王永忠.大鼠创伤皮肤内血管内皮生长因子表达的免疫组化研究[J].江苏大学学报(医学版),2003,13(5):421-424.

[20] Corral C J,Siddiqui A,Wu L,et al.Vascular endothelial growth factor is more important than basic fibroblastic growth factor during ischemic wound healing[J].ArchSurg,1999,134(2):200-205.

(责任编辑:关蕴良)