基础研究 文章编号:0253-3626(2010)06-0860-04

胰岛素外用对糖尿病大鼠深Ⅱ度烧伤创面 HIF-1α 及 VEGF 表达的影响

曾 勇,简华刚,高 兵,苏晓林,秦开秀
(重庆医科大学附属第二医院创伤烧伤科,重庆 400010)

【摘 要】目的:观察胰岛素外用对糖尿病大鼠深Ⅱ度烧伤创面中缺氧诱导因子-1α(Hypoxia inducible factor-1α,HIF-1α)和血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor,VEGF)表达的影响,探讨胰岛素外用促进糖尿病创面愈合的可能机制。方法:SD 大鼠 42 只,雌雄不限,建立链脲菌素(Streptozotocin,STZ)诱导的糖尿病大鼠深Ⅱ度烧伤模型,完全随机分为胰岛素外用组及空白对照组,即分别用胰岛素及生理盐水敷料每日换药两次。于治疗 1、2、3 周后,取创面全层组织,通过 RT-PCR 和免疫组化分别检测创面组织中 HIF-1α mRNA 的含量的变化和 HIF-1α 及 VEGF 的阳性表达情况以及微血管密度。结果:与对照组相比较,胰岛素干预 1、2、3 周后,创面愈合率明显增大,创面组织中 HIF-1α mRNA 相对含量和 HIF-1α 的阳性细胞数明显减少,而 VEGF 的阳性表达细胞数则明显增多($P<0.05$),且微血管密度也显著增高($P<0.05$)。结论:胰岛素外用能促进糖尿病大鼠创面的愈合,其机制与下调 HIF-1α 的水平、上调 VEGF 的表达水平,进而促进创面血管生长,改善创面的血供有关。

【关键词】胰岛素;外用;糖尿病大鼠烧伤创面;缺氧诱导因子-1α;血管内皮生长因子
【中国图书分类法分类号】R587.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-09-09

Effects of dressing change with insulin on the expression of HIF-1α and VEGF in deep II burn wound healing in diabetic rats

ZENG Yong, et al
(*Department of the Trauma and Burning, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the effect of dressing with insulin on the expression of HIF-1α and VEGF in deep Ⅱ degree burn wound healing of diabetic rats and explore the possible mechanisms. *Methods*: 42 rats, either male or female, were established models of deep Ⅱ burn wounds with diabetes, which was induced by streptozotocin (STZ). They were completely randomly divided into two groups, that is the insulin group and the control group. Dressing changes with insulin and saline dressings twice daily, respectively. Full-thickness tissues of the wounds were collected respectively in the 1st, 2nd and 3rd weeks after the treatment. The expression of hypoxia inducible factor-1α mRNA (HIF-1α mRNA) was detected with RT-PCR; and the positive staining of HIF-1α and VEGF and microvessel density in the wound healing were determined with IHC. *Results*: Compared with the control, the healing rate was obviously increased, the expression of HIF-1α mRNA and the positive expression of HIF-1α were significantly decreased ($P<0.05$), while, the expression of VEGF were obviously strengthened ($P<0.05$) in the insulin group after 1w, 2w, 3w. And, the microvessel density was significantly higher in the insulin group than that in the control. *Conclusion*: Dressing change with insulin can promote the wound healing in diabetic rats through down-regulating the expression of HIF-1α, up-regulating the expression of VEGF in the wound, thereby inducing the growth of blood vessels of wound, and improving the blood supply.

【Key words】Insulin; Dressing change; Burn wound of diabetic rats; HIF-1α; VEGF

糖尿病患者由于机体存在特殊的高糖环境,后期常常并发肢体远端溃疡,长久难愈;临床上也常见糖尿病患者创面出现愈合延迟或不愈。糖尿病创面难以愈合、治疗困难,与糖尿病病程、糖尿病神经病变、血管病变以及局部的感染有关,其中新生血管化障碍和(或)延迟血管化可能是其重要原因之一[1]。血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor,VEGF)是血管生成以及血管新生的主要的调控因子,它能够刺激内皮细胞的增殖、迁移和体内血管的形成,它同时又是一种局部内生性调节剂,可维护血管的正常状态及完整性[2]。在血管的发育过程中,HIF-1 对血管新生起重要作用,它是 VEGF 的转录活化因子,通过转录活化编码 VEGF 基因而刺激血管新生[3-5]。而缺氧诱导因子-1α(Hypoxia inducible factor-1α,HIF-1α)决定了 HIF-1 的活性[6]。研究表明,在糖尿病

作者介绍:曾 勇(1979-),男,硕士,研究方向:慢性创面的治疗。
通讯作者:简华刚,男,教授,E-mail:hgjian@sohu.com。

慢性创面中由于 VEGF 含量减少[7]，引起了组织缺血缺氧，使得创面组织中 HIF-1α 分泌，进而加重缺血缺氧，从而导致创面的愈合延迟或不愈合。本研究旨在通过建立糖尿病大鼠深Ⅱ度烧伤模型，研究胰岛素外用对糖尿病大鼠深Ⅱ度烧伤创面中 HIF-1α 和 VEGF 表达的影响，探讨胰岛素外用促进糖尿病烧伤创面愈合的可能机制。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

XW-80C VERTEX 旋涡混合器（上海医科大学仪器厂），凝胶成像仪（美国，BIO-RAD UNIVERSAL HOOD Ⅱ-S.N.76S/04988），PCR 仪（美国 BIO-RAD），冷冻型 Biofuge 离心机（德国，Heraeus 公司）。普通胰岛素（400 IU/10 ml，江苏万邦生化医药股份有限公司），HIF-1α 抗体、VEGF，CD31 抗体及免疫组化通用试剂盒购于北京博奥森生物技术有限公司。

1.2 致伤装置

以 250 ml 三角烧瓶装适量蒸馏水（约 50 ml），置于垫有石棉网的金属三脚架上，三脚架下置酒精灯，将水煮沸并一直保持沸腾，不同室温下多次测量烧瓶口蒸汽温度均为 100℃。致伤时，用麻醉状态下的大鼠裸露皮肤密闭烧瓶口。

1.3 研究对象

SD 大鼠 42 只，雌雄不拘（重庆医科大学动物中心提供），体重（200 ± 30）g，试验期间，大鼠于室温下，单笼混合饲料饲养，双路供水，2 d 打扫卫生一次，注意保暖。建模前适应性饲养一周。

1.4 方法

1.4.1 建立糖尿病大鼠模型 大鼠禁食 12 h（不禁水），称重，用柠檬酸缓冲液（pH 4.29）以 2%浓度（质量分数）配制 STZ 溶液，腹腔快速注射相应剂量的 STZ（60 ml/kg 体重），30 min 内注射完毕（STZ 称重，配制及注射时注意避光）。若诱导剂注射前基础血糖水平 <8.9 mol/L，诱导后 14 d 血糖水平 >11.2 mol/L，大鼠体质量明显下降，且随机抽样的胰腺组织学观察证实胰岛细胞被破坏，即可视为糖尿病模型诱导成功。

1.4.2 建立糖尿病大鼠合并烧伤模型 糖尿病大鼠模型建模成功后喂养 1 个月，10%的水合氯醛麻醉（400 mg/kg 体重，腹腔内注射），大鼠背部以硫化钡脱毛剂脱毛，脱毛面积约 5 cm × 6 cm，脱毛 1 d 后，再次以水合氯醛麻醉（剂量同前），以前述致伤装置在背部脱毛区致伤 5 min，致伤面积约同烧瓶口面积。

1.4.3 药物治疗 建模成功后，42 只大鼠完全随机分为 2 组，即胰岛素外用组与对照组，每组 21 只大鼠。伤后即时予以创面处理，治疗组以胰岛素敷料湿敷，胰岛素浓度取 400 mU/ml，每个创面约 1.5 ml，对照组以生理盐水敷料湿敷，每天换药 2 次。伤后第一次换药前，以 75%乙醇消毒创面。

1.4.4 标本采集 分别在伤后 1、2、3 周取标本，每个时相点每组处死 7 只大鼠，剪取创面及创缘全层皮肤。标本分为 2 份，一份用 10%甲醛固定，石蜡包埋，切片，用于免疫组化；一份为皮肤组织，去表皮及脂肪组织，100 mg/ 块，冻存于 −80℃液氮冰箱，用于 RT-PCR。

1.4.5 创面愈合率的测量 将创面大小描绘在透明薄膜上，以此为模板，将质地均匀的硬纸片剪成同样大小。用分析天平称质量。以硬纸片质量间接表示创面面积的大小，并按下列公式计算创面愈合率：创面愈合率 =[（原始创面面积 − 未愈合创面面积）/原始创面面积] × 100%。

1.4.6 免疫组化测 HIF-1α 及 VEGF 每个样本共取 5 张切片，其中 HE 染色一张、HIF-1α 及 VEGF 各 2 张。采用 SP 法行免疫组化染色，严格按试剂盒说明书进行操作。采用光镜观察，细胞内出现棕黄色颗粒作为 HIF-1α 及 VEGF 阳性表达细胞。光镜 10 × 40 视野下，每张切片随机取 3 个视野，分别计数视野中 HIF-1α 的阳性细胞数以及 VEGF 的阳性细胞数，取 3 × 2 个视野计数之和分别为每个样本 HIF-1α 及 VEGF 阳性表达的相对含量。

1.4.7 RT-PCR 提取细胞总 RNA，以大鼠 β-actin 作为内参照，作 RT-PCR 分析，所有操作严格按试剂盒说明完成。PCR 扩增条件为：94℃预变性 2 min，然后 94℃ 30 s，59℃ 30 s，72℃ 45 s，共 35 个循环。大鼠 HIF-1α 引物序列：上游为：5'-caa gtc acc aca gga cag tac ag-3'，下游为 5'-cat cag aag gac ttg ctg gct g-3'，产物大小为 613 bp。内参照基因大鼠 β-actin 引物序列：上游为 5'-cct ctt tgc atg tct cac tc-3'，下游为 5'-aat gtc acg cac gat ttc c-3'，产物大小为 377 bp。反应结束后，取 5 μl 产物进行琼脂糖凝胶电泳，电泳后以凝胶成像系统成像，并采用 Quantity one 软件进行扫描半定量分析，以所测得样品光密度积分与 β-actin 光密度积分的比值为样本半定量值。

1.4.8 创面组织微血管密度（Microvessel density，MVD） 检测所获得组织块标本固定于 10%缓冲福尔马林溶液，石蜡包埋、切片、保存。以抗 CD31 单克隆抗体对皮肤组织标本进行免疫组化染色，图像输入计算机中，应用图像分析软件计算阳性染色区域占视野面积的百分比，取平均值。

1.4.9 统计学方法 采用重复实验设计方案，所有的结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，并进行方差分析，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 糖尿病大鼠烧伤模型的成功建立

在使用 STZ 前，所有大鼠的基础血糖水平为（5.6 ± 1.2）mol/L；诱导 1、2、3 周后，血糖水平分别为（14.3 ± 3.5）mol/L、（24.8 ± 2.7）mol/L 和（28.5 ± 3.3）mol/L，均明显高于使用 STZ 前，且大鼠体重明显下降，所有大鼠的胰腺组织做 HE 染色后镜下观察发现胰岛细胞被破坏，即可视为糖尿病模型诱导成功。深Ⅱ度烧伤后，镜下可见皮肤有明显缺损，创面炎性细胞浸润慢而持久，坏死组织形成脱落迟而不明显，肉芽组织

形成也较慢。

2.2 胰岛素外用促进创面愈合

治疗 1,2,3 周后，胰岛素外用组愈合率明显逐渐升高，明显高于对照组（$P<0.01$，见表 1）。糖尿病对照组皮肤菲薄，清晰可见扩张的血管，皮下脂肪消失，创面愈合明显延长（3 周后没有 1 例完全愈合）。而胰岛素外用 1 周后，创面开始明显缩小，痂皮变得更为干燥，创缘周围皮肤开始有鼠毛生长；2 周后，表皮增厚，层次清晰，坏死组织和痂皮逐渐脱落，肉芽组织形成增多，创面更加明显缩小，创缘周边被毛覆盖；3 周后，创面完全被上皮组织覆盖，创面周围皮肤增厚，创面基本愈合甚至完全愈合。在整个治疗过程中，所有创面均未感染。

2.3 胰岛素外用抑制 HIF-1α 的表达，促进 VEGF 的表达

免疫组化结果显示：糖尿病对照组大鼠创面中 HIF-1α 阳性表达主要位于细胞浆内，其阳性细胞数较多；外用胰岛素后，可见阳性表达的细胞数明显降低，有统计学意义，有时间依赖性（$P<0.05$，见表 2，图 1）。而 VEGF 主要位于真皮乳头层的毛细血管内皮细胞内，较糖尿病对照组，胰岛素干预组创面中 VEGF 的阳性细胞数明显增多，且也有时间依赖性（$P<0.01$，见表 2，图 2）。RT-PCR 显示：与糖尿病对照组大鼠相比较，胰岛素干预组大鼠创面中 HIF-1α mRNA 的明显减弱，且呈时间依赖性，有显著的统计学意义（$P<0.05$，见表 3 和图 3）。

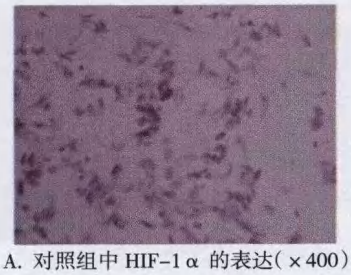
2.5 免疫组化和 MVD 值

应用免疫组化方法以抗 CD31 单克隆抗体选择性显示（血管）内皮细胞。结果显示：在正常皮肤创面组织内 CD31 阳性表达主要位于细胞浆内。而糖尿病烧伤创面中的 MVD 立即下降，胰岛素外用 3 d 后开始增加，外用 7 d 后急剧上升，直至 21 d 创面基本完全愈合（见图 4）。

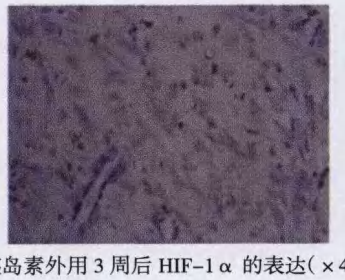
表 1 各时相点创面愈合率（%，$\bar{x}\pm s$）

分组	1 周	2 周	3 周
Control	18.39 ± 2.91	44.73 ± 3.18	55.23 ± 3.61
Insulin	45.20 ± 2.42**	65.59 ± 3.51**	98.58 ± 2.65**

注：与对照组：** $P<0.01$



A. 对照组中 HIF-1α 的表达（×400）



B. 胰岛素外用 3 周后 HIF-1α 的表达（×400）

图 1 胰岛素外用对创面中 HIF-1α 表达的影响



A. 对照组中 VEGF 的表达（×400）



B. 胰岛素外用 3 周后 VEGF 的表达（×400）

图 2 胰岛素外用对创面中 VEGF 表达的影响

表 2 烧伤治疗后两组不同时相点 HIF-1α 及 VEGF 的阳性表达细胞数（个，$\bar{x}\pm s$，n=7）

分组	1 周		2 周		3 周	
	HIF-1α	VEGF	HIF-1α	VEGF	HIF-1α	VEGF
Control	45.5 ± 3.8	15.8 ± 2.4	37.4 ± 5.0	25.6 ± 3.7	32.9 ± 2.8	36.0 ± 4.3
Insulin	24.8 ± 1.5☆	22.6 ± 3.1☆	20.5 ± 3.4☆	42.7 ± 4.3☆	15.7 ± 2.5☆	60.4 ± 5.2☆

注：与对照组比较，☆：$P<0.05$

表 3 各时相点创面组织中 HIF-1α mRNA 相对光密度值（$\bar{x}\pm s$，n=7）

分组	1 周	2 周	3 周
Control	0.805 ± 0.033	0.695 ± 0.019	0.514 ± 0.022
Insulin	0.593 ± 0.025*	0.458 ± 0.032*	0.372 ± 0.029*

注：与对照组比较，*：$P<0.05$



图 3 胰岛素外用对创面组织中 HIF-1 α mRNA 表达的影响



A. 糖尿病对照组创面中 CD31 的表达(×400)

B. 胰岛素外用 3 周后创面中 CD31 的表达(×400)

图 4 胰岛素外用治疗后创面组织中 CD31 的表达

3 讨 论

临床上常出现糖尿病深Ⅱ度烧伤或烫伤患者的创面延迟愈合或不愈合,其重要原因就是由于机体处于高糖环境,血管出现病变,导致血液循环障碍,局部组织呈慢性缺血、缺氧状态,直接影响了创面的愈合程度及其预后,并且由于局部的缺血、缺氧,还易于并发感染,导致了溃疡的发生,从而创面更加难以愈合。

血管病变是糖尿病创面难于愈合的重要原因[8]。有研究提示,糖尿病大鼠创面难愈合主要原因之一是 VEGF 表达的减少。Anne 等[9]研究证实 VEGF 能促进糖尿病创面愈合,当 VEGF 通路被特异性抑制剂阻断,创面愈合明显延迟。VEGF 在组织修复过程中发挥着至关重要的作用,通过诱导血管内皮细胞的迁移和增殖促使血管通透性增加及血管新生[10]。在血管的发育过程中,HIF-1 α 对血管新生同样起重要作用,HIF-1 α 是 VEGF 的转录活化因子,通过转录活化编码VEGF 基因够诱导血管过度形成,进而改善创面局部缺血[11]。

研究表明,高浓度胰岛素能够促进视网膜 Müller 细胞的 VEGF 表达[12]。另有 Vassiliki 报道[13],糖尿病视网膜病的急性快速胰岛素强化治疗,会抑制 HIF-1 α 的表达并促进 VEGF 的高表达。新近研究发现,创面局部应用胰岛素能促进成纤维细胞增长,并促进肉芽组织生长[14],进而促进创面的愈合。那么在此过程中,是否也有 HIF-1 α 及 VEGF 的参与有待研究。

因此,本实验以胰岛素无菌敷料处理糖尿病大鼠深Ⅱ度烧伤创面,结果发现:随着治疗时间的延长,创面的愈合率逐渐增高,到 3 周后,创面基本完全愈合;而 RT-PCR 和 IHC 结果显示随着治疗时间的延长,创面中 HIF-1 α mRNA 的表达和阳性细胞数明显降低,而 VEGF 的表达却是明显增强,创面组织中的 MVD 也明显增强,这与先前的报道基本一致。

实验结果说明,糖尿病烧伤创面局部应用胰岛素能促进创面愈合,减少伤口闭合时间。这可能与胰岛素能抑制创面 HIF-1 α 表达进而上调 VEGF 的表达有关。目前,局部应用胰岛素抑制了 HIF-1 α 基因及蛋白水平的表达的机制还不明确,可能与 p38 细胞分裂素(丝裂原)活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase,p38MAPK)及磷脂酰肌醇激酶(Phosphatidylionsitol 3-kinase,PI3K)有关,即:HIF-1 α 在 p38 MAPK 与 PI3K 的共同作用下上调 VEGF 的表达[6],通过转录活化编码 VEGF 基因而刺激血管新生[3];或者通过激活其他生长因子如 NF-κB[4]来发挥作用。当然局部应用胰岛素促进创面愈合,还与其促进成纤维细胞生长、角质细胞分化移行及局部炎症反应的控制有关[15-17]。

综上所述,创面愈合是一个复杂的生物学过程,涉及细胞、细胞外基质、炎性介质及各种生长因子。任何干扰创面愈合调控环节的因素均可影响烧伤创面愈合的生物学过程。糖尿病患者由于易并发血管病变、神经病变及感染等因素极易引起创面难于愈合。所以,本实验通过局部外用胰岛素促进了创面愈合,这与胰岛素下调 HIF-1α 的表达水平、上调 VEGF 的表达水平,促进创面微血管的生长,改善局部缺血、缺氧状态有关。但是,具体的机制还有待进一步得研究。

参 考 文 献

[1] Harold B, Marjana T C.Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes[J]. J Clin Invest, 2007, 117(5): 1219-1222.

[2] Stefanini M O, Wu F T, Mac Gabhann F, et al. A compartment model of VEGF distribution in blood, healthy and diseased tissues[J]. BMC Systems Biology, 2008, 2: 77.

[3] Dai Y, Xu M F, Wang Y G, et al. HIF-1 α induced VEGF over-expression in bone marrow stem cells protects cardio-myocytes against ischemia [J]. J Mol Cell Cardiol, 2007, 42(6): 1036-1044.

[4] Kavita Deonarine, Monica C Panelli, Mitchell E Stashower, et al. Gene expression profiling of cutaneous wound healing [J].Journal of Translational Medicine, 2007, 5(11): 5876-5886.

[5] Thomas P, Angelika L, Bodo K, et al. Mechanical overload induces VEGF in cartilage discs via hypoxia-inducible factor[J]. American Journal of Pathology, 2004, 164(1): 185-192

[6] Jennifer E Z, Ion S J, Yan H. Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 regulatory pathway and its potential for therapeutic intervention in malignancy and ischemia[J].Yale J Biol Med, 2007, 80(2): 51-60.

[7] Robert D G, Oren M T, Catherine R P, et al. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived Cells [J]. Am J Pathol, 2004, 164(6): 1935-1947.

[8] 王德强,夏仁云. 局部应用胰岛素促进压疮创面愈合的机制 [J]. 中国康复, 2006, 21(1): 18-20.

基础研究 文章编号:0253-3626(2010)06-0864-05

黄芪对兔耳增生性瘢痕作用的实验研究

张 艳,邱 林,吴清华,李明勇
(重庆医科大学附属儿童医院烧伤整形外科,重庆 400014)

【摘 要】目的:观察黄芪(Radix astragali)对日本大耳白兔增生性瘢痕的作用。方法:日本大耳白兔 20 只,建立兔耳增生性瘢痕动物模型。待创面上皮化(伤后 21 d)将其随机分为 5 组,每组 4 只,实验组 A、B、C 分别局部注射不同浓度的黄芪注射液,对照组 D 局部注射生理盐水,对照组 E 为空白对照。分别在伤后 32、43 d 测量瘢痕厚度、硬度,并常规做 HE 染色,RT-PCR 观察瘢痕组织中转化生长因子 β1(Transforming growth factor-β1,TGF-β1) mRNA 水平的变化,免疫组化观察 TGF-β1 蛋白的表达。结果:治疗组中瘢痕厚度、硬度与药物浓度呈负相关($P<0.05$),治疗组瘢痕组织中 TGF-β1mRNA 和其蛋白水平均明显减少,呈剂量效应关系;与生理盐水和空白对照组比较,差异有统计学意义,实验组在伤后 32、43 d 时两组间差异有统计学意义($P<0.05$),对照组在伤后 32、43 d 时两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:黄芪注射液通过减少 TGF-β1mRNA 水平合成,减少 TGF-β1 蛋白的表达,从而抑制兔耳增生性瘢痕组织增生,显示黄芪注射液可能是治疗增生性瘢痕较好的药物。

【关键词】黄芪;增生性瘢痕;转化生长因子 β1
【中国图书分类法分类号】R726.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-09-03

The effects of radix astragali on hypertrophic scars in rabbit ears

ZHANG Yan, et al
(*Department of Burns and Plastic Surgery, the Children's Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the effects of radix astragali on hypertrophic scars in rabbit ears. *Methods*: Twenty healthy adult Japanese big ear rabbits were given hypertrophic scars over the ventral surface of the ears and on the 21st day after wound, animals were randomly divided into the treated groups (groups A, B, and C were treated with radix astragali in different concentrations)and the control groups (groups D and E were treated with saline and blank control, respectively). On the 32nd and 43rd day after wound, the thickness and hardness of scar were measured.The TGF-β1mRNA were detected in hypertrophic scar samples with RT-PCR.The change of scar tissues was observed with H&E staining and immunohistochemical staining with TGF-β1. *Results*: The thickness and hardness of scar were inversely correlated with the concentration of radix astragali in the radix astragali-treated group($P<0.05$).Image analysis demonstrated that the expression of TGF-β1mRNA and its protein in all radix astragali-treated groups were significantly reduced as compared with those in saline group and blank control group; There was significant difference in treated groups ($P<0.05$), but no significant difference in control groups ($P>0.05$) between the 32nd day and

作者介绍:张 艳(1983-),女,硕士,
研究方向:儿童烧伤整形。
通讯作者:邱 林,女,副教授,E-mail:qiulin118@gmail.com。

[9] Anne S, Tuomas T, Anniina Färkkilä, et al. Vascular endothelial growth factor-C accelerates diabetic wound healing[J]. Am J Pathol, 2006, 169(3): 1080-1087.
[10] Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenes[J]. Nature Med, 2000, 6(6): 389-395.
[11] Elson D A, Thurston G, Huang L E, et al. Induction of hypervascularity without leakage or inflammation in transgenic mice over-expressing hypoxia-inducible factor-1 α[J]. Genes Dev, 2001, 15(19): 2520-2532.
[12] Song E, Yue H, X Qi, et al. Effects of high-concentration insulin on expression of vascular endothelial growth factor in cultured Müller cells in vitro[J]. Chinese Journal of Ophthalmology, 2004, 40(1): 201-204.
[13] Poulaki V, Qin W, Joussen A M, et al. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1 α and VEGF[J]. J Clin Invest, 2002, 109(6): 805-815.
[14] Camelia R B, Stephen M T. Fibrosis in diabetes complications: pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers[J]. Vascular Health Risk Management, 2008, 4(3): 575-596.
[15] Clinton M, Duane R H. Burn wound Infections[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(2): 403-434.
[16] Yoshiyuki Kimura, Maho Sumiyoshi, Kazuhiro Kawahira, et al. Effects of ginseng saponins isolated from red ginseng roots on burn wound healing in mice [J]. Br J Pharmacol, 2006, 148(6): 860-870.
[17] Hirsch T, Spielmann M, Zuhaili B, et al. Enhanced susceptibility to infections in a diabetic wound healing model[J]. BMC Surg, 2008, 8(5): 2482-2490.

(责任编辑:关蕴良)