法医病理学 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003675

法医学损伤时间推断技术研究进展

周脉杰[1]，王业全[1]，李长征[1]，任立品[1]，张磊磊[2]，刘增甲[1]，张国安[1]
（1.济宁医学院法医学，济宁 272067；2.山东省公安厅物证鉴定研究中心，济南 250001）

【摘 要】损伤时间推断是法医实践工作的重要任务之一，其在确定暴力实施时间、判断损伤形成顺序、划分责任主体、分析案件性质等方面具有重要作用，但传统的方法受限于外界环境影响，难以精确推断损伤时间，因此损伤时间推断仍是法医学研究的热点和难点。近年来，法医科学研究者从组织形态学、非编码RNA、蛋白质、生物活性因子、代谢产物以及影像学和光谱学等方面对活体软组织的损伤时间推断进行了大量研究与探索。本文总结了这些方面的近期研究成果，对其在法医实践中的应用前景进行探讨，并从多组学联合分析的角度，就如何实现损伤时间的精准推断进行了展望。

【关键词】法医学；损伤时间推断；非编码RNA；光谱学
【中图分类号】DF795.1 【文献标志码】A 【收稿日期】2024-08-31

Research advances in wound age estimation techniques for forensic examination

Zhou Maijie[1], Wang Yequan[1], Li Changzheng[1], Ren Lipin[1], Zhang Leilei[2], Liu Zengjia[1], Zhang Guoan[1]
(1. School of forensic medicine of Jining medical university; 2. Material Evidence Identification Center of Shandong Public Security Department)

【Abstract】Wound age estimation is an important task in the practice of forensic medicine and plays an important role in determining the time of violence, judging the order of injury formation, dividing the subjects of responsibility, and analyzing the nature of the case; however, it is difficult to achieve accurate wound age estimation using the traditional method, and therefore, wound age estimation remains a hotspot and a difficulty in forensic medicine. In recent years, forensic scientists have conducted a large number of studies and explorations on wound age estimation of living soft tissue from the aspects of histomorphology, non-coding RNA, proteins, bioactive factors, metabolites, imaging, and spectroscopy. This article summarizes the recent research findings of these aspects, discusses their application prospects in forensic investigations, and looks forward to the future of accurate wound age estimation from the perspective of multi-omics analysis.

【Key words】forensic medicine; wound age estimation; non-coding RNA; spectroscopy

损伤时间推断（wound age estimation）一直是法医学实践中的重点和难点内容，损伤时间的推断在法医学日常工作中应用甚广。准确推断损伤时间对划定侦察范围、确定犯罪嫌疑人有着非常重要的意义，因此损伤时间的准确推断是法医命案现场中首要解决的任务之一。由于机体受外界环境影响因素较大，为准确推断损伤时间带来一定的困难。因此寻找新的灵敏性高、特异性强、稳定性好的检测指标是当前损伤时间推断急需解决的问题之一。本文就近年来关于法医学损伤时间推断技术的研究成果总结如下。

作者介绍：周脉杰，Email：17853736056@163.com，研究方向：法医损伤时间研究。
通信作者：刘增甲，Email：lzjia001@163.com。
基金项目：山东省重点研发计划（重大科技创新工程）资助项目（编号：2021CXGC011305）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241226.1542.018（2024-12-27）

1 基于组织形态学进行损伤时间推断

组织形态学分析技术具有直观性、客观性以及良好的定位定性能力[1]，是目前应用最广泛的损伤时间推断技术之一。机体损伤修复是一个持续的炎性组织愈合过程[2]，组织形态学分析技术通过观察不同时间段中表现出的特征性细胞反应，以此进行损伤时间的推断。

组织形态学一般通过大体表征以及病理变化进行探索研究。上世纪末，Langlois NEI[3]对挫伤时间推断的方法进行了回顾总结，包括视觉观察法、比色法、分光光度法和组织病理学等，但视觉观察法会受到人主观性眼生理的限制，且结果不具备唯一性，实践价值有限；比色法、分光光度法可以提

供部分客观的依据，但无法避免复杂变量因素对颜色变化的影响；相比之下，组织病理学能提供较多客观且有效的信息，是近年来利用组织形态学进行损伤时间推断的研究重点。

传统组织学染色技术（苏木精-伊红和普鲁士蓝染色）主要通过观察中性粒细胞，淋巴细胞以及单核细胞所占总细胞的比率来显示损伤6 h后的细胞反应，中性粒细胞和巨噬细胞比率分别大于75%、50%时，分别提示损伤时间为12 h、1 d[4-5]。Liu QQ等[6]发现在2～6 h内损伤骨骼肌创面中性粒细胞迁移距离呈逐渐增加的趋势，这与炎症反应的进程一致。传统染色技术可直接观测炎症细胞的浸润情况，但大多情况下其仅能呈现6 h后的阳性表现且结果精确性较低，仅能起到辅助作用。免疫组织化学（immunohistochemistry，IHC）和免疫荧光（immunofluorescence，IF）染色可观察到早期细胞反应并明确单个细胞的活化阶段，其染色系统可研究多种类型细胞及多重标记物的时程性变化。李炳譞等[7]应用IF标记星形胶质细胞，观测到星形胶质细胞内胶质纤维酸性蛋白（glial fibrillary acidic protein，GFAP）呈动态表达，树突数目、长度、复杂程度等指标呈时间相关性变化，说明星形胶质细胞是推断脑挫伤时间的潜在指标。Riezzo I等[8]联合分析了80例钝性外伤致脾破裂案例，应用IHC标记周围组织纤维蛋白原、CD61及CD68，观测其在损伤后的1个月内的表达变化，基于此将损伤时间划分为4个时间阶段（1~3 d、4~10 d、11~16 d、17~30 d）进行判定。此外，杜秋香等[9]应用HE和免疫荧光多重染色方法观察了挫伤骨骼肌M1及M2型巨噬细胞数量和比值的变化，发现其比值可作为损伤时段推测的依据。染色标志物的不断增加，丰富了病理推断依据，对相应损伤时间段的描述愈加精准与全面，其推测结果亦更加可靠。

组织病理学染色技术还有针对特定组织的特殊染色，如外伤性脾破裂，应用Mallory染色技术，发现其染色较HE染色可更清晰地观察到紫色条索状纤维素样物（新鲜出血区）与蓝染胶原纤维（陈旧出血区）[10]。随着科技的发展，全自动染色机以及病理组织切片识别量化技术也逐渐应用于法医实践，这将大大提高染色和识别效率。虽然组织形态学的时间推断指标不断被发现，但目前尚未形成准确可靠的推断方案，所以在该方面深入研究的同时，仍需开发其他损伤时间推断技术。

2 基于蛋白质及生物活性因子进行损伤时间推断

蛋白质作为转录、翻译、修饰后的终产物，可直接调控损伤发生的生理病理进程，其结果可直观的反应生理生化阶段，为损伤时间推断提供分析靶点。Wang LL等[11]定量检测了小鼠皮肤切创处的炎性细胞浸润、肌成纤维细胞转化以及系列细胞因子变化情况，中性粒细胞在12 h达到高峰后逐渐下降，巨噬细胞在3 d迅速上升并于5 d达到高峰，纤维细胞向肌成纤维细胞转化在10 d时转化率最高。单核细胞趋化蛋白-1和巨噬细胞趋化因子-12于12 h~5 d逐渐增高，IL-1β，TNF-α和pro-col Ⅲα1增加到7 d，IL-6和VEGF-A于12 h~1 d迅速增加并于3 d~5 d达到高峰，Pro-colⅠα2从7 d增加到21 d。IL-1b、IL-6和TNF-α是促炎细胞因子，单核细胞趋化蛋白-1是巨噬细胞的强效趋化因子，巨噬细胞趋化因子-12是淋巴细胞和纤维细胞的强趋化因子等。由此可见在损伤与修复进程的发展过程中生物活性因子具有重要的调控作用。Tian Z等[12]通过建立大鼠骨骼肌损伤模型，发现与肌卫星细胞相关的多种生物标志物呈现时间依赖性表达模式，Pax7、MyoD、肌生成素和IGF-1在愈合过程中表达上调，与组织形态学结果相对应。此外，炎症反应以及氧化应激会引起相关酶类活性改变。Li K等[13]研究表明乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）和碱性磷酸酶（alkaline phosphatase，ALP）的表达量在骨骼肌损伤后12 h迅速增加到峰值，于5 d后逐渐恢复至正常水平。

蛋白组学通过高分辨质谱以及生物信息的分析，对特定组织进行差异蛋白检测，深化了蛋白质研究策略。Zhang P等[14]使用iTRAQ耦合LC-MS/MS进行定量蛋白质组学分析以筛选大鼠弥漫性轴突损伤生物标志物，发现Rock-2随着损伤时间表达量逐渐增加，而Snap-25的表达量则逐渐降低。王皓晨[15]在利用蛋白组学筛选脑外伤过后潜在生物标志物时，发现了PSMC4、Hexokinase-1、AP2M1、bcl-2、caspase-3、β-catenin呈现时序性变化。近年来，液相色谱串联质谱技术（LC-MS）的发展使得蛋白质组样品的分离、鉴定和定量效率得到极大提升[16]。利用高通量、大队列蛋白质组学分析[17]，筛选出损伤组织时序性表达蛋白质，为损伤时间推断标志物的发现提供了新的选择。

Western blot和ELISA以及组学技术可用来检测各种蛋白质表达水平的变化，包括细胞因子、修复蛋白以及酶类等。蛋白质的表达变化要晚于RNA的表达变化，即在早期损伤时间推断中优势较小，但蛋白组学的研究可以提供蛋白质层面上的信息和功能，可使其与其他鉴定方法互为补充和相互验证。

3 基于代谢产物进行损伤时间推断

机体损伤之后，其微环境产生波动，转录水平及蛋白水平发生变化，扰动机体代谢发生紊乱，导致代谢产物变化。代谢组学可以对存在特定细胞、组织和生物体内的所有代谢物进行全面的定量和定性分析[18]，其主要研究分子量小于1 000的内源性小分子化合物。

田甜等[19]研究皮肤切创时间与血清标志代谢物的关系时，采用正交偏最小二乘-判别分析（orthogonal partial least square-discriminantanalysis，OPLS-DA）模式得到21种代谢标志物的时间预测模型，具有较高的准确率。曹洁[20]通过多元统计分析从损伤骨骼肌中筛选出43种与损伤时间高度相关的差异代谢物，应用两层人工神经网络模型将时间点细分为4 h、8 h、12 h、16~20 h、24~32 h、36~40 h和44~48 h，模型准确率达到92.6%。Du T等[21]进行了液相色谱-质谱（LC-MS）分析数据，确定了大鼠股骨肌肉在死亡后168 h内10个时间段的代谢特征，揭示至少59种代谢物的代谢变化与死亡后的时间密切相关。安国帅[22]探索机器学习算法与代谢组学相结合来推断损伤时间，以43和28种代谢物数据为特征，分别建立数据分析模型，将损伤时间推断的时间窗缩短至4 h。吕柳[23]利用超高效液相色谱-高分辨质谱联用技术，

分析了颅脑损伤大鼠的代谢图谱，筛选并鉴定出43个差异代谢物，为损伤时间推断提供了新的技术和思路。

代谢组学的检测成本较低且灵敏度高[24]，可以一次性检测到大量代谢物水平的微量变化，代谢物的相加和交互效应使得数据结构复杂，对于统计分析有更高的要求，目前代谢图谱结合人工神经网络技术、机器学习算法[25]、多元统计分析算法成为趋势。样本量不足和过度的信息量会降低标志物筛选的准确性，建立规范、标准的代谢物数据库以及采用先进的算法体系挖掘有效的生物信息，构建稳健的数学模型成为一种有效的解决途径。

4 基于非编码RNA进行损伤时间推断

非编码RNA（non-coding RNA，ncRNA）包括结构性ncRNA和调控性ncRNA，在免疫应答，基因表达，蛋白修饰，氧化应激以及炎症修复等过程中存在广泛参与、调控作用[26]。损伤时间推断主要应用调控性ncRNA，包括lncRNA、miRNA、piRNA、circRNA等，部分调控性ncRNA在应对损伤刺激时呈现时序性的变化[27]。基于此，在损伤时间推断领域，非编码RNA的潜在作用不可忽视。

应用ncRNA推断损伤时间的研究主要集中在皮肤，脑，骨骼肌等组织[28]。实时荧光定量PCR（quantitative real-time PCR，RT-qPCR）可以通过检测荧光信号的变化实时监测PCR过程，其具有操作简单且适合大样本研究的优点。Chang L等[29]研究表明miR-126在皮肤切创愈合过程中具有重要作用，通过RT-qPCR观察到其表达量在1～7 d持续增加，损伤7 d时其表达量可增加至正常皮肤4倍。Etich J等[30]应用RT-qPCR和生物信息学分析工具探寻用于量化皮肤伤口愈合过程中mRNA和miRNA表达的参考基因时发现miR-204在5~10 d表达量降低，miR-205在1~5 d表达量降低，而miR-31表达量在5 d后明显增加。这些应用RT-qPCR对损伤时间的研究多是从候选分子中筛选出具有时间相关性的潜在标志物[31-33]，未来需进一步构建时间推断模型，标记物的筛选方法是推断结果准度与精度上升的关键步骤。

微阵列基于杂交技术可实现对ncRNA的高通量检测，在短时间内即可获得转录组水平的表达情况。Li P等[34]应用miRNA微阵列芯片技术检测了皮肤损伤后产生的瘢痕组织，筛选出18个差异表达的miRNA，其中miR-149-5p、miR-203a、miR-222-3p、miR-122-5p的含量随时间呈显著降低的趋势。此外，Sun T等[35]应用该技术观察外伤性脑损伤后大鼠海马miRNA表达的变化，在第1天、3天、5天筛选出17种均具有显著变化的miRNA。Wang T等[36]应用微阵列分析了切创皮肤愈合过程7 d内的miRNA表达谱，筛选出54种显著变化的miRNA，并验证了miR-21的表达量在伤后1 d、3 d、7 d持续上调，呈现时间相关性。微阵列以及RNA测序是检测基因组表达丰度的有力手段，可以为损伤时间研究提供大量的潜在靶点。

目前，损伤时间推断研究多采用ncRNA微阵列或二代测序技术筛选出各损伤时段差异表达的ncRNA候选标志物，随后通过RT-qPCR技术靶向验证。但ncRNA表达量可因年龄、性别、器官、环境差异而出现不一致结果[37-38]，由此可见为提高损伤时间推断准确性，需要进一步应用多种技术筛选出更多高且稳定表达的相关性分子标志物，此外ncRNA具有高灵敏性以及高反应性的优点，但其也受代谢进程过快的限制，探索较为稳定的反应标志物并与ncRNA联合推断成为趋势。

5 应用影像学、质谱成像及光谱技术进行损伤时间推断

应用X线、计算机断层扫描（computed tomography，CT）及磁共振成像（magnetic resonance imaging，MRI）等影像学技术具有直观、无创的优点，在法医临床实践中广泛应用。其推断损伤时间的研究大多集中于骨折形成时间，主要包括肋骨，四肢长骨以及椎骨等[39]。而应用于软组织损伤时间的探索较少。MRI通过射频脉冲信号激发，通过计算机形成图像，无辐射且分辨率较高，适用于神经、肌肉、脑等软组织成像。Neumayer B等[40]将静脉血注入大腿皮下组织形成血肿模型MRI技术进行检测分析，其模型提供的查找表，可为法医实践提供0～366 h的分析依据。此外，邓建强等[41]应用核磁共振（nuclear magnetic resonance，NMR）检测方法，结果表明挫伤组、切创组的1H-NMR图谱在损伤后4 h和8 h分别检测到NMR波峰，波峰的高度和总面积都与正常组有显著差异，该研究本质上是应用NMR检测组织代谢产物且无需破坏检材，可为代谢产物推断提供新视角。

基质辅助激光解吸/电离-飞行时间质谱（matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry，MALDI-TOF）成像技术根据飞行时间与离子的质荷比相关原理，可获得生物组织中多肽和蛋白的表达谱。刘宁国和陈忆九[42]针对该技术在筛选损伤标志物的应用价值上进行了探讨，其团队提出该技术在研究损伤前后差异蛋白质组方面具有高通量、高灵敏度和高精度等属性优势。此外，基于MALDI-TOF构成的生物质谱的组织成像技术（m ALDI-imaging mass spectrometry，MALDI-IMS）可直接扫描生物样品，同时分析生物组织切片中所有的组分（包括代谢物多肽和蛋白质），在对组织连续切片分析后，不仅可以得到组分的二维分布图像，也可以获得大分子物质的空间分布以及相对丰度等信息[43]。王丽丽等[44]利用该技术筛选出了肿瘤坏死组织中的6 277Da蛋白，其可作为结肠癌组织坏死过程中的生物标志物。

傅里叶变换红外（fourier transform infrared reflection，FTIR）光谱技术通过检测物质基团化学键振动信息，能够准确客观地反映生物组织中物质的结构与分布。董超秀等[45]利用FTIR显微光谱技术结合化学计量学方法对挫伤骨骼肌光谱差异性与损伤时间的关联进行了研究，结果显示支持向量机构建的判别模型进行4~24 h和28~48 h二分类准确率达83.3%。

目前的质谱成像以及光谱技术具有高效，便捷以及高通量等优势，为获取受损组织的多元生物学信息提供了技术支持，在损伤分子标志物的筛选以及鉴别方面具有独特优势。

6 总结与展望

近年来，利用多种平台和技术采集大规模，高通量的生物学信息，挖掘具有时间相关性的生物标志物，取得了良好的进展，但目前的研究仍然存在一些难点：①致伤方式的复杂性。目前致伤模型的建立多采用挫伤、切创、挤压伤等单一损伤方式，构建的推断体系无法适应复杂多样的损伤状况。②影响因素的多样性。由于体内外各种因素的影响，如个体差异、环境差异以及医疗行为等，都会导致时间推断区间出现偏差[46]。③检测方法、技术及平台缺乏标准统一。同一样本使用不同的检测技术、方法筛选出的标志物具有差异性，不同检测平台的数据库也往往具有较大差异。④缺乏人体样本数据。由于难以获取大量人体损伤后的动态检测数据，推断体系多由动物模型构建，缺乏人体样本的验证。

目前，利用组学技术进行时间推断的研究尚处于探索阶段，尽管有学者尝试建立单一领域多标记物的时间推断体系，但准确度和精确度有待提高。组学技术在损伤时间推断领域已展现了重要潜力，尝试建立多指标体系的综合评价方法，即通过构建外部表征—组织形态学—转录组学—蛋白组学—代谢组学综合评价证据链，高通量的数据信息结合机器学习/人工智能算法，构建稳定的多元数学模型，有望使损伤时间推断趋于精确化。值得注意的是这一方法的实现，不仅需要标准统一的检测方法以及组学数据库，而且需要更加专业的数据分析能力，此外对于平台设备仪器也具有较高的要求。因此，找到精准推断损伤时间的方法并在法医实践中得到广泛应用，还有较长的探索之路。

参 考 文 献

[1] 马晨吉，熊 韵，午方宇. 骨骼肌损伤时间推断：现状与展望[J]. 生理科学进展，2021，52(5)：385-390.

Ma CJ，XiongY，WuFY，The wound age estimation of muscle：present situation and forecast[J]. Prog Physiol Sci.2021.52(5)：385-390

[2] Tidball JG. Inflammatory processes in muscle injury and repair[J]. American Journal of Physiology-Regulatory，Integrative and Comparative Physiology，2005，288(2)：R345-R353.

[3] Langlois N E I.The science behind the quest to determine the age of bruises—a review of the English language literature[J].Forensic Science，Medicine，and Pathology，2007，3(4)：241-251.

[4] 于天水，官大威，刘 力，等. 大鼠骨骼肌损伤后不同时间的病理学变化[J]. 中国法医学杂志，2014，29(5)：431-433，436.

Yu TS，Guan DW，lIU L，et al. Pathological changes at different time after skeletal muscle injury in rats[J]. Chinese Journal of Forensic Science，2014，29(5)：431-433，436.

[5] Zhang X H，Liu J，Li N，et al. Time-dependent Expression of Nrf2 Protein and its Effects on Wound Repair in Skeletal Muscle[J]. Fa yi xue za zhi，2018，34(1)：18-22.

[6] Liu QQ，Guo H M，Wang L，et al. Wound Age Estimation by Neutrophil Migration Distance[J]. Fa Yi Xue Za Zhi，2019，35(2)：166-170.

[7] 李炳譞，韩全峰，郭相伸，等. 星形胶质细胞的形态变化与损伤时间的关系[J]. 中国法医学杂志，2021，36(6)：594-598.

Li BX，Han QF，Guo XS，et al. Relationship between astrocyte morphological changes and injury time[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine.2021，36(6)：594-598.

[8] Riezzo I，Di Battista B，De Salvia A，et al. Delayed splenic rupture：Dating the sub-capsular hemorrhage as a useful task to evaluate causal relationships with trauma[J]. Forensic Science International，2014，234：64-71.

[9] 杜秋香，郗延如，李 鹏，等. 大鼠挫伤骨骼肌中 M1/M2 型巨噬细胞时间相关性研究[J]. 中国法医学杂志，2021，36(2)：134-139.

Du QX，Xi YH，Li P，et al. Temporal correlation of M1/M2 macrophages in bruised skeletal muscle of rats[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine，2021，36(2)：134-139.

[10] 陈学士，褚 俊，杨利军，等. 免疫组织化学及特殊染色技术在法医损伤病理学鉴定中的应用[J]. 法医学杂志，2021，37(5)：666-672.

Chen XS，Chu J，Yang LJ，et al. The application of immunohistochemistry and special staining techniques in pathological identification of forensic injuries[J]. Journal of forensic science，2021，37(5)：666-672.

[11] Wang L，Zhao R，Liu C，et al. A fundamental study on the dynamics of multiple biomarkers in mouse excisional wounds for wound age estimation[J]. Journal of Forensic and Legal Medicine，2016，39：138-146.

[12] Tian Z，Wang R，Yang Q，et al. Detection of multiple biomarkers associated with satellite cell fate in the contused skeletal muscle of rats for wound age estimation[J]. International Journal of Legal Medicine，2023，137(3)：875-886.

[13] Li K，Han W，Zhao Y，et al. Using complex Ⅱ as an emerging therapeutic target for the treatment of muscle lesions[J]. Saudi Journal of Biological Sciences，2019，26(8)：1943-1947.

[14] Zhang P，Zhu S，Li Y，et al. Quantitative proteomics analysis to identify diffuse axonal injury biomarkers in rats using iTRAQ coupled LC-MS/MS[J]. Journal of Proteomics，2016，133：93-99.

[15] 王皓晨. 基于定量蛋白组学方法的脑外伤后潜在生物标志物的筛选与验证[D]. 浙江：苏州大学法医学，2018.

Wang HC. Screening and validation of potential biomarkers after traumatic brain injury based on quantitative proteomics methods[D]. Zhejiang：Suzhou University，2018.

[16] 季美超，付 斌，张养军. 基于质谱的蛋白质组学方法新进展[J]. 质谱学报，2021，42(5)：862-877.

Ji MC，Fu B，Zhang YJ，New advances in proteomic methods based on mass spectrometry[J]. Journal of mass spectrometry，2021，42(5)：862-877.

[17] Budnik B，Levy E，Harmange G，et al.SCoPE-MS：mass spectrometry of single mammalian cells quantifies proteome heterogeneity during cell differentiation[J]. Genome Biology，2018，19(1)：161.

[18] Shyur L，Yang N. Metabolomics for phytomedicine research and drug development[J]. Current Opinion in Chemical Biology，2008，12(1)：66-71.

[19] 田 甜，李雪榕，翟豪杰，等. 大鼠皮肤切创损伤时间与血清标志代谢物的关系[J]. 法医学杂志，2021，37(2)：151-157.

Tian T，Li XR，Zhai HJ，et al. The relationship between skin incision injury time and serum marker metabolites in rats[J]. Journal of forensic science. 2021，37(2)：151-157.

[20] 曹 洁. 肌肉代谢特征谱结合人工神经网络技术在损伤时间推断中的应用研究[D]. 山西：山西医科大学，2022-12-01.

Cao J，Application of muscle metabolic profile combined with artificial neural network technology in injury time inference[D]. Shanxi：Shanxi Medical University，2022-12-01

[21] Du T, Lin Z, Xie Y, et al. Metabolic profiling of femoral muscle from rats at different periods of time after death[J]. PLOS ONE, 2018, 13(9): e203920.

[22] 安国帅. 代谢组学与串联机器学习相结合的损伤时间推断策略研究[D]. 山西：山西医科大学，2021.

An GS, The study on damage time inference strategy combining metabolomics and tandem machine learning[D]. Shanxi: Shanxi Medical University, 2021.

[23] 吕 柳. 基于超高效液相色谱-高分辨质谱联用技术的颅脑损伤大鼠代谢组学相关性研究[D]. 郑州：郑州大学，2019.

Lv L. Metabolomic correlation study in craniocerebral injury rats based on ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[D]. Zheng Zhou: Zhengzhou University, 2019.

[24] 鲁翰霖. 基于代谢组学的早期骨骼肌损伤时间推断的研究[D]. 山西：山西医科大学法医学，2019.

Lu HL, Early skeletal muscle injury time inference based on metabolomics[D]. Shanxi: Forensic medicine of Shanxi Medical University, 2019.

[25] 马星宇，程 浩，张忠铎，等. 代谢组学技术结合机器学习算法在损伤时间推断中的研究进展[J]. 法医学杂志，2023, 39(6): 596-600.

Ma XY, Chen H, Zhang ZD, et al. The research progress of metabolomics technology combined with machine learning algorithm in damage time inference[J]. Journal of forensic science.2023, 39(6): 596-600.

[26] Hüttenhofer A, Schattner P, Polacek N. Non-coding RNAs: hope or hype?[J]. Trends in Genetics, 2005, 21(5): 289-297.

[27] 王 嫚. 昆虫、RNA 和微生物的时序性变化用于死亡时间推断的基础研究[D]. 浙江：苏州大学，2021.

Wang M, Temporal changes in insects, RNA and microorganisms are used in basic research on time of death inference[D]. Zhejiang: SuZhou University, 2021.

[28] 宋炳辉，何 婷，傅俊江. 非编码 RNA 在法医学时间有关推断中的应用研究进展[J]. 刑事技术，2024, 49(4): 401-409.

Song BH, He T, Fu JJ, Research progress in the application of non-coding RNA to time-related inference in forensic medicine[J]. criminal technique, 2024, 49(4): 401-409.

[29] Chang L, Liang J, Xia X, et al. miRNA-126 enhances viability, colony formation, and migration of keratinocytes HaCaT cells by regulating PI3 K/AKT signaling pathway[J]. Cell Biology International, 2019, 43(2): 182-191.

[30] Etich J, Bergmeier V, Pitzler L, et al. Identification of a reference gene for the quantification of mRNA and miRNA expression during skin wound healing[J]. Connective Tissue Research, 2017, 58(2): 196-207.

[31] 郗延如，刘元新，冯 娜，等. 大鼠 Gpnmb 基因表达线性回归模型在损伤时间推断中的应用[J]. 法医学杂志，2022, 38(4): 468-472, 477.

Xi YH, Liu YX, Feng N, et al. The application of linear regression model of Gpnmb gene expression in the prediction of injury time in rats [J]. Journal of forensic science, 2022, 38(4): 468-472, 477.

[32] 郗延如. 损伤时间和死亡时间推断的 mRNA 指标筛选及应用[D]. 山西：山西医科大学，2021.

Xi YH. Screening and application of mRNA indexes for inferring time of injury and time of death[D]. Shanxi: Shanxi Medical University, 2021.

[33] 董婷婷，肖作润，刘增甲，等. 骨骼肌 circRNA 在死亡时间推断中的初步筛选及验证研究[J]. 中国司法鉴定，2022(1): 85-92.

Dong TT, Xiao ZR, Liu ZJ, et al. Preliminary screening and validation of skeletal muscle circRNA in time of death inference[J]. Chinese judicial expertise, 2022(1): 85-92.

[34] Li P, He Q, Luo C, et al. Differentially Expressed miRNAs in Acute Wound Healing of the Skin[J]. Medicine, 2015, 94(7): e458.

[35] Sun T, Chen X, Liu Z, et al. Expression profiling of MicroRNAs in hippocampus of rats following traumatic brain injury[J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences], 2014, 34(4): 548-553.

[36] Wang T, Feng Y, Sun H, et al. miR-21 Regulates Skin Wound Healing by Targeting Multiple Aspects of the Healing Process[J]. The American Journal of Pathology, 2012, 181(6): 1911-1920.

[37] Aunin E, Broadley D, Ahmed M I, et al. Exploring a Role for Regulatory miRNAs In Wound Healing during Ageing: Involvement of miR-200c in wound repair[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 3257.

[38] Lv YH, Ma K J, Zhang H, et al. A Time Course Study Demonstrating mRNA, microRNA, 18SrRNA, andU6 snRNA Changes to EstimatePMI in Deceased Rat's Spleen[J]. Journal of Forensic Sciences, 2014, 59(5): 1286-1294.

[39] 聂素林，郭新全，孙世杭，等. MRI 在外伤性椎体压缩骨折时间推断中的应用[J]. 医学影像学杂志，2011, 21(1): 107-111.

Nie SL, Guo XQ, Sun SH, et al. Application of MRI in time inference of traumatic vertebral compression fractures[J]. Journal of medical Imaging, , 2011, 21(1): 107-111.

[40] Neumayer B, Hassler E, Petrovic A, et al. Age determination of soft tissue hematomas[J]. NMR in Biomedicine, 2014, 27(11): 1397-1402.

[41] 邓建强，陈忆九，刘宝琴，等. 采用无创性核磁共振技术进行损伤时间推断初探[J]. 中国法医学杂志，2014, 29(2): 114-116.

Deng JQ, Chen YJ, Liu BQ, et al. The noninvasive nuclear magnetic resonance technique was used to estimate the time of injury[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2014, 29(2): 114-116.

[42] 刘宁国，陈忆九. MALDI-TOF-MS 成像技术及其在法医损伤标志物筛选中的应用[J]. 法医学杂志，2014, 30(5): 367-370.

Liu NG, Chen YJ. MALDI-TOF-MS imaging technique and its application in the screening of markers of forensic injury[J]. Journal of forensic science, 2014, 30(5): 367-370.

[43] Schwamborn K, Caprioli R M. Molecular imaging by mass spectrometry — looking beyond classical histology[J]. Nature Reviews Cancer, 2010, 10(9): 639-646.

[44] 王丽丽，陈达鑫，詹友知，等. 质谱成像分析结肠癌组织坏死过程中蛋白的变化[J]. 福建中医药，2013, 44(4): 43-44.

Wang LL, Chen DX, Zhan YZ, et al. The protein changes during the necrosis of colon cancer tissue were analyzed by mass spectrometry[J]. Fujian traditional Chinese medicine, 2013, 44(4): 43-44.

[45] 董超秀，董祖鑫，张高勤，等. FTIR 显微光谱技术在骨骼肌损伤时间推断中的应用研究[J]. 中国法医学杂志，2020, 35(5): 479-483.

Dong CX, Dong ZX, Zhang GQ, et al. Application of FTIR microspectroscopy in the prediction of skeletal muscle injury time[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2020, 35(5): 479-483.

[46] 官大威，赵 锐，王林林. 法医学损伤时间推断：过去、现在与未来[J]. 法医学杂志，2019, 35(2): 131-135.

Guan DW, Zhao R, Wang LL. The wound age estimation of forensic: Past, present and future[J]. Journal of forensic science, 2019, 35(2): 131-135.

（责任编辑：周一青）