

重组人角质细胞生长因子-2涂膜剂促进大鼠皮肤伤口愈合

王虎根, 缪云萍, 程敏, 叶小弟, 诸葛定娟, 郑高利 (浙江省医学科学院药物研究所, 浙江 杭州 310013)

摘要:目的 研究重组人角质细胞生长因子-2(Recombinant human keratinocyte growth factor-2, rhKGF-2)涂膜剂对大鼠皮肤伤口愈合速度的影响。方法 (1)用预热 100℃的 100g砝码在大鼠背部脱毛部位烫 8s,形成 4个直径约 2.5cm的深 II度烫伤

基金项目:本研究得到科技部国家重大科技专项(863)“创新药物和中药现代化”专项基金资助,项目编号:2004AA283141。

作者简介:王虎根,男,55岁,副研究员,主要从事药政管理和新药开发。

通讯作者:郑高利,电话 0571-85922188, E-mail: gaoliz@163.com

口; (2) 手术方法切除大鼠背部部分皮肤, 形成 2 个 $1.5\text{ cm} \times 4\text{ cm}$ 的皮肤全层缺损伤口。造模后第 2 天开始每天局部给药 1 次, 连续 15 d, 每 4 d 测量伤口面积并计算愈合率, 第 16 天取伤口及其周围皮肤组织, 石蜡切片, Masson's 三色法染色, MOTIC Advanced 3.2 形态分析软件分析新生上皮面积、厚度和上皮细胞迁移距离。结果 rhKGF-2 涂膜剂对大鼠皮肤深 II 度烫伤和皮肤全层切除伤口的愈合均有明显的促进作用, 使新生上皮面积、平均厚度和上皮细胞移行距离等明显增加。作用强度比同剂量的单纯的 rhKGF-2 溶液剂好。结论 rhKGF-2 涂膜剂能明显加快大鼠皮肤烫伤和皮肤全层切除伤口周围上皮细胞的增生与迁移, 加快创面愈合过程。

关键词: 重组人角质细胞生长因子; 创面愈合; 深 II 度烫伤; 皮肤缺损

中图分类号: R977; R64 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2005)04-0284-05

Recombinant human keratinocyte growth factor-2 liniment accelerates healing of skin wound in rats

WANG Hu-gen, MIAO Yun-ping, CHENG Min, YE Xiao-di, ZHUGE Ding-juan, ZHENG Gao-li (*Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effect of recombinant human keratinocyte growth factor-2 (rhKGF-2) liniment on the healing of skin wound. **METHODS** (1) The back skin of rat was burned for 8 seconds by 100°C weights with diameter 2.5 cm to become four deep II degree burn wounds. (2) Two pieces of full-thickness skin on the back of each SD rat were excised surgically to make two $1.5 \times 4\text{ cm}$ full-thickness skin loss wounds. One day postinjury, the animals were divided into 6 groups. The wounds were respectively applied topically with saline solution in negative control group, liniment vehicle in vehicle group, rhKGF-2 solution in positive group, and rhKGF-2 liniments (200, 100 and 50 (g/mL) in three experimental groups daily for 15 days. The wound areas were measured at 4th d, 8th d, 12th d and 16th d. On the 16th postinjury, skin tissue biopsy specimens of the wound were taken. The area and thickness of neopithelia tissue and the migrated distances of neopithelium were detected with MOTIC Advanced 3.2 morphological analysis software after Masson's Trichrome staining. **RESULTS** rhKGF-2 liniment could accelerate the healing rate of both deep II degree burn wound and full-thickness skin loss wound in rats. It could improve reepidmiation and increase the migrated distance, average area and thickness of neopithelium in a dose-dependently manner. The potency of rhKGF-2 liniment was stronger than that of rhKGF-2 solution at the same doses. **CONCLUSION** These results show that rhKGF-2 liniment can significantly accelerate wound healing in rats.

KEY WORDS: recombinant human keratinocyte growth factor-2; wound healing; deep II degree burn wound; full-thickness lesion skin wound

角质细胞生长因子-2 (keratinocyte growth factor-2, KGF-2) 又称成纤维细胞生长因子-10 (fibroblast growth factor-10, FGF-10), 是 FGF 家族成员之一。特异性靶细胞为各种上皮细胞, 特异性受体为酪氨酸激酶受体 FGFR2IIIb (KGFR) 和 FGFR1^[1]。KGF-2 生理作用主要承担间质细胞—上皮细胞之间的信号传递^[2]。KGF-2 能促进角质上皮细胞的增殖, 刺激伤口周围上皮细胞的再生、分化和迁移, 但对成纤维细胞和内皮细胞则无直接作用, 可以减轻伤口愈合过程中的疤痕组织形成^[3]。KGF-2 是 EGF, aFGF, bFGF 和 TGF- β 后又一个在各种皮肤创伤治疗上有重要应用前景的蛋白质因子。上海新生源医药研究有限公司根据人 KGF-2 天然氨基酸序列及其 cDNA 序列, 按密码子偏向性进行密码子优化, 合成 KGF-2 基因的全序列, 选用大肠杆菌载体 pET30a(+), 构建质粒 pET30a(+)-KGF-2, 表达了重组人 KGF-2 (Recombinant human KGF-2, rhKGF-2)。我们根据临床皮肤创伤治疗的需要, 研究开发了 rhKGF-2 涂膜剂, 涂膜剂的基质主要由可降解的生物材料壳聚糖组成。本实验主要研究 rhKGF-2 涂膜剂对大鼠皮肤创伤愈合速度的影响。

1 试验材料

1.1 药物与试剂

rhKGF-2 涂膜剂: 由浙江省医学科学院生物工程研究所提供, 无色半透明凝胶状半固体, 铝管包装, 10 g/支, 共 3 种规格, 含 rhKGF-2 分别为 200, 100 和 50 $\mu\text{g/mL}$, 批号分别为 20030601-1, 20030601-2 和 20030601-3; 冻干 rhKGF-2 粉: 白色粉末, 由上海新生源医药研究有限公司提供, 0.5 mg, 批号: 02111703, 临时用时每瓶用 2.5 mL 生理盐水溶解 (每 1 mL 含 rhKGF-2 为 200 μg); 涂膜剂基质: 含 2% 壳聚糖, 由浙江省医学科学院生物工程研究所提供。

1.2 实验动物

SD 大鼠, 雄性, 由浙江省实验动物中心提供, 实验动物合格证: 浙实验动物准字 2001001 号。

1.3 仪器与设备

岛津 AEL-200 电子分析天平; MOTIC 生物显微图像摄影系统和 MOTIC Advanced 3.2 形态分析软件, 厦门麦奥迪克仪器公司产品。HM355S 组织切片机, 德国 MICRO 公司生产。

2 试验方法

2.1 rhKGF-2涂膜剂对大鼠皮肤深 II 烫伤的治疗作用

雄性 SD大鼠,体重 350 ~ 400g,背部脊柱两侧以 8% 硫化钠脱毛,面积约 6cm × 8cm。参照文献方法^[4],脱毛后第 2 天硫喷妥钠 40mg/kg 静脉注射麻醉大鼠,将预先放入沸水中预热的 100g 砝码(直径 2.5cm)压放在大鼠背部脊柱两侧脱毛区,烫 8 秒钟,形成皮肤深 II 度烫伤模型,每侧 2 个,每鼠 4 个烫伤口。第 2 天先用半透明称量纸描记伤口大小,电子分析天平称重,并根据单位面积称量纸的重量折算给药前伤口面积(每鼠 4 个伤口数据合并计算,作为 1 个动物的数据),根据伤口面积将大鼠随机分成 6 组,每组 10 只。各组大鼠伤口分别涂抹生理盐水、涂膜剂基质、rhKGF-2 溶液及 3 种规格的 rhKGF-2 涂膜剂各 150μL 伤口,分别为模型组、基质对照组、rhKGF-2 溶液对照组(30μg 伤口)和 rhKGF-2 涂膜剂 30、15 和 7.5μg 伤口组。每天上午给药 1 次,连续 15d,期间每 4d 描记伤口面积 1 次,计算用药过程中伤口面积及伤口愈合率[伤口愈合率 = (1 - 给药后伤口面积 / 给药前伤口面积) × 100%]。给药后 d16 处死大鼠,取伤口部位及周围皮肤,用 4% 甲醛溶液固定,石蜡包埋后作常规切片,Masson's 三色法染色,下列方法分析新生上皮的平均厚度、移行距离和移行面积等参数。

新生上皮移行距离测定:4 倍物镜下,根据组织的组织形态确定新生上皮起始点,测量新生上皮起始点至上皮前沿距离。如两侧新生上皮已汇合,则将总距离除以 2,即为两侧新生上皮的移行距离,每只大鼠 4 个伤口,每个伤口 2 侧共计 8 个移行距离平均值作为该鼠总的移行距离。

新生上皮面积和上皮平均厚度测定:在 10 倍物镜下,选取伤口 2 侧新生上皮起始位置后的第二个视野(第一个视野数据变异较大)和伤口中部摄片,然后在 MOTIC Advanced 3.2 形态分析软件下描出新生上皮的轮廓,软件自动产生面积数据,再在软件下测量该上皮长轴的长度,面积和长度之

表 1 rhKGF-2 涂膜剂对大鼠皮肤深 II 度烫伤伤口面积(上行, cm²)和愈合率(下行, %)的影响

Tab 1 The effect of rhKGF-2 liniment on the area of bum wound (cm², upper line) and healing rate (% , lower line) in deep II degree bum wound model of rats

组别与剂量	0 d	4 th d	8 th d	12 th d	16 th d
模型组	4.89 ± 0.37	4.44 ± 0.40	3.61 ± 0.35	2.30 ± 0.24	1.33 ± 0.35
		9.07 ± 4.78	25.89 ± 7.32	52.83 ± 4.89	72.84 ± 6.56
基质组	4.85 ± 0.48	4.28 ± 0.37	3.45 ± 0.46	2.24 ± 0.47	1.05 ± 0.33
		11.43 ± 3.90	28.92 ± 5.16	53.96 ± 6.76	78.47 ± 5.47
rhKGF-2 溶液组	5.07 ± 0.50	4.37 ± 0.27	3.42 ± 0.32	2.04 ± 0.42	0.98 ± 0.42
		13.56 ± 5.32	32.40 ± 3.96*	59.96 ± 7.22*	80.98 ± 8.06*
rhKGF-2 涂膜剂	5.14 ± 0.50	4.43 ± 0.48	3.46 ± 0.46	2.10 ± 0.34	0.97 ± 0.24
		13.79 ± 3.80*	32.57 ± 7.33	59.14 ± 6.02*	80.98 ± 4.72*
rhKGF-2 涂膜剂	4.82 ± 0.38	3.87 ± 0.49	3.26 ± 0.37	2.07 ± 0.30	0.90 ± 0.38
		17.65 ± 3.60*	32.52 ± 3.90*	57.4 ± 4.56*	81.56 ± 7.13*
rhKGF-2 涂膜剂	4.94 ± 0.85	4.17 ± 0.93	3.58 ± 0.61	2.29 ± 0.68	0.98 ± 0.46
		15.92 ± 7.51*	27.39 ± 5.38	54.02 ± 7.89	80.18 ± 6.20*

注: n = 10, 和模型组愈合率比较, * P < 0.05, ** P < 0.01

Note: n = 10, compared with the model group, * P < 0.05, ** P < 0.01

比即为平均厚度,每个伤口 3 个视野,每只动物 4 个伤口共 12 个数据取平均值。部分标本在伤口中心部位无上皮存在,则该视野新生上皮面积和平均厚度均记为零。

2.2 rh-KGF-2 涂膜剂对大鼠皮肤全层切除伤口愈合的影响

雄性 SD大鼠,体重 300 ~ 350g,背部脊柱两侧脱毛面积约 6cm × 8cm, d2 硫喷妥钠静脉注射麻醉,75% 乙醇局部消毒,参照文献方法^[5]用手术刀在脊柱两侧各做 1 个约 1.5cm × 4cm 的全层皮肤切口,将皮肤及皮下结蒂组织剪除,直达肌肉层,但不损伤肌肉筋膜。术后第 2d 按 2.1 所述的方法分组,局部给药,测量伤口面积, d16 作皮肤组织病理学检查。

2.3 统计方法

用 SAS 软件对所有数据进行统计处理,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异显著性检验采用 t 检验, * P < 0.05, ** P < 0.01。

3 试验结果

3.1 rhKGF-2 涂膜剂对大鼠皮肤深 II 度烫伤的治疗作用

大鼠皮肤烫伤后 d1 颜色灰白,肿胀,与正常皮肤分界清楚,之后坏死皮肤逐渐发黑,失水干燥,发硬,表面凹凸不平,局部有渗出液,坏死皮肤边缘翘起。实验过程中对翘起的死皮做清创处理,见创面呈粉红色,边缘有菲薄新生上皮形成。同时伤口周围正常皮肤收缩,使伤口总面积逐渐缩小。各组动物的伤口表现基本类似,但在修复程度和时间上,以 rh-KGF-2 大、中剂量组更优。

rhKGF-2 涂膜剂大、中剂量组和 rhKGF-2 溶液对照组均能明显加快大鼠皮肤烫伤后的愈合速度,使愈合率明显提高,小剂量对伤口的愈合也有一定的促进作用,有一定的剂量关系。基质组的愈合率也有增加的趋势,但无统计意义。结果提示 rhKGF-2 涂膜剂能明显促进大鼠皮肤烫伤后伤口的愈合,见表 1。

镜下定量组织形态学分析显示,和模型组比较, rhKGF-2 涂膜剂组大鼠伤口皮肤新生上皮厚度和面积明显增加,移行距离加大,剂量关系明确,并且其作用略高于 rhKGF-2 溶液组,明显高于基质对照组。rhKGF-2 大、中剂量组(21/40、18/40)有更多的标本伤口全部有上皮细胞覆盖,即已完全上皮化,但生理盐水对照组(8/40)完全上皮化标本相对较少。结果提示 rhKGF-2 涂膜剂能明显促进大鼠皮肤烫伤后新生上皮的形成和移行,见表 2。

3.1 rh-KGF-2 涂膜剂对大鼠皮肤全层切除伤口的治疗作用

涂膜剂基质对大鼠皮肤全层切除后伤口的修复、愈合有一定的促进作用,后期更明显。rh-KGF-2 涂膜剂各剂量组均能明显促进伤口愈合,使不同观察时间伤口愈合率均有显著提高;并且使新生上皮移行距离、新生上皮面积和上皮平均厚度均明显增加,存在较好的剂量关系,结果见表 3 和表 4。结果提示 rhKGF-2 涂膜剂能明显促进大鼠皮肤全层切除后伤口的愈合和新生上皮的形成与移行。

表 3 rhKGF-2 涂膜剂对大鼠皮肤全层切除伤口面积 (cm², 上行) 和愈合率 (% , 下行) 的影响

Tab 3 The effect of rhKGF-2 liniment on the area of wound (cm², upper line) and healing rate (% , lower line) of full-thickness skin loss in rats

组别与剂量	0 d	4 th d	8 th d	12 th d	16 th d
模型对照	7.04 ± 0.77	5.25 ± 0.80	3.59 ± 0.73	2.22 ± 0.72	1.34 ± 0.41
基质组	7.26 ± 1.12	25.1 ± 11.0	48.2 ± 13.8	68.2 ± 10.9	80.9 ± 5.9
rhKGF-2 溶液组 40μg 伤口	7.20 ± 0.74	5.54 ± 0.89	3.16 ± 0.44	1.32 ± 0.35	0.87 ± 0.30
rhKGF-2 涂膜剂 40μg 伤口	6.98 ± 0.73	23.0 ± 2.5	55.4 ± 7.9	75.4 ± 6.4	87.7 ± 5.0*
rhKGF-2 涂膜剂 20μg 伤口	6.85 ± 0.99	5.45 ± 0.99	3.26 ± 0.78	1.43 ± 0.44	0.78 ± 0.31
rhKGF-2 涂膜剂 10μg 伤口	7.35 ± 1.09	24.4 ± 10.3	54.7 ± 9.0	80.2 ± 5.3*	89.4 ± 3.8**
基质组	7.26 ± 1.12	3.87 ± 0.65	2.66 ± 0.45	1.36 ± 0.35	0.73 ± 0.15
rhKGF-2 涂膜剂 40μg 伤口	6.98 ± 0.73	44.3 ± 10.1*	61.6 ± 7.8*	80.4 ± 5.0**	89.6 ± 1.6**
rhKGF-2 涂膜剂 20μg 伤口	6.85 ± 0.99	3.94 ± 1.04	2.62 ± 0.69	1.32 ± 0.30	0.70 ± 0.13
rhKGF-2 涂膜剂 10μg 伤口	7.35 ± 1.09	42.7 ± 7.1**	62.0 ± 7.1*	80.6 ± 4.3**	89.6 ± 2.2**
基质组	7.26 ± 1.12	4.64 ± 0.66	3.16 ± 0.57	1.42 ± 0.37	0.90 ± 0.31
rhKGF-2 涂膜剂 10μg 伤口	7.35 ± 1.09	36.0 ± 11.1	56.4 ± 9.4	80.5 ± 5.1*	87.5 ± 4.9**

注: n = 10, 和模型对照组愈合率比较, * P < 0.05, ** P < 0.01

Note: n = 10, compared with the model group, * P < 0.05, ** P < 0.01

表 4 rhKGF-2 涂膜剂对大鼠皮肤全层切除伤口新生上皮面积、厚度和移行距离的影响

Tab 4 The effect of rhKGF-2 liniment on the area, thickness and migrated distance of neoeplithium of full-thickness skin loss in rats

组别与剂量	新生上皮厚度 (μm)	新生上皮面积 (μm ²)	新生上皮移行距离 (mm)
模型对照	50.0 ± 19.5	1636 ± 897	4.05 ± 1.10
基质组	72.1 ± 25.2	3050 ± 1356*	5.02 ± 1.14
rhKGF-2 溶液组 40μg 伤口	83.4 ± 22.9**	3182 ± 1565*	5.57 ± 1.41*
rhKGF-2 涂膜剂 40μg 伤口	94.4 ± 30.5**	3955 ± 1101**	6.34 ± 2.03**
rhKGF-2 涂膜剂 20μg 伤口	84.0 ± 28.6**	3263 ± 1066**	5.72 ± 1.67*
rhKGF-2 涂膜剂 10μg 伤口	78.7 ± 21.6**	2962 ± 1394*	5.51 ± 1.94

注: n = 10, 和模型对照组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01

Note: n = 10, compared with the model group, * P < 0.05, ** P < 0.01

表 2 rhKGF-2 涂膜剂对大鼠深 II 度烫伤伤口新生上皮细胞厚度、面积和移行距离的影响

Tab 2 The effect of rhKGF-2 liniment on the area, thickness and migrated distance of neoeplithium in deep II degree burn wound of rats

组别与剂量	新生上皮厚度 (μm)	新生上皮面积 (μm ²)	新生上皮移行距离 (mm)
模型组	70.9 ± 17.3	906 ± 316	4.66 ± 0.66
基质组	78.5 ± 23.4	1014 ± 237	4.87 ± 0.66
rhKGF-2 溶液组 30μg 伤口	92.6 ± 15.5**	1224 ± 172*	5.15 ± 1.14
rhKGF-2 涂膜剂 30μg 伤口	114.1 ± 28.2**	1346 ± 379*	5.86 ± 0.97**
rhKGF-2 涂膜剂 15μg 伤口	95.6 ± 34.5**	1320 ± 574	5.24 ± 1.25
rhKGF-2 涂膜剂 7.5μg 伤口	97.3 ± 32.5*	1145 ± 520	5.02 ± 0.66

注: n = 10, 和模型组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01

Note: n = 10, compared with the control group, * P < 0.05, ** P < 0.01

4 讨论

在皮肤创伤早期, FGF 家族的 FGF-1 (aFGF), FGF-2 (bFGF), FGF-5, FGF-7 (KGF-1) 和 KGF-2 (FGF-10) 等的表达均明显上调, 提示它们可能参与了皮肤创伤的愈合过程。部分 FGF 成员 (如 aFGF 和 bFGF) 已经在临床用作促进创伤愈合药物。KGF-2 是近年新发现的上皮细胞特异分裂源, 由间质细胞合成, 通过旁分泌作用与上皮细胞上的特异性受体 FGFR2 IIIb (KGFR) 和 FGFR1 结合, 促进上皮细胞生长、分化和迁移^[2]。KGF-2 在体外对成纤维细胞生长无刺激作用, 但在体内能促进成纤维细胞生长和肉芽组织形成, 可能系其通过刺激另外某些生长因子如 PDGF-AB, TGF-α 等分泌间接作用于成纤维细胞、血管内皮细胞等途径实现^[6]。KGF-2 受体也存在于胃肠上皮细胞, 能刺激胃肠系统上皮细胞的增殖和分化, 降低放疗引起的小鼠胃肠道损伤, 对辐照引起的小鼠急性口腔黏膜溃疡、小肠上皮损伤和实验性溃疡性结肠炎具有明显的治疗作用^[7]。rhKGF-2 (Repifem in) 在美国已经作为溃疡性肠炎治疗药物进入 II 期临床试验阶段, 并证明有较

满意的治疗效果,安全性良好。

文献报道 rhKGF-2对能促进大鼠皮肤切割伤^[8]、家兔角膜碱烧伤^[9]和不同年龄家兔耳廓缺血性创伤的愈合,并且抑制疤痕组织形成^[3],促进人慢性静脉溃疡愈合^[10]。本研究证明 rhKGF-2涂膜剂对大鼠皮肤深 II度烫伤和全层切除后的皮肤缺损的愈合有明显的促进作用,使新生上皮移行距离和新生上皮厚度明显增加,其作用强度高于同剂量的 rhKGF-2溶液,这可能和涂膜剂基质中壳聚糖的伤口保护作用有关。本研究使用的涂膜剂含 2%壳聚糖,它能在伤口表面形成一层透气透水的薄膜,既能保持伤口相对干燥,又能隔离病原微生物,伤口感染机会降低,同时有资料显示壳聚糖本身也能促进伤口上皮细胞增殖,并有抑菌和止血作用^[11]。此外, rhKGF-2分散在含壳聚糖的基质中,可能有缓释作用,使作用更持久。因此壳聚糖与生长因子复合用药对创面的愈合有明显的促进作用^[12]。

参考文献

- [1] Finch PW, Murphy F, Cardinale I, *et al.* Altered expression of keratinocyte growth factor and its receptor in psoriasis [J]. *Am J Pathol*, 1997, 151:1619-1628.
- [2] 姜笃银,付小兵,孙同柱,等. FGF10及其受体在胎儿皮肤附件形成的诱导作用 [J]. *解放军医学杂志*, 2003, 28(7): 583-585.
- [3] Yu-ping Xia, Marcus J, Jimenez PA, *et al.* Effects of keratinocyte growth factor-2 (rhKGF-2) on wound healing in an ischaemia-impaired rabbit ear model and on scar formation [J]. *J Pathol*,

1999, 188(4): 431-438.

- [4] 刘毅,陈壁. 内源性表皮生长因子促进深二度烫伤创面愈合的实验研究 [J]. *西北国防医学杂志*, 2000, 21(2): 112-116.
- [5] 贾乐宁,程飏,苏磊. 重组人血小板源生长因子促进糖尿病大鼠创面愈合机制的初步研究 [J]. *中国临床康复杂志*, 2004, 8(32): 7194-7196.
- [6] 孙晓庆,付小兵,陈伟,等. 成纤维细胞生长因子-10对3种与修复有关内源性生长因子表达的调控作用 [J]. *中国危重病急救杂志*, 2004, 16(1): 13-18.
- [7] Han DS, Li F, Holt L, *et al.* Keratinocyte growth factor-2 (FGF-10) promotes healing of experimental small intestinal ulceration in rats [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000, 279(5): G1011-22.
- [8] Pablo A, Jimenez MD, Mark A, *et al.* Keratinocyte Growth Factor-2 Accelerates Wound Healing in Incisional Wounds [J]. *J Surg Res*, 1999, 81(2): 238-242.
- [9] 李琳,李永平,黄树其,等. KGF-2治疗兔角膜中央碱烧伤的实验研究 [J]. *眼外科职业眼病杂志*, 2004, 26(6): 361-365.
- [10] Robson MC, Phillips TJ, Falanga V, *et al.* Randomized trial of topically applied repifemim (recombinant human keratinocyte growth factor-2) to accelerate wound healing in venous ulcers [J]. *Wound Repair Regen*, 2000, 9(5): 347-352.
- [11] 宋炳生,钟晓锋. 甲壳质和壳聚糖治疗外伤的进展 [J]. *中国生化药物杂志*, 2003, 24(4): 213-214.
- [12] 陈榕,韦伟,王立军,等. 壳聚糖与生长因子复合贴剂促创面愈合的实验研究 [J]. *中华实验外科杂志*, 2004, 21(10): 1266.

收稿日期:2005-01-21