

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.13.010

半导体激光联合全蝎软膏对大鼠糖尿病性皮肤溃疡修复的研究*

张海丽 王 景 滕 林 于 洋 郭伟光[△]

(黑龙江中医药大学 黑龙江 哈尔滨 150000)

摘要 目的:探讨半导体激光联合全蝎软膏对大鼠糖尿病皮肤溃疡(DSU)的修复作用。**方法:**24只SPF级Wistar大鼠随机平均分为对照组、模型组、全蝎软膏组和联合组,以腹腔注射链脲佐菌素-皮肤缺损法构建大鼠DSU模型;建模后分别用激光和/或全蝎软膏对DSU大鼠进行治疗,观察用药后3d、7d、10d和14d的大鼠体重、血糖值及创面肉芽组织愈合情况;随后,分别对创面组织进行H.E染色、免疫组化、ELISA法及western blot检测。**结果:**建模后的DSU大鼠体重、血糖与对照组比较有统计学差异($P<0.05$),且成模率为73.33%;各治疗组创面愈合率均高于模型组($P<0.05$),肉芽组织生长旺盛,毛细血管丰富,炎症反应减轻;ELISA和western blot结果显示,与模型组相比,联合组治疗后组织内血管内皮生长因子(vEGF)显著上升($P<0.05$)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和Smad 4蛋白水平显著降低($P<0.05$),治疗效果优于全蝎软膏组。**结论:**半导体激光联合全蝎软膏可有效促进大鼠DSU创面的愈合,减轻炎症反应并修复血管功能,效果优于全蝎软膏组。

关键词:半导体激光;全蝎软膏;糖尿病皮肤溃疡;创面愈合;Smad 4

中图分类号:R587.2;R753.7;R246.7;R244.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)13-2452-06

Repair of Diabetic Skin Ulcer in Rats by Semiconductor Laser Combined with Scorpion Ointment*

ZHANG Hai-li, WANG Jing, TENG Lin, YU Yang, GUO Wei-guang[△]

(Heilongjiang University of traditional Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the repairing effect of semiconductor laser combined with scorpion ointment on diabetic skin ulcer (DSU) in rats. **Methods:** 24 SPF Wistar rats were randomly divided into control group, model group, scorpion ointment group and combined group, DSU model was established by intraperitoneal injection of SZT-skin defect. After modeling, DSU rats were treated with laser and / or scorpion ointment respectively. Body weight, blood glucose and wound granulation tissue healing were observed on the 3 d, 7 d, 10 d and 14 d. Subsequently, the H.E staining, immunohistochemistry, ELISA and Western blot were used to detect the wound tissue. **Results:** Compared with the control group, the body weight and blood glucose of DSU rats were significantly different ($P<0.05$), and the modeling rate was 73.33%. The wound healing rate of each treatment group was higher than that of the model group ($P<0.05$), of which the granulation tissue grows vigorously, capillaries are abundant, and inflammation is reduced. The results of ELISA and Western blot showed that compared with the model group, the VEGF in the combined group increased significantly($P<0.05$), while the TNF- α and Smad 4 protein were significantly decreased ($P<0.05$). The therapeutic effect was better than that of scorpion ointment group. **Conclusions:** Semiconductor laser combined with scorpion ointment can effectively promote the wound healing of DSU in rats, reduce the inflammatory reaction and repair the vascular function, which effect is better than that of scorpion ointment group.

Key words: Scorpion ointment; Moist exposed burn ointment; Diabetic cutaneous ulcers; Wound healing; Smad 4

Chinese Library Classification (CLC): R587.2; R753.7; R246.7; R244.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)13-2452-06

前言

糖尿病皮肤溃疡(diabetic skin ulcer, DSU)作为糖尿病(diabetes mellitus, DM)诸多严重并发症之一,主要因DM患者远

端缺血或自身血管神经病变引起的微循环障碍所致,常表现为皮肤溃疡,坏疽或局部感染等,一旦患病则创面久治不愈且易反复发作,是临床上导致糖尿病患者致残、截肢甚至致死的主要原因^[1,2]。近年来,随着人们生活方式与生活习惯的不断改变,

*基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(H2017067);黑龙江省中医药学会科研项目(ZHY19-052);

黑龙江中医药大学校级基金项目(201812);黑龙江省第一批省级名中医师承项目(黑龙江中医药管理局);

黑龙江中医药大学附属第二医院孙申田青年人才基金(2019KY-03)

作者简介:张海丽(1983-),女,硕士研究生,主治医师,主要研究方向:中西医结合治疗周围血管病,E-mail: 13936625649@163.com

[△] 通讯作者:郭伟光(1964-),男,博士研究生,主任医师,主要研究方向:中西医结合治疗周围血管病,

E-mail: 13936419977@163.com,电话:18646026199

(收稿日期:2020-01-08 接受日期:2020-02-26)

由糖尿病继发的 DSU 疾病的发病率逐年攀升,业已成为威胁人类健康的潜在因素之一,不仅给患者的自身活动造成障碍,同时亦给患者家庭带来严重的经济负担^[3-5]。因缺乏合理有效的治疗措施与手段,DSU 疾病仍是国内外医学界研究的热点之一^[6,7]。

现代分子医学研究表明,DSU 的形成主要与周围血管神经病变、微循环受阻、代谢减慢或其他因素引起,在治疗上多采用保守药物治疗或手术为主,主张积极控制患者血糖、改善微循环、修复血管神经功能及抗感染等^[8,9]。虽然对于急性 DSU 具有明显的治疗优势,但仍无法摆脱治疗费用高昂、溃疡创面复发率高且副作用大等不利因素。祖国医学认为“精血耗损、气血不畅”是引起 DSU 发病的主要原因,属于“脱疽、消渴”等范畴,宜用分期分型、辨证论治的整体观念以减少瘢痕形成并促进皮肤愈合^[10-12]。近年来,中医疗法已在临床上治疗 DSU 疾病方面有着独到的优势,特别是中医外治法因具有副作用小、治疗费用低且不易反复发作等优点而取得了良好的临床应用效果^[13,14]。何仁亮等人选用湿润烧伤膏对 DSU 进行治疗,证实该药具有增强机体免疫力、促进皮肤再生干细胞的激活和增生等功效^[15];赵光明等人应用不同剂量的回阳生肌方药对大鼠 DSU 进行治疗,证明了该方可通过促进局部炎症反应,修复血管神经及抗感染等作用达到祛腐生肌的功效^[10]。此外,全蝎软膏因具有独特的抗菌消炎、活血化瘀及增强创伤皮肤代谢等功效,被认为是一种新型的可用于临床上治疗 DSU 的潜在用药,并已成功用于下肢静脉溃疡、单纯性肛瘘和褥疮等疾病的相关治疗^[16-19]。本研究拟通过构建大鼠糖尿病皮肤溃疡模型,对半导体激光联合全蝎软膏的治疗效果进行综合评定,以期为临床上治疗早期 DSU 疾病提供新的解决方案。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器 全蝎软膏为黑龙江中医药大学附属二院制剂室提供、苏木精伊红染色(HE)试剂盒、TGF- β 免疫组化试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)购自上海 Sigma 贸易有限公司(生产批号:SLBH0076V);血管内皮生长因子(vEGF)试剂盒、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;Smad4 单克隆抗体、GAPDH 单克隆抗体、HRP 标记羊抗兔二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。半导体激光治疗仪

(MDC-500)购自上海曼迪森光电有限公司;倒置显微镜(CKX53)购自奥林巴斯(北京)有限公司;罗氏卓越纤巧型血糖仪及试纸购自罗氏诊断产品(上海)有限公司。

1.1.2 实验动物 SPF 级成年健康雄性 Wistar 大鼠 24 只,体重 200 g~250 g(约 8 周),购自北京维通利华实验动物技术有限公司(许可证编号:SCXK 京 2019-0009)。饲养于我院的实验动物中心内,调整性饲养 7~10 天,环境条件为 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 55%~60%、在此期间动物饮食及进水均自由。所有动物实验均由黑龙江省中医药大学动物伦理委员会的批准与指导下进行。

1.2 方法

1.2.1 大鼠 DSU 模型的制备 将适应饲养后的 24 只 Wistar 大鼠平均分为 4 组(空白组、模型组、全蝎软膏组、激光联合全蝎软膏组),每组 6 只,除空白组外,其他各组大鼠腹腔注射以柠檬酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 4.2~4.5)制成的 1%的 STZ(注射剂量:65 mg/kg)制备急性糖尿病模型,72 h 后尾静脉采血并用罗氏血糖仪进行测定,以随机血糖值 ≥ 16.7 mmol/L 判定为 DM 造模成功。随后,对各组实验大鼠尾静脉注射 4%水合氯醛(0.01 L/Kg)进行麻醉,呈腹卧位固定后用电动剃须刀推去大鼠背部长毛,标记面积约为 $4 \times 4 \text{ cm}^2$ 造模面积,在无菌条件下剪去造模区皮肤并深达筋膜,六层医用纱布覆盖创面后用医用纸胶带包扎固定制成 DSU 创面^[20]。

1.2.2 干预方法及取材 以 DSU 成模后的第 2 d 为实验开始的首日,分别用全蝎软膏和半导体激光对实验组进行干预,各组处理方法及用量如表 1 所示,其中,全蝎软膏组创面连续外用全蝎软膏 14 天,1 次/d;联合组创面以 MDC 激光治疗仪辅助全蝎软膏进行治疗,激光照射时间为 10 min,参数设定为:激光波长 830 nm,输出功率为 450 mW,能量密度为 6 mJ/cm²;正常组和模型组皮肤创面用 PBS 缓冲液处理,分别于治疗后的 3、7、10 和 14 d 观察创面愈合状态,计算创面愈合率^[21]。同时,分别取上述对应天数的创面肉芽组织,一部分固定于 10%的甲醛溶液中用于组织病理学检查;另一部分组织样本用 PBS (0.01 M, pH=7.4)冲洗后保存到液氮中用于;血管内皮生长因子(vEGF)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)及 Smad4 蛋白的检测。

创面愈合率(%)=(给药前创面面积-未愈合创面面积)/给药前创面面积 $\times 100\%$

表 1 大鼠糖尿病皮肤溃疡的治疗方案

Table 1 Therapeutic regimen for diabetic skin ulcer in rats

Groups	Therapeutic methods	Treatment and dose	Duration
Control	PBS	0.1 mL/cm ²	14 d
Model	PBS	0.1 mL/cm ²	14 d
Scorpion ointment	Scorpion ointment	100 mg/cm ²	14 d
Combined group laser irradiation +Scorpion ointment	laser for 10 min/d+ Scorpion	100 mg/cm ²	14 d

1.2.3 病理组织学检查 将固定的皮肤组织标本分别经梯度浓度乙醇脱水,石蜡包埋后切成约 4 μm 的组织切片。分别按照苏木素-伊红染色液及免疫组织化学染色说明书所述操作,显

显微镜下观察并拍摄各组肉芽组织生成情况及 TGF- β 蛋白定位表达情况。

1.2.4 组织的 ELISA 检测 将各组保存于液氮中的创面组织

取出,用 PBS 缓冲液(0.01 M, pH=7.4)冲洗三次并晾干。将组织尽量剪碎并与一定体积的 PBS 混合置于低温下充分研磨,将匀浆于 10 000 r/min 离心 20 min 取上清液备用。分别按照血管内皮生长因子(vEGF)试剂盒和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)试剂盒内的说明书所述进行 ELISA 检测,同时设置标准孔并绘制标准曲线,反应终止后在 450 nm 波长处检测各孔的 OD 值并计算细胞因子的相对含量。

1.2.5 组织中 Smad4 蛋白的检测 以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)蛋白为内参,将各组皮肤组织上清液经 SDS-PAGE 凝胶电泳作用后转至 PVDF 膜上,分别经 Smad4 一抗体及 1:5 000 HRP 标记羊抗兔二抗孵育,其 western blot 结果使用 Quantity 图像系统进行处理分析。

1.2.6 统计学处理 统计学数据应用 SPSS 16.0 软件进行分析,用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 q 检验。 $P<0.05$ 表示有统计学差异。

2 结果

2.1 建立 DCU 大鼠模型

造模前,所有的大鼠精神状态饱满、背毛具有光泽、饮食及排尿均正常。18 只用来造模的 Wistar 大鼠在腹腔注射 1%的高剂量 STZ 后,有 3 只大鼠血糖值检测未达到 DM 造模标准(≤ 16.7 mmol/L),造模率达 83.33%。DSU 模型复制后,除空白组外,各组大鼠饮水量、进食量和排尿量较对照组均有所升高,而体重呈下降趋势,呈典型的“三多一少”症状。体重监测结果显示,与空白对照组相比,DSU 造模组从首日起体重均呈下降趋势,至第 7 天开始出现显著性差异($P<0.05$),而 DSU 组间血糖水平无差异性($P>0.05$),表明治疗组间具有可比性。DCU 造模时由于麻醉剂量过大或动物个体差异等原因引起死亡 4 只,造模成功率达 73.33%,见表 2。

表 2 DCU 大鼠造模后各时间点血糖值及体重变化($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Level of blood glucose and body weight in DCU rats at different time($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	Blood glucose (mmol/L)				Body weight (g)			
		3 d	7 d	10 d	14 d	3 d	7 d	10 d	14 d
Control	6	6.8 $\pm$ 0.6	6.6 $\pm$ 0.7	7.1 $\pm$ 0.9	6.5 $\pm$ 0.5	263 $\pm$ 8	276 $\pm$ 11	285 $\pm$ 15	301 $\pm$ 9
Model*	3	24.7 $\pm$ 0.8	25.7 $\pm$ 0.7	27.4 $\pm$ 0.9	34 $\pm$ 1.1	211 $\pm$ 9	231 $\pm$ 10	243 $\pm$ 9	252 $\pm$ 11
Scorpion ointmen*	4	21.5 $\pm$ 0.6	24.3 $\pm$ 0.6	27.3 $\pm$ 0.8	28.2 $\pm$ 0.5	214 $\pm$ 13	229 $\pm$ 12	246 $\pm$ 9	261 $\pm$ 12
Combined group*	4	21.8 $\pm$ 1.2	23.6 $\pm$ 0.9	25.5 $\pm$ 0.7	27.4 $\pm$ 1.1	218 $\pm$ 11	234 $\pm$ 13	256 $\pm$ 11	274 $\pm$ 10

Note: * $P<0.01$, vs control group.

2.2 创面愈合情况

创面形态学观察可见,与模型组相比,经药物或激光连续治疗后,全蝎软膏组和联合治疗组内的 DSU 皮肤创面随着治疗时间的推移面积均逐渐缩小,肉芽组织呈淡红色且呈向心性生长,有少量黄色脓液或血痂出现,但联合治疗组皮肤创面缩小速度明显较。创面愈合率计算结果表明,给药 3 d 时,全蝎软

膏组、联合治疗组创面愈合率与模型组相比无统计学差异($P>0.05$),且均低于对照组。于给药第 7 d 开始各给药组创面愈合率高于模型组,差异具有统计学意义($P<0.05$),用药后第 10 d 开始,联合治疗组愈合率明显高于全蝎软膏组,且具有统计学意义($P<0.05$),至第 14 d 时创面大小逐渐缩至并接近对照组水平,结果见表 3。

表 3 各组创面愈合率比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of wound healing rates in each group(%, $\bar{x}\pm s$)

		3 d	7 d	10 d	14 d
Control	6	35.23 $\pm$ 2.56	48.84 $\pm$ 3.36	76.64 $\pm$ 2.76	96.42 $\pm$ 1.59
Model	3	6.23 $\pm$ 1.37*	11.24 $\pm$ 2.49*	22.37 $\pm$ 2.38*	51.52 $\pm$ 1.78*
Scorpion ointment	4	11.37 $\pm$ 1.43*	28.46 $\pm$ 1.75*	45.64 $\pm$ 1.63*	68.17 $\pm$ 1.39*
Combined group	4	18.46 $\pm$ 1.59*	38.21 $\pm$ 2.63*	58.17 $\pm$ 2.36*	91.24 $\pm$ 1.56

Note: * $P<0.05$, vs control group.

2.3 病理组织学观察

H.E 染色结果显示:模型组于造模首日组织内即出现大量炎症细胞细胞浸润,且胶原纤维及毛细血管数量均有不同程度减少。全蝎软膏治疗组在治疗初期皮肤肉芽组织内同样有大量炎症细胞浸润且毛细血管数量减少,在用药 7 d 后炎症症状有所减轻,可见少量新生毛囊组织及少量新生肉芽组织生成,在用药至 14 d 时,新生肉芽组织逐渐增多且有一定数量的成纤

维细胞和胶原纤维聚集。联合组 DSU 大鼠连续治疗后,于给药第 10 d 时即可见新生毛囊增多,成纤维细胞及胶原纤维数量明显高于同期模型组及全蝎软膏单独治疗组,同时亦可见少量毛细血管开始扩张、充血,至用药 14 d 时,毛细血管含量丰富,胶原纤维增多变粗并交织成网(图 1A)。创面组织 TGF- β 蛋白免疫组化染色观察结果表明:与模型组创面组织 TGF- β 蛋白含量相比,经连续治疗 14 d 后的全蝎软膏组和联合组中

TGF- β 蛋白水平均显著升高, 但后者 TGF- β 蛋白上升水平更加明显, 与空白对照组相接近(图 1B)。

2.4 肉芽组织 ELISA 检测

ELISA 检测结果如图 2 所示, 在 DSU 的初期阶段, 模型组与治疗组创面肉芽组织中的血管内皮生长因子(vEGF)表达量均显著降低, 而肿瘤坏死因子 α (TNF- α)表达量显著升高; 随着

治疗天数的增加, 经全蝎软膏组或 / 和激光连续治疗后的创面组织中的 vEGF 表达量均逐渐升高, 而肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达能力受到抑制, 且与模型组相比差异性显著, 而联合组的治疗效果要明显高于全蝎软膏组的治疗效果($P < 0.05$), 表明半导体激光疗法可以提升全蝎软膏的治疗效果, 抑制组织的炎症反应并提升肉芽组织的自身修复能力。

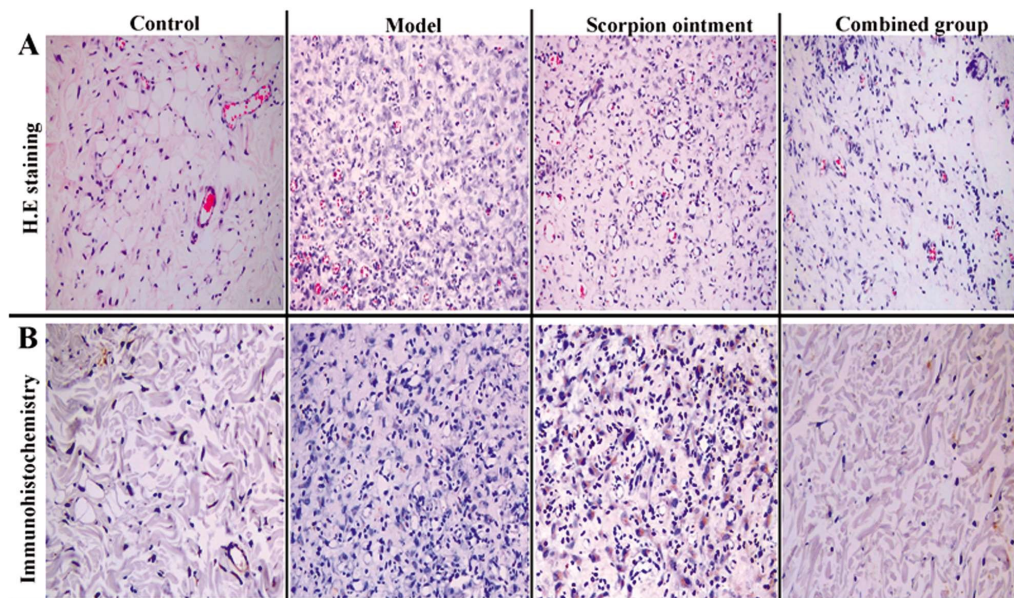


图 1 H.E 染色和免疫组化结果($\times 200$)

Fig.1 Observation results of histopathological. A: H.E staining; B: Immunohistochemical localization of TGF- β protein. ($\times 200$)

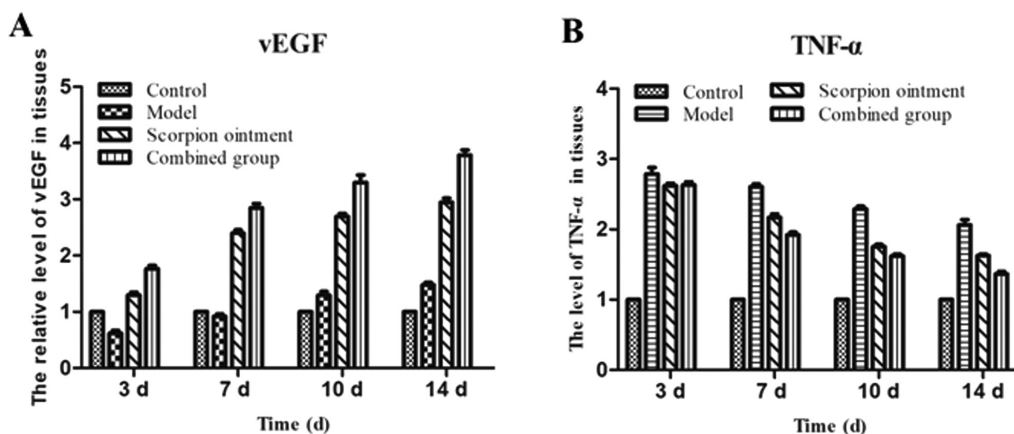


图 2 组织中 vEGF 及 TNF- α 的 ELISA 检测结果

Fig.2 The detection result of vEGF and TNF- α in tissues by ELISA. A: The detection results of vEGF; B: The detection results of TNF- α .

2.5 皮肤组织中 Smad 4 的检测

对各 DSU 实验组连续用药 14 d 后的皮肤创面进行 Smad4 蛋白 western-blot 检测, 结果如图 3 所示, 与模型组相比, 经全蝎软膏或激光辅助治疗后的皮肤组织中 Smad 4 蛋白水平均有不同程度的降低($P < 0.05$), 但激光联合全蝎软膏治疗组创面中 Smad 4 蛋白水平明显低于全蝎软膏治疗组, 并与对照组中 Smad4 蛋白水平相接近。以上结果表明激光辅助全蝎软膏治疗可显著抑制糖尿病皮肤溃疡的发生发展, 并通过降低 Smad 4 蛋白的表达水平从而促进 DSU 皮肤创面的愈合。

3 讨论

近年来, 随着糖尿病发病率的逐年递增, 由其引发的并发症已成为严重危害人类健康的隐形杀手, 其中, 糖尿病性皮肤溃疡因创面易溃烂、愈合缓慢且病情反复发作, 为临床治愈该病增加了障碍^[22-24]。现代医学采取的治疗手段虽见效快、效果好, 但价格昂贵且副作用大, 而中医主张的内外治法虽然安全性好、副作用较低, 但仍摆脱不了治愈率低与见效慢等缺点, 目前, 中西医结合方式治疗 DSU 疾病已逐渐成为国内外学者关注的焦点并已取得较大进展, 具有明显提高治愈率、促进创面肉芽生长、缩短治疗周期并抑制皮肤瘢痕形成等优势^[25,26]。本研究采用注射高剂量 STZ 结合皮肤缺损的方式成功复制大鼠 DSU 模型, 在注射 STZ 后, 大鼠血糖显著上升而体重逐渐下

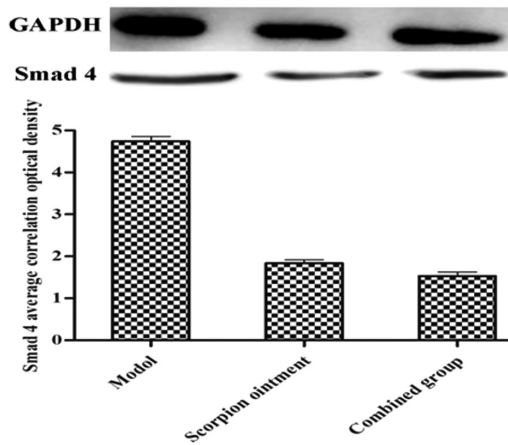


图3 Smad 4 蛋白的 western blot 结果

Fig.3 The result of western blot for Smad 4 protein

降, 剪去 DM 大鼠的背部皮肤后死亡数量上升, 造模率仅为 73.33%, 与其他报道相比, 本研究的成模率较低, 推测可能因动物处于糖尿病状态下而引起的机体免疫力下降, 或存在个体差异及麻醉过量等原因所致。

正常皮肤组织在创伤后其形态及完整性遭受破坏, 随后启动创面自身修复愈合过程, 当机体处于糖尿病状态下创伤愈合过程受阻、炎症反应延长、微血管形成受阻致而使新生肉芽组织形成减少, 成纤维细胞及胶原蛋白合成减慢, 久之, 溃疡面细菌大量增殖, 神经病变加剧致使溃疡皮肤修复迟缓^[8, 27]。经研究证实, 由全蝎、蜈蚣、冰片等独特的组份制成的全蝎软膏具有抗菌消炎、活血化痰、祛腐生肌、修复神经等功效, 且有一定的抗溃疡作用^[10]。于此同时, 半导体激光在修复糖尿病皮肤溃疡及神经元损伤中已取得了良好的应用效果^[28]。本研究应用半导体激光和 / 或全蝎软膏对 DCU 进行连续治疗, 结果显示, 全蝎软膏组和联合组均能在不同程度上促进创面肉芽组织的生长和再生并修复血管功能, 创面面积缩小速度快于模型组, 但联合组的疗效更显著。H.E 染色结果表明, 治疗组创面毛细血管生成较多, 胶原纤维密度随着治疗时间逐渐分布均匀且排列有序。免疫组化蛋白定位结果表明, 模型组创面内的 TGF- β 蛋白含量显著低于两个治疗组, 但联合组中 TGF- β 蛋白含量明显高于全蝎软膏组并与对照组水平相当。TGF- β 作为再生上皮化的重要标志, 是皮肤创伤修复过程中必不可少的细胞因子, 且被证实与 Smad 家族蛋白的信号通路密切相关^[29, 30]。本研究 Samd4 蛋白 Western-blot 结果显示, 随着半导体激光和 / 或全蝎软膏对 DSU 的连续治疗, 愈合组织内的 Smad4 的蛋白表达水平逐渐降低且与模型组相比差异显著 ($P < 0.05$), 其机制可能与全蝎软膏上调 TGF- β 的表达水平并降低其与下游 Smad4 蛋白的位点结合能力, 通过调节 TGF- β /Smads 信号转导通路而起到促进创面肉芽组织新生的作用, 但具体的机制仍需进一步的研究证实。另外, 从 ELISA 检测结果可见, 激光联合全蝎软膏的治疗效果要明显好于单独使用全蝎软膏治疗, 其主要介导高水平的血管内皮生长因子 (vEGF) 表达促进皮肤肉芽组织的生成, 同时抑制肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的表达缓解皮肤创面的炎症进程以达到促进肉芽组织快速生长的目的。

综上所述, 应用半导体激光结合全蝎软膏的方式治疗

DSU 不仅能够有效抑制组织炎症的发展、促进新生血管的形成, 而且兼备操作简便、副作用小及费用低等优点, 为临床上治疗疑难性皮肤疾病提供新的指导方向。

参考文献 (References)

- [1] Lawrence A L, Brian J P, David R L, et al. Unilateral remote temperature monitoring to predict future ulceration for the diabetic foot in remission [J]. BMJ Open Diabetes Research And Care, 2019, 7 (1): 277-286
- [2] Wu M, Pan H, Leng W, et al. Distribution of Microbes and Drug Susceptibility in Patients with Diabetic Foot Infections in Southwest China[J]. J Diabetes Res, 2018, 2018(04): 308-316
- [3] Zhang Y, Deng H, Tang Z, et al. Efficacy of Cellular Therapy for Diabetic Foot Ulcer: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials[J]. Cell Transplant, 2017, 26(12): 1931-1939
- [4] Hart T, Milner R, Cifu A, et al. Management of a Diabetic Foot[J]. JAMA, 2017, 318(14): 1387-1388
- [5] Tchero H, Kangambega P, Lin L, et al. Cost of diabetic foot in France, Spain, Italy, Germany and United Kingdom: A systematic review[J]. Ann Endocrinol (Paris), 2018, 79(2): 67-74
- [6] Monteiro-Soares M, Ribas R, Pereira D S C, et al. Diabetic foot ulcer development risk classifications' validation: A multicentre prospective cohort study[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2017, 127(5): 105-114
- [7] Huang E T, Mansouri J, Murad M H, et al. A clinical practice guideline for the use of hyperbaric oxygen therapy in the treatment of diabetic foot ulcers[J]. Undersea Hyperb Med, 2015, 42(3): 205-247
- [8] Yang Hai-na, Li Da-yong. Research Progress of Traditional Chinese Medicine External Therapy in Treating Diabetes Ulcers [J]. Clinical journal of traditional Chinese medicine, 2017, 29(5): 613-616
- [9] Zhao Zhi-yue, Liu Bo-ling, Zhang Ya-jun. The Analysis of Etiology and Pathogenesis about Diabetes[J]. Nei Mongol Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 33(31): 126-128
- [10] Zhao Guang-ming, Dong Jian-xun, Li Yuan, et al. Influence of Huiyang Shengji Formula on Wound Healing in Rats with Diabetic Skin Ulcer [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2014, 37(7): 495-499
- [11] Li Ke-ke, Li Da-yong. Clinical effect observation of oil ointment in the treatment of diabetic foot ulceration with damp and hot accumulate resistance syndrome [J]. China Modern Medicine, 2016, 23(12): 116-118, 121
- [12] Li Y S, Yang B H. Effects of compound fluid of cortex phellodendri on inflammatory cytokines and growth factors in external treatment of diabetic foot ulcer [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2014, 23(10): 1163-1166
- [13] Wei C, Kai Y U, Yu W. Pharmacological investigation of natural plant anti-microbial solution in treatment of mice with diabetic foot Ulcers [J]. Journal of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2016, 39(2): 27-29
- [14] Peng D M, Lu R J, Zhao S Y, et al. Study on reproducible rat model of ischemic diabetic ulcers [J]. Pract Clin J Integr Tradit Chin West Med, 2014, 14(11): 1-3
- [15] He Ren-liang, Yu Zhi-he, Liu Ying-xiang, et al. Clinical study of moist exposed burn ointment in treating for chronic diabetic skin ul-

- cer[J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2010, 19(10): 1171-1173
- [16] Wang-Jing, Guo Wei-guang, Teng Lin, et al. The 32 cases of diabetic foot treated with scorpion ointment and MEBO[J]. Chinese Traditional Medicine, 2014, 12(17): 33-34
- [17] Xia Kun-peng, Pang Jing, Zhang Miao, et al. Clinical observation on pressure ulcer treated by bangci electro-acupuncture with quanxie ruangao[J]. World Latest Medicine Information, 2018, 18(55): 163-164
- [18] Wang Jing, Zhang, Hai-li, Guo Wei-guang, et al. Evaluation of the Effect of Scorpion Ointment Combined with Asiaticoside Ointment in the Treatment of Hypertrophic Scar [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2019, 19(22): 4232-4237
- [19] Zhang Jie-xia, Zhou Ling. Clinical observation on the treatment of 120 cases of dryness and lung type nose haggard with scorpion ointment[J]. Chin J Otorhinolaryngol Integ Med, 2016, 24(2): 131-134
- [20] Zhang Dan-dan, Zhang Han, Zhao Jiu-feng, et al. Treatment of Chronic Ulcer in Diabetic Rats with Asiaticosides [J]. Chin Pharm J, 2017, 52(08): 643-648
- [21] He Xuan-ling, Wang Xing-zhi, Huang Zheng-de. Experimental study on Dragon's blood to promote the healing of diabetic skin ulcer[J]. Journal of New Chinese Medicine, 2011, 43(8): 144-147
- [22] Kulkarni Y S, Emmi S V, Dongargaon T N, et al. Wound healing effect of Vimlapanakarma with Jatyadi tailam in diabetic foot [J]. Anc Sci Life, 2015, 34(3): 171-174
- [23] Hicks C W, Canner J K, Karagozlu H, et al. The Society for Vascular Surgery Wound, Ischemia, and foot Infection (WIFI) classification system correlates with cost of care for diabetic foot ulcers treated in a multidisciplinary setting[J]. J Vasc Surg, 2018, 67(5): 1455-1462
- [24] Game F. Treatment strategies for neuroischaemic diabetic foot ulcers [J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2018, 6(3): 159-160
- [25] Kallio M, Vikatmaa P, Kantonen I, et al. Strategies for free flap transfer and revascularisation with long-term outcome in the treatment of large diabetic foot lesions[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2015, 50(2): 223-230
- [26] Berlanga A J, Armstrong D, Schultz G, et al. Chronic wounds with emphasis in diabetic foot ulcers [J]. Biomed Res Int, 2014, 26(11): 352-357
- [27] Albert, Stephen. Cost-effective management of recalcitrant diabetic foot ulcers[J]. Clinics in podiatric medicine and surgery, 2002, 19(4): 483-491
- [28] Ma Qiong, Chen Li-hua, Wang Yan, et al. Clinical observation of 810 nm diode laser combined with skin care in the treatment of facial acne vulgaris[J]. Journal of Dali University, 2015, 14(10): 42-44
- [29] Xu Jin-bo, Chen Min-yuan, Xu Hong-tao, et al. Emodin Inhibits the Angiogenesis of Pancreatic Cancer by Regulating the TGF- β 1 and Smad4[J]. Journal of Medical Research, 2017, 46(10): 162-165
- [30] Zongguo Sun, Qi Xie, Jie Pan, et al. Cadmium regulates von Willebrand factor and occludin expression in glomerular endothelial cells of mice in a TNF- α -dependent manner[J]. Renal Failure, 2019, 41(1): 354-362

(上接第 2451 页)

- [19] Izumi D, Ishimoto T, Miyake K, et al. CXCL12/CXCR4 activation by cancer-associated fibroblasts promotes integrin β 1 clustering and invasiveness in gastric cancer[J]. Int J Cancer, 2016, 138(5): 1207-1219
- [20] Park JY, Sung JY, Lee J, et al. Polarized CD163+ tumor-associated macrophages are associated with increased angiogenesis and CXCL12 expression in gastric cancer[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2016, 40(3): 357-365
- [21] Yu C, Zhang Y. Characterization of the prognostic values of CXCR family in gastric cancer[J]. Cytokine, 2019, 123(7): 154785
- [22] Naito Y, Yamamoto Y, Sakamoto N, et al. Cancer extracellular vesicles contribute to stromal heterogeneity by inducing chemokines in cancer-associated fibroblasts[J]. Oncogene, 2019, 38(28): 5566-5579
- [23] Sebrell T A, Hashimi M, Sidar B, et al. A Novel Gastric Spheroid Co-culture Model Reveals Chemokine-Dependent Recruitment of Human Dendritic Cells to the Gastric Epithelium [J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2019, 8(1): 157-171.e3
- [24] Aldinucci D, Casagrande N. Inhibition of the CCL5/CCR5 Axis against the Progression of Gastric Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(5): 4123-4124
- [25] Hiramatsu S, Tanaka H, Nishimura J, et al. Neutrophils in primary gastric tumors are correlated with neutrophil infiltration in tumor-draining lymph nodes and the systemic inflammatory response [J]. BMC Immunol, 2018, 19(1): 13
- [26] 韩璐, 周娟娟, 孙吉瑞, 等. 趋化因子受体 CCR1 及 CCR5 在胃癌中的表达及临床意义[J]. 中华保健医学杂志, 2018, 20(2): 105-108
- [27] 辛琪, 张娜, 温丽坤, 等. 趋化因子受体 CXCR7 通过 VEGF 促进胃癌生长[J]. 世界华人消化杂志, 2018, 26(11): 639-647
- [28] 张彬, 姜红, 刘松, 等. 趋化因子受体 7 在胃癌组织中的表达情况及与临床特征的关系[J]. 癌症进展, 2019, 17(10): 1215-1218
- [29] 达成利帕拉提·艾斯卡, 比力克孜·玉素甫. 趋化因子 CCL5 在涎腺腺样囊性癌患者肿瘤组织和血清中的表达及临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(6): 891-894
- [30] 梁亮, 邓霄, 聂治军, 等. 趋化因子 CCL5 表达与肾透明细胞癌病理特征及预后的相关性研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(3): 405-408
- [31] Liu GT, Chen HT, Tsou HK, et al. CCL5 promotes VEGF-dependent angiogenesis by down-regulating miR-200b through PI3K/Akt signaling pathway in human chondrosarcoma cells [J]. Oncotarget, 2014, 5(21): 10718-10731