

APG 治疗糖尿病难治性皮肤溃疡对创面肉芽组织中 MMP-1、MMP-9 及 TIMP-1 水平的影响^{*}

何利平^{1,2#}, 王 椿^{1,2}, 陈大伟^{1,2}, 李秀钧^{1,2}, 冉兴无^{1,2△}

1. 四川大学华西医院 糖尿病足诊治中心(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 内分泌代谢科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨自体富血小板凝胶(APG)治疗糖尿病难治性皮肤溃疡过程中,溃疡肉芽组织中基质金属蛋白酶(MMP)-1、-9 及基质金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)的动态变化。**方法** 86 例糖尿病皮肤溃疡患者随机分为标准治疗组(单用溃疡标准治疗)或 APG 治疗组(标准治疗基础上加 APG 治疗)。APG 组治疗前和治疗后 3、6、9、15 d 及标准治疗组治疗前和治疗后 6、15 d 时采集创面肉芽组织,其中 21 例患者完整获取观察各时间点肉芽组织纳入最后分析,APG 组 12 例,标准治疗组 9 例。用酶联免疫法检测肉芽组织中 MMP-1、MMP-9 和 TIMP-1 浓度,同时观察溃疡愈合情况。**结果** APG 治疗组溃疡面积在各观察时间点较治疗前缩小($P<0.05$);该组肉芽组织 MMP-1 浓度呈现波动变化,在治疗后第 15 d 时降至最低(vs. 6 d, $P<0.05$);MMP-9 从治疗后第 3 d 起逐渐降低,但各时点与治疗前相比,差异均无统计学意义;TIMP-1 在治疗后第 3 d 开始增高,第 6 d 达到最高($P<0.05$);MMP-9/TIMP-1 比值在治疗后的第 6、15 d 均较治疗前下降($P<0.01$)。标准治疗组溃疡面积在治疗后第 15 d 时较治疗前及治疗后第 6 d 缩小($P<0.05$);该组肉芽组织 MMP-1 浓度第 6 d 明显升高($P<0.05$),于第 15 d 降低但仍高于 APG 组($P<0.05$);MMP-9 浓度第 15 d 时较治疗前降低($P<0.05$);TIMP-1 的浓度治疗前后差异均无统计学意义;MMP-9/TIMP-1 比值第 15 d 较治疗前降低($P<0.05$)。MMP-9/TIMP-1 比值与溃疡面积大小呈正相关($r=0.353, P<0.05$)。**结论** APG 治疗可降低糖尿病难治性皮肤溃疡肉芽组织中 MMPs 的浓度,同时提高 TIMPs 浓度,进而改善局部 MMPs-TIMPs 平衡;MMP-9/TIMP-1 比值是影响糖尿病难治性皮肤溃疡愈合的相关因素。

【关键词】 自体富血小板凝胶 糖尿病 难治性皮肤溃疡 基质金属蛋白酶 基质金属蛋白酶抑制因子

Dynamic Changes of MMP-1, MMP-9 and TIMP-1 in the Refractory Diabetic Dermal Ulcers Treated by Autologous Platelet-rich Gel HE Li-ping^{1,2}, WANG Chun^{1,2}, CHEN Da-wei^{1,2}, LI Xiu-jun^{1,2}, RAN Xing-wu^{1,2△}. 1. Diabetic Foot Care Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Endocrinology and Metabolism, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: ranxingwu@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the dynamic changes of matrix metalloproteinase-1,-9 (MMP-1, MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in the refractory diabetic dermal ulcers treated with autologous platelet-rich gel (APG). **Methods** 86 patients with nonhealing diabetic dermal ulcers were randomly assigned to two groups treated with standard procedures and APG (standard care plus topic application of autologous platelet-rich gel). The granulation tissues were collected at d0, d3, d6, d9, and d15 in patients in the APG group and at d0, d6, d15 in patients in the standard care group. The areas of ulcers were measured. The protein levels of MMP-1, MMP-9 and TIMP-1 in the tissues were determined with ELISA. The ratio of MMP-9/TIMP-1 and its relationship with the areas of ulcers were examined. **Results** The areas of ulcers of patients in the APG group decreased significantly (vs. d0, $P<0.05$). The concentrations of MMP-1 in the granulation tissues of patients treated with APG fluctuated and reached the lowest level at d15 (vs. d6, $P<0.05$). The concentrations of MMP-9 in the patients treated with APG decreased from d3 to d15, but without statistical significance compared with d0 ($P>0.05$). The concentrations of TIMP-1 in the patients treated with APG increased from d3 and reached the peak at d6 ($P<0.05$). The ratio of MMP-9/TIMP-1 at both d6 and d15 decreased significantly compared with d0 ($P<0.05$) in the patients treated with APG. The areas of ulcers in the patients with standard care decreased significantly at d15 (vs. d6, $P<0.05$). The concentrations of MMP-1 reached the peak at d6 ($P<0.05$) and then decreased in

^{*} 国家自然科学基金(No. 81170776/H0713)和四川省科技厅科技支撑项目(2009sz0153)资助

[#] 现在重钢总医院老年科

[△] 通讯作者, E-mail: ranxingwu@yahoo.com.cn

the patients with standard care but was still higher than the patients treated with APG ($P < 0.05$). The concentrations of MMP-9 decreased significantly at d15 compared with d0 in the patients treated with standard care ($P < 0.05$), but the change of TIMP-1 was not significant. The ratio of MMP-9/TIMP-1 in the patients with standard care decreased at d15 compared with the d0 ($P < 0.05$). The ratio of MMP-9/TIMP-1 was positively correlated with the areas of ulcers ($r = 0.353, P < 0.05$). **Conclusion** Topical application of APG might redress the proteolytic imbalance of refractory diabetic dermal ulcers by decreasing the concentration of MMPs and increasing that of TIMPs in granulation tissues. The ratio of MMP-9/TIMP-1 is a predictor of poor healing of refractory diabetic dermal ulcers.

【Key words】 Autologous platelet-rich gel Diabetes mellitus Refractory diabetic dermal ulcer
Matrix metalloproteinase Tissue inhibitor of metalloproteinase

糖尿病性溃疡因正常的创面愈合程序被打破而致溃疡慢性不愈。自体富血小板凝胶 (autologous platelet-rich gel, APG) 系取自患者自身外周静脉血, 经离心、分离、浓缩制得的富含血小板血浆按一定比例与凝血酶-钙剂混合凝固形成。APG 治疗作为糖尿病难治性皮肤溃疡的一种治疗方法, 我们既往研究^[1]已证实其有效性及安全性, 并对其愈合机制也从生长因子方面进行了初步探讨^[2]。但正常创面的愈合受多种因素影响, 需要生长因子、细胞因子、蛋白水解酶和细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的平衡交互作用。在慢性溃疡, 高水平的蛋白水解酶通过降解 ECM 和生长因子导致创面愈合过程的断裂和失调^[3], 尽管关于 APG 治疗对慢性创面的愈合作用的研究逐渐增多, 但尚未见其对创面蛋白水解环境影响的评价。本研究通过观察糖尿病难治性皮肤溃疡在 APG 治疗前后创面肉芽组织中基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 及基质金属蛋白酶抑制因子 (tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs) 的变化, 探讨 APG 治疗慢性溃疡的作用机制。

1 对象与方法

1.1 研究对象

自 2007 年 4 月至 2009 年 3 月, 我校华西医院内分泌代谢科住院治疗的糖尿病皮肤溃疡患者 86 例, 随机分为 APG 治疗组和标准治疗组。其中能完整获取观察时间点肉芽组织的 21 例 (男 15 例, 女 6 例) 患者纳入本研究。APG 组 12 例, 标准治疗组 9 例。

两组患者经过胰岛素控制血糖, 严格控制血压、血脂, 同时给予抗血小板、改善微循环、营养神经、抗感染等治疗; 标准治疗组在创面局部予以正规清创、引流、减压、交换敷料、保湿等处理; APG 组在标准治疗基础上加用 APG 治疗, 以创面愈合、转骨科行

皮瓣移植或截肢、自动出院为观察终点, 总观察期为 12 周。

本研究经四川大学华西医院医学伦理委员会批准, 所有受试者均签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

APG 由我室制备^[1]。人 MMP-1、MMP-9 ELISA 试剂盒 (上海森雄公司, 进口分装); 人 TIMP-1 ELISA 试剂盒 (Uscn life science & Technology Company, 美国); BCA 蛋白质定量试剂盒 (Pierce 公司, 美国); 超声均浆器 (Cole-Parmer 公司, 美国); 全波长酶标仪 (Thermo Electron OY, 芬兰); 低温离心机 (Beckman, 美国)。

1.3 标本收集及溃疡面积测量

APG 组患者, 在治疗的第 0、3、6、9、15 d 取创面内的肉芽组织, 标准治疗组患者取第 0、6、15 d 创面内的肉芽组织。同时, 在各时间点测量溃疡面积。将取得的肉芽组织迅速放入 -80°C 冷冻保存备用。

1.4 组织蛋白含量和 MMP-1、MMP-9、TIMP-1 测定

采用 BCA 法测组织蛋白^[2]。采用酶联免疫法测定组织匀浆后上清液中 MMP-1、MMP-9 及 TIMP-1 的浓度, 具体按试剂盒说明检测, 将测得的浓度除以该组织蛋白含量, 计算每 $100\ \mu\text{g}$ 组织中 MMP-1、MMP-9 及 TIMP-1 的含量 ($\text{ng}/100\ \mu\text{g}$)。

1.5 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 非正态分布数据资料经对数转换后进行分析, 采用重复测量的方差分析, 相关关系使用 Pearson 相关分析, $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 两组患者的一般情况

APG 组患者 12 例, 男 8 例, 女 4 例, 平均年龄 (59.3 ± 16.5) 岁, 糖尿病病程 (6.3 ± 5.8) 年, 皮肤溃疡病程 (31.3 ± 24.6) d, 糖化血红蛋白 (HbA1c)

(10.9±4.1)%。其中颈部溃疡 1 例,腘窝脓疡 1 例,糖尿病手 1 例,糖尿病足溃疡 9 例(Wagner 2 级 1 例,Wagner 3 级 2 例,Wagner 4 级 6 例);标准治疗组 9 例,男 7 例,女 2 例,平均年龄(62.3±13.5)岁,糖尿病病程(8.2±6.7)年,皮肤溃疡病程(43±49.8) d,HbA1c (8.3±2.3)%,其中褥疮 1 例,糖尿病足溃疡 8 例(Wagner 2 级 3 例,Wagner 3 级 3 例,Wagner 4 级 2 例)。两组患者年龄、糖尿病病程、皮肤溃疡病程及 HbA1c 比较差异均无统计学意义($P>0.05$,数据呈非正态分布,经对数转换后进行统计分析)。两组患者入院后,血糖、血压、血脂均控制正常,肝肾功能均在正常范围。

结局:APG 组痊愈 11 例,1 例好转转骨科行皮瓣移植;标准治疗组 5 例痊愈,1 例好转,1 例治疗无效自动出院,2 例治疗失败转骨科截肢/趾。

2.2 两组患者治疗前后溃疡愈合面积的比较

表 1 显示,两组患者治疗前溃疡面积差异无统计学意义($P>0.05$)。APG 组治疗后逐渐缩小,并在所测的各时间点间比较差异均有统计学意义($P<0.05$);标准治疗组在治疗后第 15 d 较治疗前和治疗后第 6 d 缩小(P 均 <0.05)。

2.3 两组在治疗前后肉芽组织中 MMP-1、MMP-9、TIMP-1 的浓度及 MMP-9/TIMP-1 的比较

由表 2 可见,APG 组与标准治疗组相比,在治

表 1 APG 组及标准治疗组在治疗前后溃疡面积比较

Table 1 The change of area of ulcers both in patients treated with APG and standard care

Group	Before treatment (cm ²)	After treatment (cm ²)			
		3 d	6 d	9 d	15 d
APG	11.75±14.19	10.32±12.89*·△	9.08±11.49*·△	8.15±10.60*·△	7.71±11.87*·△
Standard care	12.95±17.62	—	10.74±13.01	—	9.17±9.45#

* $P<0.05$, vs. before teatment in the same group; △ $P<0.05$, vs. each point after treatment in APG group; # $P<0.05$, vs. before teatment and 6 d after treatment in the same group

疗前,两组患者溃疡内肉芽组织中 MMP-1、-9 及 TIMP-1 蛋白浓度基本处于同一水平($P>0.05$);治疗后第 15 d,标准治疗组肉芽组织 MMP-1 水平较 APG 组高,差异有统计学意义($P<0.05$);两组间 MMP-9 及 TIMP-1 水平不同时间点比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

在 APG 治疗组,创面内肉芽组织的 MMP-1 蛋白水平在治疗后第 3 d 有所下降(但与治疗前比较

$P>0.05$),第 6 d 稍有回升后又逐渐下降,至第 15 d 时,明显降低(vs. 6 d, $P<0.05$);MMP-9 浓度呈现逐渐下降的趋势,但各时间点差异无统计学意义($P>0.05$);TIMP-1 水平在 APG 治疗后第 3 d 开始升高,第 6 d 达到最高,与治疗前比较差异有统计学意义($P<0.05$),之后逐渐下降,至第 15 d 时其浓度稍高于治疗前水平($P>0.05$)。

标准治疗组,肉芽组织内 MMP-1 蛋白的浓度

表 2 两组患者各时期创面肉芽组织中 MMP-1、MMP-9、TIMP-1 的浓度(ng/100 μg)及 MMP-9/TIMP-1 的比较

Table 2 The concentrations of MMP-1, MMP-9, TIMP-1 (ng/100 μg) and the ratio of MMP-9/TIMP-1 in granulation tissues in patients treated with APG and standard care

Group		After treatment				
		0 d	3 d	6 d	9 d	15 d
APG	MMP-1	2.99±2.14	2.16±0.83	3.99±2.93	3.44±2.45	1.94±1.68*
	MMP-9	22.48±15.31	14.96±12.46	16.05±14.05	16.20±9.74	12.79±9.11
	TIMP-1	1.22±0.61	1.65±1.10	2.06±1.30#	1.85±1.69	1.90±1.21
	MMP-9/TIMP-1	20.24±12.13	14.10±14.47	12.01±17.35#	13.91±9.63	8.84±6.38#
Standard care	MMP-1	2.52±1.37	—	4.39±2.29#	—	3.69±1.90△
	MMP-9	20.29±7.49	—	17.78±16.0	—	11.84±7.24#
	TIMP-1	1.36±0.82	—	1.52±1.22	—	1.37±0.36
	MMP-9/TIMP-1	19.67±12.76	—	15.53±9.91	—	9.50±6.51#

* $P<0.05$, vs. 6 d in the same group; # $P<0.05$, vs. 0 d in the same group; △ $P<0.05$, vs. APG group at the same time

治疗后第 6 d 较治疗前升高,差异有统计学意义($P<0.05$),于第 15 d 降低,但较 APG 组仍高($P<0.05$);MMP-9 蛋白浓度第 15 d 与治疗前比较降低($P<0.05$);TIMP-1 浓度各时间点基本维持同一水

平,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 两组溃疡肉芽组织中 MMP-9/TIMP-1 比值的变化及与溃疡愈合的关系

由表 2 可见,APG 组在治疗后第 6 d 和 15 d 的

MMP-9/TIMP-1 比值均较治疗前降低(P 均 <0.05),标准治疗组 MMP-9/TIMP-1 比值在第 15 d 时较治疗前降低($P<0.05$);但相同时间点组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

肉芽组织中 MMP-9/TIMP-1 比值与溃疡面积大小呈正相关关系,相关系数为 0.353($P=0.003$),提示 MMP-9/TIMP-1 比值与溃疡的愈合呈负相关关系。

3 讨论

本研究观察了 APG 治疗糖尿病难治性皮肤溃疡后,肉芽组织 MMP-1、MMP-9 及 TIMP-1 的变化情况。结果显示,两组肉芽组织中试验前 MMP-1、MMP-9、TIMP-1 均在同一水平(P 均 >0.05),在经 APG 治疗后,MMP-1 在第 15 d 时明显下降,较标准治疗组低;MMP-9 在 APG 组出现逐渐下降的趋势,而在标准治疗组明显下降,两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);TIMP-1 在 APG 组逐渐增高,第 6 d 达到最高,而标准治疗组的 TIMP-1 几乎处于同一水平,两组间比较无明显差异($P>0.05$);MMP-9/TIMP-1 的比值在两组均出现明显下降,与溃疡面积呈正相关($r=0.353$)。

糖尿病足由于持续高浓度的前炎症因子,在创面内诱导产生高浓度蛋白水解酶,降解创面愈合必需的生长因子、生长因子受体和基质蛋白而阻碍创面愈合^[4,5]。MMPs 在创面愈合过程中的细胞移行以及组织修复过程中发挥重要的作用^[4]。MMP-1 是 ECM 中调节胶原代谢的主要酶,主要降解Ⅲ型胶原,同时也能降解Ⅰ、Ⅱ型胶原等大分子蛋白^[6]。适当的 MMP-1 的表达是创面再上皮化必需的^[7,8]。明胶酶是另一类参与创面愈合的主要酶,包括 MMP-2 和 MMP-9。它们能降解几乎所有变性的胶原以及自然的基底膜^[9],可能与角化形成细胞在迁移前与基底膜的脱离有关,被用于在坏死组织清除过程中,帮助中性粒细胞和巨噬细胞对基质进行消化^[10]。TIMPs 是 MMPs 的特异性抑制剂,包括 TIMP-1、-2、-3、-4^[11],能刺激多种细胞的生长,包括人皮肤源性角质细胞及上皮细胞^[12]。TIMP-1 与 MMP-9 结合后抑制 MMP-9 的活化^[11,13]。

Lobmann 等^[5]比较糖尿病与非糖尿病溃疡组织 MMPs 与 TIMPs 的水平,结果显示前者 MMP-1、Pro-MMP-2、MMP-2、MMP-8、MMP-9 较后者均有不同程度的升高,而 TIMP-2 降低,并认为抑制过度的 MMPs 的活性及提高 TIMP 的表达将有助于

慢性创面愈合^[5]。Ladwig 等^[8]认为 MMP-9/TIMP-1 的比值是慢性创面愈合重要的预测因子,显示了与慢性压迫性溃疡的愈合倾向存在负相关。本研究显示,随着两组患者创面的愈合,创面内 MMP-9/TIMP-1 的比值逐渐下降,标准治疗组,比值在第 15 d 时出现明显下降,这也是溃疡面积缩小最明显的时候;而 APG 组的比值在第 6 d 时就出现明显下降,同时溃疡面积在治疗后很快减小。本研究显示,溃疡 MMP-9/TIMP-1 的比值与溃疡面积的相关系数为 0.353,显示了与溃疡的愈合呈负相关。目前有关于糖尿病慢性溃疡渗液中 pro-MMP-9/TIMP-1 的比值与创面愈合率的相关性的报道,该研究显示它们的相关系数为 0.4959,并认为渗液中 MMP-9 的表达越高预示着溃疡越难愈合^[14]。

本研究中两组 MMP-9/TIMP-1 的比值从试验前到试验后第 15 d 下降程度相当,但是过程却不尽相同,标准治疗组的 TIMP-1 基本不变,主要通过 MMP-9 的表达下降而使比值下降;APG 组的 MMP-9 也逐渐下降,但同时 TIMP-1 有明显升高,两者的共同作用使比值下降。在糖尿病性溃疡中,蛋白水解酶的活性普遍增高以及特异性抑制剂的降低可能是源于生长因子降低^[12];APG 中富含多种生长因子,包括血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor,PDGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)、表皮生长因子(epithelial cell growth factor,EGF)、转移生长因子(transforming growth factor- β ,TGF- β)以及胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor-1,IGF-1)。我们以往的研究显示,APG 治疗后,溃疡组织局部包括 TGF- β 1 等生长因子浓度升高^[2]。TGF- β 1 能诱导成纤维细胞表达 MMP-2 和 MMP-9,可能以前馈的方式增强 TGF- β 1 的活性^[10,15],刺激血管发生以及增强细胞外基质的沉积;同时抑制蛋白水解酶对 ECM 的降解。此外,TGF- β 1 还刺激许多不同的细胞分泌 TIMP-1、-2 和 -3^[10]。另有研究显示^[8]粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor,GM-CSF)以及碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor,bFGF)能显著降低慢性压迫性溃疡渗液内的 MMP-9/TIMP-1 比值。有人建议,同时测量创面渗液中的 MMP-9、TIMP-1 及 TGF- β 可能有助于评估愈合不良的风险^[14]。因此,血小板凝胶可能通过其组分生长因子实现了对蛋白水解系统的调节。

一些研究认为,在慢性溃疡中升高的 MMP 的活性可能是因为缺乏可溶性的抑制剂而不是酶自身过量的表达^[16-18]。Varelias 等^[19]使用富含多种生长因子的牛乳清提取物治疗慢性下肢溃疡,结果显示治疗组渗液中 MMP-2 的含量减少,表达 MMP-9 及 TIMP-2 的成纤维细胞及炎性细胞有暂时性增加,同样说明了复合生长因子制剂与创面内 TIMP 表达的增加有关。

本研究中,虽然肉芽组织中基质蛋白水解平衡在两组中具有一致的变化方向,但是尚未显现 APG 治疗对这一调节更具优势,因此,今后尚需大样本研究证实。此外,修复过程还涉及到其他的一些 MMPs 以及丝氨酸蛋白酶、中性白细胞弹性蛋白酶等蛋白水解酶和它们的抑制剂如 $\alpha 1$ 蛋白酶抑制剂,也可能在糖尿病溃疡修复过程中发挥重要的作用^[5]。因此,本研究仅初步表现出 APG 治疗可能具有潜在的调节糖尿病慢性溃疡中蛋白水解酶失衡的作用,然而更多复杂的机制还需要进一步探索和明确。

参 考 文 献

- 袁南兵,王 椿,王 艳等. 自体富血小板凝胶在糖尿病难治性皮肤溃疡中的初步应用. 四川大学学报(医学版),2007;38(5):900-903.
- 袁南兵,龙 洋,张祥迅等. 自体富血小板凝胶治疗糖尿病难治性皮肤溃疡作用机制的初步探讨. 四川大学学报(医学版),2009;40(2):292-294.
- Chen C, Schultz GS, Bloch M, *et al.* Molecular and mechanistic validation of delayed healing rat wounds as a model for human chronic wounds. *Wound Repair Regen*,1999;7(6):486-494.
- Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S, *et al.* Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen*,1999;7(6):442-452.
- Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G, *et al.* Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. *Diabetologia*,2002;45(7):1011-1016.
- Donahue TR, Hiatt JR, Busuttill RW. Collagenase and surgical disease. *Hernia*,2006;10(6):478-485.
- Mandal M, Mandal A, Das S, *et al.* Clinical implications of matrix metalloproteinases. *Mol Cell Biochem*,2003;252(1-2):

305-329.

- Ladwig GP, Robson MC, Liu R, *et al.* Ratios of activated matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound Repair Regen*,2002;10(1):26-37.
- Mohan R, Chintala SK, Jung JC, *et al.* Matrix metalloproteinase gelatinase B (MMP-9) coordinates and effects epithelial regeneration. *J Biol Chem*,2002;277(3):2065-2072.
- Wall SJ, Bevan D, Thomas DW, *et al.* Differential expression of matrix metalloproteinases during impaired wound healing of the diabetes mouse. *J Invest Dermatol*,2002;119(1):91-98.
- Burbridge MF, Cogé F, Galizzi JP, *et al.* The role of the matrix metalloproteinases during *in vitro* vessel formation. *Angiogenesis*,2002;5(3):215-226.
- Blakytyn R, Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabet Med*,2006;23(6):594-608.
- Chintala SK, Rao JS. Matrix metalloproteinases: regulation and biological functions. *J Chem Sci*,1999;111(1):263-273.
- Liu Y, Min D, Bolton T, *et al.* Increased matrix metalloproteinase-9 predicts poor wound healing in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*,2009;32(1):117-119.
- Cox JH, Overall CM. Cytokine substrates: MMP regulation of inflammatory signaling molecules. In: Edwards D. *The Cancer Degradome Proteases and Cancer Biology*. New York: Springer,2008;519-539.
- Bullen EC, Longaker MT, Updike DL, *et al.* Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 is decreased and activated gelatinases are increased in chronic wounds. *J Invest Dermatol*,1995;104(2):236-240.
- Vaalamo M, Weckroth M, Puolakkainen P, *et al.* Patterns of matrix metalloproteinase and TIMP-1 expression in chronic and normally healing human cutaneous wounds. *Br J Dermatol*,1996;135(1):52-59.
- Vaalamo M, Leivo T, Saarialho-Kere U. Differential expression of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1, -2, -3, and -4) in normal and aberrant wound healing. *Hum Pathol*,1999;30(7):795-802.
- Varelias A, Cowin AJ, Adams D, *et al.* Mitogenic bovine whey extract modulates matrix metalloproteinase-2, -9, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 levels in chronic leg ulcers. *Wound Repair Regen*,2006;14(1):28-37.

(2012-05-07 收稿,2012-07-06 修回)

编辑 沈 进