

王海珊,林逢源,刘小瑜,等.表皮干细胞对小鼠皮肤创面愈合的作用[J].中国比较医学杂志,2023,33(4):57-62.

Wang HS, Lin FY, Liu XY, et al. Effect of epidermal stem cells on skin wound healing in mice [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(4): 57-62.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.04.008

表皮干细胞对小鼠皮肤创面愈合的作用

王海珊,林逢源,刘小瑜,刘馨竹,闫宇宁,郭笑,安丽萍*

(北华大学药学院微生物与生化药学教研室,吉林 吉林 132013)

【摘要】 目的 体外分离培养表皮干细胞(epidermal stem cells, ESCs), 通过将 ESCs 移植皮肤损伤模型小鼠, 探讨 ESCs 对小鼠皮肤创面愈合的作用。**方法** 取包皮环切术后的皮肤组织, 采用黏附型 IV 型胶原分离培养 ESCs, 3T3 细胞作为饲养层分选 ESCs。采用背侧创伤法建立小鼠皮肤损伤模型, 随机分为空白对照组、模型组和点注射细胞组。治疗第 0、3、7、11、15 天拍照记录并计算创面愈合率。治疗第 16 天, 测定小鼠组织中 SOD、GSH、GSH-Px、MDA 含量; ELISA 测定小鼠血清中 IL-10、TGF- β 和 TNF- α 含量; HE 染色观察创面皮肤组织病理学改变。**结果** 治疗第 7、11 天, 点注射细胞组创面面积均低于模型组 ($P < 0.05$), 第 15 天点注射细胞组伤口几乎愈合 ($98.08\% \pm 1.77\%$)。与模型组相比, 点注射细胞组小鼠组织中 SOD、GSH、GSH-Px 含量显著升高 ($P < 0.01$), MDA 含量显著降低 ($P < 0.01$); ELISA 结果显示, 与模型组相比, 点注射细胞组小鼠血清中 IL-10 和 TGF- β 含量升高 ($P < 0.05$)、TNF- α 含量降低 ($P < 0.05$)。HE 染色结果表明, 与模型组相比, 点注射细胞组炎症细胞浸润减少, 有较多的毛囊和胶原生成。**结论** ESCs 可以加速创面上皮化, 有效促进伤口创面愈合。

【关键词】 表皮干细胞; 创面愈合; 炎症; 氧化应激

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 04-0057-06

Effect of epidermal stem cells on skin wound healing in mice

WANG Haishan, LIN Fengyuan, LIU Xiaoyu, LIU Xinzhui, YAN Yuning, GUO Xiao, AN Liping*

(Department of Microbiology and Biochemical Pharmacy Research, School of Pharmacy, Beihua University, Jilin 132013, China)

【Abstract】 Objective *In vitro* isolation and culture of epidermal stem cells (ESCs) and transplantation of ESCs into skin injury model mice to explore their effect on skin wound healing. **Methods** Circumcised skin tissue was taken, and ESCs were separated and cultured by adherent type IV collagen; 3T3 cells were used as the feeder layer to sort ESCs. A mouse skin injury model was established by dorsal trauma method, and mice were randomly divided into a normal control group, model group, and spot injection cell group. The wound healing rates were recorded on days 0, 3, 7, 11, and 15 of treatment. On the 16th day of treatment, we determined the contents of SOD, GSH, GSH-Px, and MDA in the tissues. ELISA was used to determine IL-10, TGF- β , and TNF- α levels in the serum. HE staining was used to observe histopathological changes in the skin wounds. **Results** On the 7th and 11th days of treatment, the wound area in the spot injection cell group was smaller than that in the model group ($P < 0.05$), and the spot injection cell group's wounds were almost healed on the 15th day ($98.08\% \pm 1.77\%$). Compared with the model group, the spot injection cell group's contents of SOD, GSH, GSH-Px were significantly increased ($P < 0.01$), and MDA was significantly reduced ($P < 0.01$); the ELISA result showed that the serum contents of IL-10 and TGF- β were increased ($P < 0.05$) and TNF- α content had declined in the spot injection cell group ($P < 0.05$). The result of HE staining showed that, compared with model group, the spot injection cell group had reduced infiltration of inflammatory cells and more hair follicles and collagen. **Conclusions** ESCs can accelerate wound epithelialization and effectively promote wound healing.

【Keywords】 epidermal stem cells; wound healing; inflammation; oxidative stress

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

[基金项目] 吉林省科技厅项目(20200404126YY, 20210204158YY)。

[作者简介] 王海珊(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药物分析。E-mail: 996471877@qq.com

[通信作者] 安丽萍(1973—), 女, 教授, 硕士生导师。研究方向: 生物大分子活性分析与应用。E-mail: 630114130@qq.com

皮肤作为人体保护机体的第一道屏障,具有预防病原体 and 脱水、调节体温、提供感觉等多重重要功能,同时具有强大的自我修复功能^[1]。皮肤伤口愈合是一个复杂的动态过程,一般分为 4 个阶段:止血(凝块形成)、炎症、增殖(肉芽组织形成)、组织重塑(成熟)^[2]。常见的皮肤损伤包括创伤、烫伤、烧伤等,大面积皮肤损伤可会致使残疾,甚至可能危及人的生命^[3]。因此,开发一种可靠有效的伤口愈合治疗方法是一个关键的临床问题。干细胞具有很强的自我更新能力同时具有强大的分化潜能,当遇到刺激时,可增殖分化为具有不同功能的细胞^[4]。研究表明,干细胞分泌的细胞因子可减少炎症细胞的生成,促进成纤维细胞增殖,加速成纤维细胞分裂,从而起到促进创面愈合的作用^[5]。与其它干细胞相比,表皮干细胞(ESCs)更易获取,且无潜在的伦理问题,因此,受到中外学者的广泛关注^[6]。

本研究以表皮干细胞作为研究对象,通过对皮肤损伤小鼠血清和创面组织生化指标的检测及相关炎症因子的表达,探讨表皮干细胞对皮肤损伤小鼠的修复作用。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 ICR 雄性小鼠 30 只,8 周龄,体重为(20±2)g,购自长春亿斯实验动物科技有限公司[SCXK(吉)-2020-0002]。饲养于北华大学药学院实验动物培养室[SYXK(吉)2020-0011],饲养环境温度(20±2)℃,相对湿度 50%~60%,本实验通过了北华大学实验动物伦理委员会的批准(IACUC-2021-008),实验过程遵循 3R 原则。

1.1.2 临床组织

本实验的人体皮肤组织来源于包皮环切术后的组织,得到北华大学附属医院伦理委员会批准(2021-006)及患者知情同意。

1.2 主要试剂与仪器

DMEM 培养基(货号:11965092)、F12 培养基(货号:31765035)、胎牛血清(货号:16140089)、双抗(货号:10378016)、Dispase II 酶(货号:17105041)购自美国 Gibco 公司;胰岛素(货号:HY-P0035)、腺嘌呤(货号:HY-B0152B)、氢化可的松(货号:HY-N0583)、霍乱菌毒素(货号:HY-P1446)、表皮生长

因子(货号:HY-P7109G)、三碘甲状腺氨酸(货号:HY-A0070A)购自美国 MCE 生物公司;IV 型胶原(货号:232-697-4)购自美国 sigma 公司;总超氧化物歧化酶测试盒(货号:A001-3-2)、丙二醛测试盒(货号:A003-1-2)、还原型谷胱甘肽试剂盒(货号:A006-2-1)、谷胱甘肽过氧化物酶(货号:A005-1-2)购自南京建成生物工程研究所;白细胞介素-10 试剂盒(货号:AE90224Mu)、转化生长因子-β 试剂盒(货号:AE98029Mu)、肿瘤坏死因子-α 试剂盒(货号:AE90301Mu)购自中国联硕生物科技公司;β-actin 抗体(货号:abs132001) K19 抗体(货号:abs130129)、ITGβ1 抗体(货号:abs131479)购自中国爱必信公司;苏木素-伊红染色试剂盒(货号:C0105)购自碧云天生物技术有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒(货号:BCA-01)购自鼎国昌盛生物技术有限公司。

SPX-250B-Z 型生化培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);SW-CJ-2D 型双人净化工作台(上海苏净实业有限公司);BA 400 显微镜(麦克奥迪实业有限公司);电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);5430R 低温高速离心机(美国 Eppendorf 公司);涡旋混合器(上海沪析实业有限公司);LIFE Countess 全自动计数仪(美国 Life Technologies 公司);Infinite M200 型酶标仪(瑞士 TECAN 集团公司);Smart Chemi 910 全自动荧光及化学发光凝胶成像仪(北京赛智创业科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 原代 ESCs 分离培养

培养皿的包被:取 5 mg IV 型胶原加入 50 mL PBS,混合均匀稀释成浓度为 0.1 mg/mL。每个培养皿中加入约 3 mL 的 IV 型胶原,均匀覆盖培养皿底部,放入 4℃ 保存。

取包皮环切术的正常皮肤组织,生理盐水冲洗后,用含青霉素-链霉素的 PBS、70%乙醇、PBS 冲洗 1 次,去除多余的结缔组织;将皮肤剪成 0.5 cm×0.5 cm 的组织块,用 Dispase II 酶(2.5 mg/mL)处理,4℃ 过夜,胰蛋白酶消化 15 min 后,用 70 μm 细胞筛网过滤,收集细胞悬液,1500 r/min 离心 10 min, cFAD 培养液重悬细胞,接种于铺有 IV 型胶原的培养皿,37℃ 孵育 15 min,然后弃去未贴壁细胞,加入 cFAD 培养液,置于培养箱中培养,待细胞密度约为 80% 时即可进行传代。

1.3.2 3T3 细胞饲养层培养表皮干细胞

用 EDTA 提取新鲜猪血,5000 r/min 离心 30

min, 取上清, 冷冻保存。将 3T3 细胞复苏培养, 待 3T3 细胞汇合度达 90% 时, 将 10 mL 猪血浆与 10^5 个 3T3 细胞混合, 加入生理盐水 13 mL 和 1% 氯化钙溶液 2 mL, 混匀。最终的混合物加入 6 孔板中, 37℃ 固化 15 min。然后每孔加入 3 mL DMEM 培养基。16~24 h 后, 弃去 6 孔板中液体, 将 ESCs 以 2×10^5 /孔密度接种于 6 孔板中培养。

1.3.3 ESCs 鉴定

Western blot 鉴定 ESCs 的表面标志物角蛋白 19 (K19) 和 $\beta 1$ 整合素 (ITGB1)。将贴壁生长良好的 ESCs 用 PBS 清洗, 加入 RIPA 裂解液在冰上裂解 1 h, 离心取上清, BCA 试剂盒测定 ESCs 中总蛋白含量。以 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白, 转膜, 封闭, 加入一抗 β -actin (1 : 50000)、K19 (1 : 1000)、ITGB1 (1 : 1000), 4℃ 孵育过夜; TBS-T 洗膜, 二抗室温孵育 1 h, TBS-T 洗膜。利用 ECL 化学发光试剂显影拍照。

1.3.4 小鼠皮肤损伤模型的构建及给药

30 只小鼠随机分 3 组: 空白对照组、模型组和点注射细胞组, 每组 10 只。模型组和点注射细胞组小鼠采用小鼠背侧皮肤损伤模型, 手术前采用腹腔注射 50 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉小鼠。用无菌的直径为 1.5 cm 的圆形硬纸片在脱毛的小鼠皮肤上作好标记, 碘伏消毒, 背部标记处全层皮肤切除。造模手术后, 1×10^5 个 ESCs 用 0.1 mL PBS 重悬, 点注射细胞组在创面边缘皮下单点注射 ESCs 细胞悬液 0.1 mL, 模型组注射等量生理盐水, 每 2 d 给药 1 次。

1.3.5 伤口愈合率的测量

术后第 0、3、7、11、15 天在固定高度下拍照记录创面面积。采用 Image J 软件计算创面面积。创面愈合率的计算公式如下:

创面愈合率 (%) = (第 0 天创面面积 - 第 n 天创面面积) / 第 0 天创面面积 $\times 100\%$ ($n=0, 3, 7, 11, 15$)

1.3.6 小鼠皮肤组织相关生化指标的测定

将小鼠皮肤组织用生理盐水匀浆, 离心, 取离心管内上清液。按照各试剂盒说明书中的实验步骤, 采用酶标仪检测吸光度, 检测小鼠皮肤组织中的 MDA、SOD、GSH、GSH-Px 含量。

1.3.7 小鼠血清中相关生化指标的测定

各组小鼠在治疗第 16 天取血, 血液标本于 4000 r/min 离心 15 min, 取上清。根据 ELISA 测定盒说明书的规定, 测定各组小鼠血清中 IL-10、TGF- β 、TNF- α 含量。

1.3.8 HE 染色观察小鼠皮肤组织病理形态改变

将小鼠皮肤组织放入 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h, 石蜡包埋。采用苏木素-伊红 (HE) 染色法观察皮肤组织病理切片变化, 在光学显微镜下观察小鼠皮肤组织病理形态改变。

1.4 统计学方法

本研究采用 SPSS 19.0 软件对数据进行处理, 数据采用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ESCs 形态学观察

对分离得到的 ESCs 进行拍照, 第 2 天可见细胞贴壁生长, 细胞核较大, 呈圆形, 位于细胞质中央。第 5 天细胞生长缓慢, 细胞数目逐渐增多。第 7 天细胞生长加快, 细胞排列紧密, 细胞汇合度达 80%~90% (图 1)。ESCs 在接种到 3T3 细胞饲养层后, 第 3 天细胞生长良好形成细胞团, 具有明显的细胞克隆。第 8 天细胞融合成片, 细胞形态较一致, 形状呈“铺路石”样 (图 2)。

2.2 ESCs 鉴定结果

对 ESCs 进行 Western blot 鉴定, 结果表明, 培养的 ESCs 高表达 K19 和 ITGB1 蛋白 (图 3)。

2.3 ESCs 对小鼠伤口愈合率的影响

治疗第 3 天, 模型组与点注射细胞组伤口愈合差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。第 7 天、第 11 天, 点注射细胞组创面显著小于模型组 ($P < 0.05$)。点注射细胞组伤口在第 3~11 天快速愈合, 在第 15 天伤口基本愈合。结果表明, ESCs 能促进创面愈合, 显著提高创面愈合质量 (图 4)。

2.4 ESCs 对小鼠组织中 SOD、GSH、GSH-Px、MDA 活性的影响

与空白对照组相比, 模型组小鼠组织中的 SOD、GSH、GSH-Px 的含量显著下降 ($P < 0.01$), MDA 的含量显著上升 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 点注射细胞组小鼠组织中的 SOD、GSH-Px、GSH 含量显著升高 ($P < 0.01$), MDA 含量显著下降 ($P < 0.01$) (表 1)。

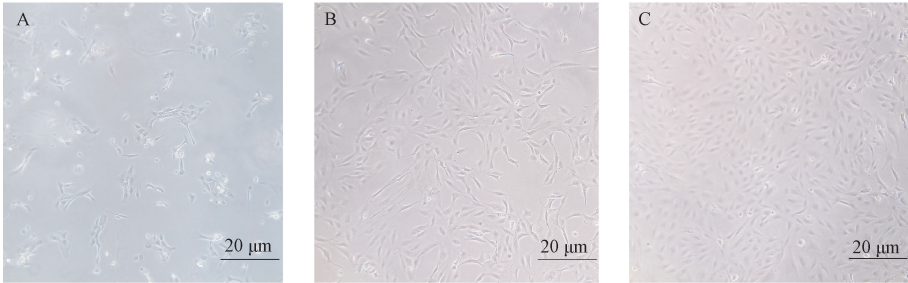
2.5 ESCs 对小鼠血清中 IL-10、TGF- β 、TNF- α 含量的影响

与空白对照组比较, 模型组小鼠血清中 IL-10、TGF- β 含量显著下降 ($P < 0.01$); TNF- α 含量显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 点注射细胞组小鼠血清中 IL-10 含量显著升高 ($P < 0.01$)、TGF- β 含量升高 ($P < 0.05$), TNF- α 含量降低 ($P < 0.05$) (表 2)。

2.6 小鼠创面皮肤组织 HE 染色

组织学染色结果显示,在干预第 16 天时,模型组和点注射细胞组均观察到新的表皮生成。与空白组相比,模型组愈合的皮肤表皮增厚,炎症细胞

浸润,几乎看不到皮肤附属器,细胞排列不规则。与模型组相比,点注射细胞组愈合的皮肤表现出与完整组更相似的特征。炎症细胞浸润减少,有大量毛囊和胶原形成(图 5)。

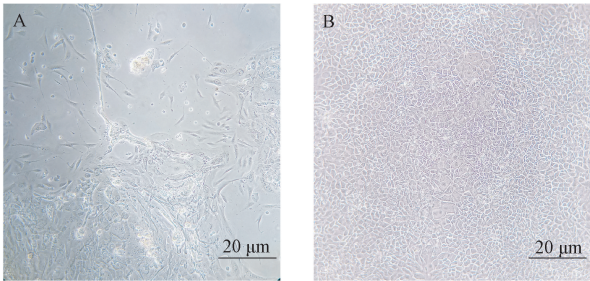


注:A:细胞生长 2 d;B:细胞生长 5 d;C:细胞生长 7 d。

图 1 表皮干细胞形态变化

Note. A, Cells grow for 2 days. B, Cells grow for 5 days. C, Cells grow for 7 days.

Figure 1 Morphological changes of epidermal stem cells



注:A:细胞接种于饲养层 3 d;B:细胞接种于饲养层 8 d。

图 2 表皮干细胞接种于饲养层后形态变化

Note. A, Cells were seeded in feeder layer for 3 d. B, Cells are seeded in feeder layer for 8 d.

Figure 2 Morphological changes of epidermal stem cells after inoculation in feeders layer

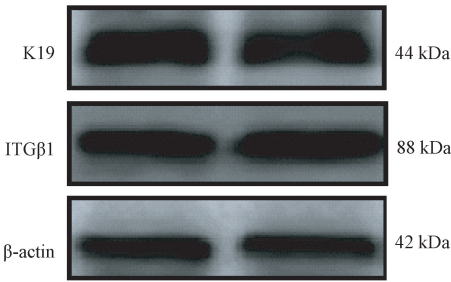


图 3 ESCs 鉴定结果

Figure 3 ESCs identification results

表 1 小鼠组织中 SOD、GSH、GSH-Px、MDA 的含量

Table 1 Content of SOD, GSH, GSH-Px, MDA in mouse tissues

组别 Groups	SOD 含量 (U/mL) SOD content	GSH 含量 (mg/L) GSH content	GSH-Px 含量 (U/mL) GSH-Px content	MDA 含量 (nmol/L) MDA content
空白组 Blank control group	160.928±2.415	5.976±0.232	483.499±6.552	2.938±0.123
模型组 Model group	120.564±2.775 ^{##}	2.602±0.087 ^{##}	325.230±4.040 ^{##}	7.547±0.284 ^{##}
点注射细胞组 Spot injection cell group	154.071±3.279 ^{**}	3.396±0.206 ^{**}	421.749±3.073 ^{**}	4.339±0.336 ^{**}

注:与空白对照组比较, ^{##}*P*<0.01;与模型组比较, ^{**}*P*<0.01。

Note. Compared with blank control group, ^{##}*P*<0.01. Compare with model group, ^{**}*P*<0.01.

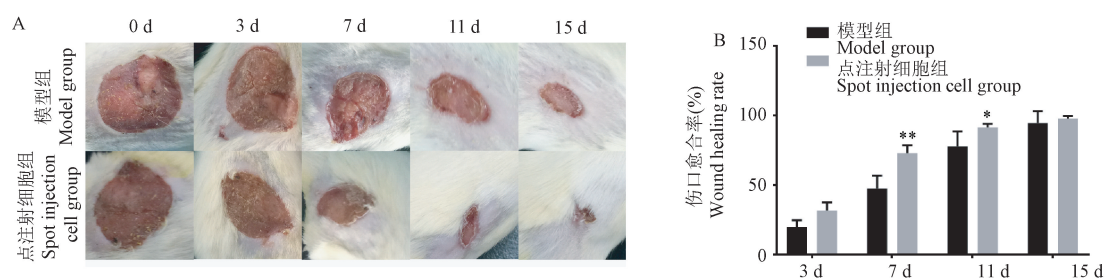
表 2 小鼠血清中 IL-10、TGF-β 和 TNF-α 含量

Table 2 IL-10, TGF-β and TNF-α contents in mouse serum

组别 Groups	IL-10 含量 (ng/mL) IL-10 content	TGF-β 含量 (ng/mL) TGF-β content	TNF-α 含量 (ng/mL) TNF-α content
空白组 Blank control group	7.492±0.226	11.236±0.228	18.403±0.213
模型组 Model group	6.853±0.042 ^{##}	9.151±0.483 ^{##}	21.015±0.863 ^{##}
点注射细胞组 Spot injection cell group	7.230±0.055 ^{**}	10.642±0.459 [*]	18.809±0.112 [*]

注:与空白对照组比较, ^{##}*P*<0.01;与模型组比较, ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01。

Note. Compared with blank control group, ^{##}*P*<0.01. Compared with model group, ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01.

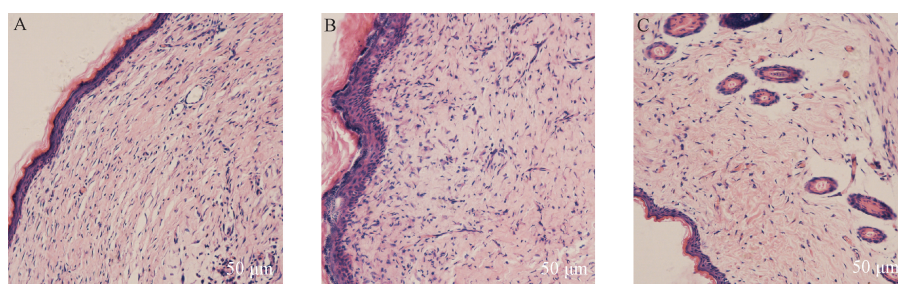


注:A:治疗0、3、7、11、15天伤口拍照情况;B:治疗0、3、7、11、15天伤口愈合率。与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图4 ESCs对小鼠皮肤伤口愈合的影响

Note. A, Wound photography for 0, 3, 7, 11, 15 days of treatment. B, Wound healing rate of 0, 3, 7, 11, 15 days of treatment. Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 4 Effects of ESCs on skin wound healing in mice



注:A:空白对照组;B:模型组;C:点注射细胞组。

图5 小鼠创面皮肤组织 HE 染色

Note. A, Blank control group. B, Model group. C, Spot injection cell group.

Figure 5 HE staining of mouse wound skin tissue

3 讨论

创伤、手术或慢性疾病造成的伤口愈合不良每年影响全世界数百万人。创面修复和再生的细胞、分子机制是复杂的,随着现代科学技术的不断进步,许多研究发现在创面愈合过程中各种细胞和生长因子对创面组织的修复具有良好的调节作用^[7]。可以通过减轻炎症反应、促进毛细血管生成、细胞生长因子(GF)合成、细胞外基质(ECM)合成、氧化应激等众多反应,促进创面顺利愈合^[8]。因此,寻找促创面愈合的治疗方法更为重要。表皮干细胞具有较强的自我更新能力同时具有多向分化的潜能;细胞生长周期慢且能够有粘附在表皮基底膜上。因此,表皮干细胞被认为是促进损伤皮肤愈合的理想种子细胞^[9-10]。

IV型胶原作为ECM的主要组成成分对表皮干细胞的附着、贴壁生长起重要作用,表皮干细胞能够快速黏附到胶原上,从而筛除大部分的未贴壁细胞(短暂扩增细胞和终末分化细胞)^[11]。采用3T3细胞作为表皮细胞培养的饲养层,促进表皮细胞贴壁生长及抑制成纤维细胞的增殖^[12]。本实验中,利

用IV型胶原分选和3T3细胞饲养得到较稳定的表皮干细胞,为后期动物实验做物质基础。由于表皮干细胞确定单一的特异性标志物,学术界广泛认可并采用的是依据细胞形态及对 $\beta 1$ 整合素和角蛋白19的特异表达来鉴定表皮干细胞。 $\beta 1$ 整合素属整合素家族,可促进表皮干细胞与ECM快速黏附,表皮干细胞表面高表达 $\beta 1$ 整合素,因此 $\beta 1$ 整合素是表达表皮干细胞的标志物之一^[13]。毛囊隆突部位和基底膜表达K19阳性,且K19阳性的细胞具有干细胞的生长周期慢及快速增殖特性,所以K19被认为是表皮干细胞的标志物之一^[14]。本实验培养的细胞以K19和 $\beta 1$ 整合素为标志物,经鉴定为表皮干细胞,且获得的表皮干细胞仍具有较强的分裂增殖能力。

皮肤损伤后易造成伤口处组织感染,机体产生过量的氧自由基,导致体内氧化应激增加^[15-16]。MDA是脂质过氧化最重要的产物之一,其含量可反映体内氧自由基水平^[17]。SOD和GSH-Px都是机体最主要的抗氧化酶,能够催化超氧阴离子自由基,保护机体免受氧化损伤^[18]。GSH是一种含有巯基的三肽,能够有效抑制过氧化,从而消除形成的

自由基^[19]。本研究发现注射 ESCs 可改善损伤皮肤组织氧化应激状态,从而保护损伤组织。

当机体处于过度氧化应激状态时会导致炎症反应,且炎症是伤口愈合的一个关键过程^[20]。在急性伤口愈合中,炎症反应迅速发生,并持续 2~3 d,后续伤口愈合阶段得以发生。这需要炎症细胞如中性粒细胞和巨噬细胞迁移到伤口区域并吞噬坏死组织和微生物^[21]。为了评估炎症反应,测定血清中指示炎症水平的细胞因子 IL-10 和 TNF- α 。本实验结果表明给予表皮干细胞以后,IL-10 和 TGF- β 1 含量增加,TNF- α 含量减少。IL-10 作为一种有效的抗炎作用细胞因子,可抑制细胞释放促炎因子 TNF- α 、IL-6 等,诱导巨噬细胞(M1)极化,极化后的 M1 具有更强的 TGF- β 1 的分泌功能,调节免疫细胞迁移到皮肤损伤部位^[22]。皮肤病理学结果也提示创面处毛囊形成和再上皮化,表明表皮干细胞通过升高 IL-10、TGF- β 1 减低 TNF- α 的表达改善机体炎症状态,减少创口处炎性细胞的浸润,诱导表皮生成,促进创面愈合。

综上所述,表皮干细胞对皮肤损伤小鼠促进伤口愈合的作用,其机制可能是通过调节体内氧化应激、促进转化生长因子的生成、减少炎症反应来实现。本研究为表皮干细胞治疗皮肤损伤提供理论和实践依据。

参考文献:

- [1] Dąbrowska AK, Spano F, Derler S, et al. The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors [J]. *Skin Res Technol*, 2018, 24(2): 165-174.
- [2] Businaro R, Corsi M, Di Raimo T, et al. Multidisciplinary approaches to stimulate wound healing [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2016, 1378(1): 137-142.
- [3] Aitchison SM, Frentiu FD, Hurn SE, et al. Skin wound healing: normal macrophage function and macrophage dysfunction in diabetic wounds [J]. *Molecules*, 2021, 26(16): 4917.
- [4] Kosaric N, Kiwanuka H, Gurtner GC. Stem cell therapies for wound healing [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2019, 19(6): 575-585.
- [5] Wang P, Theodoridis G, Vlachos IS, et al. Exosomes derived from epidermal stem cells improve diabetic wound healing [J]. *J Invest Dermatol*, 2022, 142(9): 2508-2517.
- [6] Zhang G, Ma J, Wu Z, et al. ACOT7 protects epidermal stem cells against lipid peroxidation [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2022, 58(7): 549-557.
- [7] Valachova K, Svik K, Biro C, et al. Skin wound healing with composite biomembranes loaded by tiopronin or captopril [J]. *J Biotechnol*, 2020, 310: 49-53.
- [8] Yang R, Wang J, Zhou Z, et al. Role of caveolin-1 in epidermal stem cells during burn wound healing in rats [J]. *Dev Biol*, 2019, 445(2): 271-279.
- [9] Martinotti S, Marconato K, Bonsignore G, et al. Epidermal stem cells in regenerative medicine [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1298: 17-21.
- [10] Nie J, Fu X, Han W. Microenvironment-dependent homeostasis and differentiation of epidermal basal undifferentiated keratinocytes and their clinical applications in skin repair [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2013, 27(5): 531-535.
- [11] Cerqueira MT, Frias AM, Reis RL, et al. Interfollicular epidermal stem cells: boosting and rescuing from adult skin [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1879: 101-110.
- [12] Hynds RE, Bonfanti P, Janes SM. Regenerating human epithelia with cultured stem cells: feeder cells, organoids and beyond [J]. *EMBO Mol Med*, 2018, 10(2): 139-150.
- [13] Zhan R, Wang F, Wu Y, et al. Nitric oxide induces epidermal stem cell de-adhesion by targeting integrin β 1 and Talin via the cGMP signalling pathway [J]. *Nitric Oxide*, 2018, 78: 1-10.
- [14] Sukmawati D, Eryani A, Damayanti L. Silver sulfadiazine's effect on keratin-19 expression as stem cell marker in burn wound healing [J]. *Biomedicine (Taipei)*, 2020, 10(2): 5-11.
- [15] Rozza AL, Beserra FP, Vieira AJ, et al. The use of menthol in skin wound healing-anti-inflammatory potential, antioxidant defense system stimulation and increased epithelialization [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(11): 1902.
- [16] Tamer TM, Hassan MA, Valachová K, et al. Enhancement of wound healing by chitosan/hyaluronan polyelectrolyte membrane loaded with glutathione: in vitro and in vivo evaluations [J]. *J Biotechnol*, 2020, 310: 103-113.
- [17] Qiu X, Wu Y, Zhang D, et al. Roles of oxidative stress and raftlin in wound healing under negative-pressure wound therapy [J]. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2021, 14: 1745-1753.
- [18] Farjah MH, Farahpour MR. Efficacy of topical platelet-rich plasma and chitosan co-administration on Candida albicans-infected partial thickness burn wound healing [J]. *Burns*, 2020, 46(8): 1889-1895.
- [19] Bilgen F, Ural A, Kurutas EB, et al. The effect of oxidative stress and Raftlin levels on wound healing [J]. *Int Wound J*, 2019, 16(5): 1178-1184.
- [20] Yen YH, Pu CM, Liu CW, et al. Curcumin accelerates cutaneous wound healing via multiple biological actions: the involvement of TNF- α , MMP-9, α -SMA, and collagen [J]. *Int Wound J*, 2018, 15(4): 605-617.
- [21] Mei F, Liu J, Wu J, et al. Collagen peptides isolated from Salmo salar and Tilapia nilotica skin accelerate wound healing by altering cutaneous microbiome colonization via upregulated NOD2 and BD14 [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(6): 1621-1633.
- [22] Burger B, Kühl CMC, Candreva T, et al. Oral administration of EPA-rich oil impairs collagen reorganization due to elevated production of IL-10 during skin wound healing in mice [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9119.

[收稿日期]2022-11-17