

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.15.005

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190626.1528.023.html(2019-06-27)

湿润烧伤膏对大鼠足底创面触觉功能重建的影响及初步机制研究*

张 权¹, 肖 智^{1△}, 秦 颖²

(遵义医科大学:1. 贵州省普通高等学校脑科学特色重点实验室;2. 医学与生物学研究中心, 贵州遵义 563000)

[摘要] 目的 观察湿润烧伤膏(MEBO)外用对大鼠足底创面触觉功能重建的影响并初步探讨其机制。

方法 将 60 只雄性 SD 大鼠按照随机数字表法分为 5 组:正常组(N 组)、创面 7 d 组(D7 组)、创面 14 d 组(D14 组)、MEBO 治疗 7 d 组(MEBO7 组)和 MEBO 治疗 14 d 组(MEBO14 组),每组 12 只。N 组大鼠不做任何处理;D7 组、D14 组、MEBO7 组和 MEBO14 组建立足底全层皮肤缺损开放性创面大鼠模型,D7 组和 D14 组建模后不予药物治疗,分别观察 7 d 和 14 d;MEBO7 组和 MEBO14 组在建模后分别给予创面涂抹 MEBO 治疗 7 d 和 14 d。Von Frey 纤维丝检测各建模组大鼠建模侧足底创面触觉阈值;分别取正常或建模后 7 d 和 14 d 时间点大鼠足底创面新生肉芽组织,采用免疫组织化学和蛋白质印迹法检测正常或建模大鼠建模侧足底创面细胞角蛋白 20(CK-20)阳性细胞数及 CK-20 蛋白的表达水平。**结果** 大鼠建模后,足底创面触觉阈值升高,触觉功能减退,新生肉芽组织中 CK-20 阳性细胞数减少,CK-20 蛋白水平降低,与 N 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);MEBO7 组和 MEBO14 组大鼠足底创面经 MEBO 治疗后,创面触觉阈值下降,触觉功能增强,新生肉芽组织中 CK-20 阳性细胞数增多,CK-20 蛋白水平升高,与同时点 D7 组和 D14 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 外用 MEBO 能促进大鼠足底创面触觉功能的重建,其机制与增加创面新生肉芽组织中 CK-20 阳性细胞的表达有关。

[关键词] 足底;创面;触知觉;细胞角蛋白 20;湿润烧伤膏

[中图法分类号] R622 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)15-2536-05

The effect and primary mechanisms of moist exposed burn ointment on the reconstruction of tactile function in rats with planta pedis wounds*

ZHANG Quan¹, XIAO Zhi^{1△}, QIN Ying²

(1. Key Laboratory of Brain Science, Guizhou Institution of Higher Education;

2. Research Center for Medicine & Biology, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of external use of moist exposed burn ointment (MEBO) on the reconstruction of tactile function in rat planta pedis wounds. **Methods** A total of 60 male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into 5 groups ($n=12$, per group) according to the random number table, namely, the normal group, the 7 d after wounding group (D7 group), the 14 d after wounding group (D14 group), the 7 d after MEBO treatment group (MEBO7 group) and the 14 d after MEBO treatment group (MEBO14 group). The rats in the normal group were only served as control subjects. Rats in the D7, D14, MEBO7 and MEBO14 groups were modeled by full-thickness skin deficit on planta pedis. Rats in the D7 and D14 groups had not received any medicine treatment, and observed for 7 and 14 days, respectively. Rats in the MEBO7 and MEBO14 groups had directly smeared of MEBO on the wound beds for 7, 14 days, respectively. The Von Frey filaments were used to detect the tactile thresholds of rat planta pedis wounds. The plantar tissues of normal rats or rats 7 d and 14 d after wounding were collected, and the numbers of cytokeratin-20 (CK-20) positive cells and CK-20 protein levels on normal or new granulation tissue of planta pedis wounds were separately detected by using immunohistochemistry and Western blot assay. **Results** Compared with the N group, the planta pedis wounds model rats demonstrated a significant decrease in tactile sensitivity of planta pedis and tactile function, accompanied with the down-regulated CK-20 positive cell numbers and CK-20 protein levels on new granulation tissue ($P<0.05$). Compared with the D7 and D14 groups, the tactile thresholds of planta pedis wounds were decreased, and the tactile function of planta pedis, CK-20 positive cell numbers and CK-20 protein levels on new

* 基金项目:贵州省教育厅创新群体重大研究项目(黔教合 KY 字[2017]043);贵州省卫生和计划生育委员会科学技术基金项目(gzwwkj2018-1-043)。作者简介:张权(1989-),助理实验师,本科,主要从事感觉神经生理机制方面的研究。△ 通信作者, E-mail: xiaozhi1971@163.com。

granulation tissue were markedly increased in the MEBO7 and MEBO14 groups after treated with MEBO ($P < 0.05$). **Conclusion** The external use of MEBO can promote the reconstruction of tactile function in rats with planta pedis wounds, and the underlying mechanism may be related to the increased expression of CK-20 positive cells in the new granulation tissue of wounds.

[Key words] plantar; wound; touch perception; cytokeratin-20; moist exposed burn ointment

体表组织缺损形成的慢性创面是临床外科的常见病和多发病,伴疼痛、感染和功能障碍等并发症。目前临床主要通过皮瓣移植、使用生物工程材料、高压氧、电磁疗法及干细胞移植等多种治疗手段促进创面修复^[1-3]。但是创面修复区往往出现触、压、温、痛等感觉功能的减退甚至消失。有研究提示,触觉功能的缺失是导致创面修复失败的重要原因之一^[4]。触觉与默克尔细胞(Merkel 细胞)分布有关,该细胞存在于表皮与真皮交界的网状脊上,与真皮层 A β 类感觉传入神经纤维末梢紧密接触,并形成类似于神经解剖上的突触结构,称为 Merkel 细胞-神经突复合体^[5-6]。该复合体在皮肤触觉高敏感区域数量较多,例如老鼠的须垫、硬腭和背部皮肤及人体的指腹、嘴唇等^[7]。湿润烧伤膏(moist exposed burn ointment, MEBO)应用到创面是以液化的方式无损伤地排除坏死组织,以原位干细胞培植的方式再生修复创面^[8];此外,MEBO 还具有双向调节作用^[9],在创面愈合过程的早期具有“保湿”和促进“生肌”的作用。虽有大量文献报道 MEBO 促进创面愈合的作用,但针对 MEBO 在创面神经再生及触觉重建方面的研究却鲜见报道。通过本研究一方面可以加深对触觉形成机制的认识,另一方面,可以为临床使用 MEBO 促进创面触觉功能重建提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 无特殊病原体(SPF)级成年健康 SD 雄性大鼠共 60 只,体质量 240~260 g,由长沙天勤生物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(沪)2008-0016。大鼠每 4 只一笼饲养,置于温度(25 \pm 2) $^{\circ}$ C、湿度(52 \pm 2)%环境中自由饮食,自然采光,适应环境 1 周。采用随机数字表法将大鼠分为正常组(N 组)、创面 7 d 组(D7 组)、创面 14 d 组(D14 组)、MEBO 治疗 7 d 组(MEBO7 组)和 MEBO 治疗 14 d 组(MEBO14 组)。N 组大鼠不做任何处理;D7 组、D14 组、MEBO7 组和 MEBO14 组大鼠建立足底全层皮肤缺损开放性创面模型,其中 MEBO7 组和 MEBO14 组大鼠建模后每 6~8 小时用无菌棉签将 MEBO 涂于足底创面,厚约 1 mm,创面上加盖两层 MEBO 涂抹的湿润消毒纱布,用胶布固定治疗,每天换药 3~4 次。本实验严格按照有关实验动物伦理纲要进行操作,研究中尽量减少动物使用量和动物所承受的痛苦。

1.1.2 实验试剂及主要仪器 MEBO(汕头市美宝制药有限公司,产品批号:1703903A)。兔抗大鼠细胞角蛋白 20(CK-20)单克隆抗体(美国 Abcam 公司,货号:ab76126)、3%牛血清清蛋白、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒、抗体稀释液、RIPA 裂解液均购于碧云天生物有限公司,水合氯醛(成都市科龙化工试剂厂);冰冻切片机(Leica-CM1950 型,德国 Leica 公司),Von Frey 针刺痛觉测试套件 Aesthesio(香港友诚生物科技有限公司),倒置荧光显微镜(IX53+DP73 型,日本 Olympus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 足底创面大鼠模型建立 大鼠腹腔内注射 4%水合氯醛(10 mL/kg),麻醉成功后,大鼠足底用 0.5%聚维酮碘溶液消毒后切除深度达筋膜层 6 mm \times 5 mm 的皮肤全层,建立足底全层皮肤缺损大鼠模型。大鼠清醒后单独分笼饲养。

1.2.2 触觉功能检测 将大鼠置于金属网上,盖以透明有机玻璃罩,适应环境 30 min。待大鼠探索行为结束后进行触觉功能检测。触觉测定采用 Von Frey 纤维丝,将纤维丝头端垂直接触大鼠足底,使尖端略弯曲,每次刺激持续时间最长不超过 2 s,若在规定时间内大鼠出现缩足反射或足部肌肉收缩,则更换相邻小一级纤维丝;若大鼠未出现缩足反射或足部肌肉收缩,则替换大一级纤维丝刺激,相邻测试时间间隔 10 s。检测前去除足底创面的坏死组织,检测区域固定在足底创面中央。检测时间为建模前(0 d)和建模后 7、14 d。

1.2.3 免疫组织化学染色检测组织 CK-20 阳性细胞 按照随机数字表法取建模后 7 d 或 14 d 的各组大鼠($n=6$),4%水合氯醛(20 mL/kg)腹腔内注射,深度麻醉后,剔除坏死组织,取大鼠足底创面新生肉芽组织,沿皮面平行切下肉芽组织后按分组分别置于 4%多聚甲醛溶液中,4 $^{\circ}$ C 冰箱保存 4 h 后转移至 30%蔗糖多聚甲醛溶液中(4 $^{\circ}$ C 保存),8~10 h 沉底后取出足底肉芽组织,用 OCT 包埋剂(Sakura Tissue-Tek 型,美国樱花公司)包埋后置于-20 $^{\circ}$ C 冰冻切片机中 50 min。沿冠状位连续切片,厚 25 μ m。每 4~5 张皮肤切片取 1 张进行免疫组织化学染色分析,每只大鼠取 10 张。皮片磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗和血清封闭后加入一抗(兔抗大鼠 CK-20 抗体)和二抗[辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG (H+L)];DAB 显色,梯

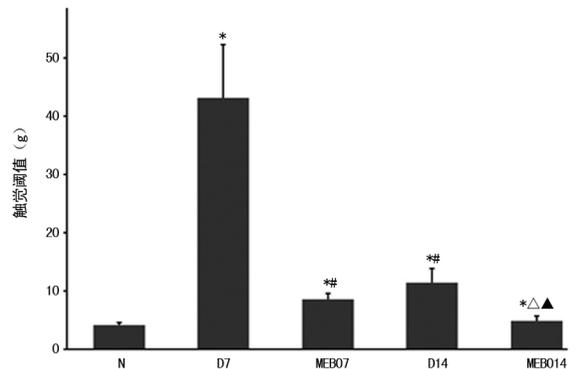
度乙醇脱水,生物透明剂透明后封片,光镜下观察并采集图像。采用 Image-Pro Plus6.0 图像分析软件(美国 Media Cybernetics 公司)对皮肤 CK-20 阳性图片进行 CK-20 受体阳性细胞计数。每张取 5 个不重叠的视野,计数每一个视野中的 CK-20 阳性细胞数,取均值。

1.2.4 蛋白质印迹法(Western blot)检测组织 CK-20 表达水平 取建模后 7 d 或 14 d 每组大鼠($n=6$),足底新生肉芽组织取材方法同免疫组织化学,置于 -80°C 冰箱保存备用。取出皮肤新生肉芽组织称重,研碎后加入 RIPA 裂解液(含 PMSF, 1:100),超声波粉碎;离心后取上清液,二喹啉甲酸(BCA)法蛋白定量(蛋白定量为 $100\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$);2 倍上样缓冲液与样品(1:1)煮沸 8 min,离心, -20°C 冰箱保存。配胶,各泳道取 $20\ \mu\text{L}$ (每条泳道蛋白含量 $20\ \mu\text{g}$)加样,电泳后,电转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜, TBST 封闭 1 h。加入一抗:兔抗大鼠 CK-20 抗体(1:5 000)和小鼠抗大鼠 β -actin(1:2 000), 4°C 冰箱孵育,过夜后洗膜,加入二抗,室温孵育、洗膜。化学增强发光试剂与 PVDF 膜共孵育后显影、定影。图像进行目标条带扫描(方正扫描仪 F5600),Bio-Rad 生物图像处理系统(PDQUEST)进行分析,以 β -actin 为内参对照,对所测目标蛋白的条带吸光度值(A 值)进行标准化,得到各组 CK-20 蛋白相对吸光度值(RA 值)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,多组均数间比较采用单因素或多因素方差分析(One- or Two-way ANOVA),以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

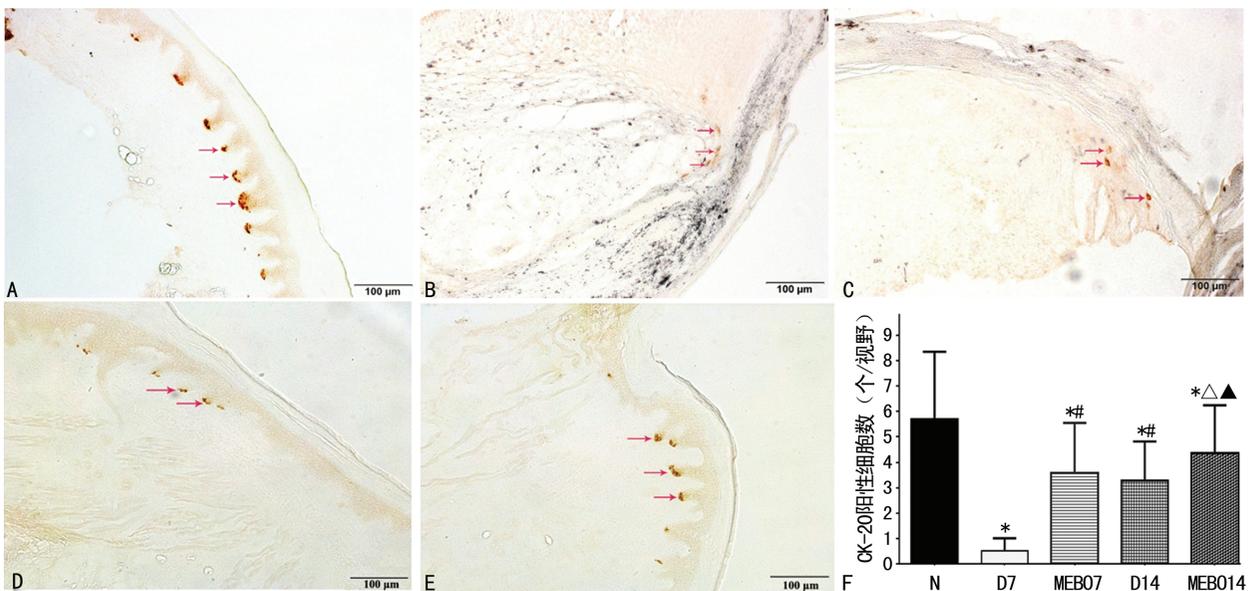
2 结 果

2.1 大鼠足底创面触觉功能变化 用 Von Frey 纤维丝检测各组大鼠足底触觉阈值。建模前,各组大鼠触觉阈值均值为 $(4.03\pm 0.35)\text{g}$,组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);观察时间内 N 组大鼠触觉阈值相对变化不大,为 $(4.07\pm 0.39)\text{g}$;D7 组触觉阈值为 $(43.22\pm 9.16)\text{g}$,D14 组触觉阈值为 $(11.43\pm 2.45)\text{g}$,D7 组、D14 组分别与 N 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);MEBO7 组触觉阈值为 $(8.54\pm 1.05)\text{g}$,MEBO14 组触觉阈值为 $(4.75\pm 0.97)\text{g}$,MEBO7 组、MEBO14 组分别与 N 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);MEBO7 组与 D7 组比较,MEBO14 组与 D14 组比较,触觉阈值均下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。均数组间比较,差异有统计学意义($F=208.9, P=0.000$),见图 1。



*: $P<0.05$, 与 N 组比较; #: $P<0.05$, 与 D7 组比较; Δ : $P<0.05$, 与 MEBO7 组比较; \blacktriangle : $P<0.05$, 与 D14 组比较

图 1 各组大鼠触觉阈值比较

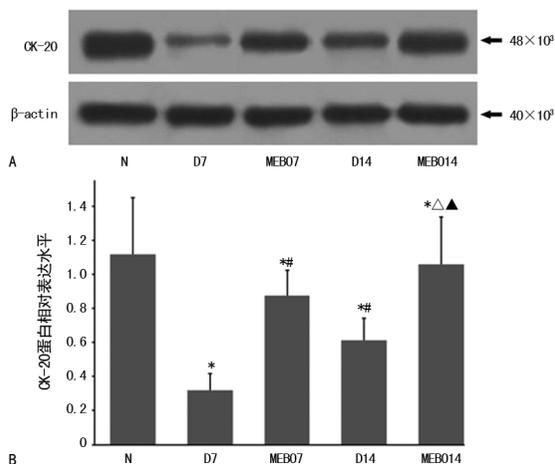


A: N 组; B: D7 组; C: MEBO7 组; D: D14 组; E: MEBO14 组; F: 各组大鼠足底正常皮肤或创面新生肉芽组织 CK-20 阳性细胞数比较; *: $P<0.05$, 与 N 组比较; #: $P<0.05$, 与 D7 组比较; Δ : $P<0.05$, 与 MEBO7 组比较; \blacktriangle : $P<0.01$, 与 D14 组比较; 图中红色箭头所示: CK-20 免疫阳性细胞(免疫组化染色, 标尺为 $100\ \mu\text{m}$)

图 2 各组大鼠足底正常皮肤组织或创面新生肉芽组织 CK-20 阳性细胞表达

2.2 大鼠足底创面新生肉芽组织 CK-20 阳性的 Merkel 细胞数量变化 足底正常或创面新生肉芽组织免疫组织化学检测发现,位于皮肤表皮与真皮交界面的网状脊尖端有成串的 CK-20 阳性细胞表达,见图 2。N 组大鼠 CK-20 阳性细胞表达排列整齐,染色较深;与 N 组大鼠比较,D7 组和 D14 组 CK-20 阳性细胞数明显减少且 D7 组大鼠 CK-20 阳性细胞排列紊乱;创面经多次涂抹 MEBO 后,MEBO7 组和 MEBO14 组大鼠足底创面新生肉芽组织 CK-20 阳性细胞数较同观察时间点的 D7 组和 D14 组增多,但仍低于 N 组;MEBO7 组与 MEBO14 组大鼠比较,MEBO14 组大鼠足底创面新生肉芽组织 CK-20 阳性细胞数增多。均数组间比较,差异有统计学意义($F=6.340, P=0.001$),见图 2。

2.3 大鼠足底创面新生肉芽组织 CK-20 蛋白水平变化 Western blot 检测大鼠正常或足底创面新生肉芽组织发现相对分子质量约为 48×10^3 的阳性条带,与目标蛋白 CK-20 的相对分子质量吻合。以 β -actin 为内参对照,对所测目标蛋白的条带 A 值进行标准化,得到各组大鼠 CK-20 蛋白 RA 值。与 N 组比较,D7 组和 D14 组足底组织 CK-20 蛋白 RA 值明显下降;创面经多次涂抹 MEBO 后,MEBO7 组和 MEBO14 组 CK-20 蛋白 RA 值较同观察时间点的 D7 组和 D14 组增多,但仍低于 N 组,均数组间比较,差异有统计学意义($F=14.74, P=0.000$),见图 3。



A: 各组大鼠足底正常皮肤或创面新生肉芽组织 CK-20 蛋白 Western blot 条带; B: 定量统计; *: $P < 0.05$, 与 N 组比较; #: $P < 0.05$, 与 D7 组比较; Δ: $P < 0.05$, 与 MEBO7 组比较; ▲: $P < 0.05$, 与 D14 组比较

图 3 各组大鼠足底正常皮肤或创面新生肉芽组织 CK-20 蛋白表达水平比较

3 讨 论

高等生物的皮肤是体内与体外环境接触的重要媒介,皮肤上存在大量复杂的触觉感受器感知外环境的变化刺激。触觉感受器可以通过机械激活的离子通道把压力、张力等机械信号转变为感受器上的电信

号形成感受器电位,并将经编码的电信号通过传入神经投射到高级神经中枢(皮层躯体感觉中枢),产生触摸感觉。通常认为, Merkel 细胞神经突复合体是 Merkel 细胞与 $A\beta$ 传入纤维末梢形成突触样结构,感受器电位通过 $A\beta$ 传入纤维传入,并将物体的形状、质地及空间属性等进行编码^[10-12]。大鼠 Merkel 基因敲除或沉默后,大鼠足底无毛区不能辨别物体表面纹理、质地,但是大鼠胡须区仍然保留上述鉴别能力,表明 Merkel 细胞-神经突复合体对保持手掌、足底等无毛区对物体的鉴别能力是必须的,而对胡须区的触觉无明显作用^[13-14]。

Merkel 细胞具有特殊的细胞结构特点,如共表达内分泌颗粒、角蛋白丝和桥粒蛋白。常规苏木精-伊红(HE)染色很难在镜下区分 Merkel 细胞,有文献报道,在体鉴定 Merkel 细胞的主要方法是采用抗角蛋白抗体,其中在胎儿和成人皮肤中,仅仅 Merkel 细胞表达 CK-20,因此,CK-20 可以作为 Merkel 细胞的标记蛋白^[15-16]。本研究采用免疫组织化学法标记 CK-20 表达阳性的方法鉴定 Merkel 细胞,结果显示在正常大鼠网状脊或建模大鼠足底创面新生肉芽组织中均有 CK-20 阳性细胞表达。有研究提示,组织中 Merkel 细胞数量会根据环境的变化上升或下降,作出适应性调节,例如:随着毛囊周期的变化, Merkel 细胞数量和分布出现生理性波动^[16];此外,在不同的神经营养因子作用下, Merkel 细胞数量也会出现波动^[17]。本研究结果与上述结论一致,大鼠切除足底皮肤后,其足底触觉阈值显著升高,创面新生肉芽组织中 CK-20 阳性的 Merkel 细胞数量减少,CK-20 蛋白水平降低,此现象可能与足底创面形成导致创面新生肉芽组织中 Merkel 细胞丢失有关。研究还显示,大鼠足底创面建模后 7 d 与 14 d 比较,在创面逐渐愈合的过程中,足底创面触觉阈值逐渐降低,创面新生肉芽组织中 CK-20 阳性的 Merkel 细胞数量增加,CK-20 蛋白水平上调,其机制可能与足底创面愈合过程中局部多种神经营养因子、神经肽等物质促进 Merkel 细胞生成有关,究竟哪些因子促进 CK-20 阳性 Merkel 细胞数量增加,其具体机制还需进一步研究证实。

祖国医学通过辨证论治,将中药制剂外用于皮肤创面,促进创面的愈合和功能的恢复。MEBO 是一种中药制剂,主要由黄芩、黄柏、黄连、蜂蜜、麻油等组成,有清热燥湿,泻火解毒、去腐生肌的功能,是一种具有较强的广谱抗菌作用和促进创面愈合的双向调节作用的药物,能向受损的机体局部皮肤组织残存细胞提供维持正常生长的环境和促进分裂再生的条件。该药膏治疗皮肤缺损有良好的止痛、抗感染、改善局部微循环、增强免疫力、促进上皮细胞的增殖、清除坏死组织等功能。本研究发现,与未用 MEBO 治疗的建模大鼠比较,在相同的观察时间点,建模大鼠足底

创面外用 MEBO 后,其创面新生肉芽组织中 CK-20 阳性的 Merkel 细胞数量增加,CK-20 蛋白水平上调,创面触觉阈值降低。有研究提示,Merkel 细胞不表达细胞周期蛋白,因此,Merkel 细胞可能分化来源于周围未分化的多能基底角质细胞(pluripotential basal keratinocytes)^[18],因此,外用 MEBO 可能通过促进多能基底角质细胞分化为 Merkel 细胞,进而促进创面触觉功能的重建,本设想还需进一步研究证实。

综上所述,采用皮肤创面外用 MEBO 能够有效促进创面新生肉芽组织触觉功能重建。

参考文献

- [1] JOHNSTON B R, HA A Y, KWAN D. Surgical management of chronic wounds[J]. R I Med J, 2016, 99(2): 30-33.
- [2] HAN G, CEILLEY R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments[J]. Adv Ther, 2017, 34(3): 599-610.
- [3] 邓呈亮,冯晶玮,鲁峰. 脂肪来源干细胞促进难愈性创面愈合研究进展[J]. 中华整形外科杂志, 2017, 33(6): 477-480.
- [4] GIRARD D, LAVERDET B, BUHÉ V, et al. Biotechnological management of skin burn injuries: challenges and perspectives in wound healing and sensory recovery[J]. Tissue Eng Part B Rev, 2017, 23(1): 59-82.
- [5] HALATA Z, GRIM M, BAUMAN K I. Friedrich sigmund merkel and his "merkel cell", morphology, development, and physiology: review and new results[J]. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2003, 271(1): 225-239.
- [6] WOO S H, LUMPKIN E A, PATAPOUTIAN A. Merkel cells and neurons keep in touch[J]. Trends Cell Biol, 2015, 25(2): 74-81.
- [7] MAKSIMOVIC S, NAKATANI M, BABA Y, et al. Epidermal merkel cells are mechanosensory cells that tune mammalian touch receptors[J]. Nature, 2014, 509(752): 617-621.
- [8] 张力. 再生医学与中医. 中国烧伤创疡杂志[J]. 2004, 16

(3): 224-227.

- [9] TANG Q L, HAN S S, FENG J, et al. Moist exposed burn ointment promotes cutaneous excisional wound healing in rats involving VEGF and bFGF[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(4): 1277-1282.
- [10] MAKSIMOVIC S, BABA Y, LUMPKIN E A. Neurotransmitters and synaptic components in the Merkel cell-neurite complex, a gentle-touch receptor[J]. Ann N Y Acad Sci, 2013, 1279: 13-21.
- [11] CHALFIE M. Neurosensory mechanotransduction[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(1): 44-52.
- [12] COSTE B, MATHUR J, SCHMIDT M, et al. Piezo1 and piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels[J]. Science, 2010, 330(6000): 55-60.
- [13] MARICICH S M, MORRISON K M, MATHES E L, et al. Rodents rely on Merkel cells for texture discrimination tasks[J]. J Neurosci, 2012, 32(10): 3296-3300.
- [14] MARICICH S M, WELLNITZ S A, NELSON A M, et al. Merkel cells are essential for light-touch responses[J]. Science, 2009, 324(5934): 1580-1582.
- [15] MOLL I, KUHN C, MOLL R. Cytokeratin 20 is a general marker of cutaneous Merkel cells while certain neuronal proteins are absent[J]. J Invest Dermatol, 1995, 104(6): 910-915.
- [16] MOLL I, PAUS R, MOLL R. Merkel cells in mouse skin: intermediate filament pattern, localization, and hair cycle-dependent density[J]. J Invest Dermatol, 1996, 106(2): 281-286.
- [17] CHRISTIANSON J A, RYALS J M, JOHNSON M S, et al. Neurotrophic modulation of myelinated cutaneous innervation and mechanical sensory loss in diabetic mice[J]. Neuroscience, 2007, 145(1): 303-313.
- [18] MOLL I, ZIEGER W, SCHMELZ M. Proliferative merkel cells were not detected in human skin[J]. Arch Dermatol Res, 1996, 288(4): 184-187.

(收稿日期:2019-03-14 修回日期:2019-04-24)

(上接第 2535 页)

- [12] SHLAFER M. Cardiac pharmacology of dimethyl sulfoxide and its postulated relevance to organ preservation in ischemic or hypoxic states[J]. Ann N Y Acad Sci, 1983, 411: 170-179.
- [13] 沈洪妹,姜正林. 二甲亚砷对大鼠海马脑片谷氨酸毒性损伤的影响[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2002, 9(4): 197-199.
- [14] 沈洪妹,姜正林. 二甲亚砷对大鼠海马脑片谷氨酸毒性损

伤的保护作用[J]. 南通医学院学报, 2000, 20(4): 349-350.

- [15] MAN W, MING D, FANG D, et al. Dimethyl sulfoxide attenuates Hydrogen peroxide-induced injury in cardiomyocytes via heme oxygenase-1[J]. J Cell Biochem, 2014, 115(6): 1159-1165.

(收稿日期:2019-03-12 修回日期:2019-04-28)