

• 基础研究 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.24.009

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240927.1135.006\(2024-09-27\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240927.1135.006(2024-09-27))海藻纤维敷料联合表皮生长因子对伤口的促愈性能研究^{*}李程琳,王 爽[△]

(青岛大学基础医学院,山东青岛 266071)

[摘要] **目的** 评价自制的海藻纤维敷料联合表皮生长因子(EGF)对伤口的促愈作用。**方法** 对制成的海藻纤维敷料进行微观形貌结构、透气性、化学结构检测,细胞计数试剂盒 8(CCK8)和 Calcein-AM/PI 检测不同浓度敷料浸提液[0(对照组)、100%(敷料组)]对人胚肺成纤维细胞(HEL F)的细胞活性与细胞存活的影响。构建背部全层皮肤缺损创面小鼠模型,并按照不同处理方法分为模型组、纱布组、纱布+EGF 组、敷料组、敷料+EGF 组,每组 12 只。观察各组小鼠皮肤损伤后伤口创面愈合情况,计算愈合第 3、7、11、15 天创面愈合率。愈合第 3、7、11 天取伤口处及周围皮肤组织进行组织包埋切片,行苏木精-伊红(HE)染色、Masson 染色、免疫组化观察创面新生上皮生长情况、炎症细胞浸润程度、胶原纤维沉积情况。**结果** 海藻纤维敷料内部呈三维网状结构,表面平整光滑,经过烘干处理后无残余的纤维丝附着,透气性好。敷料组细胞存活率、细胞活性与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。愈合第 3 天,敷料+EGF 组创面愈合率在各组中最高($P<0.05$);到第 15 天,除纱布组和模型组外,其余组创面愈合良好。HE 染色显示,愈合第 7 天敷料+EGF 组新生上皮长度较其他组更长、炎症细胞数更少($P<0.05$);到第 11 天,敷料组、纱布+EGF 组、敷料组+EGF 组炎症细胞数比较差异无统计学意义($P>0.05$),但均少于纱布组和模型组($P<0.05$)。CD31 免疫组化和 Masson 染色显示,愈合第 11 天敷料+EGF 组 CD31 阳性表达更强,新生血管数量更多、管径更大,胶原纤维最致密。**结论** 自制的海藻纤维敷料多孔、透气、吸湿性和生物相容性好,无细胞毒性,可吸收,联合 EGF 后有较好的促愈作用,能更好地促进新生上皮增长、减缓炎症细胞浸润、促进新生血管生成和胶原纤维沉积。

[关键词] 生物相容性材料;海藻纤维;表皮生长因子;创面愈合**[中图法分类号]** R641**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2024)24-3732-07Study on promoting healing performance of seaweed fiber dressing
combined with epidermal growth factor^{*}LI Chenglin, WANG Shuang[△]

(School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the effect of self-made seaweed fiber dressing combined with epidermal growth factor (EGF) for promoting the wound healing. **Methods** The micro-morphology and structure, air permeability and chemical structure of the prepared seaweed fiber dressings were tested. The effects of different concentrations of dressing leach liquor [0 (control group), 100% (dressing group)] on the cell activity and cellular survival of human embryonic lung fibroblasts (HEL F) were detected by the cell counting kit-8 (CCK8) and Calcein-AM/PI. The mouse model of full-layer back skin defect wound was constructed and divided into the model group, gauze group, gauze + EGF group, dressing group and dressing + EGF group according to different treatment methods, 12 cases in each group. The wound healing of mice after skin injury in each group was observed and the wound healing rate on 3, 7, 11, 15 d was calculated. The tissues of wound surface and surrounding skin were taken on 3, 7, 11 d of heal for conducting the tissue embedding section, hematoxylin-eosin staining and Masson staining. The immunohistochemistry was used to observe the growth situation of new epithelial, degree of inflammatory cell infiltration and deposition of collagen fibers in the wound surface. **Results** The inside of the seaweed fiber dressing showed the three-dimensional network structure and smooth surface. After drying treatment, there was no residual fiber attachment with good air permeability. The cell survival rate and cell viability had no statistical difference between the dressing group and control group ($P>0.05$). On 3 d of heal, the healing rate of wound surface in the dressing + EGF group was the

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(82001754)。 [△] 通信作者, E-mail: wangshuang85@qdu.edu.cn。

highest among the various groups ($P < 0.05$), on 15 d, except for the gauze group and model group, the heal in the other groups was good. The HE staining showed that on 7 d of healing, the length of the new epithelium in the dressing + EGF group was longer and the inflammatory cells were less than those in the other groups ($P < 0.05$). On 11 d, the number of inflammatory cells had no statistical difference among the dressing group, gauze + EGF group and dressing + EGF group ($P > 0.05$), but all were less than that in the gauze group and model group ($P < 0.05$). CD31 immunohistochemistry and Masson staining showed that the CD31 positive expression on 11 d of heal in the dressing + EGF group was stronger, the new vessels were more, the vessel diameter was greater and collagenous fiber was densest. **Conclusion** Seaweed fiber dressing is porous, breathable, hygroscopic and biocompatible, non-cytotoxic and absorbable. Combining with EGF has good promotive effect for the growth of new epithelium, could slow down the infiltration of inflammatory cells and promote the formation of new blood vessels and the deposition of collagen fibers

[Key words] biocompatible materials; seaweed fiber; epidermal growth factor; wound healing

皮肤作为人体最大的器官,可以保护体内各器官和组织免受机械性、物理性、化学性和病原微生物性的侵袭,具有保护屏障作用^[1]。一旦受到损伤,伤口可从皮肤扩散到其他组织,如皮下组织、神经、肌腱、肌肉、血管和骨骼^[2]。由此可见,寻找更有效的促愈方式,预防伤口感染、保护皮肤屏障等依然是急需解决的问题。

临床上常规伤口处理方式多为表皮生长因子(EGF)联合纱布。EGF 作为皮肤创面愈合过程中最具代表性的生长因子之一^[3],通过刺激成纤维细胞的增殖和迁移能力起到促愈作用^[4-5],但纱布敷料容易粘着伤口,在换药过程中会出现撕扯伤口的情况,加重伤口创伤而影响创面愈合。纱布的屏障作用较差,细菌入侵可能性较高,是临床治疗创面愈合面临的难题^[6]。海藻纤维中有含量丰富的酚类、多糖类、藻酸盐等成分,能够为创面提供湿润环境,对伤口渗出物有高吸附性。从经济角度考虑,海藻纤维从海洋生物中提取获得,含量丰富、产量高、价格低廉^[7]。海藻纤维敷料作为一种新型安全有效的敷料,应用前景广泛,具有成为促愈材料应用于现代生物医学领域的潜质^[8-12]。

本研究选用自制海藻纤维敷料联合 EGF,研究其对小鼠皮肤伤口的促愈作用,为进一步证明海藻纤维敷料联合 EGF 后更加具有抵御伤口感染、减轻创面炎症反应提供有力证据。

1 材料与方法

1.1 细胞

原代人胚肺成纤维细胞(HEL F)由青岛大学基础医学院王斌教授惠赠,冻存于 -80°C 冰箱。 37°C 复苏,常规培养在 37°C 、5% CO_2 的培养箱。用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F-12 培养液扩增培养,胰酶消化传代。

1.2 动物

60 只 6~8 周 Balb/c 雄性小鼠,SPF 级,体重 18~20 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证:SCXK(京)2019-0010。动物实验经青岛大学动物

实验委员会批准(审批号:QDU-AEC-2022358)。

1.3 主要试剂

EGF(北京索莱宝科技有限公司,P00165),DMEM/F-12 培养液(以色列 Biological Industries 公司,2037140),胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司,11011-8611),胰酶(上海碧云天生物技术有限公司,C0207),磷酸盐缓冲溶液(PBS,武汉赛维尔生物科技有限公司,G0002-2L),Calcein-AM/PI 细胞活性与细胞毒性检测试剂盒(上海碧云天生物科技股份有限公司,C0215M),细胞计数试剂盒 8(CCK8,上海雅酶生物医药科技有限公司,02571100),Masson 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,G1346),兔抗 CD31(北京博奥森生物技术有限公司,bs-0195R),羊抗兔 IgG-辣根过氧化物酶(北京博奥森生物技术有限公司,bs-40296G-HRP),增强型 DAB 显色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,DA1016),倒置荧光显微镜(日本 Nikon 公司,Ti2-A), CO_2 培养箱(美国 ThermoFisher 公司,311),正置显微镜(日本 Olympus 公司,BX63+DP80)。

1.4 方法

1.4.1 海藻纤维敷料制备

将一定量的医用海藻纤维利用单刃裁刀裁成长度 1~2 mm 的短段,浸泡在水中物理粉碎(纤维分散机,5 000~8 000 r/min)形成纤维浆料,把混合均匀的浆料在 18.75~30.00 mmHg 的水压下通过滤网(200~300 目),在真空环境下模压成型并烘干后得到海藻纤维敷料。扫描电子显微镜(SEM105, TESCAN VEGA3)对其微观形态结构进行观察,傅里叶红外变换光谱仪(FTIR)检测其元素,FX3030 Air 透气仪对其透气性进行检测。

1.4.2 Calcein-AM/PI 检测

取对数生长期 HELF,胰酶消化,接种至 96 孔板,每孔 5×10^4 个/100 μL 。待细胞贴壁生长至对数生长期后,弃掉原培养液,加入上述不同浓度敷料浸提液,每组设 5 个复孔,常规培养 24、48 和 72 h。吸除培养液,PBS 洗涤 1 次,每孔加入 100 μL Calcein-AM/PI

检测工作液充分混匀,37℃避光孵育 30 min。孵育结束后,荧光显微镜下观察并拍照。使用 Image J 软件统计细胞存活情况。

1.4.3 CCK8 检测

将 2 cm×2 cm 敷料加入 3 mL HELF 完全培养基(含 10%胎牛血清的 DMEM/F-12 培养液)中 37℃浸泡 24 h,无菌滤器过滤分装。使用 HELF 完全培养基调整敷料浸提液浓度:0(对照组)、100%(敷料组)。取对数生长期 HELF,胰酶消化,接种至 96 孔板,每孔 5×10⁴ 个/100 μL。待细胞贴壁生长至对数生长期后,弃掉原培养液,加入敷料浸提液,每组设 5 个复孔,常规培养 24、48 和 72 h。每孔加入 CCK8 试剂 100 μL 孵育 2 h,酶标仪测定其 450 nm 处吸光度(A)值。

1.4.4 动物建模与分组

将 60 只小鼠按照随机数字表法分为模型组、纱布组、纱布+EGF 组、敷料组、敷料+EGF 组,每组 12 只。2%戊巴比妥钠液(30 mg/kg)腹腔注射麻醉后,背部脱毛,75%乙醇棉球消毒后,剪出一个直径为 1 cm 的圆形全层皮肤缺损创面,不缝合,模型组小鼠不做处理,其他组创面按上述分组包裹不同的材料,不给予抗生素,将直尺放在伤口外缘进行拍照。材料在超净工作台正反两面紫外线照射 30 min,每个材料剪 12 个直径为 1 cm 圆形,材料与创口用外科缝针线固定 4 针,单笼饲养。

1.4.5 小鼠背部皮肤伤口愈合实验

在愈合第 3、7、11、15 天用 2%戊巴比妥钠液麻醉小鼠后,将直尺放在伤口外缘进行拍照。Image J 图像分析软件量化创面面积并计算创面愈合率,愈合

率=(第 0 天创面面积-第 n 天创面面积)/第 0 天创面面积×100%。

1.4.6 组织学分析

取小鼠愈合第 3、7、11 天伤口处及周围皮肤组织,浸泡在 4%多聚甲醛中固定 24 h 后进行石蜡包埋,制作石蜡切片(6 μm),进行苏木精-伊红(HE)染色、Masson 染色,正置显微镜观察创面新生上皮生长情况、炎症细胞浸润程度、胶原纤维沉积情况。

1.4.7 免疫组化分析

取愈合第 11 天石蜡切片进行 CD31 免疫组化染色,一抗为兔源性 CD31 多克隆抗体(稀释比为 1:500),二抗为 HRP 标记的羊抗兔 IgG 多克隆抗体(稀释比为 1:5 000),正置显微镜观察小鼠创面血管生成情况。

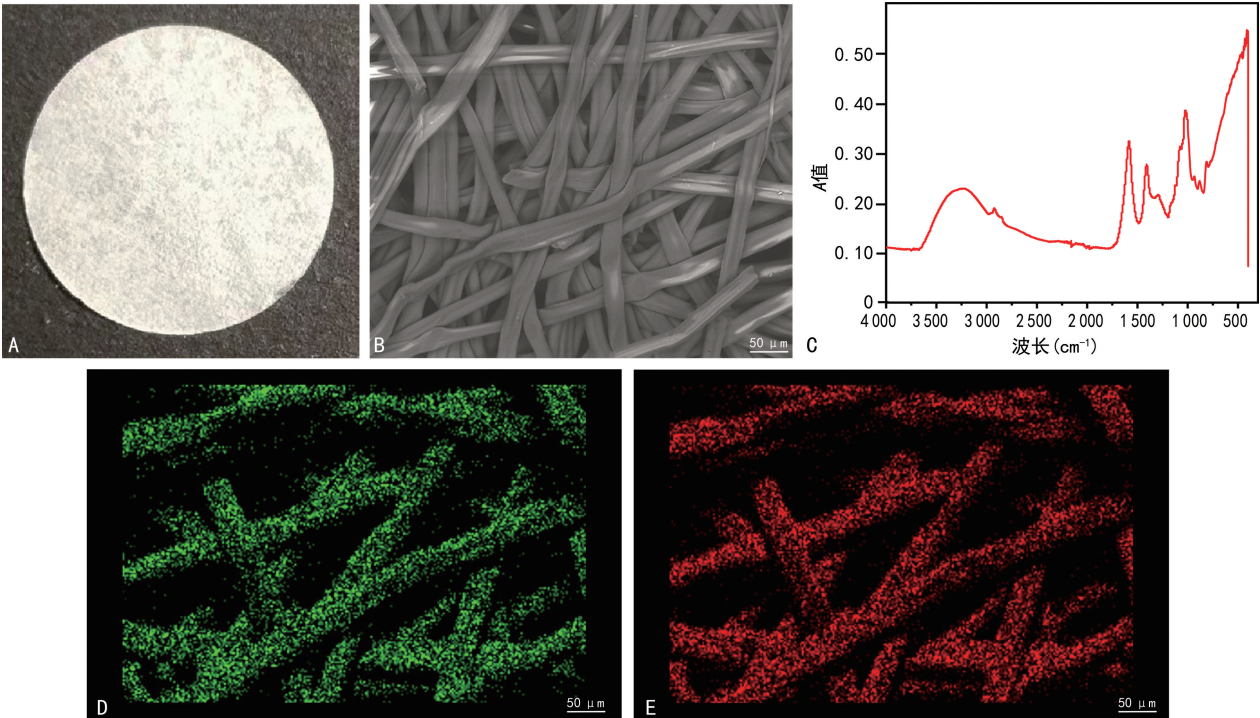
1.5 统计学处理

采用 Graphpad Prism8.0.1 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 海藻纤维敷料的物化性能

自制海藻纤维敷料表面平整光滑,厚度均匀,经过烘干处理后无残余的纤维丝附着,见图 1A。扫描电子显微镜进一步观察发现纤维间紧密堆积,交织成三维网状结构,并留有很多孔隙(图 1B),具有良好的透气性(达到 1 680 mm/s)。采用 FTIR 光谱验证其海藻纤维官能团及元素,结果显示海藻纤维敷料有碳、氧元素,见图 1C~E。



A:海藻纤维敷料外观图;B:扫描电子显微镜观察;C:FTIR 光谱测定海藻纤维官能团;D:碳沉积海藻纤维;E:氧沉积海藻纤维。

图 1 海藻纤维敷料外观及 FTIR 光谱检测

2.2 海藻纤维敷料的生物相容性

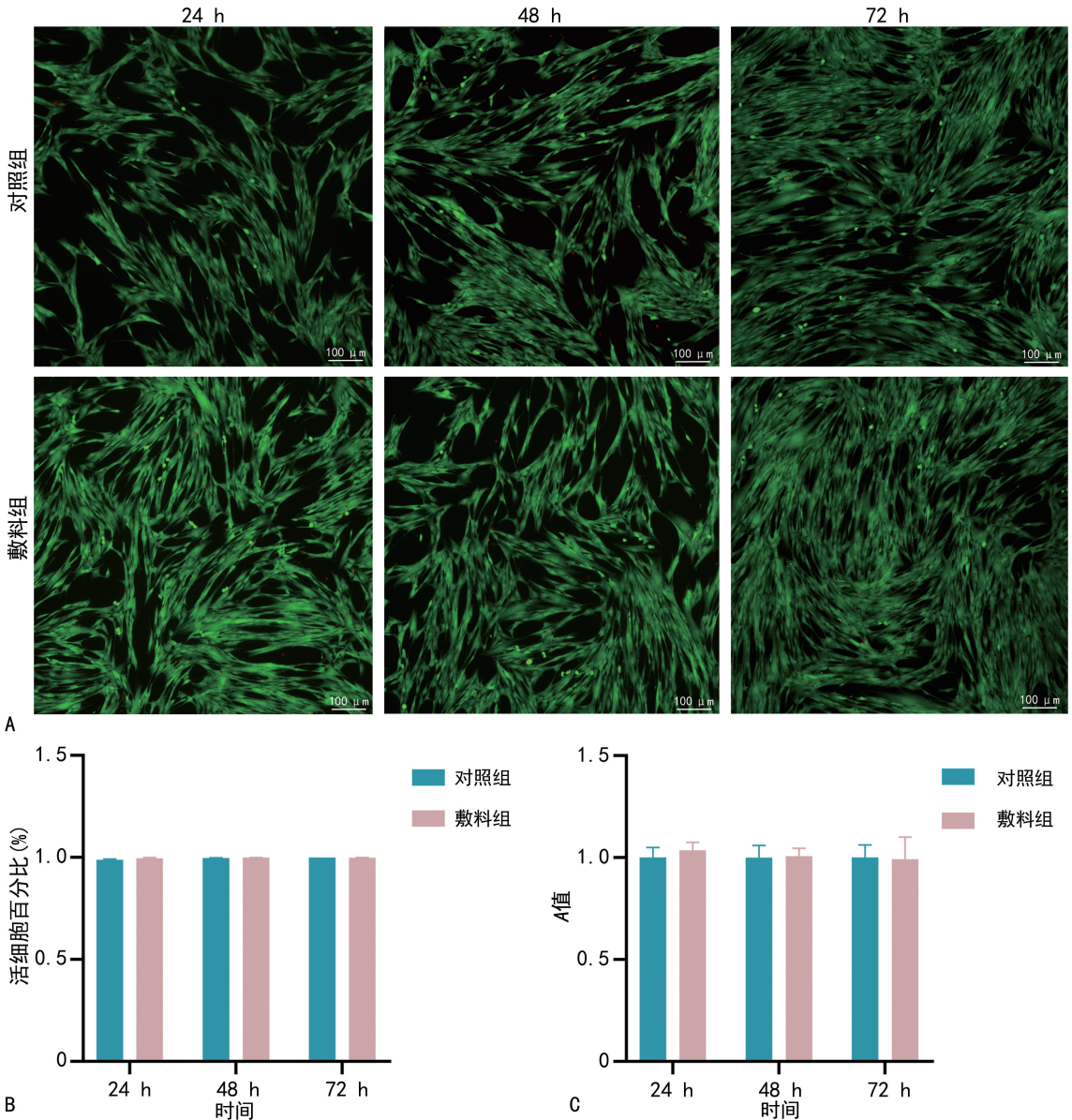
敷料组细胞存活率、细胞活性与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图2。

2.3 各组伤口愈合情况

愈合第3天,敷料+EGF组创面愈合率在各组中最高($P<0.05$),其中敷料+EGF组创面愈合率为57.04%,敷料组为42.87%,纱布+EGF组为36.38%,而模型组和纱布组仅有16.19%、13.79%。愈合第7天,敷料+EGF组创面愈合率高于敷料组($P<0.05$),敷料组明显高于纱布组($P<0.01$),其中纱布+EGF组、敷料组、敷料+EGF组创面愈合率超

过50%,分别为71.86%、66.53%、79.57%。愈合第11天,模型组、纱布组剩余愈合面积仍高于20%的时候,纱布+EGF组、敷料组、敷料+EGF组已降至10%以下($P<0.05$)。愈合第15天,除纱布组和模型组外,其余组创面愈合良好,见图3A。

HE染色显示,愈合第7天敷料+EGF组小鼠创面新生上皮长度 $[(2\,470.00\pm105.30)\mu\text{m}]$ 明显长于纱布+EGF组 $[(1\,907.00\pm23.24)\mu\text{m}]$,敷料组 $[(1\,772.00\pm16.69)\mu\text{m}]$ 长于纱布组 $[(1\,284.00\pm77.57)\mu\text{m}]$ 和模型组 $[(1\,323.00\pm95.68)\mu\text{m}]$,差异有统计学意义($P<0.05$),见图3B。



A:Calcein-AM/PI 检测结果,绿色为活细胞,红色为死细胞;B:细胞存活情况;C:CCK8 检测结果。

图2 海藻纤维敷料生物相容性检测结果

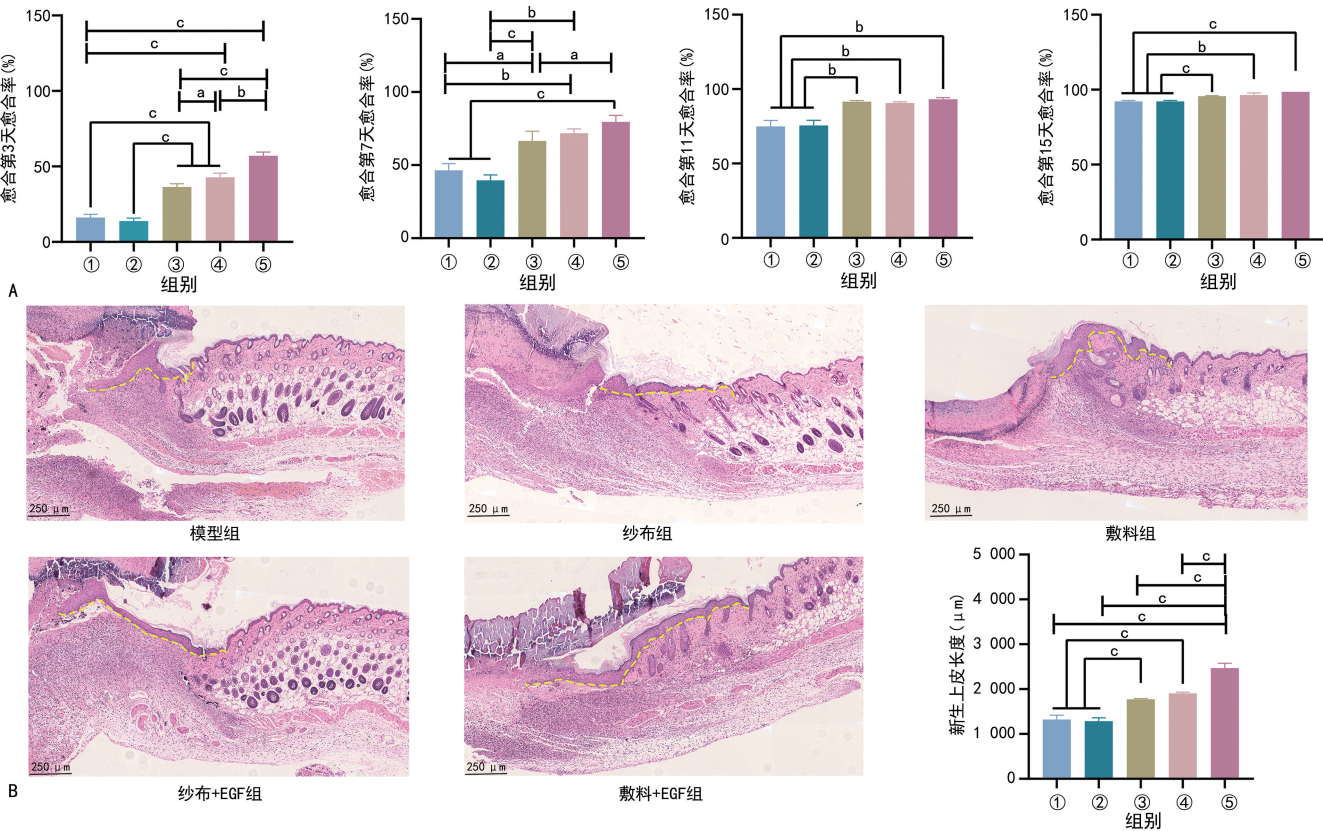
2.4 各组炎症细胞浸润情况

愈合第7天,敷料+EGF组炎症细胞数 $[(888\pm40)$ 个]少于纱布+EGF组 $[(1\,071\pm76)$ 个],敷料组 $[(1\,363\pm45)$ 个]多于纱布+EGF组 $[(1\,071\pm76)$

个],差异有统计学意义($P<0.05$);纱布组 $[(1\,865\pm57)$ 个]和模型组 $[(1\,664\pm42)$ 个]炎症细胞数相对较多,其中纱布组炎症细胞浸润更为明显。愈合第11天,敷料组 $[(391\pm65)$ 个]、纱布+EGF组 $[(390\pm33)$

个]、敷料组+EGF 组 $[(363\pm47)$ 个]炎症细胞数比较差异无统计学意义($P>0.05$),但均少于纱布组

$[(860\pm78)$ 个]和模型组 $[(837\pm111)$ 个]($P<0.05$),见图 4。



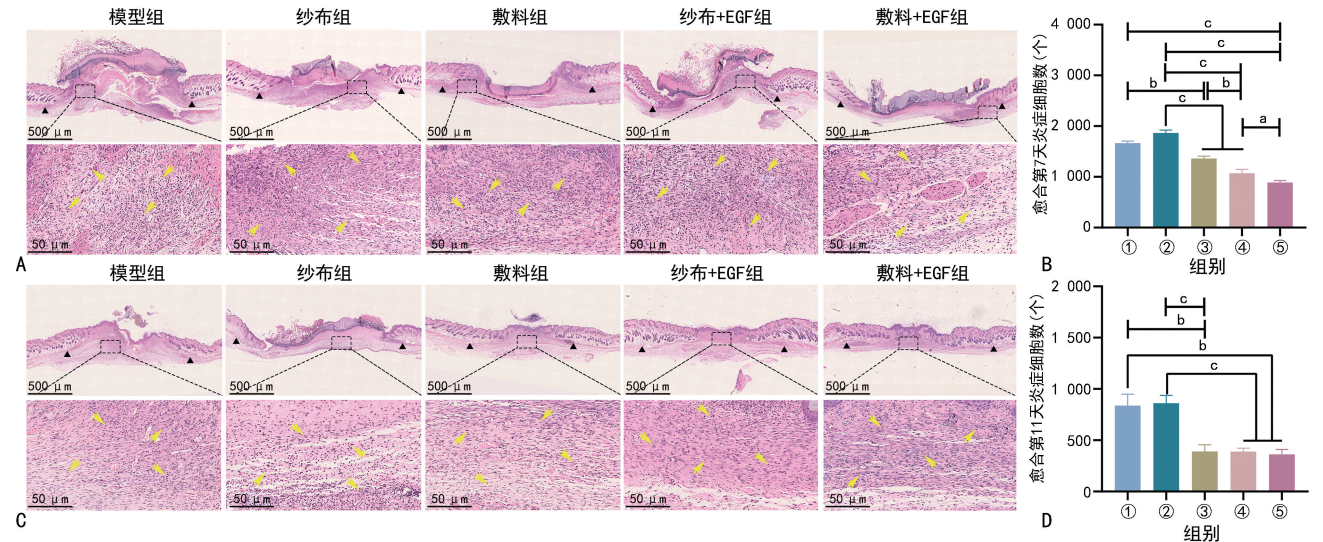
A:不同时间各组创面愈合率比较;B:愈合第 7 天各组新生上皮生长情况;^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,^c: $P<0.001$;①:模型组;②:纱布组;③:敷料组;④:纱布+EGF 组;⑤:敷料+EGF 组。

图 3 各组创面愈合及新生上皮生长情况

2.5 各组血管生成、胶原纤维沉积情况

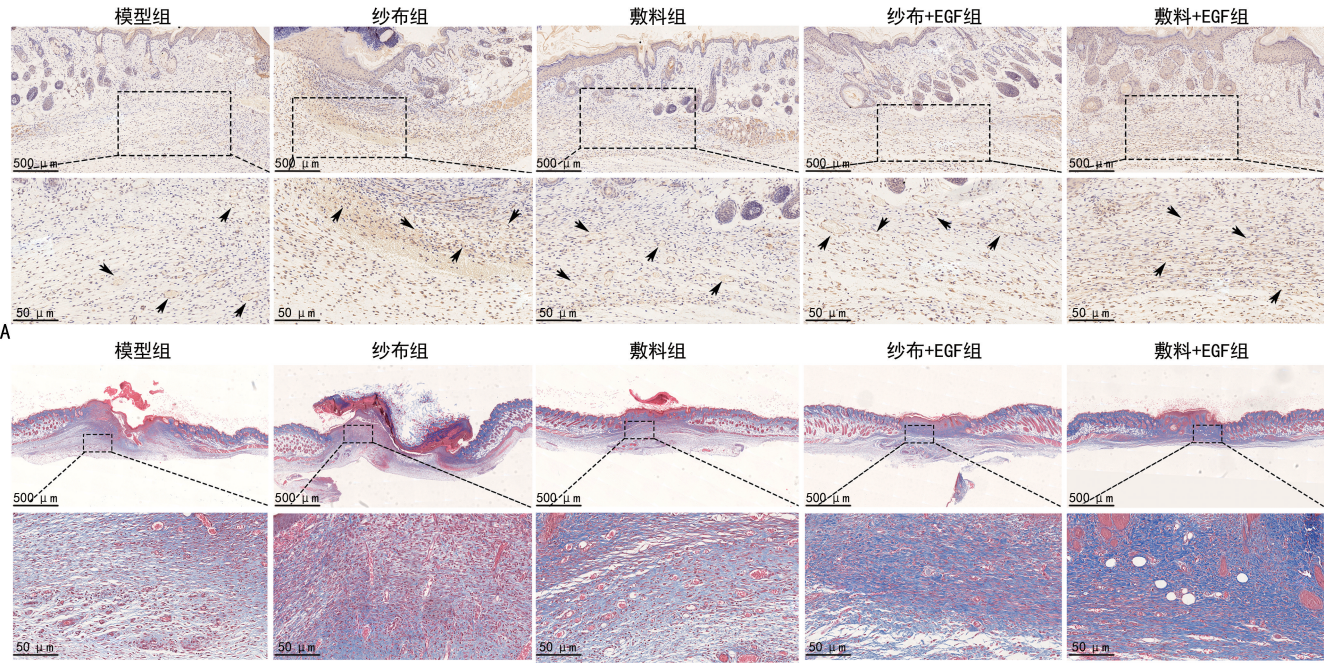
CD31 免疫组化结果显示,愈合第 11 天敷料+EGF 组 CD31 阳性表达更强,新生血管数量更多、管

径更大;纱布组和模型组 CD31 阳性表达均低于其他 3 组,见图 5A。Masson 染色结果显示,愈合第 11 天敷料+EGF 组胶原纤维最致密,见图 5B。



A:愈合第 7 天 HE 染色;B:愈合第 7 天各组炎症细胞数比较;C:愈合第 11 天 HE 染色;D:愈合第 11 天各组炎症细胞数比较;黑色三角:伤口与正常皮肤交界处;黄色箭头:炎症细胞;^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,^c: $P<0.001$;①:模型组;②:纱布组;③:敷料组;④:纱布+EGF 组;⑤:敷料+EGF 组。

图 4 各组创面炎症细胞浸润程度比较



A:组织切片 CD31 免疫组化染色,黑色箭头表示新生血管;B:组织切片 Masson 染色,蓝色表示胶原纤维,红色表示肌纤维。

图 5 各组愈合第 11 天组织切片 CD31 免疫组化染色及 Masson 染色情况

3 讨 论

伤口愈合是人类和动物皮肤或其他软组织受伤后,对破裂或受损的组织进行再生和修复的一个重要而复杂的生物学过程^[13-17]。局部伤口感染和异物通过延长炎症反应时间而影响愈合,并干扰上皮化、收缩和胶原沉积^[18-21]。EGF 是一种强有力的促有丝分裂因子,可促进上皮细胞的增殖和分裂,改善胶原结构,调节蛋白合成,从而加速伤口愈合^[22-24]。临床上传统的伤口处理方式多为 EGF 联合纱布,但纱布容易粘着伤口,更换时易导致机械性再损伤,并且会因为伤口处慢性感染而限制其临床疗效。

天然和人造材料,如海藻酸盐、壳聚糖、聚乳酸等已被用于合成组织工程的新型生物材料^[25-29]。海藻纤维作为丰富的海洋资源,绿色环保可降解,并且其敷料中所含的海藻酸盐除了具有良好的止血活性外,还能伤口提供最佳的湿润环境和良好的伤口渗出物吸收能力^[30],促进肉芽组织的生长,降低促炎因子的浓度,抑制自由基的形成,具有明显的抗菌活性^[31-36];并且其制备工艺简单,成本低廉。因此,本研究选用海藻纤维作为联合 EGF 的医用敷料,并对其促愈作用进行研究。

无毒性和黏附性是材料与细胞融合生长的必备条件,也是生物相容性最重要的指标^[37]。本实验通过 CCK8 和 Calcein-AM/PI 检测,从多角度证明了海藻纤维敷料无明显细胞毒性并且对增殖无影响。本研究采用小鼠背部创伤模型,愈合第 3 天海藻纤维敷料已被吸收,该特性避免了手术时二次拆线,可以减轻患者的痛苦,较传统纱布更有临床价值。海藻纤维敷料与 EGF 联合使用相比于传统纱布联合 EGF 使用,其创面愈合率更高,新生上皮长度更长。严重的炎症

反应和炎症细胞的渗透会延缓创面的愈合进程,敷料+EGF 组创面炎症细胞数少于纱布+EGF 组。胶原的合成和沉积是伤口愈合过程中的一个关键过程,在 Masson 染色结果中直观地看出敷料+EGF 组较其他组蓝色部分面积更大,颜色更深,分布更为均匀。CD31 又称血小板-内皮细胞黏附分子-1(PECAM-1),是血管内皮细胞分化成熟的标志物。本研究用 CD31 标记血管内皮细胞,免疫组化检测评价各组愈合第 11 天创面组织的血管化程度,结果显示敷料+EGF 组 CD31 阳性表达更强,新生血管数量更多、管径更大。

综上所述,自制的海藻纤维敷料经济便捷、资源丰富、生物相容性良好、无细胞毒性,联合 EGF 使用后更能促进新生上皮生长、胶原纤维沉积、提高新生血管增长、抑制炎症反应。

参考文献

[1] HARRIS-TRYON T A,GRICE E A. Microbiota and maintenance of skin barrier function[J]. Science,2022,376(6596):940-945.

[2] OKUR M E,KARANTAS I D,ŞENYİĞİT Z,et al. Recent trends on wound management:new therapeutic choices based on polymeric carriers[J]. Asian J Pharm Sci,2020,15(6):661-684.

[3] SHEN C,SUN L,ZHU N,et al. Kindlin-1 contributes to EGF-induced re-epithelialization in skin wound healing[J]. Int J Mol Med,2017,39(4):949-959.

[4] TANAKA A,NAGATE T,MATSUDA H. Acceleration of wound healing by gelatin film

- dressings with epidermal growth factor[J]. *J Vet Med Sci*, 2005, 67(9): 909-913.
- [5] KWON Y B, KIM H W, ROH D H, et al. Topical application of epidermal growth factor accelerates wound healing by myofibroblast proliferation and collagen synthesis in rat[J]. *J Vet Sci*, 2006, 7(2): 105-109.
 - [6] ZHAO R, LIANG H, CLARKE E, et al. Inflammation in chronic wounds[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): 2085.
 - [7] ADUBA D C, YANG H. Polysaccharide fabrication platforms and biocompatibility assessment as candidate wound dressing materials[J]. *Bioengineering (Basel)*, 2017, 4(1): 1.
 - [8] BILAL M, IQBAL H M N. Marine seaweed polysaccharides-based engineered cues for the modern biomedical sector [J]. *Mar Drugs*, 2019, 18(1): 7.
 - [9] DELATTRE C, PIERRE G, LAROCHE C, et al. Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides[J]. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(7): 1159-1179.
 - [10] LAURIENZO P. Marine polysaccharides in pharmaceutical applications; an overview [J]. *Mar Drugs*, 2010, 8(9): 2435-2465.
 - [11] FLOREZ N, GONZALEZ-MUNOZ M J, RIBEIRO D, et al. Algae polysaccharides' chemical characterization and their role in the inflammatory process[J]. *Curr Med Chem*, 2017, 24(2): 149-175.
 - [12] VENKATESAN J, ANIL S, RAO S, et al. Sulfated polysaccharides from macroalgae for bone tissue regeneration[J]. *Curr Pharm Des*, 2019, 25(11): 1200-1209.
 - [13] DIEGELMANN R F, EVANS M C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing[J]. *Front Biosci*, 2004, 9: 283-289.
 - [14] VELNAR T, BAILEY T, SMRKOLJ V. The wound healing process; an overview of the cellular and molecular mechanisms [J]. *J Int Med Res*, 2009, 37(5): 1528-1542.
 - [15] GOLEBIEWSKA E M, POOLE A W. Platelet secretion; from haemostasis to wound healing and beyond[J]. *Blood Rev*, 2015, 29(3): 153-162.
 - [16] SAHANA T G, REKHA P D. Biopolymers; applications in wound healing and skin tissue engineering[J]. *Mol Biol Rep*, 2018, 45(6): 2857-2867.
 - [17] KULSHRESTHA S, CHAWLA R, ALAM M T, et al. Efficacy and dermal toxicity analysis of Sildenafil citrate based topical hydrogel formulation against traumatic wounds [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108571.
 - [18] ROBSON M C. Wound infection. A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria[J]. *Surg Clin North Am*, 1997, 77(3): 637-650.
 - [19] BROUGHTON G, JANIS J E, ATTINGER C E. Wound healing; an overview[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 117(Suppl. 7): 1-32.
 - [20] BANKEY P, FIEGEL V, SINGH R, et al. Hypoxia and endotoxin induce macrophage-mediated suppression of fibroblast proliferation[J]. *J Trauma*, 1989, 29(7): 972-979.
 - [21] YIP W L. Influence of oxygen on wound healing[J]. *Int Wound J*, 2015, 12(6): 620-624.
 - [22] QI S, YANG C, ZHU M, et al. Effect of oral mucosal transplantation on the expression of EGF and VEGF-C during skin wound repair [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(1): 320-325.
 - [23] STODDARD M A, HERRMANN J, MOY L, et al. Improvement of atrophic acne scars in skin of color using topical synthetic epidermal growth factor (EGF) serum; a pilot study[J]. *J Drugs Dermatol*, 2017, 16(4): 322-326.
 - [24] HAASE I, EVANS R, POFAHL R, et al. Regulation of keratinocyte shape, migration and wound epithelialization by IGF-1- and EGF-dependent signalling pathways [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 15): 3227-3238.
 - [25] ISLAM M M, SHAHRUZZAMAN M, BISWAS S, et al. Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications; a review[J]. *Bioact Mater*, 2020, 5(1): 164-183.
 - [26] CHEN H, LAN G, RAN L, et al. A novel wound dressing based on a Konjac glucomannan/silver nanoparticle composite sponge effectively kills bacteria and accelerates wound healing[J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 183: 70-80.
 - [27] MIGUEL S P, MOREIRA A F, CORREIA I J. Chitosan based-asymmetric membranes for wound healing; a review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 127: 460-475.
 - [28] KANIKIREDDY V, VARAPRASAD K, JAYARAMUDU T, et al. Carboxymethyl cellulose-based materials for infection control and wound healing; a review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164: 963-975.