

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.31.001

胸腺素  $\beta_4$  对增生性瘢痕基质金属蛋白酶-2 及 9 表达作用的影响\*樊志强<sup>1</sup>, 廖立新<sup>2△</sup>, 张友来<sup>1</sup>, 罗 飞<sup>2</sup>

(1. 南昌大学第一附属医院烧伤科 330000; 2. 厦门大学第一附属医院烧伤整形科 361003)

**[摘要]** **目的** 研究胸腺素  $\beta_4$  对人增生性瘢痕成纤维细胞中基质金属蛋白酶-2(MMP-2) 和 MMP-9 的表达影响, 探讨胸腺素  $\beta_4$  对增生性瘢痕的作用机制。**方法** 2013 年 6~9 月在南昌大学第一附属医院烧伤整形科手术切取的增生性瘢痕组织(烧伤后 6 个月内), 体外培养成纤维细胞, 分为实验组(胸腺素浓度分别为 0.05、0.1、1.0、5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 对照组(不添加胸腺素  $\beta_4$ ), 采用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)以及蛋白免疫印迹法(Western blot)测定实验组和对照组的 MMP-2、MMP-9 表达变化。**结果** 胸腺素  $\beta_4$  作用后增生性瘢痕组织内 MMP-2、MMP-9 水平增加, 分别以 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  实验组和 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  实验组作用最明显, 与对照组比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 胸腺素  $\beta_4$  能剂量依赖性促进 MMP-2、MMP-9 表达, 可能是抑制增生性瘢痕的作用因素之一。

**[关键词]** 胸腺素; 瘢痕; 基质金属蛋白酶-2; 基质金属蛋白酶-9; 细胞外基质**[中图分类号]** R644**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)31-4321-03

## Effect of thymosin beta4 on matrix metalloproteinase-2, 9 of hypertrophic scar\*

Fan Zhiqiang<sup>1</sup>, Liao Lixin<sup>2△</sup>, Zhang Youlai<sup>1</sup>, Luo Fei<sup>2</sup>

(1. Department of Burns, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330000, China; 2. Department of Burns and Plastic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361003, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the effect of thymosin beta4 on the expression of matrix metalloproteinase-2(MMP-2) and MMP-9 of human hypertrophic scar fibroblasts and explore mechanism of thymosin beta4 on hypertrophic scar. **Methods** Fibroblasts were cultured in vitro from the orthopaedic patients(within 6 months after burns) admitted in the first affiliated hospital of Nanchang university from June to September 2013. The Fibroblasts were divided into experiment group: 0.05, 0.1, 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , and control group: no thymosin beta4. The expression levels of MMP-2, MMP-9 were observed by RT-PCR and Western blot. **Results** The expression levels of MMP-2 and MMP-9 were increased after the thymosin beta4 took effect, and it was especially significant in 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  group, there was statistical difference between experiment group and control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Thymosin beta4 can dose-dependently promote the expression of MMP-2 and MMP-9 and inhibit the proliferation of hypertrophic scar.

**[Key words]** thymosin; matrix; matrix metalloproteinases-2; matrix metalloproteinases-9; extracellular matrix

病理性瘢痕的形成是创伤过度反应的结果<sup>[1]</sup>, 病理性瘢痕包括增生性瘢痕和瘢痕疙瘩, 其组织性特征是持续且大量增生的成纤维细胞, 炎性生长因子活化所产生的细胞外基质(ECM)成分的沉积, 其影响愈合后的外观和功能。增生性瘢痕形成是个复杂的病理过程, 其中细胞移行、肉芽组织的形成、新生血管及基质的重塑均依赖 ECM(胶原、纤维粘连蛋白、弹性蛋白等)的分泌和降解<sup>[2]</sup>。其中胶原的产生是增生性瘢痕形成的决定性因素<sup>[3]</sup>, 胶原的降解主要依赖基质金属蛋白酶(MMPs), MMPs 由结缔组织及肿瘤组织合成分泌。胶原酶家族中 MMP-2、MMP-9 是近年来研究的热点。胸腺素  $\beta_4$  有显著的促进皮肤愈合的作用, Philip 等<sup>[4]</sup>曾在大鼠皮肤创伤模型中应用胸腺素  $\beta_4$  发现多个 MMPs 表达量在成纤维细胞、内皮细胞和角质细胞中显著增加, 加速了创面愈合的过程。但对于胸腺素  $\beta_4$  对人的增生性瘢痕成纤维细胞中 MMPs 的影响研究较少, 本研究拟了解胸腺素  $\beta_4$  对瘢痕成纤维细胞中 MMP-2、MMP-9 表达的影响及作用机制。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 取 2013 年 6~9 月在南昌大学第一附属医院烧伤整形科手术切取的增生性瘢痕组织, 于  $-70^\circ\text{C}$  冰箱中冻

存待用。诊断标准: 瘢痕疙瘩为损伤后, 瘢痕生长超出原有范围向周围正常皮肤组织浸润扩大, 病程超过 12 个月, 持续增生, 并有规则赘生物, 高出皮肤表面, 呈蟹足样生长, 伴瘙痒和刺痛。同时根据病史、病变过程、局部刺激因素进行综合判断。增生性瘢痕均系严重烧伤后局部增生引起, 具有隆起、形状不规则、质地实韧、常伴疼痛, 于伤口愈合后 6~12 个月取材。排除标准: 术前应用激素治疗及接受放射治疗的患者。其中男 6 例、女 3 例, 患者年龄 25~53 岁, 平均 34.5 岁。均已告知患者及家属, 并签知情同意书。

**1.2 实验材料** 胎牛血清(FBS)、DMEM 培养基购自 Hy-Close 公司; 胸腺素  $\beta_4$  粉剂购自 Prospec 公司, 考马斯亮蓝、反转录试剂盒(货号 KR106-02)、 $2 \times \text{Taq PCR Master Mix}$ (货号 KT201)购自北京天根生化科技有限公司; MMP-2 单克隆抗体(货号 ab7033)、MMP-9 单克隆抗体(货号 ab137867)购自美国 Abcam 公司; 人  $\beta$ -actin 抗体(货号 TA-09)购自中杉金桥; Trizol 购自 Invitrogen 公司。引物: MMP-2 上游 5'-CAG GGA ATG AGT ACT GGG TCT ATT-3', 下游 5'-ACT CCA GTT AAA GGC AGC ATC TAC-3'; MMP-9 上游 5'-AAT CTC TTC TAG AGA CTG GGA AGG AG-3', 下游 5'-AGC TGA

TTG ACT AAA GTA GCT GGA-3';  $\beta$ -actin 上游 5'-GAG CTA CGA GCT GCC TGA CG-3', 下游 5'-CCT AGA AGC ATT TGC GGT GG-3'; 引物由上海捷瑞生物技术有限公司合成。

**1.3 成纤维细胞的分离培养** 采用组织块法培养, 将临床标本在无菌条件下用 D-Hank's 液反复冲洗并消毒, 切成约 1 mm<sup>3</sup> 的块状, 种植于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶内, 间隔约 0.3 cm。接种好后静置数分钟, 加入含 20% FBS 的 DMEM 培养。置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度的培养箱静置培养, 根据生长情况每 3~5 天换液, 待原代细胞长满瓶底 80% 时消化传代, 本实验选用第 3~6 代细胞。

**1.4 实验分组** 根据胸腺素  $\beta_4$  浓度不同分为对照组 (0  $\mu$ g/mL) 和实验组 (0.05、0.1、1.0、5.0  $\mu$ g/mL)。

**1.5 RT-PCR 检测 MMP-2、MMP-9 基因表达的变化** 取第 3~6 代生长良好的细胞, 经胰酶消化后, 调整细胞计数, 移到 6 孔板, 经 24 h 饥饿培养后逐一加药。药物干预 6 h 后, 通过 Trizol 法提取细胞总 RNA, 凝胶电泳和紫外分光光度计分析所提取的总 RNA 的完整性和浓度。采用北京天根公司的逆转录试剂盒按说明书进行 cDNA 的合成。按照引物设计原则设计引物, 并在 BLAST 中进行同源性比较。PCR 的条件为: 变性 94 °C 3 min; 94 °C 30 s; 60 °C 30 s; 72 °C 10 min 29 个循环。取 PCR 产物 5  $\mu$ L, 在 1.5% 琼脂糖中电泳后, 凝胶图像

分析系统 Bio-Rad Image Lab 对目的基因的 PCR 产物进行灰度测定。基因表达量是以基因的灰度值与  $\beta$ -actin 基因的灰度值的比值表示。

**1.6 Western blot 检测 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达变化** 药物处理后提取细胞总蛋白, 考马斯亮蓝溶液对蛋白进行定量分析。采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳, 凝胶经半干转仪转移至硝酸纤维素 (NC) 膜, 转移好的 NC 膜用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h。一抗 4 °C 孵育过夜, 充分漂洗后, 二抗 4 °C 孵育 4 h, 洗膜 3 次, 最后用 ECL 发光试剂盒检测, 胶片曝光, 显影, 定影。蛋白的表达量以该蛋白的灰度值与  $\beta$ -actin 蛋白的灰度值的比值表示。

**1.7 统计学处理** 采用 SAS9.2 软件进行分析, 统计分析采用单因素方差分析模型, 模型的 R Squared 较高, 提示模型有意义, 组间两两比较采用 SNK 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 培养的成纤维细胞生长变化** 成纤维细胞在培养后第 4 天从组织块边缘游出, 较稀疏 (图 1A), 第 7 天呈大片密集生长, 呈放射状梭形排列, 细胞体饱满 (图 1B)。传代后细胞呈漩涡状或条索状 (图 1C)。胸腺素  $\beta_4$  干预后部分细胞开始变圆, 细胞间隙增大, 数量减少, 部分凋亡漂浮 (图 2B、C), 而对照组无明显变化 (图 2A)。

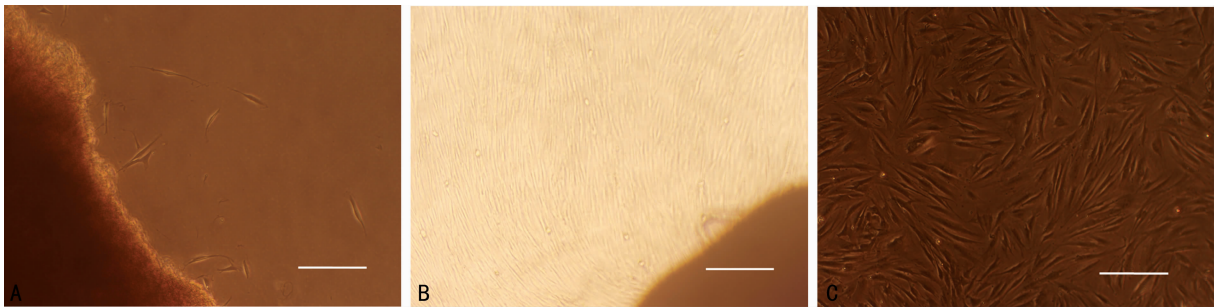


图 1 传代成纤维细胞生长状况 ( $\times 100$ )

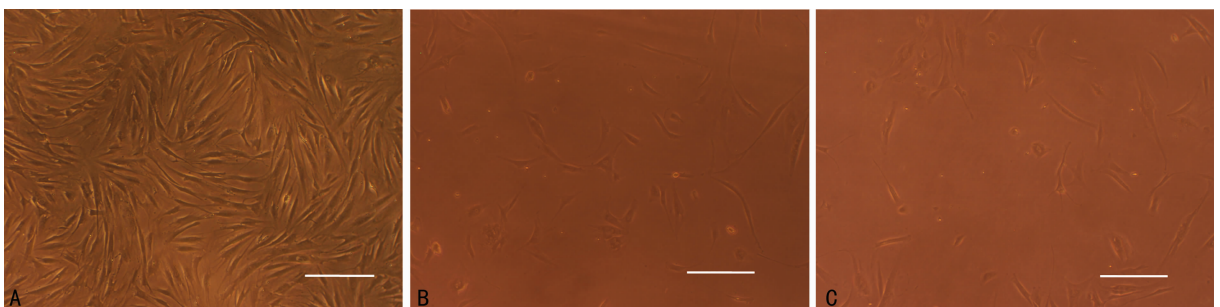


图 2 胸腺素  $\beta_4$  干预后细胞生长状况 ( $\times 100$ )

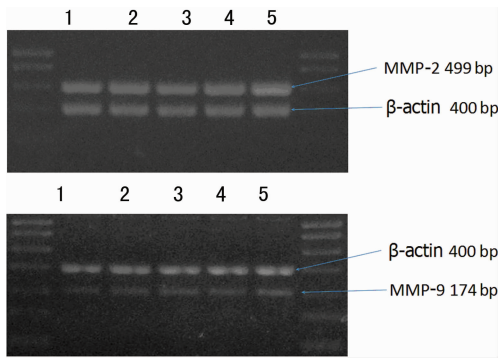
**2.2 胸腺素  $\beta_4$  对增生性瘢痕成纤维细胞分泌 MMP-2、MMP-9 的影响** 胸腺素  $\beta_4$  能够提升 MMP-2、MMP-9 mRNA 及蛋白的表达, 0.05、0.1、1.0、5.0  $\mu$ g/mL 实验组中 MMP-2、MMP-9 mRNA 及蛋白含量均高于对照组, 分别以 1.0、5.0  $\mu$ g/mL 组作用最明显, 见图 3、4。统计分析采用单因素方差分析模型, 模型的 R Squared 较高, 提示模型有意义。单因素方差分析结果显示, 不同浓度组间差异有统计学意义,  $F$  值分别为 279.55、207.47、56.32、88.52,  $P < 0.01$ 。组间两两比较采用 SNK 检验, 结果提示浓度越高, 表达量越高, 且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 Western blot 和 RT-PCR 检测胸腺素  $\beta_4$  作用后增生性瘢痕组织 MMP-2、MMP-9 与对照组表达差异

方法	基因/蛋白	SS	DF	MS	$F$	$P$
Western blot	MMP-2	8.216 <sup>a</sup>	4	2.054	279.55	<0.01
	MMP-9	23.341 <sup>b</sup>	4	5.835	207.47	<0.01
PCR	MMP-2	0.441 <sup>c</sup>	4	0.112	56.32	<0.01
	MMP-9	0.316 <sup>d</sup>	4	0.079	88.52	<0.01

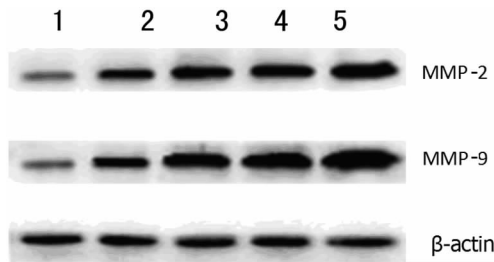
<sup>a</sup>: R Squared = 0.991; <sup>b</sup>: R Squared = 0.988; <sup>c</sup>: R Squared = 0.958; <sup>d</sup>: R Squared = 0.973。





1:对照组;2:0.05  $\mu\text{g/mL}$  实验组;3:0.1  $\mu\text{g/mL}$  实验组;4:1.0  $\mu\text{g/mL}$  实验组;5:5.0  $\mu\text{g/mL}$  实验组。

图 4 RT-PCR 检测 MMP-2、MMP-9 蛋白在各组织中的含量



1:对照组;2:0.05  $\mu\text{g/mL}$  实验组;3:0.1  $\mu\text{g/mL}$  实验组;4:1.0  $\mu\text{g/mL}$  实验组;5:5.0  $\mu\text{g/mL}$  实验组。

图 4 Western blot 检测 MMP-2、MMP-9 蛋白在各组织中的含量

### 3 讨 论

增生性瘢痕的形成是一个较为复杂的病理过程,正常情况下,伤口预后愈合过程中 ECM 沉积和降解处于动态平衡中,研究显示胶原合成和降解是影响创面愈合和后期组织重塑的重要因素<sup>[5]</sup>,有相关研究证实,在后期瘢痕形成过程中成纤维细胞胶原合成明显增高,同时合成的胶原纤维排列明显紊乱<sup>[6]</sup>。保持 ECM 合成和降解之间的平衡对完成组织修复有重要作用,胶原的降解主要是通过酶促反应来完成,MMPs 是其降解的关键成分<sup>[7]</sup>,其中 MMP-2、MMP-9 是胶原降解的关键酶<sup>[8]</sup>。MMP-9 主要由上皮细胞产生,是 IV 型糖化胶原酶的一种形式,主要底物有 IV、V 型胶原和明胶,可以作用于 I、III、IV、V 型胶原、蛋白聚糖的核心蛋白、明胶、弹性蛋白等 ECM 成分<sup>[9]</sup>。MMP-9 出现于创面愈合早期,参与内皮细胞核角质形成细胞等的迁移、分化及新生血管形成<sup>[10]</sup>。MMP-2 作用底物与 MMP-9 相同,但其作用范围更广泛,还可作用于 VII 型胶原、弹性蛋白、纤维粘连蛋白及蛋白聚糖的蛋白核心<sup>[11]</sup>。研究表明,MMP-2 和 MMP-9 等多种 MMPs 在瘢痕成纤维细胞中表达明显改变<sup>[12]</sup>,以上资料均提示 MMPs 的表达与活性的降低,可能是增生性瘢痕形成的重要原因。

胸腺素  $\beta 4$  是 Low 等<sup>[13]</sup>于 1981 年发现由 43 个氨基酸残基形成的多肽,在机体广泛分布,与机体免疫功能、神经系统发育、创伤愈合以及肌动蛋白功能均密切相关。胸腺素  $\beta 4$  能加速血管再生、角质形成层细胞迁移以及伤口收缩等一系列反应,从而促进创面的愈合<sup>[14]</sup>。在 Sosne 等<sup>[15]</sup>的研究中,胸腺素  $\beta 4$  能促进角膜碱烧伤模型创面愈合。同时其发现,IL-1、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1)、MIP-2,单核趋化蛋白(MCP-2)等炎症因子的基因转录和表达受到显著的抑制,表明胸腺素  $\beta 4$  能够减少炎症细胞的数量,下调炎症趋化因子和细胞因子的表达,防止新生组织受到炎症反应的损害。在心肌组织中,Bock-

Marquette 等<sup>[16]</sup>及 Hinkel 等<sup>[17]</sup>的研究发现:胸腺素  $\beta 4$  能抑制心肌瘢痕的形成,阻断心肌细胞的凋亡、促进心肌修复及提高经缺氧再氧合的心肌细胞存活率等。在治疗增生性瘢痕方面,胸腺素  $\beta 4$  改善基质环境利于细胞的迁移和血管生成。Malinda 等<sup>[18]</sup>的研究显示,在正常小鼠皮肤创伤模型中,通过体内和体外实验,胸腺素  $\beta 4$  在特异性的趋化内皮细胞迁移的同时,增加 MMPs 表达,加速基底膜降解,为血管生成创造条件。

本实验组前期实验发现胸腺素  $\beta 4$  能够抑制成纤维细胞的增殖,并能剂量依赖性地降低增生性瘢痕成纤维细胞 I、III 型胶原蛋白的分泌及结缔组织生长因子(CTGF)的表达<sup>[19]</sup>。但关于胸腺素  $\beta 4$  对成纤维细胞分泌 MMP-2、MMP-9 有何作用的报道较少见。本实验证实,通过体外培养增生性瘢痕成纤维细胞,发现 0.1、1.0、5.0  $\mu\text{g/mL}$  胸腺素  $\beta 4$  能够促进 MMP-2、MMP-9 的表达,二者表达量上升,高于对照组。MMP-2、MMP-9 是降解瘢痕组织中细胞外基质的主要因素,加入胸腺素  $\beta 4$  后 MMP-2、MMP-9 的表达量增加,说明胸腺素  $\beta 4$  能够促进二者基因表达而发挥分解胶原的作用。胸腺素  $\beta 4$  通过促进 MMPs 表达减轻 ECM 沉积而减轻瘢痕增生和挛缩,有抑制瘢痕增生的作用。通过查阅文献作者认为,胸腺素  $\beta 4$  能早期增强细胞间黏附因子(ICAM)表达,加速炎症反应。保持较高的 MMP-2 水平以利于损伤早期加速清除坏死组织和基底膜的降解;晚期成纤维细胞和内皮细胞及基底膜的表达有利于上皮和表皮细胞的增殖和血管重建<sup>[20]</sup>;而胸腺素  $\beta 4$  对于 MMP-9 的影响机制尚未有相关文献报道,仍待进一步研究。

ECM 在创伤修复中具有重要作用,基质代谢平衡失调与增生性瘢痕的形成有密切关联<sup>[21]</sup>,MMPs 是起主要降解作用的胶原酶。本实验发现胸腺素  $\beta 4$  能够提高 MMP-2、MMP-9 的表达减轻 ECM 沉积,为进一步研究胸腺素  $\beta 4$  应用治疗增生性瘢痕的机制提供了思路。MMP-2 和 MMP-9 与其抑制因子在创面愈合转归中的关系逐渐成为研究热点,胸腺素  $\beta 4$  对其抑制因子的作用机制需要进一步研究。

### 参考文献

- [1] Abdou AG, Marae AH, Al-Bara AM, et al. Immunohistochemical expression of TGF- $\beta 1$  in keloids and hypertrophic scars[J]. Am J Dermatopathol, 2011, 33(1): 84-91.
- [2] Alster TS, Tanzi EL. Hypertrophic scars and keloids[J]. Am J Clin Dermatol, 2003, 4(4): 235-243.
- [3] Naitoh M, Hosokawa N, Kubota H, et al. Upregulation of HSP47 and collagen type III in the dermal fibrotic disease, keloid[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 280(5): 1316-1322.
- [4] Philp D, Scheremeta B, Sibliss K, et al. Thymosin beta4 promotes matrix metalloproteinase expression during wound repair[J]. J Cell Physiol, 2006, 208(1): 195-200.
- [5] 刘爱东, 王玥, 庞久玲, 等. 基质金属蛋白酶 7 和转化生长因子  $\beta 1$  在病理性瘢痕中的表达: 与正常瘢痕及正常皮肤组织比较[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(7): 1165-1168.
- [6] Imaizumi R, Akasaka Y, Inomata N, et al. Promoted activation of matrix metalloproteinase (MMP)-2 in keloid fibroblasts and increased expression of MMP-2 in collagen bundle regions: implications for mechanisms of keloid progression[J]. Histopathology, 2009, 54(6): 722-730.
- [7] Tanriverdi-Akhisaroglu S, Menderes A, (下转第 4326 页)

Treg 细胞上表达水平的监测对评价结肠癌治疗效果、疾病进展及预后具有重要价值。

## 参考文献

- [1] Miska J, Abdulreda MH, Devarajan P, et al. Real-time immune cell interactions in target tissue during autoimmune-induced damage and graft tolerance[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(3):441-456.
- [2] Rojo JM, Ojeda G, Acosta YY, et al. Characteristics of TCR/CD3 complex CD3 epsilon chains of regulatory CD4(+)T (Treg) lymphocytes; role in Treg differentiation in vitro and impact on Treg in vivo[J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 95(3):441-450.
- [3] Rooney CM. Can Treg elimination enhance NK cell therapy for AML? [J]. *Blood*, 2014, 123(5):3848-3849.
- [4] Sawant DV, Gravano DM, Vogel P, et al. Regulatory T cells limit induction of protective immunity and promote immune pathology following intestinal helminth infection [J]. *J Immuno*, 2014, 192(6):2904-2912.
- [5] Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(7):523-532.
- [6] Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. FOXP3 programs the development and function of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells[J]. *Nature Immunol*, 2003, 4(4):330-336.
- [7] Liu WH, Putnam AL, Zhou XY, et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4<sup>+</sup> T reg cells[J]. *J Exp Med*, 2006(203):1701-1711.
- [8] Seddiki N, Santner-Nanan B, Martinson J, et al. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(7):1693-1700.
- [9] Dong H, Zhu G, Tamada K, et al. B7-H, a third member of

the B7 family, costimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion[J]. *Nat Med*, 1999, 5(12):1365-1369.

- [10] Cao YJ, Zhang L, Ritprajak P, et al. Immunoregulatory molecule B7-H1 (CD274) contributes to skin carcinogenesis[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(14):4737-4741.
- [11] Radvanyi L, Pilon-Thomas S, Peng W, et al. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(19):1021-1034.
- [12] Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, et al. Regulatory CD4(+) CD25(+) T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(12):4766-4772.
- [13] Ichihara F, Kono K, Takahashi A, et al. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with gastric and esophageal cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(12):4404-4408.
- [14] Salama P, Phillips M, Grieu F, et al. Tumor-Infiltrating FOXP3<sup>+</sup> T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(2):186-192.
- [15] Schaefer C, Kim GG, Albers A, et al. Characteristics of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in the peripheral circulation of patients with head and neck cancer[J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(5):913-920.
- [16] Ormandy LA, Hillemann T, Wedemeyer H, et al. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(6):2457-2464.

(收稿日期:2015-06-08 修回日期:2015-07-16)

(上接第 4323 页)

- Oktay G. Matrix metalloproteinase-2 and -9 activities in human keloids, hypertrophic and atrophic scars: a pilot study[J]. *Cell Biochem Funct*, 2009, 27(2):81-87.
- [8] 张文, 赵洁, 毕朝晖. 心肌损伤标志物在小儿病毒性心肌炎诊断中的应用进展[J]. *临床和实验医学杂志*, 2009, 8(11):119-121.
- [9] 陈小婷, 欧斌贤, 唐屈, 等. 苦参碱对体外培养人增生性瘢痕成纤维细胞 MMP-1、MMP-9 表达的影响[J]. *广西医学*, 2014, 43(5):624-626.
- [10] 李文娟, 陈伟, 付小兵, 等. 基质金属蛋白酶及其抑制因子在增生性瘢痕中的表达特征及意义[J]. *感染、炎症、修复*, 2005, 6(4):207-209.
- [11] 李开通, 刘达恩, 陈小婷, 等. 水蛭素对增生性瘢痕基质金属蛋白酶-2、9 表达作用的影响[J]. *山东医药*, 2012, 52(20):28-29, 88.
- [12] Parks WC. Matrix metalloproteinases in lung repair[J]. *Eur Respir J Suppl*, 2003, 44:36s-38s.
- [13] Low TL, Hu SK, Goldstein AL. Complete amino acid sequence of bovine thymosin beta 4: a thymic hormone that induces terminal deoxynucleotidyl transferase activity in thymocyte populations [J]. *Mol Cell Biochem*, 1981, 78(2):1162-1166.
- [14] 于虎, 张朔瑒, 马瑞珏, 等. 胸腺素 β4 促进创伤愈合机制的研究进展[J]. *国际生物医学工程杂志*, 2010, 33(4):

235-238.

- [15] Sosne G, Xu L, Prach L, et al. Thymosin beta 4 stimulates laminin-5 production independent of TGF-beta [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 293(1):175-183.
- [16] Bock-Marquette I, Saxena A, White MD, et al. Thymosin β4 activates integrin-linked kinase and promotes cardiac cell migration, survival and cardiac repair [J]. *Nature*, 2004, 432(7016):466-472.
- [17] Hinkel R, El-Aouni C, Olson T, et al. Thymosin beta4 is an essential paracrine factor of embryonic endothelial progenitor cell-mediated cardioprotection [J]. *Circulation*, 2008, 117(17):2232-2240.
- [18] Malinda KM, Goldstein AL, Kleinman HK. Thymosin beta(4) stimulates directional migration of human umbilical vein endothelial cells[J]. *FASEB J*, 1997, 11(6):474-481.
- [19] 朱璇. 胸腺素 β4 对人增生性瘢痕成纤维细胞胶原合成和 CTGF 表达的影响[D]. 南昌:南昌大学, 2013.
- [20] 李艳, 王冠, 于虎, 等. 重组胸腺素 β4 调节 ICAM-1、MMP-2 和 LN-5 促进创伤愈合的实验研究[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2008, 4(3):142-145, 163.
- [21] Gailit J, Clark RA. Wound repair in the context of extracellular matrix[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1994, 6(5):717-725.

(收稿日期:2015-06-08 修回日期:2015-07-16)