

脐带血富血小板血浆促进糖尿病大鼠难愈合创口修复作用研究

杜 为^{1, 2, 3, 4}, 张 莉^{2, 3, 4}, 张凯悦¹, 赵晶磊¹, 李宗金¹, 韩俊领^{2, 4*}

1. 南开大学 医学院, 天津 300071

2. 协和干细胞基因工程有限公司, 天津 300384

3. 天津市血液细胞治疗技术企业重点实验室, 天津 300384

4. 国家干细胞产品产业化基地, 天津 300384

摘要:目的 探讨脐带血富血小板血浆(CB-PRP)对糖尿病性难愈合创口修复的促进作用。方法 ELISA试剂盒法检测CB-PRP和外周血PRP(PB-PRP)的血管内皮生长因子(VEGF)和血小板衍生生长因子BB(PDGF-BB)的含量;SD大鼠随机分为对照组、模型组、PB-PRP组和CB-PRP组,除对照组外,按65 mg/kg剂量1次性ip链脲佐菌素(STZ)溶液诱发糖尿病模型;所有大鼠均建立全层皮肤缺损创伤模型。测定创伤再上皮化速率;术后10 d,采集组织学标本,进行苏木精伊红(HE)染色、天狼星红染色和CD31免疫荧光染色。结果 CB-PRP中VEGF、PDGF-BB含量高于PB-PRP,其中VEGF差异显著($P < 0.05$)。术后10、14、21 d, PB-PRP和CB-PRP组创口再上皮化速率显著快于模型组($P < 0.05$),术后21 d时,CB-PRP组的再上皮化率(92.8%)显著快于PB-PRP组(84.6%)($P < 0.05$)。HE染色结果显示,与模型组比较,PB-PRP和CB-PRP组肉芽组织生长更为旺盛,可见胶原纤维存在较多,新生的毛细血管较多。天狼星红染色结果显示,PB-PRP和CB-PRP组创面增生区胶原纤维丰富,以I型胶原为主,其间见III型胶原。CD31免疫荧光染色结果显示,与模型组比较,CB-PRP和PB-PRP组毛细血管数量显著增加($P < 0.05$);与PB-PRP组比较,CB-PRP组的毛细血管数量显著增加($P < 0.05$)。结论 CB-PRP具有促进糖尿病性难愈合皮肤创口修复的作用,有望成为组织工程治疗的新方法。

关键词: 脐带血; 富血小板血浆; 生长因子; 糖尿病; 难愈合创口; 修复; 再上皮化

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)04-0715-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.04.006

Experimental study on effects of cord blood PRP promoting repairs of refractory wounds in diabetic rats

DU Wei^{1, 2, 3, 4}, ZHANG Li^{2, 3, 4}, ZHANG Kaiyue¹, ZHAO Jinglei¹, LI Zongjin¹, HAN Junling^{2, 4}

1. School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China

2. Union Stem Cell&Gene Engineering Co., LTD, Tianjin 300384, China

3. Tianjin Enterprises Key Laboratory of Blood Cell Therapy Technology, Tianjin 300384, China

4. National Stem Cell Product Industrialization Base, Tianjin 300384, China

Abstract: Objective To investigate the promoting effect of cord blood-derived PRP (CB-PRP) on the diabetic refractory wound repair. **Methods** We detected the content of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Platelet-Derived Growth Factor BB (PDGF-BB) in CB-PRP and peripheral blood-derived PRP (PB-PRP) by ELISA kit method. SD rats were randomly divided into control group, model group, PB-PRP group and CB-PRP group. Except for the control group, diabetic model was induced by once ip streptozotocin (STZ) solution at a dose of 65 mg/kg. A full-thickness skin defect model was established with all rats. The effects of refractory skin wound healing were compared including rate of re-epithelialization and histological examination. Hematoxylin eosin (HE) staining, Sirius red staining and CD31 immunofluorescence staining were performed respectively to detect the wound healing process in histology. **Results** The level of VEGF in CB-PRP group was significantly higher than that of PB-PRP ($P < 0.05$). CB-PRP group showed higher level of PDGF-BB than PB-PRP, but there was no statistically significant difference between two groups.

收稿日期: 2020-11-24

基金项目: 天津市科技计划创新平台专项(18PTSJYC00070); 天津市博士后择优资助计划项目(TJQYBSH2018030)

第一作者: 杜 为(1980—), 男, 博士后, 研究方向为脐带血及干细胞的存储和应用开发。Tel: (022)83715125 E-mail: duweixhgb@vcanbio.com

*通信作者: 韩俊领(1962—), 男, 副主任技师, 研究方向为造血干细胞深低温保存技术及干细胞的应用研究。Tel: (022)83715125 E-mail: hanjunling@vcanbio.com

The re-epithelization rate of PB-PRP and CB-PRP group was significantly faster than that of model group at 10, 14 and 21 days after operation ($P < 0.05$). At 21 days after operation, the re-epithelization rate of CB-PRP group (92.8%) was significantly faster than that of PB-PRP group (84.6%) ($P < 0.05$). HE staining results showed that compared with model group, the granulation tissue of PB-PRP and CB-PRP groups grew more vigorously, and there were more collagen fibers and new capillaries. The results of Sirius red staining showed that there were abundant collagen fibers in the proliferative area of the wounds in PB-PRP and CB-PRP groups, mainly type I collagen, with type III collagen in between. CD31 immunofluorescence staining results showed that, compared with model group, the number of capillaries in CB-PRP and PB-PRP groups was significantly increased ($P < 0.05$); Compared with PB-PRP group, the number of capillaries in CB-PRP group was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusions** CB-PRP can accelerate diabetic refractory wound repair. It is expected to be a novel therapeutic method in tissue engineering.

Key words: cord blood; platelet-rich plasma; growth factor; diabetic; refractory wounds; repair; re-epithelization

富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是将全血通过离心分离而得到的含高浓度血小板的血浆,通常为人体正常血小板浓度的3~5倍,含有大量的多种生长因子^[1]。1984年, Umeno等^[2]首先发现从外周血血浆中提取的PRP中含有多种生长因子。随着PRP研究的深入,1997年Whitman等^[3]率先将自体PRP制成血小板凝胶(platelet gel, PG),与自体骨或异体骨相结合用于口腔颌面外科手术,取得了良好的临床疗效。目前,自体PRP技术也已经广泛应用于临床治疗难愈合创伤和骨损伤修复的治疗中^[4]。但是,自体PRP技术受患者本身影响较大,会产生不同的治疗效果。目前,许多研究者已经关注异基因PRP技术的开发,从而避免了采集自体血液的不便,减少了可能存在于病人疾病本身的潜在负面影响^[5-7]。

脐带血(cord blood, CB)作为一种重要的造血干细胞移植的来源,已经广泛应用于儿童和成人的白血病、骨髓衰竭综合征、血红蛋白病和许多遗传代谢性疾病的治疗中^[8]。研究发现,脐带血血浆分离制备的PRP含有更为丰富的生长因子,表明脐带血PRP(CB-PRP)应用于再生医学领域机体的修复和疾病的治疗可能具有更好的效果,有望成为组织工程治疗的新方法^[9-10]。同时,与成人外周血PRP(PB-PRP)相比较,CB-PRP具有方便易得,病毒感染几率更小的优势^[11]。为了进一步开发CB-PRP,意大利脐带血应用委员会已经成立了脐带血小板胶应用小组^[12],专门开发和应用CB-PRP。

本研究为了探讨CB-PRP促进难愈性创口修复的作用,检测了CB-PRP中的主要生长因子的含量;建立糖尿病大鼠难愈合创伤模型,评价CB-PRP对难愈合创伤的修复作用,为后续开发CB-PRP治疗新方法应用于临床治疗提供理论依据。

1 材料

1.1 主要试剂

链脲佐菌素(STZ,德国默克公司);戊巴比妥

钠(美国Sigma公司);血管内皮生长因子(VEGF)和血小板衍生生长因子BB(PDGF-BB)ELISA检测试剂盒(BIOSWAMP);CD31免疫荧光抗体(万类生物科技有限公司);增强型天狼星红染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 主要仪器

STX1202 电子天平(美国OHAUS公司);DMI3000 光学显微镜(德国Leica公司);安稳型免调血糖仪(长沙三诺生物传感技术有限公司);ML104 电子天平(瑞士METTLER TOLEDO公司);透明膜(美国柯达公司)。

1.3 实验动物

健康雄性SD大鼠,6~8周龄,体质量180~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2016-006。饲养于中国医学科学院放射医学研究所动物中心,实验动物使用许可证号SYXK(津)2019-0002。实验中动物的处理符合南开大学实验动物伦理委员会的相关规定。

2 方法

2.1 CB-PRP的分离制备

人脐带血及外周血样本由天津市脐带血造血干细胞库按照《脐带血造血干细胞库技术规范(试行)》(卫办医2002-80号)采集并提供。脐带血或外周血混匀,分别分装到15 mL无菌离心管中,二次离心法分离PRP。第1次,550×g离心10 min沉降白细胞和红细胞;用移液器取上清转移到另一个离心管中;第2次,2 000×g离心15 min,得到PRP,备用。

2.2 生长因子含量检测

在制备好的浓度为 1×10^9 mL,体积为1 mL的脐带血和外周血PRP样本中均加入100 μL的激活剂(40 mmol/L氯化钙100 μL、凝血酶25 IU),静置1 min后即可看到PRP形成胶状,放4 °C冰箱

16 h。将已激活的PRP取出,3 000×g室温离心20 min,去掉沉淀取上清即为活化的PRP。应用ELISA试剂盒检测PRP中血管VEGF和PDGF-BB。

2.3 糖尿病大鼠模型的制备

以0.1 mol/L、pH 4.2柠檬酸盐缓冲液溶解STZ,配制成1 mg/mL的STZ柠檬酸盐缓冲溶液,0.22 μm滤菌器除菌,现用现配。配好的溶液置冰盒中保存,在30 min内注射完毕。

健康雄性SD大鼠(清洁级),体质量180~200 g,在实验环境中饲养5 d。根据体质量随机分为对照组和模型组,建模前禁食12 h,模型组大鼠按65 mg/kg剂量1次性ip STZ溶液,用以诱发糖尿病。对照组ip 无菌生理盐水。72 h后测定空腹血糖、尿糖,若诱导前空腹血糖水平<8.9 mmol/L,注射72 h后动物空腹血糖>16.7 mmol/L,尿糖高于++,即判定为1型糖尿病动物模型成功。注射前及注射后每周分别对动物空腹血糖、尿糖、体质量进行测定。

2.4 CB-PRP对难愈合创伤的治疗

于第2周建立创伤模型,实验前12 h开始禁食,45 mg/kg戊巴比妥钠ip注射麻醉;将已麻醉的大鼠俯卧位固定四肢于鼠板上,用电动剃毛器在大鼠背部剪毛,脱毛剂脱毛,无菌水清洗备皮区域,去除已成为糊状的毛和剩余的脱毛剂,用碘伏棉球对大鼠背部进行消毒;在大鼠脊柱两侧,建立2个直径2 cm的圆形创口,皮层全部切除,深至筋膜,肌肉组织全部暴露。

实验动物随机分成4组:对照组、模型组、PB-PRP组和CB-PRP组,每组10只。除对照组外,均采用糖尿病模型鼠。所有大鼠均制备难愈合创伤模型,治疗前先将PRP制备成PG^[3,6],1 mL 1×10⁹/mL的CB-PRP加入至24孔板,加入激活剂活化后迅速成胶状;60 s内CB-PRP胶可以直接取出,将PG胶迅速敷在模型创口处。过程见图1。第3天换药1次,对照组用生理盐水替代PRP。

2.5 测定再上皮化率

分别于术后0、5、10、14、21 d用透明膜覆盖创面,沿创缘用记号笔画膜,剪膜,在分度为0.1 mg的分析

天平称取质量并换算成面积,再转化为再上皮化速率。

再上皮化速率=(原始创面面积-未愈创面的面积)/原始创面的面积

2.6 组织学标本的采集和处理

术后10 d,每组留取创面2个,创面部位全皮层切除,将组织块置4%甲醛溶液中,固定24 h,用PBS洗脱3次,脱水透明后,石蜡包埋组织,备用。将石蜡切片浸入二甲苯2次各10 min,无水乙醇2次各5 min,90%、80%、70%、50%乙醇溶液及蒸馏水各2 min脱蜡,苏木精液染色2 min,100 g/L盐酸乙醇分化3~5 s,自来水冲洗碱化至细胞核呈蓝色。再放入蒸馏水中20 min,50%、70%、80%、90%梯度乙醇溶液各2 min,伊红染液中5 min,95%乙醇溶液分化3~5 s,梯度脱水,树胶封固。光学显微镜观察,细胞核为蓝色,细胞质为红色。在200×光镜下观察创面肉芽组织血管芽生长与再上皮化情况。

中性甲醛液固定组织,石蜡切片,常规脱蜡脱水。放入天青石蓝液染5~10 min,蒸馏水洗3次。天狼猩红饱和苦味酸浓染15~30 min。加入无水乙醇直接分化与脱水。二甲苯透明,中性树胶封固。免疫荧光染色,用anti-CD31靶向标记血管内皮细胞,应用荧光显微镜(×200)随机选择5个区域,计算毛细血管数量,以评价缺血部位血管形成。

2.7 统计学方法

采用GraphPad Prism 5统计学软件处理分析数据,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 t 检验分析组间差异。

3 结果

3.1 CB-PRP中生长因子含量检测

PB-PRP、CB-PRP中PDGF-BB含量分别为(61.1±16.4)、(72.6±3.6)mg/mL,无统计学差异;PB-PRP、CB-PRP中VEGF含量分别为(82.0±11.8)、(127.6±15.7)mg/mL,相同血小板浓度的条件下,CB-PRP中VEGF的含量显著高于PB-PRP($P<0.05$)。结果见图2。

3.2 糖尿病大鼠模型的建立

模型大鼠($n=30$)注射STZ后3 d空腹血糖明显升高,均大于16.7 mmol/L,尿糖均大于+++ ,多饮多食多尿体征明显。于第2周建立创伤模型,造模前后血糖、尿糖没有显著变化。糖尿病大鼠建模成功2周后,体质量增长明显减慢。结果见图3。

3.3 CB-PRP对大鼠糖尿病性难愈合创伤修复作用

模型组创口的愈合速度在各个时间点均显著低于对照组($P<0.05$),说明已经成功制备糖尿病难愈合性创口模型。术后10、14、21 d,PB-PRP和CB-PRP



图1 CB-PRP制作成PG的过程

Fig. 1 Process of making PG from CB-PRP

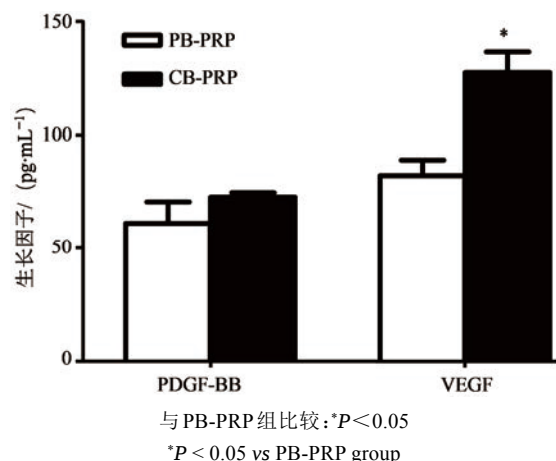


图2 CB-PRP和PB-PRP中PDGF-BB和VEGF含量($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 2 PDGF-BB and VEGF levels of CB-PRP and PB-PRP($\bar{x} \pm s, n=3$)

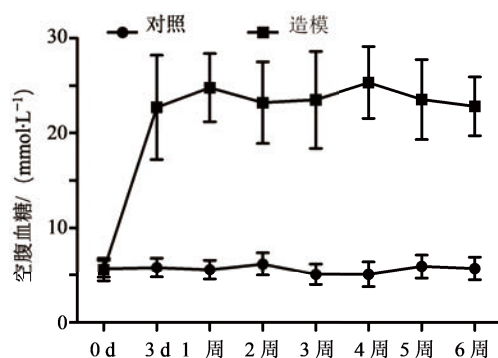


图3 大鼠血糖变化
Fig. 3 Blood glucose changes of rats

组创口再上皮化速率显著快于模型组($P < 0.05$)。术后21 d时,对照组、PB-PRP组和CB-PRP组创口再上皮化率分别达到89.8%、84.6%、92.8%,而模型

组仅为69.9%;同时,CB-PRP组的再上皮化率(92.8%)显著快于PB-PRP组(84.6%),($P < 0.05$)。结果见图4。

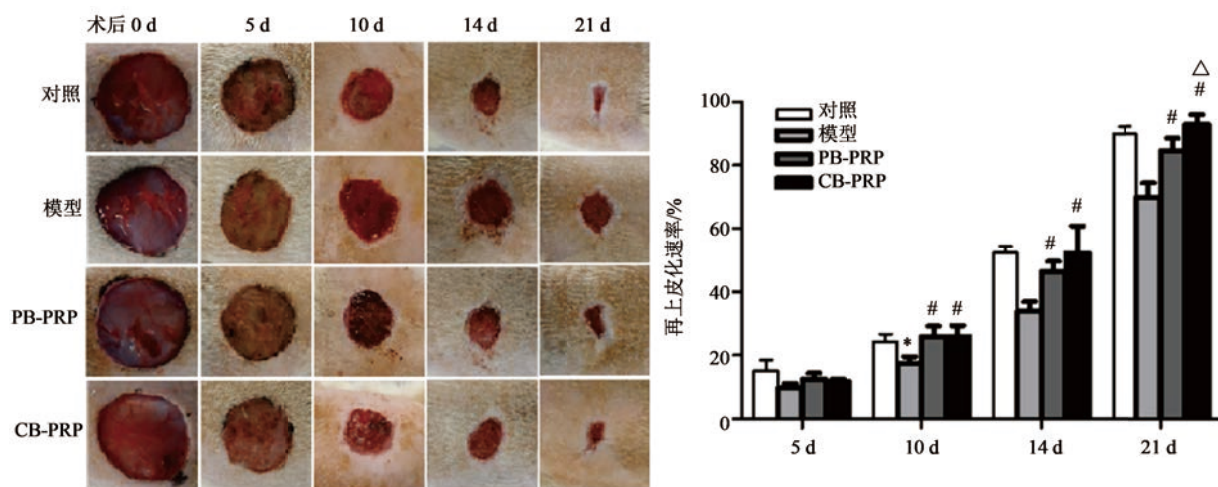
3.4 组织学分析

术后10 d,创口部位肉芽组织HE染色结果显示,4组创面呈现不同程度的肉芽组织增生状态,2种PRP治疗组肉芽组织生长更为旺盛,可见胶原纤维存在较多,模型组肉芽组织仅有少许胶原纤维存在。红细胞的分布显示,各组创面内均可见新生的毛细血管,2种PRP治疗组优于模型组。

术后10 d,创口部位肉芽组织天狼猩红染色结果显示,4组创面胶原纤维均增生。与对照组及2种PRP治疗组比较,模型组中I、III型胶原合成均较少。PB-PRP和CB-PRP组创面增生区胶原纤维丰富,以I型胶原为主,其间见III型胶原(I型胶原为强双折光性,呈黄色或红色纤维;III型胶原为弱的双折光性,绿色细纤维)。结果见图5。

3.5 创口部位血管新生

术后10 d,各处理组创口部位肉芽组织的CD31(红色)荧光免疫分析显示,与对照组比较,模型组CD31阳性表达明显减少;与模型组比较,CB-PRP和PB-PRP组CD31阳性表达更多,表明其血管密度有明显差异。定量分析结果显示,与对照组比较,模型组毛细血管数量显著减少($P < 0.05$);与模型组比较,CB-PRP和PB-PRP组毛细血管数量显著增加($P < 0.05$);与PB-PRP组比较,CB-PRP组的毛细血管数量显著增加($P < 0.05$)。结果表明,相同血小板浓度下,CB-PRP具有更好的促进血管新生的能力。结果见图6。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与PB-PRP组比较: Δ $P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; Δ $P < 0.05$ vs PB-PRP group

图4 CB-PRP对大鼠糖尿病性难愈合创伤修复作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 4 Repair function of CB-PRP on diabetic refractory wound model of rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

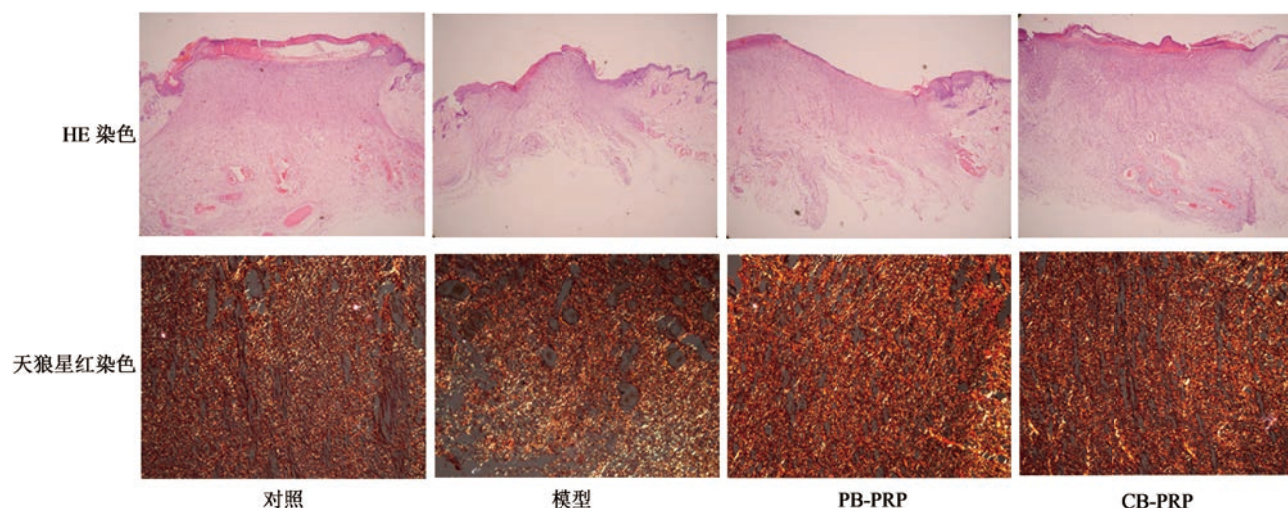
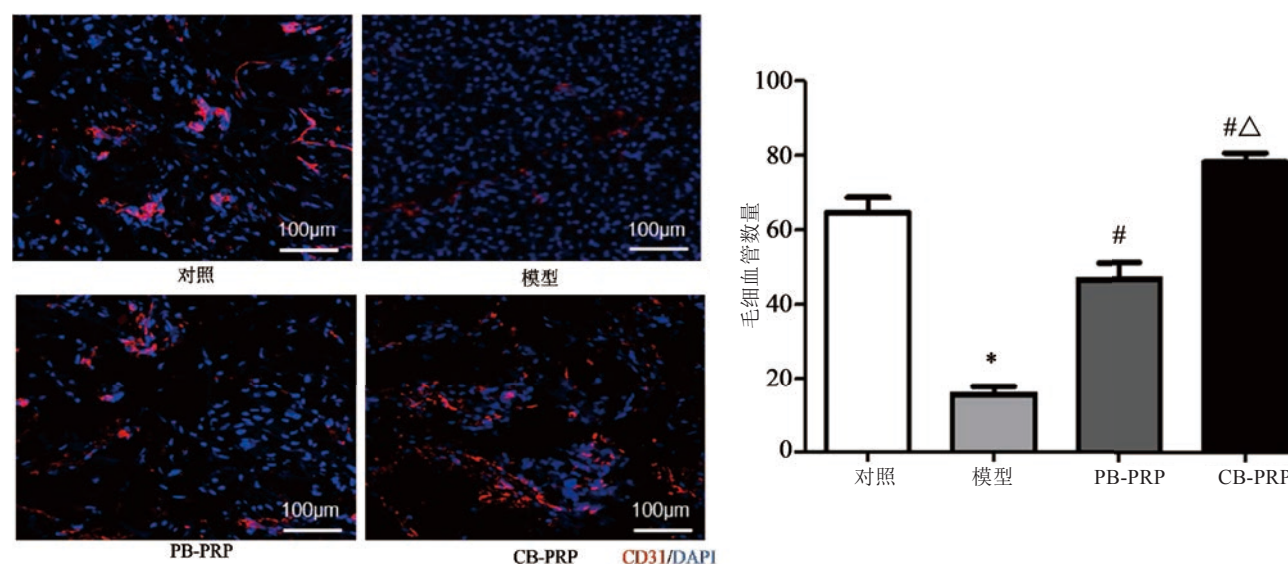


图5 组织学分析结果(×40)

Fig. 5 Histological analysis results (×40)

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与PB-PRP组比较: △ $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; △ $P < 0.05$ vs PB-PRP group图6 CD31免疫荧光染色结果($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 6 CD31 immunofluorescence staining results ($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

外周血 PRP 技术已经成为治疗再生医学相关疾病的有效治疗手段。自体 PRP 技术被广泛应用于临床领域,包括整形外科^[13]、骨科^[14]、心肌再生^[15]和运动医学^[16]等,取得了较好的治疗效果。但是,自体 PRP 技术具有明显的局限性,阻碍其在不同类别患者中的临床应用,如老年患者、新生儿和儿童,这些患者不适宜重复采血制备 PRP,导致难以多次应用影响了临床效果。这些限制促使许多研究小组将 PRP 作为一种从健康的成人献血者中获得的异基因血液成分进行标准化,并将其常规提供给临床医生用于治疗,从而避免了采集自体血液的不

便^[5-7]。这种方法也减少了可能存在于病人疾病本身的潜在负面影响。

由于脐带血公共库的入库质量标准比较高,仅有 30%~40% 采集的脐带血可以保存,造成每年大量的脐带血浪费^[12]。这不仅严重影响了脐带血捐献者的积极性,也造成了大量生物资源的浪费。这些废弃的脐血完全可以用来分离 CB-PRP 加以开发利用。与 PB-PRP 比较,CB-PRP 具有方便易得,病毒感染几率更小的优势^[8]。在国外已经将 CB-PRP 应用于多种疾病的治疗研究中。2014 年,Rosso 等^[17]首次尝试用 CB-PRP 治疗胸膜损伤;2015 年,Gelmetti 等^[18]使用 CB-PRP 治疗表皮松懈症;2017

年, Piccin 等^[19]应用 CB-PRP 治疗放化疗后口腔黏膜炎, 都取得了非常好的治疗效果。

PRP 促进组织修复的作用主要依赖于其含有大量天然的生长因子。研究发现, CB-PRP 中的 VEGF 和 PDGF 含量高于 PB-PRP, 而这两种生长因子正是促进组织再生的最重要的生长因子^[11]。本研究测定了 PB-PRP 和 CB-PRP 中生长因子 PDGF-BB 和 VEGF 的含量, 结果显示, CB-PRP 中两种生长因子的含量高于 PB-PRP, 其中 VEGF 差异显著, 说明 CB-PRP 更适合应用于再生医学领域机体的修复。

本研究复制了糖尿病大鼠难愈性创伤模型, 用来评价 CB-PRP 促进糖尿病难愈性创口的修复作用。结果显示, PB-PRP 与 CB-PRP 均能够很好地促进糖尿病性难愈合创伤的修复, 在术后 21 d, CB-PRP 的愈合速度优于 PB-PRP 组; 在对术后 10 d 取材的肉芽组织的 CD31 免疫荧光染色中也得到了证实。分析原因可能为 CB-PRP 中含有更高水平的 VEGF, 能够更好的促进糖尿病大鼠创口部位的血管新生, 从而加速了创口的愈合速度。

本研究证明 CB-PRP 具有很好地促进糖尿病性难愈合创口修复的作用。CB-PRP 将会是一个有前景、安全的生长因子来源, 未来有可能应用于难愈合皮肤溃疡或创伤治疗中。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Mussano F, Genova T, Munaron L, et al. Cytokine, chemokine, and growth factor profile of platelet-rich plasma [J]. Platelets, 2016, 27(5): 467-471.
- [2] Umeno Y, Okuda A, Kimura G. Proliferative behaviour of fibroblasts in plasma-rich culture medium [J]. J Cell Sci, 1989, 94(Pt 3): 567-575.
- [3] Whitman D H, Berry R L, Green D M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery [J]. J Oral Maxillofac Surg, 1997, 55(11): 1294-1299.
- [4] Li T, Ma Y, Wang M, et al. Platelet-rich plasma plays an antibacterial, anti-inflammatory and cell proliferation-promoting role in an in vitro model for diabetic infected wounds [J]. Infect Drug Resist, 2019, 12: 297-309.
- [5] Jeong S H, Han S K, Kim W K. Treatment of diabetic foot ulcers using a blood bank platelet concentrate [J]. Plast Reconstr Surg, 2010, 125(3): 944-952.
- [6] Crovetti G, Martinelli G, Issi M, et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds [J]. Transfus Apher Sci, 2004, 30(2): 145-151.
- [7] Perseghin P, Sciorelli G, Belotti D, et al. Frozen-and-thawed allogeneic platelet gels for treating postoperative chronic wounds [J]. Transfusion, 2005, 45(9): 1544-1546.
- [8] Ballen K K, Gluckman E, Broxmeyer H E. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond [J]. Blood, 2013, 122(4): 491-498.
- [9] Parazzi V, Lavazza C, Boldrin V, et al. Extensive characterization of platelet gel releasate from cord blood in regenerative medicine [J]. Cell Transplant, 2015, 24(12): 2573-2584.
- [10] Longo V, Rebulli P, Pupella S, et al. Proteomic characterization of platelet gel releasate from adult peripheral and cord blood [J]. Proteomics Clin Appl, 2016, 10(8): 870-882.
- [11] Parazzi V, Lazzari L, Rebulli P. Platelet gel from cord blood: a novel tool for tissue engineering [J]. Platelets, 2010, 21(7): 549-554.
- [12] Rebulli P, Pupella S, Santodiorenzo M, et al. Multicentre standardisation of a clinical grade procedure for the preparation of allogeneic platelet concentrates from umbilical cord blood [J]. Blood Transfus, 2016, 14(1): 73-79.
- [13] Wang D A, Rodeo S A. Platelet-rich plasma in orthopaedic surgery: a critical analysis review [J]. JBJS Rev, 2017, 5(9): e7.
- [14] Fotouhi A, Maleki A, Dolati S, et al. Platelet rich plasma, stromal vascular fraction and autologous conditioned serum in treatment of knee osteoarthritis [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 104: 652-660.
- [15] Spartalis M, Tzatzaki E, Nikiteas N, et al. Platelet-rich plasma and myocardial regeneration [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(18): 3983-3984.
- [16] Kaux J F, Emonds-Alt T. The use of platelet-rich plasma to treat chronic tendinopathies: a technical analysis [J]. Platelets, 2018, 29(3): 213-227.
- [17] Rosso L, Parazzi V, Damarco F, et al. Pleural tissue repair with cord blood platelet gel [J]. Trasfus Del Sangue, 2014, 12(Suppl 1): s235-s242.
- [18] Gelmetti A, Greppi N, Guez S, et al. Cord blood platelet gel for the treatment of inherited epidermolysis bullosa [J]. Transfus Apher Sci, 2018, 57(3): 370-373.
- [19] Piccin A, Rebulli P, Pupella S, et al. Impressive tissue regeneration of severe oral mucositis post stem cell transplantation using cord blood platelet gel [J]. Transfusion, 2017, 57(9): 2220-2224.

[责任编辑 兰新新]