

异体脱细胞真皮基质作为组织工程皮肤真皮支架的可行性*

刘 坡¹, 祁少海², 舒 斌², 谢举临², 徐盈斌², 刘旭盛²

Feasibility of acellular dermal matrix as a dermal substitute in tissue engineering

Liu Po¹, Qi Shao-hai², Shu Bin², Xie Ju-lin², Xu Ying-bin², Liu Xu-sheng²

¹The First Department of Surgery, Tangxia Hospital, Dongguan 523721, Guangdong Province, China;
²Department of Burns, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Liu Po, Master, the First Department of Surgery, Tangxia Hospital, Dongguan 523721, Guangdong Province, China
zsylerp@yahoo.com.cn

Corresponding author: Qi Shao-hai, Master, Professor, Doctoral supervisor, Department of Burns, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China
qishaochai@yahoo.com.cn

Supported by: the Scientific and Technological Foundation of Guangdong Province, No. 2010B031100008*

Received: 2011-11-01
Accepted: 2012-01-07

Abstract

BACKGROUND: Tissue engineered skin has been used to repair defect skin. Acellular dermal matrix (ADM) had no immunogenicity, which cannot lead to rejection following transplantation, thus, this is an ideal dermal substitute for tissue engineered skin.

OBJECTIVE: To explore the biocompatibility of ADM.

METHODS: The histocompatibility, hydrophilicity and mechanical performance of ADM were detected by cytotoxicity test *in vitro* and *in vivo*, equilibrium water content, swelling degree and biomechanical analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: No cell component was observed in the ADM. The ventage of ADM was 100-180 μm in diameter. In the experimental group, equilibrium water content was (69.6±3.97)%, swelling degree was 2.3±0.42 and the breakage force was (3.082±0.046) N. There was no significant difference between experimental and control groups ($P > 0.05$). It was indicated that in cytotoxicity test, no inhibition effect on dermal papilla cells *in vitro* and no severe immunological rejection *in vivo* was found. The selected ADM could be an optimal biological material as a substitute of dermal with good histocompatibility, low immunogenicity and moderate mechanical performance.

Liu P, Qi SH, Shu B, Xie JL, Xu YB, Liu XS. Feasibility of acellular dermal matrix as a dermal substitute in tissue engineering. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(21): 3864-3868. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 组织工程皮肤是目前研究皮肤损伤修复重建的重要手段之一, 异体脱细胞真皮基质不存在免疫原性, 在异体移植时不会发生排斥反应, 是比较理想的真皮替代物。

目的: 观察异体脱细胞真皮基质的组织相容性。

方法: 以正常人体真皮组织作为对照, 通过体外、体内细胞毒性实验检测异体脱细胞真皮基质的组织相容性, 以膨胀度、饱和含水量及生物力学分析检测异体脱细胞真皮基质的亲水性及机械性能。

结果与结论: 真皮基质中未见任何细胞成分, 其网孔直径介于 100~180 μm 之间。脱细胞真皮基质组饱和含水量为 (69.6±3.97)%, 膨胀度 2.30±0.42, 最大断裂力为 (3.082±0.046) N, 与对照组相比, 差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。体内外细胞毒性检测, 未见明显细胞生长抑制及免疫排斥反应。提示异体脱细胞真皮基质机械性能接近正常皮肤, 组织相容性好, 免疫排斥反应小, 是构建组织工程皮肤理想的真皮材料。

关键词: 脱细胞真皮基质; 真皮组织; 皮肤替代物; 生物相容性; 生物材料

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.21.015

缩略语: EWC: equilibrium water content, 饱和含水量

刘坡, 祁少海, 舒斌, 谢举临, 徐盈斌, 刘旭盛. 异体脱细胞真皮基质作为组织工程皮肤真皮支架的可行性[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(21):3864-3868. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

研究表明真皮替代物在创面愈合过程中具有重要作用, 能够在创面底部提供真皮支架, 提高培养表皮膜的成活率, 减小创面收缩和瘢痕形成^[1-3]。脱细胞真皮基质具有与皮肤真皮近似的内在结构, 作为真皮替代物在国内外实验、临床中均得到应用^[4-5]。实验重点对异体脱细胞真皮基质作为组织工程皮肤真皮支架的可行性及生物相容性做了研究, 以期组织工程皮肤构建提供较为理想的真皮支架。

1 材料和方法

设计: 细胞生物学观察和动物体内实验。

时间及地点: 实验于2005-10/2006-06在中山大学附属第一医院外科实验室完成。

材料: 脱细胞真皮基质为北京桀亚莱福生物技术有限责任公司生产。皮肤标本取自中山大学附属第一医院外科门诊包皮环切术切下之包皮(患者及家属对实验知情同意)。

实验动物: 6周龄雄性SD大鼠购自中山大学实验动物中心(粤监证字2004A089), 体质量(210±8)g, 适应性饲养1周。

主要试剂:

试剂	来源
0.25%胰酶、1%中性蛋白酶、DMEM/F12 培养基	GIBCO 公司, 美国
胎牛血清	杭州四季青公司, 中国
4 mmol/L 谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素、100 mg/L 链霉素	美国 Sigma

主要仪器：

仪器	来源
微机控制电子万能材料试验机	深圳凯强利有限公司
透射电子显微镜(HITACH-800)	日本 HITACH

实验方法：

正常人包皮真皮组织制备：无菌状态下将包皮标本以PBS反复冲洗，去除血渍，以含庆大霉素0.1%的PBS浸泡30 min，无菌纱布折叠6层置于直径10 cm培养皿中，以1%中性蛋白酶浸透无菌纱布，将包皮标本剪成直径0.6 cm的圆形，真皮面朝下平铺于纱布上，4℃冰箱过夜。第2天取出皮肤标本，眼科镊轻轻撕去表皮层，真皮层以PBS反复冲洗，去除残留消化酶。

成纤维细胞培养：将分离出的包皮标本真皮层剪成1 mm×1 mm×1 mm大小，真皮侧向下贴附在培养瓶底部，4 h后加入成纤维细胞培养基(在DMEM/F12体积比=3:1的基础培养液中添加如下成分：体积分数为15%胎牛血清、4 mmol/L谷氨酰胺、100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素)，37℃、体积分数为5%CO₂、饱和湿度条件下培养。细胞爬满培养瓶底部后传代，取第3、4代细胞用于实验。

脱细胞真皮基质的组织结构检测：

苏木精-伊红染色：取0.3 cm×0.5 cm大小真皮基质标本，以40 g/L多聚甲醛固定24 h后，经系列脱水、透明、石蜡包埋、切片等步骤制成5 μm厚的石蜡切片，行苏木精-伊红染色，光镜下观察真皮基质的结构、孔隙及有无细胞成分。

透射电子显微镜检测：将真皮基质切割成0.1 cm×0.1 cm×0.5 cm大小，在中山大学医学院电镜室经40 g/L多聚甲醛、1%锇酸固定，系列脱水，Epon-812包埋聚合，用LKB切片机制成60 nm的超薄切片，经铀铅双重染色，在HITACH-800透射电子显微镜下进一步观察真皮基质的结构、孔隙及有无细胞成分。

膨胀度和饱和含水量(equilibrium water content, EWC)测定：反映真皮基质的亲水性和交联密度。剪取0.2 cm×0.2 cm大小真皮基质10块，浸泡在PBS中，放置在37℃恒温箱中24 h，逐个取出，以干燥滤纸吸净标本表面残留PBS，电子天平称质量(m_1 ，湿质量)后放置在60℃烤箱中，烘烤24 h后取出、称质量(m_2 ，干质量)，以正常人包皮真皮组织作为对照。将称取的数据代入以下公式计算。

$$EWC = [(m_1 - m_2) / m_2] \times 100\%$$

$$\text{膨胀度} = (m_1 - m_2) / m_2$$

细胞黏附实验：无菌状态下剪取直径为0.6 cm的真皮基质12个，铺于24孔板底，以直径为0.6 cm的正常人真皮组织12个作为对照组。以PBS冲洗3次，成纤维细胞培养液浸泡24 h，弃去旧培养液，将成纤维细胞消化成单个，调节浓度为 $2 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ ，每孔加入0.5 mL细胞悬液，培养箱中静置培养1 h，以PBS轻轻冲洗，收集孔板中液体，以0.25%的胰酶37℃消化5 min，含血清培养基终止消化，收集细胞血液，1 500 r/min离心5 min，弃去上清液，重选细胞，计数。按以下公式计算细胞黏附率：

$$\text{细胞黏附率} = (\text{细胞总数} - \text{未贴壁细胞}) / \text{细胞总数} \times 100\%$$

最大断裂力检测：脱细胞真皮基质切取0.5 cm×1.5 cm大小皮条，送中山大学组织工程系检测中心，进行生物力学检测，试件以相同速度20 mm/min加载卸载3次，可以看到滞后线逐渐减小以致消失。实验采用的传感器为10 N或100 N，变形由万能材料试验机自动测定，计算最大断裂力，取正常成人包皮皮肤作为对照。实验温度为20℃，实验湿度为50%。

体外细胞毒性检测：将脱细胞真皮基质剪成细小颗粒状，均匀分布在24孔板孔底，以PBS浸泡30 min，弃除PBS，成纤维细胞培养基浸泡24 h，取出陈旧培养基。将成纤维细胞消化成单个，调节细胞浓度为 $2 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ ，每孔加入0.5 mL细胞悬液，培养箱中培养3 d，观察细胞生长情况，并拍照。

体内细胞毒性检测：24只SD大鼠随机抽签法分为2组，每组12只。实验前背部剃毛，常规消毒，按3 mL/kg剂量腹腔内注射10%水合氯醛麻醉动物。实验组每侧脊背皮下各移植1块2 cm×2 cm的脱细胞真皮组织，3-0丝线缝合伤口，用无菌纱布包扎，定期换药。并设置阴性对照组以排除手术操作技术和术后感染、移动等人为因素的可能性。分别于术后3、7、14、21、28 d以脱颈法处死大鼠，各组任选2只大鼠皮下埋藏组织取活检。

标本常规固定，经系列脱水、透明、石蜡包埋、切片等步骤制成5 μm厚的石蜡切片，行苏木精-伊红染色，光镜下观察人工真皮移植大鼠皮下后的免疫反应。

主要观察指标：脱细胞真皮基质体外、体内细胞毒性反应。脱细胞真皮基质的理化性能。

¹ 东莞市塘厦医院
外一科，广东省东莞市 523721；
² 中山大学附属第一医院烧伤科，广东省广州市 510080

刘坡，男，1971年生，河北省滦县人，汉族，2006年中山大学附属第一医院毕业，硕士，主要从事表皮干细胞与组织工程皮肤方面的研究。
zsy1per@yahoo.com.cn

通讯作者：祁少海，硕士，教授，博士生导师，中山大学附属第一医院烧伤科，广东省广州市 510080
qishaochai@yahoo.com.cn

中图分类号：R318
文献标识码：B
文章编号：1673-8225
(2012)21-03864-05

收稿日期：2011-11-01
修回日期：2012-01-07
(20110901002/WL-W)

统计学分析: 由第一作者采用SPSS 11.0软件完成统计处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 行配对 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 真皮基质的理化性能测试结果 大体观察见脱细胞异体真皮呈乳白色或微黄色、柔软, 表皮面可见较多毛囊开口, 韧性好、拉伸强度大, 可塑形、便于手术操作。正常皮肤和人工真皮替代物饱和含水量、膨胀及最大断裂力测定结果相比, 差异均无显著性意义($P > 0.05$), 见表1。

Group	Wet mass (g)	Dry mass (g)	Equilibrium water content (%)	Swelling degree	Maximum breakage force (N)
ADM	0.003 \pm 0.001	0.001 \pm 0.000	69.60 \pm 3.97	2.30 \pm 0.42	3.176 \pm 0.024
Normal skin	0.009 \pm 0.005	0.002 \pm 0.001	72.70 \pm 3.61	2.50 \pm 0.05	3.082 \pm 0.046

2.2 组织学结构观察 苏木精-伊红染色真皮基质中未见任何细胞成分或细胞碎片, 无皮肤附件和血管, 胶原纤维结构完整, 排列整齐。透射电镜下可见真皮基质表面有连续的基底膜成分, 基质中未见任何细胞成分, 结构疏松, 胶原蛋白呈纤维柱状, 无规则交错连接成三维空间结构的网, 并形成许多相互连通的网孔。其网孔直径介于100~180 μm 之间, 见图1。

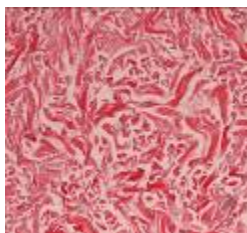


Figure 1 No cell component was observed in the acellular dermal matrix, and collagen fibers appeared with braid-like arrangement (Hemoxylin-eosin staining, $\times 200$)

图1 脱细胞真皮基质中未见任何细胞成分, 胶原纤维呈编织状排列(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

2.3 细胞黏附率检测结果 实验组成纤维细胞的黏附率与对照组相比, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表2。

2.4 体外细胞毒性检测结果 成纤维细胞与脱细胞真皮基质及正常人真皮组织共培养, 可见细胞均能在30 min内贴壁、展开, 过夜后, 细胞多极向排列, 呈梭形, 生长良好, 两组细胞生长状态无明显差异。

表 2 脱细胞真皮基质、人正常真皮组织的细胞黏附率检测结果
Table 2 Cell adhesion rate of acellular dermal matrix (ADM) and normal skin ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Group	Non-adherent cells	Cell adhesion rate (%)
ADM	1 902.0 \pm 321.7	80.90 \pm 3.21
Normal skin	1 747.0 \pm 256.4	82.50 \pm 2.56

2.5 体外细胞毒性检测结果 成纤维细胞与脱细胞真皮基质及正常人真皮组织共培养, 可见细胞均能在30 min内贴壁、展开, 过夜后, 细胞多极向排列, 呈梭形, 生长良好, 两组细胞生长状态无明显差异。

2.6 体内细胞毒性检测结果 组织学观察, 移植后3 d真皮基质边缘炎症细胞浸润, 少量炎症细胞侵入基质内部; 7 d见真皮组织边界清楚, 其外围有水肿, 周围炎症反应减轻, 组织边缘和网孔内有少量大单核细胞、成纤维细胞和血管内皮细胞长入; 14 d后, 真皮组织周围水肿消退, 单核细胞、成纤维细胞和毛细血管(内皮细胞)明显增多, 且见许多毛细血管形成, 有少量散在的炎症细胞; 21 d真皮基质周围炎症反应消失, 内部炎症细胞明显减少; 至28 d真皮组织开始变薄变软, 内有大量成纤维细胞, 胶原纤维排列疏松, 局部表皮层下可见有束状的胶原纤维, 已未见炎症细胞。说明脱细胞真皮在大鼠体内的免疫排斥反应轻微, 组织相容性好, 见图2~6。

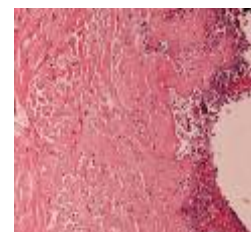


Figure 2 There were many inflammatory cells at the matrix edge 3 d after acellular dermal matrix transplantation, and few inflammatory cells grew into the matrix (Hemoxylin-eosin staining, $\times 200$)

图2 脱细胞真皮基质移植3 d, 基质边缘见较多炎症细胞, 少量炎症细胞侵入基质(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

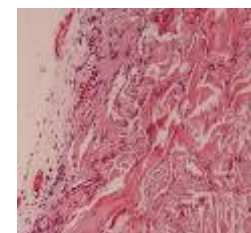


Figure 3 The number of inflammatory cells was decreased at the matrix edge 1 wk after acellular dermal matrix transplantation, and some blood vessels grew into the matrix edge (Hemoxylin-eosin staining, $\times 200$)

图3 脱细胞真皮基质移植1周, 基质边缘炎症细胞减少, 有血管长入基质边缘(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

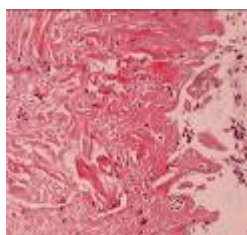


Figure 4 Inflammatory cells nearly disappeared at the matrix edge and decreased in number in the matrix at 2 wk after acellular dermal matrix transplantation, and some fibroblasts were found (Hemoxyltin-eosin staining, $\times 200$)

图4 脱细胞真皮基质移植2周, 基质边缘炎症细胞基本消退, 基质内炎症细胞减少、有成纤维细胞长入(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

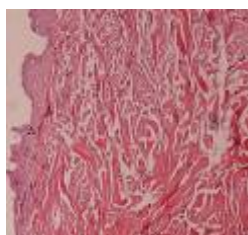


Figure 5 Inflammatory cells disappeared at the matrix edge and decreased significantly in number in the matrix at 3 wk after acellular dermal matrix transplantation (Hemoxyltin-eosin staining, $\times 200$)

图5 脱细胞真皮基质移植3周, 基质边缘炎症细胞消退, 基质内炎症细胞明显减少(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

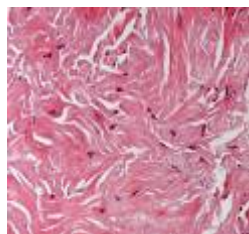


Figure 6 Inflammatory cells disappeared at the matrix edge and in the matrix at 4 wk after acellular dermal matrix transplantation, fibroblasts were found in the matrix and collagen fibers arranged regularly (Hemoxyltin-eosin staining, $\times 200$)

图6 脱细胞真皮基质移植4周, 基质边缘及内部炎症细胞消失, 基质内可见成纤维细胞, 胶原排列整齐(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

3 讨论

脱细胞真皮基质是指异体或异种皮经一系列处理后, 脱去细胞成分, 保留原有胶原纤维成分及基本组织结构的一种永久性真皮替代物^[2]。与人工真皮相比, 其保留了原有的正常胶原三维结构及基底膜, 易于血管化; 与自体真皮相比, 其供区广泛; 与异体真皮相比, 其去除了表皮层和真皮层的细胞成分, 抗原性低^[6]。实验采用商品化的异体脱细胞真皮基质, 通过体内、体外实验对其细胞毒性进行观察, 以论证其作为组织工程皮

肤真皮支架的可行性。

理想的真皮支架必须具备良好的组织相容性, 才能保证移植后被机体接受, 经过塑形、改建而成为机体皮肤的组成成分。实验结果显示, 脱细胞真皮基质中无任何活性细胞成分, 最大限度降低了引起排斥反应的抗原成分。在与人成纤维细胞共培养过程中, 细胞贴壁、伸展及形态均无明显改变, 且生长良好, 说明该真皮基质在体外无明显细胞毒性。移植于SD大鼠皮下后炎症反应轻微, 未发生超急性排斥反应。移植2周后组织学观察显示炎症反应存在, 但是随移植时间的延长, 炎症反应逐渐消失, 胶原排列整齐, 机体成纤维细胞长入真皮支架孔隙中, 重塑真皮基质。说明本实验所选用真皮基质在体内表现良好的生物相容性, 易于被机体接受。另外, 此种真皮替代物具有完整的基底膜, 能够为种子细胞生长提供黏附支架, 利于种子细胞增殖、分化、与真皮替代物牢固结合。

适合临床及科研应用的真皮支架还应具备一定的理化性能, 如强度、柔软度、弹性、透气、透湿性能、与正常真皮组织近似的三维空间结构及适宜的孔径, 才能保证真皮和创面贴附良好, 为细胞生长提供理想的纤维支架, 从而促进自体皮生长, 确保移植成功^[7-8]。饱和含水量、膨胀度是反映组织含水量的2个指标, 主要影响因素为材料的亲水性和交联程度, 实验结果表明, 脱细胞真皮基质的这2个指标接近正常人体真皮组织的含水量, 说明两者在微观结构, 如胶原纤维交联程度上接近^[9]。脱细胞真皮基质孔径的大小对改善渗透性、细胞侵入生长、新生血管形成具有重要作用。孔径较大时, 成纤维细胞合成胶原、血管长入填充孔隙时间长, 纤维排列紊乱, 可形成网状或点状瘢痕, 且根据物理学原理, 孔隙越大, 毛细血管作用越小, 移植早期渗透性能无明显提高。孔径较小, 明显小于正常真皮内固有孔隙时, 组织细胞不能侵入, 在移植周边形成纤维性包裹, 难以血管化。经实验证实, 人工真皮Integra和Dermagraft的胶原膜孔径大小在50~150 μm , 孔隙率为95%以上时比较适合于渗液渗透、组织长入及血管化^[10]。厚度为0.18~0.19 mm的Dermagraft孔隙为120 $\mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$ 或280 $\mu\text{m} \times 400 \mu\text{m}$ 大小的网格适于血管化。本实验选取的脱细胞真皮基质经透射电镜检测证实孔隙大小为100~180 μm , 符合人工真皮的血管化要求。生物力学分析结果证实了真皮基质一定程度上保留了皮肤的机械强度, 其绝对值也接近正常皮肤, 有足够的弹性和强度, 便于移植时操作缝合。

4 参考文献

- [1] Odessey R. Addendum: multicenter experience with cultured epidermal autograft for treatment of burns. J Burn Care Rehabil. 1992;13(1):174-180.

- [2] Livesey SA, Herndon DN, Hollyoak MA, et al. Transplanted acellular allograft dermal matrix. Potential as a template for the reconstruction of viable dermis. Transplantation. 1995;60(1):1-9.
- [3] Kangsu T. Hunterian lecture. Study of dermal grafts and cultured autologous keratinocytes in an experimental model. Ann R Coll Surg Engl. 2001;83(3):197-202.
- [4] Huang Q, Dawson RA, Pegg DE, et al. Use of peracetic acid to sterilize human donor skin for production of acellular dermal matrices for clinical use. Wound Repair Regen. 2004;12(3):276-287.
- [5] Xie WG, Tan H, Zhao CL, et al. Zhonghua Shaoshang Zazhi. 2005;21(1):37-39.
谢卫国, 谭红, 赵超莉, 等. 真皮替代物移植后的血管化过程及组织学变化的实验研究[J]. 中华烧伤杂志. 2005;21(1):37-39.
- [6] Wainwright D, Madden M, Luterman A, et al. Clinical evaluation of an acellular allograft dermal matrix in full-thickness burns. J Burn Care Rehabil. 1996;17(2):124-136.
- [7] Xie JL, Li TZ, Qi SH, et al. Zhonghua Shiyan Waikexi Zazhi. 2004;21(1):37-38.
谢举临, 利天增, 祁少海, 等. 人工真皮替代物的构建及其生物相容性评价[J]. 中华实验外科杂志. 2004;21(1):37-38.
- [8] Zhong SP, Zhang YZ, Lim CT. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2010;2(5):510-525.
- [9] Lopes CM, Felisberti MI. Mechanical behaviour and biocompatibility of poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone)-gelatin IPN hydrogels. Biomaterials. 2003;24(7):1279-1284.
- [10] Hansbrough JF, Cooper ML, Cohen R, et al. Evaluation of a biodegradable matrix containing cultured human fibroblasts as a dermal replacement beneath meshed skin grafts on athymic mice. Surgery. 1992;111(4):438-446.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 广东省科技计划项目基金资助 (2010B031100008)。

作者贡献: 第一作者进行实验设计, 实验实施为全部作者, 实验评估为通讯作者, 资料收集为第三作者, 第一作者成文, 通讯作者审校, 全部作者对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。

皮肤标本取自中山大学附属第一医院外科门诊包皮环切术切下之包皮, 患者及家属对实验知情同意。

研究的创新之处: 实验选取的脱细胞真皮基质符合人工真皮的血管化要求, 生物力学分析结果证实了真皮基质一定程度上保留了皮肤的机械强度, 其绝对值也接近正常皮肤, 有足够的弹性和强度, 便于移植时操作缝合。

外国专家修饰的医学英语句型: “剥夺光觉和形觉”

中文含义	英文修前	英文修后
剥夺光觉和形觉	Degradations of light sense and form	Light deprivation
视觉形成关键期	around the end of the critical period	around the end of a critical developmental period
提供线索	This research will give a clue to the rehabilitation of adult amblyopia.	This research may provide some insight into the rehabilitation of adult amblyopia.
神经元遍布 CSPG	CSPG wrapped around the neurons.	CSPG expression was predominantly localized around the neurons.
临床 BFD 症状接近弱视	BFD clinical symptoms are close to amblyopia.	BFD can closely mimic the symptoms of amblyopia.
双眼眼睑保持密闭说明建立成功 BFD 模型	The binocular eyelids suturing keeps close indicated the success achievement of the BFD model.	The binocular suturing of the eyelids was therefore an appropriate BFD model.
磁共振高场强的应用促进了磁共振研究	as the application of high-field MR imaging, new sequence and special coil development, high-field MR study has become one of hot spots	Recent advances in high-field MR imaging has brought forth new MR studies
表现	Found	Presented with
主副标题合并在一起	CIC-3 chloride channel in the glutamate-induced retinal ganglion cells RGC-5 apoptosis: A new target for neuroprotection? CIC-3 氯离子通道在谷氨酸诱导视网膜神经节细胞 RGC-5 凋亡中的作用: 视神经保护的新靶点?	Neuroprotective effects of CIC-3 chloride channel in glutamate-induced retinal ganglion cell RGC-5 apoptosis CIC-3 氯离子通道在谷氨酸诱导视网膜神经节细胞 RGC-5 凋亡中的视神经保护作用?
Smads7 含量有不同程度的升高	Smads7 contents were increased to different degrees	Smads7 increased to varying degrees
谷氨酸的过度表达是导致 RGCs 凋亡的重要原因	Over-expression of glutamate is a crucial reason leading to RGC apoptosis.	Over-expression of glutamate plays a large role in RGC apoptosis.