

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2019.05.004

· 基础研究 ·

甘美达凝胶对大鼠口腔溃疡愈合及溃疡组织中TNF- α 、IL-6、EGF表达的影响

王艺衡¹, 吴迎涛², 于习习², 李璐璐³, 邓松松³, 刘梦佳³, 王万春²

1. 潍坊医学院口腔医学院, 山东 潍坊(261053); 2. 青岛市口腔医院黏膜科, 山东 青岛(266001); 3. 青岛大学口腔医学院, 山东 青岛(266071)

【摘要】 目的 探讨甘美达凝胶对大鼠口腔溃疡愈合及溃疡组织肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)表达的影响,为其临床应用提供实验依据。**方法** 采用化学烧灼法建立大鼠口腔溃疡动物模型,随机分为甘美达组(甘美达凝胶)、贝复新组(贝复新凝胶)、利多卡因组(利多卡因乳膏)、空白对照组(生理盐水),每组12只。各组在溃疡治疗前及治疗后1、3、5 d测量各组大鼠溃疡面积;治疗后1 d,口内滴注辣椒素记录大鼠3 min内拭嘴行为时间评估其疼痛程度;治疗后5 d,切取大鼠溃疡组织,HE染色观察组织病理学变化,免疫组化法和酶联免疫吸附法检测溃疡组织中TNF- α 、IL-6和EGF的表达。**结果** 治疗后1 d,甘美达组的辣椒素所致大鼠拭嘴行为时间明显小于空白对照组及贝复新组($P < 0.05$),与利多卡因组差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后5 d,甘美达组的溃疡面积明显小于空白对照组及利多卡因组($P < 0.05$),与贝复新组差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后5 d,大鼠口腔溃疡HE染色切片显示,甘美达组较利多卡因组和空白对照组炎症细胞明显减少,成纤维细胞明显增生,上皮增生情况良好,与贝复新组无差异。治疗后5 d,各组大鼠溃疡组织中TNF- α 、IL-6、EGF的表达水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。相较于空白对照组和利多卡因组,甘美达组TNF- α 和IL-6的表达降低,EGF的表达上调,差异具有统计学意义($P < 0.05$);甘美达组与贝复新组以上3种因子的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 甘美达凝胶对实验性口腔溃疡具有较好的抗炎、止痛、促进愈合的作用。

【关键词】 口腔溃疡; 甘美达凝胶; 大鼠; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6; 表皮生长因子

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2019)05-0293-07

【引用著录格式】 王艺衡, 吴迎涛, 于习习, 等. 甘美达凝胶对大鼠口腔溃疡愈合及溃疡组织中TNF- α 、IL-6、EGF表达的影响[J]. 口腔疾病防治, 2019, 27(5): 293-299.

Effect of Kamistad gel on oral ulcer healing and TNF- α , IL-6 and EGF expression in ulcer tissue of rats

WANG Yiheng¹, WU Yingtao², YU Xixi², LI Lulu³, DENG Songsong³, LIU Mengjia³, WANG Wanchun². 1. Stomatology College of Weifang Medical University, Weifang 261053, China; 2. Department of Oral Medicine, Qingdao Stomatological Hospital, Qingdao 266001, China; 3. Stomatology College of Qingdao University, Qingdao 266071, China

Corresponding author: WANG Wanchun, Email: kqwwch@126.com, Tel: 0086-532-67756329

【Abstract】 Objective To investigate the effect of Kamistad gel on oral ulcer healing and the expression of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6) and epidermal growth factor (EGF) after oral administration in ulcer tissue of rats and to provide animal experimental data for the clinical application of Kamistad gel. **Methods** The oral ulcer rat model was established by chemical cauterization. The rats were randomly divided into four groups: Kamistad group (Kamistad gel), befoxin group (befoxin gel), lidocaine group (lidocaine cream), blank control group (normal saline), with 12 rats in each group. The ulcer area of the rats in each group was measured before and 1, 3 and 5 days after treatment; at 1 day after treatment, the duration of swabbing behavior within 3 minutes of intraoral capsaicin infusion

【收稿日期】 2018-12-04; **【修回日期】** 20190308

【基金项目】 山东省中医药科技发展计划项目(2017344)

【作者简介】 王艺衡, 医师, 硕士, 874035899@qq.com

【通信作者】 王万春, 主任医师, 学士, Email: kqwwch@126.com, Tel: 0086-532-82821902

was recorded to evaluate the degree of pain; the ulcer tissue was collected at 5 days after treatment, and the histopathological changes were observed by HE staining, the expression of TNF- α , IL-6 and EGF in the ulcer tissue was detected by immunohistochemistry and ELISA. **Results** At 1 day after treatment, the duration of mouth wiping induced by capsaicin was significantly shorter in the Kamistad group than in the blank control and befixin groups ($P < 0.05$), but there was no significant difference between the Kamistad and lidocaine groups ($P > 0.05$). At 5 days after treatment, the ulcer area was significantly smaller in the Kamistad group than in the blank control and lidocaine groups ($P < 0.05$), and there was no significant difference between the Kamistad and befixin groups ($P > 0.05$). At 5 days after treatment, H&E staining of the oral ulcer tissue sections showed significantly reduced levels of inflammatory cells and significantly proliferated fibroblasts and better epithelial hyperplasia in the Kamistad group compared with those in the lidocaine and blank control groups, and there were no differences between the Kamistad and befixin groups. At 5 days after treatment, the expression levels of TNF- α , IL-6 and EGF in the ulcer tissue of rats in each group were significantly different ($P < 0.05$). Compared with the blank control and lidocaine groups, the expression of TNF- α and IL-6 was significantly decreased and the expression of EGF was significantly increased in the Kamistad group ($P < 0.05$); there were no significant differences in the expression of the above three factors between the Kamistad and befixin groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Kamistad gel exhibited anti-inflammatory, analgesic and healing effects on experimental oral ulcers.

【Key words】 Oral ulcer; Kamistad gel; Rat; Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-6; Epidermal growth factor

口腔溃疡是最常见的口腔黏膜病之一,复发性和阿弗他溃疡、创伤性溃疡、白塞病等均可导致口腔溃疡的发生^[1]。患病率可高达5%~60%,极易复发^[2]。患病时可有明显灼痛感,影响患者生活质量^[3]。口腔溃疡病因复杂,至今尚不明确^[4]。目前虽有多种治疗方法,但尚无疗效明确的方法与药物^[5]。临床治疗多使用局部药物以促进溃疡愈合和减轻疼痛为主^[6]。甘美达凝胶是一种复方制剂,有止痛、抗菌、消炎及促进创面愈合等作用。本实验通过建立大鼠口腔溃疡动物模型,观察甘美达凝胶对口腔溃疡的治疗效果,同时从溃疡组织形态学、细胞因子水平方面探讨其作用机制,为甘美达凝胶的临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

SD大鼠52只,体质量180~220 g,雌雄各半。由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供,动物许可证号:SCXK(鲁)2014-0007。饲养条件:自由进食、饮水,室温(20 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度(50 ± 10)%。溃疡模型建成24 h后随机处死4只,作为溃疡模型鉴定,余48只随机等分4组:甘美达组(用甘美达凝胶治疗)、贝复新组(用贝复新凝胶治疗)、利多卡因组(用利多卡因乳膏组治疗)、空白对照组(用生理盐水冲洗)。每组各12只,雌雄分开饲养。

1.2 主要药物与试剂

甘美达凝胶(STADA,德国),贝复新凝胶(珠

海亿胜生物制药有限公司),复方利多卡因乳膏(北京紫光制药有限公司);肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)ELISA检测试剂盒(武汉依莱瑞特公司)。

1.3 建立口腔溃疡模型

采用90%苯酚溶液化学烧灼法建立口腔溃疡动物模型。

大鼠在10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)麻醉下,将内径为5 mm的玻璃管(内有棉球,与端口齐平)放在90%苯酚溶液中,使药液浸透棉球,将玻璃管外侧面苯酚溶液擦拭干净,后将玻璃管的棉球端置于大鼠舌腹中1/3处烧灼60 s,1 d后形成溃疡。每只大鼠所建溃疡应尽量在同一部位,深度、大小尽量一致。

1.4 治疗过程和观察

溃疡模型形成后,甘美达组、贝复新组、利多卡因组分别局部涂抹药物,3次/d,给药后30 min禁食禁水,空白对照组用生理盐水冲洗溃疡面。治疗后1、3、5 d,记录溃疡变化情况,用游标卡尺测量溃疡直径并计算其面积。

1.5 观察大鼠拭嘴行为时间

治疗后1 d,采用口内滴注法^[7-8],记录大鼠拭嘴行为时间评估大鼠疼痛程度。将水溶性辣椒素溶液稀释至3%,用注射器推入0.05 mL溶液滴在大鼠溃疡创面上,第1次用药5 min后记录各组大

鼠3 min内拭嘴行为的总时间。

1.6 HE染色

治疗后5 d,将各组大鼠脱颈处死,切取溃疡组织,分为2块,1块置于-80冰箱冻存以备TNF- α 、IL-6、EGF检测使用,1块放入10%甲醛溶液中固定24 h,后行脱水,石蜡包埋,切片,采用HE染色法观察溃疡组织病理变化。

1.7 免疫组化、ELISA法检测溃疡组织中TNF- α 、IL-6、EGF蛋白表达

免疫组化SP法检测溃疡组织TNF- α 、IL-6、EGF蛋白的表达。采用ELISA试剂盒检测溃疡组织中TNF- α 、IL-6、EGF含量,方法严格参照试剂盒说明书。

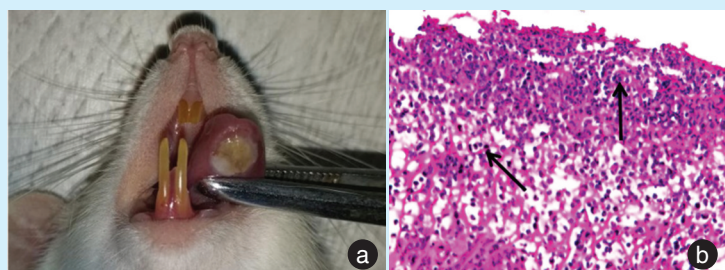
1.8 统计学方法

采用SPSS 22.0进行统计分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物模型建立

采用化学烧灼法24 h后观察,在大鼠舌腹中1/3处可见圆形溃疡面,直径约5 mm,周边舌腹红肿充血,有不同厚度的黄色或灰白色伪膜覆盖(图1a)。光镜下表现为上皮破溃溶解脱落,黏膜下大量炎性细胞浸润,主要为中性粒细胞和淋巴细胞,血管扩张充血(图1b)。



a: 溃疡模型肉眼观察;b: 溃疡模型镜下观可见上皮脱落,溃疡区域有大量中性粒细胞和浆细胞浸润,两者均为炎性细胞,符合溃疡组织学形态。中性粒细胞核深染蓝色,呈弯曲杆状或分叶状;浆细胞呈圆形或卵圆形,核浓染呈深蓝色。HE $\times 200$

图1 溃疡模型

Figure 1 Ulcer model

2.2 各组大鼠溃疡面积比较

各组大鼠溃疡面积的变化见表1、图2。各组大鼠建模时溃疡面积大小基本一致,无统计学差异($P > 0.05$)。建模后1 d,各组溃疡面积均有所扩大,但组间比较无明显差异($P > 0.05$)。在治疗第5 d,各组大鼠溃疡面积比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。甘美达组的溃疡面积明显小于空白对照组和利多卡因组($P > 0.05$),与贝复新组无明显差异($P > 0.05$)。

表1 各组大鼠不同时间溃疡面积比较

Table 1 Comparison of ulcer area at different time in each

		group		$\bar{x} \pm s$, mm	
组别	n	治疗前	治疗后1 d	治疗后3 d	治疗后5 d
空白对照组	12	19.88 $\pm$ 2.16	20.06 $\pm$ 1.65	15.44 $\pm$ 2.31 ¹	12.32 $\pm$ 2.09
甘美达组	12	20.09 $\pm$ 2.47	21.07 $\pm$ 2.05	7.48 $\pm$ 1.54 ¹	2.23 $\pm$ 1.01 ¹
贝复新组	12	20.28 $\pm$ 2.51	20.46 $\pm$ 1.96	6.36 $\pm$ 1.81 ¹	1.73 $\pm$ 0.87 ¹
利多卡因组	12	19.69 $\pm$ 2.51	20.65 $\pm$ 1.37	14.92 $\pm$ 2.12 ^{2,3}	11.15 $\pm$ 2.43 ^{2,3}
F值		0.045	0.225	23.777	42.522
P值		0.987	0.877	<0.001	<0.001

注 1)为与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2)为与甘美达组比较, $P < 0.05$; 3)为与贝复新组比较, $P < 0.05$

2.3 各组大鼠拭嘴行为时间比较

从表2可见,各组大鼠拭嘴行为时间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。甘美达组的辣椒素所致大鼠拭嘴行为时间明显小于空白对照组及贝复新组($P < 0.05$),与利多卡因组无明显差异($P > 0.05$)。

2.4 组织学观察

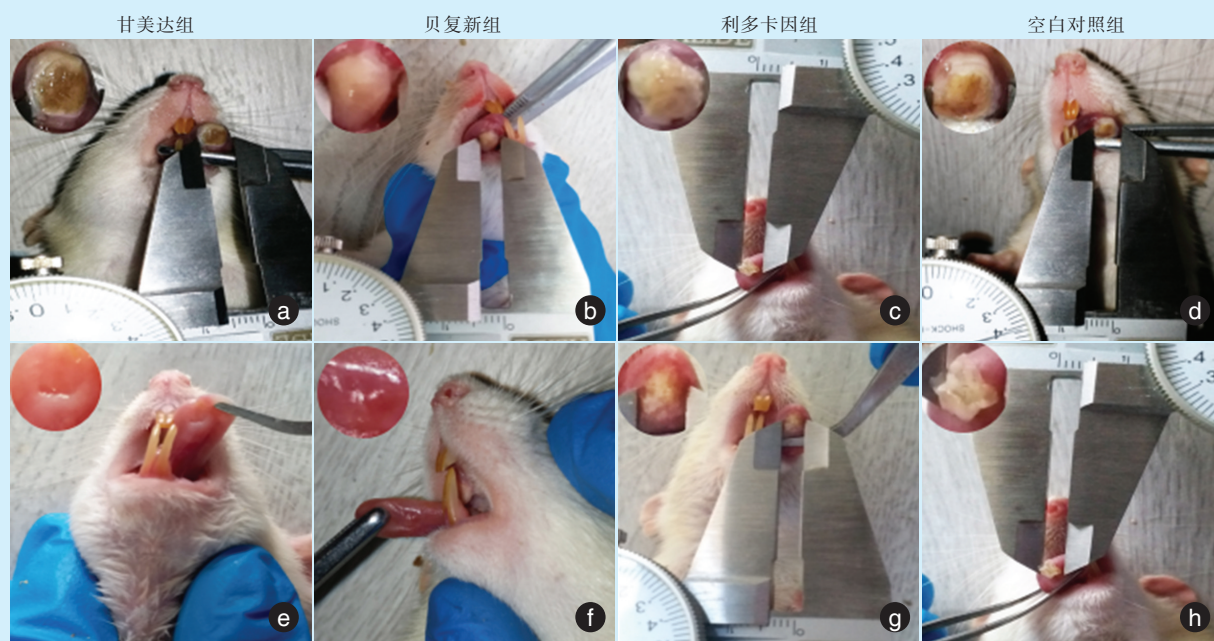
如图3所示,甘美达组和贝复新组溃疡面基本愈合,黏膜下可见疏松结缔组织形成,成纤维细胞增生,极少量炎细胞浸润,基底层增厚。利多卡因组和空白对照组仍可见较多炎性细胞浸润。

2.5 各组溃疡组织中TNF- α 、IL-6、EGF表达

在治疗后5 d,各组大鼠溃疡组织中TNF- α 、IL-6、EGF的表达水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。相较于空白对照组和利多卡因组,甘美达组TNF- α 和IL-6的表达降低,EGF的表达上调,差异具有统计学意义($P < 0.05$);甘美达组与贝复新组以上3种因子的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。免疫组化与ELISA结果分别如图4、表3所示。

3 讨论

口腔溃疡发生时,溃疡局部疼痛明显。其黏



a ~ d: 图中小图为治疗前溃疡区域放大图, 由图可见游标卡尺测量显示各组大鼠治疗前溃疡直径均为 5 mm 左右。e ~ h: 治疗后 5 d, 甘美达组(e)和贝复新组(f)溃疡接近愈合, 原溃疡区域见新生的舌腹组织。利多卡因组(g)和空白对照组(h)溃疡仍可见不同程度假膜覆盖, 溃疡直径有所减小

图2 各组大鼠治疗前和治疗后 5 d 溃疡肉眼观

Figure 2 Macroscopic observation of ulcers in each group before and at 5 days after treatment

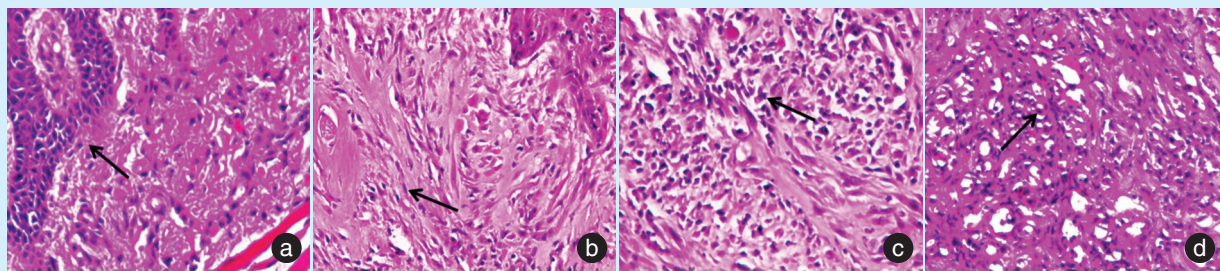
表2 各组大鼠 3 min 内拭嘴行为时间比较

Table 2 Comparison of the total duration of mouth swabbing behavior of rats in each group within 3 minutes $\bar{x} \pm s, s$

组别	n	拭嘴行为时间
空白对照组	12	51.33 ± 7.28
甘美达组	12	14.67 ± 3.44 ¹⁾
贝复新组	12	49.67 ± 9.58 ²⁾
利多卡因组	12	12.00 ± 3.41 ¹⁾³⁾
F 值		49.278
P 值		< 0.001

注 1) 为与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2) 为与甘美达组比较, $P < 0.05$; 3) 为与贝复新组比较, $P < 0.05$

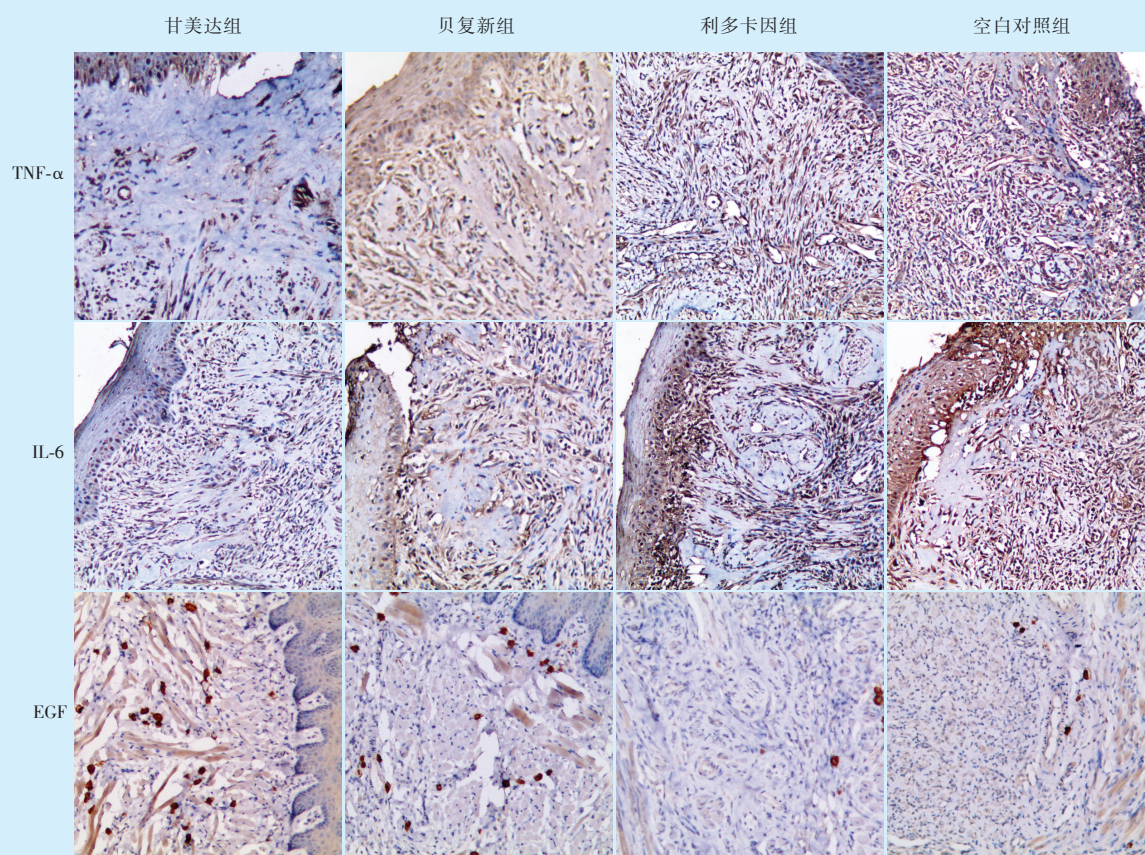
膜下有大量炎性细胞浸润, 表皮细胞发生上皮破坏脱落^[9], 溃疡从发生至愈合会经历炎症、增殖和重塑这三个重要阶段^[10]。临床上对口腔溃疡的治疗包括局部治疗及全身治疗^[11], 而局部治疗的原则多为消炎、止痛、促愈合^[12]; 目前常用的局部药物多为单一的止痛或促愈合作用, 而甘美达凝胶同时含有局部止痛剂(利多卡因)、抗菌剂(麝香草酚)、促进愈合剂(洋甘菊花酊)。为评价该药的止痛、促愈合效果, 本实验分别选择临床疗效较好的止痛药物利多卡因及促愈合药物贝复新作为阳性



a: 甘美达组可见黏膜下疏松结缔组织形成, 基底层增厚; b: 贝复新组可见成纤维细胞形成, 细胞扁平, 胞核呈扁的卵圆形或长条状, 染蓝色; c: 利多卡因组仍可见较多的浆细胞浸润; d: 空白对照组仍可见较多的浆细胞浸润

图3 治疗后 5 d 各组大鼠溃疡组织学观察 HE × 200

Figure 3 Histological observation of ulcers in each group at 5 days after treatment HE × 200



TNF- α 、IL-6、EGF的阳性表达为棕黄色或棕褐色颗粒。TNF- α 、IL-6在利多卡因组和空白对照组的阳性表达明显多于甘美达组和贝复新组。EGF在甘美达组和贝复新组的阳性表达明显多于利多卡因组和空白对照组。TNF- α ：肿瘤坏死因子- α ；IL-6：白细胞介素-6；EGF：表皮生长因子

图4 各组溃疡组织中TNF- α 、IL-6、EGF表达情况 IHC $\times 200$

Figure 4 Expression of TNF- α , IL-6, EGF in the ulcer tissue in each group IHC $\times 200$

表3 各组大鼠溃疡组织中TNF- α 、IL-6和EGF表达的变化

Table 3 Changes in TNF- α , IL-6 and EGF expression in the ulcer tissue of rats in each group $\bar{x} \pm s$, pg/mL

组别	n	TNF- α	IL-6	EGF
空白对照组	12	210.04 $\pm$ 26.83	95.34 $\pm$ 12.37	68.39 $\pm$ 14.91
甘美达组	12	135.97 $\pm$ 25.69 ¹⁾	64.92 $\pm$ 9.44 ¹⁾	103.74 $\pm$ 7.92 ¹⁾
贝复新组	12	140.44 $\pm$ 29.44 ¹⁾	69.16 $\pm$ 9.26 ¹⁾	105.22 $\pm$ 6.81 ¹⁾
利多卡因组	12	204.38 $\pm$ 16.67 ²⁾³⁾	90.18 $\pm$ 6.80 ²⁾³⁾	72.89 $\pm$ 10.94 ²⁾³⁾
F值		12.833	11.890	8.498
P值		0.001	0.001	0.003

注 检测方法为ELISA；1)为与空白对照组比较， $P < 0.05$ ；2)为与甘美达组比较， $P < 0.05$ ；3)为与贝复新组比较， $P < 0.05$ ；TNF- α ：肿瘤坏死因子- α ；IL-6：白细胞介素-6；EGF：表皮生长因子

对照组以评价甘美达凝胶的综合治疗效果，为临床用药提供依据。

局部药物的治疗效果与其药物剂型有密切关系，临床常见剂型有喷剂、糊剂、膜片、凝胶等，凝

胶制剂与空气接触30 s后，即可干燥，在溃疡面形成一层粘附性的薄膜，可避免多种物质与化学因子侵害口腔黏膜，具有抑菌功能，可有效阻止炎症的发展，加快溃疡愈合，而甘美达属凝胶制剂，除药物中的止疼剂和促愈合剂外，本身可阻断外界细菌对溃疡创面的影响，对溃疡愈合更具优势。

研究证实外用贝复新凝胶对口腔溃疡有较好的促愈合作用^[13]，研究表明重组牛碱性生长因子喷剂治疗溃疡效果显著，其促溃疡愈合作用明显优于红霉素强的松糊剂、复方氯己定地塞米松膜和医用高分子口腔溃疡粘膜凝胶。贝复新凝胶的主要成分重组牛碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)，通过促进和创面愈合有关的多种细胞增殖分裂，从而参与组织的炎症和修复的调节，加快了炎性创面的愈合速度^[14-15]。故本实验将贝复新作为评价甘美达凝胶促溃疡愈合的阳性对照组，实验结

果显示甘美达和贝复新组均可促进溃疡愈合,且两组的溃疡愈合速度无明显差异,均明显高于空白对照组和利多卡因组。

在疼痛研究中,各种各样的行为分析方法被用于鉴定和量化动物的疼痛感受。而大鼠拭嘴行为,已经在炎症、神经病变和癌症疼痛模型中被用作口腔面部疼痛的标志^[16-17]。本实验对各组大鼠溃疡疼痛的评估是采用日本学者 Suzuro Hitomi 提出的辣椒素口内滴入法^[7]。此方法可在大鼠清醒状态下,与大鼠双前肢拭嘴行为时间相结合,评价刺激性物质对口内感受的反应。研究表明,辣椒素是可靠的伤害性物质,被广泛用作痛苦的兴奋剂,而辣椒素可引起口腔溃疡的痛觉过敏。Hitomi 等^[7]的实验结果显示,滴入辣椒素溶液后,吗啡预处理的溃疡大鼠较无处理的溃疡大鼠拭嘴时间显著减少,随着吗啡剂量增大,减少更显著,两者成负相关。提示辣椒素口内滴注法可作为观察药物止疼效果的可靠、有效方法。

利多卡因是目前临床最常用的黏膜局麻药之一,可迅速缓解口腔溃疡引起的疼痛^[18]。本实验结果显示甘美达和利多卡因组均可降低辣椒素所致的溃疡疼痛,且两组的止疼效果无明显差异,均明显优于空白对照组和贝复新组。本实验观察到,贝复新虽可促进溃疡面的愈合,但短时间内无快速止疼的作用。而利多卡因虽可快速缓解溃疡疼痛,但对溃疡面无明显促愈合作用。

近年来研究结果显示,口腔溃疡的发生发展与炎症介质的释放和生长因子的低表达有着密切联系。研究表明炎症介质 TNF- α 和 IL-6 是参与口腔溃疡形成的主要炎性因子^[19],可作为评价口腔溃疡轻重的重要指标,即溃疡数目越多,溃疡面积越大,含量越高。TNF- α 可诱导包括自身在内的多种细胞因子包括 IL-6 等,可促使口腔黏膜上皮淋巴细胞的增殖、分化和移行,这一过程释放大量特异性或非特异性炎症因子,引起局部免疫破坏^[20]。IL-6 主要由单核巨噬细胞产生,受到外界刺激时,有广泛的促炎作用^[21]。本实验结果显示甘美达能下调溃疡组织 TNF- α 、IL-6 的表达水平,通过抑制溃疡组织中炎性介质的释放,从而减轻口腔黏膜上皮内的炎性反应,加速了溃疡黏膜的修复。研究表明复发性口腔溃疡的发病与细胞免疫功能紊乱有关^[22],而 TNF- α 的含量可反映免疫功能状态,因此可以认为甘美达凝胶通过降低溃疡组织中 TNF- α 的含量,从而对免疫功能也产生一

定的调节作用,但此药是否能减少溃疡发作时的数目或者延长溃疡间歇期仍需进一步探讨。

表皮生长因子(EGF)在口腔黏膜的保护屏障中,有非常重要的作用^[23-24],其主要存在于口腔黏膜的基底细胞层和棘细胞层,促进口腔黏膜上皮细胞的生长、分化和增殖,以新生细胞代替衰老和死亡的细胞,参与组织的损伤修复过程^[25]。本实验结果显示,甘美达组大鼠溃疡组织中 EGF 的表达水平明显高于空白对照组和利多卡因组,提示甘美达通过上调溃疡组织中 EGF 的表达水平,加速了溃疡黏膜的损伤修复过程,促进了溃疡的愈合。

溃疡愈合过程包括上皮层连续性、固有层结构、微血管和结缔组织的重建,溃疡边缘黏膜内上皮细胞增生、移行至肉芽组织上,使溃疡再上皮化,恢复组织的连续性和完整性。本实验各组组织病理结果显示甘美达组和贝复新组溃疡愈合情况均优于空白对照组和利多卡因组,进一步说明甘美达可能通过抑制溃疡组织中炎症介质的释放和增强生长因子的表达而促进了溃疡面的愈合。

参考文献

- [1] Vaillant L, Samimi M. Aphthous ulcers and oral ulcerations[J]. Presse Medecale, 2016, 45(2): 215-226.
- [2] Hegde S, Ajila V, Babu S, et al. A evaluation of salivary tumour necrosis factor-alpha in patients with recurrent aphthous stomatitis [J]. Eur Oral Res, 2018, 52(3): 157-161.
- [3] Bruce AJ, Dabade TS, Burkemper NM. Diagnosing oral ulcers[J]. Jaapa, 2015, 28(2): 1-10.
- [4] Chamorro-Petronacci C, García-García A, Lorenzo-Pouso AI, et al. Management options for low-dose methotrexate-induced oral ulcers: a systematic review[J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2019, 24(2): 181-189.
- [5] 夏慧贞, 钱园园. 中药膏方治疗复发性口腔溃疡的临床效果观察[J]. 口腔疾病防治, 2017, 25(9): 605-607.
- [6] Hamed S, Sadeghpour O, Shamsardekani MR, et al. The most common herbs to cure the most common oral disease: stomatitis recurrent aphthous ulcer (Rau)[J]. Iranian Red Crescent Medical Journal, 2016, 18(2): e21694.
- [7] Hitomi S, Ono K, Miyano K, et al. Novel methods of applying direct chemical and mechanical stimulation to the oral mucosa for traditional behavioral pain assays in conscious rats[J]. J Neurosci Methods, 2015, 239: 162-169.
- [8] Hitomi S, Ono K, Yamaguchi K, et al. The traditional Japanese medicine hangeshashinto alleviates oral ulcer-induced pain in a rat model[J]. Arch Oral Biol, 2016, 66: 30-37.
- [9] Alamoudi NM, El Ashiry EA, Farsi NM, et al. Treatment of oral ulcers in dogs using adipose tissue-derived mesenchymal stem cells

- [J]. J Clin Pediatr Dent, 2014, 38(3): 215-222.
- [10] Shimamura Y, Takeuchi I, Terada H, et al. Therapeutic effect of GGsTop, selective gamma-glutamyl transpeptidase inhibitor, on a mouse model of 5-fluorouracil-induced oral mucositis[J]. Anticancer Res, 2019, 39(1): 201-206.
- [11] Wagner VP, Webber LP, Ortiz L, et al. Effects of copaiba oil topical administration on oral wound healing[J]. Phytother Res, 2017, 31(8): 1283-1288.
- [12] Mays JW, Sarmadi M, Moutsopoulos NM. Oral manifestations of systemic autoimmune and inflammatory diseases: diagnosis and clinical management[J]. Evid Based Dent Pract, 2012, 12(3): 265-282.
- [13] 李庆福, 王永功, 王买全, 等. 重组牛碱性成纤维细胞生长因子外用凝胶治疗复发性阿弗他口腔溃疡疗效观察[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2012, 26 (12): 1211-1212.
- [14] Laplante P, Brillantmarquis F, Brissette MJ, et al. MFG-E8 reprogramming of macrophages promotes wound healing by increased bFGF production and fibroblast functions[J]. J Invest Dermatol, 2017, 137(9): 2005-2013.
- [15] Xu HL, Chen PP, Zhuge DL, et al. Liposomes with silk fibroin hydrogel core to stabilize bFGF and promote the wound healing of mice with deep second-degree scald[J]. Adv Health Mater, 2017, 6 (19): 201700344.
- [16] Chidiac JJ, Rifai K, Hawwa NN, et al. Nociceptive behaviour induced by dental application of irritants to rat incisors: a new model for tooth inflammatory pain[J]. Eur J Pain, 2002, 6(1): 55-67.
- [17] Sago T, Ono K, Harano N, et al. Distinct time courses of microglial and astrocytic hyperactivation and the glial contribution to pain hypersensitivity in a facial cancer model[J]. Brain Res, 2012, 1457 (2): 70-80.
- [18] Kao CW, Lee D, Wu MH, et al. Lidocaine/ketorolac-loaded biodegradable nanofibrous anti-adhesive membranes that offer sustained pain relief for surgical wounds[J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12: 5893-5901.
- [19] Liuxia S, Kuan W, Mengmeng T, et al. Risk factors of recurrent aphthous ulceration among university students[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 8(4): 6218-6223.
- [20] Yin S, Yan Y, Huang T, et al. Therapeutic effect of Artemisia argyi on oral ulcer in rats[J]. J Centr South Univ, 2017, 42(7): 824-830.
- [21] Nevin K, Serbulent Y, Aydin R, et al. Effects of interleukin (IL)-6 gene polymorphisms on recurrent aphthous stomatitis[J]. Arch Dermatol Res, 2014, 306(2): 173-180.
- [22] 陈洪, 何静, 周邵丽, 等. 不同方法治疗重型复发性口腔溃疡的临床效果比较[J]. 广东牙病防治, 2014, 22(1): 18-21.
- [23] Goryachkin AM, Sysolyatin PG, Cherdantseva LA, et al. Effect of a gel based on recombinant human angiogenin on the healing of donor palate wounds[J]. Stomatologiya (Mosk), 2019, 98(1): 34-37.
- [24] Zou Q, Wang W, Li Q, et al. Effect of ultrasound debridement on serum inflammatory factors and bFGF, EGF expression in wound tissues[J]. Coll Physicians Surg Pak, 2019, 29(3): 222-225.
- [25] Piłkuła M, Langa P, Kosikowska P, et al. Stem cells and growth factors in wound healing[J]. Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej, 2015, 69: 874-885.

(编辑 张琳, 孟文霞)