

基因及转基因技术在慢性创面修复中的应用★

张望¹, 路卫²

Application of genetic and transgenic technology in repairing chronic wounds

Zhang Wang¹, Lu Wei²

¹Department of Emergency Surgery, Center Hospital of Putuo District, Shanghai 200062, China; ²Department of Burn Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Zhang Wang★, Master, Department of Emergency Surgery, Center Hospital of Putuo District, Shanghai 200062, China
Arale_zw@hotmail.com

Received: 2010-03-09
Accepted: 2010-04-08

Abstract

BACKGROUND: Refractory wound is difficult to treat using traditional methods in the clinic. Studies have shown that growth factor plays an important role in wound healing, and transgenic therapy is emerging to treat refractory wound.

OBJECTIVE: To review the research status and progress of treating refractory wound by summarizing literatures concerning gene therapy.

METHODS: PubMed database was searched by the first author using key words of "gene therapy, burns, chronic wounds" for English papers published between January 1999 and December 2008. Documents with regard to refractory wound and gene therapy were included. Totally 33 literatures were analyzed.

RESULTS AND CONCLUSION: According to sources of transfected cells, the transgenic technology can be divided into *in vivo* gene transfection and *in vitro* gene transfection. The *in vivo* gene transfection processes greater superiority than other methods. Though it can not be spread in clinical application, transgenic technology owns extensive prospect.

Zhang W, Lu W. Application of genetic and transgenic technology in repairing chronic wounds. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(24):4516-4519. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 目前难愈创面是外科救治中的难点, 传统的治疗方法效果不佳。有文献表明生长因子在创面愈合中起着重要作用, 而转基因疗法是近几年兴起的一种新的治疗方式。

目的: 通过对近期基因治疗进展的文献综合分析, 对近年难愈创面基因治疗的研究现状与进展作一综述。

方法: 由第一作者检索 Pubmed 数据库, 检索时间范围为 1999-01/2008-12, 检索英文关键词为 "gene therapy, Burns; Chronic wounds"。纳入文章所述内容应与难愈创面、创面基因治疗有关, 共保留 33 篇英文文献进行分析。

结果与结论: 转基因技术根据转染细胞的来源可以分为体内基因转染和体外基因转染两大类, 体内转基因方法具有其难以比拟的优势。转基因方法虽然目前无法在临床中推广, 但其拥有广阔的前景。

关键词: 生长因子; 基因治疗; 慢性难愈创面; 治疗学; 综述

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.24.034

张望, 路卫. 基因及转基因技术在慢性创面修复中的应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(24):4516-4519. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

近年来, 糖尿病、心血管疾病、大面积烧伤、接受激素治疗及细胞毒性药物治疗患者逐渐增多, 由于其代谢紊乱、创面中细胞因子表达的抑制造成创面愈合差, 创面愈合延迟甚至经久不愈。传统方法的治疗效果差, 甚至可能导致创面加深, 即使伤口愈合, 在上皮化的过程中, 却产生了瘢痕性挛缩、增生性的瘢痕或瘢痕疙瘩等病理性的愈合方式。生长因子的出现使创面愈合的治疗从被动转为主动, 为此类难愈创面的治疗带来了希望。难愈创面愈合, 减少瘢痕形成是目前治疗的难点, 为了对目前国内外研究情况作一汇总分析, 现通过对近期基因治疗进展的文献综合分析, 对近年难愈创面基因治疗的研究现状与进展作一综述。

1 资料和方法

1.1 资料来源 由第一作者于 2009-04 检索 Pubmed 数据库, 网址 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>。检索文献时限: 1999-01/2008-12, 检索英文关键词为 "gene therapy, Burns, Chronic wounds"。

1.2 入选标准 纳入标准: ①文章所述内容应与难愈创面、创面基因治疗有关。②同一领域选择近期发表或在权威杂志上发表的有一定代表性的文章。排除标准: ①重复性研究。② Meta 分析。③内容、数据不完整者。

1.3 质量评估 文献筛选和质量评价由作者独立进行并交叉核对, 初检得到 1 807 篇文献, 阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与此文无关的 351 篇, 内容重复性的研究 1 034 篇, 共保留 33 篇英文文献做进一步分析。

¹上海市普陀区中心医院急诊外科, 上海市 200062; ²解放军第二军医大学长海医院烧伤科, 上海市 200433

张望★, 男, 1982年生, 浙江省温州市人, 汉族, 2008年解放军第二军医大学毕业, 硕士, 主要从事急诊外科工作。
Arale_zw@hotmail.com

中图分类号: R318
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2010)24-04516-04

收稿日期: 2010-03-09
修回日期: 2010-04-08 (54200804090004/M: Z)

2 结果

2.1 生长因子在创伤愈合过程中的作用 创伤修复是一个从创伤开始就启动的过程。这一过程成为治疗难愈创面的研究重点^[1]。从伤口愈合开始, 细胞因子促进组织分化和结构重塑, 从而有利于恢复原有的组织层次^[2]。通过大量创面愈合中生长因子作用的研究, 认识到相当一部分的慢性创面是因为某些相关的生长因子表达不良造成的^[3]。这些生长因子有促进肉芽组织的形成, 增强抗张强度, 促进上皮再生等作用(表 1)。因此, 利用生长因子的药理干预措施, 或许能够加速如静脉溃疡等慢性难愈创面的愈合^[4]。目前的转基因技术主要在如何有效运送、运送后如何有效表达这些方面进行研究。

表 1 主要生长因子功能及在慢性创面中水平表达一览表

生长因子	产生细胞	功能	慢性创面中表达
表皮生长因子(EGF)	血小板、巨噬细胞、成纤维细胞 ^[5]	再上皮化 ^[6]	低水平 ^[7]
成纤维细胞生长因子 2(FGF-2)	角质形成细胞、肥大细胞、成纤维细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、软骨细胞 ^[9-10]	促进肉芽组织的形成、再上皮化、基质的形成及重构	低水平 ^[8]
转化生长因子 β (TGF- β)	血小板、角质形成细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞 ^[11-12]	促进炎症反应、促进肉芽组织的形成、再上皮化、基质的形成及重构 ^[13]	低水平 ^[8]
血小板源性生长因子(PDGF)	血小板、角质形成细胞、巨噬细胞、内皮细胞、成纤维细胞 ^[14]	促进炎症反应、促进肉芽组织的形成、再上皮化、基质的形成及重构 ^[14-16]	低水平 ^[8]
血管内皮生长因子(VEGF)	血小板、中性粒细胞、巨噬细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞 ^[17]	促进肉芽组织的形成 ^[18]	低水平 ^[8]

2.2 转基因技术的原理 通过转基因技术能够分辨和评价促进创面愈合的生长因子和其他的生物因子。一旦这些因子被证实具有治疗价值它们就能够被用来促进难愈创面的愈合过程。因而转基因技术就能够被用来代偿缺陷的基因, 或增加新的基因到细胞中。当这些 DNA 被转入细胞中, 编码基因被表达: mRNA 就被转录和翻译生成蛋白质。这些蛋白质或留于细胞中或分泌到细胞间液。当前, 转基因技术的研究局限在体细胞, 未涉及干细胞和卵细胞。

2.3 转基因技术的手段 转基因技术通常采用病毒载体、化学、电穿孔、机械等方法, 能够在体内或体外应用。体外的转基因过程包括细胞采集, 组织培养, DNA 转染和自体移植回宿主。体外转染率可接近 100%。但体外转基因技术费时费力, 整个过程大概需要 4 周。体内转基因技术避免了靶细胞的分离和培养, 所需时间也短, 但其转染率比较低。

病毒载体转染: 一般的病毒载体由反转录病毒, 腺病毒, 腺病毒相关病毒群或单纯疱疹病毒的基因组获得。

这种介导基因材料到动物体的过程已经通过皮肤来源的单层组织, 真皮类似组织和表皮真皮的器官类似组织完成^[19-21]。目前, 反转录病毒转染的角质形成细胞悬浮液中有 β -半乳糖糖苷酶基因和人生长激素基因表达的产物, 这些研究说明了针对创伤的基因疗法正在体现其技术上的可行性和实践中的程序性。

有研究显示, 腺病毒载体是目前体内基因转移效率最高的载体病毒。和反转录病毒不同, 腺病毒能够很容易达到高病毒滴度, 并且转染分裂细胞与非分裂细胞都有较高的效率。病毒载体的主要缺点是病毒蛋白的细胞毒性和宿主细胞的免疫反应均可能导致转染细胞的破坏。而宿主免疫反应亦限制了载体在转染效率不高时的再次应用。当前, 主要通过“空壳病毒”来降低免疫反应^[22]。然而, 因腺病毒衣壳本身免疫引起的免疫反应仍然不能完全避免^[23]。

基因枪技术: 该技术的原理是用重金属微粒携带基因通过高电压或氦的释放获得加速, 以足够的速度冲击如靶细胞内粒子直径(1.0~1.5 μm)比靶细胞小, 裸 DNA 吸附在这些微粒上, 轰击后逐渐在胞内释放。目前商业开发可用的主要产品是 Accell 基因枪和 Helios 基因枪。下面以 Accell 为例介绍一下基因枪的构造及轰击过程:

Accell 基因枪系统由以下几部分组成: 一个控制释放压力的调节器, 一个进料活塞, 一个气体仓, 一个螺旋管(装载 DNA 子弹的圆柱管), 一个加速管(里面存有金微粒和高速率的氦气), 一个爆发中心(帮助微粒射线的发散并且传播氦气的高压气流), 还有一个给目标提供相应距离的垫片。扳动扳机可以启动释放氦气, 螺旋管和压力释放都由氦气在枪膛中的加速率引发。转染以前, 细胞要平放在 6 孔板里(9.6 $\text{cm}^2/\text{孔}$), 每孔放 2.4×10^4 细胞并且培养直到细胞铺满整个孔(3.0×10^5 细胞/孔), 并且牢固地结合在孔板的底部, 这一过程基本上要 7 d 左右。在转染之前, 向孔板当中射击, 单层的成纤维细胞被 14.062 kg/cm^2 冲击压力的氦气炮轰。在转染之后, 立刻用 2 mL 的中性液体加入每个孔, 然后培养基放回培养箱。8 h 之后, 没有粘着的细胞用清的中性液冲洗掉, 再培养 40 h 后, 就可以收获转染了生长因子基因的细胞。 β -半乳糖基因也同样被地转染, 目的是测量细胞的转染率。这些转染 β -半乳糖基因的细胞能够被 1 mL X-半乳糖染色方法所染色。再通过 8 h 37 $^{\circ}\text{C}$ 的培养, 收集所有的悬浮细胞, 通过红细胞计数仪计数, 就可以计算出转染率了。

基因枪能够很有效地转染器官、组织或单个细胞。根据 DNA 的剂量, 金微粒的载量率来研究如何取得相应的、最理想的基因转染。在早先的研究中, 碰到这种或是类似的情况都可以用这种基因转染。不论是现成的细

胞还是初代培养的细胞, 都可以应用基因枪技术转染, 因为它既能用在单层细胞也可以用在悬浮细胞。基因枪技术简单, 功能多, 而且只需要对培养细胞作简单的操作。只要仪器建立了, 就可以简便地做基本上所有哺乳动物的基因转染有关的探索性实验或系统性实验。

微种植技术: 这种方法使 DNA 通过摆渡的固体显微操作针多重随机打孔来进入细胞。首先将一组固体的微针(DISTAL5 mm 在 37%的盐酸中预处理 18 h)安装到一个不锈钢的圆桶上, 再将这个圆桶加装到电动活塞上, 装有处理后的 DNA 的固体针固定入一个内径 0.254 mm 管子, 连接上一个 30 G1/2 针和一个 1 mL 的注射器, 这个注射器由注射器泵控制。都安装好后安置在距离皮肤或者创伤床内 2 mm 的地方, 再以 7 500 Pa/2.25 cm² 的压力在目标组织上方经过并停止 20 s, 其携带的微针产生摆动, 然后移到另一部位。这些摆动的微针安装的角度大概与皮肤表面呈 60°。

微种植技术只造成轻微的损伤, 但相对与微粒介导的轰击技术来说, 它要温和得多, 并且不会形成压力波。除此之外, 微种植技术还可以用来作内镜检查和内脏器官转基因^[24]。

其他的方法: 其他的方法包括直接注射 DNA、化学载体如脂质体、磷酸钙或二乙氨基乙基右旋糖苷介导的基因转染, 目前的由于其效果与前面的方法比较起来不好, 故在实验和临床中的应用不如前面的技术广泛。

基因转染技术的原理及优缺点见表 2。

表 2 各种转基因技术比较

转基因技术	原理	优点	缺点
病毒载体转基因技术	敲除病毒自身复制所需的基因序列而代替一需要的目的基因, 利用病毒对宿主细胞的基因整合能力进行转基因	转染能力强	病毒制备过程复杂, 限制插入的基因序列大小, 安全性低, 潜在的野生病毒株致病可能, 且已制备的病毒可以通过野生病毒株基因组重组而获得复制能力
微粒轰击技术	将目的 DNA 在该离子的参与下吸附于微粒(通常为金粒), 借助于基因枪产生的高速度将微粒攻入靶细胞	操作简便, 转染率高, 可重复性强	所需仪器设备较贵, DNA 携带量少, 穿透度浅
微种植技术	以改良的文身机驱动的多哥显微操作针在细胞膜上进行随机多重穿孔, 并将 DNA 注射入细胞	操作简便, 转染率较微粒轰击技术高, 不会形成压力波	转染持续的时间较短, 所需仪器昂贵
裸 DNA 注射转基因技术	将含有 DNA 的溶液以 50~100 μL 注射点的浓度注射进入靶组织组织间隙中	安全性高, 避免利用病毒和化学载体可能带来的毒性	盲目性, 低转化率, 注射部位偶有红斑和压痛
脂质体转基因技术	合成的双层分子脂质体通过静电作用和带负电荷的 DNA 分子形成复合体可能通过胞吞作用进入细胞	操作过程较简单, 相对病毒安全	脂质体对细胞有毒性作用, 脂质体与 DNA 的计量比对结果影响大

2.4 转基因技术在创面愈合的研究中的应用 由非全层上皮培养所得的猪角质形成细胞被能够表达 β-半乳糖糖苷酶的基因或人类生长激素基因转染, 这些细胞再被移植到全层创伤的猪皮肤沟槽中。对相邻的皮肤活检所进行的免疫染色检测到 β-半乳糖糖苷酶在创伤愈合中的表达持续 4 周之久, 而人生长激素在创面渗液中的表达也可以达到 10 d, 并且表达这些基因的角质形成细胞的功能未见异常并重建了表皮。这些实验阐明了应用转基因技术来治疗创伤的可行性。在应用了体内转基因技术和表达了上皮生长因子基因之后, 创伤愈合加速。

理想的创伤愈合是在创伤早期表皮生长因子的持续表达^[25]。转基因技术能够使蛋白质局部、持续输送。然而, 在体内进行转基因技术时病毒载体往往效率不足。

2.5 基因治疗中表达的控制 表达调控就是指按需要对基因表达进行控制的能力, 能够诱导靶基因的表达, 改变表达量, 还能够终止其表达。而这种调控能力, 对转基因疗法能否成功实施是十分重要的。

目前已经发现了一个表达系统, 通过这种方法, 同时将两个质粒转染到细胞内, 一个包含了在启动子和操纵子控制下的 EGF 基因, 另一个质粒表达操纵子抑制序列。当只转染第一种质粒, EGF 基因被表达, 当 2 种都被转染入细胞时, 操纵子抑制序列的蛋白阻遏了 EGF 的表达, 而这种阻遏能够被加入的抑制序列拮抗剂去除。因此, 通过改变加入的拮抗剂的量来调节 EGF 的表达水平^[24]。

2.6 现状及展望 除了微种植和微粒轰击技术(基因枪)外其他的方法往往需要大量的细胞、很高的 DNA 浓度, 并且需要很长的等待时间, 真正用于研究基因表达的时间往往很短暂。使用基因枪, 1×10⁵~1×10⁷ 个细胞悬浮就可以得到类似的效果。DNA 的运载率达到 2 μg DNA/mg 金微粒, 这就是说每个 1 μm 直径的金微粒可以运送 16 000~40 000 个 5 千碱基的质粒到一个目标细胞中。因此, 目前更广泛地使用前两种技术。

另一个重要的因素是脂粒的剂量。从实验得知, 一个低剂量的脂粒注射可能就是无效的, 或效果不是很明显。而过多的增加剂量后, 这些多余的脂粒不但不会带来好的效果, 往往还会减弱生长因子质粒的疗效。所以确定一个恰好的剂量非常重要。

皮肤是一个很适合基因治疗的器官, 因为它容易转染, 而且容易被检测到, 如果需要的话, 还可以很容易驱除转染的细胞^[26]。以前关于基因转染的研究被限制到真皮^[27], 基因的表达是短效的——仅持续 2 d^[28]。运用阳离子的脂质体和用注射或用相关的裸质粒结果一致^[28-29], 不会加强基因的转染。基因枪能够改善转染率, 使用基因枪后, 质粒的表达相应的会持续久一点^[30], 并且这种方法已经被证实用于创伤的基因治疗。

尽管相应的 DNA 通过注射方法运送入组织, 转染

率仍然非常低。主要的基因表达屏障是细胞核膜^[30]。显微镜下不能看到 rhodamine 标记的脂粒穿透细胞膜。目前的一种很有研究前景的方法是通过特定的方法将质粒转染到细胞里^[31]。只有当质粒进入了细胞核,才能够被转录为 mRNA 然后进入翻译环节被翻译成为转染如细胞核的质粒 DNA 所编码的蛋白质。目前只能通过加大注射量或增加注射频率来改善转染率,这就迫切地需要一种新的技术,有很大的质粒载量^[32],而且能够有很高的转染效率。这样的改进的转染效率能够允许基因治疗技术在创伤愈合中的发展。目前研究表明,通过混合基因枪和反转录病毒载体转染能够明显改善转染率^[33]。

3 结论

创面愈合过程包括细胞、细胞外基质和可溶性分子间的复杂相互作用。生长因子是其中一个重要环节,如何以接近生理的条件更好地协调创面愈合的复杂网络过程来达到治疗慢性难愈伤口的目的是共同追求的方向。

4 参考文献

- [1] Lee JA, Conejero JA, Mason JM, et al. Lentiviral transfection with the PDGF-B gene improves diabetic wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2005;116(2):532-538.
- [2] Sivamani K, Garcia MS, Isseroff RR. Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. *Front Biosci*. 2007;12:2849-2868.
- [3] Falanga V, Eaglstein WH, Bucalo B, et al. Topical use of human recombinant epidermal growth factor (h-EGF) in venous ulcers. *J Dermatol Surg Oncol*. 1992;18(7):604-606.
- [4] Steed DL. Clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers. *Diabetic Ulcer Study Group. J Vasc Surg*. 1995;21(1):71-78.
- [5] Shiraha H, Glading A, Gupta K, et al. IP-10 inhibits epidermal growth factor-induced motility by decreasing epidermal growth factor receptor-mediated calpain activity. *J Cell Biol*. 1999;146(1):243-254.
- [6] Jiang CK, Magnaldo T, Ohtsuki M, et al. Epidermal growth factor and transforming growth factor alpha specifically induce the activation- and hyperproliferation-associated keratins 6 and 16. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(14):6786-6790.
- [7] Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Repair Regen*. 1996;4(4):411-420.
- [8] Robson MC. The role of growth factors in the healing of chronic wounds. *Wound Repair Regen*. 1997;5(1):12-17.
- [9] Bennett SP, Griffiths GD, Schor AM, et al. Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers. *Br J Surg*. 2003;90(2):133-146.
- [10] Ceccarelli S, Cardinali G, Aspate N, et al. Cortactin involvement in the keratinocyte growth factor and fibroblast growth factor 10 promotion of migration and cortical actin assembly in human keratinocytes. *Exp Cell Res*. 2007;313(9):1758-1777.
- [11] Rolfe KJ, Richardson J, Vigor C, et al. A role for TGF-beta1-induced cellular responses during wound healing of the non-scarring early human fetus? *J Invest Dermatol*. 2007;127(11):2656-2667.
- [12] Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2004;114(6):1502-1508.
- [13] Riedel K, Riedel F, Goessler UR, et al. Tgf-beta antisense therapy increases angiogenic potential in human keratinocytes in vitro. *Arch Med Res*. 2007;38(1):45-51.
- [14] Uutela M, Wirzenius M, Paavonen K, et al. PDGF-D induces macrophage recruitment, increased interstitial pressure, and blood vessel maturation during angiogenesis. *Blood*. 2004;104(10):3198-3204.
- [15] Lin H, Chen B, Sun W, et al. The effect of collagen-targeting platelet-derived growth factor on cellularization and vascularization of collagen scaffolds. *Biomaterials*. 2006;27(33):5708-5714.
- [16] Lederle W, Stark HJ, Skobe M, et al. Platelet-derived growth factor-BB controls epithelial tumor phenotype by differential growth factor regulation in stromal cells. *Am J Pathol*. 2006;169(5):1767-1783.
- [17] Jazwa A, Loboda A, Golda S, et al. Effect of heme and heme oxygenase-1 on vascular endothelial growth factor synthesis and angiogenic potency of human keratinocytes. *Free Radic Biol Med*. 2006;40(7):1250-1263.
- [18] Morbidelli L, Chang CH, Douglas JG, et al. Nitric oxide mediates mitogenic effect of VEGF on coronary venular endothelium. *Am J Physiol*. 1996;270(1 Pt 2):H411-415.
- [19] Gerrard AJ, Hudson DL, Brownlee GG, et al. Towards gene therapy for haemophilia B using primary human keratinocytes. *Nat Genet*. 1993;3(2):180-183.
- [20] St Louis D, Verma IM. An alternative approach to somatic cell gene therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85(9):3150-3154.
- [21] Garlick JA, Taichman LB. Fate of human keratinocytes during reepithelialization in an organotypic culture model. *Lab Invest*. 1994;70(6):916-924.
- [22] Schiedner G, Morral N, Parks RJ, et al. Genomic DNA transfer with a high-capacity adenovirus vector results in improved in vivo gene expression and decreased toxicity. *Nat Genet*. 1998;18(2):180-183.
- [23] Young LS, Searle PF, Onion D, et al. Viral gene therapy strategies: from basic science to clinical application. *J Pathol*. 2006;208(2):299-318.
- [24] Fusenig NE. *Cell Interaction and Epithelial Differentiation. Culture of Epithelia Cells*. New York: Wiley-Liss. 1992:25-57.
- [25] Yao F, Svensjö T, Winkler T, et al. Tetracycline repressor, tetR, rather than the tetR-mammalian cell transcription factor fusion derivatives, regulates inducible gene expression in mammalian cells. *Hum Gene Ther*. 1998;9(13):1939-1950.
- [26] Greenhalgh DA, Rothnagel JA, Roop DR. Epidermis: an attractive target tissue for gene therapy. *J Invest Dermatol*. 1994;103(5 Suppl):63S-69S.
- [27] Hengge UR, Walker PS, Vogel JC. Expression of naked DNA in human, pig, and mouse skin. *J Clin Invest*. 1996;97(12):2911-2916.
- [28] Udvardi A, Kufferath I, Grutsch H, et al. Uptake of exogenous DNA via the skin. *J Mol Med*. 1999;77(10):744-750.
- [29] Yu WH, Kashani-Sabet M, Liggitt D, et al. Topical gene delivery to murine skin. *J Invest Dermatol*. 1999;112(3):370-375.
- [30] Eming SA, Whitsitt JS, He L, et al. Particle-mediated gene transfer of PDGF isoforms promotes wound repair. *J Invest Dermatol*. 1999;112(3):297-302.
- [31] Subramanian A, Ranganathan P, Diamond SL. Nuclear targeting peptide scaffolds for lipofection of nondividing mammalian cells. *Nat Biotechnol*. 1999;17(9):873-877.
- [32] Byrnes CK, Khan FH, Nass PH, et al. Success and limitations of a naked plasmid transfection protocol for keratinocyte growth factor-1 to enhance cutaneous wound healing. *Wound Repair Regen*. 2001;9(5):341-346.
- [33] Badiavas E, Mehta PP, Falanga V. Retrovirally mediated gene transfer in a skin equivalent model of chronic wounds. *J Dermatol Sci*. 1996;13(1):56-62.

关于作者: 第一作者构思并设计本综述, 第一作者解析相关数据, 经 2 次修改审校, 所有作者共同起草, 第一作者对本文负责。

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。

伦理批准: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

此问题的已知信息: 难愈创面是目前外科治疗中的难点, 普通外科引流、换药治疗效果不佳, 即使愈合也会形成瘢痕, 影响患者日后生活质量。

本综述增加的新信息: 在上述普遍认同的基础上, 本文通过对近期转基因治疗方法相关文献的检索与综合分析, 得出转基因方法虽然目前无法在临床中推广, 但其拥有广阔的前景, 如何寻求高效转染, 良好靶向性, 安全无毒的载体以及真正的治疗性基因是今后的研究方向。

临床应用的意义: 基因治疗是近几年兴起的一种新的治疗方法, 应用基因工程技术促进创面的愈合, 为烧伤或慢性溃疡的治疗提供了一种全新的治疗手段。