

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.49.019 [http://www.crter.org/crter-2012-qikanquanwen.html]

哈小琴, 张俊, 邓芝芸, 董菊子, 彭俊华, 赵勇, 张媛媛. 肝细胞生长因子基因重组腺病毒修饰间充质干细胞修复急性放射性损伤大鼠的创面[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(49):9226-9231.

肝细胞生长因子基因重组腺病毒修饰间充质干细胞修复急性放射性损伤大鼠的创面***◆

哈小琴, 张俊, 邓芝芸, 董菊子, 彭俊华, 赵勇, 张媛媛

解放军兰州军区
兰州总医院检验科,
甘肃省干细胞与基因药物重点实验室,
甘肃省兰州市 730050

哈小琴☆, 女, 1968年生, 甘肃省陇南市人, 回族, 2001年军事医学科学院毕业, 博士, 主任医师, 主要从事干细胞与基因药物研究。
haxq@yahoo.com

中图分类号:R394.2
文献标识码:B
文章编号:2095-4344
(2012)49-09226-06

收稿日期:2012-01-12
修回日期:2012-02-27
(20111126012/W·C)

Department of
Clinical Laboratory,
Lanzhou Military
General Hospital of
Chinese PLA, Key
Laboratory of Stem
Cell and Gene
Medicine of Gansu
Province, Lanzhou
730050, Gansu
Province, China

Ha Xiao-qin☆,
Doctor, Chief
physician,
Department of
Clinical Laboratory,
Lanzhou Military
General Hospital of
Chinese PLA, Key
Laboratory of Stem
Cell and Gene
Medicine of Gansu
Province, Lanzhou
730050, Gansu
Province, China
haxq@yahoo.com

Supported by: the
"Eleventh Five-Year"
Key Project of
Chinese PLA
(General Program),
No. 06MB097*;
Scientific Research
Projects of Lanzhou
Military Region, No.
CLZ11J09*; the
"Twelfth Five-Year"
Key Project of
Chinese PLA
(General Program),
No. CWS11C229*

Received: 2012-01-12
Accepted: 2012-02-27

文章亮点: 肝细胞生长因子基因重组腺病毒修饰的间充质干细胞对皮肤放射性损伤创面有显著的促愈合修复作用, 且优于二者单独应用的作用。

关键词: 间充质干细胞; 肝细胞生长因子基因; 重组腺病毒; 放射损伤; 修复

缩略语: 肝细胞生长因子的重组腺病毒: adenovirus hepatocyte growth factor, Ad-HGF

摘要

背景: 基因药物与干细胞联合应用促进难治性大面积创面修复。

目的: 观察携带肝细胞生长因子基因的重组腺病毒(adenovirus hepatocyte growth factor, Ad-HGF)修饰的间充质干细胞对大鼠皮肤放射性损伤创面促愈合的作用。

方法: 体外分离、培养雄性 Wistar 大鼠骨髓间充质干细胞, 转染 Ad-HGF 后备用。40 只雌性 Wistar 大鼠用 X 射线局部照射制备急性放射性皮肤损伤模型。并将模型大鼠随机分为单纯间充质干细胞治疗组、单纯 Ad-HGF 治疗组、Ad-HGF 修饰的间充质干细胞治疗组、溶剂对照组 4 组, 制备模型即刻各组将相应细胞悬液、病毒悬液及溶剂行创面边缘多点注射。

结果与结论: 苏木精-伊红染色结果显示, 伤后 21 d Ad-HGF 修饰的间充质干细胞治疗组再生表皮明显薄于溶剂对照组, 并可见丰富的新生小血管, 且表皮较单纯间充质干细胞治疗组和单纯 Ad-HGF 治疗组更平整, 新生小血管更丰富; 免疫组织化学结果表明, Ad-HGF 修饰的间充质干细胞治疗组创面中肝细胞生长因子表达均强于其他组; 羟脯氨酸含量 Ad-HGF 修饰的间充质干细胞治疗组在 7 d 后显著低于其他组($P < 0.05$); 原位杂交结果显示, Ad-HGF 修饰的间充质干细胞治疗组修复的皮肤组织中性别决定基因 *sry* 表达强于单纯间充质干细胞治疗组。结果提示, Ad-HGF 修饰的间充质干细胞对皮肤放射性损伤创面有显著的促愈合修复作用, 且优于二者单独应用。

Effects of adenovirus hepatocyte growth factor modified bone marrow mesenchymal stem cells on radioactive skin wound healing

Ha Xiao-qin, Zhang Jun, Deng Zhi-yun, Dong Ju-zi, Peng Jun-hua, Zhao Yong, Zhang Yuan-yuan

Abstract

BACKGROUND: Combined application of gene therapy and stem cells can promote the healing of refractory large scale wound.

OBJECTIVE: To observe the effect of adenovirus hepatocyte growth factor (Ad-HGF) modified bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) on radioactive skin wound healing.

METHODS: The BMSCs were *in vitro* isolated and cultured from male Wistar rats and transfected with Ad-HGF. Forty female Wistar rats were irradiated using X-ray therapy machine to establish acute skin radiation damage model. The models were randomly divided into four groups: BMSCs treatment group, Ad-HGF treatment group, Ad-HGF modified BMSCs treatment group and control group. After irradiating, the suspension of BMSCs, Ad-HGF and Ad-HGF modified BMSCs suspension were injected directly into the radioactive wounds.

RESULTS AND CONCLUSION: Hematoxylin-eosin staining results showed that at 21 hours after injury, the epidermis in Ad-HGF modified BMSCs treatment group was significantly thinner than that in the control group, and the epidermis in the Ad-HGF modified BMSCs treatment group was more regular than that in the BMSCs treatment group and Ad-HGF treatment group, many small vessels were observed in the derma of radioactive wounds. Immunohistochemistry results showed that the expression of hepatocyte growth factor in Ad-HGF modified BMSCs treatment group was stronger than that in the other three groups; the content of hydroxyproline in the Ad-HGF modified

BMSCs treatment group was significantly lower than that in the other three groups after 7 days ($P < 0.05$); *in situ* hybridization showed that the expression of sex-determining sry gene in Ad-HGF modified BMSCs treatment group was stronger than that in the BMSCs treatment group. It demonstrates that Ad-HGF modified BMSCs can promote the healing of radioactive skin wound, and the effect is better than simple application of the suspension.

Ha XQ, Zhang J, Deng ZY, Dong JZ, Peng JH, Zhao Y, Zhang YY. Effects of adenovirus hepatocyte growth factor modified bone marrow mesenchymal stem cells on radioactive skin wound healing. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(49): 9226-9231.

0 引言

放射性皮肤损伤是放射损伤中常见的皮肤改变,常因事故性照射、临床治疗及各种原因引起的局部照射剂量过大而形成,其最大特征是难治愈、易复发,成为临床上难以解决的问题。近年来,随着组织工程和基因工程的发展,细胞治疗和基因治疗已作为新兴学科正掀起一股研究热潮,对损伤后的修复产生了深远的影响^[1-4]。

干细胞由于其多向分化潜能而引起了国内外学者的关注,中胚层来源的间充质干细胞是一类具有多项分化潜能的干细胞,可跨胚层分化为各种细胞,如神经细胞、皮脂腺细胞、毛囊细胞、表皮细胞、内皮细胞等^[5],又由于其具有体外增殖能力强,且能定向分化,易于基因操作,具有免疫性低等优点,也因此被认为是组织工程和基因工程理想的靶细胞^[6],已被国内外学者用于心肌、关节缺损、创面修复等多种疾病的细胞治疗^[7-8],而单独应用间充质干细胞存在一些缺陷,如大面积创伤时移植细胞不易存活,因此需要探索新的途径以提高间充质干细胞治疗的效果。

肝细胞生长因子是一种多功能生长因子,以往作者的研究已证实肝细胞生长因子可明显促进皮肤切口愈合和预防瘢痕过度增生^[9]。但皮肤放射性损伤后局部存活细胞较少,为肝细胞生长因子基因的单应用带来了困难。由上述分析可知,间充质干细胞及肝细胞生长因子基因的单应用均存在不同程度的缺陷,因此本实验将二者联合应用,而且前期研究已经确证肝细胞生长因子可以抑制低营养引起的间充质干细胞凋亡、促进其增殖分化,提高其移植存活率,间充质干细胞可以成为肝细胞生长因子基因理想的细胞表达载体^[10]。因此,本实验将构建的携带肝细胞生长因子的重组腺病毒(adenovirus hepatocyte growth factor, Ad-HGF)转染雄性大鼠间充质干细胞,把间充质干细胞多项分化潜能和肝细胞生长因子多生物学效应结合起来,以X射线局部照射制成雌性大鼠皮肤放射性损伤创面为模型,观

察Ad-HGF修饰后的雄性间充质干细胞对雌性大鼠皮肤放射性损伤创面修复的作用,并应用原位杂交方法检测Y染色体性别决定基因——sry基因,以检测植入的间充质干细胞参与创面修复情况,为创伤修复的基础研究及可能的临床应用提供参考。

1 材料和方法

设计: 动物实验观察。

时间及地点: 实验于2009年5月至2011年2月在解放军兰州军区兰州总医院医学实验中心(甘肃省干细胞与基因药物重点实验室)完成。

材料:

实验动物: SPF级雌性Wistar大鼠40只,甘肃省中医学院提供,动物合格证号: SCXK(甘)2004-0006,体质量(200±20) g。健康成年雄性Wistar大鼠10只,购自甘肃省中医学院动物中心。

病毒及试剂:

病毒及试剂	来源
Ad-HGF 病毒颗粒	军事医学科学院惠赠
胎牛血清及 DF12 培养基	美国 Gibco 公司
HGF 单克隆抗体	美国 R&D 公司
地高辛标记试剂盒	美国 Roche 公司
限制性内切酶及载体	上海生工生物技术有限公司

实验方法:

间充质干细胞体外培养及Ad-HGF转染修饰: 无菌条件下取健康成年雄性Wistar大鼠骨髓,按照前期报道分离培养鉴定间充质干细胞^[11]。本实验使用细胞为传代培养的第3-5代细胞。将生长旺盛的间充质干细胞以感染强度(MOI)100 pfu/cell转染Ad-HGF病毒颗粒, 37 °C孵育24 h, ELISA方法检测上清中肝细胞生长因子表达。

放射性皮肤损伤动物模型制作: 选雌性 Wistar大鼠40只,于照射前1 d将动物两侧臀部脱毛。照射前20 min,用0.06 mol/L戊巴比妥钠30 mg/kg腹腔注射麻醉,然后将大鼠固定在动物板上,把臀部两侧用制好的带有

2 cm×3 cm大小孔的铅板覆盖, 暴露脱毛部位, 置于深部X射线治疗机球管下, 再用厚铅板覆盖大鼠其他部位。照射的电压180 kV, 电流12 mA, 照射距离30 cm, 每次剂量30 Gy, 间隔两天再照射1次, 总剂量为60 Gy。

动物分组及细胞移植: 将模型大鼠随机分为4组, 间充质干细胞治疗组、Ad-HGF治疗组、Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组、溶剂对照组, 每组10只。将生长旺盛的单纯间充质干细胞(3×10^6 /只)悬液、Ad-HGF病毒(1×10^9 pfu/只)悬液、Ad-HGF修饰的间充质干细胞(3×10^6 /只, Ad-HGF转染后24 h细胞)悬液以及同体积磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.2), 于造模同时按组别注射于创面边缘, 覆盖凡士林油纱, 单笼饲养。

组织学及免疫组织化学分析: 分别于伤后第3, 5, 7, 14, 21天在无菌条件下用手术刀取创面组织, $-70\text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 行羟脯氨酸含量测定(参考Woessner^[12]法)。第21 d取创面用甲醛固定, 常规石蜡制片, 苏木精-伊红染色, 光镜下观察组织愈合情况; 免疫组织化学检测各组创面肝细胞生长因子表达, 采用SP(过氧化物酶标记的链霉卵白素, Streptavidin/Peroxidase)法, 一抗为鼠抗人肝细胞生长因子单克隆抗体, 二抗为辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠IgG, 显色底物为DAB。

原位杂交法检测大鼠创面Y染色体性别决定基因: 第21天从雄性大鼠肝组织提取基因组DNA。常规PCR法扩增大鼠sry基因片段, sry基因两端引物为primer1: 5'-AGA TCT TGA TTT TTA GTT TTC-3'; primer2: 5'-TGC AGC TCT ACT CCA GTC TTG-3', 扩增产物459 bp并将sry基因与T载体(T easy vector)连接, 获得的T-sry载体采用EcoR I进行酶切, 得到约270 bp和190 bp的片段, 严格按照地高辛标记试剂盒说明书制作sry基因探针后, 对组织切片进行原位杂交及DAB显色反应, 观察各组组织切片中是否存在sry基因, 以检测植入的间充质干细胞参与创面修复情况。

主要观察指标: ① Ad-HGF转染修饰间充质干细胞后肝细胞生长因子蛋白的表达。②病理切片观察修复情况。③免疫组织化学观察表达。④原位杂交观察细胞参与修复情况。

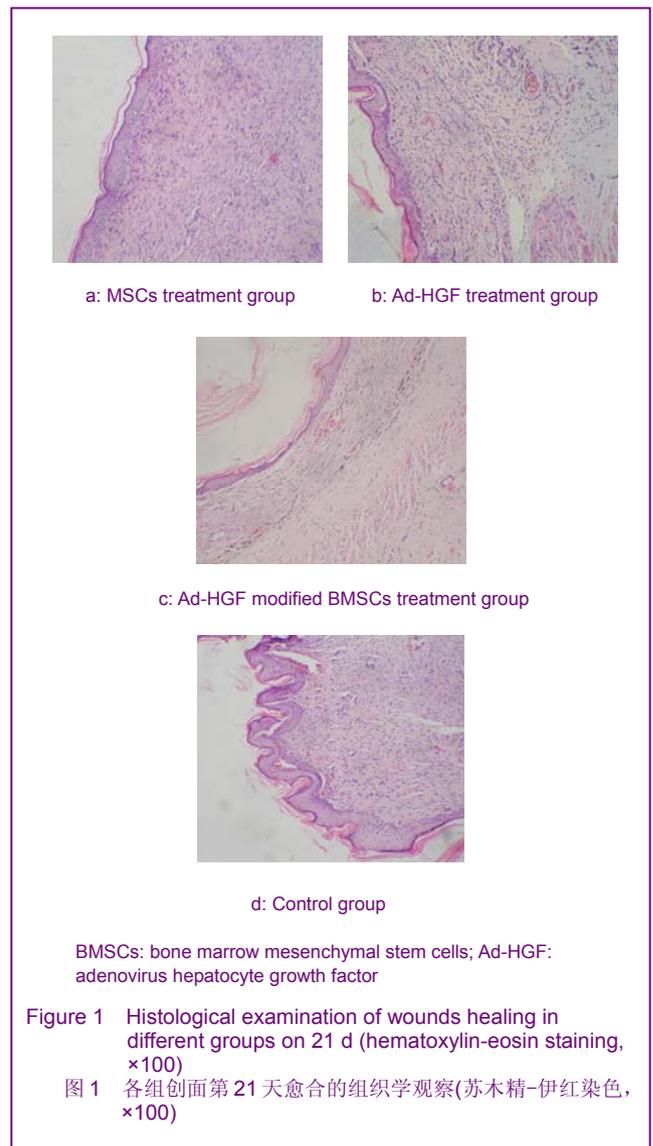
统计学分析: 采用SPSS 11.0软件处理数据, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 Ad-HGF可有效转染间充质干细胞 经Percoll密度梯度分离得到的骨髓单个核细胞接种于培养瓶中,

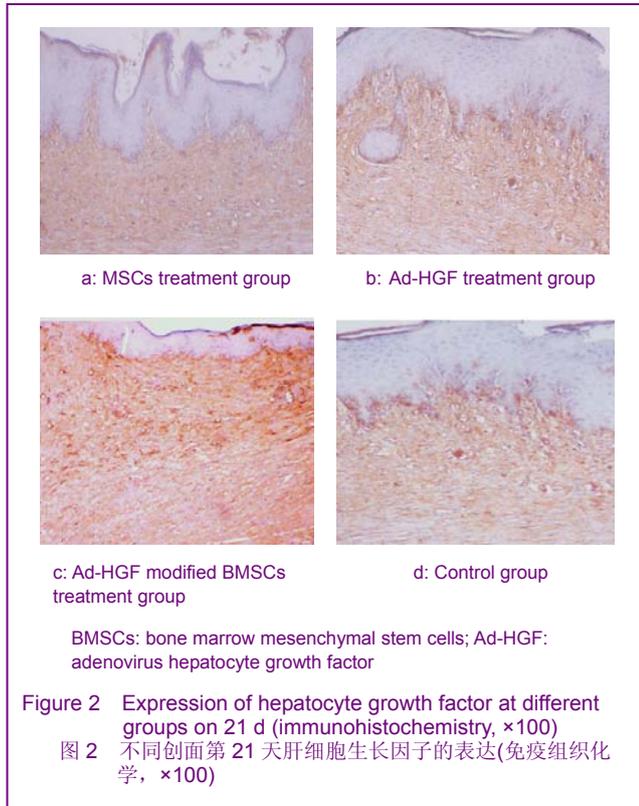
24 h后弃去未贴壁细胞, 更换新鲜培养液。继续培养72 h时出现纺锤状贴壁细胞, 在培养10 d左右时细胞呈克隆样生长, 12 d左右达30%细胞, 并传代培养, 记为P1代。间充质干细胞呈典型的纤维状细胞结构, 形态较为均一。Ad-HGF转染间充质干细胞后24 h, ELISA检测到上清中肝细胞生长因子水平为(83.7 ± 0.21) $\mu\text{g/L} \times 10^6$ 细胞, 表明Ad-HGF成功转染修饰了间充质干细胞。

2.2 组织学观察与免疫组织化学染色 伤后第7天, 4组动物所有创面均形成较硬的痂皮。伤后14 d创缘有新生肉芽组织生成, 21 d大部分创面愈合。第21天苏木精-伊红染色显示, Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组再生表皮明显薄于溶剂对照组, 并可见丰富的新生小血管, Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组与间充质干细胞治疗组和Ad-HGF治疗组比较, 表皮更平整, 新生小血管更丰富, 见图1。

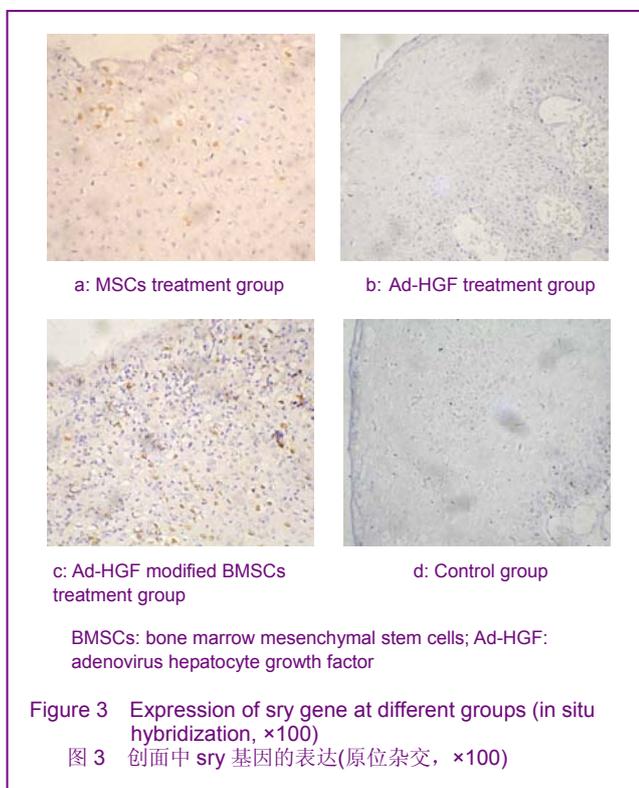


免疫组织化学染色显示, 在伤后21 d时Ad-HGF修

饰的间充质干细胞治疗组创面中肝细胞生长因子表达明显强于其他各组, 见图2。



2.3 原位杂交结果 见图3。



原位杂交结果显示移植后第21天, 间充质干细胞治疗组、Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组雌性Wistar

大鼠创面表皮组织中均可观察到棕色颗粒, 即雄性大鼠 sry 基因的表达, 但Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组更为明显, Ad-HGF治疗组和溶剂对照组基本看不到棕色颗粒。

2.4 羟脯氨酸含量测定 伤后第3、5天Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组羟脯氨酸含量高于其他组, 但差异无显著性意义, 第7天后羟脯氨酸含量低于其他组, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见表1。

表1 各组伤后不同时间点创面组织羟脯氨酸含量的比较		
Table 1 Contents of hydroxyproline in wounds of different groups at different time points ($\bar{x} \pm s, n=10$)		
Item	BMSCs group	Ad-HGF group
Content of hydroxyproline (mg/g tissue)		
3 d	25.32 \pm 0.68	25.11 \pm 0.75
5 d	23.81 \pm 0.35	23.68 \pm 0.36
7 d	22.12 \pm 0.61	22.15 \pm 0.17
14 d	17.42 \pm 0.75	18.40 \pm 0.21
21 d	16.71 \pm 0.82	17.45 \pm 0.10

Item	Ad-HGF modified BMSCs group	Control group
Content of hydroxyproline (mg/g tissue)		
3 d	26.24 \pm 0.81	24.87 \pm 0.12
5 d	24.39 \pm 0.59	23.79 \pm 0.42
7 d	18.71 \pm 0.32 ^{abc}	23.19 \pm 0.14
14 d	12.59 \pm 0.83 ^{abc}	19.21 \pm 0.15
21 d	11.31 \pm 0.68 ^{abc}	18.13 \pm 0.15

^a $P < 0.05$, vs. control group; ^b $P < 0.05$, vs. BMSCs treatment group; ^c $P < 0.05$, vs. Ad-HGF treatment group; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells; Ad-HGF: adenovirus hepatocyte growth factor

3 讨论

皮肤在放射生物学上有着重要的地位, 是接受体外照射的必经途径, 也是最早被认识的因放射损伤的组织。皮肤放射性损伤的机制主要是上皮的生发层细胞和皮下血管的变化。放射线照射局部毛细血管反射性扩张, 形成充血性反应, 出现红斑, 并且在皮肤溃疡形成之前, 血管损伤和微循环障碍就已发生。而引起伤口愈合困难的原因是进行性的微血管阻塞, 上皮细胞以及成纤维细胞增生不良。基于此, 本实验将具有多向分化潜能的间充质干细胞与具有促血管形成、抑制细胞凋亡等生物学作用的肝细胞生长因子联合应用, 采用携带肝细胞生长因子基因的重组腺病毒转染间充质干细胞, 使间充质干细胞表达肝细胞生长因子蛋白而发挥肝细胞生长因子与间充质干细胞的双重作用, 用于促进对大鼠皮肤急性放射性损伤创面修复的作用。

组织学结果显示, 与其他各组比较, 肝细胞生长因子基因修饰的间充质干细胞移植组再生皮肤表皮层明显较对照组薄且平整, 真皮中新生小血管丰富, 表明经肝细胞生长因子修饰后的间充质干细胞对创面愈合具有一定的促进作用, 而且其作用明显优于单独使用间充质干细胞或肝细胞生长因子, 而这种促进作用可能是双方协同作用的结果。肝细胞生长因子与其受体c-Met结合导致c-Met β 链酪氨酸Tyr-1234和Tyr-1235残基自身磷酸化, 因而激活了受体内在的酪氨酸激酶活性, 导致细胞分裂或分化增加, 细胞运动能力增强, 细胞间连接消失而发挥生物学作用^[13-15]。间充质干细胞的胞膜及胞浆均表达原癌基因c-met, 这构成了肝细胞生长因子和间充质干细胞协同作用发生的基础。羟脯氨酸是构成创面修复基质的胶原组分, 其变化反映了胶原水平。有文献报道, 羟脯氨酸含量的变化趋势与创面组织的上皮化程度表现出显著的相关性^[16-17], 随着表皮细胞逐渐覆盖创面, 羟脯氨酸进行性减少, 提示创面上皮化的过程就是胶原合成抑制的过程。

实验中羟脯氨酸含量测定结果显示, 与其他各组比较, 肝细胞生长因子修饰的间充质干细胞治疗组羟脯氨酸含量有显著性差异, 这种差异主要出现于7 d后。肝细胞生长因子修饰的间充质干细胞治疗组羟脯氨酸含量小于其他各组, 根据实验结果推断, 与其他组相比, 肝细胞生长因子修饰的间充质干细胞加速创面上皮化进程更为显著, 并对创面愈合后的瘢痕形成起到了明显的抑制作用, 由此肯定了肝细胞生长因子修饰的间充质干细胞提高创面愈合速度和质量的优点。同时本研究还采用原位杂交技术检测到单纯间充质干细胞治疗组及Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组愈合创面真皮层中雄性决定基因sry呈阳性表达, 免疫组织化学结果显示单纯Ad-HGF治疗组及Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组创面中肝细胞生长因子表达强于其他组, 而且Ad-HGF修饰的间充质干细胞治疗组创面中sry基因阳性表达及肝细胞生长因子表达强于单纯间充质干细胞治疗组和单纯Ad-HGF治疗组, 表明Ad-HGF和间充质干细胞在促进创面愈合过程中可能有互补或协同作用。

实验所采用的间充质干细胞主要来源于骨髓, 利用它进行组织工程研究具有取材方便、增殖能力强、免疫原性弱、分化组织类型广泛及易于外源基因转染和表达等诸多优势, 所以间充质干细胞无疑是基因治疗创伤修复的优良载体, 具有广阔的临床应用前景。成功的细胞基因治疗药物不仅包括优良的载体细胞, 还需要有效转

移目的基因至靶细胞的载体。腺病毒宿主范围广, 安全性高, 在基因工程研究中备受关注。因此, 实验选用重组腺病毒为载体介导目的基因肝细胞生长因子转染修饰靶细胞间充质干细胞, 并将其用于大鼠皮肤急性放射性损伤的修复, 这将为相关的基因治疗与细胞治疗奠定基础, 为创伤修复的基础研究及可能的临床应用提供理论依据。

肝细胞生长因子修饰的间充质干细胞可能通过以下途径对创面发挥促愈作用: ① 间充质干细胞不但含有编码间质组织成分的基因, 还含有编码内皮和上皮组织的基因, 可以转化为血管内皮细胞、表皮细胞及皮肤附件的某些结构参与修复, 还可增加胶原生成, 填充创面。近年来大量的研究已证实间充质干细胞跨胚层分化的潜能, 尤其是Krause等^[18]和Korbing等^[19]研究发现间充质干细胞还可以分化为表皮细胞, 并可长期存在。②在创面微环境下, 间充质干细胞可以分泌与创面修复相关的细胞因子, 如细胞刺激因子、白细胞介素等^[20]。③理论上, 肝细胞生长因子可从多方面促进伤口的高质量愈合, 首先, 肝细胞生长因子可刺激血管内皮细胞的迁移、增殖, 形成新生血管, 因此促进局部伤口的有效循环; 肝细胞生长因子可刺激皮肤角质细胞运动、增殖, 加速伤口的再表皮化; 肝细胞生长因子可抑制细胞的凋亡, 使得载体干细胞可长时间存在于创面, 从而更有利于其分化为修复细胞; 肝细胞生长因子还能显著抑制转化生长因子 β 的产生, 转化生长因子 β 是迄今了解最多的与瘢痕形成密切相关的细胞因子, 同时还能增强胶原酶的活性, 促使间充质干细胞刺激形成的多余胶原有效降解。④作为工程细胞的间充质干细胞可缓慢释放肝细胞生长因子, 使得肝细胞生长因子能长期表达于创面, 克服了单纯的细胞因子治疗半衰期短, 需反复用药的弊端。这些均成为采用基因转染后的间充质干细胞提高创面愈合质量并促进愈合速度的基础。

综上所述, 携带人肝细胞生长因子基因的重组腺病毒修饰的骨髓MNCs对创面修复具有很大的优势, 它的效应是肯定而明显的。这将为皮肤辐射损伤的治疗及并发症的防治以及临床难愈合创面的修复提供新的治疗方法, 将形成新的创伤治疗给药系统和治疗方法, 具有较大的应用价值。

4 参考文献

- [1] Fu XB. Zhongguo Gongchen Kexue. 2009; 11(10): 122-128.
付小兵. 组织再生: 梦想、希望和挑战[J]. 中国工程科学, 2009; 11(10): 122-128.

- [2] Shen J, Tsai YT, Dimarco NM, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells from young donors delays aging in mice. *Sci Rep*. 2011;1:67.
- [3] Mariani E, Facchini A. Clinical Applications and biosafety of human adult mesenchymal stem cells. *Curr Pharm Des*. 2012;1:19.
- [4] Mazo M, Arana M, Pelacho B, et al. Mesenchymal stem cells and cardiovascular disease: a bench to bedside roadmap. *Stem Cells Int*. 2012;2012:175979
- [5] Bernardo ME, Locatelli F, Fibbe WE, et al. Mesenchymal stromal cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1176(9):101-117.
- [6] Dou YR, Fu XB. *Zhongguo Weizhongbing Jijiu Yixue*. 2004;16(8):499-501.
都义日, 付小兵. 骨髓间充质干细胞的研究进展[J]. *中国危重病急救医学*, 2004, 16(8):499-501.
- [7] Cao Q, Wang F, Lin J, et al. Mesenchymal stem cells enhance the differentiation of c-kit⁺ cardiac stem cells. *Front Biosc*. 2012;17:1323-1328.
- [8] Undale AH, Westendorf JJ, Yaszemski MJ, et al. Mesenchymal stem cells for bone repair and metabolic bone diseases. *Mayo Clin Proc*. 2009;84(10):893-902.
- [9] Ha XQ, Yuan B, Li YM, et al. Gene Therapy for pathological scar with hepatocyte growth factor mediated by recombinant adenovirus vector. *Science in China*. 2003;46(3):320-327.
- [10] Ha XQ, Dong F, Lv TD. *Zhongguo Xiufu Chongjian Waike Zazhi*. 2010;24(5):613-617.
哈小琴, 董芳, 吕同德. 肝细胞生长因子基因对BMSCs的修饰及活性观察[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2010;24(5):613-617.
- [11] Jin LJ, Ha XQ, Zhang C, et al. *Xibei Guofang Yixue Zazhi*. 2007;28(1):12-15.
金丽娟, 哈小琴, 张诚, 等. Ad-HGF修饰MSCs异体移植对烧伤创面愈合的作用[J]. *西北国防医学杂志*, 2007;28(1):12-15
- [12] Woessner J. The determination of hydroxyproline in tissue and protein sample contain small proportion of this amino acid. *Arch Biochem Biophys*. 1961;93:440.
- [13] Sadiq AA, Geynisman DM, Salgia R. Inhibition of MET receptor tyrosine kinase and its ligand hepatocyte growth factor. *J Thorac Oncol*. 2011;6(11 Suppl 4):S1810-1.
- [14] Nakamura T, Sakai K, Nakamura T, et al. Hepatocyte growth factor twenty years on: Much more than a growth factor. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;1:188-202.
- [15] Lei X, Wu J, Liu B, et al. Hepatocyte growth factor promoting the proliferation of human eccrine sweat gland epithelial cells is relative to AKT signal channel and β -catenin. *Arch Dermatol Res*. 2012;304(1):23-29.
- [16] Ananth KV, Asad M, Prem Kumar N, et al. Evaluation of wound healing potential of bauhinia purpurea leaf extracts in rats. *Indian J Pharm Sci*. 2010 ;72(1):122-127.
- [17] Sanwal R, Chaudhary AK. Wound healing and antimicrobial potential of *Carissa spinarum* Linn. in albino mice. *J Ethnopharmacol*. 2011;135(3):792-796.
- [18] Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*. 2001;105:369-377.
- [19] Korbong M, Katz RL, Khanna A, et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med*. 2002;346:738-746.
- [20] Williams AR, Hare JM. Mesenchymal stem cells: biology, pathophysiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease. *Cir Res*. 2011;109(8):923-940.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 全军“十一五”面上项目(06MB097), 兰州军区后勤科科研项目(CLZ11J09), 全军“十二五”面上项目(CWS11C229)。

作者贡献: 第一、第二作者进行实验设计及成文, 第三、第四、第五作者进行实施, 第一、第六作者进行实验评估, 第七作者收集资料, 盲法评估。

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应符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

文章概要:

文章要点: 针对 MSCs 和 HGF 单独应用分别存在的缺点, 将 MSCs 多项分化潜能和 HGF 多重生物学效应结合起来, 观察 Ad-HGF 修饰后的 MSCs 对放射性皮肤损伤创面修复的作用。

关键信息: Ad-HGF 修饰的 MSCs 对皮肤放射性损伤创面有显著的促愈合修复作用, 且优于二者单独应用的作用, 将为皮肤放射性损伤创面修复提供新的治疗方法。

研究的创新之处与不足: 实验创新之处是将细胞治疗与基因治疗相结合进行难治性创面修复。不足之处是每组动物数较少。

作者声明: 文章为原创作品, 无一稿两投, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无保密泄露问题, 无与他人课题及专利技术的争执。