

# 胰岛素样生长因子 I 和单纯疱疹病毒胸苷激酶基因共转染优化创面愈合的研究

杨磊 王甲汉 高建华



**【摘要】** 目的 了解胰岛素样生长因子 I (IGF-I) 和单纯疱疹病毒胸苷激酶 (HSV-tk) 基因共转染对创面愈合的影响。方法 将 30 只雄性 Wistar 大鼠造成 30% TBSA Ⅲ度烫伤,按随机数字表法分为 A 组 (注射 4.6 μg pcDNA3.1/IGF-I + 脂质体 2000 + 生理盐水); B 组 (注射 3.6 μg pcDNA3.1/HSV-tk + 脂质体 2000 + 生理盐水); C1 组和 C2 组 (均注射 2.3 μg pcDNA3.1/IGF-I + 1.8 μg pcDNA3.1/HSV-tk + 脂质体 2000 + 生理盐水); D 组 (注射 3.0 μg pcDNA3.1 + 脂质体 2000 + 生理盐水)。每组 6 只大鼠,均于伤后即刻及 7、14、21、28 d 于大鼠左后背部创缘皮下注射上述混合物,其中 C2 组大鼠另于伤后 29、30、31、32 d 皮下注射丙氧鸟苷 (2.5 mg/100 g)。称量烫伤大鼠体质量,计算创面愈合率。伤后 35 d,免疫组织化学染色检测 IGF-I 基因在创面局部及肝脏组织的表达,放射免疫方法检测血清中 IGF-I 水平,RT-PCR 检测 HSV-tk 基因在创面局部的表达,透射电镜观察 C1、C2 组 Fb 凋亡情况。数据采用单因素方差分析、Turkey 法处理。结果 A、C1 和 C2 组大鼠体质量于伤后 7~35 d 呈现增加趋势,与 B、D 组比较,差异具有统计学意义 ( $F$  值分别为 2.764、4.519、5.009、13.449、5.877,  $P$  值均小于 0.05); 该 3 组大鼠创面愈合率高于 B、D 组 ( $F$  值分别为 5.286、100.880、152.380、127.850、147.750,  $P$  值均小于 0.05)。A、C1 和 C2 组大鼠创面组织 Fb 中 IGF-I 出现阳性表达,各组大鼠肝脏组织中未出现 IGF-I 阳性表达。各组大鼠血清中 IGF-I 含量为 (1185 ± 170) ~ (1270 ± 130) ng/mL,差异无统计学意义 ( $F = 0.355, P = 0.838$ )。B、C1、C2 组大鼠创面组织中 HSV-tk 基因呈阳性表达。透射电镜显示 C2 组大鼠 Fb 出现凋亡, C1 组大鼠未见此现象。结论 利用脂质体将 pcDNA3.1/IGF-I 和 pcDNA3.1/HSV-tk 基因转染于烫伤大鼠创面周围,可促进创面愈合,对瘢痕增生有一定抑制作用。

**【关键词】** 烧伤; 胰岛素样生长因子 I; 单纯疱疹病毒属; 创面愈合; 基因治疗

**Study on cotransfection of genes of insulin-like growth factor I and herpes simplex virus thymidine kinase for optimization of wound healing** YANG Lei, WANG Jia-han, GAO Jian-hua. Department of Burns, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

**【Abstract】 Objective** To study the effect of cotransfection of genes of insulin-like growth factor I (IGF-I) and herpes simplex virus thymidine kinase (HSV-tk) on wound healing. **Methods** Thirty male Wistar rats were inflicted with 30% TBSA full-thickness scald. They were then divided into A group (4.6 μg pcDNA3.1/IGF-I + Lipofectmine 2000 + saline), B group (3.6 μg pcDNA3.1/HSV-tk + Lipofectmine 2000 + saline), C1 group and C2 group (2.3 μg pcDNA3.1/IGF-I + 1.8 μg pcDNA3.1/HSV-tk + Lipofectmine 2000 + saline), and D group (3.0 μg pcDNA3.1 + Lipofectmine 2000 + saline) according to the random number table, with 6 rats in each group. The above-mentioned mixtures were subcutaneously injected into left back of each rat the moment after injury and on post scald day (PSD) 7, 14, 21, and 28. Gancyclovir (2.5 mg/100 g) was hypodermically injected into rats in C2 group on PSD 29, 30, 31, 32. Changes in body weight of rats were measured. Wound healing rates were calculated. On PSD 35, the expressions of IGF-I gene in local wound and liver tissue were determined with immunohistochemical staining. The serum expression of IGF-I was determined with radioimmunoassay. Expression of HSV-tk gene in local wound was determined with RT-PCR. Apoptosis of fibroblast in C1 and C2 groups was observed under transmission electron microscope. Data were processed with one-way analysis of variance and Turkey method. **Results** Body weight of rats in A, C1, and C2 groups increased from PSD 7 through 35, and the

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2010.03.010

基金项目:广东省自然科学基金(9151051501000067);南方医院院长基金(2008B024)

作者单位:510515 广州,南方医科大学南方医院烧伤科(杨磊、王甲汉),整形科(高建华)

difference between former three groups and B, D groups was statistically significant (with  $F$  value respectively 2.764, 4.519, 5.009, 13.449, 5.877,  $P$  values all below 0.05). Wound healing rates of rats in A, C1, and C2 groups were higher than those in B, D groups (with  $F$  value respectively 5.286, 100.880, 152.380, 127.850, 147.750,  $P$  values all below 0.05). IGF- I gene was positively expressed in wound fibroblast in A, C1 and C2 groups, but negatively in liver tissues of all the rats. There was no significant statistical difference among groups in serum content of IGF- I [from  $(1185 \pm 170)$  to  $(1270 \pm 130)$  ng/mL,  $F = 0.355$ ,  $P = 0.838$ ]. HSV-tk gene was positively expressed in rat skin tissue in B, C1 and C2 groups. Fibroblast apoptosis was observed under transmission electron microscope in C2 group, but it was not observed in C1 group.

**Conclusions** Cotransfection of pcDNA3.1/IGF- I and pcDNA3.1/HSV-tk mediated by liposome can promote wound healing, and inhibit the scar proliferation to some extent.

**[Key words]** Burns; Insulin-like growth factor I; Simplexvirus; Wound healing; Gene therapy

创面愈合是烧伤研究的热点,如何既加速创面愈合又避免愈合后瘢痕增生,是临床亟待解决的问题。Branski 等<sup>[1]</sup>和 Dasu 等<sup>[2]</sup>用胰岛素样生长因子 I (IGF- I) 基因转移治疗烧伤创面,效果良好。国内烧伤领域的基因治疗研究尚不多见。本文拟采用 IGF- I、单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-tk)基因分别或联合转导烧伤创面,采用给药手段控制 Fb 的凋亡数量,以此抑制瘢痕的过度增生,拟在创面愈合领域的基因治疗方面做一尝试。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与载体

本课题组构建重组真核表达载体 pcDNA3.1/IGF- I 和 pcDNA3.1/HSV-tk<sup>[3-4]</sup>。脂质体 2000 (美国 Invitrogen 公司),羊抗 IGF- I 抗体(美国 Sigma 公司),辣根过氧化物酶标记兔抗羊 IgG (福州迈新生物技术开发有限公司),IGF- I 放射免疫检测(RIA)试剂盒(美国 DSL 公司),丙氧鸟苷(GCV,湖北科益药业股份有限公司),Trizol RNA 抽取试剂盒(美国 Gibco 公司),RT-PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司),DNA 聚合酶(美国 Promega 公司)。

### 1.2 实验分组与处理

健康雄性 Wistar 大鼠(南方医科大学实验动物中心)30 只,体质量  $(269 \pm 26)$  g,实验前 1 周置于清洁级实验环境中,单笼饲养。大鼠背部脱毛,全身麻醉后将其背部浸入 95 °C 水浴锅中 12 s,造成 30% TBSA III 度烫伤(经病理切片证实),伤后腹腔注射乳酸钠林格液(50 mL/kg)抗休克。按随机数字表法将大鼠分为 A、B、C1、C2、D 组,伤后即刻及 7、14、21、28 d 于大鼠左后背部创缘(距创面 0.5 cm)皮下注射下述脂质体和重组质粒的混合物,每次注射部位相同,混合物均于每次注射前新鲜配制。A 组,微量移液器移取 10  $\mu$ L 脂质体 2000 置于 Eppendorf 管中,加入室温下冻融的 4.6  $\mu$ g pcDNA3.1/IGF- I 2

$\mu$ L,轻轻振荡混匀 5 min,加入生理盐水 180  $\mu$ L,溶液呈淡乳色,振荡混合 20 min 静置后注射。B 组,将质粒替换为 3.6  $\mu$ g pcDNA3.1/HSV-tk,其余处理方法同 A 组。C1 组、C2 组,均将质粒替换为 2.3  $\mu$ g pcDNA3.1/IGF- I (1  $\mu$ L) + 1.8  $\mu$ g pcDNA3.1/HSV-tk(1  $\mu$ L),其余处理同 A 组,且 C2 组另于伤后 29、30、31、32 d 皮下注射 GCV(2.5 mg/100 g)。D 组,将质粒替换为 3.0  $\mu$ g pcDNA3.1,其余处理同 A 组。伤后 35 d 断头法处死大鼠,取心脏血,离心收集血清;迅速取注射点附近创面组织块 10 mm  $\times$  4 mm,及蚕豆样大小肝脏组织块,液氮速冻。组织块和血清标本冻存于 -70 °C 冰箱待检测。

### 1.3 检测指标

**1.3.1 大体观察及创面愈合率计算** 观察大鼠伤后每天的一般情况,每周称量体质量。计算创面愈合率[(原始创面面积 - 未愈合的创面面积)  $\div$  原始创面面积  $\times$  100%]。

**1.3.2 免疫组织化学法测定 IGF- I 在创面组织和肝脏组织中的表达** 组织块经生物素-链霉亲和素-过氧化物酶染色,光学显微镜下观察 IGF- I 在肝脏组织和创面组织中的表达。以阳性信号反映 IGF- I 的阳性表达。

**1.3.3 血清 IGF- I 水平** 按照 RIA 试剂盒(DSL-2900)说明书操作。批内变异、批间变异达要求范围。

**1.3.4 HSV-tk 基因在创面组织中表达** 采用 RT-PCR 检测 HSV-tk 基因在组织块中的表达。PCR 产物经 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳分析鉴定。上游引物:5'-GCAAGCTTATGGCTTCGTACCCCTGCCATCAACAC-GCGTCTGCGTTTCGAC-3',下游引物:5'-GCGAATTCT-CAGTTAGCCTCCCCATCTC-3',均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。PCR 条件:95 °C 变性 3 min、63 °C 15 s、70 °C 90 s,共进行 30 个循环。最后于 70 °C 充分延伸 5 min。

1.3.5 组织学观察创面组织中 Fb 的凋亡情况

选取 C1 组和 C2 组皮肤组织块,迅速修剪成 2 mm × 1 mm 大小,投入预冷的体积分数 2.5% 戊二醛中固定 8 h, PBS 漂洗 3 次,每次 15 min, 10 g/L 锇酸固定 1 h, 体积分数 50% ~ 100% 系列丙酮脱水各 15 min, 丙酮:树脂 1:1 置换 1 h, 1:2 置换 2 h, Spurr 纯树脂过夜, 70 °C 8 h, 超薄切片 70 nm, 铅铀染色, 透射电镜观察 Fb 的凋亡情况。

1.4 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件行单因素方差分析, 组间多重比较采用 Turkey 法。

2 结果

2.1 大体观察

伤后 1 d 各组大鼠精神状态、食欲稍差, 随后逐渐恢复正常。除 D 组 1 只大鼠于伤后 33 d 死亡外, 其余均存活。

2.2 大鼠体质量的变化

伤后 7、14、21、28、35 d, A、C1 和 C2 组大鼠体质量呈现增加的趋势, 与 B、D 组比较, 差异有统计学意义 ( $F$  值分别为 2.764、4.519、5.009、13.449、5.877,  $P$  值均小于 0.05)。见表 1。

2.3 创面愈合情况

A、C1 和 C2 组大鼠创面愈合较快, 与 B、D 组比

较, 差异具有统计学意义 ( $F$  值分别为 5.286、100.880、152.380、127.850、147.750,  $P$  值均小于 0.05)。见表 2。

2.4 创面组织和肝脏组织中 IGF-I 的表达

伤后 35 d, 各组大鼠创面 IGF-I 阳性信号主要表达在 Fb 胞质和细胞表面, 细胞外间质中也可见。A、C1 和 C2 组大鼠创面组织中 IGF-I 呈现强阳性表达 (图 1, 表 3), B、D 组大鼠表达缺失或呈弱阳性表达 (图 2, 表 3)。A、C1、C2 组与 B、D 组比较, 差异有统计学意义 ( $F = 185.780, P < 0.01$ )。IGF-I 在各组大鼠肝脏组织未见明显阳性表达 (图 3)。

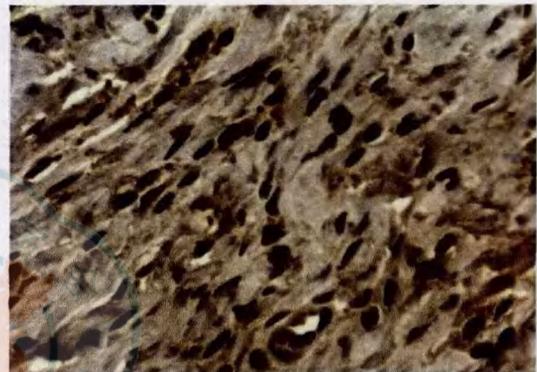


图 1 A 组大鼠 [注射 pcDNA3.1/胰岛素样生长因子 I (IGF-I) 与脂质体 2000、生理盐水的混合物] 伤后 35 d 皮肤 Fb 内 IGF-I 呈强阳性表达 生物素-链霉亲和素-过氧化物酶 × 400

表 1 各组大鼠伤后体质量的变化 (g,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	伤后时间					
		伤后即刻	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
A 组	6	250 ± 22	264 ± 18 <sup>a</sup>	283 ± 5 <sup>a</sup>	303 ± 20 <sup>a</sup>	314 ± 19 <sup>a</sup>	324 ± 20 <sup>a</sup>
B 组	6	289 ± 10	285 ± 21	280 ± 9	294 ± 16	295 ± 6	300 ± 26
C1 组	6	271 ± 16	277 ± 21 <sup>a</sup>	289 ± 22 <sup>a</sup>	295 ± 28 <sup>a</sup>	299 ± 14 <sup>a</sup>	305 ± 20 <sup>a</sup>
C2 组	6	285 ± 25	290 ± 15 <sup>a</sup>	298 ± 20 <sup>a</sup>	313 ± 19 <sup>a</sup>	319 ± 8 <sup>a</sup>	325 ± 11 <sup>a</sup>
D 组	6	271 ± 20	260 ± 20	261 ± 16	266 ± 6	270 ± 13	278 ± 18
$F$ 值		1.529	2.764	4.519	5.009	13.449	5.877

注: A、B、C1、C2、D 组大鼠均于伤后即刻至 28 d 注射脂质体 2000 与质粒载体的混合物, 质粒载体分别为 4.6 μg pcDNA3.1/胰岛素样生长因子 I (IGF-I)、3.6 μg pcDNA3.1/单纯疱疹病毒胸苷激酶 (HSV-tk)、2.3 μg pcDNA3.1/IGF-I + 1.8 μg pcDNA3.1/HSV-tk (C1、C2 组, 其中 C2 组另于伤后 29、30、31、32 d 皮下注射丙氧鸟苷)、3.0 μg pcDNA3.1; 与 B、D 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$

表 2 各组大鼠伤后创面愈合率的变化 (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	伤后时间					
		伤后即刻	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
A 组	6	0 ± 0	12 ± 3 <sup>a</sup>	25 ± 3 <sup>a</sup>	42 ± 3 <sup>a</sup>	52 ± 3 <sup>a</sup>	64 ± 3 <sup>a</sup>
B 组	6	0 ± 0	11 ± 3	14 ± 3	18 ± 3	32 ± 3	42 ± 3
C1 组	6	0 ± 0	14 ± 3 <sup>a</sup>	27 ± 3 <sup>a</sup>	40 ± 3 <sup>a</sup>	50 ± 3 <sup>a</sup>	61 ± 3 <sup>a</sup>
C2 组	6	0 ± 0	13 ± 3 <sup>a</sup>	25 ± 3 <sup>a</sup>	39 ± 4 <sup>a</sup>	54 ± 3 <sup>a</sup>	60 ± 3 <sup>a</sup>
D 组	6	0 ± 0	9 ± 3	11 ± 3	15 ± 3	34 ± 3	42 ± 3
$F$ 值		—	5.286	100.880	152.380	127.850	147.750

注: “—”表示无此项; A、B、C1、C2、D 组大鼠于伤后即刻至 28 d 注射脂质体 2000 与质粒载体的混合物, 质粒载体分别为 4.6 μg pcDNA3.1/胰岛素样生长因子 I (IGF-I)、3.6 μg pcDNA3.1/单纯疱疹病毒胸苷激酶 (HSV-tk)、2.3 μg pcDNA3.1/IGF-I + 1.8 μg pcDNA3.1/HSV-tk (C1、C2 组, 其中 C2 组另于伤后 29、30、31、32 d 皮下注射丙氧鸟苷)、3.0 μg pcDNA3.1; 与 B、D 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$



图 2 B 组大鼠(注射 pcDNA3.1/单纯疱疹病毒胸苷激酶与脂质体 2000、生理盐水的混合物)伤后 35 d 皮肤 Fb 内胰岛素样生长因子 I 呈阴性表达 生物素-链霉亲和素-过氧化物酶 × 100

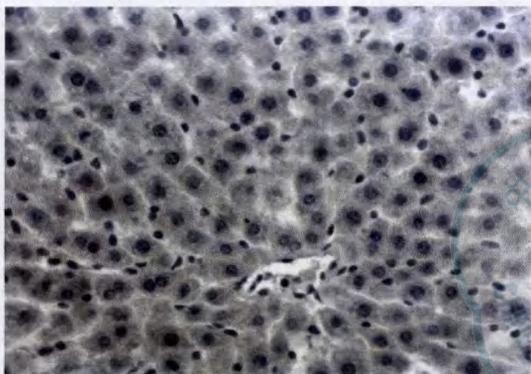


图 3 A 组大鼠[注射 pcDNA3.1/胰岛素样生长因子 I (IGF-I)与脂质体 2000、生理盐水的混合物]伤后 35 d 肝脏组织中 IGF-I 呈阳性表达 生物素-链霉亲和素-过氧化物酶 × 200

### 2.5 各组大鼠血清中 IGF-I 含量的变化

各组大鼠血清 IGF-I 含量比较,差异无统计学意义 ( $F = 0.355, P = 0.838$ ),见表 3。

表 3 各组大鼠创面组织中 IGF-I 蛋白定量结果和血清中 IGF-I 含量变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	阳性单位	IGF-I (ng/mL)
A 组	6	45.4 ± 2.3 <sup>a</sup>	1245 ± 128
B 组	6	20.9 ± 1.7	1220 ± 98
C1 组	6	43.8 ± 3.1 <sup>a</sup>	1270 ± 130
C2 组	6	47.0 ± 1.2 <sup>a</sup>	1207 ± 145
D 组	6	23.4 ± 2.7	1185 ± 170
F 值		185.780	0.355

注:A、B、C1、C2、D 组大鼠均注射脂质体 2000 与质粒载体的混合物,质粒载体分别为 4.6 μg pcDNA3.1/胰岛素样生长因子 I (IGF-I)、3.6 μg pcDNA3.1/单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-tk)、2.3 μg pcDNA3.1/IGF-I + 1.8 μg pcDNA3.1/HSV-tk (C1、C2 组,其中 C2 组另于伤后 29、30、31、32 d 皮下注射丙氧鸟苷)、3.0 μg pcDNA3.1;与 B、D 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$

### 2.6 HSV-tk 基因 RT-PCR 检测结果

B、C1 和 C2 组大鼠创面组织标本经 RT-PCR 检测,可见大小约 1300 bp 的条带,与阳性对照大小一

致,而 A 组及 D 组未见阳性条带。见图 4。



图 4 B 组大鼠[注射脂质体 2000 与 3.6 μg pcDNA3.1/单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-tk)]HSV-tk 基因表达的 RT-PCR 检测结果。1. DNA marker Lambda Hind III/EcoR I; 2. B 组大鼠创面组织块; 3. 原核质粒 pUC HSV-tk(阳性对照); 4. 阴性对照

### 2.7 GCV 促进表达 HSV-tk 基因的 Fb 凋亡

透射电镜观察到,C1 组大鼠创面组织中可见正常 Fb,细胞结构完整,未见细胞凋亡改变(图 5)。C2 组大鼠创面组织中 Fb 呈现凋亡形态改变,细胞核固缩深染,细胞膜完整,细胞质浓缩(图 6)。

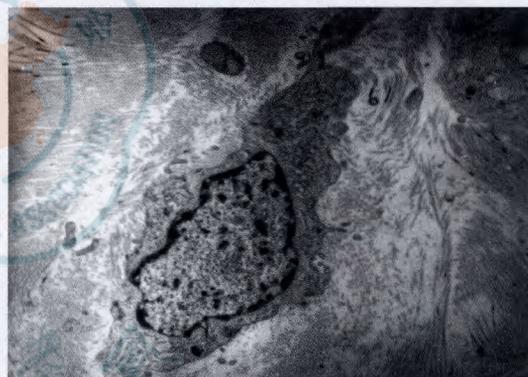


图 5 C1 组大鼠(注射 pcDNA3.1/胰岛素样生长因子 I + pcDNA3.1/单纯疱疹病毒胸苷激酶、生理盐水的混合物)创面周围组织中可见正常 Fb,呈长梭形,细胞膜完整,有伪足,胞质内可见粗面内质网 透射电镜 × 5000

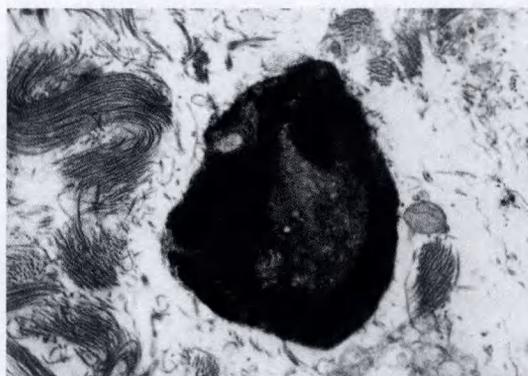


图 6 C2 组大鼠(注射 pcDNA3.1/胰岛素样生长因子 I + pcDNA3.1/单纯疱疹病毒胸苷激酶、生理盐水的混合物后,再加注丙氧鸟苷)皮肤组织中 Fb 细胞核固缩深染,细胞膜完整,细胞质浓缩 透射电镜 × 10 000

### 3 讨论

烧伤可使机体通过释放 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等炎性因子介导炎症反应,导致烧伤后高代谢,这种高代谢状态以烧伤患者的心排血量增高、氧耗增加以及蛋白质和脂肪的消耗为特征,从而延缓了创面愈合过程<sup>[5-6]</sup>。IGF- I 是一种合成代谢的生长因子,能够在机体高代谢状态下介导生长激素的作用,减轻机体成分的丢失、增强免疫系统功能、减轻急性期反应并加速烧伤创面愈合<sup>[7]</sup>。Fb 和角质细胞上具有 IGF- I 受体,可介导 IGF- I 的刺激,引起细胞的分裂、增殖,从而加速创面愈合。然而,IGF- I 的系统应用可引起低血糖、水电解质紊乱、精神状态改变、水肿、疲劳及头痛等不良反应,甚至导致患者死亡<sup>[8]</sup>,因此限制了其在烧伤治疗中的应用。

瘢痕增生是烧伤创面愈合过程中急需解决的另一重要问题。近年来细胞生物学和分子生物学研究表明,瘢痕的过度增生是由于 Fb 凋亡不足、胶原合成过度造成的。由此提示:创面愈合过程中,通过人为方式有效控制 Fb 的数量与功能,进而对胶原合成加以调控,有可能成为促进创面愈合并抑制瘢痕增生的有效手段。

用 IGF- I 和 HSV-tk 基因共转染大鼠创面,是为让不同的基因发挥各自的作用;IGF- I 基因转染可发挥对创面愈合的促进作用;HSV-tk 基因转染对创面愈合无作用,但是在适当的时间给予药物 GCV 后可使表达 HSV-tk 基因的 Fb 发生凋亡,从而通过人为干预抑制 Fb 的过度增殖。本研究中,笔者对 C1 组和 C2 组大鼠行 IGF- I 和 HSV-tk 基因联合转导,伤后 5 周内 2 组大鼠创面愈合率与单用 IGF- I 的 A 组相近,但较空载体(D 组)或转导 pcDNA3.1/HSV-tk 大鼠(B 组)创面愈合率显著加快。伤后 29 ~ 32 d C2 组大鼠注射 GCV 后,透射电镜观察到典型的 Fb 凋亡现象,而未用 GCV 的 C1 组无此现象。这一结果表明,联合应用 IGF- I 与 HSV-tk 基因共转染对于 IGF- I 基因的效用无影响;HSV-tk 基因转移在应用 GCV 后效用才会发挥。

笔者采用免疫组织化学法检测到,注射 IGF- I 重组质粒的大鼠(A、C1 和 C2 组)注射点附近的组织中出现 IGF- I 蛋白阳性表达,证实了 IGF- I 基因的瞬时表达可以导致注射点附近区域的蛋白表达。与空载体组比较,A、C1、C2 组大鼠创面愈合率明显增加,说明脂质体介导的 IGF- I 基因转移可以促进烧伤创面上皮化,进而促进创面愈合。从结果可以

推测随着脂质体复合物浓度的增加及创缘注射部位的增多,创面区域转染细胞的数量、基因表达水平均增高,从而产生更好的效应。

本研究未观察到组间血清 IGF- I 水平的差异,免疫组织化学染色未观察到肝细胞有 IGF- I 的阳性表达,说明创面局部的基因治疗不会影响血循环中 IGF- I 水平,不会产生 IGF- I 系统应用引起的不良反应。伤后早期封闭创面可以减轻伤后的高代谢状态,减少 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等炎性因子的释放,因此可以推测我们观察到的 IGF- I 基因转染组大鼠(A、C1 和 C2 组)伤后体质量未出现下降现象,是通过促进创面愈合、减轻伤后的高代谢状态、减少炎性因子的释放而实现的,并非因血液中 IGF- I 蛋白的变化所致。

我们在本研究中通过 RT-PCR 技术检测到在注射 HSV-tk 基因的大鼠(B、C1 和 C2 组)组织中表达该基因,并通过透射电镜观察到 C2 组大鼠注射 GCV 后 Fb 出现凋亡现象,这一结果说明可在创面愈合的一定阶段采用 HSV-tk/GCV 系统来调控 Fb 凋亡,从而控制瘢痕增生。

### 参考文献

- [1] Branski LK, Gauglitz GG, Herndon DN, et al. A review of gene and stem cell therapy in cutaneous wound healing. *Burns*, 2009, 35(2):171-180.
- [2] Dasu MR, Herndon DN, Nestic O, et al. IGF- I gene transfer effects on inflammatory elements present after thermal trauma. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003, 285(4):R741-746.
- [3] 杨磊, 高建华, 王甲汉. 单纯疱疹病毒胸苷激酶基因重组真核表达载体的构建及在烫伤大鼠皮肤组织中的表达. *中国临床康复*, 2006, 10(12):95-97.
- [4] 杨磊, 高建华, 王颖, 等. I 型胰岛素样生长因子重组真核表达载体的构建及在烫伤大鼠皮肤中的表达. *中国临床康复*, 2006, 10(20):89-91.
- [5] Jeschke MG, Finnerty CC, Kulp GA, et al. Combination of recombinant human growth hormone and propranolol decreases hypermetabolism and inflammation in severely burned children. *Pediatr Crit Care Med*, 2008, 9(2):209-216.
- [6] Akita S, Akino K, Imaizumi T, et al. Basic fibroblast growth factor accelerates and improves second-degree burn wound healing. *Wound Repair Regen*, 2008, 16(5):635-641.
- [7] Spies M, Nestic O, Barrow RE, et al. Liposomal IGF- I gene transfer modulates pro- and anti-inflammatory cytokine mRNA expression in the burn wound. *Gene Ther*, 2001, 8(18):1409-1415.
- [8] Jeschke MG, Klein D. Liposomal gene transfer of multiple genes is more effective than gene transfer of a single gene. *Gene Ther*, 2004, 11(10):847-855.

(收稿日期:2009-09-29)

(本文编辑:莫恩)