维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2006年第15卷第6期
J Regional Anst & OPerative Surg, 2006, Vol.15, No.6

基因治疗在肌腱愈合中的应用

Gene therapy in tendon healing

陈 钢,张正治 (第三军医大学高原医学系中心实验室,重庆 400038)

[关键词] 基因治疗;肌腱愈合;载体
[中图分类号] R827.15;R687.2 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2006)06-0416-02

肌腱损伤修复后,常因肌腱粘连而导致功能障碍,这是目前尚未解决的一个难题。随着分子生物学理论的发展,人们对生物组织中部分基因的调控、表达和蛋白质的合成过程,以及在肌腱愈合过程中对肌腱的形态和生物力学特性的影响有了一定的认识[1]。对肌腱愈合机制的研究已经进入基因水平。本文就这方面的研究进展进行综述。

1 基因治疗概述

基因治疗就是将外源基因导入靶细胞并有效表达,从而达到治疗疾病的目的。根据对宿主病变细胞基因采取的措施不同,基因治疗分为基因置换,基因修正,基因增量和基因失活。在基因治疗中,载体和转移方法是比较重要的两个问题。

1.1 载体

基因治疗的载体包括病毒载体和非病毒载体。其中病毒载体有腺病毒载体、反转录病毒载体、腺伴随病毒载体、单纯疱疹病毒载体、慢病毒载体。非病毒载体包括质粒,肽,阳离子脂质体,聚合物 DNA 复合体,裸露 DNA,基因枪等。

1.2 转移方法

基因治疗分为全身基因治疗和局部基因治疗。前者是将目的基因直接通过体循环到达治疗区域,或是把目的基因导入到体内细胞中,表达产物释放后随循环到达全身多处区域。后者是把目的基因直接导入局部受累组织的细胞中,表达产物起局部治疗作用。局部法可获得高浓度的表达产物,安全性好,是肌腱愈合研究中的首选方法[2]。局部基因治疗又分为体内疗法和体外疗法。体内疗法是把重组载体直接注入体内后,载体感染局部组织细胞并通过合成、分泌基因产物起治疗作用。体外疗法是首先获取宿主某组织细胞,培养后用重组载体转导/转染这些细胞并植回宿主体内,通过表达产物而起治疗作用。这两种方法的选择决定于靶器官的解剖与生理学,疾病的病理生理学,载体的选择,安全因素以及其他变量的考虑[3]。目前,这两种方法都被应用于肌腱的研究中[2]。

2 肌腱愈合中的基因治疗

2.1 肌腱愈合的特点

2.1.1 肌腱愈合的机制 近年来的研究表明,肌腱有外源性愈合和内源性愈合两种机制。外源性愈合是腱鞘和腱周滑膜的成纤维细胞、炎症细胞和滑膜细胞侵入愈合的部位,最终将导致瘢痕的形成和肌腱与周围组织的粘连。内源性愈合则是由肌腱内部的成纤维细胞和炎症细胞所介导,主要促进肌腱断端的愈合[1]。在外源性愈合过程中,成纤维细胞的迁移、胶原基质的沉积和纤维组织的收缩是粘连形成的主要机制[4]。因此,如何控制外源性愈合、促进内源性愈合,是减少肌腱粘连的重要途径,也是当前大多数学者解决肌腱粘连问题和提高肌腱愈合质量所努力的方向[1]。

2.1.2 肌腱愈合的过程 肌腱愈合可大致分为炎症期、增殖期和重建期。①炎症期:最初的 24 h 内,红细胞、炎症细胞、血小板等移行进入损伤位点。单核细胞和巨噬细胞开始吞噬坏死的组织。血管因子和趋化因子被释放,它们增强了血管通透性,促进了血管发生和肌腱细胞的增殖,并且营养了肌腱成纤维细胞,促进了胶原合成与沉积[5]。②增殖期:损伤后几天,肌腱成纤维细胞合成大量的胶原和其他细胞外基质成分如蛋白聚糖,并且沉积在损伤的部位。③重建期:开始于大约损伤后第六周,细胞和胶原含量都减少,氨基葡聚糖合成。重建期可以分成固结阶段和成熟阶段。在固结阶段,Ⅰ型胶原大量合成,胶原纤维和腱细胞顺着应力的方向成线性排列,肌腱和周围组织的粘连变得更加显著。十周后,胶原组织逐渐向瘢痕样的肌腱组织改变,并持续大约一年,这就是成熟阶段[5]。在肌腱愈合的过程中,成纤维细胞是纤维化反应的主要细胞。早期成纤维细胞的增生促进了肌腱愈合,而后期成纤维细胞的过度增生和基质合成又引起了肌腱粘连。因此,如果在肌腱愈合的后期减少成纤维细胞的来源或使其向其他细胞表型转化就有可能减轻肌腱粘连的形成。

2.2 基因治疗的可行性

随着基因治疗技术的深入研究和在许多领域的应用,它在肌腱愈合中应用的可行性受到越来越多学者的关注。Lou 等[6]将 LacZ 基因注入鸡趾肌腱腱鞘内,结果显示肌腱和腱鞘均有基因表达。Dai 等[7]将带有 Lac 基因的重组腺病毒载体注入了鼠跟腱的横断位点,在注射后的 17 d 内都检测到了 β-半乳糖苷酶的表达。Mehta 等[8]将表达 GFP 和 BMP-13 的重组腺病毒注入新西兰白兔屈肌腱,结果基因程剂量依赖性表达。Ozkan 等[9]对动脉内注射日本血凝病毒(HVJ)-脂质体来转染髌腱细胞,结果显示髌腱伤口处 8%~12%的细胞在注射后头两周 β-半乳糖苷酶程阳性,注射后 56 d 有大约 0.7%的细胞 β-半乳糖苷酶程阳性。以上研究表明,基因治疗完全可以应用于肌腱损伤治疗的

[收稿日期] 2006-09-20 [修回日期] 2006-10-04

维普资讯 http://www.cqvip.com

研究中。利用体内和体外疗法可使基因持续表达约6周,能满足临床治疗的要求。

2.3 基因治疗的应用

许多研究发现,生长因子能促进损伤后肌腱修复并减少术后粘连,但外源性生长因子代谢快,不能在创面持续维持高浓度。基因治疗技术能将生长因子基因转入肌腱细胞,转基因肌腱细胞能持续、高效地分泌生长因子,在局部维持高浓度,促进损伤肌腱细胞的修复。Nakamura 等[10]将 PDGF-βcDNA 的 HVJ-脂质体直接注入大鼠髌腱损伤处,结果出现 PDGF 长达4周的过量表达,使血管形成及胶原沉积明显增加。Lou 等[11]用腺病毒连接 BMP-12 基因转染鸡的肌腱细胞导致Ⅰ型胶原的合成增加。Wang 等[12]将 bFGF 基因的腺伴随病毒(AVV)载体转入鼠屈肌腱培养细胞中,结果 bFGF 和Ⅰ、Ⅲ胶原基因的表达显著的增加。许多研究证明了基因治疗在肌腱愈合中的可行性,而且肌腱的愈合环境也能在短期内被调控,这为损伤肌腱的修复带来了一条全新的道路。

3 展望

基因治疗的深入研究让人们对取得良好的肌腱愈合充满了希望。但是真正能证明这些因子能促进愈合肌腱功能提高的报告却很少,因此肌腱愈合还未取得突破性进展。近年来,一些新基因的发现给肌腱愈合带来了曙光。如 Synoviolin 新基因,它只在滑膜细胞中表达,当在滑膜细胞中过表达时,能使滑膜细胞过度生长和增殖。如果将 Synoviolin 基因转入 FLS 和滑膜细胞将有可能实现无滑膜肌腱滑膜化,从而有效防止粘连的发生。随着基因治疗技术的不断发展,随着研究的深入,肌腱的愈合将有望达到一个满意的效果。

[参考文献]

[1] Beredjiklian PK. Biologic aspects of flexor tendon laceration and repair [J]. J Bone Joint Surg Am,2003,85-A(3):539-550.

[2] Luo J, Mass DP, Phillips CS, et al. The future of flexor tendon surgery [J]. Hand Clin,2005,21(2):267-273.

[3] Evans CH, Robbins PD. Possible orthopaedic applications of gene therapy[J]. J Bone Joint Surg,1995, 77(7):1103-1114.

[4] Ragoowansi R, Khan U, Brown RA, et al. Differences in morphology, cytoskeletal architecture and protease production between zone II tendon and synovial fibroblasts in vitro[J]. J Hand Surg Br,2003,28 (5):465-470.

[5] Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair[J]. J Bone Joint Surg Am,2005,87(1):187-202.

[6] Lou J, Manske PR, Aoki M, et al. Adenovirus-mediated gene transfer into tendon and tendon sheath[J]. J Orthop Res,1996,14(4): 513-517.

[7] Dai Q, Manfield L, Wang Y, et al. Adenovirus-mediated gene transfer to healing tendon - enhanced efficiency using a gelatin sponge[J]. J Orthop Res,2003,21(4): 604-609.

[8] Mehta V, Kang Q, Luo J,et al. Characterization of adenovirus-mediated gene transfer in rabbit flexor tendons[J]. J Hand Surg Am, 2005,30 (1):136-141.

[9] Ozkan I, Shino K, Nakamura N, et al. Direct in vivo gene transfer to healing rat patellar ligament by intra-arterial delivery of haemagglutinating virus of Japan liposomes[J]. Eur J Clin Invest, 1999,29(1): 63-67.

[10] Nakamura N, Shino K, Natsuume T, et al. Early biological effect of in vivo gene transfer of platelet-derived growth factor (PDGF)-B into healing patellar ligament[J]. Gene Ther,1998,5(9): 1165-1170.

[11] Lou J, Tu Y, Burns M, et al. BMP-12 gene transfer augmentation of lacerated tendon repair[J]. J Orthop Res, 2001,19(6): 1199-1202.

[12] Wang XT, Liu PY, Xin KQ, et al. Tendon healing in vitro: bFGF gene transfer to tenocytes by adeno -associated viral vectors promotes expression of collagen genes[J]. J Hand Surg Am,2005,30(6):1255-1261.

(编辑:兰阳军)

(上接397页)

会介绍如下。

1 临床资料

无痛苦小肠镜检查5例,其中女2例,男3例,年龄52~56岁。均以"上消化道出血"拟行小肠镜检查,经口检查3例,经肛门检查2例,5例病人均无特殊病史。检查时间平均为56 min。

2 护理配合

查对患者禁食、禁饮情况,协助麻醉医生为患者接好血压、心电图、氧饱和度监测,给予鼻导管吸氧(2 L/min),建立好静脉输液通道,协助患者取左侧卧位后,缓慢静脉推注力月西3 mg或0.04~0.06 mg/kg让患者入睡,再用得普利麻130~150 mg/h或1.0~2.0 mg/kg恒速泵注维持,若有体动或血压升高时,快速推注丙泊酚2~5 ml即可。检查结束,肠镜缓慢退至回盲部时方可停药,停药后平均8 min患者清醒,送回病房。随访患者对检查全过程均无记忆。

3 体会

检查前充分准备,检查中严密观察是确保患者安全的前提。患者年龄偏大,由于检查镜外套较粗,经口检查刺激较大,麻醉负荷剂量大,一旦追加药量,意识丧失,加上丙泊酚呼吸抑制的副作用,应备好急救器材和药品等。检查时给予鼻导管吸氧,必要时面罩给氧。针对患者对检查不了解,担心麻醉后不能正常恢复的心理,检查前向患者耐心解释操作步骤、麻醉用药及检查中的监护情况,缓解患者紧张情绪,使患者主动配合检查。通常选择较大的血管进行穿刺输液,丙泊酚对血管有刺激反应,为了减少病人疼痛,采取利多卡因20:1混合,5%葡萄糖液稀释,5例患者均无疼痛和静脉反应。确保患者检查安全,密切配合是检查成功的关键。若遇临时医嘱,需复诵一遍再使用,并与麻醉医生查对药品后再执行。

(编辑:朱志立)