

- peri- and post-menopausal women taking food supplements containing isolated isoflavones [J]. *Efsa J*, 2016, 13 (10):4246.
- [20] Granese R, Bitto A, Polito F, et al. Genistein reduces angiogenesis and apoptosis in women with endometrial hyperplasia[J]. *Botanics*, 2015, 5:27-32.
- [21] Dolapcioglu K, Boz A, Baloglu A. The efficacy of intrauterine versus oral progestin for the treatment of endometrial hyperplasia. A prospective randomized comparative study[J]. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 2013, 40 (1): 122-126.
- [22] Orbo A, Arnes M, Vereide A B, et al. Relapse risk of endometrial hyperplasia after treatment with the levonorgestrel-impregnated intrauterine system or oral progestogens[J]. *BJOG*, 2016, 123(9):1512-1519.
- [23] Gallos ID, Krishan P, Shehmar M, et al. LNG-IUS versus oral progestogen treatment for endometrial hyperplasia: a long-term comparative cohort study[J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(11):2966-2971.
- [24] Robert L, Giuntoli II, Howard AZ. Management of endometrial hyperplasia [EB/OL]. [2016-03-07]. <https://www.uptodate.com/contents/zh-Hans/management-of-endometrial-hyperplasia>. doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.34.040
- endometrial-hyperplasia.
- [25] Vilos GA, Oraif A, Vilos AG, et al. Long-term clinical outcomes following resectoscopic endometrial ablation of non-atypical endometrial hyperplasia in women with abnormal uterine bleeding[J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2015, 22(1):66-77.
- [26] Baek JS, Lee WH, Kang WD, et al. Fertility-preserving treatment in complex atypical hyperplasia and early endometrial cancer in young women with oral progestin: Is it effective? [J]. *Obstet Gynecol Sci*, 2016, 59(1):24-31.
- [27] Shan W, Wang C, Zhang Z, et al. Conservative therapy with metformin plus megestrol acetate for endometrial atypical hyperplasia[J]. *J Gynecol Oncol*, 2014, 25 (3): 214-220.
- [28] Gallos ID, Yap J, Rajkhowa M, et al. Regression, relapse, and live birth rates with fertility-sparing therapy for endometrial cancer and atypical complex endometrial hyperplasia: a systematic review and metaanalysis[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2012, 207(4):261-266.

(收稿日期:2017-08-22 修回日期:2017-09-21)

生物治疗在下肢缺血性疾病中的应用

龙刚综述,黄文[△]审校

(重庆医科大学附属第一医院血管外科 400016)

[关键词] 下肢缺血性疾病;生物治疗;细胞治疗;生长因子

[中图分类号] R543

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)34-4865-03

下肢缺血性疾病是可以导致患者截肢甚至死亡的严重疾病,主要包括下肢动脉硬化性闭塞症、血栓闭塞性脉管炎(Buerger's病)、糖尿病肢体动脉闭塞症等,大多是继发于动脉粥样硬化、动静脉栓塞或血栓形成、糖尿病等,具有发病率、致残率和致死率高等特点^[1]。其病因可能与饮食的摄入、吸烟、血液的高凝状态、血糖异常波动等相关,而发病机制目前尚未明确,可能与非特异性炎症介质介导的血管炎症有关^[2]。目前的主要治疗手段有扩血管药物治疗、手术和微创介入重建血管等^[3]。但上述传统治疗手段对严重血管病变尤其是无流出道的膝下病变治疗效果欠佳,以“血管新生”为基础的生物治疗为下肢缺血性疾病的临床研究提供了新的方向^[4]。目前对于下肢缺血性疾病的生物治疗大致分为细胞治疗和生长因子治疗。

1 细胞治疗

1.1 脐血干细胞治疗 脐血干细胞是一类以分化潜能为特点的祖细胞,具有形成集落、增殖、分化的能力,由于脐血免疫原性较弱,使其不易被免疫排斥、能够在体内长期存活。脐血干细胞可诱导分化成内皮祖细胞并分泌多种细胞因子对缺血肢体内的新生血管形成有促进作用,可改善肢体血流。对患有Buerger's病的下肢进行脐血干细胞移植治疗,效果显示疼痛症状明显缓解,皮肤溃疡愈合,远端血管造影显示大量毛细血

管形成^[5]。有人将脐血干细胞应用于有缺血、溃疡的模型,证实来源于脐血的内皮前体细胞参与新生血管形成^[6]。有研究将人脐血干细胞注射在下肢缺血患者肌肉的多个部位,发现其可改善冰凉、疼痛等症状^[7]。但脐血干细胞移植技术仍存在一些问题:(1)无统一的标准以便于提取更高纯度内皮祖细胞;(2)其相应纳入标准及剂量和疗程需量化及规范;(3)其祖细胞向目的细胞的转化、增殖与分化机制尚不明确,且增殖的程度和速度无法控制^[8]。

1.2 外周血干细胞治疗 外周血干细胞是指游离在循环血中的干细胞,其不但能多向分化还能不断更新。存在于其中的祖细胞被定向诱导后可以分化为内皮细胞^[9]。将其注射于缺血组织后,内皮祖细胞局部的高浓度有利于其存活,而低氧的组织环境有助于提高内皮祖细胞的增殖分化能力促进血管新生效应^[10]。有学者将外周血干细胞移植于有下肢缺血性溃疡形成的肢体中,观察疗效显示大部分患肢症状好转^[11]。黄平等^[12]将该细胞移植技术应用于下肢动脉硬化闭塞症患者,结果患肢相应缺血症状好转,踝肱指数上升且影像学提示有新生血管形成。有研究使用此法治疗缺血性下肢血管病明确了该移植技术可明显改善缺血患肢的微循环情况^[13]。但外周血干细胞移植具体机制尚未明确,未分化干细胞可能在该部位非定

向分化或过量堆积而形成瘤样组织,远期是否存在致瘤性、致突变等不良反应,其对应的存活、增殖转化情况及移植后效果评价有待解决^[14]。

1.3 骨髓间充质干细胞治疗 骨髓间充质干细胞也具有一定多向分化的能力。2002 年 Tateishi-Yuyama 等^[15]于临床上使用此干细胞针对下肢缺血性疾病的移植治疗,并取得成功。国内有专家应用此移植技术治疗糖尿病足,结果发现缺血下肢有新生侧支血管形成,患肢的缺血症状缓解^[16]。国外有研究表明,骨髓干细胞通过改善组织灌注在治疗重症下肢缺血中具有良好的效果^[17]。其作用机制可能为在组织缺损及相对缺血缺氧条件下可启动特异性基因表达,分泌细胞因子及相关蛋白,使间充质干细胞不断分化^[18]。骨髓间充质干细胞移植目前同样存在缺乏客观的指标及有效的疗效评价体系等问题^[19]。

2 生长因子治疗

2.1 血管内皮细胞生长因子(VEGF)治疗 VEGF 能作用于血管内皮细胞诱导血管生成,在血管发生和血管形成过程中起重要作用,多种促血管生长因子如血小板源性生长因子、间质细胞源性因子、肿瘤坏死因子等通过增强 VEGF 的表达起作用^[20]。根据作用方式的不同可分为 VEGF 蛋白治疗与 VEGF 基因治疗。VEGF 蛋白治疗是利用 VEGF 蛋白制剂根据治疗需要反复多次给药,不但价格昂贵而且需反复多次操作,但随着基因技术的不断发展和探索,使用载体维持 VEGF 有效浓度促进血管新生得以应用。Sun 等^[21]采用特殊的方法将 VEGF 混入特制的可降解复合材料中置于下肢缺血模型中,最终缓释的 VEGF 血管生成作用得到肯定。VEGF 基因治疗则是将含有 VEGF 的活性基因片段导入目的细胞中进行治疗。Tsurumi 等^[22]直接将 VEGF 基因导入动物下肢缺血模型中,发现大量的新生血管形成且局部组织存在目的基因及相关蛋白表达。VEGF 有很强的诱导新生血管形成的作用,但临床应用中存在量效和时效的局限性^[23];它不但能增加血管通透性导致组织水肿,还可能引发或加重肿瘤、增殖性视网膜病变等^[24]。

2.2 成纤维细胞生长因子(FGF)治疗 FGF 主要以碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和酸性成纤维细胞生长因子(eFGF)为主,而 bFGF 的作用大于 eFGF。bFGF 对不同来源的细胞其促进增殖及分化效果不同,其中中胚层细胞效率最高。能够有效地诱导核细胞分化为目的细胞,从而促进新生血管形成^[25]。bFGF 可促进缺血组织的血管再生,Baffour 等^[26]发现在缺血组织注入 bFGF 后,缺血组织活力明显改善,新生的毛细血管数量也显著增加,不但增加了缺血组织的血液灌注量,而且也加快了组织微血管再生。但 bFGF 可以诱导内皮细胞新生,还能诱发其他血管细胞的病理性增殖从而导致进一步狭窄、肿瘤形成,同时可引起血压下降、血红蛋白降低、肾脏疾病等^[27]。

2.3 肝细胞生长因子(HGF)治疗 HGF 又称离散因子(scatter factor),属纤溶酶原相关性生长因子(PRGF)家族中的一种可溶性细胞因子,由间质细胞合成分泌,通过不同分泌方式对组织及细胞起作用。HGF 是间质和上皮/内皮细胞间相互作用的重要信息分子,对胚胎发育、组织器官再生、伤口愈合和血管发生起重要的调节作用^[28]。HGF 促进血管生成是通过促进血管内皮细胞迁移和刺激血管平滑肌细胞而起作用,因其不刺激平滑肌细胞增殖故可防止内膜所致管腔狭窄^[29]。

HGF 受体是由 A、B 亚基组成的异二聚体蛋白,它与受体 c-Met 结合后通过激活如 Ras/RAF、PI3K/AKT/mTOR、JAK/STAT、Crk/C3G/Rap1 等促进血管生成,还可以通过上调 VEGF、FGF、NO 等间接地参与血管的生成^[30]。但是 HGF 仍然存在在体内持续时间短、有效浓度不稳定等劣势,限制了其进一步的发展。基因转染可有效解决这一劣势,其载体主要包括病毒与非病毒载体,病毒载体通过整合靶基因或与宿主基因融合表达目的基因,但存在安全性、转导成功率低等问题^[31]。非病毒载体中脂质体因带电荷与相应物质发生反应后半衰期缩短^[32],且与靶细胞结合后易引起免疫反应或被降解^[33],多聚物载体潜在毒性和效率问题,目前仍在研究中。质粒 DNA 载体删除与人基因组可能同源的序列,以及在哺乳动物细胞中表达所不需要的序列,不与宿主基因整合,随着宿主染色体复制而复制^[34],随细胞分裂而分离到子代细胞中,其携带的目的基因可持续表达,故而质粒载体具有安全性好、体内维持时间长的优点^[35]。含 HGF 基因的重组质粒 pUDK-HGF 能够有效转移于完全缺血和部分缺血的肢体肌肉组织,重组质粒转染横纹肌细胞后,可利用横纹肌细胞的蛋白合成系统,合成和分泌具有促进血管生长作用的 HGF 蛋白分子,诱导阻塞的动脉外膜表面的毛细血管萌芽出新血管,逐渐扩大连接到远端动脉^[36-37],从而形成新生血管并建立侧支循环。有研究使用含有人 HGF 基因的载体注射于下肢缺血的动物模型中,结果显示在缺血区域存在目的蛋白且该区域有大量血管新生^[38],证实载体与目的蛋白存在量效关系。与 VEGF、FGF 相比,HGF 不但具有抗炎抗氧化、促进血管新生,而且能够抑制炎症、水肿和细胞衰老。pUDK-HGF 有抗纤维化作用,能减少组织再生障碍,而 VEGF 和 FGF 能诱导组织纤维化,加重组织再生障碍。pUDK-HGF 刺激产生的新生血管成熟较早,避免了向基质中释放血细胞起源的其他细胞,HGF 在其促进血管生成活性方面比 VEGF 及 bFGF 更强且更安全^[39-40]。目前关于 pUDK-HGF 注射液的 I 期临床研究结果表明 pUDK-HGF 对肢体缺血组织血管生成有促进作用^[41]。pUDK-HGF 注射液的 II 期临床研究已基本结束,结果显示对于肢体缺血性疾病有治疗作用。所以,pUDK-HGF 在治疗下肢缺血性疾病上不但减少细胞治疗带来的增殖、分化、突变、致瘤等风险,而且较单纯的生长因子治疗更有优越性。

下肢缺血性疾病治疗正从传统的药物、手术治疗逐渐转变到生物基因治疗。在生物治疗中干细胞有多向分化的能力并对血管形成有促进作用^[42],但其增殖与分化机制、移植后的疗效及肿瘤效应还需进一步探索。生长因子能够诱导血管生成,也可能引发增殖性疾病、加重血管狭窄且可能合并半衰期短及有效浓度不稳定等问题存在。通过基因转染技术及质粒载体技术解决了生长因子半衰期及有效浓度维持的问题,可促进其应用。干细胞移植治疗及生长因子注射治疗有单独或联合应用于临床的潜力^[43],可能成为有效治疗下肢缺血性疾病的新途径。

参考文献

- [1] 彭锦辉,朱伟东,钱齐荣. Wnt 信号通路在下肢缺血性疾病中的研究进展[J]. 康复学报,2016,26(3):54-58.
- [2] 秦传子,马军,姜维良. NLRP3 炎症小体在血栓闭塞性脉管炎发病机制中的作用研究进展[J]. 疑难病杂志,2017,16(4):415-418.

- [3] Giles KA, Pomposelli FB, Spence TL, et al. Infrapopliteal angioplasty for critical limb ischemia; relation of transatlantic intersociety consensus class to outcome in 176 limbs [J]. *J Vasc Surg*, 2008(48):128-136.
- [4] Wang ZW, Dabrosin C, Yin X, et al. Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy [J]. *Semin Cancer Biol*, 2015, 35 Suppl: S224-243.
- [5] Kim SW, Han H, Chae GT, et al. Successful stem cell therapy using umbilical cord blood-derived multipotent stem cells for Buerger's disease and ischemic limb disease animal model [J]. *Stem Cells*, 2006, 24(6):1620-1626.
- [6] 彭艳, 徐玲, 徐勇. 脐血内皮祖细胞治疗糖尿病大鼠下肢缺血实验研究 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2013, 21(1):76-79.
- [7] 杨华强, 李东升, 杜玲, 等. 脐血干细胞移植在糖尿病足治疗中的应用: 附 2 例报告 [J]. *中国全科医学*, 2010, 13(23):2551-2553.
- [8] 马红芳, 王富军. 脐血干细胞移植及血管成形治疗糖尿病下肢缺血性疾病 [J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(23):3755-3760.
- [9] Pasquet S, Sovalat H, Hénon P, et al. Long-term benefit of intracardiac delivery of autologous granulocyte-colony-stimulating factor-mobilized blood CD34⁺ cells containing cardiac progenitors on regional heart structure and function after myocardial infarct [J]. *Cytotherapy*, 2009, 11(8):1002-1015.
- [10] Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease [J]. *Nat Med*, 1995, 1(1):27-30.
- [11] Kawamura A, Horie T, Tsuda I, et al. Prevention of limb amputation in patients with limbs ulcers by autologous peripheral blood mononuclear cell implantation [J]. *Ther Apher Dial*, 2005, 9(1):59-63.
- [12] 黄平平, 李尚珠, 韩明哲, 等. 自体外周血干细胞移植治疗下肢动脉硬化性闭塞症免费 [J]. *中华血液学杂志*, 2003, 25(6):308-311.
- [13] 谷涌泉, 张建, 齐立行, 等. 自体骨髓干细胞和外周血干细胞移植治疗下肢缺血的对比研究 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2007, 21(7):675-678.
- [14] 李晓琳, 高怀林, 庞洁. 外周血干细胞移植治疗糖尿病足的研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35(9):1418-1422.
- [15] Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells; a pilot study and a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2002, 360(9331):427-435.
- [16] 谷涌泉, 郭连瑞. 自体干细胞移植在治疗下肢缺血性疾病中的应用 [J]. *中华医学杂志*, 2005, 85(36):2536-2537.
- [17] Ponemone V, Gupta S, Sethi D, et al. Safety and effectiveness of bone marrow cell concentrate in the treatment of chronic critical limb ischemia utilizing a rapid point-of-care system [J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017.
- [18] Kassem M, Abdallah BM. Human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells; biological characteristics and potential role in therapy of degenerative diseases [J]. *Cell Tissue Res*, 2008, 331(1):157-163.
- [19] 谷涌泉, 佟铸, 郭连瑞. 干细胞移植治疗下肢重度缺血 [J/CD]. *中华普通外科学文献(电子版)*, 2015, 9(1):10-12.
- [20] Sugano M, Tsuchida K, Makino N. Intramuscular gene transfer of soluble Tumornecrosis factor-alpha receptor1 activates vascular endothelial growth factor receptor and accelerates angiogenesis in a rat model of hindlimb ischemia [J]. *Circulation*, 2004, 109(6):782-797.
- [21] Sun Q, Chen RR, Shen Y, et al. Sustained vascular endothelial growth factor delivery enhances angiogenesis and perfusion in ischemic hind limb [J]. *Pharm Res*, 2005, 22(7):1110-1116.
- [22] Tsurumi Y, Takeshita S, Chen D, et al. Direct intramuscular gene transfer of naked DNA encoding vascular encoding endothelial growth factor augments collateral development and tissue perfusion [J]. *Circulation*, 1996, 94(12):3281-3290.
- [23] 赵文静, 钱红燕, 李靖, 等. 血管内皮生长因子在肝癌血管内皮细胞体外管腔形成中量效和时效局限性的实验研究 [J]. *肿瘤基础与临床*, 2016, 29(4):284-290.
- [24] 高永红, 邱明才. 血管内皮细胞生长因子的结构及其多种生物学效应 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(15):2951-2955.
- [25] 吴维, 胡何节, 邓福生, 等. 血管内皮细胞生长因子和碱性成纤维细胞生长因子体外联合诱导外周血单个核细胞定向分化为血管内皮细胞 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(11):2094-2097.
- [26] Baffour R, Berman J, Garb JL, et al. Enhanced angiogenesis and growth of collaterals by in vivo administration of recombinant basic fibroblast growth factor in a rabbit model of acute lower limb ischemia; dose-response effect of basic fibroblast growth factor [J]. *J Vasc Surg*, 1992, 16(2):181-191.
- [27] 曹喜才, 范志斌, 宋晓娜, 等. 碱性成纤维细胞生长因子联合肝素治疗下肢缺血的实验研究 [J]. *临床放射学杂志*, 2008, 27(11):1574-1578.
- [28] Boccaccio C, Andò M, Tamagnone L, et al. Induction of epithelial tubules by growth factor HGF depends on the STAT pathway [J]. *Nature*, 1998, 391(6664):285-288.
- [29] Morishita R, Aoki M, Hashiya N, et al. Therapeutic angiogenesis using hepatocyte growth factor (HGF) [J]. *Curr Gene Ther*, 2004, 4(2):199-206.
- [30] Nakamura M, Takahashi T, Matsui H, et al. Alteration of angiogenesis in *Helicobacter heilmannii*-induced mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma; interaction with c-Met and hepatocyte growth factor [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(Suppl 4):70-76.
- [31] Lichty BD, Breitbach CJ, Stojdl DF, et al. Going viral with cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(8):559-567.
- [32] Cheng CJ, Tietjen GT, Saucier-Sawyer JK, et al. A holistic approach to targeting disease with polymeric(下转第 4875 页)

员会(JCAHO)早在 1997 年就已经将 RCA 引入医院不良事件调查,将医疗不良事件分析重点放在整个系统及过程,其目的在于识别发生问题的真正原因,以及消除它所必须采取的措施^[10]。近年来,本院高度重视系统性原因查找与改进,逐步转变追究个人错误的理念,充分应用 RCA,从系统上查找管理漏洞,全面整改。2013—2014 年由于未作 RCA,在辅助检查科室进行检查前均是常规口服水合氯醛进行镇静,每年均有非预期性死亡事件发生。但通过 2015—2016 年对镇静环节进行整改后,医技科室辅助检查前、后及检查过程中未再发生因镇静而引发患者非预期死亡事件,保障了患儿检查过程的顺利实施及患儿安全,得到医、患双方的好评,为医院带来了良好的社会效益。

3.3 RCA 的应用需要进行大量的培训 本院近年来改变管理模式,采取“走出去、请进来”的方式,多批次派出管理人员参加全国各类医疗质量安全管理培训,与医院管理专家交流,学习经验。组织医院管理专家来院,就医疗安全质量工具(包括 RCA)运用进行专题培训,指导实践应用。通过上述方式多层次对管理干部进行培训和学习,为医院开展 RCA 案例分析,运用各种技巧掌握全面、真实、可靠的第一手材料,以及为根本分析结论正确性提供了保障。

3.4 RCA 的有效推行必须建立完善的管理体系 本院上下对于警讯事件的处理极为重视,医院层面建立并完善 RCA 管理体系,制订相应的制度及流程,并专门组建 RCA 小组,为后期工作小组开展访谈、还原事件、对照分析,列举近端原因,寻找根本原因,并提出 PDCA 改进方案,从管理制度上提供了保障。制度要求主管部门在警讯事件发生后 7 d 内牵头组织启动 RCA 分析,45 d 内完成分析报告,制订改进计划,书面报告医院质量改进并进行患者安全委员会讨论。执行改进计划应严格按照行动计划执行,并分阶段进行考核。同时制订《鼓励医疗不良事件上报奖励办法》,不仅不处罚上报当事人,并且对上报者实施奖励。为减少员工顾虑,医院还设有匿名报告途径,积极在全院营造主动报告不良事件的医院安全文化氛围。

实践证明运用 RCA 管理理念及方法能有效推进系统性问题的整改,对提高医院医疗质量管理水平具有重要意义。

参考文献

- [1] 田昕,梁丽,辛有清. 公立医院付费制度改革对医疗质量管理的影响探讨[J]. 中国医院管理,2015,35(5):4-6.
- [2] 张晓琳,焦明丽,王国栋,等. 基于 DEMATEL 方法的医疗质量管理对策研究[J]. 中国医院管理,2015,35(12):36-39.
- [3] 刘薇薇,王媛媛,刘朝杰,等. 门诊患者投诉“全记录”及其根本原因分析[J]. 中国医院管理,2012,32(6):29-31.
- [4] 简平,丁福,赵庆华,等. 根本原因分析法预防 PICC 相关静脉血栓 3 例分析[J]. 重庆医学,2013,42(19):2307-2309.
- [5] 候燕,靳小萍. 根本原因分析法在儿科输液室不良事件管理中的应用效果分析[J]. 华西医学,2016,31(2):351-354.
- [6] 任毅,李力桢,林少建,等. 基于 RCA 的非计划再次手术根本原因分析[J]. 现代医院管理,2015,13(1):48-50.
- [7] 丁勇,叶大伟,袁方,等. 根本原因分析法(RCA)在医疗不良事件分析中的应用[J]. 中国医院,2015,19(5):41-43.
- [8] 张文娟,崔妙玲,应燕萍. 构建医院护理差错及不良事件报告系统的研究进展[J]. 中华护理杂志,2008,43(12):1142-1144.
- [9] Leape LL, Berwick DM. Safe health care: are we up to it? [J]. BMJ, 2000, 320(7237):725-726.
- [10] 葛凤英. 根本原因分析在护理不良事件分析中的临床应用研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2012,20(10):1669-1670.

(收稿日期:2017-08-19 修回日期:2017-09-24)

(上接第 4867 页)

- nanoparticles[J]. Nat Rev Drug Discov, 2015, 14(4):239-247.
- [33] Wang HY, Jiang YF, Peng HG, et al. Recent progress in microRNA delivery for cancer therapy by non-viral synthetic vectors[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 81:142-160.
 - [34] Ledwith BJ, Manam S, Troilo PJ, et al. Plasmid DNA vaccines: assay for integration into host genomic DNA[J]. Dev Biol(Basel), 2000, 104:33-43.
 - [35] Rodriguez EG. Nonviral DNA vectors for immunization and therapy: design and methods for their obtention[J]. J Mol Med, 2004, 82(8):500-509.
 - [36] 周密,王岩,张树明,等. 肝细胞生长因子修饰兔骨髓间充质干细胞的实验研究[J]. 军医进修学院学报, 2010, 31(7):721-723.
 - [37] Zhang YW, Su Y, Volpert OV, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor mediates angiogenesis through positive VEGF and negative thrombospondin 1 regulation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(22):12718-12723.
 - [38] 哈小琴,王新国,吴祖泽. 人肝细胞生长因子基因表达质粒的构建及其活性研究[J]. 中国应用生理学杂志, 2002(18):278-282.
 - [39] Sanada F, Taniyama Y, Azuma J, et al. Therapeutic angiogenesis by gene therapy for critical limb ischemia: Choice of biological agent[J]. Immunot Endocr Metab Agents Med Chem, 2014, 14(1):32-39.
 - [40] Sanada F, Taniyama Y, Kanbara Y, et al. Gene therapy in peripheral artery disease[J]. Expert Opin Biol Ther, 2015, 15(3):381-390.
 - [41] 胡春生. 重组质粒 pUDK-HGF 镇痛作用及其机制研究[D]. 北京:北京工业大学, 2016.
 - [42] Ismail AM, Abdou SM, Aty HA, et al. Autologous transplantation of CD34⁺ bone marrow derived mononuclear cells in management of non-reconstructable critical lower-limb ischemia[J]. Cytotechnology, 2016, 68(4):771-781.
 - [43] 杜俊文,吴韬,张坤,等. 脐带间充质干细胞联合骨髓干细胞治疗下肢缺血[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(1):82-86.

(收稿日期:2017-08-18 修回日期:2017-09-25)