

## 당뇨병환자의 지연된 상처 회복

인제대학교 의과대학 부산백병원 내분비대사내과

권민정 · 박정현

### Impaired Wound Healing in Diabetes Mellitus

Min Jeong Kwon, Jeong Hyun Park

Department of Internal Medicine, Pusan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University, Busan, Korea

#### Abstract

The normal healing of a cutaneous wound is achieved via well-orchestrated integration of complex biological and molecular events of cell migration, proliferation, extracellular matrix deposition and tissue remodeling. Chronic wounds fail to progress through the normal stages of healing, and enter a state of pathologic inflammation. Complicated diabetic patients show delayed wound healing caused by multiple factors including vascular insufficiency, abnormalities of the biochemical environment and hyperglycemia per se. Novel technologies including growth factor therapy, gene therapy, stem cell technologies, synthetic skins and hyperbaric oxygen treatment are under development. In the near future, these therapeutic strategies will be clinically available. (Korean Diabetes J 33:83-90, 2009)

**Key words:** Diabetes mellitus, Skin ulcer, Wound healing

## 서 론

정상적인 상처 치유는 매우 잘 짜여진 오케스트라의 연주처럼 세포의 이동과 증식, 세포외 기질(extracellular matrix, ECM)의 침착 유도과 같이 순차적인 과정을 밟으며 복합적인 조화를 통해 이루어진다. 염증매개인자나 성장인자, 사이토카인, 물리적 힘 등에 대한 세포의 반응이 정확하게 맞아 떨어져야 제대로 상처가 아물게 된다<sup>1)</sup>. 이러한 과정들 중 하나에도 문제가 발생하면 만성적인 상처로 진행하여 병적인 염증반응이 지속된다. 만성 궤양의 흔한 원인으로 허혈, 당뇨병, 정맥울혈, 상처부위에 가해지는 불필요한 압력 등이 있으며<sup>2)</sup>, 하나 이상의 원인들이 겹쳐서 일어나기도 한다. 만성 궤양은 그 원인이 무엇이든 사회 경제적뿐만 아니라 정신적으로도 많은 부담을 가져오며 당뇨병환자에 있어서 만성 피부 궤양은 당뇨병성 족부 병변의 중요한 병태생리가 되어 비외상성 하지 절단의 가장 큰 원인으로 작용하기도 한다.

이러한 환자들을 치료, 관리하기 위해서는 비정상적인 상처 치유 단계의 기본적인 지식에 대한 이해가 필요하다. 본

종설에서는 정상적인 피부 상처의 치유 단계에 대해 알아보고, 당뇨병과 같은 병적 상태에서 상처 치유가 지연되는 기전과 현재 개발되고 있는 새로운 치료방법들에 대해 간단히 살펴보고자 한다.

## 정상 상처 치유 단계

일상적으로 발생하는 피부의 상처는 다른 병적 원인이 없더라도 수술에서 날카로운 칼에 의해 무균적 조작으로 만들어진 상처와는 기본적으로 다르며 동물 실험에서 관찰할 수 있는 상처 역시 차이가 있다. 하지만 정상적인 치유과정을 알기 위해서는 유용하게 이용될 수 있으며 이를 통해 각각의 치유 단계가 어떻게 나뉘는지, 어떤 세포가 주로 작용하고 어떤 물질이 관여하는지에 대한 분자생물학적 기전을 밝히는데 많은 도움을 주었다. 치유 단계는 나누는 기준에 따라 조금씩 차이가 나기는 하지만 크게 염증 단계, 증식 단계 및 재형성 단계로 나뉜다<sup>3)</sup>(Fig. 1).

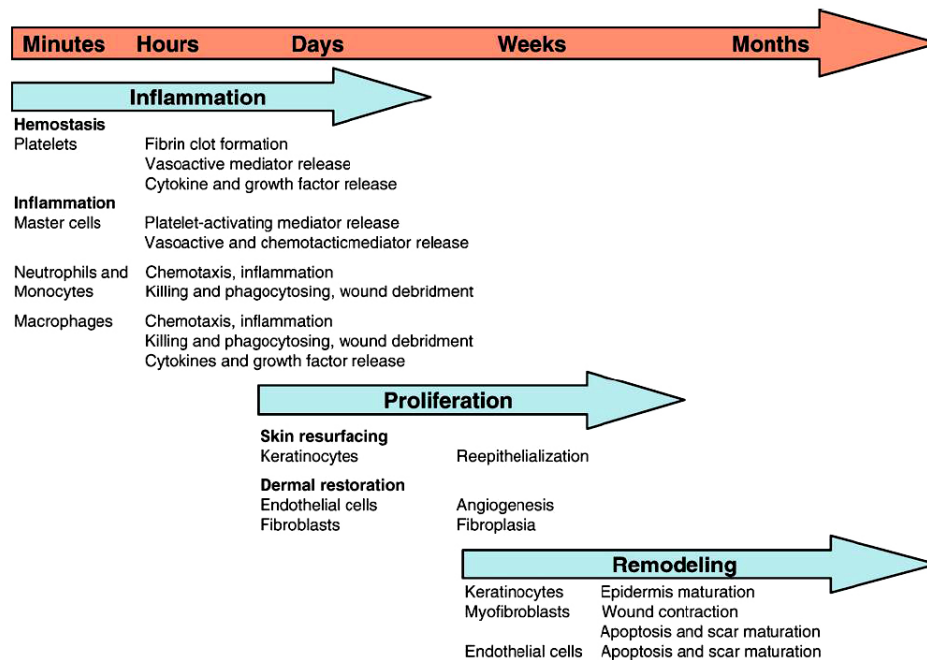


Fig. 1. Major cells and their effects on normal wound healing (adapted from reference 3).

## 1. 염증 단계(Inflammatory Phase)

상처가 난 후 처음 나타나는 염증 과정은 이후 조직의 재생과 회복의 단계를 이끄는 매우 중요한 과정이다. 염증 단계는 보통 24에서 48시간 지속되지만 길게는 2주까지 지속되기도 하며 세부적으로 혈관 반응 단계와 세포 반응 단계로 나누어 볼 수 있다. 조직의 손상에 따른 출혈과 혈관의 파괴에 따른 반응으로 혈소판이 붙어서 응집되면서 지혈의 효과를 나타낼 뿐만 아니라 혈소판이 여러 화학주성물질(chemotactic factor)과 혈소판유래성장인자(platelet-derived growth factor, PDGF), 전환성장인자(transforming growth factor, TGF)와 같은 성장인자들을 분비하여 세포 염증과정, 재생과 혈관형성에 이르는 상처 치유 과정의 시작에 중요한 역할을 담당한다<sup>4)</sup>. 혈소판에 의해 분비된 물질들에 염증세포들이 침윤을 하면서 세포반응을 일으킨다<sup>5)</sup>. 초기에는 혈액에서부터 유래된 호중구와 단핵구가 나타나며 이후에는 호중구 수는 감소하고 단핵구가 변화한 대식세포의 수가 많아진다. 호중구와 단핵구는 혈액응고 과정 동안에 분비된 화학주성인자에 의해 모이며<sup>6)</sup>, 호중구는 세균과 상처 내 손상된 기질을 탐식하여 죽은 조직을 제거하는 역할(debridement)을 담당한다. 단핵구는 조직의 염증반응에서 가장 중요한 역할을 하는 대식세포로 바뀌고 대식세포는 병원균과 죽은 조직 및 남아있는 호중구들을 청소하면서 여러 성장인자들을 분비하여 혈관신생과 육아조직 생성을 이끌어 염증단계에서

재생으로 넘어가는 아주 중요한 가교역할을 한다<sup>7)</sup>. 염증 단계에서는 많은 성장인자와 사이토카인들이 작용을 하는데, 이들은 새로운 상처 치료제의 개발에 있어 중요한 의미들을 가지게 된다(Table 1). 또한 상처 생성 직후 혈관 손상에 따른 조직 허혈로 인한 산소 결핍 자체도 여러 성장인자들의 합성에 관여를 하여 각질세포(keratinocyte)의 이동, 혈관 신생, 섬유모세포(fibroblast)의 증식을 유도한다<sup>8)</sup>.

## 2. 증식 단계(Proliferative Phase)

이 단계에서는 피부 상피가 다시 만들어지면서(reepithelialization) 혈관의 신생이 일어나고(angiogenesis) 섬유형성(fibroplasia)으로 상처난 피부 조직이 강화된다. 상피재생은 주위 상피의 각질세포가 상처부위로 이동한 후 증식하며 신생 포피의 재분화가 일어나고 포피와 진피 사이의 기저막 부위(basement membrane zone)가 회복되는 과정이다. 포피 결손이 발생하면 24시간 이내에 상처 변연부에서부터 각질세포의 이동이 시작된다<sup>9)</sup>. 상처가 생기고 약 12시간이 되면 각질세포의 모양이 변하는데 각질세포가 길고 납작해지면서 죽을기 유사 부위를 만들고 주위세포 및 기질과는 느슨해지면서 세포 내 tonofilament를 당기고 세포질 끝에 actin filament를 형성한다. 각질세포의 이동에는 세포외 기질, 인테그린 수용체, 기질 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase, MMP), 성장인자 등이 관여한다. 초기에는 각

**Table 1.** Cytokines that affect wound healing (adapted from reference 5)

Cytokine	Major source	Target cells and major effects
Epidermal growth factor family		Epidermal and mesenchymal regeneration
Epidermal growth factor	Platelets	Pleiotropic-cell motility and proliferation
Transforming growth factor $\alpha$	Macrophages, epidermal cells	Pleiotropic-cell motility and proliferation
Heparin-binding epidermal growth factor	Macrophages	Pleiotropic-cell motility and proliferation
Fibroblast growth factor family		Wound vascularization
Basic fibroblast growth factor	Macrophages, endothelial cells	Angiogenesis and fibroblast proliferation
Acidic fibroblast growth factor	Macrophages, endothelial cells	Angiogenesis and fibroblast proliferation
Keratinocyte growth factor	Fibroblasts	Epidermal-cell motility and proliferation
Transforming growth factor $\beta$ family		Fibrosis and increased tensile strength
Transforming growth factors $\beta 1$ and $\beta 2$	Platelets, macrophages	Epidermal-cell motility, chemotaxis of macrophages and fibroblasts, extracellular-matrix synthesis and remodeling
Transforming growth factor $\beta 3$	Macrophages	Antiscarring effects
Other		
Platelet-derived growth factor	Platelets, macrophages, epidermal cells	Fibroblast proliferation and chemoattraction, macrophage chemoattraction and activation
Vascular endothelial growth factor	Epidermal cells, macrophages	Angiogenesis and increased vascular permeability
Tumor necrosis factor $\alpha$	Neutrophils	Pleiotropic expression of growth factors
Interleukin-I	Neutrophils	Pleiotropic expression of growth factors
Insulin-like growth factor I	Fibroblasts, epidermal cells	Reepithelialization and granulation-tissue formation
Colony-stimulating factor 1	Multiple cells	Macrophage activation and granulation-tissue formation

질세포가 혈액응고 인자들에 의해 형성된 기질들의 인테그린 수용체와 반응하여 이동에 관여한다<sup>3)</sup>. 인테그린은  $\alpha$ 와  $\beta$ 로 구성된 세포막 수용체로 18가지의  $\alpha$  아단위와 8종류의  $\beta$  아단위가 존재하며 체내에 적어도 24개의 이질이합체가 존재한다. 인테그린의 종류에 따라 세포의 이동과 부착에 관여하는 것도 차이가 나며 주작용 세포도 다르다<sup>10-12)</sup>. MMP와 기타 효소들은 상처 조직에서 세포 이동과 세포외 기질을 재형성하는데 중요한 역할을 한다. 이동한 각질세포에서 생산된 MMP-9은 기저막에 있는 4형 교원질과 라미닌을 분해하고 MMP-1은 원섬유교원질에 부착되는 것을 제거하여 이동을 더욱 용이하게 한다<sup>13)</sup>.

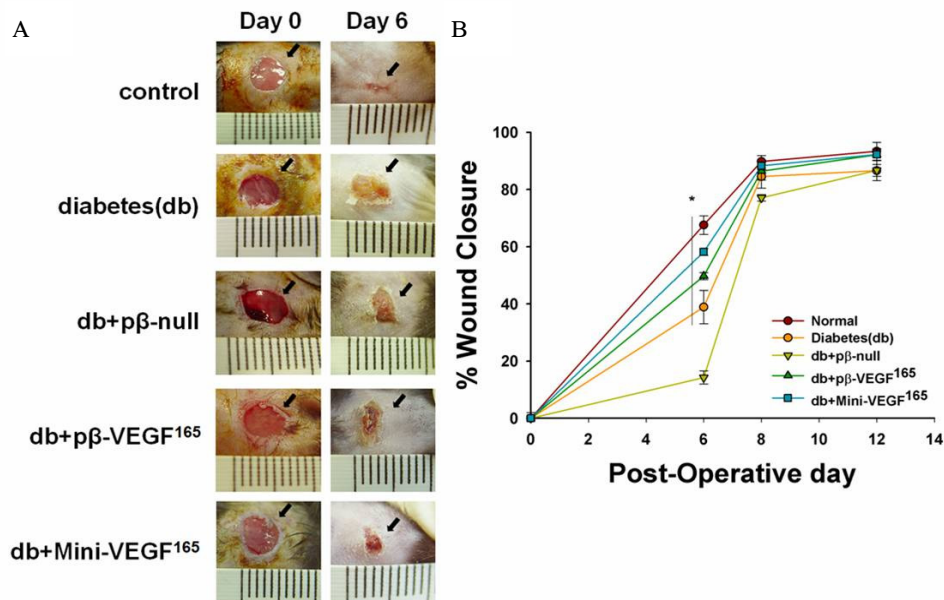
각질세포의 이동이 끝나면 정착을 하게 되며 이동한 세포만으로 손상된 부위를 채울 수 없고 표피의 층화 분화를 위해 증식이 일어난다. 피부의 재건은 상처 3~4일 후에 시작되며 신생혈관이 형성되고 섬유모세포가 증식하면서 육아조직이 형성된다. 상처부위로 섬유모세포가 이동하여 증식하면서 새로운 교원질과 기질 단백질을 생성하여 육아조직이 만들어지는 것이다. 상처 초기에 변연부에서 섬유모세포의 증식이 시작되고 약 4일까지 피떡 내의 기질로 이동하여

교원질, proteoglycan, elastin이 포함된 기질을 형성한다<sup>14,15)</sup>. 섬유모세포가 이동을 하면, 이후 점차 본래의 기능을 하기 위해 전섬유세포로 모양이 변하며<sup>16)</sup> 섬유모세포는 근육섬유모세포(myofibroblast)로 변하여 상처 수축을 일으킨다<sup>17)</sup>. 육아조직의 산소와 영양 공급을 위해 신생혈관이 생성되는데 혈관 내피세포의 이동과 분화에 혈관내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF), angiopoietin, 섬유모세포 성장인자(fibroblast growth factor, FGF), TGF- $\beta$ 와 같은 여러 성장인자들이 관여한다.

VEGF는 혈관 형성에 관여하는 주요 인자로 주로 내피세포를 활성화시켜 혈관 투과도를 증가시킨다. 상처 발생 직후부터 상처의 수축이 일어나며 2주에 절정에 이른다. 전층에 난 상처의 경우 수축과정이 상처의 크기를 40% 감소시켜 치유과정에 있어 중요한 부분을 차지한다. 부분적인 상처의 경우는 그 기여도가 상대적으로 낮으며 신축 능력을 가진 근육섬유모세포가 수축에 주로 작용을 한다.

### 3. 재형성 단계(Remodeling Phase)

재형성 과정의 특징은 세포외 기질의 변화이다. 교원질



**Fig. 2.** Minicircle-VEGF165 gene delivery via sonoporation enhanced wound closure and increased blood perfusion in the wound tissue of treated diabetic mice. A. Macroscopic pictures of the wounds. B. Average area (in pixels) of the wounds of the minicircle-VEGF165 treated diabetic mice was significantly small as compared with those of diabetic control and pβ-VEGF165 treated diabetic mice. Minicircle-VEGF165 treatment promoted diabetic wound closure (\*  $P < 0.05$ ). (adapted from reference 58).

섬유는 정상 성인 피부 건무계의 약 80%를 차지하며 피부의 강도, 탄력에 관여하며 구조를 유지하는 주요 단백질이다<sup>18)</sup>. 건강한 성인의 피부는 80%의 1형 교원질과 10%의 3형 교원질의 비율로 구성되어 있으나 상처 초기에는 육아조직의 섬유모세포에서 기원한 3형 교원질이 주를 이룬다. 3형 교원질은 상처 48시간에서 72시간 후에 나타나 5일에서 7일 사이 최대로 증가한다. 회복 초기에 총 교원질이 증가하여 2~3주 사이 절정을 이루며 1년 이상을 거쳐 천천히 1형 교원질이 우세한 상처 전단계의 피부로 돌아간다. 피부 탄력은 상처 1개월째 이전 피부의 40%까지 증가하고 1년 동안 탄성이 증가하여 70%까지 도달할 수 있다<sup>19)</sup>.

## 만성 상처와 당뇨병

급성기의 상처는 앞서의 단계들이 서로 약간 겹치지만 순차적으로 진행하나, 자발적인 치유가 어려운 만성 상처는 이러한 진행과정에 문제가 생겨 발생한다. 상처 치유 지연의 가장 중요한 부분을 차지하는 단계는 염증단계로 알려져 있으며 비정상적인 염증으로 인해 증식 단계로의 이행이 어렵게 된다<sup>20)</sup>. 과량의 활성화된 증성구가 MMP-8과 증성구 유래 elastase 등을 과발현시킨다<sup>21-25)</sup>. 정상 상처에서는

‘MMP의 조직억제자’라고 불리는 비특이적 단백질 분해 억제자 α2 고분자글로불린에 의해 억제가 되지만 비정상적으로 균형이 깨어지는 경우 상처의 손상이 지속된다<sup>24,26)</sup>. 또한 과도한 염증세포로 인해 TNF-α와 같은 염증 사이토카인들이 증가하고<sup>2,27)</sup> 증식을 촉진하는 PDGF와 기질 침착에 관여하는 TGF-β 등이 감소하여 증식 단계로의 진행을 억제한다<sup>28)</sup>.

당뇨병성 피부 궤양이 여러 단계의 생리적, 생화학적 결합이 상처 치유를 지연시키는지를 보여주는 대표적인 예이다. 거시적으로 보았을 때 당뇨병환자에서의 상처 치유 지연은 혈액의 원활한 공급의 장애, 신경병증, 감염, 굳은살 생성 등을 원인으로 꼽히나<sup>1)</sup> 정확한 치료 접근을 위해서는 분자생물학적 변화에 대한 이해도 필요하다<sup>29)</sup>. 당뇨병성 궤양에서는 성장인자의 생성과 반응<sup>1,30,31)</sup>, 혈관생성<sup>1,32)</sup>, 대식세포의 기능<sup>33)</sup>, 교원질 침착, 육아조직의 질<sup>1)</sup>, 각질세포와 섬유모세포의 이동과 증식, 상피 섬유의 수<sup>34)</sup>, ECM 구성, MMP에 의한 재형성<sup>25)</sup> 등 여러 부분에서의 이상이 보고되었다. 특히 상처 조직에서 반응하는 세포들의 상호작용을 연계하고 조절하는 성장인자에 관한 연구가 많이 이루어졌다<sup>35)</sup>. 인슐린양성장인자(insulin-like growth factor, IGF), TGF-β, VEGF, bFGF, PDGF, 신경성장인자(nerve growth factor, NGF), GM-CSF (granulocyte-macrophage colony

stimulating factor), EGF, 간세포성장인자(hepatocyte growth factor, HGF)와 같은 여러 성장인자들이 당뇨병 동물 모델<sup>36-44)</sup>과 당뇨병환자의 상처 치유<sup>45)</sup>에 관여한다는 결과가 있다. 당뇨병성 궤양의 섬유모세포에서는 TGF- $\beta$ 와 다른 성장인자에 대한 반응이 떨어지고<sup>46,47)</sup> TGF- $\beta$  수용체의 감소와 신호전달에 장애를 보였으며<sup>48)</sup>, 정상 상처 육아조직에서 증가되어 있는 VEGF mRNA가 당뇨병 동물의 상처에서는 감소되어 있고<sup>49)</sup> VEGF mRNA 자극하면 TGF- $\beta$ , KGF와 같은 다른 성장인자도 조절한다는 보고도 있다<sup>50)</sup>.

## 새로운 만성 피부 궤양의 치료법

당뇨병환자에서 만성 피부궤양의 치료는 기본적으로 혈당 조절과 전신관리, 상처부위 부하 제거, 죽은 조직 제거, 소독 및 감염에 대한 치료 관리가 원칙이며 오래 전부터 받아들여지는 이러한 원칙들은 지켜져야 한다<sup>51)</sup>. 최근 당뇨병환자들의 만성 피부 상처 병인에 대한 이해가 높아지면서 새로운 치료법들이 개발되고, 이미 임상에서 적용되고 있는 것들도 있다. 이제까지의 고식적인 치료는 이차적인 원인의 발생을 수동적으로 예방해 준 것이라면 새로운 치료법들은 치유를 촉진시키기 위해 보다 능동적인 방법으로 접근한다<sup>52)</sup>.

최근에 관심을 보이며 임상 적용을 꾀하고 있는 치료로는 상처부위 허혈을 개선하기 위한 고압산소치료<sup>53)</sup>, 여러 가지 성장인자의 도포나 유전자 치료, 줄기세포 치료, 피부 이식이나 생물학적 기술로 제조된 피부(bioengineered skin)의 사용 등이 있다<sup>51,52)</sup>. 이 중 가장 뛰어난 발전을 보인 부분 중의 하나가 성장인자 관련 부분이다. 이미 PDGF (becaplermin, Regranex<sup>®</sup>) 국소도포제는 미국 식약청의 승인을 받아 당뇨병의 신경병성 궤양에 사용되고 있으며 어느 정도의 효과에 대한 무작위 임상 연구 결과가 있으나 실제적인 사용에 있어서는 그 결과가 일정하지 않으며 가격대비 효과 면에 있어서 논란이 되고 있다<sup>54)</sup>. 우리나라에서 사용되고 있는 EGF 국소도포제의 경우 당뇨병환자를 대상으로 한 임상 연구의 결과는 효과적인 것으로 분석되었으나<sup>55)</sup> 하루 두 번의 도포가 필요한 점 등을 포함한 실제 사용상의 불편함과 가격대비 효과에 대한 엄정한 재평가가 필요하다고 본다. 당뇨병성 족부 궤양에 국소 VEGF 도포제(telbermin)를 일주일에 3번 투여한 1상 임상연구의 결과도 의미 있는 효과를 보였다<sup>56)</sup>.

이러한 성장인자 국소 도포의 가장 큰 문제 중의 하나는 앞서 언급한 바와 같이 상처 치유 초기단계에 MMP와 단백

분해 효소들의 발현이 증가하게 되는데, 특히 당뇨병환자에 있어서 MMP의 증가가 뚜렷하게 나타나며<sup>25)</sup> 이로 인해 국소 도포한 약제의 효과가 충분히 상처에 전달되지 못하여 많은 양을 자주 사용해야 하는 불편함과 함께 비용이 증가한다는 점이다. 특히 재조합 단백질 형태의 성장인자들은 피부 조직 투과능이 현저히 떨어짐으로 실제 조직에서 회복에 필요한 양의 약 50배를 투여해야만 한다는 문제가 있다. 그리고 재조합 성장인자들은 생산과 정제에 많은 비용이 들며, 운송과 보관 역시 실제 사용에서는 불편한 점들이 많다.

상처 표면에 과발현된 단백분해 효소들의 영향을 피해야 하며 한 번의 사용으로 효과를 보기 위한 성장인자 유전자 치료에 대한 연구가 활기를 띠고 있다. 인체에 적용할 치료인 만큼 보다 안전성을 높이기 위한 유전자 전달 방법들이 개발되고 있으며, 저자들도 현재 진단목적으로 임상에서 사용 중인 초음파 조영제와 초음파 조사를 이용하여 효과적인 VEGF 유전자 전달을 당뇨병 동물의 피부 상처에 대한 실험을 통해 확인한 바 있다<sup>57,58)</sup>. 초음파 조영제의 미세기포가 초음파에 의해 파괴되는 것을 이용하여 미세기포에 붙어있는 유전자를 세포 내로 효과적으로 전달하는 기술로 ‘초음파 미세기포파괴술(ultrasound micro-bubble destruction method, sonoporation)’로 불린다. 비바이러스(non-viral) 유전자 치료의 단점인 낮은 발현율을 극복하기 위해 조직에서의 발현율이 극도로 향상된 미니씨클 형태의 유전자 재조합을 시도하였으며 이를 통해 바이러스(viral vector) 유전자 치료가 일으킬 수 있는 여러 면역반응, 유전자 변이에 따른 발암 가능성을 피하면서 치료 농도의 유전자 발현을 충분히 높일 수 있었다(Fig. 2).

최근 줄기세포를 이용한 피부 상처의 치료 방법들도 연구가 많이 이루어지고 있다. 과거 윤리적인 논란을 불러일으켰던 배아줄기세포 이외에 자신의 세포를 전사인자 각테일 유전자 전달을 통해 역분화시켜 성체줄기세포로 변화시키는 방법도 연구되고 있으며, 미래에 아주 큰 피부 상처를 성공적으로 치료할 수 있는 중요한 방법의 하나로 간주되고는 있다. 하지만 이러한 방법들은 아직은 실험적인 수준이며, 실제 임상에서 사용되기 위해서는 각 부분의 기술들에 대한 개발이 더 이루어져야 하며, 효과도 물론 중요하지만 단기 및 장기적인 생물학적인 안전성에 대한 보다 더 명확한 임증이 더 필요한 상태라고 판단된다.

## 결론

당뇨병환자들에서의 상처 회복의 지연은 아주 다양한 원

인들에 의해 발생한다. 이것은 비단 당뇨병성 족부 병변뿐만 아니라 수술 후 다양한 상처 회복의 지연과도 관련이 있어 임상적으로 큰 문제가 흔히 된다. 최근 만성 피부 상처의 병태생리에 대한 정보들이 축적되고, 다양한 기술 개발을 통해 지연된 상처 회복을 치료하고자 하는 노력들이 계속되고 있으며, 일부 실제 임상 진료에 사용되고 있는 것도 있고, 가까운 미래에 임상시험에 진입하려 하는 것들도 있다.

피부 상처의 회복과정은 아주 복잡하며, 특히 합병증들이 동반된 당뇨병환자들에서의 만성 피부 상처는 한두 단계의 단순한 개입을 통해 완전히 해결할 수는 없다. 하지만 새로이 개발되는 여러 가지 새로운 기술들은 만성 피부 상처의 회복을 지금보다는 더 현저히 개선시킬 수 있을 것으로 기대한다.

## 참 고 문 헌

1. Falanga V: *Wound healing and its impairment in the diabetic foot*. *Lancet* 366:1736-43, 2005
2. Nwomeh BC, Yager DR, Cohen IK: *Physiology of the chronic wound*. *Clin Plast Surg* 25:341-56, 1998
3. Li J, Chen J, Kirsner R: *Pathophysiology of acute wound healing*. *Clin Dermatol* 25:9-18, 2007
4. Kirsner RS, Eaglstein WH: *The wound healing process*. *Dermatol Clin* 11:629-40, 1993
5. Singer AJ, Clark RAF: *Cutaneous wound healing*. *N Engl J Med* 341:738-46, 1999
6. Postlethwaite AE, Kang AH: *Collagen- and collagen peptide induced chemotaxis of human blood monocytes*. *J Exp Med* 143:1299-307, 1976
7. Lewis JS, Lee JA, Underwood JC, Harris AL, Lewis CE: *Macrophage responses to hypoxia: relevance to disease mechanisms*. *J leukoc biol* 66:889-900, 1999
8. Falanga V: *The chronic wound: impaired healing and solutions in the context of wound bed preparation*. *Blood Cells Mol Dis* 32:88-94, 2004
9. Hell E, Lawrence JC: *The initiation of epidermal wound healing in cuts and burns*. *Br J Exp Pathol* 60:171-9, 1979
10. Santoro MM, Gaudino G: *Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing*. *Exp Cell Res* 304:274-86, 2005
11. Giancotti FG, Ruoslahti E: *Integrin signaling*. *Science* 285:1028-32, 1999
12. Sepp NT, Li LJ, Lee KH, Brown EJ, Caughman SW, Lawley TJ, Swerlick RA: *Basic fibroblast growth factor increases expression of the alpha v beta 3 integrin complex on human microvascular endothelial cells*. *J Invest Dermatol* 103:295-9, 1994
13. Parks WC: *Matrix metalloproteinases in repair*. *Wound Repair Regen* 7:423-32, 1999
14. Kurkinen M, Vaheri A, Roberts PJ, Stenman S: *Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue*. *Lab Invest* 43:47-51, 1980.
15. Woodley DT, O'Keefe EJ, Prunieras M: *Cutaneous wound healing: a model for cell-matrix interactions*. *J Am Acad Dermatol* 112:420-33, 1985
16. Clark RA: *Basics of cutaneous wound repair*. *J Dermatol Surg Oncol* 19:693-706, 1993
17. Welch MP, Odland GF, Clark RA: *Temporal relationships of F-actin bundle formation, collagen and fibronectin matrix assembly, and fibronectin receptor expression to wound contraction*. *J Cell Biol* 110:133-45, 1990
18. Booth BA, Polak KL, Uitto J: *Collagen biosynthesis by human skin fibroblasts: I. Optimization of the culture conditions for synthesis of type I and type III procollagens*. *Biochim Biophys Acta* 607:145-60, 1980
19. Abercrombie M, Flint MH, James DW: *Wound contraction in relation to collagen formation in scorbutic guinea pigs*. *J Embryol Exp Morph* 4:167-75, 1956
20. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF: *Impaired wound healing*. *Clin Dermatol* 25:19-25, 2007
21. Nwomeh BC, Liang HX, Cohen IK, Yager DR: *MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and nonhealing ulcers*. *J Surg Res* 81:189-95, 1999
22. Nwomeh BC, Liang HX, Diegelmann RF, Cohen IK, Yager DR: *Dynamics of the matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-8 in acute open human dermal wounds*. *Wound Repair Regen* 6:127-34, 1998
23. Wysocki AB, Staiano-Coico L, Grinnell F: *Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9*. *J Invest Dermatol* 101:64-8, 1993
24. Yager DR, Zhang LY, Liang HX, Diegelmann RF,

- Cohen IK: *Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. J Invest Dermatol 107:743-8, 1996*
25. Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G, Waldmann K, Schiweck S, Lehnert H: *Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. Diabetologia 45:1011-6, 2002*
  26. Bullen EC, Longaker MT, Updike DL, Benton R, Ladin D, Hou Z, Howard EW: *Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 is decreased and activated gelatinases are increased in chronic wounds. J Invest Dermatol 104:236-40, 1995*
  27. Mast B, Schultz G: *Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. Wound Repair Regen 4:420-41, 1996*
  28. Cooper DM, Yu EZ, Hennessey P, Ko F, Robson MC: *Determination of endogenous cytokines in chronic wounds. Ann Surg 219:688-91, 1994*
  29. Brem H, Tomic-Canic M: *Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. J Clin Invest 117:1219-22, 2007*
  30. Galkowska H, Wojewodzka U, Olszewski WL: *Chemokines, cytokines, and growth factors in keratinocytes and dermal endothelial cells in the margin of chronic diabetic foot ulcers. Wound Repair Regen 14:558-65, 2006*
  31. Goren I, Muller E, Pfeilschifter J, Frank S: *Severely impaired insulin signaling in chronic wounds of diabetic ob/ob mice: a potential role of tumor necrosis factor-alpha. Am J Pathol 168:765-77, 2006*
  32. Galiano RD, Tepper OM, Pelo CR, Bhatt KA, Callaghan M, Bastidas N, Bunting S, Steinmetz HG, Gurtner GC: *Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. Am J Pathol 164:1935-47, 2004*
  33. Maruyama K, Asai J, Ii M, Thorne T, Losordo DW, D'Amore PA: *Decreased macrophage number and activation lead to reduced lymphatic vessel formation and contribute to impaired diabetic wound healing. Am J Pathol 170:1178-91, 2007*
  34. Gibran NS, Jang YC, Isik FF, Greenhalgh DG, Muffley LA, Underwood RA, Usui ML, Larsen J, Smith DG, Bunnett N, Ansel JC, Olerud JE: *Diminished neuropeptide levels contribute to the impaired cutaneous healing response associated with diabetes mellitus. J Surg Res 108:122-8, 2002*
  35. Blakytyn R, Jude E: *The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. Diabet Med 23:594-608, 2006*
  36. Tsuboi R, Shi CM, Sato C, Cox GN, Ogawa H: *Co-administration of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-1 stimulates wound healing in animal models. J Invest Dermatol 104:199-203, 1995*
  37. Roberts AB: *Transforming growth factor-beta: activity and efficacy in animal models of wound healing. Wound Rep Regen 3:408-18, 1995*
  38. Galeano M, Deodato B, Altavilla D, Cucinotta D, Arsic N, Marini H, Torre V, Giacca M, Squadrito F: *Adeno-associated viral vector-mediated human vascular endothelial growth factor gene transfer stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse. Diabetologia 46:546-55, 2003*
  39. Greenhalgh DG, Sprugel KH, Murray MJ, Ross R: *PDGF and FGF stimulate wound healing in the genetically diabetic mouse. Am J Pathol 136:1235-46, 1990*
  40. Brown DL, Kao WW-Y, Greenhalgh DG: *Apoptosis downregulates inflammation under the advancing epithelial wound edge: delayed patterns in diabetes and improvement with topical growth factors. Surgery 121:372-80, 1997*
  41. Matsuda H, Koyama H, Sato H, Sawada J, Itakura A, Tanaka A, Matsumoto M, Konno K, Ushio H, Matsuda K: *Role of nerve growth factor in cutaneous wound healing: accelerating effects in normal and healing-impaired diabetic mice. J Exp Med 187:297-306, 1998*
  42. Cantürk NZ, Vural B, Esen N, Cantürk Z, Oktay G, Kirkali G, Solakoglu S: *Effects of granulocyte-macrophage*

- colony-stimulating factor on incisional wound healing in an experimental diabetic rat model. Endocr Res 25:105-16, 1999*
43. Ishikawa T, Terai H, Yamamoto T, Harada K, Kitajima T: *Delivery of a growth factor fusion protein having collagen-binding activity to wound tissues. Artif Organs 27:147-54, 2003*
44. Yoshida S, Matsumoto K, Tomioka D, Bessho K, Itami S, Yoshikawa K, Nakamura T: *Recombinant hepatocyte growth factor accelerates cutaneous wound healing in a diabetic mouse model. Growth Factors 22:111-9, 2004*
45. Bennett SP, Griffiths GD, Schor AM, Leese GP, Schor SL: *Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers. Br J Surg 90:133-46, 2003*
46. Loot MA, Kenter SB, Au FL, van Galen WJ, Middelkoop E, Bos JD, Mekkes JR: *Fibroblasts derived from chronic diabetic ulcers differ in their response to stimulation with EGF, IGF-I, bFGF and PDGF-AB compared to controls. Eur J Cell Biol 81:153-60, 2002*
47. Hasan A, Murata H, Falabella A, Ochoa S, Zhou L, Badiavas E, Falanga V: *Dermal fibroblasts from venous ulcers are unresponsive to the action of transforming growth factor -beta 1. J Dermatol Sci 16:59-66, 1997*
48. Kim BC, Kim HT, Park SH, Cha JS, Yufit T, Kim SJ, Falanga V: *Fibroblasts from chronic wounds show altered TGF-beta -ignaling and decreased TGF-beta type II receptor expression. J Cell Physiol 195:331-6, 2003*
49. Altavilla D, Saitta A, Cucinotta D, Galeano M, Deodato B, Colonna M, Torre V, Russo G, Sardella A, Urna G, Campo GM, Cavallari V, Squadrito G, Squadrito F: *Inhibition of lipid peroxidation restores impaired vascular endothelial growth factor expression and stimulates wound healing and angiogenesis in the genetically diabetic mouse. Diabetes 50:667-74, 2001*
50. Frank S, Hubner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S: *Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. J Biol Chem 270:12607-13, 1995*
51. Boulton AJ, Kirsner RS, Vileikyte L: *Clinical practice. Neuropathic diabetic foot ulcers. N Engl J Med 351:48-55, 2004*
52. Hinchliffe RJ, Valk GD, Apelqvist J, Armstrong DG, Bakker K, Game FL, Hartemann-Heurtier A, Löndahl M, Price PE, van Houtum WH, Jeffcoate WJ: *A systematic review of the effectiveness of interventions to enhance the healing of chronic ulcers of the foot in diabetes. Diabetes Metab Res Rev 24(suppl 1):S119-44, 2008*
53. Duzgun AP, Satir HZ, Ozozan O, Saylam B, Kulah B, Coskun F: *Effect of hyperbaric oxygen therapy on healing of diabetic foot ulcers. J Foot Ankle Surg 47:515-9, 2008*
54. Papanas N, Maltezos E: *Becaplermin gel in the treatment of diabetic neuropathic foot ulcers. Clin Interv Aging 3:233-40, 2008*
55. Hong JP, Jung HD, Kim YW: *Recombinant human epidermal growth factor (EGF) to enhance healing for diabetic foot ulcers. Ann Plast Surg 56:394-8, 2006*
56. Hanft JR, Pollak RA, Barbul A, van Gils C, Kwon PS, Gray SM, Lynch CJ, Semba CP, Breen TJ: *Phase I trial on the safety of topical rhVEGF on chronic neuropathic diabetic foot ulcers. J Wound Care 17:30-2, 2008*
57. Yoon CS, Jung HS, Kim TK, Kwon MJ, Kim MK, Lee M, Koh KS, Rhee BD, Park JH: *Comparison of the efficiency and toxicity of sonoporation with branched polyethylenimine-mediated gene transfection in various cultured cell lines. J Drug Target 16:773-9, 2008*
58. Yoon CS, Jung HS, Kwon MJ, Lee SH, Kim CW, Kim MK, Lee M, Park JH: *Sonoporation of the Minicircle-VEGF(165) for Wound Healing of Diabetic Mice. Pharm Res 26:794-801, 2009*