

## ·综述 General review·

## 自体干细胞移植治疗糖尿病足的研究进展

秦汉林, 高 斌

【摘要】 糖尿病足患者由于伴有肢体远端血管狭窄甚至闭塞, 临床治疗一直不是很满意。自体干细胞移植是近几年兴起的一种通过治疗性血管生成方法恢复患肢血供的安全、有效的治疗新手段, 不仅是国内外学者研究的热点之一, 也为糖尿病足的治疗带来了新的希望。

【关键词】 糖尿病足; 自体干细胞; 移植; 进展

中图分类号: R459.9 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2010)-09-0753-04

Research progresses in treating diabetic foot with autologous stem cell transplantation QIN Han-lin, GAO Bin. Imaging Center, First People's Hospital of Hefei City, Hefei, Anhui Province 230061, China  
Corresponding author: GAO Bin

【Abstract】 Because the distal arteries of lower extremities become narrowed or even occluded in diabetic foot, the clinical therapeutic results for diabetic foot have been unsatisfactory so far. Autologous stem cell transplantation that has emerged in recent years is a new, safe and effective therapy for diabetic foot, which achieves its excellent clinical success in restoring the blood supply of ischemic limb by way of therapeutic angiogenesis. Now autologous stem cell transplantation has become one of the hot points in medical research both at home and abroad, moreover, it has brought a new hope of cure to the patients with diabetic foot. (J Intervent Radiol, 2010, 19: 753-756)

【Key words】 diabetic foot; autologous stem cell; transplantation; progress

随着我国人口老龄化进展, 糖尿病足发病率逐年增高。病理上主要是下肢动脉内膜粥样斑块形成, 逐渐向血管腔内发展使管腔变窄甚至闭塞, 造成缺血坏死。糖尿病足已成为非创伤性截肢的主要原因<sup>[1-2]</sup>。药物治疗、外科血管旁路移植、超声消融等疗效欠佳, 最终导致截肢甚至危及生命。自体干细胞移植是近年兴起的恢复患肢血供, 重建患肢动脉侧支循环的一种较为有效的方法。现就自体干细胞移植治疗糖尿病足的新进展加以综述。

### 1 糖尿病足的发病机制及特点

糖尿病足的发病机制非常复杂, 与其相关的因素也很多, 如末梢神经病变、血管病变、感染等。糖尿病下肢血管病变主要病理改变为动脉粥样硬化, 这也是影响下肢供血的主要因素<sup>[3]</sup>。常表现为大小血管均受累, 病变广泛, 常累及双侧数支动脉, 尤其远端腘动脉以下小动脉闭塞或狭窄严重。糖尿病足

患者膝部以上血管多为轻中度狭窄, 膝以下血管则多以重度狭窄乃是以完全闭塞病变为主<sup>[4]</sup>。当患肢供血动脉局限性狭窄 > 50% 时, 将影响血管远端血流动力学; 当供血动脉粥样硬化斑块脱落, 造成远端的小动脉栓塞, 遂使局部组织缺血、坏死。

### 2 糖尿病足的临床症状及分期

临床症状主要有患肢静息痛、冷感, 间歇性跛行, 肢端溃疡坏疽。糖尿病足参考 Fontain 分期法, I 期: 足部恒定皮温低于正常体表温度; II 期: 间歇性跛行; III 期: 静息痛; IV 期: 溃疡和坏疽。

### 3 治疗

由于糖尿病所致下肢血管狭窄、闭塞是一个极其复杂的病理过程, 所以单纯的药物治疗、外科血管旁路移植以及超声消融等疗效欠佳。干细胞移植技术治疗糖尿病足是近年来移植血管再生的一个热点, 利用干细胞具有高度自我更新、增殖和多项分化潜能、以及可植入性和重建能力等特征, 移植后能分化为血管内皮细胞、平滑肌细胞等多种细胞

基金项目: 安徽省科技厅年度计划项目 (09020303043)

作者单位: 230061 安徽省合肥市第一人民医院影像中心

通信作者: 高 斌

成分,促进移植部位周围血管及神经组织再生,使患处溃疡达到血液循环重建、血供改善,实现移植输注位溃疡愈合的目的。

### 3.1 干细胞治疗糖尿病足的基础研究

Asahar 等<sup>[5]</sup>发现,出生后的血管新生不仅仅只依靠已存在的血管芽生方式(血管生成),来源于骨髓的内皮祖细胞也参与了出生后的生理和病理性血管新生,即出生后也存在血管发生过程。Lechner 等<sup>[6]</sup>发现,损伤组织的修复和新血管的生成是通过原有的血管内皮细胞增殖、游走以形成新的血管网来实现的。在糖尿病足动物模型中发现,将功能正常的内皮祖细胞移植到缺血组织,可以加快血流,形成血管,促进溃疡的愈合<sup>[7]</sup>。Fadini 等<sup>[8]</sup>研究发现,糖尿病患者代谢紊乱的状态下,导致内皮祖细胞的数量减少和功能障碍,影响其增殖、黏附和血管生成。这就为干细胞移植治疗糖尿病所致外周血管缺血病变及糖尿病足提供了实验依据。人类干细胞膜上跨膜蛋白分别为 CD34<sup>+</sup>和 CD34<sup>-</sup>,研究发现 CD34<sup>+</sup>细胞的某一亚群能分化成血管内皮细胞,形成小血管的内膜;虽然 CD34<sup>-</sup>细胞也能够体内表现出多向分化潜能,但研究表明 CD34<sup>-</sup>细胞无论在数量还是在分化质量上都不如 CD34<sup>+</sup>细胞<sup>[9]</sup>。

### 3.2 临床应用

Eriko 等<sup>[10]</sup>用自体骨髓干细胞治疗糖尿病下肢缺血患者 31 例,在治疗 4 周和 24 周后与注射生理盐水的对照组比较发现治疗后患者的踝肱指数(ABI)、经皮氧分压(TcO<sub>2</sub>)明显提高,静息痛以及间歇性跛行症状明显缓解。输注 4 周后开始有新的侧支循环形成,动脉血流明显增加。张建等<sup>[11]</sup>较早报道利用骨髓干细胞治疗糖尿病足,治疗后 1~3 个月血管造影发现 72.19%患肢有不同程度侧支血管形成,近期有效率几乎达 100%。目前采用的移植方法有全麻下肌肉注射与介入引导插管血管内注射。虽然提取方法不同,每种方案的细胞成分不全相同,但不论哪种方法,移植的都是多种细胞的混悬液,即称骨髓单个核细胞。其内包括多种干细胞,除造血干细胞外,还有骨髓间充质干细胞、内皮祖细胞等。骨髓自体干细胞输注治疗糖尿病足临床应用疗效是肯定的,骨髓穿刺采集的干细胞有更原始,费用低的优点,缺点是所需的骨髓量大,要多次多点穿刺,加大了患者的恐惧与痛苦。为了能够采集较多数量干细胞而又尽可能减轻患者的痛苦,张忠等<sup>[12]</sup>采取术前 2 d 行骨髓动员,以 rhG-CSF 300 万 u 皮下注射,同时以肝素钠 12 500 u/d 持续静脉泵入

预防血黏稠度过高等。后采用取髂后上棘双侧多点抽取骨髓血约 200 ml,分离后制配干细胞悬液 60 ml 沿下肢动脉血管分布多点肌肉注射。近年外周血干细胞移植发展很快,有超过骨髓干细胞输注之势,但在提取外周血干细胞之前需要 3~7 d 的生长因子动员。许多生长因子能够动员外周血干细胞和祖细胞,但 G-CSF 被证明是最有效的,也是用得最多的一种。它是通过化学驱动因子增加外周造血干细胞和祖细胞数量来实现的<sup>[13]</sup>。毛红等<sup>[14]</sup>采用先行外周血干细胞动员:全部患者均皮下注射 rhG-CSF 500~600 μg/d,3~7 d 后采集总量 83~103 ml,单个核细胞数量 1.86~3.39×10<sup>9</sup>/L,CD34<sup>+</sup>细胞含量为 0.55%~1.36%。全麻下行缺血肢体肌间分层注射。发现自体外周血干细胞移植前后不同时间点患肢疼痛、冷感、间歇性跛行情况较移植前均有改善。以上研究说明无论是骨髓干细胞移植还是外周血干细胞移植,治疗糖尿病肢体缺血均有效。张会峰等<sup>[15]</sup>将 52 例有糖尿病下肢血管病变的患者随机分成 2 组,分别采用骨髓干细胞移植和外周血干细胞移植治疗,结果发现在主观和客观疗效评价方面均无明显差异( $P>0.05$ ),提示 2 种不同来源干细胞治疗下肢缺血在血管新生方面疗效相当。谷涌泉等<sup>[16]</sup>选择了 22 例同时有双下肢缺血的患者作为对象,随机分成两组,采用 2 种不同数量干细胞同时进行双下肢对照性输注,发现当输注的干细胞总数低于 10<sup>5</sup> 几乎没有效果或仅有轻微的主观方面的好转。而当输注的干细胞总数大于 10<sup>8</sup> 时可以有一定的临床疗效。说明了自体骨髓干细胞输注效果是肯定的,而且疗效与输注细胞数量有关。另外,为得到充足的干细胞,有人采用自体骨髓干细胞和外周血干细胞联合输注的方法进行干细胞输注。赵志刚等<sup>[17]</sup>报道,对 25 例糖尿病足患者进行联合输注。结果显示输注后 2~15 d,45 例患肢疼痛明显缓解,3~16 d,42 例患肢冷感有不同程度的改善,4~13 周,6 例溃疡明显好转,32 例患肢 ABI 改善,1 例患者 8 周后行下肢动脉造影结果显示新侧支血管形成明显增加。

### 3.3 研究新进展

对于干细胞移植方法不一,有的采用肌肉注射法,有的采用经血管输注法,国外主要采用前者,国内有不少医院近期开始尝试使用后一种方法。由于接受治疗的大多是一些老年患者,常合并如心脑血管等多脏器病变,而且血糖大多控制不理想,这些都给全麻下肌肉注射法加大了麻醉风险,而且采用多

点肌内注射会明显增加感染机会。而经导管动脉腔内移植法是局部麻醉后在 DSA 引导下采用 Seldinger 法穿刺,并引入导管,将导管插至患侧股动脉内行选择性血管造影,了解血管狭窄情况及部位,并将采集的干细胞经导管输注的方法。与肌注法相比,动脉腔内干细胞移植则更符合干细胞的归巢、趋化作用原理。于华峰等<sup>[18]</sup>根据下肢血管造影检查结果,视缺血范围来定移植方式,采用下肢缺血肌内局部注射联合下肢动脉腔内移植,取得满意疗效。近年来,随着介入治疗用器械的不断改进和技术水平的提高,对 PTA 治疗糖尿病足进行了有意义的探索,而且取得了理想的治疗效果。由于具有创伤小、可重复性等优点,目前该法已被作为首选治疗方法<sup>[19-21]</sup>。由于自体干细胞移植与 PTA 都是治疗糖尿病肢体缺血性病变安全、有效的方法,两者联合应用自然便成了临床学者们新的研究热点。李春梅等<sup>[22]</sup>采用 PTA 联合肌注自体外周血干细胞 (APBSC) 移植治疗糖尿病足,先采用 PTA 技术开通相对较大的狭窄或闭塞下肢血管,然后紧跟着肌注移植 APBSC,术后不同时期随访疗效,并与单纯 PTA 治疗进行了比较,结果发现 PTA 与 APBSC 都是治疗糖尿病足的安全有效的手段,PTA 术后行 APBSC 移植效果优于单纯 PTA 术。近期还有采用自体骨髓干细胞移植联合下肢血管超声消融治疗下肢缺血性疾病的报道<sup>[23]</sup>。其机制是干细胞移植后可促进局部的血管形成,植入的血管内皮干细胞参与新的毛细血管的生成,而血管内超声消融能够再通近端病变的血管。

与自体干细胞相比,脐带血干细胞因来源丰富且制备便利,已成为可供临床移植的重要替代来源,正日益受到国内外学者的高度重视。研究表明,脐带血和骨髓中所含 CD34<sup>+</sup>细胞的百分比差异无统计学意义,但在质量上却有差异,脐带血 CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>细胞的增殖分化能力高于骨髓;脐带血中的 CD34<sup>+</sup>细胞含量约为成年人末梢血的 10 倍;将这些细胞分离移植到无胸腺小鼠的缺血部位,可以发现侧支血管的新生及血流的改善<sup>[24]</sup>。于崇岗等<sup>[25]</sup>报道的利用脐血干细胞移植治疗 11 例糖尿病足得到与自体干细胞相似的治疗效果。

综上所述,随着介入器材及技术的飞速发展,PTA 治疗下肢远端动脉缺血性病变或长距离动脉狭窄病变成为现实。结合其创伤小,可重复性强的优点,其在糖尿病肢体缺血病变治疗中的地位愈发重要。下肢自体干细胞移植与基因治疗糖尿病缺血性疾病是一种简单、安全、有效的方法,两者联合互

补性很强。但是由于临床开展时间较短,随访时间不够,以及各地报道病例相对较少,综合起来还存如下问题:①移植细胞的数量、种类、移植途径与疗效的关系;②移植干细胞的质量检测、动员多长时间为最适当;③如何分离较纯的 CD34<sup>+</sup>细胞及体外增殖干细胞;④如何进一步研究神经功能受损及其具体作用机制;⑤自体干细胞移植与 PTA 联合与单纯 PTA 治疗比较结果如何;⑥是否会出现远期并发症以及有没有致肿瘤的可能,等。随着研究的深入,相信这些问题会逐渐得到解决。

#### [参考文献]

- [1] Pendsey S, Abbas ZG. The step-by-step program for reducing diabetic foot problems: a model for the developing world [J]. Curr Diab Rep, 2007, 7: 425 - 428.
- [2] Graziani L, Silvestro A, Bertone V, et al. Vascular Involvement in diabetic subjects with ischemic foot ulcer: a new morphologic categorization of disease severity [J]. Eur J Vase Endovasc Surg, 2007, 33: 453 - 460.
- [3] Martin A, Komada MR, Sane DC, et al. Abnormal angiogenesis in diabetes mellitus [J]. Med Res Rev, 2003, 23: 117 - 145.
- [4] 张海涛, 柴 萌, 孙津津, 等. 介入疗法治疗糖尿病足患者膝以下动脉病变 [J]. 中国医学影像技术, 2009, 25: 881 - 883.
- [5] Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization [J]. Circ Res, 1999, 85: 221 - 228.
- [6] Lechner A, Habener JF. Stem/progenitor cells derived from adult tissues: potential for the treatment of diabetes mellitus [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 284: E259 - E266.
- [7] AL-Khaldi A, AL-Sabti H, Galipeau J, et al. Therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow stromal cells: improved blood flow in a chronic limb ischemia model [J]. Ann Thorac Surg, 2003, 75: 204 - 209.
- [8] Fadini GP, Miorin M, Facco M, et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus [J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 45: 1449 - 1457.
- [9] Donnelly DS, Zeltem D, Sharkis S, et al. Functional activity of murine CD34<sup>+</sup> and CD34<sup>+</sup> hematopoietic stem cell populations [J]. Exp Hematol, 1999, 27: 788 - 796.
- [10] Fateishi-Yu yama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomized controlled trial [J]. Lancet, 2002, 360: 427 - 435.
- [11] 张 建, 谷涌泉, 李建新, 等. 干细胞输注治疗糖尿病足 [J]. 中国实用内科杂志, 2007, 27: 499 - 501.
- [12] 张 忠, 刘文申, 赵秀兰. 自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病足溃疡 [J]. 实用临床医学, 2007, 8: 58 - 60.
- [13] Pelus LM, Horowitz D, Coper SC, et al. Peripheral blood stem



- cell mobilization A role for Cx C chemokines[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2002, 43: 257 - 275.
- [14] 毛 红, 赵 湜. 自体外周血干细胞输注治疗糖尿病下肢血管病变与糖尿病足效果 89 例自身对照观察[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12: 4197 - 4199.
- [15] 张会峰, 赵志刚, 张春玲, 等. 自体外周血干细胞和骨髓干细胞移植治疗糖尿病下肢动脉闭塞症 52 例效果比较[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13: 1109 - 1112.
- [16] 谷涌泉, 张 建, 齐立行, 等. 自体骨髓单个核细胞不同输注浓度对治疗下肢缺血临床疗效的影响[J]. 中国修复重建外科志, 2006, 5: 149 - 152.
- [17] 赵志刚, 张春玲, 张会峰, 等. 自体干细胞输注治疗糖尿病足的临床研究[J]. 中原医刊, 2006, 33: 3 - 6.
- [18] 于华峰, 赵 荣, 马云辉, 等. 自体外周血干细胞移植(介入)治疗糖尿病足临床观察[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2009, 26: 416 - 417.
- [19] Adam DJ, Beard JD, Cleveland T, et al. Bypass versus angioplasty in severe ischaemia of the leg(BASIL): multicentre, randomised controlled trial[J]. Lancet, 2005, 366: 1925 - 1934.
- [20] 秦永林, 邓 钢, 郭金和, 等. 长球囊治疗重症下肢动脉缺血性病变的近期疗效观察[J]. 介入放射学杂志, 2008, 17: 323 - 327.
- [21] 王海波, 赵堂海, 于永山, 等. 应用微球囊介入治疗膝以远动脉闭塞性疾病临床研究[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19: 2378 - 2380.
- [22] 李春梅, 徐向进, 林 晨, 等. 血管腔内成形术后行自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足的临床研究 [J]. 临床内科杂志, 2009, 26: 327 - 329.
- [23] 王寅冬, 王爱林. 超声消融联合干细胞移植治疗下肢动脉硬化性闭塞症的临床研究[J]. 中国普通外科杂志, 2008, 17: 1164 - 1166.
- [24] Watt SM, Contreras M. Stem cell medicine: umbilical cord blood and its stem cell potential[J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2005, 10: 209 - 220.
- [25] 于崇岗, 崔中平, 刘长江. 脐血干细胞移植治疗糖尿病足 11 例[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13: 4593 - 4596.

(收稿日期:2010-04-02)

## ·消 息·

### 首届亚太肿瘤介入大会(APCIO 2010)在北京召开

为了增进国际间肿瘤介入治疗的交流,提升中国在国际肿瘤介入治疗中的地位,2010 年 8 月 5 日—8 日,首届亚洲太平洋地区肿瘤介入大会(APCIO 2010)暨第四届中日肿瘤介入研讨会、全国抗癌药物进展高峰论坛、全国肿瘤介入治疗高峰论坛在北京裕龙国际酒店召开。大会主席是北京大学肿瘤医院杨仁杰教授。

本届会议是由中国抗癌协会肿瘤介入专业委员会、北京抗癌协会抗癌药物专业委员会、北京抗癌协会肿瘤介入专业委员会、《中华放射学》杂志、《介入放射学》杂志以及中日介入学理事会联合主办。此次会议得到了北京大学肿瘤医院及国内、外各方面专家的大力支持。

大会邀请了黄志强院士,刘玉清院士,陈志南院士,郑树森院士,张广超,柯杨,游伟程教授等多位国际肿瘤界知名专家出席开幕式并进行精彩发言。

会议邀请了二十位国外肿瘤界知名专家和国内专家进行专题讲座,专家们来自中国、日本、韩国、澳大利亚、新加坡、印度、马来西亚、泰国、蒙古国及我国台湾、香港、澳门等全世界各地区肿瘤界同仁共聚一堂,相互交流。会议内容涉及范围广泛,包括肿瘤的外科治疗,内科治疗,抗癌药物,新技术以及新器械的临床应用等多个方面,为亚太地区肿瘤治疗学界、药学界、医疗器材和基础研究的广大肿瘤界同仁提供了一个广阔的平台。

此次大会是一届具有国际影响力的多学科、高水平的肿瘤介入治疗学术盛会,必将为推动国际肿瘤介入及相关学科的学术发展以及肿瘤病人的治疗方面做出贡献。

2010 年 8 月 7 日下午,在抗癌协会组织部长张静的主持下,中国抗癌协会肿瘤介入专业委员会进行了换届改选。选出了新一届委员会的主任委员,副主任委员,常务委员,委员。