

## 干细胞重建糖尿病足缺血态组织血流

高雪<sup>1)</sup>, 叶吉云<sup>2)</sup>, 曾希云<sup>1)</sup>, 苏斌<sup>2)</sup>, 杨镛<sup>3)</sup>

(1) 昆明市第一人民医院干疗科, 云南昆明 650011; 2) 昆明医科大学, 云南昆明 650500; 3) 昆明医科大学第四附属医院, 云南省血管外科中心, 云南昆明 650021)

**[摘要]** **目的** 探讨自体外周血干细胞移植改善糖尿病足缺血态组织血流的临床效应. **方法** 下肢动脉缺血性疾病糖尿病足 42 例, 均接受自体外周血干细胞移植术治疗, 术后随访 1 a. 术前术后观察均采用多功能监测仪、多普勒检测仪、经皮氧分压监测仪及数字减影血管造影仪等于皮肤、血管及血液 3 种组织层面测算肢体局部血流量变效应程度. **结果** 自体干细胞移植术后患者肢体局部血流量变效应指标皮温指数 ( $1.6 \pm 0.3$ ), 经皮氧分压 ( $37.6 \pm 9.5$ ) mmHg, 踝肱指数 ( $0.9 \pm 0.2$ ), 光电容积微血流态指数 ( $0.8 \pm 0.1$ ), 血氧饱和度 ( $79.4 \pm 20.4$ ) %, 数字减影血管造影评分 ( $1.3 \pm 0.2$ ), 间歇性跛行距离延长 ( $46.2 \pm 10.6$ ) m. **结论** 自体外周血干细胞可促进糖尿病足缺血态组织部分血管新生和改善下肢的缺血症状.

**[关键词]** 干细胞; 糖尿病足; 缺血; 血流; 重建

**[中图分类号]** R654 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 10 - 0057 - 04

## Stem in Sells Remodeling Blood Flow for Diabetic Foot

GAO Xue<sup>1)</sup>, YE Ji - yun<sup>2)</sup>, ZENG Xi - yun<sup>1)</sup>, SU Bin<sup>2)</sup>, YANG Yong<sup>3)</sup>

(1) Dept. of Care and Treatment for Cadre, First People's Hospital of Kunming, Kunming Yunnan 650011; 2) Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 3) Yunnan Provincial Center of Vascular Surgery, The 4th Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650021, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the clinical effect of the transplantation of autologous peripheral blood stem cells (TPBSC) for blood flow remodeling in ischemic tissue of diabetic foot. **Methods** 42 patients with diabetic foot from Yunnan Provincial Center of Vascular Surgery were enrolled in this study. 42 cases underwent the transplantation of autologous peripheral blood stem from march 2005 to December 2008. The multifunction monitoring device, dopplor ultrasound monitoring device, percutaneous oxygen partial pressure monitoring device (TcPO<sub>2</sub>) and digital subtractionangiography (DSA) were used to assess the effect degree of limbs regional blood flow from cutaneous covering, blood vessel and blood between preoperative and post-operative, the follow-up time was one year. **Results** The effect indexes of limbs regional blood flow of the case by transplantation of autologous peripheral blood stem cells were as follows: skin temperature index (STI) was ( $1.6 \pm 0.3$ ), percutaneous oxygen partial pressure monitoring device (TcPO<sub>2</sub>) was ( $37.6 \pm 9.5$ ) mmHg, ankle-brachium index (ABI) was ( $0.9 \pm 0.2$ ), photoplethysmography index (PPGI) was ( $0.8 \pm 0.1$ ), saturation of blood oxygen (SaO<sub>2</sub>) was ( $79.4 \pm 20.4$ ) percent, digital subtraction angiography score (DSAS) was ( $1.3 \pm 0.2$ ), distance of intermittence limp was ( $46.2 \pm 10.6$ ) meters. **Conclusion** Transplantation of autologous peripheral blood stem cells can improve the blood flow remodeling in ischemic tissue of diabetic foot.

**[Key words]** Stem Cells; Diabetic foot; Ischemia; Blood flow; Remodeling

---

**[基金项目]** 云南省应用基础研究计划基金资助项目 (2011FB150, 2010ZC219); 中青年学术技术带头人后备人才培养基金资助项目 (2008PY004)

**[作者简介]** 高雪 (1972~), 女, 河北永年县人, 医学学士, 主治医师, 主要从事干疗科临床工作.

**[通讯作者]** 杨镛. E-mail: [doctoryang1000@yahoo.com.cn](mailto:doctoryang1000@yahoo.com.cn)

缺血态组织血流重建的方法是血管医学中人体血流重建学领域的研究热点<sup>[1-4]</sup>,自体外周血干细胞重建糖尿病足缺血态组织血流在临床上取得了较为满意的疗效,现将临床结果报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2005年3月至12月云南省血管外科中心收治的下肢动脉缺血性疾病糖尿病足患者42例,共42条肢体,其中男34例,女8例,男女比例4:1,年龄30~80岁,平均(56.7±18.3)岁,42例糖尿病足病变程度为(2类B级)<sup>[3]</sup>。42例下肢远端动脉病变程度:胫前动脉无显影,胫后动脉近端稍显影。42例患者均采用自体外周血干细胞移植术。按以上条件入选病例,在胫前动脉、胫后动脉病变程度、下肢动脉供血状况以及肝肾功等方面均具有可比性(均衡性检验: $t=3.24$ , $P>0.05$ )。

### 1.2 自体干细胞移植 (transplantation of autologous peripheral blood stem cells, TPBSC)

**1.2.1 自体外周血干细胞动员** 皮下注射重组人粒细胞集落刺激因子(filgrastim, rhG-CSF)或重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(sargramostim, rhGM-CSF),监测外周血白细胞达 $20 \times 10^9/L \sim 50 \times 10^9/L$ ,流式细胞仪(flow cytometry, FCM)检测CD34<sup>+</sup>阳性细胞数达 $4 \times 10^8$ 。

**1.2.2 外周血干细胞采集** 骨髓动员5~7d,采

用CS-3000 PLUS血细胞分离器(美国, Baxter公司)采集外周血干细胞悬浊液60~90 mL (CD34<sup>+</sup>细胞数不少于 $2 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$ )。

**1.2.3 干细胞移植** 硬膜外麻醉或静脉强化麻醉下于小腿肌肉内和足背处沿动脉走行点状注射(每点悬浊液0.5 mL, CD34<sup>+</sup>阳性细胞数 $0.5 \times 10^6/L \sim 0.7 \times 10^6/L$ ,点距2 cm×2 cm。移植前和移植后常规应用抗凝和祛聚药物。

### 1.3 肢体局部流量变效应指标 (blood flow quantitative change indicatrix, BQI)

用于评价术前术后肢体缺血血流重建疗效的客观性指标,主要包括皮温指数(skin temperature index, STI, 多功能监测仪AMBULANCE-9200M3, 深圳)、经皮氧分压(percutem oxygen partial pressure monitoring device, TcPO<sub>2</sub>, 经皮氧分压监测仪TCPO<sub>2</sub>, 瑞典)、踝肱指数(ankle-brachium index, ABI, 周围血管多谱勒检测仪ANGIOLAB2 PHLEBOLAB, 法国)、光电容积微血流态指数(photoplethysmography index, PPGI, 周围血管多谱勒检测仪ANGIOLAB2 PHLEBOLAB, 法国)、血氧饱和度(saturation of blood oxygen, SaO<sub>2</sub>, 多功能监测仪AMBULANCE-9200M3, 深圳)、数字减影血管造影评分(digital subtraction angiography score, DSAS)。操作均按说明书进行。

### 1.4 随访方法

随访时间为术后1 a。通知患者回科室复查,按术前检测指标测算数值。

### 1.5 计算方法

$$PPGI = \frac{\text{实际平均波峰值或正常状态波峰值}}{\text{实际平均波形面积或正常状态波形面积}}$$

PPGI=1表示肢体远端无缺血, PPGI<1及≥0.5表示肢体远端处于缺血状态, PPGI<0.5及≥0.2表示肢体远端较重缺血, PPGI<0.2表示肢体远端严重缺血; DSAS=0表示无侧支循环和新生血管形成, DSAS>0及≤0.5表示有一级侧支循环无新生血管形成, DSAS>0.5及≤1表示有二级侧支循环无新生血管形成, DSAS>1及≤1.5表示有三级侧支循环无新生血管形成; ABI=踝部动脉收缩压/肱动脉收缩压; STI=实际皮温/周围环境温度。间隙性跛行距离(m):选择机械型走步机,速度均界定为10 km/h,行走至小腿出现疼痛时停止,读取行走距离。

### 1.6 统计学处理

数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用F检

验,单因素方差分析,多元变量相关分析,SPSS统计软件处理,检验水准 $\alpha=0.05$ , $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

42例患者均于干细胞移植术后1 a回院复查。间隙性跛行距离延长( $46.2.3 \pm 10.6$ ) m,足部TcPO<sub>2</sub>( $37.6 \pm 9.5$ ) mmHg,足部ST( $11.6 \pm 0.3$ ),足部SaO<sub>2</sub>( $79.4 \pm 20.4$ )%,足趾PPGI( $0.8 \pm 0.1$ ),ABI( $0.9 \pm 0.2$ ),DSAS( $1.3 \pm 0.2$ );与术前比较以上客观性指标均有改善( $P<0.05$ ),见表1。

表 1 血流重建术前术后下肢 BQI 指标检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ )Tab. 1 Consequence of six items of BQI before and after blood flow remodeling in ischemic tissue of diabetic foot ( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	n	TcPO <sub>2</sub> (mmHg)	STI	SaO <sub>2</sub> (%)	PPGI	ABI	DSAS
术 前	42	30.63 ± 4.54	1.22 ± 0.23	42.43 ± 10.41	0.23 ± 0.05	0.33 ± 0.24	0.21 ± 0.03
术 后	42	37.61 ± 9.52*	1.63 ± 0.31*	79.44 ± 20.42*	0.81 ± 0.12*	0.72 ± 0.23*	1.32 ± 0.23*

与术前比较, \* $P < 0.05$ .

### 3 讨论

治疗性血管生成<sup>[5-10]</sup> (Therapeutic vasculogenesis) 的理念已深入到血管医学和再生医学领域, 缺血态组织血流重建后持久有效的灌注量仍是当今血流重建医学领域的重大难题之一. 膝下动脉管腔闭塞致远端组织供血不足或严重缺血系目前血管学领域难治性疾病, 诸如糖尿病足. 治疗的关键是重建缺血区域的血流. 持久有效的血流重建的方法一直是血管外科学领域的研究热点. 干细胞源性血管新生成为改善和修复缺血态组织部分血供的治疗策略之一, 其中, 人自体干细胞移植术治疗肢体缺血性疾病其临床疗效已得到国内专家学者的认可<sup>[11-16]</sup>. 本研究中 42 例患者下肢血流重建术时均选择自体外周血干细胞移植术; 结果证明, 接受干细胞移植患者间隙性跛行距离延长; 经检测患者皮色皮温、经皮血氧分压、血氧饱和度等 BQI 指标均有改善. 从糖尿病足这一病种方面初步证实自体外周血干细胞移植可改善下肢动脉缺血性疾病的症状和提供较为持久有效的组织血液灌注量; 干细胞源性新生血管在缺血态组织血流重建过程中发挥着重要作用; 缺血组织修复程度取决于不断扩增的干细胞演生的新生血管及有效的血流灌注量.

TPBSC 用于下肢严重缺血治疗时应把握好这一治疗方法的适应症、治疗策略和治疗中可能出现的问题: (1) 部分患者因下肢缺血非常严重, 如果给予 TPBSC 治疗, 很难度过术后 3 周的血管新生时期, 可能因为无法忍受的肢体疼痛而强烈要求截趾或低位截肢, 从而中止 TPBSC 治疗, 这无疑给患者身心和费用上带来沉重负担. 因此, 对于这部分患者, 应慎重选择干细胞治疗; (2) 下肢缺血组织的治疗也应是一种综合性治疗, 不能过分强调 TPBSC 单一因素; (3) 重复 TPBSC 治疗理论上是成立的, 但间隔的时间和重复的次数与疗效的关系仍是一个值得探讨的问题; (4) 年龄在 30 ~ 50 岁之间症状缓解明显、新生血管较易形成, 时间约在 3 个月以上; 50 ~ 80 岁之间症

状缓解时间长, 约 5 ~ 8 个月以上. 因缺乏大样本病例以及完整的随访资料, 加之大部分患者出院后因其下肢活动量不一致以及自行加用其它药物或治疗等问题, 使得 TPBSC 的远期疗效尚难作出肯定的结论. PBSCT 目前尚处于起步阶段, 还有很多问题尚难解释, 如干细胞沿着特别路径定向分化形成一种特化细胞的内部调控机制, 这种调控机制如何在微环境的影响下转变; 干细胞的分化是何阶段最适合于移植; 激活多能干细胞的分子和信号机制; 重建血管功能可以持续多久; PBSCT 移植最佳途径或是多途径移植的进一步研究等, 对于这些问题仍需作长期的研究和观察.

尽管如此, 目前笔者仍认为, PBSCT 治疗下肢糖尿病足缺血性疾病是一种安全、简便和有效的可选择的治疗方法.

### [参考文献]

- [1] HUANG P P, LI S Z, MAN M Z, et al. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2005, 28(9): 2155.
- [2] HUANG P P, LI S Z, HAN M Z, et al. Transplantation of autologous peripheral blood stem cells for the treatment of lower limb arteriosclerosis obliterans [J]. *Chinese Journal of Hematology*, 2003, 24(6): 308 - 311.
- [3] OYIBO S O, JUDE E B, TARAWNEH I, et al. A comparison of two diabetic foot ulcer classification systems: the Wagner and the University of Texas wound classification systems [J]. *Diabetes Care*, 2001, 24: 84 - 86.
- [4] VALE P R, ISNER J M, ROSENFELD K. Therapeutic angiogenesis in critical limb and myocardial ischemia [J]. *J Interv Cardiol*, 2001, 14: 511 - 528.
- [5] ISNER J M, ASAHARA T. Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization [J]. *J Clinical Investigation*, 1999, 103 (9): 1231 - 1233.
- [6] BEERES S L, ATSMAN E D, VAN RAMSHORST J, et al. Cell therapy for ischaemic heart disease [J]. *Heart*, 2008, 94(9): 1214 - 1226.

- [7] ORTAK J, AKIN L, KISCHE S, et al. Stem cell use for cardiac diseases as of 2008 [J]. *Transfuse Apher Sci*, 2008, 38(3): 253 – 260.
- [8] NOVOTNY N M, RAY R, MARKEL T A, et al. Stem cell therap in myocardial repair and remodeling[J]. *J Am Coll Surg*, 2008, 207(3): 423 – 434.
- [9] HRISTOV M, ZERMECKE A, SCHOBER A, et al. Adult progenitor cells in vascular remodeling during atherosclerosis[J]. *Biol Chem*, 2008, 389(7): 837 – 844.
- [10] HILLEGASS W. The bone marrow and endovascular therapy[J]. *Catheter Cardiac Interv*, 2008, 72(2): 210 – 211.
- [11] 杨镛, 陆平, 何晓明, 等. 人自体干细胞移植在重症肢体缺血血流重建中的疗效与评价[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2009, 16(2): 115 – 118.
- [12] 李珊珊, 杨镛. 半乳糖凝集素-3对干细胞源性Tip血管内皮细胞增殖的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2012, 29(1): 102 – 104.
- [13] SHINTANI S, MUROHARA T, IKEDA H, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2001, 103: 2 776 – 2 779.
- [14] IBA O, MATSUBARA H, NOZAWA Y, et al. Angiogenesis by implantation of peripheral blood mononuclear cells and platelets into ischemic limbs [J]. *Circulation*, 2002, 106: 2 019 – 2 025.
- [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: 427 – 435.
- [16] KOCHER A A, SCHUSTER M D, SZABOLCS M J, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone marrow derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function [J]. *Nat Med*, 2001, 7: 430 – 436.
- (2012 – 07 – 09 收稿)

(上接第 52 页)

- Human Genetics*, 2002, 111 (4–5): 394 – 397.
- [9] 杨中纯, 肖自安. 连接蛋白基因一个新致聋突变体 p.Y155X 及功能分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2010, 27(3): 241 – 245.
- [10] 张延平, 张元丁, 李丽娜, 等. 中国人常见 GJB2 基因突变表达载体的构建及鉴定[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 23(16): 724 – 727.
- [11] 余咏梅, 焦扬, 顾娟, 等. 云南省白族、彝族遗传性非综合征性耳聋人群 GJB2 基因突变研究[J]. *昆明医学院学报*, 2010, 31(6): 16 – 20.
- [12] 李彦华, 关宏恩, 徐红霞, 等. 新疆维吾尔族非综合征性遗传性聋 GJB2 基因突变的研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2010, 24(13): 604 – 607.
- [13] YUAN Y, ZHANG X, HUANG S, et al. Common molecular etiologies are rare in nonsyndromic Tibetan Chinese patients with hearing impairment[J]. *Plos one*, 2012, 7(2): 1 – 7.
- [14] 朱一鸣, 郭玉芬, 刘晓雯, 等. 陕西省部分聋哑学生聋病易感基因分子流行病学研究[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2010, 18(3): 225 – 228.
- (2012 – 07 – 10 收稿)