

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.01.028 [http://www.crter.org]

王广宇, 朱旅云, 马利成, 胡丽叶, 李晓玲, 杨少玲, 单巍, 厚荣荣. 干细胞移植治疗糖尿病足[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(1):173-180.

干细胞移植治疗糖尿病足★

王广宇, 朱旅云, 马利成, 胡丽叶, 李晓玲, 杨少玲, 单巍, 厚荣荣

白求恩国际和平医院内分泌科, 河北省石家庄市 050082

文章亮点:

1 肌肉注射人脐带间充质干细胞治疗糖尿病足, 治疗前后以疼痛评分、患肢冷感评分、下肢间歇性跛行评分、经皮氧分压、踝肱指数、红外线皮温、神经传导速度、自觉症状临床评分、周围神经功能临床检查评分、振动感觉阈值评价其疗效。

2 评价更多病例报告, 以文献的发表时间、主要机构、细胞移植方法、治疗结果等内容分析人脐带间充质干细胞治疗糖尿病足的相关问题。

关键词:

干细胞; 干细胞临床实践; 脐带间充质干细胞; 骨髓干细胞; 脐血干细胞; 细胞移植; 踝肱指数; 神经传导速度; 糖尿病足; 缺血性病变; 神经病变

摘要

背景: 以自体骨髓、脐血单个核细胞移植治疗糖尿病足, 对缺血性病变及周围神经损伤所致临床症状有改善作用, 对糖尿病足也有较好的疗效。脐带间充质干细胞与骨髓干细胞和脐血干细胞相比有其自身的优势。

目的: 观察脐带间充质干细胞移植治疗糖尿病足病缺血及神经损伤的疗效。

方法: 选取 2010 至 2012 年住院行脐带间充质干细胞移植治疗的糖尿病足病患者 32 例, 将脐带间充质干细胞稀释后行双下肢肌肉内注射, 每个注射点间隔约 3 cm, 每个肢体移植 $(5.02 \pm 1.37) \times 10^8$ 个。于 3 个月和 6 个月后评价其下肢缺血和下肢周围神经病变情况。并检索 CNKI 数据库, 对国内干细胞移植治疗糖尿病足的研究状况进行分析。

结果与结论: 移植后踝肱指数升降不一, 移植后 6 个月疼痛评分及冷感评分明显改善, 间歇性跛行及皮肤温度、经皮氧分压治疗后 3, 6 个月与移植前比较差异均有显著性意义; 对神经病变损伤自觉症状评分、临床检查评分、振动感觉阈值移植后 6 个月与移植前比较差异有显著性意义。腓浅神经、胫神经感觉神经传导速度, 腓总神经、胫神经运动神经传导速度, 在移植后 3 个月与移植前比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 移植 6 个月与移植前相比较有升高, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。可见脐带间充质干细胞可以改善糖尿病缺血性病变及周围神经病变的临床症状及客观指标。文献分析结果发现, 已有的研究中治疗结果都比较理想, 多数研究中的移植方法为进行肌肉注射。

王广宇★, 男, 1971 年生, 河北省保定市人, 汉族, 1998 年湖北中医学院毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事糖尿病并发症的干细胞治疗的研究。

Yangzy_1220@yahoo.com.cn

通讯作者: 朱旅云, 博士, 主任医师, 白求恩国际和平医院内分泌科, 河北省石家庄市 050082
Zzllyy2008@yahoo.com.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 2095-4344
(2013)01-00173-08

收稿日期: 2012-10-23
修回日期: 2012-12-15
(20120908002/MWJ·C)

Stem cell transplantation for the treatment of diabetic foot

Wang Guang-yu, Zhu Lü-yun, Ma Li-cheng, Hu Li-ye, Li Xiao-ling, Yang Shao-ling, Shan Wei, Hou Rong-rong

Department of Endocrinology, Bethune International Peace Hospital of Chinese PLA, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China

Abstract

BACKGROUND: Autologous bone marrow and umbilical blood mononuclear cell transplantation can improve the clinical symptoms caused by ischemic lesions and peripheral nerve injury, and have good effect on diabetic foot. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells have their own advantages when compared with bone marrow stem cells and umbilical cord blood stem cells.

Wang Guang-yu★, Master,
Associate chief physician,
Department of Endocrinology,
Bethune International Peace
Hospital of Chinese PLA,
Shijiazhuang 050082, Hebei
Province, China
yangzy_1220@
yahoo.com.cn

Corresponding author:
Zhu Lü-yun, M.D., Chief
physician, Department of
Endocrinology, Bethune
International Peace Hospital of
Chinese PLA, Shijiazhuang
050082, Hebei Province, China
Zzllly2008@yahoo.com.cn

Received: 2012-10-23
Accepted: 2012-12-15

OBJECTIVE: To observe the effect of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on diabetic foot ischemic lesions and peripheral nerve injury.

METHODS: Thirty-two patients with diabetic foot who received umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation from 2010 to 2012 were selected. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells were intramuscularly injected into the bilateral lower extremities with 3 cm distance between two injection sites after dilution. The number of implanted cells was $(5.02 \pm 1.37) \times 10^8$ per leg. The lower extremity ischemia and lower extremity peripheral neuropathy were evaluated at 3 and 6 months after injection. The CMKI database was searched for the literatures in order to analyze the research situation of stem cell transplantation for the treatment of diabetic foot in China.

RESULTS AND CONCLUSION: There was no significant difference in ankle/brachial index after treatment. The pain score and the apathetic score were significantly improved at 6 months after transplantation. There were significant differences in angina cruris, skin temperature and transcutaneous oxygen partial pressure after 3 or 6 months of treatment. After treatment for 6 months, there were significant differences in rational symptom score, clinical examination score and vibration perception threshold. There were no significant differences in the conduction velocity of motor/sensory nerves of peroneal nerve and tibial nerve at 3 months after transplantation when compared with those before transplantation ($P > 0.05$), and there were significant differences at 6 months after transplantation when compared with those before transplantation ($P < 0.05$). The clinical symptoms and objective indexes of diabetic ischemic lesions and peripheral neuropathy can be improved by umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. Literatures analysis has shown that the therapeutic effect in the existing research is satisfactory, and the transplantation method in most researches is consistent with that in this research.

Key Words: stem cells; umbilical cord-derived mesenchymal stem cells; bone marrow stem cells; umbilical cord blood stem cells; cell transplantation; ankle/brachial index; nerve conduction velocity; diabetic foot; ischemic lesions; neuropathy.

Wang GY, Zhu LY, Ma LC, Hu LY, Li XL, Yang SL, Shan W, Hou RR. Stem cell transplantation for the treatment of diabetic foot. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(1):173-180.

0 引言

糖尿病足是糖尿病患者由于并发神经病变及各种不同程度末梢血管病变而导致下肢感染、溃疡形成和(或)深部组织的破坏,是导致糖尿病患者致残致死的严重慢性并发症之一^[1-2]。糖尿病外周血管病变常常累及双下肢动脉,早期主要表现为间歇性跛行,随着狭窄的加重可出现静息痛甚至丧失行走能力,如缺血伴感染和神经病变可导致局部组织坏死、溃疡和坏疽而形成缺血性糖尿病足^[3-6]。大约有60%的非创伤性小腿截肢是由糖尿病足引起,糖尿病足给社会及家庭造成了沉重的医疗负担。

利用干细胞的血管新生机制进行糖尿病双下肢缺血性病变,是近年来的一项崭新的技术,取得了较好的临床效果,改善患肢缺血症状及客观指标,在许多学者的努力下普及了自体骨髓干细胞的移植技术^[7-9],作者进行了脐血干细胞移植的临床研究工作,取得了较好的成果^[10-11]。临床观察体会中,骨髓源及脐血源间充质干细胞仍有着数量及质量上的不足。

脐带是医疗废物,多抛弃不用,但其中含有较为单一的间充质干细胞,来源更加丰富,传代更加容易,避免了伦理上的要求,许多实验证实,一定条件下可以诱导分化为内皮细胞,增加小血管数量,改善缺血,文章就脐带间充质干细胞移植治疗糖尿病足病缺血及神经损伤的疗效作一初步总结。

1 对象和方法

设计: 自身前后对照观察。

时间及地点: 实验于2010年1月至2012年3月在白求恩国际和平医院内分泌科完成。

对象:

诊断标准: 综合2007版《中国2型糖尿病防治指南》推荐诊断标准。

纳入标准: ①有肢体缺血性表现, 存在不同程度静息痛、冷感、间歇性跛行。②踝肱指数0.4-0.85。

排除标准: ①急慢性感染、急性并发症。②半年内有心脑血管严重并发症、肝肾功能衰竭、恶性肿瘤等患者。

最后纳入糖尿病足病患者32例进行脐带间充质干细胞移植治疗, 观察了58条肢体移植前后缺血性指标及神经病变指标变化。患者年龄71-81岁, 男19例, 女13例; 发现糖尿病时间为12-29年, 平均(17.0±5.4)年; 伴有陈旧性脑梗死的患者21例, 伴有陈旧性心肌梗死的患者9例, 伴心脏支架的患者3例, 合并冠心病的患者27例, 合并高血压病的患者25例, 合并血脂异常的患者23例。

材料:

脐带间充质干细胞: 来自白求恩国际和平医院健康分娩孕妇的脐带, 由本院干细胞中心进行分离培养、传代, 并制成细胞悬液。

实验用仪器:**Main experimental instruments:**

仪器	来源
ES-1000SPM 多普勒血流控制仪	日本林电器株式会社
PICCOLO 多功能红外线体温仪	瑞士 microlife 公司
TCMTM400 经皮氧分压监测仪	丹麦雷度公司
Neuropack2 型神经电位诱发仪	日本 Nihon Kohden 公司
Bio-Thesimeter 感觉定量检查仪	美国倍爱康公司

方法:

辅助治疗和检查: 每例患者均经常规治疗, 包括严格控制血糖、降压、降脂、改善循环、抗感染、抗凝、营养神经、局部理疗等, 局部或其他部位感染控制后可行人脐带间充质干细胞移植。移植前对患者进行双下肢彩超、血管CT成像检查确定下肢动脉狭窄及闭塞情况。

人脐带间充质干细胞的移植: 采用腰麻或硬膜外麻醉, 或静脉麻醉。常规消毒, 铺无菌巾。单个肢体移植人脐带间充质干细胞(2.08-8.70)×10⁸个, 平均数量为(5.02±1.37)×10⁸个。将细胞悬液用无菌生理盐水稀释, 视患肢大小决定, 一般稀释至120 mL左右, 如果肢体较大可以增加稀释体积, 这样有利于移植。稀释后双下肢肌肉内注射, 每点1-3 mL, 间隔约3 cm。

主要观察指标: 分别于移植前及移植后3个月和6个月进行一次下列指标的检测。

评判糖尿病下肢缺血性指标:

下肢疼痛评分: 患者依据自觉症状进行临床评分,

分值见表1。

表1 疼痛、冷感、间歇性跛行评分的分值

Table 1 Score of pain, pathetic and angina cruris

分值	疼痛评分	冷感评分	间歇性跛行评分
0分	无疼痛	无冷感	行走大于500 m无疼痛
1分	偶有疼痛, 被问时能回忆起	患者偶述受累肢体发凉怕冷	行走400-499 m有疼痛
2分	疼痛经常出现但能忍受, 不需或偶用一般止痛剂	受累肢体经常有发凉怕冷的感觉	行走300-399 m有疼痛
3分	经常用一般止痛剂	受累肢体明显发凉怕冷, 需采用局部保温措施, 症状能缓解	行走100-299 m有疼痛
4分	因疼痛影响睡眠, 一般止痛剂难以缓解	受累肢体明显发凉怕冷, 采用局部保温措施, 症状无明显改善	静息痛, 无法行走或行走小于100 m有疼痛

下肢冷感评分: 患者依据自觉症状进行临床评分, 分值见表1。

下肢间歇性跛行评分: 患者按正常速度(60-70 m/min)步行, 依据自觉症状进行临床评分, 分值见表1。

踝肱指数检测: 用ES-1000SPM多普勒血流控制仪检测, 测量踝部胫后动脉或胫前动脉以及肱动脉的收缩压, 得到踝部动脉压与肱动脉压之间的比值。正常人休息时踝肱指数的范围为0.9-1.3, 低于0.8预示着中度疾病, 低于0.5预示着重度疾病。

足部皮肤温度检测: 用PICCOLO多功能红外线体温仪检测下肢皮温。室温控制在(26±2) °C, 在室温下充分暴露20 min后进行测量, 方法为检测足趾腹侧、足底前部两侧、足心部、足跟部皮温, 取平均值, 为足部皮温。

经皮氧分压检测: 用经皮氧分压监测仪TCMTM400检测患者经皮氧分压。通过有内在电热装置的电极植入皮肤, 使皮肤温度升至44 °C, 测定扩张血管的氧含量, 以此来了解组织血液灌注情况。

评判糖尿病下肢周围神经病变评判指标:

自觉神经症状临床评分: 用于神经病变症状严重程度评估。通过神经病变问卷评定双下肢自发性疼痛程度、双下肢麻木程度、发热发冷、自主神经症状, 评分方法见表2。双下肢自觉症状评分由总症状评分来反映, 为这些分值的总和。

临床神经功能检查评分: 对患者触觉、感觉减退、感觉过敏、足背运动能力、膝腱及跟腱反射进行评分, 分值见表3。触觉用特制的10 g尼龙丝检测, 运动能力检查足背屈力和肌肉萎缩情况。周围神经功能临床检查

评分为这些分值总和。

表2 自觉神经症状临床评分的评分方法

Table 2 Clinical scores of consciously neurological symptoms

项目	评分方法
自发性疼痛程度	用目测类比法, 患者在一 10 cm 长的直线上, 根据自己对疼痛的感受标出疼痛所处的程度。 0分: 这一直线的左侧起点或其左端, 完全不痛。 10分: 右侧末点或其右端, 为患者所能想象的最剧烈的疼痛。
麻木程度	用严重程度表示。 0分: 无。 1分: 轻度, 在休息安静时感觉到。 2分: 中度, 麻木始终存在, 但不影响日常生活。 3分: 重度, 麻木已影响日常生活, 如患者因为麻木不能入睡或行走等。
发热发冷	用无、有表示。 0分: 无。 2分: 有。
自主神经症状	包括双下肢多汗、皮肤干燥开裂, 用无、有表示。 0分: 无。 1分: 有。

表3 临床神经功能检查评分的分值

Table 3 Clinical neurological examination score

分值	触觉	感觉减退	感觉过敏	足背运动能力	膝腱及跟腱反射
0分	正常	正常	无	屈力正常	正常
1分	减弱	感觉减弱	-	屈力减低	减弱
2分	无感觉	疼痛消失	有	屈力减低伴肌肉萎缩	无反射

神经传导速度检查:应用Neuropack2型神经电位诱发仪分别检查腓浅神经感觉神经、腓神经运动神经、胫神经感觉神经、胫神经运动神经的传导速度, 以评定相关神经的传导功能。

振动感觉阈值检查:应用Bio-Thesimeter感觉定量检查仪测定。缓慢调高电压, 至患者感觉到振动时记录当时的电压值, 作为振动感觉阈值。若患者振动感觉阈值大于25 V, 则认为有糖尿病周围神经病变。若电压调到最大值50 V时患者仍未感觉到振动, 则记录其振动感觉阈值为51 V。

不良事件和不良反应观察:分别于移植前及移植后3个月和6个月观察有无异常症状、体征, 观察血尿常规、生化、心电图、出凝血时间改变情况。移植3个月后只观察了51条下肢, 移植6个月后只观察了46条下肢, 原因是有一部分患者未完成相关检查。

统计学分析:应用SAS 8.02软件进行统计处理, 计量资料中呈正态分布数据经 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料比较行 t

检验或协方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 下肢动脉狭窄及闭塞情况 股动脉狭窄16例, 闭塞0例; 腘动脉狭窄13例, 闭塞8例; 胫前动脉狭窄19例, 闭塞21例; 胫后动脉狭窄16例, 闭塞24例; 腓动脉狭窄15例, 闭塞18例; 足背动脉狭窄24例, 闭塞15例, 见表4。

表4 肢体血管狭窄闭塞情况

Table 4 Incidence of limb angiostegnosis occlusion (n=58)

项目	股动脉	腘动脉	胫前动脉	胫后动脉	腓动脉	足背动脉
狭窄	16	13	19	16	15	24
闭塞	0	8	21	24	18	15

2.2 缺血性指标检测结果

踝肱指数检测结果:治疗前踝肱指数为 0.54 ± 0.19 ; 脐带间充质干细胞移植后踝肱指数的变化情况见表5。

表5 脐带间充质干细胞移植后踝肱指数的变化情况

Table 5 Changes of ankle/brachial index after umbilical cord derived mesenchymal stem cells transplantation

时间	升高 0.3	升高 0.2	升高 0.1	降低 0.1	降低 0.2	降低 0.3
治疗 3 个月后	7	11	10	9	8	13
治疗 6 个月后	6	11	10	14	9	8

治疗3个月检测的58条肢体中, 踝肱指数升降不一。其中踝肱指数升高0.3以上7条, 升高0.2以上11条肢体, 升高0.1以上为10条肢体, 降低0.1以下9条肢体, 降低0.2以下8条肢体, 降低0.3以下13条肢体; 治疗6个月后, 踝肱指数升高0.3以上6条, 升高0.2以上11条, 升高0.1以上为10条, 降低0.1以下14条, 降低0.2以下9条, 降低0.3以下8条。

其他缺血性指标检测结果:下肢疼痛评分、冷感评分、间歇性跛行评分、足部皮肤温度、经皮氧分压检测结果见表6。下肢疼痛评分、冷感评分、间歇性跛行评分治疗3个月和6个月与治疗前相比评分下降, 差异有显著性意义($P < 0.05$); 足部皮肤温度治疗后3个月和6个月与治疗前相比均显著升高, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。经皮氧分压在治疗3个月与治疗前相比差异无显著性意义($P > 0.05$), 但6个月后显著升高, 差异有显

著性意义($P < 0.05$)。

表6 脐带间充质干细胞移植前后双下肢缺血性指标的对比

Table 6 Comparison of ischemic index of bilateral lower extremities before and after umbilical cord derived mesenchymal stem cells transplantation ($\bar{x} \pm s$)

时间	<i>n</i>	疼痛评分	冷感评分	间歇性跛行评分	皮肤温度(°C)	经皮氧分压(kPa)
治疗前	58	2.8±1.3	2.3±1.1	2.4±1.2	21.0±5.3	23.0±3.5
治疗后3个月	51	2.3±1.3	1.9±1.1	2.0±1.3	23.1±6.0	24.0±4.4
治疗后6个月	46	2.2±1.2	1.8±1.2	1.9±1.2	24.0±5.5	24.5±4.3
<i>t</i> ₁		2.00	1.89	1.72	1.94	1.32
<i>P</i> ₁		0.02 ^a	0.03 ^a	0.04 ^a	0.03 ^a	0.09
<i>t</i> ₂		2.78	2.21	2.11	2.82	1.96
<i>P</i> ₂		0.01 ^a	0.01 ^a	0.02 ^a	0.01 ^a	0.03 ^a

*t*₁和*P*₁为治疗3个月与治疗之前相比较的*t*值和*P*值,*t*₂和*P*₂为治疗6个月与治疗之前相比较的*t*值和*P*值。^a $P < 0.05$

2.3 周围神经病变指标检测结果

神经传导速度检查结果:腓浅神经、胫神经感觉神经传导速度,腓总神经、胫神经运动神经传导速度,在治疗后3个月与治疗前比较,差异无显著性意义($P > 0.05$);治疗6个月与治疗前相比较显著升高,差异有显著性意义($P < 0.05$),神经传导速度检查结果见表7。

表7 干细胞移植前后神经传导速度对比

Table 7 Comparison of nerve conduction velocity before and after stem cells transplantation ($\bar{x} \pm s$, m/s)

时间	<i>n</i>	腓浅神经感觉神经	腓总神经运动神经	胫神经感觉神经	胫神经运动神经
治疗前	58	32.4±5.5	42.1±6.6	34.6±6.5	47.3±9.1
治疗后3个月	58	33.6±6.1	43.6±7.9	33.6±7.1	48.9±8.5
治疗后6个月	46	34.6±7.4	44.8±8.7	36.9±6.8	50.6±8.7
<i>t</i> ₁		1.08	1.08	0.76	0.94
<i>P</i> ₁		0.14	0.14	0.22	0.17
<i>t</i> ₂		1.74	1.80	1.75	1.87
<i>P</i> ₂		0.04 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0.03 ^a

*t*₁和*P*₁为治疗3个月与治疗之前相比较的*t*值和*P*值,*t*₂和*P*₂为治疗6个月与治疗之前相比较的*t*值和*P*值。^a $P < 0.05$

其他周围神经病变指标检测结果:自觉神经症状评分、临床神经功能检查评分及振动感觉阈值检测结果见表8。治疗后3个月自觉神经症状评分、临床神经功能检查

评分及振动感觉阈值与治疗前比较差异无显著性意义($P > 0.05$),治疗后6个月与治疗前比较,差异有显著性意义($P < 0.05$)。

表8 干细胞移植前后糖尿病周围神经病变自觉症状、临床检查评分及振动觉阈值对比

Table 8 Comparison of the ational symptom, clinical examination and vibration perception threshold of diabetic peripheral nerve before and after stem cells transplantation ($\bar{x} \pm s$)

时间	<i>n</i>	自觉神经症状评分	临床神经功能检查评分	振动感觉阈值(V)
治疗前	58	7.3±2.6	3.9±1.5	25.4±6.6
治疗后3个月	51	6.4±2.4	3.8±1.7	24.1±8.9
治疗后6个月	46	6.4±2.4	3.3±1.6	22.8±8.9
<i>t</i> ₁		0.55	0.33	0.87
<i>P</i> ₁		0.29	0.37	0.19
<i>t</i> ₂		1.81	1.97	1.71
<i>P</i> ₂		0.03 ^a	0.03 ^a	0.04 ^a

*t*₁和*P*₁为治疗3个月与治疗之前相比较的*t*值和*P*值,*t*₂和*P*₂为治疗6个月与治疗之前相比较的*t*值和*P*值。^a $P < 0.05$

2.4 不良事件及不良反应观察情况 移植后数天内部分患者自觉移植下肢有发胀感、热感,并伴有疼痛减轻。观察6个月内患者增加随访,并依据情况指导双下肢锻炼,期间无死亡病例,无心脑血管急性并发症,心电图和肝肾功能无特殊改变,出凝血时间正常。

3 文献分析

3.1 检索分析CNKI数据库2002至2011年收录关于干细胞移植治疗糖尿病足文献数量的分析 见图1。

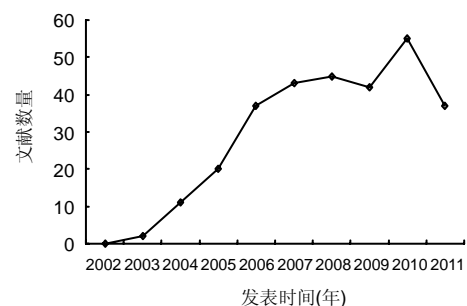


图1 CNKI数据库2002至2011年收录关于干细胞移植治疗糖尿病足文献每年发表的文献数量

Figure 1 Number of the literatures on the stem cells transplantation for the treatment of diabetic foot published every year in CNKI database from 2002 to 2011

从图1可看出,近10年来,CNKI数据库共收录关于干细胞移植治疗糖尿病足文献每年发表的文献292篇。2002年没有关于干细胞移植治疗糖尿病足的文献发表,而到2010年有55篇相关文献发表,文献数量增长很快。

3.2 CNKI数据库2002至2011年收录关于干细胞移植治疗糖尿病足文献的发表机构分析 见表9。

表9 CNKI数据库2002至2011年收录关于干细胞移植治疗糖尿病足文献的前12位的机构

Table 9 Top 12 institutes that published the literatures on stem cells transplantation for the treatment of diabetic foot in the CNKI database from 2002 to 2011

机构	文献数量
首都医科大学宣武医院	11
解放军南京军区南京总医院	9
解放军第三军医大学第一附属医院	7
解放军第463医院	7
河北医科大学第四医院	6
沈阳市第七人民医院	6
武汉市中心医院	6
温州医学院附属第一医院	6
河南省人民医院	6
南阳医学院附属太和医院	5
河北医科大学	5
解放军白求恩国际和平医院	5

由表9可看出,首都医科大学宣武医院发表了11篇文献是关于干细胞移植治疗糖尿病足方面的,居全国之首。其余发表相关文献较多的机构有解放军南京军区南京总医院、解放军第三军医大学第一附属医院、解放军第463医院、河北医科大学第四医院、沈阳市第七人民医院、武汉市中心医院、温州医学院附属第一医院、河南省人民医院、南阳医学院附属太和医院、河北医科大学、解放军白求恩国际和平医院。

3.3 CNKI数据库2006至2012年收录关于干细胞移植治疗糖尿病足文献的内容分析 见表10。

在选取干细胞移植治疗糖尿病足文献进行内容分析时,作者发现自体骨髓干细胞治疗糖尿病足的文献较多,研究也较早。脐血和脐带间充质干细胞相关文献较少,起步较晚。表10列出了所选取的10篇相关文献的研究内容,其中6篇是关于自体骨髓干细胞的,3篇关于脐血干细胞,1篇关于脐带间充质干细胞,全部为临床试验。其中病例数最少1例,最多40例。患者年龄最低50岁,最高87岁。移植方法大部分都是进行肌肉注射,有1篇文献采用了静脉输注和肌肉注射相结合的方式。治疗结果的观测指标不

一,但10篇文献的治疗结果均比较理想。

4 讨论

本组实验人脐带间充质干细胞移植后进行了6个月以内的临床观察,实验证实此移植对于缺血性的临床症状和经皮氧分压等客观指标均有明显的改善作用。本文中均采用局部肌肉内注射的移植方法,所有患者均未出现临床及常规生化检查所见的免疫排斥反应。

脐带源间充质干细胞体外可以向内皮细胞诱导分化,发现有内皮细胞的特异性表面抗原^[21],进一步证明脐带间充质干细胞分化的内皮祖细胞进行血管重建过程。脐带间充质干细胞在体外,可以向神经元及许旺细胞诱导分化,动物实验表明可以转化为神经样细胞^[22]。本文显示在临床观察中,治疗后自觉麻木、疼痛、发凉神经症状评分明显下降,临床检查评分及振动觉阈值都有改善,双下肢神经传导速度均有所增加。自体骨髓单个核细胞目前已得到较为广泛的应用,其移植物是自身骨髓单个核细胞的混合物。由于移植人群年龄性别体质等多种因素,其质量及数量较难以保证,既往为单个肢体骨髓单个核细胞移植数量为 $(1.39\pm 0.68)\times 10^8$ 个。本实验与之相比在数量上明显提高了,数量为 $(5.02\pm 1.37)\times 10^8$ 个。虽然既往脐血干细胞移植数量较大,为 $(1.09\pm 0.72)\times 10^9$ 个,但移植物也为脐血单个核细胞提取,是细胞混合物。使细胞数量能够达到更多数量,临床上需要的脐血较多,产生不便^[23-24]。作者在过去的实验中移植自体骨髓单个核细胞数量上均在 10^8 - 10^9 数量级,优于 10^8 数量级以下的病例,而脐血干细胞移植也多数在 10^8 数量级^[10-11]。本实验在脐带间充质干细胞移植过程中也采用了 10^8 - 10^9 数量级。然而作者也在临床观察中感受到 10^8 数量级的干细胞就能达到满意的临床效果,移植数量增加是否可以增加疗效或同时增加不良反应,有待进一步观察。

经过文献分析发现近10年关于干细胞移植治疗糖尿病足文献数量增长很快;首都医科大学宣武医院发表的相关文献数量居全国之首。已有的研究中移植方法多数为肌肉注射,这和本文的移植方法一致。从这些研究的治疗结果来看,其观测指标不一。从指标的数量上来说,本文的研究中观测指标数量较多,能比较全面地观测干细胞移植后患者身体各方面产生的变化。关于脐带间充质干细胞治疗糖尿病足的文献较少,其研究起步较晚,但已有的研究中治疗结果都比较理想。

表 10 CNKI 数据库 2006 至 2012 年收录关于干细胞移植治疗糖尿病足 10 篇文献的内容分析

Table 10 Content analysis of 10 literatures on the stem cells transplantation for the treatment of diabetic foot published in the CNKI database from 2006 to 2012

作者	文章题目	干细胞种类	病例	患者年龄	移植方法	治疗结果	发表时间
李晓燕, 郭剑, 李辉, 等 ^[12]	人脐带间充质干细胞移植治疗糖尿病足患者 TregTh17Th1 细胞亚群的表达变化	人脐带间充质干细胞	5	平均年龄 (60±9.8)岁	干细胞悬液于患肢网状多点肌内注射, 间距 3 cm×3 cm, 病变严重者按 1 cm×1 cm 间距注射。	治疗后所有患者均自诉下肢麻木、冷感、间歇性跛行症状明显好转。	2012
朱旅云, 王广宇, 马利成, 等 ^[10]	脐血单个核细胞移植治疗糖尿病足 23 例	脐血间充质干细胞	23	不详	双下肢肌肉内注射, 每点 1-3 mL, 间隔约 3 cm。	疼痛评分、患肢冷感评分、下肢间歇性跛行评分、经皮氧分压、红外线皮温、神经传导速度升高; 自觉症状临床评分、周围神经功能临床检查评分、振动感觉阈值降低。踝肱指数升降不一。	2012
杨尚英, 王莉 ^[13]	1 例脐带血干细胞移植治疗糖尿病足的护理体会	脐血干细胞	1	59 岁	脐血干细胞静脉输注细胞悬液 1 份, 间隔 5-7 d, 取膝关节以下患肢进行局部种植 1 次。间距 3 cm×3 cm, 病变严重者按 1 cm×1 cm 间距注射	移植后 1 个月患肢皮温升高, 麻痛感轻, 局部肤色较前变红, 足背动脉搏动恢复正常, 溃疡周围有新鲜肉芽生长, 溃疡面缩小, 干燥。2 个月后溃疡面愈合, 皮温正常, 麻痛感消失, 半年后复查下肢血管可见不同程度的新生毛细血管形成。	2011
杨华强, 李东升, 杜玲, 等 ^[14]	脐血间充质干细胞移植治疗糖尿病足二例并文献复习	脐血间充质干细胞	2	54-65 岁	脐血间充质干细胞悬液分多点注射到病变下肢, 细胞数 (3-7)×10 ⁷ /L, 每点 0.3-0.5 mL, 各点间距约 3 cm×3 cm, 肌肉组织丰富的部位可分层注射。	患肢疼痛、冷感明显缓解, 跛行距离延长, 溃疡愈合, 皮温升高, 免除截肢致残, 无明显不良反应及并发症。	2010
黎英豪, 姜茂华, 杨孝良, 等 ^[15]	自体骨髓干细胞局部注射治疗糖尿病足三级创面	自体骨髓干细胞	22	52-87 岁	自体骨髓单个核细胞悬液按每点 0.8-1 mL, 根据创面大小不等, 均匀注射到创面下组织内。	20 例患者创面于 2-4 周愈合, 2 例患者未愈, 愈合率 90.9%, 而且疼痛、冷感较治疗前有明显减轻 ($P < 0.01$), 间歇性跛行距离较前明显好转, 治疗前后 ABI 无明显变化。	2010
陈兵, 陆德宾, 梁自文, 等 ^[16]	自体骨髓间充质干细胞体外扩增后移植治疗糖尿病足	自体骨髓干细胞	40	平均年龄 (64.3±12.7)岁	患肢小腿及足部肌间隙分多点注入自体骨髓间充质干细胞悬液。注入量: 下肢 0.75-1.0 mL/点、足部 0.3-0.5 mL/点; 进针深度: 下肢 1.5-2.0 cm, 足部 0.5-1.0 cm; 间距: 下肢 3 cm、足部 2 cm。通常单肢分 20-30 点注射。	移植后 1 个月, 细胞移植组患者肢体疼痛、冷感、间歇性跛行均有所改善, 踝肱指数明显升高, 双下肢血管显像血流灌注有所增加, 与常规治疗组比较差异均有显著性意义。	2009
夏洪娇, 苏晓清, 张雅薇 ^[17]	自体骨髓单个核干细胞移植治疗糖尿病足的临床应用	自体骨髓干细胞	4	50-67 岁	将自体骨髓单个核细胞悬液进行腓肠肌网状注射。每点 0.3-0.5 mL。每点间距 3 cm, 注射深度在肌肉内。溃疡或坏死部位要在最后对其周边或底部组织进行点状注射。	疗效显著, 主要表现在晦暗的皮色迅速好转; 疼痛缓解明显。包括有坏疽和缺血较严重的患肢疼痛均在术后 3-5 d 开始减轻; 各种观察指标改善; 久治不愈的溃疡或坏死创面经简单换药或切除坏疽部分、清创缝合后愈合。	2009
刘秀玲, 李伟娟, 项岫秀, 等 ^[18]	自体骨髓干细胞移植治疗 20 例糖尿病足的临床观察	自体骨髓干细胞	20	60-82 岁	在患肢小腿肌肉间一次性按 1.5 cm×1.5 cm 间距作自体骨髓干细胞悬液注射。	肢体疼痛、冷感和间歇性跛行有显著好转, 其中以疼痛和冷感缓解最快。疼痛有不同程度的缓解, 患肢冷感明显改善。移植后 1-3 个月踝肱指数平均由 0.39±0.18 上升至 0.68±0.12。	2007
李伟娟, 项岫秀, 俞芳, 等 ^[19]	自体骨髓单个核干细胞移植治疗糖尿病足 3 例	自体骨髓干细胞	3	54-72 岁	单个核细胞 2.6×10 ⁹ /L, 制成 50 mL 细胞悬液, 沿病变肢体腓肠肌进行局部注射。	ABI 指数上升, 下肢动脉造影显示: 右小腿侧支循环建立良好。	2006
胡全穗, 张建德, 邓建华, 等 ^[20]	自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病足 3 例报道	自体骨髓干细胞	3	57-85 岁	双下肢内外侧各取 10 个点, 将自体骨髓干细胞肌肉局部注射, 各点间距 2 cm, 进针深度 1-1.5 cm, 各点注射约 1 mL, 注射时注意避开血管。	患者自觉双下肢时有温热感, 感染控制, 足麻明显缓解。	2006

总之, 本组实验证实脐带间充质干细胞治疗不仅对缺血性病变有效, 还可以对周围神经损伤所致的临床症状有明显的改善作用。脐带间充质干细胞在糖尿病足的治疗中有巨大的潜力, 值得进一步深入研究。

作者贡献: 实验设计为朱旅云教授, 实验实施为王广宇, 实验评估为朱旅云教授, 资料收集为马利成, 胡丽叶, 李晓玲, 杨少玲, 单巍, 厚荣荣。朱旅云教授成文, 朱旅云教授及王广宇副主任医师对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 干细胞提取由白求恩国际和平医院干细胞中心负责, 产妇及家属知情同意符合国家干细胞移植要求, 试验方案获本院伦理委员会批准(伦理审批号: 20100312012)。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Wang S, Li Y, Zhao J, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate podocyte injury and proteinuria in a type 1 diabetic nephropathy rat model. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013.
- [2] Wan JB, Cai Q, Liu Y. Effect of intramuscular bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in the leg for treatment of diabetic foot ulcers in rats. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2012;32(12):1730-1736.
- [3] Drela E, Stankowska K, Kulwas A, et al. Endothelial progenitor cells in diabetic foot syndrome. *Adv Clin Exp Med*. 2012;21(2):249-254.
- [4] Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS. Concise review: clinical translation of wound healing therapies based on mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(1):44-50.
- [5] Weck M, Slesaczek T, Rietzsch H, et al. Noninvasive management of the diabetic foot with critical limb ischemia: current options and future perspectives. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2011;2(6):247-255.
- [6] Hou C, Shen L, Huang Q, et al. The effect of heme oxygenase-1 complexed with collagen on MSC performance in the treatment of diabetic ischemic ulcer. *Biomaterials*. 2013;34(1):112-120.
- [7] Shen L, Zeng W, Wu YX, et al. Neurotrophin-3 accelerates wound healing in diabetic mice by promoting a paracrine response in mesenchymal stem cells. *Cell Transplant*. 2012.
- [8] Gu YQ, Zhang J, Guo LR, et al. *Zhongguo Linchuang Kangfu*. 2004;8(35):7970-7972. 谷涌泉, 张建, 郭连瑞, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗下肢严重缺血: 32例报告[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(35): 7970-7972.
- [9] Yang XF, Wu YY, Wang HM, et al. *Zhonghua Neike Zazhi*. 2005;44(2):95-98. 杨晓凤, 吴雁翔, 王红梅, 等. 自体外周血干细胞移植治疗62例缺血性下肢血管病的临床研究[J]. *中华内科杂志*, 2005, 44(2): 95-98.
- [10] Zhu LY, Wang GY, Ma LC, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2012;16(1):175-178. 朱旅云, 王广宇, 马利成, 等. 脐血单个核细胞移植治疗糖尿病足23例[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(1): 175-178.
- [11] Wang GY, Zhu LY, Hou RR, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2011;15(14): 2508-2511. 王广宇, 朱旅云, 厚荣荣, 等. 自体骨髓单个核细胞移植治疗糖尿病性下肢缺血83例[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(14): 2508-2511.
- [12] Li XY, Guo J, Li H, et al. *Neimenggu Zhongyiyao*. 2012;31(20): 1-2. 李晓燕, 郭剑, 李辉, 等. 人脐带间充质干细胞移植治疗糖尿病足患者TregTh17Th1细胞亚群的表达变化[J]. *内蒙古中医药*, 2012, 31(20): 1-2.
- [13] Yang SY, Wang L, *Zhongwai Yixue Yanjiu*. 2011;9(30):69. 杨尚英, 王莉. 1例脐带血干细胞移植治疗糖尿病足的护理体会[J]. *中外医学研究*, 2011, 9(30): 69.
- [14] Yang HQ, Li DS, Du L, et al. *Zhongguo Zonghe Linchuang*. 2010;26(9):918-920. 杨华强, 李东升, 杜玲, 等. 脐血间充质干细胞移植治疗糖尿病足二例并文献复习[J]. *中国综合临床*, 2010, 26(9): 918-920.
- [15] Li YH, Jiang MH, Yang XL, et al. *Qingdao Yiyao Weisheng*. 2010;42(06):416-417. 黎英豪, 姜茂华, 杨孝良, 等. 自体骨髓造血干细胞局部注射治疗糖尿病足三级创面[J]. *青岛医药卫生*, 2010, 42(06): 416-417.
- [16] Chen B, Lu DB, Liang ZW, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2009;13(32):6227-6230. 陈兵, 陆德宾, 梁自文, 等. 自体骨髓间充质干细胞体外扩增后移植治疗糖尿病足[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(32): 6227-6230.
- [17] Xia HJ, Su XQ, Zhang YW. *Shiyan yu Jianyan Yixue*. 2009; 27(3):235-237. 夏洪娇, 苏晓清, 张雅薇. 人自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病足的临床应用[J]. *实验与检验医学*, 2009, 27(3): 235-237.
- [18] Liu XL, Li WJ, Xiang XX, et al. *Zhongguo Zonghe Linchuang*. 2007;23(5):420-421. 刘秀玲, 李伟娟, 项岫秀, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗20例糖尿病足的临床观察[J]. *中国综合临床*, 2007, 23(5): 420-421.
- [19] Li WJ, Xiang XX, Yu F, et al. *Linchuang Huicui*. 2006;21(20): 1467-1467. 李伟娟, 项岫秀, 俞芳, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病足3例[J]. *临床荟萃*, 2006, 21(20): 1467-1467.
- [20] Hu QD, Zhang JD, Deng JH, et al. *Guangxi Zhongyi Xueyuan Xuebao*. 2006;9(03):31-32. 胡全穗, 张建德, 邓建华, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病足3例报道[J]. *广西中医学院学报*, 2006, 9(3): 31-32.
- [21] Wu KH, Mo XM, Sun J, et al. *Zhonghua Xiongxin Xueguan Waike Zazhi*. 2011;27(9):553-555. 武开宏, 莫绪明, 孙剑, 等. 脐带间充质干细胞分化为内皮细胞促进血管新生[J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2011, 27(9): 553-555.
- [22] Wang GY, Zhao F, Hou RR, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2011;15(10):1745-1751. 王广宇, 赵芳, 厚荣荣, 等. 体外诱导人脐带间充质干细胞分化为许旺细胞[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(10): 1745-1751.
- [23] Akita S, Yoshimoto H, Akino K, et al. Early experiences with stem cells in treating chronic wounds. *Clin Plast Surg*. 2012;39(3):281-292.
- [24] Lian M, Feng XY, Cui BL, et al. Induction of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells into nerve-like cells by salvia miltiorrhiza. *Blood*. 2005;106(2):138.