

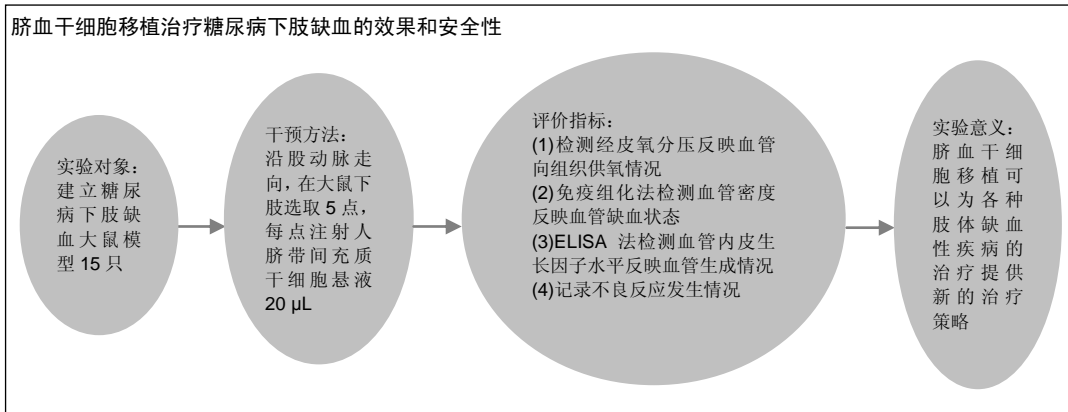
脐血干细胞移植治疗糖尿病下肢缺血的可能性

谢丽华¹, 邢琳², 郑航³(¹新乡医学院附属中心医院(新乡市中心医院), 河南省新乡市 453000; ²郑州大学医学院干细胞研究中心, 河南省郑州市 450001; ³新乡医学院第三附属医院, 河南省新乡市 453003)

引用本文: 谢丽华, 邢琳, 郑航. 脐血干细胞移植治疗糖尿病下肢缺血的可能性[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(1):78-82.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.01.014 ORCID: 0000-0003-3501-6427(邢琳)

文章快速阅读:



谢丽华, 女, 1975 年生, 河南省新乡市人, 汉族, 1999 年新乡医学院毕业, 主治医师, 主要从事内分泌方面的研究。

通讯作者: 邢琳, 教授, 郑州大学医学院干细胞研究中心, 河南省郑州市 450001

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2016)01-00078-05

稿件接受: 2015-11-29

http://www.crter.org

文题释义:

脐血干细胞: 具有特殊的生物学特性, 其中含有大量的造血干细胞、丰富的间充质干细胞, CD34 抗原是造血干细胞分离纯化的主要标记, 脐血中 CD34⁺细胞占有核细胞的比例与骨髓相似, 高于外周血。脐血干细胞具有很强的增殖、分化及形成集落的能力, 受到刺激进入细胞周期的速度及对各种造血刺激因子的反应能力均高于骨髓和外周血细胞, 并且寿命更长。脐血免疫细胞发育相对不成熟, 由于免疫原性较弱, 脐血干细胞具有不易被排斥、能在体内长期存活特征, 也被称为免疫逃逸现象。

糖尿病大血管基本病变: 糖尿病大血管病变最大的特点是病变分布与非糖尿病者不同, 非糖尿病者大血管病变主要分布于近端动脉, 如主动脉、髂动脉、浅表的股动脉和少量的远端动脉, 而糖尿病者大血管病变则主要累及膝以下胫腓动脉。糖尿病大血管病变的另一重要特点是下肢血管动脉中膜钙化尤为突出, 并与糖尿病大血管病变的分布特点(主要累及膝下)有关, 动脉钙化以踝部最多, 趾部较少, 足的背部又较趾部为多。

摘要

背景: 糖尿病下肢缺血患者病变大多会累及下肢远端小动脉, 导致常规治疗方法难度增加。

目的: 探讨脐血干细胞移植治疗糖尿病下肢缺血大鼠的效果和安全性。

方法: 建立糖尿病下肢缺血大鼠模型, 沿股动脉走向, 在模型大鼠下肢选取 5 点, 每点注射人脐带间充质干细胞悬液 20 μL。移植后 1, 2, 4 周, 检测经皮氧分压以及缺血部位血管密度和血管内皮生长因子水平, 并记录不良反应发生情况。

结果与结论: 移植后 1, 2, 4 周大鼠经皮氧分压以及缺血部位血管密度和血管内皮生长因子水平整体均呈现出不断上升的情况, 与移植前比较差异均有显著性意义($P < 0.05$)。移植后所有动物均未出现皮肤出血和皮炎以及局部红、肿、热、痛等炎症反应, 相关脏器均未出现瘤样生长。结果表明脐血干细胞移植治疗糖尿病下肢缺血, 可显著改善下肢缺血症状, 且安全性高, 具有一定的应用可行性。

关键词:

干细胞; 移植; 糖尿病; 下肢缺血; 脐血干细胞; 干细胞移植; 动物模型

主题词:

糖尿病; 糖尿病并发症; 糖尿病血管病变; 脐血干细胞移植; 组织工程

Xie Li-hua¹, Xing Lin², Zheng Hang³ (¹Affiliated Central Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, Henan Province, China; ²Cell Research Center, Zhengzhou University Medical School, Zhengzhou 450001, Henan Province, China; ³Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China)

Xie Li-hua, Attending physician, Affiliated Central Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, Henan Province, China

Feasibility of umbilical cord blood stem cell transplantation for the treatment of diabetic lower limb ischemia

Abstract

BACKGROUND: Diabetic lower limb ischemia is prone to involve distal lower limb arteries, and a conventional treatment is often unable to obtain the ideal effect.

OBJECTIVE: To investigate the effect and safety of umbilical cord blood stem cell transplantation in the treatment of diabetic lower limb ischemia.

METHODS: A diabetic rat model of lower limb ischemia was established, and along the femoral artery, five points

Corresponding author: Xing Lin, Professor, Cell Research Center, Zhengzhou University Medical School, Zhengzhou 450001, Henan Province, China

Subject headings: Diabetes Mellitus; Diabetes Complications; Diabetic Angiopathies; Cord Blood Stem Cell Transplantation; Tissue Engineering

were selected for injection of human umbilical cord mesenchymal stem cell suspension, 20 μ L per point. At 1, 2, 4 weeks after transplantation, transcutaneous oxygen pressure, vascular density and vascular endothelial growth factor level in the ischemic region, and incidence of adverse reactions were recorded.

RESULTS AND CONCLUSION: At 1, 2 and 4 weeks after transplantation, the transcutaneous oxygen pressure, vascular density and vascular endothelial growth factor level in the ischemic region were found increasing, which were significantly different from those before transplantation ($P < 0.05$). At different time after transplantation, all animals had no inflammatory reactions such as skin bleeding and dermatitis, and local red, swelling, hot, pain, and had no tumor-like growth in organs. These findings indicate that umbilical cord blood stem cell transplantation can safely and significantly improve symptoms of diabetic lower limb ischemia, which has certain application feasibility.

Cite this article: Xie LH, Xing L, Zheng H. Feasibility of umbilical cord blood stem cell transplantation for the treatment of diabetic lower limb ischemia. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(1):78-82.

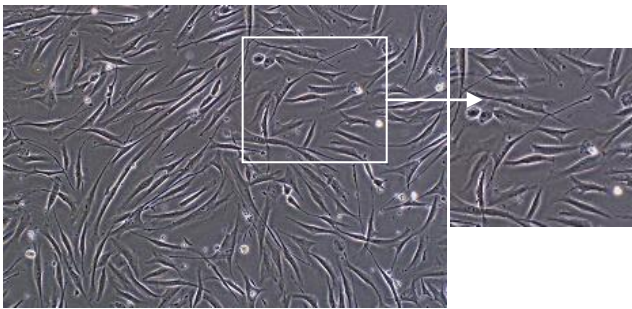


图1 人脐带间充质干细胞形态(x100)

Figure 1 Morphology of human umbilical cord mesenchymal stem cells (x100)

图注: 第3代脐带间充质干细胞形成典型的单层成纤维样细胞, 细胞呈长梭形。

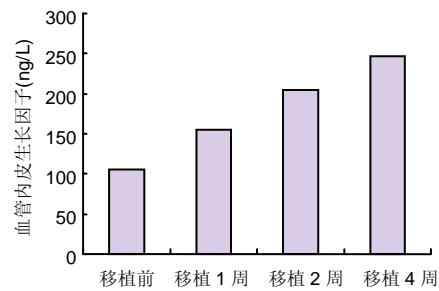


图3 移植前后不同时间大鼠缺血下肢组织血管内皮生长因子水平变化

Figure 3 Changes of vascular endothelial growth factor levels in rats with diabetic lower limb ischemia before and after cell transplantation

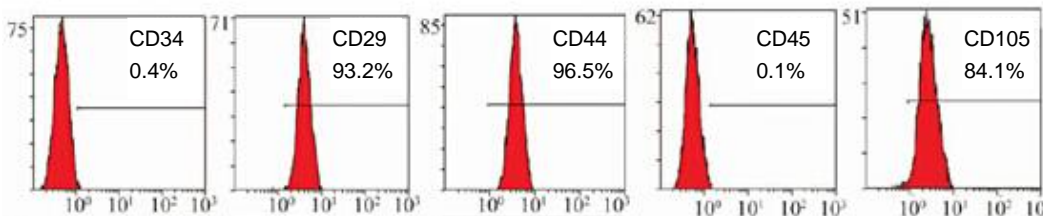


图2 人脐带间充质干细胞表面标志表达

Figure 2 Immunophenotyping of human umbilical cord mesenchymal stem cells

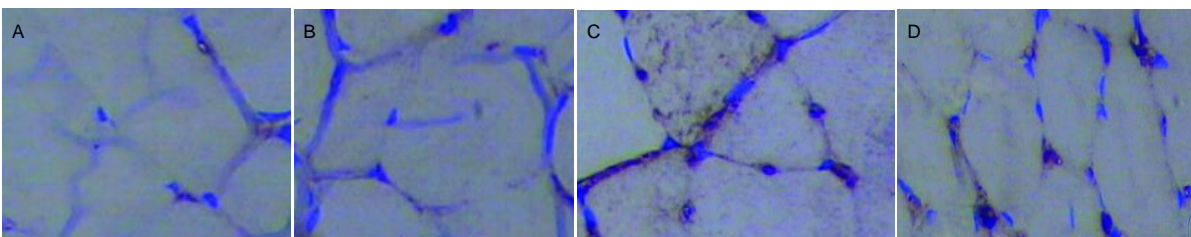


图5 移植前后不同时间大鼠缺血下肢组织毛细血管密度(免疫组化, x400)

Figure 5 The capillary density of the ischemic lower limbs of rats before and after transplantation (immunohistochemical staining, x400)

图注: 图中A为移植前; B为移植后1周; C为移植后2周; D为移植后4周。

0 引言 Introduction

糖尿病合并下肢缺血的常规疗法是置入支架, 开通下肢血管, 恢复血液供给^[1-3], 但是采用这种方法治疗患者较痛苦, 且伤口不易愈合, 预后效果不佳^[4]。干细胞理论的出现为糖尿病下肢缺血提供了新的治疗思路, 脐血干细胞在体内具有很强的成血管能力, 可以形成新生的功能性血管^[5-7]。实验建立糖尿病下肢缺血大鼠模型, 给予人脐带间

充质干细胞悬液进行治疗, 移植后不同时间检测血管内皮生长因子水平、毛细血管密度、经皮氧分压变化并观察不良反应发生情况, 以探讨脐血干细胞移植治疗糖尿病下肢缺血大鼠的效果和安全性, 分析其应用的可行性。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 体外观察性细胞实验与随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年5至7月在郑州大学医学院干细胞研究中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 15只雄性SD大鼠, 28–32周龄, 体质量320–350 g, 由广东医学院实验动物中心提供, 许可证号: SCXK(粤)2014-0006。实验相关内容均经新乡医学院附属中心医院伦理部门批准。

1.3.2 主要试剂与仪器 PBS(上海士锋生物科技有限公司), 低糖DMEM培养基(上海弘顺生物科技有限公司), 链脲佐菌素(苏州拜吉氏生物科技有限公司), 血糖仪(北京东方名龙科技有限公司), 水合氯醛(上海鼓臣生物技术有限公司), 经皮氧分压检测仪(南京云驰科技发展有限责任公司), ELISA检测试剂盒(上海通蔚生物科技有限公司), 血管内皮生长因子免疫组化试剂盒(艾莱萨生物科技(上海)有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 人脐带间充质干细胞分离与培养 脐带取自新乡医学院附属中心医院分娩的健康适龄产妇, 均事先征得产妇及其家属知情同意。在超净工作台中利用止血钳将脐带标本夹出, 置于添加青霉素、链霉素、DPBS的培养皿中, 剪成15 cm左右长的片段, 经DPBS冲洗, 胰酶消化, 然后用移液枪将细胞转移至离心管中, 添加15倍体积DPBS进行离心, 弃上清, 再用DPBS平衡液清洗, 收集细胞进行原代和传代培养。利用流式细胞仪对第3代细胞进行表型检测。

1.4.2 糖尿病下肢缺血模型建立 大鼠禁食12 h之后腹腔注射链脲佐菌素(60 mg/kg), 注射7 d后剪尾采血用血糖仪检测血糖水平, 如果血糖浓度在16.7 mmol/L以上, 则视为糖尿病模型建立成功。建模成功后, 腹腔注射水合氯醛麻醉, 将动物置于无菌操作台上, 保持仰卧位, 妥善固定, 常规消毒之后自腹股沟韧带至膝关节作纵行切口, 依次分离皮下组织, 利用外科手术缝线结扎大隐动脉、静脉中端, 结扎完毕后离断, 关闭切口并进行缝合, 术后常规喂食、喂水。

1.4.3 人脐带间充质干细胞移植治疗 模型制备后第2天, 沿股动脉走向, 在模型大鼠下肢选取5点, 分别注射人脐带间充质干细胞悬液(细胞浓度 $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$), 每点20 μL , 一共100 μL 。

1.4.4 经皮氧分压检测 移植后1, 2, 4周, 分别取5只大鼠, 常规麻醉后进行左侧足背备皮, 妥善固定经皮氧分压检测仪探头, 使探头与大鼠足部皮肤紧密贴合, 严格按照操作要求检测经皮氧分压, 检测30 min, 记录稳定数值。

1.4.5 免疫组化法检测血管密度 经皮氧分压检测结束之后将大鼠脱颈处死, 获得缺血下肢组织标本, 采用免疫组化法检测血管密度。对标本进行石蜡包埋, 制备切片, 厚度为4 μm 。经过抗原修复、 H_2O_2 孵育、PBS洗涤, 添加山羊血清孵育10 min, 添加兔抗大鼠因子相关抗原孵育过夜, 添加山羊抗兔抗体(生物素标记)和链霉卵白素工作液

(辣根过氧化物酶标记), DAB显色后用自来水冲洗, 苏木精复染, 置于光镜下观察, 计算血管密度。

1.4.6 血管内皮生长因子水平检测 获得缺血下肢组织标本, 剪碎后加入PBS, 研磨成浆, 离心后收集上清, 严格按照ELISA试剂盒说明书进行操作, 检测血管内皮生长因子水平。

1.5 主要观察指标 ①人脐带间充质干细胞移植后1, 2, 4周左侧足经皮氧分压、缺血下肢组织血管内皮生长因子水平、毛细血管密度。②不良反应发生情况。

1.6 统计学分析 使用SPSS 19.0软件进行处理分析, 各项数据两两比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 15只SD大鼠均进入最终的结果分析, 未出现中途脱落或者死亡。

2.2 人脐带间充质干细胞形态 经传代培养, 脐带间充质干细胞形成典型的单层成纤维样细胞, 呈长梭形(图1)。

2.3 人脐带间充质干细胞表面标志表达 经流式细胞仪检测, 细胞不表达造血细胞表面特异性标志CD34和CD45, 但可以表达CD29, CD44, CD105(图2)。

2.4 动物大体情况 糖尿病下肢缺血模型建立成功之后, 动物食欲逐渐下降, 缺血下肢逐渐萎缩, 活动能力下降。

2.5 移植前后不同时间点缺血下肢组织血管内皮生长因子水平变化 移植后1, 2, 4周缺血下肢组织血管内皮生长因子水平不断上升, 与移植前比较差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图3。

2.6 移植前后不同时间大鼠缺血下肢组织毛细血管密度变化 移植后1, 2, 4周缺血下肢组织毛细血管密度不断增加, 与移植前比较差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图4, 5。

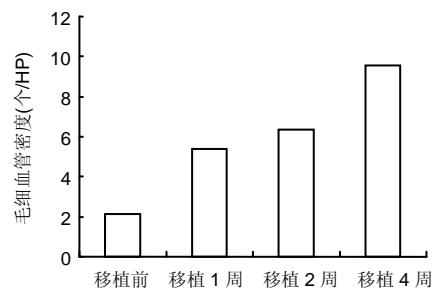


图4 移植前后不同时间大鼠缺血下肢组织毛细血管密度变化
Figure 4 Changes of blood capillary density in the ischemic lower limbs of rats before and after cell transplantation

2.7 移植前后不同时间大鼠左侧足经皮氧分压水平变化 移植后1, 2, 4周经皮氧分压逐渐增加, 与移植前比较差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图6。

2.8 不良事件发生情况 移植后所有动物均未出现皮肤出血和皮炎以及局部红、肿、热、痛等炎症反应, 肝脏和心脏等脏器均未出现瘤样生长。

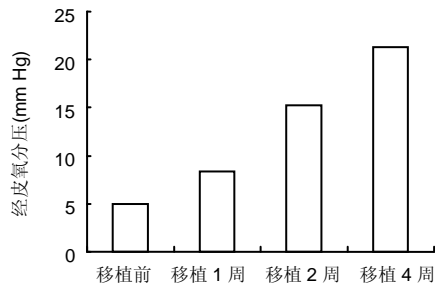


图6 移植前后不同时间大鼠左侧足经皮氧分压变化

Figure 6 Changes in the transcutaneous oxygen pressure of the rat left foot before and after cell transplantation

图注: 1 mm Hg=0.133 kPa.

3 讨论 Discussion

下肢缺血是糖尿病的常见并发症^[8], 患者下肢血管内皮功能发生不同程度的障碍^[9-11]。临床治疗糖尿病下肢缺血的方法主要有下肢动脉介入治疗和下肢动脉旁路移植治疗等, 以达到促进溃疡愈合和缓解疼痛等效果^[12-15]。但部分患者存在下肢远端动脉流出道不良等情况, 无法接受常规介入治疗和动脉旁路移植治疗, 或者临床疗效不佳, 需要面临截肢的危险^[16]。糖尿病下肢缺血患者病变大多会累及下肢远端小动脉, 导致临床治疗难度进一步增加。

干细胞具有高度定向分化能力, 可促进新生血管形成, 达到改善下肢供血, 保全患病肢体的目的^[17-23]。干细胞能分化为血管内皮细胞, 改善患者下肢的血液循环^[24-26]。干细胞在治疗糖尿病及其并发症方面显示出了传统药物无法比拟的优势^[27-30]。干细胞体外培养可以诱导分化为胰岛素分泌细胞, 在胰岛微环境下, 促进血管形成。目前仅骨髓干细胞、脐血干细胞为伦理学接受, 被国家定为第3类医疗技术, 经审批可在临床应用。

脐血干细胞在一定环境条件下可诱导分化成各种组织细胞, 代替损伤或者衰退的细胞, 对缺血肢体内的新生血管形成产生积极的促进作用, 改善肢体血流, 获得良好的治疗效果^[31-32]。李翠芳等^[33]将100例2型糖尿病下肢血管病变患者分为两组, 分别予以脐血干细胞移植治疗和生理盐水输注治疗。术后通过检测和分析发现, 脐血干细胞移植患者的餐后2 h胰岛素和空腹胰岛素水平均得到显著改善, 血管内皮舒张功能显著提高, 另外还可以有效促进侧支循环, 避免出现糖尿病足, 是一种有效的治疗方案。

实验利用脐血干细胞治疗糖尿病下肢缺血模型大鼠, 移植后不同时间点检测血管内皮生长因子水平、毛细血管密度、经皮氧分压水平, 为临床治疗提供更多的参考依据。经皮氧分压是血管疾病评估金标准之一, 可以十分客观直观的反映出血管向组织供氧的实际情况, 实现对肢体缺血情况的定量评估, 且操作简单, 安全无创^[34]。毛细血管密度可以反映出血管缺血状态, 杨耀国^[35]建立BALB/C裸鼠糖尿病下肢缺血模型, 给予脐血干细胞移植治疗, 经检测发现缺血局部的血管密度显著增加, 表明血管密度可以作为

下肢缺血的重要观察指标。血管生长因子是以同源二聚体形式存在的糖蛋白, 对血管的生成以及新生血管的发生均具有重要的调节作用。移植后1, 2, 4周血管内皮生长因子水平、毛细血管密度、经皮氧分压水平整体均呈现出不断上升的情况, 与移植前比较差异均有显著性意义($P < 0.05$)。分析出现上述结果的原因, 可能是因为脐血干细胞可以表达、合成并分泌诸多具有较强生物活性的因子, 对缺血部位新生血管的形成产生十分积极的促进作用。

干细胞移植治疗过程中的安全性也是一个需要重视的问题, 包括免疫排斥以及肿瘤生长^[36-37]。干细胞移植后, 可能会在移植部位发生分化, 并出现肿瘤样生长现象, 影响治疗效果^[38]。研究结果显示所有动物均未出现皮肤出血和皮炎以及局部红、肿、热、痛等炎症反应, 肝脏和心脏等脏器均未出现瘤样生长。

综上所述, 脐血干细胞移植治疗糖尿病下肢缺血大鼠模型可以获得理想的效果, 且安全性高, 应用前景广阔, 可以为各种肢体缺血性疾病提供新的治疗策略, 扩展了干细胞移植治疗的应用范围。

作者贡献: 第一作者负责设计和实施, 第二、三作者负责实施及文章的修改。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

文章查重: 文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] 张弛, 肖日军, 张娜, 等. 脐血干细胞移植治疗糖尿病大鼠下肢缺血的实验研究[J]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2012, 7(1): 18-23.
- [2] 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.
- [3] 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: 附二例报告[J]. 中国全科医学, 2010, 13(23): 2551-2553.
- [4] 郑曦, 肖日军, 张弛, 等. 静脉输注人脐血干细胞移植治疗糖尿病大鼠下肢缺血的实验研究[C]. 中华医学会第九次全国内分泌学学术会议论文集, 2010: 278.
- [5] Oda M, Toba K, Ozawa T, et al. Establishment of culturing system for ex-vivo expansion of angiogenic immature erythroid cells, and its application for treatment of patients with chronic severe lower limb ischemia. J Mol Cell Cardiol. 2010; 49(3): 347-353.

- [6] 张亚萍,陶松桔,宋卫红,等.脐血干细胞移植治疗糖尿病足的临床观察[J].中国临床研究,2012,25(3):218-220.
- [7] Lu D, Chen B, Liang Z, et al. Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;92(1):26-36.
- [8] 黄蓉,夏宁,梁瑜祯,等.干细胞移植治疗下肢缺血性疾病的研究进展[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(7):1305-1308.
- [9] Shen WC, Liang CJ, Wu VC, et al. Endothelial progenitor cells derived from Wharton's jelly of the umbilical cord reduces ischemia-induced hind limb injury in diabetic mice by inducing HIF-1 α /IL-8 expression. *Stem Cells Dev.* 2013;22(9):1408-1418.
- [10] Taneja M, Tay KH, Dewan A, et al. Bare nitinol stent enabled recanalization of long-segment, chronic total occlusion of superficial femoral and adjacent proximal popliteal artery in diabetic patients presenting with critical limb ischemia. *Cardiovasc Revasc Med.* 2010;11(4):232-235.
- [11] Powell RJ, Goodney P, Mendelsohn FO, et al. Safety and efficacy of patient specific intramuscular injection of HGF plasmid gene therapy on limb perfusion and wound healing in patients with ischemic lower extremity ulceration: results of the HGF-0205 trial. *J Vasc Surg.* 2010;52(6):1525-1530.
- [12] 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.
- [13] 肖日军,张弛,李华珠,等.人脐血干细胞移植治疗糖尿病大鼠下肢缺血的实验研究[C].中华医学会第九次全国内分泌学学术会议论文集,2010:544.
- [14] 张会峰,赵志刚.内皮祖细胞及其治疗下肢缺血性疾病的研究进展[J].实用诊断与治疗杂志,2005,19(4):270-272.
- [15] 于凤泉,李群,李富元,等.血管重建治疗糖尿病缺血性血管病对血管内皮生长因子及内皮素的影响[J].中国现代医药杂志,2014,16(1):48-50.
- [16] 刘小银.UCMSCs和ECFCs在糖尿病小鼠下肢血管病变中的成血管作用[D].长沙:中南大学,2013.
- [17] 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.
- [18] Oda M, Toba K, Ozawa T, et al. Establishment of culturing system for ex-vivo expansion of angiogenic immature erythroid cells, and its application for treatment of patients with chronic severe lower limb ischemia. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;49(3):347-353.
- [19] 谷涌泉,郭连瑞.干细胞移植技术在下肢缺血中的应用[J].中华医学信息导报,2004,19(20):14.
- [20] 杜丽苹,李彦州,温志国,等.干细胞移植治疗慢性下肢动脉闭塞性疾病91例研究报告[J].中医临床研究,2010,2(15):85.
- [21] 谷涌泉.自体干细胞移植治疗下肢缺血性疾病的问题和对策[J].外科理论与实践,2009,14(3):269-270.
- [22] 徐燕,李云涛,李长虹,等.脐血来源多能成体祖细胞体内外内皮分化潜能及细胞移植改善下肢缺血的研究[C].第11次中国实验血液学会议论文集,2007:302-303.
- [23] 刘珍珍.脐血内皮祖细胞糖基化修饰及其在缺血性动物模型的应用[D].苏州:苏州大学,2013.
- [24] Finney MR, Greco NJ, Haynesworth SE, et al. Direct comparison of umbilical cord blood versus bone marrow-derived endothelial precursor cells in mediating neovascularization in response to vascular ischemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006;12(5):585-593.
- [25] 孙晟轩.人脐血内皮祖细胞糖基化修饰及其在骨折修复中的作用及机制研究[D].苏州:苏州大学,2014.
- [26] 李茂,黄文.自体干细胞移植治疗严重下肢缺血[J].中国组织工程研究,2013,17(49):8602-8607.
- [27] Faglia E, Clerici G, Airoidi F, et al. Revascularization by angioplasty of type D femoropopliteal and long infrapopliteal lesion in diabetic patients with critical limb ischemia: are TASC II recommendations suitable? A population-based cohort study. *Int J Low Extrem Wounds.* 2012;11(4):277-285.
- [28] 樊国华.干细胞移植干预下肢缺血性疾病[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(50):10154-10156.
- [29] 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.
- [30] 谷涌泉,郭连瑞,张建,等.自体干细胞移植治疗下肢缺血[J].临床外科杂志,2006,14(5):318-320.
- [31] Zafarghandi MR, Ravari H, Aghdami N, et al. Safety and efficacy of granulocyte-colony-stimulating factor administration following autologous intramuscular implantation of bone marrow mononuclear cells: a randomized controlled trial in patients with advanced lower limb ischemia. *Cytotherapy.* 2010;12(6):783-791.
- [32] Powell RJ, Comerota AJ, Berceli SA, et al. Interim analysis results from the RESTORE-CLI, a randomized, double-blind multicenter phase II trial comparing expanded autologous bone marrow-derived tissue repair cells and placebo in patients with critical limb ischemia. *J Vasc Surg.* 2011;54(4):1032-1041.
- [33] 李翠芳,姚远.脐血干细胞移植2型糖尿病下肢血管病患者内皮依赖性血管舒张的变化[J].中国组织工程研究,2014,18(50):8098-8102.
- [34] Biotteau E, Mahe G, Rousseau P, et al. Transcutaneous oxygen pressure measurements in diabetic and non-diabetic patients clinically suspected of severe limb ischemia: a matched paired retrospective analysis. *Int Angiol.* 2009;28(6):479-483.
- [35] 杨耀国.人脐带血干细胞移植治疗糖尿病鼠下肢缺血的研究[D].北京:北京协和医学院,2009.
- [36] 谷涌泉,张建,汪忠镐,等.自体干细胞移植治疗下肢缺血临床转化的现状与未来发展[J].转化医学研究:电子版,2014,4(4):118-122.
- [37] Mohammadzadeh L, Samedanifard SH, Keshavarzi A, et al. Therapeutic outcomes of transplanting autologous granulocyte colony-stimulating factor-mobilised peripheral mononuclear cells in diabetic patients with critical limb ischaemia. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2013;121(1):48-53.
- [38] 谷涌泉,郭连瑞.干细胞移植技术治疗下肢缺血的临床应用和未来发展[C].全国血管性疾病介入新技术研讨会论文集,2006:134-138.