

• 专题 • TAO 的特色治疗研究进展 •

干细胞移植治疗血栓闭塞性脉管炎的研究进展

周 密 谷涌泉

首都医科大学宣武医院血管外科 / 首都医科大学血管外科研究所 / 首都医科大学血管外科学系, 北京 100053

摘要: 血栓闭塞性脉管炎也称Buerger's病是造成青壮年严重下肢缺血的病因之一, 致残率和截肢率极高。目前, 病因尚不明确, 积极的血运重建并不能改善多数患者的病情。干细胞移植治疗具有良好的组织再生和修复能力, 可以通过多种途径改善下肢血供, 对于患有严重并发症(如缺血性溃疡或静息痛)的患者, 干细胞移植治疗可作为一种治疗手段。本文就干细胞治疗血栓闭塞性脉管炎的机制、常见的细胞移植类型及不同的干细胞来源移植优缺点的现状和进展进行综述。

关键词: 干细胞移植; 血栓闭塞性脉管炎; Buerger's病

中图分类号: R543 **文献标志码:** A **doi:** 10.19418/j.cnki.issn2096-0646.2021.11.02

Advances of stem cell transplantation in the treatment of thromboangiitis obliterans

Zhou Mi Gu Yongquan

Department of Vascular Surgery, Xuanwu Hospital of Capital Medical University/Institute of Vascular Surgery, Capital Medical University / Department of Vascular Surgery, Capital Medical University, Beijing 100053, China

Abstract: Thromboangiitis obliterans, also named as Buerger's disease, is one of the causes of severe lower limb ischemia in young adults, with extremely high disability and amputation rate. At present, the pathogenesis of the disease is unknown, and most of these patients cannot benefit from active revascularization. Stem cell transplantation has good capability of tissue regeneration and reparability, and can improve the blood supply of the lower extremities through a variety of approach. For patients with severe complications (such as ischemic ulcers or resting pain), stem cell transplantation can be considered as an alternative treatment. This article reviews the mechanism of stem cell transplantation in the treatment of thromboangiitis obliterans, common methods of stem cell transplantation, the current status and progress of the advantages and disadvantages of transplantation from different stem cell sources.

Key words: stem cell transplantation; thromboangiitis obliterans; Buerger's disease

血栓闭塞脉管炎(thromboangiitis obliterans, TAO)也称为Buerger's病, 是一种以手和脚的中小动脉和静脉反复进行性炎性反应和血栓为特征的非动脉粥样硬化的节段性、炎性动脉狭窄或闭塞疾病。TAO发病原因尚不清

楚, 在有吸烟史的男性中最常见, TAO的截肢率和致残率极高^[1]。但研究表明, TAO的发展与吸烟、营养失调、自身免疫、内皮细胞活化等有关, 目前主要治疗方法包括鼓励戒烟、避免被动吸烟、药物治疗、运动疗法、常规血

[基金项目] 国家重点研发计划生物医用材料研发与组织器官修复替代重点专项(2017YFC1104100)

[作者简介] 周密, 博士在读, 主要从事下肢缺血性疾病的微创诊疗研究, 首都医科大学宣武医院血管外科 / 首都医科大学血管外科研究所 / 首都医科大学血管外科学系

[通信作者] 谷涌泉(Gu Yongquan, corresponding author), 主任医师, E-mail: guyqvip@126.com

运重建、患肢保暖、交感神经切除术和疼痛控制^[2]。但在严重的缺血性溃疡和静息痛患者中，积极的手术治疗并不能延缓患者的病情进展及改善预后，因此，可以尝试使用其他治疗方法。干细胞疗法是通过注射细胞而进行的试验性疗法，这些细胞能够形成新生血管，改善局部循环并有助于溃疡的愈合，缓解静息痛^[3-7]。成体干细胞的细胞来源主要包括骨髓干细胞、外周血干细胞（peripheral blood stem cell, PBSC）等，其中骨髓干细胞是目前应用最多的细胞来源；用于治疗缺血患肢细胞移植的细胞主要有间充质干细胞（mesenchymal stem cell, MSC），内皮祖细胞（endothelial progenitor cell, EPC）等，但部分无法耐受取骨髓手术的患者可以经细胞动员后从外周血中获取干细胞后进行细胞移植。本文从干细胞移植治疗TAO的机制和临床常用的骨髓干细胞移植、PBSC移植、脂肪组织间充质干细胞（adipose tissue-derived mesenchymal stem cell, ATMSC）移植和标记干细胞移植等方面综述干细胞移植治疗TAO的有效性和安全性的进展。

1 干细胞治疗 TAO 的机制

干细胞移植后可以通过多种分子生物学机制改善组织修复和促进血管新生。Mathiyalagan等^[8]研究发现，向小鼠缺血后肢注射人CD34⁺细胞来源的干细胞外泌体可通过促进内皮细胞摄取微小核糖核酸-126-3p（microRNA-126-3p, miRNA-126-3p）来抑制SPRED-1基因表达，同时上调血管内皮生长因子、血管生成素1、血管生成素2和基质金属蛋白酶9的表达，从而改善肢体灌注。源自内皮克隆形成细胞（endothelial colony forming cell, ECFC）的细胞外囊泡可以通过与 $\alpha 4$ 和 $\beta 1$ 整合素的相互作用整合到内皮细胞中，并通过调节内皮型一氧化氮合成酶的产生和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B途径相关的信使RNA（messenger RNA, mRNA）的转运来刺激血管生成。同样，MSC来源的外泌体可以通过调控血小板源性生长因子、成纤维细胞生长因子、表皮细胞生长因子、血管内皮生长因子、Wnt通路及核因子 κB （nuclear factor- κB , NF- κB ）蛋白的转移来调节内皮细胞功能^[9]，还可以通过下调微小核糖核酸-31（microRNA-31, miRNA-31）来抑制缺氧诱导因子1（hypoxia inducible factor 1, HIF-1）的作用^[10]，从而调节内皮细胞的功能，MSC可以通过旁分泌途径分泌大量生长因子和细胞因子，这些因子可以促进新血管的形成和受损组织的重塑。除此之外，干细胞移植还可以通过定向分化为EPC促进新生血管形成及分泌生长因子等调节血管新生，具体的分子机制复杂，需要进一步深入探究。

2 骨髓单个核细胞移植

骨髓单个核细胞（bone marrow mononuclear cell, BM-MNC）包括造血祖细胞、淋巴样细胞、单核细胞、EPC和非造血谱系细胞。这些细胞被大量细胞因子和生长因子募集到受损组织中，引发抗炎作用并减少纤维化，从而防止细胞凋亡。在局部缺血的肢体模型中，自体BM-MNC的局部注射可增强血管生成和侧支血管形成^[11]。通过直接注射BM-MNC可以通过分泌血管生成生长因子和细胞因子来增加毛细血管水平的新生血管形成，同时对内皮细胞产生旁分泌作用，从而改善了缺血组织的血液供应。而缺血性组织无法募集修复所需的细胞，当注射BM-MNC后，随着侧支成熟和稳定，缺血组织的血供得到改善，从而促进溃疡和截肢伤口的愈合。Tateishi-yuyama等^[5]报道重症肢体缺血（critical limb ischemia, CLI）患者的干细胞疗法显示，肌肉注射BM-MNC的细胞疗法可延长无截肢间隔时间，并改善缺血性患肢疼痛、溃疡大小和无痛步行距离，表明注射BM-MNC是治疗CLI的一种安全有效的方法。Idei等^[1]比较BM-MNC注射治疗外周缺血性疾病（peripheral arterial disease, PAD）患者和TAO患者的疗效，发现BM-MNC移植后4年无截肢率在PAD患者中为48%，在TAO患者中为95%。Matoba等^[4]研究也有相似的结果，发现接受BM-MNC注射的TAO患者有更高的无截肢生存率，同时在TAO诊断后长达10年的随访中没有大截肢，证明干细胞疗法的安全性和有效性不低于传统的血管重建疗法，而且TAO患者的干细胞疗法比PAD患者更有效。Kondo等^[7]研究发现，对于CLI的患者，采用自体BM-MNC注射是可行且安全的，特别是对于由TAO或胶原病相关血管炎引起的CLI患者。Guo等^[12]研究总结了TAO患者长达10年的随访结果，BM-MNC注射的患者10年无截肢生存率为85.3%，而单独口服阿司匹林的患者10年无截肢生存率为40%，注射BM-MNC后患肢的溃疡面积、趾肱指数、经皮氧分压（transcutaneous pressure of oxygen, TcPCO₂）和疼痛评分也有明显改善，但接受BM-MNC注射治疗的患者和仅接受阿司匹林的患者之间的踝肱指数（ankle brachial index, ABI）没有显著差异。因此，BM-MNC注射治疗可以作为难治性TAO的患者安全、有效的替代治疗方案。

3 全骨髓细胞移植

既往研究显示，治疗性血管生成多使用BM-MNC或外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cell,

PB-MNC) 作为干细胞治疗的介质。然而, 从整个骨髓细胞或外周血细胞中分离PB-MNC非常复杂且价格昂贵, 并且容易受到污染, 而全骨髓细胞 (whole bone marrow stem cell, WB-MSc) 中的许多细胞因子也可以通过细胞移植发挥有效促进新生血管的作用。Franz等^[13]研究了肌内注射自体WB-MSc治疗有症状的TAO患者临床效果, 结果显示55.6%患者达到临床改善, 43.2%患者经血管造影结果评估得到明显改善。WB-MSc移植治疗后1、3和5年无截肢率分别为91.9%、88.5%和84.6%。Lenk等^[14]研究也评价了WB-MSc在TAO中的CLI患者中的临床应用效果, 在随访6个月时, 患者在卢瑟福分级、疼痛评分、平均无痛行走时间和趾肱指数方面表现出显著改善, 与基线相比, ABI虽然增加, 但无显著性差异, 76.5%的缺血性溃疡表现出了完全或改善的愈合。因此, WB-MSc是一种安全有效的TAO替代或辅助治疗方式, 可改善CLI患者的临床结局。

4 PBSC 移植

既往研究表明, EPC可以从成人、小鼠和兔子的外周血中分离出来, 而粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF) 可以增强骨髓细胞向血管内皮细胞的分化, 也可以动员外周血中CD34⁺、CD133⁺和KDR⁺细胞, 并具有分化为EPC的能力, 同时也可以动员EPC进入外周血, 从而进一步在病理和非病理条件下整合到新生血管中。与BM-MNC移植相比, PBSC移植无需全身麻醉, 可重复采集, 患者更易接受。Miyamoto等^[15]研究通过主要观察指标 (受累肢体的疼痛和冷感) 及次要观察指标 (跛行距离、ABI、TcPCO₂和皮肤温度) 来评估PBSC移植治疗TAO的临床效果, 细胞移植后4周, 患肢的疼痛和冷感均有不同程度的改善, 疼痛评分和冷感评分比较, 差异有统计学意义, 同时跛行距离、ABI、TcPCO₂和皮肤温度也得到显著改善。CD34⁺干细胞含有EPC, 可以分化为缺血组织中的血管内皮细胞, 从而促进血管生成^[4, 16-17]。纯化的CD34⁺细胞移植 (purified CD34⁺ cell transplantation, PuCeT) 在治疗CLI中已显示出良好的短期效果, Heo等^[18]研究评估了PuCeT治疗血管炎性CLI患者的临床疗效, 移植后5年, 无大截肢生存率为88.89%, 平均无痛行走时间增加, 溃疡愈合率为85.71%, 复发率为11.11%, 恢复劳动能力率为65.38%, 在治疗过程中未观察到严重的不良反应。Wan等^[19]进行的一项回顾性队列研究发现外周血来源的纯化CD34⁺细胞 (peripheral blood-derived

purified CD34⁺ cell, PCC) 移植治疗效果与未纯化的PBSC类似, PBSC移植后, 伤口愈合率、静息痛、无痛行走时间、ABI、TcPCO₂和生活质量得到显著改善。因此, 无论是PCC还是PBSC, 外周血来源的干细胞移植对于TAO的疗效是准确且持久的。

5 ATMSC 移植

MSC具有多种功能, 可分化为成骨细胞、软骨细胞、内皮细胞和血管平滑肌细胞。研究发现, MSC移植在下肢缺血模型中可以诱导新生血管形成。脂肪组织在人体中丰富并可持续生成, 因此, 脂肪组织可以作为MSC的理想组织来源。研究表明, ATMSC具有与骨髓基质细胞来源的MSC相似生物学特性^[20]。Yamamoto等^[21]临床研究显示, ATMSC移植6个月后, Wong-Baker面部表情评分得到了显著性改善, 同时明显增加了患者跛行距离并促进伤口的愈合, 但没有改善患者的最大步行距离和ABI, 考虑原因为ATMSC移植后形成许多小侧支动脉, 从而增加远端肢体血供; 进一步研究发现ATMSC在裸鼠后肢局部缺血模型中可促血管生成, 主要是由ATMSC衍生的旁分泌因子发挥作用, 包括血管生成和抗凋亡因子。因此, 多次肌内ATMSC注射是在其他治疗方式难以起效的TAO患者中实现治疗性血管生成的安全替代方案。

6 标记干细胞移植

多项研究表明, 更均质、纯化标记干细胞移植可以增加“活性”细胞比例, 从而改善缺血肢体的灌注。Fang等^[22]使用PCC移植治疗CLI, 截肢率更低。醛脱氢酶 (aldehyde dehydrogenase, ALDH) 是干细胞中保守的一种氧化酶, 有研究发现与低ALDH活性的人来源BM-MNC相比, 静脉输注高ALDH活性的人来源BM-MNC后, 小鼠的缺血性肢体灌注明显改善, 毛细血管密度明显增加。流式细胞学检测发现, 高ALDH活性的人来源BM-MNC所包含的CD34⁺、CD133⁺、CD14⁺和CD117⁺ (c-kit⁺) 细胞比例更高^[23]。也有研究发现接受高剂量的CD34⁺的PBSC移植治疗缺血性肢体, 截肢率明显降低, 而CD34⁺低剂量组截肢率为43%, 安慰剂组截肢率达75%, 截肢率降低与CD34⁺的PBSC的数量相关^[24-25]。RESTORECLI试验移植了自体“组织修复细胞”, 该细胞由扩增的CD90⁺ MSC和CD14⁺细胞组成, 肌内注射后1年无截肢生存率增加^[26], 因此纯化标记干细胞移植可能是治疗TAO更好的选择。

7 其他类型的干细胞移植

与其他来源的干细胞相比,人脐带血间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cell, UC-MSC)免疫原性低,易于体外扩增,Szoke等^[27]研究发现,UC-MSC移植后24 h,血清肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素-6水平显著升高,表明UC-MSC具有抗炎和免疫调节特性,可以促进伤口的愈合。Gupta等^[28]研究证明UC-MSC移植是治疗动脉硬化及TAO导致的CLI有效治疗手段。Powell等^[29]研究发现,给予TAO患者注射骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stromal cell, BM-MSC)可以明显减轻静息痛,促进溃疡愈合,提高ABI及步行距离,显示出良好的TAO治疗效果。不同细胞类型的干细胞移植治疗TAO的临床效果较好,基因修饰的干细胞移植可能是将来干细胞精准治疗的方向。

8 移植适应证和移植方法的选择

患有动脉粥样硬化的CLI患者与患有TAO的CLI患者相比,其骨髓细胞表现出功能受损和EPC数量减少。因此,自体干细胞疗法对患有TAO的CLI患者更有效。但是干细胞移植疗法的效果与缺血程度有关,Gao等^[30]的研究证明,与卢瑟福分级为4~5级患者相比,卢瑟福分级为6级患者对干细胞疗法无反应。自体干细胞移植可能在下肢缺血性疾病的早期阶段更有效,如在间歇性跛行的患者中疗效更佳^[31]。因此,对于无条件进行血运重建或血运重建失败的TAO患者,尽早进行干细胞移植能够使患者能够获得更好的预后。在干细胞移植方法的选择上主要有经动脉给药和肌肉注射。相关研究证实,肌肉注射后干细胞的存活率和滞留性较差,无法整合到移植患者的血管组

织中^[31],PROVASA试验研究了动脉内注射BM-MNC治疗缺血性肢体的效果,证实可以显著缓解静息痛,溃疡的愈合同BM-MNC注射的剂量呈正相关,但是同安慰剂相比,并没有降低截肢率,因此将经动脉给药和肌肉注射结合可能是更好的给药方式,有助于降低截肢率^[32]。

9 生物安全性

干细胞作为一种具有高度复制和分化潜能的细胞,移植后的致癌风险及免疫和遗传方面的稳定性是需要着重考虑的问题,特别是干细胞移植后细胞增殖的调控仍然是亟需解决的问题,防止干细胞癌变仍然是保证患者移植安全性的首要问题,既往研究显示干细胞的致癌性是由其自身特性和培养环境决定的,虽然干细胞移植治疗血栓闭塞性脉管炎的研究中尚无细胞癌变的相关报道,但是其致癌风险仍不能忽视,需要国内外相关部门对于干细胞移植的整个流程制定统一的标准和完整的体系,从而规范干细胞的制备和移植,保证干细胞移植的生物安全性。另外,PBSC移植在G-CSF动员后,会有大量的BM-MNC入血,同时促进血小板的聚集活化,不仅显著增加了血液黏度,同时也提高了血栓形成的风险,需要辅助以规范的抗凝治疗,目前干细胞移植治疗TAO的相关研究均无严重不良事件发生^[12,14-15,18,32-34],是安全且具有光明前景的治疗手段。

综上所述,干细胞治疗TAO具有良好的有效性和安全性。各种干细胞来源的移植治疗TAO均可以促进缺血患肢的毛细血管新生,增加侧支循环的建立,改善患肢微循环,增加缺血组织灌注,促进创面愈合,降低截肢率,改善患者生活质量。需要权衡患者的身体条件、病变特点、经济负担等因素综合考虑,制定个体化的干细胞移植方案,从而提高干细胞疗法治疗TAO临床疗效。

参考文献

- [1] Hemsinli D, Kaplan ST, Kaplan S, et al. Hyperbaric oxygen therapy in the treatment of fontaine stage IV thromboangiitis obliterans[J]. Int J Low Extrem Wounds, 2016, 15(4): 366-370.
- [2] Vijayakumar A, Tiwari R, Kumar Prabhuswamy V. Thromboangiitis obliterans (Buerger's disease)-current practices[J]. Int J Inflam, 2013, 2013: 156905.
- [3] Idei N, Soga J, Hata T, et al. Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation reduces long-term major amputation risk in patients with critical limb ischemia: a comparison of atherosclerotic peripheral arterial disease and Buerger disease[J]. Circ Cardiovasc Inter, 2011, 4(1): 15-25.
- [4] Matoba S, Tatsumi T, Murohara T, et al. Long-term clinical outcome after intramuscular implantation of bone marrow mononuclear cells (therapeutic angiogenesis by cell transplantation [TACT] trial) in patients with chronic limb ischemia [J]. Am Heart J, 2008, 156(5): 1010-1018.
- [5] 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(9331): 427-435.
- [6] Yusoff FM, Kajikawa M, Matsui S, et al. Review of the long-term effects of autologous bone-marrow mononuclear cell implantation on clinical outcomes in patients with critical limb ischemia[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 7711.
- [7] Kondo K, Yanishi K, Hayashida R, et al. Long-term clinical outcomes survey of bone marrow-derived cell therapy in critical limb ischemia in Japan[J]. *Circ J*, 2018, 82(4): 1168-1178.
- [8] Mathiyalagan P, Liang Y, Kim D, et al. Angiogenic mechanisms of human CD34⁺ stem cell exosomes in the repair of ischemic hindlimb[J]. *Circ Res*, 2017, 120(9): 1466-1476.
- [9] Anderson JD, Johansson HJ, Graham CS, et al. Comprehensive proteomic analysis of mesenchymal stem cell exosomes reveals modulation of angiogenesis via nuclear factor-Kappa B signaling[J]. *Stem Cells*, 2016, 34(3): 601-613.
- [10] Kang T, Jones TM, Naddell C, et al. Adipose-derived stem cells induce angiogenesis via microvesicle transport of miRNA-31[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(4): 440-450.
- [11] Liu WL, Yin BL, Yu FL, et al. Augmentation of revascularization by implantation of autologous bone marrow mononuclear cells in a rat ischemic hind limb model[J]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2004, 29(5): 572-576.
- [12] Guo J, Guo L, Cui S, et al. Autologous bone marrow-derived mononuclear cell therapy in Chinese patients with critical limb ischemia due to thromboangiitis obliterans: 10-year results[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 43.
- [13] Franz RW, Parks A, Shah KJ, et al. Use of autologous bone marrow mononuclear cell implantation therapy as a limb salvage procedure in patients with severe peripheral arterial disease[J]. *J Vasc Surg*, 2009, 50(6): 1378-1390.
- [14] Lenk K, Adams V, Lurz P, et al. Therapeutical potential of blood-derived progenitor cells in patients with peripheral arterial occlusive disease and critical limb ischaemia[J]. *Eur Heart J*, 2005, 26(18): 1903-1909.
- [15] Miyamoto K, Nishigami K, Nagaya N, et al. Unblinded pilot study of autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells in patients with thromboangiitis obliterans[J]. *Circulation*, 2006, 114(24): 2679-2684.
- [16] Kajiguchi M, Kondo T, Izawa H, et al. Safety and efficacy of autologous progenitor cell transplantation for therapeutic angiogenesis in patients with critical limb ischemia[J]. *Circ J*, 2007, 71(2): 196-201.
- [17] Lee KB, Kang ES, Kim AK, et al. Stem cell therapy in patients with thromboangiitis obliterans: assessment of the long-term clinical outcome and analysis of the prognostic factors[J]. *Int J Stem Cells*, 2011, 4(2): 88-98.
- [18] Heo SH, Park YS, Kang ES, et al. Early results of clinical application of autologous whole bone marrow stem cell transplantation for critical limb ischemia with Buerger's disease[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19690.
- [19] Wan J, Yang Y, Ma ZH, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation to treat thromboangiitis obliterans: preliminary results[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(3): 509-513.
- [20] Kern S, Eichler H, Stoeve J, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue[J]. *Stem cells*, 2006, 24(5): 1294-301.
- [21] Yamamoto K, Kondo T, Suzuki S, et al. Molecular evaluation of endothelial progenitor cells in patients with ischemic limbs: therapeutic effect by stem cell transplantation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(12): e192-196.
- [22] Fang Y, Wei Z, Chen B, et al. A five-year study of the efficacy of purified CD34⁺ cell therapy for angitis-induced no-option critical limb ischemia[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7(8): 583-590.
- [23] Fang G, Jiang X, Fang Y, et al. Autologous peripheral blood-derived stem cells transplantation for treatment of no-option angitis-induced critical limb ischemia: 10-year management experience[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 458.
- [24] Lee HC, An SG, Lee HW, et al. Safety and effect of adipose tissue-derived stem cell implantation in patients with critical limb ischemia: a pilot study[J]. *Circ J*, 2012, 76(7): 1750-1760.
- [25] Losordo DW, Kibbe MR, Mendelsohn F, et al. A randomized, controlled pilot study of autologous CD34⁺ cell therapy for critical limb ischemia[J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2012, 5(6): 821-830.
- [26] Capoccia BJ, Robson DL, Levac KD, et al. Revascularization of ischemic limbs after transplantation of human bone marrow cells with high aldehyde dehydrogenase activity[J]. *Blood*, 2009, 113(21): 5340-5351.

(上接第1278页)

- [27] Szoke K, Brinchmann JE. Concise review: therapeutic potential of adipose tissue-derived angiogenic cells[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1(9): 658-667.
- [28] Gupta NK, Armstrong EJ, Parikh SA. The current state of stem cell therapy for peripheral artery disease[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2014, 16(2): 447.
- [29] Powell RJ, Marston WA, Berceli SA, et al. Cellular therapy with Ixmyelocel-T to treat critical limb ischemia: the randomized, double-blind, placebo-controlled RESTORE-CLI trial[J]. *Mol Ther*, 2012, 20(6): 1280-1286.
- [30] Gao WH, Gao HY, Li YT, et al. Effectiveness of umbilical cord mesenchymal stem cells in patients with critical limb ischemia [J]. *Med Clin (Barc)*, 2019, 153(9): 341-346.
- [31] Yang SS, Kim NR, Park KB, et al. A phase I study of human cord blood-derived mesenchymal stem cell therapy in patients with peripheral arterial occlusive disease[J]. *Int J Stem Cells*, 2013, 6(1): 37-44.
- [32] Walter DH, Krankenberg H, Balzer JO, et al. Intraarterial administration of bone marrow mononuclear cells in patients with critical limb ischemia: a randomized-start, placebo-controlled pilot trial (PROVASA)[J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2011, 4(1): 26-37.
- [33] Dong Z, Pan T, Fang Y, et al. Purified CD34⁺ cells versus peripheral blood mononuclear cells in the treatment of angiitis-induced no-option critical limb ischaemia: 12-month results of a prospective randomised single-blinded non-inferiority trial [J]. *EBioMedicine*, 2018, 33: 46-57.
- [34] Baran C, Durdu S, Ozcinar E, et al. Long-term follow-up of patients with Buerger's disease after autologous stem cell therapy [J]. *Anatolian journal of cardiology*, 2019, 21(3): 155-162.