

## • 综述 •

# 干细胞移植治疗血栓闭塞性脉管炎的进展

杨金江<sup>1,2</sup>, 杨镛<sup>1,2</sup>, 马振桓<sup>1,2</sup>

1. 昆明医科大学第四附属医院血管外科(昆明 650000)

2. 云南省血管外科中心(昆明 650000)

**【摘要】** 干细胞移植是治疗血栓闭塞性脉管炎的主要方法之一。近年来, 干细胞移植在治疗机制方面的研究有所进展, 一批专门针对血栓闭塞性脉管炎的干细胞临床试验结果相继发表, 部分新的干细胞种类逐渐运用于临床, 适应证的把控和移植方法逐渐成熟, 其安全性并无太大争议。此外, 有研究表明干细胞移植的疗效受到多方面影响, 部分因子对移植后截肢的可能性有一定的预测作用。该文就干细胞移植治疗血栓闭塞性脉管炎的临床研究进展进行综述, 旨在为干细胞移植更好地用于治疗血栓闭塞性脉管炎提供一定依据。

**【关键词】** 干细胞移植; 血栓闭塞性脉管炎; 临床研究; 疗效评估; 严重不良事件

## Advances in stem cell transplantation for thromboangiitis obliterans

YANG Jinjiang<sup>1,2</sup>, YANG Yong<sup>1,2</sup>, MA Zhenhuan<sup>1,2</sup>

1. Department of Vascular Surgery, the Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650000, P. R. China

2. Vascular Surgery Center of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650000, P. R. China

Corresponding author: YANG Yong, Email: yncvs126@126.com

**【Abstract】** Stem cell transplantation is one of the main methods to treat thromboangiitis obliterans (TAO). In recent years, research on the treatment mechanism of stem cell transplantation has made some progress. The results of a number of stem cell clinical trials specifically for TAO have been published. Some new stem cell types have gradually been used in the clinic. There is no major dispute over security. In addition, research shows that the efficacy of stem cell transplantation is affected in many ways, and some factors have a certain predictive effect on the possibility of amputation after transplantation. This paper reviews the clinical research progress of stem cell transplantation for TAO, and aims to provide some basis for the better use of stem cell transplantation in the treatment of TAO.

**【Key words】** Stem cell transplant; Thromboangiitis obliterans; Clinical research; Efficacy evaluation; Serious adverse event

血栓闭塞性脉管炎 (thromboangiitis obliterans, TAO) 是一种影响中小动静脉的周围血管疾病, 其发病机制尚不明确, 特点是中青年患者会出现慢性肢体缺血以及截肢率高, 旁路手术、介入治疗和药物治疗对其疗效有限。1998 年 Folkman<sup>[1]</sup> 提出“治疗性血管新生 (therapeutic angiogenesis)” 的概念, 2002 年 Tateishi-Yuyama 等<sup>[2]</sup> 首次用干细胞移植治疗慢性肢体缺血。作为治疗性血管新生的主要方法之一, 干细胞移植有独特的优势, 目前干细胞移植在临床上的运用越来越广泛。由于国内人口基数较大, 这方面的研究较国外更多, 且多聚焦于自体外周血单个核细胞 (autologous peripheral

blood mononuclear cell, APBMNC) 移植, 并在 2012 年制定了专家共识<sup>[3]</sup>, 国内对纯化 CD34<sup>+</sup> 细胞 (purified CD34<sup>+</sup> cell, PCC) 的临床运用研究处于前沿<sup>[4-5]</sup>, 国际上对于 TAO 所用干细胞移植治疗中的其他细胞种类也进行了一些探索<sup>[6-7]</sup>。既往临床试验大多将 TAO、动脉硬化闭塞症和糖尿病足等合并为重症肢体缺血进行研究<sup>[8]</sup>。近年来, 一批专门针对 TAO 进行的干细胞临床试验结果相继发表<sup>[4-7, 9-16]</sup>。本文就国内外的相关文献进行整理, 对干细胞移植的机制、疗效、安全性等多个方面进行综述, 旨在为干细胞移植更好地用于治疗 TAO 提供一定依据。

## 1 干细胞治疗 TAO 的机制

干细胞有能力在不断自我更新的同时保持分

化的潜能，并且可以在人体内产生任何成熟的细胞类型。干细胞移植可以通过多种机制调控治疗性血管新生和组织修复，包括：①分化成内皮祖细胞和/或多种组织细胞以替代受损细胞类型；②分泌生长因子、细胞因子、激素等旁分泌因子，调节新生血管的形成；③具有免疫调节和抗炎作用<sup>[17]</sup>。在早期用小鼠模型模拟后肢缺血的动物实验中，术后第14天实验组与对照组相比，小鼠缺血腓肠肌的再灌注明显改善，毛细血管密度明显增大<sup>[18]</sup>。在临床试验中，Wan等<sup>[9]</sup>报道64例TAO(80条肢体)行外周血干细胞移植，术后6个月动脉造影发现新的侧支血管形成。干细胞移植疗法目前正处于临床试验阶段，近年来的一些临床研究中干细胞移植改善了大多数TAO患者的预后<sup>[4-7, 9-16]</sup>。

## 2 适应证

TAO通常导致患者膝下中小动脉节段性闭塞，虽然血管腔内治疗可能是一种有效的方法，可以保护缺血的肢体和加速缺血性溃疡的愈合，但是腔内治疗的远期通畅率不高<sup>[19]</sup>，且膝下动脉闭塞的患者也不适合做旁路手术，患者术后5、10、20年的截肢率分别为25%、38%和46%<sup>[20]</sup>。在保守治疗方面，前列腺素类药物是首选<sup>[21]</sup>，此外免疫治疗<sup>[22]</sup>、波生坦<sup>[23]</sup>及西洛他唑<sup>[24]</sup>等药物可能有一定疗效，也有研究使用高压氧来促进创面愈合和减轻静息痛<sup>[25]</sup>。但是保守治疗也只对部分患者有效，对于不能手术、保守治疗无效的患者，干细胞治疗提供了一种新的治疗手段。总结起来，干细胞治疗TAO的适应证为：①无法行旁路手术或介入治疗的TAO患者；②上述保守治疗无效的患者；③无法耐受旁路手术和介入治疗的患者；④动脉闭塞节段位置较低(不包括主髂动脉闭塞)的患者；⑤无手术禁忌<sup>[3, 26]</sup>。

## 3 干细胞的分类和采集

在Tateishi-Yuyama等<sup>[2]</sup>进行的试验取得初步成功后，研究者就针对可用于移植的干细胞类型进行了探索<sup>[4, 6-7, 27-28]</sup>。可以根据干细胞的提供者将干细胞移植分为自体干细胞移植和异体干细胞移植，干细胞也可分为成体干细胞和胚胎干细胞。干细胞有几种已知的来源：①骨髓，需要从股骨或髂骨抽取骨髓组织，从而获得骨髓来源的骨髓间充质干细胞和自体骨髓单个核细胞(autologous bone marrow mononuclear cell, ABMMNC)；②脂肪组织(脂肪细胞)，需要抽取脂肪获得脂肪源性干细胞；③血

液，需要经血液穿刺术抽出获得APBMNC以及PCC；④脐带血，即人脐带血来源间充质干细胞和人脐带血单个核细胞；⑤胚胎，即胚胎干细胞。相较于其他的干细胞移植方法，外周血单个核细胞移植创伤小，不存在免疫排斥，也不涉及伦理问题，无需进行细胞培养，而且在临床疗效上与其他类型的干细胞相比未见明显差别，故而在临床上的运用最为广泛。

### 3.1 APBMNC

正常生理状态下，大多数骨髓干细胞在特定的称为“龛”的微环境中处于静息状态，需要某些药物或某些细胞因子的刺激使干细胞从“龛”中释放进入外周血，这个过程称之为骨髓动员。正常人体外周血中干细胞数量极低，达不到干细胞移植的要求，需要通过骨髓动员增加外周血中的干细胞浓度，以满足自体移植的需要<sup>[29]</sup>。目前APBMNC的采集方法是皮下注射粒细胞集落刺激因子5~10 μg/kg，1次/d，外周血干细胞移植动员4~5 d，改良骨髓干细胞移植动员2~3 d，然后用血细胞分离器连续收集单个核细胞。Wan等<sup>[9]</sup>用APBMNC治疗TAO，该研究入组TAO患者64例(80支受影响的肢体)，研究结果表明，除了5例患者(5条患肢)移植后4周后发生下肢中段以下坏死和截肢，其余59例(75条患肢)均成功保肢，疼痛感、冷觉改善，术后3个月跛行距离改善，踝肱指数(ankle brachial index, ABI)升高，经皮血氧分压(transcutaneous partial blood oxygen pressure, TcPO<sub>2</sub>)升高，足部皮肤温度升高，治疗前后差异有统计学意义，移植后6个月的动脉造影显示有不同程度的新侧支血管形成。于靖宜等<sup>[10]</sup>用APBMNC治疗12例患者，随访24个月，结果表明与对照组(10例)相比，治疗组的溃疡愈合情况和肢体缺血情况改善，两组截肢率差别无统计学意义。张涛等<sup>[11]</sup>用APBMNC治疗39例TAO患者，随访6个月，发现TcPO<sub>2</sub>、ABI、皮温和跛行距离改善，下肢血管侧支循环的CT血管成像评分明显提高，治疗前后视觉模拟疼痛评分差别无统计学意义。

### 3.2 ABMMNC

ABMMNC的采集方法是进行骨髓动员后，用利多卡因麻醉骨髓抽吸部位后抽吸骨髓，常规采集量约200 mL，采集的骨髓用连续流式细胞分离器分离并浓缩为干细胞移植所需的ABMMNC<sup>[3]</sup>。Guo等<sup>[12]</sup>用自体骨髓源性单核细胞治疗59例TAO患者，19例单独选择阿司匹林，40例选择阿司匹林联合ABMMNC注射。结果显示，使用ABMMNC

的患者 10 年无截肢生存率为 85.3%，而单独使用阿司匹林的患者 10 年无截肢生存率为 40%，前者溃疡面积、趾肱指数、 $TcPO_2$ 、疼痛评分均有明显改善，但两者 ABI 平均值差异无统计学意义 ( $P=0.806$ )。此外，Heo 等<sup>[13]</sup>、白超等<sup>[15]</sup>、Baran 等<sup>[16]</sup>采用 ABMMNC 治疗 TAO 的单臂试验都显示出良好的疗效。

### 3.3 PCC

ABMMNC 和 APBMNC 中起主要作用的是内皮祖细胞，但是内皮祖细胞浓度很低，而 CD34 是内皮祖细胞的表面标志物，理论上讲，纯化后的单核细胞中 PCC 含量更高，与未纯化的单核细胞相比，可能会诱导更高水平的新生血管分化和更少的炎症反应<sup>[4]</sup>。目前已有研究开始使用 PCC 治疗 TAO<sup>[4-5]</sup>。Dong 等<sup>[4]</sup>将 50 例患者平均分为 PCC 组和 APBMNC 组，移植后 2 周，PCC 组获得静息疼痛缓解的患者比例明显高于 APBMNC 组 (68% vs. 32%， $P=0.011$ )，提示 PCC 较 APBMNC 可能更早改善灌注，且注射部位疼痛在 APBMNC 组比 PCC 组更常见 (56% vs. 8%)，这也可能是与 PCC 组去除了非内皮祖细胞成分有关。平均随访 24.5 个月后显示，两组的截肢率无明显差别。

### 3.4 骨髓间充质干细胞

间充质干细胞具有良好的分化作用，是目前治疗多种下肢缺血性疾病的研究热点。在局部肌肉注射自体或异体骨髓间充质干细胞取得良好疗效的基础上，Martin-Rufino 等<sup>[6]</sup>首次报道了一例有截肢风险的 TAO 患者接受了来自健康捐献者的骨髓来源的充质干细胞。移植后足部皮肤溃疡明显消退，静息痛、步行障碍问卷得分、生活质量得到改善，治疗 16 个月后患者已不再需要截肢，治疗前后磁共振血管成像显示下肢血管的密度无差别。

### 3.5 人脐带血间充质干细胞

人脐带血间充质干细胞是典型的成体干细胞之一，与其他来源的干细胞相比，它们具有免疫原性低、无创获取、易于体外扩增、不会引起伦理学上的争议等优点。因此，脐带血间充质干细胞是一种很有前途的细胞疗法。杜俊文等<sup>[27]</sup>研究表明脐带血间充质干细胞联合骨髓干细胞治疗下肢缺血较单独采用骨髓干细胞能够更加有效提高患肢皮温、 $TcPO_2$  和 ABI，且改善患者疼痛及冷感等临床症状疗效更佳。Yang 等<sup>[30]</sup>采用脐血源性间充质干细胞肌肉注射移植治疗 8 例不适宜接受血管成形术治疗的慢性肢体缺血患者的研究表明，75% 的溃疡完全愈合，8 例患者中有 3 例的血管造影评分升高。

该试验表明肌肉注射脐带血间充质干细胞是一种安全且耐受良好的治疗方法，适用于闭塞性动脉硬化和 TAO 导致的晚期慢性肢体缺血患者。

### 3.6 人脐带血单个核细胞

脐带血富含大量造血干细胞，造血干细胞和内皮祖细胞来源于共同的成血管细胞，能在缺血组织中分化成内皮细胞和骨骼肌细胞，并可诱导血管新生。周慧敏等<sup>[28]</sup>研究表明，脐带血单个核细胞移植治疗后 6 个月内，移植局部可见较小的侧支血管形成。刘璠等<sup>[31]</sup>研究表明 ABMMNC 和脐带血单个核细胞在治疗 2 型糖尿病下肢血管病变时均安全有效，脐带血单个核细胞的疗效不亚于 ABMMNC。但目前尚未有脐带血单个核细胞治疗 TAO 的相关文献，不过周慧敏等<sup>[28]</sup>研究表明干细胞移植治疗糖尿病足后 6 个月内局部有侧支循环形成，这可以增加缺血部位的血供，对 TAO 的治疗应该同样有效。

### 3.7 脂肪源性干细胞

2001 年 Zuk 等<sup>[32]</sup>成功从脂肪抽吸物中分离培养出具有多向分化潜能的干细胞，脂肪组织在人体中含量多、分布广、较容易获得，脂肪组织来源的间充质干细胞作为干细胞药物开发后，具有治疗 TAO 的潜力。目前已经有研究就脂肪源性干细胞运用于 TAO 进行了探索<sup>[7]</sup>。Ra 等<sup>[7]</sup>的研究中共有 17 例患者以 500 万个细胞/kg 的剂量肌内注射了脂肪源性干细胞，在功效方面，主要终点指标是总步行距离增加，次要终点指标是静息痛的改善以及无痛步行距离、趾肱指数、 $TcPO_2$  和 ABI 的增加；注射脂肪源性干细胞后 6 个月的临床试验期间和 2 年以上的随访问卷调查中均未报告患者行截肢手术。此外，脂肪源性干细胞的提取已经有了专家共识<sup>[33]</sup>。

### 3.8 胚胎干细胞

由于胚胎干细胞涉及伦理学争议，目前虽然已经做了一些基础研究<sup>[34]</sup>，但在临幊上运用受限，尚没有胚胎干细胞用于下肢缺血的临幊试验发表。

## 4 疗效分析

上述研究表明，干细胞治疗在减轻疼痛、促进溃疡愈合、增加  $TcPO_2$  等方面的临幊试验结果一致<sup>[4-7, 9-16, 26-29]</sup>，基本可以肯定干细胞治疗在这些方面的疗效。然而，Guo 等<sup>[12]</sup>等研究的结果显示，干细胞移植治疗后试验组和对照组相比 ABI 差异无统计学意义，Heo 等<sup>[13]</sup>的单臂试验结果显示，干细胞移植治疗后 ABI 较基线升高，但差异无统计学意义，这和其他各项研究的结果不同，可能是因为干细胞的移植对于较大血管的血流改善不明显，而增

加了小微血管数量和口径的缘故, 尚需要进一步的研究。干细胞移植的目的, 不仅是为了改善患者的静息痛、跛行、溃疡等症状, 还为了降低截肢率和截肢平面。在随机对照试验方面, Guo 等<sup>[12]</sup>的研究表明与对照组相比, 干细胞移植可以降低截肢率, 于靖宜等<sup>[10]</sup>研究表明截肢率差别无统计学意义, Dong 等<sup>[4]</sup>研究表明 PCC 组和 APBMNC 组的截肢率无明显差别, 孙英伦等<sup>[35]</sup>研究表明自体外周血干细胞移植联合置管溶栓术治疗 TAO 患者可促进新生侧支血管形成并降低截肢平面。其他研究虽未直接对比, 但是可以看出截肢率与 TAO 自然病程相比降低, 发表在国内的几项研究大部分未能提供在随访期间截肢率的数据<sup>[11, 14-15]</sup>, 笔者认为就自身对照试验而言, 可以在试验开始前计算截肢预评估值, 与治疗后截肢数据进行对比, 可以得出预估的截肢对照数据。此外, 各项研究观察的指标有所差别, 部分试验没有观察 ABI<sup>[4-5, 10, 15]</sup>, 有的试验未评估侧支血管新生情况<sup>[4-5, 10, 12-13, 15]</sup>, 临床观察的主观和客观指标有待统一以便于系统回顾。

## 5 干细胞的移植方法

传统的 TAO 干细胞移植方法有 2 种, 一种是局部缺血肌肉注射法, 一种是下肢动脉腔内注射<sup>[3]</sup>。Martin-Rufino 等<sup>[6]</sup>采用间充质干细胞静脉输注的方法, 也取得了良好的疗效。目前尚无证据表明这 3 种注射方法在疗效上有明显区别, 还需将该方法与更常规的肌内给药和下肢动脉腔内注射疗法进行对比。

## 6 影响疗效的因素

### 6.1 干细胞的预处理

干细胞注入患肢后能否顺利发挥作用涉及到干细胞的归巢、存活、旁分泌等多个方面。部分研究表明, 干细胞的预处理可能会增加疗效<sup>[36-40]</sup>。由于干细胞的运用范围广, 预处理方式多样, 目前关于干细胞预处理的研究很多, 笔者认为在其他研究中干细胞的预处理方法对于 TAO 患者干细胞移植同样有借鉴作用。Aicher 等<sup>[36]</sup>研究表明在慢性后肢缺血大鼠模型中能量冲击波能够增强内皮祖细胞募集。袁大江等<sup>[37]</sup>研究表明, 低浓度过氧化氢预处理可显著增强骨髓间充质干细胞抗氧化应激损伤能力。王倩等<sup>[38]</sup>研究表明, 体外培养的人脂肪干细胞在 3% 和 5% 氧分压的低氧条件下, 血管内皮生长因子的分泌量以及类胰岛素一号增长因子的分泌量相比在常氧条件下都有显著提高, 分别为常氧

条件下的 2.33 倍和 2.41 倍。细胞因子是骨髓环境的重要组成部分, 对造血干细胞移植后的移植时间有显著影响。干细胞移植受到多种因子的影响, Nowicki 等<sup>[39]</sup>研究表明, 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 等对造血干细胞移植后的移植时间有显著影响。对移植的干细胞进行基因修饰也是一种可行的方法<sup>[40]</sup>。干细胞的预处理方法不一而足, 难以完全统计, 以后的临床试验可以就这方面进行探索。

### 6.2 其他影响疗效的因素

除了对移植用的干细胞进行预处理会影响疗效外, 闫波等<sup>[41]</sup>研究表明患者术前膝下输出道的长度、缺血原因、缺血速度、年龄因素对干细胞移植后疗效有很大的影响。此外, 该研究表明自体干细胞移植在 TAO 患者中效果较动脉硬化闭塞症患者和糖尿病足患者更佳。Jeon 等<sup>[42]</sup>研究表明在后肢缺血性疾病模型中, 原始的骨髓间充质干细胞较胎盘和脂肪来源的间充质干细胞具有更好的治疗效果。Chandra 等<sup>[43]</sup>发现雌激素能够明显增加人体骨髓间充质干细胞的增殖能力。干细胞移植和其他治疗方法联合也可以起到更好的疗效, Jiang 等<sup>[44]</sup>的研究表明含有血管内皮生长因子的聚己内酯纳米纤维增强了间充质干细胞的分化和内皮细胞的血管生成。杜俊文等<sup>[27]</sup>研究表明多种干细胞联合移植治疗可以提高疗效。

## 7 干细胞移植后截肢预测因子

由于 TAO 本身发病率较低, 患者较少, 干细胞移植后截肢的预测因子方面的研究非常少。Sun 等<sup>[45]</sup>研究表明空腹血糖 $>6.0 \text{ mmol/L}$  和纤维蛋白原 $>4 \text{ g/L}$  意味着较高的截肢率, 干细胞移植后预后更差, 纤维蛋白原 $<4 \text{ g/L}$  的患者中有 81.8% 可避免截肢, 而纤维蛋白原 $>4 \text{ g/L}$  的患者中只有 53.6% 避免截肢 ( $P<0.05$ )。Aoyama 等<sup>[46]</sup>的研究表明 APBMNC 移植术后早期白细胞介素-6 和碱性成纤维生长因子的变化可作为 3 个月内需要截肢的预测因子。干细胞移植后截肢的预测因子方面还需要更多的研究。

## 8 安全性

关于 TAO 干细胞移植的安全性并无太大争议。谷涌泉等<sup>[26]</sup>指出术后应该观察是否有致瘤性, 有无局部不良反应, 包括局部有无红、肿、热、痛等炎症反应及过敏反应, 有无全身的不良反应, 术后肝肾等功能的变化。另外一个可能的风险是在骨髓单

个核细胞移植时使用粒细胞集落刺激因子动员大量的骨髓单个核细胞入血, 这增加了血液的黏度, 粒细胞集落刺激因子还可促进血小板的聚集与活化, 有可能导致血栓形成, 所以在采集过程中需要常规抗凝。但是在上述多项临床研究<sup>[4-7, 9-16]</sup>中可以看出, 最早 Tateishi-Yuyama 等<sup>[2]</sup>随访 24 周的研究表明并无不良事件发生, 随后的研究都进行了长期的随访, 目前进行的各项研究均无严重不良事件的发生, 因此有充分的理由认为各种干细胞在治疗 TAO 方面是安全的。

## 9 小结

干细胞治疗的优势在于对那些旁路手术、腔内治疗及保守治疗无效的 TAO 患者提供了新的治疗方法, 而且这一方法的疗效已经在临幊上获得了证实, 部分研究表明患者的临床症状能够得到明显缓解<sup>[4-7, 9-16]</sup>, 也有研究表明截肢率下降, 而且干细胞移植基本是安全的<sup>[12]</sup>。ABMMNC 和 APBMNC 的移植已经有 10 余年的历史, 其中 APBMNC 移植由于采集的微创和简便性, 目前运用得越来越多, PCC 的研究是近年来自体干细胞移植取得的一大进展, 值得进行更深入的研究。各种来源的干细胞, 尤其是 ABMMNC、APBMNC 和 PCC 外的各种干细胞间还需要进一步的对比研究。干细胞的移植取得了一些进展, 但还存在一些问题, 首要的问题是缺乏大样本、多中心、双盲、安慰剂对照的临床试验, 有 Cochrane 回顾性研究经过严格筛选后纳入了一项 Dash 等<sup>[47]</sup>的随机对照试验进行分析, 结果显示非常低质量的证据表明, 使用骨髓来源的干细胞可能对溃疡愈合有影响, 并可改善 TAO 患者的无痛步行距离。此外, 干细胞的移植逐渐由粗放走向精细和精准, 干细胞的基因修饰、干细胞和多种生长因子的联合运用、寻找更有效的干细胞植入后的预测因子、更科学的疗效评估标准等问题亟待解决, 这还需依赖更多研究者的重视和参与。

## 参考文献

- 1 Folkman J. Therapeutic angiogenesis in ischemic limbs. *Circulation*, 1998, 97(12): 1108-1110.
- 2 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. *Lancet*, 2002, 360(9331): 427-435.
- 3 中华医学学会医学工程学分会干细胞工程专业委员会, 中华医学会外科学分会血管外科学组. 自体干细胞移植规范化治疗下肢慢性缺血性疾病的专家共识. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2012, 2(1): 1-4.
- 4 Dong Z, Pan T, Fang Y, et al. Purified CD34<sup>+</sup> 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. *EBioMedicine*, 2018, 35: 46-57.
- 5 Fang Y, Wei Z, Chen B, et al. A five-year study of the efficacy of purified CD34<sup>+</sup> cell therapy for angiitis-induced no-option critical limb ischaemia. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7(8): 583-590.
- 6 Martin-Rufino JD, Lozano FS, Redondo AM, et al. Sequential intravenous allogeneic mesenchymal stromal cells as a potential treatment for thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 150.
- 7 Ra JC, Jeong EC, Kang SK, et al. A prospective, nonrandomized, no placebo-controlled, phase I / II clinical trial assessing the safety and efficacy of intramuscular injection of autologous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in patients with severe Buerger's disease. *Cell Med*, 2016, 9(3): 87-102.
- 8 Xie B, Luo H, Zhang Y, et al. Autologous stem cell therapy in critical limb ischemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 7528464.
- 9 Wan J, Yang Y, Ma ZH, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation to treat thromboangiitis obliterans: preliminary results. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(3): 509-513.
- 10 于靖宜, 李尚珠, 吴立华, 等. 自体外周血单个核细胞治疗血栓闭塞性脉管炎重度下肢缺血的初步疗效评价. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(3): 892-896.
- 11 张涛, 万华辉, 郭雪艳, 等. 自体外周血干细胞治疗早期血栓闭塞性脉管炎的疗效观察. *陝西医学杂志*, 2014(4): 431-433.
- 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. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 43.
- 13 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. *Sci Rep*, 2016, 6: 19690.
- 14 唐石晶, 郭发才, 汤敬东. 射频消融、干细胞移植及药物灌注治疗血栓闭塞性脉管炎的有效性及安全性. 血管与腔内血管外科杂志, 2019, 5(2): 103-108.
- 15 白超, 郭晨明, 罗军. 自体骨髓干细胞移植治疗血栓闭塞性脉管炎: 5 年随访. *中国组织工程研究*, 2015(23): 3692-3697.
- 16 Baran Ç, Durdu S, Özçınar E, et al. Long-term follow-up of patients with Buerger's disease after autologous stem cell therapy. *Anatol J Cardiol*, 2019, 21(3): 155-162.
- 17 Parikh PP, Liu ZJ, Velazquez OC. A molecular and clinical review of stem cell therapy in critical limb ischemia. *Stem Cells Int*, 2017: 3750829.
- 18 Clayton ZE, Yuen GS, Sadeghipour S, et al. A comparison of the pro-angiogenic potential of human induced pluripotent stem cell derived endothelial cells and induced endothelial cells in a murine model of peripheral arterial disease. *Int J Cardiol*, 2017, 234: 81-89.
- 19 Kim DH, Ko YG, Ahn CM, et al. Immediate and late outcomes of endovascular therapy for lower extremity arteries in Buerger disease. *J Vasc Surg*, 2018, 67(6): 1769-1777.
- 20 Cooper LT, Tse TS, Mikhail MA, et al. Long-term survival and amputation risk in thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44(12): 2410-2411.
- 21 Cacione DG, Macedo CR, Baptista-Silva JC. Pharmacological

- treatment for Buerger's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 3: CD011033.
- 22 Shapouri-Moghaddam A, Saeed Modaghegh MH, Rahimi HR, *et al*. Molecular mechanisms regulating immune responses in thromboangiitis obliterans: a comprehensive review. *Iran J Basic Med Sci*, 2019, 22(3): 215-224.
- 23 Narváez J, García-Gómez C, Álvarez L, *et al*. Efficacy of bosentan in patients with refractory thromboangiitis obliterans (Buerger disease): a case series and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(48): e5511.
- 24 Chao TH, Tseng SY, Chen IC, *et al*. Cilostazol enhances mobilization and proliferation of endothelial progenitor cells and collateral formation by modifying vasculo-angiogenic biomarkers in peripheral arterial disease. *Int J Cardiol*, 2014, 172(2): e371-e374.
- 25 Hemsinli D, Altun G, Kaplan ST, *et al*. Hyperbaric oxygen treatment in thromboangiitis obliterans: a retrospective clinical audit. *Diving Hyperb Med*, 2018, 48(1): 31-35.
- 26 谷涌泉, 佟铸, 郭连瑞. 干细胞移植治疗下肢重度缺血. 中华普通外科学文献(电子版), 2015, 9(1): 8-10.
- 27 杜俊文, 吴韬, 张坤, 等. 脐带间充质干细胞联合骨髓干细胞治疗下肢缺血. *中国组织工程研究*, 2017, 21(1): 82-86.
- 28 周慧敏, 刘璠, 杨爱格, 等. 脐带血单个核细胞移植治疗对2型糖尿病下肢血管病变患者血清VEGF和bFGF的影响. *广东医学*, 2015(19): 3021-3023.
- 29 Hopman RK, DiPersio JF. Advances in stem cell mobilization. *Blood Rev*, 2014, 28(1): 31-40.
- 30 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. *Int J Stem Cells*, 2013, 6(1): 37-44.
- 31 刘璠, 周慧敏, 杨爱格, 等. 不同来源单个核细胞移植对2型糖尿病下肢血管病变的疗效比较. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2016, 6(6): 351-355.
- 32 Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, *et al*. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*, 2001, 7(2): 211-228.
- 33 中国医药生物技术协会皮肤软组织修复与重建技术分会. 脂肪组织来源的干细胞提取、制备及储存质量管理专家共识. *解放军医学杂志*, 2018, 43(10): 811-815.
- 34 Rathjen PD, Lake J, Whyatt LM, *et al*. Properties and uses of embryonic stem cells: prospects for application to human biology and gene therapy. *Reprod Fertil Dev*, 1998, 10(1): 31-47.
- 35 孙英伦, 马振桓, 杨镛, 等. 对血栓闭塞性脉管炎患者截肢平面的研究. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(15): 53-57.
- 36 Aicher A, Heeschen C, Sasaki K, *et al*. Low-energy shock wave for enhancing recruitment of endothelial progenitor cells: a new modality to increase efficacy of cell therapy in chronic hind limb ischemia. *Circulation*, 2006, 114(25): 2823-2830.
- 37 袁大江, 彭吾训, 张飞, 等. 低浓度过氧化氢预处理增强骨髓间充质干细胞抗氧化应激损伤的能力. *中国组织工程研究*, 2019, 23(13): 1982-1988.
- 38 王倩, 刘羿, 张雨, 等. 低氧条件下人脂肪间充质干细胞分泌多种细胞因子的水平. *中国组织工程研究*, 2019, 23(29): 4681-4687.
- 39 Nowicki M, Wierzbowska A, Małachowski R, *et al*. VEGF, ANGPT1, ANGPT2, and MMP-9 expression in the autologous hematopoietic stem cell transplantation and its impact on the time to engraftment. *Ann Hematol*, 2017, 96(12): 2103-2112.
- 40 Hsu MN, Chang YH, Truong VA, *et al*. CRISPR technologies for stem cell engineering and regenerative medicine. *Biotechnol Adv*, 2019, 37(8): 107447.
- 41 闫波, 苏少飞, 田玉峰, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗严重下肢缺血性疾病疗效的影响因素分析. *中国血管外科杂志(电子版)*, 2016, 8(2): 146-149.
- 42 Jeon YJ, Kim J, Cho JH, *et al*. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, placenta, and adipose tissue as sources of cell therapy. *J Cell Biochem*, 2016, 117(5): 1112-1125.
- 43 Chandra P, Lee SJ. Synthetic extracellular microenvironment for modulating stem cell behaviors. *Biomark Insights*, 2015, 10(Suppl 1): 105-116.
- 44 Jiang YC, Wang XF, Xu YY, *et al*. Polycaprolactone nanofibers containing vascular endothelial growth factor-encapsulated gelatin particles enhance mesenchymal stem cell differentiation and angiogenesis of endothelial cells. *Biomacromolecules*, 2018, 19(9): 3747-3753.
- 45 Sun L, Wu L, Qiao Z, *et al*. Analysis of possible factors relating to prognosis in autologous peripheral blood mononuclear cell transplantation for critical limb ischemia. *Cyotherapy*, 2014, 16(8): 1110-1116.
- 46 Aoyama N, Nishinari M, Ohtani S, *et al*. Clinical features and predictors of patients with critical limb ischemia who responded to autologous mononuclear cell transplantation for therapeutic angiogenesis. *Heart Vessels*, 2017, 32(9): 1099-1108.
- 47 Dash NR, Dash SN, Routray P, *et al*. Targeting nonhealing ulcers of lower extremity in human through autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Rejuvenation Res*, 2009, 12(5): 359-366.

收稿日期: 2019-12-16 修回日期: 2020-03-17

本文编辑: 唐棣/孙艳梅