

# 通络中药结合自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足的疗效及其对血清 VEGF、bFGF 的影响

高怀林, 丁来标, 曹月香, 李会玉, 孔青, 王立业, 尹晓华

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目 (No. 20009166)

作者单位: 050091 石家庄, 河北医科大学附属以岭医院/河北省中医药络病理论指导糖尿病足防治重点研究室

通讯作者: 高怀林, E-mail: gaohuilin@126.com

**【摘要】** 目的 探讨通络中药结合自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足的临床疗效及其对患者血清血管内皮生长因子 (VEGF)、血清碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 的影响。方法 将 60 例糖尿病足患者随机分为通络 + 移植组 (通络结合自体外周血干细胞移植) 和干细胞移植组 (干细胞移植) 各 30 例。于移植前、移植后 12 周, 观察临床疗效及血清 VEGF、bFGF 水平的变化。结果 通络 + 移植组和干细胞移植组患者的疼痛、冷感、麻木和间歇性跛行等临床症状治疗后较治疗前均明显缓解 ( $P < 0.01$ ), 除间歇性跛行外, 通络 + 移植组临床症状评分优于干细胞移植组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 2 组患者移植后血清 VEGF 和 bFGF 与治疗前相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 通络中药结合自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足, 可提高临床疗效, 不会导致血清 VEGF、bFGF 水平增高。

**【关键词】** 通络中药; 干细胞移植; 糖尿病足; 血管内皮生长因子; 碱性成纤维细胞生长因子

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2012.01.009

**Therapeutic effect of Tongluo herbal drugs combined with PBSCT for treating diabetic foot and the effect on serum VEGF, bFGF level** GAO Huai-lin, DING Lai-biao, CAO Yue-xiang, et al. Yiling Hospital of Hebei Medical University/Hebei Key Laboratory of Chinese Medicine for Diabetic Foot Prevention and Treatment Under the Guide of Collateral Disease Theory, Shijiazhuang 050091, China

**【Abstract】 Objective** To observe the clinical curative effect of treating diabetic foot (DF) with Tongluo herbal drugs combined with autologous peripheral blood cell transplantation (PBSCT) and its effect on serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and serum alkaline fibroblast growth factor (bFGF) levels. **Methods** The sixty patients with diabetic foot were divided into Tongluo + transplantation group (using peripheral blood stem cell transplantation combined with Tongluo herbal) and stem cell group (using peripheral blood stem cell transplantation) at random. The therapeutic effect was observed and the changes of bFGF and VEGF level was detected before treating and after 12 weeks. **Results** The symptoms such as pain, the feeling of cold, paralysis and intermission lameness of both Tongluo herbal + transplantation group and stem cell group were obviously improved ( $P < 0.01$ ), besides the patients' clinical symptom score in the two groups were significantly different ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), the Tongluo + transplantation group was superior to stem cell group. There was no statistics significance compared the levels of serum bFGF and VEGF level in both two groups after treatment with before treatment ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Tongluo herbal drugs combined with autologous PBSCT could improve the clinical curative effect in the diabetic foot (DF), and it would not influence the increase of levels of VEGF and bFGF.

**【Key words】** Tongluo herbal drugs; Stem cell transplantation; Diabetic foot; Vascular endothelial growth factor; Alkaline fibroblast growth factor

糖尿病足是糖尿病常见的致残、致死性并发症, 极易发生溃疡、坏疽, 给患者和社会带来沉重的负担。其主要特点为下肢血管远端流出道闭塞, 且越远端病变越重, 故药物治疗、血管搭桥、介入手术等疗效欠佳<sup>[1,2]</sup>。近年来随着干细胞移植治疗缺血性疾病研究的不断发展及促血管新生的中医药研究日益深入, 使采用干细胞移植结合中药等治疗性血管生成方法在缺

血部位重建有效侧支循环成为可能, 且优于单纯干细胞移植治疗效果。但糖尿病的血管病变复杂, 既有动脉硬化引起的缺血性病变, 同时又有血管增殖性病变 (如糖尿病眼病及糖尿病肾病) 存在。以往对血管内皮生长因子 (VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 研究报道不一, 有研究报道干细胞移植治疗糖尿病血管病变 VEGF、bFGF 浓度上升可引起病理性促血管生

成<sup>[3,4]</sup>。因此,本研究旨在探索络络中药结合自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足的有效方法及治疗前后 VEGF、bFGF 浓度的变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例选自自我科 2009 年 1 月—2011 年 6 月住院的 2 型糖尿病足患者 60 例,根据研究设计随机分为络络 + 移植组(通心络 + 自体外周血干细胞移植)、干细胞移植组(自体外周血干细胞移植)。络络 + 移植组 30 例,男 19 例,女 11 例,平均年龄(55.5 ± 14.6)岁;干细胞移植组 30 例,男 17 例,女 13 例,平均年龄(54.8 ± 11.4)岁。2 组患者性别、年龄、症状评分、VEGF 等基线资料差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。

1.1.1 纳入标准:根据世界卫生组织(WHO)对糖尿病足的定义选择患者:(1)所有患者肢体至少存在以下病变中的 2 种或 2 种以上:肢体疼痛,患肢冷感,间歇性跛行,皮肤颜色苍白或红紫,溃疡,皮肤温度改变,踝肱指数降低;(2)所有入选患者经彩色多普勒检查均有腘动脉以下流出道狭窄或闭塞;(3)控制患者空腹血糖  $< 7.0 \text{ mmol/L}$ ,非空腹血糖  $< 10.0 \text{ mmol/L}$ ;(4)入选患者在进行治疗前均填写知情同意书。

1.1.2 排除标准:(1)血糖控制不理想的糖尿病患者(糖化血红蛋白  $> 7.0\%$  和增殖性视网膜病变);(2)恶性肿瘤患者及合并有心血管、肝、肾、造血系统等原发性疾患;或一般情况差不能耐受干细胞移植手术者;(3)精神病患者;(4)妊娠、哺乳期妇女,或对本研究药物过敏者。

1.2 治疗方法 2 组均给予一般常规治疗。如果患者存在足部感染,移植前应用抗生素控制感染后进行移植;在干细胞移植的同时 2 组均给予前列地尔、西洛他唑、丹参注射液等常规药物治疗。强化控制血糖、血脂、血压、心脏功能等各项指标达标。术后积极进行抗感染及对症支持治疗,足部溃疡定期局部换药及清创治疗。干细胞移植组:行自体外周血干细胞移植。络络 + 移植组:通心络胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司生产)4 粒,每日 3 次,移植前 1 周开始口服,连服 12 周。

1.3 干细胞移植术

1.3.1 自体外周血干细胞采集:自体外周血干细胞动员(吉粒芬 450 ~ 600 U 皮下注射,连用 5 d),第 5 天白细胞总数达  $(20.2 \sim 60.4) \times 10^9/L$ ,第 6 天采集外周血干细胞,用 COBE 6.1 pectraversion 细胞分离机单独采集干细胞,根据患者 CD34 阳性细胞,外周血白细胞总数,患者下肢缺血的程度总采集量在 80 ~ 140 ml。将采集的单核细胞配制成  $(1 \sim 6) \times 10^8/ml$  的细胞混悬液。为防止高白细胞血症导致心、脑血管事件或血栓栓塞,在行外周血干细胞动员的同时给予低分子肝素钙 5000 U/d,皮下注射,每日 2 次;每日监测外周血白细胞计数、出凝血时间及临床症状变化。

1.3.2 肌肉注射干细胞:严格无菌操作,2%利多卡因 20 ml 局部注射阻断腓肠神经,用 1 ml 注射器抽取干细胞混悬液,循大血管的走行 2.5 ~ 3.0 cm  $\times$  2.5 ~ 3.0 cm 间距进行肌肉注射,溃疡周围重点注射,每个点注射 0.8 ~ 1.0 ml,注射深度为 2.5 ~ 3.0 cm,注射完毕用无菌治疗巾包裹。根据病情移植 1 ~ 2 次。操作完毕,移植部位消毒。嘱患者卧床休息。移植后用青霉素

预防感染 3 ~ 5 d。

1.4 观察指标 在干细胞移植前、干细胞移植后 12 周时分别检查以下指标:(1)症状评分量表<sup>[5]</sup>,见表 1;(2)ELISA 法检测血清 VEGF、bFGF 水平;(3)观察有无异常症状、体征出现;观察血、尿、粪常规,心电图,肝、肾功能,凝血四项等变化。

表 1 糖尿病足患者症状评分量表

评分	疼痛	冷感	麻木	间歇性跛行 60 m/min
0	无	无	无	$\geq 500 \text{ m}$ 无疼痛
1	偶有	偶有	有时有轻度麻木感	400 ~ 490 m 疼痛
2	经常、可忍受	经常	经常有轻度麻木感	300 ~ 399 m 疼痛
3	需用止痛剂	明显	经常有轻度麻木感 有时有强度麻木感	100 ~ 299 m 疼痛
4	难以忍受,止痛剂无缓解	冰冷	经常有强度麻木感	$< 100 \text{ m}$ 静息痛

1.5 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差表示,组间比较采用  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗效果 治疗后与治疗前比较,2 组患者的疼痛、冷感、麻木、间歇性跛行等差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );2 组间比较,疼痛、冷感、麻木差异有统计学意义( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),间歇性跛行差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),络络 + 移植组优于干细胞移植组。见表 2。

表 2 2 组患者症状变化 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)

组别	时间	疼痛	冷感	麻木	间歇性跛行
络络 + 移植组 ( $n = 30$ )	疗前	3.05 ± 0.96	3.13 ± 1.21	1.93 ± 1.12	3.25 ± 1.15
	疗后	0.72 ± 0.33* $\Delta$	0.64 ± 0.26* $\Delta$	0.86 ± 0.35**	2.63 ± 0.33*
干细胞移植组 ( $n = 30$ )	疗前	2.99 ± 1.15	2.76 ± 0.81	2.01 ± 1.03	2.01 ± 1.03
	疗后	1.37 ± 0.82*	1.15 ± 0.71*	1.16 ± 0.54*	1.15 ± 0.56*

注:与治疗前比较,\* $P < 0.01$ ;与干细胞移植组比较, $\Delta P < 0.01$ ,\*\* $P < 0.05$

2.2 治疗前后血清 VEGF 和 bFGF 水平 2 组治疗后血清 VEGF 和 bFGF 水平与治疗前比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),2 组间治疗后比较差异也无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 2 组患者治疗前后 VEGF 和 bFGF 变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	VEGF(ng/L)	bFGF( $\mu\text{g/L}$ )
络络 + 移植组 ( $n = 30$ )	治疗前	111.54 ± 33.61	30.25 ± 8.38
	治疗后	134.96 ± 35.73	33.41 ± 11.37
干细胞移植组 ( $n = 30$ )	治疗前	114.43 ± 28.21	32.35 ± 9.43
	治疗后	117.38 ± 34.56	38.72 ± 12.48

2.3 不良反应 所有患者手术前后心电图、肝肾功能无特殊改变,出凝血时间正常,注射部位均无红肿、疼痛、渗出、溃疡情况等不良反应。

3 讨论

形成糖尿病足的一个重要原因是下肢动脉慢性闭塞,造成下肢远端组织缺血、缺氧,其特点是发病率高,病变广泛,越远端越严重,影响的血管往往是多部位、多节段,以小血管病变为主,并有微血管病变。现在对于下肢远端没有动脉流出道的治疗办法还不多,传统的药物治疗、血管搭桥及支架置入的远期疗效均不理想,尤其是下肢动脉流出道闭塞而且缺乏代偿性侧支循环建立的患者,采用任何手段都难使血管再通,严重影响了患者的身心健康。自体外周血干细胞移植是近年来新兴的一项治疗技术,大量的实验和临床应用证明自体外周血干细胞

移植是治疗缺血性疾病的一种很有应用前景的方法。由于人体干细胞可以分化为血管内皮细胞,形成新生血管,故可将自体外周血里的干细胞移植到缺血的下肢内,使其逐渐分化并形成新的毛细血管,促进侧支循环建立,改善和恢复下肢血流,达到治疗下肢血管病变与糖尿病足的目的<sup>[6-9]</sup>。但有时新生血管及侧支循环建立较慢且数目较少,使临床疗效不甚理想,配合中药可促进毛细血管新生,我们应用通络中药结合自体外周血干细胞移植糖尿病足的临床疗效满意<sup>[10,11]</sup>。

本试验通过对 2 组患者组间进行比较,通络 + 移植组在改善冷感、麻木感、疼痛症状等方面优于干细胞移植组。说明在干细胞移植时应用通络中药可以明显改善患者症状,并优于干细胞移植组。但由于我们观察期较短,通络中药促血管新生的作用尚未完全体现,一些临床症状尚需长期观察以客观评价通络中药的疗效。

对于 VEGF 的基础研究认为<sup>[12]</sup>, VEGF 是一把双刃剑,内源性 VEGF 是体内最强的促血管生成因子,VEGF 与特定受体结合后,能有效促进内皮细胞的有丝分裂,介导内皮细胞整联蛋白的表达,或间接诱导纤溶酶原激活因子以及胶原酶的表达,导致新生血管腔的形成。VEGF 是针对内皮细胞特异性最高、促血管生成作用最强的有丝分裂原之一,在生理性和病理性的(包括肿瘤血管生成)过程中发挥关键的调节作用,它可能在多种血管生长因子中起到中心调控作用。有研究证实骨髓细胞可分泌 bFGF<sup>[13]</sup>, bFGF 是强有力的促血管生成剂,也是多种细胞的促有丝分裂素之一,可以刺激血管新生和侧支血管的形成,也可以刺激平滑肌细胞增生,导致新内膜增生和血管阻塞。本研究证实,干细胞治疗后 3 个月,血清 VEGF、bFGF 水平与治疗前及 2 组间比较,均未见明显差异 ( $P > 0.05$ ),说明通络中药结合外周血干细胞移植治疗糖尿病足没有因 VEGF、bFGF 水平升高引起的病理性促血管生成的不良反应。

本结果提示,通络中药结合自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足临床疗效可靠,优于单纯干细胞治疗,且不会导致因 VEGF、bFGF 水平升高引起的病理性促血管生成,是一种安全、有效的中西医结合治疗糖尿病足的新方法。

## 参考文献

- 1 Rmstrong DG, Frykberg RG. Classifying diabetic foot surgery: toward a rational definition[J]. *Diabet Med*, 2003, 20(4):329-331.
- 2 王富军,杜亚萍,杨艳辉,等. 自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足 11 例临床研究[J]. *临床荟萃*, 2007, 22(23):1729-1730.
- 3 Chandrasekharan NN, William S, Sahrudaya N, et al. Transforming growth factor- $\beta$  induces expression of vascular endothelial growth factor in human retinal pigment epithelial cells: involvement of mitogen-activated protein kinases[J]. *J Cellular Physiol*, 2003, 197(3):453-462.
- 4 关文利,甘宇,李铁男,等. 自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病足溃疡的疗效及其与血清 bFGF 水平关系的研究[J]. *中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2011, 10(2):90-92.
- 5 高继平,王书桂,黄平平,等. 肺炎消治疗多发性大动脉炎 39 例临床分析[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 1996, 2(3):145.
- 6 秦汉林,高斌. 自体干细胞移植治疗糖尿病足的研究进展[J]. *介入放射学杂志*, 2010, 19(9):753-758.
- 7 Tepper OM, Galiano RD, Capla JM. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures[J]. *Circulation*, 2002, 106(22):2781-2786.
- 8 Iwaguro H, Yamaguchi J, Kalka C. Endothelial progenitor cell vascular growth factor gene transfer for vascular regeneration[J]. *Circulation*, 2002, 105(2):732-738.
- 9 Schattman GC, Hanlon HD, Jiao C. Blood-driven angioblasts accelerate blood-flow restoration in diabetic mice[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(11):571-578.
- 10 高怀林,张建军,王丽英,等. 通心络结合外周血干细胞移植治疗糖尿病足[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2009, 15(8):636-637.
- 11 高怀林,王丽英,丁来标,等. 通络中药磁疗足浴防治糖尿病足 60 例临床观察[J]. *疑难病杂志*, 2009, 8(12):743.
- 12 崔大明,车晓明. 血管内皮生长因子与抗肿瘤研究进展[J]. *复旦学报(医学版)*, 2006, 33(4):566-568.
- 13 付汉东,张爱华,鲁艳,等. 自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病足患者血管内皮生长因子的表达及意义[J]. *中国全科医学*, 2010, 13(8):2554.

(收稿日期:2011-10-17)

## 《疑难病杂志》征稿征订启事

《疑难病杂志》是国内惟一专门报道疑难病症的国家级核心期刊。由国家卫生部主管,中国医师协会主办,系中国医师协会系列期刊,为“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”,并被美国《化学文摘(CA)》、波兰《哥白尼索引(IC)》等国外重要检索期刊和数据库收录。

本刊贯彻“百花齐放、百家争鸣”的方针,坚持“创新”、“实用”的办刊宗旨,着力报道中医、西医、中西医结合在诊疗各种疑难病、罕见病及各种难诊难治病症的新理论、新成果、新进展、新疗法、新药物、新经验,真正做到“引导潮流、荟萃精华、贴近临床、服务读者”。本刊辟有专家述评、论著、临床研究、络病论坛、罕见病例、误诊误治分析、疑难病例(理)讨论、名医精粹、释疑解难、继续教育等特色栏目,面向全国各级医疗、教育、研究机构的医学专业人员,是广大医务人员学术交流的园地和继续教育的良师益友。

本刊为国际标准大 16 开,80 页,月刊。每期定价 8.00 元,全年 96.00 元。国内邮发代号:18-187,国外发行代号:DK13017。欢迎广大读者到邮局订阅,亦可直接汇款至本刊编辑部订阅。

地址:050035 石家庄市天山大街 238 号 电话(传真):0311-85901735 E-mail:ynbzz@163.com