

自体外周血干细胞移植治疗 下肢缺血性疾病的早期报告

栾景源 董国祥 赵 军 李天润 翟国钧

北京大学第三医院血管外科(北京,100083)

【摘要】 目的 探讨自体外周血干细胞移植治疗下肢缺血性疾病的早期效果。 方法 扩增、分离外周血干细胞,多点注射于缺血的患肢肌肉内。 结果 随访 5~16 周,3 例下肢疼痛症状减轻,跛行距离延长,6 条肢体中 5 条踝肱比(ankle/brachial index, ABI)升高,1 条下降。 结论 自体外周血干细胞移植对于改善下肢缺血、缓解缺血症状有一定作用。

【关键词】 干细胞; 移植; 缺血
中图分类号:R654.4 文献标识:B 文章编号:1009-6604(2004)01-0063-02

近年来,下肢动脉硬化性闭塞症的发病率日益增高,治疗方法并无实质性改进,疗效也差强人意,尤其对于病情重、动脉远端流出道不理想的患者,更缺乏有效的治疗措施。干细胞是具有分化潜能的细胞,可以分化为各种机体组织细胞。最近研究发现,干细胞移植可以治疗恶性血液病、实体肿瘤、遗传代谢性疾病、自身免疫性疾病等多种疾病^[1]。干细胞可分化为血管内皮细胞,进一步分化形成新生毛细血管,自体外周血干细胞移植正是利用这一原理,将外周血中的干细胞移植到缺血的肢体肌肉中,使其分化、形成新生毛细血管,改善和恢复下肢血流,达到治疗下肢缺血的目的^[2],目前国内外尚无相关报道。我科 2003 年 2~4 月采用此方法治疗 3 例,近期效果较好,现报道如下。

临床资料与方法

一、一般资料

病例 1,男,69 岁。因双下肢静息痛入院。双侧足背静脉充盈时间均为 30 s,踝肱比(ankle/brachial index, ABI)左侧为 1.0,右侧为 0.4。动脉造影及 MRI 均显示双侧腘动脉以下多发狭窄,胫前、胫后、腓动脉闭塞。药物治疗效果不理想。

病例 2,女,70 岁。双下肢间歇性跛行,跛行距离 100 m,双侧足背静脉充盈时间均为 20 s,ABI 左侧为 0.5,右侧为 0.4。动脉造影显示双侧股浅动脉中段以下多发性狭窄,胫前、胫后、腓动脉闭塞。

病例 3,男,68 岁。双下肢间歇性跛行,跛行距离 400 m,足背静脉充盈时间左侧 25 s、右侧 15 s,ABI 双侧均为 0.3。动脉造影显示双侧股浅动脉闭塞,股深动脉多发狭窄,胫前、胫后、腓动脉闭塞。

二、方法

1. 外周血干细胞的分离 应用粒细胞集落刺激因子(G-CSF)促进骨髓增生、提高外周血中干细胞数目。监测外周血白细胞(WBC)计数,WBC 计数 $>2.0 \times 10^{10}/L$ 停药。本组病例 1 和病例 3 皮下注射惠尔血 150 μg ,1 次/12 h,4、6 d 后外周血 WBC 计数达到要求;病例 2 皮下注射格拉诺赛特(基因重组人 G-CSF)250 μg ,1 次/天,6 d 后外周血 WBC 计数达到要求。应用 CS-3000 干细胞分离机采用 Ficoll 密度梯度离心法分离外周血中的干细胞(CD4+ 细

胞),量 100 ml。

2. 干细胞移植 腰椎管内麻醉后,无菌条件下,将分离的干细胞纵行、多点注射于动脉闭塞水平以下的患肢肌肉内(本组 3 例均注射于膝关节下至踝关节上的小腿内外两侧肌肉内),两点间距 2 cm,每点注射 1.5~2.0 ml。3 例双下肢均同时接受干细胞移植。

3. 接受自体干细胞移植前后,3 例均未使用其它药物。

4. 随访 术后定期记录患者的症状变化,测量患肢足背静脉充盈时间和 ABI,并与移植前比较。

结 果

1. 3 例自体干细胞移植前后外周血白细胞(WBC)计数的变化见表 1。

表 1 3 例自体干细胞移植前后外周血白细胞(WBC)计数的变化 $\times 10^9/L$

病例	入院时*	移植前**	移植后第 3 天
病例 1	7.2	21.1	9.9
病例 2	6.7	22.4	7.6
病例 3	8.2	40.5	8.9

注: * 入院后首次测定 WBC 的基础值; ** 应用粒细胞集落刺激因子(G-CSF)后,移植前最后一次测定 WBC 值(也是最高值)。

2. 干细胞移植后临床表现的变化:

病例 1:移植后 24 h 内,患者自觉患肢转暖、皮温升高。不良反应主要是双侧腓肠肌肌腹下端胀痛,程度较原静息痛轻。术后 5 周随访,双下肢静息痛消失,双足肤色红润、皮温转暖,足背静脉维持充盈状态,足背静脉充盈时间左侧 15 s,右侧 25 s,ABI 双侧均为 0.8(表 2,3)。

病例 2:移植后近期症状无明显变化,但出现右足背、大腿疼痛,3 d 后渐缓解。术后 16 周随访,患者自觉下肢温暖,足背静脉维持充盈状态,足背静脉充盈时间左侧 10 s、右侧 15 s,跛行距离由 100 m 延长至 350 m,ABI 左侧 0.6、右侧 0.5(表 2,3)。

病例 3:移植后 1 d 双足转暖,可赤足外出,肤色红润,皮温变暖。术后 11 周随访,自觉双足温暖,行走 2 000 m 才出现下肢酸痛,足背静脉充盈时间左侧 20 s、右侧 15 s,ABI 左侧 0.5、右测 0.8(表 2,3)。

(下转第 65 页)

表 2 3 例自体干细胞移植前后足背静脉

充盈时间的变化						s
	病例 1		病例 2		病例 3	
	左侧	右侧	左侧	右侧	左侧	右侧
术前	30	30	20	20	25	15
术后	15	25	10	15	20	15

表 3 3 例自体干细胞移植前后 ABI 的变化

	病例 1		病例 2		病例 3	
	左侧	右侧	左侧	右侧	左侧	右侧
术前	1.0	0.4	0.5	0.4	0.3	0.3
术后	0.8	0.8	0.6	0.5	0.5	0.8

讨 论

干细胞主要存在于骨髓造血中枢,在外周血含量很少。为增加干细胞含量、提高干细胞移植的疗效,我们应用基因重组人 G-CSF 刺激骨髓中的干细胞增殖、释放入外周血,增加外周血中干细胞数量。一般在应用 G-CSF 后 4~6 d,外周血白细胞计数达到 $20 \times 10^9/L$,即可分离干细胞。在之后 3 d 左右,外周血白细胞计数即降至正常水平。说明 G-CSF 只能一过性升高外周血白细胞计数,在停药后可很快恢复,对于患者的造血系统并无太大影响。

本组 3 例结果显示,在干细胞移植后 1~2 d 很快出现下肢转暖、皮温上升,原缺血性疼痛有不同程度缓解。患肢足背静脉充盈时间均有不同程度缩短,但 ABI 并无明显改变。跛行距离延长,病例 2 由 100 m 延长至 350 m,病例 3 由 400 m 延长至 2 000 m。移植后缺血症状很快缓解,此时干细胞尚不能分化、形成新生毛细血管,症状的改善可能与注射后的局部组织反应有关。这一反应包括血管扩张、组织充血。此过程可持续约 2 周,而真正的毛细血管再生发生在 2 周之后。随访 5~16 周,3 例症状均较移植前有明显改善,自觉下肢温暖、皮温上升,下肢疼痛减轻,足背静脉维持充

盈;3 例 6 条肢体中 5 条肢体 ABI 升高,1 条肢体下降。这说明,自体外周血干细胞移植可以改善下肢供血,对下肢缺血性性疾病的治疗有一定的作用。

我们体会,自体外周血干细胞移植治疗下肢缺血性疾病有以下优点:

1. 有效性:移植后,所有患者的足背静脉充盈,下肢转暖,下肢疼痛均有不同程度的缓解,表现为静息痛消失和跛行距离延长。足背静脉充盈时间也有不同程度的缩短。
2. 安全性:首先,干细胞移植操作简单、创伤小,对于合并心脑血管疾病的无法接受手术或介入治疗的高龄患者仍适用。其次,移植采用的是患者本人的外周血干细胞,不存在排异问题。
3. 适用范围广:适用于几乎所有的下肢缺血性疾病患者,尤其适用于手术无效或无法手术的患者。
4. 经济性:花费低廉,经济实用。

但这一新方法刚刚应用,病例数不多,经验不足,有许多问题有待研究。第一,干细胞具有多种分化方向,移植的干细胞是否会引起其它问题,以及如何诱导其向血管内皮细胞定向分化。第二,对于健康人,G-CSF 仅仅引起一过性骨髓增生,停药后可很快自行恢复。但对于具有潜在的骨髓增生异常倾向的人,G-CSF 有诱发血液病的可能性。因此,应用 G-CSF 的安全性尚需进一步观察、研究。第三,G-CSF 是否具有改善下肢供血的作用,尚需对照观察。第四,自体外周血干细胞移植治疗下肢缺血性疾病的远期效果如何,还需要多病例的累积和长时间的随访。

参 考 文 献

1 裴仁治. 造血干细胞移植的临床应用进展. 现代实用医学, 2002,14:225-227.
2 Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Augmentation of post-natal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. Circulation, 2001,103:897-903.

(收稿日期:2003-05-19)
(修回日期:2003-08-28)