不同细胞疗法治疗严重肢体缺血的系统评价和网状Meta分析Δ

蔺　莉[1*]，徐旭英[1#]，洪雨欣[2]（1.首都医科大学附属北京中医医院，北京　100010；2.北京市中医药研究所，北京　100010）

中图分类号　R973+.5；R269　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）13-1634-09
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.13.16

摘　要　目的　系统评价纯化的$CD34^+$细胞（PCCs）、骨髓单核细胞（BMMNCs）、骨髓间充质干细胞（BMMSCs）和外周血单核细胞（PBMNCs）4种常见的细胞疗法在治疗严重肢体缺血（CLI）时的有效性和安全性。**方法**　计算机检索PubMed、Scopus、Embase、Cochrane对照试验注册中心、Web of Science数据库，检索时限为各数据库建库起至2023年6月，收集PCCs、BMMNCs、BMMSCs和PBMNCs 4种不同细胞疗法对比其他细胞疗法或标准疗法（ST）治疗CLI的疗效和安全性的随机对照试验（RCT），结局指标包括截肢率、踝肱指数（ABI）、经皮氧分压（$TCPO_2$）、溃疡愈合率、无痛步行距离（PFWD）和血管生成情况。提取符合纳入标准的临床研究资料，采用RoB 2.0工具进行偏倚风险评估，使用Stata 15.0软件进行统计分析。**结果**　Meta分析共纳入22项研究，涉及1 318名患者，治疗组涉及4种细胞疗法，分别是PCCs、BMMNCs、BMMSCs、PBMNCs。网状Meta分析显示，4种细胞疗法组截肢率均低于ST组，仅PBMNCs组差异具有统计学意义（$P<0.05$）；4种细胞干预措施在提高ABI方面均优于ST组（$P<0.05$），且BMMNCs对ABI的提高效果最显著；PBMNCs、BMMNCs组提高$TCPO_2$方面与ST、BMMSCs相比差异有统计学意义（$P<0.05$）；4种细胞干预措施在提高溃疡愈合率方面均优于ST，但BMMNCs组与ST组比较差异无统计学意义（$P>0.05$），其余3组溃疡愈合率均显著高于ST组（$P<0.05$），且PBMNCs组、BMMSCs组的溃疡愈合率显著高于BMMNCs组（$P<0.05$）；BMMSCs移植后对患者PFWD的提高显著优于ST（$P<0.05$），PBMNCs、BMMNCs组与ST组比较差异无统计学意义（$P>0.05$）；BMMSCs、BMMNCs、PBMNCs这3种细胞疗法改善血管生成的效果均优于ST，且BMMSCs疗效显著优于BMMNCs和PBMNCs，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。**结论**　4种细胞疗法都可以在不同程度上改善CLI患者的预后。PBMNCs移植后截肢率最低，且改善$TCPO_2$和提高溃疡愈合率的效果最显著；BMMNCs改善ABI的效果最显著；在PFWD和血管生成方面，BMMSCs表现出明显的优势。

关键词　细胞疗法；严重肢体缺血；外周动脉疾病；单核细胞；间充质干细胞；$CD34^+$细胞；网状Meta分析

Systematic evaluation and network meta-analysis of different cell therapies in the treatment of critical limb ischemia

LIN Li[1], XU Xuying[1], HONG Yuxin[2] (1. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010, China; 2. Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To systematically evaluate the efficacy and safety of the four most common cell therapies, namely purified $CD34^+$ (PCCs), bone marrow mononuclear cells (BMMNCs), bone marrow mesenchymal stem cells (BMMSCs) and peripheral blood mononuclear cells (PBMNCs) in the treatment of critical limb ischemia (CLI). **METHODS** PubMed, Scopus, Embase, Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) and Web of Science databases were searched from the establishment of each database to June 2023 to collect randomized controlled trials (RCTs) comparing the efficacy and safety of four different cell therapies, namely PCCs, BMMNCs, BMMSCs and PBMNCs, with other cell therapies or standard therapy (ST) in the treatment of CLI. The outcomes indexes included amputation rate, ankle-brachial index (ABI), transcutaneous oxygen partial pressure ($TCPO_2$), ulcer healing rate, pain-free walking distance (PFWD) and angiogenesis. After data extraction from clinical studies that met the inclusion criteria, the RoB 2.0 tool was used to assess the risk of bias, and Stata 15.0 software was used for statistical analysis. **RESULTS** Meta-analysis included 22 studies, involving 1 318 patients. The treatment groups involved 4 types of cell therapies, namely PCCs, BMMNCs, BMMSCs, and PBMNCs. Network meta-analysis showed that the amputation rates of the four cell therapies

Δ**基金项目**　国家自然科学基金面上项目（No.82174388）；北京市百千万人才工程培养经费资助项目（No.2019A30）；第五批全国中医临床优秀人才研修项目（No.国中医药人教函〔2022〕1号）；北京市医院管理中心“登峰”人才培养计划（No.DFL20220801）

*　**第一作者**　住院医师，博士研究生。研究方向：周围血管病的研究与诊治。E-mail：1249326946@qq.com

#　**通信作者**　主任医师，博士生导师，博士。研究方向：周围血管病的治疗。E-mail：xxying7341@126.com

groups were lower than that of ST group, and only the difference in PBMNCs group was statistically significant ($P<0.05$). Four cell interventions were better than ST in improving ABI ($P<0.05$), and BMMNCs had the most significant effect on improving ABI. PBMNCs and BMMNCs groups had statistically significant differences in improving $TCPO_2$, compared with ST group and BMMSCs group ($P<0.05$). Four cell interventions were better than ST in improving ulcer healing rate, among which BMMNCs group had no statistical difference with ST group ($P>0.05$); ulcer healing rates of the other three groups were higher than that of ST group ($P<0.05$), and those of PBMNCs and BMMSCs groups were significantly higher than that of BMMNCs group ($P<0.05$). BMMSCs group had a significantly better effect on improving the PFWD of patients than the ST group after transplantation, with statistical significance ($P<0.05$), but there was no significant difference in PBMNCs and BMMNCs groups compared with ST group ($P>0.05$). The three cell therapies of BMMSCs, BMMNCs and PBMNCs had a significantly better effect on angiogenesis than the ST group, and the BMMSCs group had a significantly better effect than the BMMNCs and PBMNCs groups, with statistical significance ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** The four cell therapies can improve the prognosis of CLI patients to varying degrees. PBMNCs show the lowest amputation rate after transplantation and have the most significant effect on improving $TCPO_2$ and improving the ulcer healing rate. BMMNCs possess the most significant effect on improving ABI. BMMSCs represent obvious advantages in PFWD and angiogenesis.

KEYWORDS cell therapy; critical limb ischemia; peripheral arterial disease; mononuclear cells; mesenchymal stem cells; $CD34^+$ cell; network meta-analysis

外周动脉疾病（peripheral arterial disease，PAD）是糖尿病患者的严重并发症之一，主要发生在下肢动脉，是动脉硬化的一部分。PAD全球发病率为3%～10%，并随年龄增长而增加[1]。如果早期治疗不当，患者发生严重肢体缺血（critical limb ischemia，CLI）的风险很高，导致静息痛、溃疡、坏死，最终导致截肢[2]。对于CLI的治疗，通常采用早期运动训练和使用抗血小板药物、血管扩张剂等，或者通过手术和介入治疗来实现血液循环的重建[3]。对于无法接受手术或介入治疗的患者，往往不得不面对截肢的选择。然而，截肢患者的死亡率高达25%～50%，并且经常导致再次截肢，因此需要一种新的方法来降低CLI患者的截肢和死亡率[4]。

干细胞治疗（stem cell therapy，SCT）是一种新兴的、有前景的治疗策略，也是多种疾病再生疗法开发的主要焦点。国家药品监督管理局药品审评中心的信息显示，越来越多的SCT注册申报获得受理，所涉及的适应证包括膝骨关节炎、牙周炎、移植物抗宿主病、慢性创面（如糖尿病溃疡等）、溃疡性结肠炎等。同时，动物实验发现，SCT可诱导新生血管形成，促进侧支血管形成，增加缺血肢体和软组织血流量[5]。在检索相关文献后，笔者发现在治疗CLI的临床试验中研究最广泛的移植细胞是间充质干细胞（mesenchymal stem cells，MSCs）和单核细胞（mononuclear cells，MNCs）[6]。骨髓间充质干细胞（bone marrow mesenchymal stem cells，BMMSCs）是研究最广泛的间充质细胞，而对单核细胞的研究以骨髓单核细胞（bone marrow mononuclear cells，BMMNCs）和外周血单核细胞（peripheral blood mononuclear cells，PBMNCs）为主。近年来，也有报道证实了纯化的$CD34^+$细胞（purified $CD34^+$ cells，PCCs）在CLI治疗中的作用[7]。然而，尽管大量研究系统地分析了不同干细胞移植对CLI的治疗效果，但由于细胞疗法的生物学特性不同，移植细胞的疗效参差不齐，针对≥2种不同细胞疗法的比较研究有待进一步探讨[8]。网状Meta分析可以将直接和间接比较相结合，比较不同的干预因素，并根据疗效对不同干预措施进行排名。因此，本研究纳入了4种常见细胞疗法的随机对照试验（randomized controlled trial，RCTs），并通过系统评价和网状Meta分析，比较了不同来源细胞疗法在CLI中的安全性和有效性，以期为干细胞在CLI中的临床应用提供更可靠、更全面的循证医学证据。

1 资料与方法

本研究遵循了系统评价的首选报告项目和网状Meta分析标准。本系统评价方案已在国际前瞻性系统综述登记册（PROSPERO）网站注册，注册号为CRD42023447570。

1.1 文献检索

两名研究人员独立制定了搜索策略，进行了预检，检查并最终确定检索策略，然后进行正式检索。如有争议，双方将通过讨论达成共识或由第三方决定。计算机检索PubMed、Scopus、Embase、Cochrane对照试验注册中心、Web of Science数据库，收集符合条件的研究（检索时限均为建库起至2023年6月）。检索词包括术语1，含“细胞”“单核细胞”“间充质干细胞”“外周血”“骨髓”或“CD34”，以上搜索词均用“or”连接；术语2，含“危重肢体缺血”“外周动脉疾病”“周围血管疾病”“糖尿病足”“血运重建”“血管生成”或“动脉生成”，以上搜索词均用

“or”连接；术语3，“随机”。3个术语搜索项之间使用“and”连接。

1.2 研究选择标准

1.2.1 干预措施

治疗组接受自体或异体细胞疗法，且限于BMMNCs、BMMSCs、PBMNCs、PCCs 4种类型；对照组接受其他细胞疗法或标准疗法（standard therapy，ST），包括安慰剂治疗等。

1.2.2 结局指标

本研究的结局指标包括：（1）截肢率；（2）踝肱指数（ankle brachial index，ABI）；（3）经皮氧分压（trans cutaneous oxygen pressure，$TCPO_2$）；（4）溃疡愈合率；（5）无痛步行距离（pain-free walking distance，PFWD）；（6）血管生成情况。

1.2.3 纳入标准

本研究纳入标准：（1）研究包括被诊断为PAD或CLI的患者，无论种族、性别、年龄、疾病持续时间和严重程度如何；（2）研究类型为RCTs。

1.2.4 排除标准

本研究排除标准：（1）关于非人类主题的研究；（2）研究报告中的数据是相关的，但无法提取；（3）非对照研究，如病例报告、综述、会议摘要、信函、调查或满意度研究。

1.3 数据提取和偏差风险评估

两名研究人员独立提取数据并进行交叉核对；如果有任何争议，请第三位研究人员提取内容。提取内容包括：（1）第一作者和发表年份；（2）研究特征，包括每组的样本量、患者年龄、研究来源地区、细胞相关信息（细胞来源、类型等）、随访时间和结果指标；（3）偏差风险评估的相关要素。两名研究人员使用Cochrane偏倚风险2.0（RoB 2.0）工具独立评估RCTs的偏倚风险。评估包括5个方面：（1）随机化过程引起的偏倚；（2）由于偏离预期干预而产生的偏差；（3）由于缺乏结果数据而产生的偏见；（4）结果测量中的偏差；（5）报告结果选择的偏差。最后，对偏倚的总体风险进行判断，分为“低风险”“高风险”或“不确定”。两名研究人员之间的分歧通过与第三名研究人员协商解决。

1.4 统计学方法

网状Meta分析的统计方法基于频率框架，所有结果测量都使用随机效应模型进行分析，二分数据用比值比（odds ratio，OR）及95%置信区间（confidence interval，CI）表示；连续变量用平均差（mean deviation，MD）和95%CI表示。使用Stata 15.0软件绘制图片并进行相应的统计分析；使用Stata 15.0软件的“网络图”命令绘制网络证据关系图，图中节点的大小与样本大小成正比，线的宽度与相关研究的数量成正比。当纳入的干预措施之间形成闭环时，使用Stata 15.0软件的“ifplot”命令进行环路不一致性检测，以评估直接证据和间接证据之间的绝对差异。计算网络中每个闭环的不一致因子（inconsistency factor，IF）值和95%CI，当$P>0.05$且IF值的95%CI下限等于0时，直接比较和间接比较的结果被认为是一致的；否则，则认为闭环中存在明显的不一致性。Stata 15.0软件的“网络联盟”命令用于不同干预措施之间的成对比较；“sucra”命令用于生成累积排序曲线（SUCRA）图下的表面，绘制累积概率排序图，并计算SUCRA值，以对每个结果测量中涉及的治疗手段进行排序。在对结果测量的分析中，SUCRA值越大，治疗的级别越高。Stata 15.0软件的“网络漏斗”命令用于绘制漏斗图，以评估每个Meta分析的研究结果和发表偏倚。

2 结果

2.1 纳入研究

根据纳入标准，从电子数据库中获得2 949项潜在相关研究；删除重复项后，根据标题和摘要的内容排除了2 779项研究；然后对170项研究进行全文评估，最终纳入22篇文献[9－30]。文献检索流程图见图1。

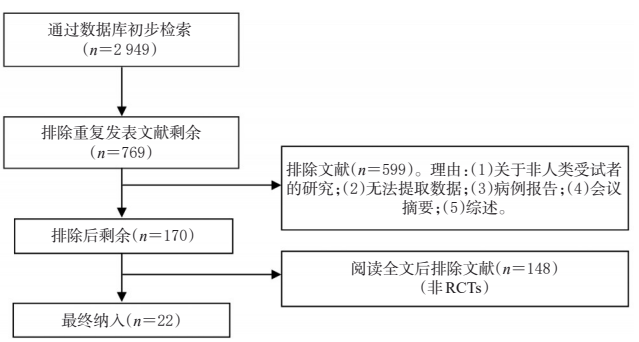


图1 文献检索流程图

2.2 纳入研究的特点

如表1所示，在最终纳入分析的22项研究中，8项研究[9,11－12,18,23,25－26,28]在中国进行，4项研究[14,27,29－30]在日本进行，3项研究[13,16－17]在荷兰进行，2项研究[19,21]在美国进行，1项研究[10]在捷克进行，1项研究[22]在丹麦进行，1项研究[24]在印度进行，1项研究[15]在法国进行，1项研究[20]在土耳其进行。22项研究发表在2002－2022年，其中包括1项三臂研究[23]，其余为双臂研究。除了细胞治疗组的7个配对比较外，其余对照组的患者接受了ST，即包括安慰剂在内的常规治疗。12项研究[10,13,15－18,22,24,26－27,29－30]涉及BMMNCs；9项研究[9,11－12,14,20,26,28－30]涉及PBMNCs；4项研究[19,23－25]涉及BMMSCs；4项研究[9,11－12,21]涉及PCCs。共涉及1 318例患者，参与者年龄18～76岁，平均年龄为55岁。细胞移植方法是肌内注射或动脉内注射。所有纳入研究的随

访时间均在1年内，7项研究[10,16,20,24—26,28]报告了3个月的结果，10项研究[9,11,15,17—19,22—23,29—30]报告了6个月的结局，4项研究[12—14,21]报告了12个月的结果，只有1项研究[27]报告了1个月的结局。

2.3 纳入RCTs的偏倚风险

2项RCTs[10,17]被评为低偏倚风险，6项[20,24,26—28,30]被评为高偏倚风险，主要问题包括对方法进行盲目性分析，由于偏离预期干预而产生的偏差和结果测量中的偏差。偏倚风险分析的详细结果如图2所示。

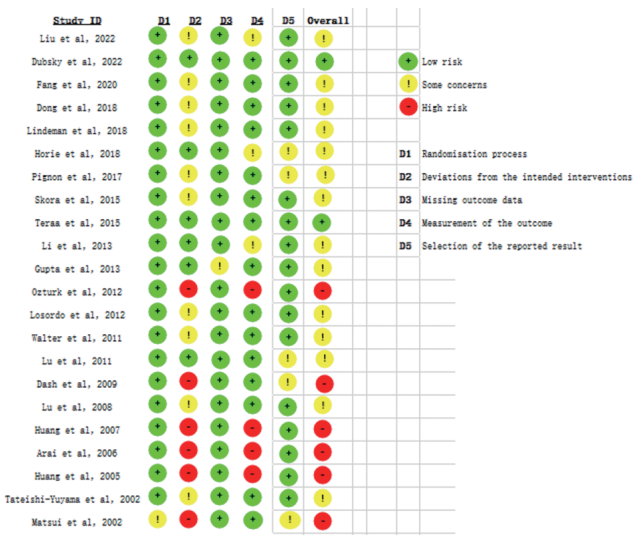


图2 纳入研究偏倚风险图

2.4 网状Meta分析结果

网状Meta分析结果如图3所示。

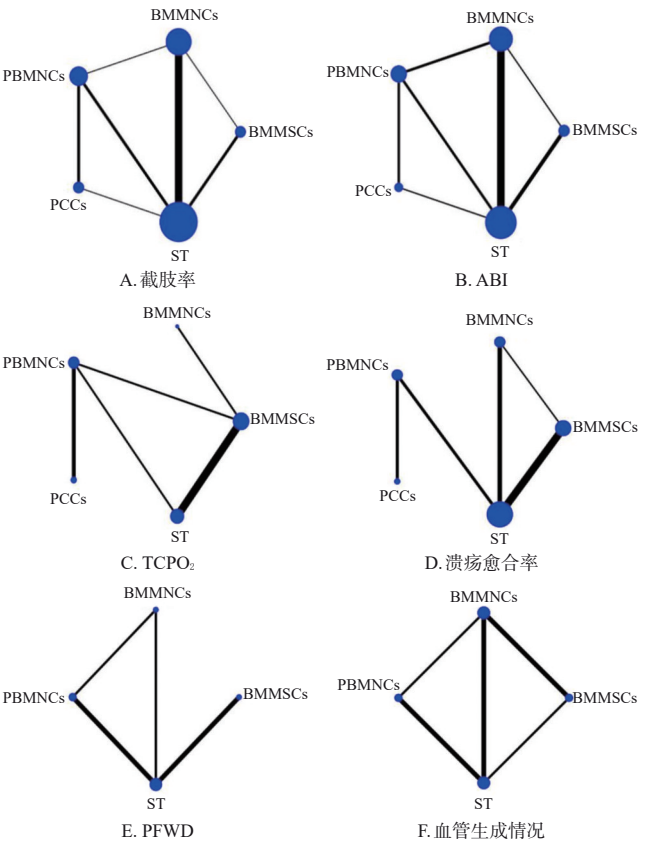


图3 各结果指标网络证据图

表1 纳入研究基线特征

序号	第一作者	发表年份	样本量(治疗组/ST组)	国家	干预措施		随访时间/月	结局指标
					治疗组	对照组		
1	Liu[9]	2022	25/25	中国	PBMNCs	PCCs($CD34^+$)	6	①②③
2	Dubsky[10]	2022	21/19	捷克	BMMNCs	标准治疗	3	①③
3	Fang[11]	2020	78/82	中国	PBMNCs	PCCs($CD34^+$)	6	①④
4	Dong[12]	2018	25/25	中国	PBMNCs	PCCs($CD34^+$)	12	①②③④
5	Lindeman[13]	2018	28/26	荷兰	BMMNCs	标准治疗	12	①②④⑤
6	Horie[14]	2018	50/53	日本	PBMNCs	标准治疗	12	①②③
7	Pignon[15]	2017	17/19	法国	BMMNCs	标准治疗	6	①④
8	Skora[16]	2015	16/16	荷兰	BMMNCs	标准治疗	3	①②⑥
9	Teraa[17]	2015	81/79	荷兰	BMMNCs	标准治疗	6	①②③④
10	Li[18]	2013	29/29	中国	BMMNCs	标准治疗	6	①④
11	Gupta[19]	2013	10/10	美国	BMMSCs	标准治疗	6	①②④
12	Ozturk[20]	2012	20/20	土耳其	PBMNCs	标准治疗	3	①②③④⑤⑥
13	Losordo[21]	2012	7/11	美国	PCCs($CD34^+$)	标准治疗	12	①②
14	Walter[22]	2011	19/21	丹麦	BMMNCs	标准治疗	6	①②③
15	Lu[23]	2011	20/41	中国	BMMSCs	标准治疗	6	①②③④⑥
16	Lu[23]	2011	21/20	中国	BMMNCs	BMMSCs	6	①②③④⑥
17	Lu[23]	2011	21/41	中国	BMMNCs	标准治疗	6	①②③④⑥
18	Dash[24]	2009	12/12	印度	BMMSCs	标准治疗	3	④⑤
19	Lu[25]	2008	22/23	中国	BMMSCs	标准治疗	3	①②④⑤⑥
20	Huang[26]	2007	76/74	中国	PBMNCs	BMMNCs	3	①②③⑤
21	Arai[27]	2006	13/12	日本	BMMNCs	标准治疗	1	②③④
22	Huang[28]	2005	14/14	中国	PBMNCs	标准治疗	3	①②④⑤⑥
23	Tateishi-Yuyama[29]	2002	25/22	日本	PBMNCs	BMMNCs	6	②
24	Matsui[30]	2003	10/5	日本	BMMNCs	PBMNCs	6	②③⑥

①截肢率；②ABI；③$TCPO_2$；④溃疡愈合率；⑤PFWD；⑥血管生成情况。

2.4.1　截肢率

涉及1 063例患者的18项研究[9－23,25－26,28]报告了截肢率，涉及5种干预方式。各项结局指标的证据网络图如图3A所示，4种细胞干预措施均与ST进行了对比，此外还包含了PBMNCs与PCCs、BMMNCs与PBMNCs、BMMSCs与BMMNCs之间的两两比较。一致性评价结果显示，纳入的研究不存在整体不一致和局部不一致，使用一致性模型来估计各种方案的相对疗效。根据网络荟萃结果发现（图4），PBMNCs[OR＝－1.01，95%CI（－1.88，－0.14）]、PCCs[OR＝－0.82，95%CI（－1.98，0.35）]、BMMSCs[OR＝－0.71，95%CI（－2.21，0.79）]、BMMNCs[OR＝－0.33，95%CI（－0.93，0.27）]4种细胞干预措施的截肢率均低于ST组，但只有PBMNCs与ST组相比，差异具有统计学意义（P＜0.05）。根据基于SUCRA值的排序概率（图5A）可知，在5种干预措施中，PBMNCs（80.2%）对截肢率的改善效果最显著，其次是PCCs（64.3%）、BMMSCs（58.4%）、BMMNCs（36.6%）和ST（10.5%）。

PBMNCs				
－0.19（－1.10，0.72）	PCCs			
－0.30（－2.02，1.42）	－0.11（－1.99，1.77）	BMMSCs		
－0.68（－1.60，0.24）	－0.49（－1.68，0.70）	－0.38（－1.97，1.21）	BMMNCs	
－1.01（－1.88，－0.14）[a]	－0.82（－1.98，0.35）	－0.71（－2.21，0.79）	－0.33（－0.93，0.27）	ST

a：P＜0.05。

图4　不同细胞疗法治疗CLI后截肢率排序

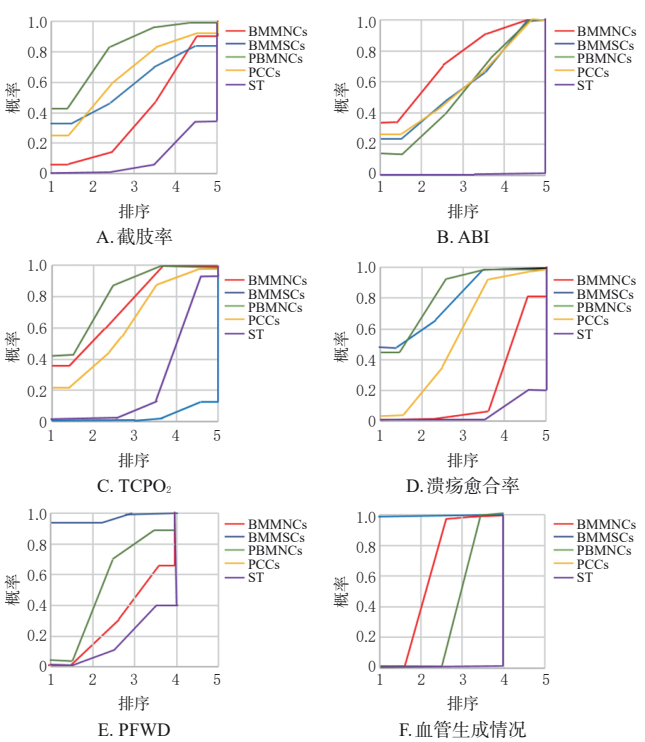


图5　基于SUCRA值的各种结果指标排序图

2.4.2　ABI

涉及733名患者的17项研究[9,12－14,16－17,19－23,25－30]报告了ABI，涉及5种干预方式。各项结局指标的证据网络图如图3B所示，4种细胞干预措施均与ST进行了对比，此外还包含了PBMNCs与PCCs、BMMNCs与PBMNCs、BMMSCs与BMMNCs之间的两两比较。一致性评价结果显示，纳入研究不存在不一致性，使用一致性模型来估计各种方案的相对疗效。根据网络荟萃结果发现（图6），BMMNCs[MD＝0.13，95%CI（0.07，0.19）]、BMMSCs[MD＝0.11，95%CI（0.05，0.18）]、PCCs[MD＝0.11，95%CI（0.01，0.21）]、PBMNCs[MD＝0.11，95%CI（0.03，0.19）]4种细胞干预措施在提高ABI方面均显著优于ST（P＜0.05）。根据基于SUCRA值的排序概率（如图5B）可知，在5种干预措施中，BMMNCs（73.6%）对于ABI的提高效果最显著，其次是PCCs（60.2%）、BMMSCs（59.3%）、PBMNCs（56.4%）和ST（0.5%）。

BMMNCs				
0.02（－0.08，0.12）	PCCs			
0.01（－0.06，0.09）	－0.00（－0.12，0.12）	BMMSCs		
0.02（－0.05，0.09）	0.00（－0.08，0.08）	0.00（－0.09，0.10）	PBMNCs	
0.13（0.07，0.19）[a]	0.11（0.01，0.21）[a]	0.11（0.05，0.18）[a]	0.11（0.03，0.19）[a]	ST

a：P＜0.05。

图6　不同细胞疗法治疗CLI后ABI排序

2.4.3　$TCPO_2$

涉及533名患者的9项研究[9－10,12,17,20,22－23,26－27]报告了$TCPO_2$，涉及5种干预方式。各项干预措施证据网络图如图3C所示，其中PBMNCs与BMMSCs两种细胞干预措施与ST进行了对比，此外还包含了PBMNCs与PCCs、BMMSCs与PBMNCs、BMMSCs与BMMNCs之间的两两比较。一致性评价结果显示，纳入的研究不存在整体不一致和局部不一致，使用一致性模型来估计各种方案的相对疗效。根据网络荟萃结果发现（图7），PBMNCs[MD＝9.82，95%CI（0.79，18.85）]、BMMNCs[MD＝8.74，95%CI（2.63，14.85）]、PCCs[MD＝7.52，95%CI（－4.68，19.72）]3种细胞干预措施在提高$TCPO_2$方面均高于ST。根据基于SUCRA值的排序概率（图5C）可知，在5种干预措施中，PBMNCs（82%）对$TCPO_2$的提高效果最显著，其次是BMMNCs（74.2%）、PCCs（64.6%）、ST（25.6%）和BMMSCs（3.5%）。从95%CI可见，PBMNCs、BMMNCs提高$TCPO_2$与ST、BMMSCs相比差异有统计学意义（P＜0.05），PCCs、BMMSCs提高$TCPO_2$与ST相比差异无统计学意义（P＞0.05）。

PBMNCs				
1.08(−7.63,9.80)	BMMNCs			
2.30(−5.99,10.60)	1.22(−10.83,13.26)	PCCs		
9.82(0.79,18.85)[a]	8.74(2.63,14.85)[a]	7.52(−4.68,19.72)	ST	
18.08(3.80,32.37)[a]	17.00(5.68,28.32)[a]	15.78(−0.74,32.31)	8.26(−4.60,21.12)	BMMSCs

a：$P<0.05$。

图7　不同细胞疗法治疗CLI后$TCPO_2$排序

2.4.4　溃疡愈合率

涉及577名患者的13项研究[11—13,15,17—20,23—25,27—28]报道了溃疡愈合率，涉及5种干预方式。各项干预措施证据网络图如图3D所示，其中PBMNCs、BMMNCs、BMMSCs 3种细胞干预措施均与ST进行了对比，此外还包含了PBMNCs与PCCs、BMMSCs与BMMNCs之间的两两比较。一致性评价结果显示，纳入的研究不存在整体不一致和局部不一致，使用一致性模型来估计各种方案的相对疗效。根据网络荟萃结果发现（图8），PBMNCs[OR＝1.94，95%CI（0.62，3.27）]、BMMSCs[OR＝1.90，95%CI（0.87，2.93）]、PCCs[OR＝1.54，95%CI（0.08，3.00）]、BMMNCs[OR＝0.28，95%CI（−0.34，0.90）]4种细胞干预措施在提高溃疡愈合率方面均高于ST。根据基于SUCRA值的排序概率（图5D）可知，在5种干预措施中，PBMNCs（85.2%）对溃疡愈合率的提高效果最显著，其次是BMMSCs（78%）、PCCs（59.1%）、BMMNCs（22.3%）和ST（5.3%）。但从95%CI可见，BMMNCs组溃疡愈合率与ST组比较差异无统计学意义（$P>0.05$），其余3种细胞移植后溃疡愈合率均显著优于ST组（$P<0.05$），且PBMNCs、BMMSCs对溃疡愈合率的提高效果显著优于BMMNCs（$P<0.05$）。

PBMNCs				
0.05(−1.63,1.72)	BMMSCs			
0.41(−0.21,1.02)	0.36(−1.42,2.15)	PCCs		
1.67(0.20,3.13)[a]	1.62(0.46,2.78)[a]	1.26(−0.33,2.85)	BMMNCs	
1.94(0.62,3.27)[a]	1.90(0.87,2.93)[a]	1.54(0.08,3.00)[a]	0.28(−0.34,0.90)	ST

a：$P<0.05$。

图8　不同细胞疗法治疗CLI后溃疡愈合率排序

2.4.5　PFWD

涉及321名患者的6项研究[13,20,24—26,28]报道了PFWD，涉及4种干预措施，各项干预措施证据网络图如图3E所示，其中PBMNCs、BMMNCs、BMMSCs 3种细胞干预措施均与ST进行了对比，此外还包含了BMMNCs与PBMNCs之间的两两比较。一致性评价结果显示，纳入的研究不存在整体不一致和局部不一致，使用一致性模型来估计各种方案的相对疗效。根据网络荟萃结果发现（图9），BMMSCs[MD＝182.56，95%CI（57.17，307.95）]、PBMNCs[MD＝57.63，95%CI（−68.43，183.69）]、BMMNCs[MD＝23.47，95%CI（−108.71，155.65）]3种细胞干预措施在提高PFWD方面均高于ST。根据基于SUCRA值的排序概率（图5E）可知，在4种干预措施中，BMMSCs（95.7%）效果最为显著，其次是PBMNCs（52.4%）、BMMNCs（33.9%）和ST（18%）。从95%CI可见，PBMNCs、BMMNCs组PFWD与ST组比较差异无统计学意义（$P>0.05$），BMMSCs组PFWD显著长于ST组（$P<0.05$）。

BMMSCs			
124.93(−51.07,300.92)	PBMNCs		
159.09(−22.02,340.20)	34.17(−98.36,166.69)	BMMNCs	
182.56(57.17,307.95)[a]	57.63(−68.43,183.69)	23.47(−108.71,155.65)	ST

a：$P<0.05$。

图9　不同细胞疗法治疗CLI后PFWD排序

2.4.6　血管生成情况

涉及190名患者的6项研究[16,20,23,25,28,30]报道了血管生成情况，涉及4种干预措施，各项干预措施证据网络图如图3F所示，其中PBMNCs、BMMNCs、BMMSCs 3种细胞干预措施均与ST进行了对比，此外还包含了BMMNCs与PBMNCs、BMMSCs与BMMNCs之间的两两比较。一致性评价结果显示纳入的研究不存在整体不一致和局部不一致，使用一致性模型来估计各种方案的相对疗效。根据网络荟萃结果发现（图10），BMMSCs[OR＝6.54，95%CI（4.55，8.54）]、BMMNCs[OR＝4.40，95%CI（2.67，6.14）]、PBMNCs[OR＝2.66，95%CI（1.16，4.16）]3种细胞干预措施在改善血管生成情况方面均优于ST。根据基于SUCRA值的排序概率（图5F）可知，在4种干预措施中，BMMSCs（100%）效果最为显著，其次是BMMNCs（65.6%）、PBMNCs（34.4%）和ST（0）。从95%CI可见，3种细胞疗法移植后对患者血管生成情况的疗效均显著优于ST，且BMMSCs疗效显著优于BMMNCs和PBMNCs，差异均具有统计学意义（$P<0.05$）。

BMMSCs			
2.14(0.99,3.29)[a]	BMMNCs		
3.88(1.75,6.02)[a]	1.74(−0.12,3.61)	PBMNCs	
6.54(4.55,8.54)[a]	4.40(2.67,6.14)[a]	2.66(1.16,4.16)[a]	ST

a：$P<0.05$。

图10　不同细胞疗法治疗CLI后血管生成情况排序

2.4.7　闭环不一致检测及发表偏倚

6个结局指标的证据图谱均涵盖了闭环。如表2所示，6项结局指标均不存在不一致性。如图11所示，所

有图在视觉上都是大致对称的，所有结果都否定了存在小研究效应的假设。

表2　各项结局指标闭环不一致性检测结果

指标	闭环	IF	SE	Z	P	95%CI
截肢率	C-D-E	2.292	1.272	1.802	0.072	(0.00,4.78)
	A-B-E	0.452	2.175	0.208	0.835	(0.00,4.72)
	A-C-E	0.308	0.962	0.32	0.749	(0.00,2.19)
ABI	A-B-E	0.126	0.03	4.152	0	(0.07,0.19)
	A-C-E	0.089	0.06	1.474	0.141	(0.00,0.21)
	C-D-E	0.059	0.098	0.603	0.547	(0.00,0.25)
$TCPO_2$	A-C-E	9.941	4.897	2.03	0.042	(0.34,19.54)
溃疡愈合率	A-B-E	1.685	1.639	1.028	0.304	(0.00,4.90)
PFWD	A-C-D	131.677	55.315	2.381	0.017	(23.26,240.09)
血管生成情况	A-B-D	1.257	2.109	0.596	0.551	(0.00,5.39)
	A-C-D	0.623	1.907	0.327	0.744	(0.00,4.36)

A：PBMNCs；B：PCCs；C：BMMNCs；D：BMMSCs；E：ST。

3　讨论

本研究纳入了来自22项研究的1 318名患者，使用网络Meta分析方法，首次比较了4种临床常用的细胞疗法BMMNCs、BMMSCs、PBMNCs、PCCs对CLI治疗的疗效。研究结果表明，PBMNCs是本研究中截肢风险最低且对$TCPO_2$和溃疡愈合率改善最明显的，多项研究证实局部注射PBMNCs在CLI中的疗效及安全性，研究认为PBMNCs显著降低了截肢的风险，与BMMNCs疗效相当，但侵入性更小[31—32]。同时有研究证实了粒细胞集落刺激因子动员PBMNCs进行肌内细胞移植可改善CLI患者的ABI、静息疼痛、$TCPO_2$和PFWD[33]。因此，对于无法进行血运重建的患者，PBMNCs被认为是最有价值的治疗选择。此外，PCCs仅在改善ABI方面较PBMNCs有一定优势，而在截肢率、$TCPO_2$及溃疡愈合率中，优势较PBMNCs弱。本研究首次将最新研究的纯化$CD34^+$细胞与其他3种细胞类型进行对比，结果与Liu等[9]的研究结论一致，但是与Fang等[11]、Dong等[12]的研究结果有一定差异。将4项干预措施综合进行对比，发现移植PCCs后对截肢率的改善效果位列第2，仅次于PBMNCs，但是较BMMNCs和BMMSCs具有一定优势；在提高ABI方面同样位列第2，仅次于BMMNCs，较PBMNCs和BMMSCs有一定优势；在$TCPO_2$和溃疡愈合率方面，4种干预措施中，PCCs位列第3。BMMSCs移植后风险较BMMNCs低，且在提高溃疡愈合率、PFWD和血管生成方面都优于BMMNCs，而BMMNCs在改善ABI和$TCPO_2$方面优于BMMSCs。将4种细胞干预措施进行对比，发现BMMNCs在提高ABI方面位列第1，在提高$TCPO_2$方面仅次于PBMNCs，位列第2；而BMMSCs在提高PFWD和血管生成方面较其他细胞疗法更优。

本研究具有一定局限性：由于病例样本来源地区、种族、性别的差异，研究之间不可避免地存在差异性和异质性，无法在网络荟萃分析中克服，可能会导致结论存在偏倚；且细胞移植数量跨度较大，本研究未对不同移植数量的细胞疗法的具体疗效进行对比；最后，本研

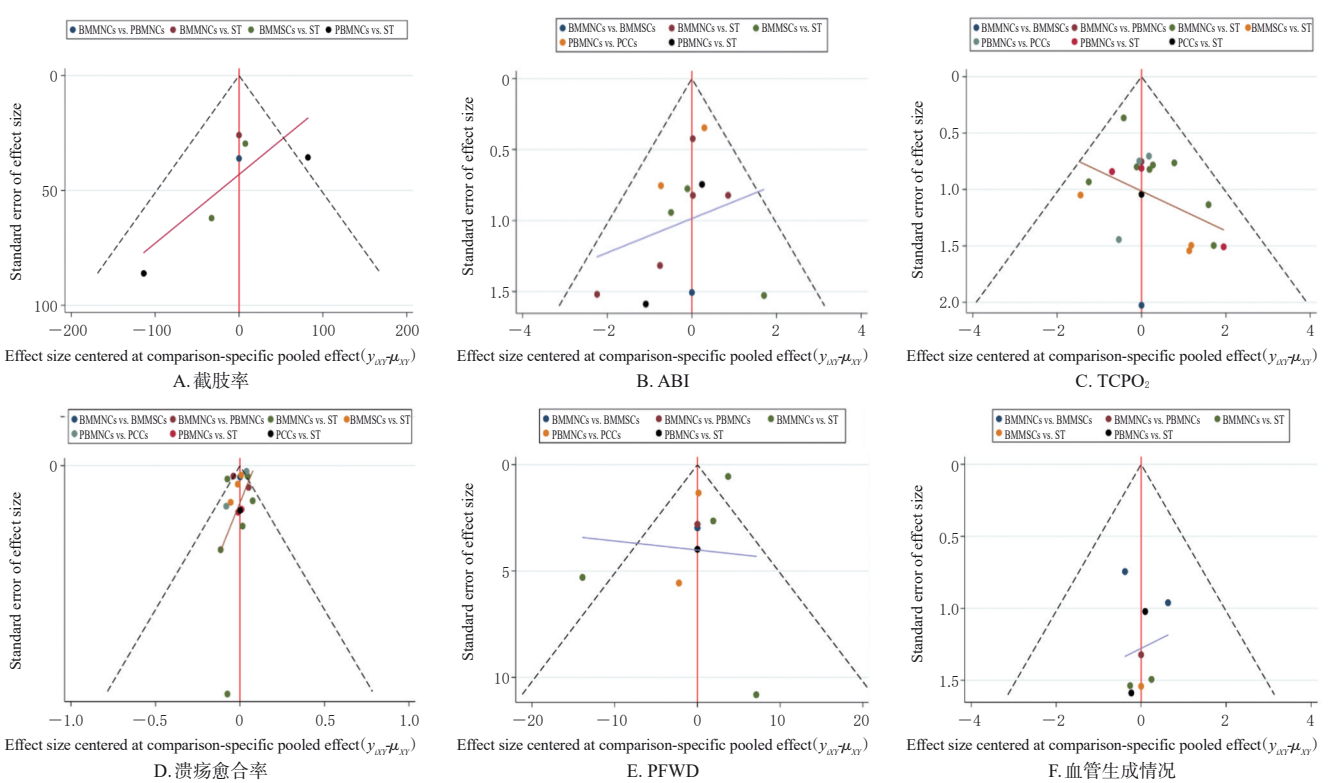


图11　各项结局指标漏斗图

究的指标仅包括截肢率、ABI、$TCPO_2$、溃疡愈合率、PFWD以及血管生成情况，纳入研究所报道的结局指标不同，部分研究以图片形式表达，这导致一些采用不同评价方法的研究数据无法被纳入和比较。因此，未来还需要开展更大规模、更全面的CLI细胞疗法临床研究，以获得足够的证据。

综上所述，本研究通过比较BMMNCs、BMMSCs、PBMNCs、PCCs 4种细胞疗法对CLI的疗效，发现PBMNCs治疗后CLI患者的截肢率最低，且对$TCPO_2$和溃疡愈合率的提高效果最显著。BMMNCs对ABI的提高效果最显著，而在提高PFWD、血管生成方面，BMMSCs较其他细胞疗法更好。基于本研究结果，建议在选择细胞疗法时，可依据患者病情优先选择PBMNCs降低截肢率，同时更有效地提高$TCPO_2$和溃疡愈合率；而BMMSCs疗法在提高PFWD、血管生成方面具有一定优势。但本文结论仍需更多高质量的文献进一步证实。

参考文献

[1] FORSYTHE R O, BROWNRIGG J, HINCHLIFFE R J. Peripheral arterial disease and revascularization of the diabetic foot[J]. Diabetes Obes Metab, 2015, 17(5): 435-444.

[2] FARBER A, EBERHARDT R T. The current state of critical limb ischemia: a systematic review[J]. JAMA Surg, 2016, 151(11): 1070-1077.

[3] BEVAN G H, WHITE SOLARU K T. Evidence-based medical management of peripheral artery disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40(3): 541-553.

[4] BARNES J A, EID M A, CREAGER M A, et al. Epidemiology and risk of amputation in patients with diabetes mellitus and peripheral artery disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40(8): 1808-1817.

[5] PARIKH P P, LIU Z J, VELAZQUEZ O C. A molecular and clinical review of stem cell therapy in critical limb ischemia[J]. Stem Cells Int, 2017, 2017: 3750829.

[6] TERAA M, GREMMELS H, WIJNAND J G J, et al. Cell therapy for chronic limb-threatening ischemia: current evidence and future directions[J]. Stem Cells Transl Med, 2018, 7(12): 842-846.

[7] JEYARAMAN M, NAGARAJAN S, MAFFULLI N, et al. Stem cell therapy in critical limb ischemia[J]. Cureus, 2023, 15(7): e41772.

[8] XIE B C, LUO H L, ZHANG Y S, et al. Autologous stem cell therapy in critical limb ischemia: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Stem Cells Int, 2018, 2018: 7528464.

[9] LIU H, PAN T Y, LIU Y F, et al. The peripheral blood mononuclear cells versus purified $CD34^+$ cells transplantation in patients with angiitis-induced critical limb ischemia trial: 5-year outcomes and return to work analysis: a randomized single-blinded non-inferiority trial[J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 116.

[10] DUBSKÝ M, HUSÁKOVÁ J, BEM R, et al. Comparison of the impact of autologous cell therapy and conservative standard treatment on tissue oxygen supply and course of the diabetic foot in patients with chronic limb-threatening ischemia: a randomized controlled trial[J]. Front Endocrinol, 2022, 13: 888809.

[11] FANG G, JIANG X L, FANG Y, et al. Autologous peripheral blood-derived stem cells transplantation for treatment of no-option angiitis-induced critical limb ischemia: 10-year management experience[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 458.

[12] DONG Z H, PAN T Y, 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]. E Bio Med, 2018, 35: 46-57.

[13] LINDEMAN J H N, ZWAGINGA J J, KALLENBERG-LANTRUA G, et al. No clinical benefit of intramuscular delivery of bone marrow-derived mononuclear cells in non-reconstructable peripheral arterial disease: results of a phase-Ⅲ randomized-controlled trial[J]. Ann Surg, 2018, 268(5): 756-761.

[14] HORIE T, YAMAZAKI S, HANADA S, et al. Outcome from a randomized controlled clinical trial : improvement of peripheral arterial disease by granulocyte colony-stimulating factor-mobilized autologous peripheral-blood-mononuclear cell transplantation (IMPACT) [J]. Circ J, 2018, 82(8): 2165-2174.

[15] PIGNON B, SEVESTRE M A, KANAGARATNAM L, et al. Autologous bone marrow mononuclear cell implantation and its impact on the outcome of patients with critical limb ischemia: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Circ J, 2017, 81(11): 1713-1720.

[16] SKORA J, PUPKA A, JANCZAK D, et al. Combined autologous bone marrow mononuclear cell and gene therapy as the last resort for patients with critical limb ischemia[J]. Arch Med Sci, 2015, 11(2): 325-331.

[17] TERAA M, SPRENGERS R W, SCHUTGENS R E, et al. Effect of repetitive intra-arterial infusion of bone marrow

mononuclear cells in patients with no-option limb ischemia: the randomized, double-blind, placebo-controlled rejuvenating endothelial progenitor cells via transcutaneous intra-arterial supplementation (JUVENTAS) trial[J]. Circulation, 2015, 131(10): 851-860.

[18] LI M, ZHOU H, JIN X, et al. Autologous bone marrow mononuclear cells transplant in patients with critical leg ischemia: preliminary clinical results[J]. Exp Clin Transplant, 2013, 11(5): 435-439.

[19] GUPTA P K, CHULLIKANA A, PARAKH R, et al. A double blind randomized placebo controlled phase Ⅰ/Ⅱ study assessing the safety and efficacy of allogeneic bone marrow derived mesenchymal stem cell in critical limb ischemia[J]. J Transl Med, 2013, 11: 143.

[20] OZTURK A, KUCUKARDALI Y, TANGI F, et al. Therapeutical potential of autologous peripheral blood mononuclear cell transplantation in patients with type 2 diabetic critical limb ischemia[J]. J Diabetes Complications, 2012, 26(1): 29-33.

[21] LOSORDO D W, KIBBE M R, 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.

[22] WALTER D H, KRANKENBERG H, BALZER J O, 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.

[23] LU D B, CHEN B, LIANG Z W, 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[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2011, 92(1): 26-36.

[24] DASH N R, DASH S N, ROUTRAY P, et al. Targeting nonhealing ulcers of lower extremity in human through autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. Rejuvenation Res, 2009, 12(5): 359-366.

[25] LU D B, JIANG Y Z, LIANG Z W, et al. Autologous transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on diabetic patients with lower limb ischemia supported by the clinical research fund of Southwest Hospital at Third Military Medical University (SWH2005A109)[J]. J Med Coll PLA, 2008, 23(2): 106-115.

[26] HUANG P P, YANG X F, LI S Z, et al. Randomised comparison of G-CSF-mobilized peripheral blood mononuclear cells versus bone marrow-mononuclear cells for the treatment of patients with lower limb arteriosclerosis obliterans[J]. Thromb Haemost, 2007, 98(6): 1335-1342.

[27] ARAI M, YU M S, NAGAI H, et al. Granulocyte colony-stimulating factor: a noninvasive regeneration therapy for treating atherosclerotic peripheral artery disease[J]. Circ J, 2006, 70(9): 1093-1098.

[28] HUANG P P, LI S Z, HAN M Z, et al. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes[J]. Diabetes Care, 2005, 28(9): 2155-2160.

[29] TATEISHI-YUYAMA E, MATSUBARA H, MUROHARA T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial[J]. Lancet, 2002, 360(9331): 427-435.

[30] MATSUI K, MURAKAMI Y, YOSHIOKA T, et al. Therapeutic angiogenesis by transplantation of autologous bone marrow and peripheral blood mononuclear cells in patients with peripheral arterial disease[J]. Int J Angiol, 2003, 12(3): 155-161.

[31] ZHOU B, BI Y Y, HAN Z B, et al. G-CSF-mobilized peripheral blood mononuclear cells from diabetic patients augment neovascularization in ischemic limbs but with impaired capability[J]. J Thromb Haemost, 2006, 4(5): 993-1002.

[32] DE ANGELIS B, GENTILE P, ORLANDI F, et al. Limb rescue: a new autologous-peripheral blood mononuclear cells technology in critical limb ischemia and chronic ulcers[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2015, 21(5): 423-435.

[33] ISHIDA A, OHYA Y, SAKUDA H, et al. Autologous peripheral blood mononuclear cell implantation for patients with peripheral arterial disease improves limb ischemia[J]. Circ J, 2005, 69(10): 1260-1265.

(收稿日期:2023-12-16 修回日期:2024-06-04)

(编辑:刘明伟)