

研究

开放存取



自体微碎片化脂肪组织用于治疗糖尿病足轻度截肢的随机对照单中心临床试验 (MiFrAADiF)

罗伯托·洛纳尔迪 (Roberto Lonardi), 尼古拉·利昂 (Nicola Leone)*, 斯特凡诺·根纳 (Stefano Gennai), 朱莉娅·特雷维西·波萨里 (Giulia Trevisi Borsari), 蒂奥·科维奇 (Tea Covic) 和罗伯特·西林加迪 (Roberto Silingardi)

摘要

背景: 糖尿病足溃疡 (DFU) 是糖尿病最普遍的并发症之一, 经常产生严重的后果, 可能导致截肢。无法愈合的“次要”截肢手术通常会在大截肢手术之前进行, 从而对患者的功能和生活质量产生负面影响。基于干细胞的疗法已成为改善愈合的一种有前途的选择, 而脂肪组织是丰富且易于获取的来源。对接受下肢轻度截肢的糖尿病人群的截肢残端注射自体微碎脂肪组织进行了评估, 并将其与标准护理进行了比较。

方法: 在这项有两个手臂 (平行分配) 且未进行掩盖手术的随机对照试验中, 将 114 名接受下肢轻度截肢的患者随机分配至护理标准或使用最小操作技术 (Lipogems®) 制备的微碎脂肪组织注射液在一个封闭的系统中。每月确定直至 6 个月的临床结局。该研究的主要终点是对未成年人截肢后的愈合速度和时间进行评估。次要终点包括安全性, 可行性, 技术成功率, 复发率, 皮肤嗜性和疼痛强度的评估。

结果: 在 6 个月时, 经微碎脂肪组织治疗的足部愈合了 80%, 而失败的占 20%, 而对照组中, 有 46% 的愈合了和 54% 的失了 ($p = 0.0064$)。没有记录到与治疗相关的不良事件或复发, 并且在所有情况下均取得了技术成功。在治疗组中皮肤趋向性得到改善, 并且两组之间的疼痛程度没有差异。

结论: 该随机对照试验的结果表明, 局部注射自体微碎脂肪组织是一种安全有效的治疗选择, 能够在较小的不可逆 DFU 截肢后提高治愈率。该技术克服了一些与干细胞疗法有关的批评, 应更好地评估伤口护理的潜力, 并扩大治疗指征。

试验注册: ClinicalTrials.gov 编号: [NCT03266312](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study?term=NCT03266312). 注册日期: 2017 年 9 月 8 日 (追溯注册)。

关键词: 糖尿病脂肪组织截肢外周动脉疾病周围血管疾病

*通讯: [NeoLa. LeNe.Md@gmail.com](mailto:NeoLa.LeNe.Md@gmail.com) 网站

阿斯廷达·阿斯斯蒂诺·埃斯滕塞斯民政大学, 阿兹达纳·奥斯佩达利耶罗大学, 摩德纳大学, 摩德纳和雷焦大学血管外科
艾米莉亚 (Emilia), Via Giardini, 1355, 41126 巴乔瓦拉, 密苏里州, 意大利



©作者。2019 Open Access 本文是根据知识共享署名 4.0 国际许可 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), 允许您在任何媒介中进行无限制的使用, 分发和复制, 但前提是您要适当注明原作者和出处, 并提供知识共享许可的链接, 并指出是否进行了更改。免除知识共享公共领域专用权 (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) 适用于本文提供的数据, 除非另有说明。

介绍

糖尿病是一种快速增长的慢性疾病, 对社区的健康产生重大影响[1]. 这种病理的常见并发症是慢性下肢溃疡的发生, 其中糖尿病足溃疡 (DFU) 是最普遍的[2, 3]. DFU 通常会产生严重的并发症, 例如感染, 这可能导致截肢和长期住院。每年, 有超过 100 万人因 DFU 而遭到截肢, 考虑到发展中国家缺乏国家注册机构, 这一数字被低估了[1]. 不能截肢的数字或经 met 骨的“次要”截肢技术 (DA; TMA) 通常会在大截肢技术之前进行, 从而对患者的功能和生活质量产生负面影响[4, 5]. 大截肢意味着身体残疾以及心理/精神问题, 死亡率显著增加, 估计截肢后 1 年和 5 年分别为 10% 至 50% 和 30% 至 80%[6-9]. 据估计, DFU 占用于糖尿病管理/治疗的全部财务资源的 12-15%[7-9]. 财务负担转嫁给患者, 社会和国家卫生系统, 考虑到其不可忽略的数额, 必须减少大截肢手术的数量。就是说, 在较小的截肢后改善残端愈合似乎是合理且具有成本效益的。

基于干细胞的疗法已经成为改善治愈过程的一种有前途的治疗策略[10-13]. 由于缺乏能够证明任何其他特定保守治疗或敷料的优越性的有力证据, 该吸引力进一步增强了[14]. 通过营养, 免疫调节和抗微生物作用, 间充质干细胞 (MSC) 充当旁分泌介体, 从而在其所居住的微环境中“感知”和“信号”变化[11, 15, 16]. 脂肪组织是 MSC (ASC) 的丰富来源, 易于获取且易于收获[17, 18]. 体外和体内研究均显示出良好的结果, 并证实了它们的抗炎和再生特性[11, 19-21]. 为了克服与酶处理和/或细胞扩增有关的复杂监管问题, [22-25], 最小限度的自体脂肪组织是一种有前途且安全的选择[26].

市售的 Lipogems®系统是 II 类医疗设备, 旨在单个手术步骤中闭环处理和转移自体脂肪组织。该技术通过适度的机械力减小了脂肪组织簇的大小, 同时消除了促炎性的油脂和血液残留, 术中在短时间内提供了机械上微碎的脂肪组织, 而没有

扩展和/或酶处理[27]. 在整个过程中, 加工过的脂肪仅需承受很小的机械力, 而不会对基质血管壁和组织本身的完整性造成不利影响, 因为该设备已仔细地预填充了盐水, 以避免在所有步骤中都存在空气。已显示所得的产品具有修复特性, 尤其是当注射到炎性或缺血性组织中时[28 由于其具有诱导血管稳定和抑制炎症相关的几种巨噬细胞功能的能力[29], 并已被证明在骨关节炎, 肛门失禁, 肛瘘, 下背痛, 正颌外科手术矫正等方面具有潜在的应用[30-39].

据我们所知, 尚无随机试验评估与标准护理相比在截肢残基处注射微碎脂肪组织的情况。因此, 我们部门进行了一项随机对照的单中心临床试验, 其主要终点是评估下肢小切口截肢的糖尿病患者人群在治愈率和时间方面的影响。次要终点包括安全性, 可行性, 技术成功率, 复发率, 皮肤嗜性和长达 6 个月的疼痛等级。必须强调的是, 微碎脂肪组织已经在其他临床领域得到了广泛的研究, 并且许多公开的证据表明没有安全性或可行性[30, 31, 33-35, 40].

材料和方法

研究设计和人口

这是一个随机对照的单中心临床试验 (MiFrAADiF), 有两个手臂 (平行分配) 并且没有掩盖。该试验已于 2015 年 4 月 7 日至 2018 年 3 月 31 日期间在意大利摩德纳大学血管外科和意大利摩德纳雷焦艾米利亚的糖尿病足服务中心进行了研究 (招募, 治疗, 临床评估和结果分析)。

根据以下入选标准选择患者 (图. 1): 年龄大于 18 岁的男女糖尿病患者 (1 型和 2 型), 并且存在不可逆的指状/前足溃疡/坏疽 (溶骨性病变的 X 射线阴性)。通过经皮氧气测试 >30 mmHg, 踝臂指数 >0.7 , 压力指数手指/手臂脚趾/肱指数 >0.6 , 评估是否有足够的循环 (灌注)。多普勒动脉波形在患肢的踝部呈三相或双相。排除以前接受过肿瘤治疗 (过去 5 年) 或在皮质类固醇治疗下进行性和/或肿瘤性病变, 活动性血管问题或下肢灌注不足的患者。符合条件的患者

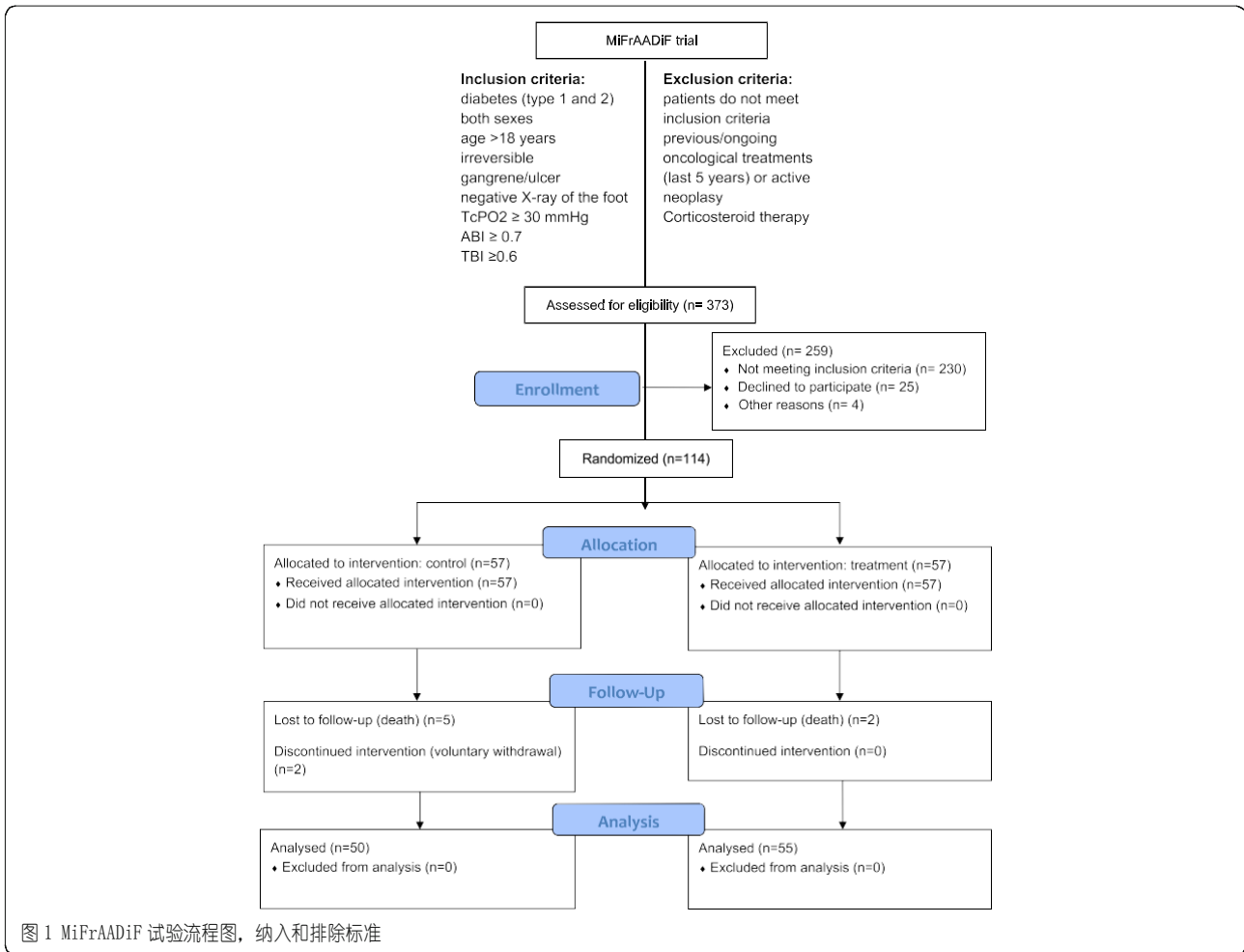


图 1 MiFrAADiF 试验流程图，纳入和排除标准

下肢轻度截肢后，以 1:1 的比例随机分配到局部注射自体微碎脂肪组织（治疗组）或标准临床实践（对照组）。

随机化一序列生成

随机使用纸块系统。将纸以十个为一组，将五张分配处理的纸张和另外五张分配控制的纸张放在空白的密封信封中。将信封打乱，然后标记为 1 到

10. 主要研究人员和研究人員对此过程进行了观察。研究人員不了解用于创建作业的过程，因此患者的随机分配在其首次筛选后治疗中进行。

手术程序

所有患者的护理以及截肢手术均按照国际标准[7]。所有程序均在手术室中进行。局部或区域麻醉

然后由麻醉师进行浅表镇静。双臂患者均接受 DA 或 TMA 轻度截肢技术。树桩是主要目的封闭的。截肢后，患者接受以下治疗：

- A) 治疗组。在同一外科手术中，选择下腹部/外侧腹部或大腿内侧/外侧作为供体部位。用洗必泰清洁供体和远端部位。收获前，使用连接至 60 mL Luer 锁的一次性 17 号插管向供体部位注射 100 mL Klein 溶液（500 mL 盐水，1 mL 肾上腺素 1/1000 IU 和 40 mL 利多卡因 2%）。注射器。然后使用连接 20 ml 的 13 号针头收集脂肪（50– 100 mL）VacLok®注射器。如前所述，立即在 Lipogems®处理套件（Lipogems International Spa，意大利米兰）中处理吸脂组织。[27]。Lipogems®是一种一次性装置，可以机械地减小脂肪组织簇的尺寸，而

完全浸入生理溶液中可消除油性物质和血液残留,以最大程度地减少细胞上与机械相关的任何损伤。该设备由一个圆柱处理单元组成,该处理单元包含五个不锈钢大理石,一个输入和一个输出筛,一个盐水输入管线,一个带鲁尔锁连接装置的出口,用于装载脂肪抽吸剂,一个排液管线,另一个带鲁尔-锁定连接以卸载已处理的材料,以及用于收集废液的收集袋。充满生理盐水溶液的处理单元通过重力保持在流动状态。在盐水灌注后,插入设备中的脂肪组织会通过输入筛网进行第一团簇还原和微粉化。通过在处理单元中摇晃不锈钢大理石而产生的机械作用使脂质物质得以乳化,从而减少了团簇。生理盐水的连续流动消除了油乳液和任何剩余血液成分的残留。通过使浮动脂肪团通过第二尺寸缩减过滤器,可以实现第二脂肪团缩减。在该过程结束时,该设备释放出微碎片化的液体脂肪组织产品(直径为 300–600 μm 的团簇),可以很容易地穿过小口径的针头。将处理过的微片段脂肪收集在 60 毫升注射器中以倾析,并去除过量的盐水溶液。将最终产品径向注入截肢床中,其量取决于残端的延伸,范围为 10 到 30 mL。整个过程在无菌条件下进行到手术室中。

用次氯酸钠和盐溶液清洗后,用石蜡纱布和聚维酮-碘溶液(10%碘)进行药物治疗。在接下来的 48 小时内,将压缩药物应用于脂肪收获部位。

将患者置于观察之下,并在绝对休息的指导下出院,直到下一次控制为止。

B) 控制组。用次氯酸钠和盐溶液清洗后,用石蜡纱布和聚维酮-碘溶液(10%碘)进行药物治疗。

对患者进行观察并

在完全休息的指导下从医院出院,四肢卸下,直到下一个控件。

随访,结果和定义

所有患者均在手术后 20 天内进行临床评估,此后每月进行 6 个月的临床评估。

在每次访视(入组和随访)中,对患者进行临床评估[7],并要求通过视觉模拟量表(VAS)对疼痛进行分级。所有访问都是由一组经验丰富的医师(RL, SG, RS)和专门的研究人员(NL, GTB, TC)进行的,他们同时通过病例报告表(纸质和电子版)收集数据。

DA(手指或经指骨)和 TMA(直至中足)被认为是较小的截肢。

MiFrAADiF 试验的主要目的是,与不可逆的 DFU 合并周围动脉疾病的情况相比,用自体微碎片化脂肪组织治疗的轻度截肢的治愈率和时间与标准治疗进行比较。

愈合被定义为由至少两个研究者确定的主要意图使树桩完全重新上皮。治愈后 7–10 天进行了一次访视以确认结果。失败被认为是残端裂开,需要在随访结束时进行任何形式的足部再手术(翻修,次要或大型截肢),截肢感染或不愈合。

次要结果包括评估安全性,可行性,技术成功率,复发率,皮肤向性和疼痛强度。通过记录随访期间发生的任何不良事件和并发症的类型和发生率来评估安全性,以区分并发症和技术之间的可能关系。可行性旨在作为在截肢残肢上进行脂肪组织收获,加工和注射时遇到的任何技术问题。如果在没有问题的情况下将程序视为成功,则认为该技术成功。复发定义为“假”愈合后临床评估的残端再裂开。通过对病灶周围皮肤(分级为未受损,红斑,浸渍,萎缩)和病灶边缘(分级为未损伤,红斑,愈合组织,浸渍,坏死)的综合评估,评估了残端的皮肤向性。将所有这些项目分级(0 cm, 1 cm, 1.5 cm, > 2 cm),并将其总和用于评估皮肤的向性。用 VAS 评估疼痛。

样本量计算和统计方法

计算正确的样本量时,以减少愈合时间减少 50%为主要终点。病变的平均愈合时间通常为 4 个月;因此,减少至 2 个月可被视为具有临床意义的收益。通过设置显著性水平 $\alpha =$ 来考虑 10%的下降

0.05 和 $1-\beta = 0.80$ 的功效,每组需要 57 位患者。

主要终点,即两组之间治愈时间的差异已通过

对数秩检验和 Kaplan-Meier 曲线。次要结果已通过适当的单向分析

在通过 KolmogorovSmirnov 检验进行正态性评估后, 使用 Bonferroni 的后检验进行 ANOVA 进行连续变量分析。为了测试多个变量对连续数据的影响, 已经使用 Bonferroni 的后期测试执行了双向 ANOVA。对于分类变量, 应用了 Fisher 精确检验。所有这些分析都是使用 GraphPad Prism v7.0 (GraphPad 软件, 美国加利福尼亚州拉荷亚) 进行的。

使用 R 软件 (R 基金会, 维也纳, 奥地利) 进行了多元 logistic 回归分析, 以确定影响因素。p 值 <0.05 被认为具有统计学意义, 而 ap <0.1 被认为是趋势。

伦理

MiFrAADiF 试验是在地方道德委员会批准 (协议号 2621 / CE) 下进行的。地方道德委员会审查了书面同意书和案件报告表。在注册之前已获得参与者的书面同意。该审判已在 clinicaltrials.gov 网站 (NCT03276312), 并根据《赫尔辛基宣言》的修订规定并遵守《临床实践规范》, 遵守适用的法规要求。所有患者记录均应保密。

结果

总共筛选了 373 名受试者, 纳入了 114 名符合纳入标准的受试者, 并按 1: 1 比例随机分配了微碎片化脂肪组织注射液 (治疗组, n = 57) 或护理标准 (对照组, n = 57) (图。1)。患者和截肢水平基线特征相似 (表 1)。

与对照组相比, 在 6 个月时, 微碎脂肪组织治疗的足部愈合了 80% (n = 44/55), 而对照组则有 46% (n = 23/50) 失败了 20% (n = 11/55)。) 愈合, 有 54% (n = 27/50) 失败 (p = 0.0064 治疗 vs. 对照)。

除微碎的脂肪组织外, 伴随的疗法, 如口服降糖药 (p <0.05) 和抗生素 (p <0.05) 与愈合呈正相关。另一方面, 发现心脏疾病, 慢性呼吸功能不全, 血液透析和年龄是阴性因素, 但仅对于治疗组而言 (分别为 p <0.05, p <0.05, p <0.05 和 p = 0.08)。

两组之间的愈合时间没有差异, 治疗组平均为 2.8 个月 (标准差 1.3 个月), 对照组平均为 2.8 个月 (标准差 1.0 个月)。相反, 治疗期间的治愈率显着提高

表 1 人口背景资料

	治疗组 (n = 57)	控制组 (n = 57)
年龄 (岁)		
意思	69.0	71.6
标准偏差	11.6	10.8
性别		
男	45 (79%)	41 (72%)
女	12 (21%)	16 (28%)
第一次治疗		
是	49 (86%)	53 (93%)
没有	8 (14%)	4 (7%)
截肢类型		
数字	49 (86%)	49 (86%)
跨膜	8 (14%)	8 (14%)
相关病理		
高血压	50 (88%)	50 (88%)
慢性肾功能衰竭	20 (35%)	28 (49%)
血液透析	6 (10%)	1 (2%)
心脏疾病	35 (61%)	43 (75%)
神经系统疾病	2 (4%)	8 (14%)
自身免疫性疾病	1 (2%)	-
慢性呼吸衰竭 9 (16%)		14 (25%)
其他	9 (16%)	10 (18%)
抽烟		
前任的	11 (20%)	8 (14%)
没有	23 (40%)	24 (42%)
没有	23 (40%)	25 (44%)
伴随疗法	57 (100%)	57 (100%)
口服抗凝剂	8 (14%)	15 (26%)
抗血小板	53 (93%)	53 (93%)
胰岛素	37 (65%)	46 (81%)
卫生署	32 (56%)	25 (44%)
非甾体抗炎药	8 (14%)	9 (16%)
阿片类药物	6 (10%)	7 (12%)
抗生素类	10 (18%)	6 (10%)
其他	7 (12%)	3 (5%)

连续数据表示为平均值和标准偏差。分类数据以计数 (%) 给出
AHA 口服降糖药, NSAIDs 非甾体类抗炎药

相对于对照组 (p <0.001, 图 2). 此外, 有指状病变的患者似乎恢复得更快 (在第四次随访中; p = 0.034)。

如图。1, 在该试验期间记录了 7 例与治疗无关的死亡 (治疗组 2 例, 对照组 5 例)。此外, 对照组的两名患者由于自愿退出而中断了干预。两个程序相关

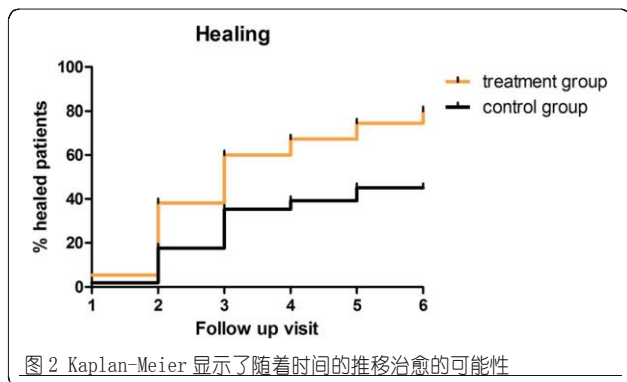


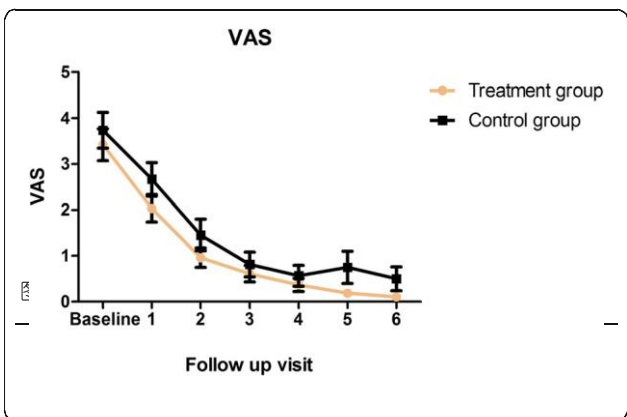
图 2 Kaplan-Meier 显示了随着时间的推移治愈的可能性

记录并发症 (2 例腹壁血肿, 脂肪组织收获部位); 一种通过加压敷料解决, 第二种需要手术切口以实现皮下组织止血。两名患者均在服用口服抗凝药物之前。

在所有情况下都取得了技术上的成功, 没有任何技术问题排除了该程序的完成。流动性极高的脂肪很容易通过细的尖针 (21 到 25 G), 并均匀地分布在截肢床中。

在两个研究组中均未观察到复发。关于皮肤嗜性, 在基线处的局部皮肤或病变边缘已检测到愈合或衰竭。在治疗组中皮肤趋向性似乎得到了改善, 因为与对照相比, 在更多患者中实现了治愈的改善。

在任何后续随访中, 两组之间的 VAS 评分均无差异 (图 2)。3)。自第二次就诊前就诊以来, 两组均记录了该参数的改善。疼痛的减轻主要受时间的影响 ($p < 0.001$), 而微碎脂肪组织的治疗显示出对该效果的显著贡献 ($p < 0.05$)。



讨论区

在糖尿病足溃疡 (DFU) 的情况下, 数字 (DA) 和经金属间的 “小” 截肢 (TMA) 截肢的愈合是一个挑战。疾病的高负担 [1], 这意味着数以百万计的人正在失去生活质量, 医疗服务提供者的成本上升 [9] 是推动医学研究的主要因素。

本随机对照试验比较了在截肢部位注射自体微碎脂肪组织 (治疗组) 与标准护理的情况, 该护理主要目的是在这种艰巨的临床环境中提高治愈率。脂肪组织 (ASCs) 中存在间充质干细胞, 并在治疗不同病理学方面记录有希望的结果 [30-35] 促使我们的小组评估这种创新技术在改善下肢轻度截肢后树桩愈合中的功效。DFU 的病理生理学包括微循环损伤和生长因子改变, 以及将伤口保持在炎症阶段的其他机制 [41]. 许多作者已经证明了 ASC 的有益作用 [18-20, 42, 43]. 这些细胞的多能分化能力以及强大的旁分泌作用代表了增加愈合的有趣治疗机会 [10-13] 并治疗常见的潜在动脉疾病。

我们在该试验中选择的技术需要脂肪抽吸术, 该技术已在整形外科中使用了数十年, 主要并发症的发生率非常低 [44]. 由于没有与手术相关的死亡和重大不良事件, 因此我们得以证实脂肪抽吸术和截肢残肢中自体微碎片化脂肪组织注射的安全性。

本研究提供了与对照组相比明显更高的治疗组治愈率 (80% 比 46%, $p = 0.0064$), 考虑到最近的荟萃分析, 这是完全出乎意料的 [5], 其报告的续签率超过 55%,

TMA。我们的结果不包括

研究第二目的愈合和 6 个月后的愈合, 两种常见的轻度截肢解决方案。而且, 并非所有在荟萃分析中分析的患者都是糖尿病患者, 入选标准也不准确 [5]. 在本作者看来, 所有这些方面使得 MiFrAADiF 研究的结果更加有趣。

每次随访时都进行了皮肤嗜性的临床评估, 但是这种结果可能会受到许多混杂因素的影响, 因此必须进行一些考虑。

独特的考试测试

经科学界确认的皮肤嗜性是

无法使用。临床评估的标准化

尽管这些评估是由一组经验丰富的医师进行评估的,但这些医师是我们糖尿病足服务的一部分,使用标准的病例报告表进行了评估,但这仍然很困难。在治疗组中,皮肤趋向性似乎得到了改善,这是因为与对照组相比,治愈的改善差异很大。

疼痛评估代表了本研究的另一个次要结果。使用 VAS 疼痛量表进行的每次随访均未发现两组之间的显著差异。无论如何,治疗组在很短的时间内减轻了疼痛。如果我们认为糖尿病高发人群患有远端多发性神经病的症状,那么疼痛分级的差异就不足为奇了[45]。这种现象的病理生理以及与 DFU 的相关性尚未完全了解[45]。目前尚无关于 DFU 轻度截肢后疼痛的具体出版物,部分原因是使用了与健康相关的生活质量工具。这些工具结合了身体,心理和社会健康数据,包括疼痛等级。在这种复杂的患者中,尤其是在截肢的“急性”阶段,很难辨别与神经性疼痛相关的特定截肢。此外,生活方式和药理学干预措施无法完全治疗神经性疼痛,在最近的综述中,其发展被定义为“不可预测的”[45]。在骨关节炎患者中关节内自体微碎脂肪组织的注射已被证明可以显著改善 VAS 评分[40]。作者的观点是,这些发现令人鼓舞,并且我们的不具有统计学意义的结果可能是由于重叠的神经病和影响 DFU 的众所周知的混杂因素所造成的。

在针对 TMA (包括非糖尿病患者)的评论中,主要的重新截肢率据报道为 0%至 56%[5],考虑到所有重新手术,该比率达到了 63%。有关 TMA 结局的已发表数据使一些作者怀疑主要的 TMA 替代轻度截肢的方法[5]。本试验中的失效率(重新截肢,再次手术,最终随访时未愈合的残端)在治疗组中为 20%,在对照组中为 54%。另外,发现口服降糖药和抗生素是相关的。在该试验中,II 型糖尿病患者的患病率使我们假设,与 OHAs 患者相比,服用胰岛素的患者的疾病总体较差,并且倾向于更差的结果。显然,这是一种推测,未来的研究是强制性的。

总而言之,DFU 是一个艰难的临床和医学领域。MiFrAADiF 试验证明了自体微片段化脂肪组织注射在治疗方面具有极高的益处。这是一个

对随机对照试验持续需求的部分回答集中在仍主导伤口愈合科学界的再生疗法上。

在计划微碎片化脂肪组织的试验时,要考虑以下几个因素:收获安全,简单[44],机械破碎避免了产品的实验室操作(例如酶处理),使用了最低限度操作的自体脂肪组织符合道德法则,在没有异源和/或同种异体材料的情况下可以避免免疫排斥,并在树桩水平避免了与血管内分娩有关的可能并发症[13]。结果使我们证实了上述积极特征,特别是,在各种残肢(DA / TMA)中,皮内/皮层注射是安全可行的。因为该试验着重于用市售装置获得的产品的可行性和功效,所以对所注射材料的精细形态分析不在研究目的之内。此外,其他作者已对注入的微片段化的脂肪组织进行了广泛的研究和体外表征[27, 29, 46-48]和公开的数据表明,它包含大量细胞,这些细胞能够通过旁分泌机制起作用,从而在靶组织中引发和维持血管生成,抗纤维化,抗炎和免疫调节反应。由于胶原酶消化后细胞聚集体的存在阻止了精确的细胞计数,因此未评估注射细胞的数量,因为这是一个艰巨的技术问题。然而,应该强调的是,微片段化的脂肪组织是复杂的基质,不仅包含 MSC,而且还包含嵌入天然支架中的许多其他活性元素,这些活性元素可防止它们在体内迅速降解。因此,不能简单地将注入的 MSC 的数量假定为效率的度量。微碎片化的脂肪组织在实验动物缺血性疾病模型中的应用已显示出一些有益的作用,这种作用是由其 MSC 成分释放血管生成/血管生成和抗炎分子的能力介导的[28, 29]。对其血管生成活性的体外研究表明,它显著降低了粘附分子(AM)的表达(ICAM-1 和 VCAM-1)并改善了脐带状形成,这表明其具有促进血管稳定性和成熟性的优先能力。

分泌组的分析表明,血管生成素 1 和血管生成素 2 的含量都很高,而血管内皮生长因子(VEGF)和基质金属蛋白酶 2(MMP2)的含量却很低。另外,培养的微片段化的脂肪组织在其培养基中释放出许多抗炎因子。实际上,它减少了迁移,粘附于活化的内皮细胞单层,并减少了

激活的正常 T 细胞表达和推测分泌 (RANTES) 和 U937 的单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 趋化因子, 致癌起源的单核细胞用作研究单核细胞炎性特性的有效模型。这些数据表明, 体外微碎的脂肪组织能够阻断几种重要的单核细胞炎症功能 [28, 49].

必须考虑到, 糖尿病中自体干细胞的血管生成/分化潜能受损仍然是一个有待研究的问题 [50].

话虽如此, 事实证明, 市场上可买到的 Lipogems® 系统易于使用 (无技术故障), 快速 (手术时间短) 且用途广泛 (患者无需特殊特征)。试剂盒相关的费用似乎不及更复杂的干细胞操作系统。不管最初的费用是多少, 未来的出版物都应评估由于自体微片段化脂肪组织在 DFU 治疗中的应用而减轻了全球经济负担的假说。

本研究并非没有局限性, 因为它没有致盲性, 这是最重要的关键问题。不幸的是, 脂肪组织的“浪费”收获由于其侵入性而在伦理上是不可接受的。此外, 经费的限制和中心的数量迫使我们限制了研究样本的规模。尽管样本量计算表明我们招募和治疗的患者人数足够, 但从临床角度来看, 在 multicenter 环境中选择更多的患者还是比较可取的。尚未评估 MSC 的数量以评估每位患者微碎片化脂肪组织的“质量”, 据作者所知, 尚未确定注射的干细胞的最佳量 [50].

未来的工作应该弄清楚上面报告的令人印象深刻的治愈结果是否与住院时间的减少以及与健康相关的总体费用的减少有关。这些观点可能对患者的生活质量和卫生服务提供者的政策产生更大的积极影响。需要解决的其他问题应该是该技术对疼痛的影响, 包括病理生理学研究以了解与神经系统疾病的重叠。

结论

单中心, 前瞻性, 受控和随机设计代表了当前工作和金本位制的优势, 旨在最大程度地减少研究人员, 选择和信息偏差以及管理混杂因素。

我们对自体微碎脂肪组织的经验已被证明是一种有效的治疗选择, 能够在 DFU 上进行少量截肢后大大改善愈合。本技术克服了几种与干细胞疗法有关的批评, 应更好地评估其在伤口护理中的潜力, 并扩大治疗适应症。

缩略语

ASC: 脂肪组织间充质干细胞; DA: 数字截肢;

DFU: 糖尿病足溃疡; MiFrAADiF: 糖尿病足的微片段自体脂肪组织; MSC: 间充质干细胞; TMA: 经 met 骨截肢; VAS: 视觉模拟量表

致谢

作者要感谢在研究期间退休的 Gioacchino Coppi 教授 (最初的主要研究人员), Fedele Marra 医生 (我们的糖尿病足服务高级顾问), 临床医疗人员 (Dr.

乔万诺尼 (M. Giovannoni), 拉加齐 (G. Ragazzi) 博士, 塞伊塔 (G. Saitta) 博士, 尼科洛西 (E. Nicolosi) 博士, 莫拉托 (R. Moratto) 博士, A. Rumolo, A. Lauricella 博士, L. Farchioni 博士, L. Arcuri 博士, M. Njila 博士, A. Cucci 博士, G. Scinica 博士, E. Munari 博士, M. Migliari 和劳拉 • 波拉斯特里 (Laura Pollastri) 医生在试验开始时就积极参与了随机化和数据收集。我们感谢 Silvia Versari 的编辑帮助以及写作和语言审查。

作者的贡献

RL 是审判的整体负责人, 尤其是稿件的概念, 设计, 修订和最终批准。NL 负责数据收集和手稿撰写。GTB, SG 和 RS 负责手稿的概念, 设计修订和最终批准。TC 负责数据收集。所有作者都协调并参加了外科手术和临床随访。所有作者都阅读并批准了最终手稿。

资金

该研究由“Cassa di Risparmio di Modena”基金会以及摩德纳大学和雷焦艾米利亚大学资助。NL 获得了摩德纳大学和雷焦艾米利亚大学的研究资助。

数据和资料的可用性

当前试验的所有数据均应合理要求从相应的作者处获得。

道德规范的批准和同意参加

MiFrAADiF 试验是在地方道德委员会批准 (协议号 2621 / CE) 下进行的。地方道德委员会审查了书面同意书和案件报告表。在注册之前已获得参与者的书面同意。该审判已在 [临床试验](#)。政府 (NCT03276312), 并根据赫尔辛基的修订规定遵守适用的法规要求
声明并遵守良好临床规范。所有患者记录均应保密。

同意发表

所有患者均获得知情同意。没有包括任何个人详细信息。

利益争夺

作者宣称他们没有竞争利益。

收到: 2019 年 3 月 7 日修订: 2019 年 5 月 9 日

Published online: 29 July 2019 接受: 2019 年 7 月 4 日

XTI9727

参考文献

1. Boulton AJ, Vileikyte L, Ragnarson-Tennvall G 等。糖尿病足病的全球负担。柳叶刀。2005; 366: 1719–24。
2. Frykberg RG, Zgonis T, Armstrong DG 等。糖尿病足疾病: 临床实践指南 (2006 年修订)。J. 脚蹼手术。2006; 45: S1–S66。

3. Hingorani A, LaMuraglia GM, Henke P 等. 糖尿病足的管理: 血管外科协会与美国足病医学协会和血管医学协会合作的临床实践指南. J Vasc 外科. 2016; 63: 3S–21S.
4. Snyder RJ, Hanft JR. 糖尿病足溃疡-对生活质量, 成本和死亡率的影响以及标准伤口护理和高级护理疗法在康复中的作用: 综述. 造口伤口处理. 2009; 55: 28.
5. Thorud JC, Jupiter DC, Lorenzana J 等. 经 met 骨截肢后的再次手术和截肢: 系统评价和荟萃分析. J. 脚踝手术. 2016; 55: 1007–12.
6. Margolis DJ, Malay DS, Hoffstad OJ 等. 2006 年至 2008 年, 医疗保险受益人中糖尿病足溃疡和下肢截肢的发生率. 2011 年:
7. Schaper N, Van Netten J, Apelqvist J 等. 糖尿病足病的预防和管理: 基于 IWGDF 指导文件的《2015 年日常实践简要指南》. 糖尿病研究临床实践. 2017; 124: 84–92.
8. Schaper NC, Apelqvist J, Bakker K. 关于糖尿病足的管理和预防的国际共识和实用指南. Curr. Diab. Rep. 2003; 3: 475–9.
9. Bakker K, Apelqvist J, Schaper NC, 代表国际糖尿病足工作组编辑委员会. 《2011 年糖尿病足管理与预防实用指南: 糖尿病足的管理与预防》. 糖尿病/代谢研究和评论. 2012; 28: 225–31.
10. Shu X, Shu S, Tang S 等. 基于干细胞的疗法在糖尿病足溃疡治疗中的效率: 一项荟萃分析. Endocr J. 2018; 65: 403–13.
11. 曹 Y, 刚 X, 孙 C, 王 G. 间充质干细胞可改善糖尿病足溃疡的愈合. J 糖尿病研究. 2017; 2017: 1–10.
12. Didangelos T, Koliakos G, Kouzi K 等. 使用悬浮在富含血小板的血浆中的自体基质血管部分加速糖尿病足溃疡的愈合. 雷根医学. 2018; 13: 277–81.
13. Lopes L, Setia O, Aurshina A 等. 干细胞治疗糖尿病足溃疡: 临床前和临床研究综述. 干细胞治疗. 2018; 9: 188.
14. Jeffcoate WJ, Vileikyte L, Boyko EJ 等. 糖尿病足溃疡的预防和管理方面的当前挑战和机遇. 糖尿病护理. 2018; 41: 645–52.
15. Caplan AI, Correado MSC. 伤害药房. 细胞干细胞. 2011; 9: 11–5.
16. Caplan AI, Dennis JE. 间充质干细胞作为营养介质. J 细胞生物化学. 2006; 98: 1076–84.
17. Gimble JM, Guilak F, 邦内尔文学士. 使用脂肪组织来源的细胞进行细胞疗法的临床和临床前翻译. 干细胞治疗. 2010; 1: 1.
18. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P 等. 人脂肪组织是多能干细胞的来源. 分子生物学细胞. 2002; 13: 4279–95.
19. Ebrahimian TG, Pouzoulet F, Squiban C 等. 基于脂肪组织来源的基质细胞的细胞疗法可促进生理和病理伤口的愈合. 动脉血栓栓塞血管生物学. 2009; 29: 503–10.
20. Marfia G, Navone SE, Di Vito C 等. 间充质干细胞: 潜在的治疗和治疗慢性不愈合的皮肤伤口的潜力. 器官发生. 2015; 11: 183–206.
21. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H 等. 来自人类脂肪组织的多谱系细胞: 对基于细胞的疗法的意义. 组织工程 2001; 7: 211–28.
22. Åhrlund-Richter L, De Luca M, Marshak DR 等. 分离和生产适合人类治疗的细胞: 未来的挑战. 细胞干细胞. 2009; 4: 20–6.
23. Arcidiacono JA, Blair JW, KA Benton. 美国食品和药物管理局针对细胞疗法产品监管的国际合作. 干细胞治疗. 2012; 3: 1.
24. Oberbauer E, Steffenhagen C, Wurzer C 等. 用于脂肪组织来源的细胞的酶促和非酶促分离系统: 当前技术水平. 细胞再生. 2015; 4: 1.
25. Sensebél, Bourin P, Tarte K. 良好的生产规范生产间充质干/基质细胞. 嗡嗡声基因疗法. 2010; 22: 19–26.
26. 古托夫斯基 KA, 力量 AFGT. 自体脂肪移植物的当前应用和安全性: ASPS 脂肪移植工作队的工作报告. Plast 重建手术. 2009; 124: 272–80.
27. Bianchi F, Maioli M, Leonard E 等. 一种新的非酶促方法和装置, 其通过来自人脂肪抽吸物的轻微机械力获得高度富含周细胞样元素的脂肪组织衍生物. 细胞移植. 2013; 22: 2063–77.
28. Tassinari R, Canaider S, Pasquinelli G 等. Lipogems 是脂肪组织处理的一种新形式, 可增强慢性后肢缺血组织的修复. CellR4. 2014; 2: e1289.
29. Ceserani V, Ferri A, Berenzi A 等. 微碎脂肪组织及其衍生的间充质基质细胞的血管生成和抗炎特性. 血管细胞. 2016; 8: 3.
30. Cattaneo G, De Caro A, Napoli F 等. 有症状膝关节骨关节炎患者的关节镜检查与微碎片化脂肪组织注射有关. BMC 肌肉骨骼疾病. 2018; 19: 176.
31. Russo A, Screpeis D, Di Donato S 等. 自体微碎片化脂肪组织用于治疗弥漫性退行性膝关节骨关节炎: 3 年随访中的更新. J Exp Orthop. 2018; 5: 52.
32. Benzi R, Marfia G, Bosetti M 等. 微破裂的脂肪抽吸物可能有助于口腔骨骼和软组织的再生: 一例病例报告. CellR4. 2015; 3: e1583.
33. Giori A, Tremolada C, Vailati R 等. 注射微碎片化脂肪移植植物 (Lipogems®) 后, 肛门失禁的功能恢复: 对头 5 例进行了两年的随访. CellR4. 2015; 3: e1544.
34. Naldini G, Sturiale A, Fabiani B 等. 微碎片化的脂肪组织注射液治疗复杂的肛瘘: 获得安全性和可行性的初步研究. Tech Coloproctol. 2018; 22: 107–13.
35. Grossi P, Giarratana S, Cernei S 等. 椎间盘减压和自体微碎片化脂肪组织治疗腰痛: 一例. CellR4. 2016; 4: e1772.
36. Franceschini M, Castellaneta C, Mineo G. 注射自体微碎片化脂肪组织治疗膝关节软骨创伤后退行性病变: 病例报告. CellR4. 2016; 4: e1768.
37. Raffaini M, Tremolada C. 微骨折和纯化的脂肪组织移植植物 (Lipogems®) 可以在美学上和术后愈合方面改善正颌外科手术的效果. CellR4. 2014; 2: e1118.
38. Saibene A, Pipolo C, Lorusso R 等. 经鼻内镜微破裂脂肪注射治疗声门不全. 弯曲. 2014; 11: 229–34.
39. Striano R, Chen H, Bilbool N 等. 在连续超声引导下, 用自体微碎脂肪组织治疗骨关节炎和并发半月板病的无反应性膝关节疼痛. CellR4. 2015; 3: e1690.
40. Russo A, Condello V, Madonna V 等. 自体微碎片化脂肪组织, 用于治疗弥漫性退行性膝关节骨关节炎. J Exp Orthop. 2017; 4: 33.
41. Dash SN, Dash NR, Guru B 等. 迈向目标: 间充质干细胞在糖尿病足溃疡中的临床应用. 复兴水库. 2014; 17: 40–53.
42. Aronowitz JA, Lockhart RA, Hakakian CS. 机械分离和酶分离脂肪组织中基质血管部分细胞. Springerplus. 2015; 4: 713.
43. Bora P, Majumdar AS. 再生医学中来自脂肪组织的基质血管部分: 生物学和翻译的简要综述. 干细胞治疗. 2017; 8: 145.
44. Cárdenas-Camarena L, Arenas-Quintana R, Robles-Cervantes JA. 臀部脂肪嫁接: 14 年的演变和经验. Plast 重建手术. 2011; 128: 545–55.
45. Schreiber AK, Nones CF, Reis RC 等. 糖尿病性神经性疼痛: 生理病理学和治疗. 世界 J 糖尿病. 2015; 6: 432.
46. García-Contreras M, Messaggio F, Jimenez O 等. 用非酶法和酶法处理的人脂肪组织的外泌体含量的差异. CellR4. 2015; 3: e1423.
47. García-Contreras M, Messaggio F, Mendez A 等. 非酶法微分解后人类脂肪组织衍生产品的代谢组学变化. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018; 22: 3249–60.
48. Vezzani B, Shaw I, Lesme H 等. 与酶衍生的基质血管部分相比, 微片段化的人脂肪组织的周细胞含量和分泌活性更高. 干细胞翻译医学. 2018; 7: 876–86.
49. Nava S, Sordi V, Pascucci L, Tremolada C, Ciusani E, Zeira O 等. 人体微碎脂肪组织的持久抗炎活性. 干细胞诠释. 2019; 2019: 1–13.
50. Gadelkarim M, Abushouk AI, Ghanem E 等. 脂肪干细胞: 在糖尿病伤口愈合中的有效性和递送进展. 生物医药师. 2018; 107: 625–33.

发行人注意

对于已发布地图和机构隶属关系中的管辖权主张, Springer Nature 保持中立。