

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.014

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.014

脂肪干细胞局部注射治疗糖尿病慢性创面的临床疗效

张宏亮¹, 刘景焕², 郑炜³, 马琳⁴

(1. 冀中能源邢台矿业集团有限责任公司总医院骨科, 河北 邢台 054000; 2. 冀中能源股份有限公司, 河北 邢台 054000; 3. 邢台市人民医院整形烧伤科, 河北 邢台 054000; 4. 邢台市第三医院生殖医学科, 河北 邢台 054000)

[摘要] 目的: 评价脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)局部注射治疗糖尿病慢性创面的临床效果。方法: 选择诊断为糖尿病慢性溃疡难愈性创面患者100例, 随机将其分为对照组与观察组(每组各50例)。对照组采用常规综合疗法, 包括外科清创、无菌纱布覆盖和封闭负压引流; 观察组同时在局部注射ADSCs, 连续治疗4周。比较两组创面愈合率和感染率, 治疗1周、2周和4周疼痛视觉模拟评分(Visual Analogue Score, VAS)和创面量化积分, 检测创面边缘组织血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达和微血管密度。结果: 观察组创面愈合率显著高于对照组, 细菌感染率降低($P < 0.05$)。观察组治疗1周、2周和4周的疼痛VAS评分和创面量化积分均显著低于对照组($P < 0.05$)。观察组创面VEGF水平和微血管密度显著高于对照组($P < 0.05$)。结论: ADSCs局部注射治疗糖尿病慢性创面可提高创面愈合率, 降低细菌感染, 减轻疼痛, 增加创面VEGF表达和微血管形成, 有较好的应用安全性和有效性。

[关键词] 脂肪干细胞; 糖尿病; 慢性创面; 血管内皮生长因子; 微血管

Clinical effect of adipose stem cells by local injection for chronic wound of diabetes mellitus

ZHANG Hongliang¹, LIU Jinghuan², ZHENG Wei³, MA Lin⁴

(1. Department of Orthopedics, Central Hebei Energy Xingtai Mining Group General Hospital, Xingtai Hebei 054000; 2. Jizhong Energy Resources Co., Ltd, Xingtai Hebei 054000; 3. Department of Plastic Burn, Xingtai People's Hospital, Xingtai Hebei 054000; 4. Department of Reproductive Medicine, Xingtai Third Hospital, Xingtai Hebei 054000, China)

Abstract **Objective:** To evaluate clinical effect of adipose-derived stem cells (ADSCs) local injection in treatment of chronic wound in diabetes mellitus patients. **Methods:** A total of 100 diabetic patients with chronic ulcer difficult healing wounds were enrolled and divided randomly into a control and an observation groups (50 cases for each). The control group received routine comprehensive therapy including surgical debridement, sterile gauze covering and closed negative pressure drainage, and the observation group adopted ADSCs local injection for continuous 4 weeks. Wound healing rate and infection rate, pain Visual Analogue Score (VAS) and wound quantitative

收稿日期 (Date of reception): 2019-01-21

通信作者 (Corresponding author): 郑炜, Email: 49864370@qq.com

基金项目 (Foundation item): 河北省邢台市科技计划项目 (2018Zc170)。This work was supported by the Science and Technology Planning Project of Xingtai, Hebei Province, China (2018Zc170).

integral were compared after 1, 2 and 4 weeks. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and microvessel density in wound margin tissues were detected. **Results:** The wound healing rate in the observation group was significantly higher than that in the control group, and the bacterial infection rate was lower, there were statistically significant differences ($P<0.05$). What's more, the pain VAS score and wound quantitative integral after 1, 2 and 4 weeks in observation group were more less ($P<0.05$). Furtherly, the wound VEGF level and microvessel density in observation group were higher, there was statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion:** ADSCs local injection can improve wound healing rate, reduce bacterial infection, alleviate pain, increase wound VEGF expression and microvessel density formation in diabetic patients with chronic wounds, which is better safety and effectiveness.

Keywords adipose stem cells; diabetes mellitus; chronic wounds; vascular endothelial growth factor; microvessel

慢性难愈性创面是临床中经常遇见的难题,多伴有糖尿病、恶性肿瘤、严重创伤、截肢术后等,创面炎症反应增强、细菌感染、微生物耐药、真皮细胞再生能力受限、缺乏有效刺激肉芽组织和血管新生的生物活性因子等,是创面难愈的主要原因和重要机制^[1-2]。临床主要治疗方法有外科清创、无菌纱布覆盖、封闭负压引流,必要时进行植皮术或皮瓣转移术,但创面总体愈合率较低,为30%~60%^[3]。创面延迟愈合,增加了患者疼痛程度和住院时间,医疗费用提高,且易出现多种并发症。脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)是机体存在的一类具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞,分布广泛,较骨髓干细胞取材更方便,安全性高,自体ADSCs移植排斥反应率低,不涉及伦理问题,具有较好的应用前景^[4]。多项动物模型研究^[5-6]均指出ADSCs可促进创面的快速愈合。创面的愈合离不开血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达和微血管的形成^[7]。钱晓玲等^[8]指出:慢性创面组织中VEGF表达和微血管数量提高,是促进创面愈合的重要机制。但是,关于ADSCs应用于糖尿病慢性创面的报道还较少。基于此,本研究拟评价ADSCs局部注射治疗糖尿病慢性创面的临床效果,旨在为临床提高慢性创面愈合质量提供新思路。

1 对象与方法

1.1 对象

连续选择2017年10月至2018年10月入冀中能源邢台矿业集团有限责任公司总医院诊断糖尿病慢性溃疡难愈性创面患者共100例,纳入标准:1)年龄18~80岁者;2)符合糖尿病和慢性溃疡难

愈性创面的诊断标准,治疗3个月创面仍未愈合者;3)单发创面,可测量面积者;4)能根据分组要求完成治疗,临床资料完善,通过冀中能源邢台矿业集团有限责任公司总医院医学伦理委员会审查者。排除标准:1)糖尿病未控制,合并恶性肿瘤、严重肝肾功能障碍、自身免疫性疾病及其他部位感染者;2)创面合并严重深部感染,缺血或足部血供不良者;3)无法获得自体ADSCs,局部注射失败者;4)无法获得有效的疼痛视觉模拟评分(Visual Analogue Score, VAS)和创面量化积分者;5)同时参与其他研究者等。

采用随机、单盲方法将其分为对照组与观察组,每组各50例。其中对照组男26例,女24例,年龄52~76(64.5 ± 8.6)岁,空腹血糖7.2~11.3(8.8 ± 1.2) mmol/L,创面感染16例(32.0%),创面时间3~6(4.2 ± 0.6)个月,创面面积6.8~15.2(11.3 ± 3.5) cm²,创面位于左下肢24例,右下肢26例。观察组男28例,女22例,年龄55~78(66.2 ± 8.9)岁,空腹血糖7.3~11.5(8.5 ± 1.4) mmol/L,创面感染18例(36.0%),创面时间3.5~6.5(4.5 ± 0.7)个月,创面面积6.5~15.5(11.6 ± 3.8) cm²,创面位于左下肢27例,右下肢23例。两组患者的基线资料包括性别、年龄、空腹血糖、创面感染率、创面时间、创面面积、位置等差异无统计学意义,具有可比性($P>0.05$)。

1.2 方法

对照组采用常规综合疗法,包括外科清创、无菌纱布覆盖和封闭负压引流,仔细消毒、清洗创面,去除坏死分泌物,覆盖无菌纱布,2~3 d更换敷料,置入带侧孔的引流管连接中央负压终端,负压为59.85 kPa,连续吸引。

观察组同时在局部注射ADSCs,创面处理后

肉芽新鲜、局部微循环改善即进行ADSCs治疗；制备ADSCs主要过程为抽取患者腹部或大腿部脂肪，局部肿胀麻醉后，以10 mL注射器负压吸引；将脂肪置于离心管中，以1 000 r/min离心10 min，内容物分3层，提取中间纯脂肪层；然后1:3重悬于Hank's液(3.5%小牛血清+II型胶原酶)，37 °C孵育箱中培养50 min；经70 μm网状细胞过滤，红细胞裂解液处理后，以2 000 r/min离心10 min，生理盐水悬浮细胞并计数；最后经流式细胞仪鉴定，细胞表面抗CD34阳性、抗CD45阴性，证实为ADSCs。将ADSCs于创缘或创基内注射，每点注射 1×10^6 个，每2周注射1次^[6,9]。

两组患者均强化血糖和营养支持，如果创面愈合不佳，应及时进行植皮或者皮瓣转移修复治

疗，连续治疗4周。

1.3 观察指标和评价方法

比较两组的创面愈合率和感染率，治疗1周、2周和4周VAS评分和创面量化积分，检测创面边缘组织VEGF表达和微血管密度。创面面积采用电子测定系统自动计算，愈合率=(治疗前面积-治疗后未愈合面积)/治疗前面积 $\times 100\%$ ；细菌感染采用无菌棉拭子采集创面分泌物，置全自动微生物分析系统(法国梅里埃生物技术公司)进行细菌分析。VAS量表分0~10，分值越高，疼痛越严重。创面量化积分^[10]包括创面脓腐组织、渗液形状、色泽、气味和量共5个项目(表1)，总积分5~20，分值越高，症状越重。

表1 创面量化积分

Table 1 Wound quantitative integral

项目	创面量化积分			
	1	2	3	4
脓腐组织	黄白、疏松	黄白、致密	灰黑焦痂、疏松	灰黑焦痂、致密
渗液形状	稀薄如水	清稀	稠厚	黏稠
渗液色泽	鲜明	黄白	黄浊	绿黑
渗液气味	淡腥	臭秽	恶臭	有气泡
渗液量	极少量	少量	中量	大量

1.4 免疫组织化学染色

切取3 mm \times 3 mm \times 2 mm大小的创缘组织，制作石蜡切片，采用免疫组织化学染色法检测VEGF表达和微血管密度，主要步骤为：切片经脱蜡至水、过氧化氢和正常血清封闭抗体后，滴加鼠抗人VEGF和CD31一抗(1:300，美国Sigma公司)于4 °C过夜处理，经PBS洗涤后，滴加生物素标记二抗于37 °C孵育4 h，以PBS洗涤、DAB显色，PBS为阴性对照。结果判读：以胞质或胞核深染为阳性，计算400倍镜下至少4个视野的阳性细胞百分比。采用HE染色观察创面组织愈合情况。

1.5 统计学处理

采用SPSS 20.0统计软件进行数据分析，计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，组间比较采用独立样本t检验，不同时间VAS评分和创面量化积分的比较采用重复测量的方差分析；计数资料以例数或率(%)表示，组间比较用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组创面愈合率和感染率的比较

治疗4周后，观察组创面愈合率显著高于对照组，细菌感染率降低，差异有统计学意义($P < 0.05$ ，表2)。

2.2 两组VAS评分的比较

观察组治疗1周、2周和4周的疼痛VAS评分显著低于对照组，差异有统计学意义($P < 0.05$ ，表3)。

2.3 两组创面量化积分的比较

观察组治疗1周、2周和4周的创面量化积分显著低于对照组，差异有统计学意义($P < 0.05$ ，表4)。

2.4 两组创面VEGF水平和微血管密度的比较

治疗4周后，观察组创面VEGF水平和微血管密度显著大于对照组，差异有统计学意义($P < 0.05$ ；图1，表5)。

表2 两组创面愈合率与感染率的比较($n=50$)Table 2 Comparison of wound healing rate and infection rate in the two groups ($n=50$)

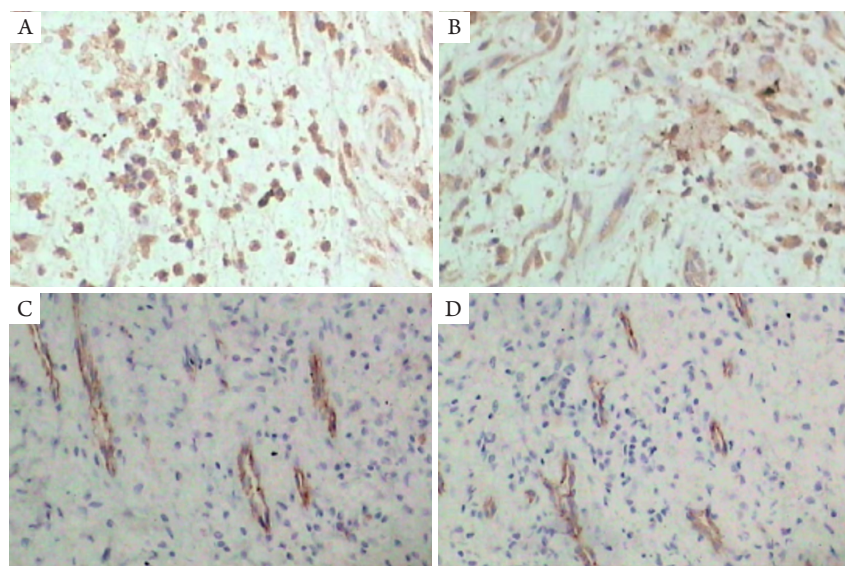
组别	创面愈合/%	细菌感染/[例(%)]
对照组	45.6 ± 10.5	10 (20.0)
观察组	79.8 ± 12.3	3 (6.0)
t/χ^2	12.326	4.332
P	<0.001	0.037

表3 两组VAS评分的比较($n=50$)Table 3 Comparison of VAS scores in the two groups ($n=50$)

组别	治疗前	治疗1周	治疗2周	治疗4周	F	P
对照组	5.5 ± 1.1	4.2 ± 0.7	2.9 ± 0.4	1.1 ± 0.2	13.263	<0.001
观察组	5.7 ± 1.3	3.6 ± 0.5	2.2 ± 0.3	0.5 ± 0.1	18.524	<0.001
t	0.123	3.562	4.125	4.524		
P	0.867	0.037	0.030	0.025		

表4 两组创面量化积分的比较($n=50$)Table 4 Comparison of wound quantitative integral in the two groups ($n=50$)

组别	治疗前	治疗1周	治疗2周	治疗4周	F	P
对照组	17.3 ± 4.5	13.4 ± 3.6	9.5 ± 2.8	6.2 ± 0.4	8.625	<0.001
观察组	17.5 ± 4.6	11.4 ± 3.3	7.9 ± 2.5	5.5 ± 0.3	10.523	<0.001
t	0.256	4.063	4.427	4.826		
P	0.785	0.029	0.027	0.018		

图1 治疗4周后创面组织VEGF和微血管CD31的免疫组织化学染色($\times 400$)Figure 1 Immunohistochemical staining of VEGF and microvessel CD31 in wound tissues after treatment 4 weeks ($\times 400$)

(A)对照组VEGF; (B)观察组VEGF; (C)对照组微血管CD31; (D)观察组微血管CD31。

(A) VEGF in the control group; (B) VEGF in the observation group; (C) Microvessel CD31 in the control group; (D) Microvessel CD31 in the observation group.

表5 两组创面VEGF水平和微血管密度的比较
Table 5 Comparison of VEGF expression and microvessel density in the two groups

组别	VEGF/%	微血管/HPF
对照组	42.6 ± 7.5	36.9 ± 12.2
观察组	62.8 ± 8.9	52.3 ± 10.4
t	8.326	7.532
P	<0.001	<0.001

3 讨论

创面愈合包括止血期、炎症期、增生期和组织重构4个连续性分期,任一分期受到影响均会导致创面愈合延迟甚至不愈合。ADSCs在适宜的刺激条件下,可定向分化为成骨、成软骨或脂肪细胞等,促进细胞增殖和迁移,在创面愈合过程中发挥重要作用^[9]。

本研究采用ADSCs局部注射慢性创面,并与常规综合疗法进行比较,结果显示:观察组创面愈合率显著高于对照组,细菌感染率降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。赵月强等^[11]也指出:ADSCs可加速糖尿病足皮肤创面愈合,释放多种细胞因子,促进血管生成,治疗效果较好。慢性溃疡、难愈性创面多伴有细菌感染,积极抗感染、负压引流脓液可促进新鲜肉芽组织生长和微血管形成^[12]。在本研究中,观察组疼痛VAS评分和创面量化积分均显著低于对照组($P < 0.05$)。慢性创面可增加患者疼痛程度,影响康复质量。创面量化积分可定量评估创面的愈合质量^[13]。在本研究中,观察组较小创面治疗2周基本可痊愈,达到I级愈合;HE染色显示肉芽组织鲜红、细颗粒状、水肿消退。进一步比较,观察组创面VEGF水平和微血管密度显著大于对照组($P < 0.05$)。VEGF是目前促进血管新生的最强效生物活性因子,其表达上调往往与组织血管新生能力高度一致^[14]。ADSCs多向分化的能力与分泌多种细胞因子密切相关,除VEGF外,还有成纤维生长因子、转化生长因子- β 等^[15]。微血管密度是反映创面愈合的重要标志,肉芽组织富含微血管,是成纤维细胞生长和促进创面纤维化的主要营养供应方式^[16]。

目前,ADSCs的临床应用受限,主要与ADSCs的成活率较低,易凋亡,定向分化能力有关。ADSCs不仅可以促进创面愈合,还可以减少瘢痕挛缩,降低供体部位反应^[17]。注射前需要保证局部

受区良好的环境,如彻底清创、创面新鲜、微循环良好等^[18]。将ADSCs负载到生物支架上可能提高ADSCs的增生能力,如I型胶原蛋白海绵、透明质酸^[19-20]。

综上,ADSCs局部注射治疗糖尿病慢性创面可提高创面愈合率,降低细菌感染,减轻疼痛,增加创面VEGF表达和微血管形成,有较好的应用安全性和有效性。提示ADSCs局部注射在慢性创面中较好的临床应用效果,为ADSCs的作用机制和应用价值提供了重要依据。本研究的不足之处是样本量较少,随访时间较短,还需要进一步研究进行验证。

参考文献

1. Houeld NN. Shedding light on a new treatment for diabetic wound healing: a review on phototherapy[J]. Scientific World Journal, 2014, 2014: 398412.
2. 余墨声,朱占永,赵月强,等.慢性创面的临床治疗进展[J].临床外科杂志,2016,24(3):165-167.
YU Mosheng, ZHU Zhanyong, ZHAO Yueqiang, et al. Progress in clinical treatment of chronic wounds[J]. Journal of Clinical Surgery, 2016, 24(3): 165-167.
3. 朱加伟,谭谦.封闭负压引流技术对创面愈合影响的Meta分析[J].东南大学学报(医学版),2015,34(2):253-260.
ZHU Jiawei, TAN Qian. Meta-analysis of the effect of vacuum sealing drainage on wound healing[J]. Journal of Southeast University. Medical Edition, 2015, 34(2): 253-260.
4. Hassan WU, Greiser U, Wang W. Role of adipose-derived stem cells in wound healing [J]. Wound Repair Regen, 2014, 22(3): 313-325.
5. Iyyanki T, Hubenak J, Liu J, et al. Harvesting technique affects adipose-derived stem cell yield[J]. Aesthet Surg J, 2015, 35(4): 467-476.
6. 丁世超,张培华.自体脂肪干细胞移植在创面愈合的研究进展[J].海南医学,2017,28(7):1127-1129.
DING Shichao, ZHANG Peihua. Research progress of autologous adipose stem cell transplantation in wound healing[J]. Hainan Medical Journal, 2017, 28(7): 1127-1129.
7. 芦阳,刘宏伟.血管内皮细胞的自分泌和旁分泌与创面愈合的相关性[J].感染、炎症、修复,2017,18(3):169-174.
LU Yang, LIU Hongwei. The correlation between autocrine and paracrine of vascular endothelial cells and wound healing[J]. Infection Inflammation Repair, 2017, 18(3): 169-174.
8. 钱晓玲,周学芹,尹晓莉,等.封闭负压引流干预慢性创面神经生长因子和微血管的变化[J].中国组织工程研究,2014,18(11):

- 1647-1652.
- QIAN Xiaoling, ZHOU Xueqin, YIN Xiaoli, et al. Intervention of nerve growth factor and microvascular changes in chronic wounds by closed negative pressure drainage[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2014, 18(11): 1647-1652.
9. Charles-de-Sá L, Gontijo-de-Amorim NF, Maeda Takiya C, et al. Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells[J]. Plast Reconstr Surg, 2015, 135(4): 999-1009.
 10. 金新源, 谢尔凡. 压疮的评估、预防和治理研究进展[J]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2014, 9(2): 189-194.
JIN Xinyuan, XIE Erfan. Advances in evaluation, prevention and treatment of pressure ulcers[J]. Chinese Journal of Damage and Repair. Electronic Edition, 2014, 9(2): 189-194.
 11. 赵月强, 朱占永, 李爱林, 等. 自体脂肪干细胞在糖尿病足创面治疗中的应用[J]. 临床外科杂志, 2018, 26(1): 63-66.
ZHAO Yueqiang, ZHU Zhanyong, LI Ailin, et al. Application of autologous adipose stem cells in treatment of diabetic foot wounds[J]. Journal of Clinical Surgery, 2018, 26(1): 63-66.
 12. 周雪莲. 负压封闭引流技术修复皮肤软组织缺损难愈性创面的应用效果[J]. 中国美容医学, 2018, 27(7): 46-49.
ZHOU Xuelian. Application effect of vacuum sealing drainage technique in repairing refractory skin and soft tissue defects[J]. Chinese Journal of Aesthetic Medicine, 2018, 27(7): 46-49.
 13. 李云平, 矫浩然, 王刚, 等. 关于糖尿病足溃疡中医证候疗效评价体系探讨[J]. 天津中医药, 2012, 29(3): 251-253.
LI Yunping, JIAO Haoran, WANG Gang, et al. Discussion on evaluation system of tcm syndrome therapeutic effect of diabetic foot ulcer[J]. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2012, 29(3): 251-253.
 14. 杨艳清, 许其军, 张洁, 等. 不同部位来源脂肪干细胞促进血管化的作用比较[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2018, 47(3): 318-320.
YANG Yanqing, XU Qijun, ZHANG Jie, et al. Effect comparison of adipose-derived stem cells from different parts on promoting vascularization[J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology. Medical Edition, 2018, 47(3): 318-320.
 15. 刘艳秋, 李秋菊, 刘婷. 常见生长因子及其在糖尿病足溃疡治疗中的应用[J]. 医学综述, 2018, 24(17): 3467-3471.
LIU Yanqiu, LI Qiujun, LIU Ting, et al. Common growth factors and their application in treatment of diabetic foot ulcer[J]. Medical Recapitulate, 2018, 24(17): 3467-3471.
 16. 马战军, 王天堂, 毛丰刚. 负压通过Ang/Tie-2信号通路促进糖尿病大鼠创面微血管成熟的实验研究[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2018, 33(9): 940-944.
MA Zhanjun, WANG Tiantang, MAO Fenggang. Negative pressure promotes microvascular maturation in diabetic rat wounds via Ang/Tie-2 signaling pathway[J]. Chinese Journal of Bone and Joint Injury, 2018, 33(9): 940-944.
 17. 郭潇, 冯锐. 脂肪干细胞及支架材料构建脂肪组织工程在乳房重建中的应用[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(14): 2272-2277.
GUO Xiao, FENG Rui. Application of adipose tissue engineering with adipose stem cells and scaffolds in breast reconstruction[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2018, 22(14): 2272-2277.
 18. 杜俊凯, 陈明月, 徐之超, 等. 定向激活HIF-1协同脂肪干细胞对糖尿病小鼠皮肤创伤修复的促进作用[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2018, 8(2): 95-102.
DU Junkai, CHEN Mingyue, XU Zhichao, et al. Promoting effect of directional activation of HIF-1 and adipose-derived stem cells on skin wound repair in diabetic mice[J]. Chinese Journal of Cells and Stem Cells. Electronic Edition, 2018, 8(2): 95-102.
 19. 庄兢, 杨宇, 丁力, 等. 脂肪来源干细胞联合胶原蛋白生物工程支架移植干预大鼠慢性难愈合性创面血管内皮生长因子的表达[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(33): 5274-5280.
ZHUANG Jing, YANG Yu, DING Li, et al. Adipose-derived stem cells combined with collagen bioengineered scaffold transplantation interfere with expression of vascular endothelial growth factor in chronic refractory wounds in rats[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2018, 22(33): 5274-5280.
 20. 李雪阳, 杨超, 沈才齐, 等. TGFβ1参与的脂肪干细胞-富血小板血浆凝胶促进大鼠创面修复的机制研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(22): 2385-2389.
LI Xueyang, YANG Chao, SHEN Caiqi, et al. TGF beta 1 involved in adipose tissue derived stem cells platelet rich plasma gel promotes wound healing in rats[J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2018, 17(22): 2385-2389.

本文引用: 张宏亮, 刘景焕, 郑炜, 马琳. 脂肪干细胞局部注射治疗糖尿病慢性创面的临床疗效[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(9): 1940-1945. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.014

Cite this article as: ZHANG Hongliang, LIU Jinghuan, ZHENG Wei, MA Lin. Clinical effect of adipose stem cells by local injection for chronic wound of diabetes mellitus[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2019, 39(9): 1940-1945. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.014