

脂肪干细胞的研究进展

祁美武¹, 周 晓^{2*}

(1. 南华大学, 湖南 衡阳 421001; 2. 湖南省肿瘤医院耳鼻喉头颈外科)

摘要: 脂肪干细胞是成体间充质干细胞的一种, 具有多向分化的潜能、取材容易、来源广泛适宜自体移植等优点, 是继骨髓间充质干细胞之后的又一再生医学种子细胞的来源, 成为国内外研究的热点。本文综述了脂肪干细胞的生物学特性与临床应用前景。

关键词: 脂肪干细胞; 生物学特性

中图分类号: Q7 **文献标识码:** B

随着科学技术的发展, 分子生物学和细胞生物学的不断进步, 再生医学迅速崛起。激发了人们对各种干细胞、组织工程支架和细胞生长因子的研究热潮, 选用合适的干细胞作为种子细胞的来源已经成为研究的焦点。目前应用的主要有: 骨髓间质干细胞、脐带血间充质干细胞、外周血干细胞和脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)等。事实上, 由于骨髓作为干细胞来源的限制性, 使得间充质干细胞成为再生医学种子细胞的主要来源^[1]。

脂肪干细胞与骨髓间充质干细胞的成软骨分化能力进行比较, 细胞的成骨及成软骨能力基本一致。余方圆等^[2]则认为未诱导的脂肪干细胞能弱表达Ⅱ型胶原和蛋白聚糖聚合物, 而骨髓间充质干细胞却无表达, 因此成软骨分化时脂肪干细胞较骨髓间充质干细胞更为敏感。而安荣泽等^[3]对脂肪干细胞与骨髓间质干细胞进行了比较, 指出两者在体外增殖均很迅速且稳定, 但是脂肪干细胞的生长增殖速度更快并且指出单层培养时, 特定条件下, 脂肪干细胞与骨髓间充质干细胞均能向软骨细胞转化, 但在成软骨诱导方面, 骨髓间充质干细胞比脂肪干细胞更具有优势。而且 ADSCs 具有取材容易、对机体损伤小、来源广泛、体内储备量大、适宜自体移植、没有伦理学争议等优点, 成为再生医学研究领域的热点之一。

脂肪干细胞是从脂肪组织中分离得到具有自我更新和多向分化潜能的一种成体干细胞。它在体外诱导下可分化为各种不同类型的细胞。它是继骨髓

间质干细胞、脐带血间充质干细胞、外周血干细胞之后的又一种干细胞的来源, 对用干细胞作为种子细胞进行组织工程构建以及疾病的治疗等起到了巨大的推动作用。

1 ADSCs 的命名及生物学特性

1.1 命名 上世纪 50 年代 Trowell 发现脂肪细胞中类似成纤维细胞, 并指出在合适条件下它们可分化为脂肪细胞。2001 年 Zuk 等^[4]首次通过吸脂术抽取脂肪组织悬液培养出多能干细胞并命名为脂肪组织提取细胞(processed lipoaspirate cells, PLC), 这为脂肪干细胞的研究奠定了深厚的基础。这种提取细胞的名称众多, 可谓五花八门——脂肪来源的基质细胞、脂肪组织来源的间充质干细胞、前脂肪细胞以及脂肪组织的基质血管组分(stromal vascular fraction, SVF)等等^[6-8]。2004 年, 在第二届国际社会脂肪应用技术年度会议上, 这种细胞被统一命名为脂肪干细胞(ADSCs)^[5]。

1.2 生物学特性 研究指出, ADSCs 不表达 CD11c、CD19、CD31、CD33、CD45、HLADR, 但可表达 CD11a、CD13、CD14、CD29、CD44、CD45、CD58、CD86、CD90、CD105、CD166 以及 Nanog、Oct-4、Sox-2 等因子^[9-11], Strem 等^[12]也指出脂肪干细胞中 CD49d 阳性表达, CD106 阴性表达, 低水平表达 CD34。Zhao 等^[13]的研究指出, 通过胶原酶消化、贴壁培养可以从小鼠脂肪中分离出高纯度的脂肪干细胞, 并指出 ADSCs 不表达 CD40、CD80、CD86、MHC I、MHC II, ADSCs 移植后未见成瘤, 且可在肝脏实

质内多处定居。

由此可知,ADSCs 可与骨髓间质干细胞相似,可以表达干细胞的特性的干性因子以及干细胞相关转录因子,而且具有低免疫原性,移植排斥反应少,可以进行自体移植,将会成为再生医学中干细胞来源的主力军。

2 ADSCs 可被诱导多向分化的潜能

脂肪干细胞作为成体间充质干细胞的一员,具有干细胞可多向分化的潜能,在特定的条件下,它可以分化成多种功能细胞。研究者在体外诱导其定向分化做了大量的研究。

2.1 ADSCs 向成骨细胞分化 Wang 等^[14] 研究指出,在体外环境下由人脐带静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)分泌的骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)能够有效促进脂肪干细胞的成骨分化,因此将 ADSCs 与 HUVEC 共培养可以有效的促进 ADSCs 的分化潜能。研究认为, BMP-2 主要对未分化间充质细胞和骨系细胞起到募集和分化作用^[15]。在骨形成早期, BMP-2 不仅可使未分化间质细胞向骨形成中心募集,并分化为骨系细胞,而且可使成纤维细胞、成肌细胞及骨髓的基细胞逆分化为骨系细胞。在骨形成后期, BMP-2 还作为一种破骨细胞分化因子与其它支持破骨细胞分化因子直接或间接刺激破骨细胞分化,参与骨的重建。曹谊林等^[16]对脂肪干细胞成骨诱导分化也进行了深入研究,指出了 ERK 通路在 ADSC 的成骨分化中的促进作用;同时也揭示了地塞米松可以抑制 ADSC 的成骨分化。ERK 通路的主要途径是 Ras/Raf/MEK/ERK, ERK 级联反应可被多种物质刺激激活,如受体酪氨酸激酶、G 蛋白偶联受体等,并参与调控细胞的增殖分化与凋亡过程。

Luo 等^[17]研究指出,在体外,适宜浓度的人参皂甙 Rb1 能促进人体脂肪干细胞增殖,而在高浓度的人参皂甙 Rb1 能促进人类脂肪来源的干细胞的成骨分化。马德彰等^[18]指出,通过胰酶消化可以成功获得大鼠脂肪干细胞,通过两组对比指出富血小板血浆(platele-rich plasma, PRP)是促进该细胞成骨细胞分化的有效的细胞因子。

由此可知,在体外, BMP-2、高浓度的人参皂甙 Rb1 以及 PRP 等因素均可以诱导 ADSCs 向成骨分

化,为骨组织工程中的骨缺损的修复、再生等提供了新的思路,可以成为理想的骨组织工程种子细胞。

2.2 ADSCs 向心肌细胞分化 文献[19-21]指出,在脂肪干细胞中过表达胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor 1, IGF-1)可以通过增加 PI3 激酶的水平来抑制 ADSCs 的凋亡与死亡,并且可以促进 GATA-4 的表达,而 GATA-4 与 Nkx2.5 共同作用可诱导胚胎干细胞大量心脏转录因子的表达,从而促使 ADSCs 向心肌细胞分化,因此, IGF-1 基因在心肌组织构建中发挥重要的作用。有研究指出脂肪干细胞经 5-氮胞苷诱导分化后,利用 RT-PCR 技术可检测到心钠素、脑钠素、 α -骨骼肌动蛋白等心肌特异性基因的表达,提示脂肪干细胞可分化为有心肌细胞某些功能的心肌样细胞^[22]。文献[13]研究了 ADSCs 在缺氧及炎症条件下向心肌方向转化,此种分化于对急性心肌梗死、变薄的心脏壁有修复作用。但目前 ADSCs 在心脏方面的作用尚未应用于临床。

2.3 ADSCs 向神经元样细胞分化 王晗等^[23]的研究指出人脂肪干细胞能够在体外条件下分化为神经元样细胞,并且其分泌的活性物质对 PC-12 细胞具有凋亡保护作用益智仁中提取的原儿茶酸能够促进人脂肪干细胞的增殖,同时仍保持间充质干细胞多分化潜能的特性。原儿茶酸的应用可以促进脂肪干细胞的增殖,为新组织的形成提供更多的细胞来源,从而有利于神经退行性疾病的治疗。Ahmadi 等^[24]指出脂肪干细胞在一定条件下可以向神经细胞分化,并提出了两种可以使脂肪干细胞稳定转化为神经细胞的方案。自体 ADSCs 移植到冻伤大鼠脑内发现 ADSCs 可以在中枢神经系统中存活,并分化为神经元样细胞,从而减少细胞凋亡,加速神经功能修复过程并达到保护脑组织的目的。

目前神经性疾病的治疗不是很理想,仅有少数的药物可用于起治疗,而且治疗效果也还不是很好。脂肪干细胞经诱导后可以向神经样细胞分化,这就为之疾病治疗开拓了新的途径。

2.4 ADSCs 向内皮细胞分化 Miranville 等^[25]从人体脂肪组织中分离出一系列 CD34⁺/CD31⁻细胞,并且证明了在一定条件下这些细胞在体内或体外具有向内皮细胞诱导分化的潜能。同年, Rehman 等^[26]指出脂肪干细胞可通过体外培养,分化为 CD34⁺/CD31⁻的内皮细胞并且参与脉管管腔的形成,同时还可以分泌多种细胞因子、生长因子促进血管新生。Amos 等^[27]通过免疫荧光标记脂肪干细

胞,经体外培养、扩增后,注射至缺血模型的大鼠的肠系膜内,发现大量的脂肪干细胞表达脉管系统的表型和特征性标志,新生血管密度相对空白对照组明显增加。Konno 等^[28]将脂肪干细胞注入至下肢缺血模型的裸鼠体内也得到了相同的结论。郭岷杉等^[29]通过模拟慢性难愈性创面长期所处的低氧缺血环境,指出无血清培养后大鼠脂肪干细胞向血管内皮细胞分化效率明显提高,且分化而来的细胞具备血管内皮细胞的形态及基本功能。

这些研究为脂肪干细胞向内皮细胞诱导机制及提高诱导分化效率的研究提供重要的实验基础,为心血管疾病的细胞移植治疗寻求可靠的种子细胞来源提供了丰富的理论依据。

2.5 ADSCs 向角质细胞分化 Seo 等^[30]通过免疫组织化学和聚合酶链反应等技术对与人角质形成细胞共培养和单独培养 ADSCs 进行比较,指出共培养可以增强 ADSCs 分化为角化细胞谱系细胞的能力。角质细胞存在于人的头部表皮,起到非常重要的保护作用。该研究为角质细胞的再生、整形整容、表皮创伤的恢复,皮肤切口愈合等提供了理论基础。

2.6 其他方向分化 在脂肪干细胞的分化潜能方面,研究者进行了大量的实验,研究数据显示在体外一定的条件下,脂肪干细胞出来可以分化成骨细胞、心肌细胞、神经细胞、内皮细胞以及角质细胞外,还可以向软骨细胞、星形胶质细胞、成肌细胞、向神经膜细胞以及平滑肌细胞分化等等。

3 应用前景与展望

脂肪干细胞取材容易,增殖力强,生物相容性好,患者痛苦小,能自体移植,不存在伦理问题等优势,而且在体外扩增以及诱导分化为其他种类的细胞取得了一定的研究成果。脂肪干细胞的分化能力可用于修复缺损,而旁分泌功能则可调节周围组织功能。在骨、心肌、神经、血管等领域中开展了大量临床前研究和初步的临床试验,为脂肪干细胞用于治疗累计了丰富的实验室数据。脂肪干细胞的生物学特性及优势在组织工程、细胞移植与治疗、表皮创伤修复、整形整容等方面有着广阔的应用前景。

但是,目前针对脂肪干细胞的研究大多是在体外或动物体内进行的,且诱导液还常含有与肿瘤发生转移有关的生长因子,脂肪干细胞本身也分泌很多具有很高生物活性的生物分子,它们是否对恶变

细胞存在潜在的促生长作用尚不清楚。最重要的是,ADSCs 的局部应用可引发全身反应,引起血清中信号分子水平的升高。因此 ADSCs 真正用于临床还面临着很多考验。此外,脂肪干细胞增殖分化的具体影响因子和调控机制尚未完全清楚,而且其临床应用的安全性、可行性、可靠性、有效性需要进一步的研究与探讨。

随着对 ADSCs 不断的深入探索与研究,大量展开各个领域相关的临床实验,对 ADSCs 的认识与了解正在不断的加深,相信其用于临床治疗不再是遥远的事情。

参考文献:

- [1] Ko E, Lee KY, Hwang DS, et al. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells undergo cellular senescence in response to oxidative stress[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21: 1877-1886.
- [2] 余方圆, 卢世璧, 赵斌, 等. 脂肪干细胞与骨髓干细胞生物学性状的比较[J]. *中华实验外科杂志*, 2009, 26(3): 396.
- [3] 安荣泽, 赵俊延, 王兆杰. 脂肪干细胞与骨髓间充质干细胞成软骨能力的比较[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(32): 5793-5798.
- [4] Zuk P A, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies[J]. *Tissue Eng*, 2001, 7(2): 211-228.
- [5] Yarak S, Okamoto O K. Human adipose-derived stem cells: current challenges and clinical perspectives[J]. *An Bras Dermatol*, 2010, 85(5): 647-656.
- [6] 周瑞平, 陈志英, 李容林. 脂肪干细胞的研究进展[J]. *医学综述*, 2013, 19(21): 3860-3862.
- [7] Gimble J M, Katz A J, Bunnell B A. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine[J]. *Circ Res*, 2007, 100(9): 1249-1260.
- [8] Cardozo AJ, Gomez DE, Argibay PF. Transcriptional characterization of Wnt and Notch signaling pathways in neuronal differentiation of human adipose tissue-derived stem cells[J]. *J Mol Neurosci*, 2011, 44(3): 186-194.
- [9] De Ugarte DA, Alfonso Z, Zuk P A, et al. Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow[J]. *Immunol Lett*, 2003, 89(2): 267-270.
- [10] McIntosh K, Zvonic S, Garrett S, et al. The immunogenicity of human adipose-derived cells: temporal changes in vitro[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(5): 1246-1253.
- [11] Lee RH, Kim B, Choi I, et al. Characterization and ex-

- pression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2004, 14(4-6):311-324.
- [12] Strem BM, Hicok KC, Zhu M, et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells [J]. *Keio J Med*, 2005, 54(3):132-141.
- [13] 赵文秀, 张磊, 刘建明, 等. 小鼠脂肪间充质干细胞的分离培养及其在肝内归巢 [J]. *南方医科大学学报*, 2013, 33(8):1151-1154.
- [14] Wang J, Ye Y, Tian H, et al. In vitro osteogenesis of human adipose-derived stem cells by coculture with human umbilical vein endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 412(1):143-149.
- [15] Riley EH, Lane JM, Urist MR, et al. Bone morphogenetic protein-2; biology and applications [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1996, 324:39-46.
- [16] 曹谊林, 刘伟, 张文杰, 等. 组织工程研究进展 [J]. *上海交通大学学报 (医学版)*, 2012, 32(9):1241-1250.
- [17] 罗志军, 黎洪棉, 王和庚, 等. 人参皂苷 Rb1 对体外培养人脂肪干细胞增殖与成骨分化的影响 (英文) [J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(32):5799-5805.
- [18] 马德彰, 李鹏, 刘明, 等. 富血小板血浆和线性高密度聚乙烯支架材料对大鼠脂肪干细胞成骨分化的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30(11):2371-2373.
- [19] Mardani M, Kabiri A, Esfandiari E, et al. The Effect of platelet rich plasma on chondrogenic differentiation of human adipose derived stem cells in transwell culture [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2013, 16(11):1163-1169.
- [20] 朱艳霞, 刘天庆, 宋克东, 等. IGF-1 和动态微环境对脂肪干细胞向心肌细胞分化作用的研究 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2009, 36(12):1553-1561.
- [21] 宋艳琴, 张艳梅, 王妮妮, 等. 5-氮胞苷诱导兔脂肪干细胞分化为心肌样细胞的特定基因表达 [J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(27):4991-4995.
- [22] 王晗, 刘天庆, 朱艳霞, 等. 原儿茶酸促进人脂肪干细胞体外增殖的研究 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2008, 35(10):1168-1174.
- [23] Ahmadi N. Stability of neural differentiation in human adipose derived stem cells by two induction protocols [J]. *Tissue Cell*, 2012, 44(2):87-94.
- [24] 周向阳, 邓永久, 方芳, 等. 自体脂肪干细胞移植脑冻伤大鼠脑内的作用 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(16):3024-3028.
- [25] Miranville A, Heeschen C, Sengenès C, et al. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells [J]. *Circulation*, 2004, 110(3):349-355.
- [26] Rehman J, Traktuev D, Li J, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells [J]. *Circulation*, 2004, 109(10):1292-1298.
- [27] Amos P J, Shang H, Bailey A M, et al. IFATS collection: the role of human adipose-derived stromal cells in inflammatory microvascular remodeling and evidence of a perivascular phenotype [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(10):2682-2690.
- [28] Konno M, Hamazaki TS, Fukuda S, et al. Efficiently differentiating vascular endothelial cells from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in serum-free culture [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 400(4):461-465.
- [29] 郭岷杉, 颜玲. 无血清培养促进脂肪干细胞向血管内皮细胞分化 [J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(36):6443-6448.
- [30] Seo BF, Kim KJ, Kim MK, et al. The effects of human keratinocyte coculture on human adipose-derived stem cells [J]. *Int Wound J*, 2014.

(此文编辑:朱雯霞)