

脂肪干细胞的生物学特性、分化潜能及应用

农霖

广西南宁美丽有约农霖美容外科机构, 广西 南宁 530011

【摘要】 人体组织与器官的修复和重建, 一直是困扰临床医学的一个重大难题, 而干细胞治疗已经成为解决该问题一种新途径。脂肪干细胞是存在于脂肪组织中一种成体干细胞, 其具有自我更新、多项分化的潜能。脂肪干细胞在特定的条件下, 可以分化成多种功能的细胞系, 具有与骨髓间充质干细胞相似的特性, 应用前景较大。本文主要对脂肪干细胞的生物学特性、多向分化潜能及在应用领域的研究现状和发展前景作出总结分析。

【关键词】 脂肪干细胞; 生物学特性; 分化; 骨组织功能

脂肪干细胞 (ADSCs) 是存在于脂肪组织基质中, 且增殖能力较强, 与骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 相似, 具有多向分化潜能的成体干细胞^[1]。近年来, 随着医学技术的不断进步, 生物材料和组织工程技术得到了很大的发展^[2], 干细胞应用于骨组织的修复已经成为了治疗骨缺损的新思路。而选择扩增简单、来源丰富的种子细胞已成为骨组织工程研究的重要课题。ADSCs 取材较为容易, 其在体外培养实验中比较容易定向分化为骨细胞, ADSCs 不仅克服了 BMSCs 取材困难, 机体损伤大的缺点, 还具有来源充足、具有良好的体外扩增能力的特点, 有望成为骨组织工程中最大的种子细胞库^[3]。

1. 脂肪干细胞的生物学特性

1.1 脂肪干细胞的基因与蛋白表达

医学界已经证实, 脂肪干细胞能够表达胚胎干细胞以及骨髓间充质干细胞所表达的多种相关基因, 例如: UTF-1、Oct4、Nodal 等。此外, 脂肪干细胞与骨髓间充质干细胞二者间关于有丝分裂、血管生成、分化信号传导通路组成以及基质重塑的基因是共享的, 包括金属蛋白酶、血管内皮生长因子、纤维细胞生长因子以及血小板源性生长因子等^[4]。此外, 有研究表明^[5], 与脂肪干细胞高度转录有关的细胞外基质炎症、重塑、组织修复的基因包括纤维连接蛋白、纤维细胞生长因子受体 3 以及骨结合素等。但是, 脂肪干细胞的扩增培养使得其基因的表达出现了很多复杂性的变化, 由于培养扩增导致了以下基因的表达水平提高:

ACVR1、ACTG2、CCNE1、CDH1、PUM2 等。由于培养扩增, 以下基因的表达水平减低: CDKN1B、INS、WNT6 等。

1.2 脂肪干细胞的鉴定

目前, 国内外的学者对脂肪干细胞进行了深入的研究, 希望找出鉴定脂肪干细胞的有效方法, 但迄今为止尚未发现鉴定脂肪干细胞的金标准。但有相关学者通过流式细胞仪以及免疫组化法对脂肪干细胞进行研究^[6], 结果发现脂肪干细胞与周细胞以及间充质细胞共同拥有许多表面的标记物。脂肪干细胞与周细胞相同的标记物为 α 平滑肌肌动蛋白、神经胶质蛋白多糖 2 等。而与骨髓间充质细胞的共同标记为 CD12、CD29、CD44、CD58 等。此外, 脂肪干细胞在体外增殖许多代后, 后代细胞仍具有十分完好的细胞标志物, 且分化能力也十分强, 因此其成为种子细胞库具有十分大的优势。

1.3 脂肪干细胞的培养与扩增

人体脂肪组织内干细胞的含量极低, 若对脂肪干细胞进行利用, 必须进行体外分离及培养。目前应用最为广泛的增殖方法是使用胶原消化酶, 将已经剪碎的脂肪组织消化, 然后进行离心操作, 将沉淀物用含有胎牛血清的培养液接种在培养瓶内, 并将培养瓶放入 37℃ 的恒温培养箱中培养。24h 后, 去除培养瓶, 使用培养基把未贴壁的细胞漂洗清除, 自此之后每三天更换培养液继续培养。当原代细胞培养 8d 左右, 且生长融合达到了 80% 时, 使用胰酶对组织进行常规消化, 按照 1:3 的比例传代接种到新的培养皿中进行持续的体外扩增培养。对细胞生长过程进行观察记录发现,

作者简介: 农霖 (1974-), 男, 本科, 主治医师。

• 综述 •

细胞在刚贴壁时,其形态大多呈圆形、短棱形以及多角形,且大小各不相同。经过三至四代的培养后,细胞形态逐渐转变为长棱形,且排列较为紧密,呈现出一种旋涡状,胞质与核仁十分的丰富。此外,在对脂肪干细胞进行体外培养的时候,对于血清的选择没有特殊的要求,不需要添加物脂肪干细胞便能较为良好的生长,且进行低温冻存对于细胞的生长以及表型无明显影响。有研究表明,在体外进行培养的脂肪干细胞,其生物学特性能够在培养 13~15 代后,仍然能够保持不变,且衰老以及死亡的细胞只占很小的比例^[7],说明了脂肪干细胞在体外具有较强的扩增以及自我更新能力。

1.4 脂肪干细胞的分化潜能

随着医学界对于脂肪干细胞研究的不断深入,已有大量的报道表明脂肪干细胞在体外和体内均具有分化成多种细胞系的潜能^[8]。脂肪干细胞最早于 2001 年首次从人的脂肪组织中分离出来并实现体外培养,并且成功地实现了在体外环境下向脂肪样细胞、成骨细胞、神经元样细胞、心肌样细胞等多种细胞的定向分化,证实了脂肪干细胞具有多向分化的潜能。此外,影响脂肪干细胞分化的潜能的因素有供体的性别、年龄以及脂肪干细胞的获取部位。相关实验显示,从 GFP 转基因的雌性小鼠中获得的脂肪干细胞要显著多于雄性小鼠。这一现象在人类身上正好相反,从男性体内获得的脂肪干细胞的成骨分化潜能要显著高于女性供体获得的脂肪干细胞。此外,同样的研究还发现^[9],男性供体各个不同的部位所获取的脂肪干细胞分化潜能也各不相同,经腹部抽脂的表层脂肪内获取的脂肪干细胞比深层脂肪内获取的脂肪干细胞的分化速度更快。而这一发现在女性供体上表现的并不明显。同时有研究表明^[10],供体的年龄与脂肪干细胞脂肪的形成潜能无明显影响,但对于成骨潜能却影响较大,二者呈明显的反比例关系,造成这种现象的原因可能与衰老的过程中,不同性别的激素水平变化有关。这些研究为脂肪干细胞的实际应用提供了坚实的数据基础。

2. 脂肪干细胞的应用

2.1 脂肪干细胞在骨组织内的应用

在对于诱导脂肪干细胞向成骨方向的分化研究中,较为常用的体外成骨诱导剂有抗坏血酸、地塞米松等。ADSCs 在受到诱导时,其表面会形成类似于成骨细胞的突起形态,经茜素红染色可以发现细胞内出现钙小结,并表达出 I 型胶原以及磷酸酶。若在体外培养皿内加入成骨蛋白-1,可以更加显著促进细胞钙化结节以及

骨桥蛋白的形成。Qiang 报道表明^[11],脂肪干细胞经成骨培养后,能够表达出多种成骨细胞的相关基因,如 I 型胶原、磷酸酶、骨连接素等。此外,影响脂肪干细胞的成骨因素有多种,具体如下:(1)供体因素。王伟等人经研究表明^[12],供体的部位、性别均直接影响到脂肪干细胞的成骨效果,来自于内脏脂肪组织的脂肪干细胞的成骨能力显著优于皮下脂肪干细胞;男性供体脂肪干细胞成骨能力显著优于女性;但年龄对于脂肪干细胞的成骨能力的影响目前医学界存在一定的争议,但可以肯定的是连续多代增殖的脂肪干细胞成骨能力显著下降,但成骨能力却明显增强。(2)分化诱导因子对于脂肪干细胞的成骨能力存在着较大的影响。有研究表明,骨形成蛋白 2、4 可以显著增强脂肪干细胞的成骨能力。此外,Nicholas 等人的报道表明^[13],富血小板血浆同样具有促进脂肪干细胞体外增殖以及成骨能力的作用,而褪黑激素则具有抑制脂肪干细胞的生长以及成骨分化能力的作用。(3)其他因素。拉伸应变、氧浓度、雌激素以及钙离子浓度等相关因素也能够对脂肪干细胞的成骨能力造成影响。

2.2 脂肪干细胞应用与皮肤创面愈合

Jiang yang 报道^[14],脂肪干细胞可以通过细胞间接触与旁分泌激活来促进成纤维细胞的增殖,在体外及动物活体创伤模型中,粤阅杂悦泽均表现出加速伤口愈合的特性。Nicholas et al^[13]在免疫缺陷小鼠上制造创伤模型,然后分别用脱细胞真皮基质和 ADM 联合 ADSCs 处理伤口,发现脂肪干细胞组的愈合率明显高于对照组,说明脂肪干细胞具有急速伤口愈合的能力

2.3 脂肪干细胞在皮肤整形领域的应用

整形和重建外科中经常应用到皮瓣移植,手术不成功会遇到皮瓣部分坏死甚至全部坏死,脂肪干细胞的运用能提高皮瓣的成活率。Yu Fet al 报道^[15],脂肪干细胞可以为皮瓣增加血供,进而提高了成活率,Jia HY et al 报道^[16],脂肪干细胞可以通过旁分泌减轻自由基对皮肤的伤害,从而导致皱纹的减轻。

3. 存在的问题

(1)由于脂肪干细胞缺乏特异性的细胞表面标志物,因此分离并纯化存在较大困难。(2)脂肪干细胞的体外定向诱导分化机制尚不明确,如何准确的将脂肪干细胞诱导分化是目前首要解决的问题之一。(3)脂肪干细胞的长期体外培养的安全性有待进一步评估。(4)寻找到合适的支架材料是骨组织工程成功的关键。

4 小 结

• 综述 •

脂肪干细胞由于取材方便、来源丰富、患者痛苦小、无伦理纠纷等优点,因此,对其增殖和分化潜能进行深入研究,必将促进外科整形与组织工程领域的发展。但是,培养早期的干细胞具有多向分化的潜能,而培养至晚期则出现老化特征,另外,干细胞诱导液含有的生长因子与肿瘤转移有关,且价格较高,因此,如何高效、廉价、无副作用的诱导干细胞分化是急需解决科技难题。总之,随着和细胞生物学的不断进步,脂肪干细胞的研究必将不断深入,其独特的优越性,必将在整形美容等域及组织工程的构建与骨缺损修复等外科领域,成为一种有效的软组织填充物。

【参考文献】

- [1] Xuefeng, Qiu Jacqueline, Villalta Ludovic, et al. Effects of intravenous injection of adipose-derived stem cells in a rat model of radiation therapy-induced erectile dysfunction[J]. The journal of sexual medicine, 2012, 9 (7) : 1834-1841.
- [2] 黄伟锋, 姜平. 脂肪干细胞在创面愈合中的研究进展及应用前景 [J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32 (1) : 208-209.
- [3] Yazmín, Macotela Brice, Emanuelli Marcelo A, et al. Intrinsic differences in adipocyte precursor cells from different white fat depots[J]. The American Diabetes Association resource guide, 2012, 61 (7) : 1691-1699.
- [4] 景元海, 胡艳波, 常树松等. BMSCs 移植后脊髓损伤大鼠 VEGF 表达的变化 [J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(6) : 814-816.
- [5] 石园园, 杨向群. 脂肪源性干细胞向心肌细胞诱导分化的研究进展 [J]. 组织工程与重建外科杂志, 2014, 1(6) : 351-354.
- [6] Jun, Liu Xiaodong, Wang Qiming, et al. The stimulation of adipose-derived stem cell differentiation and mineralization by ordered rod-like fluorapatite coatings[J]. Biomaterials, 2012, 33 (20) : 5036-5046.
- [7] 古振, 刘芳. 脂肪干细胞在骨组织工程中的研究进展 [J]. 组织工程与重建外科, 2012, 8(1) : 53-55.
- [8] 李佳成, 郭燕珊, 屠美等. 胚胎干细胞条件培养基对人脂肪干细胞增殖及分化能力的影响 [J]. 中山大学学报 (医学科学版), 2014, 35 (2) : 169-176.
- [9] Adipose tissue-derived multipotent stromal cells have a higher immunomodulatory capacity than their bone marrow-derived counterparts[J]. Stem cells translational medicine, 2013, 2 (6) : 455-463.
- [10] 杨杰, 郭能强, 孙家明等. 体外诱导乳房内脂肪来源干细胞向上皮细胞分化的实验研究 [J]. 中华整形外科杂志, 2014, 30 (3) : 209-214.
- [11] Qiang, Yang Yan-hong, Zhao Qun, et al. Novel cartilage-derived biomimetic scaffold for human nucleus pulposus regeneration: a promising therapeutic strategy for symptomatic degenerative disc diseases[J]. Orthopaedic surgery, 2013, 5 (1) : 60-63.
- [12] 王伟, 阿里木江·阿不来提, 艾尔肯·热合木吐拉, 等. 三维打印技术构建仿生人类指骨支架血管化的研究 [J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31 (7) : 1431-1433.
- [13] Nicholas, Bryan Fiona C, Lewis Damian, et al. Evaluation of a novel non-destructive catch and release technology for harvesting autologous adult stem cells[J]. PloS one, 2013, 8 (1) : 539-541.
- [14] Jiangyang, Sun Yufeng, Yuan Haiquan, et al. Serum from hepatectomized rats induces the differentiation of adipose tissue mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells and upregulates the expression of hepatocyte growth factor and interleukin-6 in vitro[J]. International journal of molecular medicine, 2013, 31 (3) : 667-675.
- [15] Yu F, Ji S, Su L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells inhibit activation of hepatic stellate cells in vitro and ameliorate rat liver fibrosis in vivo[J]. J Formos Med Assoc, 2015, 114(2) : 130-138.
- [16] Jia HY, Yu JH, Lei TC, et al. The multi-lineage differentiation and angiogenesis ability of adipose-derived adult mesenchymal stem cells[J]. Clin Lab, 2014, 60(10) : 1747-1755.

脂肪干细胞的生物学特性、分化潜能及应用

作者: [农霖](#)
作者单位: [广西南宁美丽有约美容外科机构, 广西 南宁, 530011](#)
刊名: [中国医疗美容](#)
英文刊名: [China Medical Cosmetology](#)
年, 卷(期): 2015(4)

引用本文格式: [农霖](#) [脂肪干细胞的生物学特性、分化潜能及应用](#)[期刊论文]-[中国医疗美容](#) 2015(4)