

# 脂肪干细胞:细胞治疗的新选择

张迅轶<sup>1,2</sup>综述,刘厚奇<sup>1\*</sup> 审校

(1. 第二军医大学发育生物学研究所,上海 200433;2. 第二军医大学长海医院妇产科,上海 200433)

**[摘要]** 成体干细胞在组织修复和再生中具有强大的优势并已成为一种新型的细胞治疗肢体缺血性疾病的细胞来源。本文阐述了关于脂肪组织来源的基质细胞(adipose tissue-derived stromal cells,ADSCs)在组织重建细胞治疗上的巨大潜能。ADSC最大优点在于能方便取得而且容易在体外培养。体外培养的ADSCs能够在特定条件下诱导成为成熟脂肪细胞、骨细胞、神经细胞和内皮细胞。ADSCs还能分泌一定数量的与细胞成熟有关的细胞因子。另外,近年有报道ADSC具有向心肌细胞分化的能力。这些脂肪组织来源的基质细胞有望在不久的将来取代骨髓细胞成为再生细胞治疗的重要材料。

**[关键词]** 干细胞;脂肪组织;间质干细胞移植;细胞因子类

**[中图分类号]** R 329.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)03-0322-03

## Adipose derived stem cells: a novel option for regenerative cell therapy

ZHANG Xun-yi<sup>1,2</sup>, LIU Hou-qi<sup>1\*</sup> (1. Research Institute of Developmental Biology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

**[ABSTRACT]** Adult stem cells have great advantage in tissue reconstruction and regeneration. Transplantation of autologous stem cells into ischemic tissue is a novel therapeutic option for ischemic disorders. This review summarizes the potential role of adipose tissue-derived stromal cells (ADSC) on regenerative cell therapy for ischemic diseases. ADSC can be readily harvested and cultured; under specific condition, they can be induced to differentiate into adipocytes, bone, neurons, and endothelial cells. Moreover, ADSC can secrete a number of angiogenesis-related cytokines which might be suitable for regenerative cell therapy. It has also been reported that ADSC could differentiate into myocardiocytes. ADSC might be an important material for regenerative cell therapy in the near future, replacing bone marrow cells.

**[KEY WORDS]** stem cells; adipose tissue; mesenchymal stem cell transplantation; cytokines

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(3): 322-324]

在成体组织或器官中,许多细胞仍具有自我更新及分化产生不同组织细胞的能力。所以,人们推测在成体中存在一些能起新旧更替作用的成体干细胞。近年来,由于细胞生物学和分子生物学的发展,科学家已成功鉴定或分离了多种成体组织干细胞。其中脂肪来源的成体干细胞由于其取材的便利、规避了许多伦理问题,并且同样具有多向分化的潜能等众多干细胞特性,已成为研究的热点。

### 1 骨髓基质细胞与脂肪组织来源的基质细胞简介

干细胞在组织修复和重建中具有强大的作用。近年来,骨髓基质细胞(marrow stromal cells, MSCs)或称间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)一直都是研究的焦点,人们对其生物学特性做了详尽地描述和研究<sup>[1,2]</sup>。MSCs能向各细胞系分化,包括骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、平滑肌细胞、血管内皮细胞及神经细胞等<sup>[3-6]</sup>。然而,从脂肪组织分离得到的脂肪基质细胞(ADSCs)在可塑性及治疗潜力方面较MSC有明显优势,近来正受到越来越多的关注<sup>[5,7]</sup>。脂肪组织正成为一种来源丰富的,应用前景广泛的可用于自体组织修复和重建的干细胞来源的组织。

### 2 脂肪组织来源的基质细胞的特性

已经证实存在于皮下脂肪组织中的间充质干细胞显示出能朝多种细胞系方向分化的能力<sup>[7-9]</sup>。这些细胞可被称为抽脂术细胞(processed lipoaspirate cells, PLAs)、脂肪来源干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)、脂肪来源基质细胞(adipose-derived stromal cells, ADSCs)、脂肪来源的间充质祖细胞(adipose-derived progenitor cells)或惯用的前脂肪细胞。对于这群细胞命名的多样性正表明了人们对这群细胞解剖来源、生物学特性以及功能缺少统一的认识。我们暂称这群细胞为脂肪来源基质细胞(adipose-derived stromal cells; ADSCs)正反映了他们的组织来源及生物学特性<sup>[10]</sup>。

在ADSC和MSC之间有明显相似的特征,它们代表了各自来源的特性(前者来自皮下组织,后者来自骨髓)。MSC的一些生物学表型在ADSC早期表达,分析C57BL/6小鼠

**[基金项目]** 全军“十一五”科技攻关项目(06G62)。Supported by the “11th-Five-Year Plan” Scientific and Technological Project(06G62)。

**[作者简介]** 张迅轶,硕士。

\* Corresponding author. E-mail: houqiliu@163.com

ADSC 表面标志分子,其中 Sca1(ly-6A/E)和 CD44 阳性表达而 c-kit、Lin、CD11b、CD31、CD34、CD45 为阴性<sup>[10]</sup>;最近的研究发现 C57BL/6 小鼠 MSC 表面标志分子中 Sca1 和 CD34 高表达,而 c-kit、Lin、CD11b、CD31、CD45 为阴性<sup>[11]</sup>。这提示了 ADSC 与 MSC 是类似的细胞种群,但没有造血干细胞特性<sup>[12]</sup>。

脂肪组织能够分泌一定数量的细胞因子,用实时定量 PCR 的方法观察到 ADSC 高表达的细胞因子有肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胎盘生长因子(placental growth factor, PGF)、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ),中等表达的因子有成纤维细胞生长因子-2(fibroblast growth factor-2, FGF-2)、血管生成素-1(angiotensin-1, Ang-1),低表达的因子有 Ang-2<sup>[13-14]</sup>。Katz 等<sup>[8]</sup>在 3 名互相隔离的志愿者体内取得 ADSC,并利用生物芯片的方法来检测与细胞外基质和血管生成素有关的基因,大量表达有重要功能蛋白的基因被转录,他们能表达的蛋白有细胞黏附分子、细胞基质蛋白、生长因子及其受体以及蛋白酶等,这些在 ADSC 内发生的转录产物与骨髓来源的间充质干细胞有很多相似性。值得一提的是,最新的研究发现 ADSC 的表面标志分子会随着培养时间的延长而有所改变。另外有学者认为人 ADSC 存在 3 种固有的干细胞表面标志分子:CD34、CD133(通常认为是造血干细胞和血管内皮祖细胞的表面标志分子)以及 ABCG2(近来被认为是早期干细胞的特异分子),流式细胞术检查也表明超过 90% 的 ADSC 的 CD34 为阳性表达<sup>[15]</sup>。这些结果证实了原代培养的 ADSC 存在有造血干细胞以及内皮祖细胞的标志分子(例如 CD45、CD14、CD133、CD34),培养 3~5 d 后显著下降。

### 3 自体细胞治疗的临床应用

目前,通过刺激间接相连的脉管管腔来使其生长的治疗性脉管组织重建是一种最有前途和希望的治疗方法<sup>[16-17]</sup>。在动物模型及人类的肢体缺血性疾病中,一些在血管生长过程中有治疗潜能的基因分子已经被报道<sup>[18-19]</sup>。最近,骨髓基质细胞或内皮祖细胞的自体移植已被证实能刺激外周血管的生长,并且在发生缺血的四肢、视网膜或心肌组织,这些移植细胞能与移植处的脉管生长融为一体<sup>[20]</sup>。这些骨髓来源的单核细胞拥有多种间充质干细胞特性<sup>[21]</sup>并且分泌多种促进和抑制脉管生长的细胞因子,例如在脉管生成过程中起重要作用的 IL-1 $\beta$ <sup>[22]</sup>。

通过在一个后肢缺血的小鼠模型体内注射 ADSC 及骨髓细胞来评价治疗效果。在 ADSC 作用组,脉管生成评分明显提高(血流的检测是通过激光多普勒绘图,毛细血管密度是通过抗 CD31 免疫组化检测)。在啮齿动物,ADSC 中也有造血系干细胞特性的表现,一个来源于人脂肪组织的 ADSC 细胞株同样表达 CD34<sup>[23]</sup>。这些细胞能分化成内皮细胞并且参与脉管管腔的形成,证实了脂肪来源的细胞有影响血管

再形成的潜力<sup>[15]</sup>。这些结果显示,来自脂肪组织的干细胞能用直接注射的方法在缺血的后肢重建血管,但其作用机制有几种,一部分干细胞能被诱导分化成脉管上皮细胞,而注射进的大部分干细胞能通过缺血区域自分泌或旁分泌的途径来上调一些促进脉管生成的细胞因子的表达。然而,体内注射细胞这种治疗方式并不是严格按照自然规律来融合细胞,并且干细胞在一定的培养条件下也具有转变为其他目的组织的可能。

最近有报道表示 ADSC 也可以像骨髓基质细胞一样被诱导成心肌细胞<sup>[24]</sup>,这样就可以使细胞重生而成为治疗严重心肌疾病的有效方法。然而,骨髓基质细胞在体内真正的分化能力及对心肌细胞作用仍有争议。我们必须仔细观察存活的细胞是“细胞分化”还是“细胞融合”,以及在注射入心肌后干细胞的存活时间。并且要对干细胞移植是一种“再生细胞治疗”亦或是“基于细胞的因子治疗”做进一步探讨。

ADSC 在再生治疗方面有非常广阔的应用前景,骨髓干细胞在数量上的稀缺给骨髓间充质干细胞的移植造成了限制。有报道表明体外培养的外周血内皮干细胞,每 100 ml 全血能增殖  $5.0 \times 10^6$  个,然而在异体移植,受体每克体质量需要  $(0.5 \sim 2.0) \times 10^4$  的内皮祖细胞才能达到满意的细胞治疗量<sup>[25]</sup>。而每个成人能获得的用于治疗性血管再生的骨髓量大约在 500 ml 左右,这给骨髓干细胞移植带来了很大的限制。利用 ADSC 最大的优点是能够通过微创的方法从人体得到,并且体外容易培养。另外,ADSC 增殖迅速,1 周内可传 10 代,长期培养传代的细胞仍表达 Sca1 和 CD44 并保持多能分化特性,这些都证实 ADSC 可用于组织再生治疗及心肌疾病治疗的新型细胞来源<sup>[26]</sup>。

### [参考文献]

- [1] Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomized controlled trial[J]. *Lancet*, 2002, 360: 427-435.
- [2] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium[J]. *Nature*, 2001, 410: 701-705.
- [3] Erickson G R, Gimble J M, Franklin D M, et al. Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290: 763-769.
- [4] Safford K M, Hicok K C, Safford S D, et al. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 294: 371-399.
- [5] Halvorsen Y D, Franklin D, Bond A L, et al. Extracellular matrix mineralization and osteoblast gene expression by human adipose tissue-derived stromal cells[J]. *Tissue Eng*, 2001, 7: 729-741.
- [6] 余方圆,卢世璧,袁 玫,等.脂肪干细胞向软骨细胞方向诱导的初步研究[J] *中国矫形外科杂志*, 2004, 12: 762-764.
- [7] Zuk P A, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a

source of multipotent stem cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2002, 13: 4279-4295.

[8] Katz A J, Tholpady A, Tholpady S S, et al. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells[J]. *Stem Cells*, 2005, 23: 412-423.

[9] 胡铁霞,李祖兵. 新型骨组织工程种子细胞——脂肪干细胞的研究进展[J]. *国外医学·口腔医学分册*, 2005, 32: 13-15.

[10] Nakagami H, Maeda K, Morishita R, et al. Novel autologous cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion by cultured adipose tissue-derived stromal cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 2542-2547.

[11] Peister A, Mellad J A, Larson B L, et al. Adult stem cells from bone marrow in surface epitopes, rates of proliferation, and differentiation potential [J]. *Blood*, 2004, 103: 1662-1628.

[12] 刘相名,杨立业,苗宏生,等. 脂肪组织来源的多能干细胞培养和外源性基因的表达[J]. *中华实验外科杂志*, 2003, 20: 162-163.

[13] Rehman J, Considine R V, Bovenkerk J E, et al. Obesity is associated with increased levels of circulating hepatocyte growth factor[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41: 1408-1413.

[14] Rehman J, Traktuev D, Li J, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells[J]. *Circulation*, 2004, 109: 1292-1298.

[15] Planat-Benard V, Silvestre J S, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives [J]. *Circulation*, 2004, 109: 656-663.

[16] Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease[J]. *Nat Med*, 2003, 9: 653-660.

[17] Freedman S B, Isner J M. Therapeutic angiogenesis for ischemic cardiovascular disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33: 379-393.

[18] Freedman S B, Isner J M. Therapeutic angiogenesis for coronary artery disease[J]. *J Card Surg*, 2002, 17: 350-354.

[19] Morishita R, Aoki M, Hashiya N, et al. Safety evaluation of clinical gene therapy using hepatocyte growth factor to treat peripheral arterial disease[J]. *Hypertension*, 2004, 44: 203-209.

[20] Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration[J]. *Nat Med*, 2003, 9: 702-712.

[21] Prockop D J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues[J]. *Science*, 1997, 276: 71-74.

[22] Maruyama K, Mori Y, Murasawa S, et al. Interleukin-1 beta upregulates cardiac expression of vascular endothelial growth factor and its receptor KDR / flk-1 *via* activation of protein tyrosine kinases[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1999, 31: 607-617.

[23] Miranville A, Heeschen C, Sengenès C, et al. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells[J]. *Circulation*, 2004, 110: 349-355.

[24] Planat-Benard V, Menard C, Andre M, et al. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stromal cells [J]. *Circ Res*, 2004, 94: 223-229.

[25] Kalka C, Masuda H, Takahashi T, et al. Transplantation of *ex vivo* expanded endothelial progenitor cells of therapeutic neovascularization[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 3422-3427.

[26] 孙庆仲,闫国艳,李正维,等. 前脂肪细胞凝胶植入预防腰椎术后硬膜外瘢痕粘连的实验研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2003, 11: 970-972.

[收稿日期] 2006-11-21 [修回日期] 2007-02-09

[本文编辑] 尹 荼

(上接第 317 页)

