

immunogenic major histocompatibility complex class I negative A9P melanoma J. J Immunotherapy 2000, 23(4): 430-437

[14] Salih HR, Schmeitner HM, Burke C, et al. Soluble CD137 (4-1BBL) ligand is released following leukocyte activation and is found in sera of patients with hematological malignancies J. J Immunol 2001, 167(7): 4 059-4 066

[15] Yan X, Johnson BD, Orentas RJ, et al. Murine CD8 lymphocyte expansion in vitro by artificial antigen-presenting cells expressing CD137L 4-1BBL is superior to CD28 and CD137L(41-BBL) expressed on neuroblastoma expands CD8 tumour reactive effector cell in vivo J. Immunotherapy 2004 112(1): 105-116

[16] Mogi S, Sakurai J, Kohsaka T, et al. Tumour rejection by gene transfer of 4-1BB ligand into a CD80(+) murine squamous cell carcinoma and the requirements of costimulation molecules on tumour and host cells J. Immunology 2000 101(4): 541-547

[17] Salih HR, Nuessler V, Denlinger C, et al. Serum levels of CD137 ligand and CD178 are prognostic factors for progression of

myeloid/splastic syndrome J. Leuk Lymphoma 2004 45(2): 301-308

[18] Zhang H, Merchant MS, Chua KS, et al. Tumour expression of 4-1BB ligand sustains tumoric T cells J. Cancer Biol Ther 2003 2(5): 579-586

[19] Guinn B, Debenedette MA, Watts TH, et al. 4-1BBL cooperates with B7-1 and B7-2 in converting a B cell lymphoma cell line into a long-lasting antitumor vaccine J. J Immunol 1999 162(8): 5 003-5 010

[20] Chen SH, Phan-Nguyen KB, Martinet Q, et al. Rejection of disseminated metastases of colon carcinoma by synergism of IL-12 gene therapy and 4-1BB costimulation J. Mol Ther 2000 2(1): 39-46

[21] Xu D, Gu P, Pan PY, et al. NK and CD8+ T cell mediated eradication of poorly immunogenic B₆-F10 melanoma by the combined action of IL-12 gene therapy and 4-1BB costimulation J. Int J Cancer 2004, 109(4): 499-506

[文章编号] 1000-2200(2007)03-0369-02

·综述·

脂肪组织来源的基质细胞与血管新生

吴 维, 余继海 综述, 胡何节 审校

[关键词] 脂肪组织; 基质细胞; 血管新生; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 329 [文献标识码] A

脂肪组织来源的基质细胞(adipose tissue derived stromal cells, ADSC),在一定条件下可以诱导分化为脂肪细胞等中胚层细胞,甚至可以分化成外胚层的神经元细胞。近年来的研究表明,ADSC还可以诱导分化成血管内皮细胞,促进血管新生。本文就这方面的进展进行综述。

1 脂肪组织中存在成体干细胞

脂肪组织中脂肪细胞可分为在胞质内积聚脂滴的成熟脂肪细胞和未在胞质内积聚脂滴但有这种潜能的前体脂肪细胞两种类型。前体脂肪细胞具有分裂和增殖的能力,在一定的条件下可以转化为成熟的脂肪细胞,具有成体干细胞的特性。Poznański^[1]、Van等^[2-4]学者的研究形成了完整的前体脂肪细胞的理论。将切下的脂肪组织用胶原酶处理,再将组织悬液离心,其中的沉淀物基质血管成分(stromal vascular fraction, SVF)即为前体脂肪细胞,该细胞具有增殖和向成熟脂肪细胞分化的潜能。通过脂肪整容术在人体脂肪组织中获取的成纤维样细胞称为PLA(processed lipoprotein)细胞,免疫荧光和流式细胞术分析表明,PLA细胞来源于基质或中胚层,伴有少量的周细胞、内皮细胞和平滑肌细胞,PLA细胞在体外培养条件下可以分化为脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞等,具有成体干细胞多向分化的特性^[5]。目前文献上所提到的脂肪组织中存在ADSC主要包括上述两类细胞。

2 ADSC的多胚层分化潜能

ADSC类属于多能干细胞,诸多研究证明,它不仅在脂肪

组织中能分化为成熟的脂肪细胞,而且具有可塑性和转分化能力,即在特异性细胞因子的作用下具有向外胚层和中胚层其它细胞分化的能力。

2001年,Zuk等^[6]首先报道,从患者臀部和大腿皮下抽取少量脂肪,获取PLA细胞,结果发现240g左右的脂肪组织能够产生 $5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 个干细胞,进一步表明这些干细胞具有发育为健康软骨、骨和肌肉的能力,从而认为脂肪组织中存在干细胞这一发现可能成为干细胞的重要来源。

Erickson等^[7]对经人皮下脂肪抽吸术获取的ADSC在体外培养条件下可以大量合成软骨基质成分胶原II、VI和硫酸软骨素;裸鼠皮下细胞移植后第4周和第8周,经免疫组织化学分析提示软骨基质成分显著增加。Planat-Benard等^[8]在体外培养的ADSC中加入5氮杂胞苷(5-azacytidine),可见到少量跳动的细胞,早期培养阶段尚可见到细胞同步跳动现象,加入肾上腺素激动药物能刺激细胞跳动节律。这些研究表明,ADSC可以分化为中胚层的组织细胞。

新近又有实验证实,ADSC可以分化为外胚层的神经样细胞。Ashjian等^[9]将人未分化PLA细胞体外培养2周,发现其中20%~50%分化为神经样细胞,随着培养时间的延长,这些细胞可以表达神经元特异性的烯醇化酶、神经生长因子受体trk-A和波形蛋白。

3 ADSC与血管新生

既然ADSC具有跨胚层分化潜能,在一定条件下可以分化为中胚层甚至外胚层组织细胞,那么ADSC是否也具有分化为血管内皮细胞的能力呢?近年研究表明,ADSC可以分

[收稿日期] 2005-11-10

[作者单位] 安徽医科大学附属省立医院 血管外科,安徽 合肥 230001

[作者简介] 吴 维(1974-)男,硕士研究生。

化为内皮前体细胞,促进血管生成。

3.1 ADSC具有与骨髓来源间充质干细胞(MSC)相似的表型 已知骨髓中存在间充质干细胞,在一定的条件下可以诱导分化为血管内皮前体细胞和血管内皮细胞,促进血管生成。在体外培养条件下,ADSC的表型与MSC具有很多相似点。

Gronthos等^[10]运用流式细胞术和免疫组织化学分析显示,ADSC和MSC表现为共同的蛋白表达:CD9 CD10 CD13 CD29、CD34 CD44 CD49(d)、CD49(e) CD54 CD55 CD59 CD105 CD106 CD146和 CD166 进一步运用PCR和免疫斑点杂交技术证实,二者具有相似的细胞表型。Aust等^[11]采用流式细胞术检测ADSC表面标志物,发现CD10、CD13 CD29、CD44、CD49、CD59 CD90和HLA-ABC阳性表达,而造血干细胞标志物CD45阴性表达,说明ADSC并非来源于循环中的骨髓造血干细胞。

de Ugarte等^[12]则比较了从同一病人体内获取的ADSC和MSC在贴壁细胞生长、细胞老化、多系分化潜能以及基因传导能力等方面,二者无显著差异。由于体内脂肪组织含量丰富,且易于从中获取ADSC因此其有望和MSC一样为细胞治疗、组织工程和基因治疗提供良好的载体细胞。

3.2 ADSC含有促进血管生成的前体细胞 Planat-Benard等^[13]将人SVF移植到免疫缺陷小鼠后肢缺血部位,SVF分化为血管内皮细胞,掺入到血管壁,在体外血管模型Matrigel中可以促进血管生成和血管样结构形成。这些SVF细胞表达CD34和CD133分化抗原,在半固体培养基中表达内皮细胞特异性标志物CD31和VEGF 同时,一个令人感兴趣的发现是去分化成熟的脂肪细胞具有在体外培养条件下快速获得内皮细胞表型的潜能,促进缺血组织血管生成。从而,首次证实了SVF具有促血管生成的能力,脂肪细胞和内皮细胞拥有共同的前体细胞。

Miranville等^[14]由人体脂肪组织获取SVF经特殊分选法获得CD34⁺/CD31⁻细胞,在体外可分化为内皮细胞,注入裸鼠后肢缺血部位能使局部血流灌注和血管密度增加,内皮细胞掺入到新生血管中。这表明脂肪组织来源的ADSC具有内皮前体细胞的特性,在缺血性疾病的细胞治疗中可能是一种新的干细胞来源。

3.3 ADSC分泌促血管生成因子和凋亡抑制因子 Rehman等^[15]从人皮下脂肪组织中分离出ADSC,运用流式细胞术分析新分离出的细胞表达CD34 在内皮细胞培养基中培养,ADSC分泌VEGF(1.203 ± 254) $\text{pg}/10^6$ 个细胞、HGF(12.280 ± 944) $\text{pg}/10^6$ 个细胞、TGF(1247 ± 346) $\text{pg}/10^6$ 个细胞。在低氧培养条件下,VEGF分泌增加5倍至(5.980 ± 1.066) $\text{pg}/10^6$ 个细胞。低氧环境能显著促进内皮细胞的生长,并减少细胞凋亡。同时,局部注入ADSC后,缺血后肢裸鼠血流灌注改善。由此可见,ADSC分泌的细胞因子在促血管生成方面具有协同效应,且在缺氧环境中进行调节,对缺血性疾病的治疗是一个理想的选择。

4 结语

临床缺血性疾病的治疗和处理,在无流出道而无法进行旁路手术的情况下可以考虑进行基于干细胞移植的细胞治

疗。骨髓来源的骨髓间充质干细胞移植已经证明可成功改善缺血组织器官的血流灌注,促进血管生成。但是,骨髓来源的骨髓间充质干细胞由于取材较困难,且存在细胞数量少等原因使其临床应用受到限制。脂肪组织中存在成体干细胞,由于人体脂肪含量丰富,取材方便,不存在免疫排斥,有可能替代骨髓间充质干细胞为人类的组织工程和细胞工程提供自体资源,在临床一些疾病治疗中具有广阔的应用前景。

[参 考 文 献]

- [1] Poznanski W J, Waheed J, Van R. Human fat cell precursors: Morphologic and metabolic differentiation in culture[J]. *Lab Invest* 1973, 29(5): 570—576
- [2] Van RL, Bayliss CE, Roncari DA. Cytological and enzymological characterization of adult human adipocyte precursors in culture [J]. *J Clin Invest* 1976, 58(3): 699—704
- [3] Van RL, Roncari DA. Complete differentiation of adipocyte precursors[J]. *Cell Tissue Res* 1978, 195(2): 317—329.
- [4] Van RL, Roncari DA. Complete differentiation in vivo of implanted cultured adipocyte precursors from adult rats[J]. *Cell Tissue Res* 1982, 225(3): 557—566.
- [5] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells[J]. *Mol Biol Cell* 2002, 13(12): 4279—4295
- [6] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H et al. Multilineage cells from human adipose tissue[J]. *Tissue Eng* 2001, 7(2): 211—228
- [7] Erickson GR, Gimble M, Franklin DM et al. Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 290(2): 763—769
- [8] Planat-Benard V, Menard C, Andre M et al. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells [J]. *Circ Res* 2004, 94(2): 223—229.
- [9] Ashjian HJ, Elbarbary AS, Edmonds B et al. In vitro differentiation of human processed liposuspitate cells into early neural progenitors[J]. *Plast Reconstr Surg* 2003, 111(6): 1922—1931.
- [10] Gronthos S, Franklin DM, Ledy HA et al. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells [J]. *J Cell Physiol* 2001, 189(1): 54—63.
- [11] Aust L, Devlin B, Foster SJ et al. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates[J]. *Cytherapy* 2004, 6(1): 7—14
- [12] De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A et al. Comparison of multilineage cells from human adipose tissue and bone marrow [J]. *Cells Tissues Organs* 2003, 174(3): 101—109
- [13] Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells[J]. *Circulation* 2004, 109(5): 659—663
- [14] 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.
- [15] Rehman J, Trakuev D, Li J et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells[J]. *Circulation* 2004, 109(10): 1292—1298