

骨组织工程中脂肪间充质干细胞的作用

贾经汉, 张志, 王向鹏, 邹冬青

Role of adipose-derived mesenchymal stem cells in bone tissue engineering

Jia Jing-han, Zhang Zhi, Wang Xiang-peng, Zou Dong-qing

Department of
Orthopaedics,
Affiliated Ruikang
Hospital of Guangxi
Traditional Chinese
Medical University,
Nanning 530011,
Guangxi Zhuang
Autonomous Region,
China

Jia Jing-han, Chief
physician,
Department of
Orthopaedics,
Affiliated Ruikang
Hospital of Guangxi
Traditional Chinese
Medical University,
Nanning 530011,
Guangxi Zhuang
Autonomous Region,
China
jia_jing_han@yahoo.
com.cn

Correspondence to:
Zhang Zhi,
Department of
Orthopaedics,
Affiliated Ruikang
Hospital of Guangxi
Traditional Chinese
Medical University,
Nanning 530011,
Guangxi Zhuang
Autonomous Region,
China
zhangzhiym@qq.com

Received: 2009-08-22
Accepted: 2009-11-20

Abstract

BACKGROUND: At present, bone defects usually repaired by autologous bone, allogenic bone, synthetic bone substitutes and other methods, which received poor clinical results. Preliminary studies have shown that adipose-derived mesenchymal stem cells (ADSCs) possess strong proliferation ability and differentiation potential, and can be induced differentiate into bone.

OBJECTIVE: To analyze the application of ADSCs in bone tissue engineering, and to identify whether ADSCs can be used as seed cells in bone tissue engineering.

METHODS: The databases of PubMed (1999-01/2008-12) and Tongfang (2003-01/2008-12) was retrieved using key words of "adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, adipose mesenchymal stem cells, adipose stem cell; osteogenic induction, osteogenic inducement, bone induction, osteoblastic induced; chondroblast induction, cartilage induction; bone tissue engineering, tissue engineering bone, tissue engineering of bone".

RESULTS AND CONCLUSION: A total of 361 literatures were collected, including 246 in Chinese and 115 in English. Totally 29 literatures were accordant with the study criteria. ADSCs is a truly multi-directional differentiation potential cells, which possess strong amplification and self-renewal potential, and can be directional differentiated into osteoblasts, cartilage cells, bone cells and muscle cells. It can be used as seed cells in bone tissue engineering when matching appropriate stents.

Jia JH, Zhang Z, Wang XP, Zou DQ. Role of adipose-derived mesenchymal stem cells in bone tissue engineering. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(1): 166-170. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 目前常采用在骨缺损处充填自体骨、异体骨、人工合成骨替代品等方法进行骨缺损修复,但临床效果均不理想。研究表明脂肪间充质干细胞具有多种分化能力及很强的增殖潜力,可将其诱导分化成骨。

目的: 分析脂肪间充质干细胞在骨组织工程中的应用情况,以明确脂肪间充质干细胞是否可以作为骨组织工程中的种子细胞。

方法: 应用计算机检索 Medline 数据库(1999-01/2008-12),以 adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, adipose mesenchymal stem cells, adipose stem cell; osteogenic induction, osteogenic inducement, bone induction, osteoblastic induced; chondroblast induction, cartilage induction; bone tissue engineering, tissue engineering bone, tissue engineering of bone 为检索词;应用计算机检索清华万方数据库(2003-01/2008-12),以脂肪间充质干细胞、成骨诱导、成软骨诱导、骨组织工程为检索词。

结果与结论: 共收集 361 篇关于脂肪间充质干细胞与骨组织工程相关的文献,中文 246 篇,英文 115 篇。排除发表时间较早、重复及类似研究,纳入 29 篇符合标准的文献。脂肪间充质干细胞体外扩增和自我更新能力很强,传代培养易于获得大量有分化能力的细胞,是真正意义上的具有多向分化潜能的干细胞,脂肪间充质干细胞在一定的培养条件下,可定向分化为成骨细胞、软骨细胞及骨细胞和肌肉细胞,配合合适的支架后可以应用到骨组织工程中,可以作为骨组织工程中的种子细胞。

关键词: 脂肪间充质干细胞;成骨诱导;成软骨诱导;骨组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.01.035

贾经汉, 张志, 王向鹏, 邹冬青. 骨组织工程中脂肪间充质干细胞的作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(1):166-170. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

将已知具有成骨作用的诱导剂应用于骨组织工程中诱导干细胞成骨,是近年来骨组织工程研究的一个主要课题。

骨缺损是临床常见问题,目前常用在缺损处充填自体骨、异体骨、人工合成骨替代品等方法进行修复,临床效果均不十分理想,因此如何更好地修复缺损的骨组织,成为修复重建外科领域关注的热点。

骨组织工程现代组织工程学的研究发展,为骨修复与再生提供了合乎生物学原则的思路,对组织器官的修复与替代产生划时代意义。

多种组织的分化,包括骨组织,均涉及过程繁杂的祖细胞衍变,这一认识激发人们去寻找多种分化潜能的祖细胞,并发现了脂肪间充质干细胞,其有多种分化能力及很强的增殖潜力,可诱导分化成骨。

文章对脂肪间充质干细胞在骨组织工程中的应用情况进行综述。

1 资料和方法

纳入与排除标准:

设计类型: 关于脂肪间充质干细胞与骨组织工程应用相关的文章。

结局测量指标: ①脂肪间充质干细胞培养的鉴定。②脂肪间充质干细胞成骨诱导情况。③脂肪间充质干细胞成软骨诱导情况。

检索策略:

以adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, adipose mesenchymal stem cells, adipose stem cell; osteogenic induction, osteogenic inducement, bone induction, osteoblastic induced; chondroblast induction, cartilage induction; bone tissue engineering, tissue engineering bone, tissue engineering of bone为检索词, 检索Medline数据库(1999-01/2008-12)。

以脂肪间充质干细胞、成骨诱导、成软骨诱导、骨组织工程为检索词, 检索CNKI数据库(2003-01/2008-12)。

文献检索语种限制为英文和中文。

资料提取与文献质量评价:

资料提取: 由3名评价员分别仔细阅读所获文献文题、摘要和全文, 以确定符合纳入标准的文献。

文献质量评价: 对每一篇符合纳入标准的文献进行以下几个方面的评价: ①随机分配方法。②是否采用盲法评估。文献筛选和质量评价由4位研究者独立进行并交叉核对, 如有分歧, 则通过讨论或由第1位研究者协助解决。

2 结果

2.1 文献检索结果及质量评价 计算机初检得到361篇文献, 中文246篇, 英文115篇。阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与此文无关的105篇, 内容重复性的研究194篇, Meta分析33篇, 共保留29篇文献进行综述。

2.2 文献证据综合提炼

脂肪间充质干细胞的生物学特性: 脂肪间充质干细胞与骨髓基质干细胞均属于来自中胚层的成体干细胞, 因此具有较为相似的生物学特性。De Ugarte等^[1]发现两种干细胞在生长动力学、细胞老化、基因转染和细胞黏附特性等方

面没有明显差别。在原代培养中, 脂肪间充质干细胞的平均倍增时间为60 h, 经过5~7 d进入快速增殖期, 传代后48 h能够达到融合, 经165 d长期培养增殖速度没有降低并表现低水平衰老, 1代时细胞没有出现衰老现象, 10代时少于5%细胞出现衰老, 15代时仍低于15%^[2], 这表明脂肪间充质干细胞体外扩增和自我更新能力很强, 传代培养易于获得大量有分化能力的细胞。

脂肪间充质干细胞表面表达多种黏附相关蛋白及信号转导途径相关蛋白, 其表现出来的免疫表型也与骨髓基质干细胞相似。其中代表具有多向分化潜能的标志CD105, Stro-1, CD166在两种干细胞上均有表达; 均不表达造血系的标志CD45和内皮标志CD31。不同之处是脂肪间充质干细胞表达CD49d但不表达CD106, 而骨髓基质干细胞与之相反; 少于1%的脂肪间充质干细胞表达HLA-DR, 但大多数脂肪间充质干细胞表达MCH-1^[3], 这些特征表明脂肪间充质干细胞还可以应用到同种异体移植。

对脂肪间充质干细胞进行克隆分析表明, 52%的细胞克隆表现出两个或3个方向的分化潜能, 目前已证实脂肪间充质干细胞能够向中胚层细胞系包括脂肪、软骨、骨、肌肉和其他胚层细胞系包括神经、内皮等转化^[4]。这些都有力说明了脂肪组织来源的干细胞是真正意义上的具有多向分化潜能的干细胞, 而不是多种单能祖细胞群的简单混杂。

向成骨细胞方向分化: 脂肪间充质干细胞体外定向成骨是指将纯化、扩增的脂肪间充质干细胞在一定的培养条件下, 定向分化为成骨细胞及骨细胞, 在培养皿上形成类骨组织即骨结节。将脂肪间充质干细胞置入含体积分数为10%胎牛血清、0.1 μmol/L地塞米松、50 μmol/L抗坏血酸磷酸酯、10 mmol/L磷酸甘油的DMEM培养基中培养4~6周, 4 d时细胞由梭形变为正方形, 2周时碱性磷酸酶活性持续增高, 3周时骨钙素分泌增加两三倍, 4周时出现大量钙化细胞外基质。Halvorsen等^[5-6]进一步用RT-PCR技术检测, 发现成骨培养6~18 d, 细胞外基质中出现成骨相关基因的表达产物, 包括I型胶原蛋白、BMP-2、BMP-4及BMP受体I A, I B, II, 可见脂肪间充质干细胞具有向成骨细胞系分化的能力。

Zuk等^[2]通过实验发现: 在向成骨方向诱导4 d后, 脂肪间充质干细胞的形态开始发生变化, 由一个狭长的类成纤维细胞形态转变为一

广西中医学院附属瑞康医院骨科, 广西壮族自治区南宁市 530011

贾经汉, 男, 1953年生, 河南省南阳市人, 汉族, 广西中医学院毕业, 主任医师, 主要从事骨质疏松症和腰椎间盘突出症中医药治疗方面的研究。
jia_jing_han@yahoo.com.cn

通讯作者: 张志, 广西中医学院附属瑞康医院骨科, 广西壮族自治区南宁市 530011
zhangzhiym@qq.com

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225(2010)01-00166-05

收稿日期: 2009-08-22
修回日期: 2009-11-20
(20090822006/ZS-Z)

种圆形、立体的形状; 7 d后, 这些细胞开始分泌出岛状的细胞外基质; 2周后内源性碱性磷酸酶染色阳性并形成矿化结节。从第2~4周, 培养孔中钙化的细胞外基质的量明显增加, 具有统计学意义。而且, 脂肪间充质干细胞向成骨细胞分化的能力可以维持相当长的时间, 其表达碱性磷酸酶活性最迟可达培养的175 d。研究证明了脂肪间充质干细胞向成骨细胞分化的能力。

Lee等^[7]进一步将此种诱导所得的小鼠成骨细胞作为种子细胞放入聚羟基乙酸支架中, 再植入小鼠体内, 经过4~8周通过免疫组化分析, 可以观察到植入部位成骨过程的发生。这证明了脂肪间充质干细胞能在体内和体外分化为成骨细胞。

Dragoo等^[8]将Lewis大鼠脂肪间充质干细胞接种于聚乳酸/聚乙醇酸共聚物支架上, 植入裸鼠背部皮下肌袋内培养, 成功生成组织工程骨, 这是首次利用脂肪间充质干细胞体内培养成骨的实验报道。后来, 他们将脂肪间充质干细胞诱导为成骨细胞和成软骨细胞, 并且在植入体内后分别形成了透明软骨和骨组织。Hicok等^[9]将脂肪间充质干细胞植入严重的联合型免疫缺陷病大鼠皮下, 其定性分析结果表明, 细胞/支架复合体中有骨样组织形成, 而对照组(未接种细胞)则没有, 首次证实脂肪间充质干细胞具有异体成骨能力。Dudas等^[10]将兔脂肪间充质干细胞接种到明胶海绵支架上体外培养之后植入头盖骨缺损处, 术后6周成功修复头盖骨缺损。

郝伟等^[11]用脂肪间充质干细胞经体外成骨诱导分化鉴定后, 使用 I 型胶原凝胶将其悬浮并与三维多孔支架聚乳酸/聚乙醇酸共聚物-β-TCP复合, 从而构建成脂肪间充质干细胞-I 型胶原凝胶/聚乳酸/聚乙醇酸共聚物-β-TCP骨组织工程复合体, 体外成骨诱导培养2周, 实验以脂肪间充质干细胞/聚乳酸/聚乙醇酸共聚物-β-TCP材料复合体作为对照。扫描电镜观察复合情况, 并对脂肪间充质干细胞的增殖以及成骨诱导分化情况进行检测, 结果 I 型胶原凝胶将脂肪间充质干细胞均匀悬浮于材料孔隙中, 碱性磷酸酶活性以及细胞外基质矿化程度检测显示 I 型胶原凝胶能显著促进脂肪间充质干细胞的成骨分化。

Cowan等^[12]在前期实验中将脂肪间充质干细胞接种于表面涂有羟磷灰石的聚乳酸/聚乙醇酸共聚物复合支架上, 自体移植成功修复了小鼠的骨质缺损, 证实脂肪间充质干细胞的成骨潜能可修复小鼠头盖骨缺损。随后, 他们将细胞/支架复合体在移植前进行成骨诱导, 发现骨缺损修复速度明显快于前期实验。然而在实验成骨诱导的后期导致了破骨细胞的产生, 最终导致骨吸收。

最近, Lendeckel等^[13]利用自身的脂肪间充质干细胞经培养后与自体纤维蛋白胶复合修复1例外伤所致大面积颅骨受损, 3个月后大体与CT观察显示颅骨缺损处已被一层薄而坚固的骨骼所包裹, 不再需要头盔保护。

向软骨细胞方向分化: 在软骨组织工程领域, 多个研究小组证实脂肪间充质干细胞经诱导能够向软骨细胞分化。目前常用的诱导方法包括高密度微团(micromass)法和三维立体培养法, 前者是通过离心机将大量细胞聚集成团块, 细胞间保持密切接触, 这样便于细胞间信号传导, 同时相互间获得以自分泌或旁分泌形式发挥功能的细胞因子的作用。研究者公认应用高密度三维立体培养方式诱导培养有利于向软骨方向转化^[4]。Dragoo等^[8]利用micromass诱导培养脂肪间充质干细胞, 培养基加入TGF-β1, 产生蛋白聚糖和 II 型胶原等软骨特异性产物。Mochizuki等^[14]将含 2×10^5 个脂肪间充质干细胞悬液放置于15 mL试管中, 450 g离心10 min, 沉淀中加入400 μL软骨诱导培养基, 培养21 d, 组织学检测形成类软骨组织。但这种培养方式存在一定的缺陷, 首先细胞高密度的聚集成团, 限制了组织的生长空间, 不利于营养物质的交换及相关因子渗入内部发挥作用; 其次, 这种方式形成的组织不能按照需要进行塑形, 限制了其在临床上的应用; 最后, 这种培养方式只是细胞的简单堆积, 排列无序, 细胞形成的组织没有足够的力学强度。三维立体培养则需要借助于组织工程支架, 生物材料支架的作用是给再生组织提供一定的容积, 并与细胞黏附分子及某些生长因子受体相互作用, 促进祖细胞的迁移、扩增和分化^[15]。将高密度的细胞接种在组织工程支架上进行诱导培养, 还可以根据支架的外形及孔隙排列对组织进行塑形。

Huang等^[16]应用组织学和分子生物学的方法证实, 在高密度的培养条件下, 培养基中加入TGF-β、胰岛素、干扰素和抗坏血酸, 48 h内可以诱导脂肪间充质干细胞形成明显的软骨结节并表达软骨特异性标记 II 型胶原, 硫酸软骨素4和硫酸角质素。反转录多聚酶链反应分析也确认了 II 型胶原和软骨特异性蛋白聚糖-聚集蛋白聚糖的表达, 因此认为这种多能干细胞确实具有向软骨方向转化的能力。尽管脂肪间充质干细胞不是真正的软骨细胞, 但是它们所显不出来的原始软骨组织的特征使得其有望成为软骨组织工程的种子细胞。余方圆等^[17]从新西兰大白兔体内切取的脂肪组织进行一系列处理后, 将获得的脂肪间充质干细胞向软骨方向进行了诱导分化, 结果发现细胞逐渐变圆, 并聚集成软骨样结节, II 型胶原呈强阳性、聚集蛋白聚糖表达阳性、番红O、阿利新蓝染色阳性, 也说明了脂肪间充质干细胞向软骨的定向分化。

关于脂肪间充质干细胞是否适于作为软骨组织工程的种子细胞尚存在争论。De Ugarte等^[11]从同一患者骨髓和脂肪组织中分离骨髓基质干细胞和脂肪间充质干细胞, 采用高密度微组织团培养, 并用相同的条件向软骨方向诱导, 证实脂肪间充质干细胞成软骨能力强于骨髓基质干细胞。Winter等^[18]研究表明, 在平面培养中两

种干细胞成软骨能力没有明显区别, 软骨特异性基因表达相似, 但在三维培养中骨髓基质干细胞具有更强的成软骨能力, 主要表现在aggre-can和Col2A两种物质的基因表达强于脂肪间充质干细胞。Erickson等^[19]将脂肪间充质干细胞悬浮于藻酸钙凝胶中体外培养2周后种植于裸鼠皮下, 4, 12周取材, 可见有大量细胞外基质合成, 包括II型胶原和VI型胶原, Nathan等^[20]在研究中应用脂肪间充质干细胞在24周的时间内成功修复了新西兰兔内髌骨软骨缺损, 而且在各个取材时间点均优于自体骨软骨移植, Erickson的体内异位成软骨的实验研究和Nathan的修复兔骨软骨缺损模型的实验研究有力的证实了脂肪间充质干细胞有潜力作为软骨组织工程的种子细胞。

向骨骼肌方向分化: 骨组织工程离不开骨骼肌的支撑, 目前骨骼肌组织工程主要用来治疗原发性的骨骼肌病变和因创伤和缺血继发的骨骼肌的丧失。对于这些疾病现今尚无有效的治疗, 尽管脂肪间充质干细胞向肌肉方向分化与其向脂肪组织和成骨方向分化的水平相比较低, 但通过应用一些外源性的因素进行干扰以及改善培养条件有希望提高PLA的分化水平, 提高其临床应用价值。Mizuno等^[21]将脂肪间充质干细胞置于肌源性诱导条件下6周后通过结构学、组织学和反转录多聚酶链反映观察到肌源性标记MyoD1和肌球蛋白重链的表达。研究发现, 诱导3周后脂肪间充质干细胞形成多核巨细胞并提示有肌管形成。另外MyoD1和肌球蛋白重链表达的时间不同, 在脂肪间充质干细胞分化的过程中MyoD1的表达先于肌球蛋白重链。研究结果揭示: 大约有15%的脂肪间充质干细胞在诱导6周后向肌肉方向分化。

三维支架的选择: 用于骨组织工程的支架主要包括天然材料和合成材料。天然材料制成的具有生物活性的支架被广泛应用于干细胞为种子细胞的骨组织工程, 包括琼脂糖、透明质酸、明胶、藻酸盐、纤维蛋白胶、去细胞骨基质和胶原衍生物。天然材料构建的支架具有良好的生物相容性, 植入体内后, 支架本身或其降解产物无毒副作用, 无明显的致炎和排斥反应; 同时其良好的表面活性, 有利于种子细胞黏附生长, 为细胞生长提供适宜的微环境。但是天然材料一般力学性能较差, 这一点是临床应用中需要解决的问题。合成材料的力学、生物化学及降解特性较天然材料更容易控制, 根据需要进行合成, 可以达到较高的均一性和纯度。但由于其缺乏生物学活性, 降解过程中可能引起周围环境pH值改变及炎症反应, 在临床应用中也有很多的局限性。应用天然材料作为支架复合脂肪间充质干细胞体外构建骨组织工程已经取得初步进展。将脂肪间充质干细胞种植在藻酸盐、琼脂糖水凝胶及多孔的明胶支架上, 在含有TGF- β 1、维生素C和地塞米松的培养基中诱导, 与对照组相比较合成和积聚了更多的细胞外基质, 并且增殖速

度提高。而且经过28 d培养, 明胶支架构建的复合体抗压强度及剪切模量增加了86%和160%, 而藻酸盐及琼脂糖复合体的机械性能没有改变, 最终的机械性能明胶和琼脂糖均强于藻酸盐。在藻酸盐和琼脂糖凝胶中生长的脂肪间充质干细胞呈球形的细胞形态, 而在明胶支架上面贴附的细胞呈伸长的细胞形态, 从而紧贴于支架表面, 这种成纤维细胞样形态并没有阻碍其向软骨方向分化。免疫组化分析三种复合体硫酸软骨素和II型胶原均被检测到。I型胶原只在明胶支架新合成的细胞外基质中检测到, 这也说明明胶支架能够促进脂肪间充质干细胞向纤维软骨方向分化^[22]。

生长因子的应用: 多种细胞因子与调节因子对于脂肪间充质干细胞成软骨分化可以产生叠加或协同效应。ITS与TGF- β 1联合应用可以对脂肪间充质干细胞的增殖起到叠加作用, 同样在ITS或胎牛血清存在的情况下, 联合应用TGF- β 1和地塞米松可以提高蛋白的合成率。尽管地塞米松在一定程度上对蛋白合成存在抑制作用, TGF- β 1还是能够提高蛋白聚糖的合成与积聚达1.5~2.0倍^[23]。近来有研究发现, TGF超家族的另一成员BMP-6能够显著提高脂肪间充质干细胞成软骨能力, 与对照组相比, 可以分别提高细胞外基质aggrecan和Col2表达量205倍和38倍^[24]。

Peterson等^[25]将单纯人脂肪间充质干细胞和人脂肪间充质干细胞转染BMP基因分别复合胶原-生物陶瓷材料后植入裸大鼠修复股骨6 mm骨缺损, 发现单纯人脂肪间充质干细胞不能修复骨缺损, 而转染BMP基因后则可修复。Knippenberg等^[26]利用成年雌性山羊脂肪间充质干细胞在诱导培养基中分别加入10 μ g/L的BMP-2和BMP-7, 促进了成骨诱导分化和成软骨诱导分化。Dragoo等^[27]通过人类腹部、臀部和髌下脂体脂肪组织的诱导分化研究, 证实了BMP-2对促进脂肪间充质干细胞的成骨能力至关重要。

其他相关因素: 理想的骨组织工程要有恰当的细胞和细胞外基质比例, 同时还有较好的力学性能, 这就需要延长体外的培养时间, 以满足上述要求。生物反应器是一个良好的选择, 它能够提高细胞活性和成骨能力。常用的生物反应器有旋转瓶式、灌注式、旋转壁式、流体静压系统等, 结合三维立体支架, 能够显著提高骨组织工程的生物力学性质和生物化学功能^[28]。此外还有一些其他相关的物理化学因素也对其分化存在一定的作用, 其中氧张力是最为重要的生物物理参数, 对调节工程化组织的生长和分化有重要作用。脂肪间充质干细胞在藻酸盐凝胶中培养, 用普通培养基和诱导培养基, 在低氧张力(5%)或周围相同氧张力(20%)条件下培养14 d, 低氧张力与体内关节环境相似, 虽然在一定程度上抑制了脂肪间充质干细胞的增殖, 而蛋白质合成却能增加2倍, 总胶原增加了3倍, 同时还能增加葡聚糖和乳

酸盐的合成。免疫组化分析显示软骨特异基质成分增加包括 II、VI 型胶原，硫酸软骨素^[29]。这说明氧张力对调节脂肪间充质干细胞增殖与分化之间的平衡有重要的作用，可以利用它在体外控制细胞生长和生物合成。

3 结论

脂肪间充质干细胞在来源、获取及本身分化增殖潜力等方面的优势，预示着其作为骨组织工程种子细胞，有着很好的应用前景。但目前人们并没有完全清楚其分化机制，特别是对于脂肪间充质干细胞的定向分化的调节和控制、药物、局部病理、全身性疾病与脂肪间充质干细胞行为潜在的相互作用也需广泛而深入的研究。脂肪间充质干细胞体内成骨成软骨方面的实验研究是目前研究的热点之一，然而目前的大多数实验都集中于体外培养。另外，对目前关于脂肪间充质干细胞生物载体的研究相对较少，如何将脂肪间充质干细胞培养成具有三维结构，为优良的组织工程支架的开发提出了更高的要求。所以特异性组织生物材料也将是一个重要而广阔的研究领域。总之，脂肪间充质干细胞在骨组织工程中的应用要取得突破，需要生物学、临床医学、生物化学、材料科学等多学科的共同协作。

4 参考文献

- [1] De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs*. 2003;174(3):101-109.
- [2] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implication for cell-based therapies. *Tissue Engineering*. 2001;7(2):211-228.
- [3] Aust L, Devlin B, Foster SJ, et al. Yield of human adipose derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytherapy*. 2004;6(1):7-14.
- [4] Guilak F, Lott KE, Awad HA, et al. Clonal analysis of multipotent differentiation of human adipose-derived adult stem cells. *J Cell Physiol*. 2006;206(1):229-237.
- [5] Halvorsen YD, Franklin D, Bond AL, et al. Extracellular matrix mineralization and osteoblast gene expression by human adipose tissue-derived stromal cells. *Tissue Eng*. 2001;7(6):729-741.
- [6] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999; 284(1):143-147.
- [7] Lee JA, Parrett BM, Conejero JA, et al. Biological alchemy: engineering bone and fat from fat-derived stem cells. *Ann Plast Surg*. 2003;50:610-617.
- [8] Dragoo JL, Samimi B, Zhu M, et al. Tissue-engineered cartilage and bone using stem cells from human infrapatellar fat pads. *J Bone Joint Surg Br*. 2003;85(5):740-747.
- [9] Hicok KC, Du Laney TV, Zhou YS, et al. Human adipose-derived adult stem cells produce osteoid in vivo. *Tissue Eng*. 2004;10(3-4):371-380.
- [10] Dudas JR, Marra KG, Cooper GM, et al. The osteogenic potential of adipose-derived stem cells for the repair of rabbit calvarial defects. *Ann Plast Surg*. 2006;56(5):543-548.
- [11] 郝伟, 胡蕴玉, 姜明, 等. 基于脂肪干细胞 I 型胶原凝胶 PLGA- β -TCP 支架的新型仿生骨组织工程复合体的构建及生物学性能[J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(7):584-587.
- [12] Cowan CM, Aalami OO, Shi YY, et al. Bone morphogenetic protein 2 and retinoic acid accelerate in vivo bone formation, osteoclast recruitment, and bone turnover. *Tissue Eng*. 2005;11(3-4):645-658.
- [13] Lendeckel S, Jodicke A, Christophis P, et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg*. 2004;32(6):370-373.
- [14] Mochizuki T, Muneta T, Sakaguchi Y, et al. Higher chondrogenic potential of fibrous synovium- and adipose synovium-derived cells compared with subcutaneous fat-derived cells: distinguishing properties of mesenchymal stem cells in humans. *Arthritis Rheum*. 2006;54(3):843-853.
- [15] Andersson H, van den Berg A. Microfabrication and microfluidics for tissue engineering: state of the art and future opportunities. *Lab Chip*. 2004;4(2):98-103.
- [16] Huang JI, Zuk PA, Jones NF, et al. Chondrogenic potential of multipotential cells from human adipose tissue. *Plast Reconstr Surg*. 2004;113:585-594.
- [17] 余方圆, 卢世壁, 袁玫, 等. 脂肪干细胞向软骨方向诱导的初步研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2004, 12(10):762-764.
- [18] Winter A, Breit S, Parsch D, et al. Cartilage-like gene expression in differentiated human stem cell spheroids: a comparison of bone marrow-derived and adipose tissue-derived stromal cells. *Arthritis Rheum*. 2003;48(2):418-429.
- [19] Erickson GR, Gimble JM, Franklin DM, et al. Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;290(2):763-769.
- [20] Nathan S, Das DS, Thambyah A, et al. Cell based therapy in the repair of osteochondral defects: a novel use for adipose tissue. *Tissue Eng*. 2003;9(4):733-744.
- [21] Mizuno H, Zuk PA, Zhu M, et al. Myogenic differentiation by human processed liposarcoma cells. *Plast Reconstr Surg*. 2002;109(1):199-209.
- [22] Awad HA, Wickham MQ, Leddy HA, et al. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. *Biomaterials*. 2004;25(16):3211-3222.
- [23] Awad HA, Halvorsen YD, Gimble JM, et al. Effects of transforming growth factor beta1 and dexamethasone on the growth and chondrogenic differentiation of adipose-derived stromal cells. *Tissue Eng*. 2003;9(6):1301-1312.
- [24] Estes BT, Wu AW, Guilak F. Potent Induction of Chondrocytic Differentiation of Human Adipose-Derived Adult Stem Cells by Bone Morphogenetic Protein 6. *Arthritis Rheum*. 2006;54(4):1222-1232.
- [25] Peterson B, Zhang J, Iglesias R, et al. Healing of critically sized femoral defects, using genetically modified mesenchymal stem cells from human adipose tissue. *Tissue Eng*. 2005;11(1-2):120-129.
- [26] Knippenberg M, Helder MN, Zandieh-Doulabi B, et al. Osteogenesis versus chondrogenesis by BMP-2 and BMP-7 in adipose stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;342(3):902-908.
- [27] Dragoo JL, Lieberman JR, Lee RS, et al. Tissue-engineered bone from BMP-2-transduced stem cells derived from human fat. *Plast Reconstr Surg*. 2005;115(6):1665-1673.
- [28] Marlovits S, Tichy B, Truppe M, et al. Collagen expression in tissue engineered cartilage of aged human articular chondrocytes in a rotating bioreactor. *Int J Artif Organs*. 2003;26(4):319-330.
- [29] Wang DW, Fermor B, Gimble JM, et al. Influence of oxygen on the proliferation and metabolism of adipose derived adult stem cells. *J Cell Physiol*. 2005;204(1):184-191.

来自本文课题的更多信息--

关于作者: 文章资料由第二、三、四作者收集, 由第二、三作者成文, 由第一、二作者审校, 由第一作者对文章负责。

利益冲突: 无利益冲突。

伦理批准: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

此问题的已知信息: 脂肪间充质干细胞体外扩增和自我更新能力很强, 传代培养易于获得大量有分化能力的细胞, 是真正意义上的具有多向分化潜能的干细胞。

本综述增加的新信息: 脂肪间充质干细胞在一定的培养条件下, 可定向分化为成骨细胞、软骨细胞及骨细胞和肌肉细胞, 配合合适的支架后可以应用到骨组织工程中, 可以作为骨组织工程中的种子细胞。

临床应用的意义: 骨缺损是临床常见问题, 而骨组织工程现代组织工程学的研究发展, 为骨修复与再生提供了合乎生物学原则的思路, 对组织器官的修复与替代产生划时代意义。