

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.44.015 [http://www.crter.org]

靳元嵘, 杨瑟飞. 碱性成纤维细胞生长因子缓释体系诱导脂肪移植体早期血运重建[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(44):7745-7750.

碱性成纤维细胞生长因子缓释体系诱导脂肪移植体早期血运重建

靳元嵘¹, 杨瑟飞² (¹保定市第一人民医院口腔科, 河北省保定市 071000; ²解放军总医院口腔科, 北京市 100853)

文章亮点:

1 很多生物因子在体外实验时有很好的生物活性, 但临床应用时发现与实验室的结果有差距, 原因在于临床应用时生物因子会随体液或渗出液流失。因此, 提出有渗出的术野如何更好的保存生物因子的有效浓度, 使生物因子不会随渗出液大量流失, 是实验的创新点。

2 在很多学者进行脂肪移植体研究的基础上, 首次提出以葡聚糖颗粒做载体, 复合缓释碱性成纤维细胞生长因子的方式持续刺激早期新生血管的再生, 是本研究首次提出的方法, 其效果比常规碱性成纤维细胞生长因子处理的方案好。因其植入颗粒无免疫原性, 为以后其他移植体血运重建研究展示了新的解决方案, 这一新方法的提出, 可对各种移植体早期血运的重建研究产生一定的指导意义。

3 限于条件还未能对缓释的最佳浓度以及缓释的方式、缓释颗粒有效缓释作用范围等诸方面的因素作出明确的描述, 这是进一步实验待完善的地方。

关键词:

器官移植; 组织移植; 脂肪移植; 碱性成纤维细胞生长因子; 缓释; 脂肪珠移植; 葡聚糖颗粒; 缓释体系; 微血管显像

主题词:

器官移植; 组织移植; 皮下脂肪; 脂肪组织; 成纤维细胞生长因子

摘要

背景: 脂肪移植吸收及其不可预测性直接影响该技术的临床应用, 利用各种细胞因子来促进脂肪移植体早期血运重建, 从而减少移植体吸收的技术在目前也有待提高。效果不稳定在于这些细胞因子在术后随血液和渗出液的流失而不能在较长时间内有效作用于血管内皮细胞。

目的: 探讨碱性成纤维细胞生长因子与葡聚糖颗粒形成缓释体对脂肪移植体早期血运重建的影响。

方法: 制备 2 mg/L 的碱性成纤维细胞生长因子溶液及其同浓度的碱性成纤维细胞生长因子-葡聚糖缓释颗粒。SD 大鼠 12 只取腹股沟脂肪行自体脂肪移植, 左侧背部皮下植入脂肪珠加入重组型碱性成纤维细胞生长因子溶液(对照组), 右侧背部皮下植入脂肪珠加碱性成纤维细胞生长因子-葡聚糖缓释颗粒(缓释组), 在 7, 14 d 随机方法处死动物各 1 只, 用墨汁灌注微血管显像法观察移植体内部和包膜血管早期生成密度。移植后 90 d, 将剩余大鼠处死, 取移植体测量体积。

结果与结论: 在植入后 7, 14 d, 包膜和移植体内血管计数缓释组均高于对照组($P < 0.01$)。90 d 后缓释组移植体的体积大于对照组($P < 0.05$)。碱性成纤维细胞生长因子缓释体可以更好地促进脂肪移植体早期血运重建。实验结果说明, 碱性成纤维细胞生长因子缓释体有利于减少术后脂肪移植体的吸收。

Early revascularization of fat grafts conducted by basic fibroblast growth factor sustained-release system

Jin Yuan-rong¹, Yang Se-fei² (¹Department of Stomatology, First People's Hospital of Baoding, Baoding 071000, Hebei Province, China; ²Department of Stomatology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China)

Abstract

BACKGROUND: The resorption and unpredictation of fat transplantation directly influence the clinical application. The technology of reducing graft resorption by using various cytokines to promote early revascularization of fat transplantation needs to be improved. But the effect is not stable, as the cytokines losing with the bleeding and exudation thus cannot long-term affect the vascular endothelial cells.

OBJECTIVE: To investigate the effect of alkaline recombinant basic fibroblast growth factor-dextran formed sustained-release system on the early revascularization of fat grafts.

METHODS: The recombinant basic fibroblast growth factor solution 2 mg/L and basic fibroblast growth factor-dextran sustained-release granules were prepared. The fat tissues were selected from the inguinal region of 12 Sprague-Dawley rats for fat transplantation. The left backs of the rats were treated with subcutaneously injection of fat pearl plus recombinant basic fibroblast growth factor solution (control group), and the right backs of rats were treated with subcutaneously injection of fat pearl plus basic fibroblast growth factor-dextran

靳元嵘, 女, 河北省保定市人, 汉族, 1997 年河北大学毕业, 副主任医师, 主要从事口腔正畸与颌面美容方面的研究。

284815132@qq.com

通讯作者: 杨瑟飞, 博士, 副教授, 解放军总医院口腔科, 北京市 100853
yangyangfeifei@yahoo.com

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344
(2013)44-07745-06

收稿日期: 2013-02-15

修回日期: 2013-05-03

(201302148/D·C)

Jin Yuan-rong, Associate chief physician, Department of Stomatology, First People's Hospital of Baoding, Baoding 071000, Hebei Province, China
284815132@qq.com

Corresponding author: Yang Se-fei, Doctor, Associate professor, Department of Stomatology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China
yangyangfeifei@yahoo.com

Received: 2013-02-15

Accepted: 2013-05-03

sustained-release granules (sustained-release system group). At 7 and 14 days after treatment, one rat in each group was sacrificed randomly, then ink perfusion microvascular imaging was used to observe the inside of the graft and the density of early formed coated vessels. At 90 days after transplantation, the rest rats were sacrificed, and the grafts were obtained to measure the volume.

RESULTS AND CONCLUSION: At 7 and 14 days after transplantation, the number of vessels in the capsule and grafts of the sustained-release system group was higher than that in the control group ($P < 0.01$). At 90 days after transplantation, the volume of grafts in the sustained-release system groups was bigger than that in the control group ($P < 0.05$). The recombinant basic fibroblast growth factor-dextran delivery system could better promote the early revascularization of fat grafts. The experimental results suggest that recombinant basic fibroblast growth factor-dextran sustained-release system can help to reduce the absorption of fat grafts after surgery.

Subject headings: organ transplantation; tissue transplantation; subcutaneous fat; adipose tissue; fibroblast growth factors

Jin YR, Yang SF. Early revascularization of fat grafts conducted by basic fibroblast growth factor sustained-release system. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(44):7745-7750.

0 引言 Introduction

脂肪组织移植用于修复口腔颌面部软组织凹陷, 首推Neuber于1893年的报道^[1], 但移植后的吸收和吸收的不可预测性一直困扰着临床实践^[2]。20世纪80年代后, 随着脂肪抽吸术开展, 临床医生将抽吸的脂肪珠注入凹陷部位, 且无瘢痕, 因此, 具有一定的临床价值, 尤其是颌面部小的软组织凹陷又不适于进行血管吻合的脂肪移植。因此, 脂肪移植再度兴起, 但移植吸收问题一直未能很好解决^[3]。

脂肪移植的吸收, 主要是血供断离及脂肪细胞的手术损伤, 细胞随之坏死, 自溶, 最终由纤维组织修复, 表现为移植吸收^[4-6]。对于血运断离造成的细胞坏死, 首先考虑的是重建血运^[7-10]。Nguyen于1990年报道了血运重建对脂肪移植的动力学作用, 提示受植区血运重建对脂肪细胞存活的影响^[2]。国内学者毋巨龙等^[11-13]探讨了单纯碱性成纤维细胞生长因子溶液对脂肪珠移植后血运重建的影响, 认为将一定量的碱性成纤维细胞生长因子和脂肪珠混合在一起进行移植, 有助于早期血运重建。作者在用该方法时, 并没看到上述学者所见的明显结果, 即使加入血管内皮细胞生长因子及血管生成素, 均没看到理想的结果, 原因可能是术中术后移植体出血, 渗出以及这些因子会因体位流失, 未能持续发挥生物效应^[14], 所以提出一种以载体缓释因子的方法来达到更好的效果。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 动物实验, 自身对照观察。

时间及地点: 2012年3至6月在河北农业大学实验室完成。

材料:

动物来源: 雌性SD大鼠16只, 平均鼠龄2个月, 体质

量严格选取, 介于248–252 g, 由河北农业大学实验动物中心提供, 许可证号: SCXK(冀)2008-1-003。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

主要试剂: 葡聚糖颗粒(Dextran particles): 直径40–120 μm , 由Sigma公司提供, 商品名(Cephalexin), 无菌瓶分装, 消毒后备用。碱性成纤维细胞生长因子: 冻干粉剂, 6 μg /支, 河北农业大学生命科学院提供。

实验方法:

制备碱性成纤维细胞生长因子-葡聚糖缓释颗粒: 根据国内外学者的研究提示, 将碱性成纤维细胞生长因子稀释成浓度为2 mg/L的生理盐水溶液, 将该溶液滴注葡聚糖颗粒, 使之膨胀至停止, 成为湿沙状, 即制成碱性成纤维细胞生长因子-葡聚糖缓释颗粒。同法制取生理盐水葡聚糖颗粒各实验用。

脂肪移植模型的建立: 实验用16只SD大鼠, 1%戊巴比妥钠按45 mg/kg行腹腔注射, 麻醉生效后, 腹部取脂区, 背部受植区备皮。切取双侧腹股沟皮下脂肪5 mL左右, 制成脂肪颗粒清洗后分为2 mL等量的2份, 多余的脂肪弃之, 其中1份以2 mg/L的碱性成纤维细胞生长因子溶液处理后植入左侧背部皮下, 植入完成后在植入体内再加0.3 mL生理盐水葡聚糖颗粒, 设为对照组。另一份加入0.3 mL碱性成纤维细胞生长因子-葡聚糖缓释颗粒, 植入背部右侧皮下, 设为缓释组。缝合皮肤, 术毕。

移植体内组织学观察: 分别于移植后7, 14 d随机选取动物各一, 在麻醉下进行颈外动脉插管至左心室, 固定之。从插管内注入肝素生理盐水0.5 mL后, 剪开胸骨, 暴露心脏, 剪断上下腔静脉, 并以肝素生理盐水从插管内灌注, 直到血液完全由肝素生理盐水置换, 改灌注中国墨汁至全身皮肤呈黑色, 上下腔静脉流出墨汁。后将鼠置于体积分数10%甲醛中浸泡, 每日更换甲醛至澄清, 取出标本, 从背部正中切开皮肤并翻转, 观察两侧移植体染色的差异, 拍照记录。再将标本完整分离, 并将标本切成两半, 其一半去除脂肪保留包膜, 经梯度乙

醇脱水, 二甲苯浸泡使透明, 在显微镜下观察包膜血管构筑情况。另一部分不染色做组织切片, 观察脂肪组织内血运重建情况, 每个标本选取非连续的10张切片, 在高倍视野($\times 400$)下, 同一张切片选取5个视野行血管计数, 求得该切片的均值作为血管密度值, 10张切片的均值即为该移植体的血管密度。

在90 d处死余下动物, 取出背部移植体, 以排液法测量体积, 并做统计学处理。

主要观察指标: 移植后早期包膜微血管显像观察, 移植体内部实验和对照组血管密度, 移植终体积对照观察。

统计学分析: 采用SPSS 10.0统计学软件进行, 分析缓释组与对照组的样本均数差异, 用 t 检验, 检测水准为 $P=0.05$, $P>0.05$ 认为两样本均数差异没有显著性意义, $P<0.05$ 认为均数差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验纳入16只SD大鼠, 采用自身对照方法, 给药后有4只大鼠脱失, 脱失原因是麻醉过量/和(或)手术时间过长导致动物当天死亡2只; 1只术后数天后开始不吃, 逐步消瘦死亡, 另外1只因饲养时跑出走失。剩余12只大鼠进入结果分析。

2.2 微血管显像观察 大体标本观察, 给药后7, 14 d, 缓释组移植体墨汁染色较深, 对照组染色较浅; 镜下观察, 移植后14 d, 对照组包膜微血管比缓释组微血管稀疏, 细小, 两组包膜的血管构筑有明显的形态差异, 见图1, 2。

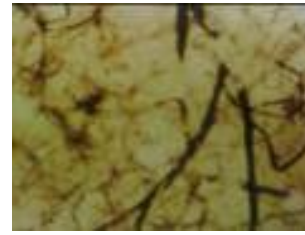


注: 包膜血管细小, 稀疏, 浅染。

图1 大鼠左侧背部皮下移植脂肪珠加入重组型碱性成纤维细胞生长因子溶液(对照组)后14 d包膜微血管观察($\times 100$)

Figure 1 Microangiography of capsule at 14 d after treated with subcutaneously injection of fat pearl plus recombinant basic fibroblast growth factor solution (control group) ($\times 100$)

2.3 移植体血管密度观察结果 移植体内部可见对照组血管数量远少于缓释组, 并见对照组的脂肪细胞有退化情况, 而缓释组的脂肪细胞相对正常存活, 见表1。图3, 4。



注: 包膜血管深染, 致密, 丰富。

图2 大鼠右侧背部皮下移植脂肪珠加碱性成纤维细胞生长因子-葡聚糖缓释颗粒(缓释组)14 d包膜微血管观察($\times 100$)

Figure 2 Microangiography of capsule at 14 d after treated with subcutaneously injection of fat pearl plus recombinant basic fibroblast growth factor-dextran sustained-release granules (sustained-release group) ($\times 100$)

表1 大鼠背部皮下两侧移植脂肪珠加碱性成纤维细胞生长因子溶液及其与释葡聚糖缓释颗粒后植体血管密度的变化

Table 1 Density of graft vessels after subcutaneously injection of fat pearl plus recombinant basic fibroblast growth factor solution and basic fibroblast growth factor-dextran sustained-release granules ($\bar{x}\pm s, n/\text{field}$)

组别	7 d	14 d
对照组	12 \pm 6	52 \pm 8
缓释组	32 \pm 4 ^a	68 \pm 6 ^a
t	3.859 1	5.059 6

与对照组比较, ^a $P<0.05$ 。

注: 对照组血管数量远少于缓释组, 说明基因重组型碱性成纤维细胞生长因子缓释体系可以更好地促进脂肪移植体早期血运重建。



注: 血管少, 可见脂肪细胞退化。

图3 大鼠左侧背部皮下移植脂肪珠加入重组型碱性成纤维细胞生长因子溶液(对照组)14 d后移植体体内微血管显像($\times 400$)

Figure 3 Microangiography of grafts at 14 d after treated with subcutaneously injection of fat pearl plus recombinant basic fibroblast growth factor solution (control group) ($\times 400$)



注：血运丰富。

图4 大鼠右侧背部皮下移植脂肪珠加碱性成纤维细胞生长因子-葡聚糖缓释颗粒(缓释组)14 d后移植体内微血管观察($\times 400$)

Figure 4 Microangiography of grafts at 14 d after treated with subcutaneously injection of fat pearl plus recombinant basic fibroblast growth factor-dextran sustained-release granules (sustained-release group) ($\times 400$)

2.4 移植体终体积观察 实验侧重于早期血运重建, 移植体存活因素主要决定于早期血运, 故对90 d的血管未做墨汁灌注显像观察, 而只做终体积的统计学分析, 从另一方面说明早期的血运重建对终体积的影响。对照组移植体终体积为(1.1 ± 0.3) mL, 缓释组移植体终体积为(1.6 ± 0.2) mL, 缓释组显著高于对照组, 两组比较差异有显著性意义($P < 0.05$)。

3 讨论 Discussion

目前保留脂肪移植后体积研究主要核心还是在血运重建, 表现在利用细胞/干细胞, 细胞因子, 和/或组织工程手段达到血运最佳重建。从细胞方面来看, 国内外学者比较关注的是高活性的血管基质细胞对脂肪移植体体积保存的作用^[15-20]。血管基质细胞在脂肪移植中, 通过其本身及在缺氧的环境中诱导的巨噬细胞的活化而释放系列血管再生因子促进血运重建。血管基质细胞辅助治疗术已应用于临床治疗^[17-20], 国内南方医科大学整形科做了有代表性的工作^[18-19]。作者这次实验与之相比, 还是处于试验初步阶段, 有大量的基础工作需要开展, 在未来希望实验提出的因子缓释技术在该领域有一席之地。从干细胞来看, 学者主要关注脂肪来源干细胞。

脂肪来源干细胞可以释放碱性成纤维细胞生长因子和血管内皮生长因子, 最终也是强化新生血管的再生, 从而得到更好的体积保留^[21-26]。这些研究与本研究所用的碱性成纤维细胞生长因子效应吻合。此外, 经血管内皮生长因子 165 转染的骨髓间充质干细胞也可以促进移植脂肪的早期血运重建^[27-28]。细胞组织工程技术也可以重建血运, 使组织(包括但不限于脂肪组织)再生,

这一课题已涉及到再生医学, 远远超出本研究的探讨范围^[29]。应该提到的是, 美国有学者提出了血管内皮生长因子微球释放技术来促进实验鼠移植脂肪组织血运的重建^[30], 该研究就与作者提出的方法很接近, 不同的是微球材料不同, 微球释放的因子不同, 提法不同(微球技术 *microsphere technique*, 葡聚糖缓释颗粒 *dextran delivery system*)。说明这一领域发展到这个时期, 可能很多学者会不约而同地想到类似的技术。值得大家共同关注。

在各种形式的脂肪移植中, 小的脂肪珠注射移植在口腔颌面部具有极强的优势, 特别是局部小的软组织凹陷, 这种凹陷不可能, 也不适以血管吻合脂肪移植形式来充填, 但无血管的吻合又极易造成脂肪移植的吸收, 如何解决脂肪移植体的吸收一直是国内外学者探讨的课题^[31-32]。邓颖等^[33]探索胰岛素对大鼠移植脂肪内微血管形成的作用, 实验将 48 只SD大鼠随机分成胰岛素组和对照组, 从大鼠输卵管旁取出 1 mL 脂肪组织, 制成脂肪颗粒移植到大鼠背部, 建立颗粒脂肪移植模型。胰岛素组在移植前将脂肪颗粒放入胰岛素中预处理; 对照组对移植脂肪组织不施加处理因素, 观测移植脂肪细胞变化和微血管生长情况, 实验结果显示胰岛素组移植体内有成熟脂肪细胞, 细胞体积变小, 部分脂肪细胞有破裂萎缩现象, 细胞间有纤维组织增生, 胰岛素组脂肪细胞周围纤维组织少于对照组。说明胰岛素能促进移植脂肪块内微血管生长, 提高移植脂肪的存活率。

事实上, 脂肪珠移植就是为了减少移植体吸收而提出的一种方法, 主要考虑脂肪珠体积小, 可以早期有利于血运的重建^[34], 但也有学者认为, 这种方法因对脂肪的损伤大, 反而吸收更严重, 无论观点如何, 这种移植术在口腔颌面外科的应用是不可或缺的^[35]。因此, 需要利用颌面血运丰富的特点, 找到一个方法, 使之有利于移植体的早期血运重建, 在临床实践中, 作者也试图以碱性成纤维细胞生长因子, 血管内皮细胞生长因子及血管生成素等不同的生物因子处理脂肪移植体^[36-37], 以期达到满意的效果, 但往往不尽如人意。蒋爱梅等^[38]采集人颗粒脂肪及人脂肪间充质干细胞脂肪间充质干细胞分离、培养、标记, 对照组以脂肪间充质干细胞直接与同一患者颗粒脂肪混合。实验组以脂肪间充质干细胞加碱性成纤维细胞生长因子后与同一患者颗粒脂肪混合, 各组细胞颗粒脂肪混合物注射移植至裸鼠皮下, 6 周后检测脂肪形成, 形态学及分子生物学方法检测比较两组脂肪标本, 结果成功获得脂肪间充质干细胞用于移植实验, 在实验组及对照组均形成脂肪组织, 新生组织湿质量实验组明显高于对照组($P < 0.01$)。Western blot检测结果显示实验组血管内皮生长因子, 碱性成纤维细胞生长因子表达均高于对照组。说明脂肪

间充质干细胞结合碱性成纤维细胞生长因子辅助颗粒脂肪移植, 通过改善脂肪间充质干细胞存活、增殖及移植组织血运, 提高了移植脂肪存活率。在临床工作中, 作者也会体会到, 这些因子, 在实验模型研究领域具有很好的生物效应, 但由于术区出血, 术后渗出, 和因子本身就是液体的, 极易流失, 在临床实践中不可能持续发挥作用, 因此, 设想用一种载体, 使细胞因子不会在短时间内大量流失, 并以缓释的方式持续作用于移植体, 使早期血管吻合, 形成大量的血管网, 减少吸收, 这是本实验的核心, 从实验结果看, 在移植后 7 d, 缓释组的血管密度远高于对照组, 提示碱性成纤维细胞生长因子缓释体处理的脂肪移植体比常规的碱性成纤维细胞生长因子处理移植体具有更高密度的血管网, 移植后 14 d, 两组的血管密度均比第 7 天高, 但缓释组的血管密度比对照组要高, 可见缓释的效应得到了发挥。而 90 d 后, 缓释组保留的移植体体积远高于对照组, 说明早期血运的重建有助于移植后减少移植体体积的吸收。但对于缓释体系的缓释方式, 缓释颗粒作用的范围, 及缓释浓度与终体积的疗效关系, 在此次实验中还没来得及研究, 这写方面尚需下一步的工作^[39-40]。

目前有文献显示, 碱性成纤维细胞生长因子可以激活脂肪组织中的前脂细胞, 使之转化为成熟的脂肪细胞^[41-42]。后续的研究也想在这方面做些工作, 形成研究系列, 以探讨保留脂肪移植体体积的最优方法, 为脂肪移植在口腔颌面外科和整形外科的应用起到抛砖引玉的作用。

致谢: 感谢我的父母靳荫勋, 王王文二老对我本人学业要求严格, 一直敦促我上进。是他们让我有勇气和毅力在基层单位进行基础医学研究, 是他们慈爱的注视使我克服实验中的各种困难; 没有他们, 我不敢相信会有这样水准的文章问世。他们不停息进步的精神是我一生学习和践行的最好榜样。

作者贡献: 本文第一作者靳元嵘对本课题提出研究设想, 并写出研究初步方案, 在通讯作者杨瑟飞的指导下将研究方案进一步完善; 实验评估, 资料收集和论文起草为第一作者, 通讯作者对文章进行全面审核。两位作者一致认同: 对本文具有同等的文责责任。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 脂肪移植就是为了减少移植体吸收而提出来的方法, 主要考虑脂肪移植体积小, 可以早期有利于血运的重建, 但也有学者认为, 这种方法因对脂肪的损伤大, 反而吸收更严重, 无论观点如何, 这种移植术在口腔颌面外科的应用是不可或缺的。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Locke MB, de Chalain TM. Current practice in autologous fat transplantation: suggested clinical guidelines based on a review of recent literature. *Ann Plast Surg.* 2008;60(1):98-102.
- [2] Sommer B, Sattler G. Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of the literature. *Dermatol Surg.* 2000;26(12):1159-1166.
- [3] Buchy LP, Percec I. The science of autologous fat grafting: views on current and future approaches to neoadipogenesis. *Anesth Surg J.* 2008;28(3):313-321.
- [4] Kaufman MR, Miller TA, Huang C, et al. Autologous fat transfer for facial recontouring: is there science behind the art? *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(7):2287-2296.
- [5] Nguyen PS, Desouches C, Gay AM, et al. Development of micro-injection as an innovative autologous fat graft technique: The use of adipose tissue as dermal filler. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2012;65(12):1692-1699.
- [6] Alghoul M, Mendiola A, Seth R, et al. The effect of hyaluronan hydrogel on fat graft survival. *Aesthet Surg J.* 2012;1;32(5):622-633.
- [7] Metzinger S, Parrish J, Guerra A, et al. Autologous fat grafting to the lower one-third of the face. *Facial Plast Surg.* 2012;28(1):21-33.
- [8] Wetterau M, Szpalski C, Hazen A, et al. Autologous fat grafting and facial reconstruction. *J Craniofac Surg.* 2012;23(1):315-318.
- [9] Booth BW, Yang CC, Burg KJ. Assessment of a Chitosan/Hyaluronan Injectable Composite for Fat Reconstruction. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2012 Jan 12.
- [10] Tabit CJ, Slack GC, Fan K, et al. Fat grafting versus adipose-derived stem cell therapy: distinguishing indications, techniques, and outcome. *Aesthetic Plast Surg.* 2012;36(3):704-713.
- [11] 毋巨龙, 李世荣. bFGF 对颗粒脂肪移植成活率的影响及 CT 影像学研究[J]. *重庆医学*, 2008, 37(12):1314-1315.
- [12] 韩焱福, 刘军. bFGF 辅助自体脂肪颗粒注射治疗面部凹陷[J]. *中国修复重建外科杂志*. 2008, 22(3):339-342.
- [13] 毋巨龙, 李世荣. bFGF 对前脂肪细胞增殖和分化的作用[J]. *中国美容医学*, 2007, 16(10):1350-1352.
- [14] 彭智, 贾振华, 刘晓韬. 微渗透泵持续恒量灌注血管内皮细胞生长因子对大鼠脂肪移植体成活率的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(31):6063-6066.
- [15] Dong Z, Fu R, Liu L, et al. Stromal vascular fraction (SVF) cells enhance long-term survival of autologous fat grafting through the facilitation of M2 macrophages. *Cell Biol Int.* 2013 Mar 22.
- [16] Liu B, Tan XY, Liu YP, et al. The adjuvant use of stromal vascular fraction and platelet-rich fibrin for autologous adipose tissue transplantation. *Tissue Eng Part C Methods.* 2013;19(1):1-14.
- [17] Gentile P, Orlandi A, Scioli MG, et al. A comparative translational study: the combined use of enhanced stromal vascular fraction and platelet-rich plasma improves fat grafting maintenance in breast reconstruction. *Stem Cells Transl Med.* 2012;1(4):341-351.

- [18] Li J, Gao J, Cha P, et al. Supplementing fat grafts with adipose stromal cells for cosmetic facial contouring. *Dermatol Surg.* 2013;39(3 Pt 1):449-456.
- [19] Li K, Gao J, Zhang Z, et al. Selection of donor site for fat grafting and cell isolation. *Aesthetic Plast Surg.* 2013;37(1):153-158.
- [20] Lee SK, Kim DW, Dhong ES, et al. Facial Soft Tissue Augmentation using Autologous Fat Mixed with Stromal Vascular Fraction. *Arch Plast Surg.* 2012 ;39(5):534-549.
- [21] Yuan Y, Gao J, Liu L, et al. Role of adipose-derived stem cells in enhancing angiogenesis early after aspirated fat transplantation: induction or differentiation? *Cell Biol Int.* 2013 Feb 13.
- [22] Lequeux C, Oni G, Wong C, et al. Subcutaneous fat tissue engineering using autologous adipose-derived stem cells seeded onto a collagen scaffold. *Plast Reconstr Surg.* 2012; 130(6):1208-1217.
- [23] Cohen SR, Mailey B. Adipocyte-derived stem and regenerative cells in facial rejuvenation. *Clin Plast Surg.* 2012 ;39(4):453-464.
- [24] Hsu VM, Stransky CA, Bucky LP, et al. Fat grafting's past, present, and future: why adipose tissue is emerging as a critical link to the advancement of regenerative medicine. *Aesthet Surg J.* 2012 ;32(7):892-899.
- [25] Gir P, Oni G, Brown SA, et al. Human adipose stem cells: current clinical applications. *Plast Reconstr Surg.* 2012; 129(6):1277-1290.
- [26] Tabit CJ, Slack GC, Fan K, et al. Fat grafting versus adipose-derived stem cell therapy: distinguishing indications, techniques, and outcomes. *Aesthetic Plast Surg.* 2012 ;36(3):704-713.
- [27] Chang L, Wang J, Zheng D, et al. Improvement of the Survival of Autologous Free-Fat Transplants in Rats Using Vascular Endothelial Growth Factor 165-Transfected Bone Mesenchymal Stem Cells. *Ann Plast Surg.* 2013 Mar 28.
- [28] Trojahn Kølle SF, Oliveri RS, Glovinski PV, et al. Importance of mesenchymal stem cells in autologous fat grafting: a systematic review of existing studies. *J Plast Surg Hand Surg.* 2012;46(2):59-68.
- [29] Li SL, Liu Y, Hui L. Construction of engineering adipose-like tissue in vivo utilizing human insulin gene-modified umbilical cord mesenchymal stromal cells with silk fibroin 3D scaffolds. *J Tissue Eng Regen Med.* 2013 Mar 19.
- [30] Chung CW, Marra KG, Li H, et al. EGF microsphere technology to enhance vascularization in fat grafting. *Ann Plast Surg.* 2012;69(2):213-219.
- [31] 梁爽,袁桂峰,钟毓娟,等.小鼠脂肪干细胞的免疫原性及移植安全性[J].中国组织工程研究与临床康复, 2012,16(1):47-50.
- [32] 岳毅刚,全媛,邵家松,等.不同浓度血管内皮细胞生长因子皮下局部注射对大鼠脂肪移植体存活率的影响[J].华夏医学,2011, 24(6): 643-648.
- [33] 邓颖,曾令寰,李伟,等.胰岛素促进大鼠移植脂肪微血管的形成[J].中国组织工程研究,2013,17(18):3318-3324.
- [34] Sultan SM,Butala P,Barr JS, et al.热损伤后脂肪移植促进新生血管形成并降低纤维变性[J].中国美容整形外科杂志,2011, 22(9): 10022-10022.
- [35] 麦凯欣,朱辉,崔永言. SVF-PLGA联合脂肪移植体内构建组织工程化软组织充填材料的初步研究[J].组织工程与重建外科,2010, 6(1):9-13.
- [36] 杜学亮,罗少军,郝新光,等.碱性成纤维细胞生长因子在颗粒脂肪移植后血运重建过程的作用[J].中华整形外科杂志,2005,21(2): 128-131.
- [37] 王巍巍,王葳,程劲,等.低氧诱导因子1 α 基因修饰脂肪干细胞修复小鼠急性肾损伤[J].中国组织工程研究, 2012,16(41): 7651-7657.
- [38] 蒋爱梅,王艳梅,董毅龙,等. 脂肪干细胞结合碱性成纤维细胞生长因子辅助颗粒脂肪移植的实验研究[J]. 昆明医科大学学报, 2013,34(4):8-12.
- [39] Sykes JM, Tapias V, Pu LL. Autologous fat grafting viability: lower third of the face. *Facial Plast Surg.* 2010;26(5):376-384.
- [40] Lam SM, Glasgold RA, Glasgold MJ. Fat harvesting techniques for facial fat transfer. *Facial Plast Surg.* 2010;26(5): 356-361.
- [41] 郭万里,张宝林. 肝细胞生长因子(HGF)对脂肪移植存活的影响 [J].中国现代药物应用,2009,3(10):32-33.
- [42] 殷剑,杨毅,杨小丰,等.快速浓集自体脂肪干细胞促进移植异体骨早期血管化[J].中国组织工程研究, 2012,16(27):4996-5000.