

脂肪干细胞修复泌尿系统损伤：应用现状及问题

郭婷婷, 黎丽茜, 田虹(华中科技大学同济医学院基础医学院遗传系, 湖北省武汉市 430030)

文章亮点:

- 1 此问题的已知信息: 干细胞作为种子细胞构建组织工程化膀胱是目前的研究热点。2001年Zuk等首次证明人脂肪组织中存在大量的干细胞, 即脂肪干细胞, 不仅容易大量获取, 而且具有较强的增殖能力和多向分化潜能。
- 2 文章增加的新信息: 鉴于目前脂肪干细胞在泌尿系统修复中的有限报道, 文章着重讨论了脂肪干细胞在泌尿系统研究中已取得的成果和其应用前景。
- 3 临床应用的意义: 脂肪干细胞应用于组织工程技术可为泌尿系统修复、重建提供一种全新的治疗模式, 可解决传统治疗中的免疫排斥、器官来源和伦理学问题。

关键词:

组织构建; 组织工程; 干细胞; 脂肪干细胞; 肾脏; 输尿管; 膀胱; 组织工程; 国家自然科学基金

主题词:

脂肪组织; 干细胞; 肾; 输尿管; 膀胱; 组织工程

基金资助:

国家自然科学基金(31271043); 课题名称: 应用生物打印技术制备工程膀胱组织

摘要

背景: 虽然目前还未有脂肪干细胞在输尿管修复中应用的报道, 但是随着对脂肪干细胞研究的不断深入, 以及向血管内皮细胞、平滑肌细胞、尿路上皮细胞分化条件控制的日趋成熟, 其用于肾脏和膀胱修复与重建等的实验研究也日渐增多。

目的: 综述近年来有关脂肪干细胞在泌尿系统损伤修复中的研究及其应用。

方法: 由第一作者应用计算机检索 PubMed 数据库, 检索时限 2001 年 1 月至 2013 年 9 月。检索关键词: Adipose tissue-derived stem cell/adipose tissue-derived stromal cells/ADSCs, tissue engineering, kidney, ureter, urethra, bladder, urology; 同时检索中国期刊数据库 2001 年 1 月至 2013 年 9 月的相关文章, 检索词为“脂肪干细胞, 组织工程, 肾脏, 输尿管, 尿道, 膀胱”, 纳入有关脂肪干细胞及其在泌尿系统中应用的文章, 排除与研究目的无关和内容重复的文章。保留 52 篇文献做进一步分析。

结果与结论: 脂肪干细胞以其取材方便, 多向诱导分化能力强的独特优势应用到泌尿系统组织工程, 既可为泌尿系统修复、重建提供全新的治疗模式, 又可解决传统治疗中的免疫排斥、器官来源和伦理学问题。脂肪干细胞已成为修复泌尿系统损伤的理想细胞来源之一, 并且已大量应用到实验动物体内, 其研究具有非常重要的临床意义, 但是目前该细胞应用于临床上还需解决以下问题: 其特定表面标志的鉴定、向特定细胞分化的条件控制、作用机制等。

郭婷婷, 黎丽茜, 田虹. 脂肪干细胞修复泌尿系统损伤: 应用现状及问题[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(2):283-288.

Adipose-derived stem cells for repair of urinary system injury: current situation and problems in application

Guo Ting-ting, Li Li-xi, Tian Hong (Department of Medical Genetics, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Although there is no report of adipose-derived stem cells in ureteral repair, but with the deepening of the research of adipose stem cells, the differentiation conditions of adipose-derived stem cells to the vascular endothelial cells, smooth muscle cells and urothelial cells are more mature, and the experimental research of adipose-derived stem cells in the repair and reconstruction of kidney and bladder is also increasing.

OBJECTIVE: To summarize the adipose-derived stem cells research and its application in damage and repair of urinary system in recent years.

METHODS: The first author retrieved PubMed database and CNKI databases for articles relevant to adipose-derived stem cells in the repair of urinary system published between January 2001 to September 2013 using the keywords of “adipose tissue-derived stem cell/adipose tissue-derived stromal cells/ADSCs; tissue engineering; kidney; ureter; urethra; bladder; urology” in English and Chinese, respectively. Finally, 52 articles were included for further analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: Adipose-derived stem cells which can be found easily and have the unique

郭婷婷, 女, 1988年生, 河南省项城市人, 华中科技大学同济医学院在读硕士, 主要从事组织工程方面的研究。

通讯作者: 田虹, 博士, 副教授, 华中科技大学同济医学院基础医学院遗传系, 湖北省武汉市 430030

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.02.020
[http://www.crter.org]

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2014)02-00283-06

稿件接受: 2013-11-26

Guo Ting-ting, Studying for master's degree, Department of Medical Genetics, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Corresponding author: Tian Hong, M.D., Associate professor, Department of Medical Genetics, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Accepted: 2013-11-26

advantages of multi-directional differentiation ability have been used for repairing and constructing the urinary system. Adipose-derived stem cells provide a new model of treatment for the urinary tract, which solves the traditional problems, including immune rejection, source of organs and ethical issues, and become an ideal cell source in repair of urinary system. Accumulated data related to adipose-derived stem cells and its experiment and clinical application in repair of urinary system injuries have been reported. But before the cells are widely used in clinic, the following problems need to be solved: its specific surface marker identification, specific conditions and control of cell differentiation, mechanisms of action.

Subject headings: adipose tissue; stem cells; kidney; ureter; urinary bladder; tissue engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 31271043

Guo TT, Li LX, Tian H. Adipose-derived stem cells for repair of urinary system injury: current situation and problems in application. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(2):283-288.

0 引言 Introduction

先天性疾病、创伤、炎症、肿瘤、感染等多种原因导致的泌尿系统的缺损和畸形等,多数情况下,最终需要切除病变的组织器官,从自体或异体获取替代或修补材料,然而供体材料不足或异体排斥反应等诸多问题,一直困扰着临床治疗。组织工程和干细胞技术为泌尿系统修复、重建提供了一种全新的治疗模式,它既避免了免疫排斥,又解决了器官来源和伦理学问题^[1-3]。

干细胞是一类具有自我更新和分化潜能的细胞,在组织的修复和再生方面有巨大的潜力。哺乳动物的干细胞分为两大类:胚胎干细胞与成体干细胞(Adult stem cell)。胚胎干细胞属于多能型干细胞,可分化成3个不同胚层的细胞系;而成体干细胞属于多向潜能型细胞,广泛分布于骨髓、脂肪、肌肉、真皮等成体组织中,经过特定诱导因子的诱导,可向同一组织起源的不同细胞类型分化^[4]。成体干细胞是存在于已分化组织中的未分化细胞,可以自我更新,同时在一定的条件下也可以分化,产生各种特异的细胞类型,医学上常用的大致包括骨髓干细胞、脐血干细胞及外周血干细胞。随着对干细胞研究的不断深入,干细胞治疗已成为一个极有前途的治疗方法。

泌尿系组织器官的先天畸形和因外伤、肿瘤、炎症等导致的组织器官结构或功能的缺失是临床泌尿外科领域常常面临的问题,目前泌尿系统修复重建仍依赖于利用肠节段替代缺损的膀胱等器官。组织工程技术为泌尿系统修复重建提供了新的方向,2006年美国科学家Atala等用膀胱功能异常患者自身正常膀胱平滑肌细胞和尿路上皮细胞作为组织工程膀胱的种子细胞,成功再造了有3层细胞组织结构的组织工程膀胱,首次在临床上实现了人体大部分组织工程膀胱的再造,展现了人体器官再生的前景,7例伴发膀胱功能异常的脊髓脊膜膨出患者,在植入自体细胞来源的组织工程膀胱后,经过2-5年的追踪随访,组织工程膀胱的功能和形态均获得了持续改善。但分化成熟的膀胱平滑肌细胞作为组织工程种子细胞,存在来源不足、容易老化、缺乏自我更新能力等缺点。

近年来,脂肪来源干细胞已经成为组织工程和再生医学最受欢迎的干细胞之一,脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)是从脂肪组织中分离得到的一种具有多向分化潜能的干细胞。研究发现脂肪干细胞在体内或体外特定的诱导条件下,可分化为骨、软骨、脂肪、内皮、平滑肌等多种组织细胞,连续传代培养和冷冻保存后仍具有多向分化潜能,能够在体外稳定增殖且衰亡率低。此外与其他来源的干细胞相比,脂肪干细胞有几个优势:丰富的自体来源、对供体伤害小、增殖能力强、多分化潜能等,因此,作为理想的种子细胞用于组织器官的修复而日益受到人们的关注。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者应用计算机检索PubMed数据库,检索时限2001年1月至2013年9月。检索关键词:Adipose tissue-derived stem cell/adipose tissue-derived stromal cells/ADSCs, tissue engineering, kidney, ureter, urethra, bladder, urology;同时检索中国期刊数据库2001年1月至2013年9月的相关文章,检索词为“脂肪干细胞,组织工程,肾脏,输尿管,尿道,膀胱”。

1.2 入选标准

纳入标准:近年来有关脂肪干细胞研究及其在泌尿系统中应用的文章。

排除标准:与研究目的无关和内容重复的文章。

1.3 资料提取与文献质量评价 纳入有关脂肪干细胞在泌尿系统肾脏、输尿管、膀胱修复和重建中应用的文章,排除与研究目的无关和内容重复的文章。保留52篇文章做进一步分析。

2 结果 Results

2.1 脂肪干细胞的获取

2.1.1 脂肪干细胞的来源 干细胞最初是在骨髓中分离出来的,随后在脂肪组织、肌肉组织、牙根、胎盘、羊水及脐血中均分离出了干细胞^[5-6]。自从2001年Zuk

从人脂肪组织中成功分离培养出脂肪源性干细胞, 脂肪干细胞以其取材方便独特优势, 逐渐成为人们研究的热点。在人体中脂肪组织可占到正常体质量的 10%–29%^[7], 哺乳动物主要有两种脂肪组织: 棕色脂肪组织和白色脂肪组织, 虽然二者同属脂肪组织, 但却在形态、分布和功能上相差甚远。有研究称棕色脂肪组织仅在婴儿期发挥作用^[8], 然而最新研究表明在低温环境下成人体内也可产生棕色脂肪细胞, 该类细胞可通过高比率燃烧脂肪, 保持体温^[9]。白色脂肪组织主要分布在腹腔内的网膜、肠、肾周及臀部、大腿、腹部的皮下区域, 在人体, 白色脂肪组织起储存及释放能量的调节器作用。两类脂肪组织均存在脂肪来源干细胞, 然而棕色脂肪组织中干细胞的数量和分化潜能都不如白色脂肪组织中的干细胞^[10–11], 因此研究重点集中在白色脂肪组织。

脂肪细胞是一种终末分化期细胞, 当机体出现细胞坏死或发生细胞凋亡时, 脂肪来源干细胞会分化成脂肪细胞补充损失的脂肪细胞^[12], 研究表明 1 g 脂肪组织可以提取约 5×10^3 个干细胞, 是 1 g 骨髓中提取干细胞数量的 100–500 倍^[13], 脂肪干细胞以其易大量获取、提取方法简单且不影响供区功能的优势, 成为再生医学理想的种子细胞。

2.1.2 脂肪干细胞的分离培养 脂肪来源干细胞的分离培养在文献中已有很详细描述^[14–22], 综合多篇文献, 以下操作为多见: 手术分离脂肪组织, PBS 清洗 3–5 遍, 剪碎成 2 mm³/小块。用 0.1% I 型胶原酶 37 °C 水浴消化 1 h, 400×g 室温离心 10 min, 弃上清。用 PBS 重悬洗涤, 100 μm 滤网滤除未消化的组织, 400×g 室温离心 10 min, 弃去上清, 培养基重悬并用移液管反复吹打, 使之成为单细胞悬液, 接种到含体积分数为 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中, 置 37 °C、体积分数为 5%CO₂ 的饱和湿热培养箱培养。脂肪干细胞是贴壁细胞, 原代接种 24 h 后可见大量细胞贴壁, 初呈短梭形或多角形^[23], 接下来 2 d, 每天换液 1 次, 并用 PBS 轻轻洗涤, 弃去组织块和未贴壁的细胞, 以后每 3 d 换液 1 次。48 h 后分裂增殖速度加快, 细胞体积增大, 呈长梭形, 形成集落呈涡轮状紧密排列^[24]。当细胞达 80%–90% 融合时, 0.25% 胰酶常规消化, 进行传代, 传代密度为 6 700/cm², 传代培养后的细胞增殖速度明显加快。其中值得注意的几个关键因素, 如细胞种植密度、血清浓度、氧浓度, 它们都能影响到细胞的生长和分化。通常细胞种植密度为 $(1.0–2.0) \times 10^9 \text{ L}^{-1}$, 血清体积分数为 10%, 氧体积分数为 21%。

2.2 脂肪干细胞的鉴定

2.2.1 脂肪干细胞的标志物 目前干细胞研究领域认为: 脂肪干细胞尚未发现特异性的细胞表面标志物, 其既表达其他成体干细胞中广泛表达的标志物如 CD44、

CD90、CD105, 但又不完全和其他成体干细胞相同。研究者们对此做了大量研究, 提取的原代脂肪来源干细胞多还混杂有内皮细胞、红细胞和成纤维细胞等细胞群, 随着传代次数增加会逐步得到纯化, 通常选取传代至第 3 代的脂肪干细胞进行细胞免疫表型的检测。通过对多篇文献的查阅发现^[8, 25–29], 脂肪干细胞表达 CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49d、CD49e、CD54、CD55、CD58、CD59、CD90、CD105、CD146、CD166、SH-3 等, 其中 CD29、CD44、CD90 和 CD105 均高表达^[30]; 不表达 CD31、CD34、CD45、HLA-DR, 但对 CD34 和 STRO-1 的表达尚存在争议^[25, 31–33]。此外脂肪干细胞所取位置、细胞所处时期、供体的年龄、手术类型、培养环境、细胞密度不同以及供体种的不同都有可能引起细胞表面标志物的差异^[32–34], 如 CD90 在人干细胞中高度表达, 而在小鼠中不表达, 除此之外随着细胞的传代 CD90 表达也会下降; 林立新等^[35]研究也发现 CD31、CD49d 虽然在原代脂肪干细胞呈阳性表达, 但在第 2 代转为阴性表达, CD29、CD105、CD166、Stro-1、Flk-1 在第 3 代脂肪干细胞中的表达量也明显多于原代脂肪干细胞。因此免疫组化和流式细胞仪检测等免疫表型的结果对确认脂肪干细胞也只能起到辅助作用, 而鉴定其具有干细胞特性的最好方法是进行诱导分化, 并进行相应检测以证明诱导分化成功^[36]。

2.2.2 脂肪干细胞的分化潜能 干细胞之所以受到人们的关注, 除了其快速增长的特点外, 还因为它的增殖分化潜能, 在不同细胞因子的诱导下, 脂肪干细胞可以分化成脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞、肌细胞等, 除此之外有研究发现脂肪干细胞经相应诱导因子的诱导后, 检测到神经细胞、心肌细胞标志物的表达^[37]。Gentile 等^[19]对脂肪来源干细胞诱导分化的常见不同细胞系进行了总结。

脂肪干细胞诱导分化的不同细胞系:

细胞系	诱导因子	基因表达
脂肪细胞	地塞米松, 异丁基-甲基黄嘌呤, 咪喹咪辛, 胰岛素, 噻唑烷二酮	蛋白脂酶, 转录因子 aP2, 瘦素, 过氧化物酶体增殖激活受体, 葡萄糖转运蛋白 4
成骨细胞	抗坏血酸, 1, 25-二羟维生素 D, 地塞米松, 骨形成蛋白 2	碱性磷酸酶、I 型胶原、骨桥蛋白、骨结合素、骨唾液蛋白、骨形成蛋白 2、骨形成蛋白 4, 骨形成蛋白受体 I, 骨形成蛋白受体 II
软骨细胞	抗坏血酸, 骨形成蛋白 6, 地塞米松, 胰岛素, 转化生长因子 β	硫酸蛋白聚糖、II 型胶原、IV 型胶原及聚集蛋白聚糖
神经细胞	叔丁基苯甲酸, 丙戊酸, 胰岛素	神经巢蛋白, 神经元特异性烯醇酶, 神经元特异的核蛋白
心肌细胞	地塞米松, 马血清	肌球蛋白重链, 肌动蛋白及肌钙蛋白

除了细胞诱导因子对脂肪干细胞的分化潜能会产生重要影响, 相新新等^[30]研究还发现随着供体种属、组织取

材部位、供体年龄、供体性别、传代次数、冷冻保存时间等的不同, 脂肪干细胞的诱导分化能力也会发生变化, 如小鼠来源脂肪干细胞成脂分化能力优于人来源的脂肪干细胞, 皮下组织来源的脂肪干细胞也更优于其他组织来源的脂肪干细胞。

2.2.3 脂肪干细胞和骨髓间充质干细胞的比较 与骨髓间充质干细胞相比, 脂肪干细胞具有以下优势: ①组织获取方法简单, 来源充足, 手术创伤小, 可以反复取材, 提取率高^[38]。②脂肪组织中干细胞的含量非常丰富。③易在体外培养, 且具有较强的体外增殖能力。④同体移植不存在伦理或者移植排斥问题。

在形态上, 脂肪来源干细胞与骨髓间充质干细胞均呈长梭形, 因此无法从形态学上进行区分, 然而王之发等^[39]研究发现来自兔腹股沟的脂肪来源干细胞较来自髂骨骨髓的骨髓间充质干细胞倍增时间更短, 具有更快的增殖速度; 并且二者的分化潜能也有一定的区别, 如虽然二者都具有成骨成脂的分化潜能, 但脂肪干细胞有更强的成脂能力, 而骨髓间充质干细胞的成骨能力更好。

虽然 CD44、CD90、CD105 等干细胞表面特异性抗原在两种干细胞中均高表达, 然而两者也存在差别, 如 Deugarte 等^[18]发现脂肪来源干细胞和骨髓间充质干细胞有两种不同的表型, 脂肪干细胞存在 CD49d, 不存在 CD106, 而骨髓间充质干细胞情况正好相反。

此外 Takemitsu 等^[31]通过实时定量 PCR 研究发现 Oct3/4, Sox2 在骨髓间充质干细胞和脂肪干细胞中的表达量没有明显差别, 然而 Nanog 的表达量在脂肪干细胞中比在骨髓间充质干细胞中高 2.5 倍; 通过免疫细胞化学分析, 骨髓间充质干细胞和脂肪干细胞中均存在 Oct3/4, Sox2 蛋白。

2.3 脂肪干细胞在泌尿系统修复中应用

2.3.1 脂肪干细胞在肾脏修复中的应用 急性和慢性肾脏疾病而引起的致死率在全球已达到 50%-80%^[40]。目前的常规治疗方式存在适配器官短缺, 透析技术有限等问题, 因此干细胞治疗的研究显得更加重要。

2013 年 Ebrahimi 等^[41]报道了有关猪脂肪源性干细胞有助于改善肾脏动脉血管粥样硬化的研究。和单独的经皮腔内肾血管成形术相比, 注射有干细胞的经皮腔内肾血管成形术能更好的维持血管血流量, 此外髓腔形态和毛细血管的数量也更趋向于正常肾脏动脉血管, 动物体内可检测到血管生成标记、肾小管间质纤维化减少、炎症标志物表达降低。

2012 年王巍巍等^[42]研究发现脂肪干细胞对肾损伤的修复更有可能是通过旁分泌作用实现的, 低氧诱导因子 1 α 是细胞内低氧信号调节的重要转录因子, 研究者发现通过低氧诱导因子 1 α 基因转染的脂肪干细胞可更好的保护肾脏。

脂肪干细胞对肾损伤的修复机制除了可通过分化为肾脏多种细胞取代死细胞留下的空隙从而修复受损的肾组织外, 由于其本身可高水平分泌细胞生长因子, 如一些促进血管生成的细胞因子包括血管内皮细胞生长因子、肝细胞生长因子、转化生长因子 β , 抗凋亡生长因子和一些具有抗炎修复能力的活性因子, 因此脂肪干细胞还可通过细胞旁分泌效应对受伤肾脏起到保护作用^[43]。

2.3.2 脂肪干细胞在输尿管修复中的应用 输尿管切除术已成为治疗输尿管癌症的最常用方法, 然而当切除长度长的时候, 尤其是输尿管的近端, 输尿管移植就非常必要。

2006 年, Matsunuma 等^[44]已尝试运用组织工程技术重新构造组织输尿管, 即用输尿管脱细胞基质为支架, 其上种植输尿管尿路上皮细胞和骨髓间充质干细胞, 并将其移植到裸鼠或裸兔体内, 研究者已证实输尿管脱细胞基质是组织工程技术构造组织输尿管的一种良好的支架材料, 并且种植有脂肪干细胞的支架材料能很好的促进血管生成。

2010 年, Shen 等^[45]也做了一个相似的实验, 与上述实验的区别在于该实验用聚乙酸内酯卵磷脂支架材料代替了输尿管脱细胞基质, 表明聚乙酸内酯卵磷脂支架材料应用到组织工程技术构造组织输尿管的巨大潜力。但上述两个实验用的都是骨髓间充质干细胞, 目前还没有关于脂肪干细胞用于治疗输尿管疾病的报道。

2.3.3 脂肪干细胞在膀胱修复中的应用 目前最受欢迎的膀胱修复手术, 是脱细胞基质支架材料上种植自体膀胱平滑肌细胞和上皮细胞^[46]。脂肪干细胞分化成平滑肌细胞用于膀胱修复已有报道^[47], 脂肪干细胞在体外的移行细胞分化也已经被证实^[48], Uroplakin-II 是尿路上皮细胞标志分子, 2012 年张明等^[49]通过人脂肪干细胞与猪尿路上皮细胞的隔离共培养后, 经 RT-PCR 鉴定出人来源脂肪干细胞中 Uroplakin-II 基因的表达, 通过免疫组化鉴定出 Uroplakin-II 蛋白的表达, 从而证实了脂肪干细胞可以分化成尿路上皮细胞。

近来有三则关于脂肪干细胞用于膀胱修复的报道: 一个是将脂肪干细胞注射到糖尿病膀胱功能障碍的 2 型糖尿病大鼠模型体内, 细胞凋亡减少, 膀胱上皮毛细血管网络得到很好保存, 注射的脂肪干细胞分化成平滑肌细胞, 与对照组相比, 注射有脂肪干细胞的模型大鼠膀胱功能得到良好改善^[50]; 另一个是来自患者皮下脂肪组织的脂肪干细胞使用平滑肌细胞诱导培养基培养, 经过 3-6 周的观察表明经诱导的脂肪干细胞呈明显的平滑肌细胞形态, 并表达平滑肌细胞标记分子^[51]。此外 2012 年朱卫东等^[52]报道了来自兔的脂肪干细胞种植于自体膀胱脱细胞基质构建的组织工程膀胱对缺损膀胱进行修复, 发现术后膀胱容量(94.68 \pm 3.31)%明显强于术前

(69.33±5.05)%, 实验组经组织染色分析显示出与自体膀胱相似的正常3层组织结构。由以上实验可以看出脂肪干细胞具有分化成膀胱细胞(平滑肌细胞和上皮细胞)的潜能, 脂肪干细胞还可以通过旁分泌效应改善控尿可能, 从而促进组织再生。

3 讨论 Discussion

目前临床上泌尿系统疾病的传统治疗方法长期效果不太理想, 而组织工程中脂肪干细胞的应用展现了诸多优点, 奠定了其临床应用的广阔前景。脂肪干细胞作为种子细胞用于泌尿系统修复已取得初步的成功, 但其研究大部分还处于动物实验阶段, 有一些问题亟待解决: ①脂肪干细胞的鉴定, 现在的研究只是通过干细胞的多向分化能力去辨别脂肪干细胞, 并没有发现其独特细胞表面标志物。②在细胞治疗实现之前, 研究者们还需要新的技术评价细胞移入泌尿系统后的生存能力、泌尿系的修复和重建速率和支架材料的降解速率是否匹配。③脂肪干细胞发挥作用的机制目前还不清楚, 如在肾脏和膀胱的修复实验研究中发现的细胞旁分泌效应, 如何准确地诱导脂肪干细胞分化为移植所需目的细胞, 避免其分化为不需要的细胞类型, 或是如何使细胞的旁分泌效应朝着人们所期望的方向进行, 仍是目前研究的重点。④如何将脂肪干细胞培养成具有三维结构有多种细胞共同构成的移植体更是一项巨大的挑战。在将其运用于临床细胞治疗之前, 关于脂肪干细胞的研究还需深入。但随着医学、细胞生物学、组织工程学以及相关学科的发展, 随着研究者对脂肪干细胞研究的不断深入和问题的不断解决, 脂肪干细胞作为优良的种子细胞应用于治疗泌尿系统疾病将迅速的从实验研究转向广泛的临床应用。

作者贡献: 郭婷婷设计构思本综述, 郭婷婷、黎丽茜收集资料, 郭婷婷、黎丽茜分析并解析数据。郭婷婷成文, 田虹审校, 郭婷婷、田虹对文章负责。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 未涉及伦理冲突的内容。

学术术语: 脂肪干细胞-是一种从脂肪组织中分离提取出的贴壁生长、具有可塑黏附性和多向分化能力的中胚层来源的成体干细胞。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Yoo JJ, Olson J, Atala A, et al. Regenerative medicine strategies for treating neurogenic bladder. *Int Neurourol J*. 2011;15(3):109-119.
- [2] Atala A. Tissue engineering of human bladder. *Br Med Bull*. 2011;97:81-104.
- [3] Petrovic V, Stankovic J, Stefanovic V. Tissue engineering of the urinary bladder: current concepts and future perspectives. *ScientificWorldJournal*. 2011;11:1479-1488.
- [4] 张钦, 徐月敏. 脂肪干细胞在组织工程技术治疗泌尿系统疾病中的研究现状[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2011, 25(4): 494-497.
- [5] Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell*. 2008; 2(4):313-319.
- [6] Shin S, Kim Y, Jeong S, et al. The therapeutic effect of human adult stem cells derived from adipose tissue in endotoxemic rat model. *Int J Med Sci*. 2013;10(1):8-18.
- [7] Kahn CR. Medicine. Can we nip obesity in its vascular bud. *Science*. 2008;322(5901):542-543.
- [8] 徐巧瑜. 人脂肪干细胞(ADSCs)体外培养的研究及应用进展[J]. *中国美容医学*, 2012, 21(7): 1265-1267.
- [9] Wang QA, Tao C, Gupta RK, et al. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat Med*. 2013;19(10):1338-1344.
- [10] Prunet-Marcassus B, Cousin B, Caton D, et al. From heterogeneity to plasticity in adipose tissues: site-specific differences. *Exp Cell Res*. 2006;312(6):727-736.
- [11] Gimble J, Guilak F. Adipose-derived adult stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. *Cytotherapy*. 2003;5(5):362-369.
- [12] Szöke K, Brinckmann JE. Concise review: therapeutic potential of adipose tissue-derived angiogenic cells. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(9):658-667.
- [13] Kitagawa Y, Korobi M, Toriyama K, et al. History of discovery of human adipose-derived stem cells and their clinical application. *Jpn J Plast Reconstr Surg*. 2006;49: 1097-1104.
- [14] Zachar V, Rasmussen JG, Fink T. Isolation and growth of adipose tissue-derived stem cells. *Methods Mol Biol*. 2011; 698:37-49.
- [15] Williams KJ, Godke RA, Bondioli KR. Isolation and culture of porcine adipose tissue-derived somatic stem cells. *Methods Mol Biol*. 2011;702:77-86.
- [16] Levi B, James AW, Nelson ER, et al. Human adipose derived stromal cells heal critical size mouse calvarial defects. *PLoS One*. 2010;5(6):e11177.
- [17] Yu G, Floyd ZE, Wu X, et al. Isolation of human adipose-derived stem cells from lipoaspirates. *Methods Mol Biol*. 2011;702:17-27.
- [18] De Ugarte DA, Alfonso Z, Zuk PA, et al. Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol Lett*. 2003;89(2-3):267-270.
- [19] Gentile P, Orlandi A, Scioli MG, et al. Concise review: adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical implications for tissue engineering therapies in regenerative surgery. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(3):230-236.
- [20] Ji W, Zhang Y, Hu S, et al. Biocompatibility study of a silk fibroin-chitosan scaffold with adipose tissue-derived stem cells in vitro. *Exp Ther Med*. 2013;6(2):513-518.
- [21] 郭常敏, 王达利, 魏在荣, 等. 人脂肪间充质干细胞体外培养鉴定与诱导分化的初步研究[J]. *遵义医学院学报*, 2013, 36(1): 32-36.
- [22] 陆艳卉, 元小冬, 欧亚, 等. 成人脂肪基质细胞体外扩增生长和超微结构[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(10):1724-1729.

- [23] 马丽,黄鲁刚,林苹.体外诱导脂肪干细胞向内皮细胞及成血管的分化[J].中国组织工程研究,2013,17(10): 1730-1735.
- [24] 房艳,李德华,倪伟民,等.人脂肪源性干细胞多潜能分化特性[J].解剖科学进展,2013,19(3): 213-217.
- [25] Silva WA Jr, Covas DT, Panepucci RA, et al. The profile of gene expression of human marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2003;21(6):661-669.
- [26] Gronthos S, Franklin DM, Leddy HA, et al. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J Cell Physiol*. 2001;189(1):54-63.
- [27] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(12): 4279-4295.
- [28] Aust L, Devlin B, Foster SJ, et al. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy*. 2004;6(1):7-14.
- [29] Rodriguez AM, Pisani D, Dechesne CA, et al. Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *J Exp Med*. 2005;201(9):1397-1405.
- [30] 相新新,赵晶,李茵,等.脂肪干细胞定向分化的影响因素[J].生理科学进展,2010,41(5): 341-346.
- [31] Takemitsu H, Zhao D, Yamamoto I, et al. Comparison of bone marrow and adipose tissue-derived canine mesenchymal stem cells. *BMC Vet Res*. 2012;8:150.
- [32] Lin CS, Xin ZC, Deng CH, et al. Defining adipose tissue-derived stem cells in tissue and in culture. *Histol Histopathol*. 2010;25(6):807-815.
- [33] Rodriguez AM, Pisani D, Dechesne CA, et al. Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *J Exp Med*. 2005;201(9):1397-1405.
- [34] Cawthorn WP, Scheller EL, MacDougald OA. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. *J Lipid Res*. 2012;53(2):227-246.
- [35] 林立新,黄勇,袁继龙,等.人脂肪来源干细胞部分生物学性状的实验研究[J].中国美容整形外科杂志, 2013, 24(4): 239-242.
- [36] 李战强,黄友章,彭勤建,等.成人脂肪来源间充质干细胞的分离培养与鉴定[J].第四军医大学学报,2006,27(1):52.
- [37] Mizuno H, Hyakusoku H. Fat grafting to the breast and adipose-derived stem cells: recent scientific consensus and controversy. *Aesthet Surg J*. 2010;30(3):381-387.
- [38] Park SH, Sim WY, Min BH, et al. Chip-based comparison of the osteogenesis of human bone marrow- and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells under mechanical stimulation. *PLoS One*. 2012;7(9):e46689.
- [39] 王之发,翁雁鸣,刘彦普,等.兔骨髓干细胞和脂肪干细胞增殖和分化能力的比较[J].现代生物医学进展,2013,13(11):2026-2030.
- [40] Chhabra P, Brayman KL. The use of stem cells in kidney disease. *Curr Opin Organ Transplant*. 2009;14(1):72-78.
- [41] Ebrahimi B, Eirin A, Li Z, et al. Mesenchymal stem cells improve medullary inflammation and fibrosis after revascularization of swine atherosclerotic renal artery stenosis. *PLoS One*. 2013;8(7):e67474.
- [42] 王巍巍,姜燕,王葳,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.
- [43] Kolios G, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*. 2013;85(1):3-10.
- [44] Matsunuma H, Kagami H, Narita Y, et al. Constructing a tissue-engineered ureter using a decellularized matrix with cultured uroepithelial cells and bone marrow-derived mononuclear cells. *Tissue Eng*. 2006;12(3):509-518.
- [45] Shen J, Fu X, Ou L, et al. Construction of ureteral grafts by seeding urothelial cells and bone marrow mesenchymal stem cells into polycaprolactone-lecithin electrospun fibers. *Int J Artif Organs*. 2010;33(3):161-170.
- [46] Włodarski KH, Włodarski P, Galus R, et al. Adipose mesenchymal stem cells. Their characteristics and potential application in tissue repair. *Pol Orthop Traumatol*. 2012;77: 97-99.
- [47] Rodríguez LV, Alfonso Z, Zhang R, et al. Clonogenic multipotent stem cells in human adipose tissue differentiate into functional smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(32):12167-12172.
- [48] Liu J, Huang J, Lin T, et al. Cell-to-cell contact induces human adipose tissue-derived stromal cells to differentiate into urothelium-like cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;390(3):931-936.
- [49] 张明,周哲,周娟,等.人脂肪干细胞与猪尿路上皮细胞隔离共培养后向尿路上皮样细胞分化[J].中华临床医师杂志:电子版, 2012, 6(8):2099-2102.
- [50] Zhang H, Qiu X, Shindel AW, et al. Adipose tissue-derived stem cells ameliorate diabetic bladder dysfunction in a type II diabetic rat model. *Stem Cells Dev*. 2012;21(9):1391-1400.
- [51] Salem SA, Hwie AN, Saim A, et al. Human adipose tissue derived stem cells as a source of smooth muscle cells in the regeneration of muscular layer of urinary bladder wall. *Malays J Med Sci*. 2013;20(4):80-87.
- [52] 朱卫东,徐月敏,冯超,等.脂肪干细胞复合膀胱脱细胞基质促进膀胱再生的实验研究[J].中华泌尿外科杂志, 2012, 33(2):111-116.