

脂肪干细胞在再生医学中的应用

张 爽^{1,2}, 郑 冬², 马月辉^{1*}

1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193;

2. 东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040

摘 要: 再生医学是一门研究如何促进创伤与组织再生及功能重建的新兴学科, 主要通过研究干细胞分化、机体等正常组织创伤修复与再生等机制来维持、修复、再生或改善损伤组织和器官功能。脂肪干细胞 (adipose-derived stem cells, ASCs) 是近年来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, 是一种足量的、可用于实际的、有一定吸引力的自体细胞代替的供体资源, 并能够广泛的用于组织修复、再生、发育的可塑性及细胞治疗等研究中。阐述了脂肪干细胞在旁分泌、软组织重建及损伤修复、骨骼肌重建、心血管重建、神经系统重建及癌症转移与入侵方面的作用模式, 概括总结了目前利用脂肪干细胞参与的临床治疗方法, 以期对脂肪干细胞在再生医学中应用研究提供参考。

关键词: 脂肪干细胞; 细胞治疗; 组织修复; 组织再生; 组织发育

DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2015.04.07

The Application of Adipose Stem Cells in Regenerative Medicine

ZHANG Shuang^{1,2}, ZHENG Dong², MA Yue-hui^{1*}

1. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China;

2. College of Wildlife Resources, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: Regenerative medicine is a new-rising subject that focus on how to promote trauma and tissue regeneration and functional reconstruction of emerging disciplines, mainly through the study of stem cells, the body and other normal tissue trauma repair and regeneration mechanism to maintain, repair, regeneration or improve the function of damaged tissues and organs. Adipose stem cells (ASCs), isolated from adipose tissue in recent years, has a multi-directional differentiation potential of stem cells. ASCs is enough, can be used in actual, have certain appeal from somatic cells instead of donor resources and can be widely used for tissue repair and regeneration, developmental plasticity and cell therapy research. This paper expounded the action mode of the adipose stem cells in bone marrow mesenchymal stem cells, progenitor cells, mesenchymal stem cells for adipose stem cells in paracrine, soft tissue reconstruction and wound repair, reconstruction of skeletal muscle reconstruction, cardiovascular remodeling, nervous system and cancer metastasis and invasion. The paper also summarized the current use of adipose stem cells participate in clinical treatment, which was expected to provide reference for the application of adipose stem cells in regenerative medicine research.

Key words: adipose derived stem cells; cell therapy; tissue repair; tissue regeneration; tissue developmental

再生医学作为组织工程及分子生物学研究的一个分支, 参与人细胞、组织或器官的重建、移植及替代过程, 从而达到恢复或形成正常功能的效果。这个领域通过促进自体修复机制来功能性的修复并治愈难以恢复的器官及组织。再生医学也包括通过实验室中培养的组织及器官移植于自体

不能恢复的个体中。如果重建器官的细胞能够来源于病人自身的组织, 那么这将有效的解决供体器官短缺及器官移植排斥等问题。在再生医学的研究领域中, 基础性及临床前的研究能够帮助克服间充质干细胞在临床上应用的缺陷。

干细胞为一种具有自我更新能力及多潜能分

收稿日期: 2015-03-30; 接受日期: 2015-04-13

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程项目 (cxgc-ias-01) 资助。

作者简介: 张 爽, 硕士研究生, 主要从事动物干细胞生物学特性研究。E-mail: zhangshuang1194@126.com。* 通信作者: 马月辉, 研究员, 博士生导师, 主要从事动物种质资源分子评价、鉴定、保存及共享利用研究。E-mail: Yuehui_Ma@hotmail.com

化能力的细胞种群。干细胞为多种组织、器官的重建及修复和多种疾病的治疗带来了希望。目前,研究的较多的是胚胎干细胞及骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BSCs)。虽然胚胎干细胞具有巨大的潜能性,但是一些伦理及政治性问题限制了它们的使用。因而,骨髓来源的间充质干细胞被视为潜能性细胞资源。然而,在骨髓来源间充质干细胞的临床应用中出现了很多问题,如取样痛苦、死亡率高和细胞收获效率低等。上述问题迫使研究者们寻找更适合细胞治疗的资源。

脂肪组织与骨髓相似,来源于间充质并含有大量的可以简单获取的基质部分。近年来的研究指出:皮下脂肪组织来源的干细胞相较于其他类型干细胞具有取材方便和细胞分离培养简单的优势。脂肪组织的初始酶能够获得基质-血管(stromal vascular fraction, SVF)成分混合物^[1]。SVF中的一种初始干细胞种群被 Zuk 等^[2]认证并命名为脂肪组织提取物 PLA 细胞。PLA 指脂肪来源的基质细胞、脂肪来源干细胞 ASCs 及能够在胶原酶消化下立即获得的细胞。ASCs 具有稳定的生长及增殖能力并能够在体外向成骨、成软骨、脂肪、心肌或神经细胞系分化。另外,已有研究在单细胞水平下分离及培养带有多潜能分化能力的 ASCs。

在最近的研究中,通过这些细胞种群使得不同动物模型中移植或注入的 ASCs 的安全性及有效性已经得到探究。此外,一些医疗领域已经开启了 ASCs 在临床治疗的先河。本文总结了当今 ASCs 的临床数据、治疗方法以及他们在不同治疗领域中的突破,以期为 ASCs 在再生医学中的应用研究提供参考。

1 ASCs 在临床医学上的应用

1.1 旁分泌

脂肪组织通过分泌细胞因子及生长因子参与机体的内分泌^[3]。ASCs 分泌大量的上皮生长因子(EGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、肝细胞生长因子(HGF)、转化生长因子- β (TGF- β)、胰岛素样生长因子(IGF)及脑源性神经营养因子(BDNF)^[4~9],它们也分泌细胞因子如 Flt-3 配体、粒细胞集落刺

激因子(G-CSF)、粒细胞巨噬细胞刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-11(IL-11)、白细胞介素-12(IL-12)、白血病抑制因子(LIF)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)^[4]。脂肪组织这种旁分泌因子的分泌很可能导致肥胖症患者体内上述因子表达量的升高^[4]。

特别要指出的是这些被 ASCs 分泌的血管生成因子及抗细胞凋亡因子在缺氧的条件下其分泌显著增加^[5,10]。HGF 为 ASCs 分泌的主要血管生成因子,他们在 ASCs 旁分泌效应中具有重要的作用。上述因子受到抑制时能够损伤 ASCs 在缺血性组织中血管生成及重建的效果。敲除 HGF 能够降低 ASCs 促进 EC 增殖的水平并抑制抗性细胞凋亡^[5]。

1.2 软组织重建及损伤修复

目前应用于软组织重建的材料(如胶原蛋白、透明质酸、硅胶及其他填充材料)具有高成本、免疫原性/致敏性及传递传染性疾病的缺点。同时,自体脂肪移植具有更广泛的可利用性。然而,该技术在实际的临床应用中由于填充材料的滞留受到限制。移植的脂肪组织由于组织吸收体积收缩并导致原始移植体积 20%~90% 的丢失^[11]。软组织重建理想的解决方法是促进血管化脂肪组织完整重建并填充丢失的体积^[12]。

最近,Frerich 等^[13]报道了一种在体外将人脂肪基质细胞及人脐静脉 ECs 共培养的模式,在模型中,中央腔壁来源的灌注管能形成毛细血管样网状物。Kang 等^[14]研究开发了一种将人血管化脂肪组织、人 ASCs 及人脐静脉 ECs 共同培养在 3D 水丝绸支架上的组织重建模型。共培养 2 周后,形成了连续的内皮流。此外,已有研究证实将一种体内非培养的 ASCs 移植入鼠模型的脂肪组织,该模型能够改善填充材料滞留现象。与仅移植脂肪组织相比,与非培养 ASCs 共同移植的脂肪组织在移植后的 6 个月及 9 个月后具有更高的血管密度^[15]。上述结果可能源于 ASCs 分泌的血管生成因子。

伤口在愈合的过程中可能被一些病理条件阻断,如糖尿病、辐射及免疫抑制,最终形成难治愈的慢性伤口。伤口愈合包含的生长因子在不适的条件下能够促进伤口愈合。然而,由于伤口愈

合的复杂机制,其包含了多种不同的生长因子,所以上述方法尚未被证实^[6]。为了达到最好的效果,所有的生长因子应该连续性使用^[16]。

血液供应对于伤口愈合非常重要。ASCs 分泌的 VEGF 诱导 ECs 的移动及增殖,增加伤口处血管的数量。临床及实验显示全层辐射伤口的局部给药能够加速伤口愈合的速度。Kim 等^[8]指出 ASCs 在体外创伤模型中能够促进成纤维的增殖、移动及 I 型胶原蛋白的分泌。上述发现表明 ASCs 能够促进伤口的愈合。

1.3 骨骼肌重建

对于肌肉损失,目前的治疗方法均不能有效恢复肌肉功能。ASCs 在体外能够分化为软骨细胞、成骨细胞及心肌细胞,因此能够用于肌肉骨骼系统组织重建中。

肌肉组织包含位于基膜下命名为卫星细胞的肌肉祖细胞。这些细胞能够以分裂及融合的方式用于修复或替代严重肌肉损伤或慢性退行性肌肉病变损伤的纤维。然而,慢性疾病中持续的肌肉退化-重建循环导致卫星细胞库的缺失。另外,体外扩增卫星细胞非常困难且它们极易老化。

ASCs 作为肌肉损伤疾病的细胞治疗资源具有易获得和快速扩增的特征。ASCs 能够成功的分化为骨骼肌细胞和平滑肌细胞^[17]。分化的 ASCs 具有收缩的功能,与体内的平滑肌细胞相似。通过静脉注射或直接注射的方式,异体来源的 ASCs 能够恢复鼠类肌肉损伤模型的肌肉功能且不会出现任何的免疫排斥^[18]。另外的研究中,血浆纤溶酶原活性测定 PLGA 球附属在 ASCs 诱导的心肌中,被注射到皮下无胸腺的裸鼠后,注射的 ASCs 向肌肉细胞分化并再生成新的肌肉组织^[15]。然而,ASCs 究竟是直接分化为心肌系细胞还是通过细胞融合的方式连接在肌肉纤维中仍不明确。一种猜测是 ASCs 包含上述两种不同功能的细胞亚单位。

ASCs 能够在体内或体外形成类骨质。ASCs 结合生化材料能够用于修复严重的骨损伤^[19]。另外,ASCs 分泌的骨诱导生长因子,能够回收宿主骨形成细胞并诱导骨形成^[20]。ASCs 经过遗传修饰分泌的骨形成蛋白-2 也具有增强骨愈合的作用。

ASCs 在椎间盘再生、牙周系统再生及肌腱再生中的应用已经被报道。Tobita 等报道指出,移

植的 ASCs 在鼠模型中能够分化为包括牙槽骨、牙骨质及牙周韧带的牙周组织^[21]。另外,兔子肌腱损伤部位局部注射的 ASCs 能加速肌腱修复并显著增强其拉伸强度^[22]。

1.4 心血管重建

急性及慢性缺血性心脏病为全球高死亡率的疾病之一^[23]。传统的治疗方法不能替代缺失的心肌细胞或心肌纤维化组织。

注入培养的和新鲜分离的 ASCs 能够改善实验诱导的心肌损伤机体的心肌功能^[26~29]。Bai 等^[23]将人 ASCs 注射到小鼠心脏的梗塞部位,心肌功能得到保护,此外,左心室收缩末期体积显著降低。Valina 等^[30]在猪模型中也报道了相似的结果。

人 ASCs 在体外能够分化为心肌细胞,表达心肌特异标志物 troponin-I 及 myosin light chain 2^[31],甚至能够节律性收缩。然而,与平滑肌分化相似,体内 ASCs 向心肌细胞的分化仍具有争议。Strem 等^[32]报道了 ASCs 在注射后 2 周表达心肌标志物,但是 Cai 等^[25]发现向大鼠心脏处注射人 ASCs,其向平滑肌细胞分化而不向心肌细胞分化。心脏处注射的 ASCs 通过分泌血管生长因子促进血管生成并抑制损伤心脏的细胞凋亡^[33]。另外,ASCs 也能直接在心肌缺血部位促进神经发芽,进而增强心肌收缩功能^[25]。

注射 ASCs 的方法主要有两种。传统的方法将 ASCs 通过注射器注入心肌内,大量的细胞会出现死亡或流失,最终会减弱治疗效果^[34]。另一种方法是通过在温度控制下皿中的 scaffold-free 单元进行心外膜注射。该方法的优势在于不存在任何外来材料,可对细胞粘附力进行保护,而且不会对任何不同细胞种群进行合并^[33,34]。一些以细胞单位为基础的方法在鼠、犬及猪模型中能够改善受损心脏的功能^[34]。

1.5 神经系统重建

多种生长因子如神经生长因子(NGF)、纤毛神经营养因子(CNF)、IGF 及 FGF 均由损伤后神经末端分泌。这些生长因子促进轴突的生长,与外周神经系统主要的支持细胞——施旺细胞关系密切。由于上述再生是由长期神经损伤导致,细胞治疗如干细胞治疗能够通过将生长因子引入间隙从而促进神经再生。ASCs 能分泌一些神经生

长因子如 IGF、FGF^[35],因此这些细胞能够促进神经修复。另外,最近有 ASCs 向神经系细胞及施旺细胞成功分化的报道^[36,37]。相较于 BSCs, ASCs 的 nestin 表达量更高, nestin 能用于识别扩增的成年神经祖细胞。一些结果表明 ASCs 向施旺细胞分化,其机制也被详细研究^[38],其过程的可逆通过骨骼肌损伤完成。

di Summa 等^[38]通过将 ASCs 分化为施旺细胞样表型检测其治疗外周神经的效果。然而,在上述方法能够安全的用于临床研究前还需搜集大型动物模型的实验数据。

ASCs 不仅能够应用于外周神经损伤,也被用于中枢神经损伤中^[39-41]。在犬模型中用 ASCs 治疗脊柱损伤同时能够改善神经功能, ASCs 在体内向星形胶质细胞、少突细胞及神经元细胞分化^[42]。Zhang 等^[40]发现小鼠模型中的 ASCs 通过分化为施旺细胞可治疗脊柱损伤。但该研究中,作者指出即使将施旺细胞转导到主要的损伤位点并有显著的组织学改善,但其功能的改善仍不可见。因此,推测完整的脊柱功能恢复需要更复杂形式的治疗而不仅仅为单一细胞类型或细胞因子的注射。

ASCs 能够在注射后于神经系统中存活并通过直接分化或旁分泌因子的分泌促进神经恢复。因此, ASCs 能够作为中枢神经损伤及外周神经损伤治疗的潜在资源。

1.6 癌症转移及入侵

由于基质细胞能够导致多种肿瘤的发展,所以在这些细胞用于再生医学的临床研究前有必要弄清间充质基质细胞于癌症发展过程中的作用效果。基质细胞包括成纤维细胞、外膜细胞、成肌纤维细胞、脉管系统和巨噬细胞,他们结合形成能够控制内皮细胞分化及扩增的微环境。乳腺癌发展期间,肿瘤细胞识别组织微环境来支持其扩增并向周围组织中入侵。肿瘤聚集基质纤维的过程称为促结缔组织增生反应。这些肿瘤相关的成纤维重编程能够产生生长因子、细胞因子及细胞外基质重塑蛋白。

最近的研究表明 BSCs 通过聚集乳腺癌细胞促进乳腺癌的转移及入侵。BSCs 产生趋化因子配体 5(CCL5),该因子在共培养下能够促进胸腺肿瘤的发展^[42]。

相较于 BSCs, ASCs 为组织中存在的干细胞,

与乳腺癌细胞局部相邻,同时有研究表明脂肪细胞与乳腺癌细胞间存在一定的相互作用。最近的研究将白色脂肪细胞与癌症发展相结合。一种体内的鼠模型证实 ASCs 经过静脉注射后能够进入肿瘤位点,同时基质来源的生长因子-1(SDF-1)/CXC 受体 4(CXCR4)在 ASCs 介导的促进肿瘤生成中具有重要的作用^[43]。Walter 等^[41]指出 ASCs 分泌的 IL-6 与乳腺肿瘤细胞的迁移及入侵相关。IL-6 为多种癌症中重要的生长因子,如多种骨髓瘤(MM)及前列腺癌。另外,一种体内研究表明 ASCs 分泌的 SDF-1 能够促进乳腺癌的入侵及形成^[44]。也有报道指出人 ASCs 能够产生 CCL5。在将人 ASCs 与 MDAMB-231 乳腺癌细胞共培养后,大量的 CCL5 消失^[41]。

然而, ASCs 治疗癌症肿瘤是具有争议性的。许多研究报道移植的 ASCs 在鼠模型中能够影响乳腺癌的产生及生长^[43]。乳腺肿瘤细胞与基质细胞间的双向关系被炎症细胞因子及趋化因子介导,进而影响肿瘤的发展。因此,在脂肪干细胞治疗用于临床应用前,脂肪组织对于肿瘤细胞行为影响的分子机制有待进一步深入研究。

2 ASCs 的临床治疗方法

利用 ASCs 的细胞治疗在临床领域中具有广阔的应用前景。目前,利用 ASCs 进行软组织重建、颅颌面组织重建及心血管组织的重建已经取得了较好的临床效果。乳房再造已经被 Yoshimura 等^[45]报道。基质血管部分 SVF 从抽取的一半脂肪组织中分离并与余下的一半结合,之后用于 50 个病人的治疗。上述临床数据并未出现纤维化及粘附。

ASCs 首次应用于颅骨损伤中促进骨的修复,该团队利用纤维蛋白胶及一个 7 岁女性自体脂肪来源的基质细胞在 3 个月后形成了明显的骨组织^[15]。同时,一个芬兰的团队报道了自体 ASCs 的临床应用进展^[46],该团队获得的自体脂肪组织来自一个半上颌骨切除术后 28 个月的 65 岁男性,细胞培养与 BMP-2 结合于 β 三钙盐支架上。重建 8 个月后移植入病人的腹直肌,重建切除部分并移植到颌面缺损部位,12 个月后病人恢复完整的口腔。

ASCs 在治疗心血管疾病治疗方面也具有巨

大的潜能。目前,利用 ASCs 的临床治疗已经被报道^[23]。对于慢性心肌梗塞,已有 36 个病人的相关治疗数据^[47]。ASCs 也被用于治疗永久性痿管。该疾病为一种以血便、体重减轻、自体免疫降低为特征的炎性肠道疾病。将培养的细胞直接注射到直肠粘膜后,75% 的病例能够完全治愈。另外,有研究结果证实 ASCs 对于临床上的伤口治疗具有一定的安全性及可操作性^[48]。

3 展望

ASCs 正在多种临床应用中检测其可利用性。这些细胞来源于一些损伤的组织。虽然 ASCs 迁移的机制仍存在一些疑问,但是 ASCs 相关的趋化因子受体及粘附因子能够促进治疗方法的发展及增强损伤组织中 ASCs 的聚集。

因为人脂肪组织为一种有效的干细胞资源,自体 ASCs 能够为多种临床领域提供新型的治疗方案。然而,为了提高细胞治疗临床上的应用,ASCs、生长因子及组织重建中生物材料间的作用机制还需要进一步研究。因为 ASCs 来源的生长因子能够影响癌症形成及入侵,因此还需要更深入的研究来证实 ASCs 在临床组织重建领域应用的安全性。

参 考 文 献

- [1] Traktuev D O, Merfeld-Clauss S, Li J, *et al.* A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks [J]. *Circ. Res.*, 2008, 102(1): 77-85.
- [2] 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(12): 4279-4295.
- [3] Cho K S, Park H K, Park H Y, *et al.* IFATS collection: Immunomodulatory effects of adipose tissue-derived stem cells in an allergic rhinitis mouse model [J]. *Stem Cells*, 2009, 27: 259-65.
- [4] Kilroy G E, Foster S J, Wu X, *et al.* Cytokine profile of human adipose-derived stem cells: expression of angiogenic, hematopoietic, and pro-inflammatory factors [J]. *J. Cell Physiol.*, 2007, 212(3): 702-709.
- [5] Cai L, Johnstone B H, Cook T G, *et al.* Suppression of hepatocyte growth factor production impairs the ability of adipose-derived stem cells to promote ischemic tissue revascularization [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(12): 3234-3243.
- [6] Ebrahimi T G, Pouzoulet F, Squiban C, *et al.* Cell therapy based on adipose tissue-derived stromal cells promotes physiological and pathological wound healing [J]. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2009, 29(4): 503-510.
- [7] Kim W S, Park B S, Park S H, *et al.* Antiwrinkle effect of adipose-derived stem cell: activation of dermal fibroblast by secretory factors [J]. *J. Dermatol. Sci.*, 2009, 53(2): 96-102.
- [8] Kim W S, Park B S, Sung J H, *et al.* Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts [J]. *J. Dermatol. Sci.*, 2007, 48(1): 15-24.
- [9] Wei X, Du Z, Zhao L, *et al.* IFATS collection: The conditioned media of adipose stromal cells protect against hypoxia-ischemia-induced brain damage in neonatal rats [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(2): 478-488.
- [10] Lee E Y, Xia Y, Kim W S, *et al.* Hypoxia-enhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells: increase in stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF [J]. *Wound Repair Regen.*, 2009, 17(4): 540-547.
- [11] Cherubino M, Marra K G. Adipose-derived stem cells for soft tissue reconstruction [J]. *Regen. Med.*, 2009, 4(1): 109-117.
- [12] Brayfield C, Marra K, Rubin J P. Adipose stem cells for soft tissue regeneration [J]. *Handchir. Mikrochir. Plast. Chir.*, 2010, 42(2): 124-128.
- [13] Frerich B, Kurtz-Hoffmann J, Lindemann N. Influence of growth hormone on maintenance of capillary-like structures in an in vitro model of stromal vascular tissue — results from morphometric analysis [J]. *Artif. Organs*, 2005, 29(4): 338-341.
- [14] Kang J H, Gimble J M, Kaplan D L. In vitro 3D model for human vascularized adipose tissue [J]. *Tissue Eng. Part A*, 2009, 15(8): 2227-2236.
- [15] Morikuni T, Hakan O, Hiroshi M, *et al.* Adipose-derived stem cells: Current findings and future perspectives [J]. *Discov. Med.*, 2011, 23(2): 160-170.
- [16] Blanton M W, Hadad I, Johnstone B H, *et al.* Adipose stromal cells and platelet-rich plasma therapies synergistically increase revascularization during wound healing [J]. *Plast Reconstr. Surg.*, 2009, 123(S2): 56-64.
- [17] Jeon E S, Moon H J, Lee M J, *et al.* Sphingosyl phosphorylcholine induces differentiation of human mesenchymal stem cells into smooth-muscle-like cells through a TGF-beta-dependent mechanism [J]. *J. Cell Sci.*, 2006, 119(23): 4994-5005.
- [18] Di R G, Lachininoto M G, Tritarelli A, *et al.* Myogenic potential of adipose-tissue-derived cells [J]. *J. Cell Sci.*, 2006, 119(14): 2945-2952.
- [19] di Bella C, Farlie P, Penington A J. Bone regeneration in a rabbit critical-sized skull defect using autologous adipose derived cells [J]. *Tissue Eng. Part A*, 2008, 14(4): 483-490.
- [20] Hao W, Pang L, Jiang M, *et al.* Skeletal repair in rabbits using a novel biomimetic composite based on adipose-derived stem cells encapsulated in collagen I gel with PLGA-beta-TCP scaffold [J]. *J. Orthop. Res.*, 2010, 28(2): 252-257.

- [21] Uysal A C, Mizuno H. Differentiation of adipose-derived stem cells for tendon repair[J]. *Methods Mol. Biol.*, 2011, 702:443–451.
- [22] 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.
- [23] Bai X, Alt E. Myocardial regeneration potential of adipose tissue-derived stem cells [J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010, 401(3):321–326.
- [24] Danoviz M E, Nakamura J S, Marques F L, *et al.*. Rat adipose tissue-derived stem cells transplantation attenuates cardiac dysfunction post infarction and biopolymers enhance cell retention[J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(8):e12077.
- [25] Cai L, Johnstone B H, Cook T G, *et al.*. IFATS collection: human adipose tissue-derived stem cells induce angiogenesis and nerve sprouting following myocardial infarction, in conjunction with potent preservation of cardiac function [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(1):230–237.
- [26] Schenke-Layland K, Strem B M, Jordan M C, *et al.*. Adipose tissue-derived cells improve cardiac function following myocardial infarction [J]. *J. Surg. Res.*, 2009, 153(2):217–223.
- [27] van der Bogt K E, Schrepfer S, Yu J, *et al.*. Comparison of transplantation of adipose tissue- and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the infarcted heart [J]. *Transplantation*, 2009, 87(5):642–652.
- [28] Wang L, Deng J, Tian W, *et al.*. Adipose-derived stem cells are an effective cell candidate for treatment of heart failure: an MR imaging study of rat hearts[J]. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2009, 297(3):1020–1031.
- [29] Léobon B, Roncalli J, Joffre C, *et al.*. Adipose-derived cardiomyogenic cells: in vitro expansion and functional improvement in a mouse model of myocardial infarction [J]. *Cardiovasc. Res.*, 2009, 83(4):757–767.
- [30] Valina C, Pinkernell K, Song Y H, *et al.*. Intracoronary administration of autologous adipose tissue-derived stem cells improves left ventricular function, perfusion, and remodelling after acute myocardial infarction[J]. *Eur. Heart J.*, 2007, 28(21):2667–2677.
- [31] Choi Y S, Disting G J, Stubbs S, *et al.*. Differentiation of human adipose-derived stem cells into beating cardiomyocytes [J]. *J. Cell Mol. Med.*, 2010, 14(4):878–889.
- [32] Strem B M, Zhu M, Alfonso Z, *et al.*. Expression of cardiomyocytic markers on adipose tissue-derived cells in a murine model of acute myocardial injury [J]. *Cytotherapy*, 2005, 7(3):282–291.
- [33] Bel A, Planat-Bernard V, Saito A, *et al.*. Composite cell sheets: a further step toward safe and effective myocardial regeneration by cardiac progenitors derived from embryonic stem cells[J]. *Circulation*, 2010, 122(S11):118–123.
- [34] Shimizu T, Sekine H, Yamato M, *et al.*. Cell sheet-based myocardial tissue engineering: new hope for damaged heart rescue[J]. *Curr. Pharm. Des.*, 2009, 15(24):2807–2814.
- [35] Zavan B, Vindigni V, Gardin C, *et al.*. Neural potential of adipose stem cells [J]. *Discov. Med.*, 2010, 10(50):37–43.
- [36] Xu Y, Liu Z, Liu L, *et al.*. Neurospheres from rat adipose-derived stem cells could be induced into functional Schwann cell-like cells in vitro[J]. *BMC Neurosci.*, 2008, 9:21.
- [37] Oh J S, Ha Y, An S S, *et al.*. Hypoxia-preconditioned adipose tissue-derived mesenchymal stem cell increase the survival and gene expression of engineered neural stem cells in a spinal cord injury model[J]. *Neurosci. Lett.*, 2010, 472(3):215–219.
- [38] di Summa P G, Kingham P J, Raffoul W, *et al.*. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration[J]. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.*, 2010, 63(9):1544–1552.
- [39] Chi G F, Kim M R, Kim D W, *et al.*. Schwann cells differentiated from spheroid-forming cells of rat subcutaneous fat tissue myelinate axons in the spinal cord injury [J]. *Exp. Neurol.*, 2010, 222(2):304–317.
- [40] Zhang H T, Cheng H Y, Cai Y Q, *et al.*. Comparison of adult neurospheres derived from different origins for treatment of rat spinal cord injury [J]. *Neurosci. Lett.*, 2009, 458(3):116–121.
- [41] Ryu H H, Lim J H, Byeon Y E, *et al.*. Functional recovery and neural differentiation after transplantation of allogeneic adipose-derived stem cells in a canine model of acute spinal cord injury[J]. *J. Vet. Sci.*, 2009, 10(4):273–284.
- [42] Katsuda T, Tsuchiya R, Kosaka N, *et al.*. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells secrete functional neprilysin-bound exosomes [J]. *Sci. Rep.*, 2012, doi: 10.1038/srep01197.
- [43] Pinilla S, Alt E, Abdul Khalek F J, *et al.*. Tissue resident stem cells produce CCL5 under the influence of cancer cells and thereby promote breast cancer cell invasion [J]. *Can. Lett.*, 2009, 284(1):80–85.
- [44] Walter M, Liang S, Ghosh S, *et al.*. Interleukin 6 secreted from adipose stromal cells promotes migration and invasion of breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2009, 28(30):2745–2755.
- [45] Sun B, Roh K H, Park J R, *et al.*. Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells in a mouse breast cancer metastasis model[J]. *Cytotherapy*, 2009, 11(3):289–298.
- [46] Yoshimura K, Asano Y, Aoi N, *et al.*. Progenitor-enriched adipose tissue transplantation as rescue for breast implant complications[J]. *Breast J.*, 2010, 16(2):169–175.
- [47] Mesimäki K, Lindroos B, Törnwall J, *et al.*. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells[J]. *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.*, 2009, 38(3):201–209.
- [48] Sanz-Ruiz R, Fernández-Santos E, Domínguez-Muñoz M, *et al.*. Early translation of adipose-derived cell therapy for cardiovascular disease[J]. *Cell Transplant.*, 2009, 18(3):245–254.