

脂肪源性干细胞的多向分化潜力及应用前景

Multipotential Differentiation and Potential Applications of Adipose-derived Stem Cells

韩正滨* 陈红星 邓继先

HAN Zheng-Bin*, CHEN Hong-Xing and DENG Ji-Xian

军事医学科学院 生物工程研究所 北京 100071

Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

摘 要 脂肪组织中含有一类具有多向分化潜力的细胞,即脂肪源性干细胞,简称脂肪干细胞。其生物学性质与骨髓间充质干细胞相类似,并可向脂肪、骨、软骨、肌肉、内皮、造血、肝、胰岛和神经等多种细胞方向分化。由于脂肪组织在人体内储量丰富,获取简便创伤小,在组织工程、器官修复、基因治疗等方面都有着广阔的应用前景,因此脂肪干细胞已成为继骨髓间充质干细胞后干细胞领域另一个备受关注的热点。通过以分析脂肪干细胞的多向分化潜力,综述了这一领域最新的研究进展,并就其应用前景及目前研究中一些争议问题进行了探讨。

关键词 脂肪源性干细胞,多向分化

中图分类号 Q25 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2007)02-0195-06

Abstract Adipose tissue contains a population of multipotent cells called adipose-derived stem cells (ADSCs). With the similar properties of marrow-derived mesenchymal stem cells, ADSCs have the ability to differentiate towards adipogenic, osteogenic, chondrogenic, myogenic, endothelial, hematopoietic, hepatic, islet, and neurogenic cell lineages. As adipose tissue is harvested in large amounts with minimal morbidity, it can be widely used in tissue engineering, organ repair and gene therapy. This paper focused on the plasticity of ADSCs and reviewed the new advances of this field. Finally, the problems and prospect for application were also discussed.

Key words adipose-derived stem cells, multipotential differentiation

脂肪组织在人的一生中经历显著的变化,成人体重的增加主要是脂肪的积累,其存在两种途径:一种是脂肪细胞体积的增大(hypertrophy),而另一种则是脂肪细胞数量的增多(hyperplasia)^[1,2]。后一种途径提示我们脂肪干细胞和祖细胞的存在,因此研究者最初关注的是前脂肪细胞的成脂潜力。但近年来人们发现脂肪组织中除了含有已经定型的成脂细胞外,还包含一种具有多向分化潜力的细胞群,其性质虽然与骨髓源性的间充质干细胞(marrow-derived

mesenchymal stem cells, MSCs)十分相似^[3-7],但又不完全相同,我们称这些细胞为脂肪源性干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs),简称脂肪干细胞。目前这类细胞的名称比较混乱,其它文献中出现过的名字包括脂肪组织源性间充质干细胞(adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, ADMSCs)、脂肪源性成体干细胞(adipose-derived adult stem cells, ADAS)、脂肪组织干细胞(adipose tissue stem cells, ATSCs)、多潜能脂肪源性干细胞(multipotent adipose-

derived stem cells ,MADS) 脂肪源性粘附基质细胞 (adipose-derived adherent stromal cells ,ADAS) 脂肪组织源性基质细胞(adipose tissue-derived stromal cells ,ADSCs)和吸脂术细胞(processed lipoaspirate cells ,PLA)等。

1 脂肪干细胞的优势

首先 ,取材方便是 ADSCs 一个最大的优势。一方面脂肪组织在体内分布广泛 ,储量丰富 ;另一方面吸脂手术属于技术成熟的常规手术 ,手术风险小 ,患者痛苦少 ,这一点尤其利于临床应用。据国外的统计 ,1994~2000 年进行的 66570 例吸脂手术中 ,死亡率为 0 ,发生医疗事故的比率也仅有 0.68%^[8] ,可见吸脂术是安全可靠的。

其次 ,ADSCs 的获取效率要优于 MSCs。细胞克隆形成实验表明 ,MSCs 只占到成人骨髓的 $0.2 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-5}$ ^[9]。而脂肪组织经胶原酶消化后 ,其中主要的细胞类型脂肪细胞 ,很容易通过浮力而去掉 ,所获得的细胞克隆形成率是骨髓间充质干细胞的 100~500 倍。因此 ,脂肪消化细胞的原代接种密度只需要 3500/cm² ,5~7d 细胞便可生长汇合^[10,11] ;而想要达到相同效果 ,骨髓中分离细胞的接种密度需要在 20000~40000/cm²^[12]。

另外 ,从临床角度出发 ,在短时间内更容易获得大量的 ADSCs ,对于急性心肌梗塞等疾病的快速治疗具有重要意义。在局部麻醉的情况下 ,成人骨髓的获取量通常不超过 40mL ,能获得大约 1.2×10^9 个有核细胞^[13] ,其中包含大约 2.4×10^4 个 MSCs。如果想获得更多的骨髓 ,则需要全身麻醉 ,则增加了病人痛苦和发生并发症的风险^[14] ;而一次吸脂手术可获得超过 200mL 的脂肪组织 ,且每 100mL 都能获得大约 2×10^8 个有核细胞^[15] ,200mL 很容易就产生超过 1×10^6 的干细胞 ,相当于 40mL 骨髓中干细胞量的 40 倍。由此可见 ,在相同条件下 ,ADSCs 比 MSCs 更具临床应用潜力。

2 脂肪干细胞的细胞表面标志

与 MSCs 一样 ,ADSCs 在体外培养中表达 CD105 ,STRO-1、CD117 和 CD166 等干细胞的通用标志分子^[16] ,不表达造血细胞标志 CD45 ,内皮细胞标志 CD31^[3,6,7,10,11]。另外 ADSCs 和 MSCs 还都表达多种其他分子包括 CD29(β -1 整联蛋白 ,在血管发生中起关键作用)^[17] ,CD44(透明质酸盐受体 ,在细胞外基质的发育中起关键作用并参与众多的病理学和生

理学事件)和 CD49e(α -5 整联蛋白 ,对于纤连蛋白的细胞粘附作用十分重要)。但二者所表达的细胞表面标志也存在显著的差异 ,ADSCs 表达 CD49d(VLA-4)不表达 CD106(VCAM-1) ;而 MSCs 恰好相反^[3]。VLA-4 和 VCAM-1 是受体-配体对 ,在骨髓造血干细胞归巢和动员中发挥重要作用^[18,19]。与 MSCs 相比 ,ADSCs 也表达高水平的 CD54(ICAM-1)^[3]。ICAM-1 是免疫超基因家族中的一个成员 ,能对许多炎症介导因子和细胞因子的上调产生应答^[20]。

ADSCs 主要表达 I 型 MHC 分子 ,且表达 HLA-DR 蛋白的比率低于 1%^[15] ,表明其具有同种异体移植的可能性^[21]。ADSCs 和 MSCs 都具有剂量和时间依赖的抑制混合淋巴细胞反应的能力^[22,23]。这表明与 MSCs 相似 ,ADSCs 也具有免疫豁免潜力可作为通用的供体细胞 ,用作同种异体的细胞移植 ,并能减少移植物抗宿主的免疫排斥反应^[23] (表 1)。

表 1 ADSCs 和 MSCs 的细胞表面标志分子比较
Table 1 Comparison of cell-surface makers between ADSCs and MSCs

	Expression pattern	
	ADSCs	MSCs
CD9	+	+
CD10	+	+
CD13	+	+
CD29	+	+
CD31	-	-
CD34	-	-
CD44	+	+
CD45	-	-
CD49d	+	-
CD49e	+	+
CD54	+	+
CD55	+	+
CD59	+	+
CD90	+	+
CD105	+	+
CD106	-	+
CD117	+	+
CD146	+	+
CD166	+	+
STRO-1	+	+
HLA-DR	-	-

3 脂肪干细胞的多向分化潜力及应用前景

大量研究表明 ,ADSCs 可以分化为多种类型的细胞 ,下面综述一下其中几个重要方面的最新进展和应用前景。

3.1 向成骨方向分化

在与 MSCs 相同的条件下(低浓度的抗坏血酸, β 磷酸甘油, 地塞米松和维生素 D 类似物), ADSCs 在体外可被诱导分化为成骨细胞, 表达与成骨表型相关的基因和蛋白, 包括碱性磷酸酶、I 型胶原、骨桥蛋白、骨连接素、降钙素、骨唾液酸蛋白、cbfa-1、RunX-1、BMP-2、BMP-4、BMP 受体 I 和 II、PTH-受体^[4 24], 并可沉积矿化的细胞外基质, 其沉积形式与 MSCs 相同。

在临床研究方面, 将 ADSCs 在转入编码骨形成蛋白(α BMP2)基因后, 再接种于标准 I 型胶原海绵上, 植入 SCID 小鼠肌肉内可形成异位骨质增生^[25]。Cowan 等将 ADSCs(未转染、未分化)接种于一种可吸收的支架上, 修补 4mm 大小的鼠类颅骨缺损(颅骨全厚度缺损无法自发修复), 在 12 周内缺损部位愈合 70% ~ 90%。性别差异的荧光原位杂交实验证明, 新形成的骨中 92% ~ 99% 的细胞都来自于供体 ADSCs^[26]。最近有临床报道, 应用自体的脂肪来源细胞和可降解的支架网, 已成功治疗了一个双侧颅骨大面积缺失的 7 岁女孩^[27]。术后 3 个月后 CT 扫描表明, 标记的骨化细胞遍布所有缺失部位, 而且这个孩子也不用再戴防护帽了。由此可见, 应用 ADSCs 进行骨重建具有良好的效果, 前景广阔^[27]。

3.2 向软骨方向分化

在与 MSCs 相似条件下, ADSCs 也具有向软骨方向分化的能力^[5 28 29], 并表达 II 型胶原、聚集蛋白聚糖、核心蛋白多糖以及其他与软骨发生相一致的分子标志。

对于 ADSCs 和 MSCs 哪种细胞更适合构建软骨组织目前还存在争议。Winter 等人认为 ADSCs 的软骨形成能力不如 MSCs^[28], 他们分别比较了 ADSCs 和 MSCs 在二维培养(细胞单层)和三维培养(微团)时, 软骨生成相关基因的表达方式。结果表明虽然在二维培养条件下, ADSCs 和 MSCs 的软骨形成特性差异并不显著, 但在三维培养条件下, MSCs 基因表达方式比 ADSCs 更接近于正常的成熟软骨。而且他们还注意到 ADSCs 在三维培养时某些基因表达缺失, 其中包括聚集蛋白聚糖和 Col2A。但也有人持相反观点, 他们通过分析来自同一病人的 ADSCs 和 MSCs, 证明 ADSCs 比 MSCs 具有更好的软骨形成特性^[11]。而且在兔子骨软骨缺损模型的体内实验中也发现, ADSCs 可发育为成熟软骨, 比传统方法更好地修复了软骨缺损^[30]。通过分析, 我们更倾向于后一种观点, 因为 Winter 等人的结论很可能是培养

体系存在的问题导致的。由于细胞本身的差异, 对于 MSCs 来说最佳的分化条件可能并不适合 ADSCs, 因此得出的结论不能够使人信服, 我们认为 ADSCs 至少与 MSCs 具有相似的软骨形成能力。

3.3 向骨骼肌方向分化

ADSCs 和 MSCs 在含有地塞米松、氢化可的松的培养液中培养时, 可表达肌肉特异性标志(Myod1 和肌球蛋白) 转录因子(myf5, myg6 和肌细胞生成素) 细胞变长, 并表现出类似肌管的多核结构^[4 5]。Bacou 等人证明 ADSCs 在体内也可向骨骼肌细胞方向分化, 他们将原代培养 3 天的脂肪来源细胞转入 LacZ 并注射入粉碎性伤害的前胫骨肌肉, 结果发现注射的细胞在 15 天内整合到肌纤维中^[31], 注射 2 个月, ADSC 处理的肌肉与未处理组相比, 显示出更大的团块, 肌管纤维直径和收缩力量都有显著的增加。

3.4 向心肌方向分化

多个研究小组已证明啮齿类的 ADSCs 具有分化为心肌细胞的能力^[32 33]。Planat-Bernard 等人在半固体培养基甲基纤维素中培养鼠类脂肪来源的细胞, 并添加重组的造血生长因子, 经过 3 周培养, 发现簇状的自发搏动的细胞, 并检测电生理学、药理学和亚显微结构的特性, 显示与心肌细胞分化相一致^[33]。在体内实验中, 通过血管注射脂肪来源的细胞可修复受到冰冻伤害的左心室, 并在 2 周后检测到了供体来源的细胞。这些细胞表达心肌特异性转录因子 Nkx2.5, troponin I 和肌球蛋白重链, 与 ADSCs 在体内分化为心肌细胞相一致^[34]。

最近日本科学家 Miyahara 等人^[35]将 ADSCs 制成细胞单层薄片直接移植到心肌梗死区域, 移植后细胞层增厚大于 600 μ m, 并有一部分细胞分化为心肌细胞, 有效地修补了变薄的心脏壁, 改善了心脏功能。他们利用了一种特殊的生物材料——聚异丙基丙烯酸酯(PIPAAm), 这种材料会随着温度的改变由亲水(37 $^{\circ}$ C)变为疏水(20 $^{\circ}$ C)。利用这种材料处理过的培养皿培养 ADSCs, 当细胞生长至融合时, 将培养温度由 37 $^{\circ}$ C 降至 20 $^{\circ}$ C, ADSCs 单层细胞就会从培养皿表面脱附下来, 而此时细胞仍保持其生长时底物粘连与分子活性。他们计划在猪等动物上继续开展相关实验, 并争取在一年内将此技术应用于儿童先天性心脏病的治疗。这项研究为心脏病的治疗开辟了一条新路, 有望在短期内应用于临床。

3.5 向内皮方向分化

目前对于 ADSC 向内皮方向分化的能力已经

广泛得到承认,但对于具体的分化条件还存在异议。Miranville 等人认为要选择脂肪组织中的 $CD34^+$ / $CD31^-$ 细胞,并在低血清浓度,添加血管内皮生长因子(VEGF)和胰岛素样生长因子 I(IGF-I)的培养液中培养,ADSCs 才能形成网状结构,表达内皮标志,并向内皮方向分化^[36]。另外一个研究小组则认为,在缺乏这些细胞因子的情况下,不进行选择的 ADSCs 也能形成上皮样结构。例如,将脂肪来源的细胞培养在 Alpha 培养液中并添加 10% 的胎牛血清,所产生的单层 ADSCs 能够形成网状结构,表达内皮标志。与 MSCs 类似,ADSCs 也分泌大量的血管源性生长因子,包括 VEGF,PlGF, bFGF, HGF, GM-CSF, MCP-1 和 SDF-1alpha^[37,38]。

利用 ADSCs 的内皮分化潜力用于血管再生的治疗,临床应用前景极其广阔,可应用于诸如缺血性心肌病,外周血管病,缺血性中风,局部缺血性脑病,外伤性脊髓损伤等病症。已有人进行相关的研究,Miranville 等人^[36]和 Rehman 等人^[37]发现脂肪来源细胞的注入,能够加速后肢严重局部缺血的血管再灌注的恢复。虽然这个发现被认为是受体细胞参与了毛细血管形成,但这也很可能是得益于 ADSCs 分泌的一些抗凋亡(肝细胞生长因子, HGF)和促血管生成(VEGF)的因子^[37]。另外,在急性心肌梗塞的治疗中,ADSCs 除了分化形成心肌细胞外,也参与形成血管的重建恢复供血^[39]。

3.6 向神经方向分化

早期的研究表明,ADSCs 和 MSCs 在还原剂 β -巯基乙醇诱导下,细胞形态呈神经元样,并显示出缩小的细胞体和多个轴突结构^[4,40]。这个过程伴随着表达早期的神经元标志,包括神经巢蛋白(nestin),神经元特异性烯醇酞(NSE)以及神经元特异的核蛋白(NeuN)。然而,其他一些学者已对此提出质疑,他们认为这些不正常的基因表达和细胞形态是对有毒试剂的一种反应^[41,42]。其他一些研究小组应用生理性诱导,在排除毒性的情况下进行更长时间的诱导,并检测诱导基因的表达。例如 Ashjian 等^[43]表明用胰岛素、吡啶美辛和 IBMX 处理 ADSCs 后,检测到 NSE、NeuN 和 NGF 受体 trk-A 的表达增强。然而到现在为止,已发表的文章没有证明 ADSCs 或 MSCs 可以获得神经元的主要功能——形成突触连接和传递动作电位。

在一些缺血性疾病和外伤性脑损伤的小动物模型中,ADSCs 和 MSCs 已被证明可以改善其中大多数实验的治疗效果^[44-46]。然而接下来的实验检测显

示,其作用主要是由于其介导募集了内源的神经元前体细胞^[47,48],以及分泌的促血管生成和抗凋亡的生长因子^[49-51]。因此,对于 ADSCs 及 MSCs 是否真正具有神经细胞的分化潜力还在进一步研究中。

4 关于成体干细胞的争议

ADSCs 和 MSCs 等都属于中胚层来源的成体干细胞,不仅可以定向分化为中胚层细胞,还可以横向分化为外胚层、内胚层细胞。但目前对于成体干细胞是否具有这种跨胚层的“横向分化”分化能力,还存在相当大的争议^[52-55]。争论的焦点在于所诱导分化的各种类型的细胞是来自成体组织中的某一种具有多向分化潜力的干细胞,还是来自于残存在成体组织中的各种类型的祖细胞?这些祖细胞的分化只限于本组织的分化支系,其分化不可跨越本组织定向的限制,更不可能突破胚层源的界限。

1999 年, Pittenger 等^[56]对人 MSCs 和正常皮肤成纤维细胞的研究发现, MSCs 经体外诱导可向着成骨、成软骨、成脂肪三个方向分化,而诱导条件和时间完全相同的皮肤成纤维细胞却不能向任何方向分化。进而他们分离了 6 个 MSCs 的单细胞克隆分别进行诱导,结果发现所有 6 个克隆都能向成骨方向分化,其中 5 个能向脂肪方向分化,2 个能向软骨方向分化。不同克隆之间分化能力之所以存在这样的差异,作者认为可能是由于细胞单克隆需要经历 19 ~ 21 代的体外扩增才能达到足够的数量,而在这个过程中体外不良条件已经影响到细胞的多向分化潜力;另外也不排除这些细胞只是祖细胞而非干细胞的可能。

最近的一些研究似乎又有了新的进展:Case 等人^[57]分离了鼠类肌肉组织源性的成体干细胞,经过单细胞克隆培养 10 天后,分别向肌肉、脂肪和神经细胞方向诱导,结果在所分析的 600 个细胞克隆中,分别有 2.16%、0.83% 和 0.33% 具有单向分化、双向分化和三向分化能力;在随后脂肪组织源性干细胞的实验中,他们也得到了相似的结果。Guilak 等人^[58]的研究更进一步,他们首先分离培养了人脂肪组织源性的干细胞,并通过套环法获得 45 个单细胞克隆并传至第四代,然后分别将其向脂肪、骨、软骨和神经方向诱导,结果表明 81% 的单细胞克隆至少可以分化为其中的一种细胞,52% 的可以分化为两种或两种以上类型的细胞,分化为骨、软骨、脂肪和神经样细胞的比率分别为 48%、43%、52% 和 12%。

以上实验证明了成体干细胞是一类具有多向分化潜

力的干细胞,而不仅仅是各种祖细胞的混合体。尤其向神经细胞方向的分化,有力地说明成体干细胞具有跨胚层的横向分化能力。

虽然目前成体干细胞分化潜力方面的研究取得了可喜进展,但是我们应该看到,这些实验结果几乎都是在体外条件下获得的,而且多数分化的鉴定都只局限于细胞表型而未涉及细胞功能。因此,接下来的工作应重点研究在体内的条件下,成体干细胞是否还具有这样分化特性,从而进一步明确成体干细胞的可塑性。如果可以多向分化,分化细胞在功能上与正常细胞有何差异。成体干细胞的分化机理和分子机制也是人们非常感兴趣的课题,究竟是通过“去分化-转分化”的机制,还是通过细胞融合的方式,抑或其他机制?目前尚无定论。对于那些调控成体干细胞可塑性的基因和蛋白,我们目前知之甚少,这就需要我们通过对基因表达和蛋白质组的研究比较胚胎干细胞(ES)、成体干细胞和成体细胞间基因表达及蛋白表达的差异,从而找出关键基因和因子。另外,着眼于临床应用,还要有大量的动物模型实验甚至是人体实验需要做。总之,成体干细胞的研究才刚刚起步,很多基本问题还需要深入研究和探讨,还有很长的路要走。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Rupnick MA, Panigrahy D, Zhang CY, *et al.* Adipose tissue mass can be regulated through the vasculature. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**: 10730 – 10735.
- [2] Hausman DB, DiGirolamo M, Bartness TJ, *et al.* The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev*, 2001, **2**: 239 – 254.
- [3] 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**: 267 – 270.
- [4] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, *et al.* Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*, 2002, **13**: 4279 – 4295.
- [5] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, *et al.* Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*, 2001, **7**: 211 – 228.
- [6] Wickham MQ, Erickson GR, Gimble JM, *et al.* Multipotent stromal cells derived from the infrapatellar fat pad of the knee. *Clin Orthop Relat Res*, 2003, **412**: 196 – 212.
- [7] 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**: 1397 – 1405.
- [8] Housman TS, Lawrence N, Mellen BG, *et al.* The safety of liposuction: results of a national survey. *Dermatol Surg*, 2002, **28**: 971 – 978.

- [9] Muschler GF, Nitto H, Boehm CA, *et al.* Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. *J Orthop Res*, 2001, **19**: 117 – 125.
- [10] Gronthos S, Franklin DM, Leddy HA, *et al.* Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J Cell Physiol*, 2001, **189**: 54 – 63.
- [11] 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**: 101 – 109.
- [12] Wexler SA, Donaldson C, Denning-Kendall P, *et al.* Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal stem cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br J Haematol*, 2003, **121**: 368 – 374.
- [13] Bacigalupo A, Tong J, Podesta M, *et al.* Bone marrow harvest for marrow transplantation: effect of multiple small (2 ml) or large (20 ml) aspirates. *Bone Marrow Transplant*, 1992, **9**: 467 – 470.
- [14] Nishimori M, Yamada Y, Hoshi K, *et al.* Health-related quality of life of unrelated bone marrow donors in Japan. *Blood*, 2002, **99**: 1995 – 2001.
- [15] Aust L, Devlin B, Foster SJ, *et al.* Yield of human adiposederived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy*, 2004, **6**: 7 – 14.
- [16] Silva WA Jr., Covas DT, Panepucci RA, *et al.* The profile of gene expression of human marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 2003, **21**: 661 – 669.
- [17] Li TS, Ito H, Hayashi M, *et al.* Cellular expression of integrin-beta (1) is of critical importance for inducing therapeutic angiogenesis by cell implantation. *Cardiovasc Res*, 2005, **65**: 64 – 72.
- [18] Papayannopoulou T, Priestley GV, Nakamoto B. Anti-VLA4/VCAM-1-induced mobilization requires cooperative signaling through the kit/mkit ligand pathway. *Blood*, 1998, **91**: 2231 – 2239.
- [19] Kronenwett R, Martin S, Haas R. The role of cytokines and adhesion molecules for mobilization of peripheral blood stem cells. *Stem Cells*, 2000, **18**: 320 – 330.
- [20] Roebuck KA, Finnegan A. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) gene expression. *J Leukoc Biol*, 1999, **66**: 876 – 888.
- [21] Lee RH, Kim B, Choi I, *et al.* Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. *Cell Physiol Biochem*, 2004, **14**: 311 – 324.
- [22] Puissant B, Barreau C, Bourin P, *et al.* Immunomodulatory effects of human adipose tissue-derived stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Br J Haematol*, 2005, **129**: 118 – 129.
- [23] Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, *et al.* Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation*, 2003, **75**: 389 – 397.
- [24] 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**: 729 – 741.
- [25] Dragoo JL, Choi JY, Lieberman JR, *et al.* Bone induction by BMP-2-transduced stem cells derived from human fat. *J Orthop Res*, 2003, **21**: 622 – 629.

- [26] Cowan CM, Shi YY, Aalami OO, *et al.* Adipose-derived adult stromal cells heal critical-size mouse calvarial defects. *Nat Biotechnol*, 2004, **22**: 560 – 567.
- [27] 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**: 370 – 373.
- [28] 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**: 418 – 429.
- [29] 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**: 740 – 747.
- [30] Nathan S, Das De S, Thambyah A, *et al.* Cell-based therapy in the repair of osteochondral defects : a novel use for adipose tissue. *Tissue Eng*, 2003, **9**: 733 – 744.
- [31] Bacou F, el Andaloussi RB, Daussin PA, *et al.* Transplantation of adipose tissue-derived stromal cells increases mass and functional capacity of damaged skeletal muscle. *Cell Transplant*, 2004, **13**: 103 – 111.
- [32] Gaustad KG, Boquest AC, Anderson BE, *et al.* Differentiation of human adipose tissue stem cells using extracts of rat cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **314**: 420 – 427.
- [33] Planat-Benard V, Menard C, Andre M, *et al.* Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. *Circ Res*, 2004, **94**: 223 – 229.
- [34] Strem BM, Zhu M, Alfonso Z, *et al.* Expression of cardiomyocytic markers on adipose tissue-derived cells in a murine model of acute myocardial injury. *Cytotherapy*, 2005, **7**: 282 – 291.
- [35] Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, *et al.* Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nat Med*, 2006, **12**(4): 459 – 465.
- [36] Miranville A, Heeschen C, Sengenès C, *et al.* Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation*, 2004, **110**: 349 – 355.
- [37] Rehman J, Traktuev D, Li J, *et al.* Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation*, 2004, **109**: 1292 – 1298.
- [38] Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, *et al.* Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation*, 2004, **109**: 1543 – 1549.
- [39] Casteilla L, Planat-Bénard V, Cousin B, *et al.* Plasticity of adipose tissue : a promising therapeutic avenue in the treatment of cardiovascular and blood diseases ? *Cardiovascular Research*, 2005, **9**: 922 – 926.
- [40] Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, *et al.* Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res*, 2000, **61**: 364 – 370.
- [41] Neuhuber B, Gallo G, Howard L, *et al.* Re-evaluation of in vitro differentiation protocols for bone marrow stromal cells : disruption of actin cytoskeleton induces rapid morphological changes and mimics neuronal phenotype. *J Neurosci Res*, 2004, **77**: 192 – 204.
- [42] Lu P, Blesch A, Tuszynski MH. Induction of bone marrow stromal cells to neurons : differentiation, transdifferentiation or artifact ? *J Neurosci Res*, 2004, **77**: 174 – 191.
- [43] Ashjian PH, Elbarbary AS, Edmonds B, *et al.* In vitro differentiation of human processed lipoaspirate cells into early neural progenitors. *Plast Reconstr Surg*, 2003, **111**: 1922 – 1931.
- [44] Lu D, Li Y, Wang L, *et al.* Intra-arterial administration of marrow stromal cells in a rat model of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 2001, **18**: 813 – 819.
- [45] Mahmood A, Lu D, Lu M, *et al.* Treatment of traumatic brain injury in adult rats with intravenous administration of human bone marrow stromal cells. *Neurosurgery*, 2003, **53**: 697 – 702.
- [46] Kang SK, Lee DH, Bae YC, *et al.* Improvement of neurological deficits by intracerebral transplantation of human adipose tissue-derived stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Exp Neurol*, 2003, **183**: 355 – 366.
- [47] Kang SK, Jun ES, Bae YC, *et al.* Interactions between human adipose stromal cells and mouse neural stem cells *in vitro*. *Brain Res Dev Brain Res*, 2003, **145**: 141 – 149.
- [48] Mahmood A, Lu D, Chopp M. Marrow stromal cell transplantation after traumatic brain injury promotes cellular proliferation within the brain. *Neurosurgery*, 2004, **55**: 1185 – 1193.
- [49] Garcia R, Aguiar J, Alberti E, *et al.* Bone marrow stromal cells produce nerve growth factor and glial cell line-derived neurotrophic factors. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **316**: 753 – 754.
- [50] Chen J, Zhang ZG, Li Y, *et al.* Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats. *Circ Res*, 2003, **92**: 692 – 699.
- [51] Li Y, Chen J, Chen XG, *et al.* Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat : neurotrophins and functional recovery. *Neurology*, 2002, **59**: 514 – 523.
- [52] Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. Can stem cells cross lineage boundaries ? *Nat Med*, 2001, **7**: 393 – 395.
- [53] Goodell, MA. Stem-cell “ plasticity ” : befuddled by the muddle. *Curr Opin Hematol*, 2003, **10**: 208 – 213.
- [54] Raff, M. Adult stem cell plasticity : fact or artifact ? *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2003, **19**: 1 – 22.
- [55] Tang PX(唐佩弦). New progress in basic research of stem cells. *Basic & Clinical Medicine*(基础医学与临床), 2006, **26**(1): 1 – 11.
- [56] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, *et al.* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, **284**: 143 – 147.
- [57] Case J, Horvath TL, Howell JC, *et al.* Clonal multilineage differentiation of murine common pluripotent stem cells isolated from skeletal muscle and adipose stromal cells. *Hematopoietic Stem Cells V Annals of the New York Academy of Sciences*, 2005, **1044**: 183 – 200.
- [58] Guilak F, Lott KE, Hani A, *et al.* Clonal analysis of the differentiation potential of human adipose-derived adult stem cells. *J Cell Physiol*, 2006, **206**: 229 – 237.