

# 脂肪干细胞治疗难愈性创面的研究进展



熊佳超<sup>1</sup>, 宋建星<sup>2</sup>

1. 第二军医大学研究生院(上海 200433)

2. 第二军医大学附属长海医院整形外科(上海 200433)

**【摘要】** 目的 总结近年脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)应用于难愈性创面治疗中的研究进展。方法 查阅近年有关 ADSCs 治疗难愈性创面的文献,分析总结其修复机制及治疗进展。结果 ADSCs 与单支架技术、片材技术等各种方法结合应用促进难愈性创面愈合已取得巨大进展,ADSCs 可通过自身旁分泌、促血管生成、抗氧化凋亡等多种机制,加快创面血管生成,促进难愈性创面愈合。结论 ADSCs 来源充足,易提取且易培养,无免疫排斥性,具有多向分化潜能和显著的促血管生成潜能,已成为组织再生医学理想的细胞类型。但仍需提高干细胞传递技术,开发更有利于临床使用的生物材料,以提高难愈性创面的治愈率。

**【关键词】** 脂肪干细胞; 难愈性创面; 旁分泌; 血管生成; 支架

## Research progress of adipose-derived stem cells on refractory wounds

XIONG Jiachao<sup>1</sup>, SONG Jianxing<sup>2</sup>

1. Graduate School, the Second Military Medical University, Shanghai, 200433, P.R.China

2. Department of Plastic Surgery, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai, 200433, P.R.China

Corresponding author: SONG Jianxing, Email: drsong@163.com

**【Abstract】 Objective** To summarize the recent advances in the research of adipose-derived stem cells (ADSCs) for the treatment of refractory wounds. **Methods** The related literatures about the treatment of ADSCs and refractory wounds in recent years were reviewed, and their repair mechanism and treatment progress were summarized in detail. **Results** ADSCs have achieved tremendous progress in combination with single stent technology, sheet technology, and other methods to promote the healing of refractory wounds. ADSCs can accelerate wound angiogenesis and promote the healing of refractory wounds through its own mechanisms of paracrine, proangiogenic, anti-oxidative and apoptosis. **Conclusion** ADSCs have the advantages of adequate sources, easy to extract and culture, non-immune rejection, with multidirectional differentiation potential, and significant angiogenic potential, which has become the ideal cell of tissue regenerative medicine. However, there is still a need to improve stem cell delivery technology and to develop biomaterials that are more conducive to clinical use in order to improve the cure rate of refractory wounds.

**【Key words】** Adipose-derived stem cells; refractory wound; paracrine; angiogenesis; scaffold

脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)是一种从脂肪组织提取得到的多向分化潜能干细胞,具有来源广泛、易提取扩增、低免疫原性等优点。ADSCs 可通过自身多向分化潜能迁徙至受损部位,分化为皮肤附属器表型,并用分化细胞重新修复受损皮肤;同时亦可分泌多种生长因子,加快创面血管生成,促进创面愈合。难愈性创面是指在伤后 30 d 内未达到解剖学和功能完整的皮肤创面<sup>[1]</sup>。难愈性创面会导致感染、截肢甚至死

亡等严重后果<sup>[2]</sup>。近年来,ADSCs 在难愈性创面修复方面取得了许多研究进展,现综述如下。

### 1 ADSCs 的生物学特性

ADSCs 的形态类似于成纤维细胞,由粗面内质网和细胞核组成,多聚集在血管周围区域。由于其具有易构性,因此不仅难以在脂肪组织中定位识别,而且无特异性标志物<sup>[3]</sup>。目前认为其抗原的表达可能与 BMSCs 类似,一般可表达 CD10、CD13、CD29、CD34、CD44、CD54、CD71、CD49b、CD90、CD105、CD117 和 STRO-1 等标志物,而 CD14、CD16、CD31、CD45、CD56、CD61、CD62E、

CD104、CD106、CD144 和血管性血友病因子等造血标志物较少表达<sup>[3-5]</sup>。此外,由于 ADSCs 是免疫豁免细胞,因此不存在 HLA-DR 的表达<sup>[6-7]</sup>。

### 1.1 ADSCs 的分化潜能及促分化作用

ADSCs 起源于中胚层,能分化成脂肪、成骨和软骨细胞系,甚至是肌原细胞系,进而分化为骨骼肌、平滑肌和心肌细胞<sup>[8-11]</sup>。ADSCs 最重要的功能是在某些生长因子的作用下,刺激周围细胞分化为特化细胞,如软骨细胞、骨细胞、肌肉细胞、神经元、成纤维细胞以及角质形成细胞的细胞前体等<sup>[12-14]</sup>。Zhang 等<sup>[15]</sup>研究表明 ADSCs 是皮肤中表皮干细胞活化所必需的。在许多细胞因子如 EGF、FGF- $\beta$ 、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、TGF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、VEGF、角质形成细胞生长因子、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、基质因子 1- $\alpha$  和 IL-6、IL-8、IL-11、IL-12 等作用下,可动员包括如毛囊“隆起”区域的表皮干细胞在内的其他外源性干细胞<sup>[4,12,14]</sup>。同时,ADSCs 能通过抑制促炎性细胞因子、增强抗炎物质 IL-10、刺激调节性 T 细胞等方式分化成内皮细胞,来促进血管生成<sup>[4,16]</sup>。

### 1.2 ADSCs 促血管生成作用

ADSCs 的促血管生成作用对于修复难愈性创面以及重建血液供应极其重要<sup>[17-18]</sup>。目前有多种 ADSCs 表达分泌的细胞因子,如基质细胞衍生因子 1 (stromal cell-derived factor 1, SDF-1)、VEGF、PDGF、bFGF、血管生成素 1、IGF-1、基质金属蛋白酶、IL-6 和 IL-8 等均对血管生成起重要作用<sup>[18]</sup>。此外, Park 等<sup>[14]</sup>研究发现 ADSCs 增殖、迁移和分化的首要刺激因素是缺氧 (氧浓度为 1%~5%)。研究表明,脂肪组织中的局部缺氧会诱发自由基的形成,并导致生长因子的分泌,刺激新生血管形成,其机制可能与缺氧诱导因子 1 $\alpha$  的表达,并增加参与新血管形成的生长因子 (VEGF、bFGF 和 HGF) 生成有关<sup>[12-13]</sup>。

### 1.3 ADSCs 抗氧化凋亡作用

Kim 等<sup>[19]</sup>通过观察 ADSCs 条件培养基,发现 ADSCs 具有抗氧化和减少细胞凋亡的能力; Baregamian 等<sup>[20]</sup>研究发现 IGF 能清除自由基,起到抗氧化作用; Shibuki 等<sup>[21]</sup>研究发现 HGF 能起到抗氧化应激的作用。这些研究均表明 ADSCs 旁分泌多种生长因子具有抗氧化作用。另外, Lee 等<sup>[22]</sup>研究发现,人 ADSCs 中过表达的 miRNA-301a 可抑制凋亡信号调节激酶 1 表达,起到抗凋亡作用。

### 1.4 ADSCs 免疫调节作用

ADSCs 通过免疫调节减少难愈性创面炎性反

应,促进难愈性创面愈合。Kokai 等<sup>[23]</sup>研究发现,ADSCs 通过旁分泌 TGF- $\beta$ 、半乳糖凝集素 1、3,促进辅助性 T 细胞 (T helper cells, Th) 向调节性 T 细胞分化并减少 T 细胞增殖,因此 Th1 炎症反应被下调,促进了免疫耐受。研究同时表明,一旦 ADSCs 在创面被单核细胞和白细胞激活,ADSCs 可分泌一氧化氮、前列腺素 E2、吲哚胺 2,3 双加氧酶和 IL-6 等可溶性分子,阻止细胞毒性 T 细胞增殖和 B 淋巴细胞分化为浆细胞,阻碍树突状细胞的分化、发育、成熟和功能。

## 2 ADSCs 治疗难愈性创面的进展

目前关于 ADSCs 治疗难愈性创面的研究进展,主要侧重于应用各种方法,如单支架技术、片材技术等,将人体组织脂肪抽吸提取 ADSCs 并进行体外培养,制成多种制剂应用于难愈性创面,观察创面愈合情况。

### 2.1 支架技术

研究显示,细胞注射移植法的细胞移植率较低,已显著限制了干细胞疗法的临床转化<sup>[24]</sup>。因此, Huang 等<sup>[25]</sup>和 Yang 等<sup>[26]</sup>研究了如端胶原凝胶支架或丝素蛋白-壳聚糖悬浮液的 ADSCs 支架进行细胞移植,提高了细胞移植率。Sivan 等<sup>[27]</sup>使用纤维蛋白和纤连蛋白构建体外支架,将支架应用于模拟体内环境的仿生纤维蛋白复合基质,显示 ADSCs 所分化分泌的细胞及细胞因子的存留率提高,提示支架具有加速细胞附着和生长,并促进分化细胞存活的作用。Kao 等<sup>[28]</sup>使用聚乳酸涂层和仿生涂层构建 3D 打印支架,显著增强了 ADSCs 的黏附、增殖、分化和细胞周期。

### 2.2 片材技术

片材技术是通过细胞与细胞和细胞与细胞外基质相互作用,使移植的 ADSCs 更稳定,大大提高了移植 ADSCs 的效率。Cerqueira 等<sup>[6]</sup>使用人 ADSCs 与细胞外基质结合制成一种细胞薄片,将这种薄片叠加 3 层,形成一个三维结构组织工程构建体 (被称为“技术薄片”);然后将细胞薄片转移到完全切除皮肤的小鼠创面上,通过观察新毛囊和新血管形成情况,评估皮肤创面恢复状况,结果显示使用细胞薄片组皮肤创面恢复状况显著优于标准培养基细胞培养组。Sukho 等<sup>[29]</sup>研究发现,将移植 ADSCs 的细胞薄片应用于难愈性创面,显示出较快的愈合速度、更高的血管生成度及创面成熟度。

### 2.3 三维培养基

研究者们致力于 ADSCs 的三维培养体系,以

构建具有细胞外基质的三维细胞培养基,其可提高干细胞移植率并表现出更好治疗难愈性创面的效果<sup>[30-31]</sup>。Feng 等<sup>[30]</sup>研究出一种将脂肪来源的干细胞或基质细胞的三维培养基制备成即用型注射剂的简单方法。他们将单层培养的人 ADSCs 悬浮液转移至含有透明质酸凝胶(天然来源的细胞外基质组分)的注射器中,然后将该注射器作为三维培养容器进行培育,将富含人 ADSCs 的透明质酸凝胶应用于难愈性创面小鼠模型,显示出良好愈合效果,证实了 ADSCs 在体内病理性创面修复中的较好疗效。Mineda 等<sup>[32]</sup>使用相同的实验方法,将富含人 ADSCs 的透明质酸凝胶用于缺血再灌注损伤小鼠模型,证实 ADSCs 的三维培养基具有促血管生成和组织再生的能力。

#### 2.4 原位可交联水凝胶

研究发现,在悬浮摇摆培养系统中,当 MSCs 的球状体直径达到 200  $\mu\text{m}$  时会产生中央坏死<sup>[2,30]</sup>。半渗透聚合物网络(semi-IPN)结构新技术的产生,解决了这个难题。它是一种将半渗透聚合物与透明质酸结合而产生的原位可交联水凝胶,在二维和三维细胞培养模型中表现出孔隙率显著增加、溶胀能力增强,并改善了细胞黏附性和生存力<sup>[33]</sup>。同样,Lozano Picazo 等<sup>[34]</sup>研究发现,ADSCs 可以在 semi-IPN 中更好地吸附、增殖及传递细胞。

#### 2.5 可注射聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG)-明胶水凝胶

目前研究热点是寻找类似干细胞生理生态位的其他材料,以提高细胞保留能力。Dong 等<sup>[24]</sup>已开发出具有高度可调性能的可注射 PEG-明胶水凝胶,模拟干细胞生理生态位,该技术可将小鼠 ADSCs 便捷地封装至水凝胶中,从而支持 ADSCs 生长并保持其多能性,为创面愈合和其他组织再生递送细胞。Dong 等将 PEG-明胶水凝胶应用于鼠创面愈合模型上,结果显示细胞滞留率提高、血管生成增强,并加速了创面闭合。此外,Dong 等<sup>[35]</sup>将可注射 PEG-明胶水凝胶应用于体外细胞培养(21 d)和大鼠背侧全层创面模型(14 d),观察细胞活力、增殖、代谢以及创面愈合、炎性反应、血管生成状况等,发现 PEG-明胶水凝胶中可维持 ADSCs 增殖存活,显著促进创面血管化与愈合。Hassan 等<sup>[36]</sup>将人 ADSCs 封装至 PEG-明胶水凝胶中,同样观察到高度的细胞存活率。以上研究均证实了该水凝胶系统联合使用 ADSCs 作为促进创面愈合的生物活性水凝胶敷料的潜力。

#### 2.6 ASDCs 与富血小板血浆 (platelet-rich plasma, PRP) 联合应用

PRP 是创面愈合所必需的生长因子来源,如 PDGF、TGF、IGF 和 EGF 等,同时 ADSCs 具有促进细胞增殖和提高创面皮肤修复质量的作用。一方面,PRP 与 ADSCs 具有协同作用,二者联合使用使得体外成纤维细胞和角质形成细胞更快速增殖;另一方面,10% 浓度的 PRP 体外培养可以减缓蛋白水解酶(如 PRP 胶原酶、弹性蛋白酶和组织蛋白酶)抑制的细胞再生,提高细胞再生速度<sup>[37-40]</sup>。Raposio 等<sup>[41]</sup>将 ADSCs 与 PRP 联合应用于 16 例难愈性溃疡患者,随访观察创面愈合状况显示,与标准创面治疗的对照组相比,试验组患者治疗过程痛苦更少且创面愈合率更高。

### 3 ADSCs 治疗难愈性创面的机制

类固醇皮质激素的使用、持续感染、组织缺氧、肥胖症、糖尿病和鳞状细胞癌等均可造成创面愈合延缓,形成难愈性创面<sup>[3,42]</sup>。皮肤中大量促炎细胞因子和中性粒细胞延长了炎症阶段,基质金属蛋白酶的分泌增多引起细胞外基质的降解,均可能导致皮肤创面愈合困难<sup>[3,43]</sup>。目前研究认为,ADSCs 治疗难愈性创面主要通过旁分泌、抗氧化凋亡及多向分化等多种机制发挥促进组织再生作用。

#### 3.1 ADSCs 旁分泌机制

ADSCs 间接地通过旁分泌多种生长因子(IGF、TGF- $\beta_1$ 、VEGF、HGF 和 FGF-2 等)和抗炎细胞因子,刺激新生血管形成,从而激活皮肤的角质形成细胞和成纤维细胞生成,促进创面愈合<sup>[6,44-45]</sup>。Zografou 等<sup>[46]</sup>认为 ADSCs 的移植可以通过旁分泌生长因子(VEGF 和 TGF- $\beta_3$ ),提高皮肤移植的存活率,抑制瘢痕,促进体内胶原蛋白组织的改善,调节创面的再上皮化。Nie 等<sup>[47]</sup>研究发现 ADSCs 旁分泌 VEGF,并可刺激创面环境中内源性细胞的募集、迁移和增殖。值得注意的是,ADSCs 可以通过旁分泌方法特异性地影响皮肤组织中的其他细胞类型,如 BMSCs<sup>[3]</sup>。

#### 3.2 ADSCs 抗氧化凋亡机制

抗氧化凋亡在难愈性创面治疗中起重要作用。ADSCs 的一个重要特征是能产生抗氧化剂,保护成纤维细胞免受氧化应激<sup>[48]</sup>。目前研究认为创面部位缺氧是诱导 ADSCs 增加生长因子和抗凋亡因子分泌的因素之一。Kim 等<sup>[13]</sup>研究发现,在低氧条件下培养 ADSCs 可以提高其结合黏附分子(细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1)的能力,从而



加快了新生血管的生成,提高 bFGF 的产量,增加 ADSCs 的增殖。另外, Li 等<sup>[2]</sup>研究表明, SDF-1 通过激活 ADSCs 中的半胱氨酸蛋白酶信号通路,来保护在缺氧和无血清条件下的细胞凋亡,增加 ADSCs 在皮肤慢性创面中的治疗效果。

### 3.3 ADSCs 分化机制

难愈性创面修复需要多种细胞共同参与。Sivan 等<sup>[27]</sup>研究发现, ADSCs 可以转化为表达细胞角蛋白 5、14、19 和整合蛋白  $\alpha 6$  的上皮细胞进行创面修复。Shingyochi 等<sup>[45]</sup>研究发现, ADSCs 可分化为成纤维细胞,不仅表现出形态相似性,而且可表达成纤维细胞表面蛋白(包括波形蛋白和纤连蛋白)的能力。同时, ADSCs 可以直接转化为成纤维细胞和角质形成细胞进行创面修复。

## 4 小结与展望

ADSCs 来源充足,从自体脂肪组织中易提取且易培养,无免疫排斥性,具有多向分化潜能和显著的促血管生成潜能,与三维支架具有高度亲和力,已成为组织再生医学理想的细胞类型。对于应用 ADSCs 相关制剂治疗皮肤慢性难愈性创面的研究虽有很大进展,但目前仍处于研究初期阶段,ADSCs 的作用机制尚未完全明确,其安全性、局限性、不确定性还需进一步进行实验研究,为临床难愈性创面的治疗提供更理想手段;同时提高干细胞传递技术,开发更有利于临床使用的生物材料,以提高难愈性创面的治愈率。

### 参考文献

- Bertozzi N, Simonacci F, Grieco MP, *et al.* The biological and clinical basis for the use of adipose-derived stem cells in the field of wound healing. *Ann Med Surg (Lond)*, 2017, 20: 41-48.
- Li Q, Guo Y, Chen F, *et al.* Stromal cell-derived factor-1 promotes human adipose tissue-derived stem cell survival and chronic wound healing. *Exp Ther Med*, 2016, 12(1): 45-50.
- Hassan WU, Greiser U, Wang W. Role of adipose-derived stem cells in wound healing. *Wound Repair Regen*, 2014, 22(3): 313-325.
- Bajek A, Gutowska N, Olkowska J, *et al.* Adipose-derived stem cells as a tool in cell-based therapies. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64(6): 443-454.
- Musina RA, Bekchanova ES, Sukhikh GT. Comparison of mesenchymal stem cells obtained from different human tissues. *Bull Exp Biol Med*, 2005, 139(4): 504-509.
- Cerqueira MT, Pirraco RP, Santos TC, *et al.* Human adipose stem cells cell sheet constructs impact epidermal morphogenesis in full-thickness excisional wounds. *Biomacromolecules*, 2013, 14(11): 3997-4008.
- Niemeyer P, Vohrer J, Schmal H, *et al.* Survival of human mesenchymal stromal cells from bone marrow and adipose tissue after xenogenic transplantation in immunocompetent mice. *Cytherapy*, 2008, 10(8): 784-795.
- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, *et al.* Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*, 2001, 7(2): 211-228.
- 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.
- Rodriguez LV, Alfonso Z, Zhang R, *et al.* Clonogenic multipotent stem cells in human adipose tissue differentiate into functional smooth muscle cells. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 2006, 103(32): 12167-12172.
- Fraser JK, Schreiber R, Strem B, *et al.* Plasticity of human adipose stem cells toward endothelial cells and cardiomyocytes. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2006, 3(Suppl 1): S33-37.
- Kim WS, Han J, Hwang SJ, *et al.* An update on niche composition, signaling and functional regulation of the adipose-derived stem cells. *Expert Opin Biol Ther*, 2014, 14(8): 1091-1102.
- Kim WS, Park BS, Sung JH. The wound-healing and antioxidant effects of adipose-derived stem cells. *Expert Opin Biol Ther*, 2009, 9(7): 879-887.
- Park BS, Kim WS, Choi JS, *et al.* Hair growth stimulated by conditioned medium of adipose-derived stem cells is enhanced by hypoxia: evidence of increased growth factor secretion. *Biomed Res*, 2010, 31(1): 27-34.
- Zhang P, Kling RE, Ravuri SK, *et al.* A review of adipocyte lineage cells and dermal papilla cells in hair follicle regeneration. *J Tissue Eng*, 2014, 5: 2041731414556850.
- Gonzalez-Rey E, Gonzalez MA, Varela N, *et al.* Human adipose-derived mesenchymal stem cells reduce inflammatory and T cell responses and induce regulatory T cells *in vitro* in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(1): 241-248.
- Javazon EH, Keswani SG, Badillo AT, *et al.* Enhanced epithelial gap closure and increased angiogenesis in wounds of diabetic mice treated with adult murine bone marrow stromal progenitor cells. *Wound Repair Regen*, 2007, 15(3): 350-359.
- Wu DC, Boyd AS, Wood KJ. Embryonic stem cell transplantation: potential applicability in cell replacement therapy and regenerative medicine. *Front Biosci*, 2007, 12: 4525-4535.
- Kim WS, Park BS, Kim HK, *et al.* Evidence supporting antioxidant action of adipose-derived stem cells: protection of human dermal fibroblasts from oxidative stress. *J Dermatol Sci*, 2008, 49(2): 133-142.
- Baregamian N, Song J, Jeschke MG, *et al.* IGF-1 protects intestinal epithelial cells from oxidative stress-induced apoptosis. *J Surg Res*, 2006, 136(1): 31-37.
- Shibuki H, Katai N, Kuroiwa S, *et al.* Expression and neuroprotective effect of hepatocyte growth factor in retinal ischemia-reperfusion injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(2): 528-536.
- Lee CY, Shin S, Lee J, *et al.* MicroRNA-mediated down-regulation of apoptosis signal-regulating kinase 1(ASK1) attenuates the apoptosis of human mesenchymal stem cells (MSCs) transplanted into infarcted heart. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(10): pii: E1752.
- Kokai LE, Marra K, Rubin JP. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration. *Transl Res*, 2014, 163(4): 399-408.
- Dong Y, Sigen A, Rodrigues M, *et al.* Injectable and tunable gelatin

- hydrogels enhance stem cell retention and improve cutaneous wound healing. *Adv Functional Materials*, 2017, 27(24): 1606619.
- 25 Huang SP, Huang CH, Shyu JF, *et al.* Promotion of wound healing using adipose-derived stem cells in radiation ulcer of a rat model. *J Biomed Sci*, 2013, 20: 51.
- 26 Yang J, Yamato M, Kohno C, *et al.* Cell sheet engineering: recreating tissues without biodegradable scaffolds. *Biomaterials*, 2005, 26(33): 6415-6422.
- 27 Sivan U, Jayakumar K, Keishnan LK. Constitution of fibrin-based niche for *in vitro* differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells to keratinocytes. *Biores Open Access*, 2014, 3(6): 339-347.
- 28 Kao CT, Lin CC, Chen YW, *et al.* Poly (dopamine) coating of 3D printed poly(lactic acid) scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, 56: 165-173.
- 29 Sukho P, Cohen A, Hesselink JW, *et al.* Adipose tissue-derived stem cell sheet application for tissue healing *in vivo*: a systematic review. *Tissue Eng Part B Rev*, 2018, 24(1): 37-52.
- 30 Feng J, Mineda K, Wu SH, *et al.* An injectable non-cross-linked hyaluronic-acid gel containing therapeutic spheroids of human adipose-derived stem cells. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1548.
- 31 Park IS, Chung PS, Ahn JC. Enhanced angiogenic effect of adipose-derived stromal cell spheroid with low-level light therapy in hind limb ischemia mice. *Biomaterials*, 2014, 35(34): 9280-9289.
- 32 Mineda K, Feng J, Ishimine H, *et al.* Therapeutic potential of human adipose-derived stem/stromal cell microspheroids prepared by three-dimensional culture in non-cross-linked hyaluronic acid gel. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(12): 1511-1522.
- 33 Dong Y, Hassan W, Zheng Y, *et al.* Thermoresponsive hyperbranched copolymer with multi acrylate functionality for in situ cross-linkable hyaluronic acid composite semi-IPN hydrogel. *J Mat Sci Mat Med*, 2012, 23(1): 25-35.
- 34 Lozano Picazo P, Pérez Garnes M, Martínez Ramos C, *et al.* New semi-biodegradable materials from semi-interpenetrated networks of poly( $\epsilon$ -caprolactone) and poly(ethyl acrylate). *Macromol Biosci*, 2015, 15(2): 229-240.
- 35 Dong Y, Hassan WU, Kennedy R, *et al.* Performance of an in situ formed bioactive hydrogel dressing from a PEG-based hyperbranched multifunctional copolymer. *Acta Biomater*, 2014, 10(5): 2076-2085.
- 36 Hassan W, Dong Y, Wang W. Encapsulation and 3D culture of human adipose-derived stem cells in an *in-situ* crosslinked hybrid hydrogel composed of PEG-based hyperbranched copolymer and hyaluronic acid. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(2): 32.
- 37 Stessul T, Puzzi MB, Chaim EA, *et al.* Platelet-rich plasma (PRP) and adipose-derived mesenchymal stem cells: stimulatory effects on proliferation and migration of fibroblasts and keratinocytes *in vitro*. *Arch Dermatol Res*, 2016, 308(7): 511-520.
- 38 Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, *et al.* Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts. *Plast Reconstr Surg*, 2008, 122(5): 1352-1360.
- 39 Greenspoon JA, Moulton SG, Millett PJ, *et al.* The role of platelet rich plasma (PRP) and other biologics for rotator cuff repair. *Open Orthop J*, 2016, 10: 309-314.
- 40 Marques LF, Stessuk T, Camargo IC, *et al.* Platelet-rich plasma (PRP): methodological aspects and clinical applications. *Platelets*, 2015, 26(2): 101-113.
- 41 Raposio E, Beryozzi N, Bonomini S, *et al.* Adipose-derived stem cells added to platelet-rich plasma for chronic skin ulcer therapy. *Wounds*, 2016, 28(4): 126-131.
- 42 Tartarini D, Mele E. Adult stem cell therapies for wound healing: biomaterials and computational models. *Front Bioeng Biotechnol*, 2016, 3: 206.
- 43 Akita S, Yoshimoto H, Akino K, *et al.* Early experiences with stem cells in treating chronic wounds. *Clin Plast Surg*, 2012, 39(3): 281-292.
- 44 Kim WS, Park BS, Sung JH, *et al.* Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci*, 2007, 48(1): 15-24.
- 45 Shingyochi Y, Orbay H, Mizuno H. Adipose-derived stem cells for wound repair and regeneration. *Exp Opin Biol Ther*, 2015, 15(9): 1285-1292.
- 46 Zografou A, Papadopoulos O, Tsigris C, *et al.* Autologous transplantation of adipose-derived stem cells enhances skin graft survival and wound healing in diabetic rats. *Ann Plast Surg*, 2013, 71(2): 225-232.
- 47 Nie C, Yang D, Xu J, *et al.* Locally administered adipose-derived stem cells accelerate wound healing through differentiation and vasculogenesis. *Cell Transplant*, 2011, 20(2): 205-216.
- 48 Lee JH, Fisher DE. Melanocyte stem cells as potential therapeutics in skin disorders. *Exp Opin Biol Ther*, 2014, 14(11): 1569-1579.

收稿日期: 2017-12-18 修回日期: 2018-02-27

本文编辑: 王雁