

自体脂肪移植血供建立的研究进展

李锋综述 敬伟 田卫东审校

(四川大学华西口腔医院创伤整形外科; 口腔疾病研究国家重点实验室, 四川大学 成都 610041)

[摘要] 各种原因导致的软组织缺损, 严重影响了患者的生理和心理健康, 其修复和重建一直是整形和修复重建外科面临的重大挑战。自体脂肪移植具有来源丰富、取材方便、无免疫排斥反应等优点, 是软组织修复重建的常用方法之一。然而, 其远期的不稳定性和高吸收率极大地限制了这一技术在临床的更广泛应用。研究表明, 移植区血供建立不足是导致移植脂肪组织高吸收率的关键原因之一。因此, 如何促进脂肪移植的血供建立, 提高移植体的存活率, 是国内外研究的热点。本文就自体脂肪移植的血供建立进行探讨。

[关键词] 软组织缺损; 自体脂肪移植; 血管生成; 存活率

[中图分类号] R 782.2 [文献标志码] A [doi] 10.3969/j.issn.1673-5749.2012.01.035

Research progress on microvascular angiogenesis in autologous fat graft Li Feng, Jing Wei, Tian Weidong. (Dept. of Traumatic and Plastic Surgery, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China; State Key Laboratory of Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Soft tissue defects resulted from a variety of reasons not only lead to appearance disfigurement, but also seriously affect emotional well-being of patients, and is one of the most significant challenges in reconstructive and plastic surgery. Autologous fat graft has been popular in repair of soft tissue defects because of its rich material resources, convenience in obtaining, no immunity reaction and so on. But its unstability and significant resorption over time has greatly restricted its wider utilization in patients. The main problem is insufficient blood supply in fat grafts. So more and more researches focus on how to improve microvascular angiogenesis and fat graft viability. Here we review recent studies that revealed the microvascular angiogenesis in autologous fat graft.

[Key words] soft tissue defect; autologous fat graft; angiogenesis; viability

创伤、肿瘤或先天畸形等因素导致的颌面部软组织缺损, 对患者容貌和心理都有严重的影响, 但其修复和重建至今仍是整形和修复重建外科面临的重大挑战^[1-3]。自 1893 年以患者自体游离的小块脂肪组织充填其面部软组织凹陷开始, 自体脂肪移植至今仍然是软组织修复重建的常用方法之一, 这是与自体脂肪来源丰富、取材方便、安全可靠、无免疫排斥反应等优点密不可分的。然而, 移植后的脂肪存活率较低, 一般为 30%~60%^[4-5], 这极大地影响了自体脂肪移植的远期疗效。导致移植脂肪组织如此高吸收率的关键原因之一是移植区的血供建立不足, 尤其是中央区移植组织不能获得充足的氧和营养, 从而影响了其长期的存活率^[1-2, 6-7]。因此, 如何促进移植体内部

血供重建, 缩短低血期, 提高移植体存活率, 成为了脂肪移植研究中的热点。

1 血管生成和脂肪形成的关系

脂肪组织是一种高度血管化的组织, 其血液供应和毛细血管的密度是骨骼肌的 2~3 倍。血管生成与脂肪形成密切相关, 在胚胎发育的过程中, 脂肪组织的发育在时间和空间上都与微血管的生长发育有紧密的联系^[8-9]。Neels等^[10]将 3T3-F442A 前脂肪细胞注射于裸鼠皮下, 在第 5 天就可观察到明显的微血管系统生成, 在 14~21 d, 脂肪细胞发育为高度血管化的脂肪垫。这就表明在脂肪组织的发育过程中, 血管形成先于脂肪形成。Crandall等^[11]的研究发现: 在血管生成过程中, 前脂肪细胞会随着血管内皮细胞的发育而迁移。Tang等^[12]发现: 成脂肪细胞存在于脂肪组织的血管周细胞层中, 而在其他组织的血管中没有。这就表明, 脂肪组织血管作为祖细胞的微环境为脂肪细

[收稿日期] 2010-09-01; [修回日期] 2011-09-04

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30725042)

[作者简介] 李锋(1985—), 男, 山东人, 博士

[通讯作者] 田卫东, Tel: 028-85460532

胞的发育提供信号。越来越多的研究都表明：血管生成对于脂肪组织的发育形成具有重要的调节和协同作用，是维持脂肪组织体积和功能稳定的关键因素。

2 自体脂肪移植后的血供建立过程

关于人自体脂肪移植后血管形成情况的研究相对较少。Nishimura等^[13]观察了 Wistar 大鼠自体脂肪移植后血管形成的过程。他们在大鼠腹股沟区获得了 300 mg 的脂肪，剪碎后将其植入大鼠背部皮下。分别在 2、7、30、90 和 180 d 时，将移植体称重及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)染色。对移植体周围的 VEGF 阳性细胞进行计数，同时可以看见新生成的毛细血管，作为血管化的证据。观察到在 7 d 时毛细血管的生成率很高，在 30 d 时略下降，以后其数量保持稳定；微血管在 7 d 时的增长与 VEGF 阳性细胞迅速增长是平行的，但是 VEGF 阳性细胞在后来的 3 个月呈对数下降。作者总结得出：这些血管生长因子对血管的生成很重要，血管生成在 7 d 时已经发生。但该研究并未说明何时血管化到达移植体的各个部分。Langer 等^[14]将 25 mm³ 大小的金仓鼠腹股沟脂肪块移植到背部皮下，每天利用活体荧光显微镜定量观察移植组织内的功能性血管密度(functional vascular density, FVD)来分析其血管生成。结果发现：在移植后 1 d，移植体周围即有血供建立，FVD 为(2±1) cm·cm⁻²，21 d 后达最大(184±10) cm·cm⁻²，基本与周围宿主组织的 FVD 相同；而移植体中央区在 3 d 后才开始有血管生成，其 FVD 为(14±3) cm·cm⁻²，并逐渐增多，21 d 后达到(139±10) cm·cm⁻²，但是最终仍低于移植体周围区。这些研究结果表明：脂肪移植后血供的形成主要依赖移植受区宿主血管向移植体的长入，而移植体的中央区是这种血供的边缘区域，不能及时恢复血供，故容易发生坏死而影响移植效果。

3 影响自体脂肪移植后血供建立的因素

正如前面所说，血管生成是自体脂肪移植后成活的关键因素，为了促进移植的自体脂肪组织血管化，国内外学者进行了很多研究。

3.1 供区的处理

对移植供区的脂肪组织进行低血预处理，可以加强其移植后的血供建立，从而提高远期存活

率。原因可能解释为：首先，在延迟脂肪瓣内检测到 VEGF 水平升高，刺激了新生血管的形成；其次，之前简短的低血预处理使脂肪细胞自身对低血的耐受能力得到提升，从而能够应对移植后的低血境况。

3.2 来自受区的影响

将脂肪组织移植入不同的组织层面，会影响移植物的血供建立，从而影响其存活率。将新西兰白兔腹股沟处获得的 2.0 cm×1.0 cm×0.5 cm 大小的脂肪块分别移植在兔下颌区的皮下、肌肉上层和肌肉下层 3 个层面内，6 个月后测得 3 个层面脂肪移植物的存活率分别为 41.62%±3.2%、81.95%±4.40%和 37.31%±5.77%(*P*<0.01)，且由同一病理学医生通过单盲的形式对各组移植物的组织学切片进行观察，根据切片上新生血管由少到多进行打分(0~+4)，结果皮下、肌肉上层和肌肉下层 3 组切片的得分分别为+2、+3 和+2^[15]。可见，相较于另外 2 组，将脂肪组织移植在肌肉上层更有利于移植体新生血管的生成，从而提高其存活率。这应该与肌肉上层血供丰富有关，而且肌肉下层的空间较为狭窄、紧凑，也影响了血供的建立。其他一些学者也通过对受区加以处理来影响移植后组织的血供建立。例如 Baran 等^[16]采用硅酮薄膜预处理受体区域，使其局部因炎症反应而产生大量微血管，从而有效地降低移植后脂肪组织的吸收率。

3.3 生长因子的应用

3.3.1 碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF) bFGF 能促进成纤维细胞有丝分裂，可刺激血管形成，在创伤愈合中发挥着作用。Eppley 等^[17]将从大鼠腹股沟处得到的自体脂肪移植体分别直接与 bFGF 混合以及与用 bFGF 预先处理过的葡聚糖珠混合，然后将其植入大鼠面部，术后 6 个月后，后者的移植体质量明显大于前者。Hong 等^[18]在新西兰白兔的自体脂肪移植中应用了含有胰岛素和 bFGF 的改良 DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium) 培养基，也大大提高了自体脂肪移植的存活率。这些研究虽然没有具体测定移植体的血管生成情况，但是其分析结果都表明：bFGF 刺激血管形成的生物功能对于移植脂肪的血供建立和成活率都具有重要作用。

3.3.2 VEGF VEGF 属于血小板衍生生长因子家族成员，是血管内皮细胞特异性的结合生长因子，

可刺激血管内皮细胞的有丝分裂，在体内诱导血管新生。Lei等^[19]在SD大鼠自体颗粒脂肪移植的部位注射含有编码重组人血管内皮生长因子(recombinant human vascular endothelial growth factor, rhVEGF)DNA的脂质体质粒，分别在术后3、7、15和30 d取出移植物，测质量并对其进行组织学评价以及微血管计数。结果发现：术后15和30 d, rhVEGF 试验组的微血管计数均远远高于对照组($P<0.01$)，故其存活率也很高。Yi等^[20]将编码鼠VEGF₁₆₅的腺病毒生理盐水溶液与脂肪组织混合进行移植，15周后移植物的体积和质量明显高于空白对照组($P<0.05$)，试验组移植物的微血管密度(26.7 ± 3.2) mm⁻²与对照组的微血管密度(16.2 ± 2.1) mm⁻²间的差异有统计学意义($P<0.01$)。

3.4 脂肪来源干细胞(adipose-derived stem cell, ASC)的应用

Yoshimura等^[21]研究了40名女性患者软组织缺损或隆胸的治疗，其以自体脂肪辅以ASC移植进行修复或填充，增强了移植脂肪的血管化，减少了吸收。这就表明，ASC具有促进移植脂肪组织血管化并维持其体积稳定的功能。Lu等^[22]将转染和不转染VEGF的ASC与脂肪组织混合进行移植，以单独脂肪组织移植作为对照组，6个月后，3组的移植组织存活率分别为74.1%±12.6%、60.1%±17.6%和27.1%±8.2%($P<0.001$)；与对照组相比较，前2组移植组织也具有更高的微血管密度($P<0.001$)。当然，得益于VEGF的作用，前2组之间的脂肪组织存活率和微血管密度差异也具有统计学意义($P<0.001$)。Masuda等^[23]的研究显示：将高度血管化的网膜组织与脂向诱导后的脂肪前体细胞共同植入裸鼠皮下，有助于新生组织的血管化。此类研究证明：复合自体ASC有望作为一种临床可行的促进移植脂肪组织血供形成的有效方案。

3.5 加强自体脂肪移植血供建立的其他策略

Karaçal等^[24]将纤维蛋白凝胶用于SD大鼠的自体脂肪移植，6个月后测得应用了纤维蛋白凝胶的试验组移植物存活率为79%±4%，明显高于对照组55%±6%($P<0.01$)；进一步通过组织病理学观察，在试验组发现大量明显的新生血管形成。富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)中含有的多种血小板衍生生长因子和其他生物活性蛋白，具有促进软、硬组织创伤修复的作用。Nakamura等^[25]将大鼠脂肪组织和PRP混合进行自体移植作

为试验组，以生理盐水混合脂肪组织作为对照组，在移植术后10、20、30和120 d对移植物进行检测。结果发现：术后30~120 d，对照组的脂肪组织明显吸收，而试验组鲜有吸收；在组织学上，试验组脂肪组织较对照组含有更多的正常脂肪细胞、更多的毛细血管数量($P<0.01$)。他们认为：PRP能够促进移植后脂肪组织的微血管重建，提高脂肪移植的存活率。然而，Por等^[26]的研究却得出了不同的结果，即PRP对游离脂肪移植的存活没有促进作用。究其原因，可能是这两项研究的脂肪和PRP的来源不同。

4 结束语

近年来，新兴的脂肪组织工程为修复和重建软组织提供了崭新的思路和途径，国内外关于脂肪组织工程的研究^[1-3 27-29]也开展较多。如Stosich等^[28]将含有微通道并吸附0.5 μg·μL⁻¹ bFGF的圆柱状聚乙二醇水凝胶植入裸鼠皮下，4周时通过VEGF免疫定位证实有血管化宿主组织长入微通道内；进一步将这种水凝胶与脂向诱导分化的骨髓间充质干细胞复合后植入裸鼠皮下，12周后观察到血管化的脂肪组织形成。该试验研究证实了采用内含微通道的圆柱状聚乙二醇水凝胶加上bFGF和干细胞，有助于建立血管化的组织工程化脂肪。

由于应用脂肪组织工程技术修复软组织缺损近期才引起学者们的关注，组织工程化的脂肪组织要应用于临床还需要在大型动物模型中进行长期的观察实验，才能确定新形成的脂肪在血管化、体型和功能上的稳定性；所以，在今后相当长一段时期之内，自体脂肪移植仍将是软组织修复重建的常用方法，而关于如何促进自体脂肪移植后的血供建立、降低其吸收率仍需要进一步的研究。

5 参考文献

- [1] Patrick CW Jr. Adipose tissue engineering :The future of breast and soft tissue reconstruction following tumor resection[J]. Semin Surg Oncol, 2000, 19(3) 302-311.
- [2] Patrick CW Jr. Tissue engineering strategies for adipose tissue repair[J]. Anat Rec, 2001, 263(4) 361-366.
- [3] Patrick CW. Breast tissue engineering[J]. Annu Rev Biomed Eng, 2004, 6 :109-130.
- [4] Oysu C, Semiz-Oysu A, Ekinçi G, et al. Evaluation of autologous fat volume with magnetic resonance imaging following vocal cord injection[J]. Kulak Burun Bogaz I-his Derg, 2004, 13(3/4) 67-71.

- [5] Shiffman MA, Mirrafati S. Fat transfer techniques :The effect of harvest and transfer methods on adipocyte viability and review of the literature [J]. *Dermatol Surg*, 2001, 27(9) :819-826.
- [6] von Heimburg D, Hemmrich K, Zachariah S, et al. Oxygen consumption in undifferentiated versus differentiated adipogenic mesenchymal precursor cells[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2005, 146(2/3) :107-116.
- [7] Yamaguchi M, Matsumoto F, Bujo H, et al. Revascularization determines volume retention and gene expression by fat grafts in mice[J]. *Exp Biol Med(Maywood)*, 2005, 230(10) :742-748.
- [8] Bouloumié A, Lohmède K, Sengenès C, et al. Angiogenesis in adipose tissue[J]. *Ann Endocrinol(Paris)*, 2002, 63(2 Pt 1) :91-95.
- [9] Cao Y. Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(9) :2362-2368.
- [10] Neels JG, Thinnes T, Loskutoff DJ. Angiogenesis in an *in vivo* model of adipose tissue development[J]. *FASEB J*, 2004, 18(9) :983-985.
- [11] Crandall DL, Busler DE, McHendry-Rinde B, et al. Autocrine regulation of human preadipocyte migration by plasminogen activator inhibitor-1[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(7) :2609-2614.
- [12] Tang W, Zeve D, Suh JM, et al. White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature[J]. *Science*, 2008, 322(5901) :583-586.
- [13] Nishimura T, Hashimoto H, Nakanishi I, et al. Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts[J]. *Laryngoscope*, 2000, 110(8) :1333-1338.
- [14] Langer S, Sinitsina I, Biberthaler P, et al. Revascularization of transplanted adipose tissue : A study in the dorsal skinfold chamber of hamsters[J]. *Ann Plast Surg*, 2002, 48(1) :53-59.
- [15] Karacaoglu E, Kizilkaya E, Cermik H, et al. The role of recipient sites in fat-graft survival : Experimental study [J]. *Ann Plast Surg*, 2005, 55(1) :63-68.
- [16] Baran CN, Celebioğlu S, Sensöz O, et al. The behavior of fat grafts in recipient areas with enhanced vascularity [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2002, 109(5) :1646-1652.
- [17] Eppley BL, Snyders RV Jr, Winkelmann T, et al. Autologous facial fat transplantation : Improved graft maintenance by microbead bioactivation[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1992, 50(5) :477-483.
- [18] Hong SJ, Lee JH, Hong SM, et al. Enhancing the viability of fat grafts using new transfer medium containing insulin and beta-fibroblast growth factor in autologous fat transplantation[J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2010, 63(7) :1202-1208.
- [19] Lei M, Liu SQ, Peng H, et al. Effect of rhVEGF gene transfection on survival of grafts after autologous free granular fat transplantation in rats [J]. *Chin J Traumatol*, 2008, 11(1) :49-53.
- [20] Yi CG, Xia W, Zhang LX, et al. VEGF gene therapy for the survival of transplanted fat tissue in nude mice [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2007, 60(3) :272-278.
- [21] Yoshimura K, Sato K, Aoi N, et al. Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation : Supportive use of adipose-derived stem/stromal cells[J]. *Aesthetic Plast Surg*, 2008, 32(1) :48-57.
- [22] Lu F, Li J, Gao J, et al. Improvement of the survival of human autologous fat transplantation by using VEGF-transfected adipose-derived stem cells[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2009, 124(5) :1437-1446.
- [23] Masuda T, Furue M, Matsuda T. Novel strategy for soft tissue augmentation based on transplantation of fragmented omentum and preadipocytes [J]. *Tissue Eng*, 2004, 10(11/12) :1672-1683.
- [24] Karaçal N, Cobanoğlu U, Ambarcıoğlu O, et al. The effect of fibrin glue on fat graft survival [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2007, 60(3) :300-303.
- [25] Nakamura S, Ishihara M, Takikawa M, et al. Platelet-rich plasma (PRP) promotes survival of fat-grafts in rats [J]. *Ann Plast Surg*, 2010, 65(1) :101-106.
- [26] Por YC, Yeow VK, Louri N, et al. Platelet-rich plasma has no effect on increasing free fat graft survival in the nude mouse [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2009, 62(8) :1030-1034.
- [27] Neubauer M, Hacker M, Bauer-Kreisel P, et al. Adipose tissue engineering based on mesenchymal stem cells and basic fibroblast growth factor *in vitro* [J]. *Tissue Eng*, 2005, 11(11/12) :1840-1851.
- [28] Stosich MS, Bastian B, Marion NW, et al. Vascularized adipose tissue grafts from human mesenchymal stem cells with bioactive cues and microchannel conduits [J]. *Tissue Eng*, 2007, 13(12) :2881-2890.
- [29] Stosich MS, Moiola EK, Wu JK, et al. Bioengineering strategies to generate vascularized soft tissue grafts with sustained shape [J]. *Methods*, 2009, 47(2) :116-121.

(本文编辑 王晴)