

人脂肪来源干细胞的免疫调控及其临床应用

张郭, 汪振星, 孙家明

(华中科技大学同济医学院附属协和医院 整形外科, 武汉 430022)

摘要:近年来, 人脂肪来源干细胞(human adipose-derived stem cell, hADSC)在组织工程和细胞治疗领域得到广泛应用。作为一种具有多向分化潜能的干细胞, hADSC 还能够通过分泌细胞因子、生长因子以及囊泡等方式调节免疫系统, 在诸多包括 1 型糖尿病(type 1 diabetes, T1D)、克罗恩病、类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、多发性硬化(multiple sclerosis, MS)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)和移植抗宿主病(graft-versus host disease, GvHD)等自身免疫性疾病中发挥关键的抗炎治疗作用。该文结合目前的临床前研究及临床资料, 总结 hADSC 的免疫调节作用机制并介绍 hADSC 干细胞疗法在动物模型和临床试验中治疗或预防自身免疫性疾病的实例, 以期成功治疗自身免疫性疾病提供新思路。

关键词:脂肪干细胞; 自身免疫性疾病; 细胞外囊泡; 免疫细胞

中图分类号: R593.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2022)05-0427-08

自身免疫性疾病由免疫耐受缺陷导致, 最终导致针对自身抗原的免疫反应而损害自身组织的一类疾病, 包括 1 型糖尿病(type 1 diabetes, T1D)、类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、多发性硬化(multiple sclerosis, MS)以及系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)等 80 余种疾病, 其病因及致病机制尚未完全阐明, 涉及遗传和环境等多种因素, 其全球发病率为 7.6%~9.4%^[1], 是美国仅次于恶性肿瘤和心血管疾病的第三大常见疾病, 影响 1 470 万~2 350 万人^[2]。同时, 流行病学研究发现, 自身免疫性疾病是发展中国家第十大最常见的死亡原因^[3]。这些疾病的常规治疗采用的是免疫抑制方案, 常导致骨髓毒性抑制^[4], 因此学界逐渐开始探索利用干细胞作为替代治疗方法。人脂肪来源干细胞(human adipose-derived stem cell, hADSC)作为具有多向分化潜能的间充质干细胞, 在体内外均具有抗炎、抗纤维化、抗凋亡以及促血管生成等作用, 不仅被普遍应用于组织工程以及再生医学领域^[5], 而且在治疗免疫相关疾病中也发挥着重要作用。本文综述了近年来

hADSC 的免疫调节特性的研究现状及其作用机制, 并着重对其治疗自身免疫性疾病的临床应用进行总结及展望。

1 hADSC 来源、分离、鉴定及生物学特性

1.1 hADSC 来源、分离及鉴定 脂肪组织是一个动态且复杂的内分泌系统, 主要由细胞外基质、成熟脂肪细胞和基质血管成分(stromal vascular fraction, SVF)组成。SVF 中可分离出包括 hADSC、内皮前体细胞、平滑肌细胞、免疫细胞等在内的数种细胞^[6]。根据分离方法、脂肪来源及供体年龄的不同, 每克脂肪组织提取 SVF 中含 $(0.5 \sim 2.0) \times 10^6$ 有核细胞, JP2 其中 1%~10% 为 hADSC, 约是从相同质量骨髓中提取的间充质干细胞数量数百倍^[7]。hADSC 通常来源于抽脂手术等获得的皮下脂肪组织(如腹部、臀部、大腿等), 脂肪组织经过酶消化、离心、过滤等步骤, 去除多余的组织及细胞后即可提取出 hADSC。体外扩增后, 镜下观察 hADSC 一般为梭状或纤维细胞样形态^[8](图 1)。

hADSC 的干性可通过分析其自我更新能力、增殖速率和多系分化潜能来评价, FACS、菌落形成单位(colony forming unit, CFU)的测定和定向分化分析(如特殊细胞染色)为常用的主要技术。hADSC 表达包括 CD44、CD73、CD90 及 CD105 在内的基质细胞标志物, 而不表达造血源性细胞标志物 CD14、CD45 以及内皮细胞标志物 CD31^[9]。

收稿日期: 2020-09-02

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFA0110500); 国家自然科学基金(81873941)

作者简介: 张郭(1995—), 男, 博士生, 主要从事干细胞微环境及生物材料研究

通信作者: 孙家明(E-mail: sunjm1592@sina.com)

hADSC 特异性表达脂肪酸转位酶标志物 CD36, 而骨髓来源间充质干细胞 (bone marrow-derived mesenchymal stem cell, BMSC) 则特异性表达细胞黏附标志物 CD106, 两者可据此区分^[9]。CD34 也

常用作 hADSC 的标志物, 但其表达会随着时间推移而下降, Suga 等^[10]研究发现, CD34⁺ hADSC 更具增殖性, 而 CD34⁻ 细胞则表现出更强的成脂和成骨干性。

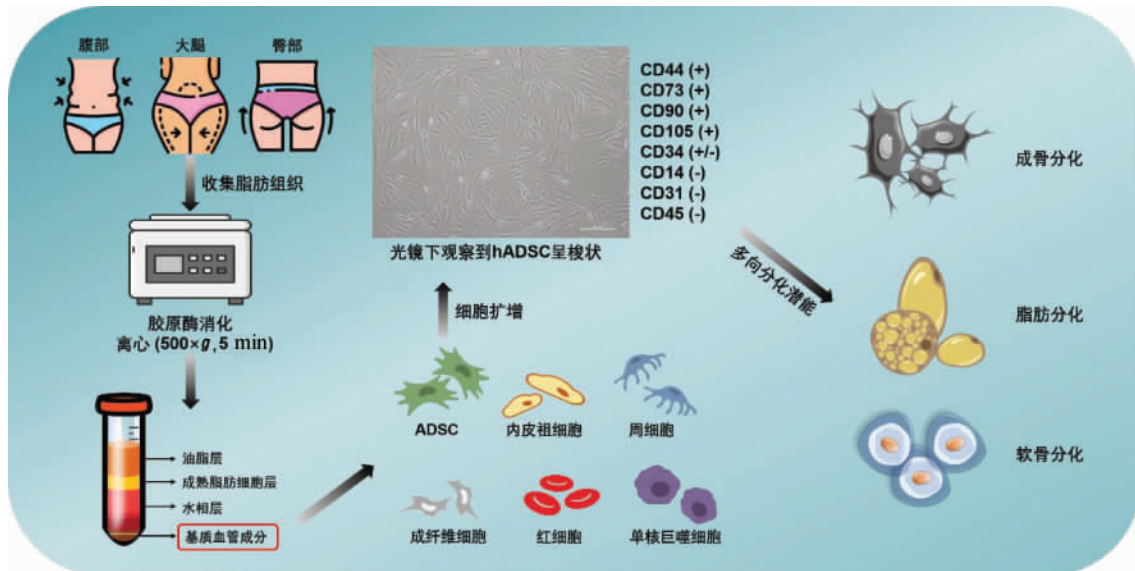


图 1 hADSC 的分离与鉴定

1.2 hADSC 生物学特性 hADSC 向脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞等中胚层组织的分化能力早已得到公认。此外, Choi 等^[11]研究发现, hADSC 可在体外与大鼠心肌细胞共培养条件下分化为具有瞬时钙流及同步搏动的类心肌细胞, 同时该细胞心肌肌动蛋白、连接蛋白 43、肌钙蛋白 I 以及肌球蛋白重链表达均上调。尽管 hADSC 也能够向如上皮细

胞、内皮细胞、肝细胞等非中胚层细胞系分化 (表 1), 但其有效分化为非中胚层谱系的干性仍未获得公认。获得表达前体干细胞标志物或特定的细胞培养条件可诱导 hADSC 向多种细胞类型分化, 然而分化为非中胚层谱系细胞后 hADSC 的功能性、结果的可重复性及其在再生医学中的潜在应用仍需要进一步的研究。

表 1 hADSC 分化为非中胚层细胞系的潜力

分化细胞类型	实验模型	分化证据	参考文献
上皮细胞	体外	CK ^① 18 ↑, VIM ^② ↓	[12]
乳腺上皮细胞	体外	CDH ^③ 1 ↑, CK18 ↑, CDH2 ↓, VIM ↓	[13]
皮肤上皮细胞	体外/小鼠	CK5 ↑, CK14 ↓	[14]
血管内皮细胞	体外/小鼠	CD31 ↑, CD34 ↑, VE-cadherin ^④ ↑ / 观察到新生血管	[15]
肝细胞	体外/小鼠	ALB ^⑤ ↑, AFP ↑, PAS ^⑥ 染色 + / 损伤肝脏中重新检测到 ALB	[16]
胰腺细胞	体外/小鼠	胰岛素 ↑, 胰高血糖素 ↑, 生长抑素 ↑ / 恢复正常血糖	[17]
神经元细胞	体外/小鼠	NeuN ^⑦ ↑, Synapsin ^⑧ ↑, vGAT ^⑨ ↑ / 新生神经元及血管生成	[18]

注: ↑, 表达上调; ↓, 表达下调。①CK 为角蛋白 (cytokeratin); ②VIM 为波形蛋白 (vimentin); ③CDH 为钙黏蛋白 (cadherin); ④VE-cadherin 为血管内皮细胞钙黏蛋白 (vascular endothelial cadherin); ⑤ALB 为白蛋白 (albumin); ⑥PAS 为过碘酸雪夫染色 (periodic Acid-Schiff stain); ⑦NeuN 为神经元核抗原 (neuronal nuclei); ⑧Synapsin 为突触蛋白; ⑨vGAT 为囊泡 GABA 转运体 (vesicular GABA transporter)。

用于提取细胞的脂肪组织来源部位会影响 hADSC 的生物学特性。Choudhery 等^[19]发现, 腹部及大腿来源皮下脂肪提取的 hADSC 表现出相似

的干性和增殖能力。与内脏脂肪相比, 从皮下脂肪组织分离出的 hADSC 增殖能力更强, 向脂肪和软骨的分化潜力更高, 但成骨性较低, Tang 等^[20]在

大鼠模型上比较两者后发现, 皮下脂肪来源的 hADSC 有更强的免疫抑制能力, 用于治疗骨关节炎等相关疾病有更好的效果。此外, 供体年龄的增加对 hADSC 干性具有显著的负面影响^[21]。

2 hADSC 免疫调节作用

一直以来, 间充质干细胞与免疫细胞间的相互作用在学界内备受关注。研究发现, hADSC 通过 2 种主要机制来调节免疫系统: 通过细胞-细胞间

接触直接调控; 通过分泌可溶性介质及囊泡实现间接调控。

2.1 直接调控 在脂肪组织中, hADSC 与包括免疫细胞和内皮细胞在内的多种细胞相互作用, hADSC 调节和影响 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞活性的能力已在许多体外共培养体系和体内模型中得到证实(表 2), hADSC 对免疫系统的直接调节作用是基于与免疫细胞的直接接触(细胞接触依赖型), 与可溶性介质(如细胞因子和生长因子)的旁分泌有关。

表 2 hADSC 对免疫细胞的细胞接触型调控作用

目标细胞	实验模型	作用	参考文献
T 细胞	体外	诱导 Treg 生成, 抑制抗原特异性 T 细胞	[22]
	体外	抑制 CD4 ⁺ T 细胞、CD8 ⁺ T 细胞活化	[23]
B 细胞	体外	抑制浆母细胞的形成, 诱导产生 CD19 ⁺ CD27 ⁻ CD38 ^{high} 调节性 B 细胞	[24]
	体外/小鼠	通过 COX-2 ^① 通路抑制 B 细胞增殖及成熟	[25]
巨噬细胞	体外/小鼠	通过 TGS-6 ^② 诱导 M2 极化, 缓解炎症	[26]
DC	体外	上调 DC 的 IL-10 表达, 抑制表面功能性重要共刺激分子(CD80、CD83 及 CD86)的分化和表达	[27]
NK 细胞	体外	下调 NK 细胞 IFN- γ 表达, 削弱 NK 细胞脱颗粒作用	[28]

注: ①COX-2 为环氧化酶 2(cyclooxygenase-2); ②TSG-6 为肿瘤坏死因子 α 刺激基因 6(tumor necrosis factor α stimulated gene 6)。

2.2 间接调控

2.2.1 可溶性因子 hADSC 已被广泛应用于组织工程及干细胞疗法的相关研究中, 其通过分泌刺激正常组织功能恢复或减少其损伤的细胞因子和生长因子以促进组织再生^[29]。尽管 Melief 等^[30]研究发现, hADSC 细胞因子分泌水平更高, 免疫调节作

用可能强于目前研究更为集中的 BMSC, 但迄今为止仅有较少关于 hADSC 分泌的可溶性分子在免疫调控方面的报道(表 3)。有待更全面而深入的探索, 为进一步利用无细胞疗法如干细胞条件培养基治疗免疫相关疾病的临床转化打下坚实的基础。

表 3 hADSC 分泌的可溶性分子相关的免疫调节作用

可溶性因子	实验模型	作用	参考文献
PGE-2 ^①	体外	抑制混合淋巴反应	[31]
IDO ^②	体外 (IFN- γ 预处理)	抑制 PBMC(包括 CD4 ⁺ T 细胞及 CD8 ⁺ T 细胞亚群)增殖	[32]
IL-6、IL-8、MCP-1 ^③	体外	促进单核细胞迁移	[33]
PTX3 ^④	(TNF- α 预处理)	可能参与固有免疫应答	
IL-6 TGF- β 1	体外	抑制单核细胞向 DC 分化, 诱导单核细胞分泌 IL-10 诱导 Treg 产生	[30]
IL-10	体外/小鼠	抑制 DC 的表型成熟、分泌细胞因子及抗原提呈能力 / 抑制 T 细胞增殖及 Th17 介导的炎症	[34]

注: ①PGE-2 为前列腺素 E2(prostaglandin E2); ②IDO 为吲哚胺 2, 3-二氧化酶(indoleamine 2, 3-dioxygenase); ③MCP-1 为单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein 1); ④PTX3 为正五聚蛋白 3(pentraxin 3)。

2.2.2 细胞外囊泡 另一种有效的针对免疫疾病的无细胞疗法是 hADSC 来源细胞外囊泡(hADSC derived extracellular vesicle, hADSC-EV), 它是

由细胞分泌的纳米囊泡(如外泌体、微粒等), 其中富含蛋白质、脂质、DNA、mRNA/miRNA 等活性分子, 靶向传递至受体细胞后发挥作用; 由于其较高

的安全性(无肿瘤形成风险和低免疫原性)、易于保存及丰富的生物学功能,可作为理想的递送药物载体,具有广阔的临床应用前景,其免疫治疗潜力也受到广泛关注^[35]。Blazquez 等^[36]通过体外共培养实验研究了 hADSC-EV 对于 T 细胞的免疫调节作用,结果表明 hADSC-EV 不同于 hADSC,不因免疫排斥而受 CD8⁺ T 细胞及 NK 细胞介导的细胞毒作用,可抑制 T 细胞的增殖及进一步分化。

T1D 是一种自身免疫性疾病,是产生胰岛素的胰岛细胞发生不可逆的破坏。Nojehdehi 等^[37]研究发现, hADSC-EV 可以减轻链脲佐菌素诱导 T1D 小鼠模型的临床症状,腹腔注射 hADSC-EV 可改善链脲佐菌素所致的高血糖、体质量下降及胰岛变性。在接受 hADSC-EV 治疗后, T1D 小鼠的脾脏单核细胞群 IL-17 和 IFN- γ 表达水平显著降低,而 IL-4、IL-10 和 TGF- β 水平则随着 Treg 比例的升高而升高,表明 hADSC-EV 具有促 Treg 增殖的调控作用。另一方面,肥胖被认为与白色脂肪组织病理肥大及功能障碍相关^[38]。Zhao 等^[39]研究发现,腹腔注射 hADSC-EV 可缓解高脂饮食小鼠的肥胖状况,其糖耐量及胰岛素敏感性也得到显著提升。进一步研究表明, WAT 内巨噬细胞吞噬 hADSC-EV 后, hADSC-EV 内携带的 STAT3 可诱导巨噬细胞精氨酸酶 1 的表达,发生 M2 极化,从而改善了肥胖小鼠白色脂肪组织内的炎症情况及代谢紊乱。此外, Jafarinia 等^[40]研究发现,患有自身免疫性脑脊髓炎(autoimmune encephalomyelitis, EAE)的小鼠静脉应用 hADSC-EV 后,其临床症状评分及脱髓鞘程度均得以改善,且治疗效果与 hADSC 注射组无明显差异。以上研究结果提示, hADSC-EV 在针对糖尿病等多种自身免疫性疾病的无细胞免疫治疗领域具有巨大的潜力。

3 hADSC 治疗自身免疫性疾病的临床应用

近年来,国内外已开展不少关于使用 hADSC 治疗自身免疫性疾病的临床前研究或人体临床试验(表 4)。早在 2007 年,国内 Fang 等^[41]即报道过利用 hADSC 治疗移植宿主病(graft-versus host disease, GvHD)的案例:2 例患者行造血干细胞移植后并发严重 GvHD,在常规治疗无效后接受了静脉同种异体 hADSC 移植,其胃肠道或肝脏症状得到显著好转且无明显副作用。Zhang 等^[42]在胶原

性关节炎小鼠模型上发现,局部注射 hADSC 后可观察到关节滑膜水肿及红斑的消退,显著抑制了滑膜处炎性细胞浸润、骨及软骨侵蚀。hADSC 注射后显著降低小鼠体内促炎细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 的表达,而上调抗炎细胞因子 IL-10 的表达,诱导 Treg 增殖,提示这可能是 hADSC 抑制 RA 活动的机制。Park 等^[43]也在小鼠模型中证实了 hADSC 可有效治疗 SLE:静脉应用 hADSC 后,小鼠血清抗 dsDNA 抗体水平降低,且肾脏病理显示肾小球系膜增殖和间质炎性细胞浸润情况显著改善。进一步研究发现 hADSC 抑制 Th1 和 Th17 增殖的同时,促进 Treg 及调节性 B 细胞增殖,从而抑制了自身免疫反应。此外,注射 hADSC 可在小鼠模型上缓解 EAE 导致的体质量减轻和神经功能损害。治疗后小鼠血清中 IL-17A、IL-6、IL-23 和 TGF- β 水平显著升高, Th17/ Treg 水平显著下降^[44]。而相比于老年供体(>60 岁),年轻供体(<35 岁)hADSC 免疫调节作用更强^[45],提示供体年龄对与 hADSC 的疗效有较大影响。

自体或异体 hADSC 移植是临床治疗自身免疫性疾病时最常用的 2 种策略(表 4)。相比于 BMSC, hADSC 不仅提取便捷,可从身体不同部位抽脂获取,而且单位体积的产出远高于骨髓^[7],在体外能维持更长的时间,并表现出比 BMSC 更稳定而持久的增殖能力^[55];且 hADSC 细胞因子分泌水平更高,免疫调节作用可能强于 BMSC^[30]。由于其 HLA-DR 表达缺失, hADSC 具有相对免疫逃逸特性,因而可异体移植用于治疗 GvHD^[56],这给予了 hADSC 在治疗自身免疫性疾病中得天独厚的优势。尽管自体来源 hADSC 移植被认为更安全,但实质上使用自体细胞往往会使治疗复杂化,因为不仅需要患者进行吸脂术(有时很困难),同时如前文所述,供体的年龄和细胞收获部位等多种因素均会带来 hADSC 的差异,并且需要较长时间的体外扩增才能收集足够剂量的细胞,而经过优化筛选后存储在细胞库中的同种异体细胞产品质量稳定、来源充足且使用简便;其次,可对体外扩增的 hADSC 行基因修饰,作为细胞因子和信号分子的传递载体再移植,从而进一步提高治疗效果,相关研究已在动物疾病模型上取得突破^[57],但其安全性仍需要进一步审查。

表 4 部分 hADSC 治疗免疫相关疾病的代表性临床试验

相关疾病	试验分期	细胞来源	治疗方式	治疗效果	参考文献
ALS ^①	I	自体	鞘内注射	证明其安全可行性(无成瘤性),未探索疗效	[46]
GvHD	I/II	同种异体	静脉输注	14 例患者中 8 例症状完全缓解且停用类固醇药物;检测到患者血液中 CD19、CD4 和 TNF- α 增加及 NK 细胞的暂时性减少	[47]
ITP ^②	—	异体	静脉输注	7 例慢性难治性 ITP 患者中有 4 例症状基本缓解,治疗后患者血清 TGF- β 1、IL-4 及 IL-10 的水平显著升高,IFN- γ 及 IL-2 显著降低	[48]
MS	I/II	自体	静脉输注	无明显疗效,仅证明其安全可行性	[49]
RA	I b/II a	同种异体	静脉输注	治疗组(20/20/6)及安慰组(7)3 个月达到 ACR20 患者分别为 5/3/1/0, DAS28 ^③ <3.2 且 Δ DAS28>1.2 的患者分别为 4/0/2/0;免疫排斥反应低,仅在 9 例患者(19%)中检测到特异性抗 HLA-1 抗体,但无临床症状	[50]
SSc ^④	I	自体	局部注射	口唇周围皮肤病变主观改善,最大张口度显著增加	[51]
T1D	I/II	同种异体	体外诱导为胰岛素分泌细胞后静脉输注	血清 C 肽、Hb1Ac ^⑤ 、血糖指标和外源胰岛素用量均得到改善;输注 3 个月后测得的抗 GAD ^⑥ 抗体显著降低	[52]
		自体	体外诱导为胰岛素分泌细胞后静脉+胸腺+皮下注射		[53]
克罗恩病	III	同种异体	局部注射	近 50%难治性复杂性肛周瘘管患者实现了基本治愈	[54]

注:①ALS 为肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis);②ITP 为特发性血小板减少性紫癜(immune thrombocytopenic purpura);③DAS28 为 28 个关节疾病活动度(disease activity score 28);④SSc 为系统性硬化(systemic sclerosis);⑤Hb1Ac 为糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin);⑥GAD 为谷氨酸脱羧酶(glutamic acid decarboxylase)。

4 结语

尽管目前将 hADSC 用作临床治疗手段已取得不少突破性进展,但因为对移植后细胞的作用机制缺乏深入的了解,限制了 hADSC 在免疫相关疾病更为广泛的临床应用。进入体内后的 hADSC 活动于复杂的微环境中,体外单独研究其细胞功能难以揭示其临床治疗意义。其次,由于细胞分离和制备等方法上的不同,移植的干细胞群间无法避免地存在微小差异,不同的人体临床试验间通常难以充分比较。有必要规范 hADSC 分离、培养、分化及表征等相关方法及标准,以确保 hADSC 临床应用前的安全性及应用后的有效评价体系。

除直接细胞移植外,干细胞条件培养液可能是另一种可行的替代治疗方法。已有相关的研究证实来源于干细胞的条件培养液可以实现与 hADSC 移植相同的治疗效果^[58],提示细胞本身可能并不是

发挥疗效的原因。另外,相比干细胞,细胞外囊泡(含外泌体)由于在体内触发免疫排斥风险低,其本身缺乏致瘤性,且易于长期储存而不丧失功能^[35],作为免疫相关疾病的无细胞疗法具有巨大应用价值。然而,间充质干细胞往往与促肿瘤生长有关,hADSC-EV 也可能发挥类似作用,因此,在临床转化前其安全性须充分研究。

参考文献

[1] Cooper GS, Bynum ML, Somers EC. Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases[J]. J Autoimmun, 2009, 33(3-4): 197-207.

[2] Desai MK, Brinton RD. Autoimmune disease in women: endocrine transition and risk across the lifespan[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019, 10: 265.

[3] Chandrashekara S. The treatment strategies of autoimmune disease may need a different approach from conventional protocol: a review[J]. Indian J Pharmacol, 2012, 44(6): 665-

- 671.
- [4] Langford CA, Klippel JH, Balow JE, *et al.* Use of cytotoxic agents and cyclosporine in the treatment of autoimmune disease. Part 1: Rheumatologic and renal diseases[J]. *Ann Intern Med*, 1998, 128(12 Pt 1): 1021-1028.
 - [5] Dai R, Wang Z, Samanipour R, *et al.* Adipose-derived stem cells for tissue engineering and regenerative medicine applications[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 6737345.
 - [6] Bora P, Majumdar AS. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 145.
 - [7] Strem BM, Hicok KC, Zhu M, *et al.* Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells[J]. *Keio J Med*, 2005, 54(3): 132-141.
 - [8] Bunnell BA, Flaat M, Gagliardi C, *et al.* Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation [J]. *Methods*, 2008, 45(2): 115-120.
 - [9] 陈犹白, 陈聪慧, Qixu Zhang, 等. 脂肪干细胞表型和标记物的研究进展[J]. *中国美容医学*, 2016, 25(3): 91-100.
 - [10] Suga H, Matsumoto D, Eto H, *et al.* Functional implications of CD34 expression in human adipose-derived stem/progenitor cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(8): 1201-1210.
 - [11] Choi YS, Dusting GJ, Stubbs S, *et al.* Differentiation of human adipose-derived stem cells into beating cardiomyocytes [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(4): 878-889.
 - [12] Brzoska M, Geiger H, Gauer S, *et al.* Epithelial differentiation of human adipose tissue-derived adult stem cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 330(1): 142-150.
 - [13] Tong J, Mou S, Xiong L, *et al.* Adipose-derived mesenchymal stem cells formed acinar-like structure when stimulated with breast epithelial cells in three-dimensional culture[J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0204077.
 - [14] Ebrahimian TG, 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.
 - [15] Cao Y, Sun Z, Liao L, *et al.* Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells *in vitro* and improve postnatal neovascularization *in vivo* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 332(2): 370-379.
 - [16] Yin L, Zhu Y, Yang J, *et al.* Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiated into hepatocyte-like cells *in vivo* and *in vitro* [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(3): 1722-1732.
 - [17] Chandra V, G S, Phadnis S, *et al.* Generation of pancreatic hormone-expressing islet-like cell aggregates from murine adipose tissue-derived stem cells[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(8): 1941-1953.
 - [18] Gao S, Zhao P, Lin C, *et al.* Differentiation of human adipose-derived stem cells into neuron-like cells which are compatible with photocurable three-dimensional scaffolds [J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(7-8): 1271-1284.
 - [19] Choudhery MS, Badowski M, Muise A, *et al.* Subcutaneous adipose tissue-derived stem cell utility is independent of anatomical harvest site[J]. *Biores Open Access*, 2015, 4(1): 131-145.
 - [20] Tang Y, Pan ZY, Zou Y, *et al.* A comparative assessment of adipose-derived stem cells from subcutaneous and visceral fat as a potential cell source for knee osteoarthritis treatment [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(9): 2153-2162.
 - [21] Liu M, Lei H, Dong P, *et al.* Adipose-derived mesenchymal stem cells from the elderly exhibit decreased migration and differentiation abilities with senescent properties [J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(9): 1505-1519.
 - [22] 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[J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(1): 241-248.
 - [23] Ribeiro A, Laranjeira P, Mendes S, *et al.* Mesenchymal stem cells from umbilical cord matrix, adipose tissue and bone marrow exhibit different capability to suppress peripheral blood B, natural killer and T cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(5): 125.
 - [24] Franquesa M, Mensah FK, Huizinga R, *et al.* Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells abrogate plasma-blast formation and induce regulatory B cells independently of T helper cells[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(3): 880-891.
 - [25] Shin TH, Lee BC, Choi SW, *et al.* Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis via regulation of B lymphocyte maturation [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 512-522.
 - [26] Song WJ, Li Q, Ryu MO, *et al.* TSG-6 secreted by human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells ameliorates DSS-induced colitis by inducing M2 macrophage polarization in mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5187.
 - [27] Ivanova-Todorova E, Bochev I, Mourdjeva M, *et al.* Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells are more potent suppressors of dendritic cells differentiation compared to bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Immunol Lett*, 2009, 126(1-2): 37-42.
 - [28] DelaRosa O, Sánchez-Correa B, Morgado S, *et al.* Human adipose-derived stem cells impair natural killer cell function and exhibit low susceptibility to natural killer-mediated lysis [J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(8): 1333-1343.
 - [29] Bajek A, Gurtowska N, Olkowska J, *et al.* Adipose-derived stem cells as a tool in cell-based therapies[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64(6): 443-454.
 - [30] Melief SM, Zwaginga JJ, Fibbe WE, *et al.* Adipose tissue-derived multipotent stromal cells have a higher immunomodulatory capacity than their bone marrow-derived counterparts [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2(6): 455-463.
 - [31] Cui L, Yin S, Liu W, *et al.* Expanded adipose-derived stem cells suppress mixed lymphocyte reaction by secretion of

- prostaglandin E2[J]. *Tissue Eng*, 2007, 13(6): 1185-1195.
- [32] DelaRosa O, Lombardo E, Beraza A, *et al.* Requirement of IFN-gamma-mediated indoleamine 2, 3-dioxygenase expression in the modulation of lymphocyte proliferation by human adipose-derived stem cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(10): 2795-2806.
- [33] Lee MJ, Kim J, Kim MY, *et al.* Proteomic analysis of tumor necrosis factor- α -induced secretome of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells[J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(4): 1754-1762.
- [34] Payne NL, Sun G, McDonald C, *et al.* Human adipose-derived mesenchymal stem cells engineered to secrete IL-10 inhibit APC function and limit CNS autoimmunity[J]. *Brain Behav Immun*, 2013, 30: 103-114.
- [35] Yin K, Wang S, Zhao RC. Exosomes from mesenchymal stem/stromal cells: a new therapeutic paradigm[J]. *Biomark Res*, 2019, 7: 8.
- [36] Blazquez R, Sanchez-Margallo FM, de la Rosa O, *et al.* Immunomodulatory potential of human adipose mesenchymal stem cells derived exosomes on *in vitro* stimulated T cells[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 556.
- [37] Nojehdehi S, Soudi S, Hesampour A, *et al.* Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cell - derived exosomes on experimental type-1 autoimmune diabetes[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11): 9433-9443.
- [38] Kusminski CM, Bickel PE, Scherer PE. Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(9): 639-660.
- [39] Zhao H, Shang Q, Pan Z, *et al.* Exosomes from adipose-derived stem cells attenuate adipose inflammation and obesity through polarizing M2 macrophages and beiging in white adipose tissue[J]. *Diabetes*, 2018, 67(2): 235-247.
- [40] Jafarinia M, Alsahebhosoul F, Salehi H, *et al.* Therapeutic effects of extracellular vesicles from human adipose-derived mesenchymal stem cells on chronic experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11): 8779-8790.
- [41] Fang B, Song Y, Lin Q, *et al.* Human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells as salvage therapy for treatment of severe refractory acute graft-vs.-host disease in two children[J]. *Pediatr Transplant*, 2007, 11(7): 814-817.
- [42] Zhang L, Wang XY, Zhou PJ, *et al.* Use of immune modulation by human adipose-derived mesenchymal stem cells to treat experimental arthritis in mice[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(5): 2595-2607.
- [43] Park MJ, Kwok SK, Lee SH, *et al.* Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells induce expansion of interleukin-10-producing regulatory B cells and ameliorate autoimmunity in a murine model of systemic lupus erythematosus[J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(11): 2367-2377.
- [44] Li J, Chen Y, Chen Z, *et al.* Therapeutic effects of human adipose tissue-derived stem cell (hADSC) transplantation on experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42695.
- [45] Scruggs BA, Semon JA, Zhang X, *et al.* Age of the donor reduces the ability of human adipose-derived stem cells to alleviate symptoms in the experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2(10): 797-807.
- [46] Ciervo Y, Ning K, Jun X, *et al.* Advances, challenges and future directions for stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Mol Neurodegener*, 2017, 12(1): 85.
- [47] Jurado M, De La Mata C, Ruiz-García A, *et al.* Adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells as part of therapy for chronic graft-versus-host disease: A phase I/II study[J]. *Cytotherapy*, 2017, 19(8): 927-936.
- [48] Fang B, Mai L, Li N, *et al.* Favorable response of chronic refractory immune thrombocytopenic *Purpura* to mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(3): 497-502.
- [49] Fernández O, Izquierdo G, Fernández V, *et al.* Adipose-derived mesenchymal stem cells (AdMSC) for the treatment of secondary-progressive multiple sclerosis: a triple blinded, placebo controlled, randomized phase I/II safety and feasibility study [J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0195891.
- [50] Álvaro-Gracia JM, Jover JA, García-Vicu? a R, *et al.* Intravenous administration of expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells in refractory rheumatoid arthritis (Cx611): results of a multicentre, dose escalation, randomised, single-blind, placebo-controlled phase Ib/IIa clinical trial[J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(1): 196-202.
- [51] Onesti MG, Fioramonti P, Carella S, *et al.* Improvement of mouth functional disability in systemic sclerosis patients over one year in a trial of fat transplantation versus adipose-derived stromal cells [J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 2416192.
- [52] Vanikar AV, Dave SD, Thakkar UG, *et al.* Cotransplantation of adipose tissue-derived insulin-secreting mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells: A novel therapy for insulin-dependent diabetes mellitus [J]. *Stem Cells Int*, 2010, 2010: 582382.
- [53] Lin HP, Chan TM, Fu RH, *et al.* Applicability of adipose-derived stem cells in type 1 diabetes mellitus[J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(3): 521-532.
- [54] Panés J, García-Olmo D, Van Assche G, *et al.* Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial [J]. *Lancet*, 2016, 388(10051): 1281-1290.
- [55] Mohamed-Ahmed S, Fristad I, Lie SA, *et al.* Adipose-derived and bone marrow mesenchymal stem cells: a donor-matched comparison[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 168.