

## · 脂肪源性干细胞与组织工程专题综述 ·

## 脂肪组织脱细胞基质研究现状及展望

廖选 刘宏伟

【摘要】 随着对细胞生物学和分子生物学研究的深入、学科间的交叉和相互渗透以及高新技术的推广应用,创伤修复与组织再生从基础理论研究到临床应用都获得了的令人振奋的成果,由细胞外基质组成的脱细胞组织已被临床用来支持组织和器官的再生。脂肪组织移植已成为整形外科及修复重建领域重要的手段广泛用于软组织缺损的修复和以美容为目的的软组织填充。来源于脂肪组织由细胞外基质组成的脱细胞基质已成为脂肪医学一个新的发展方向,展示出良好的应用前景。脂肪组织脱细胞基质的产生原因可以分为物理性、化学性、酶学以及多种方法的联合,不同的方法对脂肪组织清除细胞的效果不同,对细胞外基质的影响也不同,最终会使宿主对移植的脱细胞材料产生的反应不同,进而影响脱细胞产品的安全性和有效性。现就近年来脂肪组织脱细胞基质研究进展作一综述。

【关键词】 脂肪组织脱细胞外基质;脂肪源性干细胞;组织工程;再生医学

修复软组织缺损对于功能及外观的恢复和改善非常重要。整形外科医师通常采用自体脂肪移植来解决轮廓异常和软组织缺损。然而自体脂肪移植也存在一定的局限性,如自体脂肪组织移植后其成活率和体积填充的效果是不可预测的,自体脂肪组织由于需从自身抽取、脂肪保存困难、部分个体来源受限、异体脂肪移植免疫源性等问题的存在,因此有必要寻找一种新的方法解决上述问题。随着对脂肪移植成活机制认识的深入,以及对脂肪源性干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)在脂肪移植成活中重要作用的发现,使得人们将目光转向前来源丰富及无免疫源性又保留脂肪组织结构、成分、力学特性的脱细胞脂肪外基质成分。初步的研究结果显示,人类的脱细胞脂肪组织细胞外基质(decellularized adipose tissue extracellular matrix, DAM)不仅可以用于组织工程上,而且也可用于脂肪移植。我们通过研究和分析文献,着重综述了目前 DAM 脱细胞方法,并从产品的有效性和安全性角度探讨其应用于临床需要进一步解决的问题。

## 1 组织脱细胞基质的定义和 DAM 制备要求

通过脱细胞分离出由结构蛋白和功能蛋白组成的复杂混合物,即细胞外基质(extracellular matrix, ECM),并通过物理或化学方法将异体或自体组织进行脱细胞处理,从而构建出新的工程组织或去除组织移植过程中引起免疫排斥反应的相关抗原,是用于修复损伤组织的一种新型生物材料。脱细胞的目的就是要有效地去除组织中的所有细胞成分,同时使其对 ECM 化学组成、生物活性和机械特性的影响最小化。LA Peer 在 1955 年最先提出这一方法,并利用胰蛋白酶进行

软骨细胞的消化和脱细胞处理。直至 1975 年, E Meezan 使用化学除垢剂的方法制造了一些组织无细胞基底膜,使得脱细胞的技术方法得到一定程度的进步。理想 DAM 的制备方法应该具备能够去除所有的细胞成分,无免疫原性,且保留了 ECM 理想的三维结构和关键的成分:如 IV 胶原和层黏连蛋白。如果影响 ECM 的结构和组成,将可能影响 DAM 的功能和再生潜能。

## 2 DAM 制备方法

### 2.1 物理机械法

2.1.1 冷冻法 制备 ECM 支架材料常用的物理方法一般为冷冻法,是通过反复冻融,提高脱细胞的作用。快速冷冻组织后,细胞内冰形成结晶,破坏细胞膜,从而导致细胞溶解。为了避免冰结晶对 ECM 造成破坏,温度变化的速率必须受到精确的调控。目前,冷冻法已经在肌腱韧带组织、血管及拟胚体中使用。2010 年, LE Flynn 在 DAM 的制备过程中将脂肪组织置于 -80℃ 中冷冻, 37℃ 复温, 并进行了 3 次冻融过程, 以达到脱细胞的效果。范雪娇等<sup>[1]</sup>在此冻融基础上将循环过程增加 2 次进行脂肪组织脱细胞, 经检测所获得的 DAM 组织成分同样无明显差异。其他组织如软骨、筋膜、骨等, 组织工程中采用冷冻法可有效脱细胞, 整个过程对组织细胞外基质的结构和性能无明显影响, 并发现冻融循环次数与之亦无明显相关性<sup>[2-3]</sup>。经过冷冻法破坏了细胞结构后, 还需要用洗涤剂将细胞碎片等清除, 才能得到较纯净的 DAM。其缺点是耗时, 不适宜大量 DAM 的生产。

2.1.2 离心振荡法 DAM 的制备也可仅仅通过离心法实现。获取一定量脂肪组织后, 经充分洗涤去除黏附在组织上的液体及血液, 经过低速离心后, 再进入高速匀浆、离心、冻干等程序, 可得到脂肪组织 ECM 成分<sup>[4]</sup>。虽然操作起来较为方便, 但由于该方法在提取过程中并没有将引起细胞免疫原性的因素完全去除, 由此其不足之处在于所制备的 DAM 支架只适合于自体移植。另外该方法虽可将细胞从基底膜上分离, 但这种离心后高速匀浆振荡可能会损坏 ECM 超微结构。总的来说, 其制备 DAM 的方法在一定程度上仍然丰富了

DOI:10.3969/j.issn.1673-7040.2017.12.008

基金项目:国家自然科学基金(81272100, 81372065);广州市科技计划项目(201300000091, 201508020253);广州市花都区科技计划项目(HD14CXY001);暨南大学附属第一医院科研培育专项基金(2017306)

作者单位:暨南大学附属第一医院 整形外科 再生医学教育部重点实验室, 广东 广州 510630

通信作者:刘宏伟, Email:liuhongwei0521@hotmail.com

脂肪组织工程支架的理论。

**2.1.3 压力法** 压力法是在一定温度下,将组织浸泡在含糖的磷酸盐缓冲液中,对之进行缓慢加压,对细胞造成破坏,这种方法对 ECM 非紧密排列的组织或器官效果肯定(TW Gilbert, 2006 年)。这种方法目前常用于血管组织进行脱细胞,同时兼具灭菌效果<sup>[5]</sup>。高压状态下可同时破坏细菌、真菌和病毒的磷脂双分子层从而达到灭菌的效果。也有研究表明,压力法在一定程度上对蛋白质具有变性作用(DH Kingsley, 2002 年),但其具体作用,目前的研究十分有限。

## 2.2 有机溶剂溶解提取细胞

酸碱溶液能够造成生物分子的水解,且其对 ECM 成分和结果的影响较小<sup>[6]</sup>。也有研究表明,乙酸能够在脱细胞时不影响组织的 GAG,但它对胶原具有一定的损害作用,从而造成 ECM 强度的减弱(X Dong, 2009 年)。研究表明,在制备 DAM 时利用酶溶解法脱细胞后添加  $\alpha$ -淀粉酶消化,再将其切碎,置于乙酸,制成去细胞脂肪组织溶液,最后再通过应用冰冻法将细胞外基质溶液制备成充满孔隙的三维支架。此法制备的 ECM 各项机械性能与天然的 ECM 相似,能更好地将植入的 ADSCs 成脂化,并支持血管生成<sup>[7]</sup>。

## 2.3 阴离子表面活性剂破坏细胞膜

十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)是常见的一种阴离子表面活性剂,是一类可融于水的脂类,其具有亲水部分及疏水部分,能够通过破坏细胞膜磷脂和脂蛋白裂解脂膜,达到溶解抗原和消除免疫复合物的效果,可用于各类组织脱细胞基质的制备。SDS 较 TritonX-100 等其他去污剂更能有效去除致密组织的细胞核<sup>[8]</sup>。但也存在弊端,目前在利用该去污剂脱细胞的同时,也因其残留问题而导致其脱细胞生物材料具有一定程度的细胞毒性,可引起不良反应(TW Gilbert, 2006 年)。且 SDS 在清除细胞成分的同时,ECM 的成分也遭到严重破坏,这是由于其破坏了蛋白之间的联系,使得蛋白变性,破坏了胶原蛋白的完整性,导致纤维结构松散。DAM 其 ECM 结构成分尤为重要,因此,目前用于脂肪脱细胞过程使用较少。

## 2.4 生物酶制剂消化

**2.4.1 胰蛋白酶消化** 胰蛋白酶是最常用的蛋白酶,在致密性结缔组织,如肌腱<sup>[9]</sup>和质地较软的器官如肝脏<sup>[10]</sup>的脱细胞化中均有应用。胰蛋白酶是肽链内切酶,在 pH8、温度 37℃ 条件下活性最大,能把多肽链中赖氨酸和精氨酸残基中的羧基侧切断,常与 EDTA 合用。相对于洗涤剂,胰蛋白酶对弹性蛋白和胶原蛋白更具破坏性,脱细胞虽然缓慢,但能较好地保存 GAG(M Yang, 2009 年)。LE Flynn(2010 年)通过联合物理方式、化学试剂和胰蛋白酶制剂脱细胞处理得到的脂肪脱细胞基质,基本保留了细胞外基质结构及有关生物活性物质;如层黏连蛋白和 IV 型胶原,能诱导 ADSCs 成脂分化。该方法较简便,可重复性较好。

**2.4.2 核酸酶消化** 其能分解细胞中的核酸物质,使器官组织内核酸含量平均下降 91%。核酸酶破坏细胞作用较为强烈,在操作中需严格控制脱细胞的时间,如在胰腺<sup>[11]</sup>脱细胞中脱氧核糖核酸酶(deoxyribonuclease, DNase)仅作用了 20 min 就可取得良好的脱细胞效果。Choi 等<sup>[12]</sup>在经过离心、匀浆、洗

涤等物理方法去除细胞成分后,将组织置于 RNA 酶中增强了脱细胞效果。

## 3 脂肪组织脱细胞基质制备常用试剂

### 3.1 除垢剂

化学除垢剂的主要作用是有效地去除组织内的细胞成分,并完整地保留细胞外基质。常用的除垢剂包括非离子除垢剂和离子除垢剂。

**3.1.1 非离子除垢剂** 非离子除垢剂的应用较离子除垢剂广泛,对器官组织结构影响较小。它仅打破了脂质之间和脂质与蛋白间的联系,但保留了蛋白与蛋白之间的联系,蛋白仍具有功能结构。研究最广泛的非离子除垢剂是 Triton X-100。Triton X-100 是一种相当柔和的除垢剂,在水中不解离,在溶液中稳定性高,不易受强电解质无机盐类的影响,并且不改变组织的天然结构。P Wang 等(2009 年)使用冷冻法、生物酶及非离子除垢剂 Triton X-100 去除脂肪组织中的细胞成分,得到的 ECM 支架细胞去除彻底,三维空间保持完整,结构疏松、多孔,利于 ADSCs 贴附、增殖、分化。

**3.1.2 离子洗涤剂** 离子除垢剂对细胞毒性大,能溶解细胞浆、细胞核和膜,可以打破蛋白和蛋白之间的联系,使蛋白发生变性。最常用的离子除垢剂是 SDS、脱氧胆汁酸钠(desoxycholate sodium, DOC)、Triton X-200。SDS 虽然有扰乱支架结构,降低 GAG 浓度及影响胶原蛋白完整性的倾向,但是不会从组织中移除胶原蛋白,能保持组织力学特性。

### 3.2 生物剂

**3.2.1 胰蛋白酶** 胰蛋白酶在 DAM 制备过程中是最常用的蛋白水解酶之一,在其他组织脱细胞方法中胰蛋白酶使用也较为频繁。其是一种高特异性酶,能特异性打断精氨酸和赖氨酸 C 端的多肽键。其优点是在脱细胞过程中胰酶容易被血清中和,使用时不必进行反复冲洗而去除残留,生物相容性高,能与多种组织结构共存,不引起机体免疫反应。虽然胰酶在脱细胞的使用过程中较为安全,但它也存在一定的弊端:胰酶很难完全清除较厚组织深部的细胞成分;会在一定程度上损伤到 ECM,并随着时间的增加而加剧其破坏程度(P Wang, 2009 年),因此要尽量减少其作用时间。

**3.2.2 核酶** 核酶分为内切酶和外切酶两大类。内切酶催化核苷酸或脱氧核苷酸内部键的水解,而外切酶催化核苷酸和脱氧核苷酸末端的键水解,最终导致 DNA 或 RNA 的降解。核酶(DNA 酶或 RNA 酶)能够破坏核酸序列,这有助于在细胞裂解后去除核酸,但同时由于核酶会在一定程度上造成脱细胞基质成分以及表面结构的损害,进而影响依附该基质增殖的细胞<sup>[13]</sup>。

**3.2.3 螯合剂** 螯合剂的主要代表物是乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic disodium salt, EDTA),其功能是通过分离型金属离子对组织脱细胞起辅助作用,破坏蛋白-蛋白间的联系。但螯合剂对去除组织表面的细胞无效,因此常常与酶类或是除垢剂联合使用,以达到脱细胞的效果。众多学者将物理、化学和酶学等方法与螯合剂联合起来处理成块脂肪组织,或通过吸脂而获得脂肪,从中提取脂肪脱细胞基质均能基本保持组织特异性,并具有诱导 ADSCs 成脂分化的能力<sup>[14-15]</sup>。



#### 4 脂肪脱细胞方法的选择

用化学或酶学方法脱细胞后,由于所使用的试剂对组织都有一定程度的损伤作用,并且可能在移植后对宿主造成影响,如对细胞的毒性作用或诱导宿主机体产生超敏反应等,因此,有必要在脱细胞处理完成后清除残留在组织支架上的化学物质或酶等成分,避免造成脱细胞基质材料引起的免疫反应和炎症反应。脂肪组织中脂肪细胞所占比例达 90% 甚至以上<sup>[6]</sup>,当脂肪细胞破裂后,溢出脂肪酸会严重影响脱细胞基质制备的过程,如溶剂对组织渗透等,因此,采用单一的脱细胞方法较难有效快速地去脂脂肪细胞。目前联合多种脱细胞方式逐渐成为脱细胞基质制备的发展趋势(Y Itoi, 2010 年)。脱细胞方法会影响 ECM 的成分、力学特性及体内植入后的宿主反应,具体采用哪种脱细胞方法取决于组织特性及临床使用要求。根据脱细胞试剂及其物理特点,进行合理的搭配和互补,可获得最佳的脱细胞效果。在脱细胞去除抗原性的同时尽可能保证 DAM 的完整性和原有的三维结构,以便取得最佳的临床应用效果,并确保脱细胞产品的生物安全性。

#### 5 DAM 应用临床前研究

目前,已有多数 ECM 支架材料应用于临床各科室组织工程研究中,如来源于猪小肠的 ECM 修复食管癌所致的食道缺损(SF Badylak, 2011 年);其小肠黏膜下层制成的 ECM 修复实验犬肌肉缺损;猪肝脏去细胞支架修复人体肝脏<sup>[7]</sup>;周围神经外基质的临床开发应用也趋向白热化,因其组织的三维结构更有利于细胞存活、增殖、迁移和分化<sup>[8]</sup>;眼科的开角型青光眼利用 ECM 有助于修复筛状神经丛弹性纤维<sup>[9]</sup>等。其中人脱细胞异体真皮是临床成功应用于皮肤如组织修复的典范。脂肪组织来源丰富,易于获取,ADSCs 不存在严重的免疫排斥反应和伦理学问题,且安全性能高,是目前组织工程研究的热点之一。研究发现,ADSCs 和脂肪组织细胞外基质一起移植时,脂肪组织脱细胞基质可以充当支架的作用,促进 ADSCs 增殖、黏附和成脂分化<sup>[4]</sup>。Wang 等<sup>[20]</sup>将 ADSCs 种植于利用多种去细胞方式联合所得的 DAM 支架上,细胞生长良好。经检测发现,该支架三维结构完整,结构疏松多孔,其支架主要成分是胶原和糖胺聚糖(glycosaminoglycan, GAG),并含有一定量的 VEGF,能促进新生血管形成;另外,支架中未发现 MHC-1 类分子存在,免疫排斥性小,在小鼠皮下植入 ECM 未见明显排斥反应或炎症反应。Wu 等<sup>[21]</sup>通过脱细胞方法获得 DAM,并与组织工程种子细胞 ADSCs 复合后植入大鼠体内。结果表明,DAM 与脂肪干细胞共存良好,在提供干细胞脂肪仿生微环境的同时促进其生长,并趋向成脂分化,是修复软组织缺失重建的理想选择。目前有关脱细胞方法获得的 DAM 已在美国 NIH 的 <http://www.clinicaltrials.gov> 网站登记注册,将进行安全性和有效性的临床试验。

#### 6 DAM 临床应用

目前,在临床转化应用中,已有多数组织脱细胞产品被用在组织缺损的修复与再生,如人脱细胞异体真皮在临床上已广泛成功地应用于皮肤缺损如组织修复。DAM 与众多组织脱细胞产品之所以能够应用于组织缺损修复是因其符合严格的条件:(1)相容性。植入体内后,支架本身及降解产物对机体、细胞无毒副作用,并且不会引起排斥反应。(2)表面相容性。

支架有利于种子细胞黏附、增殖,甚至有利于细胞的生长和分化,能为细胞功能的表达提供一个良好环境。(3)结构相容性。支架必须有合适的宏观和微观结构。(4)生物降解性。支架在新组织形成过程中可被机体完全吸收,且其降解吸收速度与新生细胞增殖速度应该相匹配,在此过程中又必须具有合适的强度,从而来维持细胞和组织的生长更新,直至新组织产生自己的 ECM 支架系统。(5)可灭菌性。由于支架与人体直接接触,为了防止感染,保证手术成功,支架必须易于灭菌,灭菌后上述性能不应发生显著变化。与其他已经应用于临床的脱细胞基质不同,由脂肪组织通过脱细胞制得的脂肪脱细胞基质具有组织来源丰富,易于获取,临床应用中能大量制备;联合移植种子细胞 ADSCs 于 DAM 中促进其生长并趋向成脂分化,不存在严重的免疫排斥反应和伦理学问题,安全性能高,组织工程构建后不仅可用于组织缺损的修复与再生,亦可广泛应用于修复先天畸形缺血组织的血运重建、改善难愈创面和瘢痕的修复等。利用再生医学的技术手段重建组织,修复缺损、萎缩及畸形,恢复功能及增加美感已成为目前外科学,特别是整形外科重要的发展方向之一。

总之,DAM 保留天然脂肪组织 ECM 的非细胞成分、结构与力学特性等,有利于缺损组织的修复重建,并可能作为一个独立的软组织填充产品且具有巨大的商业价值。组织工程技术特别注重将种子细胞与生物材料复合,形成与自身组织有着同样结构和功能的生物组织,以修复组织缺损。当前,制约脂肪组织工程发展的关键问题在于选择理想的生物支架材料。自体组织生物支架优于非自体组织来源的生物材料,利用细胞衍生的 ECM 作为支架是近年来一种新的方法,它具备极强的仿生结构、可塑性、无免疫源性等特点。因此,DAM 似乎又是一个有前途的生物支架材料。尽管目前仍没有单独一种脱细胞方法能够安全有效地去除脂肪组织中的细胞成分,并尽可能保留完成的 ECM,但通过进一步的优化脱细胞方法,能够成为临床使用中具有安全性和有效性的 DAM 产品。我们相信新的产品将会为脂肪移植及其新技术的应用提供更加广阔的前景。

#### 参考文献:

- [1] 范雪娇,田春祥,傅月荷,等.脂肪脱细胞基质的制备和初步评价[J].中国修复重建外科杂志,2014,28(3):377-382.
- [2] Suto K, Urabe K, Naruse K, et al. Repeated freeze-thaw cycles reduce the survival rate of osteocytes in bone-tendon constructs without affecting the mechanical properties of tendons[J]. Cell Tissue Bank, 2012,13(1):71-80.
- [3] Lu H, Hoshiba T, Kawazoe N, et al. Comparison of decellularization techniques for preparation of extracellular matrix scaffolds derived from three-dimensional cell culture[J]. J Biomed Mater Res A, 2012, 100(9):2507-2516.
- [4] 察鹏飞,高建华,陈阳,等.人脂肪组织细胞外基质支架的构建[J].中华整形外科杂志,2012,28(1):55-60.
- [5] Negishi J, Funamoto S, Kimura T, et al. Porcine radial artery decellularization by high hydrostatic pressure[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2015,9(11):E144-151.
- [6] Deeken CR, White AK, Bachman SL, et al. Method of preparing a

- decellularized porcine tendon using tributyl phosphate[ J ]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2011,96(2):199–206.
- [ 7 ] Yu C, Bianco J, Brown C, et al. Porous decellularized adipose tissue foams for soft tissue regeneration[ J ]. Biomaterial, 2013,34(13):3290.
- [ 8 ] Nakayama KH, Batchelder CA, Lee CI, et al. Decellularized rhesusmonkey kidney as a three-dimensional scaffold for renal tissue engineering[ J ]. Tissue Eng Part R, 2010,16(7):2207–2216.
- [ 9 ] 解传飏, 林月秋, 阮默, 等. Edc 交联改性的脱细胞异种(猪)肌腱生物学特性研究[ J ]. 中国临床解剖学杂志, 2010,28(4):425.
- [ 10 ] 潘明新, 程远, 汪燕, 等. 去细胞化肝脏生物支架材料的制备[ J ]. 南方医科大学学报, 2011,31(1):69–72.
- [ 11 ] De Carlo E, Baiguera S, Conconi MT, et al. Pancreatic acellular matrix supports islet survival and function in a synthetic tubular device: in vitro and in vivo studies[ J ]. Int J Mol Med, 2010,25(2):195.
- [ 12 ] Choi JS, Kim BS, Kim JY, et al. Decellularized extracellular matrix derived from human adipose tissue as a potential scaffold for allograft tissue engineering[ J ]. J Biomed Mater Res A, 2011,97(3):292–299.
- [ 13 ] Mangold S, Schrammel S, Huber G, et al. Evaluation of decellularized human umbilical vein (HUV) for vascular tissue engineering—comparison with endothelium-denuded HUV[ J ]. J Tissue Eng Regen Med, 2015,9(1):13–23.
- [ 14 ] Turner AE, Yu C, Bianco J, et al. The performance of decellularized adipose tissue microcarriers as an inductive substrate for human adipose-derived stem cells[ J ]. Biomaterials, 2012,33(18):4490–4499.
- [ 15 ] Yu C, Bianco J, Brown C, et al. Porous decellularized adipose tissue foams for soft tissue regeneration[ J ]. Biomaterials, 2013,34(13):3290–3302.
- [ 16 ] Eto H, Suga H, Matsumoto D, et al. Characterization of structure and cellular components of aspirated and excised adipose tissue[ J ]. Plast Reconstr Surg, 2009,124(4):1087–1097.
- [ 17 ] Barakat O, Abbasi S, Rodriguez G, et al. Use of decellularized porcine liver for engineering humanized liver organ[ J ]. J Surg Res, 2012,173(1):11–25.
- [ 18 ] Park KD, Wang X, Lee JY, et al. Research trends in biomimetic medical materials for tissue engineering: commentary[ J ]. Biomater Res, 2016,20:8.
- [ 19 ] Vranka JA, Kelley MJ, Acott TS, et al. Extracellular matrix in the trabecular meshwork: intraocular pressure regulation and dysregulation in glaucoma[ J ]. Exp Eye Res, 2015,133:112–125.
- [ 20 ] Wang L, Johnson JA, Zhang Q, et al. Combining decellularized human adipose tissue extracellular matrix and adipose-derived stem cells for adipose tissue engineering[ J ]. Acta Biomaterialia, 2013,9(11):8921–8931.
- [ 21 ] Wu I, Nahas Z, Kimmerling KA, et al. An injectable adipose matrix for soft tissue reconstruction[ J ]. Plast Reconstr Surg, 2012, 129(6):1247–1257.
- (收稿日期:2017-07-30)
- 本文引用格式:**廖选, 刘宏伟. 脂肪组织脱细胞基质研究现状及展望[ J ]. 中国美容整形外科杂志, 2017,28(12):729–732. DOI:10.3969/j.issn.1673-7040.2017.12.008.
- 
- (上接 725 页)
- 中国美容整形外科杂志, 2015,26(8):500–503.
- [ 7 ] Kim EJ, Kim YK, Kim M, et al. UV-induced inhibition of adipokine production in subcutaneous fat aggravates dermal matrix degradation in human skin[ J ]. Scientific Reports, 2016,6:25616.
- [ 8 ] Sun Z, Hwang E, Park SY, et al. Angelica archangelica prevented collagen degradation by blocking production of matrix metalloproteinases in UVB-exposed dermal fibroblasts[ J ]. Photochem Photobiol, 2016,92(4):604–610.
- [ 9 ] Karthikeyan R, Kanimozhi G, Prasad NR, et al. 7-Hydroxycoumarin prevents UVB-induced activation of NF- $\kappa$ B and subsequent overexpression of matrix metalloproteinases and inflammatory markers in human dermal fibroblast cells[ J ]. J Photochem Photobiol B, 2016,161:170–176.
- [ 10 ] Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, et al. Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis[ J ]. Int J Mol Sci, 2016,17(6):2016.
- [ 11 ] Baek B, Lee SH, Kim K, et al. Ellagic acid plays a protective role against UV-B-induced oxidative stress by up-regulating antioxidant components in human dermal fibroblasts[ J ]. Korean J Physiol Pharmacol, 2016,20(3):269–277.
- [ 12 ] Lu J, Guo JH, Tu XL, et al. Tiron inhibits UVB-induced AP-1 binding sites transcriptional activation on MMP-1 and MMP-3 promoters by MAPK signaling pathway in Human dermal fibroblasts[ J ]. PLoS One, 2016,11(8):e159998.
- [ 13 ] Bosch R, Philips N, Suárez-Pérez JA, et al. Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals[ J ]. Antioxidants (Basel), 2015,4(2):248–268.
- [ 14 ] Bravo K, Duque L, Ferreres F, et al. Passiflora tarminiana fruits reduce UVB-induced photoaging in human skin fibroblasts[ J ]. J Photochem Photobiol B, 2017,168:78–88.
- [ 15 ] Bae JS, Han M, Shin HS, et al. Perilla frutescens leaves extract ameliorates ultraviolet radiation-induced extracellular matrix damage in human dermal fibroblasts and hairless mice skin[ J ]. J Ethnopharmacol, 2017,195:334–342.
- [ 16 ] Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and aging[ J ]. Cell, 2011,146(5):682–695.
- [ 17 ] Giordano S, Darley-Usmar V, Zhang J. Autophagy as an essential cellular antioxidant pathway in neurodegenerative disease[ J ]. Redox Biol, 2013,2:82–90.
- [ 18 ] Nacarelli T, Azar A, Sell C. Inhibition of mTOR prevents ROS production initiated by ethidium bromide-induced mitochondrial DNA depletion[ J ]. Front Endocrinol, 2014,5:122.
- [ 19 ] Kang HT, Lee KB, Kim SY, et al. Autophagy impairment induces premature senescence in primary human fibroblasts[ J ]. PLoS One, 2011,6(8):e23367.
- [ 20 ] Huang J, Manning BD. A complex interplay between Akt, TSC2 and the two mTOR complexes[ J ]. Biochem Soc Trans, 2009,37(Pt 1):217.
- [ 21 ] Finkel T. Relief with rapamycin: mTOR inhibition protects against radiation-induced mucositis[ J ]. Cell Stem Cell, 2012,11(3):287–288.
- (收稿日期:2017-07-02)
- 本文引用格式:**秦登科, 贾传龙, 卢勇舟, 等. 雷帕霉素调控光老化成纤维细胞 MMPs 和 COL-1 表达[ J ]. 中国美容整形外科杂志, 2017, 28(12):723–725,732.DOI:10.3969/j.issn.1673-7040.2017.12.006.