

专业学位硕士学位论文

分类号: R62

单位代码: 10678

密 级: 公开

学 号: 20190552

昆明医科大学

硕士学位论文



微针联合头皮营养液治疗雄激素脱发的临床观察

院 (系)、所 昆明医科大学第一附属医院

研究生姓名 肖扬奇

学 科 专 业 外科学 (整形外科)

学 位 类 型 专业学位

指 导 教 师 袁瑞红 副主任医师

二〇二二年二月

昆明医科大学

硕士学位论文

微针联合头皮营养液治疗雄激素脱发的临床观察

院（系）、所 昆明医科大学第一附属医院

研究生姓名 肖扬奇

学 科 专 业 外科学（整形外科）

学 位 类 型 专业学位

指 导 教 师 袁瑞红 副主任医师

指导小组成员 代晓明 教授

李逸松 副教授

基 金 项 目 无

完 成 日 期 二 〇 二 二 年 二 月

昆明医科大学研究生学位论文研究撰写声明

本人郑重声明：本学位论文是我本人在导师指导下，独立进行学位课题研究所取得的研究成果。论文中除特别加以标注和致谢的地方外，不包含他人或其他机构已经发表或撰写过的研究成果。对本研究和论文做过贡献的同道我均在论文中作了明确的说明并表明谢意。该学位论文资料若有不实之处，本人愿承担一切相关责任。

论文作者（签名）：肖扬奇

2022 年 5 月 17 日

昆明医科大学研究生学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解昆明医科大学有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。学校可公布论文的全部或部分内容（确属保密内容已注明，并在解密后遵守此规定）；学校可采用影印、缩印或其他手段保存本学位论文。

学位论文作者（签名）：肖扬奇

2022 年 5 月 17 日

指导教师（签名）：郭

2022 年 5 月 17 日

本人及导师同意将学位论文提交至清华大学“中国学术期刊（光盘版）电子杂志社”进行电子和网络出版，并编入 CNKI 系列数据库，传播本学位论文的全部或部分内容，同意按《中国优秀博硕士学位论文全文数据库出版章程》规定享受相关权益。

学位论文作者（签名）：肖扬奇

2022 年 5 月 17 日

指导教师（签名）：郭

2022 年 5 月 17 日

目 录

缩略词表·····	1
中文摘要·····	2
英文摘要·····	4
正 文·····	7
前 言·····	7
材料与方法·····	9
结 果·····	13
讨 论·····	23
结 论·····	27
参考文献·····	28
综 述·····	30
攻读学位期间获得的学术成果·····	46
致 谢·····	47

缩 略 词 表

英文缩写	英文全称	中文全称
AGA	Androgenetic Alopecia	雄激素性脱发
BMP	Bone Morphogenetic Protein	骨形态发生蛋白
DHT	Dihydrotestosterone	二氢睾酮
DP	Dermal Papilla	真皮乳头
FGF	Fibroblast Growth Factor	成纤维细胞生长因子
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor	血管内皮生长因子受体
VIF	Variance Inflation Factor	方差膨胀因子

微针联合头皮营养液治疗雄激素脱发的临床观察

研究生：肖扬奇

导 师：袁瑞红 副主任医师

中文摘要

【目 的】研究微针长度和治疗周期联合头皮营养液治疗雄激素脱发的有效性及寻找最佳参数。

【方 法】受试者根据 Norwood-Hamilton 分级量表，筛选了自 2020 年 9 月至 2020 年 12 月，在昆明医科大学第一附属医院整形外科就诊的 20 至 35 岁轻度至中度 AGA 患者，男性和女性患者共 40 人参加了该研究，其中 37 例男性，3 例女性，进行一项为期 12 周的实验。使用“抛硬币”方法将他们随机分配到 0.5mm 长度的微针的 A 组 (N=20) 和 0.75mm 长度的微针组的 B 组 (N=20)，所有奇数编号患者采取每次治疗 1 周期；偶数编号的患者采取每次治疗 2 周期。A、B 两组的前一半受试者每天于脱发区域使用生发液早晚各一次，于治疗当天由操作者微针治疗后喷涂并按摩，以促进生发液吸收，除治疗时间外无需使用生发液。受试者在每次治疗前后根据头皮和毛发变化（包括头皮瘙痒程度、头皮油脂分泌情况、头屑情况、脱发情况及毛发新生情况）进行主观评分，每次治疗结束后进行疼痛耐受性评分。由医师在第一次治疗前和每 4 周根据头皮分区定点拍照记录，以比较头发的生长或脱落情况，12 周治疗结束后打分。待 12 周治疗结束后，根据医师评价表和受试者自评表综合评价治疗的疗效及寻找最佳参数。

【结 果】医师评分结果明显改善率 15%，中度改善率 27.5%，轻度改善率 45%，总和 87.5%，说明此次微针联合头皮营养液治疗雄激素脱发的疗效确切。治疗周期, 生发液频率, 微针长度中至少一项会对医师评分产生影响关系。治疗周期和生发液使用频率会对医师评分产生显著的正向影响关系。每周使用 1 次生发液的受试者平均分 1.15 ± 0.88 ，每天使用生发液的受试者平均分 2.05 ± 0.69 ，在 0.01 的显著性水平下，拒绝原假设，可以认为治疗开始前和 12 周的情况是存在显著性差异的 ($t=-3.619$, $p=0.001$)，同时每天使用生发液的平均分高于每周使用 1 次的。治疗周期、微针长度对于医师评分无统计学差异。患者自评（分数

越高, 头皮一般情况越差) 分析显示, 在 0.01 的显著性水平下, 拒绝原假设, 治疗开始前头发新生情况和治疗 12 周头发新生情况之间有显著性差异 ($t=10.981$, $p=0.000$), 治疗开始前头发新生情况的平均值 (6.00 ± 0.00), 显著高于治疗结束时头发新生的平均值 (3.75 ± 1.30)。治疗 12 周结束后, 头皮瘙痒 (2.35 ± 1.42)、油脂分泌 (2.95 ± 1.11)、脱发 (2.85 ± 1.10) 和头屑 (2.20 ± 1.27) 自评平均分均低于治疗开始头皮瘙痒 (3.20 ± 1.74)、油脂分泌 (4.00 ± 1.20)、脱发 (4.65 ± 0.95) 和头屑 (2.80 ± 1.49) 自评平均分。治疗 12 周后不同微针长度对于头屑改善值 (改善值=治疗开始前评分-治疗 12 周后得分) 在 0.01 的显著性水平下, 呈现出显著性差异 ($t=-5.002$, $p=0.000$), 长度 0.5mm 的平均值 (-0.30 ± 0.98), 会明显低于长度 0.75mm 的平均值 (1.50 ± 1.28), 余各观察项目改善值对于不同治疗参数均无差异性。0.5mm 微针 (1.00 ± 0.86) 和 0.75mm 微针 (1.15 ± 0.67) 对于疼痛情况全部均表现出一致性, 并没有差异性 ($p>0.05$)。治疗过程中偶有局部皮肤潮红, 可自行缓解, 无其余不良反应。

【结 论】①微针联合头皮营养液治疗 AGA 促进了头发生长, 减少脱发量。在治疗周期内改善受试者头部油脂分泌, 头皮瘙痒, 头皮屑, 脱发的情况。

②初步得出最佳的治疗方案为: 每周使用 0.5mm 微针针头行 2 周期治疗, 同时每天使用头皮营养液。

③实验所用 0.5mm 和 0.75mm 的微针长度下, 疼痛耐受较好, 患者感受的疼痛分数无统计学差异。

关键词 微针; 雄激素性脱发; 植物提取物; 参数; 自评

Clinical observation of microneedling combined with scalp nutrient solution in the treatment of androgenetic alopecia

Graduate Student: Xiao Yangqi

Instructor: Associate Professor Ruihong Yuan

ABSTRACT

Objective: To study the effectiveness of microneedle length and treatment cycle combined with scalp nutrient solution in the treatment of androgenetic alopecia and to find the optimal parameters.

Methods: Subjects were screened according to the Norwood-Hamilton grading scale for mild to moderate AGA in patients aged 20 to 35 years attending the Department of Plastic Surgery, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University from September 2020 to December 2020. 40 male and female patients, 37 males and 3 female, participated in the study for a 21-week trial. The first half of the subjects in groups A and B were randomly assigned using a "coin flip" method to group A (N=20) for 0.5 mm length microneedles and group B (N=20) for 0.75 mm length microneedles, with all odd-numbered patients receiving 1 cycle per treatment and even-numbered patients receiving 1 cycle per treatment. Hair regrowth solution was applied to the hair loss area once a day in the morning and once in the evening. On the day of treatment, the operator sprayed and massaged the area after microneedling to promote the absorption of the hair regrowth solution, and no hair regrowth solution was needed except for the treatment time. Subjects were given a subjective score before and after each treatment based on scalp and hair changes (including scalp itchiness, scalp oil secretion, dandruff, hair loss and hair regrowth), and a pain tolerance score at the end of each treatment. The plastic surgeon took photographic records based on scalp partitions at fixed points before the first treatment and every 4 weeks to compare hair growth or loss, and scored at the end of the 12-weekly treatment. After 12 weeks of treatment, the efficacy of the treatment and the search for the best parameters were evaluated based on a combination of the

physician evaluation form and the subject's self-assessment form.

Results: The physician score results showed a significant improvement rate of 15%, a moderate improvement rate of 7.52%, a mild improvement rate of 4%, and a total of 8%, indicating the efficacy of this microneedling combined with scalp nutrient solution for the treatment of androgenetic alopecia. At least one of treatment period, frequency of hair growth solution, and microneedle length had an impact on the relationship between physician scores. Treatment period and frequency of hair growth solution use had a significant positive effect on physician scores. The mean score of subjects who used hair growth solution once a week ± 0.88 and the mean score of subjects who used hair growth solution daily 2.05 ± 0.69 . At the significance level of 0.01, the original hypothesis was rejected and it can be considered that there is a significant difference between the situation before the start of treatment and 12 weeks ($t=-3.619$, $p=0.001$), while the mean score of those who used hair growth solution daily was higher than those who used it once a week. There was no statistically significant difference in treatment period and microneedle length for physician scores. Patient self-assessment (the higher the score, the worse the general condition of the scalp) analysis showed a significant difference between hair regrowth before the start of treatment and hair regrowth at 12 weeks of treatment at the 0.01 level of significance, rejecting the original hypothesis ($t=10.981$, $p=0.000$), and the mean value of hair regrowth before the start of treatment (6.00 ± 0.00) was significantly higher than that of hair at the end of treatment mean value of new growth (3.75 ± 1.30). At the end of 12 weeks of treatment, the mean self-assessed scores for scalp itching (2.35 ± 1.42), oil secretion (2.95 ± 1.11), hair loss (2.85 ± 1.10) and dandruff (2.20 ± 1.27) were lower than the mean scores for scalp itching (3.20 ± 1.74), oil secretion (4.00 ± 1.20), hair loss (4.65 ± 0.95) and dandruff (2.80 ± 1.49) at the beginning of treatment. The different microneedle lengths for dandruff improvement values 2 weeks after 1 week of treatment (improvement value = score before the start of treatment - score 2 weeks after 1 week of treatment) showed significant differences at the 0.01 level of significance ($t=-5.002$, $p=0.000$), and the mean of length 0.5 mm (-0.30 ± 0.98) would be significantly lower

than the mean of length 0.75 mm (1.50 ± 1.28), and the rest of the observed improvement values were not different for different treatment parameters. 0.5mm microneedle (1.00 ± 0.86) and 0.75mm microneedle (1.15 ± 0.67) showed consistency for all pain conditions and did not differ ($p > 0.05$). There was occasional local skin flushing during treatment, which resolved spontaneously, with no remaining adverse effects.

Conclusions: ① Microneedling combined with scalp nutrient solution for AGA promoted hair growth and reduced the amount of hair loss. It improved oil secretion, scalp itching, dandruff, and hair loss during the treatment cycle.

② The initial treatment plan was initially concluded as follows: 2 cycles of treatment with 0.5mm microneedles per week, along with daily scalp nutrient solution.

③ The pain was better tolerated with the 0.5mm and 0.75 mm microneedle lengths used in the experiment, and there was no statistical difference in the pain scores felt by the patients.

Keywords: microneedling; androgenetic alopecia; plant extracts; parameters; self-assessment

微针联合头皮营养液治疗雄激素脱发的临床观察

前 言

雄激素性脱发 (androgenetic alopecia, AGA) 雄激素性脱发 (AGA) 是所有脱发类型中最常见的。它是一种进行性毛囊小型化退变, 在我国男性患病率约为 21.3%, 女性患病率约为 6.0%^[1]。AGA 的危害在于容易造成患者的自卑情绪与其他心理障碍, 同时对患者的外貌也会产生不小的影响, AGA 导致的发量减少, 致使患者外貌与实际年龄不符, 如能及早诊治则可明显延缓甚至改善毛发减少的症状, 极大改善患者的心理状态甚至生活质量。在男性患者中, 脱发通常自前额发际开始, 逐渐蔓延至颞叶和顶叶区域, 枕骨区域一般不会涉及^[2]。而与男性相比, 患有 AGA 的女性发病较晚、症状较轻且进展较慢。主要表现为头皮中央毛发进行性减少和稀疏, 少数表现为弥漫性脱发, 额部发际线通常不受影响, 早期主要表现为每日毛发掉落增加, 更难以察觉和诊断。研究发现, AGA 病人血循环中雄激素水平正常, 而雄激素受体的增加, 致使头皮毛囊对循环雄激素异常敏感的结果。雄激素通过改变毛囊内间充质—上皮细胞的相互作用, 从而影响毛发的生长、真皮乳头大小、真皮乳头细胞、角质形成细胞及黑素细胞的活性, 从而使头发变得细软, 直至脱落^[3]。

真皮乳头 (DP) 是一组特化的成纤维细胞, 调节毛囊中各种细胞的生长和活性, 在调节毛发循环和生长中起关键作用。当来自 DP 细胞的信号到达隆起区域的多能表皮干细胞时, 激活干细胞开始分化从而使毛囊从休止期进入生长期。大量分子信号涉及正常毛发周期的各个阶段, 休止期的毛囊向生长期的转变与 Wnt/ β -catenin/Lef1、Sonic Hedgehog (Shh) 和 STAT3 通路的激活以及骨形态发生蛋白 (BMP) 信号传导的下调有关。循环雄激素, 包括二氢睾酮 (DHT), 通过 DP 的毛细血管进入毛囊, 与 DP 细胞内的雄激素受体结合, 然后激活或抑制负责从生长期到退行期和毛囊小型化的分子信号通路。这包括抑制 Wnt、Stat3 和 Shh 的刺激途径以及上调抑制途径 (例如, Dickkopf 相关蛋白 1 和 BMP4)。最近, 已经报道了微针诱导小鼠毛发生长, 表明微针刺激通过激活 Wnt/ β -catenin, 从而促使毛发生长^[4]。

微针治疗可以在皮肤的角质层屏障上形成很多透皮的微通道, 因外用药物在角质层的扩散, 与药物浓度呈正比, 而与角质层厚度呈反比。微针治疗可增加小

分子药物在皮肤的渗透性和扩散^[5]。此外，通过微针给药可以避免了解消化降解和肝代谢^[6]。微针治疗期间刺激真皮乳头和毛囊干细胞，增加毛囊的血液供应，上调血管内皮生长因子受体（VEGFR-2）、成纤维细胞生长因子（FGF-2）等生长因子的 mRNA 水平，通过多方面的共同影响促进了生长期毛发的生长和休止期毛发进入生长期。本次实验使用不同微针长度微针及不同治疗周期结合含植物提取物得头皮营养液（“域发生发液”）在患有 AGA 的患者中进行毛发再生长的研究，同时观察此治疗方法对受试者头皮一般状况的影响并尝试探讨原因。

材料与方法

1 临床资料

受试者根据 Norwood-Hamilton 分级量表, 筛选了自 2020 年 9 月至 2020 年 12 月, 在昆明医科大学第一附属医院整形外科就诊的 20 至 35 岁轻度至中度 AGA 患者, 男性和女性患者共 40 人参加了该研究, 其中 37 例男性, 3 例女性, 平均年龄 31 岁。进行一项为期 12 周的研究, 40 名 AGA 患者均签署了知情同意书。

1.1 入选标准与排除标准

入选标准: ① 基于典型的临床表现, 满足 AGA 诊断标准;

② 近半年内未进行任何脱发的治疗;

③ 年龄 20-40 周岁之间;

④ 愿意接受随访、能够积极配合治疗者。

排除标准: ①排除在过去 6 个月内服用非那雄胺或其他抗雄激素药物的男性;

②任何已知的全身性疾病;

③伴有心、肺、肝、肾功能损害的系统性疾病者、疤痕体质者, 头皮有感染、破溃或合并其他皮肤疾病者;

④依从性差, 不能配合整个治疗周期及其他不符者。

1.2 材料和方法

1.2.1 实验药物

“域发生发液”(广州市庚晖精细化工有限公司), 后文简称生发液, 由锯棕榈提取物^[7]、茶叶提取物^[8]、欧洲落叶松木提取物^[9]、人参提取物等植物提取物组成, 有研究表明上述提取物有助于: ①抑制 5 α -还原酶活性, 降低双氢睾酮(DHT)浓度; ②促进生长因子 FGF 表达和毛乳头细胞增殖, 促进毛囊进入生长期; ③提高毛乳头细胞活性, 促进毛发快速进入生长期; ④发挥类米诺地尔作用, 促进毛囊上皮细胞增殖, 从而达到促进毛发生长作用; ⑤扩张头皮毛细血管, 改善微循环。

1.2.2 治疗方法

共有 40 名 AGA 患者在签署了知情同意书, 将他们随机分配到 0.5mm 长度的微针的 A 组(N=20)和 0.75mm 长度的微针组的 B 组(N=20), 并进行 1-40 号编号。在所有患者中, 所有奇数编号患者采取每次治疗 1 周期; 偶数编号的患者采取每次治疗 2 周期。(周期定义为: 用微针均匀从脱发区发际侧至脱发区枕突侧

逐步点刺，再从枕突侧至发际侧来回行点刺为 1 个周期)；A、B 两组的前一半受试者每天于脱发区域使用生发液早晚各一次，每次大约 1ml，用手指按摩 3-5 分钟，直至吸收，其余受试者一周使用 1 次，于治疗当天由操作者微针治疗后喷涂并按摩，以促进生发液吸收。接受微针治疗当天，所有受试者均无需再自行使用外用药物。受试者接受的治疗方案共 8 种可能，参见下表（表一）。

表一：患者分组信息
Table 1: Patient group information

编号	性别	年龄	治疗周期	生发液频率	微针长度	实验方案 分组
1	男	22	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	3
2	男	25	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	5
3	男	23	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	3
4	男	35	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	5
5	男	32	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	3
6	男	27	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	5
7	男	31	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	3
8	男	33	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	5
9	男	32	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	3
10	男	31	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.5mm 微针	5
11	男	26	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	1
12	男	23	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	4
13	男	24	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	1
14	男	24	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	4
15	女	25	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	1
16	男	34	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	4
17	男	33	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	1
18	男	30	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	4
19	男	21	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	1
20	男	24	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.5mm 微针	4

21	男	26	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	7
22	男	33	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	8
23	男	24	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	7
24	男	22	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	8
25	男	26	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	7
26	男	23	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	8
27	男	28	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	7
28	男	33	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	8
29	男	34	每次治疗 1 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	7
30	男	30	每次治疗 2 周期	每天使用生发液	0.75mm 微针	8
31	女	31	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	2
32	男	28	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	6
33	男	23	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	2
34	男	28	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	6
35	男	34	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	2
36	男	28	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	6
37	女	23	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	2
38	男	27	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	6
39	男	25	每次治疗 1 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	2
40	男	31	每次治疗 2 周期	每周 1 次生发液	0.75mm 微针	6

2 疗效判定

2.1 医师疗效评价

整形外科医生在第一次治疗前和每 4 周治疗根据头皮分区定点拍照记录（包括 1 张正面和 2 张侧面整体头发情况及发际线中间及两侧皮肤镜照片），使用 50 倍镜头的皮肤镜与相机分别记录，以比较头发的生长或脱落情况，于 12 周治疗结束后打分，采用 7 分法，评分标准如下表（表一）：

表一：医师评价表

Table 1: Physician Evaluation Form

评分	3 分	2 分	1 分	0 分	-1 分	-2 分	-3 分
改善程度	明显改善	中度改善	轻度改善	无变化	轻度加重	中度加重	明显加重

2.2 患者自评

受试者在每次治疗前后根据头皮和毛发变化（包括头皮瘙痒程度、头皮油脂分泌情况、头屑情况、脱发情况及毛发新生情况）进行主观评分，采用 4 分法，随分数增加，头皮状况下降；综合上述各项指标以评价患者头皮毛发经治疗是否有改善。AGA 患者主观感受会直接影响患者对于疗效的评价，患者自身感受评价显得至关重要，实验设计了 5 个指标（表一）。

表一：患者自评表

Table 1: Patient Self-Assessment Form

类别	0 分	2 分	4 分	6 分
瘙痒程度	无瘙痒	偶尔瘙痒	经常瘙痒	总是瘙痒
油脂分泌情况	头发不油	头发稍有油腻	头发比较油腻	头发非常油腻
头屑情况	无明显头屑	零星头屑	较多头屑	大量头屑
脱发情况	无头发脱落	20 根以下头发脱落	50 根左右头发脱落	100 根以上头发脱落
脱发区毛发新生情况	脱发部位长出正常头发	有 2/3 新生毛发长出	有 1/3 新生毛发长出	无新生毛发长出

2.3 疼痛耐受性评价

由于实验采取不同微针长度，为探究不同微针参数对患者疼痛耐受的影响，实验采取自治疗过程初始，每 4 周由医生进行询问对比评分，比较受试者的耐受情况评价，采用数字分级法（NRS），用 0~10 代表不同程度的疼痛。0 为无痛，10 为最剧烈疼痛，让患者自己圈出一个最能代表其疼痛程度的数字。0: 无痛；1~3 轻度疼痛；4~6: 中度疼痛；7~10: 重度疼痛。以综合评估不同微针长度对于患者依从性、舒适性、疗效的影响。

2.4 统计学方法

应用 SPSS 25.0 软件进行数据处理与统计分析。

两组间比较采用独立样本 t 检验；多因素影响采用多元线性回归分析；前后对比采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1 临床资料分析

受试者共 40 人, 其中男性 37 人, 女性 3 人, 以男性居多, 符合雄激素性脱发的流行病学特点; 各组之间年龄、性别、脱发时间无统计学差异 ($p>0.05$)。A 组平均年龄 28.22 ± 4.44 岁, B 组平均年龄 27.42 ± 4.23 岁。

2 医师疗效评分

患者治疗 12 周后, 根据对比受试者头部毛发整体照片 (图一) 及皮肤镜下头发局部照片 (图二) 进行医师疗效评分, 12 周治疗结束后, 明显改善率 15% ($N=6$), 中度改善率 27.5% ($N=11$), 轻度改善率 45% ($N=18$), 无明显改善率 12.5% ($N=5$) (表 1)。利用相关分析去研究医师评分分别和治疗周期、生发液频率、微针长度共 3 项之间的相关关系, 将治疗周期、生发液频率、微针长度作为自变量, 将医师评分作为因变量进行线性回归分析并将数据制作成表格 (表二), 由表格可以看出, 模型公式为: 医师评分= $-0.950+0.600*\text{治疗周期}+0.900*\text{生发液频率}+0.200*\text{微针长度}$, 模型 R 方值为 0.383, 意味着治疗周期、生发液频率、微针长度可以解释医师评分的 38.3% 变化原因。对模型进行 F 检验时发现, 模型通过 F 检验 ($F=7.446$, $p=0.001<0.05$), 也即说明治疗周期、生发液频率、微针长度中至少一项会对医师评分产生影响关系。另外, 本文通过对模型进行多重共线性检验, 可以发现本文所得的模型的方差膨胀因子值 (VIF) 全部均小于 5, 意味着不存在着共线性问题; 并且 D-W 值在数字 2 附近, 因而说明模型不存在自相关性, 样本数据之间并没有关联关系, 模型较好。各组具体情况分析, 利用 t 检验 (全称为独立样本 t 检验) 去研究生发液频率、治疗周期、微针长度对于医师评分的差异性, 从下表 (表三) 可以看出: 微针长度为 0.5mm 的 A 组和微针长度为 0.75mm 的 B 组, A 组改善均值 1.42 ± 1.01 , B 组改善均值 1.48 ± 0.99 , 组间比较不同微针长度样本对于医师评分全部均不会表现出显著性 ($p>0.05$), 意味着不同微针长度样本对于医师评分全部均表现出一致性, 并没有差异性。每次治疗一周期的改善均值 1.30 ± 0.86 , 每次治疗两周期的平均分 1.90 ± 0.85 , 组间比较在 0.05 的显著性水平下, 拒绝原假设, 可是认为不同治疗周期对于医师评分是存在显著性差异的 ($t=-2.210$, $p=0.033$), 且每次治疗 2 周期的平均分高于治疗 1 周期的。

每周使用 1 次生发液的受试者平均分 1.15 ± 0.88 ，每天使用生发液的受试者平均分 2.05 ± 0.69 ，且组间比较在 0.01 的显著性水平下，拒绝原假设，可以认为不同生发液频率对于医师评分是存在显著性差异的($t=-3.619$, $p=0.001$)，同时每天使用生发液的平均分高于每周使用 1 次的。

此次受试者一共有 8 种治疗方案（表四），医师评分的平均分最高的是方案 5 (2.400 ± 0.548)，为使用 0.5mm 微针每次治疗 2 个周期，同时每天使用生发液；平均分最低的是方案 1 (0.400 ± 0.548)，为使用 0.5mm 微针每次治疗 1 个周期，同时每周使用 1 次生发液。其余方案平均医师评分见表格（表四）。

表一：医师评分频数分析

Table 1: Frequency Analysis of Physician Ratings

名称	选项	频数	百分比 (%)	累积百分比 (%)
医师评分	0.0	5	12.50	12.50
	1.0	12	30.00	42.50
	2.0	17	42.50	85.00
	3.0	6	15.00	100.00
合计		40	100.0	100.0

表二：医师评分多元线性回归分析 ($n=40$)

Table 2: Multiple Linear Regression Analysis of Physician Ratings

	非标准化系数		标准化系数						
	B	标准误差	Beta	t	p	VIF	R^2	调整 R^2	F
常数	-0.950	0.616	-	-1.543	0.132	-			
治疗周期	0.600	0.233	0.338	2.578	0.014*	1.000			
生发液频率	0.900	0.233	0.506	3.867	0.000**	1.000	0.383	0.331	$F(3, 36)=7.446, p=0.001$
微针长度	0.200	0.233	0.113	0.859	0.396	1.000			

因变量：医师评分

D-W 值：2.231

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

表三：医师评分独立 T 检验分析 ($n=40$)

Table 3 : Student's t test Analysis of Physician Ratings

	微针长度(平均值±标准差)		<i>t</i>	<i>p</i>
	长度 0.5mm ($n=20$)	长度 0.75mm ($n=20$)		
医师评分	1.50±0.95	1.70±0.86	-0.698	0.489
	治疗 1 周期 ($n=20$)	治疗 2 周期 ($n=20$)		
医师评分	1.30±0.86	1.90±0.85	-2.210	0.033*
	1 周 1 次 ($n=20$)	每天使用 ($n=20$)		
医师评分	1.15±0.88	2.05±0.69	-3.619	0.001**

* $p<0.05$ ** $p<0.01$

表四：医师评分治疗方案分类汇总

Table 4: Summary of physician-rated treatment plan categories

标题	项	方案分组								汇总
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	
	<i>n</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	40
	平均值	0.400	1.200	1.400	1.800	2.400	1.200	2.200	2.200	1.600
医师	标准差	0.548	0.837	0.548	0.837	0.548	0.837	0.447	0.837	0.900
评分	最小值	0.000	0.000	1.000	1.000	2.000	0.000	2.000	1.000	0.000
	最大值	1.000	2.000	2.000	3.000	3.000	2.000	3.000	3.000	3.000
	方差	0.300	0.700	0.300	0.700	0.300	0.700	0.200	0.700	0.810



图一：经过 12 周治疗后整体照片对比
(图为三名不同受试者在首次治疗前和 12 周治疗结束后相机拍摄头发整体对比)



图二：经 12 周治疗后毛发局部改变
(图为三名不同受试者在首次治疗前和 12 周治疗结束后皮肤镜拍摄头发局部对比)

2.2 患者自评

收集并整理患者自评数据（新生毛发情况、脱发情况、油脂分泌情况、头皮瘙痒情况、头屑情况、脱发情况）并经统计学分析制作表格（表一）。

2.2.1 头发新生情况

对比治疗开始前和经 12 周治疗后新生头发情况可知，在 0.01 水平的显著性水平下，拒绝原假设，可以认为治疗开始前头发新生情况和治疗 12 周头发新生情况之间 ($t=10.981$, $p=0.000$) 是存在显著性差异的，以及具体对比差异可知，治疗开始前头发新生情况的平均值 (6.00 ± 0.00)，会明显高于治疗结束后头发新生情况的平均值 (3.75 ± 1.30)；治疗开始前头发新生情况和治疗 4 周头发新生情况之间没有呈现出差异性 ($p>0.05$)；在 0.01 水平的显著性水平下，拒绝原假设，可以认为治疗 4 周和治疗 8 周之间 ($t=8.062$, $p=0.000$)，治疗 8 周到治疗 12 周后的头发新生情况是存在显著性差异的 ($t=3.984$, $p=0.000$)。利用独立样本 t 检验去研究微针长度、用药频率、治疗周期 ($t=-0.241$, $p=0.811$) 对于治疗 12 周改善值（改善值=治疗开始前评分-治疗 12 周后得分）的差异性，从上表可以看出：不同微针长度、用药频率、治疗周期对于治疗 12 周后改善值全部均不会表现出显著性 ($p>0.05$)，意味着：不同微针长度、用药频率、治疗周期对于治疗 12 周改善值全部均表现出一致性，并没有差异性。

2.2.2 脱发情况

对比治疗开始前和治疗 12 周后脱发情况可知，在 0.01 的显著性水平下，拒绝原假设，可以认为治疗前后的脱发情况存在显著性差异 ($t=8.473$, $p=0.000$)，以及具体对比差异可知，治疗开始前脱发情况患者自评的平均值 (4.65 ± 0.95) 高于治疗结束后的平均值 (2.85 ± 1.10)。在 0.05 的显著性水平下，拒绝原假设，可以认为治疗开始前和治疗 4 周 (4.25 ± 1.21) 后脱发情况 ($t=2.726$, $p=0.01$)、治疗 8 周 (3.35 ± 1.05) 之间和治疗 12 周后脱发情况 ($t=3.606$, $p=0.001$) 是存在显著性差异的；在 0.01 的显著性水平下，拒绝原假设，可以认为治疗开始前和治疗 8 周后脱发情况 ($t=7.093$, $p=0.000$)、治疗 4 周之间和治疗 8 周后脱发情况 ($t=3.984$, $p=0.000$) 有显著性差异。利用独立样本 t 检验去研究微针长度、用药频率、治疗周期对于治疗 12 周脱发改善值的差异性，从表可以看出：不同微针长度 ($t=-0.940$, $p=0.353$)、用药频率 ($t=0.000$, $p=1.000$)、治疗周期

($t=0.466$, $p=0.644$) 对于治疗 12 周后改善值全部均不会表现出显著性 ($p>0.05$), 意味着不同用药频率、治疗周期对于治疗 12 周改善值全部均表现出一致性, 并没有统计学差异性。

2.2.3 头皮瘙痒情况

对比治疗开始前和治疗 12 周后头皮瘙痒情况可知, 在 0.01 的显著性水平下, 拒绝原假设, 可以认为治疗前后的头皮瘙痒情况存在显著性差异 ($t=3.443$, $p=0.001$), 以及具体对比差异可知, 治疗开始前头皮瘙痒情况患者自评的平均值 (3.20 ± 1.74) 高于治疗结束后的平均值 (2.35 ± 1.42)。在 0.05 的显著性水平下, 拒绝原假设, 可以认为治疗开始前和治疗 8 周 (2.80 ± 1.18) 后头皮瘙痒情况 ($t=2.082$, $p=0.044$)、治疗 8 周之间和治疗 12 周后头皮瘙痒情况 ($t=2.467$, $p=0.018$) 存在显著性差异; 治疗开始前和治疗 4 周 (3.00 ± 1.43) 后头皮瘙痒情况 ($t=0.941$, $p=0.352$)、治疗 4 周之间和治疗 8 周后头皮瘙痒情况 ($t=1.275$, $p=0.210$) 没有呈现出差异性。对比治疗 12 周结束后, 微针长度 ($t=-1.881$, $p=0.069$)、治疗周期 ($t=0.200$, $p=0.843$)、用药频率 ($t=1.013$, $p=0.318$) 对于头皮瘙痒情况改善值全部均表现出一致性, 并没有差异性。

2.2.4 头屑情况

对比治疗开始前和治疗 12 周后头屑情况可知, 在 0.01 的显著性水平下, 拒绝原假设, 可以认为治疗前后的头屑情况存在显著性差异 ($t=2.623$, $p=0.012$), 以及具体对比差异可知, 治疗开始前患者头屑情况患者自评的平均值 (2.80 ± 1.49) 高于治疗结束后的平均值 (2.20 ± 1.27)。在 0.05 的显著性水平下, 拒绝原假设, 可以认为治疗开始前和治疗 8 周 (2.30 ± 1.32) 后头屑情况 ($t=2.360$, $p=0.023$)、治疗 4 周 (2.65 ± 1.23) 之间和治疗 8 周后头屑情况 ($t=2.479$, $p=0.018$) 存在显著性差异; 治疗开始前和治疗 4 周后头屑情况 ($t=0.902$, $p=0.372$)、治疗 8 周之间和治疗 12 周后头屑情况 ($t=0.813$, $p=0.421$) 没有呈现出差异性。对比治疗 12 周结束后, 不同治疗周期 ($t=1.324$, $p=0.193$)、用药频率 ($t=0.433$, $p=0.669$) 对于头屑情况改善值全部均表现出一致性, 并没有差异性, 而不同微针长度对于头屑改善呈现出 0.01 水平显著性 ($t=-5.002$, $p=0.000$), 以及具体对比差异可知, 长度 0.5mm 的平均值 (-0.30 ± 0.98), 会明显低于长度 0.75mm 的平均值 (1.50 ± 1.28)。

2.2.5 油脂分泌

对比治疗开始前和治疗 12 周后头皮油脂分泌情况可知,在 0.01 的显著性水平下,拒绝原假设,可以认为治疗前后的头皮油脂分泌情况存在显著性差异($t=5.547$, $p=0.000$),以及具体对比差异可知,治疗开始前油脂分泌患者自评的平均值(4.00 ± 1.20)高于治疗结束后的平均值(2.95 ± 1.11)。在 0.05 的显著性水平下,拒绝原假设,可以认为治疗开始前和治疗 4 周(3.80 ± 1.18)后油脂分泌情况($t=2.082$, $p=0.044$)存在显著性差异;在 0.01 的显著性水平下,可以认为治疗 4 周和治疗 8 周(3.20 ± 1.27)后油脂分泌情况($t=4.088$, $p=0.000$)、治疗开始前和治疗 8 周后油脂分泌情况($t=0.5099$, $p=0.000$)存在显著性差异;治疗 8 周之间和治疗 12 周后油脂分泌情况($t=1.533$, $p=0.133$)没有呈现出差异性。对比治疗 12 周结束后,不同微针长度($t=0.261$, $p=0.796$)、治疗周期($t=0.789$, $p=0.435$)、用药频率($t=-0.261$, $p=0.796$)对于头皮瘙痒情况改善值全部均表现出一致性,并没有差异性。

表一:不同观察指标配对 t 检验分析结果

Table 1: matched samples t-test analysis results of different observations

名称			配对(平均值±标准差)		差值(配对1-配对2)	t	p
			配对1	配对2			
油脂分泌0	配对	油脂分泌4	4.00 ± 1.20	3.80 ± 1.18	0.20	2.082	0.044*
油脂分泌0	配对	油脂分泌8	4.00 ± 1.20	3.20 ± 1.26	0.80	5.099	0.000**
油脂分泌0	配对	油脂分泌12	4.00 ± 1.20	2.95 ± 1.11	1.05	5.547	0.000**
油脂分泌4	配对	油脂分泌8	3.80 ± 1.18	3.20 ± 1.26	0.60	4.088	0.000**
油脂分泌8	配对	油脂分泌12	3.20 ± 1.26	2.95 ± 1.11	0.25	1.533	0.133
瘙痒程度0	配对	瘙痒程度4	3.20 ± 1.74	3.00 ± 1.43	0.20	0.941	0.352
瘙痒程度0	配对	瘙痒程度8	3.20 ± 1.74	2.80 ± 1.18	0.40	2.082	0.044*
瘙痒程度0	配对	瘙痒程度12	3.20 ± 1.74	2.35 ± 1.42	0.85	3.443	0.001**
瘙痒程度4	配对	瘙痒程度8	3.00 ± 1.43	2.80 ± 1.18	0.20	1.275	0.210
瘙痒程度8	配对	瘙痒程度12	2.80 ± 1.18	2.35 ± 1.42	0.45	2.467	0.018*
头屑情况0	配对	头屑情况4	2.80 ± 1.49	2.65 ± 1.23	0.15	0.902	0.372
头屑情况0	配对	头屑情况8	2.80 ± 1.49	2.30 ± 1.32	0.50	2.360	0.023*
头屑情况0	配对	头屑情况12	2.80 ± 1.49	2.20 ± 1.26	0.60	2.623	0.012*

表一：不同观察指标配对 t 检验分析结果

Table 1: matched samples t-test analysis results of different observations

名称			配对 (平均值±标准差)		差值 (配对 1-配对 2)	t	p
			配对 1	配对 2			
头屑情况 4	配对	头屑情况 8	2.65±1.23	2.30±1.32	0.35	2.479	0.018*
头屑情况 8	配对	头屑情况 12	2.30±1.32	2.20±1.26	0.10	0.813	0.421
脱发情况 0	配对	脱发情况 4	4.65±0.95	4.25±1.21	0.40	2.726	0.010**
脱发情况 0	配对	脱发情况 8	4.65±0.95	3.35±1.05	1.30	7.093	0.000**
脱发情况 0	配对	脱发情况 12	4.65±0.95	2.85±1.10	1.80	8.473	0.000**
脱发情况 4	配对	脱发情况 8	4.25±1.21	3.35±1.05	0.90	3.984	0.000**
脱发情况 8	配对	脱发情况 12	3.35±1.05	2.85±1.10	0.50	3.606	0.001**
头发新生 0	配对	头发新生 4	6.00±0.00	5.90±0.44	0.10	1.433	0.160
头发新生 0	配对	头发新生 8	6.00±0.00	4.65±0.95	1.35	9.000	0.000**
头发新生 0	配对	头发新生 12	6.00±0.00	3.75±1.30	2.25	10.981	0.000**
头发新生 4	配对	头发新生 8	5.90±0.44	4.65±0.95	1.25	8.062	0.000**
头发新生 8	配对	头发新生 12	4.65±0.95	3.75±1.30	0.90	3.984	0.000**

* $p<0.05$ ** $p<0.01$

2.3 疼痛耐受性

利用独立样本 t 检验去研究微针长度对于疼痛情况的差异性(表一),可以看出:不同微针长度样本对于疼痛情况全部均不会表现出显著性($p>0.05$),意味着 0.5mm 微针 (1.00 ± 0.86) 和 0.75mm 微针 (1.15 ± 0.67) 对于疼痛情况全部均表现出一致性,并没有差异性。

表一：微针长度与疼痛分值独立 t 检验分析

Table 1: Independent t-test analysis of microneedle length and pain

分析项	项	样本量	平均值	标准差	平均值差值	差值 95% CI	t	df	p
疼痛情况	长度 0.5mm	20	1.00	0.86					
	长度 0.75mm	20	1.15	0.67	-0.15	-0.643 ~ 0.343	-0.616	38.000	0.542
	总计	40	1.07	0.76					

* $p<0.05$ ** $p<0.01$

2.4 不良反应

治疗过程中受试者均未出现明显的不良反应，治疗结束后患者均出现头皮潮红（图一），少数受试者自诉感刺痛，可于 30 分钟内自行缓解；此外，每次治疗操作前，均采用碘伏进行局部消毒，未见受试者头皮出血、感染。



图一：受试者治疗前后受试区域皮肤对比

（上图为治疗前的照片，下图为经 0.75mm 和 2 周期治疗后的受试者照片，可见下图治疗区皮肤局部轻微潮红，皮肤大部分无明显变化）

讨 论

AGA 病因复杂,目前被认为是一种多基因隐性遗传病。遗传因素、雄激素分泌、毛囊生长周期变化及局部微环境均与本病的发生有关^[10]。此前有研究通过对 AGA 患者相关因素分析证明心理压力因素、心理焦虑因素、不规律和不健康的生活因素等均可影响患者的脱发程度^[11]。本次研究调查的受试者中,自诉长期熬夜、睡眠不规律超过 60%,学习或工作压力大的占比也超过 80%。同时,此次受试者此前多进行过自行使用外用药物或口服药物治疗,因各种原因导致治疗终止,原因多为治疗周期过长同时疗效不显著而放弃治疗。受试者判定疗效依据多为主观感受。因此本次实验收集了头皮多种自身感受进行评估对比,以综合判定结果。

研究招募的受试者此前大多使用过如:米诺地尔、民间偏方等不同外用药物,时间从 1 个月到 6 个月不等,最终放弃治疗,可见对于患者的心理和生理都产生了巨大影响。患者循环雄激素水平正常,口服药物治疗中,一般以口服长期 5 α -还原酶的特异性抑制剂非那雄胺为主。局部治疗中,因皮肤屏障的阻碍,致使大部分局部用药透皮性较差,考虑到局部外用药物(如喷剂、擦剂)在穿透皮肤屏障时都将被角质层阻挡,降低了药物浓度和剂量,联合微针治疗可以在使用外用药物治疗一些疾病时提供新思路。微针是一种新型透皮渗透技术,通过快速的活塞式震动,在皮肤表面迅速产生纳米直径的微孔,这些微孔穿过皮肤屏障,可将外用药物更快、更深的输送至皮肤组织,通过血管网吸收的药物避免口服药物需要面临的消化降解和肝脏代谢,在局部形成足够的药物浓度来产生相应的疗效。通过对治疗过程中的观察和患者体验反馈了解到,该项操作接近无痛状态,故操作前无需表面麻醉,治疗过程中均未见头皮出血、丘疹、瘙痒等明显不良反应^[18],使得该治疗可应用到更多不同的患者。微针诱导毛发再生的机制包括^[4,12,14]: 1. 释放血小板衍生生长因子,通过血小板活化和皮肤伤口再生机制增加表皮生长因子。2. 在由微针引起的伤口愈合条件下激活毛发隆突区域的干细胞,促使毛发生长。3. 毛发生长相关基因血管内皮生长因子、B-连环蛋白、Wnt3a 和 Wnt10 b 的过表达。目前关于微针治疗 AGA 的研究尚少,与传统单纯外用药物进行对比研究,旨在探讨其微针联合头皮营养液能否明显提高对 AGA 的治疗效果,同时观察微针治疗对头皮油脂分泌、头屑情况、头皮瘙痒情况的关联。

实验采用生发液为植物提取物为主,包括锯棕榈提取物、茶叶提取物、欧洲

落叶松木提取物、人参提取物、日本獐牙菜提取物。已有实验证明该营养液可通过使静止期毛发提前进入生长期，促进毛发生长。原理是主要通过扩张血管，增加局部微循环，改善头皮微环境，增强 Shh 及 Wnt/ β -catenin 蛋白表达，促进毛囊由休止期向生长期转变，延长毛囊生长期，促进毛囊黑色素合成^[7,8,9]，减少毛囊细胞凋亡数。通过激活毛乳头 ERK 和 AKT 信号通路，促进毛乳头细胞分化增殖的同时为毛囊生长提供营养支持。

结合前文统计结果分析，医师评分结果明显改善率 15%，中度改善率 27.5%，轻度改善率 45%，总和 87.5%，说明此次微针结合头皮营养液治疗雄激素脱发的疗效确切。李玲^[13]等研究设计实验，通过 24 周治疗后观察证实了联合纳晶微针导入米诺地尔酊组，较单独米诺地尔酊治疗组相比，脱发明显改善率从 6.7%提高至 40%，效果显著。为探究治疗周期、生发液使用频率、微针长度与医师评分分值之间的关系，将治疗周期、生发液频率、微针长度作为自变量，而将医师评分作为因变量进行线性回归分析，可知治疗周期的回归系数值为 0.600 ($t=2.578$, $p=0.014<0.05$)，意味着治疗周期会对医师评分产生显著的正向影响关系。生发液频率的回归系数值为 0.900 ($t=3.867$, $p=0.000<0.01$)，意味着生发液频率会对医师评分产生显著的正向影响关系。微针长度的回归系数值为 0.200 ($t=0.859$, $p=0.396>0.05$)，意味着微针长度并不会对医师评分产生影响关系。所以可以看出，治疗周期、生发液频率会对医师评分产生显著的正向影响关系，相比较于每次 1 周期治疗和每次 2 周期治疗而言，每次 2 周期的治疗对于毛发的生长起更大的促进作用；相比较于每周使用 1 次生发液，每天使用生发液会得到更好的效果。但是微针长度并不会对医师评分产生影响关系。考虑到相较每次治疗 1 周期而言，每次 2 周期的治疗可使头皮形成更加密集通道，使得药物浓度得以增加，锯棕榈提取物作为 5- α 还原酶 I 型和 II 型的竞争性非选择性抑制剂，抑制 5- α 还原酶发挥作用。此前研究对比过 320mg/d 锯棕榈提取物和 1mg/d 非那雄胺治疗 AGA，发现 320mg/d 锯棕榈提取物的有效率为 38%，1mg/d 非那雄胺的有效率为 68%^[16]，所以推测该生发液中活性成分锯棕榈提取物作用于头皮改善 AGA 所致脱发需更高的药物浓度，而目前实验所用提取物在涂抹至头皮表面后难以到达该浓度。结合实验所得生发液使用频率与医师评分呈正向影响关系，似乎更加佐证了这个观点，但具体影响有待进一步实验。此外，相比较于每次行 1

周期治疗，每次 2 周期的治疗在打开更多微通道的同时，可释放更多的血小板衍生长因子；并且更多的微通道伤口在愈合条件下可更好的激活毛发隆突区域的干细胞，促进毛发生长。实验中，不同的微针长度并不会对医师评分产生影响关系，考虑到微针的长度必须足够长以穿透皮肤屏障以增强药物的输送，并且限制在一定长度范围内以减少皮肤损伤和降低疼痛。选择使用 0.5mm 和 0.75mm 的微针的原因是在小鼠实验中，0.5mm 微针的刺激相比于 0.2mm 微针的刺激 Wnt10b mRNA 表达（23.2 倍）明显增加。Wnt/ β -catenin 信号传导的激活不仅头发的生长和保持很重要，还有助于 HF 的再生和毛干的生长^[16,17]。Wnt3a 和 Wnt10b 均介导经典的 Wnt 信号传导途径，特别是 Wnt10b 具有显著促进增殖并保持毛发生长的能力。Wnt3a 对头发生长的扩展作用有限，目前已知其主要参与 HF 黑素细胞维持稳定的过程。在小鼠实验中，0.5mm 微针的刺激相比于 0.2mm 微针的刺激 Wnt10b mRNA 表达明显增加^[4]（23.2 倍），而人体头皮角质层相对小鼠角质层更厚，0.5mm 微针的 0.75mm 微针的差异并不足以导致足够大的 Wnt3a、Wnt10b 表达差异及其余细胞因子释放量的差异来影响毛发生长；或因实验周期需要更长，需要更多不同长度微针对照，还待进一步实验得出。

AGA 患者因外观变化导致的外貌焦虑、社交焦虑等心理障碍是 AGA 治疗过程中至关重要的部分，现在大多的非手术治疗，对于患者主观感受相对较为忽视。由 AGA 所致心理障碍导致脱发进一步增加或心理障碍恶化在临床中比例逐渐升高。现医学模式从传统生物医学模式向生物—心理—社会医学模式转变的变革之下，本实验设计记录患者多种主观感受，包括头屑情况、油脂分泌、瘙痒情况、脱发情况及新生毛发情况，以全面评估患者心理状态及疗效。根据患者自评表可得出以下结论：治疗开始前所有患者都自觉脱发区无新生毛发长出，经 12 周治疗后，自觉无新生头发长出的患者占 15%（n=6），85% 的受试者（n=34）认为脱发区有新生毛发长出，其中有 27.5% 的受试者（n=11）自觉有 2/3 新生毛发长出。治疗开始前头发新生情况和治疗 12 周头发新生情况之间呈现出 0.01 水平的显著性，且治疗 12 周后新生毛发疗效更好。此次治疗中超过半数受试者此前多进行过自行使用外用药物或口服药物治疗，因各种原因导致治疗终止，而此次治疗效果的多方面评价直观且简明的展示，使受试者提高了依从性，随着一项或多项指标的好转而继续接受治疗，从而进一步提高了疗效。患者自评头发新生情况进一

步证实了治疗的有效性，治疗后患者的脱发情况也得到了缓解，且治疗前和经 12 周治疗后的脱发情况有显著性差异。但不同微针长度、用药频率、治疗周期对于治疗 12 周后改善值全部均不会表现出显著性，并没有统计学差异，考虑由患者主观感受导致，由于受试者被要求保持规律合理作息，营养均衡，在缓解受试者脱发症状中起了一定程度的作用。治疗后患者的头皮瘙痒情况也得到了缓解，且治疗前和经 12 周治疗后的头皮瘙痒情况有显著性差异，且治疗后头皮瘙痒症状得到相对缓解。头皮瘙痒是头皮菌群平衡遭到破坏，有害菌大量滋生，会引发油脂、代谢的失衡，使整个头皮状态紊乱，严重破坏头皮的健康状况。同时，对比治疗开始前和治疗 12 周后头皮油脂分泌、头屑情况都有显著性差异，而且也都得到了缓解。不同的是，在 0.01 的显著性水平下，可以认为不同微针长度对于头屑改善存在显著性差异，长度 0.5mm 微针 (-0.30 ± 0.98) 治疗后得头屑改善值的平均值，会明显低于长度 0.75mm 的平均值 (1.50 ± 1.28)。头皮的常见细菌为痤疮丙酸杆菌、金黄色葡萄球菌，而治疗期间，每周治疗前均行 3 次碘伏消毒，推测消毒操作抑制了过量增生的有害菌，一定程度上恢复了头皮菌群平衡。而更深的微针刺激，导致头皮血供增加，改善了头皮代谢，同时结合油脂及瘙痒程度的下降，共同改善了头皮屑情况。

不同微针长度样本对于疼痛情况全部均不会表现出显著性 ($p > 0.05$)，意味着不同微针长度样本对于疼痛情况全部均表现出一致性，并没有差异性。此次实验中采用的微针长度为 0.5mm 和 0.75mm，有 25% 的受试者自觉不感到疼痛，有 75% 得受试者感到 1-2 分的疼痛。该项操作较传统激光、滚针技术等造成色素沉着、疤痕的风险亦大大降低^[18]。人头皮微针操作后，胶原蛋白和弹性蛋白沉积增加^[19]。因此，当其用于头皮时，会引起毛囊周围纤维化，广泛的纤维化会阻碍头发的生长。当与各种药物合用时，微针可能会导致药物过量，有增加药物反应可能性。为了证明微针对脱发的治疗效果，不仅需要优化长度和周期，还需要进一步研究微针的功效和安全性。本次实验过程中，40 名受试者共 8 种治疗的方案，根据医师评价的平均值来评估，相对较好的方案为：每周使用 0.5mm 微针针头行 2 周期治疗，同时每天使用头皮营养液，相对不推荐的方案是：每周使用 0.5mm 微针针头行 1 周期治疗，同时每周使用 1 次头皮营养液。结合医师评价的多元线性回归分析，治疗周期的回归系数值为 0.600 ($t=2.578$, $p=0.014 < 0.05$)，意味

着治疗周期会对医师评分产生显著的正向影响关系。生发液频率的回归系数值为 0.900 ($t=3.867$, $p=0.000<0.01$), 意味着生发液频率会对医师评分产生显著的正向影响关系。微针长度的回归系数值为 0.200 ($t=0.859$, $p=0.396>0.05$), 意味着微针长度并不会对医师评分产生影响关系。进一步研究, 可考虑增加治疗周期的次数和生发液使用频率以增加治疗效果, 改进微针的长度, 找到合适的微针长度, 综合三项参数而得到不同的疗效对比, 以找到更好的治疗方案。

本实验也存在缺陷和不足, 由于实验仅仅采用医师和受试者主观评分, 对于客观证据支撑显得较为不足, 进一步实验若有条件可对患者头皮进行取样行病理分析、分子生物学分析以更好的阐明机制。此外, 治疗结束后实验的观察项目随即中止, 不能收集到更多患者毛发及头皮情况的长期数据, 无法对治疗的后续进行远期评估。

综上, AGA 作为一种最常见的脱发类型, 微针联合头皮营养液治疗 AGA 在治疗周期内促进毛发生长, 减少脱发量, 改善了油脂分泌、头皮瘙痒、头屑, 操作简单, 成本低廉, 且不良反应较少, 患者接受度高, 依从性良好, 具有很好的应用前景。同时, 初步得出最佳的治疗方案为: 每周使用 0.5mm 微针针头行 2 周期治疗, 同时每天使用头皮营养液。并得出增加治疗周期的次数和生发液使用频率以增加治疗效果, 改进微针的长度以找到更合适的微针长度, 三项措施可进一步提高治疗效果。在实验所用 0.5mm 和 0.75mm 的微针长度下, 疼痛耐受较好, 患者感受的疼痛分数无统计学差异, 且患者可以接受长期治疗。

结 论

综上, 微针联合头皮营养液治疗 AGA 促进了头发生长, 减少脱发量。在治疗周期内改善油脂分泌、头皮瘙痒、头皮屑、脱发症状。步骤简单, 操作耗时少, 成本低廉, 且不良反应较少, 患者接受度高, 依从性良好, 具有很好的应用前景。同时, 初步得出最佳的治疗方案为: 每周使用 0.5mm 微针针头行 2 周期治疗, 同时每天使用头皮营养液。并得出增加治疗周期的次数和生发液使用频率以增加治疗效果, 改进微针的长度以找到更合适的微针长度, 三项措施可进一步提高治疗效果。在实验所用 0.5mm 和 0.75mm 的微针长度下, 疼痛耐受较好, 患者感受的疼痛分数无统计学差异, 且患者可以接受长期治疗。

参考文献

- [1]中国医师协会美容与整形医师分会毛发整形美容专业委员会. 中国人雄激素脱发诊疗指南[J]. 中国美容整形外科杂志, 2019, 30(1):前插 1-1-15.
- [2]Lolli F,Pallotti F,Rossi A, et al. Androgenetic alopecia: a review[J]. Endocrine, 2017; 57(1) : 9—17
- [3] Randall. Androgens and hair growth [J]. Dermatologic Therapy, 2010; 21(5) : 314—328
- [4] Jeong K, Lee YJ, Kim JE, Park YM, Kim BJ, Kang H. Repeated microneedle stimulation induce the enhanced expression of hair-growth-related genes. Int J Trichology. 2012;4:117-6.
- [5] Park JH, Choi SO, Seo S, Choy YB, Prausnitz MR. A microneedle roller for transdermal drug delivery. Eur J Pharm Biopharm 2010;76:282-289
- [6] Prausnitz MR. Microneedles for transdermal drug delivery. Adv Drug Deliv Rev 2004;56:581-587.3. Park KY, Jang WS, Lim YY, Ahn JH, Lee SJ, Kim CW, et al. Safety evaluation of stamp type digital microneedle devices in hairless mice. Ann Dermatol 2013;25:46-53}
- [7]Kanti V¹, Messenger A², Dobos G¹, Reygagne P³, Finner A⁴, Blumeyer A⁵, Trakatelli M⁶, Tosti A⁷, Del Marmol V⁸, Piraccini BM⁹, Nast A¹⁰, Blume-Peytavi U¹. Evidence-based (S3) guideline for the treatment of androgenetic alopecia in women and in men-short .Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV, 27 Nov 2017, 32(1):11-22
- [8] O.S. Kwon, J.H. Han, H.G. Yoo, J.H. Chung, K.H. Cho, H.C. Eun, K.H. Kim¹⁰. Human hair growth enhancement in vitro by green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) .j.phymed.2006.09.009
- [9] owatari, Keisuke, Yoshida, Kiyo, Mori, Nobuhiro, Shimizu, Kuniyoshi, Kondo, Ryuichiro, Sakai, Kokki. Polyphenols from the heartwood of *Cercidiphyllum japonicum* and their effects on proliferation of mouse hair epithelial cells. Planta Med. 2002 Nov ;68(11) :995-8
- [10] Manabe M, Tsuboi R, Itami S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of male pattern and female-pattern hair loss, 2017 version[J]. J Dermatol, 2018, 45(9):1031-1043.
- [11]赵俊英, 冯育洁, 岂红娇. 男性型脱发 201 例相关因素分析及非那雄胺治疗体会[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(4) :79-81.
- [12]Kim BJ, Lim YY, Kim HM, Lee YW, Won CH, Huh CH, et al. Hair follicle regeneration in

mice after wounding by microneedle roller. *Int J Trichology*. 2012;4:117

- [13]李 玲, 陈彩凤, 张丹群. 纳晶微针联合 5% 米诺地尔酊治疗男性雄激素脱发的临床观察 [J], 中国医疗美容, 2020, 10(3): 60-63
- [14] O'Toole EA, Mellerio JE. Wound healing. In: Burns TB, Cox N, Griffiths C, editors. *Rook's Textbook of Dermatology*. 8th ed. Blackwell Publishing; 2010. pp. 14.1–27.
- [15] Rossi A, Mari E, Scarno M et al. Comparative effectiveness of finasteride vs serenoa repens in male androgenetic alopecia: a two-year study. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012; 25: 1167–1173.
- [16] Leirós GJ, Attorresi AI, Balañá ME. Hair follicle stem cell differentiation is inhibited through cross-talk between Wnt/ β -catenin and androgen signalling in dermal papilla cells from patients with androgenetic alopecia. *Br J Dermatol* 2012;166:1035-1042.
- [17] Myung PS, Takeo M, Ito M, Atit RP. Epithelial Wnt ligand secretion is required for adult hair follicle growth and regeneration. *J Invest Dermatol* 2013;133:31-41.
- [18] Lee YB, Eun YS, Lee JH, Cheon MS, Park YG, Cho BK, et al. Effects of topical application of growth factors followed by microneedle therapy in women with female pattern hair loss: a pilot study. *J Dermatol* 2013;40:81-83
- [19] Fernandes D, Signorini M. Combating photoaging with percutaneous collagen induction. *Clin Dermatol* 2008;26: 192-199

综 述

脂肪干细胞多向分化调节机制的研究进展

综述：肖扬奇 审校：袁瑞红

摘要：基于干细胞多向分化潜能、自我更新能力，干细胞可以用来修复组织损伤。通过它们的自我更新特性，干细胞可以在整个生命中增殖以维持干细胞库处于未分化状态。通过干细胞的多向分化特性，干细胞可产生不同类型的分化细胞。脂肪干细胞（adipose stem cells, ASCs）是从脂肪组织中分离出来的具有自我更新和多能性（多向分化性）的成年干细胞。脂肪组织在体内的分布广泛、取材方便简单和用于组织修复相对快速，这使得脂肪干细胞广泛用于修复组织损伤、瘢痕修复、组织重建等各个方面。本文结合相关文献，就脂肪干细胞多向分化调节机制近几年的研究进展予以阐述。

关键词：干细胞；脂肪干细胞；分化；多向分化；调控

Research progress on the regulation mechanism of multidirectional differentiation of ASCs

Xiao yangqi's review Yuan ruihong revision

Abstract:Stem cells can be used to repair tissue damage due to their multidirectional differentiation potential and self-renewal ability. Through their self-renewing properties, stem cells can proliferate throughout life to keep the stem cell bank in an undifferentiated state. Through the multidirectional differentiation properties of stem cells, stem cells can produce different types of differentiated cells. Adipose stem cells (ASCs) are adult stem cells with self-renewal and pluripotency (pleistodious) isolated from adipose tissue. The wide distribution of adipose tissue in the body, the convenience and simplicity of materials and the relatively rapid use of tissue repair make adipose stem cells widely used to repair tissue damage, scar repair, tissue reconstruction and other aspects. In this paper, combined with the relevant literature, some research progress of the multidirectional differentiation regulatory mechanism of adipose stem cells in recent years is elaborated.

[Key words]stem cells;adipose stem cells;differentiation;multidirectional differentiation;regulation

前言

基于干细胞多向分化潜能、自我更新能力，干细胞可以用来修复组织损伤。通过它们的自我更新特性，干细胞可以在整个生命中增殖以维持干细胞库处于未分化状态^[1-2]。通过干细胞的多向分化特性，干细胞可产生不同类型的分化细胞^[2-7]。干细胞所在的组织区域是“微环境”，在此区域内，干细胞与相邻细胞相互支持提供特定结构，为干细胞的行为和功能（例如增殖，形态，运动性，粘附性，自分泌/旁分泌活性和基因表达）提供了空间，同时增殖分化受到生长因子在时间上的影响，例如细胞因子，趋化因子，跨膜受体配体和细胞外基质（ECM）分子^[2-8]。干细胞这种自我更新和多向分化特定的分裂机制称为不对称分裂，在这种分裂机制中，干细胞生成子细胞，该子细胞仍然与母细胞相同，而另一个子细胞具有明确的特征^[9-10]，一共形成与母体相同的干细胞和具有特定特征的另一个子细胞共两个细胞^[9-11]。后者在选择的信号下产生一个祖细胞，该祖细胞随后进入其特定的分化阶段，接着进入既定的分化程序，产生了专门的组织特异性细胞谱系，这些专门的组织特异性细胞谱系有助于维持组织稳态^[2-7]。在某些情况下，干细胞出于组织动态平衡会通过对称分裂机制分裂，并产生与干细胞母体相同的两个子细胞^[12]。两种机制都使干细胞数目保持平衡，使干细胞库内的细胞保持数量和类型上的相对稳定^[13]。本文就脂肪干细胞的多向分化调节机制的研究进展进行综述。

1.脂肪干细胞的概述

脂肪干细胞（ASCs）是从脂肪组织中分离出来的具有自我更新和多能性（多向分化性）的成年干细胞^[14-18]。脂肪组织是一种高度异质的组织，由各种细胞类型组成，包括 ASCs、前脂肪细胞、脂肪细胞（白色、米色、棕色）、成纤维细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞和淋巴细胞。研究表明，根据个体间差异包括年龄、体重和疾病状况等差异可能导致干细胞产量、增殖和分化能力的不同。ASCs 主要存在于白色脂肪组织的血管周围区域^[19]，因为脂肪组织在体内的分布广泛、取材方便简单和用于组织修复相对快速，使得分离出的 ASCs 不会对捐赠者造成

损伤,这使得脂肪干细胞广泛用于修复组织损伤、瘢痕修复、组织重建等各个方面。

在体外组织工程中,干细胞分化可以通过在具有适当组成、结构、物理化学和机械性质的支架上生长细胞来诱导。ASCs是具有中胚层起源的成年干细胞,表达间质表型标记(CD73, CD90, CD105),而对CD34、CD45和HLA-DR标记呈阴性^[20]。ASCs具有自我更新的特性,而且具有多向分化能力,它们能够分化为不同的间充质细胞谱系。同时,ASCs对非间充质细胞谱系分化诱导剂的反应也很高。但是,ASCs在临床试验中仍然欠佳,医生和科学家正在努力推进临床试验的高级阶段(第三阶段和第四阶段),为了将ASCs成功地转化为临床实践而努力。

2.脂肪干细胞的历史

1964年,Rodbell在啮齿动物中首次描述了从脂肪组织中分离祖细胞^[21]。

1977年, Van和Roncari对成年大鼠的脂肪组织进行了分析,报道存在与脂肪细胞相似的增殖速率和形态特征的细胞^[22]。

1989年Hauner及其合作者分离并鉴定了前脂肪细胞为脂肪细胞前体细胞,并通过使用人类皮下腹部沉积物研究了糖皮质激素在其分化中的作用^[23]。吸脂术作为收集脂肪组织的外科手术方法的引入,极大地改善了该领域的研究^[24]。因此,Zuk及其合作者分离出了一种称为“成纤维细胞样细胞”或“加工过的脂肪抽吸细胞”的细胞群,这些细胞群具有稳定的倍增时间增殖,几乎没有衰老迹象和间充质标记物表达的特征,在体外环境维持较长时间^[25],并且这些细胞还表现出了多能性。

2002年,Mizuno等人证实了八名接受整容手术修复的患者从人加工的脂肪抽吸细胞的肌源性分化^[26]。同年,Safford及其同事在小鼠和人类体内模型中探索了脂肪来源的基质细胞的神源性分化^[27]。一年后,Gimble等人用新方案从啮齿动物脂肪抽吸物中分离出了脂肪来源的成年干细胞,并证实了它们的多能性^[28]。

2004年,Miranville及其合作者描述了从不同来源获得的人类脂肪组织的基质血管部分(SVF)中存在脂肪干/祖细胞:皮下臀肌,腹部皮下和内脏腹部^[29]。

2005 年开始, 从成年人类脂肪组织中分离出来的人类脂肪来源的基质细胞的表面标志物被发表^[30, 31]。

后来的研究集中在了解源自脂肪组织的脂肪基质细胞是间充质细胞还是透过脂肪组织的外周血干细胞, 因为脂肪组织类似于骨髓, 具有中胚层起源。在此目标范围内, 对分离来自脂肪组织和骨髓的间充质干细胞进行的比较研究显示, 存在一些常见的间充质来源的标记信息, 但分化程度不同, 这些干细胞回朝向不同的细胞谱系分化。

3. 人脂肪干细胞的分离方法

脂肪组织活检或脂肪抽吸术可轻松获得脂肪组织。在这两种情况下, 脂肪组织在使用前可在 4℃ 下保存不超过 24h。对于活检, 用手将脂肪组织压入皮氏培养皿中以获得小碎片。对于抽脂术, 由于在吸脂术中使用的套管的尺寸会产生细碎的脂肪碎屑, 因此该程序是大大简化了脂肪干细胞的分离过程。获取到的脂肪组织通过与胶原酶一起在 37℃ 下培养, 可以消化脂肪抽吸或活检中的脂肪。离心后, 将细胞沉淀重悬浮在培养基中。后续程序的具体过程在不断改进, 例如, Rada 等已经描述了一种通过抗体包被的免疫磁球从脂肪抽吸物中分离 ASCs 的新标准方法。在 ASCs 的活性方面, 关于脂肪组织的采集, 动力辅助吸脂方法在分离的 ASCs 中显示出比激光辅助吸脂和手术活检更高的增殖潜力和对衰老的抵抗力^[32]。尽管目前尚无用于分离 ASCs 的标准化方法, 但通常包括胶原酶的消化以得到血管基质组分 (Stromal Vascular Fraction, SVF), 以及 NH₄Cl 处理以去除红细胞。科学家们尝试了很多不同方法以求获得更适合临床应用的 ASCs, 例如非酶法和使用低渗 NaCl 代替 NH₄Cl。然而, 它们尚未显示出明显的优势^[33, 34]。

最常见的培养方法是将 ASCs 接种到培养瓶中, 并在 37℃、5% CO₂ 的生长培养基中培养, 该培养基包含 10% 胎牛血清, 1% 青霉素和链霉素以及 1mg 谷氨酰胺。最近的结果表明, 相比其他类型的间充质干细胞, ASCs 可以在培养物中扩增近 70 倍。近来有研究表明在临床条件下存储冷冻保存 7 至 12 年, 同一位患者的 ASCs 细胞产量和细胞亚群组成没有显著差异, 未发现培养的 ASCs 的增殖速率变化, 并且来自所有患者的扩增细胞能够进行三谱系分化^[35], 这些程序可以完成干细胞的储存, 避免供体变量, 例如健康状况和年龄造成的差异。通过收集建立干细胞档案库, 避免了供体变量, 例如收集时的健康状况和年龄造成的差异。

4.脂肪干细胞的分化调控

脂肪干细胞的分化调控受多方面的影响。干细胞通过对称和不对称分裂进行增殖,前者多发生于发育过程或受伤害后的增殖过程中,而后者在使干细胞维持自身特性(自我更新)的同时也能产生分化的后代细胞,是其维持合适的干细胞数的一种方式。不对称细胞分裂在干细胞调控过程中发挥重要作用。研究表明不同物种,不同组织间的干细胞不对称分裂机制不尽相同甚至完全不同,但可能有一些共同的调控过程,但仍未阐明。在脂肪干细胞的分化中也是如此,概括起来主要有如下几种:①细胞分裂时决定细胞命运的决定因子不对称分布于子细胞中;②细胞极性因子不对称分布或受外源信号调控导致中心粒和纺锤体的不对称分布;③干细胞巢通过信号传导和直接与干细胞相互作用调控其分裂面和胞内信号不均分布导致干细胞的不对称分裂;④DNA链在子细胞和母细胞中的不对称分配;⑤染色体的表观遗传修饰,折叠形成二级结构等各种原因,共同导致分化调控机制的差异。

5.脂肪干细胞的分化

5.1 脂肪干细胞的成脂分化

5.1.1 脂肪干细胞成脂分化的条件

考虑到 ASCs 的起源,当在成脂培养基(含有:rh-胰岛素、L-谷氨酰胺、MCGS、地塞米松、吡啶美辛、3-异丁-1-甲基黄嘌呤、青霉素/链霉素)中生长时,ASCs 就会表达不同的脂肪细胞基因,包括瘦素、脂蛋白脂肪酶、过氧化物酶体增殖物激活的受体 $\gamma 2$ (PPAR2)、Glut4,并发育出富含脂质的细胞内液泡。此外,即使在体内植入干细胞后,这些细胞在体内向脂肪细胞谱系细胞分化的能力也得以保持。

5.1.2 脂肪干细胞成脂分化的影响因素

脂肪干细胞的成脂分化主要受过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)调节,PPAR 是调节目标基因表达的核内受体转录因子超家族成员,1990 年 Isseemann 等首先发现了这种能被一类脂肪酸样化合物过氧化物酶体增殖剂(peroxisome proliferators, PP)激活,而被命名为 PP 激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)^[36]。根据结构的不同,PPAR 可分为 α 、 β (或 δ)和 γ 三种类型,其中 PPAR γ 主要表达于脂肪组织及免疫系

统, 与脂肪细胞分化、机体免疫及胰岛素抵抗关系密切^[37, 38], 是抗糖尿病噻唑烷二酮药物 (TZD) 的细胞靶标。对于脂肪干细胞成脂而言, PPAR γ 是必需的^[39], 且影响巨大^[40]。PPAR γ 对成熟脂肪细胞的主要功能也很重要, 包括脂质代谢, 脂肪因子分泌和胰岛素敏感性^[41]。许多动物模型和自然发生的人类突变都证明 PPAR γ 在体内脂肪细胞的发育和功能中也起着至关重要的作用^[42]。

脂肪干细胞分化为脂肪的过程由复杂的信号转导网络控制, 包括 Delta 样蛋白 1/前脂肪细胞因子 1, Wnt, 胰岛素, IGF-1 信号转导以及许多其他途径, 这些途径最终会激活或抑制一系列成脂转录因子。

5.1.3 脂肪干细胞成脂分化的调控机制

近年来随着研究的深入, 对脂肪干细胞成脂分化调控机制有了更多的认识:

无赖氨酸激酶 (WNK) 是由四个人类基因 WNK1, WNK2, WNK3 和 WNK4 组成的丝氨酸/苏氨酸激酶家族。WNK4 在小鼠脂肪组织中表达, 在脂肪细胞分化的早期表达明显增加。WNK4 表达先于关键转录因子 PPAR γ 和 C/EBP α 的表达。WNK4-siRNA 转染的人间充质干细胞显示 PPAR γ 和 C/EBP α 的表达减少, 表现为脂肪细胞的脂质堆积。WNK4 蛋白影响 C/EBP β 的 DNA 结合能力, 从而降低 PPAR γ 的表达, 表明 WNK4 可能是促脂肪因子。^[43]

激酶 S6K1 是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号转导途径的关键下游效应子, 在许多关键的分解代谢反应包括蛋白质、核苷酸和脂质合成中起重要作用, 这些反应会导致肥胖, 其中至关重要的是控制将间充质干细胞定型为脂肪细胞谱系所需的转录程序。脂肪细胞谱系显示成脂刺激物触发 S6K1 的核易位, 这会阻断 Wnt 基因的表达, 从而诱导 PPAR β 和 C/EBP α 的上调并驱动成脂增加。^[44]

Klotho 最初是作为衰老抑制基因发现的。RT-PCR 和蛋白质印迹分析表明, Klotho 在小鼠 ASCs 中表达。Klotho 基因突变显著降低了小鼠 ASCs 的增殖和多能转录因子 (包括 Nanog, Sox-2 和 Oct-4) 的表达。Klotho 敲除会降低 ASCs 增殖, 多能转录因子水平和成脂分化。Klotho 还调节 ASCs 向其他细胞谱系 (成骨细胞, 成肌纤维细胞) 的分化, 成脂诱导后, Klotho 的过表达显著增加了 ASCs 中 PPAR γ 的表达和脂质形成。Klotho 的过表达抑制了 TGF β 1 及其下游信号传导介质

Smad2/3 的表达。这项研究证明了 Klotho 可能通过抑制 TGF β 1 和激活 PPAR γ 来调节 ASCs 中的成脂分化。 [45]

已知雌激素 (ER) 在干细胞分化中起关键作用, 考虑干细胞对激素的反应。ER α 在改善 ASCs 增殖和迁移方面更有效。与 ER α 相反, ER β 在抑制 ASCs 介导的棕色组织脂肪形成中起着重要作用。这些结果与 UCP-1, PGC-1 α 和 PPAR- γ 的 mRNA 表达降低有关。所以, ER α 在促进 ASCs 增殖和迁移中起更关键的作用, ER β 在抑制由 UCP-1, PGC-1 α 和 PPAR- γ 表达降低介导的 ASCs 棕色脂肪组织分化中更有效。 [46]

位于人类 11q12-13 染色体上的 AHNAK 编码约 700-kDa 的蛋白质, 调节几种信号转导途径, 在 AHNAK-KO 小鼠中, ASCs 的脂肪生成受到抑制, 脂肪细胞分化的关键调控因子下调。 [47]

Bcl6 是早期脂肪分化的转录调节因子, 锌指蛋白 B6(Bcl6)在间充质干细胞的早期脂肪形成中起作用。Bcl6 在脂肪与非脂肪成纤维细胞广泛存在, 并在脂肪形成的早期阶段表达上调。Bcl6 在体外和离体中均是脂肪摄取和分化的关键调节剂。Bcl6 的敲除极大地抑制了成脂潜能, 而 Bcl6 的过表达增强了成脂分化。Bcl6 激活了信号转导子和转录激活子 1, 后者被确定为脂肪形成的必需因子。 [48]

程序性细胞死亡 4 基因(Pdcd4)已被证明与肥胖有关, 小鼠中 Pdcd4 缺乏症导致 ASCs 增强, Pdcd4 的耗竭促进了 ASCs 向米色脂肪细胞的转分化。在白色成脂分化过程中, 在缺乏 Pdcd4 的 ASCs 中检测到脂质含量和白色脂肪细胞标志物 (包括 C/EBP α , PPAR- γ , 脂联素和 α P2) 的表达水平降低, 被典型的米色脂肪细胞特征得脂肪细胞 (包括小、多眼脂质滴和 UCP1) 取代表达。Pdcd4 对 ASCs 分化产生不利的影响。 [49]

成肌调节因子 (MyoD) 的过表达增强了猪脂肪细胞的分化并上调了 PPAR γ 的表达, 而针对 MyoD 的小干扰 RNA 则减弱了猪脂肪细胞的分化并抑制了 PPAR γ 的表达。PPAR γ 启动子区域中-412 至-396 和-155 至-150 的 MyoD 结合位点, 无论在体外或体内, 这两个区域都是 MyoD 结合位点, 表明 MyoD 与猪 PPAR γ 启动子直接相互作用。MyoD 上调 PPAR γ 表达并促进猪脂肪细胞分化。 [50]

Disabled-2 (Dab2) 是一种广泛表达的网格蛋白结合性内吞衔接蛋白, Dab2 通过调节网格蛋白包被的囊泡相关的 Grb2/Sos1 复合物的分解来调节内体

Ras/MAPK 活性。Dab2 通过调节 MAPK(Erk1/2)活性促进脂肪形成分化,通过磷酸化抑制 PPAR γ 从而影响脂肪形成 PPAR γ 。[51]

分化抑制剂 (EID1) 能让脂肪间充质干细胞诱导分化为米色脂肪细胞。转染 EID1 后 ASCs 减少了甘油三酸酯的积累,同时增加了产热蛋白,例如 PGC1 α , TFAM 和线粒体 UCP1。[52]

MOSPD1 是脂肪干细胞分化中的关键因子。MOSPD1 敲除的胚胎干细胞在分化为包括成骨细胞,脂肪细胞和造血祖细胞在内的许多细胞谱系方面的能力不足。无 MOSPD1 的细胞的自我更新能力是正常的,并且它们在早期胚层或上皮到间充质转化中均未显示明显缺陷,表但是生长速度明显受损,说明 MOSPD1 在 ASCs 增殖中起作用。[53]

miR-148a 通过抑制其靶基因 Wnt1 (一种脂肪生成的内源性抑制剂) 起到作用。miR-148a 的异位表达可加速分化并恢复部分 Wnt1 介导的脂肪形成能力。它作用 cAMP 反应元件结合蛋白调节的 miRNA,通过抑制 Wnt1 的作用,从而促进脂肪细胞的分化。[54]

Perilipin1 (Plin1) 位于脂质液滴的表面,以调节甘油三酸酯在脂肪细胞中的存储和水解。Plin1 缺陷导致小鼠脂肪减少和人部分脂肪营养不良。Plin1 在脂肪细胞分化中起着重要作用。[55]

锌指蛋白(ZNF)423 和 521 是早期脂肪形成的重要调节剂。ZNF423 是 BMP4 调节的激活因子。骨形态发生蛋白 4 (BMP4) 对于间充质祖细胞进入成脂谱系至关重要。沉默 ZNF521 可增加 BMP4 以及脂肪形成标记和 PPAR γ 转录激活因子 ZNF423 的核输入,从而增加脂肪形成。[56]

VSTM2A 作为一种由前体脂肪细胞表达和分泌的蛋白质,VSTM2A 的过度表达可诱导脂肪生成,而其耗竭则会阻止脂肪生成的过程。VSTM2A 至少部分通过调节 BMP 信号和 PPAR γ 2 活化来控制前体脂肪细胞。[57]

长非编码 RNA 是非蛋白质编码的转录物,敲除脂肪干细胞中 lncRNA HOXA11-AS1 可以在体外抑制脂肪干细胞的脂肪生成,从而抑制与脂肪形成有关的基因转录,例如 CEBP- α , DGAT2, CIDEC 和周脂素。同时造成脂肪干细胞中脂质的堆积减少。[58]

作为 miRNA miR-26 家族中的 miR-26a-1, miR-26a-2 和 miR-26b 是脂肪祖细胞分化和脂肪组织重量的主要调节剂的作用。miR-26 作为脂肪祖细胞分化的抑制剂的自主功能, 通过抑制 Fbxl19 (一种 miR-26 靶标) 的表达来阻止脂肪形成, Fbxl19 靶标在编码 SCF 型 E3 泛素连接酶复合物的脂肪细胞。^[59]

Akt-mTOR 通路是脂肪形成的正调节剂, DIRAS3 通过抑制 ASCs 中 mTOR 信号的 Akt 机制靶标, 来负调控脂肪形成。ASCs 中 DIRAS3 的沉默以及随后 Akt-mTOR 的过度活化会驱动脂肪形成和早衰。已分化的 ASCs 和成熟的脂肪细胞可能出现细胞衰老。^[60]

胰岛素样生长因子结合蛋白 2 (IGFBP2) 通过激活 JNK 或 Akt 信号转导促进 ASCs 的成脂分化。IGFBP2 的表达受到 PI3K/Akt 通路的正调控, IGFBP2 的过表达通过激活 JNK 和 Akt 信号通路, 激活 CREB 增加 PPAR γ 2 的表达。^[61]

TENM2 属于 Teneurins 家族, 是一种大型 II 型细胞表面蛋白, 具有单个跨膜结构域, 使用 siRNA 靶向敲除前脂肪细胞中的 TENM2, TENM2 敲除的脂肪细胞会导致线粒体呼吸增加。表明人脂肪细胞中 TENM2 缺乏导致成脂分化中脂肪前体细胞向褐色脂肪细胞分化^[62]。

5.2 脂肪干细胞的成骨分化

5.2.1 脂肪干细胞成骨分化的条件

ASCs 的成骨分化可通过在生长培养基中使用诱导成骨因子(例如地塞米松、抗坏血酸/抗坏血酸 2-磷酸酯和-甘油磷酸酯、维生素 D3、转化生长因子和骨形态发生蛋白)来实现。ASCs 表达早期成骨标记(碱性磷酸酶和 BMP II), 后来表达成骨标记(骨钙蛋白, 成骨转录因子 Runx2, 骨连接素, 骨桥蛋白, 骨形态发生蛋白 2 和 Osterix)。

5.2.2 脂肪干细胞成骨分化的调控

骨骼干细胞表达瘦素受体(LepR)。瘦素通过激活骨髓基质细胞中 Jak2/Stat3 信号传导来增加脂肪生成并减少成骨作用。在骨髓基质细胞中删除了 LepR, 基因敲除后小鼠的四肢骨骼显示出增加的成骨作用、减少的脂肪形成和加速的骨折愈合。瘦素/LepR 信号传导通过饮食中的脂肪和肥胖调节骨髓间充质基质细胞的脂肪形成和成骨作用。^[63]

S-亚硝基谷胱甘肽还原酶依赖性的 PPAR γ 修饰改变了脂肪细胞和成骨细胞分化之间的平衡,并调解其谱系分化。在缺乏 S-亚硝基谷胱甘肽还原酶的 MSC 中,PPAR γ 的 S-亚硝基化水平升高,从而减弱了与下游目标脂肪酸结合蛋白 4 (FABP4) 的结合,PPAR γ 的 Cys139 为 S-亚硝基化位点,并证明 PPAR γ 的 S-亚硝基化抑制了其转录活性,表明 NO 介导的 S-亚硝基化对 PPAR γ 转录活性的反馈调节。[64]

5.3 软骨 ASCs 的软骨分化

可以通过使用特定选择的诱导剂分子来实现,例如:转化生长因子 1 和 3 (TGF-1,TGF-3),骨形态发生蛋白 4(BMP4),碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)。这些因素补充到 ASCs 的生长培养基中,可以单独使用或结合使用。然而,用作软骨形成诱导剂的其他分化方案是抗坏血酸-2-磷酸酯,TGF-1 和胰岛素。高浓度的糖胺聚糖(GAG)的存在和硫酸盐 GAG 的存在证明了软骨形成的分化[65, 66]。

5.4 脂肪干细胞的其他分化

ASCs 还具有分化成非间充质细胞谱系的能力,例如成肌神经元、内皮细胞和骨骼肌发生分化。在成肌培养基(对照培养基(Dulbecco 改良的 Eagle 培养基,10%胎牛血清,1%抗生素/抗真菌药),补充 5%马血清和 50m 氢化可的松)中培养 6 周后,观察到了肌成纤维细胞分化,出现了如肌肉特异性转录因子 MyoD1 和肌球蛋白重链的表达,这导致细胞形态学改变,这些细胞变得多核化,并具有在培养两周后出现的肌原纤维结构。将 ASCs 移植到了受伤的兔子肌肉中,肌肉重量增加,肌纤维横截面积与收缩力一起恢复。

最近有研究通过转化生长因子 β 1 和骨形态发生蛋白 4 处理将脂肪间充质干细胞分化为平滑肌细胞[67]。而且 ASCs 在体外还有分化为心肌细胞的能力[68],关于 ASCs 在体内再生受损心肌的能力的进一步研究也在进行中。

此外,另一进一步的研究发现 ASCs 还有分化为特巨核细胞和血小板的能力,血小板输注被广泛用于恶性肿瘤、化疗、免疫引起的严重血小板减少症患者疾病。血小板输注的患者日益增加,但是血小板输注依赖于捐助者。这项发现有望解决血小板的人工制备问题,解决血小板短缺现状[69]。但是现阶段转化效率低,有待继续研究。

ASCs 还可以通过神经营养因子可以使其定向分化为神经细胞。通过脑源性神经营养因子(BDNF)和神经营养蛋白-3(NT-3),可以在维持神经元存活和促进干细胞向神经元分化方面具有优越的特性^[70]。由于神经系统自我修复的能力有限,神经系统疾病和障碍给治疗和康复带来了挑战。光生物调节或低水平激光照射已成功应用于改善 ASCs 的生存能力和增殖,也显示出有望成为 ASCs 分化的增强剂^[71]。

近来发现, PDGF - D 预处理可增强 ASC 的头发再生潜力。作者研究了 PDGF-D 对 ASC 的预处理作用,以增强其体内生发的潜力。实验对比仅注射 ASC 和 PDGF-D 处理的 ASC 的皮下注射,小鼠在第 14 天测量了再生的头发重量,发现 PDGF-D 处理的 ASC 皮下注射的头发重量显著增加。PDGF-D 在 ASC 中高度表达,在 ASC 中它是有效的促有丝分裂因子。PDGF-D 通过 mtROS 产生和线粒体裂变增加了 ASC 的增殖和迁移。PDGF-D 上调 ASC 中的生长因子表达并增强其再生潜力。因此,PDGF-D 可用作 ASC 刺激物,应被视为在 ASC 移植之前使用的新型预处理剂^[72]。

6.结论

综上所述,着重介绍了近年来关于 ASCs 多向分化调控机制的进展,展示了脂肪干细胞的分化调控的研究成果。总体报告描述了 ASCs 的当前状况,并强调 ASCs 的未来才刚刚开始。

但是,一些关键方面仍需要讨论,ASCs 临床应用的有效性仍然值得研究。一个问题是由于 ASCs 的异质性,ASCs 的增殖和分化能力差异很大。这导致某些定向分化的分化率欠佳。另一个问题,在临床应用之前,ASCs 的分离、维持、表征和冷冻保存的标准并无统一标准,无标准化的程序。还有一个问题是需要更好地阐明在移植的 ASCs 和微环境之间发生的机制。在这方面,体外研究脂肪干细胞分化调控机制的研究虽然有助于明确所选定的信号是否与脂肪分化相关联,但对距离临床运用还有很长的距离,很多 ASCs 的研究数据可能难以解释,因为它们来自很多组织和参与很多途径,从而限制了脂肪干细胞研究的临床使用;部分研究已经可以为临床治疗提供指导和帮助,如 PDGF-D 预处理 ASC 以增强其增值能力和毛发分化能力。

参考文献

- [1] He, S.; Nakada, D.; Morrison, S.J. Mechanisms of stem cell self-renewal. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2009, 25, 377–406.
- [2] Slack, J.M.W. What is a stem cell *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 2018, e323. [CrossRef]
- [3] Weissman, I.L. Stem cells: Units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000, 100, 157–168. [CrossRef]
- [4] Martino, S.; D'Angelo, F.; Armentano, I.; Kenny, J.M.; Orlacchio, A. Stem cell-biomaterial interactions for regenerative medicine. *Biotechnol. Adv.* 2012, 30, 338–351.
- [5] Martino, S.; Morena, F.; Barola, C.; Bicchi, I.; Emiliani, C. Proteomics and Epigenetic Mechanisms in Stem Cells. *Curr. Proteom.* 2014, 11, 193–209. [CrossRef]
- [6] Heitman, N.; Saxena, N.; Rendl, M. Advancing insights into stem cell niche complexities with next-generation technologies. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2018, 55, 87–95.
- [7] Lin, H.; Sohn, J.; Shen, H.; Langhans, M.T.; Tuan, R.S. Bone marrow mesenchymal stem cells: Aging and tissue engineering applications to enhance bone healing. *Biomaterials* 2018.
- [8] Donnelly, H.; Salmeron-Sanchez, M.; Dalby, M.J. Designing stem cell niches for differentiation and self-renewal. *J. R. Soc. Interface* 2018, 15.
- [9] Williams, S.E.; Beronja, S.; Pasolli, H.A.; Fuchs, E. Asymmetric cell divisions promote Notch-dependent epidermal differentiation. *Nature* 2011, 470, 353–358.
- [10] Yamashita, Y.M. The centrosome and asymmetric cell division. *Prion* 2009, 3, 84–88.
- [11] Mukherjee, S.; Kong, J.; Brat, D.J. Cancer stem cell division: When the rules of asymmetry are broken. *Stem Cells Dev.* 2015, 24, 405–416.
- [12] Baumann, K. Stem cells: Dividing with symmetry. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010, 11, 752.
- [13] Carlesso, N.; Cardoso, A.A. Stem cell regulatory niches and their role in normal and malignant hematopoiesis. *Curr. Opin. Hematol.* 2010, 17, 281–286.
- [14] Palumbo, P.; Lombardi, F.; Siragusa, G.; Cifone, M.G.; Cinque, B.; Giuliani, M. Methods of Isolation, Characterization and Expansion of Human Adipose-Derived Stem Cells (ASCs): An Overview. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1897.
- [15] Feisst, V.; Meidinger, S.; Locke, M.B. From bench to bedside: Use of human adipose-derived stem cells. *Stem Cells Cloning* 2015, 8, 149–162.
- [16] Yang, H.J.; Kim, K.-J.; Kim, M.K.; et. The stem cell potential and multipotency of human adipose tissue-derived stem cells vary by cell donor and are different from those of other types of stem cells. *Cells Tissues Organs (Print)* 2014, 199, 373–383.
- [17] El-Badawy, A.; Amer, M.; Abdelbaset, R.; Sherif, S.N.; Abo-Elela, M.; Ghallab, Y.H.; Abdelhamid, H.; Ismail, Y.; El-Badri, N. Adipose Stem Cells Display Higher Regenerative Capacities and More Adaptable Electro-Kinetic Properties Compared to Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells. *Sci. Rep.* 2016, 6, 37801.
- [18] Bajek, A.; Gurtowska, N.; Olkowska, J.; Kazmierski, L.; Maj, M.; Drewa, T. Adipose-Derived Stem Cells as a Tool in Cell-Based Therapies. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 2016, 64, 443–454.

- [19] Kishi, K.; Imanishi, N.; Ohara, H.; Ninomiya, R.; Okabe, K.; Hattori, N.; Kubota, Y.; Nakajima, H.; Nakajima, T. Distribution of adipose-derived stem cells in adipose tissues from human cadavers. *J. Plast Reconstr. Aesthet. Surg.* 2010, 63, 1717–1722.
- [20] Feisst, V.; Meidinger, S.; Locke, M.B. From bench to bedside: Use of human adipose-derived stem cells. *Stem Cells Cloning* 2015, 8, 149–162.
- [21] Rodbell, M. Metabolism of isolated fat cells. II. The similar effects of phospholipase C (*Clostridium perfringens* alpha toxin) and of insulin on glucose and amino acid metabolism. *J. Biol. Chem.* 1966, 241, 130–139.
- [22] Van, R.L.; Roncari, D.A. Isolation of fat cell precursors from adult rat adipose tissue. *Cell Tissue Res.* 1977, 181, 197–203.
- [23] Hauner, H.; Entenmann, G.; Wabitsch, M.; Gaillard, D.; Ailhaud, G.; Negrel, R.; Pfeiffer, E.F. Promoting effect of glucocorticoids on the differentiation of human adipocyte precursor cells cultured in a chemically defined medium. *J. Clin. Investig.* 1989, 84, 1663–1670.
- [24] Illouz, Y.G. Body contouring by lipolysis: A 5-year experience with over 3000 cases. *Plast. Reconstr. Surg.* 1983, 72, 591–597.
- [25] Zuk, P.A.; Zhu, M.; Mizuno, H.; Huang, J.; Futrell, J.W.; Katz, A.J.; Benhaim, P.; Lorenz, H.P.; Hedrick, M.H. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001, 7, 211–228.
- [26] Mizuno, H.; Zuk, P.A.; Zhu, M.; Lorenz, H.P.; Benhaim, P.; Hedrick, M.H. Myogenic differentiation by human processed lipoaspirate cells. *Plast. Reconstr. Surg.* 2002, 109, 199–209, discussion 210–211.
- [27] Safford, K.M.; Hicok, K.C.; Safford, S.D.; Halvorsen, Y.-D.C.; Wilkison, W.O.; Gimble, J.M.; Rice, H.E. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002, 294, 371–379.
- [28] Gimble, J.M.; Guilak, F. Differentiation potential of adipose derived adult stem (ADAS) cells. *Curr. Top. Dev. Biol.* 2003, 58, 137–160.
- [29] Miranville, A.; Heeschen, C.; Sengenès, C.; Curat, C.A.; Busse, R.; Bouloumié, A. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* 2004, 110, 349–355.
- [30] Katz, A.J.; Tholpady, A.; Tholpady, S.S.; Shang, H.; Ogle, R.C. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells. *Stem Cells* 2005, 23, 412–423.
- [31] Mitchell, J.B.; McIntosh, K.; Zvonic, S.; Garrett, S.; Floyd, Z.E.; Kloster, A.; Di Halvorsen, Y.; Storms, R.W.; Goh, B.; Kilroy, G.; et al. Immunophenotype of human adipose-derived cells: Temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers. *Stem Cells* 2006, 24, 376–385.
- [32] Bajek, A.; Gurtowska, N.; Olkowska, J.; Maj, M.; Kazmierski, L.; Bodnar, M.; Marszałek, A.; Debski, R.; Drewa, T. Does the Harvesting Technique Affect the Properties of

Adipose-Derived Stem Cells?-The Comparative Biological Characterization. *J. Cell Biochem.* 2017, 118, 1097–1107.

- [33] Shah, F.S.; Wu, X.; Dietrich, M.; Rood, J.; Gimble, J.M. A non-enzymatic method for isolating human adipose tissue-derived stromal stem cells. *Cytotherapy* 2013, 15, 979–985. [CrossRef] .
- [34] Li, S.H.; Liao, X.; Zhou, T.E.; Xiao, L.L.; Chen, Y.W.; Wu, F.; Wang, J.R.; Cheng, B.; Song, J.X.; Liu, H.W. Evaluation of 2 Purification Methods for Isolation of Human Adipose-Derived Stem Cells Based on Red Blood Cell Lysis With Ammonium Chloride and Hypotonic Sodium Chloride Solution. *Ann. Plast Surg.* 2017, 78, 83–90.
- [35] Kokai, LE ; Traktuev, DO ; Zhang, L ; Rubin, JP ;Adipose Stem Cell Function Maintained with Age: An Intra-Subject Study of Long-Term Cryopreserved Cells. *Aesthet Surg J.*2017 04 01 ;37(4):454-463
- [36] Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 1990; 347(6294): 645-650
- [37] Zhu Y, Kan L, Qi C, et al . Isolation and characterization of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) interacting protein (PRIP) as a coactivator for PPAR. *J Biol Chem*, 2000; 275(18):13510-13516.
- [38] Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 1990; 347(6294): 645-650
- [39] Rosen, E.D., Hsu, C.H., Wang, X., Sakai, S., Freeman, M.W., Gonzalez, F.J., and Spiegelman, B.M. 2002. C/EBP α induces adipogenesis through PPAR γ : A unified pathway. *Genes.&Dev.* 16:22–26.
- [40] Tontonoz, P., Hu, E., and Spiegelman, B.M. 1994c. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ , a lipid-activated transcription factor. *Cell* 79:1147–1156.
- [41] Rangwala, S.M. and Lazar, M.A. 2004. Peroxisome proliferator-activated receptor γ in diabetes and metabolism. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:331–336.
- [42] Gray, S.L., Dalla Nora, E., and Vidal-Puig, A.J. 2005. Mouse models of PPAR- γ deficiency: Dissecting PPAR- γ 's role in metabolic homeostasis. *Biochem. Soc. Trans.* 33:1053–1058.
- [43] Takahashi, D ; Mori, T ; Sohara, E ; Uchida, S ;WNK4 is an Adipogenic Factor and Its Deletion Reduces Diet-Induced Obesity in Mice S6K1 Phosphorylation of H2B Mediates EZH2 Trimethylation of H3: A Determinant of Early Adipogenesis,*EBioMedicine*.2017 Apr ;18 :118-127
- [44] Fan, J ; Sun, Z ;The Antiaging Gene Klotho Regulates Proliferation and Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells. *Stem Cells*.2016 06 ;34(6) :1615-25
- [45] Fan, J ; Sun, Z ;The Antiaging Gene Klotho Regulates Proliferation and Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells.*Stem Cells*.2016 06 ;34(6) :1615-25
- [46] Zhang, W ; Schnull, S ; Du, M ; Lian, F ; Estrogen Receptor α and β in Mouse: Adipose-Derived Stem Cell Proliferation, Migration, and Brown Adipogenesis In Vitro.*Cell*

Physiol Biochem.2016 ;38(6) :2285-99

- [47] Shin, JH ; Kim, IY ; Kim, YN ; Seong, JK ;Proliferation, Migration, and Brown Adipogenesis In Vitro Obesity Resistance and Enhanced Insulin Sensitivity in Ahnak-/- Mice Fed a High Fat Diet Are Related to Impaired Adipogenesis and Increased Energy Expenditure.PLoS One. 2015; 10(10) :e 0139720
- [48] Hu, X ; Zhou, Y ; Yang, Y ; Peng, J ;Identification of zinc finger protein Bcl6 as a novel regulator of early adipose commitment.Open Biol.2016 06 ;6(6)
- [49] Bai, Y ; Shang, Q ; Zhao, H ; Wang, Q ;Pdc4 restrains the self-renewal and white-to-beige transdifferentiation of adipose-derived stem cells. Cell Death Dis.2016 Mar 31 ;7 :e2169
- [50] Deng, B ; Zhang, F ; Chen, K ; Jiang, S ;MyoD promotes porcine PPAR γ gene expression through an E-box and a MyoD-binding site in the PPAR γ promoter region. Cell Tissue Res.2016 08 ;365(2) :381-91
- [51] Tao, W ; Moore, R ; Meng, Y ; Xu, XX ;Disabled-2 Determines Commitment of a Pre-adipocyte Population in Juvenile Mice. Sci Rep.2016 10 25 ;6 :35947
- [52] Vargas, D ; Shimokawa, N ; Kaneko, R ; Lizcano, F ;Regulation of human subcutaneous adipocyte differentiation by EID1. J Mol Endocrinol. 2016 Feb ;56(2) :113-22
- [53] Kara, M ; Axton, RA ; Jackson, M ; Forrester, LM ;A Role for MOSPD1 in Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Differentiation. Stem Cells.2015 Oct ;33(10) :3077-86
- [54] Shi, C ; Zhang, M ; Tong, M ; Guo, X ;miR-148a is Associated with Obesity and Modulates Adipocyte Differentiation of Mesenchymal Stem Cells through Wnt Signaling. Sci Rep.2015 May 22 ;5 :9930
- [55] Lyu, Y ; Su, X ; Deng, J ; Xu, G ;Defective Differentiation of Adipose Precursor Cells from Lipodystrophic Mice Lacking Perilipin 1.PLoS One.2015 ;10(2) :e0117536
- [56] Gustafson, B ; Nerstedt, A ; Smith, U ;reduced subcutaneous adipogenesis in human hypertrophic obesity is linked to senescent precursor cells.Nat Commun.2019 06 21 ;10(1) :2757
- [57] Secco, B ; Camiré, É ; Brière, MA ; Laplante, M ;Amplification of Adipogenic Commitment by VSTM2A.Cell Rep.2017 01 03 ;18(1) :93-106
- [58] Neuraminate, N Liu, J; Liang X ; Guan, Y ;Effect of lncRNA HOXA11-AS1 on adipocyte differentiation in human adipose-derived stem cells. Biochem Biophys Res Commun.2018 01 08 ;495(2) :1878-1884
- [59] Acharya, A ; Berry, DC ; Zhang, H ; Mendell, JT ;miR-26 suppresses adipocyte progenitor differentiation and fat production by targeting FBXL19.Genes Dev.2019 10 01 ;33(19-20) :1367-1380
- [60] Ejaz, A ; Mattesich, M ; Zwerschke, W ;Silencing of the small GTPase DIRAS3 induces cellular senescence in human white adipose stromal/progenitor cells.Aging (Albany NY).2017 Mar 17 ;9(3) :860-879
- [61] Wang, Y ; Liu, Y ; Fan, Z ; Zhou, Y ;IGFBP2 enhances adipogenic differentiation potentials

of mesenchymal stem cells from Wharton's jelly of the umbilical cord via JNK and Akt signaling. PLoS One.2017 ;12(8) :e0184182

- [62] Tews, D ; Fromme, T ; Keuper, M ; Fischer-Posovszky, P ;Teneurin-2 (TENM2) deficiency induces UCP1 expression in differentiating human fat cells. Mol Cell Endocrinol.2017 03 05 ;443 :106-113
- [63] Yue, R ; Zhou, BO ; Shimada, IS ; Morrison, SJ ;Leptin Receptor Promotes Adipogenesis and Reduces Osteogenesis by Regulating Mesenchymal Stromal Cells in Adult Bone Marrow.Cell Stem Cell.2016 06 02 ;18(6) :782-96
- [64] Cao, Y ; Gomes, SA ; Rangel, EB ; Hare, JM ;S-nitrosoglutathione reductase-dependent PPAR γ denitrosylation participates in MSC-derived adipogenesis and osteogenesis. J Clin Invest.2015 Apr ;125(4) :1679-91
- [65] Stromps, J.-P.; Paul, N.E.; Rath, B.; Nourbakhsh, M.; Bernhagen, J.; Pallua, N. Chondrogenic differentiation of human adipose-derived stem cells: A new path in articular cartilage defect management? Biomed. Res. Int. 2014, 2014, 740926.
- [66] López-Ruiz, E.; Jiménez, G.; Kwiatkowski, W.; Montañez, E.; Arrebola, F.; Carrillo, E.; Choe, S.; Marchal, J.A.; Perán, M. Impact of TGF- family-related growth factors on chondrogenic differentiation of adipose-derived stem cells isolated from lipoaspirates and infrapatellar fat pads of osteoarthritic patients. Eur. Cell Mater. 2018, 35, 209–224.
- [67] Aji, K ; Zhang, Y ; Aimaiti, A ; Wang, C MicroRNA-145 regulates the differentiation of human adipose-derived stem cells to smooth muscle cells via targeting Krüppel-like factor 4.Mol Med Rep.2017 Jun ;15(6) :3787-3795
- [68] Nordberg, R.C.; Lobo, E.G. Our Fat Future: Translating Adipose Stem Cell Therapy. Stem Cells Transl. Med. 2015, 4, 974–979.
- [69] Tozawa, K ; Ono-Uruga, Y ; Yazawa, M ; Matsubara, Y ;Megakaryocytes and platelets from a novel human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell line.Blood.2019 02 14 ;133(7) :633-643
- [70] Ji, W ; Zhang, X ; Ji, L ; Qiu, Y ;Effects of brain - derived neurotrophic factor and neurotrophin - 3 on the neuronal differentiation of rat adipose - derived stem cells.Mol Med Rep.2015 Oct ;12(4) :4981-8
- [71] George, S ; Hamblin, MR ; Abrahams, H ;current and future trends in adipose stem cells differentiation into neuroglia Photomed Laser Surg.2018 May ;36(5) :230-240
- [72] Hye Kim, J ; Gyu Park, S ; Kim, WK ; Sung, JH ; Functional regulation of adipose-derived stem cells by PDGF-D. Stem Cells.2015 Feb ;33(2) :542-56

攻读学位期间获得的学术成果

研究生三年期间：

主编出版书籍《整形外科门诊实录》

获 2019 学年“校级三等奖学金”

获 2020 学年“校级三等奖学金”

致 谢

复试场景还历历在目，不舍的情愫却纷至沓来。三年前复试的彼时彼刻，恰如毕业的此时此刻。研究生的开端是迷茫、焦虑的飘然消散，是语无伦次随之而来的嬉笑，是老师们随和而温柔的肯定，是人生新阶段的开始。如今毕业在即，是感恩、不舍的悄然滋生，是满载而归的幸福，是人生又一次新阶段的开始。谢谢袁老师对我的谆谆教诲，从理论到操作，甚至生活的方方面面都带给了我极大的帮助，我唯有牢记教诲，以您为榜样，努力成为一名优秀的医生，以感谢您三年的付出。同时，感谢代晓明老师、李逸松老师、李春杉老师、孙文涛老师和武子又老师的教导和关怀，让我三年来收获满满。感谢各位整形外科的兄弟姐妹，谢谢大家的照顾。最后，感谢我的父母，谢谢父母的支持。

未来的日子，我将带着在这里学到的宝贵知识，向着成为一名优秀整形外科医生的目标不断前进。