

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.11.042

间充质干细胞在骨髓造血重建中作用的研究进展*

代凯综述,陈洁平[△]审校

(第三军医大学西南医院血液病中心,重庆 400038)

[关键词] 间充质干细胞;造血干细胞;移植后造血重建

[中图分类号] R551.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)11-1553-03

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是机体内具有自我更新和多向分化潜能的非造血类干细胞,具有支持造血、免疫抑制、促进微血管形成等功能。MSC 与造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)共移植可促进移植后造血重建,机体造血功能恢复加快。但是 MSC 促进造血重建的机制仍有争议,对 MSC 作用机制的探讨,将有助于实现 MSC 在临床上的更广泛应用。辐射及 HSC 移植(HSC transplantation, HSCT)前预处理均可损伤骨髓造血微环境,致受者移植后造血重建延迟,造血恢复缓慢,移植后感染等发生率增加,最终可能导致移植失败^[1]。加速造血重建,尽快恢复外周血象是确保移植最终成功的关键。MSC 促进造血重建在动物模型中已得到证实,临床试验也证明 MSC 与 HSC 联合移植加速造血恢复应用于人体的安全性,推测 MSC 促进造血重建的机制是为造血细胞创造一个合适的造血微环境^[2-3]。现就 MSC 在骨髓造血重建中作用的研究进展综述如下。

1 MSC 的生物学特性及其功能

MSC 属于中胚层多能干细胞,存在于人体骨髓、脂肪、牙周膜组织、新生儿脐带等组织,不同组织来源 MSC 具有相似但不完全相同特性,骨髓中 MSC 水平为丰富。体外诱导条件下,MSC 可分化为骨髓基质细胞(成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞)。MSC 主要表达基质细胞表面抗原 CD105、CD73、CD44、CD90、CD71、Stro-1、CD106、CD166、CD54 和 CD29。目前,Nestin⁺已成为用于识别 MSC 的新方法,小鼠实验中,Nestin⁺ MSC 高表达基质细胞衍生因子-1(SDF-1)、干细胞因子(stem cell factor, SCF)、血管生成素-1(Ang-1)、细胞间黏附因子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)以及骨桥蛋白,这些因子与 MSC 支持造血功能密切相关^[4]。

MSC 能使 B/T 淋巴细胞分化停滞于 G₀/G₁ 期,阻止单核细胞的抗原提呈作用均能诱导机体对移植的异基因 HSC 产生免疫耐受,增加移植 HSC 在受体的成活率,有助于减轻移植排斥宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)^[5]。MSC 上游生物学特性决定了其在 HSCT 中的优势:MSC 与 HSC 联合移植,能显著加快移植后的造血重建过程^[3]。

2 MSC 促进造血重建的可能机制

2.1 MSC 与造血细胞相互作用

2.1.1 分泌黏附因子加快 HSC 归巢 MSC 的本质作用是抑制“免疫监控”及创造一个有利于受损组织修复再生的微环境,这种效应的达成可通过细胞因子的分泌及细胞间直接接触获得^[6]。MSC 分泌黏附因子如 ICAM-1、VCAM-1 和 SDF-1。Bernardo 等^[7]发现,CXC 趋化因子受体 4(CXC chemokine receptor 4, CXCR4)与其配体 SDF-1 结合介导 HSC 归巢,诱导 HSC 穿过血管进入骨髓;MSC 也大量表达 CXCR-4, SDF-1/

CXCR-4 同样介导 MSC 归巢。急性髓系白血病(acute myelocytic leukemia, AML)患者化疗和 HSC 移植后体内 SDF-1 水平始终较低,提高 SDF-1 水平能加速造血恢复^[8],提示人体 SDF-1/CXCR-4 介导的 MSC 与 HSC 归巢效应能加速造血重建。此外,MSC 还能产生大量的细胞外基质分子,如纤连蛋白、层粘连蛋白、胶原蛋白等介导 HSC 与骨髓基质的黏附,使归巢的 HSC 稳定黏附于骨髓微环境。

2.1.2 分泌细胞因子调控造血细胞增殖分化 HSCT 预处理对细胞因子受体的损伤使机体对细胞因子反应低下,导致细胞因子相对缺乏。体外培养,MSC 能分泌大量细胞因子如 IL-3、IL-6、IL-7、IL-8、IL-11、IL-12、IL-14、IL-15、白血病抑制因子、巨噬细胞集落刺激因子、Flt-3 配体(FL)、SCF、促血小板生成素(Thromboietin, TPO)等可以解决机体细胞因子相对不足的问题^[9]。静脉输注 c-Kit+ HSC 后, HSC 沿 SCF 浓度梯度迁移到骨髓,并与表达 SCF 的骨髓基质细胞黏附结合,以此加速 HSC 的归巢,开启 HSC 细胞周期进程。FL 与 HSC 表面 Flt-3 结合同样能诱导 HSC/造血祖细胞(HPC)由静止期进入增殖期。SCF、FL 单独作用只有很弱的集落刺激性,其发挥作用是与其他细胞因子协同作用的结果。Walenda 等^[10]发现 MSC 与 SCF、TPO、成纤维细胞生长因子-1(FGF-1)联合应用能显著增强 MSC 造血支持作用。

2.1.3 MSC 分化为基质细胞修复 HSC niche 造血细胞的生长依赖多种骨髓基质细胞组成的黏附层,体外培养缺乏基质细胞层,即使加入外源性生长因子,造血细胞也不能持续生长^[11]。目前认为 HSC niche 有 3 种:成骨细胞 niche、网状基质 niche 和血管/窦状隙内皮细胞 niche, HSC 定植于这 3 个部位,其中 MSC 与前 2 种 niche 密切相关^[12]。骨髓 MSC 分化为成骨细胞,构建成骨细胞 niche。成骨细胞支持 CD34⁺ 细胞体外扩增;分泌粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)、粒细胞巨噬细胞刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、IL-1、IL-6 等促进造血细胞增殖分化;合成具有抑制 HSC 分化的巨噬细胞炎症蛋白-1 α (MIP-1 α),利于维持 HSC 干性。分化为脂肪细胞,成纤维细胞,分泌大量细胞外基质构成复杂的网架结构,参与构建 HSC 网状基质 niche,调节定植于其中的造血细胞生理活动。

2.1.4 MSC 与造血细胞之间的细胞-细胞作用 MSC 与归巢的 HSC 主要富集于骨内膜区和血管旁。CD34⁺ HSC 与骨髓 MSC 共培养有助于 HSC 增殖,Chou 等^[13]通过共聚焦显微镜观察到 MSC 通过与 HSC 表达的钙黏附蛋白受体直接结合。马俐君等^[14]在小鼠模型中发现, MSC 与脐血 CD34⁺ 细胞共移植中,二者比例为 10 : 1,可达最佳促进造血重建作用。

2.2 MSC 与骨髓非造血细胞(主要是内皮细胞)相互作用
MSC 能够分泌内皮细胞生长因子、FGF-1、肝细胞生长因子、胰岛素样生长因子-1、IL6、IL8 等刺激内皮细胞增殖、迁移,保护内皮细胞免于凋亡。小鼠模型中, MSC 早期支持内皮细胞增殖迁移,后期参与微血管形成。内皮细胞同样能分泌多种造血生长因子参与调控造血细胞活动。MSC、内皮细胞与 HSC 体外共培养能显著增强 HSC 增殖分化^[15-16]。

3 MSC 在血液病中的应用

MSC 主要用于涉及免疫紊乱或造血微环境损伤的血液病,包括良性血液病[如再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)、免疫性血小板减少症(immune thrombocytopenia, ITP)等]、恶性血液病及 HSCT。动物和临床试验已证实 MSC 治疗 AA 的可行性:AA 动物模型和临床患者经 MSC 输注治疗后外周血象恢复较快,调节性 T 细胞(Treg 细胞)表达升高,其免疫紊乱状态可得到明显纠正^[17-18]。而 MSC 治疗 ITP 的临床及实验研究仍处于探索阶段。有研究发现脐带 MSC 能明显抑制 T、B 淋巴细胞增殖扩散和血小板破坏,逆转外周血巨核细胞功能障碍,调节 T 细胞反应平衡,提示 MSC 可能用于 ITP 临床治疗,但是其具体作用机制及应用需进一步论证^[19]。

恶性血液病治疗中 MSC 可能扮演二元角色:(1) MSC 能诱导白血病细胞早期凋亡,使细胞周期停滞于 G₀/G₁ 期,从而抑制不同来源的白血病细胞增殖。而 Ning 等^[20]发现, MSC 共移植治疗白血病后, MSC 输注组患者复发率显著高于未输注组。可见 MSC 在抑制白血病细胞增殖的同时可能会引起 HSCT 后白血病复发率增高。而这种复发率的升高可能与 MSC 异常激活肿瘤细胞信号通路,促进肿瘤细胞生长有关^[21-22]。因此,目前 MSC 应用于恶性血液病方面的安全性、治疗的利弊仍需进一步研究。(2) 促造血重建方面,大量动物实验已经证明 MSC 共移植明显促进 HSC 植入,移植后造血恢复明显加快^[23-25]。Wu 等^[6]对 20 只小鼠,其外周血 CD45⁺ 脐血 HSC 植入率平均为 28.2% (24.6%~33.1%),而单独 HSCT 10 只小鼠 HSC 植入率仅平均为 5.3% (4.2%~6.5%) ($P=0.001$);骨髓中 CD45⁺ 脐血 HSC 植入率:共移植实验组平均为 6.9% (5.9%~7.3%),而单独移植对照组仅平均为 1.7% (1.5%~2.3%) ($P=0.015$)。

随后的临床试验也证实了 MSC 在人体内的促造血重建作用,患者中性粒细胞和血小板恢复明显加快^[26-27]。Wu 等^[28]对 50 例难治/复发恶性血液病患者进行人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)半合 HSC 与 MSC 共移植,结果表明接受共移植的 50 例患者全部拥有稳定持续造血能力,未发现 MSC 输注相关不良反应。50 例患者恢复中性粒细胞计数大于 $0.50 \times 10^9/L$ 和血小板计数大于 $20 \times 10^9/L$ 的中位时间分别为 12 d 和 15 d。Wu 等^[6]对 20 例高危白血病患者进行临床实验,其中 8 例接受共移植患者中性粒细胞计数大于 $0.50 \times 10^9/L$ 的中位时间是 12 d (8~16 d),血小板计数大于 $20 \times 10^9/L$ 的中位时间是 30 d (20~45 d);而另外 12 例只接受 HSC 移植患者中性粒细胞计数大于 $0.50 \times 10^9/L$ 的中位时间则长达 21 d (17~43 d),血小板计数大于 $20 \times 10^9/L$ 的中位时间为 73 d (42~135 d)。接受共移植的患者中性粒细胞计数 ($P=0.003$) 和血小板计数 ($P=0.004$) 恢复明显快于单独 HSC 移植患者,证明 MSC 确实能够促进患者造血重建,加快造血恢复。

4 展 望

尽管 MSC 在血液病治疗方面疗效肯定,特别是其加速造血重建作用已得到证实,但是 MSC 在人体内加速造血重建背

后的真正机制仍待澄清。其他问题如 MSC 缺乏特异免疫标志物,只能粗略采用排除法和逆推法进行鉴定,准确性较低; MSC 在 HSCT 中能否增加细胞的恶性转变风险,还存在疑问; MSC 共移植时的最佳输注途径,输注时机和剂量等都是急需解决的问题。

综上所述, MSC 在血液病如 AA、ITP、恶性血液病治疗,以及 HSCT 中得到大量应用,并显著提高了的临床疗效,特别是其促造血重建,加快造血恢复作用在动物和临床试验中均已明确。澄清 MSC 在人体内发挥造血重建作用的真正机制,可促使 MSC 更安全有效,更大规模应用于临床,在治疗血液系统疾病特别是造血微环境损伤的血液病中发挥重要的作用。

参考文献

- [1] Sokolov M, Neumann R. Lessons learned about human stem cell responses to ionizing radiation exposures: a long road still ahead of us[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(8): 15695-15723.
- [2] Ding L, Zhu H, Yang Y, et al. Functional mesenchymal stem cells remain present in the bone marrow microenvironment of leukemia patients post allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Leuk Lymphoma*, 2014, 55(7): 1635-1644.
- [3] Kim EJ, Kim N, Cho SG. The potential use of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Exp Mol Med*, 2013, 45(1): e2.
- [4] Law S, Chaudhuri S. Mesenchymal stem cell and regenerative medicine: regeneration versus immunomodulatory challenges[J]. *Am J Stem Cells*, 2013, 2(1): 22-38.
- [5] Mohammadian M, Shamsasenjan K. Mesenchymal stem cells: new aspect in cell-based regenerative therapy[J]. *Adv Pharm Bull*, 2013, 3(2): 433-437.
- [6] Wu KH, Tsai C, Wu HP, et al. Human application of ex vivo expanded umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: enhance hematopoiesis after cord blood transplantation[J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(11): 2041-2051.
- [7] Bernardo ME, Cometa AM, Locatelli F. Mesenchymal stromal cells: a novel and effective strategy for facilitating engraftment and accelerating hematopoietic recovery after transplantation? [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2012, 47(3): 323-329.
- [8] Fouillard L, Francois S, Bouchet S, et al. Innovative cell therapy in the treatment of serious adverse events related to both chemo-radiotherapy protocol and acute myeloid leukemia syndrome: the infusion of mesenchymal stem cells post-treatment reduces hematopoietic toxicity and promotes hematopoietic reconstitution[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2013, 14(9): 842-848.
- [9] Mohammadian M, Shamsasenjan K. Mesenchymal stem cells: new aspect in cell-based regenerative therapy[J]. *Adv Pharm Bull*, 2013, 3(2): 433-438.
- [10] Walenda T, Bokermann G, Ventura-Ferreira MS, et al. Synergistic effects of growth factors and mesenchymal stromal cells for expansion of hematopoietic stem and progenitor cells[J]. *Exp Hematol*, 2011, 39(6): 617-628.
- [11] Hu KX, Sun QY, Guo M, et al. The radiation protection and therapy effects of mesenchymal stem cells in mice

- with acute radiation injury [J]. *Br J Radiol*, 2010, 83 (985):52-58.
- [12] Frenette PS, Pinho S, Lucas D, et al. Mesenchymal stem cell; keystone of the hematopoietic stem cell niche and a stepping-stone for regenerative medicine [J]. *Annu Rev Immunol*, 2013, 31(1):285-316.
- [13] Chou SH, Lin SZ, Day C H, et al. Mesenchymal stem cell insights: prospects in hematological transplantation [J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(4):711-721.
- [14] 马俐君, 胡晓霞, 周虹, 等. 间充质干细胞与人脐血 CD 34 + 细胞共移植对 NOD/SCID 小鼠造血重建的影响 [J]. *中华血液学杂志*, 2008, 29 (10):684-688.
- [15] Mizer JC, Ichim TE, Alexandrescu DT, et al. Exogenous endothelial cells as accelerators of hematopoietic reconstitution [J]. *J Transl Med*, 2012, 10(1):231-243.
- [16] Bronckaers A, Hilkens P, Martens W, et al. Mesenchymal stem/stromal cells as a pharmacological and therapeutic approach to accelerate angiogenesis [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 143(2):181-196.
- [17] 刘增慧, 肖扬, 蒋祖军, 等. 骨髓间充质干细胞上调再生障碍性贫血患者 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞的临床研究 [J]. *实用医学杂志*, 2011, 27(9):1582-1585.
- [18] 董毅, 朱太岗, 夏瑞祥, 等. 骨髓间充质干细胞治疗再生障碍性贫血的研究 [J]. *中华全科医学*, 2009, 7(6):552-554.
- [19] Ma L, Zhou Z, Zhang D, et al. Immunosuppressive function of mesenchymal stem cells from human umbilical cord matrix in immune thrombocytopenia patients [J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(5):937-950.
- [20] Ning H, Yang F, Jiang M, et al. The correlation between cotransplantation of mesenchymal stem cells and higher recurrence rate in hematologic malignancy patients: outcome of a pilot clinical study [J]. *Leukemia*, 2008, 22(3):593-599.
- [21] Torsvik A, Bjerkgiv R. Mesenchymal stem cell signaling in cancer progression [J]. *Cancer Treat Rev*, 2013, 39(2):180-188.
- [22] Vianello F, Villanova F, Tisato V, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells non-selectively protect chronic myeloid leukemia cells from imatinib-induced apoptosis via the CXCR4/CXCL12 axis [J]. *Haematologica*, 2010, 95(7):1081-1089.
- [23] Angelopoulou M, Novelli E, Grove JE, et al. Cotransplantation of human mesenchymal stem cells enhances human myelopoiesis and megakaryocytopoiesis in NOD/SCID mice [J]. *Exp Hematol*, 2003, 31(5):413-420.
- [24] Bensidhoum M, Chapel A, Francois S, et al. Homing of in vitro expanded Stro-1⁻ or Stro-1⁺ human mesenchymal stem cells into the NOD/SCID mouse and their role in supporting human CD34 cell engraftment [J]. *Blood*, 2004, 103(9):3313-3319.
- [25] Li Y, Chen S, Yuan J, et al. Mesenchymal stem/progenitor cells promote the reconstitution of exogenous hematopoietic stem cells in Fancg^{-/-} mice in vivo [J]. *Blood*, 2009, 113(10):2342-2351.
- [26] Le Blanc K, Samuelsson H, Gustafsson B, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells [J]. *Leukemia*, 2007, 21(8):1733-1738.
- [27] Ball LM, Beruado ME, Roelofs H, et al. Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood*, 2007, 110(7):2764-2767.
- [28] Wu Y, Wang Z, Cao Y, et al. Cotransplantation of haploidentical hematopoietic and umbilical cord mesenchymal stem cells with a myeloablative regimen for refractory/relapsed hematologic malignancy [J]. *Ann Hematol*, 2013, 92(12):1675-1684.

(收稿日期:2014-10-18 修回日期:2015-01-10)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.11.043

磁共振扩散张量成像在盆腔的研究进展*

李佳综述, 吕富荣[△]审校

(重庆医科大学附属第一医院放射科, 重庆 400016)

[关键词] 扩散张量成像; 示踪技术; 子宫; 前列腺; 骨盆底; 肌肉

[中图分类号] R816.91

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)11-1555-04

磁共振扩散张量成像 (diffusion tensor imaging, DTI) 是在扩散加权成像 (diffusion weighted imaging, DWI) 技术基础上发展而来的一项新的功能磁共振技术。在人体组织中, 水分子受到组织细胞结构的影响, 在各个方向的扩散程度不相同, 即具有各向异性, 而 DTI 则是利用扩散敏感梯度从多个方向对水分子的各向异性进行量化, 反映水分子弥散速度及活体组

织水分子交换功能情况, 能进一步从细胞及分子水平研究疾病病理改变情况^[1]。DTI 主要的评价参数是表观扩散系数 (apparent diffusion coefficient, ADC) 和部分各向异性 (fractional anisotropy, FA), 前者表示水分子扩散运动的速度及范围; 后者表示水分子各向异性成分占整个扩散张量的比例。纤维示踪成像 (fiber tractography, FT) 通过检测组织内水分子弥散各

* 基金项目: 国家临床重点专科建设资助项目 [国卫办医函(2013)544 号]。 作者简介: 李佳 (1990-), 在读硕士研究生, 主要从事医学影像专业技术研究。 [△] 通讯作者, Tel: 13908365685; E-mail: lfr918@sina.com。