

disease levels assessed by NPM1 mutation-specific RQ-PCR provide important prognostic information in AML [J]. Blood, 2009, 114(11): 2220-2231.

[17] Barragan E, Pajuelo JC, Ballester S, et al. Minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia by mutant nucleophosmin (NPM1): comparison with WT1 gene expression [J]. Clin Chim Acta, 2008, 395(1/2): 120-123.

[18] Kern W, Danhauser-Riedl S, Ratei R, et al. Detection of

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.29.009

minimal residual disease in unselected patients with acute myeloid leukemia using multiparameter flow cytometry for definition of leukemia-associated immunophenotypes and determination of their frequencies in normal bone marrow [J]. Haematologica, 2003, 88(6): 646-653.

(收稿日期: 2015-04-08 修回日期: 2015-07-21)

骨髓基质细胞相关分子在急性髓系白血症发生、发展中的表达及意义*

向茜茜 综述, 张 曦[△], 杨世杰 审校

(全军血液病中心/第三军医大学新桥医院血液科, 重庆 400037)

[关键词] 白血病, 髓细胞, 急性; 黏附分子; 细胞外基质

[中图分类号] R733.71

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)29-4056-03

造血微环境是由骨髓基质细胞 (bone marrow stromal cells, BMSCs) 和细胞外基质 (ECM) 构成, 其对造血干细胞定居、增殖、分化、发育和成熟起到重要的支持和调节作用^[1]。BMSCs 是起源于胚胎发育的间充质干细胞, 可分化产生成纤维细胞、内皮细胞、成骨细胞、脂肪细胞、巨噬细胞等, 在造血干/祖细胞的定居、增殖、分化、发育、成熟、释放、迁移、凋亡等生理病理过程中发挥重要作用。正常的造血过程需要造血干细胞和造血微环境之间复杂的双向相互作用, 一旦微环境的性质和功能发生改变, 将会对造血干细胞的性状和功能产生较大的影响, 导致白血病的发生。急性髓系白血病 (acute myelogenous Leukemia, AML) 是造血系统的克隆性疾病, 源于造血干细胞的恶性增殖, 产生无效造血, 具有较强的植入和侵袭能力。较多的研究指出 AML 患者的 BMSCs 出现了重要的性质和功能的改变, 且其数量有明显地减少, 对未成熟的造血细胞支持能力减弱。BMSCs 是造血微环境的重要组成部分, 通过与白血病细胞的黏附作用、分泌细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 在 AML 的发生、发展中起重要作用。

1 BMSCs 与急性白血病细胞的黏附作用

BMSCs 和白血病细胞表面均表达多种黏附分子, 根据黏附分子其编码基因结构的同源性及产物的功能特点, 将其分为 6 个家族, 包括免疫球蛋白家族、钙黏素家族、选择素家族、血管附着素家族、整合素家族及 CD44 等黏附分子家族。这些黏附分子介导了细胞与细胞、细胞与细胞外基质的直接接触, 通过这些黏附作用发挥各自的作用。正是 BMSCs 和白血病细胞间的相互接触, 使 BMSCs 对白血病细胞的存活和增殖发挥了重要的调节作用。

血管细胞黏附分子 1 (VCAM1) 是免疫球蛋白超家族中的重要成员, 表达于骨髓间质细胞、血管内皮细胞及一些造血细胞, 主要为 BMSCs 所分泌。VCAM1 是整合素家族 B1 组 VLA-4 的配体, VCAM1 与 VLA-4 共同介导了造血细胞对间质细胞和细胞外基质的黏附, 在干细胞的归巢方面起重要作用。间质细胞表面黏附分子的改变, 引起了骨髓龛中造血细胞

和间质细胞的交互作用, 导致机制信号的损害, 出现肿瘤基因突变和基因的不稳定性, 从而形成不正常的间质微环境, 使造血细胞分化受阻。国内外均有报道显示, 在初诊 AML 骨髓基质细胞中 VCAM1 呈低水平表达^[2-5]。VCAM-1 及 VLA-4 两者相互作用后还可能使干细胞不能接受正常的增殖分化信号, 从而出现白血病干细胞的无限增生和分化受阻, 促进了白血病细胞的恶性增殖^[4,6]。国内李学刚等^[2]研究表明, AML 患者复发期骨髓基质细胞培养液中 VCAM-1 的水平高于缓解期, 其在有髓外浸润患者中表达增高, 推测可能与 AML 的复发及髓外浸润具有一定的相关性。

细胞间黏附分子 1 (ICAM-1, CD54), 是目前研究最多的黏附分子, 表达于骨髓造血细胞和 BMSCs, 主要表达于血管内皮细胞上, 其配体为 LFA-1 (CD11a)。两者通过参与 BMSCs 与肿瘤细胞的黏附和对肿瘤细胞免疫杀伤这两个过程, 影响肿瘤细胞的存活与侵袭力。国内有研究报道, 通过对 AML 基质细胞上 ICAM-1 分子进行检测, 结果显示其阳性率高于正常对照组; 且经 DA 方案化疗后, ICAM-1 阳性率高的患者比阳性率低的患者疗效差^[7]。ICMA-1 这种黏附特性的增强, 有利于白血病细胞在受损的微环境下的增殖、侵袭能力增强, 白血病细胞的自我保护及抗药性提高, 可能使残留白血病细胞重新获得增殖优势。

黏附分子对诱导白血病细胞耐药和抑制其凋亡产生了重要的作用^[8]。已有研究表明, 骨髓中神经细胞黏附分子 (NCAM, CD56)、ICAM-1、VCAM-1 表达的增高, 与白血病细胞的髓外浸润密切相关, AML 细胞可能通过黏附机制介导其浸润的发生^[9-10]。

钙黏素是介导 Ca^{2+} 依赖性细胞间黏附的一大类黏附分子, 属于跨膜糖蛋白家族, 已知一定类别和分化阶段的造血细胞及 BMSCs 表达 E-钙黏素、N-钙黏素、VE-钙黏素。E-钙黏蛋白 (E-cadherin, CDH1) 是黏附分子钙黏蛋白超家族的重要成员, 主要表达于上皮细胞, 为一种膜糖蛋白, 形成关键的细胞间黏附。有研究报道 E-cadherin 在 AML 的 BMSCs 中被检测

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81270569)。 作者简介: 向茜茜 (1985—), 硕士, 主治医师, 主要从事造血微环境、急性白血病的诊断及基础研究。 [△] 通讯作者, Tel: (023) 68755609; E-mail: zhangxxi@sina.com。

到,其 mRNA 水平增高^[11]。近期的研究还发现 E-cadherin 也表达于幼红细胞及向下分化的成熟红细胞,在红系白血病中出现特征性表达^[12-13]。在骨髓造血微环境中,N-钙黏蛋白(N-cadherin)表达于正常造血干细胞龕中的成骨细胞,同时也在部分造血干细胞中表达,介导成骨细胞与造血干细胞间的相互作用^[14]。在 AML 发生时,白血病干细胞定位于骨髓造血干细胞龕中,并处于静息状态,使得白血病干细胞能够耐受化疗药物的杀伤作用,出现抗药性^[15-16]。

CD44 属于黏附分子大家族,是细胞表面的跨膜糖蛋白,表达于选择素 E 的一种透明质酸受体。早期已有研究发现其通过与骨髓微环境中龕内的选择素和透明质酸结合,参与白血病细胞的归巢、浸润^[17]。近期有研究发现,出现 CD44 表达水平增高的白血病干细胞具有较强的侵袭力,且与白血病复发有关^[18]。另外有研究指出 CD44 可能通过与 BMSCs 的黏附,从而阻止 AML 细胞凋亡,增强白血病细胞的增殖、存活能力^[19]。

选择素是血管黏附分子大家族中的一大类成员,属于跨膜糖蛋白家族,为典型的 I 型穿膜糖蛋白。骨髓内皮细胞表达 E-选择素和 P-选择素,而选择素配体在造血细胞表达。选择素与其配体结合,形成 BMSCs 与造血细胞的黏附。在 Ca²⁺ 的参与下,P 选择素介导造血细胞黏附到内皮细胞的表面,从而在肿瘤的转移中起到的重要作用。有研究报道 E-选择素、P-选择素在初诊 AML 患者中活性增高,可能与预后相关^[8]。

基质细胞衍生因子-1(SDF-1,CXCL12)是趋化因子 CXC 亚家族成员,由 BMSCs 及内皮细胞分泌释放,又名 CXCL12,趋化因子受体(CXCR4)为其受体。SDF-1 与骨髓基质细胞紧密相连,黏附后为白血病细胞提供生长和耐药的信号,在白血病发生和发展中起了非常重要作用^[20]。SDF-1 与 CXCR4 共同介导了 AML 细胞黏附至基质细胞,与白血病干细胞归巢、残留、增殖相关^[21]。两者的共同作用还保护 AML 细胞免于自身凋亡及药物诱发的凋亡^[22]。曾东风等^[23]报道,CXCR4 高表达于 AML 细胞中,其表达的程度与 AML 浸润、耐药等存在相关性。国外也有研究报道,CXCR4 的表达上调,使 BMSCs 对化疗药物产生耐药性^[24]。

2 BMSCs 的 ECM 与 AML 细胞的相互作用

BMSCs 有丰富的胞浆,并产生 ECM。BMSCs 分泌到细胞表面的 ECM 部分为一些蛋白多糖和氨基葡聚糖。BMSCs 及其 ECM 多与造血细胞的黏附有关。整合素的大部分配体是细胞外基质成分,如纤维连接蛋白、层黏连蛋白及胶原等。

纤维蛋白 1(FN1)是一种重要的基质蛋白,与细胞黏附、迁徙及信号转导有关。有研究报道与健康人群的 BMSCs 比较,初诊 AML 的 BMSCs 中 FN1 的表达下调^[25]。细胞黏附分子缓慢抗原-4(VLA-4)是一种重要的黏附分子,它属于整合素家族,大量表达于白血病细胞。VLA-4 通过与 BMSCs 表面的 FN1 相互作用,激活 PI3K/AKT/BCL-2 信号通路,提高 bcl-2 的表达,从而保护白血病细胞免于失巢凋亡及药物诱导的凋亡,诱导白血病细胞产生抗药性^[26-27]。

IV 型胶原纤维(collagen IV)是构成细胞外基质的主要成分,而变性的 IV 型胶原纤维促进了 AML 细胞的迁移和黏附^[28]。基质金属蛋白酶(MMPs)有助于 ECM 的更新,对肿瘤的侵袭和转移起了关键作用。MMP-2 是降解 IV 型胶原的主要酶,属于锌离子依赖性内肽酶家族成员。Wang 等^[29]研究证实 MMP-2 及其抑制物 TIMP-2 在 AML 中出现异常表达。朱希山等^[30]报道在 AML 细胞和 BMSCs 共培养中,AML 细胞的

高侵袭力和 MMP-2 及 TIMP-2 高表达相关。MMP-7 是 MMPs 家族中重要成员之一,亦称基质溶素,其主要作用底物为层黏连蛋白(LN)、纤维蛋白、蛋白多糖和核心蛋白。MMP-7 与肿瘤脉管生成可能有关^[31]。组织金属蛋白酶抑制因子 3(TIMP3)能拮抗 MMP 活性,抑制肿瘤的生长、血管形成、浸润和转移。国内有研究报道正常 BMSCs 表达较高水平的 TIMP3,但在 AML 的 BMSCs 中出现其表达缺失^[25]。

死亡关联蛋白激酶 1(DAPK1)是一种细胞凋亡前钙调蛋白介导的丝氨酸/苏氨酸钙调蛋白激酶,从细胞外基质中分离出来,参与数个由 IFN- γ 、IFN- α 、活化的 Fas 蛋白启动的细胞凋亡途径^[32]。有研究报道在 AML 中 DAPK1 被大量、频繁地甲基化,从而可能导致在白血病的转化中出现成熟受损及髓外浸润^[33]。

3 间隙连接细胞间通讯(GJIC)及连接蛋白 43(Cx43)

Cx43 是存在于细胞膜上的一种连接蛋白,是 GJIC 的主要成分。Cx43 在急性白血病 BMSCs 间的 GJIC 表达是缺失的,可在有效的化疗后恢复。GJIC 在白血病 BMSCs 中,对细胞的增殖、细胞凋亡及共培养白血病细胞的药物敏感性等方面起了重要的作用。目前大量的研究表明 Cx43 表达的强弱及 GJIC 功能的高低与肿瘤细胞的增殖能力成负相关。正常 BMSCs 可通过 GJIC 抑制白血病细胞增殖,且使白血病细胞停滞在 G₀ 期^[34]。国内外的研究均表明 AML 的 BMSCs 中 Cx43 的水平较健康对照组及化疗后达到完全缓解的患者明显减低,并出现定位异常,其 GJIC 亦明显减弱^[35-36]。

4 展 望

AML 的发生、发展与造血微环境的功能及性质的改变密切相关。BMSCs 作为造血微环境的主要组成部分,通过与白血病细胞的黏附作用、分泌细胞外基质,在 AML 的发生发展中起重要作用。BMSCs 作为目前研究的热点,其功能及作用还有很多尚不明确,本文仅对其中部分机制和功能做了综述。对其进一步的研究有望为急性白血病的治疗提供更多科学依据及方法。

参考文献

- [1] 陈幸华,张曦,刘林.造血微环境异常与白血病研究进展[J].重庆医学,2002,31(12):1172.
- [2] 李学刚,候丽君.复发性急性白血病患者血清和骨髓基质细胞培养上清液中血管细胞黏附分子 1 的变化[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(6):1101-1104.
- [3] Lubkova ON, Tzvetavaeva NV, Momotyuk KS, et al. VCAM-1 Expression on Bone Marrow Stromal Cells from Patients with Myelodysplastic Syndromes[J]. Bull Exp Biol Med, 2011, 151(1):13-15.
- [4] 张曦,陈幸华,刘林,等.急性白血病骨髓基质细胞生物学特点的观察[J].重庆医学,2005,34(9):1299-1303.
- [5] 付相建,陈幸华.急性白血病骨髓基质细胞体外培养的生长特性及细胞外基质的检测[J].西部军医,2006,8(1):28-30.
- [6] Hall BM, Fortney JE, Taylor L, et al. Stromal cell expressing elevated VCAM-1 enhance the survival of B lineage tumor cells[J]. Cancer Lett, 2004, 207(2):229-239.
- [7] 张宇明,江黎明,陈永振.急性髓性白血病患者骨髓基质细胞 ICAM_1 的检测及临床意义[J].实用肿瘤学杂志,2004,18(3):28-210.

- [8] Konopleva M, Konoplev S, Hu W, et al. Stromal cells prevent apoptosis of AML cells by up-regulation of anti-apoptosis proteins[J]. *Leukemia*, 2002, 16(9):1713-1724.
- [9] Liu K, Caldwell SA, Abrams SI, et al. Cooperative disengagement of Fas and intercellular adhesion molecule-1 function in neoplastic cells confers enhanced colonization efficiency[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(3):1045-1054.
- [10] Stucki A, River AS, Gikic M, et al. Endothelial cell activation by myeloblasts: molecular mechanisms of leukostasis and leukemic cell dissemination[J]. *Blood*, 2001, 97(7):2121-2129.
- [11] Chen Q, Yuan Y, Chen T. Morphology, differentiation and adhesion molecule expression changes of bone marrow mesenchymal stem cells from acute myeloid leukemia patients[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(1):293-298.
- [12] Armeanu S, Müller CA, Klein G. Involvement of E-cadherin in the Development of Erythroid Cells; Subject Heading[J]. *Hematology*, 2000, 5(4):307-316.
- [13] Ohgami RS, Chisholm KM, Ma L, et al. E-cadherin is a specific marker for erythroid differentiation and has utility, in combination with CD117 and CD34, for enumerating myeloblasts in hematopoietic neoplasms[J]. *Am J Clin Pathol*, 2014, 141(5):656-664.
- [14] Taichman RS. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche[J]. *Blood*, 2005, 105(7):2631-2639.
- [15] Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche[J]. *Nature*, 2003, 425(6960):841-846.
- [16] Pajcini KV, Speck NA, Pear WS. Notch signaling in mammalian hematopoietic stem cells[J]. *Leukemia*, 2011, 25(10):1525-1532.
- [17] Stucki A, Cordey AS, Monai N, et al. Activation of vascular endothelial cells by leukemic blast cells; a mechanism of leukostasis[J]. *Blood*, 1995, 86:435.
- [18] Quéré R, Andradottir S, Brun ACM, et al. High levels of the adhesion molecule CD44 on leukemic cells generate acute myeloid leukemia relapse after withdrawal of the initial transforming event[J]. *Leukemia*, 2011, 25:515-526.
- [19] Yang CM, Luo SF, Hsieh HL, et al. Interleukin-1 β induces ICAM-1 expression enhancing leukocyte adhesion in human rheumatoid arthritis synovial fibroblasts involvement of ERK, JNK, AP-1 and NF- κ B[J]. *J Cell Physiol*, 2010, 224:516-526.
- [20] Battula VL, Chen Y, Cabreira Mda G, et al. Connective tissue growth factor regulates adipocyte differentiation of mesenchymal stromal cells and facilitates leukemia bone marrow engraftment[J]. *Blood*, 2013, 122(3):357-366.
- [21] Perry JM, Li L. Disrupting the stem cell niche: good seeds in bad soil[J]. *Cell*, 2007, 129(6):1045-1047.
- [22] Blau O. Bone marrow stromal cells in the pathogenesis of acute myeloid leukemia[J]. *Front Biosci(Landmark Ed)*, 2014, 19:171-180.
- [23] 曾东风, 孔佩艳, 陈幸华, 等. SDF-1 及其受体 CXCR4 在急性白血病患者与淋巴瘤表达的初步研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2005, 13(2):274-277.
- [24] Yordanos Tesfai, Jette Forda, Carterb KW, et al. Interactions between acute lymphoblastic leukemia and bone marrow stromal cells influence response to therapy[J]. *Leukemia Res*, 2012, 36:299-306.
- [25] 曹维克, 许文荣, 朱伟, 等. 骨髓间质干细胞与肿瘤细胞中 FN1、NME2、TIMP3 基因表达检测[J]. *临床检验杂志*, 2006, 24(2):106-109.
- [26] Matsunaga T, Fukai F, Miura S, et al. Combination therapy of an anticancer drug with the FN III 14 peptide of fibronectin effectively overcomes cell adhesion-mediated drug resistance of acute myelogenous leukemia[J]. *Leukemia*, 2008, 22(2):353-360.
- [27] Mahlknecht U, Schonbein C. Histone deacetylase inhibitor treatment downregulates VLA-4 adhesion in hematopoietic stem cells and acute myeloid leukemia blast cells[J]. *Haematologica*, 2008, 93(3):443-447.
- [28] Favreau AJ, Vary CP, Brooks PC, et al. Cryptic collagen IV promotes cell migration and adhesion in myeloid leukemia[J]. *Cancer Med*, 2014, 3(2):265-272.
- [29] Wang C, Chen Z, Li Z, et al. The essential roles of matrix metalloproteinase-2, membrane type 1 metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in the invasive capacity of acute monocytic leukemia SHI-1 cells[J]. *Leuk Res*, 2010, 34(8):1083-1090.
- [30] 朱希山, 张斌, 刘瑞, 等. 基质金属蛋白酶 9 在慢性粒细胞白血病患者骨髓间充质干细胞中表达及其对造血干细胞黏附的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(14):2705-2708.
- [31] Koskensalo S, Mrena J, Wiksten JP, et al. MMP-7 overexpression is an independent prognostic marker in gastric cancer[J]. *Tumour Biol*, 2010, 31(3):149-155.
- [32] Voso MT, Scardocci A, Guidi F, et al. Aberrant methylation of DAP-kinase in therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes[J]. *Blood*, 2004, 103(2):698-700.
- [33] Greco M, D'Alò F, Scardocci A, et al. Promoter methylation of DAPK1, E-cadherin and thrombospondin-1 in de novo and therapy-related myeloid neoplasms[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2010, 45(3):181-185.
- [34] Zhang X, Liu Y, Si YJ, et al. Effect of Cx43 gene-modified leukemic bone marrow stromal cells on the regulation of Jurkat cell line in vitro[J]. *Leuk Res*, 2012, 36(2):198-204.
- [35] Rivedal E, Witz G, Leithe E. Gap junction intercellular communication and benzene toxicity[J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 184(1/2):229-232.
- [36] 刘耀, 张曦, 李忠俊, 等. 急性白血病化疗前后基质细胞上连接蛋白 43 表达及功能改变的研究[J]. *临床血液学杂志*, 2008, 21(3):117-120.