

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.07.029

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190304.1625.005.html(2019-03-05)

肌源性干/祖细胞对造血干细胞分化、支持的研究进展*

古晶晶¹综述,郑波^{2△}审校

(1. 宁夏医科大学临床医学院,银川 750004;2. 宁夏医科大学总医院血液科,银川 750004)

【摘要】 造血干细胞(HSCs)是能够自我更新并分化为多种谱系的造血细胞;骨髓中的基质细胞即间充质干细胞(MSCs)对HSCs生长发育和造血功能维持起到重要作用。但由于从骨髓获取基质细胞受到一些限制,研究者将目光转向了骨髓以外来源的基质细胞。肌源性干/祖细胞(MDSPCs)是一类在骨骼肌组织中发现的多功能干细胞群,研究发现MDSPCs在造血微环境诱导下可以分化为造血细胞。由于其具有来源丰富、取材方便和体外移植存活率高等特点,因此对HSCs分化、支持方面值得研究。本文就MDSPCs与HSCs之间的关系,以及MDSPCs作为基质细胞对HSCs可能的支持作用进行综述。

【关键词】 肌源性干/祖细胞;造血干细胞;可塑性;造血**【中图法分类号】** R457.7**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1671-8348(2019)07-1198-03

造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)是具有自我更新能力并能分化为各种血细胞的前体细胞,也可以说它是一切血细胞的原始细胞^[1]。机体的正常造血依赖造血干/祖细胞(hematopoietic stem/progenitor cells, HSPCs),以及支持造血细胞生长发育的基质细胞即间充质干细胞(mesenchymal stem/stromal cells, MSCs)的相互作用^[2]。MSCs作为骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs),除可形成骨髓微环境外,还可表达多种造血相关因子^[3-4],促进HSPCs增殖、分化、成熟,因此骨髓MSCs具有维持骨髓正常造血的功能,在造血调控中发挥重要的作用。迄今为止,常用的促进造血的基质细胞主要来源于骨髓,但从骨髓获取基质细胞受到一些限制:(1)骨髓在取材过程中容易造成污染;(2)人体骨髓中MSCs含量极其稀少,每 $10^5 \sim 10^6$ 个单个核细胞中约有1个MSCs;(3)随着年龄的增加,骨髓中MSCs的数量、增殖和分化能力均显著下降。

为了改变这一状况,研究者将目光转向了骨髓以外来源的基质细胞。肌肉组织是人体的主要构成部分,占人体总质量的30%~40%,并且取材相对容易和安全。在肌肉组织中存在多种肌源性干/祖细胞(muscle-derived stem/progenitor cells, MDSPCs),包括卫星细胞(satellite cells, SCs)、肌源性干细胞(muscle-derived stem cells, MDSCs)、肌血管内皮细胞(myoendothelial cells, MECs)、肌血管外膜细胞(perivascular stem cell, PSCs)、多能成年祖细胞(multipotent adult progenitor cells, MAPC)和侧群细胞(side populations, SP)等。SCs的前体细胞MDSCs被认为具有更好的再生能力,并且表现出更好的细胞存活和分化能力,这些特性使其成为组织再生和组织工程的理想干细胞,MDSCs不仅能分化为多种

谱系如肌原细胞、成脂细胞、成骨细胞、成软骨细胞,还可以向造血谱系分化^[5-6]。研究发现HSCs可以促进肌肉损伤修复,而且MDSPCs还可以向HSCs分化。本文就MDSPCs与HSCs之间的相互作用及研究现状进行综述。

1 HSCs向MDSPCs转变及对肌肉损伤修复的支持作用

HSCs是一类具有自我更新和多系分化能力的原始细胞,有研究表明来自骨髓的HSCs可以分化为骨骼肌纤维。一些研究证明将 $CD45^+$ HSCs通过静脉移植入小鼠后,小鼠体内HSCs含量多的部位产生了骨骼肌纤维^[7]。同时,CAMARGO等^[8]也证实,将单个 $CD45^+$ HSCs通过静脉移植入小鼠体内,观察到在mdx小鼠(Duchenne肌营养不良模型)肌肉组织中含有少量HSCs。

骨骼肌由多核肌纤维构成,通过单核成肌细胞的融合形成肌肉组织。一些动物研究已经证明,来自骨髓的细胞具有促进受损的骨骼肌组织再生的能力^[7]。在成人肌肉组织中,成肌细胞来源于SCs祖细胞群。研究表明HSCs能够在骨髓移植后促进肌肉的再生,这种现象引起了许多研究者的关注。CORBEL等^[9]将 $CD45^+$ HSCs通过静脉移植入小鼠后发现,肌肉中多达5%的肌纤维在移植16个月后含有HSCs衍生的细胞。而且,肌肉损伤越严重,含有HSCs衍生的细胞越多。STRÖMBERG等^[10]对数年前移植了男性HSCs的女性股骨外侧骨骼肌进行活组织检查,同时以未移植男性HSCs的女性股骨外侧骨骼肌作为对照。通过对骨骼肌纤维、SCs和内皮细胞(endothelial cells, ECs)的免疫组织化学染色,以及X和Y染色体的荧光原位杂交(FISH)来鉴定BM细胞的来源。观察到组织切片中的 $CD56^+$ SCs中及从SCs培

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81560023);2015年度宁夏留学人员科技活动项目(2015-02-10)。 作者简介:古晶晶(1992-),在读硕士,主要从事造血干细胞与造血微环境方面的研究。 △ 通信作者:E-mail:2264978149@qq.com。

养的成肌细胞中检测到 Y 染色体。但是,对照组女性的骨骼肌检查中未发现 Y 染色体。研究结果支持骨髓细胞对骨骼肌的增生通过与肌纤维的直接融合发生,并且这些供者细胞来自造血谱系,表明 HSCs 对肌肉损伤修复的支持作用。

2 MDSPCs 向 HSCs 分化

在 1965 年 MUIR 等首先发现并确定骨骼肌干细胞是 SCs。随着研究的深入,QU-PETERSEN 等^[11]于 2002 年通过差速贴壁的方法将小鼠骨骼肌内各种不同类型的细胞分离开来,最终分离出一群具有成肌性强,且体外高扩增能力的 MDSCs。ZHENG 等^[12]应用多参数流式细胞仪分选技术,成功地从人的骨骼肌中分离出来既表达成肌细胞标记又表达血管 ECs 标记的细胞群 MECs,其被认为是对应小鼠的人来源的 MDSCs。

研究报道将 MDSCs 联合骨髓移植进经放射照射摧毁造血功能的小鼠体内,能使小鼠恢复造血功能而且造活血活性比单纯移植骨髓高 10~14 倍^[13]。研究还发现通过体外造血集落形成实验,MDSCs 可形成多种类型的造血集落,如在甲基纤维素培养基中添加干细胞因子、白细胞介素(IL)-3、IL-6 及促红细胞生成素,可促进 MDSCs 向造血细胞分化^[14]。CAO 等^[15]从营养不良肌肉中分离出了一群表达干细胞标志物的 MDSCs。将供者小鼠(CD45.2⁺)3 个 MDSCs 克隆分别移植至致死剂量照射的受者小鼠(CD45.1⁺)后,能重建受者小鼠(CD45.1⁺)的造血功能,并经流式分析证明受者小鼠(CD45.1⁺)的淋系及髓系表达供者小鼠(CD45.2⁺)的标记物。有研究表明,从肌肉组织来源的 CD45⁺ SP 能向外周血的红系、粒系及血小板分化,并具有极强的造血分化能力,能使经致死剂量照射的小鼠造血能力重建,且其造血能力长期存在^[16]。然而人来源的 MECs,经研究发现不能向 HSCs 分化,其原因不清楚可能与种属不同有关^[17]。

3 MDSPCs 对 HSCs 的作用及展望

1978 年,SCHOFIELD 首次提出 HSCs 骨髓微环境 niche 的概念,认为 niche 对于 HSCs 的功能维持十分重要,并得到了研究者的进一步证实^[18]。干细胞 niche 通常被定义为干细胞可以永久地定置并能进行自我更新、产生后代的特定位置^[19-21]。HSCs 最终定位于骨髓内的造血 niche (HSCs niche)。造血 niche 为 HSCs 的生长和发育提供了一个特定场所。依据空间及功能的不同将 HSCs niche 分为骨 niche (osteoblastic niche) 和血管 niche (vascular niche)^[22]。

众所周知,体内的稳态造血依赖于复杂而完整的骨髓造血微环境,主要通过骨髓内 MSCs 与 HSCs 间的相互作用、基质细胞分泌的生长或抑制因子及基质细胞与造血细胞间的相互作用来调节造血功能^[23]。现在大多数观点认为,骨髓造血微环境主要由骨内膜微环境和血管微环境组成,骨内膜微环境的主要作用是维持 HSCs 的静息态,脉管微环境的主要作用是调节 HSPCs 的增殖、分化和动员,二者共同维持机体造

血的动态平衡^[24-25]。造血细胞长期培养(long-term culture, LTC)常利用预先贴壁的基质细胞作为滋养层,这些基质细胞为造血细胞提供刺激和抑制信号,调节细胞增殖。

但是骨髓来源的基质细胞 MSCs 受取材数量有限等因素限制,所以非骨髓来源的基质细胞变得尤为重要。MDSPCs 来源丰富、取材方便、体外扩增迅速及移植存活率高,并且具有自我更新和向造血谱系分化的潜能。费成明等^[26]发现,MDSCs 在造血微环境下能特异性分泌多种生物活性物质,影响骨的形成和重建过程,并部分分化为成骨细胞,其中成骨细胞可以通过分泌骨桥蛋白、N2 钙黏蛋白和 B2 连环蛋白来调控 HSCs 的造血生成。

PSCs 即表达 CD146 标记的周细胞(CD146⁺ pericytes, CD146⁺ PSCs),是血管周微环境的重要核心组成成分。研究发现,人肌源性 PSCs 在细胞表型、分化能力等方面与 MSCs 具有相似性,PSCs 是 MSCs 的前体细胞^[27-29]。CORSELLI 等^[30]研究表明,不论是从脂肪还是从骨髓中分选的 CD146⁺ PSCs,在不需添加造血因子情况下与 HSPCs 共培养 2 周,然后将 HSPCs 移植到免疫缺陷小鼠体内,结果表明 CD146⁺ PSCs 在体外和体内对造血的扩增和支持作用都优于未分选的 MSCs 和 CD146⁻ PSCs。MECs 与 MSCs 存在相似性,培养后表达 MSCs 的表面标志 CD90、CD105、CD29、CD44 和 CD146,同样具有多能性,能分化形成机体组织,如骨组织、软骨组织和肌肉细胞。但是 MECs 对 HSCs 是否有促进作用,还有待于研究。因此开展有关 MDSPCs 对 HSCs 支持作用的研究,有望为 HSCs 的扩增提供一个崭新而丰富的基质细胞来源。

参考文献

- [1] BOYD A L, BHATIA M. Bone marrow localization and functional properties of human hematopoietic stem cells [J]. *Curr Opin Hematol*, 2014, 21(4): 249-255.
- [2] FAJARDO-ORDUÑA G R, MAYANI H, MONTESINOS J J. Hematopoietic support capacity of mesenchymal stem cells biology and clinical potential [J]. *Arch Med Res*, 2015, 46(8): 589-596.
- [3] DE LUCA L, TRINO S, LAURENZANA I, et al. Mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles: a role in hematopoietic transplantation? [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5): E1022.
- [4] TIMARI H, SHAMSASENJAN K, MOVASSAGHPOUR A, et al. The effect of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles on hematopoietic stem cells fate [J]. *Adv Pharm Bull*, 2017, 7(4): 531-546.
- [5] XU X, WILSCHUT K J, KOUKLIS G, et al. Human satellite cell transplantation and regeneration from diverse skeletal muscles [J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 5(3): 419-434.
- [6] KAO G W, LAMB E K, KAO R L. Skeletal muscle stem cells [M] // KAO R L. Cellular Cardiomyoplasty: methods and protocols. New Jersey: Humana Press, 2013: 330-336.

- [7] LABARGE M A, BLAU H M. Biological progression from adult bone marrow to mononucleate muscle stem cell to multinucleate muscle fiber in response to injury [J]. *Cell*, 2002, 111(4): 589-601.
- [8] CAMARGO F D, GREEN R, CAPETANAKI Y, et al. Single hematopoietic stem cells generate skeletal muscle through myeloid intermediates [J]. *Nat Med*, 2003, 9(12): 1520-1527.
- [9] CORBEL S Y, LEE A, YI L, et al. Contribution of hematopoietic stem cells to skeletal muscle [J]. *Nat Med*, 2003, 9(12): 1528-1532.
- [10] STRÖMBERG A, JANSSON M, FISCHER H, et al. Bone marrow derived cells in adult skeletal muscle tissue in humans [J]. *Skeletal Muscle*, 2013, 3(1): 12.
- [11] QU-PETERSEN Z, DEASY B, JANKOWSKI R, et al. Identification of a novel population of muscle stem cells in mice: potential for muscle [J]. *J Cell Biol*, 2002, 157(5): 851-864.
- [12] ZHENG B, CAO B, CRISAN M, et al. Prospective identification of myogenic endothelial cells in human skeletal muscle [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(9): 1025-1034.
- [13] JACKSON K A, MI T, GOODELL M A. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(25): 14482-14486.
- [14] 王娟娟, 高晓宁, 陈珊珊, 等. 体外培养肌源性干细胞向造血方向分化的实验研究进展 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(6): 1897-1900.
- [15] CAO B, ZHENG B, JANKOWSKI R J, et al. Muscle stem cells differentiate into haematopoietic lineages but retain myogenic potential [J]. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(7): 640-646.
- [16] 陈玉芳, 王媛媛, 王娟娟, 等. 具有造血能力的肌源性干细胞的研究进展 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(5): 1523-1526.
- [17] ZHENG B, LI G, CHEN W C, et al. Human myogenic endothelial cells exhibit chondrogenic and osteogenic potentials at the clonal level [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(7): 1089-1095.
- [18] VAIDYA A, KALE V. Hematopoietic stem cells, their niche, and the concept of co-culture systems: a critical review [J]. *J Stem Cells*, 2015, 10(1): 13-31.
- [19] CHEN J, CHEN L, ZERN M A. The diversity and plasticity of adult hepatic progenitor cells and their niche [J]. *Liver Int*, 2017, 37(9): 1260-1271.
- [20] LO IACONO M, RUSSO E, ANZALONE R, et al. Wharton's jelly mesenchymal stromal cells support the expansion of cord blood-derived CD34⁺ cells mimicking a hematopoietic niche in a direct cell-cell contact culture system [J]. *Cell Transplant*, 2018, 27(1): 117-129.
- [21] MORRISON S J, SCADDEN D T. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2014, 505(7483): 327-334.
- [22] CRANE G M, JEFFERY E, MORRISON S J. Adult haematopoietic stem cell niches [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(9): 573-590.
- [23] BEMARDO M E, LOCATELLI F. Mesenchymal stromal cells in hematopoietic stem cell transplantation [M]// GNECCHI M. Mesenchymal stem cells. Methods in molecular biology. New York: Humana Press, 2016: 3-20.
- [24] 叶艳艳, 江千里. 造血干细胞定位及其与周围微环境相互作用的研究进展 [J]. *白血病·淋巴瘤*, 2014, 23(11): 700-702.
- [25] 曹彦. 骨髓造血干祖细胞微环境的形成 [D]. 苏州大学, 2016.
- [26] 费成明, 常春康. 成骨细胞在造血微环境中的作用及与部分血液系统疾病关系的研究进展 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(4): 1133-1136.
- [27] CASTIGLIONI A, HETTMER S, LYNES M D, et al. Isolation of progenitors that exhibit myogenic/osteogenic bipotency in vitro by fluorescence-activated cell sorting from human fetal muscle [J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(1): 92-106.
- [28] JAMES A W, ZARA J N, ZHANG X, et al. Perivascular stem cells: a prospectively purified mesenchymal stem cell population for bone tissue engineering [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1(6): 510-519.
- [29] WEST C C, HARDY W R, MURRAY I R, et al. Prospective purification of perivascular presumptive mesenchymal stem cells from human adipose tissue: process optimization and cell population metrics across a large cohort of diverse demographics [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7: 47.
- [30] CORSELLI M, CHIN C J, PAREKH C, et al. Perivascular support of human hematopoietic stem/progenitor cells [J]. *Blood*, 2013, 121(15): 2891-2901.

(收稿日期: 2018-09-26 修回日期: 2018-11-11)

(上接第 1197 页)

- [18] PHIN S, MOORE M W, COTTER P D. Genomic rearrangements of PTEN in prostate cancer [J]. *Front Oncol*, 2013, 3(1): 1-9.
- [19] HESSON L B, PACKHAM D, PONTZER E, et al. A re-investigation of somatic hypermethylation at the PTEN CpG island in cancer cell lines [J]. *Biol Proced Online*, 2012, 14(1): 1-8.
- [20] WU Y, WANG Y Q, WENG W W, et al. A serum-circulating long noncoding RNA signature can discriminate between patients with clear cell renal cell carcinoma and healthy controls [J]. *Oncogenesis*, 2016, 5(1): 1-7.
- [21] BLONDEAU J J, DENG M, SYRING I, et al. Identification of novel long non-coding RNAs in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Clin Epigenetics*, 2015, 7(1): 1-10.
- [22] CHERY J. RNA therapeutics: RNAi and antisense mechanisms and clinical applications [J]. *Postdoc J*, 2016, 4(7): 35-50.
- [23] SINGH M S, PEER D. RNA nanomedicines: the next generation drugs? [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2016, 39(1): 28-34.

(收稿日期: 2018-10-12 修回日期: 2018-12-06)