

主编 陈运贤 副主编 孟凡义 钟雪云

现代造血干细胞移植

广东科技出版社



R457.7

CYX

C.3

现代 造血 干细胞 移植

主 编 陈运贤
副主编 孟凡义
钟雪云



广东科技出版社
· 广州 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

现代造血干细胞移植/陈运贤主编. —广州: 广东科技出版社, 2004. 2

ISBN 7 - 5359 - 3387 - 4

I. 现… II. 陈… III. 造血干细胞 - 移植术 (医学) IV. R457.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 079140 号

出版发行: 广东科技出版社

(广州市环市东路水荫路 11 号 邮码: 510075)

E-mail: gdkjzbb@21cn.com

http: //www. gdstp. com. cn

经 销: 广东新华发行集团

排 版: 广东科电有限公司

印 刷: 广东邮电南方彩色印务有限公司

(广州天河高新技术工业园建工路 17 号 邮码: 510630)

规 格: 787mm × 1 092mm 1/16 印张 22.5 字数 540 千

版 次: 2004 年 2 月第 1 版

2004 年 2 月第 1 次印刷

印 数: 1 ~ 500 册

定 价: 110.00 元

如发现因印装质量问题影响阅读, 请与承印厂联系调换。

本书承

广东省科学技术厅资助出版

广东优秀科技专著出版基金会推荐

广东优秀科技专著出版基金会

顾问：钱伟长

(以姓氏笔画为序)

王 元	卢良恕	伍 杰	刘 杲
许运天	许学强	许溶烈	李 辰
李金培	李廷栋	肖纪美	吴良镛
汪家鼎	宋木文	宋叔和	陈元直
陈幼春	陈芳允	周 谊	钱迎倩
韩汝琦	焦树德		

评审委员会

主任：谢先德

委员：(以姓氏笔画为序)

卢永根	卢明高	伍尚忠	刘振群
刘颂豪	孙 玉	李任先	李宝健
张景中	张展霞	林浩然	罗绍基
庞雄飞	赵元浩	钟南山	容柏生
黄达全	黄衍辉	黄洪章	彭文伟
傅家谟	谢先德	蔡荣波	欧阳莲

主 编 陈运贤

副主编 孟凡义 钟雪云

编委 (按姓氏笔画排序)

马丽萍 王秀岚 王建民 王景文 兰炯采

艾辉胜 刘天浩 刘启发 刘绍基 刘 霆

孙 竞 孙艳花 陈安薇 陈 纯 陈惠珍

陈嘉榆 李纯富 吴祥元 杜 欣 陆 英

林旭滨 欧瑞明 钟立业 赵洪云 胡亮钉

郭坤元 原耀光 黄振倩 黄慧强 廖 灿

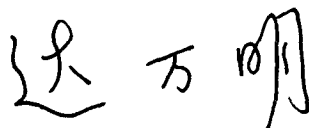
管慧红

序

造血干细胞移植是近半个世纪来临床医学重大进展的领域，随着相关基础医学（如免疫学、遗传学、分子生物学等）的持续深入研究与迅猛发展，对胚胎干细胞、成体干细胞及各种组织干细胞乃至对生命起源最基本规律的认识，不断促进临床造血干细胞移植理论与实践技术的精益求精和科学创新，目前已成为治愈恶性血液病最有效的方法，也是治疗某些免疫异常性疾病、遗传性疾病、代谢性疾病，尤其某些实体瘤和放射病的重要途径。

据统计目前全世界范围内每年进行异基因造血干细胞移植约3万例，自体造血干细胞移植约5万例，且每年以10%~15%的增幅发展。我国的造血干细胞移植由北京大学陆道培院士始于上个世纪的60年代，在80年代及其以后的时期发展较快并获得持续进展。目前其实验及临床研究进展十分迅速，经验与知识的积累不断增进，已在我国绝大多数省市医院相继推广，使许多患者从中受益，挽救了不少恶性病患者的生命。有关造血干细胞移植的专著已有一些相继出版，对进一步促进该领域的持续发展和广泛应用已经起到了积极的作用。由陈运贤教授任主编，孟凡义教授和钟雪云教授任副主编的《现代造血干细胞移植》的出版无疑对我国造血干细胞移植的理论研究和临床实践进一步起到推动作用。该书的编著者们大多工作在造血干细胞基础研究和临床应用的第一线，他们不仅在理论上有着深厚的造诣，在实践中也有着丰富的经验。该书较全面介绍了国内外有关造血干细胞移植基础与临床的最新理论、技术和进展，并阐述了作者自己的工作实践、经验与体会，是一部造血干细胞移植领域内的很好的参考书。我愿意将该书推荐给广大读者，也希望大家能进一步在实践中不断学习、刻苦钻研、总结经验、有所创新，开创我国造血干细胞移植的新局面，造福于人类的健康事业。

中国人民解放军总医院
中国人民解放军军医进修学院



2003年8月于北京

前 言

近年来, 生物医学技术发展迅猛。造血干细胞移植更是被誉为 20 世纪医学发展史上的一个里程碑。由于造血干细胞具有自我更新和分化的潜能, 能支持大剂量化疗, 重建造血与免疫功能, 尤其是在特定的微环境中可以横向分化, 故其应用研究具有划时代的意义。

造血干细胞是各种血细胞和免疫细胞的始祖, 担负着极其重要的生理功能。造血干细胞移植是骨髓移植、外周血造血干细胞移植和脐带血移植的通称, 是细胞治疗的一个重要组成部分。近几十年来, 造血干细胞生物学研究的迅速发展使造血干细胞移植已经成为治疗白血病、恶性实体肿瘤、遗传性疾病、严重免疫缺陷性疾病、急性放射损伤等疾病的重要手段之一, 其技术比较成熟, 在临床上已经挽救了成千上万血液病患者的生命。20 世纪 90 年代中后期, 大量研究又发现了血液干细胞的新的生物学功能, 即具有“可塑性”(plasticity)、“横向分化”或“跨系分化”(transdifferentiation) 潜能。1998 ~ 2001 年这类报道达到高潮, 不断见于 Nature、Science 及 Cell 等国际权威医学学术刊物。从发育生物学的角度讲, 只有胚胎干细胞(ES)才能分化为各种组织器官的细胞, 而属于“成体干细胞(adult stem cell)”的造血干细胞的分化潜能则具有局限性, 只能形成各种血细胞, 不能跨胚层或跨系分化。造血干细胞及其他成体干细胞的可塑性潜能的发现和由此产生的新技术为心脏病、周围血管性疾病、糖尿病、老年性痴呆症、帕金森病和脊髓损伤等疾病的治疗带来了“治愈”的希望。由于血液干细胞来源丰富, 取材方便, 在临床上治疗血液病和放射性疾病已开展了几十年, 外周血和脐带血造血干细胞移植也有十余年的历史, 临床实践证明其安全有效。血液干细胞可塑性潜能的发现拓宽了其应用范围, 有可能替代来源缺乏、培养困难的胚胎干细胞的某些功能, 成为再生医学领域实用、安全和应用广泛的治疗用干细胞。

为了进一步推动我国造血干细胞的研究, 更广泛地推广造血干细胞移植新技术, 使其规范、有效地为临床医师所应用, 让更多患者从这项技术中获益, 在广东省优秀科技专著出版基金会的资助下, 我们组织全国各地的专家、学者共同编写这本专著, 希望能较系统、全面、科学地向临床医师及研究人员介绍造血干细胞新理论和移植新技术。参加本书编写的作者大多是活跃在临床与基础研究第一线从事造血干细胞移植的著名专家、教授, 近十余年来分别主持国家、军队与省部级有关造血干细胞移植的科研课题, 其中包括有“973”、“863”、国家攀登专项计划、国家自然科学基金、军队“九五”与“十五”重点课题和美国中华医学会基金课题(CMB)在内的各级科研基金资助项目, 并多次主办全国、全军“造血干细胞移植”学术会议与承办国家级、省级“造血干细胞移植”医学继续教育讲习班。这些专家、学者具有丰富的实践经验, 熟悉国内外动态。此书以他们的专长经验为基础, 并结合国内外最新进展进行撰写, 故此也可以说此书是他们的经验结晶, 是他们在这一领域的研究成果, 希望能对读者有所裨益。

本书的编写得到著名血液病学家、全军血液学专业委员会主任委员、中国人民解放军总医院血液科主任、博士研究生导师达万明教授的亲切关怀和直接指导，并亲自作序，在此谨表衷心的感谢。在此也向资助本书出版的广东省优秀科技专著出版基金会及其学术委员会、工作人员表示深深的谢意。

由于造血干细胞基础与临床研究进展十分迅速，有关文献浩如烟海，加上我们学术水平有限，此书难免有不足和疏漏之处，祈望专家和读者予以批评指正，不吝赐教。

陈运贤 孟凡义 钟雪云

目 录

第一章 造血干细胞及其调控	1
第二章 不同种类造血干细胞的基本特性与应用	23
第一节 外周血造血干细胞的特性与应用	23
第二节 骨髓干细胞的特性与应用	27
第三节 脐血干细胞的特性与应用	31
第三章 造血干细胞的可塑性	38
第四章 基质细胞与造血干细胞移植	44
第五章 造血干细胞的获取与处理	49
第一节 外周血造血干细胞的动员、采集与保存	49
第二节 骨髓库建设与骨髓干细胞的采集	54
第三节 脐血干细胞的采集与脐血造血干细胞库	61
第四节 造血干细胞的检测与纯化	69
第五节 微小残留病的检测与净化	78
第六章 造血干细胞移植前准备及预处理	87
第一节 供受者准备	87
第二节 HLA 配型与移植植入监测	92
第三节 预处理方案及其应用选择	103
第七章 自体造血干细胞移植	114
第一节 概述.....	114
第二节 自体造血干细胞移植治疗白血病	116
第三节 自体造血干细胞移植治疗多发性骨髓瘤	125
第四节 自体造血干细胞移植治疗自身免疫性疾病	132
第五节 自体造血干细胞移植治疗恶性淋巴瘤.....	135
第六节 自体造血干细胞移植治疗乳腺癌	147
第七节 自体造血干细胞移植治疗小细胞肺癌.....	154
第八节 自体造血干细胞移植治疗尤文氏肉瘤.....	157
第九节 造血干细胞在肝脏疾患中的应用前景.....	160
第八章 异基因造血干细胞移植	169
第一节 概述.....	169
第二节 异基因造血干细胞移植治疗急性白血病.....	171
第三节 异基因造血干细胞移植治疗慢性粒细胞白血病	176
第四节 异基因造血干细胞移植治疗少见类型恶性血液病	180
第五节 异基因骨髓移植治疗地中海贫血	187

第六节	造血干细胞移植治疗再生障碍性贫血	192
第七节	肾脏疾患的造血干细胞移植	201
第八节	脐血造血干细胞移植的临床应用	205
第九节	ABO血型不合的造血干细胞移植	213
第十节	HLA半相合造血干细胞移植	216
第十一节	无血缘关系异基因造血干细胞移植	221
第十二节	非清髓异基因造血干细胞移植	226
第九章	多次造血干/祖细胞移植	242
第十章	主要移植相关并发症及其防治	249
第一节	感染	249
第二节	移植物抗宿主病	255
第三节	巨细胞病毒及相关性间质性肺炎	264
第四节	造血干细胞移植后肝静脉阻塞病	269
第五节	出血性膀胱炎	275
第六节	植入综合征	279
第七节	移植相关性血栓性微血管病	282
第八节	造血干细胞移植后白血病复发的治疗	283
第十一章	移植物动力学与供者淋巴细胞输注	289
第十二章	造血干细胞移植后的造血重建	294
第十三章	造血干细胞基因治疗	297
第十四章	造血干细胞移植与输血	305
第十五章	胃肠外营养支持在造血干细胞移植病人中的应用	311
第十六章	细胞因子在造血干细胞移植中的应用	316
第十七章	中医药在造血干细胞移植中的应用	330
第十八章	造血干细胞移植的护理	338

第一章 造血干细胞及其调控

干细胞 (stem cell) 是人体的起源细胞, 具有自我更新和多向分化潜能的能力。所谓自我更新即细胞通过有丝分裂产生的 2 个子代细胞仍具有分裂前的增殖和发育潜力。所谓多向分化, 即它们具有相同的向多种细胞发育的潜力, 只是由于单个干细胞所处的微环境不同, 受控于不同的调节系统才发育成不同的后代。干细胞由受精卵发育分化而来, 最初形成原始胚胎干细胞, 然后分化增殖为能形成人体各种组织的全能干细胞, 并逐步分化为亚全能、多能干细胞, 最终分化为具有特定功能的组织专能干细胞。早期胚胎中的原始生殖细胞具有广泛的发育潜力, 称全能干细胞, 它一旦分化为多能干细胞, 其分化就受限于所在的器官系统。严格说来只有受精卵最初几次分裂产生的子代符合上述标准, 它们具有发育成为机体中各种器官细胞的潜能, 称之为全能干细胞 (totipotent stem cell)。

在造血组织中, 存在有血液、血管和间质 3 种组织的干细胞, 分别称为造血干细胞 (hematopoietic stem cell, HSC)、血管干细胞 (angioblast) 和间质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC)。HSC 和血管干细胞又来自一共同的干细胞, 称原血干细胞或血液血管干细胞 (hemangioblast)。这些干细胞在胚胎早期集中在卵黄囊和主动脉-性腺-中肾区 (aorta-gonal-mesoneph site, AGMS), 出生后人体内哪些组织器官存在原血干细胞尚待明确。

造血干细胞的发生和迁移

造血干细胞是造血系统细胞的鼻祖, 它具有向各种髓细胞和淋巴细胞发育的潜能, 同时也具有一定的自我更新能力, 可通过移植重建受损的造血系统和免疫系统, 也称之为多能干细胞 (multipotent stem cell)。根据细胞发育的连续性, 多能的造血干细胞只是干细胞池的一个发育阶段, 它来自全能干细胞, 又通过增殖分化逐渐减弱其自我更新和分化潜能, 最终失去干细胞特征, 成为没有自我更新能力和发育方向限定的造血祖细胞。目前研究已证实多能的造血干细胞来源于全能干细胞。过去认为这种细胞只有向生殖细胞发育的能力, 称之为原始生殖细胞 (primordial germ cells, PGC)。以后许多研究发现 PGC 表达阶段特异性胚胎抗原 1 (stage specific embryonic antigen-1, SSEA-1), 是胚胎中唯一的碱性磷酸酶阳性细胞, 它们在体外培养增殖能力极强, 并能分化为许多不同的细胞类型, 包括造血细胞。研究结果证明无论来自胚外或胚胎的 PGC 都有发育成

造血细胞的能力，造血干细胞来源于发育中的胚胎。

由受精卵经数次分裂产生的全能干细胞在分化为胚胎和胚外结构的同时就开始向造血干细胞分化。多能造血干细胞首先见于胚外的卵黄囊血岛，其外层细胞分化为血管内皮细胞，它们逐渐变长，相互连接成原始的血管网，内层细胞则变圆，游离于发育中的原始血管网内，分化为最早的造血干细胞。人类胚胎发育过程中造血干细胞的发育极早，以后造血系统和免疫系统的形成有赖于这些干细胞的迁移、增殖和分化。一般按先后分为3期：①中胚叶造血期：依现有研究造血干细胞来自腹侧中胚层。中胚层是一种未分化的、自我更新的细胞，它为血液、肾、肌肉和脊索等组织提供干细胞。腹侧中胚层在一定条件下，诱导增殖和分化为造血干细胞，PAS/AGMS区是HSC起源的最早的重要位点，可以形成全部的各系造血。约于胚胎第16~19天，卵黄囊出现血岛，其中含中胚层间质细胞演化的最早的原始血细胞，主要分化为巨幼红样初级原始红细胞，合成Hb Gower-1或Hb Gower-2及portland。但卵黄囊造血是一过性的，大约胚胎第2个月后肝、脾取代其造血功能。②肝（脾）造血期：胚胎第5周出现肝窦，与卵黄静脉丛相连接，肝窦中首次出现血细胞及其前体细胞以幼稚红系细胞为主，为初级原始红细胞，后者又分化为次级原始红细胞及成熟红细胞，主要合成HbF及少量HbA1、A2。妊娠4~5个月的胎肝中含丰富的造血干细胞。此时粒系及淋巴细胞含量极少。胎儿第3个月左右脾脏参与短暂造血，主要产生粒细胞、红细胞和少量淋巴细胞，至第5个月脾造血渐减退，仅生成淋巴细胞。胎肝造血具有上升期（第15周前）、旺盛期（第15~23周）和减退期（第24周后），至出生时停止。肝造血为第2代造血。胸腺淋巴结也是一种胚胎造血组织，从胚胎第4个月开始出现造血灶，卵黄囊及骨髓迁徙来的造血干细胞经胸腺素诱导、分化为具免疫功能的T淋巴前驱细胞。淋巴结主要生成淋巴细胞及浆细胞。③骨髓造血期：胎儿各种骨骼的骨髓发育时间不一，参与造血时间也不同，大多数自妊娠第9~12周开始，至7个月时，红髓充满髓腔，骨髓成为主要造血器官并保持终生。人类骨髓中造血干细胞来自肝脏，栖居骨髓微环境中增殖分化。多能干细胞经血液循环迁移，不但保证了胚胎和胎儿造血器官的形成和变更，也是出生后机体的生理现象。

干细胞归巢(homing)机制是造血干细胞迁移的一个重要理论问题。造血干细胞在外周血或非造血器官中都不能正常发育，它由静脉移植经外周血液循环迁移进入受体后，最终将回归造血器官的一定位置，在骨髓内识别和定位并与造血微环境相结合，才能行使其增殖、分化、重建造血和免疫的生理功能。造血器官与血液循环之间的屏障是调节干细胞迁移和成熟血细胞释放的门户。电子显微镜观察结果证明骨髓中的血窦壁由内皮细胞、基底膜和膜外网状细胞构成，其中只有内皮细胞层是完整的。干细胞出入血窦必须穿过窦内皮细胞，这也是干细胞归巢的第一步，到达血窦外的干细胞还必须定位到能保持其静止状态或能进行自我更新或增殖的分子调节小区。许多实验结果证明，这些重要环节都涉及黏附分子和黏附分子受体的相互作用，以及细胞因子的趋化作用。一些糖蛋白的氨基多糖侧链上的半乳糖残基和甘露糖残基对干细胞黏附似乎具有高度选择性。由基质细胞生成的干细胞因子和基质细胞衍生因子1(stromal cell derived factor-1; SDF-1)对干细胞都有化学引诱剂(chemoattractant)作用。阐明这些问题可能更有效地

动员干细胞进入血流和提高干细胞移植后的植入率。

造血细胞迁移和定居与造血干细胞的动员及移植有着直接的关联。但其确切的机制还不十分清楚。目前认为造血细胞的迁移包括2个过程：①循环的造血细胞寻找并进入造血微环境适宜的“龕”（niche），从而定居于其中，即所谓的归巢。②正常造血细胞从造血微环境的“龕”中游出，进入外周血循环。如前所述，在这2个过程中涉及多种分子间的相互作用。造血细胞归巢的过程是复杂的。它首先需要造血细胞黏附于造血微环境中髓窦的内皮细胞，并穿过内皮屏障进入骨髓血管外间隙；随后，干细胞附着于骨髓基质细胞和细胞外基质上，并定居于其中。已有证据显示，造血细胞归巢的过程是由多步黏附的级联放大作用介导的，这种机制与炎症时白细胞进入炎症部位的机制类似，在这个过程中糖类的识别起着非常重要的作用。CD44和选择素都能与糖类结合，而骨髓造血微环境中的内皮细胞的表面表达具有高度组织特异性的复杂糖类结构（整合素），这些整合素可能介导造血细胞归巢到骨髓。抑制E-选择素与其唾液酸化配体的相互作用，可以延迟造血祖细胞与内皮细胞的结合；外周血干细胞表面L-选择素的表达则与移植后的造血恢复有关。实验证实在造血细胞的归巢过程中发挥作用的整合素主要有VLA-4、VLA-5和 β_2 整合素等，其中VLA-4可能在造血细胞对内皮细胞的黏附中发挥着重要的作用。除了特定的骨髓内皮细胞受体参与造血细胞归巢外，可能还有许多未知的造血细胞表面黏附分子参与这个过程，这是因为利用已知黏附分子抗体的混合物只能抑制60%~70%造血细胞与内皮细胞的结合。

造血干/祖细胞也可以释放到外周血，故此可收集外周血造血干/祖细胞进行同基因或异基因外周血造血干细胞移植。对小鼠血液和骨髓中CFU-S的观察结果证明血液和骨髓中的干细胞处于动态平衡，血液中干细胞的半清除时间约6min，从其血容量和血中CFU-S的浓度计算，发现小鼠全血中的干细胞的更换率为 $0.14 \times 10^3/h$ 。该实验结果为从外周血中采集造血干细胞进行外周血干细胞移植提供了可行性依据。正常情况下为何外周血中会有一些数量的造血干/祖细胞的机制尚不清楚，可能是造血干/祖细胞正在向其他部位造血微环境的“龕”迁移过程的中间阶段。利用一些化疗药物和（或）HGF可以增加外周血中造血干/祖细胞的数量，这一过程被称为造血干细胞动员。目前认为造血干细胞动员的机制为：①改变或阻断造血干/祖细胞黏附分子的表达。多项研究表明，GM-CSF动员的造血干/祖细胞表面VLA-4、VLA-5、LFA-1和LFA-3的表达降低，而ICAM-1、CD44和CD31的表达没有改变。②骨髓基质或窦内皮细胞的功能完整性发生改变，这可能导致细胞跨血-髓屏障的迁移失去控制。③增加细胞的增殖或抑制其凋亡，从而干扰造血干/祖细胞的群体动力学，使得造血干/祖细胞溢出到外周血。

造血微环境是造血细胞赖以生存的场所，不论在胚胎期还是在出生后，造血细胞迁移和定居的过程便是造血细胞寻找适宜的造血微环境并停留在其中的过程。造血细胞进入适宜的造血微环境后，便与造血微环境中的成分相互作用，从而启动造血细胞的增殖和分化并保持造血干/祖细胞的长期造血重建能力。可能通过以下途径：①黏附分子与相应配体结合引起信号转导，影响造血细胞的行为。②细胞因子（如SCF、IL-3）产生传出信号。③造血微环境中HGF以活化形式结合于HME上，又以膜结合形式和可溶性形式存在。形成“龕”局部的HGF富集，介导造血细胞黏附及调节其增殖和分化。

归巢的机制目前尚未完全清楚，以前研究认为归巢是一个高度选择性和特异性的过程，可能存在以下机制：①骨髓造血微环境的机械性捕捉。②骨髓对 HSC 的生存优势选择。③归巢受体及细胞 CAM 与相应配体特异识别作用。新近，Jisong 等分别采 In、PKH-26 荧光染料和转基因标记骨髓细胞追踪研究回输后在小鼠体内造血组织（骨髓、肝、脾）和非造血组织（肾、肺、肌肉、心脏）的分布，结果显示回输后 3h 骨髓细胞即离开血循环进入上两类组织中，回输后 24h 较 4h 两组组织中的分布均明显增加，意外的是非造血组织增加比例等于或者高于造血组织，但 48h 后造血组织仍有较高水平分布，而非造血组织分布则显著下降。提示造血细胞归巢早期可能存在组织非特异性选择途径，推测只有那些归巢于骨髓的造血细胞因适宜造血微环境的支持才能进一步增殖、分化。目前多数学者认为受-配体特异性识别在归巢中起重要作用，研究表明 HSC 归巢是一个多步骤级联效应过程，涉及 CAM 受体与配体识别作用、细胞与细胞直接接触、细胞因子与细胞作用等。其基本途径如下（见图 1-1）：①HSC 借助 CAM 与髓窦微血管内皮细胞结合，并穿过内皮屏障进入血管外间隙骨髓造血微环境。②HSC 进一步通过 CAM、细胞因子的介导识别、结合并牢系于骨髓造血微环境的基质细胞和细胞外基质（ECM），进行增殖、分化。

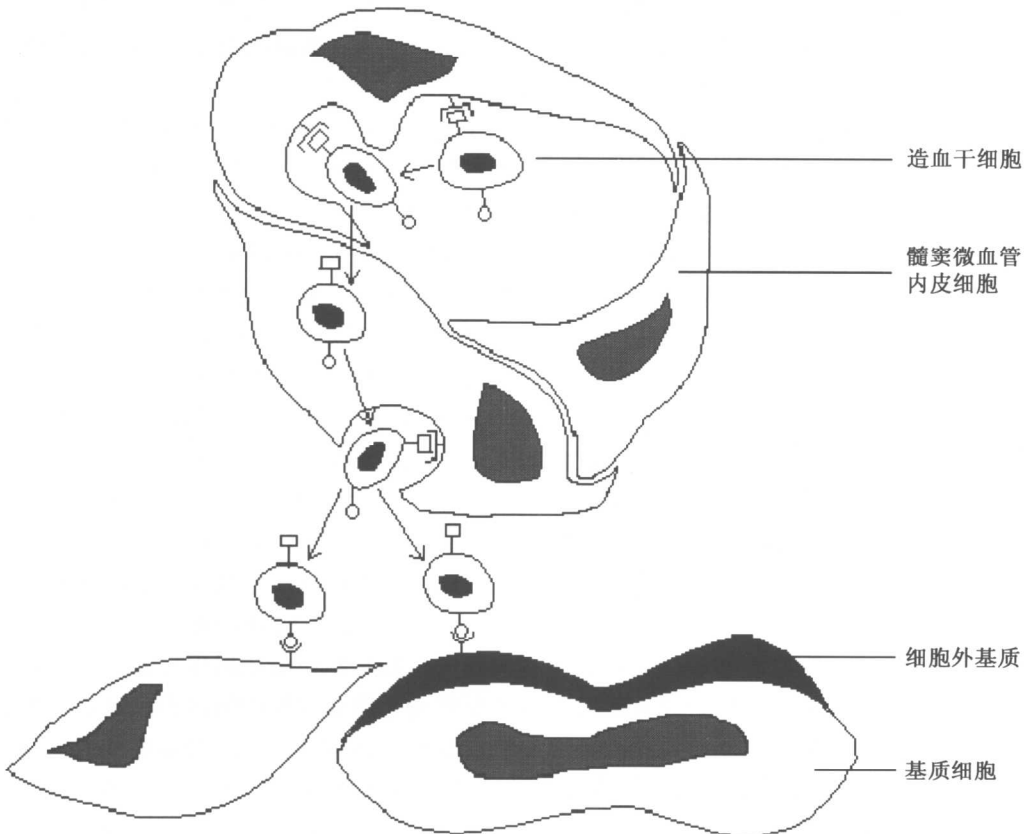


图 1-1 HSC 归巢基本途径

骨髓微血管内皮细胞分离体外培养及骨髓长期培养技术为 HSC 归巢机制的研究提供了近似的体内造血模型, 采用单克隆和免疫组化技术证实 HSC 定居骨髓与细胞表面 CAM 表达密切相关。CAM 是一类膜表面糖蛋白, 为 I 型穿膜蛋白, 能与相应配体结合介导 HSC 与窦内皮细胞、基质细胞和 ECM 之间黏附, 常态骨髓 CD34⁺ 细胞表面有多种 CAM 表达。已知的 CAM 主要包括: 选择素家族 (selectin): P-、E-、L-selectin; 整合素家族 (integrin): VLA-4、VLA-5、LFA-1、MAC-1; 免疫球蛋白超家族 (immunoglobulin superfamily): VCAM-1、PECAM-1; CD44 分子家族; CXCR 等。Schweitzer 等研究人骨髓微血管内皮细胞 CAM 配体表达发现, L-selectin、VLA-4 相应配体 E-selectin 和 VCAM-1 的蛋白和 mRNA 表达水平明显高于脾脏、淋巴结、肝脏等器官血管内皮细胞, 用抗 E-selectin 单抗能完全阻断 HSC 与内皮的结合, 提示 L-selectin 与 E-selectin 相互作用在 HSC 与骨髓微血管内皮细胞识别结合过程中起重要作用。

造血干/祖细胞穿过髓窦内皮细胞屏障是成功归巢的关键步骤。Yong 和 Voermans 等在体外研究动员人外周血 (MPB) CD34⁺ 细胞和 UCB CD34⁺ 细胞跨髓窦内皮细胞迁移的实验中, 用抗 LFA-1、抗 PECAM-1 单抗可阻止跨内皮移动达 50% ± 18%、70.8% ± 7.1%, 抗 β₁-、β₂- integrin 单抗也存在抑制作用, 而抗 CD34、抗 E-selectin 对此无影响, 说明 HSC 跨内皮屏障存在与结合内皮细胞不同的 CAM 机制, 主要有 LFA-1、PECAM-1 介导了这一过程。HSC 跨内皮屏障后与造血微环境的结合包括起始和牢固结合 2 个步骤: 研究证实 HSC 表面内源性凝集素 (Lectin) 与基质细胞上半乳糖基 (Gal-) 和甘露糖基 (Man-) 特异性结合启动 HSC 与造血微环境的结合。Lectin 又称为归巢受体, 主要表达在多能造血干细胞和早期造血祖细胞上, 在 CFU-GM 也有一定表达, 而成熟细胞则缺如。Cheryl 等在体内和体外实验中, 以 Gal-BSA 和 Man-BSA 探针预处理可显著抑制骨髓长期培养体系中 CFU-S、CFU-GM 的生长及移植后造血重建, 以 Fuc-BSA 预处理未见有抑制效应, 说明 Lectin 与 Gal/Man 特异性识别在 HSC 与基质细胞结合和重建造血过程密切相关。VLA-4/VCAM-1 在 HSC 与造血微环境的基质细胞和 ECM 进一步牢固结合中占最主要的作用。动物移植实验中, Papayannopoulou 等发现抗 VLA-4 单抗、抗 VCAM-1 单抗可分别抑制 CFU-S₁₁、CFU-C 归巢于骨髓程度达 48% ~ 54%、54% ~ 71%, 两者合用有协同效应, 而用单抗作用于正常小鼠, 则显示出 HSC 动员效果。其后, Vermeulen 等也得出类似结论。事实上, HSC 与造血微环境的牢固结合并不单纯依赖 VLA-4/VCAM-1 途径, 目前一般认为其他 CAM 如 ICAM-1、ICAM-5、LFA-3 及 CD44 等也参与两者的进一步结合。

不同来源 HSC 其表面所表达的 CAM 种类和强度也不尽相同, 这有助于部分解释它们各自不同的移植特性。Timeus 等比较脐血 (CB) 与骨髓 (BM) 来源 HSC 中 CD34⁺ 细胞亚群比例及其表面 CAM 表达, 结果显示 CD34⁺ CD38⁻ 细胞含量 CB 明显高于 BM, CD34⁺ CD38⁺ 细胞含量则前者低于后者, L-selectin、CD44、LFA-3 的表达在 BM CD34⁺ CD38⁺ 细胞群明显高于 CB, 而在 CD34⁺ CD38⁻ 细胞群 L-selectin 和 LFA-3 的表达 CB 占优势, 提示脐血移植 (UCBT) 时归巢的造血细胞更原始, 长期重建造血能力强于 BM, 短期重建造血能力弱于 BM, 这也是 UCBT 后造血恢复延迟的一个原因。Dercken 等临床研究发现 CD34⁺ L-selectin⁺ 细胞群比单纯 CD34⁺ 细胞在外周血造血干细胞移植

(PBSCT)的血小板恢复时间更具有相关性(r 分别为 -0.86 、 -0.55 , $P < 0.01$)。Watanabe等也证实在自体骨髓移植(BMT)和PBSCT中,中性粒细胞和血小板的恢复时间与输注 $CD34^+L-selectin^+$ 细胞数或 $CD34^+CD44^+$ 细胞数的相关性明显高于单纯 $CD34^+$ 细胞数和CFU-GM量,且与 $CD34^+L-selectin^+$ 细胞的相关性强于 $CD34^+CD44^+$ 细胞。同时还发现,以GM-CSF动员的人外周血 $CD34^+$ 细胞 $L-selectin$ 和 $CD44$ 表达明显高于BM,可见PBSCT后造血恢复快亦与HSC表面 $L-selectin$ 、 $CD44$ 表达高,HSC易于归巢有关。

造血干细胞的特征和识别

尽管随着分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物化学及实验动物学的不断更新发展,人们对造血干细胞与造血祖细胞有了更深刻的理解,但目前造血干细胞和造血祖细胞在形态上还不能与淋巴细胞进行区分,故早期对造血干细胞与造血祖细胞的性能研究多是在分离单个核细胞(MNC)的基础上进行的。造血干细胞及其子代细胞在增殖分化过程中出现不同分化程度的分化抗原,随着各种技术的迅猛发展,现已可以从表面标志上对其分离、纯化。造血干细胞与造血祖细胞两者有严格的区分。在生理条件下,造血过程实际上是造血干细胞与造血祖细胞增殖、分化、形成血细胞的动态平衡过程,造血是以造血干细胞及造血祖细胞的活动为主。造血干细胞是造血祖细胞的来源。两者的区别在于:造血干细胞有高度自我更新和自我维持的能力,但不能扩增;造血祖细胞则有高度扩增能力,部分地(早期造血祖细胞)以至全部地(晚期造血祖细胞)丧失自我更新和自我维持能力。造血干细胞靠自我更新和自我维持使自己永不消亡;而造血祖细胞则因分化到终末而必然凋亡。因此,造血干细胞能够在体内长期或永久地重建造血,而造血祖细胞则不能。造血干细胞在分裂过程中自己并不扩增,而是不断产生造血祖细胞;而造血祖细胞则边增殖边分化来维持成熟血细胞的数量。所以,造血主要依靠造血祖细胞来扩增。正常造血干细胞只进行不对称有丝分裂。一个造血干细胞进行分裂所产生的2个子细胞,其中只有一个子细胞立即分化为造血祖细胞,而另一个子细胞则保持造血干细胞的所有特征不变。造血干细胞的自我更新决定了它不能自我扩增,而只能维持一定的数量。

造血干细胞没有明确的形态学特征,都表现为淋巴细胞样的单个核母细胞,这给干细胞的识别和检测带来了困难。1961年Till和McCulloch首先通过脾的克隆形成实验(colony-forming-units spleen, CFU-S)证实造血干细胞具备分化多个血液细胞的能力,表明骨髓的造血前体细胞具有自我更新能力。接着McGregor等证实了淋巴细胞是获得性免疫的基础。Miller等研究表明胸腺对淋巴细胞的一个亚群即胸腺来源的细胞或T细胞的发育是必需的。到20世纪80年代,随着细胞因子的发现和细胞因子基因重组产物的应用,人们利用细胞培养的方法在体外观察细胞的发育能力,从而出现了一系列检测各种造血祖细胞和干细胞的方法,其中能形成混合细胞集落的细胞(CFU-mix)被认为是造血干细胞。但是上述观察方法检出的都不是最早的多能干细胞,只能部分满足多能造血干细胞自我更新和多向分化这2个特征。Dexter等首先报道了在小鼠骨髓长期培