

达万明 主编

# 自体造血干细胞移植

---

AUTOLOGOUS

HEMATOPOIETIC

STEM CELL

TRANSPLANTATION

甘肃科学技术出版社

# 自体造血干细胞移植

## AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

主编：达万明

编者：(按姓氏笔划为序)

王存邦	王燕宁	白海
达万明	刘源	吴晓雄
欧英贤	钟建庭	钱其军
曾昭铸		

甘肃科学技术出版社  
1995年5月

(甘)新登字第 05 号

## 内 容 提 要

近 20 年来,自体造血干细胞移植的技术有了很大的发展,在许多恶性血液病和实体瘤的治疗中广泛应用,已成为这些疾病有效的根治性方法之一。本书根据国内外的最新进展,全面、系统地论述了自体造血干细胞移植的基础研究与临床应用,是国内迄今唯一的有关自体造血干细胞移植治疗的专著。全书共 20 章,介绍了造血细胞及其生长调控、自体骨髓移植技术、微小残留病的检测与体外净化、移植前预处理方案、移植物抗肿瘤效应、造血生长因子的应用,以及用自体造血干细胞移植治疗各类恶性血液病和实体瘤的临床应用、支持治疗、移植后近远期并发症的防治等。本书内容丰富,取材新颖,图文并茂,融科学性与实用性为一体,可供各层次医师及研究人员学习、教学时参考。

2697/11

### 自体造血干细胞移植

达万明 主编

甘肃科学技术出版社出版发行

(兰州第一新村 81 号)

甘肃省地震局印刷厂印刷

开本 787×1092 毫米 1/16 印张 16.5 插页 1 字数 354,000

1995 年 5 月第 1 版 1995 年 5 月第 1 次印刷

印数:1—3,000

ISBN 7-5424-0559-4/R·153 定价:29.50 元

## 序

喜读达万明主任主编的“自体造血干细胞移植”一书，这是一本系统论述自体造血干细胞移植的基础与临床的好书，阅后联想翩翩。

自体造血干细胞移植所以有今日的成绩是与多少人在多年中的努力与所花心血分不开的。当然，在国内还有达万明等人的披荆斩棘的努力。遥想早在60年代的初期我和同事们就以极大的热情进行着自体骨髓移植，当时类似的工作在世界上还是很少的，可惜那时化学治疗并不发达，化疗药品缺乏，骨髓冷冻保存的技术亦未在临床应用，所以其疗效并不持久。更为遗憾的是随后而来的极左思潮与政治动乱，使废寝忘食地工作的医生们所得到的并不是一丝鼓励地微笑，却是不公正的大批判。但是个人的委屈事小，而正处于萌芽状态的自体骨髓移植亦完全停止。如果一直有正确的政策指引，中国的自体骨髓移植当能领先于国际水平。

自1985年起国外的自体造血干细胞移植数量有明显地增加。在美洲仅1992~1993一年间的不完全统计即有5,496例，而其中占首位的乃恶性淋巴瘤和乳腺癌，急性白血病和多发性骨髓瘤等次之。相信，随着技术与药物的不断进展，其适应症与疗效亦会不断扩大和改进。顺便要说明的是：实际上，非常纯化的造血干细胞移植在临床上尚未正式试用。目前，只是骨髓和外周血中造血干细胞与其他不同成熟阶段白细胞的混合物。因此国外目前的学会名称有“自体血液与骨髓移植登记组（ABMTR）”及“国际血液治疗与移植物工程学会（ISHAGE）”。

达万明非但聪颖好学，而且长期以来既在临床一线工作，又对有关造血干细胞移植的基础实验亲手操作。在这两方面都有深厚的基础与经验，因此本书非但博采众书之长，而且还有自己独到的经验，特将此书推荐给大家。希望我国的自体干细胞移植能发展更快。



中华医学会副会长  
北京医科大学血液病研究所所长

## 前言

造血干细胞移植可谓血液学领域一项划时代的技术。理论与实践证明,用HLA相合同胞做供髓者的异基因骨髓移植的疗效最好。然而,在获完全缓解的白血病人群中,约三分之一可找到适当供者,除去年龄等因素,最终仅约十分之一患者从中得益。特别在我国单子女家庭逐渐普及,由HLA相合同胞做供者的机会将越来越少,因而,国内外血液学专家开始把重点放在研究自体骨髓移植方面。1984年,我在澳大利亚研修时,自体骨髓移植仅在世界为数不多的中心内开展,但发展很快。1989年我到国际自体骨髓移植协作登记中心所在地法国巴黎客座研究时,在该组织登记的白血病病例已达2500余例,至1993年底已达万余例。期间北美、亚太等国际性协作组织相继成立,自体外周血干细胞移植也迅速发展。这使自体造血干细胞移植(包括自体骨髓移植和自体外周血干细胞移植),在基础研究和临床应用方面都积累了丰富的知识和经验。尽管国内自体造血干细胞移植起步较晚,仍取得了可喜的进步,目前全国已有24个省、市、自治区的60多所医院开展了这一工作,并且在基础领域和临床方面都进行了深入研究,建立了一些符合我国国情的治疗策略和方案。但由于种种原因,无论是这一技术的普及程度或是基础研究,我们与国外先进水平尚有一定差距。基于以上考虑,为加快我国自体造血干细胞移植技术的发展,在有关部门和同仁们的建议支持下,我们参考国内外的最新资料,结合自己的工作实践,尝试编著了本书。在力求内容新颖、突出实用、注重理论和实践相结合的同时,提出了一些问题,探讨了自体干细胞移植未来发展的方向。当然,正如攻克肿瘤非一朝一夕之功那样,自体干细胞移植亦非一项完美无缺的技术,无论从理论的范畴,还是实践的角度,都需要有新的提高和发展。相信,只要有一代又一代血液学工作者不懈的努力,人类攻克恶性血液病的美好愿望终将成为现实。这也是作者编著该书的初衷。“尺有所短,寸有所长”,谨陈粗浅之见如上,聊备一家之说。因本书章节非出自一人之手,各人学术水平不一,谬误自当难免,恳请专家学者不吝赐教。

参加本书编著的各位学者对本书的出版付出了辛勤的劳动;我国著名血液学专家陆道培教授十分关心本书的编著,并在百忙之中为该书写了序;在编写过程中兰州军区总医院不少同志,特别是王连喜、韦晓红和刘芳等同志及《甘肃医药》杂志主编杨增勇同志给予了大力协助,在此一并致以深深的谢意。

达万明

1994年12月于兰州

## 目 录

- 第一章 造血与其调控 ..... 达万明 (1)
- 第二章 自体骨髓移植的适应症和基本技术 ..... 钟建庭 (16)
- 第三章 骨髓造血细胞的分离及保存 ..... 白海 (25)
- 第四章 自体骨髓中残留白血病细胞的体外净化 ... 达万明 刘源 (42)
- 第五章 微小残留白血病的检测 ..... 白海 (55)
- 第六章 自体骨髓移植的预处理 ..... 王存邦 达万明 (72)
- 第七章 自体骨髓移植治疗急性白血病 ..... 达万明 (87)
- 第八章 自体骨髓移植治疗恶性淋巴瘤 ..... 钟建庭 达万明 (106)
- 第九章 ABMT 治疗慢性髓性白血病及多发性骨髓瘤 ..... 曾昭铸 (118)
- 第十章 自体骨髓移植在实体瘤治疗中的应用 ..... 钱其军 (135)
- 第十一章 自体骨髓移植的并发症及防治 ..... 钟建庭 (142)
- 第十二章 骨髓移植患者的肝静脉闭塞病 ..... 达万明 (156)
- 第十三章 自体骨髓移植后的造血与免疫功能重建 .....  
..... 刘源 达万明 (162)
- 第十四章 肿瘤细胞的耐药性与自体骨髓移植 ..... 吴晓雄 (169)
- 第十五章 移植物抗白血病效应与自体骨髓移植 ..... 白海 (180)
- 第十六章 现代成分输血及在自体骨髓移植中的应用.....  
..... 白海 欧英贤 王燕宁  
(194)
- 第十七章 造血因子在自体骨髓移植及血液病中的应用 ..... 吴晓雄 (205)
- 第十八章 自体外周血造血干细胞移植的临床应用 ..... 欧英贤 (218)
- 第十九章 自体骨髓移植的全环境保护治疗 ..... 欧英贤 (234)
- 第二十章 造血干细胞自体移植研究的展望 ..... 达万明 (245)
- 英文缩写和简写词表 ..... (248)

# CONTENTS

Foreword .	
Preface	
Hemopoiesis and its regulation .....	(1)
Techniques and methods of hemopoietic stem cell autografting and its indications .....	(16)
Separation and cryopreservation of hemopoietic stem cells in vitro .....	(25)
Purging of residual tumor cells in autografts in vitro .....	(42)
Assay of residual tumor cells in autografts .....	(55)
Conditioning regimen for hemopoietic stem cell autotransplantation .....	(72)
Autologous bone marrow transplantation in acute leukemia .....	(87)
Autologous bone marrow transplantation in malignant lymphoma .....	(106)
Hemopoietic stem cell autotransplantation in chronic myelocytic leukemia and multiple myeloma .....	(118)
Autotransplantation in treatment of other solid tumors .....	(135)
Prophylaxis and treatment of complications in hemopoietic stem cell autografting .....	(142)
Hepatic veno—occlusive disease in hemopoietic stem cell autotransplantation .....	(156)
Reconstitution of hemopoietic and immunologic functions after marrow autotransplantation .....	(162)
Drug resistance of tumor cells and marrow autotransplantation .....	(169)
Effects of graft versus tumor and marrow autotransplantation .....	(180)
Blood component therapy and its applications to hemopoietic stem cell autotransplantation .....	(194)
Hemopoietic cytokines in hemopoietic stem cell autotransplantation .....	(205)
Autologous peripheral blood stem cell transplantation .....	(218)
Total environmental protection in hemopoietic stem cell autotransplantation .....	(234)
A prospect .....	(245)

# 第一章

## 造血与其调控

△达万明

### 第一节 血细胞的生成

造血是机体生命活动的重要部分。血细胞包括红细胞、白细胞及血小板。一个健康个体在一生的生命活动中,始终能够保持体内有相对恒定的血细胞数量。根据造血细胞动力学估算,一个健康成人每天约生成  $20 \times 10^{10}$  红细胞,  $11.5 \times 10^{10}$  中性粒细胞,  $12 \times 10^{10}$  血小板,这些细胞的总量约重 200 克。也就是说,造血组织不断地生产新的血细胞用以替换那些衰老退化的血细胞。造血是如何发生的? 机体又是如何如此精密调控造血的? 随着科学技术的发展,在血液学研究中引入了细胞生物学、生物化学和免疫学研究的新的理论与技术,特别是近年来分子生物学研究技术的渗透,使造血与造血调控的知识日新月异。

正常人体血细胞的生成可分为出生前及出生后造血两个阶段<sup>(1)</sup>。

#### 一、出生前造血期

此期为胚胎与胎儿造血,其造血活动可分为中胚叶(胎盘、卵黄囊)造血期(1~2个月)、肝、脾造血期(2~6个月)、骨髓造血期(4个月开始直至出生)等3个阶段(图1.1.1)。

##### 1. 中胚叶造血期

胚胎期最先出现的造血点是卵黄囊,大约在胚胎第19天卵黄囊壁上的中胚层间质细胞(mesenchymal cell)即开始分化聚集成细胞团,称之为血岛(blood island)。血岛外周的细胞逐渐变长,分化为血管壁的内皮细胞;中间的细胞变圆,彼此分离,分化为最早的造血细胞,称为原始血细胞(hemocytoblast)。这种细胞进一步分化,其中大部分细胞的胞浆中出现血红蛋白,成为初级原始红细胞(primitive erythroblast)。此类细胞的形态为大的有核红细胞,有类似巨幼红细胞的核。这种细胞中合成的特殊血红蛋白称为Hb Gower-1,或Hb Gower-2。大约胚胎第2个月后,卵黄囊萎缩退化,由肝、脾取代其造血功能。



## 2. 肝、脾造血期

在胚胎第2~6个月,造血逐渐转移到肝脏和脾脏。此时肝脏上皮细胞与内皮细胞之间有散在的间质细胞,它们不但能分化为初级的原始红细胞,而且能分化为次级的原始红细胞(definitive erythroblast)。这些细胞逐渐发育为成熟红细胞,经血窦进入血液。这时,在幼红细胞中合成的血红蛋白则为Hb F,还有少量的HbA<sub>1</sub>、Hb A<sub>2</sub>。利用造血干细胞技术对胎儿肝脏测试的结果表明,在妊娠4~5个月的胎肝中含有丰富的造血干细胞。虽然在胚胎第3~5个月的肝脏中可见大量的不同发育阶段的红系细胞,粒系细胞的含量极少,但不能忽视或排除胎肝造血细胞分化为粒系细胞的潜能。

在胎儿第3个月左右,脾脏也参与短暂的造血,主要生成红细胞、粒细胞、淋巴细胞和单核细胞。在妊娠第5个月之后脾脏造血功能逐渐减退,仅生成淋巴细胞。

## 3. 骨髓造血期

自妊娠第4~5个月起,在胎儿的胫骨、股骨等管状骨的髓腔内,骨小梁的静脉窦附近开始制造幼红细胞,而离静脉较远处制造粒细胞。随着胎儿的发育,骨髓造血功能迅速发展,幼红细胞的造血灶离开骨小梁的表面,与邻近的白细胞造血灶一起混合增生,成为红细胞、粒细胞和巨核细胞的主要生成器官。近年来研究的结果表明,人类骨髓中的造血干细胞来自肝脏,骨髓腔为这些细胞栖居、增殖和分化提供了适宜的微环境。

从第4个月开始,胸腺及淋巴结也出现造血灶。胸腺生成淋巴细胞,到出生后仍保持此功能。胸腺中的淋巴干细胞来自卵黄囊和骨髓,它经胸腺素的诱导,分化为具免疫功能的T淋巴前驱细胞,这一诱导过程在胎儿后期即已完成。淋巴结则生成淋巴细胞和浆细胞,早期也参与红细胞的制造。淋巴结中多能造血干细胞来自胚胎肝脏和骨髓,淋巴干细胞也可来自胸腺。

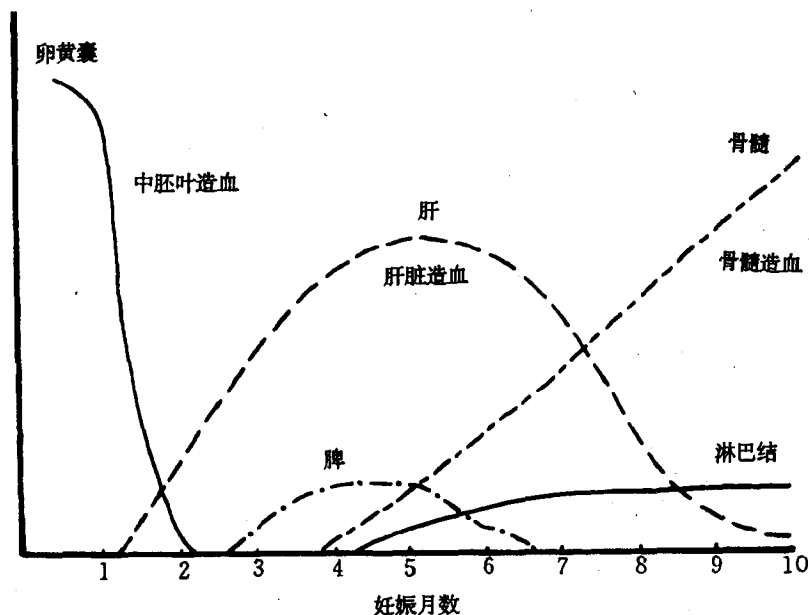


图 1.1.1 出生前的3个造血期

## 二、出生后的骨髓造血

出生后从幼儿至成人骨髓造血经历了不同的变化。出生时除指趾骨外,全身骨髓腔充满红骨髓,具有活跃的造血功能。5~7岁时,在管状骨的造血细胞之间开始出现脂肪细胞。随着年龄的增长,管状骨中红髓的范围逐渐减少,脂肪组织逐渐增多,骨髓变为黄色,称为黄髓,这一过程是向心性的。黄髓中虽已不再造血,但仍保留着潜在的造血功能。成年时造血的红髓限于胸骨、肋骨、脊椎骨、颅、髌骨以及股骨和肱骨的近端。红髓约占骨髓总量的一半,以后红髓造血的功能持续终身,但其活跃的程度可随年龄的增长而稍有减低(图 1. 1. 2)。此外,出生后的血红蛋白也经历了不同的变化。HbF 逐渐减少,Hb A 逐渐增多,到出生 6 个月后,主要为 HbA,仅有少量的 Hb A<sub>2</sub> 及 Hb F,接近成人的血红蛋白成分。

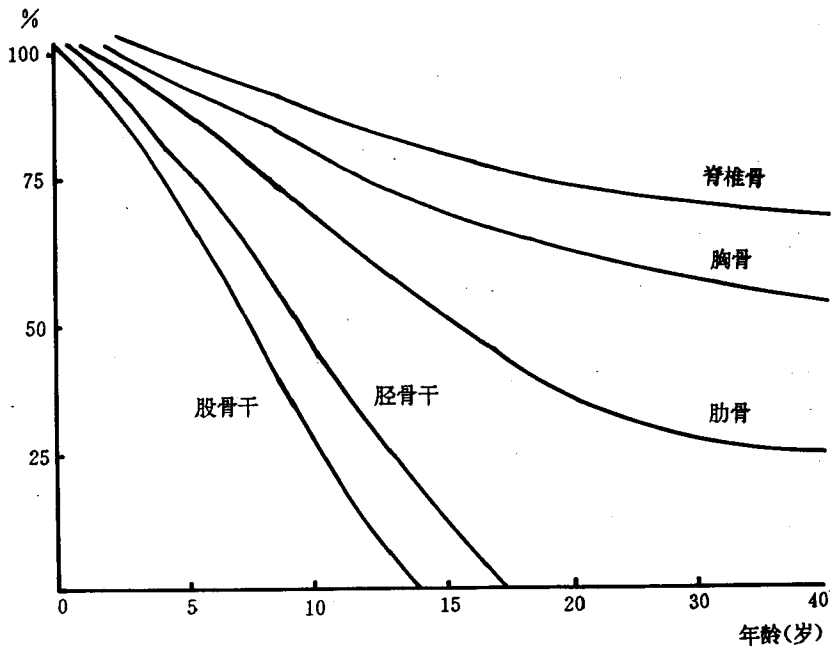


图 1. 1. 2 出生后不同年龄时期红髓的相对量

## 第二节 造血细胞

造血细胞是骨髓组织中的造血实质细胞,包括造血干细胞、祖细胞及各系前体细胞等。各种造血细胞都由造血干细胞增殖分化而来。造血干细胞在骨髓中的数量很少,它靠自我更新来维持干细胞池的数量恒定,同时干细胞也可进一步增殖分化成为各系祖细胞,后者再逐渐增殖分化,成为形态可辨认的各系前体细胞及各种成熟血细胞(图 1. 2. 1)。

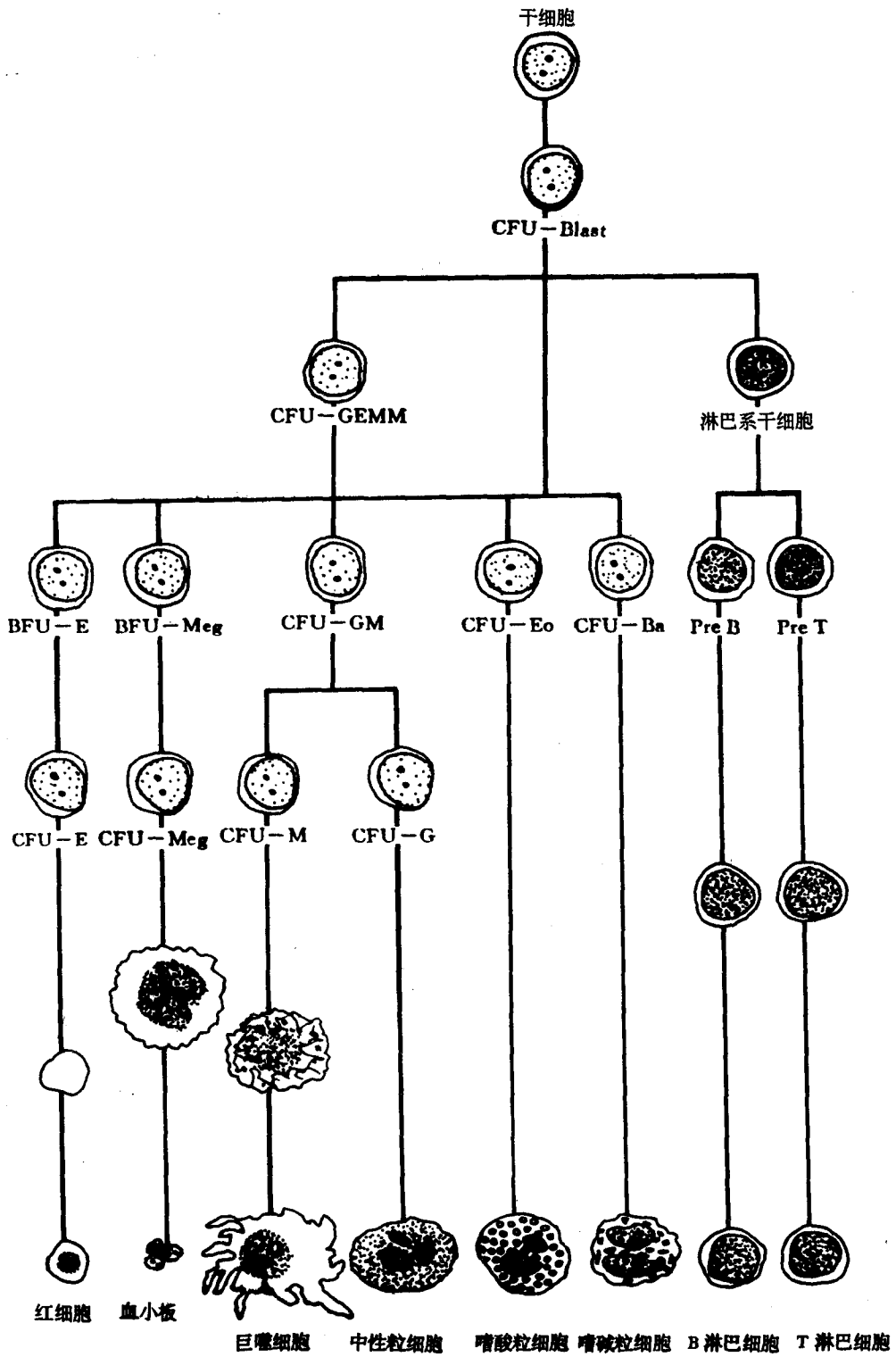


图 1.2.1 造血干细胞增殖分化示意图

## 一、造血干细胞<sup>(2~4)</sup>

利用电离辐射诱发染色体畸变作为细胞标志的研究,一致认为造血组织中存在着一类兼有淋巴系细胞和髓系细胞分化能力的多能造血干细胞,称为多能造血干细胞(pluripotent hemotopoietic stem cell, PHSC),或淋巴-髓系干细胞。

多能造血干细胞是骨髓中从卵黄囊全能间叶细胞分化来的最原始的造血细胞,它具有高度自我更新或自我复制的能力,并有进一步分化为各系祖细胞的能力。造血干细胞经有丝分裂后,正常稳定状态下约半数子细胞仍保持干细胞的全部特性称为自我更新。通过自我更新使干细胞池的大小维持不变,且这种功能可一直保持到正常健康机体的生命终了。另一方面,干细胞在有丝分裂过程中,可能基因发生重排或易位,使细胞特征发生改变而走上逐渐分化的途径。通过干细胞的这种向各系祖细胞分化的功能,从而维持了机体的正常造血,保证了机体在生命过程中对各类细胞的需要。利用造血干细胞这两个重要的基本特性,临床上应用造血干细胞移植技术治疗各种疾病,并使正常造血功能得以重建。

### 1. 高度自我更新能力

如前所述,干细胞经过无数次的有丝分裂,基本上保持亲代细胞的所有特征,这种自我更新的能力维持于正常机体的全部生命时间,保证体内干细胞数量不变,即为干细胞的高度自我更新能力。在多次不断的有丝分裂后,干细胞的自我更新能力会有所减弱,但正常情况下,这种减弱有一定的限度,且仅在应激情况下才表现出来,并不影响继续维持干细胞池的大小。造血干细胞的自我更新率在正常情况下必须为 0.5,即分裂后的子细胞只有半数保持干细胞的特性,而另一半离开干细胞池进入增殖分化池。如果二者失去平衡则会导致病理性造血。观测和证明干细胞自我更新的方法有:①小鼠脾结节再植法;②在体外培养中长期维持造血;③体内造血干细胞移植后能永久性的重建造血。临床上的骨髓移植实际上是造血干细胞的移植,而造血祖细胞只能维持短期的造血。

### 2. 多向分化功能

应用细胞克隆源性试验(clonogenicity test),包括染色体标志法、显微操纵单细胞培养及同功酶检测法等,证明 PHSC 不但能分化为髓系造血干细胞,进而增殖分化为红、粒及巨核系祖细胞,而且也是淋巴系干细胞的起源。近年来亦有证据表明造血干细胞也能产生某些非造血细胞,如破骨细胞、表皮生发层星状细胞(langerhans cell)等。Katz 证明移植骨髓重建造血的宿主中 80%的表皮 Langerhans 细胞带有供者的标志。以上事实说明造血干细胞分化的多向性。

### 3. 人类造血干细胞的发现

由于造血干细胞的定义基于细胞的功能,而没有任何形态学的条件和要求,目前不可能从形态学辨认干细胞。很长时间缺乏测定人类造血干细胞的方法,只根据以下间接证据推测干细胞的存在:①在许多慢性粒细胞白血病(CML)病人中见到粒、红、巨核及单核等各系细胞中存在共同标志;②人骨髓细胞中存在着长期培养的起始细胞(LTC-IC),可在体外液体培养中持续维持造血。近年来单细胞培养及再接种技术对追寻子细胞的原源细胞提供可能。Tertappen 等从人骨髓 CD34<sup>+</sup>细胞群中分离出的 CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>单细胞,能多次再植培养,且具有生成髓系和淋巴系细胞的能力,为了探寻更原始的间质干细胞,他们分

离出 CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>的单细胞,液体培养后,约 1%~5%的这种细胞,不仅能生成髓系或淋巴系细胞,且生成能支持造血功能的基质细胞,称为骨髓基质和造血的共同干细胞(common hematopoietic /stromal stem cell,CSC)。证明人骨髓中存在造血干细胞。

#### 4. 造血干细胞的不均一性

造血干细胞不是纯一的细胞群体,而是由不同年龄等级(hierarchy)的干细胞组成。应用摄影定位方法, Magli 等发现第 8 天形成的脾结节在 72 小时内都会消失,第 11 天开始又重新形成新的脾结节,第 14 天这些新的脾结节已历历在目。Hodgson 等称这种延迟出现的脾结节为“前 CFU-S”(Pre-CFU-S)。14 天的 CFU-S 称 P+CFU-S 或 CFU-S1,8 天的 CFU-S 称为 CFU-S2, 进一步研究证实两者的生物学特征存在着明显的差异, 见表 1.2.1。正常情况下,CFU-S1 处于 G<sub>0</sub> 期或慢周期。Schofield 认为 G<sub>0</sub> 期是造血干细胞的染色体组进行基因自我修整的过程,凡处于周期中连续不断增殖或加速增殖的造血干细胞,如连续多次再移植或多次细胞毒剂的作用,其自我更新能力也随之减弱,而处于静止期的 CFU-S 则有较大的自我更新潜能。有人已证实 CFU-S1 比 CFU-S2 的自我更新力大 3~4 倍,前者脑 θ 抗原阴性,沉降速率和密度皆低于后者,即 CFU-S1 的世代年龄较 CFU-S2 小。利用染色体标志和单个脾结节转移技术,不但进一步证实脾结节的生成起源于单个细胞的增殖和分化,且证明这类细胞也有重建髓系及淋巴系细胞的功能。对骨髓、胎肝及外周血等来源的 CFU-S 细胞的功能比较表明,有些脾结节生成细胞具有造血干细胞的基本特性,即重建造血或自我更新的能力,另一些虽能在照射小鼠脾脏生成脾结节,却失去造血干细胞的基本特性。综上所述,提示造血干细胞群的不均一性。

表 1.2.1 骨髓中不同年龄造血干细胞

特性	CFU-S1	CFU-S2
周期状态	非周期、慢周期	较快周期
自我更新潜能	较 CFU-S2 强 3~4 倍	较差
沉降速率(mm/h)	4.00	4.25
密度(g/cm <sup>2</sup> )	1.070	1.075
细胞直径(μm)	6~8	7~9
脑 θ 抗原	-	+
在长骨髓中分布	轴心附近	外缘

#### 5. 造血干细胞的表面抗原

研究造血干细胞及其子细胞表面抗原的演化规律,有助于从分子水平上阐明细胞分化与成熟的调控机理。

早在 1964 年就有人发现 T 细胞与脑组织之间存在着交叉反应。Golub 等用脑组织免疫家兔制备了高活性抗淋巴细胞血清,发现后者对造血干细胞(CFU-S)也有很强的毒性。将抗鼠脑血清孵育后的小鼠骨髓细胞输注给致死量照射的小鼠,则失去了骨髓移植细胞原有的重建造血和提高动物存活的效果。进一步的工作指出,以上兔抗鼠脑血清对 T 细胞和造血干细胞的作用是可以分开的。如上述血清经胸腺细胞吸附后,失去了对 T 细胞的毒性,然而仍保留着对造血干细胞的毒性。因而,说明存在于 CFU-S 上的是一类不同于 T 细胞抗原或 θ 抗原的新抗原,又称为 S 抗原。正常小鼠骨髓细胞与不同浓度的兔抗鼠脑血清孵育

后,测试 CFU-S 与粒-巨噬细胞系祖细胞(CFU-GM)产率,发现随血清稀释度增加,CFU-S 的产率逐渐接近正常,而各种浓度的血清对 CFU-GM 仅有微弱的细胞毒作用。Silverstone 等还证明小鼠造血干细胞上存在着某种抗原,它们可被兔抗人脑、或人抗人精子、或小鼠抗鼠 F9 血清所识别。小鼠骨髓经上述荧光标记的抗血清结合后,再应用流式细胞光度计分离,则可使 CFU-S 浓集 4~15 倍。以上结果指出,在造血干细胞表面可能存在着一类特殊的受体或抗原,它们随着造血干细胞的分化而逐渐消失或出现。

单克隆抗体技术研究指出,人造造血干细胞仅表达 CD34 抗原,随着逐渐分化,CD34 抗原的表达逐渐减弱至消失,而出现不同分化程度的分化抗原。图 1.2.2 是人造血干细胞分化过程中细胞表面抗原演变示意图。临床上已利用干细胞与造血祖细胞以及白血病细胞表面抗原的差别,应用某些免疫学方法纯化造血干细胞,从而达到净化白血病骨髓的目的,以减少自体造血干细胞移植治疗恶性血液病后的复发。

## 二、造血祖细胞<sup>[2~4]</sup>

许多研究证实多能造血干细胞进一步分化为髓系造血干细胞和淋巴系造血干细胞。前者可向粒系、红系、巨核系及嗜碱粒细胞的祖细胞分化增殖,而后者则可分化为 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的前驱细胞。造血祖细胞是由造血干细胞分化而来的各系细胞的前驱细胞(progenitor)。

髓系多向祖细胞(CFU-GEMM)是生成红细胞、中性粒细胞、嗜酸粒细胞和巨核细胞的祖先细胞。它既有一定的自我复制能力,又具有向不同细胞系分化的能力,正常多处于静止状态。这种细胞主要存在骨髓中,约占骨髓细胞的 0.5%~1%,少量见于外周血循环中。经适当动员后,血循环的 CFU-GEMM 可显著增加,收集后可进行自体外周血干细胞移植。

多向祖细胞在一定的条件下可分化为向特定方向分化的各系祖细胞,包括粒-巨噬细胞系祖细胞(CFU-GM)、红系祖细胞(BFU-E, CFU-E)、巨核细胞系祖细胞(CFU-Meg)、嗜酸粒细胞系祖细胞(CFU-Eo)、嗜碱粒细胞系祖细胞(CFU-Bas)等,前 T 淋巴细胞和前 B 淋巴细胞分别生成各淋巴细胞亚群。

多向祖细胞分化为那一系的祖细胞,与其所处的环境密切相关。诱导造血微环境能影响造血干细胞的分化方向,特别是造血组织中原位的、局部的近距离调控,它发生在细胞与细胞之间的相互作用中,尤其是各种不同的造血生长因子起了重要作用(详见第一章第三节)。而各系祖细胞,特别是较成熟的单向祖细胞及各系形态可辨认的前体细胞,则更多地受体液因子远距离调控的影响。

## 第三节 造血细胞生长因子及对造血的调控

骨髓中包含造血实质细胞和造血间质成分。正常造血及应激状态下造血的稳定性有赖于造血器官中完善的造血微环境和严密的调节网络系统,造血微环境是一个复杂的组织结

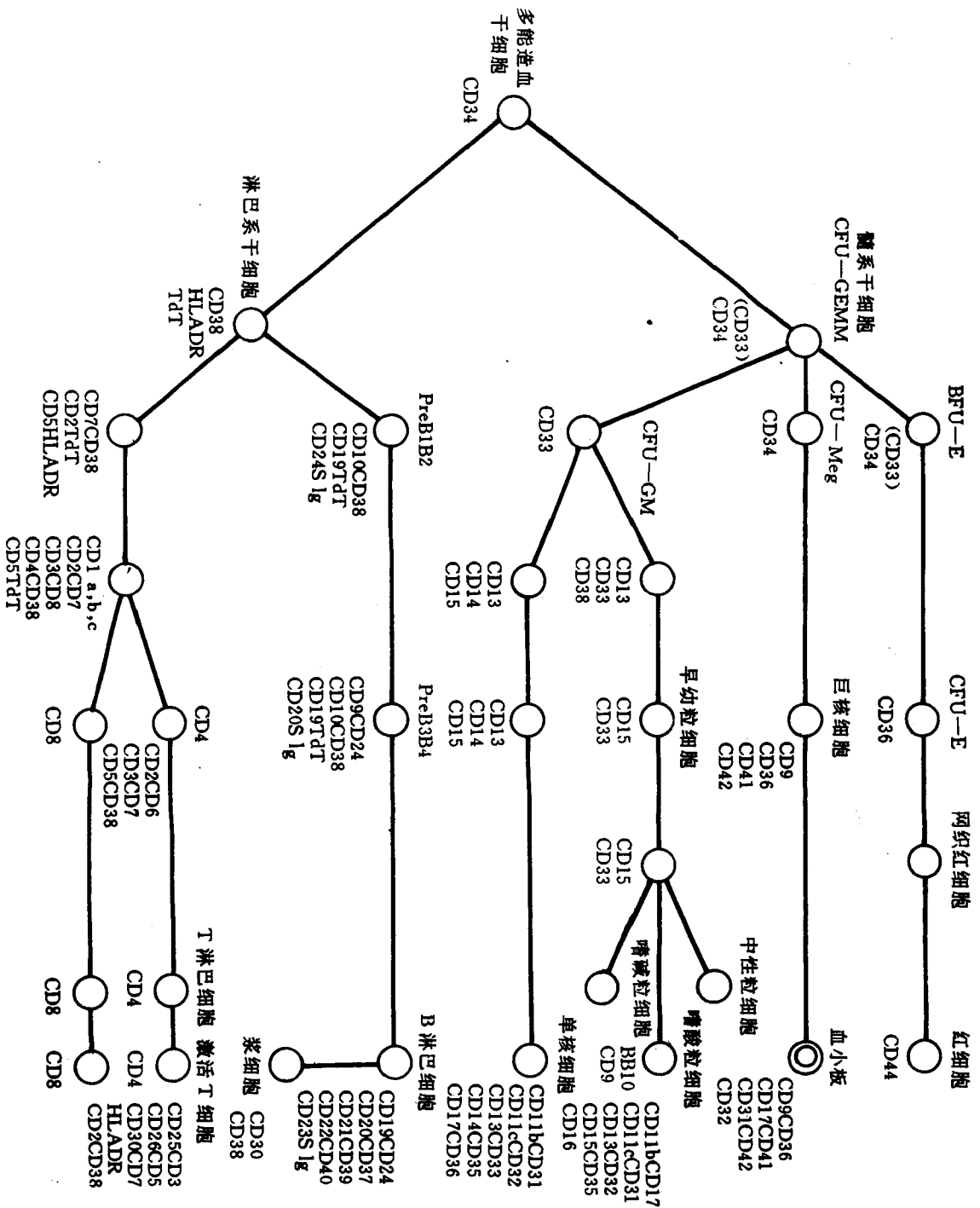


图 1.2.2 人造血细胞分化成熟过程中细胞表面抗原演变的示意图

构,其间的造血干细胞、祖细胞、基质细胞、生长因子、细胞外基质分子、粘附分子等彼此相互作用,从而调节着正常造血活动,并在造血异常性疾病的发生和发展过程中扮演重要角色。一方面基质细胞及粘附结构与造血干细胞的密切接触,调节多能干细胞的自我更新,使其永不衰退。另一方面通过产生多种造血因子,在局部调节干细胞和各系祖细胞的增殖及其向终末分化,随时补充循环中血细胞的需要。现已明了与细胞相互作用有关的分子主要为整联蛋白(integrin)、免疫球蛋白基因超家族类蛋白及选择蛋白(selectin)/LEC-CAM 家族等。细胞外基质通常由胶原、糖蛋白、蛋白多糖及少量其他蛋白组成。近代分子生物学的迅速发展,造血因子的不断发现与重组成功,使造血因子对造血的调控有了越来越多的了解<sup>[6~8]</sup>。

表 1.3.1 列出了近年来研究较多的与造血密切相关因子的主要特性。

## 一、造血细胞因子的分类

### 1. 旁分泌多肽类

这类细胞因子产生于造血器官局部,在细胞微环境中近距离直接作用于靶细胞,是不经血流的调控分子。胚肝和骨髓基质细胞有产生多种造血因子的潜能。旁分泌因子在造血调控中占极重要的地位,它包括各种集落刺激因子(CSF)、干细胞因子(SCF)、白细胞介素(IL)、血小板生长因子(PDGF)、转化生长因子(TGF)、前列腺素(PG)、肿瘤坏死因子(TNF)、干扰素(IFN)及类胰岛素因子等。

### 2. 自分泌多肽类

自分泌是近年来发现的一种造血调控方式,调控信号发生在接受信号的靶细胞自身,即产生多肽因子的细胞本身具有能接受这个因子的受体。这种自我调控方式在整个造血调控中的地位尚不清楚,但至少起到了放大或延长自身信号的作用。目前所知,自分泌的因子也都是旁分泌因子。如表 1.3.2 所示。

表 1.3.2 自分泌细胞及因子

自分泌细胞	自分泌因子
单核巨噬细胞、T、NK 和间质细胞	IL-1
T-淋巴细胞	IL-2
单核巨噬细胞、红白血病细胞	IL-3
单核巨噬细胞	M-CSF
单核巨噬细胞	GM-CSF
间质细胞	TNF $\alpha$
NK 细胞、间质细胞	IFN $\alpha$

### 3. 激素多肽

指有造血调控作用的内分泌多肽,包括糖皮质激素、维生素 D<sub>3</sub>、甲状腺素等疏水性多肽,以及生长激素、胰岛素、儿茶酚胺等亲水性多肽,对造血均有不同程度的影响。但以往多数作者都不把这类内分泌多肽列为细胞因子,而红细胞生成素(Epo)却从来列为造血细胞因子,因为它专一地作用于造血系统。外周血及尿液中红细胞生成素的浓度与外周血血红蛋白浓度成直线负相关,符合一个内分泌激素的特点。



## 二、造血细胞因子的生物学特点

如表 1.3.1 列出的部分造血细胞因子的主要特点<sup>(9~24)</sup>。归纳起来,其基本特点是:

1) 结构上均属多肽链的糖蛋白家系。其糖基化分子组份变化较多,但与生物活性无关,其作用可能是保护多肽不降解,从而增加其在体内的半衰期。人的造血细胞因子基因多数位于第 5 和第 7 号染色体长臂,基因大小约 3~5kb,其 mRNA 大部分源于激活的 T 细胞、NK 细胞、单核巨噬细胞及间质细胞。它们的分子量大多在 15~60kD。

2) 它们的作用方式主要是旁分泌。在造血微环境中,效应细胞在近距离内( $\mu\text{m}$  至  $\text{nm}$ ) 作用于造血细胞。旁分泌是造血细胞相互间作用的主要方式。

3) 浓度低,活性高。其表现出 50% 最大活性所需的浓度低于  $10^{-11}\text{M}$ ,这些极微量的因子一般生物化学技术是无法检测的。

4) 造血细胞因子通常对多种造血细胞均有作用。然而其作用既有“系专一性”,又表现一定的等级性(hierarchy)。如粒巨噬细胞刺激因子(GM-CSF)、粒系细胞刺激因子(G-CSF)、巨噬细胞刺激因子(M-CSF)作用于粒巨噬细胞,而 IL2、IL4、IL5 等则作用于淋巴细胞。又如干细胞刺激因子(SCF)和 IL3 主要作用于干细胞和早期祖细胞,G-CSF 和 M-CSF 则主要作用于较晚期祖细胞。近年来愈来愈多的实验证明,许多因子具有多能性,如 IL3 对中性、酸性、碱性粒系、单核巨噬系、红系及巨核系均有作用,IL6、IL11、GM-CSF 等亦可刺激巨核细胞的生长。许多因子亦在多水平上起调节作用,如 SCF、GM-CSF、G-CSF、IL1、IL3 等因子,而又没有严格的等级性。见图 1.3.1。

5) 造血细胞因子主要与靶细胞膜相应受体结合,通过跨膜受体,引起胞内一系列效应酶的活化,使信号逐级放大传递,作用于核(基因),调节细胞功能。受体的亲和力、专一性及数量也是可变的。

6) 细胞因子由多种细胞产生。一种因子可来自不同的细胞和组织,同一细胞也可分泌多种细胞生长因子。

7) 造血细胞因子之间具有协同和相加作用。有些细胞功能必须在几个因子同时作用下才能发生,如干细胞从静状态进入增殖周期,须 IL1、IL3、IL6 等因子的协同作用。有的因子在其它因子辅助下功能明显增强,如干细胞因子须在 IL6、IL11 或 G-CSF 协同下,才能缩短干细胞的静止期等。IL3 和 CSFs 等是造血细胞活存及增殖所需因子,而 IL6 和 IL1 则可维持细胞存活而不刺激其增殖。

8) 许多造血细胞因子既能刺激造血细胞的增殖,又能促进其分化成熟。

## 三、造血细胞因子对造血的调控

造血微环境中,细胞及其相关分子间的相互作用决定着血细胞的增殖、分化和成熟,而细胞与细胞、细胞与细胞外基质和细胞与生长因子间的相互作用则是这种调节的基本方式。