

造血干细胞移植基础

吴祖泽 主编

人民卫生出版社



造血干细胞移植基础

吴祖泽 主编

卜凤荣 马恩普 毛秉智 叶根耀

李元敏 孙志贤 刘作斌 吴祖泽 编 著

赵士富 戴育成

(以姓氏笔划为序)

人 民 卫 生 出 版 社

内 容 摘 要

造血干细胞移植是目前难治性血液疾病治疗中的一个有效措施。本书介绍了与造血干细胞移植密切相关的造血干细胞基本概念、造血干细胞的测试与贮存、移植免疫学、移植物的追踪以及骨髓、胎肝和循环血造血干细胞移植中的基础研究与临床应用的进展。

本书理论联系实际，内容丰富，可供实验血液学、临床血液学、放射医学工作者以及医学院校教师、临床内科医师、血液学专业研究生等参考。

造血干细胞移植基础

吴祖泽 主编

人民卫生出版社出版
(北京市崇文区天坛西里10号)

北京密云卫新印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行

787×1092毫米16开本 24印张 4插页 553千字
1988年10月第1版 1988年10月第1版第1次印刷

印数：00,001—4,000

ISBN 7-117-00539-4/R·540 定价：14.00元

序 言

造血干细胞的概念在二十世纪初就有人提出，但当时对这种细胞的含义不甚明确，因此也没有一个公认的名词。至于研究内容更是模糊不清了。直到1961年加拿大学者Till J E 与 McCulloch E A 在小鼠中经静脉注射以同品系动物的骨髓细胞，在脾表面产生肉眼可见的结节之后，才确认每一个脾结节是由单个造血细胞所产生的。因为这些脾结节有的含单纯红系血细胞，有的含单纯粒系细胞，也有的由几种不同血细胞所组成，还有的脾结节内含未分化的血细胞前体，作者考虑到这种脾结节即起源于单个造血细胞，是否可以代表处于不同分化阶段的造血干细胞，故暂时命名为脾结节生成单位(CFU-S)。

自从加拿大学者树起研究造血干细胞的里程碑之后，六十年代与七十年代就成为研究造血干细胞的极盛时代，直至八十年代前半期，澎湃之势尚未衰减。说明科学的进展，方法学的突破是很重要的。血细胞的生成，从胚胎早期的卵黄囊开始，直至成长动物中的骨髓成为永久的造血中心，这是很早就已知道的。由于长期缺乏研究手段，对最原始的造血细胞不仅在形态上尚未解决，有关它的属性也只在近二十多年内才发掘出部分资料，但还远远没有认清造血干细胞所特有的性能。这些新的有关造血干细胞的知识是在Till J E 与 McCulloch E A 提出CFU-S可以代表造血干细胞以后新的进展。对于造血干细胞的形态学研究，虽然已有几位学者作了颇有成效的探试，迄今尚未得到公认。对于造血干细胞的测定，目前只在小鼠中以CFU-S为标记进行研究，在其他动物中，除了以CFU-C作为推论干细胞的依据外，几乎无从着手研究。摆在我们面前的这些难关均未突破，还要逐步排除障碍，才能在这方面有所前进。

造血生理知识的贫乏，就其性质而言，是属于生物科学发展中一个没有弄清楚的问题，实际上是尚待开辟的科学领域，因为血细胞的生成与分化牵涉到与其他学科相关的内容，如免疫学中某些免疫活性细胞，都与造血干细胞有密切关系，这就不难理解为什么有些造血障碍性疾病还同时存在免疫的问题；或者由于免疫方面某种缺陷导致发生某种血液病。由于造血与其他组织系统存在着错综复杂的关系，所以对造血干细胞的研究就显得非常重要。但造血干细胞在骨髓或其他造血组织中数量很少，因此它的形态结构至今尚不清楚。我们还没有方法从细胞群中识别这种细胞，也就无法将它分离出来作具体的研究，这是阻碍造血研究前进的基本原因。另外，我们还不能在正常条件下观察造血干细胞的增殖与分化，因此在一般环境中造血干细胞的活动是否正常几乎无法鉴别，从而对各种血液病或免疫病的发生原因(病因学)很难提出确切的论据，以致影响对这类疾病的诊断与治疗。第三，多种血液病的治疗需要造血干细胞移植，但是存在干细胞的组织(如骨髓、外周血等)都同时存在免疫活性细胞(T细胞)，很难把两者分离；或者采取某种措施，如抗淋巴细胞血清，或T细胞单克隆抗体，预先将免疫活性细胞杀死，再进行干细胞移植，但这些办法在技术上都有不同程度的困难，不易防止免疫反应或免疫继发病的发生。在研究技术方面所遇到的重重困难，科学家们正在不断地努力，以期不久的将来得到克服。

我国造血干细胞的研究在七十年代初期才开始，起步较迟，因此与国外相比有较大的差距。但近十年来，在全国范围内研究造血干细胞的单位正在迅速增加，各种各样培养技术基本都已掌握，但较深入的基础研究，迄今还很少见。处于目前这种水平和研究状况，这本书的问世，可能起到促进作用。这本书对造血干细胞及各种祖细胞的培养方法，都有详细的介绍，这对现阶段的研究水平还是很需要的。应该特别提出的是对混合细胞团的培养应该受到足够的重视。估计在不久的将来，这种混合细胞团可以在多种动物的骨髓中培养出来，而且证明与小鼠CFU-S有类似的属性。如果这是事实，是否可把混合细胞团看成是多向性造血干细胞或多向性造血祖细胞呢？现在可能尚难下此结论，但不妨继续积累材料，作为讨论分析的依据。一旦得到公认这是各种动物所共同具有的“真正”造血干细胞，或者接近于“真正”的原始干细胞，并证明具有分化淋巴祖细胞的能力，这对造血干细胞研究将是一个相当重要的事件，我们等待这一时刻的来临。如以混合细胞团代表多向性造血干细胞，这比小鼠CFU-S更为优越，因为这种细胞团是在体外培养条件下产生的，容易鉴别；它含有各种血细胞或其前身细胞，可以观察干细胞分化功能的完整性。这些优越性不能不受到人们的重视。

造血是生理学中一个老问题，但是为什么到二十世纪末对于各种血细胞的分化，以及控制干细胞增殖与分化的因子，知道的仍就很少，联系到各种血液病产生的原因，知识也很贫乏呢？这与研究方法和技术没有跟上去有直接关系。回忆1965年前后Bradley T R, Pluznick D A等发现半固体琼脂在平皿中可培养粒系细胞团之后，就出现大量有关定向造血干细胞的研究，与此同时调控干细胞增殖与分化的物质如集落刺激因子(CSF)，红细胞生成素(EPO)等也应运而生，这是因为造血细胞既可以在体外培养，自然就联系到调节造血因子也应该提到研究日程上来。至今已知这类物质可在多种组织或体液中产生，但能纯化分离出来的只有EPO一种。目前正在探试的活性物质还很多，如琼脂培养CFU-GM的CSF，而CSF现在已证明不是一个单纯物质，可能是一种复合物，具有多种活性，在干细胞增殖和分化过程中多方面起着作用。又如淋巴细胞，无论T细胞或B细胞对CFU-S和CFU-C的数量都有较强的放大作用。这方面的工作现在也继续在进行，估计参与血细胞生成调控的活性物质不会太少。这些研究成果，如果没有体外培养创造适当条件，使造血过程能够在体外进行，要想揭露这些物质及其作用规律是不可能的。

骨髓体外长期培养是1973年Dexter T M等首先提出研究体外造血的新方法，由于培养是在生长液中进行，在一定程度上摹拟体内造血的环境和条件，因此探索的问题远比琼脂培养为广泛，培养条件也更为复杂，是一个大有前途的研究方向。从液体长期培养体系问世之后，在十多年时间内已得到迅速的发展，暴露出来的问题也更多，更复杂。因为液体培养体系中有二个主要组成部分，一是固定在培养瓶内壁的贴壁细胞层，二是悬浮细胞。前者是摹拟体内的造血微环境，后者等于外周循环血。这样就很清楚在人工体外造血体系中，造血活动主要在贴壁细胞层中进行，而成熟的血细胞，或不同成熟程度的血细胞，则释放到上清液中。不过上清液中的细胞成分，不仅限于各种血细胞，也包含造血干细胞，如CFU-S和定向的造血祖细胞，如CFU-GM，BFU-E，CFU-E等。这样就与动物体内的造血系统和循环系统基本相类似。这个体外造血模型的建立，将为研究造血干细胞的性能，调控造血因子的来源及其作用环节，以及造血过程遭受障碍时

所产生的后果，都可以从这个模型反映出来。不过现阶段的工作，还需要为正常造血寻找必需的条件；对于此项基础研究，看来尚须经过较长的时日，付出艰苦的劳动，才能达到接近正常造血的模型。对此我们不仅应有正确的预见性，而且必须有坚定不移的毅力，才能收到丰硕的研究成果。

如果以1961年为近期研究造血干细胞的起点，则在此四分之一世纪内对造血干细胞的研究，成果是辉煌的，这已成为造血生理的一个广泛的研究领域，而且已超出本学科界限，深入到免疫学的核心。目前还有趋势与遗传工程相沟通，这样就有可能以分子生物学为基础，深入研究造血干细胞的生理、病理、包括临床一系列血液病的发病机理，为今后防治某些血液病铺平道路，做出贡献。

本书的取材虽然没有包括造血干细胞全部内容，但主要含义均已列入，而且每一章的撰稿者都是亲身承担过有关研究课题的学者。因此本书的不同章节，虽然是总结了前人的研究成果，但其中取材与结论性的见解，也有一定的权威性。希望这本书的出版，能对造血细胞的研究起着推动的作用。

朱壬葆
一九八六年十二月

前 言

造血干细胞研究是实验血液学与临床血液学研究中一个重要的部分，目前，已成为血液学研究中一个活跃的领域。造血干细胞移植是指患者在造血或免疫功能极度低下的情况下，对其移植自体的或同种异体的造血干细胞，从而达到促进造血与免疫功能恢复的目的。近二十年来的临床实践表明，造血干细胞移植是难治性血液疾病，如白血病、再生障碍性贫血、免疫缺损病、极重度放射病等治疗中一个有效的措施。

同种造血干细胞移植中，继发免疫病是导致移植成败的关键，这是近年内难以彻底解决的问题。但是，积极推进造血干细胞移植的实验研究，在一定程度上减轻同种异基因造血干细胞移植后继发免疫病的发生和发展，因而，在一定范围内开展造血干细胞移植的临床应用却是完全可能的。随着国民经济的发展和医药水平的提高，造血干细胞的实验研究和临床应用正在国内逐渐兴起和发展，因此，增强基础理论研究、加速干部培训、引进和吸收国内外的成功经验，并将实验研究成果与临床应用结合起来，会有利于造血干细胞移植研究的稳步前进和不断深入。

充分发掘自体造血干细胞（包括骨髓与循环血造血干细胞）移植在肿瘤与血液病治疗中的积极作用；继续开拓胎肝造血干细胞移植在同种造血干细胞移植中的前景；深入开展HLA相合与半相合的同种骨髓移植的临床研究及相应的实验研究，是造血干细胞移植的实验与临床研究中的发展动向。

编写本书的宗旨：

1. 介绍与造血干细胞移植密切相关的造血干细胞基本概念、造血干细胞的测试与贮存、移植免疫学、移植物的追踪以及骨髓、胎肝和循环血造血干细胞移植中的基础研究与临床应用的进展，以适应当前国内开展造血干细胞移植研究的需要，填补我国在上述研究领域的专著出版中的空白。

2. 参加撰写的作者都是多年从事造血干细胞性能与移植研究的科学工作者。本书既重视了总结自己的实践经验，又注意了结合国内外的研究进展，理论联系实际，内容比较丰富。

3. 本书可供实验血液学、临床血液学、放射医学工作者、医学院校教师、临床内科医师以及攻读血液学专业的研究生等参考。

由于编著者水平有限，书中错误之处，尚祈国内同行批评指正。

本书中所用的“照射剂量”均为换算后的吸收剂量。

本书编写中，朱壬葆教授审阅了书稿并作序，一些同事参加了誊写、协助绘制图表等，对此一併致谢。

吴祖泽

一九八六年五月

目 录

第一章 造血干细胞的增殖与分化

第一节 造血干细胞的实验研究	1
一、畸变染色体在追踪造血干细胞分化研究中的应用	2
二、造血干细胞池的结构性研究	2
第二节 脾结节生成细胞	4
一、脾结节测试技术	4
二、脾结节生成的动态观察	6
三、脾结节的放射自显影	7
四、f 系数	8
五、脾结节生成细胞的克隆性质	9
六、脾结节生成细胞的增殖与分化特性	13
七、脾结节生成细胞群的不均一性研究	16
第三节 造血干细胞的表面抗原	23
第四节 造血干细胞增殖与分化的调控	25
一、造血微环境	25
二、脾结节的生理状态及转化	26
三、体液因子	28
四、药物受体和环化酶系统	30

第二章 粒系祖细胞的测试与性能

第一节 集落刺激因子	36
一、集落刺激因子的来源	37
二、集落刺激因子的生理意义	38
三、粒-巨噬细胞集落刺激因子的生物学特性	39
四、巨噬细胞集落刺激因子的生物学特性	40
五、粒细胞集落刺激因子的生物学特性	41
第二节 来源于大鼠脾脏浆细胞系与人尿的集落刺激因子生物学特性的比较	41
一、集落刺激因子的化学分析	42
二、集落刺激因子剂量与集落产率的效应曲线	42
三、不同品系小鼠骨髓细胞在大鼠脾脏浆细胞系或人尿的集落刺激因子的刺激下集落产率的比较	44
四、大鼠脾脏浆细胞系与人尿的集落刺激因子刺激小鼠骨髓生成集落的相加性研究	44
五、克隆转移法观察集落刺激因子对各类祖细胞的刺激作用	45
六、毛细管定位法追踪粒系细胞集落的发育与演变	46
七、骨髓粒与巨噬细胞集落的超微结构分析	47

八、集落生成细胞的辐射敏感性.....	56
第三节 体外培皿琼脂培养技术.....	57
一、小鼠粒-巨噬细胞集落的测试.....	57
二、狗粒-巨噬细胞集落的测试.....	58
三、人粒-巨噬细胞集落的测试.....	59
四、影响粒-巨噬细胞集落产率的因素.....	64
第四节 体内扩散盒琼脂培养技术.....	66
一、小鼠和狗的粒-巨噬细胞集落的测试.....	66
二、人骨髓和胎肝粒-巨噬细胞集落的测试.....	67
三、细胞集落的原位固定与染色技术.....	68
第五节 粒与巨噬系祖细胞的性能研究.....	74
一、细胞大小.....	74
二、造血重建中的功能.....	74
三、粒-巨噬细胞集落的生理状态.....	75
四、脾结节与粒-巨噬细胞集落的相关性.....	76
五、粒系祖细胞的不均一性.....	77
六、扩散盒粒细胞-巨噬细胞集落的特性.....	78

第三章 红系祖细胞的测试与性能

第一节 红系祖细胞的研究概况.....	82
第二节 红系集落刺激因子.....	83
一、红细胞生成素.....	83
二、爆增型红系集落刺激因子.....	84
第三节 小鼠红系祖细胞的体外微量甲基纤维素薄层培养法.....	86
第四节 人骨髓红系祖细胞的体外甲基纤维素培养法.....	89
第五节 红系祖细胞的体内扩散盒血浆凝块培养法.....	91
第六节 脾结节与红系爆增集落的相关性.....	98
第七节 巨核系祖细胞、多向性祖细胞与干细胞的体外培养.....	100
一、巨核系祖细胞的体外培养.....	100
二、多向性祖细胞的体外培养.....	100
三、造血干细胞体外培养.....	101
第八节 造血干细胞的增殖与分化模型.....	101
一、随机模型.....	101
二、微环境模型.....	101

第四章 淋巴系祖细胞的测试与性能

第一节 概述.....	107
第二节 淋巴细胞的生长和分化因子.....	107
一、白细胞介素-1.....	108

二、白细胞介素-2	108
三、白细胞介素-3	109
四、B细胞生长因子	109
五、B细胞分化因子或T细胞替代因子	109
六、产生淋巴因子的人类细胞株和杂交瘤	110
第三节 T细胞集落的测试	113
一、概述	113
二、测试方法	114
第四节 B细胞集落的测试	118
一、概述	118
二、测试方法	118
第五节 T细胞集落和B细胞集落的特点和细胞调控	121
一、T细胞集落的特点和细胞调控	121
二、B细胞集落的特点和细胞调控	123
第六节 淋巴系祖细胞的无血清培养	124
一、概述	124
二、血清替代物的作用机制	125
三、无血清培养基及血清替代物的配制	126

第五章 电离辐射与细胞毒剂对造血干细胞的损伤作用

第一节 造血干细胞的辐射损伤	131
一、急性照射	131
二、低剂量率 γ 线连续照射	133
三、亲骨性放射性核素的辐照	141
第二节 造血干细胞与造血微环境的辐射损伤	141
一、急性与低剂量率 γ 线连续照射对造血干细胞的辐射损伤效应的比较	141
二、造血干细胞与造血微环境的损伤效应的比较	143
三、小鼠经低剂量率 γ 线连续照射后移植同系或异系骨髓细胞的比较	144
四、对造血系统的远后效应观察	146
第三节 细胞毒剂对造血干细胞的损伤作用	148
第四节 电离辐射与细胞毒剂对白血病细胞的损伤作用	149
一、白血病的克隆细胞	149
二、白血病细胞对正常造血细胞生长的抑制作用	149
三、白血病细胞的实验研究	150
第五节 肿瘤治疗药物对白血病细胞的诱导分化	153
一、三类分化特性的白血病细胞	153
二、肿瘤治疗药物对白血病细胞的诱导分化	154
三、诱导分化在白血病治疗中的意义	155
第六节 造血干细胞移植	156

一、组织抗原配型与分离免疫活性细胞	156
二、造血干细胞移植后的追踪观察	157
三、造血干细胞移植的治疗限度	157

第六章 造血细胞的低温保存

第一节 概述	161
第二节 冷冻技术和设备	161
第三节 造血细胞的采集、贮存和活力测定方法	164
一、骨髓的采集和制备	164
二、冻存造血细胞常用的方案	164
三、活力测定方法	165
第四节 影响冻存效果的主要因素	165
一、冷冻速度	165
二、冷冻保护剂	166
三、贮存温度和时间	168
第五节 造血细胞低温保存的临床应用	169
第六节 造血细胞低温保存中的几个问题	171
一、改进冷冻技术提高保存效果	171
二、加强冷冻损伤规律性的研究	171
三、加强低温免疫学理论和实际应用的研究	171
四、研制适合的冷冻装置和贮存设备	172

第七章 移植的遗传标记证明

第一节 细胞遗传标记	176
第二节 红细胞血型抗原标记	177
第三节 血清蛋白遗传标记	178
第四节 红细胞同工酶标记	180
一、同工酶标记的选择	180
二、葡萄糖磷酸变位酶标记分析	182
三、红细胞酸性磷酸酶标记分析	187
四、红细胞酯酶D标记分析	189
五、乙二醛酶I标记分析	191
六、谷丙转氨酶标记分析	193
七、6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶标记分析	194
八、红细胞腺苷脱氨酶标记分析	195

第八章 造血干细胞移植中的免疫问题

第一节 重要性与研究范围	199
第二节 HLA系统与移植免疫	200

一、主要组织相容性系统.....	200
二、MHC 基因产物.....	203
三、HLA 的分型技术.....	205
四、HLA 在造血干细胞移植中的作用.....	207
第三节 大剂量全身照射和化疗引起的免疫缺陷等并发症.....	212
第四节 与移植有关的免疫反应.....	215
一、受体排斥移植物反应.....	215
二、移植物抗宿主病.....	216
三、移植物抗白血病作用.....	218
第五节 原发病的复发.....	219

第九章 单克隆抗体在骨髓移植中的应用

一、McAb 用作HLA配型试剂.....	223
二、McAb 用作移植排斥反应的免疫监视.....	223
三、McAb 在防治BMT继发病中的应用.....	224

第十章 骨髓移植病理学

第一节 病理标本的种类及检查目的.....	231
一、标本的种类.....	231
二、观察的目的.....	232
第二节 骨髓的病理学.....	233
一、移植物的成活.....	233
二、失败与排斥.....	234
三、白血病的复发.....	234
四、移植物抗宿主反应.....	234
五、骨髓外血生成.....	235
第三节 急性移植物抗宿主病病变.....	235
一、皮肤.....	235
二、胃肠道.....	238
三、肝.....	239
四、淋巴组织.....	240
第四节 慢性移植物抗宿主病病变.....	241
一、皮肤.....	241
二、胃肠道.....	243
三、肝.....	244
四、干燥综合征.....	244
五、肺.....	244
六、浆膜与滑膜.....	245
第五节 并发症.....	245

一、感染并发症	245
二、其它并发症	248
第六节 继发恶性肿瘤	253
第七节 特应性的转移	253
第八节 移植物抗宿主病样病变	254

第十一章 骨髓造血干细胞移植

第一节 概述	260
一、概念	260
二、简史	260
三、骨髓移植现状和存在的问题	261
第二节 骨髓移植前的临床准备	262
一、骨髓供体的选择和骨髓的采集	262
二、骨髓移植的主要适应症	263
三、骨髓移植时机和输注途径	264
四、骨髓移植前的免疫抑制预处理	265
第三节 骨髓移植的早期支持治疗	268
一、早期对症治疗	268
二、抗感染措施的应用	268
三、血液及其有形成分的输注	269
四、抗出血的治疗	271
五、维持营养和水盐代谢	271
六、加强护理	271
第四节 间质性肺炎	272
一、发病因素	272
二、临床表现	274
三、诊断	274
四、治疗和预防	275
第五节 肝静脉闭塞病	276
一、发病因素和机理	276
二、临床表现	278
三、诊断和鉴别诊断	278
四、治疗和预防	279
第六节 骨髓移植的临床应用	280
一、再生障碍性贫血	280
二、急性白血病	283
三、联合免疫缺陷病	287
四、慢性粒细胞性白血病	288
五、地中海贫血	289

六、急性放射病	289
七、其它疾病	291

第十二章 移植物抗宿主病及其防治

第一节 移植物抗宿主病的发病学因素	297
一、骨髓供体和受体之间的免疫遗传学差异	297
二、T细胞是引起移植物抗宿主病的效应细胞	297
三、其它影响因素	298
第二节 移植物抗宿主病的临床表现	299
一、皮肤损害	299
二、肠道损害	300
三、肝脏损害	300
四、其他临床改变	301
第三节 移植物抗宿主病的诊断	301
一、临床诊断	301
二、病理学诊断	302
三、早期诊断和鉴别诊断	302
第四节 移植物抗宿主病的防治	303
一、免疫抑制剂的应用	304
二、分离除去T细胞	308
三、灭活T细胞	309

第十三章 胎肝造血干细胞移植

第一节 胎肝细胞移植的动物模型	316
一、小鼠	316
二、狗	318
三、猪	319
四、猴	319
第二节 胎儿发育中肝脏造血的动态研究	320
一、人骨髓与胎肝细胞悬液在扩散盒液体培养中增殖与分化的比较	321
二、人胚胎发育中肝脏粒系祖细胞与T细胞的动态研究	322
三、细胞表面抗原的研究	324
第三节 胎肝造血干细胞移植中的屏障研究	326
一、个体发育屏障	326
二、组织不相容性屏障	330
三、胎肝造血干细胞在扩散盒培养条件下移植特性的变化	330
第四节 胎肝细胞的制备、分离与贮存	333
一、制备	333
二、分离与贮存	334

第五节 胎肝细胞的临床应用.....	335
一、重型联合免疫缺损病.....	335
二、再生障碍性贫血.....	336
三、胎肝输注在放射病治疗中的应用.....	342
四、胎肝移植治疗血液病的进展.....	342
五、胎肝移植中的主要问题.....	344

第十四章 循环血造血干细胞移植

第一节 概述.....	349
一、循环血造血干细胞研究的简史.....	349
二、循环血中造血干细胞的基本特征.....	349
三、循环血造血干细胞的性能.....	350
四、循环血造血干细胞的机动性.....	351
五、作为造血干细胞来源的有利条件.....	352
第二节 循环血造血干细胞的分离和制备.....	352
一、循环血造血干细胞和祖细胞测试.....	353
二、动员造血干细胞.....	356
三、分离循环血干细胞.....	360
四、循环血干细胞的保存.....	362
第三节 循环血造血干细胞移植实验研究.....	364
一、自体移植.....	364
二、异体移植.....	367
第四节 循环血造血干细胞移植在临床中的应用.....	367
一、自体移植.....	368
二、同种异体移植.....	368
三、循环血干细胞对骨髓移植治疗再障的协同作用.....	369
结束语.....	369

第一章 造血干细胞的增殖与分化

随着个体的不断发育，造血中心由卵黄囊转移到肝、脾，并逐渐过渡到骨髓。出生后，骨髓成为主要的造血组织。血细胞的生成经历了一个比较长的细胞增殖、分化、成熟和释放的动力过程。整个血细胞的生成过程，是造血实质细胞在形态上经历不同阶段的变化过程，它与造血微环境的各种因子的影响与调节密切相关⁽³⁾。

外周血液中存在大量的血细胞，除了淋巴细胞外，它们在血液中的寿命或者停留时间都是不长的。例如，人红细胞在血液中的寿命为112天；中性粒细胞在血液中的停留时间约为10小时等。因此，在一个正常成年人中，每天大约有 10^{11} 个红细胞衰老死亡，同时，有相近数量的粒细胞消逝。造血组织是一个不断地增殖和分化的组织，是新生血细胞的来源。实验研究表明，一些在形态上可以识别的幼稚骨髓细胞，例如，由原粒细胞向中幼粒细胞过渡中，或者，由原红细胞向中幼红细胞过渡中，它们在细胞不断增殖的过程中逐渐成熟，最后失去了继续增殖的能力，因而，不能保持其幼稚的性质。

早在1949年Jacobson等⁽³⁸⁾报告了屏蔽脾可以对致死剂量射线照射小鼠起到保护作用及1951年Lorentz等⁽⁴⁹⁾的骨髓移植实验，都从实验上证明了少量正常的造血细胞可以在损伤的造血组织中进行增殖和分化，并促进照射动物造血功能的恢复。

这些事实都支持了这样的假设，即在造血组织中存在着一类原始的造血细胞或造血干细胞，它们具有自我更新或自我复制，并向骨髓各系细胞分化的特性，从而维持了机体的正常造血功能，保证了机体在生命活动中对各类血细胞的需要。

第一节 造血干细胞的实验研究

在造血组织中，造血干细胞的数量是很少的，目前还不能在形态上识别它们，因而，不能直观地研究造血干细胞的分化。一个通常采用的方法是在造血干细胞上选择一个天然的或人为的具有遗传特性的特殊标志，通过对分化细胞中这种特殊标志细胞的识别，从而推论造血干细胞的分化特性。图1-1是一个示意图，将一个带有特殊标志的造血干细胞输注给内源性造血功能严重破坏的小鼠，由于输入的造血干细胞的不断增殖与分化，因而，它所产生的子细胞中都应该带有这个特殊的标志。当在上述受体小鼠的分化细胞中检查到具有这类特殊标志细胞的时候，也

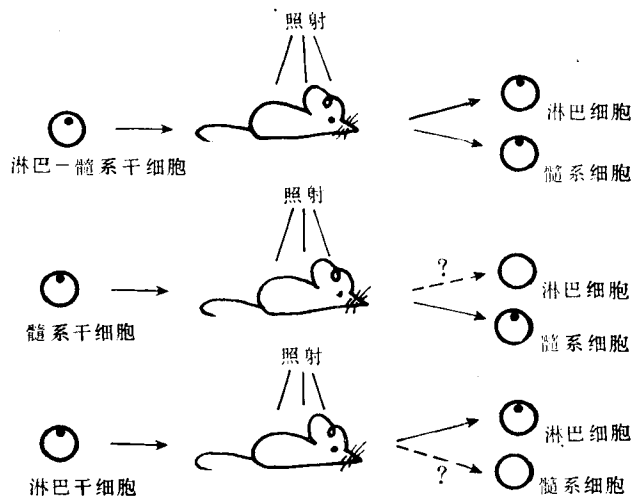


图1-1 研究造血干细胞分化特性的示意图

• 具有遗传特性的标志

就可以比较合理地推测最初输入的那个造血干细胞的分化特性。如果输入的一个干细胞，只能重建髓系细胞，而不能重建淋巴系细胞（或者相反），它就符合了髓系干细胞或淋巴干细胞的基本特性，如果输入一个干细胞，既能重建淋巴系，又能重建髓系，则符合淋巴-髓系干细胞的基本特性。

一、畸变染色体在追踪造血干细胞分化研究中的应用

在过去的文献资料中，比较多的是选择辐射诱发的畸变染色体作为细胞的遗传标志，它在造血干细胞的增殖与分化特性认识中曾经起了重要的作用。

1958年Barnes等⁽¹³⁾观察到一只CBA小鼠经850伦(R) X线照射和注射大鼠骨髓细胞后77天，体内存在着一个异常的细胞系。它的特征是在这类细胞中存在着一个特别长的染色体。这种细胞存在于骨髓、脾和双侧腹股沟淋巴结中。Ford等⁽²⁹⁾在1957年也有过一例类似的报告。这些结果说明小鼠经大剂量照射后，在内源性造血功能的恢复中可能起源于很少几个属于受体自身的具有克隆性质的细胞。

1968年Wu等⁽⁷⁵⁾对正常基因WBB6-+/+小鼠照射8.5Gy γ 射线，然后取 2×10^7 个（相当于极限稀释量）的照射小鼠骨髓细胞输注给遗传性贫血小鼠（基因型WBB6-W/W^v）。2个月后，从受体小鼠骨髓和胸腺中可以同时检查到含有相同的异常染色体组型的细胞存在。因此，胸腺与淋巴结中的许多细胞与骨髓细胞是起源于共同的原始细胞，支持了造血系统和免疫系统都起源于共同的干细胞的假设。

关于造血干细胞分化的认识主要是取材于对小鼠的一些研究结果，但是从人类疾病研究中所取得的一些资料支持了人类也存在着造血干细胞，而且，与小鼠造血干细胞的分化特性之间有许多相似之处。例如，在白血病和淋巴瘤患者体内常常可以见到含有异常染色体的细胞，而且，这些异常的染色体主要发生在肿瘤细胞中。Nowell⁽⁵⁶⁾和以后的工作者发现大约80~90%的典型慢性粒细胞白血病(CML)患者骨髓细胞的染色体中存在一个异常的小染色体，以后证明它是第22位染色体丢失了长臂后的剩余部分，称为Ph¹染色体。Ph¹染色体主要存在于骨髓的中性粒细胞，嗜酸性粒细胞、红系细胞以及巨核细胞中，一般不存在于淋巴细胞中，但是，当CML急性变时，同时发生淋巴细胞的病变，因此，推测导致CML的靶细胞是一类多能造血干细胞⁽¹⁶⁾。

二、造血干细胞池的结构性研究

早在1938年Downey⁽²⁷⁾在细胞形态学工作的基础上提出了造血干细胞的概念，他相信造血组织中存在着生成各类血细胞的造血干细胞，而且，造血干细胞还能生成髓系干细胞(myeloid stem cell)和淋巴系干细胞(lymphoid stem cell)。这个概念只有在以后建立了造血干细胞的功能测试技术和细胞标志技术以后，才有可能得到检验。

为了探讨髓系细胞与淋巴细胞生成之间的关系，Barnes⁽¹³⁾Wu⁽⁷⁵⁾和Nowell⁽⁵⁷⁾等应用电离辐射诱发染色体的畸变作为细胞的标志，一致地认为在造血组织中存在着一类兼有向淋巴细胞和髓系细胞分化能力的多能造血干细胞或淋巴-髓系干细胞。

Abramson等^(10,58)在Wu⁽⁷⁵⁾的工作基础上，设计了一组长期观察的动物实验。遗传性造血功能低下的W/W^v小鼠经2.5~4.0Gy γ 线照射后，输入极限稀释量的、经7 Gy照射的同系小鼠(coisogenic +/+)骨髓细胞。在输入的细胞中大部分脾结节生成单位