

PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION

PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION

PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRA

PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION

达万明 裴雪涛 主编

PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION

外周血 干细胞移植

PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION



人民卫生出版社

主编介绍



达万明，男，1946年2月出生，甘肃永登县树屏乡达家村人，1968年中国人民解放军第七军医大学本科毕业，1982年北京医科大学研究生毕业。现任中国人民解放军总医院血液科主任，主任医师，教授，博士研究生导师。曾任兰州军区总医院血液科主任，主任医师，第四军医大学及兰州医学院兼职教授。1984年和1989年先后在澳大利亚新南威尔士州立大学圣·文森特医院和法国巴黎居里大学圣·安托万医学院客座研修。回国后创建了兰州军区血液病研究所及全军血液病中心，并担任所长及中心主任。美国血液学学会、国际病理生理学会、国际实验血液学会及美国高科学协会会员，中华血液学会、中国实验血液学及甘肃医学会常务委员，中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会及全军医学科学技术委员会委员，全军血液学专业委员会及甘肃血液学会主任委员，甘肃省科学技术协会副主席、甘肃省政协委员等，同时兼《中华血液学杂志》、《解放军医学杂志》、《实验血液学杂志》、《实用内科学杂志》、《新医学》、《白血病杂志》、《现代诊断与治疗》等杂志编委及特邀编委。在 *Brit J Haemat*、*Exp Hematol*、*Bone Marrow Transplant*、*Leuk Res*、*Blood*、*中华医学杂志（英文版）*、*中华内科杂志*、*中华血液学杂志* 等国内外杂志发表论文200余篇。主编国内第一部有关自体造血干细胞的专著《自体造血干细胞移植》，副主编《实用急症抢救手册》，并参加《白血病治疗学》《现代血液病治疗学》、《华夏内科学》等的编写。获国家级、全军及省级科学技术进步奖20余项，其中自体造血干细胞移植治疗恶性血液病，造血微环境体外研究与临床应用等分别获全军一、二等及国家科学技术进步三等以上的奖励。1991年被国家教育委员会和国务院学位委员会评为有突出贡献的中国硕士学位获得者。1992年评为边远地区优秀医疗科技工作者。1993年评为国家级专家学者，并享受政府特殊津贴。1994年被评为“国家有突出贡献的中青年专家”，1996年荣获首届中国人民解放军专业技术重大贡献奖。1997年被英国剑桥国际名人录中心(IBC)评为“二十世纪有杰出贡献的科学家”。期间荣立二、三等功各一次。目前仍然从事临床医教研究及带教研究生等工作，其研究方向仍然是临床血液学、实验血液学。



裴雪涛, 军事医学科学院, 医学博士、教授、博士生导师。

1962年5月20日出生。1983年毕业于重庆第三军医大学医疗系, 获学士学位; 1987年和1990年在军事医学科学院分别获得硕士学位和博士学位。

主要从事干细胞工程的基础研究与临床应用、造血调控、造血干细胞移植、细胞治疗与基因治疗研究等。

在 *Exp Hematol*、*Leuk Res*、*Cancer J*、*Stem Cells*、*中华医学杂志*、*中华血液学杂志*、*生理学报* 等国内外学术杂志发表论著100余篇; 主编、分主编及参与5部专著的编写; 获得军队科技进步有一、二、三等奖各1项; 培养多名博士后、博士生和硕士生。

目前承担国家九七三、八六三课题、国家自然科学基金课题、军队指令性课题等多项重要课题的研究; 1996年被评为总后勤部首批“科技新星”; 1997年荣立个人三等功; 1998年获得国家杰出青年科学基金资助。

目前担任中国实验血液学会副主任委员兼秘书长、全军血液学专业委员会副主任委员、中国医药生物技术协会血液专业委员会副秘书长、国际辐射病理学会(IAR)理事、美国血液学会(ASH)会员、《中国实验血液学杂志》副主编、《*International Journal of Hematology*》编委、《中华放射医学与防护杂志》编委。

本书是我国第一部关于造血干细胞移植的专著。我认识达万明教授已二十年，深知他在血液学与其他学科领域都有非常深厚的基础，在造血干细胞移植的实验研究与临床实践方面更是辛勤工作，不断地推动着这一学科的发展。这本书由他与裴雪涛二位教授主编，非但是顺理成章，亦是对我国这一门学科的又一强有力的推动。

器官移植是半个世纪来临床医学的少数奇迹之一。其中造血干细胞移植的难度最大。这是由于造血干细胞移植过程中同时植入了淋巴细胞，可导致严重的移植物抗宿主病。长期联合应用免疫抑制剂必然会导致重症免疫缺陷症，从而合并各种病毒与其他病原体感染。因此，造血干细胞移植既需要综合的医学科学，又需要经验与技巧，较之其他器官移植，他更需要 HLA 相合的移植物。因此，造血干细胞移植的进展是艰难的。但是，迄今已有相当成熟的基础，国内外在单倍型移植方面已初见端倪。在这个基础上必将突破 HLA 和移植物抗宿主病的屏障，迈向单倍型之间

自由移植的宽广领域。达万明教授在此时出版这本专著，不但是以前工作的总结，而且是有其特殊意义的。

外周血干细胞移植已几乎完全代替了以自体骨髓为来源的造血干细胞移植。在异基因造血干细胞移植方面亦有诸多优点，特别是其采集量可以明显提高。我们衷心祝贺达万明教授在这方面所取得的成果，祝贺本书的作者们将这些新的成果反映在这本新的著作中。

中国工程院院士
中华医学会副会长
北京大学血液病研究所所长

陆道培

1999.12.7

前言

当今的世界是科技飞速前进、信息迅猛发展、知识急剧猛增的时代，自然科学各方面取得的先进成果立刻向生命科学渗透，有力的促进医学科技的日新月异，造血干细胞移植技术及其临床应用的快速发展从一个侧面反映了医学科学工作者利用高新科学技术挽救患者生命、提高健康水准、造福全人类的艰苦卓绝的奋进过程。

在我国，早在六十年代初期，北京医科大学陆道培教授和他的同事们就成功进行了同基因骨髓移植，并开始了自体骨髓移植的尝试，八十年代初，他们在一个自制的十分简陋的塑料洁净床罩内为一例急性白血病患者成功的进行了异基因骨髓移植，开创了我国造血干细胞移植的新篇章。整个八十年代，我国的骨髓移植工作仅在几家较大的医院内艰难的探索着。1992年陆道培教授在他主编的《白血病治疗学》中深有感触的说：骨髓移植是系统工程在临床应用的典范。无疑他们的工作及其所发表的论文，对我国造血干细胞移植事业做出了杰出的贡献。1995年我们在编写

“自体造血干细胞移植”一书时外周血干细胞移植刚刚起步，但仅仅几年的时间，它在实体瘤的自体移植中几乎完全取代了自体骨髓移植，在白血病的自体移植中亦占据越来越重要的地位。不仅如此，异体外周血干细胞也大有取代异体骨髓移植的趋势。为了使我国的患者尽快从外周血干细胞移植这一新技术中获益，也使这一技术能更加规范、有效地被临床医师所采用，我们编写了这本书，试图较系统、全面、科学的介绍外周血干细胞移植技术、临床应用及其相关基础与理论，与同道们一起推动我国造血干细胞移植事业的进一步发展。因书中章节非出自一人之手，各人学术水平存异，编写中难免疏漏，甚或差错，真诚渴望广大读者批评指正。

这里我们要特别指出，本书的编写得到了中国工程院院士、中华医学会副会长、北京大学血液病研究所所长陆道培教授的亲切关怀和直接指导，并亲自写序，在此致以衷心的感谢。同时也得到各位参写学者和教授们的热情关心和大力支持，他们都是这方面的专家，不仅在理论方面有很深的造诣，而且长期从事造血干细胞移植的实践工作，有着丰富经验，在此对他们的辛勤劳动表示钦佩和感谢。本书的出版还得到麒麟鲲鹏(中国)生物药业有限公司和麒麟(中国)医药有限公司的大力支持，在此谨表诚挚感谢。

达万明 裴雪涛

1999, 12, 27 北京

目 录

序	陆道培[3]
前言	达万明 裴雪涛[5]
第一章 绪论	达万明[1]
第二章 外周血干细胞移植的实验研究	杜楠 裴雪涛[16]
第三章 外周血干/祖细胞的特性	达万明[30]
第四章 外周血干细胞的动员	张伯龙[45]
第五章 外周血造血干细胞的采集与处理	陈虎[91]
第六章 自体外周血干细胞移植治疗急性 白血病	张伯龙 吴晓雄[104]
第七章 外周血干细胞移植治疗慢性髓细胞白血病	吴晓雄[135]
第八章 自体外周血造血干细胞移植治疗恶性淋巴瘤	刘开彦[150]
第九章 外周血干细胞移植治疗多发性骨髓瘤	高春纪[181]
第十章 自体外周血干细胞移植治疗乳腺癌及其它 实体瘤	吴晓雄[197]
第十一章 异基因外周血干细胞移植	陈虎[207]

第十二章	CD34 ⁺ 细胞的分选和移植	达万明	[220]
第十三章	外周血造血干/祖细胞体外扩增及临床应用	刘 英 裴雪涛	[243]
第十四章	造血干细胞移植后的造血重建	刘 源 达万明	[265]
第十五章	造血干细胞移植后的免疫功能重建及免疫治疗	达万明 刘 源	[275]
第十六章	造血细胞因子在外周血干细胞移植中的应用	杜 楠 裴雪涛	[285]
第十七章	脐血造血干细胞移植	刘开彦	[297]
第十八章	细胞生物治疗及其临床应用	冯 凯 裴雪涛	[325]
第十九章	造血干细胞与基因治疗	李 梁 裴雪涛	[347]
英文缩写与简写词			[371]

一、概述

近三十年来,随着实验和临床血液学及其相关学科的迅速发展,特别是对造血的发生与调控、造血干细胞的特性、移植免疫学的深入认识、人类白细胞抗原(HLA)配型技术、血液制品及抗生素等支持治疗的进展、全环境保护性治疗以及造血细胞生长因子(hemopoietic growth factors, HGFs)的广泛应用等,使造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSC)的技术逐渐成熟并得到广泛的应用,它已成为治愈某些恶性血液病、实体瘤、遗传性及免疫性疾病的可靠选择^[1-5]。过去,造血干细胞移植主要指骨髓移植(bone marrow transplantation, BMT),包括异基因 BMT (allogeneic BMT, allo-BMT), 同基因 BMT (syngeneic BMT, syn-BMT), 及自体 BMT (autologous BMT, ABMT)。近十多年来,外周血干细胞移植(peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT)的实验研究与临床应用发展甚快,大有取代 BMT 的趋势^[6]。外周血干细胞移植包括自体 PBSCT (autologous PBSCT, APBSCT), 异体 PBSCT (allogeneic PBSCT, allo-PBSCT), 脐带血干细胞移植(cord blood stem cell transplantation, CBSCT)以及 CD34⁺ 细胞移植等。

实际上早在 1909 年 Maximow^[7]就推测血液中有一些细胞可以维持造血,直到第二次世界大战后,从动物的交叉输血实验中证实外周血循环中存在着使放射动物血细胞再生的细胞,由此证明了

外周血干细胞的存在。外周血干细胞可以重建髓系造血的确切证据是在 1959 年得到的。Merwin^[8]的实验表明,受照后小鼠输入供体淋巴样细胞,其后外周血中出现的细胞在免疫学上与受体鼠不同,但与供体鼠一致。此后,一些学者利用不同的观测指标皆证实受照小鼠接受移植后重建的造血都属供者型。70 年代已从人血中直接检测出造血干/祖细胞,80 年代后期已有 PBSCT 的成功病例报道,直到 90 年代有关 PBSCT 的实验研究和临床应用才迅速开展起来,有关 PBSCT 的简要发展史参见表 1-1^[9]。

表 1-1 外周血造血干细胞移植的历史^[9]

(各阶段的重大发现)

1950-1970 年

- 放射动物的交叉输血和移植实验
- 体内外造血干/祖细胞测定方法的建立
- 人类早期同基因、异基因及自体骨髓移植

1970 - 1980 年

- 人体外周血干/祖细胞的直接测定
- 化疗后动员造血干细胞的早期证据
- 在 Hammersmith 进行首例 PBSCT 治疗慢性粒细胞性白血病
- 自体骨髓移植的开展

1980 - 1990 年

- 化疗剂量大小的疗效评估
- 对促进造血恢复的理解
- 造血细胞生长因子的商品化
- 确定 CD34 抗原
- 自体 and 异基因 BMT 的广泛开展
- 早期 PBSCT 成功病例报道

1990 - 2000 年

- PBSC 的体外和临床证据
- 用造血细胞生长因子和化疗有效动员 PBSC
- 大剂量化疗加 PBSCT 的广泛应用
- 外周血 CD34⁺细胞的分离、体外扩增及临床移植
- 异基因 PBSCT 时代的开始
- 基因插入外周血 CD34⁺细胞的尝试

据国际骨髓移植登记处(International Bone Marrow Transplantation Registry, IBMTR)^[10]、欧洲血液及骨髓移植组(European Group for Blood and Marrow Transplantation, EBMT)^[11]和澳大利亚器官移植与捐献协作委员会(Australia Cooperation Committee of Organ Replant and Donation, ACCORD)统计,1990 年以来,自体造血干细胞移植的数量已超过异基因移植;1993 年来 APBSCT 的数量又超过了 ABMT;1990—1994 年,用自体造血干细胞移植治疗恶性淋巴瘤和乳腺癌的病例增加了 5 倍,同期, PBSCT 的比例也由 15%增至 75%;1996 年以来接受自体干细胞移植的患者中,90%以上已成为 APBSCT,而 ABMT 者已不足 10%;1991 年时,尚无 allo-PBSCT 的登记,到 1996 年,它已占异基因 HSCT 的 26%以上,且发展速率在不断增长。期间研究发现人类脐血中含有大量的造血干细胞和祖细胞,且其中淋巴细胞抗原性弱,功能相对不成熟,移植后发生急性移植物抗宿主病

(GVHD)的危险性低等,已成为干细胞移植的一种途径,即脐带血移植^[12],对于它的基础研究和临床应用也受到越来越多的重视,已成立了国际脐血移植登记处(International Cord Blood Transplantation Registry, ICBTR)。许多国家已建立了脐血库,开展脐血干细胞移植的国家也已遍布全球^[13]。国内 PBSCT 的工作起步较晚,自九十年代以来,其基础研究和临床应用发展也很迅速,已有二十余所单位开展了这方面的工作,并在难治性恶性血液病和 HLA 半相合外周血造血干细胞移植治疗方面作了初步尝试^[14,15]。APBSCT、allo⁻PBSCT 以及 CBSCT 的总和已逾百例^[16-18],脐血库也已在一些地区建立或正在筹备建立,相信随着 PBSCT 技术的不断完善和发展,必将有更多的患者从中受益。

二、造血细胞的生物学

造血是机体生命活动的重要部分。血细胞包括红细胞、白细胞和血小板。一个健康个体在一生生命过程之所以保持体内有相对恒定的血细胞数量,是因为造血组织不断地产生新的血细胞以替换那些衰老退化的血细胞。造血的过程是相当复杂的,血细胞的生成及调控涉及生命科学中的许多问题,如细胞的定位、增殖、分化、迁移、发育、成熟、释放、衰老、凋亡和癌变等,也涉及造血微环境的结构与功能。后者主要包括基质细胞、细胞外基质分子(ECM)、细胞粘附分子(CAM)、细胞趋化因子、各种正负调控因子以及细胞因子或其受体的相互作用与信号传导,细胞与细胞、细胞与基质间的相互作用等^[19,20]。造血微环境对于造血干细胞的增殖与自我更新、造血细胞的迁移与定位、各系祖细胞的发育、分化与成熟等均具有十分重要的调控作用。但是微环境对造血调控具体分子机制仍不十分明了,有待深入探讨。

造血干细胞由胚胎干细胞发育而来,它是所有血细胞的最原始的起源细胞,它具有三个重要特征:①高度自我更新或自我复制的能力;②进一步分化为各系祖细胞的能力;③绝大多数可长期维持在非增殖状态,这些特征随着干细胞的分化逐渐减弱和消逝^[21]。造血干细胞通过不对称性分化由一个变为二个,其中一个仍然保持它自己的一切生物学特性从而保证体内干细胞数量不变,即自我更新;而另一个则分化为早期的造血祖细胞进入增殖池,后者在骨髓基质细胞和细胞因子等的调控下进一步增殖分化为各系造血祖细胞、前驱细胞和成熟细胞,它们释放入血后执行各自的功能直至衰老死亡。由此可见,血细胞的生成实际上是一个从造血干细胞连续增殖分化的“瀑布”样放大的过程。从功能上讲,造血干细胞或原始造血祖细胞在体外形成“爆”式集落(BFU_s)和集落形成单位(CFU_s),早期祖细胞形成多系或混合集落(粒系、红系、单核和巨核细胞系集落单位,CFU-GEMM, CFU-Mix)。多能造血祖细胞逐渐分化为各系定向祖细胞,如红系爆式集落形成单位(BFU-E)、红系集落形成单位(CFU-E)、巨核细胞系集落形成单位(CFU-MKE)、粒单细胞系集落形成单位(CFU-GM)、粒系细胞集落形成单位(CFU-G)及单核细胞系集落形成单位(CFU-M)等,进而分化为形态学可以辨认的各系各分化阶段的细胞,如图 1-1 所示。

造血干细胞不对称性分化的机制尚不清楚,其一为随机学说,即干细胞内部的分子变化使其子代之一随机进入定向分化的祖细胞,而细胞外的造血细胞生长因子(HGFs)则确保这些细胞存活和增殖^[22]。其二为诱导学说,即 HGFs 和细胞中介的调控机制触发

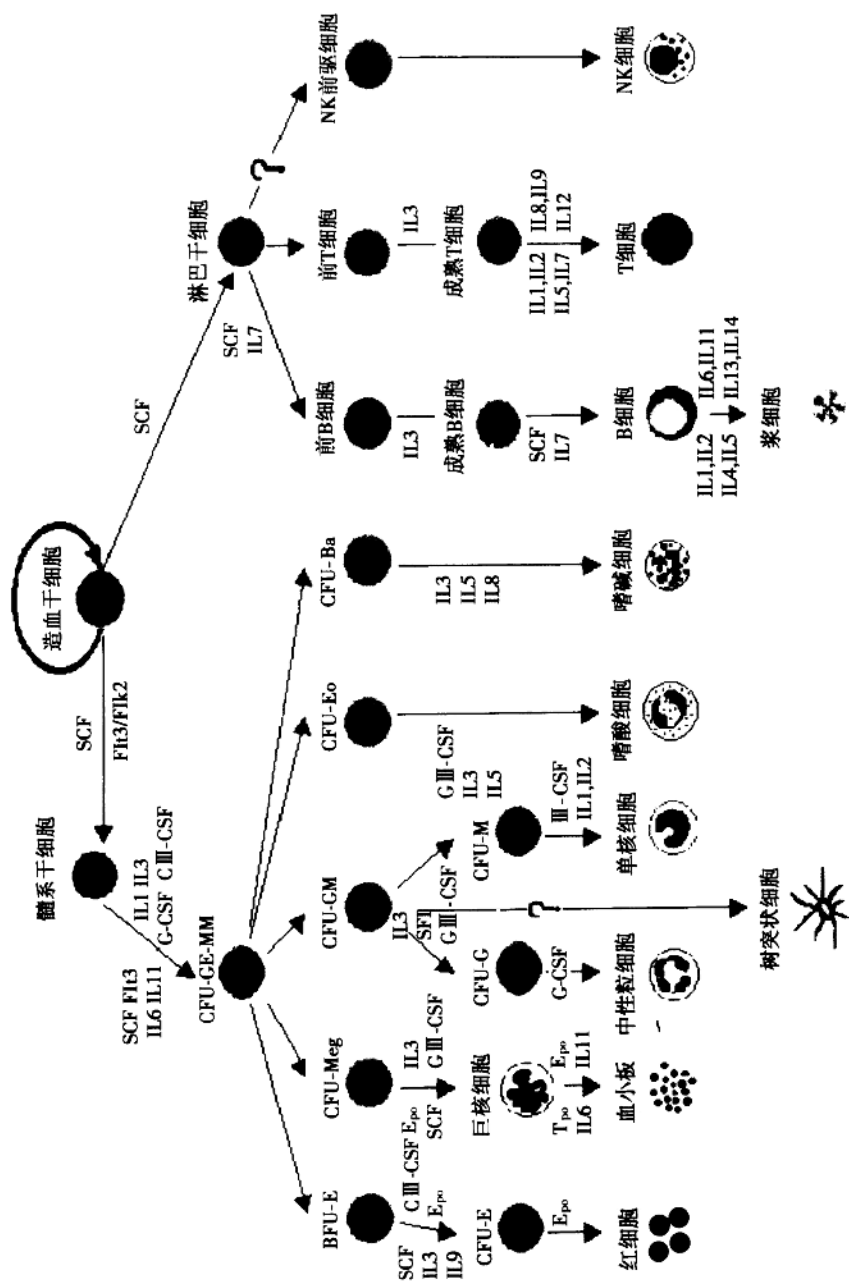


图 1-1 造血细胞的发生及造血细胞因子的作用

造血干细胞向特定定向细胞系分化^[23]。最后为混合学说,即分化早期为随机选择,接着 HGFs 诱导的机制便启动了^[24]。

由此可见,造血干细胞并非是纯一的细胞群体,而是由不同年龄等级(hierarchy)的干细胞组成。多年来,人们致力于人类造血干细胞测定方法的研究,使得在体内外(in vivo/in vitro)测定其质量和数量的方法有了很大进步^[21]。应当说,人类真正的造血干细胞是具有以下特征的细胞:即在接受骨髓清除性预处理治疗后,通过移植在受体内重建完全地、永久的全部造血功能的细胞。近年来建立了数种动物模型,利用造血干细胞在这些动物体内移植,进一步加深了造血干细胞发生学的认识,如绵羊宫内胎羊移植系统测定的胎羊内增殖的人造血干细胞(fetal sheep repopulation cell, FSRC)^[25]在亚致死量受照 SCID 或 NOD/SCID 小鼠体内增殖的人造血干细胞(SCID repopulation cell, SRC)等。表 1-2 显示了体内外可测定的人类各年龄等级造血干/祖细胞及其相互关系^[26]。

表 1-2 体内外可测定的人类各年龄等级
造血干/祖细胞及其相互关系

人类干细胞(HSC): 临床移植	细胞 分化 方向 ↓
胎羊内增殖的人造血干细胞(fetal sheep repopulation cell, FSRC)	
SCID 或 NOD/SCID 小鼠体内增殖的人造血干细胞(SCID repopulation cell, SRC)	
长期培养的起始细胞(LTC-IC)(12 周)	
培养鹅卵石区形成的细胞(cobblestone area-forming cell, CAFC)(12 周)	
LTC-IC/CAFC (5~8 周)	
CFU-S 相当的细胞	
HPC; CFU-GEMM	
定向祖细胞(BFU-E, CFU-GM, BFU-Meg)	
前驱细胞	
成熟终末细胞	

造血细胞生长因子对造血干/祖细胞的增殖和分化直接或通过辅助细胞释放其它细胞因子间接起调节作用,参见图 1-1。根据 HGFs 的生物学活性,可将其分为四类:

(1) 作用于干细胞和早期祖细胞的 HGFs,如干细胞刺激因子(SCF/c-kit 配体)、Fit-3 配体、基质成纤维细胞因子(bFGF)、白细胞介素-6(IL-6)、IL-11 及白血病细胞抑制因子(LIF)。它们主要作用在造血干细胞和早期祖细胞上,直接调节其增殖和分化。其中 IL-6 的作用较例外,它是对造血及免疫有多种功能作用的细胞因子。

(2) 多系祖细胞刺激因子,如 IL-3 及 GM-CSF 等。它们主要刺激祖细胞的增殖与分化,如作用于 CFU-GEMM、BFU-E 和 CFU-GM 等,但对它们的晚期祖细胞也有一定作用。

(3) 作用于晚期(单向)祖细胞的 HGFs,如红细胞生成素(Epo)、粒细胞刺激因子(G-CSF)、单核细胞系刺激因子(M-CSF/c-fms 配体)、IL-5 及血小板生成素(Tpo)等。它们主要作用于单向造血祖细胞,使其进一步分化为各系前驱细胞和成熟细胞。然而其中一些也对早期或多向祖细胞有一定作用,如 Tpo 对造血干/祖细胞也有直接刺激作用。

(4) 造血细胞增殖负调控因子,如选择性抑制早期造血祖细胞的 β -T 细胞生长因子(TGF- β),还有巨噬细胞炎性蛋白-1a(MIP-1a)、干扰素 γ (IFN- γ)和干扰素 α (IFN- α)等。

研究 HGFs 的表达和作用机制不仅是了解造血干/祖细胞自我更新和增殖分化的细胞和分子基础,也对应应用它们在体内动员及体外扩增干/祖细胞,促进和提高 PBSCT 的临床发展及疗效有重要意义。已经证实纯化的造血干细胞和早期祖细胞表面表达作用于干细胞和早期祖细胞 HGFs 的受体,而或不或极少表达作用于晚期的单向祖细胞的 HGFs 的受体,前者与其受体的结合可以上调后者受体的表达。反之,作用于晚期或单向祖细胞的 HGFs 受体则主要特异表达在各系祖细胞、前驱细胞及成熟细胞上。

应当提及的是正常造血的发生需要细胞生存、生长、分化和衰老间精密的平衡。每一类细胞皆有各自增殖分化的规律和寿命,最后通过程序化死亡,即细胞凋亡(apoptosis)。凋亡是机体主动清除多余、特异性或分化能力与机体不相适应以及衰老细胞的重要自稳机制^[27]。存活和凋亡受细胞凋亡和抗凋亡基因产物的复杂机制调控,其中细胞因子的作用也是相当重要的。在体外,不同分化的造血细胞的生存需要不同的 HGFs,如这些 HGFs 缺乏或缺无必然导致细胞凋亡。一般来讲,能刺激造血干细胞和各阶段祖细胞的 HGFs 都可延长它们的凋亡,反之,缺乏其中任何一种因子都可以促进该细胞的凋亡^[28]。深入研究各 HGFs 在细胞凋亡与抗凋亡基因表达上的作用,对改进外周血干/祖细胞体外扩增,研制调控细胞凋亡的药物制剂有重要的实际意义。

造血干细胞的显著特点之一是表达 CD34⁺ 抗原^[29],它在正常骨髓中含量甚少,约占有核细胞的 1%~2%,而外周血中含量更少,约为单个核细胞的 0.1%^[30]。研究表明外周血 CD34⁺ 细胞比骨髓者表达高亲和的 HGFs 的受体,主要是 IL3、IL6 和 GM-CSF 受体。用这些细胞生长因子或/和化疗动员后,外周血中 CD34⁺ 细胞的含量显著增加,可达 1%~2%,与骨髓中的含量相当,因此外周血可以作为造血干细胞移植的来源。

CD34⁺ 细胞是异质性的细胞群,包括造血干细胞和早期的祖细胞。从移植学讲,只有前者才能使受者的造血和免疫功能重建^[31]。根据 CD34⁺ 细胞其它表型的不同可以将其分为若干亚群,各亚群表型和功能特点详见本书第二章。新近发现 AC133 是更早期祖细胞和干细胞的特异性标记,它是一个跨膜细胞抗原,分子量 117KD,选择性表达在 CD34^{bright} 细胞亚群。由于它的特异性强,又是更早期干/祖细胞的标记,人们正在进行用分选的 AC133⁺ 细胞移植的临床研究^[32]。

在胚胎发育过程中,造血干细胞是从卵黄囊全能间叶细胞分化而来的,胚胎发育至 3~5 月时,造血主要发生在肝脏和脾脏中,因此其中含有大量的造血干细胞。近年来的研究证实人类脐血中含有大量的造血干细胞和祖细胞^[33,34],虽然其中 CFU-GEMM、CFU-GM、BFU-E 等造血祖细胞的含量随胎龄的增大而减少,但足月新生儿脐血中的含量较正常骨髓高,且更幼稚些,脐血中 CD34⁺ 细胞的含量约 1%~2%。研究还证实脐血中的造血干/祖细胞的增殖分化能力、体外集落形成能力、刺激后进入细胞周期的速度自泌生长因子的能力均较骨髓和外周血中的强;他们的端粒及端粒酶也长于和高于骨髓和外周血的干/祖细胞,且低表达或不表达细胞凋亡配基 CD95/Fas,移植后寿命更长;脐血造血干/祖细胞对各种造血生长因子刺激的反应远强于骨髓及外周血的,因此,体外短期扩增便可获得大量造血细胞供成人移植。另一方面,脐血淋巴细胞和成人外周血淋巴细胞之间存在许多量与质的差异。前者淋巴细胞数高于后者 2~3 倍,CD8⁺ 者比例低,其 T 细胞有未成熟的特性,缺乏 T 细胞活化/生长因子,抗原表达弱而不充分,

自然杀伤(NK)细胞活性较弱,对有丝分裂原 PHA、ConA 有较好的反应,但对异基因抗原的反应性差,这些免疫学特性有利于移植成功及移植后 GVHD 的发生率和程度均较骨髓和外周血干细胞移植者低。由于脐血干细胞有来源较广,供者无任何危险,造血细胞处于生理性增殖状态,淋巴细胞抗原性弱,功能相对不成熟,移植后发生急性 GVHD 的危险性低等优点,可以作为造血干细胞移植的另一重要来源,颇受临床青睐。

由此可见,目前作为临床移植的造血干细胞至少有三种来源,即骨髓、外周血和脐带血干细胞,严格讲它们的生物学特征不尽相同^[35,36]。例如,外周血中的 CD34⁺CD38⁻细胞的 Thy-1 (CD90)也阳性,而骨髓和脐血 CD34⁺CD38⁻细胞 Thy-1 的表达相当低;脐血 CD34⁺CD38⁻细胞的干细胞因子受体 c-kit (CD117)表达强阳性,而骨髓和外周血者则否。另外三者来源的干/祖细胞表达诸如 HLA-DR、Flt3 (CD135)、IL-3 受体 (CD123)及 IL-7 受体(CD127)等抗原的水平也不相同。在体外扩增研究中,三者所需的扩增条件和对同一细胞因子的反应也有差异,如外周血干/祖细胞的体外增殖常需基质细胞的上清液存在,而脐血干/祖细胞的增殖则不需要等。新近 Holyoake 等^[26]利用 NOD/SCID 小鼠异种移植实验,比较了人类胎肝、脐带血及成人骨髓中可移植造血干细胞的特性,进一步证明胎肝中所含造血干细胞最为原始,其再移植性最强,其次为脐血和骨髓。这些差异在临床上也有反映,如干细胞移植后的造血重建在外周血者最快,其次是骨髓移植后,最慢者为脐血干细胞移植后。因此,深入研究和掌握它们之间生物学特性的不同,对合理应用和正确指导临床移植,提高移植疗效有着非常重要的意义。

最后必须指出,有关造血发生、造血干细胞理论的认识仍然在不断的深入。近来的研究已经有充分的证据证明在 CD34⁺细胞之前存在着 CD34⁻的造血干细胞。利用靶向性基因敲除(gene knockout)术证明,敲除 CD34 基因的小鼠经亚致死量照射后,其造血功能仍然存在且外周血细胞很快恢复^[37]。CD34⁻造血干细胞在小鼠和猴子体内已得到证实^[38,39],在人类其属于 Hoechst33342 染色阴性细胞组分。利用人/羊竞争移植模型,Zanjani 等^[39]证实正常人骨髓 CD34⁻细胞组分中包含着在受体植活并分化为 CD34⁺细胞和重建淋巴髓系造血的干细胞,用二次移植和有限稀释研究再次肯定了这种 CD34⁻干细胞的存在。如果能够纯化分选和定向扩增这些细胞,无疑在临床移植和基因治疗方面较 CD34⁺细胞更有前途。

三、外周血干细胞移植的特点

造血干细胞移植泛指将各种来源的正常造血干细胞在患者接受超剂量化/放疗后,通过静脉输注移植入受者体内,以替代原有的病理性造血干细胞,从而使正常的造血与免疫功能得以重建^[4]。外周血干细胞移植是造血干细胞移植的一种,它是采集某种方法动员的外周血或收集脐血中的干/祖细胞作为移植物移植给受体,以使其建立正常的造血和免疫功能。实际上和骨髓移植一样,外周血移植物中绝大多数是各类造血祖细胞、各分化阶段的增殖细胞以及成熟血细胞,严格讲它们与移植无关,进入受体后或继续增殖分化或完成一定功能后自终,只有造血干细胞能在受体内植活并重建造血与免疫系统的功能。

与骨髓移植相比,PBSCT 有如下优点^[41-45]:

1. 外周血中造血干细胞收集比较方便, 供体无需麻醉, 也无多部位骨髓穿刺抽髓之痛苦和不便, 易被患者接受。

2. PBSCT 后受体造血功能重建快, 免疫功能恢复早, 感染、出血等并发症低且轻, 减少了抗生素和成分血的应用, 降低了移植相关病死率, 缩短住院时间, 节约了费用。

3. 可从外周血管采集造血细胞, 对骨髓有浸润、纤维化或接受放射照射不能采集骨髓的供体亦可施行。

4. 自体 HSCT 者, 化疗后外周血中造血干细胞有高峰时相, 一般在化疗后 1~2 周, 在此时采集外周血干细胞比正常要高数十倍, 如化疗后再用细胞生长因子(如 G-CSF、GM-CSF、IL3 或 SCF)等, 可获足量移植细胞。一般要求移植 CFU-GM 或 CD34⁺ 细胞分别在 $2 \times 10^5/\text{kg}$ 或 $2 \times 10^6/\text{kg}$ 以上。

5. 与骨髓相比, 外周血中肿瘤细胞混入较少, 移植后复发率或许可低于自体骨髓移植。

根据移植细胞的来源可将外周血干细胞移植分为 APBSCT、allo-PBSCT 和脐血干细胞移植。近年来还将以上移植中 CD34⁺ 细胞分离后移植, 由于它富集了纯化的造血干/祖细胞, 不仅有效的去除了供体 T 淋巴细胞, 避免和减轻重症 GVHD 的发生, 而且对自体移植的肿瘤患者可减少肿瘤细胞的污染, 减少移植后的复发^[46]。各类 PBSCT 的特征及其与骨髓移植的比较见表 1-3。

表 1-3 外周血干细胞移植的特点及和其它造血细胞移植的比较

类 别	干细胞来源	主 要 优 点	主 要 缺 点
APBSCT	自体外周血	不受供体限制, 一般无 GVHD, 并发症轻, 年龄限制宽, 且移植后造血重建较快; 移植含残留肿瘤细胞较少(?)等	干细胞含量较少, 需动员剂或多次采集
allo-PBSCT	HLA 相合同胞; HLA 表型相合无关供者	复发率较低; 造血重建快; 感染发生率较轻; 具有 GVT 效应	供者较少; 慢性 GVHD 发生率较高; 需动员剂和多次采集; 年龄限制等
CD34 ⁺ 细胞移植	自体、异体(包括 HLA 不合或半相合)供体骨髓或外周血	同 APBSCT 及 allo-PBSCT, 但残留肿瘤及 T 细胞更少, 更适合 HLA 不合和半相合供体移植	需 CD34 ⁺ 细胞的纯化和富集系统
CBSCT	脐带血	来源丰富方便; 造血重建力强; GVHD 轻(?)	GVT 弱; 不易植入; 治疗白血病时易复发
allo-BMT	HLA 相合同胞; HLA 表型相合无关供者	复发率较低; 具有 GVT 效应	供者较少; GVHD 及其它并发症较重; 年龄限制等
ABMT	自体骨髓	不受供者限制; 一般无 GVHD; 并发症较轻; 年龄限制宽	移植中含残留肿瘤细胞; 复发率较高; 缺乏 GVT 效应;
syn-BMT	同卵同胞骨髓	无 GVHD; 易植入; 并发症较轻	供者甚少; 治疗白血病时易复发
FLSCT	胚胎肝细胞	造血干细胞丰富; GVHD 轻(?)	不易植入, 等

GVT: 移植抗肿瘤; FLSCT: 胎肝干细胞移植