



华夏英才基金学术文库

王亚平 主编

造血干细胞生物学 及其研究方法



科学出版社

www.sciencep.com



华夏英才基金学术文库

造血干细胞生物学 及其研究方法

主 编 王亚平

副主编 吴 宏 王建伟 郑 敏 王莎莉

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书介绍了造血干细胞生物学的理论知识和最新研究进展,造血干细胞的研究方法及其实际应用,内容较全面,资料翔实。全书分两部分,第一部分介绍造血干细胞生物学的理论研究及进展,涉及造血干细胞的起源、迁移与定居;造血干细胞生物学特征;造血干细胞的分离、纯化及鉴定;造血干细胞与血细胞生成的调控;造血干细胞库的建立;造血干细胞移植;造血干细胞与基因治疗;造血干细胞的衰老;造血干细胞与白血病干细胞。第二部分介绍造血干细胞的研究方法,涉及造血干细胞的分离、纯化及鉴定技术;造血干细胞的冷冻、复苏;造血干细胞生物学特征检测;造血干/祖细胞体外培养技术;造血生长因子及受体检测;以及信号转导研究技术、转基因技术、造血干细胞移植、造血干细胞研究的动物模型等。

本书可供各高校、研究所从事造血干细胞研究及医疗卫生领域的研究生、科研与管理人员学习与参考。

图书在版编目(CIP)数据

造血干细胞生物学及其研究方法 / 王亚平主编. —北京:科学出版社,2007
(华夏英才基金学术文库)

ISBN 978-7-03-018618-8

I. 造… II. 王… III. 造血干细胞 - 生物学 - 研究 IV. R331.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 022301 号

责任编辑:郑红 黄敏 / 责任校对:邹慧卿

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年3月第一版 开本:B5(720×1000)

2007年3月第一次印刷 印张:30

印数:1—2 000 字数:587 000

定价:98.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

《造血干细胞生物学及其研究方法》

编写人员

主 编 王亚平

副主编 吴 宏 王建伟 郑 敏 王莎莉

编 者 (按姓氏笔画排序)

王 璐 王亚平 王建伟 王莎莉

刘永刚 李 静 李芳菲 吴 宏

陈 笛 陈地龙 陈婷梅 林雪梅

郑 敏 官 涛 姜 蓉 娄世锋

彭 彦

主编简介



王亚平,教授、博士生导师,1982年毕业于重庆医科大学。现任重庆医科大学基础医学院院长、重庆市生物化学与分子药理学重点实验室主任,系重庆市首批学术技术带头人和有突出贡献的中青年专家,重庆市科学技术与成果评审专家。兼任中国解剖学会组胚专业委员会委员、重庆解剖学会副理事长、重庆中西医结合学会常务理事、重庆生物医学工程学会与重庆生物技术学会理事。担任《解剖学报》等10种学术刊物的副主编,常务编委、编委。

从事基础医学的教学和干细胞生物学与实验血液学的研究25年。先后主持、主研国家自然科学基金课题8项,负责承担国家卫生部、教育部及省级科研项目30余项。在《科学通报》、《自然科学进展》、《解剖学报》、《Cell Biology International》、《Stem Cell and Cellular Therapy》等国内外学术期刊上发表论文100余篇,先后获得四川省人民政府科技进步二等奖1项、三等奖1项,重庆市人民政府科技进步三等奖1项,重庆市人民政府自然科学三等奖1项。

参编专著、教材多部。指导博士、硕士研究生30余名。

序

干细胞的研究及应用是当今生命科学中最为前沿、最为热门和最具活力的研究领域之一。造血干细胞研究及其应用是干细胞领域内开展最早的、也是迄今了解最为深入的一种成体干细胞。

造血干细胞的实验研究起始于 20 世纪 50 年代,60 年代初获得突破性进展,从此进入了研究造血干细胞的极盛时代。近 20 年来,随着现代生物学技术的创新和发展,不仅在造血干细胞生物学特征、体外扩增和定向诱导分化等基础研究方面取得了重大的进展,而且对它的临床疾病治疗也积累了不少资料。目前,已能利用造血干细胞的生物学特征,通过细胞工程技术,在体外模拟或部分模拟体内造血过程,对分离纯化的造血干/祖细胞进行体外扩增、定向诱导分化、功能激活与调控、目的基因转染等。在临床上,造血干细胞已更加广泛和有效地应用于干细胞移植、生物免疫治疗、造血支持治疗和基因治疗等领域。近年研究发现,造血干细胞可在特定的条件下分化为多种非造血细胞,造血干细胞这种“可塑性”的发现与研究,将为造血干细胞的临床应用开辟更为广阔的空间。

王亚平教授从事干细胞生物学的基础与应用研究 26 年,参加本专著编写的年轻科研人员都工作在干细胞研究的第一线,他们有着该领域扎实的理论基础并积累了丰富的研究经验,掌握了造血干细胞研究的最新发展动态。造血干细胞的研究进展以至突破,很大程度上有赖于技术方法学的创新,他们通过《造血干细胞生物学及其研究方法》这本专著,把细胞生物学与研究技术、方法结合起来,将造血干细胞的基础理论和最新研究进展、造血干细胞研究技术奉献给广大科技工作者,我相信这对造血干细胞生物学及其相关学科的发展必将起到积极的推动、促进作用。

中国工程院院士

程天民

2006 年 7 月于重庆

前 言

干细胞的研究与应用是当今生命科学中最为前沿、最为热门和最具活力的研究领域之一。近年来,随着发育生物学、实验血液学、分子生物学、免疫学和外科移植学等学科的发展,以及计算机技术、纳米技术、基因工程技术、生物医学新材料及细胞与组织体外培养等高新技术的突破和应用,使得从机体内分离纯化干细胞、干细胞生物学特征、体外培养、诱导分化、组织构建等基础研究获得突破性进展。干细胞研究的成果使人们有理由相信,人类器官、组织和细胞的复制已不是梦寐以求的幻想,实际上部分干细胞技术已逐渐用于临床难治性疾病的治疗,展现了广阔而光明的应用前景。它的研究不仅促使人们重新思考传统的发育生物学理论和概念,而且更为重要的是,它将为人类许多疾病的治疗带来新的希望。

造血干细胞研究和应用是干细胞领域内开展最早、也是迄今了解最深入的一种成体干细胞。造血干细胞概念的提出应追溯到 1774 年,由于受到当时本专业和各相关学科整体发展水平的限制,并无任何直接或间接的实验依据予以确证。造血干细胞的实验研究起始于 20 世纪 50 年代,60 年代初获得突破性进展,从此进入了研究造血干细胞的极盛时代。尤其是近 20 年来,随着现代生物医学技术的创新和发展,不仅在造血干细胞生物学特征、体外扩增、诱导分化、目的基因导入等基础研究方面取得了重大进展,而且对它在临床疾病的治疗中也积累了不少资料。目前,已能利用造血干细胞的生物学特征,通过细胞工程技术,在体外模拟或部分模拟体内造血过程,对分离纯化的造血干/祖细胞进行体外扩增、定向诱导分化、功能激活与调控、目的基因转染等。在临床上,造血干细胞已更加广泛和有效地应用于干细胞移植、生物免疫治疗、造血支持治疗和基因治疗等领域。近年研究发现,造血干细胞可在特定的条件下分化为多种非造血细胞,造血干细胞这种“可塑性”的发现与研究,将为造血干细胞的临床应用开辟更为广阔的空间。

本专著介绍了造血干细胞生物学的理论知识和最新研究进展、造血干细胞的研究方法和实际应用,资料翔实,内容较为全面。本专著第一部分涉及造血干细胞的起源、迁移与定居;造血干细胞的生物学特征;造血干细胞的分离、纯化及鉴定;造血干细胞与血细胞发生的调控;造血干细胞的体外扩增与诱导分化;造血干细胞库的建立;造血干细胞移植;造血干细胞与基因治疗;造血干细胞的衰老与白血病干细胞。第二部分涉及造血干细胞的分离、纯化及鉴定技术;造血干

细胞的冷冻、复苏;造血干细胞生物检测技术;造血干/祖细胞体外培养技术;造血生长因子及受体检测;信号转导研究技术;转基因技术;造血干细胞移植和造血干细胞研究的动物模型等。

本专著希望通过系统、科学、全面地介绍造血干细胞生物学及其研究和应用技术,为从事造血干细胞及其相关领域研究、开发和应用的同行提供一份参考和进一步磋商的资料,也为从事医疗领域的科研管理人员提供了解该领域研究的学习与参考资料。

参加本专著编写的都是工作在干细胞研究第一线的年轻科研人员和博士生。尽管他们对造血干细胞研究领域有较为深入的了解,也有高度的责任心,但毕竟他们在对新知识和新技术的系统性与准确性的把握上还存在不足,各章节是由不同学者执笔,他们的知识背景和学术观点各异,难免有不准确甚至错误的地方,故书中不妥之处,欢迎同行专家批评指正。

在本书出版之际,我要特别感谢程天民院士亲自为本书作序,他的关怀与指导给了我信心和勇气。我还要感谢与我共同工作的博士生们,他们为本书的出版付出了辛勤劳动。本书的出版还得到华夏英才基金的支持,在此深表谢意。

最后,我要感谢培养我的母校——重庆医科大学,并为母校 50 周年华诞献上了一份薄礼。

王亚平

2006年7月于重庆

目 录

上篇 造血干细胞生物学

第一章 造血干细胞研究的历史、现状及应用	(3)
第二章 造血干细胞的起源、迁移与定居	(13)
第一节 造血干细胞起源、迁移、定居的过程及生物学特征	(13)
第二节 造血干细胞迁移和定居的分子生物学机制	(32)
第三章 造血干细胞的生物学特征	(41)
第一节 造血干细胞的自我更新	(42)
第二节 造血干细胞的增殖与分化	(50)
第三节 造血干细胞的可塑性	(55)
第四节 不同来源造血干细胞的生物学特性	(62)
第五节 造血干细胞衰老的生物学	(69)
第四章 造血干/祖细胞的分离、纯化及鉴定	(75)
第一节 造血干细胞的表面标志	(76)
第二节 造血干细胞的动员与富集	(82)
第三节 造血干细胞的形态学特征	(93)
第四节 造血干细胞的检测方法	(97)
第五章 造血干细胞与血细胞生成的调控	(104)
第一节 血细胞发生学及谱系	(105)
第二节 造血诱导微环境	(113)
第三节 造血生长因子及其受体	(120)
第四节 造血调控分子	(131)
第五节 造血生长因子受体的信号转导途径	(135)
第六节 造血干细胞向各谱系分化的分子调控机制	(147)
第七节 造血干细胞向各谱系分化的动力学	(161)
第六章 造血干/祖细胞的体外扩增与定向诱导分化	(177)
第一节 造血细胞的体外扩增	(179)
第二节 扩增细胞生物学特性的评估	(196)

第三节	扩增细胞的临床应用	(197)
第四节	造血干/祖细胞的体外定向诱导分化	(199)
第七章	造血干细胞保存及造血干细胞库建设	(207)
第一节	造血干细胞的保存	(207)
第二节	造血干细胞库	(219)
第八章	造血干细胞移植	(235)
第一节	不同来源造血干/祖细胞及其临床应用	(235)
第二节	造血干细胞采集与处理	(239)
第三节	选择造血干细胞供体来源	(244)
第四节	移植前准备	(250)
第五节	干细胞移植预处理	(252)
第六节	造血及免疫重建	(255)
第七节	主要并发症	(259)
第八节	造血干细胞移植临床应用	(266)
第九章	造血干细胞的基因治疗	(273)
第一节	基因治疗概述	(273)
第二节	造血干细胞的基因治疗	(274)
第三节	造血干细胞基因治疗成果、问题及前景展望	(288)
第十章	白血病干细胞	(292)
第一节	白血病的细胞生物学基础	(292)
第二节	白血病干细胞	(294)
下篇 造血干细胞研究方法		
第十一章	造血干细胞研究方法的现状及应用	(315)
第十二章	造血干/祖细胞的分离、纯化技术	(320)
第一节	骨髓、脐血、外周血、胎肝的采集	(320)
第二节	造血干/祖细胞的分离纯化	(322)
第十三章	造血干细胞的检测方法	(327)
第一节	体内重建实验	(327)
第二节	体外集落形成实验	(332)
第三节	表面标志测定	(335)
第十四章	造血干细胞的冷冻保存与复苏技术	(336)
第一节	造血干细胞的冷冻保存与复苏技术	(336)
第二节	造血干细胞冷冻保存效果的鉴定	(338)

第十五章	造血干/祖细胞体外培养技术	(341)
第一节	造血干/祖细胞体外半固体培养	(341)
第二节	液体培养	(351)
第十六章	造血生长因子及其受体的检测	(356)
第一节	造血生长因子的检测方法	(356)
第二节	造血生长因子受体的检测方法	(361)
第三节	GM-CSF 及其受体的检测	(363)
第十七章	造血细胞体外扩增和造血干/祖细胞定向诱导分化技术	(370)
第一节	造血细胞体外扩增技术	(370)
第二节	造血干/祖细胞体外定向诱导分化技术	(378)
第十八章	造血干/祖细胞增殖分化调控的信号转导研究策略和方法	(383)
第一节	信号转导蛋白的研究	(383)
第二节	基因水平的研究	(394)
第三节	其他研究技术	(398)
第四节	GM-CSFR 介导的造血干细胞分化的信号转导研究	(398)
第十九章	转基因技术	(415)
第一节	目的基因的获得	(415)
第二节	载体构建的基本方法	(419)
第三节	外源基因的导入	(424)
第四节	外源基因的检测	(431)
第二十章	造血干细胞研究的动物模型	(436)
第一节	造血干细胞研究的动物模型	(436)
第二节	造血干细胞动物模型研究的成果	(439)
第二十一章	胚胎干细胞的培养及定向造血细胞分化研究技术	(443)
第一节	胚胎干细胞的分离、培养及鉴定	(443)
第二节	胚胎干细胞向造血干细胞分化	(457)
附 录	缩略语	(463)

上 篇
造血干细胞生物学

第一章 造血干细胞研究的历史、现状及应用

生命科学是 20 世纪末和 21 世纪初自然科学中发展最为迅猛的学科。干细胞的研究与应用又是生命科学中最为前沿、最为热门和最具活力的领域之一。近年来,随着发育生物学、实验血液学、神经生物学、细胞生物学、分子生物学、免疫学和外科移植学等学科的发展,以及计算机技术、纳米技术、生物医学新材料运用等的突飞猛进,使得从机体内分离纯化干细胞,以及干细胞生物学特征、培养扩增、诱导分化等基础研究有了突破性进展,部分干细胞技术已开始进入临床应用,并展现了广阔而光明的应用前景。1998 年,美国威斯康星(Wisconsin)大学的 Thomson 等和霍普金斯(Hopkins)大学的 Gearhart 等分别从人胚泡内细胞团和 5~9 周流产胚胎的背肠系膜与生殖嵴中成功分离出人胚胎干细胞,并由此获得了在体外具有无限增殖和多向分化能力的人胚胎干细胞系,这使科学家看到了干细胞生物工程的曙光以及人类疾病治疗的新途径。因此,有理由相信人类器官、组织和细胞的复制已不是梦寐以求的幻想,对干细胞的研究不仅促使人们重新思考传统的发育生物学理论和概念,而且更为重要的是它将为人类许多疾病的根治带来新的希望。1999 年,美国《科学》杂志将干细胞研究的系列成就列为当年世界十大科技进展的榜首,而举世瞩目、耗资巨大的人类基因组计划却屈居第二。2000 年,《科学》杂志再度将干细胞研究进展列入十大科学进展。2002 年,干细胞的研究又入选《科学》杂志列出的值得关注的六大科学领域。

关于干细胞的描述始于 19 世纪末,随着生命科学的发展,新理论、新技术不断涌现,干细胞的研究和应用领域也得到了不断的拓宽和深入。干细胞生物学的研究和应用几乎涉及所有的生命科学和生物医学领域,除了在细胞治疗、组织器官移植、基因治疗中具有重要意义外,还将在新基因发现与基因功能分析、发育生物学模型,新药开发、药效和毒性评估等领域产生重要影响。同时,由于干细胞研究与应用中涉及的干细胞来源、人与动物细胞核物质的互换,组织器官克隆等问题引发的诸多社会问题、伦理问题也备受社会各界人士关注。总而言之,干细胞研究是一门新兴学科、一种新技术、一个新兴产业,目前的进展预示着它将对人类生命科学和人类健康产生巨大影响。

造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)是干细胞研究与应用领域中开展最

早的,也是迄今为止了解最为深入的一种成体干细胞。造血干细胞的实验研究始于20世纪50年代,60年代初获得突破性进展,从此进入了研究造血干细胞的极盛时期。近20多年来,随着现代生物医学技术的创新和发展,不仅在造血干细胞生物学特点、体外扩增和定向诱导分化等基础研究方面取得了重大的进展,而且它已在临床广泛地用于多种疾病的治疗,并积累了丰富资料和经验。目前已能利用造血干细胞的生物特征,通过细胞工程技术,在体外模拟或部分模拟体内的造血过程,对分离纯化的造血干细胞进行体外扩增、定向诱导分化、功能激活与调控、目的基因转染等。在临床上,造血干细胞已更加广泛和有效地应用于干细胞移植、生物免疫治疗、造血支持治疗和基因治疗等领域。近年研究发现,造血干细胞可在特定的条件下分化为多种非造血细胞,造血干细胞这种“可塑性”的发现与研究,将为造血干细胞的基础研究和临床应用开辟更为广泛的空间。

造血干细胞概念的提出应追溯到1774年,由于受当时本专业及相关学科发展整体水平的限制,并无任何直接或间接的实验依据予以确证,但却由此引发了生命科学界旷日持久、长达两个多世纪的不懈探索。有关造血干细胞本质特征的争论由来已久,在18世纪中期,Hewson就提出“造血细胞起源定位”的问题。根据对淋巴结和胸腺导管的观察结果,他认为血细胞起源于淋巴组织,通过胸腺导管滋养层细胞的辅助直接进入外周血,这一理论几乎统治了血液学领域近一个世纪。19世纪中叶,随着显微镜技术的发展,胚胎学家Weber和Kolliker引证肝脏是造血的主要部位。之后,在1868年,Neumann和Bizzozero则分别提出骨髓是成人造血重要部位的观点,这一论点显然与Hewson的理论背道而驰,当然也不会被科学界所接受。直到19世纪末,人们才普遍接受骨髓作为造血主要场所的事实,也开始研究骨髓中各种血细胞的特征。此时,随着细胞染色技术的发展,Ehrlich率先对骨髓细胞进行了亚群分类,限于当时技术水平的低下,只能将其分为骨髓细胞和源自淋巴组织的淋巴细胞,这就是所谓的血细胞形成的二元论学说。

1898年,Pappenheim改良了细胞染色技术,描述了一系列过渡型细胞,并由此追踪到相对无特征的原始单个核细胞。鉴于该类细胞非常原始,他认为这是所有血细胞的共同始祖细胞——多能未分化的造血干细胞,这就是所谓的一元论。血细胞起源的一元论学说与二元论学说形成了鲜明的对照,并进行了长达30年的激烈争论。著名学者Maximao和Bloom就全力支持一元论学说,其理由是机体的全部细胞毕竟是起源于一个细胞。然而Naegeli和其他学者则认为粒系细胞和淋巴系细胞间具有明显差异,而且粒系白血病与淋巴系白血病在临床表现上也存在较大差别,并坚持血细胞发生的二元论学说。直到20世纪30年代后期人们才认识到,仅根据各自采用不同技术以及不同组织的形态分析是不适宜的,也是不科学的。因此,争论双方又在某种程度上对各自的观点加以妥协并共同提出,当机体需要时淋巴样细胞或原始血细胞都能产生所有血细胞的观点,而且在正常情况下,不

同亚群只发挥维持各自数量的功能。直到 20 世纪中期,对造血干细胞的认识也仍然仅仅是一个抽象的推理,并没有证明它存在的直接依据,当然就无法了解造血干细胞的生物特性,临床医学也不可能知道还有什么造血干细胞缺陷的疾病,更没有利用造血干细胞进行疾病治疗的理念。

20 世纪 40 年代,为了有效地防治由核武器爆炸产生的电离辐射对机体的损伤,出现了辐射生物学和辐射损伤治疗的研究,其中科学家们系统地研究了电离辐射对机体造血系统的损伤。这极大推进了造血干细胞的实验研究,并迅速扩展到对血细胞生成调控以及血液疾病发病机制的研究,逐渐形成了一门新兴的实验血液学(experimental hematology)学科。1951 年,Brecher 和 Cronkite 等采用联体大鼠和肢体屏蔽照射等富有想象力的设计实验给了科学家极为重要的启示,即未经照射的正常骨髓可以治疗致死剂量辐射所致的骨髓严重衰竭。不久,Lorentz 等报道了骨髓细胞悬液输注受致死剂量照射动物的实验结果,发现正常同种系动物供者的骨髓可以在严重破坏的受者骨髓中重新建立造血组织,并提出了“移植”的科学假说,从此出现了骨髓移植(bone marrow transplantation)的术语。但是这一切都还仅仅是动物实验的初步结果。1958 年以后,世界各地和中国陆续出现了大剂量意外核事故的病人,尽管不少病例用了未经组织配型的异体骨髓输注,但无一例获得移植成功的报道。当时人们对移植免疫学一无所知,面对失败而困惑不解。

20 世纪 60 年代,Cronkite 首创地用细胞放射自显影技术,对造血细胞增殖分化的动力过程做了大量深入的动物研究,获得了丰富的实验数据,有力地提示了体内造血干细胞“库”的存在。1961 年,加拿大学者 Till 和 McCulloch 给受致死剂量辐射的小鼠输注同种骨髓细胞时发现,受体小鼠脾脏表面在 8~10 天形成了肉眼可见的结节,称脾集落形成单位(CFU-S),同时受体小鼠得以存活,并逐渐恢复造血功能。之后通过组织切片观察证明,肉眼所见的结节分别由有核红细胞、粒细胞、巨核细胞或它们两者,甚至三者共同组成的细胞集团构成。用脾集落的细胞进行再移植仍可在第二受体鼠的脾脏上形成 CFU-S,并重建受体鼠的髓系和淋巴系造血功能。之后,有学者采用辐射诱导染色体畸变或性染色体作为标志的方法,直接证明在同一脾结节的细胞中仅存在同一种染色体畸变或同一性别的造血细胞,这说明每一个 CFU-S 是由单一细胞增殖分化而来,这种细胞不仅能重建骨髓造血,而且也能重建淋巴系造血,这一实验有力地证实了髓系细胞与淋巴系细胞同源学说,使多年来造血干细胞从抽象的理论推测得到了直接的实验证据,也使造血干细胞的研究获得了突破性进展,因而脾集落实验也称为造血干细胞研究的里程碑,并从此进入了研究造血干细胞的极盛时代。

至此,科学家们需要认真思考的问题是造血干细胞的发生、发育及其他的生物学特性。人体的发生起始于受精卵,而受精卵本身就被认为是一个全能干细胞(totipotent stem cell, TSC)。现代血细胞发生理论认为:在胚胎形成胎儿造血系统

的发育过程中,最先出现的是自胚胎干细胞分化而来的成血管与成血细胞共同的祖先,即成血-血管细胞(hemangioblast),目前已证实该细胞的存在,但迄今尚未建立起完善的分离纯化技术。成血-血管细胞可向造血干细胞和成血管细胞分化,但对其增殖与分化的调控机制还不清楚。经典学说认为:在胚胎发育过程中,造血首先在胚体外的卵黄囊,经胎肝、胸腺、脾脏最后到骨髓。在人胚胎发育的第2周,卵黄囊壁上的胚外中胚层间充质细胞增殖形成许多细胞团,叫血岛,血岛中央的细胞分化为最早的造血干细胞,而血岛周边的细胞分化为血管内皮细胞。随着胚体内外血循环建立,造血干细胞被播散到胎肝,在人胚胎第6周肝脏开始造血,继肝脏造血后脾脏也表现短暂的造血功能,在胚胎发生的第4个月造血干细胞主要迁移定居在骨髓,并维持机体终身造血。由此可见,出生前尤其是胚胎早期造血干细胞分布以胎肝最多,出生后以红骨髓最多,其次是脾脏、肝脏、胸腺、淋巴结,在外周血中也有少量来自骨髓的循环造血干细胞。1995年,美国 Broxmeyer 在基础研究中首次发现脐带血有丰富的造血干细胞,之后他与 Gluckman 合作,在1997年,首次实施了世界上第一例脐带血临床移植治疗 Fanconi 贫血的患儿并获成功。

原始造血发生于卵黄囊血岛被普遍认可,但永久性造血起源何处却争论颇多。目前认为,至少有两个部位与永久造血有关,即卵黄囊与副主动脉脏壁(para aortic splanchnopleura, PAS)和主动脉-性腺-中肾(aorta-gonad-mesonephros, AGM)。造血干细胞即起源于胚胎的副主动脉和 PAS/AGM 区。而 AGM 区是由胚胎脏壁发育而来,此区被认为是成熟的重建造血干细胞生成的最早位点。PAS 可能是哺乳类造血干细胞形成的唯一位点,这一区域产生的造血干细胞再移植到卵黄囊,而卵黄囊的原始造血细胞可能发生程序性死亡,只有迁移而来的永久造血干细胞被传递到肝脏,再向胸腺、脾脏及骨髓迁移定位。由此可见,造血干细胞发育的确切部位并不是作为胚胎造血器官的卵黄囊和胎儿肝脏,而是在胚胎第10天左右的副主动脉、性腺和中肾的位置,即 AGM 区域,然而 AGM 只是 HSC 发育的部位,而造血部位并不在此。因此,哺乳动物的首次造血发生在卵黄囊,造血干/祖细胞在此增殖分化,而二次造血则发生于 AGM,造血干/祖细胞在胎肝和骨髓中进一步增殖分化。

20世纪60~70年代间,随着细胞体外培养技术的不断改革和创新,多种造血细胞均能在体外成功培养和鉴定,这对研究造血干细胞的生物特征及功能起到了极大的推动作用。1966年,Pluznick 和 Metcalf 分别在培养人的骨髓造血细胞过程中发现了 CFU-C(即 CFU in culture 的缩写),之后正式改称为粒-巨噬细胞集落形成单位(CFU-GM)。当时人们对造血祖细胞一无所知,把 CFU-GM 当成造血干细胞,并错误地将祖细胞集落检测称之为“干细胞”培养,又错误地把有多向分化潜能和高度增殖能力的造血祖细胞的两大特征作为造血干细胞的定义。1970年,