

# 造血干细胞

## 理论与移植技术

主 编 韩忠朝  
副主编 韩明哲

HEMATOPOIETIC  
STEM CELLS  
THEORY AND  
TRANSPLANT  
TECHNIQUE

河南科学技术出版社

# 造血干细胞理论与移植技术

主 编 韩忠朝  
副主编 韩明哲

HEMATOPOIETIC  
STEM CELLS  
THEORY AND  
TRANSPLANT  
TECHNIQUE

河南科学技术出版社

## 内 容 提 要

本书针对造血干细胞的基础理论和造血干细胞的移植实用技术进行了全面阐述。全书分为总论、造血干细胞的生物学、造血干细胞调控因子、趋化因子与造血调控、造血干细胞移植、造血干细胞移植实用技术、造血干细胞移植并发症的处理、脐带血移植、造血干细胞培养技术、造血干细胞的分离纯化与体外扩增、流式细胞术在造血系统中的应用、脐带血造血干细胞库的管理和技术规范等十二章。内容详实、新颖,具有较强的临床实用性和指导性。对于临床医师、研究人员和研究生具有重要的参考价值。

### 图书在版编目(CIP)数据

造血干细胞理论与移植技术 / 韩忠朝主编. — 郑州: 河南科学技术出版社, 2000.11

ISBN 7-5349-2420-0

I. 现… II. 韩… III. ①造血干细胞—理论②造血干细胞—移植 IV. R331.2

中国版本图书馆CIP数据核字(2000)第42390号

责任编辑 马艳茹 责任校对 申卫娟 樊建伟

河南科学技术出版社出版

郑州市农业路73号

邮政编码: 450002 电话: (0371) 5737028 5724948

河南第一新华印刷厂印刷

全国新华书店发行

开本: 787 × 1092 1/16 印张: 19 字数: 385千字

2000年11月第1版 2000年11月第1次印刷

印数: 1—4000

ISBN 7-5349-2420-0 / R·481

定价: 45.00元

**韩**忠朝 男，1953年1月出生，教授，博士生导师。现任中国医学科学院中国协和医科大学血液学研究所血液病医院所院长、实验血液学国家重点实验室主任、中国医学科学院造血细胞和基因工程中心主任、中法合作实验室主任。1988年5月获法国生命科学博士学位。1986年6月至1996年在法国学习和工作，历任法国布列塔尼医学院助理研究员、巴黎血管及血液学研究所研究员、细胞分子生物学研究室主任、巴黎第七大学教授及博士生导师。主要从事血液血管细胞分子生物学以及生物技术的研究和开发工作，在造血调控和干细胞、巨核细胞和血小板生



和病理学、血管新生及其控制、趋化因子调节细胞生长和抗放化疗反应等方面的研究中取得许多国际领先水平的学术成果。在SCI引用刊物上发表英文论文70余篇，国内期刊发表论文30余篇，被SCI刊物引用690次。1997年获国家杰出青年科学基金，1998年被评为国家人事部百千万人才的百级层次的优秀人才、突出贡献中青年专家、享受政府特殊津贴。2000年被教育部聘为“长江学者奖励计划”特聘教授。现为美国血液学会、法国血液学会、欧洲血液学会及国际血液学会会员，中华医学会理事，中国中西医结合学会常务理事、中国病理生理学会实验血液学会常委，中国医药生物协会血液生物技术专业委员会主任委员，法国巴黎血管血液研究所兼职教授，Haematologica杂志特邀编辑，International Journal of Hematology杂志、《临床血液学杂志》和《中国实验血液学》编委。

韩明哲 男, 1960年出生, 医学博士, 主任医师, 博士生导师。1984年毕业于白求恩医科大学医疗系, 1988年入中国协和医科大学研究生院学习, 1990-1992年公派到日本北海道大学医学部学习造血干细胞移植。近年来承担10余项“九五”攻关项目, 卫生部、国家教委等科研基金项目。担任中国医药生物技术协会血液生物技术专业委员会委员、中华血液学分会造血干细胞移植学组委员、《中国实验血液学》编委。现负责中国医学科学院血液病医院造血干细胞移植中心工作。在国内外学术期刊上发表了60余篇学术论文。

吴克复 男, 1938年1月出生, 研究员, 博士生导师。血液学研究所血液病医院副所院长。现为国际实验血液会和美国白细胞生物学会会员, 中国实验血液学会常委。1992年被天津市科委授予细胞生物学专家, 1995年被卫生部授予有突出贡献中青年专家。

宋增璇 女, 1936年2月出生, 研究员, 博士生导师。原实验血液学国家重点实验室主任, 学术委员会主任。现任学术委员会副主任。



杨仁池 男, 1965年8月出生, 医学博士, 副主任医师, 硕士生导师。现为中华医学会会员, 中国医药生物技术协会血液生物技术专业委员会委员, 中华医学会血液学分会止血与血栓学组委员。

邱录贵 男, 主任医师, 硕士生导师。现任中国医学科学院中国协和医科大学血液学研究所血液病医院血液肿瘤科副主任, 脐血库主任。

马月霞 女, 1960年9月出生, 副研究员, 硕士生导师。

韩俊领 男, 主管技师。

杨丛林 男, 副主任技师。

李成文 男, 医学博士, 副主任医师。

竺晓凡 女, 副主任医师。

石远凯 男, 中国医学科学院肿瘤医院主任医师。

冯四洲 男, 主治医师。

姜容 女, 副主任医师。

饶青 女, 助理研究员。

何一心 男, 副研究员。



# 前 言

近几十年来,造血干细胞(HSC)生物学研究的迅速发展使HSC临床移植已成为白血病和其他肿瘤的主要治疗手段之一。如何拓宽HSC、间质干细胞(MSC)和原血干细胞的应用范围,如何深入开展包括各系造血祖细胞和淋巴系祖细胞的扩增、保存,以及在抗血细胞减少、细胞免疫治疗和成分输血替代等方面的应用基础研究,如何建立可供公众使用的干细胞储存库信息系统,这些具有重大科学意义和实际应用价值的问题均有待进一步研究阐明。

HSC研究的迅速发展已大大促进其临床应用的广泛开展。到1998年底,全世界已有6万患者成功地进行了骨髓移植和外周血HSC移植,1000多人接受脐带血移植治疗,其中2万多人已生存了5年以上。HSC移植临床取得实效的疾病除十余种血液病外,还包括实体瘤、免疫缺陷病、遗传性疾病等近20余种疾病。但人体HSC和器官的来源缺乏,异体移植造成的免疫排斥和治疗费用的昂贵限制了其广泛应用。为解决这些问题,不少国家积极开展HSC工程研究,包括骨髓和脐血库的建设。到目前为止,全世界已有500万人自愿登记捐献骨髓。我国每年至少有5万~7万患者需HSC移植才能挽救生命,但由于我国尚未储存必需量的HSC产品,骨髓库志愿者登记数量也很少,加上干细胞移植费用昂贵等原因,全国每年进行的HSC移植不到400例。

因此,越来越多的基础研究和临床工作者需要一本能系统介绍现代造



# 前 言

---

血干细胞理论和移植实用技术的参考书。在这种情况下，我们组织实验血液学国家重点实验室和国家教委重点学科点（内科学血液病）的有关专家和学者编写了本书。

该书的出版，得益于作者的长夜青灯，编辑的工笔匠心。在此，对他们及所有帮助过该书出版的人一并致以深切谢意。

由于我们才疏学浅，这一领域中的进展十分迅速，有关文献浩如烟海，加上成书仓促，且作者水平和风格各异，该书一定有不少难尽人意之处，望同道、读者不吝赐教。

为了便于读者阅读，本书中应用了较多的英文缩写，书末附有主要专业词汇中英文对照表，便于读者查考。

韩忠朝

2000年5月24日



# 目 录

---

<b>第一章 总论</b> .....	( 1 )
<b>第二章 造血干细胞的生物学</b> .....	( 8 )
<b>第三章 造血干细胞调控因子</b> .....	( 17 )
<b>第一节 细胞因子及其受体概述</b> .....	( 17 )
<b>第二节 造血调节细胞因子</b> .....	( 19 )
<b>第三节 细胞因子检测原理和方法</b> .....	( 28 )
<b>第四章 趋化因子与造血调控</b> .....	( 36 )
<b>第一节 血小板第 4 因子与造血调控</b> .....	( 38 )
<b>第二节 其他趋化因子与造血调控</b> .....	( 43 )
<b>第五章 造血干细胞移植</b> .....	( 45 )
<b>第一节 造血干细胞移植概述</b> .....	( 45 )
<b>第二节 外周血造血干细胞移植</b> .....	( 56 )
<b>第三节 自体造血干细胞移植治疗恶性实体瘤新进展</b> .....	( 72 )
<b>第六章 造血干细胞移植实用技术</b> .....	( 76 )
<b>第一节 造血干细胞采集和回输</b> .....	( 76 )
<b>第二节 造血干细胞保存</b> .....	( 83 )
<b>第三节 人类白细胞抗原配型</b> .....	( 96 )
<b>第四节 造血干细胞移植净化技术及应用</b> .....	( 110 )
<b>第五节 造血干细胞移植预处理</b> .....	( 127 )





# 目 录

第七章 造血干细胞移植并发症·····	(142)
第一节 移植物抗宿主病·····	(142)
第二节 肝静脉闭塞病·····	(150)
第三节 出血性膀胱炎·····	(157)
第四节 间质性肺炎·····	(160)
第八章 脐带血移植·····	(165)
第九章 造血干细胞培养技术·····	(181)
第十章 造血干细胞的分离纯化与体外扩增·····	(200)
第一节 造血干细胞分离纯化·····	(200)
第二节 造血干/祖细胞体外扩增·····	(210)
第十一章 流式细胞术在造血系统中的应用·····	(224)
第十二章 脐带血造血干细胞库的管理和技术规范·····	(229)
参考文献·····	(236)
主要专业词汇中英文对照·····	(292)



# 第一章

# 总 论

干细胞(stem cell)系具有自我复制和多向分化潜能的原始细胞。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,其分化能力就受限于某些器官系统。

在造血组织中,存在有血液、血管和间质三种组织的干细胞(图1-1),分别称为造血干细胞(hematopoietic stem cell; HSC)、血管干(母)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(aorta-gonad-mesoneph; AGM)区,出生后人体内哪些组织器官存在原血干细胞尚待明确。

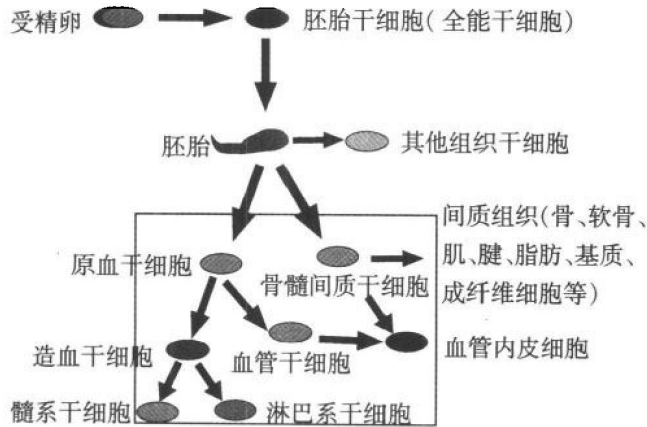


图 1-1 干细胞发育简介

## 一、造血干细胞

HSC 是各种血细胞和免疫细胞的始祖,担负极其重要的生理功能。HSC 的自我更新及分化增殖受众多的细胞因子调节,包括干细胞因子(stem cell factor; SCF)、FLT3



配基 (FL)、血小板生成素 (TPO)、红细胞生成素 (EPO)、白细胞介素 3 (IL-3)、白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 6 受体 (IL-6R)、白细胞介素 11 (IL-11), 以及粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 和趋化因子 (chemokine) 等几十种 (详见第三章)。其中如 EPO、IL-11、G-CSF 和 GM-CSF 已广泛用于临床。还有一些因子已进入临床实验。造血细胞因子的另一用途是造血干细胞体内使用前扩增。近年来, 虽然造血干细胞扩增已取得了很大的进展, 并已建立了一些扩增因子组合体系, 能使干祖细胞扩增数十倍乃至数百倍。但综合最近几年的临床实验结果, 发现目前使用的不同因子组合扩增体系的临床成功率均很低, 提示必须进一步研究和深入认识造血干细胞自我复制的过程及其调节机制。许多征象提示还存在一些造血调控因子尚未被识别。如近几年来的大量研究已明确 TPO 是很重要的生理性造血调节因子, 但事实上, TPO 或其受体 *c-Mpl* 基因剔除的小鼠, 其巨核细胞和血小板可减少 80%, 但剩余的血小板其形态和功能均正常, 小鼠并不因血小板大量减少而出血。给 *c-Mpl* 基因剔除的血小板减少性小鼠注射一次化疗药物 5-氟尿嘧啶 (5-Fu, 150mg/kg 体重), 10d 后, 小鼠血循环血小板数达到正常水平, 骨髓中巨核细胞明显增加, 这一结果明确提示新的血小板生成刺激因子的存在。在 1998 年的国际 HSC 研讨会上, Metcalf 报道了新的细胞因子信号移植因子 (SOCS) 蛋白, 这些蛋白可能调节 HSC 自我更新, Bodine 克隆了人骨髓中编码一种新的酪氨酸激酶受体的 cDNA, 该受体的配体可能是一种新的干细胞因子。新的 HSC 调节因子的分离鉴别和功能研究有助于我们进一步阐明 HSC 自我更新和分化增殖的分子机制。

虽然对于 HSC 的研究已经多年, 但是尚未阐明 HSC 的确切表面标志。CD34 抗原作为早期 HSC 标志已提出多年, 全世界已有几千例患者接受 CD34 阳性细胞 (CD34<sup>+</sup><sup>high</sup>) 的临床移植并已获成功。统计学资料表明移植物中 CD34<sup>+</sup> 数是影响临床疗效的最重要的预后因素。但是, 最近 Zanjani、Dick 等学者对此质疑。他们的研究表明, 成人骨髓、脐带血和小鼠骨髓中 CD34 阴性细胞 (CD34<sup>-</sup><sup>low</sup>) 均具有自我更新和分化等 HSC 功能标志的能力, 但 CD34<sup>-</sup> HSC 可能比表达 CD34 标志的 HSC 更原始。早期 HSC 的表面标志至今尚属此研究领域有待解决的课题。

HSC 移植是骨髓移植、外周血 HSC 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。HSC 移植治疗中, 移植物中 HSC 的数量与质量决定受者造血重建所需时间与持续期限。移植物中质量合格 (功能正常) 的 HSC 的数量越多, 受者造血重建所需时间越短, 成功率越高。此外, 移植物中早期 HSC 的比例越高, 受者造血重建持续时间越长。因此, 早期 HSC 的鉴别与分离, 以及 HSC 体内使用前扩增是实施包括造血重建、基因治疗、肿瘤净化及免疫治疗等临床治疗策略的重要步骤。造血干细胞扩增中最关键的问题是, 如何在扩增时有效地保持干细胞功能的完整性, 不至于造成复制能力衰退 (replicative senescence), 即细胞或已分化成熟或凋亡, 也不至于发生归巢功能



缺陷 (homing defect), 即细胞不能定居到良好的骨髓造血微环境中进行自我复制和分化增殖。这一难题的解决将会大大带动相应的临床治疗措施的有效实施。一些体内实验研究结果显示, 移植干细胞在宿主体内扩增的强度与移植干细胞的数量成反比关系, 提示体内成熟血细胞可能激活调节干细胞自我更新强度的负反馈机制。干细胞更新可能对外来刺激及所遇细胞因子环境非常敏感, 因此干细胞附近的早期与晚期祖细胞可能是参与干细胞自我复制反馈调节机制的最直接的靶细胞。此外, 上述各种细胞因子被认为能通过改变原始 HSC 表面整合素的表达量和亲和力而损伤其归巢功能。由此可见, 新的体内使用前 HSC 扩增方案可能需要在扩增体系中加入, 既能促进干细胞扩增又能抑制祖细胞过量增殖, 而且能加强或至少影响干细胞归巢功能的因子。

## 二、间质干细胞

MSC 是具有自我更新和多向分化增殖能力的原始骨髓细胞, 在合适的体内外环境中可长期生长, 也可分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞、骨髓基质细胞及多种血管内皮细胞。最近 Science 杂志又报道骨髓细胞可形成一种肝脏前体细胞——肝卵圆细胞。在 1999 年第 41 届美国血液学年会上, 美国 Minnesota 大学的研究人员报道骨髓细胞可形成神经细胞。此外 Bjornson 等报道了神经干细胞可转化为造血干细胞的动物实验结果。这些研究发现引起了科学家的极大重视。神经细胞来自外胚叶, 现在它可以转化为中胚叶形成造血细胞, 这是一个重大的突破。值得注意的是, 克隆的神经干细胞在体外不产生血细胞, 只有将它注射到亚致死剂量照射的小鼠体内才能诱导出各种造血细胞 (包括髓系和淋巴细胞系), 表明微环境在诱导细胞分化中起重要作用。在生理状态下, 胎儿和成人体内造血干细胞分别在卵黄囊、肝、脾和骨髓等具备造血微环境的组织中自我复制和分化发育。体外长期培养表明: 造血干细胞只有在骨髓基质细胞层的支持下才能在体外长期自我复制, 并进一步增殖分化为各系祖细胞和成熟的功能血细胞, 这说明基质细胞是维持机体正常造血必不可少的造血微环境的重要组成部分。已知基质细胞对造血的调控, 一方面是通过细胞直接接触, 另一方面是通过其所分泌的细胞因子的作用来实现的。然而, 所有已知由基质细胞分泌的细胞因子在体外并不能使造血干细胞长期自我复制, 提示基质细胞还可能分泌其他一些未知的细胞因子。此外, 由于不同发育阶段的造血组织所含有的造血干细胞具有不同的自我复制与分化增殖潜能, 以及胚胎发育过程中和出生后造血部位从卵黄囊、肝、脾到骨髓的迁移, 进一步提示不同发育阶段的造血干细胞需要不同的造血微环境。在某些病理状态下, 如肿瘤放化疗、辐射损伤及患再生障碍性贫血时, 骨髓微环境会受到不同程度的破坏, 起支持造血干细胞复制与分化发育的大量基质细胞不能分泌必需的造血因子和表达重要黏附因子以维持正常造血微环境。综上所述, 深入研究造血微环境, 特别是基质细胞对造血干细胞复制与分化发育的作用、损伤基质细胞的修复和造血微环境重建, 以及



在体外模拟出不同发育阶段的造血干细胞复制与分化发育所必需的造血微环境等，具有重要的基础理论意义和临床应用前景。

### 三、原血干细胞和血管干细胞

已知胚胎中存在有几个造血部位。Dzierzak 的研究成果表明，早期小鼠胚胎 AGM 区的 HSC 可在成年大鼠体内植活和自我更新。这些 HSC 表达 CD34、c-kit 和 MAC-1。二十多年前，人们就推测体内存在一种所谓原血干细胞，是内皮细胞和造血细胞的共同祖先。Keller 报道来自相当于卵黄囊（小鼠胚胎另外一个早期造血部位）的小鼠胚胎干细胞，称之为过渡细胞的早期前体细胞，在体外对血管内皮生长因子和造血细胞因子都有反应，表明原血干细胞的存在。近年来已经证实动物中存在原血干细胞，但尚未建立稳定的分离纯化技术，人体内哪些组织器官存在原血干细胞也有待明确，但原血干细胞的双重分化潜能已使它成为下一个可用于临床移植治疗血液、血管性疾病的候选干细胞。

血管干细胞是直接产生血管内皮细胞的前体细胞。器官和组织的血管系统由血管生成 (vasculogenesis) 和血管新生 (angiogenesis) 两种不同的过程所决定。前者是指中胚层来源的内皮细胞前体或成血管细胞，在原位进行分化、聚集，形成心脏和大血管的始基，以及胚胎和胚胎外的毛细血管；血管新生是指内皮细胞的增生和迁移，从先前存在的血管发芽生成新的毛细血管。血管生成仅发生在胚胎早期，在此过程可以伴随血管新生；胚胎形成和产后组织的正常生长均需要血管新生，例如成年女性子宫内膜的反复重建。另外，血管新生也可见于许多病理情况，包括肿瘤、糖尿病视网膜病、牛皮癣、类风湿性关节炎 (RA)、十二指肠溃疡、月经失调、不孕症等。已知实体瘤的发生、转移与血管新生有着密切的联系。

基于血管新生在机体生理病理过程中的作用，有效控制血管新生已成为人们对相关疾病治疗的新策略。应用正调节因子或基因转染技术诱导血管新生，作为心、脑、外周血管缺血性疾病的治疗方法，动物和临床实验结果令人鼓舞。最近几年已应用抗血管新生物质治疗肿瘤和预防肿瘤转移，用造血调控因子和/或自体 HSC 移植防治肿瘤临床化疗/放疗对骨髓的损伤。大量的实验结果证实使用血管新生抑制剂能够显著抑制肿瘤的进展，但迄今尚无足够的临床研究结果证实何种抗血管新生策略更有效。已知许多心血管疾病的发生与发展是环境与遗传因素长期相互作用的结果。虽然现在治疗心血管疾病的方法很多，但基因治疗将是治愈这些疾病的最有效手段之一。原血和血管干细胞因其具有自我更新及重建或修复血管的潜能，因此是最理想的心血管疾病基因治疗的靶细胞。综上所述，深入研究血管新生的调控机制及原血和血管干细胞、血管新生因子在疾病发生发展中的作用，将为心、脑、外周血管缺血性疾病及肿瘤的有效控制提供新的防治策略和手段。



血液、血管和间质干细胞的发育与分化是一个多阶段连续过程。在这一过程中，不同层次的干细胞表达的细胞表面分子有所不同（图 1-2）。从图中可以清楚地看到不同阶段的血液血管干细胞表达不同的表面分子。原血干细胞目前发现只表达 Flk-1/KDR，但这一分子在所有血管内皮细胞均表达，可在 HSC 不存在。通常用作 HSC 的特异性标志的 CD34 在血管内皮细胞表达，但在早期 HSC 不表达。AC133 只在血液细胞中表达。此外，骨髓 MSC 目前尚未发现特异性表面分子，其鉴别主要靠排除法和生物学活性分析。综上所述，进一步识别造血组织干细胞表面新的抗原分子并制备其抗体，不但是深入阐明干细胞发育分化机制的关键，也为干细胞的鉴别分离等干细胞工程技术所必需。

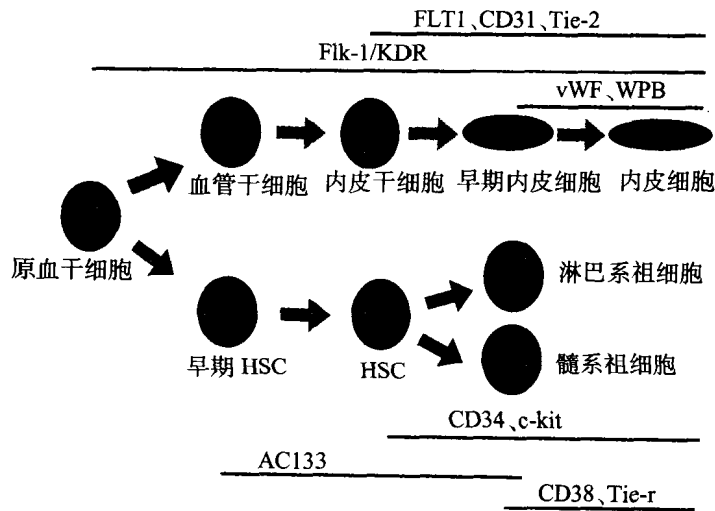


图 1-2 干细胞表面分子的表达

#### 四、造血组织干细胞的应用

造血细胞的应用研究经历输血、骨髓移植发展到了外周血和脐带血 HSC 及其定向分化祖细胞的移植等阶段，在急救、重建骨髓和免疫功能及支持恶性肿瘤患者度过强化/放疗骨髓抑制期等方面起到了重要作用。HSC 研究的迅速发展已大大促进其临床应用的广泛开展。到 1998 年底，全世界已有 6 万患者成功地进行了骨髓移植和外周血 HSC 移植，1 000 多人接受脐带血移植治疗，其中 2 万多人已生存了 5 年以上。HSC 移植临床取得实效的疾病除十余种血液病外，还包括实体瘤、免疫缺陷病、遗传性疾病等近二十余种疾病。但人体 HSC 和器官的来源缺乏，异体移植造成的免疫排斥和治疗费用的昂贵限制了其广泛应用。为解决这些问题，不少国家积极开展 HSC 工程研究，包括骨髓和脐带血库的建设。到目前为止，全世界已有 500 万人自愿登记捐献骨髓，其中 200 万人已做了 HLA 配型。但是患者能在骨髓库找到 HLA 匹配的同胞供者的可能性只



有 25%，而寻找无关供者更难，平均花费时间 135d，费用为 25 000~50 000 美元，因此异体 HSC 移植目前只能使部分患者受益。自体 and 脐带血 HSC 移植因疗效确切，来源广泛而倍受推崇。因此，建立自体 and 脐带血 HSC 库具有非常重要的临床应用前景。

我国每年至少有 5 万~7 万患者需 HSC 移植才能挽救生命，但由于我国尚未储存必需量的 HSC 产品，骨髓库志愿者登记数量也很少，加上干细胞移植费用昂贵等原因，全国每年进行的 HSC 移植不到 400 例。在可能发生的局部核战争或和平年代的核事故中，核应急的主要措施之一是救治遭受急性放射性损伤的伤员。骨髓造血系统是对核辐射破坏最为敏感的组织系统之一，受害者的骨髓造血系统常被破坏而发生致命的造血衰竭，很快死于严重出血和感染。度过危重期以争取恢复机会的最重要的措施是通过异基因的造血组织细胞移植尽快重建受害者的造血系统，恢复造血和免疫功能。在核应急时要在短期内同时找到众多组织配型相合的造血细胞移植供者，来分别救治急性放射性损伤受害者是几乎不可能的。近年国内外学者发现人脐带血是一种提供可移植的造血细胞群体的新来源。人脐带血中含有比骨髓或外周血中更多的具有重建造血能力的造血干/祖细胞。脐带血 HSC 比骨髓或外周血 HSC 分化的长期增殖潜能更强，因而理论上重建受者造血功能的成功机会更大。尤其是脐带血 HSC 相同的分化抗原性比骨髓或外周血 HSC 低得多，因此对组织配型相合的要求也比后者低得多，紧急时甚至可免于配型。1988 年，法国医师 Gluckman 教授进行了世界上第一个脐带血临床移植治疗 Fanconi 贫血并获得成功。从那时起至今，脐带血的储存（脐带血库）及其临床应用进展很快，已有 1 000 多人接受脐带血临床移植治疗，各国的 HSC 库已收藏脐带血标本近六万份。美国纽约中心血站自 1992 年 1 月到 1998 年 6 月期间，共采集并冻存了 7 705 份脐带血，提供了 676 份脐带血供临床移植，临床效果显著。我国的脐带血资源大，一些地方如中国医学科学院血液学研究所和北京医科大学血液学研究所均已建立了目前国内最大的脐带血库，以备不时之需，也包括核应急之需。如果具备相当数量样本的脐带血库，能透彻地了解脐带血 HSC 性能及重建造血组织和功能的规律，设计和优化应用脐带血 HSC 移植的程序和条件，就能在核应急时对急性放射损伤受害者的救治中发挥重要作用，平时也可为白血病、肿瘤、遗传性血液病和免疫性疾病的治疗发挥重要作用。但脐带血 HSC 移植也有缺陷和局限性，单份脐带血中所含 HSC 在理论上虽不少，但实际数量往往不足以支持成人的造血重建，需要体外加以扩增。此外，脐带血 HSC 植活较难，植活后造血功能恢复较慢。当务之急是应尽快开展脐带血以及其他组织来源的 HSC、MSC 和原血干细胞的优化扩增、保存（库）技术及其有关的应用基础研究，才不至于浪费资源，避免巨额经费消耗于脐带血的收藏和备用。输血是组织工程中最古老、应用最广泛的领域。但是，由于血源、配型和微生物感染等问题困扰，其应用受限。医学界众多学者期待用体外培养方法从安全可靠的脐带血，以及其他造血组织生产全血细胞以部分乃至全部替代从献血者获得血细胞。如何拓宽 HSC、MSC 和原血干细



胞的应用范围，如何深入开展包括各系造血祖细胞和淋巴系祖细胞的扩增、保存，以及在抗血细胞减少、细胞免疫治疗和成分输血替代等方面的应用基础研究，如何建立可供公众使用的干细胞储存库信息系统，这些具有重大科学意义和实际应用价值的问题均有待进一步研究阐明。

毫无疑问，从健康供者各种组织获取的干细胞有着极大的临床应用前景。但用他人提供的细胞移植物，需经过严格的组织配型证实完全相合，方能保证安全，否则不仅不能植活，反而引起严重移植物抗宿主反应（graft versus host disease; GVHD）而致命；而寻找组织配型相合的供者，检测繁杂，概率极低，殊为不易。虽近来有人试用组织配型不全相合或全不相合的细胞移植物供者，以扩大供者搜寻范围，但尚无肯定进展。解决主要组织相容性抗原相合（无免疫排斥反应）的干细胞来源和通过干细胞移植为实现实体器官移植的免疫耐受提供新的途径已成为细胞和组织器官移植领域当前的新任务。1997年12月，英国 Roslin 研究所克隆羊多利（Dolly）的诞生向人们揭示了一个全新的概念：由成年机体的一个体细胞核，可以复制一个基因完全相同的新的生命个体。此后克隆鼠、克隆牛等实验的成功进一步验证了这一概念的科学性。由于医学伦理学的原因，克隆人的实验毫无疑问应该受到严格地限制。但是，将克隆技术用于患者所需细胞的研制，事实上并不涉及新生命个体的形成，因此不应有伦理学方面的问题。将体细胞核移植于去核卵细胞形成的克隆细胞，其基因组 DNA 与细胞核供体完全一致。由克隆细胞复制出可供移植、无免疫排斥反应的造血组织特异性干细胞是我国血液学工作者的又一个有待攻克的研究重点。

(韩忠朝)





## 第二章

# 造血干细胞的生物学

干细胞是具有自我更新和多向分化潜力的细胞。所谓自我更新即细胞通过有丝分裂产生的两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。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）。来自早期鼠胚的胚胎干细胞系（ES 细胞）属全能干细胞，是研究干细胞发育潜力的重要材料。1998 年在美国成功地建立了人 ES 细胞系，不但为研究人类细胞的遗传变异提供了有用的生物材料，也为细胞和器官的体外培养和移植应用提供了可能性。

### 一、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，也具有一定的自我更新能力，可通过移植重建受损害的造血和免疫系统，称之为多能干细胞（multipotent stem cell）。由于其发育潜能已限于造血和免疫系统，推测其自我更新能力也有限。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。多能的造血干细胞来源于全能干细胞的研究已有不少报道。Nakano 等用小鼠 ES 细胞与基质细胞共培育，获得了能向淋巴细胞和髓细胞发育的造血干细胞。Lawson 和 Hege 用标记第 6d 鼠胚的单个细胞，追踪其发育潜力，发现它们能发育为胚外和胚胎中的许多组织，包括尿囊、卵黄囊中胚层和血岛及胚胎中胚层组织。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（proimordial germ cells; PGCs），Lawson 等的工作证明了其全能干细胞性质。以后许多研究发现 PGCs 表达阶段特异性胚胎抗原 1（stage specific embryonic antigen - 1; SSEA - 1），是胚胎中惟一的碱性磷酸酶阳性细胞，它们在体外培养增