

提高脐血造血干细胞移植归巢的研究进展

孟 强 综述, 赵树铭 审校

(第三军医大学西南医院输血科, 重庆 400038)

关键词: 脐血; 造血干细胞; 造血干细胞移植; 归巢; 定植

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 03. 037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)03-0366-03

脐血造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)移植成为目前造血干细胞移植(HSC transplantation, HSCT)的主要形式之一。与其他来源的移植用干细胞相比,脐血 HSC 具有以下优势:起效时间快;受 I 或 II 型人白细胞抗原(HLA)错配导致的供体细胞扩增减少的影响小;免疫原性低;移植后继发性潜在病毒感染率低;对供体损害小;不同人种、民族差异性小^[1]。但是 HSC 应用于移植时最大的难题是单份脐血内干/祖细胞绝对数量比骨髓或外周血动员后产生的干/祖细胞少,造血细胞归巢定植效率低^[2-3]。为解决这一难题,学者们研究了多种方法用以提高脐血干/祖细胞的收集和提高移植后 HSC 归巢的效率,比如阻断或刺激某些肽类物质、应用双份冷藏脐血、间充质干细胞(MSCs)联合移植^[4]、HSC 直接注入骨髓等^[5]。本文对 HSCT 后归巢的研究进展作一综述。

1 归巢及其主要影响因素

归巢是指干细胞进入受体后经外周血循环到骨髓内与造血微环境相适应并识别和定植的一系列复杂的过程,涉及到细胞因子梯度、细胞黏附、细胞周期刺激等^[6],其中受-配体的特异性识别与结合对干细胞归巢作用非常重要。大量研究证实,基质细胞衍生因子-1(stromal cell derived factor 1, SDF-1)/趋化因子 12(CXCL12)是干细胞趋化、活化和归巢的关键因子^[7]。SDF-1/CXCL12 信号通过趋化性细胞因子 4 受体(CXCR4)发挥作用。SDF 属 CXC 型趋化因子,主要在骨髓基质细胞和骨髓内皮等细胞表达,是 CD34⁺ HSC 的趋化因子,特异性地引起表达 CXCR4 的 HSC 的趋化反应,因此在 HSC 的迁移和归巢中起着重要作用。脐血 CD34⁺ 造血干/祖细胞的表面表达 SDF-1 的受体 CXCR4, SDF-1 能特异性地对 CXCR4 产生趋化作用。因此,表达 CXCR4 的 HSC 就能够沿着 SDF-1 的浓度梯度迁移实现归巢过程。由于 SDF-1 与其受体 CXCR4 相互作用是造血干/祖细胞归巢和定植的重要原因,通过调节 SDF-1, CXCR4 轴可以对干/祖细胞植入骨髓的能力产生影响。

2 促进脐血 HSC 归巢的主要因素

2.1 CD26

CD26 又称 DPP-4,是一种可以从 N 末端裂解 X-脯氨酸(Pro)多肽的从属于 S9B 蛋白家族的丝氨酸肽链端解酶。它属于 II 型跨膜糖蛋白,表达于许多细胞表面。CD26 可以调节趋化因子^[8],可以用来对提高造血干/祖细胞的移植效率进行评估^[9]。CD26 抑制剂对干/祖细胞在体内的归巢作用尤为重要。它可以阻碍 SDF-1 水解,增强其趋化作用,有利于脐血 HSC 移植后归巢。CD26 特异性抑制剂——Diprotin A 是 CD26 的底物类似物,能在底物水平竞争性抑制 CD26 的蛋

白水解活性,从而影响 HSC 的迁移,具有促进干细胞归巢的作用。应用 Diprotin A 处理骨髓细胞后,可以显著提高干细胞的移植效率^[10]。实验表明,应用 Diprotin A 或 Val-Pyr,抑制 CD26 的活性,同时保持 SDF-1/CXCR12 结构的完整,使其能通过 CXCR4 信号通路提高 SDF-1/CXCR12 介导的趋化作用^[11]。在对鼠 HSCs/HPCs 的实验中发现,用 Diprotin A 对 HSCs 进行预处理后,可以提高这些细胞在活体内的 SDF-1/CXCR12 的趋化作用^[12]。Peranteau 等^[13]也证实,移植全部骨髓和用 Diprotin A 预处理纯化的干细胞短期归巢(4 h 或 48 h)效率显著提高,移植成功的阳性小鼠数量增加,移植稳定水平可达到移植后 6 个月。Kawai 等^[14]的研究显示,在动物模型中应用 Diprotin A 可以显著提高 G-CSF 动员外周血 CD34⁺ 细胞的移植效率。Diprotin A 抑制 CD26 的肽酶活性,可使鼠和人的 HSC 对 SDF-1/CXCL12 的趋化作用增强。用 Diprotin A 短时间处理供者脐血干细胞 15 min 后植入致死量照射小鼠体内,可以提高干细胞在体内的归巢、定植和竞争性增殖效率。体外实验中,人脐血 CD34⁺ 细胞应用 Diprotin A 处理后在 SDF-1/CXCR12 介导的趋化作用下的迁移率显著提高,表明 CD26 对 CD34⁺ 细胞的趋化作用呈负向调节^[15]。Christopher 等^[16]研究显示,应用抑制剂处理 CD34⁺ 细胞后,可以使细胞移植的效率得到极大提高。这些研究充分证实,CD26 抑制剂具有促进 HSC 归巢的作用,寻找合适的 CD26 抑制剂,已经成为目前筛选促进 HSC 归巢药物的研究方向之一。

2.2 前列腺素 E2

前列腺素 E2(prostion E2, PGE2)是最丰富的花生酸,是一种重要的前列腺素,也是体内众多生理功能的调节激素^[17]。PGE2 可以抑制 CD34⁺ 细胞的凋亡^[18],通过影响 HSC 的存活和(或)增殖来提高 HSC 移植效率。在体外,应用 PGE2 对骨髓细胞进行短暂处理,可以提高鼠脾集落生成单位(colony-forming units, CFU-s)和粒细胞-单核细胞集落生成单位(CFU-granulocyte and monocyte, CFU-GM)的比例^[19]。PGE2 可提高 HSC 归巢的效率。用 PGE2 处理 HSC 后,可以使 HSC 数量增加和(或)引起细胞周期状态改变,进而促进 HSC 归巢或在受体骨髓内增殖。用 PGE2 处理 HSC,通过上调趋化因子受体 CXCR4,从而提高 HSC 归巢效率。Hoggatt 等^[19]研究表明,使用 CFSC 标记的 dmPGE2 处理脐血单个核细胞,可以显著提高脐血 CD34⁺ 细胞的归巢效率。PGE2 也可以促进鼠的造血细胞移植^[20],可以明显提高人脐血 CD34⁺ 细胞在免疫缺陷 NS2 小鼠体内的归巢能力。PGE2 通过直接增加脐血 CD34⁺ 细胞 CXCR4 的表达,放大 SDF-1/CXCR4 信号,增强细胞对 SDF-1 α 的趋化性,从而促进 HSC 归

巢。体外实验表明,用 dmPGE2 处理脐血 HSC 后,脐血 CD34⁺ 细胞对 SDF-1 的趋化性显著提高;而选择性 CXCR4 受体拮抗剂 AMD3100 可以阻滞这种趋化性的发生^[21],进一步证明了 PGE2 对提高脐血干细胞归巢具有直接的作用。体内、外试验均表明,PGE2 调节 HSC 的作用是直接和稳定的,主要通过上调存活素(survivin)的表达抑制 HSC 凋亡,促进 HSC 增殖和分化,增加 CXCR4 表达以增强对 SDF-1 的趋化性,促进 HSC 归巢定植于骨髓。

3 其他促进 HSC 归巢的途径

3.1 增加干细胞数量 增加脐血内干/祖细胞的绝对数量,是促进 HSCT 和归巢的重要策略之一。可以采用双份冷冻脐血增加输入细胞量,促进植入及造血功能的恢复,以满足大体质量儿童及成人的需要。双份脐血移植具有以下优点:植入率高(91%)、植入时间短、复发率低;移植早期可以出现短暂的混合嵌合和短暂的双倍嵌合状态;应用双份脐血移植可能具有加速造血重建的作用和竞争植入作用。这些作用可能与双份脐血中黏附分子的含量较高相关,黏附分子可能对 HSC 在受体内的植活潜能具有重要的意义^[22]。

3.2 联合移植 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类具有多向分化潜能的细胞,通过分泌细胞外基质及多种细胞因子可以维持造血微环境结构和功能的完整性,其在造血方面的重要作用已经被广泛接受。MacMillan 等^[23]在体外扩增培养 MSCs 提高儿科患者接受非相关供体 HSC 的 I~II 期临床试验结果中证实,在 15 位受试患者中,所有患者在 HSCT 后 21 d 全部实现了 100% 供体型嵌合;其中 8 位患者在中位时间 19 d(9~28 d)实现了粒细胞的增殖,6 位患者在中位时间 53 d(36~98 d)实现了血小板增殖。100 d 内患者 II~IV 型移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)的累积发生率为 38%(95% CI, 10%~66%),没有患者出现慢性 GVHD。采用 Kaplan-Meier 法评估患者 1 年生存率达 75%。这些数据充分证实了体外培养扩增 MSCs 与脐血 HSC 共移植的效果是安全、稳定的。MSCs 不但能促进 HSC 植入减轻急性 GVHD,而且在治疗移植后其他并发症上也有良好的疗效,在 HSCT 中具有重要的作用。

3.3 改善移植部位 直接将 HSC 注入骨髓微环境可以提高其归巢和定植。小鼠实验证实,由于降低了细胞归巢前在循环中的损失,直接骨髓内注射脐血 CD34⁺ 细胞,移植效果好于静脉内注射脐血 15 倍^[24]。研究者将这一方法应用于临床研究,通过检测供体中性粒细胞和血小板生成,判定这一新的脐血细胞给药途径的安全性和有效性的 I、II 期临床研究已经完成,移植后 30 d 可出现供体细胞完全嵌合,移植后 100 d,血小板恢复率大于 80%;急性 GVHD 发生率低于 35%。与脐血静脉注射相比,HSC 骨髓内注射可以显著降低血小板再生延迟的发生,也可以降低 GVHD 的发生率^[5]。

3.4 其他因素 由于细胞浓度和 HLA 差异是影响干细胞移植成功的重要因素,它们对 HSC 归巢的影响也不可忽视。高浓度细胞移植可以部分克服因不同 HLA 水平差异导致的 HLA 错配产生的负面影响。目前,欧洲的脐血研究机构已制定出基于细胞浓度、HLA 配型和判断的脐血供体选择策略^[25]。

4 结 语

HSC 归巢和移植效果的提高,涉及一系列复杂的过程,研究体内、体外扩增脐血干/祖细胞数量并提高其归巢和移植效果的工作,以及研究涉及脐血干/祖细胞自我更新、增殖、存活、分化、迁移等功能对提高干/祖细胞移植治疗效果具有重要的推动作用。

参考文献

- [1] Rocha V, Locatelli F. Searching for alternative hematopoietic stem cell donors for pediatric patients[J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 41(2): 207-214.
- [2] Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study[J]. Lancet, 2007, 369(9577): 1947-1954.
- [3] Komanduri KV, St John LS, de Lima M, et al. Delayed immune reconstitution after cord blood transplantation is characterized by impaired thymopoiesis and late memory T-cell skewing[J]. Blood, 2007, 110(13): 4543-4551.
- [4] Kurtzberg J, Prasad VK, Carter SL, et al. Results of the cord blood transplantation study(COBLT): clinical outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with hematologic malignancies[J]. Blood, 2008, 112(10): 4318-4327.
- [5] Frassoni F, Gualandi F, Podesta M, et al. Direct intrabone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I/II study[J]. Lancet Oncol, 2008, 9(9): 831-839.
- [6] Chute JP. Stem cell homing[J]. Curr Opin Hematol, 2006, 13(6): 399-406.
- [7] Broxmeyer HE, Hangoc G, Cooper S, et al. AMD3100 and CD26 modulate mobilization, engraftment, and survival of hematopoietic stem and progenitor cells mediated by the SDF-1/CXCL12-CXCR4 axis[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1106: 1-19.
- [8] Ajami K, Pitman MR, Wilson CH, et al. Stromal cell-derived factors 1alpha and 1beta, inflammatory protein-10 and interferon-inducible T cell chemo-attractant are novel substrates of dipeptidyl peptidase 8[J]. FEBS Lett, 2008, 582(5): 819-825.
- [9] Broxmeyer HE. Chemokines in hematopoiesis[J]. Curr Opin Hematol, 2008, 15(1): 49-58.
- [10] Tian C, Bagley J, Forman D, et al. Inhibition of CD26 peptidase activity significantly improves engraftment of retrovirally transduced hematopoietic progenitors[J]. Gene Ther, 2006, 13(7): 652-658.
- [11] Christopherson KW, Cooper S, Broxmeyer HE. Cell surface peptidase CD26/DPPIV mediates G-CSF mobilization of mouse progenitor cells[J]. Blood, 2003, 101(12): 4680-4686.
- [12] Christopherson KW, Hangoc G, Mantel CR, et al. Modulation of hematopoietic stem cell homing and engraftment by CD26[J]. Science, 2004, 305(5686): 1000-1003.
- [13] Peranteau WH, Endo M, Adibe OO, et al. CD26 inhibition enhances allogeneic donor-cell homing and engraftment after in utero hematopoietic-cell transplantation[J]. Blood, 2006, 108(13): 4268-4274.
- [14] Kawai T, Choi U, Liu PC, et al. Diprotin A infusion into nonobese diabetic/severe combined immunodeficiency mice markedly en-

- hances engraftment of human mobilized CD34 (+) peripheral blood cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2007, 16(3):361-370.
- [15] Campbell TB, Hangoc G, Liu Y, et al. Inhibition of CD26 in human cord blood CD34 (+) cells enhances their engraftment of non-obese diabetic/severe combined immunodeficiency mice[J]. *Stem Cells Dev*, 2007, 16(3):347-354.
- [16] Christopherson KW, Paganessi LA, Napier S, et al. CD26 inhibition on CD34⁺ or lineage⁻human umbilical cord blood donor hematopoietic stem cells/hematopoietic progenitor cells improves long-term engraftment into NOD/SCID/Beta2(null) immunodeficient mice[J]. *Stem Cells Dev*, 2007, 16(3):355-360.
- [17] Miller SB. Prostaglandins in health and disease; an overview[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2006, 36(1):37-49.
- [18] George RJ, Sturmoski MA, Anant S, et al. EP4 mediates PGE2 dependent cell survival through the PI3 kinase/AKT pathway [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2007, 83(1/2):112-120.
- [19] Hoggatt J, Singh P, Sampath J, et al. Prostaglandin E2 enhances hematopoietic stem cell homing, survival, and proliferation[J]. *Blood*, 2009, 113(22):5444-5455.
- [20] North TE, Goessling W, Walkley CR, et al. Prostaglandin E2 regulates vertebrate haematopoietic stem cell homeostasis[J]. *Nature*, 2007, 447(7147):1007-1011.
- [21] Fukuda S, Bian H, King AG, et al. The chemokine GRObeta mobilizes early hematopoietic stem cells characterized by enhanced homing and engraftment[J]. *Blood*, 2007, 110(3):860-869.
- [22] Brunstein CG, Barker JN, Weisdorf DJ, et al. Umbilical cord blood transplantation after nonmyeloablative conditioning: impact on transplantation outcomes in 110 adults with hematologic disease [J]. *Blood*, 2007, 110(8):3064-3070.
- [23] Macmillan ML, Blazar BR, DeFor TE, et al. Transplantation of ex-vivo culture-expanded parental haploidentical mesenchymal stem cells to promote engraftment in pediatric recipients of unrelated donor umbilical cord blood: results of a phase I-II clinical trial[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2009, 43(6):447-454.
- [24] Castello S, Podesta M, Menditto VG, et al. Intra-bonemarrow injection of bone marrow and cord blood cells; an alternative way of transplantation associated with a higher seeding efficiency[J]. *Exp Hematol*, 2004, 32(8):782-787.
- [25] Rocha V, Gluckman E. Improving outcomes of cord blood transplantation: HLA matching, cell dose and other graft- and transplantation-related factors[J]. *Br J Haematol*, 2009, 147(2):262-274.

(收稿日期:2010-08-09)

(上接第 340 页)

法测定结果的相关回归方程为 $Y = 1.011X + 0.13$, 决定系数 r^2 大于 0.95, 可认为试验选择的评价浓度范围适合, 能满足评价试验的要求。对 2 种方法测定的结果进行方法对比和偏倚评估, 结果发现血清胱抑素 C 在医学决定水平 0.96、2.50、6.00 mg/L 时, 散射比浊法和透射比浊法测定结果的偏倚均在可接受的范围内, 2 种方法的检测结果具有较好的线性相关性。

综上所述, 尽管透射比浊法和散射比浊法在测定血清胱抑素 C 的原理及方法上有所不同, 透射比浊法主要检测抗原抗体复合物所形成的浊度, 散射比浊法从不同角度测量抗原抗体复合物质粒的散射光强度和浊度的变化, 但 2 种方法都属于免疫比浊测定。如果使用性能较好的全自动生化分析仪及质量较好的试剂, 并保证测定结果在良好的质量控制体系下获得, 就能保证血清胱抑素 C 透射比浊法和散射比浊法的测定结果的一致性, 使 2 种方法测定结果的偏倚在可接受的范围内。

参考文献

- [1] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A Method comparison and bias estimation using patient samples [S]. Wayne, PA: NCCLS, 1995.
- [2] 罗佩, 崔有宏, 张大高. 临床化学方法学评价[M]. 兰州: 兰州大学出版社, 1996:47-51.
- [3] 丛玉隆, 冯仁丰, 陈晓东. 临床实验室管理学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004:111-114.
- [4] International Organization for Standardization. ISO/IEC17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories[S]. Geneva: ISO, International Organization for Standardization, Geneva, 1999.
- [5] 魏吴, 丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2004:72-75.
- [6] 初开秋, 任立晟, 田清武. 同种项目在不同生化分析仪测定结果的偏倚评估与可比性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2008, 29(9):853-854.
- [7] 王建琼, 张昱璠, 郑瑞. 两种试剂检测血清低密度脂蛋白胆固醇的结果评价[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(4):406-407.
- [8] 王建琼, 牛华, 郑瑞. 肝素抗凝血浆钾与血清钾测定对比分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(5):500-501.
- [9] 孙虹, 台虹, 赵崇吉. 不同生化分析系统间检测结果的偏倚评估及应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2003, 26(10):587-590.
- [10] 陈先荣, 李智, 刘一平. NCCLS EP9-A 文件在全自动生化分析仪评价中的应用[J]. *实验与检验医学杂志*, 2010, 28(4):407-408.
- [11] 潘桂红. 两套生化分析仪间的偏倚评估[J]. *医学检验与临床杂志*, 2010, 21(3):3-4.
- [12] 王惠莹, 贾雄飞, 滕毅, 等. 不同试剂检测总蛋白结果的可比性及偏倚评估研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(7):763-764.
- [13] 康淑霞, 杨萍, 王凤超, 等. 3 种生化分析系统间 TG、CHO 检测结果的对比分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(3):306-307.

(收稿日期:2010-09-06)