

• 综 述 •

骨髓基质细胞对血小板生成的影响

林 放 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: 骨髓基质细胞; 血小板; 造血干细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)08-0959-03

骨髓基质细胞(BMSCs)是起源于胚胎发育的间充质干细胞(MSCs),是骨髓细胞中除去造血干细胞(非黏附细胞)之外的黏附细胞部分,对造血干/祖细胞(HSC/HPC)增殖、分化、发育、成熟、迁移、定居、释放、凋亡等生理活动具有特殊作用。现综述 BMSCs 对特殊的一类血液细胞——血小板生成的影响。

1 骨髓微环境的组成

骨髓微环境主要包括 MSCs、细胞外基质(ECM)和各种造血因子,三者共同组成一个高度复杂而有效的调节网络。MSCs 最初被认为是骨髓基质的组分,没有特殊的功能,只是作为一种结构性支持作用。但后来研究发现, BMSCs 起源于胚胎发育的间充质, MSCs 对造血具有重要的影响,引起了人们的关注。MSCs 也称为黏附细胞、克隆形成单位成纤维细胞或骨髓间充质干细胞,具有自我更新、高度增殖以及在特定条件下能够多向分化的特性,具有向成骨细胞、成软骨细胞、成肌细胞、肝细胞、脂肪细胞、神经胶质细胞及基质细胞分化的能力^[1-3]。细胞外基质由树突状细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、内皮细胞、脂肪细胞、网状细胞等多种细胞组分组成^[4]。这些组分可以合成纤维性成分(胶原蛋白、弹性蛋白和网织蛋白)、连接蛋白(纤维黏连蛋白、层黏连蛋白)和空间充填分子(主要为糖胺聚糖)等,其对细胞增殖和分化发挥重要调控作用^[5]。细胞因子是具特征性的造血调控因子,对细胞的静止、凋亡、增生和分化有正或负的调控作用。MSCs、细胞外基质和各种造血因子支持和调节生物体造血干/祖细胞定居、增殖、分化、发育和成熟。

1.1 骨髓基质细胞 Guerriero 等^[6]发现 BMSCs 能分泌血小板生成素(TPO)及其他与巨核细胞生成有关的因子刺激巨核细胞生长和成熟。BMSCs 一方面可以合成多种造血正负调控因子,另一方面通过与造血干细胞密切接触而发挥近距离调节,发挥高效的调控作用以维持机体造血的动态平衡。

1.2 树突状细胞 骨髓中的树突状细胞与 T、B 细胞之间有着相互作用,树突状细胞可以通过产生巨噬细胞移动抑制因子来提高骨髓中 B 细胞的存活率,维持骨髓中 B 细胞的再循环^[7]。树突状细胞与 CD4⁺ T 细胞作用可以引起淋巴母细胞的产生及克隆 T 细胞的扩增,对血源性抗原的免疫反应、系统性免疫反应的建立及维持长期记忆发挥着重要作用^[8]。

1.3 巨噬细胞 骨髓中的巨噬细胞含溶酶体,具有强大的吞噬功能和黏附能力。巨噬细胞表面具有 MHC I 类和 II 类分子、IgG Fc 受体(FcγR)、C3b 受体以及其他多种细胞因子受体。巨噬细胞通过分泌 IL-1 来刺激其他基质细胞分泌 IL-4,从而间接调控 B 细胞的生成。另外,巨噬细胞通过 CD14、脂多糖(LPS)受体、各种整合素、A 类清道夫受体和 CD31 等受体吞噬骨髓中凋亡的 B 系细胞^[9]。

1.4 成纤维细胞 成纤维细胞是构成细胞外基质的重要组成部分,

其表面表达 I 型和 III 型胶原蛋白和成纤维细胞的特异性蛋白-1(FSP-1)^[10]。成纤维细胞可以表达 TPO,在骨髓中还可以与造血干细胞相互作用^[11];B 淋巴系祖细胞可表达整合分子 VLA-4,在其介导下 B 淋巴系祖细胞可黏附于成纤维细胞的细胞层中并向其迁移。骨髓中的成纤维细胞可以分泌一种多功能细胞因子——激活素 A,对骨髓红系细胞的分化起着重要作用,成纤维细胞与活化的 T 细胞相互作用可以增强激活素 A 的分泌。这个过程是由 CD40/CD40 配体之间相互作用引起的,并由粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、γ 干扰素等伴随产生的细胞因子所介导。同时成纤维细胞还可以通过 CD80、CD86 提供共刺激信号给予经过抗 CD3 处理的 T 细胞从而增强激活素 A 的产生^[12]。

1.5 内皮细胞 内皮细胞表面表达 CD34、CD31、CD105 等表面抗原分子,可以分泌 IL-6、IL-8、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)以及 GM-CSF,在形成造血微环境、参与造血细胞归巢和支持造血细胞增殖、分化方面发挥重要作用。内皮细胞可以通过多种机制参与血小板生成:(1)分泌 IL-6、Kit 配体、G-CSF 及 GM-CSF 等多种因子支持各系造血;(2)在骨髓微环境中,内皮细胞与成纤维细胞、脂肪细胞、成熟的巨核细胞、浆细胞及造血细胞等其他类型的细胞密切相联,并通过细胞间的直接接触控制后期阶段的造血;(3)表达特异性黏附分子可以调控 CD34⁺ 干细胞的运输及成熟的血细胞进出骨髓;(4)IL-6 细胞因子家族作用于内皮细胞促进造血。IL-6 细胞因子家族能够与内皮细胞表面的 gp130 受体结合,促进造血细胞的分化和增殖^[13]。

1.6 脂肪细胞 骨髓脂肪细胞来源于网状细胞或纤维母细胞样细胞,成人脂肪细胞表面表达 CD105、CD166 和 CD49d 等蛋白。脂肪细胞对造血的支持作用多局限于前脂肪细胞阶段,通过细胞间相互作用产生各种集落刺激因子刺激造血,成熟脂肪细胞无此功能。骨髓中脂肪细胞可产生干扰素-1、前列腺素、瘦素、性激素等因子调控淋巴造血细胞的生成。

1.7 网状细胞 骨髓网状细胞是骨髓基质中一类独特的细胞,这些细胞相互间以突起相连形成网状结构,与其他基质细胞共同组成造血微环境,调节血细胞的增殖、分化和造血活动。骨髓网状细胞可以分泌 IL-7 和干细胞因子(SCF),促进 B 细胞的分化和发育,还可以和基质细胞共同表达血管细胞黏附分子(VCAM-1),介导网状细胞与淋巴系造血细胞的黏附从而支持淋巴细胞生成^[14]。另外,网状细胞还可吸收脂肪并分化为脂肪细胞,使自身体积明显增大,造血间隙缩小,使骨髓中红髓转变为黄髓。

2 骨髓基质细胞对血小板生成的影响

血小板由骨髓造血组织中的巨核细胞(MK)产生,造血干细胞发育为巨核祖细胞(MKPC),MKPC 又进一步分化和成熟为 MK, MK 表面形成许多凹陷,伸入胞质之中,相邻的凹陷形

胞膜在凹陷深部相互融合,使 MK 部分胞质与母体分开。最后这些被细胞膜包围的与 MK 胞质分离的成分脱离 MK,经过骨髓造血组织中的血窦进入血液循环成为血小板。

MKPC 主要由 TPO 和作用于早期的细胞因子包括 Flt-3 ligand (FL)、SCF、IL-1、IL-3 等调控, MK 主要由 TPO、IL-6 和 IL-11 调控。FL 和 SCF 是主要作用于造血前期细胞的生长因子,它们的受体 Flt-3 和 C-kit 存在于造血干细胞中。

骨髓微环境对血小板生成起着重要作用,虽然细胞外基质中的细胞不仅能表达和分泌多种影响血小板生长的因子,还可以通过分泌细胞因子、基质细胞和细胞直接接触调控造血的全部过程。但 BMSCs 对促进血小板生长因子的产生有着关键性作用。

当 BMSCs 受外源性细胞因子刺激时增殖速度加快,其结构性细胞因子的稳定表达状态发生改变或产生新的细胞因子,如在培养中加入外源性的 IL-1 α 、脂多糖、IL-6、IL-7 和内皮细胞生长因子等都能上调基质细胞表达 IL-6、IL-1 β 、GM-CSF 和 G-CSF 的水平;外源性的 IL-3 可诱导基质细胞表达 IL-2;外源性 IL-6 和 IL-7 联合应用则有时表现拮抗,有时表现协同;rh-GM-CSF 结合 FL、SCF、IL-6 对 BMSCs 的增殖有着明显的促进作用^[15]。由于造血微环境中 BMSCs 的异质性, BMSC 对外源性刺激的反应性存在差异,使造血调节网络系统更加复杂化。

3 骨髓基质细胞对血小板生长因子的调控

3.1 BMSCs 对 TPO 的调控 TPO 作为特异性调节巨核细胞增殖分化的一种肝脏受体,过去报道主要由肝和肾产生,现认为 TPO 也可由 BMSCs 产生。BMSCs 刺激骨髓巨核细胞的发育和成熟,将纯化 TPO 与 BMSCs 共同培养,结果绝大部分巨核细胞黏附在 BMSCs 上,而未黏附的巨核细胞则促进血小板的形成。用 RT-PCR 可测出 BMSCs 中 TPO mRNA 及其蛋白产物,它可与其他因子协同促进原始造血干/祖细胞广泛的扩增和自我更新^[16]。相关实验证明, TPO 和基质细胞衍生因子 1(SDF-1)联用,可有效地恢复巨核细胞的增殖^[17]。

3.2 BMSCs 对 IL-6 的调控 BMSCs 可以合成低水平 IL-6,尽管基质细胞分泌的造血生长因子(包括 IL-6)的水平较低,但对于基础造血十分重要,因为这些因子通常结合在基质细胞膜和 ECM 表面,与 HSC/HPC 局部共存而发挥高效的调节作用。

BMSCs 对 IL-6 的调控作用:(1)CD34⁺ 祖细胞与经照射的 BMSCs 共同培养,可使上清液中的 IL-6 和 G-CSF 增加 4~5 倍。这表明 CD34⁺ 祖细胞发出可溶性的分子的正性反馈信号,诱导 BMSCs 产生 IL-6 及其他一些细胞因子,从而能更好地支持造血^[18]。(2)基质中的巨噬细胞所产生的组胺可以作用于细胞外基质中的其他细胞,使其 IL-6 表达增加,从而增加造血祖细胞的增殖和分化^[19]。IL-6 与 IL-3 协同刺激 CFU-GM 集落的形成,IL-6 也可与 IL-3 刺激 CFU-GM 形成破骨细胞前体。(3)喋啶新喋呤(NP)由单核细胞产生,是免疫激活的标志,它可通过基质细胞来刺激造血细胞的增殖和分化。

3.3 BMSCs 对 IL-11 的调控 IL-11 是 BMSCs 衍生的细胞因子,由骨髓中的成纤维细胞及 MSCs 分泌产生,它在造血微环境中起着旁分泌和自分泌生长因子的作用,能刺激骨髓细胞的分化和成熟:(1)IL-11、G-CSF、IL-6 与 IL-3 协同刺激人类和鼠类巨核细胞集落形成。在长期培养的骨髓中,IL-11 能显著增加黏附细胞,抑制脂肪在黏附细胞集聚,从而增加血细胞的生成。(2)IL-11 与 IL-3、IL-4 协同作用于骨髓造血干细胞,可

缩短干细胞 G₀ 期,联合 IL-4 能促进原始造血前体细胞集落形成^[20]。(3)IL-11 协同 IL-3 或 SCF,可促进骨髓巨核细胞体外集落形成、生长和成熟,并增加细胞体积和外周血小板的数量。(4)IL-11 对巨核细胞、骨髓成纤维细胞的产生也有调节作用,而且还具有许多生物活性和造血、免疫反应、神经系统和骨代谢的作用^[21]。

3.4 BMSCs 对其他细胞因子的调控 BMSCs 除了能分泌多种血小板生长的细胞因子外,还是多种细胞因子的受体,能结合和聚集外来因子于局部,形成不同细胞因子的不同浓度分布区。BMSCs 表面的各种细胞因子称为“锚泊因子”,其不同浓度分布区就是所谓“壁龛”结构。最近的研究表明,原始间充质组织,包括 CXC 趋化因子配体的网状细胞和巢蛋白的表达细胞可代替原来的“壁龛”^[20]。

造血细胞表面受体种类繁多,有些受体有共同的亚单位且受体表达水平多变,使细胞因子对造血的调控更加复杂。另一方面, BMSCs 产生的负调节因子对于维持机体造血的动态平衡起着重要作用。目前研究较深的造血负调控因子主要是转化生长因子、巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)、TNF- α 、IFN- α 、血小板第 4 因子(PF4)、胸腺素 β 4 等。尤其是 PF4,它能逆性的抑制 HSC/HPC 增殖,促进 HSC/HPC 与内皮细胞和间质的黏附,在干细胞移植中促进循环干细胞归巢到骨髓,增强人骨髓细胞和 CD34⁺ 细胞的黏附性和活性^[22-23]。

4 结 语

机体造血是通过造血干细胞的自我更新和定向分化实现的。BMSCs 及其细胞外基质和细胞因子构成了造血干细胞赖以定居、生存和发育的场所,即造血微环境,它们相互支持、调控造血细胞的自我更新和增殖,诱导其分化、成熟和释放。通过对 BMSCs 和基质细胞等的深入研究,有助于造血调控中细胞间的通讯功能机制的认识,也有助于人们在体外开发血液代用品。用细胞因子组合对造血干细胞进行体外扩增是常见的手段,利用 TPO、IL-6、IL-11 等促血小板生长因子和 BMSCs 进行共同培养,可有效地扩增骨髓造血细胞向血小板的产生。

参考文献

- [1] Wang X, Hisha H, Taketani S, et al. Characterization of mesenchymal stem cells isolated from mouse fetal bone marrow[J]. Stem Cells, 2006, 24(3): 482-493.
- [2] Short B, Brouard N, Occhiodoro-Scott T, et al. Mesenchymal stem cells[J]. Arch Med Res, 2003, 34(6): 565-571.
- [3] Muguruma Y, Yahata T, Miyatake H, et al. Reconstitution of the functional human hematopoietic microenvironment derived from human mesenchymal stem cells in the murine bone marrow compartment[J]. Blood, 2006, 107(5): 1878-1887.
- [4] Locatelli F, Maccario R, Frasson F. Mesenchymal stromal cells, from indifferent spectators to principal actors. Are we going to witness a revolution in the scenario of allograft and immune-mediated disorders[J]. Haematologica, 2007, 92(7): 872-877.
- [5] Ren J, Jin P, Sabatino M, et al. Global transcriptome analysis of human bone marrow stromal cells(BMSC) reveals proliferative, mobile and interactive cells that produce abundant extracellular matrix proteins, some of which may affect BMSC potency[J]. Cytotherapy, 2011, 13(6): 661-674.
- [6] Guerriero A, Worford L, Holland HK, et al. Thrombopoietin is synthesized by bone marrow stromal cells[J]. Blood, 1997, 90(9): 3444-3455.
- [7] Sapoznikov A, Pewzner-Jung Y, Kalchenko V, et al. Perivascular

clusteps of dendritic cells provide critical survival signals to B cells in bone marrow niches[J]. Nat Immunol, 2008, 9(4): 388-395.

[8] Feuerer M, Beckhove P, Mahnke Y, et al. Bone marrow microenvironment facilitating dendritic cell, CD4 T cell interactions and maintenance of CD4 memory[J]. Int J Oncol, 2004, 25(4): 867-876.

[9] Dogusan Z, Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. Macrophages and stromal cells phagocytose apoptotic bone marrow-derived B lineage cells[J]. J Immunol, 2004, 172(8): 4717-4723.

[10] Opalenik SR, Davidson JM. Fibroblast differentiation of bone marrow derived cells during wound repair[J]. Faseb J, 2005, 19(11): 1561-1563.

[11] 黄艳红, 王绮如. 三类骨髓基质细胞条件培养液体外扩增巨核系细胞[J]. 生理学报, 2005, 57(2): 247-253.

[12] Abe M, Shintani Y, Eto Y, et al. Potent induction of activin A secretion from monocytes and bone marrow stromal fibroblasts by cognate interaction with activated T cells[J]. J Leukoc Biol, 2002, 72(2): 347-352.

[13] Yao L, Yokota T, Xia L, et al. Bone marrow dysfunction in mice lacking the cytokine receptor gp130 in endothelial cells[J]. Blood, 2005, 106(13): 4093-4101.

[14] Jacobsen K, Kravitz J, Kineade PW, et al. Adhesion receptors on bone marrow stromal cells; in vivo expression of vascular cell adhesion Molecule-1 by reticular cells and sinusoidal endothelium in normal and Gamma-irradiated mice[J]. Blood, 1996, 87(1): 73-82.

[15] Li K, Yang M, Lam AC, et al. Effect of Flt-3 ligand in combination with TPO on the expansion of megakaryocytic progenitors

[J]. Cell Transplantat, 2000, 9(1): 125-131.

[16] 贡志云, 季玉红, 傅晋翔. 多种细胞因子对人骨髓基质细胞生长的影响[J]. 交通医学, 2006, 20(5): 498-500.

[17] Gao L, Chen XH, Feng YM, et al. Human umbilical cord blood-derived stromal cells: multifaceted regulators of megakaryocytopoiesis[J]. Cell Cycle, 2010, 9(7): 1342-1353.

[18] Ren J, Jin P, Sabatino M, et al. Global transcriptome analysis of human bone marrow stromal cells(BMSC) reveals proliferative, mobile and interactive cells that produce abundant extracellular matrix proteins, some of which may affect BMSC potency[J]. Cytotherapy, 2011, 13(6): 661-674.

[19] 马晓伟, 马芹颖, 王彦永, 等. 骨髓间充质干细胞分泌的蛋白及其功能[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(14): 2763-2766.

[20] Wang S, Sasaki Y, Zhou L, et al. Transcriptional regulation of bone sialoprotein gene by interleukin-11[J]. Gene, 2011, 476(1/2): 46-55.

[21] Nagasawa T, Omatsu Y, Sugiyama T. Control of hematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche; the role of reticular cells[J]. Trends Immunol, 2011, 32(7): 315-320.

[22] Slungaard A. Platelet factor 4: a chemokine enigma[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2005, 37(6): 1162-1167.

[23] Maurer AM, Zhou B, Han ZC. Roles of platelet factor 4 in hematopoiesis and angiogenesis[J]. Growth Factors, 2006, 24(4): 242-252.

(收稿日期: 2012-01-29)

• 综 述 •

支气管哮喘全基因组关联研究进展*

武其文 综述, 浦 春 审校

(皖南医学院附属弋矶山医院检验科, 安徽芜湖 241001)

关键词: 支气管哮喘; 全基因组关联研究; 易感基因; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.032

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)08-0961-03

全基因组关联研究(GWAS)是一种在全基因组范围内通过测定单核苷酸多态性(SNP), 研究确定疾病易感区域和相关基因, 寻找疾病的标记物, 从而探究复杂疾病遗传机制的方法^[1]。GWAS与传统的候选基因研究策略相比具有明显的优势, 不再局限于预先选择的候选基因或者候选染色体区域, 而是针对全基因组进行筛查。2005年, Science杂志首次报道了有关人类年龄相关黄斑变性的全基因组关联研究。此后, GWAS在世界范围内发展迅猛, 研究者应用GWAS对心血管病、糖尿病、皮肤病、支气管哮喘等复杂性遗传疾病进行研究, 发现了一系列疾病相关基因或变异, 将疾病的基因组研究推向一个新的阶段。

支气管哮喘是一种以气道阻塞、气道炎性和气道高反应性为特征的慢性炎症性疾病。近年来, 哮喘的发病率和病死率呈逐年上升的趋势。哮喘已经成为全球范围内严重的公共卫生问题之一。哮喘的发病具有家族聚集性特点和明显的遗传倾向, 其遗传度可达60%~80%。哮喘作为一种复杂的多基因遗传

病, 其发病常由多个基因和环境因素共同作用所决定^[2]。从基因水平阐明哮喘发病的遗传学机制, 必将加深人们对哮喘发病机制的理解, 为哮喘的预防、诊断和治疗提供新思路。现对支气管哮喘的GWAS最新进展进行综述。

1 支气管哮喘 GWAS 的起始

2007年, 有科学家在Nature上发表了1项有关儿童支气管哮喘的GWAS, 被认为是第1个真正意义上的哮喘GWAS研究^[3]。该研究入选了994例儿童哮喘患者和1243例无关人群作为对照, 利用基因芯片高通量分型方法对全基因组317000多个SNPs进行了基因分型。分析的结果显示染色体17q21.1区域的SNPs与儿童哮喘存在很强的关联性。在过去哮喘候选区域关联研究中, 染色体17q21.1区域从未受到重视, 因此, 这是一个新的与哮喘相关的染色体区域。重要的是, 此阳性关联性结果在多个其他种族人群中得到了重复验证^[4-5]。受试人群除了欧美人群外, 亚洲日本人群中也得到了阳性关联的验证。有趣的是, 该区域只与儿童支气管哮喘相

* 基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(10040606Q68)。