维普资讯 http://www.cqvip.com

181-183

脐血移植 骨髓移植 替代法

第22卷 第3期 重庆医科大学学报 Vol.22 No.3
1997 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1997

脐血移植——一种可行性骨髓移植的替代法

临床血液学教研室 张 伶 综述 刘国卿 审校

中图分类号 R457.7

自从1974年Knudtzon[1]发现脐血富含造血干/祖细胞，提出其有可能成为重建造血的干细胞又一来源，14年后Gluckman等[2]用HLA完全相合的同胞脐血移植成功地治疗一名Fanconi's贫血患儿，首次把这一可能变为现实。此后人们不断用脐血移植治疗骨髓缺损。本文总结实验室和临床的证据来说明脐血作为骨髓重建细胞 (marrow repopulating cells,MRC)的一种来源在临床上的可行性。

1 脐血长期重建造血的潜能

1.1 实验室的研究 人脐血含有丰富的造血干/祖细胞，人们常用体外克隆形成法检测脐血祖细胞，发现其粒—巨噬系集落形成单位(CFU—GM)、红系爆式集落形成单位(BFU—E)、混合系集落形成单位(CFU—Mix)产率近似或高于骨髓[3,4]。对脐血单个核细胞(MNC)的长期培养显示无论祖细胞产量和培养周期都明显高于正常骨髓，脐血造血干/祖细胞较骨髓更为幼稚[5]。近来，人们用细胞化学染色结合流式细胞仪直接检测表达CD34抗原的造血干/祖细胞，脐血中含量为9.6×10^4 $CD34^+$/ml，占MNC数的0.9±0.1%[6]。LuLi等[7]分析脐血中单个$CD34^{+++}$细胞，证实了它具有增殖和再植能力，还可形成比CFU—GEMM更幼稚的高增生潜能克隆形成细胞(high—proliferative potential colony—forming cells, HPP—CFC)组成的克隆。进一步分析脐血$CD34^+CD38^-$亚群，占脐血$CD34^+$细胞的4%，而占骨髓$CD34^+$细胞的1%，在含干细胞因子(setm cell factor,SCF)的液体培养中$CD34^+CD38^-$脐血细胞可增加14000倍，较骨髓扩增高4倍，且扩增细胞的CFU—Mix，BFU—E产率脐血也高于骨髓，形成的集落也较骨髓大[8]。分析脐血$CD34^+/4-HC^{low}$细胞，经二次移植证实能分化为定向祖细胞，Abboud把它归为前克隆形成单位Pre—CFU (pre—colony forming units,pre—CFU)[6]。

尽管目前造血干/祖细胞的检测在各实验室间难以标准化，无法统一脐造血干/祖细胞含量，但早期造血干/祖细胞如$CD34^+CD38^-$、Pre－CFU占脐血MNC数比例明显高于骨髓，因此从理论上作为含有较骨髓更多更幼稚造血干/祖细胞的脐血，可以作为MRC维持持久性的造血重建。

1.2 临床上的证据 首例脐血移植是在1988年，一名患Fanconi's贫血的5岁男孩接受HLA相合同胞姊妹的脐血移植，病人按0.4×10^8 MNC/kg进行移植，其中CFU—GM为4.37×10^5，移植后病人出现短暂的I度急性移植物抗宿主反应(GVHD)，经治疗后即消失，在受者体内发现了来自供体外周血的血型和性染色体，此例移植后至今病人仍存活并有正常的骨髓造血功能[2]。随后脐血移植用于治疗骨髓造血功能缺损取得了一系列成功，不少学者认为单个脐血含足够的造血干/祖细胞可供儿童造血重建，但单个脐血细胞数量有限，因而目前脐血移植成功的最高体重为36.6kg。若和最低输入MNC、CFU—GM分别为1×10^7 /kg，0.01×10^4/kg，很难保证成人的造血重建[9]。

2 脐血造血干细胞扩增

2.1.脐血造血干细胞的特征 目前人们尚无法直接检测人类的造血干细胞，但通过体外实验分析具有干细胞功能的原始干血细胞，有HPP－CFC、LTC—IC(long—term culture initiating cells)和CFC—BL(blast colony—forming cells)。研究表明人脐血造血干细胞具有高度自我更新和多向分化能力使得它们在体内能够长期重建造血。多数脐血干细胞处于Go期，其大小、密度、表型和功能是异质的，细胞表面特

* 女，1970－01出生，助教

维普资讯 http://www.cqvip.com

征为$CD34^+/CD38^-/DR^+$，缺乏系特异抗原Lin^-，对SCF敏感C—Kit^+[10~12]。

2.2 脐血造血干细胞扩增的理论基础 体外实验具有鼓舞性的证据显示单个脐血含有足够的MRC，可进行成人受体的移植，但单个脐血供体MRC差异较大，因而并不是任何一份脐血对成人患者来说都是足够的。据此人们研究体外扩增干细胞的潜能。此外，扩增定向祖细胞对脐血移植后加速白细胞和血小板的恢复也是必要的，这要比单靠体内原始祖细胞分化为成熟细胞要快。用多种生长因子联合扩增造血干细胞的一个潜在危险为它们将分化为定向祖细胞而失去自我更新能力，因此选用生长因子时应考虑增殖与分化的平衡。

2.3 体外扩增脐血造血干细胞 增加细胞数量可通过加速细胞有丝分裂或降低细胞凋亡来实现。对移植而言，无过度分化而具有自我更新能力的造血干细胞扩增是人们所希望的。常用方法为在各种条件下对细胞进行悬浮培养。潜在的改良包括在促进有丝分裂的同时，用细胞因子，单克隆抗体或短期存活的抗效应寡核苷酸抑制细胞的分化或降低细胞凋亡。理想的培养条件应既能扩增造血干细胞又能扩增定向祖细胞。

影响脐血造血干细胞扩增的因素较多，包括培养的细胞数、培养体系组成、各种细胞因子的联合及剂量、有无基质和培养的时间以及培养时氧浓度[13]。未经分离的脐血MNC和纯化的原始造血祖细胞$CD34^+$何者更易扩增还有争议。骨髓基质含较脐血更多的基质前体细胞，Hows认为应选用骨髓基质来提供培养的微环境[6]扩增脐血干细胞更常用无血清培养体系，既可避免血清中造血抑制因子影响干细胞生长，也便于对外源性加入的细胞因子严格定量，体系中无血清对扩增效果无影响[14]。多种生长因子联合应用于脐血造血干细胞扩增已有报道，常用为SCF与各种因子的组合。SCF＋EPO既可扩增定向祖细胞，CFU—Mix产率还与加入的SCF呈正相关，也可使原始造血细胞$CD34^+Rh^-123^{low}$增加。而SCF＋IL—3可增加早期造血细胞$CD34^+/4$—HC^m数量，$CD34^+SBA^-$细胞扩增10倍，各种类型的CFC增加近20倍。最近发现IL－11可增强SCF与各种因子的协同作用，能够更有效地扩增造血干细胞[15~16]。常用的生长因子组合包括抑制细胞死亡的活存因子(IL—1，IL—6，SCF)，早期造血细胞的增殖因子(SCF，IL—3，IL—11)和系特异刺激因子(EPO，G—CSF，GM—CSF)。但高浓度生长因子扩增造血细胞的同时加速了细胞的分化，因此有人提出用抗GM—CSF受体的单抗来减少细胞未端分化以促进原始造血细胞的体外维持[17]。

Laver把经rhIL—3＋rhSCF扩增7天的人脐血$CD34^+$细胞输入预照射的BNXID(bg/nu/xid)小鼠体内，用抗CD45的单抗在鼠外周血、骨髓和脾内检测到人细胞，用受体鼠骨髓再作移植于148天仍可检出2％的人细胞。因此作者认为CD34＋扩增后仍具有未扩增细胞相同的造血重建能力，而且这种能力可长期维持[18]。

2.4 体内扩增脐血造血干细胞 体外扩增脐血后输入病人体内可以弥补单个脐血细胞数量的不足，而脐血移植后给病人注射生长因子，可以在病人体内扩增造血细胞。目前生长因子在移植后注射的临床效果还有待于进一步研究。

3 脐血移植临床应用

Wagner[9]总结了国际脐血移植登记处(ICBTR)从1988年首例移植获得成功至1994年9月间的44例移植病例，包括12例急性淋巴细胞白血病、6例急性髓细胞白血病、4例慢性髓细胞白血病、3例神经母细胞瘤，6例Fanconi's贫血、5例再障、2例β—地中海贫血、SCID、Wiskott—Aldrich综合征、XLP、Hurler综合征、Hunter综合征、镰刀型贫血各1例。HLA完全匹配34例，1个、2个、3个、位点不同者分别为4例、1例、5例。患者中数年龄为4(0.8～16.0)岁，体重18.6(7.5～50.0)kg。移植前患者接受了大剂量化疗和全身照射或大剂量联合化疗处理。输注MNC和CFU—GM分别为5.2×10^7/kg体重和2.4×10^4/kg体重。移植后50天受者造血恢复率为82％，分析33例造血恢复患者，其中27例脐血细胞完全植活，5例为嵌合状态，1例自体恢复。HLA匹配的患者无一例发生Ⅱ度以上GVHD，2例HLA3个位点不合的患者出现Ⅱ度和Ⅲ度GVHD，病人中数生存期为1.6(0.2～6.0)年[9]。

维普资讯 http://www.cqvip.com

脐血中T淋巴细胞由于表型幼稚，功能不成熟，因而移植后发生排斥反应较成人骨髓轻[20]此外，脐血来源丰富、采集和保存简便以及可避免潜伏微生物等优点，脐血应用具有广阔的前景。纽约血库建立了一个脐血库试点，欧洲已建成了脐血库网络，这些将提供广范围HLA型的冻存脐血，从而增加潜在的供体群，大大降低了寻找供体的时间[21]。目前，人们已开始尝试非血缘关系的脐血移植[22]。

4 脐血移植的前景展望

人脐血中造血祖细胞数量丰富，造血干细胞更具有含量高，增殖能力强等优点，因而脐血移植可重建造血。临床资料表明脐血移植目前多用于儿童患者，但体外扩增脐血造血干细胞的尝试带来了一个乐观的前景，各种生长因子的联合应用以及防止细胞过度分化和凋亡的因子研究，有利于我们得到足以用于成人患者的造血干细胞。此外，通过国际性努力建立一个试验性的脐血库为无血缘关系脐血移植的临床应用奠定了坚实基础，相信脐血终将作为一种MRC来源广泛用于临床，脐血移植大有替代骨髓移植之势。

参 考 文 献

1.Knudtzon S,et al.Blood 1974;43:357
2.Gluckman E,et al.N Engl J Med 1989;26:1174
3.Broxmeyer HE, et al.Proc Natl Acad Sci USA 1989;86:3828
4.Broxmeyer HE,et al.Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:4109
5.Hows JM, et al.Loancet 1992;340:73
6.Abboud MR,et al,Exp Hematol 1992;20:1043
7.Lu L,et al.Blood 1993;81:410
8.Cardoso AA,et al,Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:8707
9.Wagner JE,et al.Lancet 1995;346:214
10.Williams BD.Blood 1993;81:3169
11.Nicol A.Br.J of Haematology 1994;87:1
12.Trayoff CM,etal.Exp Hematol 1992;22:215
13.Koller MR.Exp Hematol 1992;20:264
14.Zauli G,et al,Br. J of HaematologyY 1994;86:461
15.Abboud MR,et al,Exp Hematol 1994;22:388
16.Cicuttini F, et al. Exp Hematol 1994;22:1244
17.Migliaccio G,et al.Blood 1992;79:2620
18.Van de ven C,et al.Exp Hematol 1995;23:1289
19.Laver J,et al.Exp Hematol 1995;23:1492
20.Harris DT,et al.Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:10006
21.Rubinstein P,et al.Blood 1993;81:1679
22.Vilmer E,et al.Transplantation 1992;53:1155

(收稿日期1996—09—28)

283-286 胰腺炎 一氧化氮 病理学 综述

一氧化氮与胰腺炎关系的研究进展

临床学院消化内科 冯 莉 综述 王丕龙 刘新才 审校

R576.3

一氧化氮(NO)作为一种新型的信使分子，既参与血管和气管平肌的舒张，中枢和自律神经传递的信使和递质作用，又具有杀伤细菌，溶解肿瘤细胞，释放内分泌激素等机体防异的生理和病理过程[1,2]。1990年Bult发现NO是消化道中的一种非肾上腺能非胆碱能(NANC)神经递质，从而对NO与消化系统疾病的关系，别起了人们的关注和深入研究[3]。但迄今对NO与胰腺炎关系的报道较少，本文复习文献简要介绍。

1 NO的生成与作用

内源性NO是由左旋精氨酸(L－Arg)在NO合酶(NOS)催化下生成。由于不同细胞存在的NOS类型不同，因不同类型的NOS合成释放NO和生化特点也不同，所以NO作用难以确定。但NO的作用机制也有共同之点：细胞分泌的NO直接扩散入靶细胞，与鸟苷酸环化酶上的血红素铁结合，激活该酶产生大量环—磷酸鸟嘌呤(cGMP)，刺激胞浆中cGMP依赖性蛋白激酶，，引起细胞膜功能改变，从而发挥其生理效应[4]。

* 硕士研究生