DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20200104

造血调控的新机制与新干预

孔圆，黄晓军*

（北京大学人民医院，北京大学血液病研究所，国家血液系统疾病临床医学研究中心，
造血干细胞移植治疗血液病研究北京市重点实验室，北京 100044）

【摘要】造血功能不良是骨髓衰竭性疾病的共同特征，但是发病机制仍未完全阐明，是亟待解决的重要临床科学问题。生理情况下，造血干细胞受到骨髓微环境的严格调控。造血干细胞移植不仅是治疗白血病的有效方式，而且是研究造血调控的理想模型。移植后造血重建不良是研究骨髓衰竭性疾病的良好疾病模型。总之，积极探索造血调控的新机制，对于建立骨髓衰竭性疾病的新型干预策略具有重要临床转化价值。

【关键词】骨髓衰竭性疾病；骨髓微环境；造血调控；新机制；新干预

中图分类号：R331.2+2，R363.2+1　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2096-8965（2020）01-0021-05

Novel mechanisms and therapies of hematopoietic regulation

Kong Yuan, Huang Xiaojun*

(Peking University People's Hospital, Peking University Institute of
Hematology, National Clinical Research Center for Hematologic Disease,
Beijing Key Laboratory of Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Beijing 100044, China)

【**Abstract**】Poor hematopoietic function is the common feature of bone marrow(BM) failure diseases. However, the pathogenesis of BM failure diseases has not been fully clarified. Under physiological conditions, the self-renewal and fate determination of hematopoietic stem cells are strictly regulated by BM microenvironment. Hematopoietic stem cell transplantation is not only an effective way to treat leukemia, but also an ideal model to study hematopoietic regulation. Moreover, poor hematopoietic reconstitution after transplantation is a good disease model for the study of BM failure diseases. Taken together, the successful implementation of translational studies based on novel mechanisms may provide novel therapeutic strategies for patients with BM failure diseases in the future.

【**Keywords**】Bone marrow failure diseases; Bone marrow microenvironment; Hematopoietic regulation; Novel mechanism; Novel intervention

前言

骨髓衰竭性疾病是一组引起全血细胞减少的疾病，包括再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合症、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、免疫相关性全血细胞减少、范可尼贫血、意义未明的特发性血细胞减少症、先天性角化不良、先天性纯红细胞再生障碍性贫血和先天性重症中性粒细胞减少症等。造血功能不良是骨髓衰竭性疾病的共同特征，但是骨髓衰竭性疾病的发病机制仍未完全阐明，是亟待解决的重要临床科学问题。生理情况下，造血干细胞的自我更新和命运决定受到骨髓微环境的严格调控。动物研究表明，骨髓微环境主要包括骨内膜微环境、血

基金项目：国家自然科学基金（82070188；81870139；81530046）；国家自然科学基金创新群体项目（81621001）

通讯作者：黄晓军（1964–），男，北京人，博士生导师，主要从事血液病的临床及转化研究。E-mail: huangxiaojun@bjmu.edu.cn

管微环境、血管周围微环境、免疫微环境和活性小分子等[1-6]。但是，骨髓衰竭性疾病的发病机制是什么？造血干细胞及骨髓微环境在骨髓衰竭性疾病患者体内有何改变？其损伤机制是什么？以及能否通过修复骨髓微环境损伤来改善造血重建等方面研究，仍是国际空白。

1 移植后造血重建不良是研究骨髓衰竭性疾病的良好疾病模型

异基因造血干细胞移植不仅是治疗白血病的有效方式，而且是研究造血调控的理想模型。供者造血干细胞在受者体内归巢植入、与骨髓微环境相互作用并重建受者的造血系统与免疫系统是移植成功的前提。因此，移植后造血重建不良是研究骨髓衰竭性疾病的良好疾病模型。积极探索造血调控的新机制，对于建立骨髓衰竭性疾病的新型干预策略具有重要临床转化价值。

临床上，移植后造血干细胞成功植入表现为外周血中髓系（中性粒细胞）、红系和巨核系细胞（血小板）迅速达到植入标准并保持稳定，且造血细胞为供者来源。中性粒细胞的植入标准为连续3天中性粒细胞>0.5×10^9/L；血小板的植入标准为连续7天血小板>20×10^9/L且脱离血小板输注；红细胞的植入标准为血红蛋白>70 g/L且脱离输血。移植后中性粒细胞的中位植入时间通常在移植后+14~+17天，而血小板植入时间变异较大，快者可在移植后2周左右植入，慢者可延迟至移植后数月。

随着异基因造血干细胞移植体系的不断完善，移植后大多数患者能够达到快速稳定的供者来源的造血重建。但是，移植后造血重建不良，包括植入功能不良和血小板延迟植入，仍然是异基因造血干细胞移植的严重并发症[7-17]。植入功能不良是指在完全供者嵌合的前提下，在移植后+28天，患者外周血三系中的二系以上仍未达到供者来源造血细胞的稳定植入（中性粒细胞≤0.5×10^9/L、血小板≤20×10^9/L和/或血红蛋白≤70 g/L）[7-14]。血小板延迟植入是指在完全供者嵌合的前提下，在移植后+60天，中性粒细胞和血红蛋白都已达到稳定植入（中性粒细胞>0.5×10^9/L、血红蛋白>70 g/L），而血小板仍然持续低于20×10^9/L或依赖血小板输注[14-17]。植入功能不良患者由于粒细胞缺乏容易合并致命性感染，而持续性血小板减少容易导致严重出血，移植后造血重建不良是导致移植失败的重要原因之一。因此，作为骨髓衰竭性疾病的良好疾病模型，移植后造血重建不良发病机制的深入阐明及其新型防治策略的建立是亟待解决的重大国际难题。

动物研究表明，造血干细胞的自我更新和多向分化能力受到骨髓微环境的严格调控[1-6]。但是，骨髓微环境在造血干细胞移植后患者的造血重建中发挥着什么作用，能否通过修复患者受损的骨髓微环境来促进移植后造血重建及其作用机制等研究是国际空白。从2013年开始，本团队以“骨髓微环境与造血干细胞”为研究靶点，围绕移植后造血重建不良凝练科学问题开展了系列转化研究，率先揭示骨髓微环境损伤所致造血干细胞异常是导致造血重建不良的重要原因，制定修复骨髓微环境促进造血的治疗新策略，部分改善了临床疗效[7-17]。Blood杂志也对本团队的前期工作发表专评：“迈出植入功能不良从机制研究走向治疗的第一步”[18]。

2 骨髓微环境损伤所致造血干细胞异常是导致造血重建不良的重要原因

作为血液恶性疾病的有效治疗方式之一，异基因造血干细胞移植的目的是在有效清除患者体内恶性克隆的基础上，使供者造血干细胞成功归巢至患者骨髓微环境，并在骨髓微环境调控下保持自我更新、增殖和多向分化能力，从而重建供者来源的造血系统与免疫系统。因此，供者造血干细胞在受者体内归巢植入、与骨髓微环境相互作用并重建受者的造血系统与免疫系统是移植成功的关键。但是，移植后造血重建不良是由于供者的造血干细胞异常引起，还是由于受者骨髓微环境异常使正常的供者造血干细胞在受者体内功能发育异常引起呢？

2.1 尽管输注的供者造血干细胞数量和功能正常，但是造血重建不良患者体内的造血干细胞数量减少、功能损伤

小鼠研究表明，造血干细胞定植于特定的骨髓微环境，造血干细胞的自我更新和命运决定受到骨髓微环境的严格调控[1-6]。骨髓微环境是一个低氧环境，低氧可以使造血干细胞处于G0期，既可以维持造血干细胞基因组稳定性从而使造血干细胞具有更好的造血重建能力，也可避免造血干细胞过度增殖而耗竭，但是化疗、放疗及感染等应激状态可导致造血干细胞细胞周期失去平衡。活性氧（Reactive Oxygen Species，ROS）在造血干细胞的信号传递中充当第二信使。小鼠实验证实，低水平

ROS有助于维持造血干细胞的自我更新能力，骨髓移植受鼠在接受放疗和化疗后骨髓微环境中ROS水平上调，严重阻碍造血干细胞向微环境归巢，并导致造血干细胞过度增殖而耗竭。造血干细胞与骨髓微环境之间存在复杂而精细的相互作用，严格调控着造血干细胞增殖与分化的动态平衡，从而使机体无论在稳态还是在应激状态均能发挥对造血干细胞的造血调控作用，维持机体正常的造血重建。但是，对于接受了移植的血液病患者而言，造血干细胞与骨髓微环境之间的相互作用是否发生了改变？这些改变是否参与了移植后造血重建不良的发生？尚待通过严谨设计的临床队列结合体外研究和动物实验予以阐明。

前瞻性临床病例配对研究发现，尽管输注的供者造血干细胞的数量正常，但是与植入功能良好患者相比，植入功能不良患者造血干细胞的数量减少和功能损伤，特别是ROS水平显著增高，造血干细胞功能损伤与内源性p53、p21、Cas-3和Cas-9上调有关[7–9, 12, 14]。但是，把植入功能不良和植入功能良好患者的供者造血干细胞分别移植给免疫缺陷小鼠，发现两组小鼠体内的造血重建和免疫重建并无显著差异[8]，提示输注的供者来源造血干细胞数量和功能正常，并不是导致植入功能不良的直接原因。

2.2 造血重建不良患者存在骨髓微环境多组分的数量变化和功能损伤

动物实验证实，骨髓微环境在调控造血干细胞稳定和自我更新等功能中发挥重要作用。本团队通过前瞻性临床病例配对研究及体外实验的系列研究揭示：移植后造血重建不良患者存在骨髓微环境多组分（包括骨髓血管内皮细胞、骨内膜细胞、血管周围细胞、间充质干细胞、T细胞及巨噬细胞等）的数量变化和功能损伤（例如ROS水平异常增高）[7–17]。多因素预后分析表明，移植前骨髓血管内皮细胞减少是移植后造血重建不良发生的独立危险因素，能够用于移植后造血重建不良的早期预警[14]。

血管内皮细胞（Endothelial Cells，ECs）是位于血管内膜的单层扁平上皮细胞，构成血管内壁。在心血管系统中，血管内皮细胞具有维持血管完整性、调节血管运动、抗凝与促凝以及与造血细胞相互作用等多方面功能。因此，血管内皮细胞作为血管壁与血液之间的天然屏障，对于保持血液循环流动状态和维持人体正常的生理功能发挥着重要调控作用。

越来越多的研究证据表明，血管内皮细胞是骨髓血管微环境的重要组分，而骨髓血管微环境是造血干细胞在骨髓中定居、自我更新及维持稳态的重要场所[1–6]：（1）Morrison教授等[1, 2]通过小鼠研究发现，骨髓中大约2/3的造血干细胞主要毗邻于骨髓血管周围；（2）Chute教授等[19]报道，将人骨髓造血干细胞与人脑血管内皮细胞体外共培养后，能够促进人造血干细胞在重症联合免疫缺陷小鼠中的造血重建能力；（3）骨髓血管内皮细胞通过表达E-selectin等特异性粘附分子，对造血干细胞归巢起到重要调控作用。此外，骨髓血管内皮细胞还通过分泌SDF-1、CXCL12、VEGF、FGF4和Jagged-1等造血因子来调控造血干细胞自我更新与多向分化的平衡，从而维持稳态造血。因此，在生理条件下，骨髓血管内皮细胞对于造血干细胞的稳态维持发挥着重要调控作用。但是，骨髓血管内皮细胞在移植后造血重建不良等骨髓衰竭性疾病中发挥何种作用尚待阐明。

与造血重建良好患者相比，造血重建不良患者骨髓血管内皮细胞的数量减少，功能损伤，主要表现为血管内皮细胞的双染、增殖、迁移和成管能力明显降低，ROS水平和凋亡比例明显增高[7, 9, 12, 14, 16]。P38-MAPK通路和ROS增高是造血重建不良患者骨髓血管内皮细胞损伤的重要分子机制。进一步体外研究发现，造血重建不良患者骨髓血管内皮细胞异常增高的ROS可导致自噬功能减低从而损伤血管内皮细胞功能，导致其对正常造血干细胞的支持功能显著下降[13]。

通过造血干细胞集落培养实验发现，造血重建不良患者骨髓$CD34^+$细胞集落形成能力存在不同程度的减弱。与临床表现一致，血小板延迟植入患者$CD34^+$细胞表现为向巨核细胞分化障碍，共培养实验发现血小板延迟植入患者受损的血管内皮细胞减弱了$CD34^+$向巨核细胞分化能力及巨核细胞产生血小板能力[16]。植入功能不良患者骨髓$CD34^+$细胞表现为多系分化受损，静止期细胞数量减少，细胞内ROS、p-p53、p21表达增加[8]，共培养实验发现植入功能不良患者受损的血管内皮细胞导致了$CD34^+$细胞内ROS水平升高，$CD34^+$细胞集落形成能力减弱[9]。上述结果提示，骨髓微环境异常导致造血干细胞功能损伤，从而阻碍了移植后造血重建。由此

可见，骨髓血管内皮细胞损伤是造血重建不良的发病机制和新型干预靶点，该结论为建立造血重建不良患者的新型防治体系提供了理论依据。

3 骨髓微环境指导的干预治疗能够促进造血干细胞功能

综上所述，本团队通过前瞻性临床病例配对研究、体外功能实验和小鼠实验率先揭示：（1）尽管输注的供者造血干细胞的数量和功能正常，但是骨髓微环境多组分（包括骨内膜细胞、血管内皮细胞、血管周围细胞、间充质干细胞和免疫微环境等）数量变化和功能损伤，特别是ROS水平异常增高，所致造血干细胞异常是导致移植后造血重建不良的重要原因[7-17]；（2）多因素预后分析表明，移植前骨髓血管内皮细胞减少是移植后造血重建不良发生的独立危险因素，能够用于移植后造血重建不良的早期预警[14]。我们的前期工作提示，骨髓微环境异常所致造血干细胞损伤是导致移植后造血重建不良发生的新机制，为制定修复骨髓微环境改善造血重建的治疗新策略奠定了重要基础。

本团队首次报道，将他汀类降脂药和ROS清除剂N-乙酰半胱氨酸（N-acetylcysteine，NAC）“老药新用”，体外研究进一步证实他汀和NAC通过改善造血重建不良患者受损骨髓血管内皮细胞的数量和功能（包括降低ROS水平），部分修复造血干细胞损伤[9, 16]。该研究首次从骨髓血管内皮细胞角度，揭示了造血重建不良的全新发病机制和干预策略，为建立移植后造血重建不良患者的新型防治体系提供了重要依据。

在此基础上，基于造血调控新机制的研究进展，制定了通过修复骨髓血管内皮细胞来促进移植后造血重建的新干预策略，成功转化应用于移植后造血重建不良患者的临床预防。通过前瞻性注册临床试验证实[14]，移植前骨髓血管内皮细胞<0.1%是移植后造血重建不良发生的独立危险因素，能够用于移植后造血重建不良高危患者的早期预警。对于造血重建不良的高危患者，移植前预防性口服NAC，通过非特异性修复骨髓血管内皮细胞来部分改善造血重建，从而预防移植后造血重建不良的发生。与移植前未预防性口服NAC的历史对照组相比，移植前预防性口服NAC提高了患者移植后+2个月的血小板植入率（95% CI，96.49%~97.79% vs. 61.56%~65.10%；P=0.003），降低了移植后造血重建不良的发生率（95% CI，7.63%~9.51% vs. 38.20%~41.80%；P=0.000 5）。本项基于发病机制临床转化研究的顺利实施，为移植后造血重建不良高危患者的早期预测及其新型临床防治策略的制定提供了重要理论依据。

4 小结与展望

综上所述，骨髓微环境异常所致造血干细胞损伤是导致移植后造血重建不良的新机制，制定修复骨髓微环境改善造血的治疗新策略，“老药新用”已转化应用于造血重建不良患者的临床预防和治疗。因此，靶向骨髓微环境损伤来调控造血干细胞功能，有望成为移植后造血重建不良的新机制和新干预。与此同时，上述原创性研究成果开辟了骨髓衰竭性疾病领域的一个新的研究方向，对于深入探索骨髓衰竭性疾病的新机制和新干预具有重要的示范作用，为继续开展造血调控的新机制研究，以及基于发病机制的精准防治研究提供了新思路和新靶点。总之，作为临床医生，以重要临床科学问题为导向，积极开展创新性转化研究，促进成果转化，对于探索疾病的新机制、发现原创治疗新靶点以及创新性药物研发具有重要临床转化应用价值，将为广大患者的精准治疗奠定基础。

参考文献

[1] KIEL M J, YILMAZ O H, IWASHITA T, et al. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells[J]. Cell, 2005, 121(7): 1109-1121.

[2] KIEL M J, MORRISON S J. Maintaining hematopoietic stem cells in the vascular niche[J]. Immunity, 2006, 25(6): 862-864.

[3] SCADDEN D T. The stem-cell niche as an entity of action[J]. Nature, 2006, 441(7097): 1075-1079.

[4] DING L, SAUNDERS T L, ENIKOLOPOV G, et al. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells[J]. Nature, 2012, 481(7382): 457-462.

[5] MORRISON S J, SCADDEN D T. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells[J]. Nature, 2014, 505(7483): 327-334.

[6] PINHO S, FRENETTE P S. Haematopoietic stem cell activity and interactions with the niche[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(5): 303-320.

[7] KONG Y, WANG Y T, HU Y, et al. The bone marrow microenvironment is similarly impaired in allogeneic

hematopoietic stem cell transplantation patients with early and late poor graft function[J]. Bone Marrow Transplant, 2016, 51(2): 249-255.

[8] KONG Y, SONG Y, HU Y, et al. Increased reactive oxygen species and exhaustion of quiescent CD34-positive bone marrow cells may contribute to poor graft function after allotransplants[J]. Oncotarget, 2016, 7(21): 30892-30906.

[9] SHI M M, KONG Y, SONG Y, et al. Atorvastatin enhances endothelial cell function in posttransplant poor graft function[J]. Blood, 2016, 128(25): 2988-2999.

[10] KONG Y, WANG Y T, CAO X N, et al. Aberrant T cell responses in the bone marrow microenvironment of patients with poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. J Transl Med, 2017, 15(1): 57.

[11] ZHAO H Y, LYU Z S, DUAN C W, et al. An unbalanced monocyte macrophage polarization in the bone marrow microenvironment of patients with poor graft function after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation[J]. Br J Haematol, 2018, 182(5): 679-692.

[12] KONG Y. Poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation-an old complication with new insights[J]. Semin Hematol, 2019, 56(3): 215-220.

[13] LYU Z S, CAO X N, WEN Q, et al. Autophagy in endothelial cells regulates their haematopoiesis-supporting ability[J]. EBioMedicine, 2020, 53(3): 102677.

[14] KONG Y, WANG Y, ZHANG Y Y, et al. Prophylactic oral NAC reduced poor hematopoietic reconstitution by improving endothelial cells after haploidentical transplantation[J]. Blood Adv, 2019, 3(8): 1303-1317.

[15] SONG Y, SHI M M, ZHANG Y Y, et al. Abnormalities of the bone marrow immune microenvironment in patients with prolonged isolated thrombocytopenia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2017, 23(6): 906-912.

[16] KONG Y, SHI M M, ZHANG Y Y, et al. N-acetyl-L-cysteine improves bone marrow endothelial progenitor cells in prolonged isolated thrombocytopenia patients post allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Am J Hematol, 2018, 93(7): 931-942.

[17] KONG Y, SONG Y, TANG F F, et al. N-acetyl-L-cysteine improves mesenchymal stem cell function in prolonged isolated thrombocytopenia post-allotransplant[J]. Br J Haematol, 2018, 180(6): 863-878.

[18] LIESVELD J L. Trouble in the niche? Send in a statin[J]. Blood, 2016, 128(25): 2877-2878.

[19] CHUTE J P, SAINI A A, CHUTE D J, et al. Ex vivo culture with human brain endothelial cells increases the SCID-repopulating capacity of adult human bone marrow[J]. Blood, 2002, 100(13): 4433-4439.

［收稿日期］2020–11–25