

# 间充质干细胞在急性辐射损伤治疗中的作用综述

刘建功 郭万龙 张淑贤 段志凯

(中国辐射防护研究院放射医学与环境医学研究所 太原 030006)

**摘要** 目前对于急性放射病的治疗, 细胞因子治疗仍是一种主要的手段。造血干细胞移植配型比较困难, 严重的移植抗宿主病 (Graft versus host disease, GVHD) 迫使人们寻找新的行之有效的方法。间充质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSC) 具有分泌造血生长因子、重建造血微环境、低免疫原性、易于外源基因转染和表达等优点, 将其应用于急性辐射损伤的临床治疗具有十分广阔的前景。本文就 MSC 的生物学特性以及其在辐射损伤中的作用研究进行综述。

**关键词** 急性辐射损伤, 间充质干细胞, 细胞因子

**中图分类号** Q691, Q813, R146

现代生活中, 核能与核技术广泛应用于核能发电、地质勘探、工业探伤、医疗照射、辐照灭菌等领域, 然而由于违规和管理不善等原因, 急性辐射综合征 (Acute radiation syndrome, ARS) 时有发生, 医学救治十分必要。

近年来研究发现, 大剂量电离辐射损伤诱发的 ARS 是一个涉及神经与血管系统, 造血系统及胃肠损伤的全身性疾病。目前对于急性放射病治疗, 常规使用一些支持疗法, 包括输血、补液、电解质、抗生素以及抗病毒药物。除此之外, 细胞因子治疗是一种重要的手段, 对于预防和较少 ARS 有一定的效果。造血生长因子 (Hematopoietic growth factors, GF) 对于缓解骨髓功能衰竭以及刺激造血功能恢复有一定效果<sup>[1,2]</sup>。但是造血干细胞移植配型比较困难, 严重的移植抗宿主病 (Graft versus host disease, GVHD) 迫使人们寻找新的行之有效的方法<sup>[3]</sup>。

近年来, 间充质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSC) 以其独特的生物学特性受到学者们青睐, 它具有分泌造血生长因子、重建造血微环境、低免疫原性、易于外源基因转染和表达等优点, 将其应用于急性辐射损伤的临床治疗具有十分广阔的前景<sup>[4]</sup>。

## 1 MSC 的来源

间充质干细胞最早在骨髓中发现, 随后还发现存在于人体发生、发育过程的许多种组织中。目前, 我们能够从骨髓、脂肪、滑膜、骨骼、肌肉、肺、

肝、胰腺等组织以及羊水、脐带血中分离和制备间充质干细胞, 用得最多的是骨髓来源的间充质干细胞。但是成人骨髓间充质干细胞 (BM-MSC) 体外增殖能力较差, 传至 10—12 代后基本失去增殖能力。胎儿骨髓来源的 MSC 增殖能力及体外传代能力均强于前者, 传至 20 代后基本保持原有特性, 但是胚胎来源问题备受伦理和道德争议使其广泛应用受到一定的限制<sup>[5]</sup>。成人骨髓的 MSC 数量相对较少, 分化潜能随着年龄增长而逐渐下降<sup>[6]</sup>。同时, 干细胞分离过程对捐献者也有一定的创伤, 可能出现感染和其他并发症<sup>[7]</sup>。由于 MSC 的骨髓来源存在较多无法回避的缺陷, 迫切需要寻找其他来源的 MSC。脐带血中是否含有 MSC 一直备受争议, Ericsson 等<sup>[8]</sup>发现脐带血可以分离出一种细胞, 表达 MSC 相关的一些表面分子。后来 Musina 等<sup>[9]</sup>发现脐带血中 MSC 的含量非常低, 但是脐血 MSC 的分离过程会损失脐血造血干细胞 (Haemopoietic stem cell, HSC), 影响新生儿脐血冻存。最近研究表明脐带中存在大量的 MSC, 并以其来源广泛、无创伤、增殖能力强等特点明显优于 BM-MSC<sup>[10]</sup>。

## 2 MSC 的生物学特性

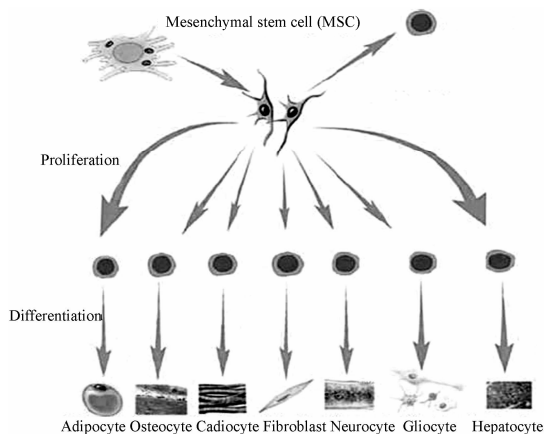
间充质干细胞是干细胞的一种, 具有多向分化的能力。MSC 经体外诱导可以分化为中胚层的骨髓基质细胞, 甚至跨胚层, 分化为中胚层外的细胞, 包括肝细胞、血管上皮细胞、心肌细胞及神经细胞

第一作者: 刘建功, 男, 1981年7月出生, 2008年毕业于山西医科大学生物化学与分子生物学专业, 现为中国辐射防护研究院放射医学与环境医学研究所实习研究员, 研究方向为辐射生物效应

通讯作者: 段志凯, E-mail: cirpdzk@yahoo.com.cn

收稿日期: 初稿 2009-03-23, 修回 2009-05-04

等<sup>[11]</sup>(见图1)。



**Fig.1** Mesenchymal stem cells have a multi-potential differentiation capability

体外培养的间充质干细胞呈纤维样细胞形态, 呈平行或漩涡状贴壁生长。Haynesworth 等<sup>[12]</sup>首先证实了 MSC 特异性表达细胞表面分子 SH2, SH3 以及 SH4, 不表达造血细胞标记 CD34, CD45。最近的研究显示, 人类脐带 MSC 与骨髓来源 MSC 的大部分免疫表型相同, 不表达 CD14, CD28, CD31, CD33, CD34, CD45, CD56, CD133, HLA-DR, 同时也不表达与移植相关分子, 包括 CD80, CD86, CD40 以及 CD40L。与骨髓来源 MSC 相比, 脐带间充质干细胞(UC-MSC)更低表达 CD106 和 HLA-ABC<sup>[13]</sup>(见表1), 这就表明 UC-MSC 更适合进行细胞移植治疗。

**Table 1** Surface markers expressed by UC-MSCs and BM-MSCs

Surface markers	UC-MSC	BM-MSC	p value
CD13	++++	++++	NS
CD14	-	-	NS
CD29	++++	++++	NS
CD31	-	-	NS
CD34	-	-	NS
CD38	-	-	NS
CD44	++++	++++	NS
CD45	-	-	NS
CD73	++++	++++	NS
CD90	++++	++++	NS
CD105	++++	++++	NS
CD106	+	+++	0.001
CD166	+++	+++	NS
HLA-ABC	+++	++++	0.004
HLA-DR	-	-	NS

Note: Surface markers were detected by flow cytometric analysis. - negative <1%, + -++++ positive, + 1%—25%, ++ 25%—50%, +++ 50%—75%, +++++ > 75%, p value analyzed by the two tailed t-test (UC vs. BM). UC: umbilical cord, BM: bone marrow, NS: not significant.

### 3 MSC 在辐射损伤中的作用

#### 3.1 细胞因子对 MSC 归巢的影响

体外扩增的 MSC 植入体内后可长期存活, 仍保持其多向分化潜能, 并且在损伤环境下还可以被诱导扩增, 参加组织修复或者再生。Jiang 等<sup>[14]</sup>将 MSC 植入 NOD/SCID 小鼠体内, 通过免疫荧光法检测证实 MSC 可以长期存在于骨髓、外周血、脾、肝、肺和小肠, 低剂量照射使射线敏感组织如造血系统和胃肠道的植入率提高, 提示 MSC 在辐射损伤治疗方面可能发挥一定的作用。Semont 等<sup>[15]</sup>发现, 注射 MSC 可以迁移到辐射损伤的小肠, 表明 MSC 可能与辐射损伤修复有关。更重要的是 MSC 在肠粘膜的植入率为 0.17%—2.7%<sup>[16]</sup>, 表明 MSC 植入率较低, 从而不能有效修复损伤的细胞<sup>[17]</sup>。因此, MSC 植入率较低是阻碍其应用的一个关键问题。

影响 MSC 归巢的细胞因子包括 SDF-1、TGF- $\beta$ 、MIP-1a、MCP-1 及相应的受体<sup>[18]</sup>。基质细胞衍生因子-1(Stromal cell-derived factor-1, SDF-1)最初见于骨髓基质细胞, 后来也发现心脏、胰腺、脾、卵巢等组织缺血改变, 或者受到辐射损伤时, 可以分泌细胞因子 SDF-1。CXCR4 是 SDF-1 的配体, 主要在 CD34<sup>+</sup> HSC 表达, 低表达于原始的 MSC。然而体外培养时, 传代的 MSC 逐渐不表达 CXCR4, 从而使得 MSC 对趋化因子 SDF-1 反应的缺失<sup>[19]</sup>。Kyriakou 等<sup>[20]</sup>采用慢病毒转染人 MSC, 可以显著增加细胞膜 CXCR4 的表达约 80%, 将其注入免疫缺陷小鼠模型中, 结果发现在宿主的骨髓和脾脏中 MSC 的植入率明显增加。许多学者通过高表达 CXCR4 或者 CXCR4 基因敲除的方法证实 SDF-1/CXCR4 介导的趋化作用在 MSC 植入辐射损伤组织中发挥重要作用。

#### 3.2 MSC 对骨髓造血功能的影响

骨髓造血干细胞/祖细胞的缺乏和造血微环境的破坏是急性放射损伤患者造血功能抑制最主要的表现, 而且贯穿于放射损伤的始终。因此, 保存并促进残存干细胞的增殖, 维护造血微环境是减轻辐射引起造血功能损伤的关键<sup>[21]</sup>。MSC 是骨髓基质中最重要的干细胞, 输注 MSC 可以增殖分化成相应基质细胞。MSC 可以分泌多种造血相关因子, 如 IL-6、Flt-3L、SCF、G-CSF 和 GM-CSF 等, 输入 MSC 后可以补充辐射所致的体内细胞因子相对不足。因此 MSC 可能会改善和修复辐射引发的骨髓基质细胞和造血微环境的损伤, 利于造血重建<sup>[4]</sup>。

Shi 等<sup>[22]</sup>研究小组将 MSC 移植到致死剂量照射的 NOD/SCID 模型动物, 发现其可以改善造血功能恢复, 虽然其机制仍不清楚, 但是表明植入的 MSC 可以参与骨髓的造血。造血干细胞对于急性辐射骨髓损伤的治疗效果是显而易见的, 但是严格的骨髓配型及严重的移植抗宿主病限制造血干细胞的应用。研究发现 MSC 可以通过一些细胞因子, 生长因子或某些受体有效抑制 T 细胞活化及增殖, 而将 MSC 和 HSC 共移植入受体骨髓, 对于预防和减少 GVHD 的发生有一定的效果<sup>[18]</sup>。

### 3.3 细胞因子对造血干细胞/祖细胞的抗凋亡作用

研究表明辐射损伤可以引起造血干细胞/祖细胞 (Hematopoietic stem cell and progenitor cells, HSPC) 凋亡, 对于剂量范围在 3—7 Gy 的全身照射, 细胞因子的应用受到一定的限制, 由于 HSPC 的死亡, 残存量不足, 使得血细胞生成夭折于起始阶段, 即使应用大剂量的造血生长因子也不会刺激 HSPC 增殖、分化, 改善造血功能。

联合使用多种细胞因子对 HSPC 的抗凋亡作用在辐射诱发的细胞死亡中扮演重要角色<sup>[23,24]</sup>。2005 年, Herodin 等<sup>[1]</sup>提出“应急性抗凋亡细胞因子治疗”概念, 将 4 种细胞因子 (SCF、FL、TPL 和 IL-3) 联合使用, 可以有效减少辐射诱发的 HSPC 凋亡, 改善残存 HSPC 的造血功能<sup>[25]</sup>。给予混合细胞因子治疗受照射的猕猴, 可以有效缓解 HSPC 死亡, 刺激造血功能恢复<sup>[26]</sup>。这就表明“鸡尾酒”细胞因子可以增加 HSPC 存活率, 对恢复骨髓造血功能, 提高受照者的存活及其改善其血细胞数量, 减少并发症等方面发挥重要作用, 为今后急性辐射损伤治疗的提供新的策略。

## 4 展望

鉴于具有多向分化潜能、能支持造血和促进造血干细胞植入、调节免疫以及分离培养操作简便等特点, 间充质干细胞日益受到人们的关注。美国 FDA 已批准了近 60 项临床试验, 其中包括造血干细胞移植, 增强造血功能, 促使造血干细胞移植物的植入, 治疗移植抗宿主病。我国研制的“原始间充质干细胞”注射液 I 期临床试验已于近期展开, 表明干细胞治疗药物产品进入临床指日可待。

随着对 MSC 研究的逐步深入, 多国学者纷纷提出要把 MSC 作为急性辐射损伤治疗的新方法。我们认为细胞因子和 MSC 联合使用, 一方面抑制辐射诱发的 HSPC 凋亡, 增加残存的 HSPC 及改善其造血活性, 另一方面刺激 MSC 高表达 CXCR4,

发挥 SDF-1/CXCR4 介导的趋化作用, 提高 MSC 植入受损部位的效率, 对于 ARS 的治疗具有广阔的前景。

### 参考文献

- 1 Hérodin F, Mayol J F, Mourcin F, *et al.* *Folia Histochem Cytobiol*, 2005, **43**(4): 223-227
- 2 Waselenko J K, MacVittie T J, Blakely W F *et al.* *Ann Intern Med*, 2004, **140**: 1037-1051
- 3 Huang X J. *J Hematol Oncol*, 2008, **31**: 1-27
- 4 李明, 王立升, 罗庆良. *中国实验血液学杂志*, 2007, **15**(4): 905-908  
LI Ming, WANG Lisheng, LUO Qingliang. *Journal of Experimental Hematology*, 2007, **15**(4): 905-908
- 5 Weiss M L, Medicetty S, Bledsoe A R, *et al.* *Stem Cells*, 2006, **24**(3):781-92
- 6 Mueller S M, Glowacki J. *J Cell Biochem*, 2001, **82**(4): 583-590
- 7 Lee S Y, Miwa M, Sakai Y, *et al.* *J Cell Physiol*, 2007, **210**(3): 561-566
- 8 Erices A, Conget P, Minguell J J. *Br J Haematol*, 2000, **109**: 235-242
- 9 Musina R A, Bekchanova E S, Belyavskii A V, *et al.* *Bull Exp Biol Med*, 2007, **143**: 127-131
- 10 Wang L M, Tran I, Seshareddy K, *et al.* *Tissue Engineering*, 2009, **15**: 1-8
- 11 Cao F J, Feng S Q. *Chinese medical journal*, 2009, **122**(2): 225-231
- 12 Haynesworth S E, Baber M A, Caplan A L. *Bone*, 1992, **13**: 69-80
- 13 Lu L L, Liu Y J, Yang S G, *et al.* *Haematologica*, 2006, **91**: 1017-1026
- 14 Jiang Y, Jahagirdar B N, Reinhardt R L, *et al.* *Nature*, 2002, **418**(6893): 41-49
- 15 Semont A, Francois S, Mouiseddine M, *et al.* *Adv Exp Med Biol*, 2006, **585**: 19-30
- 16 Devine S M, Cobbs C, Jennings M, *et al.* *Blood*, 2003, **101**: 2999-3001
- 17 Herzog E L, Chai L, Krause D S. *Blood*, 2003, **102**: 3483-3493
- 18 Kemp K C, Hows J, Donaldson C. *Leukemia and Lymphoma*, 2005, **46**(11): 1531-1544
- 19 Zhang J, Gong J F, Zhang W, *et al.* *J Biomed Sci*, 2008, **15**: 585-594
- 20 Kyriakou C, Rabin N, Pizzey A, *et al.* *Haematologica*, 2008, **93**(10): 1457-65

- 21 许志祥, 张学光, 强亦忠, 等. 中华放射医学与防护杂志, 2001, **2**(4): 286-289  
XU Zhixiang, ZHANG Xueguang, QIANG Yizhong, *et al.* Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection. 2001, **2**(4): 286-289
- 22 Shi M X, Li J, Liao L M, *et al.* Haematologica, 2007, **92**: 897-904
- 23 Borge O J, Ramsfjell V, Cui L, *et al.* Blood 1997, **90**: 2282-2292
- 24 Hérodin F, Bourin P, Mayol J F, *et al.* Blood, 2003, **101**: 2609-2616
- 25 Drouet M, Mathieu J, Grenier N, *et al.* Stem Cells, 1999, **17**: 273-285
- 26 Drouet M, Mourcin F, Grenier N, *et al.* Blood, 2004, **103**: 878-885

## Recent progress of applying mesenchymal stem cells in therapy of urgent radiation damage

LIU Jiangong GUO Wanlong ZHANG Shuxian DUAN Zhikai

*(Radiation Medicine Institute and Environmental Medicine, China Institute for Radiation Protection, Taiyuan 030006, China)*

**ABSTRACT** At present, Cytokine therapy is the main strategy capable of preventing and reducing the acute radiation syndrome (ARS). With the problem of difficult match and severe graft versus host disease, haemopoietic stem cells can be used to find some effective approaches to treat acute radiation damage. Mesenchymal stem cells are of great therapeutic potential due to their particular characteristics including secretion of hematopoietic cytokine, reconstruction hemopoietic microenvironment, poor-immunogenicity, ease of reception ectogenic gene transfection and expression. This paper is to summarize the studies of biological characteristics of MSC and its application prospects in urgent radiation damage.

**KEYWORDS** Acute radiation injury, Mesenchymal stem cells, Cytokine

**CLC** Q691, Q813, R146