

# 自体骨髓干细胞移植研究进展

李连达, 吴理茂, 刘红, 宁可永, 李贻奎

(中国中医研究院西苑医院, 北京 100091)

**[摘要]** 细胞移植作为一种新的治疗方法备受医学界关注, 但细胞供应短缺和免疫排斥是阻碍这一疗法临床推广的主要难题。自体骨髓干细胞移植在一定程度上可缓解此矛盾。文章综述了自体骨髓干细胞移植治疗脑、肝、心等重要器官疾病的基础和临床研究现状, 以及骨髓动员剂在骨髓干细胞移植中的作用。

**[关键词]** 骨髓干细胞; 自体移植; 骨髓动员剂

**[中图分类号]** R457.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1009-1742(2004)08-0001-04

细胞移植是将有功能的细胞植入体内, 以替代因退变、损伤、基因缺陷或自身免疫而受损的细胞, 重构原组织器官的结构和功能, 是器官移植的发展和改进。经过近半个世纪的研究, 细胞移植已具有较为完备的实验及理论基础, 开始从动物模型阶段初步进入临床实验, 在治疗器官衰竭和多种遗传代谢性疾病方面蕴涵着巨大的潜能。自体骨髓干细胞的应用是细胞移植的最新发展, 为其全面走向临床奠定了良好基础。

## 1 细胞移植研究概况和存在的问题

细胞移植技术在一定程度上, 作为器官移植的过渡, 缓解了器官移植的供体短缺问题, 细胞移植的研究预示, 该技术在多种疾病的治疗中有广阔的应用和发展前景, 但细胞移植技术至今没有在临床上推广应用, 原因在于许多关键技术尚未解决, 制约细胞移植发展的两大瓶颈问题是细胞供应和免疫排斥。同种异体细胞, 临床上大量获得难度非常大, 体内移植后难以增殖并逐渐凋亡, 造成长期存活的细胞量不足, 难以达到预期的治疗效果。细胞移植后不使用免疫抑制剂, 7天后移植细胞所剩无几。此外尚有移植细胞类型、移植部位、细胞进入体内方式、存在状态与功能关系、移植细胞效果评

价等诸多问题。随着以上技术难题的解决, 细胞移植将成为一种常规的治疗方法, 在临床推广应用。

## 2 自体骨髓干细胞移植的基础研究与临床

成体干细胞既具有很强的可塑性, 又无致瘤性, 是细胞移植和人造器官工程的首选。最近已发现多种成体干细胞, 如间质干细胞、神经干细胞、肝干细胞、皮肤干细胞等。骨髓干细胞来源丰富, 是最容易获得的成体干细胞, 可向骨、软骨、肌腱、心肌细胞、神经星状胶质细胞、内皮细胞、神经元、肝细胞、肌肉细胞等分化。最近 Verfaillie<sup>[1]</sup>的实验室报道, 从大鼠、小鼠和人的骨髓中分离得到多能成年祖母细胞 (multipotent adult progenitor cells, MAPCs), 可分化为脑、视网膜、肝、肠、肾、脾、骨髓、血液、皮肤等多种组织细胞。自体骨髓干细胞移植还可避免免疫排斥反应, 由此可见, 骨髓干细胞无疑是细胞移植最好的种子细胞之一, 扩展自体骨髓移植治疗范围是细胞移植的发展方向。

### 2.1 骨髓干细胞应用于神经系统疾病的研究

2000年 Brazelton 等<sup>[2]</sup>和 Mezey 等<sup>[3]</sup>分别在 Science 上撰文, 小鼠骨髓干细胞在体内可分化为

[收稿日期] 2003-10-10; 修回日期 2004-03-22

[作者简介] 李连达 (1934-), 男, 辽宁沈阳市人, 中国工程院院士, 中国中医研究院西苑医院首席研究员

神经胶质细胞和神经元,指出骨髓干细胞移植可治疗帕金森病、老年痴呆等神经退行性疾病。随后 Mezey 等<sup>[4]</sup>报道,在接受骨髓移植的淋巴细胞白血病和系统免疫缺陷病人的脑组织切片中,发现了许多来源于骨髓细胞的神经细胞。Weimann 等<sup>[5]</sup>报道人骨髓干细胞可进入大脑皮层,分化为 Purkinje 神经原(骨髓来源的占 0.1%)。Akiyama 等<sup>[6]</sup>报道给脊髓挫伤和中风大鼠移植骨髓干细胞,观察到脊髓髓鞘再生和功能改善。但目前尚未见到用自体骨髓干细胞治疗神经系统疾病的临床报道。

## 2.2 骨髓干细胞应用于心血管疾病的研究

理论上心肌细胞是终末细胞,不具备增生能力,心肌坏死后在梗死区形成纤维瘢痕,可逐渐发展为进行性心力衰竭,如果在梗死区周边移植骨骼肌和胚胎心肌细胞,可暂时改善心功能,但由于医学伦理和免疫排斥反应等诸多因素,限制了该技术的临床应用。骨髓干细胞具有多潜能,可增殖分化为心肌细胞,也可向血管内皮细胞分化,增加梗塞区新生血管生成,减少梗塞区外围肥大心肌细胞凋亡<sup>[7]</sup>。我国李连达等<sup>[8]</sup>首次报道自体骨髓干细胞经心导管移植与中药合用,对小型猪心肌梗塞的治疗作用,观察到移植细胞在心脏分化为心肌细胞及血管内皮细胞,心肌梗塞面积减小,心脏功能明显改善。该研究由导体移植改进为自体移植,由胚胎干细胞移植改为骨髓干细胞移植,由开胸手术移植改进为心导管移植,解决了供体困难、排异反应、医学伦理道德、手术风险和费用昂贵等难题,为临床应用奠定了基础。2001 年 Strauer 等<sup>[9]</sup>报道首例人骨髓干细胞移植心肌重建术,将 107 个自体骨髓干细胞移植到闭塞相关动脉,移植后 10 周心脏各项指标都有所改善。我国香港中文大学医学院、上海中山医院、南京第一医院、海军总医院、长征医院及第四军医大学西京医院等,相继报告临床应用自体骨髓干细胞经心导管移植治疗冠心病患者获得成功,其中海军总医院已治疗 50 例患者,均获得成功。冠心病症状及心脏功能均有明显改善。Li 等<sup>[10]</sup>对自体骨髓干细胞移植治疗心脏疾病的安全性和可行性进行了评价,手术后,对狗观察了 240 天,人随访了 1 年,未见有明显的不良反应发生。另外 Tateishi-Yuyama 等<sup>[11]</sup>在一个初步随机临床实验中证实,自体骨髓干细胞在治疗肢体缺血方面也有非常好的疗效。

## 2.3 骨髓干细胞应用于肝脏疾病的研究

Petersen 等<sup>[12]</sup>1999 年首先报道,用 2-AFF (2-acetylaminofluorene) 阻断大鼠肝细胞增殖,CCl<sub>4</sub> 造成肝损伤,进行性别交叉骨髓细胞移植,或者全肝移植,在肝脏中发现来源于骨髓的肝细胞。随后 Alison 等<sup>[13]</sup>和 Theise 等<sup>[14]</sup>相继证实骨髓移植和肝脏移植病人的肝脏中也有来源于骨髓的肝细胞。Lagasse 等<sup>[15]</sup>在 FAH 缺陷大鼠模型中证实,骨髓造血干细胞能在肝脏内分化为功能完备的肝细胞,改善 FAH 缺陷大鼠的症状,只要 50 个干细胞就能达到很好的效果。最近 Verfaillie 等<sup>[16]</sup>的实验室也报道,从大鼠、小鼠和人的骨髓中分离得到多能成年祖细胞(multipotent adult progenitor cells, MAPCs),该细胞体外经 FGF-4 和 HGF 诱导可分化为功能肝细胞,此细胞能合成尿素、白蛋白、糖原,具细胞色素 P450 活性,能吸附  $\alpha$ -低密度脂蛋白。将这一亚群细胞移植至肝脏,用绿色荧光蛋白和白蛋白双标技术,可证实其已经分化为功能完备的肝细胞,实验中没发现有肿瘤原性。总之,已有大量实验数据充分证实:骨髓中确实存在能分化为肝细胞的干细胞,直接将其移植到肝脏,在肝脏微环境调节下可分化为肝细胞。因此骨髓干细胞移植为多种严重肝脏疾病的治疗开辟了新的领域。最近 Wang 等<sup>[17]</sup>研究了骨髓细胞在肝脏中增殖动力学过程,发现骨髓细胞增殖替代功能缺陷肝细胞是一个非常缓慢的过程,改善此过程是骨髓细胞移植临床成功治疗肝脏疾病的关键。最近,吴理茂等首次用自体骨髓干细胞移植治疗实验性急性肝损伤和慢性肝纤维化获得成功<sup>[18]</sup>。

## 2.4 骨髓干细胞动员剂的研究

骨髓中的干细胞通常主要是产生血液细胞,但在特殊情况下,某些干细胞可以根据需要转变为各种类型的细胞:如肝脏细胞、神经细胞等。Orlic 等<sup>[19]</sup>基于这种设想,用 SCF (stem cell factor) 和 G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) 动员骨髓干细胞向心肌梗死区聚集,观察到骨髓干细胞向心肌和血管内皮细胞分化,缩小梗塞面积,明显改善心功能。李连达等<sup>[20,21]</sup>进一步发现 P-G 因子(聚乙二醇重组人粒细胞集落刺激因子, Polyethylene glycol recombinant human granulocyte colony stimulating factor) 对大鼠及小型猪心肌梗塞均有明显保护作用、心肌梗塞范围减小、心肌功能明显改善,并观察到在心肌梗塞区周围有骨髓干细胞存活,并部分向心肌细胞及血管内皮细胞分

化, 初步证实骨髓干细胞动员剂可代替(或部分代替)干细胞移植, 达到治疗目的。以色列的科学家<sup>[22]</sup>发现, 当肝脏遇到损害时, 它会向骨髓干细胞发出求救信号。这些干细胞会及时“赶来”, 帮助修复受到损害的肝脏细胞, 这些信号分子有肝细胞生长因子(HGF)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)和基质细胞衍生因子(SDF-1)。骨髓干细胞一旦感知SDF-1从肝脏发出的信号, 会不断产生并释放出来, 然后再移向肝脏。如果以上假想成立, 在需要自体骨髓干细胞移植时, 只需给予适当动员剂和信号启动剂, 骨髓干细胞就会自动靶向聚集到损伤器官, 完成修复工作, 免除所有繁琐的操作及外科手术, 最近李连达等首次用P-G因子治疗实验性肝损伤获得成功。

另外, 应用骨髓干细胞移植治疗关节炎、肺、肾等多种疾病的研究也正在蓬勃开展。自体骨髓干细胞移植可望为这些疾病提供一种有效的治疗手段。

### 3 自体骨髓干细胞移植的优缺点

与现有细胞和器官移植相比, 自体骨髓干细胞移植缺陷极少, 只因一些技术条件的限制, 有可能出现以下一些缺点, 如分离纯化骨髓干细胞的操作较为繁琐, 操作过程中有些细胞难免损伤、变性。最近有报道有自体骨髓造血干细胞移植于心脏后, 虽有一定治疗作用, 但未能证实骨髓干细胞分化为心肌细胞, 有关问题尚有争议, 须进一步研究<sup>[23]</sup>。

骨髓干细胞的来源充足, 易于获得; 临床上, 骨髓穿刺术是一种简单、常规、安全的操作技术。骨髓干细胞作为组织干细胞的一种, 增殖能力强, 体外能大量扩增, 能满足细胞移植要输入大量功能细胞的需求。病人可用自体骨髓细胞移植, 完全克服免疫排斥, 从根本上解决细胞和器官移植面临的免疫排斥问题。自体骨髓干细胞移植具有这些不可比拟的优点, 将使细胞移植进入一个崭新的发展阶段。

### 4 结语

近年细胞工程治疗学发展迅速, 已成为医学研究的前沿领域。但因存在一些技术难题, 临床应用进展缓慢, 特别是异体移植、胚胎干细胞移植及手术移植, 存在着供体不足、排异反应、医学伦理道德、手术风险、费用昂贵等难题, 严重阻碍了临床

推广应用。国内外最新发展趋势是改用自体移植、骨髓干细胞移植、导管移植, 与中药合用优势互补, 可使这一高难技术变得简便易行, 为临床应用奠定了可靠的基础, 将为心、脑、肝、肺、肾等多种疾患的治疗开创时代的新领域。目前我国在自体骨髓干细胞移植治疗心、脑、肝疾病方面的研究已取得重大进展, 并在自体骨髓干细胞经心导管移植治疗冠心病的临床研究方面取得初步成功, 前景十分喜人。

### 参考文献

- [1] Jiang Y, Jahagirdar B N, Reinhardt R L, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow[J]. *Nature*, 2002; 418(6893): 41~49
- [2] Brazelton T R, Rossi F M V, Keshet G I, et al. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice[J]. *Science*, 2000, 290: 1775~1779
- [3] Mezey E, Chandross K J, Harta G, et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow [J]. *Science* 2000, 290: 1779~1782
- [4] Mezey E, Key S, Vogelsang G, et al. transplantation bone marrow generates new neurons in human brains [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(3): 1364~1369
- [5] Weimann J M, Charlton C A, Brazelton T R, et al. Contribution of transplanted bone marrow cells to Purkinje neurons in human adult brains[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(4): 2088~2093
- [6] Akiyama Y, Radtke C, Honmou O, et al. Remyelination of the spinal cord following intravenous delivery of bone marrow cells[J]. *Glia*, 2002, 39(3): 229~236
- [7] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium [J]. *Nature* 2001, 410: 701~705
- [8] 李连达, 张荣利, 冯新庆, 等. 双龙方与自体骨髓单个核细胞经心导管移植对中国小型猪心肌梗塞的影响[J]. *中国新药杂志*, 2003, 12(12): 812~817
- [9] Strauer B E, Brchm M, Zeus T, et al. Intracoronary human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction [J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2001, 126(34-35): 932~938
- [10] Li T S, Hamano K, Hirata K, et al. The safety and feasibility of the local implantation of autologous bone marrow cells for ischemic heart disease [J]. *J Card Surg*, 2003; 18(Suppl 2): S69~75

- [11] Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2002, 360 (9331):427~435
- [12] Petersen B E, Bowen W C, Patrene K D, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells[J]. *Science*, 1999, 284(5417):1168~1170
- [13] Alison M R, Poulsom R, Jeffery R, et al. Hepatocytes from nonhepatic adult stem cells[J]. *Nature*, 2000, 406:257
- [14] Theise N D, Nimmakayalu M, Gardner R, et al. Liver from bone marrow in humans[J]. *Hepatology*, 2000, 32(1):11~16
- [15] Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo[J]. *Nat Med*, 2000, 6(11):1229~1234
- [16] Schwartz R E, Reyes M, Koodie L, et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells[J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(10):1291~1302
- [17] Wang X, Montini E, Al-Dhalimy M, et al. Kinetics of liver repopulation after bone marrow transplantation [J]. *Am J Pathol*. 2002, 161(2): 565~574
- [18] 吴理茂,李连达,刘红,等.自体骨髓干细胞移植与归元方联用治疗急慢性肝损伤的实验研究[J].*中国工程科学*,2004,6(7):34~42
- [19] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(18): 10344~10349
- [20] 李连达,张荣利,张旋,等.津优力对中国小型猪冠状动脉栓塞心肌梗塞的治疗作用[J].*中国新药杂志*,2003,12(9):724~727
- [21] 李连达,张荣利,张旋,等.津优力对大鼠心肌梗塞治疗作用的研究[J].*中国新药杂志*,2003,12(9):721~724
- [22] Kollet O, Shvitiel S, Chen Y Q, et al. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34<sup>+</sup> stem cell recruitment to the liver[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(1):160~169
- [23] Munv C E, Soonpaa M H, Reineche H, et al. Hematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts [J]. *Nature*, 2004,428(6983):664~668

## Advances in Autologous Bone Marrow Stem Cell Transplantation

Li Lianda, Wu Limao, Liu Hong, Ning Keyong, Li Yikui

(China Academy of Traditional Chinese Medicine, Xiyuan Hospital, Beijing 100091, China)

[**Abstract**] Cellular transplantation is emerging as a potential treatment. It can augment cell number in diseased organs, and has shown early promising. However cell therapy is partially hindered by immunological rejection, cellular source, and medical ethics. Bone marrow cells can be easily obtained from adult marrow, opening the possibility of autologous transplantation. Autologous cell transplantation for the treatment of damaged organs is becoming an increasingly promising strategy. This review summarizes the field of cell transplantation over the past decade, discusses areas of controversy, and proposes an outline of advancements that need to be made in both the clinical and scientific arenas for autologous cell transplantation to fully reach its clinical potential. It also discusses the current status of autologous bone marrow stem cell transplantation with emphases on approaches to stem cell mobilization.

[**Key words**] bone marrow stem cells; autologous transplantation; bone marrow mobilizer