

文章编号: 1001-098X(2003)02-0080-04

干细胞在放射医学研究中的进展

郭丽, 范洪学

摘要: 电离辐射作用于机体后, 可致机体发生急性放射病。辐射损伤的远后效应之一是白血病, 含有干细胞的骨髓细胞移植是目前挽救急性放射病病人生命的惟一有效的治疗方法。近年来随着干细胞研究的突破性进展, 其多向分化潜能及干细胞相互转化可能为辐射损伤病人提供新的干细胞来源; 同时随着辐射防护剂研究的深入, 促进了损伤后干细胞的恢复。

关键词: 干细胞; 放射医学; 造血干细胞

中图分类号: Q345+.21 **文献标识码:** A

The advancement of stem cells in radiation medicine

GUO Li, FAN Hong-xue

(Department of Toxicology, School of Public Health, Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract: It may result in acute radiation syndrome after body is exposed to ionizing radiation. The one of long-term effects of irradiation injury is leukemia. The bone marrow cells (BMC) transplantation including stem cells is the only effective therapy for acute radiation syndrome patients. Recently, with the advancement of stem cell research that the stem cells have multipotential and can convert each other, it may supply the new stem source for the irradiation injury patients. At the same time with the further research of radioprotective reagents, the hematopoietic stem cells proliferation after irradiation injury is promoted.

Key words: stem cells; radiation medicine; hemopoietic stem cells

由于干细胞具有无限增殖和多向分化的双重功能, 它在维持机体内环境稳定和组织损伤的修复中占有重要地位, 所以一直为研究者所关注。

1 干细胞研究的现状

从20世纪50年代到目前为止, 干细胞的研究比较集中的是三个发育不同阶段, 即ESC(胚胎干细胞)、胎儿干细胞和成体干细胞。

ESC是胎生细胞。1998年, 美国的两个实验组先后成功地建立了人ESC株。它意味着将来可使ESC定向分化为有用细胞; 用细胞移植方式可治疗

帕金森病、Alzheimer病等多种疾病。这些成果对再生医学的发展具有很大的促进作用。

在利用胎肝干细胞代替造血干细胞的应用过程中, 带动了胎儿干细胞的研究与应用。人们现在非常关注胎儿时期各种干细胞的发掘和应用研究。

骨髓HSC(造血干细胞)研究是机体干细胞研究的代表。Bjornson CR等^[1]在1999年证实, 把神经干细胞移植入动物体内, 可使其转化成HSC而影响造血系统。骨髓中不但实质细胞含有干细胞, 而且支持实质细胞的基质细胞也存在干细胞, 1999年被国际上公认并命名为间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC), 它不仅具有对实质细胞的调控作用, 在适宜的环境下, 还可向神经干细胞、心肌干细胞等转化^[2,3]。现在甚至过去认为不可再生的、非常稳定的神经系统也证实存在干细胞, 并且已经应用神经干细胞移植治疗帕金森病, 取得了比较理想的效果^[4]。

收稿日期: 2002-10-17

基金项目: 吉林省卫生厅医学科研基金项目(200131)

作者简介: ①郭丽(1973-), 女, 吉林大学公共卫生学院毒理学教研室(长春, 130021)助教, 博士研究生, 主要从事间充质干细胞方面的研究。

②范洪学(1940-), 男, 吉林大学公共卫生学院毒理学教研室教授, 博士生导师, 主要从事辐射与造血研究。

2 干细胞在放射医学研究中的应用

白血病是辐射损伤的远后效应之一,含有干细胞的BMC(骨髓细胞)移植是目前挽救极重度造血型急性放射病病人生命的惟一有效的治疗方法,也是治疗白血病的重要手段。

2.1 BMT(骨髓移植)

BMT已经有50多年的历史,除了治疗白血病和重度辐射损伤,目前也用造血细胞移植治疗一些疑难病和遗传性疾病,最显著的成就主要有以下几方面:(1)巨细胞病毒感染的控制;(2)输入供体淋巴细胞根除白血病或淋巴组织增生疾病;(3)外周血和脐带血中HSC的使用,使从BMT发展成造血细胞移植;(4)HLA(组织相容性白细胞抗原)免疫遗传方面的进展,尤其是分子技术方面的进展;(5)开展了大规模的各种类型的自愿捐献,使受者从非家庭成员的供者获得供体成为可能^[5]。

2.2 HSC来源的新途径

近年来,随着对干细胞的深入研究,已经发现来自体内许多组织的干细胞在体外能长期培养和扩增,并能转化成HSC,成为血细胞来源的新途径。

2.2.1 自体残余的骨髓干细胞亚群

人们一直在探索,辐射损伤后在重度骨髓抑制条件下骨髓中是否有干细胞亚群存在。Chute JP等^[6]用10 Gy照射6周龄的C57BL/6J(Ly5.1)和同系的C57BL/6(Ly5.2)小鼠,取其照射后的骨髓MNC(单核细胞)与PMVEC(猪微血管内皮细胞)共培养,骨髓MNC的一个亚群能生长并被扩增(3.8倍)超过10d。集落形成检测证明,10 Gy照射的鼠MNC不能产生粒-巨细胞集落形成单位(granulocyte/macrophage colony-forming units, CFU-GM)、红细胞暴增形成单位(erythroid burst-forming units, BFU-e)或混合集落(CFU-Mix),然而射线照射的MNC随后与PMVEC共培养,产生的CFU-GM、BFU-e和CFU-Mix集落率分别是1.3%、0.2%和0.2%。在存活研究中,10 Gy照射Ly5.1小鼠,取其骨髓与PMVEC共培养,收获PMVEC挽救的细胞,移植入10 Gy照射的Ly5.2小鼠体内,结果移植小鼠有78%在50d时仍存活,而射线照射的对照小鼠只有18%存活率($P < 0.05$)。观察用射线照射并与PMVEC共培养的MNC移植小鼠,表明造血已经完全恢复。移植后8周,在移植动物的骨髓和脾中发现了Ly5.1供体细

胞,但是移植水平较低(范围0~5.1%,平均1.9%)。这些结果证明,如果经高剂量照射的骨髓细胞与内皮细胞单层共培养,则骨髓干细胞的一个亚群能够存活。

2.2.2 神经干细胞(neural stem cells, NSC)

Bjornson CRR等^[7]将转导了lacZ基因的ROSA26(H-2K^b)小鼠的胚胎中或成年小鼠前脑中获得的NSC或者从成年小鼠脑细胞克隆培养的NSC注入到亚致死剂量照射的Balb/c(H-2K^d)体内,结果移植后5~12个月,通过受鼠骨髓集落培养,5-溴-4-氯-3-吲哚- β -D-半乳糖苷(X-gal)染色阳性,其中粒细胞集落为13%,粒-巨细胞集落为30%,单核细胞集落为22%,混合型集落为19%。为进一步证实NSC移植进造血系统,用流式细胞仪检测受鼠的脾、骨髓、外周血的H-2抗原和B、T淋巴细胞或髓样细胞表面标志,说明遗传标记的NSC能够产生髓样细胞、淋巴细胞以及早期造血细胞。

2.2.3 ESC

在去除饲养层细胞和分化抑制因子后,一定条件下的ESC可以被诱导分化成造血细胞,为造血细胞的来源提供了一个新途径。1991年Burkert U等描述了体外ESC培养在半固体培养基中,5个ESC系中的2个产生了包含血岛的胚状体,血岛中可以检测到造血祖细胞。将ESC与基质细胞系RP010和IL-3、IL-6和F(FLS4.1胎肝的基质细胞系的无细胞的上清)共培养,发现ESC能被诱导分化产生造血干细胞。由ESC诱导产生的细胞纯化类型PgP-1+Lin-细胞在射线照射的小鼠中重建淋巴、髓样和红细胞,并且在次级小鼠受体也能产生造血恢复。另外,Perkins AC^[7]将ESC与来自骨髓的基质细胞系MC3T3-G2/PA6(PA6)共培养,能纯化ESC细胞分化出的HSC,并可用于BMT。

2.2.4 其他

肌肉干细胞^[8]和一些其他组织的干细胞也能转化为造血干细胞,这些都为造血细胞来源提供了新的途径。

2.3 辐射防护剂对于干细胞的作用

多年来,人们一直在探索有效的辐射防护剂(又称抗辐射药物)预防或促进辐射损伤后造血干细胞繁殖。

2.3.1 造血系统辐射防护成份

辐射防护的含义是能快速地重建无血液形成

系统的宿主,在有限的时间内维持宿主的存活。Na Nakorn T 等^[9]用纯化的祖细胞:髓样祖细胞(common myeloid progenitors, CMP)、巨核/红系限制祖细胞(megakaryocyte/erythrocyte-restricted progenitors, MEP)或粒/单核限制祖细胞(granulocyte/monocyte-restricted progenitors, GMP)移植入致死剂量照射的小鼠内,寻找具有辐射防护能力的造血系统的主要成份。CMP 和 MEP 以一种剂量依赖关系保护小鼠,表明红细胞、血小板或者二者都是辐射防护的关键因素。通过直接比较每一种祖细胞的脾集落生成单位(spleen CFU, CFU-S)能力,表明 8d 的 CFU-S 是辐射防护细胞亚群的前体细胞。移植后动物又存活至少 6 个月。这些研究证明,受射线照射重度骨髓抑制的宿主体内有极少的造血干细胞存活,如果髓样红细胞限制的祖细胞短期挽救动物通过骨髓衰竭的危险期,则可逐渐重建宿主的造血。

2.3.2 细胞因子

当射线照射前使用几种造血生长因子,包括 IL-1(白细胞介素-1)、IL-6、IL-11、flt-3 配体(flt-3 ligand)、肿瘤坏死因子 α 、粒细胞集落刺激因子、干细胞因子(stem cell factor, SCF)等,通过减少对原始造血祖细胞的损害,可以至少部分保护小鼠免受辐射诱导的死亡^[10,11]。

还有一些因子能增强肠道干细胞对射线的抵抗性。在鼠模型中,通过预先用转化生长因子- β 3(transforming growth factor beta3, TGF- β 3)处理,导致存活隐窝数量增加 3 至 4 倍(保护因子, PF),腹泻时间和水平减少,最终恢复为正常水平;缺乏 TGF- β 3 则抑制其增殖,隐窝体积减小^[12]。

2.3.3 化学物质

有些化学物质也是辐射防护剂,如血管紧张素 II(angiotensin II, A II)。体外 A II 能增加造血祖细胞和间充质细胞的集落形成和增殖。Rodgers KE 等^[13]研究了 A II 和血管紧张素(1~7)(一种 A II 的非高血压片段)对于 B₆ 小鼠全身照射的作用。经血管紧张素肽处理的动物,加速了射线照射后造血的恢复,骨髓和血中的造血祖细胞数量增加,减少了照射后血小板数量的下降。

重度辐射损伤后,肠道症状也很严重,人们对肠道干细胞的辐射防护剂也进行了探讨。Bisht KS 等^[14]对 γ 射线全身照射小鼠 30min 前腹腔注射 300mg/kg 氨磷汀(amifostine, WR-2721),结果 WR-

2721 预处理导致隐窝存活数量增加,射线诱导的胃肠细胞死亡减少,维持增生区中较多数量的干细胞存活,动物恢复加速。

2.3.4 中草药

许多研究人员对中草药改善辐射损伤的作用进行了研究。Rekha PS 等^[15]给每只小鼠 10 或 50 mg 的草药制剂 brahma rasayana(BR),能增加受照小鼠白细胞数量和多形核细胞的百分比,其骨髓中细胞构成和 α 酯酶阳性多细胞也明显增加;受致死剂量照射的受体接受 BR 处理的动物的骨髓后,在 7d 其脾结节的数量明显增加;给予正常和照射小鼠喂饲 BR,也增加了 γ 干扰素、IL-2 和粒-巨细胞集落刺激因子的水平。这些结果表明,BR 诱导的干细胞的繁殖可能与其刺激细胞因子的产生有关。

3 展望

随着机体干细胞不断被验证和应用的扩大,干细胞研究对深入揭示机体生命行为、规律,探讨外来因素致生物效应的机理以及防治疾病等将会发挥巨大推动作用。

进入增殖期的干细胞对外界因素刺激是最敏感的,干细胞的基因突变将影响整个细胞系的病理变化和终末细胞的功能改变。体外培养干细胞株的建立,可使在机体内难以发现的变化突现出来。在干细胞水平制定机体对某种因素的允许标准将成为可能,也有利于深入探讨辐射损伤对机体的作用机制及防治方法。

参考文献:

- [1] Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, et al. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo[J]. Science, 1999, 283(5401): 534-537.
- [2] Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons[J]. J Neurosci Res, 2000, 61(4): 364-370.
- [3] Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J, et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2000, 120(5): 999-1005.
- [4] Akerud P, Canals JM, Snyder EY, et al. Neuroprotection through delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor by neural stem cells in a mouse model of Parkinson's disease[J]. J Neurosci, 2001, 21(20): 8108-8118.
- [5] Thomas ED. Landmarks in the development of hematopoietic cell transplantation[J]. World J Surg, 2000, 24(7): 815-

- 818.
- [6] Chute JP, Clark W, Saini A, et al. Rescue of hematopoietic stem cells following high-dose radiation injury using ex vivo culture on endothelial monolayers[J]. *Mil Med*, 2002, 167(2 Suppl): 74-77.
- [7] Perkins AC. Enrichment of blood from embryonic stem cells in vitro[J]. *Reprod Fertil Dev*, 1998, 10(7-8): 563-572.
- [8] Jackson KA, Mi T, Goodell MA. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(25): 14482-14486.
- [9] Na Nakorn T, Traver D, Weissman IL, et al. Myeloerythroid-restricted progenitors are sufficient to confer radioprotection and provide the majority of day 8 CFU-S [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(12): 1579-1585.
- [10] Hudak S, Leach MW, Xu Y, et al. Radioprotective effects of flk2/flt3 ligand[J]. *Exp Hematol*, 1998, 26(6): 515-522.
- [11] Neta R, Perlstein R, Vogel SN, et al. Role of interleukin 6 (IL-6) in protection from lethal irradiation and in endocrine responses to IL-1 and tumor necrosis factor [J]. *J Exp Med*, 1992, 175(3): 689-694.
- [12] Booth D, Haley JD, Bruskin AM, et al. Transforming growth factor- β 3 protects murine small intestinal crypt stem cells and animal survival after irradiation, possibly by reducing stem-cell cycling[J]. *Int J Cancer*, 2000, 86(1):53-59.
- [13] Rodgers KF, Xiong S, diZerega GS. Accelerated recovery from irradiation injury by angiotensin peptides [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2002, 49(5): 403-411.
- [14] Bisht KS, Prabhu S, Devi PU. Modification of radiation induced damage in mouse intestine by WR-2721 [J]. *Indian J Exp Biol*, 2000, 38(7): 669-674.
- [15] Rekha PS, Kuttan G, Kuttan R. Effect of herbal preparation, brahma rasayana, in amelioration of radiation induced damage[J]. *Indian J Exp Biol*, 2000, 38(10): 999-1002.

(上接第 79 页)

物。目前,对临床应用的生物还原活性物在肿瘤内活化的关键酶是不是 P-450、是哪一种 P-450 参与活化,以及肿瘤组织 P-450 的表达情况等尚未明确。通过对上述问题深入研究,可指导放疗增敏药物在临床的应用,也可以通过诱导 P-450 或经转基因技术表达特定的 P-450,使生物还原活性物更好地发挥辐射增敏和抗肿瘤作用。P-450 基因导向的酶前药治疗在提高其安全性和有效性方面有极大的优势。此外还可指导前药设计,这包括根据 P-450 活性位点地形学分析、设计最配构型前药,明确前药功能性精细结构以预防非最适位点代谢或非期望 P-450 代谢。

这些思路也可以拓展到其他依赖于 P-450 代谢的抗癌药物或与 P-450 有密切关系的疾病的治疗。

参考文献:

- [1] Katiyar SK, Matsui MS, Mukhtar H. Ultraviolet-B exposure of human skin induces cytochromes P450 1A1 and 1B1[J]. *J Invest Dermatol*, 2000, 114(2):328-333.
- [2] Villard PH, Sampol E, Elkaim JL, et al. Increase of CYP1B1 transcription in human keratinocytes and HaCaT cells after UV-B exposure[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2002, 178(3): 137-143.
- [3] Gonzalez MC, Marteau C, Franchi J, et al. Cytochrome P450 4A11 expression in human keratinocytes: effects of ultraviolet irradiation[J]. *Br J Dermatol*, 2001, 145(5):749-757.
- [4] Chandra D, Kale RK. Influence of gamma-rays on the mouse liver cytochrome P450 system and its modulation by phenothiazine drugs[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(3):335-349.
- [5] Chung HC, Kim SH, Lee MC, et al. Mitochondrial dysfunction by gamma-irradiation accompanies the induction of cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) in rat liver[J]. *Toxicology*, 2001, 161(1-2):79-91.
- [6] Goeptar AR, te Koppele JM, van Maanen JM, et al. One-electron reductive bioactivation of 2,3,5,6-tetramethylbenzoquinone by cytochrome P450 [J]. *Biochem Pharmacol*, 1992, 43(2):343-352.
- [7] Patterson LH. Rationale for the use of aliphatic N-oxides of cytotoxic anthraquinones as prodrug DNA binding agents: a new class of bioreductive agent [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1993, 12(2):119-134.
- [8] Raleigh SM, Wanogho E, Burke MD, et al. Rat cytochromes P450 (CYP) specifically contribute to the reductive bioactivation of AQ4N, an alkylaminoanthraquinone-di-N-oxide anticancer prodrug[J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11):1115-1122.
- [9] Patterson LH, Murray GI. Tumour cytochrome P450 and drug activation[J]. *Curr Pharm Des*, 2002, 8(15):1335-1347.