

## 前列腺素 E2 对造血干细胞的调控作用研究进展

王莹莹 周道洪 孟爱民

**【摘要】** 前列腺素 E2(PGE2)是一种不饱和脂肪酸,具有多种生理活性,由环氧合酶(COX)在炎症刺激下合成。PGE2能抑制髓系祖细胞分化,促进红系祖细胞增生,对造血系统有着重要的调节作用,近期研究发现用PGE2增加造血干细胞(HSC)数量,体外可以减少HSC的凋亡,提高HSC的长期移植重建能力和归巢能力,提示PGE2对HSC有重要的调控作用。此外,PGE2还可以增强辐射损伤后HSC造血系统的重建能力,维持造血系统的稳定性。PGE2调节HSC机制的研究表明,PGE2可以通过抑制活性氧自由基的产生来防止HSC的过度分化,另外还可以通过Wnt信号通路起到维持HSC稳态的作用。将经PGE2处理后的脐带血移植到灵长类动物体内已被证实是安全的,预示着PGE2在骨髓移植中有着潜在的重要临床意义。该文将对最近几年PGE2对HSC的调控作用的相关研究进行综述。

**【关键词】** 地诺前列酮;造血干细胞;造血系统稳态

**Prostaglandin E2 regulates hematopoietic stem cell** WANG Ying-ying, ZHOU Dao-hong, MENG Ai-min. Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

Corresponding author: MENG Ai-min, Email: aiminmeng@irm-cams.ac.cn

**【Abstract】** Prostaglandin E2 (PGE2) is a bioactive lipid molecule produced by cyclooxygenase (COX), which plays an important role on hematopoiesis. While it can block differentiation of myeloid progenitors but enhance proliferation of erythroid progenitors. Recent research found that PGE2 have the effects on hematopoietic stem cell (HSC) function and these effects were independent from effects on progenitor cells. Exposure of HSC cells to PGE2 in vitro can increase homing efficiency of HSC to the murine bone marrow compartment and decrease HSC apoptosis, meanwhile increase long-term stem cell engraftment. In-vivo treatment with PGE2 expands short-term HSC and engraftment in murine bone marrow but not long-term HSC. In addition, PGE2 increases HSC survival after radiation injury and enhance hematopoietic recovery, resulting maintains hematopoietic homeostasis. PGE2 regulates HSC homeostasis by reactive oxygen species and Wnt pathway. Clinical beneficial of 16,16-dimethyl-prostaglandin E2 treatment to enhance engraftment of umbilical cord blood suggest important improvements to therapeutic strategies.

**【Key words】** Dinoprostone; Hematopoietic stem cells; Hematopoietic homeostasis

造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)具有自我更新能力,且能分化为各种血细胞的前体细胞,在维持造血系统平衡中起着重要作用。HSC在造血系统增殖和分化过程中,受到生长因子、细

胞因子和其他分子的严格调控<sup>[1]</sup>,进而维持HSC的稳态。20世纪80年代就已经发现前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)对造血祖细胞具有调控作用,如抑制人和小鼠粒系-巨系造血祖细胞集落的增殖<sup>[2]</sup>,刺激红系祖细胞的增殖等<sup>[3-4]</sup>。最近的研究表明,PGE2对HSC也具有重要的影响,包括可提高HSC在移植过程中的归巢、存活和增殖能力,以及提高HSC的长期再植能力和竞争再植频率<sup>[5-6]</sup>,从而提高HSC移植的成功率等。此外,还有研究表明,PGE2对持续损伤导致的应激状态下造血系统的修复及稳定有重要作用<sup>[7-8]</sup>,下面将对PGE2及

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2013.05.010

基金项目:国家重大科学计划(2011CB964800-G);国家自然科学基金(81072237, 81129020);天津市应用基础及前沿技术计划(11JCZDJC19100);教育部高等学校博士学科点专项基金(20111106110038)

作者单位:300192 天津,北京协和医学院中国医学科学院放射医学研究所,天津市分子核医学重点实验室

通信作者:孟爱民(Email: aiminmeng@irm-cams.ac.cn)

其对 HSC 的调控作用进行综述。

## 1 PGE2 的合成及受体

PGE2 是一种具有多种生理活性的不饱和脂肪酸,以花生四烯酸(arachidonic acid)为底物,由环氧合酶(cyclooxygenase, COX)催化合成,COX 的两种同工酶 COX-1 和 COX-2 都可以催化 PGE2 的合成。COX-1 在血管基质细胞中高表达,使内皮细胞或胃部黏膜释放前列腺素,对维持胃肠道及血小板的正常功能具有重要作用,而 COX-2 则在受损部位经诱导合成前列腺素,与疼痛及炎症相关,又因其在 HSC 中高表达,故被认为与 HSC 的增殖和发育相关<sup>[9]</sup>。COX-1 可催化花生四烯酸生成不稳定的中间产物前列腺素 G2,后者再在 COX-1 的催化下生成前列腺素 H2,前列腺素 H 合成酶从细胞质转移到核区,与 COX-1 联合作用,将前列腺素 H2 转化生成 PGE2。COX-2 则是在应激条件下 PGE2 的主要合成酶,当细胞受到炎症刺激时,染色体 1q25.2-q25.3 迅速转录并在核膜和内质网上表达 COX-2 和膜结合型前列腺素 E 合成酶 1,其中 COX-2 将花生四烯酸转化为前列腺素 G2,并进一步催化生成前列腺素 H2,接着由膜结合型前列腺素 E 合成酶 1 催化前列腺素 H2 生成 PGE2<sup>[10-11]</sup>。由于 PGE2 的半衰期非常短(1~2 min),在体外和临床研究中常使用 PGE2 的稳定修饰物 16,16-二甲基前列腺素 E2(16,16-dimethyl prostaglandin E2, dmPGE2)。

PGE2 通过与靶细胞质膜上功能互相拮抗的 4 种前列腺素 E 受体(E-prostanoid receptors, EP)(EP1-4)结合参与细胞的代谢过程<sup>[9]</sup>,EP1-4 属于 G 蛋白偶联超家族受体,分别与相应的 G 蛋白偶联参与信号转导。EP2 和 EP4 与激活型 G 蛋白结合,介导环腺苷酸水平的升高从而引起平滑肌松弛,因此又被称为松弛型受体。PGE2 单独结合 EP2 能引起表皮生长因子受体的失活,进而增加大肠癌细胞的侵略性;而 PGE2 单独结合 EP4 将会通过磷酸肌醇 3 激酶途径激活糖原合成酶激酶 3/β-连锁蛋白信号通路,促进肿瘤侵袭和癌细胞迁移。

EP1 与 EP2 和 EP4 的功能相反,EP1 被激活后介导钙离子内流,引起平滑肌收缩,又称为收缩型受体,EP3 受体因 mRNA 剪切方式不同而分为多种亚型,可以和不同的 G 蛋白偶联,

可能引起细胞内环腺苷酸水平的降低或升高,激活相应的靶酶,最终产生有差异的生理和病理学效应<sup>[5,12]</sup>。

## 2 PGE2 对 HSC 的调节作用

### 2.1 PGE2 促进移植归巢率

Hoggatt 等<sup>[13]</sup>用 dmPGE2 处理人的低密度脂蛋白单核细胞,然后将其移植到亚致死剂量照射的免疫缺陷小鼠中,16 h 后取骨髓细胞观察 CD34<sup>+</sup>脐带血细胞的归巢率,结果证明 dmPGE2 能显著提高 CD34<sup>+</sup>脐带血的归巢率。此外,小鼠骨髓移植实验也证明 PGE2 能显著提高 Lin<sup>-</sup>Sca1<sup>+</sup>c-kit<sup>+</sup>(LSK)细胞的归巢率,其归巢率比对照组高两倍。

C-X-C 型趋化因子受体 4(C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4)广泛表达于细胞的免疫和中枢神经系统,与基质细胞衍生因子 1(又称 C-X-C 型趋化因子配体 12)共同作用调节 HSC 和造血祖细胞的迁移<sup>[14]</sup>。Ludin 等<sup>[8]</sup>提出 PGE2 能诱导 CXCR4 与基质细胞衍生因子 1 表达的升高,进而提高 HSC 移植的迁移率和归巢率。将 PGE2 注射至小鼠体内,6 h 后检测骨髓细胞中 C-X-C 型趋化因子配体 12 的 mRNA 水平,发现经 PGE2 处理后小鼠的 C-X-C 型趋化因子配体 12 表达水平显著增加。Hoggatt 等<sup>[13]</sup>分别检测了 dmPGE2 处理小鼠 Lin<sup>-</sup>c-kit<sup>+</sup>(KL)和 LSK 细胞以及人 CD34<sup>+</sup>脐带血细胞 24 h 后 CXCR4 的平均荧光强度,发现 dmPGE2 可以促进 CXCR4 的表达。CXCR4 的选择性拮抗剂普乐沙福(AMD3100)能降低 dmPGE2 对细胞归巢率的影响,说明 PGE2 可能通过增加 CXCR4 来提高 LSK 细胞的归巢率。NS398 是 COX-2 的特异性抑制剂,与传统的非甾体类抗炎药不同,NS398 不影响 COX-1 的功能,因此可以减少抑制剂对胃肠道及肾的不良影响,实验证明加入 NS398 可以降低 HSC 的移植归巢率。Ludin 等<sup>[8]</sup>用 NS398 处理 CD45.1 小鼠的骨髓细胞 3~4 d,然后将其移植到 CD45.2 的受体小鼠中,发现其供体小鼠(CD45.1)来源的细胞归巢率比对照组降低了一倍。

### 2.2 PGE2 提高 HSC 移植后的生存率

在细胞移植实验中,PGE2 可能通过抑制细胞凋亡来提高移植 HSC 的生存率。Hoggatt 等<sup>[13]</sup>发现,体外经 PGE2 处理后,小鼠和人 HSC 的 Annexin V 和 Caspase-3 表达水平均降低,而抗凋亡基因 Sur-

vivin 的表达升高。在低血清浓度条件下, dmPGE2 能显著降低 HSC(LSK CD48<sup>-</sup> CD150<sup>+</sup>)细胞的 Caspase-3 活性, 其抗凋亡能力随剂量的增加而增强, 当 dmPGE2 浓度为 1 μmol/L 时, 抗凋亡能力达到 65%。dmPGE2 作用 24 h 后, 小鼠 LSK 细胞和人 CD34<sup>+</sup> 脐带血细胞的抗凋亡蛋白 Survivin 的浓度分别增加了 1.7 倍和 2.4 倍。

### 2.3 PGE2 提高 HSC 的增殖、自我更新及重建能力

Lorenz 等<sup>[15]</sup>用 COX-2 缺陷小鼠证明了 COX-2 对 5-氟尿嘧啶诱导的小鼠骨髓毒性修复有重要作用, 用 5-氟尿嘧啶处理 8~12 d 后, 与 COX-2<sup>-/-</sup> 小鼠相比, COX-2<sup>-/-</sup> 小鼠的骨髓细胞数和红系及髓系克隆形成率均显著降低, 提示 PGE2 能促进应激条件下 HSC 的重建。

Arai 等<sup>[16]</sup>发现 PGE2 可以增加 5-氟尿嘧啶处理小鼠的 LSK 细胞数量, 且处理后的 LSK 细胞显著高表达细胞周期蛋白依赖性激酶 4 和 6 以及连环蛋白(钙粘着蛋白关联蛋白 β1)和 Myc 基因(属于编码核蛋白的癌基因, 编码一种与细胞周期调控有关的核内 DNA 结合蛋白), 表明 PGE2 可通过提高造血干祖细胞的增殖能力来促进骨髓细胞的修复, 研究者还发现 EP4 对外界刺激下 PGE2 诱导 HSC 的增殖有重要的调节作用。

North 等<sup>[17]</sup>证明 PGE2 能增加化学药物处理后斑马鱼胚胎中 HSC 的数量, 并能促进小鼠造血系统的重建以及免疫功能的修复。用 dmPGE2 处理经 23 Gy 照射后的斑马鱼, 结果发现 dmPGE2 能有效提高斑马鱼骨髓系细胞和淋系细胞的恢复能力; 而使用 COX-2 抑制剂 NS398 和吲哚美辛(Indomethacin, COX-1 和 COX-2 的抑制剂)能显著降低造血系统的修复能力, 提示 PGE2 对骨髓抑制性疾病有潜在的治疗作用。小鼠骨髓移植实验证明 PGE2 对照射受体的短期祖细胞功能和长期 HSC 功能都有促进作用。克隆形成单位实验证实 PGE2 能增加 HSC 的活力。PGE2 体外处理移植细胞可增加再植 HSC 的数量, 但不会影响分化。

Frisch 等<sup>[18]</sup>应用 dmPGE2 进行小鼠体内试验, 每天注射 dmPGE2 两次, 剂量为 6 mg/kg 体质量, 连续注射 16 d, 发现 PGE2 可以增加 LSK 细胞的数量, 进一步研究发现其在体内可特异性促进 LSK CD48<sup>-</sup> CD150<sup>+</sup> 细胞的扩增, 而对维持长期造血重建的 HSC 没有影响。但移植实验发现, 经 PGE2

预处理的供体细胞能提高宿主造血系统的重建功能, 但移植 6 周后其竞争性优势消失, 提示 PGE2 并没有提高 HSC 的长期移植重建能力。进一步的研究发现, PGE2 介导的重建优势最初在髓系祖细胞中丢失, 且在第二次骨髓移植时与对照组并无太大区别, 提示体内应用 PGE2 仅仅能选择性地并有限地提高造血干祖细胞的增殖能力。

Hoggatt 等<sup>[13]</sup>采用 dmPGE2 体外处理 2 h 后进行移植实验, 二次移植结果发现 PGE2 预处理的细胞具有长期重建优势。Pelus 等<sup>[5]</sup>认为 PGE2 的剂量和处理时间对实验结果有着关键影响, 由于二者对移植细胞的处理方式不同, 导致其长期 HSC 的增殖能力也不尽相同, 表明对细胞的不同处理方式影响长期 HSC 的再生能力。

### 3 PGE2 调节造血系统稳态

Ludin 等<sup>[8]</sup>证明 HSC 造血微环境中有一群表达 α-平滑肌肌动蛋白和巨噬细胞表面分化抗原 1 的细胞, 这群细胞具有辐射抗性, 并且经照射后能高表达 PGE2。LSK CD34<sup>-</sup> 群细胞按照活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)水平的高低可分为两类, 其中 ROS<sup>low</sup> 群细胞含有极少的初始分化细胞, 而 ROS<sup>high</sup> 群细胞含有大量的初始分化细胞以及短期增殖细胞。研究发现, 每日 2 次, 连续 4 d 注射 NS398, 小鼠 LSK CD34<sup>-</sup> ROS<sup>low</sup> 群细胞数量显著下降, ROS<sup>high</sup> 群细胞 ROS 显著升高, 说明降低 PGE2 活性会影响 LSK CD34<sup>-</sup> 群细胞的 ROS 衍生群的比例。表达 α-平滑肌肌动蛋白和巨噬细胞表面分化抗原 1 的细胞产生的 PGE2 能抑制 HSC 中的蛋白激酶 B 的活性, 维持低浓度的 ROS 水平, 从而避免 HSC 的过度分化, 这也可能是 PGE2 对照射后的 HSC 产生保护作用的一个重要原因。

Goessling 等<sup>[19]</sup>采用斑马鱼体内实验证明了 PGE2 和 Wnt 信号通路通过调节 β-catenin 的稳定性来维持 HSC 的稳态。PGE2 能够增加 Wnt 的活性, 并与 Wnt 协同作用, 增加主动脉-性腺-中肾的 HSC 数量, 降低凋亡细胞的数量, 促进主动脉-性腺-中肾区细胞进入细胞周期, 上述作用均能被吲哚美辛抑制, 说明 PGE2 可能通过介导 Wnt 信号通路调节胚胎发育期的细胞凋亡和生长, PGE2 与 Wnt 的协同作用不仅存在于胚胎发育期, 在成体斑马鱼和成体哺乳动物中也都已得到证实。

#### 4 小结

综上所述,用 PGE<sub>2</sub> 体外处理 HSC 可以提高 HSC 的长期移植重建能力,这可能与 PGE<sub>2</sub> 可以提高 HSC 的归巢能力以及减少 HSC 的凋亡相关。PGE<sub>2</sub> 体内处理小鼠对长期干细胞没有影响,但可特异性扩增短期干细胞,并提高 HSC 的短期移植能力。灵长类动物移植实验证明,在骨髓受到损伤后,PGE<sub>2</sub> 可促进 HSC 的重建,加速造血系统的恢复。PGE<sub>2</sub> 处理后的 HSC 移植已经在灵长类动物中证明是安全的<sup>[20]</sup>。临床上骨髓移植患者,特别是脐带血移植,往往会出现移植细胞较少、移植后不能及时有效重建患者骨髓系统的情况,导致患者面临感染和贫血等风险。寻找能提高 HSC 移植重建能力的方法具有重要的临床意义,而 PGE<sub>2</sub> 将为这一问题的解决提供可能。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] Hofer M, Pospíšil M, Hoferová Z, et al. Stimulatory action of cyclooxygenase inhibitors on hematopoiesis: a review. *Molecules*, 2012, 17(5): 5615–5625.
- [ 2 ] Gentile P, Byer D, Pelus LM. In vivo modulation of murine myelopoiesis following intravenous administration of prostaglandin E<sub>2</sub>. *Blood*, 1983, 62(5): 1100–1107.
- [ 3 ] Pelus LM. Association between colony forming units-granulocyte macrophage expression of Ia-like (HLA-DR) antigen and control of granulocyte and macrophage production. A new role for prostaglandin E. *J Clin Invest*, 1982, 70(3): 568–578.
- [ 4 ] Pelus LM. Blockade of prostaglandin biosynthesis in intact mice dramatically augments the expansion of committed myeloid progenitor cells (colony-forming units-granulocyte, macrophage) after acute administration of recombinant human IL-1 alpha. *J Immunol*, 1989, 143(12): 4171–4179.
- [ 5 ] Pelus LM, Hoggatt J, Singh P. Pulse exposure of hematopoietic grafts to prostaglandin E<sub>2</sub> in vitro facilitates engraftment and recovery. *Cell Prolif*, 2011, 44 Suppl1: S22–29.
- [ 6 ] Pelus LM, Hoggatt J. Pleiotropic effects of prostaglandin E<sub>2</sub> in hematopoiesis; prostaglandin E<sub>2</sub> and other eicosanoids regulate hematopoietic stem and progenitor cell function. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2011, 96(1–4): 3–9.
- [ 7 ] Hoggatt J, Singh P, Stilger KN, et al. Recovery from hematopoietic injury by modulating prostaglandin E<sub>2</sub> signaling post-irradiation. *Blood Cells Mol Dis*, 2013, 50(3): 147–153.
- [ 8 ] Ludin A, Itkin T, Gur-Cohen S, et al. Monocytes-macrophages that express  $\alpha$ -smooth muscle actin preserve primitive hematopoietic cells in the bone marrow. *Nat Immunol*, 2012, 13(11): 1072–1082.
- [ 9 ] Lord AM, North TE, Zon LI. Prostaglandin E<sub>2</sub>: making more of your marrow. *Cell Cycle*, 2007, 6(24): 3054–3057.
- [ 10 ] Park JY, Pillinger MH, Abramson SB. Prostaglandin E<sub>2</sub> synthesis and secretion: the role of PGE<sub>2</sub> synthases. *Clin Immunol*, 2006, 119(3): 229–240.
- [ 11 ] Murakami M, Kudo I. Prostaglandin E synthase: a novel drug target for inflammation and cancer. *Curr Pharm Des*, 2006, 12(8): 943–954.
- [ 12 ] Rundhaug JE, Simper MS, Surh I, et al. The role of the EP receptors for prostaglandin E<sub>2</sub> in skin and skin cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 2011, 30(3–4): 465–480.
- [ 13 ] Hoggatt J, Singh P, Sampath J, et al. Prostaglandin E<sub>2</sub> enhances hematopoietic stem cell homing, survival, and proliferation. *Blood*, 2009, 113(22): 5444–5455.
- [ 14 ] Zou YR, Kottmann AH, Kuroda M, et al. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature*, 1998, 393(6685): 595–599.
- [ 15 ] Lorenz M, Slaughter HS, Wescott DM, et al. Cyclooxygenase-2 is essential for normal recovery from 5-fluorouracil-induced myelotoxicity in mice. *Exp Hematol*, 1999, 27(10): 1494–1502.
- [ 16 ] Arai F, Matsumoto Y, Suda T. Prostaglandin E<sub>2</sub> signaling through the EP4 receptor regulates the proliferation of hematopoietic Stem/progenitor cells under stress conditions [C/OL]//Hemato-poiesis-Cytokines, Signal Transduction, Apoptosis and Cell Cycle Regulation:Poster II. 53rd ASH Annual Meeting and Exposition, San Diego, 2011 [2013-03-18]. <https://ash.confex.com/ash/2011/webprogram/Paper40552.html>.
- [ 17 ] North TE, Goessling W, Walkley CR, et al. Prostaglandin E<sub>2</sub> regulates vertebrate hematopoietic stem cell homeostasis. *Nature*, 2007, 447(7147): 1007–1011.
- [ 18 ] Frisch BJ, Porter RL, Gigliotti BJ, et al. In vivo prostaglandin E<sub>2</sub> treatment alters the bone marrow microenvironment and preferentially expands short-term hematopoietic stem cells. *Blood*, 2009, 114(19): 4054–4063.
- [ 19 ] Goessling W, North TE, Loewer S, et al. Genetic interaction of PGE<sub>2</sub> and Wnt signaling regulates developmental specification of stem cells and regeneration. *Cell*, 2009, 136(6): 1136–1147.
- [ 20 ] Goessling W, Allen RS, Guan X, et al. Prostaglandin E<sub>2</sub> enhances human cord blood stem cell xenotransplants and shows long-term safety in preclinical nonhuman primate transplant models. *Cell Stem Cell*, 2011, 8(4): 445–458.

(收稿日期: 2013-03-18)