

间充质干细胞在放射医学中的研究前景

王明科 巴剑波 陈双红 武文斌 陶永华

摘要 随着核能在军事和民用领域的广泛使用,放射医学已成为一门重要学科。而目前对放射损伤的治疗效果却不理想。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)由于具有易分离获得、可在体外大量扩增且仍保持增殖与多向分化潜能、可归巢到损伤部位、低免疫原性、易于外源基因转染和表达、可分泌多种细胞生长因子利于组织修复等优点,将其应用于放射损伤的治疗具有广阔应用前景。本文主要介绍 MSCs 在放射损伤治疗中的应用前景及辐射对 MSCs 生物学特性的影响。

关键词 间充质干细胞 放射医学 放射损伤

中图分类号 R81

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.002

目前,核能已广泛应用于军事、医疗、科研和工业等各个领域,核武器爆炸、核辐射事故、核恐怖袭击、肿瘤过度放疗、骨髓移植全身照射预处理都可能引起放射性损伤。放射损伤的防治也是核与辐射事故应急医学处理的重要环节,而目前放射损伤的治疗效果却不理想,受照剂量 $<6\text{Gy}$ 患者病死率为6.8%, $\geq 6\text{Gy}$ 的患者病死率为90.0%, $\geq 8\text{Gy}$ 的受照者无一存活,因此需要加强对放射损伤防护和救治的研究^[1]。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有易分离获得,可在体外大量扩增且仍保持增殖与多向分化潜能,可归巢到损伤部位,低免疫原性,易于外源基因转染和表达,可分泌多种细胞生长因子利于组织修复等优点,将其应用于放射损伤的临床治疗具有十分广阔的前景^[2]。

一、间充质干细胞简介

1976年Friedenstein^[3]首先发现骨髓中存在非造血MSCs,继之大量研究证实皮肤真皮、脂肪、脐带血、肌肉、骨膜等多种组织中存在MSCs。MSCs不仅可分化为成骨、成软骨、成肌、成脂等中胚层细胞,还可跨越胚层界限,分化为外胚层的神经细胞及内胚层的肝卵圆性细胞,是理想的治疗遗传性疾病和退行性疾病的细胞来源^[4,5]。MSCs还具有较强的归巢和迁移到受伤组织能力,受伤组织移植或归巢的MSCs可通过

上调促生存和抗炎因子、下调促炎因子抑制损伤组织的T细胞监视从而抑制自身免疫反应,释放一些生物活性物质抑制局部缺血引起的凋亡,抑制瘢痕组织的形成,分泌VEGF并且变成外周细胞稳定新形成的血管而刺激血管生成,最终创造一个良好的再生微环境^[6]。MSCs分泌物还是不同途径到达损伤组织的成体组织特异性祖细胞的有丝分裂刺激物并有利于宿主体内干细胞分化。由于MSCs这些特性,使得临床可使用自体MSCs移植控制和移植植物抗宿主病及炎症性肠道疾病(Crohn's disease),也可使用MSCs治疗自身免疫性疾病如糖尿病、皮肤大面积烧伤或损伤后无瘢痕再生、脑卒中和脊髓损伤、急慢性心血管事件及急性肾衰竭或肝衰竭^[7,8]。MSCs对放射损伤后造血恢复、骨和软骨组织置换、骨骼肌修复及血管修复等治疗也前景良好,同时避免了应用胚胎干细胞而带来的伦理道德争议,是目前组织工程和再生医学研究的热点^[9,10]。目前,鉴定MSCs一般认为应具备以下3个条件:①体外培养贴壁生长;②细胞表面表达CD44、CD73、CD90和CD105,并且不表达CD31、CD34、CD14或CD11b、CD79a或CD19、CD45和HLA-DR;③体外证明具有成骨、成脂和成软骨分化的能力^[11]。

二、间充质干细胞在放射损伤治疗中的应用前景

1. MSCs与放射性造血损伤:急性放射损伤患者最主要的表现就是骨髓造血干细胞/祖细胞的缺乏和造血微环境的破坏,保存并促进残存骨髓干细胞的增殖、维护造血微环境是减轻辐射引起造血功能损伤的关键,而输注MSCs可通过增殖分化成骨髓基质细胞和分泌多种造血相关因子等机制改善放射性造血损伤,利于造血重建^[2]。张晓玲等^[12]研究发现,亚致死

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31201035);中国博士后科学基金资助项目(2013M542529)

作者单位:200433 上海,海军医学研究所(王明科、巴剑波、陈双红、武文斌、陶永华);355200 福鼎,中国人民解放军第441医院(王明科)

通讯作者:陶永华,研究员,电子信箱:tyhsci@sina.cn

剂量(6Gy)⁶⁰Co- γ 射线全身照射雌性 BALB/c 小鼠后静脉输注不同剂量的 MSCs 对亚致死量照射小鼠早期死亡率无影响,但与对照组比较, MSCs 移植组在第 28 天外周血白细胞、红细胞、血小板计数和血红蛋白水平高于对照组,尤以大剂量组明显;在中剂量和大剂量 MSCs 组小鼠骨髓中,单个核细胞集落形成单位总数和粒单系集落形成单位数均高于对照组; MSCs 输注后第 2 天细胞治疗组小鼠血清中可检测到 G-CSF 和 SCF,以 MSCs 高剂量组 G-CSF 含量为最高,说明输注 MSCs 可加速放射损伤小鼠造血功能恢复,机制可能与分泌相关造血细胞调控因子有关。急性放射病中的偏重的极重度骨髓型以上患者因病情严重可能还需要造血干细胞移植以重建造血功能^[1]。胡佳乐等^[13]研究发现, NOD/SCID 小鼠经⁶⁰Co- γ 射线照射后,联合输入 MSCs 和人脐血 CD34⁺造血干/祖细胞,可明显促进造血干细胞移植后造血功能的重建,且不增高移植宿主病的发生率。陈婷婷等^[14]将表达 SDF-1、HOXB4 和 SDF-1/HOXB4 基因的 3 个腺病毒载体分别转染正常人骨髓 MSCs,将其联合脐血 CD34⁺细胞经尾静脉移植到辐射损伤的 NOD/SCID 小鼠体内,结果发现过表达 SDF-1/HOXB4 融合基因的 MSCs 联合脐血 CD34⁺造血干细胞(HSCs)共移植能最有效增强 HSCs 扩增和造血重建,并能显著增加辐射损伤小鼠存活率。

2. MSCs 与放射性肠损伤:目前,一般认为急性放射病按受照射剂量大小及病理改变等可分为骨髓型、肠型和脑型放射病^[15]。放射性肠损伤是放射损伤中的重要组织损伤类型,也是腹部肿瘤放疗引起的重要并发症之一。国内外大量研究表明, MSCs 能够有效治疗放射性肠损伤^[16-18]。孙瑞婷等^[19]对 MSCs 治疗放射性肠损伤及其机制进行了综述,概括来说, MSCs 治疗放射性肠损伤的机制主要包括: MSCs 可迁移到损伤组织局部,在体内诱导分化为功能性肠上皮细胞等细胞类型; MSCs 可激活肠道损伤组织局部干细胞的增殖和分化,抑制其凋亡,达到修复损伤肠道的目的; MSCs 可分泌多种细胞因子,调节机体免疫,发挥抗炎作用,从而促进损伤肠道组织结构与功能的恢复。

3. MSCs 与脑组织辐射损伤: MSCs 对脑组织辐射损伤也有一定的治疗作用。罗向阳等^[20]研究发现, SD 大鼠接受 22Gy X 线照射后第 4 天脑组织可检测到带绿色荧光的外源性 MSCs,而对照组脑内一直未检测,说明放射损伤条件下外源性 MSCs 可透过血

脑屏障到达脑组织,中枢神经系统放射损伤可诱导外源性 MSCs 向脑组织迁徙定植。胡海燕等^[21]研究发现,一次性全脑照射 20Gy 的模型组 SD 大鼠精神较差,反应迟钝,少动,毛发粗糙、变黄,眼睑分泌物增多,睁眼困难,而 MSCs 治疗组大鼠精神好,毛发微黄,眼睑有少量分泌物。此外, MSCs 治疗组大鼠血清 SOD 明显高于模型组,而 MDA 水平低于模型组。同时,模型组大鼠大脑皮质薄,神经元细胞聚集排列,数目显著减少,可见核固缩、深染,尼氏小体融解消失,呈凋亡状态,而 MSCs 治疗组大鼠皮质较模型组明显增厚,海马神经元细胞增多,染色较淡,损伤细胞数目减少,损伤程度较轻,说明 MSCs 能够促进神经细胞再生,对脑组织辐射损伤具有修复作用。

4. MSCs 与其他组织辐射损伤:国内外研究发现, MSCs 对其他器官组织的放射性损伤如放射性肺损伤、放射性皮肤损伤、放射性胸腺损伤、放射性肝脏损伤、肾脏辐射损伤、睾丸辐射损伤及合并局部放射损伤难愈性创面等均具有一定的治疗作用,机制可能与 MSCs 能迁移至受伤组织分泌多种细胞因子、多向分化、清除氧自由基和免疫调节等功能有关^[22-25]。

三、辐射对间充质干细胞生物学特性的影响

MSCs 可用于放射损伤的治疗,同时辐射也可引起 MSCs 生物学特性的改变。Li 等以 2~12Gy 的 X 射线照射人 MSCs,发现随照射剂量的增加, MSCs 的增殖能力降低越明显, 12Gy 的 X 线照射 2 周后 MSCs 增殖抑制率达到 53%。此外, 2~12Gy 的 X 射线照射可引起 MSCs 成骨和成脂能力降低, 4Gy 以上 X 线照射可引起 MSCs 成脂能力降低 50%, 12Gy X 线照射可引起 MSCs 成骨分化标志碱性磷酸酶下降至对照组的 16%, 钙沉积下降至对照组的 9%。国内研究也发现,体外大剂量辐射可抑制 MSCs 向成骨细胞、脂肪细胞、内皮细胞分化,给予相应的诱导后,虽然辐射损伤的 MSCs 体外分化能力可以部分恢复,但其向成熟成骨细胞、脂肪细胞和内皮细胞分化的数目依然较少。值得注意的是,低剂量电离辐射后 MSCs 从生长曲线、细胞周期与凋亡的变化及细胞因子表达量的变化均表现出兴奋性效应。徐晓华等研究发现,低剂量电离辐射诱导的 MSCs 增殖兴奋性反应可能是通过 p38 MAPK 信号通路介导,且与 p53 依赖性的 p21 下降有关。而 Liang 等研究发现, MAPK/ERK 途径在低剂量电离辐射诱导的 MSCs 增殖兴奋性反应起重要作用。

四、展 望

综上所述, MSCs 由于具有独特的易分离获得、可在体外大量扩增且仍保持增殖与多向分化潜能、可归巢到损伤部位、低免疫原性、易于外源基因转染和表达、可分泌多种细胞生长因子从而有利于组织修复等优点, 已被认为是组织损伤修复的理想种子细胞。大量研究证明, MSCs 在放射性造血损伤、放射性肠损伤、放射脑损伤等多种放射性器官损伤治疗中具有广阔的应用前景。笔者认为, MSCs 在放射医学中的研究将来可注重以下几个方面: 如何提高 MSCs 体内移植治疗的效率和加强动员体内 MSCs 参与放射性损伤的修复; 比较脐带血、脂肪、骨髓等不同组织来源的 MSCs 治疗放射性损伤的可行性; MSCs 治疗放射性损伤的长期安全性如成瘤性等问题; MSCs 和细胞因子、基因治疗等联合治疗放射性损伤的研究; 利用中药或基因修饰提高 MSCs 的抗辐射能力研究。此外, MSCs 在放射医学研究中的应用也可借鉴 MSCs 在基础及其他临床研究的成果。

参考文献

- 1 李曙芳, 安全, 黄立群, 等. 我国急性放射病防治的实验研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 2013, 25 (6): 487-490
- 2 刘建功, 郭万龙, 张淑贤, 等. 间充质干细胞在急性辐射损伤治疗中的作用综述[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2010, 28 (3): 134-137
- 3 Friedenstien AJ. Precursor cells of mechanocytes[J]. Int Rev Cytol, 1976, 47: 327-359
- 4 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow[J]. Nature, 2002, 418 (6893): 41-49
- 5 Qihao Z, Xigu C, Guanghui C, et al. Spheroid formation and differentiation into hepatocyte-like cells of rat mesenchymal stem cell induced by co-culture with liver cells[J]. DNA Cell Biol, 2007, 26 (7): 497-503
- 6 Chapel A, Bertho JM, Bensidhoum M, et al. Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co-infused with hematopoietic cells to treat a radiation-induced multi-organ failure syndrome[J]. J Gene Med, 2003, 5 (12): 1028-1038
- 7 Caplan AI. Mesenchymal stem cells: the past, the present, the future[J]. Cartilage, 2010, 1 (1): 6-9
- 8 Salem HK, Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status[J]. Stem Cells, 2010, 28 (3): 585-596
- 9 Ringe J, Kaps C, Burmester GR, et al. Stem cells for regenerative medicine: advances in the engineering of tissues and organs[J]. Naturwissenschaften, 2002, 89 (8): 338-351

- 10 王明科, 罗成基, 邹仲敏. 干细胞与组织工程[J]. 重庆医学, 2006, 35 (21): 1990-1992
- 11 Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement[J]. Cytotherapy, 2006, 8 (4): 315-317
- 12 张晓玲, 尹松梅, 陈玲珍, 等. 人骨髓间充质干细胞对放射损伤小鼠造血恢复的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20 (6): 1442-1446
- 13 胡佳乐, 徐立军, 徐之明, 等. 人骨髓间充质干细胞移植对辐射 NOD/SCID 小鼠造血重建的影响[J]. 实用癌症杂志, 2013, 28 (2): 111-113
- 14 陈婷婷, 张佩, 范文霞, 等. 表达 SDF-1/HOXB4 融合基因的间充质干细胞联合脐血 CD34⁺ 干细胞共移植对辐射损伤小鼠的影响[J]. 免疫学杂志, 2014, 30 (5): 416-419
- 15 李国民, 李晓兵, 邵云, 等. 急性放射病的病理诊断与分型诊断[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2007, 27 (1): 46-48
- 16 Kudo K, Liu Y, Takahashi K, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to prevent radiation-induced intestinal injury in mice[J]. J Radiat Res, 2010, 51 (1): 73-79
- 17 Chang P, Qu Y, Liu Y, et al. Multi-therapeutic effects of human adipose-derived mesenchymal stem cells on radiation-induced intestinal injury[J]. Cell Death Dis, 2013, 4: e685
- 18 宋祥福, 孙冰雪, 张静春, 等. 骨髓间充质干细胞对放射性回肠损伤的病理观察[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32 (3): 191-194
- 19 孙瑞婷, 王华, 吴祖泽. 间充质干细胞治疗放射性肠损伤研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27 (6): 1049-1053
- 20 罗向阳, Mohi R, 夏焱, 等. 放射损伤对外源骨髓间充质干细胞迁徙定植的影响[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2008, 29 (5): 512-515, 525
- 21 胡海燕, 孟伟. 骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑组织辐射损伤[J]. 广东医学, 2010, 31 (10): 1248-1250
- 22 Xue J, Li X, Lu Y, et al. Gene-modified mesenchymal stem cells protect against radiation-induced lung injury[J]. Mol Ther, 2013, 21 (2): 456-465
- 23 Horton JA, Hudak KE, Chung EJ, et al. Mesenchymal stem cells inhibit cutaneous radiation-induced fibrosis by suppressing chronic inflammation[J]. Stem Cells, 2013, 31 (10): 2231-2241
- 24 宁昌, 陈文伟, 胡鋈勋, 等. 转基因 MSC 归巢至放射损伤胸腺的研究[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21 (5): 998-1002
- 25 Francois S, Mouisseddine M, Allenet - Lepage B, et al. Human mesenchymal stem cells provide protection against radiation-induced liver injury by antioxidative process, vasculature protection, hepatocyte differentiation, and trophic effects[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 151679

(收稿日期: 2014-08-13)

(修回日期: 2014-08-26)