

血细胞发育的分子调控

吴 炯 朱德煦
(南京大学生化系)

在造血过程中,由干细胞发育分化产生各种功能性血细胞,已发现有许多造血调节分子参与了这一过程的调控。这些分子调节干细胞或祖细胞发育成特定类型细胞,是借助于靶细胞表面所产生的能和特异性分子信号起反应的受体,使这一过程放大和专一化。当然,某些细胞基因的表达在此过程中也起了作用。近年来,有关方面研究取得了许多重大进展,这为建立完善的造血模型打下了理论基础。

一、集落刺激因子

大约在 28 年前发表了用于造血祖细胞/干细胞克隆生长的半固体细胞培养方法。在这一培养系统中,造血祖细胞/干细胞可以进行生长、分化、并可得到不同类型的血细胞集落。这严格依赖于饲养细胞的存在或持续供给一些特异性蛋白质。现已弄清楚饲养细胞可以产生许多诱导造血干细胞及前体细胞生长、增殖和分化的多肽分子。由于这些因子是最初通过细胞培养集落形成试验来进行鉴定的,所以称之为集落刺激因子(colony-stimulating factors, CSFs)。

在小鼠和人都已发现有 4 种 CSF 可分别刺激不同类型的血细胞生成。每一种因子都有其独特的结构和生物活性范围^[1]。其中两种具有较高的细胞系特异性:粒细胞-集落刺激因子(G-CSF)主要刺激中性粒细胞集落形成;巨噬细胞-集落刺激因子(M-CSF 或 CSF-1)主要刺激单核/巨噬细胞集落的形成。另外两种 CSF 作用不止一种靶细胞:粒-巨噬细胞-集落刺激因子(GM-CSF)可刺激中性粒细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞和其他一些细胞集落的形

成;多向-CSF(multi-CSF)或称白细胞介素-3(IL-3)刺激多向性造血祖细胞(CFU-multi)生长,其形成的集落中包括中性粒细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、巨核细胞和红细胞等。因此推测:在造血祖细胞向一系列不同类型的血细胞系统发育分化过程中,CSFs 发挥了分级调节作用。Müller-Sieburg 等人设计了一体外分化实验精确地证实了各种 CSF 对细胞的这种顺序作用。用骨髓中不同时期的造血干细胞对不同的 CSF 起反应,最早的造血干细胞($\text{Thy1}^{\circ}\text{T}^{-}\text{B}^{-}\text{G}^{-}\text{M}^{-}$)只对 IL-3 起反应,可发育分化形成所有类型的血细胞集落。较迟一些的粒-单系造血祖细胞($\text{Thy1}^{-}\text{T}^{-}\text{B}^{-}\text{G}^{-}\text{M}^{-}$)不仅对 IL-3 起反应,也可以对 M-CSF、G-CSF 和 IL-5 起反应,但主要产生粒细胞和巨噬细胞集落^[2]。这样在血细胞发育的不同时期,其细胞对不同的因子起反应^[3]。一个多潜能造血干细胞经过 IL-3, GM-CSF 和 G-CSF 或 M-CSF 的协同或接替作用沿着这些因子所介导的方向向特定类型的血细胞发育、成熟。

在整个造血过程中, M-CSF 的作用可能更重要。在胚胎发育过程中 M-CSF 出现较早,主要由外胚层组织所产生^[1]。M-CSF 的较早产生可以促进胚胎中较早出现巨噬细胞。发育成熟后的功能性巨噬细胞又可以产生其他 CSF 如 GM-CSF 等。所以一旦成熟巨噬细胞出现,就可以产生诱导其他血细胞发育成熟的因子。新近, Rothstein 等人的实验进一步支持了 M-CSF 对于其他造血祖细胞的发育是重要的观点,他们发现 M-CSF 可以诱导出 G-CSF 反应性细胞集落^[4]。

此外,各种 CSF 之间可以发生相互协同

作用,如GM-CSF可以协同M-CSF的作用促进巨噬细胞增殖和集落形成^[5,6];GM-CSF还可增强IL-3诱导的多潜能造血干细胞的增殖^[7];并且M-CSF和G-CSF也可起协同作用^[8]。各种CSF之间也可以相互诱导产生,如GM-CSF可诱导巨噬细胞产生G-CSF和M-CSF。尽管各种CSF的受体不同,但是它们的特异性受体之间也可以发生交互下向调节;一般诱导发生下向调节的顺序是IL-3R→GM-CSFR→G-CSFR→M-CSFR。

近年来,已相继克隆化了编码人和小鼠的4种CSF cDNA。序列分析发现它们之间没有序列同源性^[9]。但人和小鼠各种相应CSF之间具有高度序列同源性,所以推测它们之间有共同进化来源。用克隆化的cDNA作为探针,已将这CSF基因在染色体上进行了定位。每种基因只有一个拷贝。人IL-3和GM-CSF基因位于第5号染色体长臂上,相距仅9 kb。M-CSF基因和它的受体基因也位于第5号染色体上^[10],这使人们联想到,他们也许共有一祖先基因,在进化上有一定联系。但是,G-CSF基因却在第17号染色体上,这也许是基因表达调控的需要。新近,Vellenga等人的实验支持这一观点,他们发现人单核细胞受刺激后可表达M-CSF和G-CSF,但这两种基因是独立调控的。IL-3和GM-CSF主要诱导M-CSF基因表达,而细菌脂多糖主要诱导G-CSF基因表达^[11]。这样在体外不同条件下可刺激单核细胞产生不同的因子以选择性诱导粒细胞或巨噬细胞的产生。

二、造血细胞分化因子

上述4种CSF的生物学活性主要是直接刺激造血干/祖细胞的生长繁殖。造血干/祖细胞经过多次增殖后必须停止增殖而进行终末分化。似乎不大可能CSF既能诱导细胞增殖也能诱导其分化。过去发现CSF能诱导细胞分化的活性,可能是通过其进一步诱导产生的其他细胞分化因子而实现的。所以说CSF诱导

细胞分化的作用是间接的,因而称之为生长促进因子。已发现有一些蛋白质因子具有直接诱导造血细胞分化的能力。Sachs等人分离出了一种粒-巨噬细胞诱导2-型分子(MGI-2)或称为分化因子,可以诱导粒细胞和巨噬细胞祖细胞分化,但不能诱导其增殖。

十分有趣的是,一种白血病抑制因子(LIF)可抑制小鼠MI-髓性白血病细胞系的增殖,并诱导其向巨噬细胞分化^[12]。但是LIF可以促进一种IL-3依赖性细胞系Da-a的生长和增殖^[13]。这说明造血调控分子活性之间并无本质上的差别。其生长促进作用与分化促进作用之间的差别是由不同的靶细胞类型所决定的。一种调节分子对不同的靶细胞可以具有两方面的作用。

对于一特定类型细胞系的发育分化来说,生长促进因子和分化促进因子之间的作用也是协调一致的。生长促进因子也可以诱导分化因子的产生,这是一种将细胞生长和分化偶联起来的机制。如骨髓祖细胞首先经生长促进因子刺激其生长、增殖和存活,然后由分化因子诱导其向粒细胞和巨噬细胞分化。不同的生长促进因子除了它们之间可以相互诱导生成外,同时它们还各自诱导不同的细胞分化因子生成,这就决定了分化细胞的类型。另一方面,细胞分化因子也可诱导生长促进因子的产生,这样可以进一步保证细胞存活和增殖以及成熟细胞的功能活性。这样在造血细胞发育过程中未成熟细胞和分化成熟细胞之间数量达到稳定的平衡。如果造血干/祖细胞的生长和分化丧失偶联,就会导致这种平衡被破坏,就会引起恶性血液病。

三、白细胞介素(IL)的造血调节作用

一些白细胞介素(IL)分子直接或间接地影响造血过程或体外造血细胞集落的形成。如白细胞介素-1(IL-1)可与GM-CSF和M-CSF协同作用促进相应的造血细胞集落形成,IL-1单独没有集落刺激形成作用。原先发现的造血

素-1(hemopoietin-1)认为能促进造血祖细胞对后继的CSF作用产生敏感性,现证实造血素-1实际上就是IL-1^[14]。IL-1在造血调控过程中的作用现越来越引人注目。Sorg和Billian等人发现IL-1可以促进骨髓中的基质成纤维细胞产生M-CSF,GM-CSF和G-CSF^[17,18]。IL-1还可以与M-CSF一起协同作用于巨噬细胞以促进产生GM-CSF^[15,16]。这样通过这些因子的作用,介导了造血细胞之间以及造血细胞与造血内环境(如内皮细胞、基质成纤维细胞等)之间相互作用。

IL-4对造血系统也有作用。Sideras和Palacios发现IL-4可以与IL-3一起协同作用促进骨髓造血干细胞的增殖^[20]。并且IL-4还可与G-CSF一起加强骨髓细胞培养中细胞集落的形成,单独IL-4没有集落刺激活性^[18]。IL-4还可与促红细胞生成素(Epo)一起协同作用促进红系祖细胞形成红细胞集落^[20]。此外,IL-4还可诱导成纤维细胞产生G-CSF和M-CSF。

IL-5能刺激人骨髓细胞培养中嗜酸性粒细胞集落的形成。Warren报告如果骨髓细胞培养中要产生最大量的嗜酸性粒细胞则需要相继加入IL-1,IL-3和IL-5。现在认为IL-5只作用于IL-3或GM-CSF作用后的祖细胞,它是促进嗜酸性粒细胞祖细胞的增殖和终末分化,所以也有人将其称之为嗜酸性粒细胞集落刺激因子(E₀-CSF)^[21]。

最近也发现IL-6能在小鼠脾脏或骨髓细胞培养中刺激粒系和巨噬系集落形成。它还可以与IL-3一起协同作用增加造血干细胞对IL-3的敏感性^[23]。IL-7是新近发现的一种细胞因子,它参与了早期B淋巴祖细胞(Pro-B Pre-B)的生长调节作用。此外,还有许多其他细胞因子也可间接影响造血细胞的生长和发育。如 γ -干扰素(IFN- γ)和肿瘤坏死因子(TNF)- α 可诱导巨噬细胞产生M-CSF和G-CSF。值得一提的是新近Keller等人发现原先认为与肿瘤细胞转化生产有关的转化生长因子- β_1 (TGF-

β_1)可抑制IL-3诱导的骨髓红系祖细胞增殖和分化,但不抑制GM-CSF、G-CSF和Epo的作用^[22]。这进一步说明了影响造血细胞发育的分子的广泛性。

总之,造血细胞的发育过程是在一系列细胞因子的作用下协调进行的。这些因子有些是正调控作用因子,可以促进造血干/祖细胞的生长、增殖和分化;有些是负调控作用因子,可抑制造血干/祖细胞的生长增殖。这些因子之间相互诱导产生、协同/拮抗作用等,构成了一调节血细胞发育和介导造血系统与非造血系统之间相互作用的细胞因子网络(Cytokine cascade)。

四、造血调节因子的分子作用机制

造血调节因子作用于靶细胞后通过何种机制介导其效应呢?这主要是阐明这些因子与其特异性受体结合后如何介导受体后信号传导途径(post-receptor signal transduction)及其分子生物学变化。这也是造血分子调控研究的一大难题。有关方面的研究进展缓慢,有些工作才刚刚开始。

He等人发现IL-3和GM-CSF作用于靶细胞后可改变G蛋白活性。百日咳毒素(PT)可催化Gi蛋白发生ADP-核糖化,以解除其对腺苷环化酶的抑制活性。加入PT后可抑制IL-3和M-CSF介导的靶细胞增殖活性和集落形成^[23]。值得注意的是Sengupta等发现M-CSF作用于靶细胞后,可诱导迅速的蛋白质磷酸化作用,至少有15种不同的蛋白质被磷酸化,并且这些磷酸化有时间上的先后顺序^[24]。这些磷酸化的蛋白质可能执行着M-CSF在细胞内的信号传递功能。有人注意到造血生长因子作用对与细胞生长、分化作用的有关基因有表达调节作用。如有人发现M-CSF和GM-CSF作用于人巨噬细胞后可诱导MHCII类基因表达^[25]。已知MHCII类分子是巨噬细胞发育成熟的一个重要标志。Socinski等还发现GM-CSF可增强人粒细胞CD11b编码基因表达^[26]。

现在还不清楚这些基因产物最终如何介导血细胞发育成熟,或者是细胞发育分化的功能产物。

近年来对生长因子的作用机制的研究偏重于基因表达,特异性信号传递方面。实际上有些因子对细胞行为的调节是通过调节其一般细胞代谢来实现的。作为造血生长因子调节的代谢活跃的细胞——造血干/祖细胞在这方面更值得注意。Hamilton等人发现M-CSF作用于骨髓巨噬细胞以后可刺激其对葡萄糖的摄取增强,并证明这对后继的细胞DNA合成和细胞存活是非常重要的^[27]。此外,还有许多实验都证明CSF₂作用于其靶细胞后一些细胞代谢过程都发生了变化,如Na⁺-K⁺ATP酶活性增强、骨髓过氧化物酶活性增强等。造血生长因子对成熟血细胞功能调节作用可能在这方面更值得重视。

五、癌基因与造血的分子调控

同许多其他生长因子一样,已发现癌基因与造血生长因子的作用密切相关。早在1985年就发现M-CSF受体与c-fms原癌基因序列高度同源。并且c-fms仅在单核巨噬细胞系细胞中表达,所以推断c-fms原癌基因为M-CSF受体的编码基因。现在对其他3种CSF受体与癌基因之间的关系还不清楚。Watson等人发现GM-CSF和IL-3作用于V-Src癌基因转染的靶细胞后,可抑制V-Src癌基因编码的酪氨酸激酶活性,而不改变V-Src癌基因的转录。提示GM-CSF和IL-3作用于靶细胞后可激活其特定的生化途径,产生某些活性成分而直接抑制V-Src癌基因编码的酪氨酸激酶活性^[7]。V-Src癌基因与C-Src原癌基因高度同源,其酪氨酸激酶活性与细胞生长调控有关,一般酪氨酸激酶发生磷酸化可降低该酶活性。例如,蛋白激酶C(PKC)可使许多受体发生磷酸化而使其受体的酪氨酸特异性蛋白激酶活性受到抑制。已证明IL-3可激活PKC活性^[23]。可能IL-3和GM-CSF的上述作用是通过激活PKC

来介导的。

还有一些间接证据支持癌基因的作用与造血生长因子调节血细胞发育有关。例如Sariban等人发现诱导HL-60白血病细胞系分化过程中c-fos原癌基因大量转录,而c-sis原癌基因不转录;而当其被诱导向单核系分化时,c-fos和c-sis原癌基因都大量转录。并且未诱导分化的HL-60细胞中c-myc原癌基因大量表达,而诱导分化后则很难检测到c-myc的表达^[29]。这说明诱导造血祖细胞的不同血细胞发育分化是与癌基因活化有关的。Muller等证实M-CSF作用于巨噬细胞后可诱导c-myc和c-fos原癌基因的表达,这进一步支持上述观点。Klinken等新近得到了一十分有趣的结果,用v-raf癌基因转染Eμ-myc转基因小鼠(transgenic mouse)的骨髓B淋巴祖细胞可诱导其向巨噬细胞分化^[30]。这提示癌基因在血细胞发育过程中对其特定的血细胞系形成起决定作用。癌基因可能就是血细胞发育的组织主基因(major organizing gene),它决定了血细胞发育分化的方向和反应潜能。Davison等证明用v-Ha-ras癌基因转化胚肝HAFTL-1细胞系细胞后,可使其转变成B淋巴细胞前体细胞,并进一步可分化成为Lyt 1⁺B淋巴细胞。但是用LPS刺激后这一细胞系既可产生B淋巴细胞也可产生骨髓单核细胞^[31]。这间接支持了前述观点。Gewirtz等人提供了癌基因决定血细胞发生的有力证据,他们用c-myb原癌基因特异性反义脱氧寡核苷酸片段处理骨髓细胞可抑制其在体外诱导血细胞集落的形成^[32]。既然这些癌基因(病毒癌基因在细胞内也有对应的细胞原癌基因)决定了造血细胞的发育,所以造血生长因子调节血细胞的生长、增殖和发育分化必然涉及到对这些癌基因表达的影响。最近,有直接证据表明癌基因与造血生长因子调节血细胞发育有关。Waston等人发现用v-src癌基因转染IL-3依赖性细胞系可使其转变成GM-CSF依赖性细胞系^[7]。到底癌基因在造血细胞发育过程中如何起调节作用其机制还

有待进一步研究。

摘 要

本文介绍了造血细胞发育过程中各种多肽分子的调控作用。其中4种集落刺激因子(CSF)最为重要,它们与其他一些细胞因子如血细胞分化因子、白细胞介素等一起相互作用从而介导造血干/祖细胞生长,增殖和向各种成熟血细胞发育分化。这些因子对其靶细胞的作用机制涉及到从细胞跨膜信号的传递(如调节G蛋白、PKC活性等)到核内特异性基因转录调节等许多方面。癌基因在调节造血细胞发育过程中的作用除了与造血生长因子作用有关以外,它们还可能起重要的直接决定作用。

参 考 文 献

- [1] Azoulay, M. et al., 1987, *Mol. Cell. Biol.*, 7: 3361.
- [2] Muller-Sieburg, C. E. et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 167: 1825.
- [3] Hamilton, J. A., et al., 1988, *Blood*, 71: 1574.
- [4] Rothstein, G. et al., 1988, *Blood*, 72: 898.
- [5] Chen, D. M., et al., 1988, *J. Immunol.*, 141: 139.
- [6] Falk, L. A. & Vogal, S. N., 1988, *J. Leuk. Biol.*, 44: 455.
- [7] Watson, J. D. et al., 1988, *J. Immunol.*, 140: 501.
- [8] Broxmeyer, H. E. et al., 1988, *J. Cell. Biochem.*, 38: 127.
- [9] Clark, S. C. & Kamen, R., 1987, *Science*, 236: 1229.
- [10] Yang, Y. C. et al., 1988, *Blood*, 71: 958.
- [11] Vellenga, E. et al., 1988, *Blood*, 71: 1529.
- [12] Gough, N. M. et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 2623.
- [13] Moreau, J. F. et al., 1988, *Nature*, 336: 690.
- [14] Mochizuki, D. Y. et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 5267.
- [15] Herrmann, F. et al., 1988, *Immunobiol.*, 178: 19.
- [16] Lidemann, A. et al., 1988, *Eur. J. Immunol.*, 18: 369.
- [17] Sorg, R. et al., 1988, *Immunobiol.*, 178: 27.
- [18] Billiau, A. et al., 1988, *Blood*, 71: 430.
- [19] Cosman, D., 1988, *Immunol. Today*, 9: 97.
- [20] Sideras, P. et al., 1988, *Immunol. Rev.*, 102: 189.
- [21] Yamaguchi, Y. et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 167: 43.
- [22] Keller, J. R. et al., 1988, *ibid.*, 168: 737.
- [23] He, Y. X. et al., 1988, *Blood*, 71: 1187.
- [24] Sengupta, A. et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 8062.
- [25] Fischer, H. G. et al., 1988, *Eur. J. Immunol.*, 18: 1151.
- [26] Socinski, M. A. et al., 1988, *Blood*, 72: 691.
- [27] Hamilton, J. A. et al., 1988, *J. Cell. Physiol.*, 134: 405.
- [28] Koike, K. et al., 1988, *J. Exp. Med.* 167: 43.
- [29] Sariban, E. et al., 1988, *Blood*, 71: 488.
- [30] Klinken, S. P. et al., 1988, *Cell*, 53: 857.
- [31] Davidson, W. F. et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 168: 389.
- [32] Gewirtz, A. M. et al., 1988, *Science*, 242: 1303.

《细胞生物学名词讨论》专栏

征 稿 启 事

统一中文术语,对细胞生物学的教学、学术交流都是十分必要的。细胞生物学近年来进展迅速,新概念、新术语不断出现,避免译文的混乱就显得更为迫切。为此,本刊自今年起将开辟《细胞生物学名词讨论》专栏,欢迎投寄关于新名词的介绍和试译的稿件。

《细胞生物学杂志》编辑部