

# 骨髓增生异常综合征患者间充质干细胞表型和细胞遗传学特征研究

宋陆茜 郭娟 贺琪 杨莲萍 顾树程 张征 张曦 吴凌云 李晓 常春康

**【摘要】目的** 研究骨髓增生异常综合征(MDS)患者骨髓间充质干细胞(MSC)的表型、分化功能和细胞遗传学特征,并通过分析 MDS 衍生的 MSC(MDS-MSC)细胞遗传学异常的特征探讨 MSC 参与 MDS 发病及进展的可能机制。**方法** 收集 22 例初诊 MDS 患者及 7 名正常对照者骨髓,通过贴壁培养体外分离扩增获得 MSC。通过组化染色光镜下观察细胞形态学特征及利用流式细胞术检测表面抗原及成脂、成骨分化培养,初步分析其免疫表型特征及其多向分化潜能,进一步通过胰酶-Giemsa (GTG)显带技术分析 MDS-MSC 的细胞遗传学特征,并采用流式细胞术 DNA 定量分析方法证实相应结果。**结果** MDS-MSC 保持细长纺锤形的形态学特征,表达 CD73、CD90、CD105 等 MSC 相关抗原,不表达 CD34、CD45 等造血细胞的抗原特征,仍保持成脂、成骨分化功能。MDS-MSC 的细胞遗传学异常率高(22 例中有 14 例,64%),改变类型多样,其中以染色体物质缺失多见(93%),克隆性缺失占 50%,此外发现 2 例患者染色体发生结构改变。MDS 造血细胞异常核型组 13 例患者中 12 例(92%)检出 MSC 异常核型,高于 MDS 造血细胞正常核型组的 33%(9 例中检出 3 例)( $P < 0.05$ )。造血细胞与 MSC 间没有出现完全一致的畸变类型,但是存在累及同一染色体却出现不同畸变类型的现象。**结论** MDS-MSC 保持 MSC 原有表型特征和分化功能,但存在多种类型细胞遗传学畸变。染色体缺失可能是其遗传学不稳定的特征,缺失染色体相关基因单倍体剂量不足可能是 MDS 发病机制之一,MSC 具有与造血细胞相似但不完全相同的遗传易感性,提示 MSC 在 MDS 发病机制中有潜在作用。

**【关键词】** 骨髓增生异常综合征; 间质干细胞; 细胞形态; 免疫表型分型; 细胞遗传学分型; 染色体畸变

**Study on phenotypic and cytogenetic characteristics of bone marrow mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes** SONG Lu-xi, GUO Juan, HE Qi, YANG Lian-ping, GU Shu-cheng, ZHANG Zheng, ZHANG Xi, WU Ling-yun, LI Xiao, CHANG Chun-kang. Department of Hematology, Shanghai No. 6 People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China  
Corresponding author: CHANG Chun-kang, Email: changchungkang7010@yahoo.cn

**【Abstract】Objective** To investigate phenotype, cell differentiation and cytogenetic properties of bone marrow (BM) mesenchymal stem cells (MSC) separated from the myelodysplastic syndrome (MDS) patients. And to analyze cytogenetic aberration of MSC derived from MDS (MDS-MSC) and its mechanism in pathogenesis of MDS. **Methods** Adherent MSC from both myelodysplastic ( $n = 22$ ) and normal ( $n = 7$ ) marrow were obtained by a stromal culture procedure. Morphological features were observed by optical microscope. The cell-surface antigens were performed by flow cytometer (FCM). Adipogenic and osteogenic differentiation potential of MSC were identified under specific induction conditions. Standard cytogenetic analysis of both hematopoietic cells and MSC were performed by trypsin-Giemsa (GTG) banding. The karyotype analysis DNA content was determined by FCM to verify the results. **Results** The morphology of MDS-MSC was typical slender spindle-shaped cells, MSC obtained from MDS patients had a MSC immunophenotype, lacked the expression of hematopoietic antigens-CD34, CD45 and expressed MSC markers, such as CD73, CD90, and CD105. MDS-MSC layers showed the capability to differentiate towards adipocytes, chondrocytes and osteoblasts. Cytogenetic aberrations were observed in MSC from 14 (64%) MDS patients, usually involve the loss of chromosomal material (92%), and the clonal loss (7 cases, 50%). Two cases of structural aberrations were also detected. Abnormal karyotypes in MSC were still more frequently identified in abnormal hematopoietic cells group (12 out of 13, 92% vs 3 out of 9, 33%,  $P < 0.05$ ). There were not exactly the same type

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.02.009

基金项目:国家自然科学基金(81170463)

作者单位:200233 上海交通大学附属第六人民医院血液科

通信作者:常春康,Email: changchungkang7010@yahoo.cn

中华血液学杂志

www.hematology.com

of chromosomal aberrations between hematopoietic cells and MSC, but different type of the aberrations in the same chromosome were involved. **Conclusion** MDS-MSC retains the phenotyping characteristics and differentiated function of normal MSC, but has different type of chromosomal abnormalities. A high proportion of loss of chromosomal may be a marker of chromosomal instability of MDS-MSC. Detection of abnormalities in MDS-MSC suggests enhanced genetic susceptibility of these cells in MDS. This may indicate potential involvement of MSC in the pathophysiology of MDS.

**【Key words】** Myelodysplastic syndrome; Mesenchymal stem cell; Cellular morphology; Immunophenotype; Cytogenetic subtype; Chromosomal aberration

间充质干细胞(MSC)是未分化的多潜能干细胞,具有自我更新及向多系分化的干细胞特征,几乎是造血微环境中所有细胞成分的前体细胞<sup>[1]</sup>。近年来对骨髓增生异常综合征(MDS)衍生的MSC(MDS-MSC)研究成为本病新的研究热点,尤其是细胞遗传学和分子生物学特征方面。一方面,MDS作为克隆疾病,40%~70%的原发患者初诊时存在细胞遗传学改变<sup>[2]</sup>,所以理论上可以通过遗传学标记研究MDS发病的克隆起源。另一方面,已有体外研究显示MDS-MSC存在质量和功能的异常<sup>[3]</sup>,所以可以从MSC细胞遗传学的角度发现MDS-MSC异常的相关依据。本研究我们旨在通过分析MDS-MSC细胞遗传学异常的特征探讨MSC参与MDS发病及进展的可能机制。

## 病例和方法

1. 病例:2008年8月至2010年5月在我院诊断为MDS并成功进行染色体核型分析的22例初诊患者,其中男14例,女8例,中位年龄58(22~85)岁。通过对患者外周血细胞计数、骨髓涂片和细胞遗传学分析,按2008年世界卫生组织(WHO)分类标准进行诊断。其中难治性贫血伴原始细胞增多1型(RAEB-1)7例,RAEB-2 6例,难治性贫血(RA)4例,难治性贫血减少伴有多系发育异常(RCMD)4例和5q-综合征1例。7名正常对照来源于同期门诊体检者(均排除血液系统疾病),其中男5名,女2名,中位年龄47(25~72)岁。

2. MSC分离培养和体外扩增:抽取初诊患者及正常对照者新鲜抗凝骨髓液5ml,按参考文献<sup>[4]</sup>方法分离骨髓单个核细胞(MNC)并接种于含有低糖DMEM培养基(Gibco公司产品)、10%胎牛血清及双抗的培养皿中,37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度条件下培养。72h换液移除非贴壁细胞,贴壁的MSC经胰酶消化洗脱后进一步培养并行体外扩增,传2~3代后收获贴壁的MSC备用。

3. 细胞形态学及细胞表面抗原分析:每次换液传代时应用倒置相差显微镜观察MSC形态学特征,

同时进行Wright-Giemsa染色后在光学显微镜下进行细胞形态学分析。收集第3代MSC,用流式细胞术进行表面抗原分析,应用小鼠抗人单抗CD73-PE、CD90-PE、CD105-PE、CD34-PE、CD45-PE、HLA-DR-FITC、CD80 FITC、CD86 FITC和CD40 PE(BD公司产品)进行标记。

4. MSC分化功能测定:第2代MSC经胰酶消化洗脱后分别在不同培养基中进行成脂和成骨诱导分化实验,在MSC培养基中加入10%胎牛血清、0.5mmol/L 1-甲基-3-丁基异黄嘌呤、1.0μmol/L地塞米松、0.2μmol/L吡啶美辛、10μg/ml胰岛素后继续培养21d,通过油红O染色鉴定成脂功能。在MSC培养基中加入1.0μmol/L地塞米松、0.15mmol/L二磷酸维生素C盐、3mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>继续培养21d,通过茜素红法染色鉴定成骨功能。

5. 造血细胞和MSC细胞遗传学分析:取5ml抗凝新鲜骨髓液分离MNC,分别采用骨髓细胞直接法和48h短期培养法2次收获染色体。而MSC终止传代后,经胰酶消化洗脱贴壁层细胞备用。采用胰酶-Giemsa(GTG)显带技术,根据ISCN(2005)<sup>[5]</sup>要求,进行核型分析和命名。

6. 造血细胞和MSC DNA定量分析:将1×10<sup>6</sup>MNC及胰酶消化洗脱的第2代MSC(0.5~1.0)×10<sup>6</sup>用预冷PBS液洗涤,加入100μg/ml RNase A(Sigma公司产品),37℃避光孵育30min,加入100μl含50μg/ml溴化乙锭(PI)的PBS,4℃避光孵育30min。采用流式细胞术检测每个细胞核PI荧光,结果用细胞周期拟和软件Cell Quest进行分析。

7. 统计学处理:采用SAS V8.01统计学软件进行分析。不同分类变量资料采用χ<sup>2</sup>或Fisher确切概率法比较,两组独立样本间的比较采用t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

## 结果

1. MDS-MSC细胞培养特征:MSC生长至皿底80%融合时,以0.25%胰蛋白酶消化,1:2传代扩增,称为第1代。MDS患者组传3代(P3)的培养天

数为 30(20 ~ 56)d, 收获细胞显带后可供分析的分裂相数目为 16(3 ~ 35)个, 与正常对照组[28(23 ~ 36)d, 18(5 ~ 31)个]比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

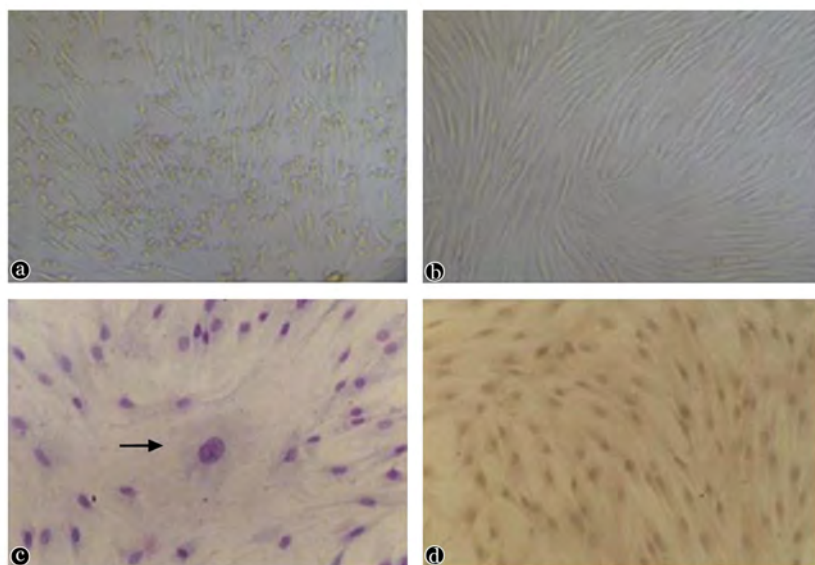
2. MDS-MSC 的形态学特征: 倒置相差显微镜下观察, MDS-MSC 原代(P0)细胞形态多为多种细胞如三角形成纤维细胞与圆形内皮细胞的混合体(图 1a)。MDS-MSC(P3)形态均一, 表现为典型的成纤维细胞样, 纺锤形细胞群, 未发现巨噬细胞或其他造血细胞(图 1b)。光镜下 Wright-Giemsa 染色, 发现 MDS-MSC(P3)存在两种形态学上可识别的 MSC 细胞亚群, 即占 95% 以上的体型小、细长、纺锤形细胞亚群和少见的粗大的、颗粒状细胞亚群(图 1c)。细胞化学染色(碱性磷酸酶)表达阴性(图 1d)。

3. MDS-MSC 的免疫学表型特征: 流式细胞术检测发现 MDS-MSC 高表达 MSC 相关分子 CD73、CD90、CD105, 但不表达造血干细胞表面标志 CD34

及白细胞表面标志 CD45、HLA-DR, 也不表达淋巴细胞、巨噬细胞、单核细胞及树突细胞表面 CD80、CD86 及 CD40 标记。

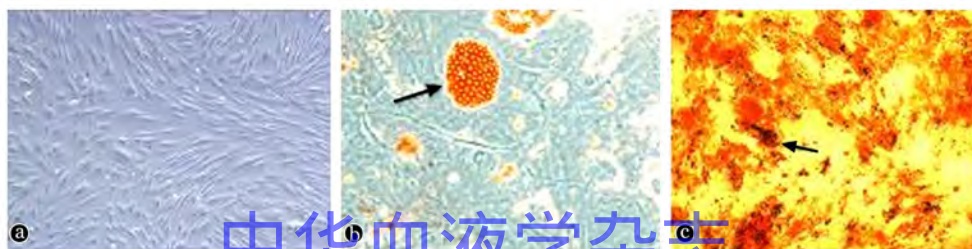
4. MDS-MSC 的分化功能鉴定: 未分化的(P2) MDS-MSC 贴壁生长, 呈典型长梭形(图 2a), 成脂诱导分化 21 d 后, 可见细胞由长梭形变为圆形, 胞内充满高折光性葡萄串状白色脂滴, 油红 O 染色呈阳性(图 2b)。成骨诱导分化 21 d 后, 茜素红染色可见细胞内钙结节形成(图 2c)。

5. 造血细胞和 MSC 的细胞遗传学分析及 DNA 定量分析: 7 名正常对照者的造血细胞和 MSC 的细胞遗传学分析均未发现克隆性异常。22 例 MDS 患者中造血细胞核型异常者 13 例(59%)。RA 及 5q-综合征患者中检出 5 号染色体长臂缺失, 3 例 RAEB 患者检出 7 号染色体单体, 1 例 RAEB 患者检出 8 号染色体三体。染色体结构易位和复杂核型主要在 RAEB 患者中检出(表 1)。



a: 倒置相差显微镜下 MDS 原代(P0)MSC; b: MDS 第 3 代(P3)MSC; c: 光镜下两种形态学可区分的亚群即占 95% 以上的体型小、细长、纺锤形细胞和箭头所指的粗大的、颗粒状细胞(Wright-Giemsa 染色); d: 细胞化学染色: MDS-MSC 碱性磷酸酶表达阴性

图 1 骨髓增生异常综合征衍生的间充质干细胞(MDS-MSC)的形态学特征( $\times 100$ )



a: 未分化的 MDS-MSC(P2); b: 箭头所指为 MDS-MSC(P2)成脂分化后的成脂细胞(油红 O 染色); c: MDS-MSC(P2)成骨分化后的成骨细胞(茜素红染色), 箭头所指为钙结节

图 2 骨髓增生异常综合征衍生的间充质干细胞(MDS-MSC)的分化功能鉴定( $\times 100$ )

表 1 骨髓增生异常综合征患者和正常对照者临床特征和造血细胞、间充质干细胞核型分析

例号	诊断	年龄 (岁)	性别	造血细胞核型	间充质干细胞核型
1	RAEB-1	52	男	47,XY, +8[ 12 ]	39-46 <sup>a</sup> ,XY, +8, -20, -22[ cp8 ]
2	RAEB-2	51	男	46,XY, del( 6 )( pter→p23::p21→qter ), del( 11 )( q24 )[ 3 ]	43-46 <sup>a</sup> ,XY, t( 2;11 )( p23;q24.3 )[ cp6 ]
3	RA	85	女	46,XX[ 20 ]	46,XX[ 23 ]
4	RA	81	女	45,X, -X, der( 5 )add( 5 )( p15 )del( 5 )( q13 ), +mar[ 3 ]	41-45 <sup>a</sup> ,XX, +mar[ cp4 ]/46,XX[ 3 ]
5	RAEB-1	59	男	46,XY[ 20 ]	46,XY[ 23 ]/40-45 <sup>a</sup> ,XY[ 7 ]
6	RCMD	59	女	46,XX[ 20 ]	46,XX[ 18 ]
7	RCMD	24	男	46,XY, del( 2 )( p21 ), inv( 3 )( pter→p13::q21→p13::q21→qter )[ 2 ]	38-46 <sup>a</sup> ,XY, +mar[ cp6 ]
8	RAEB-2	22	男	45,XY, -7, del( 17 )( p12 )[ 4 ]	44,XY, -20[ 3 ]/46,XY[ 9 ]
9	RA	40	女	46,XX[ 24 ]	46,XX[ 24 ]
10	RAEB-1	82	女	43-44 <sup>a</sup> ,X, -X, del( 11 )( q23 ), +2mar-3mar[ cp5 ]/67-86 <sup>a</sup> ,XXX[ cp3 ]	43-45 <sup>a</sup> ,XX, -20, +mar1[ cp6 ]/46,XX[ 7 ]
11	RAEB-2	68	男	63-83 <sup>a</sup> ,XYY, +2mar-3mar[ cp11 ]	43-46 <sup>a</sup> ,XY, -7, -20, +mar[ cp11 ]
12	RAEB-2	55	男	43,XY, -7, -14, -22[ 3 ]	46,XY[ 31 ]
13	RCMD	82	女	46,XX[ 20 ]	46,XX[ 12 ]
14	RAEB-1	51	男	46,XY[ 3 ]	39-44 <sup>a</sup> ,XY, -12, -21, -22[ cp7 ]
15	RAEB-2	49	男	46,XY, del( 2 )( q31-q37 ), add( 12 )( pter→q13::? )[ 20 ]	46,XY, dup( 1 )( pter→q32::q21→q32::q21→qter[ 5 ]
16	RA	63	男	46,XY[ 12 ]	46,XY[ 12 ]
17	RCMD	51	女	46,XX[ 10 ]	46,XX[ 10 ]
18	5q-综合征	63	男	46,XY, del( 5 )( q11.2-1.3 )[ 3 ]	38-46 <sup>a</sup> ,XY, -6, -11, +mar1-mar3[ cp10 ]
19	RAEB-1	58	女	45,XX, -22[ 10 ]/46,XX[ 12 ]	43-46 <sup>a</sup> ,XX, -22, +mar[ cp8 ]
20	RAEB-2	56	男	39-47 <sup>a</sup> ,XY, del( 7 )( q31 ), +mar1-mar3[ 10 ]	44-45 <sup>a</sup> ,XY, +mar1[ cp3 ]/46,XY[ 24 ]
21	RAEB-1	42	男	38-42 <sup>a</sup> ,XY, +mar1-mar8[ 16 ]	44-47 <sup>a</sup> ,XY, +mar1, +mar2[ cp16 ]
22	RAEB-1	76	男	46,XY[ 20 ]	47,XY, +13[ 3 ]/46,XY[ 27 ]/44-45 <sup>a</sup> ,XY[ 5 ]
23	正常	35	女	46,XX[ 10 ]	46,XX[ 20 ]
24	正常	62	男	46,XY[ 20 ]	46,XY[ 20 ]
25	正常	25	男	46,XY[ 20 ]	46,XY[ 20 ]
26	正常	44	女	46,XX[ 7 ]/43-45 <sup>a</sup> ,XX[ 3 ]	46,XX[ 12 ]
27	正常	28	男	46,XY[ 20 ]	46,XY[ 20 ]
27	正常	72	男	46,XY[ 20 ]	46,XY[ 20 ]
29	正常	65	男	46,XY[ 20 ]	46,XY[ 20 ]

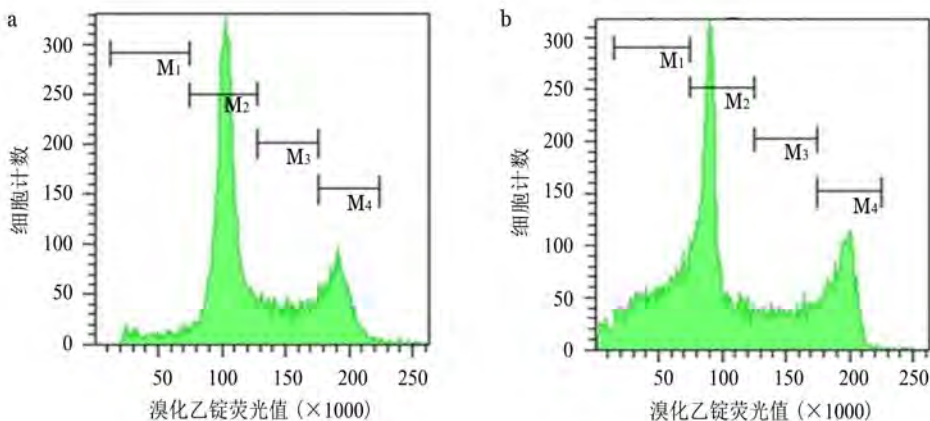
注:RAEB:难治性贫血伴原始细胞增多;RA:难治性贫血;RCMD:难治性贫血细胞减少伴多系发育异常;<sup>a</sup>表明染色体缺失是非克隆性缺失,因为不同的染色体缺失发生于单个分裂相中;[ n ]括号中数值表示相应核型的分裂相数

我们进一步通过流式细胞术 DNA 定量分析证实核型分析结果(图 3)。22 例 MDS 患者中 14 例(64%)发现细胞遗传学改变,其类型多样,包括平衡或不平衡畸变、部分或整条染色体的缺失或增加,其中以染色体缺失最为常见(14 例患者中有 13 例,占 93%)。其中克隆性缺失 7 例,占 50%。染色体缺失现象较正常对照 MSC 及 MDS-造血细胞更为显著( $P < 0.05$ ),几乎所有病例都存在随机缺失现象,此外发现 2 例(14%)患者发生染色体结构改变(易位和复制)。值得注意的是,不管 MDS 患者造血细胞核型是否异常,我们都能从中检出 MSC 异常核型,但 MDS 造血细胞异常核型组 13 例患者中 12 例(92%)检出 MSC 异常核型,高于 MDS 造血细胞正

常核型组的 33%(9 例中检出 3 例)( $P < 0.05$ )。此外,我们根据 IPSS 定义的 MDS 造血细胞是否具有不良预后核型(涉及 7 号染色体、复杂核型)进行分组,各组间 MDS-MSC 异常核型检出率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 讨 论

目前 MDS 的生物学机制尚不明确,作为 MDS 疾病特征的过度凋亡和无效造血现象不仅局限性发生于 MDS 恶性克隆本身,同时也可以发生于正常造血细胞,提示 MDS 骨髓微环境可能存在诱导凋亡效应<sup>[1]</sup>,可能是通过异常的基质细胞与定向造血干细



a: MDS 造血细胞:结果显示分布正常;b: MDS-MSC:结果显示 M1 区域亚二倍体细胞数增多,提示存在细胞遗传学异常(染色体物质的缺失)

图 3 流式细胞术 DNA 定量分析骨髓增生异常综合征(MDS)患者(例 14)造血细胞、间充质干细胞(MSC)结果(以已知正常对照造血细胞和 MSC 作为对照设门, M<sub>1</sub> ~ M<sub>4</sub> 分别显示亚二倍体细胞(M<sub>1</sub>)、二倍体细胞(M<sub>2</sub>)、超二倍体细胞(M<sub>3</sub>)、S 期细胞(M<sub>4</sub>))

胞之间的相互作用造成的,异常的基质细胞因为相关的造血生长因子释放的缺乏或抑制因子异常释放同时影响骨髓正常和恶性克隆两个亚群<sup>[7-8]</sup>。近年来,为了明确基质细胞在 MDS 发病机制中的角色,围绕 MSC 的研究成为热点。已有研究显示 MSC 存在质量及功能改变,从而影响血液系统造血紊乱的病程,虽然 MDS 的基质微环境仍具有支持造血的能力,但出现了某些有别于正常基质微环境的特征<sup>[9]</sup>。

MDS-MSC 研究的前提和基础工作是 MSC 的鉴定,我们的结果提示 MDS-MSC 仍保持有别于造血干细胞的表型特征(形态学及免疫学)及多向分化潜能的干细胞特征。MDS-MSC 保持正常 MSC 原有的形态学及组化特征,且我们观察到 MDS-MSC 存在两种形态学上独特的细胞类型:一种亚群细胞形态呈细长纺锤形,占总贴壁细胞的 95% 以上,另一亚群为数目少见呈粗颗粒状的细胞。我们未对这两种细胞的生物学特征差异作进一步比较,但我们观察到的结果与 Prockop 等正常 MSC 形态学结果一致,他们从正常受试者骨髓中分离出两种形态学上可区分的 MSC 类型,即粗大的、缓慢复制的细胞和纺锤形快速复制的细胞<sup>[10]</sup>。流式细胞术鉴定出 MDS-MSC 的非造血细胞起源的免疫学特征与正常 MSC 免疫学表型没有差异,与先前其他研究者的结果一致<sup>[9]</sup>。此外我们初步评价其细胞培养特征显示其体外细胞扩增传代时间,细胞所获中期分裂相与正常对照组比较无显著差异,提示 MDS-MSC 体外扩增及分裂增殖能力与正常对照无异,而 MDS-MSC 经成骨、成脂诱导分化后,仍能保持相应的多向分化功能的干细胞特征。

本研究最有意义的结果是发现 MDS-MSC 存在显著比例的细胞遗传学异常,且染色体改变类型多样。染色体 G 带分析显示 22 例 MDS 患者中 15 例(68%)衍生的 MSC 克隆性异常,7 名正常对照者衍生的 MSC 仍显示正常核型。MDS-MSC 的细胞遗传学异常类型以染色体不平衡畸变多见,包括有染色体物质的增加及缺失,尤以缺失多见。我们观察到 MDS-MSC 样本较正常对照 MSC 及 MDS 造血细胞易出现染色体的随机缺失。其原因一方面可能是由于 MDS-MSC 特性的差异而导致其容易在标本制备过程中出现缺失,另一方面也不能完全排除高比例的染色体物质的随机丢失(93%)和克隆性缺失(50%)是 MDS-MSC 染色体不稳定性特征的可能,这种染色体不稳定性会导致 MDS-MSC 非整倍体的发生,已有文献报道高比例的染色体缺失与髓系恶性肿瘤的不良预后相关<sup>[11]</sup>,提示该现象潜在影响部分 MDS 患者的发病,由 MDS-MSC 缺失染色体相关基因单倍体剂量不足导致的 MSC 相应支持造血功能的受损可能是 MDS 发病的机制之一,结果有待于进一步研究。Flores-Figueroa 等<sup>[12]</sup>报道 55% 的 MDS(RA)患者 MSC 存在细胞遗传学改变,其比例与我们相近,但该作者报道的改变类型均为染色体物质的缺失,而我们的病例中 MSC 不仅染色体发生数量改变而且存在结构改变,其中 2 例(例 2 和例 5)患者的 MSC 出现了不同的结构改变(易位和复制)。此外 Flores-Figueroa 等<sup>[12]</sup>报道 MDS-MSC 出现细胞遗传学改变只发生于 MDS 造血细胞异常患者中。但是我们的结果提示造血细胞核型正常的 MDS 患者同样也能检测到细胞遗传学改变。原因可能与该作者仅选用 MDS 中 RA 亚型作为研究对

象,而我们发现畸变恰恰多发生于 RAEB 亚型患者,这一结果提示两种亚型之间可能存在不同的生物学特征及发病机制,是否具有发病机制及诊断价值方面的意义需进一步研究证实。我们的结果中 MDS-MSC 核型异常检出率显著高于 MDS 造血细胞异常组( $P < 0.05$ ),一个可能的解释是累及 MSC 整条染色体的单倍体剂量不足等细胞遗传学异常可能不利于 MDS-MSC 恶性克隆的存活,除非其有害效应能被 MDS 造血细胞同时存在的其他细胞遗传学畸变相关的基因改变效应所抵抗,MDS 的造血细胞克隆异常还是致病的关键性因素。15 例 MDS-MSC 异常核型患者中 6 例仍可发现正常核型分裂相存在,提示在某些患者中细胞遗传学正常和异常的 MSC 在基质微环境中嵌合共存。其中没有与相应造血细胞完全一致的细胞遗传学改变在 MSC 中重复出现,11 例 MDS 患者的 MSC 鉴定出独立于造血细胞的不同克隆,这一结果与 Blau 等<sup>[13]</sup>的结果一致。但值得注意的是,其中部分细胞遗传学分析结果出现与造血细胞不同但累及同一染色体却又出现不同改变的衍生克隆,这一结果有别于先前报道。出现区别于 MDS 造血细胞的异常改变的衍生克隆现象原因尚不明确,一个可能的解释是对造血细胞造成遗传损伤的外界致癌因素(如射线照射、芳香化合物、病毒等)同样累及 MSC,由于两者存在不同却又相似的 DNA 修复系统、中心体复制和遗传不稳定性缺陷<sup>[14]</sup>,使造血细胞和 MSC 最终发展出不同却又相似的细胞遗传学异常。所以基于以上观点,虽然一些研究证据提示 MSC 和造血细胞可能起源于共同的干、祖细胞<sup>[15]</sup>,我们的结果不能充分说明 MDS-MSC 和 MDS 造血细胞起源于同一肿瘤克隆,但是由于部分细胞遗传学分析结果出现衍生克隆,所以这种可能性也不能完全除外。

我们在研究中发现 MDS-MSC 仍保持有别于造血干细胞的表型特征(形态学及免疫学)及多向分化潜能的干细胞特征。MDS-MSC 存在与 MDS 造血细胞不同的细胞遗传学改变,包括一部分结构改变,其中染色体物质的缺失占有显著比例。高比例的染色体缺失可能是 MDS-MSC 染色体不稳定的特征。此外还显示畸变类型多样,如平衡易位、复制和染色体部分或全部的增加和缺失。这些特征提示 MSC 不同的遗传易感性在 MDS 的发病中有潜在作用,有助于我们更好地理解 MDS 的生物学行为和发现新的治疗靶点。

## 参考文献

- [1] Pontikoglou C, Delorme B, Charbord P. Human bone marrow native mesenchymal stem cells. *Regen Med*, 2008, 3:731-741.
- [2] Haase D, Germing U, Schanz J, et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*, 2007, 110:4385-4395.
- [3] Marcondes AM, Ramakrishnan A, Deeg HJ. Myeloid Malignancies and the Marrow Microenvironment: Some Recent Studies in Patients with MDS. *Curr Cancer Ther Rev*, 2009, 5:310-314.
- [4] Rieger K, Marinets O, Fietz T, et al. Mesenchymal stem cells remain of host origin even a long time after allogeneic peripheral blood stem cell or bone marrow transplantation. *Exp Hematol*, 2005, 33:605-611.
- [5] Shaffer LG, Tommerup N. ISCN 2005: International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005). Basel: Karger, 2005.
- [6] Tauro S, Hepburn MD, Peddie CM, et al. Functional disturbance of marrow stromal microenvironment in the myelodysplastic syndromes. *Leukemia*, 2002, 16: 785-790.
- [7] Kastrinaki MC, Pontikoglou C, Klaus M, et al. Biologic characteristics of bone marrow mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2011, 6: 122-130.
- [8] Sloand EM, Rezvani K. The role of the immune system in myelodysplasia: implications for therapy. *Semin Hematol*, 2008, 45: 39-48.
- [9] Flores-Figueroa E, Montesinos JJ, Flores-Guzmán P, et al. Functional analysis of myelodysplastic syndromes-derived mesenchymal stem cells. *Leuk Res*, 2008, 32:1407-1416.
- [10] Prockop DJ, Sekiya I, Colter DC, et al. Isolation and characterization of rapidly self-renewing stem cells from cultures of human marrow stromal cells. *Cytotherapy*, 2001, 3:393-396.
- [11] Oran B, Dolan M, Cao Q, et al. Monosomal karyotype provides better prognostic prediction after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011, 17:356-364.
- [12] Flores-Figueroa E, Arana-Trejo RM, Gutiérrez-Espíndola G, et al. Mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes: phenotypic and cytogenetic characterization. *Leuk Res*, 2005, 29: 215-224.
- [13] Blau O, Baldus CD, Hofmann WK, et al. Mesenchymal stromal cells of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia patients have distinct genetic abnormalities compared with leukemic blasts. *Blood*, 2011, 118:5583-5592.
- [14] Das M, Chatterjee S, Basak P, et al. The bone marrow stem stromal imbalance—a key feature of disease progression in case of myelodysplastic mouse model. *J Stem Cells*, 2010, 5: 49-64.
- [15] Hu G, Liu P, Feng J, et al. A novel population of mesenchymal progenitors with hematopoietic potential originated from CD14 peripheral blood mononuclear cells. *Int J Med Sci*, 2010, 8: 16-29.

(收稿日期:2012-07-02)

(本文编辑:刘志红)