



造血微环境研究进展与发展方向

程辉*, 程涛*

中国医学科学院&北京协和医学院血液病医院(血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020

* 联系人, E-mail: chenghui@ihcams.ac.cn; chengtao@ihcams.ac.cn

收稿日期: 2017-09-30; 接受日期: 2017-10-30; 网络发表日期: 2017-12-14

国家重点研发计划(批准号: 2016YFA0100600)和国家自然科学基金(批准号: 81421002, 81430004, 81400077)资助

摘要 造血干细胞(HSC)是发现最早、在临床被广泛应用并一直起着范式作用的一类重要的成体组织干细胞, 一直被认为处于造血级联的顶端, 通过维持自身的自我更新并逐级向下分化成熟, 为机体源源不断地提供各种成熟的血细胞。过去数十年的研究已证实, HSC的功能特性不仅受到内在因素的调控, 也有赖于外在环境的支持和滋养, 即造血微环境(niche), 从而共同组成HSC功能的生理调控网络。近年来, 随着研究手段和技术方法的不断创新, 对造血微环境的成分及调控有了更多新的认识。本文对造血微环境的最新研究进展进行综述。

关键词 造血干细胞, 造血微环境, 疾病

1 造血微环境概念的提出

造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)是一类能够自我更新并分化生成所有血液细胞的造血始祖细胞。因此, 造血微环境中最为重要内容就是HSC微环境, 即HSC巢(niche)。造血微环境包含两个基本涵义: (i) 在物理学上指造血发生的场所; (ii) 在功能上指能通过结构性或分泌性的机制直接调节造血活动的细胞成分及因子。

造血干细胞巢概念的提出, 可以追溯到20世纪70年代, Schofield^[1]发现, 来自于骨髓的HSC比来自于脾脏的HSC (当时将HSC描述为成克隆细胞, CFU-S)具有更高的移植再生能力, 于是他们提出一个假说: 骨髓内存在一个干细胞巢, 它能够提高HSC的功能活性。果然, 人们从骨髓中鉴定到多个HSC体外扩增所必需的生长因子, 如SCF, TPO等^[2,3], 进而从一个侧面印证

了干细胞巢的存在。但限于技术的局限性, 在接下去的很长一段时间内, 对于HSC的niche缺乏直接的证据。直到2003年, Scadden研究组^[4]和Li研究组^[5]分别显示骨髓内的成骨细胞亚群是HSC巢的关键细胞组分, 改变成骨细胞的数量能够改变HSC的自我更新和造血活动。这两项工作, 揭开了科学家们进一步鉴定、阐释以及观测造血干细胞巢的序幕。

2 发育中的造血微环境

在发育过程中, HSC经历了多个造血器官。HSC本身起源于内胚层的一群内皮-血液祖细胞。在小鼠(*Mus musculus*)中, 原始造血发生于胚胎期E7.5天的卵黄囊。到E10.5天, 主动脉-性腺-中肾区(aorta-gonad-mesonephros, AGM)能够检测到HSC前体的存在。这群HSC前体相对于成熟的HSC, 有着独特的表达和代谢

引用格式: 程辉, 程涛. 造血微环境研究进展与发展方向. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 1242-1252

Cheng H, Cheng T. Hematopoietic stem cell niches (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 1242-1252, doi: [10.1360/N052017-00273](https://doi.org/10.1360/N052017-00273)

谱^[6]. 胚胎期的HSC, 自E11.5天以后, 便主要栖息于胎肝, 因此, 胎肝是小鼠, 同时也是人类胚胎期造血的主要场所. 自小鼠E18.5天以后, 造血干细胞逐渐迁移到骨髓, 并从快速增殖状态转为静息(quiescent)甚至休眠(dormant)状态. 除非受到应激胁迫而被暂时性地动员到外周血或脾脏等髓外造血器官, 骨髓成为了HSC终身定居的场所.

3 造血微环境的组成

3.1 HSC在骨髓内的定位

HSC巢的鉴定基于两个基本原则: 位置原则和功能原则. 位置原则是指干细胞巢在物理学位置上临近干细胞; 而功能原则是指干细胞巢是HSC生长因子的细胞来源.

为了定位HSC的邻近细胞, 首先要确定HSC本身的位置. 尽管科学家们很早就能够利用流式细胞技术分析或分离HSC, 但这个过程需要用到10~12种不同的抗体, 分散到6~8种不同的荧光通道中. 即使目前最先进的荧光共聚焦显微技术也无法区分6个通道以上的荧光信号. 因此, 早期的HSC定位研究没有得到令人信服的结论. 这方面的突破性进展起始于2005年, Morrison研究组^[7]鉴定到SLAM蛋白家族成员作为鉴定HSC的新标记. 在不影响纯度的基础上, 他们将鉴定HSC所需的荧光通道降低到两组(Lineage⁻CD48⁻和CD150⁺), 利用这一技术优势, 他们提出HSC巢存在于骨髓血管附近. 通过改进免疫荧光技术和引入新的细胞类型特异性抗体, 其他科学家又进一步明确了HSC与不同血管类型的相对定位^[8-10]. HSC处于低氧的骨髓微环境中以保持其静息状态. Lin研究组^[11]利用双光子显微镜及特殊探针观察小鼠骨髓内绝对氧分压pO₂, 证明窦周区域的pO₂最低, 而骨内膜区域由于小动脉的存在, 氧分压增高. 但有趣的是, 虽然动脉周围的氧分压比静脉周围高, 但动脉内皮细胞本身的ROS水平却低于静脉内皮细胞, 动脉周围的高ROS细胞数量显著少于静脉周围. 动脉周围的HSC都表现为ROS低水平, 而静脉周围的HSC约1/3数量表现为ROS高水平^[10]. 但是, 也有研究报道处于低氧水平的HSC随机分布于骨髓, 并不是特定于某类细胞周围^[9].

与此同时, 科学家们又开发了多个HSC报告基

因小鼠, 如*Fgd5-mCherry*^[12], *α-catulin-GFP*^[13]和*Hoxb5-mCherry*^[14]等, 这些报告基因的共同特点是能够在血液系统中特异、高效地标记HSC, 籍此进一步提升HSC的检测灵敏度和准确度. 对这些报告基因小鼠的分析也不约而同地将HSC巢指向了骨髓血管周围.

3.2 HSC功能的调节细胞

HSC巢存在性从位置原则得到了间接提示, 而直接证据则来源于功能检验. 早期的研究主要是通过遗传学方法增加、减少或者剔除某个细胞类型, 然后观察HSC的相应变化. 例如, 通过基因突变增加成骨细胞的数量, 同时也会伴随着HSC数量的增加^[4,5]; 将白喉毒素受体导入CAR (Cxcl12-abundant reticular) 细胞并通过注射白喉毒素将之剔除, 会导致HSC数量的显著下降^[15]. 利用类似的方法, 科学家们又陆续鉴定到更多的潜在HSC巢组分, 如Nestin⁺细胞^[16]、NG2⁺细胞^[8]、Lep⁺细胞^[17]、巨核细胞^[18]、脂肪细胞^[19]等. 目前已知的骨髓内与HSC巢功能相关的细胞类型可参见表1^[20,21].

但是, 通过改变候选细胞数量来研究其对HSC自我更新的作用具有一定的局限性, 因为这会引起骨髓结构性的改变, 或其他重要细胞类型的改变, 从而间接影响HSC的功能. 这并不符合HSC巢的基本定义.

3.3 HSC生长因子

确定HSC巢更直接的方法, 是鉴定干细胞生长因子的细胞来源. 例如, SCF^[41,42], CXCL12^[25,43]和TPO^[44,45]等是已知的HSC必需生长因子, 通过揭示这些生长因子在骨髓内的细胞来源, 并利用遗传学方法检验该细胞来源对HSC自我更新的必需性, 就可以鉴定到功能性的HSC巢. 目前主流的方法是基于Cre-loxp重组酶系统, 即利用细胞类型特异性Cre将指定生长因子从该细胞类型中条件性敲除, 然后检测该敲除对HSC自我更新的影响. 骨髓主要细胞类型的特异性Cre参见表2.

3.4 SCF

SCF, 又名KitL (kit ligand), 是HSC必要和经典的一个生长因子之一, 其受体kit广泛表达于HSC以及造血前体细胞细胞表面. SCF存在两种构型, 膜结合型和游离型. *Sl/Sl^{fl}*小鼠表达游离型SCF但缺乏膜结合型SCF,

表 1 骨髓内与造血干细胞巢功能相关的细胞类型^[20,21]

细胞类型	骨髓占比	定位	证据
Lepr ⁺ 基质细胞	0.3%	血管外周	[22~24]
CAR细胞	0.3%	血管外周	[25]
Prx1 ⁺ 细胞	0.3%	血管外周	[26]
Nes-GFP ⁺ 细胞	0.08%	血管外周	[8,16]
Nes-CreER ⁺ 基质细胞	0.001%	小动脉周围	[16]
NG2 ⁺ 基质细胞	0.003%	小动脉周围	[8,27]
内皮细胞	0.10%	血管	[28,29]
成骨细胞	极其稀少	骨内膜区	[4,5]
外周神经细胞	极其稀少	中央小动脉周围	[30~33]
Schwann细胞	极其稀少	外周神经周围	[34]
脂肪细胞	极其稀少	松质骨区	[19,35]
巨核细胞	0.1%	全骨髓	[18,36]
调节性T细胞	1%	全骨髓	[37]
单核细胞或巨噬细胞	0.4%	全骨髓	[38~40]

表 2 常用骨髓细胞类型特异性Cre一览

细胞类型	Cre	可诱导	特异性	效率	参考文献
成骨细胞	Col2.3-cre	否	高	高	[46]
	Osx-cre/ER	是	同时也表达于部分成骨前体细胞	高	[47]
内皮细胞	Tie2-cre	否	同时也表达于所有血液细胞和少量间充质干细胞	高	[48]
	Cdh5-cre/ER	是	高	较高	[49]
间充质干细胞	Cdh5-cre	否	同时也表达于血液细胞	高	[50]
	Nes-cre	否	较差	较低	[51]
	Nes-cre/ER	是	较差	较低	[52]
	Lepr-cre	否	高	较高	[53]
	Prx1-cre	否	较高	高	[54]
	Osx-cre	否	较高	高	[55]
	Mx1-cre	是	同时也表达于血液细胞、内皮细胞等 几乎所有类型的骨髓细胞	较低	[56]
	NG2-cre/ER	是	同时也表达于神经胶质细胞、平滑肌细胞等	较低	[17]
	NG2-cre	否	同时也表达于神经胶质细胞、平滑肌细胞等	高	[57]
	Pf4-cre	否	高	高	[58]
巨核细胞	Pf4-cre	否	高	高	[58]
血液细胞	Mx1-cre	是	同时也表达于基质细胞	高	[56]
	Vav1-cre	是	同时也表达于少量内皮细胞	高	[59]

这些小鼠具有显著的HSC缺陷, 因此膜结合型SCF很可能是SCF的功能构型^[41]. 在 SI/SI^d 和野生型嵌合小鼠中, HSC只会靠近野生型而非 SI/SI^d 的基质细胞, 这提示

SCF是干细胞巢的重要分泌因子^[60]. 2012年, Morrison研究组^[22]利用条件性敲除技术分别在不同的骨髓细胞中特异性敲除 Scf , 结果显示, 只有在内皮细胞或Lepr⁺

血管外周细胞中敲除*Scf*, 才能显著地降低骨髓内HSC的数量. 这项研究不仅再次验证了SCF对于HSC的重要性, 同时提供了内皮细胞和Lepr⁺血管外周细胞作为造血干细胞巢的直接证据.

(1) CXCL12. CXCL12是一个趋化因子, 受体CXCR4表达于大多数血液细胞, 包括HSC. CXCL12可能是骨髓基质细胞表达水平最高的因子之一, 它通过对HSC的强趋化效应, 将之牢牢地固定于骨髓血管周围. 将*Cxcl12*从骨髓内皮细胞中敲除, 会显著降低骨髓HSC的数量; 将*Cxcl12*从骨髓血管外周细胞中敲除, HSC将逐渐流失到血液中; 将*Cxcl12*从成骨细胞中剔除, 不会影响HSC的自我更新能力, 但会显著降低淋巴系前体细胞的数量, 这些结果说明不同细胞来源的

*Cxcl12*在骨髓内发挥着多重功能^[24,26]. 此外, CXCL12对于骨髓移植后HSC的归巢至关重要^[61,62].

(2) TPO. TPO的受体是MPL, 它们都是HSC维持所必需的分子^[44,45,63]. 除此之外, 它们对巨核细胞和血小板的生成也至关重要. TPO主要表达于肝脏和肾脏, 在生理条件下的骨髓中表达甚微^[64,65]. 因此, 机体的TPO通过什么方式调节HSC的功能目前仍是一个开放课题. 一种可能的假说是, 胎肝细胞通过TPO促进胚胎期HSC的快速增值.

(3) 其他因子. 除了上述的因子, 还有许多其他因子被从骨髓的某种或某几种细胞类型中鉴定出来, 它们对HSC或其他骨髓细胞有着独特的调节作用. 具体的作用请参见表3.

表3 造血干细胞巢分泌的重要信号分子

信号分子	细胞来源	受体	作用	参考文献
SCF	血管内皮及血管外周细胞	c-kit	维持HSC数量和自我更新	[22,60]
CXCL12	血管内皮、血管外周细胞和成骨细胞	Cxcr4	招募HSC、维持淋巴系前体细胞	[24,26]
TPO	肝脏、肾脏	MPL	促进HSC增殖以及巨核细胞的生成	[44,45,63]
Angpt-1	血管外周细胞和部分血液细胞	Tie2	促进血管完整性	[66]
Angiogenin	间充质干细胞和部分血液细胞	未知	促进HSC保持静息状态	[67]
Angptl-3	内皮细胞	未知	维持HSC	[68]
FGF1	巨核细胞	Fgfr1	促进HSC再生	[69]
FGF2	基质细胞	Fgfrs	促进HSC再生	[70]
G-CSF	单核和巨噬细胞、内皮细胞、成骨细胞	G-CSFR	动员HSC	[71]
IL-6	T细胞和巨噬细胞	IL-6R	促进HSC自我更新	[72]
Notch配体	基质细胞、内皮细胞和成骨细胞	Notch 2等受体	促进HSC再生	[73]
Osteopontin	成骨细胞	整合素、CD44	负调节HSC活性	[74]
Pleiotrophin	内皮和血管外周细胞	未知	调节HSC维持和再生	[75]
BMP	成骨细胞、内皮细胞和巨核细胞	BMP受体 I 和 II	BMP4调节HSC功能	[76,77]
SLIT配体	血管外周细胞	ROBO4	调节HSC移植再生效率	[78]
TGFβ	巨核细胞等	Tgfr	促进HSC自我更新	[36]
Wnt配体	基质细胞、淋巴细胞等	Frizzled受体	促进HSC自我更新	[79]

4 髓外造血器官与造血微环境

在许多应激状态下, HSC会被动员到髓外器官进行髓外造血, 例如, 怀孕、失血、感染、疾病等。虽然脾脏和胎肝是主要的髓外造血器官, 但髓外造血有可能发生于任何器官, 包括最近报道肺脏中也存在HSC^[80]。值得注意的是, 骨髓、脾脏和胎肝的血管有着区别于其他脏器的共性, 膨化的薄壁静脉窦(sinusoid)在这些脏器中普遍存在, 这种血管结构更有利于各种血液细胞进出循环系统。当然, 这种结构也可能直接参与HSC的自我更新。例如, 在脾脏中, 造血主要发生于静脉窦的富集区——红质, 其中, 静脉窦外周细胞与内皮细胞都能够通过分泌SCF等生长因子维持和扩增应激状态下迁移入脾脏的HSC^[81]。与此同时, Frenette研究组证明了在胎肝中, 约40% HSC定位于肝门脉附近, 而NG2⁺细胞通过分泌SCF调控HSC及胎肝发育。这些结构与骨髓中的HSC巢有惊人的相似性^[22]。因此, 血管周围作为造血微环境在不同的组织间具有某种保守性。

5 造血微环境与疾病

近几年的研究表明, 微环境在疾病发生过程中扮演了重要的角色, 主要可以概括为两方面: (i) 微环境的变异是疾病发生的诱因; (ii) 是疾病引起了环境的改变, 促使微环境成为疾病发展的“帮凶”^[82-84]。

5.1 微环境作为诱因

2007年, 两项研究首先报道了在微环境细胞发生突变可以引起髓系增生。一项研究表明, RAR γ 敲除的小鼠能具有髓系增生的表型, 通过移植实验证实, 如果RAR γ 敲除的造血细胞移植至正常小鼠, 并不引起疾病; 相反, 如果正常造血细胞移植至RAR γ 敲除的小鼠, 能引起疾病, 说明微环境的突变引起了正常造血的病变^[85]。而不同的是, 另一项研究表明, 只有当造血细胞与微环境细胞同时缺失Rb基因的时候, 才能引起骨髓增殖性病变^[86]。2008年, 另一研究表明若阻断微环境细胞中Notch信号通路的激活, 也能引起增殖性疾病^[87]。这些研究均说明, 微环境细胞的变异能引起造血系统的病变, 尤其是影响细胞增殖。但上述的模型都没有证明是哪一类微环境细胞起了主导作用。随后, 在2010年, Scadden研究组^[88]证实了在成骨

祖细胞上敲除Dicer1基因能引发骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)与急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML), 而在成熟的成骨细胞中敲除Dicer1并不引起疾病, 这一项研究首次精确到了具体的微环境细胞成分。2014年, 另一重要工作也证明了在成熟的成骨细胞中持续激活 β -catenin能诱发AML^[89]。2017年, Qu研究组^[90]证明在骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)或成骨祖细胞上发生Ptpn11激活型突变能引起幼年慢性粒单核细胞白血病(juvenile myelomonocytic leukemia, JMML)。上述研究均证明了在一类或多类微环境细胞中发生遗传突变, 能直接导致造血系统恶性疾病, 说明微环境细胞的突变是造血系统恶性疾病的诱发因素。

5.2 微环境作为“帮凶”

近几年, 研究恶性细胞如何重塑微环境已成为热点。Sipkins等人^[91]利用多光子共聚焦显微镜体内实时成像技术, 利用Nalm-6急性B细胞白血病(B cell-acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)小鼠模型和病人骨髓活检标本研究了白血病细胞与骨髓微环境的动态相互作用, 发现白血病细胞更喜欢定位于E-selectin和CXCL12丰富的血管区域。而该区域在正常情况下是CD34⁺造血干细胞(hematopoietic progenitor cells, HPCs)归巢的部位, 提示白血病细胞侵占了正常的血管微环境。定位以后, 白血病细胞的增殖引起微环境细胞表达CXCL12的水平下调, 从而损害了正常HSC的归巢, 将HSC赶出其适宜生存的地方。再此基础上, 白血病细胞又分泌高浓度的SCF。由于HSC可以受SCF的牵引, 因此白血病细胞产生的高浓度的SCF将正常HSC吸引至白血病细胞扩增区域, 即白血病负荷最大的地方^[92], 继而将正常HSC束缚在白血病环境中, 迫使其数量逐渐减少和功能逐步受损, 并失去向髓外迁移的能力。Schmidt等人^[93]利用慢性髓细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)移植模型, 证明白血病细胞可以诱导基质细胞产生胎盘生长因子(placental growth factor, PIGF), 从而支持白血病细胞的扩增。Schepers等人^[94]利用BCR/ABL条件性诱导小鼠CML模型证明CML细胞将骨内膜微环境改造成了有利于白血病细胞生长的肿瘤微环境, 重塑成骨细胞(osteoblastic lineage cells, OBCs), 使其支持造血的功能受损, 但相反可以很好地维持白血病细胞的生存。本研究组利用Notch1诱导的非照射急性

T淋巴细胞白血病(T cell-acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)模型证实, T-ALL骨髓环境中的MSC增殖能力和分化能力严重受损, 其表现为加速衰老症状^[95]. 另外, 体外共培养实验证实, T-ALL中的MSC对正常HPC的增殖和分化起到了抑制的作用, 而对HSC并未起到显著负面调控作用^[96]. 与此同时, 在非照射的MLL-AF9引起的AML骨髓中, 神经纤维受到损害^[97]. 白血病细胞的增殖导致交感神经病变、NG2阳性的动脉周细胞数量减少以及Nestin阳性的MSC异常扩增, 而这些MSC向成熟成骨细胞的分化减少. 另外, 异常扩增的MSC低表达HSC归巢和维持的因子, 如CXCL12, SCF和ANGPT1等, 继而引起HSC/HPC向髓外迁移. 综上所述, 恶性细胞重塑了造血微环境, 侵占并创造了一个适宜于恶性细胞自身生存的微环境, 继而抑制正常造血细胞的功能.

作为恶性细胞的攻击对象, 正常造血细胞如何应对恶性细胞增殖所带来的负面效应也是一个非常重要的科学问题. 相比于疾病微环境的研究, 对疾病微环境中正常HSC/HPC的研究相对较少. 本研究组^[98,99]利用T-ALL和AML移植模型, 在国际上最早阐述了白血病环境中各类造血干/祖的动力学变化. 在受抑的各类干/祖细胞中, 长周期造血干细胞(long-term HSC, LT-HSC)受抑程度最小, 而巨核红系祖细胞(megakaryocytic-erythroid progenitors, MEP)受抑程度最大^[99]. Miraki-Moud等人^[100]利用转基因AML移植模型以及病人标本发现了相似的结果. 与此同时, 本研究组^[99,101]证明了Hes1-Cdnl1a轴和Egr3是白血病下调HSC周期受抑的关键分子.

6 总结与展望

在过去10年左右时间, 随着遗传学技术和影像技术的发展, 造血微环境的结构及功能被逐步修正和更新, 但其中也存在较大争议. 主要的争议焦点为哪类niche细胞或哪些细胞因子最为重要, 以及HSC到底定位于何处. 就目前的大部分的研究结果来看, HSC主要定位于血管外周附近, 并处于低氧状态, 多种细胞因子(如SCF, CXCL12等)对HSC的功能都是不可或缺

的. 造血微环境作为一个整体, 对HSC的调控需要各类niche细胞与细胞因子的配合, 因此并不能简单地评价单一细胞类型或细胞因子的贡献.

即便对造血微环境的认识初步清晰, 但仍有许多问题需要被进一步阐释: (i) AGM区是否存在特定的niche细胞, 对HSC的发生和维持起决定性作用; (ii) 为什么数量如此稀少的血管外周细胞分泌如此高浓度的SCF和CXCL12, 是否可以将这些血管外周细胞进一步细分. 到底是一类细胞就足以维持HSC的功能还是需要多种类型的细胞的共同配合. 另外, 某一类细胞的缺失或者特定细胞因子(如SCF)在这一类细胞中的缺失, 是否会影响其他niche成分, 从而间接调控HSC; (iii) 在骨髓抑制、增生(疾病)、放化疗和治疗后, 骨髓及髓外的微环境如何变化, HSC的定位是否发生变化; (iv) 是否还存在其他niche细胞类型或细胞因子对HSC的调控起了关键作用; (v) 微环境中的其他分泌介质, 如线粒体、外泌体等, 如何调控HSC的功能; (vi) 除了骨髓、脾脏和肺脏以外, 是否还存在其他髓外造血位点; (vii) 已有报道证明, T-ALL的发病依赖内皮细胞分泌的CXCL12^[102], 说明白血病细胞和正常细胞存在共同的微环境依赖效应以及需要相同的细胞因子, 因此白血病细胞是否同样需要SCF来维持其生长. 另外, 已有文章报道白血病细胞需要特殊的细胞因子来维持其生存, 如IL6, CCL3等, 因此, 是否还存在其他类型的细胞因子是白血病细胞所必需的; (viii) 受样品和技术的限制, 目前对人骨髓和髓外造血微环境的研究较少, 因此, 在小鼠模型的基础上, 应逐步扩展到人造造血微环境的研究, 特别是更加注重造血微环境在疾病中的作用.

总之, 造血微环境的研究方兴未艾, 随着影像、单细胞、单分子和多维组学等技术的不断完善, 将进入新的快速发展时期, 我国学者在此领域大有可为! 进一步深入地研究, 将为多种血液系统疾病的治疗提供新的干预措施, 也是攻克HSC体外扩增这一世界难题的重要突破口. 同时, 这一领域的研究也将为其他系统的相关疾病(如自身免疫性疾病和恶性实体肿瘤等)的治疗带来新的思路.

致谢 感谢中国医学科学院血液病医院郝莎博士和中国科学院上海生命科学研究院周波教授在本文写作和校稿过程中的帮助.

参考文献

- 1 Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*, 1978, 4: 7–25
- 2 Dexter T M, Allen T D, Lajtha L G. Conditions controlling the proliferation of haemopoietic stem cells *in vitro*. *J Cell Physiol*, 1977, 91: 335–344
- 3 Taichman R S, Emerson S G. Human osteoblasts support hematopoiesis through the production of granulocyte colony-stimulating factor. *J Exp Med*, 1994, 179: 1677–1682
- 4 Calvi L M, Adams G B, Weibrecht K W, et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature*, 2003, 425: 841–846
- 5 Zhang J, Niu C, Ye L, et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature*, 2003, 425: 836–841
- 6 Zhou F, Li X, Wang W, et al. Tracing haematopoietic stem cell formation at single-cell resolution. *Nature*, 2016, 533: 487–492
- 7 Kiel M J, Yilmaz O H, Iwashita T, et al. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell*, 2005, 121: 1109–1121
- 8 Kunisaki Y, Bruns I, Scheiermann C, et al. Arteriolar niches maintain haematopoietic stem cell quiescence. *Nature*, 2013, 502: 637–643
- 9 Nombela-Arrieta C, Pivarnik G, Winkel B, et al. Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 1016–1016
- 10 Itkin T, Gur-Cohen S, Spencer J A, et al. Distinct bone marrow blood vessels differentially regulate haematopoiesis. *Nature*, 2016, 532: 323–328
- 11 Spencer J A, Ferraro F, Roussakis E, et al. Direct measurement of local oxygen concentration in the bone marrow of live animals. *Nature*, 2014, 508: 269–273
- 12 Gazit R, Mandal P K, Ebina W, et al. *Fgd5* identifies hematopoietic stem cells in the murine bone marrow. *J Exp Med*, 2014, 211: 1315–1331
- 13 Acar M, Kocherlakota K S, Murphy M M, et al. Deep imaging of bone marrow shows non-dividing stem cells are mainly perisinusoidal. *Nature*, 2015, 526: 126–130
- 14 Chen J Y, Miyanishi M, Wang S K, et al. Hoxb5 marks long-term haematopoietic stem cells and reveals a homogenous perivascular niche. *Nature*, 2016, 530: 223–227
- 15 Omatsu Y, Sugiyama T, Kohara H, et al. The essential functions of adipo-osteogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche. *Immunity*, 2010, 33: 387–399
- 16 Méndez-Ferrer S, Michurina T V, Ferraro F, et al. Mesenchymal and hematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature*, 2010, 466: 829–834
- 17 Zhou B O, Yue R, Murphy M M, et al. Leptin-receptor-expressing mesenchymal stromal cells represent the main source of bone formed by adult bone marrow. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 154–168
- 18 Bruns I, Lucas D, Pinho S, et al. Megakaryocytes regulate hematopoietic stem cell quiescence through CXCL4 secretion. *Nat Med*, 2014, 20: 1315–1320
- 19 Naveiras O, Nardi V, Wenzel P L, et al. Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature*, 2009, 460: 259–263
- 20 Crane G M, Jeffery E, Morrison S J. Adult haematopoietic stem cell niches. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17: 573–590
- 21 顾欣, 袁卫平, 程涛. 内皮细胞微环境对造血干细胞调控的研究现状. *中华血液学杂志*, 2013, 34: 980–983
- 22 Ding L, Saunders T L, Enikolopov G, et al. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature*, 2012, 481: 457–462
- 23 Oguro H, Ding L, Morrison S J. SLAM family markers resolve functionally distinct subpopulations of hematopoietic stem cells and multipotent progenitors. *Cell Stem Cell*, 2013, 13: 102–116
- 24 Ding L, Morrison S J. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. *Nature*, 2013, 495: 231–235
- 25 Sugiyama T, Kohara H, Noda M, et al. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity*, 2006, 25: 977–988
- 26 Greenbaum A, Hsu Y M S, Day R B, et al. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. *Nature*, 2013, 495: 227–230
- 27 Asada N, Kunisaki Y, Pierce H, et al. Differential cytokine contributions of perivascular haematopoietic stem cell niches. *Nat Cell Biol*, 2017, 19: 214–223
- 28 Kusumbe A P, Ramasamy S K, Itkin T, et al. Age-dependent modulation of vascular niches for haematopoietic stem cells. *Nature*, 2016, 532: 380–384
- 29 Hooper A T, Butler J M, Nolan D J, et al. Engraftment and reconstitution of hematopoiesis is dependent on VEGFR2-mediated regeneration of sinusoidal endothelial cells. *Cell Stem Cell*, 2009, 4: 263–274
- 30 Katayama Y, Battista M, Kao W M, et al. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell*, 2006, 124: 407–421

- 31 Lucas D, Scheiermann C, Chow A, et al. Chemotherapy-induced bone marrow nerve injury impairs hematopoietic regeneration. *Nat Med*, 2013, 19: 695–703
- 32 Méndez-Ferrer S, Lucas D, Battista M, et al. Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations. *Nature*, 2008, 452: 442–447
- 33 Calvo W. The innervation of the bone marrow in laboratory animals. *Am J Anat*, 1968, 123: 315–328
- 34 Yamazaki S, Ema H, Karlsson G, et al. Nonmyelinating schwann cells maintain hematopoietic stem cell hibernation in the bone marrow niche. *Cell*, 2011, 147: 1146–1158
- 35 Ambrosi T H, Scialdone A, Graja A, et al. Adipocyte accumulation in the bone marrow during obesity and aging impairs stem cell-based hematopoietic and bone regeneration. *Cell Stem Cell*, 2017, 20: 771–784.e6
- 36 Zhao M, Perry J M, Marshall H, et al. Megakaryocytes maintain homeostatic quiescence and promote post-injury regeneration of hematopoietic stem cells. *Nat Med*, 2014, 20: 1321–1326
- 37 Fujisaki J, Wu J, Carlson A L, et al. *In vivo* imaging of Treg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. *Nature*, 2011, 474: 216–219
- 38 Winkler I G, Sims N A, Pettit A R, et al. Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs. *Blood*, 2010, 116: 4815–4828
- 39 Hur J, Choi J I, Lee H, et al. CD82/KAI1 maintains the dormancy of long-term hematopoietic stem cells through interaction with DARC-expressing macrophages. *Cell Stem Cell*, 2016, 18: 508–521
- 40 Chow A, Huggins M, Ahmed J, et al. CD169⁺ macrophages provide a niche promoting erythropoiesis under homeostasis and stress. *Nat Med*, 2013, 19: 429–436
- 41 Barker J E. SI/Sld hematopoietic progenitors are deficient *in situ*. *Exp Hematol*, 1994, 22: 174–177
- 42 Ogawa M, Matsuzaki Y, Nishikawa S, et al. Expression and function of c-kit in hemopoietic progenitor cells. *J Exp Med*, 1991, 174: 63–71
- 43 Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, et al. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXCL12 chemokine PBSF/SDF-1. *Nature*, 1996, 382: 635–638
- 44 Kimura S, Roberts A W, Metcalf D, et al. Hematopoietic stem cell deficiencies in mice lacking c-Mpl, the receptor for thrombopoietin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 1195–1200
- 45 Qian H, Buza-Vidas N, Hyland C D, et al. Critical role of thrombopoietin in maintaining adult quiescent hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2007, 1: 671–684
- 46 Liu F, Woitge H W, Braut A, et al. Expression and activity of osteoblast-targeted Cre recombinase transgenes in murine skeletal tissues. *Int J Dev Biol*, 2004, 48: 645–653
- 47 Maes C, Kobayashi T, Selig M K, et al. Osteoblast precursors, but not mature osteoblasts, move into developing and fractured bones along with invading blood vessels. *Dev Cell*, 2010, 19: 329–344
- 48 Koni P A, Joshi S K, Temann U A, et al. Conditional vascular cell adhesion molecule 1 deletion in mice. *J Exp Med*, 2001, 193: 741–754
- 49 Sorensen I, Adams R H, Gossler A. DLL1-mediated Notch activation regulates endothelial identity in mouse fetal arteries. *Blood*, 2009, 113: 5680–5688
- 50 Chen M J, Yokomizo T, Zeigler B M, et al. Runx1 is required for the endothelial to haematopoietic cell transition but not thereafter. *Nature*, 2009, 457: 887–891
- 51 Tronche F, Kellendonk C, Kretz O, et al. Disruption of the glucocorticoid receptor gene in the nervous system results in reduced anxiety. *Nat Genet*, 1999, 23: 99–103
- 52 Balordi F, Fishell G. Hedgehog signaling in the subventricular zone is required for both the maintenance of stem cells and the migration of newborn neurons. *J Neurosci*, 2007, 27: 5936–5947
- 53 DeFalco J, Tomishima M, Liu H, et al. Virus-assisted mapping of neural inputs to a feeding center in the hypothalamus. *Science*, 2001, 291: 2608–2613
- 54 Logan M, Martin J F, Nagy A, et al. Expression of Cre recombinase in the developing mouse limb bud driven by aPrx1 enhancer. *genesis*, 2002, 33: 77–80
- 55 Liu Y, Strecker S, Wang L, et al. Osterix-cre labeled progenitor cells contribute to the formation and maintenance of the bone marrow stroma. *PLoS ONE*, 2013, 8: e71318
- 56 Kuhn R, Schwenk F, Aguet M, et al. Inducible gene targeting in mice. *Science*, 1995, 269: 1427–1429
- 57 Zhu C C, Boone J Q, Jensen P A, et al. *Drosophila* Activin- and the Activin-like product Dawdle function redundantly to regulate proliferation in the larval brain. *Development*, 2008, 135: 513–521

- 58 Tiedt R, Schomber T, Hao-Shen H, et al. Pf4-Cre transgenic mice allow the generation of lineage-restricted gene knockouts for studying megakaryocyte and platelet function *in vivo*. [Blood](#), 2007, 109: 1503–1506
- 59 de Boer J, Williams A, Skavdis G, et al. Transgenic mice with hematopoietic and lymphoid specific expression of Cre. [Eur J Immunol](#), 2003, 33: 314–325
- 60 Wolf N S. Dissecting the hematopoietic microenvironment. III. Evidence for a positive short range stimulus for cellular proliferation. *Cell Tissue Kinet*, 1978, 11: 335–345
- 61 McDermott D H, Gao J L, Liu Q, et al. Chromothriptic cure of WHIM syndrome. [Cell](#), 2015, 160: 686–699
- 62 Lai C Y, Yamazaki S, Okabe M, et al. Stage-specific roles for Cxcr4 signaling in murine hematopoietic stem/progenitor cells in the process of bone marrow repopulation. [Stem Cells](#), 2014, 32: 1929–1942
- 63 Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, et al. Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. [Cell Stem Cell](#), 2007, 1: 685–697
- 64 de Sauvage F J, Hass P E, Spencer S D, et al. Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. [Nature](#), 1994, 369: 533–538
- 65 Sungaran R, Markovic B, Chong B H. Localization and regulation of thrombopoietin mRNA expression in human kidney, liver, bone marrow, and spleen using *in situ* hybridization. *Blood*, 1997, 89: 101–107
- 66 Zhou B O, Ding L, Morrison S J. Hematopoietic stem and progenitor cells regulate the regeneration of their niche by secreting Angiopoietin-1. [eLife](#), 2015, 4: e05521
- 67 Goncalves K A, Silberstein L, Li S, et al. Angiogenin promotes hematopoietic regeneration by dichotomously regulating quiescence of stem and progenitor cells. [Cell](#), 2016, 166: 894–906
- 68 Zheng J, Huynh H D, Umikawa M, et al. Angiopoietin-like protein 3 supports the activity of hematopoietic stem cells in the bone marrow niche. [Blood](#), 2011, 117: 470–479
- 69 Zhao M, Ross J T, Itkin T, et al. FGF signaling facilitates postinjury recovery of mouse hematopoietic system. [Blood](#), 2012, 120: 1831–1842
- 70 Itkin T, Ludin A, Gradus B, et al. FGF-2 expands murine hematopoietic stem and progenitor cells via proliferation of stromal cells, c-Kit activation, and CXCL12 down-regulation. [Blood](#), 2012, 120: 1843–1855
- 71 Johns J L, Borjesson D L. Downregulation of CXCL12 signaling and altered hematopoietic stem and progenitor cell trafficking in a murine model of acute *Anaplasma phagocytophilum* infection. [Innate Immun](#), 2012, 18: 418–428
- 72 Bernad A, Kopf M, Kulbacki R, et al. Interleukin-6 is required *in vivo* for the regulation of stem cells and committed progenitors of the hematopoietic system. [Immunity](#), 1994, 1: 725–731
- 73 Varnum-Finney B, Halasz L M, Sun M, et al. Notch2 governs the rate of generation of mouse long- and short-term repopulating stem cells. [J Clin Invest](#), 2011, 121: 1207–1216
- 74 Stier S, Ko Y, Forkert R, et al. Osteopontin is a hematopoietic stem cell niche component that negatively regulates stem cell pool size. [J Exp Med](#), 2005, 201: 1781–1791
- 75 Himburg H A, Yan X, Doan P L, et al. Pleiotrophin mediates hematopoietic regeneration via activation of RAS. [J Clin Invest](#), 2014, 124: 4753–4758
- 76 Goldman D C, Bailey A S, Pfaffle D L, et al. BMP4 regulates the hematopoietic stem cell niche. [Blood](#), 2009, 114: 4393–4401
- 77 Singbrant S, Karlsson G, Ehinger M, et al. Canonical BMP signaling is dispensable for hematopoietic stem cell function in both adult and fetal liver hematopoiesis, but essential to preserve colon architecture. [Blood](#), 2010, 115: 4689–4698
- 78 Smith-Berdan S, Nguyen A, Hassanein D, et al. Robo4 cooperates with Cxcr4 to specify hematopoietic stem cell localization to bone marrow niches. [Cell Stem Cell](#), 2011, 8: 72–83
- 79 Sugimura R, He X C, Venkatraman A, et al. Noncanonical Wnt signaling maintains hematopoietic stem cells in the niche. [Cell](#), 2012, 150: 351–365
- 80 Lefrancais E, Ortiz-Muñoz G, Caudrillier A, et al. The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. [Nature](#), 2017, 544: 105–109
- 81 Inra C N, Zhou B O, Acar M, et al. A perisinusoidal niche for extramedullary haematopoiesis in the spleen. [Nature](#), 2015, 527: 466–471
- 82 Cheng H, Cheng T. ‘Waterloo’. [Curr Opin Hematol](#), 2016, 23: 304–310
- 83 宫跃敏, 程涛. 白血微环境对正常造血的影响. *中华血液学杂志*, 2015, 36: 74–77
- 84 Hoggatt J, Kfoury Y, Scadden D T. Hematopoietic stem cell niche in health and disease. [Annu Rev Pathol Mech Dis](#), 2016, 11: 555–581
- 85 Walkley C R, Olsen G H, Dworkin S, et al. A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor γ deficiency. [Cell](#), 2007, 129: 1097–1110

- 86 Walkley C R, Shea J M, Sims N A, et al. Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. *Cell*, 2007, 129: 1081–1095
- 87 Kim Y W, Koo B K, Jeong H W, et al. Defective Notch activation in microenvironment leads to myeloproliferative disease. *Blood*, 2008, 112: 4628–4638
- 88 Raaijmakers M H G P, Mukherjee S, Guo S, et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia. *Nature*, 2010, 464: 852–857
- 89 Kode A, Manavalan J S, Mosialou I, et al. Leukaemogenesis induced by an activating β -catenin mutation in osteoblasts. *Nature*, 2014, 506: 240–244
- 90 Dong L, Yu W M, Zheng H, et al. Leukaemogenic effects of Ptpn11 activating mutations in the stem cell microenvironment. *Nature*, 2016, 539: 304–308
- 91 Sipkins D A, Wei X, Wu J W, et al. *In vivo* imaging of specialized bone marrow endothelial microdomains for tumour engraftment. *Nature*, 2005, 435: 969–973
- 92 Colmone A, Amorim M, Pontier A L, et al. Leukemic cells create bone marrow niches that disrupt the behavior of normal hematopoietic progenitor cells. *Science*, 2008, 322: 1861–1865
- 93 Schmidt T, Kharabi Masouleh B, Loges S, et al. Loss or inhibition of stromal-derived PIGF prolongs survival of mice with imatinib-resistant Bcr-Abl1⁺ leukemia. *Cancer Cell*, 2011, 19: 740–753
- 94 Schepers K, Pietras E M, Reynaud D, et al. Myeloproliferative neoplasia remodels the endosteal bone marrow niche into a self-reinforcing leukemic niche. *Cell Stem Cell*, 2013, 13: 285–299
- 95 Lim M, Pang Y, Ma S, et al. Altered mesenchymal niche cells impede generation of normal hematopoietic progenitor cells in leukemic bone marrow. *Leukemia*, 2016, 30: 154–162
- 96 Chen S Y, Yang X, Feng W L, et al. Organ-specific microenvironment modifies diverse functional and phenotypic characteristics of leukemia-associated macrophages in mouse T cell acute lymphoblastic leukemia. *J Immunol*, 2015, 194: 2919–2929
- 97 Hanoun M, Zhang D, Mizoguchi T, et al. Acute myelogenous leukemia-induced sympathetic neuropathy promotes malignancy in an altered hematopoietic stem cell niche. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 365–375
- 98 Hu X, Shen H, Tian C, et al. Kinetics of normal hematopoietic stem and progenitor cells in a Notch1-induced leukemia model. *Blood*, 2009, 114: 3783–3792
- 99 Cheng H, Hao S, Liu Y, et al. Leukemic marrow infiltration reveals a novel role for Egr3 as a potent inhibitor of normal hematopoietic stem cell proliferation. *Blood*, 2015, 126: 1302–1313
- 100 Miraki-Moud F, Anjos-Afonso F, Hodby K A, et al. Acute myeloid leukemia does not deplete normal hematopoietic stem cells but induces cytopenias by impeding their differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 13576–13581
- 101 Tian C, Zheng G, Cao Z, et al. Hes1 mediates the different responses of hematopoietic stem and progenitor cells to T cell leukemic environment. *Cell Cycle*, 2013, 12: 322–331
- 102 Pitt L A, Tikhonova A N, Hu H, et al. CXCL12-producing vascular endothelial niches control acute T cell leukemia maintenance. *Cancer Cell*, 2015, 27: 755–768

Hematopoietic stem cell niches

CHENG Hui & CHENG Tao

State Key Laboratory of Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Hematopoietic stem cells (HSC) reside at the apex of the hematopoietic hierarchy, with self-renewal and differentiation potential, and are widely used in clinic. Studies in the past few decades have confirmed that the functional characteristics of HSC are not only controlled by intrinsic factors, but also supported and nourished by extrinsic environment (or niche). In recent years, advances in imaging and genetic tools have rapidly increased our understanding of HSC niches. Here, we provide an overview on recent progress in the field of hematopoietic microenvironment.

hematopoietic stem cells, niche, disease

doi: [10.1360/N052017-00273](https://doi.org/10.1360/N052017-00273)