网络出版时间: 2023-03-07 14:53:56 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20230307.1351.030.html>

◇ 综 述 ◇

血小板生成素调控机体造血免疫的研究进展

栾 皓^{1,2}, 邢 爽², 余祖胤^{1,2}

摘要 血小板生成素(TPO)是一种重要的造血生长因子,因其能促进血小板生成而得名。近年来研究发现,TPO对造血干细胞(HSC)的自我更新和增殖分化等功能具有调控作用,且随着研究的不断深入,对TPO调节免疫细胞生成的作用机制也有了新的认识。该文围绕TPO对造血干细胞功能、血小板生成、免疫细胞生成的作用及机制研究展开综述。

关键词 血小板生成素;造血干细胞;血小板生成;免疫细胞
中图分类号 R 331.23

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)03-0519-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.03.030

造血和免疫系统对放化疗、感染等损害因素反应敏感,其中对辐射高度敏感,可引起造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)衰老和凋亡、血细胞及免疫细胞数量异常等改变^[1]。造血过程经历造血干细胞分化为造血祖细胞,继而分化成定向细胞系和不同谱系的血细胞及免疫细胞,受到造血生长因子的精密调控^[2-3]。血小板生成素(thrombopoietin, TPO)是一种经典的造血生长因子,具有刺激巨核细胞增殖分裂进而生成血小板的作用^[4]。TPO及促血小板生成类药物在治疗放化疗引起的血小板减少及免疫性血小板减少症(immune thrombocytopenia, ITP)中作用显著,在造血干细胞功能及免疫细胞生成中的作用及机制也不断更新^[5-6]。该文就TPO调控机体造血免疫的机制和研究进展做一综述。

1 TPO 概述

TPO是由THPO基因编码的一种分泌蛋白,由

2023-02-23 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81202147、81773366、81573088)

作者单位:¹安徽医科大学生命科学院,合肥 230032;

²军事医学研究院辐射医学研究所,北京 100850

作者简介:栾皓,女,硕士研究生;

邢爽,女,博士,助理研究员,责任作者,E-mail:

xshuang6564@163.com

余祖胤,男,博士,研究员,博士生导师,责任作者,E-mail:

yuzy79@163.com

两个功能域组成。N端是与受体(myeloid proliferative leukemia, MPL)结合的位点,C端是与TPO半衰期的维持及分泌功能有关的糖基化结构域。TPO主要在肝脏中产生,在骨髓、肾脏、脾中也有所生成。目前TPO药物已发展至第二代,第一代TPO包括聚乙二醇化重组人巨核细胞生长和发育因子和重组人血小板生成素,后者成功在国内得到应用。TPO二代药物TPO受体激动剂(thrombopoietin receptor agonists, TPO-RA)罗米司亭(romiplostim)和艾曲波帕(eltrombopag)于2008年被美国FDA批准用于ITP的临床治疗,尽管二者与内源性TPO无同源序列,主要通过刺激TPO受体发挥作用,但作用机制与内源性TPO基本相似^[7]。TPO及TPO-RA能够刺激巨核细胞生成血小板和调节机体免疫,有效治疗免疫性血小板减少症^[8-9]。近年来因TPO能够调控造血干细胞功能,并改善亚致死剂量照射后小鼠造血干细胞数量和造血重建功能,已被推荐用于急性放射病的救治^[10]。此外,美国FDA于2021年批准罗米司亭用于急性辐射综合症的救治。

2 TPO 对造血干细胞功能的调控

造血干细胞作为造血系统的始祖,具有自我更新和多向分化的功能特性。HSC自我更新具有对称分裂和不对称分裂两种模式,受到一些转录因子和相关信号通路的调节,且与HSC静息态的维持相关。在正常生理状态下,绝大部分造血干细胞处于静息态,仅有少量细胞增殖以维持造血稳态,而应激状态下HSC会被激活发生异常增殖分化,并可能造成造血干细胞池的耗竭。在造血稳态中,HSC功能的维持依赖于细胞本身信号通路分子的内源性调控及所处造血微环境中多种成分的外源性调控。

2.1 TPO 对造血干细胞自我更新的调节作用与机制 TPO敲除小鼠的造血干细胞自我更新和增殖能力较野生型小鼠下降10~20倍,这提示TPO是一种关键的造血干细胞调节因子^[11]。TPO主要通过与其受体MPL结合后发挥作用,维持造血干细胞稳

态及增殖,一方面既能够维持造血干细胞处于静止状态,另一方面又可在病理状态下驱动静息期的造血干细胞分裂和扩增。淋巴细胞适配蛋白(lymphocyte adaptor protein, LNK)在 TPO/MPL 信号通路中主要发挥负向调节作用。研究^[12]发现, LNK 缺失可促进 TPO 激活 JAK2 后活化 STAT5 和 AKT,下调 p38MAPK 的表达,维持 HSC 自我更新和增殖。此外,蛋白组学研究发现, LNK 相关去泛素化酶复合体 Birc36 也可通过对 JAK2 去泛素化作用负向调节 TPO/MPL 信号。

TPO 还可影响骨髓微环境的成分及低氧状态,通过外源性方式调控造血干细胞自我更新。研究^[13]发现,骨髓微环境中的成骨细胞可分泌产生 TPO,与表达 TPO 受体 MPL 的长期造血干细胞结合后上调 HSC 中 $\beta 1$ 整合素和周期蛋白激酶抑制剂的表达,进而调控 HSC 的自我更新能力。

2.2 TPO 对造血干细胞自我维持的调节作用与机制 造血干细胞静息态的维持与细胞周期调控密切相关。TPO 可以通过抑制 HSCs 向 G1 期的细胞周期转变,使成体造血干细胞处于静息状态。研究^[11]发现, TPO 敲除小鼠会出现细胞周期抑制分子 p57^{Kip2}、p19^{INK4d} 以及 Hox 家族中 Hoxb4 等表达降低, BrdU + HSC 增多,静息期 HSC 显著降低。Jia et al^[14]证明 TPO/MPL 信号激活后可诱导半乳糖凝集素 3 (galectin-3, Gal-3) 上调,与 Sp1 形成复合物调节 p21 转录表达增加导致 HSC 细胞周期延迟,维持造血干细胞静息状态。

HSC 静息态的维持也受到 HSC 微环境成分的影响, O'Neill et al^[15]发现, TPO 主要通过调节骨髓中巨核细胞来源的趋化因子血小板因子 4 的生成维持静息态造血干祖细胞数量,进而调节具有巨核细胞分化潜能的造血细胞及随后的巨核细胞分化和成熟。除此之外,也有研究^[13, 16]发现 TPO 还可上调骨髓中 HSC 微环境黏附因子相关信号($\beta 1$ -整合素)以及转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 的产生来维持 HSC 静止状态。

2.3 TPO 对造血干细胞多向分化的调节作用与机制 在早期造血调控中, TPO 能够同时直接作用于髓系和淋巴系偏倚的造血干细胞。Giannini et al^[13]发现 TPO 增强巨核细胞谱系分化中 $\beta 4$ GalT1 的表达,改善血小板生成受损,维持造血干细胞稳态。有研究^[17]证明 TPO 能通过诱导 STAT3 磷酸化发生线

粒体易位,进而迅速上调 HSCs 中线粒体的活性。高浓度线粒体活性的造血干细胞可在体外表现 MK 系分化,在体内表现出偏向髓系分化的重建。Chen et al^[18]发现, STAT3 诱导的 TPO 转录和巨核细胞生成与机体内 IL-6 引发的自分泌效应有关。也有研究^[19]指出相较于其他 TPO-RA,艾曲波帕特有的抑制 TET 双加氧酶活性作用可以显著抑制造血干祖细胞的增殖和髓系偏向。

2.4 TPO 对应激状态下造血干细胞的调节作用与机制 造血干细胞在应激状态下(如化疗、辐射损伤、感染等)会发生 DNA 损伤并引起基因组的不稳定性。TPO 能够促进 HSC 的 DNA 损伤修复以确保 HSC 染色体的完整性和正常功能,主要通过增加 DNA-蛋白激酶(DNA-PK)磷酸化和非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)修复效率及保真度促进 DNA 双链断裂(double strand break, DSB)修复发挥作用^[20]。TPO 促进 DSB 修复作用依赖于 Erk 和 NF- κ B 信号通路,二者协同激活 DNA 损伤时的早期应激反应基因靶点 Iex-1 (Ier3),进而诱导 DNA-PK 表达,增强 NHEJ 修复。研究^[21]证明 TPO 也可以促进造血干细胞干扰素样抗病毒基因反应抑制逆转录因子的活性,维持造血干细胞基因组稳定。

3 TPO 对血小板生成的调控

造血干祖细胞经过分化成熟为巨核细胞(megakaryocytes, MK),并在各种细胞因子的作用下最终生成血小板。TPO 参与了几乎血小板生成和释放的所有阶段,在机体血小板减少或急性骨髓抑制时,骨髓造血细胞迅速反应,血浆中 TPO 水平升高,对造血干细胞进行反馈调节,补充生成外周血小板;反之, TPO 与循环血小板或骨髓巨核细胞上 MPL 受体结合,血浆 TPO 水平降低。同时,机体内 TPO 水平可以反映巨核细胞增加的比例并刺激血小板特异性标志物的表达。Morcos et al^[22]通过对 HSC 生理分化的通量分析,解释了血小板生成时的两种途径。一种是通过多能祖细胞和 CD48^{hi} 巨核祖细胞的长途径,另一种是从 HSC 直接发育到不同 CD48^{-/lo} 巨核祖细胞的短途径。该研究中,增强的 TPO 信号可通过引导 CD201^{-/lo} Sca-1^{lo} HSCs 进入直接血小板生成途径即短途径来增加血小板的生成,使机体能尽快调整至满足血小板需求的状态。此外,机体出现异常时, TPO-MPL 信号表达降低,将导

致血小板减少进而发展为骨髓衰竭;而 JAK1/2 信号转导异常或 JAK2 V617F 突变时使 TPO-MPL 信号过度激活,前者易发生病理性骨髓增生,后者多发生骨髓纤维化及原发性血小板增多^[23]。

4 TPO 对免疫细胞生成的调控

TPO-RA 治疗 ITP 时,可产生定量和定性的免疫调节作用。TPO-RA 可诱导血小板来源的 TGF- β 水平升高,促进初始 Th 细胞向免疫调节 Treg 细胞极化,同时抑制 T 细胞对血小板自身抗原的反应。多项研究还证明了 TPO-RA 可增加脾微环境中调节性 T 细胞的数量,调节机体免疫功能,但脾微环境的改变是否与 TPO-RA 产生的 TGF- β 水平升高有关仍存在争议^[24]。研究^[25]发现 TPO 可增强表达 MPL 受体的 NK 细胞的增殖,并减少其凋亡。此外,糖蛋白 IIb/IIIa 是抗血小板抗体的主要靶标,通过与 Fc γ 受体(Fc γ R)和补体受体相互作用,刺激巨噬细胞吞噬血小板^[26-27]。TPO-RA 可增强抑制受体 Fc γ RIIb 的表达,降低激活受体 Fc γ RIIa 和 Fc γ RI 的表达,减轻 Fc γ R 介导的单核细胞活化。Paola et al^[28]提出了一种新的作用机制,TPO-RA 可通过促进巨噬细胞表型向抗炎型 M2 转变,以减轻机体炎症状态并恢复免疫功能。综上,TPO 对机体免疫细胞生成的调控主要通过增加脾调节性 T 细胞数量,增强 NK 细胞的增殖能力,抑制 T 细胞及单核细胞活性,降低单核细胞来源的巨噬细胞吞噬血小板的能力,促进巨噬细胞向 M2 抗炎亚型极化来实现。

5 展望

综上所述,TPO 与机体造血免疫状态密切相关,包括对造血干细胞功能、血小板生成、免疫细胞生成的调控。TPO 与其受体 MPL 结合后能够通过不同的作用机制维持机体造血免疫稳态。但目前仍有一些问题需要探讨:TPO 对生理和病理条件下的造血干细胞衰老有无作用;给予外源 TPO 后对机体远期造血免疫的影响;TPO 调控的各类免疫细胞间有无相互影响等。多角度深入研究 TPO 对机体造血免疫的调控机制至关重要,将有助于阐明相关血液疾病和损伤的发生机制,并可为 TPO 类药物的研发和应用提供支撑。

参考文献

[1] Henry E, Arcangeli M L. How hematopoietic stem cells respond to

irradiation: similarities and differences between low and high doses of ionizing radiations[J]. *Exp Hematol*, 2021, 94: 11-9.

- [2] Pazhakh V, Lieschke G J. Hematopoietic growth factors: the scenario in zebrafish[J]. *Growth Factors*, 2018, 36(5-6): 196-212.
- [3] Cheng H, Zheng Z, Cheng T. New paradigms on hematopoietic stem cell differentiation[J]. *Protein Cell*, 2020, 11(1): 34-44.
- [4] Liang C, Takahashi K, Furuya K, et al. Dualistic role of platelets in living donor liver transplantation: Are they harmful? [J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(9): 897-908
- [5] Wang W, Gu X, Shao L, et al. The clinical efficacy and economic benefits of recombinant human thrombopoietin for the treatment of chemotherapy or chemoradiotherapy-induced thrombocytopenia [J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2022, 2022(1): 2256690-7.
- [6] Yang F, Zong H, Li F, et al. Eltrombopag modulates the phenotypic evolution and potential immunomodulatory roles of monocytes/macrophages in immune thrombocytopenia [J]. *Platelets*, 2023, 34(1): 2135694-702.
- [7] Zhu Q, Yang S, Zeng W, et al. A real-world observation of eltrombopag and recombinant human thrombopoietin (rhTPO) in lymphoma patients with chemotherapy induced thrombocytopenia [J]. *Front Oncol*, 2021, 11(1): 701539-46.
- [8] Audia S, Mahevas M, Nivet M, et al. Immune thrombocytopenia: recent advances in pathogenesis and treatments[J]. *Hemasphere*, 2021, 5(6): 574-83.
- [9] Vianelli N, Auteri G, Buccisano F, et al. Refractory primary immune thrombocytopenia (ITP): current clinical challenges and therapeutic perspectives[J]. *Ann Hematol*, 2022, 101(5): 963-78.
- [10] 徐双年,王钰,宫蓄.核辐射损伤造血重建策略专家共识[J].*第三军医大学学报*,2021,43(02):175-82.
- [11] Nakamura-ishizu A, Suda T. Multifaceted roles of thrombopoietin in hematopoietic stem cell regulation [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2020, 1466(1): 51-8.
- [12] Donaghy R, Han X, Rozenova K, et al. The BRISC deubiquitinating enzyme complex limits hematopoietic stem cell expansion by regulating JAK2 K63-ubiquitination [J]. *Blood*, 2019, 133(14): 1560-71.
- [13] Giannini S, Lee-Sundlov M M, Rivadeneyra L, et al. β 4GALT1 controls β 1 integrin function to govern thrombopoiesis and hematopoietic stem cell homeostasis [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 356-71.
- [14] Jia W, Kong L, Kidoya H, et al. Indispensable role of Galectin-3 in promoting quiescence of hematopoietic stem cells [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2118-35.
- [15] O'Neill A, Chin D, Tan D, et al. Thrombopoietin maintains cell numbers of hematopoietic stem and progenitor cells with megakaryopoietic potential [J]. *Haematologica*, 2021, 106(7):

- 1883–91.
- [16] Gostynska S, Venkatesan T, Subramani K, et al. Megakaryocyte/platelet-derived TGF- β 1 inhibits megakaryopoiesis in bone marrow by regulating thrombopoietin production in liver[J]. *Blood Adv*, 2022, 6(11): 3321–8.
- [17] Nakamura-ishizu A, Chin D W L, Matsumura T, et al. Prolonged maintenance of he-matopoietic stem cells that escape from thrombopoietin deprivation[J]. *Blood*, 2021, 137(19): 2609–20.
- [18] Chen X, Wang C, Sun N, et al. Aurka loss in CD19 + B cells promotes megakary-ocytopenia *via* IL-6/STAT3 signaling-mediated thrombopoietin production[J]. *Theranostics*, 2021, 11(10): 4655–71.
- [19] Guan Y, Hasipek M, Jiang D, et al. Eltrombopag inhibits TET dioxygenase to contribute to hematopoietic stem cell expansion in aplastic anemia[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(4): 149856–69.
- [20] Xing S, Shen X, Yang J K, et al. Single-dose administration of recombinant human thrombopoietin mitigates total body irradiation-induced hematopoietic system injury in mice and nonhuman primates[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2020, 108(5): 1357–67.
- [21] Barbieri D, Elvira-Matlot E, Pelinski Y, et al. Thrombopoietin protects hematopoietic stem cells from retrotransposon-mediated damage by promoting an antiviral response [J]. *J Exp Med*, 2018, 215(5): 1463–80.
- [22] Morcos M N F, Li C, Munz C M, et al. Fate mapping of hematopoietic stem cells reveals two pathways of native thrombopoiesis [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 4504–17.
- [23] Roskoski R Jr. Janus kinase (JAK) inhibitors in the treatment of neoplastic and inflammatory disorders[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 183(1): 106362–78.
- [24] Kapur R. Regulatory T cells are replenished in the splenic micro-environment of patients with immune thrombocytopenia by treatment with thrombopoietin receptor agonists [J]. *Br J Haematol*, 2022, 198(5): 803–4.
- [25] Chanswangphuwana C, Allan D S J, Chakraborty M, et al. Augmentation of NK cell proliferation and anti-tumor immunity by transgenic expression of receptors for EPO or TPO[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(1): 47–59.
- [26] 张小侠, 曾庆曙, 李庆生, 等. 流式微球芯片俘获技术对免疫性血小板减少症患者抗体的检测及临床意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(2): 311–5.
- [27] 赵冀霄, 左斌, 阮长耿, 等. 高通量法测定血小板自身抗体的含量及临床意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(12): 1955–8.
- [28] Di Paola A, Palumbo G, Merli P, et al. Effects of eltrombopag on *in vitro* macrophage polarization in pediatric Immune thrombocytopenia[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1): 97–109.

(上接第 518 页)

rate among the three groups, there was no significant difference between the atomization group and the bronchoalveolar lavage group ($P > 0.05$), which were both lower than that of the combined treatment group ($P < 0.05$); the difference in the improvement rate of lung imaging among the three groups was statistically significant ($P < 0.05$), the combined treatment group was the highest, and the BAL group was higher than the atomization group; There was no significant difference in the duration of fever and pulmonary rales between the combined treatment group and the BAL group ($P > 0.05$), which were shorter than those in the atomization group ($P < 0.05$); There was no significant difference in duration of cough, shortness of breath and hospital stay between the atomization group and the BAL group ($P > 0.05$), which were longer than those in the combined treatment group ($P > 0.05$). There was no serious adverse reactions in the three groups. There was no significant difference in the three groups ($P > 0.05$).

Conclusion Compared with single treatment, N-acetylcysteine solution combined with bronchoalveolar lavage is more effective and has more advantages in the treatment of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children.

Key words acetylcysteine; *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia; children; bronchoalveolar lavage