

# 原发性骨髓纤维化和骨髓增生异常综合征伴骨髓纤维化患者纤维驱动细胞的研究

蔡亚楠 张培红 方立环 刘晋琴 李冰 徐泽锋 秦铁军 肖志坚

中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),实验血液学国家重点实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,天津 300020

通信作者:肖志坚,Email:zjxiao@ihcams.ac.cn

**【摘要】** 目的 比较原发性骨髓纤维化(PMF)和骨髓增生异常综合征伴骨髓纤维化(MDS-MF)患者纤维驱动细胞的差异。方法 随机选取MF-0/1、MF-2和MF-3级的初诊PMF和MDS患者各10例,骨髓活检组织切片利用特异性免疫荧光抗体标记Gli1、LeptinR、平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、CD45和Procollagen I,共聚焦显微镜成像后利用Fiji-ImageJ软件计数Gli1<sup>+</sup>、LeptinR<sup>+</sup>细胞及 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup>和Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>等纤维驱动细胞。结果 MF-2/3级PMF和MDS患者LeptinR<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>和Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>等细胞计数均显著高于MF-0/1级患者( $P < 0.05$ )。但MF-2/3级PMF患者Gli1<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup>细胞计数显著高于MF-0/1级PMF患者( $P$ 值分别为0.001、0.006),而MDS患者中两组患者两群细胞计数差异无统计学意义( $P$ 值分别为0.169、0.067)。MF-0/1级患者中,PMF与MDS患者所有纤维驱动细胞计数相比差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。但MF-2/3级患者中,PMF患者Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>计数显著高于MDS患者( $P = 0.007$ ),其他纤维驱动细胞计数相比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。MF分级及纤维驱动细胞计数与PMF和MDS患者总生存时间无相关性。结论 PMF患者 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞来源于Gli1<sup>+</sup>和LeptinR<sup>+</sup>细胞,而MDS-MF患者 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞仅来源于Gli1<sup>+</sup>细胞;PMF患者Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>细胞计数显著高于MDS-MF患者。

**【关键词】** 原发性骨髓纤维化; 骨髓增生异常综合征伴骨髓纤维化; 纤维驱动细胞

**基金项目:**国家自然科学基金(81530008、81770129);天津市自然科学基金(18JCZDJC34900、19JCQNJC09400);北京协和医学院“中央高校基本科研业务费”项目(3332019093);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-1-001)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.12.006

## Fibrosis-driving cells in patients with primary myelofibrosis and myelodysplastic syndromes with myelofibrosis

Cai Yanan, Zhang Peihong, Fang Lihuan, Liu Jinqin, Li Bing, Xu Zefeng, Qin Tiejun, Xiao Zhijian

State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Xiao Zhijian, Email: zjxiao@ihcams.ac.cn

**【Abstract】 Objective** To compare fibrosis-driving cells in patients with primary myelofibrosis (PMF) and patients with myelodysplastic syndromes (MDS) with myelofibrosis (MF) (MDS-MF). **Methods** Bone marrow biopsy sections of patients with newly diagnosed PMF and MDS (10 each randomly selected for MF-0/1, MF-2, and MF-3) were stained with specific immunofluorescence antibodies to label Gli1, LeptinR, alpha smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA), CD45, and Procollagen I. Images captured by confocal microscopy were analyzed by Fiji-ImageJ to calculate the cell counts of Gli1<sup>+</sup>, LeptinR<sup>+</sup> cells, and fibrosis-driving cells including  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>,  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>,  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup>, and Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> cells. **Results** Patients with PMF and MDS with MF-2/3 had higher LeptinR<sup>+</sup>,  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>,  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>, and Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> cell counts compared with those with MF-0/1 (all  $P$  values  $< 0.05$ ). However, patients with PMF with MF-2/3 presented with higher Gli1<sup>+</sup> and  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup> cell counts than those with MF-0/1 ( $P = 0.001$  and  $0.006$ ), whereas these cells were similar

between patients with MDS with MF-0/1 and MF-2/3 ( $P = 0.169$  and  $0.067$ ). In patients with MF-0/1, all fibrosis-driving cells did not differ between PMF and MDS (all  $P > 0.05$ ). However, in patients with MF-2/3, Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> cell counts were higher in patients with PMF compared with those with MDS ( $P = 0.007$ ), while other fibrosis-driving cell counts were similar between these two groups (all  $P > 0.05$ ). MF grade and fibrosis-driving cell counts were not correlated with overall survival in patients with either PMF or MDS. **Conclusion**  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> cells in patients with PMF originated from both Gli1<sup>+</sup> and LeptinR<sup>+</sup> cells, whereas  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> cells in patients with MDS-MF only originated from Gli1<sup>+</sup> cells; patients with PMF had higher Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> cell counts than those with MDS-MF.

**【Key words】** Primary myelofibrosis; Myelodysplastic syndromes with myelofibrosis; Fibrosis-driving cells

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81530008, 81770129); Tianjin Natural Science Funds (18JCZDJC34900, 19JCQNJC09400); PUMC Youth Fund and Fundamental Research Funds for the Central Universities (3332019093); Chinese Academy of Medical Sciences Initiative Fund for Medical Sciences (2016-I2M-1-001)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.12.006

骨髓纤维化(MF)常见于骨髓增殖性肿瘤(MPN)中的原发性骨髓纤维化(PMF),或继发于真性红细胞增多症(post-PV MF)和原发性血小板增多症(post-ET MF)。此外,约16%的原发性骨髓增生异常综合征(MDS)患者伴有MF改变(MDS-MF)<sup>[1]</sup>。早期研究证实PMF患者骨髓中纤维增多主要是克隆性异常增生的巨核细胞 $\alpha$ 颗粒分泌释放转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )、血小板衍生生长因子(PDGF)等刺激多克隆纤维母细胞反应性高度增生的结果<sup>[2-4]</sup>。近期研究发现,骨髓纤维驱动细胞主要来源于间充质干细胞(MSC)和单核细胞<sup>[5-7]</sup>。我们对PMF和MDS-MF患者的骨髓纤维驱动细胞进行初步研究,报道如下。

## 病例与方法

1. 研究对象:随机选取2016年4月至2019年5月在我院MDS诊疗中心确诊的30例初诊PMF患者(MF-0/1、MF-2、MF-3级各10例)和30例初诊MDS患者(MF-0/1、MF-2、MF-3级各10例)纳入研究(表1)。所有患者均保存有取材于髂后上棘的骨髓活检标本且取材满意(长度 $\geq 15$  mm,直径 $\geq 2$  mm)。骨髓活检组织切片按WHO(2016)诊断标准<sup>[8]</sup>进行重新评估。骨髓纤维化按欧洲骨髓纤维化分级标准<sup>[9]</sup>,分为MF 0、1、2、3级。

2. 骨髓活检组织切片的免疫荧光染色:调取病理组织库中初诊患者石蜡包埋的骨髓活检组织。每例连续切取8张骨髓活检组织切片,切片厚度约4  $\mu$ m。4张切片用于标记Gli1、LeptinR和平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA),另4张切片用于标记CD45和Procollagen I。3张切片一抗孵育后加入二抗染色

表1 PMF和MDS患者临床和实验室特征

临床指标	PMF(30例)	MDS(30例)
年龄[岁, M(范围)]	51.5(14~71)	56.5(22~75)
男性[例(%)]	13(43.3)	20(66.7)
骨髓原始细胞[% , M(范围)]	0.5(0~5.0)	5.2(0~17.5)
HGB[g/L, M(范围)]	107(60~165)	78(36~133)
WBC[ $\times 10^9/L$ , M(范围)]	5.99(1.73~47.60)	2.52(1.10~6.64)
ANC[ $\times 10^9/L$ , M(范围)]	4.23(0.98~17.32)	0.95(0.17~2.92)
PLT[ $\times 10^9/L$ , M(范围)]	227.5(10~1698)	60.5(10~397)
查体可触及脾肿大[例(%)]	14(46.7)	4(13.3)

注:PMF:原发性骨髓纤维化;MDS:骨髓增生异常综合征;ANC:中性粒细胞绝对计数

标记作为实验组,第4张切片仅加入二抗染色标记作为对照组以调整背景荧光。染色按试剂说明书进行。染色步骤简述如下:①石蜡切片脱蜡、水化后以0.01 mmol/L柠檬酸修复液(pH 6.0)微波加热至沸腾进行抗原修复;②PBS洗涤、破膜、10%血清封闭后加入特异性一抗孵育,4  $^{\circ}$ C过夜,PBST洗涤后加入荧光标记的二抗室温孵育1 h,PBST洗涤2 h,DAPI室温复染30 min后加入组织自发荧光淬灭剂室温孵育45 min;③ddH<sub>2</sub>O洗涤后封片剂封固。

3. 纤维驱动细胞计数:选取以下纤维驱动细胞:①肌纤维母细胞( $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>)及起源于Gli1<sup>+</sup> MSC<sup>[5]</sup>或LeptinR<sup>+</sup> MSC<sup>[6]</sup>的 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞亚群( $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>或 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup>);②成纤维细胞(Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>)<sup>[7]</sup>。Perkin Elmer共聚焦显微镜200倍视野下随机选取多个视野并拍照。从采集视野中随机选取30个视野,Volocity软件导出图片。利用Fiji-ImageJ软件将导出图片作高斯模糊处理,图片二值化后行Gli1<sup>+</sup>、LeptinR<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/

Gli1<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup>细胞及 Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>成纤维细胞计数。

4. 随访:随访资料来源于病历记录及电话联系资料。所有病例随访至 2019 年 11 月 30 日,总生存(OS)期按确诊至死亡的时间或随访截止日期计算。

5. 统计学处理:符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,不符合正态分布的计量资料以中位数表示。两组间计量资料的比较根据数据正态性采用 *t* 检验或 Mann-Whitney *U* 检验。连续性变量生存分析界值由 R 包 survminer 确定。生存分析采用 Kaplan-Meier 法分析,以 Log-rank 检验进行比较。应用 SPSS22.0 软件进行数据分析,双侧检验 *P* <

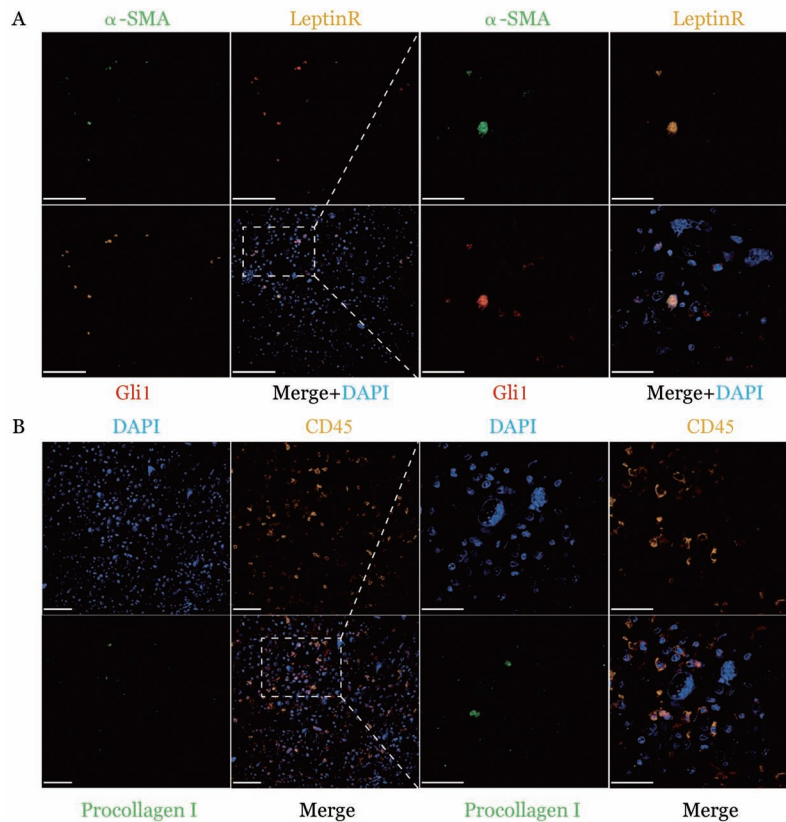
0.05 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. PMF 患者纤维驱动细胞计数与纤维化程度的关系:MF-0/1 和 MF-2/3 级 PMF 患者纤维驱动细胞计数比较见表 2。在 PMF 患者中, MF-2/3 级患者 Gli1<sup>+</sup>、LeptinR<sup>+</sup> 细胞及  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup> 和 Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> 细胞(图 1)等纤维驱动细胞计数显著高于 MF-0/1 级患者。在部分  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> 细胞中可观察到 Gli1 和 LeptinR 共表达(图 1A)。进一步分析表明, MF-2/3 级 PMF 患者  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup> 或 LeptinR<sup>+</sup> 细胞计数显著低于  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>

表 2 MF-0/1 和 MF-2/3 级原发性骨髓纤维化患者纤维驱动细胞计数比较(个/30 视野)

纤维驱动细胞	MF-0/1(10 例)	MF-2/3(20 例)	<i>P</i> 值
Gli1 <sup>+</sup> 细胞[ <i>M</i> (范围)]	67.5(0 ~ 233)	270(39 ~ 829)	0.001
LeptinR <sup>+</sup> 细胞[ <i>M</i> (范围)]	12.5(0 ~ 52)	54(7 ~ 157)	<0.001
$\alpha$ -SMA <sup>+</sup> 细胞( $\bar{x} \pm s$ )	34.9 $\pm$ 26.05	105.2 $\pm$ 65.33	0.003
$\alpha$ -SMA <sup>+</sup> /Gli1 <sup>+</sup> 细胞[ <i>M</i> (范围)]	1(0 ~ 20)	17(1 ~ 65)	0.002
$\alpha$ -SMA <sup>+</sup> /LeptinR <sup>+</sup> 细胞[ <i>M</i> (范围)]	2(0 ~ 12)	14.5(0 ~ 54)	0.006
$\alpha$ -SMA <sup>+</sup> /Gli1 <sup>+</sup> 或 LeptinR <sup>+</sup> 细胞[ <i>M</i> (范围)]	2(0 ~ 20)	21(1 ~ 71)	0.002
Procollagen I <sup>+</sup> /CD45 <sup>+</sup> 细胞( $\bar{x} \pm s$ )	11.30 $\pm$ 9.66	29.95 $\pm$ 19.22	0.001



A: Gli1、LeptinR 和  $\alpha$ -SMA 染色( $\times 200$ )和共定位( $\times 600$ ); B: CD45 和 Procollagen I 染色( $\times 200$ )和共定位( $\times 600$ )

图 1 骨髓病理切片特异性抗体免疫荧光染色后显微共聚焦成像



细胞计数[21(1~71)个/30视野对102(14~248)个/30视野,  $P < 0.001$ ]。

2. MDS患者纤维驱动细胞计数与纤维化程度的关系:MF-0/1和MF-2/3级MDS患者纤维驱动细胞计数比较见表3。MF-2/3级MDS患者LeptinR<sup>+</sup>细胞及 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>和Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>细胞等纤维驱动计数均显著高于MF-0/1级MDS患者,但两组患者Gli1<sup>+</sup>和 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup>细胞计数无显著差异。在部分 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞中可观察到Gli1和LeptinR共表达。MF-2/3级MDS患者 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>或LeptinR<sup>+</sup>细胞计数显著低于 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞计数[22(0~48)个/30视野对87(8~296)个/30视野,  $P < 0.001$ ]。

3. PMF和MDS患者纤维驱动细胞计数比较:PMF患者Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>成纤维细胞计数显著高于MDS患者[(23.73±18.73)个/30视野对(13.10±8.59)个/30视野,  $P = 0.007$ ],其余纤维驱动细胞计数差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。MF-0/1级患者中,PMF患者骨髓各纤维驱动细胞计数与MDS患者相比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。但MF-2/3级PMF患者Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>成纤维细胞计数显著高于MF-2/3级MDS患者( $P = 0.007$ ),其他纤维驱动细胞计数相比较差异均无统计学意义( $P$ 值均 $> 0.05$ )。

4. MF分级和纤维驱动细胞计数与生存分析:采用survminer程序包计算最大统计量,根据骨髓 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞计数将PMF患者分为 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞 $\leq 117$ 个/30视野组(25例)及 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞 $> 117$ 个/30视野组(5例),根据骨髓Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>成纤维细胞计数将PMF患者分为成纤维细胞 $\leq 42$ 个/30视野组(24例)及成纤维细胞 $> 42$ 个/30视野组(6例)。截至末次随访时间,30例PMF患者均存活。 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞、成纤维细胞计数及MF分级均与OS时间无关。

采用survminer程序包计算最大统计量,根据骨髓 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞计数将MDS患者分为 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞 $\leq 85$ 个/30视野组(18例)及 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞 $> 85$ 个/30视野组(12例),根据骨髓Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>成纤维细胞计数将MDS患者分为成纤维细胞 $\leq 14$ 个/30视野组(18例)及成纤维细胞 $> 14$ 个/30视野组(12例)。截至末次随访时间,30例MDS患者中死亡3例(均为MF-2/3级患者)。 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞及成纤维细胞计数均与OS时间无关( $P$ 值分别为0.453、0.777)。比较MF-0/1级与MF-2/3级MDS患者中位OS时间,差异无统计学意义(均未达到,  $P = 0.259$ )。

## 讨 论

在过去的几十年里关于骨髓纤维来源细胞一直存在争议<sup>[10]</sup>。近年在肺纤维化等脏器纤维化机制研究中发现在器官定植的血管旁MSC样细胞衍生成肌纤维母细胞(myofibroblast)参与了纤维化的进程<sup>[10]</sup>。在正常骨髓中,Gli1<sup>+</sup>MSC主要定位于骨髓骨内膜龛、窦周血管龛和动脉周围血管龛<sup>[5]</sup>。LeptinR<sup>+</sup>MSC主要定位于窦周血管龛和动脉周围血管龛<sup>[11-12]</sup>。以往研究发现PMF小鼠骨髓中Gli1<sup>+</sup>MSC和LeptinR<sup>+</sup>MSC从骨髓龛中迁移至骨髓基质,增殖并分化为表达 $\alpha$ -SMA的肌纤维母细胞,进而促进MF的发生、发展<sup>[5-6]</sup>。

Schneider等<sup>[5]</sup>在60例MPN患者骨髓活检切片中证实骨髓Gli1<sup>+</sup>MSC细胞数与MF分级呈正相关,Gli1<sup>+</sup>MSC细胞数与是否有JAK2和CALR基因突变无关。本研究中,MF-2/3级PMF患者Gli1<sup>+</sup>细胞较MF-0/1级患者显著扩增,与上述结果一致。但本研究进一步表明,除了Gli1<sup>+</sup>细胞,MF-2/3级PMF患者LeptinR<sup>+</sup>和 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞也较MF-0/1级患者显著增多,首次在患者中验证了PMF小鼠模型中的结果<sup>[5-6]</sup>。同时,MF-2/3级PMF患者骨髓中 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>和 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup>细胞亚群随MF程度增高而增多,

表3 MF-0/1和MF-2/3级骨髓增生异常综合征患者纤维驱动细胞计数比较(个/30视野)

驱动细胞	MF-0/1(10例)	MF-2/3(20例)	$P$ 值
Gli1 <sup>+</sup> 细胞[ $M$ (范围)]	183(39~730)	301(59~935)	0.169
LeptinR <sup>+</sup> 细胞[ $M$ (范围)]	26(0~95)	54(20~157)	0.006
$\alpha$ -SMA <sup>+</sup> 细胞( $\bar{x} \pm s$ )	21.60±15.91	108.60±72.48	$< 0.001$
$\alpha$ -SMA <sup>+</sup> /Gli1 <sup>+</sup> 细胞[ $M$ (范围)]	3(0~23)	15(0~47)	0.005
$\alpha$ -SMA <sup>+</sup> /LeptinR <sup>+</sup> 细胞[ $M$ (范围)]	2(0~20)	9(0~30)	0.067
$\alpha$ -SMA <sup>+</sup> /Gli1 <sup>+</sup> 或LeptinR <sup>+</sup> 细胞[ $M$ (范围)]	4(0~24)	22(0~48)	0.005
Procollagen I <sup>+</sup> /CD45 <sup>+</sup> 细胞( $\bar{x} \pm s$ )	6.90±5.13	16.20±8.35	0.003

提示PMF患者 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞来源于Gli1<sup>+</sup>和LeptinR<sup>+</sup>MSC,这也与PMF小鼠模型研究<sup>[5-6]</sup>结果一致。此外,部分Gli1<sup>+</sup>细胞同时表达LeptinR,可能是因为Gli1<sup>+</sup>细胞分化发育过程中表达LeptinR<sup>[13]</sup>。

除了 $\alpha$ -SMA细胞,Verstovsek等<sup>[7]</sup>利用免疫荧光染色技术发现PMF患者骨髓中由单核细胞分化而来的Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>成纤维细胞较正常人显著增多。本研究从临床角度进一步分析PMF患者骨髓成纤维细胞计数与MF程度的关系,发现MF-2/3级PMF患者骨髓中Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>成纤维细胞较MF-0/1级患者显著扩增,提示成纤维细胞促进了PMF患者MF进展。上述结果说明 $\alpha$ -SMA细胞及其亚群和成纤维细胞等纤维驱动细胞与PMF患者MF程度密切相关。

既往研究显示,MDS-MF发病机制与巨核细胞发育异常、TP53基因突变有关<sup>[14-15]</sup>,但纤维驱动细胞与MDS-MF关系如何尚无报道。本研究表明MF-2/3级MDS患者LeptinR<sup>+</sup>细胞较MF-0/1级MDS患者显著扩增,但两组患者Gli1<sup>+</sup>细胞计数相比较无显著差异,这与PMF患者不同。纤维驱动细胞的分析结果则表明 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>、 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>和Procollagen I<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>等细胞促进了MDS患者MF进展,但 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/LeptinR<sup>+</sup>细胞与MDS患者MF程度无关。以上结果提示MDS患者 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞仅来源于Gli1<sup>+</sup>细胞,其促进MF进展的纤维驱动细胞与PMF患者不全相同。

本研究还发现MF-2/3级PMF和MDS患者骨髓 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>/Gli1<sup>+</sup>或LeptinR<sup>+</sup>细胞计数显著低于 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞数,与文献<sup>[5-6]</sup>报道的结果一致,提示除了Gli1<sup>+</sup>或LeptinR<sup>+</sup>细胞, $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞还可能起源于其他细胞。有研究表明,在心脏纤维化、肺纤维化、肝纤维化及肾纤维化等疾病中促进纤维化进展的 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞有多种细胞来源,其中包括内皮细胞、纤维母细胞以及成纤维细胞<sup>[16]</sup>,PMF和MDS-MF患者 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞起源尚有待进一步研究。

本研究结果表明,MF-2/3级PMF患者骨髓成纤维细胞计数显著高于MF-2/3级MDS患者,但MF-0/1级PMF和MDS患者成纤维细胞计数无明显差异,进一步提示PMF和MDS患者MF发病机制不同。以往研究表明MF分级影响PMF和MDS患者生存预后<sup>[17-18]</sup>,但本研究中MF分级、纤维驱动细胞计数均与OS时间无关,可能是病例数较少的缘故,需要扩大病例数后作进一步分析。

综上,本研究结果初步表明在细胞水平上PMF

和MDS-MF发病机制存在差异。骨髓中 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞和成纤维细胞均促进PMF和MDS患者MF进展,但PMF患者骨髓 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞来源于Gli1<sup>+</sup>和LeptinR<sup>+</sup>细胞,而MDS-MF患者骨髓 $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>细胞仅来源于Gli1<sup>+</sup>细胞,且PMF患者成纤维细胞计数显著高于MDS-MF患者。这为PMF和MDS-MF发病机制的研究提供了新的线索。由于研究对象较少,上述结论需要更大规模的队列研究加以验证。

## 参考文献

- [1] Buesche G, Teoman H, Wilczak W, et al. Marrow fibrosis predicts early fatal marrow failure in patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Leukemia*, 2008, 22(2): 313-322. DOI: 10.1038/sj.leu.2405030.
- [2] Castro-Malaspina H, Jhanwar SC. Properties of myelofibrosis-derived fibroblasts [J]. *Prog Clin Biol Res*, 1984, 154: 307-322.
- [3] Le Bousse-Kerdiles MC, Martyre MC. Dual implication of fibrogenic cytokines in the pathogenesis of fibrosis and myeloproliferation in myeloid metaplasia with myelofibrosis [J]. *Ann Hematol*, 1999, 78(10): 437-444. DOI:10.1007/s002770050595.
- [4] Wang JC, Chang TH, Goldberg A, et al. Quantitative analysis of growth factor production in the mechanism of fibrosis in agnogenic myeloid metaplasia [J]. *Exp Hematol*, 2006, 34(12): 1617-1623. DOI:10.1016/j.exphem.2006.07.004.
- [5] Schneider RK, Mullally A, Dugourd A, et al. Gli1(+) mesenchymal stromal cells are a key driver of bone marrow fibrosis and an important cellular therapeutic target [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(6): 785-800. DOI: 10.1016/j.stem.2017.03.008.
- [6] Decker M, Martinez-Morente L, Wang G, et al. Leptin-receptor-expressing bone marrow stromal cells are myofibroblasts in primary myelofibrosis [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(6): 677-688. DOI: 10.1038/ncb3530.
- [7] Verstovsek S, Manshour T, Pilling D, et al. Role of neoplastic monocyte-derived fibrocytes in primary myelofibrosis [J]. *J Exp Med*, 2016, 213(9): 1723-1740. DOI: 10.1084/jem.20160283.
- [8] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127(20): 2391-2405. DOI: 10.1182/blood-2016-03-643544.
- [9] Thiele J, Kvasnicka HM, Dietrich H, et al. Dynamics of bone marrow changes in patients with chronic idiopathic myelofibrosis following allogeneic stem cell transplantation [J]. *Histol Histopathol*, 2005, 20(3): 879-889. DOI: 10.14670/hh-20.879.
- [10] El Agha E, Kramann R, Schneider RK, et al. Mesenchymal stem cells in fibrotic disease [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(2): 166-177. DOI: 10.1016/j.stem.2017.07.011.
- [11] Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, et al. Endothelial and peri-

- vascular cells maintain haematopoietic stem cells [J]. Nature, 2012, 481(7382): 457-462. DOI: 10.1038/nature10783.
- [12] Zhou BO, Yue R, Murphy MM, et al. Leptin-receptor-expressing mesenchymal stromal cells represent the main source of bone formed by adult bone marrow [J]. Cell Stem Cell, 2014, 15(2): 154-168. DOI: 10.1016/j.stem.2014.06.008.
- [13] Shi Y, He G, Lee WC, et al. Gli1 identifies osteogenic progenitors for bone formation and fracture repair [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 2043. DOI: 10.1038/s41467-017-02171-2.
- [14] Maschek H, Georgii A, Kaloutsi V, et al. Myelofibrosis in primary myelodysplastic syndromes: a retrospective study of 352 patients [J]. Eur J Haematol, 1992, 48(4): 208-214.
- [15] Duarte FB, Barbosa MC, Jesus Dos Santos TE, et al. Bone marrow fibrosis at diagnosis is associated with TP53 overexpression and adverse prognosis in low-risk myelodysplastic syndrome [J]. Br J Haematol, 2018, 181(4): 547-549. DOI: 10.1111/bjh.14656.
- [16] Kramann R, DiRocco DP, Humphreys BD. Understanding the origin, activation and regulation of matrix-producing myofibroblasts for treatment of fibrotic disease [J]. J Pathol, 2013, 231(3): 273-289. DOI: 10.1002/path.4253.
- [17] Li B, Zhang P, Feng G, et al. Bone marrow fibrosis grade is an independent risk factor for overall survival in patients with primary myelofibrosis [J]. Blood Cancer J, 2016, 6(12): e505. DOI: 10.1038/bcj.2016.116.
- [18] Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, et al. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(5): 754-762. DOI: 10.1200/jco.2008.18.2246.

(收稿日期:2020-07-21)

(本文编辑:徐茂强)

## 《中华血液学杂志》2020 年度审稿专家名单

以下为 2020 年度本刊审稿专家,在此表示衷心感谢!(以姓氏汉语拼音为序)

安刚 蔡真 常春康 常英军 陈春燕 陈峰 陈苏宁 陈文明 陈协群 程韵枫 杜鹃  
 范磊 方美云 冯建明 冯四洲 付蓉 高春记 高素君 高子芬 贡铁军 顾健 韩冰  
 韩明哲 韩悦 郝牧 何爱丽 侯健 侯明 胡建达 胡炯 胡豫 黄河 黄亮  
 黄晓军 纪春岩 贾永前 江明 江倩 姜尔烈 金洁 景红梅 鞠秀丽 克晓燕 赖永榕  
 李冰 李建勇 李剑 李娟 李军民 李桥川 李文倩 李艳 李扬秋 李玉明 李增军  
 李振宇 梁爱斌 林赠华 刘兵城 刘代红 刘红 刘辉 刘林 刘澎 刘启发 刘霆  
 刘耀 刘卓刚 路瑾 罗建民 马军 梅恒 孟斌 糜坚青 秘营昌 牛挺 彭军  
 齐军元 秦亚溱 邱林 邱录贵 任汉云 邵宗鸿 施均 宋永平 宋玉琴 孙春艳 孙竞  
 孙自敏 唐晓文 佟红艳 王椿 王宏伟 王慧君 王季石 王建祥 王景文 王敏 王书杰  
 王晓敏 王欣 王学锋 王迎 王荧 王昭 魏辉 魏旭东 吴德沛 吴竞生 吴彤  
 吴保 夏凌辉 肖扬 肖志坚 徐开林 徐卫 徐雅靖 徐杨 许兰平 许小平 许贞书  
 闫晨华 闫振宇 杨建民 杨林花 杨仁池 杨婷 余自强 俞文娟 张凤奎 张广森 张会来  
 张磊 张丽 张连生 张梅 张曦 张晓辉 张翼鹭 赵洪国 赵明峰 赵维莅 赵翔宇  
 赵晓甦 赵馨 赵永强 郑国光 郑以州 周道斌 周剑峰 周泽平 朱焕玲 朱军 竺晓凡  
 主鸿鹄 庄俊玲 邹德慧 邹萍 邹善华