

巨噬细胞起源及自我更新的研究进展

席朵, 卢婷利

(西北工业大学生命学院, 空间生物实验模拟技术国防重点学科实验室, 西安 710072)

摘要: 巨噬细胞是人体抵抗病原的第一道防线, 在人体的免疫系统中发挥着重要作用, 其在机体的新陈代谢、生长发育、组织修复以及稳态的维持等过程中也同样扮演着不可替代的角色, 因此, 巨噬细胞在靶向治疗多种疾病方面存在巨大潜力。同时, 随着实验研究技术的不断发展, 人类对于巨噬细胞的认知也得以发展, 而这些研究成果将为巨噬细胞作为最具潜力的临床靶标的提供有效理论依据。故, 对近年来不同组织定居巨噬细胞的起源和特异性发展, 以及其在机体稳态和疾病时自我更新机制的研究进展, 进行简单概述, 将帮助我们全面了解巨噬细胞的功能特征, 这对研究其在新陈代谢疾病、免疫疾病、组织修复、肿瘤及炎症等多种疾病的防治中作为治疗靶点具有重要意义, 对人类抵抗疾病具有重大意义。

关键词: 巨噬细胞; 起源; 自我更新; 综述

中图分类号: R392.12

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2016)05-0415-05

巨噬细胞能够吞噬和杀伤细菌、细胞内寄生虫、肿瘤细胞、以及自身衰老和异常的细胞, 在机体的正常发育、动态平衡、组织修复以及免疫系统中都具有重要作用, 故研究巨噬细胞的作用机制、起源发展对于人类了解自身生长发育、疾病治疗和预防以及养生保健等都具有重要意义, 因而科学家们对于巨噬细胞的研究探索自发现日起至今未曾停止。最早关于巨噬细胞起源的较系统理论便是1972年提出的单核吞噬细胞系统理论(mononuclear phagocyte system, MPS)^[1], 然而由于当时实验技术的限制, 这种认为骨髓(bone marrow, BM)是巨噬细胞唯

一来源的理论, 在后来很长一段时期里都被当作巨噬细胞起源的定理, 以至于后来的大量研究都是在这个理论基础之上而研究巨噬细胞的功能特点。因此, 长期以来, 巨噬细胞被认为是由BM释放的血液单核细胞分化而来, 并经过血液进入局部组织转变为组织定居巨噬细胞^[2]。近年来, 随着命运图谱研究(fate-mapping study)等实验技术的不断成熟, 研究者们对巨噬细胞的研究也不断取得突破, 而深入研究巨噬细胞在体内的起源及发展对于临床靶向治疗各种相关疾病具有重要意义, 故本文就近年来关于巨噬细胞的起源与自我更新方面的研究进

展, 进行简要概述。

1 巨噬细胞的起源

科学家们对于巨噬细胞起源的探索是一个漫长的伴随着科学实验技术发展的过程。1968年, 研究者们发现骨髓中存在巨噬细胞的前体细胞^[3], 这个发现进一步发展形成MPS理论^[1]。基于此, 随后的研究认为巨噬细胞起源于骨髓(bone marrow, BM)中的造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC), 从BM中释放后进入血液循环, 在外周血中分化为成熟的单核细胞, 在血液中可循环(1~3)d, 最终在机体相关信号响应下穿过毛细血管内皮细胞壁进入不同的局部组织, 转变为组织定居巨噬细胞(tissue-resident macrophage, trM)^[2]。但是, 随着机体内trM的增殖以及卵黄囊(yolk sac, YS)中巨噬细胞等研究发现, 研究者们对MPS提出越来越多的质疑^[4], 认为单核细胞并不是巨噬细胞的唯一起源。

研究者们利用命运图谱研究和谱系示踪(lineage-tracing experiment)等实验研究技术发现, YS中存在朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LC)的祖细胞^[5], 成体内小胶质细胞等大多数trM都存在胚胎时期的祖细胞^[6-7], 除过肠中的trM, 其在机体稳态下只来源于血液单核细胞^[8](表1)。

随着实验技术和方法的不断发展, 研究者们对胚胎时期巨噬细胞起源的探索也在不断进步和发展中。早期, 科学家们认为胚胎时期巨噬细胞的起源

收稿日期: 2016-04-14

作者简介: 席朵(1992—), 女, 陕西西安人, 西北工业大学生命学院硕士研究生

通讯作者: 卢婷利(E-mail: lutinglixinxin@nwpu.edu.cn)

有两个阶段，第一次称为早期造血，在 7.0 d 胚(Embryonic day 7.0, E7.0)左右，从胚外中胚层的 YS 中发育而来，产生早期有核红细胞、巨核细胞和 YS 巨噬细胞^[9]；后一阶段，是红髓系祖细胞(erythro-myeloid progenitor, EMP)，其在 E8.0–E8.5 之间起源于 YS^[10]。E8.5 以后，EMP 迁移进入胎肝(fetal liver, FL)^[11]，并在 FL 里分化成多种细胞，包括巨噬细胞(表 2)。同样地，Bertrand 等通过体外克隆实验也表示，YS 中第一阶段单核前体细胞产生巨噬细胞，第二阶段则主要产生粒细胞、单核细胞和巨噬细胞^[12]。

随着命运图谱等实验技术的发展，研究者们对“第二阶段”的 EMP 起源机制进行深入研究，肯定了 EMP 的存在，并根据其不同时期在胚胎中的位置不同分为两种，E8.25 产生于 YS 中的早期 EMP 和迁移进入 FL 的后期 EMP。进一步研究表明，早期的 EMP 位于 YS 中，产生不经过单核中间型的 YS 巨噬细胞以及胚胎单核细胞，且 YS 巨噬细胞主要分化为小胶质细胞，而成体内的其他大多数 trM 都起源于的胚胎单核细胞；从 E9.5 开始，“后期”EMP 迁移进入 FL，直至 E16.5 之前，在 FL 中产生能够定植于胚胎组织并分化为 FL 巨噬细胞的胚胎单核细胞^[13]，随着胚胎造血系统的逐渐成熟，HSC 经过胚胎单核细胞中间型分化的巨噬细胞成为胚胎内主要巨噬细胞，即随着胚胎的发育成熟，在 FL 中，EMP 和 HSC 会依次产生最终分化为巨噬细胞的 FL 单核细胞^[14]。

因而，研究者们对于成体稳态下的 trM 是否来自于 EMP 还是胚胎时期的 HSC 存在不同看法^[15]，有研究者认为成体稳态下大多数 trM 都是起源于 YS 中的 EMP^[16]；然而也有研究者提出，只有稳态下小胶质细胞和部分的 LC 是起源于 EMP，而其他所有成体稳态下的 trM 都是胚胎时

期的 HSC 的产物^[17]。即虽然已经了解胚胎时期能够产生巨噬细胞的组织或前体细胞有哪些，可是成体稳态下 trM 的祖细胞的精确身份仍然存在争议，除此之外，由这些前体细胞到 trM 的分化通路以及过程中参与的转录因子也不清楚^[18]，EMP 的起源机制还需进一步的研究探索，对于巨噬细胞起源的研究将引导我们更深入全面地了解巨噬细胞，从而充分发掘其在疾病防控方面的巨大潜力，如通过基因改造 EMP 进而控制巨噬细胞的功能达到疾病治疗效果。

表 1 成体内 trM 的来源^[18-19]

组织	trM	起源
脑	小胶质细胞	YS 巨噬细胞
肝脏	Kupffer 细胞	大部分 FL 单核细胞，少量 YS 和 BM 单核细胞
皮肤	LC	20%YS 巨噬细胞，80%FL 单核细胞
	真皮巨噬细胞	FL 和 BM 单核细胞
心脏	心脏巨噬细胞	FL 和 BM 单核细胞
肾脏	肾脏巨噬细胞	FL 和 BM 单核细胞
脾脏	红髓巨噬细胞	FL 单核细胞
肺	肺泡巨噬细胞	FL 单核细胞
腹膜	腹膜巨噬细胞	FL 单核细胞
胰腺	胰腺巨噬细胞	FL 和 BM 单核细胞
肠		FL 和 BM 单核细胞

注：“YS 巨噬细胞”：trM 来自于在 YS 中产生的巨噬细胞；“FL 单核细胞”：trM 仅来源于 FL 内产生的单核细胞；“FL 和 BM 单核细胞”：生物体出生后两月左右 BM 单核细胞起源逐渐取代 FL 单核细胞起源成为成体内该组织 trM 的唯一起源

表 2 不同时期胚胎中巨噬细胞前体细胞的发生发展^[13]

胎龄	主要发现	参考文献
E7.0	在 YS 外胚层出现第一种具有造血功能的前体细胞，并启动早期造血功能；产生有核红细胞和巨噬细胞	[9]
E8.25	YS 中出现 EMP 和淋巴髓样祖细胞(lympho-myeloid progenitor, LMP)两种祖细胞	[20-21]
E8.5	两个区域先后出现具有造血功能的前体细胞(pre-HSC)：P-Sp(para-aortic splanchnopleura)区域和 AGM(aorta, gonads, and mesonephros)区域	[20]
E9.0	YS 中前体细胞产生的不经过单核细胞中间体的巨噬细胞，出现在血液中	[22]
E9.5	EMP 出现在胎盘和脐带等造血组织中，同时开始进入 FL	[20, 23]
E10.5	HSC 前体细胞分化成熟并进入 FL；胚体中仍只有 YS 巨噬细胞，但其数量也开始不断减少	[13, 24]

续表

胎龄	主要发现	参考文献
E11.5	FL 成为主要的造血器官, HSC 数量不断扩大后期迁移进入脾和 BM	[25]
E12.5	FL 中出现 FL 单核细胞; 但肝脏、皮肤、肾、肺和脑原基中仍只有 YS 巨噬细胞	[13, 26]
E13.5	胚胎组织出现由 FL 单核细胞分化的巨噬细胞	[13]
E16.5	FL 单核细胞成为胚胎组织中巨噬细胞的主要前体细胞	[13]

2 巨噬细胞的自我更新

巨噬细胞在 HSC 出现之前就已存在于胚胎时期, 暗示成体内巨噬细胞具有不同起源途径。早在 1982 年^[27], 就有研究者提出关于腹膜定居巨噬细胞可能存在局部增殖的现象, 而研究者们最早确定巨噬细胞具有自我更新能力却是在 2001 年, Prihler 等确定小胶质细胞具有自我更新的能力^[28], 这一定论进而引发了巨噬细胞自我更新的研究热潮。几年后, 先是 LC 在机体内自我更新现象的确定^[29], 后是 Jenkins 等通过线虫感染实验, 发现了独立于血液单核细胞补充途径的局部组织巨噬细胞增殖现象^[30], 表明巨噬细胞维持成体内数量很可能主要通过局部自我更新途径。并且随着研究技术的不断发展, 巨噬细胞自我更新的研究进入一个快速发展时期。

研究者们通过命运图谱研究和异种共生实验以及骨髓移植等实验方法进一步发现, 在机体稳态时除肠道 trM 外的 trM 都能够通过局部自我更新在成体内维持^[31]; 同时, 机体发生炎症时, 起源于胚胎和 BM 的巨噬细胞都能够自我更新^[32-33], 这些研究都表明成体内 trM 自我更新的发生不受成体状态的影响, 即在成体稳态下, trM 主要通过胚胎时期起源的 trM 的自我更新途径维持数量^[34], 且与 BM 单核细胞补充途径独立存在, 在炎症或某些疾病时^[35-37]需要 HSC 快速分化出大量巨噬细胞作用于病发组织, 而炎症过后的 trM 又主要通过胚胎时期起源的巨噬细胞的自我更新维持数量^[38]。那么, trM 的自我更新具有系别局限性吗?

最近, 研究者们通过 gene ontology (GO) 分析方法发现, 生物体出生后 BM 单核细胞能够立即分化为动脉巨噬细胞, 并且在以后生命历程中能够不断自我更新^[39]。紧接着, Scott 等使用白喉毒素调控的 KC 模型, 通过同位素示踪标记 KC 特异标记发现, BM 单核细胞在同时期也能够分化成 KC, 其在局部组织确实能够像胚胎前体细胞起源 trM 一样自我更新^[40]。这些发现均阐释 trM 不管

起源自哪里, 是 YS 巨噬细胞还是 BM 单核细胞, 均能够自我更新。这些研究均说明 trM 自我更新机制的普遍性, 进一步表明其对于生物体生长发育的重要性。

那么, 基因水平上调控巨噬细胞自我更新的机制到底是什么呢? 2009 年 Aziz 等通过基因转录水平的研究, 发现了转录因子 MafB 和 c-Maf^[41], 研究者们还发现同时敲除机体内 MafB 和 c-Maf 基因, 可以启动体内 trM 的自我更新程序^[42], 这一具有重大意义的研究发现再次从基因水平强有力地证实了巨噬细胞的自我更新能力, 并为巨噬细胞自我更新基因水平上的研究奠定了基础。

2016 年, Soucie 等使用单细胞分析、gene set enrichment analysis(GSEA)、GO 分析等基因水平实验技术发现, 通过对比敲除 MafB 和 c-Maf 基因的巨噬细胞与野生型静息状态 BM 起源的巨噬细胞发现, MafB 和 c-Maf 能够抑制一段与细胞自我更新相关的基因序列的表达, 当生物体需要补充巨噬细胞数量时, 如炎症时, 巨噬细胞则能够通过暂时下调 MafB 和 c-Maf 转录而激活这段基因的表达, 进而启动自我更新, 有趣的是这段基因序列也控制胚胎干细胞的自我更新^[43]! 这一重大发现, 直接确定了巨噬细胞自我更新现象的存在, 更为重要的是提供了影响巨噬细胞自我更新的相关转录因子和这段特定基因序列间的关系, 暗示未来可以通过控制转录因子或者这段基因序列的表达进而调控巨噬细胞像干细胞一样分裂或有望应用于体内其他细胞, 这为再生医学又开拓了一个重要的发展方向。

3 小结与展望

了解不同组织定居的巨噬细胞的起源和特异性发展, 以及其在机体稳态和疾病时自我更新的机制, 将帮助我们全面了解 trM 的功能特征, 以期在新陈代谢疾病、免疫疾病、组织修复、炎症及肿瘤等多种疾病的防治中作为治疗靶点。比如, 在起源方面, 研究影响胚胎时期巨噬细胞定居组织中的转录控制因素, 通过对其改造从起源控制巨噬细胞的

功能,从而达到临床治疗效果;根据巨噬细胞分化特异性,靶向巨噬细胞发展过程中只在病变组织中表达的细胞表面分子,如集落刺激因子受体的相关小分子可用于有关癌症的治疗^[44];而关于巨噬细胞自我更新机制的最新研究,将有望将其应用于再生医学研究领域^[43]。巨噬细胞的最大特点便是强大的可塑性,即他们能够结合多种微环境信号从而产生特定的生物学功能,在未来的临床治疗中,根据巨噬细胞这种可塑性可对他们的多样功能进行调控,进而靶向治疗各种疾病,对于人类抵抗疾病具有重大意义。

参考文献

- [1] van Furth R ea. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells[J]. Bull World Health Organ, 1972, 46, 845-852.
- [2] Hume DA. Differentiation and heterogeneity in the mononuclear phagocyte system[J]. Mucosal Immunol, 2008, 1: 432-441.
- [3] van Furth R CZ. The origin and kinetics of mononuclear phagocytes[J]. Exp Med, 1968, 128, 415-435.
- [4] Geissmann F, Manz MG, Jung S, *et al.* Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells[J]. Science, 2010, 327: 656-661.
- [5] Hoeffel G, Wang Y, Greter M, *et al.* Adult Langerhans cells derive predominantly from embryonic fetal liver monocytes with a minor contribution of yolk sac-derived macrophages[J]. J Exp Med, 2012, 209: 1167-1181.
- [6] Schulz C, Gomez Perdiguero E, Chorro L, *et al.* A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells[J]. Science, 2012, 336: 86-90.
- [7] Yona S, Kim KW, Wolf Y, *et al.* Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis[J]. Immunity, 2013, 38: 79-91.
- [8] Bain CC, Scott CL, Uronen-Hansson H, *et al.* Resident and pro-inflammatory macrophages in the colon represent alternative context-dependent fates of the same Ly6Chi monocyte precursors[J]. Mucosal Immunol, 2013, 6: 498-510.
- [9] Palis J, Robertson S, Kennedy M, *et al.* Development of erythroid and myeloid progenitors in the yolk sac and embryo proper of the mouse[J]. Development (Cambridge, England), 1999, 126: 5073-5084.
- [10] Frame JM, McGrath KE, Palis J. Erythro-Myeloid Progenitors: "definitive" hematopoiesis in the conceptus prior to the emergence of hematopoietic stem cells[J]. Blood cell Mol D, 2013, 51: 10.1016/j.bcmd.2013.1009.1006.
- [11] Palis J, Yoder MC. Yolk-sac hematopoiesis: the first blood cells of mouse and man[J]. Exp hematol, 2001, 29: 927-936.
- [12] Bertrand JY, Jalil A, Klaine M, *et al.* Three pathways to mature macrophages in the early mouse yolk sac[J]. Blood, 2005, 106: 3004-3011.
- [13] Hoeffel G, Chen J, Lavin Y, *et al.* C-Myb(+) erythro-myeloid progenitor-derived fetal monocytes give rise to adult tissue-resident macrophages[J]. Immunity, 2015, 42: 665-678.
- [14] Gomez Perdiguero E, Klapproth K, Schulz C, *et al.* Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors[J]. Nature, 2015, 518: 547-551.
- [15] Sheng J, Ruedl C, Karjalainen K. Fetal HSCs versus EMP2s[J]. Immunity, 2015, 43: 1025.
- [16] Gomez Perdiguero E, Klapproth K, Schulz C, *et al.* The origin of tissue-resident macrophages: when an erythro-myeloid progenitor is an erythro-myeloid progenitor[J]. Immunity, 2015, 43: 1023-1024.
- [17] Sheng J, Ruedl C, Karjalainen K. Most tissue-resident macrophages except microglia are derived from fetal hematopoietic stem cells[J]. Immunity, 2015, 43: 382-393.
- [18] Ginhoux F, Guilliams M. Tissue-resident macrophage ontogeny and homeostasis[J]. Immunity, 2016, 44: 439-449.
- [19] Epelman S, Lavine Kory J, Randolph Gwendalyn J. Origin and functions of tissue macrophages[J]. Immunity, 2014, 41: 21-35.
- [20] Lin Y, Yoder MC, Yoshimoto M. Lymphoid progenitor emergence in the murine embryo and yolk sac precedes stem cell detection[J]. Stem Cell Devel, 2014, 23: 1168-1177.
- [21] Frame JM, McGrath KE, Palis J. Erythro-myeloid progenitors: "definitive" hematopoiesis in the conceptus prior to the emergence of hematopoietic stem cells[J]. Blood Cell M Dis, 2013, 51: 220-225.
- [22] Takahashi K, Yamamura F, Naito M. Differentiation, maturation, and proliferation of macrophages in the mouse yolk sac: a light-microscopic, enzyme-cytochemical, immunohistochemical, and ultrastructural study[J]. J Leukoc Biol, 1989, 45: 87-96.
- [23] Dzierzak E, Speck NA. Of lineage and legacy: the development of mammalian hematopoietic stem cells[J]. Nat Immunol, 2008, 9: 129-136.
- [24] Kieusseian A, Brunet de la Grange P, Burlen-Defranoux O, *et al.* Immature hematopoietic stem cells undergo maturation in the fetal liver[J]. Development (Cambridge, England), 2012, 139: 3521-3530.
- [25] Christensen JL, Wright DE, Wagers AJ, *et al.* Circulation and chemotaxis of fetal hematopoietic stem cells[J]. PLoS Biol, 2004, 2: E75.
- [26] Naito M, Takahashi K, Nishikawa S. Development, differentiation, and maturation of macrophages in the fetal mouse liver[J]. J Leukoc Biol, 1990, 48: 27-37.
- [27] Daems WT, De Bakker JM. Do resident macrophages proliferate[J]. Immunobiology, 1982, 161: 204-211.

- [28] Priller J, Flugel A, Wehner T, *et al.* Targeting gene-modified hematopoietic cells to the central nervous system; Use of green fluorescent protein uncovers microglial engraftment[J]. *Nat Med*, 2001, 7: 1356-1361.
- [29] Merad M, Ginhoux F, Collin M. Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 935-947.
- [30] Jenkins SJ, Ruckerl D, Cook PC, *et al.* Local macrophage proliferation, rather than recruitment from the blood, is a signature of Th2 inflammation[J]. *Science (New York, NY)*, 2011, 332: 1284-1288.
- [31] Hashimoto D, Chow A, Noizat C, *et al.* Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes[J]. *Immunity*, 2013, 38: 792-804.
- [32] Jenkins SJ, Ruckerl D, Thomas GD, *et al.* IL-4 directly signals tissue-resident macrophages to proliferate beyond homeostatic levels controlled by CSF-1[J]. *The Journal of Exp Med*, 2013, 210: 2477-2491.
- [33] Davies LC, Rosas M, Jenkins SJ, *et al.* Distinct bone marrow-derived and tissue-resident macrophage lineages proliferate at key stages during inflammation[J]. *Nat Commun*, 2013, 4:1886.
- [34] Varol C, Mildner A, Jung S. Macrophages: Development and Tissue Specialization[J]. *Ann Rev Immunol*, 2015, 33: 643-675.
- [35] Chawla A, Nguyen KD, Goh YP. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11: 738-749.
- [36] Ingersoll MA, Platt AM, Potteaux S, *et al.* Monocyte trafficking in acute and chronic inflammation[J]. *Trend Immunol*, 2011, 32: 470-477.
- [37] Qian BZ, Li J, Zhang H, *et al.* CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis[J]. *Nature*, 2011, 475: 222-225.
- [38] Davies LC, Rosas M, Smith PJ, *et al.* A quantifiable proliferative burst of tissue macrophages restores homeostatic macrophage populations after acute inflammation[J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41: 2155-2164.
- [39] Ensan S, Li A, Besla R, *et al.* Self-renewing resident arterial macrophages arise from embryonic CX3CR1⁺ precursors and circulating monocytes immediately after birth[J]. *Nat Immunol*, 2016, 17: 159-168.
- [40] Scott CL, Zheng F, De Baetselier P, *et al.* Bone marrow-derived monocytes give rise to self-renewing and fully differentiated Kupffer cells[J]. *Nat Commun*, 2016, 7,10321.
- [41] Aziz A, Soucie E, Sarrazin S, *et al.* MafB/c-Maf deficiency enables self-renewal of differentiated functional macrophages[J]. *Science*, 2009, 326: 867-871.
- [42] Gautier EL, Shay T, Miller J, *et al.* Gene expression profiles and transcriptional regulatory pathways underlying mouse tissue macrophage identity and diversity[J]. *Nat Immunol*, 2012, 13: 1118-1128.
- [43] Soucie EL, Weng Z, Geirsdóttir L, *et al.* Lineage-specific enhancers activate self-renewal genes in macrophages and embryonic stem cells[J]. *Science*, 2016, 351:6274.
- [44] Hamilton JA, Achuthan A. Colony stimulating factors and myeloid cell biology in health and disease[J]. *Trend Immunol*, 2013, 34: 81-89.