综述和进展

果蝇肠道干细胞研究进展*

唐旭东[1]** 薛 建[2] 毛 飞[3]

(1. 江苏科技大学蚕业研究所 镇江 212018; 2. 浙江大学昆虫科学研究所 杭州 310029;
3. 江苏大学基础医学与医学技术学院医学院 镇江 212002)

A review of stem cells of fruit fly intestine. TANG Xu-Dong[1]**, XUE Jian[2], MAO Fei[3] (1. *College of Biotechnology and Environmental Engineering, Jiangsu University of Science and Echnology*, Zhenjiang 212018, China; 2. *Institute of Insect Science, ZheJiang University*, Hangzhou 310029, China; 3. *Medicine School of Jiangsu University*, Zhenjiang 212002, China)

Abstract Research on the intestinal stem cells of the fruit fly (*Drosophila melanogaster* Meigen) have touched upon many aspects of biology. Most research has concentrated on the stem cell niche, the control of signal pathways and cell division. We present here recent advances in this field. The intestinal stem cells of fruit flies and vertebrates have many similarities, so investigation of fruit fly intestinal stem cells may provide a theoretical basis for research on vertebrate intestinal stem cells.

Key words fruit fly, intestine stem cell, niche, signal pathway

摘 要 对果蝇 *Drosophila melanogaster* Meigen 肠道干细胞的研究现已触及生物学的很多方面,目前对这类细胞的研究主要集中于干细胞的小生境、信号路径的调控和细胞的分化,本文阐述了果蝇肠道干细胞研究方面的最新进展。果蝇肠道干细胞和脊椎动物肠道干细胞有诸多类似之处,所以弄清果蝇肠道干细胞的机理,可以为复杂的脊椎动物肠道干细胞研究提供了一定的理论基础。

关键词 果蝇,肠道干细胞,小生境,信号路径

干细胞分为胚胎干细胞和成体干细胞,同时按照功能的不同,干细胞还可分为全能干细胞、多潜能干细胞、(成体)多能干细胞和单能干细胞。目前,干细胞研究主要集中在脊椎动物上,但由于昆虫的组织结构和生理生化反应相对脊椎动物比较简单,而且昆虫的干细胞形态和功能与其他动物类似[1,2],因此,对昆虫干细胞的研究有助于弥补脊椎动物研究中的不足。

昆虫是研究基因功能和调节的理想模型,尤其对黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* Meigen 的研究最为透彻,现已是研究遗传和发育的重要工具。对果蝇干细胞分子传导路径和干细胞小生境的研究为探讨脊椎动物控制干细胞小生境的分子机制研究提供了直接指导[3]。

肠道有一个固有的功能,那就是利用新产生的细胞取代年老细胞,这个功能是自我更新的肠道干细胞来实现的。果蝇肠道上皮组织与脊椎动物有相似之处,而脊椎动物的组织结构相对复杂。因此,研究果蝇肠道干细胞对弄清脊椎动物肠道干细胞的机制也具有重要的意义。

1 果蝇肠道解剖及干细胞类型

果蝇肠道主要分为 3 个区域:前肠、中肠和后肠,在消化和吸收功能中它们都起着不同的

* 资助项目:国家蚕桑产业技术体系项目。

** 通讯作者, E-mail: dxd119@ yahoo. com. cn

收稿日期:2009-08-21,修回日期:2010-03-12

作用。前肠和后肠均起源于外胚层细胞,前肠主要功能是摄取食物,中肠主要功能是营养吸收,而后肠主要负责吸收水分[2]。对于果蝇肠道干细胞的研究主要集中于中肠和后肠。果蝇肠道细胞有 3 种类型:柱状上皮细胞、杯状细胞和底膜干细胞[4]。在中肠上,干细胞主要位于中肠的后部,集中在柱状上皮细胞和杯状细胞底膜之间的区域(图 1),并且并不是很紧密的联系在一起。位于这个部位的干细胞很多都缺少一些特别的结构,如没有表面纤绒毛和杯状结构[4,5]。后肠形成了消化道的后部,主要由大的立方上皮细胞组成,他们在细胞的顶端表面分泌角质。在后肠的前部有一较窄的片段是后肠的增殖区域,同时也是肠道干细胞的所在。在胚胎和幼虫期这类干细胞开始活动,所有的成虫都含有这种细胞,并通过增殖和分化来更新后肠细胞[6]。果蝇肠道中的干细胞属于多功能干细胞,能分化为肠上皮细胞和肠内分泌细胞[7]。

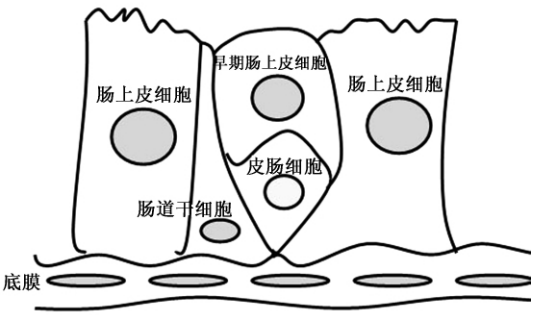


图 1 果蝇中肠细胞结构[7]

2 果蝇肠道干细胞小生境研究

干细胞之所以有持续增殖和分化的功能,是因为它们位于一种特殊的微环境或小生境中[8]。干细胞小生境包括 3 类:(1)细胞小生境,为干细胞提供支持和保护作用的细胞,并为细胞之间提供联系和分泌因子,使干细胞处于不活动的状态;(2)细胞外基质小生境,这种小生境最近才被证实,他主要位于肠道细胞中,细胞信号从底膜中分泌出来并控制细胞的自我更新;(3)癌症干细胞小生境,这些癌症干细胞可能来源于普通干细胞的突变体,支持细胞信号的改变,可能会导致癌症干细胞的扩散[5]。

果蝇肠道干细胞小生境主要属于第 2 种类型[5]。果蝇肠道大约有 800 ~ 1 000 个干细胞,他们均分布于各自的小生境中。当肠道干细胞的功能下调时,便会影响果蝇肠道的大小。这种现象直接与果蝇肠道干细胞小生境内的各种信号因子相关,因此小生境也是调控干细胞增殖与分化的重要场所。有研究表明瞬间的小生境变化能调节果蝇肠干细胞的分化,比如小生境能利用骨成形蛋白 2/4 同源蛋白-Decapentaplegic(Dpp)的瞬时改变调控原肠干细胞的特异分化[9]。

3 果蝇肠道干细胞分化的调控

果蝇肠道干细胞处于特殊的小生境中,它们的增殖和分化受着各种信号分子的调节。这些信号的浓度水平决定了干细胞的生理生化活动,并以此来调节果蝇肠道细胞的更新。这些信号主要有:Notch、Wnt、Hh、BMP、MAPK、Jak/Stat 等信号途径,以及 β-连环蛋白、α-连环蛋白、Tcf3、Lef1、EGF 等因子[10,11]。

3.1 Notch 信号调控

在很多组织的早期胚胎发育中,Notch 是一个很重要的调控信号,在中肠上皮细胞中同样也检测到了 Notch 的活性[1]。干细胞功能的维持需要 Notch 信号,Notch 信号的减弱会使上皮祖细胞增加,Notch 信号的增强会使干细胞的增殖和早期分化为肠道细胞的数量减少。Notch 信号路径由细胞表面受体组成,干细胞邻近细胞的表面有这些受体的存在,通过一系列的蛋白配体激活(例如 Delta 蛋白)[12]。这种蛋白只存在于肠道干细胞中,并且 Delta 蛋白的高度特异性表达已经被用作检测干细胞标志物[1]。为了研究 Notch 信号的作用,Ohlstein 等诱导了几种 Notch 路径基因突变体,他们发现肠上皮细胞的产生需要肠道干细胞到子代细胞不均匀 Delta 蛋白信号诱导[13]。肠道干细胞子代细胞(成肠细胞)具有高水平浓度的 Delta 蛋白,接受较强的 Notch 信号,而这些子代细胞

随后就变为肠上皮细胞;当 Delta 蛋白浓度较低时,Notch 信号便较弱,这些子代细胞则变为肠内分泌细胞(图 2)[14]。

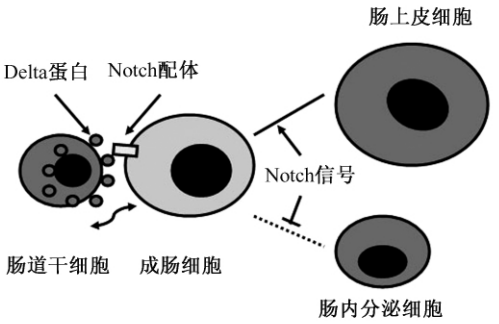


图 2　Notch 信号路径的调节作用[1]

3.2　Wnt 信号

对 Wnt 的研究最初起源于果蝇的 Wingless(Wg)基因,这类基因的表达主要需要 β-连环蛋白和 Tcf/LefDNA 结合蛋白的参与[6,15]。Wnt 对干细胞的调节是通过一系列级联反应方式实现的[14]。Takashima 等利用 Wnt 的同系物 Wingless 来研究 Wnt 的信号路径功能[6]。研究发现,与表达 Wg 细胞相邻的肠道干细胞接收到高浓度水平的 Wnt 信号后,激活了干细胞的活性,肠道干细胞开始迅速的生长,细胞开始迅速离开表达 Wg 的细胞作用区域。通过过量表达显性负相 Tcf,导致后肠增值区域在 3 龄幼虫中明显减少,这些幼虫蜕皮后,后肠则完全消失。因此,Wnt 信号路径在维持后肠增殖区域方面是一个重要因子(后肠增值区域由肠道干细胞组成)。

3.3　Hh 信号

Hh(hedgehog)多肽信号以蛋白前体的形式合成,在他产生活性作用的过程中,需要固醇类物质的参与。Hh 与固醇类物质共价结合于细胞表面,以此来影响固醇的新陈代谢[16]。Takashima 等为了研究信号路径在果蝇后肠中的作用,他们过量表达 Hh 信号抑制物,使得 Hh 信号路径的表达下调。通过在幼虫中持续表达至成虫,发现成虫的后肠明显变短,而且这些后肠的细胞均没有分化。这种分化的细胞只有在后肠增殖区域中才能找到,表明 Hh 信号途径影响后肠细胞的增殖和分化[6]。

3.4　EGFR 信号

Jiang 等最近发现 EGFR 信号能通过激活 RAS/MAPK 途径促进果蝇原肠细胞的分化。通过观察 *Egfr* 和 *Ras* 基因突变原肠细胞的分化情况,发现 EGFR/RAS/MAPK 信号是果蝇幼虫早期和晚期发育的必须因子。在原肠细胞分化早期,由中肠肌肉产生一个弱 EGFR 配体 vein 激活 EGFR 信号;而在幼虫晚期则由原肠细胞自身产出 2 个强 EGFREGFR 配体 spitz 和 Keren,促进了原肠细胞分化[17]。

3.5　JAK-STAT 信号

在果蝇中 JAK-STAT 信号主要在血液生成和胚胎发育期调节干细胞的分化[18]。最近关于 JAK-STAT 信号调控干细胞分化又有了新的结果,Jiang 等发现当中肠受到病毒侵染或者进入凋亡状态时,在肠干细胞中会产生 Upd、Upd2 和 Upd3 等细胞因子激活 JAK-STAT 信号途径,促进原肠细胞分化,形成新的肠上皮细胞代替损伤细胞[19]。在果蝇精巢中,Issigonis 等发现细胞因子 36E(SOCS36E)能特异性地抑制成体干细胞中的 JAK-STAT 信号,以防止它们取代同一小生境中的生殖干细胞[20]。Liu 等发现 JAK-STAT 信号通过 unpaired(upd)蛋白被 Notch 信号负调控[21],Lin 等也通过实验发现了这个负调控机制,同时也发现 JAK-STAT 信号和 Wg 信号一起在 Notch 信号上游调控肠道干细胞的自我更新[22]。

4　结语与展望

果蝇肠道生理结构与脊椎动物极为相似,但脊椎动物的更为复杂。而且果蝇肠道干细胞及其小生境与脊椎动物的也极为类似,它们部分有着共同的信号路径和分化因子,某些路径和因子也与癌症研究相关(如 Wnt 信号路径)。因此,对果蝇肠道干细胞的研究代表了一种认识控制干细胞行为的新模型。目前,关于果蝇肠道干细胞的研究主要集中于干细胞与小生境的关系、各种信号调控干细胞分化机制、干细胞

的定位和干细胞标志物的研究等[23]。

果蝇肠道干细胞的研究处于起步阶段，相关细胞和分子信息并不充足。随着更多的分子和化学方法被用于干细胞小生境和干细胞功能研究，更多的基因可能参与到肠道干细胞的调控。同时，也有助于利用果蝇肠道干细胞揭示脊椎动物干细胞研究的不足，并对癌症的研究也有所帮助。

参 考 文 献

1 Wilson A. A., Kotton D. N. Another notch in stem cell biology: Drosophila intestinal stem cells and the specification of cell fates. *Biol. Essays.*, 2008, **30**(2): 107 ~ 109.

2 Corley L. S., Lavine M. D. A review of insect stem cell types. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2006, **17**(4): 510 ~ 517.

3 Li L., Xie T. Stem cell niche: structure and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2005, **21**: 605 ~ 631.

4 Hakim R. Z., Baldwin K. M., Loeb M. The role of stem cells in midgut growth and regeneration. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, 2001, **37**(6): 338 ~ 342.

5 Xie T., Li L. H. Stem cells and their niche: an inseparable relationship. *Development*, 2008, **134**(11): 2 001 ~ 2 006.

6 Takashima S., Mkrtchyan M., Hartenstein V. The behaviour of *Drosophila* adult hindgut stem cells is controlled by Wnt and Hh signaling. *Nature*, 2008, **454**(7 204): 651 ~ 656.

7 Ohlstein B., Spradling A. The adult *Drosophila* posterior midgut is maintained by pluripotent stem cells. *Nature*, 2006, **439**(7 075): 470 ~ 474.

8 Lin H. F. The stem-cell niche theory: lessons from flies. *Nat. Rev. Genet.*, 2002, **3**(12): 931 ~ 940.

9 Mathur D., Bost A., Driver I. A transient niche regulates the specification of *Drosophila* intestinal stem cells. *Science*, 2010, **327**(5 962): 210 ~ 213.

10 Pinto D., Clevers H. Wnt control of stem cells and differentiation in the intestinal epithelium. *Exp. Cell Res.*, 2005, **306**(2): 357 ~ 363.

11 Sancho E., Batlle E., Clevers H. Signaling pathways in intestinal development and cancer. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2004, **20**: 695 ~ 723.

12 Ilagan M. X., Kopan R. SnapShot: notch signaling pathway. *Cell*, 2007, **128**(6): 1 246.

13 Ohlstein B., Spradling A. Multipotent *Drosophila* intestinal stem cells specify daughter cell fates by differential notch signaling. *Science*, 2007, **315**(5 814): 988 ~ 992.

14 Micchelli C. A., Perrimon N. Evidence that stem cells reside in the adult *Drosophila* midgut epithelium. *Nature*, 2006, **439**(7 075): 475 ~ 479.

15 Reya T., Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature*, 2005, **434**(7 035): 843 ~ 850.

16 Tabin C. J., McMahon A. P. Recent advances in Hedgehog signaling. *Trends Cell Biol.*, 1997, **7**(11): 442 ~ 446.

17 Jiang H. Q., Edgar B. A. EGFR signaling regulates the proliferation of *Drosophila* adult midgut progenitors. *Development*, 2009, **136**(3): 483 ~ 493.

18 Gregory L., Came P. J., Brown S. Stem cell regulation by JAK/STAT signaling in *Drosophila*. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2008, **19**(4): 407 ~ 413.

19 Jiang H., Patel P. H., Edgar B. A. Cytokine/Jak/Stat signaling mediates regeneration and homeostasis in the *Drosophila* midgut. *Cell*, 2009, **37**(7): 1 343 ~ 1 355.

20 Issigonis M., Tulina N., Matunis E. JAK-STAT signal inhibition regulates competition in the *Drosophila* testis stem cell niche. *Science*, 2009, **326**(5 949): 153 ~ 156.

21 Liu W., Singh S. R., Hou S. X. JAK-STAT is restrained by Notch to control cell proliferation of the *Drosophila* intestinal stem cells. *J. Cell Biochem.*, 2010, [Epub ahead of print].

22 Lin G., Xu N., Xi R. Paracrine unpaired signaling through the JAK/STAT pathway controls self-renewal and lineage differentiation of *Drosophila* intestinal stem cells. *J. Mol. Cell. Biol.*, 2010, **2**(1): 37 ~ 49.

23 Morrison S. J., Shah N. M., Anderson D. J. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell*, 1997, **88**(3): 287 ~ 298.