

## 综述

## 肺脏的呼吸腺泡及其成体干细胞研究进展

薛明明 李焱 仵雪莲 董强刚\*

(上海交通大学肿瘤研究所, 肿瘤干细胞实验室, 上海 200032)

**摘要** 肺脏是机体与外界环境沟通的重要脏器之一, 环境有害因子如病原微生物和致癌物可以直接损伤呼吸道上皮, 对这类损伤的修复功能主要由呼吸道上皮内的肺干细胞或其祖细胞承担。呼吸系统的基本结构单位是呼吸腺泡, 其表面积约占呼吸系统总面积的99%以上, 是呼吸系统疾病包括恶性肿瘤发病的主要区域。现有证据显示, 在肺脏的胚胎发育期, 呼吸腺泡源自远端干细胞, 在成体肺脏内此类肺干细胞主要分布在细支气管分叉处以及细支气管与肺泡导管的连接处, 其恶性转化是肺癌的主要发病机理。因此, 探讨呼吸腺泡中肺干细胞的生物学特性, 有助于深入了解肺癌的癌变早期分子机制并为肺癌防治提供有效靶标。

**关键词** 肺脏; 呼吸腺泡; 成体干细胞; 肺癌

成体肺脏的呼吸系统由软骨气道、非软骨气道和肺泡组成。其中, 非软骨气道中的终末细支气管及其引导的呼吸性细支气管和肺泡导管、肺泡组成直径约1cm的呼吸腺泡。在文献中, 呼吸腺泡又称末端呼吸单位(terminal respiratory unit, TRU)。呼吸腺泡(或TRU)是呼吸系统的基本结构单位。

发育生物学研究显示<sup>[1,3,4]</sup>, 软骨气道和呼吸腺泡源自原始内胚层的不同原基(buds), 即气管原基和肺原基, 此两个原基中含有不同的肺干细胞, 分别称为近端(proximal)和远端(distal)干细胞。近端干细胞即是基底细胞(BC), 远端干细胞包括细支气管干细胞(BSC)和细支气管肺泡干细胞(BASC)。Giangreco等<sup>[7]</sup>总结了动物模型的研究结果, 认为BC恶变形成肺鳞癌, NEB中肺神经内分泌细胞(pulmonary neuroendocrine cells, PNEC)恶变形成小细胞肺癌, 而BASC恶变形成肺腺癌。

在成体肺脏中, 呼吸腺泡的表面积超过呼吸系统总面积的99%, 该区域是肺癌的高发部位。因而探讨呼吸腺泡及其肺干细胞的生物学特性, 有助于深入了解肺癌的癌变早期分子机制并为肺癌防治提供有效靶标, 从而达到提高肺癌临床疗效、改善患者预后之目的。鉴于此, 本文在文献复习的基础上, 对呼吸腺泡及其肺干细胞的研究进展作一简要综述。

## 1 呼吸腺泡的解剖

### 1.1 细支气管上皮的细胞组成

细支气管内径 $< 2\text{ mm}$ , 属于假复层纤毛柱状上皮, 主要细胞成分为纤毛细胞, 其次为粘液分泌细胞(又称杯状细胞), 但非纤毛柱状细胞(Clara细胞)含量很低(占上皮细胞总数的0.4%)。终末细支气管(内径 $< 1\text{ mm}$ )和呼吸性支气管(内径 $< 0.5\text{ mm}$ )均为单层纤毛柱状上皮, 其中仍以纤毛细胞为主, 但Clara细胞比例逐渐增高(终末细支气管为11%, 呼吸性支气管为22%)而杯状细胞相应减少(其比例分别为2%和0%)<sup>[8]</sup>。此外, 在细支气管分叉处存在一种特殊的解剖结构, 称为神经表皮小体(NEB)。NEB主要由Clara变异细胞与PNEC组成。Clara变异细胞缺乏细胞色素P450同功酶2F2, 因而对多种细胞毒素如萘烷高度耐受, 此类细胞是细支气管的成体干细胞<sup>[9]</sup>。而PNEC是呼吸道的氧感受器, 主要通过分泌神经递质控制平滑肌功能, 调节气道内径<sup>[10]</sup>。

收稿日期: 2010-09-29 接受日期: 2010-12-01

国家自然科学基金(No.30872952), 上海市科委科研基金(No.09411961700), 上海市科委纳米科技专项基金(No.0582nm5800)和上海市卫生局科研基金(No.2009198)资助项目

\*通讯作者。Tel: 021-64437181, Fax: 021-64046615, E-mail: qgdong@shsci.org

## 1.2 肺泡上皮的细胞组成

肺泡是一种囊状结构,全部肺泡的表面积约100m<sup>2</sup>,占呼吸道总面积的99.75%<sup>[1]</sup>。肺泡壁的上皮成分主要是I型和II型肺泡细胞<sup>[11]</sup>。I型肺泡细胞覆盖95%的肺泡表面,属于扁平鳞状上皮,其主要功能是进行气体交换。I型肺泡细胞表达T1 $\alpha$ 和AQP5(Aquaporin 5)等标志,后者是一种水通道蛋白,担负肺泡腔内的液体转运功能。II型肺泡细胞仅占肺泡面积的5%,主要分布在相邻肺泡壁的连接处,属于立方上皮。此类细胞的主要功能是分泌表面活性蛋白(surfactant proteins, SP),包括SP-A、SP-B、SP-C和SP-D。这些蛋白的作用是维持肺泡表面张力和清除进入肺泡腔的微尘或病原体。

肺泡通过肺泡导管与呼吸性细支气管相连,肺泡导管属于非纤毛单层立方上皮,即不含纤毛细胞和Clara细胞。免疫组化染色显示,导管细胞可能属于II型肺泡细胞,表达SP-B和SP-C。呼吸性细支气管与肺泡导管的连接处(BADJ)是一个重要的解剖结构,此部位含有肺泡区的成体干细胞<sup>[6]</sup>。

## 2 呼吸腺泡的胚胎发育

发育生物学研究显示<sup>[13,14]</sup>,软骨气道和呼吸腺泡分别源自原始内胚层的气管原基和肺原基。在小鼠胚胎第9天(E9),原肠前端腹侧上皮特化形成气管和肺原基,随后上述原基通过萌芽(buding)分叉(branching)率先分化形成气管支气管树,此发育过程可分为假腺体期(pseudoglandular phase, E10.5~16.5)和小管期(canalicular phase, E16.5~17.5)。人体胚胎的相应发育期为孕5~17周和孕16~26周<sup>[12]</sup>(图1)。

当气管支气管树发育完成后,支气管盲端上皮特化发育形成呼吸腺泡,此过程也可以分为两期,分别称为小囊期(saccular phase)和肺泡期(alveolar phase)。小囊期为E17.5~出生后第5天(P5),而肺泡期为P5~30。人体胚胎的相应发育期分别为孕24~36周和分娩~出生后3年<sup>[12]</sup>(图1)。

通过基因操纵可以对上述肺脏胚胎发育过程进行解析。基因剔除(knockout)实验显示,气管/肺原基表达两个特异性标志,即 $\beta$ -连环素( $\beta$ -catenin)和甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor-1, TTF-1)。剔除 $\beta$ -catenin基因,软骨气道和呼吸腺泡均不能发育,表现为无肺<sup>[13]</sup>。而剔除TTF-1基因(又称Nkx2.1),则软骨气道可以发育但缺乏呼吸腺泡,表现

为肺脏发育不全<sup>[14]</sup>。此外,细胞谱系追踪(lineage trace)研究揭示,细支气管的上皮细胞源自假腺体期的支气管盲端上皮,而小管期的支气管盲端上皮仅分化形成肺泡上皮<sup>[15]</sup>。因而按照干细胞学说,肺脏发育受控于两类肺干细胞,其中近端干细胞发育形成软骨气道,而远端干细胞则分别发育形成呼吸腺泡中的非软骨气道和肺泡(图2)。

## 3 呼吸腺泡成体干细胞的分离鉴定

由于呼吸腺泡在出生后尚处于发育阶段,因而对此类胚胎性肺干细胞可以进行实验研究。台湾研究者Chen等<sup>[17]</sup>报道,新生小鼠的肺干细胞表达Clara细胞分泌蛋白(Clara cell secretory protein, CCSP)、干细胞抗原Sca-1以及胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)标志OCT4和SSEA-1等。此外,此类细胞还表达血管紧张素转换酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2),但不表达造血干细胞标志CD34。Teisanu等<sup>[18]</sup>分析了成体小鼠肺脏BSC,显示此类CCSP<sup>+</sup>细胞的表型特征为CD34<sup>-</sup>Sca-1<sup>low</sup>,具有较弱的自发荧光。而Kim等<sup>[19]</sup>分析了成体小鼠肺脏BASC,其表型特征为CD34<sup>+</sup>Sca-1<sup>+</sup>,此类细胞的另一个表型特征是同时表达CCSP和SP-C。但成体肺脏BSC和BASC是否表达OCT4,目前还没有报道。由于新生小鼠ACE<sup>+</sup>OCT4<sup>+</sup>细胞是SARS冠状病毒的宿主细胞,因而香港研究者Chen等<sup>[20]</sup>分析了人体肺脏中该病毒感染的相应细胞,结果发现同样存在ACE<sup>+</sup>OCT4<sup>+</sup>细胞,但此类细胞表达CD34。

自我更新和分化是体内所有类型干细胞两个最基本的属性,区别在于不同类型干细胞的分化潜能存在显著差异。如ESC是胚胎期除受精卵之外分化潜能最大的干细胞,此类细胞能够分化形成胚胎中所有类型的体细胞,称为全能分化(pluripotent differentiation)。而成体干细胞只能分化形成其所在组织区域各类细胞,又称多能分化(multipotent differentiation)。

自我更新是指干细胞增殖分裂形成的子代细胞仍保留干细胞的未分化特性。通常认为干细胞的自我更新属于不对称分裂,即2个子代细胞中的1个不再分裂而停留在干细胞状态,另一个则继续分裂并随之分化。但随着ESC体外培养技术的成熟,上述观点已被逐渐修正,因为只要在合适的培养条件下,任何一个ESC均能够持续分裂形成集落而不分化。目前认为,ESC自我更新受控于OCT4、Nanog和Sox2等转录因

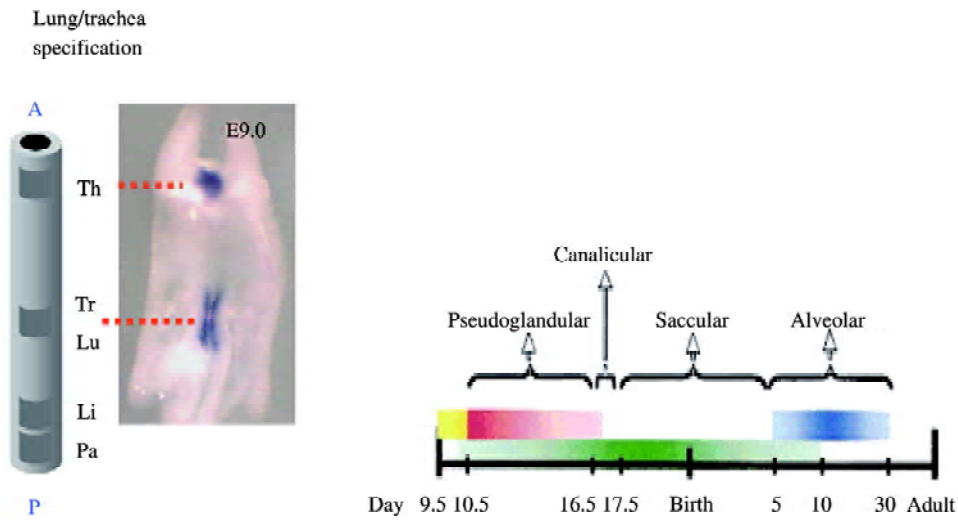


图1 肺脏的胚胎发育(根据参考文献<sup>[4,5]</sup>略作修改)

左图: 起初原始前肠沿着前后轴会特异性的形成器官特异的芽, 包括甲状腺、气管、肺、肝和胰腺; 右图: 小鼠在胚胎期的第9天会出现气管和肺的芽。

Fig.1 The embryonic development of the lung (modified from references 4 and 5)

Left: the primitive foregut (gray tube) is initially specified to form the organ-specific buds along its anteroposterior (AP) axis, including those for the thyroid (Th), trachea (Tr), lung (Lu), liver (Li) and pancreas (Pa). In mouse, the buds for trachea and lung appear at embryonic day 9; Right: the embryonic development of lung can be divided into 4 sequential phases, each phase occurs at the embryonic days specified.

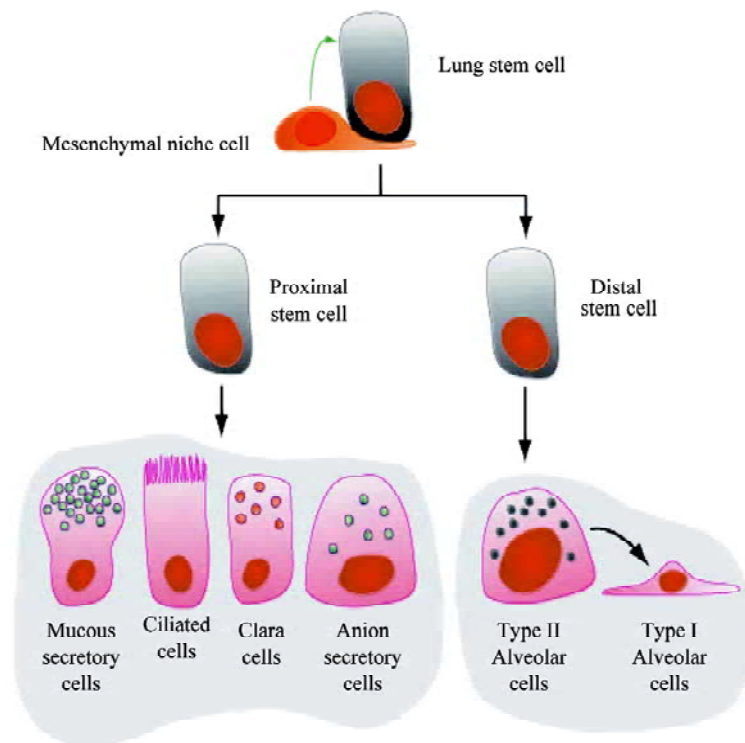


图2 不同的肺上皮亚群的等级体系(根据参考文献<sup>[47]</sup>略作修改)

Fig. 2 Lineage hierarchy of different lung epithelial subsets (modified from reference 47)

子组成的核心调控环(core regulatory circuitry)<sup>[23,24]</sup>。该调控环控制 2 000 余种靶基因表达,但在不同的 ESC 细胞系中,此类靶基因的差异很明显,最近的比较分析认为,真正的 ESC 特异性基因只有 40 余种<sup>[25]</sup>。然而,成体干细胞尤其是肺干细胞的自我更新是否与 ESC 一样受 OCT4 调控环控制,目前缺乏研究报道。

OCT4 属于 POU 家族转录因子(又称 POU5f1),其编码基因位于人第 6 号染色体短臂 6p21.31 区。近年来的研究发现 OCT4 基因的第 2 外显子含有 A 和 B 等位基因,通过不同的剪辑可以编码 2 个同分异构体,通过不同的剪辑可以编码 2 个同分异构体,即 OCT4A 和 OCT4B,两者的表达与功能存在显著差异, OCT4A 特异性表达在全能(pluripotent)干细胞如 ESC 中,而 OCT4B 可以表达在多种分化的体细胞中,但没有 OCT4A 所具有的转录功能<sup>[21]</sup>。瑞士研究者 Karoubi 等<sup>[22]</sup>最近报道,正常人肺脏中存在 OCT4A<sup>+</sup> 细胞,并认为此类细胞与肺腺癌的发病有关。

近年来对 BASC 自我更新的调控机制已进行了一些初步探讨。西班牙研究者 Ventura 等<sup>[26]</sup>率先报道, p38 $\alpha$  MAPK(致分裂原激活的蛋白激酶)是小鼠 BASC 自我更新的关键性负调控激酶。作者提供的证据显示,在体外无血清培养条件下, p38 $\alpha$  遗传缺陷小鼠的 BASC 在 EGF(表皮生长因子)和 FGF(纤维母细胞生长因子)刺激下能够扩增形成悬浮生长的细胞团(称为球体, spheres)而不分化,若采用小分子特异性拮抗剂如 SB203580 抑制 p38 活性也可以获得类似结果。而美国研究者 Zhang 等<sup>[27]</sup>发现,肺脏的锌指蛋白转录因子 GATA6 也具有与 p38 $\alpha$  相同的调控功能。作者报道,灭活 GATA6 后导致  $\beta$ -catenin 核转位,此类遗传缺陷小鼠肺脏内 BASC 高度积聚。此结果与  $\beta$ -catenin 基因剔除实验的结果吻合<sup>[13]</sup>,说明 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号控制 BASC 自我更新。同理, TTF-1 可能是控制 BASC 自我更新的另一个重要信号<sup>[14]</sup>,虽然该推测还缺乏实验证据的证实。

目前对 BASC 的分化潜能也进行了实验分析。美国研究者 Kim 等<sup>[19]</sup>将小鼠 BASC 培养在基质蛋白凝胶 Matrigel 中,发现可以形成 AQP5<sup>+</sup>、SP-C<sup>+</sup> 和 CCSP<sup>+</sup> 三类集落,提示 BASC 具有向 I 型、II 型肺泡细胞和 Clara 细胞分化的潜能。Rawlins 等<sup>[28]</sup>对小鼠呼吸腺泡中 Clara 细胞进行了谱系追踪分析,发现不同区域的 Clara 细胞在新生期肺发育及代谢再生(homeostasis)中的作用存在明显差异。作者揭示,细支气管 CCSP<sup>+</sup> 细

胞在肺发育过程中具有自我更新能力、能够分化形成纤毛细胞,在萘烷所致上皮损伤的修复期,此类 CCSP<sup>+</sup> 细胞高度增生并参与重建气道上皮。此外作者观察到, BADJ 中的 BASC 和肺泡表面少量 II 型肺泡细胞也表达 CCSP,后者能分化形成 I 型肺泡细胞并参与修复因吸入纯氧引起的肺泡上皮损伤。但作者未观察到 BASC 在肺泡发育及其上皮损伤修复过程中的作用。然而采用肺叶切除后的肺泡再生模型, Nolen-Walston 等<sup>[29]</sup>证明 BASC 能够分化形成 II 型肺泡细胞并参与肺泡再生。此观点最近得到 Londhe 等<sup>[30]</sup>的研究支持,作者认为,清除新生小鼠肺脏的 Clara 细胞后肺泡发育严重受损。因而 BASC 主要在肺泡上皮严重损伤后发挥功能,但在病理状态下(如过表达 PNEC 特异性转录因子 ASCL1)可以观察到肺泡表面 Clara 细胞异常增生,此现象称为肺泡支气管化(bronchiolization of alveoli, BOA),但 BOA 源自 BASC 还是 CCSP<sup>+</sup> II 型肺泡细胞,目前还没有定论<sup>[31]</sup>。

BASC 向 II 型肺泡细胞分化可能需要活化 FGFR2 (FGF 的 2 型受体)信号通路。FGFR2 可分为 A 和 B 亚型,其中 FGFR2b 特异性表达在气道上皮细胞表面,其主要的活化配基(ligands)是 FGF-10,该因子与受体结合可以显著上调 p38 $\alpha$  表达,从而促使 BASC 分化形成 II 型肺泡细胞<sup>[32]</sup>。此外, II 型肺泡细胞作为肺泡区的祖细胞(progenitors),其向 I 型肺泡细胞转型分化(transdifferentiation)受 TGF $\beta$ 1(转化生长因子  $\beta$ 1) I 型受体(T $\beta$ R1)的调控。Bhaskaran 等<sup>[33]</sup>报道,大鼠 II 型肺泡细胞表达 T $\beta$ R1 和 TGF $\beta$ 1,将此类细胞分离后进行研究,发现 II 型肺泡细胞的生长特性可以分为增殖期和分化期, II 型肺泡细胞在分化期分泌大量 TGF $\beta$ 1 并自发形成 I 型肺泡细胞,这种分化效应通过 T $\beta$ R1 信使 Smad4 介导。

但是,最近的研究发现 Clara 细胞分化也需要 T $\beta$ R1,如 Xing 等<sup>[34]</sup>报道,灭活 T $\beta$ R1 激酶 ALK5 (activin receptor-like kinase 5)阻断了新生小鼠肺脏的 Clara 细胞分化,这种效应可能源自 CCSP<sup>+</sup> SSEA-1<sup>+</sup> 肺干细胞的发育缺陷。Clara 细胞是传导气道上皮中一类重要的祖细胞,其分化形成纤毛细胞需要 Sox2。Sox2 在小鼠肺脏软骨气道的 BC 和部分纤毛细胞中表达,灭活 Sox2 基因将导致纤毛细胞发育不全、同时杯状细胞大量增生,其作用机制可能是 Sox2 与 Smad3 结合,从而抑制 T $\beta$ R1 信号转导<sup>[35]</sup>。最近的转基因实验进一步揭示,在 CCSP 基因启动子

控制下过表达Sox2明显改变了呼吸腺泡上皮的形态结构,如在呼吸性细支气管及BADJ邻近区域形成假复层柱状上皮,其中含有大量p63<sup>+</sup>的BC样细胞。在此类转基因小鼠中,BASC及一些CCSP<sup>+</sup>SP-C<sup>+</sup>II型肺泡细胞也表达Sox2,这些细胞增生形成肺腺癌,但其中存在大量BC标志(如p63)和纤毛细胞标志(如Foxj1)阳性表达的癌细胞<sup>[36]</sup>。上述研究提示,TGFβ1对不同分化阶段的呼吸腺泡上皮细胞具有不同的效应,但这些效应的分子机制仍有待深入解读。

#### 4 肺干细胞与肺癌的起始细胞

目前认为,出生后上述胚胎性肺干细胞仍在呼吸道上皮中保留下来并伴随终生。在成体肺脏内,近端干细胞作为基底细胞(BC)定位于两个部位,即相应于软骨环之间的支气管假复层上皮基底层和粘膜下腺体(SMG)的导管开口处。而远端干细胞则分别保留在非软骨气道的NEB和BADJ,其中NEB中的肺干细胞称为细支气管干细胞(BSC),位于BADJ中的肺干细胞称为细支气管肺泡干细胞(BASC)<sup>[5,6,16]</sup>。

近十年来,肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)学说引起了各国研究者的高度关注并被广泛接受。按照该学说,肿瘤源自组织成体干细胞的恶性转化,此

类恶变干细胞又称肿瘤起始细胞(tumor-initiating cells)或CSC<sup>[37]</sup>。美国研究者Giangreco等<sup>[7]</sup>提出肺癌的肺干细胞起源说,并认为不同组织类型肺癌源自不同的肺干细胞,如鳞癌源自BC、小细胞癌源自NEB中的PNEC,而腺癌源自BASC(图3)。

Kim等<sup>[19]</sup>首先提供证据支持肺腺癌的BASC起源说,作者采用Kras转基因模型,发现BASC在突变型Kras癌基因的驱动下高度增生并形成腺癌。随后的研究揭示,Kras的致癌作用需要表观遗传调控因子(epigenetic regulator)Bmi-1,后者可能通过灭活INK4等位基因*p16<sup>INK4a</sup>*和*p19<sup>INK4b</sup>*的表达而促进BASC增生<sup>[38]</sup>。此外,研究还发现p38 MAPK和Wnt/β-catenin信号通路具有重要的促癌作用,灭活p38激酶活性可以促进BASC增生并增强Kras的致癌作用,而灭活GATA6转录因子则导致β-catenin核转位,也具有加速肿瘤生长的效应<sup>[27]</sup>。另一些研究者则通过分析Kras下游信号通路探讨BASC恶变形成肺腺癌的分子机制,发现PI3K-Akt和蛋白激酶C(PKC)在BASC增生过程中也是必需的,抑制上述激酶活性具有抗癌效应<sup>[39,40]</sup>。

#### 5 现状与前景展望

呼吸腺泡占肺脏呼吸系统表面积的99%以上,

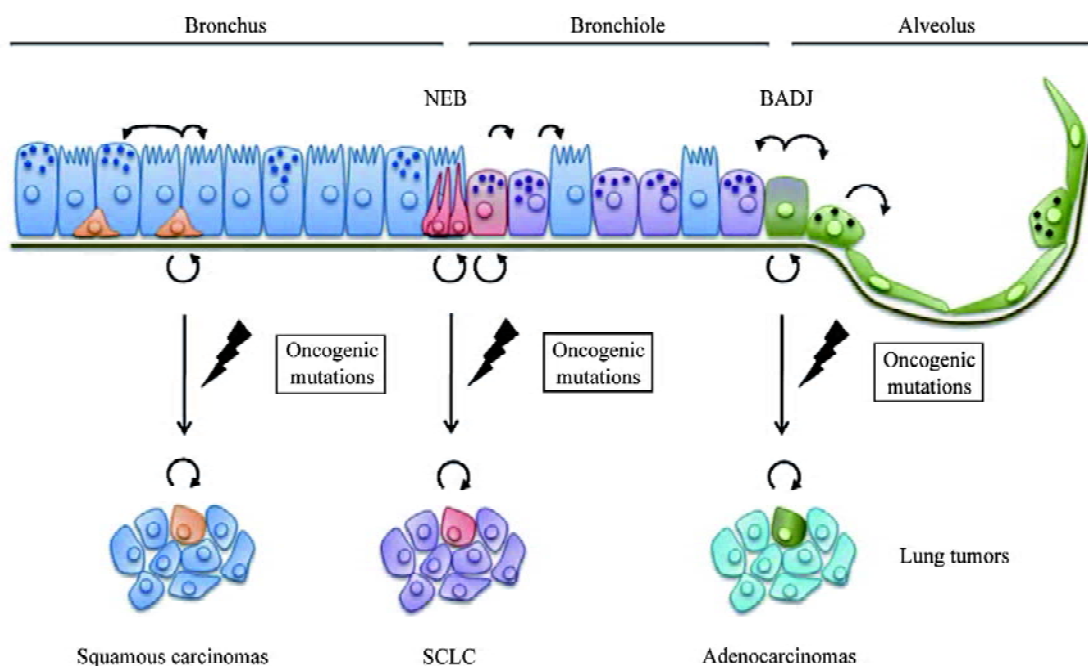


图3 内源性的干细胞及其对肺癌变的潜在影响(根据参考文献<sup>[48]</sup>略作修改)

Fig. 3 The endogenous stem cells and their potential impact on lung carcinogenesis (modified from reference 48)

其中的肺干细胞最容易受环境有害因子的侵袭而发生功能异常,如这些细胞被SARS(非典)病原体冠状病毒感染已被认为是此类烈性传染病的发病机制<sup>[17,20]</sup>;其特发性凋亡将导致慢性阻塞性肺病(COPD)<sup>[16]</sup>;而其异常增生则诱发肺癌<sup>[7,19,39,40]</sup>。目前对这类肺干细胞疾病均缺乏有效治疗手段,因而加强肺干细胞研究具有重要的理论意义和临床价值。

肺干细胞是一个新兴的发展中学科,近年来虽然研究进展迅速,但仍有大量问题需要解决。

首先是肺干细胞特异性表面标志的鉴定。研究此类细胞的前提条件是能够将其分离纯化,目前最常用的分离手段是流式细胞分选或磁性细胞分选,但遇到的技术瓶颈是缺乏特异性表面标志。就小鼠BASC而言,Sca-1是一个通用标志。然而最近的一些研究发现肺脏Sca-1<sup>+</sup>细胞并不一定代表肺干细胞<sup>[41]</sup>。在肺腺癌的CSC研究中,Cuittis等<sup>[42]</sup>最近报道,在不同的癌变分子机制作用下,CSC的表型特征存在明显差异。如在Kras突变p53灭活双重致癌模型中,致瘤细胞表达Sca-1,此类细胞具有CCSP<sup>+</sup>SP-C<sup>+</sup>BASC表型;在Kras突变致癌模型中,虽然Sca-1<sup>+</sup>细胞具有BASC表型,但此类癌细胞的致瘤能力与Sca-1<sup>-</sup>细胞差异不明显;而在突变型表皮生长因子受体(EGFR)致癌模型中,致瘤细胞属于Sca-1<sup>-</sup>亚群。上述研究结果揭示,即使BASC被普遍认为是小鼠肺腺癌的起始细胞,此类肺干细胞通过不同的癌变机制恶性转化后,其表面标志会产生明显改变。Sca-1标志的另一个缺陷是在人体细胞表面没有对应物,因而实验动物的研究结果难以延伸到人类疾病的相应研究中。因此,人体肺干细胞研究最迫切需要解决的问题是寻找到此类细胞的标志物。

其次是肺干细胞生物学特性的体外维持。在肺组织内,干细胞生物学特性的维持取决于干细胞与特定微环境(称为“巢”, Niches)的复杂相互作用<sup>[43]</sup>,因而一旦脱离“巢”微环境,此类干细胞被分离纯化后很快发生分化。在这种情况下,研究结果可能仅仅反映了肺干细胞早期分化的状态特征。因此,迫切需要建立类似ESC的体外培养系统,使得肺干细胞能够稳定传代培养,从而为开展深入系统的分析研究提供可靠的实验材料<sup>[44]</sup>。关于肺干细胞,尤其是肺癌干细胞微环境的研究非常复杂,近年来已有很多这方面的文献<sup>[7]</sup>。

最后是关于肺干细胞自我更新及分化的分子机

制。自我更新与分化机制是干细胞研究的核心内容,目前除了ESC之外,涉及成体干细胞包括肺干细胞的系统研究报道很少,这类探索将是今后干细胞学科的重要发展方向。从应用的角度,解读CSC自我更新及分化的分子机制,将可以寻找到新颖的防治靶标,为临床应用提供有效手段<sup>[45]</sup>。鉴于肺癌的高发病和低生存特性,可以预期此类CSC将是国际上肺干细胞学研究中最令人关注的一个热点<sup>[46]</sup>。

### 参考文献(References)

- 1 Liu XM, Driskell RD, Engelhardt JF. Stem cells in the lung. *Methods Enzymol* 2006; 419(6): 285-321.
- 2 Osborne DR, Effmann EL, Laurence WH. Postnatal growth and size of the pulmonary acinus and secondary lobule in man. *AJR Am J Roentgenol* 1983; 140(3): 449-54.
- 3 Cardoso WV. Lung morphogenesis revisited: Old facts, current ideas. *Dev Dyn* 2000; 219(2): 121-30.
- 4 Cardoso WV, Lü J. Regulation of early lung morphogenesis: question, facts and controversies. *Development* 2006; 133(9): 1611-24.
- 5 Stripp BR. Hierarchical organization of lung progenitor cells. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5(6): 695-8.
- 6 Kim CF. Paving the road for lung stem cell biology: bronchioalveolar stem cells and other putative distal lung stem cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293(5): 1092-8.
- 7 Giangreco A, Groot KR, Janes SM. Lung cancer and lung stem cells: strange bedfellow? *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175(6): 547-53.
- 8 Boers JE, Ambergen AW, Frederik B, Thunnissen JM. Number and proliferation of clara cells in normal human airway epithelium. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(5 Pt 1): 1585-91.
- 9 Stripp BR, Reynolds SD. Maintenance and repair of the bronchiolar epithelium. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5(3): 328-33.
- 10 Adriaensen D, Brouns I, Printelon I, Proost ID, Timmermans JP. Evidence for a role of neuroepithelial bodies as complex airway sensors: comparison with smooth muscle-associated airway receptors. *J Appl Physiol* 2006; 101(3): 960-70.
- 11 Herzog EL, Brody AR, Colby TV, Mason R, Williams MC. Knowns and unknowns of the alveolus. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5(7): 778-82.
- 12 Jeffery PK. The development of large and small airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(5 Pt 2): 174-80.
- 13 Harris-Johnson KS, Domyan ET, Vezina CM, Sun X.  $\beta$ -Catenin promotes respiratory progenitor identity in mouse foregut. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(38): 16287-92.
- 14 Costa RH, Kalinichenko VV, Lim L. Transcription factors in mouse lung development and function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280(5): L823-38.



- 15 Rawlins EL, Clark CP, Xue Y, Hogan B. The Id2<sup>+</sup> distal tip lung epithelium contains individual multipotent embryonic progenitor cells. *Development* 2009; 136(22): 3741-5.
- 16 Randell SH. Airway epithelial stem cells and the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3(8): 718-25.
- 17 Ling TY, Kuo MD, Li CL, Yu AL, Huang YH, Wu TJ, *et al.* Identification of pulmonary OCT-4<sup>+</sup> stem/progenitor cells and demonstration of their susceptibility to SARS coronavirus (SARS-CoV) infection *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(25): 9530-5.
- 18 Teisanu RM, Lagasse E, Whitesides JF, Stripp BR. Prospective isolation of bronchiolar stem cells based upon immunophenotypic and autofluorescence characteristics. *Stem Cells* 2009; 27(3): 612-22.
- 19 Kim CF, Jackson EL, Fender AE, Lawrence S, Babar I, Vogel S, *et al.* Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 2005; 121(6): 823-35.
- 20 Chen Y, Chan VS, Zheng B, Chan KY, Xu X, To LY, *et al.* A novel subset of putative stem/progenitor CD34<sup>+</sup>OCT4<sup>+</sup> cells is the major target for SARS coronavirus in human lung. *J Exp Med* 2007; 204(11): 2529-36.
- 21 Atlasi Y, Mowla SJ, Ziaee SA, Gokhale PJ, Andrews PW. OCT4 spliced variants are differentially expressed in human pluripotent and nonpluripotent cells. *Stem Cells* 2008; 26(12): 3068-74.
- 22 Karoubi G, Cortes-Dericks L, Gugger M, Galetta D, Spaggiari L, Schmid RA. Atypical expression and distribution of embryonic stem cell marker, OCT4, in human lung adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 2010; Epub ahead of print.
- 23 Chen LY, Daley GQ. Molecular basis of pluripotency. *Human Mol Gene* 2008; 17(R1): 23-7.
- 24 Boyer LA, Lee TI, Cole MF, Johnstone SE, Levine SS, Zuker JP, *et al.* Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cells* 2005; 122(6): 947-56.
- 25 Assou S, Carrou TL, Tondeur S, Ström S, Gabelle A, Marty S, *et al.* A Meta-analysis of human embryonic stem cells transcriptome integrated into a web-based expression atlas. *Stem Cells* 2007; 25(4): 961-73.
- 26 Ventura JJ, Tenbaum S, Perdiguero E, Huth M, Guerra C, Barbacid M, *et al.* P38 $\alpha$ MAP kinase is essential in lung stem and progenitor cell proliferation and differentiation. *Nat Genet* 2007; 39(6): 750-8.
- 27 Zhang YZ, Goss AM, Cohen ED, Kadzik R, Lepore JJ, Yang JF, *et al.* A Gata6 –Wnt pathway required for epithelial stem cell development and airway regeneration. *Nat Gene* 2008; 40(7): 862-70.
- 28 Rawlins EL, Okubo T, Xue Y, Brass DM, Auten RL, Hasegawa H, *et al.* The role of Scgbl1a1<sup>+</sup> Clara cells in the long-term maintenance and repair of lung airway, but not alveolar, epithelium. *Cell Stem Cell* 2009; 4(6): 525-34.
- 29 Nolen-Walston RD, Kim CF, Mazan MR, Ingenito EP, Gruntman AM, Tsai L, *et al.* Cellular kinetics and modeling of bronchioalveolar stem cell response during lung regeneration. *Am J Physiol* 2008; 294(6): L1158-65.
- 30 Londhe VA, Maisonet TM, Lopez B, Jeng JM, Li C, Minoo P. A subset of epithelial cells with CCSP-promotor activity participates in alveolar development. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010; Epub ahead of print.
- 31 Wang XY, Dakir EH, Xu NZ, Jensen-Taubman SM, Demayo FJ, Linnoila RL. Achaete-scute homolog-1 linked to remodeling and preneoplasia of pulmonary epithelium. *Lab Invest* 2007; 87(6): 527-39.
- 32 Liu YR, Martinez L, Ebine K, Abe MK. Role for mitogen-activated protein kinase p38 $\alpha$  in lung epithelial branching morphogenesis. *Dev Biol* 2008; 314(1): 224-35.
- 33 Bhaskaran M, Kolliputi N, Wang Y, Gou DM, Chintagari NR, Liu L. Trans-differentiation of alveolar epithelial typeII cells to typeI cells involves autocrine signaling by transforming growth factor  $\beta$ 1 through the smad pathway. *J Biol Chem* 2007; 282(6): 3968-76.
- 34 Xing YM, Li CG, Li AM, Sridurongrit S, Tiozzo C, Bellusci S, *et al.* Signaling via ALK5 controls the ontogeny of lung Clara cells. *Development* 2010; 137(5): 825-33.
- 35 Tompkins DH, Besnard V, Lang AW, Whitsett JA. Sox2 is required for maintenance and differentiation of bronchiolar Clara, ciliated, and goblet cells. *PLoS One* 2009; 4(12): 1-12.
- 36 Lu Y, Futtner C, Rock JR, Xu X, Whitworth W, Hogan BL, *et al.* Evidence that Sox2 overexpression is oncogenic in the lung. *PLoS One* 2010; 5(6): 1-12.
- 37 Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414(6859): 105-11.
- 38 Dovey JS, Zacharek SJ, Kim CF, Lees JA. Bmi1 is critical for lung tumorigenesis and bronchioalveolar stem cell expansion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(33): 11857-62.
- 39 Yang YN, Lwanaga K, Raso MG, Wislez M, Hanna AE, Wieder ED, *et al.* Phosphatidylinositol 3-kinase mediates bronchioalveolar stem cell expansion in mouse models of oncogenic K-ras-induced lung cancer. *PLoS One* 2008; 3(5): 1-10.
- 40 Regala RP, Davis RK, Kunz A, Khor A, Leitges M, Fields AP. Atypical protein kinase c{iota} is required for bronchioalveolar stem cell expansion and lung tumorigenesis. *Cancer Res* 2009; 69(19): 7603-11.
- 41 Mcqualter JL, Brouard N, Williams B, Baird BN, Sims-Lucas S, Yuan K, *et al.* Endogenous fibroblastic progenitor cells in the adult mouse lung are highly enriched in the Sca-1 positive cell fraction. *Stem Cells* 2009; 27(3): 623-33.
- 42 Curtis SJ, Inkevcicus KW, Li DN, Lau AN, Roach RR, Zamponi R, *et al.* Primary tumor genotype is an important determinant in identification of lung cancer propagating cells. *Cell Stem Cell* 2010; 7(1): 127-33.

- 43 Liu XM, Engelhardt JF. The glandular stem/progenitor cell niche in airway development and repair. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5(6): 682-8.
- 44 Snyder JC, Teisanu RM, Stripp BR. Endogenous lung stem cells and contribution to disease. *J Pathol* 2009; 217(10): 254-64.
- 45 Massard C, Soria ED. Tumor stem cell-targeted treatment: elimination or differentiation. *Annals Oncol* 2006; 17(11): 1620-4.
- 46 Weiss DJ, Kolls JK, Ortiz LA, Mortari AP, Prockop DJ. Stem cells and cell therapies in lung biology and lung diseases. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5(5): 637-67.
- 47 McQualter JL, Yuen K, Williams B, Bertinello I. Evidence of an epithelial stem/progenitor cell hierarchy in the adult mouse lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(4): 1414-9.
- 48 Sullivan JP, Minna JD, Shay JW. Evidence for self-renewing lung cancer stem cells and their implications in tumor initiation, progression, and targeted therapy. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29(1): 61-72.

## Study on Respiratory Acinus of the Lung and Their Somatic Stem Cells

Ming-Ming Xue, Yan Li, Xue-Lian Qi, Qiang-Gang Dong\*

(Laboratory of Cancer Stem Cells, Shanghai Jiaotong University Cancer Institute, Shanghai 200032, China)

**Abstract** The lung is one of the most important organs which connect to the environment. The environmental adverse factors, such as pathogenic microorganisms and carcinogens, can directly injure the respiratory epithelium, and the lung stem cells or their progenitor cells along with the respiratory epithelium assume the respiratory capacity for the injury. The basic structure unit of respiratory system is respiratory acinus. The surface area of the units constitutes of more than 99% of the total area of the respiratory system, so the respiratory acinus has an increased risk to develop respiratory diseases, especially malignant tumors. Evidence showed that, in the embryonic development of the lung, respiratory acinus originates from the distal stem cells which predominantly locate in the epithelium of bronchiole and the bronchioalveolar duct junction. Their malignant transformation represents a key mechanism for lung carcinogenesis. Because of this, exploring the biological characters of lung stem cells in the respiratory acinus can help to understand the molecular mechanisms underlying the oncogenesis in the lung and, therefore, facilitate to detect lung cancer at early stages and to develop potential targets for its prevention and treatment.

**Key words** lung; respiratory acinus; somatic stem cells; lung cancer

---

Received: September 29, 2010 Accepted: December 1, 2010

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30872952), the Scientific Development Foundation of Shanghai Science and Technology Commission (No.09411961700), the Nano-science Project Foundation of Shanghai Science and Technology Commission (No.0582nm5800) and the Scientific Development Foundation of Shanghai Bureau of Public Health (No.2009198)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-64437181, Fax: 86-21-64046615, E-mail: qgdong@shsci.org