## 镉对果蝇肠道上皮细胞损伤和调控中肠干细胞 增殖、分化机制的研究

楼哲丰<sup>1</sup> 曹琼洁<sup>1</sup> 冯钰淇<sup>1</sup> 蔡慧敏<sup>1</sup> 段银波<sup>1</sup> 张 岩<sup>2</sup> 林鑫华<sup>2</sup> 金龙金<sup>1\*</sup> (<sup>1</sup>温州医学院检验医学院、生命科学学院,浙江省医学遗传学重点实验室,温州 325035; <sup>2</sup>中国科学院动物研究所生物膜与膜生物工程国家重点实验室,北京 100101)

摘要 重金属元素镉具有较强的生物毒性,是威胁人类健康的重要环境污染物质。为探索 镉的过量摄入对生物消化系统的潜在影响,以果蝇中肠系统为实验模型,以不同浓度的氯化镉作 为处理因素,探讨其对肠道细胞的损伤作用和调控中肠干细胞增殖、分化的相应机制。通过透射 电镜观察,发现镉对果蝇中肠上皮细胞超微结构具有损伤作用,并且损伤程度具有显著的浓度依 赖性;免疫荧光结果证实,镉的过量摄入对中肠干细胞(intestinal stem cell, ISC)、成肠细胞(enteroblast, EB)和肠上皮细胞(enterocyte, EC)的数量和比例能够产生影响,且显著促进中肠干细胞的增 殖; Real-time RT-PCR检测结果表明,肠道组织中表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和JAK/STAT信号通路配体基因的转录水平显著提高,JAK/STAT信号通路同时被大幅 度活化。结果显示:高浓度镉的摄入对果蝇中肠上皮细胞核膜、线粒体和微绒毛等超微结构造成 损伤,该类损伤能够诱使果蝇肠道组织上调表达相关配体蛋白,从而激活干细胞的EGFR和JAK/ STAT信号通路,从而促进ISC的增殖与分化能力,继而实现对肠道损伤组织进行及时的修复。然而, 中肠干细胞增殖信号通路的持续激活以及干细胞的过度增殖同样具有诱发肠道肿瘤发生的潜在 可能。

关键词 镉; 果蝇; 超微结构损伤; 中肠; 干细胞

## Research on Effects of Cadmium Induced Intestinal Epithelial Cell Injury and Regulation on Intestinal Stem Cells Regeneration and Differentiation in *Drosophila* Mid-gut

Lou Zhefeng<sup>1</sup>, Cao Qiongjie<sup>1</sup>, Feng Yuqi<sup>1</sup>, Cai Huimin<sup>1</sup>, Duan Yinbo<sup>1</sup>, Zhang Yan<sup>2</sup>, Lin Xinhua<sup>2</sup>, Jin Longjin<sup>1\*</sup> (<sup>1</sup>*Zhejiang Provincial Key Laboratory for Medical Genetics, School of Life Sciences, School of Laboratory Medicine, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;* <sup>2</sup>*State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*)

**Abstract** Cadmium is a typical toxic heavy metal element, which is extremely harmful for people's health in environment. To explore the harmful mechanism of cadmium in digestive system, we use the *Drosophila* adult mid-gut, which is proved an excellent model to study tissue damage and intestinal stem cell (ISC) regulation

收稿日期: 2013-01-02 接受日期: 2013-02-22

\*通迅作者。Tel: 0577-86689780, E-mail: jl20050101@yahoo.com.cn

Received: January 2, 2013 Accepted: February 22, 2013

温州医学院科研基金重大项目(批准号: XNK07005)和温州市科技局计划项目(批准号: Y20110030)资助的课题

This work was supported by the Scientific Research Fund Major Project of Wenzhou Medical College (Grant No.XNK07005) and the Wenzhou Municipal Science and Technology Program (Grant No.Y20110030)

<sup>\*</sup>Corresponding author. Tel: +86-577-86689780, E-mail: jl20050101@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2013-04-10 15:42 URL: http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130410.1542.002.html

mechanisms. In this work, the flies were fed with different concentrations of cadmium chloride. Cadmium over intake could induce ultra-structural damage in mid-gut epithelial cells, especially the nuclear membrane, mitochondrion and microvilli. The level of damage is directly depending on the concentrations of cadmium used. Immunofluorescence studies show that the number and proportion of ISC, enteroblast (EB), enterocyte (EC) are varied among different cadmium feeding groups, as cadmium could up-regulate the proliferation and differentiation ability of ISC. Real-time RT-PCR data demonstrate that cadmium treatment induces over-expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and JAK/STAT ligands in fly guts. All our results demonstrated that mid-gut epithelial cell damaged by cadmium treatments were mainly manifested by nuclear membrane blurring or wrinkle, mitochondrial swelling, vacuolization, hetero-pyknosis and intestinal microvilli defects. And the ultra-structural damaged in ECs could up-regulate the expression of EGFR and JAK/STAT signaling ligands, which promoted ISC proliferation and differentiation. Thus the gut regenerates through refurnishing the damaged ECs by newly differentiated cells from ISCs. So, this mechanism enables digestive system to adapt the toxic environmental heavy metals, like cadmium. However, overactivation of these signaling pathways could also lead to potential tumorigenesis in gut.

Key words cadmium; Drosophila; ultra-structural damage; mid-gut; stem cell

重金属镉是当今世界热点关注的重要环境污染源之一,1993年,镉及其相关化合物被国际癌症研究会(International Agency for Research on Cancer, IARC)确认为第一致癌物。重金属污染能够通过吸入性粉尘和食物被摄入体内,由于其极难由体内排出,因此能够造成毒性的积累,最终导致严重的机体损伤,尤其是对动物的消化系统具有严重的损害。

果蝇的消化系统在生理结构、细胞构成、遗传 调控及其干细胞的形态和功能上,都与脊椎动物存 在很大的相似性<sup>[1]</sup>。因此,果蝇是适宜研究肠干细 胞发育命运和调控机理的理想动物模型。Spradling 和Perrimon实验室运用肠道细胞的相关分子标记发 现,成体果蝇的中肠存在肠道干细胞(intestinal stem cell, ISC)<sup>[2-3]</sup>。ISC经过有丝分裂产生一个子代ISC和 一个成肠细胞(enteroblast, EB),成肠细胞又可以分 化为吸收型的肠上皮细胞(enterocyte, EC)和分泌型 的内分泌细胞(enteroendocrine cell, EE)。这些细胞 共同构成了肠道组织,并且通过肠道干细胞的增殖、 分化来实现维持和更新。

目前大多数研究者认为肿瘤的发生与干细胞 密切相关,同时发现肿瘤组织中存在肿瘤干细胞<sup>[4]</sup>, 这使得从事干细胞研究工作成为探索肿瘤发生与调 控机理的重要途径。因此,探索镉对果蝇肠道损伤 的毒性机理和对干细胞的发育调控作用能够进一步 帮助人们揭示人类恶性消化道疾病的发病分子机理 和治疗途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物和试剂

果蝇品系*esg-Gal4,UAS-GFP/Cyo;Tub-Gal80<sup>s</sup>/ Tm6B*和w<sup>1118</sup>由中国科学院动物研究所林鑫华教授 惠赠。

AR级氯化镉、戊二醛购自中国医药集团上海 化学试剂公司; 锇酸为Ted Pella, Inc公司产品; 环氧树 脂Epon812为Serva公司产品; 一抗mouse anti Delta、 rabbit anti-Armadillo均 购 自Developmental studies hybridoma bank; 荧光偶联二抗购自Invitrogen公司; SlowFade Gold antifade reagent(防荧光淬灭剂)购自 Life Technologies; RNA提取试剂盒、反转录试剂盒 和Go-Taq ®PCR Master Mix均为Promega公司产品, Real-time RT-PCR引物由华大基因公司合成(引物序 列见表1)。

#### 1.2 方法

1.2.1 果蝇培养和镉处理 根据我室以往氯化镉 预实验结果, 配制终浓度分别为5, 15, 30 mg/L氯化 镉的固体培养基, 三种浓度均显著降低了果蝇羽化 成虫数/卵子数的比值, 但不影响成虫的存活(此结 果将另文报道); 同时以不含氯化镉的培养基为阴 性对照组。实验使用的果蝇为esg-Gal4,UAS-GFP/ Cyo;Tub-Gal80<sup>\*/</sup>Tm6B品系, 每个浓度处理组设10管 作为重复, 于(24±0.5) °C、相对湿度65%~70%条件 下培养, 至F1代新羽化果蝇产生。

1.2.2 果蝇中肠上皮细胞超微结构观察 挑取前

	1 1		
引物名称	引物序列(5'-3')	目的基因	
Primer name	Primer sequence(5'-3')	Target gene	
RpL11-S	GGT CCG TTC GTT CGG TAT TCG C	<i>RpL11</i> (reference gene)	
RpL11-A	GGA TCG TAC TTG ATG CCC AGA TCG		
Spitz-S	TTG TAT TCG CAT CGC TGT CCC AT	Spitz	
Spitz-A	ACC ACG ACG ACC ACG CCC A		
Keren-S	AAT GCC TGG GGC GAT TGG AG	Keren	
Keren-A	TGT GCT GTG TGG TTT TGT ATC TGC G		
Vein-S	GGT GCC ATT ATG GAA GCA GTA GTC GA	Vein	
Vein-A	GCT CCT TCA ATA GTT CCT CCG ATG C		
Upd1-S	GGT GAT GGA CCG CTG ATC CCA G	Upd1	
Upd1-A	CCG CAG CCT AAA CAG TAG CCA GG		
Upd2-S	CAA GTC TTT AGC TTC ACC GCA CTT GTG	Upd2	
Upd2-A	CAA GGA CGA GTT ATC AAG CGC AAG C		
Upd3-S	ATC ACC ACC AAT GCG GAC AAG C	Upd3	
Upd3-A	TGG CCA GGT CCC AGT GCA ACT		
Socs36E-S	GCA GGG CTC GAA GAA CAT CAC G	Socs36E	
Socs36E-A	GAA GTA CGG CAG GTC ACT GCA CG		

表1 Real-time RT-PCR引物序列表 Table 1 The sequences of Real-time RT-PCR primers

述步骤新羽化的果蝇,置相应氯化镉浓度培养基中 继续培养8天未见果蝇死亡。于第8天分别在各处 理组和对照组中随机选取雌性果蝇20只,在预冷 的PBS中解剖,取出肠道,戊二醛固定,并截取长约 1 mm的中肠后段,环氧树脂包埋,超薄切片,日立 H7500型透射电镜观察,照相记录。

1.2.3 果蝇中肠中ISC、EB和EC细胞的计数与统计 同上一步,于第10天分别在各处理组和对照组中随 机选取雌性果蝇各20只,预冷PBS中解剖取果蝇后 腹部,甲醛固定,PBST洗涤后5% NHS-PBST溶液封 闭15 min,4°C一抗染色过夜,洗涤,再封闭,22°C室 温二抗避光染色1.5 h,洗涤,后截取长约1 mm的中肠 后段,置滴有防荧光淬灭剂的玻片上,盖片封片。奥 林巴斯FluoView FV1000共聚焦显微镜下观察,每组 随机照相记录20个扫描层面的中肠细胞图像。

1.2.4 Real-time RT-PCR检测 以w<sup>1118</sup>果蝇为实验 材料,同上步骤,获取30 mg/L镉处理组和阴性对照 组雌性果蝇各30只,在预冷的PBS中解剖取其肠道, Promega试剂盒提取总RNA并反转录为cDNA,使用 Go-Taq ®PCR Master Mix和CFX96 PCR扩增仪(Bio-Rad)进行扩增,并获得数据。

1.2.5 统计学处理和显著性检验 中肠干细胞 (ISC)、成肠细胞(EB)、上皮细胞(EC)比例等数据以 均数±标准差表示,组间比较应用单因素方差(Oneway ANOVA)分析,采用SPSS16.0软件进行统计学处理; *Spitz、Keren、Vein、Upd1/2/3*和*Socs36E* mRNA 表达量结果采用合并多次重复的相对表达量和标准 偏差获得,显著性检验使用student-*t*-test方法。

### 2 结果

#### 2.1 镉对果蝇中肠上皮细胞超微结构的损伤作用

Maroni等<sup>[5]</sup>曾发现用含镉食物饲养的果蝇体内 蓄积了大量镉,并主要存在于中肠和肠上皮中。而 本实验采用高分辨率透射电镜,对不同剂量水平的 镉损伤的果蝇中肠组织超微结构进行了观察,更进 一步地描述了损伤的细节。

2.1.1 镉对果蝇中肠上皮细胞核膜超微结构的损伤 作用 电镜观察果蝇中肠上皮细胞核膜超微结构, 与对照组比较,结果显示:5 mg/L处理组上皮细胞见 少数细胞出现核膜皱折不平滑,局部核膜轻度模糊; 15 mg/L处理组可见上皮细胞核膜皱折不平滑,局部 核膜模糊;30 mg/L处理组可见较多上皮细胞核膜模 糊,部分细胞核固缩(图1A-图1D)。

2.1.2 镉对果蝇中肠上皮细胞线粒体超微结构的损伤作用 电镜观察果蝇中肠上皮细胞线粒体超微结构,与对照组比较,结果显示:5 mg/L处理组线粒体基质较多空泡化,基质染色变淡,但不肿胀; 15 mg/L处理组细胞线粒体不仅空泡化,且部分线



A: 对照组, 箭头所示核膜完整清晰; B: 5 mg/L镉处理组, 箭头所示核膜局部皱折、模糊; C: 15 mg/L镉处理组, 箭头所示核膜模糊, 范围扩大; D: 30 mg/L镉处理组, 箭头所示核膜模糊, 核固缩; E: 对照组, 箭头所指线粒体结构正常, 基质染色均匀; F: 5 mg/L镉处理组, 箭头所指线粒体基质 空泡化, 基质变淡; G: 15 mg/L镉处理组, 箭头所指线粒体基质空泡化、肿胀; H: 30 mg/L镉处理组, 箭头所指线粒体固缩、变小、染色变深; I: 对照组, 微绒毛排列整齐; J: 5 mg/L镉处理组, 箭头所指部分上皮细胞微绒毛缺失; K: 15 mg/L镉处理组, 箭头所指部分上皮细胞微绒毛缺失; L: 30 mg/L镉处理组, 箭头所指部分上皮细胞微绒毛缺失; M: 30 mg/L镉处理组, 箭头所指指分上皮细胞微绒毛缺失; M: 30 mg/L镉处理组, 箭头所指上皮细胞胞质出芽、脱离细胞。

A: control group, the nuclear membrane is intact and sharp(arrow); B: 5 mg/L cadmium treated group, nuclear membrane is wrinkled and blurred in some regions(arrow); C: 15 mg/L cadmium treated group, the wrinkled and blurred area is enlarged in this panel(arrow); D: 30 mg/L cadmium treated group, nuclear membrane is more ambiguous and easy to observe hetero-pyknosis of nucleus; E: control group, normal status of mitochondrion, the plasma is stained uniformly(arrows); F: 5 mg/L cadmium treated group, the vacuolus of mitochondrion are founded, weak staining of plasma(arrows); G: 15 mg/L cadmium treated group, vacuolization and swell detected in mitochondrion(arrow); H: 30 mg/L cadmium treated group, more hetero-pyknosis, shrinking and darken staining phenomenon in mitochondrion(arrows); I: control group, regular arrangement of microvilli(arrow); J: 5 mg/L cadmium treated group, the lost of microvilli(arrows); K: 15 mg/L cadmium treated group, more microvilli lost(arrows); L: 30 mg/L cadmium treated group, the microvilli are absent(arrows); M: 30 mg/L cadmium treated group, and cytoplasm is budding and escaping from ECs(arrows).

图1 镉对果蝇中肠上皮细胞超微结构的损伤作用

#### Fig.1 Cadmium treatments induced fruit fly mid-gut ultra-structural damages in ECs

粒体肿胀, 偶见线粒体固缩; 30 mg/L处理组部分线 粒体空泡化和肿胀, 线粒体固缩现象明显(图1E-图 1H)。

2.1.3 镉对果蝇中肠上皮细胞微绒毛的损伤作用 对照组上皮细胞微绒毛排列整齐,未见缺失;5 mg/L 处理组少数上皮细胞微绒毛缺失,缺失范围较小; 15 mg/L处理组上皮细胞微绒毛缺失增加,缺失范 围扩大;30 mg/L处理组微绒毛缺失频见,缺失范 围更大(图1I-图1L)。在30 mg/L处理组中频见上皮 细胞胞质出芽或以出芽方式脱离细胞形成细胞碎 片(图1M)。

# **2.2** 镉对果蝇中肠干细胞、成肠细胞和上皮细胞数量的影响

通过*esg-Gal4,UAS-GFP/Cyo;Tub-Gal80<sup>s</sup>/Tm6B* 品系果蝇自身携带的绿色荧光蛋白报告基因,再辅 助以果蝇中肠干细胞的标记性膜蛋白Delta(Notch信号通路配体)的免疫荧光染色,研究者能够清晰地分辩出果蝇肠道中各类细胞(图2)。本实验采用此种方法对镉处理实验组的果蝇中肠组织细胞进行分类计数和所占比例的统计。

由共聚焦显微镜下拍摄的中肠细胞图片统计 得出: ISC、GFP阳性细胞(ISC+EB)的数量在处理 组中显著高于对照组。在数据统计过程中,每处理 组随机选择10个中肠扫描图片,统计其中ISC、EB 和EC细胞的数量,并计算ISC、EB、EC与细胞总 数(ISC+EB+EC+ee)的比值,组间比较结果见表2。

## 2.3 镉处理在果蝇中肠具有上调EGFR和JAK/ STAT信号通路配体成员的作用

镉处理所造成的促进中肠干细胞增殖的表型 与已报导的药物和微生物损伤模型极为相似。因



A: 对照组; B: 5 mg/L处理组; C: 15 mg/L处理组; D: 30 mg/L处理组。 A: control group; B: 5 mg/L treatment group; C: 15 mg/L treatment group; D: 30 mg/L treatment group.

## 图2 镉促进果蝇中肠干细胞增殖

#### Fig.2 Cadmium treatment promoted ISC proliferation in fruit fly mid-gut

表2 镉对果蝇中肠ISC、EB和EC细胞比例的影响

	Table 2 Cadmium treatments effected on the proportion of ISC, EB and EC in fruit fly mid-gut					
组别	例数	ISC/细胞总数	(ISC+EB)/细胞总数	EB/细胞总数	EC/细胞总数	
Group	n	ISC/total cell	(ISC+EB)/Total cell	EB/total cell	EC/total cell	
Control	10	0.104±0.037	$0.394{\pm}0.088$	$0.289 \pm 0.022$	$0.606 \pm 0.088$	
5 mg/L	10	0.142±0.037*	0.447±0.125	0.305±0.100	0.552±0.125	
15 mg/L	10	0.176±0.045***	0.458±0.118	0.282±0.112	$0.541 \pm 0.118$	
30 mg/L	10	0.263±0.047***△△△▲▲▲	0.492±0.073*	0.224±0.067	0.508±0.073*	

\*P<0.05, \*\*\*P<0.001, 与对照组比; △△△P<0.001, 与5 mg/L镉处理组比较; ▲▲▲P<0.001, 与15 mg/L镉处理组比较。

\*P<0.05, \*\*\*P<0.001 compared with control group;  $\triangle \triangle \triangle P$ <0.001 compared with 5 mg/L cadmium treated group; **\***\***\***P<0.001 compared with 15 mg/L cadmium treated group.

此,我们采用Real-time RT-PCR方法对EGFR和JAK/ STAT这两条肠道干细胞重要调控信号通路的配体 成员进行了转录水平的检测。结果证实,镉损伤同 样是通过这两个信号通路途径来实现对干细胞增殖 与分化的调控。

30 mg/L镉处理后的果蝇中肠, EGFR信号通路

配体Spitz、Keren、Vein和JAK/STAT信号通路配体 Upd2、Upd3表达水平均有显著上调(图3)。本研究 同时检测了JAK/STAT信号通路靶基因Scos36E的转 录水平,其mRNA表达水平升高极显著(图3),证实镉 处理的果蝇肠道处于JAK/STAT信号通路高度激活 状态,有利于促进ISC的增殖与分化。



\*P<0.05, \*\*P<0.01.



## 3 讨论

镉在生物体内的半衰期极长,且不易排出,因 此具有毒性累积作用。Maroni等<sup>[5]</sup>发现用含镉食物 饲养的果蝇幼虫存活率超过80%,在存活的果蝇体 内蓄积了大量镉,并主要存在于肠上皮,这证明消 化道是镉污染通过食物链首先作用的器官之一,并 可能对其产生长期毒性。我们在电镜下对成虫中 肠超微结构进行观察,发现在镉暴露条件下,主要 表现为肠上皮细胞核膜、线粒体和微绒毛损伤。 伴随镉摄入剂量的增加,以上细胞超微结构的受损 程度也相应严重。这一过程可能与镉离子抑制质 膜磷脂合成酶系从而损伤膜性结构有关<sup>66</sup>。而镉处 理对线粒体的影响主要表现为线粒体肿胀、空泡 化、甚至出现固缩现象,这可能源于线粒体能够对 各种环境刺激产生敏感的应答相关问。大量的研究 表明,线粒体能够对营养匮乏、药物毒性、过氧化 作用等产生应答,其中即包括通过自噬作用开启的 细胞信号通路水平的应答。据文献报道,线粒体是 镉导致过氧化损伤的主要细胞器, 镉在细胞呼吸过 程中产生氧化自由基,再与机体内的生物大分子发 生链式放大反应, 对膜产生损伤作用, 导致细胞器 的肿胀<sup>[8]</sup>。同时镉会导致体内组织器官的还原型谷 胱甘肽耗竭, 使基质内脂质过氧化物堆积, 还可以 抑制超氧化物歧化酶的活性,从而改变膜的通透性, 致使细胞器坏死[9]。

果蝇肠道干细胞的不断更新与分化维持着肠 道细胞的稳态<sup>[3]</sup>,通过肠干细胞的增殖和分化补充 肠道上皮细胞因正常凋亡或受损死亡而减少的细 胞<sup>[10-11]</sup>。我们用电镜观察到,三种浓度的镉处理对 果蝇中肠上皮细胞结构都具有损伤作用,损伤严重 的有可能导致上皮细胞的死亡。肠上皮细胞的减少 是否返馈调控干细胞的生长增殖加快呢?我们使用 *esg-Gal4,UAS-GFP/Cyo;Tub-Gal80<sup>e</sup>/Tm6B*品系果蝇 进行镉的毒性实验,激光共聚焦显微图像揭示:氯化 镉处理组ISC细胞的数量显著高于对照组。同时,我 们发现高浓度镉处理组EC细胞数比例显著低于对 照组(*P*<0.05),这可能与EC细胞过度受损相关;而三 种浓度镉处理组中ISC细胞的比例均显著高于对照 组(*P*<0.05),这一现象证实了ISC细胞增殖能力显著 增强了,并且正向相关于镉的染毒剂量。

果蝇肠道能够通过多条信号通路共同作用 来维持肠道干细胞的增殖与分化、包括Notch、 Wnt(Wg)、BMP(Dpp)、EGFR和JAK/STAT信号通 路等。Staley等<sup>[12]</sup>发现受损的肠上皮细胞表达一种 JAK/STAT信号通路的配体Upd蛋白家族成员,它能 够激活肠道干细胞的JAK/STAT信号通路,从而促进 肠道干细胞的增殖与分化以补充受损细胞。Jiang 等[13]发现,当中肠受到病毒侵染或者进入凋亡状态 时,在肠道组织中同样会产生Upd1、Upd2和Upd3 等细胞因子激活JAK/STAT信号途径,促进原肠细胞 分化,从而形成新的肠上皮细胞代替损伤细胞。与 此同时,超活化EGFR信号通路同样能够促进干细 胞增殖,以维持上皮细胞再生。以上过程是由肠道 环形肌细胞表达的EGFR信号通路配体Vein和另两 种配体Keren和Spitz分别通过旁分泌和自分泌途径 来激活干细胞增殖的[14]。然而JAK/STAT异常激活 将同时刺激控制肿瘤形成的基因过量表达[15]。特别 是在脊椎动物中, JAK3和STAT3的过度表达与肿瘤 发生有着密切的关系, Lin等[16]发现, 在结肠癌细胞 中有JAK3和STAT3的持续性激活。Bilger等[17]也发 现,异常激活的EGFR通路将加速APC-+步遗传背景下 小鼠的肿瘤发生。而在哺乳动物结肠癌上皮细胞 中, EGFR配体的水平也出现明显上调<sup>[18]</sup>。我们通过 Real-time RT-PCR检测到镉处理组中JAK/STAT通路 配体Upd2和Upd3 mRNA表达水平显著升高,同时 JAK/STAT通路的靶基因Socs36E也被高度激活;而 EGFR信号通路配体也均有显著的上调。因此,我 们认为果蝇机体通过促使干细胞的增殖来补偿镉对 肠上皮细胞的毒性损伤,这种效应是通过激活JAK/ STAT和EGFR信号通路共同作用来实现的,而在这 一过程中更多具体机制和细节问题还有待于进一步 的研究。

#### 参考文献 (References)

- Wilson AA, Kotton DN. Another notch in stem cell biology: Drosophila intestinal stem cells and the specification of cell fates. Bioessays 2008; 30(2): 107-9.
- 2 Ohlstein B, Spradling A. The adult *Drosophila* posterior midgut is maintained by pluripotent stem cells. Nature 2006; 439(7075): 470-4.
- Micchelli CA, Perrimon N. Evidence that stem cells reside in the adult *Drosophila* midgut epithelium. Nature 2006; 439(7075): 475-9.
- 4 Gonda TA, Tu S, Wang TC. Chronic inflammation, the tumor microenvironment and carcinogenesis. Cell Cycle 2009; 8(13): 2005-13.
- 5 Maroni G, Lastowski-Perry D, Otto E, Watson D. Effects of heavy metals on *Drosophila* larvae and a metallothionein cDNA. Environ Health Perspect 1986; 65: 107-16.
- 6 Alvarez SM, Gomez NN, Scardapane L, Fornes MW, Gimenez MS. Effects of chronic exposure to cadmium on prostate lipids and morphology. Biometals 2007; 20(5): 727-41.
- 7 Wu B, Li W, Fu YM, Yu LW, Peng J, Zhang HQ. Study on effect of heavy metal cadmium ions on the ultramicrostructure damage of Pheretima aspergillum gastrointestinal epithelial cells. Zhong Yao Cai 2011; 34(12): 1833-7.
- 8 Belyaeva EA, Sokolova TV, Emelyanova LV, Zakharova IO. Mitochondrial electron transport chain in heavy metal-induced neurotoxicity: Effects of cadmium, mercury, and copper. ScientificWorldJournal 2012; 2012: 1-14.

- 9 Gupta S, Athar M, Behari JR, Srivastava RC. Cadmium-mediated induction of cellular defence mechanism: a novel example for the development of adaptive response against a toxicant. Ind Health 1991; 29(1): 1-9.
- Buchon N, Broderick NA, Chakrabarti S, Lemaitre B. Invasive and indigenous microbiota impact intestinal stem cell activity through multiple pathways in *Drosophila*. Genes Dev 2009; 23(19): 2333-44.
- 11 Amcheslavsky A, Jiang J, Ip YT. Tissue damage-induced intestinal stem cell division in *Drosophila*. Cell Stem Cell 2009; 4(1): 49-61.
- 12 Staley BK, Irvine KD. Warts and Yorkie mediate intestinal regeneration by influencing stem cell proliferation. Curr Biol 2010; 20(17): 1580-7.
- 13 Jiang H, Patel PH, Kohlmaier A, Grenley MO, McEwen DG, Edgar BA. Cytokine/Jak/Stat signaling mediates regeneration and homeostasis in the *Drosophila* midgut. Cell 2009; 137(7): 1343-55.
- 14 Xu N, Wang SQ, Tan D, Gao Y, Lin G, Xi R. EGFR, Wingless and JAK/STAT signaling cooperatively maintain *Drosophila* intestinal stem cells. Dev Biol 2011; 354(1): 31-43.
- 15 Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R. STATs in oncogenesis. Oncogene 2000; 19(21): 2474-88.
- 16 Lin Q, Lai R, Chirieac LR, Li C, Thomazy VA, Grammatikakis I, et al. Constitutive activation of JAK3/STAT3 in colon carcinoma tumors and cell lines: Inhibition of JAK3/STAT3 signaling induces apoptosis and cell cycle arrest of colon carcinoma cells. Am J Pathol 2005; 167(4): 969-80.
- 17 Bilger A, Sullivan R, Prunuske AJ, Clipson L, Drinkwater NR, Dove WF. Widespread hyperplasia induced by transgenic TGFalpha in ApcMin mice is associated with only regional effects on tumorigenesis. Carcinogenesis 2008; 29(9): 1825-30.
- 18 Jiang H, Grenley MO, Bravo MJ, Blumhagen RZ, Edgar BA. EGFR/Ras/MAPK signaling mediates adult midgut epithelial homeostasis and regeneration in *Drosophila*. Cell Stem Cell 2011; 8(1): 84-95.