

毛囊干细胞及其隆突微环境

李 伟 杨学义 窦忠英*

(西北农林科技大学, 国家干细胞工程技术研究中心陕西分中心, 杨凌 712100)

摘要 毛囊隆突 (bulge) 是毛囊干细胞特定的微环境, 它维持并调节干细胞的特性, 使干细胞在静息态、自我更新和分化上保持平衡。现重点从毛囊隆突的物理结构上来简要揭示微环境对干细胞的调控。

关键词 毛囊; 干细胞; 微环境

微环境的概念是 Schofield 等^[1]于 1978 年首次提出的, 他观察到稳定的特殊微环境可以调控造血干细胞增殖分化, 并将这样的区域称为壁龛(niche)。现在有人将微环境定义为能够容纳一个或多个干细胞并能控制其自我更新和增殖的组织细胞和胞外基质的组合^[2]。它是由各种调控活性成分组成的空间, 细胞间保持的距离正适合细胞间相互作用以及局部的近距离调控。

自从 Cotsarelis^[3]提出隆突(bulge)激活假说以来, 越来越多的证据表明毛囊隆突是毛囊干细胞的微环境。隆突部位于毛囊上半部, 是竖毛肌插入外根鞘所形成的隆起, 紧邻皮脂腺开口的下方。隆突部细胞具有明显的干细胞特征^[4]: ①隆突处细胞同毛囊其他部位的细胞相比具有最大的增殖能力; ②静止期的隆突细胞在毛发的生长期开始后或接受某种刺激信号经过短暂的分裂会产生大量的短暂扩增(transit amplifying, TA)细胞; ③隆突细胞在亚细胞结构上处于相对未分化状态; ④处于毛囊循环周期中生长期起始阶段的隆突细胞比静止期的细胞更容易致癌。表皮干细胞被认为参与皮肤癌的发生, 而生长期正是隆突细胞产生大量 TA 细胞的时期, 因此也支持了隆突细胞是干细胞的假设。作为干细胞的栖息地, 隆突部会为干细胞提供保护, 并使其在静息态、自我更新和细胞分化三者之间处于平衡。这个部位的特定空间结构以及细胞互作关系都有利于表皮干细胞特性的维持: 能保护干细胞不受外界因素的损害; 维持干细胞慢增殖和未分化状态; 在信号刺激下能引导干细胞朝向祖细胞分化。

1 毛囊隆突的初始形成及其结构特征

人毛囊的形成始于胚胎期 3 个月时, 源于表皮

生发层的细胞。根据发育生物学的观点, 哺乳动物的 3 个胚层均来自于外胚层, 因而外胚层中可能含有数量最多的原始干细胞。作为最大的外胚层组织, 皮肤中可能残留有大量这样的细胞, 包括发育成毛囊的细胞。Lavker 等^[4]认为毛囊干细胞为皮肤中最终定位的表皮干细胞, 间接支持了这一假设。

隆突的形成在出生后第 1 次毛发发生周期之后, 而干细胞在此之前就存在了, 以启动毛发发生周期和参与创伤修复^[5]。虽然毛囊隆突如何形成的分子机制不太清楚, 但是可以肯定的是毛囊干细胞对这一过程起到了重要的作用。间接的证据来自于毛囊干细胞移植实验。将干细胞移植到裸鼠皮下后能形成完整的毛囊并能正常的生长和循环。这表明新生毛囊中获得了稳定定位的干细胞及相应的微环境结构, 从而暗示了移植后多能性干细胞参与了微环境的重构。另外, 在新生的毛囊中能检测到刺激微环境周围真皮鞘和感觉神经元的生长因子的 mRNA 表达, 这些 mRNA 一般只在隆突部位表达。这又表明干细胞不仅参与微环境的重构, 而且还在一定程度上维持生成的微环境。其他许多证据也表明, 干细胞能够影响到微环境中非干细胞细胞(nonstem cell)的行为。在发育中, 干细胞分泌的一些因子并不作用于本身, 而是作用于周围的非干细胞细胞^[5]。毛囊隆突部一旦形成, 就会长期稳定的存在, 例如小鼠毛囊的数目在出生后并不会增加。

隆突位于毛囊永久性上皮结构的基部, 同时也

收稿日期: 2004-12-06 接受日期: 2005-02-08

国家高新技术研究发展计划(863计划)资助项目(No. 2002AA216161), 国家自然科学基金资助项目(No.302000137), 国家教育部重大资助项目(No.03160)

* 通讯作者。Tel: 029-87013368, Fax: 029-87013368, E-mail: douzhongying@china.com

是毛囊连续性上皮结构中最深层、保护最好、供血丰富的部位。隆突部具有同表皮基底膜相似的结构,也表达基膜成分,包括半桥粒蛋白,这表明基膜结构可能从表皮一直延伸到隆突部。由于一般上皮组织中没有血管,因此所需的营养支持由深部的结缔组织血液透过基膜供应。基膜是一个非常复杂的动态结构,是表皮细胞和真皮细胞相互作用的产物。它的主要成分是胞外基质、包括胶原、层黏连蛋白、纤维黏连蛋白、纤维蛋白原和各种多糖蛋白。

胞外基质对细胞的生长和迁移非常重要,基质成分特定的空间排列含有为细胞黏附受体所识别并能转换为相应的细胞行为的信息,而细胞的行为也能调整和重组胞外基质环境。胞外基质的动态组成本身就是可溶性信号分子库,而且还能介导其他信号的转导。这些信号来自于生长因子、细胞和胞外基质的互作、细胞间的互作以及各种生化和机械刺激。一般而言,干细胞一旦脱离基底膜,就会逐渐走向终末分化。

2 隆突部细胞及其邻近细胞

隆突部位存在大量的干细胞。Blanpain 等^[5]分离出了毛囊隆突细胞群,通过分析细胞特征,发现了隆突细胞的异质性。隆突部细胞由两种类型的细胞群组成:一种是附着于基膜上的基底细胞(basal cell),一种是不附着的上基底细胞(suprabasal cell)。他们证实,在体内两类细胞都保持静息态,而在体外都能够被诱导自我更新。另外,通过克隆分析和体内移植实验发现两类细胞都含有多能性干细胞。可能是随着毛囊干细胞的缓慢增殖,产生的干细胞在基膜上会堆积到一定的数量,直至一部分干细胞会被排挤出来,从而形成了上基底层。因此,上基底层的形成是干细胞微环境内部运动和更新的产物,从而形成了微环境内部的不对称性。可以肯定的是,微环境中维持这两类细胞定位的特定空间特征早就被确定了。

隆突内部除了干细胞外,还存在着一些非干细胞细胞,目前认为比较重要的一个是梅克尔(merkel)细胞。在隆突内部,存在两种神经末梢细胞,黑素细胞和梅克尔细胞。黑素细胞参与毛干和表皮的着色。而梅克尔细胞在隆突内的功能却完全不清楚。由于这些细胞同侵入毛囊内的神经感觉末梢没有形成连接,因此早在 10 年前,就有人推测梅克

尔细胞在隆突内主要参与干细胞特性维持的功能,而不是执行触觉功能。现在梅克尔细胞对干细胞的影响正在引起广泛的关注,尚待深入研究。

隆突部的相关邻近细胞也参与了对干细胞的维持和调节。竖毛肌细胞就是其中之一。它同一小部分的隆突细胞通过类似半桥粒的结构保持直接接触,它的远端定位于真皮上部,接近皮肤中参与触觉的梅克尔细胞。有人推测竖毛肌细胞和隆突细胞之间的特异连接在维持干细胞的未分化状态上有重要的作用。

另外一个特殊的邻近细胞群是真皮乳头细胞。毛发的生长期是新生和凋亡的循环,包括 3 个时期:生长期(anagen)、退化期(catagen)、静止期(telogen)。在退化期,毛囊下 2/3 部的细胞开始凋亡。该过程使真皮乳头到达隆突的基部,从而成为一个特殊的微环境成分。毛乳头细胞上升至隆突的基部,为下一个毛发生长周期的激发打好了结构上的基础。这样的定位主要是有利于隆突干细胞接受来自毛乳头的信号刺激。在新的一轮周期开始时,干细胞和毛乳头细胞的互作可能是隆突干细胞迁移和增殖的关键因素。这样的关键信号有以下几类:促使静止的干细胞分裂生成多能的 TA 细胞的信号;使 TA 细胞定向分化为毛母质、皮脂腺或表皮细胞的信号;控制 TA 细胞可塑性程度的信号^[4]。来自毛乳头的信号刺激干细胞迁移以及 TA 的生成,这些 TA 细胞向下呈上皮样生长,同真皮乳头连接并形成新的毛球。在连续的增殖以后,快速分裂的毛母质 TA 细胞迅速走向终末分化,而这一连续分裂过程使毛囊下 2/3 部位的结构得以新生^[7]。而刺激毛母质细胞这一增殖过程的信号也是来源于毛乳头,可能包括有两个关键的信号:FGF-7 和 BMP-4。FGF-7 能够刺激表皮细胞的生长,而在小鼠毛母质细胞和毛囊祖细胞中表达 BMP-4 抑制物 Noggin 的情况下,毛干祖细胞的增殖受到终止^[2]。

3 干细胞定位的维持

干细胞在其特定微环境的定位是一种进化保留现象。微环境一旦建立,干细胞就会长期保持在此。那么究竟是什么因素维持干细胞这种稳定的定位呢?许多线索来自对果蝇生殖干细胞的研究。研究表明,干细胞与其相邻的非干细胞细胞的直接物理连接对维持干细胞的定位及其特性有着关键的作用。如前所述,在毛囊内干细胞同梅克尔细胞及竖

毛肌细胞的连接可能对干细胞的定位有着重要的影响。一旦干细胞同周围的细胞连接松散或者在数量上减少, 干细胞数量就会迅速减少, 大量走向分化。相关的证据来自造血干细胞的研究。造血干细胞在骨内穿越时, 会沿着成骨细胞迁移。随着细胞的进一步成熟, 造血干细胞的增殖性增强, 朝中央骨髓腔迁移并横穿血管。当增加小鼠体内的成骨细胞数量后, 造血干细胞的数量会相应的增加。有趣的是, 这些新增的干细胞能够同样维持慢增殖周期的特性。而这种特性的保持似乎是通过 N-钙黏着蛋白(N-cadherin)介导的与成骨细胞的直接连接而实现的^[8]。

在毛囊隆突部, 干细胞的定位与整联蛋白(integrin)密切相关。整联蛋白是跨膜糖蛋白受体, 它的配体是胞外基质蛋白和 Ig 超家族整联蛋白, 具有介导细胞和胞外基质连接的功能。外根鞘具有同表皮基底膜类似的结构^[5], 这使得整联蛋白的作用变得极其重要。整联蛋白中最重要的是 $\beta 1$ 整联蛋白。表皮细胞一旦离开基底层, $\beta 1$ 整联蛋白水平就开始出现下降趋势, 并逐步表现出分化细胞的特征。但上基底细胞的存在显然是个特例。有人认为 $\beta 1$ 整联蛋白和 MAPK 共同作用可以在体外维持表皮干细胞的干细胞特性^[9]。 $\beta 1$ 整联蛋白和 $\alpha 6\beta 4$ 整联蛋白的高表达是一致的, 有人证实用 $\beta 1$ 整联蛋白和 $\alpha 6$ 整联蛋白筛选出来的表皮干细胞具有最大的增殖潜力, 因而这两种整联蛋白是目前较常用的表皮干细胞分离标志^[10]。体外实验证明 $\beta 1$ 整联蛋白还能调节细胞分化, 它传导的是抑制分化的信号。体内的 $\beta 1$ 整联蛋白缺失会刺激终末分化的起始。剔除了 $\beta 1$ 整联蛋白并能存活数周的小鼠严重缺毛, 并在第 7 周时丢失了毛囊和皮脂腺。同时, 毛囊间表皮的增殖也大大减少。

细胞的黏着成分除了整联蛋白外, 还有钙黏着蛋白和连环蛋白(catenin)。在没有 wnt 信号作用时, 这两者通常一起构成细胞连接^[11]。这两者是干细胞的阴性标志。Watt 等^[9]认为高水平整联蛋白 $\alpha 2\beta 1$ 和 $\alpha 3\beta 1$ 和低水平的 E-黏着蛋白、 β -连环蛋白及 α -连环蛋白是表皮干细胞的特征。Akiyama 等^[12]等通过对发育晚期的小鼠胚胎的毛囊细胞进行免疫染色分析, 发现隆突部位细胞表达 $\beta 1$ 强阳性, 及黏着蛋白和连环蛋白阴性。整联蛋白主要介导细胞与基膜的连接, 而后两者主要是构成细胞间的连接, 这暗示出干细胞同周围细胞的直接连接并不是很密切,

如同表皮基底层细胞位于表皮增殖单位的中心一样。

因此干细胞定位是一个复杂的过程, 由特定的细胞-细胞连接和细胞-基质连接来共同维持。

4 干细胞不对称分裂的调节

干细胞微环境的一个关键作用是维持干细胞的自我更新, 而自我更新则是通过不对称分裂来实现的。对称分裂是大部分细胞的特性, 也包括干细胞。然而, 一些多能性干细胞却具有额外的不对称分裂的能力。通过这种分裂方式, 两个子代细胞中的一个保持干细胞特性, 而另外一个则为逐步走向终末分化的定向祖细胞。在微环境中, 调节对称分裂和不对称分裂之间的平衡对维持干细胞的数量和满足周围组织对分化细胞的需要是至关重要的。另外, 干细胞微环境通过参与不对称分裂可以调节后代细胞的流动及其方向。对于产生的子代干细胞而言, 它的维持必须有自我更新和分化抑制因子的作用。而另外一个子代细胞受到干细胞特性维持因子的作用非常小, 因此无法克服外部环境造成的分化影响。最近, FGF-18 和 BMP-6 被认为是在毛囊隆突内抑制分化的关键因子^[5]。FGF-18 和 BMP-6 对所有角质形成细胞的生长都有抑制作用, 可导致 S 期细胞数目大量减少。另外, 经过这两种因子处理过的细胞被诱导终末分化的比例大大降低。

那么后代细胞的这种不平衡及空间的方向性是如何造成的呢? 这需要从 3 个方面来解答: ①细胞极性的形成; ②有丝分裂纺锤体的方向性; ③分化和 / 或干细胞决定子的分离: 要么均匀的分布到两个子代细胞中去, 要么不对称的分布到其中一个。为了阐述这个过程, Fuchs 等^[13]构建了一个假想的模式图(图 1)。在该模式中, 干细胞和基膜的连接参与了干细胞极性形成和细胞分化决定子分布。如果较强的极性信号从细胞的基膜极散发, 那么细胞决定子就会不对称的分散到两个子代细胞中(图 1 左)。相反, 如果强极性信号位于细胞-细胞连接的话, 那么决定子就会均匀的分布到子代细胞中去(图 1 右)。因此, 细胞分裂的对称与否决定于有丝分裂纺锤体是平行还是垂直于排列细胞命运决定子的细胞极性轴。

细胞的极性和纺锤体方向建立的机制涉及一系列因素, 包括 APC、动力蛋白-动力激活蛋白、PKC ϵ 、肌动蛋白、肌球蛋白等^[14]。许多细胞具有同其下方的基底膜及周围细胞相连接的能力, 从而

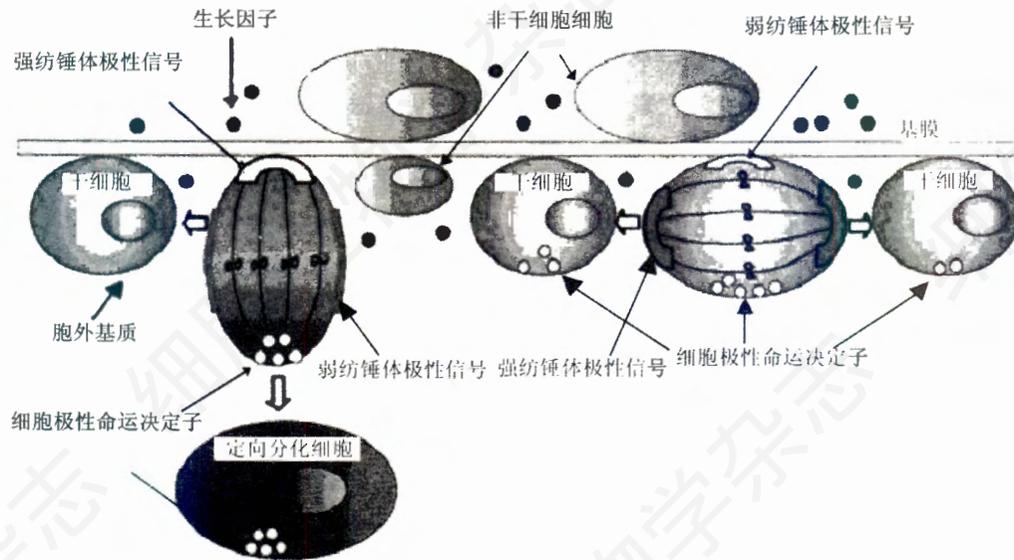


图1 微环境调节干细胞不对称分裂模式图^[13]

使得组织结构同细胞内部的极性因子联系起来。极性的引发是由促进肌动蛋白细胞骨架重组的信号造成的，在这个过程中，整联蛋白和钙黏着蛋白起到了核心的作用。

5 小结

微环境对干细胞的调控最终是通过信号分子实现的。干细胞在维持干细胞状态和在短暂扩增后定向分化两者上的平衡需要大量信号转导途径的参与。目前认为对维持和调节表皮干细胞状态的信号通路主要有 Notch、BMP/TGF β 超家族、wnt，另外还有许多的尚待发掘的信号通路。Notch 主要在维持干细胞的可塑性上有关键的作用；BMP/TGF β 超家族主要是维持干细胞的定位；而 wnt 近年来更是引起广泛的关注，它在调节胚胎外胚层干细胞形成毛囊和毛囊干细胞形成毛囊上显得非常重要。今后几年表皮干细胞研究领域的重点可能就是进一步研究目前发现的一些关键信号通路的作用以及发现新的信号。

干细胞的特征是通过研究它们如何被微环境控

制而得以被认识的。本文重点从表皮干细胞微环境的物理构成上来揭示干细胞如何被调控的机制。从中可以看出构成干细胞微环境的非干细胞细胞、邻近细胞、胞外基质以及特定的定位都是特异的，这些特异的微环境因素和干细胞的内在属性共同维持了毛囊隆突细胞的干细胞特征，并决定了其分裂增殖的快慢以及不对称分裂和对称分裂之间的平衡。

参考文献 (References)

- [1] Schofield R. *Blood Cells*, 1978, 4: 7
- [2] Spradling A et al. *Nature*, 2001, 414: 98
- [3] Cotsarelis G et al. *Cell*, 1990, 61: 1329
- [4] Lavker RM et al. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 2003, 8: 28
- [5] Blanpain C et al. *Cell*, 2004, 118: 635
- [6] Tumber T et al. *Science*, 2004, 303: 359
- [7] Alonso L et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 11830
- [8] Kai T et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 4633
- [9] Zhu AJ et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 6728
- [10] Watt FM. *EMBO J*, 2002, 21: 3919
- [11] Alonso L et al. *Genes Dev*, 2003, 17: 1189
- [12] Akiyama M et al. *J Invest Dermatol Symp Pro*, 2000, 114: 321
- [13] Fuchs E et al. *Cell*, 2004, 116: 769
- [14] Perez-Moreno M et al. *Cell*, 2003, 112: 535

Hair Follicle Stem Cells and Their Bulge Niche

Wei Li, Xue-Yi Yang, Zhong-Ying Dou*

(*Shaanxi Branch of National Stem Cells Engineering & Technology,
Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China*)

Abstract Hair follicle bulge is the specific microenvironment for follicle stem cells. It can maintain and regulate the characteristics of stem cells, accomplishing a balance of quiescence, self-renewal, and cell differentiation. Underscoring the physical structure of follicle bulge, this paper aims to interpreting the regulation of stem cells by the niche.

Key words hair follicle; stem cell; niche

Received: December 6, 2004 Accepted: February 8, 2005

This work was supported by the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2002AA216161), National Natural Science Foundation of China (No.302000137), Key Program Funds of the Ministry of Education (No. 03160)

*Corresponding author. Tel: 86-29-87013368, Fax: 86-29-87013368, E-mail: douzhongying@china.com