

# 果蝇生殖腺干细胞和它们的微环境

冯振月 潘敏慧\* 鲁成

(西南大学蚕学与生物技术学院, 农业部蚕桑学重点实验室, 重庆 400716)

**摘要** 干细胞微环境是由容纳一个或多个干细胞, 并控制干细胞自我更新和子代细胞产生的组织细胞以及细胞外基质组成。干细胞必须在微环境内才能增殖, 才能保持自我更新的特性。通过对果蝇生殖腺干细胞微环境的结构及其产生的信号路径(该路径可以调节干细胞自我更新)的研究, 发现微环境中支持细胞和它们发出的信号路径在调节干细胞的增殖和分化中起重要的作用。

**关键词** 果蝇; 干细胞; 微环境; 信号路径

干细胞具有自我复制的能力, 在一定条件下, 它可以分化成各种功能细胞。干细胞的定向分化需要一个比较固定的、有调控活性的微环境和组织, 称之为龕(niche)<sup>[1]</sup>。干细胞的龕是由容纳一个或多个干细胞, 并控制干细胞自我更新和子代细胞产生的组织细胞以及细胞外基质组成<sup>[2]</sup>, 它使细胞间保持的距离适合于细胞间的相互作用和短距离调节因子的产生和传递。干细胞必须在龕内才能增殖, 才能保持自我更新的特性。干细胞的行为被特定的龕所调控这一事实已被广泛的了解, 但由于对单个干细胞和它们周围的环境进行鉴别和操纵非常困难, 这使得龕在长期以来只是个理论上的概念, 最近的技术进步使得某些器官干细胞的识别和定位成为可能。这些器官包括生殖腺、血液、皮肤、中肠、神经和肾等<sup>[3,4]</sup>。

目前对干细胞龕的研究仍然处于初期阶段, 在哺乳动物中确定一个干细胞的龕非常困难, 但在模式生物果蝇中则相对容易。果蝇的生殖腺已被作为研究干细胞龕的模式系统, 因为果蝇生殖腺在对龕的研究中有许多优势。首先, 果蝇的生殖腺相对简单, 其结构已经被研究清楚; 其次, 果蝇生殖腺含有单个活化的生殖干细胞, 而且它们的支持细胞也被准确的确定; 第三, 果蝇生殖腺干细胞(germline stem cells, GSCs)的非对称分裂产生的两个子细胞总是一个仍然保留干细胞的特性留在龕中, 而另一个细胞则离开龕开始分化; 另外, 雄性和雌性的生殖腺干细胞为对比两个不同的干细胞龕提供了绝好的材料<sup>[5,6]</sup>。

近几年来, 对体细胞调节果蝇 GSCs 分裂的研究已经取得了许多令人兴奋的进展, 这些进展对干细胞龕结构和功能的认识, 以及由龕中发出信号路

径的研究提供了许多有价值的参考<sup>[7]</sup>。

## 1 果蝇 GSCs 龕的结构和特点

### 1.1 果蝇卵巢 GSCs 龕的结构和各种支持细胞的功能

果蝇的卵巢和精巢都是管状结构, GSCs 和它们的龕位于管状结构顶点的盲端。卵巢功能单位为一个卵巢管, 在它的顶点含有 2~3 个生殖干细胞。果蝇的 GSCs 龕由位于卵巢顶部的末端细丝细胞(*terminal filament cells*)和位于其基部直接与 GSCs 相接触的帽子细胞(*cap cells*)组成, 最近许多资料也提出内部鞘细胞(*inner sheath cells*)也是果蝇干细胞的龕必不可少的组成部分。另外, 龕中还有另一种干细胞系成体干细胞(*somatic stem cells, SSCs*)。有 2~3 个 SSCs 位于龕的后部区域的基底膜上, 它们与内部鞘细胞在形态和基因表达模式上相似, 谱系标记(*lineage-marking*)实验证实了 SSCs 是产生至少 10 个不同亚型的卵巢囊泡细胞的祖细胞, 开始分化的包囊干细胞经过连续 4 次有丝分裂形成一个由 16 个细胞组成的团簇, 团簇内包裹一个未成熟状态的卵细胞, 即在龕中卵细胞周围有 15 个滋养细胞陪护<sup>[5]</sup>。研究人员发现, 由 4 个或 8 个细胞组成的细胞簇中的细胞在适当条件下仍能返回到干细胞状态。而且, 返回的干细胞与正常干细胞一样发挥功能。只含有返回干细胞的果蝇在整个成年期中与正常果蝇一样繁殖<sup>[5]</sup>。

收稿日期: 2005-08-12 接受日期: 2005-10-17

国家重点基础研究发展规划(973 计划)(No.2005CB121000)和国家自然科学基金(No.30471312)资助项目

\* 通讯作者。Tel: 023-68250793, Fax: 023-68251128, E-mail: pmh@swau.cq.cn

卵巢干细胞龛对 GSCs 的自我更新是必须的, 龛中不同的细胞有不同的功能。直接确定龛中的细胞是如何维持干细胞功能是很困难的。激光切除大部分末端细丝细胞, 只留下基部少量该细胞, 会增加干细胞的分裂速率, 说明它可以调节干细胞的分裂增殖, 但是这种调节是如何发生的还不清楚<sup>[5]</sup>。

帽子细胞在果蝇卵巢干细胞龛中是主要的信号细胞, 有以下几个证据: (1) 帽子细胞直接与 GSCs 接触, 如果 GSCs 的纺锤丝的一极不能准确地锚定在帽子细胞上, 则会直接影响干细胞的非对称分裂; (2) 帽子细胞中的雌性不育基因 *Yb* (*female sterile*) 突变会完全丧失 *Hh* (*Hedgehog*) 的表达, 但只是部分影响 *Hh* 在末端细丝细胞中的表达, 在帽子细胞中对影响 *Hh* 表达的 *Yb* 基因的绝对需要表明帽子细胞可能是关键的信号细胞; (3) 切除大部分末端细丝细胞会增加 GSCs 的分裂速度, 说明可能只有帽子细胞和一部分的末端细丝细胞是维持 GSCs 所必需的, 因此帽子细胞可能是 GSCs 中主要的支持细胞<sup>[5]</sup>; (4) 在对 DE- 钙黏着蛋白和 *arm* 基因研究中也提供了相关的信息。DE- 钙黏着蛋白和 *arm* 蛋白聚集在帽子细胞和干细胞的表面, 是维持干细胞行为所必需的<sup>[8]</sup>; (5) 帽子细胞中表达 *Dpp* (*decapentaplegic*) mRNA, 而 *Dpp* mRNA 又是干细胞的主要调节信号, 表明其在调节生殖干细胞增殖和分化中所起的关键作用<sup>[5]</sup>。

### 1.2 果蝇精巢 GSCs 的龛结构

在成体果蝇的精巢中, 干细胞的龛由以下几种细胞组成: 与基底膜相接触的 10~12 个中心细胞 (*hub cells*); 5~9 个生殖干细胞和 10~18 个原包囊细胞 (*cyst progenitor cells*), 原包囊细胞也是一种 SSCs, 中心细胞位于干细胞的周围并与其接触形成一个指环结构。SSCs 也与中心细胞接触。精巢干细胞的分裂模式与卵巢中的相似, 通常以非对称方式分裂。中心细胞是起主要作用的信号细胞<sup>[5]</sup>。果蝇的成体精巢与卵巢干细胞龛一样具有两种干细胞, 即 GSCs 和 SSCs。

### 1.3 果蝇 GSCs 龛的特点

为了维持足够数量和一定比例的干细胞和分化细胞, 许多组织中的干细胞都以不对称方式分裂, 一个干细胞分裂产生两个子代细胞, 其中一个细胞仍保留干细胞的特征留在龛中, 而另一个细胞离开龛开始分化。

果蝇 GSCs 有两种分裂方式, 一种基于谱系机制 (*lineage mechanism*); 干细胞以不对称方式分裂, 产生的两个子代细胞拥有不同的命运。其中一个干细胞仍与主要的信号细胞接触, 保留干细胞的特

性, 而另一个干细胞则离开龛开始分化。另一种方式是基于数量机制 (*population mechanism*), 这是一种类似于对称的分裂方式, 这种分裂方式产生的子代细胞有两种可能, 一种是子代细胞都与主要的信号细胞接触, 保留干细胞的特性, 或者两个子代细胞都开始分化<sup>[2]</sup>。同一个龛可能在特定的时期采取不同的分裂方式, 如果蝇的 GSCs 通常以不对称方式分裂, 但是当龛中干细胞数量不足时则会采取数量机制, 进行对称分裂, 产生的两个子代细胞都是干细胞, 补充缺少的干细胞。

龛的大小与 GSCs 的数量成正相关。理论上来说, 龛的空间大小和由其控制干细胞的数目有关, 然而一些细胞使用更加详尽的机制来确保两个子代细胞的不同命运<sup>[9]</sup>。这表明这两个子代细胞并不竞争有限的龛空间和信号。当卵巢中有 1、2、3 个干细胞时, 龛中帽子细胞的数量分别平均为 4.2、5.3 和 6.6 个。当一个干细胞丢失时, 另一个干细胞会沿着帽子细胞对称分裂产生两个相等的干细胞定位于龛中<sup>[7]</sup>。在幼虫果蝇精巢干细胞龛中无论是中心细胞的数量还是与它们相接触的干细胞的数量都是成体精巢龛中的两倍。在许多组织中, 干细胞龛随着从幼态到成年期的生长而同步增多。同时有实验显示某些信号如 Wnt 信号上调、过量的 *Hh* (*Hedgehog*) 信号能诱导干细胞龛的重新产生<sup>[10]</sup>。也许, 这些信号的调节性表达能控制发育时干细胞的龛<sup>[11]</sup>。干细胞的龛对条件改变的调节特性使干细胞的活动与机体对特殊分化细胞的需要相一致。

果蝇干细胞的龛还有以下几个特点: (1) 由龛中发出的信号调节干细胞的生存和自我更新; (2) 在干细胞和周围的龛细胞之间的黏附因子使干细胞锚定在龛中靠近自我更新信号; (3) 干细胞和龛中支持细胞的物理结构使干细胞极化, 为干细胞有丝分裂的纺锤丝处于正确的方向提供了空间上的线索, 确保其非对称分裂的发生<sup>[5]</sup>。果蝇卵巢和精巢龛的另一个引人注意的特点是, 它同时调节 GSCs 和 SSCs。在精巢龛中, 中心细胞与 GSCs 和 SSCs 接触, JAK-STAT 信号路径是调节 GSCs 和 SSCs 自我更新所需的, 因此, 同样的龛同样的信号路径以相似的方式同时调节两种不同类型的干细胞。卵巢龛与精巢龛相似, 同样的龛同样的信号路径控制干细胞的自我更新和分化, 但是因为其龛的组成结构与精巢龛不同, 因此这种调节更复杂。

## 2 果蝇生殖腺干细胞的龛信号

干细胞的自我更新和分化行为受到严格的控

制, 干细胞是如何选择自我更新信号和起始分化, 这对于维持GSCs在体外培养时维持其基本特征是很有用的。干细胞龛中的支持细胞分泌生长因子可以产生活化邻近干细胞的信号, 而使干细胞维持自我更新抑制分化<sup>[12]</sup>, 另外在干细胞和支持细胞之间的黏附因子, 对干细胞靠近自我更新信号起重要的作用, 而且定位信号与自我活化蛋白的结合可以使干细胞极化, 以确保干细胞的非对称分裂<sup>[8]</sup>。在决定分化进程和干细胞活动规律的环境因素上, 找出和分析干细胞龛, 阐明组织协调特定发展程序的分子是非常重要的。

## 2.1 果蝇卵巢干细胞龛信号

调节卵巢GSCs的信号分子很多, 其中Dpp(*decapentaplegic*)信号和Bam(*bag of marbles*)信号研究得较早也较清楚。Dpp是果蝇卵巢中与脊椎动物中骨形成蛋白*Bmp2/4*相同源的基因, 通常被认为是外在信号, Dpp在帽子细胞和内部的鞘细胞中表达, 在龛内部的GSCs和其子代的包囊干细胞中都有表达, 但二者的表达水平不同, 前者有高水平的表达, 而后者表达水平较低<sup>[4,12]</sup>。在果蝇卵巢组织干细胞自我更新中Dpp起中心信号作用<sup>[12]</sup>。Bam被认为是内在信号因子, 它在GSCs和其子代的包囊干细胞中表达与否与Dpp信号的存在直接相关。当GSCs子代的干细胞中有高水平的Dpp表达时, Bam的转录受到抑制, 则该干细胞仍保留干细胞的特性留在龛内, 包囊干细胞中因为有低水平的Dpp表达, 因而允许Bam转录, 则包囊干细胞起始分化。因此Dpp信号和Bam信号在维持GSCs自我更新和包囊干细胞的起始分化中似乎起相反的作用, 失去Bam信号功能, 包囊干细胞不会分化, Dpp基因过量表达, 也会产生同样结果。而Bam在GSCs中表达, 会引起GSCs数量的减少, 同样Dpp信号减少也会产生类似的结果<sup>[7]</sup>。

最近提出另一个龛中的信号Gbb(*glass bottom boat*), 它与哺乳动物*Bmp5*、*Bmp6*、*Bmp7*、*Bmp8*同源, Gbb信号也是一种外在信号, 在龛细胞中表达, 与Dpp信号相同, 它也在GSCs和其子代细胞中调节Bam的转录, 但是与Dpp不同的是, Dpp信号的存在足以抑制Bam的转录, 而Gbb却不足以抑制Bam的转录, 而且两者有不同的信号特征<sup>[13]</sup>。

Dpp和Gbb抑制Bam转录, 可能是通过结合Bam下游的转录效应子而起作用<sup>[1]</sup>。Mad(*mother against Dpp*)和Med分别是Bmp信号的指示因子和转录活化因子, Mad有利于Med位置的转移, 而Med

是刺激Dpp靶定基因表达的转录活化子<sup>[2,12]</sup>。它们结合到Bam沉默子上, 引起Bam沉默, 导致转录不能发生。*brk*(*briker*)是在果蝇成虫盘和胚胎中表达的基因, *brk*基因作用可被Dpp信号通过一个转录沉默子而抑制。它的表达需要Dpp和shn信号。有趣的是*brk*基因的沉默子和Bam沉默子在结构上很相似, 它们的19个碱基组成中有13个相同。*brk*沉默子由Mad、Med和shn组成。而Bam沉默子由Mad和Med组成, 但是否有shn还不确定<sup>[13]</sup>。因此在果蝇卵巢GSCs中Bam的转录抑制可能被Dpp和*gbb*与胚胎中相似的模式调节。即Bmp信号作用在GSCs中, 导致Mad的磷酸化, 然后磷酸化的Mad与Med复合物转移到核中与Bam沉默子结合抑制它的转录, 可能是Med和Mad复合物可以征募shn到Bam沉默子上, 也可能是征募另一个抑制因子结合到Bam沉默子上抑制Bam转录。两者与Bam沉默子的结合有不同的亲和性, Med比Mad具有更高的亲和性<sup>[13]</sup>。Dpp信号过表达导致Bam转录抑制可能是一个快速的过程, 因为当Dpp过表达2h后, 即可检测到Bam mRNA数量的减少, 说明Bam转录被Bmp信号抑制可能是直接的<sup>[13]</sup>。

果蝇卵巢生殖腺的另一个干细胞SSCs的分裂强烈地受到Hh路径的影响, Hh在末端细丝细胞和帽子细胞中有高水平的特异表达, 几个基因突变引起Hh下调会减少体细胞的数量, 而其上调表达会引起囊泡细胞的祖细胞增殖2~3倍<sup>[5]</sup>。

## 2.2 精巢干细胞龛信号

JAK-STAT信号转导和转录活化路径在雄性果蝇GSCs的自我更新中是必需的, JAK由*hopscotch*基因编码, STAT由*Stat92E*基因编码, 丢失两者中的任一个均会导致干细胞和早期分化细胞的快速丢失<sup>[2]</sup>。在特定的干细胞中活化的STAT下游的靶定位点目前还不清楚。Upd是果蝇JAK/STAT活化路径的配体, 它在中心细胞中特异表达, Upd在早期的生殖细胞中的异位表达会导致GSCs数量的急剧减少。包囊细胞(*cyst cells*)中活化表皮生长因子受体信号路径对抑制GSCs的无限增殖和/或促进分化的细胞离开龛起作用。由中心细胞发出的自我更新信号似乎只能传递很短的距离, 因此只有离其很近的细胞才能收到Upd信号进行干细胞的自我更新<sup>[5]</sup>。

与雌性的Dpp信号相似的TGF- $\beta$ 信号也控制Bam的表达。说明在雄性和雌性系统中, 在分化的进化程序上存在相似之处<sup>[14]</sup>。然而, 应该指出的是, 尽管存在这些相似之处, Bam信号在雄性和雌

性生殖系统所起的作用却有些不同。在雌性中, Bam 的表达是干细胞产生的两个子代细胞中的分化细胞起始所必需的, 而在雄性生殖系统中, 在精原细胞起始末端分化以前, 会经历有限数量的转移扩大分裂, 这时需要 Bam 的表达<sup>[15]</sup>。

### 2.3 果蝇 GSCs 龕中细胞间和细胞与细胞外基质黏附因子的作用

在雌性的 GSCs 和帽子细胞之间, 以及雄性的 GSCs 和中心细胞之间有一串黏附连接, 免疫荧光分析揭示果蝇与 Shotgun(Shg)同源的 DE- 钙黏着蛋白以及  $\beta$ - 连环蛋白同源的 Arm (Armadillo) 高度集中在雌性 GSCs 和帽子细胞以及雄性的 GSCs 和中心细胞表面。可能这些黏附连接对干细胞保留并靠近自我更新信号和远离分化信号是必需的<sup>[8]</sup>。

通过对其他组织干细胞龕的研究, 进一步说明果蝇 GSCs 龕的某些特征在其他物种中是保守的。虽然目前的研究已提示不同干细胞的龕在结构和功能上是不同的, 但仍有一些共同点<sup>[16]</sup>。如许多干细胞龕都有一种或多种特殊的细胞群, 如中心细胞、真皮乳头细胞或末端/帽细胞。在干细胞龕中, 干细胞所接受的主要信号经常控制着干细胞的活动, 这些信号可能来自于特化的细胞。基底膜是大多数干细胞龕的组成部分。细胞外基质也有利于从空间上构建干细胞龕以及从局部调整黏附及信号分子的聚集。尽管在发育过程中干细胞有细微的差别, 但干细胞龕对调控胚胎干细胞和 GSCs 的表达谱却是相似的<sup>[2]</sup>。

对果蝇干细胞龕及其信号路径的研究, 为干细

胞的形成和自我更新研究提供了平台, 为研究其他物种的干细胞系统提供了可供参考的资料。随着对更多的与 GSCs 有关的基因的进一步研究, 将揭示干细胞的分裂速度和自我更新与细胞周期的联系。干细胞移植是否成功, 依赖于基质细胞的相互作用和其重新定位在新龕中的能力。同时, 有利于理解干细胞自我更新的机制和认识多细胞组织的起源和形成<sup>[17]</sup>。对由帽子细胞和中心细胞等龕细胞以及影响 GSCs 行为的信号路径的了解会帮助人们拓宽对其他干细胞类型的了解, 为基于干细胞的治疗提供有价值的参考<sup>[18]</sup>。

### 参考文献 (References)

- [1] Mahoney MJ *et al. Nat Biotechnol*, 2001, **19**: 934
- [2] Spradling A *et al. Nature*, 2001, **414**: 98
- [3] Lemischka IR *et al. Nature*, 2003, **425**: 778
- [4] Fuchs E *et al. Cell*, 2004, **116**: 769
- [5] Lin H. *Nat Rev Genet*, 2002, **3**: 931
- [6] Watt FW *et al. Science*, 2000, **287**: 1427
- [7] Zhang J *et al. Nature*, 2003, **425**: 836
- [8] Gonzalez-Reyes A. *J Cell Sci*, 2003, **116**: 949
- [9] Asaoka M *et al. Development*, 2004, **131**: 5079
- [10] Kehat I *et al. J Clin Invest*, 2001, **108**: 407
- [11] Rattis FM *et al. Curr Opin Hematol*, 2004, **11**: 88
- [12] Yamashita YM *et al. J Cell Sci*, 2005, **118**: 665
- [13] Song X *et al. Development*, 2004, **131**: 1353
- [14] Whetton AD *et al. Trends Cell Biol*, 1999, **9**: 233
- [15] Casanueva MO *et al. Development*, 2004, **131**: 1881
- [16] Donovan PJ *et al. Nature*, 2001, **414**: 92
- [17] Kai T *et al. Nature*, 2004, **428**: 564
- [18] Lovell-Badge R. *Nature*, 2001, **414**: 88

## *Drosophila* Germline Stem Cells and Their Microenvironment

Zhen-Yue Feng, Min-Hui Pan\*, Cheng Lu

(Key Sericultural Laboratory of Agriculture Ministry, College of Sericulture and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

**Abstract** Stem cells microenvironment is considered to be composed of tissue cells and extracellular substrates that can indefinitely house one or more stem cells and control their self-renewal and prevents their differentiation. Stem cells can only multiply and maintain self-renewal in a specific niche. Studies using the model biology *Drosophila* germline stem cells niche system have revealed that support cells and their signaling pathways in the microenvironment play a vital role in controlling the fate of the stem cells.

**Key words** *Drosophila*; germline stem cells; microenvironment; signaling pathways

Received: August 12, 2005 Accepted: October 17, 2005

This work was supported by the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program) (No.2005CB121000) and the National Natural Science Foundation of China (No.30471312)

\*Corresponding author. Tel: 86-23-68250793, Fax: 86-23-68251128, E-mail: pmh@swau.cq.cn