

睾丸支持细胞对精原干细胞发育的调节

司 蕾 张学明* 岳占碰 李子义 李德雪

(吉林大学畜牧兽医学院, 动物胚胎工程吉林省重点实验室, 长春 130062)

摘要 精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSCs)是位于睾丸曲精小管基膜上既能自我更新,又能定向分化的一类原始精原细胞。鉴于其独特的生物学特性,SSCs研究在干细胞生物学、医学、畜牧业等领域均具有重要意义,但目前有关其更新、分化的调控机制仍不清楚。干细胞的发育受其外部特定发育环境及其内在因素的综合调控。最近以睾丸支持细胞为主要结构组分的发育环境对SSCs行为的调控研究备受关注且取得快速进展。综合相关报道,主要就哺乳动物睾丸支持细胞对SSCs更新、分化的调节进行了评述,以期为本领域及其他干细胞研究提供借鉴。

关键词 支持细胞; 精原干细胞; 发育; 调控

精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSCs)是成体内在整个生命过程中自然进行更新并能将基因传至子代的唯一成体干细胞,条件适宜时它们还能获得多潜能性并分化为来源于三胚层的多种组织细胞^[1,2]。鉴于其独特的生物学特性,SSCs研究在干细胞生物学、医学、畜牧业等领域均具有重要意义。但目前有关SSCs自我更新与分化的调控机制仍不清楚。

干细胞更新、分化的调控是干细胞生物学中的根本问题。对多种自我更新型组织的研究发现,干细胞存在于一个能维持其处于未分化状态并调节其数量、决定其命运的特殊细胞组织中^[3,4]。作为干细胞的特定发育环境,该区域表现出一些特殊的生物学特征,起着为干细胞的自我更新或存活提供特定场所的作用^[5]。其基本特性包括阻断干细胞定向及分化的促进信号,维持干细胞活性;吸纳并保有一至数个干细胞在其附近;吸引被移植干细胞正确归巢;适时让干细胞离巢并踏上定向及分化之旅;保持未分化干细胞与已注定分化干细胞间的比例平衡等^[6]。

最新研究表明,借助周围的细胞连接及黏附分子,哺乳动物SSCs特定发育环境的主要结构组分睾丸支持细胞分泌的信号分子或因子能激活邻近SSCs之间及其内部的细胞通讯,从而在SSCs更新分化行为的调控中发挥重要作用。结合最近的相关报道,本文主要评述了支持细胞对SSCs发育调控方面的进展。

基底室和近腔室,基底室位于生精上皮基膜与支持细胞紧密连接之间,由精原细胞占据;近腔室位于支持细胞紧密连接上方,由分化的生精细胞所占据。SSCs移植研究表明,被移植干细胞在受体曲精小管壁上的克隆位点在形态学与基底室相对应,后者也是SSCs能进行自身维持的唯一场所,因此可以推断基底室可能就是SSCs的特定发育环境。基底室由支持细胞及其连接、细胞外基质、曲精小管基膜、管周肌样细胞等构成(图1)^[7]。研究表明,将野生型小鼠的支持细胞移入Steel/Steel^{dicke}不育小鼠曲精小管能恢复其精子发生,说明支持细胞在SSCs的特定发育环境

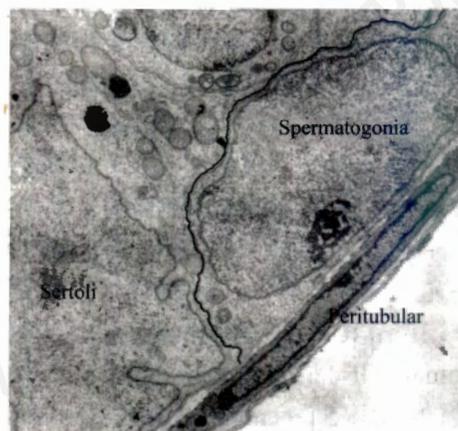


图1 SSCs微环境^[7]

支持细胞与A型精原细胞同位于基膜上,外有管周肌样细胞环绕,精原细胞质膜除底部外均与支持细胞相接触。

1 支持细胞是SSCs发育环境的主要组分

在哺乳动物睾丸内,支持细胞把曲精小管分为基

收稿日期: 2008-02-29 接受日期: 2008-05-05

国家自然科学基金资助项目(No.30771555, No.30200195, No.30471246)

*通讯作者。Tel: 0431-87836162, E-mail: zhuxueming@yahoo.com

中起主要作用^[8]。在基底室内,支持细胞与 SSCs 相互识别,营养并调节 SSCs 的更新和分化。因此,支持细胞是 SSCs 特定发育环境的主要结构和调控者^[9,10]。

从形态学上来说,成年生精上皮中的 SSCs 均位于基膜上,SSCs 除通过基膜与管周细胞发生联系外,其所处的特定发育环境受控于支持细胞(图 1)。幼龄动物生精上皮在发育早期仅有支持细胞和精原细胞,支持细胞为幼稚型,相互间无紧密连结。随着初级精母细胞的出现,支持细胞停止增殖,相互间开始形成紧密连结,并表现出成年型特征^[11]。支持细胞被认为是生精细胞的“饲养细胞”,首先是由于两者在形态结构上的联系,其次是因为前者能合成、分泌多种化学物质,影响生精细胞的增殖和分化。成熟后,支持细胞间建立起复杂的功能关系并为生精细胞的定向分化提供信号和能量,这对精原细胞进行减数分裂和以后的精子发生至关重要。支持细胞对 SSCs 更新、分化行为的调控是通过分泌多种生长因子、细胞因子来介导的。

2 支持细胞产生的调节 SSCs 发育的主要因子

2.1 Ets 相关分子

最近的研究表明,小鼠睾丸的生长及 SSCs 发育环境的转录调控需要 Ets 相关分子(Ets related molecular, ERM)参与^[12,13]。Ets 家族的首个基因——v-est 原癌基因(for E-twenty-six specific)最早发现于禽类急性白血病病毒 E26,随后在多种生物中均发现了 Ets 相关基因,它们广泛参与多种细胞的发育、分化、生长、转化等过程^[14,15]。Chen 等^[13]报道,在四周龄 ERM^{-/-}小鼠体内成熟的或分化程度较高的生殖细胞基因没有改变,但精原细胞特异性基因的表达减少了 3.5~14 倍;随着时间的延长,在 ERM^{-/-}小鼠体内所有生殖细胞都会消失。在 ERM^{-/-}小鼠支持细胞内,ERM 还调节其他几个基因的表达,如间质细胞源因子(stromal cell-derived factor, SDF-1)、趋化因子(C-X-C 模体)配体 5 [chemokine (C-X-C motif) ligand 5, CXCL5]、趋化因子(CC 模体)配体 7 [chemokine (CC motif) ligand 7, CCL7]及基质金属蛋白酶-12 (matrix metalloproteinase 12, MMP-12)等(表 1)。其中 SDF-1、CXCL-12 及 CCL7 的表达下降了 9~25 倍, MMP-12 的表达下降了 10 倍。趋化因子在细胞迁移尤其是造血干细胞的自我更新中极其重要,能与基质

表 1 ERM 对支持细胞基因表达的调节

基因	支持细胞	
	野生型小鼠	ERM ^{-/-} 小鼠
GDNF*	正常	正常
SDF-1	正常	下降
CXCL5	正常	下降
CCL7	正常	下降
MMP-12	正常	下降

* 胶质细胞源神经营养因子(glial cell-derived neurotrophic factor, GDNF)。

金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)共同调节干细胞的募集和迁移。因此,通过这些作用,ERM 能使 SSCs 停留于特定发育环境内并平衡其自我更新和分化。随着 ERM 的失活,SSCs 的自身数量不能维持而分化能力大大提高,最终导致生精上皮的消失。

作为支持细胞的一个转录因子,ERM 至少可通过以下几种途径发挥作用:(1)通过产生支持细胞生长因子或改变 SSCs 细胞周期的分子来提高其增殖能力;(2)平衡干细胞的对称式和不对称式分裂;(3)调整支持细胞和精原细胞间的细胞连接;(4)改变基膜因子或与基膜相作用的干细胞膜受体;(5)通过增加支持细胞趋化因子的分泌,招募或吸引干细胞保留在特定发育环境中^[7,16]。当 ERM 开始表达时支持细胞的结构和功能发生改变,标志着 SSCs 定向分化和自我更新之间平衡的建立。

基因剔除研究表明,ERM^{-/-}小鼠可以生长为成鼠并且表型没有明显异常,这说明 ERM 缺失并不影响其它干细胞的发育,并且各器官的结构和功能都正常^[13]。换言之,ERM 只对 SSCs 的维持具有专一性。但 ERM 怎样对 SSCs 的更新和分化行为进行调节目前尚不清楚。由于 Jagged-1 及其受体 Notch-1、Notch-2、Notch-3 对细胞连接的形成和细胞的周期性活动均有调节作用,而 ERM 可对 Jagged-1 在支持细胞中的表达进行调节,并且在曲细精管基膜上也发现了 Notch-1、Notch-2、Notch-3^[13]。所以 SSCs 与支持细胞间的细胞连接及其与基膜间的相互作用可能会成为一个研究热点。

ERM 属于 Ets 家族的一个亚家族,其成员还包括 Pea3 和 ER81。Pea3 和 ER81 具有 95% 的同源性,ERM 与 Pea3 和 ER81 的同源性分别为 95% 和 96%。ERM 普遍表达于人的脑、肺、睾丸等正常组织,ERM、Pea3、ER81 也表达于妊娠早期小鼠的子宫和卵巢^[14,15,17]。鉴于 Pea3、ER81 与 ERM 结构的高度同

源性、功能的相似性及组织表达的普遍性(特别是在生殖系统内), 我们推测, Pea3、ER81 可能也是哺乳动物 SSCs 特定发育环境的重要组分并参与 SSCs 更新、分化的调控。目前, 我们正在进行这方面的工作。

2.2 GDNF

GDNF 是转化生长因子- β (TGF- β)超家族的远房相关成员, 在雄性个体的整个成年期由支持细胞分泌产生, SSCs 则表达其信号转导受体复合物 GFR α 1 (GDNF family receptor α 1, GFR α 1)和c-RET (GDNF's coreceptor)跨膜酪氨酸激酶受体^[18]。GDNF 对 SSCs、神经干细胞等多种细胞的发育、分化均有调节作用并贯穿个体的整个生命过程^[19,20]。已经证实 GDNF 信号途径对 SSCs 自我更新与分化之间的决定是关键性^[21]。剔除 GDNF 的杂合子小鼠可以存活, 但其 SSCs 却会渐近性地消失。相反, GDNF 表达过多则会使未分化精原细胞数量增多, 导致生殖细胞瘤。另有研究表明, 使小鼠支持细胞强制性表达人 GDNF 能诱发被移植睾丸曲精小管内未分化精原细胞数量的扩张, 而使 SSCs 的分化受阻。利用睾丸移植技术证实, 任何 GDNF 介导的 RET 信号传导路径被破坏都会导致精子发生的失败, 原因是 SSCs 更新不足^[22]。大量体外试验数据表明 GDNF 能刺激 SSCs 的增殖而非分化, 提示 GDNF 对 SSCs 自我更新与分化之间比例的调节具有重要作用。

ERM^{-/-}小鼠和 GDNF^{-/-}小鼠的睾丸表型很相似, 但在 ERM 缺失鼠的睾丸中 GDNF 仍然被表达, 说明两者间可能有交错的表达路径, 但相互间却没有直接调控对方的能力^[7]。ERM 可间接改变 GDNF 的活动, 尤其在成年睾丸中 ERM 的这种能力可使干细胞在自我更新与定向分化之间达到平衡。SSCs 表达 GDNF 的复合受体 GFR α 1 和 RET。GFR α 1 含有配体结合部, 结合于生殖细胞质膜的外侧。在 GFR α 1 缺失的细胞区域内, 信号转导需要 RET^[18,23,24]。像 GDNF 剔除一样, 剔除 GFR α 1 和 RET 也会导致新生动物死亡, 将新生鼠的睾丸移植到裸鼠体内可证明干细胞中含有 GFR α 1 和 RET。研究表明, GFR α 1 和 RET 对维持未分化的 SSCs 起重要的作用, 剔除任何一个都会导致干细胞的消失和精子发生的失败。另外, 这与体外利用可溶性的 GFR α 1 处理 SSCs 可促进其增殖的结果一致^[18]。因此, 在围产期早期, ERM 的表达是对 GDNF 的间接调节, ERM 可通过改变 GDNF 的受体或其他因子的表达来影响 GDNF 的表达, 从而最终促进 SSCs 的自我更新。

2.3 干细胞因子

干细胞因子(stem cell factor, SCF)是支持细胞的另一产物, 由青灰位点(SL)编码, 是 c-KIT 受体的配体^[25]。c-KIT 受体蛋白是酪氨酸激酶的一个受体, 该受体结构与集落刺激因子-1 及血小板源生长因子的受体结构相似。将野生型的生殖细胞移植到 *Steel/Steel^{dicke}* 小鼠睾丸中仍然能形成集落但不能分化^[8]。A 型精原细胞之后的发育需要 SCF/c-KIT 信号转导系统, 但该系统不能维持 SSCs 的更新和增殖。SCF/c-KIT 在出生后个体精原细胞的增殖、分化中也同样具有重要作用。在出生后小鼠睾丸中, 编码 c-KIT 受体蛋白的 mRNA 见于间质细胞、性原细胞、精原细胞、初级精母细胞、圆形精子细胞及精子; c-KIT 受体蛋白表达于性原细胞、精原细胞、前细线期精母细胞。随着减数分裂的开始, c-KIT 受体蛋白表达停止, 但一种截短的 c-KIT 产物——tr-KIT 受体蛋白又特异性地表达于减数分裂期以后的精子发生中, 并在精子中积累。在小鼠 A 型精原细胞群体中, c-KIT 受体表达于分化中精原细胞, 而不表达或很少表达于未分化型精原细胞和 SSCs^[16,26]。

3 SSCs 周围环境随年龄而改变

在小鼠睾丸中, 伴随着支持细胞的发育成熟, SSCs 特定发育环境的形成在早期发育阶段就已开始。从出生到性成熟, 随着支持细胞的快速增殖到停止分裂及睾丸体积的增大, 生精上皮内 SSCs 发育环境的相对数量经历了一个由快速增加到急剧减少, 最后随之稳定的动态过程^[9,10,27]。在生理性状方面, 由于发育环境的衰老退变从而导致 SSCs 更新、分化能力的降低。研究表明, 当把年龄较小的可育个体的 SSCs 移入年老不育个体曲精小管后, 不能产生来自供体 SSCs 克隆的精子发生^[28]; 但通过系列移植, 每间隔 3 个月把供体的 SSCs 植入年龄较小且经白消胺处理过的睾丸曲精小管后, 与在正常体内环境中相比, SSCs 能够自我更新并启动精子发生超过 3 年时间而未表现出衰老迹象^[29]。说明年青动物体内的发育环境更有利于 SSCs 保持其干细胞特性, 这提示老年性不育不是因为干细胞的退行性变化而是因为干细胞所处发育环境的衰老而导致的。换言之, 在自我更新组织内, 干细胞不发生衰老或者说比干细胞所处的发育环境衰老得更慢。这就为组织工程治疗提供了新的思路, 在未来临床实践中设法预防或治疗干细胞发育环境的衰老比移植新的干细胞可能更有意义。

4 小结

干细胞发育环境概念的提出虽然很早,但人们对其重要功能的认识仍是近几年的事。当前对于多数自我更新组织中干细胞发育环境的认识仍局限于理论探讨阶段,主要是因为缺乏必要的手段鉴定这些组织中的单个干细胞及其周围环境^[30]。基于 SSCs 独具的生物学特性及 SSCs 移植技术的建立和完善,SSCs 现已成为哺乳动物可更新组织中干细胞发育环境研究的最佳模型之一。目前,虽然对 SSCs 发育环境的显微解剖学位置、基本构造、所涉及的一些调控因子和信号途径等有了一些基本认识,但对其详细的结构生物学特征、在雄性个体整个生命中的动态变化规律以及对 SSCs 更新和分化调控的模式等仍缺乏深入了解。这些问题的解决不仅对 SSCs 研究、应用的深入进行有重要意义,对其他干细胞生物学研究也有重要借鉴意义。

参考文献(References)

- [1] Guan K *et al. Nature*, 2006, **440**: 1199
 [2] Baba S *et al. Stem Cells*, 2007, **25**: 1375
 [3] Wurmser AE *et al. Science*, 2004, **304**: 1253
 [4] Tumber T *et al. Science*, 2004, **303**: 359
 [5] Jones DL *et al. Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, **9**: 11
 [6] Hackney JA *et al. Methods Mol Med*, 2005, **105**: 439
 [7] Hess RA *et al. Cell Cycle*, 2006, **5**: 1164
 [8] Kanatsu-shinohara M *et al. Hum Reprod*, 2005, **20**: 2376
 [9] Ogawa T *et al. Int J Hematol*, 2005, **82**: 381
 [10] Nagano M *et al. Biol Reprod*, 1999, **60**: 1429
 [11] Kubota H *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 16489
 [12] Schlessner HN *et al. Biol Reprod*, 2008, **78**: 483
 [13] Chen C *et al. Nature*, 2005, **436**: 1030
 [14] Koo TB *et al. Reproduction*, 2005, **129**: 651
 [15] El-Tanani M *et al. J Biol Chem*, 2004, **279**: 20794
 [16] Dadoune JP. *Folia Histochem Cytobiol*, 2007, **45**: 141
 [17] Monté D *et al. Oncogene*, 1994, **9**: 1397
 [18] Naughton CK *et al. Biol Reprod*, 2006, **74**: 314
 [19] Bugeaw A *et al. Biol Reprod*, 2005, **73**: 1011
 [20] Zhang XM *et al. Biol Reprod*, 2006, **75**(supplement 1): 491
 [21] Oatley JM *et al. J Biol Chem*, 2007, **282**: 25842
 [22] Meng X *et al. Science*, 2000, **287**: 1489
 [23] Sariola H *et al. J Cell Sci*, 2003, **116**: 3855
 [24] Oatley JM *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**: 9524
 [25] Rossi P *et al. J Endocrinol Invest*, 2000, **23**: 609
 [26] Berruti G. *Front Biosci*, 2006, **11**: 2144
 [27] Seandel M *et al. Cell Cycle*, 2008, **7**: 135
 [28] Zhang X *et al. Biol Reprod*, 2006, **74**: 119
 [29] Ryu BY *et al. Stem Cells*, 2006, **24**: 1505
 [30] Jones DL *et al. Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, **9**: 11

Regulation of Sertoli Cell on the Development of Spermatogonial Stem Cell

Lei Si, Xue-Ming Zhang*, Zhan-Peng Yue, Zi-Yi Li, De-Xue Li

(Key Laboratory of Animal Embryo Engineering, Jilin Province; College of Animal Science and Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract Spermatogonial stem cells (SSCs) are primordial spermatogonia resided on the base membrane of the seminiferous tubules in testes and being capable of self-renewal and differentiation. Due to their unique biological properties, investigations on SSCs are significantly important in stem cell biology, basic medicine, animal science and husbandry. However, the regulation mechanisms of SSCs self-renewal and differentiation is still unclear. The development of stem cell is controlled by the integration of intrinsic factors with its specific environment. Recently, the regulation of testicular Sertoli cells, the main structural component of this specialized environment on SSCs behavior, has raised extensive concern and progressed rapidly. Based on the related reports, this review focuses on current progress of the regulation of Sertoli cells in mammalian testis on SSCs self-renewal and differentiation in order to provide the clue for further studies in SSCs or other related stem cell researches.

Key words Sertoli cell; spermatogonial stem cell; development; regulation

Received: February 29, 2008 Accepted: May 5, 2008

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30771555, No.30200195, No.30471246)

*Corresponding author. Tel: 86-431-87836162, E-mail: zhxueming@yahoo.com