

# 默克尔细胞的发育研究进展

芮晨<sup>1</sup> 袁绘普<sup>1</sup> 张雅君<sup>1</sup> 陈晶<sup>2,3</sup> 王超尘<sup>2,3</sup> 肖瑛<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>浙江大学医学院附属邵逸夫医院, 杭州 310020; <sup>2</sup>浙江大学医学院附属第二医院乳腺外科, 杭州 310016;

<sup>3</sup>浙江大学爱丁堡大学联合学院, 海宁 314400)

**摘要** 默克尔细胞是一种感知机械力, 参与识别物体外形和纹理的轻触觉感受器, 位于皮肤表皮基底层和体内感知机械力的上皮组织中。作为感知机械力的感受器细胞, 默克尔细胞在个体的生存中非常重要。多种信号通路以及微环境因子参与默克尔细胞的发育调控, 但其发育机制仍然没有被完全研究清楚。该文对默克尔细胞的来源及其发育中涉及的相关信号通路等进行调研总结, 概述现有默克尔细胞发育相关的调控机制。了解默克尔细胞的发育过程有助于优化其体外培养体系, 从而为研究默克尔细胞提供更好的研究系统, 这将对触觉异常相关疾病的发生机制及其治疗策略具有重要意义。

**关键词** 皮肤; 感觉系统; 轻触觉感受器; 干细胞; 微环境

## Advances in the Development of Merkel Cells

RUI Chen<sup>1</sup>, YUAN Huipu<sup>1</sup>, ZHANG Yajun<sup>1</sup>, CHEN Jing<sup>2,3</sup>, WANG Chaochen<sup>2,3</sup>, XIAO Ying<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310020, China; <sup>2</sup>Department of Breast Surgery, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310016, China;

<sup>3</sup>Union College of Edinburgh University, Zhejiang University, Haining 314400, China)

**Abstract** Merkel cells are light touch receptors that sense mechanical force and participate in identifying the shape and texture of objects. They are located in the basal layer of skin epidermis and the epithelial tissue that senses mechanical force *in vivo*. As receptors, Merkel cells are important in individual survival. A variety of signaling pathways are involved in the development and regulation of Merkel cells. However, the developmental mechanism is still not fully understood. This review summarizes the origin of Merkel cells and the related signaling pathways involved in their development, and outlines the existing regulatory mechanisms of Merkel cells. Understanding the development mechanism of Merkel cells may help to optimize the long-term culture system *in vitro*, so as to provide a better research system for Merkel cells study, which will also be of great significance to the pathogenesis and treatment strategies of tactile abnormalities related diseases.

**Keywords** skin; touch sensation; light touch receptor; stem cell; microenvironment

触觉由机械力作用于皮肤中触觉感受器而被生物体所感知, 对于生命个体生存和感知外界至关重要。在轻触觉感觉传导中, 默克尔细胞(Merkel cells)作为触觉感受器受体细胞行使重要作用。它具有

特殊的分子标志物和细胞形态: 细胞角蛋白(Keratin) K8、K20和Atoh1是默克尔细胞中特异性表达的标志物; 其细胞内含有核内小棒、清晰的细胞质、精细的桥粒、特征性膜结合的默克尔颗粒和细胞突

收稿日期: 2021-09-01 接受日期: 2021-11-29

国家自然科学基金(批准号: 32070816)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 15267093680, E-mail: xiaoying.srr@zju.edu.cn

Received: September 1, 2021 Accepted: November 29, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32070816)

\*Corresponding author. Tel: +86-15267093680, E-mail: xiaoying.srr@zju.edu.cn

表1 默克尔细胞体外培养条件  
Table 1 *In vitro* culture conditions of Merkel cells

年份 Year	样本来源 Sample sources	条件 Conditions	培养时长 Time	部位 Location	文献 References
2003	Human and mice	DMEM+10% FCS	8 days	Did not say	[9]
2004	The newborn	K-SFM	2 generations	Foreskins	[10]
2004	P1-P6 mice	S-MEM+10% FBS	2 days	Hairy skins	[11]
2006	4 weeks rats	F12+10% FBS+20 ng/mL NGF+20 ng/mL NT3+25 µg/mL gentamicin	7 days	Paws	[12]
2008	P1-P8 mice	CNT-02	5 days	Dorsal& Whiskers	[13]
2009	Rats	DMEM/F12+5% FCS+100 µg/mL Normocin	2 days	Paws	[14]
2009	P2-P6 pigs	DMEM/F12+7% FCS+3% HS	4 weeks	Whiskers	[2]
2012	E18.5 mice	DMEM/F12+10% FCS+20 ng/mL NGF+20 ng/mL NT3+25 µg/mL gentamicin	4 days	Whiskers	[15]
2013	CD1 mice	Calcium-restricted media	3 days	Did not say	[16]
2014	P0-P6 mice	CNT-02+10% FBS	Original generation of separation	Dorsal skins	[17]

起,并与轴突末梢密切相连<sup>[1]</sup>。默克尔细胞在受到机械力刺激后,通过向神经末梢释放多种离子或神经递质,传递敏感触觉;其致密核心囊泡还参与调节组织内环境平衡、细胞生长与再生等过程<sup>[2-3]</sup>。此外,作为机械感受器,默克尔细胞也表达机械激活的离子通道Piezo2,携带Piezo2突变的患者有严重的机械感觉和本体感觉缺陷<sup>[4-6]</sup>,而同样有感觉障碍表现的疾病如自闭症谱系障碍等神经性疾病等是否有触觉感受器默克尔细胞的参与尚不得而知<sup>[7-8]</sup>。由于数量稀少、分布特殊、分离培养困难,目前对默克尔细胞的研究大多使用转基因动物作为模型,尚缺乏成熟的体外培养体系。2003年,FRADETTE等<sup>[9]</sup>首次在体外成功培养了人类非致瘤性默克尔细胞,然而这种培养只能持续8天,无法长期维持,已知针对体外培养默克尔细胞的方法最长也仅维持4周左右(表1)。对默克尔细胞的深入研究需要有一个长时程的体外培养体系,更多地了解默克尔细胞的发育机制将有助于推进默克尔细胞体外培养体系的建立及优化,从而推动对其进行更深入的研究。

## 1 默克尔细胞的起源

由于默克尔细胞形态既具备神经细胞特征,又具有上皮细胞特征,研究者们根据形态特征联合转基因小鼠的应用来探索其细胞起源。早期,禽类默克尔细胞的发育起源通过鸡/鹌鹑移植实验进行了研究,超微结构也通过电子显微镜进行了观察<sup>[18]</sup>。

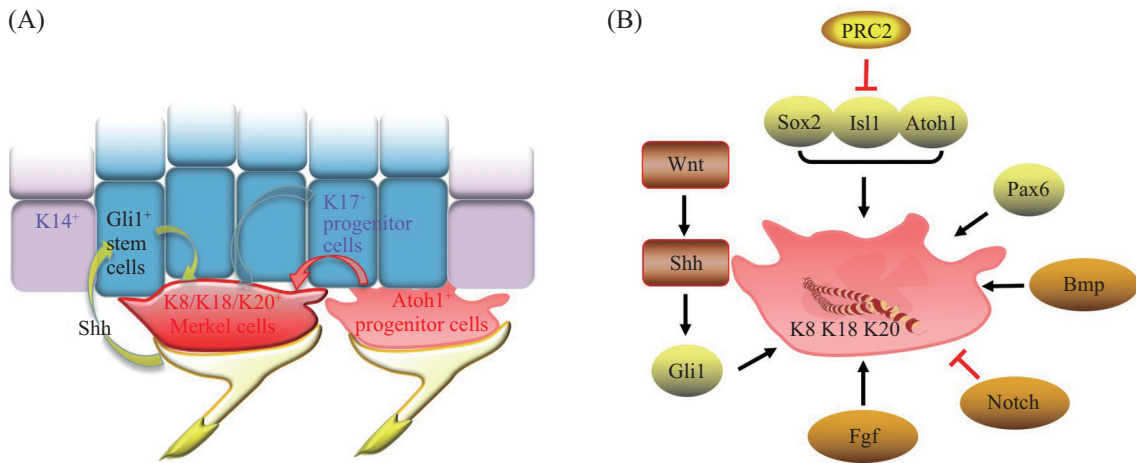
在移植实验中发现默克尔细胞往往存在于神经末梢之间,偶尔也出现在神经束内。因此,研究认为鸟类默克尔细胞并非来源于表皮,而是来源于神经嵴细胞(neural crest cells),并与胶质细胞(glia cells)和黑素细胞(melanocytes)一起集中在发育中的肢体原基(limb primordium)上<sup>[18]</sup>。神经嵴细胞是在脊椎动物体内短暂存在的一类细胞群,随着发育的进程而迁移到不同的组织器官部位,部分迁移到皮肤、毛囊,在此定植扩增,一部分细胞构成组织滞留于干细胞,维持该部位的内环境稳态,并保持自我更新能力;一部分分化成该部位的功能性细胞,参与组织构成和功能完善,如皮肤中的黑素细胞、神经细胞等<sup>[19]</sup>。在出生后1~4天的大鼠须部组织中,向内生长的机械感觉神经能识别默克尔细胞,但不能识别邻近的表皮细胞,提示默克尔细胞可能具有一些神经元细胞特性而吸引神经突触的连接<sup>[20]</sup>。在无神经营养蛋白3(neurotrophins 3, NT3)的小鼠中,缺乏神经支配的默克尔细胞无法继续存活<sup>[21]</sup>。这些实验为默克尔细胞是神经嵴起源的假说提供了有利的证据。随后SZEDER等<sup>[22]</sup>使用*Wnt1<sup>CRE</sup>;R26R<sup>LacZ</sup>*小鼠标记神经嵴来源(*Wnt1<sup>+</sup>*)的细胞,发现小鼠须部的角蛋白K8阳性默克尔细胞是*Wnt1*阳性细胞的子代细胞。该研究认为,胚胎发生过程中*Wnt1*的表达仅限于神经嵴细胞和某些中枢神经系统细胞,由此推测默克尔细胞由神经嵴细胞发育而来。

然而,有学者认为默克尔细胞起源于上皮谱系,

针对这个上皮源性学说也有大量的研究支撑。1990年,在被剥夺了神经元的裸鼠的真皮上异种移植人胎儿的手掌和足底皮肤,并经过4周或8周的培养,结果在异种移植物中发现大量来源于人类的表皮默克尔细胞,并且在异种移植物中几乎不存在神经纤维的表达<sup>[23]</sup>。Atoh1(atonal BHLH transcription factor 1)已经被证明是默克尔细胞发育中重要的转录因子之一<sup>[24]</sup>,研究者从上皮谱系中敲除Atoh1会导致皮肤中所有区域都没有默克尔细胞的生成,但是从神经嵴谱系中敲除Atoh1却对默克尔细胞的数量没有影响,提示默克尔细胞起源于表皮的干细胞,而不是神经嵴细胞<sup>[25]</sup>。这些重要实验结果为默克尔细胞的前体为上皮来源细胞提供了重要证据。

通过转基因小鼠追踪技术发现了一系列默克尔细胞前体标记,包括K17、Atoh1、Gli1(gli family zinc finger 1)等(图1A)。2009年,VAN KEYMEULEN团队<sup>[26]</sup>发现,在成体中的默克尔细胞并没有通过分化途径进行增殖,而是被来源于表皮干细胞的细胞所取代;而2013年DOUCET团队<sup>[3]</sup>研究发现,成熟的默克尔细胞在成体的表皮中每7~8周会更新一次,同时,K17阳性的表皮干细胞在触觉穹窿和无毛皮肤

中也会分化为新的默克尔细胞,首次证实了K17阳性干细胞在维持成熟默克尔细胞的动态平衡中发挥重要作用。2014年PERDIGOTO团队<sup>[27]</sup>提出默克尔细胞来源于Atoh1阳性干细胞,他们证明了默克尔细胞的发育开始于E15,以激活Atoh1和Sox2(SRY-box transcription factor 2)表达为特征;随着胰岛素增强子结合蛋白1(insulin gene enhancer binding protein 1, Isl1)和K8基因的激活,E16时前体细胞分化过程继续进行,但早期分化基因继续表达;到E17-E18时,K18和K20开始表达;在成熟的默克尔细胞群中,各分化阶段的基因共同表达<sup>[27]</sup>。此外,在2015年WRIGHT团队<sup>[24]</sup>也用Atoh1<sup>CreERT2</sup>;R26R<sup>LacZ</sup>小鼠进行谱系追踪实验,结果发现成熟的默克尔细胞来源于Atoh1阳性的前体细胞。针对胚胎期及成年小鼠分别检测默克尔前体细胞的增殖,结果发现E15.5的Atoh1阳性的默克尔前体细胞具有增殖能力,而在E16.5之后的细胞增殖能力很低,成年后的默克尔细胞几乎没有增殖能力,并且这种现象与毛发周期无关<sup>[28]</sup>,由此得出表皮中Atoh1阳性干细胞特异性地发育为默克尔细胞的前体细胞。另外,2015年BROWNELL实验室<sup>[29]</sup>通过谱系追踪实验及去神经的方式验证了有毛皮肤



A: 位于K14阳性表皮基底层的成熟默克尔细胞表达K8/K18/K20,由表皮干细胞及其特有的前体/干细胞发育而来。来自神经的Shh信号维持默克尔细胞前体Gli1阳性干细胞的自我更新。K14<sup>+</sup>细胞为表皮干细胞; Gli1<sup>+</sup> stem cells为Gli1阳性干细胞; K17<sup>+</sup> progenitor cells为K17阳性前体细胞; K8/K18/K20<sup>+</sup> Merkel cells为K8/K18/K20阳性成熟默克尔细胞; Atoh1<sup>+</sup> progenitor cells为Atoh1阳性前体细胞; B: 多种通路和信号形成一个有序的调控网络,协同调节默克尔细胞的发育过程。“→”表示促进;红色符号表示抑制。

A: mature Merkel cells expressing K8/K18/K20 are derived from epidermal stem cells and their specific precursors/stem cells located below K14 positive epidermal basal layer. Shh signaling from the nerve maintains self-renewal of merkel cell precursors Gli1 positive stem cells. K14<sup>+</sup> indicates epidermal stem cells; Gli1<sup>+</sup> stem cell indicates Gli1 positive stem cells; K17<sup>+</sup> progenitor cells indicate K17 positive Progenitor cells; K8/K18/K20<sup>+</sup> Merkel cells indicates K8/K18/K20 positive mature Merkel cells; Atoh1<sup>+</sup> progenitor cells indicate Atoh1 positive progenitor cells; B: multiple pathways and signals form an ordered regulatory network, which jointly regulate the development of Merkle cells. “→” indicates promotion; The red symbol indicates suppression.

图1 默克尔细胞发育模式图  
Fig.1 Developmental pattern of Merkel cells

表2 默克尔细胞发育研究主要进展

Table 2 Milestones in Merkel cells development research

年代 Year	研究团队 Research team	主要研究成果 The main research results	文献 References
2009	KEYMEULEN, et al.	Using lineage tracing experiments, it is found that the renewal of Merkel cells is supplemented by cells derived from epidermal stem cells, thus confirming that Merkel cells originate from K14 <sup>+</sup> epidermal stem cells	[26]
2013	DOUCET, et al.	K17-expressing stem cells maintains the existence of mature Merkel cells in adult epithelium	[3]
2013	BARDOT, et al.	PRC2 regulates the specialization of Merkel cells in epidermal stem cells by inhibiting the expression of Sox2	[16]
2013	LESKO, et al.	The decrease in the number of Merkel cells do not affect the number or pattern of guard hair, nerve density, or the interaction of nerve cells with the touch dome, and Sox2 is a sign of early Merkel cells development	[30]
2014	PERDIGOTO, et al.	The transcription factors <i>Sox2</i> and <i>Isl1</i> coordinate the maturation of Merkel cells by promoting the transcription of <i>Atoh1</i>	[27]
2015	WRIGHT, et al.	Atoh1 <sup>+</sup> stem cells develop and maintain the renewal of Merkel cells	[24]
2015	XIAO, et al.	Gli1 <sup>+</sup> stem cells can develop and maintain the renewal of Merkel cells, and the HH signal pathway maintains the renewal of stem cells in the sensory and touch dome epithelium	[29]
2015	OSTROWSKI, et al.	The overexpression of Atoh1 is sufficient to produce ectopic Merkel cells in the epidermis. The response of epidermal cells to Atoh1 varies with skin location, developmental age and hair cycle stage. The Notch pathway limits the ability of epidermal cells to respond to Atoh1 expression	[28]
2016	PERDIGOTO, et al.	The specialization of Merkel cells requires the production of Shh ligands in the developing hair follicles to initiate epidermal Shh signaling. Both overexpression of shh signal and loss of PRC2 can lead to the generation of ectopic Merkel cells. PRC2 interacts with Shh signals to regulate the specialization of Merkel cells	[31]
2016	XIAO, et al.	Merkel cells are absent in the skin that is knocked out of Shh. The cascade of Wnt, Eda, and Shh signals are essential for the development of Merkel cells	[32]
2017	WRIGHT, et al.	Merkel cells can survive for a long time, and damage stimulation can induce the formation of Merkel cells	[33]
2018	NGUYEN, et al.	Merkel cells and primary hair follicles have the same origin in embryos, and the Fgf family is involved in the development mechanism of Merkel cells	[34]
2018	COHEN, et al.	Inactivation of PRC1 can cause ectopic growth of Merkel cells in the skin of newborn mice	[35]
2019	NGUYEN, et al.	Fgfr2 is also necessary for the development of Merkel cells in the hairless paw skin of mice. The formation of Merkel cells in mouse back skin and hairless paw skin is controlled by a common genetic program, and their precursor cells may be different	[36]
2019	JENKINS, et al.	K17-expressing keratinocytes rather than Merkel cells play an important role in the establishment of innervation development	[37]

中默克尔细胞所在的触觉穹窿(touch dome)(特异性表达K17的表皮细胞结构), 是一个分子特征和前体干细胞都区别于皮肤其他部位细胞的结构, 且神经来源的Shh(sonic hedgehog)信号维持着触觉穹窿包括默克尔细胞的自我更新, 同时发现了触觉穹窿区Gli1阳性的细胞是维持该区域默克尔细胞和K17阳性表皮细胞更新的一种双能性干细胞<sup>[29]</sup>。以上多个实验室研究结果揭示, 默克尔细胞是上皮细胞来源而非神经细胞来源, 且有多种信号通路参与其命运调控(表2)。

## 2 默克尔细胞的发育调控机制

目前, 已发现多种转录因子与表观遗传调控因子协同调控默克尔细胞的发育过程(表2)。Sox2是皮

肤中默克尔细胞和真皮乳头细胞的标记蛋白, 且在两种细胞谱系中发挥不同的功能。对于默克尔细胞的谱系而言, 它调节细胞的数量; 对于真皮乳头谱系而言, 它调节的是毛囊发育类型。在真皮乳头中敲除*Sox2*并不会抑制毛囊形态的发生或真皮和皮下组织的建立, 而敲除了*Sox2*的表皮中K8阳性的默克尔细胞的数量则下降了50%, 且这种下调并不影响其他皮肤附属物的形态及相应神经连接密度, 这项研究表明了*Sox2*与默克尔细胞的增殖有关<sup>[30]</sup>。*Sox2*是在默克尔前体细胞中表达的转录因子, 在另一项研究中同样发现表皮中*Sox2*缺失导致K8阳性的默克尔细胞的数量下降<sup>[38]</sup>, 提示*Sox2*在默克尔细胞的早期发育中发挥作用。与*Sox2*一样, *Pax6*也是一种参与控制神经干细胞自我更新的神经转录因子。*Pax6*

是编码发育调节转录因子的基因,而在*Pax6*<sup>-/-</sup>的胚鼠中,作为默克尔细胞早期标记物的K8在E16.5时表达正常,而在E18.5则不表达,这表明*Pax6*可能参与维持默克尔细胞后期的分化状态<sup>[15]</sup>。*Atoh1*是目前已知的默克尔细胞最关键的命运决定转录因子,在表皮角质形成细胞异位表达*Atoh1*后可以诱导表皮细胞产生新的默克尔细胞<sup>[28]</sup>。已有研究表明,Notch在其他系统中显示出对抗内源性和外源性*Atoh1*的功能<sup>[39]</sup>。因此Notch信号通路也可能对默克尔细胞的维持有一定的作用。研究人员通过应用*K14*<sup>Cre/+</sup>;*RBPJ*<sup>fllox/fllox</sup>小鼠敲除Notch下游的免疫球蛋白kappa J区重组信号结合蛋白(recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region, RBPJ),最终抑制Notch信号通路的活化,发现抑制Notch信号通路后表皮中Sox2阳性默克尔细胞的数目增加了。进一步机制研究表明,Notch信号通路通过下游基因Hes家族BHLH转录因子1(Hes family BHLH transcription factor 1, *HES1*)来调控默克尔细胞的发育<sup>[40]</sup>。相反地,在过表达Notch的E15.5小鼠中,可发现小鼠须部的K8阳性默克尔细胞数目明显少于同窝野生型小鼠;同时,在过表达Notch的新生鼠的触觉穹窿中,也可观察到K8阳性默克尔细胞数目少于同窝野生型小鼠。这些发现与*Atoh1*和Notch的拮抗关系报道表现一致,提示Notch信号通路可能限制了表皮干细胞对*Atoh1*的反应能力,以维持体内默克尔细胞的正常发育,防止产生异位默克尔细胞<sup>[28,40]</sup>。

Fgf(fibroblast growth factor)信号通路参与胚胎发育多个过程的调控,已发表的RNA序列数据分析结果表明<sup>[38]</sup>,在四种Fgf受体(Fgfr)中,只有Fgfr2在E14.5毛基板(hair placode)中高水平表达。为了明确Fgf信号通路在皮肤默克尔细胞中发挥作用,FRADETTE团队<sup>[9]</sup>在小鼠胚胎中敲除了*Fgfr2*,结果发现在敲除*Fgfr2*的小鼠背皮中默克尔细胞数目大量降低,说明Fgfr2介导的信号对小鼠背部默克尔细胞的增殖是必需的<sup>[9]</sup>。与此一致的是,有研究发现在小鼠的无毛爪部皮肤中,Fgfr2也是默克尔细胞形成的关键因素<sup>[2]</sup>。而且,在无毛的爪子皮肤中,默克尔细胞的出现比在背部皮肤中晚一天,但两者遵循相同的成熟过程,其特征是早期(*Atoh1*)、中期(K8)和晚期(K20)分化标记的渐进表达<sup>[2]</sup>。

Hh(Hedgehog)信号通路在许多成体组织中参

与调节干细胞的数量。Hh配体通过结合Patched-1受体从而释放Smo(smoothened),最终激活Gli1转录因子,使其进入细胞核内诱导Hh靶基因的转录,因此Gli1是Hh信号通路激活的标志之一。BROWNELL团队<sup>[41]</sup>通过应用Shh信号通路报告小鼠*Gli1*<sup>LacZ</sup>小鼠发现在毛囊间表皮(interfollicular epidermis)中只有触摸穹窿内含有Hh反应细胞,并在上皮系统K14阳性细胞里特异性敲除*Smo*后触觉穹窿中完全没有Gli1的表达。这些发现确定了Shh信号通路参与默克尔细胞的发育过程<sup>[41]</sup>。该研究还显示,P0之前的胚胎发育过程中,上皮来源的Shh信号通路是支持默克尔细胞的自我更新的关键,而在P0到成年期的阶段,神经来源的Shh信号通路则更重要<sup>[41]</sup>。值得注意的是,Hh信号通路的上调并没有导致默克尔细胞肿瘤的发生<sup>[29]</sup>。

触觉穹窿在发育和成体阶段都是一个独立的皮肤谱系,在发育中的外胚层中形成触觉穹窿谱系需要多种信号通路支持,包括Wnt/ $\beta$ -catenin、Eda/Edar、Shh和Bmp。E14.5~E17.5是触觉穹窿发育的关键窗口期,表达Bmp4的间充质细胞群体与K17阳性的角质形成细胞共同聚集在同一个区域。在E14.5之前抑制Bmp的表达会导致胚胎发育中的触觉穹窿的发育不完全及默克尔细胞的减少<sup>[37]</sup>。由此证实了Bmp信号通路同样参与了触觉穹窿发育的调控。BROWNELL团队<sup>[32]</sup>通过应用*En1*<sup>Cre/+</sup>; $\beta$ -catenin<sup>fllox/d</sup>小鼠验证了真皮来源的Wnt/ $\beta$ -catenin信号对于触觉穹窿的形成是必需的。同时,该研究通过应用*Shh*<sup>GFPcre/GFPcre</sup>小鼠全身性敲除*Shh*再次证实了触觉穹窿中默克尔细胞的特化和发育需要Shh信号分子的参与。另外,触觉穹窿的发育需要Wnt信号通路向毛发基板传递Eda信号分子,皮肤Wnt信号通路和随后的表皮Eda/Edar信号通路通过诱导早期毛囊中Shh的表达来促进默克尔细胞的形态生成<sup>[32]</sup>。这些结果表明,级联的Wnt、Eda和Shh等信号通路在默克尔细胞的早期发育中发挥了重要作用。这一逐步分化程序表明,默克尔细胞发育各阶段有不同转录调节关键基因和机制,提示默克尔细胞的定向分化是由一个具有时间顺序的转录因子组合变换控制的。

表观遗传调控因子协同转录因子在调控默克尔细胞的发育过程中也发挥重要作用。多梳复合物(polycomb repressive complex, PRC)是一种甲基转移酶的复合体,可通过表观调控的方式调控皮肤

干细胞自我更新和分化。对默克尔细胞基因转录谱的分析表明,多梳复合物的几个组成部分(*Ezh2*、*Eed*、*Pcgf2*)在皮肤表皮角质形成细胞中表达,但在默克尔细胞中表达下调<sup>[11]</sup>。通过探索多梳复合物在默克尔细胞发育中的作用,BARDOT团队<sup>[16]</sup>发现,PRC可以抑制转录因子*Sox2*的表达,进而使表皮中成熟的默克尔细胞数量减少。在小鼠皮肤中条件性敲除*Ezh1*(enhancer of zeste 1 polycomb repressive complex 2 subunit)和*Ezh2*(enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit)会导致表皮祖细胞分化增多,最终导致表皮中*Sox2*阳性的默克尔细胞数量的增加。机制研究表明,依赖于PRC的H3K27me3(组蛋白3上的第27位赖氨酸的三甲基化)组蛋白直接靶向并抑制了*Sox2*的表达,以此来限制表皮祖细胞的分化和成熟默克尔细胞的形成<sup>[16]</sup>。在他们后续的研究中发现并证实了失去多梳复合物PRC1或PRC2的催化活性会促进*Sox2*的表达,使默克尔细胞异位扩增<sup>[35]</sup>。而*Isl1*和*Sox2*又可以协同作用,通过维持*Atoh1*的表达,进而控制默克尔细胞的成熟<sup>[27]</sup>。此外,PRC和来自神经的Shh信号通路也通过相互作用,共同调节默克尔细胞的发育<sup>[31]</sup>。这些复杂的通路形成一个有序的信号网络,协同调节默克尔细胞的发育过程(图1B)。

同时,通过对分离得到的默克尔细胞进行基因谱分析发现一些参与默克尔细胞调控的线索。为了更深入地探讨默克尔细胞形成的机制,NGUYEN团队<sup>[36]</sup>通过流式细胞术,分选出*Atoh1*<sup>eGFP</sup>新生小鼠背部和无毛爪子皮肤中的*Atoh1*阳性默克尔细胞及相邻区域的毛囊间表皮,并对其进行RNA-seq转录组测序<sup>[36]</sup>。分析结果表明,与相邻的毛囊间表皮细胞相比,有1 151个基因(*Prmt8*、*Insrr*、*Gfi1*、*Hepacam2*、*Runx1t1*、*Sox2*、*Dnah5*、*Nyap2*、*Kif1a*、*Syn2*等)和753个基因(*Atoh1*、*Gfi1*、*Myt1*、*Rbm24*、*Hid1*、*Cadps*、*Ascl1*、*Thsd7a*、*K20*、*Tmem229a*等)分别在背部和无毛爪子皮肤的默克尔细胞中显著上调。KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)通路分析可以观察到这些上调的基因主要富集在胆碱能突触、突触囊泡周期和MAPK(Mitogen-activated protein kinase)信号通路中。而激活MAPK激酶级联反应的途径之一是Fgf信号转导途径,也有文献报道Fgfr2对于背面皮肤中的默克尔细胞形成至关重要<sup>[34]</sup>,这些结果提示,Fgf信号通路参与默克

尔细胞的发育调控。GO(gene ontology)分析也显示,在背部和无毛爪子皮肤默克尔细胞中富集的基因,主要参与了离子转运、神经系统发育和突触传递。除此之外,该研究还确定了在背部和无毛爪子皮肤默克尔细胞中共同上调的514个基因,并将其归类为核心基因,包括*Atoh1*、*Isl1*、*Sox2*、*K20*和*Piezo2*等已知在默克尔细胞中发挥重要作用的基因,和一些尚未有实验验证的可能的关键基因比如*Gfi1*、*Myt1*、*Rbm24*、*Hid1*和*Cadps*等。而由于默克尔细胞所处的位置不同,以上这两个相同细胞群之间的一些基因表达存在差异,如*Hox*基因。基因表达谱数据提示,默克尔细胞发育和神经系统发育可能有共通之处,而不同定位的默克尔细胞可能存在不同发育调节机制和功能。

### 3 讨论

体内实验提示,默克尔细胞在特定的条件下是可以长期存活的,而前体细胞在轻微创伤如剃须的诱导下也可以再生成默克尔细胞<sup>[33]</sup>,然而由于发育机制不清楚而无法在体外证实这些现象。现有的针对默克尔细胞的体外培养体系仍旧是一个难题。从文献中报道的信息来看,不同的种属及组织来源,其培养环境和细胞状态有很大的区别。猪源的样本已经可以体外培养至4周<sup>[2]</sup>,而从小鼠中获得的默克尔细胞仅仅只能持续到7~8天<sup>[9]</sup>。在以往报道的培养体系中,大多数添加了额外的生长因子,如NT3、NGF等<sup>[12]</sup>。这与默克尔细胞发育相关的信号一致,提示成功建立默克尔细胞体外培养体系的关键:即在已有默克尔细胞发育机制的提示下,尝试体外模拟其体内生长环境,通过抑制Notch联合其他促进默克尔细胞成熟的因子比如Shh可以维持体外长时间的培养。

默克尔细胞和神经微环境的互作在发育中起了重要作用。当触觉穹窿在E16.5出现时,神经支配就开始了,两个不同的神经元种群在发育过程中与默克尔细胞进行接触,但是最终形成默克尔细胞盘的只有一条<sup>[42]</sup>。在以往的文献中多提到以下两种默克尔细胞神经纤维支配传导:一种传导NGF/TrkA信号的神经纤维类型,而另一种则是传导NT3/TrkC信号的神经纤维类型<sup>[42]</sup>,这两种神经纤维和默克尔细胞都可以形成紧密连接。研究发现,TrkC、P75NTR和NT3在胚胎期不表达,而在新生鼠中却表达。在

胚鼠须部中敲除 $NT3$ 后默克尔细胞减少且胚鼠出生后默克尔细胞存在凋亡情况, 因此可知 $NT3$ 对于默克尔细胞的早期发育程序并不是必需的, 但是对于出生后维持默克尔细胞的存活却是至关重要的<sup>[43]</sup>, 提示默克尔细胞的神经支配也是其生存的必要环境之一。除了 $NT3/TrkC$ 信号外, 表达Ret的神经营养酪氨酸受体激酶(neurotrophic tyrosine receptor kinase, NTRK)的神经纤维也支配默克尔细胞。研究发现, 在毛囊周围的新生默克尔细胞被 $NGF/TrkA$ 阳性和 $NT3/TrkC$ 阳性的双重神经支配, 而无毛皮肤中的默克尔细胞主要由 $NT3/TrkC$ 阳性神经纤维支配<sup>[42]</sup>。此外, 将神经细胞与默克尔细胞体外共同培养后, 细胞间出现了囊泡样的连接, 并且共培的默克尔细胞比未共培的默克尔细胞长得更好<sup>[12]</sup>。尽管这种共培的系统只维持了不到7天, 但是依然提示神经支配中可能分泌了维持默克尔细胞生存的必需神经因子。目前的研究普遍认为, 默克尔细胞没有增殖能力, 默克尔细胞神经支配的研究结果提示在默克尔细胞的长期培养中需要的生长因子可能从神经细胞分泌而来。此外, 最新研究发现5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)转运体在默克尔盘的触觉传递中起着调节作用<sup>[44]</sup>, 细胞骨架成分之一的微管在默克尔细胞的压电力学转导中也起着重要作用<sup>[45]</sup>, 而缺乏默克尔细胞的雄性小鼠在神经损伤后表现出对机械性异位痛反应的减少<sup>[46]</sup>, 这些新的功能发现也提示, 默克尔细胞与神经之间的连接和交流在其发育和成体中存在着紧密联系。

#### 4 展望

目前已有研究表明, 默克尔细胞的发育和成熟受一个复杂机制精准调控。在胚胎早期和成体皮肤中, 默克尔细胞都需要通过对其前体和干细胞的精确调控来维持其新陈代谢和正常生理功能, 而其中调控的分子机制仍然需要深入研究。对于默克尔细胞的产生及发育调控机制的研究不仅有助于对生物体触觉发育机制的理解, 还可以更深入地去了解表皮的功能和表皮干细胞的定向分化调控机制, 同时, 也为触觉异常相关疾病发生机制及其治疗策略提供理论基础。

#### 参考文献 (References)

[1] FORTMAN G, WINKELMANN R. The merkel cell in oral hu-

- man mucosa [J]. *J Dent Res*, 1977, 56(11): 1303-12.
- [2] BOULAIS N, PEREIRA U, LEBONVALLET N, et al. Merkel cells as putative regulatory cells in skin disorders: an *in vitro* study [J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6528.
- [3] DOUCET Y, WOO S, RUIZ M, et al. The touch dome defines an epidermal niche specialized for mechanosensory signaling [J]. *Cell Rep*, 2013, 3(6): 1759-65.
- [4] CHESLER A, SZCZOT M, BHARUCHA-GOEBEL D, et al. The role of piezo2 in human mechanosensation [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(14): 1355-64.
- [5] DELLE VEDOVE A, STORBECK M, HELLER R, et al. Biallelic loss of proprioception-related piezo2 causes muscular atrophy with perinatal respiratory distress, arthrogryposis, and scoliosis [J]. *Am J Hum Gene*, 2016, 99(5): 1206-16.
- [6] MAHMUD A, NAHID N, NASSIF C, et al. Loss of the proprioception and touch sensation channel piezo2 in siblings with a progressive form of contractures [J]. *Clin Genet*, 2017, 91(3): 470-5.
- [7] SCHAFFLER M, MIDDLETON L, ABDUS-SABOOR I. Mechanisms of tactile sensory phenotypes in autism: current understanding and future directions for research [J]. *Curr Psychiatry Rep*, 2019, 21(12): 134.
- [8] TOMCHEK S, DUNN W. Sensory processing in children with and without autism: a comparative study using the short sensory profile [J]. *Am J Occup Ther*, 2007, 61(2): 190-200.
- [9] FRADETTE J, LAROUCHE D, FUGÈRE C, et al. Normal human merkel cells are present in epidermal cell populations isolated and cultured from glabrous and hairy skin sites [J]. *J Invest Dermatol*, 2003, 120(2): 313-7.
- [10] ROSENBLUM M, OLASZ E, YANCEY K, et al. Expression of *cd200* on epithelial cells of the murine hair follicle: a role in tissue-specific immune tolerance? [J]. *J Invest Dermatol*, 2004, 123(5): 880-7.
- [11] HAEBERLE H, FUJIWARA M, CHUANG J, et al. Molecular profiling reveals synaptic release machinery in merkel cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(40): 14503-8.
- [12] SHIMOHIRA-YAMASAKI M, TODA S, NARISAWA Y, et al. Merkel cell-nerve cell interaction undergoes formation of a synapse-like structure in a primary culture [J]. *Cell Struct Funct*, 2006, 31(1): 39-45.
- [13] PISKOROWSKI R, HAEBERLE H, PANDITRAO M, et al. Voltage-activated ion channels and  $Ca^{2+}$ -induced  $Ca^{2+}$  release shape  $Ca^{2+}$  signaling in merkel cells [J]. *Pflugers Arch*, 2008, 457(1): 197-209.
- [14] BOULAIS N, PENNEC J, LEBONVALLET N, et al. Rat merkel cells are mechanoreceptors and osmoreceptors [J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7759.
- [15] PARISI I, COLLINSON J. Regulation of merkel cell development by *Pax6* [J]. *Int J Dev Biol*, 2012, 56(5): 341-50.
- [16] BARDOT E, VALDES V, ZHANG J, et al. Polycomb subunits *ezh1* and *ezh2* regulate the merkel cell differentiation program in skin stem cells [J]. *EMBO J*, 2013, 32(14): 1990-2000.
- [17] WOO S, RANADE S, WEYER A, et al. Piezo2 is required for merkel-cell mechanotransduction [J]. *Nature*, 2014, 509(7502): 622-6.
- [18] GRIM M, HALATA Z. Developmental origin of avian merkel cells [J]. *Anat Embryol*, 2000, 202(5): 401-10.

- [19] VANDAMME N, BERX G. From neural crest cells to melanocytes: cellular plasticity during development and beyond [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(10): 1919-34.
- [20] ROSATI D, NURSE C, DIAMOND J. Lectin-binding properties of the merkel cell and other root sheath cells in perinatal rat vibrissae [J]. *Cell Tissue Res*, 1984, 236(2): 373-81.
- [21] HALATA Z, KUCERA J, KUCERA T, et al. Apoptosis of merkel cells in neurotrophin-3 null mice [J]. *Anat Embryol*, 2005, 209(4): 335-40.
- [22] SZEDER V, GRIM M, HALATA Z, et al. Neural crest origin of mammalian merkel cells [J]. *Dev Biol*, 2003, 253(2): 258-63.
- [23] MOLL I, LANE A, FRANKE W, et al. Intraepidermal formation of merkel cells in xenografts of human fetal skin [J]. *J Invest Dermatol*, 1990, 94(3): 359-64.
- [24] WRIGHT M, REED-GEAGHAN E, BOLOCK A, et al. Unipotent, *atoh1*<sup>+</sup> progenitors maintain the merkel cell population in embryonic and adult mice [J]. *J Cell Biol*, 2015, 208(3): 367-79.
- [25] MORRISON K, MIESEGAES G, LUMPKIN E, et al. Mammalian merkel cells are descended from the epidermal lineage [J]. *Dev Biol*, 2009, 336(1): 76-83.
- [26] VAN KEYMEULEN A, MASCRE G, YOUSEFF K, et al. Epidermal progenitors give rise to merkel cells during embryonic development and adult homeostasis [J]. *J Cell Biol*, 2009, 187(1): 91-100.
- [27] PERDIGOTO C, BARDOT E, VALDES V, et al. Embryonic maturation of epidermal merkel cells is controlled by a redundant transcription factor network [J]. *Development*, 2014, 141(24): 4690-6.
- [28] OSTROWSKI S, WRIGHT M, BOLOCK A, et al. Ectopic *Atoh1* expression drives merkel cell production in embryonic, postnatal and adult mouse epidermis [J]. *Development*, 2015, 142(14): 2533-44.
- [29] XIAO Y, THORESEN D, WILLIAMS J, et al. Neural hedgehog signaling maintains stem cell renewal in the sensory touch dome epithelium [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(23): 7195-200.
- [30] LESKO M, DRISKELL R, KRETZSCHMAR K, et al. *Sox2* modulates the function of two distinct cell lineages in mouse skin [J]. *Dev Biol*, 2013, 382(1): 15-26.
- [31] PERDIGOTO C, DAUBER K, BAR C, et al. Polycomb-mediated repression and sonic hedgehog signaling interact to regulate merkel cell specification during skin development [J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(7): e1006151.
- [32] XIAO Y, THORESEN D, MIAO L, et al. A cascade of Wnt, Eda, and Shh signaling is essential for touch dome merkel cell development [J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(7): e1006150.
- [33] WRIGHT M, LOGAN G, BOLOCK A, et al. Merkel cells are long-lived cells whose production is stimulated by skin injury [J]. *Dev Biol*, 2017, 422(1): 4-13.
- [34] NGUYEN M, COHEN I, KUMAR V, et al. F signalling controls the specification of hair placode-derived *sox9* positive progenitors to merkel cells [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2333.
- [35] COHEN I, ZHAO D, BAR C, et al. *PRC1* fine-tunes gene repression and activation to safeguard skin development and stem cell specification [J]. *Cell stem cell*, 2018, 22(5): 726-39.e7.
- [36] NGUYEN M, VALDES V, COHEN I, et al. Dissection of merkel cell formation in hairy and glabrous skin reveals a common requirement for *fgfr2*-mediated signalling [J]. *Exp Dermatol*, 2019, 28(4): 374-82.
- [37] JENKINS B, FONTECILLA N, LU C, et al. The cellular basis of mechanosensory merkel-cell innervation during development [J]. *eLife*, 2019, 8.
- [38] SENNETT R, WANG Z, REZZA A, et al. An integrated transcriptome atlas of embryonic hair follicle progenitors, their niche, and the developing skin [J]. *Dev Cell*, 2015, 34(5): 577-91.
- [39] KIM T, SHIVDASANI R. Genetic evidence that intestinal notch functions vary regionally and operate through a common mechanism of *math1* repression [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(13): 11427-33.
- [40] LOGAN G, WRIGHT M, KUBICKI A, et al. Notch pathway signaling in the skin antagonizes merkel cell development [J]. *Dev Biol*, 2018, 434(2): 207-14.
- [41] BROWNELL I, GUEVARA E, BAI C, et al. Nerve-derived sonic hedgehog defines a niche for hair follicle stem cells capable of becoming epidermal stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 8(5): 552-65.
- [42] NIU J, VYSOCHAN A, LUO W. Dual innervation of neonatal merkel cells in mouse touch domes [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92027.
- [43] SZEDER V, GRIM M, KUCERA J, et al. Neurotrophin-3 signaling in mammalian merkel cell development [J]. *Dev Dyn*, 2003, 228(4): 623-9.
- [44] CHANG W, GU J. Effects on tactile transmission by serotonin transporter inhibitors at merkel discs of mouse whisker hair follicles [J]. *Mol Pain*, 2020, doi: 10.1177/1744806920938237.
- [45] CHANG W, GU J. Role of microtubules in *piezo2* mechanotransduction of mouse merkel cells [J]. *J Neurophysiol*, 2020, 124(6): 1824-31.
- [46] JEON S, CHANG D, GESKE A, et al. Sex-dependent reduction in mechanical allodynia in the sural-sparing nerve injury model in mice lacking merkel cells [J]. *J Neurosci*, 2021, 41(26): 5595-619.