

文章编号:1005-6947(2008)10-1013-03

· 文献综述 ·

# 肠道干细胞标记物的研究现状与进展

王运星 综述 吴承堂 审校

(南方医科大学南方医院 普通外科, 广东 广州 510515)

**摘要:**肠道干细胞是肠道隐窝内的一类具有干细胞活性的未分化细胞。当前相关研究中的一个最大障碍是缺乏特异性的肠道干细胞标记物,从而制约了肠道干细胞的分离和体外培养。Musashi-1, 端粒酶逆转录酶, CD133 和 ID14 等是目前研究较多的肠道干细胞的候补标记物,笔者就其近几年来的一些研究进展作一综述。  
[中国普通外科杂志, 2008, 17(10): 1013-1015]

**关键词:** 肠道干细胞; 标记物; Musashi-1; 综述文献

**中图分类号:** R 73-3

**文献标识码:** A

肠道干细胞是成体干细胞的一种。在肠道内它通过不对称分裂,产生一个干细胞和一个定向分化细胞。定向分化细胞可以分化为两类细胞系,即肠道吸收细胞系和肠道内分泌细胞系;后者包括杯状细胞、肠道内分泌细胞和潘氏细胞。在肠道干细胞的研究中,分离鉴定和体外培养的最大障碍是缺乏一种特异性的、可靠的肠道干细胞标记物,从而阻碍了肠道干细胞体内外生物学特性的研究。

## 1 肠道干细胞标记物的概念及主要标记物

肠道干细胞是一种未分化的初始细胞,位于肠道隐窝基底部<sup>[1]</sup>,具有自我更新和增殖分化为各种成熟肠道上皮细胞的功能。每个细胞表面被特殊的蛋白受体所覆盖,可以选择性地结合或黏附其他的“信号”分子。由于与信号分子的亲和力和结构不同,存在许多不同的受体。通常细胞通过这些受体和结合分子相

互作用并在机体发挥适当的功能;这些细胞表面受体即为干细胞标记<sup>[2]</sup>。目前研究发现肠道干细胞标记物主要有 musashi-1, TERT, ID14<sup>[3]</sup> 和 caveolin<sup>[4]</sup>,而后两者是近年来新发现的肠道干细胞标记物。另外, CD133, oct-4 和 nestin 等其他干细胞的标记物在肠道上皮中的表达情况还不确定。

## 2 各种肠道干细胞标记物的特点和局限性

### 2.1 musashi-1

它是一种进化保守的 RNA 结合蛋白,最早发现于果蝇。Okano 等<sup>[5]</sup>首先报道将其作为神经干细胞的标记物。它可上调转录抑制分子 Hes-1 (hairy and enhancer of split homologue-1) 的表达,在维持干细胞状态、分化和肿瘤发生方面起着重要作用。它选择性地表达在神经干细胞上,与神经元祖细胞的不对称分裂相关,已作为神经干细胞分离和体外培养重要的标记物。除了神经系统外,研究表明 musashi-1 也是肠道干细胞的选择性标记。Kayahara 等描述了在小鼠小肠的 musashi-1 阳性细胞<sup>[6]</sup>; Nishimura 等<sup>[7]</sup>也描述了其在结肠细胞中的表达情况。研究<sup>[8]</sup>发现放射损伤后小鼠肠道标本的 musashi-1 明显增加;应用免疫组织化学在新生的小鼠肠道、成熟的小鼠肠道和再生肠道的隐窝中均检测到它的表达,与预言的干细胞区域相一致。早期发育异常的

隐窝和腺瘤也表现为 musashi-1 表达强阳性。原位杂交研究还显示了相似的 musashi-1 的 mRNA 表达模式;实时定量逆转录-多聚酶链反应显示 Min 小鼠肿瘤与邻近正常组织相比,肿瘤有更多 musashi-1 mRNA 的表达。上述研究结果提示在鼠类肠道组织中, Musashi-1 是干细胞和早期谱系祖细胞的一个标记物。有研究报道:在葡聚糖硫酸钠诱导的炎症反应过程中,小鼠肠道黏膜细胞表达 musashi-1 的情况<sup>[9]</sup>;以 17.5d 的胚胎小鼠的脑室周围和脊索区域的神经细胞作为阳性对照,可在小肠上皮观察到 musashi-1 阳性细胞表达;复合细胞染色仅在隐窝观察到,而在绒毛未发现。在成年小鼠小肠上皮隐窝区域也可观察到若干 musashi-1 阳性细胞,细胞质 musashi-1 呈阳性,而细胞核呈阴性;胞质染色最强的细胞存在于板层的上部。潘氏细胞属于 Musashi-1 阴性细胞,在隐窝较高的末端或绒毛未观察到 musashi-1 阳性细胞。在小鼠大肠中阳性细胞数量明显少于小肠。抗嗜铬粒蛋白抗体和抗抗体双重染色显示,阳性细胞明显不同于嗜铬粒蛋白 A/B 阳性细胞。这些研究结果与预言的肠道干细胞的定位<sup>[10]</sup>相一致。另有研究,在小鸡的肠道中 musashi-1 的表达情况也得出相似的结论<sup>[11]</sup>。尽管可以鉴定肠道干细胞,但 musashi-1 只位于细胞质,无法根据其表达情况通过流式细胞仪或免疫磁珠进行肠道干

**基金项目:**广东省自然科学基金课题 (032901)。

**收稿日期:**2007-12-06;

**修订日期:**2008-01-29。

**作者简介:**王运星,男,南方医科大学硕士研究生,主要从事肠源性感染方面的研究。

**通讯作者:**吴承堂 E-mail: wct66@163.com

细胞的分选而获得活的肠道干细胞。龚剑峰等<sup>[12]</sup>利用 *musashi-1* 基因的启动子驱使 *musashi-1* 基因在干细胞的特异性表达这一特点,对肠道干细胞特异性表达基因启动子进行了克隆及功能分析,证明 *Pmsi + 73 ~ -4939* 具有驱动报告基因表达的活性,可以作为 *musashi-1* 基因的启动子。这将为应用该启动子进行肠道干细胞的分离和纯化提供条件。

## 2.2 TERT (端粒酶逆转录酶)

端粒酶是一种核糖核蛋白复合物,由端粒酶相关蛋白和端粒酶 RNA 和端粒酶逆转录酶组成,维持染色体结构和功能稳定。当端粒酶活化时,其 RNA 充当端粒 DNA 合成的模板,而端粒酶逆转录酶催化端粒 DNA 的合成。故端粒酶逆转录酶又称端粒酶催化亚单位,被认为是端粒酶激活的限速因素。正常人体细胞除了生殖细胞、淋巴细胞、肠道干细胞外,几乎检测不到端粒酶的活性或活性很低。端粒酶在逆转录酶催化亚单位作用下合成端粒重复序列,并添加到染色体末端以延伸端粒,在维持染色体结构和功能的稳定中起到重要作用。研究表明,免疫组化染色 TERT 阳性细胞主要分布在小肠隐窝基底部分,也有部分细胞分布在隐窝周围的间质中<sup>[13]</sup>。腺体顶部无阳性表达,基底部分阳性细胞数显著高于中部。阳性细胞主要位于距隐窝底部 4~7 个细胞的位置<sup>[13]</sup>。

## 2.3 ID14

这是在非洲爪蟾中发现的一种新的基因,它编码一个含有 315 个氨基酸的蛋白,这种蛋白是一种信号肽和巢蛋白<sup>[3]</sup>。在蝌蚪肠道 ID14 是一个晚期甲状腺激素调控基因,其在肠道的表达达到变态极期才开始,同成体肠道上皮分化密切相关。相反, ID14 表达在蝌蚪皮肤和尾巴并不被 TH 调控。原位杂交显示,这个假定的细胞外基质蛋白在蝌蚪皮肤和尾巴的上皮和变态后的肠道上皮表达。在成体, ID14 大部分在肠道被发现,而在胃、肺和睾丸仅有微弱的表达。 ID14 在成体肠道上皮的独特表达使其有可能成为发育研究的一个有用的标记物,可阐明其在肠道变态和成体肠道干细胞维持中细胞间的相互作用机制。

## 2.4 Caveolin 小窝蛋白 (Caveolin, 简称 Cav-1)

1992 年在 Rothberg 等<sup>[14]</sup>对 *Caveolae* 的研究中首次发现,分子质量为  $21 \times 10^3 \sim 24 \times 10^3$ 。编码基因 *Cav-1* 位于 7q31.1,由 178 个氨基酸组成 N 端和 C 端大部分游离在胞浆内; N 端 82~101 氨基酸残基嵌入细胞膜各层并结合在 *Caveolae* 上,是细胞质膜表面富含胆固醇和鞘脂的特异性内陷微区——细胞膜穴样凹陷 (*Caveolae*) 的标志性结构蛋白<sup>[14]</sup>,称为脚手架结构域 (*Cav-1 scaffolding domain, CSD*),可与 *Caveolae* 内许多与细胞增殖相关的信号分子相互作用,如 H-Ras, c-Src, eNOS 和 G 蛋白等<sup>[15-16]</sup>。通过比较 WT 小鼠和 *Cav-1* 缺陷小鼠小肠隐窝干细胞的更新率<sup>[4]</sup>的研究发现,应用 BrdU 和 PCNA 染色法鉴别显示无 *Cav-1* 隐窝干细胞表现出较高的增殖率。研究表明,在 *Cav-1* 缺失的隐窝干细胞中, *Wnt/-catenin* 信号上调;该信号正常情况下主要调控肠道干细胞自我更新。进一步研究发现,小肠组织暴露于 15Gy 的射线后,与 WT 小鼠相比, *Cav-1* 缺失的小鼠生存率下降。放射处理后,缺乏 *Cav-1* 的小肠隐窝干细胞表现出更多的凋亡和加速增殖,导致隐窝和绒毛更快消失。放射处理后 6d, *Cav-1 -/-* 小鼠丢失全部隐窝和绒毛结构,而 WT 小鼠仍显示部分隐窝和完整的绒毛结构。

## 2.5 CD133 (又名 CD133-1 或 AC133)

Miraglia 等<sup>[17]</sup>于 1997 年报道了一个新的 HSPC 表面抗原 AC133,并成功制备识别该抗原的单克隆 IgG 抗体<sup>[18]</sup>;2000 年 6 月由国际白细胞抗原工作组会议 (ILDAW) 将其命名为 CD133<sup>[19]</sup>。CD133 是造血干细胞早期标记物,是相对分子质量为  $120 \times 10^3$  的糖基化多肽,含有 5 个跨膜结构域。它特异性地表达于骨髓、胎儿肝脏及外周血的 CD34<sup>+</sup> 亚群;它也是神经干细胞的特异性标记可以用抗 CD133 抗体直接分离人神经干细胞<sup>[20]</sup>。Miki 等研究发现,在具有端粒酶逆转录酶 (hTERT) 的永生性肿瘤源性的人前列腺上皮细胞系中 - 其中良性肿瘤源性细胞系为 RC-165N/hTERT,恶性肿瘤源性细胞系

为 RC-92a/hTERT,具有 CD133<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup>/α<sub>2</sub>β<sub>1</sub><sup>+</sup>/34βE12<sup>+</sup>/CK18<sup>+</sup>/p63<sup>-</sup>/androgen receptor (AR)-/PSA- 的表型细胞具有干细胞特征<sup>[21]</sup>。在 hTERT 永生细胞比在主要的前列腺细胞中检测到更高的 CD133 表达。为了评价 CD133<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup> 细胞的特性,他们应用流式细胞仪进一步检测了分化标记。全部 CD133<sup>+</sup> 的细胞均可检测到 34βE12, integrinα<sub>2</sub> 和 integrin β<sub>1</sub> 的表达,但未检测到 p63, AR 和 PSA。然而,大部分 CD133<sup>+</sup> 表达腔细胞标记 CK18。CD133 在肠道上皮干细胞的表达情况还不确定。

## 2.6 Oct-4 和 Nestin (又名 CD117)

两者均是神经干细胞的标记物;赵晔等<sup>[13]</sup>研究表明,两者都不能作为胃肠道干细胞的标记物。

## 3 展望

肠道干细胞标记物在肠道干细胞的分离和纯化研究中扮演着重要角色。然而,目前干细胞标记的使用仍存在着局限性,还需要继续寻找单一的、特异的肠道干细胞的标记物。随着技术的进步和研究的不断深入,会有更多的标记物被发现、筛选和利用。在未来,肠道干细胞标记物将继续在肠道干细胞的寻找及其生物学特性分析中起到重要的作用。

## 参考文献:

- [1] Potten CS. Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1998, 353 (1370): 821 - 830.
- [2] 王明元. 干细胞分化抗原及标记物研究进展 [J]. *国外医学免疫学分册*, 2004, 27 (6): 312 - 316.
- [3] Buchholz DR, Atsuko I O, Yun B S. Spatial and temporal expression pattern of a novel gene in the frog *Xenopus laevis*: correlations with adult intestinal epithelial differentiation during metamorphosis [J]. *Gene Expr Patterns*, 2004, 4 (3): 321 - 328.
- [4] Li JW, Hassan GS, Williams TM, et al. Loss of caveolin-1 causes the hyper-proliferation of intestinal crypt stem cells with increase sensitivity to whole body γ-radiation [J]. *Cell Cycle*, 2005, 4 (12): 1817 -

- 1825.
- [5] Nakamura M, Okano H, Blendy J, *et al.* Musashi a neural RNA-binding protein required for Drosophila adult external sensory organ development [J]. *Neuron*, 1994, 13 (1):67-81.
- [6] Kayahara T, Sawada M, Takahashi M, *et al.* Candidate marker for stem and early progenitor cells, and Hes1, are expressed in crypt base columnar cells of mouse small intestine [J]. *FEBS Lett*, 2003, 535 (1-3):131-135.
- [7] Nishimura S, Wakabayashi N, Toyoda K, *et al.* Expression of musashi-1 in human normal colon crypt cells, A possible stem cell marker of human colon epithelium [J]. *Dig Dis Sci*, 2003, 48 (8):1523-1529.
- [8] Potten CS, Booth C, Tudor GL, *et al.* Identification of a putative intestinal stem cell and early lineage marker; musashi-1 [J]. *Differentiation*, 2003, 71 (1):28-41.
- [9] Fukui T, Takeda H, Hong JS, *et al.* Inv—estigation of musashi-1 expressing cells in the murine model of dextran sodium sulfate-induced colitis [J]. *Dig Dis Sci*, 2006, 51 (7):1260-1268.
- [10] Bach SP, Renehan AG, Potten CS. Stem cells; the intestinal stem cell as a paradigm [J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21 (3):469-476.
- [11] Asai R, Okano H, Yasugi S. Correlation between Musashi-1 and c-hairy-1 expression and cell proliferation activity in the developing intestine and stomach of both chicken and mouse [J]. *Dev Growth Differ*, 2005, 47 (8):501-510.
- [12] 龚剑锋, 朱维铭, 高翔, 等. 肠道干细胞特异性表达基因 Musashi-1 启动子的克隆及功能分析 [J]. *肠外与肠内营养*, 2006, 13 (5):257-264.
- [13] 赵晔, 李建生, 马长路. 胃肠道干细胞标记物的筛选 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2006, 15 (2):199-202.
- [14] Rothberg KG, Heuser JE, Donzell WC, *et al.* Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats [J]. *Cell*, 1992, 68 (4):673.
- [15] 叶冬梅, 陈琛, 邵淑娟. Caveolae, Caveolin-1 与肿瘤的研究进展 [J]. *解剖科学进展*, 2006, 12 (4):355-358.
- [16] 潘虹, 王庭槐. 内皮细胞 caveolae, caveolin-1 的生理功能 [J]. *Medical Recapitulate*, 2006, 12 (22):1345-1347.
- [17] Miraglia S, Godfrey W, Yin AH, *et al.* A novel five transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning [J]. *Blood*, 1997, 90 (12):5013-5021.
- [18] Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, *et al.* AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells [J]. *Blood*, 1997, 90 (12):5002-5012.
- [19] Wuchter C, Ratei R, Spahn G, *et al.* Impact of CD133 (AC133) and CD90 expression analysis for acute leukemia immunophenotyping [J]. *Haematologica*, 2001, 86 (2):154-161.
- [20] Uchida N, Buck DW, He D, *et al.* Direct isolation of human central nervous system stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (26):14720-14725.
- [21] Miki J, Furusato B, Li HZ, *et al.* Identification of putative stem cell markers, CD133 and CXCR4, in htert-immortalized primary nonmalignant and malignant tumor-derived human prostate epithelial cell lines and in prostate cancer specimens [J]. *Cancer Res*, 2007, 67 (7):3153-3161.

## 《国际病理科学与临床杂志》2009 年征订启事

《国际病理科学与临床杂志》(原名《国外医学·生理、病理科学与临床分册》)创刊于 1981 年,为教育部主管、中南大学主办的国家级医学学术期刊,为“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”,并被美国《化学文摘》(CA)等国内外多家重要数据库和检索系统收录,被评为第 2 届中国高校特色科技期刊,已成为病理科学与临床医学领域中颇具影响力的期刊。本刊主要栏目有“综述”、“研究论著”、“专家论坛”、“热点快讯”、“成果报道”等。

本刊为双月刊,逢双月末出版,16 开,国内外公开发售。期定价 10 元,全年定价 60 元,国内统一刊号:CN 43-1458/R,国际标准刊号:ISSN 1673-2588;国内邮发代号:42-35,国外邮发代号:BM6564;各地邮局(所)均可订阅,漏订者也可直接汇款至湖南省长沙市湘雅路 110 号湘雅医学院 50 号信箱《国际病理科学与临床杂志》编辑部,邮政编码:410078,订阅者请在汇款单附言注明所订刊物的年度、期号和册数。欢迎投稿 欢迎订阅。

编辑部电话:0731-4805495,4805496 转 809;传真:0731-4804351;E-mail:gwyxxy@126.com;gwyxxy@vip.163.com