

不对称分裂在造血系统中的研究进展

李 正 饶 青

摘 要 造血干细胞具有自我更新和分化为成熟血细胞的潜能。当机体处于正常状态时,造血干细胞通过对称及不对称分裂使体内的血液系统处于平衡状态。一旦这种平衡被打破,不对称分裂比例减少,对称分裂比例增加,造血干细胞会向恶性转化,导致白血病的发生。本文就造血干细胞不对称分裂的研究进展及其内外调控因素做一综述。

关键词 造血干细胞 不对称分裂 调控因子

中图分类号 R55

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.04.002

干细胞是机体得以生长,生命得以延续的最根本的保障。干细胞的类型繁杂,有胚胎干细胞、间充质干细胞、成体干细胞等。存在于机体各个组织中,具有自我更新能力和多向分化潜能。造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)属于成体干细胞的一种,可自我更新并分化成各类成熟血细胞。

一、造血干细胞的不对称分裂

不对称分裂(asymmetry cells division, ACD)是造血干细胞的重要特征之一。在造血干细胞生长发育过程中,当一个干细胞进行分裂时,会产生一个和自身一样具有自我更新潜能的造血干细胞,以及一个分化的子细胞,从而维持血液系统的稳定。

科学家对造血干细胞不对称分裂的研究已经有 30 多年的历史,研究人员应用单细胞分选技术,成功将脐带血来源的造血干细胞一分为二进行培养,并且两子细胞拥有各自的细胞命运,从而证实造血干细胞存在不对称分裂。造血干细胞通过不对称分裂才能够维持干细胞池的稳态以及分化细胞的功能。造血干细胞分裂的异常会导致多种造血系统疾病,严重者可导致血液系统肿瘤。本文对造血干细胞的不对称、对称分裂及其调控机制做一简要综述,希望为血液系统肿瘤的临床治疗提供一些启示。

二、造血干细胞的分裂方式受内外因素影响

造血干细胞的自身命运(增殖、分化、生长、凋亡)受到命运决定子(fate determinant)协助调节。其中有些因子与造血干细胞的分裂是息息相关的,它们

协同调节造血干细胞对称及不对称分裂的比例,从而维持血细胞的稳态。如极性因子 Numb 是不对称分裂调节中最重要的成分,已经证明在生物体中各组织细胞里都有表达,而且 Numb 在细胞中的分布规律决定了细胞的分裂类型^[1]。

目前造血干细胞的自我更新和向下分化的调节机制还不清楚,已有研究表明是通过调控干细胞的对称与不对称分裂来实现的。近几年的研究发现造血干细胞的分裂方式会受到内外因素共同调控。

1. 造血干细胞分裂方式的内在影响因素

(1) 相关基因: Musashi (Msi) 家族,最初是在果蝇体内发现,它是一种 RNA 结合蛋白,在对称与不对称分裂中起调控作用, Msi1 可以通过直接调节命运决定因子 Numb 来控制干细胞不对称分裂的比例,在细胞命运决定中起重要作用^[1]。Msi 蛋白近几年在血液中研究的报道越来越多。Park 等^[2]的研究发现 Msi2 会使造血干细胞的静息状态减少,而分化比例增高。Kharas 等^[3]的研究发现过表达造血干细胞中的 Msi2,会使 HSC 的不对称分裂比例增加。在小鼠模型中过表达人源型 Msi2 能促进造血干细胞的周期进程。并且科学家们还发现 Msi2 与 BCR - ABL1, NUP98 - HOXA9 等癌基因相关,已经成为治疗急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)和慢性髓细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)的新靶点及预后差的早期标志^[3,4]。Lis1 是一种微管调节马达蛋白,最早证明参与调控黑腹果蝇体内干细胞不对称分裂^[5]。Zimdahl 等^[6]研究发现 Lis1 能够通过控制纺锤体的偏转角度来调节命运决定子在子代细胞中的继承及细胞命运。Lis1 能够维持细胞的干性,适当水平的 Lis1 在造血干细胞的不对称分裂中起重要的调节作用,敲降白血病干细胞中 Lis1 的表达,可

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81370599)

作者单位:300020 天津,中国医学科学院/北京协和医学院血液学研究所、血液病医院、实验血液学国家重点实验室

通讯作者:饶青,教授,硕士生导师,电子信箱:raoqing@ihcams.ac.cn

以促进白血病干细胞的不对称分裂,同时抑制它的对称性自我更新,提示 *Lis1* 可以维持细胞的静息状态。*Will* 等^[7]的研究发现 *Satb1* 在造血干细胞的长期分化中起重要作用。*Satb1* 的缺乏会增加造血干细胞对称性分裂比例,减少对称性自我更新比例,从而减少静息状态的造血干细胞并促进其分化。

另外,*Satb1* 在表观遗传方面也有重要影响。*Shin* 等^[8]通过光谱测定法及流式分析法发现,一种肌收缩性马达蛋白(*myosin*)能使造血干细胞进行不对称分裂,可导致一部分成为子细胞的同时,另一部分仍然维持干细胞特性。他们还发现干细胞具有两种类型的肌收缩性马达蛋白,即 A 型和 B 型。而最终的红细胞和白细胞只具有 A 形式。B 形式是导致干细胞不对称形式分裂的关键,且通过这种方式使得 B 形式只存在于干细胞中。除此以外,科学家们还发现一些其他蛋白在造血干细胞的分裂中也起到了重要作用。*Laurenti* 等^[9]发现调节 *CDK6* 的水平可以控制造血干细胞的静息与分化,适当的 *CDK6* 水平能够维持 HSC 池的稳定。*Ting* 等^[10]在造血干细胞的活细胞动态监测实验时发现,内吞蛋白 *AP2A2* 存在不对称分离的事实,并且发现 6 种与造血干细胞不对称分裂相关的基因:*Ap2a2*、*Gpsm2*、*Tmod1*、*Kif3a*、*Racgap1*、*Cenb1*;这些基因可以调控 HSC 的功能。现已证实融合基因 *NUP98-HOXA9*(与急性髓系白血病相关)可使白血病细胞中对称性自我更新细胞比例增加,而不对称分裂细胞的比例减少。而 *BCR-ABL* 融合基因对于白血病细胞的分裂平衡影响不大,但是可以促进细胞分裂。

(2)极化:造成干细胞不对称分裂最重要的机制是细胞的极性形成,即极化^[11]。细胞的极化不仅是细胞形态多样性的原因,也是在干细胞不对称分裂过程中使细胞维持自我更新与分化平衡的调控者。细胞的极化是指细胞中的某些极化相关蛋白调节细胞内容物按一定顺序排布,造成内容物的浓度和细胞命运决定子的不均等分布,在细胞进行分裂过程中分布到两个子细胞中,形成两个命运不同的细胞。细胞极性的丧失则会导致不对称分裂的丧失及肿瘤的发生。科学家已经发现数种与细胞极化相关的蛋白,例如:*MDR1*、*Clqr1*、*Hoxa9*、*Cdx1*、*Hesx1*、*Lgl*、*Dlg*、*Scrib*、*Rho* 蛋白家族等^[12~15]。

造血干细胞在骨髓微环境中也是呈极性分布的。造血干细胞与微环境中的各种基质细胞相互作用(连接)也有助于造血干细胞呈极性分布。造血干

细胞极性改变基于细胞骨架的改变及重建,而其中正是 *Rho GTP* 酶充当了重要的角色^[15]。*Rho GTP* 酶调控细胞的极化性和细胞骨架的重塑,而且还控制着蛋白骨架的迁移。目前发现家族成员 *RhoA*、*Rac1*、*Cdc42* 能够直接调节胞质中微丝上肌动蛋白的聚合或解离,从而影响细胞形态如细胞极化性,纺锤丝偏转角度等^[16]。

已有研究发现 *Rho GTP* 酶的效应分子如 *PAK*、*IQGAP1*、*Par6* 及 *mDia* 可以直接调节微管的分布从而调节细胞的极性。微管是纺锤体的组成单位,纺锤丝可以将染色体拉到两极,所以纺锤体的牵引方向也决定了两个子细胞的命运。研究人员应用 3D-MDCK 模型系统观察到 *IQGAP1* 和上皮生长因子受体(*epithelial growth factor receptor, EGFR*)组成的蛋白质复合体能够控制有丝分裂时纺锤体的偏转方向^[17]。白血病细胞中的 *Rho GTP* 酶活性增强,使微管摆放错乱,牵引染色体脱离原有位置,从而使某些重要的命运决定子错误的分布到了细胞两段,造成细胞不对称分裂的丧失,对称分裂比例上调,引起细胞的恶性改变。

2. 造血干细胞分裂方式的外在影响因素:外在因素主要是骨髓微环境的影响,骨髓微环境中调控因素甚多,比如基质细胞分泌的因子,信号通路的刺激等,这些都将会对造血干细胞的命运产生影响。

成骨细胞和间充质干细胞(*mesenchymal stromal cells, MSC*)是骨髓微环境中两个最重要的成分,*Calvi* 等的研究发现甲状旁腺激素(*parathyroid hormone, PTH*)受体的过度表达可促进成骨细胞的增生,导致骨髓中 HSCs 数目的增多,并且给致死剂量照射过的小鼠注射 *PTH* 能显著提高小鼠的生存期,此研究还证明了成骨细胞内 *Jagged-1* 受体表达的增强可促使 HSCs 内 *Notch-1* 信号的转导加强,从而促进造血干细胞的自我更新能力^[18]。由此可以推断出 *Notch* 信号通路造血干细胞的分裂有关,可以使造血干细胞的自我更新能力增强,不对称分裂的比例提高,从而使造血干细胞的数量增多。*Geyh* 等^[19]利用白血病细胞与骨髓 *MSC* 共培养 3 天后,发现白血病细胞的重建造血能力有所恢复,正常造血干细胞数量增加;相反,正常造血干细胞与白血病患者来源的 *MSC* 共培养,实时定量 PCR 检测相关基因的表达,发现与对照组差别不大,说明造血干细胞对 *MSC* 的影响较小。

Tarafdar 等在研究 *Wnt* 信号通路在干细胞的自

我更新及分化中,发现正常的 Wnt 信号通路不仅能严格调节中胚层细胞的分化并且在胚胎造血时期促进造血干细胞的分化,还在红细胞的生成过程中建立了非常重要的作用。体内重塑实验表明,Wnt3a 能够加强小鼠造血干细胞的自我更新能力,也就是说可以减少不对称分裂的比例,在免疫表型和集落形成能力试验中人类 Lin - CD34⁺ 细胞接触 WNTs 也会扩增。Wnt 通路 Notch 通路会协同来维持干细胞池的稳定,Wnt3a 可以调节 Notch 的靶基因。通过调节 Wnt 和 Notch 共同的靶基因能够抑制 Wnt 信号通路的组成成分 GSK - 3 从而影响造血干细胞的命运^[20]。

维持造血干细胞的功能需要精密复杂的调控过程,PML - PPAR - δ - FAO (promyelocytic leukemia - peroxisome proliferator - activated receptor δ - fatty - acid oxidation) 也参与了造血干细胞不对称分裂的调节。PML - PPAR - δ - FAO 是与脂代谢相关的信号通路,通过给造血干细胞提供一定量的 ATP 来维持细胞不对称分裂的比例。当抑制该信号通路时,造血干细胞的对称性分裂会增加,然而 PPAR - δ 激活后,又会增加不对称分裂的比例,这些发现会对急性髓系白血病提供一种潜在的治疗思路^[21]。

三、展 望

自从在果蝇和线虫体内发现不对称分裂以来,科学家已经陆续揭示出了不对称分裂的机制及意义。造血干细胞不对称分裂的研究还处于初级阶段,其内在机制还不清楚,目前的研究只阐明了极少部分的调节基因及信号通路,但其意义是非常重大的。目前已经证实,不对称分裂不仅是维持干细胞池的稳定和分化后细胞功能的关键,还可控制细胞恶性转化、抑制肿瘤的发生。当不对称分裂转变成对称分裂,则会引起肿瘤的发生。通过科学家不断的研究,终将阐明造血干细胞分裂的内在机制,也将会得到白血病干细胞干性的根源及白血病发生的机制,并为白血病的治疗提供新的思路。

参考文献

- Thol F, Winschel C, Sonntag AK, *et al.* Prognostic significance of expression levels of stem cell regulators MSI2, and NUMB, in acute myeloid leukemia[J]. *Ann Hematol*, 2013, 92(3):315 - 323
- Park SM, Deering RP, Lu Y, *et al.* Musashi - 2 controls cell fate, lineage bias, and TGF - β signaling in HSCs[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2014, 211(1):71 - 87
- Kharas MG, Lengner CJ, Al - Shahrouf F, *et al.* Musashi - 2 regulates normal hematopoiesis and promotes aggressive myeloid leukemia[J]. *Nat Med*, 2010, 16(8):903 - 908
- Ito T, Kwon HY, Zimdahl B, *et al.* Regulation of myeloid leukaemia

- by the cell - fate determinant Musashi[J]. *Nature*, 2010, 466(7307):765 - 768
- Will B, Steidl U. Stem cell fate regulation by dynein motor protein Lis1[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(3):217 - 218
- Zimdahl B, Ito T, Blevins A, *et al.* Lis1 regulates asymmetric division in hematopoietic stem cells and in leukemia[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(3):245 - 252
- Will B, Vogler TO, Bartholdy B, *et al.* Satb1 regulates the self - renewal of hematopoietic stem cells by promoting quiescence and repressing differentiation commitment[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(5):437 - 445
- Shin J W, Buxboim A, Spinler K, *et al.* Contractile forces sustain and polarize hematopoiesis from stem and progenitor cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 14(1):81 - 93
- Laurenti E, Frelin C, Xie S, *et al.* CDK6 levels regulate quiescence exit in human hematopoietic stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 16(3):302 - 313
- Ting SB, Deneault E, Hope K, *et al.* Asymmetric segregation and self - renewal of hematopoietic stem and progenitor cells with endocytic Ap2a2[J]. *Blood*, 2012, 119(11):2510 - 2522
- Shao W, Dong J. Polarity in plant asymmetric cell division: division orientation and cell fate differentiation[J]. *Dev Biol*, 2016, 419(1):121 - 131
- Gissen P, Arias IM. Structural and functional hepatocyte polarity and liver disease[J]. *J Hepatol*, 2015, 1(4):1023 - 1037
- Behrens AN, Iacovino M, Lohr JL, *et al.* Nkx2 - 5 mediates differential cardiac differentiation through interaction with Hoxa10[J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22(15):2211 - 2220
- Qi HS, Liu SM, Li S, *et al.* Molecular expression of the scribble complex genes, *dlg*, *scrib* and *lgl*, in silkworm, *bombyx mori*[J]. *Genes*, 2013, 4(2):264 - 274
- Carrillo - García C, Janzen V. Restoring cell polarity:aAn HSC fountain of youth[J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(5):481 - 482
- Scott RP, Hawley SP, Ruston J, *et al.* Podocyte - specific loss of Cdc42 leads to congenital nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(7):1149 - 1154
- Bañón - Rodríguez I, Gálvez - Santisteban M, Vergarajauregui S, *et al.* EGFR controls IQGAP basolateral membrane localization and mitotic spindle orientation during epithelial morphogenesis[J]. *Embo J*, 2014, 33(2):129 - 145
- Romero JR, Youte R, Brown EM, *et al.* Parathyroid hormone ablation alters erythrocyte parameters that are rescued by calcium - sensing receptor gene deletion[J]. *Eur J Haematol*, 2013, 91(1):37 - 45
- Geyh S, Rodríguezparedes M, Jäger P, *et al.* Functional inhibition of mesenchymal stromal cells in acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2015, 30(3):683
- Sands WA, Copland M, Wheadon H. Targeting self - renewal pathways in myeloid malignancies[J]. *Cell Commun Sign*, 2013, 11(1):1 - 13
- Ito K, Carracedo A, Weiss D, *et al.* A PML - PPAR - [delta] pathway for fatty acid oxidation regulates hematopoietic stem cell maintenance[J]. *Nat Med*, 2012, 18(9):1350 - 1358

(收稿日期:2016 - 06 - 05)

(修回日期:2016 - 09 - 20)