

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.02.007

· 基础研究 ·

青蒿琥酯逆转食管癌 Eca109/ADM 细胞对多柔比星的耐药

刘亮¹, 左静², 李金丫¹, 郭建文¹, 左连富¹, 王静¹, 刘江惠¹(1. 河北医科大学第四医院肿瘤研究所流式细胞室, 河北石家庄 050011; 2. 河北医科大学第四医院肿瘤内科, 河北石家庄 050011)

[摘要] 目的: 研究青蒿琥酯(artemisinin, Art)逆转食管癌细胞 Eca109/ADM 对多柔比星(doxorubicin, ADM)的耐药作用及其机制。方法: 实验分为生理盐水(normal saline, NS)对照组(NS组)、Art组(0.1 μmol/L)、ADM组(0.2 μg/ml)和 Art + ADM 联合组。Art、ADM、Art + ADM 作用 Eca109/ADM 细胞 48 h 后, 流式细胞术检测细胞凋亡率、细胞内 ADM 的含量及细胞中三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族成员 2(ATP-binding cassette transporter G2, ABCG2)蛋白的表达量, Western blotting 检测细胞中 ABCG2 蛋白表达水平。结果: Art + ADM 作用 Eca109/ADM 细胞 48 h 后, 细胞的凋亡率[(12.89 ± 0.87)%]显著高于 Art 组[(1.58 ± 0.12)%]、ADM 组[(6.55 ± 0.90)%]及 NS 组[(1.44 ± 0.10)%]($P < 0.05$), Art 可提高 Eca109/ADM 细胞对 ADM 的敏感性。流式细胞术检测结果显示, Art + ADM 组 Eca109/ADM 细胞中 ABCG2 蛋白表达量(644.60 ± 3.21)显著低于 ADM 组(659.15 ± 4.59)及 NS 组(658.14 ± 6.88)($P < 0.05$), 但与 Art 组(644.31 ± 3.96)相比无显著差异($P > 0.05$)。Western blotting 检测结果与流式细胞术结果一致, Art 组 Eca109/ADM 细胞中 ABCG2 蛋白的表达水平为(0.70 ± 0.02), 与对照组的(0.80 ± 0.03)相比显著降低($P < 0.05$), Art + ADM 组的 ABCG2 蛋白(0.71 ± 0.04)与单独应用 ADM 组的 ABCG2 蛋白(0.81 ± 0.05)相比, ABCG2 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。Art + ADM 组 Eca109/ADM 细胞内 ADM 的含量(848.02 ± 5.04)显著高于单独应用 Art 组(763.29 ± 4.02)、ADM 组(800.25 ± 3.84)及 NS 组(763.88 ± 2.03)($P < 0.01$)。结论: Art 可以降低食管癌 Eca109/ADM 细胞内 ABCG2 蛋白表达, 增加 ADM 的含量, 逆转肿瘤细胞对 ADM 的耐药。

[关键词] 青蒿琥酯; 多柔比星; 耐药逆转; 三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族成员 2(ABCG2)

[中图分类号] R735.1; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)02-0155-05

Role of artesunate in resistance-reversal of esophageal cancer Eca109/ADM cells to doxorubicin

LIU Liang¹, ZUO Jing², LI Jin-ya¹, GUO Jian-wen¹, ZUO Lian-fu¹, WANG Jing¹, LIU Jiang-hui¹(1. Department of FCM Analysis, Tumor Institute, Forth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Internal Oncology, Forth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the role of artesunate (Art) in resistance-reversal of Eca109/ADM cells and the related mechanism. **Methods:** The present study was divided into 4 groups: normal saline (NS) control group, Art (0.1 μmol/L) group, ADM (0.2 μg/ml) group, and Art (0.1 μmol/L) + ADM (0.2 μg/ml) group. The apoptosis rate, ADM content and ABCG2 (ATP-binding cassette transporter G2) protein expression in Eca109/ADM cells were detected by flow cytometry 48 h after treated with Art, ADM, and Art + ADM. ABCG2 protein expression in Eca109/ADM cells was further examined by Western blotting analysis. **Results:** The apoptosis rate of Eca109/ADM cells in Art + ADM group was (12.89 ± 0.87)%, being significantly higher than that in the Art group (1.58 ± 0.12)%, ADM group (6.55 ± 0.90)% and NS group (1.44 ± 0.10)% ($P < 0.05$). Art increased the sensitivity of Eca109/ADM cells to ADM. Flow cytometry results showed that the ABCG2 protein expression in Eca109/ADM cells of Art + ADM group (644.60 ± 3.21) was significantly lower than that in ADM group (659.15 ± 4.59) and NS group (658.14 ± 6.88) ($P < 0.05$), but was

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目(No. C2007001060);河北省普通高等学校强势特色学科肿瘤学基金资助项目(No. [2005]52)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. C2007001060), and the Key Specific Discipline Foundation of Higher Institutions of Hebei Province (No. [2005]52)。

[作者简介] 刘亮(1981-),男,河北省永年县人,博士,主要从事食管癌早期诊断及治疗方面的研究。E-mail: aliangdaziran@163.com

[通信作者] 左连富(ZUO Lian-fu, corresponding author), E-mail: zuolianfu4909@sina.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110412.1808.003.html>

similar to that in Art group (644.31 ± 3.96) ($P > 0.05$). Western blotting analysis results were consistent with those detected by flow cytometry. The ABCG2 protein expression of Eca109/ADM cells in Art group (0.70 ± 0.02) was significantly decreased compared with NS group (0.80 ± 0.03) ($P < 0.05$), and that in Art + ADM group (0.71 ± 0.04) was also decreased compared with ADM group (0.81 ± 0.05) ($P < 0.05$). The ADM content of Eca109/ADM cells in Art + ADM group was significantly higher than those in Art, ADM and NS groups (848.02 ± 5.04 vs 763.29 ± 4.02 , 800.25 ± 3.84 , 763.88 ± 2.03 ; $P < 0.01$). **Conclusion:** Art can decrease ABCG2 protein expression and increase ADM content in Eca109/ADM cells, and it can also reverse the drug resistance of Eca109/ADM cells.

[**Key words**] artesunate; doxorubicin; resistance-reversal; ATP-binding cassette transporter G2 (ABCG2)

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(2): 155-159]

肿瘤多药耐药的产生严重影响了肿瘤患者化疗的效果。研究^[1-4]发现,肿瘤多药耐药的产生主要有三方面的机制:膜转运蛋白介导的药物外排泵^[5]、酶介导^[6]的多药耐药和凋亡调控基因介导^[7-8]的多药耐药。目前,肿瘤多药耐药多围绕膜转运蛋白进行研究,与肿瘤多药耐药有关的膜转运蛋白多为 ATP 结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白家族^[9-12]。ATP 结合转运蛋白 G 超家族成员 2 (ATP-binding cassette transporter G2, ABCG2)是近来发现的与多药耐药有关的 ABC 家族成员^[13-14]。青蒿琥酯(artesunate, Art)是我国经典的抗疟药物,除了抗疟作用外,Art 还具有抗肿瘤作用^[15-16],且抗肿瘤作用具有不产生交叉耐药的特点,因而推测可能具有逆转肿瘤细胞多药耐药的作用。本实验以食管癌耐药细胞株 Eca109/ADM 作为研究对象,研究 Art 是否能够逆转食管癌细胞耐药及其机制。

1 材料与方 法

1.1 细胞株和主要试剂

食管癌耐药细胞株 Eca109/ADM 由本实验室历经 8 个月的时间培养得到^[17],用含 10% FBS、0.02 μg/ml 多柔比星(doxorubicin/adriamycin, 简称 ADM)的 RPMI 1640 培养基,于 37 ℃、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养,实验前 2 周用不含 ADM 的培养基培养。ADM 购自浙江海正药业股份有限公司(生产批号: 081203A),胎牛血清购自杭州四季青公司。ABCG2 抗体购自美国 Biologend 公司。

1.2 流式细胞术检测细胞的凋亡和 ABCG2 蛋白的表达

实验分生理盐水(normal saline, NS)对照组(NS 组)、Art 组(0.1 μmol/L)、ADM 组(0.2 μg/ml)和 Art + ADM 联合组(0.1 μmol/L + 0.2 μg/ml)。取对数生长期的 Eca109/ADM 细胞,以 4×10^5 /孔接种于 6 孔板中,在 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养,待细胞贴壁后分别加入 0.1 μmol/L

Art、0.2 μg/ml ADM 及 NS,每组设 3 个复孔,作用 48 h 后收集细胞,并调整细胞密度至 1×10^7 /ml。检测细胞凋亡时,取 100 μl 细胞悬液,加入 DNA 染液(PI 50 μg/ml, RNA 酶 10 μg/ml 及 1% Triton-X100)1 ml,在 4 ℃ 冰箱中染色 30 min,流式检测细胞凋亡,实验重复 3 次。检测 ABCG2 蛋白的表达时,取 100 μl 细胞悬液,加入 10 μl FITC-ABCG2 抗体,室温避光放置 30 min 后, PBS 洗涤 2 次,上流式细胞仪检测 ABCG2 蛋白的表达。实验重复 3 次。ABCG2 蛋白表达量用平均荧光强度表示。

1.3 Western blotting 检测 Art 和 ADM 作用后细胞 ABCG2 蛋白的表达

实验使用 RIPA 试剂常规方法提取细胞蛋白。取 30 μg 蛋白与 1 倍稀释的上样缓冲液按 1:4 的比例加样,于 8% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至 PVDF 膜上。用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 液封闭,4 ℃ 过夜;TBST 液洗膜后加 ABCG2 一抗(1:200)进行杂交,再度洗膜后加辣根过氧化物酶偶联的二抗(1:2 000)进行杂交;最后洗膜加入 DAB 液进行条带显色,其中 β-actin 为内参照。对条带进行扫描,并用 Gel-Pro Analyzer 3.1 软件分析条带的 D 值,计算 ABCG2 条带 D 值与 β-actin 条带 D 值的比值,作为 ABCG2 的相对含量。实验重复 3 次。

1.4 流式细胞术检测 Art 及 ADM 作用后细胞 ADM 的含量

取对数生长期的 Eca109/ADM 细胞,以 4×10^5 /孔接种于 6 孔板中,37 ℃、5% CO₂ 培养,待细胞贴壁后各实验组分别加入 0.1 μmol/L Art、0.2 μg/ml ADM 及 NS,每组设 3 个复孔。作用 48 h 后收集细胞,并调整细胞数为 1×10^6 /ml,上流式细胞仪检测。ADM 经 488 nm 的激光激发后可以发出红色的荧光,被流式细胞仪接收并检测^[18],其含量用平均荧光强度表示。实验重复 3 次。

1.5 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS11.5 软件统计分析,多组样本均数比较采用单因素方差分析,其中两两比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Art 提高 Eca109/ADM 细胞对 ADM 的敏感性

不同药物作用 Eca109/ADM 细胞 48 h 后,FCM 检测细胞凋亡。结果(图 1)显示,Art 组的 Eca109/ADM 细胞凋亡率为(1.58 ± 0.12)%,与 NS 组的(1.44 ± 0.10)% 相比差异无统计学意义($P > 0.05$),而 ADM 组和 Art + ADM 组的细胞凋亡率显著增加 [(6.55 ± 0.90)%, (12.89 ± 0.87)%, $P < 0.01$],且 Art + ADM 组比 ADM 组的细胞凋亡率显著增加($P < 0.01$)。由此可见,Art 可以促进食管癌耐药 Eca109/ADM 细胞的凋亡,提高对 ADM 的敏感性。

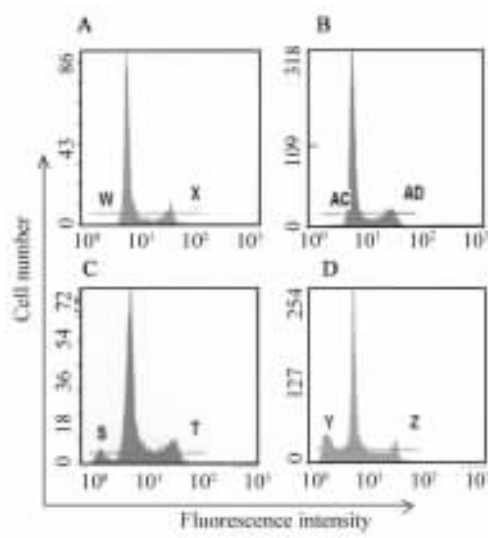


图 1 流式细胞术检测 Art 作用后 Eca109/ADM 细胞的凋亡

Fig. 1 Apoptosis of Eca109/ADM cells after Art treatment as detected by FCM

A: NS group; B: Art group; C: ADM group; D: Art + ADM group

2.2 Art 降低 Eca109/ADM 细胞中 ABCG2 蛋白的表达量

Art 作用 Eca109/ADM 细胞 48 h 后,FCM 检测细胞中 ABCG2 蛋白的表达。结果可见,Art 组 Eca109/ADM 细胞中 ABCG2 蛋白的表达量为(644.31 ± 3.96),与对照组的(658.14 ± 6.88)相比显著降低($P < 0.05$)。Art + ADM 组的(644.60 ± 3.21)与单独应用 ADM 组的(659.15 ± 4.59)相比,ABCG2 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。

Western blotting 检测结果(图 2)同流式细胞术

结果一致,Art 组细胞中 ABCG2 蛋白的表达水平为(0.70 ± 0.02),与对照组的(0.80 ± 0.03)相比显著降低($P < 0.05$)。Art + ADM 组的(0.71 ± 0.04)与单独应用 ADM 组的(0.81 ± 0.05)相比,ABCG2 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。由此可见,Art 可以降低食管癌耐药细胞 Eca109/ADM 中 ABCG2 表达水平,抑制 ABCG2 的外排药物作用,从而逆转细胞耐药。

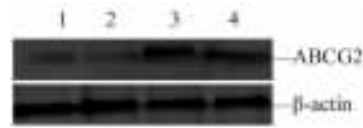


图 2 Western blotting 检测 Art 作用后 Eca109/ADM 细胞 ABCG2 蛋白的表达

Fig. 2 ABCG2 protein expression in Eca109/ADM cells after Art treatment as detected by Western blotting

1: Art group; 2: Art + ADM group; 3: ADM group; 4: NS group

2.3 Art 与 ADM 联用作用增加 Eca109/ADM 细胞中 ADM 含量

药物作用 Eca109/ADM 细胞 48h 后,FCM 检测 Eca109/ADM 细胞中 ADM 含量。结果(图 3)可见,Art + ADM 组细胞内 ADM 的含量(848.02 ± 5.04)显著高于单独应用 Art 组(763.29 ± 4.02)、ADM 组(800.25 ± 3.84)及 NS 组(763.88 ± 2.03) ($P < 0.01$)。由此可见,Art 与 ADM 联合作用,可以提高细胞内 ADM 含量,提高疗效,逆转耐药。

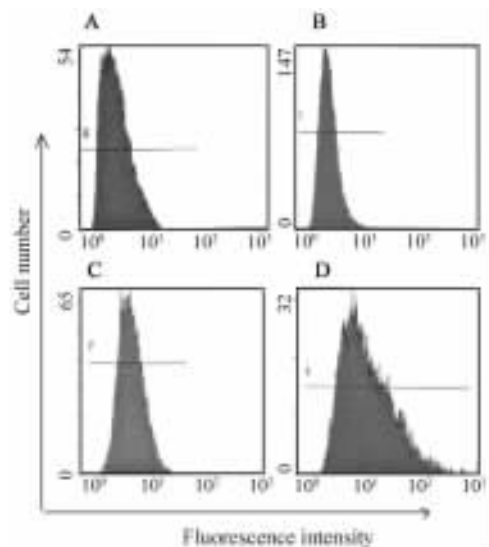


图 3 流式细胞术检测 Art 作用后 Eca109/ADM 细胞 ADM 的含量

Fig. 3 ADM levels in Eca109/ADM cells after Art treatment as detected by FCM

A: NS group; B: Art group; C: ADM group;

D: Art + ADM group

3 讨论

化疗过程中出现的多药耐药严重影响肿瘤的疗效。研究^[19-20]发现,ABCG2属ABC超家族成员,与多种肿瘤细胞的多药耐药有关。ABCG2可以将细胞内的异物包括化疗药物泵出细胞外,从而降低细胞内化疗药物的有效浓度,产生耐药。ABCG2与白血病的多药耐药有关,但有关ABCG2与食管癌多药耐药的研究较少。

目前已有较多的肿瘤耐药逆转剂被研发,但较大的毒性作用严重影响了它们在临床上的应用,研究低毒、高效的耐药逆转剂具有重要的临床意义。Art是我国经典的抗疟药物,研究^[21]发现,Art除了具有抗疟活性以外还具有调节免疫、抗肿瘤^[22]等活性,并且Art抗肿瘤活性具有不产生交叉耐药的特点。本课题小组以往的研究^[23-24]发现,ABCG2与食管癌的多药耐药有关,并且Art可抑制食管癌细胞的生长。本实验采用食管癌耐药细胞Eca109/ADM为研究对象,研究Art是否能逆转Eca109/ADM细胞对ADM的耐药。

实验结果显示,低浓度的Art(0.1 μmol/L)不能使Eca109/ADM细胞产生凋亡,但与ADM联合作用时能够提高ADM对Eca109/ADM细胞的促凋亡作用,说明Art可以提高ADM对Eca109/ADM细胞的杀伤作用,逆转Eca109/ADM细胞对ADM的耐药。

ABCG2属ABC超家族成员,具有将化疗药物从细胞中泵出的特性,ADM是ABCG2底物之一。为了进一步研究Art逆转Eca109/ADM细胞对ADM耐药的机制,本实验利用流式细胞术和Western blotting检测了药物作用后细胞中ABCG2蛋白的表达情况,发现Art作用Eca109/ADM细胞后,细胞中ABCG2蛋白的表达量降低,提示Art通过降低Eca109/ADM细胞中ABCG2蛋白的表达,从而逆转Eca109/ADM细胞对ADM的耐药。

药物作用Eca109/ADM细胞后流式细胞术检测细胞内ADM含量,发现Art与ADM联合作用时细胞内ADM的含量显著提高,说明Art可提高耐药细胞内ADM的含量,增加细胞内ADM的有效浓度,提高药物疗效,从而逆转耐药。

综上所述,Art可以降低Eca109/ADM细胞中ABCG2蛋白的表达,抑制ABCG2外排ADM的作用,增加细胞内ADM的含量,提高ADM的疗效,即逆转Eca109/ADM细胞对ADM的耐药。Art具有低毒、高效的特点,将其开发为食管癌耐药逆转剂具

有良好的应用前景。

[参考文献]

- [1] Chao KC, Chang CC, Yen MS, et al. Anti-tumor activity of histone deacetylase inhibitors and the effect on ATP-binding cassette in ovarian carcinoma cells [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2010, 31(4): 402-410.
- [2] Hagmann W, Jesnowski R, Löhr JM. Interdependence of gemcitabine treatment, transporter expression, and resistance in human pancreatic carcinoma cells [J]. *Neoplasia*, 2010, 12(9): 740-747.
- [3] Kudo I, Esumi M, Kida A, et al. p53 mutation, but not in vitro predictor genes of therapeutic efficacy of cisplatin, is clinically relevant in comparing partial and complete responder cases of maxillary squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(4): 851-856.
- [4] Li S, Shi H, Ji F, et al. The human lung cancer drug resistance-related gene BC006151 regulates chemosensitivity in H446/CDDP cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(8): 1285-1290.
- [5] Tanaka T, Bai T, Toujima S. Establishment and characterization of monoclonal 5-fluorouracil-resistant cell lines derived from human endometrial adenocarcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2010, 37(3): 731-736.
- [6] Landriscina M, Laudiero G, Maddalena F, et al. Mitochondrial chaperone Trap1 and the calcium binding protein Sorcin interact and protect cells against apoptosis induced by antitumor agents [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(16): 6577-6586.
- [7] Zhang Z, Deng X, Ren X, et al. Expression of mutant p53 and of the multidrug resistant proteins P-glycoprotein and glutathione S-transferase-pi correlated in colorectal adenocarcinoma [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2010, 45(7/8): 925-934.
- [8] Yoo BK, Chen D, Su ZZ, et al. Molecular mechanism of chemoresistance by astrocyte elevated gene-1 [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(8): 3249-3258.
- [9] Zutz A, Gompf S, Schägger H, et al. Mitochondrial ABC proteins in health and disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(6): 681-690.
- [10] Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: Role of ATP dependent transporters [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(1): 48-58.
- [11] Ozben T. Mechanisms and strategies to overcome multiple drug resistance in cancer [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(12): 2903-2909.
- [12] Gottesman MM, Ambudkar SV. Overview: ABC transporters and human disease [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2001, 33(6): 453-458.
- [13] Doyle LA, Ross DD. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP(ABCG2) [J]. *Oncogene*, 2003, 22(47): 7340-7358.
- [14] Ceckova M, Libra A, Pavek P, et al. Expression and functional activity of breast cancer resistance protein(BCRP, ABCG2) transporter in the human choriocarcinoma cell line BeWo [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006, 33(1/2): 58-65.
- [15] 刘亮,王静,刘江惠,等.青蒿琥酯抗食管鳞癌作用机制的研究

- 究 [J]. 中国医科大学学报, 2008, 37(4): 529-531.
- [16] 刘亮, 王静, 郭建文, 等. 青蒿琥酯对人食管癌细胞的抑制作用及其可能的机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2008, 15(3): 278-283.
- [17] 刘亮, 左静, 赵丽, 等. 阿霉素诱导食管癌耐药细胞中 ABCG2 的表达及其意义 [J]. 中国医科大学学报, 2010, 39(2): 23-26.
- [18] 王磊, 柯红, 任东明, 等. 阿霉素纳米粒对人白血病多药耐药细胞株 HL-60/ADR 多药耐药性的逆转作用 [J]. 肿瘤防治研究, 2008, 35(7): 527-528.
- [19] Sakata S, Fujiwara M, Ohtsuka K, et al. ATP-binding cassette transporters in primary central nervous system lymphoma: Decreased expression of MDR1 P-glycoprotein and breast cancer resistance protein in tumor capillary endothelial cells [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(2): 333-339.
- [20] Liu HG, Pan YF, You J, et al. Expression of ABCG2 and its significance in colorectal cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2010, 11(4): 845-848.
- [21] Tozan Y, Klein EY, Darley S, et al. Prer referral rectal artesunate for treatment of severe childhood malaria: A cost-effectiveness analysis [J]. *Lancet*, 2010, 376(9756): 1910-1915.
- [22] Sertel S, Eichhorn T, Simon CH, et al. Pharmacogenomic identification of c-Myc/Max-regulated genes associated with cytotoxicity of artesunate towards human colon, ovarian and lung cancer cell lines [J]. *Molecules*, 2010, 15(4): 2886-2910.
- [23] 刘亮, 赵丽, 刘江惠, 等. 三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族成员 2 基因在食管癌中的表达及意义 [J]. 中国医科大学学报, 2008, 37(6): 776-778.
- [24] 刘亮, 左静, 赵丽, 等. ABCG2 食管癌耐药细胞系 Eca109/ABCG2 的建立 [J]. 解放军医学杂志, 2010, 35(1): 32-35.
- [收稿日期] 2010-11-28 [修回日期] 2011-01-08
- [本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

TGF- β 1 差异性调控 HSCs 不同亚型

作为成体干细胞,造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)因具有成熟的研究体系以及较为清晰的分化发育途径而成为干细胞研究的典范。HSCs 通过分化发育及自我更新维持着整个造血系统的平衡,其研究的难点在于体内数量较少以及表型鉴定困难。随着新技术方法的涌现,尤其是单细胞功能实验的引入,人们对 HSCs 的生物学功能有了更深入的了解,HSCs 异质性便是其中较为突出的一点。在进行单细胞功能实验时,人们发现不同的 HSCs 向淋系及髓系发育的潜能具有差异,这就是 HSCs 功能的异质性,由此带来的 HSCs 亚型的研究成为 HSCs 研究热点之一。

Challen 等基于其原有工作,将侧群细胞(side population, SP)引入到 HSCs 表型鉴定中来,并根据 SP 在流式图上的不同部位将其分为 lower SP 与 upper SP 两个亚型,并证实这两个亚型具有目前已知 HSCs 的各种表型。通过 HSCs 移植实验,作者发现 lower SP 具有向髓系发育的倾向,而 upper SP 具有向淋系发育的倾向,这一结论也被序贯移植以及单细胞移植所证实。为了更明显地区分这种分化的异质性,实验又引入了另一 HSCs 重要的表面标志——CD150,并证实 CD150 更有助于区分不同亚型向淋系及髓系分化的倾向,即 CD150 阳性 lower SP 更倾向于向髓系分化,而 CD150 阴性 upper SP 更倾向于向淋系分化。随后,作者用 HSCs 这一分型解释了老年鼠中髓系细胞偏多的现象,发现老年鼠中 lower SP 比例明显增多。最后通过体外及体内实验发现,TGF- β 1 能明显地促进 lower SP 增值及向髓系分化,而抑制 upper SP 的增值,并通过 RT-PCR 技术找到其分子机制。

Challen 等延续其原有工作,利用 SP 区分了两个 HSCs 亚型,并应用 HSCs 研究的经典技术方法,有力地证实了这是两个具有向淋系及髓系不同分化倾向的亚型,而且对于 TGF- β 1 刺激有着不同反应,进一步论证了 HSCs 的异质性,从而对 HSCs 分化发育的经典途径提出了质疑。同时,也给我们带来了新的思考,如研究决定 HSCs 不同亚型发育的分子机制、不同亚型在分化发育中的关系以及内外因素的调节作用等。

[顾炎 摘译, 韩岩梅 审阅. Challen GA, Boles NC, Chambers SM, et al. *Cell Stem Cell*, 2010, 6(3): 265-278.]