

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00840

甲状腺侧群细胞研究进展

葛慧娟, 杨晓群, 余宏宇*

第二军医大学长征医院病理科, 上海 200003

[摘要] 侧群细胞(SP)是一类具有干细胞特性,能够排出活性染料 Hoechst33342 具有弱荧光染色特性的细胞。利用此特性 SP 细胞可以通过流式细胞仪被分选;其排出染料的能力与其细胞膜上的 ATP 结合盒转运子有关。目前已经在许多组织、器官中分离出 SP 细胞,且不同来源的 SP 细胞具有某些共性。本文就甲状腺 SP 细胞的分类、表面标志物以及相关特征作一综述。

[关键词] 甲状腺;SP 细胞;干细胞

[中图分类号] R 736.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)07-0840-03

Side population cells of thyroid gland: research progress

GE Hui-juan, YANG Xiao-qun, YU Hong-yu*

Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[ABSTRACT] Side population (SP) cells are highly enriched for stem cell activity and characterized by their ability to efflux the vital dye Hoechst 33342, because they express the ATP binding cassette (ABC)-dependent transporter ABCG2. SP cells can be selected from main population using flow cytometric analysis. Currently SP cells have been isolated from many tissues and organs. SP cells of different origins have some common characteristics. This article introduces the classifications, surface marker, and characteristics of SP cells.

[KEY WORDS] thyroid gland; SP cell; stem cell

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(7):840-842]

1 侧群细胞概述

Goodell 等^[1]于 1996 年在用 Hoechst33342 荧光染色对小鼠骨髓进行研究时,在流式二维分析图上发现一小群具有弱荧光染色特性的细胞呈彗星状分布在细胞主群的一侧,他们将这群细胞称为侧群细胞(side population, SP),也称边缘细胞,SP 细胞的这种弱染色表型称为 SP 表型。此群细胞细胞膜上具有能够帮助细胞排出染料的 ATP 结合盒转运子 G2(ATP-binding cassette transporter G2, ABCG2),可以排出活性染料 Hoechst33342,因此具有弱荧光染色的特性。利用这一特性可以使用流式细胞仪进行 SP 细胞的分选^[1], ABCG2 也是介导肿瘤细胞耐药的重要因素之一^[2]。继骨髓中分离出 SP 细胞之后,陆续在多种成体组织、胚胎甚至肿瘤组织中发现 SP 细胞的存在^[3-6],它们表达干细胞表面标志物,能够自我更新,还具有高度同源和多向分化的潜能,在体内能长期增殖并分化产生不同组织类型的细胞^[7-9]。这表明 SP 细胞具有干细胞的特性,可能含有一定量的干细胞,可以作为研究干细胞的重要资源。

2 SP 细胞分类、表面标志物及基因调控

2.1 SP 细胞的分类及细胞标志物 Hoshi 等^[10]于 2008 年

首次在小鼠甲状腺中成功的分离出 SP 细胞,并根据 CD45、c-kit、Sca-1 等骨髓 SP 细胞标志物,对甲状腺 SP 细胞进行分析,发现近一半的甲状腺 SP 细胞中 Sca-1 表达阳性而 CD45 和 c-kit 却几乎全是阴性表达,因此将甲状腺 SP 细胞分为 CD45(-)c-kit(-)Sca-1(-)和 CD45(-)c-kit(-)Sca-1(+)两类;还根据 Hoechst33342 排出能力,将甲状腺 SP 细胞分为 SP1 和 SP2 两类,而这两类 SP 细胞的一些标志物如 ABCG2、Nucleostemin、Oct4、Titf1、Pax8、Tpo、Tg、Tshr 等也有着不同的表达,SP1 细胞中 ABCG2、Nucleostemin 等干细胞标志物表达要高于 SP2 细胞;而 Titf1、Pax8 等甲状腺滤泡上皮的标志物的表达却是 SP2 细胞高于 SP1 细胞,这意味着 SP1 和 SP2 两类细胞可能也有着功能上的差别。所以 Hoshi 等^[10]认为排出染料能力稍强的 SP 细胞(即 SP1)其干细胞潜能要强于 SP2,但也有不同观点^[11-12]。目前,在甲状腺癌细胞株中也已经成功地通过流式细胞仪分选出 SP 细胞,并鉴定其具有干细胞的潜能。

甲状腺 SP 细胞表面还有一种特殊的标志物——ABCG2,虽然这一蛋白在其他细胞中也有表达,但是正是这一蛋白的存在才使 SP 细胞具有弱荧光染色特性,介导了 SP 表型。ABCG2 在乳腺癌细胞系 MCF7 中被发现,它能将多

[收稿日期] 2008-12-17 **[接受日期]** 2009-03-12

[作者简介] 葛慧娟,硕士生. E-mail:ghj0604@hotmail.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-81886999-866122, E-mail:yuhongyu795@hotmail.com

种化疗药物和外源性化学物质转运到胞外,而且所有的干细胞上均表达这一蛋白^[13]。这似乎也从某个角度说明了 SP 的干细胞特性。

2.2 SP 细胞基因调控 Wnt 和 Notch 信号转导通路在干细胞分化中扮演重要角色,Wnt 通路对于干细胞池的保持和防止细胞分化至关重要^[14],能够调节干细胞的自我更新^[15],Wnt 通路的活化对干细胞的全能型的维持起重要作用^[16]。Notch 通路则可以抑制干细胞分化,维持其多潜能性,并可进一步促进其增殖^[17-19]。Mitsutake 等^[9]在甲状腺癌的研究中发现,SP 细胞 ABCG2、MYC、JUN、FZD5、HES1 和 JAG1 等 6 个基因的表达明显上调;其中 ABCG2 与 SP 细胞表型密切相关,MYC、JUN、FZD5 与 Wnt 信号转导通路有关,HES1、JAG1 与 Notch 信号转导通路有关。这提示 SP 细胞可能具有自我更新能力且可以保持永生。

3 甲状腺 SP 细胞特性

3.1 形态学特征 Hoshi 等^[10]发现,甲状腺 SP 细胞体外培养 1 周时,细胞形态表现为多形性,培养 3 周时可以通过胞质突起相互连接,这种形态学特征在之后的培养中几乎不发生改变,而且在培养 3 周后,SP 细胞数目几乎不发生变化;non-SP 细胞开始培养时也表现为多形性,3 周后细胞形态表现为明显球状结构,生长较 SP 细胞迅速,而且没有 SP 细胞所形成的细胞质突起。免疫组化显示,9 周时 non-SP 细胞就形成有功能的滤泡上皮细胞并可以表达 Ttf1 和 TG 等甲状腺细胞标志物;而 SP 细胞则不表达甲状腺细胞的相关标志物。这说明 SP 细胞并没有分化发育为成熟的甲状腺上皮细胞,而是停留在成熟甲状腺上皮细胞之前的某个发育阶段,从侧面反映了其干细胞的特性。

3.2 功能特性 除表皮 SP 细胞外,SP 细胞在表面分子标志和功能方面与相应的组织干细胞有很多相似之处^[20]。Hoshi 等^[10]首先证明了甲状腺 SP 细胞的存在,而且证明其具有自我更新及分化潜能等干细胞样特性。Mitsutake 等^[9]也在甲状腺癌中成功分离出具有很强克隆形成能力的 SP 细胞,并鉴定了其干细胞的特性,并发现肿瘤侵袭能力可能与 SP 细胞含量有关。但这一观点在乳腺癌中并不适用,Patrawala 等^[13]仅在致癌能力最小的乳腺癌细胞株中分离出了乳腺癌 SP 细胞。Mitsutake 等^[9]还发现,不论是甲状腺 SP 细胞还是 non-SP 细胞都可以在裸鼠体内形成肿瘤,不同于以往认为的只有 SP 细胞有致瘤性^[21]。而且甲状腺 SP 细胞在培养过程中可发生不对称分裂,不仅可以产生 SP 细胞还可以产生 non-SP 细胞,而 non-SP 细胞培养后也可以产生少量的 SP 细胞。这些都表明了肿瘤干细胞存在于 SP 细胞中但并不是仅存在于 SP 细胞中,也间接说明甲状腺 SP 细胞不完全等同于甲状腺干细胞。

4 展望

目前对甲状腺干细胞的研究还比较少,甲状腺干细胞的分离和纯化是一个亟待解决的难题。而甲状腺 SP 细胞或多或少的具有某些干细胞的潜能与特性,研究甲状腺 SP 细胞便成了研究甲状腺干细胞的一条重要的途径。利用 SP 细胞

弱荧光染色现象,采用流式细胞技术分离甲状腺 SP 细胞是甲状腺干细胞研究较常用的方法。虽然目前尚不能明确分离出来的甲状腺 SP 细胞与干细胞的关系,但这仍然是干细胞特异表面标志物缺乏条件下的一种有效的分离方法,为研究甲状腺干细胞提供了便利的途径。

甲状腺 SP 细胞与甲状腺癌中分选出的 SP 细胞,它们之间的关系目前也尚不明确。两者是否为相同的 SP 细胞,还是甲状腺癌 SP 细胞是由甲状腺 SP 细胞基因突变后形成,还是两者有着根本的区别,以及甲状腺癌 SP 细胞与甲状腺癌干细胞的关系,这些都是我们所不了解的,需要我们在今后的工作研究中继续探寻。

SP 细胞在很多肿瘤组织中所表现的耐药性,也为甲状腺肿瘤及复发的治疗提供了一定的思路。这些都对甲状腺干细胞的研究奠定了基础,也为甲状腺肿瘤的治疗提供了新的靶点与研究方向。

[参考文献]

- [1] Goodell M A, Brose K, Paradis G, Conner A S, Mulligan R C. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating *in vivo* [J]. *J Exp Med*, 1996, 183: 1797-1806.
- [2] Zhou S, Schuetz J D, Bunting K D, Colapietro A M, Sampath J, Morris J J, et al. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype [J]. *Nat Med*, 2001, 7: 1028-1034.
- [3] Habich A, Jurga M, Markiewicz I, Lukomska B, Bany-Lasiewicz U, Domanska-Janik K. Early appearance of stem/progenitor cells with neural-like characteristics in human cord blood mononuclear fraction cultured *in vitro* [J]. *Exp Hematol*, 2006, 34: 914-925.
- [4] Zhang S, Uchida S, Inoue T, Chan M, Mockler E, Aubin J E. Side population (SP) cells isolated from fetal rat calvaria are enriched for bone, cartilage, adipose tissue and neural progenitors [J]. *Bone*, 2006, 38: 662-670.
- [5] Samuel J, Hart C, Gilmore P, Bhatt R, Ramani V, Brown M, et al. Enrichment of the prostate side population the quest for the prostate epithelial stem cell [J]. *Eur Urol Suppl*, 2006, 5: 62-62.
- [6] Kenji M, Hiroko I, Ichiro S. Identification of side population cells of salivary glands [J]. *Int Congr Ser*, 2005, 1284: 83-84.
- [7] Challen G A, Little M H. A side order of stem cells: the SP phenotype [J]. *Stem Cells*, 2006, 24: 3-12.
- [8] Hirschmann-Jax C, Foster A E, Wulf G G, Nuchtern J G, Jax T W, Gobel U, et al. A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 14228-14233.
- [9] Mitsutake N, Iwao A, Nagai K, Namba H, Ohtsuru A, Saenko V, et al. Characterization of side population in thyroid cancer cell lines: cancer stem-like cells are enriched partly but not exclusively [J]. *Endocrinology*, 2007, 148: 1797-1803.
- [10] Hoshi N, Kusakabe T, Taylor B J, Kimura S. Side population cells in the mouse thyroid exhibit stem/progenitor cell-like

- characteristics[J]. *Endocrinology*, 2007, 148: 4251-4258.
- [11] Parmar K, Sauk-Schubert C, Burdick D, Handley M, Mauch P. $Sc\alpha^+$ $CD34^-$ murine side population cells are highly enriched for primitive stem cells[J]. *Exp Hematol*, 2003, 31: 244-250.
- [12] Matsuzaki Y, Kinjo K, Mulligan R C, Okano H. Unexpectedly efficient homing capacity of purified murine hematopoietic stem cells[J]. *Immunity*, 2004, 20: 87-93.
- [13] Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, Zhou J, Claypool K, Tang D G. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas $ABC\alpha^+$ and $ABC\alpha^-$ cancer cell are similarly tumorigenic[J]. *Cancer Res*, 2005, 65: 6207-6219.
- [14] Kuhnert F, Davis C R, Wang H T, Chu P, Lee M, Yuan J, et al. Essential requirement for Wnt signaling in proliferation of adult intestine and colon revealed by adenoviral expression of Dickkopf-1[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 266-271.
- [15] Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer[J]. *Nature*, 2005, 434: 843-850.
- [16] Daniels D L, Weis W I. Beta-catenin directly displaces Groucho/TLE repressors from Tcf/Lef in Wnt-mediated transcription activation[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, 12: 364-371.
- [17] Androutsellis-Theotokis A, Leker R R, Soldner F, Hoepfner D J, Ravin R, Poser S W, et al. Notch signalling regulates stem cell numbers *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nature*, 2006, 442: 823-826.
- [18] Wilson A, Radtke F. Multiple functions of Notch signaling in self-renewing organs and cancer [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580: 2860-2868.
- [19] Moriyama M, Osawa M, Mak S S, Ohtsuka T, Yamamoto N, Han H, et al. Notch signaling *via* Hes1 transcription factor maintains survival of melanoblasts and melanocyte stem cells [J]. *J Cell Biol*, 2006, 173: 333-339.
- [20] Triel C, Vestergaard M E, Bolund L, Jensen T G, Jensen U B. Side population cells in human and mouse epidermis lack stem cell characteristics[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 295: 79-90.
- [21] Chiba T, Kita K, Zheng Y W, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, et al. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties [J]. *Hepatology*, 2006, 44: 240-251.

[本文编辑] 贾泽军

· 读者 作者 编者 ·

中草药名称中文、拉丁文及英文对照表(二十七)

| 汉语拼音名 | 中文名 | 拉丁名 | 英文名 |
|----------------|------|--|--|
| Yangtija | 羊蹄甲 | <i>Radix Bauhiniae Hupehanae</i> | Hupeh Bauhinia Root |
| Yanhusuo | 延胡索 | <i>Rhizoma Corydalis</i> | Yanhusuo |
| Yanzhoujuanbai | 兖州卷柏 | <i>Herba Selaginellae Involventis</i> | Involute Spikemoss Herb |
| Yazhicao | 鸭跖草 | <i>Herba Commelinae</i> | Common Dayflower Herb |
| Yedizhu | 叶底珠 | <i>Cacumen Securinegae Suffruticosae</i> | Suffrutescent Securinega Twig |
| Yejiateng | 夜交藤 | <i>Caulis Polygoni Multiflori</i> | Tuber Fleecflower Stem |
| Yejuhua | 野菊花 | <i>Flos Chrysanthemi Indici</i> | Wild Chrysanthemum |
| Yelaoguancao | 野老鹳草 | <i>Herba Geranii Caroliniani</i> | Carolina Cranesbill Herb |
| Yemazhui | 野马追 | <i>Herba Eupatorii Lindleyani</i> | Lindley Eupatorium Herb |
| Yemingsha | 夜明砂 | <i>Faeces Vespertilionis</i> | Bat Dung |
| Yemudan | 野牡丹 | <i>Herba Melastomatis Candii</i> | Common Melastoma Herb |
| Yeputao | 野葡萄 | <i>Radix Vitis Adstrictae</i> | Romanet Grape Root |
| Yexiazhu | 叶下珠 | <i>Herba Phyllanthi Urinariae</i> | Common Leafflower Herb |
| Yibeimu | 伊贝母 | <i>Bulbus Fritillariae Pallidiflorae</i> | Sinkiang Fritillary Bulb |
| Yidianhong | 一点红 | <i>Herba Emiliae</i> | Sowthistle Tasselflower Herb |
| Yidianxue | 一点血 | <i>Rhizoma Begoniae Wilsonii</i> | Wilson Begonia Rhizome |
| Yimucao | 益母草 | <i>Herba Leonuri</i> | Motherwort Herb |
| Yinchaihu | 银柴胡 | <i>Radix Stellariae</i> | Starwort Root |
| Yinchen | 茵陈 | <i>Herba Artemisiae Scopariae</i> | Virgate Wormwood Herb / Capillary Wormwood Herb |
| Yindijue | 阴地蕨 | <i>Herba Botrychii</i> | Ternate Grape Fern Herb |
| Yingbubo | 鹰不泊 | <i>Radix Zanthoxyli Avicennae</i> | Avicennia Pricklyash Root |
| Yingtaohe | 樱桃核 | <i>Nux Pseudocerasi</i> | Falsesour Cherry |
| Yinianpeng | 一年蓬 | <i>Herba Erigerontis Annui</i> | Annual Fleabane Herb |
| Yinxiang | 阴香 | <i>Cortex Cinnamomi Burmannii</i> | Burmans Cinnamon Bark |
| Yinxingye | 银杏叶 | <i>Folium Ginkgo</i> | Ginkgo Leaf |
| Yinyanghuo | 淫羊藿 | <i>Herba Epimedii</i> | Epimedium Herb |
| Yiyiren | 薏苡仁 | <i>Semen Coicis</i> | Coix Seed |
| Yizhihuanghua | 一只黄花 | <i>Herba Solidaginis</i> | Common Goldenrod Herb |