

doi:10.3969/j.issn.1673-0364.2011.05.014

# 毛囊干细胞定向分化过程中 Wnt 信号通路介导的基因调控

向萌娟 综述 杨斌 审校

**【摘要】** 皮肤的毛囊干细胞具有自我复制以及多向分化潜能,在毛囊形态发育和定向分化过程中,Wnt 信号通路起决定性作用。参与这条信号通路的重要蛋白质,如 Wnt 蛋白、Frizzled、 $\beta$ -catenin、GSK3 $\beta$ 、APC、Axin 等研究相对较早,且颇为深入。但对于这条通路下游的调节因子,尤其是细胞核内关键性转录因子 Tcf3、Lef1,以及它们所调控的一些重要基因 c-myc、cyclinD1 等的研究仍处于起步阶段。本文就 Wnt 信号通路介导的基因调节毛囊干细胞定向分化的研究现状进行综述,为构建组织工程皮肤提供理论参考。

**【关键词】** 毛囊干细胞 Wnt 信号通路 基因调控

**【中图分类号】** Q786 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1673-0364(2011)05-0290-05

**Gene Regulation by Wnt Signaling Pathway in the Oriented Differentiation of Hair Follicle Stem Cells** XIANG Mengjuan<sup>1</sup>, YANG Bin<sup>2</sup>. 1 GuangZhou Medical University, Guangdong 510182, China; 2 Plastic Surgery Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100144, China. Corresponding author: YANG Bin (E-mail: ybdoctor\_psh@163.com).

**【Summary】** Wnt signaling pathway plays a decisive role in morphological development and oriented differentiation of hair follicle stem cells (HFSCs) with the ability of self-replication and the potential of multiplex differentiation. Investigation of many important proteins involving in Wnt signaling pathway such as Wnt, Frizzled,  $\beta$ -catenin, GSK3 $\beta$ , APC, Axin has been carried out relatively earlier and deeper. While investigation of some downstream effectors especially the transcription factors located in cell nucleus, like Tcf3, Lef1 and gene c-myc, cyclinD1 regulated by Tcf3 and Lef1 is still at the primary phase. This paper reviews gene regulation of oriented differentiation of hair follicle stem cells by Wnt signaling pathway, so as to provide theoretical reference in tissue engineered skin.

**【Key words】** Hair follicle stem cells; Wnt signaling pathway; Gene regulation

皮肤细胞每天都在不停地更新。表皮层细胞凋亡脱落,由表皮基底层干细胞不断产生新的细胞上移补充,干细胞逐渐演化成终末细胞,增殖与分化之间保持着相对平衡。表皮含有两种可增殖的角蛋白细胞,即干细胞(Stem cell)和短暂扩充细胞(Transit amplifying cells, TAC)。干细胞也称标记保留细胞(Label-retaining cell, LRC),是一类具有无限自我更新和高度增殖能力的细胞群。短暂扩充细胞由干细胞分化而来,并能进一步分化成终末分化细胞而退出细胞周期<sup>[1-2]</sup>。以往的研究基本明确了毛囊干细胞的定位、特异性标记物、生长微环境等<sup>[3-5]</sup>。但毛囊干细胞是如何定向分化的?生物信号如何调节基因表达来控制毛囊干细胞的命运?本文就毛囊干

细胞定向分化中 Wnt 信号介导基因调控的研究进展进行综述。

## 1 Wnt 信号通路

### 1.1 Wnt 信号通路的概述

Wnt 信号通路包括经典 Wnt 信号通路,即 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路;以及 10 个非经典 Wnt 信号通路:Wnt/PCP 信号通路、Wnt-cGMP 信号通路、Ca<sup>2+</sup>信号通路等。参与毛囊干细胞增殖分化的信号通路主要为经典 Wnt 信号通路。在胚胎的生长发育以及成体干细胞的增殖分化过程中,这条通路将细胞外或细胞间的信息传递到细胞核内,并通过一系列级联反应影响着基因的表达,从而对细胞的分化方向、细胞增生、细胞极性及迁移、细胞老化等进行调控。不仅如此,最近的研究还表明,Wnt 信号通路在调节干细胞多能性以维持机体内稳态上也发挥了关键性的作用<sup>[6]</sup>。

基金项目:国家自然科学基金(30772099),北京市自然科学基金(7112111)。

作者单位:510182 广东省广州市 广州医学院(向萌娟); 100144 北京市 协和医学院中国医学科学院整形外科医院(杨斌)。

通讯作者:杨斌(E-mail: ybdoctor\_psh@163.com)

## 1.2 Wnt 蛋白及 $\beta$ -catenin

Wnt 蛋白家族是一个及其复杂庞大的信号系统,包含有多个亚类。哺乳动物有 19 个 Wnt 蛋白基因,可以产生 12 个 Wnt 蛋白亚家族<sup>[7]</sup>。人类至少存在有 19 个 Wnt 家族成员,其中包括 Wnt-3、4、5a、6、7a、7b、10a、10b、11 等。Wnt 蛋白进入细胞内引起级联反应的关键分子之一便是  $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin)。 $\beta$ -catenin 是 1980 年 Walt Birchmeier 在研究细胞黏附分子—E-钙粘素 (E-cadherin) 相关分子时首次发现的。 $\beta$ -catenin 基因位于 3p21,由 CTNNB1 基因编码,其产物在人体的相对分子质量约 92 KDa。从低等动物果蝇至哺乳动物和人类,其同源性高达 80%,具有高度的进化保守性。 $\beta$ -catenin 有 3 个重要的功能域:N 末端为糖原合酶激酶 3 (GSK3 $\beta$ ) 磷酸化降解区,对于调节  $\beta$ -catenin 的稳定性有重要作用;C 末端是转录激活域,可与转录活化因子 TCF/LEF 结合;中间的连接臂重复区是 arm 重复域,是  $\beta$ -catenin 与多种配体如肿瘤抑制基因结肠腺瘤息肉病基因蛋白 (APC)、轴素 (Axin)、E-钙粘素等结合的重要部位。

已有的研究表明, $\beta$ -catenin 在毛囊干细胞的激活及定向分化中起关键作用。 $\beta$ -catenin 具备两方面的生物学功能,黏合连接与信号转导<sup>[8]</sup>。Wnt 信号通路静止时, $\beta$ -catenin 只参与细胞间的黏合连接;当 Wnt 信号通路启动时, $\beta$ -catenin 起核心信号分子作用。毛囊干细胞内表达高水平的  $\beta$ -catenin 时,干细胞分化成为毛囊结构的细胞,而低水平的  $\beta$ -catenin 将使毛囊干细胞分化成为表皮细胞。此外,有研究表明,成人表皮中的  $\beta$ -catenin 被激活后,会有新的毛囊形成<sup>[9]</sup>,而在毛囊隆突部干细胞群的  $\beta$ -catenin 表达沉默后,会引发毛囊干细胞向表皮细胞转归。有研究认为,通过转基因表达<sup>[10]</sup>或者创伤而提高稳定的  $\beta$ -catenin 含量,也将诱导皮肤产生新的毛囊;反之,丢失  $\beta$ -catenin 后毛囊也随之缺失,皮肤肿瘤生长受到抑制<sup>[11]</sup>。

## 1.3 Wnt 蛋白与受体的相互作用及信号通路

在经典 Wnt 信号通路中,无 Wnt 信号刺激时,细胞质中的  $\beta$ -catenin 与 Axin、GSK3 $\beta$ 、APC、酪蛋白激酶 1 (Casein kinase 1,CK1) 等结合在一起构成降解复合体, $\beta$ -catenin 的第 41、37、33 位残基被 GSK3 $\beta$  丝氨酸/苏氨酸磷酸化,第 45 位残基被 CK 丝氨酸/苏氨酸磷酸化,受到泛素的共价修饰而被蛋白酶降解,从而保持了胞内低水平的  $\beta$ -catenin。随着 Wnt 蛋白的增加,Wnt 蛋白与细胞膜上跨膜的卷曲蛋白受体 Frizzled (FZ) 及低密度脂蛋白受体相关蛋白 (Low density lipoprotein receptor-related protein,LRP) 结合,激活了细胞质中的散乱蛋白 (Dishevelled,DSH)。DSH 与 Axin 作用并添加其它蛋白质,如 GSK 结合蛋白 (GBP/FRAT) 以及蛋白磷酸化酶 2C,抑制了 Axin·APC·GSK3 $\beta$  复合体的形成,降低了 GSK3 $\beta$  的活性,抑制  $\beta$ -catenin 的磷酸化,阻断细胞质中的泛素-蛋白酶小体对游离  $\beta$ -catenin 的降解,从而引起细胞质内  $\beta$ -catenin 的水平升高。细胞质内低磷酸化的  $\beta$ -catenin 聚集,浓度升高进入细胞核,与 T 细胞因子 (T cell factor,TCF)/淋巴样增强因子 (Lymphoid enhancer factor,LEF) 形成复合体,作为

细胞核转录激动剂来调节靶基因的转录。

## 2 Wnt 信号通路介导的基因调控

TCF/LEF 转录因子家族是含有 HMG 结合域的 DNA 连接蛋白,为 Wnt 信号通路重要的下游效应因子。大部分 TCF/LEF 分子含有 3 个主要的结合域:N 端的  $\beta$ -catenin 结合域、Groucho/TLE 结合域以及连接 DNA 的 HMG 结合域。在 Wnt 信号通路中,Wnt 蛋白存在时, $\beta$ -catenin 转移定位于细胞核,替换掉结合在 TCF/LEF 上的四聚物 Groucho (Grg/TLE),形成  $\beta$ -catenin-TCF/LEF 二聚体,并能引导更多的激活因子聚集在该二聚体上,激活下游靶基因 c-myc、cyclin D1、Tcf1 和 PPAR $\delta$  等的转录与表达,调节细胞的增殖和分化,调控细胞的命运。但在替换过程中,能否形成  $\beta$ -catenin-TCF/LEF-Groucho/TLE-DNA 中间态复合体,目前仍没有明确的报道。

### 2.1 Wnt 信号通路下游的重要转录因子

脊椎动物 TCF 转录因子家族成员包含 4 个:Tcf1、Lef1、Tcf3 和 Tcf4<sup>[12]</sup>。在毛囊的诱导分化中起到重要作用的是 Tcf3 和 Lef1。Tcf3 在隆突部 (Bulge) 及外根鞘 (ORS) 下份的干细胞中表达丰富且含量不同,Bulge 区干细胞通常只表达 Tcf3 而不表达 Lef1,毛囊干细胞呈现静止状态,而 ORS 中的毛囊干细胞表现出激活的状态,能进一步作为替补细胞出现在毛囊的基底层,形成基底细胞和毛发<sup>[13]</sup>,Tcf3 在 ORS 中表达相对减少;Lef1 则主要表达于毛囊基底细胞中,这些细胞可定向分化为短暂扩充细胞、前皮质细胞,长出毛发。当隆突部细胞向毛囊基底细胞分化时,TCF3 丢失,而 LEF1 表达出现,这一转变似乎在干细胞向毛发细胞分化的过程中是必须的,可能与接受了 Wnt 信号传导有关。

当稳定表达的  $\beta$ -catenin 水平增加时,干细胞激活,许多细胞增殖相关的基因表达随之上调,毛囊毛发生长发生<sup>[14]</sup>。大量的实验证明,Tcf3 在缺乏 Wnt 信号的情况下,可抑制毛囊干细胞的定向分化,使毛囊干细胞保持其多向分化潜能;Wnt 信号参与时,Tcf3 则能介导毛囊干细胞分化。Lef1 必须在有 Wnt 信号存在的情况下才能发挥作用,促进毛囊干细胞分化成为构成毛囊结构的细胞,在毛囊的形态发生中起着至关重要的作用。异位诱导 Tcf3 表达于表皮的基底层,将会抑制表皮基底层细胞分化为表皮细胞,并能改变转录使之成为类似于胚胎的非定向分化的表皮结构<sup>[15]</sup>。另外,Tcf3 在细胞周期中也起到减慢细胞循环的作用。Lef1 的显性负突变能够导致 Lef1 或  $\beta$ -catenin 过度表达,然后引起  $\beta$ -catenin 信号通路阻断,对 Wnt 信号通路产生负性调节作用,抑制毛囊滤泡分化,导致毛囊形成异常;但却促进了毛囊干细胞向皮脂腺和毛囊滤泡间上皮分化。同时,过度表达的 Lef1 还可引起毛囊肿瘤的发生<sup>[16]</sup>。

Tcf3 能抑制 Wnt 信号通路靶基因的转录,保持毛囊干细胞多向分化能力的特性,可以通过其他一些标记物的共同表达得到进一步的说明。在一些动物模型中,表达 Tcf3 的表皮还能出现 K5、SOX9 等相对未分化形态学的阳性表达,说明 Tcf3 能保持细胞的干性。Tcf3 的这些作用也可用来解释为什

么 Tcf3 局限于毛囊的 Bulge 区表达,这与 Bulge 区细胞的自我更新、慢周期特性是一致的。

Lef1 和  $\beta$ -catenin 在毛囊的形态学发生中起着重要的作用。早在 1994 年,就有研究发现 Lef1 阴性的大鼠表现出毛囊的缺乏。进一步研究发现,利用角蛋白 14(Keratin 14)为启动子载有 Lef1 基因的载体在转基因大鼠的表皮、ORS 以及 Bulge 区表达 Lef1 以后,在表皮也能观察到类似于毛芽样的内陷,即产生了代表毛发的信号。当以同样方法利用 K14 为启动子表达结构稳定的  $\beta$ -catenin( $\Delta$ N87 $\beta$ -catenin)以后,来自于表皮、ORS 以及 Bulge 区的细胞发生毛囊样分化,并有毛囊形态学发生。在这些转基因大鼠中,Lef1 的表达与毛囊干细胞向毛囊毛发分化是一致的,说明了 Lef1 对于毛囊干细胞定向分化的调节起到至关重要的作用。

最近的研究发现,无论是在胚胎祖细胞还是出生后的毛囊干细胞中,Tcf4 与 Tcf3 都是共同表达的,而且 Tcf4 的表达位置和作用都与 Tcf3 一致,都能抑制毛囊干细胞的分化,保持毛囊干细胞的多能性<sup>[17]</sup>。

在人类和鼠科动物中,编码的 Groucho 蛋白同系物分别被命名为 TLE1-4、hAES 和 Grg1-5,其中 TLE1-4 与 Grg1-4 包含 Groucho 蛋白全长的 5 个结构域,即 Q、GP、CCN、SP 和 WD40,而 hAES 和 Grg5 只有 Q、GP 两个结构域。Groucho 蛋白通过其 N 末端 Q 域的亮氨酸拉链组成四聚体结构,可与组蛋白去乙酰化酶相互作用。在核内没有  $\beta$ -catenin 的情况下,Groucho 连接在 TCF/LEF 上,聚集的组蛋白去乙酰化酶会使染色质更加紧密而失活。当 Wnt 信号存在时, $\beta$ -catenin 在核内聚集,与  $\beta$ -catenin 的酸性 C 末端直接相连的蛋白 CBP/p300<sup>[18]</sup>发生反应,CBP/p300 有组蛋白去乙酰化酶活性,可使连接在 TCF/LEF 上的 DNA 激活,抵消 Groucho/TLE 的作用<sup>[19]</sup>,协助  $\beta$ -catenin 转录下游靶基因。近年来的研究发现,CtBP 既可作为共激活因子也可作为共抑制因子,它表现出什么样的活性依赖于细胞的表型,但这一系列反应的具体过程目前仍不清楚。

## 2.2 TCF/LEF 与 $\beta$ -catenin

Merrill 等<sup>[20]</sup>的转基因小鼠实验中,无论是野生型的 TCF3,还是 N 端  $\beta$ -catenin 结合域缺失的 TCF3( $\Delta$ NTcf3),均能起到相同的作用,即抑制靶基因的转录产生相同的表型,说明 Tcf3 的作用可能并不依赖于  $\beta$ -catenin 信号。Merrill 等<sup>[21]</sup>的胚胎实验也发现,在胚胎的形成过程中,Tcf3 与 TCF/LEF 家族的其他成员是不相同的,无论有没有 Wnt 信号,Tcf3 均可发挥其调节基因的作用。但与 TCF3 不同的是,Lef1 对于转录的激活必须依赖 Wnt 信号及稳定的  $\beta$ -catenin 存在。N 端  $\beta$ -catenin 结合域缺失的 Lef1 ( $\Delta$ N Lef1) 由于无法与  $\beta$ -catenin 结合,阻止了 Lef/Tcf 的激活功能,毛发形成被终止,代之形成皮脂腺细胞。

目前对于  $\beta$ -catenin 是如何进入细胞核内的机制尚不明确。但通过使 TCF 过度表达发现,当存在有大量 TCF 时, $\beta$ -catenin 进入细胞核内变得相对容易。利用逆转录病毒转染角质化细胞,使细胞表达不同的  $\beta$ -catenin 突变体。研究结果表

明,氨基酸截短的  $\beta$ -catenin 突变体(因没有 GSK3 结合位点而不被降解)可增加培养细胞中干细胞克隆的比例,而且这种作用与 TCF/LEF 转录因子活性改变密切相关。当转基因小鼠表皮基层过度表达氨基酸截短的  $\beta$ -catenin 时,基底细胞呈现多能干细胞的特征,并可分化形成毛囊和表皮。相反,干细胞中  $\beta$ -catenin 表达减少时,则无法分化形成毛囊中的角质化细胞,而只向毛囊之间分布的表皮方向发展。虽然  $\beta$ -catenin /TCF3、 $\beta$ -catenin/LEF1 复合体与毛囊干细胞增殖、分化间的关系已有了初步的认识,但其潜在机制及功能重要性仍有待进一步研究阐明。

## 2.3 TCF/LEF 调节基因转录的影响因素

细胞质与细胞核中 catenin 伴侣分子的相互竞争影响着 TCF/LEF 与  $\beta$ -catenin 之间的连接。钙黏素的胞外部分含有五个与  $Ca^{2+}$ 连接的结构域,与相邻的细胞紧密连接,而其胞内部分则与  $\beta$ -catenin、 $\alpha$ -catenin、 $\gamma$ -catenin、细胞骨架及 catenin p120 紧密连接。过度表达钙黏素将导致大量的  $\beta$ -catenin 之间及  $\beta$ -catenin 和钙黏素之间相互黏连,这样就减少了  $\beta$ -catenin 进入核内与 TCF/LEF 形成复合体的概率,转录受到抑制,靶基因的表达减少。生长因子受体及酪氨酸激酶可以下调钙黏素的转录水平或分解钙黏素/catenin 复合体,从而使  $\beta$ -catenin 与 E-钙黏素和细胞骨架脱离,细胞间黏附减弱,有利于 Wnt 信号的转导及细胞的迁移和分化<sup>[22]</sup>。

转录因子之间也存在着竞争。 $\beta$ -catenin 除了与 TCF/LEF 结合外,其他的一些活性域可与另外的转录因子相结合。如 HGM 活性域可与 SOX 亚家族的转录因子成员结合,而 Arm 重复序列区则能与视黄醛受体(RAR $\alpha$ )结合。TCF/LEF 家族成员种类繁多,作用各不相同,其成员之间与  $\beta$ -catenin 的竞争也是影响转录的重要因素。另外,与  $\beta$ -catenin 高度同源的 plakoglobin( $\gamma$ -catenin)也可竞争性地结合转录因子。

ILK(integrin-linked kinase)可以与  $\beta$ -catenin 结合而发生作用,从而调节  $\beta$ -catenin 从胞浆转运到核内的过程,下调 GSK-3 $\beta$  的活性,下调 E-钙黏素导致  $\beta$ -catenin 的重新分布,ILK 还能参与调节 Lef1 的表达<sup>[23]</sup>。一些外来因素,例如角质细胞生长因子(KGF)、氯化锂(LiCl)等也可与 TCF/LEF 发生作用影响靶基因的转录。Fathke 等<sup>[24]</sup>通过采用小鼠背部全厚皮肤缺损的模型,检测在创伤修复过程中不同时间段的 Wnt 蛋白表达情况,并用  $\beta$ -gal 报告  $\beta$ -catenin 的表达,发现 LiCl 可抑制 GSK3 $\beta$  的活性,从而激活  $\beta$ -catenin/Tcf 信号通路,部分样本观察到皮肤附属器的形成,包括简单的毛囊和皮脂腺结构。

## 3 Wnt 信号通路中的关键调控基因

### 3.1 c-Myc

c-Myc 是原癌基因 Myc 家族中的一员,基因定位于 8 号染色体长臂上(8q24),编码由 349 氨基酸组成的蛋白质。其编码的蛋白质能与核内的 DNA 特异结合行使转录调节功能。c-Myc 是 Wnt 信号通路下游的靶基因,在毛囊上皮的基底膜和毛囊隆突部高表达。当  $\beta$ -catenin 信号到达时将促进

c-Myc 基因表达的启动,使细胞从 G1 期向 S 期转变,调节细胞周期、抑制  $\beta 1$  整合素的表达。在无干细胞存在的其他上皮如滤泡间上皮中,过度表达的 Myc 则能诱导增殖,抑制分化。简言之,c-Myc 在毛囊干细胞中表达可促进细胞分化成为皮脂腺和表皮<sup>[25]</sup>,而在其他类型细胞中则促进细胞生长、增殖和凋亡。毛囊干细胞在其微环境中的正常存在依赖于 c-Myc 的正常表达,c-Myc 转录水平的下降会导致干细胞衰竭,使干细胞无法参与创面修复过程;而其高表达则抑制角质形成和创面修复过程<sup>[26]</sup>。采用转基因大鼠 c-Myc-ERTM 过量异位表达人的 c-Myc 基因于毛囊和表皮的基底层,发现这些转基因大鼠表皮增厚,皮脂腺增大,毛发周期失调<sup>[27]</sup>。表明 c-Myc 基因的失控会使干细胞脱离微环境分化成短暂增殖细胞,从而影响皮肤及其附属器官的正常更新。

c-Myc 在不同的细胞中其表达量也不相同。在毛囊干细胞中表达较低,在短暂扩充细胞中表达水平较高,然而到了终末细胞时,其表达水平及转录的 mRNA 数量又下降。这样才能确保 TAC 能够继续进入细胞周期,进行数次快速分裂,扩充细胞数量,并刺激其分化成为终末细胞<sup>[28]</sup>,而 c-Myc 低表达的终末细胞分化能力下降。这也可用来解释毛囊干细胞与短暂扩充细胞相比,更具有多向分化潜能,而终末分化细胞的分化潜能已经丧失。

由于 c-Myc 原癌基因启动子上有 Tcf4 结合位点,Wnt 信号转导通路中的关键组分  $\beta$ -catenin 还可能通过与 TCF4 的结合,而启动 c-Myc 原癌基因诱导干细胞分化,这与上述 Wnt 信号转导通路中  $\beta$ -catenin 主要促使干细胞的增殖作用之间似乎相互矛盾,故而可以推测两者之间可能存在特殊的反馈环路<sup>[29]</sup>。另外,大量动物模型证明 c-Myc 与  $\beta$ -catenin 之间存在着相互排斥的作用。这与 c-Myc 基因激活促进毛囊干细胞向皮脂腺和毛囊间表皮分化, $\beta$ -catenin 诱导新生毛囊发生是一致的<sup>[30]</sup>。

### 3.2 cyclin D1

细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)是调节细胞进入细胞周期增生期的主要因子,通过相应的周期素依赖性激酶(在皮肤主要为 CDK4、CDK6)及其抑制因子对细胞周期关键限制点的 G1/S 转换起正性调节作用,促进细胞由静止期进入增殖期,激活干细胞使之增殖、分化。cyclin D1 基因也是  $\beta$ -catenin/Lef1 复合体的目的基因,Lef1 分子上含有 cyclin D1 结合位点,与 cyclin D1 的启动子结合激活 cyclin D1 基因的表达以及细胞的增殖。通过在毛囊基底及基底以上区域取样进行一系列研究发现,cyclin D1 编码的 mRNA 在整个基底上区层都高于基底区,而且在免疫组化染色中这一差异呈线形,说明 cyclin D1 介导的细胞增殖主要发生在最接近 Bulge 区的细胞,同时也能说明 cyclin D1 在细胞退出干细胞环境的过程中发挥着重要的作用<sup>[31]</sup>。cyclin D1 合成异常将会导致细胞生长循环即使在无生长因子的情况下也能发生,并能启动其他原癌基因的表达。cyclin D1 蛋白含量的高低是由多种因子共同调节的,主要通过泛素的靶向降解而减少,过度表达  $\beta$ -catenin 可诱导 cyclin D1 的活性,然而过度表达钙黏

素的胞浆区则能减弱其活性。有研究表明,在转基因小鼠的表皮单独表达过量 cyclin D1、D2 或 D3,仅仅只会导致表皮的增生,而不会产生肿瘤。

## 4 展望

毛囊干细胞作为种子细胞应用于组织工程中,构建具有生物活性的皮肤,并应用于临床以治疗脱发、烧创伤、瘢痕性秃发等毛囊皮肤缺损,已经成为近年来研究的热点。对于毛囊干细胞的研究,大多数研究都致力于定位、鉴定及增殖分化等,生物信号介导基因调控其定向分化的研究还处于初始阶段。Wnt/ $\beta$ -catenin-TCF/LEF 路径是毛囊干细胞重要的生长调控信号,Wnt 信号通路中各种生物大分子、受体、配体 and 无机分子之间相互作用而产生的生物学效应,TCF/LEF 以及下游调控的靶基因 c-Myc、cyclinD1 的表达对于干细胞的增殖都具有极其重要的作用。随着基因组研究、基因工程技术的不断进步,将能够进一步解释毛囊干细胞基因表达调控机制从而通过有效的方法使其向人们需要的方向分化。

## 参考文献

- [1] Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM. Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis [J]. *Cell*, 1990, 61(7):1329-1337.
- [2] Morris RJ, Liu Y, Marles L, et al. Capturing and profiling adult hair follicle stem cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(4):411-417.
- [3] 洪清琦, 杨斌. 表皮干细胞的定位、标记物及其分离培养的研究进展 [J]. *广东医学*, 2006, 27(1):134-136.
- [4] 杨斌, 洪清琦, 徐令, 等. 组织工程皮肤种子细胞的同期快速分离 [J]. *中国修复重建外科*, 2006, 20(7):754-757.
- [5] 邓立欢, 杨斌. 毛囊干细胞双向分化的分子调控机制 [J]. *组织工程与重建外科*, 2010, 6(2):111-113.
- [6] Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer [J]. *Nature*, 2005, 434(7035):843-850.
- [7] Prudhomme B, Lartillot N, Balavoine G, et al. Phylogenetic analysis of the Wnt gene family. Insights from lophotrochozoan members [J]. *Curr Biol*, 2002, 12(16):1395.
- [8] Huelsken J, Vogel R, Erdmann B, et al. Beta-Catenin controls hair follicle morphogenesis and stem cell differentiation in the skin [J]. *Cell*, 2001, 105(4): 533-545.
- [9] Silva-Vargas V, Lo Celso C, Giangreco A, et al. Beta-catenin and Hedgehog signal strength can specify number and location of hair follicles in adult epidermis without recruitment of bulge stem cells [J]. *Dev Cell*, 2005, 9(1):121-131.
- [10] Lowry WE, Blanpain C, Nowak JA, et al. Defining the impact of beta-catenin/Tcf transactivation on epithelial stem cells [J]. *Genes Dev*, 2005, 19(13):1596-1611.
- [11] Malanchi I, Peinado H, Kassen D, et al. Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on  $\beta$ -catenin signalling [J]. *Nature*, 2008, 452(7187):650-653.
- [12] Brantjes H, Roose J, van De Wetering M, et al. All Tcf HMG box transcription factors interact with Groucho-related co-repressors [J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29(7):1410-1419.
- [13] Alonso L, Okada H, Pasolli H, et al. Sgk3 links growth factor signaling to maintenance of progenitor cells in the hair follicle [J]. *J Cell Biol*, 2005, 170(4):559-570.
- [14] Lo Celso C, Prowse DM, Watt FM. Transient activation of beta-

catenin signalling in adult mouse epidermis is sufficient to induce new hair follicles but continuous activation is required to maintain hair follicle tumours [J]. *Development*,2004,131(8),1787 - 1799.

[15] Nguyen H, Rendl M, Fuchs E. Tcf3 governs stem cell features and represses cell fate determination in skin [J]. *Cell*,2006,127(1): 171-183.

[16] Ito M, Yang Z, Andl T, et al. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding [J]. *Nature*,2007, 447(7142):316-320.

[17] Nguyen H, Merrill BJ, Polak L, et al. Tcf3 and Tcf4 are essential for long-term homeostasis of skin epithelia [J]. *Nat Genet*,2009, 41(10):1068-1075.

[18] Daniels DL, Weis WI. ICAT inhibits  $\beta$ -catenin binding to Tcf/Lef-family transcription factors and the general coactivator p300 using independent structural modules [J]. *Mol Cell*,2002,10(3):573-584.

[19] Daniels DL, Weis WI.  $\beta$ -catenin directly displaces Groucho/TLE repressors from Tcf/Lef in Wnt-mediated transcription activation [J]. *Nat Struct Mol Biol*,2005,12(4),364-371.

[20] Merrill BJ, Gat U, DasGupta R, et al. Tcf3 and Lef1 regulate lineage differentiation of multipotent stem cells in skin [J]. *Genes Dev*,2001, 15(13):1688-1705.

[21] Merrill BJ, Pasolli HA, Polak L, et al. Tcf3:a transcriptional regulator of axis induction in the early embryo [J]. *Development*, 2004,131(2):263 - 274.

[22] Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt,  $\beta$ -catenin, and gaderhin pathways [J]. *Science*,2004,303(5663):1483-1487.

[23] 丘日升,杨斌.皮肤创伤修复中 Wnt 信号途径对皮肤干细胞增殖分化的调控机制[J].*组织工程与重建外科*,2006,2(5):294-296.

[24] Fathke C, Wilson L, Shah K, et al. Wnt signaling induces epithelial differentiation during cutaneous wound healing [J]. *BMC Cell Bio*, 2006,7:4.

[25] Fuchs E, Horsley V. More than one way to skin [J]. *Genes Dev*, 2008,22(8):976-985.

[26] Rossant J. Stem cells from the Mammalian blastocyst [J]. *Stem Cells*, 2001,19(6):477-482.

[27] Bull JJ, Pelengaris S, Hendrix S, et al. Ectopic expression of c-Myc in the skin affects the hair growth cycle and causes an enlargement of the sebaceous gland [J]. *Br J Dermatol*,2005,152(6):1125-1133.

[28] Willert K, Brown JD, Danenberg E, et al. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors [J]. *Nature*,2003, 423(6938):448-452.

[29] 杨斌,洪清琦.表皮干细胞增殖分化的分子调控机制[J].*中华医学美学美容杂志*,2006,12(1):57-59.

[30] Lo Celso C, Berta MA, Braun KM, et al. Characterization of bipotential epidermal progenitors derived from human sebaceous gland: contrasting roles of c-Myc and beta-catenin [J]. *Stem Cells*, 2008,26(5):1241-1252.

[31] Xu X, Lyle S, Liu Y, et al. Differential expression of cyclin D1 in the human hair follicle [J]. *Am J Pathol*,2003,163(3):969-978.

(收稿日期:2011年7月11日;修回日期:2011年8月20日)



(上接第 289 页)

选择清醒盲探插管的比例也要高于留置导管组。气管切开组的住院时间比其他组相对要长，可能是因为气管切开组的分值相对较高，手术较复杂，术后留观的时间要长些，而气套管的留置时间也要长于鼻导管。

与其他颌面肿瘤手术的研究资料相比，本研究中预防性气管切开的比例较高。Mishra 等<sup>[7]</sup>的 260 例颌面肿瘤手术中，仅 17 例行预防性气管切开；kruse 等<sup>[8]</sup>的 152 例肿瘤切除并皮瓣修复手术中，气管切开 36 例。本组中很多患者的肿瘤已是进展期，需要广泛切除，远位游离移植、大皮瓣手术的比例很高，而入院前的多次手术和放疗史和 ASA 的分级高等原因，也导致了本组患者中气管切开的比例居高不下。此次回顾性研究仅是初步探讨，尚需进行多中心、大样本的深入研究。

### 参考文献

[1] Halfpenny W, McGurk M. Analysis of tracheostomy-associated morbidity after operations for head and neck cancer [J]. *Br J Oral Maxillofac Surg*,2000,38(5):509-512.

[2] 隋良朋.谈谈口腔肿瘤手术中如何选择气管切开术[J].*北京口腔医学*,2000,8(1):11.

[3] 郑顺友.鼻插管气管置管在口腔颌面部手术后的安全性探讨[J].*浙江临床医学*,2004,6(11):964.

[4] Lin HS, Wang D, Fee WE, et al. Airway management after maxillectomy: routine tracheostomy is unnecessary [J]. *Laryngoscope*, 2003,113(6):929-932.

[5] 黄伟,郭光宇,杨文君.预防性气管切开术在口腔颌面外科的应用体会[J].*邵阳医学院学报*,2004,23(3):154-156.

[6] Crosher R, Baldie C, Mitchell R. Selective use of tracheostomy in surgery for head and neck cancer: an audit [J]. *Br J Oral Maxillofac Surg*,1997,35(1):43-45.

[7] Mishra S, Bhatnagar S, Jha RR, et al. Airway management of patients undergoing oral cancer surgery: a retrospective study [J]. *Eur J Anaesthesiol*,2005,22 (7):510-514.

[8] Kruse-Losler B, Langer E, Reich A, et al. Score system for elective tracheostomy in major head and neck tumour surgery [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*,2005,49(5):654-659.

(收稿日期:2011年6月13日;修回日期:2011年7月4日)