

caveolin-1 调控干细胞作用的研究进展

白琳

(中国医学科学院/北京协和医学院医学实验动物研究所, 卫生部人类比较医学重点实验室, 北京 100021)

摘要: caveolin-1 是细胞膜结构胞膜窖的重要组成蛋白, 其参与胆固醇的运输、细胞信号的传导、细胞增殖、肿瘤生成、细胞内吞等生物学过程。本文总结了 caveolin-1 在胚胎干细胞、造血干细胞、神经干细胞、间充质干细胞等细胞增殖和分化的调节作用及其相关的下游信号通路。综述了 caveolin-1 在不同干细胞中的调节作用对干细胞治疗和再生医学发挥重要作用。

关键词: 细胞生物学; caveolin-1; 综述; 干细胞; 增殖; 分化

中图分类号: Q28

文献标识码: A

文章编号: 1674-2850(2016)03-0200-05

Research progress on the role of caveolin-1 in stem cells function

BAI Lin

(Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, Ministry of Health, Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: Caveolin-1 is a protein in the plasma membrane invaginations. caveolin-1 is involved in the regulation of many cellular processes, including cholesterol regulation, cell signaling, cell growth, tumor and endocytosis etc. In this paper, we summarized the role of caveolin-1 in the regulation of embryonic stem cells, hemopoietic stem cells, neural stem cells and mesenchymal stem cells proliferation and differentiation. The regulatory effect of caveolin-1 on stem cells in the treatment of stem cells and regenerative medicine was reviewed.

Key words: cell biology; caveolin-1; review; stem cell; proliferation; differentiation

0 引言

胞膜窖是 1953 年 PALADE^[1]在电镜下发现的细胞膜内陷结构。随着研究的深入, 对于胞膜窖的准确定义扩大为在细胞膜上游离的囊泡, 有的成簇存在, 有的形成延长的管状, 有的形成横穿细胞膜的结构。胞膜窖广泛地分布于各种组织和细胞系中, 其中在内皮细胞、脂肪细胞、上皮细胞、成纤维细胞和肌肉细胞中有丰富的表达。胞膜窖参与了很多生命活动, 包括细胞内吞、胆固醇的运输、细胞膜的组装、信号传导和肿瘤生成等^[2-4]。

最初研究表明胞膜窖是以 caveolin 蛋白存在为特征。caveolin 家族共有 3 个成员: caveolin-1、caveolin-2 和 caveolin-3^[5-7]。3 种 caveolin 蛋白有着高度的同源性和保守性, 拥有相似的结构和功能, 但是具有不同细胞分布的特性。caveolin-1 和 caveolin-2 形成稳定的异源寡聚体, 在内皮细胞、脂肪细胞和成纤维细胞中表达丰富。而 caveolin-3 是特异性的在肌肉细胞中表达。

干细胞是具有自我更新和定向分化能力的细胞, 通过增加祖细胞或终末端分化的细胞来进行组织更

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金 (20121106120034); 国家自然科学基金 (81200256)

作者简介: 白琳 (1984—), 女, 副研究员, 主要研究方向: 干细胞衰老. E-mail: bailin49@163.com

新, 对于组织稳态的维持有着重要作用^[8]。干细胞的命运受到多种因素的相互作用, 包括细胞自身的基因和干细胞所处的微环境^[9]。近年来, 很多研究聚焦于干细胞调节的分子机制, 但是干细胞细胞膜上的结构, 以及这些结构如何调节干细胞的增殖、分化和归巢的研究较少^[10]。胞膜窖作为细胞膜上的结构, 聚集了大量的生长因子和信号分子, 包括 PDGFR、EGFR、G 蛋白受体、Src、一氧化氮合酶和 ras-MAPK 信号分子^[11-12]。这些信号分子调节了干细胞的增殖和分化, 因此研究总结了 caveolin-1 在调节干细胞和祖细胞增殖和分化中的作用。

1 caveolin-1 与胚胎干细胞

胚胎干细胞是早期胚胎分离出来的一类细胞, 具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性。胚胎干细胞培养基中加入高糖会促进胚胎干细胞的自我更新^[13]。培养基中加入高糖后产生活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 和 p38MAPK 的磷酸化, 诱导了 caveolin-1 和 fibronectin 的表达, 而激活 fibronectin 会调节 caveolin-1 和 integrin β 1 表达激活 FAK/Src/PIP 复合物, 最终促进胚胎干细胞的增殖^[14]。胚胎干细胞中转入 caveolin-1 的 siRNA 后会降低 Oct4、Sox2、FoxD3 和 Rex1 的表达, 同时减少细胞周期相关的 cyclin E 和 cyclin D1 的表达, 进而降低胚胎干细胞的增殖^[15]。

2 caveolin-1 与造血干细胞

造血干细胞具有迅速增殖、自我更新和分化的能力, 可以确保数十亿寿命较短的外周血中免疫细胞不断地更新。在动态平衡中, 75%的长期造血干细胞处于 G₀ 期, 其余的细胞处于细胞周期。造血干细胞增殖和静息之间的平衡可以保证血液平衡, 限制细胞损伤。丧失静息状态的造血干细胞往往会导致造血干细胞的耗尽, 因此必须严格监管造血干细胞的增殖。虽然有些信号通路和细胞周期抑制剂的小鼠模型研究证明了这些因子可以调节造血干细胞的增殖, 但是对具体调节机制的了解还很有限^[16]。利用流式细胞仪分析比较发现, caveolin-1 敲除小鼠与野生小鼠相比造血干细胞的数量增加。但是体内竞争性骨髓移植实验发现 caveolin-1 敲除小鼠的造血干细胞造血重建能力下降, 体外克隆实验发现造血干细胞克隆能力下降。进一步研究显示, caveolin-1 敲除小鼠的造血干细胞更多地处于细胞周期的 G₁ 期, 同时与细胞衰老相关的 β -gal 染色阳性率增加, 显示了造血干细胞衰老的表型。因此, caveolin-1 敲除降低了造血干细胞的功能, 导致了造血干细胞补偿性的积聚^[17]。

3 caveolin-1 与神经干细胞

神经干细胞具有自我更新能力, 并能分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞, 成年脑区神经干细胞主要局限在海马齿状回 (dentate gyrus, DG) 的颗粒下区 (sub granular zone, SGZ)、纹状体和环绕脑室的室管膜下层 (sub ventricular zone, SVZ)。免疫荧光实验分析发现, 在 caveolin-1 敲除小鼠脑的 SVZ 区细胞增殖相关的标记物 Ki67 表达增加, 并且与神经干细胞的标记物 nestin 和 Sox2 共表达。在 caveolin-2 和 caveolin-3 敲除小鼠中观察到了类似的表型。caveolin 家族蛋白是成体神经干细胞的关键调节蛋白^[18]。

caveolin-1 调节神经干细胞在体内和体外向少突胶质细胞分化。在 caveolin-1 敲除小鼠的脑中发现 CNPase 和 catenin 的表达较低, 与野生小鼠相比细胞向少突胶质细胞分化增加。在体外神经干细胞中利用 siRNA 抑制 caveolin-1 的表达后发现, 其促进神经干细胞向少突胶质细胞的分化, 而加入 caveolin-1 多肽后抑制神经干细胞向少突胶质细胞分化^[19]。

caveolin-1 调节神经干细胞向星形胶质细胞的分化。caveolin-1 敲除小鼠中神经干细胞向星形胶质细

胞分化能力降低和同时表达较低水平的星形胶质细胞分化信号通路蛋白 NICD 和 Hes1. 在体外培养的神经干细胞, caveolin-1 多肽促进星形胶质细胞的形成, 增加 NICD 和 Hes1 表达, 相反, siRNA 抑制 caveolin-1 的表达后神经干细胞向星形胶质细胞的分化减少, NICD 和 Hes1 的表达降低. caveolin-1 通过调节 Notch1/NICD 和 Hes1 促进核孔复合物 (nuclear pore complex, NPC) 的星形胶质细胞的分化^[20].

caveolin-1 调节神经干细胞向神经元的分化. 在海马齿状回发现 caveolin-1 敲除小鼠显示更高水平的血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和更丰富的新生神经元. 与正常的神经干细胞相比, 缺氧条件下神经干细胞会下调 caveolin-1 的表达与增加 VEGF 和 p44/42MAPK 磷酸化, 增强神经细胞的分化. 在正常氧和缺氧状态下的神经干细胞, caveolin-1 多肽会显著下调 VEGF 和 Flk1 的表达, 降低 p44/42MAPK Akt 和 STAT3 的磷酸化, 抑制神经细胞的分化; 而抑制 caveolin-1 后促进 VEGF 的表达, 对 p44/42MAPK 磷酸化 Akt 和 STAT3, 刺激神经细胞的分化. 这些结果证明缺氧诱导的 caveolin-1 表达下降, 通过下调 VEGF 和 p44/42MAPK 能够抑制神经元的分化^[21].

4 caveolin-1 与间充质干细胞

间充质干细胞在体内或体外特定的诱导条件下, 可分化为脂肪、骨、软骨、肌肉、肌腱、韧带、神经、肝、心肌、内皮等多种组织细胞, 连续传代培养和冷冻保存后仍具有多向分化潜能. caveolin-1 敲除小鼠中分离的间充质干细胞增殖速度加快, 在成脂培养基中会产生脂类聚集, 表达过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 和脂联素. caveolin-1 敲除小鼠中分离的间充质干细胞, 在成骨分化的培养基中可以成骨分化. 但是成骨诱导 3 周之后 caveolin-1 敲除的间充质干细胞没有产生矿化结节. caveolin-1 敲除小鼠的间充质干细胞表现出脂肪分化迟缓、成骨不完全的现象. 成脂分化能力在 caveolin-1 敲除小鼠的胚胎成纤维细胞中正常说明间充质干细胞与胚胎成纤维细胞在成脂过程中有差异^[22]. 与小鼠的间充质干细胞类似, 在人的间充质细胞中 caveolin-1 表达增加, siRNA 抑制 caveolin-1 后增加了人间充质干细胞的增殖和成骨分化^[23].

在骨髓间充质干细胞中下调 caveolin-1 会诱导其向神经干细胞的分化, 并且高表达神经元的标记物, 如 microtubule-associated protein 2 (MAP-2)、Neuron-specific Enolase (NSE)、Notch-1、Notch intracellular domain (NICD) 和 hairy enhancer of split 5 (Hes 5). 因此, caveolin-1 抑制后通过调节 Notch 信号通路促进骨髓间充质干细胞的神经分化通路^[24].

系统性硬化症患者的间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC) 中, caveolin-1 表达较低, caveolin-1 与 VEGFR2 共定位, VEGFR2 的泛素化受到损伤, 说明降低受体的降解导致 VEGFR2 酪氨酸磷酸化和 PI3K 信号通路的增强, 增加了结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 的表达. 当在正常人间充质干细胞中抑制 caveolin-1 增加了 CTGF 的表达, 与系统性硬化症的间充质干细胞表型一致^[25].

5 caveolin-1 与其他干细胞

caveolin-1 缺陷导致成体乳腺干细胞体内和体外数量增加. 在 caveolin-1 敲除小鼠的乳腺导管中干细胞的标记物 Scal-1 和 Keratin 6 表达增加, 敲除 caveolin-1 在乳腺中诱导了乳腺干细胞的积聚, 这种细胞数量的增加产生了乳腺增生性病变的存在. 这种乳腺干细胞的积聚是由于激活了 wnt/ β -catenin 信号通路. 因此, caveolin-1 缺失诱导了乳腺干细胞的聚集, 可能引发乳腺肿瘤^[26-27].

caveolin-1 缺失的小肠干细胞中通过 Brdu 和增殖细胞核抗原 (Proliferating Cell Nuclear Antigen, PCNA) 染色发现细胞增殖率升高, 调节小肠干细胞自我更新的通路 wnt/ β -catenin 在 caveolin-1 敲除后表达上调.

在 15 Gy 放射性的照射后, caveolin-1 敲除小鼠比野生型小鼠死亡率增加, 小肠干细胞出现更多的凋亡, 并且增殖加速导致了小肠绒毛的枯竭。放射线照射后 6 d, caveolin-1 敲除小鼠失去了小肠所有的绒毛结构^[28]。

6 结论与展望

干细胞研究从干细胞基因的变化和微环境的改变两方面开展。细胞膜是细胞进行信号传导的重要通路, 影响干细胞对外界刺激的应激。本文总结了细胞膜上的重要结构胞膜窖的结构蛋白 caveolin-1 对干细胞的调节作用。caveolin-1 通过激活不同的信号通路影响胚胎干细胞、造血干细胞、神经干细胞、间充质干细胞等多种干细胞的增殖和分化。因此, caveolin-1 的活性对干细胞的激活和分化起着关键作用。确定 caveolin-1 在不同干细胞中增殖分化的信号通路及作用机制, 明确 caveolin-1 在干细胞间信号传导中的功能, 在干细胞治疗和再生医学中会发挥重要的作用。

[参考文献] (References)

- [1] PALADE G E. An electron microscope study of the mitochondrial structure[J]. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 1953, 1(4): 188-211.
- [2] CARVER L A, SCHNITZER J E. Caveolae: mining little caves for new cancer targets[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2003, 3(8): 571-581.
- [3] RAZANI B, WOODMAN S E, LISANTI M P. Caveolae: from cell biology to animal physiology[J]. *Pharmacological Reviews*, 2002, 54(3): 431-467.
- [4] PARTON R G, SIMONS K. The multiple faces of caveolae[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2007, 8(3): 185-194.
- [5] GLENNEY J R. Tyrosine phosphorylation of a 22-kDa protein is correlated with transformation by Rous sarcoma virus[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1989, 264(34): 20163-20166.
- [6] SCHERER P E, OKAMOTO T, CHUN M, et al. Identification, sequence, and expression of caveolin-2 defines a caveolin gene family[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93(1): 131-135.
- [7] TANG Z L, SCHERER P E, OKAMOTO T, et al. Molecular cloning of caveolin-3, a novel member of the caveolin gene family expressed predominantly in muscle[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(4): 2255-2261.
- [8] WEISSMAN I L. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution[J]. *Cell*, 2000, 100(1): 157-168.
- [9] DISCHER D E, MOONEY D J, ZANDSTRA P W. Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells[J]. *Science*, 2009, 324(5935): 1673-1677.
- [10] BAKER N, TUAN R S. The less-often-traveled surface of stem cells: caveolin-1 and caveolae in stem cells, tissue repair and regeneration[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2013, 4(4): 90.
- [11] PARTON R G, del POZO M A. Caveolae as plasma membrane sensors, protectors and organizers[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2013, 14(2): 98-112.
- [12] KRAJEWSKA W M, MASLOWSKA I. Caveolins: structure and function in signal transduction[J]. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 2004, 9(2): 195-220.
- [13] KIM Y H, HEO J S, HAN H J. High glucose increase cell cycle regulatory proteins level of mouse embryonic stem cells via PI3-K/Akt and MAPKs signal pathways[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2006, 209(1): 94-102.
- [14] LEE S H, LEE Y J, PARK S W, et al. Caveolin-1 and integrin β 1 regulate embryonic stem cell proliferation via p38 MAPK and FAK in high glucose[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2011, 226(7): 1850-1859.
- [15] LEE M Y, RYU J M, LEE S H, et al. Lipid rafts play an important role for maintenance of embryonic stem cell self-renewal[J]. *Journal of Lipid Research*, 2010, 51(8): 2082-2089.
- [16] BLANK U, KARLSSON G, KARLSSON S. Signaling pathways governing stem-cell fate[J]. *Blood*, 2008, 111(2): 492-503.

- [17] BAI L, SHI G, ZHANG L, et al. Cav-1 deletion impaired hematopoietic stem cell function[J]. *Cell Death & Disease*, 2014, 5(3): e1140.
- [18] JASMIN J F, YANG M, IACOVITTI L, et al. Genetic ablation of caveolin-1 increases neural stem cell proliferation in the subventricular zone (SVZ) of the adult mouse brain[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(23): 3978-3983.
- [19] LI Y, LAU W M, SO K F, et al. Caveolin-1 inhibits oligodendroglial differentiation of neural stem/progenitor cells through modulating β -catenin expression[J]. *Neurochemistry International*, 2011, 59(2): 114-121.
- [20] LI Y, LAU W M, SO K F, et al. Caveolin-1 promote astroglial differentiation of neural stem/progenitor cells through modulating Notch1/NICD and Hes1 expressions[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 407(3): 517-524.
- [21] LI Y, LUO J, LAU W M, et al. Caveolin-1 plays a crucial role in inhibiting neuronal differentiation of neural stem/progenitor cells via VEGF signaling-dependent pathway[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e22901.
- [22] CASE N, XIE Z, SEN B, et al. Mechanical activation of β -catenin regulates phenotype in adult murine marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Journal of Orthopaedic Research*, 2010, 28(11): 1531-1538.
- [23] BAKER N, ZHANG G, YOU Y, et al. Caveolin-1 regulates proliferation and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2012, 113(12): 3773-3787.
- [24] WANG S, KAN Q, SUN Y, et al. Caveolin-1 regulates neural differentiation of rat bone mesenchymal stem cells into neurons by modulating Notch signaling[J]. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 2013, 31(1): 30-35.
- [25] CIPRIANI P, DI BENEDETTO P, CAPECE D, et al. Impaired Cav-1 expression in SSc mesenchymal cells upregulates VEGF signaling: a link between vascular involvement and fibrosis[J]. *Fibrogenesis & Tissue Repair*, 2014, 7(1): 1-14.
- [26] SOTGIA F, WILLIAMS T M, COHEN A W, et al. Caveolin-1-deficient mice have an increased mammary stem cell population with upregulation of wnt/ β -catenin signaling[J]. *Cell Cycle*, 2005, 4(12): 1808-1816.
- [27] LI J, HASSAN G S, WILLIAMS T M, et al. Loss of caveolin-1 causes the hyper-proliferation of intestinal crypt stem cells, with increased sensitivity to whole body radiation[J]. *Cell Cycle*, 2005, 4(12): 1817-1825.
- [28] SOTGIA F, RUI H, BONUCCELLI G, et al. Caveolin-1, mammary stem cells, and estrogen-dependent breast cancers[J]. *Cancer Research*, 2006, 66(22): 10647-10651.