

· 综 述 ·

间隙连接细胞间通讯在造血调控中的作用*

刘 耀 综述, 张 曦[△] 审校

(第三军医大学新桥医院血液科, 重庆 400037)

关键词: 骨髓; 造血调控; 间隙连接细胞间通讯

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.30.013

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)30-3046-02

间隙连接是相邻细胞间允许细胞间离子、代谢产物和其他信号分子交换的通道。这些细胞间通道由独特的结构单位间隙连接蛋白(Cx)组成。在脊椎动物中,Cx 由多基因家族编码而成至少 20 种成员,在造血组织中主要是 Cx43^[1]。Cx43 在很多造血器官中均有表达,但主要表达在骨髓、胸腺、脾脏和其他淋巴组织。胸腺和骨髓上的基质细胞中 Cx43 蛋白组装成有功能的间隙连接已经得到证实^[2]。

间隙连接细胞间通讯(GJIC)在基质细胞和造血细胞间也存在,但是,这种不同种类细胞间的连接很少。尽管大多数的基质细胞通过间隙连接互相配对,但只有 1% 的造血细胞通过间隙连接和基质相连^[3]。目前人们已确认经由间隙连接介导的直接细胞间通讯参与了骨髓的造血过程。本文对造血系统中间隙连接细胞间通讯调控造血的可能机制进行综述。

1 造血细胞上的间隙连接

最初通过对原位和长期骨髓培养体系中的形态学观察推论基质细胞和造血实质细胞间存在间隙连接。后来通过对新鲜分离的骨髓进行染料传输实验提供了进一步的证据:染料可以在基质细胞和造血实质细胞间传递^[4]。基质之间的跨膜通讯可能对造血干细胞生长的调节十分重要^[5]。在胸腺细胞和胸腺上皮之间也发现了类似作用^[6]。基质细胞和造血细胞的偶联可能非常重要,因为这可以使基质细胞的信号直接传递至发育中的造血细胞。

同时证据显示,在造血实质细胞之间也存在 GJIC。许多研究证实淋巴细胞之间是通过电生理或代谢偶联,次级淋巴器官上的淋巴细胞表达 Cx 蛋白,其间可以传递染料和电流。巨噬细胞间也可以形成间隙连接,其中一些含有 Cx43,但有些研究并未发现上述结果^[7]。

在骨髓中约有 0.1% 的造血细胞与基质细胞形成间隙连接,这种异种细胞间的连接很少见。造血组织中 Cx43 型间隙连接被认为在造血细胞生长分化的重要阶段起重要作用,如双阳性胸腺细胞向 CD4 或 CD8 单阳性淋巴细胞分化成熟过程是依赖 Cx43 表达的^[8]。此外,有证据表明 Cx43 表达的增加与血细胞分化延迟有关,致使造血祖细胞的量升高,Cx43 表达量的下降则引起骨髓造血细胞分化的加速。基质中 GJIC 的增加使骨髓中不成熟的骨髓细胞增多是通过延迟它们的终末分化,包括延长造血祖细胞的增殖期实现的^[2]。

胚胎发育过程中间隙连接介导的细胞通讯显得尤为重要。当胚胎发育到一定阶段,一部分细胞与另一部分细胞失去偶合,开始向各自的特定方向发展;而同一部分的细胞则保持互

相偶合,以协调的方式循同一方向发展,表现出整体性。Cx43 型间隙连接在骨髓形成及更新阶段增加。生长中小鼠的骨髓间隙连接数是造血系统已成熟小鼠的 80 倍。此外,动物实验发现 Cx43^{-/-}和 Cx43^{+/+}小鼠胚胎及新生小鼠的 CD4 细胞、表达 T 细胞受体的胸腺细胞及 IgM 细胞量较 Cx43^{+/+}小鼠少,并且 T 细胞和 B 细胞显示发育缺陷。虽然 Cx43^{+/+}的造血系统在 4 周龄的时候可表现为正常,但用细胞耗竭治疗后淋巴和髓系细胞表现出再生障碍。所以 Cx43 的表达对正常造血是关键的^[8]。

至少在骨髓中,基质和造血细胞间产生间隙连接的程度尚不清楚,并存在许多争论。已经证实染料在培养的基质细胞向造血细胞传递的频率大约为 10%。一些学者并未在培养的基质细胞和 B 淋巴细胞间发现染料传递或通过 RT-PCR 在造血实质细胞上检测到 Cx 表达^[9]。例如,Rodriguez 等^[7]发现富含多能造血干细胞的 c-kit⁺、Sca-1⁺细胞和 B-cell 前体不表达 Cx43 的 mRNA。同样,Cancelas 等^[9]报道,富含 lymphoid⁻、myeloid⁻的骨髓细胞和红细胞不表达 Cx43、45 和 31。因此,虽然基质细胞和造血实质细胞之间可能存在一定程度的间隙连接,但这种偶联的功能学意义尚不明。

2 基质细胞可以形成功能性间隙连接

骨髓髓腔被由骨膜表面延伸到中央窦的静脉窦分隔成许多小室。基质细胞存在于这些窦状结构之间并形成三维框架,其间充填着发育中的造血细胞。最初的关于骨髓基质细胞间存在间隙连接的证据是通过对原位和培养体系中基质细胞的超微结构分析得到。基质细胞在体外的生长能力使人们可以通过表型分析,采用 Northern blotting 和(或)RT-PCR 方法对 Cx 基因的表达作进一步分析。这些研究证实基质细胞上主要表达 Cx43。通过 RT-PCR,在一些基质细胞系上发现 Cx31 和 Cx45 的表达,但是其他两种在机体广泛表达的 Cx(26 和 32)并未在骨髓基质细胞上发现。

染料传输实验证实,基质细胞间存在功能性间隙连接^[10]。该实验的原理是将低分子染料如罗氏黄(400daltons)通过微注射技术注入一个细胞内,它可以传递至通过间隙连接相连的所有细胞中。染料传输研究的结果通过电流经间隙连接在基质细胞间传递得到确证。在胸腺基质细胞上也进行了类似研究。和骨髓中一样,胸腺上皮细胞表达 Cx43,不表达 Cx26 和 Cx32,可以形成功能性间隙连接并能在细胞间传递染料和电流。本实验室通过体外培养人骨髓基质细胞,采用免疫细胞化学、流式细胞仪、激光共聚焦、RT-PCR 等方法证实了人骨髓基

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81000194,81070388);重庆市自然科学基金重点项目(2009BA5056);第三军医大学临床科研基金资助项目(2010D249)。△ 通讯作者,Tel:(023)68774330;E-mail:zhangxxi@sina.com.cn。

质细胞间存在着间隙连接,染料传输实验证实该间隙连接能在细胞间传递染料^[11]。

总之,以上证据证明,骨髓和胸腺中的基质细胞可以形成细胞间网络,其通讯通过间隙连接实现。

3 基质细胞上 Cx 表达的调节

许多研究证实,体外培养的基质细胞之间可以形成间隙连接,为了证实这些结论是否反映了体内的真实情况,Rossello^[2]检测了新鲜分离的鼠骨髓凝块中染料的传输。与体外研究相反的是,新鲜分离的骨髓凝块中的基质细胞之间只有微量的染料传输。但是,在这些凝块从骨髓分离 2 h 后,染料传输率达到体外培养的 80%。尽管这些数据提示体外发现的高频率染料传输是培养体系诱导的结果,也揭示了基质间的间隙连接是可调节的。这一结论与许多激素、细胞因子、药物可以影响偶联细胞间 Cx 表达的结论相一致^[12]。另外,成人和新生儿骨髓中 Cx43 表达的变化也支持这一观点。

使用抗 Cx43 抗体对成年鼠骨髓切片染色(微染),结果和新分离骨髓中低度染料传输一致。Cx43 的表达只定位于和骨内膜造血区平行的成骨细胞之间,该区域是造血干细胞和前体祖细胞定殖的区域。但是,新生鼠骨髓 Cx43 的表达也定位于该区域,抗 Cx43 抗体标记的骨髓区域是成年的 80 倍。这一结果提示,在机体中对造血需求高的成长中器官上的 Cx43 表达最高。

相当多的证据表明 Cx43 的表达对造血系统的定殖和分化具有一定的作用。Rosendaal 和其同事已经证实,经细胞毒作用后和生长期动物的骨髓处间隙连接的数量增加。在经 5-氟脲嘧啶(5-fu)和射线处理后的小鼠和造血损伤的大鼠上也发现相同的现象^[13-14]。间隙连接和活跃的造血相关,这通过基质细胞成脂分化成无活性的黄骨髓后间隙连接下降得到证实。总之,这些数据引出以下假说,即基质细胞上的间隙连接可以受到体内外多种因素的影响。

4 存在问题和展望

除了需要进一步研究 Cx43 如何影响微环境的功能,还有一些问题需要解决。比如,经间隙连接传递的调节信号的性质尚未明确,一个可能性就是它们可以通过造血微环境最终调节细胞因子产物。同样不清楚的还有在胚胎发育过程中间隙连接调节造血的方法以及在造血系统再生过程中的调节。在这方面,探讨 Cx43 在造血细胞分化上的作用显得更为重要。此外,既往研究证实 Cx43 表达缺陷能损害血细胞产物,而 Cx 表达和通道形成对许多药物敏感,如果一个或多个化疗药物用于不同的临床方案会影响间隙连接表达和功能。这就会对治疗个体血细胞产物的恢复产生严重的不良反应。上述问题都需要在以后的工作中加以探讨。

参考文献:

- [1] Cotrina ML, Lin JH, Nedergaard M. Adhesive properties of connexin hemichannels[J]. *Glia*, 2008, 56(16): 1791-1798.
- [2] Rossello RA. Cell communication and tissue engineering[J]. *Commun Integr Biol*, 2010, 3(1): 53-56.
- [3] Oviedo OE, Howard EW. Gap junctions and connexin-me-

- diated communication in the immune system[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1662(1/2): 102-112.
- [4] Fernandez AF, San RJA, Garcia FJ, et al. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction[J]. *Circ Res*, 2004, 95(7): 742-748.
- [5] Boheler KR. Functional markers and the 'homogeneity' of human mesenchymal stem cells[J]. *J Physiology*, 2004, 554(Pt 3): 592.
- [6] Oviedo OE, Hoy T, Evans WH. Intercellular communication in the immune system; differential expression of connexin40 and 43, and perturbation of gap junction channel functions in peripheral blood and tonsil human lymphocyte subpopulations[J]. *Immunology*, 2000, 99(4): 578-590.
- [7] Rodriguez EM, Leathers H, Dorshkind K. Expression of connexin 43 (Cx43) is critical for normal hematopoiesis[J]. *Blood*, 2000, 96(3): 917-924.
- [8] Gururajan M, Simmons A, Dasu T, et al. Early growth response genes regulate B cell development, proliferation, and immune response[J]. *J Immunol*, 2008, 181(7): 4590-4602.
- [9] Cancelas JA, Koevoet WL, de Koning AE, et al. Connexin-43 gap junctions are involved in multiconnexin-expressing stromal support of hemopoietic progenitors and stem cells[J]. *Blood*, 2000, 96(2): 498-505.
- [10] Rossello RA, Wang Z, Kizana E, et al. Connexin 43 as a signaling platform for increasing the volume and spatial distribution of regenerated tissue[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 33(4): 457-465.
- [11] Liu Y, Zhang X, Li ZJ, et al. Up-regulation of Cx43 expression and GJIC function in acute leukemia bone marrow stromal cells post-chemotherapy[J]. *Leukemia Res*, 2010, 34(5): 631-640.
- [12] Fonseca PC, Nihei OK, Urban MM, et al. Characterization of connexin 30, 3 and 43 in thymocytes[J]. *Immunol Lett*, 2004, 94(1/2): 65-75.
- [13] Kawamura K, Bahar R, Namba H, et al. Bystander effect in uracil phosphoribosyl transferase/5-fluorouracil-mediated suicide gene therapy is correlated with the level of intercellular communication[J]. *J Int Oncol*, 2001, 18(1): 117-120.
- [14] Zhang C, Li Y, Chen J, et al. Bone marrow stromal cells upregulate expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4, gap junction protein connexin-43 and synaptophysin after stroke in rats[J]. *Neuroscience*, 2006, 141(2): 687-695.