

## Cell Research | 周斌组揭示胚胎期衰老细胞的命运

6月5日，国际学术期刊Cell Research在线发表了中国科学院生物化学与细胞生物学研究所周斌组的最新研究进展“Embryonic senescent cells re-enter cell cycle and contribute to tissues after birth”。此研究揭示了小鼠胚胎发育过程中衰老细胞（senescent cell）的命运，衰老细胞不会被全部清除，其中一部分可以保留到出生后，并且部分细胞会重新进入细胞周期，进行增殖。该研究拓宽了人们对细胞衰老的认识，暗示了胚胎发育过程中，细胞衰老可能是一个暂时的细胞状态，并且具有可逆性。□

6月5日，国际学术期刊Cell Research在线发表了中国科学院生物化学与细胞生物学研究所周斌组的最新研究进展“Embryonic senescent cells re-enter cell cycle and contribute to tissues after birth”。此研究揭示了小鼠胚胎发育过程中衰老细胞（senescent cell）的命运，衰老细胞不会被全部清除，其中一部分可以保留到出生后，并且部分细胞会重新进入细胞周期，进行增殖。该研究拓宽了人们对细胞衰老的认识，暗示了胚胎发育过程中，细胞衰老可能是一个暂时的细胞状态，并且具有可逆性。

### P21-CreER 和 P21-tdTomato 基因敲入小鼠模型由南模生物构建。

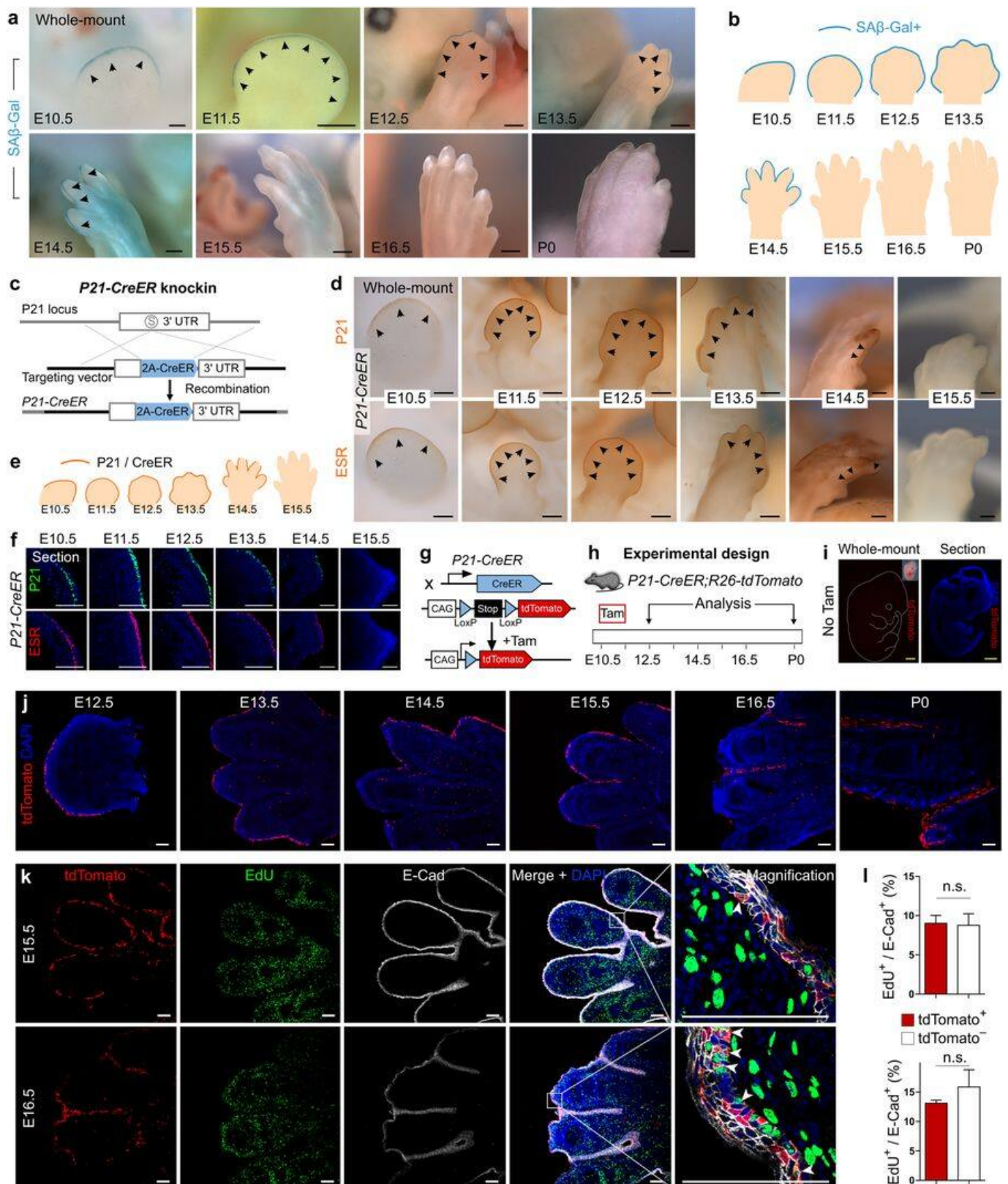
**细胞衰老**是指随着时间的推移或面临外界应激压力时，细胞增殖能力减弱，脱离细胞周期，该过程与机体衰老 (aging)，多种疾病（如肿瘤，动脉粥样硬化等）以及组织的损伤后修复等过程具有重要的联系。近期研究发现，小鼠正常胚胎发育过程中中肾管、内耳淋巴囊、神经管和四肢顶外胚层嵴等处有细胞衰老的出现，并且揭示了胚胎发育过程中细胞衰老对组织器官的结构形成起到一定作用。而且研究中指出，在胚胎发育后期，衰老的细胞都会被清除。**然而这些研究都是基于P21的表达和SA $\beta$ -Gal的染色，并不能说明衰老细胞的真实命运。**

P21是胚胎衰老的分子标志，并且在顶外胚层嵴处（AER）的SA $\beta$ -Gal+衰老细胞中高表达。研究人员首先通过P21和SA $\beta$ -Gal的染色确认它们在四肢顶外胚层嵴处（AER）从E15.5天开始消失。

通过将2A-CreER共表达元件敲入到小鼠P21基因终止密码子前，构建了**P21-CreER工具小鼠**，与R26-LSL-tdTomato小鼠交配，可由他莫昔芬诱导谱系示踪。结果发现被tdTomato标记的细胞在E11.5和E12.5天不会增殖，而且会表达衰老细胞的marker，P21、CD44和HP1 $\gamma$ 。另外，通过FACS分选E12.5天被标记的细胞，发现这些细胞都会呈现SA $\beta$ -Gal的活性。**证明了工具小鼠可以在体内标记胚胎时期的衰老细胞，并且可运用P21-CreER小鼠研究衰老细胞的命运。**

利用P21-CreER;R26-tdTomato小鼠对胚胎时期的衰老细胞进行谱系示踪研究，发现四肢顶外胚层嵴处的衰老细胞在E15.5和E16.5天并不会完全被清除，而是一直能存活到出生后，只是不再表达P21，也没有了SA $\beta$ -Gal的活性。通过EdU和Ki67染色发现，示踪的衰老细胞在胚胎发育后期会进入细胞周期，重新增殖。

其他衰老的组织器官处的衰老细胞也存在同样的现象。这一发现首次在体内揭示了衰老细胞的命运，并且暗示了胚胎发育过程中，细胞衰老是一个暂时的细胞状态，而且具有可逆性，也为治疗细胞衰老引起的疾病提供了一个新的思路。



小鼠胚胎期衰老细胞在胚胎发育后期重新进入细胞周期并贡献至出生后的组织

a. 小鼠E10.5-P0天前肢SAβ-Gal染色。箭头指示SAβ-Gal阳性细胞，在E10.5-E14.5天顶端外胚层脊髓（AER）

有阳性SA $\beta$ -Gal信号。

b. SA $\beta$ -Gal活性示意图。证明SA $\beta$ -Gal染色检测到的衰老细胞存在于E10.5-E14.5，而E15.5天后SA $\beta$ -Gal活性消失。

c. P21-CreER基因敲入工具鼠构建示意图。

d. P21-CreER小鼠胚胎整体P21和ESR免疫染色与胚胎肢体中的SA $\beta$ -Gal具有相似的表达模式（与图a相比），表明衰老细胞的AER在中期表达高水平的P21（例如E10.5-E13.5）。

e. P21-CreER小鼠四肢P21和CreER表达谱示意图。E10.5-E13.5胚胎前肢中的CreER表达主要在AER内，而E14.5天开始P21和CreER的表达下降，E15.5天后就消失了，与内源性P21表达基本一致。

f. P21-CreER小鼠四肢切片P21和ESR免疫染色结果。

g. 他莫昔芬诱导Cre-loxP重组谱系示踪策略示意图，他莫昔芬诱导后CreER入核发挥重组活性，使表达P21的细胞被标记上tdTomato荧光信号。

h. 诱导谱系示踪流程图。

i. P21-CreER;R26-tdTomato小鼠未经他莫昔芬诱导时胚胎整体/切片中没有tdTomato的表达，表明没有P21-CreER的泄漏。

j. E12.5-P0天P21-CreER;R26-tdTomato小鼠他莫昔芬诱导示踪后，在胚胎发育中期AER中很容易检测到tdTomato阳性细胞。而在胚胎发育晚期，仍有部分被tdTomato标记的P21阳性衰老细胞维持着上皮细胞的命运。

k. E15.5和E16.5天四肢切片中tdTomato、EdU、E-cadherin (E-Cad)免疫染色。箭头表示增殖的tdTomato阳性细胞（约有10%的tdTomato+EdU+细胞），表明它们重新进入细胞周期开始增殖。

l. 增殖的tdTomato阳性上皮细胞定量统计。tdTomato+和tdTomato-上皮细胞之间的EdU掺入没有显著差异。

[原文链接](#)