

# 周斌/季红斌/彭广敦组合作发现肺多能干细胞参与肺 脏再生

2月18日，国际学术期刊Nature Genetics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研究组、季红斌研究组以及中国科学院广州生物医药与健康研究院彭广敦研究组的合作科研成果“Lung regeneration by multipotent stem cells residing at the bronchioalveolar duct junction”。南模生物为该研究构建了R26-RSR-LSL-tdTomato小鼠模型。

2月18日，国际学术期刊Nature Genetics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研究组、季红斌研究组以及中国科学院广州生物医药与健康研究院彭广敦研究组的合作科研成果“**Lung regeneration by multipotent stem cells residing at the bronchioalveolar duct junction**”。该研究利用双同源重组系统（Cre-loxP 和Dre-rox）发现位于支气管肺泡交界处的肺支气管肺泡干细胞具有多种肺上皮细胞分化的潜能，并结合多种小鼠损伤模型揭示了这群干细胞在体内具有再生肺脏的能力，为肺脏的修复和再生研究提供了新的研究方向及理论基础。

南模生物为该研究构建了R26-RSR-LSL-tdTomato 小鼠模型。

2005年，Kim等人第一次利用流式细胞仪从大鼠细支气管和肺泡管结合部（the bronchioalveolar duct junction, BADJ）分离出一群CD45<sup>+</sup>/Pecam<sup>-</sup>/Sca-1<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>细胞，其在正常情况下处于静止状态，当体内支气管和肺泡损伤时发生增殖，能够分化为其他类型的肺上皮细胞，表现出明显的自我更新特性，Kim将其命名为**支气管肺泡干细胞 (bronchioalveolar stem cells, BASCs)**。

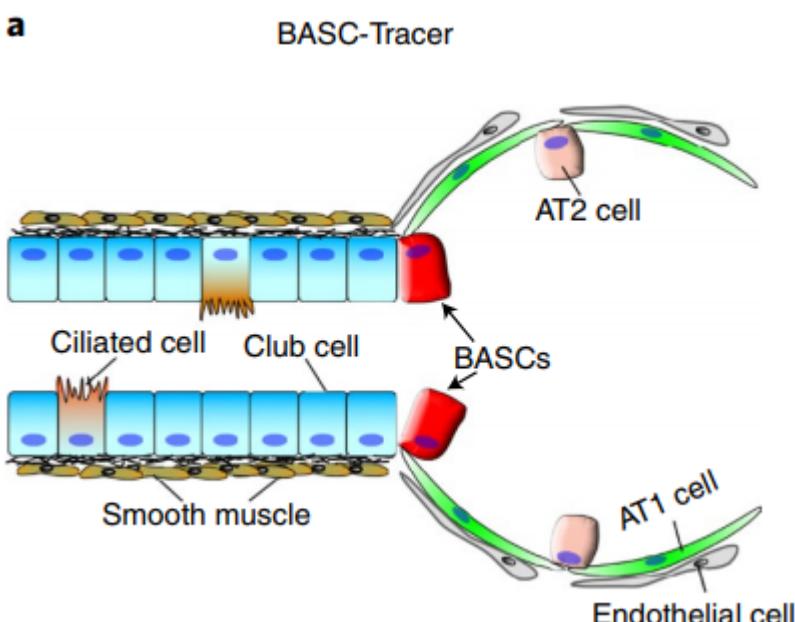


图1. BASC在肺部的位置。

**支气管肺泡干细胞 (BASC) 产生细支气管上皮细胞 (BSC或Clara细胞) 和肺泡上皮细胞 (ASC或AT2细胞) , 参与组织更新。** BASCs的特点是它们位于细支气管-肺泡管连接处的特定位置, 以及表达Clara细胞特异性标记物 (CC10, 也称为SCGB1A1或CCSP) 和AT2细胞特异性标记物 (SP-C) (下图a)。 BSC产生BSC、Clara细胞、杯状细胞和纤毛细胞, 而AT2细胞产生AT2和AT1细胞。

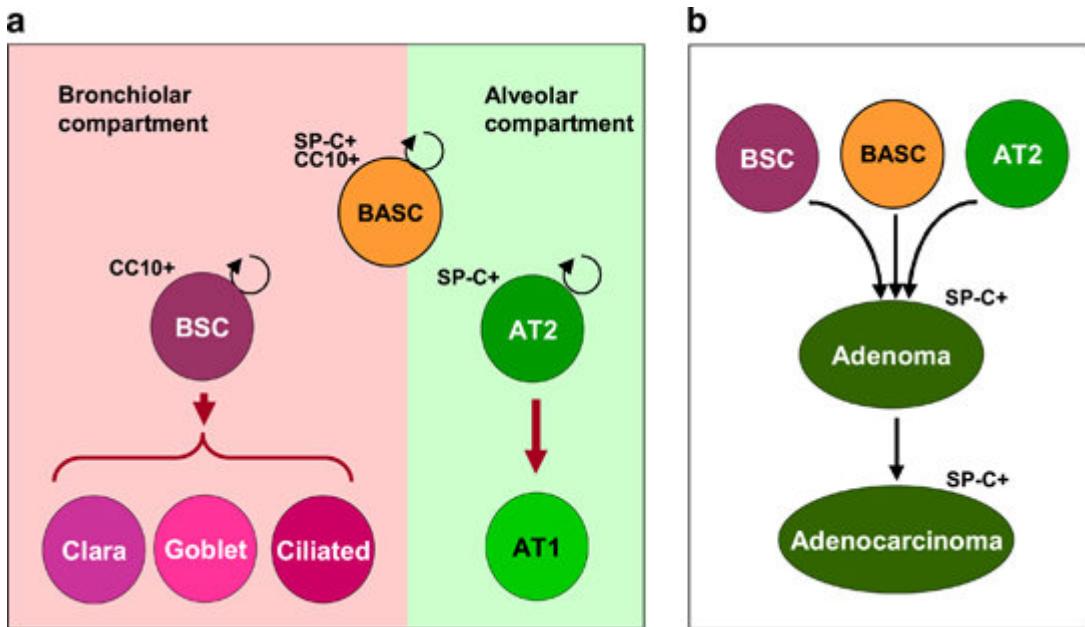


图2. 不同肺上皮细胞。(a) 支气管肺泡干细胞 (BASC) 特点。(b) BASCs, BSC和AT2细胞被认为是肺腺瘤/腺癌起源细胞。 (图片来自Oncogene. 2016 Feb 18;35(7):827-3)

以往的研究指出BASCs可能是肺腺瘤/腺癌的起源之一。不过BASCs作为一种新的肺多能干细胞在体内肺损伤修复中承担什么角色一直存在争论, 传统的谱系示踪技术并不支持BASCs的存在以及参与肺修复再生的功能。

为了解决这一问题, 研究人员利用基于Cre-loxP和Dre-rox双同源重组的报告基因小鼠R26-RSR-LSL-tdTomato, 并结合能特异性标记CC10<sup>+</sup>细胞的Scgb1a1-CreER (CC10-CreER) 小鼠和特异性标记SPC<sup>+</sup>细胞的Sftpc-DreER小鼠, 通过交配获得Scgb1a1-CreER;Sftpc-DreER; R26-RSR-LSL-tdTomato (BASCs tracer) 三基因型小鼠来特异性标记CC10<sup>+</sup>SPC<sup>+</sup> BASCs。

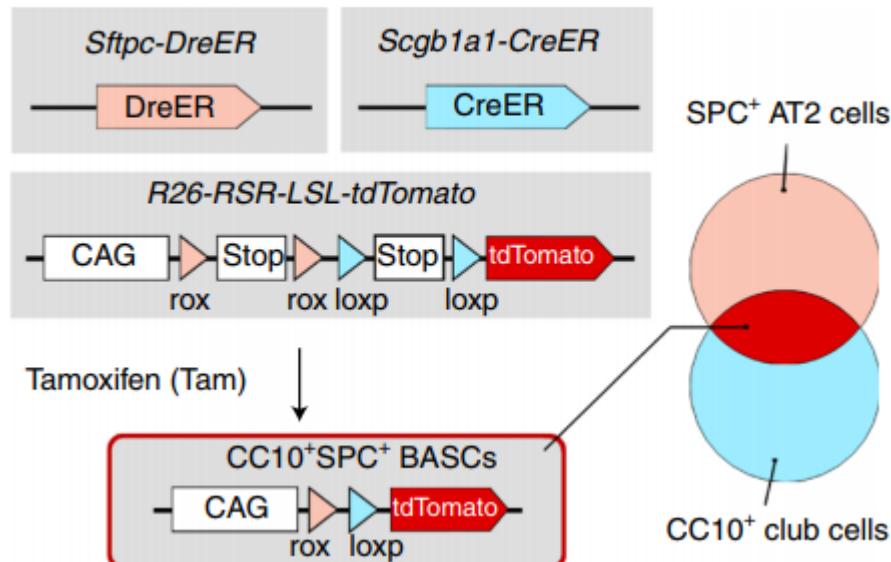
**b Labeling of BASCs by dual recombinases**


图3. BASC-Tracer小鼠的遗传谱系追踪策略。

通过体内验证，证明此策略能特异性地标记示踪BASCs。

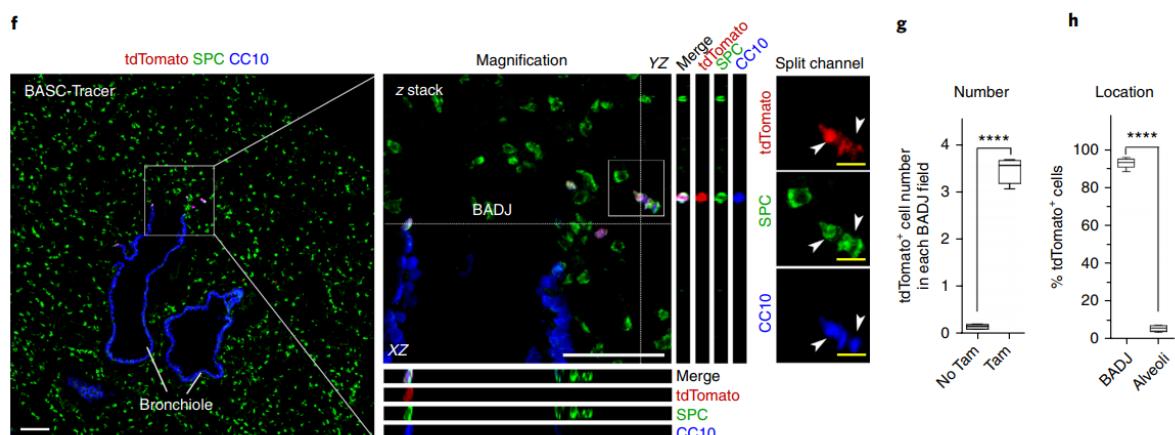


图4. 双重组酶系统的CC10<sup>+</sup>SPC<sup>+</sup>BASCs的遗传谱系示踪，证明此策略能特异性地标记示踪BASCs。

结合支气管损伤 (Naphthalene诱导) 和肺泡损伤 (Bleomycin诱导) 两种模型，研究人员发现，在支气管损伤后BASCs能分化为支气管上皮纤毛细胞 (ciliated cell) 和棒状细胞 (club cell)，而在肺泡损伤后BASCs又能分化为肺泡上皮AT2和AT1细胞，证明了BASCs的分化多能性。同时，研究人员构建了一种新的基于双系统并用于克隆分析的新报告小鼠R26-Confetti2，通过克隆分析在单个细胞水平上揭示了BASCs的多向分化潜能。

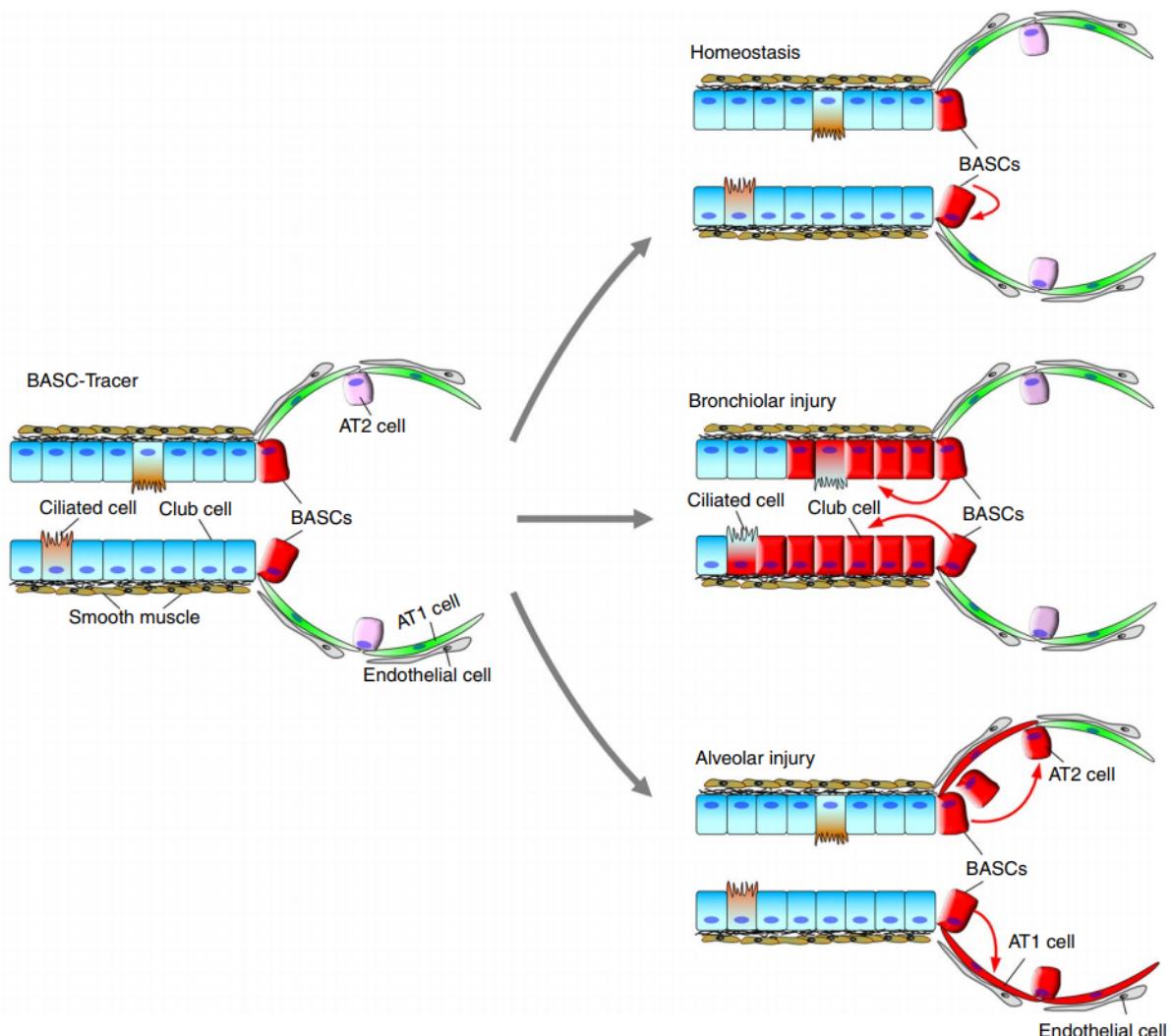


图5. BASCs作为肺多能上皮干细胞，参与肺修复和再生。利用BASC-Tracer小鼠标记BASCs（左）。这些标记的BASCs（红色）在肺内稳态期间经历缓慢的自我更新（右上）；能响应细支气管损伤，并在末端细支气管中产生新的细胞和纤毛细胞（右中）；并且在肺泡损伤中扩展延伸并分化成AT1和AT2细胞（右下）。

进一步，研究人员还通过对BASC进行深度单细胞RNA测序分析，鉴定出了新的BASCs特征性分子，揭示了BASC在转录组图谱上位于club cell和AT2 cell之间，并发现BASCs内部也具有一定的异质性，反映了其向不同潜能分化的干细胞特征。

**体内肺多能干细胞BASCs的发现以及其分化功能的鉴定将为肺疾病治疗方法、肺脏的损伤修复以及再生医学研究提供新的思路。**

# Lung regeneration by multipotent stem cells residing at the bronchioalveolar-duct junction

Qiaozhen Liu<sup>1,2,14</sup>, Kuo Liu<sup>1,14</sup>, Guizhong Cui<sup>1,14</sup>, Xiuzhen Huang<sup>1,2</sup>, Shun Yao<sup>1</sup>, Wenke Guo<sup>1,3</sup>, Zhen Qin<sup>1</sup>, Yan Li<sup>1,2</sup>, Rui Yang<sup>1,2</sup>, Wenjuan Pu<sup>1,2</sup>, Libo Zhang<sup>1</sup>, Lingjuan He<sup>1,2</sup>, Huan Zhao<sup>1,2</sup>, Wei Yu<sup>1,2</sup>, Muxue Tang<sup>1,4</sup>, Xueying Tian<sup>1,5</sup>, Dongqing Cai<sup>5</sup>, Yu Nie<sup>1,6</sup>, Shengshou Hu<sup>6</sup>, Tao Ren<sup>7</sup>, Zengyong Qiao<sup>8</sup>, Hefeng Huang<sup>9</sup>, Yi Arial Zeng<sup>1</sup>, Naihe Jing<sup>1,3</sup>, Guangdun Peng<sup>1,10,11,12\*</sup>, Hongbin Ji<sup>1,3\*</sup> and Bin Zhou<sup>1,2,3,5,12,13\*</sup>

Characterizing the stem cells responsible for lung repair and regeneration is important for the treatment of pulmonary diseases. Recently, a unique cell population located at the bronchioalveolar-duct junctions has been proposed to comprise endogenous stem cells for lung regeneration. However, the role of bronchioalveolar stem cells (BASCs) *in vivo* remains debated, and the contribution of such cells to lung regeneration is not known. Here we generated a genetic lineage-tracing system that uses dual recombinases (Cre and Dre) to specifically track BASCs *in vivo*. Fate-mapping and clonal analysis showed that BASCs became activated and responded distinctly to different lung injuries, and differentiated into multiple cell lineages including club cells, ciliated cells, and alveolar type 1 and type 2 cells for lung regeneration. This study provides *in vivo* genetic evidence that BASCs are bona fide lung epithelial stem cells with deployment of multipotency and self-renewal during lung repair and regeneration.

(部分结果描述摘自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所官网  
<http://www.sibcb.ac.cn/cpRecentRes-2.asp?id=4667>)

## 参考文献

- Kim CF, Jackson EL, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell*. 2005 Jun 17; 121(6):823-35.
- Lee YS, Bae SC. How do K-RAS-activated cells evade cellular defense mechanisms? *Oncogene*. 2016 Feb 18;35(7):827-32.

## 原文链接