

Kmenové buňky střevního epitelu

STŘEVNÍ EPITEL (u hlodavců se kompletně obmění ~ po 4 dnech)

pohárkové buňky – hlen

Panethovy buňky – bakteriocidní faktory (lysozym, defensiny + $\text{TNF}\alpha$)

epiteliální buňky (apikální mikrovili) – resorpce

Neuro / enteroendokrinní buňky – peptid. hormony

M-buňky – přenos antigenu k lymfocytům Peyerových plátů

kmenové buňky střevního epitelu

mesenchymální buňky „lamina propria“

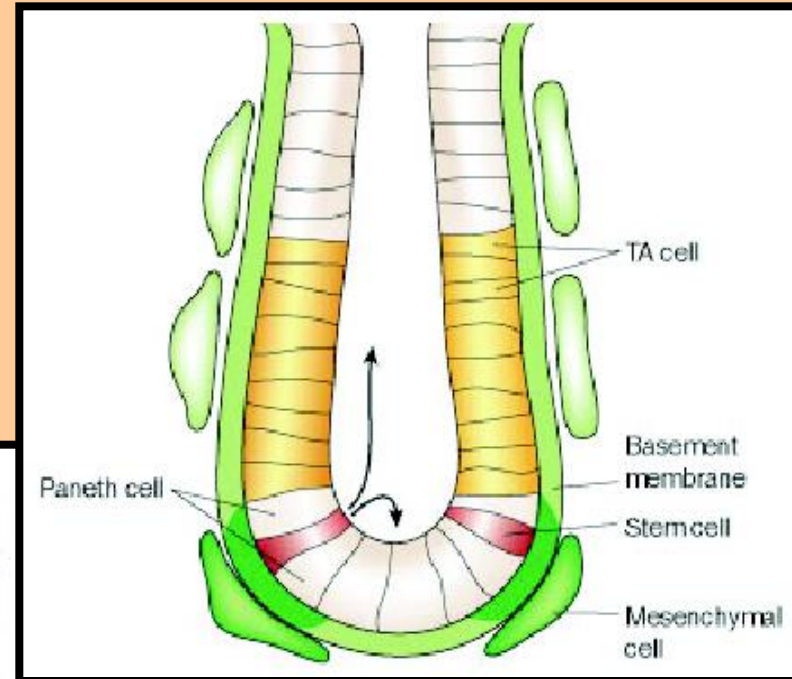
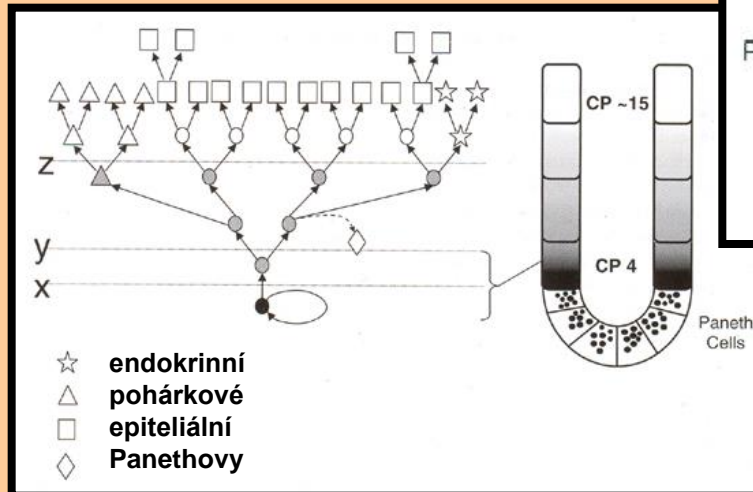
fibroblasty, fibrocyty, endotelie, buňky hladké

svaloviny, a střevní subepiteliální myofibroblasty

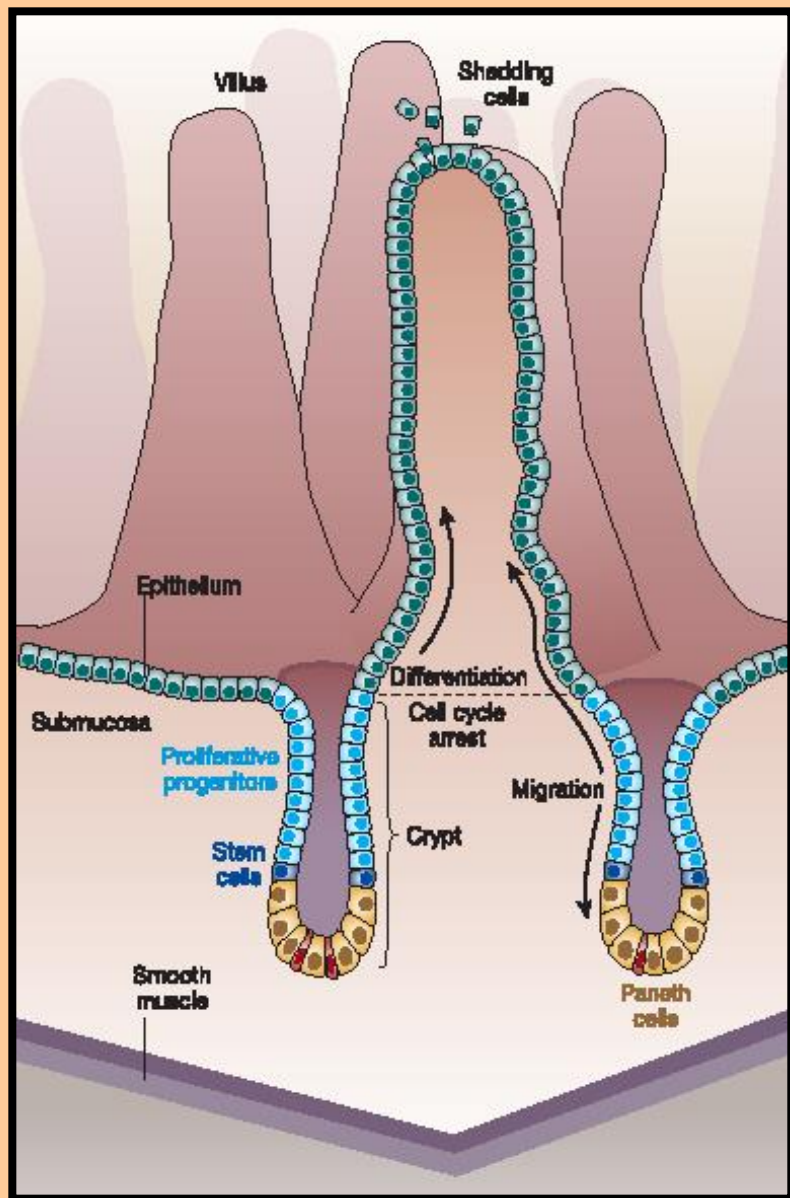
- ISEMF (intestinal subepithelial myofibroblast)

které produkují růstové faktory regulující proliferaci a diferenciaci epiteliálních buněk

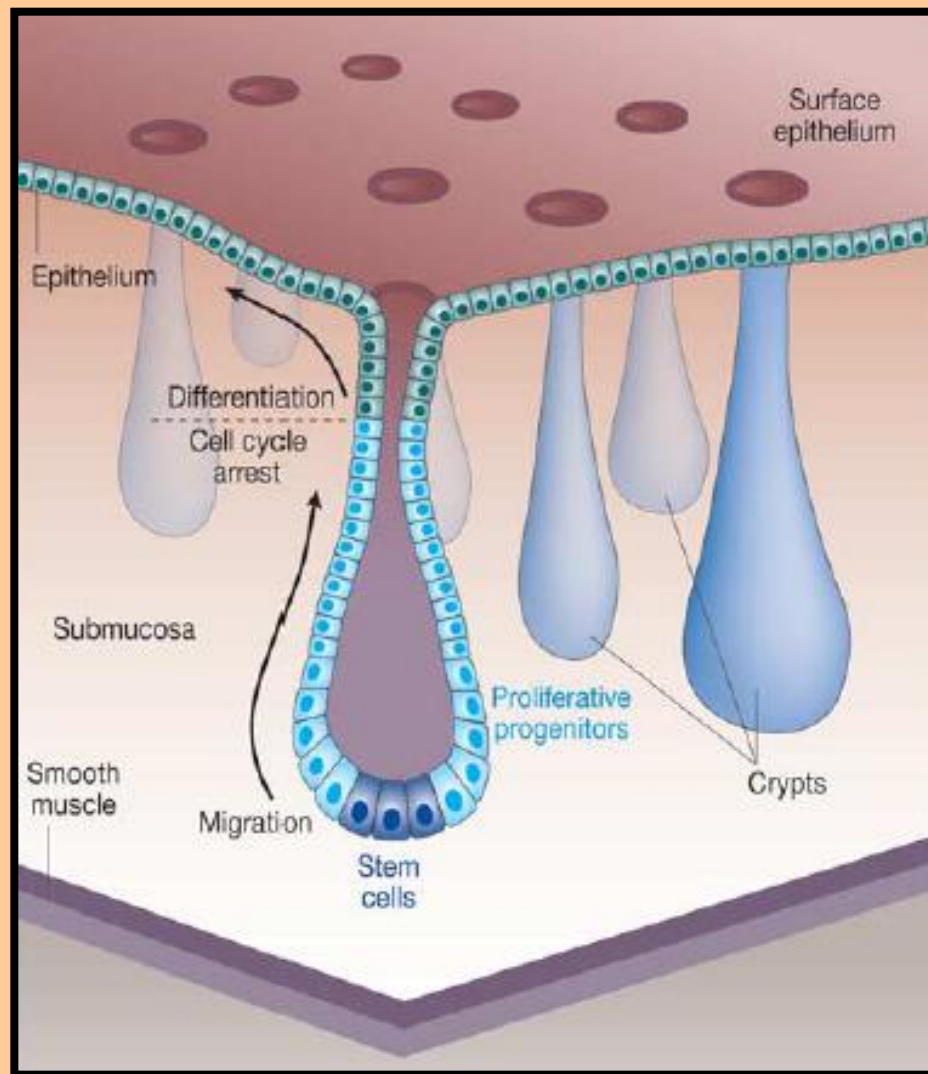
(HGF, KGF, $\text{TGF}\beta_2$)



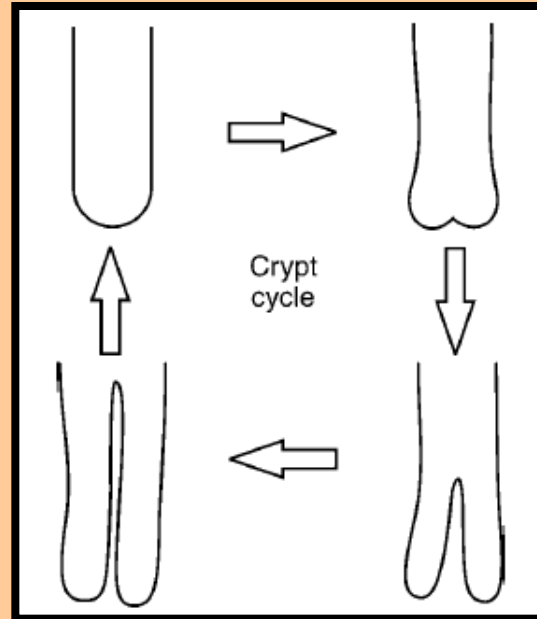
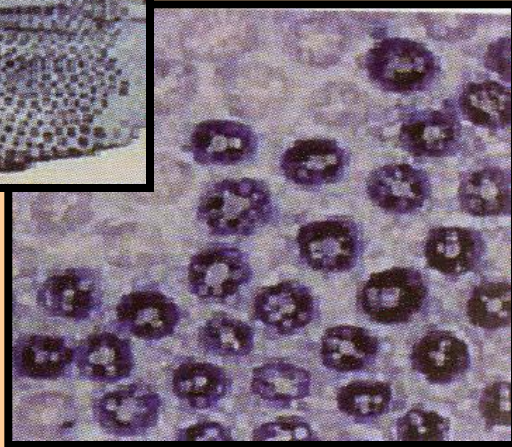
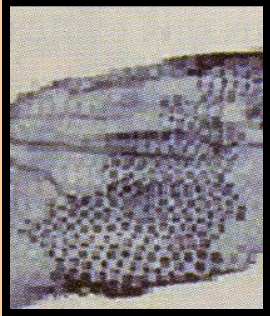
tenké střevo



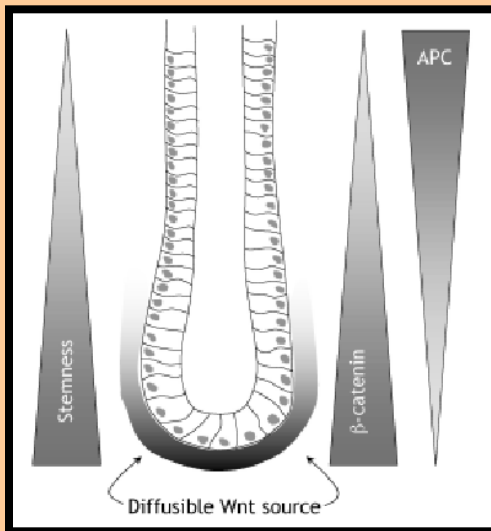
tlusté střevo



Předpokládá se, že všechny buňky každé střevní krypty jsou potomky jediné kmenové buňky (klonální studie s chimérami)



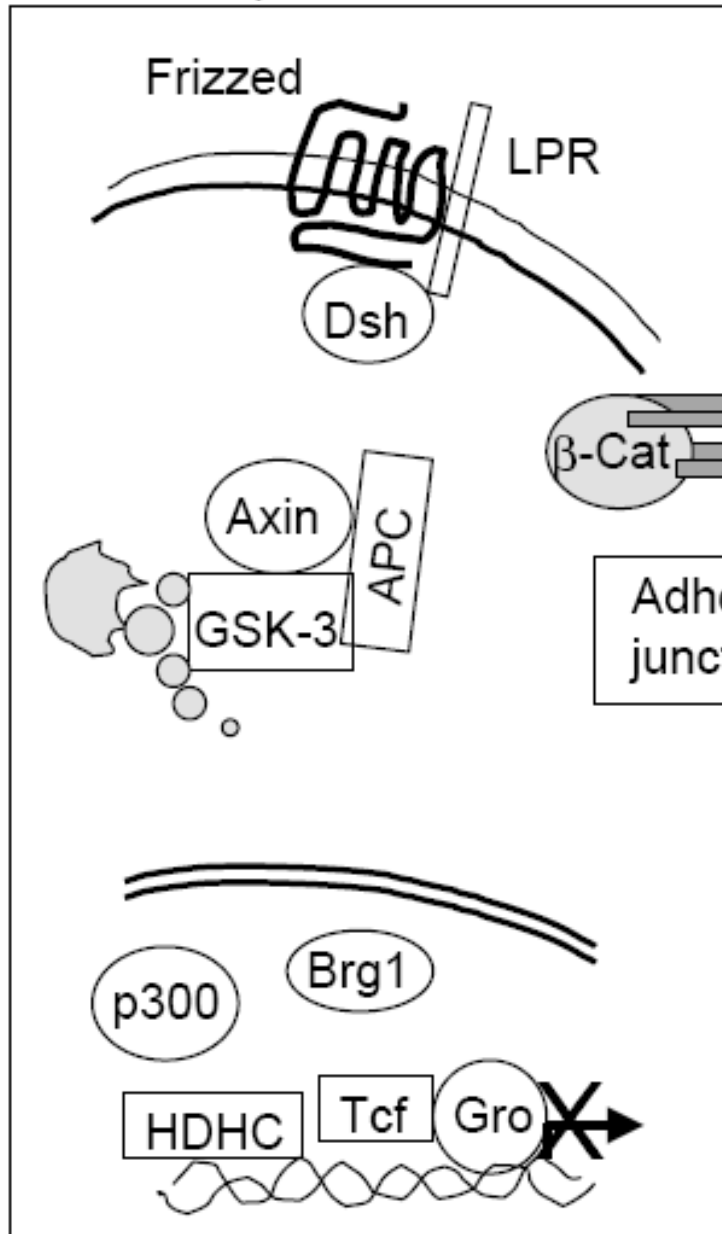
Jednotlivé krypty se pak množí dělením (dané velikostí krypty)



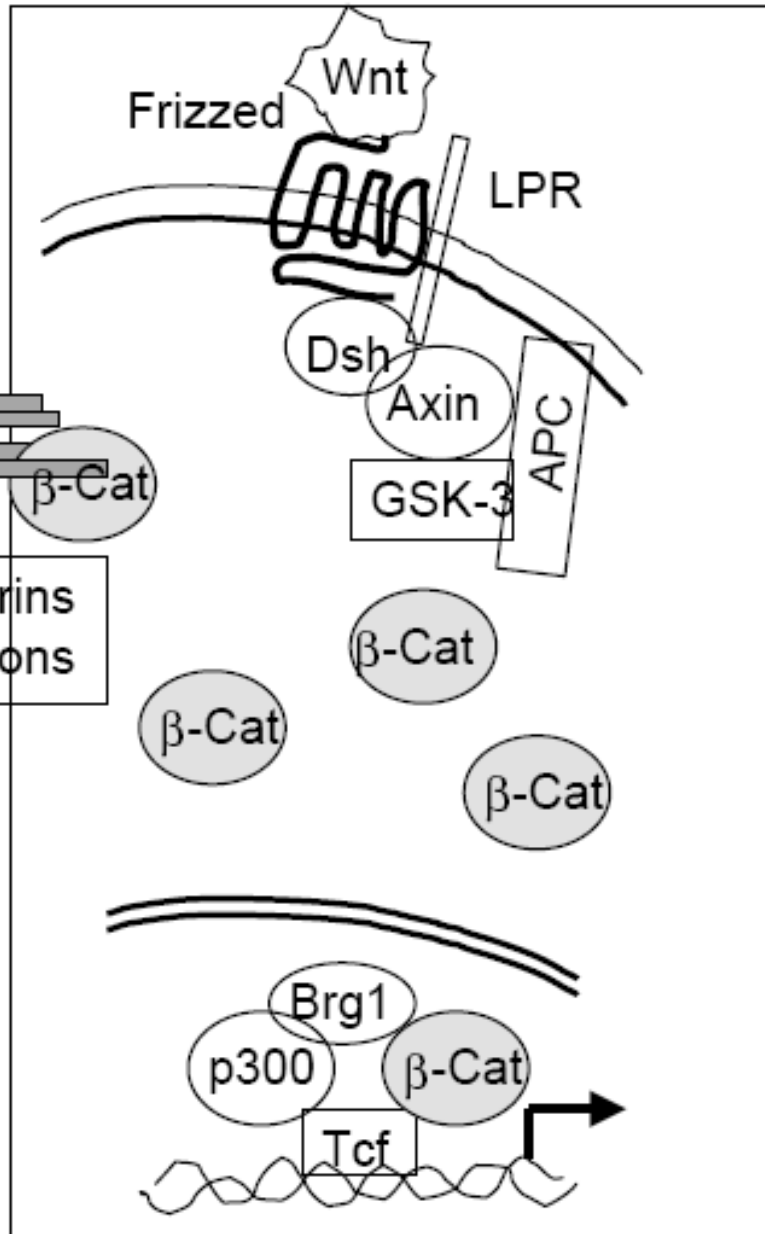
Nejklíčovějších faktory regulující diferenciaci střevního epitelu jsou Wnt, BMP a Notch. V případě tlustého střeva také gradient NaBt (butyrát sodný), produkovaného bakteriemi v jeho lumen. APC – adenomatous polyposis coli

Pozn. MSCs/BMSSCs se mohou integrovat do střevního epitelu, ale neplní zde funkci epiteliálních buněk. Integrují se i do lamina propria, tvoří ISEMFs a produkci růstových faktorů podporují proliferaci střevního epitelu (viz. MSCs)

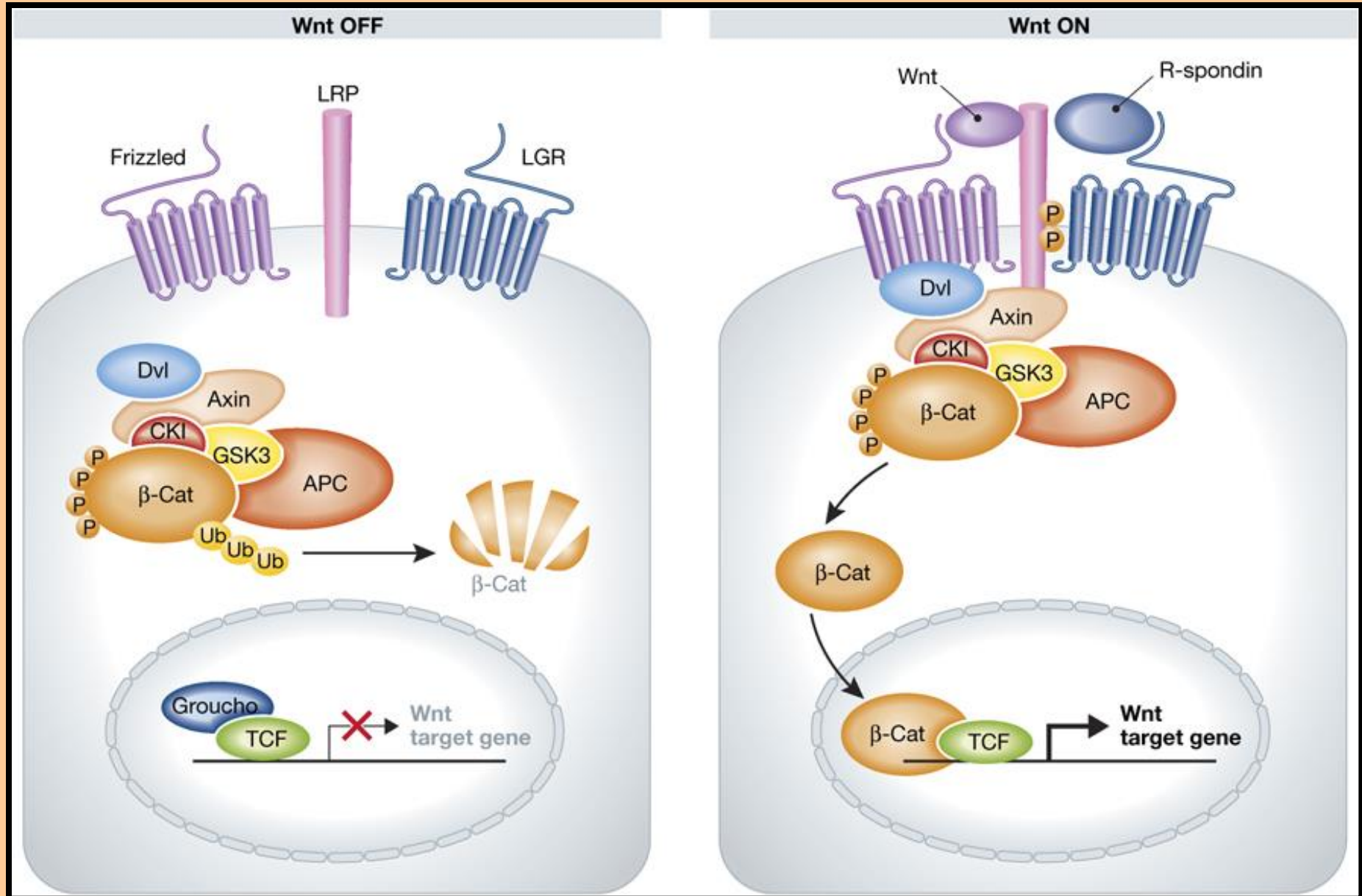
QUIESCENT



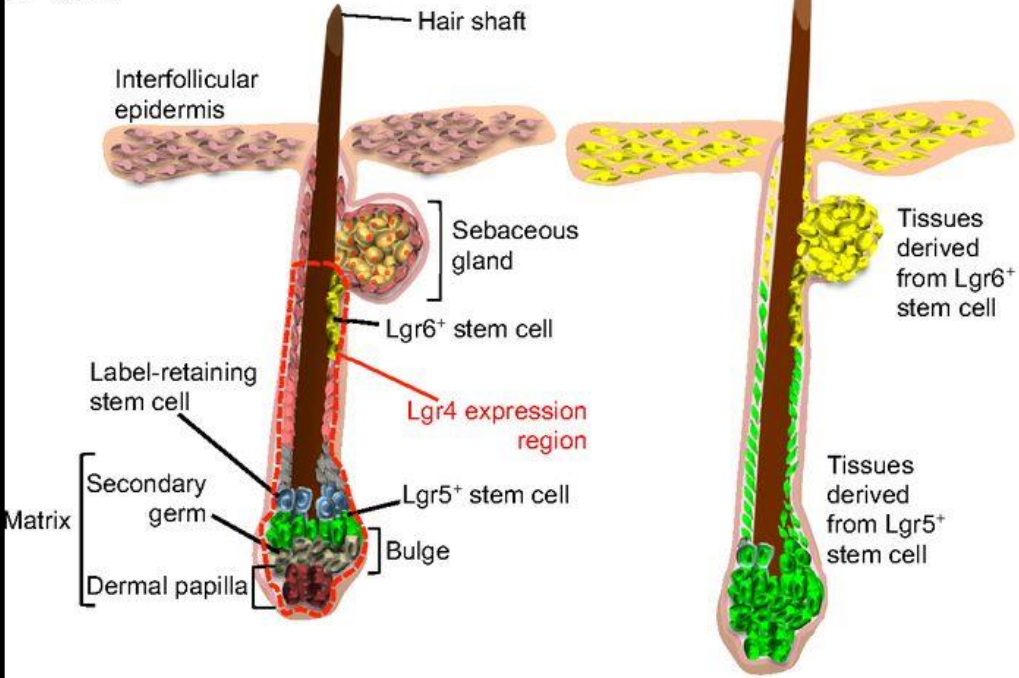
PROLIFERATING



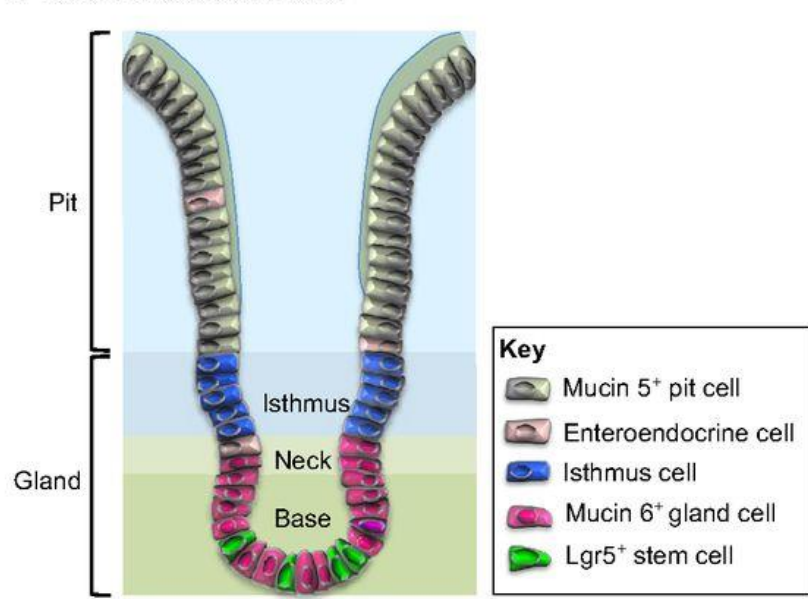
LGR (Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor) proteiny, klíčoví partneři Wnt signalizace „u“ epiteliálních buněk



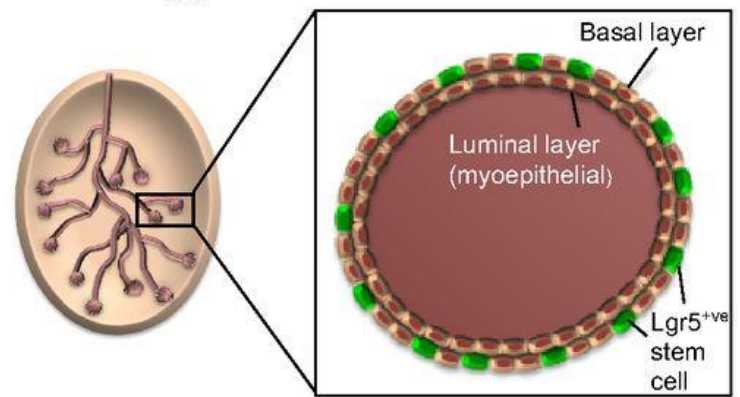
A Skin



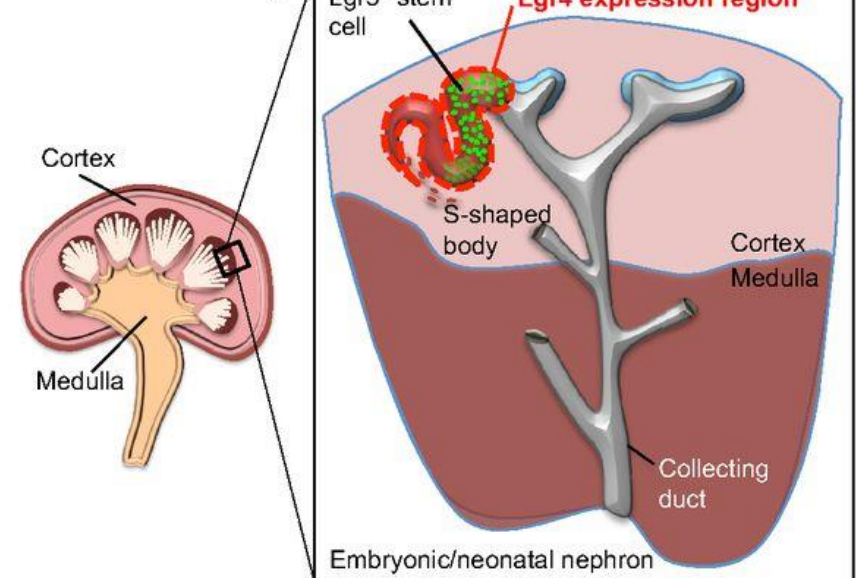
B Adult distal stomach



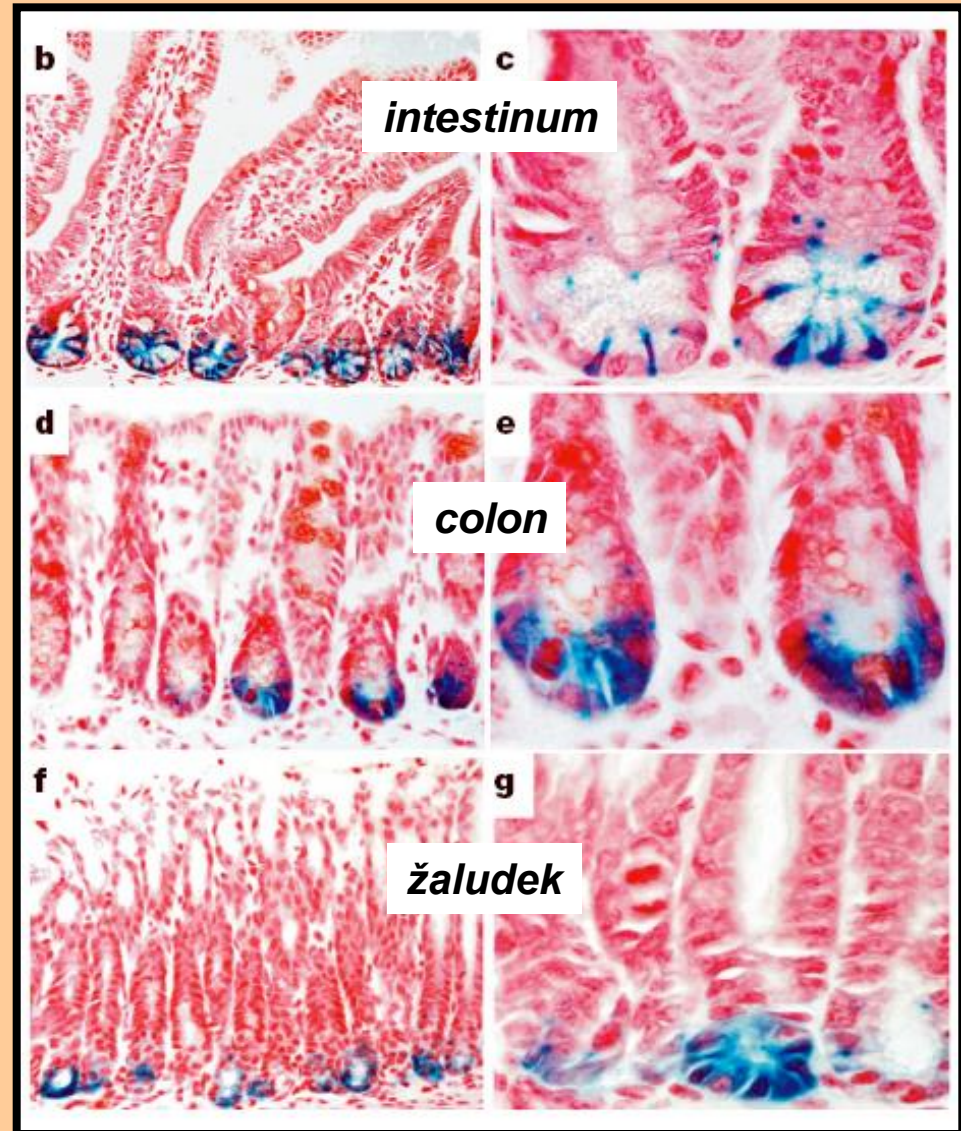
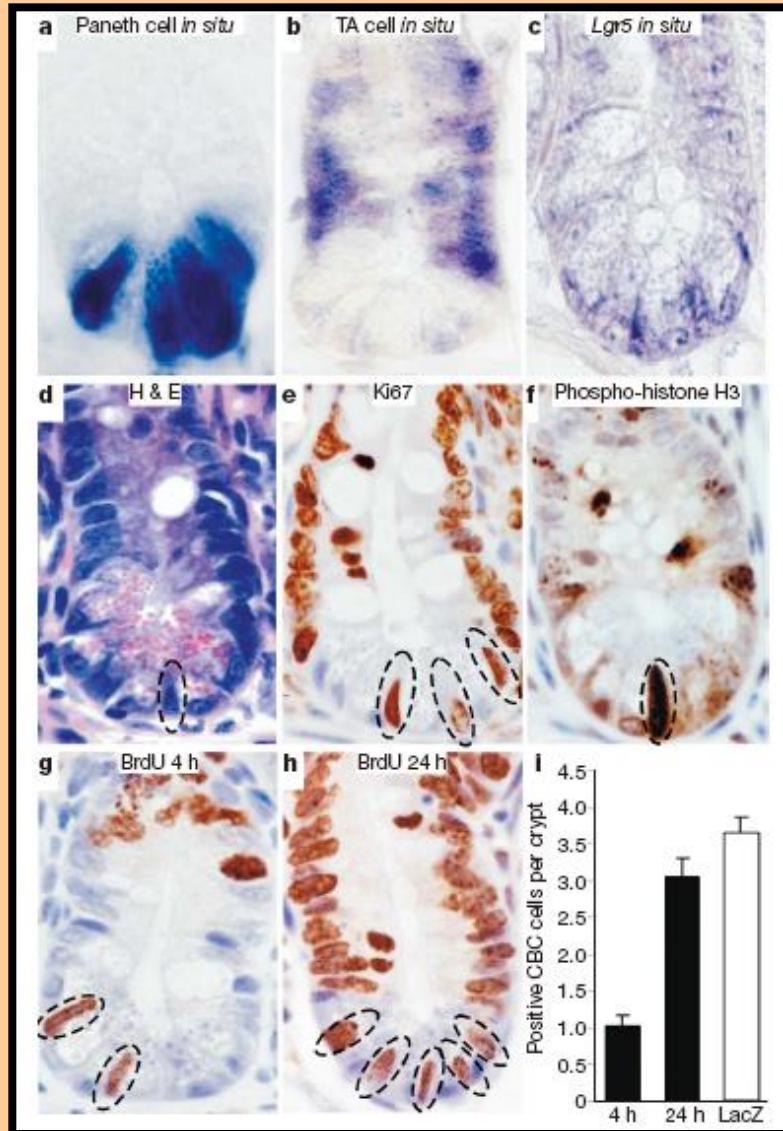
C Mammary gland



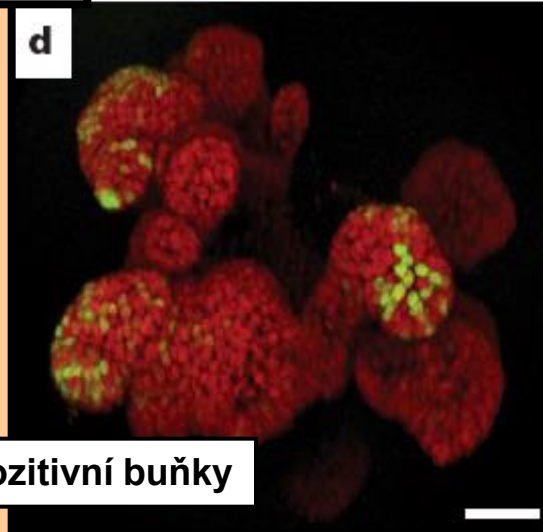
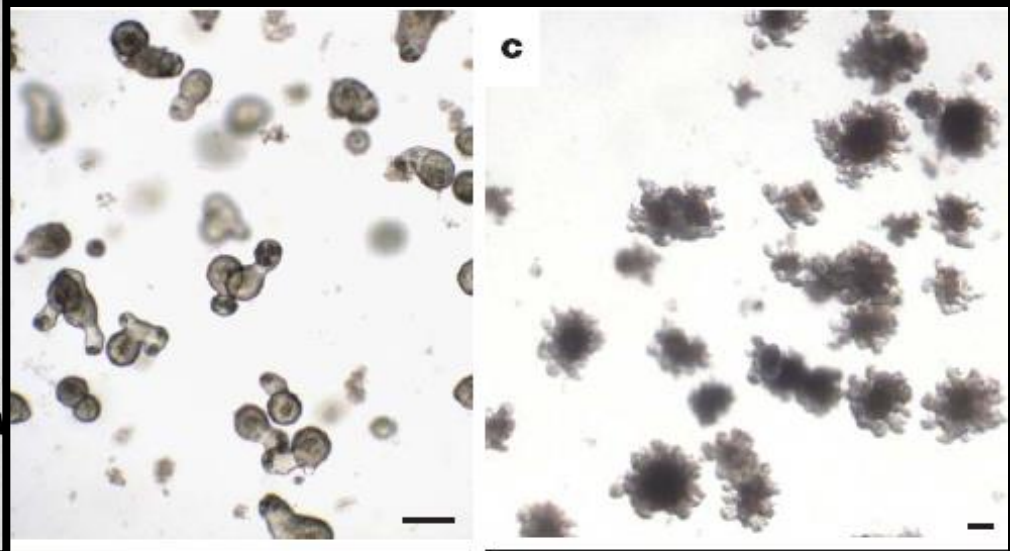
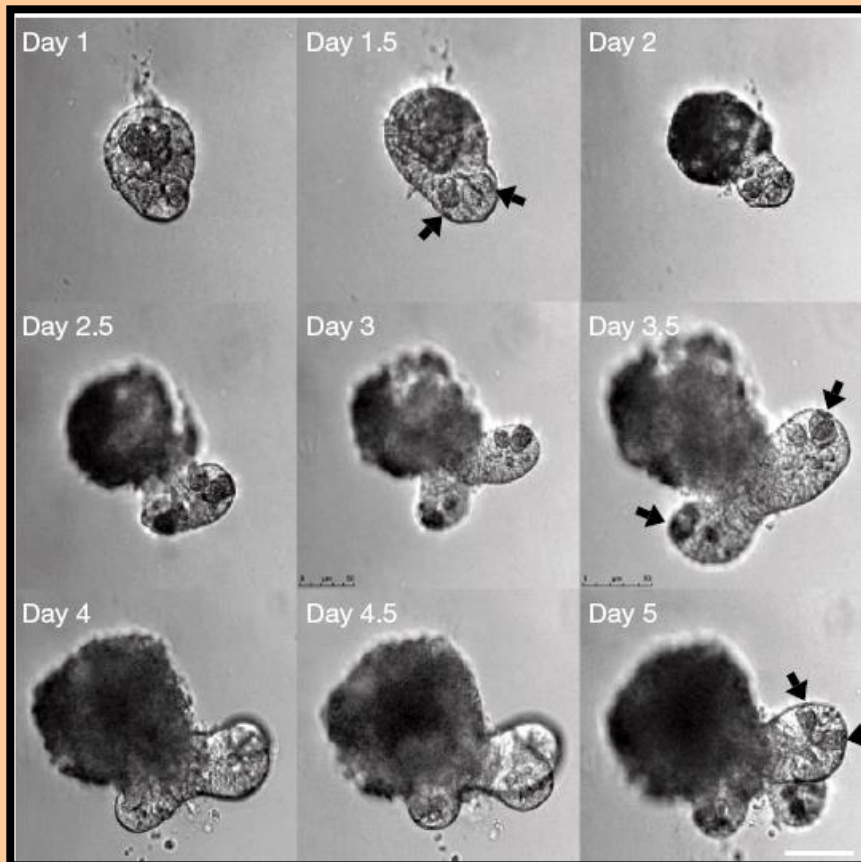
D Neonatal kidney



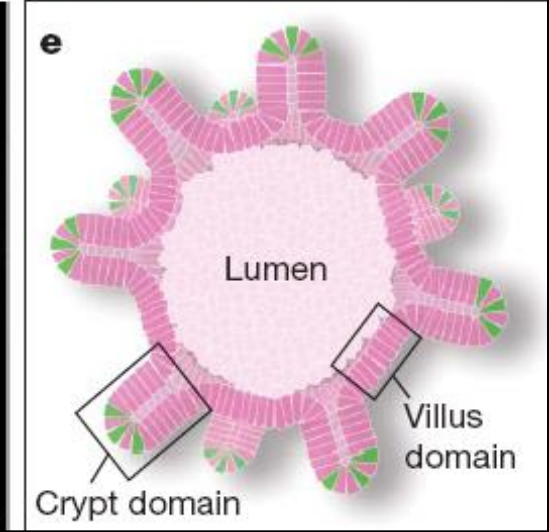
Lgr5 jako součást Wnt signalizace a znak potenciálních „stem cell“ střevního epitelu
Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (Barker 2007, Sato 2009)



Tvorba krypt z potenciálních kmenových buněk střevního epitelu *in vitro* (Lgr5 pozitivních / Wnt sensitivních)



zelené - Lgr5 pozitivní buňky

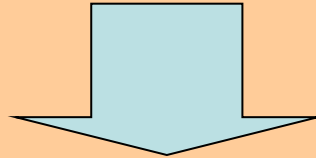


Souhrn – střevní epitel (intestinum)

Quiescentní, slow-cycling - long term stem cells
aktuální stem cells, pozice 4 (Bmi1+)
Wnt insensitivní, klonogenní



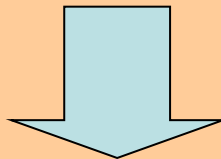
Intenzivně proliferující
potenciální stem cells, (Lgr5+) CBC - crypt base cells
Wnt responsivní, klonogenní



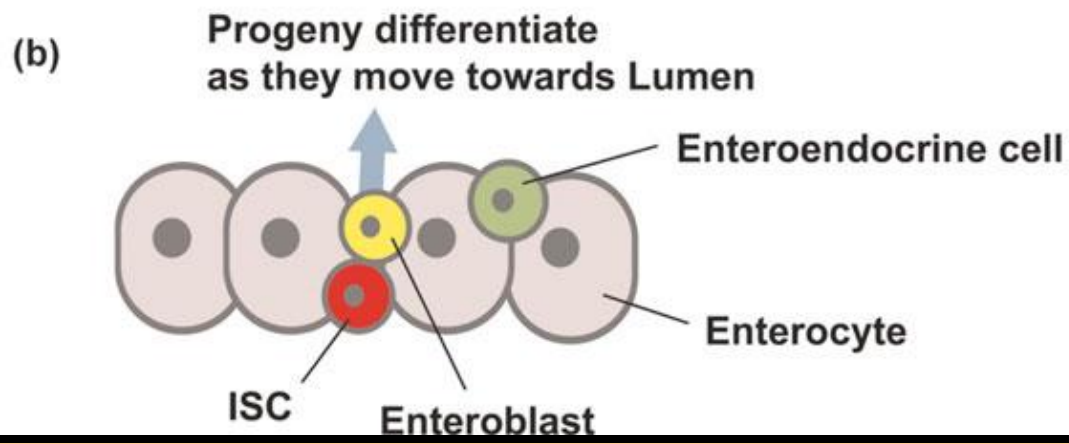
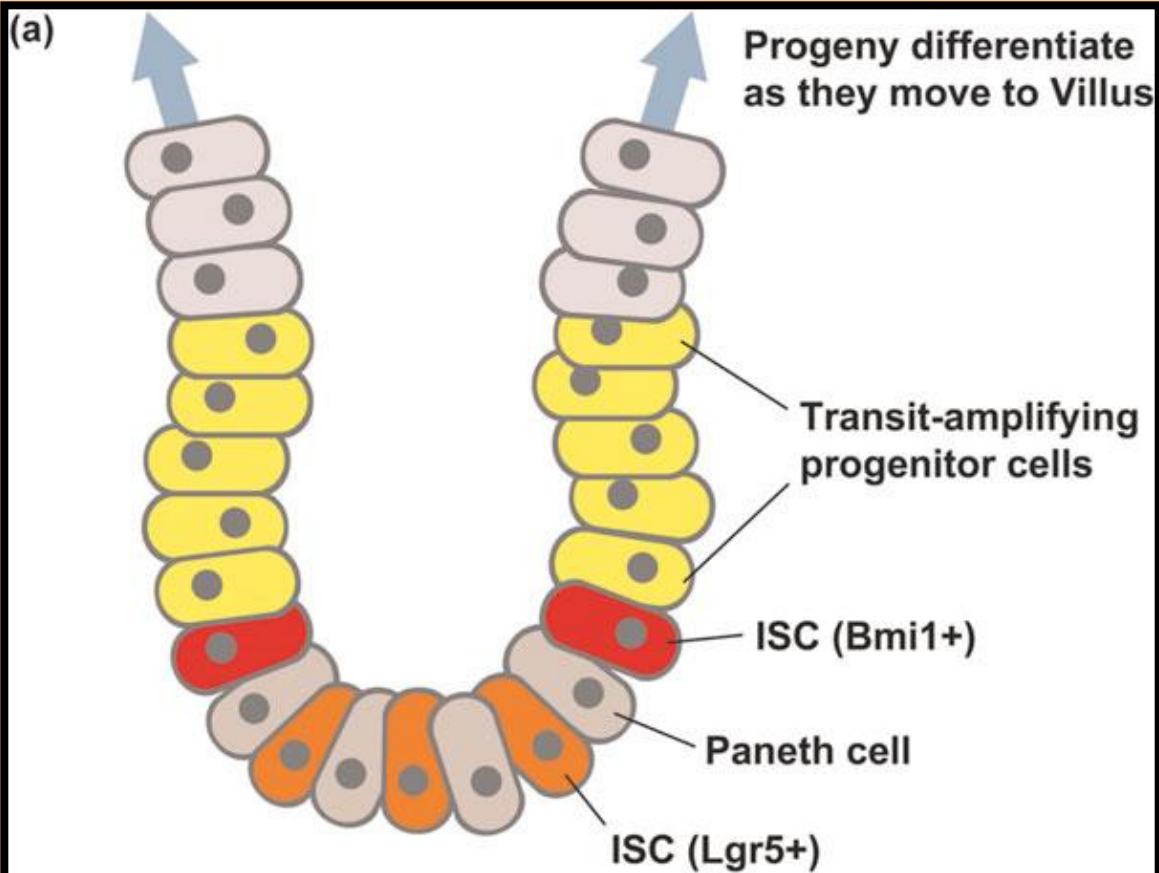
Transientně, diferenciačním dělením dělicí se buňky
progenitory střevního epitelu, *Wnt responsivní*
zvýšující se exprese APC -> inhibice Wnt signalizace



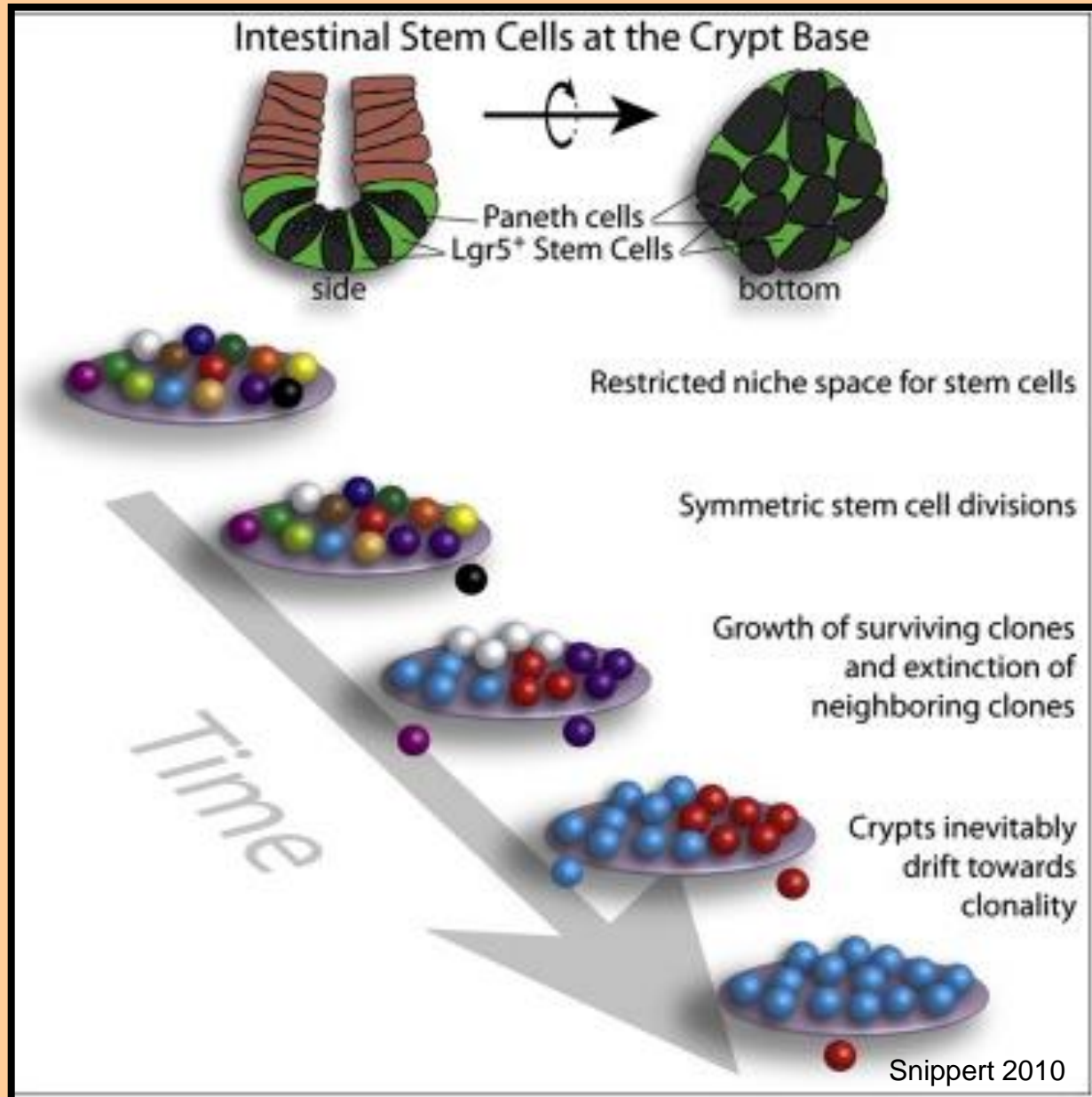
Panethovy buňky
regulace obranných funkcí



Terminálně diferencované **střevní epitelie**
postupně apoptózuující

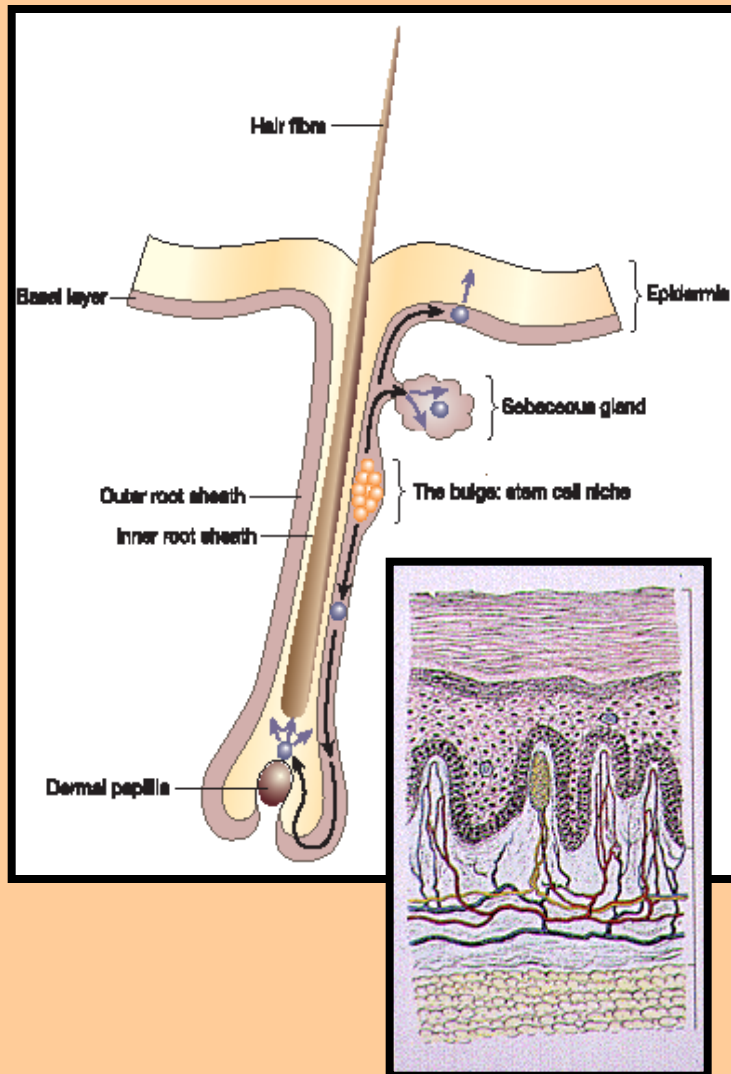


Homeostáze v intestinální kryptě jako výsledek kompetice mezi symetrickým dělením Lgr5 pozitivních buněk



Epiteliální kožní kmenové buňky – ESSCs (Epithelial skin / epidermal stem cells)

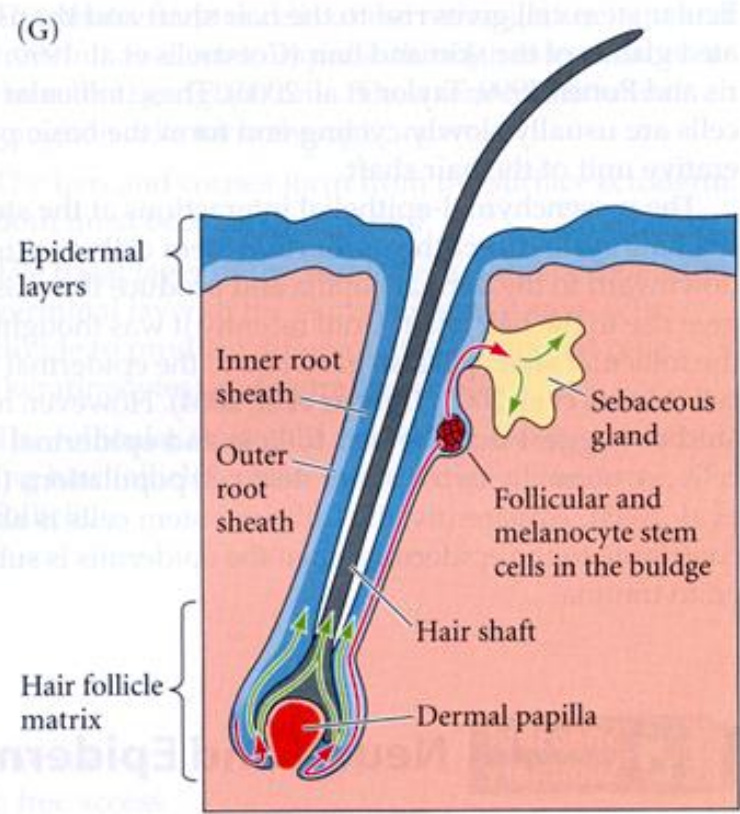
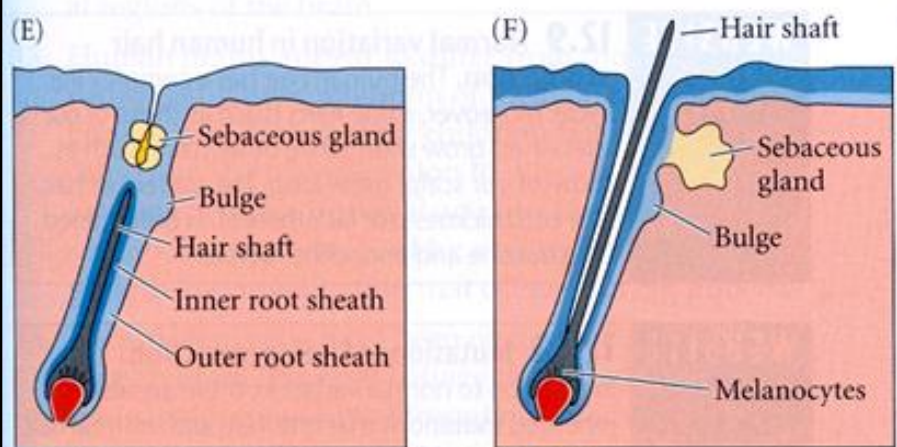
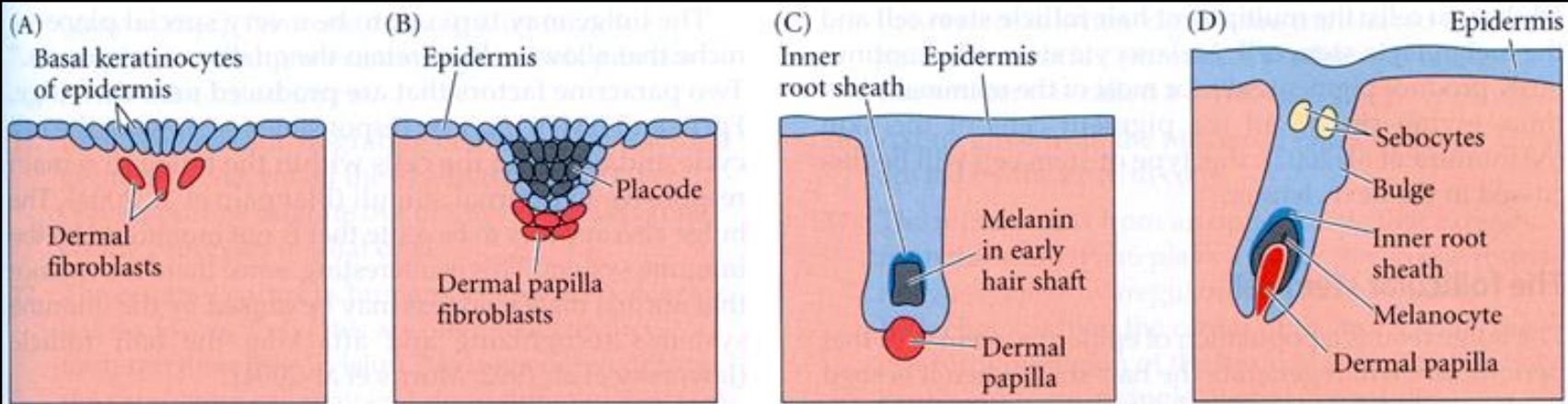
Kůže – dermis (mesoderm -> mesenchym) + **epidermis (ektoderm)**



ESSCs (Integrin $\alpha 6^+$ /CD71-/K15+/K19+/CD34+)¹ jsou lokalizovány ve výduti po straně vlasové pochvy. Odtud v případě potřeby migrují jak do bazální vrstvy krycí epidermis, tak k základu vlasu k dermální papile². V základně vlasu, u dermální papily, ESSCs vytváří „sekundární“ populaci kmenových buněk, odpovědných za růst vlasu. V basální vrstvě epidermis dávají vznik aktivně se dělicím keratinocytům, exprimujícím keratiny K5 a K14. Po jejich přechodu do „stratum spinosum“ se tyto keratinocyty přestanou dělit a nastupují proces terminální diferenciace kdy keratiny K5/K14 jsou nahrazeny keratiny K1 a K10. Poté dochází k syntéze bariérových proteinů jako je involucrin, loricrin,..., zplošťování buněk a jejich odumírání.

¹ CD71 – receptor pro transferin

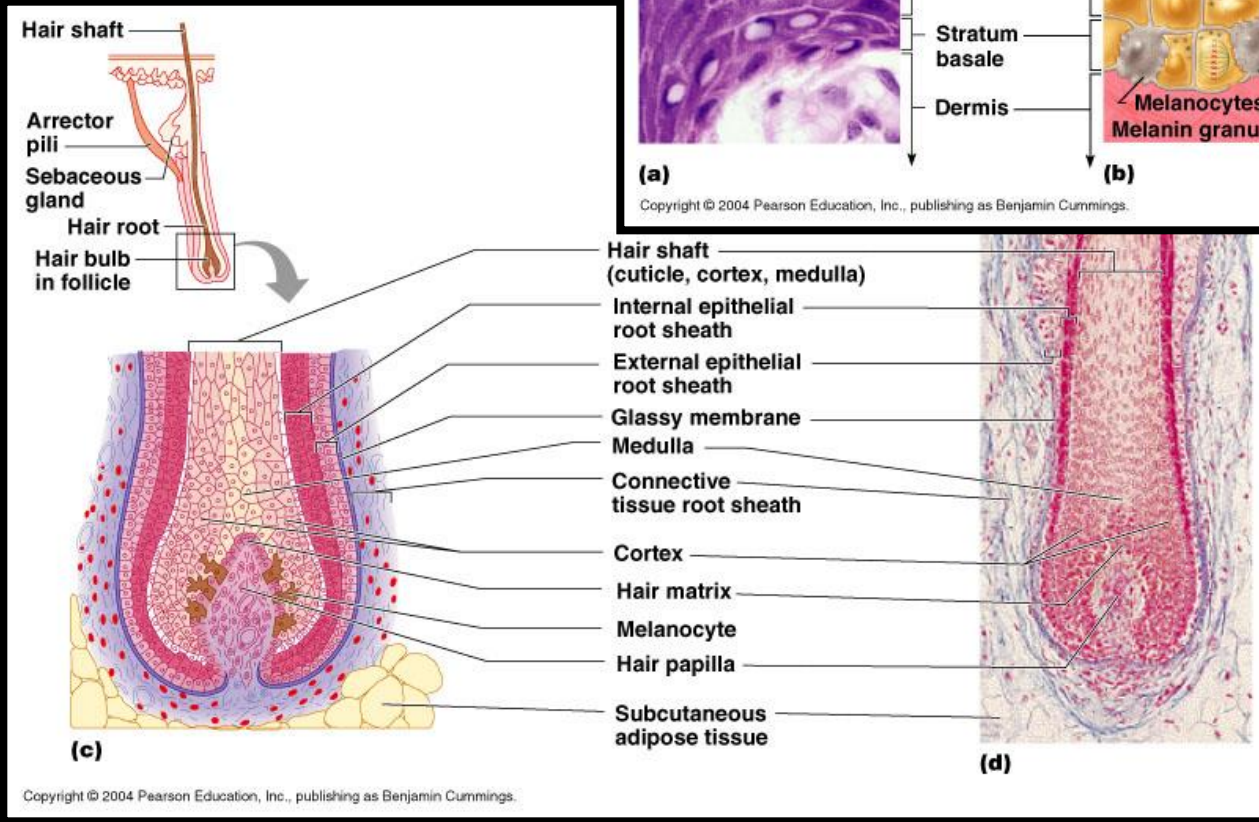
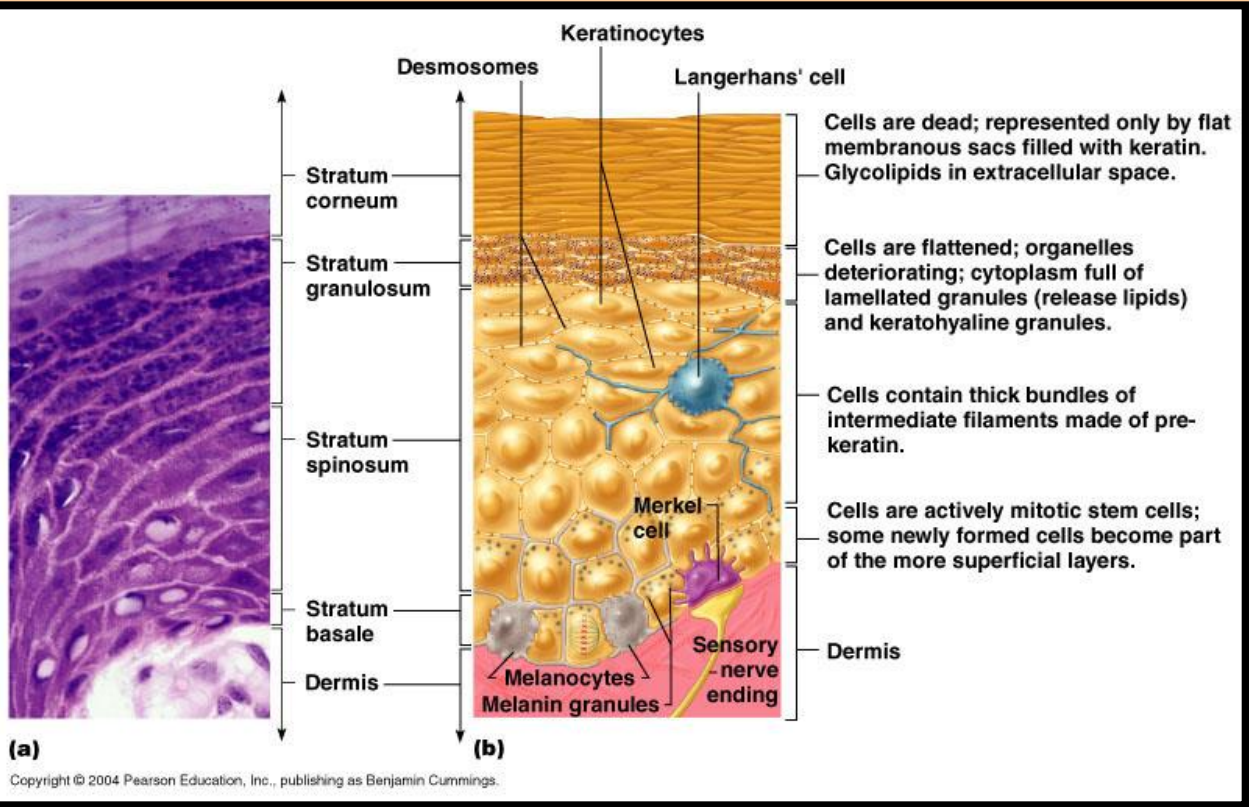
² dermální papila je shluk mesenchymálních buněk regulující růst chlupu



**Ontogenetický vývoj vlasového folikulu
&
„niche“ kmenových buněk epidermis**

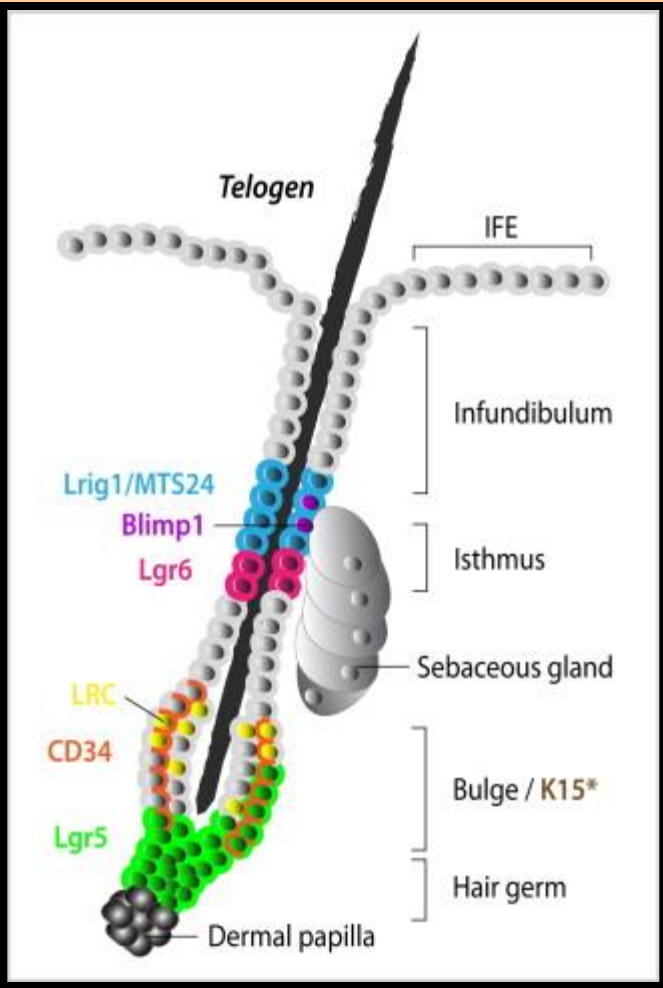
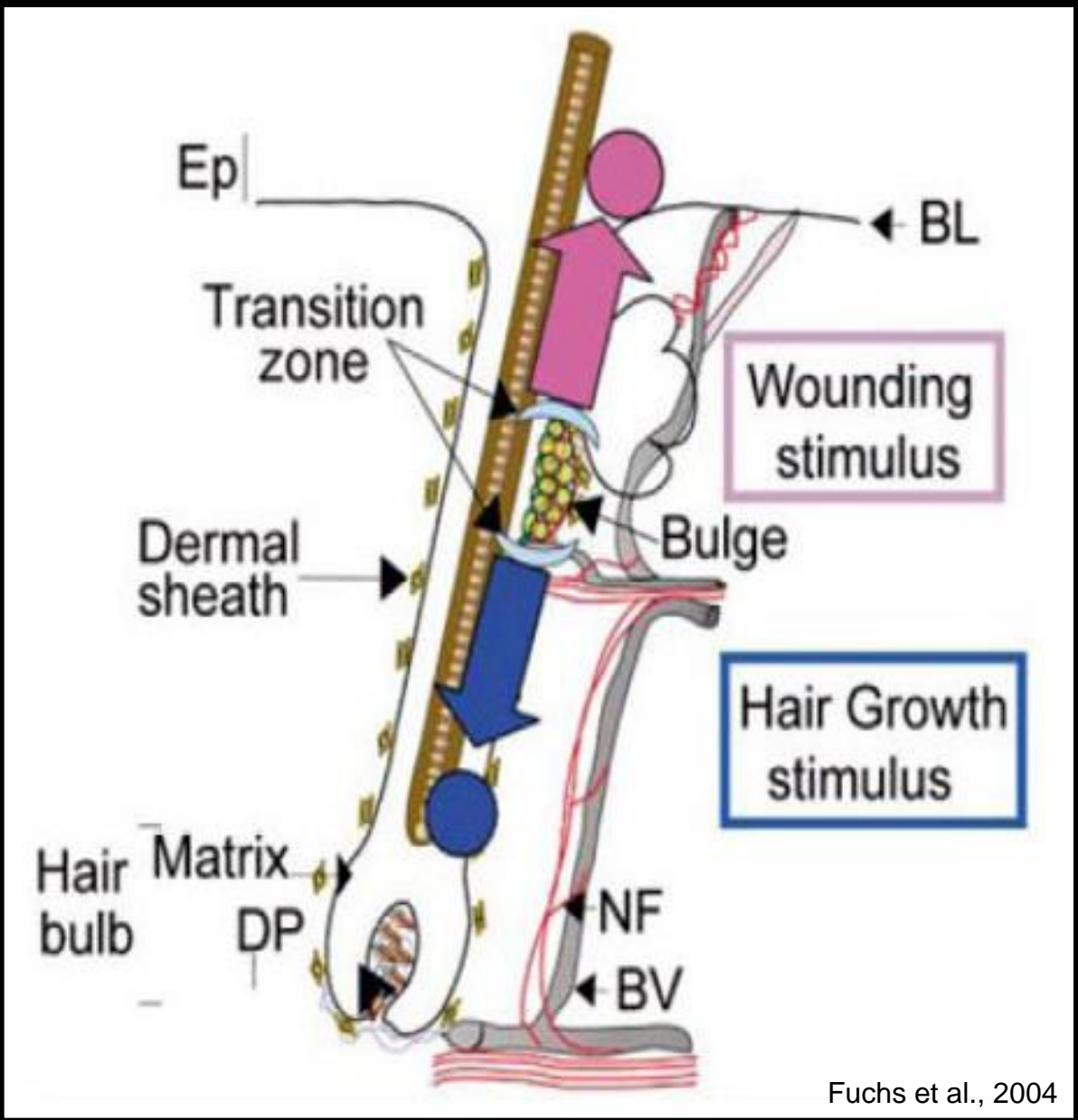
→ Lineages derived from follicular stem cells → Differentiation pathways supplied by bulge stem cells

Morfologie epidermis a vlasové cibulky



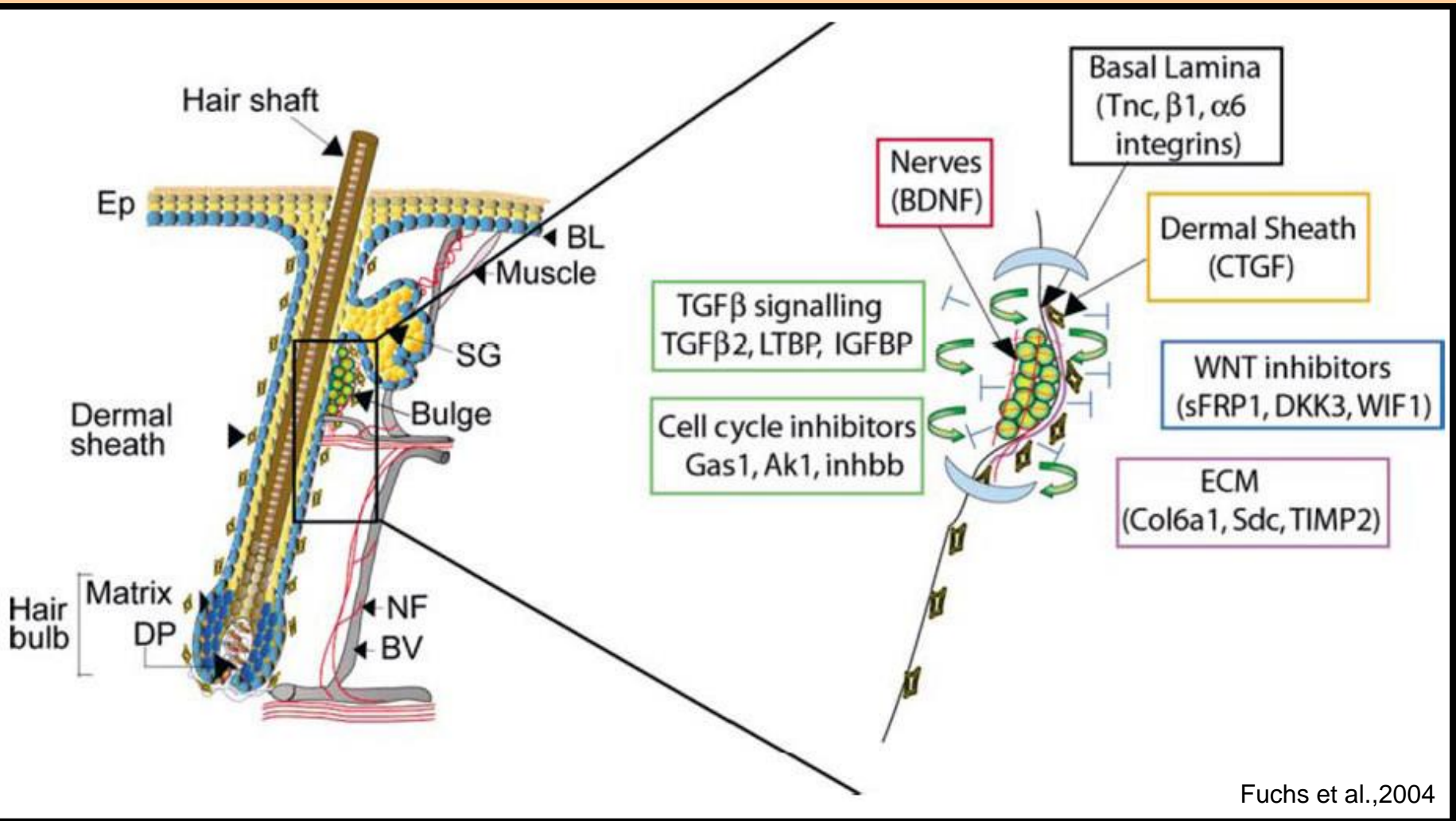
Poznámka.
Epiteliální kmenové buňky podobné ESSCs byly také nalezeny v oční rohovce. Tyto buňky jsou zde pravděpodobně pouze bipotentní, avšak po jejich přenosu do epidermis, se chovají jako ESSCs a jsou multipotentní!

Regulate ESSC



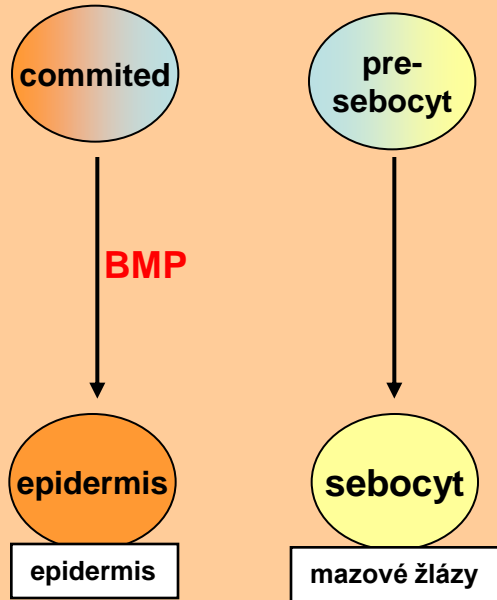
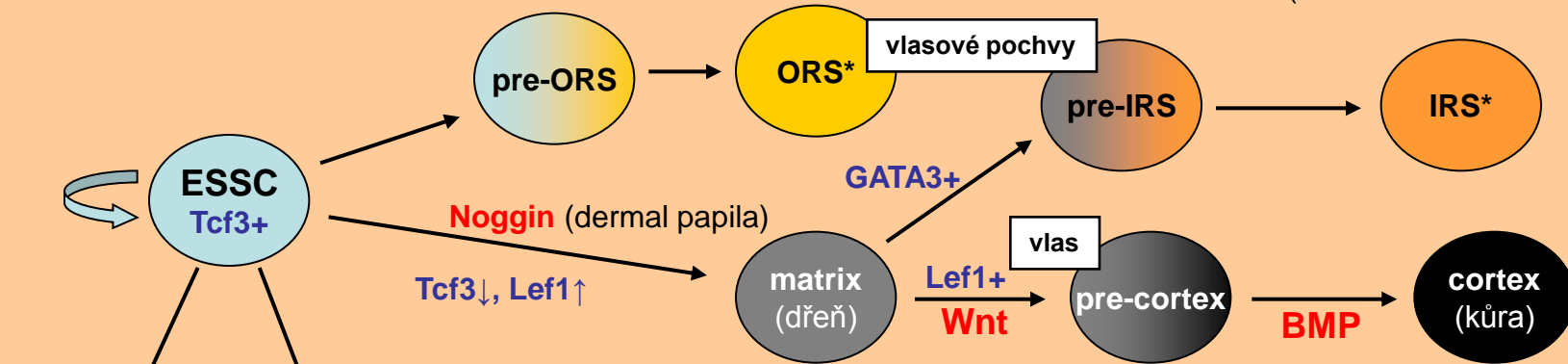
Fuchs et al., 2004

„Niche“ kožních kmenových buněk (kmenových buněk vlasového folikulu)

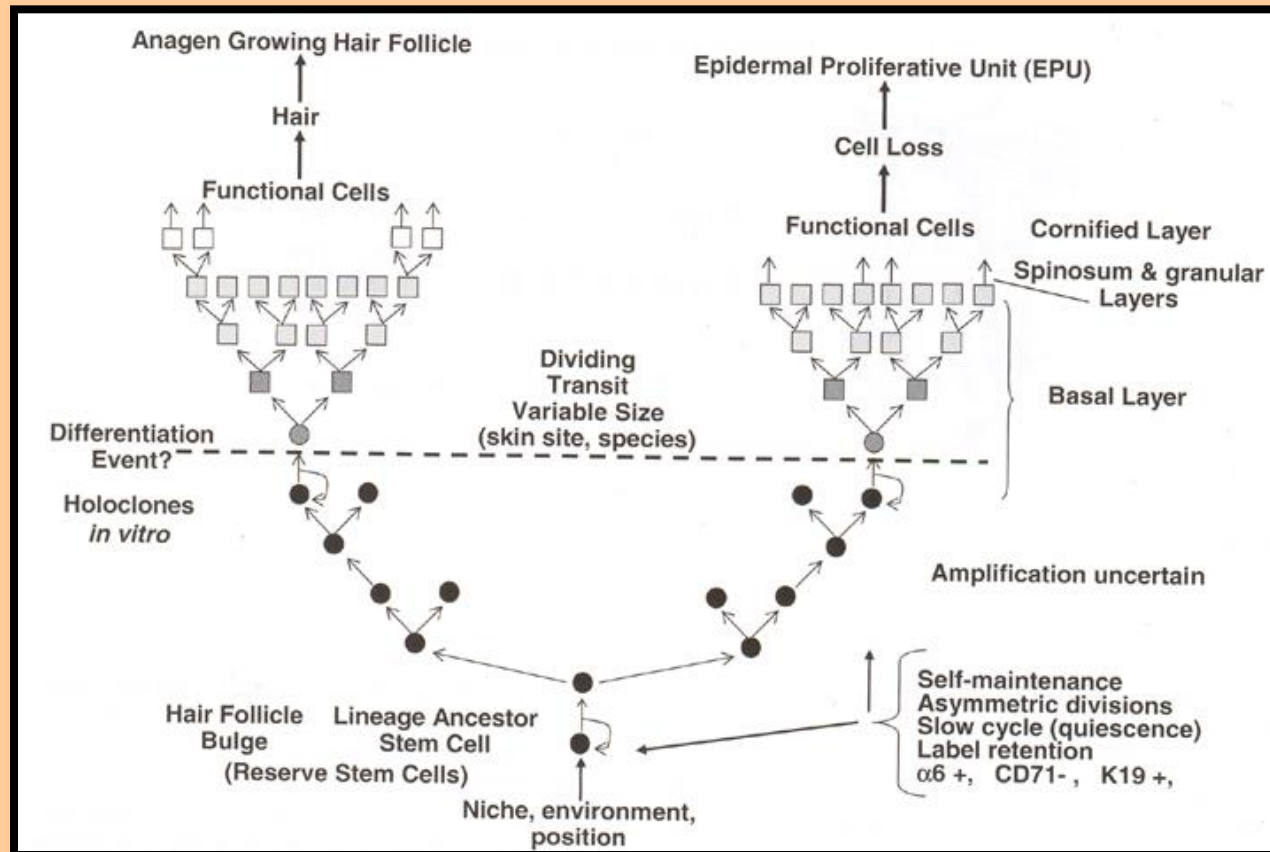


Hierarchie, specializace a signalizace v epidemis

*IRS – vnitřní vlasová pochva
 ORS – vnější vlasová pochva
 (inner / outer root sheath)

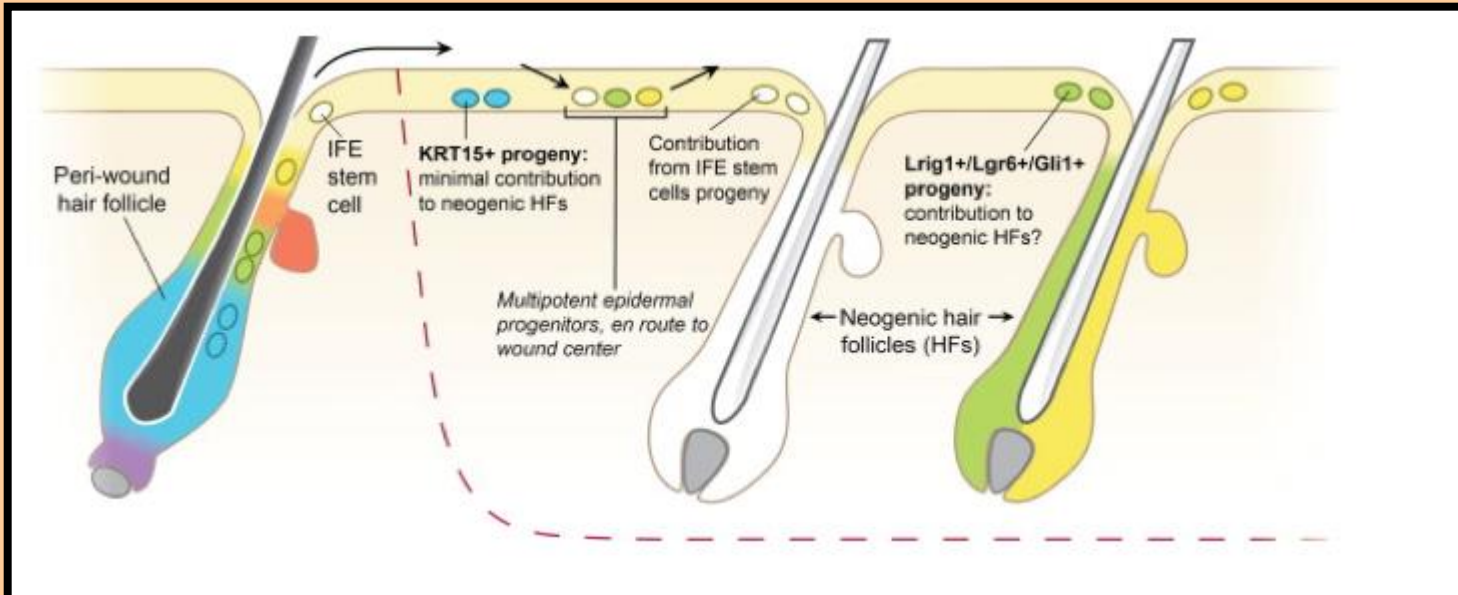
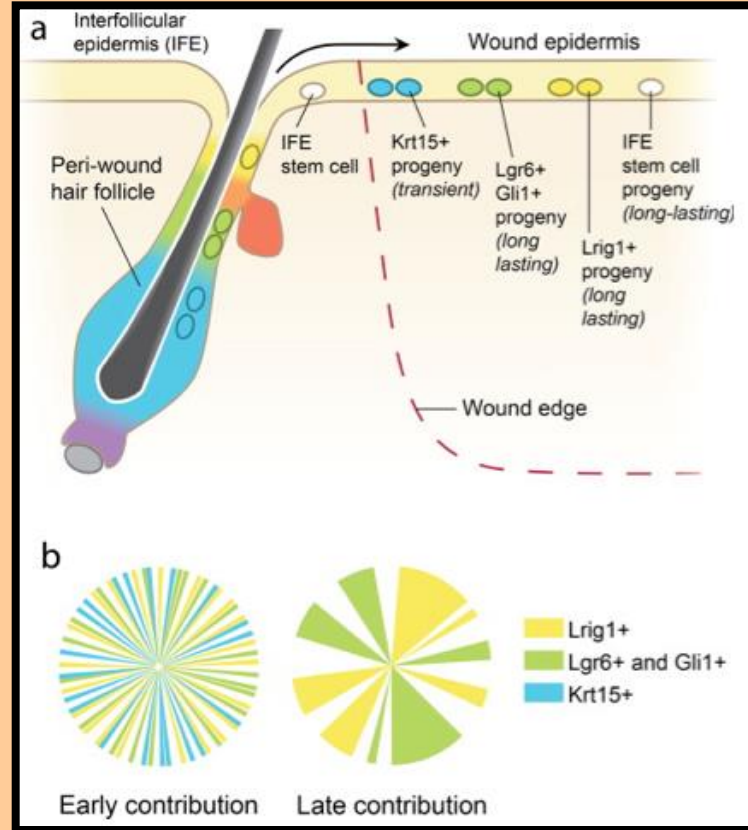
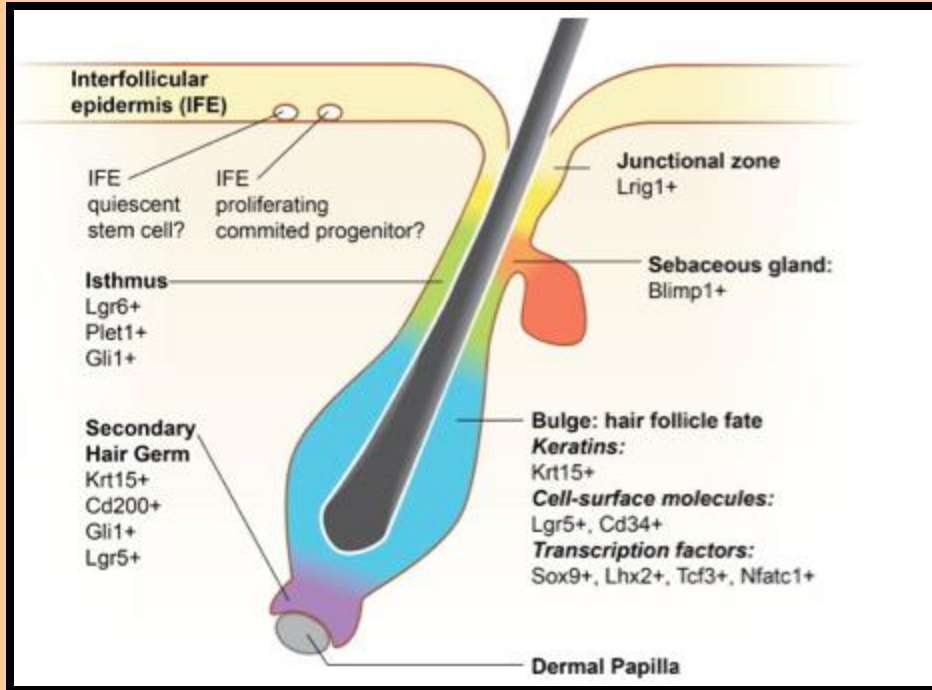


cytokiny
transkripční faktory



Interfolikulární populace ESSC

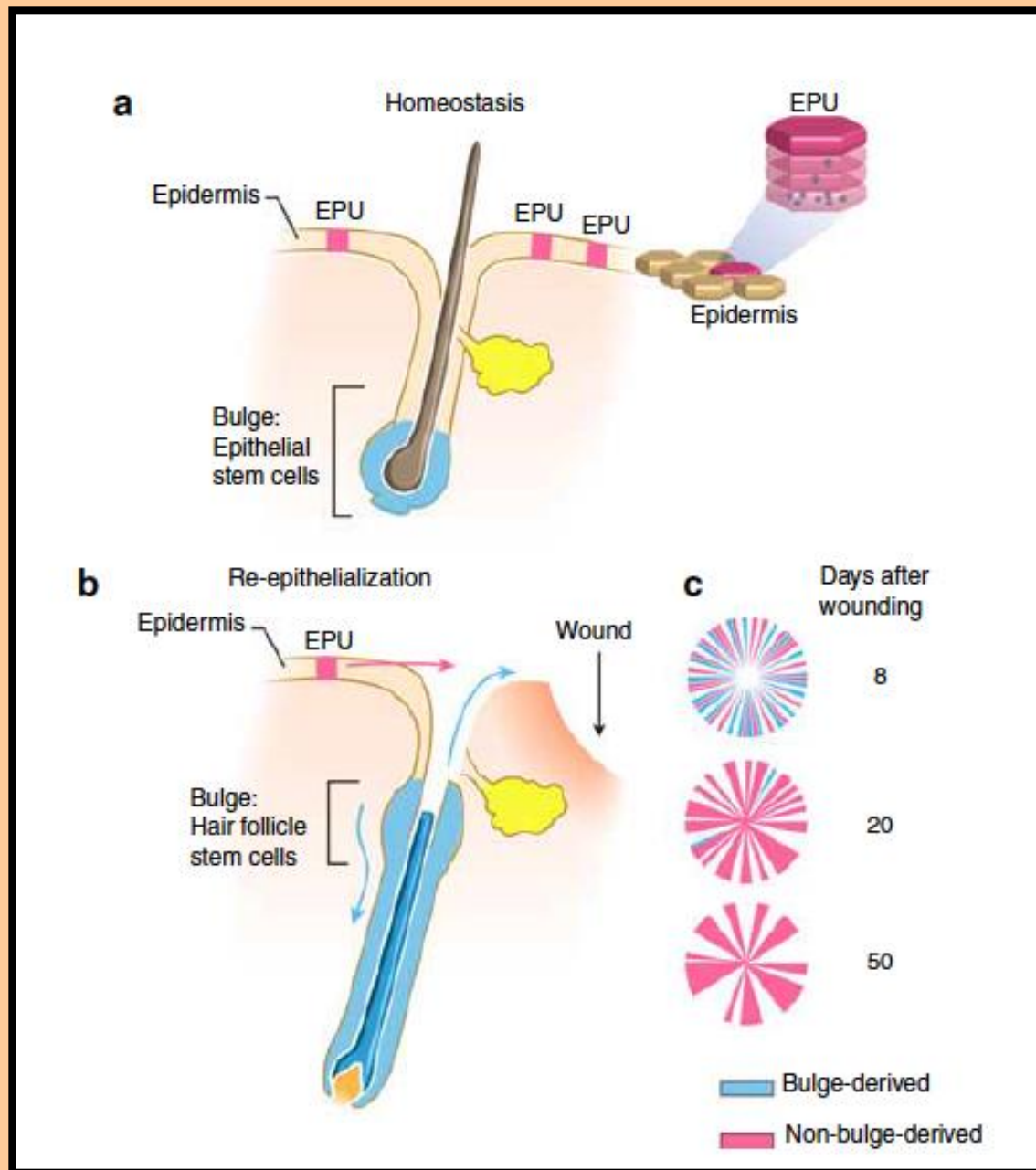
- Jaký mají potenciál, jsou opravdu „SC“



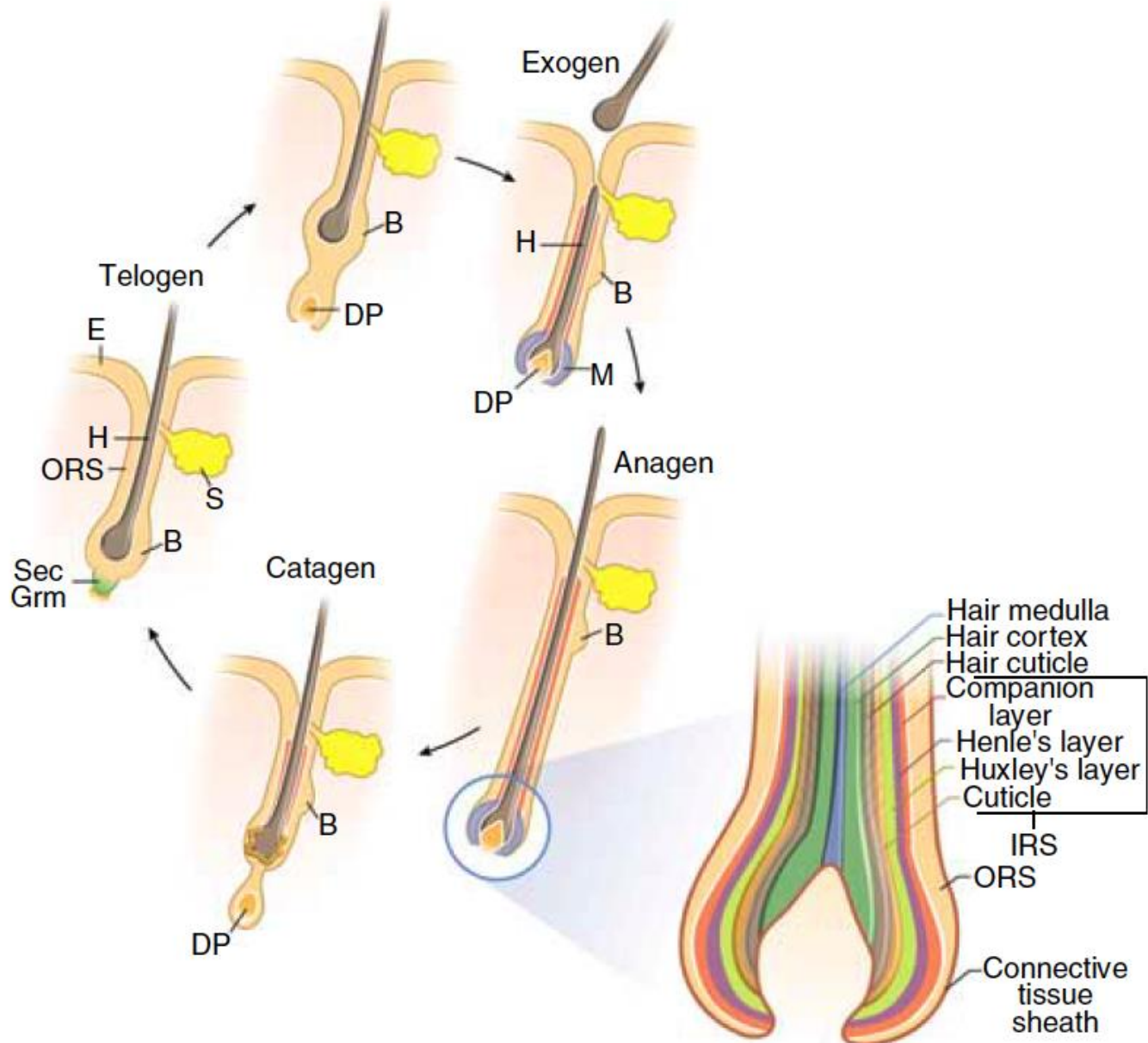
Zastoupení potomků jednotlivých populací „SC“ v homeostázi epidermis

EPU

- epitheliální proliferační jednotka



Cyklus vývoje vlasu



Anagen phase

Anagen is the active growth phase of hair follicles during which the root of the hair is dividing rapidly, adding to the hair shaft. During this phase the hair grows about 1 cm every 28 days. Scalp hair stays in this active phase of growth for 2–7 years and is genetically determined. At the end of the anagen phase an unknown signal causes the follicle to go into the catagen phase.

Catagen phase

The catagen phase is a short transition stage that occurs at the end of the anagen phase. It signals the end of the active growth of a hair. This phase lasts for about 2–3 weeks while the hair converts to a club hair. A club hair is formed during the catagen phase when the part of the hair follicle in contact with the lower portion of the hair becomes attached to the hair shaft. This process cuts the hair off from its blood supply and from the cells that produce new hair. When a club hair is completely formed, about a 2 week process, the hair follicle enters the telogen phase.

Telogen phase

The telogen phase is the resting phase of the hair follicle. When the body is subjected to extreme stress, as much as 70 percent of hair can prematurely enter a phase of rest, called the telogen phase. This hair begins to fall, causing a noticeable loss of hair. This condition is called telogen effluvium. The club hair is the final product of a hair follicle in the telogen stage, and is a dead, fully keratinized hair. Fifty to one-hundred club hair are shed daily from a normal scalp.

Hair growth cycle times

Scalp: The time these phases last varies from person to person. Different hair colour and follicle shape affects the timings of these phases.

anagen phase, 2–6 years (occasionally much longer)

catagen phase, 2–3 weeks

telogen phase, around 3 months

Eyebrows etc.:

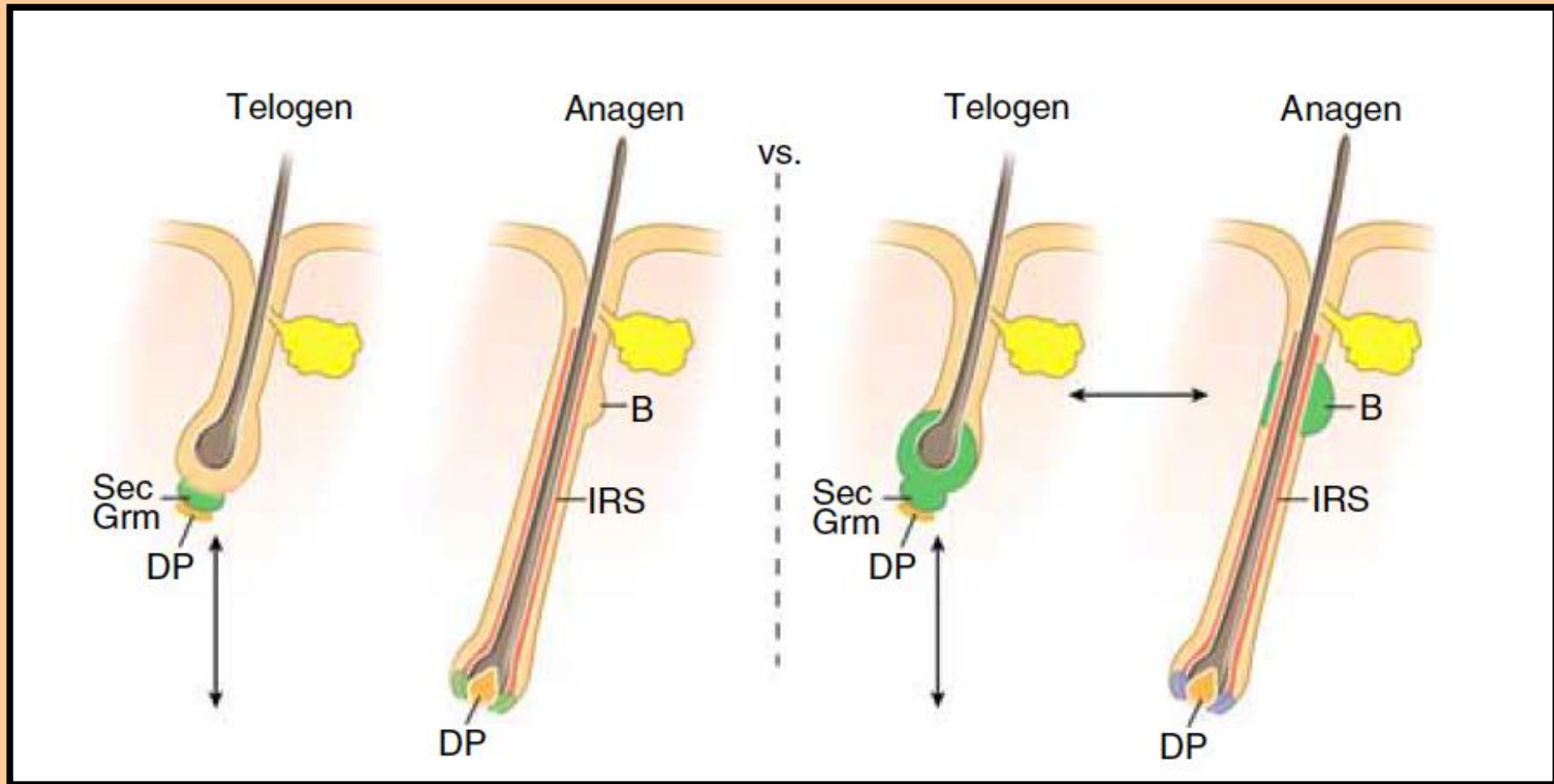
anagen phase, 4–7 months

catagen phase, 3–4 weeks

telogen phase, about 9 months

Model epidermálních kmenových buněk

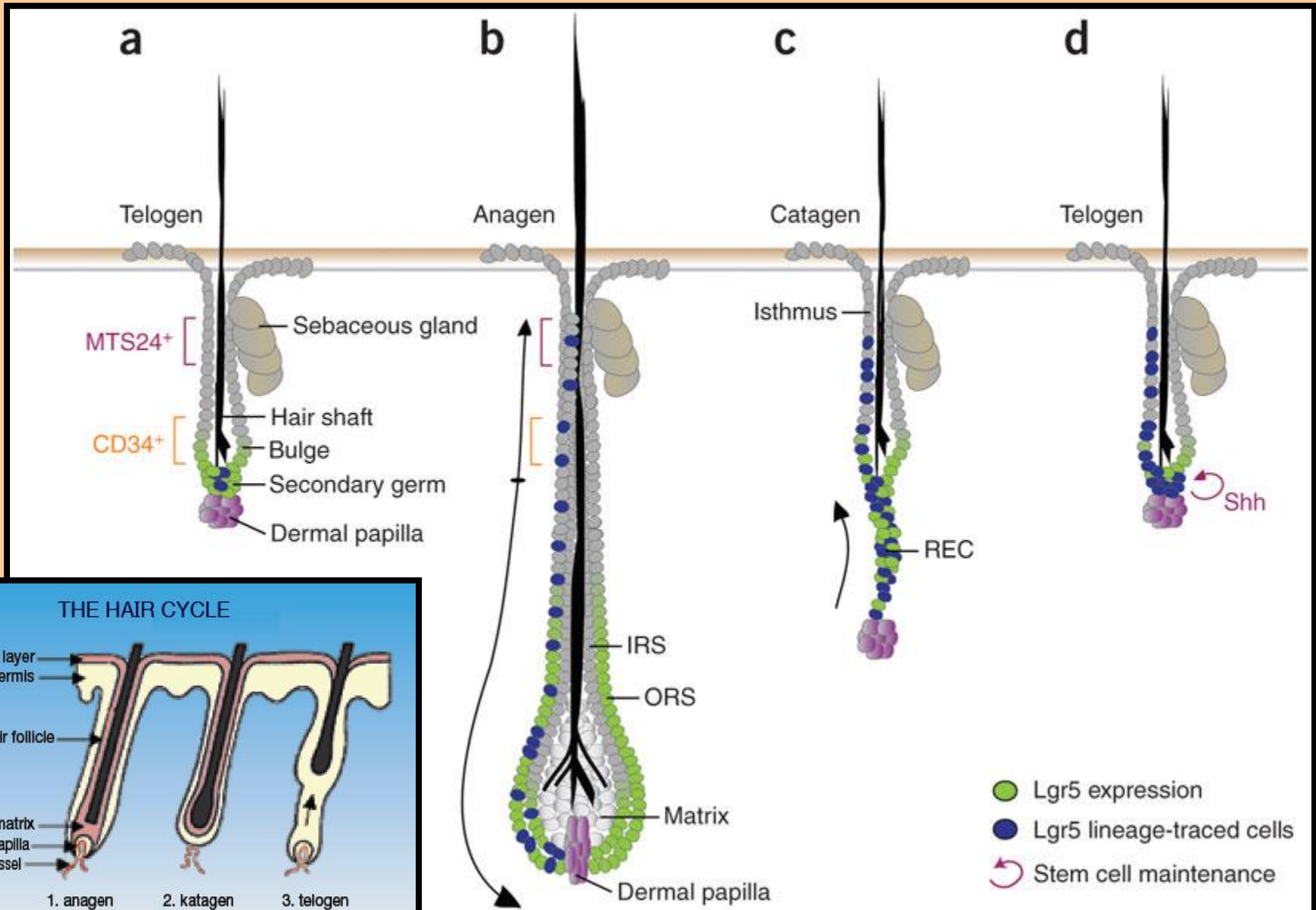
- V blízkosti dermální papily (DP)
- V zduřenine (bulbu -B) vlasové pochvy



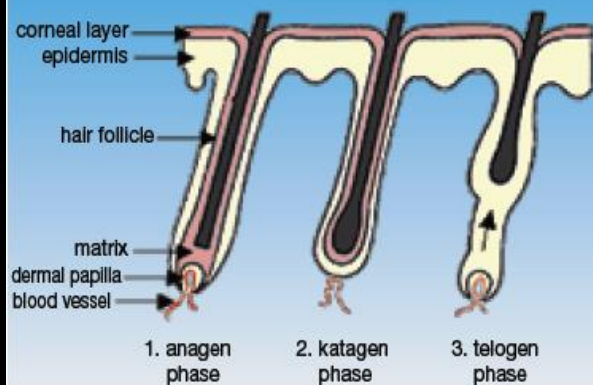
Sec Grm – sekundární zárodečné (kmenové) buňky

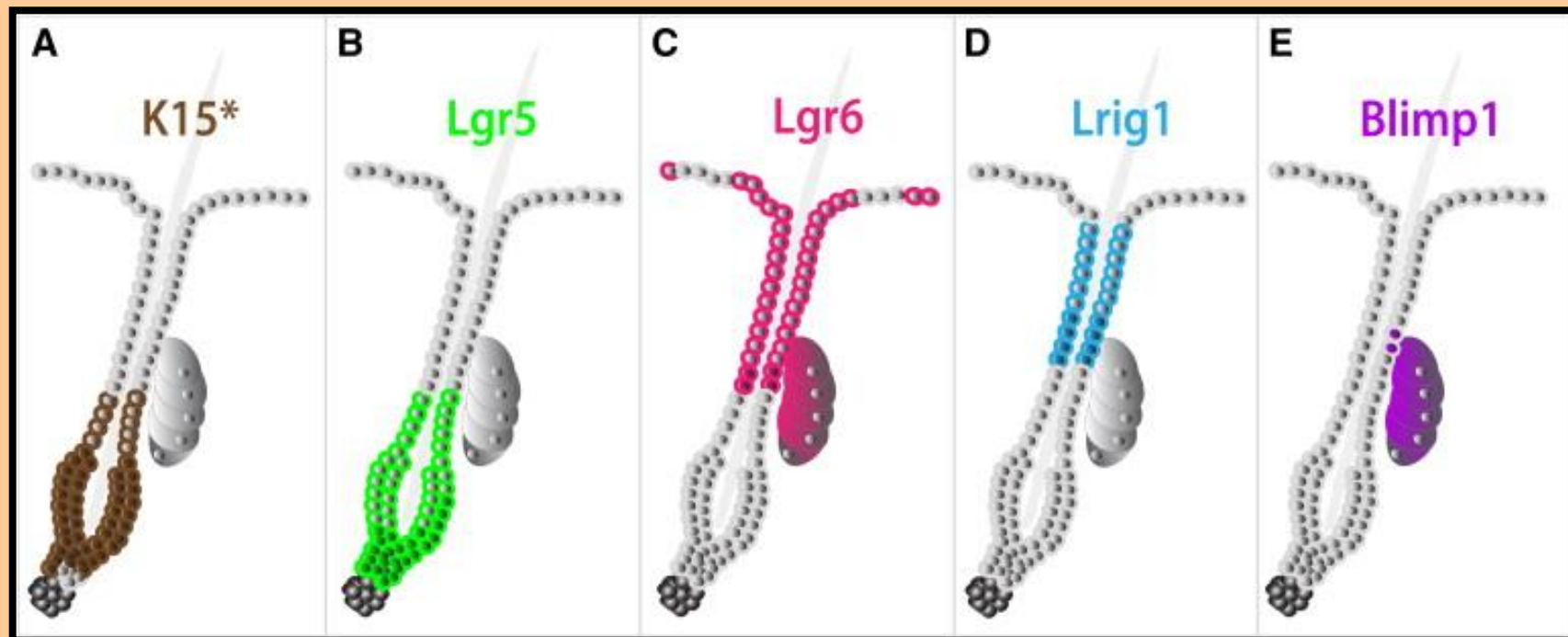
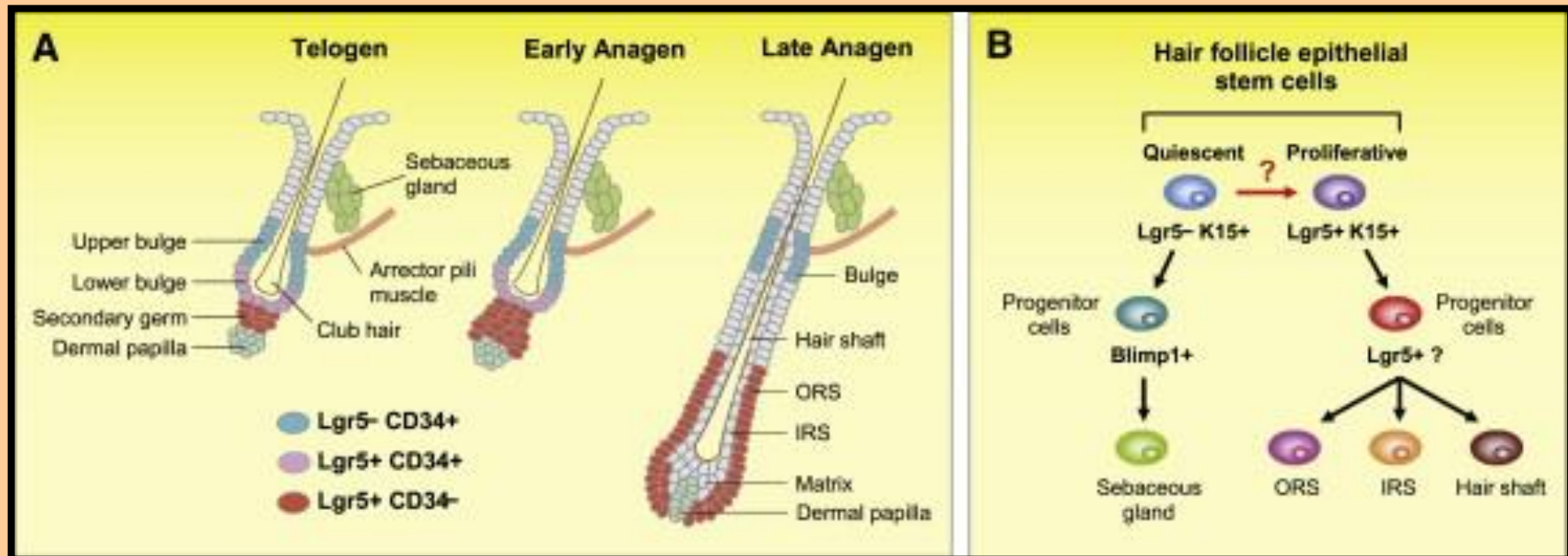
Lgr5 pozitivní buňky jako proliferující kmenové buňky epidermis

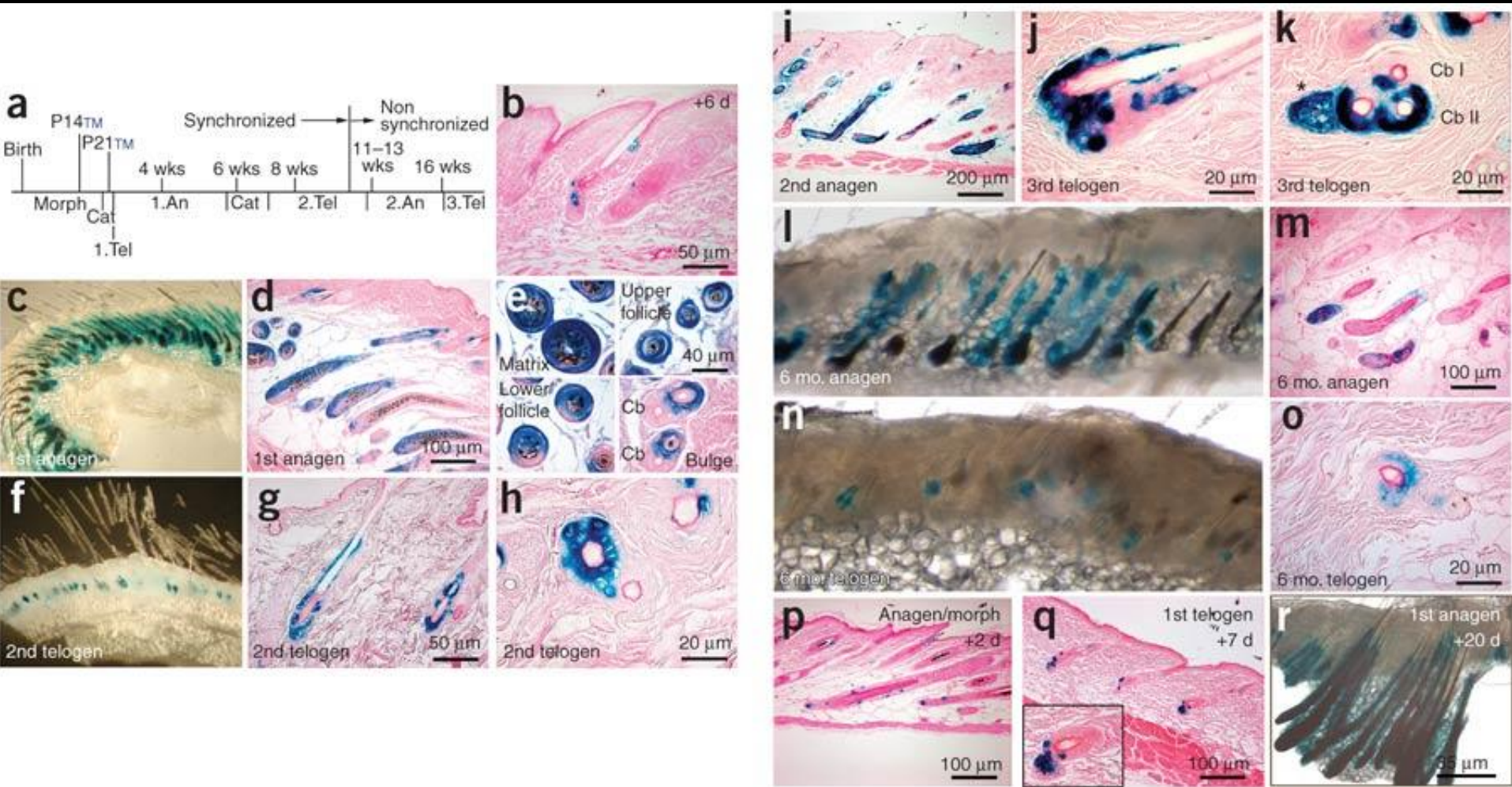
Jaks V., et al., Nature Genetics



THE HAIR CYCLE







(a) To trace the progeny of *Lgr5*⁺ cells, *Lgr5-EGFP-Ires-CreERT2/ROSA26-LacZ* mice were injected with tamoxifen (TM) at P21, when hair follicles are in telogen. (b) LacZ staining of the initial labeled cells at P27. (c–h) Analysis of LacZ-staining progeny at P37 (c–e) and P56 (f–h) revealed contributions to all parts of the hair follicles below the sebaceous gland, as assessed in longitudinal (d,g) and transverse (e,h) sections of hair follicles. c,f show whole-mount pictures of LacZ-stained skin. (i–k) Progeny of *Lgr5*⁺ cells were present in the ORS of hair follicles at 13 weeks of age (i) and in the bulge area of the second club hair at 16 weeks (j, longitudinal section; k, transverse section). (l–o) Competence of *Lgr5*⁺ cells for self-renewal is indicated by the presence of LacZ-stained progeny in anagen and telogen hair follicles of 6-month-old mice. Shown are whole-mount images (l,m) and longitudinal (n) and transverse (o) sections. (p–r) Progeny of anagen *Lgr5*⁺ cells localized outside of the bulge area in mice injected with tamoxifen at P14. Initial labeling of hair follicles at P16 (p) contributes to the bulge of the hair follicle in the following telogen at P21 (q) and the first anagen at P34 (r). Morph, morphogenesis; An, anagen; Cat, catagen; Tel, telogen. Cb, club hair; *, nonspecific LacZ staining of the sebaceous gland.

Plíce

PLICNÍ EPITEL

(u hlodavců se kompletně obmění ~ po 100 dnech)

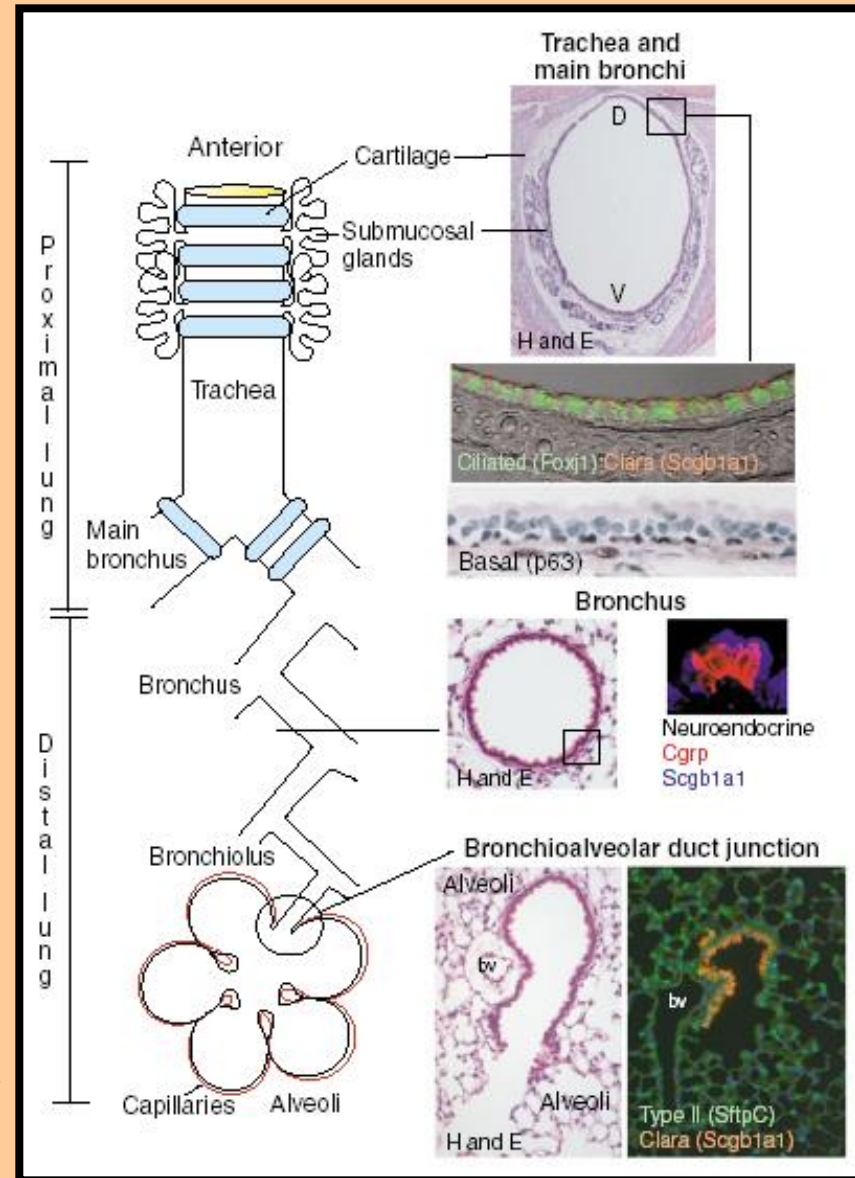
Proximální část plic

(trachea a velké průdušnice/bronchy)

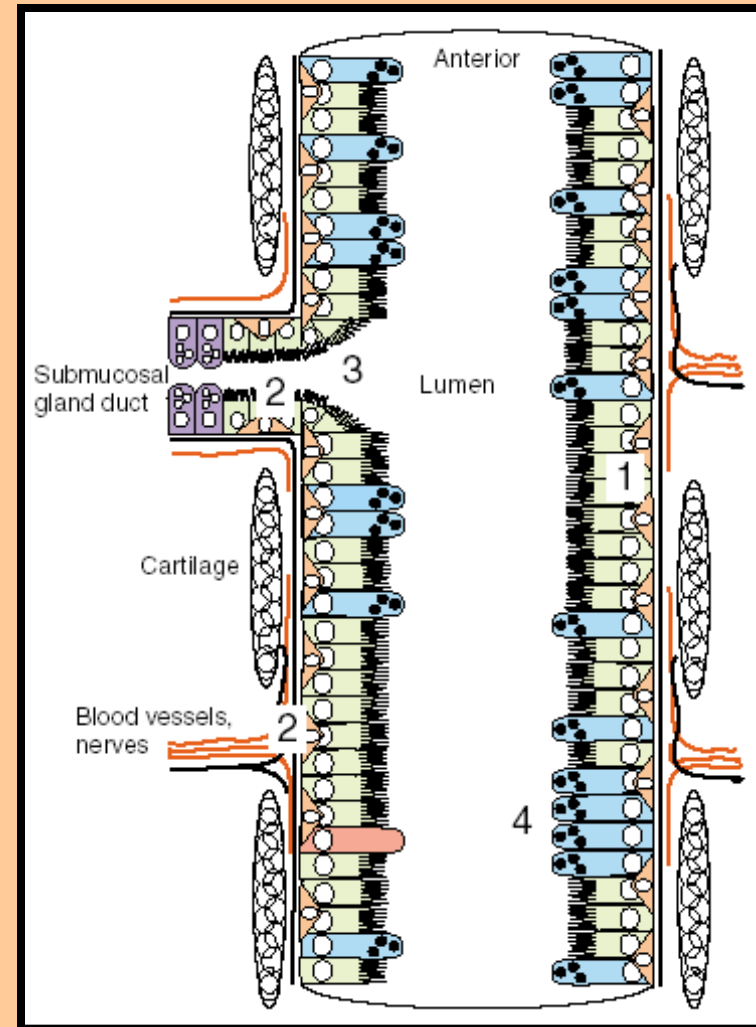
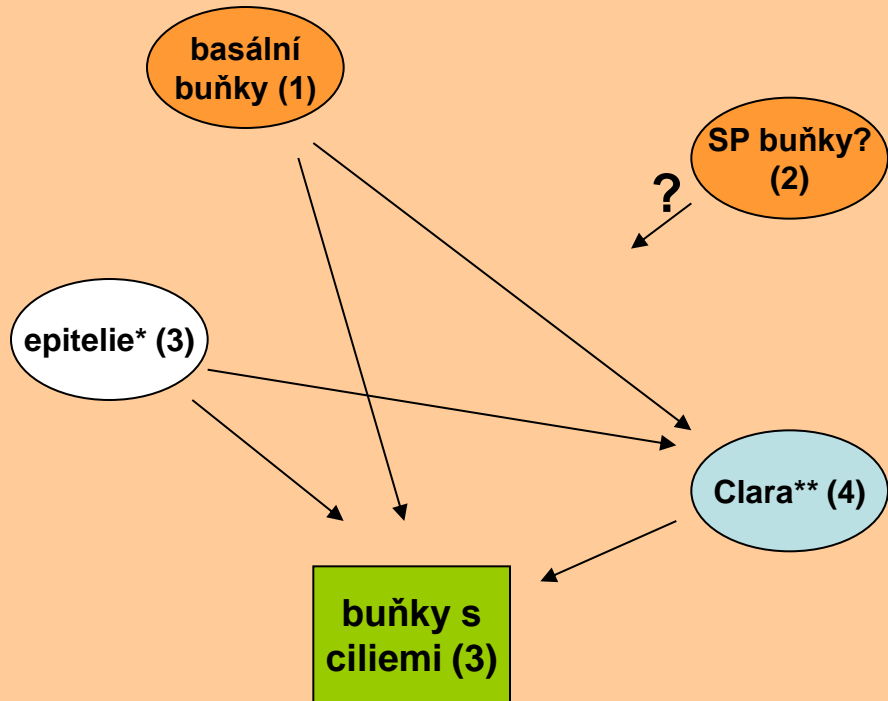
- epiteliální buňky s ciliemi (Foxj1+)
- Clara a buňky podobné Clara buňkám (Scgb1a1 – sekretoglobin/uteroglobin+)
- bazální buňky (p63+)
- neuroendokrinní buňky

Distální část plic (průdušky, průdušinky a alveoli)

- epiteliální buňky s ciliemi (Foxj1+)
- Clara buňky (Scgb1a1+)
- varianta Clara buněk - Clara^v
- neuroendokrinní buňky, tvořící neuroendokrinní tělíška (NEBs, exprimují od calcitoninu odvozený peptid – Cgrp+)
- buňky typu I a II v alveolech – pneumocyty (AT1, AT2). Typ II produkuje proteinové surfaktanty, typ I těsně přiléhá ke kapilárám
- bronchoalveolární kmenové buňky (BASCs)



Opravné mechanismy v proximální části plic

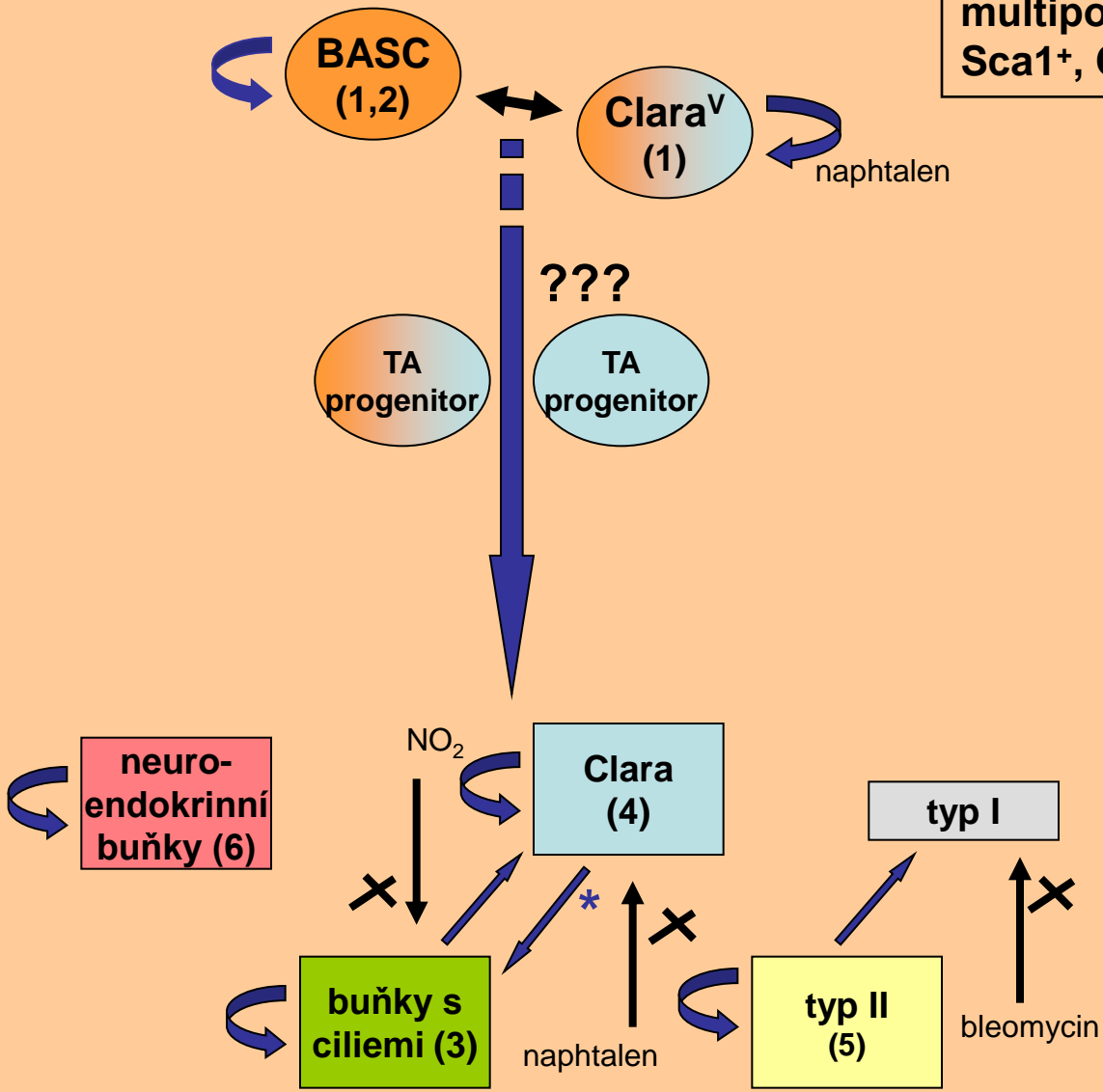


* epiteliální buňky submukózních žlaz, mohou regenerovat epitel průdušnic

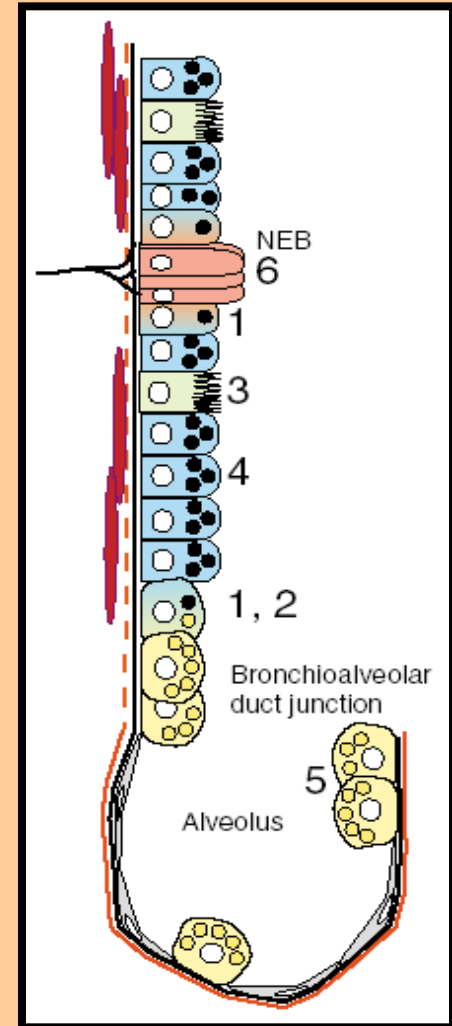
** nahrazují buňky s ciliemi po poškození oxidanty

Opravné mechanismy v distální části plic

multipotentí **BASCs** mají fenotyp $Sca1^+$, $CD34^+$, $CD45^-$, $Sftpc/Scgb1a1^+$



*umí to všechny Clara buňky ?!



Poškození plic – identifikace kmenových buněk

bleomycin

zničí AT1 pneumocyty → populace obnovena diferenciací AT2

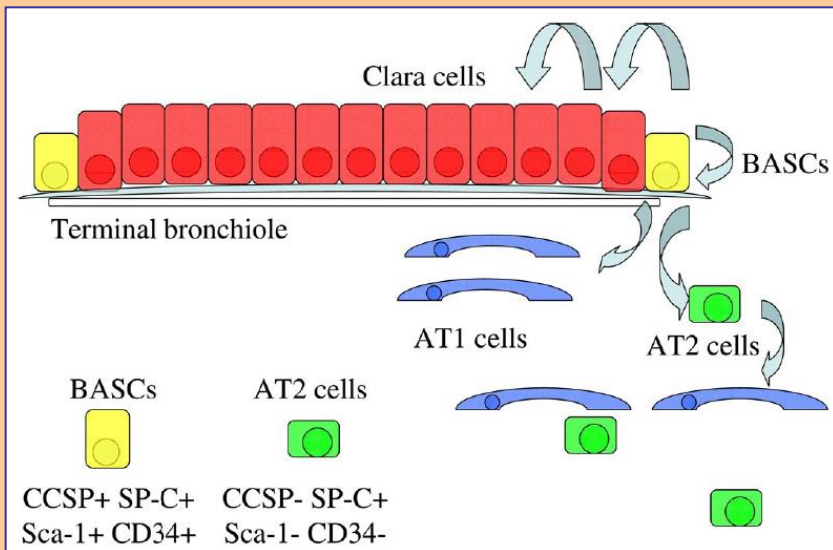
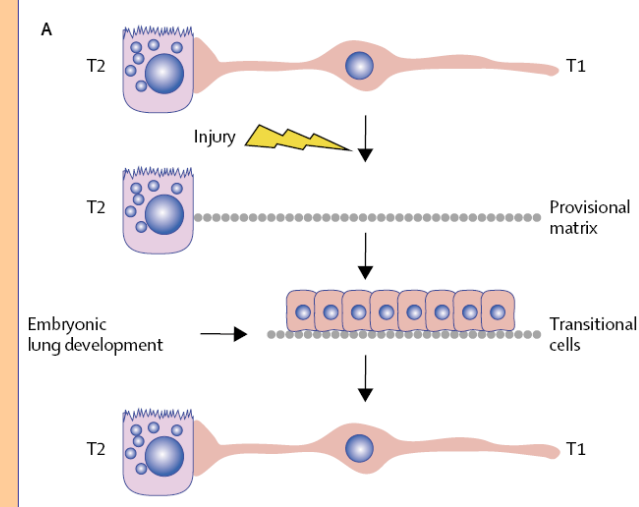
naftalen

- specificky ničí Clara buňky

- existuje populace naftalen-rezistentních Clara-like buněk (CCSP^{poz})

• v neuroepiteliálních tělískách (NEB) – obnoví populaci Clara i endokrinních buněk → kmenové v Clara buňky → progenitorová PNECs (pulmonary neuroendocrine cells)

• na rozmezí bronchiol a alveolů (BADJ) – nejen CCSP^{poz}, ale i SP-C^{poz}; schopny obnovit populaci Clara buněk, AT2 i AT1 pneumocytů v alveolách a terminálních bronchiolách



BASCs (bronchioalveolar stem cells)

• CCSP^{poz}/SP-C^{poz} a taky Sca-1^{poz}/CD34^{poz}

• FACS → na Matrigel → in vitro diferenciacie v Clara buňky i AT1 a AT2 pneumocyty