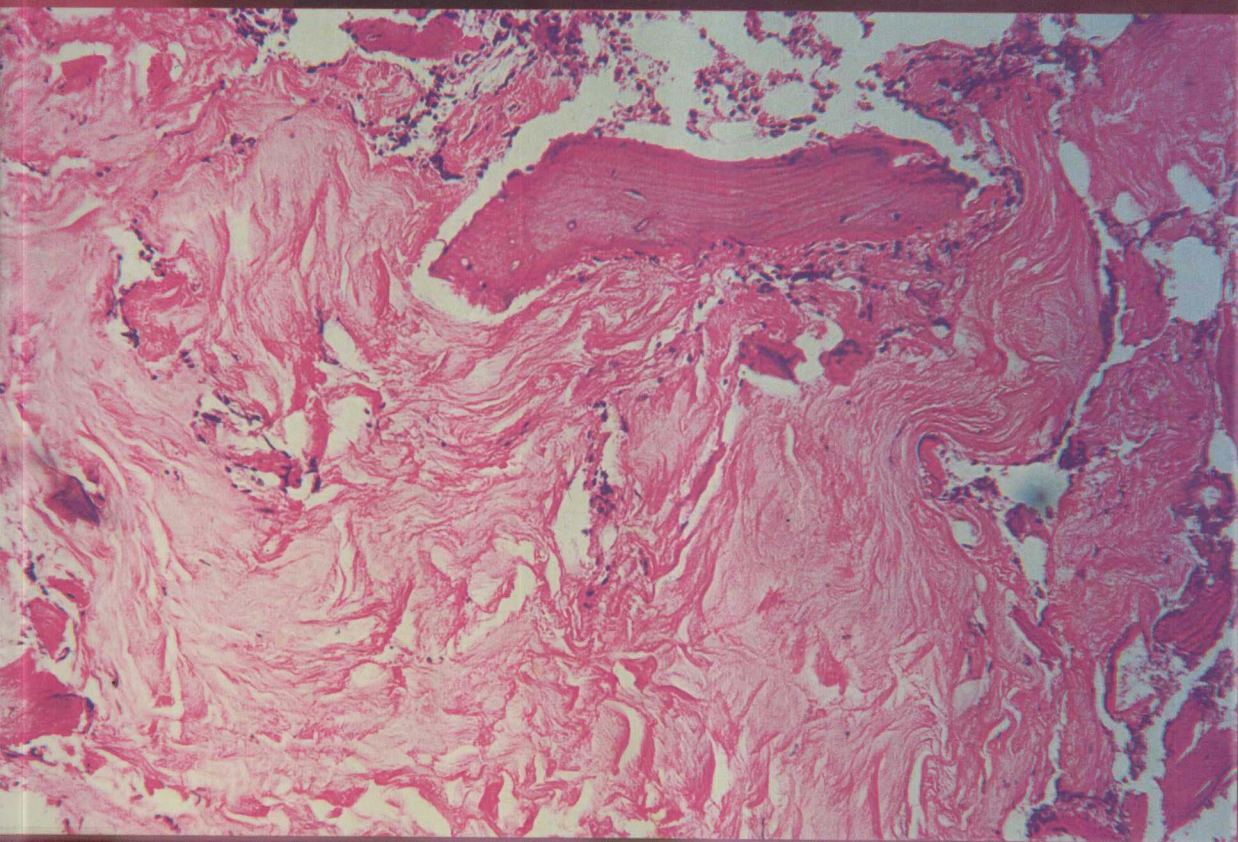


编著：陈 莉 孔庆尧

病理临床与进展



第二军医大学出版社



病理临床与进展

(病理选修)

陈莉 孔庆亮 编著



第二军医大学出版社

内 容 提 要

本书共 20 章,其内容侧重于病理分子生物学的进展,介绍病理学科前沿的发展趋势、新发现疾病的病理基础、基因诊断的方法和最新动态。我们希望本书能对大家的工作、学习有所帮助和启发,在学科交叉点上寻找突破,扬长避短,以超越为目标,探索新的临床与病理研究的方向和途径。

图书在版编目(CIP)数据

病理临床与进展/陈 莉,孔庆充编著. —上海:第二军医大学出版社,2000.12
ISBN 7-81060-127-X

I. 病… II. ①陈…②孔… III. 病理学研究 IV. R36

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 74861 号

病理临床与进展

编 著:陈 莉 孔庆充

责任编辑:孙立杰

第二军医大学出版社出版发行

(上海市翔殷路 818 号 邮政编码:200433)

全国各地新华书店销售

徐州医学院印刷厂印刷

开本:787 mm×1092 mm 1/16 印张:11 字数:275 200

2000 年 12 月第 1 版 2000 年 12 月第 1 次印刷

ISBN 7-81060-127-X/R·082

定价:19.80 元

前 言

近年来,由于免疫学和分子生物学的迅速发展,不断充实、扩大和丰富了病理学的内容,使得病理学发展日新月异,先进技术不断涌现,创新成果层出不穷。临床病理研究也随着免疫学和分子生物学的渗透不断深入,从细胞、亚细胞水平发展到分子、原子水平。为了适时地介绍病理学的新进展、反映病理学研究的新动态、提供新信息,值此世纪之交,我们出版了《病理临床与进展》,以供医学本科生、研究生及相关专业人员学习、参考。希望这本书能对大家的工作、学习有所帮助和启发,在学科交叉点上寻找突破,扬长避短,以超越为目标,探索新的临床与病理研究的方向和实现的途径。

病理学是我们共同的语言,不断地获取病理知识以提高人类认识疾病的能力是我们共同的理想。我们盼望着能与同道们一起讨论工作中的设想与教训,分享成功与经验。由于知识结构与业务水平有限,我们十分欢迎大家对本书的内容提出问题和意见,并诚恳地接受批评与建议。

在本书的编写过程中,得到徐州医学院和南通医学院领导和有关部门的大力支持和帮助;徐州医学院学报编辑部罗杰主任和孙立杰编辑给予了诸多帮助;此外,徐州医学院刘慧老师和南通医学院王桂兰等老师参与了部分章节的编写工作,在此一并表示感谢。

编 者

2000年12月

目 录

第一章 细胞凋亡	(1)
第一节 凋亡概念.....	(1)
第二节 凋亡的形态特征.....	(1)
第三节 凋亡发生的机制.....	(3)
第四节 凋亡与坏死.....	(4)
第五节 凋亡与增生、萎缩	(5)
第六节 凋亡与炎症.....	(6)
第七节 凋亡与肿瘤.....	(6)
第八节 凋亡与其他疾病.....	(9)
第九节 凋亡检测	(10)
第十节 凋亡的生物学意义	(11)
第十一节 存在的问题与展望	(12)
第二章 端粒酶与肿瘤	(13)
第一节 人类染色体端粒及端粒酶	(13)
第二节 死亡期细胞假说与细胞永生性	(14)
第三节 端粒酶与肿瘤发生	(14)
第四节 端粒酶与肿瘤抑制基因	(16)
第五节 端粒酶的检测方法	(16)
第六节 端粒酶与肿瘤治疗	(17)
第七节 研究中存在的问题	(18)
第三章 细胞周期素	(19)
第一节 概述	(19)
第二节 G_1 期细胞周期素	(19)
第三节 M 期细胞周期素	(21)
第四节 CDK	(21)
第五节 CKI	(22)
第六节 细胞周期素与 DNA 损伤、凋亡	(23)
第七节 细胞周期素与原癌基因	(23)
第八节 细胞周期素与肿瘤	(23)
第四章 肿瘤的侵袭、转移机制	(25)
第一节 瘤细胞同质型粘附下降	(25)
第二节 瘤细胞异质型粘附增强	(26)
第三节 细胞外基质降解	(30)
第四节 肿瘤细胞运动性增强	(31)
第五节 肿瘤组织新生血管的形成	(32)

第六节	逃避免疫系统的识别与清除	(32)
第七节	转移过程中的信号转导	(33)
第八节	肿瘤转移的基因调控	(33)
第五章	肿瘤血管形成	(36)
第一节	与肿瘤血管形成有关的因子	(36)
第二节	肿瘤血管形态	(37)
第三节	肿瘤血管血流动力学	(37)
第四节	肿瘤血管形成与复发及转移	(38)
第五节	抑制血管形成在抗癌治疗中的作用	(39)
第六节	展望	(40)
第六章	鼻咽癌	(43)
第一节	对 NPC 的认识与分型	(43)
第二节	鼻咽癌的形态发生	(44)
第三节	鼻咽癌的间质反应	(45)
第四节	鼻咽癌的有关病因	(45)
第五节	鼻咽癌中的癌基因、抑癌基因	(47)
第六节	鼻咽癌间质中血管	(49)
第七节	鼻咽癌的扩散	(51)
第七章	肺癌病理组织学研究进展	(53)
第一节	肺癌的组织发生	(53)
第二节	肺癌组织学类型	(53)
第三节	肺癌的超微结构及免疫组化表达	(56)
第八章	胃癌基因	(57)
第一节	胃癌的基因改变	(57)
第二节	生长因子和细胞分裂	(58)
第三节	抑制基因和细胞粘附分子	(58)
第四节	基因不稳定	(59)
第五节	胃癌转移相关基因	(59)
第六节	分子诊断	(59)
第九章	胃炎的分类与分级	(61)
第一节	胃炎分类和悉尼系统	(61)
第二节	临床病理检查	(62)
第三节	慢性胃炎	(63)
第四节	急性胃炎	(67)
第五节	特殊形式的胃炎	(68)
第六节	感染性胃炎	(69)
第七节	血管性胃病	(70)
第八节	胃炎的病理报告	(70)
第九节	预后指征	(71)
第十章	胃粘膜相关淋巴组织淋巴瘤	(74)

第一节	概述	(74)
第二节	形态学特征	(74)
第三节	生物学行为	(75)
第四节	HP 感染与胃 MALT 淋巴瘤	(75)
第十一章	胃肠道类癌	(77)
第一节	类癌概况	(77)
第二节	类癌的临床表现	(77)
第三节	类癌神经内分泌产物	(79)
第四节	类癌免疫组化标记物	(80)
第五节	类癌发生机制及其癌基因、抑癌基因	(82)
第十二章	胃肠间质瘤	(84)
第一节	胃肠道间叶细胞及其肿瘤	(84)
第二节	胃肠间质瘤临床病理特征	(84)
第三节	胃肠间质瘤类型与良恶性	(86)
第十三章	丙型肝炎	(88)
第一节	流行病学	(88)
第二节	HCV 基因组结构、功能及变异	(89)
第三节	HCV 发病机制	(91)
第四节	HCV 感染的过程	(92)
第五节	急、慢性 HCV 感染病理	(93)
第六节	HCV 与其他肝炎病毒的合并感染	(97)
第七节	诊断	(98)
第十四章	乳腺癌	(102)
第一节	雌、孕激素受体	(102)
第二节	肿瘤增生指数	(103)
第三节	染色体倍体数与 S 期片段	(103)
第四节	生长因子和受体	(103)
第五节	肿瘤抑制基因	(105)
第六节	肿瘤与宿主相互作用因子	(106)
第七节	抗药性	(108)
第八节	乳腺癌易感基因 BRCA	(108)
第十五章	脑肿瘤	(110)
第一节	脑肿瘤概述	(110)
第二节	弥漫型星形细胞瘤	(111)
第三节	胶质母细胞瘤	(115)
第四节	少突胶质细胞瘤	(117)
第五节	室管膜瘤	(117)
第六节	脉络丛乳头状瘤	(118)
第七节	松果体瘤	(119)
第八节	神经细胞性肿瘤	(119)

第九节	髓母细胞瘤、髓上皮瘤、原始神经外胚瘤	(123)
第十节	脑膜瘤	(124)
第十六章	前列腺癌	(128)
第一节	概述	(128)
第二节	前列腺癌病理	(129)
第三节	前列腺癌的分级与分期	(131)
第四节	分子生物学研究进展	(133)
第十七章	间变性大细胞性淋巴瘤	(135)
第一节	概述	(135)
第二节	病理特征	(135)
第十八章	淋巴结病变	(138)
第一节	淋巴结结构和免疫反应	(138)
第二节	淋巴结病理改变类型	(141)
第十九章	艾滋病	(150)
第一节	艾滋病概述	(150)
第二节	艾滋病病理	(153)
第二十章	免疫组织化学	(158)
第一节	免疫组化技术	(158)
第二节	免疫组化染色的质量保证	(164)
第三节	免疫组化染色的说明与缺陷	(166)
(99)		
(80)		
(101)		
(101)		
(103)		
(103)		
(103)		
(102)		
(106)		
(108)		
(108)		
(110)		
(110)		
(111)		
(112)		
(112)		
(117)		
(117)		
(118)		
(119)		
(119)		

第一章 细胞凋亡

细胞死亡是组织病理学的中心议题,是由于遭受缺氧、病毒感染或某些毒素的损害而导致的关键性终结点。同时,细胞死亡现象也是生命新陈代谢的固有本质。例如胚胎发育(embryonic development)、正常组织更新(normal tissue turnover)以及在增殖淋巴细胞群体中选择适当的克隆(selection of appropriate clones)等,这种细胞生理性死亡是种系发育史中早就存在的,有利于动物发育中的许多生命功能。

那么,采用什么样的标准可以比较在不同情况下、不同类型的细胞死亡呢?形态学作出一个标准是可能的。1972年 Keer 根据细胞发生了与坏死(necrosis)完全不一样的死亡过程而提出了细胞凋亡(apoptosis)的概念。坏死与凋亡这两个术语均起源于希腊语。坏死只是意味着死亡,同一词根来源的词汇有尸体解剖(necropsy);凋亡(apoptosis 中的 apo 为脱落,ptosis 为飘零)意味着落下(falling off)或丢掉(falling away),好像秋天落下的树叶,头上掉下的头发。

凋亡一词于 1972 年开始使用,但由于检测技术的限制,这种细胞现象只停留在形态学的描述上,因此长期以来有关凋亡的研究,一直未被病理工作者重视。80 年代末,随着细胞生物学、分子生物学等科学理论的发展,凋亡的检测技术也有了很大的发展,生物学家逐渐认识到细胞凋亡的特殊生物学意义,由此形成了新的医学研究热点,促进了细胞凋亡理论在生物医学领域的广泛应用。

第一节 凋亡概念

细胞凋亡是细胞主动死亡的过程,具有特征性的形态和生化改变,是由基因控制的个别细胞发生的自主有序的死亡。因其是由基因控制的有目的、有选择性的自我消亡过程,因此这种淘汰机制是保证生命进化的基础。

有些学者将细胞凋亡一词等同于程序性细胞死亡(programmed cell death),但因为这些课题还正在探索中,现在要说明它们之间的异同还太勉强。我倾向性地认为:凋亡是个形态学的概念,描述的是一套与坏死不同的形态学特征;而程序性细胞死亡可能是功能上的概念,指细胞内特点共同的程序性表达介导的细胞死亡。细胞凋亡和程序性死亡具有非常密切的关系。大多数情况下程序性细胞死亡是以凋亡的方式进行,但并不是所有程序性死亡都采取凋亡的方式。凋亡只是程序性死亡的特殊方式,如烟草蛾节间肌肉细胞、哺乳动物某些神经元和红细胞,它们的程序性死亡是以非凋亡的方式进行,有时由外源性理化因子刺激诱发的细胞死亡,形态上似凋亡,但并不是由细胞内原装程序所引发,也不能称为程序性细胞死亡。

第二节 凋亡的形态特征

一、特殊结构缺失

凋亡细胞丧失了特殊的表面结构(如微绒毛等)和接触区,形成光滑的轮廓,从周围活细胞

中分离出来。

二、细胞缩小

①胞质中细胞器集中(squeeze);②胞膜出芽或起泡(bleb);③细胞皱缩(shrinkage)。

三、保持胞质内细胞器的完整性

扫描电镜下,细胞表面呈奇特火山口样外观。胞质内细胞器表现为:①线粒体不肿胀,内膜不破裂;②短暂时性滑面内质网(SER)扩张,扩张间隙与细胞表面融合;③有时有聚积排列的半结晶状核糖体;④可有与细胞表面平行的微丝束。

四、形成凋亡小体

由凋亡细胞裂解为若干个由质膜包绕的小体,每个凋亡小体(apoptotic bodies)有自己的一簇细胞器。周围不引起炎症反应。

五、核内染色质结构改变

这是最引人注意的改变。染色质(chromatin)凝集于核膜下表现为:①核质固缩(condensation);②边集(margination);③核浆紧实(compaction);④核膜皱折(fold)。在透射电镜下,染色质浓缩在一起呈颗粒状、半月形蘑菇状或为完整的念珠形;核孔集中于少数区域,浓缩的染色质并不贴附在核膜上;转录复合物(transcriptional complexes)从核仁中脱落到核浆中呈一簇嗜酸小体。残留的核仁蛋白核心移到周围染色质特征性部位。核扭曲、断裂呈若干片段,所有片段开始时均有质膜包绕。

六、凋亡细胞、凋亡小体被识别与吞噬

凋亡细胞或凋亡小体迅速被邻近的实质细胞(同类细胞)或吞噬细胞(不同类细胞)识别,被噬于吞噬细胞体内形成吞噬体(phagosome),所以凋亡小体最常见于细胞大的异吞噬体(heterophagosomes)中,进一步变性,形成溶酶体残留小体(lysosomal residual bodies)。偶尔,凋亡小体逃避被吞噬,如凋亡的导管上皮可以掉入导管腔中,这种凋亡小体最终变性,丧失其密度、膜断裂。细胞凋亡被吞噬后留下的空隙由周围细胞填充,不留痕迹。

【几点说明】

1.形态学改变告诉我们,凋亡细胞发生早期细胞体积缩小(<50%)、密度增加、胞质中细胞器保留完整,说明细胞是有选择性地丧失了H₂O和电解质,而较致密的结构成分得以保留下来。这种水分的迅速输出可能是在内质网中进行,使之在与细胞表面融合前呈短暂时性扩张。

2.细胞质、细胞核冒泡的机制还不十分清楚,Fesus发现在这个时相中,转谷氨酰胺酶(transglutaminase)活性可在受损细胞中检测到。转谷氨酰胺酶是交联蛋白酶,能使蛋白质成为不溶解的、具有高度化学上变质的一种化学剂,在凋亡细胞膜下构成一层由转谷氨酰胺酶化的蛋白质僵硬壳,这就很容易引起某些细胞的形态改变,并与凋亡细胞体积缩小和不溶解性有关。

3.凋亡细胞、凋亡小体被邻近特殊吞噬细胞或其他细胞识别与吞噬,需要一种特殊的非免疫性识别机制。最近研究显示,人体巨噬细胞通过玻璃样连接素受体(macrophage vitronectin receptor)与凋亡的中性粒细胞或其他凋亡细胞相连接。巨噬细胞玻璃样连接素是整合素家族(integrin family)的一个成员,以前认为是细胞粘附分子(cell adhesion molecule)。至于受体识别凋亡细胞表面后发生连接的性质还有待于进一步研究。

除了巨噬细胞可吞噬凋亡细胞外,上皮细胞、肿瘤细胞也有这一功能。最近发现,吞噬细胞上至少有三类

受体,凋亡细胞上出现有相应的凋亡标记,介导两者的相互应答反应。

①凋亡细胞细胞膜结构改变,表面糖蛋白失去唾液酸侧键,使原来处于隐蔽状态的单糖暴露出来,与吞噬细胞表面的植物凝集素结合被吞噬。

②细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸翻露到细胞外,被吞噬细胞表面相应的受体识别、吞噬。

③吞噬细胞可以分泌一种物质即血栓连接素(thrombospondin)。该物质为细胞外基质成分,血栓连接素存在于血小板、巨噬细胞、内皮细胞、成纤维细胞中,可粘附纤维连接蛋白(FN)、纤维蛋白原和糖蛋白。

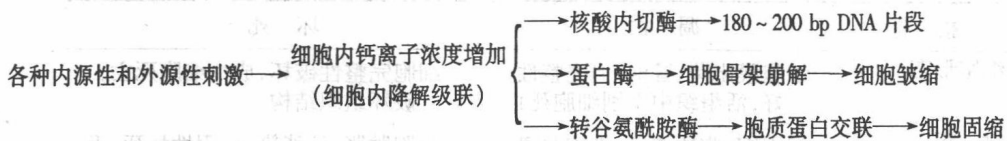
④介导多种细胞的相互作用或细胞表面的蛋白多糖、硫酸脂等受体也可与凋亡小体表面的相应成分结合而将之吞噬。

4. 定时电动摄像研究发现,凋亡发生开始得很突然,受致死刺激后不久,被攻击的细胞突然皱缩、冒泡并凋亡,这时期仅仅持续数分钟,然后产生皱缩的凋亡小体。凋亡小体一旦形成,停留在组织中被辨认出来的时间约4~9h,这段时间与巨噬细胞在体内吞噬大生物结构到完全被降解的时间相符。由于这一过程很短,因此在组织切片中,所见到的凋亡小体即便是少量的增加,也可能隐藏着较大的细胞丧失率。例如,在历经3d、细胞数目已丧失一半的萎缩组织中,在光镜下见到的凋亡小体数还不到细胞总数的5%。凋亡发生迅速,在几小时内即完成其过程中的2个主要阶段:细胞死亡阶段(dying process)和细胞被清除阶段(elimination process)。凋亡细胞迅速被吞噬,其空隙由周围细胞来填充,因此不留痕迹。凋亡小体的完整膜使之缺乏炎症反应。

5. 尽管凋亡对细胞死亡来说是非常有意义的生物行为,但至今为止,仍有许多含糊不清之处。含糊不清的概念,其后果是凋亡表现在不同组织中有不同的名称,如:①着色体的巨噬细胞(tingible body macrophages)在淋巴滤泡生发中心中存在的含有凋亡淋巴细胞的巨噬细胞;②civattebodies 在银屑病时所见到的凋亡性角化细胞;③councilman bodies 凋亡的肝细胞等。

第三节 凋亡发生的机制

主要通过受体介导的信号途径(receptor-mediated cellular signalling pathways)诱导细胞凋亡因子或刺激因素通过第二信使系统传递信号,信号传递途径决定了细胞的命运。



一、核酸内切酶

核酸内切酶(endonuclease)的活化将DNA在核小体间连接区(internucleosomal linkage region)切成缺口(nick),使核内DNA断成片段,而胞质DNA保留完好。DNA断点都是规律性地发生于核小体之间,因此出现180~200bp及其倍数的DNA片段。

二、组织转谷氨酰胺酶

组织转谷氨酰胺酶(tissue transglutaminase, TTG)活化后催化εL-谷氨酰赖氨酸交联形成僵硬而不溶性蛋白,在老化与终末分化的角化上皮中TTG活化形成包鞘蛋白(involucrin),这些蛋白可以网络住细胞内细胞器等内容物,使其不易溢出。

三、钙依赖蛋白酶

钙依赖蛋白酶(calcium-dependent proteinase)活化后破坏细胞骨架结构,形成细胞表面泡

状突起。如果阻断胞质内钙离子浓度增加可以抑制凋亡发生,增加胞质内钙离子浓度可以促进凋亡。抗衰老中利用前者原理,肿瘤治疗中利用后者原理。

所谓自发性(spontaneous)凋亡的发生,是组织内区域对各种致畸物(teratogens)、异物生物素(xenobiotics)十分敏感,这也是细胞衰老的特征,是对许多损伤性刺激的极度脆弱性。所以,在生化水平上凋亡细胞可以发生一系列基因表达和蛋白合成。

第四节 凋亡与坏死

细胞凋亡与细胞坏死是截然不同的过程与生物现象,在形态学、生化代谢、分子机制、结局和意义等方面都有本质区别。坏死常常是由于严重紊乱了细胞外环境条件所致,并伴有不可控制的细胞肿胀和破裂,细胞坏死首先是膜通透性的增加,渗透性、细胞外形发生不规则变化,内质网扩张,核染色质不规则移位,进而线粒体和细胞核肿胀,溶酶体破坏,细胞膜破裂,胞质外溢,周围引起炎症反应,形态上表现为核固缩、碎裂、溶解。坏死的细胞内 ATP 和蛋白的合成受抑与终止,常显示出被杀的特点,多为成组细胞同步发生。

凋亡细胞的特征如前所述,细胞收缩变圆并与周围细胞脱离,失去表面结构,胞质浓缩,内质网扩张与膜融合,线粒体无明显变化,核染色质密度增加并凝聚于核膜下,核仁裂解,进而细胞膜内陷将细胞自行分割为多个具有膜包裹的凋亡小体。这种细胞死亡过程不发生溶酶体、线粒体及细胞膜破裂,没有细胞内含物的外泄,故不引起炎症反应,不影响局部微环境和周围组织的次级损伤;凋亡时 ATP、某些 mRNA 和蛋白质的合成仍在进行,细胞第二信使系统仍能活动。发生凋亡的细胞有蛋白质和 RNA 合成的功能,有某些特殊基因的表现,显示主动自杀性特点。

表 1-1 从形态学方面比较了凋亡与坏死间的主要鉴别要点。

表 1-1 凋亡与坏死主要鉴别

指 标	凋 亡	坏 死
细胞形态	细胞膜出芽、冒泡,但完整性好,活组织中个别细胞死亡	细胞完整性破坏,成片细胞死亡,破坏组织结构
过 程	核固缩,胞质浓染,细胞脱离。形成凋亡小体	细胞肿胀,核淡染,凝固性坏死,无膜性小体
细胞器	细胞器未遭破坏,胞质浓缩	细胞器肿胀、溶解
染色质	染色质致密,凝集或边集浓染	染色质疏松变性、粗糙
染料排斥试验	开始被排斥	染料掺入(膜破坏或通透性↑)
DNA 破坏机制	核酸内切酶作用核酸 DNA,裂解为 200 bp 或其倍数片段(核孔裂开)	随机降解,弥漫性 ATP 膜损伤,氧自由基损伤
结 局	凋亡小体可被同种或异种细胞识别吞噬	吞噬细胞吞噬细胞碎片、溶解
组织反应	不引起炎症反应,迅速退化,无整个组织瓦解,不诱发组织的再生与修复,细胞生长增殖→凋亡	引起炎症反应,继发性组织损伤,诱发组织再生与修复,形成瘢痕,坏死→补偿性增生→细胞增殖

第五节 凋亡与增生、萎缩

人体的发生发展有赖于细胞周期的正常运行,有赖于细胞增殖、分化与死亡的平衡。因此,细胞凋亡与生长、分化同样重要,是生命的基本特征。凋亡细胞离开有丝分裂周期运行的轨道转向死亡,调控细胞周期突变会直接干扰细胞周期的正常运行而诱发疾病。

一、细胞周期

细胞周期是定量的、有序的。

1. 不稳定型细胞 有连续不断的周期。干细胞(stem cell)经过分化的不同阶段,细胞激活与增殖4~6d为细胞凋亡抵抗期,以后快速转入细胞凋亡,在快速增殖的细胞内有凋亡分子。

2. 固定型细胞 是终末细胞。离开了细胞周期,不分裂增生。

3. 稳定型细胞 是静止细胞。受刺激后从 $G_0 \rightarrow G_1$,进入细胞周期。

在静止细胞和终末期细胞中诱导细胞凋亡是困难的,因为细胞内不出现凋亡分子,所以细胞凋亡分子不会在所有的细胞类型和内环境稳定的条件下出现。当细胞中DNA损伤时,可以激活凋亡基因(如野生型p53)来抑制依赖细胞周期激酶(CDKs,该酶使细胞从 G_1 期进入S期),使进入增殖周期的细胞停留在 $G_1 \rightarrow S$ 期之间,允许细胞修复DNA以避免突变。如果损伤严重时,细胞则走向凋亡。

二、细胞因子

细胞因子(cytokine)是由多种细胞合成和释放的,是有生物活性的蛋白和多肽的统称。主要有5类:①生长因子(growth factors);②克隆刺激因子(colony stimulating factors);③白细胞介素(interleukins);④肿瘤坏死因子(tumor necrosis factors, TNF);⑤干扰素(interferons, IFN)。

细胞因子的作用方式有3种,通过信号转导与细胞因子受体结合而产生效应。一旦细胞因子释放减少或信号转导及受体障碍,就会引起效应细胞的凋亡发生。如前列腺、肾上腺皮质在嗜该器官激素减少后(由于手术或药物的作用),哺乳后的乳腺的生理萎缩与退化,结扎主导管后腮腺的萎缩等,部分由上皮细胞凋亡而介导。当然,萎缩还累及到细胞间质的丧失和残留活细胞体积的缩小,这些改变虽然与凋亡相互协调,却与凋亡截然不同。在部分生理性萎缩与退化中有凋亡机制参与,凋亡在正常周期性刺激的上皮(包括人体子宫内膜表皮等)细胞更新中与核分裂相平衡。在有些情况下凋亡明显表现为对某些细胞具有选择性,如睾丸经放射或暴露于放射性药物后,精原细胞选择性死亡,而间质细胞却保留(使性功能、性特征保留,但生育能力降低)。转化生长因子 β (TGF- β)具有抑制上皮细胞增殖、促进凋亡的作用。如:肝部分切除后肝细胞的再生中,成熟的肝细胞仅0.5%~1.0%的细胞经过DNA复制,属于稳定型细胞,在肝切除后12hDNA合成增加,1~2d达到高峰,12d后恢复正常。在细胞生长开始时,总是伴随有特异性的序列性的原癌基因(proto-oncogenes:c-fos-c-myc-c-mas)表达,这些基因涉及细胞增生。肝细胞增生到一定程度,最终由间质细胞产生的TGF- β 来抑制其增生以维持器官的适当大小。

已知有40多个基因产物参与细胞周期的调控,其中cdc2(p34)和细胞周期素(cyclin)为主要调控基因:cdc2(p34)调控 G_1/S 期或 G_2/M 期;cyclin D、cyclin E调控 G_1 期;cyclin A调控S期;

cyclin B 调控 G_2/M 期。在细胞周期进程及各个时相转化中由多个检查点(check point)调节,其中尤以 G_1/S 期调节最为关键,因为 G_1/S 检查点可以决定细胞是继续增殖还是进入 G_0 期或永久离开细胞周期进入终末期或死亡。

第六节 凋亡与炎症

炎症的基本病变中,渗出是最重要的,没有渗出就不称为炎症。炎症时,从血管渗出的中性粒细胞在病灶中完成抗炎功能后,不能重回血管,需要启动细胞凋亡机制,使炎症终止。

创面修复中的肉芽组织、成纤维细胞的增生与胶原分泌,以及随后成纤维细胞转变为纤维细胞和瘢痕的形成,凋亡机制也可能参与其中。

经研究,自身免疫性疾病和病毒感染中的自身反应性 T、B 细胞以及某些病毒感染细胞、细胞毒性靶细胞和一些肿瘤细胞,是通过凋亡的方式来清除与消退的。

淋巴细胞发育成熟过程中,约有 95% 的细胞发生凋亡。T 细胞抗原受体(TCR)基因发生重排时,TCR 基因某一连接点上发生等位基因无意义突变,不能产生或产生不正确的 TCR 分子,细胞即走向凋亡。即使产生正确的 TCR 分子,细胞还必须经过进一步的严格选择机制,可能导致自身免疫性疾病的细胞凋亡,这就是胸腺的阴性选择机制。B 细胞的发育过程与 T 细胞相似,编码免疫球蛋白的基因片段要经过基因重排,才能在细胞表面产生独特的个体型免疫球蛋白的受体。如果发生错误重组,表面免疫球蛋白就不能正常表达。发育成熟的 B 淋巴细胞表达表面免疫球蛋白在抗原的刺激下引起克隆消除,从而把可能引起自身反应的 B 细胞清除掉,这就是 B 细胞的阴性选择机制。成熟的白细胞的寿命以天计算,死一批,生一批,互相交替,非常严格有序,若细胞凋亡障碍,只生不死,就会产生白细胞堆积而发生白细胞增生症。对自身抗原反应的细胞该死亡的没有死亡,还会发生自身免疫性疾病。在病毒性肝炎中,由于机体对病毒发生免疫反应,而引起肝细胞的凋亡,表现为嗜酸性小体的形成,甚至肝细胞碎屑状坏死中也有凋亡机制的作用。

第七节 凋亡与肿瘤

肿瘤研究工作从本世纪初即已开始。多年来,人们的着眼点是研究肿瘤细胞如何获得异常的增生能力,如何受遗传、环境等因素的影响以及细胞生长失调最终导致肿瘤发生,人们一直在试图阐明细胞是如何接受异常增殖信号而使其无限增殖的。80 年代初,一些实验使人们误认为单个细胞癌基因的激活即可使细胞癌变。90 年代,有关肿瘤形成和癌变多基因、多阶段学说的形成,使人们逐渐认识到肿瘤形成除癌基因激活外,还伴有一个或多个抑癌基因功能的丧失。而凋亡理论的研究无疑对肿瘤研究产生了重大的影响,并使人们对肿瘤发生机制的认识有了一个观念上的更新:肿瘤形成不仅是瘤细胞的过度增生,还存在死亡过少、凋亡机制障碍,细胞凋亡参与肿瘤起始过程并对其发生负调控作用。

目前对肿瘤的认识为:①肿瘤发生发展是一个复杂、多基因、多阶段的过程;②原癌基因的激活和抑癌基因失活;③细胞增殖率升高,细胞凋亡低下。

一、凋亡对肿瘤的影响

细胞增生与凋亡之间可表现下列 3 种情况:①细胞增生 $\uparrow\uparrow$, 凋亡 \downarrow ; ②细胞增生 \uparrow , 凋亡

变化不显著;③细胞增生↑↑,凋亡↑,增生>凋亡。

增加凋亡能干预肿瘤的发生与发展,许多肿瘤凋亡指数(apoptotic index, AI)与肿瘤进展、预后有关。①在基底细胞癌中(basal cell carcinoma),就癌细胞异型性和分化程度来说应为高度恶性的肿瘤,但其生物学行为表现为低度恶性,仅为局部浸润而很少转移。研究发现,该肿瘤中细胞凋亡明显,这对降低肿瘤浸润与转移有一定关系。②乳腺作为激素控制的靶器官,乳腺细胞凋亡受激素控制,细胞凋亡调控异常是乳腺癌发生的原因之一。雌激素受体(ER)或孕激素受体(PR)(+)的乳腺癌经抗雌激素治疗,或采用卵巢切除去势疗法能使癌细胞发生凋亡。bcl-2(B cell lymphoma/leukemia 2)阳性乳腺癌产生耐药的主要机制是抑制化疗药物阿霉素诱发细胞凋亡的作用。③前列腺癌是男性常见肿瘤,随着前列腺特异性抗原(prostatic specific antigen)的应用,新发现的前列腺癌急剧增多。雄激素依赖型前列腺癌(androgen dependent prostatic carcinoma, ADPC) bcl-2(-)时,性腺切除、雄激素拮抗剂的治疗有效,其机制是对雄激素敏感的癌细胞在缺乏雄激素后凋亡。雄激素非依赖型前列腺癌(androgen independent prostatic carcinoma, AIPC) bcl-2(+)时,上述治疗效果差。转移性前列腺癌70%患者只有短暂疗效,3年内复发转变为AIPC。新近研究发现,抗寄生虫药“苏拉明(suramin)”可诱导AIPC中癌细胞凋亡。④膀胱癌也是一种常见肿瘤,复发率高,10%~25%发生浸润,预后差。研究结果显示,正常移行上皮分化为I级、II级的膀胱癌 bcl-2表达明显低于III级膀胱癌,提示 bcl-2可能在肿瘤进展和转移中起一定作用。⑤Reeve对肺癌进行的研究发现:小细胞肺癌以 bcl-2、bcl-XL表达为主,而非小细胞肺癌以 bcl-XL为主, bcl-1 基因家族表达的失衡对肺癌细胞凋亡有重要作用。总之,增加癌细胞的凋亡能干扰肿瘤的生物学过程。

二、肿瘤细胞凋亡与基因调控

根据调控基因功能分为促进细胞凋亡基因和抑制细胞凋亡基因两大类,这两类基因相互作用决定细胞的生死命运。

促进细胞凋亡基因 (自杀基因(suicidal gene)、 凋亡蛋白、凋亡基因)	{	细胞增殖抑制基因(p35、p53、Rb、DOC(与粘附分子类似基因)、 WT1(wimamls tumor type-1)、DAD1等) 细胞凋亡促进基因(APO-1/Fas、TGF-β、SP2、Bax、c-rel)
---	---	--

抑制细胞凋亡基因 (生长基因、抗凋亡基因)	{	促进细胞增殖基因(c-myc、c-eld 1、ras、v-src) 抑制细胞凋亡基因(bcl-2、E1B、LMW-5-HL、C-Kit、bcl-XL)
--------------------------	---	--

三、凋亡相关基因

凋亡相关基因有3类:①细胞凋亡过程中表达的基因,多数为抑癌基因;②促细胞凋亡基因,多数为抑癌基因;③抑制细胞凋亡基因,多数为癌基因。

癌基因是指细胞或病毒中存在的,能潜在诱导正常细胞转化,具有高度进化保守性和重要的生理功能,参与胚胎发育、分化、增殖和细胞分化调控的基因。目前已知的癌基因达100多个,癌基因在染色体上定位点达60多个。癌基因的表达产物不一定具有转化活性,所以并非所有的癌基因均有致癌性。癌基因包括:逆转录病毒基因、病毒癌基因(V-onc)、RNA病毒癌基因及DNA病毒癌基因,共20多种。细胞癌基因(C-onc)在正常细胞中呈非激活状态——原癌基因(proto-onc),多于60种。实际中,原癌基因是指一类编码关键性调控蛋白的正常细

胞基因,参与细胞生长与代谢,促进和调节细胞增殖与分化,同时它又是化学、物理和其他致癌因素在体内、细胞内的作用靶点。原癌基因转化为癌基因的过程称为原癌基因激活,激活过程是通过基因重排、异位、缺失、突变、扩增、过度表达等途径来完成。

抑癌基因是对细胞增殖分化起负调节作用的基因,这些基因直接或间接地抑制细胞增生、癌变、浸润与转移,当其缺失、失活、变异时就可以促使细胞恶性转化。由于抑癌基因的存在与表达,使机体不能形成肿瘤。目前已确定有 12 个抑癌基因,估计会增加到 50 个以上,其中 p53、Rb、p16、p15、nm23 研究较多。

1. Fas 也称为 APO-1(CD95),是 1989 年两家实验室同时发现在细胞株表面介导凋亡的蛋白分子。属于肿瘤坏死因子受体(TNFR)和神经生长因子受体(NGFR)家族,相对分子质量 45 000,细胞膜抗原,能抑制肿瘤细胞增殖,诱导凋亡。许多耐药与复发的肿瘤中 CD95 和 FasL 突变,尤其在淋巴瘤、白血病和肠癌患者中常有 Fas 的表达,对预后有一定影响。FasL 为 T 细胞上 Fas 的天然配基(ligand),FasL 与表达 Fas 的细胞结合即导致后者走向凋亡。

2. p53 对 p53 的认识分 3 个阶段:在 80 年代初一经发现就认为是一种肿瘤基因,后来发现主要表现在癌中所以称为癌基因,经过相当一段时间后,随着对凋亡研究的深入,1989 年才证明 p53 为抑癌基因(肿瘤基因→癌基因→抑癌基因)。正常细胞内存在的野生型 p53 对细胞增殖有抑制作用。研究发现,细胞在转化过程中表达 p53 有 3 种情况:①无变化;②细胞停滞在 G₁ 期;③细胞凋亡。

p53 使细胞停滞在 G₁ 期的机制可能是由于 p53 反式激活了 WAF1 基因,该基因产物 p21 是依赖细胞周期蛋白激酶(cyclin-dependent kinase, CDKs)的抑制物,CDKs 是细胞从 G₁ 进入 S 期所必需的。细胞停滞在 G₁ 期,允许细胞修复损伤的 DNA,防止突变,如果细胞损伤严重,则走向死亡。p53 也可以激活 bad 基因,引起细胞凋亡。



p53 在细胞生长过程中以一种分子警察(molecular police)的身份监控细胞内 DNA 的状态,防止突变或受损的 DNA 复制与转录,以维护基因的纯洁性,保证细胞按正常周期生长,被誉为基因卫士或分子警察。p53 基因突变时,使突变细胞增殖,肿瘤形成。消化道上皮因最易受到食物中所含致癌物质的影响而受损或恶变,为维持正常功能,上皮每 3~5 d 更新一次,主要以凋亡方式进行,凋亡过程中常有抑癌基因(p53, Rb 等)激活和表达。因此,一旦消化道发生肿瘤,常伴有癌基因表达,包括突变型 p53 基因、Rb 基因、DCC(deleted in colorectal carcinoma)基因、FAP(家族性息肉病)基因、MCC(mutated in colorectal carcinoma)基因和 nm23 转移抑制基因等。

3. bcl-2 为原癌基因胞质膜蛋白,在正常细胞的激活和发育中表达。在成熟和衰老细胞中不表达或低表达,bcl-2 的主要作用并非加速细胞分裂增殖,而是抑制细胞凋亡,延长细胞生存。在 B 细胞淋巴瘤中 bcl-2 的过度表达,可能是其发病的重要原因。现在已经发现 bcl-2 既是抗凋亡基因,又是一种新型的耐药基因,bcl-2 基因家族中有些基因产物有相反的作用,如 bad 基因使细胞凋亡。同一基因家族的成员具有两种截然不同的功能,尚有待进一步研究。滤泡性淋巴瘤中常见 bcl-2 表达,Leoncini 等研究 50 例非霍奇金(何杰金)淋巴瘤发现 bcl-2 的表达与 Ki-67、细胞增殖核抗原(PCNA)等细胞增殖指数呈非线性相关,认为细胞凋亡

减少是淋巴瘤发生的重要原因。

4. *c-myc* 是调控细胞周期的主要基因,具有促进癌细胞增殖与促进癌细胞凋亡的双重作用。当某些抑癌因素(抗癌因子、低浓度血清、抑制细胞周期因子)存在时,*c-myc* 蛋白促进细胞凋亡;当有致癌因素存在时,*c-myc* 蛋白促进癌细胞增殖。

5. 其他基因 ①死亡基因:*ced3*、*ced4*;②吞噬基因:参与凋亡细胞吞噬,并非导致细胞死亡,如 *ced1*、*ced2*、*ced6*、*ced7*、*ced8*;③核酶基因:*nmc-1*

四、凋亡与肿瘤治疗

肿瘤的疗效判定应考虑到:①是否经过治疗后发生凋亡,这是肿瘤化疗效果好坏的关键之一;②增加凋亡指数与增生指数(*proliferation index*, *PI*)的比值(*AI/PI*)已成为新的治疗目标;③能否同时诱导细胞凋亡已成为筛选抗癌药物的新标准;④诱导细胞凋亡的治疗将是对肿瘤治疗方法的重要补充与革新。如肿瘤化疗中大多数抗癌药物为拓扑异构酶、烷化剂、抗代谢剂、激素拮抗剂等,可在不同肿瘤中诱导凋亡。肿瘤放疗中,有关放疗机制的最新研究就是放射引起的细胞凋亡,中、小剂量可增加细胞凋亡而不引起坏死(坏死对组织损害较大)。

随着对细胞凋亡的深入研究,提出了一些导入凋亡机制治疗方法,将为肿瘤的治疗开辟新的途径。目前治疗肿瘤的新设想是在肿瘤治疗中诱导凋亡。

①导入野生型 *p53* 抑制肿瘤增生。

②下调突变型 *p53*、*bcl-2* 的活性与表达,减弱其对细胞凋亡的抑制。

③抑癌基因引入瘤细胞,降低致瘤性,使肿瘤细胞逆转为正常细胞。

④引入某些细胞因子,抑制肿瘤恶性表型,使细胞丧失致瘤性。

⑤应用点突变技术,使异常表达癌基因失活或修复突变基因。

⑥导入药物敏感基因,有助于细胞凋亡。

第八节 凋亡与其他疾病

细胞凋亡与人类许多疾病相关,主要有下列两大类:

一、细胞凋亡异常增加相关疾病

①神经系统退行性变:老年性痴呆、色素性视网膜炎、帕金森综合征等;②骨髓发育不良综合征(恶性贫血);③缺血性损伤:心肌梗死、缺血缺氧性脑病、肾小球肾炎等;④肝病变:病毒性肝炎和酒精性肝炎等;⑤艾滋病(AIDS)。

二、细胞凋亡过度减少相关疾病

①自身免疫性疾病:系统性红斑狼疮(SLE)、肾小球肾炎(GN)等;②肿瘤:激素依赖性肿瘤(乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌)、造血系统肿瘤(淋巴瘤、白血病)等;③各种病毒感染:腺病毒、疱疹病毒、水痘病毒等。