

細胞在机体外的生活

С. Я. 查爾庚德著

科學出版社

細胞在機體外的生活

C. Я. 查爾庚德 著

鄒恩洛 王士平 譯

細胞在機體外的生活

C. Я. 查爾庚德 著

鄒恩洛 王士平 譯

楊 亨 利 校

*

科學出版社出版 (北京朝陽門大街 117 號)

北京市書刊出版業營業許可證出字第 061 號

上海啓智印刷廠印刷 新華書店總經售

*

1957年12月第 一 版

1957年12月第一次印刷

(滬)0001--1,476

書號: 0981 字數: 82,000

開本: 850×1168 1/32

印張: 3 5/16

定價: (10) 0.65 元

目 錄

緒論.....	1
機體外培養細胞的基本原理.....	9
培養動物組織的基本試驗方法.....	18
機體內組織培養.....	23
培養植物組織.....	28
離體細胞生活着.....	31
培養物的生長類型.....	42
培養中組織的特化.....	55
培養中組織的相互關係.....	58
培養物的生理學特化.....	63
組織培養和再生問題.....	68
什麼調節着機體外生活的細胞.....	73
生活條件對於機體外生活的細胞的影響.....	82
組織培養中的防禦性現象.....	85
機體外的癌瘤細胞.....	93
總結.....	101

緒 論

顯微鏡爲我們揭示出機體結構的特殊複雜性。我們看到機體是由億萬個大小不同的和形態不同的細胞所組成。除去細胞以外，機體內還含有大量非細胞結構：細胞之間的無定形膠狀基質，或者通過細胞間的纖維束和原纖維束，或者含無數細胞核而無細胞界限的巨大原生質塊——所謂共質體。

這些非細胞結構在機體的生活起着很大的作用。有充分理由說像骨組織那樣重要的組織的特性，就是取決於它的非細胞基質的結構與化學成分。

假如想起細胞的差別，首先是根據它們所執行的，最後確定它們一切形狀多樣化的機能性質，那麼我們將體會到甚至像原始動物機體的結構是複雜到什麼程度了。

並且我們全部的知識都證明，身體生活着就像是一個調節極好的統一整體，身體內擔任一定機能的各個最小部分，在它們機能進行過程中，都表現出和整個機體的生命活動過程有着顯明的協調性。

其次，我們清楚地了解，什麼在調節和協調機體的這些部分——器官，組織，細胞，細胞間結構和非細胞結構的活動。蘇聯偉大生理學家 И. П. 巴甫洛夫和他的學生的工作指出了，神經系統在這方面占有首要地位，特別是神經系統的高級部分，所謂皮層部分。極細的神經纖維貫穿着整個機體，達到了離腦最遠的部位。可以毫不過分的說：沒有任何一個細胞，任何一部分細胞間質不是在神經系統直接的和經常的控制之下。連續不斷的信號沿着神經纖維傳向中樞神經系統，這些信號不僅傳達着外界環境的全部影響，甚至是最不明顯的影響，而且也傳達着機體內細胞的、細胞總

體的、以及非細胞結構的最微小的變化。而且在從中樞神經系統到器官、組織和細胞的相反方向上，傳送着那些調節作用與特殊的“命令”，這些作用與“命令”實際上決定整個機體的生活。

神經系統的這些調節作用不僅限於一種直接沿神經纖維傳導的興奮。神經系統還借助於化學的、也就是體液的影響來發揮自己的作用，這種化學的影響是通過血管系統和淋巴系統而實現的。機體的組織液（血液和淋巴）沿整個身體循環，最後和每個細胞接觸。可以認為，任何一個器官，一種組織，以及每個細胞總要排出一些物質到周圍環境內，也總要從其中吸取一些物質，而這種不斷的化學代謝作用，物質的吸收和排出，結果又建立起一個使機體各部分互相聯系和互相作用的途徑。同時很肯定的是：神經系統對於這些液體成分發生直接的影響，並且必須去討論同組織液一起循環的，對機體各部分的生活發生影響的神經體液因素。

最後，由於細胞原生質突直接的聯系，使許多細胞以及許多細胞羣聯接起來，成為形態學上統一的、共同生活和動作的總體。直接的聯系不僅存在於各個細胞之間，而且也存在於機能上緊密相互作用的不同的組織之間。例如，可以在顯微鏡下看到外皮組織（上皮組織）細胞的突進入下方的結締組織之內，好像把兩種組織緊密“縫合”成為一個整體。必須強調指出，在方才討論的兩種聯系形式上、主導作用還是屬於神經系統，神經系統的調節作用採取了對細胞和組織發生影響的新的間接的方式。

然而中樞神經系統的活動不僅限於發生在機體內聯系各個部分成為一個整體的調節過程。神經系統另一最重要的機能也有很大的意義，就是實現機體與外界環境的聯系。事實上外界環境對機體所發生的影響，絕大多數是借感覺器官與相當的神經中樞而實現的，也只有借這些通路才能達到機體每一深層的部位。反之，也正是中樞神經系統保證了機體以及機體各個部分對這些外界影響的反應。因此神經系統的活動具有適應的意義，建立機體對外

界環境影響最細緻最完善的反應方式，保障機體與環境最良好的相互關係。

因而機體各部分活動的高度一致性是決無疑問的。然而因此就發生了一個特別重要的問題，如果機體各個單獨部分脫離了整體的調節與指導的影響，在這種情況下，這些孤立的各別部分究竟有怎樣的可能性？它們的命運如何？

這個充滿深奧理論的問題，像常常發生的巨大科學問題一樣，也有着很大的實際意義。在醫學面前常出現的任務是修補損傷了的部位，把組織從一處移植到另一處，甚至從一個人體移植到另一個人體上，最後，要去研究我們在惡性腫瘤發生時所見到的，好像並不順從任何規律的那些難以抑制的、雜亂生長物的特性。

可以舉出許多例子來說明，機體的一部分在一定條件下不但不死，而且有時重建成一個完整的機體，或是機體的個別部分。這種所謂再生能力廣泛存在於某些種類的動物中間。我們把一個片蛭橫切成幾段。每一段都將繼續運動着、生活着，經過一段時間就會完全再生，就是變成一個整體，雖然動物在體積上是縮小了。此時不去討論所觀察的複雜經過，我們必須說此時無疑地顯示出機體一部分的很大程度的獨立性。

十九世紀後葉發展起來的生物學的部門——實驗胚胎學，給予無數關於這種獨立性的例子。發現極大多數動物的卵是能被調節的，就是當一個或幾個細胞從胚胎裏選出時，特別是在早期發育階段，它們會生成一個完整的機體。並且，在某些情況下，這樣最初的胚胎部分可以是很小的。例如，從搗碎了的海胆卵的 $1/16$ 就會發育成一個正常的海胆胚胎。然而，可以說此處具有完全特殊的條件，決不可把未分化的胚胎和各部分已經嚴格特化的成年機體相提並論。

但是在成年機體上也能發現它的各部分獨立生活和生長的表現。大家早已熟知的事實就說明了這種現象，例如屍體上毛髮和



安得列·亞歷山大羅維奇·庫里亞布科在自己的實驗室裏

指甲的生長。實際上，機體的死亡(停止呼吸和血液循環)並不等於它所有的組織和細胞全都死亡了。反之，機體的許多細胞和組織在若干小時內還是活的，並且還有各種生命表現的能力。例如衆所周知的，人或動物死後很久，呼吸道顫毛上皮的纖毛還在繼續

運動。

自然發生了一種企圖，要把具有高級結構的動物的整個器官，而不是胚胎部分，從機體裏取出和保全充分長久時間。在這特別重要的生物學領域內，蘇聯學者的功績是偉大的。

1902年托姆斯克的生理學家，安得列·亞歷山大羅維奇·庫里亞布科(Андрей Александрович Кулябко)進行了使他名滿世界的試驗。他使摘自死犬的心臟復活了幾小時。庫里亞布科讓營養液通過心臟，迫使它進行收縮，此時心臟的動作是有節奏的，而且是如此強而有力，可以用普通記錄心臟活動的儀器畫成曲綫(圖1)。庫里亞布科研究的繼承者之一是軍醫學院 Н. П. 克拉夫科夫(Н. П. Кравков)教授，他廣泛應用了離體器官的方法(他最常使用的是離體的死人手指和兔耳)，解決許多關於研究藥物對機體影響的藥理學上的問題(圖2)。克拉夫科夫在離體器官上查明瞭許多重要問題，特別是發現某些藥物的優越效能，

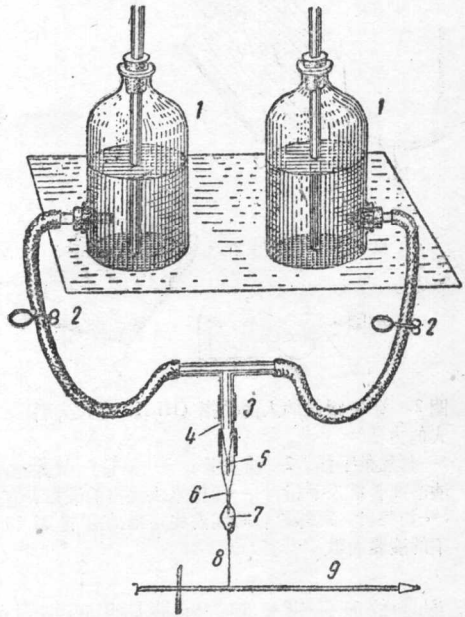


圖1. 研究蛙離體心臟的儀器

1—裝有營養液的玻璃瓶，2—橡皮管和管夾，3—具有液體流出口(4)的橡皮環，5—玻璃管，6—插入心室(7)的插管，8—連接輕槓桿(9)和心臟帶小鉤的線，把心臟的收縮(力量和週率)描記到記紋鼓上

這種裝置上有一定的壓力，心臟和橡皮管孔間的液體柱的壓力相等，保證心臟活動最良好的條件

甚至極微量的溶液，若干公升水內含有為數不多的分子就可發生

作用。在良好條件下離體器官的生命可以延長幾個星期。假如一點也沒有遠見的話，就很難估計到引導我們實現人類朝夕盼望的理想——使死人復活——這一研究方向的重要意義，這些研究工作的意義對於現代醫學是特別重要的。

還有一些其他事實，證明機體死亡以後，許多單獨的組織長久維持着生活能力。譬如，我們已經提過的呼吸道顫毛上皮纖毛的活動，當組織從機體取下或機體死亡以後，在溫血動物能延續到三晝夜，冷

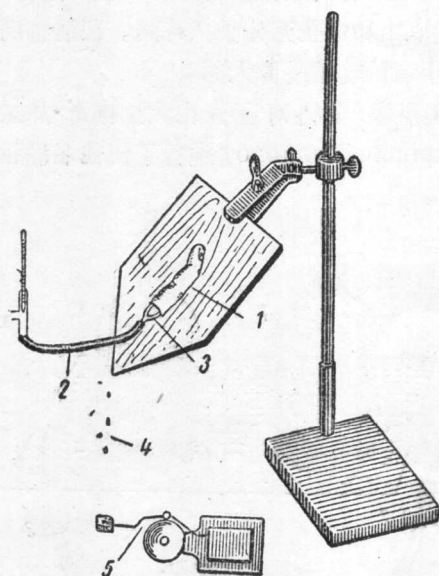


圖2. 研究離體的人的手指 (H. II. 克拉夫科夫的方法)

1—離體的手指，2—橡皮管，3—插管，營養液沿此管進入手指，4—從標本上流出的液體，5—鐘聲計，記錄單位時間內從切斷的血管滴下的液體滴數

血動物能延續幾星期。根據庫里亞布科的材料，死後 44 小時的人的心臟，在良好的條件下還可以活動，家兔的心臟甚至經過 112 小時後還可以活動。個別器官與組織延續生命的忍受力存在着很大的個體差異，庫里亞布科很清楚地說過：“……不僅在整個機體上，而且也在機體的個別部分上，死亡開始或者死亡在緩慢地發生，具有如此的漸進性，以致在結束生命與開始死亡的情況之間沒有任何截然劃分的界限，也沒有從一種情況完全不能復原為另一種情

況時的界限”。

然而，剛剛所敘述的研究工作雖然在理論上和實際上的重要意義與醫學和生理學有關，但是它們並未澈底解決在這方面發生的主要的普通生物學上的問題。

可以列舉其中最重要的問題如下：什麼是組織的細胞，它的自主性程度怎樣，它和其他相似的和不同的細胞的聯系程度怎樣？爲了答覆這些根本的重要問題，必須按照以上所談的關於機體各部分巨大獨立性的研究工作所指出的道路繼續前進。

環境因素在機體及其各部分的發展前途上起着決定作用的十分肯定的觀念是現代科學的基本原則。只有在不斷與環境相互作用中機體及其各部分的生存和發展才有可能。可以確信的說：沒有周圍環境和它各種各樣的影響就沒有生命。

外界環境對於機體內部組織的細胞的直接影響是被隔絕了。可見我們已經提到過的中樞神經系統以及其他的屬於中樞神經系統的聯絡系統，對於機體各部分發生着多麼巨大的影響。除了位於周緣的細胞以外，絕大多數的細胞和外界的聯系是通過機體內部調節系統的第二級的聯系。因此首先產生的任務就是解除細胞的這些第二級的影響，把細胞安置在最單純的、並且在生理學上近於完善的、或者至少令人滿意的生活條件下。

一方面，這個研究方法，當細胞是在聽其自然的失去整體支持與指導影響的條件下，給與在機體以外研究每一單個細胞以及各種複雜細胞總體的命運的可能性。另一方面，就是用這個方法可以研究機體聯絡（統一）系統的作用，首先是中樞神經系統的作用。這裏我們採取的是生理學上有時使用的淘汰研究因素的方法，

已解除機體整體影響的組織小塊的命運將是怎樣的？這組織小塊是否要變成一團無秩序的、一個個獨立的、無約束的生活個體——細胞，或者在這簡單化的生活條件下，可以把細胞或細胞羣當作機體一部分的某些影響是否存在？就是在這樣隔絕了調節因素

作用的細胞上才容易去研究機體和外界環境所造成的影響。在這樣條件下細胞表現出什麼機能上和形態上的特點，按照細胞的起源，怎樣最堅強地表現出可塑性，怎樣才容易發生改變？

在同一種標本上也可以研究許多另外的問題；研究刺激和抑制細胞生命活動的因素的作用，正常細胞變為惡性細胞的方式，細胞和微生物的相互關係，在細胞學上感染的情形以及其他等等。也可以說離體的小塊組織是在細胞動力學上長期研究活細胞的最良好的標本。

我們只舉出了研究從機體取出的獨立生活的細胞時，能以闡明的一部分原則性的重要問題。但是從剛才所提到的少數問題裏，讀者會了解這個研究方向可以去解決，並且實際上正在解決許多主要的生物學上的疑問。

然而提出這些問題可能是過早了，本來想回答一個最簡單的問題，細胞在機體外生活是可能的嗎？

機體外培養細胞的基本原理

企圖按照一定方法在機體外培養細胞的歷史本身是特別有趣的，也是特別值得注意的。十九世紀末期，就是早在上述離體器官的研究以前，就已經開始了保存組織的試驗。從機體上取下細胞羣，組織、器官小塊，並且把它們放置在能長期（達幾星期）生活的那種環境裏。

生物學的序言裏通常認為在機體外培養組織的方法是屬於國外研究家的，很少人知道這件重要事件的創始人是俄國學者——哈爾科夫大學教授 И. П. 斯克沃爾錯夫(И. П. Сковорцов)。他在 1855 年 8 月進行了血細胞的試驗，有充分根據可以認為這些試驗是研究機體外長期生活的細胞的開始。少量各種脊椎動物的血液——蛙，鳥(鶯“*Pyrrhula pyrrhula*”)和人——加上養料，這種養料是 1% 蛋白陳溶液和小牛肉汁的混合液，或者叫做里比賀夫斯基氏營養液。在養料中的血滴被安置在蓋玻片上，然後把蓋玻片翻轉放在載玻片中的凹陷上。在蓋玻片的邊緣塗上白凡士林，斯克沃爾錯夫寫道：“塗上白凡士林使蓋玻片具有必需的穩固性，和防止液體蒸發”。因此血細胞是按照懸滴的方法培養了，我們進一步看到，這種方法迄今已成為並且仍是一種機體外培養細胞最流行的方法。觀察主要是在室溫下進行(17—20°C)，部分試驗則在體溫下(35—38°C)進行，爲了要在體溫下進行觀察的緣故，把培養細胞的小室安放在特製的煖台上。很有趣的表現是，斯克沃爾錯夫已經知道使自己試驗能以有效進行的滅菌和消毒的意義：他所使用的器具都經過嚴格的消毒，在作試驗時保持着謹慎，以免把微生物的感染帶到培養中去。

對血細胞的活體觀察進行了數月之久，有時還用新鮮營養液

實行所謂培養的“施肥”。

斯克沃爾錯夫在他的研究裏發現了，血細胞在機體外保持着活動性，保持着變形和形成細胞突的能力。他很完善地，清楚地記載了自己觀察細胞在培養中的情況的結果，提到“細胞不但是活的，而且是富有生活力的”(就是充分保持着本身的生物學的活動力)。就在 1885 年斯克沃爾錯夫的研究著作發表在一個很不流行的刊物上——“哈爾科夫大學附屬實驗科學學會醫學組彙報”(Труды Медицинской секции об-ва опытных наук при Харьковском университете)，廣大的生物學者們甚至我國的生物學者都是不知道的。然而十九世紀末的許多大科學家，像是生理學家和組織學家奧甫夏尼科夫(Ф. В. Овсянников)院士，軍醫學院組織學教授拉甫多夫斯基(М. Д. Лавдовский)等都知道這個研究，而且顯然是正確地估計了這個研究在原則上的意義。例如奧甫夏尼科夫在刊物上發表的文章就證明了這件事，他批評斯克沃爾錯夫的方法，並且也很慎重地對待他所獲得的結果，他寫道：斯克沃爾錯夫的實驗應當繼續下去，但是同時必須保持血細胞生活的一切生理學條件：“單獨防止血液乾燥是不夠的，還須找到適當的營養物質，必須維持着血細胞的運動，使相當數量的氧氣有進入的通路，還要嚴格消滅空氣中的微生物”。

當然，斯克沃爾錯夫所提出的血細胞培養方法是很原始的，沒有保證足夠的營養物質和通氣，這一整套方法至多也不過造成比較短時間的細胞生存條件。可以設想，斯克沃爾錯夫觀察到的某些現象是細胞處在不够良好的條件下所引起的病理改變。但是這在當時的情況下是不重要的。重要的是，約在 70 年前，當時在科學上一般都不知道從機體取出的細胞有長期保持生活狀態的可能性，俄國學者提出了方法，他是以後研究高潮的創始者和先驅者，他創造了機體外培養細胞的原理。我們應當自豪的是，在組織培養領域裏也像在許多其他的生物學和科學領域裏一樣，第一句話

就要提到俄國學者和俄國語言。我們應當帶着感激的心情去紀念斯克沃爾錯夫的名字，他在一個科學領域裏又為我國取得優先地位。

1910年時這個生物學部門尚在“幼稚”時代，托姆斯克城阿甫羅羅夫(П. Авроров)和齊莫費也夫斯基(А. Д. Тимофеевский)兩位學者很成功地實現了機體外血細胞的培養。這是全部問題上一項主要的基本成就，是細胞在機體外生活研究方法的重要里程碑。從那時起，齊莫費也夫斯基在四十年的期間卓有成效地工作着，利用組織培養方法解決了許多重要的病理學問題，特別是腫瘤細胞的生物學問題。基輔城的學者克龍托夫斯基(А. А. Кронтовский)是離體細胞生理學研究的創始人。列寧格勒赫洛平(Н. Г. Хлопин)教授採用組織培養方法解決組織起源和發展的重要問題。莫斯科的組織學家赫魯碩夫(Г. К. Хрущов)教授對於把組織培養方法推廣和運用在細胞學上作了很多工作。還可以舉出許多我國這方面的其他工作者。

機體外組織培養的第一次試驗就證明了，需要有某些不可缺少的條件，沒有這些條件細胞和組織很快就要死去。

對於從機體取出的細胞必要的生活條件究竟是什麼呢？

這些生活條件中最重要的是造成一定的濕度，如果可以這樣形容的話，就是相當於細胞在機體內所習慣的濕度。

早已逝世的蘇聯學者莫羅左夫(Б. Д. Морозов)的工作證明了，器官和組織可以暫時失去它所含有的大量水分。這位研究家曾把許多器官——蛙的心臟、大腦、脾、雞胚的心臟組織乾燥到減少其總重量的60—70%，在某些情況下這樣乾燥器官保持了數月之久。假如以後這些器官和組織的小塊浸在生理鹽水裏，或者在機體外進行培養，那麼它們就會復原到乾燥以前的狀況。但是這只有當進行乾燥時，這些小塊組織裏遺留了最小量水分的情況下才可成功。而這些小塊組織生活能力的恢復却一定要求交還它們

正常的、必需的、相當大量的水分。

因此這些證實組織和細胞有着很大的忍受性限度的試驗，與我們所主張的，充分水分的存在是保障細胞生活基本條件之一的說法毫無矛盾。

培養細胞的培養基中鹽分的重要性也不亞於水分。無論如何，這個培養基必須具備一種特性，如這種特性不存在，細胞幾乎即刻就會死去，它必須具有和原來機體環境相同的滲透壓力，必須是等壓的培養基。

這種等壓培養基是濃度和本類動物血液內鹽類濃度相同的氯化鈉(食鹽)溶液；例如培養蛙組織用的濃度是 0.75%，培養哺乳動物(包括人)組織用的濃度是 0.9%。

然而發覺到僅僅一種氯化鈉溶液，雖然是合適的濃度，對於細胞還是不夠的，細胞在這種液體內很快地就要死去。原來，當必需的滲透壓力不僅是由氯化鈉，而是由幾種鹽類的混合所建立的情況下，能夠得到更良好的結果，其中氯化鈉仍居主要地位，其次是少量氯化鉀、氯化鈣，而且有時還有某些別的鹽類，這些鹽類的意義主要是降低鈉的毒性作用。事實是這樣：這些物質的離子都是有毒的，而它們同時出現在溶液內時就互相起着解毒作用。

但是離子的意義，還不僅在於建立細胞必須的培養基的滲透壓力。電解質離子對於生物學對象起着一定的生理學作用。如果等壓培養基的造成是借助於相同濃度的非電解質(例如，蔗糖)，雖然這種情況下的滲透壓力是正常的，而細胞却很快都死去，正是因為缺少離子的良好作用，可以使人相信這一點。

細胞在機體外生存的第三個共同條件，在於充分供應氧氣和排除二氧化碳。換句話說，細胞為了生存必須呼吸。因此維持細胞生活的可能性就有賴於必需量的氧的存在。

最後，第四個僅僅對於溫血動物細胞適用的條件是：研究一種動物的細胞必須保持該動物體固有的一定的溫度。

保持以上四種條件時，我們相信細胞和組織始終是活動着的，首先是這些細胞的外貌，和剛從機體取出就加以觀察的細胞毫無形態學上的差別。最使人信服的却不是形態學的，而是生理學性質的特點。像是把一小塊心肌放在一定成分和濃度的食鹽溶液內，它的收縮曾經繼續了104天之久，並且這種收縮的節律接近於心臟在機體內活動的節律。

由於保存組織的工作，近年來我國研究延長機體外組織的生命獲得很大的發展。我們的醫學在輸血和移植各種組織方面的卓越成就，例如費拉托夫(В. П. Филатов)關於屍體角膜移植的研究工作，明顯地向科學家提出了長期保存屍體血液和動物組織的任務，以便能於需要時隨時使用。曾進行研究過一些可以特別長久保存組織的條件，在這些條件下組織是完全地或近於完全地保持着本身的生物學特性。像保存角膜這樣重要器官的事實就有很大的意義。費拉托夫同事們的研究證明了，把角膜保存在少量液體裏，當溫度 $3-5^{\circ}\text{C}$ 時結果最好。在這種情況下角膜不僅在8—10天以內是有生活能力的，在以後移植時證明它可能順利生存，而且在整個保存期間內積極地保持着本身的生活特性。看來，被保存的機體組織不僅是在本身形態上，而且在許多生理學特性上，都與在機體內的同樣組織沒有差別。這一點在研究保存組織的反應的試驗裏是特別明顯的，就是它能對外界影響發生反應。譬如把保存的角膜組織弄傷(用熾熱的針把它燙傷)，其中就開始進行再生過程。再生過程的表現，首先是靠近損傷區域的細胞發生形狀的改變，並且漸漸移動覆蓋了損傷所造成的缺損。以後創傷周圍開始進行劇烈的細胞繁殖，並造成最初遮蓋創傷的薄片，漸漸變成厚的構成正常角膜表面的複層上皮。固然，保存組織的再生過程比起機體裏的開始較遲，進行也較緩慢，然而最後的效果却大致相同。

當保存的組織裏加入致病微生物(葡萄球菌)時出現了很明顯的反應。在這種情況下，角膜的結締組織細胞顯出興奮和吞噬微