

组织学与胚胎学进展

成令忠 主编

80238 已录

组织学与胚胎学进展续集

成 令 忠 主 编

人 民 卫 生 出 版 社

责任编辑 张之生

组织学与胚胎学进展续集

成令忠 主编

人民卫生出版社 出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

北京市卫顺排版厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本10+印张 4插页 228千字

1989年3月第1版 1989年3月第1版第1次印刷

印数：00,001—1,950

ISBN 7-117-00421-5/R·422 定价：8.30元

【科技新书目188—139】

目 录

前 言

一、染色体超微结构研究进展·····	郑怀祖	1
二、抑素与细胞增殖·····	成令忠 卢炯华	12
三、内皮细胞研究的某些进展·····	何泽涌	26
四、蛋白多糖的超微结构·····	袁保和	41
五、肥大细胞的发生·····	杨美林	49
六、巨噬细胞的功能和异质性·····	许 屏	54
七、神经生长因子与神经胶质细胞成熟因子·····	陈丽璉	61
八、接触脑脊液神经元·····	杜卓民	69
九、突触前膜的特化结构与功能·····	罗政良	79
十、神经肽的免疫组织化学定位·····	王富起	86
十一、关于成体神经元的新生·····	王周南	95
十二、心肌的内分泌功能·····	王瑞绵	99
十三、颈动脉体·····	许龄秀	108
十四、胸腺结构与功能研究进展·····	郭仁强	116
十五、哺乳动物松果体研究进展·····	戎诚兴	128
十六、激素受体形态学研究进展·····	杨景山	137
十七、脑垂体各部的超微结构和功能·····	庞 懿	149
十八、钙调节激素·····	章燕程	159
十九、肾的内分泌功能·····	朱铭清	166
二十、泌尿生殖系统中的内分泌——旁分泌细胞 ·····	曾孝儒	173

二十一、颌下腺及其生物活性多肽·····	孙克继	180
二十二、消化管的粘膜屏障和免疫功能·····	吴明章	190
二十三、呼吸道上皮的神经上皮小体和球形颗 粒白细胞·····	张世明	196
二十四、人精子发生·····	朱启锐	202
二十五、睾丸支持细胞·····	薛同一	212
二十六、睾丸间质与间质细胞·····	朱继业	220
二十七、附睾·····	张 适	229
二十八、卵泡发育与功能·····	童凤明 陈 移	239
二十九、受精·····	王一飞	248
三十、绒毛与胎盘研究进展·····	马长俊 陈园茶	266
三十一、生殖与免疫·····	谢文英	273
三十二、听器官的发育与胎儿听力·····	刘 斌	282
三十三、先天畸形的发生和实验畸形学的兴起 ·····	高英茂	289
三十四、甲胎蛋白与胚胎生长发育·····	谢伯珣 谷华运	297
三十五、标记细胞化学的进展·····	彭庆廉	306
三十六、流式细胞计及其应用·····	朱继红 成令忠	318

一、染色体超微结构研究进展

郑怀祖 (大连医学院)

50年代开始电镜观察染色体,仅见染色体呈网状、点状或无定形结构。Gall (1963) 制成整装染色体纤维电镜标本,此后整装技术逐步改进,获得中期染色体三度空间的观察资料^[1],并发展了一种在水表面展开游离染色体及临界点干燥法制备电镜标本技术,使染色体超微结构的研究取得很大进步。70年代染色体显带技术的出现,异常染色体结构的鉴定,脆性位点,以及核仁组织者区(NOR)的发现,大大地推动了染色体超微结构的研究,并提出超微结构细胞遗传学的新概念。染色体是遗传物质的载体,这方面的任何一个基本发现,对生物学和医学都会带来重大影响。十余年来的进展可分为两大方面:一是染色体超微结构整体模型的设想,主要是探讨染色质纤维在中期染色体内是如何排列、折叠和包装的;二是染色体内部结构如区、带、中心粒、端粒、随体、NOR等的超微结构研究。新近已开始向染色体结构异常、特殊标记染色体、脆性位点等具有临床意义的变化发展。

一、染色体超微结构的整体模型

生物化学研究已确定人类一个体细胞核内有总长2米多的DNA分子链,一个 $1\sim 9\mu\text{m}$ 长的染色体内分担包装若干厘米长的DNA链。Taylor开始的一系列实验,证明一个染色单体内包含一条DNA链。Kornberg (1977) 提出的核小体链

的基本结构也已被接受。因此染色体超微结构整体模型的焦点,集中在核小体链如何折叠包装上。迄今为止提出三种模型:① Duprau (1970) 等提出的染色质纤维有规则地折叠模式,对折叠的方式虽有不同意见,但都类似手风琴式的。② Sedat 等人提出的螺旋模式^[2],即核小体链、螺线管、超螺线管、染色体逐级螺旋化。螺旋化的现象确实看到,但有许多现象是上面两种模式难以完美解释的,如染色质纤维袢、染色粒(chromomere)和簇(cluster)等。③ Laemmli 等人提出的染色体“中心骨架”模型^[3],电镜观察提取了组蛋白及部分非组蛋白的游离整装染色体,发现染色体中轴有一个轮廓近似染色体本身的网状骨架,DNA 纤维呈袢状自骨架放射散出和返回,照片清晰,冲击了以往的折叠模式和螺旋模式。这种“中轴”在光镜下也可见到称为芯样结构,电镜下称为骨架。但是有的研究者不同意这个模式,认为芯样结构或骨架是染色体在制片过程中出现的非自然结构,是残余的染色体蛋白质形成的^[1,4]。近年来的研究有综合考虑螺旋化和染色质纤维袢在一个模式之内的趋势。Woodcock^[5]等人用不同浓度盐溶液调节核小体链的紧缩程度,观察到鸡红细胞间期核内的染色质纤维在低于 10mmol/L 盐溶液中呈松弛状态,溶液浓度升高,螺旋化程度也升高。他们还观察了 L₉₂₉ 小鼠细胞及 MSB 鸡细胞的分裂细胞,发现核小体链在松弛时呈锯齿状,扁圆柱形的核小体芯位于锯齿尖端,相邻核小体芯侧面相对(图 1, A 段)。螺旋稍紧密时,核小体芯顶底面面相接(图 1, B 段),电镜照片上呈并行两条致密带,中间有一浅带。再紧密时,核小体带呈双螺旋,中间有一“管腔”(图 1, C 段)。用醋酸铀负染色法,致密深带、深带中的核小体芯相邻面间的缝隙、浅带和“管腔”更清楚可见。认为电镜下常见到的 30nm 染色质纤

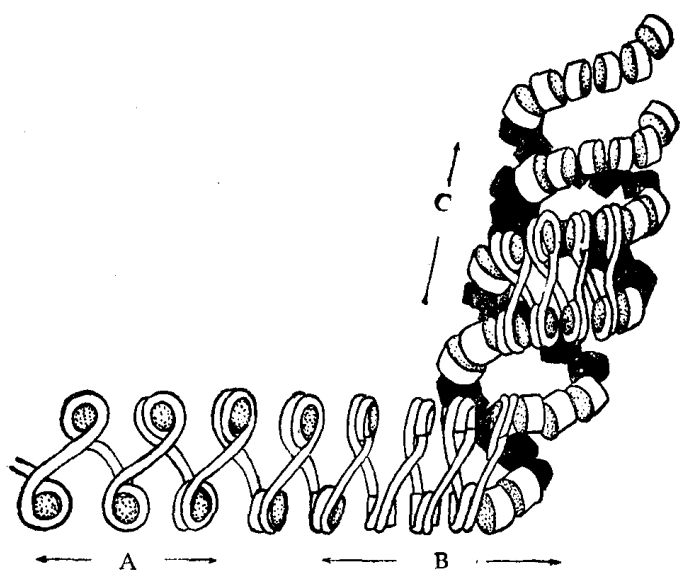


图1 Woodcock 等人提出的核小体锯齿状带螺旋化模型

维不是简单的螺线管组成，而是核小体带双股螺旋。考虑到电子染料醋酸铀对染色质纤维的螺旋化有一定影响，电镜观察部分不染标本，仍可见到螺旋状的染色质纤维。纤维的直径随螺旋松紧程度而不同，单位长度（11nm）内包含核小体的数目也不同。

Rattner 等提出螺旋卷曲的染色质纤维和放射状的 DNA 袢共同存在于中期染色体内的模式^[6]，光镜及电镜观察人肿瘤细胞株常规制片，看到染色单体由 200~300nm 的纤维卷曲组成，只是在中心粒区变直。为了排除常规低渗处理及固定剂对染色体的影响，用机械法破碎分裂细胞，观察不固定的游离染色体，也看到了与光镜下见到的一样的 200~300nm 纤维，纤维在染色单体各段浓聚的程度不同。为进一步研究

纤维的结构，他们用 33258-hoechst 及 5-azacytidine (5-氮胞嘧啶核苷)作为染色体正常浓聚的阻抑剂，清楚地看到螺旋变松。将此未固定的染色体置于低渗溶液或延长在无离子去垢剂内的时间，电镜下看到纤维明显变粗，同时显示出有 25~30nm 的纤维样从纤维的中轴发出。为进一步证明纤维是螺旋形卷成染色体而不是折叠的，用扫描电镜看到染色单体大致是圆柱形而不是扁带。圆柱形单体表面有时可见到螺旋样的斜行凹沟，中心粒区细直，没有凹沟。作者认为以往电镜标本显示染色体外表均匀，是因为太浓聚而导致螺旋纹消失，或

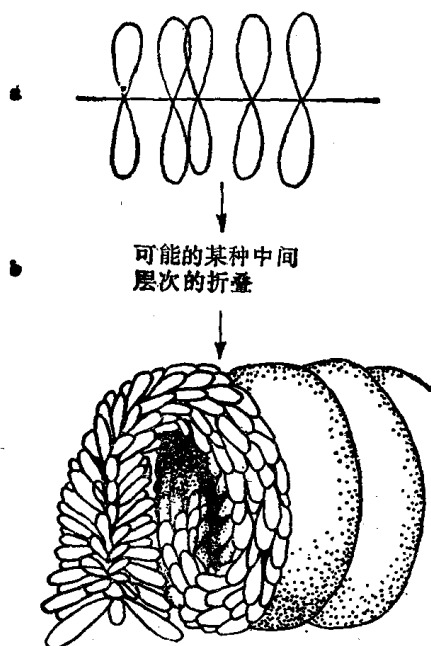


图2 Rattner 等人提出的纤维样和螺旋共存于染色体内的模型

因纤维袢散出掩盖螺纹之故。关于“中心骨架”存在的可能性,他们认为 200~300nm 纤维在染色单体中至少折卷 9 折,如有一个“中心骨架”,则必须比染色单体长 9 倍,加上 200~300nm 纤维本身还有折叠,中心骨架可能更长,而不是象 Laemmli 提出的那样和中期染色体轮廓大致吻合。故倾向是否定的。作者提出螺旋和袢共存于染色单体内的模式图(图 2)。Adolph 等^[7]用扫描电镜观察 HeLa 细胞染色体,认为表面 60~70nm 直径的结节就是 30nm 纤维袢的袢顶,并在染色体横切面发现有放射排列的袢。支持了 Rattner 的模型。

Zatsepina^[8]也采用不同浓度的氯化钙和氯化镁溶液处理 CHO 细胞,得到了不同松解程度的染色体纤维,在电镜下观察。她提出的分级是:① 10nm 核小体链;② 25nm 核粒纤维 (nucleomeric fibril);③ 由染色粒 (chromomeres) 紧密排列组成的 100nm 的染色线 (chromonema);④ 染色粒上有时可见 DNA 袢呈玫瑰花样放射伸出(图 3)。她着重用松解方法显示纤维的分级,强调了染色粒,并认为“骨架”可能存在于染色粒中,提出染色粒及染色线是染色体构造的基本单位。她称这个模式为“Fastener modle”^[9],认为染色质纤维的有序分级包装是由一种特殊蛋白质叫 Fastener (系紧者)来执行的,这种蛋白质的功能受 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度的影响。在细胞繁殖周期中,染色质纤维有自然浓聚 (G_2 期)和松解 (G_1 期, S 期)的过程。Steven 等人^[10]用高分辨力扫描电镜观察 HeLa 细胞

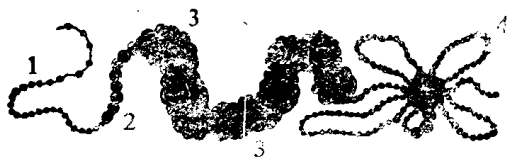


图 3 Zatsepina 提出的“Fastener modle”

的熟前浓聚染色体 (pcc), 发现中期染色体及 G_1 早期 pcc 都由紧密包装的袢状纤维组成, G_1 中期及晚期 pcc 呈现螺旋松懈伸展, S 期 pcc 成簇, 簇间有伸展的纤维, G_2 期 pcc 又开始均匀地浓聚。

综上所述, 染色体超微结构模式问题虽然尚未完全解决, 但多数研究者认为逐级螺旋化是肯定存在的。染色质纤维螺旋化过程如此规则有序, 每次分裂周期中各号染色体都重新显示其固有的形态特征, 细致而又精确。不能不使人考虑是否有一个“组织者”或“核心”在执行“系紧”任务, 执行者很可能就是染色体内的某些蛋白质。笔者的看法是染色体纤维上的蛋白质以其侧链上的基因有序地一步一步钩挂, 使 10nm 纤维一级一级地螺旋折叠。随着侧链上化学键结合数量的增多, 拉紧靠拢, 使染色体更加浓聚紧密。这种蛋白质侧链的连接并不形成染色体中轴或“芯样结构”, 而仅是一个分子连系网络。当游离的染色体在水表面伸展, 大部分蛋白质被抽提掉之后, DNA 被引出形成袢, 而剩下的抗力较强的化学键连接起来的蛋白质部分留在原位, 被 DNA 袢形成的“晕”包围, 看起来象个“核心”或“骨架”。所谓“骨架”的出现有其自然的内在原因(蛋白质侧链有顺序的连接), 但其本身毕竟还是人工处理后才出现的非自然真实结构。很难想象长短相差悬殊的不同时期相的染色体会会有一个固定大小的中轴骨架, 在间期时又消失得无影无踪。当然, 这个问题的最后解决尚需进一步研究。

二、染色体内部结构的分别观察

(一) 各种区带

1. G 带 电镜观察未作预处理的前期染色体, 发现染色

单体上有致密的染色粒,粒间为纵行的较疏松的染色质纤维,染色粒的位置与G深带十分相当。用DNA密度测定仪沿纵轴扫描未经胰酶处理的染色体,发现密度曲线高峰与G深带相对应,低峰与G浅带相对应^[11]。电镜观察胰酶处理后的染色体整装标本^[12],发现深带区纤维致密,浅带区疏松;如胰酶处理强烈过度,则整个染色体呈“鬼影”状,只留下着丝点一些致密纤维。扫描电镜下,胰酶轻度处理过的染色体是立体柱形,浅带处呈沟纹;重度处理的染色体完全塌陷扁平。提示G带的显现是由于预处理过程对染色体内成分(主要是蛋白质)不均匀地抽取所致。这种不均匀抽取是有染色体分子结构基础的,如染色体内纤维致密程度不同,蛋白质种类和结合牢固程度不同,DNA碱基对(BP)组成不同,G带反映了染色体内的自然结构,但它的清楚显示也包含人工修饰的因素。Xin Xu等制得了人类染色体标本的正常G带核型,46个染色体的G显带与电镜下完全一致^[13]。

2. R带 R带虽然与G带位置相反,但在电镜下也呈染色体纤维紧密缠绕的粒状和网状。用BrdU-hoeches + 33258作为富含A-T碱基对的G带抑制剂(抑制染色体纤维浓聚),结果得到R带^[14]。用放线菌素D作为富含G-C碱基对的R带的浓聚抑制剂,结果得到G带^[15]。电镜下结构都相同。作者认为G带和R带可能是染色体内相对独立的聚缩单位,当然不否认亚单位存在的可能性。

3. C带 Buckholder认为,C带可能是强烈的NaOH处理及过度的胰酶消化抽提掉染色体内绝大部分蛋白质甚至DNA的结果^[12]。Rattner用DNAseI处理染色体,也只有C带区抵抗住了,扫描电镜下只见C带区保持立体结构,其余部分全塌陷。C带区的这种较强的抵抗力的解释可能是纤维排

列特别致密，也可能是该处非组蛋白的种类和量与别处不同之故。C带的大小形状有个体差异，C带的多形性是由于该区内高度浓聚的异染色质纤维长度不同所致。虽然C带的命名与中心粒有关，但在电镜下明确显示两者完全不是一回事。C带区与结构异染色质和次缢痕的关系尚未搞清楚，三者似也不能划等号。某些细胞的染色体次缢痕区染色质纤维浓聚程度实际不如其邻近区，纵行螺旋程度轻，所以缩窄了。但采用人的淋巴细胞染色体 Sumner 法 C带处理，Giemsa 染色，光镜下确定 1 号、9 号、16 号及 Y 染色体，然后在扫描电镜下观察同号染色体^[16]。发现 C带区表面光滑紧缩，比其邻近区细，非 C带区表面粗糙，Y 染色体长臂远段部分也紧缩。已有部分证明它们的 DNA-蛋白质组成及染色亲和力都不同，Giemsa 11 染色方法特异性地显示 9 号染色体的次缢痕，但并不显示所有染色体 C带。这问题还有待进一步研究。

(二) 中心粒

电镜观察整装染色体，中心粒也由染色质纤维组成，纵行通过，并横跨至对侧姐妹单体再返回，每一单体有自己的中心粒区。用银染法可清楚地看到其中央部位有致密纤维组成的致密体，一个顶端着丝点的中期染色体有一对致密体，一个中间着丝点的中期染色体有 4 个致密体，中间围成一小“空洞”。提示在染色体进化过程中，两个顶端着丝点染色体端融合成中间着丝点。某些小鼠肿瘤细胞的双臂染色体中心粒区也有四个致密小体，中间有水平缝隙，提示该双臂染色体是二个顶端着丝点染色体经 Robertson 融合而来^[17]。扫描电镜观察中心粒区侧面，显示该区确实存在一个缩窄环，如同腰带勒紧。勒紧的外力似乎是一种蛋白质，因固定前用胰酶处理可以除去这种因素。

与中心粒关系特别密切的是着丝点,即纺锤丝微管与染色体侧面相接触的部位。除少数种属的细胞这种接触面可占染色体侧面的 75% 以外,绝大多数细胞的接触都集中在中心粒两侧。在整装染色体标本上只看出该处密度加深成板状,只有在超薄切片的染色体标本上才能显示细节。植物细胞的着丝点呈球状和环状,动物细胞的呈椭圆形扁盘状结构,厚 $0.3\sim 0.5\mu\text{m}$,可分成三层,外层厚 40nm ,电子密度大,表面有放射状的微管,一般认为外层是非染色质成分,主要是碱性蛋白质及核糖核酸蛋白质;内层亦为一较薄的致密层,与染色质不易分界,似乎本身就是染色质成分;中层为浅亮区。最近有人观察到内层的染色质纤维袢穿过中层到达外层表面,故微管可能与染色质纤维直接接触^[18]。一般认为着丝点是纺锤丝微管的发源地,但着丝点的成分、形态和功能还有许多问题未搞清。

(三) 姐妹染色单体之间的中心粒外连接

Goyanes 等用 Brdu 差别抑制浓聚的方法,发现浓聚快的染色单体牵拉浓聚慢的单体,使姐妹单体的带纹大致保持同一水平。电镜下可见从染色单体内的染色粒上发出直径 24nm 的纤维袢,伸向对侧。这种中心粒外的连接纤维可能与姐妹染色单体保持对称一致的浓聚速度有关^[19],并认为这种连接是暂时的,在有丝分裂前半期发挥作用,染色体浓聚结束,纤维袢就缩回各自的单体内,使姐妹单体除中心粒外,保持分离状态。但新近有人用显微解剖技术挑刺游离的中期染色体,否认连接纤维的存在。最后结论尚难肯定。

(四) 随体和核仁组织者区

人类染色体的随体在电镜下呈不规则球形,直径不一,一般较染色单体的宽度小。随体是由 24nm 的染色质纤维缠绕

而成,由随体柄与染色单体相连,柄的长短也很不一致,由紧密排列的纵行纤维组成。DNA 原位杂交技术证明,随体柄是活跃的 rDNA 基因的位点,迅速地转录出 rRNA,参加核仁的形成,故称为核仁组织者区 (nucleolus organizer regions, NOR)。染核仁的银染法也可以染 NOR。电镜下见到银颗粒浸渍在随体柄上,不在随体上^[20]。银染阳性物质的成分还不太清楚,有人认为是 rRNA 与酸性蛋白质结合物,包绕在染色质纤维的外面。银染时 NOR 着色很深,但整个染色体都可以看到细小银颗粒吸着在染色质纤维上^[4]。这个问题有待进一步研究。

(五) 端粒和核孔复合体

端粒位于染色体两臂末端,该处对染色体制片处理的抵抗力最大,形成 T 带,呈半球形顶,不易断裂。端粒还与核膜关系密切,与染色体在间期核内保持一定位置有关,所以引起人们很大的兴趣。电镜下见到端粒往往与核膜及核孔复合体相贴。后者呈凹面或盘状,直径与单体宽度相当或稍小。Paskal 等扫描电镜观察 500 个染色体,发现 80% 的端粒附有核孔复合体^[21]。核孔复合体是有丝分裂末期形成新核膜的起始点。观察以秋水仙素拦截后恢复过来的细胞,可见到核膜自端粒处逐步形成的过程。

正常染色体超微结构研究,近十余年来取得很大进展,新近已开始对染色体的异常结构进行电镜观察^[22]。姐妹染色单体互换的电镜图像,显示出 DNA 跨越到对侧单体的“轨迹”;染色体间隙处可见纤维疏松但是不中断;染色体断裂则表现纤维断离但不见断端;脆性位点只是一个疏松浅带,纵行纤维数量少^[23]。电镜下还可细致地分析标记染色体的构成,异常着丝点结构造成同源染色体的不分离等。细胞遗传学家已开

始注意染色体超微结构研究的实用价值,但超微结构细胞遗传学的兴起和推广,很大程度上尚取决于染色体电镜标本制作技术能否进一步简化和提高成功率。

参 考 文 献

- [1] Comings D E, et al: Cytogenetics 9: 436—449 1970
- [2] Sedat J et al: Quant. Biol. 42: 331—350 1977
- [3] Adolph K W et al: J. Anat. 103: 143—150 1977
- [4] 郑怀祖等: Exp. Cell Res. 141: 117—125 1982
- [5] Woodcock C L F, et al: J. of Cell Biol. 99: 42—52 1984
- [6] Rattner J B, et al: Cell 42: 291—296 1985
- [7] Adolph K W, et al: Scan. Electron. Microsc. (PTZ): 869—877 1985
- [8] Zatsepina O V, et al: Chromosoma (Berl) 88: 91—97 1983
- [9] Zatsepina O V, et al: Histologia 27: 865—871 1985
- [10] Steven K H, et al: Chromosoma (Berl) 88: 333—342 1983
- [11] Green R J, et al: Chromosoma 50: 53—67 1975
- [12] Buckholder G D, et al: In "Principles and Techniques of Electron Microscopy" Vol 7 New York 323—339 1977
- [13] Xin Xu, et al: Chromosoma (Berl) 88: 237—240 1983
- [14] Goyanes V J, et al: Cancer Genet. Cytogenet. 4: 45—51 1982
- [15] Comings D E, et al: Exp. Cell Res. 93: 267—274 1975
- [16] Elpeth M J, et al: Chromosoma (Berl) 91: 363—368 1985
- [17] Rattner J B, et al: Chromosoma 92: 325—329 1985
- [18] Ris H, et al: Chromosoma 82: 153—170 1982
- [19] Goyanes V J, et al: Hum. Genet. 62: 324—326 1982
- [20] Schwarzacher H G, et al: Cytogenet. Cell Genet. 20: 24—39 1977
- [21] Paskal Y, et al: Exp. Cell Res. 111: 472—475 1978
- [22] Goyanes V J: Cancer Genet. and Cytogenet. 15: 349—365 1985
- [23] Harrison C J, et al: J. Med. Genet. 20: 280—285 1983

二、抑素与细胞增殖

戚令忠、卢炯华 (上海医科大学)

生命活动的自我调控是机体生存的内在本能, 这种自我调控的研究称为“控制论医学或生物学”(cybernetic medicine or biology)。组织生长和更新再生中, 细胞增殖受着严密的调控, 除位置信息和细胞连接等因素外, 体液因子的调节起重要作用。体液因子包括众多的激素和激素样物质, 可分为刺激因子(stimulator)和抑制因子(inhibitor)两大类, 有的因子对不同靶细胞呈相反的作用。在这两类因子的控制下, 组织微环境稳定, 细胞增殖保持稳定状况。刺激因子的种类甚多, 诸如众所周知的生长激素、性激素、神经生长因子、表皮生长因子、造血细胞集落刺激因子等, 它们大多有明确的结论, 有的已制成商品。抑制因子的确定较难, 除需获得纯制品外, 还要确认它对靶细胞的增殖抑制效应是非毒性的和可逆的。细胞增殖除受外源性体液因子的影响外, 人们还十分关注细胞内源性特异性因子的作用, 有的组织在生理状态或一定病理状态下产生自身的刺激性或抑制性物质, 通过正、负反馈作用控制细胞的增殖。如血细胞的生成受内源性两种因子的调节; 肝细胞也产生刺激性和抑制性两种反馈因子, 控制自身的增殖, 尤在肝大部切除后, 肝生长抑制因子生成减少, 刺激因子启动生成, 促使肝细胞分裂增生^[1]。

很早就注意到机体器官或组织的体积和细胞数量总是维持在正常大小范围内; 当一种细胞缓慢丢失, 往往引起该器官