



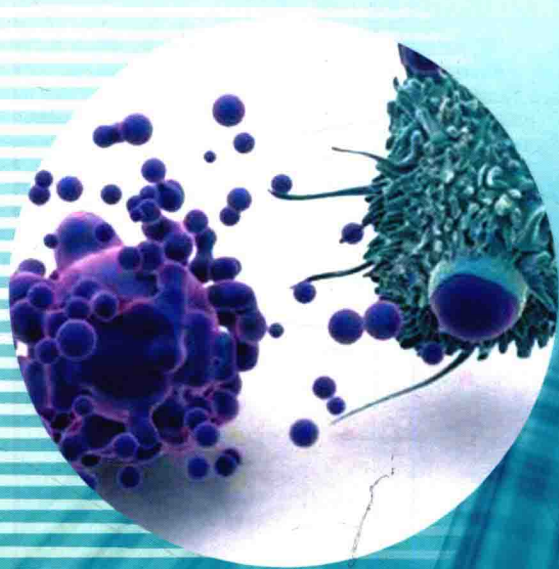
中国科学院教材建设专家委员会规划教材
全国高等医药院校规划教材

双语版

病理学研究的基本问题

第2版

主编 陈 莉



科学出版社

中国科学院教材建设专家委员会规划教材
全国高等医药院校规划教材

病理学研究的基本问题

双语版 第2版

主 编 陈 莉

副主编 王桂兰 王建力

编 委 (以姓氏笔画为序)

王建力	王桂兰	付鲁渝	刘 俊
刘淑岩	孙 艳	李云龙	李杏玉
吴圆圆	何 理	羌剑锋	张丽丽
张茂娜	陈 莉	陈丹艺	陈春华
季周婧	季菊玲	周 虹	周家名
秦 婧	顾婷婷	高小娇	彭亮亮
薛玉文			

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

双语版《病理学研究的基本问题》共 14 章, 分别对病理状态下的细胞行为, 如细胞凋亡、自噬、内吞, 干细胞等; 细胞调控, 如黏附分子、细胞周期的调控、端粒与端粒酶、信号转导途径等; 疾病伴随的分子现象, 如上皮间质转化、肿瘤血管形成、表观遗传学改变、肿瘤微环境的组成、肿瘤浸润转移的机制; 以及当下热门的为靶向治疗、精准医疗而开展的分子病理诊断进行综述。本书重点突出了病理学在医学教育、科学研究及临床医疗工作中的基础地位和桥梁作用。章节内容的编排上按引言、历史回顾、现状与进展、挑战与展望的顺序编写。每章内容既独立, 又循序渐进、理论联系实际。每章最后附有重要的概念和思考题, 便于对学习效果进行检测; 附有主要的参考文献, 旨在为读者提供足量的信息资源。中英文双语编写模式有利于医学研究生医学专业英语的训练, 同时适用于来华留学医学研究生的教学。全书图片 280 余幅, 大部分选自国内外医学文献, 为了节约教材成本, 书内均采用黑白图片, 读者可通过手机扫描二维码显示原彩色图片。

本书在阐述本学科发展和热点中, 有意引导读者了解发展动态, 培养其实践能力和创新能力, 为其开展科研工作打下良好的基础。因此本书可作为医学基础、临床、预防、口腔、影像、护理专业研究生、医学专业留学研究生的教材, 亦可作为医学本科生、医学留学生的选修教材, 或可作为病理医师、临床医师的学习参考用书。

图书在版编目 (CIP) 数据

病理学研究的基本问题 双语版: 汉、英 / 陈莉主编. —2 版. —北京: 科学出版社, 2018.2

中国科学院教材建设专家委员会规划教材·全国高等医药院校规划教材
ISBN 978-7-03-056310-1

I. ①病… II. ①陈… III. ①病理学-双语教学-医药院校-教材-汉、英
IV. ①R36

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 006949 号

责任编辑: 王 超 胡治国 / 责任校对: 郭瑞芝

责任印制: 张欣秀 / 封面设计: 陈 敬

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

http: //www.sciencep.com

北京建宏印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 2 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2018 年 2 月第 一 次印刷 印张: 34

字数: 920 000

定价: 158.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

病理学是目前生命科学中发展较快的学科,病理学研究的方法和内容正是临床医学研究的手段和热点。早在 20 世纪 80 年代初,笔者开始从事病理专业,先后于香港威尔斯亲王医院、美国旧金山基因生物公司深造,曾在著名病理学专家宗永生教授、吴浩强教授的亲自指导下进行病理学研究和临床工作,受益至今。笔者从 38 年的教学和临床实践中深刻体会到基础与临床结合的重要性,特别是当今临床医学的迅猛发展迫切需要通过分子病理学的手段对临床问题进行研究和开展临床关注热点的讨论。《病理学研究的基本问题》一书将近年来病理学研究的热点,发现的问题及实验、研究和总结出来的病理学成果尽快地介绍并应用于临床,引导读者沿着医学的发展趋势,了解学科的前沿与动态,触及存在的问题与挑战,启发研究的灵感,发掘可能的创新,体现了从研究生的课程教育转向课题教育,从职业教育走向科学教育的教材编写宗旨。

本书定位于全国高等医学院校及研究机构的医学科学学位和临床专业学位的研究生教学,并不强调对某一疾病的系统、完整阐述,而是着眼于病理学领域的重大科技发现和重要病理学现象的前沿问题、争论与成果。全书 14 章内容从当代分子病理学研究的共性知识,即医学乃至整个生命科学共同关注的问题,重点突出了病理学在医学教育、科学研究及临床医疗中的基础地位和桥梁作用,突出了对学生创新意识、创新能力和批判性思维方式的培养。为使每章能兼收循序渐进、理论联系实际、顺应时代发展的功效,每章编写遵循引言、历史回顾、现状与进展、病理与临床、挑战与展望、重要的概念与思考题、参考文献的顺序进行,便于学习效果的检测和提供读者足量的信息资源以进一步查询和学习。全书采用中英文双语编写,将适用于来华留学研究生的教学;全书图片 280 余幅,大部分选自国内外医学文献,为了节约教材成本均采用黑白图片,但读者可通过手机扫描书中的二维码显示原彩色图片。

参与本书编写的作者队伍由留学归国,获得博士、硕士学位,并且活跃在教学和临床一线的骨干教师组成。他们具有丰富的教学经验,掌握国内外的教学取向,对教学改革具有敏锐的思维和莫大的积极性,他们以严谨治学的科学态度、无私奉献的敬业精神积极参加本书编写。该书的出版还得到了国家教育部来华留学生全英文病理品牌课程建设经费的资助,并作为南通大学研究生精品课程建设项目。南通大学 2016 级海外留学研究生 Gill Kainat Azeem、Gandi Deborah Shulaimite、Nazar Anaz Mohammed 等为该书的资料收集和英文校对做了大量的工作。同时我在参加科学出版社教材编写工作的 10 余年中,先后主编出版了 10 余部教材,看到了出版社编辑对教材的认真负责,在此对本书出版过程中提供帮助的所有朋友一并表示衷心的感谢。

我们正处在一个现代科学获得更大、更快发展的时代,愿这本凝聚着编者智慧与汗水的双语版《病理学研究的基本问题》能为我国研究生病理教学注入新的活力,为新一代病理医师、临床医师提供一点启发和参考,有助于他们具备更好的理论素养去迎接新的挑战。尽管在教材编写中力求尽善尽美,但由于各位编者理解的重心不一,各章节边缘内容难免有部分重叠,或多或少还存在不足与遗憾,殷切地希望得到读者的批评和指正,以在日后工作中不断改进与提高。

陈 莉

2017 年 7 月 1 日

目 录

第一章 细胞凋亡	1
第一节 凋亡发生的机制	2
第二节 凋亡细胞的形态特征	16
第三节 疾病中凋亡的研究	19
第四节 凋亡的检测方法	26
挑战与展望	29
思考题	30
参考文献	30
Chapter 1 Apoptosis	32
Section 1 Mechanism of Apoptosis	32
Section 2 Morphology of Apoptosis	40
Section 3 Apoptosis and Diseases	41
Section 4 Detection Methods of Apoptosis	45
Challenges and Prospects	46
Consider/Questions	47
第二章 细胞自噬	48
第一节 细胞自噬的形态学和发生过程	48
第二节 自噬相关基因	52
第三节 自噬与其他细胞事件的关系	55
第四节 针对自噬的药物靶点	57
第五节 研究自噬的方法	61
挑战与展望	62
思考题	63
参考文献	63
Chapter 2 Cell Autophagy ——“Self-Eating”	66
Section 1 Morphology and Process of Cell Autophagy	67
Section 2 Autophagy Associated Genes	68
Section 3 Relationship of Autophagy and Other Cellular Events	70
Section 4 Pharmacologic Targets to Autophagy System	72
Section 5 Studying Methods of Autophagy	76
Challenges and Prospects	77
Consider/Questions	78
第三章 细胞内吞	79
第一节 内吞作用的类型和机制	79
第二节 内吞蛋白的特征	91

第三节 内吞通路中的关键蛋白	91
第四节 内吞对质膜信号的调控	96
第五节 内吞作用的意义	97
挑战与展望	102
思考题	103
参考文献	103
Chapter 3 Cell Endocytosis	106
Section 1 Types and Mechanisms of Endocytosis	106
Section 2 Features of Endophilin	111
Section 3 Key Proteins in Endocytic Pathways	112
Section 4 Endocytosis Regulates Plasma Membrane Signalling	115
Section 5 Significance in Endocytosis	116
Challenges and Prospects	118
Consider/Questions	118
第四章 细胞黏附分子	120
第一节 CAM 的概述	121
第二节 整合素超家族	122
第三节 免疫球蛋白超家族	125
第四节 选择素家族	128
第五节 钙黏着蛋白家族	131
第六节 其他未归类的黏附分子	133
挑战与展望	135
思考题	135
参考文献	136
Chapter 4 Cell Adhesion Molecules	138
Section 1 Outlines of Cell Adhesion Molecules	138
Section 2 Integrin Superfamily	139
Section 3 Immunoglobulin Superfamily (Ig-SF)	141
Section 4 Selectin Family	143
Section 5 Cadherin Family	144
Section 6 Unclassified CAM	145
Challenges and Prospects	146
Consider/Questions	147
第五章 细胞周期的调控	148
第一节 细胞周期的基本概念	148
第二节 细胞周期调控中的重要元素	149
第三节 细胞周期调控中各元素间的相互作用	153
第四节 细胞周期检测点	157
第五节 细胞周期的调控与肿瘤	160
挑战与展望	162

思考题	162
参考文献	162
Chapter 5 Cell Cycle Regulation	164
Section 1 Conception of Cell Cycle	164
Section 2 Important Factors in Cell Cycle Regulation	165
Section 3 Interaction of Various Elements in Cell Cycle	168
Section 4 Cell Cycle Checkpoints	169
Section 5 Cell Cycle Regulation in Human Cancer Research and Treatment	170
Challenges and Prospects	172
Consider/Questions	172
第六章 端粒与端粒酶	173
第一节 端粒与端粒酶的发现	173
第二节 端粒与端粒酶的特征	176
第三节 端粒与端粒酶的作用机制	179
第四节 疾病中端粒与端粒酶研究的意义	181
第五节 以端粒酶为靶标的抗癌药物研究	185
第六节 检测端粒酶的方法	187
挑战与展望	188
思考题	189
参考文献	189
Chapter 6 Telomere and Telomerase	192
Section 1 Discovery of Telomere and Telomerase	192
Section 2 Structure and Functions of Telomere and Telomerase	195
Section 3 Role Mechanism of Telomere and Telomerase	198
Section 4 Studies of Telomere-telomerase in Diseases	200
Section 5 Telomerase as A Target for Anti-cancers	204
Section 6 Detection Methods for Telomerase	205
Challenges and Prospects	207
Consider/Questions	208
第七章 肿瘤干细胞	209
第一节 干细胞	209
第二节 胚胎干细胞	213
第三节 成体干细胞	218
第四节 肿瘤干细胞	229
挑战与展望	243
思考题	244
参考文献	245
Chapter 7 Cancer Stem Cells	247
Section 1 Introduction for Stem Cells	247
Section 2 Embryonic Stem Cells	249

Section 3 Adult Stem Cells	251
Section 4 Cancer Stem Cells	256
Challenges and Prospects	259
Consider/Questions	260
第八章 细胞信号转导途径	261
第一节 构成细胞信号转导系统的要素	262
第二节 细胞膜表面受体介导的信号转导途径	267
第三节 细胞胞内受体介导的信号转导途径	275
第四节 可控性蛋白降解的信号转导途径	275
第五节 细胞信号转导的特点及其相互作用	279
第六节 细胞信号转导障碍与肿瘤	281
挑战与展望	284
思考题	284
参考文献	285
Chapter 8 Cell Communication & Signaling	286
Section 1 Elements of Cell Signal Transduction System	288
Section 2 Cell Signal Transduction Mediated by Membrane Surface Receptor	291
Section 3 Cell Signal Transduction Mediated by Intracellular Receptor	293
Section 4 Controllable Protein Degradation and Cell Signal Transduction	293
Section 5 Characteristics of Cell Signal Transduction	294
Section 6 Signal Transduction Disorders and Tumors	295
Challenges and Prospects	296
Consider/Questions	296
第九章 肿瘤血管形成	298
第一节 正常血管形成	299
第二节 肿瘤血管形成	301
第三节 肿瘤新生血管的特点	308
第四节 调控肿瘤血管形成的因素	311
第五节 抗肿瘤血管形成的研究	316
挑战与展望	320
思考题	320
参考文献	321
Chapter 9 Tumor Angiogenesis	323
Section 1 Angiogenesis	324
Section 2 Tumor Angiogenesis	325
Section 3 Characteristics of Tumor Angiogenesis	329
Section 4 Regulating Factors of Angiogenesis	332
Section 5 Anti-angiogenesis—Current Research and Clinical Implications	338
Challenges and Prospects	341
Consider/Questions	342

第十章 上皮间质转化 (EMT)	344
第一节 胚胎发育相关的 EMT	346
第二节 组织损伤和纤维化相关的 EMT	348
第三节 癌进展和转移相关的 EMT	352
第四节 调控 EMT 的分子机制	357
挑战与展望	371
思考题	372
参考文献	372
Chapter 10 Epithelial Mesenchymal Transition (EMT)	375
Section 1 EMT in Embryonic Development	376
Section 2 EMT in Tissue Regeneration and Organ Fibrosis	376
Section 3 EMT in Tumor Progression and Metastasis	378
Section 4 Molecule Mechanism of Regulating EMT	379
Challenges and Prospects	384
Consider/Questions	384
第十一章 肿瘤侵袭与转移	386
第一节 肿瘤转移概述	386
第二节 瘤细胞黏附能力改变	389
第三节 降解 ECM 的蛋白水解酶	393
第四节 肿瘤细胞迁移动力	398
第五节 肿瘤转移的基因调控	401
第六节 肿瘤转移中的信号转导通路	402
挑战与展望	405
思考题	406
参考文献	406
Chapter 11 Tumor Invasion and Metas-tasis	408
Section 1 Concepts of Tumor Metastasis	408
Section 2 Adhesion of Tumor Cells	411
Section 3 Proteolytic Enzymes Degrading ECM	413
Section 4 Enhancement of Tumor Mobility	418
Section 5 Regulation of Tumor Metastasis	420
Section 6 Signal Pathways in Tumor Metastasis	421
Challenges and Prospects	422
Consider/Questions	423
第十二章 表观遗传学改变	424
第一节 表观遗传学的概念	424
第二节 表观遗传学的主要内容	426
第三节 在疾病中表观遗传学改变的意义	433
挑战与展望	439
思考题	439

参考文献	439
Chapter 12 Epigenetic Changes	442
Section 1 Concepts of Epigenetics	442
Section 2 Main Content of Epigenetics	443
Section 3 Significance of Epigenetic Changes in Diseases	447
Challenges and Prospects	452
Consider/Questions	452
第十三章 肿瘤微环境	453
第一节 TME 中血氧改变	454
第二节 TME 中的细胞成分	455
第三节 细胞外基质重塑	464
第四节 肿瘤细胞和 TME 之间通信	465
挑战与展望	471
思考题	472
参考文献	472
Chapter 13 Tumor Microenvironment	475
Section 1 Vascular and Metabolic Changes in TME	476
Section 2 Cellular Components in TME	479
Section 3 Extracellular Matrix Remodeling	485
Section 4 Communication between Tumor Cells and TME	486
Section 5 Clinical Implications	491
Challenges and Perspectives	497
Consider/Questions	500
第十四章 肿瘤的靶向性治疗	501
第一节 分子病理学在肿瘤靶向治疗中的作用	501
第二节 常用的分子靶点及靶向药物	503
第三节 常见肿瘤的分子靶向治疗	505
挑战与展望	514
思考题	515
参考文献	515
Chapter 14 Targeted Therapy for Tumor	518
Section 1 Roles of Molecular Pathology in Targeted Therapy of Tumors	518
Section 2 Common Used Molecular Targets and Targeted Drugs	520
Section 3 Molecular Targeted Therapy in Common Tumors	522
Challenges and Prospects	533
Consider/Questions	534



第一章 细胞凋亡

第一节 凋亡发生的机制

- 一、凋亡的生化特征
- 二、细胞凋亡的途径
- 三、细胞凋亡信号转导系统
- 四、细胞凋亡调控相关基因

第二节 凋亡细胞的形态特征

- 一、凋亡细胞的形态学
- 二、凋亡细胞被清除的过程
- 三、细胞凋亡和细胞坏死的区别

第三节 疾病中凋亡的研究

一、诱发细胞凋亡的因素

- 二、细胞凋亡异常增加
- 三、细胞凋亡过度减少
- 四、细胞凋亡不足与过度并存
- 五、针对细胞凋亡的治疗策略

第四节 凋亡的检测方法

- 一、凋亡检测要解决的问题
- 二、检测方法
- 三、凋亡检测的注意点

挑战与展望

细胞凋亡是种系发育史中早就存在的,如在胚胎发育(embryonic development)、正常组织更新(normal tissue turnover)及在增殖淋巴细胞群体中选择适当的克隆(selection of appropriate clones)中,并有利于许多生命功能的实现。细胞凋亡不引起局部组织损伤或炎症反应,机体的凋亡机制在于维持内环境的稳定,参与免疫系统细胞的发育和克隆选择,而发挥积极的防御作用。

细胞凋亡的主要生物学意义在于以下几方面。

(1) 清除多余的细胞:凋亡机制参与胚胎器官发育的过程中,以保持器官的大小与稳定状态。例如,人脑神经元在发育过程中约95%细胞发生凋亡;脊髓背根的运动神经元,当所支配的肌肉相对恒定后,约50%运动神经元凋亡;胚胎肢端发育指(趾)蹼的消失;空腔器官的管、腔、室的形成等。

(2) 清除无用的细胞:在形态发育中有些遗迹随发育而凋亡、萎缩,最终消失。例如,人体发育过程中尾芽的消失;又如,人生殖腺早期无性别差异,生殖腺分化决定于生殖腺细胞膜上H-Y抗原,存在H-Y抗原时,生殖腺分化为睾丸,同时女性中肾管发生凋亡;若无H-Y抗原时分化为卵巢,男性中肾管凋亡。

(3) 清除有害的细胞:在研究自身免疫性疾病、病毒感染和肿瘤机制中发现,自身反应性T、B淋巴细胞及某些病毒感染的细胞(细胞毒性靶细胞)和一些肿瘤细胞,通过凋亡得以清除。机体正是通过细胞凋亡作为自身保护的防御机制。

(4) 清除衰老的细胞:在整个细胞生命周期中,细胞在分裂分化的同时,也建立了一套限制自身无限增殖和自然淘汰的机制,如人红细胞分化成熟120天后自然凋亡、结肠上皮每天更换100亿个细胞、胃黏膜上皮3~5天更新一次等。

(5) 有选择性地清除细胞:在低剂量毒性刺激时(如细胞毒性药物、高温、电离辐射等),甚至极度缺氧的组织,凋亡明显发生在某类细胞,如睾丸经常暴露于放射线后精原细胞选择性的死亡、淋巴细胞增殖分化过程中的免疫选择、一些激素依赖性器官因激素撤除而引起靶细胞凋亡而萎缩(如乳腺、子宫)等。

细胞凋亡作为细胞死亡的一种形式一直是组织病理学研究的中心议题。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？形态学上可以作出一个区分的标准。1972年 Kerr 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。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), 好像秋风落叶或头发脱落的自然凋落。

“凋亡”一词 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。20 世纪 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, 由此形成了医学研究热点, 促进了凋亡理论在生物生理学各领域的广泛应用。正是由于发现了细胞凋亡的规律, 三位科学家获得了 2002 年的诺贝尔生理学或医学奖。他们是英国的悉尼·布伦纳、美国的 H·罗伯特·霍维茨和英国的约翰·E·苏尔斯顿。

细胞凋亡的发生是由基因控制的个别细胞发生的细胞程序性死亡 (programmed cell death, PCD) 的表现形式, 是由体内外因素触发细胞内预存的死亡程序而导致的细胞主动性死亡方式, 是细胞内遗传信息程序性调控的结果。参与凋亡调控的基因又联系着细胞周期调控、细胞增殖、分化基因之间的复杂网络调节。大多数动物细胞均能自我致死, 且此种普遍性的自杀程序也能由发自其他细胞的信号所激活或抑制。因此凋亡是一种能量依赖性的细胞自我销毁的主动过程。各种细胞凋亡在形态学上具有一致性, 但基因或生化标记在不同细胞类型是不同的。这种由基因控制细胞有目的、有选择性的自我消亡过程是保证生命进化的基础。

细胞凋亡是否完全与 PCD 相同? 现在要说明它们之间的异同还太勉强。更多的研究认为, 凋亡是个形态学的概念, 描述了一整套与坏死不同的形态学特征。而 PCD 侧重于功能上的描述, 指细胞内特点相同的程序性表达介导的细胞死亡。细胞凋亡和 PCD 具有非常密切的关系。大多数情况下 PCD 是以凋亡的方式进行, 但并不是所有 PCD 都采取凋亡的方式, 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 PCD 是以非凋亡的方式进行 (细胞溶解, 不形成凋亡小体)。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 PCD (如放疗后在肿瘤组织坏死中可以看到鬼影细胞)。

第一节 凋亡发生的机制

凋亡是哺乳动物细胞对生理性、病理性刺激做出的快速且机制复杂的反应, 各种细胞外刺激如 DNA 损伤、热休克、生长因子缺乏等均可启动凋亡。

一、凋亡的生化特征

凋亡主要通过受体介导的信号途径 (receptor-mediated cellular signaling pathway) 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。凋亡的生化特征主要表现为以下几方面。

- (1) 核小体间 DNA 双链裂解, 形成 180~200bp 大小及其倍数的核苷酸片段。
- (2) Ca^{2+} 的堆积和重新分布。
- (3) 转谷氨酰胺酶的积累并激活。

(4) 细胞表面糖链、植物血凝素的增加。

(5) 细胞骨架的改变。

其中以下三个酶的改变最重要。

(1) 核酸内切酶：该酶 (endonuclease) 活化能在核小体间连接区 (internucleosomal linkage region) 将 DNA 双链裂解，形成 180~200bp 大小及其倍数的核苷酸片段，在电泳胶上呈梯状条带 (图 1-1)。

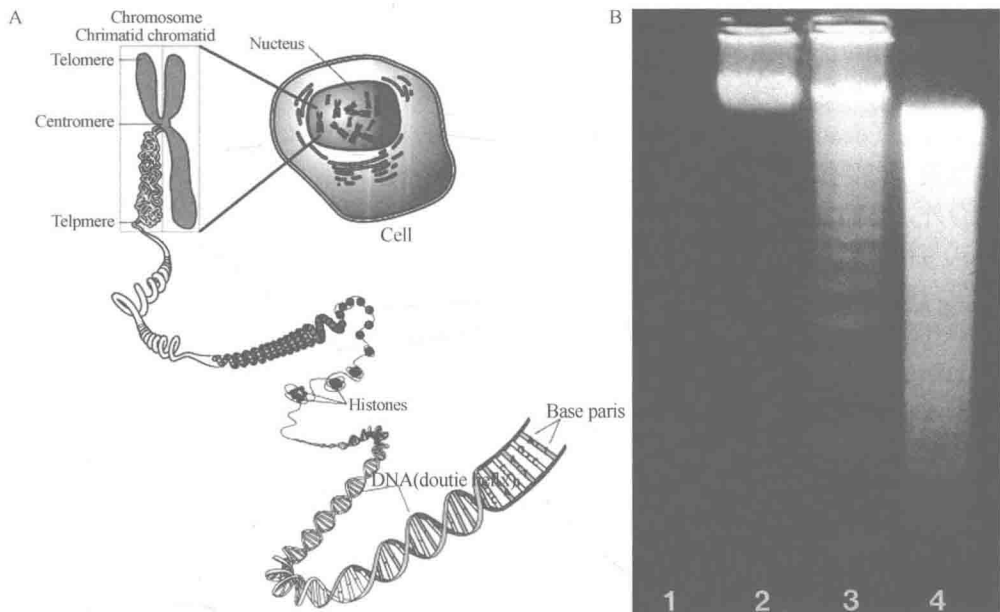


图 1-1 核酸内切酶在核小体间连接区将 DNA 双链裂解，形成 180~200bp 大小及其倍数的核苷酸片段，在电泳胶上呈梯状条带；DNA fragmentation with 180~200bp cut by endonuclease internucleosomal linkage region, DNA ladder

(2) 组织转谷氨酰胺酶 (tissue transglutaminase, TTG)：活化催化 ϵ - (γ -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 活化形成内披蛋白 (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。

(3) 钙依赖蛋白酶 (calcium-dependent proteinase)：活化后使 Ca^{2+} 堆积和重新分布，破坏细胞骨架结构，形成细胞表面泡状突起。阻断胞质 Ca^{2+} 浓度可以抑制凋亡发生，增加胞质 Ca^{2+} 浓度可以促进凋亡。

细胞表面糖链、植物血凝素的增加和细胞骨架的改变均参与细胞凋亡的发生。

二、细胞凋亡的途径

来自细胞内外的各种信号可诱导细胞发生凋亡，但不同类型的凋亡细胞却呈现一致的特征性形态和生化改变，这些改变由半胱氨酸-天冬氨酸特异性蛋白酶 (胱天蛋白酶, caspase) 家族降解所造成^[1]。

按启动 caspase 和信号转导机制的不同，凋亡发生有不同的途径^[2]：一条为外源性途径，即死亡受体 (death receptor, DR) 介导途径；另一条为内源性途径，也称为线粒体介导途径。它们通过一系列分子和生物化学途径导致两个途径共同的“中央处理器”分子即 caspase 的活化，并诱导许多细胞核和细胞质内相关底物的降解。最新研究显示，内质网应激 (endoplasmic reticulum stress)

途径也可以导致细胞凋亡。未折叠或错误折叠的蛋白质在内质网中过度积累,导致内质网产生应激反应从而激活保护细胞的信号通路,通常称为未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)。如果内质网收到的刺激不减弱,UPR 会恢复和保持内质网的动态平衡或者诱导细胞凋亡。

(一) 外源性 DR 途径

1. 死亡配体(death ligands)结合而促发的凋亡 这些配体包括肿瘤坏死因子(TNF)、Fas 配体(FasL)、肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)、载脂蛋白 3 配体(Apo3L),也称为死亡因子,相应的 DR 包括 TNFR、Fas、CD40、OX40、4-1BB(即 PCD137),它们胞内区都具有一约 80 个氨基酸残基组成的保守的蛋白结合域,且是传导细胞死亡信号所必需,称之为死亡结构域(death domain, DD)。DD 有自身联合的倾向,该倾向有助于在启动信号转导时的受体聚集。当受体高表达时可导致配体非依赖性信号转导。由于 DD 无酶解功能,因此除了自身结合外,它们也可直接或间接通过锚定蛋白与其他蛋白结合转导信号^[3]。死亡因子以三聚体的形式与靶细胞上的 DR 结合并诱导受体三聚体化,激活的受体通过与多种也具有 DD 的受体连接蛋白或衔接蛋白,如 Fas 与 Fas 相关死亡结构域(Fas-associated death domain, FADD),TNFR(TNF receptor)1 与 TNFR 相关死亡结构域(TNF receptor-associated death domain, TRADD)及 FADD,再与 caspase-8 相互作用并使后者激活,FADD 和 caspase-8 都含有死亡效应子结构域(death effector domain, DED),它们之间通过 DED-DED 相互作用激活 caspase-8,启动 caspase 家族酶的级联反应,通过执行死亡蛋白酶 caspase-3、caspase-6、caspase-7 等导致细胞凋亡^[4]。

2. Fas/FasL 系统 Fas 介导细胞凋亡的调控途径,FasL 与 Fas 结合可以导致 Fas 胞内的死亡结构域形成三聚体而活化,并引起与之结合的 FADD 构象改变,使 caspase-8 前体集聚、断裂和激活,产生有活性的 caspase-8,从而激发一系列下游的 caspase 级联反应,诱发细胞凋亡^[5]。这是一条基本的通过 DD 和 FADD 的细胞凋亡调控途径。FasL 和 Fas 系统除了诱导死亡的功能外,还有导致细胞活化和增生的功能^[6](图 1-2A)。

3. 肿瘤坏死因子(tumor-necrosis factor, TNF)系统 TNF 是由 157 个氨基酸亚单位组成的同源三聚体,主要由因感染而活化的巨噬细胞和 T 细胞产生,TNF 与 TNFR1 结合诱导细胞凋亡^[9]。TNF 三聚体与 TNFR1 的胞外结构域结合启动信号转导,从 TNFR1 胞内结构域(intracellular domain, ICD)释放抑制蛋白沉默死亡结构域(silencer of death domain, SODD),结果导致聚集的 TNFR1-ICD 被衔接蛋白 TRADD 所识别,募集了其他衔接蛋白,如受体作用蛋白(receptor-interacting protein, RIP)、TNFR 相关因子-2(TNFR-associated factor-2, TRAF2)和 FADD。募集的这些蛋白是启动 TNFR1 信号转导中的关键酶^[8](图 1-2B)。

TNFR1 与 DD 和 TRADD 相互作用后,是通过 TRAF2 和 RIP 两条途径分别进行信号转导^[9]。TRAF2 和受体相互作用蛋白(RIP)可以激活 NF- κ B 诱导激酶(NIK),NIK 反过来又可以激活 κ B 激酶复合物(IKK)的抑制剂(I- κ B),导致 I- κ B 降解和允许 NF- κ B 转移到核内,发挥转录激活效应^[10]。从 TRAF2 和 RIP 到 JNK 的途径中还涉及一个包括丝裂原激活蛋白激酶 MEKK1(MAP/Erk 激酶 1)-JNKK(JNK 激酶)-JNK 的转导通路。这样,抑制性蛋白就可以最终发挥抑制细胞凋亡的效应^[11]。TNFR1 还可以和 RADD 或 CRADD(一种衔接蛋白)相互作用,RADD 通过其死亡结构域和 RIP 死亡结构域相结合或者通过胱天蛋白酶募集域(caspase recruitment domain, CARD)序列与死亡效应分子 caspase-2 结合,也可以诱发细胞凋亡产生^[12]。

(二) 内源性线粒体途径

启动凋亡的关键因素是线粒体功能紊乱。线粒体是含有丰富的腺嘌呤核苷酸载体(adenine nucleotide translocator, ANT)、电压依赖性阴离子通道(voltage-dependent anion channel, VDAC)、

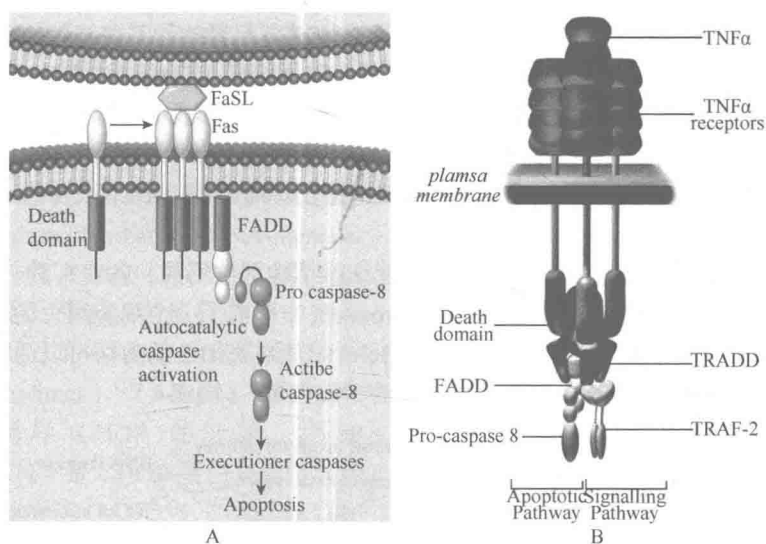


图 1-2 外源性死亡受体[Fas(A)和 TNF(B)]介导的细胞凋亡途径；FAAD: Fas-associated death domain；FasL: Fas ligand Apoptosis pathway through death receptors[Fas(A)和 TNF(B)]

B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2) 分子等的双层膜包裹的囊状结构。外膜通透性较大，容许分子量在 15kDa 以下的物质自由通过，内膜通透性小，大于 1.5kDa 物质不易通过。该双层膜通透性的改变在细胞凋亡中起重要作用，而外膜通透性改变与内膜相比更具有凋亡特征。线粒体调节细胞凋亡有 3 种机制：①线粒体电子传递与能量代谢的破坏；②细胞氧化状态的改变；③线粒体膜通透性改变导致介导细胞凋亡分子的释放。其中线粒体膜通透性改变在细胞凋亡中起重要作用。

线粒体膜通透性的改变可释放多种分子启动凋亡，主要包括 caspase 前体、细胞色素 c (Cyt-c, caspase 的激活剂)、第二个线粒体来源促凋亡的 caspase 激活剂 (second mitochondria-derived pro-apoptotic activator of caspases, Smac)/低等电点的直接结合 IAP 蛋白 (direct IAP-binding protein with low pI, Diablo, caspase 的协同激活剂)，以及凋亡诱导因子 (apoptosis inducing factor, AIF, 激活核酸酶裂解 DNA 成小片段)、凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis protein, IAP, caspase 的直接抑制剂)、内切核酸酶-G (endonuclease G) 等^[13]。

1. 细胞色素 c 在脊椎动物细胞凋亡过程中，线粒体被认为是处于凋亡调控的中心位置，线粒体外膜的物理性损伤导致定位于线粒体的 caspase 活化物的释放，而最重要的分子是 Cyt-c。Cyt-c 是线粒体呼吸链的重要组成部分之一，线粒体膜通透性增高是释放 Cyt-c 的关键。

细胞损伤后，Cyt-c 从线粒体释放，并与细胞凋亡蛋白酶激活因子 1 (apoptosis protease activating factor 1, Apaf-1, 线虫 ced-4 的同源物) 结合，并活化 caspase-9 前体，进而激活 Caspase-3, 引发 caspase 级联反应，从而诱发细胞凋亡^[14] (图 1-3)。

2. 凋亡体 凋亡体 (apoptosome) 也称为死亡复合体 (death complexes)，是细胞线粒体对凋

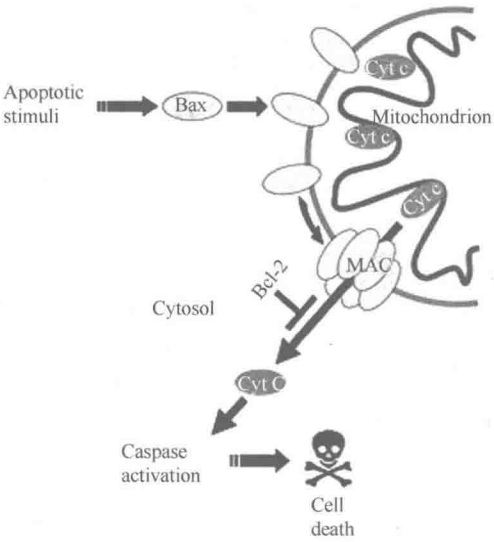


图 1-3 线粒体介导的细胞凋亡途径；Apoptosis pathway through mitochondria

亡性死亡做出反应的关键步骤，它是由线粒体通透性增高而释放的某些线粒体蛋白如 Cyt-c、Smac/Diablo 等启动的、由 Cyt-c 和 Apaf-1 形成的七聚体结构。Cyt-c 从线粒体膜间隙释放并结合胞浆中的 Apaf-1 单体，诱导其变构与 ATP 稳定连接，随后形成七聚体的凋亡体 (heptameric apoptosome)，再通过它的 caspase 募集域 (caspase recruitment domain, CARD) 募集并激活 caspase-9 前体，激活的 caspase-9 进一步激活效应因子 caspase-3、caspase-6、caspase-7，使凋亡达到了顶峰^[15]。

2 条主要的细胞凋亡途径，因启动信号的亚细胞结构部位不同，各自有其一定的独特性，但在胞内凋亡信号转导中存在有广泛的串流 (crosstalk)，形成了一个细胞凋亡的信号转导网络。例如，在死亡受体诱导的凋亡中，caspase-8 对 Bcl-2 家族成员 Bid 的剪切可以活化线粒体途径，并使凋亡信号放大。线粒体就被作为凋亡信号的“放大器” (图 1-4)。

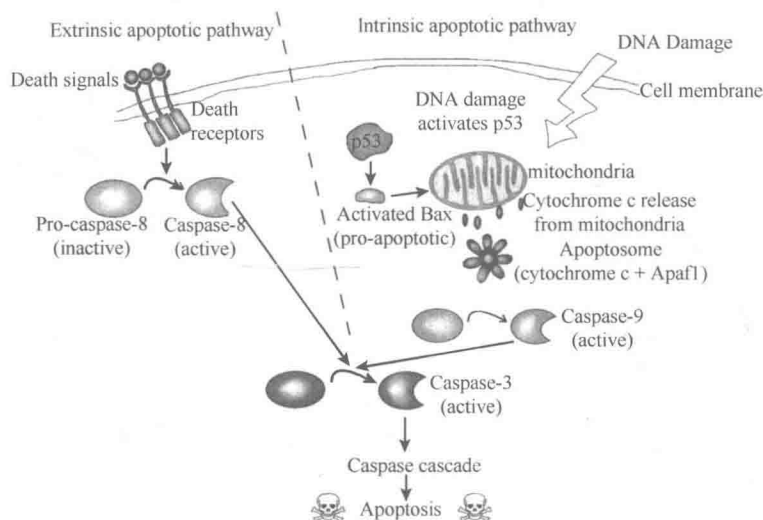


图 1-4 两个主要的凋亡信号途径；A brief overview of the extrinsic and intrinsic apoptotic pathways

(三) 内质网应激途径

当新合成的蛋白质 N 端糖基化、二硫键形成及蛋白质由内质网向高尔基体转运等过程受阻时，非折叠或错误折叠的新合成的蛋白质在内质网中大量堆积，或者是 Ca^{2+} 平衡状态的打破，都会损伤内质网的正常生理功能，称为内质网应激反应 (endoplasmic reticulum stress response, ESR)。

当内质网处于应激状态时，非折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 可激活 3 种转录因子——IRE1/ERN1 (inositol requiring 1)、PERK/PEK (PEK like ER kinase) 和 ATF6 (activating transcription factor 6)，引起未折叠的和错误折叠的蛋白在内质网内沉积降解。IRE1 是一个内质网 I 型跨膜糖蛋白，它的 3 个功能区——胞质区的激酶域和核糖核酸酶 (RNase) 域、内质网腔中的氨基端区域，能感知未折叠蛋白的蓄积，并能跨过内质网膜进行 UPR 信息传递。PERK 也是一个内质网 I 型跨膜糖蛋白，ESR 时，N 端感受应激信号，免疫球蛋白重链结合蛋白质 (BiP) 与 PERK 的二聚化位点解离，PERK 形成寡聚体且发生自身磷酸化而被激活。ATF6 是内质网上 II 型跨膜蛋白，ESR 时，ATF6 与 BiP 分离，ATF6 以囊泡转移的方式从内质网膜转移到高尔基体，在高尔基体内被蛋白酶 S1P (site-1 protease) 和 S2P (site-2 protease) 切割，产生游离的 N 端片段。活化的 ATF6 N 端切割段转移到核内作为转录因子与 ESR 元件结合，激活应激元件基因启动子区域，这些基因激活分子伴侣、折叠酶和 CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白

[CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) homologous protein, CHOP]的转录(图 1-5)。

ESR 诱导细胞凋亡的 3 条主要信号途径如下。

1. CHOP 通路 生长阻滞及 DNA 损伤诱导基因 153 (growth arrest and DNA-damage-inducible gene 153, CHOP/GADD153) 是 ESR 特异的一个转录因子, 在其启动子中能与 C/EBP 和转录因子 Fos-Jun 家族成员形成异源二聚体 (heterodimer) [16]。IRE1、PERK 和 ATF6 都能诱导 CHOP 的转录, 其中 PERK-eIF2 α -ATF4 是 CHOP 蛋白表达主要途径 [17]。CHOP 能激活 GADD34、ERO1 和 DR5 等凋亡反应蛋白。PERK 磷酸化酶 eIF2 α 能诱导 ATF4、ATF3 和 CHOP 的表达, 然后转录因子上调 GADD34, GADD34 通过蛋白磷酸酶 (PP1) 介导 eIF2 α 去磷酸化, 增加内质网伴侣蛋白 (chaperone) 的生物合成。因此在细胞应激状态时, 内质网合成 chaperone 蛋白明显增加 [18], 过量表达的 CHOP 能促进细胞凋亡 [19]。ERO1 是一个内质网氧化酶, 使内质网产生一个过氧化环境。CHOP 可减少细胞糖化, 增加内质网中氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 的产生。干扰 ERO1 功能后使内质网中 ROS 减少, 导致细胞的保护, 表明 ERO1 是 CHOP 下游的重要凋亡效应子。DR5 编码一个能够激活 caspase 蛋白级联反应的膜表面死亡受体 [20]。CHOP 能转录性下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 和上调死亡受体家族成员 DR5, Bcl-2 和 DR5 在非内质网应激的凋亡通路中有同样的作用。CHOP 还能与 cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP-response element-binding protein, CREBP) 形成异源二聚体, 能抑制 Bcl-2 蛋白的表达, 这可以促进线粒体的凋亡通路。

2. caspase 通路 在 ESR 诱导的细胞凋亡中胱天蛋白酶 caspase 家族促凋亡蛋白也起关键的作用。caspase-12 (一个鼠源性蛋白, 大部分人表达 caspase-12, 在人类是 caspase-4 起该作用) 定位于内质网外膜, 是介导 ESR 凋亡的关键分子, 非内质网应激性凋亡不能激活该分子, 即在死亡受体和线粒体凋亡途径中是不被活化的。实验发现 caspase-12 缺陷鼠能抵抗 ESR 引起的凋亡, 而对其他死亡刺激仍可发生细胞凋亡, 这说明 caspase-12 与 ESR 介导凋亡的机制有关, 而非内质网应激介导的凋亡无关 [21]。caspase-12 活化的机制主要有下面几个方式: ①胞质钙活化蛋白酶。钙蛋白酶 (calpain) 是细胞质中另一 caspase 家族成员, 其裂解与活化依赖于 Ca^{2+} 的存在。在 ESR 状态下, 细胞内 Ca^{2+} 水平的升高引起细胞质中的 calpain 活化并转位到内质网膜上, 剪切内质网膜上的 procaspase-12, 使之活化并释放到细胞质中, 同时活化的 calpain 在环状结构域剪切 Bcl-xL, 使之由抗凋亡分子变为促凋亡分子。②TRAF2 依赖性机制。caspase-12 通过直接与 IRE1 α 和衔接蛋白 TRAF2 的联系而主动激活, 具体机制尚不清楚。在正常状态下, 细胞中的 TRAF2 与 procaspase-12 形成稳定的异源二聚体, 而在 ESR 状态下, TRAF2 和 procaspase-12 分离, 引起 caspase-12 的活化, 并同时引起 JIK-IRE1 复合物募集 TRAF2, 导致 JNK 磷酸化而活化。③caspase-7 的内质网转位。ESR 时, caspase-7 转位于内质网并活化, 与 caspase-12 形成复合物并剪切 procaspase-12, 破坏了膜与 caspase-12 的联系, 使之活化并释放到细胞质中。④葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、caspase-7、caspase-12 复合物途径。ESR 诱导伴侣蛋白 GRP78 表达, 并在内质网膜上与 caspase-7 和 caspase-12 形成复合物, 阻止 caspase-12 从内质网膜释放, dATP 可解离这种复合物, 促使 caspase-12 向细胞质转位并活化。

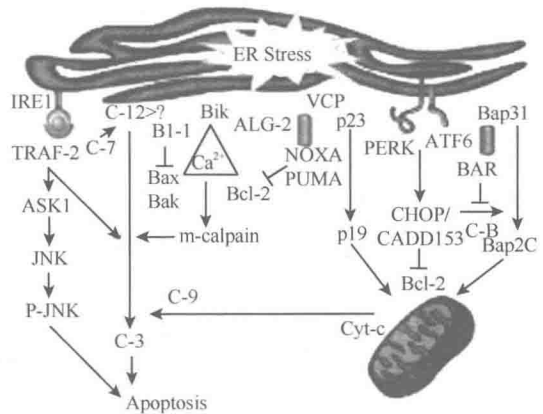


图 1-5 内质网应激途径; Protein implicated in ER stress pathways