

细胞增殖周期与肿瘤免疫

〈专题讲座资料〉

中华医学会上海分会

目 录

- (一)细胞增殖周期.....上海第一医学院 许由恩(1)
- (二)细胞内遗传信息的传递与蛋白质合成过程.....上海第一医学院 许由恩(4)
- (三)抗癌药物作用的分子生物学原理.....上海第一医学院 许由恩(10)
- (四)细胞的增殖与抑制.....上海第一医学院 许由恩(15)
- (五)化疗药物对肿瘤细胞增殖周期的作用.....上海第一医学院 许由恩(19)
- (六)染色体与肿瘤.....上海第一医学院肿瘤医院 许良中(26)
- (七)肿瘤与免疫.....第二军医大学第二附属医院 孔宪涛(31)
- (八)研究人体细胞染色体的技术.....上海市静安区中心医院检验科细胞室
第二军医大学第二附属医院妇产科实验室(47)
- (九)人体与动物细胞的体外培养简介.....中国科学院上海细胞生物学
研究所 朱德厚 陈瑞铭(54)
- (十)卵巢癌患者外周血细胞染色体的动态变化.....第二军医大学第二附属医院
妇产科实验室(57)
- (十一)检测胸、腹水脱屑细胞染色体以判断卵巢恶性肿瘤的初步观察.....
第二军医大学第二附属医院妇产科实验室 潘荣文 林华莲 程洪君(62)

细胞增殖周期

上海第一医学院 许由恩

一、分期概念:

细胞增殖周期是指细胞从前一次分裂结束开始到下一次分裂结束为止这样一个周期(简称为细胞周期)。在国外文献中,这名称极不统一,较普遍采用cell cycle,此外如cell life cycle, Generation cycle, Mitotic cycle, Nuclear cycle等均被采用。

现在一般将细胞周期分为间期和丝裂期(前称分裂期)两个阶段。

细胞在上一次分裂结束后即进入间期,这时就是新的细胞周期的开始。间期又可分为三个分期,第一分期称为“DNA合成前期”(Pre-synthetic phase或Pre-duplicating phase),代号为 G_1 期。第二分期称为“DNA合成期”(DNA synthetic phase),代号为S期。第三个分期称为“DNA合成后期”(post-synthetic phase, post-duplicating phase)或叫丝裂前期(Pre-mitotic phase),代号为 G_2 期。三个分期中最关键的活动是DNA合成期。DNA的合成并不是细胞增殖过程——进入间期就开始的,而只是在其中的一个分期内进行。合成前和合成的量达到了一倍后,都分别有间歇(Gap)时间,合成前的间歇时间即DNA合成前期,其代号 G_1 的含义就是“第一次间歇”。合成后的间歇时间,即DNA合成后期,其代号 G_2 的意思就是“第二次的间歇”。

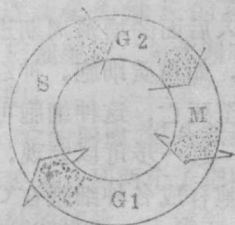
G_2 期结束后即进入丝裂期(Mitotic phase),即以前叫做分裂期(Dividing phase),以前代号用“D期”,现在一般都用M期”。M期又根据其不同形态变化分为前期(prophase亦可称为早期),中期(Me-taphase),后期(Ana~phase)和末期(Telo phase)等四个小分期。末期一结束,就形成了两个新的子细胞,一次细胞增殖周期即告结束,细胞就又进入了间期的 G_1 期。整个M期时间极为短暂,所以,大家注意力都着重在间期的三个分期。

各个分期所需时间分别以 TG_1 、 T_s 、 TG_2 和 TM 表示之,整个增殖周期所需时间则以 T_c (Time of cycle)或 GT (Genertion Time)表示之。细胞周期中各期所需时间各不相同,哺乳动物正常细胞的 TM 最短,约为0.5~1小时, TG_2 约为2~2.2小时, T_s 通常为8~30小时,有时也可长达60小时,由于细胞是通过延长 G_1 期的时间来控制增殖的,因之 TG_1 变化很大,可以数小时、数天以至数月。细胞数目增加一倍(在实际应用中通常以体积增加一倍来说明的)所需的时间称为“倍增时间(Doubling Time)”,以 DT 或 TD 表示之。从理论上讲,细胞增殖一次,细胞数目应该增加一倍,因此倍增时间应该等于细胞周期时间($DT=TC$)。但事实上,前者常受许多因素所影响,一般都较后者长。

组织培养的人体细胞平均的增殖周期 $TC=18\sim22$ 小时, $TM=1$ 小时。

二、 G_1 期(DNA合成前期)的特点:

G_1 期从前一次细胞增殖周期完成后开始的,刚分裂好的子细胞的体积较原有的细胞为



小，因而在这一时期首先要经过一个细胞生成的过程。细胞行使正常功能是在G₁期通过一系列的生物合成反应来完成的，其所进行的生物合成与各该细胞（及其所在的组织器官）的特性有关，一定的细胞组织要求合成相应的DNA和蛋白质。细胞如果逐渐分化，则长期停留在这个时期直至死亡。对增殖能力旺盛的细胞，分化的程度就很低，其生物合成则供细胞生长的需要。小鼠细胞的组织培养表示：G₁期开始时细胞越大（即子细胞体积较大的），G₁期的时间（TG₁）就越短，这说明对增殖机能旺盛的细胞而言，G₁期主要是一个生长期，在这一时期中，根据生化测定，没有DNA合成。所以从DNA合成的角度来说，这是一个“间歇”阶段。

但是，已经发现有些细胞的周期中没有可测出的G₁期，例如小鼠腹水瘤细胞，造血干细胞以及某些动物的早期胚胎细胞。有人提出这样的假设说，在有利于快速增殖的条件下，G₁期就被缩得很短，有时甚至没有了。

具有明显G₁期的细胞，其TG₁也不是划一的。下表表示小鼠消化道里不同上皮干细胞的TC。

期 别	部 位			
	口腔粘膜	食 道	回 肠	结 肠
TG ₁	75（小时）	171	26	7
Ts				
TG ₂	10	10	10	10
TM				
TC	85	181	36	17

上表说明就是同一类群的细胞中，各个细胞的G₁期也可有所不同，而S、G₂和M期却保持相对地恒定。

细胞进入G₁期后可能出现下列三种前途：（一）继续进行增殖，如骨髓细胞、消化道粘膜细胞等。这种细胞称为“增殖细胞”。（二）暂时不继续增殖，如肝细胞、肾细胞，只有当肝细胞、肾组织细胞大量死亡时（或进行部分肝切除手术后）需要增殖补充时，才离开G₁期，进入后面的增殖周期进行细胞增殖，这种细胞称为“非增殖细胞”。（三）可能不再继续增殖，如角质细胞、神经细胞、肌细胞、红细胞等，这些细胞终身处于G₁期，通过分化，衰老直至死亡，这种细胞可称为“不育细胞”。

进一步可以发现，G₁期又可以分为两个阶段，即“G₁早期”和“G₁晚期”。在G₁早期，细胞合成各种细胞在G₁期所特有的RNA和蛋白质，在G₁晚期（亦称后G₁期），则转变为合成DNA复制所需要的若干前导物。因此，处于后G₁期的细胞已获得DNA复制所需的条件，细胞进入继续增殖状态，此后将顺序通过S、G₂和M期而完成细胞增殖周期。而处于G₁早期的细胞则并没有获得复制DNA必要的准备条件，没有进入增殖状态。上述的“不育”细胞和非增殖细胞主要是停留在G₁早期中。

三、DNA合成期（S期）

细胞增殖周期中DNA复制的关键在于DNA的合成，而DNA合成的开始就标志着G₁期的终止及S期的开始。从G₁期进入S期是细胞周期的关键时刻。通常只要DNA的合成一开始，细

胞增殖活动就会进行下去，直到分成两个子细胞。细胞一般不停留于S、G₂或M期，但是在某种情况下，这几个时期也可能稍微延长。

S期最主要的特征就是DNA的合成。此时，利用各种前导物合成嘌呤和嘧啶等碱基，并形成脱氧核苷酸。生化测定说明在这一时期内DNA的含量增加一倍。另外，S期的特点对肿瘤治疗也有实际意义。

四、DNA合成后期（G₂期）

G₂期也有人称之为“丝裂准备期”，或“丝裂前期”（Pre-mitotic phase），因为这时期主要是为后面的M期作准备。这一时期DNA的合成终止，不过又发现RNA和组蛋白或维持细胞膜的蛋白质的合成，不过其含量逐渐减少。有人认为，作为M期中纺锤丝的原材料的微管蛋白（Tubulin）可能是在这一时期合成的。哺乳动物细胞的G₂期比较恒定，大致1~1.5小时之间，但亦有例外，如小鼠耳上皮和幼兔的前釉细胞G₂期皆长达6~9小时。这一时期代谢活动比较少，耗氧量也很少。

五、丝裂期（M期）

细胞一旦在G₂期完成了细胞分裂的准备后就进行分裂。细胞分裂的开始标志着G₂期的结束而进入M期。M期的生物学意义仅在于将S期中倍增的遗传物质（DNA）形成染色体，然后再平均分配到两个子细胞。M期中蛋白质合成速度降低至极低水平，而RNA的合成，除在前期的开始阶段以及末期的最后阶段外，基本上停止进行。M期中有极明显的形态变化，这些变化是保证将复制完毕的遗传物质（DNA）在质和量上能够平均地分配到两个子细胞。整个M期，根据形态变化分为前、中、后、末四个小分期。

细胞开始分裂时（即前期开始时），中心体内的中心粒互相分开（原来只有一粒的则先分为两粒），并向细胞两端移动，中间以细丝（纺锤丝）相连。在中心粒分开的同时，细胞核膨大，核内染色质浓缩，先形成纤细而屈曲的丝，然后，这丝状结构再逐渐变短、变粗，形成具有一定形态和数目的染色体，聚集在细胞中央。在染色体形成过程的同时，核仁、核膜也逐渐消失。中期，可以看到的每条染色体已经基本上纵裂为二，只是在着丝点地方仍是相连的。随后这些染色体逐渐移向细胞中央排成一个平面，与纺锤丝的纵轴相垂直。后期，着丝点一分为二，分别和两端的纺锤丝相连，这时纵裂了的染色体就完全分开了，染色体的数目比原来增加一倍。以后，由于纺锤丝的作用，纵分了染色体各向细胞两端移动，形成了数目相等的两组染色体，分别集中于细胞两端。末期，染色体又逐渐变为细长的染色丝，最后又恢复成染色质状态，核仁和核膜重新出现，各自形成一个新细胞核，与此同时，细胞质也分成两等分，细胞膜从中部凹陷隔开，这样就形成两个新细胞。

M期中出现的染色体即染色质（其中含DNA和组蛋白）的浓缩形态，它的形成，纵分和纵分后的染色体分别向两极移动等活动，就是将S期复制的两套遗传信息完整地分到两个子细胞。

利用显微解剖器在低等动物丝裂期细胞取出整个纺锤体进行细胞外的试验，了解到下面一些资料：（1）蛋白质单体的聚合可能是由于氢键和二硫键的作用；（2）由蛋白质分子的聚合到纺锤丝的出现可能分为两个步骤，首先由蛋白质分子聚合成为胶态构造，第二步再聚合成纺锤丝。大家都已熟知，秋水仙碱可以阻抑细胞的有丝分裂，主要的作用是阻断纺锤丝及纺锤体的形成，也可能是麻痹纺锤体的主动收缩的机能。离体试验发现，经过秋水仙素处理的分裂细胞的纺锤丝蛋白的合成只停留在凝胶的状态，不能进一步形成纺锤丝和纺锤体。这

（下转第18页）

细胞内遗传信息的传递与蛋白质合成过程

上海第一医学院 许由恩

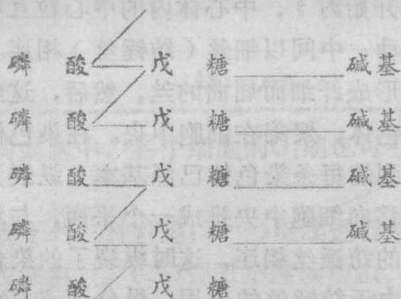
在细胞丝裂过程中，最明显的形态学上的变化，是染色体的复制，最后，将染色体平均地分到两个子细胞。可见染色体是生物体遗传物质的载体。

染色体的主要成份是核蛋白，包括有蛋白质和核酸，根据近十年来的研究，认为核酸主要是遗传物质，是基因(gene)的化学成份。

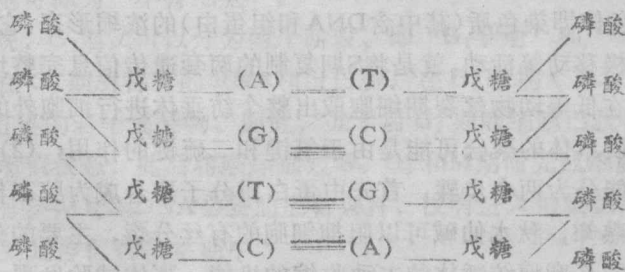
一、核酸

核酸是一种复杂的有机化合物，它与蛋白质都是生命物质中极为重要的成份。核酸是许多单核苷酸的聚合物。每个单核苷酸是由三类比较简单的化合物所组成：(1)磷酸；(2)戊糖；(3)碱基。单核苷酸的聚合是通过一个单核苷酸的戊糖和另一个单核苷酸的磷酸结合，如下表所示。

生物体内的核酸分核糖核酸(RNA)和脱氧核糖核酸(DNA)两大类。它们的区别主要在于RNA分子中戊糖种类是“核糖”，而DNA却是“脱氧核糖”(即“去氧核糖”)；另外，DNA分子中所含的碱基是腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)；而RNA分子中所含的碱基是A、G、C、尿嘧啶(U)。

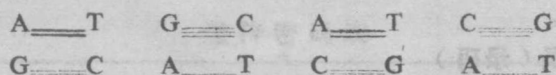


DNA分子的结构：每个DNA的分子由两条互相缠绕着的多核苷酸长链组成，去氧核糖和磷酸排在每条长链的外侧，碱基在内侧，每条长链上的单核苷酸是相对的，由氢键把相对的碱基联结在一起，其排列情况大致如下图(双链的DNA分子中一段)：



相对的碱基排列是有规律的，一条长链上的A总是跟另一条长链上的T通过H键相联系的，G总是和C相联系的，这称为“互补原则”，这样特定碱基结合叫做互补碱基对。这四

种碱基可能的组合有以下四种：



(图中横线，代表互补对中H键的数目)

一个DNA分子的碱基数目很多，一般一百个以上，多的可达数百万，因此，碱基排列的可能方式就在 4^{100} 以上。这表明DNA分子是多种多样的，这就是这些多种多样的DNA分子中蕴藏着个体中无数的遗传信息传于子代。一个DNA分子上的一部分结构发生变化，就可能意味着遗传结构的突变。

细胞内的DNA绝大部分都存在于细胞核内，它和某些蛋白质共同构成染色体。

RNA分子的结构：RNA的基本化学成份也是核苷酸，不过其戊糖不是去氧核糖而是核糖，碱基中除A、G、C之外，不含T而含U，RNA分子基本上是由多核苷酸单链构成。细胞内的RNA，主要是分布于细胞质中，但少量分布在核内。现在已知RNA的种类有下面三种：

(一)信使RNA(简写m-RNA)：这种RNA单链的长短不一，分子量为150,000—2,000,000之间，沉降常数也不划一，一般 $<30S$ ，其数量约占细胞内RNA总量的5~10%，它的作用是从细胞内的DNA分子上录出遗传信息，带到细胞质中的核糖体上，以进行蛋白质合成。

(二)转移RNA(简写t-RNA)。这种RNA基本上也是单链，但常自交成双链螺旋，两头有游离的“端”。并含有多种甲基化的特殊碱基。t-RNA的大小比较一致，分子量为24,000，是几种RNA中分子量最小的一种，有的分子只含67个单核苷酸，沉降常数为4S，其含量占整个细胞中RNA总量的5~10%。t-RNA作用在于运送某一特定的氨基酸分子到m-RNA上。

(三)核糖体RNA(简写r-RNA)。其分子有螺旋结构，分子量为三种RNA中最大，约 $0.6 \sim 12 \times 10^6$ 。沉降常数分别为5S, 16S, 23S，分子的代谢更新比较慢，是构成核糖体的主要成份。

二、DNA的复制

(一)DNA的自身复制

在细胞增殖周期的S期中，DNA进行复制。复制时，(1) DNA的双螺旋链中的氢键打开而彼此分开，称为“解旋”。(2) 拆开后的多核苷酸链在内侧面伸出的碱基，各和周围核质中相对应的单核苷酸配联，即伸出的T和A连结，伸出的C和G连结。(3) 新配上去的核苷酸组成一条新的多核苷酸链，这样，一个DNA分子就复制成两个同样的DNA分子了。

从人工合成DNA证明，复制过程中其周围必需有四种核苷酸为原料，有少量原来的DNA为“模板”，另外还需要某些必要的酶和能源，只有具备了这些条件，DNA才可能进行复制。

(二)DNA互补合成RNA

(1) 原有的双链DNA解旋，分解成两个多核苷酸长链，其中一个长链不起作用，另一个长链作为RNA分子的合成“模板”；

(2) 相对应的核糖核苷酸与“样板”上的碱基相配对，不过，不是T与A相配对，而是U与A相配对；

(3) 然后两链再行拆开；

(4)新形成的单链就是RNA分子。所以，DNA一方面不断复制新的DNA分子，另一方面，互补合成RNA分子。

三、遗传信息的转录（录码）

现代分子遗传研究表明，染色体上的DNA是由四种核苷酸以特定的顺序联接起来的双螺旋结构（噬菌体中发现过单链的DNA成环状，如MB）。DNA链上有许多基因。因此每个基因只是DNA链上的某一特定的区段（可能包括一千或一千以上的核苷酸）。不同的基因所含的核苷酸数量和顺序都不相同。在细胞增殖周期的S期中，DNA分子按照自己的核苷酸顺序，复制出相应的DNA，然后经细胞分裂分配到二个子细胞中去，因而两个子细胞就得到了同样的基因。这就是遗传信息的贮存。在代谢旺盛的细胞中，核内的DNA还可以用自己作模板，大量互补合成相应的RNA。这些RNA中有一种能够带有DNA中某一段的遗传信息，这就是m-RNA。

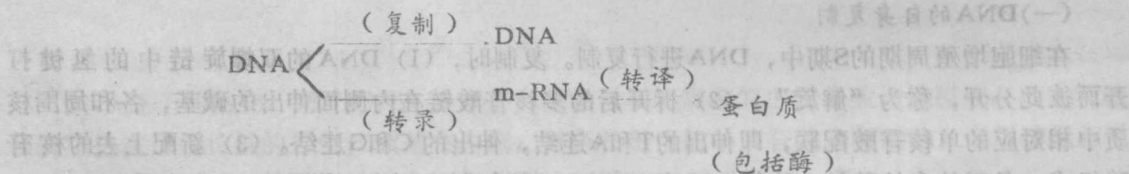
把DNA上遗传信息复制在m-RNA上面的过程，就叫做“转录”或称“录码”。这就是细胞内遗传信息传递过程中的第一步。

由转录过程而合成的m-RNA结构上与样板DNA有意义链的结构是互补的，即DNA链上的碱基如为T—C—A—G，而m-RNA上则必是A—G—U—C，同时，组成DNA链上的戊糖是去氧核糖，在m-RNA上则为核糖。

四、遗传信息的转译

m-RNA的合成是在细胞核内进行，合成后再进入细胞质中，合成过程要RNA聚合酶的参加，m-RNA进入细胞质后，在核糖体上，用自己的核苷酸顺序作为样板，依次同相应的t-RNA结合。每种t-RNA又带有与它相应的特异氨基酸。因此，当m-RNA依次同相应的氨基酸也就是一个个地依着m-RNA转录过来的样板顺序联结起来，即组成某种蛋白质，酶也是一种蛋白质。通过酶的作用，机体细胞内进行着各种各样的生化变化，产生各种各样不同的产物而执行各种不同的机能。这样，机体因之而表现了多种多样的特性。

从DNA将遗传信息传递到m-RNA的过程，叫做转录，而由m-RNA将DNA上转录来的遗传信息传递至各种蛋白质（包括酶）的合成过程，叫做转译。



(一)密码子的发现

遗传的信息是蕴藏于DNA链上四种碱基不同的排列组合中。因为碱基有四种，如果只有一个碱基或两个相邻的碱基所代表的信息决定一种氨基酸的话，那末，可能得到的信息总数各仅为 $4^1 = 4$ 和 $4^2 = 16$ ，这就不可能解释组成生物体内全部有20种氨基酸的事实。因此，就推测最少由三个碱基决定一种氨基酸。这样，决定氨基酸的信息的总数就达到 $4^3 = 64$ ，就是说把四种碱基（代表四种核苷酸）在三个相邻的位置中随机排列，可以有64种组合。

当生物学家成功地进行了RNA的人工合成之后，有人使用完全由尿嘧啶核苷酸的RNA来进行无细胞系的蛋白质合成。他们发现用这种合成的聚U做蛋白质合成的模板，只能得到聚苯丙氨酸，这可以说明UUU是决定苯丙氨酸的“密码”。这是第一个搞清楚的遗传密码

(Geneticcode)。以后通过类似的方法，到了1967年就确定了全部20个氨基酸的密码。

遗传密码表

第二碱基 第一碱基	U	C	A	G	第三碱基
U	苯丙氨酸	丝氨酸	酪氨酸	半胱氨酸	U
	"	"	"	"	C
	亮氨酸	"	(终止密码)	(终止密码)	A
	"	"	"	色胺酸	G
C	亮氨酸	脯氨酸	组氨酸	精氨酸	U
	"	"	"	"	C
	"	"	谷氨酰胺	"	A
	"	"	"	"	G
A	异亮氨酸	苏氨酸	门冬酰氨	丝氨酸	U
	"	"	"	"	C
	"	"	赖氨酸	精氨酸	A
	甲硫氨酸 (亦为合成起步信号)	"	"	"	G
G	缬氨酸	丙氨酸	门冬氨酸	甘氨酸	U
	"	"	"	"	C
	"	"	谷氨酸	"	A
	"	"	"	"	G

注：GUG如果在起始位点，则是甲硫氨酸的密码，否则为缬氨酸。

根据遗传密码学说，机体蛋白质分子内氨基酸排列组合，间接决定于DNA分子中四种碱基中任何三个的排列次序。这就所谓“三联体”。但是，在蛋白质生物合成的过程中，起直接密码作用的都是由DNA转录到m-RNA链上的“三联体”。所以，m-RNA上的“三联体”称为密码子(Codon)，例如苯丙氨酸的密码子是UUU或UUC，谷氨酸的密码子是GAA或GAG。

(二)密码转译的过程(蛋白质合成过程)

m-RNA在核内转录了DNA分子上的遗传信息以后，由核孔进入细胞质中的核糖体(Ribosome)上，长链的m-RNA一般均附着核糖体的40S(真核细胞)的小亚单位上面，而且经常是把好几个核糖体串连在一起形成在电子显微镜下所谓的“多聚核糖体”。在这同时，t-RNA也参加了转译过程。一般t-RNA的二级结构常绕成双链结构，分子上有两个“端”。在所有t-RNA的一端都有一个CCA三联体，其中的A碱基上的羟基可以与对应的氨基酸的羟基成酯键。这种和氨基酸结合的t-RNA，叫做“氨酰t-RNA”与CCA三联体相反的一端称为“反密码端”或称“对码端”，它的顶端有三个核苷酸，称为“反密码”或“对码”。

“反密码”在密码转译过程中起了关键作用，因此能附有特定的氨基酸而辨认这m-RNA上的相对应的密码子位置。比如色氨酸t-RNA的“反密码”可以辨认密码子UGG，密码的辨认是

通过密码子和反密码子之间形成氢键来进行的，这就是说，t-RNA的主要作用是把相应的氨基酸转移到核糖体上的m-RNA的相应的密码子上，因此这种RNA被称为转移RNA。

1. t-RNA从细胞核进入细胞质而游离于其中。

2. 细胞质中的氨基酸（简称为“AA”）在酶及ATP作用下活化。

3. 活化AA + t-RNA（特定的AA连接酶）→ t-RNA-AA络合物（氨酰t-RNA）

4. 氨酰t-RNA移到核糖体上相应的密码子上。当第一个氨酰t-RNA进入核糖体，以其反密码和m-RNA上的相应密码子由于氢键的相连形成碱基对，第二个相应的氨酰t-RNA就继续进入与第一个密码子相邻的第二个密码子，这样，在核糖体上就同时并列有两个氨酰t-RNA，当这两个氨酰t-RNA并列在一起时，它的酯键断裂，其所带的氨基酸与第二个氨酰t-RNA所带的氨基酸形成肽键，同时，整个核糖体沿着m-RNA向一方移动，相当于一个三联体的距离。然后第一个t-RNA离开了核糖体，同时第三个相应的氨酰t-RNA又进入核糖体与mRNA新的空着的密码子形成碱基对时，接着第二个氨酰t-RNA的酯键又告断裂，其氨基酸与第三个氨酰t-RNA所携带的氨基酸形成肽键的缩合，随之生成含有三个氨基酸的肽链，如此反复进行上述步骤，肽链就逐步延长，所形成的肽链上氨基酸的顺序就完全按照m-RNA上密码子的顺序排列，因此，那一种肽链的形成就取决于m-RNA密码子的模板，而m-RNA上的密码子是由DNA转录而来的。

在肽链形成过程中，每生成一个肽键，核糖体就要移动于一个密码子的距离，这时所需要的能量由鸟三磷(GTP)分解供给的。这样，肽链的生成，GTP的分解，核糖体的转动是相互配合进行的。肽键的生成，GTP的分解，核糖体的移动也是相互配合进行的。

以上所述，细胞内的DNA蕴藏着全部的遗传信息，它带着一定的密码，将某一部分的遗传信息转录给m-RNA，m-RNA又经过一系列的转译过程。将特定遗传信息形成特定的蛋白质（酶），由于在酶的生物催化下，产生各种各样的代谢产物，从而形成了不同的形态结构和进行着种种不同的生理机能。这就是一个蛋白质分子，包括酶蛋白分子合成的过程。因此，遗传信息的传递程序，就是DNA→RNA→蛋白质，这就是过去所谓的分子生物学的“中心法则”，即对细胞内遗传信息的传递过程（也就是指蛋白质生物合成过程）的阐明。但是把这发现称之为“中心法则”也未免过于绝对而且夸大了，最近在病毒中发现了逆转录酶（反转录酶）也说明有逆转录现象的存在。所谓逆转录是指贮存在RNA中的遗传信息也可以作为模板而转录到DNA上。

逆转录酶的发现，在生物学和医学上也是有重要意义，特别对肿瘤病的研究开辟了新的途径，肿瘤细胞是遗传信息发生了异常改变，最后导致细胞癌变。

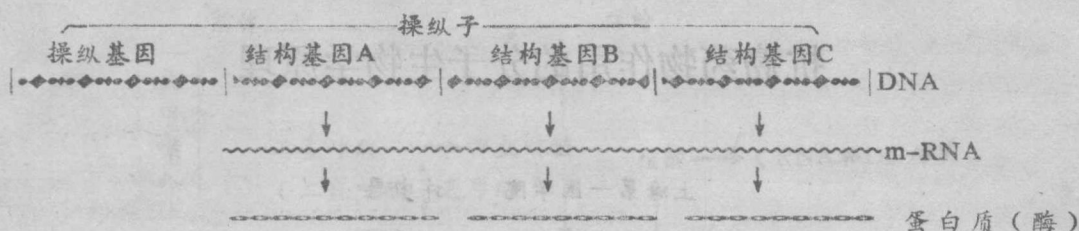
五、基因作用的调节

基因的一般概念是：作用于合成一个蛋白质分子（包括酶蛋白质的分子）的DNA链上某一段的遗传信息单位。

由于最近几年分子遗传学的发展，阐明了某些遗传信息传递过程的调节机制，因此，对基因的概念稍有扩大，上述基因的概念目前只专用于影响一个蛋白质分子的合成基因，这种基因专门称之为“结构基因”。一般所指的基因，多半是指这种基因。

生物体内的某一特定的代谢过程，常常是由于这代谢过程中每一小过程有关的一整套酶来完成的，影响这些功能上有联系的酶的结构基因，常常排列在DNA上相邻的节段，而这些功能上彼此联系的结构又是由另一种基因所制约，这种基因被称为“操纵基因”，一个操

操纵基因加上它所操纵的一个或一个以上的结构基因，合为“操纵子”。



一般细菌在其代谢过程中，产生若干种酶，而这些酶的产生除受了结构基因直接制约外，还受若干其他条件的影响。根据其影响的型式，可以把它们分为三类。第一类为诱导酶，例如乳糖酶类， β 半乳糖苷酶和L-阿拉伯糖苷酶等，这类酶只有在有底物存在的条件下，才能产生。第二类为阻遏酶，例如若干氨基酸和核苷酸的生物合成系统的酶，它们的产生受这合成的终末产物的阻遏，第三类为构成酶，例如淀粉酶、蛋白酶等，它们的产生既不受底物的诱导，也不受催化产物的阻遏。

六、讨论

上面所述的就是关于遗传信息传递的“中心法则”的概要。可以看出，遗传信息的传递主要是指下面的过程： $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{酶蛋白}$ 代谢作用 生理生化特征，形态特征，这里所指的信息，主要是指有关某一个酶的合成信息，亦可称结构信息。

如果深入地理解，可以看出整个过程是在严格控制下，有程序地进行着，因此又有所谓“程序信息”(Programming information)，所谓“程序信息”就是指上面所讲的调节基因，抑制物质和有关的代谢产物，操纵基因、结构基因等物质有序地一系列活动。也就是说，怎样使每一个结构基因适当地发生作用，什么时候应该活化，什么时候会被抑制，使每个结构基因在适当的时间，适当的位置能够有序地发生作用，这叫做“程序化”。

从分子水平上看，应该对细胞有进一步的认识。可以认为，细胞是一个由许多分子构成的集聚体。进行着有秩序的，能够自我调节、自我更新的代谢活动的开放系统。

关于遗传信息传递过程，有许多问题还有待于进一步的阐明。与时间的关系都还有待于进一步的了解。

(上接46第页)

报导，用此法治疗皮肤基底细胞癌，有效率达95%，治疗皮肤鳞状细胞癌有效率达90%。据谓迟发型变态反应，对肿瘤组织比周围正常组织更敏感。

8. 激素及环磷腺苷：有人证明前列腺素和环磷腺苷(C—Amp)有促进细胞生长和细胞融合的作用。由小牛胸腺体取提出的一种激素叫胸腺素(thymnsin)能促进淋巴细胞分化，分裂繁殖并增强免疫功能，提高迟发型过敏反应，加强排斥肿瘤组织的作用。

(本文根据二军大微生物教研室叶天星教授讲稿改写而成)

抗癌药物作用的分子生物学原理

上海第一医学院 许由恩

恶性肿瘤的药物治疗，通常是通过提高机体抵抗力和杀灭癌细胞两方面起作用。常用的抗癌药物，作用原理比较明确的，主要是以阻止肿瘤细胞的分裂增殖方式杀伤癌细胞，即基本上是作用于核酸和蛋白质生物合成这个分子生物学活动过程中的某些环节。根据目前分子生物学和分子药理学研究，其作用方式大体上可分为下列五类。

一、阻止DNA的合成

具有这种机能的抗癌药物通常称为抗代谢药物。一般认为恶性肿瘤组织的代谢较为活跃，因此在代谢过程中对细胞增殖有关的一些重要代谢物质，如嘌呤碱、嘧啶碱以及形成这些物质所需的辅酶（如叶酸）等的需要也特别高。如果能够设法阻断这些代谢物质或辅酶的供应，自可阻止肿瘤的生长。抗代谢药物中的主要成份为抗代谢物（Anti-metabolite），亦称代谢拮抗物（metabolic antagonist），其化学结构与活体中正常的代谢物（metabolite）的组成成份时所需要的辅酶的结构相类似。这类物质进入体内后，则由于其结构上的相似的缘故，以致在体内发生特异性的对抗作用。这种对抗作用常常表现为：（1）酶的竞争，即两种物质竞争酶的生化反应，异致影响酶的正常反应，最后减少或抑制产物的合成（这类又称为代谢抑制剂）。（2）伪代谢物反应，即药物以作为代谢物身份，经酶的作用生成无功能的伪产物，从而阻断这一反应。

应该指出，这类药物由于其选择性不高，所以有一定的毒性，主要表现为对骨髓造血系统的抑制和胃肠道粘膜的损害。此外，肿瘤细胞还可以改变其代谢途径，而对这类药物产生耐药性。

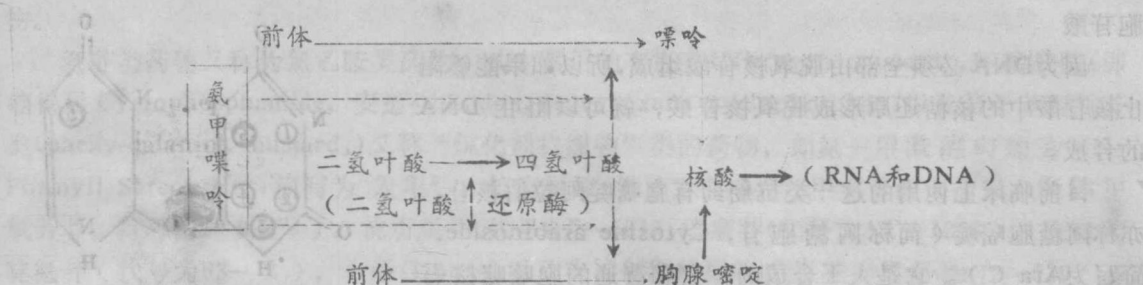
常用的抗代谢类的抗肿瘤药物又可分为下列几类：

（一）阻止有关辅酶的形成（叶酸类抗代谢物）。甲酰四氢叶酸（即辅酶F）是嘌呤环合成过程和尿嘧啶脱氧核苷酸甲基化过程中的重要辅酶，临床上常用的氨甲喋呤Amethopterin（methotrexate, MTX），是叶酸的同型物，其抗癌作用机理主要是抑制叶酸还原酶使叶酸的生物学功能受障碍，其结果导致胸腺嘧啶和嘌呤的合成受阻。过去认为氨甲喋呤的作用只在于它能够竞争地与二氢叶酸还原酶结合，使这种酶不能促进二氢叶酸还原为四氢叶酸，从而使嘌呤和胸腺嘧啶合成受阻碍（特别是胸苷酸的合成受阻碍）。现在认为，在两个阶段都有影响。生化试验资料证明氨甲喋呤与二氢叶酸还原酶的结合力比叶酸大 10^6 倍。MTX在临床上多用于急性白血病及绒癌，也有报告说对晚期乳腺癌及蕁样霉菌病也有一定疗效。

（二）阻止嘌呤类核苷酸的合成（嘌呤类抗代谢物）

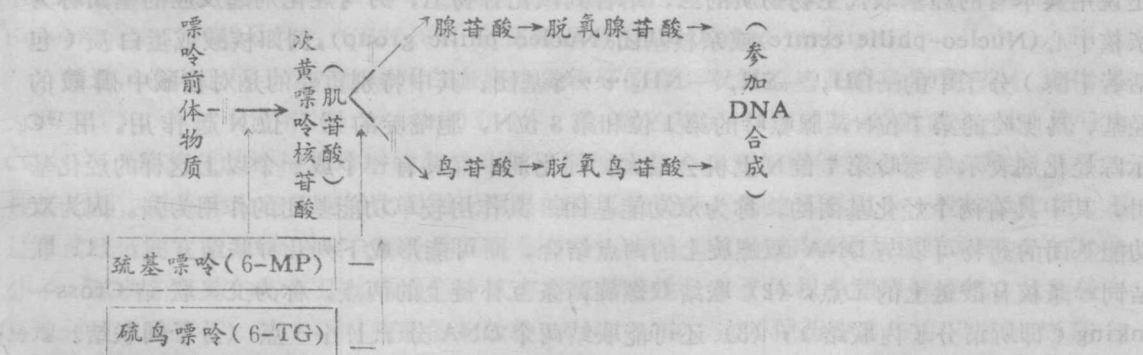
在DNA和RNA的合成过程中，需要将合成嘌呤的前体物在四氢叶酸辅酶等参与下合成次黄嘌呤核苷酸（即肌苷酸），以后再进一步转变为腺嘌呤核苷酸（腺苷酸）和鸟嘌呤核苷酸（鸟苷酸），最后参加核酸的组成。这类药物中常用的有6-巯基嘌呤（6-Mercaptopurine, 6-MP, 乐疾宁）和硫鸟嘌呤（前称鸟代嘌呤，Thioguanine, 6-TG）等，其主要作用在于

氨甲喋呤(MTX)作用部位示意图



通过阻止嘌呤碱的形成而抑制DNA的合成。6-MP主要是阻止次黄嘌呤核苷酸的转变过程，即阻止腺苷酸与鸟苷酸的合成，同时也能干扰前体物合成次黄嘌呤核苷酸的过程。6-TG的作用环节与6-MP相似，但主要是阻抑鸟苷酸的合成，而且能够代替鸟嘌呤掺入DNA，6-MP则不能，这可能是6-TG较6-MP为有效的原因之一。这类药物的毒性主要表现在对骨髓抑制，对肝脏损害较少。

最近应用的硫唑嘌呤(Azathiopurine)也是属于这一类的药物，是6-MP的衍生物，对骨髓抑制作用与6-MP相似，但对胃肠道反应及肝毒性较少，多用作免疫抑制，用于器官移植及自身免疫性疾病。



抗嘌呤类抗癌药物的作用环节示意图

(三)阻止胸腺嘧啶脱氧核苷酸(脱氧胸嘧啶)的形成(即嘧啶类抗代谢药物)

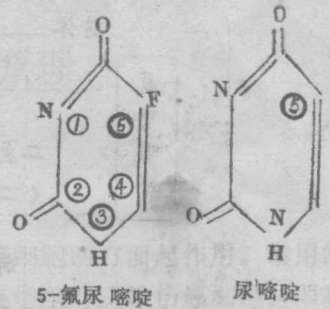
在正常核酸代谢过程中，主要有三种嘧啶碱，胞嘧啶存在于DNA和RNA中，尿嘧啶只存在于RNA中，而胸腺嘧啶则仅存在于DNA中，因此是DNA组分中所特有的。尿嘧啶虽然只存在于RNA中而不见于DNA，但是它在核酸的代谢过程却有着极为重要的意义。因为(1)尿嘧啶是胸腺嘧啶合成的前导物，胸腺嘧啶是由尿嘧啶脱氧核苷酸(脱氧尿苷酸)甲基化而生成的；(2)致癌物质诱发性的肝癌细胞在核酸合成过程中利用尿嘧啶的能力比正常组织要强。5-氟尿嘧啶可干扰这一过程，阻止脱氧胸苷酸的生成，从而抑制DNA的生成。

临床上应用上述的论点选用了5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil即5-Fu)，它对某些实体肿瘤效果较好，特别是胃肠道癌，尤其是结肠直肠癌以及乳腺癌等应用较多。5-Fu与尿嘧啶化学构造差异不大，重要的是在第5位上的氟(F)起着决定性意义，它的作用是抑制胸腺嘧啶脱氧核苷酸合成酶，以阻止尿嘧啶脱氧核苷酸甲基化转变为胸腺嘧啶脱氧核苷酸而影响DNA的生物合成。

(四)阻止胞嘧啶核苷酸(胞苷酸)的核糖还原形成脱氧胞苷酸

因为DNA必须全部由脱氧核苷酸组成,所以如果能够阻止核苷酸中的核糖还原形成脱氧核苷酸,就可以阻止DNA的合成。

目前临床上使用的这一类抗癌药有胞嘧啶阿拉伯核苷,亦称阿糖胞嘧啶(简称阿糖胞苷, Cytosine arabinoside, 简写为Ara C)。它是人工合成的,它和普通的胞嘧啶核苷主要不同在于糖的第2碳原子上的羟基位置改变,成为阿拉伯核糖而不是正常的核糖。它的抗癌原理,目前认为是妨碍胞嘧啶核苷酸还原为脱氧胞嘧啶核苷酸,从而阻止DNA的合成。同时它也有能力抑制核糖还原酶,从而阻止已经转变的脱氧胞嘧啶进一步参加DNA的组成。阿糖胞苷是目前抗急性粒细胞白血病作用较强的药物。

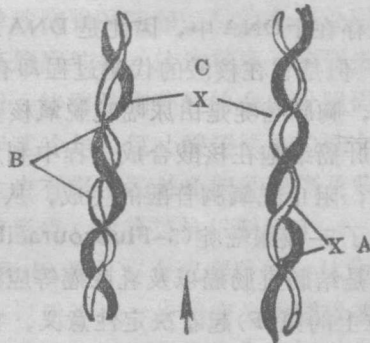


对胃癌近期疗效较好的喜树碱(Camptothecin)的抗癌作用可能也是阻止DNA的合成。

二、破坏已经合成的DNA

这类药物中包括一大类烷化剂药物和少数抗菌素。烷化剂是一类化学性质颇为活泼的化合物,能与多种有机或无机化合物特别是细胞组织成分中的功能基团发生烷基化反应。也就是说用其本身的烷基取代生物物质的氢,结合到该化合物上,另与烷化剂起反应的基团称为亲核中心(Nucleophilic centre)或亲核基团(Nucleophilic group),例如核酸或蛋白质(包括若干酶)分子中的一OH, —SH, —NH₂……等基团,其中特别重要的是对核酸中磷酸的羟基、鸟嘌呤的第7位N,腺嘌呤的第1位和第3位N,胞嘧啶的第1位N起作用。用¹⁴C示踪烷化剂表示鸟嘌呤第7位N上机会最大。烷化剂中都具有一个或一个以上这样的烷化基团,其中具有两个烷化基团的,称为双功能基团,其作用较单功能基团的作用为强。因为双功能基团的药物可以与DNA双螺旋上的两点结合,而可能形成下列几种联结方式:(1)联结同一条核苷酸链上的二点;(2)联结双螺旋两条互补链上的两点,称为交叉联结 Cross-linking(即所谓分子内联结);(3)还可能联结两个DNA分子上各一点(分子间联结)。(1)式联结会影响DNA本身的复制,(2)式的交叉联结既妨碍复制又将最后导致增殖过程不能进行。

烷化剂对RNA也起作用,不过对DNA的作用要比对RNA强10~50倍。



双功能基团烷化剂可能形成的二种联结方式

目前临床应用的烷化剂可以分两大类：(一)氮芥类烷化剂药物；(二)非氮芥类烷化剂药物。

氮芥类药物又称为氯乙胺类药物，其中常用的有氮芥(Nitrogen mustard)，环磷酰胺(即癌得星 Cyclophosphamide，安道生 Endoxan；cytoxan；cyclophosphan)以及若干苯丙氮芥类(phenyl-lalanine mustard)，又称“烷化剂代谢物”类的药物，如氮—甲酰溶肉瘤素(N-Formyl Sarcolysin，简称为“氮甲”)，抗瘤氨酸(代号为合-14)，甲氧基溶肉瘤素(简称甲氧芳芥，符号为“3P”)，抗瘤新芥(代号AT-581)，消瘤芥(代号为AT-1258)，胸腺嘧啶氮芥(代号为63-2)，多潘(Dopan)以及我国创制的尿嘧啶芳芥(代号为合-520，与国外的“多潘”相比则疗效高而且抗癌谱广)。

应该特别提一下环磷酰胺，它和一般氮芥类药物相比较则具有一重要的特点，就是它在体外培养的癌细胞没有杀伤能力，而要在体内肝脏细胞的环磷酰胺酶和磷酸酶水解后才分解释出活性的烷化基团(氯乙胺基团)，这种基团与DNA链上的磷酸键结合，形成不同类型的交叉联结，使DNA变构或使其双链断裂。因为这种烷化剂，要在体内经分解才发生抗癌作用，所以又被称为“潜伏化”的氮芥类药物。

非氮芥类的烷化剂药物中有：噻替派(Thio TEPA、TSPA，化学成份系三乙烯硫代酰胺)；乙烯亚胺苯醌类的衍化物如瘤抑散(A-139)、三亚胺醌(Treninon, Bayer-3231)、卡巴醌(Carbazil-Quinone)；马利兰类药物中如马利兰(即白消安、白血福恩，Myleran, Bnsuefan)、二甲基马利兰(CB2348)、甘露醇马利兰(Manniral myleran)。

最近，临床上用于治疗脑瘤及白血病疗效较好的有，双氯乙基亚硝基脲氮芥(其代号为BCNU)，亦称卡氮芥(Carmustine)和1-(乙-氯乙基)-3-环乙基-1-亚硝基脲(代号为CCNU)。从其化学结构和对增殖期及非增殖期细胞都有抑制作用等方面来看，象是属于一种烷化剂，但临床上与其他烷化剂则无明显的交叉抗药性，因此又不同于一般的烷化剂。不过目前已证明它能与DNA聚合酶作用而抑制DNA合成使DNA双链解聚从而破坏现成的DNA分子。这些新药的特点是抗癌谱广，且有高度脂溶性，分子体积小和溶解度低，故能较容易地通过血脑屏障。CCNU对脑瘤的疗效较BCNU为佳。这两种药普遍作用于增殖周期各期，但对G₁-S期的过渡阶段及S期开始时作用最强。

现在发现，抗癌的抗菌素中的自力霉素(即丝裂霉素-C，Mitomycin-C)也能对DNA分子发生化学结构的结合，使DNA解聚并干扰DNA复制和使染色体断裂而阻止细胞增殖，它的药理作用极象烷化剂，主要也在第7位的N上，目前临床使用的甲基丝裂霉素(Porfi-ronycin)，其抗癌作用也和自力霉素相似，对结肠和直肠癌有较好的效果。

此外，还应提一提甲基苄胍(procabazine, Natulane, Natulane 代号 NS6-77213)，是 α -(2-甲胍基)- β -甲基甲酰异丙胺的单盐酸。在艾氏腹水癌细胞的实验中，可以看到用药组的细胞分裂指数降到对照组的1/10，并发现间期(主要是G₁和G₂期的延长)，还可见有三极丝裂和染色体粘合等现象。根据这种染色体异常，可以考虑到其作用可能是发生于DNA合成过程中或合成后。体外试验发现其作用与放射作用相似，可以使DNA碎裂，另一些材料认为甲基苄胍是通过抑制甲基转换作用而影响DNA、RNA和蛋白质的合成。也有人认为它的主要作用是使DNA解聚。

三、阻止丝裂期的进行

植物性抗癌药物中的长春碱类及秋水仙碱类，可以阻抑丝裂期(M)的正常进行。临床常

用的有长春花碱(Vincablastine又称Vincalukoblastine,简称为VLB)和长春新碱(Vincristine, VCR, 又称Leurocristine)。这些都是来自夹竹桃科植物长春花(Vincarosea L, 别名Catharanthus rosea)的植物碱。这种植物原产于热带,我国南部地区亦大量栽培作为观赏植物。

对组织培养的癌细胞VLB和VCR可以使肿瘤细胞的有丝分裂停止于中期。过去曾认为这些药物作用于纺锤丝,抑制其主动收缩运动,致使染色体不能分向两极移动,因而丝裂过程中止,现在了解到它们更主要的作用是影响t-RNA,从而选择性地抑制微管蛋白(tubulin)的合成,而这种蛋白质是纺锤丝主要成份,由于缺乏原材料,从而抑制了纺锤丝的形成。

四、干扰转录过程阻止m-RNA合成

m-RNA是以DNA作为模板,转录其遗传信息而合成的。更生霉素(与国外生产的放线菌素D Actinomycin D相同),光辉霉素与日本生产的光神霉素相似)*以及正定霉素(与国外的柔红霉素 Daunopubicin相似)等抗肿瘤抗菌素对DNA产生一种化学的“插入作用”,妨碍DNA上的遗传信息转录到依赖DNA的m-RNA,从而阻止蛋白质的合成。所谓“插入作用”大概是这样的,试验提示放线菌素能与DNA形成复合物而不是与RNA形成复合物。在一种粘土霉菌上的实验,发现用药后,以DNA为样板而合成的RNA,其化合的G—C含量降低,这提示放线菌与DNA形成复合物时可能是在DNA双螺旋结构插入于鸟嘌呤(G)的 α -位氨基,而与之结合。

在细胞增殖周期中, G_1 期的前半段,是合成新的m-RNA并合成由 G_1 期转入S期所必需的酶的时期,因此时期对放线菌素D较为敏感,在其他各时期,细胞内仍不断进行少量m-RNA的复制,对之依然敏感,因此在一般情况下可以把它归之于细胞周期非特异性的药物。

五、阻止蛋白质合成

从大肠杆菌提取出来的左旋门冬酰胺酶(L-门冬酰胺酶)就是一种阻止蛋白质合成的药物。这种药物对儿童某种白血病(急性淋巴性白血病)效果比较好。它的抗癌作用原理是利用肿瘤细胞与正常细胞代谢的差异性来达到杀伤肿瘤的目的。白血病细胞与正常细胞不同,它本身不能合成门冬酰胺(因为缺乏门冬酰胺聚合酶),要依赖细胞外门冬酰胺的供应,因此,当应用L-门冬酰胺酶后,可将体液中的门冬酰胺分解破坏,致使白血病细胞不能得到这种必需的门冬酰胺来合成蛋白质,因而细胞不能继续增殖。

*: 柔红霉素最近统一的名称,原称柔毛霉素(Daunomycin)或比红霉素(Rubidomycin)。

细胞的增殖与抑制

上海第一医学院 许由思

肿瘤是机体内恶性生长的细胞组织，是机体内不正常细胞增殖的结果。细胞增殖是机体生长和发育的基础。肿瘤细胞是从正常细胞转变来的，但它们的形态、代谢和功能却和正常细胞不同。肿瘤性生长。虽然也是以机体对一些因素所引起的增生性反应为基础，但从它的本质、变化过程以及其对机体的影响等都不同于炎症增生和损伤后的再生性增生。后者的生长是遵照一般的生长规律，有一定限度，在损伤修复后，生长相对稳定。通过机体的调节，细胞的死亡和更新是处于动态的平衡状态。而肿瘤组织的增生却往往不会自行停止，甚至当致病因素去除后，还要继续生长，形成多余的肿物。因此可以说，肿瘤性生长是组织或细胞的病理性增生，具有异常的形态、代谢和功能，其生长能力与整个机体不协调，且具有相对的限制性和并不依赖于致病因素持久的存在。

一、正常生长与肿瘤性生长的速度

过去有人认为肿瘤组织生长比正常组织为快是由于肿瘤细胞的细胞增殖周期较短的缘故，可是事实上除了一些淋巴肉瘤少数例外，绝大多数肿瘤的细胞周期不仅没有比它们的正常组织为短，而是相同，甚至较长。例如正常骨髓细胞的Tc为1~2天而急性白血病的细胞周期却需2~4天。因为正常组织的生长有个极限，细胞增殖到一定数量之后，即渐趋稳定。但肿瘤的生长过程就没有稳定期，也没有极限，继续增殖以至达到某种临界体积。最后导致宿主的死亡。

当细胞被某些RNA或DNA病毒转化以后，便失去了这种“增殖控制”。细胞转化的第一个信号就是细胞越出了G₁期，开始合成DNA。不但这样，接着细胞就出现了一系列染色体的变化，从二倍体变为非整倍体。这种情况与正常细胞变为癌细胞时非常一致，在动物试验中如果将某些转化细胞注入动物体内后，即可以引起癌症。但有人认为病毒可能不是人体肿瘤的主要病因，可能是人的肿瘤中有与RNA肿瘤病毒相似的遗传信息。上述这种现象也可以由放射或某些化学物质所引起。

细胞增殖失去控制也可能由于G₁期的某些活动对组织特异抑制失去敏感性。当细胞分化到足以进行某种特定功能时，例如肝细胞，它必也具备有适应这种抑制物的一定敏感性，因而增殖得到控制，否则就会发生癌变。

二、细胞周期与肿瘤形成

如果说肿瘤细胞的增加是指数方式进行的，那末从理论的推理，可以认为癌细胞经过若干代的增殖后，癌细胞的数目，肿块的体积和重量都将递增。下表表示从单纯细胞动力学的观点计算癌细胞的理论增长的情况，以一个直径为14微米的癌细胞为例，这样大小细胞的重量大约为0.001微克。如果这个细胞经过30代的不断增殖，那末就可以达到1立方厘米大小的体积，其重量为1克，其细胞数目约为10亿个(10⁹)。如果再继续经过10代的增殖，其细胞数目将达到10¹²个(即1万亿个癌细胞)，其体积将是10×10×10立方厘米，重量约为1公斤。根据细胞动力学的计算，这样大小的一个肿瘤就足以致人死亡。因此一个癌细胞增殖