

教育部学位管理与研究生教育司推荐研究生教学用书

刘厚奇 蔡文琴 主编

医学发育生物学

Medical Developmental Biology

(第三版)



科学出版社

教育部学位管理与研究生教育司推荐
研究生教学用书

医学发育生物学

(第三版)

刘厚奇 蔡文琴 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

医学发育生物学是在近一个时期发育生物学与分子生物学密切结合并不断应用于医学领域而形成的新型学科。本书从发育生物学的观点和方法阐明人体各类组织、器官、系统的形成过程中的结构特点及其功能的建立、完善、衰减及修复,为医学科研工作者和临床医师解决人体发育研究和发育相关疾病诊治中的理论和技术问题提供帮助。该书分总论和各论两大部分,系统介绍医学发育生物学的基本理论、方法和研究方向以及和各系统发育特征及畸形形成机制。

本书供医学生、医学科技工作者和临床医师参考,也供从事发育学研究的人员借鉴。

图书在版编目(CIP)数据

医学发育生物学/刘厚奇,蔡文琴主编. —第三版
—北京:科学出版社,2012.3
教育部学位管理与研究生教育司推荐研究生教学用书
ISBN 978-7-03-033375-9

I. ①医… II. ①刘… ②蔡… III. ①医学:发育生物学-研究生-教材 IV. ①R329.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 007924 号

责任编辑:潘志坚 朱 灵/责任校对:刘珊珊
责任印制:刘 学 /封面设计:殷 靓

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>

常熟市华通印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2004 年 4 月第 一 版 开本:889×1194 1/16

2012 年 3 月第 三 版 印张:29

2012 年 3 月第三次印刷 字数:858 000

定价:68.00 元

目 录

第三版前言

上篇 总 论

第一章 概论	3
第一节 医学发育生物学的研究内容与方法	3
第二节 医学发育生物学的地位	6
第三节 医学发育生物学的重要进展	7
小结	10
第二章 模式生物	11
第一节 海胆	11
第二节 水螅	13
第三节 线虫	14
第四节 爪蟾	16
第五节 斑马鱼	17
第六节 果蝇	18
第七节 小鼠	20
小结	21
第三章 受精	23
第一节 减数分裂与配子发生	23
第二节 精子和卵子的基本结构	24
第三节 受精的基本过程	25
第四节 精子获能	26
第五节 精子顶体反应	31
第六节 精卵相互作用	35
第七节 合子形成	39
小结	40
第四章 干细胞	42
第一节 胚胎干细胞的特性	43
第二节 胚胎干细胞的分类	45
第三节 诱导多能性干细胞	48
第四节 胚胎干细胞的定向分化	49
第五节 胚胎干细胞与成体干细胞	52
第六节 干细胞的应用	53
小结	54
第五章 胚体形成中细胞间的相互作用	57
第一节 模式形成与位置信息	57

第二节	发育的不对称性	61
第三节	细胞间的信息传递	64
第四节	细胞决定与细胞微环境	68
第五节	细胞亲和力与组织形成	72
第六节	器官原基的发生	74
小结	77
第六章	胚胎发育与表观遗传	79
第一节	胚胎发育与基因时空表达	79
第二节	表观遗传与基因表达	80
第三节	胚胎发育过程中的表观遗传事件	84
小结	87
第七章	早期胚胎发育与细胞分化	89
第一节	早期胚胎发育过程	89
第二节	早期胚胎发育的调控	96
第三节	细胞分化的决定和细胞分化	99
第四节	细胞分化的影响因素	103
小结	108
第八章	胚胎发育与程序性细胞死亡	110
第一节	程序性细胞死亡的发现和提出	110
第二节	程序性细胞死亡的特征	111
第三节	胚胎发育中的程序性细胞死亡	113
第四节	程序性细胞死亡的机制	119
小结	124
第九章	生殖细胞与性别决定	126
第一节	生殖细胞的发生	126
第二节	性别决定	139
小结	152
第十章	器官与组织的更新与再生	154
第一节	更新与再生的发生条件	154
第二节	更新与再生的细胞与分子基础	157
第三节	更新与再生的生物学意义	160
第四节	更新与再生的医学应用	162
小结	173

下篇 各 论

第十一章	神经系统	177
第一节	中枢神经系统的发生与分化	177
第二节	神经系统发生的特殊规律和模式	184
第三节	神经干细胞与中枢神经系统发育	189
第四节	神经系统发育中的基因调控	196
小结	198
第十二章	内分泌系统	200

第一节 内分泌腺体的发育	200
第二节 激素对个体发育的调节作用	208
第三节 激素与器官发育	211
小结	215
第十三章 心血管系统	216
第一节 心脏的发育	216
第二节 血管的发育	229
第三节 胎儿血液循环和出生后的变化	236
第四节 心血管系统的常见先天畸形	237
小结	239
第十四章 造血系统	241
第一节 造血与胚外中胚层	241
第二节 造血器官的演变	242
第三节 造血干细胞	244
第四节 造血诱导微环境与细胞因子	249
第五节 血细胞成熟与细胞内信号传导	251
小结	257
第十五章 免疫系统	258
第一节 免疫细胞的发生	258
第二节 免疫器官的发生	266
第三节 免疫力的建立	269
第四节 免疫异常与发育	270
小结	272
第十六章 泌尿生殖系统	274
第一节 肾的早期演变	274
第二节 后肾的发育及其调控	275
第三节 生殖腺的发育	281
第四节 生殖管道和外生殖器官的发育	284
第五节 生殖系统发生的调控	287
小结	290
第十七章 消化系统	291
第一节 原始消化管的形成	291
第二节 原始咽的演变	291
第三节 食管的发育	292
第四节 胃的发育	294
第五节 肠的发育	296
第六节 肝、胆囊及胰腺的发育	303
小结	310
第十八章 呼吸系统	311
第一节 呼吸道原基	311
第二节 气管及其分支的发生	311
第三节 肺的发生	313

第四节	肺发育的调控	316
第五节	肺表面活性物质	320
第六节	肺的神经内分泌细胞	322
小结	324
第十九章	骨骼与肌肉	326
第一节	骨的发生	326
第二节	骨骼肌的发育、可塑性和再生	333
小结	343
第二十章	眼	345
第一节	眼球及附属结构的发生	345
第二节	视网膜节细胞的发育	349
第三节	干细胞与视网膜再生	351
小结	352
第二十一章	颅颌面部与口腔	354
第一节	口腔面部的发育	354
第二节	颅神经嵴与口腔颌面部的发育	359
第三节	腭的发育及调控	360
第四节	牙胚发生与牙发育	362
第五节	颞下颌关节的胚胎发育	373
小结	376
第二十二章	先天畸形	377
第一节	先天畸形的发生概况和分类	377
第二节	先天畸形的发生原因	380
第三节	发育不良与畸形	384
第四节	致畸机制的研究	388
小结	396
第二十三章	胚胎发育与肿瘤的发生	397
第一节	肿瘤细胞增殖调控异常	397
第二节	肿瘤细胞分化调控异常	402
第三节	胚胎植入与肿瘤细胞的侵袭转移	406
第四节	发育异常与肿瘤	408
第五节	肿瘤干细胞	412
小结	414
第二十四章	医学发育生物学相关技术	416
第一节	基因差异筛选	416
第二节	基因差异鉴定	418
第三节	差异调控机制	420
第四节	缺失性功能研究	426
第五节	获得性功能研究	432
小结	436
索引	438

上册

总论

第一章

概 论

人们普遍认为,肿瘤发生的概率对不同年龄、不同环境和不同生活习惯的人群来说是不一样的。在日常生活中,有些人对某些病原体易感,有些人对某些物质过敏。在临床实践中,发生癌变的概率对不同人群来说也不一样。其相应的发病可能性大大增加。这种发病的潜在性与机体组织和器官的发育正常与否十分相关。因此,为了人类的健康,我们有必要了解人体组织和器官的生命来源和发育规律。作为医务工作者,我们应该掌握人体发生、发展、成熟及衰老的生理特点,了解人类疾病发生、发展与发育中遗传和环境因素的关系,有利于疾病的正确诊断和及时治疗。

人体发育是由单细胞的受精卵逐步演变成由多种组织、多个器官和系统构成的有机体的复杂过程。人体发育的过程是受精卵的基因组按照一定的时空顺序选择性表达调控的。它涉及多种细胞的聚集与相互作用,细胞的增殖与凋亡、决定与分化。人体许多疾病在不同程度上都与发育过程密切相关。生命科学和生物技术的快速进展,使人类有能力在一定程度上干预甚至驾驭人体的发育过程,从而有效地治疗疾病,促进人类健康。

医学发育生物学(Medical Developmental Biology)就是从发育生物学的角度研究人体组织和器官形成过程中细胞增殖和分化的时间性、空间性和方向性以及对自身和其他细胞形态和功能的影响,进而探寻发育相关疾病的成因以及防治的方法和途径。

第一节 医学发育生物学的研究内容与方法

一、医学发育学的研究内容

发育生物学是随着细胞生物学、遗传学、生物化学及分子生物学等生命科学的发展和与胚胎学的相互渗透而形成的一门学科。它主要以细胞生物学、生物化学和分子生物学技术为基础,以胚胎形成、发展、成熟以及机体成长和衰老为主线,探讨基因及产物对细胞增殖、分化和凋亡的调节,阐明机体形态和功能变化的机制。

医学发育生物学研究的主要对象是人体。一方面,它从发育生物学的角度研究人体从受精卵到成熟胎儿以及人体从小到大、从新生到衰老过程中的形态和功能的变化。一个受精卵如何通过一系列的细胞生长、分裂、增殖和分化生成具有形态各异和分工明确的不同细胞?这些细胞如何相互影响和协同作用构成不同组织和器官以及整个机体?机体组织器官损伤修复和机能补偿以及机体衰老的细胞和分子基础是什么?这是医学发育生物学研究的重要任务。另一方面,它还探讨影响人体发育的各种因素以及异常发育与疾病的关系。人们常说的“病因”有两种,一种是致病的遗传因素,如染色体易位和缺失、基因突变和重组等DNA遗传物质的改变,另一种是致病的环境因素,如生物、物理、化学因子对机体细胞结构和功能的影响。然而,与异常发育相关的疾病则是在机体发育过程中各类不良影响因素作用于增殖分化阶段的细胞,使细胞内基因转录和蛋白质表达在时相和数量上产生偏差,导致机体器官和组织形态和功能的异常(如先天性心脏病、畸胎瘤等)或潜在隐患(如成瘤能力)。所以,医学发育生物学在疾病研究上综合了遗传和环境两方面的因素,更能切合实际地了解疾病的病因。

医学发育生物学的研究内容主要包括以下几大类。

1. 细胞分化的决定与基因调控

细胞分化的决定是指细胞在出现特有形态结构、生理功能和生化特性前所发生的细胞分化方向的内在变化过程。目前的研究表明:细胞决定受细胞内形态形成的决定子所控制,这些决定子存在于细胞质中,并随着细胞的分裂而被分配到不同的细胞中,决定了细胞的分化方向。细胞分化是胚胎细胞发育为具有特定结构、特定形态和专一功能细胞的过程,是含有相同基因库的细胞不同基因表达的结果,包括化学分化、形态分化和功能分化。研究证实,一般化学分化先于形态结构分化,而形态分化先于功能分化。基因表达的调控是细胞分化的关键,如细胞分化过程中不同基因表达受发育控制基因(*development control gene*)调控。*Hox*、*Pax*和*Pou*三大发育控制基因家族控制着神经系统发育。同时,发育基因的启动子分析是研究胚胎发育基因功能的有效手段,包括基因特异调控序列、启动子(*promoter*)和增强子元件(*enhancer element*)的鉴别。人体发育过程中基因转录活性的变化是细胞增殖分化的必要条件。

在真核细胞中,基因表达的调控可以在不同的水平上进行,包括转录、加工、翻译以及 mRNA 稳定性等,在某些情况下还涉及基因扩增和重排。发育分化程序虽然在受精时已基本确定,但必须在胚胎发育过程中通过一系列的相互作用才得以逐渐展开,包括控制发育分化特定方面基因之间的相互作用。也就是说,含有全套遗传基因的核,其基因活动随发育过程逐渐局限化,不同类型的细胞或组织各自局限于转录该类型细胞的特异 mRNA,合成特异功能的蛋白质。

2. 细胞增殖分化与细胞微环境

在发育过程中,细胞增殖分化除了受基因等遗传因素影响外,环境因素也是十分重要的。在激素、细胞因子、细胞外基质以及毗邻细胞等的作用下,人体内发生一系列的分子水平、亚细胞水平、细胞水平、组织水平和器官水平的变化。这种经过长期进化而建立的定点、定时、定向并有序的变化为胚体正常发育所必需。这种环境因素与细胞内的基因配合,使发育成熟的人体器官具有正常的外形、构造、分布、功能并能适应于外界生存条件。然而,在胚体发生和发展过程中,病原体(如流感病毒、EB病毒等)的侵入会干预细胞正常的增殖分化,胚体出现畸形。病毒一类的生物致畸因子引起的起始性变异通常发生在分子水平和亚细胞水平,如基因突变或缺失、染色体畸变、基因表达异常、有丝分裂异常、酶促反应障碍等。所以,我们研究正常或异常微环境对胚体发育的影响,对于保障胚胎在母体内健康发育和胎儿出生后健康生长很有必要。

细胞决定归因于胚胎细胞分泌的一些可溶性因子。这些因子是通过胞吐的方式释放到细胞间隙。小分子物质即可在一定细胞群范围内以分泌源为中心,建立起扩散浓度梯度,以不同的分子浓度为处于梯度范围内的细胞提供位置信息,从而诱导细胞按其在胚胎中所处的局部位置向着一定方向分化。细胞获取位置信息最简单的途径是单纯降低某些形态决定子的浓度,形成恒定的形态决定子浓度梯度,给细胞提供有效的位置信息。形态决定子借助于空间浓度的不同,通过局部作用于细胞分化的空间模式。另外,细胞表面存在各种受体及各种细胞黏附分子,可以介导细胞之间的相互识别、结合及相互作用。在真核细胞双层膜中镶嵌有大量蛋白质或糖蛋白分子,它们的部分分子片段暴露于细胞膜外,构成细胞表面的特征结构——细胞表面抗原,其中相当数量的表面抗原具有介导细胞间和细胞与细胞间质成分间相互黏附的功能。不同分化细胞有不同的表面抗原组合,进而产生了它们之间的亲和差异。

3. 基因表达的时序与空间分布与细胞增殖分化

目前对胚胎发育的基因表达与细胞分化研究虽处于起步阶段,但取得了较大的成绩。人们已认识到在发育分化过程中,细胞增殖、分化及形态发生与演变,最终发育成为具有特定形态的胎儿,都是基因表达的结果。人们同时认识到基因表达的特点是:①按严格的时间和空间顺序启动或关闭;②基因表达有其特异性,即不同细胞所表达的基因种类不同,如肾脏细胞和脑细胞虽然都从受精卵发育而来,含有相同的基因,

但这两种细胞中的基因表达却差别很大;③基因表达可出现交叉性,即同一基因家族基因的成员可在不同组织细胞内表达;④组织细胞不同功能状态时基因呈不同表达状态,但其表达状态与组织细胞分化及形态发生过程基本一致。

控制细胞增殖分化的因素可分为两方面。一是细胞内的控制,细胞增殖分化是通过 DNA 遗传密码转录和翻译成特异性蛋白质表现出来的。也就是细胞中都含有一整套相同的基因,在人体发育过程中,有些细胞中的某些基因表达,合成某些特异的蛋白质,而另一些细胞则又有另一些基因表达合成特异的蛋白质,这些基因的表达降低了细胞的分化潜能,细胞特异基因的表达就决定了细胞的分化方向。二是细胞之间的相互影响,即细胞与细胞之间、组织与组织之间、器官与器官之间相互协调、相互影响和相互诱导,如脊索与外胚层的相互作用导致了神经系统的发生。因此,从个体发育角度看,细胞的分化和发育完全取决于单个基因在时间和地点上的选择性表达或差异表达,以及整个基因网络在时间和空间上的紧密联系和配合。

4. 器官发生和成熟

人体器官发育各自都有特定的规律,其体现在发生的先后次序、发展过程中的形态变化和分子机制以及结构与功能的关联上。同时,器官发育与疾病、器官损伤与修复以及器官手术(如肝、胃部分切除等)后形态和功能的恢复也是医学发育生物学研究的要点。值得注意的是,器官形成中形态的变化是基于功能的要求。譬如,胎儿手脚发生初期的形态为鸭蹼状,随着功能的建立,手指和脚趾间的组织发生程序性死亡并逐渐形成分开的五指(趾)。再者,肝部分切除一段时间后,剩余的肝组织会增殖至正常大小的肝脏而终止分裂,这除了受肝细胞基因激活和形态决定子的浓度等因素影响外,重要的还是机体对肝脏功能的要求所致。

5. 细胞工程

细胞工程是用人工方法对细胞成分进行加减和更替而获得所需的功能细胞。生殖细胞工程是通过显微注射等人工授精方法获得受精卵。无性繁殖技术是指将体细胞的胞核移植到去核卵细胞内,通过细胞培养、胚胎移植等技术培育新个体。该技术已取得突破性进展。如 1997 年先后在国内外繁殖出无性繁殖的猴、羊和小鼠等。1998 年 2 月无性繁殖的良种奶牛在美国出生。通过研究也证实了哺乳类细胞核的全能性。另外,现在研究中普遍使用的基因敲除技术和干细胞驯化技术都是细胞工程的研究范畴。

通过导入特定基因诱导完全分化的体细胞重编程为诱导多能干细胞(inducing pluripotent stem cell, iPS)是一种新的意义重大的细胞工程技术。Yamanaka 等于 2006 年用逆转录病毒载体在小鼠成纤维细胞中表达 Oct3/4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 等转录因子,成功获得了具有 ES 细胞特性的诱导多能干细胞,取得了细胞重编程研究中重大的突破。2007 年底 Yamanaka 等用相同的基因,Thomson 等用 Nanog 和 Lin28 替代 Klf4 和 c-Myc 基因均成功获得了人成纤维细胞来源 iPS 细胞。从 iPS 细胞上,人们看到了它为人类疾病治疗所带来的希望和契机。

二、医学发育生物学的研究方法

医学发育生物学的研究方法涉及基础与临床医学以及细胞生物学、遗传学、生物化学及分子生物学等生命科学多个领域。常用的研究手段和方法有细胞谱系(cell line)的跟踪、诱变与“基因敲除小鼠”、转基因动物、差式筛选技术和 RNA 干涉技术等。特别是美国科学家安德鲁·法尔和克雷格·梅洛发现 RNA 干扰机制获得 2006 年度诺贝尔生理学或医学奖,就是在发育生物学模式动物——秀丽广杆线虫(*C. elegans*)上获得的,随之发展起来的 RNA 干涉技术更是为细胞和发育生物学研究广泛使用,并已逐步取代了被认为是“金标准”的基因敲除技术。另外,DNA 甲基化、组蛋白修饰等表观遗传学分析方法已成为研究发育与疾病关系的新宠,越来越得到人们的青睐。关于医学发育生物学常用研究方法的原理和操作程序详见第二十三章“医学发育生物学相关技术”。

第二节 医学发育生物学的地位

一、发育生物学发展中的重要事件

发育生物学的鼻祖是公元前4世纪的亚里士多德(Macedonian Aristotle, 公元前384~前322年),他是第一个系统地从事发育生物学研究的人。他不仅是一个博学的哲学家,还是一个热忱的自然主义者。对于有机体是如何产生的,他提出了4种可能:①自发地产生于腐败物,因为当时认为苍蝇和爬虫可能来自腐败物质;②出芽产生;③雌雄同体;④两性生殖。在他看来,卵子是卵生动物的繁殖工具,而哺乳动物、人及一些其他的胎生动物没有卵,雌性向后代提供均匀物质,雄性提供精液,精液才是后代形体形成的起因。

从1860年以来,有了大量的重要发现,实验胚胎学、细胞生物学、遗传学的时代开始到来。发育遗传学的第一个先锋就是魏斯曼(August Weismann, 1834~1914),他预见基因的重要性,提出了染色体的自我复制决定子的假说,后来在19世纪70年代被Walter Flemming和Eduard Strasburger证实,前者发现了细胞的有丝分裂(mitosis),后者根据染色体的行为将有丝分裂分为前期、中期、后期和末期。20世纪初,Hans Driesch(1867~1941)研究了海胆卵,标志着现代实验生物学的开端。他把受精卵分裂形成的两个姐妹细胞(分裂球)分离开来,分离的细胞可产生完整的海胆幼虫。他认为,一个细胞将来的命运是由它在整体中的位置所决定的功能,每一单独的基本发育过程不仅仅有其本身的特异性,而且有其整体中的位点特异性。这就是他的位置信息学说。另外,Wilhelm Roux(1850~1924)用青蛙卵所作的研究和Thomas Hunt Moran(1866~1945,于1933年获得诺贝尔奖的生物学家的第一个生物学家)建立的遗传学领先模式生物——果蝇(*Drosophila*)以及Hans Spemann(1869~1941,1935年诺贝尔奖获得者)用外科手术方法分离两栖动物胚胎的胚胎不同部分之间相互诱导性研究,对发育生物学的研究产生重要的影响。

二、医学发育生物学的发展

1953年Watson和Crick继摩尔根染色体学说以后,提出染色体中的DNA是非常长的双螺旋的分子。现代遗传学进一步证明,DNA分子上碱基的排列顺序带有有机体合成蛋白质的密码,并把能指导某一蛋白质合成的DNA片段称为基因(gene)。这些发现把发育生物学带入分子水平时代。直到1956年,Tjio和Lewan才确定人胚胎细胞有46条染色体。随后,Moore(1966)发现Down综合征、Turner综合征患者的细胞染色体数目异常,证明先天性疾病是由于基因的缺失和变化引起人体发育不良所造成的。

由于人们对人体胚胎发育的不断认识以及分子遗传学和分子生物学、生物化学不断用于胚胎发育的分子机制研究,使得人类产生了认识自身和完善自身的愿望。从此,医学便与发育生物学的联系日益密切。通过研究人们意识到,除了遗传病和胎儿畸形外,许多临床常见病(如免疫性疾病、肿瘤、内分泌疾病和心血管疾病等)的病因分析都要运用发育生物学的理论、观点和方法,以便了解人类疾病的实质和发现诊断和治疗疾病的有效办法。

三、医学发育生物学的地位

医学发育生物学是一门十分活跃的学科。它的产生有赖于其他学科的发展,所以与许多医学基础学科和临床学科关系密切。

人体胚胎学是研究生殖细胞发生、胚胎发育过程、发育规律及胚胎与母体的关系,大多涉及胚体组织形

态的变化。近年来,胚胎发生过程的研究所涉及的问题多为细胞分化、细胞和组织间的相互诱导和相互影响及基因调控。这就同发育生物学密不可分。所以,医学发育生物学是以人体胚胎学为基础的。

医学发育生物学是在广泛的基础学科相互交叉中派生出来的,与胚胎学、细胞生物学、分子生物学、遗传学、生物化学和生物物理学等学科有着密切的关系。它借助于这些学科的原理和方法发展起来,同时又充实并带动了这些学科的发展。遗传和发育是有机体在生命活动中同一问题的两个方面,发育过程受遗传物质的控制,而遗传特点要通过发育去体现出来,没有遗传就没有发育,没有发育也就无所谓遗传。所以,医学发育生物学和遗传学在分子水平上是融会贯通的。它利用分子遗传学的原理和方法进行研究,同时又用其新的研究成果来补充和修正分子遗传学。细胞生物学是医学发育生物学研究重要基础之一,在细胞、亚细胞及分子水平等不同层次上研究细胞器结构与功能之间的关系,其核心问题是细胞增殖与分化。生物化学是上述学科的基础理论。所以,医学发育生物学与生物化学、分子生物学、医学遗传学等医学基础学科和儿科学、生殖工程学、肿瘤科学及优生优育等临床学科的密切联系,要求我们将分子生物学、细胞生物学、遗传学、生物化学、生理学、解剖学、胚胎学、免疫学等相关生物学科的知识融会贯通,整合起来形成完整的知识体系。只有这样,我们才能在医学发育生物学研究中有作为。

早期发育生物学就是建立在卵细胞的观察和研究上的,后来的细胞分化和分裂研究便逐渐创立了细胞生物学的研究基础。因此,很多发育生物学家同时也是细胞生物学家。如 J. Holtfeter, V. Hamburger 和 Paul Weiss 等研究细胞特性时是细胞生物学家,探讨细胞间相互诱变作用时便是发育生物学家了。

医学发育生物学不仅研究人体正常发育的机制,还探讨人体的异常发育变化。对于肿瘤、艾滋病、畸形发生的机制研究,临床医学和发育生物学同样受到关注。由于人类基因组研究计划的顺利完成,人们将能够更清楚地阐明人类正常发育和异常发育的分子机制。这也是攻克癌症和其他疑难疾病的必要理论基础。关于受精和早期胚胎发育机制的研究是计划生育、优生优育工作的理论基础。

第三节 医学发育生物学的重要进展

对于生物学和医学以及遗传学等方面的学者来说,医学发育生物学受到越来越多的关注,其众多领域都有突破。在这里,我们选择几个重要的研究进展作概略介绍。

一、表观遗传学与医学

胚胎发育过程中,干细胞在组织和器官的形成及发育中起着决定性的作用。即使在成人成熟的组织器官中也存在少量干细胞(曾谓之未分化细胞),帮助组织器官的改建和修复。所以,对于人体发育、健康来说,干细胞不可或缺,受到人们广泛关注是理所当然的。

干细胞是一种具有自我复制能力和多向分化潜能的细胞。按分化潜能的差异,干细胞可分为多能干细胞(如胚胎干细胞,ES)、专能干细胞(如间充质干细胞,MS)和定向干细胞(如造血祖细胞,HP)。它们处于细胞发育的不同阶段,其分化潜能随着机体的发育而受到限制,最终成为具有特殊形态和功能的细胞。在机体发育过程中,干细胞的分化与自身状态密切相关并受周围环境的控制。研究人体发育与健康的关系,获得理想的定向干细胞用于人类疾病的治疗,就必须对干细胞的分化机制加以探讨。

近年来,干细胞的研究主要集中在表观遗传机制对其分化的调控上。表观遗传调控(epigenetic regulation)指在不改变基因序列的前提下,通过DNA甲基化、组蛋白修饰以及非编码RNA(ncRNA)等调控途径在多个层面上调节参与发育过程相关的基因表达,从而决定细胞分化的方向。

目前,研究最多的表观遗传修饰机制是ES细胞DNA甲基化,其主要方式是对称的CpG二磷酸吡啶核苷酸得到或失去甲基基团;在多数哺乳动物细胞中,染色质上70%~80%的CpG二核苷酸都被甲基化,并

且主要发生在基因的重复序列上。在所有组织发育的各个时期,大多数基因一般保持未甲基化状态,只有一小部分被甲基化,这一过程常伴随着启动子沉默。人们发现,ES 细胞分化过程中,*pou5f1/oct4*、*nanog* 基因位点迅速地被 DNA 甲基化修饰,表达水平下降,说明 ES 细胞中 DNA 的甲基化呈现非常活跃的状态。同时,在去甲基化的细胞中,有一些基因表达水平重新提高,说明甲基化和去甲基化控制关键调控基因的转录,决定细胞的命运。总之,研究干细胞的定向分化过程中广泛的甲基化构型,对诱导种子细胞分化为目的细胞及减少肿瘤形成是极其重要的。

和基因突变一样,在肿瘤发生过程中由启动子区域 DNA 甲基化导致的基因表观遗传失活同样具有重要的作用。目前已发现在大部分人体肿瘤中存在 DNA 甲基化引起的基因失活,涉及的基因包括肿瘤抑制基因、细胞周期调节基因、DNA 修复基因以及与肿瘤浸润和转移有关的基因等。

表观遗传异常既可以作为影响老龄化过程的因素,也可以是老龄化过程中的一种伴随现象。在老龄的正常组织中也存在高甲基化,即所谓的 A 型(Age-related)甲基化,以别于肿瘤特异或 C 型(Cancer-related)甲基化。人们发现 ER α 甲基化不仅存在于结肠肿瘤,而且也出现于正常结肠黏膜,出现的频率与患者的年龄成正比。年龄依赖性的 ER α 甲基化还发现存在于乳腺、心血管系统、血细胞等组织细胞中。

二、细胞重编程技术

细胞重编程(reprogramming)是指在特定条件下将完全分化的细胞逆转成为具有与胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES cell)类似特点的多能性干细胞。

体细胞核移植技术(somatic cell nuclear transfer, SCNT)是研究较早的体细胞重编程技术。人们用细胞核移植技术将体细胞核转移到去核卵细胞中,培养形成的囊胚内出现一群细胞(内细胞群,ICM)。这种细胞在体外培养可成团生长即为干细胞克隆,诱导分化(细胞、组织或器官)后移植到病人体内以治疗疾病,称为“治疗性克隆”。与此相对应的“生殖性克隆”,是用上述无性繁殖的手段制造出与体细胞的供体遗传完全相同的动物或人。两者的区别在于,前者是为了获取干细胞,而后者是为了获取新的生命个体。

在体细胞克隆技术出现之前,科学家只能通过流产、死产或人工授精的人类胚胎获取干细胞进行研究。克隆羊多利的问世,意味着人们可以通过体细胞克隆出人类胚胎。因此,人胚胎干细胞(hES)的研究引发了伦理、道德、宗教、法律等方面的激烈争议,在许多国家都受到限制。然而,1998年11月美国威斯康星大学等机构的科学家从人类胚胎组织分离培育出 ES 细胞的突破性进展引起了各国科学家的关注,1999年被美国《科学》杂志评为当年世界十大科学成就之首。这是因为治疗性克隆研究可使病人获得所需的移植组织器官。届时,血细胞、脑细胞、骨骼和内脏器官都可被替换。这给患白血病、帕金森氏病、心脏病和再生障碍性疾病的患者带来生的希望,为人类健康作出贡献。

hES 细胞最早由美国威斯康星大学的汤普逊和霍普金斯大学的吉尔哈特发现。他们从人类囊胚的 ICM 中分离出干细胞并使其在体外培养生长,在适当的条件下,分化为具有功能的细胞,包括神经细胞、肌肉细胞、骨骼细胞和胰岛细胞。随后一些国家竞相研究 hES 细胞以治疗疑难疾病。

不可忽视的是,人类细胞核移植的研究目前仍面临着很多难题。受体细胞——人卵母细胞来源有限,一方面应用人卵母细胞有道德争议,另一方面捐赠者稀少;在早胚发育过程中胞质与核不匹配时会使正常发育中断,这是否影响核移植后 hES 细胞的衍化过程尚未可知;核移植后,成体细胞核基因组如何重排,是否会编码异常蛋白;ES 细胞分化的诱导和靶方向如何准确控制;ES 细胞增殖的控制;小鼠“滋养细胞”营养人体干细胞易于造成动物细胞污染。把干细胞诱导培养成专一、成熟的细胞和组织,在近期还很难做到。

Yamanaka 成功获得了具有 ES 细胞特性的 iPS 细胞后,科学家们对其在临床医学上的应用迅速展开研究。利用 iPS 细胞可以产生个体特异性的多能干细胞,移植用于治疗遗传和退行性疾病,可以最大限度地避免免疫排斥。Hanna 等用镰刀型贫血症小鼠的皮肤成纤维细胞建立了 iPS 细胞,通过对 iPS 细胞的改造和分化得到了具有正常功能的造血前体细胞,将其移植到患有镰刀型贫血症的小鼠体内,极大地改善了小鼠

的症状。Angel 等发现,来自范康尼贫血(Fanconi anaemia)患者的 iPS 细胞在纠正了基因缺陷之后,可被重新编程,而产生具有患者特异性的 iPS 细胞,它们能产生属于骨髓细胞系和类红细胞系的不含疾病基因的造血祖细胞。这些细胞对于细胞疗法有潜在价值。重症神经疾病脊髓肌肉萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)患者的皮肤细胞重编程为 iPS 细胞,然后将这些 iPS 细胞培育为神经细胞后,在体外成功再现了神经细胞因疾病死亡的过程。用 iPS 细胞可无限度繁殖病变细胞用于研究,意义实属非凡。

三、发育中的细胞转型

上皮细胞与间充质细胞间的相互转变是胚体形成过程中组织形态发生和器官重建的不可缺少的生理活动。这种转型过程受到钙黏蛋白介导的细胞间黏附、生长因子和细胞外基质成分的调节。上皮细胞的极性及细胞间的紧密黏附由细胞膜两侧的特殊黏附连接装置完成,如肌动蛋白丝相关的黏附连接和丝与丝交叉的桥粒。细胞间连接主要由一种非常重要的跨膜糖蛋白 E-钙黏蛋白(E-cadherin)介导,它的细胞外区与钙离子结合后邻近细胞间发生同嗜性黏着;它的细胞内区与一组蛋白质相连,因它们之间相互交连,所以这类蛋白质统称为连环蛋白(catenin)。这样,钙黏蛋白聚簇、钙黏蛋白-连环蛋白复合体形成以及与肌动蛋白细胞骨架的反应是细胞间建立稳定连接的必不可少的环节。

细胞转型最早被发育生物学家用来描述在胚胎发育过程中某些特定部位的上皮细胞所发生的形态学改变,使其在生物学上更适合侵袭转移。例如在胚胎期器官形成的过程中,上皮细胞变得类似于成纤维细胞,从而具有了强大的移动能力。细胞转型与立方上皮细胞通过下调细胞黏附相关基因(如 E-cadherin)、丢失细胞之间的相互作用以及改变细胞角蛋白(细胞骨架)的外形有关。同时,上皮细胞也获得了间充质细胞(成纤维细胞)具有的一些特征包括伸展性的成纤维细胞样的外形和波形纤维蛋白、Snail、骨桥蛋白的表达。这些改变导致上皮细胞在生物学特性上更具有侵袭性和移动性。研究表明,细胞转型至少从以下三方面调节着哺乳动物的胚胎发育:①器官形成:与原肠胚、四肢以及肺、肾、胃、心等器官的形成有关;②胚层分化:细胞转型与体壁内胚层和中胚层的分化,以及定形内胚层的形成有关;③神经系统分化:细胞转型促进了背神经上皮细胞向神经管嵴细胞的转化,进一步引起背神经上皮细胞向外周神经系统中的多种神经元细胞、神经胶质细胞、色素细胞以及心脏、面颊、颈部的结缔组织的分化。

在肿瘤的侵袭和演进过程中,上皮细胞的多形性改变和去分化表现是肿瘤演进的标志。已有的大量研究证据表明,在多数肿瘤的原位已有细胞转型的发生。对乳腺癌和结肠癌的研究表明,肿瘤细胞外形的改变及其黏附性的下降或消失在肿瘤的原位侵袭和远处转移以及新的转移灶的形成过程中发挥了重要的作用。

某些细胞因子(如 TGF2 β 、TNF2 α 、MCP21、IGF、FGF)通过旁分泌/自分泌的方式作用于正常/肿瘤上皮细胞,导致细胞转型的发生。Han 等人最近发现,在皮肤癌中 TGF2 β 通过激活多种下游分子,进而介导了肿瘤细胞的细胞转型并可能导致了肿瘤的侵袭转移。Ras 和 Src 基因被认为与调控细胞转型发生的信号传导通路有关。Ras 和 TGF2 β 的激活被认为是前列腺癌细胞发生细胞转型的两个必需因素。

四、肿瘤与干细胞

肿瘤干细胞的发现为肿瘤基础和临床研究开辟了一条新途径。迄今为止的研究表明,不论是血癌还是实体瘤,肿瘤起始细胞都是在大量肿瘤细胞群体中仅占极少一部分的细胞亚群,但其具有显著的非对称性细胞分裂和强烈的自复制能力。第一批确定的肿瘤干细胞之一是在急性髓性白血病中,它们仅占肿瘤细胞群体的 0.1%~1%,且具有 CD34⁺ 和 CD38⁻ 的标记。多发性骨髓瘤细胞系及其患者的细胞表达 CD138,而只有 <5% 的骨髓瘤细胞群体的细胞亚群为 CD138⁻。就是这少数 CD138⁻ 细胞在体外具有克隆能力,能成功种植到 NOD/SCID 小鼠(一种易患糖尿病和结核的小鼠)模型中,而 CD138⁺ 细胞无种植能力。显然,CD138⁻ 细胞为肿瘤干细胞。目前,具有 CD44、CD24 和上皮特异性抗原的一种乳腺癌干细胞已被分离得

到,虽然其仅占整个瘤细胞群体的2%,但已通过种植到NOD/SCID小鼠中获得证实。另外,一个推论的脑瘤干细胞也已被分离到,表面标志为CD133,能种植到NOD/SCID小鼠并导致脑瘤表型。

上述已获证实存在于血癌和脑瘤等实体瘤中的少量肿瘤干细胞,对肿瘤等的基础研究和临床研究看来是一个突破,但尚属初步成就。一方面需在更多恶性肿瘤中探索,另一方面有一些问题需要研究:①肿瘤干细胞是从正常干细胞起源,还是从其后分化的祖细胞(progenitor cell)起源的?②维持肿瘤干细胞的遗传途径:干细胞在转化为肿瘤起始细胞后至少涉及两类蛋白质,即BMI-1和Wnt。RT-PCR的分析表明,敲除BMI-1基因的小鼠致使所有造血细胞谱系(hematopoietic lineage)丧失。Wnt信号转导通路的突变使相关的干细胞基因处于“开启”状态,使脱磷酸化的 β -联蛋白(β -catenin)积累,导致白血病或通过腺瘤性结肠息肉(APC)基因突变诱发肠癌的发生发展。因此,调控正常干细胞表型的遗传和生化通路的颠覆是维持肿瘤干细胞表型的重要原因,但探讨其遗传途径还有许多工作要做。③肿瘤干细胞的表型。人体肿瘤通常呈现DNA甲基化的异常模式。超甲基化致使肿瘤抑制基因失活,而低甲基化又使一些基因过度表达。然而,小鼠黑素瘤的细胞核移植到去核卵并由正常代理母鼠孕育后出生的子代均为正常,说明微环境有可能重新程序化肿瘤干细胞。

小 结

医学发育生物学深入研究人体组织和器官形成过程中细胞增殖和分化的时间性、空间性和方向性以及对自身和其他细胞形态和功能的影响,并分析与发育相关疾病的成因和寻找预防和治疗途径和方法。其主要内容为遗传物质和环境因素对组织和器官发生、发展、成熟、衰老和死亡的影响以及基因表达的时序与空间分布与细胞增殖分化的关系。其常用的方法有细胞谱系的跟踪、诱变与“基因敲除小鼠”、转基因动物、差筛技术和RNA干扰技术、表观遗传分析技术和细胞重编程技术等。医学发育生物学与生物化学、分子生物学、医学遗传学等医学基础学科和儿科学、生殖工程学、肿瘤科学及优生优育等临床学科的密切联系,近几年来在表观遗传调控、细胞重编程、肿瘤的干细胞特性、辅助生殖和组织器官修复等方面取得了新的突破。可以预见,在不远的将来,发育生物学在医学领域的应用十分普遍,医学发育生物学会为医学事业的发展和人类健康的保障作出应有的贡献。

(刘厚奇 蔡文琴)

主要参考文献

- 蔡文琴等. 2007. 发育神经生物学. 北京: 科学出版社.
- 陈忠, 李龙承. 2010. 肿瘤表观遗传研究的现状与展望. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2(4): 193~195.
- 胡敏华, 郭欣政, 张守全. 2010. 诱导多能干细胞最新进展. 生物技术通报, 10: 15~19.
- 黄秀英, 劳为得, 郑瑞珍等译. 1998. 发育生物学. 北京: 高等教育出版社.
- 李青, 荆清. 2010. microRNA: 心血管发育及疾病中的重要调控因子. 生命科学, 22(7): 661~667.
- 刘厚奇. 2005. 器官发育中细胞转型的机制和意义. 第二军医大学学报, 26(4): 349~351.
- 罗定远, 黎洪浩. 2010. 表观遗传修饰调控胚胎干细胞定向分化的研究进展. 中国病理生理杂志, 26(6): 1229~1233.
- Cordes KR, Sheehy NT, White MP. 2009. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity. Nature, 460(7256): 705~710.
- Ebert AD, Yu JY, Rose FF Jr et al. 2009. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. Nature, 457(7227): 277~280.
- Fire A, Xu SQ, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature, 391: 806~811.
- Wijchers PJ, Burbach JP, Smidt MP. 2006. In control of biology: of mice, men and Foxes. Biochem J., 397(2): 233~246.