

胚胎发育与肿瘤

章静波 编著



2.4

B

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

Q 132.4

ZTB

YA121/10
胚胎发育与肿瘤

章静波 编著

北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社

〔京〕新登字147号

内 容 简 介

本书的意图是从细胞生长、分化的角度将胚胎发育与肿瘤形成联系起来。因此，一方面叙述配子如何结合成合子，以及如何一步步正常地分裂与生长分化。另一方面介绍了细胞生物学，分子肿瘤学的新近发展，阐明肿瘤如何形成，肿瘤细胞与胚胎细胞的异同以及迄今为止人们如何企图控制肿瘤细胞的生长与分化。

本书可供细胞生物学、肿瘤学、胚胎学、医学工作者及大专院校有关师生，特别是研究生们参考。

胚胎发育与肿瘤

章静波 编著

责任编辑：陈永生

*

北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社出版

星城印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

*

787×1092毫米1/32 印张4.75 插页4页 105千字

1991年10月第1版 1991年10月北京第1次印刷

印数：1—2000

书号：ISBN7-81034-046-8/R·47

定价：3.60元

序

肿瘤是细胞增殖失控和终末分化受抑的一种发育生物学异常疾病，是由于正常细胞的遗传物质组构或基因表达程式与错误编码而出现转化和癌变的结果。胚胎发育开始于精子、卵结合的受精卵，先天含有亲代全套遗传基因的胚胎细胞，在正常发育过程中，受遗传和胚胎整体性的调控，按一定的时间和空间顺序表达所选择的基因进行细胞分裂增殖和不同类型细胞、组织和器官的分化，表达特异性分化产物（蛋白质）和出现可测的功能和形态特征。在化学致癌物，病毒和辐射等因素作用下，基因转录和转译的任何表达环节受到干扰，均会导致细胞转化、增殖恶变和分化异常。因此，肿瘤也被认为是一种细胞分化异常疾病，属于发育生物学中一个重大的生物医学课题。

肿瘤细胞和胚胎细胞从细胞的增殖、生长和分化角度看有许多共同特点，尤其它们都具有惊人的分裂能力和受原癌基因的控制。从一个受精卵细胞开始的人胚胎发育，经过九个多月后便形成体重达3000~3500克的临产胎儿；同样，一个恶变的肿瘤细胞通过失控增殖可以于数月内在体内产生大量癌细胞，形成致命的赘生物。然而它们之间非常不同的是前者的增殖、生长与分化受胚胎整体性的调控管制，而后者则“离经叛道”任意生长和不受约束。这种差异出现的原因是什么？正是发育生物学家与肿瘤学家共同关心的问题，自然地形成了边缘学科上的研究课题，也是本书作者以《胚胎发育与肿瘤》命名这本小册子和希图启发人们注意这一边缘

领域的初衷和由来。

近年来随着分子生物学的科学研究进展，原癌基因、癌基因与分化基因的选择活化与表达规律的研究，已开始揭示胚胎发育与肿瘤形成之间的相关之谜。逆转录病毒—基因DNA重组、基因转移以及顺式或反式基因表达调控等技术的运用，大大推动了肿瘤分子生物学的研究。利用诱导分化物质和细胞工程技术，已表明可以纠正基因表达异常状态，使失控的癌细胞增殖和分化向正常方向逆转。例如用细胞杂交的方法，可以在激活原来不活跃的分化基因，产生细胞分化产物的同时，降减或完全封闭原来活跃表达的癌基因，改变肿瘤细胞的恶性表型。这种增殖与分化的偶联关系和机理虽然目前还不清楚，但它的阐明，不仅将对分化决定期如何选择性地活化特定分化基因和如何关闭癌基因或其他基因表达的偶联关系，以及胚胎细胞分化机理的理解具有深远意义，而且也为肿瘤的防治提供了前景。本书作者章静波同志长期从事实验胚胎学及肿瘤细胞学的科学研究工作，在这本书中将以他渊博的学识和丰富的经验，从胚胎发育与肿瘤形成角度阐述胚胎发育特征和胚胎细胞与肿瘤细胞的异同，介绍有关的边缘学科对以细胞增殖、生长与分化为主题及其调控细胞恶性分化的新近研究。内容编写简练、扼要，论述明确精辟，思路开阔，是值得从事发育生物学和肿瘤学的研究生及生物医学界同仁参考的一本内容充实的书。当然，由于时间的推移，新的进展层出不穷，本书有待今后补充提高。

薛社普

1989年9月7日

导 言

不是专门从事发育生物学或肿瘤生物学研究的人们，一见本小册子名为《胚胎发育与肿瘤》或许会感到奇怪。也许要问胚胎发育与肿瘤宛如南辕北辙，它们有什么相干？甚者则认为作者在故弄玄虚，哗众取宠。然而，我要申辩的是，胚胎与肿瘤确实是有某些方面的瓜葛的。这种提法绝不是作者的“标新立异”，很早以前的医籍上便有畸胎癌（希腊名为 *teratocarcinoma*）的记载。畸胎癌的意思是一种“类似于怪物或畸形婴孩的恶性肿瘤”。时至今天，已有不少细胞生物学家，肿瘤生物学家对胚胎发育与肿瘤形成之间的关系进行了深入地研究。现在不但可以相当容易地在动物体内诱发出畸胎癌，而且可以在体外 (*in vitro*) 建立畸胎癌细胞系，并能加以操纵，使之在胚胎内或在试管中进行分化，成为正常胚胎的一部分，或者转变成为非恶性的细胞。近年来，随着肿瘤分子生物学的兴起与发展，人们已进一步发现所有正常人体细胞内本来就存在着一种原癌基因(proto-oncogene)。这种癌基因对于胚胎早期发育起着一定的作用，只是到了发育的特定阶段它们才终止了表达，或者表达甚微。相反地，若这些基因在以后的生命过程中又复被激活，它们便过度地表达，产生大量的特异性蛋白质。这些蛋白质使得正常细胞转变成为恶性肿瘤细胞。由此看来，深入到基因水平的分析研究，更有可能揭示胚胎发育与肿瘤形成间的本质联系。

作者所以选《胚胎发育与肿瘤》这样一个命题来写此小

册子，还另有一个意图。多数发育生物学家往往只注重正常的发育过程，而不愿过多地洞察那些“离经叛道”的细胞的行为。当然，对于一个发育生物学家来说，这是天经地义，无可非议的。相反地，肿瘤学家们则注重于对付那些正常细胞群体中的“害群之马”。诚然，这是他们的天职。正是科学的发展，致使分科愈来愈细，无形中出现了“两不管”的“边缘学科”。然而，殊不知边缘学科也是一个广阔的天地。我希望那些有志于科学研究的人们多多地注意这种边缘领域，它或许会使你大有所获的。“胚胎与肿瘤”或许正是这样的一个领域，值得人们更多地进行探索。

本册子并不意图系统而详细地描述胚胎学与肿瘤学，它们都有不少精湛的专门巨著。只是徘徊于这两门学科之间的“边缘”，而且仅是企图探讨胚胎与肿瘤间的关系。因此只打算论述高等动物与人类的早期胚胎发育以及与胚胎细胞有密切关系的那些肿瘤。如果这样做能分别使得从事这两门学科研究的人们，尤其是还未带有任何学科框框的年青大学生和研究生们感到兴趣，那么写此小册子便算是相当成功的了。

目 录

序

导言

第一章	受精.....	(1)
一、	精子的获能与顶体反应.....	(1)
二、	精卵相遇及两性原核的形成.....	(7)
三、	体外受精实验.....	(11)
第二章	细胞的增殖.....	(15)
一、	细胞分裂周期.....	(15)
二、	有丝分裂及其异常现象.....	(19)
三、	减数分裂、性别决定及减数分裂异常.....	(23)
四、	生长因子和细胞增殖.....	(26)
第三章	小鼠胚胎的早期发生.....	(30)
一、	小鼠胚胎早期发生概述.....	(31)
二、	三胚层的分化及预定图.....	(36)
三、	胚胎细胞培养与畸胎瘤.....	(38)
第四章	人体胚胎的早期发生.....	(42)
一、	前三周的发生过程.....	(42)
二、	原始胚层的演化.....	(46)
三、	胎盘.....	(51)
四、	早期发生中产生的先天性畸形.....	(53)
第五章	胚胎诱导.....	(57)
一、	诱导概念的由来与灰新月区的作用.....	(58)
二、	神经诱导的组织、阶段和区域特异性及 诱导者的化学性质.....	(64)

三、诱导作用的分子机制.....	(68)
四、诱导梯度假说.....	(70)
第六章 癌与胚胎.....	(76)
一、癌的病因.....	(76)
二、肿瘤的基本性质及治疗.....	(82)
三、胚胎与肿瘤的相似性.....	(87)
四、癌基因与细胞的生长分化.....	(94)
第七章 细胞分化的调控.....	(98)
一、分化的基本概念.....	(98)
二、肿瘤细胞分化研究的常用实验模型.....	(100)
三、肿瘤细胞分化和生长的控制.....	(105)
第八章 癌基因与人类肿瘤.....	(113)
一、癌基因的激活与细胞的恶性转化.....	(113)
二、细胞和病毒癌基因的产物.....	(117)
三、ras 癌基因族.....	(122)
四、myc 癌基因与人类肿瘤.....	(127)
五、癌基因与肿瘤的转移.....	(129)
六、抗癌基因与细胞增殖调控.....	(133)
主要参考文献及推荐读物.....	(138)

第一章 受精

受精 (fertilization) 是一个古老的生物学问题。几乎两个世纪之前, 胚胎学家们便对精子和卵的关系发生了浓厚的兴趣。但下列的一些问题使他们感到迷惑难解: 是什么原因使得雌雄配子 (gamete) 能互相识别的? 卵是如何区别同种与异种精子的? 为什么在通常的情况下只有一个精子与卵结合? 过去的一百年间, 人们对于上述问题进行了广泛的推测与激烈地争论。然而只有近百十年来, 尤其是自本世纪50年代以来, 随着相差显微镜、电子显微镜的应用, 尤其是体外受精 (in vitro fertilization) 实验技术的建立与发展, 上述问题才逐渐得到阐明。

虽然有关受精的详细实验分析, 最早多用低等动物, 尤其是马蛔虫、海胆或其它棘皮动物为材料进行的。用哺乳类材料作实验只是近几十年的事, 材料相对较少。但正如我们在导言中所声明的, 本书的意图在于阐述高等动物, 尤其是哺乳类与人类的胚胎发育, 因此本章有关受精问题的讨论也多限于哺乳类与人类的有关资料。

一、精子的获能与顶体反应

研究哺乳类动物或人类的受精问题在技术上有相当多的困难。首先因为配子间的融合发生在体内, 因此很难观察到配子间相互反应的早期阶段。虽然研究者们为此曾不遗余力

地在体外模拟或实现这一发生在体内的生理现象，不幸的是，早期进行的体外受精实验都以失败告终。那时人们皆直接从雄性动物采集精子，却不知这样的精子不可能穿越卵外的各种保护层与膜系统，从而与真正的卵表面相接触。后来人们才知道，在正常情况下，精子只有在雌性生殖道内（主要是在阴道内）停留数小时后才能获得穿入卵内的能力，1952年Austin将这一现象称之为“精子获能”(sperm capacitation)。

精子的获能要经历一系列复杂的变化。众所周知，由睾丸曲细精管产生的精子在经过附睾的过程中须经历一系列生理、生化和形态等方面的成熟过程与改变，然后再经过输精管，于射精时与精浆液一起排出体外。由于精子膜具有吸取周围环境中某些物质的特性，因而在上述过程中精子膜被包裹了许多去获能因子 (decapacitation factors) 的大分子物质。同时精子膜表面电荷和植物凝集素 (lectins) 结合位点等也发生了改变。因此，刚射出的精子是未获能的精子，这种精子是不能立即使卵细胞受精的。这样也就解释了早期体外受精失败的原因。

Oliphant等曾观察到抗兔精浆的抗体能强烈地凝集兔射出的精子，甚至兔精子在无获能条件下的培养基中温育18小时后，仍能被上述抗体所凝集。另一方面，若把兔精子注入雌兔的子宫内，12小时后抗体便能凝集这种精子。这一实验清楚地表明，精子原先带有精浆液中的某些大分子物质，它们可与抗体结合。当精子在子宫内停留一段时间之后，这些物质被清除，或者改变了性质，使精子由“非获能状态”转变为“获能状态”。此时也就不能被抗体凝集了。这里我们叙述的只是一种现象而已，从目前资料看，精子获能的本质及其一系列变化是极其复杂的。有关哺乳动物及人精子获能

前后的变化的实验报道颇多，日本学者 Yanagimachi 曾对这些变化作了较为详尽的总结（表1-1）。

表1-1 精子获能后的一系列改变

精子膜	表面吸附的大分子物质被清除或性质改变 蛋白质性质的改变 部分或局部植物凝集素结合位点的丢失 表面负电荷减弱 表面游离的SH ⁻ 和NH ₂ ⁻ 减少 磷脂的液相改变 膜内颗粒分布发生改变 通透性和渗透性发生改变 胆固醇的去除或改变；Zn ²⁺ 的去除 对异源性球蛋白敏感性增强 对卵泡液敏感性增强 对白细胞敏感性增强 Ca ²⁺ 摄取位置的暴露和激活
顶体膜	分子构型 (Configuration) 的改变
其它	O ₂ 摄入增加 细胞内cAMP*浓度改变 细胞内胆碱缩醛磷脂的改变

*cAMP: cyclic adenosine monophosphate 环腺苷酸

由上可知，精子获能并非是单一的步骤，而是一个多步骤、多时相、复杂的生理、生化改变过程。阴道、子宫和输卵管是精子获能的主要部位，有人认为白细胞和卵丘细胞也可能有促进精子获能的作用。甚至有报道称远处的脏器，如直肠、膀胱和眼球的前房也能使精子部分获能。如此看来，精子获能并没有明显的器官特异性。然而这些器官究竟是怎样与精子相互作用并使之获能的精确机制，目前尚不十分清楚。

各种哺乳动物获能所需的时间长短不一。一般说来，兔精子在雌兔生殖道内需停留5~10小时。大鼠精子在雌性大鼠生殖道内需停留2~3小时。小鼠精子在雌性小鼠生殖道内需停留1~2小时。Yanagimachi等曾在体外受精实验中用BWW培养基（详见后述）洗人体精液，共3次，以去除精子表面的附着物，然后放入含高浓度人体白蛋白的BWW培养基（每毫升BWW培养基中含人体白蛋白达18毫克）中温育6小时左右。发现经过这种处理亦可使人精子在体外充分获能。此时可观察到精子线绳样摆动加速，出现了“高激活”状态。这一现象表明去除精子表面附着的大分子物质是精子获能的关键。此外，还有报道认为，在培养基内加入cAMP和磷酸二酯酶抑制剂咖啡因能加速精子的获能，或者缩短获能的时间。男性抗生育药棉酚（gossypol）则可抑制人精子的获能过程。有些金属离子有利于获能，有些离子则不利于获能。

与精子获能过程休戚相关的另一精子形态学上的变化是“顶体反应”（Acrosome reaction）。顶体是覆盖于精子头部的帽状结构（图1-1）。贴近细胞膜那一部分的单位膜称顶体外（前）膜，贴近核膜那一部分的单位膜叫顶体内（后）膜。内膜和外膜大部分平行排列，并在顶体后缘相互延续。顶体的前段又称顶体帽，后段称为顶体赤道部。在顶体尾侧的细胞质局部浓缩，特化为一薄层球状致密带，紧贴在精子头部细胞膜的内表面称为顶体后环。有些动物的顶体后端有一锥状或线状突起，称为顶体锥或顶体丝。受精时它可以伸得很长。生物化学研究证明，顶体类似于细胞内的溶酶体和胰腺细胞的酶原颗粒。顶体内外膜以及它们之间的腔隙含有多种水解酶，如透明质酸酶、蛋白酶、脂酶、神经氨酸苷酶、酸性磷酸酶、磷脂酶、芳香基硫酸脂酶、 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷

酶、胶原酶、胰酶样蛋白水解酶、唾液酸苷酶以及顶体素 (acrosin) 等。

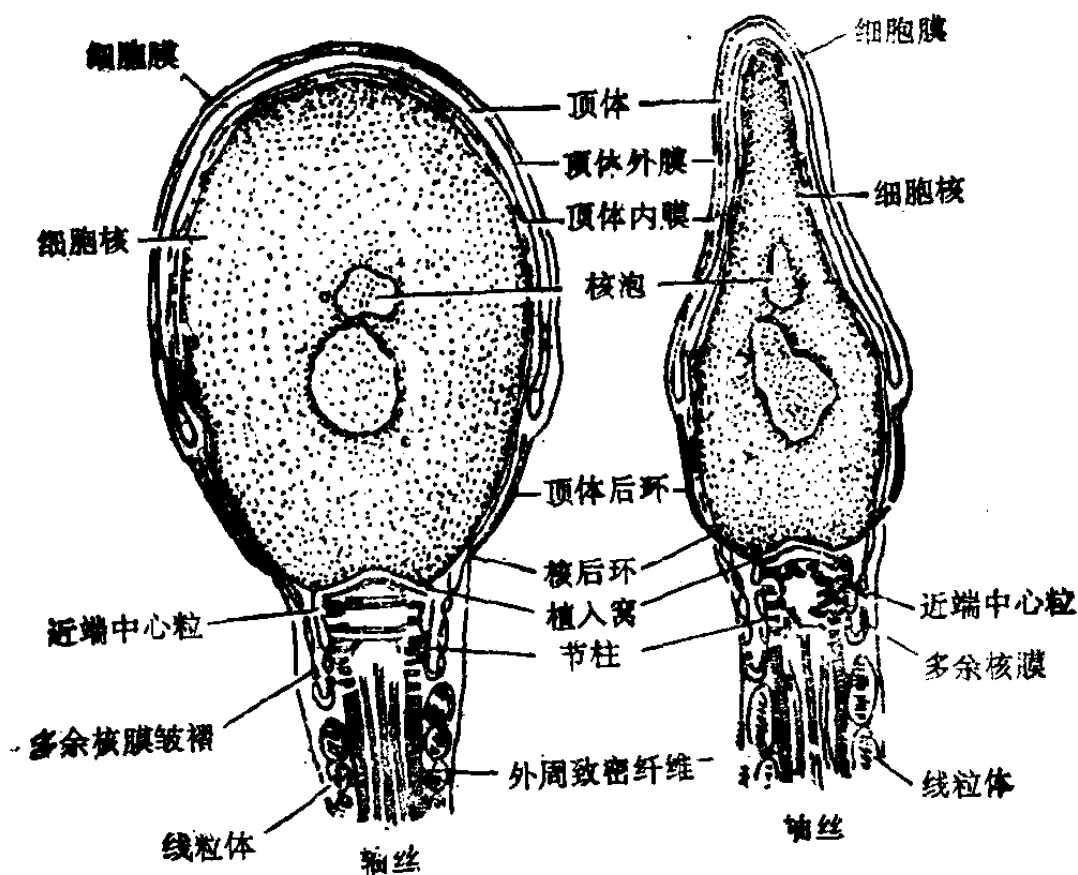


图1-1 人精子头部结构示意图，左为正面观，右为侧面观。请注意顶体的结构

顶体是一种相对不稳定的结构。当与卵细胞相遇时，顶体膜发生破裂，基质内各种酶逸散出来，这一现象称之为顶体反应。超微结构研究证明，精子发生顶体反应时，其形态变化基础是精子膜首先与其下面紧连的顶体外膜出现多处融合，形成很多膜性囊泡以及许多通道，这一现象叫做囊泡化 (vesiculation)。然后顶体基质内酶成分沿通道释放出去。膜性囊泡主要在顶体前段形成，因而顶体反应主要发生于顶体前段。与顶体反应的同时，精子尾部运动加强，以利于精子穿入卵内(图1-2)。有文献报道，随着动物年龄增大与衰老，

正常顶体的比例下降，动物的生殖能力也相应减弱。

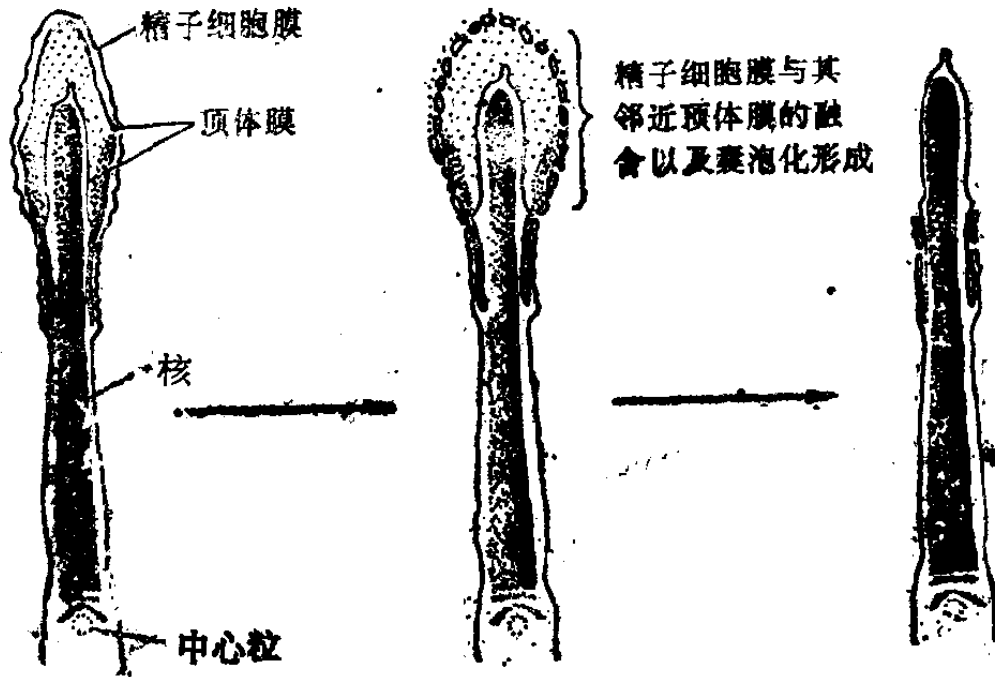


图1-2 苍鼠精子的顶体反应，示顶体膜与精子头部细胞膜的融合以及囊泡化的形成

目前，关于顶体反应的机制尚不太清楚。各种动物顶体反应的诱导因子也不尽相同。有人认为卵丘细胞和透明带 (zona pellucida) 以及输卵管内的某些物质能够激发精子的顶体反应。然而体外受精实验证明，当将去除卵丘颗粒细胞层 (granulose layer) 和透明带的金黄地鼠卵与经获能的人精子一起孵育时，也能诱发人精子的顶体反应。Gordon 等采用电镜细胞化学新技术，观察了豚鼠、兔和人精子 ATP 酶的变化，提出了顶体反应的分子机制假说。其要点如下：精子膜上存在有依赖于钙离子的 ATP 酶，当把抑制 ATP 酶活性的大分子物质去除后，ATP 酶被激活。激活的 ATP 酶能将细胞外的钙离子转运到精子膜与顶体外膜之间。同时 Ca^{2+}

* ATP 酶, adenosine triphosphatase 腺苷三磷酸酶

又可激活顶体外膜上的ATP酶，ATP酶递次地又将 Ca^{++} 转运入顶体内。它又使顶体基质内的顶体素前身物顶体素原激活成为有活性的顶体素。此外在精子膜与顶体外膜之间的 Ca^{++} 还能结合到两层膜的磷脂上，引起局部膨胀和膜的粘连。随着 Ca^{++} 浓度增加，精子膜和顶体外膜逐渐融合。顶体内被激活的顶体素溶解已融合一起的膜部分，引起膜性囊泡和通道形成，顶体内各种酶组分释放出去。最近有实验证明，钙调蛋白(calmodulin)也参与顶体反应过程。此外，一种能选择性限制质膜对 Ca^{++} 的通透以及增加细胞质内游离钙的抗生素离子载体 A_{23187} ，可在体外诱发小鼠和海胆精子完成顶体反应。一般认为，精子顶体反应至少有两种生物学功能：(1)释放各种顶体酶系，为精子进入卵内开辟道路；(2)引起顶体后段和与之相连的精子膜发生生理变化，从而易于与卵细胞膜融合。

从上述可见，精子获能与顶体反应有密切的时序相关性，但两者不能混为一谈。获能指的是精子在获得穿入卵内并使之受精之前在雌性生殖道中的某些生理学改变，此过程在一定程度上是可逆性的。顶体反应是指精子在雌性生殖道逗留中的一种明显的形态学改变，是一个不可逆的过程。

二、精卵相遇及两性原核的形成

精子即使已经获能，而要与卵相遇还须越过数道屏障。在哺乳类(如大鼠和小鼠等)或人类，精子首先要穿过放射冠(*corona radiata*)，这是卵细胞外面的呈放射状排列的卵泡细胞，常有数层。透明带则是一层由粘多糖构成的非细胞性物质。

虽然人们一般认为放射冠细胞的分离主要是由精液和输卵管粘膜所分泌的酶的协同作用完成的，但体外实验证明透明质酸酶(hyaluronidase)可以很容易地将卵泡细胞分散，何况精子在顶体反应过程中能释放出大量的透明质酸酶，由此可见透明质酸酶起着一定的作用是毫无疑问的。最近有人观察到，用透明质酸酶抗体或合成的透明质酸酶抑制剂可有效地阻止经获能的精子分散卵泡细胞，从而阻止受精过程。相反地，芳香基硫酸脂酶、脂酶、酸性蛋白酶等与透明质酸酶有协同作用。另一方面，精子顶体反应释放出来的蛋白酶、 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和顶体素等能破坏糖蛋白多肽链的连接，导致透明带溶解，使精子穿入卵内。此外，精子尾部的运动也能起着推进精子进入放射冠与透明带的作用。

现已证明，透明带表面存在有种属特异的精子受体位点(sperm receptor sites)，它负责对精子进行种属特异的识别和结合。这样便有效地防止了异种精子进入卵内。然而在体外条件下，这种种属特异性不明显。有时异种精子亦能穿透其它种类动物卵的透明带，但其比率极小。然而，在实验条件下，以酶消化的方法或机械地去除卵的透明带后，卵的种属专一性便立即消失，表现出对异种精子的接受能力。人们根据这一原理，建立了异种体外受精方法，例如：可利用金黄地鼠(golden hamster)卵替代人卵细胞来估计人精子的受精能力以及精子染色体的遗传效应。这一有趣的课题将在第三节中详细描述。

精子只有穿过透明带后才真正开始与卵相接触，并发生融合过程。现已知道卵细胞膜上有大量能运动的微绒毛(microvillus)。当精子与微绒毛接触时，微绒毛首先将精子抱合，接着精子顶体后段及精子头后部的细胞膜与卵细胞膜相