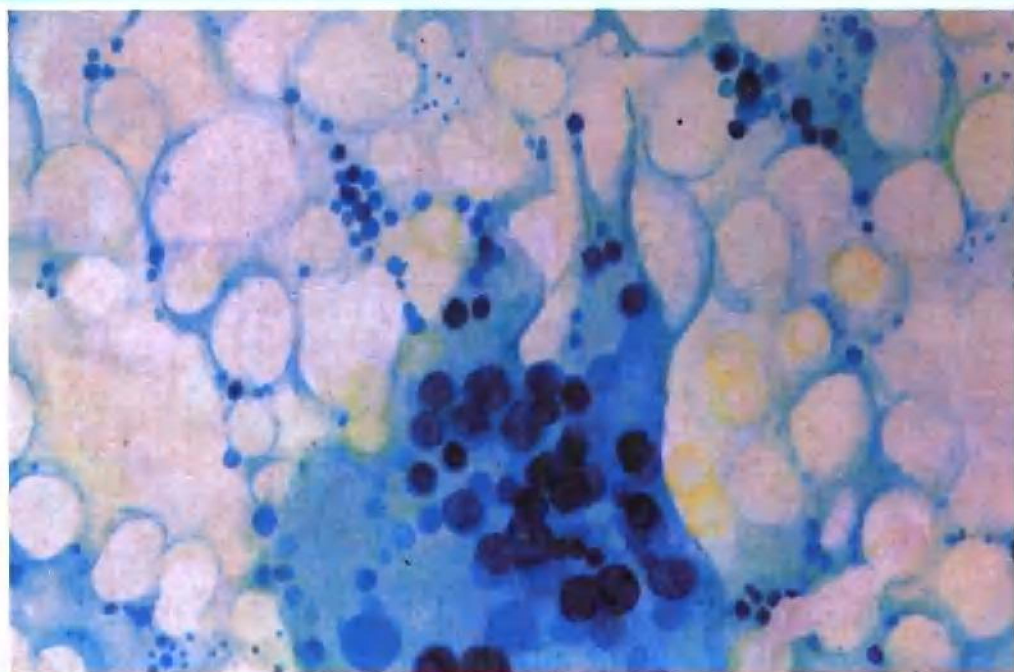


细胞凋亡基础与临床

主 编 姜 泊



人民军医出版社

1
R32P.2
IB

74x42 128

细胞凋亡基础与临床

XIBAO DIAOWANG JICHU YU LINCHUANG

名誉主编 周殿元
主 编 姜 泊
副 主 编 谭晓华 许岸高
朴英杰 杨冬华

人 民 军 医 出 版 社

(京)新登字 128 号

图书在版编目(CIP)数据

细胞凋亡基础与临床/周殿元,姜泊主编. —北京:人民军医出版社,1999. 7
ISBN 7-80020-949-0

I. 细… II. ①周… ②姜… III. 细胞-新陈代谢-理论 IV. Q25

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 02921 号

人民军医出版社出版

(北京市复兴路 22 号甲 3 号)

(邮政编码:100842 电话:68222916)

人民军医出版社激光照排中心排版

北京天宇星印刷厂印刷

新华书店总店北京发行所发行

*

开本:787mm×1092mm 1/16 • 印张:20 • 字数:452 千字

1999 年 7 月第 1 版 1999 年 7 月(北京)第 1 次印刷

印数:0001~5000 定价:32.50 元

ISBN 7-80020-949-0/R • 874

〔科技新书目:495—134⑤〕

(购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换)

编 委

(以姓氏笔画为序)

刁志宏	第一军医大学硕士
方向东	第一军医大学博士
刘 伟	第一军医大学硕士
刘定燮	第一军医大学博士
朱幼芙	第一军医大学博士
朴英杰	第一军医大学教授
许岸高	惠州市人民医院副主任医师
张亚历	第一军医大学教授
张 琳	第一军医大学博士
张 璐	第一军医大学博士
张鸣青	第一军医大学硕士
杨冬华	第一军医大学教授
沈剑刚	中国科学院生物物理所博士
陈 宏	第一军医大学博士
陈学清	中国医学科学院博士后
周京旭	第一军医大学硕士
官 健	第一军医大学博士
林金容	广州军区广州总医院博士
林 鸿	第一军医大学硕士
金大地	第一军医大学教授
姜 泊	第一军医大学副教授
姜 勇	第一军医大学教授
骆抗先	第一军医大学教授
郭志兵	第一军医大学硕士
郭遂群	第一军医大学硕士
高 蕾	第一军医大学硕士
梁卫江	第一军医大学博士
黄行许	第一军医大学博士

彭成华	第一军医大学硕士
谢志泉	第一军医大学硕士
韩慧霞	第一军医大学博士
谭晓华	北京军区总医院博士

内 容 简 介

本书全面系统地介绍了人类细胞新陈代谢的最新理论——细胞凋亡的最新研究成果和研究方法。共分 3 部分,基础部分阐述了细胞凋亡的概念、特征、调控基因、信号转导途径及其与肿瘤坏死因子、神经生长因子、活性氧和免疫的关系;临床部分重点叙述了细胞凋亡与心血管、胃肠道、肝脏、肾脏和皮肤疾病、艾滋病、创伤、肿瘤、女性生殖在发生发展机制上的关系;研究方法部分介绍了凋亡细胞的特征、检查方法、检测技术等。全书内容紧密结合作者的实验结果,并特别注重实用性,具有较高的学术价值。是高等医学院校科技人员、研究生,以及从事生物医学研究人员的重要参考书。

责任编辑 新纯桥 黄栩兵

前 言

细胞死亡,过去曾被视为一种混乱的现象而放弃认真研究,现在则成为当今生物医学研究中最热门的课题之一。实际上,细胞死亡是有序的,而不是细胞混乱的崩解。虽然细胞死亡存在着各种模式,但是被详细描述的唯一只有坏死和凋亡。坏死是由于主要的细胞结构破坏引起的细胞死亡的被动过程,而细胞凋亡(apoptosis)或称程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),是受基因控制的一种主动性细胞自杀过程,是生物体中一种普遍存在的现象,与胚胎形成、衰老和损伤细胞的清除、自反应性T淋巴细胞的清除以及肿瘤的发生、发展和转归等有关的病理生理过程,都与细胞凋亡有密切的关系。对细胞凋亡本质的揭示是伴随着分子生物学技术的成熟和一系列的细胞凋亡调控基因的克隆和发现以及其调控机制的阐明而深化的,这些发现对重新认识疾病的发生发展机制可能具有划时代的意义。

90年代初,第一军医大学解放军消化内科研究所在著名消化内科专家周殿元教授的指导下,紧紧追踪这一科研热点,吸引了一批年青的学者,形成一个科研小组,开展了细胞凋亡的研究,并且在肿瘤的发生发展机制、肿瘤的诱导分化和抗癌药物的作用机制及其与细胞凋亡的关系研究等方面取得了可喜的成绩,建立了一整套研究方法,培养了一批思维活跃的科研人员。通过举办细胞凋亡学习班,推广研究方法,促进了广州地区细胞凋亡研究的深入开展。

本书就是在上述研究,办学习班推广研究方法,借鉴大量国内外关于细胞凋亡理论、最新研究成果和实验技术方法基础上编撰而成的。全书共分三部分,分别系统介绍了细胞凋亡的基础研究、临床和实验方法,并结合自己的实验结果,力求将细胞凋亡在医学领域中的研究现状比较完整地介绍给读者,尤其是第三部分重点介绍实验方法,可供实验研究人员参考。参与本书编写的作者均是相关研究方向的专家或是在读博士生和硕士生,他们有较强的理论基础和实际工作能力,他们承担编撰的相关章节,也正是各自所从事的研究领域;他们是关于细胞凋亡基础理论研究、实验技术操作和临床实践的亲身经历者。近年来,本书的实验内容和编者于1996年出版的《分子生物学常用实验方法》一书的大部分内容已成为第一军医大学解放军消化内科研究所实验中心用于辅导研究生实验操作的指南。本书的出版相信会给更多的读者带来裨益。

本书虽几经修改,力求无误,仍难免在理论上、技术上和文字上有疏漏之处,对此,除向读者致歉外,还望提出宝贵意见。

编 者

1998年10月

目 录

第一部分 细胞凋亡的基础研究

第一章 概论	(3)	第三节 白细胞介素 1β 转化酶基因	
第一节 研究简史	(3)	家族	(23)
一、一般历史过程	(3)	一、白细胞介素 1β 转化酶	(23)
二、细胞凋亡的生物学意义	(4)	二、半胱氨酸蛋白 32	(24)
第二节 细胞凋亡的应用远景	(4)	三、Nedd-2/Ich-1	(24)
一、细胞凋亡与机体稳态	(4)	四、Ich-2	(25)
二、细胞凋亡与疾病	(5)	五、ICE rel $\mathbb{I}$	(25)
三、肿瘤细胞凋亡的研究	(5)	第四节 p53 与细胞凋亡	(25)
四、药物研制开发与细胞凋亡	(6)	一、p53 基因与 p53 蛋白的结构	(25)
第二章 凋亡细胞的特征	(9)	二、野生型 p53 的正常生理功能	(27)
第一节 形态学特征	(9)	三、p53 基因突变与肿瘤的关系	(27)
一、核的变化	(10)	四、p53 与细胞程序化死亡	(28)
二、胞质的变化	(10)	五、p53 与某些病毒的关系	(30)
三、凋亡小体的形成	(11)	第五节 Fas 和 FasL	(30)
第二节 生化特征	(11)	一、Fas/FasL 及其突变体的生物化学	
一、染色质片断化和内源性核酸酶	(11)		(30)
二、蛋白酶在细胞凋亡中的作用	(12)	二、Fas/FasL 的生理作用	(31)
三、胞浆 Ca^{2+} 与细胞凋亡	(13)	三、Fas/FasL 的病理学意义	(33)
四、胞浆 pH 的变化及其对细胞凋亡		第六节 与凋亡相关的其他基因	(33)
的调控	(13)	一、c-myc 基因	(34)
五、线粒体与细胞凋亡	(14)	二、Jun 基因	(35)
第三章 细胞凋亡的调控基因	(16)	三、c-fos 基因	(37)
第一节 ced 基因家族	(16)	四、myb 基因	(38)
一、Ced-3 和 ced-4 基因	(17)	第四章 细胞凋亡的信号转导途径	(41)
二、Ced-9 基因	(17)	第一节 细胞凋亡信号的转导通路	(41)
第二节 bcl-2 与细胞凋亡	(17)	一、基本转导通路	(41)
一、bcl-2 基因及其蛋白的特性	(18)	二、非专一性转导通路	(44)
二、bcl-2 的同源基因和蛋白	(18)	三、抑制信号的转导通路	(47)
三、bcl-2 与程序化细胞死亡的调节	(20)	四、研究趋势	(49)
四、bcl-2 与爱泼斯坦-巴尔(EB)病毒和		第二节 细胞凋亡常见的第二信使	(50)
其它癌基因的关系	(21)	一、钙离子	(50)
五、bcl-2 基因表达与细胞耐药的		二、神经酰胺	(50)
关系	(22)	第三节 丝裂原激活蛋白激酶信号转导	
六、bcl-2 调节细胞凋亡的机制	(23)	通路及其作用	(55)

2 细胞凋亡基础与临床

一、丝裂原激活蛋白激酶信号转导 通路	(55)	一、去血清诱导细胞凋亡	(93)
二、丝裂原激活蛋白激酶信号 转导途径	(61)	二、去神经营养因子诱导神经细胞 凋亡病理学改变	(93)
三、蛋白激酶在细胞凋亡信号转导中 作用	(62)	三、神经细胞程序化死亡过程中的 代谢改变	(94)
四、研究趋势	(63)	第四节 神经生长因子调节神经细胞 凋亡机制	(94)
第五章 肿瘤坏死因子	(66)	一、神经营养信号转导途径	(95)
第一节 肿瘤坏死因子与受体	(66)	二、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 表达对 神经细胞的影响	(100)
一、肿瘤坏死因子	(66)	三、白细胞介素 1β 转化酶家族表达对 神经细胞的影响	(102)
二、肿瘤坏死因子受体	(68)	第七章 活性氧与细胞凋亡	(104)
第二节 肿瘤坏死因子诱导细胞凋亡 的机制	(68)	第一节 氧自由基与细胞凋亡	(104)
一、TNF+TNFR1-TRADD-FADD 途径	(69)	一、活性氧对细胞损伤途径	(104)
二、TNF+TNFR1-TRADD-RIP 途径	(70)	二、氧自由基与细胞凋亡的关系	(105)
三、以 CM 作为第二信使的途径	(70)	三、活性氧诱导细胞凋亡的可能 机制	(106)
第三节 TNF 诱导细胞凋亡的实验 研究	(71)	第二节 一氧化氮与细胞凋亡	(107)
一、某些正常细胞或细胞系	(71)	一、一氧化氮的产生及其生物学 效应	(108)
二、免疫细胞	(72)	二、一氧化氮与细胞凋亡的关系	(109)
三、肿瘤细胞	(73)	三、一氧化氮诱导细胞凋亡的可能 环节	(110)
四、对细胞凋亡的双重作用	(74)	四、一氧化氮与细胞凋亡关系研究 现状	(112)
第四节 肿瘤坏死因子诱导细胞凋亡的 影响和调节因素	(76)	第八章 程序性细胞死亡的常见诱导 因素	(116)
一、RNA 和蛋白质合成抑制剂的增强 作用	(76)	第一节 生理性诱导因子	(116)
二、细胞因子的协同作用	(76)	一、细胞因子或生长因子	(117)
三、与凋亡相关基因的关系	(77)	二、激素	(119)
四、化学因子的影响	(77)	三、 Ca^{2+}	(119)
第六章 神经生长因子与细胞凋亡	(80)	第二节 损伤相关诱导因子	(120)
第一节 神经营养素家族	(81)	一、细菌毒素和病毒感染	(120)
一、神经生长因子	(81)	二、氧化应激与自由基	(122)
二、脑源性神经营养因子	(85)	三、缺血与缺氧	(122)
三、神经营养素-3	(86)	四、细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)	(123)
四、神经营养素-4/5	(88)	五、热休克	(124)
五、活性依赖神经生长因子	(89)	六、癌基因与抑癌基因	(124)
第二节 神经生长因子家族受体	(89)	七、其他损伤因素	(125)
一、高亲和力神经生长因子受体	(90)	第三节 治疗相关诱导因子	(125)
二、低亲和力神经生长因子受体	(91)	一、化疗药物	(125)
第三节 神经细胞凋亡的研究模型与 病理变化	(92)	二、放射线	(126)

三、生物治疗	(127)	一、外周淋巴细胞的激活诱导凋亡	
四、中药治疗	(128)	现象	(135)
第九章 细胞凋亡与免疫	(131)	二、酪氨酸激酶在 TCR 信号起始的	
第一节 胸腺淋巴细胞的发育与凋亡	(131)	作用	(136)
一、T 淋巴细胞的阳性选择	(131)	三、CD ₄₅ 与 PTK 活性	(136)
二、 $\alpha\beta$ TCR 介导的阳性选择	(132)	四、激活诱导细胞死亡	(137)
三、胸腺 T 淋巴细胞的阴性选择	(132)	五、TCR 信号与 Fas 和 FasL 表达及	
四、胸腺 T 淋巴细胞凋亡的机制	(133)	作用	(138)
第二节 成熟 T 淋巴细胞的凋亡与		六、介导凋亡的生化效应机制	(139)
免疫调节	(135)	七、微环境与免疫调节	(140)

第二部分 细胞凋亡与疾病

第一章 细胞凋亡与肿瘤	(145)	粥样硬化症	(166)
第一节 胃癌与细胞凋亡	(145)	一、原发性高血压病	(166)
一、胃癌细胞凋亡的基因调控	(145)	二、血管动脉粥样硬化症	(168)
二、诱导胃癌细胞凋亡与胃癌治疗	(146)	第三章 细胞凋亡与胃肠道疾病	(171)
第二节 细胞凋亡与肝癌	(147)	第一节 细胞凋亡与胃疾病	(171)
一、凋亡与肝癌的实验室证据	(147)	一、慢性萎缩性胃炎及不典型增生	(171)
二、基因调控	(148)	二、胃溃疡	(171)
三、肝癌凋亡的诱导因素	(151)	三、幽门螺杆菌	(171)
四、肝脏肿瘤细胞凋亡研究的前景	(151)	第二节 细胞凋亡与肠道疾病	(172)
第三节 细胞凋亡与大肠癌	(152)	一、正常肠粘膜上皮的凋亡	(172)
一、主要相关基因	(152)	二、结肠黑变病	(172)
二、胆汁酸盐的作用	(153)	三、细菌性痢疾	(173)
三、正常肠道粘膜的细胞凋亡	(154)	四、炎症性肠病	(173)
四、大肠肿瘤的细胞凋亡	(155)	五、药物性肠病	(173)
第二章 细胞凋亡与心血管疾病	(158)	六、凋亡与肝胆疾病	(173)
第一节 心血管细胞凋亡的基础研究	(158)	七、凋亡与胰腺疾病	(174)
一、心血管细胞凋亡的证据	(158)	八、化疗药物及电离辐射与肠道	
二、心血管细胞凋亡的刺激因子	(159)	损伤	(174)
三、研究心血管细胞凋亡的意义	(160)	第四章 创伤后多器官功能障碍综合征	
第二节 细胞凋亡与缺血性心脏病	(161)	与细胞凋亡	(176)
一、心肌细胞凋亡与坏死	(161)	第一节 MODS——急待解决的外科	
二、细胞凋亡与心肌梗死	(162)	难题	(176)
三、细胞凋亡与再灌注损伤	(162)	一、对 MODS 的认识	(176)
四、缺血性心肌细胞凋亡的意义	(163)	二、细胞凋亡-MODS 研究新热点	(177)
第三节 细胞凋亡与非缺血性心脏病	(164)	第二节 创伤与细胞凋亡	(177)
一、病毒性心肌炎	(164)	一、创伤感染	(177)
二、心肌病	(165)	二、细胞因子	(178)
三、心律失常	(165)	三、氧化应激	(179)
四、心脏移植	(166)	四、缺血-再灌注	(179)
第四节 细胞凋亡与高血压病和血管		五、其它创伤	(180)

第三节 细胞凋亡在创伤后 MODS 的作用及机制	(180)	第一节 概述	(206)
一、在创伤后 MODS 发生发展中的可能作用	(180)	一、免疫效应细胞与细胞凋亡	(207)
二、创伤后细胞凋亡的机制及意义	(181)	二、细胞因子在细胞凋亡中的作用	(207)
第五章 细胞凋亡与肝脏疾病	(184)	三、与细胞凋亡相关的抗原及受体	(207)
第一节 肝细胞凋亡的生物学基础	(184)	第二节 细胞凋亡与免疫系统功能	
一、细胞表面分子	(184)	异常	(208)
二、细胞毒效应	(185)	一、与细胞凋亡有关的调控机制	(208)
三、肝细胞凋亡的调节	(189)	二、细胞凋亡对 T 淋巴细胞发育的影响	(208)
四、实验性肝损害	(190)	三、针对成熟淋巴细胞凋亡的激活诱导性凋亡	(209)
第二节 肝细胞凋亡与疾病	(191)	四、免疫应答的反馈性调节与凋亡的关系	(209)
一、乙型肝炎病毒与细胞凋亡	(191)	五、凋亡参与细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 和 NK 细胞的效应功能	(210)
二、急性肝炎	(191)	第三节 自身免疫性疾病的免疫病理基础	(210)
三、实验性暴发性肝炎	(192)	一、细胞凋亡与自身免疫现象	(211)
四、慢性肝炎	(193)	二、自身免疫性疾病的免疫病理机制	(212)
五、肝硬化	(194)	第四节 自身免疫性疾病的实验研究	
六、肝细胞癌	(195)	现状	(216)
第六章 角朊细胞凋亡与皮肤病	(198)	一、自身免疫性疾病动物模型	(217)
第一节 角朊细胞角化过程及其调节	(198)	二、自身免疫性小鼠的基因缺陷及表型	(217)
一、角朊细胞的角化	(198)	三、自身免疫性小鼠 Fas 抗原系统异常	(218)
二、角化过程的标志物	(198)	第五节 细胞凋亡在自身免疫性疾病中的研究概况	(220)
三、角化过程的调节	(199)	一、系统性红斑狼疮	(220)
四、角朊细胞的信号转导	(199)	二、实验性自身免疫性脑脊髓膜炎	(222)
第二节 角朊细胞的凋亡与病理生理功能	(200)	三、牛皮癣	(222)
一、角朊细胞凋亡的形态学特征	(200)	第八章 肾脏疾病细胞凋亡	(224)
二、细胞因子对角朊细胞凋亡的调节	(200)	一、细胞凋亡与肾脏发育	(224)
三、角朊细胞的免疫学特性	(201)	二、肾脏细胞凋亡与调控的体外研究	(224)
四、角朊细胞的功能活性	(201)	三、肾小球肾炎	(224)
五、角朊细胞凋亡的生理和病理学意义	(201)	四、细胞凋亡与狼疮性肾炎的相关研究	(225)
第三节 细胞凋亡与皮肤病	(202)	五、细胞凋亡与其他类型肾损伤	(227)
一、自身免疫性皮肤病	(202)	第九章 艾滋病与细胞凋亡	(229)
二、皮肤肿瘤	(202)	第一节 HIV 感染过程中的细胞凋亡	
三、基底细胞受累的皮肤病	(203)		
四、假性斑秃与斑秃	(203)		
五、淀粉样变	(203)		
六、中波紫外线照射引起的皮损	(203)		
七、外用药所致的皮炎	(203)		
八、其他	(203)		
第七章 细胞凋亡与免疫系统疾病	(206)		

现象	(229)	一、缺血性脑损伤时神经元的凋亡	
一、HIV 急性感染期的细胞凋亡		特征	(236)
现象	(229)	二、缺血神经元发生凋亡的可能	
二、HIV 慢性感染中的细胞凋亡		机制	(237)
现象	(230)	三、脑缺血性疾病	(238)
三、HIV 病毒复制期及感染无症状		第十一章 细胞凋亡与微生物感染性	
期的细胞凋亡	(230)	疾病	(240)
四、HIV 感染过程中与凋亡有关的		第一节 细胞凋亡与病毒感染性疾病	(240)
生物学现象	(231)	一、与凋亡有关的病毒	(241)
第二节 HIV 感染导致的免疫系统		二、与细胞凋亡有关的病毒基因	(242)
改变	(232)	第二节 细胞凋亡与细菌及寄生虫	
一、HIV 感染时 TH1 细胞的无		感染	(245)
反应性	(232)	一、细菌感染	(245)
二、HIV 感染对单核-巨噬细胞的		二、寄生虫感染	(245)
影响	(232)	第十二章 女性生殖与细胞凋亡	(248)
三、树突状细胞在 HIV 感染过程中		第一节 女性生殖系统	(248)
的作用	(233)	一、卵泡的发育及内分泌调节	(248)
第三节 HIV 感染过程中细胞凋亡的		二、黄体细胞凋亡与黄体萎缩	(250)
产生机制	(233)	三、生殖医学临床与不孕症的治疗	(250)
一、肿瘤坏死因子诱导 HIV 感染细胞		第二节 妇科恶性肿瘤与细胞凋亡	(250)
的凋亡	(234)	一、妇科恶性肿瘤的发生与细胞	
二、N-乙酰半胱氨酸抑制细胞凋亡	(234)	凋亡	(250)
三、HIV 基因表达使 T 细胞对某些		二、妇科恶性肿瘤的治疗与细胞	
凋亡诱导因素更加敏感		凋亡	(251)
.....	(234)	三、妇科恶性肿瘤预后的评估与	
四、HIV-1 tat 蛋白抑制细胞凋亡	(235)	细胞凋亡	(252)
第十章 缺血性脑损伤与凋亡	(236)		

第三部分 细胞凋亡的研究方法

第一章 凋亡细胞形态学特征的检测		一、荧光显微镜的结构和组成	(261)
方法	(255)	二、荧光显微镜的工作原理	(262)
第一节 普通光学显微镜观察方法	(255)	三、常用的荧光染料	(263)
一、苏木素-伊红染色(HE 染色法)	(255)	四、常用的荧光染色方法	(263)
二、甲基绿-派诺宁染色法	(257)	第二章 凋亡细胞生化特征检测方法	(266)
三、Giemsa 染色	(258)	第一节 琼脂糖凝胶电泳	(266)
四、瑞氏(Wright)染色	(258)	一、常规的琼脂糖凝胶电泳	(266)
第二节 透射电子显微镜观察方法	(259)	二、脉冲场倒转琼脂糖凝胶电泳	(269)
一、透射电镜的成像原理	(259)	三、琼脂糖凝胶电泳的定量检测	(271)
二、透射电镜样本的取材和固定	(259)	第二节 原位末端标记技术	(273)
三、透射电镜下凋亡细胞的形态学		一、DNA 聚合酶或 Klenow 大片段	
特征	(261)	介导的原位缺口平移	
第三节 荧光显微镜观察方法	(261)		(273)

6 细胞凋亡基础与临床

二、TdT 介导的 dUTP 缺口末端标记 技术(TUNEL)	(275)	一、固定细胞的染色方法	(285)
三、各种溶液的准备	(276)	二、非固定细胞的染色方法	(288)
四、样本准备	(277)	第四章 细胞凋亡研究方法的选择	(293)
五、检测方法	(277)	第五章 抗单链 DNA 抗体的制备及 应用	(294)
第三章 细胞凋亡的流式细胞仪检测		第一节 ssDNA 单抗的制备和特性	(294)
技术	(280)	一、抗原的制备	(294)
第一节 流式细胞仪检测细胞凋亡的 原理	(280)	二、动物的免疫	(294)
一、用于流式细胞仪检测的荧光 染料	(280)	三、免疫融合	(295)
二、流式细胞仪检测细胞凋亡的 原理	(281)	四、抗体的筛选	(296)
三、流式细胞仪的影响因素	(283)	五、杂交瘤的培养	(297)
第二节 细胞凋亡检测常用流式细胞仪 染色方法	(285)	六、抗体的特性	(298)
		第二节 抗 ssDNA 抗体的应用及应用 前景	(298)
		一、ssDNA 单抗检测烷化剂诱导的 DNA 损伤	(299)
		二、检测细胞凋亡	(299)
		三、应用前景	(300)
		附录	(302)

第一部分

细胞凋亡的基础研究

第一章 概 论

细胞凋亡(apoptosis)或程序化细胞死亡(programmed cell death, PCD),是多细胞有机体为调控机体发育,维护内环境稳定,由基因控制的细胞主动死亡过程。目前,细胞自发退化死亡现象有种种命名。较为常用的是程序化细胞死亡(programmed cell death, PCD),最初用于胚胎发育方面。胚胎分化过程中特定部位的细胞自发退化死亡是由于该部位的细胞内基因按一定程序表达的结果,又称基因指令性细胞死亡(gene directed cell death)、生理性细胞死亡(physiological cell death)、自然发生细胞死亡(naturally occurring cell death)、细胞舍生(cell suicide)、凋

亡或细胞凋亡(apoptosis)等。“凋亡”一词来自希腊语,apo 意为“分离”,ptosis 指花瓣或树叶的脱落,这两个词组合而成,意指细胞凋亡的形态类似花瓣或树叶的凋落。

近年来,由于实验模型和检测方法的完善,细胞凋亡的研究突飞猛进,获得了重大突破,并受到生物学、医学各个领域的普遍关注,进入 90 年代后,已成为细胞生物学、免疫学、肿瘤学等学科的研究热点之一。细胞凋亡参与机体许多病理生理过程,如胸腺选择、获得性免疫缺乏症(AIDS)、巨噬细胞和 T 淋巴细胞介导的细胞毒性作用、自身免疫性疾病、缺血再灌注损伤及衰老过程等。

第一节 研究简史

一、一般历史过程

早在半个世纪前,人们就观察到在人体的发生、生长、发育以及衰老过程中,一直伴随着组织细胞的生理自发退化死亡现象,并发现这种细胞死亡受其内部某些特定基因操纵,但作为一个形态学过程,生理性自发退化死亡现象也见于程序死亡之外的病理状态中。1965 年,发育生物学家 Lockshin 和 Williams 首先提出了 PCD 一词,用于描述蛾的发育过程,认为随着成年蛾的出现,其幼虫死亡是一种发育调节性死亡(development-regulated death)。至 1972 年,Kerr 等首次提出了细胞凋亡的概念,从形态学角度描述细胞的生理死亡,并认为这是维持组织细胞动

力学平衡的一种基本生物学现象,可能具有十分重要的生物学意义。但在嗣后相当长的时间内没有引起人们的重视。1977 年,人们注意到在生理或病理性刺激条件下,淋巴细胞发育过程中的凋亡现象。1980 年,Wyllie 研究胸腺细胞在糖皮质激素作用下引致的细胞凋亡变化,总结并建立了细胞凋亡的共同形态学特征,包括核固缩和 DNA 降解成寡核苷酸片段等;其后的研究进一步发现并证实细胞凋亡与其 DNA 被内切核酸酶裂解成许多仅有 180 碱基对的小片段有关,引起了学者们的广泛关注。自此,细胞凋亡的研究成为生物医学的研究热点之一,随着细胞生物学、遗传学、分子生物学等发展,对细胞凋亡的本质有逐步深入的揭示。

80年代中期至今,随着相关学科的渗透与推动,为探索PCD的发生提供了技术基础和研究的生长点。利用反向生物学,在分子生物学水平上开始研究PCD的启动和发展机制,并发现了一些与PCD发生相关的基因及信号传递物质。1991年,Ellis首先发现了线虫(*C. elegans*)体内Ced-3、4两个基因与PCD的发生密切相关,随后逐渐发现了多种参与PCD的正相调节基因和负相调节基因,前者包括Ced-2、p53、c-myc、Fas、糖皮质激素受体及白细胞介素 1β 转化(ICE)等基因,后者则有Ced-9、bcl-2、p53等基因;科学家在研究PCD发生过程中基因表达变化的同时,亦注意到信号传递物质对PCD的调控作用。1989年,Owen及其研究小组在研究胸腺细胞阴性选择过程中,发现T细胞受体(TCR)与自身抗原相互作用与未成熟T细胞的PCD发生有关,并在体外证实刺激CD₃分子可诱导未成熟T细胞PCD的发生。这是由于CD₃与分子TCR信号传递有关。另外,PKA信号传递途径参与PCD的正相调节;而PKC信号传递途径则参与PCD的负相调节。

二、细胞凋亡的生物学意义

随着对细胞凋亡研究的深入开展,大量的实验资料表明:PCD是维持人体正常生理过程和功能活动所必须的,因而具有重大的生物学意义,主要表现在以下几方面:①PCD在生物界普遍存在;②PCD是多细胞生物生命活动过程中不可缺少的组成内容,是其赖以存活的需要,因而贯穿于全部寿命周期中,无论是低等还是高等动物都是如此;③PCD是生物在进化过程中形成的细胞死亡方式。

PCD的作用主要包括以下几个方面:①清除没有用的细胞:这种细胞大多在发育早期阶段死亡;②清除多余细胞:在发育过程中某些细胞产生过多,则多余细胞死亡;③清除发育不正常的细胞;④清除已完成任务的细胞;⑤清除有害的细胞。

回顾细胞凋亡研究的历史沿革及兴起的动因,不难看出再度掀起PCD研究的热潮是与一些相关学科的进展分不开的,由于PCD与细胞增殖构成了一对矛盾,我们可遵循这一矛盾的辩证关系,借助抑制剂或诱导剂干扰PCD的过程,进行疾病的防治。

第二节 细胞凋亡的应用远景

一、细胞凋亡与机体稳态

细胞是组成机体的基本单位。在机体发育成熟的过程中,形成了一些在形态和功能上各不相同的细胞群,它们组成了不同的组织器官。各种组织器官的协调合作,完成生命的各种功能。新陈代谢是生命最基本的特征,即细胞凋亡与细胞产生一样都是机体自然的生理过程,组成机体的细胞不但需要不断地与环境进行物质、信息和能量的交换,而且这些细胞本身也处在不断的更新中。这种更新是以细胞数量上的恒定为前提的,因此是一

种动态平衡状态。显然,各种细胞数量上稳定,不但保证了机体各组织器官具有形态学上的稳定性,同时也是机体生理功能或内环境稳定的必要条件。机体不同组织的细胞更新速度不同。血细胞是更新最快的细胞之一。譬如,静止的B淋巴细胞的寿命一般只有2d,一旦被抗原活化,则生命期只有18h。据估计,小鼠淋巴细胞的更新率大约为每天25%,也即大约每4d淋巴细胞就要全部更新一次。而红细胞的生命期一般为120d,虽然相对淋巴细胞是长一些,但仍具有很高的更新率。此外,生殖细胞也是更新很快的细胞;