

# 动物尺寸控制

孔祥会 编著



科学出版社

[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)

# 动物尺寸控制

孔祥会 编著

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

动物尺寸控制是生命科学中一个难解之谜,它涉及细胞生物学、遗传学、发育生物学、生物进化等多学科的知识交叉和融合。研究和弄清动物尺寸控制的内在机制对于理解动物生长发育中的一系列关键科学问题具有重大意义。基于当前人们对动物尺寸控制的研究和高度关注,本书应运而生。本书较为全面地从动物尺寸控制的形成、动物生长中的细胞增殖、动物细胞尺寸控制、动物器官尺寸控制、动物个体尺寸控制、动物尺寸控制的遗传学基础、动物尺寸控制的研究方法、物种特征进化与分子系统学和动物尺寸控制基因变异与物种特征尺寸等方面进行阐释。本书不仅综述了国内外动物尺寸控制相关的学术研究成果,而且作者还提出了一些相关见解。

本书不仅可作为从事细胞、发育、遗传和进化等相关领域研究人员的参 考用书,而且还可作为生命科学相关学科研究生和本科生的教学参考书及 课外读物。另外,本书还可供对生命科学中关键科学问题和前沿问题有兴 趣的广大科学爱好者阅读。

### 图书在版编目(CIP)数据

动物尺寸控制/孔祥会编著. —北京:科学出版社,2009

ISBN 978-7-03-025253-1

I. 动… II. 孔… III. 动物形态学 IV. Q954

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 143210 号

责任编辑:韩学哲 李晶晶/责任校对:钟 洋

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

**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>

铭浩彩色印装有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2009年9月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2009年9月第一次印刷 印张:13 1/4

印数:1—800 字数:260 000

**定价:65.00 元**

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

## 前 言

“The most obvious differences between different animals are differences in size, but for some reason the zoologists have paid singularly little attention to them.”

——J. B. S. Haldane, *On Being the Right Size*, 1927

自然界中的动物多种多样，变化万千。动物形态特征各异，其中，最明显的一个形态特征就是动物的尺寸。不同动物之间尺寸差异惊人，例如，大象的尺寸远远大于小鼠的尺寸。为什么动物之间尺寸差异如此巨大呢？这一现象，对于每一个研究动物的学者来说，并不陌生，只是没有引起足够的思考和重视。因为人们把这一最普遍的现象视为约定俗成的东西，所以很少有人去思考“为什么大象比小鼠大”这一常见的现象。实际上，对于动物个体的生长发育，个体尺寸控制一直是发育生物学家关注的热点，尤其对于易产生突变体的模式动物果蝇已进行了大量的研究。遗传学家通过对小尺寸突变体果蝇进行遗传筛选，发现了一系列与动物尺寸控制有关的基因。然后又陆续在模式动物线虫、斑马鱼、小鼠和大鼠等研究中发现与尺寸控制相关的基因，所以动物遗传学家和发育生物学家试图从分子水平上揭示动物的尺寸控制。

动物的最终尺寸受生长发育过程调控，动物生长发育是一个十分复杂的过程，涉及成百上千基因的表达和调控。其实，每一个基因的表达和调控都涉及诸多基因或诸多生物信号，也就是说没有一个基因能单独完成一项生物学功能。动物体内某一基因敲除可导致动物体尺寸变化，以此武断地确定这一基因可调控动物尺寸，这是一种不充分的推断。实际上动物生长发育过程中，调控任何一个生理过程的基因均有可能影响动物的发育。尽管随着研究的不断深入，越来越多的基因被发现与动物体生长发育调控有关，但至如今，对于任何一个模式动物的生长发育机制仍然没有完全研究清楚。因此，动物体尺寸控制的研究更是相当困难。

在我一开始关注动物尺寸控制时，并没有真正认识到它的复杂性。尽管我在进行动物方面的研究时，对动物间尺寸差异非常好奇，这种好奇来自于动物形态学的表面观察，并没有追问过形成的内在原因。真正认识动物尺寸控制问题是我博士后期间对鱼类物种特征尺寸的关注开始的。这当然要归功于我的指导教师何舜平研究员，我在他的指导下开始探讨鱼类的尺寸控制。随着阅读文献的数量增多和知识的积累，我对于动物尺寸控制的认识也逐渐深入。我逐渐认识到，动

物尺寸控制是非常复杂的生物学问题，是很难通过一个实验、一个基因就可以解决的科学问题。

当前，动物尺寸控制是动物学家、发育生物学家、遗传学家和进化生物学家关注的热点，但至今动物尺寸控制仍然是一个谜。因为动物体尺寸控制是机体、器官、组织、细胞等多种水平上和多个信号参与的对动物发育进行暗示和调控的结果。有一点在当前动物学界已经达到共识，动物的尺寸是物种的遗传学特征，是由遗传物质决定的，基因及其调控是决定物种特征尺寸的内在机制。关键的问题是基因是如何调控的？基因间是如何作用的？要想揭开基因对动物尺寸控制的内在机制，当前必须着重从两个方面开展研究，一方面，以模式动物作为研究对象，研究动物个体的生长发育过程，搞清楚动物个体的生长发育调控机制；另一方面，研究特征尺寸差异较大的近缘物种，对尺寸控制相关基因进行比较，揭示基因差异和特征尺寸差异之间的相关关系。这一内容主要是采用分子系统学和比较基因组学的方法进行研究。我们在研究鱼类近缘物种之间尺寸差异时，主要是基于选定的尺寸控制基因开展了这方面的工作。

随着动物基因组测序的物种不断增多，对于特征尺寸差异较大的近缘物种，通过比较基因组学，寻找基因组之间的差异，然后与特征尺寸对应起来，是将来探讨动物尺寸控制的重要方法，也是研究基因组进化和物种分化的一个重要途径。相信动物尺寸差异较大的近缘种类之间，必定在基因或基因调控序列方面存在差异，并且这种差异与物种特征尺寸控制有关。当然，近几年，系统生物学的研究，尤其是把基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、相互作用组学和表型组学等整合在一起研究，定会在动物尺寸控制研究方面注入新的活力，并展现它特有的魅力。对于揭开动物尺寸控制之谜将会起到更大的推动作用。不过，由于系统生物学的概念刚刚提出，这方面的内容并没有在本书中进行阐述。

本书从动物细胞、器官到机体等多个层次对动物尺寸控制进行论述，对于动物尺寸控制的遗传学基础及研究方法，分子系统学在动物尺寸控制方面的应用也用了一定的篇幅进行了阐释。以此试图使读者对动物尺寸控制方面的研究有一个相对较为全面的了解。如果达到了这个目的，也就达到了我编写本书的最大目的，同时对于我也是最大的安慰。

由于作者水平及对该领域资料掌握所限，错误和不足之处在所难免。

孔祥会  
2008年春

# 目 录

## 前言

<b>第 1 章 动物尺寸控制的形成</b> .....	1
1.1 环境因子对动物尺寸的影响 .....	1
1.2 生理调节对动物尺寸的影响 .....	3
1.3 遗传对动物尺寸的影响 .....	4
1.4 动物尺寸与细胞增殖 .....	8
1.5 环境、生理和遗传协同调控动物的尺寸 .....	12
参考文献 .....	12
<b>第 2 章 动物生长中的细胞增殖</b> .....	17
2.1 细胞生长 .....	17
2.2 细胞分裂 .....	25
参考文献 .....	27
<b>第 3 章 动物细胞尺寸控制</b> .....	31
3.1 细胞尺寸 .....	31
3.2 细胞尺寸感应机制 .....	34
3.3 酵母细胞尺寸控制 .....	36
3.4 果蝇细胞尺寸控制机制 .....	42
3.5 脊椎动物细胞尺寸控制 .....	48
3.6 细胞尺寸控制的弹性机制 .....	53
参考文献 .....	55
<b>第 4 章 动物器官尺寸控制</b> .....	64
4.1 器官内部存在的尺寸控制机制 .....	64
4.2 器官再生实验 .....	65
4.3 器官尺寸控制中模式信息的依赖和独立机制 .....	66
4.4 果蝇器官尺寸控制中总细胞质量的监视 .....	67
4.5 细胞生长在器官尺寸控制中的作用 .....	68
4.6 器官生长依赖于细胞内外多种信号分子协同作用 .....	70
4.7 器官尺寸控制的模型 .....	72
4.8 器官尺寸控制机制与肿瘤发生 .....	74
4.9 动物某些器官在尺寸选择中的“两难”处境 .....	74
参考文献 .....	75

<b>第 5 章 动物个体尺寸控制</b> .....	78
5.1 动物个体尺寸与三大细胞活动 .....	78
5.2 系统因子对动物个体尺寸的调控 .....	81
5.3 个体尺寸与器官尺寸的协调性 .....	85
5.4 昆虫个体尺寸控制 .....	86
5.5 个体尺寸是遗传和生理的完美结合 .....	93
参考文献 .....	94
<b>第 6 章 动物尺寸控制的遗传学基础</b> .....	99
6.1 染色体是物种性状的遗传基础 .....	99
6.2 遗传变异是物种性状变化的内在动力 .....	101
6.3 DNA 含量与动物物种尺寸 .....	110
6.4 基因变异与动物尺寸 .....	115
6.5 信号通路成分改变与动物尺寸 .....	117
6.6 动物尺寸控制中的癌基因和抑癌基因 .....	120
参考文献 .....	124
<b>第 7 章 动物尺寸控制的研究方法</b> .....	129
7.1 遗传镶嵌技术 .....	129
7.2 基因敲除 .....	140
7.3 RNAi .....	143
7.4 高效转座技术 .....	147
参考文献 .....	155
<b>第 8 章 物种特征进化与分子系统学</b> .....	161
8.1 物种性状及其进化 .....	161
8.2 分子系统学 .....	168
参考文献 .....	180
<b>第 9 章 动物尺寸控制基因变异与物种特征尺寸</b> .....	183
9.1 动物尺寸控制基因 .....	183
9.2 鲤科鱼类中的动物特征尺寸差异 .....	184
9.3 尺寸控制基因 <i>c-myc</i> 在鲤科鱼类中的变异及系统演化 .....	184
9.4 尺寸控制基因 <i>S6K1</i> 在鲤科鱼类中的变异及系统演化 .....	190
9.5 尺寸控制基因 <i>CTGF</i> 在鲤科鱼类中的变异及系统演化 .....	194
9.6 尺寸控制基因 <i>IRa</i> 和 <i>IRb</i> 在鲤科鱼类中的变异 .....	198
9.7 动物特征尺寸研究中存在的问题与展望 .....	201
参考文献 .....	202

# 第 1 章 动物尺寸控制的形成

早在 1927 年的时候, Haldane 就指出: 动物与动物之间最明显的差异就是尺寸差异, 不知何故一直没有引起动物学家们的研究兴趣 (Haldane, 1927)。如果说 Haldane 在当时提出这一问题有点超前的话, 那么现在重新提出这一问题就显得很适时宜。随着分子生物学技术, 功能基因组学和蛋白质组学技术的发展和认识的深入, 人们已经能够随意地对基因进行突变、重组、剔除和表达调控的实验操作, 从而可以运用这些技术进行动物尺寸控制的研究。动物尺寸控制的研究对于揭示生命奥秘具有极其重要的意义 (孔祥会和何舜平, 2006)。在模式动物中虽然对细胞, 器官和个体尺寸控制进行了一定的研究 (Conlon and Raff, 1999), 但动物特征尺寸控制仍然是一个谜 (Hochedlinger and Wagner, 2000)。因而, “大象为什么比老鼠大得多?” 这个一直困扰着发育生物学家和动物学家的问题, 至今仍然不得其解。那么, 影响动物最终个体尺寸的因素主要有哪些呢?

## 1.1 环境因子对动物尺寸的影响

多细胞后生动物一般是从受精卵开始发育, 形成胚胎, 分化出各种器官芽基, 然后进一步分化和发育成一个小的雏形, 通过细胞增殖 (包括细胞生长和细胞分裂) 逐渐增大, 形成幼体, 然后再继续生长, 最终成长为成熟的个体, 即可繁衍后代。大多数动物长到成体后, 个体尺寸保持在较为稳定的物种特征尺寸范围内, 如哺乳动物和鸟类。尽管有些物种, 如鱼类终生可以生长, 但性成熟的个体, 均有自身比较明显的物种特征尺寸。就某一动物个体而言, 动物成熟个体的尺寸差异主要是由外部因子 (extrinsic factor) 和内部因子 (intrinsic factor) 共同调控的结果。

### 1.1.1 温度

温度对动物尺寸的影响主要是指对变温动物尺寸的影响 (Atkinson, 1994)。在低等无脊椎动物中, 如果蝇 (*Drosophila melanogaster*), 当其幼虫饲养在高温时, 成体通常较小; 而饲养在低温时, 成体通常较大 (Partridge et al., 1994)。在不同温度下饲养数年后, 个体尺寸上产生一个可遗传的变异, 但变异品系饲养在高温下时仍比低温下尺寸明显变小。昆虫生长在低温下时, 生长率降低, 从而生长缓慢, 但最终的身体尺寸却增加 (French et al., 1998)。昆虫个



体尺寸增加的主要原因是细胞尺寸的增加，而细胞数目没有发生变化 (Azevedo et al., 2002)。Davidowitz 和 Nijhout (2004) 也发现 *Manduca sexta* 生长率随温度增加呈现线性增加，而个体最终尺寸和细胞尺寸却缩小。原因是温度升高时，生长率增加，从而导致生长停止间隔期 (interval to cessation of growth, ICG) 显著降低，从而净生长减少；低温下生长率尽管减慢，而 ICG 延长，净生长却增加。这种解释与所获得的实验数据十分符合 (Davidowitz and Nijhout, 2004)。由此看来，温度对昆虫个体尺寸的影响主要是通过影响其 ICG 实现的。

温度对鱼类影响方面的研究大多集中于温度对鱼类繁殖 (Suquet et al., 2005) 和幼体生长 (Person-Le et al., 2006) 产生的效应。一般而言，鱼类在其适宜生长的温度范围内，随温度的升高而生长加快。温度对鱼生长的影响主要是通过影响鱼的摄食率和代谢率来实现的 (杨振才等, 1995; Dasa et al., 2005)。

### 1.1.2 营养

营养水平对动物体最终尺寸也有较大影响。一般来讲，营养丰富条件下，动物生长快，最终个体尺寸较大；营养贫乏时，动物生长慢，个体尺寸较小。因为动物体生长过程中，细胞增殖需要大分子物质不断地合成，其合成需要营养成分的不断供应，所以营养不足是动物体生长受限的一个重要因子。细胞培养中发现氨基酸缺乏可导致蛋白质的合成受阻 (Kimball and Jefferson, 2000)。在许多哺乳动物细胞中，氨基酸缺乏可直接导致蛋白质翻译的抑制子 4EBP1 (4E binding protein 1) 和蛋白质翻译的起始因子 eIF4E (eukaryotic translation initiation factor 4E) 结合，从而抑制蛋白质的合成；另外还可抑制核糖体蛋白 S6 激酶 (ribosomal protein S6 kinase, S6K) 活性 (Kimball and Jefferson, 2000)。在这些调控中，TOR (target of rapamycin) 信号通路是一种重要的调节途径 (Hara et al., 2002; Kim et al., 2002; Loewith et al., 2002; Gingras et al., 2001; Schmelzle and Hall, 2000)。果蝇中 TOR 发生突变可表现出与氨基酸缺乏相似的细胞学和生理学特征，最终可导致个体尺寸变小 (Colombani et al., 2003)。

在营养调控中，TOR 信号通路把营养调控和细胞生长很好地联系起来，这一点在酵母 (Loewith et al., 2002) 和哺乳动物细胞 (Kim et al., 2002) 中都分别得到了证实。TOR 存在两种不同功能的复合物 (TOR1 和 TOR2)，TOR1 介导雷帕霉素 (rapamycin) 敏感通路，而 TOR2 介导雷帕霉素不敏感通路。对果蝇的最新研究表明，存在通路上的 TSC (tuberous sclerosis complex) 抑制因子 (包括 TSC1 和 TSC2) 和 Rheb (small GTPase ras homolog enriched in brain) 为 TOR 通路上游调控元件 (Garami et al., 2003; Inoki et al., 2002, 2003; Saucedo et al., 2003; Stocker et al., 2003; Zhang et al., 2003; Gao et al., 2002)。同时也表明 TSC1/TSC2 可以抑制 Rheb 活性，Rheb 可以激活 TOR，TOR 通过活化 S6K 促进蛋白质的合成。所以营养与细胞内因子 TSC、Rheb、

TOR、S6K 协同调控细胞生长。

## 1.2 生理调节对动物尺寸的影响

### 1.2.1 激素

激素在多种动物生长调节中起着关键性的作用。以鱼类为例，鱼类的生长激素 (growth hormone, GH) 对其生长发育具有重要的调控作用。和其他脊椎动物一样，鱼类生长激素也是在下丘脑控制下由垂体分泌的 (林浩然, 1996)。鱼类 GH 通过与跨膜受体 GHR (GH receptor) 结合，从而对细胞生长、代谢、渗透压调节和免疫等进行调控。另外，GH 与鱼的摄食和攻击也有一定关系 (Reincke et al., 2005)。鱼类 GH 的促生长作用一般是通过诱导肝脏和其他组织产生胰岛素类似物生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) 来实现的。鱼类中类胰岛素生长因子是一类在结构上类似于胰岛素原，并与胰岛素有近 50% 的氨基酸同源性，可促进细胞生长和代谢的蛋白质，对动物生长发育调控具有重要作用。IGF 主要分为 IGF1 和 IGF2 两种，一般认为 IGF1 主要是在出生后及成年期介导生长激素的促生长效应；IGF2 是重要的胚胎生长和发育的调节因子，几乎不受 GH 调节 (章力等, 2005)。所以 GH 对鱼类生长的调控是通过诱导肝脏和其他组织产生 IGF1，从而激活 Insulin/PI (3) K 信号通路，促进鱼类的生长 (Butler and Le Roith, 2001)。目前在鲑鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*)、虹鳟 (*Salmo gairdneri*)、罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*)、鲶鱼 (*Clarias macrocephalus*)、鲮 (*Acatopagrus schlegeli*)、鲮鱼 (*Cirrhinus molitorella*)、鲨鱼 (*Squalus acanthias*)、鲈鱼 (*Lates calcarifer*)、大杜父鱼 (*Cottus scorpius*)、鲤 (*Cyprinus carpio*)、草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*)、金鱼 (*Carassius auratus*)、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)、斑马鱼 (*Danio rerio*) 等十几种鱼类中已克隆出 IGF1 基因。序列分析发现，同一科鱼类之间，类胰岛素生长因子基因序列具有高度的同源性 (张殿昌, 2005)，但其对鱼类个体尺寸控制的研究还未有报道。

### 1.2.2 营养成分的消化和吸收

动物体获得足够的营养成分后，机体对营养成分消化和吸收的有效程度也有差异，从而对动物体生长的影响产生不同。如果机体消化和吸收营养成分的能力较强，也就是说动物的同化作用较强，则动物体生长较快，导致个体最终尺寸较大；否则动物生长减慢，导致个体最终尺寸缩小。动物对营养物质的消化和吸收，其实就是为机体细胞提供充分的营养成分，供机体细胞进行增殖。关于动物对营养成分的消化和吸收，在动物生理学中已有详尽的阐述，这里不作过多说明。

## 1.3 遗传对动物尺寸的影响

动物中不同物种之间特征尺寸差异较大，如哺乳动物中的非洲象 (*Loxodonta africana*) 和小鼠 (*Mus musculus*)；鸟类中鸵鸟 (*Struthio camelus*) 和麻雀 (*Passer montanus*)。即使亲缘关系较近的动物，如鲤科鱼类中草鱼与唐鱼 (*Tanichthys albonubes*)，个体尺寸差异较大；生活在同一水体，食性相近的草鱼和赤眼鳟 (*Squaliobarbus curriculus*)，也具有较大的尺寸差异。对于这种差异，仅仅从环境和营养对动物生长的影响方面进行解释，显然无法给出满意的答案。动物尺寸之所以呈现出如此巨大的差异，真正的原因应该是来源于动物体本身存在的遗传差异。内在遗传因子是决定动物尺寸的真正调控因子，而外界环境因子仅仅是对动物个体在其物种特征尺寸范围内进行一定程度的调节。

### 1.3.1 DNA 含量

低等动物中，个体尺寸与细胞 DNA 含量之间存在较为密切的关系。Gregory 等 (2000) 研究扁形动物涡虫类、甲壳动物桡足类时发现，DNA 含量与个体尺寸之间存在一定的正相关关系。细胞 DNA 含量多时，细胞尺寸大，动物个体尺寸较大。就细胞而言，在脊椎动物中也有类似现象，如不同脊椎动物中红细胞的细胞尺寸与 DNA 含量密切相关 (Gregory, 2001)。细胞中染色体含量多时，细胞尺寸就大，从而使 N : C (nuclear volume : cytoplasm volume) 保持在一个相对稳定的数值 (Umen, 2005)。对于动物体细胞也是如此，当细胞染色体加倍或具有更高倍性时，细胞尺寸就大 (Galitski et al., 1999)。例如，四倍体蝶螈体细胞尺寸是二倍体蝶螈的 2 倍。然而两种动物对应器官尺寸和个体尺寸却大致相同，也就是说蝶螈器官和个体尺寸不受染色体倍性的影响。其原因是，四倍体蝶螈细胞尺寸增大，大约是二倍体蝶螈细胞尺寸的 2 倍，而四倍体蝶螈的细胞数目减少，大约是二倍体蝶螈的 1/2。因此，器官或个体的尺寸并没有随染色体倍性增加发生变化，而是保持在一个相对稳定的尺寸。果蝇也是如此，在果蝇成虫盘发育中，如果细胞分裂循环被加速或阻止，则对应细胞就会变小或增大，从而使果蝇成虫盘最终发育成正常尺寸。显然，染色体倍性不是决定器官和动物个体尺寸的内在原因 (Conlon and Raff, 1999)。

动物细胞 DNA 含量 (C 值, C-value) 与动物进化程度之间无正相关关系，也就是说动物越高等，其 DNA 含量并非一定就越多。例如，人类的基因组 DNA 为  $10^9$  bp，而两栖类却为  $10^9 \sim 11$  bp。这种现象也就是所谓的 C 值矛盾 (Thomas, 1971)。低等动物中含有的这种超多的 DNA，可能是动物进化过程中经历的基因组大规模复制所形成，对其功能目前仍不太清楚。有些人武断地称这些基因为“无用基因” (junk gene) (Pagel and Johnstone, 1992)，这恐怕是不

理智的判断。随着功能基因组学的研究深入,对这些基因存在的潜在功能肯定会给出合理的解释。脊椎动物中 DNA 含量与器官尺寸或个体尺寸之间不存在相关性,这一点已成为大家接受的事实。所以说,动物特征尺寸并不是由细胞 DNA 含量或者染色体倍性决定的。

### 1.3.2 基因调控

动物体最终尺寸的形成是环境因子和遗传因子相互协同调控的结果 (Stern, 2001)。环境因子(如营养)对动物体个体最终尺寸的形成具有重要的调控作用,可以对同一物种内个体尺寸差异进行一定的解释,但无法解释不同物种间个体尺寸差异形成的原因。因为决定动物体特征尺寸的真正原因是调控生长发育的各种遗传因子 (Conlon and Raff, 1999)。在基因水平上,生长基因表达何时启动?何时关闭?基因表达量如何控制?细胞水平上,细胞生长到多大尺寸时启动细胞分裂?细胞分裂多少次以后进行停止?细胞数目如何保持稳定?组织水平上,器官生长到多大尺寸时停止?停止生长的检验点如何调控?个体水平上,各器官之间生长如何协调,最终使各自达到适宜的尺寸?在个体生长达到特征尺寸时如何停止?这一系列的问题都必须从基因调控上加以解决。

尽管学者们已经对动物尺寸控制进行了大量的研究,但到目前为止,许多相关理论仍然是一个谜。不过在模式生物线虫 (*Caenorhabditis elegans*)、果蝇和小鼠中,许多学者已从个体发育方面对细胞、器官和个体尺寸控制进行了大量的研究 (Pan, 2004; Hochedlinger and Wagner, 2000; Conlon and Raff, 1999),并取得了可喜的进展。通过基因突变或基因剔除,发现多个基因对动物体的生长发育具有重要调控作用。研究最多的是 Insulin/PI (3) K 通路上的调节元件,如 Insulin/IGF1、InR、IRS、PTEN、PI (3) K、PDK1、AKT/PKB、S6K 等 (Nijhout, 2003; Coelho and Leever, 2000)。TOR 信号通路中 TSC、Rheb、TOR、S6K 等对细胞或个体尺寸也有重要的调控作用 (Schmelzle and Hall, 2000)。mitogen/Cyclin D 信号通路中 mitogen、ras、myc、Cyclin D、CDK 4/6、Rb、E2F 和 Cyclin E 对于细胞数目调控具有重要作用。Trumpp 等 (2001) 发现 *c-myc* 基因在哺乳动物尺寸控制中是通过控制细胞数量而不是细胞尺寸。另外细胞凋亡信号通路对于维持细胞数目的恒定也具有重要的作用,所有这些研究说明动物个体尺寸是多基因、多通路和多层次的信号调控网络所控制。任何触及动物尺寸控制的实质性探索都必须从发育、遗传和进化上对基因调控进行研究。

### 1.3.3 动物尺寸控制相关的重要基因

动物体尺寸调控基因可以分为两大类,一类是促进生长的基因,其表达产物可加速细胞生长,促进细胞分裂,如 *c-myc*、*ras*、*S6K* 基因等。当这些基因发生突变成为无效基因时,可使细胞数目变少,动物尺寸变小。另一类是抑制生长

的基因, 其表达产物可抑制细胞生长, 阻止细胞分裂, 如 *PTEN*、*lats* 等。当其发生突变成为无效基因时, 可使细胞生长加速, 动物尺寸变大。

### 1.3.3.1 *c-myc* 基因

*c-myc* 是控制细胞增生的一个重要基因。对于细胞的分裂和分化具有重要的调控作用, *c-myc* 基因由 3 个外显子和 2 个内含子组成, 第 1 个外显子不编码蛋白质, 只对 *c-myc* 基因的转录起调控作用。van Beneden 等 (1986) 从虹鳟 (*Salmo gairdneri*) 中分离出的 *c-myc* 基因与哺乳动物和鸟类相比较, 发现该基因编码区高度保守。*c-myc* 在调控转录时总是与 Max (a basic helix-loop-helix/leucine zipper, bHLH/LZ) 蛋白结合 (Blackwood and Eisenman, 1991)。斑马鱼中发现 *c-myc* 表达总是与 Max 同步, 并指出只有与 Max 结合成为异源二聚体 Myc/Max 复合物时, 才能对基因表达起调控作用 (Schreiber-Agus et al., 1993)。四倍体鲤鱼中, 分离到两个 *c-myc* 基因 (CAM1 和 CAM2) (Zhang et al., 1995), 并且发现 CAM1 比 CAM2 进化快 (Zhang, 1994)。鲤鱼 *c-myc* 基因第 1 个外显子比第 2 和第 3 个进化快, 但两种 *c-myc* 基因比较, 第 1 外显子和启动子结构上的差异说明 CAM1 (AB103397, DNA, 2945bp, *c-myc*1, 5'上游区和 5'UTR) 和 CAM2 (AB103398, DNA, 2765bp, *c-myc*2, 5'上游区和 5'UTR) 在基因加倍后的进化过程中获得不同的功能。Futami 等 (2001) 在四倍体鲤鱼中分离出 *max* 基因, 发现 *max* 表达与 CAM2 同步, 并不与 CAM1 同步。这一结果说明 CAM1 可能通过进化而获得其他新的功能。鱼类 *c-myc* 基因在 NCBI 数据库 GenBank 中注册还有斑马鱼 (XM\_683744, mRNA, 1224bp), 金鱼 (D31729, DNA, 3840bp), 虹鳟 (M13048, 1614bp, DNA, exons 2 and 3) 等, 但 *c-myc* 基因对鱼类个体最终尺寸调控还不清楚。

### 1.3.3.2 *ras* 基因

*ras* 基因在动物个体发育期间也是一个重要的调节因子 (Rommel and Hafen, 1998), 它可直接调控细胞的生长。人类中有 3 个 *ras* 基因 (*H-ras*、*K-ras* 和 *N-ras*) 负责编码 4 个含有 188 或 189 氨基酸的 p21 蛋白 (*H-ras*、*N-ras*、*K-rasA* 和 *K-rasB*) 负责调控 GDP/GTP 转换。它具有 5 个外显子, 具有 1 个可变剪接外显子 4a/4b (Barbacid, 1987)。Ras 蛋白定位于质膜内表面, 充当细胞外分子进入细胞内的转换, 当其与 GTP 结合时被激活; GTP 水解后, 与 GDP 结合时失活。这种 GTP/GDP 的转换可以调控细胞的生长, 分化和凋亡 (Satoh and Kaziro, 1992; Khosravi-Far and Der, 1994)。Nemoto 等 (1986) 首先从金鱼中获得 *ras* 相关序列, 发现与哺乳动物 *ras* 基因, 尤其是与人的 *K-ras* 基因非常相似。在研究癌组织 *ras* 基因时发现癌变的发生是由于发生在第 1 和第 2 外显子上的点突变, 或其蛋白质第 12、第 13 和第 61 位密码子发生突变, 从而导致

*ras* 基因激活, Ras-GTPase 活性失控, 致使 *ras* 信号连续活化, 从而导致细胞增生。Liu 等 (2003) 发现青鳉 (*Oryzias latipes*) 暴露于 DEN (diethylnitrosamine) 中时, *ras* 极易发生点突变, 导致肿瘤发生, 点突变 12 密码子由 Gly 突变为 Asp, 并且发现有时还会导致 16 位密码子突变。

鱼类的 *ras* 基因一般由四个外显子组成, 分别对应着 Ras 蛋白的重要功能位点 (Rotchell et al., 2001)。*ras* 过表达可产生与 *c-myc* 相同的特征 (Probe and Edgar, 2000)。虹鳟至少存在两个不同的 *ras* 基因 (*ras-1* 和 *ras-2*) (Mangold et al., 1991)。外显子与哺乳动物有 76.8%~87.1% 的同源性, 比 *c-myc* 基因高 (*c-myc* 外显子 2 和 3 与哺乳动物同源性为 52.9%) (van Beneden et al., 1986)。在斑马鱼中, *ras* 基因与哺乳动物的 *N-ras* 基因密切相关 (Cheng et al., 1997)。Vincent-Hubert (2000) 在比目鱼 (*Platichthys flesus*) 中也已克隆出与人类 *K-rasB* 高度同源的 *ras-1* 和 *ras-2* 基因。鱼类在 NCBI 注册的 *ras* 基因有 *Danio rerio* (NM\_131145, mRNA, 2638bp, *N-ras*; XM\_691782, mRNA, 459bp, *K-ras*); *Carassius auratus* (AH002484, DNA, *ras*); *Cyprinus carpio* (U53782, mRNA, 1705bp, *K-ras*); *Oryzias latipes* (AF030545, mRNA, 567bp *c-K-ras-1*; AF032713, mRNA, 692bp, *c-K-ras-2*); *Platichthys flesus* (Y17188, mRNA, 1665bp, *K-ras*, exons 1~4); *Mullus barbatus* (X82182, mRNA, 236bp *ras*); *Oncorhynchus mykiss* (M73690, M73692, M73694, mRNA, *ras-1*; M73691, M73693, M73695, mRNA, *ras-2*)。

### 1.3.3.3 S6K 基因

S6K (ribosomal protein S6 kinase) 是激活 40S 核糖体蛋白的一种激酶, 在哺乳动物中 p70 S6K (又称 S6K1, 与 S6K2 非常相似) 是调控细胞生长的一个重要元件 (Jefferies et al., 1997)。果蝇中 dS6K 对细胞生长的调控也已证明, 在果蝇中 *dS6K* 的突变导致个体尺寸变小, 但主要是细胞尺寸变小, 而不是细胞数目 (Montagne et al., 1999), 它不同于 S6 基因的突变, S6 的突变仅使生长发育延迟。鱼类 S6K 基因序列在 NCBI 数据库 GenBank 中注册的仅有 *Danio rerio* (XM\_680440, mRNA 部分序列, 983bp。相似于 S6K-alpha 2)。

### 1.3.3.4 PTEN 基因

PTEN (phosphatase and tensin homologue) 是一种脂类磷酸酶。PTEN 作用可以使 PI (3,4,5) P<sub>3</sub> (phosphatidylinositol (3,4,5) -trisphosphate) 脱磷酸生成 PI (4,5) P<sub>2</sub> (phosphatidylinositol (4,5) -bisphosphate), 从而抑制动物的生长发育 (Myers et al., 1998)。并且在肿瘤发生中, 可以抑制肿瘤细胞中多种激酶转导通路, 从而抑制肿瘤生长; 反过来, *PTEN* 突变也可导致多种肿瘤细胞的发生 (Li et al., 1997)。小鼠特定组织 *PTEN* 剔除后, 细胞尺寸增大

(Backman et al., 2002)。Oldham 等 (2002) 在果蝇中也发现 *PTEN* 突变时, 细胞尺寸增大, 成体果蝇比正常大 50%。斑马鱼 *PTEN* 基因 cDNA 序列在 NCBI 数据库 GenBank 中已有注册 (NM\_001001822, mRNA, 3380bp), 另外注册的还有 *Fundulus heteroclitus* (CV822280)。

### 1.3.3.5 *lats* 基因

*lats* (large tumour suppressor) 基因是一个肿瘤抑制基因, 它主要调控细胞增生, 控制 CDC2 和 Cyclin A 的表达。一般情况下, 肿瘤细胞中 CDC2 和 Cyclin A 表达增多 (Keyomarsi and Pardee, 1993)。*lats1* 缺陷的小鼠经常发生肉瘤, 卵巢瘤和垂体增生, 并可使个体尺寸增大 (St John, 1999)。*lats* 基因对于动物生长调控具有重要作用。果蝇中 *lats* 基因突变时生长失控, 导致个体尺寸增大 (Tao et al., 1999)。斑马鱼 *lats* 基因的 cDNA 已由中国科学院水生生物研究所的科研人员克隆出来, 其完整 mRNA 序列在 NCBI 数据库 GenBank 中已经注册 (NM\_001020510.1, mRNA, 3207bp)。

## 1.4 动物尺寸与细胞增殖

发育生物学家, 进化生物学家和动物学家研究线虫、果蝇、小鼠等模式动物时, 发现动物尺寸差异主要取决于细胞尺寸或细胞数目的不同 (Conlon and Raff, 1999)。细胞尺寸主要取决于细胞的生长; 而细胞数目主要由细胞分裂和细胞凋亡共同决定。细胞的任何活动均依赖于细胞内外各种因子的指示与调控。这些调控信号分子既可以是溶解的, 也可以是结合的; 既可以是细胞内的, 也可以是细胞外的; 既可以是以内分泌模式进行作用的, 也可以是以旁分泌或自分泌模式进行作用的。关键的问题是细胞内程序和细胞外信号是如何协同调节细胞生长和细胞分裂, 以确保动物生长到各自适宜的特征尺寸。

### 1.4.1 细胞生长

细胞生长就是通过细胞内生物大分子的合成, 使细胞质量增加, 细胞体积增大的过程, 其中, 蛋白质合成是动物生长发育的核心。蛋白质的合成在核糖体中进行。核糖体是由核糖体蛋白和核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 组成, 所以调控核糖体蛋白和 rRNA 生成的各种因子对蛋白质合成和细胞生长均具有调控作用。如果编码核糖体蛋白基因突变或者编码核糖体 RNA 基因突变 (Lambertsson, 1998), 均可影响动物体生长, 使个体尺寸缩小。此外, 调控蛋白质合成的基因 *eIF4* (Galloni and Edgar, 1999) 的突变也会导致同样的结果。因此, 蛋白质翻译体系中各调控因子对细胞生长均具有重要调控作用。

Broggiolo 等 (2001) 基于脊椎动物胰岛素 (insulin) 基因氨基酸序列的保守

区,发现果蝇胰岛素类似物多肽基因 *dILP* (*drosophila* insulin-like peptide)。Oldham 等 (2002) 发现 *dILP* 的受体对生长和尺寸的调控是通过调控 PI (3) K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) 的水平实现的。果蝇中胰岛素受体 (insulin/IGF receptor, INR) 与一种底物 IRS (insulin receptor substrate protein, IRS) (CHICO) 结合,从而激活 PI (3) K (dp110/p60), 然后间接激活下游的 dAKT1 和 dS6K, 这两种信号通路均可被果蝇脂类磷酸酶 dPTEN (*drosophila* phosphatase and tensin homolog) 抑制。在果蝇中,通过基因剔除、突变或缺失,证明了 Insulin/IGF 信号通路对生长调控具有重要作用 (Saucedo et al., 2003; Garofalo, 2002; Stocker and Hafen, 2000)。Montagne 等 (1999) 报道果蝇 *dS6K* (*drosophila* S6 kinase) 基因表达产物 dS6K 作为一个信号分子,当其发生突变时,阻止细胞生长,细胞尺寸变小,从而致使突变果蝇发育迟缓,身体尺寸缩小 (与纯合子雌性果蝇相比,体重缩小大约 60%, 细胞尺寸缩小大约 30%)。果蝇身体及各器官均受到相同的影响,均是以相同的比例进行缩小,最终形成器官和机体比例协调的小尺寸动物个体。

最近几年,通过研究 Insulin/PI (3) K 信号通路 (Rameh and Cantley, 1999; Avruch, 1998), 对于该信号通路调控细胞生长的认识也越来越清晰。胰岛素及胰岛素类似物生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF1) 是调控细胞生长的一个重要因子。与位于细胞膜的胰岛素受体结合并激活受体上的酪氨酸激酶活性,一旦激活,即可磷酸化受体底物蛋白,然后激活 PI (3) K, PI (3) K 使 PIP<sub>2</sub> 磷酸化生成 PIP<sub>3</sub>, PIP<sub>3</sub> 继续磷酸化下游丝氨酸/苏氨酸激酶 PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase 1), PDK1 再激活蛋白激酶 p70S6K 和 AKT/PKB, PKB 活化后可以与多种下游靶蛋白结合,进行下游调节。而另一分支 p70S6K 活化后进而磷酸化核糖体蛋白 S6, S6 活化后可增加含有 5'-TOP (terminal oligopyrimidine tract) mRNA 的翻译,因为这些含有 5'-TOP 的 mRNA 主要是编码核糖体蛋白的 mRNA, 其他蛋白质的 mRNA 一般不含有 5'-TOP, 这样可使核糖体蛋白生成增多,从而使核糖体增多,增强蛋白质合成的能力。对小鼠 IGF1、IGF-IR、PI3K 和 AKT 进行遗传学研究,发现这些因子在 IGF 通路中是必需的 (Shioi et al., 2000, 2002; Efstratiadis, 1998)。脂类磷酸酶 PTEN 在该通路中使 PIP<sub>3</sub> 去磷酸化生成 PIP<sub>2</sub>, 从而抑制通路上的级联反应,使细胞生长受阻,个体尺寸变小。

## 1.4.2 细胞分裂

大象尺寸比老鼠大得多,但在利用显微镜观察二者对应器官的细胞尺寸时,却发现大致相同,由此来看,大象和老鼠之间的尺寸差异主要是由细胞数目不同所致,这一点在其他脊椎动物中也得以证实。因此,脊椎动物尺寸主要是由细胞数目来决定的 (Conlon and Raff, 1999)。而细胞数目是由细胞分裂和细胞凋亡



来决定的。二者共同作用维持细胞恒定的数目和动物体的特征尺寸。细胞分裂使细胞数目增加，分裂素 (mitogen) 启动细胞循环过程，至少部分是通过促进 *c-myc* 和 Cyclin D 来实现的 (Conlon and Raff, 1999)。Cyclin D 和 CDK 4/6 磷酸化，抑制 Rb，释放 E2F 来促进 *cyclin E* 基因转录 (促进细胞从  $G_1$  进入 S 期)。

Trumpp 等 (2001) 报道 *c-myc* 基因在哺乳动物尺寸控制中是通过控制细胞数目而不是控制细胞尺寸。其研究主要是通过对 *c-myc* 基因的改造培养出 5 种携带不同 *c-myc* 基因纯合或杂合鼠，通过研究个体尺寸、细胞数量和 *c-myc* 基因的关系而发现动物个体大小主要是由细胞数量来控制，从而说明通过控制细胞数量来控制脊椎动物个体尺寸。然而还不清楚 *c-myc* 是如何启动细胞循环过程，来控制细胞数目。因为另有一些信号分子，如 PDGF 也能活化这个信号通路。

### 1.4.3 细胞凋亡

动物细胞需要细胞外生长信号 (如生长因子) 调控细胞内物质合成；需要细胞外分裂信号 (如细胞分裂素) 调控细胞的数目增多；同时细胞也需要细胞外存活信号 (如存活因子, survival factor) 来维持细胞的寿命 (Raff, 1992)。如果没有足够的存活因子，它们就要启动细胞内的凋亡 (apoptosis) 程序，即程序性细胞死亡 (programmed cell death, PCD)。除受精卵分裂球不需要额外的信号来存活或分裂 (Biggers et al., 1971)，其他细胞，均需要存活因子来确保细胞在特定时间和地点存活，存活因子的作用是通过调节细胞内控制凋亡的蛋白质数量和活性来实现的，尤其是 Bcl2 家族和 IAP (inhibitor of apoptosis, 凋亡抑制因子) 蛋白 (Martinou et al., 1994)，如 Bad (脊椎动物细胞) 和 Hid (果蝇细胞) 去磷酸化。Bad 通过抑制 Bcl2 (凋亡抑制因子) 启动 PCD；Hid 通过抑制 IAP 启动 PCD。凋亡自身主要依赖于细胞内级联的蛋白质水解，以丝氨酸蛋白酶 Caspase 家族介导 (Nicholson and Thornberry, 1997)。

动物细胞对细胞外存活因子的依赖性有力地说明了发育过程中调控细胞数目的另一种方式。一个最好的例子是发育中的脊椎动物神经系统。许多类型的神经细胞大多在发育过程中大量产生，然后彼此竞争有限的存活因子，这些存活因子是由它们支配的靶细胞产生的；结果仅有一部分神经细胞获得足够的存活因子而存活，其余的神经细胞则启动 PCD。这样，就可以确保神经细胞与它们支配的靶细胞数目相匹配 (Oppenheim, 1991)。少突细胞发育中也发现类似的机制，少突细胞在中枢神经系统中发育为轴突周围的髓鞘细胞。其大量产生，但至少有一半进行 PCD，启动 PCD 的细胞很显然是由于竞争不到足够的由轴突细胞产生的存活因子，无法保持正常存活。也就是以这种方式，少突细胞形成的髓鞘与轴突数目和长度进行完美的匹配 (Barres and Raff, 1994)。如果实验中减少轴突细胞数目，多余的少突细胞即会启动凋亡使细胞数目下降 (Barres and Raff,