

封面：



版权页

版权页

版权所有，侵权必究！

分子与细胞（第2版）

主 编：王应雄 卜友泉

出版发行：人民卫生电子音像出版社有限公司

地 址：北京市朝阳区潘家园南里19号

邮 编：100021

E - mai：ipmph@pmph.com

制作单位：人民卫生电子音像出版社有限公司

排版单位：人民卫生电子音像出版社有限公司

制作时间：2021年8月

版 本 号：V1.0

容 量：222208KB

格 式：jdbp

标准书号：978-7-89456-935-6

定 价：104.00元

策划编辑：傅珍珍 张 绵

责任编辑：傅珍珍

平台策划：任芳芳 李秀艳

版式设计：黄敬滢

目录：

第一篇 生物大分子的结构与功能

第 1 章 蛋白质的结构与功能

- 第一节 蛋白质的分子组成
- 第二节 蛋白质的分子结构
- 第三节 蛋白质结构与功能的关系
- 第四节 蛋白质的理化性质及其分离纯化

第 2 章 核酸的结构与功能

- 第一节 核酸的化学组成及一级结构
- 第二节 DNA 的空间结构与功能
- 第三节 RNA 的结构与功能
- 第四节 核酸的理化性质

第 3 章 酶与维生素

- 第一节 酶的结构与功能
- 第二节 酶促反应特点及机制
- 第三节 酶促反应动力学
- 第四节 酶的调节
- 第五节 酶的命名与分类
- 第六节 酶与医学
- 第七节 辅助因子与维生素

第二篇 物质代谢及调控

第 4 章 生物氧化

- 第一节 生物氧化的特点及其酶类

第二节 生成 ATP 的氧化体系

第三节 不生成 ATP 的氧化体系

第 5 章 糖代谢及其调节

第一节 概述

第二节 糖的无氧氧化

第三节 糖的有氧氧化

第四节 磷酸戊糖途径

第五节 糖原的合成与分解

第六节 糖异生

第七节 其他糖的代谢

第八节 血糖及其调节

第 6 章 脂质代谢

第一节 脂质的组成与结构

第二节 脂质的消化与吸收

第三节 脂肪代谢

第四节 磷脂代谢

第五节 胆固醇代谢

第六节 血浆脂蛋白代谢

第 7 章 氨基酸代谢

第一节 蛋白质的营养作用

第二节 食物蛋白质的消化、吸收及腐败作用

第三节 组织蛋白的降解

第四节 氨基酸的一般代谢

第五节 某些氨基酸的特殊代谢产物

第 8 章 核苷酸代谢

第一节 概述

第二节 嘧啶核苷酸的代谢

第三节 脱氧核糖核苷酸与核苷三磷酸的合成

第四节 核苷酸抗代谢物

第 10 章 物质代谢的联系与调节

第一节 物质代谢的特点及相互联系

第二节 组织、器官的代谢特点及联系

第三节 物质代谢调节机制

第九章 非营养物质代谢

第一节 生物转化的概念和意义

第二节 生物转化反应的类型

第三节 生物转化的特点及影响因素

第三篇 遗传信息的传递及调控

第 11 章 DNA 的生物合成

第一节 DNA 复制的基本特征

第二节 参与 DNA 复制的酶及蛋白因子

第三节 DNA 复制过程

第四节 逆转录及其它复制方式

第五节 DNA 的损伤与修复

第十二章 RNA 的生物合成

第一节 转录的概念及其反应体系

第二节 转录的基本过程

第三节 转录的加工

第四节 RNA 的复制

第 13 章 蛋白质的生物合成

第一节 肽链生物合成体系的组成与氨基酸的激活

第二节 肽链的生物合成过程

第三节 新生肽链的加工和蛋白质靶向输送

第四节 蛋白质生物合成与医学的关系

第 14 章 基因表达调控

第一节 概述

第二节 原核生物的基因表达调控

第三节 真核生物的基因表达调控

第四篇 细胞的结构与功能

第 15 章 细胞膜

第一节 细胞膜的结构与组成

第二节 细胞膜的物质运输功能

第三节 细胞膜的信息传递功能

第四节 细胞表面与细胞识别

第 16 章 内膜系统

第一节 内质网

第二节 高尔基复合体

第三节 溶酶体

第四节 过氧化物酶体

第 17 章 线粒体

第一节 线粒体的特征

第二节 线粒体的功能

第三节 线粒体的半自主性

第 18 章 细胞骨架

第一节 微管

第二节 微丝

第三节 中间纤维

第 19 章 细胞核

第一节 核膜

第二节 染色质

第三节 染色体

第四节 核仁

第五篇 细胞的重要生命活动

第 20 章 细胞信号转导

第一节 细胞信号转导概述

第二节 常见信号转导通路

第三节 细胞信号转导与疾病

第 21 章 细胞增殖与细胞周期

第一节 细胞周期的基本概念

第二节 细胞周期的主要事件

第三节 细胞分裂

第四节 细胞周期的调控

第 22 章 细胞分化

第一节 细胞分化概述

第二节 细胞分化的调控

第三节 干细胞

第 23 章 细胞衰老与死亡

第一节 细胞衰老

第二节 细胞死亡

第六篇 医学遗传

第 24 章 医学遗传概论

第一节 医学遗传简介

第二节 遗传病定义及其特点

第二节 遗传病的分类及其危害

第 25 章 单基因遗传病

第一节 常染色体显性遗传病

第二节 常染色体隐性遗传病

第三节 性连锁遗传病

第 26 章 多基因遗传病

第一节 多基因遗传的概念及特点

第二节 多基因遗传病

第 27 章 染色体畸变

第一节 人类正常染色体

第二节 染色体畸变

第三节 染色体病

第 28 章 群体遗传

第一节 群体中的遗传平衡

一、群体中的基因频率和基因型频率

二、遗传平衡定律

三、遗传平衡定律和应用

第二节 影响遗传平衡的因素

一、基因突变

二、选择

三、遗传漂变

四、移居

五、近亲结婚

第三节 遗传负荷

第四节 群体中基因组多态性

一、限制性片段长度多态性

二、小卫星 DNA 和微卫星 DNA

- 三、单核苷酸多态性
- 四、表达序列标签和序列标签位点
- 五、非编码 RNA

第七篇 分子医学专题

第 29 章 分子病

- 第一节 生化遗传与分子病的概念
- 第二节 血红蛋白病
- 第三节 遗传性酶病

第 30 章 肿瘤分子与细胞基础

- 第一节 概述
- 第二节 肿瘤分子基础
- 第三节 肿瘤的细胞基础

第 31 章 常用分子生物学技术

- 第一节 PCR 技术
- 第二节 分子杂交技术
- 第三节 DNA 测序
- 第四节 生物芯片技术
- 第五节 大分子相互作用研究技术
- 第六节 基因沉默技术
- 第七节 基因组编辑技术

第 32 章 DNA 重组与基因工程

- 第一节 自然界的 DNA 重组与基因转移
- 第二节 重组 DNA 技术
- 第三节 重组 DNA 技术与医学的关系

第 33 章 基因诊断与基因治疗

- 第一节 基因诊断
- 第二节 基因治疗

第 34 章 组学

第一节 基因组学

第二节 蛋白质组学

第三节 蛋白质组学

第四节 后基因组时代生命科学的发展与趋势

编写页(电子教材部分截图)：

第二十三章 细胞衰老与死亡

学习目标

掌握 细胞衰老的概念，细胞衰老的形态结构特点，细胞衰老的特征及细胞凋亡的概念及形态学特征。

熟悉 细胞衰老的主要学说及细胞凋亡的途径。

了解 细胞衰老、细胞凋亡及进展及与医学的关系。

第一节 细胞衰老的概述

细胞衰老 (cellular aging , cell senescence) 是客观存在的。同新陈代谢一样，细胞衰老是细胞生命活动的客观规律。大多数机体细胞都经历了由未分化到分化、分化到衰老、衰老到死亡的过程。细胞的衰老和死亡与机体的衰老和死亡是两个不同的概念。机体的衰老并不等于所有细胞的衰老，

[< 上一篇](#) [下一篇 >](#)

因而对防止细胞凋亡有一定作用。其衍生物具有较强稳定的线粒体 $\Delta\psi_m$ 的作用，但免疫抑制作用已基本消失，有很好抗凋亡前景。

本章小结

细胞的衰老和死亡是生物界发展的普遍规律。细胞衰老一般的含义是指复制衰老，即体外培养的正常细胞经过有限次数的分裂后，停止生长，细胞形态和生理代谢活动发生显著改变的现象。细胞衰老的主要表现是对环境变化的适应能力，以及维持细胞内环境稳定的能力降低。衰老主要伴随着细胞的形态结构和生物分子与代谢的改变为基础的。细胞死亡是指细胞生命现象的终结，常见有凋亡性程序性细胞死亡、自噬性细胞死亡和细胞坏死三种类型。细胞凋亡是指在特定信号诱导下，细胞内的死亡级联反应被触发所致的生理或病理性、主动性的死亡过程。

(陈娟)

< 上一篇 下一篇 >

田老师

编写页(全部编写手稿)：

第 23 章 细胞衰老与死亡

学习目标

通过本章的学习，你应该能够：

掌握 细胞衰老的概念，细胞衰老的形态结构特点，细胞衰老的特征及细胞凋亡的概念及形态学特征。

熟悉 细胞衰老的主要学说及细胞凋亡的途径。

了解 细胞衰老、细胞凋亡及进展及与医学的关系。

第一节 细胞衰老

细胞衰老 (cellular aging, cell senescence) 是客观存在的。同新陈代谢一样，细胞衰老是细胞生命活动的客观规律。大多数机体细胞都经历了由未分化到分化、分化到衰老、衰老到死亡的过程。细胞的衰老和死亡与机体的衰老和死亡是两个不同的概念。机体的衰老并不等于所有细胞的衰老，但是细胞的衰老又是同机体的衰老紧密相关的。生物体内每时每刻都有细胞在衰老、死亡，同时又有增殖和新生的细胞进行补偿。细胞衰老是一个过程，这一过程的长短即细胞的寿命，人体内有 200 多种细胞，它们的寿命各不相同。细胞寿命的长短受组织种类和环境条件的影响。各种动物的细胞最大分裂数各不相同，人细胞为 50~60 次。一般说来，细胞最大分裂数与动物的平均寿命成正比。阐明细胞的衰老与死亡的机制，对于揭示生命的奥秘和延缓个体的衰老具有重要的意义。

一、细胞衰老的概述

细胞衰老 (cellular aging) 一般的含义是指复制衰老 (replicative

senescence, RS), 即体外培养的正常细胞经过有限次数的分裂后, 停止生长, 细胞形态和生理代谢活动发生显著改变的现象。随着时间的推移, 细胞的增值能力和生理功能逐渐发生衰退, 细胞内部结构衰变, 内环境稳定性下降, 结构中心组分退行性变化, 细胞趋向死亡的不可逆的现象。细胞衰老时会出现水分减少、老年色素-脂褐色素累积、酶活性降低、代谢速率变慢等一系列变化。细胞衰老是细胞生命活动的客观规律。生物体内每时每刻都有细胞在衰老, 死亡, 同时又有新增殖的细胞来代替它们。细胞是组成生物有机体的基本结构和功能单位, 也是机体衰老的基本单位。因此, 机体衰老是以细胞总体的衰老为基础的, 细胞总体的衰老反映了机体的衰老。

一般情况下, 体内更新较快的细胞, 其寿命较短。体内基本不更新的细胞, 在分化成熟后可以保持与机体相同的寿命。细胞寿命除与细胞的种类有关外, 也受到内、外环境条件的影响。机体内各类细胞的寿命不同, 我们根据寿命情况将细胞分为三类:

- (1) 细胞的寿命接近于动物的整体寿命, 如神经元、脂肪细胞、肌细胞等;
- (2) 缓慢更新的细胞, 其寿命比机体的寿命短, 如肝细胞、胃壁细胞等;
- (3) 快速更新且寿命较短的细胞, 如皮肤的表皮细胞红细胞和白细胞等。

细胞衰老跟疾病的发生过程和病理过程相关。除了一些早老性疾病, 如 Hutchinson-Gilford 和 Werner 早衰症之外, 一般认为, 细胞衰

老与老年性疾病如神经退行性疾病、动脉粥样硬化性心血管疾病、糖尿病及肿瘤等密切相关。许多研究表明，组织干细胞衰老是机体衰老的重要原因之一，也与某些老年性疾病相关联。例如，间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)随着年龄的增加，其增殖和分化能力逐渐下降，神经干细胞分化为神经元的能力也逐渐下降。一些研究通过促进细胞衰老或者抑制细胞衰老来控制疾病，这些方法已经在小鼠疾病模型中取得了成功，也有一些优秀的临床研究正在进行。BCL-2 家族蛋白的抑制剂是一种广泛使用的senolytics 药物，它们可诱导衰老细胞的凋亡。此外，诱导细胞衰老的药物可以作为抗癌药物实现其价值，这包括帕布昔利布(palbociclib) 等 CDK4/6 抑制剂。

二、细胞衰老的特征

细胞衰老的主要表现是对环境变化的适应能力，以及维持细胞内环境稳定的能力降低。衰老主要伴随着细胞的形态结构和生物分子与代谢的改变为基础的。

(一) 细胞衰老的形态学特征

衰老的细胞形态变化主要表现为细胞皱缩、膜通透性和脆性增加、核膜内陷和细胞器数量减少，特别是线粒体数量减少，胞内出现脂褐素等异常物质沉积，最终出现细胞凋亡或坏死。通常衰老细胞的各种结构呈退行性变化（表 23-1-1）。

表 23-1-1 细胞衰老的形态学特征（新增）

细胞组分	形态特征
核	增大、染色深、核内有包含物
染色质	凝聚、固缩、碎裂、溶解
质膜	黏度增加、流动性降低
细胞质	色素积聚、空泡形成
线粒体	数目减少、体积增大
高尔基体	碎裂
尼氏体	消失
包含物	糖原减少、脂肪积聚
核膜	内陷

(二) 细胞衰老过程中生物分子和代谢的改变

1. DNA 从总体上 DNA 复制与转录在细胞衰老时均受抑制，但也有个别基因会异常激活，端粒 DNA 丢失，线粒体 DNA 特异性缺失，DNA 氧化、断裂、缺失和交联，甲基化程度降低。
2. RNA mRNA 和 tRNA 含量降低。
3. 蛋白质 合成下降，细胞内蛋白质发生糖基化、氨甲酰化、脱氨基等修饰反应，导致蛋白质稳定性、抗原性，可消化性下降，蛋白质肽键断裂，交联而变性。氨基酸由左旋变为右旋。
4. 酶分子 活性中心被氧化，金属离子 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 等丢失，酶分子的二级结构，溶解度，等电点发生改变，总的效应是

酶失活。

5. 脂类 不饱和脂肪酸被氧化，引起膜脂之间或与脂蛋白之间交联，膜的流动性降低。

三、细胞衰老的分子机制

衰老 (ageing, senescence) 是本世纪生物学研究的八大方向之一。随着生物技术、分子生物学和现代医学的发展，揭示衰老的机制，探索出高效、安全可靠的抗衰老方法，是衰老生物学和老年医学研究的重要领域。随着各边缘学科的飞速发展，人类对于衰老的认识也从整体动物水平推进到了细胞和分子水平，提出了许多学说。比如：基因控制说、自由基损伤说、代谢产物交联说、体细胞突变说、差错积累说、免疫紊乱说等。关于衰老的机理具有许多不同的学说，概括起来主要有差错学派 (Error theories) 和遗传学派 (Genetic / Programmed theories) 两大类，前者强调衰老是由于细胞中的各种错误积累引起的，后者强调衰老是遗传决定的自然演进过程。

(一) 差错学派

差错学派即错误/损害学说，它认为细胞衰老是各种细胞成分在受到内外环境的损伤作用后，因缺乏完善的修复，使“差错”积累，导致细胞衰老。DNA 突变、蛋白质或 RNA 缺乏积累、细胞代谢等原因导致遗传信息退化和丧失；蛋白质合成过程中的 DNA 复制、转录都可能产生差错。根据对导致“差错”的主要因子和主导因子的认识不同，可分为不同的学说。

1. 代谢废物积累学说

由于细胞功能下降，细胞一方面不能将代谢废物及时排出细胞，另一方面又不能将这些代谢废物降解消化。细胞代谢产物积累至一定量后会危害细胞，阻碍细胞的正常生理功能，最终引起衰老。哺乳动物脂褐质的沉积是一个典型的例子。脂褐质是一些长寿命的蛋白质和 DNA、脂类共价缩合形成的巨交联物，主要在次级溶酶体中形成。由于脂褐质结构致密，不能被彻底水解，又不能排出细胞，结果在细胞内沉积增多，阻碍细胞的物质交流和信号传递，最后导致细胞衰老。细胞衰老研究中常用的生物学特征有两个：一是生长停滞，细胞停止分裂，并且这种停滞是不可逆的；二是衰老相关的 β -半乳糖苷酶 (Senescence Associated β -galactosidase, SA β -gal) 的活化。SA β -gal 是溶酶体内的水解酶，通常在 pH 4.0 的条件下表现活性，而在衰老细胞中 pH 6.0 条件下即表现出活性。将细胞固定后，用 pH 6.0 的 β -半乳糖苷酶底物溶液进行染色，就能明显区分年轻和年老的培养细胞。研究发现老年性痴呆 (Alzheimer disease, AD) 脑内的脂褐质、脑血管沉积物中均有 β -淀粉样蛋白 (β -AP)，因此 β -AP 可作为 AD 的鉴定指标。

2. 自由基学说 自由基是一类瞬时形成的含不成对电子的分子或原子基团，普遍存在于生物系统。正常细胞内存在清除自由基的防御系统，包括酶系统和非酶系统。前者如超氧化物歧化酶 (SOD)，过氧化氢酶 (CAT)，谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX)；非酶系统有维生素 E，醌类物质等电子受体。自由基的化学性质活泼，可攻击生物体内的 DNA、蛋白质和脂类等大分子物质，造成损伤，如 DNA 的断裂、

蛋白质交联变性、碱基羟基化、碱基切除等。一些学者认为，在衰老的原因中，自由基造成的衰老占了 99%。老年人皮肤上的老年斑 (age spots) 就是自由基对细胞破坏的见证。

3. 体细胞突变学说 体细胞突变学说认为突变引起的细胞形态变化及功能失调或丧失是人体衰老的重要原因。二倍体细胞中两条染色体上等位基因都被某些突变因素击中时，子代细胞会很快发生形态、功能的改变，甚至死亡。由此可见，二倍体细胞的衰老性改变取决于这种等位基因被击中的比率以及所造成缺陷的水平。

4. DNA 损伤修复学说 外源的理化因子，内源的自由基本均可导致 DNA 的损伤。正常机体内存在 DNA 的修复机制，可使损伤的 DNA 得到修复。随着年龄的增加，这种修复能力下降，DNA 的错误累积，最终导致细胞衰老死亡。DNA 的修复并不均一，转录活跃的基因优先被修复，而在同一基因中转录区优先被修复。彻底的修复仅发生在细胞分裂的 DNA 复制时期，这就是干细胞能永葆青春的原因。

5. 生物分子自然交联学说 甲醛、自由基等物质可以引起体内 DNA 分子双链间、蛋白胶原纤维间等大分子间的交联。DNA 双链的交联可在 DNA 解链时形成“Y”形结构，使转录不能顺利进行。胶原纤维间的交联可使纤维结缔组织在正常交联的基础上过度交联，从而使对小分子物质的通透性降低，从而影响了结缔组织的张力及韧性。过量的大分子交联是衰老的一个主要因素，如 DNA 交联和胶原交联均可损害其功能，引起衰老。在临床方面胶原交联和动脉硬化、微血管病变有密切关系。

（二）遗传论学派

遗传程序学说（genetic program theory）认为每一种物种本身固有其遗传基因上的衰老程序，衰老是遗传决定的自然演进过程，一切细胞均有内在的预定程序决定其寿命。遗传假说最早的实验是1961年 Hayflick 的“Hayflick 界限”，由此提出了“程序学说”，也称“生物钟学说”。认为衰老是遗传基因控制程序化的过程，不同种属的生物之所以有不同的寿命，是因为它们的出生、发育、成熟、衰老和死亡都是由遗传基因决定的。

1. 细胞有限分裂学说（生物钟学说） L. Hayflick(1961)报道，人的纤维细胞在体外培养时增殖次数是有限的，其分裂次数总存在一个“极值”，此值被称为“Hayflick”极限，亦称最大分裂次数。如人胚成纤维细胞在体外培养时只能增殖 60~70 代。现在普遍认为细胞增殖次数与端粒 DNA 长度有关。DNA 复制时，由于 DNA 的不完全复制使 DNA 末端少量丢失，而端粒酶会重新加上这些丢失的重复 TTAGGG 序列。Harley 等 1991 发现体细胞染色体的端粒 DNA 会随细胞分裂次数增加而不断缩短。DNA 复制一次端粒就缩短一段，当缩短到一定程度至 Hayflick 点时，细胞停止复制，而走向衰亡。随着细胞的连续分裂，端粒逐渐缩短，细胞老化并丧失繁殖能力而死亡。

2. 重复基因失活学说 真核生物基因组有许多重复序列，可能执行某种重要的生理功能。重复基因失活假说认为某一基因序列破坏或抑制时，则由另一个相同基因序列来接替，当这种重复序列被耗竭

时则该基因产物就缺失了。真核生物基因组 DNA 重复序列不仅增加基因信息量，而且也是使基因信息免遭机遇性分子损害的一种方式。主要基因的选择性重复是基因组的保护性机制，也可能是决定细胞衰老速度的一个因素。实验证明小鼠肝细胞重复基因的转录灵敏度随年龄而逐渐降低。哺乳动物 rRNA 基因数随年龄而减少。

3. 衰老基因学说 大量研究证明物种的平均寿命和最高寿命是相当恒定的。所以，物种的寿命显然是在一定程度上受遗传基因控制的。衰老并非由单一基因所决定，而是一连串基因激活和阻抑，及其通过各种自产物相互作用的结果。统计学资料表明，子女的使用寿命与双亲的使用寿命有关，各种动物都有相当恒定的平均寿命和最高寿命。成人早衰症患者平均 39 岁时出现衰老，47 岁左右生命结束，患婴幼儿早衰症 (Hutchinson-Gilford syndrome) 的小孩在 1 岁时出现明显的衰老，12~18 岁即过早夭折 (图 23-1-1)。由此来看物种的寿命主要取决于遗传物质，DNA 链上可能存在一些“长寿基因”或“衰老基因”来决定个体的寿限。

3.1 衰老基因

近年来，在人类细胞衰老基因研究方面，取得了较大进展。研究表明动物种系之间的寿命差异是由于某些衰老基因调控的。目前发现在人的 1、2、4、6、7、11、18 及 x 号染色体上都存在这类基因。它们可使永生化细胞逆转而衰老，其丢失或激活可引起细胞永生化。线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 的研究表明，其 *age-1* 单基因突变可提高平均寿命 65%，提高寿限 110%。*Age-1* 突变型 *C. elegans*

的抗氧化酶活力、应变能力都强，耐受 H_2O_2 、农药、紫外线及高温的能力都强于野生型 *C. elegans*。*MORF4* 基因，它能表达一种与细胞衰老死亡有关的转录因子，将 *MORF4* 基因片段导入到缺失 *MORF4* 基因的永生细胞后，可使永生细胞衰老。p16 基因，是细胞寿命的关键调控基因。细胞衰老时，p16 基因 mRNA 的转录及蛋白质表达水平增高，p16 表达增强将使细胞寿命缩短。

3.2 长寿基因

抗衰老基因也称长寿基因(longevity gene)。研究人员将蛋白质生物合成延长因子-1 α (EF-1 α) 基因转入果蝇生殖细胞，发现子代果蝇的寿命延长了 40%。酵母中的 *sgs1* 基因，编码产物为 DNA 解旋酶，是 DNA 复制所必需的基因，*sgs1* 基因突变体，其寿命明显短于野生型酵母。前述提到的 Werner 早衰症，其体内 8 号染色体上编码 DNA 解旋酶的基因发生了突变，称为 *WRN* 基因，该基因与酵母中的 *sgs1* 基因同源，它们突变将引起衰老提前和寿命缩短。*Klotho* 基因缺陷的小鼠，在出生后 4 周左右即可出现一系列类似人类的早衰症状，*Klotho* 基因的突变和低表达会引起衰老和相关性老年病；*SIRT1* 基因则与清除体内的胆固醇有关，被认为是能延长寿命的基因。

图 23-1-1 正常 9 岁儿童（左）与 8 岁早衰症儿童照片（引用上版图 23-1）

4. 线粒体 DNA 突变学说 线粒体是细胞内产生活性氧自由基的主要场所。线粒体 DNA 突变，导致过多地产生活性氧自由基 (ROS)，ROS 对生物膜及许多生物分子产生破坏作用，从而引起疾病及衰老。线粒体 DNA (mtDNA) 缺乏组蛋白保护，呈裸露状态，突变率比核 DNA (nDNA) 高 5~20 倍。许多资料证明 mtDNA 突变随年龄增高而积累，饮食限制可以降低线粒体 DNA 的突变发生率。mtDNA 的突变与衰老、心肌缺血、老年心衰等老年性疾病的发生有密切关联。

mtDNA 本身缺乏组蛋白保护及相应的修复系统，易受氧自由基攻击而诱发突变。mtDNA 突变与人类衰老的发生密切相关。与衰老相关的 mtDNA 突变主要有：缺失、重排和点突变。与衰老相关的 mtDNA 缺失最早见于 Ikebe 等对帕金森病患者脑组织 mtDNA 缺失的研究中，PCR 技术检测到 4977bp 缺失。mtDNA 的重排在 mtDNA 突变中相对少见。Wallace 等曾报道过随增龄线粒体氧化磷酸化能力下降是由 mtDNA 重排的积累引起的。mtDNA 的点突变可分为 tRNA 的点突变和编码蛋白基因的点突变。tRNA 的点突变常见于线粒体 RNA 基因上 3243 位点的 A 突变成 G，该突变可阻碍 mtDNA 编码的蛋白质合成，并可导致 rRNA 转录终止，多见于线粒体神经肌肉性疾病。如 Lerbe 遗传性视神经病是 mtDNA 第 11778 位 G 转为 A。又如线粒体脑肌病、伴高乳酸血症和卒中样发作患者和成年型糖尿病伴耳聋患者，其 mtDNA 发生 *tRNA^{Leu}* 基因

第 3242 位 A→G 替换突变。

(三) 细胞衰老相关信号途径

细胞老化的刺激信号主要有两大类:端粒的和非端粒的。这两大类刺激信号主要诱导两条信号途径:*p53-p21-pRb* 途径和 *p16-pRb* 途径 (在小鼠中则主要为 *ARF-p53-p21-pRb* 途径)。肿瘤抑制物 *p53* 和 *pRb* 分别是这两条途径的核心,二者突变在介导细胞衰老逃逸、肿瘤发生中起着关键作用。而且这两种肿瘤抑制基因 *p53* 和 *pRB* 是启动和维持正常细胞进入衰老状态所必须的。

1. *p53-p21-pRb* 通路

当基因组 DNA 受到损伤时, *p53* 可以活化不同的基因表达谱来阻止细胞增殖。它可以诱导 G1 和 G2 期细胞周期瞬间停滞,也可以诱导永久的细胞老化,严重时可以通过诱导细胞凋亡来消除异常细胞。*p53* 活化的一个主要效应分子就是 *p21*。*p21* 上调可抑制 CDK2 和 CDK4 的活性,它们不能磷酸化 pRb,处于低磷酸化状态的 pRb 结合到 E2Fs 上,使 E2Fs 不能与其靶基因结合,因 E2Es 的靶基因都和细胞周期进程相关,这些基因表达受抑后,细胞不能进入 S 期,最终导致细胞周期停滞 (图 23-1-2)。

图 23-1-2 *p53* 和 *p21* 参与细胞损伤修复的分子途径(新增)

2. *p16-pRb* 通路

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, Rb) 是一种肿瘤抑制基因，位于染色体 13q14，基因的编码产物称为 pRb 蛋白。pRb 蛋白是 G1 期 cyclin D-CDKs 复合物介导的磷酸化作用的共同限速底物，是 G1/S 限制点的中心成分。pRb 在去磷酸化状态下，结合到 E2F，E2F 家族成员均为重要的转录因子，游离的 E2F 可入核促进相关基因表达，促进细胞周期的前进。pRb 被 cyclin-CDK 复合物磷酸化后释放其结合蛋白，失去抑制细胞增殖的能力。P16 基因也是一种重要的抑癌基因，定位于 9p21 编码，对细胞的生长起负反馈作用。p16 是 CDK4 和 CDK6 活性的抑制物，抑制 CDK4-cyclin D 复合物的催化活性，它们不能磷酸化 pRb，处于低磷酸化状态的 pRb 结合到 E2Fs 上，从而抑制细胞增值。

第二节细胞死亡

细胞死亡 (cell death) 是指细胞生命现象的终结。细胞因受严重损伤而累及胞核时，呈现代谢停止、结构破坏和功能丧失等不可逆性变化，此即细胞死亡。细胞死亡的进程可以很快，如剧烈的理化因子可使细胞迅速死亡。但在非剧烈因素作用时，细胞死亡有一定的自然过程，尤其从细胞衰老到细胞死亡是一个渐进的过程，并且常有特征性的形态改变。细胞核对各种有害因子的反应最为敏感，如果核内的基因及其控制系统受到损伤，则转录、翻译等过程将中断，细胞的生命过程将改变或停止。细胞接近死亡时，核膜多发生

断裂, DNA 与蛋白质降解产物泄漏至核外, 核仁亦逐渐溶解和消失; 胞质内可发生内质网线粒体肿胀, 线粒体嵴断裂和消失; 细胞表面微绒毛逐渐减少、消失; 细胞的体积因失水而变小或因细胞间水分内渗而变大。由于细胞死亡原因的多样性, 细胞死亡时形态改变的过程和程度也不完全一样。有关细胞死亡过程的研究, 已成为生物学、医学研究的一个热点。多数学者将细胞的死亡形式分为凋亡性程序性细胞死亡 (apoptosis)、自噬性细胞死亡 (autophagy) 和细胞坏死 (necrosis) 三种类型。

一、细胞凋亡

(一) 细胞凋亡的概念

细胞凋亡是指在特定信号诱导下, 细胞内的死亡级联反应被触发所致的生理或病理性、主动性的死亡过程。细胞凋亡多发生于生理情况下, 也可发生在病理情况下。细胞凋亡时、质膜始终保持完整, 胞膜内陷将细胞内容物包被成一些囊状小体, 即凋亡小体 (apoptotic body), 后者被周围吞噬细胞吞噬, 不引起炎症反应。

细胞凋亡是细胞的一种基本生物学现象。它在生物体的进化、内环境的稳定以及多个系统的发育中起着重要的作用。细胞凋亡不仅是一种特殊的细胞死亡类型, 而且具有重要的生物学意义及复杂的分子生物学机制。在个别情况下, 由于致病因子极为强烈, 坏死可迅速发生, 有时甚至可无明显的形态学改变。1965 年, Kerr 等用组织学方法研究肝脏的局部缺血性损伤, 发现肝细胞染色质浓缩, 胞浆被分割为由质膜包裹的小而圆的细胞质团, 电镜下可见由细胞质浓缩和“发芽”而形成的小体, 这些小体被质膜

包裹，且含有完整的细胞器，小体可以被残存的组织细胞吞噬和消化。最初这种现象被称之为“皱缩型坏死”。直到 1972 年 Kerr、Wyllie 与 Currie 等人将这种形态上与细胞坏死完全不同的细胞死亡现象命名为细胞凋亡(apoptosis)。自此以后，细胞凋亡很快受到各国生物学家的重视，迅速成为 20 世纪 90 年代生命科学的一大研究热点。

(二) 凋亡的特征

1. 细胞凋亡的形态学变化

细胞的凋亡过程，在形态学上可以包括三个阶段，分别是凋亡的起始，凋亡小体的形成，以及吞噬过程。其形态学的变化主要包括细胞皱缩(cell shrinkage)、染色质凝聚(chromatin condensation)、凋亡小体形成、细胞骨架解体等，其中以胞核的变化最为显著（图 23-2-1）。

图 23-2-1 细胞凋亡过程中细胞的形态学变化（引用上版图 23-4A）

(1) 细胞核的变化 凋亡细胞的核 DNA 断裂成核小体片段，并向核膜下或中央部异染色质区聚集，浓缩成染色质块，使细胞核呈现新月状、花瓣状等多种形态，染色质进一步聚集使核膜在核膜孔处断裂，形成核碎片或核残片。

(2) 细胞质的变化 胞质明显浓缩，细胞器（线粒体和内质网）也发生不同程度的变化。凋亡早期，线粒体增大，嵴增多，接着线粒体出现空泡化。多数情况下，内质网腔增殖膨大，并为凋亡

细胞形成的自噬体结构提供包裹膜。细胞骨架结构也变得致密和紊乱。

(3) 细胞膜的变化 微绒毛、细胞突起及细胞间连接等逐渐消失，细胞膜起泡，但细胞膜仍保持完整，没有失去选择通透性。一些与细胞间连接有关的蛋白质从凋亡细胞的膜上消失，细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)从膜的内侧翻转到膜的表面，暴露于细胞外环境中。

(4) 凋亡小体的形成 凋亡小体的形成有三种方式:①发芽脱落机制。整个细胞通过发芽(budding)、起泡(zeiosis)等方式，形成一个球形的突起，并在根部绞窄脱落，形成一些大小不等，内含胞质、细胞器以及核碎片的膜包小体，即凋亡小体(图 23-2-2); ②分隔机制。在凋亡细胞内由内质网分隔成大小不等的分隔区，靠近细胞膜端的分隔膜与细胞膜融合并脱落形成凋亡小体; ③自噬体形成机制。凋亡细胞内线粒体、内质网等细胞器和其他胞质成分一起被内质网膜包裹形成自噬体，自噬体在与凋亡细胞膜融合后排出胞外，形成凋亡小体。在病毒性肝炎中见到的嗜酸性小体(councilman body)就是凋亡小体的例子。凋亡小体逐渐被邻近细胞或吞噬细胞吞噬，在溶酶体内被消化分解。

图 23-2-2 扫描电镜下凋亡细胞表面变化(新增)

A. 正常细胞 B. 微绒毛消失 C. 凋亡小体

2. 细胞凋亡的细胞生化改变

(1) DNA 片段化 细胞凋亡时，内源性核酸内切酶 (endonuclease) 活化，特异地在连接区切断 DNA 链，形成长度为 180~200bp 整数倍的寡聚核苷酸片段。这种 DNA 片段化在进行琼脂糖凝胶电泳时，表现出特征性的 DNA 梯状条带 (DNA ladder)。而细胞坏死时，DNA 随意断裂为长度不一的片段，琼脂糖凝胶电泳呈“弥散状” (smear)。

(2) 细胞凋亡中的蛋白酶 细胞凋亡主要是通过多种蛋白酶控制的，蛋白酶级联切割可能是凋亡最关键的过程。控制凋亡的蛋白酶有多种，如胱天蛋白酶 (cystein aspartic acid specific protease , caspase) 家族、端粒酶或分裂素及钙蛋白酶 (calpain) 等。

(3) 胞质 Ca^{2+} 、pH 的变化 Ca^{2+} 能通过两条途径诱导细胞凋亡。一是胞内 Ca^{2+} 库释放，胞外 Ca^{2+} 内流使胞质内 Ca^{2+} 持续升高，作为凋亡信号启动凋亡；二是 Ca^{2+} 的释放打破了细胞内结构的稳定，使细胞凋亡系统的关键成分与基质发生反应，从而触发凋亡。用地塞米松诱导巨噬细胞凋亡时，可观察到胞质内的 pH 先是急速升高，之后又缓慢降低，胞质逐渐碱化，这表明胞质碱化和酸化均能影响细胞凋亡，前者可能与细胞凋亡的启动有关，而后者可能是细胞凋亡的必然结果。

(4) 线粒体的变化 凋亡时，线粒体发生一系列显著的变化：①线粒体呼吸链受损，能量代谢受到破坏，导致细胞死亡；②线粒体释

放细胞色素 C(cytochrome C, cyt C), 而 cyt C 是凋亡所必需的胱天蛋白酶家族的激活物; ③线粒体是细胞产生活性氧类物质(reactive oxygen species, ROS)的主要来源, ROS 是细胞凋亡的信使分子和效应分子, 凋亡时线粒体生成 ROS 增多; ④线粒体渗透转变孔(permeability transition pore, PT pore)通透性增高。PT 孔的开放可导致线粒体呼吸链解耦联, 并且线粒体内的 cyt C 可通过开放的 PT 孔释放至胞质, 进而触发 caspase 级联反应。PT 孔开放抑制剂, 如环孢素(cyclosporin), 能够阻断细胞凋亡, 表明 PT 孔在凋亡过程中共有重要作用。

(三) 细胞凋亡的检测方法

细胞凋亡具有明显的形态学和生理生化特征, 常用的检测方法如下:

1 基于形态学的方法

根据凋亡细胞固有的形态特征, 已有不同的细胞凋亡形态学检测方法: 光学显微镜和倒置显微镜; 荧光显微镜和共聚焦激光扫描显微镜; 透射电子显微镜观察。

1.1 电子显微镜检查

凋亡和另外一种主要的细胞死亡类型“坏死”(Necrosis)有着显著的亚细胞形态差异。凋亡细胞染色质浓聚, 通常沿核膜分布; 整体细胞形态发生变化, 如细胞表面微绒毛状突起消失, 细胞间接触消失, 细胞质浓聚, 形成具有膜结构的包裹着胞浆内容物和核物质的凋亡小体(图 23-2-3)。尽管电镜检查是鉴定凋亡的金标准, 然而其缺点也很明显: 无法定量(电镜一个视野仅能观察一两个细胞),

实验步骤繁琐（固定、切片到拍照）。

图 23-2-3 凋亡的亚细胞显微特征（新增）

1.2 细胞核形态染色

凋亡细胞中形态学特征是染色质浓聚，且细胞核结构在凋亡后期崩解。核形态染色采用的是 DAPI 和 Hoechst 系列荧光染料。这些染料特异性强，荧光性能好，可自由穿透细胞膜，直接对核染色，而不需要固定、破膜步骤。此方法实验操作简单、成本低廉之外，核形态染色的优势还在于它是一个定量指标（图 23-2-4）。

图 23-2-4 凋亡细胞的荧光显微镜特征（新增）

2. 基于细胞功能的方法

2.1 线粒体膜电位检测

凋亡过程会涉及线粒体功能的失调，包括线粒体膜电位差（ $\Delta \psi$ ）的降低甚至丢失。JC-1 是一种对电位敏感的染料，在低浓度或低线粒体膜电位差的情况下，JC-1 以单体存在，488 nm 激光激发后呈绿色荧光；在高浓度（水相中 $>0.1\mu\text{M}$ ）或高线粒体膜电位差的情况下，JC-1 形成 J-聚集物，488nm 激发后呈红橙色荧光。JC-1 只能用来判断线粒体膜电位是否丢失，而不能解释丢失多少。后面又有实用型的 TMRM 或者 TMRE（四甲基罗丹明甲酯或乙酯）来检测线粒体膜电位差。TMRM 或 TMRE 可被 488nm 激发，呈红橙色荧光，其荧光

强度和 $\Delta \psi$ 具有一定线性关系。相比 JC-1，这两种染料非常容易溶解，且加载时间短（15-20 min）。

2.2 细胞膜表面磷脂酰丝氨酸检测

也叫 Annexin V/PI 双染法。细胞凋亡中期，PS 外翻。Annexin V 是一种 Ca^{2+} 依赖的对 PS 具有高度亲和力的磷脂结合蛋白，因此可以用荧光标记的 Annexin V 检测 PS 的外翻。凋亡末期，细胞膜结构受损，原本不透膜的核酸染料（如 PI、7-AAD 等）也能进入细胞，从而产生信号。分别检测 Annexin V 和不透膜核酸染料的信号，可对凋亡中期和末期细胞的比例进行定量。

3. 基于生化标记的方法

3.1 凋亡分子标记检测

Caspase 家族在介导细胞凋亡的过程中起着非常重要的作用，其中 caspase-3 为关键的执行分子。Caspase-3 正常以酶原（32KD）的形式存在于胞浆中，在凋亡的早期阶段，它被激活，活化的 Caspase-3 由两个大亚基（17KD）和两个小亚基（12KD）组成，裂解相应的胞浆胞核底物，最终导致细胞凋亡。但在细胞凋亡的晚期和死亡细胞，caspase-3 的活性明显下降。

3.2 凋亡相关蛋白 TFAR19 蛋白检测

TFAR19 (PDCD5) 是促进细胞凋亡的增强剂。利用荧光素 (FITC) 标记的 TFAR19 单克隆抗体为探针，发现凋亡早期 TFAR19 表达水平增高并出现快速核转位现象，伴随着细胞核形态学的变化，持续较长时间，在凋亡小体中仍然可见。凋亡早期 TFAR19 蛋白的核转位早于

磷脂酰丝氨酸 (PS) 外翻和细胞核 DNA 的片段化, 提示 TFAR19 蛋白的核转位是细胞凋亡更早期发生的事件之一。进一步的研究证明, 凋亡早期 TFAR19 的核转位具有普遍意义, 不同细胞凋亡早期均出现 TFAR19 高表达和核转位。

3.3 DNA 损伤检测

细胞凋亡时主要的生化特征是其染色质发生浓缩, 染色质 DNA 在核小体单位之间的连接处断裂, 形成 50~300kbp 长的 DNA 大片段, 或 180~200bp 整数倍的寡核苷酸片段, 在凝胶电泳上表现为梯形电泳图谱 (DNA ladder)。细胞经处理后, 采用常规方法分离提纯 DNA, 进行琼脂糖凝胶和溴化乙啶染色, 在凋亡细胞群中可观察到典型的 DNA ladder。

3.4 TUNEL 法

细胞凋亡中, 染色体 DNA 双链断裂或单链断裂而产生大量的粘性 3'-OH 末端, 可在脱氧核糖核苷酸末端转移酶 (TdT) 的作用下, 将脱氧核糖核苷酸和荧光素、过氧化物酶、碱性磷酸酶或生物素形成的衍生物标记到 DNA 的 3'-末端, 从而可进行凋亡细胞的检测, 这类方法称为脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法 (terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling, TUNEL)。由于正常的或正在增殖的细胞几乎没有 DNA 的断裂, 因而没有 3'-OH 形成, 很少能够被染色。

(三) 细胞凋亡的途径

按照起始 *caspase* 的不同, 可将哺乳细胞的凋亡分为三种基本的

途径。一种称为外在途径(extrinsic pathway)，由细胞表面的死亡受体如 Fas 和肿瘤坏死因子受体家族(tumour necrosis factor receptor, TNF-R) 引发；另一种称为内在途径(intrinsic pathway)或线粒体途径(mitochondrial pathway)，由许多应激条件、化学治疗试剂和药物所起始；第三种途径是内质网应激所导致的 caspase-12 的活化，从而导致凋亡。

1. 细胞凋亡的死亡受体途径

胞外的死亡信号可通过死亡受体转入细胞内。死亡受体 (death receptor, DR) 是一类跨膜蛋白，属于肿瘤坏死因子受体(TNF-R) 基因家族成员，拥有富含 Cys 的胞外结构域和胞内死亡结构域(DD)。当死亡受体与特定的死亡配体结合后，激活细胞内的凋亡机制，诱导细胞凋亡。目前凋亡的死亡受体信号通路主要有 3 条： Fas、TNFR1、TRAIL。

1.1 Fas 信号通路

Fas(名 Apo1 或 CD95)，是细胞表面分子量为 48kD 的 I 型转膜蛋白。Fas 由胞浆的 C 末端区、跨膜区、胞膜外的 N 末端区三部分组成。胞内区含有死亡结构域 DD，在传递凋亡信号中发挥关键性作用，但其 C 末端 15 个氨基酸若被除去，则细胞对凋亡的敏感性增强，因此也被认为是死亡抑制域；疏水性的跨膜区由 19 个 aa 组成；胞外的 N 末端区含有 3 个半胱氨酸富含域 (CRD)，是配体结合区域。Fas 在细胞程序性死亡过程中起重要的生理调节作用，并且与多种恶性肿瘤和免疫系统疾病的发病机理有关。大部分研究表明 Fas/FasL 体

系主要功能是参与诱导细胞凋亡，其是否参与细胞增殖转化、活化还未被确定。FasL 是 Fas 的配体，是由 281 个 aa 组成的分子量为 40kD 的 I 型转膜蛋白，也分为胞内区、跨膜区和胞外区三部分。

Fas/FasL 诱导细胞凋亡是 Fas 受体与 FasL 三聚体结合，通过胞质区的 DD 诱导凋亡的发生。细胞内的 DD 聚集成簇募集 FADD、Daxx、FAP-1、FLIP 等相关蛋白。FADD 通过死亡效应结构域 DED (death effector domain)募集 pro-caspase8 形成死亡诱导信号传导复合物 (death inducing signaling complex, DISC)。Pro-caspase 8 被水解切割成有活性的 caspase-8。Caspase-8 的激活将会引发 caspase 激活的级联效应，最终激活凋亡的执行人 caspase-3，引起细胞死亡。FLIP 包含 DED，能够整合到死亡受体的 DISC 中，FLIP 通过竞争性结合 FADD 上的 DED 或 Caspase8 上的 DED 从而抑制 pro-caspase8 的激活 (图 23-2-5)。

图 23-2-5 细胞凋亡的 Fas 信号通路 (新增)

1.2 TNFR1 信号通路

TNF 三聚体与 TNFR1 结合后诱导 TNFR1 的 DD 聚集募集衔接蛋白 TRADD，TRADD 可募集 TRAF2、RIP 和 FADD 等信号分子。TRAF2 和 RIP 可激活 NF- κ B 和 JNK/AP 信号通路，而 FADD 可以激活 Caspase 级联反应，衔接蛋白 TRADD 募集信号分子的差异，决定了

细胞的生存或死亡。衔接蛋白 TRADD 与 FADD 结合后，FADD 通过 DED 募集并激活 pro-caspase8，形成具有活性的 Caspase8，Caspase8 引发 Caspase 级联反应介导细胞凋亡；FADD 同时可募集 FLIP，抑制释放活性 Caspase8。当衔接蛋白 TRADD 通过 DD 与 RIP 结合时，激活 TNFR 相关因子（TRAF-2），TRAF-2 可以结合 TRAF-1，募集 cIAPs，形成的复合物抑制 Caspase8 的活性和释放，从而抑制细胞凋亡（图 23-2-6）。

图 23-2-6 细胞凋亡的 TNFR1 信号通路（新增）

1.3 TRAIL 信号通路

TNF 相关的凋亡诱导配体（TRAIL）属于 II 型跨膜蛋白。目前为止，发现至少 5 种。分别是诱骗受体 TRAILR3（DcR1）、TRAILR4（DcR2）、OPG；死亡受体 TRAILR1（DR4）、TRAILR2（DR5）、诱导受体主要存在于正常细胞中，当与配体 TRAILR 结合后，可形成无功能的复合物，阻碍细胞凋亡。TRAILR1、TRAILR2 在癌细胞中的表达量明显增高，与配体 TRAIL 结合后，通过 DD 与 FADD 结合，募集 pro-caspase8，形成 DISC，DISC 中的 pro-caspase8 自我剪切成具有活性的 Caspase8，Caspase8 通过与 Fas 相似的 Caspase 途径和线粒体依赖途径激活 Caspase3，从而介导细胞凋亡（图 23-2-7）。

图 23-2-7 细胞凋亡的 TRAIL 信号通路（新增）

2. 细胞凋亡的线粒体途径

当线粒体的膜电位下降，膜通透性增加，线粒体内促凋亡因子（例

如：Cyt C、AIF、SMAC/DIABLO、HTRA2/OMI、ENDO G) 释放到胞质中。Cyt C 释放到胞内以后，与 Apaf-1 相互作用，在 ATP 和 dATP 的协助下形成凋亡复合体，凋亡复合体通过招募并激活 pro-caspase9，形成 Caspase9 全酶。Caspase9 全酶进一步激活效应 Caspase3 和 Caspase7，启动 Caspase 级联反应，切割细胞中如 α -tubulin、Actin、PARPA、Lamin 等底物，最终导致细胞凋亡。凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis, IAPs) 可以抑制 Caspase3、Caspase7 激活，从而抑制细胞凋亡。SMAC/DIABLO、HTRA2/OMI 从线粒体释放到胞内后与 IAPs 结合后，解除 IAPs 的抑制作用从而间接促进凋亡。随着线粒体膜电位的改变，释放到胞内的还有 AIF、ENDO G。随后 AIF、ENDO G 会被转运至细胞核。AIF、ENDO G 引起细胞核中的染色体凝聚和 DNA 片段化，从而导致细胞凋亡(图 23-2-8)。

图 23-2-8 细胞凋亡的线粒体途径 (新增)

3. 细胞凋亡的内质网信号途径

内质网在维持细胞 Ca^{2+} 离子的稳定、蛋白的合成、加工中起到关键性作用。内质网腔内 Ca^{2+} 离子失衡、错误折叠或未折叠蛋白增多，会引起内质网的应激反应(endoplasmic reticulum stress, ERS)。ERS 可减少蛋白质的合成、增加蛋白正确折叠、维持 Ca^{2+} 稳态，但过度的应激反应会触动细胞内的凋亡信号，诱导位于内质网膜的 Caspase-12 的表达，同时诱导胞质的 Caspase-7 转移到内质网表

面, Caspase-7 可激活 Caspase-12, 进一步激活 Caspase-3 从而引发细胞凋亡 (图 23-2-9)。

图 23-2-9 内质网相关的凋亡途径 (引用原版图 23-6)

(四) 细胞凋亡的执行

(一) 天冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白水解酶

天冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白水解酶 (cysteine aspartic acid specific protease, Caspase) 的发现源于秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 细胞凋亡的研究。目前在哺乳类动物中已经发现 15 种 Caspase 家族成员在凋亡过程中发挥着不同的作用, 可分为两类: 一类是凋亡的起始者, 包括 Caspase-2, 8, 9, 10, 11; 另一类是凋亡的执行者, 包括 Caspase-3, 6, 7。起始者负责对执行者进行切割并使其活化; 执行者负责切割细胞核内和细胞质中的结构蛋白和调节蛋白。起始 Caspase 中, caspase-8 和 caspase-10 含有死亡结构域 (death effector domain, DED), 而 Caspase-2 和 Caspase-9 则含有 Caspase 募集结构域。这两种结构域也存在一些凋亡相关的接头蛋白中, 通过结构域间的聚合, 被募集到上游信号复合物中。

Caspase-3 是最为重要的凋亡执行者, 能够被凋亡起始者 (caspase-8, caspase-9, caspase-10) 激活。Caspase-3 特异性的激活 endonuclease CAD。在凋亡细胞, 活化的 Caspase-3 能够裂解 ICAD (inhibitor of CAD), 释放出 CAD。CAD 随后从线粒体中释放并转移至核内, 在核小体间切割 DNA, 形成 200bp 的 DNA 片段, 同时 Caspase-3 还可以切割核纤层蛋白使核纤层解聚, 并对核孔蛋白和

支架蛋白进行切割，使细胞核内外信号传递终断，导致染色质凝聚，产生凋亡小体等。

（二）Caspase 效应机制

正常活细胞因为核酸酶处于无活性状态，而不出现 DNA 断裂，这是由于核酸酶和抑制物结合在一起。Caspase 激活的脱氧核糖核酸酶（caspase-activated deoxyribonuclease CAD），可以裂解这种抑制物而激活核酸酶，其抑制物称为 ICAD。正常情况下，CAD-ICAD 以无活性的复合物形式存在。ICAD 一旦被 Caspase 水解，即赋予 CAD 以核酸酶活性，DNA 片段化即产生。破坏细胞结构 Caspase 可直接破坏细胞结构，如裂解核纤层。调节蛋白功能 Caspase 可作用于几种与细胞骨架调节有关的酶或蛋白，改变细胞结构。其中包括凝胶原蛋白(gelsin)、聚合黏附激酶(focal adhesion kinase, FAK)、P21 活化激酶 α (PAK α) 等。Caspase 可裂解凝胶原蛋白而产生片段，使之不能通过肌动蛋白(actin)纤维来调节细胞骨架。除此之外，Caspase 还能灭活或下调与 DNA 修复有关的酶、mRNA 剪切蛋白和 DNA 交联蛋白。由于 DNA 的作用，这些蛋白功能被抑制，使细胞的增殖与复制受阻并发生凋亡。所有这些都表明 Caspase 以一种有条不紊的方式进行“破坏”，它们切断细胞与周围的联系，拆散细胞骨架，阻断细胞 DNA 复制和修复，干扰 mRNA 剪切，损伤 DNA 与核结构，诱导细胞表达可被其他的细胞吞噬的信号，并进一步使之降解为凋亡小体。

（三）凋亡的调节

细胞凋亡受到严格调控,正常细胞 Caspase 处于非活化的酶原状态。凋亡程序一旦开始, Caspase 被活化,随后发生凋亡蛋白酶的层叠级联反应,发生不可逆的凋亡。迄今为止,人类已发现多种凋亡抑制分子,包括 p53, CrmA, IAPs, FLIPs 以及 Bcl-2 家族的凋亡抑制分子。

(1) p53 和 CrmA: 是广谱凋亡抑制剂, p53 以竞争性结合方式与靶分子形成复合体并且抑制 Caspases 活性,同时 p53 被靶 Caspases 特异切割,切割后的 p53 与 caspase 的结合更强。CrmA (Cytokine response modfer A) 是血清蛋白酶抑制剂,能够直接抑制多种蛋白酶的活性。

(2) FLIPs (FLICE-inhibitory proteins): 能抑制 Fas/TNFR1 介导的细胞凋亡。FLIPs 通过 DED 功能区,与 FADD 和 Caspase-8, 10 结合,拮抗它们之间的相互作用,从而抑制 Caspase-8, 10 募集到死亡受体复合体和它们的起始化。

(3) 凋亡抑制蛋白 (inhibitors of apoptosis protein, IAPs): 为一组具有抑制凋亡作用的蛋白质。它们主要抑制 Caspase-3, 7, 而不结合它的酶原,对 Caspase 则既可以结合活化的,又可结合酶原,进而抑制细胞凋亡。

(4) Bcl-2 家族: 这一家族有众多成员,如 Mcl-1、NR-B、A1、Bcl-w、Bcl-x、Bax、Bak、Bad、Bim 等,它们分别既有抗凋亡作用,也有促凋亡的作用。Bcl-2 成员之间的二聚体化是成员之间功能实现或功能调节的重要形式。Bc-2 生理功能是阻遏细胞凋亡,延长细胞

寿命，在一些白血病中 Bcl-2 呈过度表达。Bcl-2 的亚细胞定位已经明确，它在不同的细胞类型可以定位于线粒体、内质网以及核膜上，并通过阻止线粒体细胞色素 C 的释放而发挥抗凋亡作用。此外，Bcl-2 具有保护细胞的功能，Bcl-2 的过度表达可引起细胞核谷胱苷肽（GSH）的积聚，导致核内氧化还原平衡的改变，从而降低了 Caspase 的活性。Bax 是 Bcl-2 家族中参与细胞凋亡的一个成员，当诱导凋亡时，它从胞液迁移到线粒体和核膜。总之，细胞凋亡的调节是非常复杂的，参与的分子也非常多，还有很多不为我们所知的机制需要我们进一步的探索。

（五）细胞凋亡的影响因素

随着细胞凋亡在医学、生物学方面研究的深入，能诱导细胞凋亡的因素越来越多。

1. 细胞凋亡的诱发因素

(1) 生理性诱导因子: 肿瘤坏死因子 (TNF) 及其家族中 Fas 配体 (FasL)、转化生长因子 β (TGF- β)、神经递质 (谷氨酸, 多巴胺, N-乙酰-D-天门冬氨酸)、 Ca^{2+} 、糖皮质激素等

(2) 损伤相关因子: 热休克、病毒感染、细菌毒素、原癌基因 (如 *myc*, *rel*, 腺病毒 *E1A* 等)、抑癌基因 (如野生型 p53 基因)、细胞毒性 T 淋巴细胞、氧化剂、自由基、缺血、缺氧等。

(3) 疾病治疗相关因子: 化疗、放疗、生物治疗、中药治疗等。

(4) 其他有某些细胞毒性物质:如乙醇、氧化砷、 β -淀粉样肽等。

2. 细胞凋亡的抑制因素

(1) 生理性抑制因子:如 *bcl-2* 原癌基因、突变型 *p53*、各种生长因子、细胞外基质、CD40 配体、一些中性氨基酸、锌以及雌、雄激素。

(2) 病毒基因:如腺病毒 E1B、杆状病毒、牛痘病毒 *crmA*、EB 病毒 *BHRFI* 及 *LMP-1*、单纯疱疹病毒等基因。

(3) 其他:线虫的 *ced-9* 基因、半胱氨酸蛋白酶抑制剂、钙蛋白酶抑制因子、促癌剂(如 *PMA* 等)。

(六) 细胞凋亡的意义

理论意义:程序性细胞死亡在生物发育和维持正常生理活动过程中非常重要。在发育过程中,细胞不但要恰当地诞生,而且也要恰当地死亡。人体内细胞的诞生和死亡处于一个动态平衡阶段,一个成年人体内每天都有上万亿细胞诞生,同时又有上万亿细胞“程序性死亡”。两者处于一种动态平衡中,使人体器官维持合适的细胞数量得以正常运作的,正是“程序性细胞死亡”机制。(又如蝌蚪尾的消失,骨髓和肠的细生物发育过程中及成体组织中正常的细胞凋亡有助于保证细胞只在需要它们的时候和需要它们活的地方存活。这对

于多细胞生物个体发育的正常进行，自稳平衡的保持以及抵御外界各种因素的干扰方面都起着非常关键的作用。)

实践意义：如果调节细胞“自杀”的基因出了问题，该死亡的细胞没有死亡，反而继续分裂繁殖，便会导致有问题或恶性细胞不受控制地增长，比如癌症；如果基因错向不该死的细胞发出“自杀令”，不让之分裂繁殖，使不该死亡的淋巴细胞大批死亡，便破坏了人体的组织或免疫系统，比如艾滋病。

控制“程序性细胞死亡”的基因有两类：一类是抑制细胞死亡的；另一类是启动或促进细胞死亡的。两类基因相互作用控制细胞正常死亡。如果能发现所有的调控基因，分析其功能，研究出能发挥或抑制这些基因功能的药物，那么人类就能够敲响癌症和艾滋病的丧钟。

二、细胞坏死

细胞坏死是有别于细胞凋亡的另一种典型方式。细胞受到意外损伤，如极端的物理、化学因素或严重的病理性刺激，此时细胞内ATP浓度已无法维持细胞存活，能量的下降使钠钾泵难以运作，细胞通透性增高。与此同时，糖酵解造成糖原减少，乳酸增多，细胞内酸度增加，内质网损伤，蛋白质合成发生障碍，进一步导致溶酶体膜损伤，各种水解酶被释放到细胞质基质中，使得细胞内其他结构的损伤进一步加重，细胞质出现空泡，细胞质膜破损，

细胞内含物，包括膨大和破碎的细胞器以及染色质片段释放到胞外，引起周围组织的炎症反应。与细胞凋亡不同，细胞坏死过程中染色质不发生凝集，也不产生有规律的 200 bp 的 DNA 降解片段，而是被随机降解，电泳时呈现弥散性分布，俗称“拖尾”现象，可以利用这一现象区分细胞凋亡和坏死。

细胞坏死可能在细胞的免疫反应中发挥重要作用。一方面，细胞感染病毒等病原体后，可能通过“自杀”方式消灭病原体，如果此时凋亡不能正常发生，坏死可以作为凋亡的“替补”方式被细胞采用。研究发现，病毒为了保证自我复制顺利完成，防止宿主细胞提前“自杀”，除了携带抑制凋亡的基因，还会携带抑制坏死的基因。另一方面，被感染的细胞坏死后，胞内的病原体信号分子如病毒核酸等被释放出来，能够被免疫细胞识别，促发固有免疫反应。目前，对于细胞坏死的分子机制的解析正在进行。

（一）细胞坏死的机制

细胞坏死的细胞因子中，包括细胞因子 IL-1, TNF, IFN, FAS 和 TRAIL 等这些细胞因子不仅能够启动细胞坏死程序，而且能够启动细胞凋亡程序。如在糖尿病中，胰腺的 β 细胞在细胞因子 IL-1 β , TNF- α 和 IFN- γ 作用下，发生细胞坏死和凋亡；离子通道，细胞死亡常常伴随着无机离子平衡的严重破坏。当细胞损伤后，细胞内钙离子、质子、钠离子、钾离子和氯离子等与细胞周围环境交换。在免疫反应中，巨噬细胞产生的 ROS 和 RNS 对细胞坏死具有调节作用。H₂O₂ 作为 ROS 的一种成分，能够引起细胞坏死和凋亡，同时能够被抗氧化剂谷胱甘肽或 NAC 拮抗；蛋白激酶：蛋白激酶 MAPK 家族 JNK 是应

激反应诱导细胞凋亡中的主要激酶。经研究 JNK 激酶参与了坏死性细胞死亡程序。在大脑中动脉阻塞引起缺血性疾病研究中发现，缺血后 4h 蛋白激酶 JNK 和 p38 表达增强。

（二）细胞凋亡与坏死的区别

细胞凋亡与细胞坏死不同，细胞凋亡不是一件被动的过程，而是主动过程，它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用，它并不是病理条件下，自体损伤的一种现象，而是为更好地适应生存环境而主动争取的一种死亡过程。

虽然凋亡与坏死的最终结果极为相似，但它们的进程与表现却有很大差别。坏死 (necrosis)：坏死是细胞受到强烈理化或生物因素作用引起细胞无序变化的死亡过程。表现为细胞胀大，胞膜破裂，细胞内容物外溢，核变化较慢，DNA 降解不充分，引起局部严重的炎症反应。凋亡是细胞对环境的生理性病理性刺激信号，环境条件的变化或缓和性损伤产生的应答有序变化的死亡过程。其细胞及组织的变化与坏死有明显的不同（表 23-2-1，图 23-2-10）。

表 23-2-1 细胞凋亡与坏死的区别（引用上版 表 23-2）

图 23-2-10 细胞凋亡与坏死的形态区别（引用上版 图 23-

三、自噬性细胞死亡

近年来，一种新的程序性细胞死亡方式-自噬性程序性细胞（autophagy）死亡吸引了越来越多细胞生物学家的注意。人们将 autophagy 称为 II 型程序性细胞死亡，表现为细胞浆中出现大量包裹着细胞浆和细胞器的空泡结构和溶酶体对空泡内成分的降解。自噬在细胞的生长、发育和疾病发生中起着重要的作用。随着参与自噬性程序性细胞死亡途径的关键分子的鉴定成功，我们对其分子机制、生理功能和在病理过程中的作用有了进一步的了解。

（一）自噬的概念

自噬 (autophagy) 是亚细胞膜结构发生动态变化并经溶酶体介导对细胞内蛋白质和细胞器降解的过程。自噬稳定细胞内环境，维持细胞的存活。然而，过度自噬可导致细胞发生 II 型程序性细胞死亡，是凋亡之外的第二种程序性细胞死亡方式，在进化过程中高度保守，从酵母、果蝇到脊椎动物和人都可以找到参与 autophagy 的同源基因。相对于主要降解短半衰期蛋白质的泛素-蛋白酶体系统，细胞的自噬被认为是参与绝大多数长半衰期蛋白质的降解。在形态学上，即将发生 autophagy 的细胞胞浆中出现大量游离的膜性结构，称为前自噬泡 (preautophagosome)。前自噬泡逐渐发展，成为双层膜结构的空泡，其中包裹着变性坏死的细胞器和部分细胞浆，这种双层膜被称为自噬泡 (Autophagosome)。自噬泡的外膜与溶酶体膜融合，

内膜及其包裹的物质进入溶酶体腔，被溶酶体中的酶水解。此过程使进入溶酶体中的物质分解为其组成成分（如蛋白质分解为氨基酸，核酸分解为核苷酸），并被细胞再利用，这种吞噬了细胞内成分的溶酶体被称为自噬溶酶体（autophagolysosome or Autolysosome）。尽管在进化过程中，底物运送到溶酶体的机制发生了变化，autophagy 本身却是一个进化保守的过程。与其他蛋白水解系统相似，溶酶体参与了细胞内组成成分的持续性转运和翻新（尤其是长半衰期蛋白质的分解和再利用）。在 autophagy 过程中，除可溶性胞浆蛋白之外，像线粒体、过氧化物酶体等细胞器或细胞器的一部分，如高尔基体和内质网的某些部分都可被溶酶体所降解。自噬作为一种细胞生存的机制，在很多生理过程如抵抗营养缺乏、清除过剩或损坏的细胞器上发挥重要的作用。

（二）自噬性细胞死亡的定义

自噬性细胞死亡（autophagic cell death），又称为II型程序性细胞死亡，细胞在外界环境因素的影响下，细胞对其内部受损的细胞器、错误折叠的蛋白质和侵入其内的病原体进行降解的生物学过程。现在一般认为自噬一旦被过分的激活，就会导致细胞“自杀”——程序性细胞死亡。这种“自噬性细胞死亡”被定义为II型程序性细胞死亡（programmed cell death）。形态学表现：在电镜下细胞内出现由于“吞食”大量的细胞质和（或）细胞器而形成的双层膜的自噬体为形态学特征。肿瘤细胞的自噬能力低于正常细胞。提示了细胞的自噬活动和肿瘤发生间可能存在着负相关。

（三）自噬的分类

根据细胞内底物运送到溶酶体腔方式的不同，哺乳动物细胞自噬可分为三种主要方式：大自噬（macroautophagy）、小自噬（microautophagy）和分子伴侣介导的自噬（chaperone-mediated autophagy）。在大自噬形式的 autophagy 中，细胞浆中可溶性蛋白和变性坏死的细胞器被非溶酶体来源的双层膜结构所包裹，即前面提到的自噬泡（autophagosome），并由自噬泡将其携带到溶酶体中降解加工；小自噬形式的 autophagy 与之不同，溶酶体膜自身变形，包裹吞噬细胞浆中的底物。在大自噬和小自噬两种形式的 autophagy 中，底物被其所包裹的膜性结构带至溶酶体后，均发生膜的迅速降解，进而释放出其中的底物，使溶酶体中水解酶对底物进行有效水解，保证了细胞对底物的再利用。分子伴侣介导的自噬与细胞凋亡的区别。伴侣 Hsc73 识别底物蛋白分子的特定氨基酸序列（如 KFERQ-样模体）并与之结合，分子伴侣-底物复合物与溶酶体膜上的受体 Lamp 2a (Lysosome associated membrane protein 2a) 结合后，底物去折叠；溶酶体腔中的另外一种分子伴侣介导底物在溶酶体膜的转位，进入溶酶体腔中的底物在水解酶作用下分解为其组成成分，被细胞再利用。因此，自噬可被认为是真核细胞中广泛存在的降解/再循环系统（图 23-2-11）。

图 23-2-11 细胞自噬（引用原版图 23-7）

（四）细胞自噬死亡与细胞凋亡的区别联系

细胞自噬死亡与细胞凋亡在一定的细胞环境和刺激物的作用下，两者相互关联。自噬可能是细胞凋亡的一种前奏，自噬发生于细胞凋亡之前，特异性地抑制自噬可延迟细胞凋亡，然而，特异性地抑制细胞凋亡确不能影响细胞自噬；自噬可拮抗或延迟细胞凋亡，特异性地抑制自噬能增加细胞对凋亡的敏感性，这可能因为自噬能通过清除损伤的线粒体而减弱凋亡的信号传导。细胞自噬死亡与细胞凋亡可能作为彼此的后备机制执行不可逆细胞死亡的指令（图 23-2-12）。

图 23-2-12 细胞死亡的三种方式 （引用原版图 23-8）

四、细胞凋亡与临床医学

细胞凋亡之所以成为人们研究的一个热点，在很大程度上决定于细胞凋亡与临床的密切关系。这种关系不仅表现在凋亡及其机制的研究，阐明了一大类免疫病的发病机制，而且由此可以导致疾病新疗法的出现，特别是细胞凋亡与肿瘤及艾滋病之间的密切关系备受人们重视。细胞凋亡是机体维持细胞群体数量稳态的重要方式，但细胞凋亡不足或/和凋亡过度，均可成为某些疾病的重要发病机制。细胞凋亡不足可引发肿瘤、自身免疫病等；细胞凋亡过度会引起心血管病、神经元退行性疾病、病毒感染；动脉粥样硬化则是由于细胞凋亡不足与过度并存。

（一）细胞凋亡不足

1. 肿瘤

一般认为恶性转化的肿瘤细胞是因为失控生长，过度增殖，从细胞凋亡的角度看则认为是肿瘤的凋亡机制受到抑制不能正常进行细胞死亡清除的结果。肿瘤细胞中有一系列的癌基因和原癌基因被激活，并呈过表达状态。这些基因的激活和肿瘤的发生发展之间有着极为密切的关系。癌基因中一大类属于生长因子家族，也有一大类属于生长因子受体家族，这些基因的激活与表达，直接刺激了肿瘤细胞的生长，这些癌基因及其表达产物也是细胞凋亡的重要调节因子。许多种类的癌基因表达以后，阻断了肿瘤细胞的凋亡过程，使肿瘤细胞数目增加。因此，从细胞凋亡角度来理解肿瘤的发生机制，是由于肿瘤细胞的凋亡机制，肿瘤细胞减少受阻所致。

1.1 Bcl-2 基因过度表达

多种肿瘤如前列腺癌、结肠癌等 Bcl-2 表达高于周围正常组织，提示肿瘤与细胞凋亡减弱有关。

1.2 P53 基因突变或缺失

细胞凋亡减弱，肿瘤发生率上升。非小细胞肺癌 P53 基因突变率大于 50%，小细胞肺癌高于 80%

2. 自身免疫病

自身免疫病包括一大类难治性的免疫紊乱而造成的疾病，自身反应性 T 淋巴细胞及产生抗体的 B 淋巴细胞是引起自身免疫病的主要免疫病理机制。正常情况下，免疫细胞的活化是一个极为复杂的过程。在自身抗原的刺激作用下，识别自身抗原的免疫细胞被活化，从而

通过细胞凋亡的机制而得到清除。但如这一机制发生故障，那么识别自身抗原的免疫活性细胞的清除就会产生障碍。有人观察到在淋巴增生突变小鼠中观察到Fas编码的基因异常，不能翻译正常的Fas跨膜蛋白分子，如Fas异常，由其介导的凋亡机制也同时受阻，便造成淋巴细胞增殖性的自身免疫疾患。

（二）、细胞凋亡过度

1. 心血管疾病

人类的血管内皮细胞、平滑肌细胞和心肌细胞的凋亡是多种心血管疾病发生与演变的病理学基础。在动脉粥样硬化、心肌病、急性心肌梗死，以及心力衰竭中均伴随着细胞凋亡。近年来对动脉粥样硬化的研究发现，细胞凋亡主要以血管平滑肌细胞和巨噬细胞凋亡为主。窦房结、房室结和希氏束细胞发生过多凋亡，引起心脏传导系统障碍而致心功能不全。

2. 神经退行性病变

老年性痴呆是神经细胞凋亡的加速而产生的。阿尔茨海默病（Alzheimer's disease, AD）是一种不可逆的退行性神经疾病，淀粉样前体蛋白（APP）早老蛋白-1（PS1）早老蛋白-2（PS2）的突变导致家族性阿尔茨海默病（FAD）。研究证明PS参与了神经细胞凋亡的调控PS1、PS2的过表达能增强细胞对凋亡信号的敏感性。Bcl-2基因家族两个成员Bcl-x1和Bcl-2参与对细胞凋亡的调节。

3. 病毒感染

HIV 感染引起艾滋病 (AIDS)，其主要的发病机制是 HIV 感染后特异性地破坏 CD4⁺细胞，使 CD4⁺以及与其相关的免疫功能缺陷。但 HIV 感染后怎样特异性破坏 CD4⁺细胞呢？一般认为，CD4⁺T 淋巴细胞绝对数显著减少的原因，主要是通过细胞凋亡机制造成的。

(三) 细胞凋亡不足与过度并存-动脉粥样硬化

动脉粥样硬化 (AS) 过程中，血管平滑肌细胞增殖升高。为了抵抗平滑肌增殖过度，防止血管壁增厚，血管平滑肌细胞凋亡也增强，但血管平滑肌细胞的增殖始终占主导地位。增殖大于凋亡，使血管壁增厚。因此，促进血管平滑肌细胞凋亡防止过度增殖是抗 AS 的新思路。

(四) 细胞凋亡在疾病中的意义

1. 合理利用凋亡相关因素

可以应用 TNF α 诱导凋亡治疗某些肿瘤。例如抑制 Bcl-2 抗凋亡作用；激活 ICE，促进凋亡细胞解体；引发氧化应激，增强 P53 的抗凋亡作用

2. 干预凋亡信号转导

应用药物、凋亡信号转导系统中的酶类、代谢产物等干预凋亡信号转导，促进该凋亡的细胞凋亡，用于凋亡相关疾病的治疗。临床上采用阿霉素刺激肿瘤细胞 Fas/FasL 表达，促进凋亡；SPP 具有传递增殖信号拮抗凋亡作用，可用于治疗 AIDS，老年性痴呆。

3. 调节凋亡相关基因

运用分子生物学手段人为地控制凋亡相关基因的表达，便可能控制凋亡过程。用各种载体(如：腺病毒、逆转录病毒或脂质体)将野生型 P53 基因导入 P53 基因发生突变的肿瘤细胞内，恢复“分子警察”的职责，诱导肿瘤细胞凋亡。用“基因封条”即反义 DNA，来抑制 Bcl-2 表达，提高对抗癌药物的敏感性。

4. 控制凋亡相关的酶

核酸内切酶和 caspases 是凋亡执行阶段的关键酶。若能抑制它们的活性，细胞凋亡过程必然受阻；反之，则加速。比如将 Caspases 基因转入白血病细胞可其加速凋亡。Caspases 抑制剂 ZVAD.fmk 可减少心肌细胞凋亡。

5. 防止线粒体跨膜电位的下降

线粒体功能失调在细胞凋亡的发生中起关键作用。因此，维持线粒体跨膜电位可防止细胞凋亡的发生。环孢霉素 A 具有阻抑线粒体 $\Delta\psi_m$ 下降的作用，因而对防止细胞凋亡有一定作用。其衍生物具有较强稳定的线粒体 $\Delta\psi_m$ 的作用，但免疫抑制作用已基本消失，有很好抗凋亡前景。

本章小结

细胞的衰老和死亡是生物界发展的普遍规律。人类对于衰老的研究自古有之，国内国外都是如此。随着现代科学技术的发达，衰老的

研究开始转向细胞、分子水平，并取得了许多实质性的进展。2009年，3位美国科学家因“发现端粒和端粒酶是如何保护染色体的”相关研究，获得了诺贝尔生理或医学奖。他们的研究成果揭开了人类衰老和罹患癌症等严重疾病的奥秘，端粒学说也在此后成为了衰老研究中的主流学说之一。国内也在多年前开展了众多衰老与疾病的相关研究。最近一篇发表在Nature上的综述还表明，线粒体蛋白酶在人类健康衰老和疾病中也扮演着重要的角色。关于衰老机制的研究现在仍然是非常活跃的领域，并将受到越来越足够的重视。根据目前的情况来看，人体衰老过程是人体内部环境各因素间、人体与外环境各因素间在生命活动的过程中不断相互作用、相互影响的综合性结果，其诱因是多种多样的，其作用机制也是多重性的。所以，衰老可能是多因素、多机制综合作用的结果。

细胞死亡是生命现象不可逆停止及生命的结束，正常的组织中经常发生细胞死亡，是维持组织机能和形态所必需的。细胞死亡包括坏死、凋亡和自噬性死亡三大类型。死亡的原因很多，一切损伤因子只要作用达到一定强度或持续一定时间，从而使受损组织的代谢完全停止，就会引起细胞、组织的死亡。细胞凋亡是指为维持内环境稳定，由基因控制的细胞自主的有序的死亡。细胞凋亡与细胞坏死不同，细胞凋亡不是一件被动的过程，而是主动过程，它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用，它并不是病理条件下，自体损伤的一种现象，而是为更好地适应生存环境而主动争取的一种

死亡过程。自噬性细胞死亡细胞在外界环境因素的影响下，细胞是对其内部受损的细胞器、错误折叠的蛋白质和侵入其内的病原体进行降解的生物学过程。近年来，这一领域取得了令人瞩目的成果。科学家发现控制“程序性细胞死亡”的基因有两类，一类是抑制细胞死亡的，而另一类则启动或促进细胞死亡。这两类基因的相互作用控制了细胞发育的进程。这两种机制的并存，使机体细胞的生与死处于动态的平衡，以确保机体的健康。一旦这种平衡被破坏，疾病就会发生。当细胞的死亡受到抑制时，细胞会无序增长并造成肿瘤发生及形成癌症，反之则导致细胞过度死亡，如受到艾滋病病毒感染时，人体免疫机能被破坏，引发艾滋病。对细胞死亡的研究，有利于疾病机制的阐明，探索疾病的治疗方法，有重要的临床意义。

陈娟)

思考题

- 1 衰老的特征是什么？
- 2 凋亡的概念，形态特征是什么？
- 3 自噬的概念，形态特征？及其与凋亡、坏死的区别是什么？
- 4 凋亡的基本途径有几种？
- 5 凋亡相关的基因有哪些？

