

# 神经系统与细胞凋亡

刘蓉予<sup>1</sup> 苏家麟<sup>2</sup> 于常海<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>上海生命科学研究中神经损伤和再生实验室,上海 200031; <sup>2</sup>香港科技大学生物系,香港)

## 目 录

- |                    |                     |
|--------------------|---------------------|
| 一、PCD 和细胞凋亡        | (五) 死亡细胞残骸的清除       |
| 二、神经细胞凋亡的特征和机制     | 四、PCD 的分子机制         |
| (一) 激活凋亡的因素        | (一) 凋亡的遗传学研究        |
| (二) 凋亡的形态学特征       | (二) 调控神经细胞凋亡的有关分子机制 |
| (三) 与凋亡的形态学特征相关的机制 |                     |
| 三、细胞凋亡与坏死          | 五、凋亡与神经系统发育和神经系统疾病  |
| (一) 相同的触发因子        | (一) 神经系统发育          |
| (二) 可能相同的第二信使及下游因子 | (二) 疾病时的神经元死亡       |
| (三) Bcl2 家族的作用     |                     |
| (四) 线粒体通透性改变       | 六、展望                |

细胞凋亡 (apoptosis) 是形态上明显区别于细胞坏死 (necrosis) 的另一种细胞死亡方式, 在神经系统的发育中起着重要的作用。例如, 在大鼠、小鼠、鸡及人的胚胎发育过程中有大约 50% 的处于分裂期后的神经元会自然死亡 (Oppenheim, 1991)。通常认为, 神经元在这个阶段自然发生的死亡为细胞凋亡。近来有证据表明, 细胞凋亡也参与了由轴突损伤或神经退行性疾病如肌萎缩性脊髓侧索硬化 (ALS)、老年性痴呆 (AD) 等引起的异常情况下的神经元的死亡过程 (Lo 等, 1995)。本文将细胞凋亡和程序性死亡 (programmed cell death, PCD) 及坏死进行了比较, 概述了细胞凋亡分子机制的最新研究进展, 讨论了凋亡在神经系统正常发育和疾病情况下的作用。

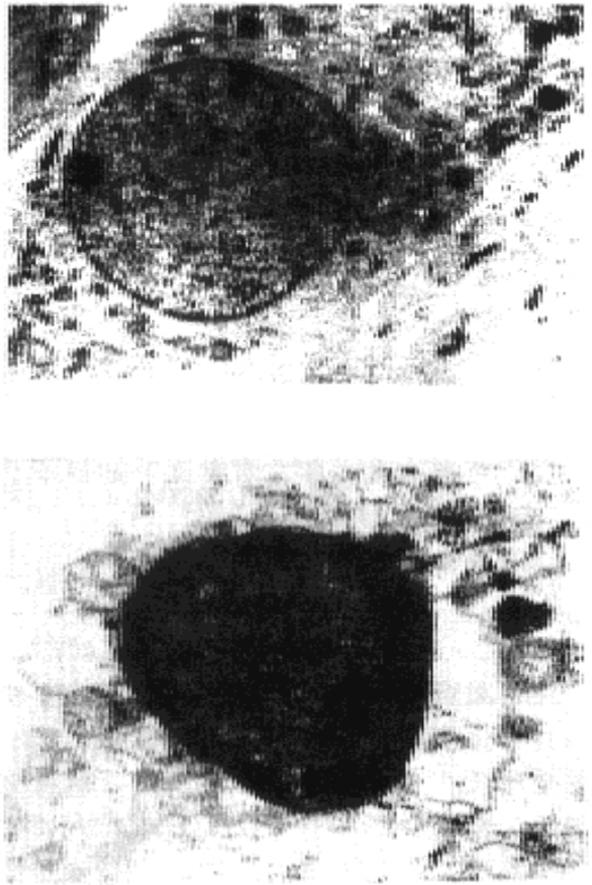
## 一、PCD 和细胞凋亡

PCD 和细胞凋亡是两个概念不同但通常会被误认为是可以互换的名词, 所以有必要将两者首先加以区别。PCD 一词最早出现在报道发现昆虫从幼虫变成蛾期间有一些特定的肌细胞会逐渐死亡的文章里 (Lockshin and Williams, 1964)。从此 PCD 即指以发育为背景的细胞死亡, 与自然发生的死亡 (naturally occurring cell death) 或生理性的死亡 (physiological cell death) 互为同义词。近来, PCD 被一些研究人员增添了新的含义, PCD 应该是由基因介导的, 即被编程 (programmed) 的细胞死亡。细胞凋亡来源于希腊语, 原指季节性的叶子的脱落, 它被生物学家借来描述明显有别于细胞坏死, 但仍以细胞死亡为最终结果的一系列形态学改变, 如细胞皱缩、染色质凝聚等等。细胞凋亡不一定要发生在发育环境下, 而且, 尽管细胞凋亡常

与体内基因的表达,蛋白质的合成及核小体间 DNA 的断裂联系在一起,但是这些并不是凋亡所必需的特征(比如细胞毒性 T 淋巴细胞杀伤靶细胞时),同样,尽管凋亡是许多 PCD 的特征性生化标志,然而不是所有 PCD 都以凋亡的形式发生,一些非凋亡形式的细胞死亡可以在脊椎动物的神经系统中找到(Oppenheim, 1991)。由此看来,PCD 和凋亡是两个不同的概念。

## 二、神经细胞凋亡的特征和机制

(一)激活凋亡的因素 在神经系统的发育过程中凋亡是一个正常而且重要的机体自我修正的过程。通过自然的细胞死亡可以去除过量的神经元,清除表型异常的细胞,纠正发育中出现的错误,使系统间更加匹配以及形成二性异型<sup>[1]</sup>。现在认为当某些细胞不再需要或遭受损伤时凋亡通路将被激活,而激活凋亡的因素包括靶源性营养因子如 NGF (Montalcini 等, 1981, Perezpolo 等, 1990), BDNF (Oppenheim 等, 1992) 和非靶源性因子如传入信息,胶质细胞源性的营养因子,以及激素(Oppenheim, 1991)。某些疾病情况如脑缺血(Natatoki 等, 1995; Koistinaho 等, 1997),神经系统的退行性疾病也可以诱发神经细胞的凋亡(Lo 等, 1995)。并且,凋亡的发生还与神经细胞的类型、成熟度以及所处的发育阶段有关(Milligan 等, 1996)。



附图 脑缺血损伤后具有凋亡特征的培养星形胶质细胞  
电镜照片显示,与正常的培养星形胶质细胞(上图)相比,脑缺血损伤后的培养星形胶质细胞(下图,放大倍数是上图的 2 倍)呈现出细胞核凝缩,染色质沿核膜凝聚等凋亡的典型形态学变化

(二)凋亡的形态学特征 典型的凋亡细胞的形态学变化过程包括:细胞体积减少细胞皱缩,细胞器保持完整无损但紧密压缩,细胞核收缩,染色体 DNA 断裂,染色质沿核膜缩合。然后核裂解成碎块,胞膜逐渐突起形成“大疱”。而后有完整胞膜,包含着核碎片和细胞器的“大疱”从凋亡细胞表面脱离出来,形成所谓的“凋亡小体”。最后凋亡小体被聚集在凋亡细胞周围的吞噬细胞吞噬(Oppenheim, 1991, Fleisher, 1997)。对于凋亡的形态描述最早用于分裂中的免疫细胞,就不同类型的细胞而言,发生凋亡时的形态学变化可能不完全一致。例如并非所有的凋亡特征都能在神经细胞中出现,但其中的某些重要指征,如核凝缩、DNA 断裂可以在受到中风损伤而发生凋亡的神经元<sup>[2]</sup>,以及老年性痴呆患者的神经元中找到<sup>[3]</sup>。我们实验室也发现培养的星形胶质细胞暴露在实验性脑缺血的环境下超过 4 小时后出现一些凋亡的形态和生化特征,如核凝缩,染色质沿核膜凝聚(附图)并能检测到 DNA 梯度。

### (三) 与凋亡的形态学特征相关的机制

1. 细胞核的变化和 DNA 碎片: 研究发现细胞凋亡时染色质凝聚, 核膜破裂的现象是由于 lamin 被凋亡激活的 caspases 分解而产生的不可逆结果 (Kaufmann, 1989, Martin 等, 1995)。对于许多细胞来说相当于寡聚核小体大小 (长度约为 180 ~ 200 bp 的倍数) 的 DNA 片段梯度的形成是发生凋亡的典型生化标志, 并标志着细胞死亡过程进行到了终点 (Campto 等, 1992)。这种大小的 DNA 片段的形成是由于 DNA 在核小体处被切割, 从而产生了成倍于 180 ~ 200bp 的 DNA 梯度片段。最近研究发现更大 DNA 片段 (30 ~ 50 和 200 ~ 300kb) 甚至 DNA 切割成单链的现象。对凋亡时 DNA 被切割现象的推测之一是可能激活了内源性的, 依赖于  $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$  的核酸内切酶 (如 Dnase I, DNase II, Nuc218, Nuc21); 二是参与 DNA 修复的酶如 PARP 在凋亡发生时被失活 (Hale 等, 1996)。值得一提的是, 并不是所有的凋亡都会有 DNA 梯度形成。

2. 胞质的变化: 凋亡的另一个显著的形态特征是由于胞内微丝网络重新排列, 细胞分裂成凋亡小体。1991 年 Cotter 发现将 HL260 细胞用可以破坏微丝的松胞素 B 进行预处理后再给予足以引起凋亡的刺激, 仍可以观察到核裂解和 DNA 切割现象, 但看不到凋亡小体。这个实验提示微丝对胞膜破裂至关重要。另外, 还发现细胞凋亡时组织型或 型的转谷氨酰胺酶在胞内选择性聚集。此酶作用之一是将谷氨酰胺残基交连, 而胞内蛋白的交连能稳定将要死亡细胞的胞质, 防止胞内有害物质外泄到胞外而引起炎症反应 (Hale 等, 1996)。因此凋亡通常不激活体内的免疫系统。

3. 凋亡时细胞膜的改变: 凋亡细胞不再与周围的细胞紧密联系, 吞噬细胞在凋亡细胞周围聚集。目前有关吞噬细胞在凋亡细胞周围聚集并发挥吞噬功能的机制并不太清楚。一方面可能存在着某种化学趋化信号分子 (Milligan 等, 1995)。这个被称为脑源性化学趋化因子 (BD2 CF) 通过与巨噬细胞上的受体作用而启动后者的趋化。就中枢神经系统 (CNS) 而言, 有人认为变性的神经元成分就可能充当吸引巨噬细胞的化学趋化性信号。另一方面, 细胞与细胞之间的相互作用也保证了只有正处于死亡状态的细胞将被吞噬。例如正常情况下位于细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine) 在细胞发生凋亡时通过位置倒转暴露于细胞表面, 从而介导细胞的吞噬<sup>[4]</sup>。最近发现被介导的吞噬细胞在向被识别的凋亡细胞迁移, 伸展并包裹的过程中, 需要在吞噬细胞内表达一类蛋白质——Dock180。Dock180 与线虫 ced25 基因编码的蛋白结构相似, 可能两者都参与了细胞骨架重组, 以便吞噬细胞向凋亡细胞伸展<sup>[5]</sup>。

### 三、细胞凋亡与坏死

在描述凋亡的形态学特征时不能不提到另一种更为常见的死亡——坏死。坏死是细胞在受到致死性损伤时发生的不可逆转的死亡。细胞首先表现为细胞膜完整性的破坏, 细胞水肿, 对胞外分子的通透性增加, 细胞器变性, 线粒体内质网肿胀并形成空泡; 核固缩, 染色质缩合, 最终染色质破碎成松散相连的颗粒, 坏死细胞的细胞核消失。坏死的细胞发生由溶酶体参与的自溶或异溶现象, 细胞碎片由被趋化的炎症细胞吞噬清除。

长久以来研究人员都认为凋亡与坏死是截然不同的概念。然而这种观念正受到新的研究结果的挑战。理由是:

(一) 相同的触发因子 许多不同的信号如热休克、病毒、蛋白合成抑制剂、氧化作用、低氧、射线、谷氨酸、一氧化氮等在神经细胞和非神经细胞中既可诱导凋亡又可导致坏死 (Nicotera 等, 1995, Tsujimoto 等, 1996, Journot 等, 1997)。在不足以产生细胞坏死的刺激诱发

下,细胞可能发生凋亡。如处于 45 °C 环境 1 小时后的培养细胞发生坏死,而在 43 °C 条件下则出现细胞凋亡。类似的,低浓度的过氧化氢诱导细胞凋亡而高浓度则产生细胞坏死。而且,细胞类型和所处的发育阶段与细胞的反应也有关系。同样是去除 NGF,发育中的背根神经节感觉神经元发生凋亡,但对成熟的感觉神经元却无影响(Bredesen 等, 1995)。

(二)可能相同的第二信使及下游因子 在两种形式的死亡中都有  $Ca^{2+}$  和应激依赖的转录因子如 c2Fos 的参与。而且一些被认为是凋亡所特有的信号分子 caspase28 p10 也参与了坏死过程(Bredesen 等, 1995)。另外还发现由凋亡受体之一的 CD95 介导的少突胶质的死亡也并非凋亡(Antel 等, 1995)。所以,至少存在一些效应分子在两种死亡方式的比较上游的位置起作用。

(三)Bcl2 家族的作用 以往一直认为 Bcl2 特异性抑制细胞凋亡,现在的研究证明过量表达 Bcl2 也可以抑制诸如病毒、低氧、氧化刺激以及有毒物质引发的细胞坏死。另外令细胞内过量表达 Bcl2 家族另一成员 Bax 可诱导细胞凋亡,但如果使细胞内蛋白酶活化,细胞产生坏死(Bredesen 等, 1995)。

(四)线粒体通透性改变 凋亡和坏死过程中都有线粒体通透性改变。凋亡信号在细胞内转导的共同通路是线粒体通透性改变后引起线粒体跨膜电位丧失<sup>[6]</sup>。而坏死的特征之一就是线粒体通透性改变同时伴有所有的细胞器变性肿胀。这样诱导线粒体通透性改变的刺激的强弱可能就决定了细胞以凋亡和坏死中的何种形式死亡<sup>[7]</sup>。

(五)死亡细胞残骸的清除 以前的观点强调凋亡通过吞噬细胞或邻近细胞的识别和吞噬作用清除死亡细胞,胞内物质不外泄因而不会引起体内的炎症反应。而坏死的细胞当胞膜破裂后被体内炎症反应细胞清除。实际上,凋亡并不是绝对不引起炎症反应。有研究发现一种称为 *shigella flexneri* 的病原体就可引起细胞凋亡时产生炎症反应,其目的在于通过体内的免疫系统来清除入侵的病原体<sup>[8]</sup>。

因此研究人员对凋亡和坏死是否是两种完全不同的死亡形式这一问题逐步有了新的认识。Leist 和 Nicotera<sup>[9]</sup>认为如果细胞死亡程序在进行过程中不受干扰和抑制,细胞就主要产生凋亡样的形态变化,反之,就表现为坏死。换言之,坏死是凋亡程序执行失败后的结果。而 Zamami<sup>[10]</sup>则提出“细胞死亡三部曲”之说。他认为线粒体通透性改变是死亡的第一步,死亡过程第二步的结果有两种:凋亡和坏死,由刺激的强弱程度决定。当线粒体通透性改变迅速发生,严重影响 ATP 产生,在与凋亡有关的蛋白酶激活前坏死就被激活,细胞表现为坏死;反之,线粒体通透性改变发生缓慢,有足够特异的蛋白酶如 caspases 在 ATP 耗竭之前被激活,细胞就进入凋亡。尽管可以肯定凋亡和坏死之间有联系,但目前还不清楚两者之间是怎样联系的。对该问题的解答很大程度上依赖于死亡的分子机制和信号转导通路的研究结果。

#### 四、PCD 的分子机制

(一)凋亡的遗传学研究 对细胞凋亡的分子机制和信号转导途径的研究在过去短短的四五年之间取得了极大的进展。1994 年 Horvitz 首先宣布他们在基因突变的 *C. elegans* 体内发现与 PCD 有关的遗传基础。正常情况下 *C. elegans* 发育为蠕虫过程中体内所有 1 090 个细胞中的 131 个细胞要死亡,有三个基因 *ced23*、*ced24* 和 *ced29* 的突变可抑制这 131 个细胞的自然死亡。*ced23*、*ced24* 为细胞死亡所必需的基因,*ced29* 是阻断死亡的基因。进一步的研究发现,在正常情况下 *ced23*、*ced24* 和 *ced29* 形成三联体。*ced24* 在 *ced23* 从无活性的酶原——前 *ced23* 转化为有活性的蛋白酶过程中起着关键作用(Hengartner 和 Horvitz, 1994),而 *ced29* 与 *ced24*

结合使后者无法发挥作用。ced23 受到 ced29 的负调节,ced29 发挥作用时必需 ced24 存在。ced24 在 ced23 和 ced29 之间起桥梁作用<sup>[11]</sup>。所形成的 ced23 $\downarrow$ ced24 $\downarrow$ ced29“凋亡体”现在被广泛当成细胞死亡受调控的模式<sup>[12]</sup>。陆续还发现其它的基因影响着凋亡的其它方面,如 ced21、-2、-5、-6、-7、-10 为凋亡小体被周围细胞识别和吞噬所必需,ces21 和 ces22 在一定的细胞中决定死亡通路的激活<sup>[2]</sup>。

ced23、ced24 和 ced29 在哺乳类动物中有相对应的基因。ced29 与人类基因 bcl22 有着很高的同源性,如同 ced29 一样,bcl22 能阻断细胞死亡(Oppenheim 等,1994)。ced23 与哺乳类半胱氨酸蛋白酶 ICE 同源(Yuan 等,1993)。刚刚找到的哺乳类基因 Apaf21 与 ced24 同源,与 ced24 功能类似,Apaf21 在哺乳类动物细胞 caspase23 从酶原转化为活性酶的过程中必不可少<sup>[7]</sup>。ced25 编码的蛋白质与人类蛋白 Dock180 相类似,这类蛋白与吞噬细胞的迁移和吞噬功能有关<sup>[5]</sup>。

## (二) 调控神经细胞凋亡的有关分子机制

1. Caspases 在神经细胞死亡中的作用:克隆线虫 ced23 基因时发现 ced23 的表达产物与哺乳类蛋白 ICE 结构类似。以后陆续发现了不下 12 种的与 ICE 相关的蛋白酶,大致可分成 ICE 样的, CPP32 样的和 Ich21 样的蛋白酶 3 个亚群。所有的 ICE 家族成员与底物作用和发挥催化作用的序列相对保守,均在门冬氨酸后切割底物,所以又被称为 caspase (cysteine2aspartate protease) (Alnemri 等,1996)。Yuan 及同事(1994)首先提供了关于 ICE 在神经元死亡中作用的证据。如果从鸡的背根神经节(DRG)注入 ICE 蛋白酶抑制剂,去除 NGF 后神经元仍能存活。Gaglianrdin 等(1994)则发现把 ICE cDNA 注入小鼠的 DRG,即便给予 NGF,神经元仍在一天内死亡。caspase23 缺失的小鼠表现为脑内细胞过度增生和细胞发育失去有序性(Kuida, 1996),而缺失 caspase21 的小鼠的表型却无明显异常(Li, 1995)。最近 Reed 等<sup>[13]</sup>采用亲和性标记技术对激活的 caspase 进行标记、分离、纯化和鉴定,证明了 CPP32 (caspase23) 是神经元和星形胶质细胞凋亡通路中的主要效应分子。这些实验结果提示了 caspase23 在脑内某些细胞的凋亡中起主要作用。

作为特异的死亡信号转导分子,激活后的 caspases 被认为是凋亡的执行人。caspases 以前体的形式存在于细胞中,传入细胞的死亡信号将这些前体转化为成熟的有活性的酶,活化后的 caspases 又能激活下游的 caspases。活化的 caspases 作用于各种底物,如 PARP, Lamin, actin, fodrin, 引起细胞和细胞核的各种形态变化(Martin, 1995)。其中, DNA 梯度是凋亡特征性的生化标志。Nagata 等<sup>[14]</sup>刚发现了一种由 caspase 激活后具有 DNA 酶活性的蛋白,命名为 CAD (caspase2activated DNase),同时还找到 CAD 的抑制剂——ICAD。正常细胞中 CAD 与 ICAD 形成复合物,ICAD 抑制着 CAD 的 DNase 活性。由凋亡信号激活的 caspases 作用于 ICAD,使得 CAD 脱离出来而进入细胞核,从而发挥 DNase 的活性分解染色体 DNA。目前尚不清楚神经元的凋亡是否也有 CAD $\downarrow$ ICAD 的参与。

2. bcl22 家族:表达在哺乳动物中枢或外周神经系统的 bcl22 家族包括抑制凋亡的 Bcl22、Bcl2XL、Bcl2X、Bcl2l 和促进凋亡的 Bax、Bix、Bak、Bad 和 Bcl2xs。Bcl22 家族成员自身和相互之间形成二聚体,两者的比例决定了细胞是否发生凋亡。进一步研究发现 Bcl22 家族成员之间形成异二聚体时复杂而有选择性,如 Bcl22 只与 Bax、Bcl2xs、Bad、Bak、Bik 作用,Bcl2xs 与 Bak、Bik 作用,而 Bax 是共同的伙伴<sup>[15]</sup>。这可以解释脑内对凋亡存在区域选择性,如蒲肯氏细胞内表达相对高的 bax 和相对低的 bcl22,因而对各种损伤特别敏感(Bredesen 等,1995)。这

种复杂而有序的相互作用决定了二聚体的稳定性,控制了细胞对死亡的易感性。

Bax 是 Bcl2 家族中参与调节许多种神经元凋亡的重要成员 (Deckwerth 等, 1996)。过度表达 Bax 可引起神经细胞的凋亡, Bax 缺失的小鼠出生时面运动神经元数目明显增多, 并且可以抵抗神经切断所引起的神经元死亡。相反, Bcl2 过量表达可以抑制神经元的死亡过程 (Zanjani 等, 1996)。而 bcl2 敲除小鼠表现出部分面运动神经元和感觉神经元进行性丧失。Bcl2 缺失的小鼠于 E13 (胚胎 13 天) 时就会死亡, 分析 E12 的胚胎发现在小鼠整个脑和脊髓, 包括背根神经节内有大量死亡的未成熟的处于分裂后期的神经元。这些都提示 Bcl2 家族成员为神经元凋亡所必需<sup>[15]</sup>。

但现在还不清楚 Bcl2 成员是如何参与了细胞凋亡调控。Bcl2 和 Bcl2xl 位于线粒体外膜、内质网, 以及核膜的胞质面上, 已经有实验结果提示 Bcl2 和 Bcl2xl 可能是类似于某些细菌毒素如 diphtheria toxin 的“成孔”蛋白 (Reed, 1997), 所以 Bcl2 和 Bcl2xl 可能具有调节离子流和蛋白运输的膜转运功能。有证据表明 Bcl2 能阻断细胞色素 c 的释放<sup>[16, 17]</sup>。发生凋亡之前 Bax 位于胞质内, 接收到死亡信息后 Bax 插入线粒体膜并形成 Bax 通道, 以利于细胞色素 c 的释放<sup>[6]</sup>。基于线虫 ced3, ced4, ced9 死亡调控模型, Reed 认为哺乳类动物 caspases 激活也存在类似的机制。Apaf21 是寻找已久的与 ced4 同源的哺乳类基因。与 ced4 不同的是 Apaf21 需要辅助因子 Apaf22, 而 Apaf22 其实就是细胞色素 c。正常情况下 Bcl2 或 Bcl2xl 与 Apaf21 和前 caspase 形成复合物, 死亡信号到达后, Apaf22 首先释放到胞质, 帮助 Apaf21 与 Bcl2 分离, 然后游离出来的 Apaf21 将无活性的前 caspase 转化为有活性的 caspase, 后者再激活下游的 caspase23。不久 Li<sup>[18]</sup>和 Pan<sup>[19]</sup>的实验结果支持了 Reed 的设想, 他们还发现受到 Apaf21 激活的 caspase 就是 caspase29。另外, 在凋亡过程中, 细胞色素 c 激活 caspase 后, 激活的 caspase 反过来可能会促进更多的细胞色素 c 释放, 两者之间可能形成正反馈环路<sup>[20]</sup>。

对于 Bcl2 家族成员的研究还有待于深入。而且目前的研究主要集中在发现位于线粒体膜上的 Bcl2 成员的功能, 对位于内质网和核膜上的 Bcl2 成员研究较少。这些都是今后研究的方向。

## 五、凋亡与神经系统发育和神经系统疾病

(一) 神经系统发育 在外周和中枢神经系统发育过程中约有 15% ~ 85% 细胞死亡 (Oppenheim, 1995; Johnson, 1993)。不同类型的神经元, 包括运动神经元, 感觉神经元, 中间神经元, 都有死亡的发生。而且, 细胞死亡不仅可在神经元上观察到, 在少突胶质细胞 (Knapp, 1986), 星形胶质细胞 (Krueger, 1995) 中都有发生。在神经系统发生的各个阶段如神经管形成阶段 (Kallen, 1995; Green, 1977; Jeffs, 1992), CNS 发育的早期阶段 (Homma, 1994; Graham, 1993) 胚胎发育阶段 (Silver, 1979; Tosney, 1985) 都可见死亡的发生。出生后的短期内仍然有神经元丧失 (Ferrer, 1992; Sidman, 1965)。研究表明发生在神经系统发育阶段的细胞死亡是凋亡而不是坏死<sup>[20]</sup>。PCD 缺陷的果蝇 (White, 1994) 和 CPP32 (caspase23) 被定位打断的小鼠 (Kuida, 1996) 在发育阶段就会死亡, 而且这种小鼠 CNS 堆积了大量过剩的细胞, 证明 PCD 的确是一种正常的细胞死亡方式。尽管这还是有待于进一步证实的设想, 发生在发育早期的神经元死亡可以是为了建立起某种早期模式和清除某种细胞系。机体过量生成神经元可能使得形成复杂的神经网络的过程中有更大的可塑性。

(二) 疾病时的神经元死亡 神经退行性疾病如 AD、ALS、Huntington 氏舞蹈症 (HD)、帕金森病 (PD) 以某一亚群神经元的死亡为这些疾病的共性。尽管对引起这些疾病的病原还不

太清楚,目前已经提出了几种有关这些疾病病理机制的假说,包括神经元和其靶组织之间的营养作用的不足甚至缺乏,过量的谷氨酸和钙离子,氧自由基的产生,自身免疫的发生或以上诸因素的联合作用。不管病理机制如何,这些疾病导致的细胞死亡通路可能通过了凋亡<sup>[20]</sup>。已经有越来越多的证据表明发生在神经退行性疾病中的死亡类似凋亡,而且从 AD、ALS、HD、PD 患者得到的组织标本显示有凋亡的生化标志(Sanders 等, 1995, Lo 等, 1995, Barinaga, 1998)。

脊髓肌萎缩(SMA)是一种先天性、进行性、致死性的疾病。该疾病首先影响脊髓的前角细胞,使其变性丧失,然后患者出现肌萎缩,瘫痪。已经找到了与 SMA 有关的有缺陷的两个基因:促运动神经元存活基因(SMN)(Lefebvre 等, 1995)和编码神经元凋亡抑制蛋白(NAIP)(Roy 等, 1995)的基因。虽然不能肯定这两个基因的缺陷是否就是病因,但研究缺陷的基因在细胞内产生的影响也能为了解与 SMA 相关的运动神经元的死亡提供更多的信息。另外, NAIP 基因与 IAP——一种凋亡抑制剂的基因序列有同源性,提示 SMA 患者的前角细胞可能是以凋亡为死亡途径。

传统观念认为,脑缺血引起的神经元的死亡是坏死,然而近来研究发现,短暂性脑缺血和脑外伤引起的神经元死亡有坏死也有凋亡(Johnson 等, 1995, Nitatori 等, 1995)。在脑缺血病灶中央细胞发生坏死,而在病灶的周边,往往观察到的是具有某些凋亡特征的神经元(BenAri 等, 1996)。用蛋白合成抑制剂阻断凋亡可以减轻实验性脑损伤(Hara 等, 1997)。但进一步对这些死亡细胞进行形态学研究却发现它们虽然有 DNA 断裂和染色体凝聚,但死亡细胞内容物不完全象凋亡那样包裹在胞膜内,这些死亡细胞的细胞膜并不完整;而且, DNA 断裂后形成不平整的断端,而不是凋亡的钝性末端。所以这些神经元的死亡既不同于坏死,又不符合经典的凋亡的特征<sup>[21]</sup>。尽管有实验表明 caspases 参与了缺血后神经元死亡,关于缺血引起的神经元死亡是否是凋亡的问题至今还在争论之中。但是有一点可以肯定,就是对脑缺血和脑外伤中细胞死亡问题研究越透彻,就越有希望找到治愈这些疾病的良药。

## 六、展望

细胞凋亡是当今生物学研究热点中的热点,每年发表的有关凋亡研究的文章以指数级增长。对凋亡发生的分子机制和信号转导途径的研究吸引了大量的研究力量,随着生物技术的发展,比如通过指印法克隆与凋亡有关的基因,不断找到新的 Bcl2 和 ICE 家族的成员和生长因子;通过将外源基因转入神经元和神经胶质细胞的方法对分子进行功能研究,人们对程序性死亡和凋亡将会有更清楚的认识,并重新认识一些疾病的发生情况。这将有助于不断研究开发出更新更有效的药物来治疗疾病。

## 参 考 文 献

- Peter ME, Heufelder AE, Hengartner MO. Advances in apoptosis research. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 12736~12737.
- Barinaga M. Stroke-damaged neurons may commit cellular suicide. Science, 1998, 281: 1302~1303.
- Barinaga M. Is apoptosis key in Alzheimer's disease? Science, 1998, 281: 1303~1304.
- Fadok VA, Bratton IX, Konowal A, et al. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro, inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine and paracrine mechanisms involving TGF $\beta$ , PGE $_2$  and PAF. J Clin Invest

vest, 1998, 101 890 ~ 898.

5 Wu YC, Horvits HR. C. elegans phagocytosis and cell migration protein ced25 is similar to human Dock180. Nature, 1998, 392 501 ~ 504.

6 Ishibashi Y. Pore formation domain of human pro2 apoptotic Bax induces mammalian apoptosis as well as bacterial death without antagonizing anti2apopto2 sis factors. Biochem Biophys Res Commu, 1998, 243 609 ~ 616.

7 Jacobson MD. Programmed cell death: a missing link is found. Trends Biol, 1997, 7 467 ~ 469.

8 Hengarter MO. Death cycle and Swiss army knives. Nature, 1998, 387 773 ~ 776.

9 Leist M, Nicotera P. Breakthrough and views, the shape of cell death. Biochem Biophys Res Commu, 1997, 236 1 ~ 9.

10 Zamzami N, Hirsch T, Dallaporta B, et al. Mitochondrial implication in accidental and programmed cell death: apoptosis and necrosis. Bioenerg Biomem, 1997, 29 185 ~ 193.

11 Hengartner MO. Ced24 is a strange no more. Nature, 1997, 388 714 ~ 715.

12 Kroemer G, Zamzami N, Susin SA. Mitochondria control of apoptosis. Immunol Today, 1997, 19 44 ~ 51.

13 Reed JC. Activation of CPP32 during apoptosis of neurons and astrocytes. J Neurosci Res, 1997, 48 168 ~ 180.

14 Enari M, Sakahira H, Nagata S. A caspase activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. Nature, 1998, 391 43 ~ 50.

15 Merry DE. Bcl2 gene family in the nervous system. Annu Rev Neurosci, 1997, 20 245 ~ 267.

16 Kluck RM, Bossy2Wetzel E, Green DR, et al. The release of cytochrome c from mitochondria: A primary site for Bcl2 regulation of apoptosis. Science, 1997, 275 1132 ~ 1136.

17 Yang J, Liu X, Bhalla K, et al. Prevention of apoptosis by Bcl2: Release of cytochrome c from mitochondria blocked. Science, 1997, 275 1129 ~ 1132.

18 Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, et al. Cytochrome c and dATP dependent formation of Apaf2/caspase29 complex initiates an apoptotic protease cascade. Cell, 1997, 91 479 ~ 489.

19 Pan G, O' Rourke K, Dixit VM. Caspase29, Bcl2xl and Apaf21 form a ternary complex. J Biol Chem, 1998, 273 5841 ~ 5845.

20 Leist M, Nicotera P. Apoptosis, excitotoxicity and neuropathology. Exp Cell Res, 1998, 239 183 ~ 201.

---

## 衣原体与心脏病

研究发现,衣原体用所谓“分子伪装”的办法使细菌进入免疫系统,导致心脏炎症,其机制包括宿主自身免疫紊乱。正如披着羊皮的狼,一些病原体表面携带几乎与宿主细胞的蛋白相同的蛋白,使其逃避宿主的免疫系统。有时免疫系统不会为这种伪装所迷惑而向其发动攻击,如果攻击过程同时损坏了宿主细胞本身,则自身免疫产生紊乱。研究者发现,衣原体表面带有一种和鼠心肌中的肌球蛋白完全一样的蛋白。衣原体肺部或生殖器官的感染,引发局部免疫反应,从而引起系统范围的免疫活动。宿主免疫细胞向心脏的肌球蛋白发起攻击,导致心脏自身免疫失调。

(Science, 1999, 283 1335 ~ 1339) (车 笛)