成年神经干细胞研究现况

刘璇 林万敏 徐平

(复旦大学生命科学学院基因生理学研究室 上海 200433)

神经干细胞的研究是近期神经科学领域的研究热点,不仅国外相关文献蜂拥而现,国内也有不少初步的研究报道。关于神经干细胞的定义和基础背景知识,已经有多篇综述阐明^[1,2],在此不再赘述。目前,神经干细胞的研究分为两大领域,即胚胎神经干细胞和成年神经干细胞。其中,成年神经干细胞(adult neural stem cells, ANSC)的研究被认为是揭开了神经科学研究的又一新篇章^[3]。本文对 ANSC 的研究现况做一简要综述。

一、ANSC 的存在和分布

事实上,早在 60 年代早期就有研究者观察到成年动物脑内有神经新生的现象^[4,5],但是直到 Reynolds 等^[6]和 Richards 等^[7]于 1992 年从成年动物脑中培养出了具有神经干细胞特性的细胞,才彻底消除了长期以来的认为成年中枢神经系统(CNS)已经完全发育成熟,不再具有新生能力的误区。最新报道是通过细胞筛选方法(cell sorting)从成年小鼠脑中分离纯化了 ANSC,并且推算出成年小鼠大脑室下带(Subventricular zone, SVZ)细胞的 0.3%可能是 ANSC^[8]。考虑到一个干细胞就可以发育成一个组织,这表明成年脑内存在着巨大的神经新生潜力。

ANSC 主要分布在 CNS 中两个重要的神经新生区域,即海马和 SVZ,在其他一些非神经新生区域如脊髓^[9,10]和视网膜^[11]等也有。关于 ANSC 是在侧脑室旁的室管膜层(ependyma)还是在室管膜下层(subependyma),以前的文献报道有矛盾的结果:Chiasson 等^[12]通过解剖的方法分离室管膜层和室管膜下层后分别进行培养,结果表明只有室管膜下层来源的细胞才能长成有多能性的干细胞球,而且可以不断传代。而室管膜层来源的细胞只长成小的细胞球,球的大小比室管膜下层来源的神经球小了至少一个数量级,而且不可以传代,也没有多潜能性。此外,室管膜下层的细胞球的生长需要 EGF(上皮细胞生长因子)和/或 FGF(成纤维细胞生长因子),而室管膜层的细胞在没有生长因子的时候也能

形成细胞球。还有,室管膜层的细胞球有“触角”伸出,在培养液中不能观察到“旋转”和“游泳”的现象。所以,他们认为 ANSC 只存在于室管膜下层中。相反, Johansson 等^[13]则通过将一种亲脂性染料 DiI 注入成年啮齿动物的侧脑室(标记室管膜细胞),随后观察到 DiI 阳性细胞在体外能够形成神经球,认为这代表了室管膜中含有 ANSC。由于 Chiasson 等的解剖分离可能不够准确,而 Johansson 等所用的染料也可能传递给了室管膜下层的细胞,而且两篇报道取材部位、传代方法、培养条件等都不同,所以难以判断结论的正确性。直到近期 Morshead^[14]等结合这两篇报道所用条件,使用各种方法、条件的多种组合来进行研究,结果表明在所有情况下,室管膜来源的细胞在传代为单细胞后都不能再形成新的细胞球;而在所有情况下,室管膜下层来源的细胞都可以成功传代,并再形成新的细胞球。所以,目前较多学者认为 ANSC 存在于室管膜下层。

二、ANSC 的“伪装”方式

目前已经发现 ANSC 在体内“伪装”成其他成熟细胞出现,即具有分化细胞的形态和特异标记蛋白。这种“伪装”方式在其他干细胞中也有,例如肠干细胞以及皮肤干细胞,就表达类似上皮细胞的生化标记,以致于常被识别为上皮细胞^[15]。在成年大脑的 SVZ 区,有 4 种细胞存在,即(1)室管膜细胞;(2)A 型细胞(成神经细胞);(3)B 型细胞(星型胶质细胞);(4)C 型细胞(未成熟神经前体细胞)。Doetsch 等^[16]用病毒感染示踪的方法观察到表达 GFAP(成熟星型胶质细胞标记)的细胞成长为一些快速分裂的细胞(C 型细胞),随后成为向嗅球迁移的成神经细胞(A 型细胞),提示在成年脑中,ANSC 以星型胶质细胞的形式存在。

三、依赖 ANSC 的成年神经元新生

在所有目前试验过的脊椎动物(包括鸟类、啮齿

类、灵长类和人类)的脑中,均有依赖 ANSC 的神经新生的存在^[17]。其中,鸟类是最早(20世纪80年代)被证明有神经新生的,而在人类中则是通过发现生前服用过 BrdU(溴脱氧尿苷)的人的尸体大脑中有 BrdU 阳性的细胞才证明的。但是,仍然有人怀疑用³[H]-胸腺嘧啶核苷或者 BrdU 标记后呈阳性的细胞可能并不代表细胞的增殖分裂状态,而可能只是非分裂细胞的 DNA 损伤状态的表现。所以 Cooper-Kuhn 等^[18]从方法学的角度进行研究,对 BrdU 阳性细胞做了长时间的观察,发现 BrdU 阳性细胞从起初表达干细胞特异标记巢蛋白(nestin)成长为表达不成熟神经元标记如 β -III tubulin 的细胞到最后成长为表达成熟神经元特异标记蛋白如 doublecortin(DCX)的细胞。此外,BrdU 与凋亡标记进行共同标记的结果表明,BrdU 阳性与凋亡标记阳性的细胞并不重合。所以可以认为检测到的 BrdU 阳性细胞应该是增殖的细胞,证明了以前有关报道的可信性。

1. 成年神经元新生的作用和地位

成年神经元新生主要发生在 ANSC 富集的海马和 SVZ 区。其中,海马的 ANSC 产生的新神经元掺入齿状回成为颗粒神经元而 SVZ 的 ANSC 产生的新神经元向嗅球迁移,分化成该处的中间神经元。在年轻的成年啮齿动物中,海马每天平均有 100-150 个或表示为齿状回的神经元总数的 0.03% 的新的神经元形成。而且实际上可能有比此数目两倍以上的新细胞产生,但是只有一部分能够存活,并分化成神经元^[19]。人的海马的齿状回的神经元新生的速率也相似。但是,这些数据可能还是偏低,因为最新的结果是 Cameron 等报道的海马的 ANSC 的细胞周期为约 24h,每天约有 9 000 个新的颗粒神经元产生^[20]。与海马相比,嗅球的神经元新生速率明显较高,在年轻的成年啮齿动物中每天约有 80 000 个或表示为嗅球总神经元数的 1% 的新神经元产生^[19]。

海马新生的细胞在几天内就开始表达神经特异标记并且表现出颗粒细胞的形态特征,而 SVZ 新生的细胞在向嗅球迁移的过程中开始表达早期神经元标记,在到达目的位置后才表现出成熟的神经元特征。有多项报道表明不断新生的神经元可以掺入成熟大脑,并且参与大脑功能^[21,22]。根据最新的报道,Carlen 等利用带有绿色荧光蛋白的病毒进行突触示踪,此病毒通过轴突和树突转动到突触,又可再感染高级神经元,这样通过观察绿色荧光蛋白就可以反映突触联系。结果表明,同时表达绿色荧光蛋

白和 BrdU 的新生神经元大部分在海马齿状回,少量在海马的 CA1 区和 CA3 区等。此外,用气味诱导神经活动后用 c-Fos 标记诱导产生的神经活动,结果表明新生的神经元可以功能性的掺入已有突触网络^[23]。对鸟类的研究提示鸟类脑中的神经元新生可能参与了鸟类的发声学习活动。在啮齿动物中的研究表明海马的神经元新生与海马依赖性记忆有关,阻断脑内的细胞增殖分裂会影响成年大鼠的记忆能力^[24-26]。

尽管不断有神经元新生,但是海马或嗅球的体积并不增加,而且有报道显示新生的神经元只能短暂存活^[27],所以在体内无疑有着神经元新生和神经元死亡的平衡调节机制。神经元的不断新生和死亡不会导致稳定而长期的结构变化,其作用可能只是对 CNS 的功能进行微调。

2. 影响成年神经元新生的因素

体内的成年神经元新生受到所在环境的调节。即使是整个机体的“大”环境的改变如身体运动和饮食限制等都可导致神经元新生的明显改变。总结目前的大量报道,促进体内成年神经元新生的因素有身体运动、复杂环境适应刺激、服用抗抑郁剂、饮食控制、兴奋性传入、癫痫、维生素 E 缺乏和给予生长因子等;抑制神经元新生的因素有阿片类药物、脱氧麻黄碱、新生儿癫痫、衰老、心理和生理压力和 5-羟色胺耗竭等。这些因素可以相互影响,例如衰老可导致海马神经元新生下降,但是通过复杂环境适应刺激或降低皮质类固醇的水平可以对抗此作用。这些因素也是相互关联的,有些因素是通过其他因素间接地发挥作用的。例如心理/生理压力和肾上腺激素的作用可能是通过刺激邻近 ANSC 的成熟的神经元的 NMDA 受体,使这些神经元合成/释放的生长因子减少,从而下调了成年动物中的神经新生。再如,抗抑郁剂可能是通过对抗了心理压力的作用从而促进了海马的神经新生等^[19]。

临床报道也表明,损伤后应激失常(post-traumatic stress disorder)的患者和抑郁症患者的海马体积比正常人的小。而且,抑郁症患者尸体解剖的结果发现,他们大脑皮层的细胞密度也不同于正常人。目前尚不知导致此现象的原因是神经元发生退行性病变还是神经元新生障碍,但是有学者认为可能可以试用抗抑郁剂对抗此现象^[19]。

3. 神经元新生影响因素的作用机理

目前认为,前述影响因素可能都是通过某些生长因子的介导从而发挥作用的。可能的因子包括生长

因子如 FGF-2、胰岛素类生长因子和营养因子如脑源性神经生长因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 等。因为,在体外实验中它们促进神经干细胞的增殖和分化;而且,一系列给予外源性生长因子的在体实验也提示这一点。如脑室内注射 FGF-2 和 BDNF 后 SVZ/嗅球的神经元新生增加,向侧脑室转入 BDNF 基因也促进了嗅球的神经元新生。但是,向脑室中注入 BDNF 或 FGF-2 均不影响海马神经元的再生,其原因可能是因为这种给药方式难于到达海马的齿状回区域。外周给予 FGF-2 和胰岛素类生长因子使脑实质的生长因子浓度增加,也可以促进海马和嗅球的神经元新生^[19]。最近, Yoshimura 等的研究表明 FGF 可能不是正常生理状态下神经元新生所必需的因子,但是当其表达上调时,可以刺激神经干细胞的增殖。因为 FGF-2 基因敲除的小鼠的海马的神经元新生速率和野生型小鼠相似,而如果对正常和基因敲除小鼠都基因导入 FGF-2,则神经元新生的速率都增加 2 倍以上^[28]。

身体运动可能是增加了血液中胰岛素类生长因子的含量,从而上调了海马中 BDNF 的水平和对传入刺激的敏感度来发挥促进神经元新生的作用的^[29]。鸟类的鸣叫活动也可以上调 BDNF 的表达^[30]。持续的心理/生理压力可以导致肾上腺皮质激素的水平上升,从而影响生长因子的水平^[31]。抗抑郁剂增加海马的 BDNF^[32],而身体运动和抗抑郁剂的综合作用对 BDNF 的上调更为明显^[33]。5-羟色胺可以通过与 5-HT_{2A} 受体结合,选择性地增加齿状回的 BDNF 表达,所以耗竭 5-羟色胺抑制了神经元的再生。

四、ANSC 的分化多潜能性

ANSC 在移植入适当环境时,可以分化为神经元或胶质细胞。例如,海马来源的 ANSC 当移植到 SVZ 时可以形成嗅球中间神经元;脊髓来源的 ANSC 在注入成年海马齿状回中时可以形成颗粒神经元,而在海马的其他区域只分化为胶质细胞;SVZ 来源的 ANSC 在移植入两个神经元新生区(海马, SVZ)时分化为神经元,而在其他脑区均只分化为胶质细胞。上述结果也说明 ANSC 的分化受移植部位环境的控制^[34]。在体外,ANSC 的分化多潜能性也有充分体现,如鼠海马来源的 ANSC 可以成功分化为谷氨酸能和 GABA 能神经元^[35]。

近来有证据表明 ANSC 具有跨越胚层分化 (trans-differentiation) 为血细胞^[36]、骨骼肌细胞^[37]

等的潜能。此外,ANSC 在注入小鼠胚泡后,可掺入各种组织,形成各种类型细胞^[38]。但是,如果用体外 ANSC 培养的后代即已经分化成的神经元和胶质细胞进行移植,则几乎不可能诱导这些细胞跨越胚层分化为肌肉细胞。因此,可能 ANSC 需要处于高度不成熟的“纯洁 (naive)”状态,才能接受新的不熟悉的增殖、分化诱导信号。值得注意的是,在体外用促进肌肉生长形成的上皮生长因子处理 ANSC 并不能使其分化为肌肉细胞;用血细胞生长因子处理也不能使 ANSC 分化为血细胞。所以可能需要直接的干细胞-成熟细胞联系才能促进跨越胚层分化。例如,当用神经球进行移植并诱导其跨越胚层分化为骨骼肌细胞时,可以观察到只有神经球的外层细胞发生分化而球的内层细胞没有分化现象,其原因可能就是由于内部 ANSC 缺乏直接的与移植部位存在的已经分化成熟的肌肉细胞之间的细胞间信号传导。此外,由于在移植前都需要对受体进行预防移植排斥的免疫损伤等,可能受体组织损伤状态的信号也参与此过程,与已经存在的特异类型成熟细胞共同引导、促进神经干细胞分化为非神经类型的细胞^[34]。

五、ANSC 在神经损伤修复中的作用

研究结果表明神经损伤可以激活潜在的修复系统,即 ANSC 的增殖和分化及向损伤区域的迁移^[39]。如 Magavi 等在损伤成年小鼠大脑皮层的同时用 BrdU 标记新生的细胞,结果表明,尽管损伤动物和对照动物的皮层均有 BrdU 阳性的细胞,但是只有损伤小鼠的新生 (BrdU 阳性) 细胞同时表达了神经分化过程特异的标记。而且一段时间后,这些内源性新生的神经元重新建立、恢复了损伤区的解剖学特征。所以,成年大脑损伤后可以通过 ANSC 进行一定程度的自我修复^[40]。此外,在成年大脑,非神经元细胞上有两种 FGF 受体 (FGFR),在室管膜细胞上有 FGFR-1,而在星型胶质细胞 (SVZ 内 GFAP 阳性的星型胶质细胞被认为是 ANSC) 上有 FGFR-2。值得注意的是,在正常情况下,FGFR-1 的蛋白几乎检测不到,而在 CNS 损伤尤其是急性或慢性的缺氧损伤后其表达显著上调。而且,缺氧时星型胶质细胞核内的 FGFR-2 表达也被促进,在整个脑中 FGFR-2 阳性的细胞数目上升。长达数天的长期缺氧使皮层中 GFAP 表达下调,而放射型胶质的特异标记蛋白如波形蛋白 (vimentin) 等的表达上升,表明在长期缺氧条件下,星型胶质细胞转变 (re-

vert)为一种更为不成熟的细胞形式—放射型胶质细胞^[17]。另有报道在体外用胎脑的可溶性因子处理成熟的星型胶质细胞,也可使其转变为放射型胶质细胞。由于在胚胎的发育过程中放射型胶质细胞能够分化形成神经元即它是神经元的前体细胞^[41],所以在长期缺氧状态下放射型胶质细胞的出现提示从神经干细胞到神经前体细胞的发展变化,这表明神经新生机制的激活。

那么,为什么会有一些神经退行性疾病如早老性痴呆、帕金森氏症的发生呢?有研究者提出假说,认为这些疾病的病理机制可能包括:(1)死亡或损伤神经元的刺激损伤修复的信号传导失败;(2)细胞损伤的速率大于 ANSC 产生新的神经元的速率;(3)自发性衰老死亡的神经元可能不能产生适当的刺激 ANSC 增殖分化的信号。(4)可能有抑制 ANSC 增殖、分化的信号存在。现在已获得的临床资料很少,但是确实观察到在骨髓移植患者接受照射和高剂量抗有丝分裂药物后,患者的基底神经节有萎缩的现象,表现出类似帕金森氏症的症状,说明 ANSC 的增殖能力在神经损伤疾病中有重要作用^[42]。

这些现象提示我们可以从两个方面修复 CNS 损伤,即移植体外增殖的神经干细胞或刺激、诱导体内自身修复系统即 ANSC 的增殖、分化。后者可能更困难但是可以避免移植引起的排异反应等。当然,如果 ANSC 自身有缺陷就不能应用此方法。目前实验的结果显示,向脑区内直接注入生长因子可以促进注入部位的细胞增殖和神经元形成。例如在用 6-羟多巴胺损伤黑质多巴胺神经元后,向脑区内直接注入 transforming growth factor α (TGF α),可以见到有细胞增殖,新生的细胞进行迁移并且分化成神经元,形成功能性的联接^[43]。所以在神经损伤时给予生长因子是有益于脑的自身修复的。当然,神经干细胞的增殖和适当分化需要多种生长因子的共同作用,给予单个生长因子是远远不够的。事实上,无论是干细胞移植还是诱导 ANSC,两者都需要提供合适的生长因子“鸡尾酒”或者合理调节内源性生长因子的表达。

总之,ANSC 的发现和研究报告告诉我们,CNS 像其他组织一样处于动态平衡中,成年的大脑也有较大的可塑性。在成年大脑的神经元新生中心,环境的改变对生长因子表达的调控导致 ANSC 的增殖、分化状态的改变是 CNS 可塑性的基础。由于 ANSC 可以对环境和药理刺激发生反应,在适当的条件下可以通过启动该自身修复系统对 CNS 损伤进行治疗。

参 考 文 献

- [1] 孟晋宏等,2002,细胞生物学杂志,24(2):68-70.
- [2] 左明雪,2002,生物学通报,37(1):4-7.
- [3] Temple S,2001,Nature,414:112-117.
- [4] Altman J,1962,Science,135:1127-1128.
- [5] Altman J, Das GD,1965,J. Comp Neurol.,126:337-389.
- [6] Reynolds BA, Weiss S, 1992, Science, 255: 1707-1710.
- [7] Richards LJ, Kilpatrick TJ, et al., 1992, Proc Natl Acad Sci USA., 9:8591-8595.
- [8] Rietze RL, Valcanis H, et al., 2001, Nature, 412:736-738.
- [9] Shihabuddin LS, Ray J, et al., 1997, Exp Neurol., 148: 577-586.
- [10] Weiss S, Dunne C, et al., 1996, J Neurosci., 16:7599-7609.
- [11] Tropepe V, Coles BL, et al., 2000, Science, 287:2032-2036.
- [12] Chiasson BJ, Tropepe V, et al., 1999, J Neurosci., 19: 4462-4471.
- [13] Johansson CB, Momma S, et al., 1999, Cell, 96:25-34.
- [14] Morshead CM, van der Kooy D, 2001, Curr Opinion in Neurobiol., 11:59-65.
- [15] Fuchs E, Segre JA, 2000, Cell, 100:143-155.
- [16] Doetsch F, Caille I, et al., 1999, Cell, 97:703-716.
- [17] Vaccarino FM, Ganat Y, et al., 2001, Neuropsychopharmacology, 25:805-815.
- [18] Cooper-Kuhn CM, Kuhn HG, 2002, Develop. Brain Res., 134:13-21.
- [19] Peterson DA, 2002, Curr opinion in Pharmacol., 2:34-42.
- [20] Cameron HA, MaKay R, 2001, J Com Neurol., 435: 406-417.
- [21] Shors TJ, Miesegaes G, et al., 2001, Nature, 410:372-376.
- [22] Gheusi G, Cremer H, et al., 2000, Proc Natl Acad Sci USA., 97:1823-1828.
- [23] Carlen M, Cassidy RM, et al., 2002, Curr Biol., 12: 606-608.
- [24] Shors TJ, Miesegaes G, et al., 2001, Nature, 410:372-375.
- [25] Macklis JD, 2001, Nature, 410:314-315.
- [26] Feng R, Rampon C, et al., 2001; Neuron, 32: 911-926.
- [27] Gould E, Vail N, et al., 2001, Proc Natl Acad Sic

- USA., 98:10910-10917.
- [28] Yoshimura S, Takagi Y, et al., 2001, *Proc Natl Sci USA.*, 98:5874-5879.
- [29] Carro E, Nunez A, et al., 2000, *J Neurosci.*, 20:2926-2933.
- [30] Li XC, Jarvis ED, et al., 2000, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 97:8584-8589.
- [31] McEwen BS, 2000, *Brain Res.*, 886:172-189.
- [32] Chen B, Dowlatshahi D, et al., 2001, *Biol Psychiatry*, 50:260-265.
- [33] Russo-Neustadt A, Ha T, et al., 2001, *Behav Brain Res.*, 120:87-95.
- [34] Gritti A, Vescovi AL, 2002, *J of Physiology*, 96:81-90.
- [35] Tada H, Takahashi J, et al., 2000, *Exp Neurol.*, 165:66-76.
- [36] Bjornson CRR, Rietze RL, et al., 1999, *Science*, 283:534-537.
- [37] Galli R, Borello U, et al., 2000, *Nat Neurosci.*, 3:986-991.
- [38] Clarke DL, Johansson CB, et al., 2000, *Science*, 288:1660-1663.
- [39] Bjorklund A, Lindvall O, et al., 2000, *Nature*, 405:892-895.
- [40] Magavi SS, Leavitt BR, et al., 2000, *Nature*, 405:905-955.
- [41] Noctor SC, Flint AC, et al., 2001, *Nature*, 409:714-720.
- [42] Armstrong RE, Barker RA, 2001, *Lancet*, 358:1174-1176.
- [43] Fallon J, Reid S, et al., 2000, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 97:14686-14691.

第 VI 类中间丝蛋白—Nestin

李雪玲

(内蒙古大学生命科学学院 呼和浩特 010021)

摘要 Nestin 最早发现于神经上皮干细胞,在肌肉和牙齿组织中也有表达。Nestin 在中枢神经系统(central nervous system, CNS)中特异表达于神经前体细胞,其 mRNA 的减少与神经发育中干细胞的减少相平行,而且在神经系统病变和损伤的组织中有 Nestin 表达,表明 Nestin 可以作为研究神经系统发育的一个手段,对神经系统疾病的诊断也有一定的参考价值。

中间丝(intermediate filaments)与微管和微丝一起构成细胞骨架的主要成分。在氨基酸序列分析的基础上,将中间丝分为五类:Ⅰ.酸性角蛋白、Ⅱ.碱性角蛋白、Ⅲ.肌纤维蛋白、胶质纤维酸性蛋白、未梢蛋白和波形蛋白、Ⅳ.中间丝三联体(包括神经丝,神经丝是广泛存在于动物成熟神经元中的一种中间丝蛋白)、Ⅴ.核纤蛋白^[1]。

这里我们描述的是一个主要在神经干细胞表达的中间丝蛋白,最初发现它特异表达于神经上皮干细胞中,被称为巢蛋白。Nestin 基因预测的氨基酸序列分析表明它不同于上述五类中间丝蛋白,归为第 VI 类中间丝蛋白^[2]。这种蛋白在几乎所有的中枢神经系统(CNS)干细胞中都有表达,目前已被作为鉴定 CNS 干细胞的一个标记物^[3],以区别于分化的神经细胞。以后的研究发现, Nestin 还在肌肉等其他组织中表达。

一、Nestin 基因及其表达调控

1990 年 Lendahl 等分离并鉴定了大鼠 Nestin

基因^[2],发现 Nestin 基因的转录物不包含 PolyA 在内是 5945bp,在 +127 和 +160 存在两个潜在的起始密码子。根据 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳迁移率确定的分子量为 240 000^[4],Nestin 基因在转录区域的 912、1038 和 1111 位置有三个内含子,内含子数目少于其他中间丝基因(有 7-8 个内含子),而且内含子的位置与其他中间丝基因也不相同。1992 年 Dahlstrand 等分离了人类的 Nestin 基因,经检测人和大鼠的 Nestin 基因在羧基端重复区域和内含子的位置保守性较高,而且三个内含子中的两个是与神经丝共享的,表明在从其他中间丝分离出来之后 Nestin 和神经丝可能来自同一祖先,并是神经丝分支中最早分离出的一员^[5]。2001 年小鼠 Nestin cDNA 被分离和鉴定,整个序列长 5983bp,编码 1821 个氨基酸,其多肽序列与大鼠、仓鼠和人类 Nestin 的同源性分别为 84%、73% 和 62%,并且都是单拷贝基因^[6]。