

参与细胞凋亡的核酸酶

柴云飞 张学军

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所 上海 200031)

细胞凋亡,或者称之为程序化细胞死亡,是一种参与了生物机体许多过程的细胞去除机制,例如胚胎的发育、幼体的变态以及肿瘤的抑制等。其特征为细胞骨架的扰乱、细胞黏附力降低、伴随细胞皱缩所产生的细胞质和细胞核的固缩、膜发泡、核内沿核周缘染色质聚集,继而是染色质的降解,产生 200bp 及其倍数的特征性梯度(DNA ladder)以及形成凋亡小体。

染色质的降解是凋亡过程一个重要的生化标志,已经被很详细地研究了。DNA 降解基本上是两个过程,涉及了一个以上核酸内切酶。在核降解的早期阶段,染色质被剪切成 50 - 300kb 较大的片段区域,这一步通常是由结合在基质附着部位,Matrix Associated Region, MAR 的核酸内切酶催化的,基质附着部位是 DNA 结合到核骨架的区域,因此核酸酶可以紧密的结合到染色质上。第二个阶段涉及广泛的 DNA 降解,通常产生寡聚核小体 DNA 片段。

到目前为止,已经知道有 20 多个参与凋亡的核酸内切酶,大致可以分为三类:DNase I 家族, DNase II 家族, Caspase 依赖的核酸内切酶(caspase activated DNase CAD)。

一、DNase I 家族核酸内切酶

这个家族核酸内切酶的共同特点是,活性依赖于 Ca^{2+} , Mg^{2+} 参与,单独只有 Mg^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} 时也有活性, Zn^{2+} 可以抑制其活性。它们在很宽的 pH 范围内都有活性,最佳的 pH 是 7 - 8。它们可以产生 3'-磷酸单链和双链 DNA 切口, TUNEL 检测呈阳性^[1]。到目前为止,已发现的这个家族核酸内切酶包括 DNase I, DNase X, DNase γ /DNase Y, DHP1/DNAS1L2, DHP2/DNAS1L3, LS-DNase。

DNase I 是 DNase I 家族核酸内切酶中最典型的一个,也是最早被纯化和结晶的。DNase I 最初是从胰腺和腮腺中纯化的,在肾脏、胰腺、小肠中高表达。它的活性依赖于 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} , 并且在 pH

中性时有最大的活性。Tschopp 发现胸腺细胞核的抽提物具有核酸酶的活性,与 DNase I 的功能和免疫抗原性非常相似,在凋亡的过程中起作用,并且认为这个酶具有针对核小体之间连接部位的特异性^[2]。但是 Walker 的结果和 Tschopp 的结果恰好相反,他们认为这个 DNase I 并没有针对核小体之间连接部位的特异性^[3]。在晶状体形成而发生的凋亡过程中, DNase I 通常出现在这些细胞核内,但是它的活性看上去并不与 DNA 的降解相关^[4]。还有一些情况下,虽然 Ca^{2+} / Mg^{2+} 依赖的 DNase I 活性出现升高,但是 DNase I 并没有转移到核内^[5]。

Parrish 首先克隆了人的 DNase I 家族另外一个基因,因为它定位于 X-染色体,所以称为 DNase X^[6]。DNase X 编码 302 个氨基酸,与人的 DNase I 有 39% 同源性,在心脏和肌肉组织中高表达。这个基因全长 10.2kb,由 10 个外显子组成,而人的 DNase I 是由 9 个外显子组成,并且都有 8 个编码的外显子^[7]。DNase X 的过表达导致核小体间的 DNA 降解和 caspase 的激活。DNase X 存在两个潜在的 caspase 酶切位点,但是 DNase X 既不能在体内又不能在体外被 caspase 剪切。在凋亡开始之后, DNase X 从细胞质转运到细胞核内,相互之间聚集形成不可溶的复合物。

Sikorska 克隆了一个染色体结合的核酸内切酶 DNase Y, 这个基因全长 17kb, 编码 310 个氨基酸^[8]。DNase Y 有一个 25 个氨基酸的真核信号肽,这个肽是由带电荷的 N-末端,一个疏水的核心,以及 Ala-Leu-Ser 的剪切位点组成,剪切掉这段肽会产生一个 33kD 的成熟蛋白。DNase Y 还有两段核定位信号肽,一个位于真核信号肽后 14 个氨基酸的核定位信号肽,另一个位于 C-末端,与 SV40 的核定位信号肽相似。DNase Y 与 DNase I 有 42% 的同源

本课题受国家自然科学基金资助(编号 3957035)。

E-mail: zhang-xj@sunm.shnc.ac.cn

性,同样也有9个外显子,但由于 DNase Y 外显子之间被较大的内含子隔开,所以 DNase Y 基因大于 17kb 而 DNase I 基因小于 4kb。序列分析表明 DNase Y 与大鼠的 DNAS1L3 具有同源性。Shiokawa 从凋亡的胸腺细胞核中分离到了一个核酸内切酶,称为 DNase γ ,与 DNase Y 是相同的蛋白^[9]。

Rodriguez^[10]和 Zeng^[11]克隆了 DHP1(DNase I Homologue Protein 1)和 DHP2 的 cDNA,分别编码 299 和 305 个氨基酸,与 DNase I 分别有 56% 和 46% 的同源性。这两个基因分别位于 16 和 3 号染色体,DHP1 在脑中高表达,而 DHP2 在肝脏中高表达。Baron^[12]克隆了人和鼠的一个核酸酶的基因——LS-DNase,也是一个 DNase I 同源蛋白。它在许多组织都有表达,并且在肝脏和脾脏的巨噬细胞的集落中高表达。

在正常细胞中有 DNase I 的存在,它与肌动蛋白单体结合并且抑制 DNase I 降解 DNA 的活性。肌动蛋白是 ICE(interleukin 1 β -converting enzyme)作用的底物,被 ICE 剪切过的肌动蛋白既不能抑制 DNase I 的作用,也不能像完整的肌动蛋白那样聚合成微丝^[13]。Calpain(钙蛋白酶)是一类半胱氨酸蛋白酶,它可以水解许多内源蛋白例如神经肽,细胞骨架蛋白等。Calpain 的抑制剂可以抑制神经细胞的死亡和肌动蛋白的断裂,而 caspase 的抑制剂能够有效的延缓神经细胞的死亡,但是不能阻止肌动蛋白的剪切和 DNA 的降解,表明 Calpain 类似的酶在神经细胞凋亡中有很重要的作用,并且肌动蛋白的剪切和其后发生的 DNA 降解相关^[14]。脑组织受伤后,受伤部位的细胞发生凋亡,这些细胞中的 DNase I 去抑制,主要伴随着肌动蛋白的超聚合,同样也有肌动蛋白的解聚和 caspase 介导的肌动蛋白的水解^[15]。但是, DNase I 的许多肌动蛋白结合位点在 DNase I 类似的蛋白中并不保守,即使结构上有相同的肌动蛋白结合序列,也不能保证它们的活性能够被肌动蛋白抑制,Baron 指出 DNase Y 的活性不能被肌动蛋白抑制^[12]。

Cidlowski^[16]从胸腺组织中分离了一个分子量 18kD 的核酸内切酶,称为 NUC18。这个酶的活性依赖于 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ,并且被 Zn^{2+} 抑制。NUC18 与亲环素(cyclophilin)具有同源性^[17],亲环素具有一定的核酸酶的活性。但是亲环素与已知的核酸酶之间,没有相同的金属离子结合位点和催化位点,所以它可能具有不同的催化机制。最近的工作表明,亲环素的核酸酶活性,是蛋白质复性过程中不正确的

折叠形成的假象。NUC18 与分离的细胞核作用,不能产生典型的凋亡的 DNA 的断裂形式,所以这个酶的作用还不是很清楚^[18]。

二、DNase II 家族核酸内切酶

这一类核酸内切酶的共同特点是它们的活性不依赖于 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ,并且在酸性 pH 的情况下具有最大的活性^[19]。DNase II 编码 360 - 364 个氨基酸,分子量大约 40 - 60kD。没有活性的 DNase II 的前体是由三个亚基组成,经过翻译后修饰,丢失了几个短肽,三个不同的亚基形成有 DNase 活性的异三聚体。DNase II 是一种溶酶体的酸性蛋白酶,在体外, DNase II 在 NaAc 和 EDTA 的条件下有活性,在 pH 4.6 - 5 具有最大的核酸酶活性,可以产生 DNA 双链断裂和具有 3'-磷酸化末端的单链断裂。Yasuda^[20]纯化了一个 32kD 具有核酸酶活性的蛋白,在肝、肾、脏、肺等许多组织中都能够检测到它的活性,所以它是一个广泛表达的核酸酶。Eastman 首先指出 DNase II 参与了凋亡过的 CHO 细胞 DNA 的断裂,在酸性 pH 的情况下具有大量的 Ca^{2+} 非依赖的核酸内切酶的活性^[21]。

Torriglia^[22]最先在晶状体细胞分化过程中发现了 LEI/L-DNase II 这一有趣的途径。这个途径最重要的分子是 LEI。LEI(leukocyte elastase inhibitor,白细胞弹性蛋白酶抑制剂)属于 Serpin (serine protease inhibitor,丝氨酸蛋白酶抑制剂)超家族。和许多 serpin 一样,LEI 有抑制丝氨酸蛋白酶的活性。当它以自然状态存在的时候,LEI 抑制弹性蛋白酶,组织蛋白酶 G,可能还有其他一些丝氨酸蛋白酶的活性。LEI 在酸性 pH 环境下,或者是受到弹性蛋白酶类似的蛋白酶的作用,而发生翻译后修饰,修饰后的 LEI 分子量减小,失去了丝氨酸蛋白酶抑制剂的作用,出现了类似 DNase II 的核酸酶活性,由于是从 LEI 转变来的,称为 L-DNase II,并且具有和 LEI 相同的最适 pH 和离子依赖性。L-DNase II 与 DNase II 的区别有:L-DNase II 的活性被乙酸抑制,在中性 pH 的时候具有一半的活性:它的活性被 Zn^{2+} 所抑制,但 DNase II 对 Zn^{2+} 不敏感;它的活性不依赖 caspase 而是依赖丝氨酸蛋白酶。在一些情况下凋亡的诱导同时引起了 LEI 合成的增加。在体外重组的 LEI 对于分离纯化的细胞核没有作用,但是翻译后的激活的形式可以诱导细胞核固缩, DNA 降解以及产生寡聚核小体的 DNA ladder。L-DNase II 的抗体可以抑制 DNA 的降解。正常的细

胞中 NUC70(LEI 与弹性蛋白酶复合物)在细胞质和细胞核内都有分布,而 NUC30(L-DNase II)只有在细胞凋亡的时候才在细胞核内发现。另外,不同的细胞发生凋亡的时候,这个酶都会转运到细胞核内。因此这个酶具有改变活性并且参与细胞凋亡过程的能力。

在乙醇诱导的色素视网膜上皮细胞和星形孢菌素诱导的鼠淋巴细胞的凋亡过程中,L-DNase II 被激活^[23],而长时间培养诱导产生的凋亡中却没有这些酶的活性。这可能是与一些 LEI 相互作用的蛋白有关,例如弹性蛋白酶。AP-24 也是凋亡过程中被激活的类似弹性蛋白酶的一种蛋白酶^[24]。在紫外线或者 TNF 的诱导下,AP-24 被激活。AP-24 可以紧密的结合 LEI,但是无法确定 AP-24 是否能够激活 LEI 转变为 L-DNase II。

最近,Famulski^[25]在 HeLa 细胞中发现一种酸性核酸酶,在不同诱导条件下而产生凋亡的过程中被激活。这个核酸酶和 L-DNase II 不同。它在乙醇中有活性,对 Zn^{2+} 不敏感,但是同 L-DNase 还是有一些共同的特征,因为它们的激活同样都是 caspase 非依赖的。不过,到目前为止,对这个 DNase 的分子机制还不是很了解,所以也不能排除第三类形式的 DNase II。

三、caspase 依赖的核酸内切酶

这一类核酸内切酶的共同特点是它们的活性依赖于激活的 caspase 的作用,并且具有 Mg^{2+} 的依赖性^[26]。一个目前普遍接受的观点,凋亡的刺激引起 caspase 的激活,它的天冬氨酸残基部位被剪切,caspase 通常以非活性的前体出现在活细胞中,激活的 caspase 剪切和降解许多细胞内的重要蛋白。Enari^[27]从小鼠的淋巴细胞中纯化了一个 40kD 的核酸酶,因为它的活性依赖于 caspase,所以称为 CAD。在增殖的细胞而不是从凋亡的细胞中的抽提物中,有一个具有抑制 CAD 活性的蛋白,称为 ICAD(inhibitor of CAD),分子量大约 35kD。Halenbeck^[28]从人的细胞中纯化了 CPAN(caspase-activated nuclease),CPAN 与 CAD 具有同源性。Liu^[29]纯化了 DFF(DNA fragment factor)。DFF 包括两个亚基:DFF45 和 DFF40。DFF45 与 ICAD 具有同源性,可以被 caspase-3 剪切成 3 个 12kD 的片段;DFF40 与 CAD 具有同源性,不能被 caspase-3 剪切。DFF45 与 DFF40 是以聚合物的形式一起被分离纯化的,DFF 异二聚体经 caspase-3 处理后,

DFF45 被剪切下来,而使 DFF40 具有核酸酶的活性,导致 DNA 的断裂。

小鼠和人的 CAD 分别由 344 和 338 个氨基酸组成。它们氨基酸序列之间相当保守,但是与 DNase I, DNase II 没有同源性。小鼠和人的 CAD 分别有 14 和 11 个半胱氨酸残基。缺少 C-末端的 15 个氨基酸的小鼠的 CAD 仍有 DNase 的活性,但是它不能进入到细胞核内剪切染色体 DNA,表明 CAD 的 3-329 氨基酸足够产生 CAD 的 DNase 活性,而 330-344 位的氨基酸是起到核内转运的作用。ICAD 经过不同的剪接方式而产生了两种大小不同的形式,ICAD-L 和 ICAD-S^[30]。全长的 CAD(ICAD-L)是一个 331 个氨基酸,等电点 pH4.5,分子量 45kD 的蛋白。较短的形式(ICAD-S)由 ICAD-L 的 1-265 氨基酸组成。在人和小鼠细胞中 ICAD-S 与 ICAD-L 有同样的表达水平。ICAD-S, ICAD-L 有两个相同的 caspase 识别位点,117 和 224 位的氨基酸。重组的 ICAD-L, ICAD-S 在高温和强去污剂的情况下仍有活性,可以紧密的结合 CAD,从而抑制 DNase 的活性和 DNA 的降解。caspase-3 可以降低 ICAD 与 CAD 的结合力,从而破坏它们的 CAD 抑制剂作用。caspase-7 也有类似的作用,但是其他 caspase 却没有这个作用^[31]。ICAD-L, ICAD-S 中一个或两个 caspase 识别位点上的 Asp 被 Glu 替代的点突变,仍具有抑制 CAD 的 DNase 活性的作用^[32]。caspase 并不能影响 ICAD-L 双突变的抑制活性,即使是 117 位点或者 224 位点的单突变在 caspase 剪切后,仍具有显著的抑制 CAD 作用,意味着 ICAD 上 caspase 识别的两个位点都必须剪切,才能释放 CAD,使其具有活性。组蛋白 H1 或者 HMG 核蛋白可以显著提高 caspase 处理后的 DFF 的核酸酶活性^[33]。但是没有被 caspase 剪切的 DFF 的核酸酶活性不能被组蛋白所影响。这可能是组蛋白从 DFF 异二聚体上移走了 DFF45 片段从而提高 DFF40 的核酸酶活性。

ICAD 不仅具有抑制 CAD 的核酸酶活性的作用,而且还具有 CAD 的分子伴侣的作用,帮助纠正 CAD 的错误折叠构象。在体外表达的 CAD 会聚集在一起,形成没有活性的不可溶的聚合物。有 ICAD-L 存在的情况下,合成的 CAD 与 ICAD-L 结合形成聚合物。这个聚合物经过 caspase-3 的处理后,会产生有活性的 CAD。在 ICAD 突变的细胞系和 ICAD 基因缺失的小鼠的胸腺细胞中,凋亡细胞并没有 DNA 的降解。这些结果表明在体外 CAD

聚集在一起,是因为 CAD 本身无法纠正错误的折叠,而细胞质中的 ICAD-L 可以提高 CAD 的正确构象。与 ICAD-L 相比,ICAD-S 对产生有活性的 CAD 作用较弱,意味着起到 CAD 分子伴侣作用的是 ICAD-L 而不是 ICAD-S,因此可以解释细胞中 CAD (DFF40) 仅仅只与 ICAD-L (DFF45) 形成复合物。ICAD-L 可以提高变性的 CAD 的复性,也证明了它的分子伴侣作用。伴侣蛋白通常都有很广泛的靶子,可以帮助纠正这些蛋白的折叠。然而 ICAD-L 并不能提高其他蛋白的复性,表明它是 CAD 特异性的分子伴侣。

结 语

在正常细胞中,一种或多种核酸内切酶同时以非活性状态存在。它们或者是与对应的抑制剂相结合,从而封闭其活性位点,在凋亡刺激后蛋白酶将抑制剂从这些核酸酶上切除,释放核酸酶,恢复降解 DNA 的活性,如 CAD 和 ICAD, DNase I 和肌动蛋白;或者是以没有活性的前体存在,在凋亡刺激后转变为可以剪切染色体 DNA 的核酸酶,如 LEI 转变为 L-DNase II 途径,不同的细胞凋亡的时候会激活不同的核酸酶,不同的诱导方式也会使相同的细胞激活不同的核酸酶,因此核酸酶的激活是一个细胞和诱导方式特异性的过程。

在凋亡过程中,核小体之间的断裂并不是一个保守的步骤。在许多细胞和组织中,凋亡的时候并没有核小体之间的 DNA 断裂。在产生 DNA ladder 的细胞中,所有剪切染色体连接区域的酶都参与了凋亡过程。然而,所有的凋亡细胞的 DNA 都有大片的断裂,可能参与这最初断裂阶段的酶是凋亡过程必要的和保守的。这些酶可以结合或者是接近被攻击的位点。因此,它也可能与核骨架和 ssb 的形成有关。一旦 DNA 被剪切,构象产生变化,产生较大的片段,使染色体更多的位点容易受到进一步的作用,从而可能产生核小体之间的 DNA 断裂。DNA 断裂的第二个阶段可以被一个核酸内切酶催化,也可以被几个酶共同作用。目前检测这个过程的方法只有 DNA ladder 的方法,所以无法确定到底有几个酶参与了这一过程。如果许多酶同时存在于核内,不太可能只有一个酶参与了这一过程。

染色体 DNA 断裂可以加速凋亡细胞死亡,但是在某些情况下凋亡细胞死亡,而染色体的 DNA 并没有被降解。caspase 的激活是凋亡途径中很关键的一步,并且 caspase 激活后,也有不同的途径杀

死细胞。caspase 可以通过水解包括参与复制,转录,翻译过程的蛋白,细胞骨架蛋白,以及激酶,磷酸酶在内的许多重要的细胞内蛋白,导致细胞凋亡。但是,由于形成单链断裂而起始的 DNA 断裂,可能不依赖于 caspase, caspase 的激活并不是凋亡过程必须的。这些不依赖于 calpain 的过程中有其他的蛋白酶如 calpain, proteasome 以及丝氨酸蛋白酶的参与。caspase 在凋亡过程中至少起到两个作用:扩大凋亡的信号以及辅助完成细胞的清除过程。细胞受到凋亡刺激后,细胞内的离子浓度的改变或者位点特异性的蛋白酶水解核蛋白,导致染色体结构的改变,起始了一系列的由核酸内切酶介导的降解事件。因此,在凋亡过程中,很有可能核酸酶不是保守的和必需的,而保守的步骤只是蛋白水解中的一步。凋亡细胞的 DNA 在转移到吞噬细胞前被剪切成片段,可以避免激活的癌基因和病毒基因转移到吞噬细胞内。另外,剪切的 DNA 片段可以降低其在体内的免疫反应性。尽管核酸酶在凋亡过程并不是必需的,但是通过核酸酶降解 DNA 还是最有效的杀伤细胞的途径。

摘 要

细胞凋亡是机体内一种重要而且保守的细胞去除机制。染色体的降解是凋亡的重要标志之一,它需要核酸酶的参与。到目前为止,参与凋亡的核酸内切酶可以分为三类:DNase I 家族, DNase II 家族, CAD。不同的细胞在凋亡的时候会激活不同的核酸酶,相同的细胞在不同的诱导方式下也会激活不同的核酸酶,因此,凋亡过程中,那些核酸酶的激活是由细胞种类和诱导方式等特异性所决定的。

参 考 文 献

- [1] Liu QY, Ribero M, Pandey S, et al., 1999, *Ann N Y Acad Sci* 887:60-76.
- [2] Peitsch, M. C, Polzar, B., Tschopp, et al., 1993, *EMBOJ*, 1:371-377.
- [3] Walker, P. R, and Sikrska, M. *Biochem*, 1997, *Cell Biol*, 75:287-299.
- [4] Torriglia, A., Chaudun, E., Counis, M, F, et al., 1995, *J. Biol. Chem*, 270:28579-28585.
- [5] Torriglia, A., Counis, M, F, Scovasi, Al, et al., 1999, *Cell Death Differ*, 6:234-244.
- [6] Parrish, J. E, A. Ciccociola, D. L. Nelson, et al., 1995, *Hum. Mol. Genet*, 4:1557-1564.
- [7] Coy, J. F, H. Zentgraf, et al., 1996, *Cell Death Differ*, 3:

- 199-206.
- [8] Liu, Q. Y., P. R. Walker and M. Sikorska, et al., 1998, *Biochemistry*, **37**:10134-10143.
- [9] Shiokawa D, Tanuma S, 2001, *Biochemistry*, **40**: 143-152.
- [10] Rodriguez AM, Rodin D, Nomura H, et al., 1997, *Genomics*, **42**:507-513.
- [11] Zeng, Z., D. Parmelee, Y. Li, et al., 1997, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **231**:499-504.
- [12] Baker KP, Baron WF, Henzel WJ, et al., 1998, *Gene*, **215**:281-289.
- [13] Kayalar C, Ord T, Testa MP, et al., 1996, *Proc Natl Acad Sci*, **93**:2234-2238.
- [14] Villa PG, Henzel WJ, Sensenbrenner M, et al., 1998, *J Cell Sci*, **111**:713-722.
- [15] Bareyre FM, Raghupathi R, Saatman KE, et al., 2001, *J Neurochem*, **77**:173-181.
- [16] Gaido, M. L., and Cidlowski, J. A., 1991, *J. Biol. Chem*, **266**:18580-18585.
- [17] Montague, J. W., Gaido, M. L., Cidlowski, J, et al., 1994, *J. Biol. Chem*, **269**:18877-18880.
- [18] Montague, J. W., Hughes Jr., F. M., and Cidlowski, J. J. *Biol. Chem*, 1997; **272**:6677-6884.
- [19] Torriglia A, Courtois Y, Counis MF, et al., 2000, *Ann N Y Acad Sci*, **926**:192-203.
- [20] Yasuda, T., D. Nadano, K. Kishi et al., 1992, *Biochim. Biophys. Acta*, **1119**:185-193.
- [21] Barry, M. A., and Eastman, Arch. Biochem. 1993, *Bio-pHys*, **300**:440-450.
- [22] Torriglia, A., Chaudun, E., Counis, M, F, et al., 1995, *J. Biol. Chem*, **270**:28579-28585.
- [23] Belmokhtar CA, Torriglia A, Counis MF, et al., 2000, *Exp Cell Res*, **254**:99-109.
- [24] Wright SC, Wei QS, Zhong J, et al., 1994, *J Exp Med*, **180**:2113-2123.
- [25] Famulski KS, Macdonald D, Sikora E, et al., 1999, *Cell Death Differ*, **6**:281-289.
- [26] Nagata S, 2000, *Exp Cell Res*, **256**:12-18.
- [27] Enari, M., Sakahira, H., Nagata, S, et al., 1998, *Nature*, **391**:43-45.
- [28] Halenbeck, R., Macdonald, H., Roulston, et al., 1998, *Curr. Biol*, **8**:537-540.
- [29] Liu, X., Zou, H., Wang, X., et al., 1997, *Cell*, **89**:175-184.
- [30] Sakahira, H., Enari, M., and Nagata, S. 1999, *J. Biol. Chem*, **274**:15740-15744.
- [31] Mclroy, D., Sakahira, H., Nagata, S, et al., 1999, *Oncogene*, **18**:401-408.
- [32] Sakahira, H., Enari, M., and Nagata, S, 1998, *Nature*, **391**:96-99.
- [33] Liu X, Zou H, Wang X, et al. 1999, *J Biol Chem*, **274**:13836-13840.

支持细胞在生精细胞凋亡过程中的重要作用

汪旭莹

(南京大学医学院免疫生物学实验室 南京 210093)

精子的生成过程是一个连续的周期性的过程,这包括二倍体的精原细胞进行一系列的有丝分裂,减数分裂最后分化成为成熟的单倍体精子的过程。支持细胞(Sertoli cell)是生精上皮的一种大细胞,它从管周肌样细胞所处的基底膜延伸出去,直到生精小管的管腔内。它的底部与精原细胞相连,胞质的侧面则形成许多突起将互相联系的生精细胞包围起来,成熟的精子就从这儿释放出去^[1]。在复杂的动态生精过程中,支持细胞作为精曲小管的重要组成部分指挥着生精细胞的一系列动态过程,包括有丝分裂、减数分裂以及以后的分化。支持细胞通过给生精细胞提供激素、营养以及生理支持来完成它的功能^[2]。

睾丸内生精细胞的凋亡在成熟的哺乳动物的睾丸中是一种正常的现象。由于生精细胞对支持细胞的绝对依赖关系^[3,4],因此支持细胞已经成为研究调节生精细胞凋亡机制的一个重要对象。现在已经证实生精过程中,生精细胞通过生理条件下的凋亡(apoptosis)使它的数量达到刚好能被支持细胞所能承担的范围^[3]。此外,除了正常生理条件下生精细胞的凋亡外,当用一些有毒物质作用后,比如化学毒物邻苯二甲酸酯(MEHP^[5])作用后,或者当促性腺激素和雄激素撤退时^[6],或暴露于射线后^[7],生精细胞的数量都会显著减少。而生精细胞的增

感谢韩晓冬,侯亚义老师对本文的指导。
E-mail: hanxd@nju.edu.cn