

参 考 文 献

- [1] Downs, S. M., 1993, *Therigenology*, 39: 65—79.
- [2] Carroll, J and Swann, K., 1992, *J. Biol. Chem.*, 267: 11196—11201.
- [3] Fujiwara, T. et al., 1993, *Dev. Biol.*, 156: 69—79.
- [4] Clape, B. et al., 1994, *Nature*, 368: 875—878.
- [5] Berridge, M., 1993, *Nature*, 361: 315—325.
- [6] Yamamoto, H and Kanaide, H., 1990, *Gen. Pharmac.*, 21: 387—398.
- [7] 陈松海、韩启德, 1993, 生理科学进展, 24: 10—13.
- [8] Kline, J. T. and Kline, D., 1994, *Biol. Reprod.*, 50: 193—201.
- [9] Li, C. J. et al., 1994, *Metal Ions in Biol. Med.*, 3: 417—422.
- [10] 叶永辉、叶庆林, 1993, 生命的化学, 13: 23—24.
- [11] Whitaker, M and Patel, R., 1990, *Development*, 108: 525—542.
- [12] Parrish, J. J. et al., 1992, *Therigenology*, 38: 277—296.
- [13] Lu, K. P. and Means, A. R., 1993, *Endocrine Reviews*, 14(1): 40—47.
- [14] 陈寒柏、左嘉客, 1993, 细胞生物学杂志, 15: 61—65.
- [15] Westendorf, J. M. et al., 1989, *J. Cell Biol.*, 108: 1431—1444.
- [16] Murray, A. W. et al., 1989, *Nature*, 339: 280—286.
- [17] Homa, S. T. et al., 1991, *Dev. Biol.*, 146: 461—472.
- [18] Li, C. J. et al., 1994, *Metal Ions in Biol. Med.*, 3: 411—415.
- [19] Mattioli, M., 1991, *Endocrinology*, 129: 2640—2745.
- [20] Brown, J. H. and Brown, S. L., 1984, *J. Biol. Chem.*, 259: 3777—3781.
- [21] 赵寿元译, 艾伯森 B 等著, 细胞分子生物学, 科学出版社, 1990, 北京. p 693—737.
- [22] Kaufman, M. L. and Homa, S. T., 1993, *J. Exp. Zool.*, 265: 69—76.
- [23] Heyner, S. et al., 1993, *Therigenology*, 39: 151—161.
- [24] Singh, B. et al., 1993, *Mol. Reprod. Dev.*, 36: 113—119.
- [25] Alpizer, E. and Spicer, L. J., 1994, *Biol. Reprod.*, 50: 38—43.
- [26] 赵明、方芳、王会信、周廷冲. 1993, 生理学报, 45(3): 207—214.
- [27] Sandberg, K. et al., 1990, *Science*, 249: 298—301.
- [28] 李朝军等, 1995, 实验生物学报, 28(2): 131—136.
- [29] Sadowiski, H. B. and Gilman, M. Z., 1993, *Nature*, 362: 79—83.

血管内皮细胞的抗凝和纤溶系统及与肿瘤转移的关系

朱涵能 盛民立

(上海医科大学放射医学研究所 200032)

血管内皮细胞呈扁平状态覆盖于整个血管内壁, 由其组成的内皮是介于血液、淋巴液与组织之间的屏障, 与血液有相容性, 有隔开血液和组织的作用, 其主要特点有: (1) 抗凝性; (2) 纤溶性; (3) 选择性通透性; (4) 血管紧张调节; (5) 能分泌多种因子, 等等, 在维持血液循环正常功能过程中有着重要作用。本文着重讨论内皮细胞的抗凝系统和纤溶系统及其与肿瘤转移的关系^[1,2]。

一、血管内皮细胞的抗凝系统

内皮细胞的抗凝特性包括主动和被动两个方面, 首先内皮细胞可分泌糖蛋白肝素硫酸盐, 在胞体上形成保护面, 在血管内表面被动性阻止血栓的形成; 主动性抗血栓形成特性包括: (1) 合成、分泌内源性 NO(一氧化氮, 又称血管舒张因子) 和前列腺环素 (PGI₂); (2) 分泌纤维蛋白原激活剂; (3) 利用膜表面 ADP

酶降解ADP的聚集；(4)降解血管紧张胺；(5)吸收、失活、清除血栓；(6)血栓依赖性激活蛋白C通路。

内皮细胞合成的前列腺环素(PGI₂)在其抗凝系统中有着重要地位，继1935年Von Euler最早提出了前列腺素，用以描述人的精子和附属生殖腺的血管减压和平滑肌刺激活性物质，到1973年对花生四烯酸的不稳定代谢物的重大发现，推动了人们对花生四烯酸代谢物PGI₂、TXA₂、PGE₂、PGH₂的深入研究，对于这些物质的产生部位、相互之间的差别以及作用方式的研究，发展了血管止血理论^[8]。

对前列腺环素研究的初期工作认为：前列腺素内过氧化物在血管微粒体缺乏辅助因子的条件下，合成前列腺环素，而不是由花生四烯酸合成。目前实验证明新鲜血管组织能运用以上二者来合成前列腺环素，用消炎痛处理血管微粒体、新鲜血管环和内皮细胞，以后与血小板共孵育，可产生前列腺环素样抗凝活性物质，这种物质可被抑制前列腺环素生成的脂肪酸所抑制，此结果表明，血管壁所分泌的前列腺环素，不仅来自于内源性前体物质，而且来自于血小板释放的前列腺素内过氧化物，提示血小板与血管壁之间存在着生化合作。前列腺素普遍存在于动、静脉血液中，在微循环中，有实验表明大鼠脑中毛细血管能产生大量的前列腺环素，大血管壁合成前列腺环素的能力从血管内表面向外膜逐渐减少。体外培养实验表明，内皮细胞能分泌大量的前列腺环素，传代后仍保持这一功能^[9,10]。

前列腺环素是人、犬、鼠的低血压剂，在分离的豚鼠、家兔灌注心脏中，前列腺环素不仅是一个有效的血管舒张剂，而且是冠状动脉的扩张剂。大量证据表明，前列腺环素能够调节血管紧张肽原酶、花生四烯酸，前列腺内过氧化物的分泌、合成。目前发现，前列腺环素不仅是血液循环的强血管舒张剂，而且是最强的小血小板聚集内源性抑制剂，其作用比腺苷强1000倍。

前列腺素内过氧化物在花生四烯酸代谢中有着重要作用，是一些具有拮抗作用物质的共同前体。由血小板为主生成的TXA₂具有收缩血管和聚集血小板的作用；另一方面，血管壁合成的前列腺环素是高效舒张剂，并抑制血小板的聚集，两者对CAMP有着相反的作用。TXA₂与PGI₂保持平衡，控制着血栓和止血块的形成。内皮细胞分泌的TXA₂具有调节作用。当PGI₂-TXA₂系统不平衡，可造成多种疾病。环氧化酶抑制剂，血栓素合成抑制剂和脂过氧化物是PGI₂形成的影响因子。

内皮细胞还能分泌多种细胞外基质，包括多类胶原、thrombospondin、层粘连蛋白、肌联蛋白、糖蛋白、弹性蛋白和微纤维，这些物质在防止血栓形成过程中有着重要作用。定位止血过程是一个包括激活和抑制的复杂过程，以期把出血和不必要的血栓限制到最低程度，内皮细胞参加了这一过程，首先内皮细胞在其表面促进凝血酶和抗凝血酶Ⅲ形成复合物，阻止凝血酶进入血液循环，其次内皮细胞通过合成表面蛋白thrombomodulin，与凝血酶连接，在内皮细胞表面形成复合物，使凝血酶无法激活因子V，切断纤维蛋白原以及激活血小板，相反可以激活蛋白C，诱导合成抗凝血产物。

二、血管内皮细胞的纤溶系统

内皮细胞所表现出来的纤维蛋白溶解系统极为复杂，它能分泌纤溶活性物质抑制物(PAI)和纤维蛋白溶解活性物质(PA₂)，前者可中和后者，两者形成复合体。PA₂可激活纤溶酶原，使之成为纤溶酶作用于纤维蛋白进行溶解。PAI可对这一过程进行调节。能够改变体外培养内皮细胞的纤维蛋白活性因素分两类，一类是抑制因素，为血清、类脂类、钙离子、凝血素、内毒素、白介素-1；另一类是促进因素，有活性蛋白C、维生素A、维生素C、植物脂醇、佛波酯、血管生成生长因

子^[4]。

1. 纤维蛋白溶解酶激活物(PA)

体外培养的内皮细胞具有纤溶活性, 每 10^6 个细胞, 每 16 小时可分泌 2—8 单位 PA, 目前已知有两种 PA, 即 tPA (分子量为 72000) 和 uPA (分子量为 54000) 分子, 两者主要区分是 tPA 与纤维蛋白连接。而 uPA 不与之相连, 内皮细胞可分泌多种形式 tPA。

2. 纤维蛋白溶解酶原激活物抑制物(PAI)

纤维蛋白溶解抑制物可运用“反向纤维蛋白自显影法”来检测, 在含纤维蛋白凝胶底片上, 加入 PA 和纤溶酶原, 使纤溶酶对纤维蛋白发生溶解作用, 从而使底片曝光。当抑制物加入后可抑制溶解过程的发生, 抑制活性可通过溶解抑制区凝胶的不透明度表现出来。体外培养的小牛主动脉内皮细胞(BAEC)可分泌产生 PAI-1, PAI-1 与单链 tPA 的反应很快且很强, 比 PAI-2, PAI-3 至少快 10000 倍。PAI-1 以 B-运动方式进行, 易于被氧化剂所灭活, 在低浓度氯胺 T、N-氯-琥珀酸和过氧化氢作用下失活, PAI-1 存在于 BAEC 的培养液中, 在提取初期以失活状态存在, 可用多种变性剂激活。

3. 血管内皮细胞表面和基质的辅助性纤维蛋白溶解物质

近年研究表明, 内皮细胞表面存在着多种纤溶物质、纤溶酶原和纤溶酶的结合位点。tPA 与人脐带静脉内皮细胞(HUVEC)表面位点相连接, 并受赖氨酸连接位点的调节。uPA 与包括 HUVEC 在内的多种细胞表面受体连接, uPA 与受体的连接非常迅速且具有特异性, 不需要激活位点而发生作用。体外培养的内皮细胞可分泌多种糖蛋白组成细胞外基质, 如纤维连接蛋白和 thrombospondin, 内皮细胞外基质不仅与纤溶酶原相连接而且能加强纤溶酶原的动力活性和延长纤溶酶活性。

4. 血管内皮细胞介导的纤溶活性的调节

由于有多种因子可改变多种来源内皮细胞

的纤维蛋白溶解活性网, 因此对纤溶系统的调节显得较为复杂。抑制纤溶活性的物质有地塞米松, 钙离子和生理浓度的凝血酶等, 凝血酶可在数分钟内使 uPA 产生特异性下降, 而对 tPA 无作用。与此相反, 在原代培养的 HUVEC 中, 凝血酶诱导 tPA 和 PAI-1 产生剂量依赖性增长, PAI-1 的增长比 tPA 的更大, 因此凝血酶对于 HUVEC 和 BAEC 的纤溶活性具有抑制作用。促进纤溶活性的物质有蛋白 C, 维生素 A、C 等, 蛋白 C 是一种维生素 K 依赖的血浆蛋白酶酶原, 受与内皮细胞表面 thrombomodulin 连接的凝血酶激活。激活的蛋白 C(APC)是一种强有力的抗凝血酶, 通过使凝血因子 V_a 和 V_{III} 失活而阻断凝血酶的形成。对 BAEC 的研究表明, APC 可造成所有类型 PAs 活性呈剂量依赖性增长。APC 作用需要蛋白 S 的存在, 蛋白 S 是由内皮细胞分泌的一条维生素 K 依赖的多肽单链, 蛋白 S 是蛋白 C 的辅助因子, 与同样也是内皮细胞分泌的蛋白 C 肌联蛋白形成复合物, 存在于内皮细胞表面, 蛋白 S 在 APC 介导的前凝血过程和前纤溶活性的调节中有着决定性作用。有人报道了类固醇和性激素对内皮细胞 PAs 活性的影响, 当用植物固醇, 固醇式岩藻糖固醇处理, PAs 活性显著增加, 这种活性的增加归因于 tPA, uPA 分泌的增加, 维生素 A 可提高 PAs 活性 8 倍, 维生素 C 可提高 PAs 活性 1.5 倍, 两种维生素同时发生作用可提高 PAs 活性至 20—50 倍。

内皮通过分泌纤溶物质影响血管纤溶系统, 体外培养的小牛和人内皮细胞都能分泌 uPA、tPA 和 PAI-1, 参与血浆和细胞纤溶系统的调节。与体内 uPA, PAI-1 的浓度相比, 体外培养的内皮细胞分泌量要低, 体外培养的 BAEC 的纤溶活性水平与细胞的生长状态保持一致。此外, 内皮细胞表面和细胞外基质可与纤溶活性物质相连, 这种连接具有快速性, 特异性和饱和性, 通过连接, 纤溶酶原活性增加, PAs 受到生理性抑制的保护。

三、内皮细胞抗凝和纤溶系统与肿瘤转移的关系

肿瘤转移是指恶性肿瘤细胞从原发灶脱落后,通过多种途径,抵达与原发瘤不相连续的部位,继续生长形成与原发瘤具有同样性质的继发瘤。肿瘤转移在临床上为绝大多数恶性肿瘤病人的致死问题,原发肿瘤可进行手术切除或放射性治疗,但已播散的癌症都难以用上述手段治疗,而不损伤正常组织,由于其致死性,多年来转移已成为癌症基础研究的主要课题。

肿瘤转移过程是一个非常复杂、受多种因素影响的过程^[6],涉及到多种凝血因子、多种细胞,多种酶、基质的作用。同时肿瘤转移又是一个非常低效的过程,进入循环系统中的肿瘤细胞超过99%无法成活,一个世纪前,就有人对肿瘤细胞与宿主的血液凝血系统的相互关系进行了研究。通过临床实验病理、药理观察表明,几乎所有的肿瘤病人,都有临床血栓形成疾病和症状,有实验表明,抗凝血药物对肿瘤病人及肿瘤转移病人有一定的疗效,凝血和抗凝血平衡体系在肿瘤细胞转移机理研究过程中占有重要地位。

Honn et al等首先证实了 PGI_2 可阻止B16细胞在肺部转移灶的形成;而对 PGI_2 分泌的抑制有利于B16细胞的转移, PGI_2 及其类似物对肿瘤转移病人有一定的治疗效果,另一些实验表明,用 TXA_2 分泌的抑制剂处理过程的肿瘤细胞,其转移灶的形成能力明显下降。血小板可主要分泌 TXA_2 和12-HETE,有助于肿瘤细胞在血液中的转移和对内皮细胞的粘附。在循环系统中,内皮细胞生成的 PGI_2 和血小板生成的 TXA_2 之间存在着拮抗作用,保持平衡,高转移肿瘤细胞可破坏改变 $\text{PGI}_2/\text{TXA}_2$ 的比例,形成前凝聚状态,有利于血栓的形成和转移,同样对 $\text{PGI}_2/\text{TXA}_2$ 比例的调节可阻断转移的持续。在老鼠尾静脉注射B16细胞20分钟前,用15-HPETE(一种阻碍

PGI_2 分泌的脂肪酸)处理B16细胞,可发现所形成的肺转移灶比未处理组多了3—5倍,在注入 PGI_2 和茶碱后紧接着注入15-HPETE可发现肿瘤灶的形成明显减少。12(S)-HETE可促进肿瘤细胞诱导血小板聚集,与 TXA_2 作用机制相同。12(S)-HETE作用可导致大血管内皮细胞可逆性收缩,这种作用与剂量及作用时间相关,但无细胞毒性作用,在扫描电镜下可见,12(S)-HETE可透导内皮细胞伪足收缩,细胞间隙增大,基底膜外露。12(S)HETE处理后,15分钟内皮细胞收缩,1—2小时达到高峰,12(S)-HETE改变了正常静止细胞之间的联接;损伤了细胞之间通讯,12(S)-HETE的作用可被内皮细胞分泌的13-HODE(13-hydroxyoctadecadienoic-acid 13-羟十八酸)阻断,从而阻止肿瘤细胞对内皮细胞的粘附^[7,8,10]。

在肿瘤转移过程,人们还看到了纤溶系统的变化。许多研究者对肿瘤组织中和血管转移灶周围的纤维蛋白沉积进行了大量研究,并提出了两个解释肿瘤转移过程中纤维蛋白功能的假设,一种认为,纤维蛋白的沉积可促进肿瘤细胞的生长,保护肿瘤细胞免受免疫系统和化学治疗的攻击,有助于在血管中的迁移,不被自然免疫细胞杀死。另一种认为纤维蛋白沉积于初期肿瘤细胞周围,可通过阻止肿瘤细胞进入血液循环而降低转移性。目前已有有人运用抗凝血药物,溶解纤维蛋白和溶血栓药物减少了肿瘤细胞的扩散强度。Dssowski et al实验证实纤溶酶具有阻止肿瘤细胞的扩散的功能,他们用抗纤维酶原激活物抗体,作用于人Hep-3瘤细胞,能阻止移植于小鸡胚胎绒毛膜毛囊Hep-3细胞形成转移。

肿瘤细胞不仅能分泌tPA,而且还能分泌PAI在不同转移过程中起作用。在临床上,发现某些转移病人纤溶活性上升,纤溶酶水平增加,这与肿瘤细胞tPA的过度分泌有关。有人发现uPA大量积聚于肿瘤细胞前沿,围绕着肿瘤细胞周围的蛋白溶解有利于肿瘤细胞在组

组织内的迁移和对细胞外基膜的降解。也有报道,肿瘤病人血浆纤溶活性下降,这与肿瘤细胞的对纤溶系统的破坏有关,这使肿瘤病人血栓形成的危险性增大,快速激活血浆凝固因子可导致纤维蛋白覆盖于肿瘤表面形成血栓,肿瘤细胞表面 PAI 阻止了血液纤溶系统对纤维蛋白屏障的降解,与内皮细胞分泌的 tPA 相拮抗,有助于肿瘤细胞对血管壁的粘附。tPA 和 PAI 的相互拮抗作用调节着肿瘤转移过程的进行^[9,10]。

综上所述,肿瘤转移过程与凝血系统和纤溶系统密切相关,多种因素的参与,不同组织器官及肿瘤细胞种类不同导致机理研究的复杂化,内皮细胞纤溶系统和凝结系统的变化及其与肿瘤细胞分泌的纤溶物质和凝结物质的相互关系的研究,很可能与肿瘤转移灶的选择性形成有关,这对于肿瘤转移的形成机制的阐明有着重要的理论价值。

参考文献

- [1] Chiabrando C., et al., 1985, *Cancer Research*, 45: 3605—3608.
- [2] Henkin J, Marcotie P. Yang M, 1991, *Cardiovasc Dis*, 34: 135—161.
- [3] Kenneth V. Honn, et al., 1992, *cancer and metastasis Reviews*, 11: 223—226.
- [4] Han C, Kwaan, 1992, *Cancer and Metastasis Reviews*, 11: 291—311.
- [5] Vlodavsky, et al., 1982, *Experiment Cell Research*, 140: 149—159.
- [6] Kenneth V. Honn, et al., 1992, *Cancer and Metastasis Reviews*, 353—375.
- [7] G. Edgar Rice, et al., 1988, *American Journal of Pathology*, 133 (2): 204—210.
- [8] Isaiah J. Fidler, 1990, *Cancer Research*, 50: 6130—6138.
- [9] Robert Lafrenie, et al., 1992, *Cancer and Metastasis Reviews*, 11: 377—388.
- [10] Yong Q. Chen, et al., 1992, *Cancer and Metastasis Reviews*, 11: 386—410.

花粉粒和花粉管中的微丝骨架

蔡雪

董云洲

(中国科学院植物研究所 北京 100044) (中国农业科学院生物技术研究中心 北京 100081)

自从 1972 年 Franke 等^[1]第一次报道大君子兰和麝香百合花粉管中存在直径 6 nm 的肌动蛋白微丝以来,近十几年来这方面的研究工作已迅速展开,积累了丰富的研究资料。借助于荧光探针、免疫荧光标记、透射电镜等技术手段,已先后对三十种植物的花粉粒和(或)花粉管的微丝做过观察,揭示了花粉萌发和花粉管生长过程中肌动蛋白微丝的三维结构及其在时间和空间上变化的规律,并对微丝在花粉萌发和花粉管生长的生理活动中的重要作用获得了比较一致的认识。

一、花粉粒和花粉管中微丝的结构形式和分布格局

干燥成熟花粉的萌发经历三个连续过程:水合、活化、萌发^[2]。在此生理活动中,微丝的结构形式和分布格局呈现明显的变化。

在雪花莲^[3]、英地百合等植物^[4,5]的干燥成熟花粉及紫萼^[6]、麝香百合^[7]及其他一些植物种^[5,8]的水合花粉中,肌动蛋白以梭状体的形式随机分布于营养细胞质中。超微结构观察