

- 704.
- [3] Nobori T. et al., 1994, *Nature*, 368: 753.
- [4] Stone S. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 2988.
- [5] Mao L. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 2995.
- [6] Yang R. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 2503.
- [7] Hunter T. 1993, *Cell*, 75: 839.
- [8] Hunter T. et al., 1994, *Cell*, 79: 573.
- [9] Culotta E. et al., 1993, *Science*, 262: 1958.
- [10] Xiong Y. et al., 1993, *Nature*, 366: 701.
- [11] Marx J. 1994, *Science*, 263: 319.
- [12] Otsuki T. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 1436.
- [13] Yoshida S. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 2756.
- [14] Merlo A. et al., *Nature Med.*, 1995, 7: 686.
- [15] Nishikawa R. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 1941.
- [16] Reed J. A. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 2713.
- [17] Okamoto A. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 1448.
- [18] Serrano M. et al., 1995, *Science*, 267: 249.
- [19] Jin X. et al., 1995, *Cancer Research*, 55: 3250.
- [20] Mori T. et al., 1994, *Cancer Research*, 54: 3396.

脊椎动物前脑发育的研究进展

杨岐生 林 卿

(浙江大学生物科学与技术系 杭州 310027)

胚胎早期神经系统的发生包括两个不可分开的阶段,即活化和转化过程。活化过程开始于原肠胚早期,是神经发生的诱导过程。稍晚的转化阶段发生了神经系统局部结构的形成,即区域化过程。活化的关键是原肠胚中胚层产生诱导性信号分子和外胚层对信号的应答,区域化也是诱导的结果,造成中枢神经系统有各种局部结构,即具有不同细胞谱系和功能的神元节(neuromere)。

一、早期胚胎神经发生的诱导作用

早期胚胎发育过程中,原肠胚早期形成三层细胞后,未分化的外胚层背部一片细胞带变厚成神经上皮,并转化成为中枢神经系统原基(primorderm)的神经板。中枢神经系统起源于背侧外胚层与凹陷中胚层之间的相互作用。神

经板经过折叠内卷形成神经管。从神经管进一步发育分化成复杂的中枢神经系统脑泡组织。现在还不清楚最早的神经诱导发生在何时,但形成神经上皮的这部分细胞已具有神经细胞的命运。现在认为,囊胚期结束,原肠胚早期开始的神经诱导存在两条保守的路线(或方向):(1)内陷脊索中胚层向外胚层垂直方向发出信号;(2)中胚层组织者的信号在外胚层内水平方向传播。两条诱导路线相互作用,决定了早期神经细胞的形成和中枢神经系统的发生^[1]。神经管通过头尾(A-P)轴向和背腹(D-V)轴向的诱导,建立了中枢神经系统的基本格局(pattern)。A-P轴向的诱导信号来自背侧中胚层,D-V轴向的诱导信号源是脊索及稍晚的底板。

在诱导模型的研究中,头尾轴向的诱导研究提出了双信号模型,认为最初的信号存在于整个脊索中胚层,外胚层被诱导成神经外胚层。

另一信号在中胚层内呈梯度存在, 后端浓度最高。两种信号相互作用, 不同位置产生不同的区域化, 使最初诱导成的神经外胚层转化成头端特征的结构。神经板沿着 A-P 轴向区域化, 神经板折叠成神经管, 前端向脑的方向发展, 后端形成脊髓。同时, 前端神经管细胞沿着 D-V 轴向通过同脊索的相互作用而完成头端细胞的特化。

在原肠胚初期, 缘带中胚层的神经诱导信号以平面方式传到邻近外胚层。在中胚层已内陷、移到外胚层下面之后, 信号以垂直方式传递。早在神经板还在开放的阶段, 中线脊索中胚层的信号从横向作用逐渐转变成背腹方向的作用, 使开放的神经板转化成封闭的神经管。神经管背腹方向的成型是脊索调节的过程。神经板的中线细胞与脊索直接接触, 形成神经管的底板。脊索和底板还分别作为腹侧的信号源, 诱导腹侧型式的形成。但随着原肠期结束, 神经外胚层对脊索中胚层的诱导不再作出反应, 中胚层信号对神经诱导的影响减弱。在中枢神经系统成型和形态发生中, 还有次级诱导在起作用。近来在鸡胚胎研究中认为, Hensen 结(胎儿原结)是设想的组织者^[2,3], 它可以进一步分成许多不同的小区域。移植实验证明, Hensen 结前端的外胚层和部分中胚层具有神经诱导活性, 而原结后端的中胚层不具此活性, 中间部分的中胚层足以诱导神经组织成为中脑和后脑, 但不足以造成前脑的特化。要形成完整的脑干(axis), 除了中间部分的中胚层之外, 原结的外胚层也是必要的。这样在胚胎脑区形成前、中、后三个脑泡^[1]。

神经的诱导因子是什么? 这是一个难以回答的问题, 诱导可能涉及多个因子作用的复杂过程。神经诱导总与中胚层形成偶联在一起, 一些间接的神经诱导因子先诱导中胚层, 然后再由背侧中胚层诱导神经形成。目前在鉴定诱导因子方面已有某些进展, 例如, 涉及细胞迁移的同源异形盒基因产物 *goosecoid*; 涉及底板和脊索特化的 *HNF/hork* 家族成员; 脊索组织化

必要的 *nut* 基因产物; 参与细胞间相互作用的分化因子 Wnt 蛋白; 作为转录激活因子的同源异形域 LIM 蛋白等。它们都是组织者基因的表达产物^[4]。

在两栖类中已发现 *noggin* 和 *follistatin* 两种诱导因子^[5], 其中 *noggin* 首先被鉴定为神经诱导因子。先由原肠胚组织者原口背唇产生, 稍后在整个脊索和神经管前端产生^[6]。如果原肠胚过度表达 *noggin*, 就可在外胚层产生一种前脑中广泛存在的神经标志分子 NCAM(神经细胞粘分子)。如把 *noggin* 蛋白或其 mRNA 加到囊胚和原肠外胚层, 即使缺乏中胚层的情况下也可诱导该神经标志分子。*noggin* 可能是前端最早的神经诱导因子。

follistatin 在哺乳动物中原先鉴定为结合于活性素(activin)的一种分泌蛋白^[7], 能阻断活性素促卵泡激素(FSH)释放的功能。非洲爪蟾的背侧中胚层表达具有神经诱导活性的 *follistatin*, 先在原肠胚的组织者中表达, 后来在脊索和前端神经系统中表达。这种内源性的信号分子能解除外胚层中活性素的抑制作用, 使外胚层细胞神经化。但是在小鼠胚胎早期发育中 *follistatin* 并不是很好的诱导因子。现在还不清楚是否 *follistatin* 和 *noggin* 有相互作用、协同作用, 或有各自的作用路线。

第三种诱导因子是肝生长因子(HGF/SF)。当 HGF/SF 作用于外胚层移植物, 在缺乏中胚层时, 从形态和标志分子的检查, 移植物被诱导成分化的神经元。HSF/SF 可能是直接诱导或间接促进对神经诱导信号的应答而起作用。

二、前脑的区域化

一当头侧神经管闭合, 初始前脑开始形成, 神经发育进入转化阶段, 主要进行中枢神经系统的分化, 形态上发生巨大的变化。分节化(segmentation)似乎是胚胎组织发生的重要规律。中枢神经系统和前脑也经历分节化过程, 主要表现在脑组织的区域化, 发生局部结构的

特化,通过细胞的分化和迁移开始产生前脑的区域特化组织。胚胎早期中枢神经系统经历二个水平上的区域化:(1)神经管局部结构特化成为端脑、间脑、中脑、后脑等区域。神经管前端被诱导成前脑泡,经弯曲和横向收缩,前脑泡分成端脑和间脑两部分。背侧的端脑将发育成大脑两半球,间脑成为丘脑、下丘脑、海马等结构;(2)每个局部结构再区域化,形成称为神经原结(neuromere)的神经上皮域(neuroepithelial domain),每个神经原节的神经上皮域进一步分化产生组织学和解剖学上各种不同的神经结构^[3]。

根据形态学、调节基因(实际上是各种转录因子)表达型式以及实验胚胎学的研究结果,认为前脑至少是部分分节的。扫描电镜的形态学观察表明,间脑有4个横向的神经原节D1—D4,分别是不同基因的表达域(expression domain)。根据一些基因在胚胎前脑中mRNA的表达型式,提出了前脑原节(prosomere)的模型^[8]。前脑横向分成6个前脑原节P1—P6,前脑原节的数字基本上反映了它在发育中出现的时间。前脑原节可分成两个横向大亚区,其中P4—P6在前脑背侧构成端脑(即次级前脑),P1—P3在次级前脑的腹侧,由下丘脑等组成,构成间脑,基本上与D1—D4区域呈现一致性。每个前脑原节再纵向分成若干小区域。前脑的基本布局是诱导的结果。前后轴向和背腹轴向的信号使神经上皮逐渐划分成纵横向格子样排列的、有不同组织学特性的神经原节。神经原节是前脑的基本结构单位。根据小鼠和鸡胚胎不同发育时期30种基因表达情况的观察结果,神经原节的划分与一些基因表达的界线是一致的,有不同的细胞谱系,以及具有有丝分裂和基因表达的特定时空活性。神经原节之间的界线能限制不同谱系细胞的混合,但有间隙连接的交流(gap-junction communication)。P2—P3的界线还可能是神经上皮域的组织者,或许所有的神经原节的界线区域都具有诱导能力。这种模型为前脑

发育的机理提供了形态学的基础^[9]。

哺乳动物的大脑皮质是从端脑由新皮质原基发展而来。新皮质原基在胚胎早期时区域化不明显,但在后期,特别在出生后显示出很强的区域化和基因的特异性表达^[10]。皮质细胞发生前后轴向和背腹轴向的迁移,使大脑皮质在形态上形成多层次结构。当前脑泡横向形成P1—P6的6个前脑原节时,分节基本上没有进入端脑。后来,端脑侧向发展,经过横向和纵向的区域化,形成很多界线,大脑皮质被分隔成多层而复杂的区域,形态上分为整整6层神经原节的区域化结构,在功能上各层次的神经原节之间则有不同的基因产物^[4,11]。

区域化不仅与脑区结构发育有关,在功能上还和神经网络的形成有关。脑区的形态结构形成与神经轴突伸展以及早期神经网络结构的形成之间都是密切联系的。早期间脑在几个固定位置出现轴突,沿着神经原节之间的界线向前伸展,这些界线似乎是轴突发育的路径,引导神经元向什么方向延伸发展^[12]。神经元生长锥只在允许的神经原节中移动。如果相邻的神经原节产生对生长锥伸展有抑制性的物质,将阻碍生长锥越过界线进入相邻的神经原节中,伸展方向将发生改变。如果相邻的两个神经原节产生不同的、但对生长锥伸展都有促进作用的分泌信号分子,则生长锥沿着界线边缘的小区域向前移动。因此,轴突束的组织趋化性和发育路径及早期各神经原节内基因表达产物之间有良好的对应关系。目前对轴突的生长、神经网络的形成了解甚少,还有待研究。

三、前脑基因的区域化表达

过去几年已鉴定了胚胎前脑中表达的大量基因。大多数基因在前脑的表达型式显得十分复杂,有的散开在中枢神经系统的各个部位,有的呈均匀或梯度式水平的表达。很多基因尚无足够资料来分析其表达域及在前脑发育中的功

能。研究得较多的一些基因,如 *Dlx 1*, *Dlx 2*, *Gbx 2* 和 *Wnt 3* 等的表达形式支持了胚胎前脑分为神经元节的区域化模型^[8]。

根据纵向上表达水平进行分类,可以把一些基因分成几组^[11],如 *IGFBP-2*、*Otx-1*、*RAR β -2*、*MASH-1* 为一组,在前脑基板和翼板显示表达;第二组 *Nkx-2.2*、*Dbx* 和 *SCF* (也称 *MGF*) 在纵向上局限于基板、基板与翼板的界线上;第三组 *BF-1*、*Pax-3* 和 *Pax-6* 局限于翼板内表达。前脑基因区域化表达的第一个例证是同源异形盒基因 *Dlx 1*^[13]。它相当于果蝇的 *Distal-less* 基因,小鼠胚胎发育约第 10 天起在端脑基底和丘脑中表达。*Dlx* 基因家族(6 个成员)在小鼠 E 12.5 时的表达域只限于发育中的端脑腹侧和间脑。可以认为,前脑的基因表达显示一定的表达域,局限于特定的脑区和分化的细胞群体。各种基因都有自己的表达图谱,可相互重叠。很多神经原节之间的界线成为基因表达的屏障,使有些基因表达不能逾越,空间上受到限制。应该指出,区域化的结构和表达域随着前脑的发育而在不断改变。

Emx 1 等一组基因更能说明区域化表达的特性。小鼠胚胎第 9.5—16 天之间,*Emx 1* 基因限于端脑背侧,相关基因 *Emx 2* 也几乎只在发育的前脑中表达。在小鼠 E 10 胚胎中,*Emx 1* 和 *Emx 2* 的表达是在前脑背侧部,在同源异形盒基因 *Otx* 的表达域之内。*Otx 2* 的表达域在端脑、间脑和中脑的各个背、腹侧部。*Otx 1* 类似于 *Otx 2*,但在 *Otx 2* 之中。*Emx 2* 在端脑背侧和间脑的小部分,而 *Emx 1* 限于端脑的背侧。因此这些基因的表达域在 E10 前脑中表现出相互连续的特性;*Emx 1* 在 *Emx 2* 中,*Emx 2* 在 *Otx 1* 中,*Otx 1* 在 *Otx 2* 中。这 4 个基因转录产物的出现也是有序的,*Otx 2* 首先表达(E5.5),接着 *Otx 1* 和 *Emx 2* (E8—E8.5),最后是 *Emx 1* (E9.5)^[14,15]。估计这些相关基因围绕着端脑背侧部位为中心进行有序的表达,确定着该脑区内细胞发育的命运。

goosecoid 基因也是一种同源异形盒基因,在小鼠、鸡、鱼、蛙中都有很好的研究。小鼠的该基因在原肠胚早期原条(*primitive streak*)的头端作短时间表达。鸡的原肠胚首先在内胚层和胚盘后缘区检测到该基因的表达,后来沿着胚胎主轴从后端缘带穿过原条到 Hensen 结的前半部位,最后它的表达移到胚胎的最前端。*goosecoid* 是组织者活性细胞的标志分子,其表达似乎与背部组织者的功能密切关联,在非洲爪蟾中起着 Spemann 氏组织者的作用。微量注射 *goosecoid* mRNA 就能使原肠胚早期中胚层细胞形成背部结构。

前脑各种基因中,*Otx 2* 得到了较详细的研究。早在发育 5.5 天的小鼠胚胎中,还见不到原条的时候,*Otx 2* 就在外胚层和初始内胚层中表达。在 7—7.5 天的表达集中到相当于以后将是前脑和中脑的神经外胚层以及头端中胚层的部位。第 10 天在中脑、间脑和端脑的背、腹侧,在头褶阶段逐渐转移到头端,主要在脑的吻侧表达。小鼠早期胚胎的实验证明,*Otx 2* 在头端的稳定表达似乎需要头端中胚层一种假设的正诱导信号,稍后尾端中胚层的一种负诱导信号抑制 *Otx 2* 在尾区的表达^[18]。外源的视黄酸可以模拟尾端这种负调控信号的作用。非洲爪蟾 *Otx 2* 的研究发现有类似的情况。未受精的卵子以及早期囊胚中存在着母本 *Otx 2* 的转录产物,该基因在胚胎整个发生过程中被表达。先在囊胚中检测到转录产物,原肠胚迁移开始后数小时扩展到将成为神经外胚层的头端细胞。原肠胚后期和神经胚早期阶段,*Otx 2* 表达似乎局限于头端区域的中、外胚层的一条带状结构中。*Otx 2* mRNA 显微注射到非洲爪蟾囊胚分裂球中会诱导头部粘合腺(*cement gland*)的发育,粘合线是头端最前面的结构之一。原肠胚时期,*Otx 2* 的表达域在时间、次序上与神经诱导的模式相一致。因此推测,*Otx 2* 基因在小鼠和非洲爪蟾原肠胚头端结构的特化中直接起着作用^[16,17]。从该基因的表达可以看到脑基因表达经历着极为复杂

的过程,目前神经发育生物学正在逐渐揭示它们在前脑发育中的功能。

四、结 语

胚胎发育过程中,中枢神经系统特别是前脑的发生、发育和分化经历了一个非常复杂的过程,是神经发育生物学极为广阔和丰富多彩的研究领域。目前对前脑的研究,无论从形态结构、细胞分化、基因表达和神经网络特定功能的建立等都还只处于起始阶段。尽管近年来已有深入、迅速的发展,但目前的研究主要集中在阐述发育中形态结构变迁和基因表达域变化等方面,尚处于资料和认识的积累阶段,较少涉及前脑结构形成与功能建立之间的关系,对中枢神经系统整个发育的认识仍然是肤浅和残缺不全的。今后将在研究基因表达域及其产物的基础上探讨神经发育中各种调控基因和管家基因的功能,寻找更多的促进细胞分化(和编程死亡)的诱导因子,研究不同脑区内神经元的生长发育和神经网络的建立,为进一步研究高级神经活动打下基础。

参 考 文 献

[1] Kessler DS, Melton DA., 1994, *Science*, 266: 596.

- [2] Storey KG, et al., 1995, *Development*, 121: 417.
 [3] Gulthrie S., 1995, *TINS*, 18: 74.
 [4] Boncinelli E. 1994, *Curr. Opi. Neurobiol.*, 4: 29.
 [5] Kelly OG, Melton DA., 1995, *TIG*, 11: 273.
 [6] Smith WC, Harland RM., 1992, *Cell*, 70: 829.
 [7] Hammati-Brivanlou A, et al., 1994, *Cell*, 77: 283.
 [8] Bulfone A, et al., 1993, *J. Neurosci*, 13: 3155.
 [9] Rubenstein JLR, et al., 1994, *Science*, 266: 578.
 [10] Cohen-Tannoudji M, et al., 1994, *Nature*, 368: 460.
 [11] Puelles L, Rubenstein JLR, 1993, *TINS*, 16: 472.
 [12] Price M, et al., 1992, *Neuron*, 8: 241.
 [13] Price M, et al., 1991, *Nature*, 351: 748.
 [14] Simeone A, et al., 1992, *Nature*, 358: 687.
 [15] Simeone A, et al., 1993, *EMBO J.*, 12: 2735.
 [16] Pannese A, et al., 1995, *Development*, 121: 707.
 [17] Blitz IL, Cho K W Y., 1995, *Development*, 121: 993.
 [18] Ang S-L, et al., 1994, *Development*, 120: 2979.

生长素结合蛋白研究进展

张洪霞 白永延 许智宏

(中国科学院上海植物生理研究所植物分子遗传国家重点实验室 200032)

生长素(auxin)是植物体内普遍存在的一类植物激素,它对植物的生长发育起着多方面的调节作用,如促进细胞伸长,诱导细胞分化,促进生根和单性果实(parthenocarpic fruit)的发育等,同时生长素还抑制芽的发生及果实的衰老。生长素作用机理的研究表明,生长素可以诱导一些特殊基因的快速表达,促进RNA和蛋白质的合成。因此,生长素可能是通过调

节基因的表达来发挥作用^[1]。“酸生长理论”(acid growth theory)则认为,在细胞膜上存在着生长素的受体,生长素与之结合后激活了细胞质膜上的质子泵,破除了细胞壁纤维结构间的交织点,细胞壁的可塑性增加,从而使细胞伸长^[2]。尽管对“酸生长理论”一直存在争议,但植物体内存在生长素受体的证据在不断积累。70年代末,关于生长素受体的研究工作虽已全