

- [8] Flores, E F. et al, 1996, *J. Gen. Virol.*, **77**:1295-1303.
- [9] Meyers, G. et al., 1989, *Virol.*, **171**:555-567.
- [10] Windisch, J M. et al., 1996, *J. Virol.*, **70**:352-358.
- [11] Hulst, M M. et al., 1994, *Virol.*, **200**:558-565.
- [12] Konig, M. et al., 1995, *J. Virol.*, **69**:6479-6486.
- [13] van Rijn, P A. et al., 1994, *J. Virol.*, **68**:3934-3942.
- [14] Rumenapf, T. et al., 1993, *J. Virol.*, **67**:3288-3294.
- [15] Moormann, R J M and Hulst, M M., 1988, *Virus Res.*, **11**:281-191.
- [16] Roehe, P M and Edwards, S., 1994, *Res. Vet. Sci.*, **57**:210-214.
- [17] Shimizu, M. et al., 1995, *Vet. Microbiol.*, **47**:395-400.
- [18] 王镇等, 1997, 见: 畜禽重大疫病免疫防制研究, 谢庆阁、翟中和主编, pp126-131, 中国农业科技出版社, 北京.
- [19] Strandstrom, H. et al., 1974, *Virol.*, **57**:175-178.
- [20] Ferrari, M., 1992, *Comp. Immun. Microbiol. Infect Dis.*, **15**:221-228.
- [21] Meyers, G. and Thiel, H-J., 1995, *J. Virol.*, **69**:3683-3689.
- [22] Meyers, G. et al., 1996, *J. Virol.*, **70**:1588-1595.
- [23] Meyers, G. et al., 1991, *Virol.*, **180**:602-616.
- [24] Gomez-Villamandos, J C. et al., 1995, *J. Gen. Virol.*, **76**:2399-2405.
- [25] Chacon, M R. et al., 1995, *Virol.*, **216**:670-674.
- [26] Neilan, J G. et al., 1993, *J. Virol.*, **67**:4391-4394.
- [27] Badley, A D. et al., 1996, *J. Virol.*, **70**:199-206.

## 细胞凋亡与细胞内信号

戴云

(第一军医大学细胞生物学实验室 广州 510515)

张兵

(第一军医大学南方医院消化内科 广州 510515)

细胞凋亡是生物界广泛存在的一种基本生命现象,具有重要的生理学和病理学意义,近年来颇受重视。同细胞的其它生物学现象(如增殖、分化、恶性转化)一样,诱导凋亡的细胞外刺激必须通过细胞内信号的传递,而激发自主死亡程序,最终导致细胞死亡<sup>[1]</sup>。本文就这方面的研究近况作一综述。

### 一、细胞内 $Ca^{2+}$

在对某些细胞外刺激的反应中,胞质内游离  $Ca^{2+}$  浓度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 迅速出现持续性升高(达 800nM),并随之出现核酸内切酶活化(DNA 断裂)和细胞死亡,如  $Ca^{2+}$  载体(可直接升高  $[Ca^{2+}]_i$ )和糖皮质激素、抗 TCR 抗体、 $\gamma$ -辐射(间接使  $[Ca^{2+}]_i$  升高)等可能均是通过细胞内  $Ca^{2+}$  的介导而诱发胸腺细胞凋亡的<sup>[2,3]</sup>。而细胞

外  $Ca^{2+}$  缺乏或细胞内  $Ca^{2+}$  螯合(BAPTA-AM 或 quin-2 处理)则可防止一些细胞的凋亡<sup>[4]</sup>。因此,  $Ca^{2+}$  作为细胞内信使,可能在介导细胞凋亡中起重要的作用。

$[Ca^{2+}]_i$  升高触发细胞凋亡的机制尚不明确,可能与下列途径有关:(1) 介导或促进 DNA 损伤:  $[Ca^{2+}]_i$  可能在多个环节上参与细胞凋亡时 DNA 的损伤。首先,  $[Ca^{2+}]_i$  升高可通过激活  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  依赖性核酸内切酶,导致核小体间 DNA (180-200bp) 的断裂<sup>[3]</sup>。其次,尽管负责高分子量 DNA 大片段断裂(50-300kb, 出现于核小体间 DNA 断裂之前)的核酸酶似乎不依赖于  $Ca^{2+}$ ,但  $[Ca^{2+}]_i$  升高可能通过某些机制(如组蛋白 1 重新分布和拓扑异构酶 I 活化)而影响染色体的结构,使之出现解折叠、扭转张力减低和超螺旋构象改变,而使 DNA 易于被 DNase 降解,如细胞内、外  $Ca^{2+}$

螯合剂(BAPTA-AM 和 EGTA)可防止糖皮质激素和内质网  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 选择性抑制剂(thapsigargin)诱导的高分子量 DNA 大片段断裂和典型的细胞凋亡<sup>[4]</sup>。(2) 激活蛋白酶(如 calpain)和谷氨酰胺转移酶;前者可进一步激活或修饰细胞骨架蛋白和某些蛋白激酶,导致细胞骨架的降解<sup>[2]</sup>;后者正常时在胞质蛋白和膜结合蛋白间起交联作用,其于凋亡时活性增高(尤以凋亡小体中为最高),不仅与凋亡细胞的形态变化(如外形皱缩和畸变)有关,而且可能通过形成高度交联的刚性网架,使质膜的抗溶解能力增加,从而保持细胞膜的完整性,防止细胞内容物的泄漏(凋亡最主要的特征之一)<sup>[5]</sup>。(3) 激活  $\text{Ca}^{2+}$ /钙调素依赖性磷酸酶(如 calcineurin):以钙调素抑制剂(calmidazolium)和环孢素 A(cyclosporin A,可促进细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的隔离和抑制 calcineurin)处理,可抑制  $\text{Ca}^{2+}$  介导的细胞凋亡<sup>[3,6]</sup>。(4) 升高核内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度:激活细胞核上的 ATP-和钙调素-依赖性  $\text{Ca}^{2+}$  摄取系统,使核内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高,并导致核酸内切酶活化和 DNA 断裂<sup>[3]</sup>。

细胞凋亡时 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的原因究竟是细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  的内流,抑或是细胞内贮存  $\text{Ca}^{2+}$  (如线粒体或内质网  $\text{Ca}^{2+}$  池)的释放,目前亦无定论<sup>[7]</sup>。一般认为,细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  池的释放只能引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的短暂升高,并不能引起细胞凋亡,甚至可能抑制细胞的凋亡;凋亡的触发不仅需要 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 达到一定的阈值,而且必须持续较长的时间(至少2小时)<sup>[7]</sup>。因此,细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  的内流可能是凋亡所必需的。实验亦证实,细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  缺乏( $\text{Ca}^{2+}$ -free 培养基或 EGTA 处理)和  $\text{Ca}^{2+}$  通道阻断剂均可防止细胞凋亡的发生<sup>[4,8]</sup>。此外,触发不同种类细胞凋亡所需的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  阈值及其持续时间也各有差异,并与其对凋亡的敏感性不同有关<sup>[3]</sup>。

值得注意的是, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高并非总是引起细胞凋亡,如  $\text{Ca}^{2+}$  载体  $\text{A}_{23187}$  可防止 IL-3 撤除而导致的细胞凋亡<sup>[9]</sup>,而  $\text{Ca}^{2+}$  螯合剂 BAPTA-AM 则可诱导 Burkitt's 淋巴瘤细胞的凋

亡<sup>[10]</sup>。

## 二、cAMP

E 系列前列腺素及腺苷酸类似物可通过升高细胞内 cAMP 水平,而激活核酸内切酶,并使胸腺细胞出现典型的凋亡<sup>[1,11]</sup>。cAMP 可能是通过激活 cAMP-依赖性蛋白激酶(PKA)而介导细胞凋亡的,PKA 的靶包括转录因子(TF)、cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)和糖皮质激素受体<sup>[3]</sup>。

## 三、蛋白激酶 C(PKC)

PKC 活化是多种细胞反应(如增殖和分化等)的早期变化之一。近来的许多研究表明,PKC 亦参与凋亡的信号传递:(1) 一些细胞因子(如 IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、GM-CSF 等)可激活细胞中的 PKC,从而阻断  $\text{Ca}^{2+}$  载体、抗 TCR 抗体和糖皮质激素诱导的核酸内切酶活化和细胞凋亡,并促进其增殖,而选择性 PKC 抑制剂(如 GF109203X)则可阻断这种作用<sup>[8,12]</sup>;(2) PKC 抑制剂(如 polymyxin B、staurosporine)可直接诱导某些细胞出现核小体间 DNA 断裂和典型的细胞凋亡<sup>[12]</sup>;(3) PKC 抑制剂(如 H-7 和 HA1004)可明显增加小鼠肝细胞对抗 Fas 抗体诱导凋亡的敏感性<sup>[14]</sup>;(4) PKC 抑制剂(如 calphostin C)不仅可诱导大鼠主动脉平滑肌细胞出现典型的细胞凋亡,而且可减少 bcl-2 (一种重要的抑凋亡基因)的表达,并改变其蛋白产物(Bcl-2)的细胞内分布<sup>[15]</sup>。由此可见,PKC 活化在多种刺激诱导不同细胞的凋亡中均起下调(抑制)作用。PKC 作用的靶可能包括一些控制核形态和 DNA 构象的蛋白质,以及与细胞骨架相关的蛋白质等。

有趣的是,佛波酯(phorbol ester)作为经典的 PKC 激活剂,却对不同细胞的凋亡有大相径庭的作用。例如,PMA(phorbol 12-myristate 13-acetate)可诱导小鼠胸腺细胞的 DNA

断裂和凋亡(可被 PKC 抑制剂阻断),对大鼠胸腺细胞和 HL-60 细胞株则无此作用,而对  $\text{Ca}^{2+}$  载体诱导的胸腺细胞中核酸内切酶活化和 IL-3 剥夺诱导的肝细胞或髓样细胞凋亡却起抑制作用<sup>[16]</sup>。PKC 是一个至少由 11 种同功酶组成的蛋白激酶家族,不同的同功酶需要不同的辅因子才能完成其调节作用,且因细胞种类和分化阶段的不同而异。有研究表明,PKC- $\beta$  的活化可能是细胞凋亡所必需的<sup>[16-17]</sup>。亦有报道认为,PKC- $\delta$  的选择性激活可促进多种细胞的凋亡<sup>[17]</sup>。但究竟是何种 PKC 同功酶负责细胞凋亡的下调作用,目前尚未见报道。

#### 四、细胞骨架

细胞骨架的变化是跨膜信号传递的重要环节。有研究表明,细胞骨架的破坏可引起细胞凋亡,而细胞骨架的稳定则可抑制凋亡的发生<sup>[18]</sup>;细胞内  $\beta$ -tubulin mRNA 于凋亡早期明显增加(先于 DNA 断裂和形态学变化),而其蛋白产物则于凋亡晚期有所增加<sup>[19]</sup>。说明凋亡时存在着细胞骨架结构和骨架蛋白的变化。但是,尚未确定细胞骨架的改变究竟是凋亡的原因抑或结果。

一般认为,细胞外信号(如缺氧、 $\text{HgCl}_2$  和氧化应激)可能通过细胞内第二信使(如  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  升高),引起 actin 微丝骨架的变化,并进而导致凋亡的形态学改变。例如,骨架成份的收缩可能引起细胞内液体静压升高,细胞内水分排出,使细胞呈现凋亡所特有的外形皱缩<sup>[20]</sup>;actin 微丝的构象改变、F-actin 纤维的消失和 actin-质膜间连接的中断可能与凋亡时的质膜起泡现象(zeiosis)有关;抑制 actin 聚合(细胞松弛素 B 处理)可阻断凋亡小体的形成,而对 DNA 断裂和核碎裂无影响<sup>[21]</sup>。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  升高亦可能通过激活钙调素,引起微管聚合性或稳定性的丧失,从而参与质膜泡(bleb)的形成,若以重水处理(稳定微管)则可阻断凋亡的进展<sup>[20]</sup>。

由此可见,在凋亡的不同阶段,细胞骨架的变化有所不同,并可能导致不同的形态学改变。此外,同样的细胞骨架变化在不同种类细胞的凋亡中所起的作用亦有差异,如 actin 微丝组装的抑制剂可能诱导或阻断不同细胞株的凋亡<sup>[21]</sup>。

#### 五、鞘氨醇信号

肿瘤坏死因子(TNF)具有诱导许多细胞系凋亡的作用;同时,TNF 可通过激活其 B 型受体,使质膜的鞘磷脂迅速水解为酰基鞘氨醇(ceramide)和磷酸胆碱,前者作为细胞内信使,可特异性活化质膜中的丝氨酸/甲硫氨酸蛋白激酶和胞质中的磷酸酶。提示鞘氨醇信号途径可能参与细胞凋亡的发生<sup>[22]</sup>。有研究表明,人工合成的鞘氨醇类似物或鞘磷脂酶可诱导 DNA 断裂(出现 DNA ladder)和细胞凋亡,且其作用的靶似乎仅限于成熟的 DNA 双链,而对新生的 DNA 影响不大;人工合成的磷酸胆碱、磷脂酶 A2(PLA2)、花生四烯酸和磷脂酶 D(PLD)均无此作用;磷脂酶 C(PLC)和人工合成的乙酰基甘油(DG)则可减弱鞘氨醇或鞘磷脂酶的作用<sup>[23-24]</sup>。迄今为止,有关鞘氨醇信号介导细胞凋亡的研究仅限于 TNF 和/或 Fas 的作用,该途径是否也参与介导其他细胞外刺激诱导的细胞凋亡,尚未见报道。

#### 六、蛋白质磷酸化和去磷酸化

有研究表明,蛋白质酪氨酸激酶抑制剂(如 herbimycin A)可抑制造血细胞中 bcl-2 基因的表达,并诱导凋亡,而 Bcl-2 的作用并不依赖于对 herbimycin A 敏感的酪氨酸激酶,提示后者可能作用于 bcl-2 表达的上游<sup>[25]</sup>。亦有报道认为,酪氨酸激酶的磷酸化可能参与离子辐射诱导的 B 淋巴母细胞的凋亡,而该激酶的抑制剂(如 genistein 和 herbimycin)则可防止这种细胞凋亡,但却不能抑制抗原刺激所诱导的未

成熟淋巴细胞的凋亡(即克隆删除)<sup>[11]</sup>。说明蛋白质磷酸化在不同类型的细胞凋亡(细胞种类和/或刺激类型不同)中可能起不同的或相反的作用。

蛋白质去磷酸化在某些细胞的凋亡中也起一定的作用。例如,蛋白磷酸酶 1 和 2A 的抑制剂(calyculin A 和 okadaic acid)可防止热处理和  $\gamma$  射线引起的 Burkitt's 淋巴瘤细胞株(BM13674)的 DNA 断裂和凋亡,蛋白磷酸酶 1 和 2A 共同的反意寡核苷酸技术亦证实了这一点,而蛋白质合成的抑制剂(cycloherimide)则无此作用<sup>[26]</sup>。由此可见,某些细胞的凋亡并不需要合成新的蛋白质,而可能依赖于已有蛋白质的修饰(如磷酸化或去磷酸化)。

## 七、氧化应激(oxidative stress)

大量的研究表明,氧化应激参与细胞凋亡的介导:1. 低浓度(10–100 $\mu$ mol/L)的  $H_2O_2$  可直接诱导多种细胞的凋亡,而高浓度时则导致坏死<sup>[27]</sup>。2. 许多化学或物理因素既可诱导凋亡,又可诱发细胞产生活性氧中间产物(ROI, 如  $H_2O_2$  和 OH),如离子辐射、紫外线辐射和一些抗癌药(如阿霉素、顺氯氨铂)等<sup>[28]</sup>。3. 清除或解毒 ROI 的能力下降或细胞内抗氧化物的耗竭可促进细胞凋亡,如细胞内 GSH 的耗竭(如 buthionine sulfoxamine 处理)可使细胞对氧化应激诱导的凋亡更为敏感<sup>[19]</sup>; HIV 感染的 T 细胞株对氧化应激诱导的凋亡极为敏感,可能与细胞内抗氧化机制的缺陷有关<sup>[29]</sup>。4. 某些生物因子可使细胞产生 ROI,并诱导细胞凋亡,而抗氧化剂则可阻断其作用,如刺激 TNF 受体可使细胞内 ROI 迅速升高,而硫氧还蛋白(巯基还原剂和自由基清除剂)、N-乙酰半胱氨酸(NAC,含巯基的抗氧化剂和 GSH 前体)和 SOD 则可抑制 TNF 或 Fas 抗体诱导的细胞凋亡<sup>[28]</sup>。5. 某些化合物具有抗氧化和抗凋亡的双重作用,如 WR-1065、视黄酸、精氨酸、L-乙酰肉碱、VitE 和锌<sup>[19,28]</sup>。6. 一氧化氮(NO)作

为自由基(其中含未配对电子,可与分子氧结合形成  $O_2$  和  $H_2O_2$ )可激活核酸内切酶(致核小体间 DNA 断裂),并诱导巨噬细胞及单核细胞凋亡<sup>[30]</sup>。多数报道认为,NO 可诱导多种细胞的凋亡,但在少数情况下亦可防止某些因素诱导的细胞凋亡<sup>[31]</sup>。

氧化应激介导细胞凋亡的可能机制包括:

1. ROI 的来源:凋亡时的氧化信号可能来自细胞外和细胞内,后者包括线粒体内的氧化反应、微体内的细胞色素 P450 系统和质膜的 NAD(P)H 氧化酶,尤以线粒体来源为主,其中的电子传递链在凋亡时出现脱偶联,使  $O_2$  被电子直接还原,而产生 ROI<sup>[28]</sup>。2. ROI 水平的基因调节:在哺乳类细胞中,线粒体和/或胞质 ROI 的水平至少部分受基因的控制,如 bcl-2 的表达可抑制多种氧化应激因素(离子辐射、热休克或 GSH 合成受抑)诱导的凋亡,而多种抗氧化物(如 NAC、GSH 过氧化物酶)则能替代 Bcl-2 的作用<sup>[32]</sup>。但应注意,氧化应激并非 Bcl-2 唯一的作用途径。3. ROI 作用的靶:(1) 直接导致 DNA 断裂<sup>[28]</sup>;(2) 活化 poly-ADP-核糖聚合酶(pADPRP),导致细胞凋亡(见后述);(3) 引起 p53 (与凋亡相关的原癌基因之一)积聚<sup>[28]</sup>;(4) 与细胞膜的多不饱和脂肪酸和胆固醇结合,产生氧化脂质,后者可直接诱导凋亡,如 HPETE(花生四烯酸的氧化衍生物)可能参与 TNF 介导的细胞凋亡<sup>[19]</sup>;(5) 抑制细胞内  $Ca^{2+}$  的隔离及  $Ca^{2+}$  与钙调素的结合,改变细胞内的  $Ca^{2+}$  自稳机制<sup>(2)</sup>;(6) 通过细胞核内某些转录因子(如 AP-1、NF- $\kappa$ B),启动“死亡基因”(如 ced-3 和 ced-4 同源基因、c-myc 等)的表达,如 TNF 激活 NF- $\kappa$ B 依赖性基因即需要细胞处于氧化状态<sup>[28]</sup>。

## 八、其他因素

一些蛋白激酶抑制剂(如 staurosporine 和 okadaic acid)、咖啡因、6-二甲氨基嘌呤等不仅可诱导 S 期阻滞的 HeLa 细胞凋亡,又具有激

活周期素依赖性激酶(CDKs,如 cdc2 和 cdk2)的作用,而 bc1-2 过量表达则可减少核内 cdc2 和 cdk2 的表达,并抑制细胞凋亡<sup>[33]</sup>。这些激酶的活性均为细胞有丝分裂所需,因而提示细胞凋亡可能与这些激酶的非适时激活有关。细胞周期的异常(尤其是 S 期阻滞)可能增加细胞对凋亡的敏感性,促进细胞凋亡。因此,同一种细胞可能因其所处的周期时相不同,而对某种凋亡诱导因素产生不同的效应。

单链或双链 DNA 的断裂均可激活 Poly-ADP-ribose 聚合酶(pADPRP),并通过合成 ADP-ribose 多聚体(可与核蛋白结合),参与 DNA 的修复。但同时也引起细胞内 NAD/NADH 和 ATP 的过度消耗,导致能量的缺乏,而可能参与某些细胞的凋亡。例如,pADPRP 抑制剂(aromatic amide3-aminobenzamide)可防止 Ca<sup>2+</sup> 介导的大鼠肝细胞核酸内切酶活化和 TNF 诱导的 U937 细胞死亡,但却不能阻断 CTL 介导的靶细胞中内切酶活化和糖皮质激素诱导的胸腺细胞凋亡<sup>[34]</sup>。

细胞外 K<sup>+</sup> 升高可导致神经元慢性去极化,并防止其凋亡,使神经元存活时间延长<sup>[35]</sup>。提示膜电位的变化亦与凋亡(至少包括神经元的凋亡)的发生有关。

## 九、细胞内信号的相互作用

综合目前的有关研究结果来看,介导凋亡的细胞内信号并无明显的特异性,多数与介导其他生物学效应的信号相重叠。即细胞内信号途径相同,但却可能介导截然不同或相反的效应(如细胞增殖或凋亡)。这对细胞来说是非常经济的,同时亦提示某种细胞内信号的变化所介导的效应可能依赖于其他信号的存在或缺如。某一细胞内通常包含了多个信号系统,但它们极少是独立作用的,而是通过其间的“交互对话”(cross-talk),来实现细胞外刺激到效应的信号传递。例如,[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>或 cAMP 水平升高所产生的效应取决于 PKC 是否活化;当 PKC 活

性缺乏时,其可激活核酸内切酶,并诱导胸腺细胞凋亡;相反,当伴有 PKC 活化时,则可介导细胞增殖和分化<sup>[1,3]</sup>。就某种细胞内信号而言,可能在细胞凋亡过程中发挥不同的甚至相反的作用,如 Ca<sup>2+</sup>、cAMP、NO 和 PKC 等。其一方面取决于细胞的种类和诱导因素的不同,另一方面可能与细胞内信号之间的失衡(imbalance signalling)有关。

在不同种类的细胞中,诱导凋亡所需的信号和细胞内代谢过程是多变的,但凋亡的形态学改变却是高度保守的(即最终共同途径)。而对某种细胞而言,不同的细胞外刺激可能通过各自的途径来传递信号(可有重叠,见附表),而最终均在共同途径上游的某一水平汇集,诱导细胞凋亡的发生。

总之,有关凋亡的细胞内信号传递目前尚存在着许多悬而未决的问题。这方面的进一步研究具有十分重要的意义,其不仅有助于阐明细胞的某些生命现象及其相互关系,并可能为寻求某些疾病(如恶性肿瘤、自身免疫性疾病、AIDS 和一些神经系统疾病)的新疗法提供线索。

附表 细胞凋亡的诱因及其细胞内信号(以胸腺细胞为例)

诱因	可能的细胞内信号
糖皮质激素	Ca <sup>2+</sup> , ROI
Ca <sup>2+</sup> 载体	Ca <sup>2+</sup> , ROI
抗-TCR 抗体(抗 CD <sub>3</sub> 抗体)	Ca <sup>2+</sup> , ROI
TNF (Fas/APO-1)	鞘氨醇, ROI
γ-辐射	ROI, Ca <sup>2+</sup> , p53
佛波酯类	PKC
前列腺素 E <sub>2</sub>	cAMP
腺苷类似物	cAMP
Topo II 抑制剂	p53
高热	ROI
抗癌药	ROI

## 参 考 文 献

- [1] McConkey DJ, et al., 1990, *Immunol Today*, 11:120.

- [2] Trump BJ, et al., 1995, *FASEB J*, **9**:219.
- [3] McConkey DJ, et al., 1989, *J Immunol*, **143**:4801.
- [4] Jiang S, et al., 1994, *Exp Cell Res*, **212**:84.
- [5] Piacentini M, et al., 1991, *Cell Tissue Res*, **263**:227.
- [6] Cohen JJ. 1993, *Immunol Today*, **14**:126.
- [7] Whyte MKB, et al., 1993, *J Clin Invest*, **92**:446.
- [8] Fesus L, et al., 1991, *Eur J Cell Biol*, **56**:170.
- [9] Nagy P, et al., 1995, *Immunol Lett*, **44**:91.
- [10] Kluck RM, et al., 1994, *Biochim Biophys Acta*, **1223**:247.
- [11] Kroemer G, et al., 1994, *Immunol Today*, **15**:235.
- [12] Gomez J, et al., 1994, *Exp Cell Res*, **213**:178.
- [13] Jacobson MD, et al., 1994, *Biochem Soc Trans*, **22**:600.
- [14] Ni R, et al., 1994, *Exp Cell Res*, **215**:332.
- [15] Leszczynsky D, et al., 1994, *Am J Pathol*, **145**:1265.
- [16] Pongracz J, et al., 1994, *Biochem Soc Trans*, **22**:593.
- [17] Walker PR, et al., 1993, *Exp Cell Res*, **207**:142.
- [18] Martin SJ, et al., 1990, *Cell Tissue Kinet*, **23**:545.
- [19] Kerr JFR, et al., 1994, *Cancer*, **73**:2013.
- [20] Squier MKT, et al., 1995, *J Leuko Biol*, **57**:2.
- [21] Cotter TG, et al., 1992, *Cancer Res*, **52**:997.
- [22] Kolesnick R, et al., 1994, *Cell*, **77**:325.
- [23] Obeid LM, et al., 1993, *Science*, **259**:1769.
- [24] Jarvis WD, et al., 1994, *Proc Natl Acad Sci USA*, **91**:73.
- [25] Otani H, et al., 1993, *J Biol Chem*, **25**:2273.
- [26] Song Q, et al., 1993, *Biochem Biophys Res Commun*, **190**:47.
- [27] Schranfstatte I, et al., 1988, *J Clin Invest*, **82**:1040.
- [28] Buttke TM, et al., 1994, *Immunol Today*, **15**:7.
- [29] Sandstrom PA, et al., 1994, *J Biol Chem*, **269**:798.
- [30] Sarih M, et al., 1993, *Biochem Biophys Res Commun*, **191**:503.
- [31] Genaro AM, et al., 1995, *J Clin Invest*, **95**:1884.
- [32] Jacobson MD, et al., 1995, *Nature*, **374**:814.
- [33] Meikrantz W, et al., 1994, *Proc Natl Acad Sci USA*, **91**:3754.
- [34] Monti D, et al., 1992, *Am J Clin Nutr*, **55**:1208S.
- [35] Deckers CLP, et al., 1993, *Exp Cell Res*, **208**:362.

## 血清因素对阳离子脂质体转染的影响及其对策

王 旻 林其谁

(中国科学院上海生物化学研究所分子生物学国家重点实验室 上海 200031)

尽管许多由合成脂构成的阳离子脂质体传递系统已被成功地应用于体外转染和体内基因治疗,但在介导寡核苷酸(ODNs)以及质粒转染真核细胞时尚有它们的局限:由于它们的转染效率是受血清的影响,因此只有在无血清的条件下才可获得最佳的转染效果,这显然不利于体内(in vivo)应用,运用于临床治疗的前景不大。

大多数阳离子脂质体介导转染细胞,至少在最初几个小时的阶段需要在无血清的情况下进行,然而无血清却对转染的细胞是不利的。在

有血清条件下,转染操作对细胞生长、功能、活力的影响可减至最小,并且:1). 转染的操作变得简便;2). 介质需求的减少将降低实验的成本;3). 避免可能产生的细胞功能及其原有生存习性的改变。研究发现,在一定条件下,阳离子脂质体也可在有血清存在的环境中得到较高水平的表达。

### 一、血清因素影响转染的机制

阳离子脂质体在血清环境下转染活性降低