

关键步骤的基因导入技术正处在进一步发展和不断完善之中,其发展主要集中在两个方面,一是提高转入基因的整合表达率,二是实现基因定点转移和新基因克隆。随着诸如显微注射等原有技术的不断完善以及捕获载体法等新技术的不断涌现,基因导入技术将会日趋提高和充实,从而使转基因动物生产技术日臻成熟,并更好地造福于人类。

参 考 文 献

- [1] Hammer, R. E. et al., 1985, *Nature*, 315: 680—683.
 [2] Li, H. et al., 1988, *Nature*, 335: 414—417.
 [3] Brunt, J. V., 1990, *Biotechnology*, 8: 725—728.
 [4] Hetle, S. J. H. et al., 1979, *J. cell Biochem.*, Suppl. 13 B: 180.
 [5] Salter, D. W. et al., 1987, *Virology*, 157: 236—240.
 [6] Bosselman, R. A. et al., 1989, *Science*,

243: 533—535.

- [7] Evans, M. J. et al., 1981, *Nature*, 292: 154—156.
 [8] Martin, G. R., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 78: 7634—7638.
 [9] Alan, H. et al., 1987, *Arch. Dev. Biol.*, 196: 185—190.
 [10] Doetschman, T. et al., 1989, *Dev. Biol.*, 127: 224—227.
 [11] Evans, M. J. et al., 1990, *Theriogenology*, 33: 125—128.
 [12] Wilmut, I. et al., 1990, *Theriogenology*, 33: 113—123.
 [13] Skarnes, W. C., 1990, *Biotechnology*, 8: 889—891.
 [14] Lavitrano, M. et al., 1989, *Cell*, 57: 717—723.
 [15] Brinster, R. L. et al., 1989, *Cell*, 59: 239—241.
 [16] Arezzo, F., 1989, *Cell Biol. International Reports*, 13: 391—403.
 [17] Gandolfi, F., 1989, *J. Reprod. Fert., Abstr.*, 16.

肥大细胞的分化及其调节

汝 小 美

(北京放射医学研究所 100850)

肥大细胞(mast cell)是一种广泛存在于哺乳类动物体内的细胞,人类对它的认识可以追溯到多个世纪前。当时,还是医学生的诺贝尔奖获得者 P. Ehrlich 首次描述了两种胞浆中有嗜碱性颗粒的细胞即循环于血液中的嗜碱性粒细胞和位于结缔组织的肥大细胞。但多年来,人们对之仍知之甚少。1950年肥大细胞在变态反应中的作用得到了证实。由于普通光学显微镜下肥大细胞的清晰易辨的形态和它在止血过程中可能具有重要而未被充分认识的作用,肥大细胞一度吸引了形态学家和比较生物学家的兴趣。近数10年,有关肥大细胞研究的一些进展引起了更多人们的注意,从而推动了这一领域的研究使之更为活跃,1985年并召

开了肥大细胞研究的专题性国际讨论会。迄今的研究已证明,肥大细胞来源于骨髓^[1],是多能造血干细胞的后裔^[2],分化过程有自身特点。本文仅就肥大细胞的分化及其调节作简要综述。

一、肥大细胞分化的特点

虽然同为造血干细胞的后裔,肥大细胞却有自己独特的分化过程。表现为(图1):

1. 红细胞、血小板及粒细胞均在分化后才离开骨髓,肥大细胞却是在前体细胞阶段便离开骨髓移向血流^[3,4],随后离开血管进入组

本文承葛忠良教授审阅,谨致谢忱。

织, 分裂后分化成肥大细胞^[5,6]。

2. 多数造血细胞一旦完全分化便丧失增殖能力, 肥大细胞即使是高度分化的阶段, 仍继续保有增殖能力^[7]。

3. 粒细胞在移向血流进入组织后, 一旦行使机能便被认为是死亡细胞, 而肥大细胞在完全脱颗粒后仍能增殖, 并且能够在适当环境中再次形成颗粒, 恢复原有形态^[8]。

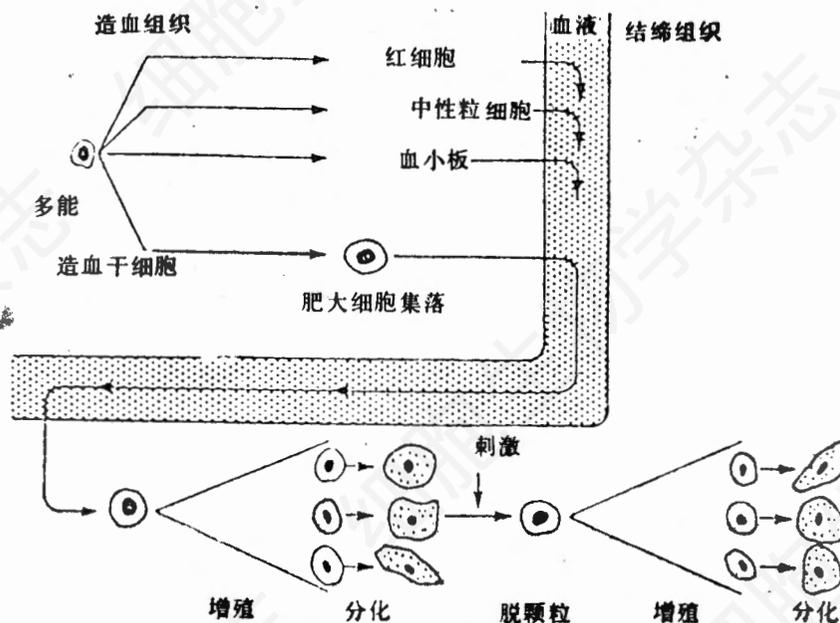


图1 小鼠肥大细胞分化过程示意图

二、肥大细胞生长的调节

(一) T 细胞来源的生长因子

小鼠及大鼠罹患某些肠寄生虫感染时, 肠粘膜肥大细胞显著增殖, 但在裸鼠却观察不到这种反应, 提示 T 细胞参与肥大细胞的增殖^[10]。

80年代初, 先后有作者报告小鼠造血组织在某些生长因子存在条件下体外培养生长为肥大细胞, 其中多数是从刺激了的 T 淋巴细胞条件培养液获取细胞因子, 也有以粒单细胞性白血病细胞株 WEHI-3 细胞作刺激因子的来源。Ihle 从 WEHI-3 细胞培养上清液中纯化了肥大细胞生长因子并命名为白细胞介素-3 (IL-3), Fung 从中分离出了编码 IL-3 的 cDNA, Yokoda 从 ConA 刺激的小鼠 T 细胞株分离了肥大细胞生长因子的 cDNA 并证明它

与 IL-3 是同一物质。应用同一细胞株, Lee 等分离出了编码另一肥大细胞生长因子的 cDNA, 与 Noma 在另一条件下分离的 IgG-1 诱导因子相类似并命名为 IL-4。Nakanara 证明用美洲商陆丝裂原刺激的脾细胞条件培养液 (PWM-SCM) 作刺激因子可以支持肥大细胞生长, Hamaguchi 等又证明 PWM-SCM 含有 IL-3 和 IL-4 的 mRNA。仅用 IL-3 可使肥大细胞前体细胞在甲基纤维素培养体系中形成肥大细胞集落或在液体培养体系中形成均一的悬浮肥大细胞, 但在培养分化了的肥大细胞如腹腔肥大细胞时, 却必须有 IL-3 和 IL-4 的共存才能形成集落^[11-17]。

(二) 成纤维细胞的接触依赖性增殖

1. 成纤维细胞的接触依赖性增殖

T 细胞缺乏的裸鼠皮肤和腹腔存在着与正常小鼠几乎相同的肥大细胞。将肥大细胞缺乏

的 W/W^v 突变小鼠的皮片移植到裸鼠背部，皮片上也出现肥大细胞，提示肥大细胞在 T 细胞不存在的情况下亦能生长^[18]。

将培养肥大细胞与 NIH/3T3 成纤维细胞共培养，即使不加入 PWM-SCM，肥大细胞亦可持续生长。从 NIH/3T3 细胞提取的 mRNA 与 IL-3 或 IL-4 的并不相同。如果用半透膜将两种细胞隔开，肥大细胞便不能增殖^[19]。这些结果说明，除了 IL-3 和 IL-4 的刺激作用外，还存在一个成纤维细胞接触依赖性的调节机制。

W/W^v 和 Sl/Sl^d 小鼠均存在肥大细胞缺乏。但在 PWM-SCM 存在时培养这两种小鼠的骨髓细胞所形成的肥大细胞与正常小鼠完全没有差别，说明 W/W^v 和 Sl/Sl^d 突变小鼠的肥大细胞缺乏与 T 细胞来源的刺激因子无关^[19-21]。

为获得进一步证据，Fujita 及其同事又进行了下述实验：将不同来源的肥大细胞和成纤维细胞分别组合体外共培养的结果（表 1）说明，正常小鼠来源的成纤维细胞能够支持正常小鼠来源的肥大细胞的生长，但 Sl/Sl^d 小鼠来源的成纤维细胞却没有这种支持作用。将生长有正常小鼠成纤维细胞的醋酸纤维膜插入 Sl/Sl^d 小鼠腹腔，则长有成纤维细胞的膜面出现肥大细胞而未长有成纤维细胞的膜面不出现肥大细胞，由此说明成纤维细胞在体内也能对肥大细胞的生长起刺激作用，这种作用依赖于两

种细胞的直接接触^[21]。

2. 接触依赖性增殖的分子基础

W/W^v 和 Sl/Sl^d 小鼠分别在其 W 位点和 Sl 位点有两个突变的等位基因。由表 1 所示结果可以引出下述考虑：肥大细胞通过其表面的 W 基因产物的介导，接受成纤维细胞的增殖刺激而进行增殖，这个增殖刺激来自 Sl 基因产物^[22]。

最近有研究表明原癌基因 c-kit 是 W 基因的一部分^[23,24]，编码酪氨酸蛋白激酶受体。目前对该受体的配体尚不清楚，考虑有两种可

表 1 肥大细胞和成纤维细胞共培养后肥大细胞的生长

细胞来源		肥大细胞
肥大细胞	成纤维细胞	
正常	正常	增殖
W/W ^v	正常	死亡
Sl/Sl ^d	正常	增殖
正常	Sl/Sl ^d	死亡

根据文献[21]的结果归纳

能：(1) Sl 基因产物为配体，W 基因即 c-kit 编码受体。这种假设可使表 1 所述现象得到解释：无论是肥大细胞方面受体缺乏（如 W/W^v 小鼠）还是成纤维细胞方面配体缺乏（如 Sl/Sl^d 小鼠），结果均为肥大细胞的不增殖（图 2）。配体存在于成纤维细胞的细胞膜上，因此可与肥大细胞直接接触使之接受刺激；(2) 配体与成纤维细胞所产生的胶原和蛋白质等细胞间质

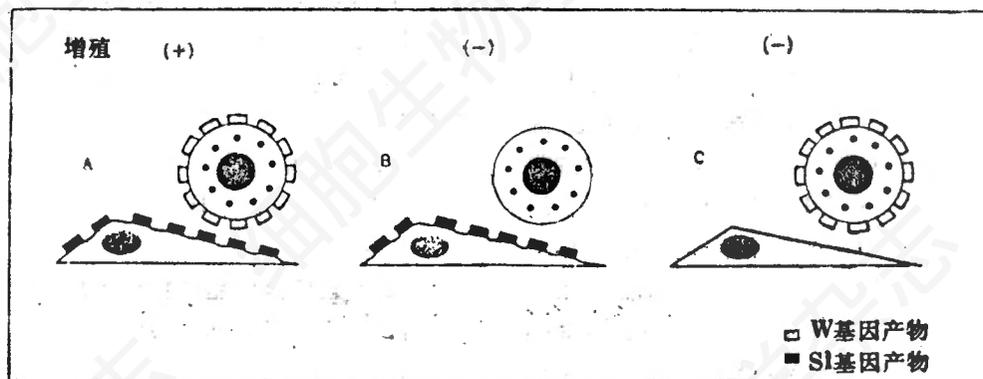


图 2 肥大细胞的成纤维细胞接触依赖性增殖的分子基础示意图

结合在一起^[21]。

目前对成纤维细胞产生的增殖因子的本质尚不清楚。Jarboe等证明了BALB/3T3细胞培养上清液中存在使肥大细胞前体细胞增殖分化的活性^[25]，Kitamura等也证实在含该上清液的甲基纤维素培养体系中可形成腹腔肥大细胞的集落，并正在进行成纤维细胞来源的增殖因子和W基因产物间关系的研究^[22]。

3. T细胞来源的刺激与接触依赖性增殖的关系

在由成纤维细胞支持的肥大细胞培养体系中加入含IL-3和IL-4的PWMSCM，S期细胞数无明显增加；而在最适浓度PWMSCM体系中加入SI/SI^d小鼠来源的成纤维细胞，S期肥大细胞数减少约1/3，这种抑制作用亦需两种细胞的直接接触，推测与SI/SI^d小鼠来源的成纤维细胞产生的异常SI基因产物有关^[26]。

(三) 肥大细胞本身的抑制作用

bg^J/bg^J小鼠是一种胞浆溶酶体异常的突变小鼠，由于其肥大细胞中存在特征性巨大颗粒，常被用作标志。在移植了bg^J/bg^J小鼠骨髓的受照射小鼠皮肤不能检出bg^J/bg^J型肥大细胞^[1,5,27]，但涂布联甲苯葱后却可检出bg^J/bg^J型肥大细胞^[27]。这是由于联甲苯葱杀灭了局部分化了的肥大细胞，使肥大细胞前体细胞由血液循环进入组织局部。

为对此现象作进一步研究，Kanakura又设计了另一组实验：给小鼠腹腔注射蒸馏水使其中肥大细胞被杀灭，观察其后的肥大细胞前体细胞(CFU-mast)和分化了的即形态上可识别的肥大细胞的数量变化，结果表明CFU-mast呈暂时性增加。如果注射蒸馏水后注射了由另一只小鼠腹腔采集分离的均一肥大细胞，则无上述现象出现。由此他们认为分化了的肥大细胞的存在抑制肥大细胞前体细胞由血液循环进入组织及进入组织后的分化^[28]。

(四) MEA/IL-9的作用

德国学者Hulner和Moeller从PWM-SCM中得到了一种对肥大细胞的生长有支持

作用的物质，将之命名为Mast Cell Growth-enhancing Activity(MEA)并证明可将其与IL-3和IL-4分离。PWM-SCM中MEA浓度较低，为了获得足够量的MEA作氨基酸序列分析，他们又筛选了一些细胞株，发现IL-2依赖的Th细胞株MLS-4.2细胞株，从该细胞株和从PWM-SCM获取的MEA在生物、生化、层析性质上没有差异。分子量37000—43000，平均等电点6.2—7.3，是一种糖蛋白，能协同性地增加饱和浓度存在条件下肥大细胞的增殖，并能在IL-3、IL-4不存在条件下支持肥大细胞株L138.8A的持续增殖。

鉴于已有证据表明MEA在结构和功能上与小鼠T细胞生长因子(暂名P40或TCGFⅢ)的物质相同，而小鼠P40的结构与人类IL-9相同，作者建议将P40称为小鼠IL-9^[29]。

(五) IL-10的作用

最近，有作者又提出IL-10对肥大细胞生长的作用。IL-10是由激活的Ⅱ型T辅助细胞(Th2)产生的淋巴因子，又称作细胞因子合成抑制因子(CSIF)。作者观察了重组IL-10(CSIF)对各种细胞的作用，发现它能延长所有被测肥大细胞株的存活时间。将IL-10和IL-3同时加入，在IL-3为亚致分裂剂量时刺激作用最为明显，提示IL-10能将IL-3的次适信号转变为强烈刺激，IL-4和IL-10同时加入时所观察到的结果与之相似。

肥大细胞的颗粒可以合成、贮存和释放多种活性物质，近来又注意到它在一定刺激条件下可以表达或分泌许多细胞因子诸如IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、干扰素 γ 、GM-CSF、肿瘤坏死因子(TNF)等，因而肥大细胞的功能是一个复杂而饶有兴味的课题。同时，由于肥大细胞在增殖分化过程中表型变化显著而有关信号(signal)相对单纯，体外培养可获得近于均一的肥大细胞，又有肥大细胞缺乏的W/W^v和SI/SI^d小鼠可供利用，对细胞生物学家来说尤有吸引力的是肥大细胞是研究细胞

所共通的分化,分泌过程的有价值的模型。以往长期形成的对肥大细胞及其功能的认识正在迅速转变,它意味着对肥大细胞及其功能的认识上的重要进步,也不可避免地提出新的问题。正因为此,不难预料肥大细胞的研究将更加活跃和深入。

摘 要

本文综述了肥大细胞的分化及调节研究的进展。肥大细胞广泛存在于机体,来源于骨髓,是多能造血干细胞的后裔。肥大细胞的分化具有独特的过程,其调节主要与T细胞来源的生长因子,成纤维细胞的接触依赖性刺激有关,近年来一些作者还报告了其它调节机制。

参 考 文 献

- [1] Kitamura, Y., et al., 1977, *Nature*, 268: 442—443.
- [2] Kitamura, Y., et al., 1981, *Nature*, 291: 159—169.
- [3] Sonoda, T. et al., 1982, *J. Cell Physiol.*, 112: 136—140.
- [4] Kitamura, Y. et al., 1979, *Blood*, 53: 1085—1088.
- [5] Hatanaka, K., et al., 1979, *Blood*, 53: 142—147.
- [6] Kitamura, Y., et al., 1979, *Nature*, 281: 154—155.
- [7] Kitamura, Y., et al., 1978, *Blood*, 52: 447—452.
- [8] Kuriu, A., et al., 1989, *Blood*, 71: 925—928.
- [9] Kitamura, Y. & Fujita, J., 1988, *Bio-Essays*, 10: 193—196
- [10] Ruitenberg, E. J. et al., 1976, *Nature*, 264: 258—260.
- [11] Ihle, J. N. et al., 1983, *J. Immunol.*, 131: 282—287.
- [12] Fung, M. C. et al., 1984, *Nature*, 307: 233—237.
- [13] Yokoda, T. et al., 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 81: 1070—1074.
- [14] Lee, F. et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 83: 2061—2065.
- [15] Noma, Y. et al., 1986, *Nature*, 319: 640—646.
- [16] Nakahata, T. et al., 1986, *Nature*, 324: 65—67.
- [17] Hamaguchi, Y. et al., 1987, *J. Eep. Med.*, 165: 268—273.
- [18] Kitamura, Y. et al., 1979, *J. Exp. Med.*, 150: 482—490.
- [19] Fujita, J. et al., 1988, *J. Cell Physiol.*, 134: 78—84.
- [20] Fujita, J. et al., 1988, *Blood*, 72: 463—468.
- [21] Fujita, J. et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 2888—2891.
- [22] Ebi, Y. & Kitamura, Y., 1990, *Biomedicine & Therapeutics*, 24: 13—16.
- [23] Chabot, B. et al., 1988, *Nature*, 335: 88—89.
- [24] Geissler, E. N. et al., 1988, *Cell*, 55: 185—192.
- [25] Jarboe, D. L. et al., 1989, *J. Immunol.*, 142: 2405—2417
- [26] Onoue, Y. et al., 1989, *Blood*, 74: 1557—1561.
- [27] Sonoda, T. et al., 1982, *Am. J. Pathol.*, 106: 312—317.
- [28] Kanakura, Y. et al., 1988, *Blood*, 71: 573—580.
- [29] Hultner, L. et al., 1990, *Exp. Hemat.*, 18: 873—877.
- [30] Thompson-Snipes, L. et al., 1990, *Exp. Hemat.*, 18: 612.

(上接106页)

《Cell Research》发表下列文章:

1. 创造性论文(Original articles): 以A₄纸打字每页27行, 18页以内为宜。
2. 研究简报(Short communications)
3. 短综述(Minireview): 此栏文章由主编、副主编或编委会约稿。作者在撰写前请先将论文题目及写作提纲寄主编或编委会征求意见。
4. 评论性文章(Commentary)。
5. 论文选登(Selected articles): 选取近期在国内有关刊物上以中文发表的重要细胞生物学学术论文, 请作者译为英文后发表, 此栏文章可由编委或有关期刊编辑部推荐。

(下转插页2)