

- [23] Ross, J., 1988, *Mol. Biol. Med.*, 5: 1—14.
- [24] Shaw, G., et al., 1986, *Cell*, 46: 659—667.
- [25] Frei, R. E., et al., 1989, *J. Reprod. Fertil.*, 86: 637—641.
- [26] Braude, P., et al., 1988, *Nature*, 332: 459—461.
- [27] Piko, L., et al., 1982, *Dev. Biol.*, 89: 362—378.
- [28] Maniatis, T., et al., 1987, *Nature*, 325: 673—678.
- [29] Dean, W. L., et al., 1989, *Development*, 106: 325—334.
- [30] Parker, K. A., et al., 1987, *Mol. Cell. Biol.*, 7: 2899—2913.
- [31] Braude, P., et al., 1979, *Nature*, 282: 102—105.
- [32] Bensaude, O., et al., 1983, *Nature*, 305: 331—332.
- [33] Yost, H. J., et al., 1986, *Cell*, 45: 185—193.
- [34] Maria, W., et al., 1991, *Dev. Biol.*, 147: 403—414.
- [35] Wasylyk, B., 1988, *Biochim. Biophys. Acta.*, 951: 17—35.
- [36] Marini, N. J., et al., 1991, *Mol. Cell. Biol.*, 11: 299—308.
- [37] Blow, J. J., et al., 1988, *Nature*, 332: 546—548.

细胞生存与死亡的社会性控制

Martin C. Raff

于动物发育的某些阶段,大多数组织中都会发生程序性细胞死亡(programmed cell death),但对其作用的分子机制迄今未明。对于某些哺乳动物细胞来说,除非受到其他细胞所发信号的抑制,不然程序性死亡似由“无信号”(default)所致。这种对特异性生存信号的依赖为机体提供了一种消除“错位”细胞的简捷途径,并可籍此调节细胞的数量,或许还可选择出最适细胞。然而对生存信号的这种依赖性,其普遍性究竟如何呢?

经过多年忽略之后,正常的(或程序性的)细胞死亡最终又被人们所重视。长期以来,人们已知道这是动物发育的一个基本特征,并可发生于许多的成体组织。然而只有新近才成为生物界的一个热门话题。虽然其分子机制仍然不清楚,但认为细胞通常是通过激活自杀程序(suicide programme)而死亡的。有关正常细胞死亡的许多研究都集中于那些似乎是特殊的事例,如变态时的细胞死亡,突触形成的神经元死亡,受体全数选择(receptor repertoire selection)期间淋巴细胞的死亡,凡此等等,因而细胞自杀并未被认为是总体细胞演绎的一个组成部分。但是,愈来愈多的证据表明,大多数动物细胞皆能自我致死,而且这种普遍

性的细胞自杀程序能由发自其他细胞的信号所激活或抑制。另外,细胞生存和细胞死亡也与细胞增殖一样受到相同的社会性控制。然而与细胞增殖的控制比起来,关于细胞生存的控制所知相对较少。

细胞自杀为消除不再需要的细胞提供了一个有效的机制。这些细胞通常是正常的,但出于某种原因不再需要了。它们可能产生得过多,一如许多脊椎动物的神经元那样,它们可能于进化和发育过程中的某些时候是有功能的,然而目下不再需要了,如变态时的蝌蚪尾部细胞,有些细胞在一种性别中是有用的,在另一种性别中便无用了,如哺乳类的穆勒氏管只在雌性有用,在雄性无用,有些细胞在形成某些特殊结构过程中必须作出牺牲,如羊膜动物指(趾)间的区域;那些迁徙至异常位置的细胞也可因自杀而消失,有如淋巴细胞不能产生有功能的抗原特异性受体,因此不再有用,或是产生了高亲合性的自身反应性受体,对机体具有潜在危害,都会自杀身亡。在上述这些情况里,人们很易看出,籍与其他细胞的相互反应而调节的细胞自杀程序是有其用处的。

细胞因“无信号”而自杀

一种极端的观点是:至少在较高等的动物,正如细胞为了增殖需要从其他细胞得到信号一样,为了生

本文译自 *Nature* 1992, 356, 397—399.

存它们也需要发自其他细胞的信号。如果没有这种信号,细胞便会通过激活内在的自杀程序而杀灭自己。这种观点之所以偏激,是因为它意味着细胞是编有程序要杀死自身的,除非它们连续不断地收到其他细胞“不要自毙”的信号;另外,也因为这种观点表明,该不稳定状态既存在于大多数发育中的细胞,也存在于成熟的高等动物细胞。

细胞自杀的证据

正常细胞通过自杀而死亡的证据是间接的。在某些例子里,于细胞死亡之前特异性 mRNAs 合成增加,虽然尚须证明由这些 mRNAs 所编码的蛋白质与细胞死亡是否有关。有时细胞的死亡可以通过抑制行将死亡细胞内 RNA 或蛋白质合成而得以阻止,这提示细胞的死亡也要有基因的转录和 RNA 的翻译。

一如最初由 Kerr, Wyllie 和 Currie 所提出的,正常细胞死亡的细胞学特点通常与急性病理细胞死亡所见不同。由细胞损伤引起的急性病理细胞死亡,其细胞趋向于肿胀与溶解,此过程称之为坏死(necrosis),此时细胞的成分溅出至细胞外间隙,并诱发炎症反应,相反地,在正常的细胞死亡里,细胞核与细胞浆收缩,常成碎片,而且细胞或碎片很快地被它们相邻的细胞或巨噬细胞所吞噬,此过程便称为 apoptosis。由于细胞成分并不漏出至细胞外间隙,也就不会引起炎症反应。又因为死细胞很快地被消除且无炎症反应。因此即使有大片的正常细胞死亡,在组织学上也常常不明显,易被人们所忽视。这也就是该现象未得到应有重视的重要原因。然而,即使在同一机体中,正常细胞死亡的特点可以互有不同。例如,在某些情况里,核 DNA 降解成寡核小体大小片段的寡聚体,而在另一些情况下,又显然不是这样。所以目下仍不能肯定,这种多样性是否反映细胞死亡机制的不同,虽然看起来似乎是这样。

在动物机体中正常细胞死亡是由自杀程序激活所引起的最直接证据,来自于线虫(*Caenorhabditis elegans*)的研究。在成年雌雄同体发育过程中所形成的 1090 个体细胞中,有 131 个细胞要死亡掉。这些细胞的死亡特征都与 apoptosis 相似。经遗传分析,已识别出两个基因,即 *ced-3* 和 *ced-4*。它们在行将死亡的细胞中必然行使着功能,或者和它们密切相关的原型基因与细胞死亡有关。如果由于突变作用致使这两个基因中任何一个失活,细胞便不会死亡。这种突变体线虫从表面上看是正常的,而且通常也可生存数周后才死亡,这就表明虽然在正常发育中发生的细胞

死亡涉及 *ced-3* 和 *ced-4* 依赖的死亡程序,而老化并不如此。这两个基因的 DNA 序列现已确定,*ced-3* 编码一个具有许多潜在磷酸化位点的新型蛋白质,而 *ced-4* 编码的蛋白质有两个潜在的 Ca^{++} 结合结构区,然而,现尚不知道这两个蛋白是如何参与细胞之死的。

从偏激观点来看,另一个线虫基因 *ced-9* 也有特殊意义,因为它们似乎起着死亡程序的制动作用。如果其功能因突变而异常地激活,细胞便不会死亡;如果突变使其功能失活,许多正常情况下生存的细胞便会死去,动物便会在发育早期夭亡。如果 *ced-3* 和 *ced-9* 都失活,那么正常的以及多余的细胞都不会死亡,动物可生存下来。这些结果表明,除 131 个细胞之外,正常情况下于线虫发育期间,在更多的细胞中已有 *ced-3* 和 *ced-4* 依赖的自杀程序行将运转的。但在正常情况下,它们在这些细胞中是受到 *ced-9* 依赖机制的抑制的。若人们发现 *ced-9* 的活性当真是依赖于其他细胞的信号的话,那么细胞需要不断地从其他细胞获得信号以避免自杀的偏激观点或可得到支持,但是这种可能性并未得到验证。一方面是因哺乳动物基因 *bcl-2* 与 *ced-9* 相似,当它在某些细胞,如淋巴细胞中过分表达时,便可防止细胞的程序性死亡。在从生发中心分离出来的 B 淋巴细胞,*bcl-2* 的表达以及细胞生存皆受到与这些细胞表面抗原特异性受体相结合的配体的刺激。*Bcl-2* 蛋白主要定位于线粒体内膜的这一发现,为线粒体至少在某些形式的程序性细胞死亡中起着重要作用提出了可能性。

动物细胞中的死亡程序明显地可以由来自其他细胞的信号所激活。例如,蝌蚪尾部细胞是由变态期间甲状腺分泌的甲状腺素导致死亡的;哺乳类胸腺中的淋巴细胞是由肾上腺分泌的皮质激素致死的。这两种情况都呈现出程序性细胞死亡的特征。细胞死亡都由 apoptosis 所致,也可通过抑制 RNA 或蛋白质合成来阻断。细胞毒淋巴细胞,以及主要由淋巴细胞和巨噬细胞所分泌的肿瘤坏死因子,都能刺激许多细胞类型经历 apoptosis,虽然这些死亡并不能被 RNA 或蛋白质合成抑制因子所遏制。引人兴趣的是,与 Apo-1 或淋巴细胞及其他细胞的表面 Fas 蛋白结合的抗体也可诱导程序性细胞死亡,而编码 Fas 蛋白的基因突变是与不能消除胸腺中自我反应性 T 淋巴细胞相联系的,从而产生了自身免疫性疾病。然而,对于这种偏激观点更为重要的证据是:某些细胞的生存依赖于其他细胞的信号对死亡程序的连续抑制。

对生存信号的依赖

虽然认为高等动物细胞为避免死亡要依赖于其他细胞的信号的观点对于偏激,但至少有些细胞似乎是遵循这一途径的。许多发育中的脊椎动物神经元的生存要依赖于与它们联接的靶细胞所分泌的神经营养因子,而不能得到足够因子的细胞则将死亡。至少在某些例子里,这显然是通过主动自杀而死亡的,因为这种死亡可以籍抑制RNA或蛋白质合成药物的处理后数天内得以防止。当然,对信号依赖的这种现象不仅仅限于神经元或发育中的细胞。例如,大鼠腹面前列腺上皮细胞的生存也依赖于睾丸所分泌的睾酮,而肾上腺皮质细胞的生存则依赖于垂体分泌的ACTH。如果实验性地使睾酮或ACTH水平下降,则相应的细胞便发生程序性死亡的特征。在非神经组织中,也不仅仅内分泌依赖性细胞的生存需要特异性的信号分子,至少在培养中造血祖细胞也需要一种或多种集落刺激因子,T淋巴细胞需要白介素-2,内皮细胞需要生长因子,诸如成纤维细胞生长因子等。所有这些例子只要去除这些生存信号,细胞便会发生典型的程序性细胞死亡。

因此,细胞需要其他细胞发出的信号以避免死亡的想法并不新鲜。新的只是,人们认为这些例子只是代表了存在于大多数细胞中的一种共同的机制,至少存在于高等动物中。最简单的证明方式是:假如在培养中不加入这种信号分子,看看细胞是否能靠自身生存下来。当然,重要的是要用纯系细胞,这样可避免不同细胞类型之间的信号联系。最终的试验还要用单个细胞以避免同种细胞间的联系,除了分裂球之外,确定哪种类型的动物细胞可在这种条件下生存也将是重要的。已证明鸡胚的软骨细胞能在无血清培养基中低密度地生长,而无须加入信号分子,然而未曾试过单个细胞的培养,我的同事和我最近测试了新形成的寡树突细胞(oligodendrocytes,即在脊椎动物中枢神经系统中制造髓磷脂(myelin)的细胞及其前体细胞,既用纯的群体,又用单个细胞。它们都是从大鼠视神经中分离得到的。我们发现,当培养中缺乏血清和外源信号分子时,它们很快便会死亡,并且表现出程序性细胞死亡的特征。如果在培养中有从发育中的视神经分离得到的正常相邻细胞所分泌的分子时,或者有重组体血小板衍生的生长因子或胰岛素样生长因子-1(这两种因子皆存在于发育中的视神经)时,它们便至少能存活数天。

组织特异性生存信号

细胞的生存依赖于其他细胞发出的信号有什么优

越性呢?其一籍此提供了一个简单的消除处于异常位置的细胞的机制。由于不同的脊椎动物组织预期会产生不同系列的生存信号,所以一个处于异常位置的细胞必然不能得到它生存所需的信号。例如,神经细胞(或其突起)若伸展至不可能提供必须的神经营养因子的不正常靶子,将会自动地消亡。原始生殖细胞则是另一个例子。在脊椎动物发生早期,它们从后肠迁移至生殖嵴,在此最终分化成配子,其中有些细胞不能到达生殖嵴则最终要死亡。有人认为,在小鼠至少有些处于不当位置的细胞会死去,因为它们得不到由Steel(SI)基因所编码的细胞外信号蛋白,该蛋白是生殖细胞生存所必须的。有几组证据一直支持这一设想,(1)如果SI基因(编码信号)或c-kit基因(编码其受体)由于突变而失活,则小鼠便缺乏生殖细胞(也缺乏红细胞与色素细胞);(2)SI基因在生殖嵴中以及沿着原始生殖细胞的迁移路线均有表达,而c-kit基因在生殖细胞中有表达;(3)在无血清培养基中SI因子可促进原始生殖细胞的生存,但不促进其增殖。SI因子显示有两种重要性质。第一,许多信号分子既促进细胞生存,也促进细胞的增殖,但SI并不如此;第二,SI可存在两种形式,即可溶性的及质膜包裹的形式,而且膜包裹形式在体内和体外都更有作用,说明它们能促进细胞的生存。

成体动物也需要消灭误置的细胞。例如,当皮肤受伤时,若表皮细胞错位至皮下组织或皮肤下组织,并可以生存和增殖,那便会引起麻烦。因此,只有依赖于组织特异性生存信号,使得这些错位细胞死亡,也才不会发生异常情况。同一机制也可以防止癌细胞建立转移灶。然而,通过细胞突变,一旦癌细胞能自发产生自身生存因子,或其他蛋白分子如Bcl-2,那么这些癌细胞便可防止自身的程序性细胞死亡。

对生存信号的竞争

对生存信号的依赖性也可用来控制高等动物的细胞数,尤其当细胞被迫相互竞争这种有限的信号时更是如此。发生中的交感神经元提供了一个有用的例子。它们大量地增殖(比所需数多得多),于是显然地互相竞争由靶细胞所释放的神经生长因子,其中只有少数细胞可得到足量的因子而生存下来,其余细胞终将死去。支配一个靶细胞群体的神经元的数目就是这样的自主调节,以与靶细胞数目相匹配。一种相似的对靶细胞衍生的生存信号(神经营养因子)的竞争,也似乎广泛地在发育中的脊椎动物的外周及中枢神经系统中进行着,这被认为在进化与发育过程中对突触前和突触

后细胞数目的匹配起着重要的作用。

这种简单和有效的控制细胞数的机制似乎不可能只局限于神经元。另外，除了提供组织和器官中不同细胞类型间有适当的匹配的机制外，这种对信号的竞争也可保证成体组织中细胞更新后的平衡，这样使得分裂所产生的细胞与死亡的细胞必然相等。如果说一定水平的生存因子只支持一定数目细胞的生存，那么任何细胞数目的增加都会加剧它们之间的竞争。如此迫使过多的细胞趋于死亡而回到正常的水平。当然，相反地，若细胞数目下降也可发生相反的过程。这一机制能够解释已在许多哺乳类器官中观察到的实验性诱导增生为什么会很快消退，如肾上腺皮质、肝、肾和胰。其消退之快是不能以细胞增殖减缓来解释的，不少情况是由于 apoptosis 使细胞死亡的大量增加。虽然细胞数目的调节通常认为主要是通过细胞增殖来调控的，但这些观察表明，即使在成年动物中细胞存活的控制也起着重要的作用。很可能生长激素和胰岛素样生长因子至少部分地以这种方式刺激脊椎动物生长，对有些培养的动物，胰岛素样生长因子不是促进细胞的增殖，而是促进细胞的生存。

除了控制组织和器官中细胞数目之外，对有限生

存因子的竞争还另有益处，即可不断地选出最具竞争力的细胞——适者生存的一种形式。竞争力最强的细胞可能是那些具有可获取生存信号受体的细胞，以及那些具有最有效的信号传递途径的细胞等。同样的选择过程也可能在细胞增殖水平起着作用，细胞间为有限数量的生长因子而竞争着，但仅仅籍此还不能如竞争生存因子那样有效地消除较少竞争力的细胞。然而，细胞间的竞争也付出了代价，它会有助于肿瘤的演进，从而也就是部分地解释了为什么五分之一的人会死于恶性肿瘤。

今后的路

如果说许多类型的动物细胞为了生存需要，从其他细胞获得信号，有许多工作仍待探索；与注意细胞增殖相比，人们对细胞生存控制注意得较少。除了要确定正常细胞死亡的分子机制之外，人们还须确定：(1) 每种细胞的生存因子是什么？(2) 这些因子的受体是什么？(3) 由这些受体所激活的细胞间信号途径是什么？(4) 这些途径如何抑制细胞死亡的？(5) 每种生存因子的数量是如何调控的？总之，我们要像对细胞增殖一样地重视细胞的生存控制。

(李茂国译 章静波 姚曾序审校)

谷类植物原生质体研究的重要进展

Indra K. Vasil & Vimla Vasil

自1986年以来，已从所有重要的谷类植物，包括小麦、水稻、玉米和大麦，以及多种禾本科植物例如甘蔗的原生质体再生得到了完整的再生植株。此外，在一些实验室中已得到了谷类植物的体细胞杂种或胞质杂种以及一些带有引入的有用农艺性状的转基因植株。在过去的十年期间，由于两种关键性的技术进步：即建立胚性悬浮培养物作为分离全能性的原生质体的材料以及将外源DNA直接导入原生质体的技术用于遗传转化，才有可能使得在谷类植物的遗传操作方面有了迅速及深刻的进步。

引言

谷类植物的原生质体研究是一个重要却相当困难且颇有争议的研究领域。其所以重要，是因为从谷类植物的原生质体再生植株是获得体细胞杂种或胞质杂

种以及转基因植物的关键。而进行谷类植物原生质体培养所遇到的困难在于这样一个事实，即迄今只有从胚性悬浮系分离的原生质体已被证明具有全能性，而这种悬浮培养物很难建立并保持。最后，这一研究课题颇有争议，因为最初有一些人认为从胚性原生质体再生的植株是来自未经酶解消化的细胞或分生组织而不是来自原生质体。

这篇评述简短地回顾了谷类植物原生质体研究的早期工作，并记叙了在过去10年期间所取得的进展，使所有重要的谷类及禾本科植物的原生质体得以产生再生植株，以及获得水稻的体细胞杂种或胞质杂种，转基因水稻、玉米和一些果园内的禾本科植物成为可能。

注：本文译自 *Physiol Plant.*, 1992, 85: 279—283.