

5—86株所特有的早期生长迟滞的反应,并在4天后达到生长稳定期。不过抗DMSO株707M和可诱导株F4—2细胞的生长模式却不受培液中DMSO的影响,也未看到细胞生长的延滞。逐日用联苯胺染色检测血红蛋白的合成时,在培液不含DMSO的情况下所有四株细胞中的联苯胺阳性(B+)细胞水平均低,范围在0—3%之间;可是当生长在含有DMSO的培液里,可诱导株5—86和F4—1的B+细胞显著增加,从处理以后2—3天开始到第6天B+细胞达到80—90%的水平。相比之下,H—29株和707M株对于DMSO的刺激作用反应很弱,到第6天只有不到5%的B+细胞。用测定培液里病毒反转录酶的每日累积活力作为从FL细胞中释放病毒的指标。5—86株和从其衍生的对DMSO有抗性的H—19株都是以同样模式释放病毒。这两株细胞的对照组,在细胞生长的早期对数期时,病毒的释放是以指数增长。在用DMSO处理时,从两株细胞释放病毒都受到刺激。与细胞增殖相平行,病毒的释放也存在最初的延滞,到第4天时达到高峰,在培养的细胞至静止期以后则下降。不接受诱导的707株和可诱导的F4—1株产生病毒的量都很低。DMSO处理虽使707M

株释放病毒稍有增加,但对F4—1株并无效果。用单向特异血清,以竞争放射免疫方法来测定四株细胞的培液中病毒套膜抗原FLV—GP71和拟核抗原P30的含量。按照每200微升培液对<sup>125</sup>I—标记的病毒抗原置换百分率来标绘测定。四株细胞不论是否释放病毒,其培液中都存在可以测得出的GP72抗原。从几乎不产生病毒的707M和F4—2两株细胞,同产生病毒的5—86和H—19两株细胞的培液中所测定的GP71抗原水平,是可相类比的。对照和DMSO处理的培养细胞所释出的抗原量之间也没有什么差别。在病毒P30抗原的检测方面,产生病毒的5—86和H—19株,以及产量低的707M株,释放到培液中的抗原量大致相似,但在F4—1细胞株的培液中却测不到这种抗原。除去F4—2株以外,其他对照和DMSO处理组的P30水平都相类似,而在F4—2株只有用DMSO处理之后才测得出这种抗原。

这些实验结果表明,血红蛋白的合成和病毒的合成之间不存在相互关系,同时也指出,两种功能中每一种的调节是同另一功能的调节无关的。

(姚曾序译)

## 膜的感传效应(membrane impression)和基因表达

G. Brunner

分化的分子生物学的中心问题是:为什么有新的基因组片断被转录?对于细胞分化过程的控制已提出各种不同的假设。很多假设主张由“时间程序”、也有主张由“变化程序”导致细胞转化为新的表型。这里讨论的模型是赞助后一假说的,提出细胞微环境的连续依次的变化引导了分化过程。这些变化的规律性的认识作为“进化的经历”即作为或多或少已固定下来的程序被整合到基因组中去。细胞膜的特殊

结构(受体、受体区)能够感受和转换环境信号,这种信号能够在细胞的不同水平上被转换和被调节。对于信息流从细胞膜到基因组的这个过程,叫做膜的感传效应。这与信息流从基因组到细胞膜的所谓“基因表达”正相反。应提及的是,分化过程相当于在细胞膜和基因组之间两者的相互作用,这种典型的像打乒乓球那样一来一往的作用形成了细胞谱系,并假设对后面预期信号的膜受体是与细胞的特殊表型一

起被表达出来的, 讨论了不同受体存在的可能性。

## 引言

1759年26岁的 Kaspar Friedrich Wolff 发表在“*Theoria generationis*”刊物上的博士论文首次提出一个概念, 把分化作为一个动态过程。自此以后, 不断有人提出许多新模型, 并且最近还用分子生物学的语言进行了论述。将过去二十年中已发表的各种模型的一部分可粗略地分为环绕下述一些不同的中心概念(不包括形态发生模型):

1. 分化被当作为基因组的非对称复制的产物。
2. 分化是由于存在穿过细胞的梯度所引起的。
3. 分化系基于内部代谢产物的浓度变化。
4. 分化是由受类似 Jacob-Monod 调节机制控制不同转录引起。这些模型大多提出分化是内源程序的表达, 与外源信号无关。
5. 分化是染色体结构的控制。
6. 控制论的模型和其他理论性的模型往往难于用实验来检验。

最近几年认识到细胞膜在调节过程中的作用, 发展了相应的模型来说明膜在细胞增殖过程中所起的调节功能。在1974年 Roseman 提出一个关于细胞膜参与分化过程的假说(膜信息假说)。

本文中把关于膜结构的新观点引入哺乳动物细胞分化模型中去, 在这个模型里, 细胞膜转换外来信号就象起着中枢调节控制点一样的作用, 并且具有对基因组相对应的同样功能。

人们尝试回答发育生物学中的主要问题, 这就是: 分化的转录是如何受到指引而导致表达出一个新的表型细胞? 这可用在细胞膜和由基因组之间来自微环境的信号所起动的一般的相互作用模型(象打乒乓那样的相互作用)来解释之。

为了简化模型起见, 只讨论单个细胞的分

化, 该模型将以概括的方式来表明微环境的波动和细胞与细胞的相互作用所引起的各种效应。虽然这个模型适合于长期基因抑制, 但对于在基因表达水平上的调控将不予以讨论。

该假设基于下列推测:

1. 与其说分化由基因组里的内源程序的表达所触发的, 倒不如说是由细胞微环境里的信号所触发的。
2. 这样的一些信号可被细胞膜的结构(受体)所推测, 并传递到基因组上。
3. 由于质膜上装有许多接受当前和未来信号的受体, 使得该细胞在发育过程中接纳分化时期微环境中出现的依次变化。
4. 由基因组程序决定的细胞膜上依次出现的各种受体是进化经历的必然结果。

## 一、基因组和细胞膜之间的相互作用

人们相信象促细胞分裂剂或激素这样一些信号分子是借受体分子结合到质膜上去, 并引起细胞内的一系列反应, 最后导致基因组中以前未转录部分的表达。对这一机制, 用促细胞分裂剂和肽类激素的例子得到很好的证明, 对于固醇类激素通过质膜的转运机制也已报道。此外, 各种表面活化剂、酶抑制剂或离子(即  $Ca^{++}$ ) 皆可与细胞膜相互作用, 可被认为是膜的配基。

虽然对于从细胞核到细胞膜信息流的主要步骤(转录、转译)是众所周知的, 而对于逆向传递信息流的了解尚不多。

图1, 这个颇简化的图解着重示出细胞膜和基因组之间的相互作用。随着一个外部的信号(即一个激素的结合)信息内流可在不同水平上受到调节, 类似于从基因组的信息外流时在不同水平上(转录、加工、转译)受到的调节。

“膜的感传效应”用来表征随着信号分子的结合, 从质膜到基因组的分子活动的顺序过程。简言之, 细胞外的信息转换到基因组的全部分子的相互作用, 在信号分子结合到受体分子上之后, 在细胞膜上的最初变化(即酶的活化)被称之为“第一步调节活动”这只发生在围绕受

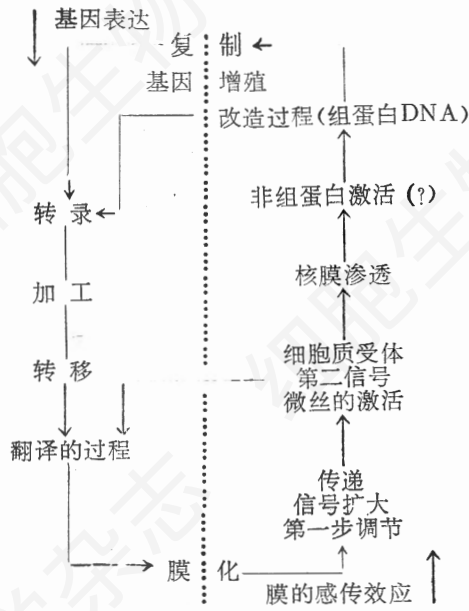


图 1

图 1 示出包括两个方向的信息流调控的可能步骤。“基因表达”是描述从细胞核到细胞膜信息流的术语，用膜的“感传效应”这一术语来表示从细胞膜到细胞核信息流的全部过程，“impression”这个词，首先是 Finckh 使用的，这里指出的是，分化只借膜的反向传递效应和基因表达的相互作用而形成。

表 1

分 化	增 殖
非特异性的	运输系统的离子 (Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> ) 底物
特异性的	促细胞分裂剂
激素	抗细胞分裂剂 (蓖麻毒蛋白, 相思子毒蛋白)
短效激素 (MFI, I)	抗肿瘤蛋白 (?)
血清因子	抑 素 (?)
免疫因子 (CSF)	毒 素
神经生长因子	蛋白酶抑制剂
冷冻防护剂	生长因子
局部麻醉剂	肿瘤启动子 (PMA)
	促细胞分裂剂
	抗 原
	血清因子

表 1 列出了推测对细胞膜有效应的分子，把它们分为刺激更多分化的和触发或抑制细胞增殖的两组。

体的部位(即在行使作用的膜单元上)，随后被例如膜的流动性的改变(信号放大)而放大。所谓“膜化”意味着形成细胞膜特定表型状况的全部过程(受体的装配，膜的生物发生，脂类成分的变化)。

## 二、细胞膜和受体

来自环境的信号分子结合到质膜上去，需要特殊的受体分子。现已能从膜上分离出这样的一些分子。激素刺激细胞，有赖于膜的脂类成分，这表明受体附近分子是怎样影响受体分子转换信息的。因此，看来似乎是质膜上的携带受体的整个区域(其中包括受体分子、脂类、糖蛋白和酶类等在内)，对于准确地转换信号都是必需的，而且质膜的水平形态图是呈异质性的。我们实验室的工作表明，从胸腺细胞可以分离出膜的异质性区域，并提出只有在信号分子结合以后才能形成完整的行动单位。可能这些携带受体的异质性区域彼此间乃至与细胞内部皆有固定的形态关系。Olivier 和 Berlin 的最近工作支持这种意见。应记住的是，只有当细胞膜上有信号受体存在时，那些信号才能为细胞所识别。因此设想，每一个基因皆有对膜上受体的一个特殊“位点”的密码群。本文是把受体作为一个功能单位来加以讨论，而不是把它简单地当作特异的膜配基的信号结合分子。

## 三、微环境引导细胞分化

细胞微环境连续不断的变化有它们自身的规律性 (seglen 曾提出对微环境中的不同信号分子进行一般性分类的好建议)。这种“进化的经历”已贮存在细胞的基因组中，在特殊的受体上将能够感受特殊的信号。因此，分化在空间和时间上的模式，是微环境中顺序变化的产物，而并非在基因组上固定的程序。这个意见得到诸如异物引起的肿瘤发生，细胞分化依赖于各种不同的表面活化剂和血清因子等一些实验的支持，显示微环境起重要影响。在分化的每一个阶段，受体呈现出可识别引起进入下一

分化阶段的信号,例如,一个干细胞应具有对淋巴细胞生成或红细胞生成信号的受体,首先达到细胞表面的信号就会确定特殊的分化顺序。

#### 四、细胞谱系和顺序受体的表达

在分化转录过程中,受体的顺序表达就会出现细胞谱系现象。图二描述了这一现象。符号 I、II、III 等表示分化的特定时期的遗传密码信息。b、c、d 表示在随后的分化阶段中存在的受体信息; a'、b'、c' 代表在特定分化阶段 1、2、3 存在于膜上的受体; B、C、D 代表将被识别的预期信号。一旦在细胞膜上不复存在受体时,则相应的分化顺序对细胞就不再有作用了(出现分化的不可逆现象)。

当细胞膜发生向分化的下一阶段变化时,作为这一阶段的各种受体消失的速率可分别受到控制,以便完成每一个转换。值得指出的是,

如果膜上仍然有前一分化阶段的受体时,一个特定的分化步骤就会逆转。膜上各种受体按遗传程序化的顺序出现,可被看作是分化的确定和细胞谱系的建立,而且,细胞不可能在细胞谱系程序正常表达时失去任何步骤。对于这一点,可用细胞上受体组装的改变来解释核移植实验的结果:即一个分化细胞的细胞核移植到一个去核的卵细胞中去,可得到一个具有受体组的膜,此膜能够表达所有可能的细胞谱系。因此“程序化的再现”不可能只用细胞质因素来解释,而是要用膜的受体组的变化来解释。用同样方式可以解释人的恶性细胞和正常细胞融合后对恶性的抑制。简言之,细胞谱系(也就是细胞的潜在能力)就是顺序受体的表达的功能。此外,在超确定时表现出限制发育的可能性和在畸胎瘤中存在的分化细胞受到抑制的限度,均由此可得到解释。

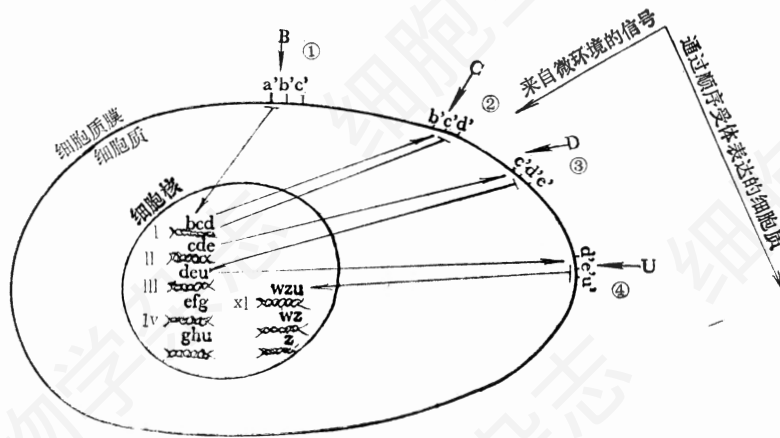


图 2

图 2 一般的细胞膜——细胞基因组相互作用的模式(乒乓球相互作用)说明如何推论细胞谱系的。I、II、III 是分化程序的遗传密码,通过结合在细胞膜上的相应受体(a'、b'、c'、d')和微环境的预期信号(c、d、u)导致程序表达,如果微环境内(即信号分子)改变程序的调节被扰乱的话,就发生细胞的不正常行为。①、②……代表细胞谱系内的不同阶段,通过细胞分裂来完成。

#### 五、分化的进化

自最初的生活细胞具备复制能力以来,这种复制能力过去是,现在仍然是取决于细胞增殖周期的一系列顺序。可以想象,在分化过程

中,最早的进化步骤是受体的出现。这可提供选择的便利,借以表明环境条件对于复制是适宜的。如果进化能够通过基因表达进行的话,那么就可进一步设想增殖程序复制时有突变累积到程序中,从而形成分化程序。因此分化程

序可被看作是“退化增殖程序”。无需说，增殖程序的一个模板保留其原来的功能。退化增殖程序会丧失 DNA 复制信息，但是仍保留有合成受体以及其他功能蛋白和结构蛋白的信息。因此得出的结论是，分化程序会表达出感受增殖信号的受体。有一些证据表明增殖过程和分化过程不是偶联在一起的，而是各自可单独进行的。特殊的例子是红血球和角质化的皮肤细胞的分化，这些细胞进行分化的“自亡程序”，在分化的最后阶段不出现增殖，再一次说明，这两种程序是各自独立的。

### 六、受体的类型和分类

根据这些考虑，可以得出各种受体必须存在并按特定的分化程序参与到质膜中去的结论。

(1) 基本增殖程序受体：对最初的复制程序而言，这些受体都是同源的，并能在分化的所有时期内引起细胞增殖。

(2) 分化——特异的增殖受体：这些受体仅刺激细胞增殖，它们不同于基本增殖受体，仅在分化的特定阶段才被表达出来。

(3) 起动分化程序的分化——特异的增殖受体：例如淋巴细胞质膜上的抗原受体就是这种受体。在这样的例子中，增殖程序和分化程序不能够彼此分开的。

(4) 分化受体：这些受体起动新的分化阶段，虽然不一定发生细胞分裂。

在细胞分裂时，膜物质分布在子细胞，这种分布情况与质膜结构有关(图 3)：

(1) 随机分布：受体区分布在整个细胞膜上。

a. 没有分化的简单有丝分裂，不仅各子细胞彼此相似，而且子细胞与母细胞也相似(图 3, ①a)。

b. 与分化相关的有丝分裂，子细胞彼此相似，但与母细胞不相似(图 3, ①b)。

(2) 受体区呈极性分布于质膜上(如在卵细胞中所见到的)。

a. 在细胞分裂时，膜物质不对称地分配到各子细胞中去，因此使得各子细胞对微环境(即来自相邻细胞的表面)的信号具有不同的反应。这大概是获得分化的最简单方法特别在卵裂的时候。因此，分化系通过基因组的对称复制和膜物质的不对称分配来完成的(图 3, ②a)。

b. 当膜被不对称地分配时，合成分化的膜物质就能够维持干细胞谱系，同时产生分化了的细胞(图 3, ②b)。

根据这种观点，Roux (1889) Hartwing (1893) 和 spemann (1938) 的关于穿刺和结扎胚泡的经典实验结果，可作为质膜物质不对称分配和在第一次卵裂后膜相互作用的后果。

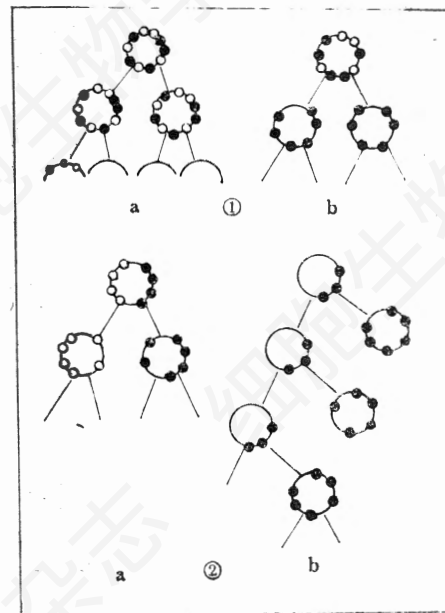


图 3

图 3 重要的但还未探索的一点是细胞分裂时膜物质如何分布。这张简图描述了几种不同的可能性，它决定于膜结构和分化顺序。开环“○”和闭环“●”分别表示质膜上二种不同的活动单位(带受体的膜区)。

① 表示膜物质随意分布的细胞：1a. 可想象为癌变过程的后期(长期培养的细胞)，子细胞和母细胞相似(有丝分裂增殖)，1b. 表示细胞分裂时产生不同的膜结构。

② 显示了异源的或极性的膜。

### 七、瘤形成的细胞分化

在形成瘤的转化时期，可观察到细胞膜结

构和功能的变化。根据本文的观点，认为每个恶性转化细胞都伴随有细胞膜受体的变化。首先是量变，然后是质变，结果是增殖受体增加。产生瘤细胞的原因尽管不同，但都能引起在质膜上有相同的表型表达，除了能够产生结构效应或调节效应基因组突变外，外因也可加强增殖受体的表达。这些不同的外因可能改变细胞表面的假设途径，如图4所示：

体功能的物质抑制了该受体的表现，但不影响增殖受体。在这种情况下也发现增殖受体的数量增加。

(3) 病毒激活导致细胞表面生成增殖受体，这些可能是基本增殖程序的受体。关于这种受体结构的信息，或是直接编码，或是由病毒引起这种表达。

(4) 化学试剂(如致癌物质)特异地封阻感传效应或表达机制是由于合成了分化受体。

由各种原因所产生的癌细胞的所有机制，最终都要导致细胞上呈现同样的表型信息表达。如果受体的调节作用是在转译水平上受到控制的话，某些类型的癌在引起恶变过程中，可能并不涉及基因组。只要质膜上发现有分化受体，这种转化就是可逆的；如果培养的细胞中完全失去分化受体，则将不再会是可逆的了。

因此，在完全失去分化受体之后，只要能成功地重新把这些分化受体实验性地引入质膜，就能把恶变的细胞再转化为正常的细胞，这可通过所需基因组产生受体的信息的重新表现来达到。畸胎瘤细胞的可逆性变化有助于这种观点。在一项实验中，把经过八年培养的小鼠恶变细胞接种

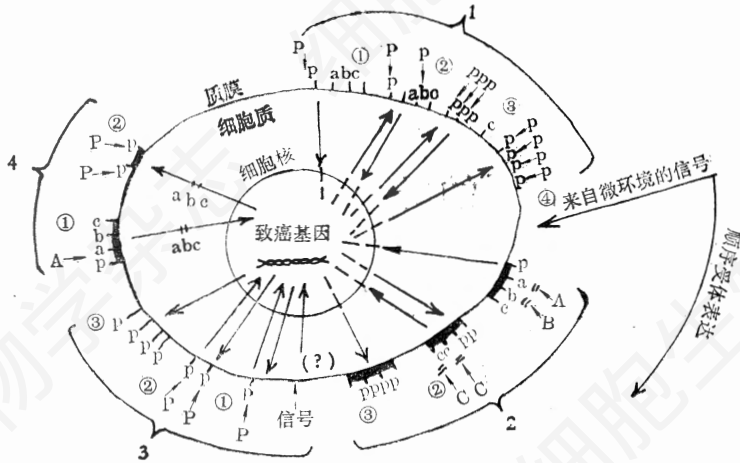


图 4

图 4 1、2、3、4 表示各种不同的活动如何导致相似的癌形成的情况。P 象征结合到细胞膜上的增殖受体；a、b、c 表示对不同刺激的受体；P：刺激细胞增殖的微环境因子；A、B、C：刺激分化过程的因子；①②③ 表示在癌变发生的不同时期，这过程可伴随着细胞分裂。

在 2 (p、a、b、c) 和 4 (p、a、b、c) 中的粗线表示这些膜受体一起表达。在 1 和 2 内，细胞核和细胞质之间的虚线表示癌变过程也能在转译水平调节。在 2 内“||”记号表示受体的阻断，在 4 内“||”记号表示感传效应或表达机制的阻断。膜受体的自我调控的概括已发表在 1976 年的“自然”杂志中(Nature, 259:265)。

(1) 增殖受体的超表达：增殖受体的调节可按下述方法进行，如果存在一个强而永久的环境信号，估计在细胞膜上会出现受体数量的增多(特别是在翻译水平上控制受体调节)，当收到一个甚至更强的信号时，还能依次在质膜上产生出更多的增殖受体。在这些限定的环境条件下，必然会有自我放大系统(类似的情形已有报道)，这种过程会有冲淡其他类型受体的效力。

(2) 分化受体的封阻：环境里封阻分化受

到同种的囊胚中去，在被接种而发育的动物体中，出现镶嵌器官。这些实验也清楚地显示了分化过程中微环境的重要性。根据以上意见，就会争论说在畸胎瘤细胞上还尚存有一些分化受体，能够在适宜的环境(胚胎)中又被激活，从而形成正常的细胞谱系。

### 八、实验研究的趋向

目前我们对于分化和增殖信号受体的存在及其结构几乎不了解，而且关于受体组及它们



在不同分化阶段的典型性协同表达方面的知识也很贫乏,因此必须研究预示不同细胞谱系的不同的受体组。首先必须分离出受体并与最近的膜环境一起研究其特征(分离出作为传递信号的功能单位,即载有受体的区域);其次,应研究细胞外部的微环境,以便了解信号分子的一些性质。

应确切证实质膜是由不同的功能单位组成的异质结构。我们自己的实验是支持质膜是异

质的观点的。下一步应把带有A型细胞分化受体的质膜区参入到另一谱系(B型)的完整细胞中去。因而,决定性的实验应是在A型分化受体以其适宜的启动分子激发之后,把B型细胞转变成A型细胞。

(赵季英、夏邦颖译自 *Differentiation* Vol 8, No. 2 123—132 1977  
刘黎校)



## 小牛胸腺素 F<sub>5</sub> 提取和活性测定方法的改进及其性质的研究

刘士廉 许成素 崔莲仙 杨桂珍 张淑珍

(中国医学科学院基础医学研究所)

孙芝琳 孙泽芳

(四川医学院、生化教研组)

### 前 言

胸腺对机体免疫特别是细胞免疫的演化、成熟和功能调节作用的研究是当代免疫学的一个重大进展。1972年 Goldstein 等从小牛胸腺中成功地提纯了具有生物活性的多肽,命名为胸腺素(Thymosin)<sup>[1]</sup>。胸腺素 F<sub>5</sub>(Thymosin Fraction 5 即第五步提取得到的半纯品,以下简称 F<sub>5</sub>),在先天性无胸腺鼠<sup>[2]</sup>,去除胸腺成熟鼠<sup>[3,8]</sup>,有严重自家免疫反应的 NZB 小鼠<sup>[2,4]</sup>,带瘤小鼠<sup>[5,6,7]</sup>,以及由酪蛋白诱发的淀粉样变性症的小鼠中<sup>[8]</sup>,具有诱导 T 细胞分化和加强免疫功能的作用。在患先天性免疫缺陷患者及免疫功能下降的肿瘤患者中试用,显示有提高 T 细胞数值和恢复免疫功能的作用<sup>[9-12]</sup>。

鉴于胸腺素有上述调节细胞免疫的重要作用 and 当前我国实验室、生产单位的具体条件限制,我们对原作者的提取方法做了简化和改进,

对所得产品作了一些生物化学和免疫化学的分析,并采用新生儿脐带血建立了一个体外检测活性的 E 玫瑰花结方法,前已做过初步报道<sup>[13]</sup>,现将全文报告如下。

### 材 料 和 方 法

#### 一、胸腺来源:

取新生小公牛胸腺,剥离周围结缔组织,新鲜使用或于 -20℃ 冷藏,备用。

#### 二、提取纯化步骤:

由小牛胸腺组织中提取纯化胸腺素 F<sub>5</sub> 的流程见图 1,除加热步骤外均在 0—4℃ 下进行。

称小牛胸腺 1500 克,加冷生理盐水 4500 毫升,辛醇 22.5 毫升(最终浓度为 0.5%),用高速打碎机匀浆 3 分钟,1500×g 离心 30 分钟,上清液用四层纱布过滤,去除脂肪,此为第 1 组份(F<sub>1</sub>)。置滤液于沸水浴中搅拌加热,至 80℃ 后立即置冰浴中冷却至 4℃,1500×g 离心 30 分钟,取上清液,此为第 2 组份(F<sub>2</sub>)。