



## 英国、瑞典细胞生物学领域研究的 现况和发展趋向(Ⅱ)

### 中国科学院赴英国、瑞典细胞 生物学考察组

姚鑫 陈瑞铭 王亚辉

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

李靖炎

(中国科学院昆明动物研究所)

### 三、离体细胞的实验研究

离体培养细胞的生长、运动和行为的的研究是细胞生物学的另一个重要方面。60年代末期以来,细胞融合和重组技术的发展,为研究细胞分化和癌细胞恶性的本质提供了新的手段。细胞表面结构和细胞识别也是目前十分活跃的领域。英国剑桥 Strangeways 研究室、格拉斯哥大学细胞生物系,牛津病理学院和瑞典 Karolinska 医学细胞遗传所 Ringertz 实验室在这些方面处于领先地位。瑞典乌布萨拉大学分子生物学研究所细胞运动研究组的工作也很出色。

#### 1. 骨骼病理

剑桥 Strangeways 研究室创建于1912年,在组织和器官培养方面有悠久的历史。这个研究中心的方向是研究骨骼病理——风湿性关节炎等病理条件下骨骼的侵蚀。然而,在 H. Fell 教授和 M. Abercrombie 教授领导下在组织培养和器官培养的方法学、激素对器官发生的影响、细胞行为、细胞生理和溶酶体等基础研究方面,做过许多开创性工作,成为国际著名的离体细胞实验研究的中心。

骨骼病理方面,已证明骨的侵蚀是由于溶酶体酶系的释放及其作用失去控制的结果。现在正进一步从分子水平追溯其原因。

最近, Fell 和 Dingle 将膝关节的滑膜组织和软骨联合一起培养,发现滑膜组织对软骨的破坏是由于前者释放的一种因子引起的。目前,已得到纯化的因子,是一个分子量为 25,000 的蛋白质,称为 Catabolin。同时,还证明这种因子能直接破坏软骨组织和

溶解骨基质。

#### 2. 细胞运动

Uppsala 大学分子生物学研究所细胞运动研究组结合形态和功能两方面,从细胞整体、亚显微水平到分子水平对细胞运动机制进行了系统深入的研究。

细胞骨架(包括微管、微丝和中等纤维等)和细胞形态的维持和运动有密切关系。尤其是微丝结构和细胞运动更直接有关。微丝是一束束的肌动蛋白分子,它在细胞内的结构是由肌动蛋白的聚合和解聚来控制的。细胞内的微丝(聚合态的肌动蛋白束)和细胞膜下面的一层未聚合的肌动蛋白凝胶液相连续。当细胞受到内外刺激,在局部引起这一层内肌动蛋白的不同结构状态的转化,便导致细胞的运动。

U. Lindberg 发现肌动蛋白能和 DNA 酶 I 迅速结合,并使酶活力受到抑制。因此,可以应用荧光标记的 DNA 酶 I 抗体来清楚地显示细胞内肌动蛋白的分布。同时,还可以应用这一原理来测定细胞内非聚合的和聚合的肌动蛋白的含量。用这一方法, Lindberg 发现许多种细胞内含有大量非聚合肌动蛋白(占其总量的 60—80%),并有证据表明当细胞受到刺激时,便发生非聚合态到聚合态的转化,表现为细胞的运动。他们还从许多种细胞内提取出非聚合态的肌动蛋白,并证明是肌动蛋白和一种称为 Profilin 的蛋白质的复合物。Profilin 是一种低分子量(15,220 道尔顿)的蛋白质,当和肌动蛋白结合时,肌动蛋白的聚合便受到抑制。目前已经测定了 Profilin 的一级结构,证明是由 142 氨基酸组成。C 末端有高的正电荷,与肌动蛋白的亲合有关。切除 C 端的一个脯氨酸和色氨酸,

便失去结合能力。已得到肌动蛋白—Profilin复合物的适于作高分辨率X衍射分析的晶体,正计划测定其立体结构。

根据这些事实,Lindberg认为Profilin在调节细胞内非聚合态和聚合态肌动蛋白的转化中起关键作用。非聚合态肌动蛋白是以肌动蛋白—Profilin复合物形式存在于细胞内。当受到适当刺激时,复合物便解离并迅速聚合,形成微丝。过剩的微丝的解离,则假定是受一个促解聚因子(X)调节。至于引起肌动蛋白—Profilin复合物解离的直接信号是什么,目前还不清楚。

Strangeways研究室在细胞的运动和行为方面(特别是成纤维细胞的运动机制和动力学、癌细胞行为等)有过许多贡献。M. Abercrombie教授于1979年去世后,这方面的工作已削弱。

### 3. 细胞表面构造和细胞识别

细胞表面构造和细胞间的识别是细胞生物学中非常活跃的领域。格拉斯哥大学细胞生物系A. S. G. Curtis教授在这一领域中进行过系统深入的研究。在他的领导下,全系围绕这一中心方向,分别研究细胞表面结构和细胞间选择粘着性、细胞膜磷脂构造和透性、淋巴细胞表面特性和识别,以及炎症中白血球的行为(趋化性和迁移)等问题。他们发现细胞膜的磷脂组成(饱和度和链长)及环境介电常数的变化都能影响细胞膜的流动性,从而改变细胞间的粘着性。胰酶消化时,细胞间粘着性减弱而分散。这可能是由于影响了质膜上和脂类代谢转换有关的酶系,从而改变了磷脂结构(双酰磷脂的种类和数量,以及单酰磷脂的比例)的结果,而不是由于影响膜蛋白的结果。

Curtis教授目前主要注意研究淋巴细胞表面之主组织相容性抗原(H-2)与细胞间识别的关系。此外他正在按装一台由电子计算机操纵的细胞识别仪,能很快地把视野内成千上百的淋巴球中,胞质铺展的和未铺展的细胞区分开来并把统计的百分率自动记录下来。他还计划用这一台新仪器来识别染色体。

剑桥ARC动物生理研究所M. W. Smith利用离体培养的血管内皮细胞作实验模型,研究白血球表面特性和血管内皮的关系,以及药物(前列腺素等)对白血球和内皮间的粘着性及迁移活动的影响。他发现在有白血球存在时,白血球的迁移活动大大加强,而血小板没有这种促进作用。

### 4. 细胞融合和重组

细胞融合和重组是研究真核细胞核质相互作用,

及细胞质对细胞核基因表现的控制的很有用的方法。同时,也有助于探讨癌细胞恶性的本质。

鸡红血球的染色质浓缩,基因组的活动完全被抑制。Ringertz教授把鸡红血球和HeLa细胞融合,形成异核体。当红血球细胞核进入分裂的异核体的一个子细胞内时,红血球细胞核的体积便显著增加,染色质逐渐分散,重新形成核仁,并恢复复制和转录活力。在细胞核恢复活力过程中,细胞质内蛋白质(主要是非组蛋白)选择地进入并积累在核内。这可能与所观察到的细胞核结构和功能的上述变化有关系。

细胞经松胞素B处理,排除细胞核。剩下的无核细胞质块称为胞质体,而排除的核,被一圈细胞质和质膜包裹,则称为核体(或微细胞)。一种细胞的胞质体和另一种细胞的核体,经仙台病毒或聚乙二醇(PEG)的作用,可以融合在一起,重组成一个核质杂种细胞。重组的细胞不但能成活,而且能继续分裂、繁殖。这就提供了一个比异核体更好的研究核质相互作用的系统。Ringertz把大鼠成肌细胞(L6)的核体和小鼠成纤维细胞(Ag)的胞质体融合。这样重组的核质杂种细胞,能重复分裂,并能合成肌球蛋白。他们还把小鼠畸胎瘤细胞(HGPRT<sup>-</sup>)和去核的L6J1成肌细胞融合,形成胞质杂种(Cybrids)。利用双相凝胶电泳比较畸胎瘤细胞和胞质杂种细胞的多肽图谱,没有发现可重复的差别。因此,畸胎瘤细胞核的基因表现似乎未受到成肌细胞细胞质的可见的影响。

细胞融合也用于分析癌细胞的恶性。牛津病理学院H. Harris教授发现癌细胞与正常二倍体细胞融合后,癌细胞的恶性表现便受到抑制。这提示癌细胞与恶性有关的基因似乎被正常细胞细胞质中可扩散的因子抑制。但是,实际上事情并不这样简单。J. Paul教授认为这一类实验的限制性在于杂种细胞内双方基因组的平衡以及染色体丢失,造成种种复杂情况,难以解释。因此,他主张用同一物种在发育来源上相近的细胞(如小鼠各类型的血细胞)作融合和杂交。当把Friend红白血病细胞和各种淋巴样细胞融合时,得到的杂种细胞既能诱导产生血红蛋白,又能表现淋巴细胞的表面标志。这似乎说明杂交细胞可以同时出现亲本双方的分化性状,而不受抑制。Friend细胞和成纤维细胞(或畸胎瘤细胞)融合时,结果更难解释。非常有兴趣地,他们发现这些杂种细胞的分化状态和细胞生长特性有关联。当细胞悬浮生长时,与Friend细胞相似,能诱导产生血红蛋白;当贴壁生长时,与成纤维细胞或畸胎瘤细胞相似,则不能。这似乎说明

细胞表型的各方面是整合在一起,同时表现的。总之,用细胞融合和杂交来分析癌细胞恶性的本质在方法学上有相当的限制性;但如使用得当,也可提供一些有价值的线索。

### 5. 细胞分离和大量培养

高等动物各种组织细胞的分离和大量培养在方法学上有重要意义。新近发展起来的荧光激活细胞分离仪(Fluorescence activated cell sorter,简称FACS)对细胞分离有广泛的用途。其原理是利用激光束激发与细胞表面抗原结合的荧光标记抗体或与细胞成分结合的荧光探测分子,经过计算机监控的电磁选择系统,就能根据激发荧光的有无或强度的差别,而把不同种类或特性的细胞挑选、分离出来,并自动记录各类细胞的比例。因此,可应用于分离具有不同表面抗原标记的细胞;细胞分裂周期内不同时期的细胞;以及测量个别细胞内荧光偏振情况,并分离出关键类群。这种新仪器价格昂贵,每台约需七万英镑。在英国我们见到五台,按装在伦敦大学、牛津、剑桥、格拉斯哥 Beatson 肿瘤研究所和帝国肿瘤基金会肿瘤研究所,正积极地用于淋巴细胞亚群、白血病细胞分型及 Friend 细胞突变型等方面的细胞分离工作。由于价格昂贵,一般实验室还不能采用。

瑞典 Pharmacia 工厂发展了几种更经济实用的细胞分离方法。为了分离细胞,他们特别研制了一种新型的大颗粒琼脂糖珠(6MB 直径 200—300 毫微米),颗粒大小均匀,便于细胞通过。使用 6MB 大颗粒琼脂糖珠做的亲和层析柱(1.5 毫升),每小时可收集  $200 \times 10^6$  细胞。理论上,应用适当的专一抗体、凝集素或配位基(如甾体激素、神经递质或神经毒素等)与 6MB 琼脂糖珠共价联结成的亲和层析柱,就可以分离表面具有对应的互补基团的任何细胞。例如,利用一种和神经原有选择亲和性的神经毒素  $\alpha$ -bungarotoxin 做的吸附柱可以分离神经细胞;鞣酮—Sepharose 6MB 吸附柱用于分离睾丸的 Leidig 细胞。目前已有商品生产的蜗牛凝集素 HP-Sepharose 6MB 常用于分离 T 淋巴细胞,Protein A-Sepharose 6MB 常用于分离 B 淋巴细胞,以及表面结合有各类免疫球蛋白的任何种类的细胞。

利用细胞比重的差异,在密度梯度场中离心或自然沉降,也是一种有效的分离细胞的方法。Pharmacia 研制了一种新型分离介质,称为“Percoll”。它是外面包有 PVP 的硅胶颗粒,其物理性能(粘度和渗透性)比其他常用的分离介质(如蔗糖、Ficoll,

Na-metrizamide 等)更接近生理范围。因此,能更有效地分离细胞和细胞器(包括染色体)。以更小的离心力、更短的离心时间,取得更好的分离效果。

利用培养的细胞进行真核细胞分子遗传、细胞表面抗原以及细胞产物的分离纯化的工作愈来愈多,因此需要寻求在体外大量繁殖细胞的更有效的方法。Pharmacia 为此研制了一种新型的葡聚糖珠,称为“Cytodex-I”,表面带正电荷,细胞可贴在颗粒表面生长,因而大大扩大了细胞生长面积,并便利培养液更换,据计算,一个盛有 200—500 毫升培养液的瓶中,悬浮一克的“Cytodex-I”可提供  $2 \times 10^9$  细胞的生长面积,即相当于 7 个标准旋转瓶或 76 个 100 毫米直径培养皿的生长面积。这一个细胞大量繁殖的新方法可以用于正常或病毒感染细胞的大量培养,在细胞生物学的基础研究,病毒疫苗、干扰素、酶制剂等生物制品生产方面都有广泛应用价值,值得推广应用。

## 四、细胞免疫

细胞免疫学目前发展的特点是与体细胞遗传学结合,主要研究免疫活性细胞表面分化的遗传控制及细胞间识别和相互作用问题,或者也可以进一步概括为研究“信号、受体和基因”。正如 N. A. Mitchison 教授在为我们举行的一次讲演中所指出的,“免疫学已被体细胞遗传学转化”,也就是说当前免疫学无论研究的问题和方法,都受到体细胞遗传学很大的影响,被它改造了。方法学上的进步,尤其是杂交细胞瘤(单株抗体)技术,提供了研究细胞表面抗原构造以及细胞相互作用因子(辅助因子、抑制因子等)的分析和分离手段,有力地推动了这一发展趋向。伦敦大学动物系 N. A. Mitchison 实验室、牛津大学 MRC 细胞免疫研究组、皇家癌症基金会肿瘤研究所 Bodmer 实验室,瑞典 Wallenberg 免疫生物学系等单位在免疫学当前的这一蓬勃的发展中都起着积极带头作用。

### 1. T和B淋巴细胞的激活机理

瑞典 Wallenberg 免疫生物学系 G. Möller 教授,《免疫评论》主编,主要研究 T、B 淋巴细胞的激活机理,特别是多株 B 细胞激活因子(Polyclonal B cell activators,如 LPS, PPD, Profein A 等)对 B 细胞的激活机理;并对 Ia 抗原在免疫细胞识别中的作用机理持有独特的见解。

Möller 教授研究工作的特色是充分利用遗传学方法来分析免疫细胞表面受体在细胞识别和激活中的作用问题。小鼠各种突变品系在这方面有广泛的用途

例如一种 C3H/HeJ 小鼠, 由于第 4 对染色体 突变, 缺乏对 LPS 起反应的基因, 结果 B 细胞表面缺少 LPS 受体。利用免抗小鼠 B 细胞的抗血清, 经过这种突变小鼠 B 细胞的吸收, 便可以得到专一的抗 LPS 受体的抗体, 用于有关 B 细胞表面 LPS 受体的各种研究。关于葡聚糖免疫学的系统研究充分体现了他的研究特色。遗传性不同的小鼠品系对一定大小分子量的葡聚糖的反应不一样。A, DBA 品系是无反应品系, 而 CBA, C57BL 是反应品系。通过两类品系小鼠之间的杂交和回交分析, 表明对葡聚糖的反应是一个基因决定的, 其在染色体上的位置接近  $V_L$  基因; 并证明抗葡聚糖抗体形成过程中,  $V_L$  基因移位到 C 基因的动作被明显地推迟。同时, 通过对 CBA 和 C57BL 两反应品系的比较研究证明抗葡聚糖抗体在 CBA 和 C57BL 的性质不同, 分属不同的抗个体型, 并且 CBA 小鼠只能形成 IgM 抗体, 不能形成 IgG 抗体。进一步分析发现经葡聚糖免疫后, 自动产生抗个体型抗体调节免疫反应。CBA 小鼠能产生针对反应 B 细胞表面 IgG 受体的自身抗个体型抗体 (Auto-anti-idiotypic antibody) 阻碍 IgG 抗体的产生。此外, 还对免疫过程中, 从 IgM 到 IgG 抗体的转变也进行了研究。

在 T 淋巴细胞激活机理方面, Möller 认为 T 淋巴球的识别与 MHC 类型有关系。A 品系小鼠淋巴细胞用 FITC 标记, 免疫同品系小鼠后, 产生的致敏 T 淋巴球只能杀伤荧光标记的同品系淋巴细胞, 而不能杀伤未标记的或另一品系标记的淋巴细胞。因此, 他认为 T 细胞对靶细胞的识别需要双重识别, 即和 T 细胞自身同一类型的 MHC 抗原与被细菌、病毒或化学因子改变了的自身抗原结构。

他还通过 T 淋巴细胞对 ConA 反应机理的深刻分析, 对 Ia 抗原在 T 细胞激活中的作用提出了独特的见解。他认为 T 细胞激活需要 Ia 分子参与作用, 而 ConA—T 细胞致有丝分裂原—可能通过结合 Ia 分子上的糖基团来稳定 Ia 分子与 T 细胞表面 Ia 受体的联合, 从而激活 T 细胞。在免疫系统中, 巨噬细胞表面可能提供或释放出 Ia 分子, 参与上述作用。总之, Möller 教授在 T、B 淋巴细胞的识别、激活机理、以及免疫耐受性等基本问题上, 都有深刻和独到的见解, 对当前免疫生物学发展有相当大的影响。

另一个对免疫学发展有较大影响的是伦敦大学动物系 N. A. Mitchison 实验室。Mitchison 教授因在 T、B 细胞协同作用方面的重要发现, 而享有盛名。目前正在深入研究 B 淋巴细胞激活过程中, T 辅助细胞

的作用机制; 并应用杂交细胞瘤技术 (T 淋巴细胞瘤  $\times$   $T_H$  或  $T_S$  细胞), 选择产生  $T_H$  和  $T_S$  因子的细胞株, 以研究  $T_H$  和  $T_S$  因子的化学性质。此外, 还用自体抗原 (肝脏蛋白) 免疫来分析免疫耐受性产生机理, 证明耐受性的产生是由于 T 细胞, 而不是 B 细胞。该实验室 Feldman 博士发现骨髓和脾脏中, 存在着类似巨噬细胞的一种抗原提供细胞 (Antigen Presenting cell, 简称 APC), 能分泌 Ia-免疫原复合物, 因而可能在 T、B 和巨噬细胞相互作用及其遗传控制的识别中起重要作用。

## 2. 淋巴细胞表面标志及其分化

牛津病理学院 MRC 细胞免疫学研究组 A. F. Williams 博士应用单克隆抗体技术研究淋巴细胞表面标志, 取得许多成果。他先从大鼠胸腺细胞膜初步分离出一个白血球共同抗原 (L-C 抗原), 存在于胸腺细胞、骨髓细胞、周沿淋巴球和巨噬细胞, 而不存在于其它组织。用 L-C 抗原免疫小鼠, 取脾脏细胞和小鼠骨髓瘤细胞杂交, 选择出产生 L-C 抗原的抗体的细胞株。再利用产生的单专一性抗体作亲和层析, 进一步纯化, 得到纯 L-C 抗原, 分子量为 150,000。利用类似的方法, 发现大鼠胸腺细胞膜存在三个分子量不同的主要的糖蛋白: 150,000 道尔顿 (L-C 抗原), 84,000 道尔顿和 25,000 道尔顿 (Thy-1 抗原)。他还用单克隆抗体技术分析鉴定了大鼠胸腺细胞 Ia 糖蛋白的组织分布、分子结构, 以及与 MHC 基因复合物的连锁情况等, 证明它是一类和 HLA、H-2 同源的蛋白。同时, 还利用荧光激发细胞分离仪研究了 Ia 糖蛋白在各类细胞的分布和含量比例。英国癌症基金会 Lincoln Inn Field 肿瘤研究所 Greaves 博士用同样的方法研究淋巴细胞及白血病细胞的细胞表面标志, 将在下一节谈到。

各种凝集素 (如 ConA、WGA、HP 等) 能与细胞表面糖蛋白的特定糖基团专一结合, 因此是研究淋巴细胞表面结构很有用的分子探针。尤其是以大蜗牛 (*Helix pomatia*) 蛋白腺分离出的一种凝集素 (HP 蛋白), 能和 N-乙酰氨基葡萄糖残基专一结合, 对淋巴细胞表面结构的研究特别有用处。

瑞典 Wenner-Gren 免疫系 P. Perlmann 教授用各种凝集素分析人淋巴细胞表面结构, 发现 T 细胞除 SRBC 受体、IgM 受体之外, 经神经氨酸酶处理后还出现 HP 受体, 并可利用这一特性, 用 HP—Sepharose 柱来分离 T 细胞。同时, 还发现人 B 细胞的一个亚群 ( $sIg^+$ ), 可能是未成熟的 B 细胞, 也是  $HP^+$  的。

不过,两种细胞和HP结合的牢固度不一样,可以用不同的洗脱条件,将它们分开。还进一步从淋巴细胞膜分离出HP受体,为分子量150,000道尔顿的糖蛋白;并证明在外周血T细胞、白血病T细胞上均存在,而处于各分化阶段的B细胞均不存在。

### 3. 巨噬细胞分化和激活

牛津病理学院S. Gordon博士研究巨噬细胞的分化和激活,以及在炎症和肿瘤免疫中的作用。巨噬细胞生长因子(Colony stimulating factor, CSF)能刺激小鼠培养的骨髓细胞增生、分化,并分泌溶血纤蛋白原激活因子(Plasminogen activator)能激活溶血纤蛋白活性,溶解血纤蛋白薄膜,形成空斑。因此,可用此法检测巨噬细胞的激活。他还应用杂交细胞瘤技术,得到大鼠抗小鼠巨噬细胞的单克隆抗体,用来研究巨噬细胞分化过程中表面抗原的变化。他还把巨噬细胞和黑色素瘤细胞融合,并从杂交细胞后代中分离出巨噬细胞表型呈阳性的和呈阴性的细胞株。他发现巨噬细胞表型呈阳性的杂交细胞,吞噬红血球的行为和正常巨噬细胞有不同,红血球能粘附在细胞表面,但不能被吞噬进去。

除上述以外,还参观了一些分子免疫学实验室。剑桥MRC分子生物学研究室Rabbits博士研究人免疫球蛋白的基因结构与抗体多样性起源问题,证明淋巴细胞分化过程中,V基因通过移位和C基因连接。剑桥ARC动物生理研究所免疫化学实验室Feinstein博士研究IgM的立体结构,并用杂交细胞瘤方法得到IgD和移植抗原的单克隆抗体,来分离IgD和移植抗原,并研究移植抗原的结构。癌症基金会Lincoln Inn Field肿瘤研究所Bodmer教授兼用重组DNA技术和单克隆抗体技术来研究人HLA系统基因结构及其功能和进化问题。另一方面,HLA单克隆抗体可用于器官移植的组织分型,在医学上,实际应用价值也是很大的。总之,这些问题无疑都是很重要的,但由于已超出细胞生物学范围,此处不能一一赘述了。

## 五、癌细胞生物学

肿瘤既是一个医学问题,也是一个生物学问题。癌变原因,癌细胞的基因表达,以及生物学特性和细胞的遗传变异,生长和分化等基本问题都有密切关系。病毒诱发的细胞恶性转化提供了研究真核基因表现调控的很好的实验模型。因此,许多细胞生物学的基础研究也是在癌细胞上进行的。我们这次考查的范

围也限于癌细胞生物学基础研究方面。

### 1. 离体诱发癌变

剑桥Strangeways研究室I. Lasnitzki博士多年来从事用致癌化合物诱发离体培养细胞癌变的研究。最近,在用DMBA诱发前列腺癌变过程中,观察到维生素A有阻遏上皮细胞恶性变的作用;缺少维生素A时,致癌物质的效应增强。此外,维生素A似乎还有使癌变逆转的作用。因此,她认为维生素有用于临床治疗癌症的可能性。但是,维生素A在高浓度下,对细胞有毒性。她改用人工合成的结构类似物维生素A酸,毒性较小,并且比天然维生素A能更有效地抑制增生。目前正进一步实验对癌变的影响。

Lincoln Inn Field肿瘤研究所L. M. Franks研究DMBA诱发离体培养的膀胱组织癌变时,上皮细胞和间质细胞的依赖关系;并发现膀胱上皮细胞体外诱发癌变的频率与组织年龄有关系,年老的细胞癌变频率高。

### 2. 肿瘤病毒对细胞的转化作用

癌病毒对细胞的转化可以研究基因整合,基因表现的调控和细胞分化等多方面的基本生物学问题,是分子生物学和细胞生物学广泛交叉的、十分活跃的领域。

瑞典Karolinska肿瘤生物学研究所G. Klein教授主要研究EB病毒对细胞的转化机理,分析细胞转化中产生的各种抗原(EA, VCA, MA, EBNA)。他们已经分离到比较纯的EBNA。EBNA是DNA肿瘤病毒转化的细胞中,都出现的特异抗原,为一种和DNA结合的酸性蛋白。他们认为EBNA可能抑制B淋巴细胞的分化,并与细胞的恶性转化有关系。

爱丁堡大学动物系M. S. Campo等研究SV40病毒DNA整合到小鼠和人杂交细胞的7号染色体上的情况,发现每条7号染色体上带有6个呈直线排列的完整的和DNA部分缺失的病毒基因组。

Uppsala大学微生物学系Philipson教授和Karolinska医学细胞遗传研究所T. Ege博士结合遗传学和分子生物学方法,采用温度敏感的病毒突变株来分析细胞恶性转化问题。T. Ege在温度敏感的Rous肉瘤病毒突变株对大鼠细胞感染后不同时间,改变环境温度,使细胞转化停顿在一定阶段。同时,用双相凝胶电泳检查比较转化不同阶段的细胞的蛋白图谱,试图找出与恶性转化有关的关键成分。

Beatson肿瘤研究所J. Paul教授研究Friend细胞中病毒基因和细胞分化的关系。所谓Friend细

胞是小鼠的一种红白血病细胞,来源于经 Friend 病毒转化的红血球前体细胞。这种细胞能在离体培养条件下,继续不断地繁殖,并能被各种化合物(如:DMSO 等)诱导分化为接近正常的红血球(产生血红蛋白和专一的膜蛋白)。因此,提供了一个研究红细胞异常分化和逆转分化的很好的实验模型。

Paul 实验室利用纯化的 Friend 病毒的 SFV 基因作分子杂交,证明该基因能够整合到小鼠 DNA 内,并在细胞分化过程中选择地表现。他们正进一步试验病毒是否能把寄主细胞的调节基因捡进它们的基因组内,并试图由此解释癌变和分化的关系。

Paul 教授把分子生物学方法和遗传学方法结合起来研究 Friend 细胞的异常分化问题。他们先诱发对各种化学诱导物不起反应的 Friend 细胞突变株。然后,将这些突变细胞株筛选出来,分析各细胞株有那些红细胞分化特性受到影响;结果发现各种化学诱导物是各自作用于红细胞分化过程的不同环节。Friend 突变细胞还可以解决其他很有趣的问题。例如,这一类研究可以把红血球正常分化过程中早期出现的分化特性(专一的膜蛋白—spectrin)的诱导和晚期出现的分化特性(血红蛋白、染色质浓缩等)的诱导分隔开来。这些结果似乎提示红血球母细胞分化过程中,一系列有关的基因是按精确的时间顺序依次转录的;而不是所有这些基因都同时转录,然后再通过转录后的调控选择地翻译。

### 3. 癌细胞的分化状态和逆转

了解癌细胞的分化状态和逆转可能有助于癌症的治疗。除去 Friend 细胞外,畸胎瘤也是研究癌细胞分化状态和逆转的很好的实验模型。英国在哺乳类早期发育研究方面有很好的基础,进行这方面研究有许多有利的条件。如前述,牛津病理学院 G. Papaioannou 将恶性畸胎瘤细胞移植到小鼠胚泡内,能分化为正常组织。剑桥大学遗传系 Evans 博士正在用单克隆抗体技术分析畸胎瘤细胞膜发育时期专一的抗原。畸胎瘤细胞分化过程中,x 染色体失活,并失去合成甲胎蛋白的能力。他正应用 DNA 重组技术,得到无性扩增的甲胎蛋白 DNA,研究癌细胞分化过程中 AFP 基因的表现问题。

### 4. 癌细胞表面抗原

单克隆抗体技术正广泛应用于癌细胞表面抗原的分析。牛津病理学院 Harris 教授实验室用双向凝胶电泳技术,分析许多癌杂交细胞的膜蛋白,发现一种专一的恶性相关糖蛋白,其功能与膜上葡萄糖运输有

关系。从凝胶制备电泳得到微量的初步纯化的膜蛋白(<100 微克),就可以用杂交细胞瘤技术制备专一的单克隆抗体,再通过免疫亲和层析进一步提纯这一蛋白,研究其结构和功能。

Lincoln Inn Field 肿瘤研究所 Greaves 博士研究淋巴细胞和淋巴白血病细胞的表面标志。他应用杂交细胞瘤技术制备细胞表面标志的单克隆抗体,并用荧光激活细胞分离仪把有特殊标志的淋巴细胞或白血病细胞分离开来。应用这些先进技术, Greaves 阐明急性淋巴白血病有四种不同的细胞类型。但是,一个病人只有一种类型,这说明肿瘤可能各自来源于处于不同分化阶段的一个细胞。不同类型的急性淋巴白血病的愈后不一样,因此鉴别诊断是一个急待解决的问题。据 Greaves 估计,一年后就可望用针对不同类型细胞的表面标志的单克隆抗体进行临床诊断。除表面标志外,专一的酶,如末端去氧核苷酸转移酶(TDT)只存在于胸腺组织,也可以作为来源于 T 细胞的鉴别特征。

除此以外,Wenner-Gren 免疫研究所 Perlmann 教授实验室对化学诱发的大鼠肝癌细胞的抗原组成,癌胚胎抗原(CEA)的分子构造和抗原性质进行了系统研究。他们发现人胆汁中存在一种胆汁糖蛋白(BGP1)与 CEA 有交叉反应。剑桥 MRC 分子生物学研究室 Lennox 博士发现 MCA 肉瘤的肿瘤专一移植抗原(TSTA)与 H-2 抗原性质不同。前者能被 WGA-Sephrose 吸附,而不被 ConA-Sephrose 吸附;H-2 抗原则正好相反。由此,可以把 TSTA 分离开来,再通过单克隆抗体进一步纯化。

### 5. 肿瘤免疫

六十年代末期到七十年代初期出现的肿瘤免疫治疗的热潮已经过去了。过去一些曾经热心于肿瘤免疫治疗的科学家已转向更深入的基础研究。例如 Chester Beatty 肿瘤研究所 P. Alexander 教授正在研究癌细胞的实验转移和机体免疫状态的关系问题。大鼠在移植肉瘤 14 天后,切除瘤块。实验动物一般在十四个月内,仍然生活正常,转移率只有 5%。若在此期间,采取免疫抑制措施,则 70% 实验动物出现转移灶。他们正利用此实验模型进一步研究癌细胞的潜伏和机体的免疫监管作用。

巨噬细胞在肿瘤免疫中的作用也受到重视。Chester Beatty 肿瘤研究所 G. A. Currie 研究大鼠激活的巨噬细胞对癌细胞的杀伤作用。他发现激活的巨噬细胞的精氨酸酶活力显著增加,大量消耗培养液中的

精氨酸；巨噬细胞的细胞毒性作用与精氨酸酶活力是平行的。另一方面，纯化的牛精氨酸酶能杀伤癌细胞，而不影响正常细胞。这可能与癌细胞对精氨酸的需求量远远超过正常细胞有关系。

剑桥 Addenbrook 医院免疫系 I. Rhodes 博士发现癌细胞能产生一种巨噬细胞抑制因子(分子量约为 25,000 道尔顿)，对抗巨噬细胞的防御作用。

#### 6. 药物和辐射敏感性

Beatson 肿瘤研究所 Freshney 博士采用临床肿瘤手术标本(神经胶细胞瘤、直肠癌、黑色素瘤等)体外短期培养，研究癌细胞对各种药物敏感性，供临床参考。他发现地塞米松(Dexamethasone)能影响神经胶细胞瘤的生长。从细胞生长率、核酸合成等方面看来，地塞米松可能有促进癌细胞分化的作用。剑桥 MRC 分子生物学研究室临床肿瘤学及放射治疗实验室研究各种离体培养癌细胞对辐射的敏感性，发现环境氧分压增高时，癌细胞对辐射敏感性增加。

### 结 论

从两国的情况看来，细胞生物学研究领域虽然极为广阔，头绪万千，但发展趋向仍然有清楚的脉络可寻。无论一个分子生物学研究所、细胞研究所或肿瘤研究所，无论是研究正常细胞或病理细胞，深入下去

都要涉及到真核基因结构和基因表现的调控问题。例如，牛津大学病理学院的 Harris 教授向我们介绍学院的研究方向时，幽默地说，他们主要是研究哺乳类正常细胞和肿瘤细胞的基因表现的调控问题，从来没有做过病理解剖。瑞典乌布萨拉大学微生物系 Philipson 教授也声明这个系的名称是“名不符实”的。他们研究腺病毒，只是用它做工具来分析真核细胞的基因表现。因此，按内容与其说是一个微生物系，不如说是一个真核细胞分子遗传系。Beatson 肿瘤研究所几乎全部工作都是围绕染色体结构和血红蛋白基因转录的调控进行的。爱丁堡动物遗传研究所更不待言，主要是致力于从细胞和分子水平探讨发育和遗传的关系问题。以上这些情况足以说明，真核细胞基因组结构和基因表现的调控是当前细胞生物学发展的主要趋势。DNA 重组、单克隆抗体、核酸分子杂交和基因活动的电镜观察等新技术的广泛应用，促进了分子生物学和细胞生物学的相互渗透，更推动了这一发展趋势。此外，细胞生物学基础研究和医学生物学的紧密结合(英国特别重视哺乳动物的实验研究)，是两国细胞生物学的又一特点。这些都是规划我国细胞生物学未来发展时，值得借鉴的地方。

—完—

(上接第 5 页)

### 参 考 文 献

- [1] De Robertis, E., 1964, "Pergamon" Oxford.
- [2] Gray, E. G., 1974, "Academic Press" 2: 385—416.
- [3] Gray, E. G., 1959, *J. Anat.*, 93(4):420—433.
- [4] Peter, A. et al., 1977, *The Fine Structure of the Nervous and Supporting Cells* Saunders Co. Philadelphia, London, Toront.
- [5] Hökfelt, T., 1971, *Prog Brain Res.*, 34: 213—222.
- [6] Gray, E. G., 1977, IN *Synapses*, 6—18 Blackie and Son Ltd.
- [7] Radouco-Thomas, S., 1971, IN *Advances in Cytopharmacology* 1:457—475.
- [8] Gray, E. G., 1971, *Prog Brain Res.*, 34: 149—160.
- [9] Chan-Palay, V., 1977, *Cerebellar Dentate Nucleus, Organization, Cytology and Transmitters.* Springer-Verlag, Berlin Heideberg. New York.
- [10] De Robertis, E., 1971, IN "*Advances in Cytopharmacology*" 1:291—300.
- [11] Энгим, Т. И., 1954, *Арх. Анат. Гист. Эмбр.*, 4:25—32.
- [12] 胡人义, 解剖学报, 1965, 2:183—188.
- [13] Uchizono, K., 1965, *Nature*, 207:642—643.
- [14] Akert, K. et al., 1971, IN *Advances in Cytopharmacology* 1:273—290.
- [15] Nakajima, Y. J., 1971, *J. Cell Biology*, 50(1): 121—134.