

病都伴有 CRP 的升高。因此,CRP 水平的测定对诊断这些疾病是非常有价值的。值得一提的是,CRP 在心血管疾病中有着巨大的应用价值,CRP 微小的变化就可以预防冠心病、心肌梗塞、心绞痛等心血管疾病的发生。此外,CRP 在胆囊炎、肾疾病、肺疾病、糖尿病、高血压、高血脂以及一些精神疾病中都有广阔的应用前景。

综上所述,在急性时相蛋白中,CRP 以其多种多样的生理学功能以及在临床医学中重要的应用价值而占据显著的地位。它在人体遭受病原体入侵后,在血液内急速增长,因为它的调理作用以及对补体的激活作用,CRP 在对抗防御外来病原体(如病毒、细菌、真菌等)方面起着重要的作用,是人体自我防御的第一道防线。

参 考 文 献

- [1] Tillett, W. S., Francis, T., 1930, *J. Exp. Med.*, **52**: 561 - 571.
- [2] Abernathy, T. J., Ayery, O. T., 1941, *J. Exp. Med.*, **73**: 173 - 182.
- [3] Gabay, C., Kushner, I., 1999, *New. Engl. J. Med.*, **340**(6): 448 - 454.
- [4] Thompson, D., et al., 1999, *Structure*, **7**: 169 - 177.
- [5] 冯仁丰, 1999, 上海医学检验杂志, **14**(5): 258 - 260.
- [6] 夏东元等, 2000, 中国生物化学与分子生物学报, **16**(2): 215 - 223.
- [7] Clyne, B., et al., 1999, *The Journal of Emergency Medicine*, **17**(6): 1091 - 1025.
- [8] 杨振修, 1999, 上海医学检验杂志, **14**(5): 261 - 263.
- [9] 陈志等, 1994, 国外医学临床生物化学与检验分册, **15**(3): 98 - 99.
- [10] 周惠珍, 1990, 中国试验临床免疫学杂志, **2**(5): 37 - 41.
- [11] Eda, S., et al., 1999, *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, **230**: 32 - 35.
- [12] Waris, M. E., et al., 2002, *Anal Biochem*, **309**(1): 67 - 74.
- [13] Futterman, L. G., et al., 2002, *Am. J. Crit. Care.*, **11**(5): 482 - 486.
- [14] Deegan, O., et al., 2003, *Anal Biochem*, **312**(2): 175 - 181.
- [15] Hans, C., et al., 2002, *European Journal of Internet Medicine*, **13**: 412 - 422.
- [16] Taskinen, S., et al., 2002, *Biochem J*, **367**(2): 403 - 412.
- [17] Stein, M. P., et al., 2000, *J Clin Invest*, **105**(3): 369 - 376.
- [18] Mold, C., et al., 1999, *Immunopharmacology*, **42**: 23 - 30.
- [19] Kaplan, M. H., Volanakis, J. E., 1974, *J. Immunol.*, **112**: 2135 - 2147.
- [20] Siegel, J., Rent, R., Gewurz, H., 1974, *J. Exp. Med.*, **140**: 631 - 647.
- [21] Mold, C., et al., 1981, *J. Immunol.*, **127**: 2089 - 2092.
- [22] Szalai, A. J., 2002, *Vascular Pharmacology*, **39**: 105 - 107.
- [23] Woollard, K. J., et al., 2002, *Clin. Exp. Immunol*, **130**(2): 256 - 262.
- [24] Mold, C., et al., 2002, *Journal of Autoimmunity*, **19**: 147 - 154.
- [25] Polevshikov, A. V., et al., 1997, *Oral presentations, Cytokines and lymphoid differentiation/maturation*, 0.3.10.7.
- [26] Butyugov, A., et al., 1997, *Poster Presentations of Regulation of apoptosis*, **71**.
- [27] Volanakis, J. E., 2001, *Molecular Immunology*, **38**: 189 - 197.
- [28] Hack, E. C., et al., 1997, *Immunol. Today*, **18**: 111 - 115.
- [29] Gershov, D., et al., 2000, *J. Exp. Med.*, **192**: 1353 - 1363.
- [30] Szalai, A. J., et al., 1995, *J. Immunol.*, **155**: 2557 - 2563.
- [31] Szalai, A. J., et al., 2000, *Infect. Immun.*, **68**: 5652 - 5656.
- [32] Weiner, S. M., et al., 2001, *Clin Exp Immunol*, **125**(2): 316 - 322.
- [33] Devaraj, S., et al., 2003, *Circulation*, **107**(3): 398 - 404.
- [34] Mold, C., et al., 2002, *J Immunol*, **169**(12): 7019 - 7025.
- [35] Bodman-Smith, K. B., et al., 2002, *Immunology*, **107**(2): 252 - 260.

干细胞因子对人黑素细胞的作用和影响

沈丹蓓* 曾学思

(中国医学科学院 中国协和医科大学皮肤病研究所 南京 210042)

摘 要 干细胞因子对人胚胎期黑素细胞的移行、发生和发展具有重要的本质性的作用。近 10 年来人们开始注意到干细胞因子在人出生后对黑素细胞功能的基本作用, 相关研究逐渐增多。就

* 通讯作者。E-mail: shendanbei@sina.com

其与黑素细胞相关的生物学特性、功能以及与相关的皮肤色素异常这3方面的研究进展进行归纳和介绍。

干细胞因子(SCF)也被称之为肥大细胞生长因子, Kit配体和 steel 因子。它具有广泛的生物学活性, 对胚胎期和人整个生命中的造血干细胞、生殖细胞和黑素细胞的发生发展、生存、增殖和分化均具有重要的作用, SCF还可促进肥大细胞的增生、分化和功能性激活。皮肤中的 SCF 主要来源于成纤维细胞、角质形成细胞和血管内皮细胞。朗格汉斯细胞和肥大细胞也可产生少量的 SCF^[1]。最初, 人们仅注意到 SCF 在胚胎期黑素细胞向组织的定向迁移和发展过程中的重要作用, 自 1993 年 longley 等发现人角质形成细胞可产生 SCF, 以及在色素性荨麻疹病人的表皮中存在可溶性 SCF 以后, 人们开始注意到 SCF 在人出生后对黑素细胞功能的基本作用。近 10 年来, 有关 SCF 在黑素细胞的细胞生物学和分子生物学方面以及与黑素细胞相关疾病中的作用的研究报道逐渐增多, 现综述如下。

一、SCF 的生物学特征

SCF 通过与黑素细胞表面的受体(Kit 或 c-kit)结合, 并相互作用以控制黑素细胞生长。Kit 是一个 145kDa 的 3 型跨膜酪氨酸激酶受体, 编码于人第 4 号染色体 c-kit 基因。Kit 与 SCF 结合后, 经过二聚化、酪氨酸残基自身磷酸化作用激活信号下游通路(包括 PI3K, PLC γ , MAP2K, Raf1, 和 JAK2)来调节细胞的增殖和分化^[2]。内皮素-1 可与 SCF 形成协同作用, 加强 Kit 酪氨酸残基的磷酸化^[3]。近来 Zhang 等通过研究人重组体 SCF 发现, SCF 是一个非共价结合的二聚体, 由两条细长的楔形原始体组成, 每一原始体呈现出反向平行的 4 螺旋束折叠状。其中的 2.3-A 晶体结构为 SCF 的功能核心, 这一功能核心可能是使 Kit 二聚化和活化的部位^[4]。小眼基因(Mi)对黑素细胞的发展和出生后黑素细胞的功能是必要的, 它所编码的小眼相关基因转录因子(Mitf)能够启动酪氨酸酶基因, 是黑素细胞发展和黑素合成的关键转录因子。SCF/c-kit 信号可通过有丝分裂原蛋白激酶(MAPK)通路上调 Mitf 磷酸化作用来启动酪氨酸酶基因, 最近有学者发现, SCF/c-kit 信号通路可对 Mi 信号通路激发两种效果的磷酸化作用, 一种为上调转活化 Mi; 另一

条为核小体表面蛋白依赖的蛋白质水解作用, 即降解 Mi^[5]。

人 SCF 编码基因位于第 12 号染色体, 具有割裂易变性; 产生两种 mRNA 产物, 分别编码 248 个氨基酸和 220 个氨基酸的膜结合蛋白。SCF 有两个亚型即可溶性蛋白(SCF-1)和膜结合蛋白(SCF-2), 一些学者认为 SCF-1 是由 248 个氨基酸的膜结合蛋白裂解而来, 含有与 248 个氨基酸的膜结合蛋白的前 164 个氨基酸相同的序列。这两种亚型均可激活 Kit, 但对细胞可能有不同的作用^[6]。在以往的研究中发现, 人皮肤中大多数可检测到的 SCF 是与角质形成细胞的细胞膜相结合的, 而人皮肤肥大细胞增生时可见局部 SCF-1 聚集。为搞清这两种 SCF 在皮肤黑素细胞动态平衡中和在皮肤肥大细胞增生中的作用, Kunisada 1998 年用转基因的方法将两种人 SCF 的 cDNAs 转入鼠皮肤。结果为, 当转基因鼠的表皮角质形成细胞同时表达膜结合和可溶性 SCF 时, 可复制出人皮肤肥大细胞增生的现象, 同时伴有真皮肥大细胞浸润和表皮色素沉着过度; 并可导致在皮肤附属器内出现和维持只有在人皮肤中才能见到的一定数量的黑素细胞, 当转基因鼠的表皮角质形成细胞只表达膜结合 SCF 时, 可使鼠表皮黑素细胞增多并产生黑素。因此 Kunisada 推断, 角质形成细胞过度产生可溶性 SCF 可能是引起皮肤肥大细胞增生的一种潜在性的因素; 膜结合 SCF 在角质形成细胞的表达可使鼠出生后表皮中的黑素细胞得以维持。这一研究显示, 膜结合 SCF 对表皮中黑素细胞正常功能的发挥是必需的^[7]。过去用免疫组化的方法一般检测不到皮肤基底层黑素细胞中存在 SCF; 因此认为黑素细胞不产生 SCF。Welker 等最近分别用 RT-PCR、免疫细胞化学和 ELISA 的方法测定了 SCF-1 mRNA 和 SCF-2 mRNA 在 11 株黑素瘤细胞系和正常皮肤黑素细胞的表达, 发现所有黑素瘤细胞系均可表达 SCF-1 mRNA; 其中 5 株同时表达 SCF-1 和 c-kit, 仅一株黑素瘤细胞系除了可表达 c-kit mRNA 外, 还可同时表达 SCF-1 和 SCF-2。正常人黑素细胞可同时表达 SCF-1、SCF-2 两个亚型的 mRNA 和 c-kit mRNA, 而恶性黑素瘤细胞几乎不能表达 SCF-2, 特别是在体内转移的恶性黑素瘤细胞^[8]。

二、与黑素细胞相关的生物学功能

1. 在黑素细胞移行中的作用

人黑素细胞来源于神经嵴,出生后在表皮的基底层中出现。近来有人发现基底层透明板中的层黏连蛋白-5 (laminin-5) 可能是黑素细胞的附着配体^[9]。目前对 SCF 在胚胎发生过程中对黑素细胞的迁移起了决定性的作用这一观点已基本达成了共识。因为,SCF 基因或 c-kit 基因的突变会导致小鼠皮毛色素缺失和人类色素沉着受损;而在体外可经 SCF 的培养基诱导胚胎干细胞分化为黑素细胞^[10]。Scott 等早在 1996 年就发现 SCF 降低新生儿和胎儿黑素细胞对 IV 型胶原的黏着,增加对层黏连蛋白的附着;SCF 下调新生儿黑素细胞 $\alpha 2$ 整联蛋白受体的表达,上调 $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$ 、 $\beta 1$ 整联蛋白受体的表达。用显微摄影技术观察发现,SCF 可显著提高新生儿黑素细胞在纤维结合素上移动的速度,Paxillin 是一种非受体酪氨酸激酶,SCF 可通过使 Paxillin 酪氨酸残基的磷酸化加速黑素细胞肌动蛋白应激性纤维形成。认为黑素细胞细胞骨架的改变是 SCF 对人黑素细胞的一种首作用(primary effect)^[11]。黑素母细胞是皮肤和毛发中黑素细胞的前体。在成年小鼠,除了没有毛囊的皮肤外,几乎所有的黑素母细胞均限于毛囊中。Jordan 在 Dct-lacZ 转基因鼠胚胎皮肤的器官培养模型中植入释放 SCF 的微孔小珠(beads),观察黑素母细胞向毛囊迁移的情况,结果发现:黑素母细胞并没有向 SCF 珠移动,相反却加速了向毛囊的迁移。认为,Kit 是黑素母细胞向毛囊迁移的化学动力因子,但必定还有其他趋化信号促使黑素母细胞向它们正确的位置迁移^[12]。

2. SCF/c-kit 通路在控制正常人黑素细胞的动态平衡上起决定性的作用

调节维持正常人皮肤中黑素细胞数量和活性的过程仍未完全明了。已知 SCF 在体内和体外均可使黑素细胞增殖,Grichnik 将人皮肤异种移植于 NIH-III 小鼠,在移植物局部注射重组人 SCF 或鼠抗人 Kit 的抗体,结果为,SCF 的注射可增加黑素细胞的数量、体积和树突形成;增加 Ki67 阳性黑素细胞的数量;显著增加黑素细胞分化抗原的表达。而抗人 Kit 抗体则有相反的作用。这提示 Kit 的活性直接影响黑素细胞的重要生理学功能。SCF-Kit 通道的阻断可抑制已分化黑素细胞的黑素形成。Kit 下调的黑素瘤细胞系通常是无黑色素的,并且 TRP-1

也失活^[2]。

毛发色素单位的循环再生需要 SCF/c-kit 信号,毛发的变白—这一与年龄相关的现象,其特点为毛囊黑素细胞的数量减少,活性降低,但至今病因不明。SCF/c-kit 基因的突变可导致灰发,给 C57BL/6 小鼠用抗 c-kit 抗体可产生剂量依赖性毛发色素减退(灰发至白发);黑素细胞的增殖和分化显著减少。但在毛发的下一个再生循环中,小鼠又可生长出黑色的毛发,黑素细胞的数量和分布也恢复正常。当毛囊上皮细胞显著表达 SCF 时,黑素细胞的数量和增殖活性均增加^[13]。

眼脉络膜黑素细胞也表达 c-kit 受体,Mouriaux 的研究显示眼脉络膜黑素细胞 c-kit 受体的激活可能与细胞的增殖有关^[14]。

黑素瘤细胞粘连分子(MCAM)是人类黑素瘤相关抗原,在正常成人皮肤和正常人黑素细胞及病灶附近皮肤中一般不表达。MCAM 在黑素瘤细胞表达上调通常伴随有肿瘤细胞增殖加速、转移和瘤体增生的现象。SCF 可通过调节蛋白激酶 C(PKC)的活性诱导细胞凋亡,从而抑制 c-kit 表达阳性的黑素瘤细胞增殖。最近,有学者提出 SCF/c-kit 信号可能负责控制 MCAM 的合成。细胞丢失 c-kit 受体后,MCAM 便得以表达,进而使黑素瘤发生恶变、增殖,最终转移^[15]。

3. 参与紫外线诱导的皮肤色素沉着

在中波紫外线(UVB)诱导的色素沉着过程中,有 3 个主要步骤:(1)黑素细胞增殖;(2)酪氨酸酶的合成和激活;(3)黑素小体向角质形成细胞输送。在紫外线的作用下,来源于角质形成细胞的内皮素-1(ET-1)和 α 黑素细胞刺激激素(α -MSH)是黑素细胞的有丝分裂原和黑素原;可使经紫外线或日光照射过的皮肤中的黑素细胞增殖和分化。SCF 也产生于角质形成细胞,并可使培养的人黑素细胞和异种移植的正常人皮肤中的黑素细胞增殖。那么,SCF/c-kit 信号是否参与了 UVB 诱导和激活人黑素细胞的作用呢。最近 Hachiya 等检测了培养的正常人角质形成细胞、黑素细胞,人表皮和 Brownish 豚鼠皮肤暴露于 UVB 前后 SCF 和 c-kit 的基因水平和蛋白水平量表达的情况,结果为:经 UVB 照射后,培养的角质形成细胞和黑素细胞的 SCF 和 c-kit 的基因水平和蛋白水平量均显著增加;经 UVB 照射的人表皮,其 SCF 的转录水平和蛋白表达水平均显著高于非照射部位。特别是膜结合的 SCF 有显著增加。在 UVB 照射剂量为 20 - 40 mJ/cm² 时,SCF

和 c-kit 的基因水平和蛋白水平量达到最高峰。给经 UVB 照射过的豚鼠皮肤皮下注射抗 c-kit 抗体,可阻止 UVB 对表皮色素沉着的诱导作用,抑制照射部位多巴阳性黑素细胞数量的增加。表皮中角质形成细胞膜结合 SCF 的增加,促使黑素细胞通过伸长树突来使细胞膜上的 Kit 与角质形成细胞膜上的 SCF 结合并激活 Kit。黑素细胞的这种树突延长可达到表皮的颗粒层。因此,角质形成细胞与黑素细胞之间的 SCF/c-kit 信号与 UVB 诱导的生理性色素沉着相关^[16]。

UV 可使人皮肤生成黑素,在暴露于阳光下的皮肤中,Dopa 反应阳性黑素细胞的数量较未暴露于阳光下的皮肤多。从以往的研究看,大多学者认为:尽管 UV 的照射可激活已分化黑素细胞的黑素合成,但对终末分化的黑素细胞起抑制增殖作用。那么,增加的 Dopa 反应阳性黑素细胞从何而来?1995 年 Wehrle-Haller 和 Weston 推测皮肤中的 Kit⁺无黑素的细胞是黑素细胞的前体细胞。1996 年 Grichnik 等提出,Kit⁺,BCL-2⁺,TRP-1⁻细胞组成了人皮肤中黑素细胞前体的储库。最近,Kawaguchi 等用抗 Kit, TRP-1, TRP-2, Mitf 和抗其它黑素细胞标志的抗体对 C57BL/6 小鼠皮肤进行了 UV-照射前后的免疫组化检测,动态观察了阳性标记细胞的数量变化,结果显示 UV 照射后 Dopa 阳性细胞显著增加。在正常皮肤中,Kit⁺细胞和 TRP-1⁺细胞较多见;一般没有 TRP-2⁺细胞,但有少量 Mitf⁺细胞;在 UV 照射的第 1 天至第 5 天 Mitf⁺细胞逐渐增多,TRP-2⁺细胞开始出现并逐渐增多,而 Kit⁺细胞和 TRP-1⁺细胞减少。期间,可检测到同时表达 Mitf 和 Kit 的细胞,这种同时表达 Mitf 和 Kit 的细胞在正常皮肤中是见不到的。随后,Mitf⁺细胞和 TRP-2⁺细胞逐渐减少,至第 14 天时几乎消失。而 TRP-1⁺细胞在照射后第 5 天不再减少转而增加,至照射后第 14 天其数量达到正常对照组的 4 倍。在 UV 照射后的第 1 天,鼠表皮层中 SCF mRNA 的表达开始增加,给 UV 照射后的小鼠皮下注射抗 c-Kit 的单克隆抗体,可使局部 Mitf⁺细胞、TRP-2⁺细胞和 Dopa⁺细胞显著减少。推测皮肤中的 Kit⁺无黑素合成细胞可能是黑素细胞的前体,这种黑素前体细胞暴露于 UV 下后,可发生增殖和分化,从而转变成为成熟的黑素细胞。认为表皮经 UV 照射后,角质形成细胞产生 SCF,随后,Kit 受体被激活,Kit 通过上调 Mitf 因子的磷酸化作用,转激活酪氨酸酶基因,使皮肤中的黑素前体细胞首先分

化成 Mitf⁺细胞和 TRP-2⁺细胞,然后这些细胞再转变成成熟的 TRP-1⁺细胞。Kit 与它的配体即 SCF 一起,共同对这些黑素细胞的发生发展起了重要的作用^[17]。

UVB 诱导的炎症反应通常激发迟发性色素沉着。组胺是皮肤中广泛存在的炎症介质,由皮肤中的肥大细胞和角质形成细胞产生和释放。近来的研究表明组胺可通过人黑素细胞 H₂ 受体参与 UVB 诱导的皮肤色素沉着^[18,19],因此,SCF 还可能通过诱导皮肤中的肥大细胞产生并释放组胺来参与紫外线激发的炎症后皮肤色素沉着。

三、SCF 与皮肤色素病理性改变

由于 SCF 可使肥大细胞激活并释放介质,因此,在与 SCF 相关的皮肤色素沉着过度或异常的疾病中,常伴有皮肤肥大细胞的增殖和浸润。色素性荨麻疹(UP)是一种皮肤中肥大细胞增殖异常的疾病,常见于幼儿或儿童。在患有 UP 的儿童,其整个表皮中的细胞内 SCF 的表达增加;UP 病情好转的患者,其整个真皮中细胞内 SCF 的表达增加;反之,当真皮中 SCF 部分表达或不表达时,UP 病情趋于恶化^[20]。皮肤色素沉着过度 and 瘙痒是系统性硬化病(SSC)的特征性表现,其真皮和表皮中 SCF 的表达与正常人相比,在疾病的水肿期显著增加;但从硬化期到萎缩期逐渐减少至接近正常水平。而血清 SCF(来源于真皮成纤维细胞和内皮细胞的可溶性 SCF)水平在水肿期和硬化期上升,萎缩期下降,但仍高于正常对照。SSC 水肿期的特征是真皮肥大细胞增加和皮肤瘙痒,这与所观察到的真皮 SCF 表达水平相平行。皮肤色素沉着是 SSC 硬化期和萎缩期的重要特征,与所观察到的血清 SCF 相符。这显示在 SSC 患者,其血清中 SCF 的水平与皮肤色素沉着过度相关,在疾病的进程中起重要的作用^[21,22]。蕈样肉芽肿(MF)是一种不明病因的慢性 T 细胞淋巴瘤。临床表现可有苔癬化、弥漫性色素沉着和瘙痒;其血清 SCF 水平随着病情的加重而逐渐增高,并与色素沉着和皮肤瘙痒的程度相平行。而在无色素沉着的患者,即使疾病进展,其血清 SCF 水平却不增高。这显示血清 SCF 的水平与 MF 的某些临床症状相关^[23]。

四、小 结

越来越多的资料表明,SCF-Kit 通路在调节人

出生以后黑素细胞的增殖和分化方面起基本的作用。但仍有许多问题有待探索和澄清。如:角质形成细胞如何调控 SCF 的水平;膜结合 SCF 和可溶性 SCF 对黑素细胞的增殖、移行和分化的作用分别是什么;黑素细胞在疾病状态下是否存在 SCF-Kit 通路的功能性自身调控;黑素细胞在何种状态下依赖于 SCF;是否有黑素细胞干细胞的存在;SCF 与其他细胞因子的关系等。相信,随着对 SCF 研究的深入和拓宽,人们将会对 SCF 在与黑素细胞相关领域的作用有进一步的认识。

参 考 文 献

- [1] Hamann K, Haas N, Grabbe J, et al., 1995, *British J Dermatology*, **133**:203-208.
- [2] Grichnik JM, Burch JA, Burchette J, et al. 1998, *J Invest Dermatol*, **111**:233-238.
- [3] Imokawa G, Kobayashi T, Miyagishi M., 2000, *J Biol Chem*, Oct **27**;275(43):33321-33328.
- [4] Zhang Z, Zhang R, Joachimiak A, et al., 2000, *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**(14):7732-7737.
- [5] Wu M, Hemesath TJ, Takemoto CM, et al., 2000, *Genes Dev*, **14**(3):301-312.
- [6] Longley BJ, Carter EL, 1999, *J Invest Dermatol*, **113**(1):139-140.
- [7] Kunisada T, Lu SZ, Yoshida H, et al., 1998, *J Exp Med*, **187**(10):1565-1573.
- [8] Welker P, Schadendorf D, Artuc M, et al., 2000, *Br J Cancer*, **82**(8):1453-1458.
- [9] Scott GA, Cassidy L, Tran H, et al., 1999, *Exp Dermatol*, **8**(3):212-221.
- [10] Yamane T, Hayashi S, Mizoguchi M, et al., 1999, *Dev Dyn*, **216**(4-5):450-458.
- [11] Scott G, Liang H, Luthra D. 1996, *Pigment Cell Res*, **9**(3):134-141.
- [12] Jordan SA, Jackson IJ. 2000, *Dev Biol*, **225**(2):424-436.
- [13] Botchkareva NV, Khlgatian M, Longley BJ, et al., 2001, *FASEB J*, **15**(3):645-658.
- [14] Mouriaux F, Chahud F, Maurage CA, et al., 2001, *Exp Eye Res*, **73**(2):151-157.
- [15] Karlen S and Braathen L R., 1999, *J Invest Dermatol*, **113**:711-719.
- [16] Hachiya A, Kobayashi A, Ohuchi A, et al., 2001, *J Invest Dermatol*, **116**(4):578-586.
- [17] Kawguchi Y, Naoyoshi M, Nakayama A, 2001, *J Invest Dermatol*, **116**(6):920-925.
- [18] Yoshida M, Hirotsu S, Nakahara M, et al., 2002, *J Invest Dermatol*, **118**:255-260.
- [19] Yoshida M, Takahashi Y and Inoue S, 2000, *J Invest Dermatol*, **114**:334-342.
- [20] Onuma H, Matsui C, Morokashi M. 1999, *Eur J Dermatol*, **9**(8):629-632.
- [21] Kihira C, Mizutani H, Asahi K, et al., 1998, *J Dermatol Sci*, **20**(1):72-78.
- [22] Yamamoto T, Sawada Y, Katayama I, Nishioka K. 2001, *Br J Dermatol*, **144**(1):199-200.
- [23] Yamamoto T, Katayama I, Nishioka K. 1999, *Br J Dermatol*, **140**(4):765-766.

后基因组时代的基因剔除——条件基因剔除技术

谈寅飞 王雁玲*

(中国科学院动物研究所 计划生育生殖生物学国家重点实验室 北京 100080)

摘 要 条件基因剔除利用了 Cre-loxP 为代表的重组酶系统,通过组织特异性增强子或四环素/类固醇激素受体调控系统控制 Cre 的表达,使 loxP 化的靶基因被剔除,因而避免了传统基因剔除方法引起的胚胎致死和复杂表型的缺陷,成为后基因组时代在体研究基因精确功能的首选技术。

小鼠基因打靶技术(gene targeting)是在体研究基因在发育过程和成体生命活动中功能的重要手段。一般是构建目的基因的打靶载体、转染胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES),通过同源重组使 ES 细胞中的目的基因因插入外源 DNA 序列或使自身的一段序列缺失而失活,由此而产生无活性目的基因产物的小鼠。10 多年来,标准基因打靶方法产生的基因剔除(knockouts)小鼠提供了许多基因功能的信息,但这种剔除方法影响了一个动物的每个细

胞,故通常不可能从一个复杂的表型中区分首要的和次要的变化,而且经常导致胚胎在发育早期死亡,阻碍了对一些在发育和疾病发生过程中重要基因的在体研究。所以,这种“全或无”的基因剔除技术已不足以满足后基因组时代对基因功能研究的要求。

本工作受中国科学院知识创新工程领域前沿项目资助(KSCX3-IOZ-07)。

* 通讯联系人。E-mail: wangyl@panda.ioz.ac.cn