维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

1. Reynold BA , Weiss S. Generarion of neurons and astricytes from isolated cells of the adult mammalian nervous system. Science, 1992, 255:1707 - 1710.
2. Pincus DW, Keyoung H, Restelli C, et al. FGF2/BDNF - responsive neuronal progenitor cells in the adult human subependyma, Ann Neurol, 1998, 43:576 - 585.
3. Laywell ED, Rakic P, Kukekov VG, et al. Identification of a multipotent astrocytic stem cell in the immature and adult mouse brain. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(25): 13883 - 13888.
4. Weiss S, Dunne C, Hewson J, et al. Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. J Neurosci, 16:7599 - 7609.
5. Johansson CB, Momma S, Clarke DL, et al. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. Cell, 1999, 96:25 - 34.
6. Eriksson PS, Perfilieva E, Bjirk Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. Nat Med, 1998, 4:1313 - 1317.
7. Takahashi J, Palmer TD, Gage FH. Retinoic acid and neurotrophons cillabirate to regulate neurigenesis in adult-derived neural stem cell cultures. J Neurobiol, 1999, 38:65 - 81.
8. Bicario Abejon C, Collin C, Tsoulfas P, et al. Hippocampal stem cells differentiate into excitatory and inhibitory neurons. Eur J Neurosci, 2000, 12:677 - 688.
9. Schinstine M, Iacovitti L. 5-Azacytidine and BDNF enhance the maturation of neurons derived from EGF - generated neural stem cells. Exp Neurol. 1997, 144(2): 315 - 325.
10. Galli R, Pagano SF, Gritti A, et al. Regulation of neuronal differentiation in human CNS stem cell progeny by leukemia inhibitory factor. Dev Neurosci. 2000, 22(1 - 2): 86 - 95.
11. Pagano SF, Impagnatiello F, Girelli M, et al. Isolation and characterization of neural stem cells from the adult human olfactory bulb. Stem Cells. 2000, 18(4): 295 - 300.
12. Nishino H, Hida H, Takei NK, et al. Mesencephalic neural stem (progenitor) cells develop to dopaminergic neurons more strongly in dopamine - depleted striatum than in intact striatum. Exp Neurol, 2000 , 164(1): 209 - 214.
13. Toda H, Takahashi J, Iwakami N, Grafting neural stem cells improved the impaired spatial recognition in ischemic rats. Neurosci Lett, 2001, 316(1):912 - 918.
14. Yandava BD, Billinghurst LL, Snyder EY. "Global" cell replacement is feasible via neural stem cell transplantation: evidence from the dysmyelinated shiverer mouse brain. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(12): 7029 - 7034.
15. Cao QL, Zhang YP, Howard RM, et al. Pluripotent stem cells engrafted into the normal or lesioned adult rat spinal cord are restricted to a glial lineage. Exp Neurol, 2001, 167(1): 48 - 58.
16. Craig CG, Tropep V, Morshead CM, et al. In vivo growth factor expansion of endogenous subeoendymal neural precursor cell populaeions in the asult mouse brain. J Neurosci, 1996, 16:2649 - 2658.
17. Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, et al. Epidermal growth factor and fibroblast gowth factor - 2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain. J Neurosci, 1997, 17:5820 - 5829.
18. Zhang SC, Lundberg C, Lipsitz D, et al.. Generation of oligodendroglial progenitors from neural stem cells. J Neurocytol, 1998, 27 (7): 475 - 489.
19. Morrison SJ, Perez SE, Qiao Z, et al. Transient Notch activation initiates an irreversible switch from neurogenesis to gliogenesis by neural crest stem cells. Cell, 2000, 101(5): 499 - 510.
20. Sun Y, Nadal Vicens M, Misono S, et al. Neurogenin promotes neurogenesis and inhibits glial differentiation by independent mechanisms. Cell, 2001, 104(3): 365 - 376.
21. Sakurada K, Ohshima Sakurada M, Palmer TD, et al. Nurrl, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural progenitor cells derived from the adult brain. Development, 1999, 126:4017 - 4026.
22. Miyasaka N, Matsuoka I. Identification of basic fibroblast growth factor - responsive genes by mRNA - differential display in an immortalized neural stem cell line. Biol Pharm Bull, 2000, 23(3): 349 - 351.

(收稿日期:2002 - 09 - 25)

骨髓基质细胞与凋亡

罗 丽*

骨髓基质细胞、细胞间基质(ECM)、血管神经等构成了骨髓造血微环境。骨髓基质细胞由成纤维细胞、内皮细胞、脂肪细胞、巨噬细胞等多种成分组成,是造血干细胞生长、分化、和自我更新的重要场所[1]。骨髓基质细胞在造血调控方面发挥重要作用,它可以合成多种造血正负调控因子,这些因子一般是分布在细胞外基质和结合在基质细胞的膜蛋白上(锚定因子),与造血干细胞或白血病细胞局部共存,发挥高效的调控作用。凋亡(apoptosis)是机体某些功能性细胞的一种自我调节方

* 作者单位:400038 重庆市第三军医大学校务部门诊部

维普资讯 http://www.cqvip.com

式，近年发现骨髓基质细胞也表达一些与凋亡有关的受体。骨髓基质细胞可通过这些受体调节自身，并从多方面影响白血病细胞的生物学特征，参与白血病的发生、发展及化疗后复发感染等过程。

一、骨髓基质细胞的凋亡

1.骨髓基质细胞的活化后凋亡

骨髓基质细胞可表达多种"死亡受体"，在一定条件可以发生凋亡现象.活化后凋亡(activation - induced apoptosis)被认为是免疫应答负向调控(down - regulation)的一种重要方式[2]。骨髓基质细胞作为免疫应答中的抗原提呈细胞，在体外培养经肿瘤抗原诱导后可出现多种免疫分子表达明显下调，而FasL明显升高，透射电镜显示其具有明显的凋亡特征。人的Fas包括325个氨基酸，结构分析证实Fas属于TNF和NGF受体家庭[3]。Fas和TNF - R1的胞浆区氨基酸顺序具有相似性，其中有约70个氨基酸为传递细胞凋亡信息所必需，故称"死亡片段"。若此功能区缺失突变，Fas介导的细胞凋亡也随之消失。而疏水跨膜(TM)区则是另一个重要的功能区段，为17个氨基酸构成[4]。

研究发现经GM - CSF诱导72 h形成的骨髓基质细胞高表达多种免疫相关分子，其中MHC - II、B7 - 2、VCAM - 1的表达更为显著。MHC - II、B7 - 2、VCAM - 1是抗原提呈细胞发挥抗原提呈功能的重要分子，而MHC - II类分子的高表达是成熟的抗原提呈细胞的标志。骨髓基质细胞经FBL - 3肿瘤抗原刺激后TNF - α和IL - 1β的分泌水平显著升高，TL - 1β和TNF - α在刺激后分别在48和24 h达高峰。这是抗原提呈细胞活化的特征之一。研究证实骨髓基质细胞能将FBL - 3肿瘤抗原特异的提呈给T淋巴细胞。抗原刺激后骨髓基质细胞出现脱落，经透射电镜可发现其有明显的凋亡现象。T细胞活化后其自身会表达Fas和FasL，通过同种细胞之间的相互作用出现活化后凋亡[5,6]，同样，抗原提呈细胞也可能存在类似的调节模式。经GM - CSF诱导的骨髓基质细胞Fas分子呈高表达，经肿瘤抗原刺激后FasL的表达明显增高，表明抗原刺激后骨髓基质细胞的凋亡可能是通过自身Fas/FasL途径诱导发生的，研究发现从TNF - α分泌的时相来看，抗原刺激后12 h TNF的分泌量逐渐增加，这与骨髓基质细胞的形态学变化出现的时间较吻合，所以经抗原刺激引起的凋亡也可能是由骨髓基质细胞自分泌的TNF - α作用于其身TNF受体引起的。

2. P^{53}与骨髓基质细胞

P^{53}基因的编码产物属于一种转录因子，与肿瘤的发生、发展相关。P^{53}可分为野生型和突变型两种形式。野生型P^{53}可诱导细胞发生凋亡的机制主要在于使DNA受损的细胞停滞于G1期。为了研究P^{53}对造血微环境中骨髓基质细胞的影响，建立小鼠的长期骨髓培养，其中的P^{53}基因已被同源重组的P^{53}(P^{53}(-/-))或其野生型(P^{53}(+/+))代替[7]。P^{53}(-/-)小鼠的长期骨髓培养要产生非粘连细胞需22周，而P^{53}(+/+)培养物在15周后则停止产生非粘连细胞。在经放射性照射后，并没有检测到P^{53}(+/+)基质细胞系的凋亡频率比P^{53}(-/-)基质细胞的高。ICAM基本上表达在P^{53}(+/+)，而不是P^{53}(-/-)细胞上，但是在TNF - a(24 h)作用下，将诱导ICAM - 1在P^{53}(-/-)细胞上出现表达同时增加在P^{53}(+/+)细胞上的表达量。这些都表明P^{53}在与骨髓基质细胞的相互作用中有着复杂的机理。但P^{53}基质是否直接参与骨髓基质细胞的凋亡，还未有定论，有待进一步的研究。

二、骨髓基质细胞对白血病的调节

骨髓基质细胞可以通过分泌多种造血因子和造血细胞直接接触来调节白血病细胞的增殖、分化和凋亡的。急性淋巴细胞白血病通过传统化疗后约有20%的不能治愈。这可能是因为能促使复发感染的残留白血病细胞隐藏在骨髓基质细胞连接处，避免了放射损伤，减少自身的凋亡，这提示骨髓基质细胞在微小残留白血病细胞病的发生、发展中有着重要的作用。体外培养的骨髓基质细胞对阿糖胞嘧啶(ARa - C)和依托泊甙(VP - 16)调变的影响研究表明[8]，含有ARa - C或VP - 16的骨髓基质细胞联合培养能促进白血病细胞的增生，同时减少白血病细胞的凋亡。在化疗中白血病细胞要避免被杀伤，就必须直接接触到骨髓基质细胞上，这时可溶性因子对其的效应则就微不足道了.当白血病细胞被放置在骨髓基质细胞层上后，在电镜下可见白血病细胞很快就粘附在基质细胞上，形成紧密连接，并可以在基质细胞中形成细胞索。细胞接触处还可见桥粒样结构[9]。基质细胞的表面也可以发生明显的变化，细胞膜可以内陷形成微小的凹窝[10]。在Ara - C和VP - 16作用下，白血病细胞的生存就更需要骨髓基质细胞与粘附分子VCAM - 1(血管细跑粘附分子 - 1)[11]相互作用产生的信号传导。相反，白血病细胞和纤维结合素的相互作用却不能提供对任何化疗试剂的抵抗作用。这些都证明了骨髓微环境在调节白血病细胞对Ara - C或VP - 16的应答中的重要作用，同时也显示特殊分子间的相互作用可能是白血病细胞治疗灵敏度的重要决定因素。Lagneaux等证实，B - CLL白血病细胞和骨髓基质细胞接触后所致的凋亡减少部分是通过β1和β2整合素、VLA - 4、VLA - 5及其配体VCAM - 1和ICAM - 1介导的[12,13]。B - CLL白血病细胞在骨髓基质细胞的作用下，不仅能阻止抗凋亡的基因bcl - 2的表达丢失，还能促使其表达增高。研究还证实bcl - 2表达和B - CLL白血病细胞的凋亡有相关性。骨髓基质细胞能产生IL - 6，IL - 6是参与多发性骨髓瘤发病机制的重要因素，可以使骨髓瘤细胞凋亡减少[14]。骨髓基质细胞也可以使氢化可的松诱导的CLL白血病细胞凋亡减少[15]。

小结：骨髓基质细胞作为抗原提呈细胞存在活化后凋亡的现象，但抗原提呈细胞的活化后凋亡是否是机体免疫应答中一种普遍的负相调控模式，值得进一步探讨。而对骨髓基质细胞和白血病细胞相互作用的进一步研究，不仅可以使我们更深入的知道白血病的发病机理，而且可以使我们对白血病发展过程中出现的骨髓造血抑制、白血病细胞的耐药、微小残留白血病细胞引起的复发感染等病理现象的机制产生新的认识。这可为有关骨髓造血疾病的治疗提示新思路新方法。

参 考 文 献

1. Deryugina EI, Muller Sieburg CE. Stromal cells in long - term cultures: keys to the elucidation of hematopoietic development? Critical Review in Immunology, 1993, 13: 115 - 150.

维普资讯 http://www.cqvip.com

2. Lynch DH, Ramsdell F, Alderson MR, Fas and FasL in the homeostatic regulation of immune responses. Immunol Today, 1995, 16(12): 569 - 574.
3. Abbas AK, Die and let live: eliminating dangerous lymphocytes. Cell, 1996, 84: 655 - 657.
4. 袁红, Fas/FasL 与细胞凋亡研究进展。国外医学,生理病理科学与临床分册, 2000, 20(1): 26 - 26.
5. Oyaizu N, Adachi Y, Hashimoto F, et al. Moncoytes express Fas ligand upon CD_4 cross - lingking and induce CD_4 + T cells apoptosis. J Immunol, 1997: 158(5): 2456 - 2463.
6. Suda T, Tanaka M, Miwa K, et al. Apoptosis of mouse naive T cells induced by recombinant solubie Fas ligand and activation - induced resistance to Fas ligand. J Immunol, 1996, 157(4): 3918 - 3924.
7. Epperly MVV, Bray JA, Carlos TM, et al. Biology of marrow stromal cell lines devired from long - term bone marrow cultures of Trp53 - dericient mice. Radiat Res, 1999, 152(1): 29 - 40.
8. Mudry RE, Fortney JE, York T, et al. stromal cells regulate survival of B - lineage leukemic cells during chemotherapy. Blood, 2000, 96(5): 1926 - 1932.
9. Van der Velde - Zimmerman D, Smits AJ, Verdaasdonk MA, et al. Betal - interrins dominate cell traffic of leukemic cells in human bone - marrow stroma. Int J Cancer. 1996, 66(2): 225 - 233.
10. Hewson J, Bianchi A, Bradstock K, et al. Ultrastructural changes during adhesion and migration of pre B lymphoid leukemia cells within bone marrow stroma. Br J Haematol, 1996, 92(1): 77 - 87.
11. Taylor ST, Hickman JA, Dive C, et al. Epigenetic dederminants of resistance to etoposide regulation of Bcl - X(L) and Bax by tumor microenvironmental factors. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(1): 18 - 23.
12. Lagneaux L, Ddlforge A, Bruyn DC, et al. Adhesion to bone marrow stroma inhibits apoptosis of chronic lymphocytic leukemia cells. Leuk Lymphoma, 1999, 35(5 - 6): 445 - 453.
13. Ghia P, Caligaris CF, The indispensable role of microenvironment in the natural history of low grade B cell neoplasms. Adv Cancer Res, 2000, 79(4): 157 - 173. 14. Grigorieva I, Thomas X, Epstein J, The bone marrow stromal environment is a major factor in myeloma cell resistance to dexamethasone. Exp Haematol, 1998, 26(7): 597 - 603.
15. Panayiotidis P, Jones D, Ganeshaguru K, et al. Human bone marrow stromal cells prevent apoptosis and support the survival of chronic lymphocytic leukemia cells in vitro. Br J Haematol, 1996, 92(1): 97 - 103.

(收稿日期: 2002 - 11 - 10)

Cdc13p 在染色体末端保护的端粒复制中的作用

陈 曦* 常 娟* 周建新**

端粒是染色体末端的 DNA - 蛋白结构复合体,是染色体末端稳定和细胞永生化的重要结构基础。端粒单链突出部在其中占有重要作用,不但是形成端粒末端特殊结构 T - 环的关键部分,而且提供端粒酶复制的底物。单链结合蛋白 Cdc13p 是形成端粒末端保护帽和征集端粒酶的重要分子,本文综述 Cdc13p 在端粒中的作用机制。

酵母的端粒包含约有 350bp 的 C(1 - 3)ATG(1 - 3),其中大部分通过常规半保留复制来合成,在常规复制后,C(1 - 3)A 链被降解,产生一条长的 TG(1 - 3)单链[1]。也有人认为先导链被充分合成时,后随链的合成却逐渐停止,3'突出部余出约 500bp 核苷酸[2]。

Cdc13p 是一种 TG(1 - 3)单链结合蛋白,在体内局限分布于端粒。遗传信息(genetic data)提示 Cdc13p 在端粒复制中有多重角色。Qi. 等用二重杂交法,证实 Cdc13p 与(聚合酶催化亚基)Poll1p,(端粒酶相关蛋白)Est1p 都有作用。因此研究 cdc13p 将有助于揭示端粒酶复杂调控机制的具体过程,指导肿瘤临床研究[1]。

一、Cdc13p 在端粒作用中的相对地位

通过对端粒结构研究发现,端粒富 G 序列能够形成一个的大的且很有规律性的鸟嘌呤四联体结构。该结构是由四条互相独立的 DNA 链构成的四聚体复合结构。目前研究结果提示端粒 DNA 的保护可能与其能够形成鸟嘌呤四联体有关。另外也发现多种端粒 DNA 结合蛋白能够促进鸟嘌呤四联体的形成。端粒酶的 RNA 模板区需要线性而且是非折叠的端粒 DNA 引物才能合成端粒并使端粒的末端延伸。因此,端粒鸟嘌呤四联体结构的存在就抑制了端粒酶活性[3]。T-环(T-loop)是通过端粒的 3'外伸部侵入端粒重复序列而形成的。并且在侵入处还形成 D-环(displacement loop),端粒重复序列结合因子 2(telomeric repeat factor 2, TRF2)就结合于此处。T - 环的基本作用机制是提供末端保护和复制端粒。相对于 TRF2 的双链保护机制[4],Cdc13p 主要保护 3'单链。

二、cdc13p 与端粒的结合特性

* 作者单位: 400038 重庆市第三军医大学学员旅五队
** 基础部生物化学教研室