



第八章 细胞凋亡与疾病 (Apoptosis and disease)

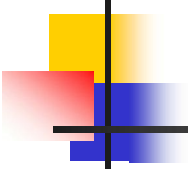
贵阳医学院病理生理学教研室

教学要求


掌握内容：细胞凋亡的概念、主要形态和生化特征
凋亡的发生机制
相关基因（**BCL-2**， **p53** ， **c- myc**）

理解内容：凋亡的过程
生理和病理意义
凋亡诱导因素和抑制因素
凋亡过度和不足在疾病发生中的作用

了解内容：凋亡与坏死的区别凋亡的细胞信号转导



第一节 概 述



一、定义

细胞凋亡（**apoptosis**）是由体内外因素触发细胞内预存的死亡程序而导致细胞死亡的过程。又称程序性细胞死亡。

细胞凋亡是不同于坏死的细胞死亡过程。




二、凋亡时细胞的主要变化

(一)、细胞凋亡的形态学改变

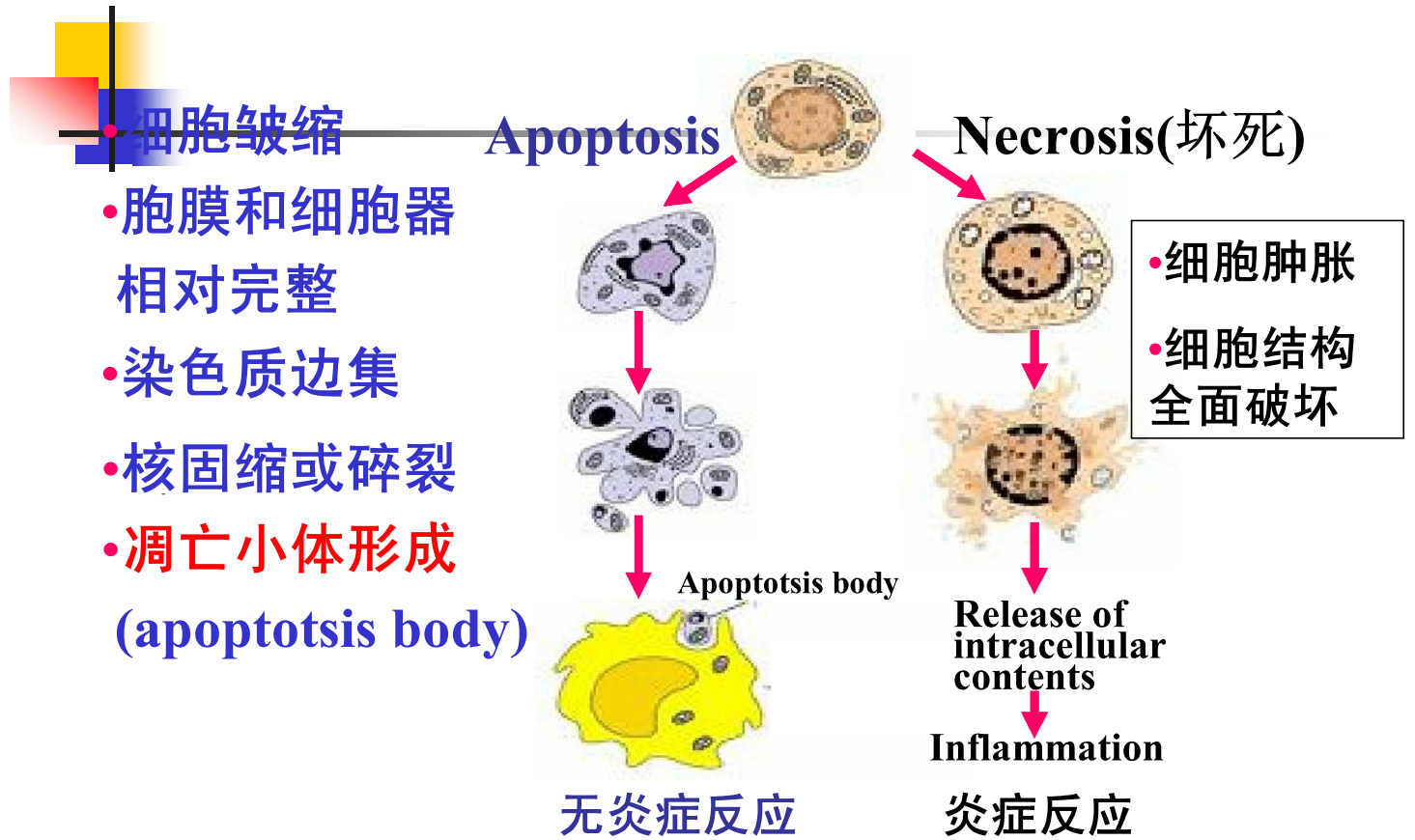
1、发生凋亡的细胞，逐步脱离与周围细胞的接触。胞浆脱水、胞膜空泡（blebbing）、细胞体积逐渐缩小。

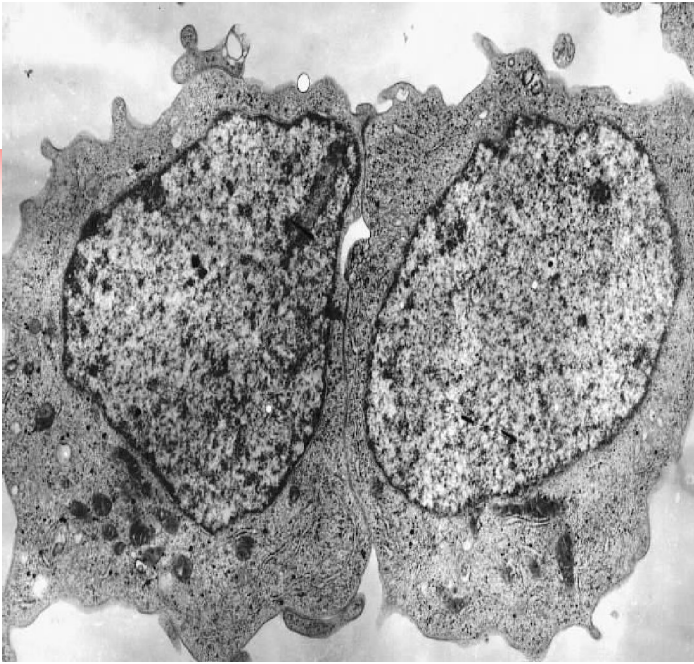
2、内质网不断扩张并与胞膜融合，形成膜表面的芽状突起，称为出芽（budding）。

3、线粒体和溶酶体的形态结构变化不大。

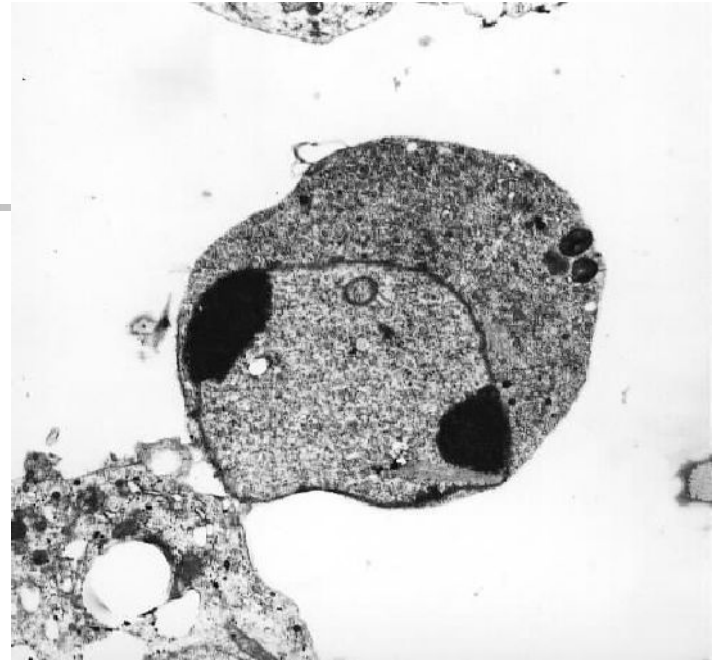
- 
- 4、**晚期核质高度浓缩融合成团，分布在核膜的边缘，呈新月或马蹄形，称**染色质边集**
 - 5、**胞膜皱缩内陷，分割、包裹胞浆和胞核成分，形成泡状小体称为**凋亡小体**。这是**凋亡细胞特征性的形态学改变**。
 - 6、**凋亡小体形成后迅即被邻近细胞吞噬。整个凋亡过程没有细胞内容物的外漏，不伴有局部的炎症反应。

细胞凋亡与坏死形态学改变的差别





Normal Cell



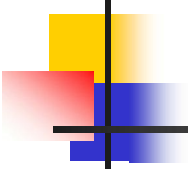
Apoptotic cell



(二)、细胞凋亡的生化改变：

DNA片段化断裂和蛋白质降解为细胞凋亡的主要生化改变，尤其是**DNA**片段化，是细胞凋亡的特征性生化改变和关键性结局。

细胞凋亡时**DNA**双链的断裂发生在核小体连接部，是内源性核酸内切酶所致。



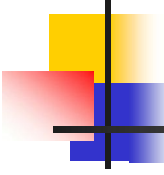
DNA链上每**200**个核苷酸为**1**个核小体，当核酸内切酶在核小体连接区切开**DNA**时，即可形成**180~200bp**或其整倍数的片段，在**PAGE**电泳中呈特征性“梯”状（**ladder pattern**）条带，为判断凋亡发生的重要指标。

细胞坏死与凋亡的区别

坏死

凋亡

性质	病理性、非特异性	生理性或病理性，特异性
诱导因素	强烈刺激，随机发生	较弱刺激，非随机发生
生化特点	被动过程，无新蛋白质合成，不耗能	主动过程，有新蛋白质合成，耗能
DNA电泳	弥散性降解，电泳呈均一DNA片状	DNA片段化（180—200 bp），电泳呈“梯”状条带
形态变化	细胞结构全面溶解、破坏、细胞肿胀	细胞膜及细胞器相对完整、细胞皱缩，核固缩
炎症反应	溶酶体破裂，局部有炎症反应	溶酶体相对完整，局部无炎症反应
凋亡小体	无	有
基因调控	无	有



三、细胞凋亡的生理和病理意义

(一) 凋亡的生理意义：

1、确保正常发育、生长

机体的发育、生长过程包含细胞的增殖、分化和细胞凋亡的作用。细胞凋亡可以清除多余的、失去功能价值的细胞组织，如指间组织。



2、维持内环境稳定

机体通过细胞凋亡的方式及时清除衰老、疾病、突变的细胞，维持内环境稳定。例如：

清除针对自身抗原的**T**淋巴细胞；

衰老的皮肤、粘膜上皮细胞，**RBC**等；

子宫内膜的周期性脱落；

受损不能修复的或发生癌前变的细胞。



3、发挥积极的防御功能

细胞凋亡参与了机体的防御反应，例如当机体受到病毒感染时，受感染的细胞发生凋亡，使**DNA**发生降解，整合于其中的病毒**DNA**也随之被破坏，因而阻止了病毒的复制。



(二) 细胞凋亡的病理意义

- 1、该“死”的细胞未死：**如肿瘤、自身免疫性疾病。
- 2、不该“死”的细胞死亡：**如老年性痴呆、心肌缺血/再灌注损伤。

凋亡的病理性激活或生理性抑制是当今威胁人类健康的许多疾病的发病机制之一。因此，调控凋亡过程是人类防治这些疾病的新途径。



第二节 细胞凋亡的过程与调控

一、细胞凋亡的过程

(一)、凋亡信号转导

凋亡诱导因素通过各种受体或非受体作用于细胞后，细胞产生相关的第二信使物质，如**Ca²⁺**，**cAMP**，神经酰胺等，传递信号到胞核。

(二)、凋亡基因激活

调控凋亡的基因接收由信号转导途径传来的死亡信号后按预定程序启动，合成执行凋亡的物质。



(三)、细胞凋亡的执行

凋亡主要的执行者是**凋亡蛋白酶(Caspases)**和**核酸内切酶 (endogenous nuclease, DNase)**。

1、核酸内切酶的作用：使DNA片断化。

2、凋亡蛋白酶的作用：

凋亡蛋白酶是一组对天冬氨酸部位有特异水解作用，其活性中心富含半胱氨酸的蛋白酶 (**cysteine-containing aspartate-specific protease, caspase**)。目前已发现该家族至少有**13**个成员。



凋亡蛋白酶的主要作用：

- (1) 灭活细胞凋亡的抑制物（如**Bcl-2**）；
- (2) 水解细胞的蛋白质结构，导致细胞结构的全面解体，形成凋亡小体；
- (3) **caspase**的级联反应，如：**caspase-9**可使**caspase-3**酶原水解形成**caspase-3**而激活，从而分解蛋白质。

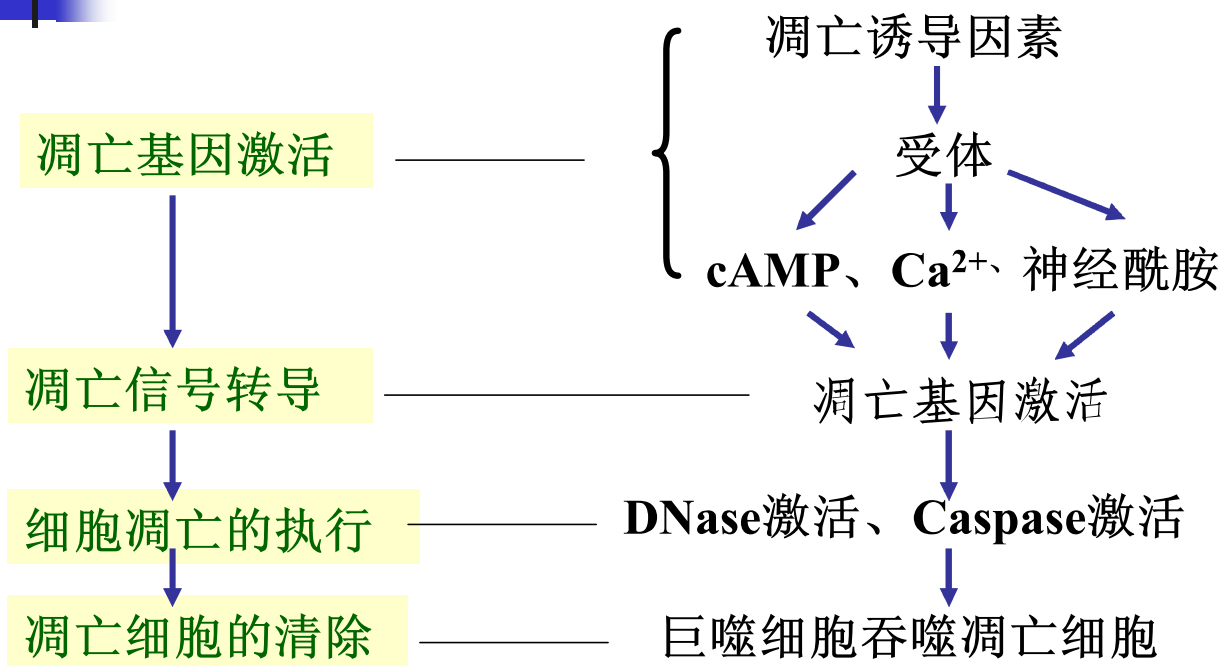


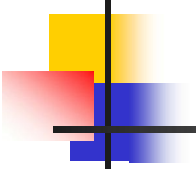
(四)、凋亡细胞的清除

已经凋亡的细胞可被邻近的吞噬细胞或其他细胞所吞噬，分解。局部无炎症反应。

上述全过程需时约数分钟至数小时。从凋亡信号转导到凋亡执行的各个阶段都有负调控因子存在，以形成完整的反馈环路，使凋亡过程受到精确、严密的调控。

凋亡发生过程





二、细胞凋亡的调控

(一) 细胞凋亡相关因素

1、诱导性因素 激活细胞预设的死亡程序而启动凋亡的细胞内外因素称为诱导因素。诱导性因素有：

(1)、**激素和生长因子失衡**：某些激素或生长因子过多可导致细胞凋亡。如：强烈应激引起大量糖皮质激素分泌，诱导淋巴细胞凋亡。



(2)、理化因素：

射线、高温、强酸、强碱、乙醇、抗癌药物等，均可诱导细胞凋亡。例如：电离辐射产生氧自由基，损伤**DNA**，细胞凋亡。

(3)、免疫性因素：

免疫细胞在生长、分化及防御功能中，参与免疫细胞或靶细胞的凋亡过程，如：细胞毒**T**淋巴细胞可分泌粒酶（**granzyme**），引起靶细胞凋亡。



(4)、微生物因素：

细菌、病毒等致病微生物及其毒素可诱导细胞凋亡。例如：**HIV**感染时，大量**CD₄⁺**淋巴细胞凋亡，使**AIDS**病人的免疫功能低下，易发生肿瘤和感染。



2、抑制性因素

(1)、一些细胞因子 (**IL-2**, **NGF**) 有抑制细胞凋亡的作用, 去除后, 其依赖的细胞会凋亡。

(2)、某些激素 (**ACTH**、睾丸酮、雌激素) 为维持其正常存活所必需。如果摘除垂体, **ACTH** 减少, 肾上腺皮质细胞凋亡。睾丸酮对前列腺细胞、雌激素对子宫平滑肌细胞都有类似的作用。



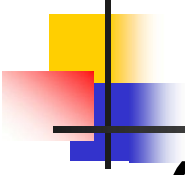
(3)、其他:

某些二价金属阳离子 (**Zn²⁺**) ;

药物 (苯巴比妥、半胱氨酸蛋白酶抑制剂) ;

病毒 (**EB**病毒、牛痘病毒) ;

中性氨基酸等具有抑制细胞凋亡的作用。

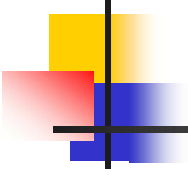


(二)、细胞凋亡的信号转导

细胞凋亡诱导因素作用于细胞后转化为细胞凋亡信号，通过胞内不同的信号转导途径，最终激活细胞死亡程序，导致细胞凋亡。

凋亡诱导因素→细胞表面受体→信号分子

目前认为细胞凋亡信号转导途径有：

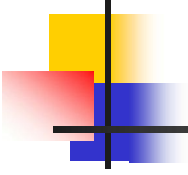
- 
-
- ①胞内**Ca²⁺**信号途径；
 - ② **cAMP/PKA**信号途径；
 - ③**Fas**蛋白/ **Fas**配体信号途径；
 - ④神经酰胺（**ceramide**）信号途径；
 - ⑤**DAG/PKC**信号途径；
 - ⑥**TPK**信号途径。



细胞凋亡信号转导的特点：

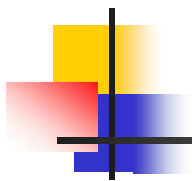
1、多样性：不同种类的细胞有不同的信号转导系统；如：**Fas**蛋白/ **Fas**配体、**Ca²⁺**、**ceramide**

2、偶联性：死亡的信号转导途径与细胞增殖、分化过程的信号转导途径在某些环节上有交叉、偶联；如：**cAMP/PKA**、**DAG/PKC**



3、同一性：不同的凋亡诱导因素可以通过同一信号转导途径触发细胞凋亡。例如：**TNF- α** 、电离辐射、**Fas**配体等均可通过神经酰胺信号途径触发细胞凋亡。

4、多途性：同一凋亡诱导因素可经过多条信号转导途径触发凋亡。例如：糖皮质激素引起淋巴细胞凋亡可通过胞内**Ca²⁺**、**cAMP/PKA**、**ceramide**信号途径转导凋亡信号。



(三)、凋亡相关基因

细胞中存在着促进和抑制凋亡的基因，称为**凋亡相关基因**。正常情况下这两类基因处于对立统一状态，以确保细胞生、死有序。

细胞凋亡相关基因多达数十种，根据功能的不同可将其分为**三类**：



抑制凋亡基因：**E1B**、**IAP**、**Bcl-2**等，目前对**Bcl-2**的研究最为详细。

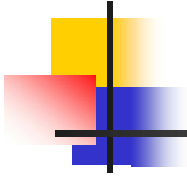
促进凋亡基因：**Fas**、**Bax**、**ICE**、野生型**P53**等。

双向调控基因：**c-myc**、**Bclx**等。



1、Bcl-2

Bcl-2是**B**细胞淋巴瘤/白血病-2（**B cell lymphoma/leukemia -2 , Bcl-2**）基因的缩写形式。**Bcl-2**蛋白主要分布在细胞膜内表面、线粒体内膜、内质网、核膜等处。广泛存在于造血细胞、上皮细胞、淋巴细胞、神经细胞及多种肿瘤细胞。



Bcl-2的高表达能阻止细胞凋亡。临床研究发现，当淋巴细胞性白血病病人外周淋巴细胞有**20%**以上呈**Bcl-2**阳性时，其预后不佳，因为**Bcl-2**的过高表达，可导致肿瘤细胞对射线、抗癌药物的耐受性增强，不易凋亡。



2、P53

野生型**P53**基因具有**诱导**细胞凋亡的功能，当该基因发生突变后则**抑制**细胞凋亡。

P53蛋白是**DNA**结合蛋白，在**G₁**期发挥检查点的功能，一旦发现有缺陷的**DNA**，它就刺激**CIP**（**CDK-interacting protein-1**）的表达，阻止细胞进入**S**期，并启动**DNA**修复机制；如果修复失败，**P53**则启动细胞凋亡机制。因此，**P53**有“**分子警察**”（**molecular policeman**）的美誉。



3、c-myc和Bcl-x

c-myc是一种癌基因，**c-myc**蛋白作为转录调节因子，可激活介导细胞增殖或细胞凋亡的基因。例如：在**c-myc**基因表达后，如无足够的生长因子，细胞就凋亡；如足够，细胞就增殖。

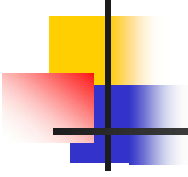
Bcl-x基因可翻译出**Bcl-XL**和**Bcl-Xs**两种蛋白，前者抑制细胞凋亡，后者促进细胞凋亡。**Bcl-X**激活后是否诱导细胞凋亡则与这两种蛋白合成以谁为主有关。



4、FAS

FAS是多种细胞的表面跨膜受体，**FAS**与配体结合后将死亡信号传入细胞内，诱导细胞凋亡。

FAS抗原可与**FAS**抗体结合而阻断生长因子与**FAS**抗原结合，诱导细胞凋亡。



第三节 细胞凋亡的发生机制

一、氧化损伤在细胞凋亡中的作用

氧自由基化学性质活泼，使生物大分子物质氧化损伤，引起氧化应激（**oxidative stress**），诱导细胞凋亡。例如：过氧化氢可直接诱导细胞凋亡；抑制**SOD**的活性也可诱导细胞凋亡；使用抗氧化剂可以阻断细胞凋亡。



氧化应激引起细胞凋亡的机制：

- (1)** 氧自由基损伤**DNA**，**激活P53基因**；活化多聚**ADP**核糖合成酶，使**NAD**快速耗竭，**ATP**大量消耗；
- (2)** 激活**Ca²⁺/Mg²⁺**依赖的核酸内切酶；
- (3)** 细胞膜脂质过氧化，膜通透性增高，促进**Ca²⁺**内流；损害线粒体膜，导致其通透性和膜电位变化；
- (4)** 活化**NF- κ B**和**AP-1**，促进凋亡相关基因表达；



二、钙稳态失衡在细胞凋亡中的作用

钙稳态失衡（**calcium dyshomeostasis**）是细胞凋亡的重要机制之一。例如：**TNF α** 引起细胞凋亡是钙依赖过程。

凋亡发生时胞浆**Ca $^{2+}$** 浓度显著 \uparrow 。



钙稳态失衡引起细胞凋亡的可能机制：


- (1) 激活 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 依赖的核酸内切酶、需钙蛋白酶、磷脂酶，降解DNA和使细胞膜空泡化；
- (2) 激活谷氨酰胺转移酶，催化肽链间的酰基转移，使细胞骨架蛋白分子间交联，形成凋亡小体；
- (3) 激活核转录因子，加速凋亡相关基因的转录；
- (4) Ca^{2+} 在ATP的配合下使DNA链舒展，暴露核小体之间的酶切位点，利于核酸内切酶切割。



三、线粒体损伤在细胞凋亡中的作用

在细胞凋亡期间线粒体仍能维持其超微结构基本正常，但其功能已发生显著改变，线粒体内膜通透性增大，线粒体内膜的跨膜电位（ $\Delta \psi_m$ ）下降，能量合成水平显著降低。

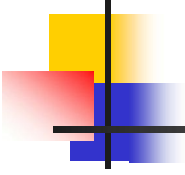
线粒体功能改变在细胞凋亡的发生中起关键作用，机制是：



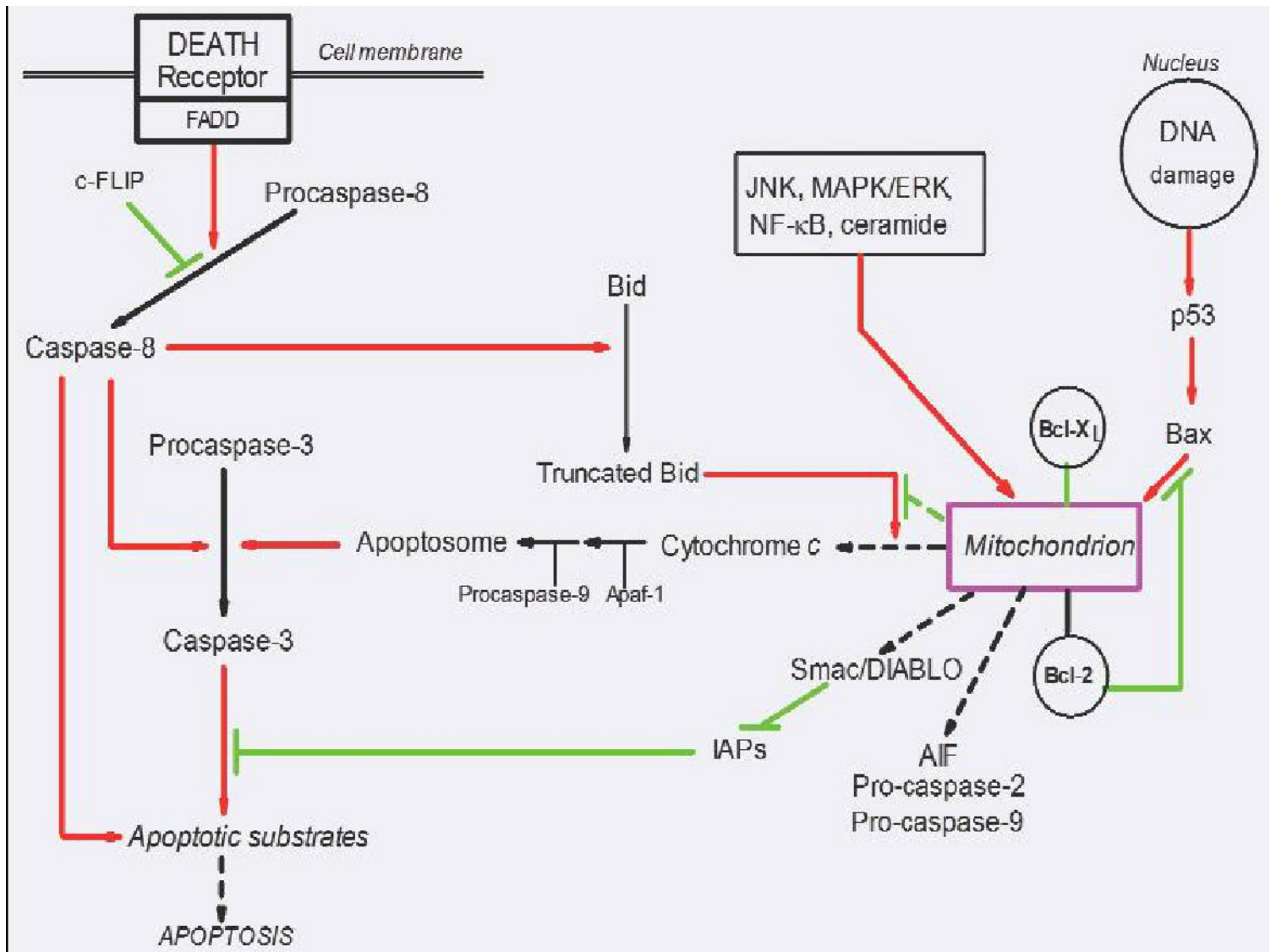
线粒体内、外膜之间的**通透性转换孔**（**PTP**, permeability transition pore）具有调节线粒体膜通透性的作用，正常时关闭。当凋亡诱导因素使线粒体 $\Delta \psi_m$ ↓ 时，**PTP** 开放，线粒体膜通透性 ↑，**释放**：细胞色素**C**、凋亡蛋白酶激活因子（**Apaf**）、凋亡诱导因子（**AIF**）。

细胞色素**C**与**Apaf**相互作用可激活**caspase-9**。

AIF加速核酸内切酶激活及增强**caspase-3**活性。



氧化损伤、钙稳态失衡、线粒体损伤三者既可单独启动，又可联合作用而引起细胞凋亡，是许多凋亡诱导因素的共同通路。事实上这三种机制常常是互相联系，互为因果。近来有学者把它们合而为一，提出了细胞凋亡的**恶性网络假说**，以求更全面的解释细胞凋亡发生的机制。





第四节 细胞凋亡与疾病

机体通过细胞凋亡维持细胞数量的平衡，细胞凋亡不足或过度是某些疾病发生的重要机制。

一、细胞凋亡不足

这类疾病无论细胞增殖的状态如何，其共同特点是细胞凋亡相对不足，细胞生死相抵之后仍然是生大于死，于是病变细胞异常增多或病变组织体积增大，器官功能异常。

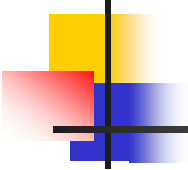


（一）、肿瘤

肿瘤发病机制包括细胞增殖过度和凋亡不足。
病变组织肿瘤细胞数净增长↑。

前列腺癌、结肠癌等肿瘤组织中，**Bcl-2**基因的表达显著高于周围正常组织，提示这些肿瘤与细胞凋亡减弱有关。

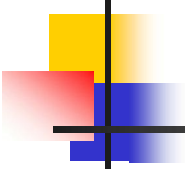
当野生型**P53**基因突变或缺失时，细胞凋亡减弱，肿瘤的发生率明显增加。非小细胞肺癌**P53**基因的突变率在**50%**以上，小细胞肺癌甚至高达**80%**。



（二）自身免疫病

自身免疫病的特征是自身抗原受到自身抗体或致敏T细胞的攻击，造成器官组织损伤。

T细胞的发育、分化在胸腺内进行，胸腺具有选择性保留或去除T细胞中不同克隆的功能，即正选择（**positive selection**）和负选择（**negative selection**）。通过正选择，保留不针对自身抗原的T细胞；通过负选择，使针对自身抗原的T细胞在胸腺发育过程中凋亡而清除。



胸腺功能异常时，负选择机制失调，**针对自身抗原的T细胞**就可存活下来，并增殖，进而攻击自身组织，产生自身免疫病，如多发性硬化症、胰岛素依赖型糖尿病、慢性甲状腺炎。

糖皮质激素是治疗自身免疫性疾病的有效药物之一，其主要机制就是诱导那些异常存活的自身免疫性**T细胞**凋亡。



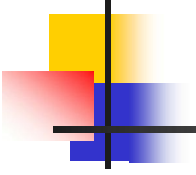
二、细胞凋亡过度

（一）心肌缺血与再灌注损伤：

心肌缺血或缺血-再灌注损伤可造成心肌细胞坏死和凋亡。

发生机制可能与下列因素有关：

- ①氧化应激；
- ②缺血或缺氧使心肌细胞膜**Fas**受体上调；
- ③缺氧可增加**p53**基因的转录。



（二）心力衰竭

心肌细胞凋亡造成心肌细胞数量减少可能是心力衰竭发生发展的机制之一。

在心力衰竭发生发展过程中出现的许多病理因素，如氧化应激、压力或容量负荷过重、神经-内分泌失调、**TNF α** 、缺血、缺氧等都可诱导心肌细胞凋亡。

抑制细胞凋亡可能是心衰防治的新途径。



（三）神经元退行性疾病

神经元退行性疾病是一类以特定神经元进行性丧失为病理特征的疾病，如阿尔茨海默病（**Alzheimer disease, AD**），帕金森病，多发性硬化症等。

AD患者的尸检发现，海马及基底神经核的胆碱能神经元丧失达到**30%~50%**，大脑皮质也有不同程度的神经元丧失，这种丧失可能是神经元发生了凋亡。



(四)、AIDS

由**HIV**感染引起，关键的发病机制是**CD₄⁺淋巴细胞选择性凋亡**，导致**CD₄⁺淋巴细胞数显著减少**，免疫功能缺陷。



三、细胞凋亡不足与过度并存

不同类型细胞对致病因素的反应有差异，因此在同一疾病或病理过程中有些细胞凋亡不足，而另一些细胞凋亡过度，出现不足与过度并存现象。

动脉粥样硬化（**AS**）时，血LDL↑、血小板激活、ANG II、高血压等引起内皮细胞凋亡，使血管内皮屏障作用↓，血脂沉积加速。平滑肌细胞增殖和凋亡均增强，但增殖>凋亡，血管壁增厚。



思考题

1.何谓细胞凋亡?

2.细胞凋亡的主要生化特征是什么?

3.试举例说明细胞凋亡与疾病的关系。