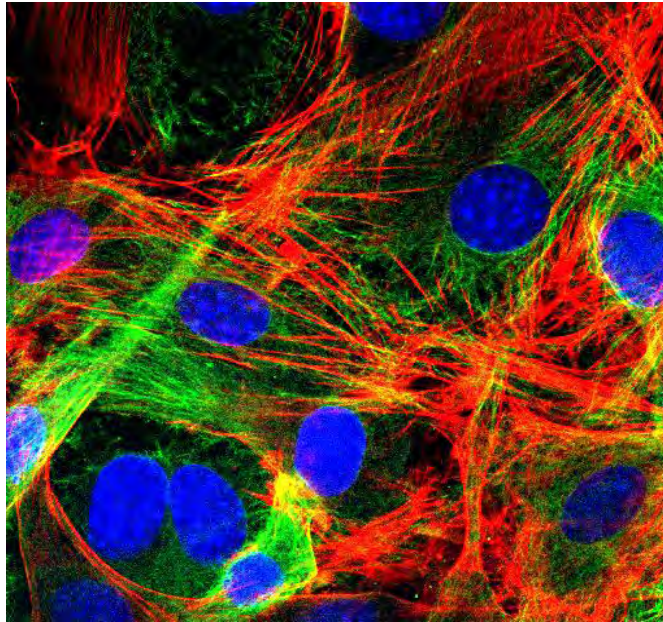


细胞增殖、分化、凋亡异常与疾病

Diseases associated with cell proliferation, differentiation, and apoptosis dysregulation



原发性细胞损伤导致疾病发生的机制

损伤部位	机制	例证
细胞膜	粘连蛋白缺失	肿瘤细胞易脱落、转移
细胞膜	胰岛素受体缺乏	II型糖尿病
内质网	对缺陷蛋白降解障碍	海绵样脑病、克雅氏病
内质网	Ca ²⁺ 泵障碍	肌肉收缩力下降
线粒体	线粒体异常	线粒体肌病

疾病的细胞机制

细胞增殖异常与疾病

细胞分化异常与疾病

细胞凋亡异常与疾病

细胞增殖异常与疾病

Diseases associated with cell proliferation

一、概念（Concept）：

【细胞增殖】 Cell proliferation

细胞分裂和再生的过程，细胞通过分裂进行增殖，把遗传信息传给子代，保持物种的延续和数量增多。

- 细胞增殖↓、分化不良（过度）
↓
组织器官发育不全
- 细胞增殖↑、分化不全 → 肿瘤发生



【细胞增殖过程】

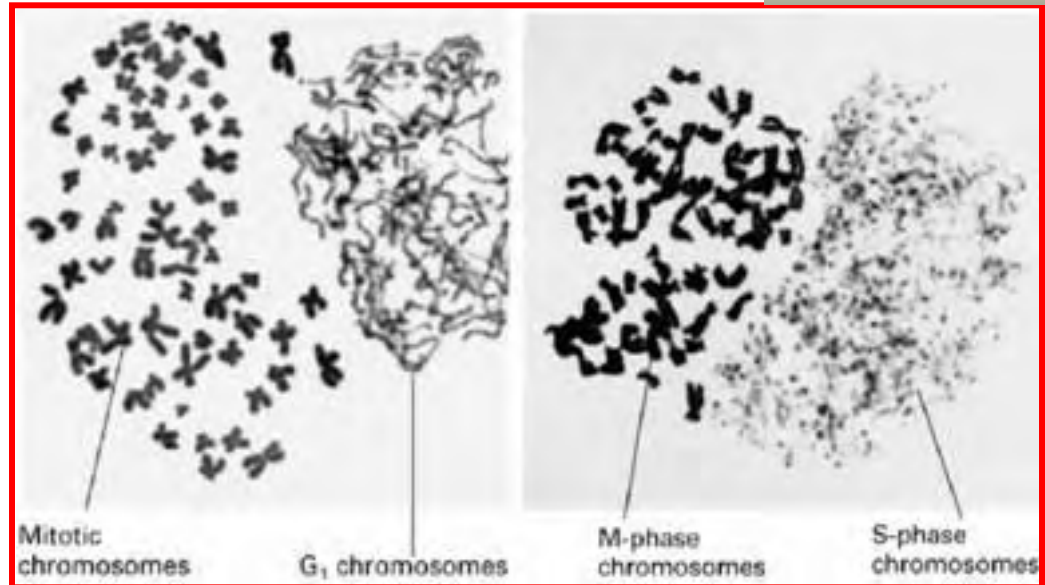
细胞生长



DNA复制



细胞分裂



【细胞周期】 (Cell cycle)

$G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2 \rightarrow M$

【细胞增殖特性】

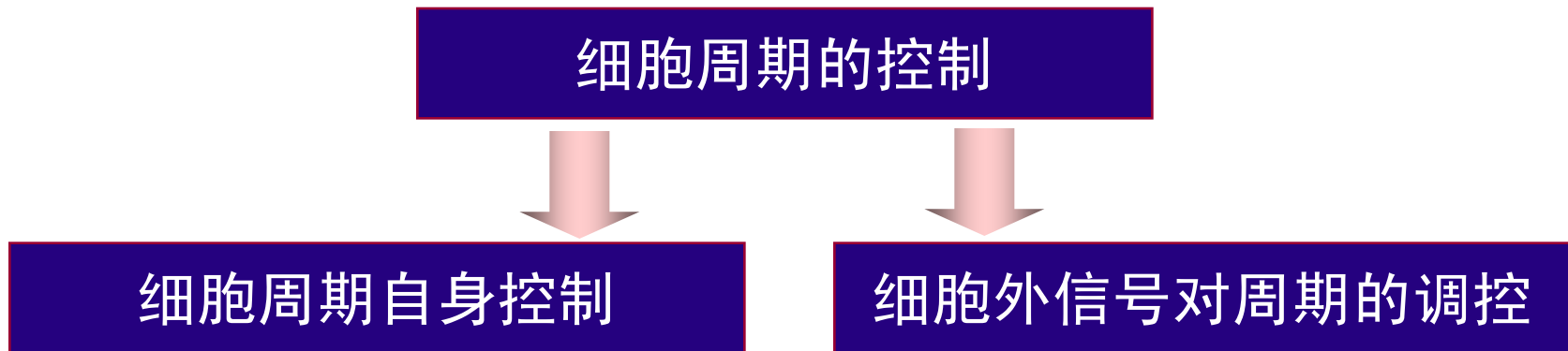
周期性细胞、G0期细胞、终端分化细胞





2001年10月8日美国人Leland Hartwell、英国人Paul Nurse、Timothy Hunt因对细胞周期调控机理的研究而荣获诺贝尔生理医学奖（图片来自<http://www.nobel.se/>）

二、细胞周期控制（Control of cell cycle）



1. 细胞周期自身控制（Cell cycle self-control）

Cyclin、CDK、CDI

Oncogene, Tumor suppressor gene

Checkpoint of cell cycle。

Cyclin

Cyclin B1、Cyclin A、Cyclin E、Cyclin D₁,D₂,D₃、F,G,H,T。

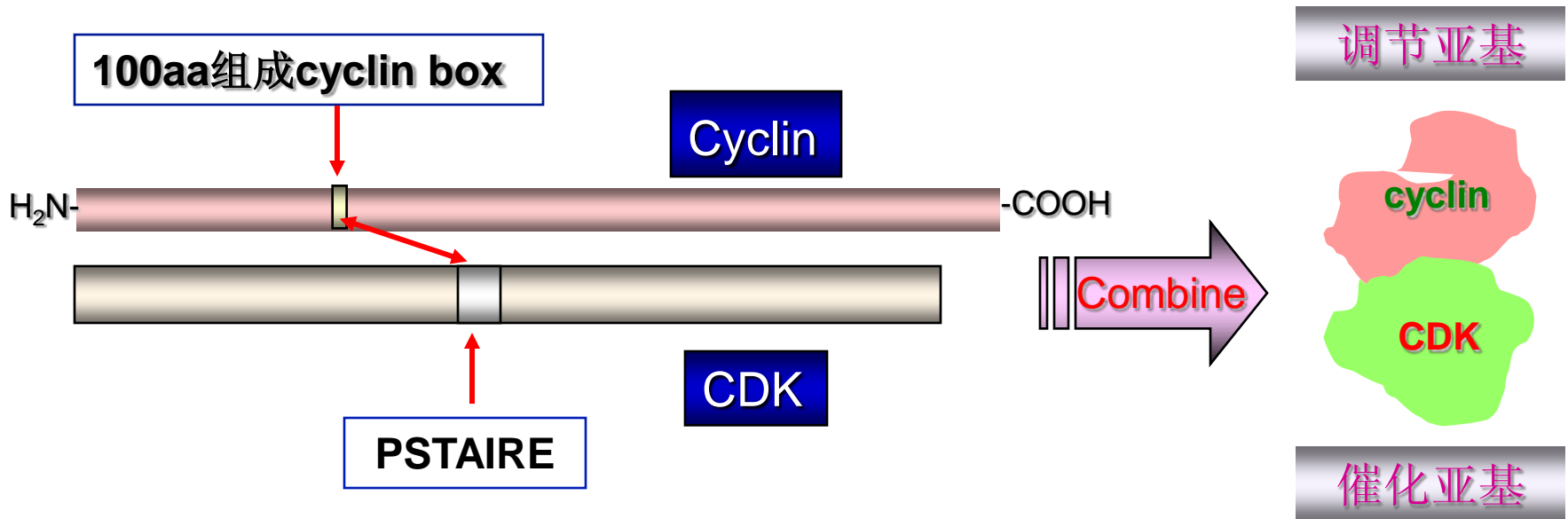
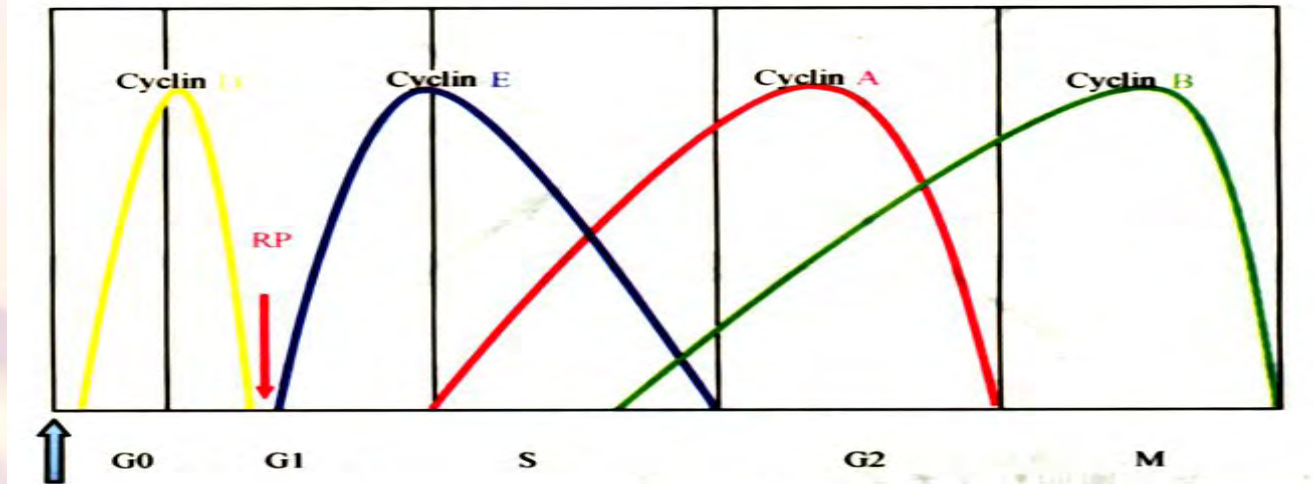


图 Cyclin box 结构与功能

不同Cyclin-CDK复合物对细胞周期时相的推进和转换作用



Cyclin
周期变化图

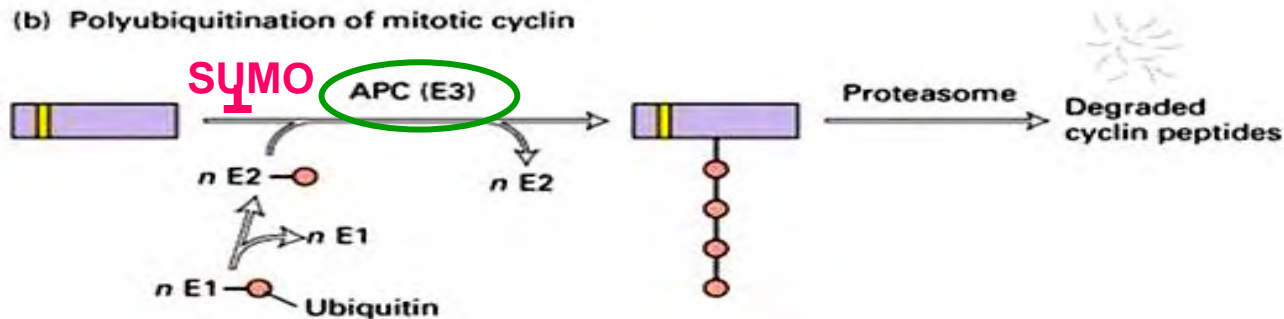
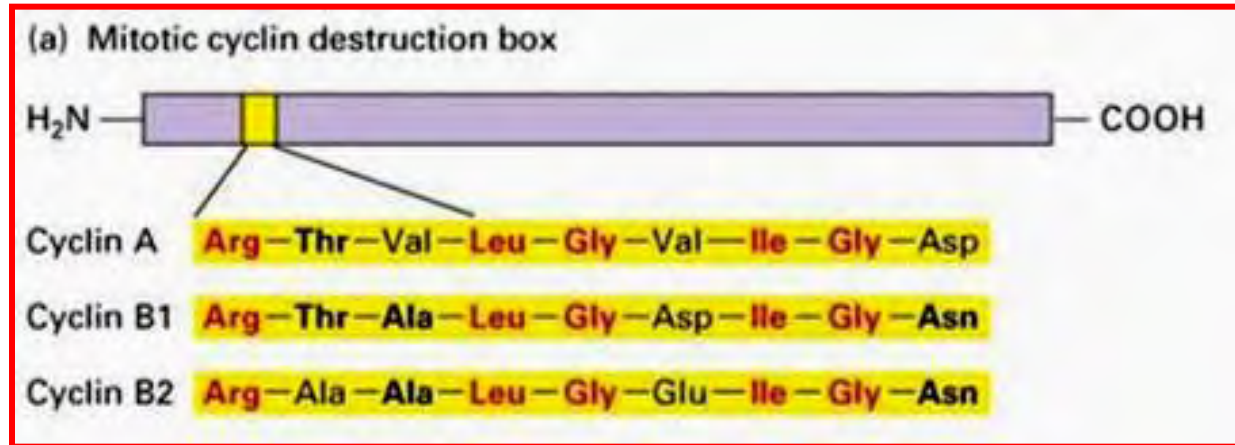
Cyclin-CDK复合物及其相关蛋白

Cyclins	相关CDKs	细胞周期作用	相关蛋白	底物	降解
A	CDK1, CDK2	S+G2, M	p107+E2F, p21, PCNA	Rb	ubiquitin
B(B1,B2)	CDK1(cdc2)	G2, M	p21,PCNA	Rb	ubiquitin
C	CDK8	G1	-	-	PEST
D(D1-3)	CDK4(2,5,6)	G1	Rb,p21,p27,p15,p16,PCNA	Rb	PEST
E	CDK2	G1+G1, S	p107+E2F ,p21,PCNA	Rb	PEST
F	-	S	-	-	-
G	-	G1	-	-	-
H	CDK7	G1,S,G2, M	-	CDK1,4,6	-

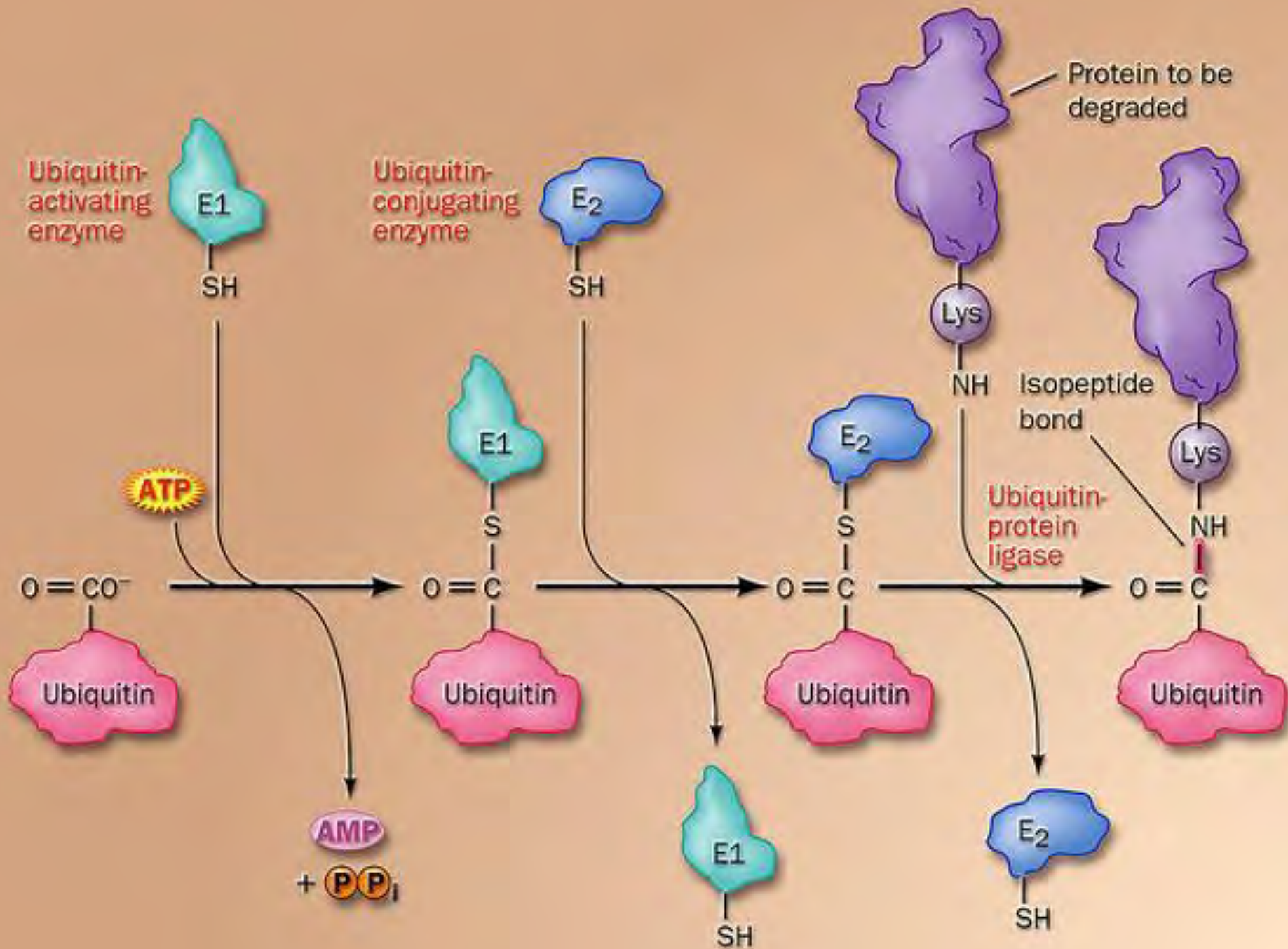


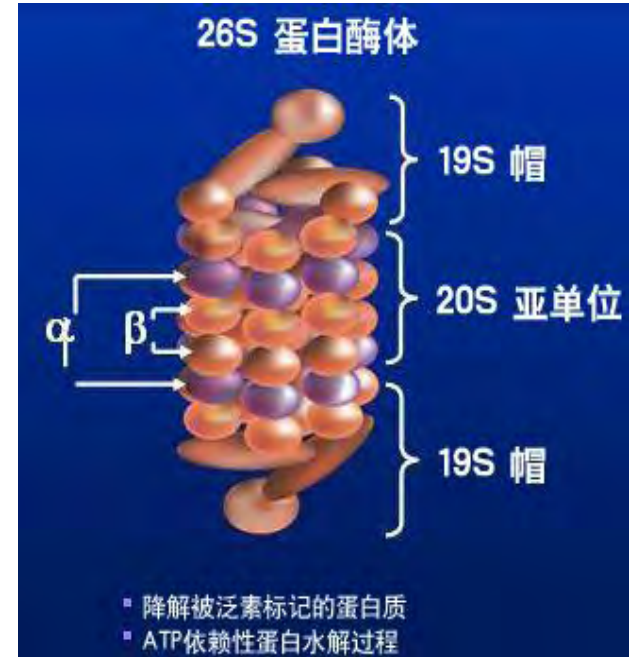
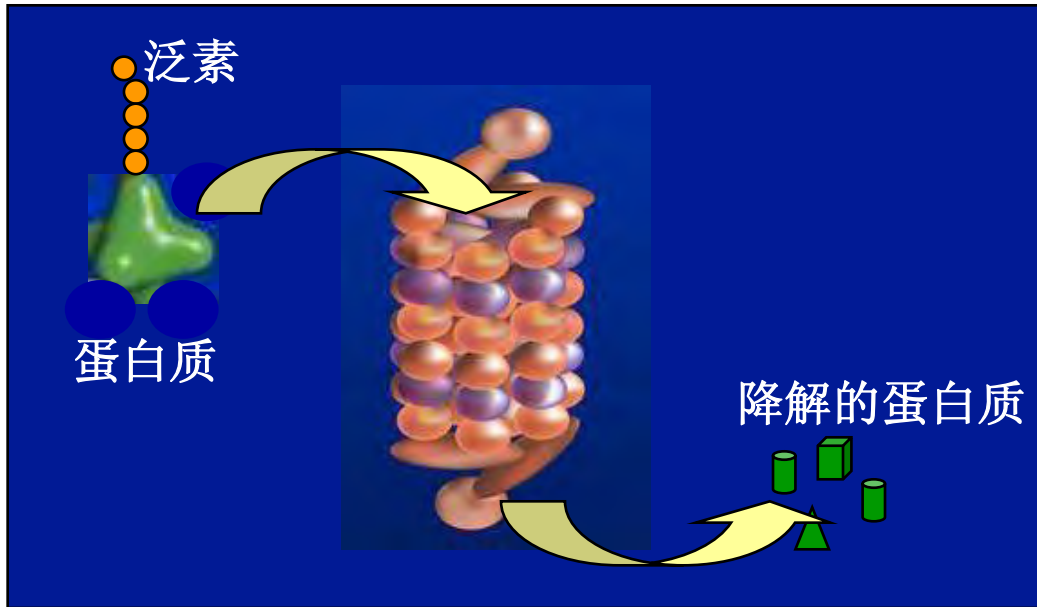
Cyclins降解主要是泛素-蛋白酶体进行泛素化降解

分裂期周期蛋白：N端降解盒(destruction box)，通过泛素连接酶催化泛素与cyclin结合，cyclin随之被26S蛋白酶体水解。



G1周期蛋白：也通过类似途径降解，N端无降解盒，C端PEST序列与其降解有关。



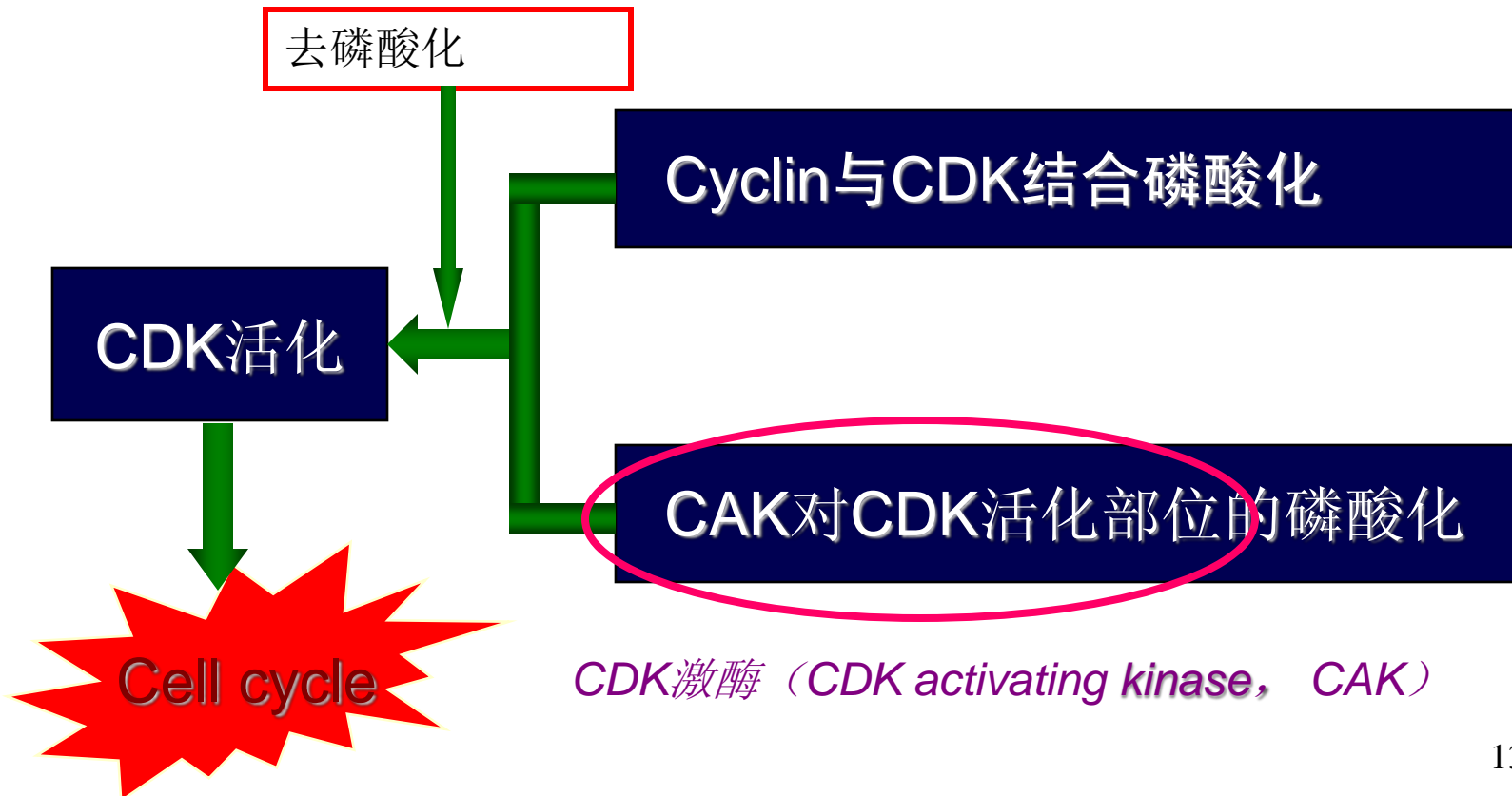


■ CDKs家族 (Cyclin dependent kinase)

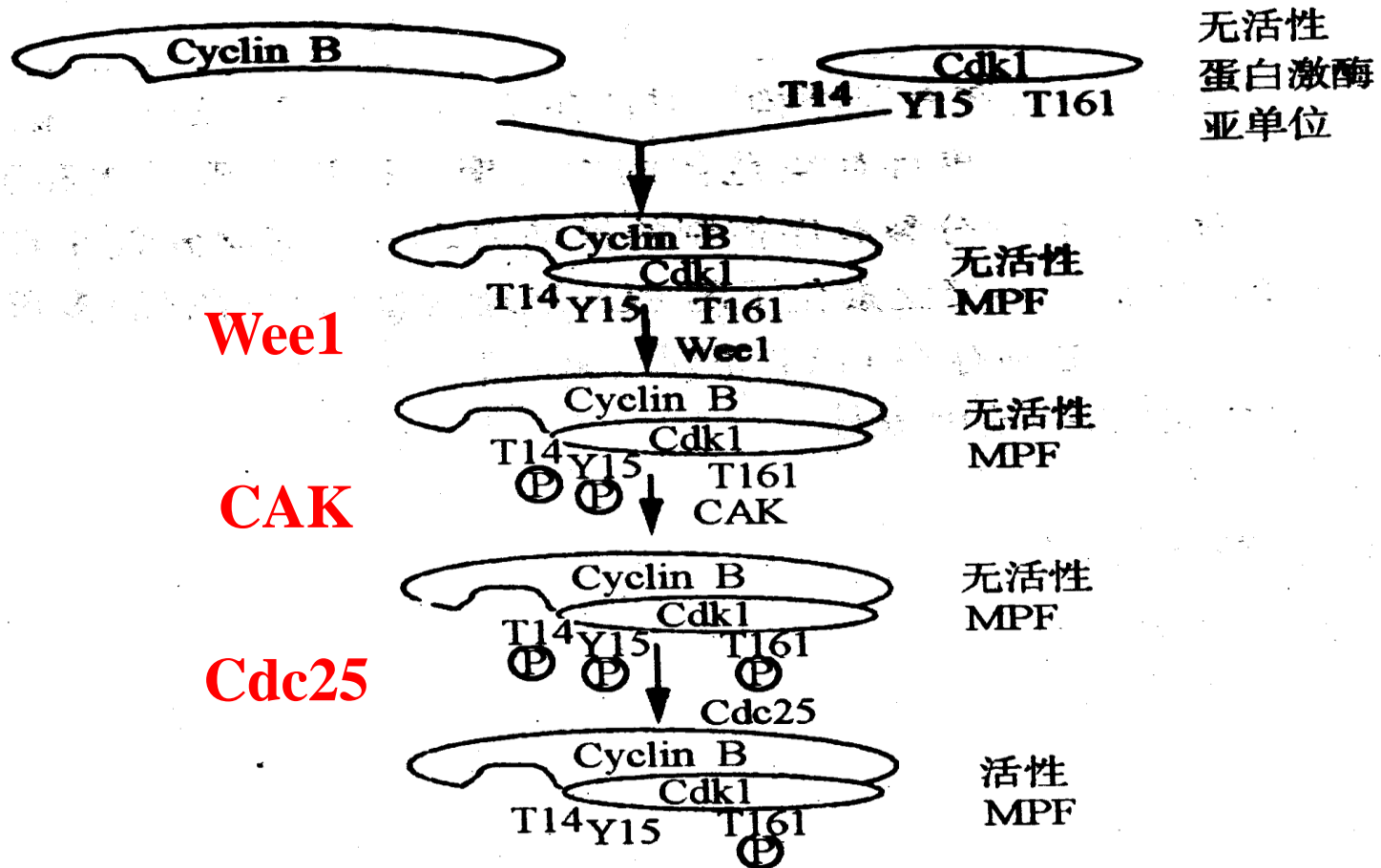
CDKs是一组丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, $CDK_1 \sim 9$

【CDK活化启动cell cycle】

CDK活性---结合Cyclin, 磷酸化/去磷酸化



Phosphorylation State of CDK1 and the Activity of Mitosis Promoting Factor



如：CDK1的激活需要Thr14和Tyr15去磷酸化和Tyr161的磷酸化：

▲活化部位 (CDK₁Thr¹⁶¹) 磷酸化

▲抑制部位 (CDK₁Thr¹⁴、Tyr¹⁵) 去磷酸化 (磷酸酶P80^{cdc25})

【CDK与不同cyclin结合活化调控细胞周期】

▲ CDK₂与cyclin E结合， CDK₄、 CDK₆与cyclin D₁、 D₂、 D₃结合



▲ CDK₂与cyclin E和A结合后 → 促进S期

▲ CDK1与cyclin A结合 → 启动G2期

▲ CDK₁与cyclin B₁结合(Maturation promoting factor,MPF) → 启动M期

■ CDI:

CDI可特异性抑制CDK的活性，两个家族:

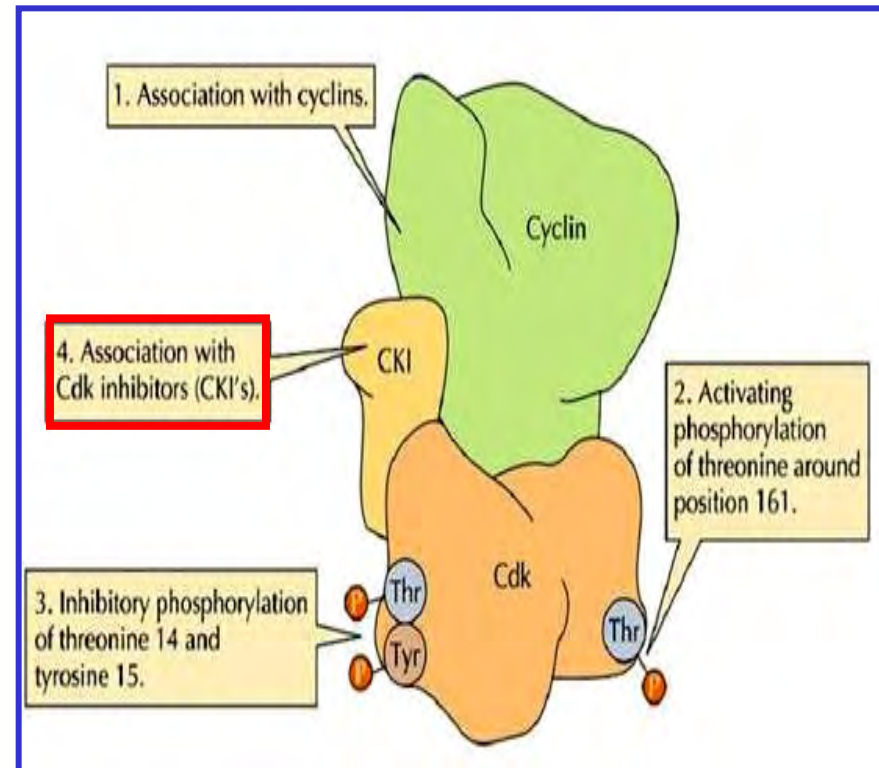
▲ Ink4: P16^{INK4a}、P15^{INK4b}、P18^{INK4c}和P19^{INK4d} ——| CDK₄、CDK₆

▲ Cip/Kip: p21^{Cip1}、P27^{Kip1}和P57^{Kip1} ——| CDK₂

【抑制途径】

▲ CDIs通过直接结合CDK-cyclin复合物的磷酸化活化部位，抑制CDK的激酶活性。

▲ P16^{INK4a}通过结合CDK₄单体，阻断它与cyclins的结合。



■ 细胞周期检查点（Checkpoint of cell cycle）

细胞内存在监控机制—检测点（Checkpoint）。



【Check mechanism】

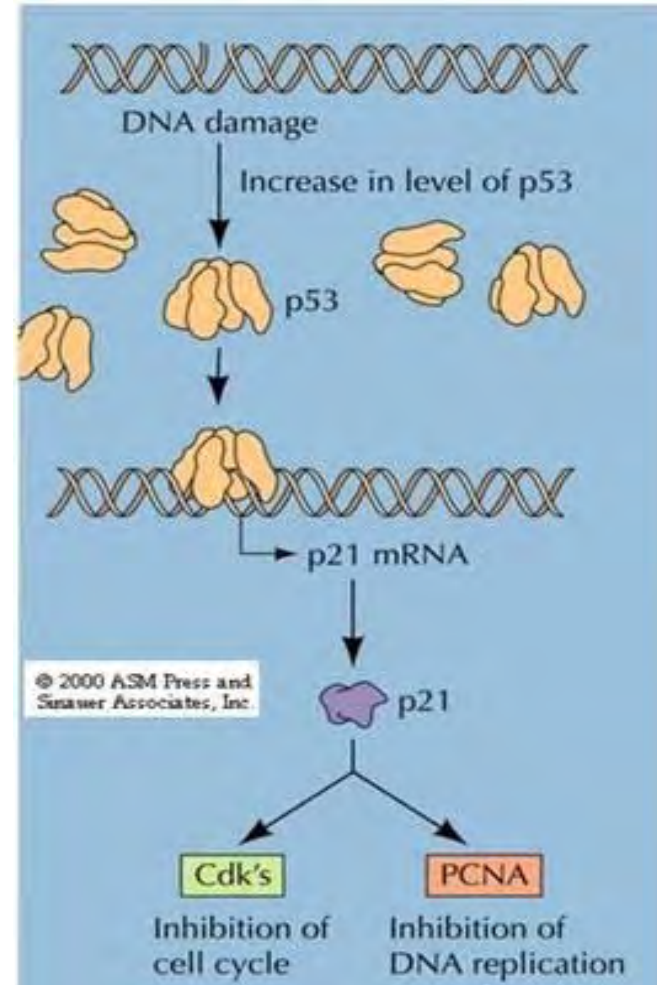
▲ P53:

DNA损伤，细胞周期阻滞：磷酸化P53，上调 p21^{Cip1} 基因转录。P21^{Cip1}能与多种 CDK-cyclin复合物结合，抑制CDKs激活，阻滞 G_1/S 过渡；直接结合抑制PCNA从而抑制DNA复制。为DNA修复提供时间。

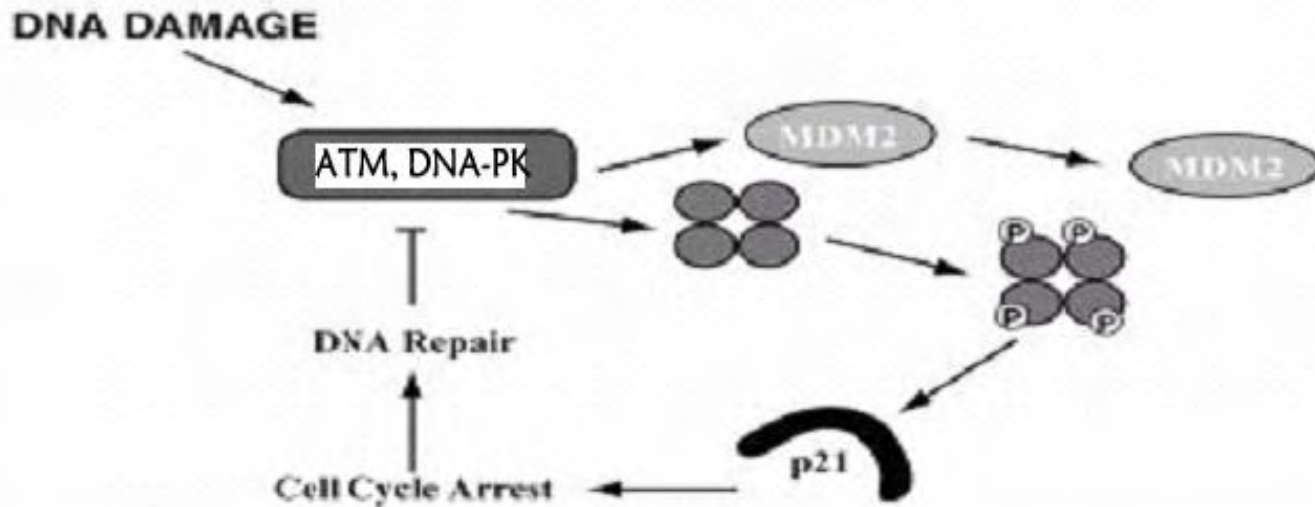
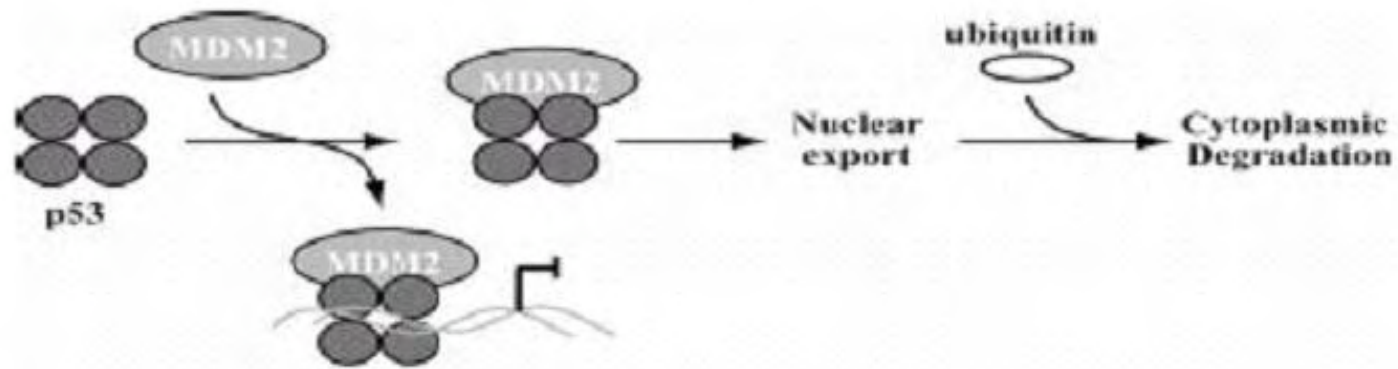
DNA修复

细胞凋亡：激活Bax凋亡基因，下调Bcl-2抗凋亡基因表达，诱导凋亡。

P53突变或缺失



P53 and Mammalian DNA Checkpoint Control



【影响CDK活性因素】

▲ Cyclin

Cyclin/CDK → CDK磷酸化

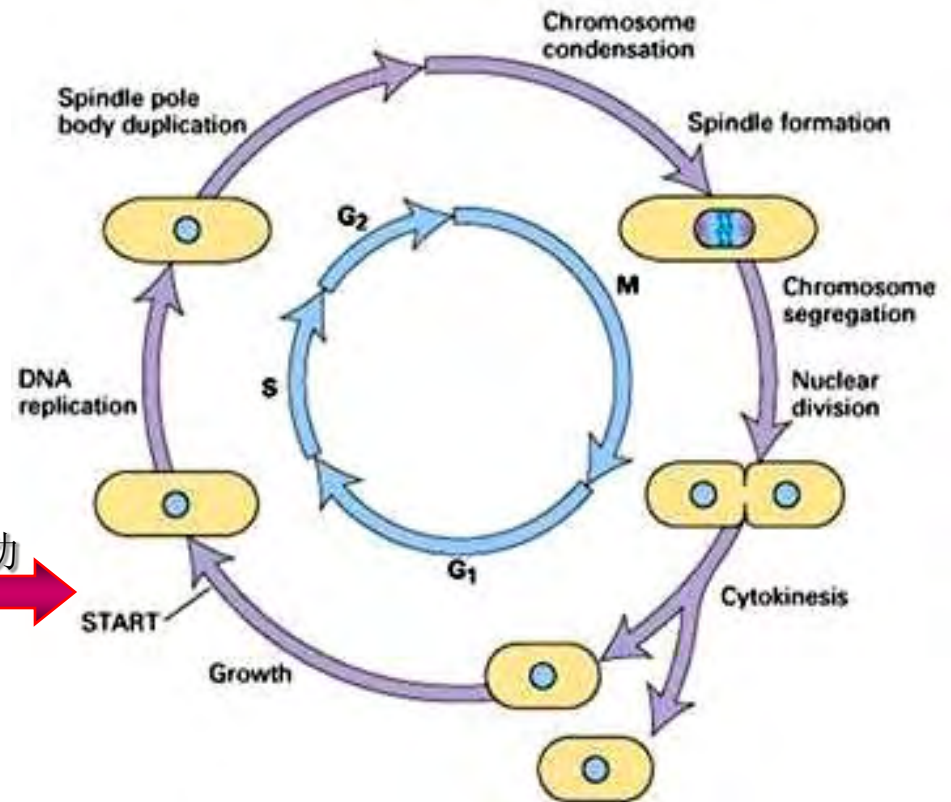
(激活)

▲ CAK (CDK活化激酶)



CDK磷酸化 → cell cycle↑

推动



▲ CDK抑制因子(CDI)



cyclin/CDK/CDI → CDK活性↓ → cell cycle↓

▲ pRb、P53、c-myc、UPP、磷酸酶等参与对CDK的调控。



2. 细胞外信号及信号通路与细胞周期调控

G_1 期“限定点”（restriction point），决定细胞是否进入周期。

“限定点”主要受细胞外信号的调控。

■ 增殖信号（生长因子）

(EGF, IGF, IL)

Growth factors

Ras/Raf/ERK

Synthesis of
D-type cyclins

Cdk4, 6/CycD

pRb

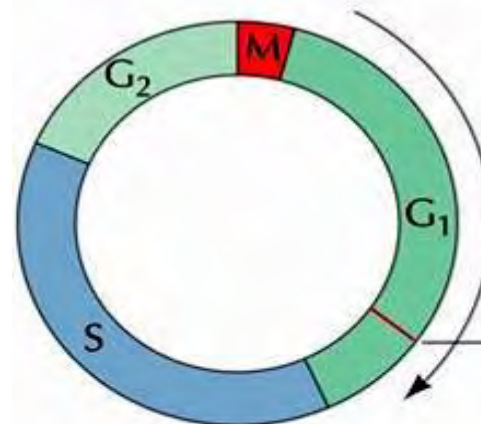
E2F

Restriction point

可以下调cyclin和 CDK_4 的表达和促进 $P21^{waf1}$ 、 $P27^{kip1}$ 和 $P15^{ink4b}$ 等CDI产生，使细胞阻滞在 G_1 期。

■ 细胞生长条件不具备

能使 $P16^{INK4a}$ 和 $P15^{INK4b}$ 增加，并均能抑制Cyclin D- $CDK_{4/6}$ 复合物的功能，细胞阻滞 G_1 期。



三、细胞周期调控障碍 (Cellproliferation dysregulation)

细胞过度增殖或不足的本质是细胞周期调控异常。

【细胞周期调控异常】

- 细胞周期的驱动失控 (Cyclin、CDK和CDI表达异常)
- 监控 (检查) 机制受损

细胞增殖分化异常与相关疾病

增殖异常	分化异常	增殖分化异常
再生障碍性贫血	肥胖症	恶性肿瘤
白癜风	遗传性血红蛋白病	银屑病
前列腺肥大	肌营养不良	畸胎瘤
动脉粥样硬化		先天畸形
家族性红细胞增多症		X-连锁-球蛋白缺乏症
		高IgM血症

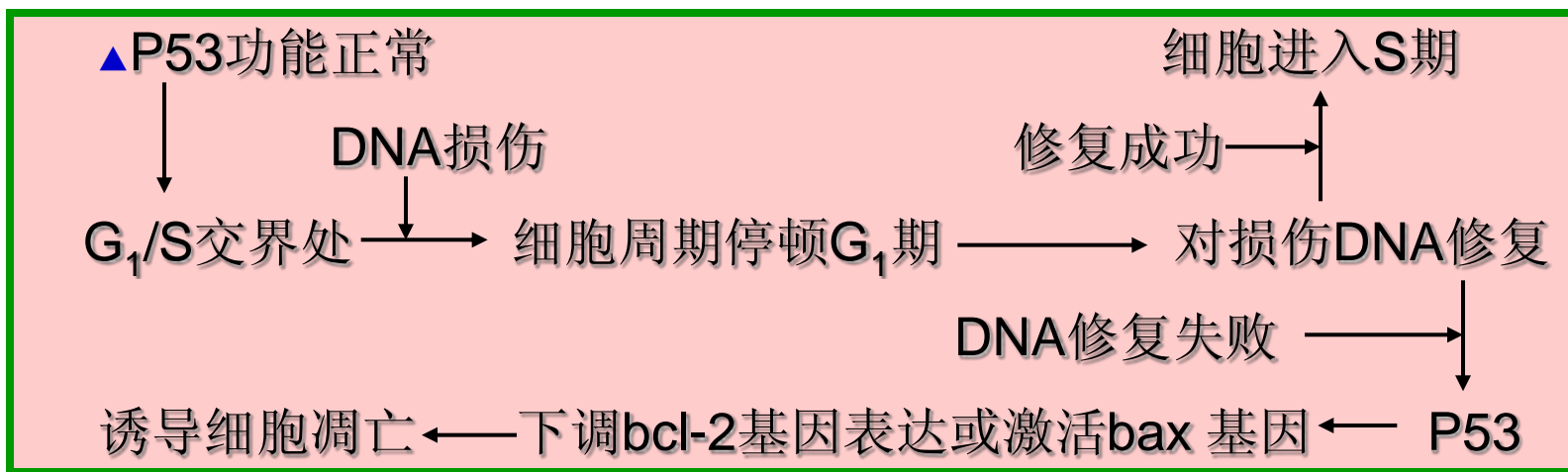
1. 细胞周期监控机制受损

主要原因： G_1/S 、 G_2/M 检查点异常

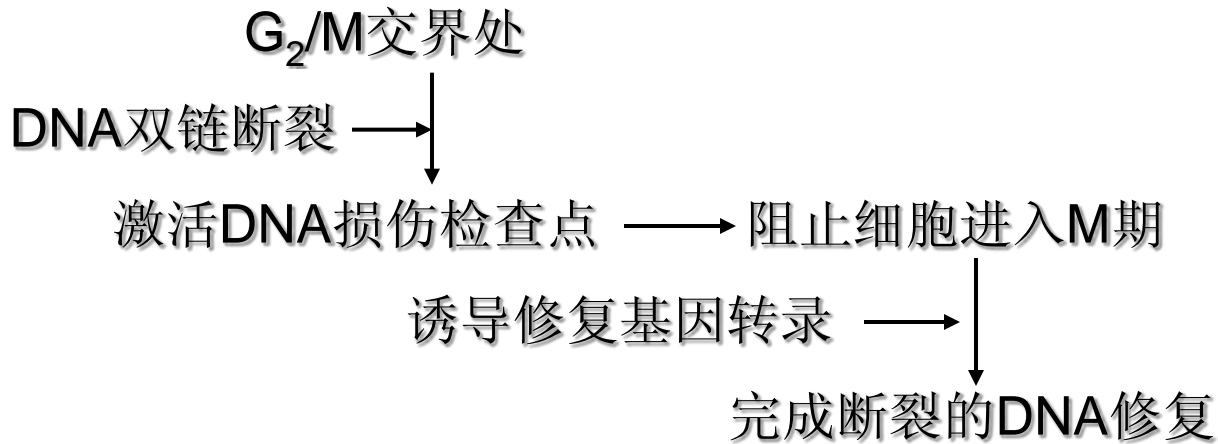
失察结果：探测DNA损伤功能降低

(DNA损伤可导致基因突变、缺失、易位、染色体重排等)

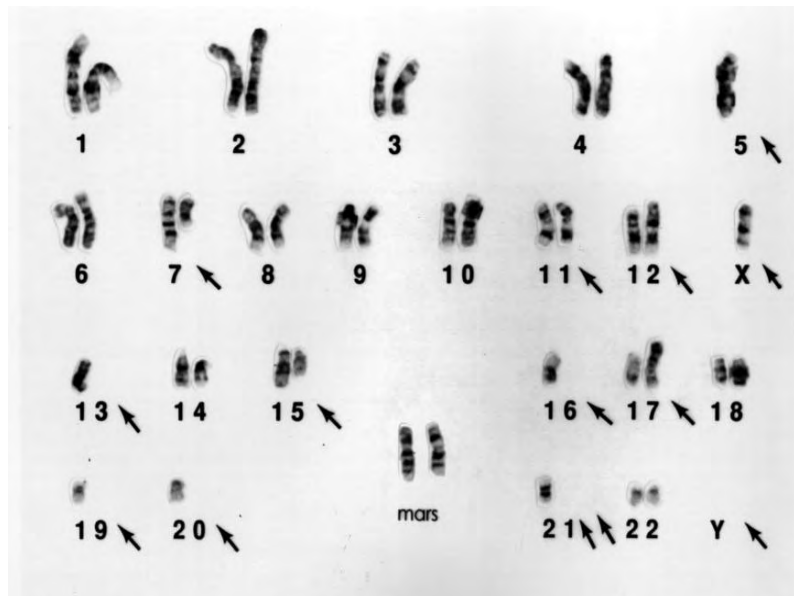
■ G_1/S 交界处失察



■ G₂/M 交界处失察



▲ 失去G₂/M检查点的阻滞作用 → 染色体发生重排、丢失



2. 细胞周期驱动机制失控

■ **cyclins**的异常 肿瘤的发生与cyclin（D、E）过量表达有关。

【Cyclin D₁（原癌基因）过表达原因】

▲ 基因扩增：Cyclin D₁过表达的主要机制

乳腺癌、胃癌、食道癌存在Cyclin D₁基因扩增过度。

▲染色体倒位

Cyclin D₁基因倒位，于甲状旁腺启动子控制下 → Cyclin D₁蛋白合成↑
 ↓
 甲状旁腺腺癌

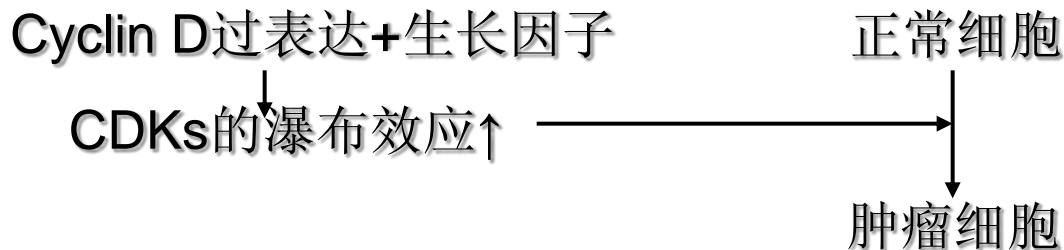
▲染色体易位

Cyclin D1基因t(11:14) (q13:q32)易位
 ↓
 Cyclin D₁受Ig重链基因增强子影响
 ↓
 Cyclin D₁表达↑

▲基因突变

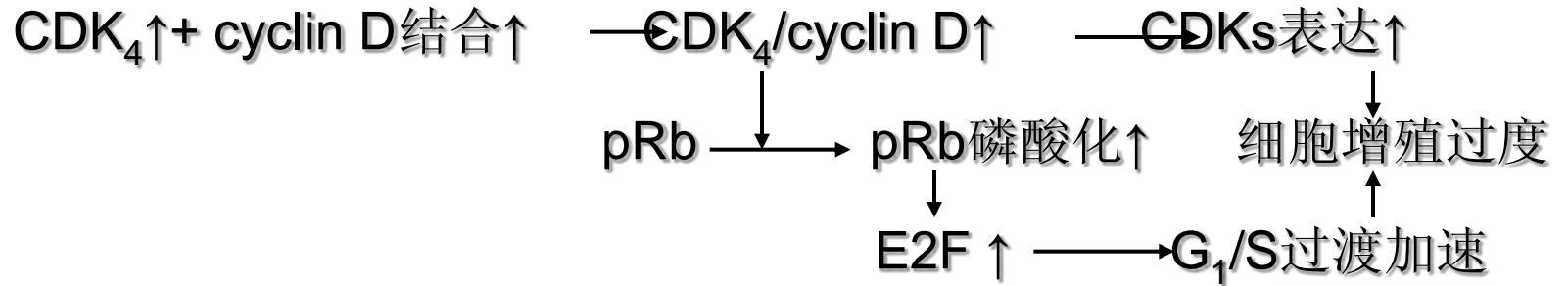
Cyclin D1的T²⁸⁶突变
 ↓
 Cyclin D1泛素化受阻 → 半衰期延长

【Cyclin D过表达致肿瘤机制】



■ CDK的增多

主要见于CDK₄、CDK₆过表达。



■ CDI表达不足和突变

肿瘤细胞中常出现CDI（肿瘤抑制基因）表达不足或突变。

▲ InK4失活

【p16^{InK4}基因失活原因】突变或缺失、染色体易位、p16^{InK4}高度甲基化。

【Mechanism】

p16^{Ink4}基因表达↓ → 抑制CDK₄与cyclin D结合↓

↓
细胞周期驱动处在“易于”被启动状态

正常细胞 → 肿瘤细胞

态

▲ Kip/Cip减少

P21^{cip1}正常功能 → cyclins/CDKs活性↓ → 细胞周期速度↓

↓
抑制增殖细胞核抗原 (PCNA) → 阻滞DNA复制

【Mechanism】

P53基因突变 → P21^{cip1}转录↓ → DNA受损的细胞增殖↑

正常细胞 → 肿瘤细胞

表2 人类肿瘤p53基因突变热点和频率

肿瘤型	突变频率 (%)	突变热点	肿瘤型	突变频率 (%)	突变热点
肺癌	56	157, 248, 273	前列腺癌	30	不确定
结肠癌	50	175, 245, 248, 273	肝细胞癌	45	249
食道癌	45	不确定	胶质癌	25	175、248
卵巢癌	44	273	乳腺癌	22	175、248、273
胰腺癌	44	273	子宫内膜癌	22	248
皮肤癌	44	248、278	甲状腺癌	13	248、273
胃癌	41	不确定	白血病	12	175、248
头颈鳞癌	37	248	宫颈癌	7	273
膀胱癌	34	280	软组织肉瘤	31	不确定



原发性血小板增多症 (PT)

- 临床症状：以巨核细胞增殖为主的骨髓增生性疾病。伴有血小板持续增多和血小板功能异常，有反复自发性出血及血栓形成。
- 病因与机制：X染色体遗传、TGF- β 减少、辅助细胞缺乏等。

良性前列腺增生

- 病因与机制：细胞凋亡出现下降，增殖不变，导致良性前列腺增生。

银屑病

- 病因与机制：表皮生长因子受体的增加和 β 受体的减少是引起表皮细胞增长过快的原因。

细胞分化异常与疾病

Diseases associated with cell differentiation

1. 概念与特点 (Concept)

在细胞增殖时，子代细胞在形态、结构和功能上产生差异的过程，演变为特定的细胞类型。

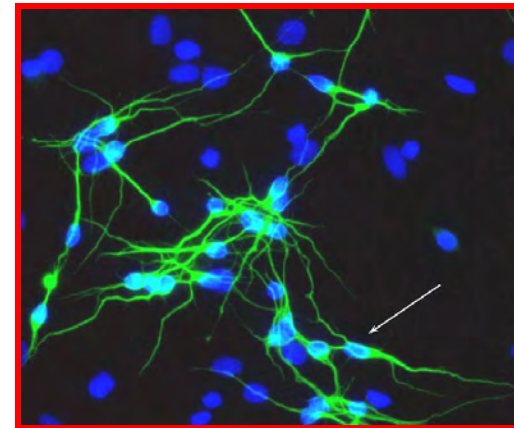
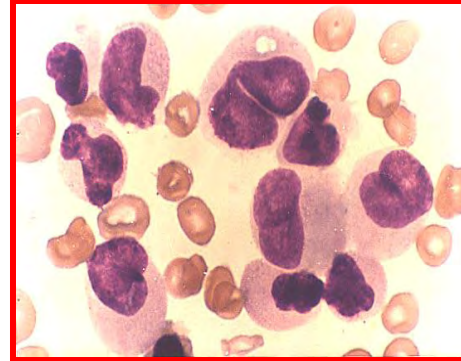
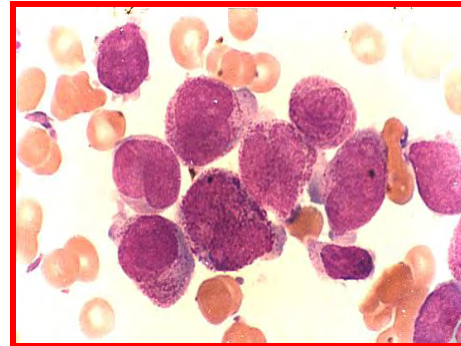
包括胚胎和成年组织干细胞 (Stem cell) 分化。

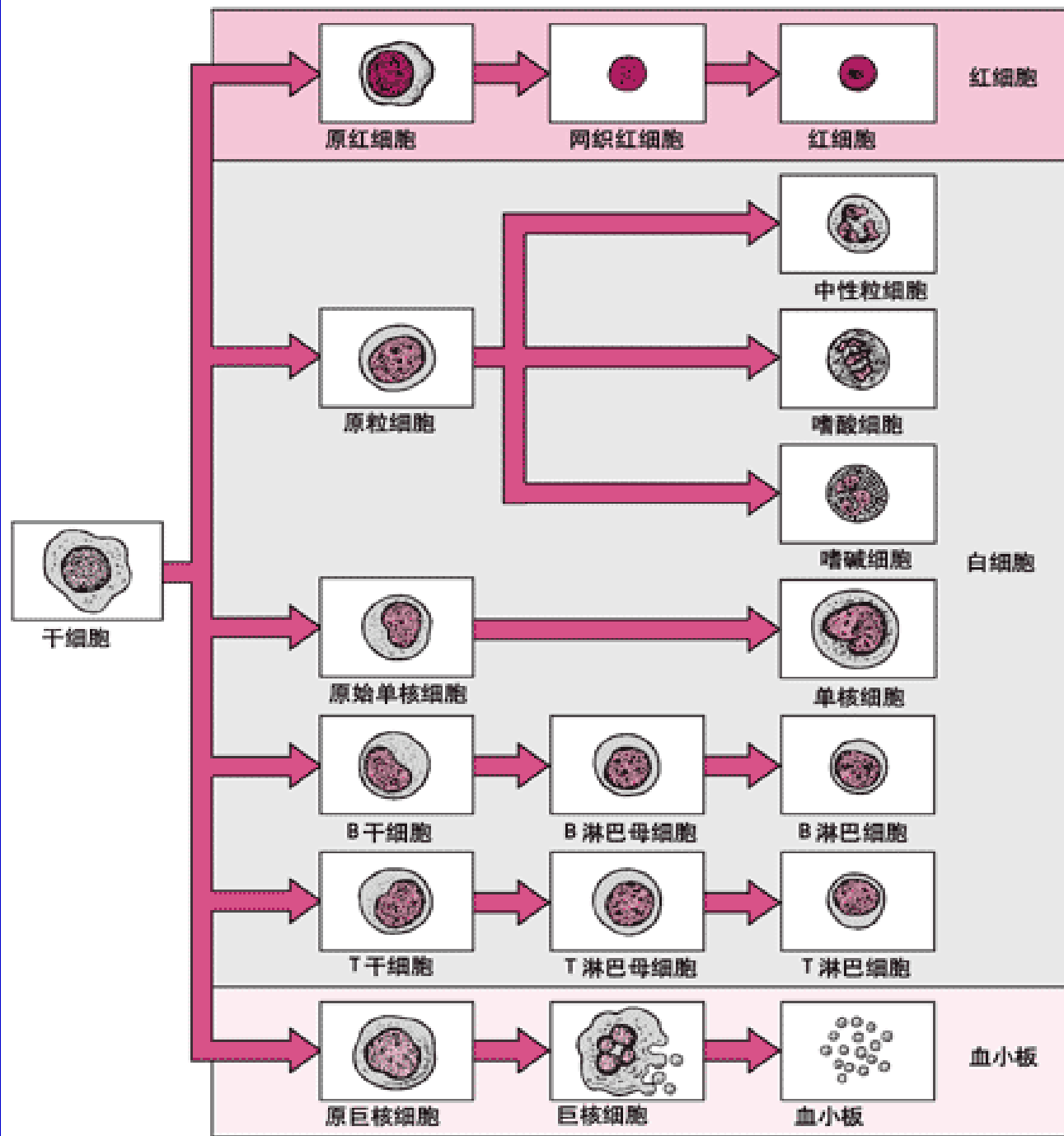
■ 干细胞分类

▲ 全能干细胞； ▲ 多能干细胞； ▲ 定向干细胞

■ 细胞分化特点

▲ 稳定性、 ▲ 全能性、 ▲ 选择性、
▲ 细胞分化条件的可逆性。





2. Mechanism of cell differentiation

(1) 细胞决定 (Determination) 的选择作用

是指细胞内某些基因永久地关闭，而另一些基因顺序表达，具备向某一特定方向分化的能力。“决定”先于分化。

(2) 细胞质在决定细胞差别中作用

由于干细胞在分裂时，细胞质分配的不均匀，导致子代干细胞的胞质组分（细胞质决定子）不同，导致子细胞产生差别。

(3) 细胞间相互作用

细胞分化与细胞所在位置及与其他细胞的联系有关。其效应可以是细胞间直接接触所进行信息转导、以及细胞外物质的作用。

(4) 细胞微环境

3. The regulation of cell differentiation

(1) 基因水平调控

■ House keeping genes (与分化关系不密切)

是编码维持细胞基本生命活动所必须的结构功能蛋白的基因。

■ 组织专一基因 (与细胞分化关系密切)

(2) 转录和转录后调控

■ 转录水平调控 (对专一基因的启动子和增强子进行调控)

■ 转录后水平调控是指对mRNA前体的处理、加工和iRNA调节。

(3) 翻译与翻译后水平调控

(4) 细胞外因素调控

细胞外信号物质、基质和营养因素等，都可影响核转录因子活性和细胞信号的转导，启动和调节某些基因表达，改变细胞的分化状态。

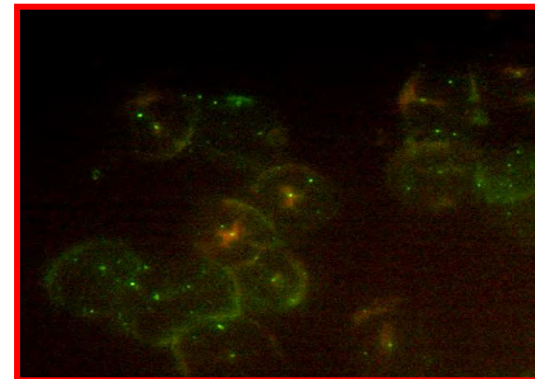
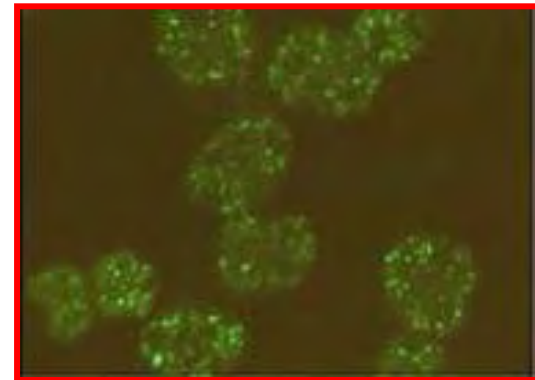


4. Cell differentiation and tumour

■ 细胞的增殖和分化脱耦联

干细胞在分化的初期大量增殖，当出现分化特征时增殖减慢，是因为细胞存在增殖和分化耦联。

- ▲ 肿瘤细胞的增殖与分化存在脱耦联倾向。
- ▲ 体外培养的癌细胞表现为失去密度依赖性抑制，成为“永生的”细胞系。



■ 基因表达时空失调

▲ 特异性分化基因表达受到抑制

▲ 胚胎性基因重现表达

肝癌细胞合成甲胎蛋白和胎儿型醛缩酶A;

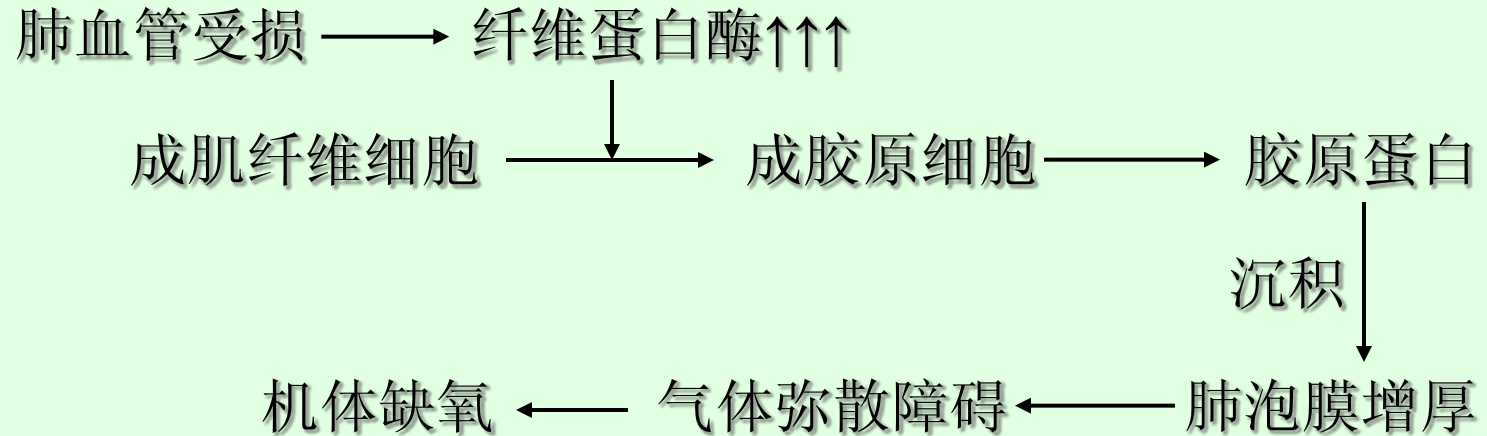
结肠癌细胞合成癌胚抗原表达。

■ 癌基因和抑癌基因的协同失衡

▲ 由于癌基因突变、外源基因插入、基因扩增、染色体易位、基因重排和甲基化程度降低等引起癌基因激活，导致癌基因表达产物的质、量改变。

▲ 抑癌基因缺失、失活和突变，削弱细胞分化和增殖调节系统的显性负调节信号，增强了细胞恶变的可能性。

(1) 肺纤维化 (Pulmonary fibrosis)



(2) 肥胖症 (Morbid obesity)

前脂肪细胞过度向脂肪细胞分化，导致脂肪组织内脂肪细胞数量增加。



细胞凋亡与疾病

Diseases associated with cell apoptosis

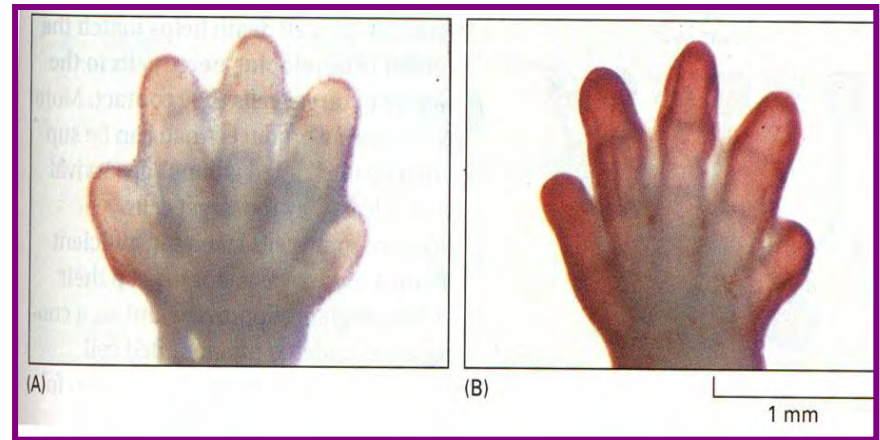
一、细胞凋亡概念 (Apoptosis)

体内外生理或病理因素触发细胞内预存的死亡程序而导致的细胞主动死亡过程。

又称程序性细胞死亡 (Programmed cell death, PCD)

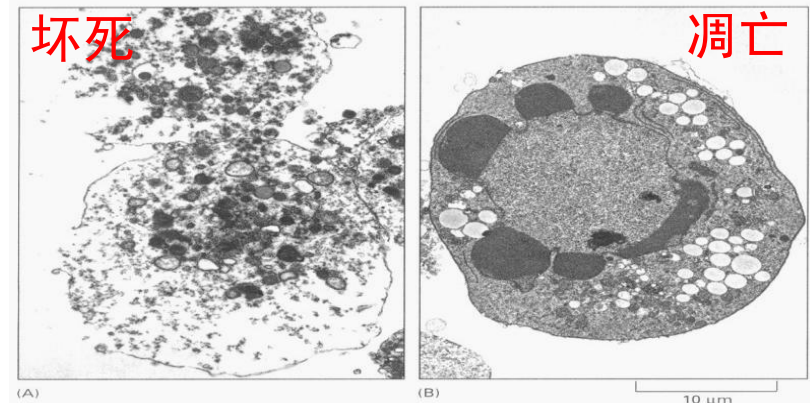
【生理学意义】

- 确保组织器官正常发育、生长。
- 维持内环境稳定。
- 发挥积极的防御功能。



【细胞死亡的模式】

- Necrosis
- Apoptosis





The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2002

"for their discoveries concerning 'genetic regulation of organ development and programmed cell death'"



Sydney Brenner

🕒 1/3 of the prize

United Kingdom

The Molecular
Sciences Institute
Berkeley, CA, USA



H. Robert Horvitz

🕒 1/3 of the prize

USA

Massachusetts
Institute of
Technology (MIT)
Cambridge, MA,
USA



John E. Sulston

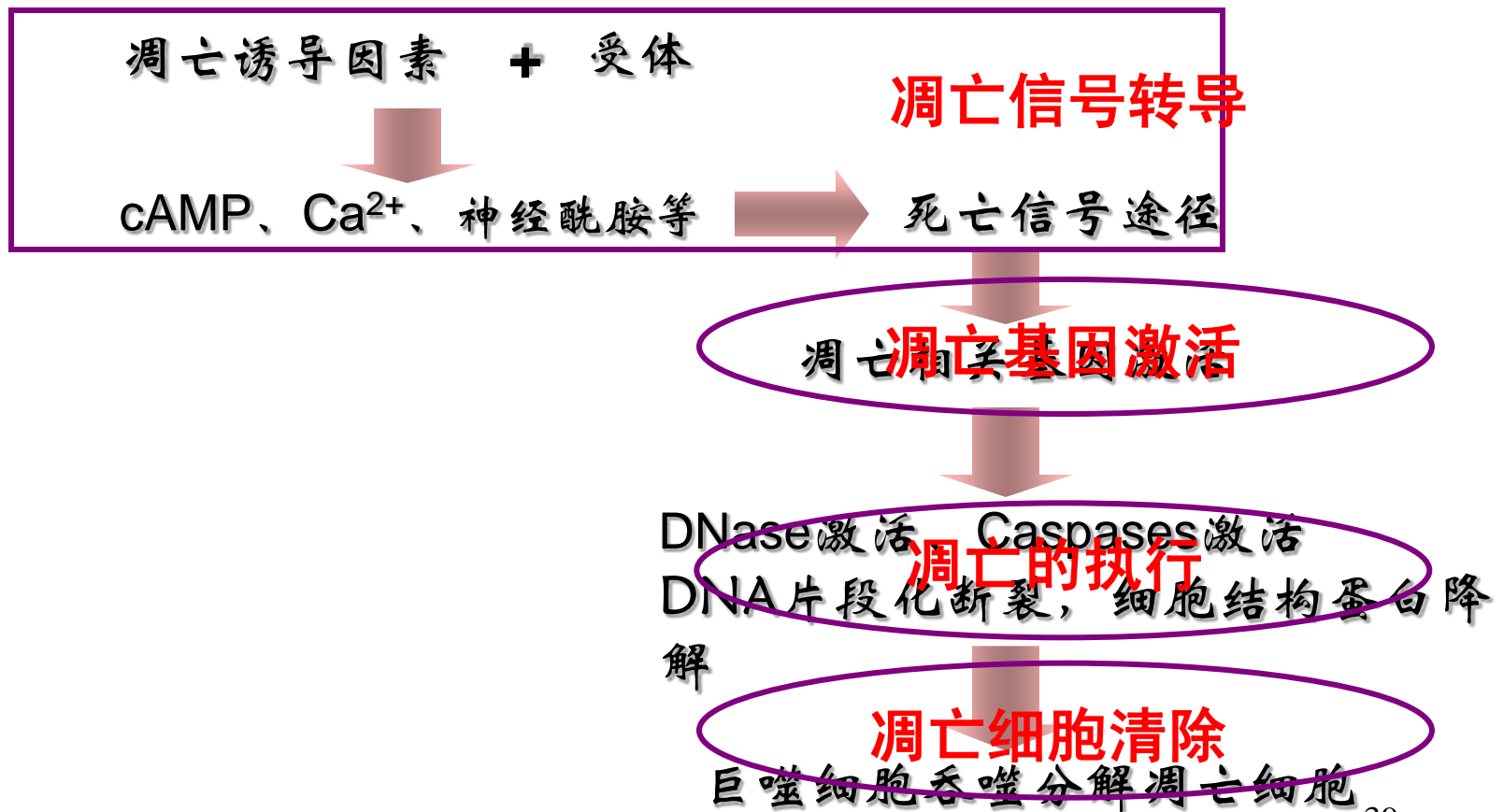
🕒 1/3 of the prize

United Kingdom

The Wellcome Trust
Sanger Institute
Cambridge, United
Kingdom

二、细胞凋亡的过程与调控 (Process & regulation of apoptosis)

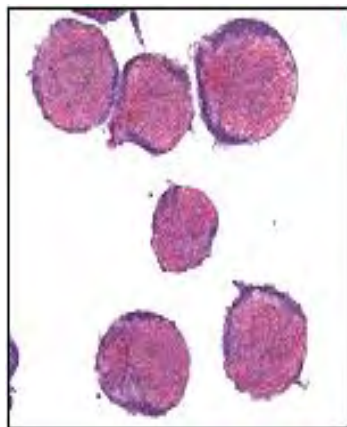
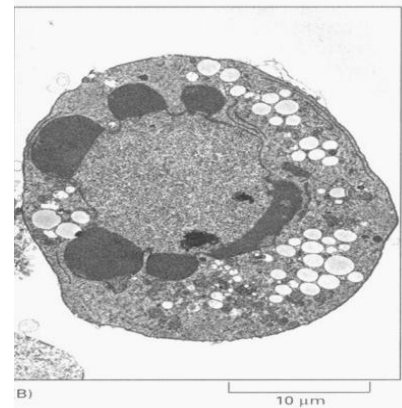
(一) 细胞凋亡的过程 (The process of apoptosis)



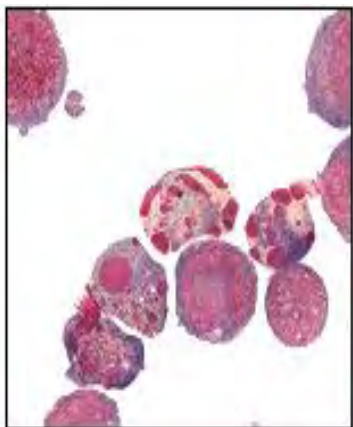
(二) 凋亡细胞变化 (General characteristics of cell apoptosis)

1. 形态学特征 (The morphologic characteristics of apoptosis)

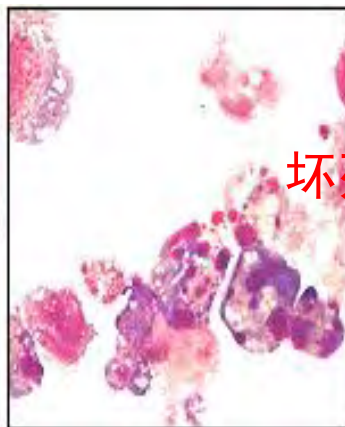
- 凋亡细胞与周围细胞脱接触
- 胞膜空泡化 (Blebbing)
- 细胞皱缩、出芽 (budding)
- 核固缩 (Condensation)、染色质边集 (margination)
- 凋亡小体 (Apoptosis body)



APL



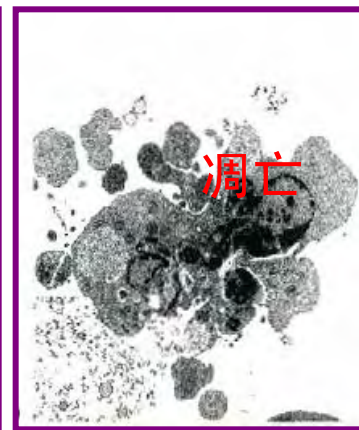
Apoptosis



坏死



凋亡细胞(扫描电镜)



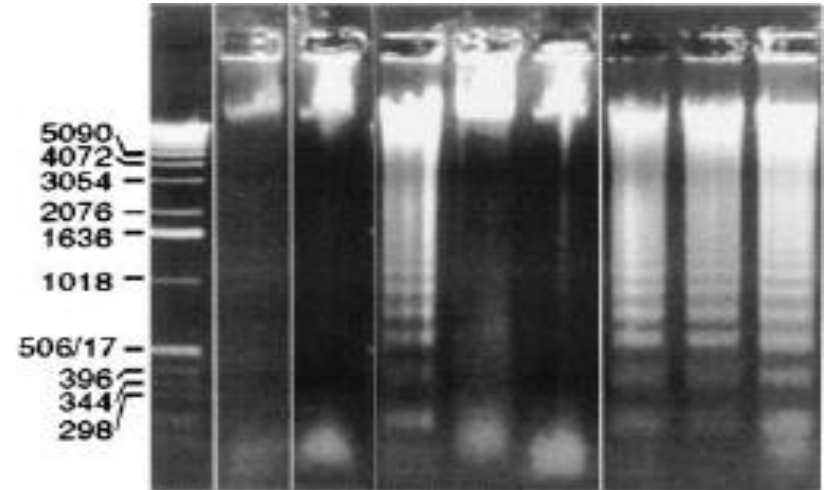
凋亡

凋亡细胞(透射电镜)

2.生化改变 (The biochemical characteristics of apoptosis)

(1) DNA片段化断裂

激活核酸内切酶 (endogenous nuclease)
核小体连接区发生DNA降解断裂，
寡核小体片段 (180~200bp的倍数)
琼脂糖电泳梯状条带 (ladder pattern)



■内源性核酸内切酶激活

Ca²⁺/Mg²⁺增加核酸内切酶活性

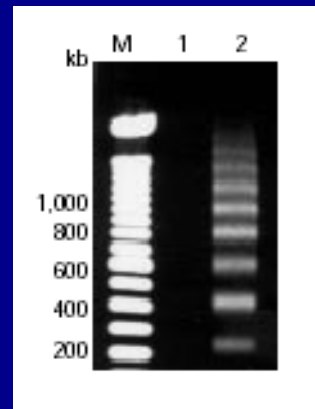
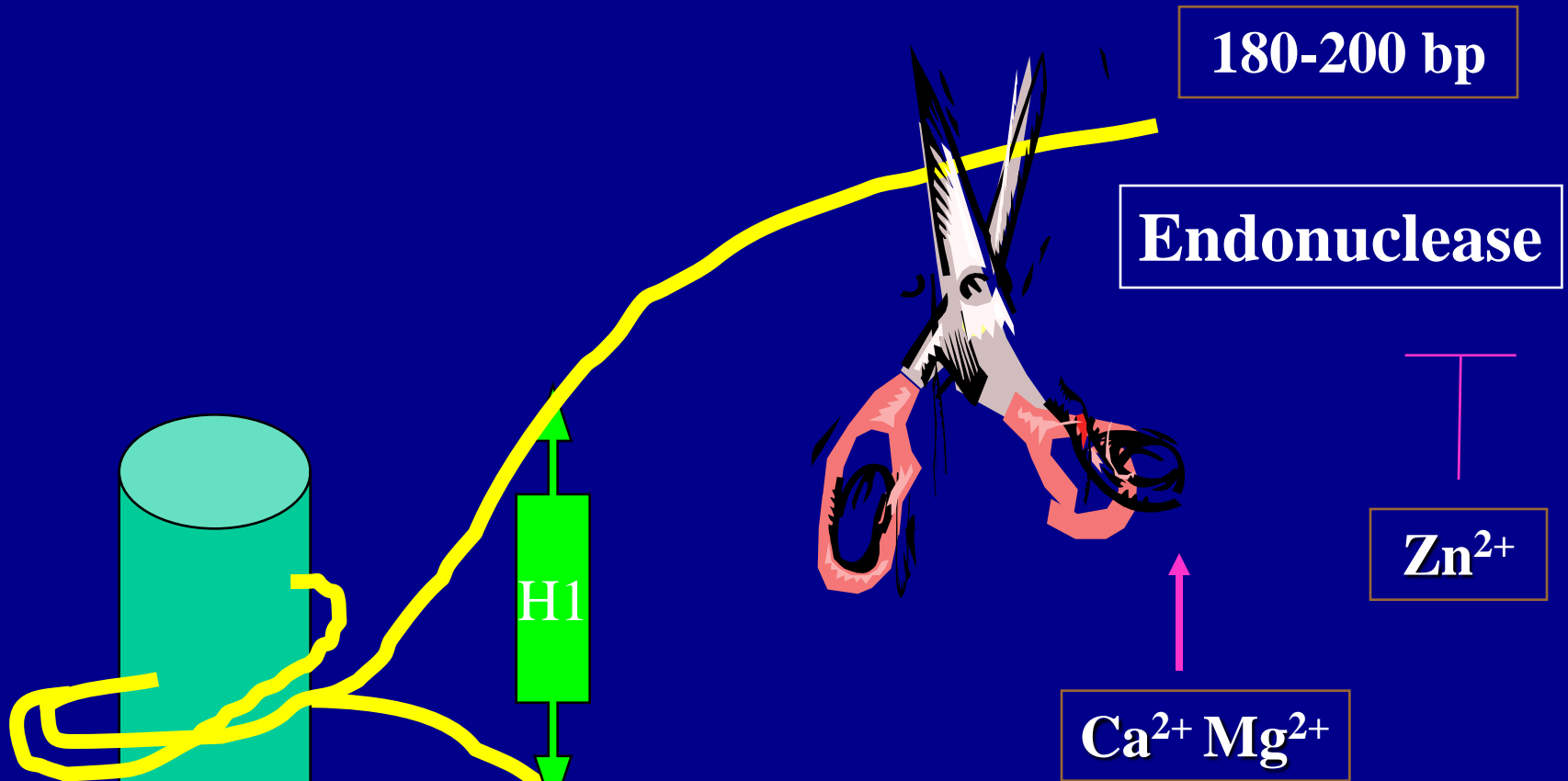
Zn²⁺抑制核酸内切酶活性

(2) 蛋白质降解

■调亡蛋白酶的激活及其作用

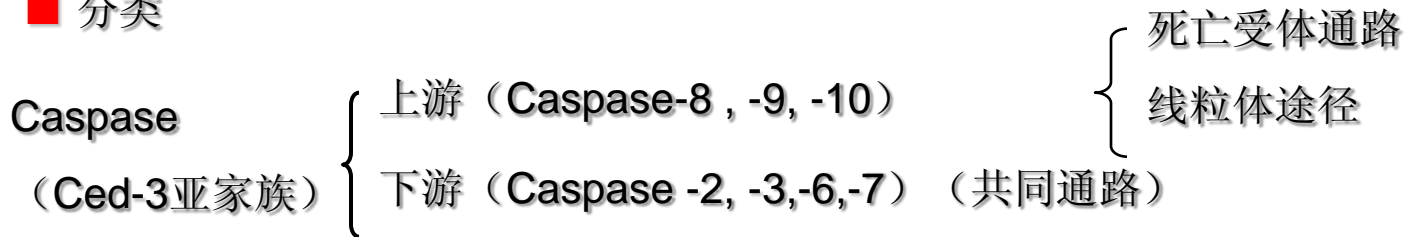
Caspase (cysteine-containing aspartate-specific protease):
属于半胱氨酸蛋白酶家族，14个成员 (Caspase 1-14)。

Role of Endonuclease



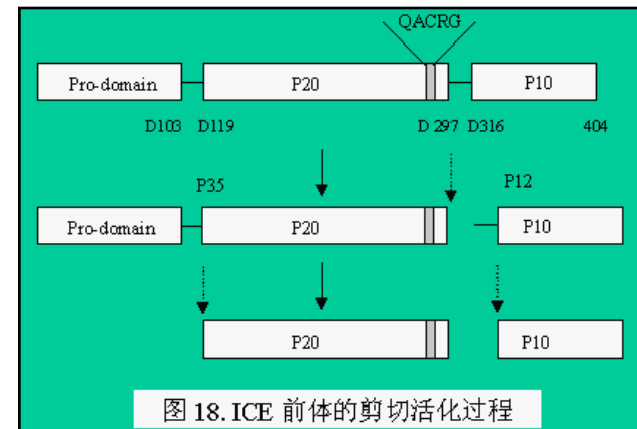
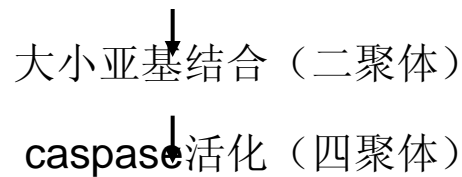
Caspase

■ 分类



■ 结构

Pro-caspase: NH₂末端结构域、20KD亚基、10KD亚基



■ 作用:

- 灭活凋亡抑制物 (如Bcl-2);
- 水解细胞的蛋白质结构, 导致细胞解体;
- 在凋亡级联反应 (cascade)中水解相关活性蛋白, 使后者获得或丧失功能

■ 不同凋亡途径活化起始caspase成员不同:

Death receptor pathway:其始活化caspase-8;

Mitochondrial pathway其始活化caspase-9;

Endoplasmic reticulum stress pathway其始活化caspase-12.



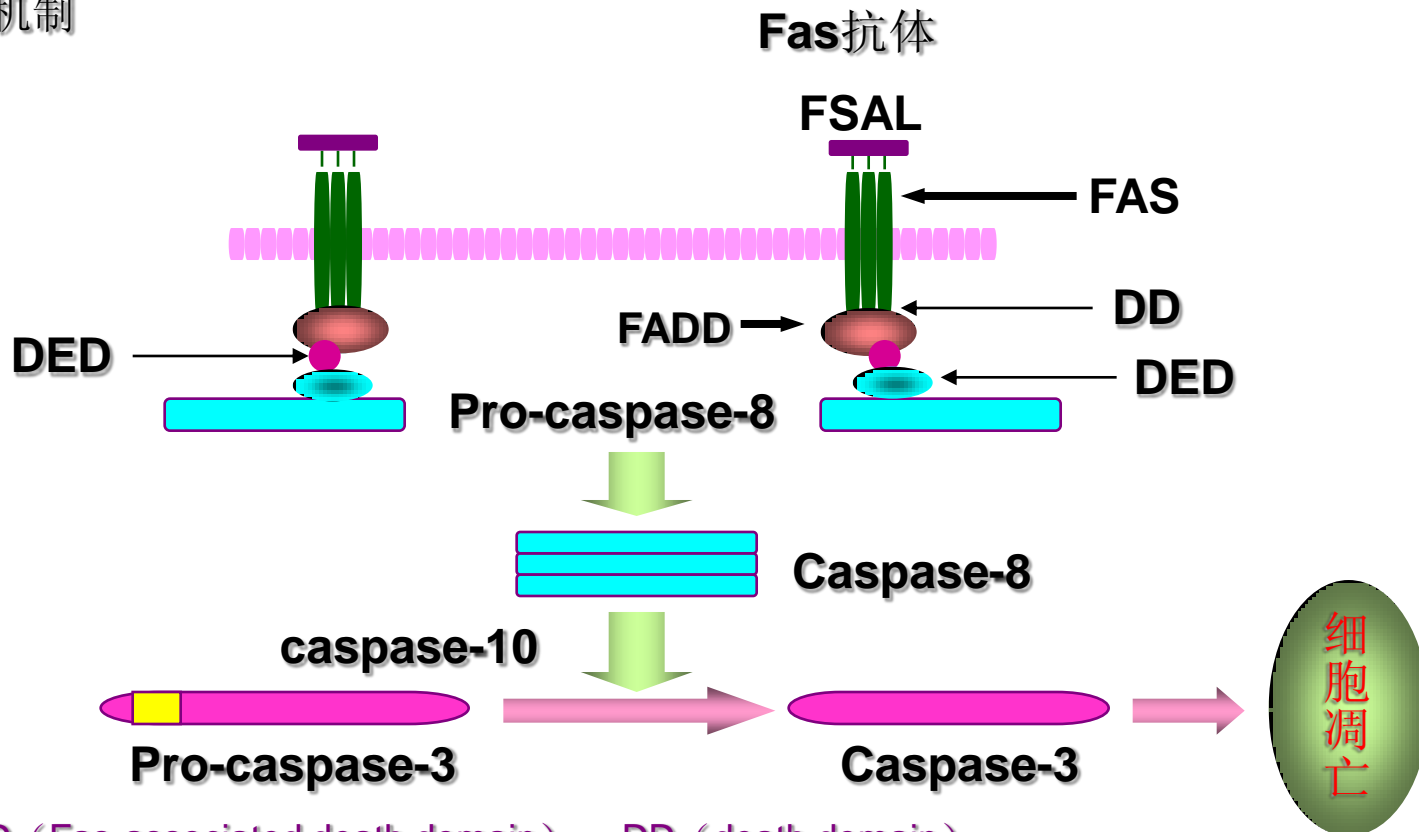
(三) 细胞凋亡途径 (Caspases-dependent pathway)

1. 死亡受体通路 (外通路)

■ 死亡受体 —— TNFR、Fas、DR₃、DR₄、DR₅等

是一类通过与相应配体结合，传递细胞凋亡信号的细胞膜蛋白。

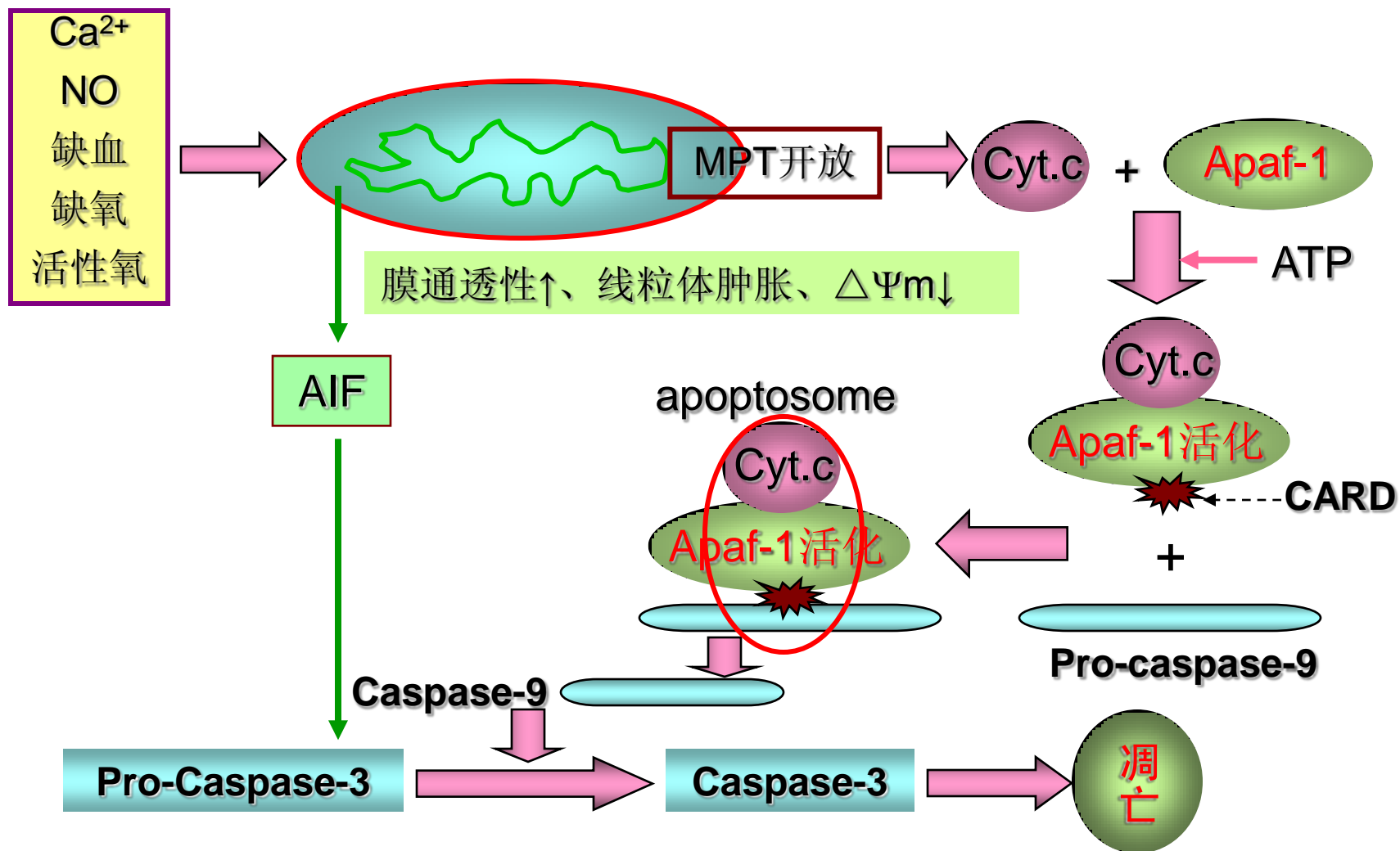
■ 通路机制



FADD (Fas-associated death domain) ; DD (death domain) ;

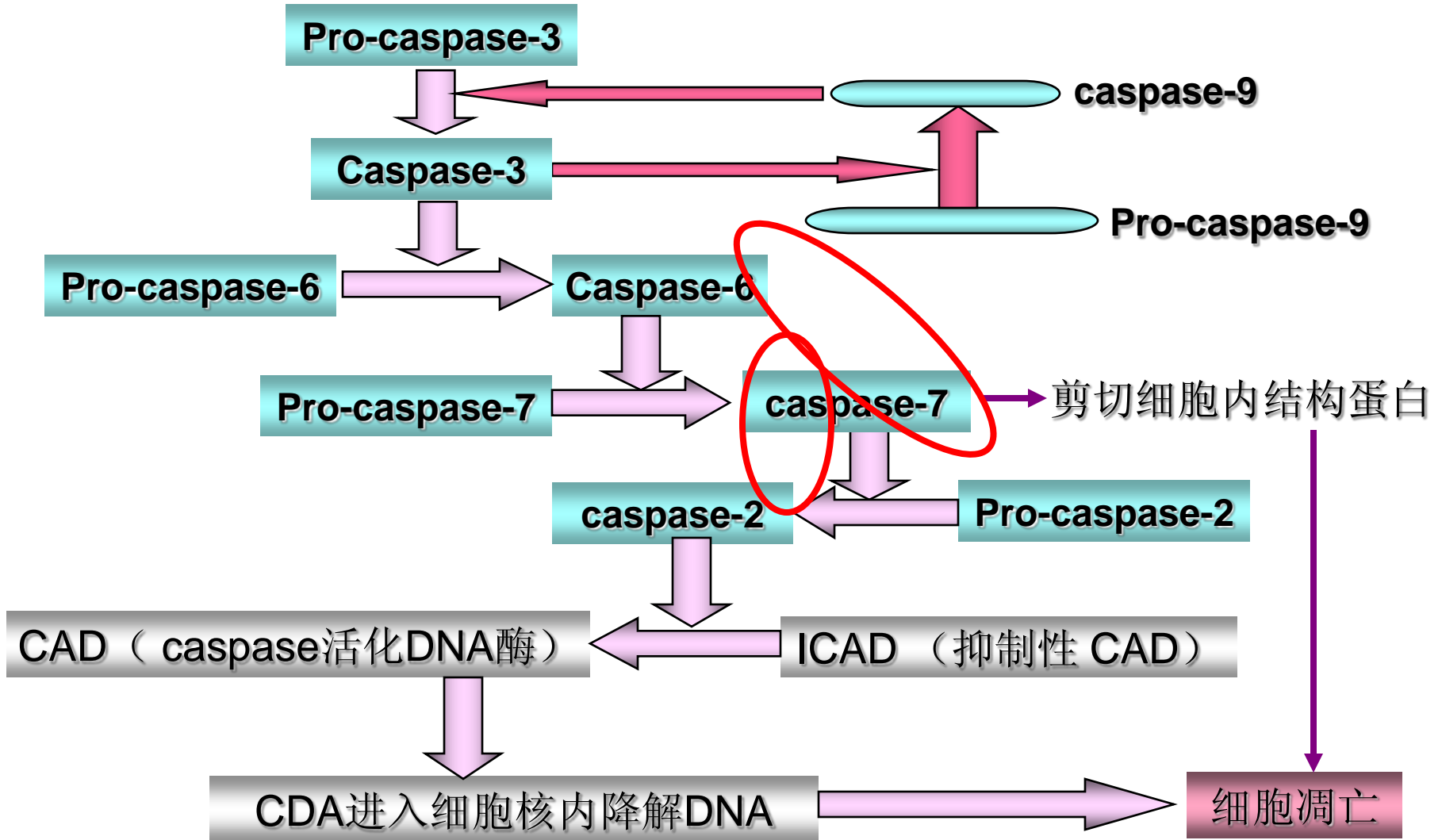
DED (death effector domain) ; (Death receptor, DR) 。

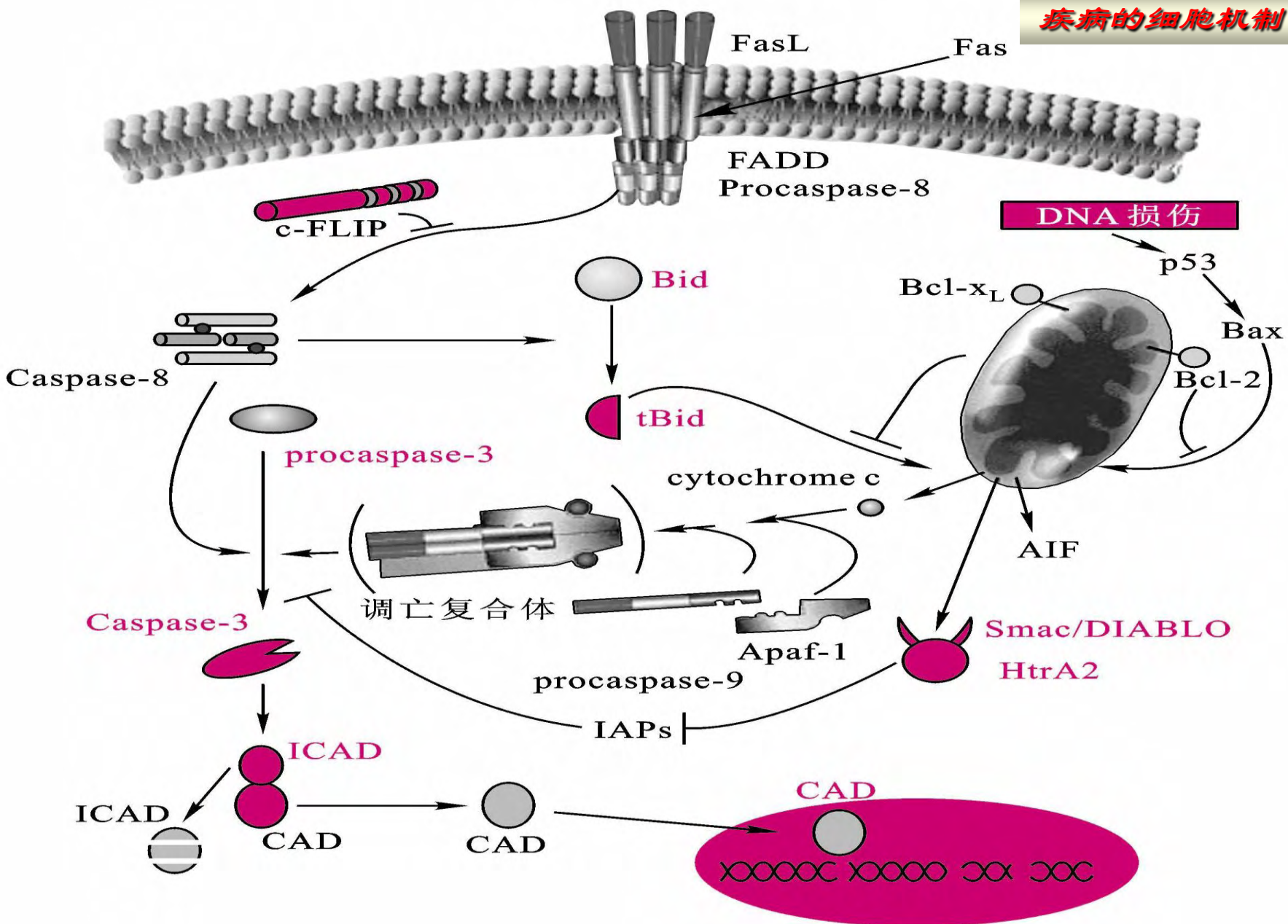
2. 线粒体途径（内通道）



PT, permeability transition; Apaf, 凋亡蛋白激活因子; AIF, 凋亡蛋白诱导因子; $\Delta\Psi_m$, 线粒体内膜跨膜电位

3. 活化caspase-3（共同通路）





(四) 凋亡相关因素 (Influencing factors of apoptosis)

诱导性因素 (Inducers)		抑制性因素 (Inhibitors)	
理化因素	射线、高温、强酸、 强碱、应激、抗癌药	细胞因子	IL-2、NGF等
激素和因子	糖皮质激素、TNF	激素	ACTH、睾丸酮、雌激素
病原体因素	HIV、HCV	其它	Zn ²⁺ 、苯巴比妥、半胱氨酸蛋白酶抑制剂、EBV、牛痘、病毒、中性氨基酸

（五）细胞凋亡的发生机制（Mechanism of cell apoptosis）

1. 氧化损伤

氧自由基破坏了机体正常的氧化/还原动态平衡，造成生物大分子的氧化损伤，形成严重的氧化应激状态。*各种氧化剂、缺氧等直接通过氧化损伤诱导细胞凋亡。*

【Mechanism】 激活p53基因、消耗ATP、生物膜脂质过氧化、激活核酸内切酶、活化TF等,启动细胞凋亡。

2. 钙超载

【Mechanism】 胞浆钙离子浓度上升，激活核酸内切酶、活化TF等,启动细胞凋亡。

3. 线粒体损伤



钙超载引起凋亡机制

TNF- α 、抗CD₃抗体、TCDD等胞浆[Ca²⁺] \uparrow

- 激活Ca²⁺/Mg²⁺依赖的核酸内切酶，降解DNA链；
- 激活谷氨酰胺转移酶，促使细胞骨架分子之间发生广泛交联，有利于凋亡小体形成；
- 激活核转录因子，加速细胞凋亡相关基因的转录；
- 在ATP参与下，暴露出核小体之间的连接区，有利于DNA内切酶切割DNA。

细胞凋亡



(六) 细胞凋亡的调控机制 (The regulation of cell apoptosis)

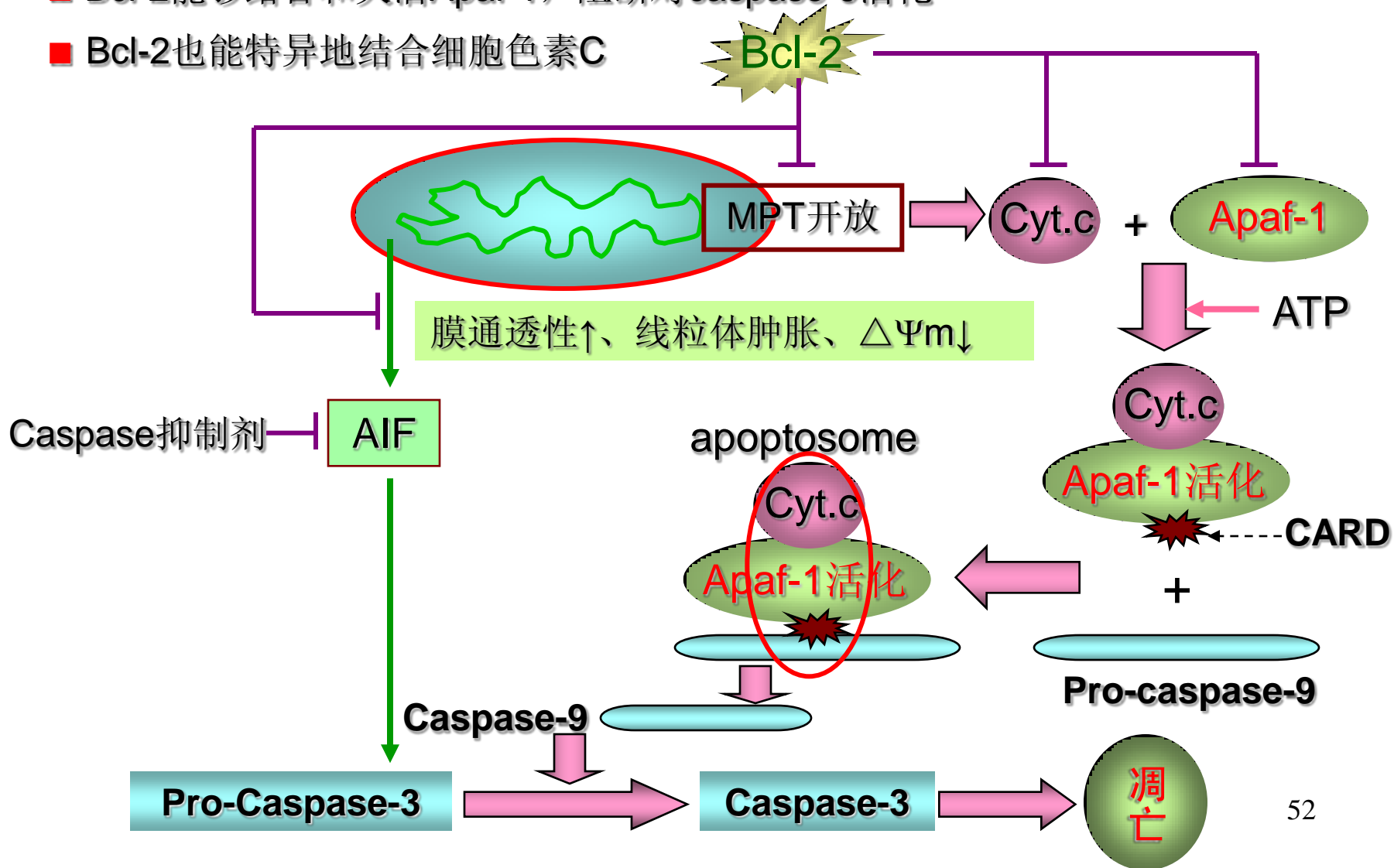
【调控基因】

表 细胞凋亡的调控基因

功能	基因
抑制凋亡基因	Bcl-2 Bcl-X _L 、A1/Bfl-1、Bcl-w、Bcl-G和Mcl-1等
促凋亡基因	P53、Bax、Bad、Bak、Bid、Bim、Bik、Bok、 Bcl-B、Bcl-Xs、Krk、Mtd、Nip3、Nix、Noxa等
双向调控基因	c-myc、Belx

1. bcl-2基因家族（癌基因）

- Bcl-2 (Bcl-X_L) 能够抑制线粒体MPT开放, Cyt.c、AIF释放↓
- Bcl-2能够结合和灭活Apaf-1, 阻断对caspase-9活化
- Bcl-2也能特异地结合细胞色素C



2. p53基因（抑癌基因）

p53基因是非常重要的促凋亡基因。

【促凋亡机制】

- P53通过与Bcl-2基因相互作用，下调Bcl-2的表达。
- P53诱导细胞凋亡的靶蛋白表达（线粒体和死亡受体介导）。
- P53诱导线粒体内凋亡的相关蛋白（Bax、NOXA、PUMA）表达，并触发细胞色素C释放和caspase活化。
- P53诱导死亡受体Fas表达。
- P53能使死亡受体再定位于细胞膜上。

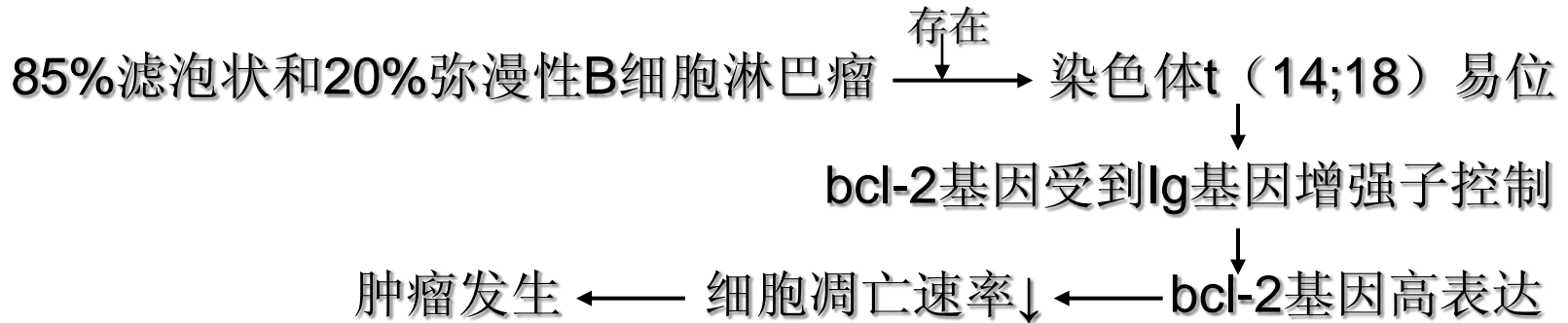
三、细胞凋亡异常与疾病（diseases associated with apoptosis dyeregulation）

表：与细胞凋亡异常相关的疾病

凋亡不足		凋亡过度	
肿瘤	肝癌、恶性血液肿瘤、乳腺癌、膀胱癌、肺癌、胶质瘤、前列腺癌等	发育异常	气管-食管瘘、房（室）间隙缺损、唇（腭）裂、短肢畸形、尿道下裂以及多囊肾等
发育异常	先天性消化道、胆道、肛门狭窄或闭锁、动脉导管未闭、两性畸形、甲状舌骨囊肿等	CNS	Alzheimer病、Parkinson 病、肌萎缩性侧索硬化症、色素性视网膜炎，脊肌肉萎缩、早老性痴呆
免疫系统	系统性红斑狼疮、糖尿病、类风湿性关节炎、桥本甲状腺炎、多发性的硬化症等	免疫系统	免疫缺陷病、AIDS

1. 细胞凋亡和肿瘤

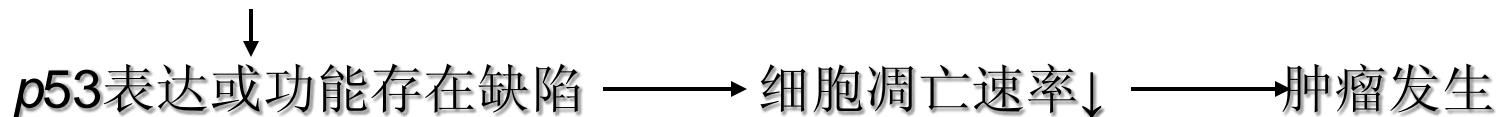
■ bcl-2基因过表达



(乳腺癌、肝癌、膀胱癌、肺癌、胶质瘤等也存在Bcl-2高水平表达)

■ p53基因缺失或突变

调节P53的稳定性、细胞内定位或(和)活性发生异常

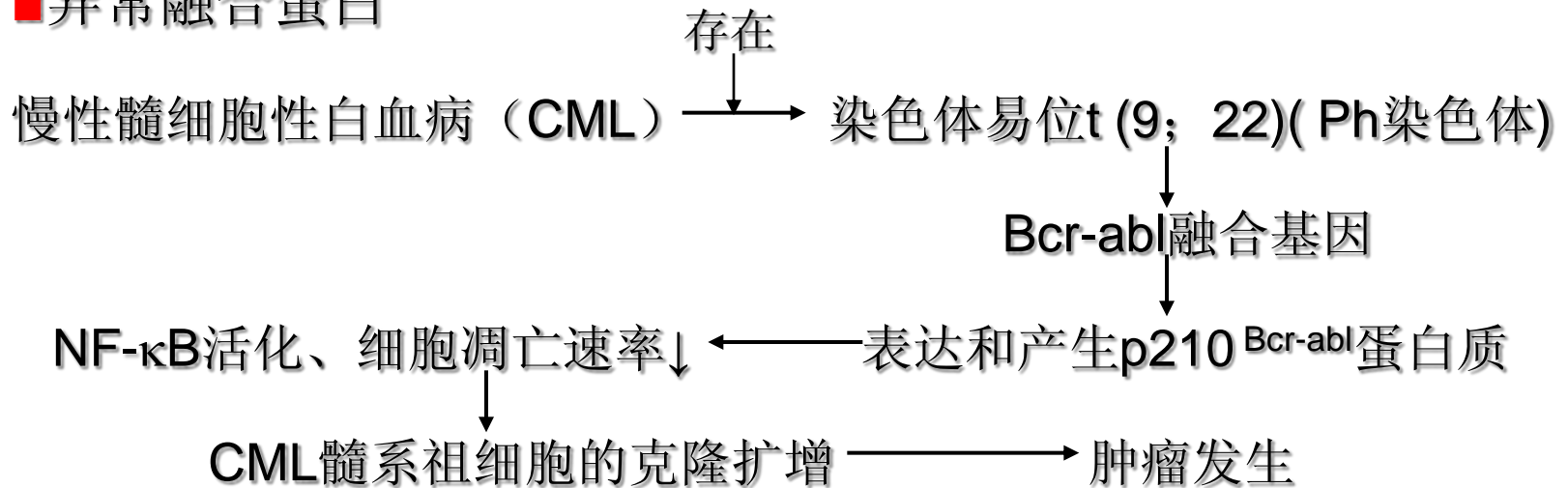


(50%以上恶性肿瘤中存在P53异常)

■病毒的癌基因

HBV编码的HB_x是Caspase-3的强效抑制物，与肝癌发生密切相关。

■异常融合蛋白



细胞凋亡抑制除了参与肿瘤的发病过程，也涉及癌细胞的转移发生。

四、细胞凋亡在疾病防治中的意义