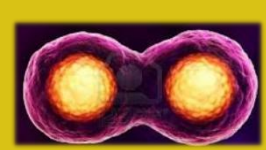


Chapter 7

细胞的增殖、 分化与凋亡

丁岩

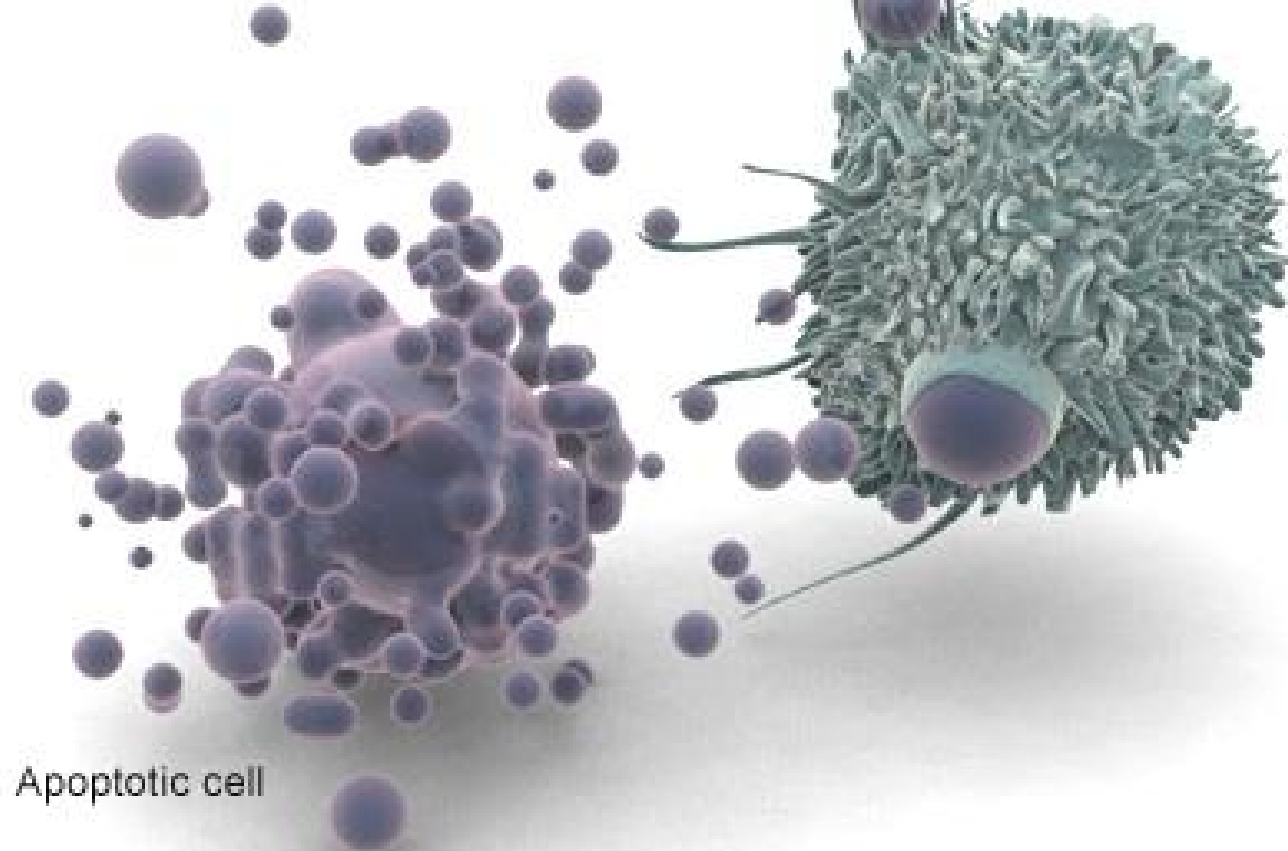




5. 细胞死亡

Final stage of apoptosis

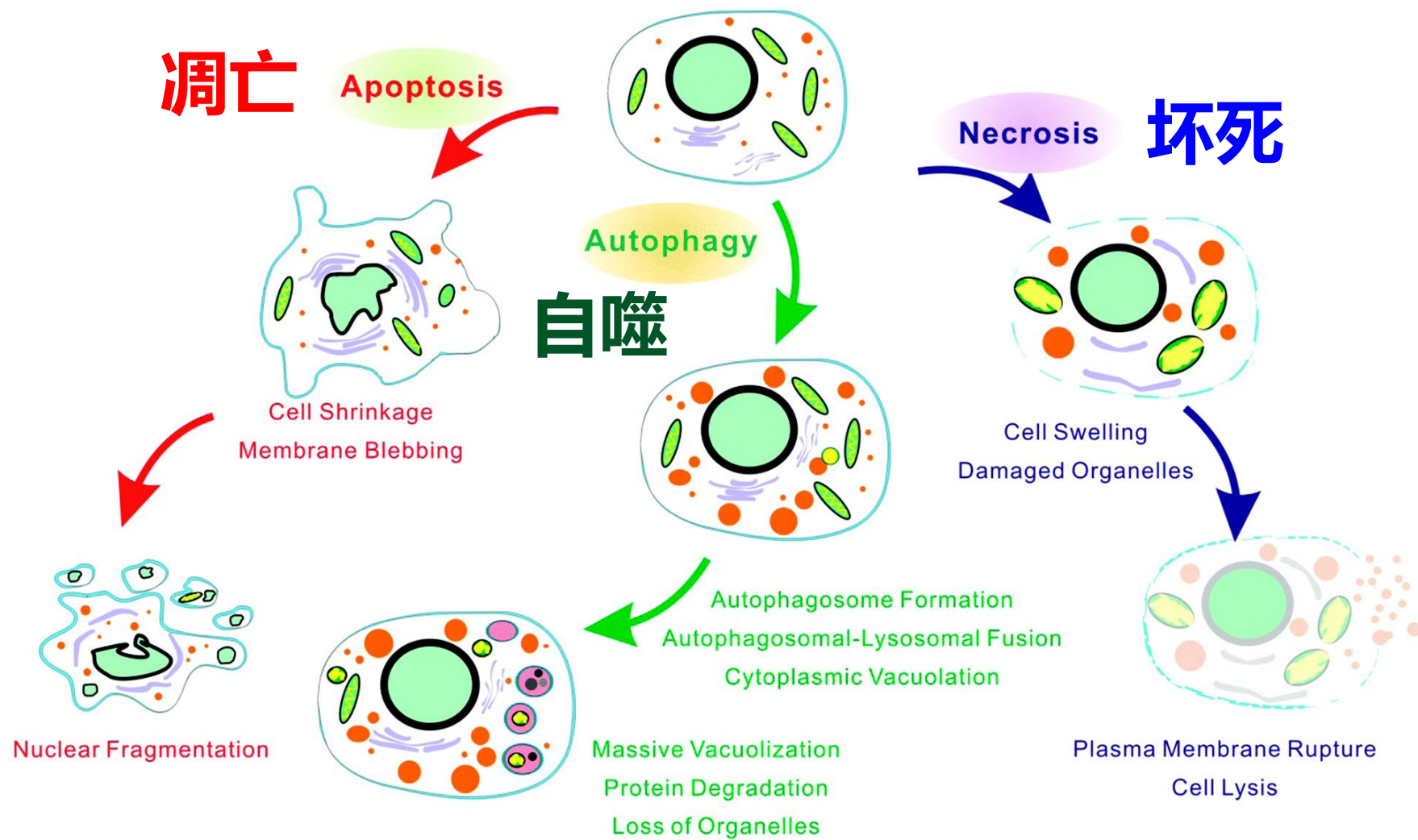
White blood cell

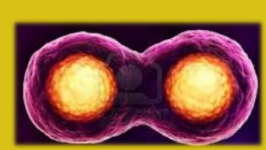


Apoptotic cell



5.1 细胞死亡的方式

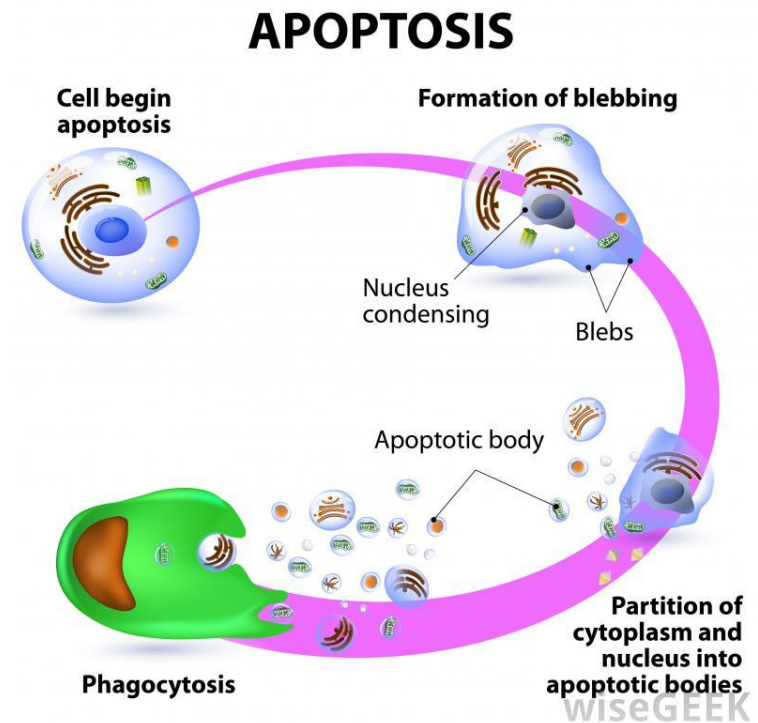
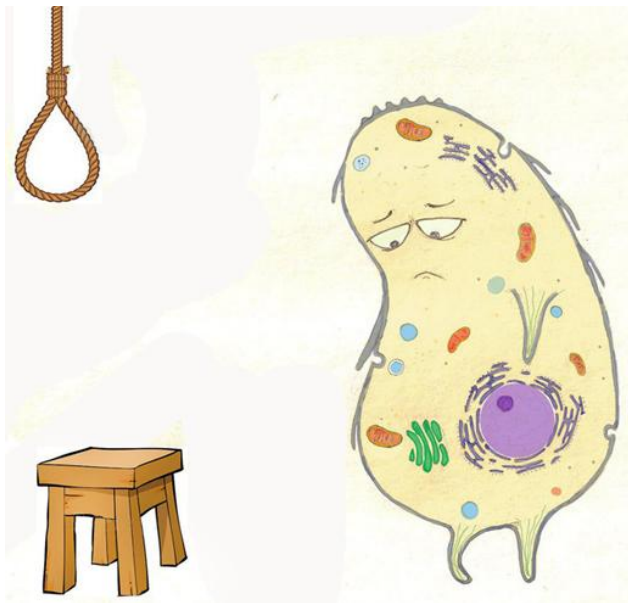




5.1.1 细胞凋亡 (Apoptosis)

❖ **细胞凋亡**是多细胞生物在发育过程中，一种由基因控制并受复杂信号调节的细胞自然死亡的现象，亦称程序性细胞死亡 (Programmed cell death)

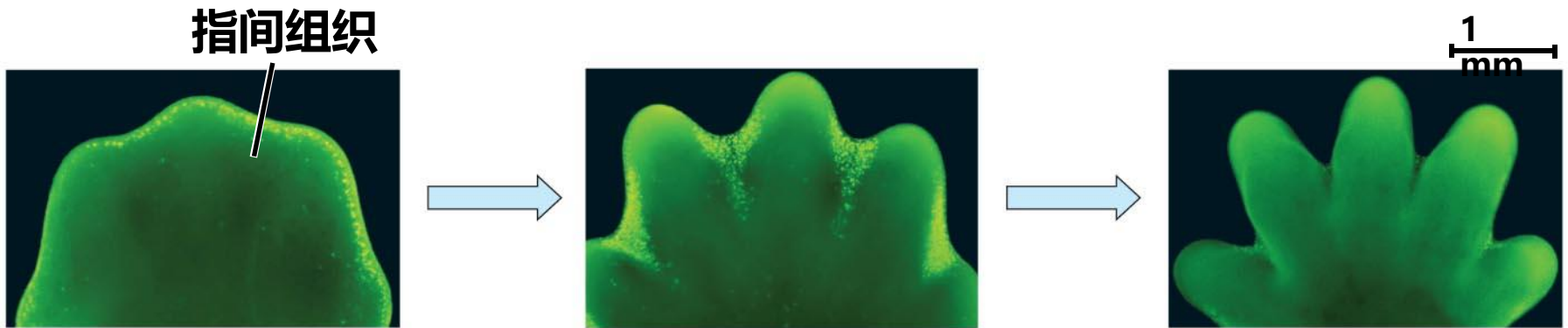
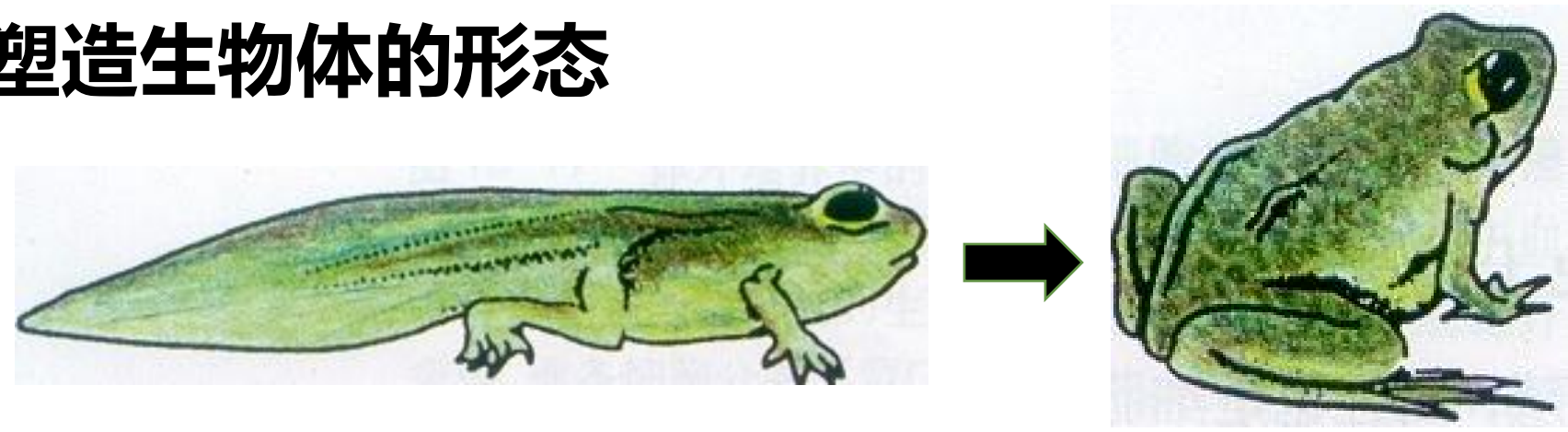
❖ 是细胞**主动的生理性自杀行为**





细胞凋亡的生物学功能

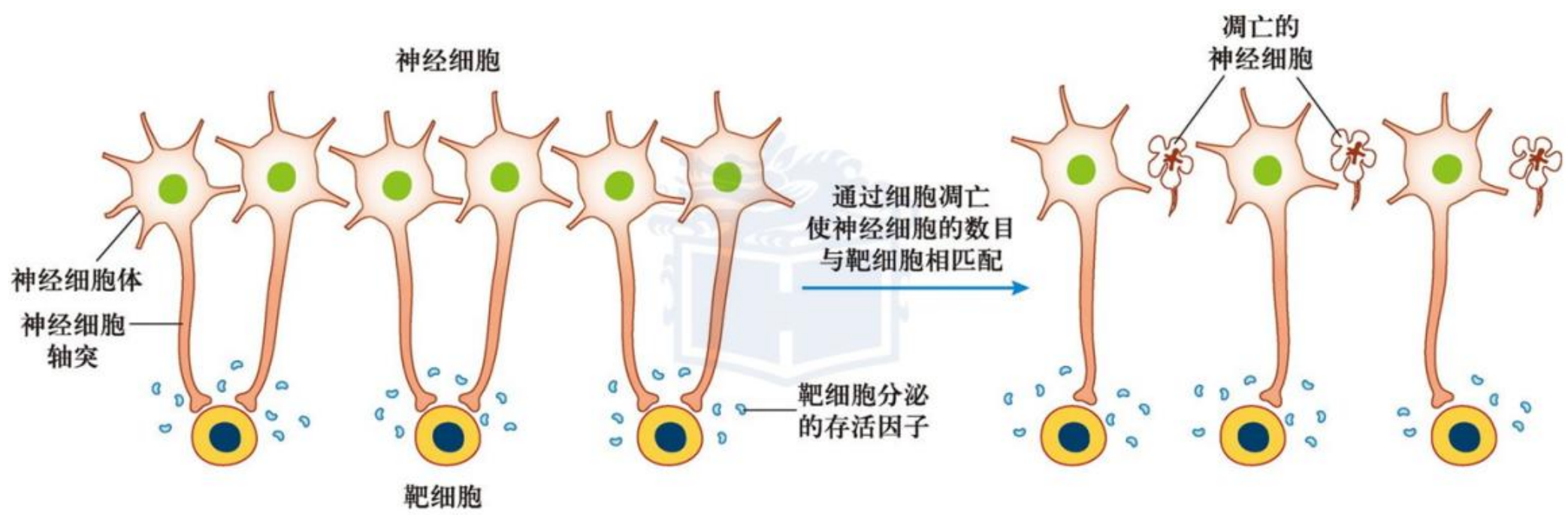
❖ 塑造生物体的形态

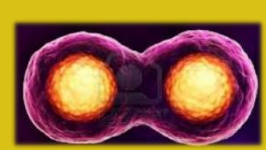


Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

细胞凋亡过程中的小鼠趾

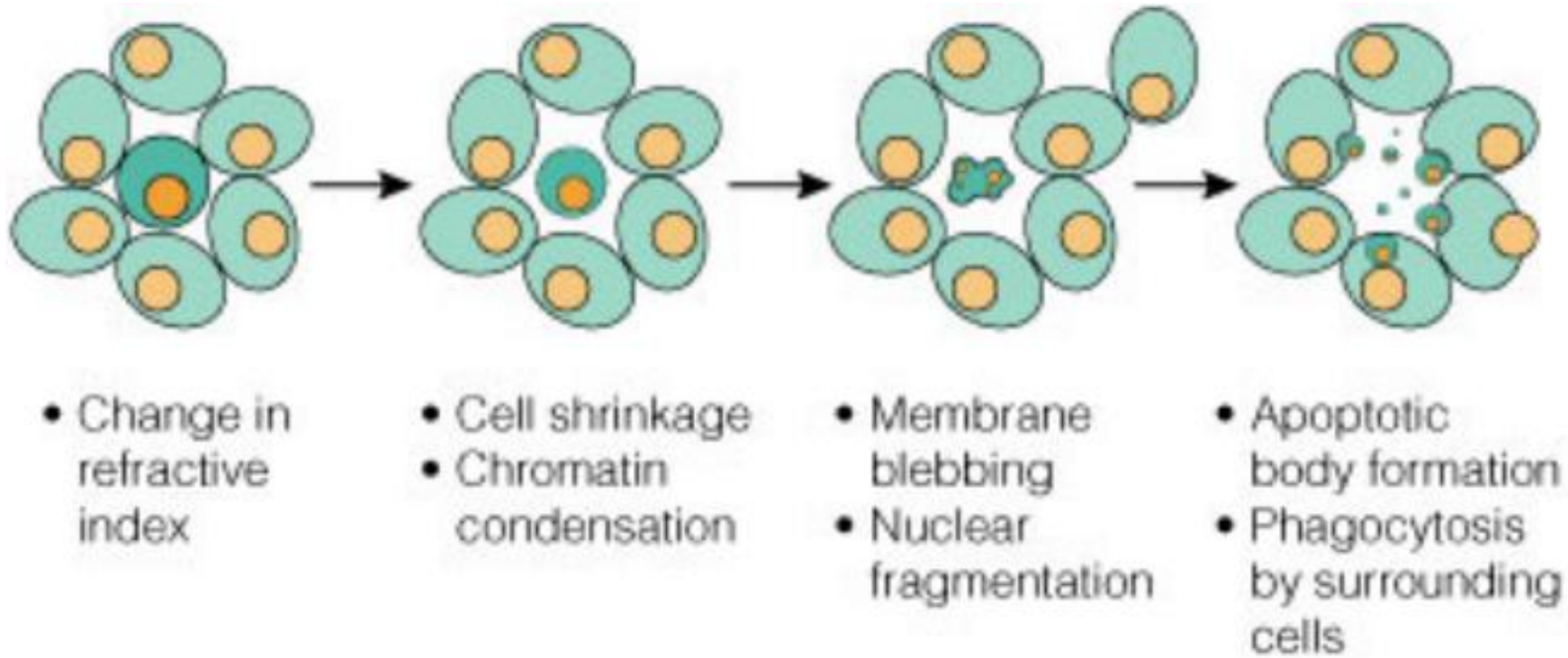
❖ 协调数量和功能

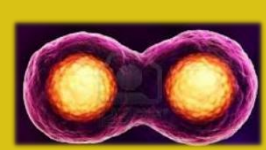




细胞凋亡的生物学功能

❖ 清除异常细胞，维持稳定





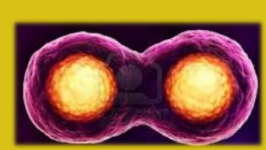
细胞凋亡与人类疾病

❖ 凋亡不足:

- 肿瘤
- 自身免疫性疾病（自身免疫性淋巴增生综合征）

❖ 过度凋亡:

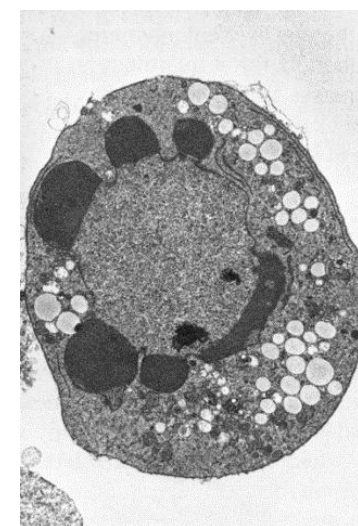
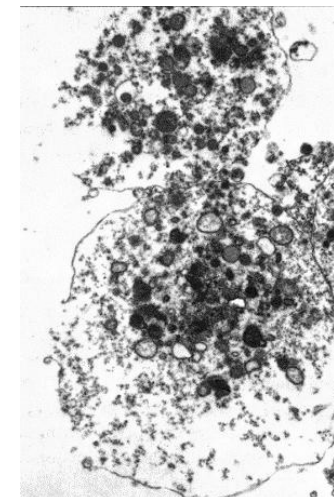
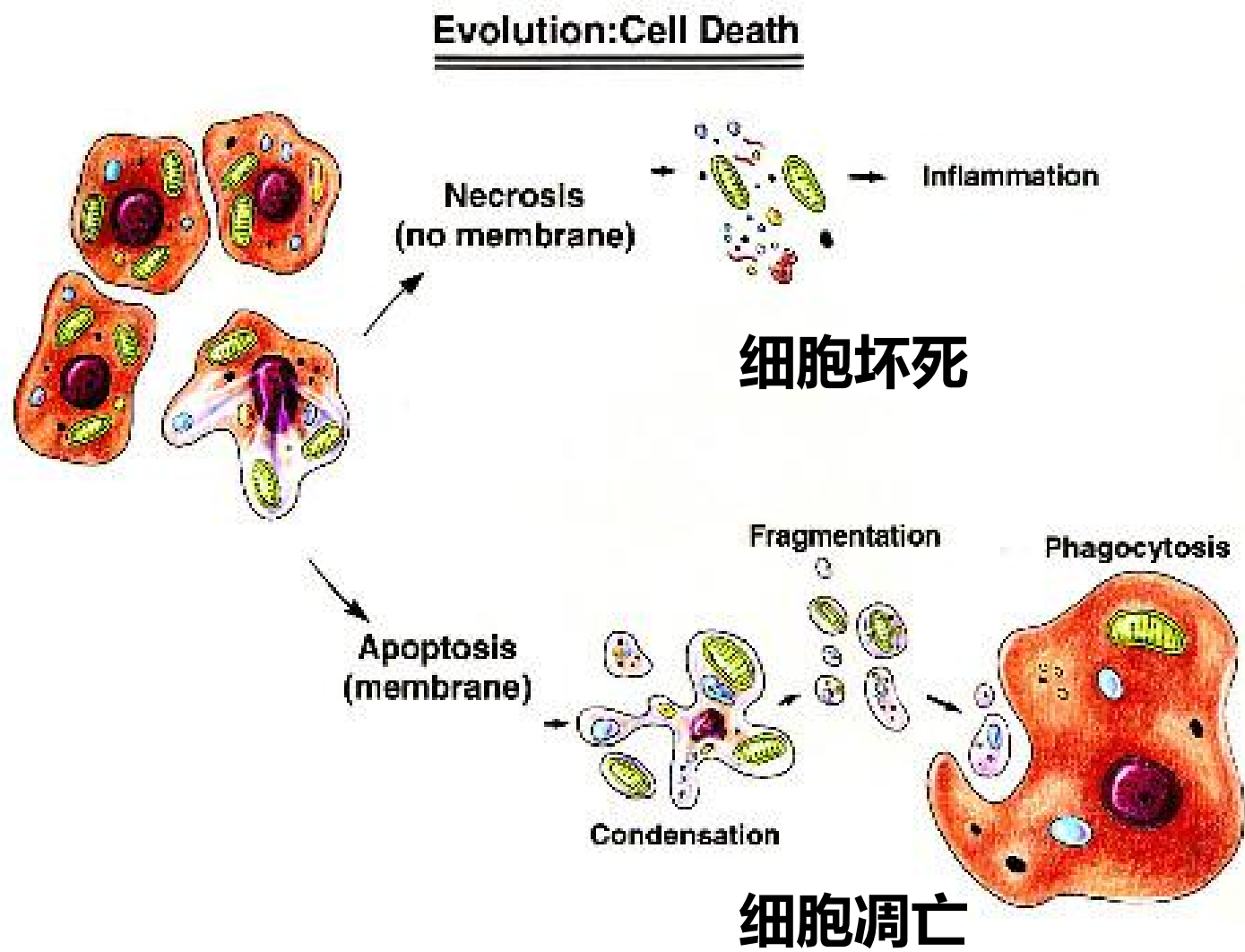
- 免疫功能丧失
- 引发炎症反应
- 神经退行性病变

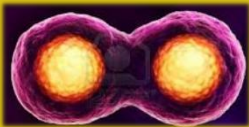


5.1.2 坏死 (necrosis)

- ❖ **细胞坏死**：当细胞受到严重突发损伤，如极端的物理化学因素或者病理性刺激，导致细胞死亡的病理过程。常表现为成群细胞的丢失或破坏，是**细胞被动死亡**的过程
- ❖ 细胞坏死主要是由于**细胞内ATP浓度下降**到无法维持细胞正常的结构和功能，细胞从内崩解并将破碎受损的细胞器和染色质片段释放到胞外，引发周围组织的炎症反应
- ❖ 是否伴随**炎症反应**是区别细胞坏死和细胞凋亡的重要标志

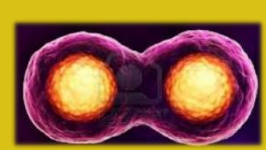
5.1.2 坏死 (necrosis)





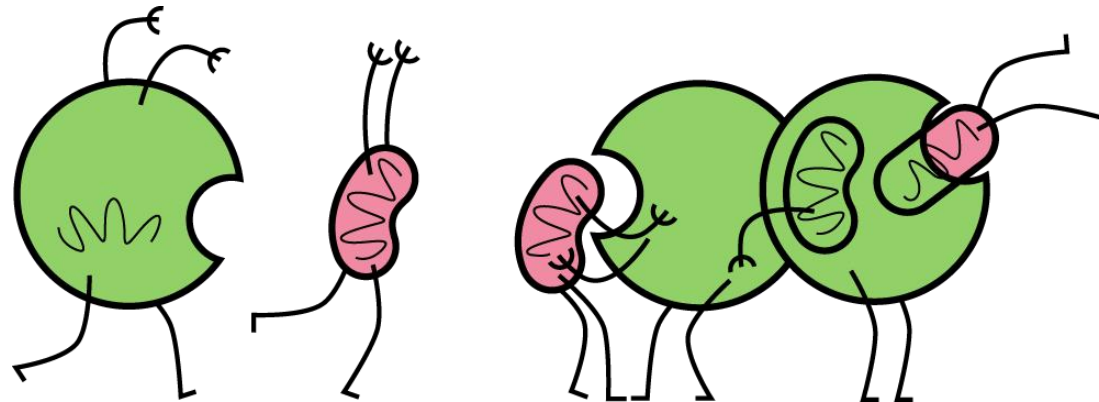
细胞凋亡和坏死的对比

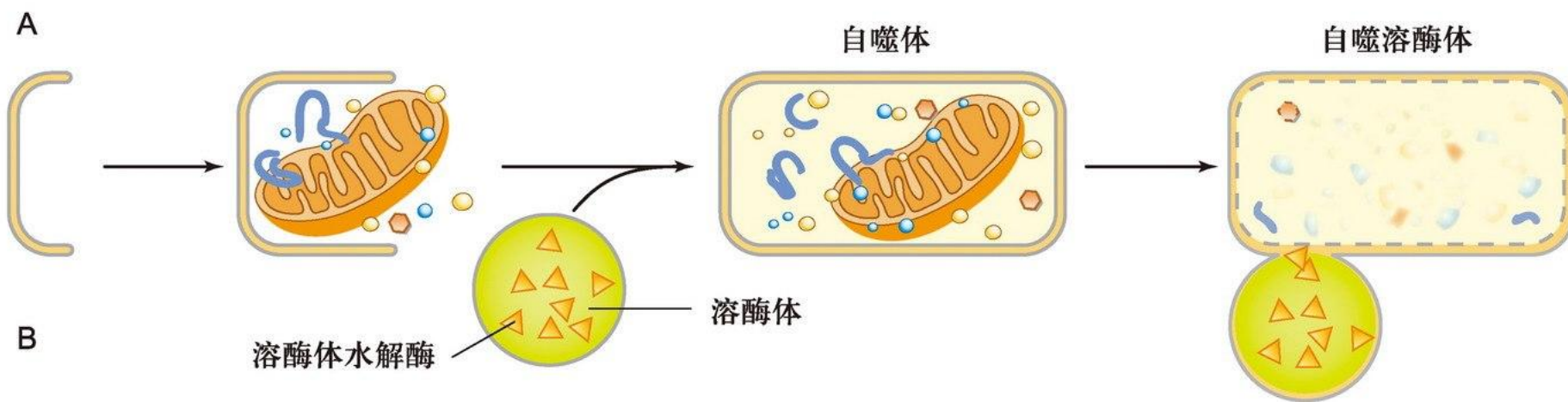
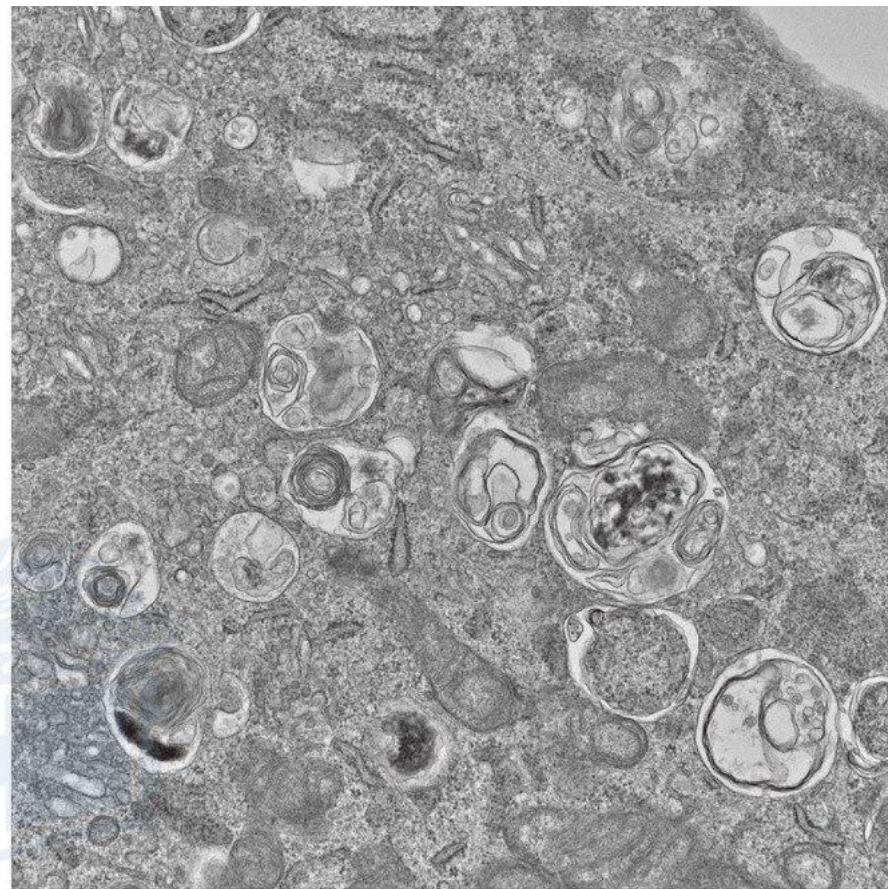
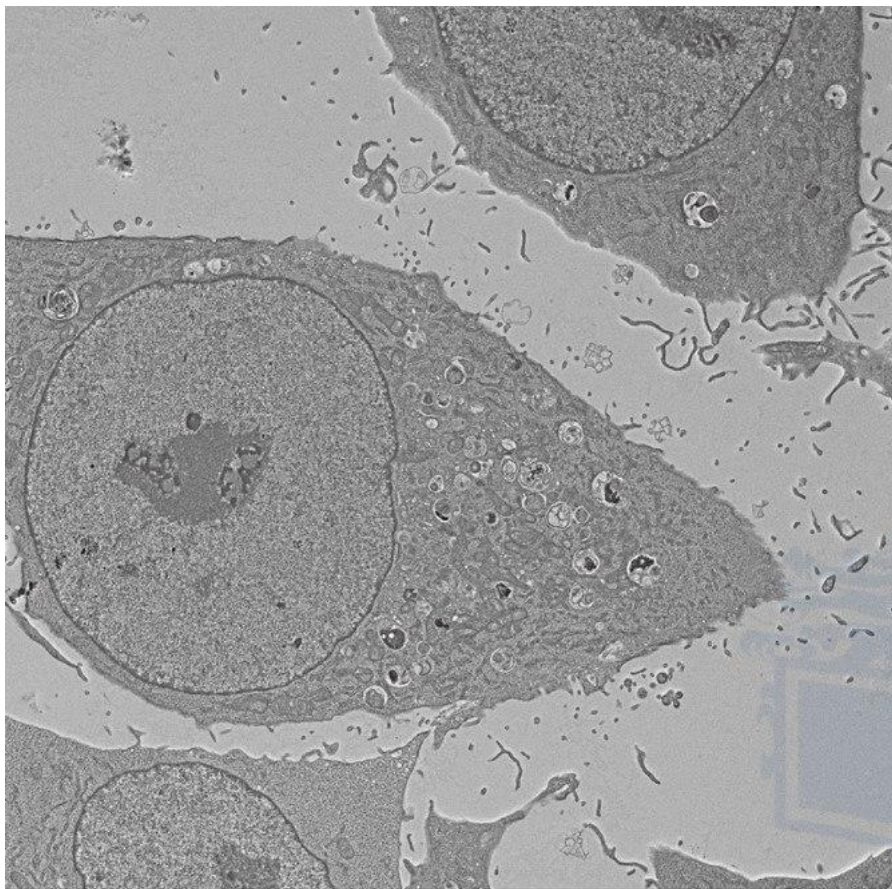
| 比较内容 | 细胞凋亡 | 细胞坏死 |
|---------|-------------|------------|
| 质膜 | 不破裂 | 破裂 |
| 细胞核 | 固缩，DNA片段化 | 弥漫性降解 |
| 细胞质 | 由质膜包围形成凋亡小体 | 溢出，细胞破裂成碎片 |
| 细胞质生化改变 | 溶酶体的酶增多 | 溶酶体解体 |
| 蛋白质合成 | 有 | 无 |
| 基因活动 | 有基因调控 | 无基因调控 |
| 自吞噬 | 常见 | 缺少 |
| 线粒体 | 自身吞噬 | 肿胀 |
| 诱发因素 | 生理性信号 | 强烈刺激信号 |
| 对个体影响 | 生长、发育、生存所必需 | 引起炎症 |

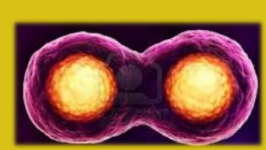


5.1.3 自噬性死亡 (autophagic death)

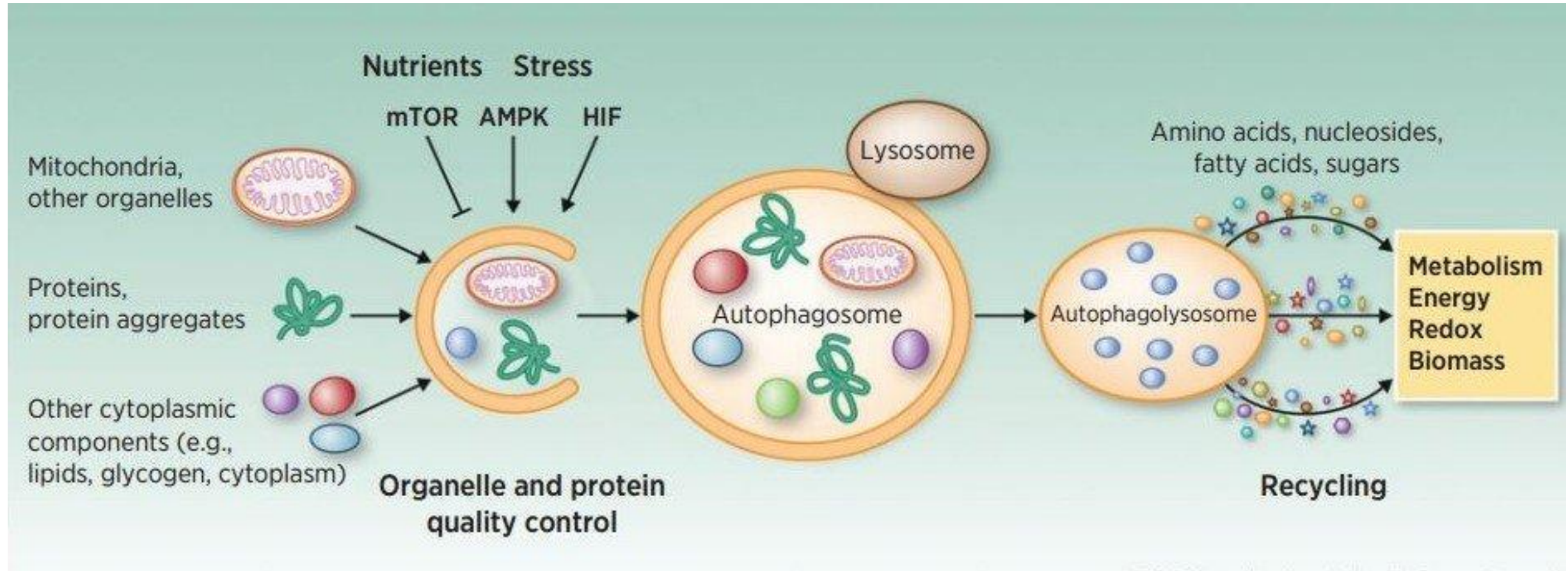
- ❖ **自噬性细胞死亡**：又叫做II型程序性细胞死亡，是指细胞利用溶酶体降解、选择性地清除自身受损、衰老的细胞器或过剩的生物大分子，释放出游离小分子供细胞回收利用的正常动态生命过程
- ❖ 是机体的一种自我保护机制

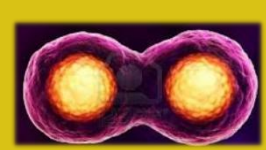






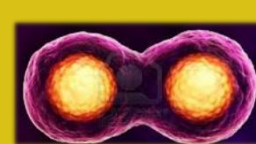
5.1.3 自噬性死亡 (autophagic death)





自噬的生物学意义

- ❖ **应激功能：**是细胞在饥饿条件的一种存活机制
- ❖ **防御功能：**当细胞受到致病性微生物感染时，可起到防御作用
- ❖ **维持细胞稳态：**在骨骼肌和心肌可帮助细胞浆成分进行更新
- ❖ **延长寿命：**如果细胞自噬受损、衰竭，细胞损伤就会堆积、累加，产生老化，因此有助于延长寿命
- ❖ **控制细胞死亡，**自噬受到抑制可能会导致恶性肿瘤



5.2 凋亡的形态学改变和生理生化特征

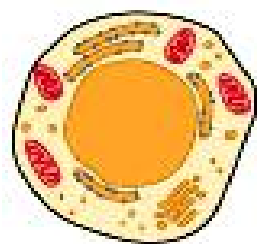
- 内质网肿胀、积液形成液泡
- 染色质固缩，凝集成颗粒状、新月状，沿核膜分布

- 染色质片段化，与细胞器聚集在一起被内陷的细胞膜包裹，形成凋亡小体

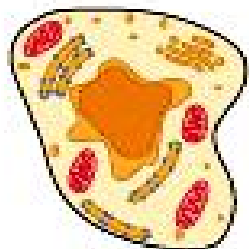
- 凋亡小体被临近吞噬细胞吞噬，在溶酶体中被消化分解

吞噬细胞

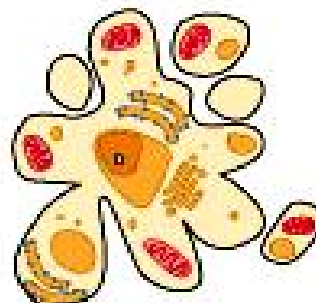
凋亡小体



正常细胞



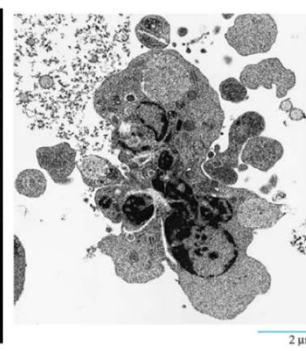
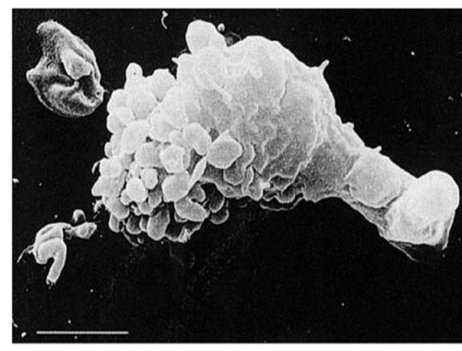
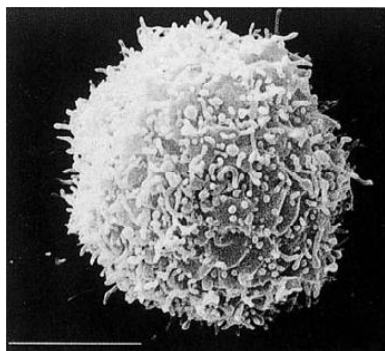
凋亡起始



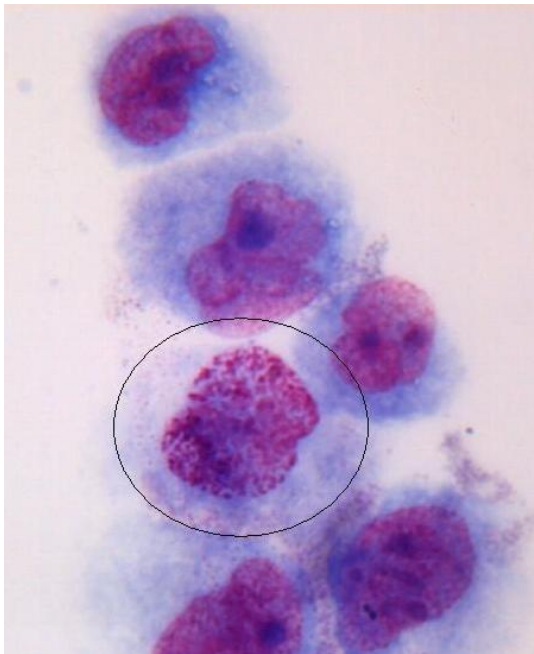
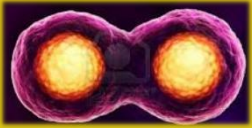
凋亡小体形成



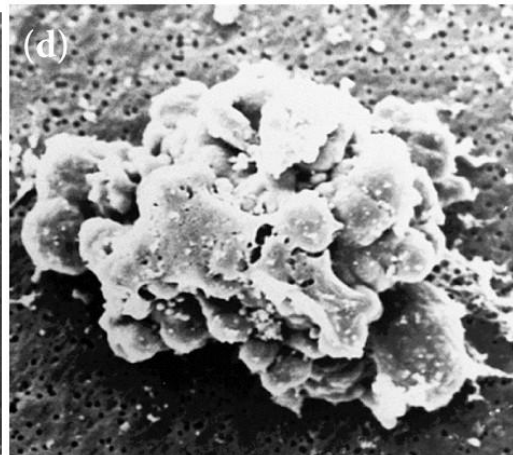
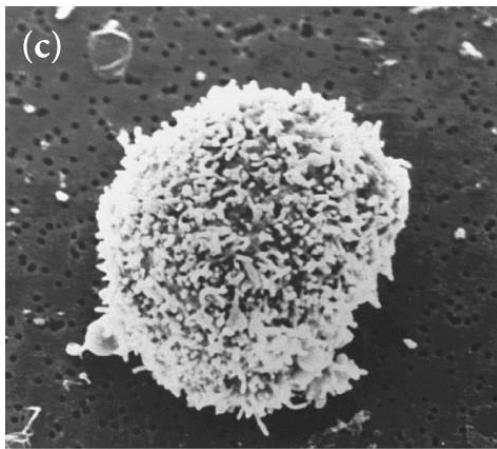
吞噬



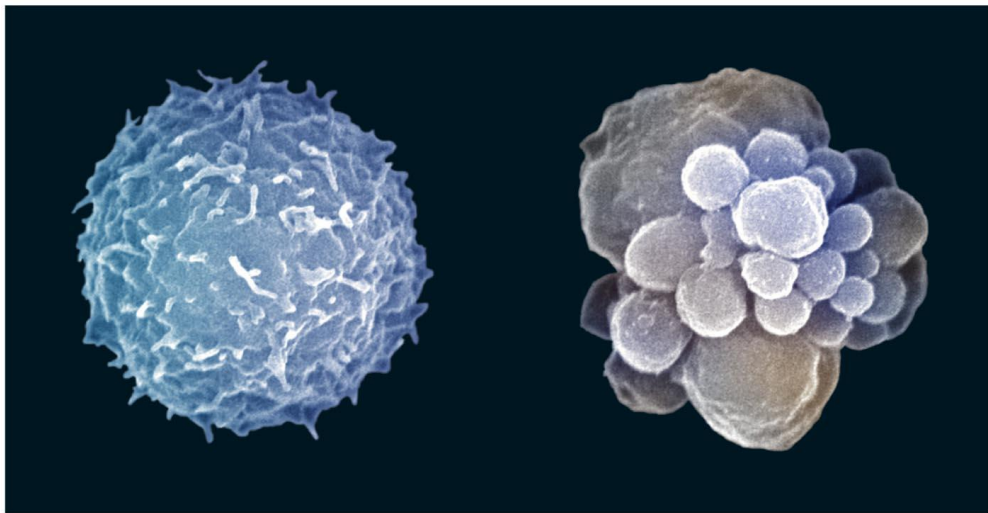
细胞凋亡的形态学变化



胸腺细胞的凋亡

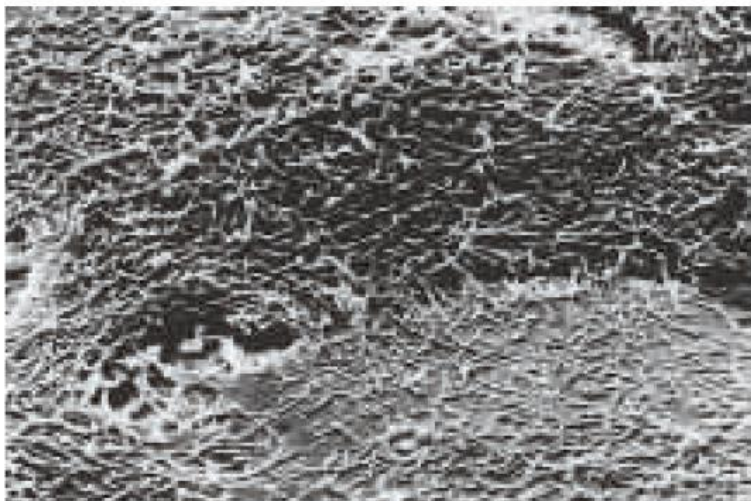


正常肝细胞(c)和凋亡肝细胞(d)

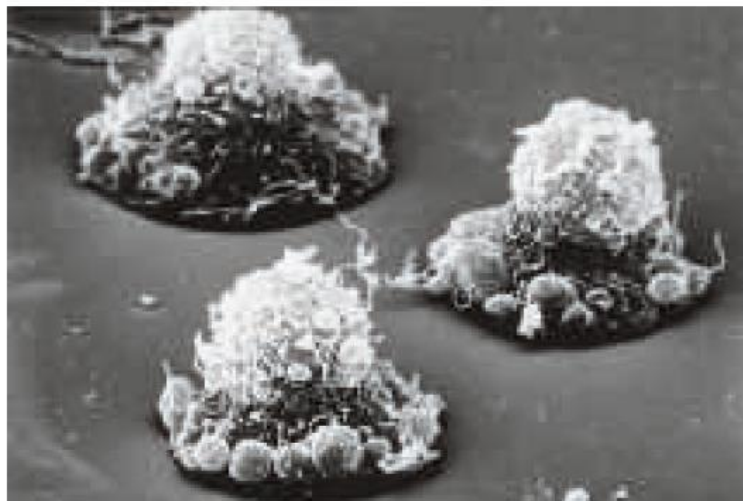


正常白细胞及凋亡白细胞

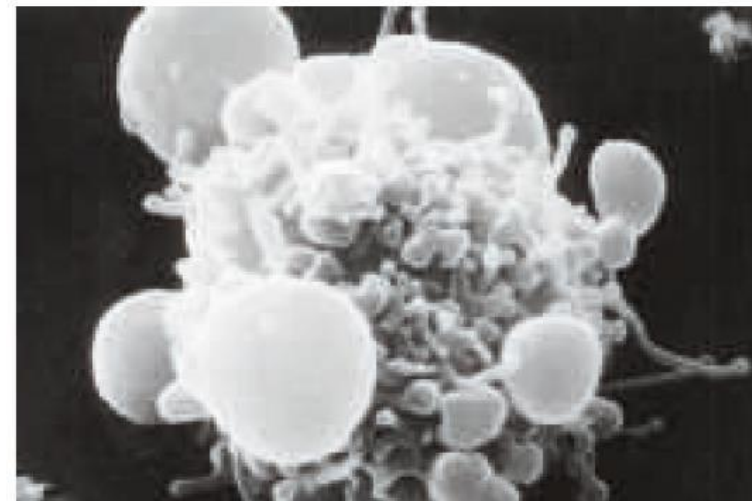
• 扫描电镜



(b) 在体外培养中相互接触的上皮细胞，贴附于培养皿表面

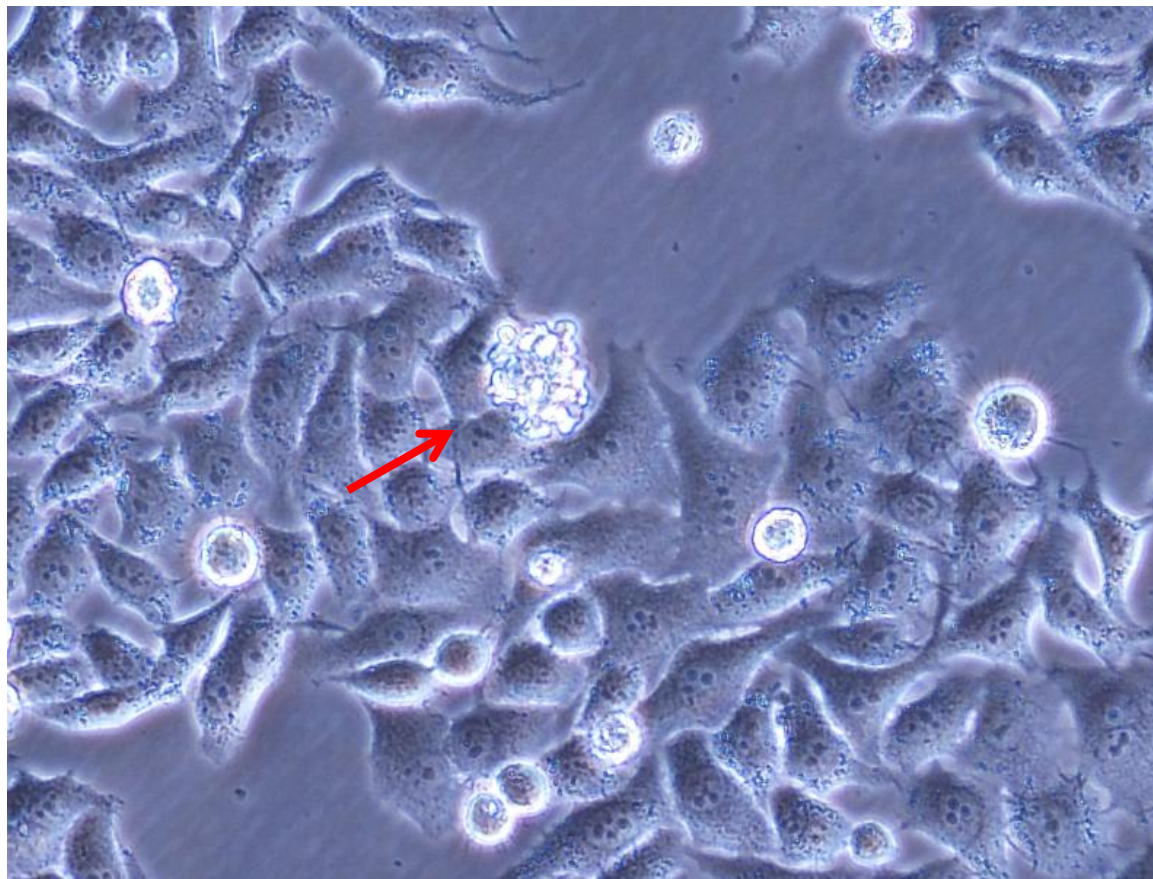


(c) 随着细胞凋亡的发生，细胞变圆，彼此之间的联系消失，形成小泡。



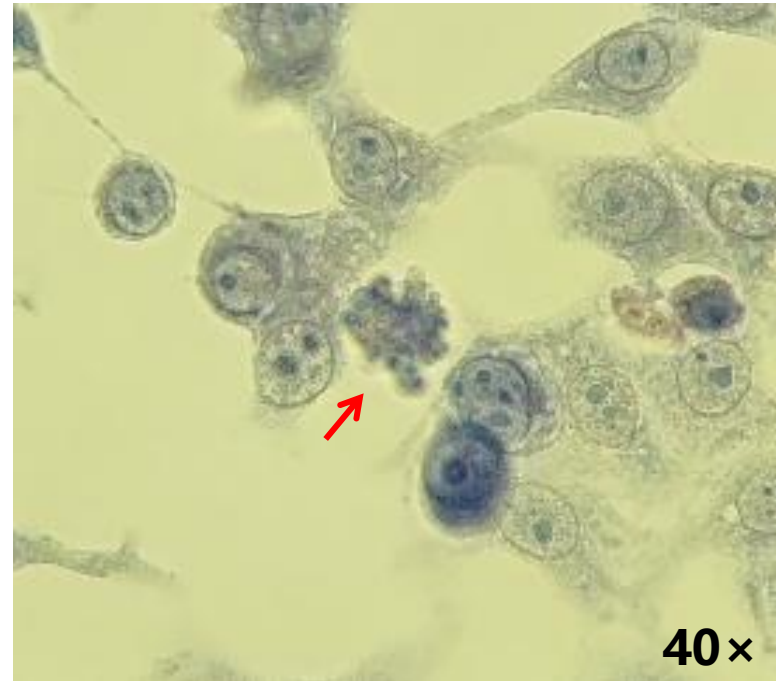
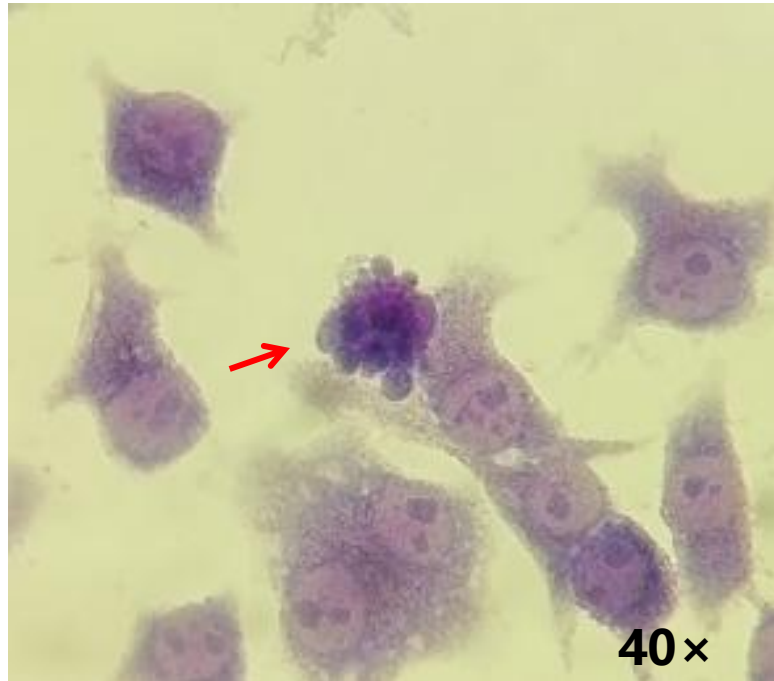
(d) 有许多凋亡小体的单个死细胞

- 倒置相差显微镜

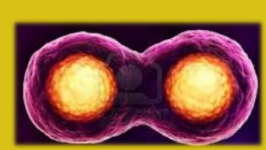


**正常培养Hep2细胞
(箭头所示为凋亡细胞)**

- 普通光学显微镜



诱导凋亡的Hep2细胞示凋亡小体（Giemsa染色）



5.3 凋亡的检测手段

A. 形态学染色法:

凋亡细胞的染色质浓缩、边缘化，核膜裂解、染色质分割成块状和凋亡小体等典型的凋亡形态。

- 1、HE染色、Giemsa染色，光镜观察：凋亡细胞呈圆形，胞核深染，胞质浓缩，染色质成团块状，细胞表面有“出芽”现象。

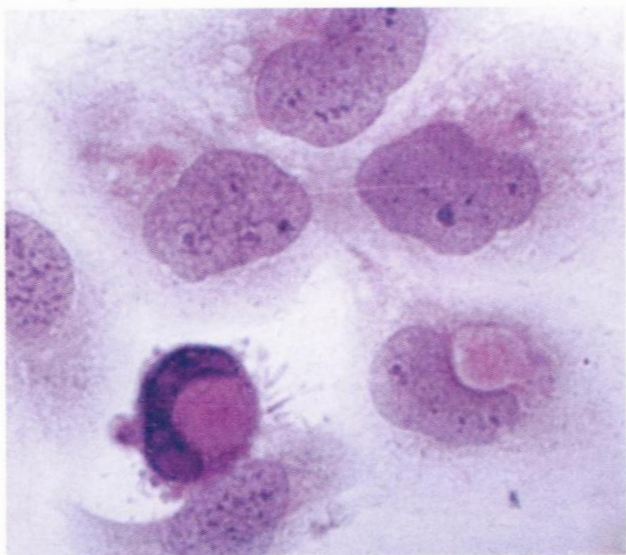


图 13-1 凋亡细胞染色质新月形边集现象（油镜）
体外培养的人肝癌细胞（HE 染色）

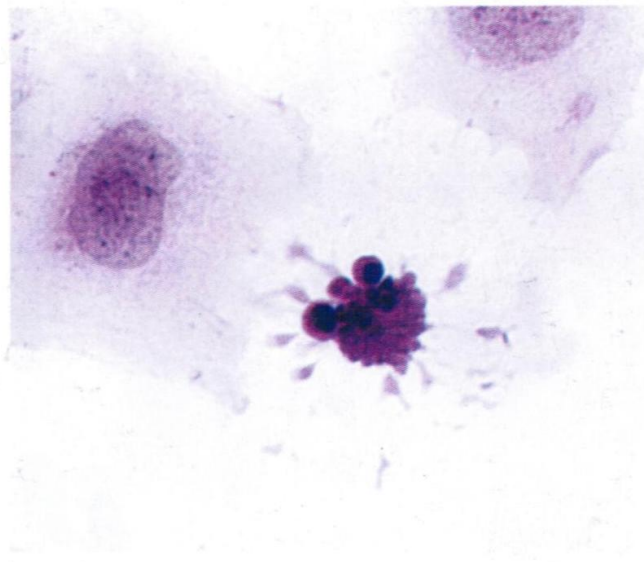
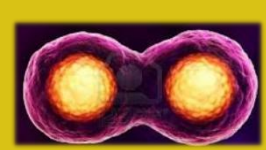


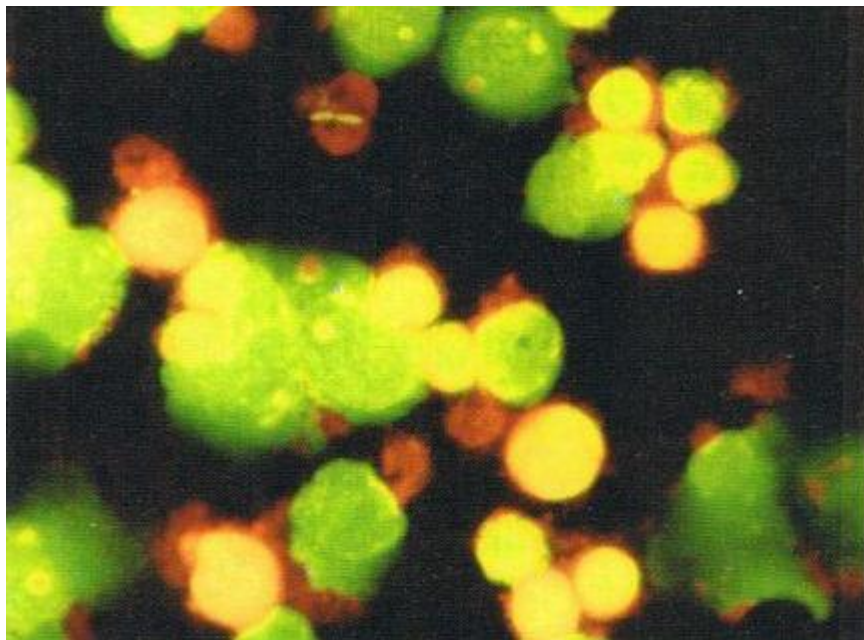
图 13-2 凋亡小体（油镜）
体外培养的人肝癌细胞（HE 染色）

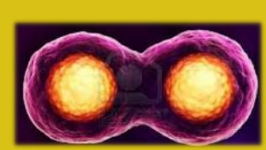


5.3 凋亡的检测手段

A. 形态学染色法:

- 2、丫啶橙 (AO) 染色，荧光显微镜观察：活细胞核呈黄绿色荧光，胞质呈红色荧光。凋亡细胞核染色质呈黄绿色浓聚在核膜内侧，可见细胞膜呈泡状膨出及凋亡小体。





5.3 凋亡的检测手段

A. 形态学染色法：

3、台盼蓝染色：鉴别活细胞和坏死细胞

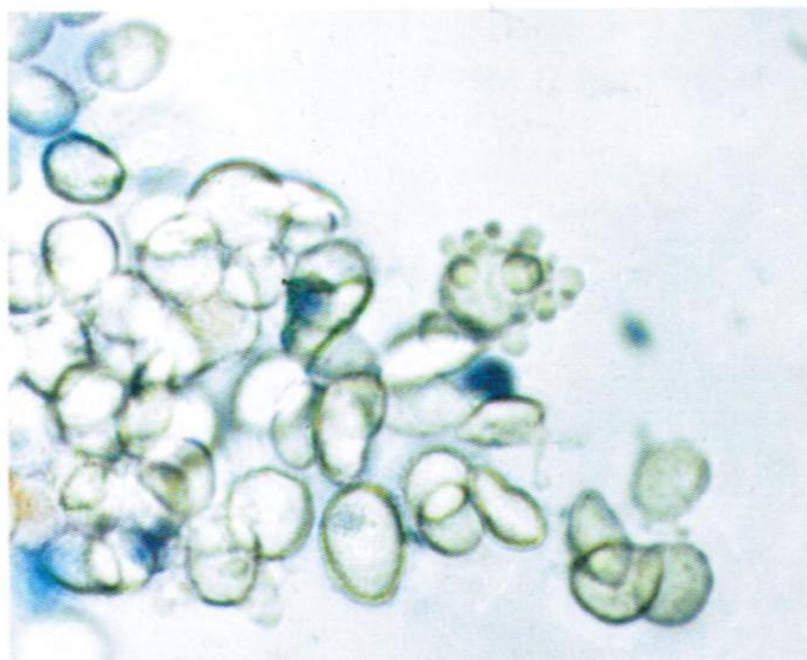
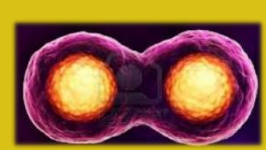


图 13-5 凋亡细胞（不着色的带多个泡状凋亡小体的细胞）（高倍）

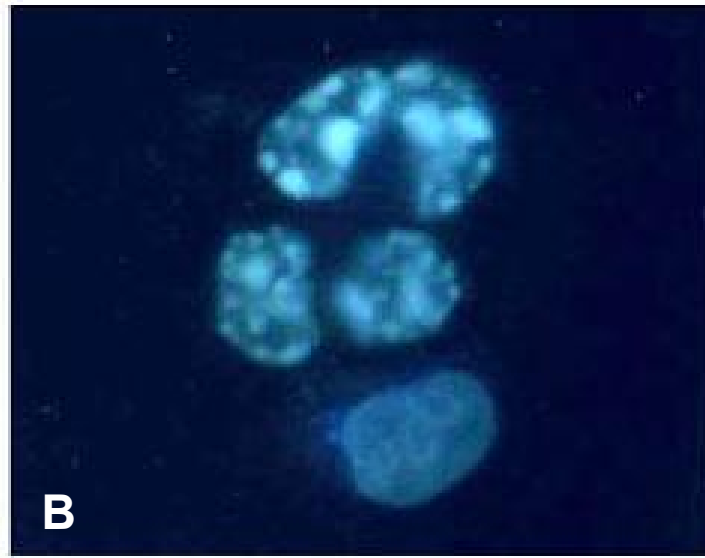
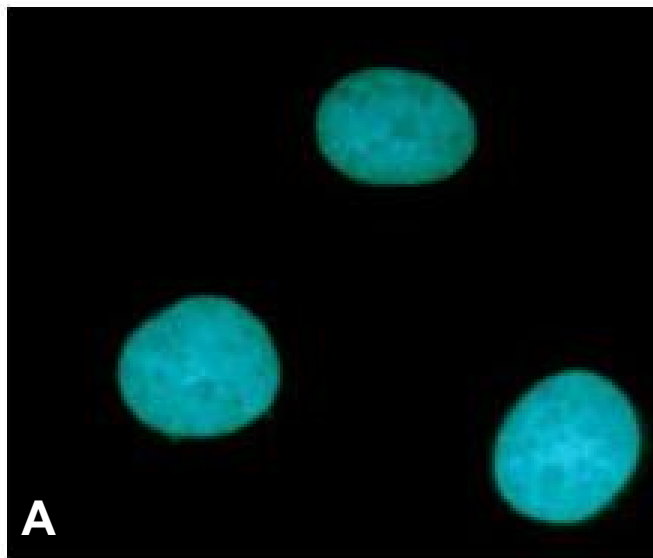
体外培养的人肝癌细胞悬液（台盼蓝染色）



5.3 凋亡的检测手段

A. 形态学染色法:

4、DAPI染色: 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI), 是常用的一种与DNA结合的荧光染料

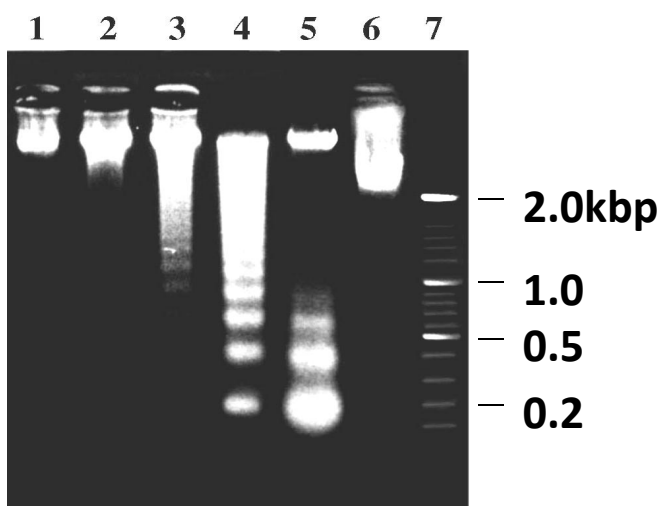
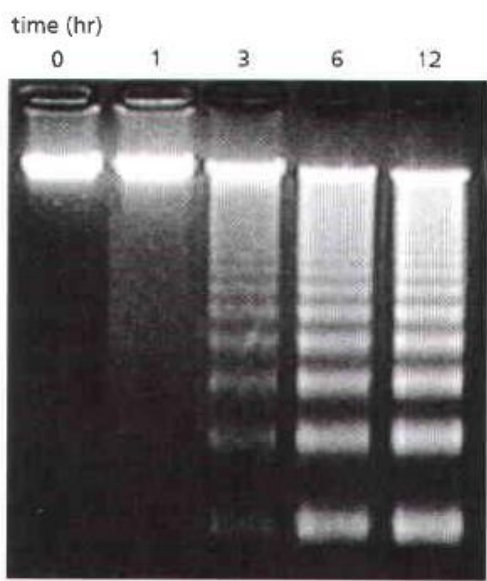


DAPI 染色显示凋亡细胞的染色质凝集

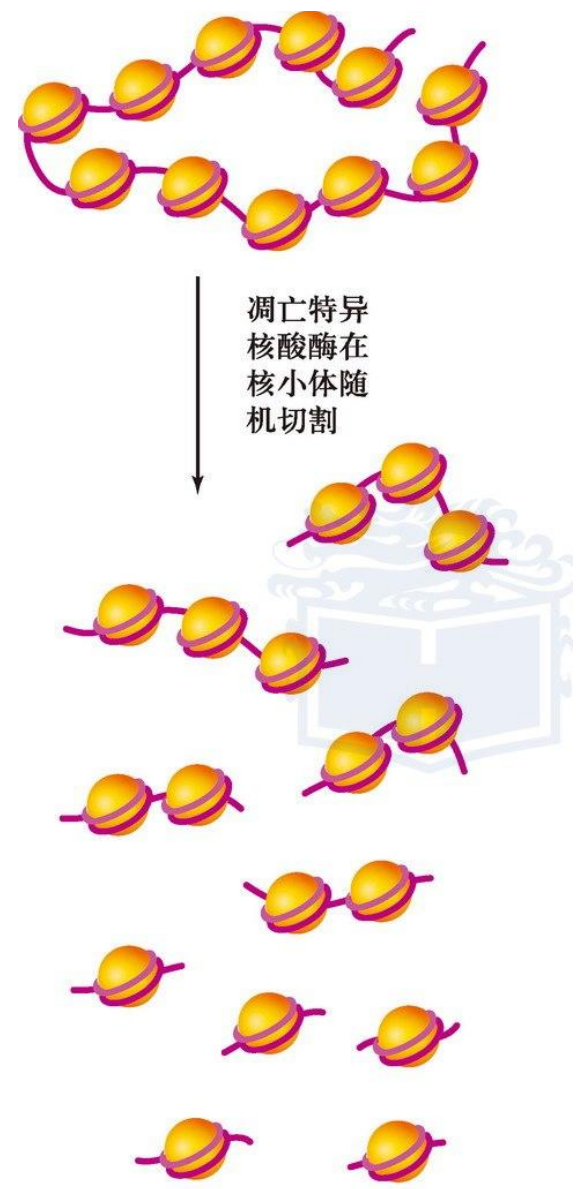
A. 正常细胞核; B. 凋亡细胞核。

B. DNA 电泳

- 凋亡细胞DNA断裂点均有规律的发生在核小体之间，出现180 - 200bpDNA片断
- 坏死细胞的DNA断裂点为无特征的杂乱片断



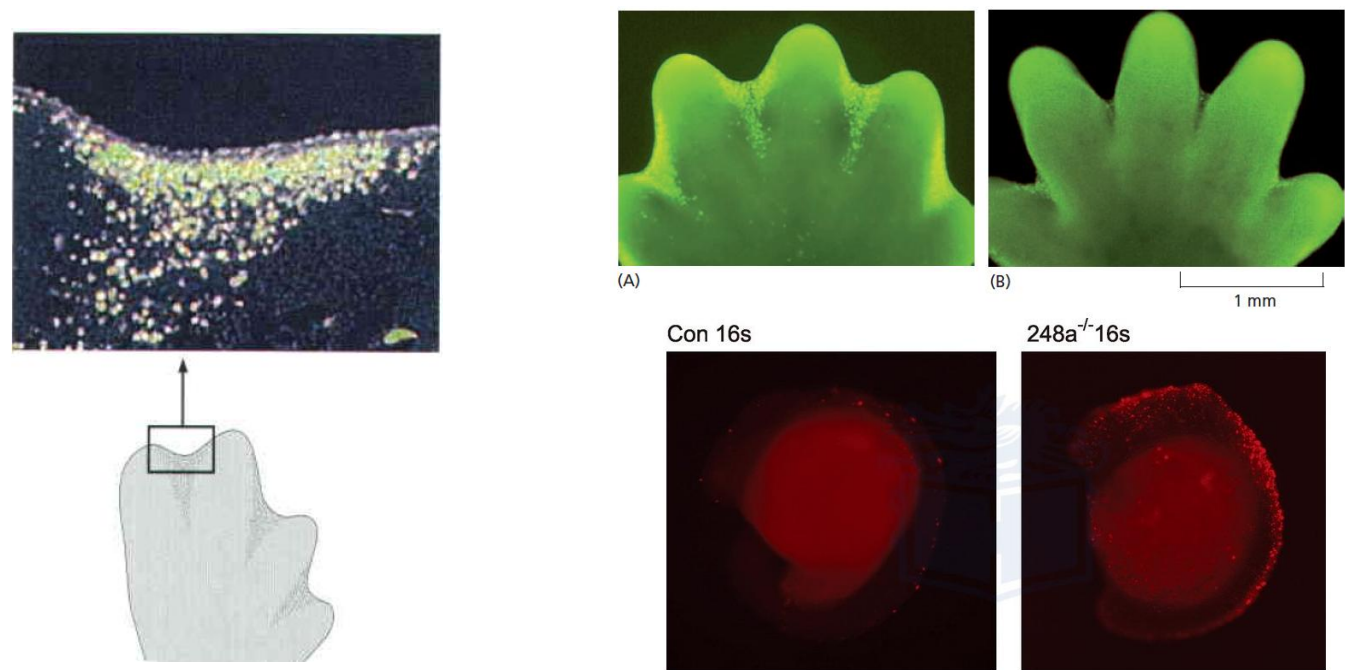
细胞色素C作用时间：
1. 0 h; 2. 1 h; 3. 2 h; 4. 3 h;
5. 4 h; 6. Control; 7. Marker

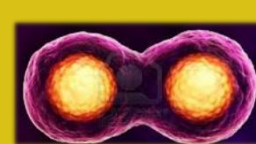


C. DNA 断裂的原位末端标记法

转移酶介导的dUTP缺口末端标记测定法（TUNEL）

是指在细胞（或组织）结构保持不变的情况下，用荧光素、地高辛或生物素标记的脱氧尿嘧啶三磷酸（dUTP）和末端脱氧核苷酸转移酶（TdT）相反应与凋亡细胞裂解后3'羟基（3'-OH）端结合，经显色反应后检测DNA裂解点的技术。

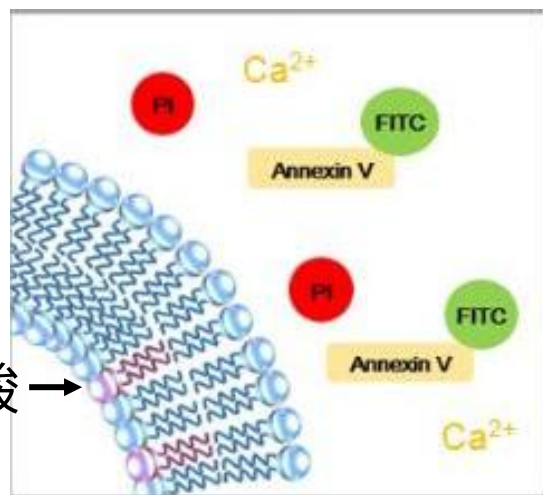




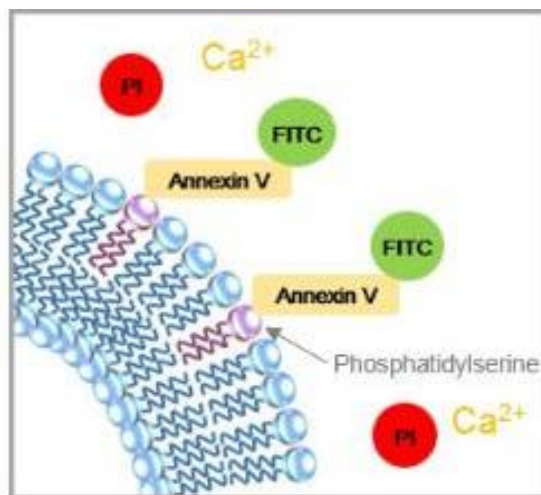
5.3 凋亡的检测手段

D. 流式细胞仪

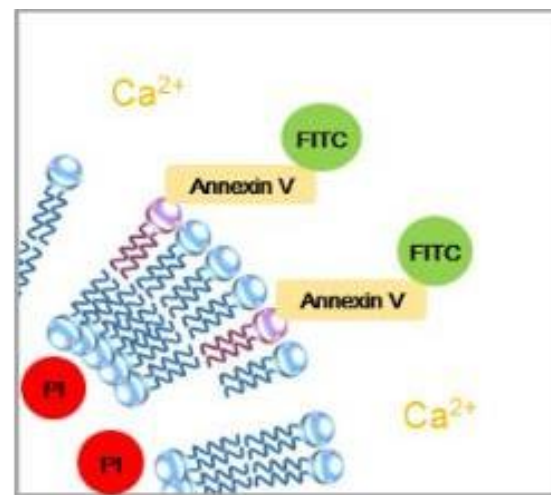
磷脂酰丝氨酸 →



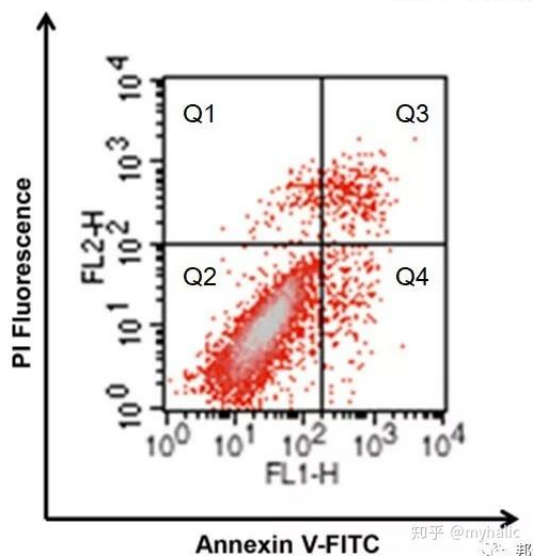
mal Cell



Early stages of apoptosis



Late stages of apoptosis



Q1: 左上象限, 为 (Annexin V-/PI+), 可能是已经没有细胞膜的细胞碎片, 或者其他原因导致的死亡细胞;

Q2: 左下象限, 为正常 (活) 细胞 (Annexin V-/PI-);

Q3: 右上象限, 为晚期凋亡细胞 (Annexin V+/PI+);

Q4: 右下象限, 为早期凋亡细胞 (Annexin V+/PI-)。



小结

- ❖ **掌握细胞的三种死亡方式**
- ❖ **掌握细胞凋亡与细胞坏死的区别**
- ❖ **掌握细胞凋亡的形态学和生化特征**

第三部分 第3次作业

- 1. 对比细胞有丝分裂和减数分裂的不同点。**
 - 2. 对比细胞凋亡和细胞坏死的不同点。**
- 截止日期：2022 年 12月 11 日 11:59 p.m.**

期末考试时间:

15周

题型:

一、单项选择 ($1\text{分} \times 12 = 12\text{分}$)

二、名词解释 ($2\text{分} \times 12 = 24\text{分}$)

三、填空 ($0.5\text{分} \times 30\text{空} = 15\text{分}$)

四、简答 ($5\text{分} \times 5 = 25\text{分}$)

五、论述 ($8\text{分} \times 3 = 24\text{分}$)