
第十五章

细胞衰老与细胞死亡

cell senescence
and apoptosis

第一节 细胞衰老 cell senescence

- 一、细胞衰老的概念
- 二、细胞衰老的表现
- 三、细胞衰老的学说和机制

一、细胞衰老的概念

■ 概念*：

正常条件下发生的细胞的生理功能和增殖能力减弱，以及细胞形态结构发生改变并趋向于死亡的现象，又称老化。

■ 细胞衰老是机体衰老和老年病发病的基础

（一）细胞衰老与机体衰老

■ 机体衰老：

指绝大多数生物性成熟以后，机体**形态结构和生理功能逐渐退化或老化**的过程，是一个受发育程序、环境因子等多种因素控制的、不可逆的生物学现象。

- **细胞衰老与机体衰老既有区别又有联系：**

- **区别：**

- 机体的衰老与动物的寿命密切相关；

- 个别细胞，甚至机体局部许多**细胞的衰老死亡并不影响机体的寿命。**

- 机体衰老并不代表所有细胞的衰老

- **联系：**

- 机体衰老以细胞总体的衰老为基础

(二) 机体内各类细胞的寿命不同

根据细胞寿命情况将细胞分为三类：

- ① 细胞寿命**接近于动物的整体寿命**，如神经元、脂肪细胞、肌细胞等。
- ② **缓慢更新**的细胞，其寿命比机体的寿命短，如肝细胞、胃壁细胞等。
- ③ **快速更新**且寿命较短的细胞，如皮肤的表皮细胞、红细胞和白细胞等。

(三) 细胞在体外培养条件下的寿命

- 离体细胞同在体细胞一样，也有一定的寿命，其寿命的长短取决于：
 - 所取培养组织的年龄
 - 取自胚胎的成纤维细胞 —— 50代
 - 成年组织的成纤维细胞 —— 15~30代
 - 老年组织的成纤维细胞 —— 2~4代
 - 物种的寿命
 - 来自小鼠 可传代 14~28次
 - 来自乌龟 可传代 90~125次

-
- **Hayflick界限***：体外培养细胞所具有的增殖分裂的极限

👉 特例：可无限传代的永生化细胞

癌细胞或培养的细胞系是不正常细胞，其染色体数目或形态

已经不同于原先的细胞

二、细胞衰老的表现

(一) 形态学改变

主要表现*：

细胞皱缩

膜通透性和脆性增加

核膜内陷

细胞器数量（特别是线粒体）数量减少

胞内出现脂褐素等异常物质沉积

最终将出现细胞凋亡或坏死。

衰老细胞的形态学改变

细胞组分	形态变化
核	增大、染色深、核内有包含物
染色质	凝聚、固缩、碎裂、溶解
质膜	粘度增加、流动性降低
细胞质	色素积聚、空泡形成
线粒体	数目↓、体积↑、mtDNA突变或丢失
高尔基体	碎裂
尼氏体	消失
包含物	糖原减少、脂肪积聚
核膜	内陷

(二) 细胞衰老的生化改变

- **DNA:** 复制与转录受到抑制、但也有个别基因会异常激活，**端粒DNA丢失**，mtDNA特异性缺失，DNA氧化、断裂、缺失和交联，甲基化程度降低。
- **RNA:** mRNA、tRNA**含量降低**
- **蛋白质:** **含量、稳定性、抗原性、可降解性等均下降**；肽键断裂、交联，**蛋白质变性**。
- **酶:** 活性中心被氧化，**酶失活**。
- **脂类:** 不饱和脂肪酸被**氧化**，引起膜脂之间或与脂蛋白之间交联，膜的**流动性降低**。

三、细胞衰老的学说与机制

(一) 遗传决定学说

- 衰老是遗传上的程序化过程

(二) 自由基学说

- 自由基导致细胞损伤和衰老

(三) 端粒钟学说

- 端粒随细胞分裂不断缩短是衰老的主因

(四) 代谢废物的积累

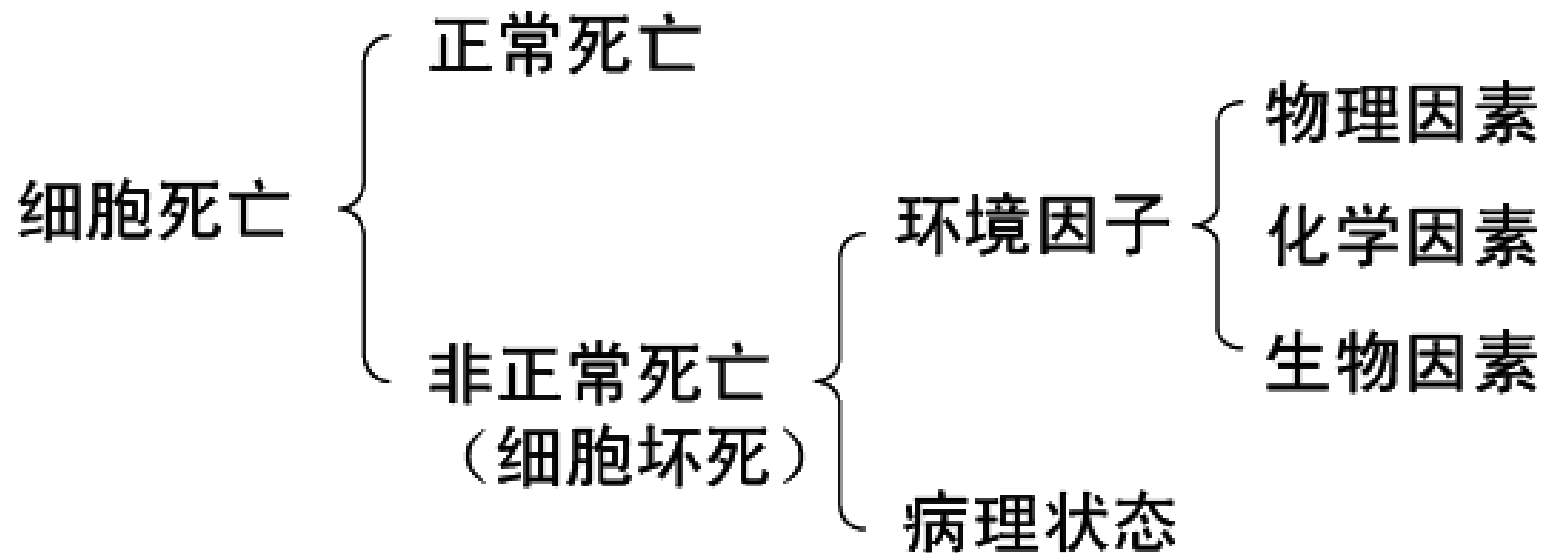
(五) 基因转录或翻译差错导致细胞衰老

(六) 其他

第二节 细胞死亡

- 细胞死亡是细胞生命现象的终结
- 两种形式：
 - **细胞坏死*** (cell necrosis)
在外来致病因子的作用下，细胞生命活动被强行终止所致的**病理性**、**被动性**的死亡过程。
 - **细胞凋亡*** (apoptosis)
细胞在一定的**生理或病理**条件下，遵循自身的程序，自己结束其生命（**主动死亡**）的过程。这种细胞死亡具有严格的**基因时空性**和选择性。

一、细胞死亡的原因



二、细胞死亡的特征与形式

判断细胞是否死亡的依据：

(1) **特征性的形态改变**：细胞核的核膜断裂，核仁溶解和消失等。

➤ **细胞坏死**时，质膜破裂，细胞解体并引起周围组织发生**炎症反应**；

➤ **细胞凋亡**时，质膜保持完整，形成**凋亡小体**（apoptotic bodies），不引起炎症反应。

(2) **是否还具有生理功能和繁殖能力**

三、细胞自噬及意义

细胞自噬 (autophagy)：是真核生物中普遍存在的过程，通过降解细胞内的长寿命蛋白质和细胞器，产生氨基酸以维持细胞在缺乏营养时的生存。

显著特征：形成双层膜的**自噬泡 (autophagosome)**。

长期以来细胞自噬被认为是细胞的**自救行为**。

近年来发现，在某些条件下，细胞自噬也能导致细胞死亡。

细胞自噬的意义:

- 在生物体生长发育、细胞分化及对环境应激的应答方面极为关键
- 防止某些疾病
- 抵御病原微生物的感染
- 延缓衰老、延长寿命
- 参与了天然免疫应答和适应性免疫应答。

第三节 细胞凋亡 (apoptosis)

- 又称**程序性细胞死亡** (programmed cell death)

细胞在一定的**生理或病理**条件下，遵循自身的程序，**自己结束其生命**的过程。这种细胞死亡具有严格的**基因时空性**和**选择性**。

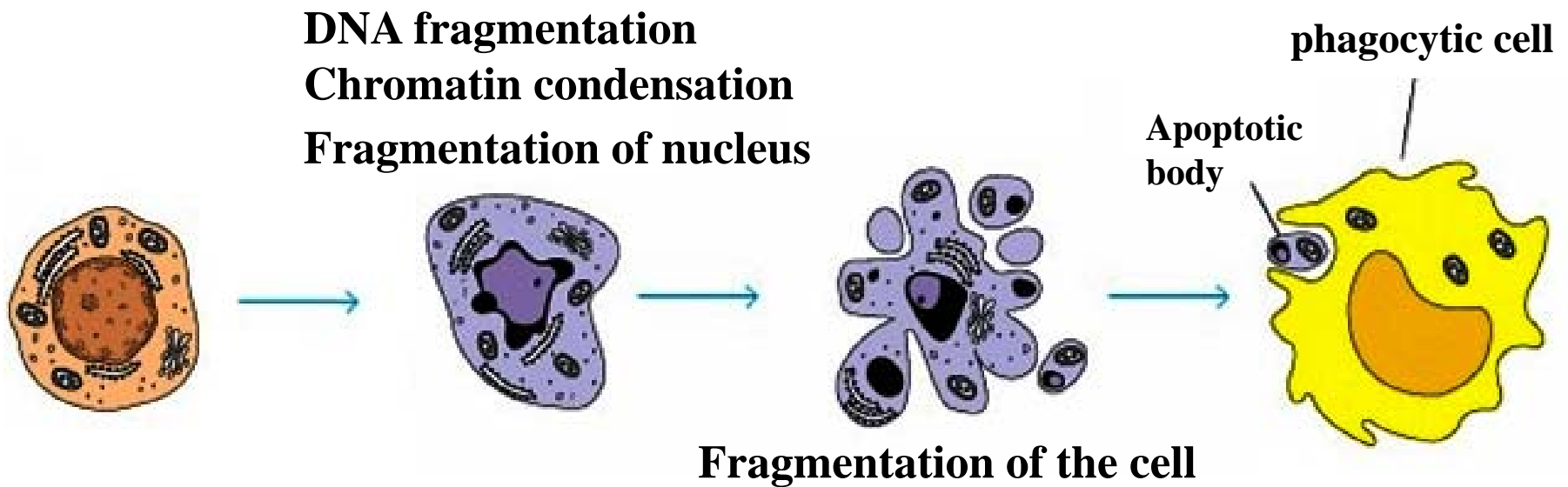
- 细胞凋亡普遍存在于人类及多种动植物中，并贯穿于生物全部的生命活动中。

细胞凋亡的生理意义：

- 个体发育
 - 形态建成
 - 神经系统发育
 - 质量控制
- 自稳态的维持
- 被严格调控，减弱或增强将导致疾病的发生

一、细胞凋亡的特征

(一) 细胞凋亡的形态学特征



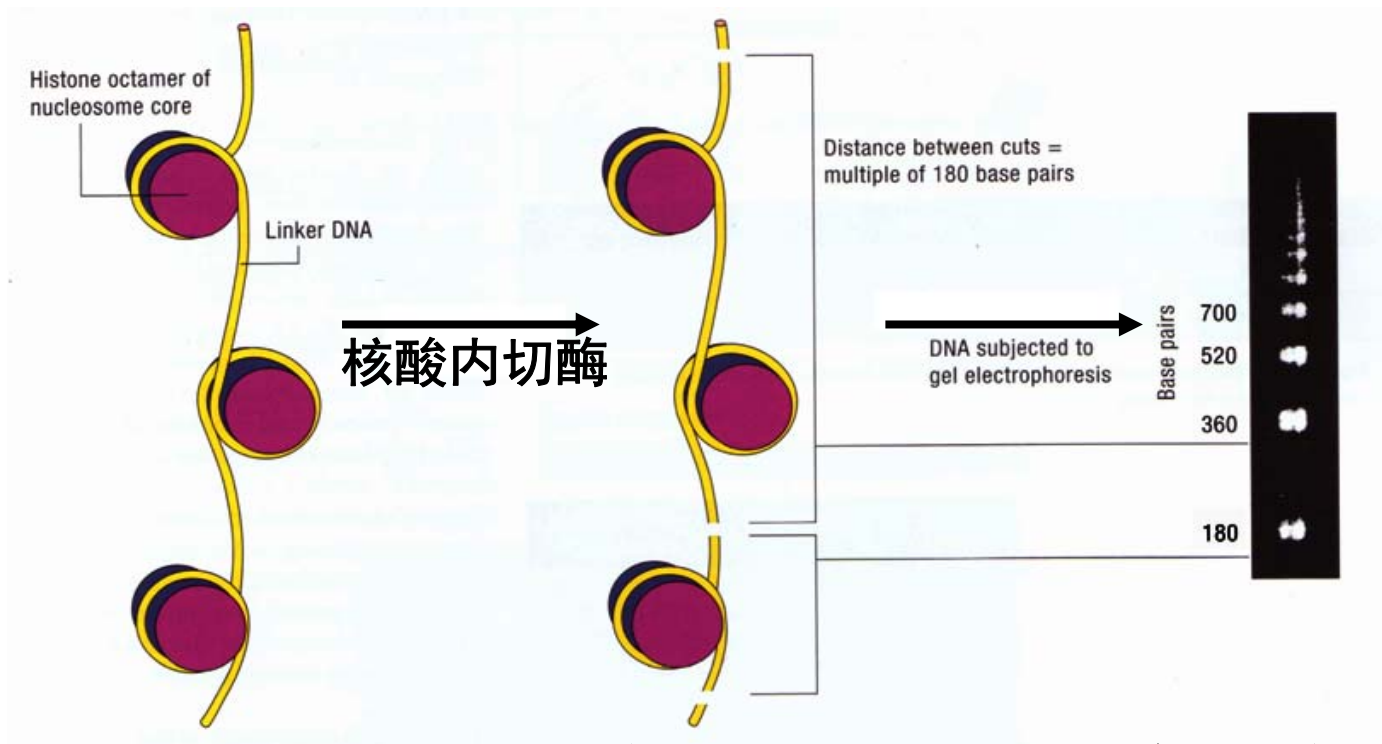
-
1. 细胞核：核DNA断裂浓缩成染色质块，核裂解，形成核碎片
 2. 细胞质：胞质浓缩
细胞器改变（Mit、ER、细胞骨架等）
 3. 细胞膜：起泡但仍完整，原有特化结构消失，细胞内侧的磷脂酰丝氨酸翻转到外侧
 4. 凋亡小体 (apoptotic bodies) 形成：
 - 发芽脱落机制
 - 分隔机制
 - 自噬体形成机制
 5. 细胞：细胞皱缩

细胞凋亡和细胞坏死的区别*

区别点	细胞凋亡	细胞坏死
起因	生理或病理性	病理性变化或剧烈损伤
范围	单个散在细胞	大片组织或成群细胞
细胞膜	完整，形成凋亡小体	破损
细胞核	固缩，DNA片段化	弥漫性降解
染色质	凝聚在核膜下呈半月状	呈絮状
线粒体	自身吞噬	肿胀
细胞体积	固缩变小	肿胀变大
凋亡小体	有，被相邻细胞或巨噬细胞吞噬	无，细胞自溶，残余碎片被巨噬细胞吞噬
基因组DNA	有控降解，电泳图谱呈梯状	随机降解，电泳图谱呈涂抹状
基因活动	由基因调控	无基因调控
自吞噬	常见	缺少
蛋白质合成	有	无

(二) 细胞凋亡的生化改变

1. DNA片段化, 电泳时形成梯状条带



形成长度为180-200bp整
数倍的寡聚核苷酸片段

电泳时, 在180-200bp整
数倍的位置出现条带

2.多种蛋白酶参与

- 细胞凋亡的始动、发生和发展，主要是通过多种蛋白酶控制的
- **蛋白酶级联切割**可能是凋亡最关键的过程
- 控制凋亡的蛋白酶有多种，包括
 - 胱天蛋白酶 (**caspase**) 家族
 - 天冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白水解酶
 - 钙蛋白酶等

3.胞浆Ca²⁺、pH的变化

- **Ca²⁺通过两条途径诱导细胞凋亡**

- ①胞内Ca²⁺库释放，胞外Ca²⁺内流
→胞浆内Ca²⁺持续升高→启动凋亡

- ②Ca²⁺的释放打破细胞内结构的稳定，触发凋亡

- **胞浆碱化或酸化均能影响细胞凋亡**

- 碱化——可能与凋亡的启动有关
 - 酸化——可能是凋亡的必然结果

4. 线粒体在细胞凋亡中的变化及作用

- 呼吸链受损，能量代谢受到破坏，导致细胞死亡
- 释放细胞色素C，激活caspase家族
- 活性氧类物质的生成增多
- 线粒体渗透转变孔通透性增高
 - 呼吸链解偶联 内外膜转位接触点
 - 释放细胞色素C，触发caspase级联反应。

(三) 失巢凋亡是又一种形式的细胞程序性死亡

- 失巢凋亡 (anoikis)：是在脱离原来生存环境的特殊情况下发生的细胞凋亡，是因细胞与细胞外基质和其他细胞脱离接触而诱发的。

失巢凋亡的意义：防止脱落的细胞种植并生长于其他不适宜的地方。

肿瘤细胞，尤其是转移的恶性肿瘤细胞，**具有极强的抗失巢凋亡特性**，从瘤体上脱落进入循环系统后并不发生凋亡，从而完成转移过程。

二、细胞凋亡的影响因素

细胞凋亡的诱发因素:

- **生理性诱导因子**: 肿瘤坏死因子、转化生长因子 β 、神经递质、 Ca^{2+} 、糖皮质激素等
- **损伤相关因子**: 热休克、病毒感染、细菌毒素、原癌基因、抑癌基因等
- **疾病治疗相关因子**: 化疗、放疗、生物治疗、中药治疗等
- **某些细胞毒性物质**: 如乙醇、氧化砷、 β -淀粉样肽等

细胞凋亡的抑制因素：

- **生理性抑制因子：**如*bcl-2*原癌基因、突变型*p53*、各种生长因子、细胞外基质等。
- **病毒基因：**
- **其他：**线虫的*ced-9*基因、半胱氨酸蛋白酶抑制剂、钙蛋白酶抑制因子、促癌剂。

三、细胞凋亡的分子机制

(一) 细胞凋亡受多种基因调控

细胞凋亡相关基因:

1. 线虫的 *ced* 家族

- *ced3* —— 促进凋亡
- *Ced4* —— 促进凋亡
- *ced9* —— 抑制凋亡

哺乳类同源

物
caspase-1 (ICE)

Apaf-1

Bcl-2

2. *bcl-2* 基因家族——促进或抑制凋亡

- *bcl-2*——抑制凋亡
- *Bad*、*Bax*——促进凋亡

3. *ice* 基因——促进凋亡

4. 抑癌基因 *p53* ——促进凋亡

5. *Fas*, *FasL* ——触发细胞凋亡

6. 原癌基因 *c-myc* ——促进或抑制凋亡

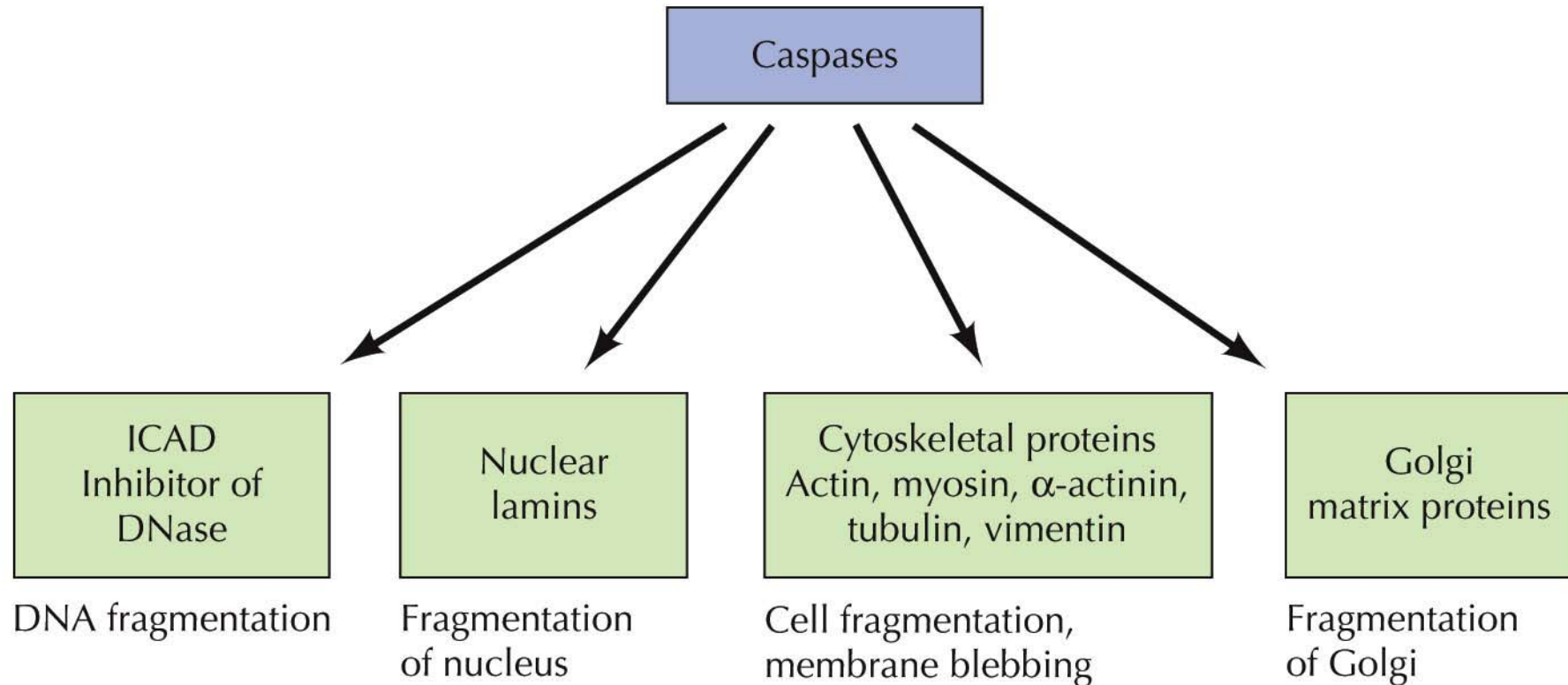
二、细胞凋亡的信号转导通路

- 主要有两条：
 - 由死亡受体（death receptor, DR）介导
 - 由线粒体介导

1. 死亡受体介导的信号转导通路

- 哺乳动物的死亡受体属于**肿瘤坏死因子受体**和**神经生长因子受体**超家族，主要成员有：
 - Fas (Apo-1, CD95)
 - DR-4 (TRAIL-R1)
 - DR-3 (WSL-1, Apo-3, TRAMP)
- 细胞外的**许多信号分子**可以与细胞表面相应的**死亡受体**结合，激活细胞凋亡的信号通路，导致细胞凋亡。

Caspases 3、6、7——细胞凋亡的最终执行者



2. 线粒体介导的信号转导通路

- 线粒体在细胞凋亡中处于凋亡调控的重要位置
- 许多凋亡信号（如DNA损伤、氧化剂等）都可以引起线粒体的损伤和膜渗透性改变。

- **很多Bcl-2家族的蛋白都定位于线粒体膜上**

- Bcl-2: 阻止cytC从线粒体释放, 抑制凋亡
- BAX: 与线粒体上的膜通道结合, 促使cytC从线粒体释放, 促进凋亡。

3. 其他转导通路

线粒体内可能存在核酸内切酶G（endonuclease G）、凋亡诱导因子（AIF）和凋亡抑制因子（IAP）的抑制蛋白Smac/Diablo，这些蛋白因子可能参与了不依赖caspases的凋亡途径。

四、细胞凋亡的检测

(一) 形态学检测

- **普通光学显微镜：** HE染色、甲基绿—派诺宁染色、Giemsa染色
- **荧光显微镜：** 荧光（如吖啶橙、Heochst33258染色）
- **电子显微镜：** 超薄切片

(二) 生化特征检测

细胞凋亡最显著的生化特征：内源性核酸酶激活后，染色体断裂形成约为180~200bp或其多聚体组成的**寡核苷酸片段**。

可用下述方法检测：

- 琼脂糖凝胶电泳法
- 原位末端标记法
- ELISA法

(三) 流式细胞仪检测

流式细胞仪检测凋亡的原理:

- 凋亡使细胞在细胞、亚细胞和分子水平发生特征性改变，造成荧光染料对凋亡细胞DNA可染性（DNA stainability）发生改变，
- 凋亡使细胞形态发生改变，影响光散射特性。

五、细胞凋亡与疾病

(一) 细胞凋亡过低导致相关的疾病发生

- **肿瘤**: 凋亡抑制基因和凋亡活化基因表达异常
- **系统性红斑狼疮**: Fas表达缺陷, 导致T淋巴细胞凋亡障碍

(二) 细胞凋亡过度导致相关的疾病发生

- 神经退行性疾病
- AIDS
- 心血管疾病