

2016年生命科学热点回眸

梁前进

北京师范大学生命科学院, 北京 100875

摘要 生命的鲜活特点及其活动规律的复杂性, 使得其研究中任一新发现都备受世人关注。2016年, 生命科学领域的研究进展振奋人心。本文从不胜枚举的研究成果中选择了几例, 介绍和评述了2016年在癌细胞诱导的内皮细胞死亡、耐药性基因突变的新型肺癌异位抑制剂、极大程度减少脱靶现象的基因靶向方案、利用双重受体改造型T细胞的精确肿瘤杀伤疗法、肿瘤高效免疫疗法、利用HIV病毒普效性抗体的艾滋病高效免疫疗法、可特异清除攻击病人自身组织淋巴细胞的自身免疫病疗法, 以及晶体再生手术的革新、神经突触剪切机理的解析等方面的研究进展。特别是肿瘤治疗问题、基因编辑问题等, 几乎一直保持着持续的热度, 而在2016年又取得卓著成果。

关键词 生命科学; 肿瘤; 基因治疗; 免疫治疗; 艾滋病; 自身免疫病; 基因编辑; 组织再生

生命科学承担着研究生物学现象、生命活动本质及其特点、生命现象的发生和发展规律的任务。现代生命科学以分子遗传学等为主要基础, 关注生物发育规律的细节及各种生物之间和生物与环境之间的相互关系。研究生命科学的目的, 在于使人们能够诊断、治疗遗传病, 提高农业或经济作物产量与质量, 保护及修复生态环境, 改善人类生活条件并促进健康等。生命的鲜活特点及其活动规律的复杂性, 使得无论是生命的起源, 还是生物体的结构、功能的任一新发现, 都备受世人关注。人们不会忘记2015年基因组编辑、大规模基因表达差异图谱、核细胞剪接体三维结构、干细胞命运决定、埃博拉病毒病、恶性肿瘤、艾滋病和糖尿病病因新机制等方面研究成果的涌现。2016年刚刚过去, 生命科学领域的研究进展依然振奋人心。

1 对于肿瘤细胞移位发挥了关键效能的内皮细胞“死亡通路”

恶性肿瘤置人于死地的罪魁祸首是肿瘤细胞转移。众所周知, 在恶性肿

瘤发生转移的过程中, 肿瘤细胞遇到各种屏障(图1), 首先突破的是血管周围的内皮细胞屏障。此屏障若固若金汤, 则肿瘤细胞就不能进入循环系统, 到达新的组织内得以驻留、引发转移瘤。这是复杂的多步骤生物学过程。一般把肿瘤转移的过程大体分为局部浸润

(local invasion)、渗入血管(intravasation)、伴随血循环转移-存活、移出血管(extravasation)和定居新部位-增殖等几个步骤。目前, 人们已经逐渐揭示了这些步骤的细节, 参与肿瘤转移的基因和性状控制因子不断被发现和研究。在循环系统中, 肿瘤细胞易受攻击, 其

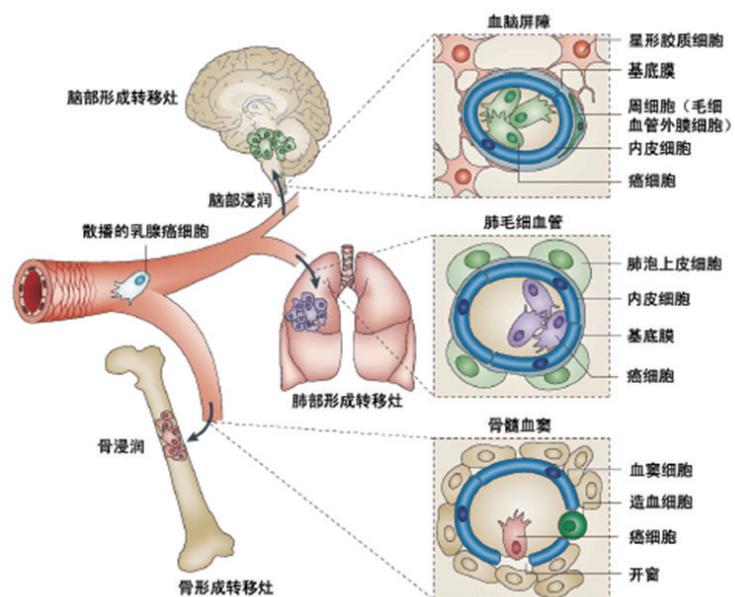


图1 肿瘤转移及器官屏障
(图片来源: 生命奥秘)

收稿日期: 2016-12-30; 修回日期: 2017-01-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31571394); 抗性基因资源与分子发育北京市重点实验室开放基金项目(201504)

作者简介: 梁前进, 教授, 研究方向为分子细胞遗传与功能基因, 电子信箱: lqj@bnu.edu.cn

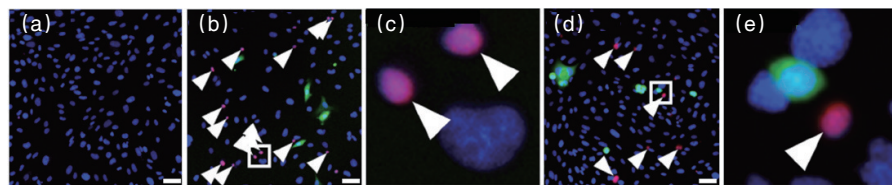
引用格式: 梁前进. 2016年生命科学热点回眸[J]. 科技导报, 2017, 35(1): 55-63; doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2017.01.007

转移的潜能很大程度上依靠快速突破内皮屏障而从血流中逃逸。人们发现肿瘤细胞的溢出很像白细胞穿越内皮的迁移。那么,肿瘤细胞从血管通过时跟内皮细胞之间发生了怎样的相互作用?在分子细胞生理水平上,此过程的调控机理如何?这是值得研究的问题。

如果可以抑制通过癌细胞诱导的内皮细胞死亡,就有望遏制血管中流动的癌细胞向肺部组织转移,形成转移性肿瘤病灶。德国马克斯-普朗克心肺研究所的研究人员斯特里利克(Strilic B)等获得的实验证据表明,肿瘤细胞通过特异因子作用于内皮细胞,对于肿瘤转移具有很大程度的决定性作用^[1]。

斯特里利克等的这项工作成果发表在2016年8月的《Nature》杂志上,题为“肿瘤细胞通过死亡受体-6诱导的内皮细胞坏死状凋亡(necroptosis)促进肿瘤转移”。研究发现,人类和小鼠肿瘤细胞诱导了内皮细胞的程序性细胞坏死或坏死状凋亡,进而导致肿瘤细胞移出血管和完成转移(图2)^[1]。利用受体互作的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶-1(RIPK1)进行诱导,或内皮细胞特异性RIPK3缺失,都会造成肿瘤细胞诱导的内皮细胞坏死性凋亡的减弱。与之相对的是,施以半胱天冬酶(caspase)抑制药物或caspase-8发生内皮细胞特异性缺失,都会促进肿瘤细胞诱导的内皮细胞坏死性凋亡。体内外研究进一步发现,肿瘤细胞诱导的内皮细胞坏死性凋亡需要淀粉样前体蛋白及其受体[内皮细胞上的死亡受体-6(DR6)]作为中介体。在癌细胞和内皮细胞进行共培养体系中,癌细胞表面的淀粉样前体蛋白可将DR6激活。内皮细胞在DR6介导的信号途径作用下逐渐死亡。在研究小鼠体内的肿瘤转移机理时,证明这个DR6依赖性“死亡通路”对于肿瘤细胞移位发挥了关键效能。

尽管要探究清楚人类的内皮细胞死亡在促进恶性肿瘤细胞穿过血管及在此过程中促进肿瘤转移的机理还需时日,但癌细胞表面淀粉样前体蛋白通过DR6引导的诱导内皮细胞死亡,从而乘虚通过血管壁出现在血管中的发



(a) 内皮细胞对照;(b)和(c) 肿瘤细胞MDA-MB-231与内皮细胞的共培养;(d)和(e) 肿瘤细胞CFPAC-1与内皮细胞的共培养。箭头所指为荧光染料EthD-III染色显示的肿瘤细胞(绿色)所诱导的死亡内皮细胞。显微标尺大小为10 μm

图2 肿瘤细胞诱导的上皮细胞坏死和肿瘤细胞跨内皮迁移

现,却使人们觉察到肿瘤细胞“披荆斩棘”地开拓领地、逃逸清除的本领,预示了肿瘤病因、病理学研究和治疗尝试的巨大挑战^[1]。这一研究成果意味着一种崭新机制的发现,可以解释肿瘤细胞移出血管和转移部位的分子信号途径;内皮细胞的DR6介导的死亡凋亡信号途径有望作为抑制肿瘤转移的新的治疗靶位。

2 “道高一尺魔高一丈”——应对耐药性基因突变的新型肺癌异位抑制剂

当今世界,人们可谓谈肺癌色变。肺癌在许多国家、地区都是致死率最高的肿瘤疾病。根据国家癌症中心数据,仅2015年中国肺癌发病人数就有73万余;因肺癌死亡人数多达61万余。肺癌的发病率和死亡率均随年龄增长而上升,通常40岁以后明显增多,至75岁左右达到巅峰。作为肺癌最常见的组织学类型,非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)大约占肺癌总患者人数的80%~85%。非小细胞肺癌是一种异质性肿瘤,又分为鳞状细胞癌、腺癌和大细胞癌。非小细胞肺癌所致肿瘤外侵与转移症状常常是复杂而严重的,如上腔静脉阻塞综合征、潘寇综合征、霍纳综合征等,因累及喉返神经而引起声嘶,因发生脑转移而出现呕吐、头痛和偏瘫等,以及

因骨转移而引起相应部位持续性疼痛等。

与其他癌症一样,非小细胞肺癌也是环境因素与内在因素(包括遗传因素)共同作用的结果。目前基于分子遗传学和免疫病理学的驱动基因标志物的靶向治疗、免疫检查点抑制剂治疗等抑癌手段,已使非小细胞肺癌的临床治疗效果越来越好。已知内皮生长因子受体(EGFR)突变与非小细胞肺癌密切相关,而研究开发人员不负众望地研发了此类突变的抗癌药(图3)。然而,令人苦恼的是,这些突变受体往往又会再次突变,产生肿瘤抗药性问题。

2016年,美国科学家和工业界合作发现了一种变构EGFR抑制剂,研究表明其对一系列EGFR突变型都具有很强的抑制效应^[2],可谓未来EGFR耐药性突变肺癌患者的福音。这一新药物名称为EAI045,属于第四代新药,是一种新型的异位抑制剂,也是国际上第一种针对T790M(790位苏氨酸被蛋氨酸替代)/C797S(797位半胱氨酸被丝氨酸替代)耐药突变的EGFR突变型肺癌抑制剂^[2]。



图3 非小细胞肺癌的治疗药物(图片来源:百度图库)

EGFR 导向的酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 吉非替尼 (gefitinib)、尼洛替尼 (erlotinib) 和阿法替尼 (afatinib) 都是通过停靠到活性的 EGFR 激酶突变位点而治疗非小细胞肺癌的, 但耐药性也会迅速诱发 (多数缘于位于受体 ATP 位点的二次突变 T790M)。近来人们开发了有突变选择性的非可逆抑制剂, 已能高活性地针对 T790M 突变发挥作用^[9], 但是, 其有效性又因为 C797 位点的获得性突变而大打折扣——由于这一半胱氨酸残基, 分子中形成了关键的共价键^[4]。因此, 仅有以激酶 ATP 位点为靶标的 EGFR TKI 药物是远远不够的。美国科学家和工业界 2016 年研发的 EAI045 是一种变构抑制剂, 以选择性药物组抗性 EGFR 突变体为靶标, 又不对野生型受体产生副作用。研究者进行晶体结构研究, 发现这一化合物可以结合一种因激酶非活性构型中调节性 C-螺旋替代而产生的变构位点。

实验数据表明, 此化合物可以很低的纳摩尔级反应量抑制 EGFR 的 L858R (858 位亮氨酸被精氨酸替代)/T790M (790 位苏氨酸被蛋氨酸替代) 突变。进一步, 他们又发现 EAI045 与阻断 EGFR 同源二聚的免疫调节药西妥昔单抗 (cetuximab) 具有显著的协同效应, 使得激酶很一致地对 EAI045 产生敏感性。以 EAI045 联合西妥昔单抗治疗因 EGFR (L858R/T790M/C797S) 诱发的肺癌, 效果喜人 (可以让肿瘤明显缩小)。而在此之前, 所有使用中的 EGFR TKIs 药物均对此突变型无可奈何。这一研究也表明, 研发突变选择性抑制剂, 可以考虑导向针对性变构靶点的设计策略^[2]。当然, 疑难病、分子病的药物研发需要居里夫人式的持之以恒毅力。研究人员为了获得这种特别的抑制剂, 进行了多达 250 万个化合物的筛选, 最终发现了这种新型的异位抑制剂, 它可以结合突变受体的一个变构点, 使受体保持一种失活的构象, 同时不影响它结合 ATP 的功能, 也不会影响正常 EGFR 受体的功能。与西妥昔单抗 (cetuximab) 联合使用时, 这个抑制剂可以让耐受目前所有疗法的肿瘤缩小 (图 4^[2])。

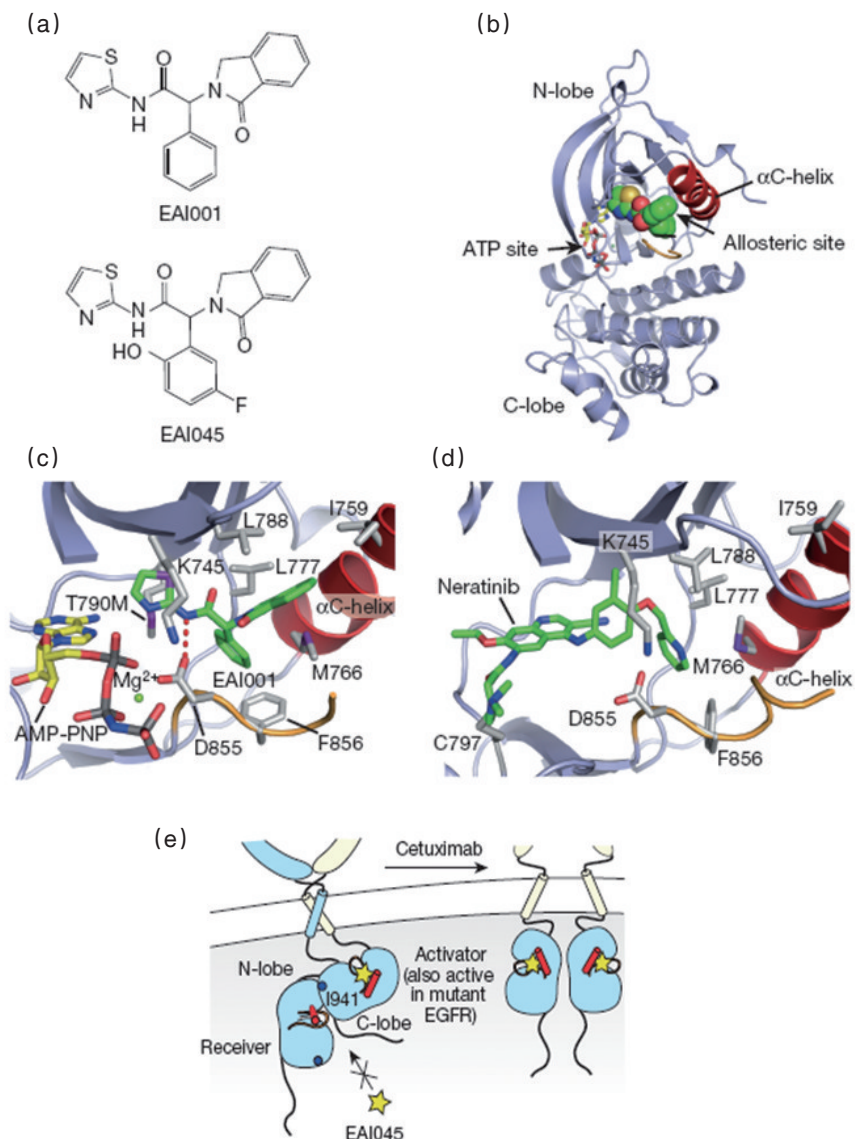


图4 变构型EGFR抑制剂的结构和结合模式(a)~(d)及EAI045与西妥昔单抗的协同作用(e)

3 高精度基因靶向方案——让脱靶现象减少到无法检测

干预一种基因, 治疗一种疾病——此类反向遗传学疾病治疗方法方兴未艾。基因编辑是基因治疗的常用手段, 精准的基因编辑使得一系列难以医治而且易诱生抗性的疾病得以治疗, CRISPR/Cas9 基因编辑是近来最受青睐的一种精准的基因编辑技术。CRISPR/Cas9 基因编辑是一种利用同源 DNA 重组或非同源末端连接的原理, 改变体内基因的分子遗传学方法, 也是一种模块化的真核生物基因转录调控干预平台 (图 5)^[5]。用这一技术能够进

行某一基因的删除 (敲除, Knockout)、外显子去除, 也可以导入点突变, 从而实现基因功能研究的目的 (图 6)。这一技术进展在 2015 年已经是关注热点。该技术简化了活体细胞 DNA 编辑过程, 低廉而又精准地编辑目标基因, 开拓了疾病基因治疗和预防的新天地, 问世后便连续入选《Science》杂志年度 10 大突破, 更是 2015 年的头号突破^[6]。本实验室也借此东风, 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对一种纺锤体蛋白 INMAP 实现了细胞内源基因的敲除 (待发表), 从而证明了该蛋白缺失导致它结合保护下的着丝粒结构蛋白

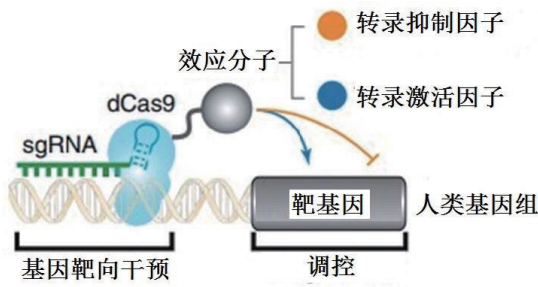


图5 CRISPR/Cas9基因编辑技术是一种模块化的真核生物基因转录调控干预平台

CENP-B发生断裂,失去染色体DNA结合能力,使得着丝粒松解而染色体分离异常的推断^[7]。目前,借助 CRISPR/Cas9技术构建的INMAP基因敲除细胞株的研究,已经暗示了INMAP通过细胞周期的纺锤体检验点调控细胞有丝分裂的信号途径(待发表)。

2016年,CRISPR/Cas9基因编辑技术研究的热度不减。美国哈佛医学院的研究人员开发了新一款Cas9酶,可相当有效地解决CRISPR/Cas9体系中的疑难问题,大大降低脱靶效应,使其达到无法检测的痕量水平^[8]。这一新突破使得人们在高度特异性的核酸酶的利用上更上一层楼。

虽然CRISPR/Cas9核酸酶广泛用于基因组的编辑,但是它们又会诱导非解链式靶位序列突变。由于基因编辑中依赖的短链向导RNA(sgRNAs)不具特异性,因此可能将同靶序列相似的DNA序列进行切割,导致脱靶现象。流行的通过酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*) Cas9(SpCas9)和可与靶标互补配对的sgRNAs一起进行基因组编辑,并引导核酸酶结合DNA解决基因组范围脱靶效应,但该办法很不完善。美国哈佛医学院团队报道的是一种高保真性的SpCas9变异体SpCas9-HF1,可实现更有效的靶位基因定着改变,并获得无可检测的基因组范围脱靶效应的良好效果。相对于野生型的Sp-Cas9,SpCas9-HF1体系保持了更多的中靶活力(on-target activities)(图7^[8]),在人类细胞中可以测得多于85%的

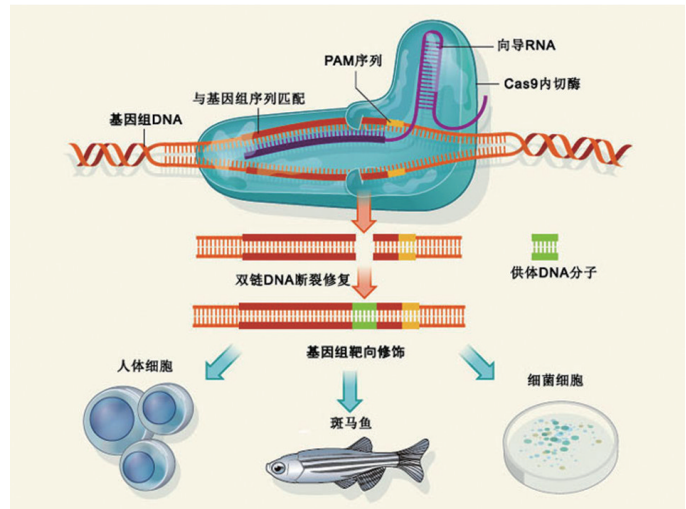
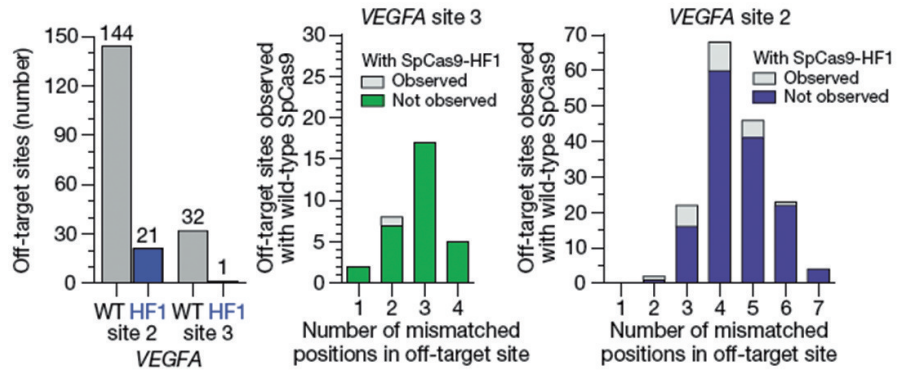


图6 CRISPR/Cas9基因编辑及其应用示意 (图片来源:乐研生物)



Off-target site: 脱靶位点; mismatched position: 非匹配位置
图7 野生型 SpCas9 和 SpCas9-HF1 在基因组范围靶向非标准重复 DNA 位点的特异性比较 (针对血管内皮生长因子 VEGFA 的基因编辑)

sgRNAs。实验数据明显显示,在sgRNAs靶向标准化非重复DNA序列的情况下,SpCas9-HF1可使所有或近乎全部的脱靶事件得以避免,其实现这一目标的方略是基因组范围的DNA断裂点捕捉和靶位DNA序列分析。据研究,非特异性剪切可能源于核酸酶同非特异性DNA序列的紧密结合,而SpCas9-HF1是一种削弱了与非特异性序列结合力的突变型Cas9核酸酶。由于其所实现的基因编辑的高度精确性,SpCas9-HF1这种优化的核酸酶提供了一种野生型SpCas9替代版本,可用于精度更高的基因功能研究和更安全的疾病基因治疗^[8]。

4 高效免疫疗法——肿瘤和艾滋病治疗前景的再度提升

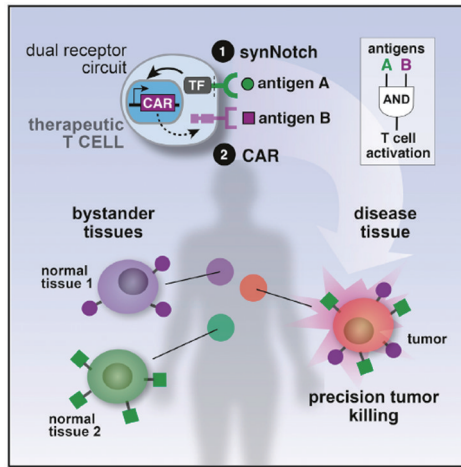
4.1 肿瘤高效免疫疗法研究进展

癌症免疫疗法是用患者自身的免疫细胞来对抗肿瘤疾病的治疗手段,近年来越来越多地受到关注。在肿瘤生长过程中,其各部分都可能出现独特的细胞基因突变。这些特异突变可以在肿瘤细胞的表面产生特殊的抗原物质,这就无心插柳地为T细胞的识别竖起了航标,引导T细胞对其发起攻击。然而在实际当中,尽管T细胞具有根除肿瘤中所有癌细胞的潜能,但并不是百分之百地能够抵达目标位置并发挥效能。体内有众多的突变需要T细胞去

识别和攻击,而奸诈的肿瘤又能够启动剿灭免疫细胞活性的防御机制。因此,使T细胞在临床中展现更超凡的潜力,是目前正在攻克的目标,这方面研究进展喜人。例如,研究者通过基因工程手段编辑T细胞内源性受体,或者增补外源性嵌合抗原受体(CAR),就可以使T细胞较好地识别癌细胞表面抗原。但是,抗原往往也会在正常细胞中得以表达,这样的免疫治疗战术的副效应仍很明显。

在细胞表面受体家族中,有一类高度保守的成员,由跨膜受体蛋白Notch编码,存在于从海胆到人类的多种生物中,调节细胞的发育。Notch信号转导途径对细胞正常形态发生所涉及的多能祖细胞分化、细胞凋亡、细胞增殖和细胞边界形成等多个过程产生影响。Notch基因位点上发生的突变可引起多样化的表型改变。2016年,美国加利福尼亚大学细胞与分子药理学系的利姆(Wendell A. Lim)实验室报道了一种依赖于一种进化上的传统信号转导通路的治疗手段,有望提升CAR治疗的效果。在这条受到关注的信号转导通路中,Notch受体联合细胞外信号共同控制基因的转录,从而对细胞行为进行较高效力的控制。借助Notch信号途径的特点,研究者巧妙地设计新系统,开辟了新的肿瘤细胞生长免疫调控机制。在这一系统中,先引导T细胞凭借一种合成的Notch受体(SynNotch)对一种癌细胞抗原进行识别,进而通过此识别反应对另一种肿瘤抗原特异性CARs基因激活,另其转录、翻译成活性产物。这样的组合拳式的打击方法,能够限制T细胞的杀伤目标,使之只瞄准表达这2种特异抗原的细胞,选择性更强,副作用更小。利用荷瘤小鼠模型进行实验,证明SynNotch T细胞在特异性地清除表达2种抗原的细胞的同时,而使只表达一种抗原的细胞安然无恙(图8)^[9]。

利姆课题组的进一步研究表明, SynNotch T细胞具有可塑的分化功能,有分化为各种需求的效应细胞或选择性地合成细胞毒性分子、特异抗体、细胞因子和佐剂的潜力。由于这些反应



therapeutic T cell: 治疗性T细胞; dual receptor circuit: 双重受体回路; bystander tissues: 癌旁组织; precision tumor killing: 精确的肿瘤杀伤
图8 具有双重受体的改造型T细胞可实现精确的肿瘤杀伤目标

同内源性的T细胞信号通路不发生关联,只要利用工程方法,采取合成的手段即可调控,可谓一种便捷渠道。尽管缜密的优化和向临床应用转化还需努力,崭新的SynNotch T细胞已经发挥了对抗病毒感染、过度活化或其他功能紊乱的细胞等的功效,应用范围广阔。

在肿瘤的免疫治疗研究中,人们正在努力开发这样一种疫苗,使癌症病人体内的能进攻肿瘤细胞的T细胞相互转换,或对特异杀伤性T细胞进行收获、助长、管理,然后放回到患者体内,使之辨别每个癌细胞的共同抗原以歼灭之。而此目标的实现基于高特异T细胞的研究。肿瘤的防治不是目标分散的刑侦,而是要掌握肿瘤肆虐的根源信息,洞悉病人体内肿瘤的弱点,以达到彻底的肿瘤杀伤。肿瘤的弱点往往存在于特异的表面抗原上。新的SynNotch T细胞功能的应用,为分析、识别肿瘤患者及其癌细胞抗原变化,弄清免疫治疗的最佳路径,提供了有前途的方式。当我们优先控制、处理存在于每个肿瘤细胞上的抗原,并对识别它们的T细胞进行标识后,肿瘤的个性化药物设计和精准医疗手段就会更近一步。

4.2 艾滋病高效免疫疗法研究进展

在人体病变的战场上,善于躲过免疫系统监控和进攻的,不仅是肿瘤。据研究统计,全世界的艾滋病患者或HIV

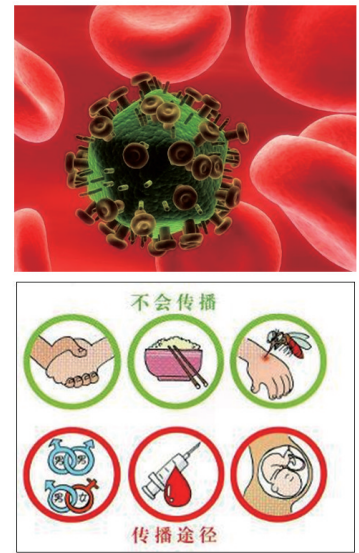


图9 HIV病毒(上)及其传播途径 (图片来源:搜狗百科)

(人类免疫缺陷性病毒)(图9)感染者超过3600万,仅2015年新发的感染病例就超过200万。HIV病毒是一种逆转录病毒,直接侵犯人体免疫系统,破坏细胞免疫和体液免疫。HIV病毒存在于受感染个体和艾滋病人的血液、乳汁、阴道分泌物、精液等体液和多种组织器官内,能够通过含体液交换或者器官移植而传播。目前尚难求得治愈艾滋病的药物,而蛋白抑制剂p1、azt、3tc、ddI、ddc等抗病毒药物均是通过减慢HIV生长速度的方式控制病情的。HIV病毒具有强大的逃避能力,有极强的可迅速变异特性,能够很快地摆脱体内免疫系统的监视和控制,使人体免疫系统难以应付,给特效治疗和预防带来巨大障碍。因此,我们的任务不仅在于开发可以用于预防HIV感染的各类疫苗类药物等抗病毒工具,还要不断克服传统疫苗无法应对HIV善变性的问题。那么,能否利用免疫球蛋白及其所识别抗原的特性,设计出有效进攻HIV繁杂的变异体的抗体蓝图呢?

“十年磨一剑,霜刃未曾试”。近年来,研究者从部分HIV感染者身上寻觅到能够中和多种HIV病毒的普效性抗体(bNAbs),并千方百计地尝试,借助人工合成或改造的抗原去诱生这样的抗体。起初,这样的bNAbs前体蛋白并不能够结合HIV,这一创业历程表现得

复杂、艰难。2016年,美国从事分子免疫学研究的西弗(Schief W R)和纽森耐威格(Nussenaweg M C)团队的埃斯科兰诺(Escolano A)等创建了一种工程化的手段,通过不断地修饰针对HIV包膜蛋白(Env)的特异抗原,并以其逐步免疫小鼠,成功地产生高度特异性的HIV抗体,能克服难以中和二级抗体的问题,这就是上述提到的bNAbs^[10]。实验证明,反复注射针对Env(HIV病毒的外膜蛋白gp120和跨膜蛋白gp41)的单一抗原,是不能产生bNAbs的。

HIV bNAbs本是部分感染者体内可以激发的抗体,西弗-纽森耐威格团队首次采用免疫方法成功产生,启迪了人们更多合成HIV人工抗原并通过一定的手段激发HIV抗体的思路。目前,这种工程手段尚显复杂,但可以相信,直接经过优化、改进,使其实现进行临床转化的目标也许指日可待。

埃斯科兰诺等发表的题为“通过在敲入(knock in)免疫球蛋白基因的小鼠体内诱生广谱中性化抗HIV-1病毒抗体的研究”的论文,介绍了其组合拳式、连续出击的抗HIV抗体的序贯免疫(sequential immunizing)研制策略(图10)^[10]。此策略中,针对性的HIV病毒衣壳糖蛋白用作免疫原,用来产生特异抗HIV抗体及其中间产物。

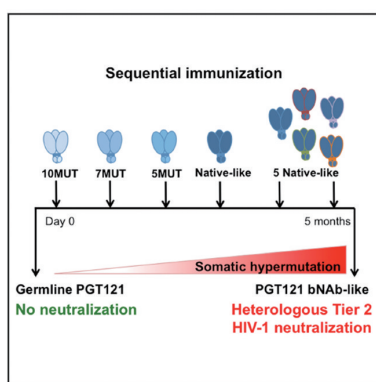


图10 抗HIV抗体的序贯免疫(sequential immunizing)研制策略

由上述可看出,在2016年度,高效免疫疗法的研究和药物研制、应用,使得肿瘤和艾滋病治疗前景再度提升。

4.3 自身免疫疾病领域的开拓性成果 说起针对抗原特异性治疗的研究

与开发成果,还要涉及自身免疫疾病领域。

人类自身免疫性疾病是指人体对自身的抗原发生了免疫反应,从而导致体内组织、器官损害的疾病。经过研究和临床分析,大量的疾病先后被作为自身免疫性疾病看待。自身抗体也存在于没有自身免疫性疾病的正常个体,特别是老年人群,包括细胞核DNA抗体、甲状腺上皮细胞抗体、甲状腺球蛋白抗体和胃壁细胞抗体等;受损的组织或有抗原性变异的组织,也可激发产生体内的自身抗体。常见的无致病作用的自身抗体诱生情形之一是心肌缺血、坏死时,导致自身抗心肌抗体产生。这种继发性免疫反应在体内广泛发生,使得自身免疫现象成为关注热点。

自身免疫疾病治疗并不容易,被批准的自身免疫疾病治疗药物很少见。但是,在2016年,有2项新的研究成果吸引了人们的眼球。这些研究成果揭示了一种新型自身免疫病疗法——特异清除攻击人自身组织的淋巴细胞,通过不影响免疫系统其他部分的途径获得致病效果。

一种方法见诸《Science》杂志,报道了宾夕法尼亚大学科研人员设计的将嵌合抗原受体更换为皮肤蛋白桥粒芯蛋白3(Desmoglein 3, Dsg3)的工程化T淋巴细胞,用于特异性攻击特异B淋巴细胞,从而抑制了其产生自身抗体的过程。由于抗体结合Dsg3,人体会发生罕见的起疱疾病,即慢性天疱疮(chronic pemphigus)。这是一种慢性的、严重复发性表皮内棘刺松解性大疱性皮肤病。患者体内存在针对Ca²⁺依赖的细胞间黏连分子——钙黏蛋白(cadherin)的抗体。在肿瘤免疫治疗的启发下,来自宾夕法尼亚大学的研究人员设计了一种工程化T淋巴细胞(将嵌合抗原受体更换为了Dsg3),可特异性攻击产生自身抗体的B淋巴细胞,从而抑制了自身抗体的产生^[11]。

在理想状况下,针对自身免疫疾病的治疗应该消除病理性自身免疫细胞而保护正常的免疫机能,但是这样的目标不易达到。伊勒布来楔(Ellebrecht

C T)等发现,在寻常型天疱疮(pemphigus vulgaris, PV)病人体内,以自身抗原为基础的嵌合性免疫受体能够指导T细胞杀伤自身反应活性的B淋巴细胞,其媒介是特异的B细胞受体(BCR)。于是,他们构建了工程化的T细胞,用以表达嵌合性自身抗体受体(CAAR)。这样构建的体系包括了融合到CD137-CD3 ζ 信号传导域的PV自身抗原Dsg3。所建成的Dsg3 CAAR-T细胞株表现出特异的细胞毒性,攻击表达Dsg3 BCRs抗体的细胞,并能广泛、持续和特异地去除体内Dsg3-特异B细胞。这对于抗体介导的自身免疫疾病的治疗有重要意义。

另一种方法见诸《Nature》杂志,报道了来自加拿大卡尔加里大学的研究团队的新型自身免疫病疗法——在不杀死B细胞的条件下,通过强化调节性T细胞的功能达到治疗自身免疫病的目的,题为“扩展抗原特异性调控网络以治疗自身免疫疾病”^[12]。在这项疗法革新中,研究者通过在纳米颗粒上对抗原肽-主要组织相容性复合物(MHC)进行修饰,促使T细胞转变为调节性T细胞。当注射这样的生物工程化纳米颗粒后,在1型糖尿病小鼠体内产生了大剂量的调节性T细胞,维持了血糖的平衡。实验证明,利用包被了自身免疫疾病相关二类pMHC复合体的纳米颗粒进行系统治疗,引发了同源TR1类CD4⁺T细胞的扩张,不仅恢复了自发糖尿病小鼠的正常血糖量,也缓解了关节炎小鼠的关节肿胀和破坏,而对正常的免疫性能无影响^[12]。因此,这种新型候选纳米药物有可能在治疗类风湿性关节炎、多发性硬化症等多种自身免疫性疾病方面有广阔的应用前景。

另外,自身免疫病人的自身抗体,因可能识别已知或未知功能、亚细胞或组织部位的特异抗原,不仅用于疾病诊断,还在细胞结构和功能因子发现、研究中发挥重要作用。本研究组以1例自身免疫病人(系统性进行性硬皮病患者)免疫血清为工具,先后鉴定和研究了2种蛋白抗原——中心体蛋白CrpF46^[13]和纺锤体蛋白INMAP^[14-17](图

11^[14])。以此为起点研究表明,CrpF46对于控制中心复制、对称的纺锤体极和微管成核作用,以及细胞运动中的中心体定向等,发挥着重要功能;INMAP通过稳定着丝粒蛋白CENP-B调控有丝分裂,其表达水平异常与肿瘤或细胞凋亡

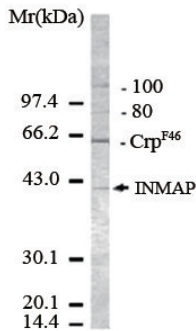


图11 一例硬皮病自身免疫血清抗体识别的新蛋白抗原(CrpF46和INMAP) (Western blot)

相关。目前,CrpF46磷酸化调控,CrpF46影响非肌肉型肌球蛋白以调控肌动蛋白和INMAP基因敲除等研究又获得新进展,为新型细胞运动、有丝分裂、细胞分裂中染色体分离调控等机理探究,开拓了前景。图12是一项由自身免疫血清抗

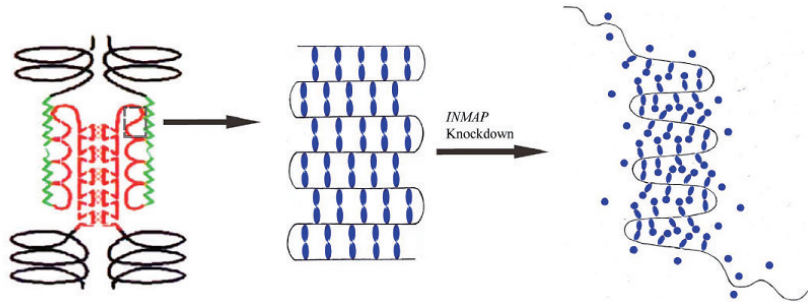


图12 INMAP通过稳定CENP-B调控着丝粒结构,影响有丝分裂

体识别出的INMAP研究获得的成果之一——INMAP通过稳定CENP-B调控着丝粒结构,影响有丝分裂;INMAP基因抑制,导致CENP-B的N端DNA结合域裂解丢失,不能结合DNA,从而使着丝粒松散,有丝分裂异常^[16]。

5 修剪、清除、再生——忙而不乱的细胞生命过程再造组织器官功能

5.1 晶体再生手术的革新

使用内源性干细胞(endogenous stem cells)对组织进行修复,是当今再生医学的一个重要目标。这样的修复再生手段,可以有效地避免免疫排斥,也可以防止外源性干细胞引入所引起的肿瘤形成恶果。为此,人们创建了细胞介导的晶状体修复技术。其中一个重要领域是眼部疾病修复再生工程,现在已经有晶状体内皮前体细胞(LECs)可以利用。促进LECs的增生,可以有效治疗白内障。

2016年,中、美科学工作者合作产生了一项新的研究成果。他们发明了新的侵入程度低、并发症发生概率极低的手术方法,用于治疗婴儿先天性白内障。在这种手术实施过程中,研究人员在晶状体的边缘进行创伤面远远小于先前创口的微创手术,进行健康兔子和猕猴眼部临床操作(图13)^[18]。这样的手术既最大程度地保留了LEC,又使晶状体的自然恢复时间得以保持;如果能够成功地转化到临床实际,必将显著减

少病人手术后的并发症,降低再次手术的需求率。这种方法与流行的手术有本质不同,它使内源LECs及其自然环境最大限度地保持、再生了晶体并恢复

了视力,预示着崭新的白内障治疗策略的诞生和利用内源干细胞进行组织再造的新范式。在12例儿童白内障患者身上进行的手术实验表明,此项新技术

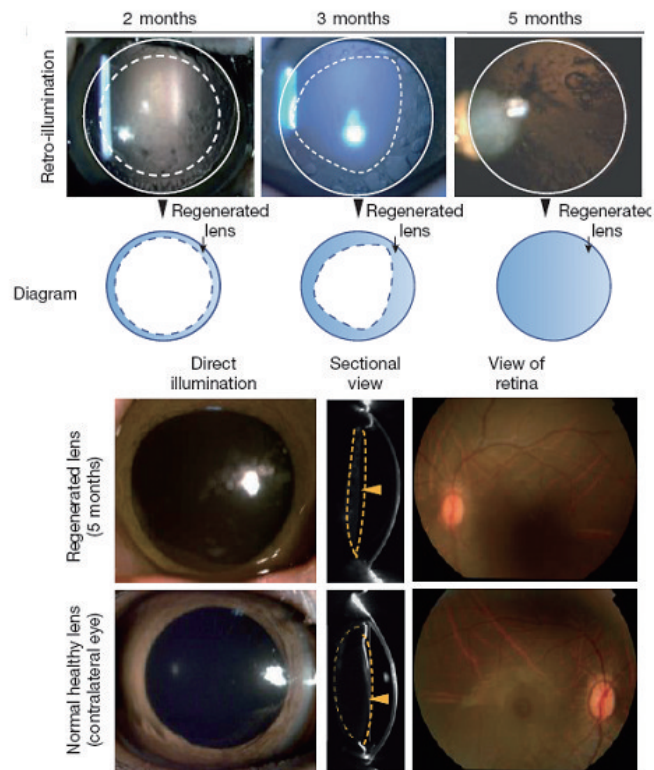


图13 恒河猴(macaque)实验模型——微创创伤侵入性手术后的晶体再生

与常规手术一样可提高视力,而并发症发生率却降低了75%;对于伴随年龄而LECs数量降低的老年白内障患者的相关治疗研究正在探究之中。

5.2 神经突触剪切机理的解析成果

神经生物学领域的一项关键任务是解析突触的剪切(synaptic pruning)。研究证明,经典的补体级联放大信号通路影响中枢神经系统中的神经回路发育及其重塑功能。2016年,有3项典型的研究成果问世,从不同角度揭示了补体介导的突触清除机理(表1)。

其中美国加利福尼亚大学旧金山

分校研究者的工作表明,发生在额颞叶失智症病人的颗粒蛋白前体(progranulin, PGRN)丢失可导致溶酶体缺陷和补体的过度生成,结果造成起因于小神经胶质细胞和行为欠缺的选择性突触剪切(或称神经元剪切, neuron pruning)。而这种突触清除过程可通过阻断补体激活反应而得到补救(图14)^[21]。

这些研究表明,在一系列神经退行性疾病及精神紊乱中,补体介导的突触清除发挥了不可忽视的作用。这对神经精神病学疾病及神经退行性疾病的诊治具有重要意义。

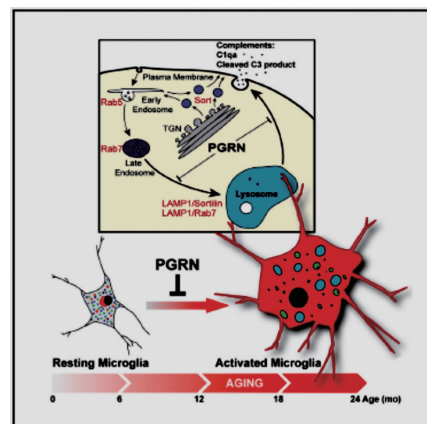


图14 PGRN丢失所致溶酶体缺陷和补体过度生成及其补救途径

表1 揭示补体介导的突触清除机理的3项典型成果

成果创造者	简况及解决的问题	意义和应用
美国布劳德(Broad)研究所的斯坦利(Stanley)精神中心、哈佛医学院和波士顿儿童医院的研究人员 ^[19]	对近6.5万人进行遗传分析表明,补体4基因(C4)的突变与精神分裂症相关。精神分裂症患者脑部C4A水平升高;清除C4降低突触剪切比例。	揭示:一个人继承的“突触修剪”相关基因与精神分裂症的风险密切相关。引起C4表达上调的基因突变,可能导致过量的突触剪切,引起精神分裂症。
美国斯坦利中心(Stanley Center)的研究人员 ^[20]	发现补体C1q水平的上调可激活吞噬性小神经胶质细胞,引起突触的清除。	补体信号及吞噬性小神经胶质细胞同阿尔兹海默症的早期突触缺失相关联。
美国加利福尼亚大学旧金山分校的研究人员 ^[21]	实验证明在神经退行性疾病额颞叶失智症(frontotemporal dementia)小鼠体内,C1qa可促进小神经胶质细胞依赖的突触清除。	突触的清除与神经退行性疾病关联。

6 结论

备受关注的生命科学研究,呈现着连续发展的特点,科学工作者和研发人员一步一个脚印,层层推进,使得一个个分支领域有章有序,飞速发展,年年突破。例如,肿瘤治疗问题、基因编辑问题等,几乎一直保持着持续的热度,而在2016年又成果卓著。相信在2017年,生命科学研究成果还会持续提升,也必有“冷门”爆出,一鸣惊人。

衷心感谢李晓芳同学在文献检索、整理中给予的及时、高效协助。2016年,李晓芳同学与谭钺、曹阳和顾群等在本文述及的CrpF46、INMAP和CENP-B蛋白的涉有丝分裂或肿瘤细胞迁移研究中发挥了重要作用,在此一并感谢。

参考文献(References)

- [1] Strlic B, Yang L, Albarrán-Juárez J, et al. Tumour-cell-induced endothelial cell necroptosis via death receptor 6 promotes metastasis[J]. Nature, 2016, 536(7615): 215-218.
- [2] Jia Y, Yun C H, Park E, et al. Overcoming EGFR (T790M) and EGFR (C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors[J]. Nature, 2016, 534(7605): 129-132.
- [3] Finlay M R V, Anderton M, Ashton S, et al. Discovery of a potent and selective EGFR inhibitor (AZD9291) of both sensitizing and T790M resistance mutations that spares the wild type form of the receptor[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 57: 8249-8267.
- [4] Thress K S, Paweletz C P, Felip E, et al. Acquired EGFR C797S mutation mediates resistance to AZD9291 in non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M[J]. Nature Medicine, 2015, 21: 560-562.
- [5] Gilbert L A, Larson M H, Morsut L, et al. CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes[J]. Cell, 2013, 154(2): 442-451.
- [6] 吴晓丽. 2015年生命科学热点回眸[J]. 科技导报, 2016, 34(1): 23-35.
- [7] Tan T, Chen Z, Lei Y, et al. A regulatory effect of INMAP on centromere proteins: antisense INMAP induces CENP-B variation and centromeric halo[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e91937.
- [8] Kleinstiver B P, Pattanayak V, Prew M S, et al. High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects[J]. Nature, 2016, 529(7587): 490-495.
- [9] Morsut L, Roybal K T, Xiong X, et al. Engineering customized cell sensing and response behaviors using synthetic notch receptors[J]. Cell, 2016, 164(4): 780-791.

- [10] Escolano A, Steichen J M, Dosenovic P, et al. Sequential immunization elicits broadly neutralizing anti-HIV-1 antibodies in Ig knockin mice[J]. *Cell*, 2016, 166(6): 1445-1458.
- [11] Ellebrecht C T, Bhoj V G, Nace A, et al. Reengineering chimeric antigen receptor T cells for targeted therapy of autoimmune disease[J]. *Science*, 2016, 353(6295): 179-184.
- [12] Clemente-Casares X, Blanco J, Ambalavanan P, et al. Expanding antigen-specific regulatory networks to treat autoimmunity[J]. *Nature*, 2016, 530: 434-440.
- [13] Wei Y, Shen E, Zhao N, et al. Identification of a novel centrosomal protein CrpF46 involved in cell cycle progression and mitosis[J]. *Experimental Cell Research*, 2008, 314(8): 1693-1707.
- [14] Shen E, Lei Y, Liu Q, et al. Identification and characterization of INMAP, a novel interphase nucleus and mitotic apparatus protein that is involved in spindle formation and cell cycle progression[J]. *Experimental Cell Research*, 2009, 315(7): 1100-1116.
- [15] Zhou Y L, Chen Z, Lei Y, et al. INMAP, a novel truncated version of POLR3B, represses AP-1 and p53 transcriptional activity[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2013, 374(1/2): 81-89.
- [16] Tan T, Chen Z, Lei Y, et al. A regulatory effect of INMAP on centromere proteins: Antisense INMAP induces CENP-B variation and centromeric halo[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e91937.
- [17] Zhu Y, Lei Y, Du B C, et al. INMAP overexpression inhibits cell proliferation, induces genomic instability and functions through p53/p21 pathways[J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0115704.
- [18] Lin H, Ouyang H, Zhu J, et al. Lens regeneration using endogenous stem cells with gain of visual function[J]. *Nature*, 2016, 531(7594): 323-328.
- [19] Sekar A, Bialas A R, de Rivera H, et al. Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4[J]. *Nature*, 2016, 530(7589): 177-183.
- [20] Hong S, Beja-Glasser V F, Nfonoyim B M, et al. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models[J]. *Science*, 2016, 352(6286): 712-716.
- [21] Lui H, Zhang J, Makinson S R, et al. Progranulin deficiency promotes circuit-specific synaptic pruning by microglia via complement activation[J]. *Cell*, 2016, 165(4): 921-935.

Hot spots of life sciences in 2016

LIANG Qianjin

College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Abstract The live and fresh characteristics of life and the complexity of the laws of its activities make any new discoveries to attract worldwide attention. Research advances in the field of life sciences in 2016 have been soul-stirring. This paper selects several cases from the research results, which are too numerous to enumerate, to review the typical study progress in this year. The selected cases are: cancer cell induced death of endothelial cells, new type of ectopic inhibitor against drug resistance gene mutation lung cancers, gene targeting scheme that may greatly reduce off-targeting phenomenon, accurate tumor-killing therapy using modified T cells with dual receptor high efficient tumor immunological, therapy, high efficient AIDS immunological therapy, with HIV universal effect anti-virus antibodies, the therapy of autoimmune diseases with the removal of lymphocytes which attacking the patients' own tissues, as well as the crystal regeneration innovation, the resolution of the mechanism of synaptic pruning. Extraordinarily, the problems of tumor treatment, gene editing and so on, have maintained a constant heat, and in 2016, outstanding achievements were still made.

Keywords life sciences; cancer; gene therapy; immunotherapy; HIV; autoimmune disease; gene editing; tissue regeneration

(责任编辑 王媛媛)