

关于重大疾病相关基因研究的思考和建议

Thoughts on the Research of Genes Relative to Serious Diseases

汤 健 陈光慧 马大龙

(北京医科大学 北京 100083)

重大疾病相关基因的克隆是一个世界范围的重大课题,国际上已经投入巨大人力、物力和财力,并取得了很大成果。现在重大疾病的基因的克隆亦已列为我国生物科学研究的重大课题,这是一个非常必要的重大科学决策,必将对我国生物科学和医药卫生领域产生重要影响。

一、环境诱导基因

疾病,除了遗传病以外,绝大多数都是环境因素与遗传因素相互作用而引起的。即使是遗传病,亦与环境有关。因此环境因素的作用,在疾病的发病,尤其是心血管病和肿瘤的发病中就特别重要。

环境因素可以引起基因结构、表达和基因功能的改变,以适应人体生活和生存的需要。因此,人体的基因虽然是有限的,环境的变化却是无限的。人体有 10 万个基因,目前认为有功能的基因只有 5~10%,约 1 万个左右。它们是人类的“现役基因”,对我们人类生存和健康具有重要意义。但是那些所谓“无功能”的基因,可能并不是真正没有功能的。它们可能是发育过程中“退化”的基因、“退役”的基因、“静息”的基因,或者是为了适应人体内外环境变化的“预备基因”。这些基因在人体内外环境变化的条件下,可能才显示和发挥功能。它们是环境诱导基因。如维甲酸、砷……等诱导基因是药物介导基因;HCY 诱导基因是内环境变化介导基因。从一定意义上,这种环境诱导基因、诱导蛋白可能是无穷的,几年、几十年甚至 100 年亦是克隆不完的。

还有,在人体染色体上,人类基因组内,可以编码表达蛋白质的核苷酸只占基因组的一少部分。那些“不编码蛋白质”的核苷酸序列,可能亦不是无用的,它们是人类基因组结构的一部分,必然有其功能、有其存在的生物学意义。虽然现在还很少有人研究,研究亦有很大的难度,但是毕竟应去揭示其存在的意义和价值。最近,有人报告,将这些基因组中与编码蛋白质无关序列,导入肿瘤细胞,就可以抑制肿瘤细胞生长。人类的基因是有限的,是相对

固定的,是难变的,但是不是不变的。否则,怎么会从一个由几百个基因组成的低等生物,演化到有 10 万个基因的人类呢?在漫长的历史演化过程中,一些生物种族消失了,一些生物保存下来;一些基因退化了,一些基因产生了。其变化的最主要的动力,就是环境的变化!因此,研究和克隆环境诱导的基因,是十分有意义的,不仅对疾病发生,亦对认识自然和我们自己有重要意义。

二、寻找疾病相关基因的方法

怎样去寻找和克隆重大疾病的相关基因?应用连锁分析和遗传分析是一个重要的方法和途径。尤其对遗传性疾病更具有重要的意义。但是,对心血管、肿瘤这类数量大遗传性不显著的多基因、多因素的疾病可能不是一个最好的办法。人们对心血管病进行多态性分析,已有近 20 年,涉及的基因不下几十种。但是目前除了血管紧张素原的基因以外,一个致病基因亦没有确定。就是血管紧张素原的基因,亦有很多争议,有人报告有,有人报告无,或者是在某些种族人群中有,在另一些情况下则无。近年来,应用遗传连锁分析的方法,虽然亦找到了一些相关基因,如老年痴呆、帕金森氏病、舞蹈病、乳腺癌和肥胖病等相关基因,但是太少了、太慢了。我们还不敢说这些基因就是这些疾病的唯一致病基因。例如,对帕金森氏病,从前认为是酪氨酸羟化酶,现在又发现了 GDNF 和 Synuclein;对老年痴呆,过去认为是淀粉样蛋白,现在提出载脂蛋白的突变亦可以引起和促进老年痴呆的发生。我们认为,对于人类绝大多数的重大疾病,对于像心血管病、肿瘤这样与环境因素有密切关系的疾病,应用连锁分析和遗传分析所克隆的相关基因和致病基因都有一定局限性。我们应该在进行连锁分析的同时,大力研究和克隆不同环境因素所诱导的基因,特别是一些致病的、高危环境因素诱导所产生的新基因,有的放矢地去克隆疾病的相关基因,才更有意义、更有作为。在这方面陈竺教授克隆到 RA 诱导基因、

砒霜诱导基因,为我们开辟了一条新路。

在这种思想的启发下,我们亦克隆到一种同型半胱氨酸(HCY)诱导基因。大家知道,动脉粥样硬化(AS)一直认为是高胆固醇所引起,但是实际上有相当数量的病人,其胆固醇并不高,真正高的只占1/3左右。最近提出,高HCY是AS的一个新的独立的严重的危险因子。AS的病人常伴有高HCY。我们将HCY给鸡胚注射,发现高HCY不仅可以引起心脏发育畸形,而且亦可以引起多种发育障碍,如神经管畸形(NTD)。在20mM作用下,发病率高达30~40%。将HCY加入培养的心血管细胞,不仅可以引起血管平滑肌细胞(VSMC)增殖,还可以引起内皮细胞(EC)损伤,产生细胞凋亡,引起脂质过氧化和凝血障碍。而这些都是AS最重要的病理表现。这是通过什么基因来实现的呢?经过差异显示,我们获得4个新的cDNA,其中有一个已经获得全长cDNA和编码序列,它可能是一个与细胞凋亡和增殖有关的新的丝氨酸和苏氨酸激酶。大家知道,撤除细胞因子,可引起starvation状态,产生某些细胞的凋亡。我们在去除生长因子的细胞中,克隆到一个全长为897个核苷酸、可编码125个氨基酸的蛋白质,它可促进细胞凋亡。这亦是一种内环境变化诱导的新基因。

最近,我们还克隆到一个新高血压相关基因,可能亦是一个与长期盐负荷所诱导产生的环境诱导基因。有一种大鼠称SHR,是一种自发性高血压大鼠,它是由正常大鼠(WKY),经过世代高盐负荷所产生和筛选出的一种遗传性高血压大鼠。这种大鼠的一个显著的特点,除了血压高,就是血管平滑肌细胞的低分化和高增殖,使小动脉平滑肌细胞过度增殖,而使血管阻力增加。它是高血压(HP)形成的一个重要原因。通过这两种大鼠的差异筛选,我们获得了两个新cDNA,一个可以使VSMC增殖,一个可以抑制VSMC增殖。其中一个已经获得了全长4.2Kb的cDNA,可编码600多个氨基酸,它在正常血压大鼠时高表达,在高血压大鼠时低表达,一些致HP因素可使其下调,一些抗高血压因素可使其上调。将这种基因导入VSMC,或将它们的表达蛋白导入VSMC,可以明显抑制VSMC的增殖。现在证明它是cAMP—PKA细胞信息途径中的一个新的信息传递体,蛋白激酶A(PKA)可使它磷酸化,活化后蛋白可以抑制丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)的活性,从而抑制VSMC的增殖。这种基因表达降低,可能是产生HP的一个重要因素。此外还发现,在肿瘤细胞中,这一基因表达亦降低。将这一基因导入肿瘤细胞,可以抑制肿瘤生长。克隆基因难,克隆有功能、与疾病相关的基因更难。我们从自己初步实践中逐步认识到,从寻找和克隆环境诱导基因入手,从克隆一些致病因素诱导的基因入手,可能

亦是寻找和克隆新的疾病相关基因、功能基因的一个有效途径。

三、药物诱导基因

环境因素是多方面的,有外环境的变化,亦有内环境的变化。外环境的变化包括物理、化学、生物、营养和社会的。如射线、感染、病毒、应激、药物和毒素……。这里说一下药物诱导基因。例如,吗啡是一种公认镇痛药,它为什么能镇痛呢?先是发现了吗啡受体,克隆了阿片受体基因,后来又发现了 μ 、 δ 、 κ 等多种受体的cDNA。我们正常人并不吸服吗啡,为什么体内会有吗啡受体呢?原因是后来在体内找到的一系列内源性阿片肽,以及克隆出的一系列与镇痛有关的cDNA,由此而形成神经分子生物学中一个最活跃的领域。安定,亦是一种药物,是一种催眠镇静药,后来找到了内源性安定cDNA和它的受体。这样的例子还有很多,维甲酸、砷制剂亦是重要例证。因此,我们利用现有的药物,寻找和克隆药物诱导基因,不仅可以克隆到一些现在尚未发现的新的有重要功能的基因,为我们寻找疾病相关基因提供新的线索,而且可以寻找到具有治疗意义和价值的新的基因,开发出新的药物。

中医药是我国经过几千年实践证明的医药宝库。有许多行之有效的治疗心血管病甚至治疗肿瘤的有效药物,寻找和克隆这些有效中草药诱导基因,对于发展我国中医药伟大宝库、中西结合、寻找新的治疗基因和疾病基因亦将具有重要意义。这亦是我们分子生物学家义不容辞的责任。

四、加强基因组病的基础建设和研究

现代分子生物学正从单一基因向基因组发展,疾病亦正从基因病向基因组病发展,这不仅对于多基因病具有重要意义,对单基因遗传病亦有意义。过去我们认为家族性遗传病,也不完全是由一种基因的突变和缺失所引起的。例如,过去认为家族高胆固醇血症是由于LDL—R突变所引起的,现在又提出脂肪蛋白酶基因的缺失突变亦可引起家族性高胆固醇血症。再如家族性扩张性心肌病、遗传长X综合症亦都是这样。在这方面我们有许多工作要做。首先要做的是利用现有基因数据库上的基因,进行整理、归纳,排列出各系统相关基因在染色体上的定位图谱;再依据各个系统功能分类,排出各个系统主要功能的分类的染色体定位图谱;再排列出各个系统、每种疾病相关的已知基因的染色体定位图谱;最后排列出某种疾病在不同致病因素作用下、不同发病时间和空间的染色体定位图谱。从而建立起我们自己的、专业的、重大疾病已知基因的

染色体定位图谱和数据库。这是一个重要的基础工程,它不仅需要专业分子生物学专家,而且需要电子计算机和信息科学家的协同和帮助。有了这样的图谱,不仅可以从基因组病角度为疾病诊断提供帮助,而且可以从基因图谱分析中,发现和研究不同基因在染色体上的排列规律。这种做法必将更有利于有方向地去克隆新的与功能和疾病相关的基因。我们还应该建立自己的、专业的、重大疾病的数据库,以加强进行基因组研究的基础。

五、加强基因功能的研究

我们要寻找重大疾病相关的基因,更要克隆有功能的新基因,才能找到疾病的致病和治疗基因。现在有许多已克隆的基因,却不知它的功能。对一些老基因,我们亦只了解它的部分功能。我们有一个学生在美国,做缺失基因的动物试验。她发现,去除 ApoB100BC 基因,虽然可使 100% 的动物血胆固醇降低,使所有动物免生 AS,但同时又意外地发现,这些动物 100% 发生了肝癌。可见 ApoB100BC 基因,不仅可以调控胆固醇的代谢,而且可以促进和诱发肿瘤的发生。因此,我们不仅要注意克隆新的有功能基因,还要注意发掘和研究一些老基因的新功能,这是十分有意义和价值的。实际上一个基因,由于拼接方式的不同,可表达出不同蛋白质,如降钙素基因,它可以编码成不同蛋白质——CT 和 CGRP,进而表现为相似和完全不同的功能;即使表达出同一种蛋白质,由于它的代谢产物不同,形成不同的肽段,或作用于不同类型的受体,因而表现出不同的功能,如 Adm 前体蛋白,98—148 肽段表现为降低血压、抑制 VSMC 增殖,而它的 C 末端肽 149—185,其功能则完全相反,表现为升高血压和促进增殖作用,再看 N 端 1—20,虽然本身无功能,

但可以加强和延缓 Adm 的降解。再如 ET,是一个公认的促进增殖、收缩血管、升高血压的蛋白质,曾经认为它是高血压机理研究的一个里程碑。原以为敲除这个基因,就可以降低血压。可是,敲除这一基因后,血压不仅不降低,反而还轻度升高。后来发现,它作用在 A 型受体,可以升高血压;作用在 B 型受体则可产生降压效应。这种现象可能具有普遍意义。如 ANG1—8,是一个经典的公认的缩血管、促增殖、保 Na 保水的一个最重要的高血压相关基因,但是最近发现,如果把它去除一个氨基酸成为 ANG1—7,其作用就完全相反,从一个缩血管升血压蛋白,变成一个舒血管降血压的多肽。从上述情况我们提出蛋白质分子不同肽段的分子内调节的观点。一个基因决不止一个功能,而是多功能的,目前已知基因的某些功能亦可能不是最主要的。有意识地去研究和开发一些老的传统基因的新功能,是功能分子生物学的一个重要的研究内容,有其重要意义。在功能分子生物学研究中,利用转基因和缺基因动物是一个重要方法,我们应该加强。但如上所述,此法亦有一定局限性。为此,我们还应该大力构建各种简便、易行、安全的转基因体系,以适应基因功能研究的需要,为基因治疗打基础。这是功能分子生物学研究的一个重要前提和基础,亦是克隆疾病相关基因、研究新基因功能的一个重要内容。

21 世纪分子生物学要研究的内容很多,但我们不能仅一味地跟踪、追赶和模仿,而必须“有所为,有所不为”,必须冷静分析形势,充分认识自己的特色和优势,走自己的路! 最重要的问题是,要开拓! 要创新! 我们不仅要克隆新基因、研究新功能,要有新发现,更要有自己的特色、自己的领域,逐步形成和建立新的理论,以期对人类有所贡献!

(责任编辑 王宏章)

科技动态

中华民族基因组中若干位点基因结构的研究取得重要成果

国家自然科学基金委员会于 1993 年 12 月批准实施了“八五”重大项目“中华民族基因组中若干位点基因结构的研究”,标志着我国参加世界人类基因组计划的正式启动。经过来自 16 个单位的科研人员近四年的研究和努力,已取得了一系列可喜成果。

1. 完成了南、北方两个汉族人群和西南和东北地区 12 个少数民族共 733 个永生细胞系的建立,为中华民族基因组的研究保存了宝贵资源,并开展了我国多民族基因组多样性的比较研究。建立了较完整的基因组研究技术体系,包括作图、测序、定位、基因识别、基因组扫描、生物信息学等,获得了与神经系统、造血系

统发育、分化和基因表达调控相关的一批 cDNA。在基因组信息学(剪切位点预测、外显子与内含子序列的二维分析等)的研究中获得了一些重要成果。

2. 在致病基因分离和结构、功能研究方面,克隆到了定位于 11 号染色体的遗传性多发性外生性骨疣的致病基因,获得一批食管癌特异缺失的 DNA 片段,发现若干肝癌相关基因的 cDNA 和确定了 17p 上肝癌相关缺失区域的范围,克隆到了若干白血病致病基因并展开结构、功能研究,定位了染色体上视网膜色素变性的相关区域。此外,还在 Wilson 氏病相关位点、 β 珠

(下转第 64 页)