

视觉中国供图

我科学家解析自身免疫性疾病分子机制 不明原因反复发烧 可能是基因突变在“捣乱”

洪恒飞 柯溢能 吴雅兰
本报记者 江耘

自1997年科学家与自身炎症性疾病的斗争正式拉开序幕,20多年来,学界对自身炎症性疾病及其致病基因的探索发现不断拓展。浙江大学生命科学研究院周青团队的最新研究,有望为此类疾病的临床诊治提供更加精准的方案。

从患者体内发现基因突变位点

“很多自身炎症性疾病是一类单基因的遗传病,已有约40种致病基因被发现,除了周期性、反复性发烧外,还伴随皮疹、关节炎等症状。”周青向科技日报记者解释道,国内也有很多不明原因的发烧病例,一般被认为是感染引起的,很少与遗传病联系起来,所以在治疗上以抗生素类药物为主,却并无疗效。

据了解,由于自身炎症性疾病涉及多系统,多种表现并不特异,患者常常因为不明原因发热、皮疹或者关节炎等症状往返于感染科、皮肤科、免疫科、血液科等科室,更由于对该病症的诊断手段缺乏,临床医生认识不足,许多患者长期被误诊或者漏诊。

“我们去年收治的一位小患者,在没有感染的情况下,反复周期性发烧,接受了全外显子测序检测后仍然无法确诊病因,传统的治疗方法效果一直不理想。”复旦大学附属儿科医院王晓川主任告诉记者,他们推测孩子很可能患有自身炎症性疾病,而且发生了一个尚未被

“易容”逃脱的 RPK1 引发细胞死亡

此前,国际权威学术期刊曾报道过小鼠 RPK1 突变会导致胚胎期死亡,小鼠 RPK1 蛋白的切割对抑制细胞凋亡和坏死起重要作用。对于人类 RPK1 切割位点发生变异对控

制细胞程序性死亡的重要信号通路和人类健康的影响还未有报道。

“在正常情况下,这种蛋白会被切割,不会引起炎症反应;而无法被正常切割的 RPK1 蛋白会引起自身炎症性疾病的提高,进而导致其介导的细胞凋亡、细胞程序性坏死增加,引起炎症因子的释放,导致炎症反应。”周青介绍道,正如打蛇打七寸,要切割 RPK1 蛋白这根“导火线”也必须精准到切割位点。“人体 RPK1 蛋白中间结构中有一个名为蛋白酶 Caspase-8 的切割位点,RPK1 就是在这个关键的‘点’被切割成为两个短片段,不再具有激酶活性。”

据介绍,人体正常情况下,全长的和切割的 RPK1 并存,不会发生健康问题。在 RPK1 发生突变的病人体内,全长的 RPK1 蛋白比例提高,切割的 RPK1 减少了。在对致病机制的研究中,科研人员发现患者体内的 RPK1 蛋白在这个位点发生了氨基酸突变,使得原本应该被切割的它“毫发无损”,仍然处于全长蛋白状态,就像做了个整容术,“切割机”认不出来也就无从下手。

“这种新型自身炎症性疾病的发病机制是一个恶性循环。”周青说,由于发生基因突变导致 RPK1 蛋白无法被蛋白酶精准定位切割,这样一来,它就持续处于激活的状态,导致更多细胞的凋亡和坏死,细胞的凋亡与坏死可激活炎症因子的释放,增加的炎症因子又进一步促进了细胞的死亡。

科研人员在对该患儿的血清和外周血单核细胞研究中,均发现了较高水平的炎症因子。“IL-6、TNF 这些炎症因子含量都超级高,特别是病人发烧的时候。”同样在老鼠细胞中也发现,携带有 RPK1 该位点突变的小鼠细胞对刺激更敏感,会释放更高水平的炎症因子,同时更趋向于细胞死亡。

“我们还得到了加拿大一个患有相似疾病表型的家系:一位35岁的妇女和她三个儿子患有不明原因的反复发烧,伴有淋巴结肿大、肝脾肿大等。全外显子测序数据的分析结果显示,该家系的 RPK1 基因也携带有相同位点的突变。”周青说,团队对两个家系基因组的数据分析和功能实验结果,都证明了 RPK1 因为该位点的获得功能性突变导致了疾病。

在这项研究中,科研人员发现炎症因子 IL-6 在病人体内大量表达及其引发机制,于是在临床中建议使用针对 IL-6 受体的抑制剂。事实上,对于治疗自身炎症性疾病针对不同的炎症反应通路,已经研发出多种不同的生物抑制剂。

“如果能够确定是哪条炎症因子或者哪条炎症信号通路引起的疾病,意味着能够对症下药。”周青介绍道,团队研究进一步发现,皮肤成纤维细胞内,RPK1、TNFR1 等蛋白表达水平明显下调,细胞内的还原性谷胱甘肽(GSH)含量高,活性氧(ROS)含量低,这些变化部分解释了细胞对不同程度的抵抗。这一现象提示,为应对 RPK1 变异导致的对多种刺激的高敏感性,患儿成纤维细胞发展出多种补偿机制来维持机体稳态。

“现有的情况是,在正式治疗前,临床对自身炎症性疾病的整体认识和诊断水平还有待提升。”王晓川说,自身炎症性疾病虽因其遗传性难以根治,但找到致病机理对症下药后,患者通过定期用药也能正常工作、生活。

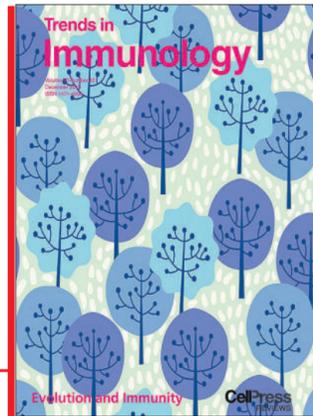
“当前,学界正加强对自身炎症性疾病致病机理的探索,本次研究是首次发现细胞坏死、细胞凋亡会引起自身炎症性疾病,后续有望从更多临床案例中推导出其他因细胞凋亡引发该病症的致病基因,完善致病基因的家谱系。”周青表示。

“面对庞大的病人群体,探究人类遗传病致病基因和解析致病机理的科研任务重大而紧急。”周青表示,在层出不穷的“基因奥秘”面前,不仅需要顶尖的技术支持,更需要社会多方面的联合力量,共同推动科研和临床的发展,造福更多被自身炎症性疾病折磨的病人。

封面故事

主持人:本报记者 陆成宽

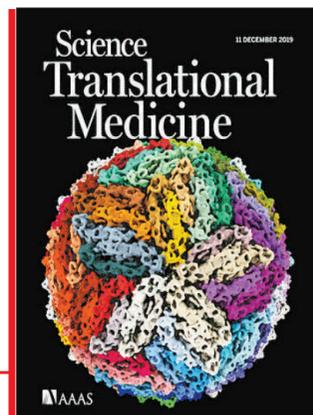
人类理解免疫性疾病 可从进化角度找线索



《免疫学趋势》
2019.12

人类的进化不断受到病原体的影响。冒险走出非洲的现代人类中,其不同种群逐渐适应了不同环境,并在对抗各种传染媒介中强化了免疫系统的适应能力。不同人群对传染源的免疫反应具有特异性,背后有着不同的遗传机制,这都是进化的结果。进化导致的免疫基因功能变异与抵抗感染的反应有关,也与在现代人群中观察到的自身免疫和炎症疾病的存在有关。荷兰内梅亨大学的米哈伊·网恰等研究人员认为,从进化的角度理解宿主-病原体相互作用如何影响人类免疫系统,可能有助于揭示不同免疫性疾病背后的原因,并有助于找到应对这类疾病的新策略。

只感染昆虫不感染人类 这种病毒可应对出血热



《科学·转化医学》
2019.12.11

昆虫传播的黄病毒可导致人类出血热,并在全世界范围内造成高发率和死亡率。澳大利亚昆士兰大学的乔治·霍布森-彼得斯等研究人员从澳大利亚的蚊子身上分离出一种只感染昆虫细胞的新黄病毒。其能与其他黄病毒(如登革热或寨卡病毒)的结构蛋白进行交换生成嵌合病毒,在昆虫细胞中产生高滴度蛋白,但不会感染人类细胞。它们可以被用来有效生产疫苗或诊断性抗原,克服其他方法的安全和生产障碍。嵌合病毒平台可以促进并可能加速迫切需要的黄病毒诊断和干预手段的发展。

科研圈

基因“魔剪”在非人灵长类中 不会明显“打偏”脱靶

科技日报(记者赵斌斌)CRISPR-Cas9 基因编辑系统已被广泛应用于生物和医学研究,研究人员正在尝试利用它进行人类疾病的基因治疗,然而,它在临床前的安全性方面还缺少全面评估。记者从中科院昆明动物研究所了解到,近期该所多个课题组合作,发现这一基因编辑系统在非人灵长类中不会导致明显脱靶效应,因而有较高安全性。研究成果发表在最新一期《自然·通讯》杂志上。

此前,有研究表明 CRISPR-Cas9 系统在小鼠基因编辑中会造成大量脱靶突变。此外,对细胞系的研究发现,Cas9 编辑细胞的基因组目标区域存在大片段结构变异。然而由于实验设计和数据分析方面的问题,加上啮齿类动物未能在许多方面显示出人类疾病的特征,这些研究结果一直存在争议。

猕猴作为与非人灵长类关系最近的可行遗传操作的非人灵长类,在大脑发育以及脑结构上都与人类具有高度的相似性。因此,在猕猴疾病模型上探索 Cas9 基因编辑的脱靶效应,对未来的临床应用至关重要。中科院昆明动物研究所徐书华课题组、郑萍课题组、灵长类研究中心以及中科院营养与健康研究所徐书华课题组合作,利用 CRISPR-Cas9 系统构建了小鼠基因组-MCPH1 敲除的猕猴模型。通过对多只基因敲除猴及其野生型父母本进行二代测序和分析,发现 Cas9 在灵长类基因组中并不会造成大量的新生突变。

结果显示,这些新生突变不是 Cas9 造成的。此外长片段测序技术发现打靶区域并不存在大片段的结构变异。这些结果表明,CRISPR-Cas9 基因编辑系统在非人灵长类中并不会造成明显的脱靶效应,具有比较高的安全性。

敲除病虫害基因 让棉花高产又“绿色”

生物前沿

吴言 通讯员 蒋朝朝
本报记者 刘志伟

看起来深奥的基因,对研究人员们来说,则是一序列具体可观、实在可操作的明确目标。

近日,华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室棉花团队传来喜讯,该团队在棉花基因编辑系统研究方面取得系列突破,通过实施精准打靶,他们的新系统能成功敲除棉花基因中的“奸细”,为高品质棉花生产保驾护航。

4套棉花基因编辑系统 走向全球

“在棉花基因编辑领域,我们处于国际领先地位。”团队教授金双侠说,目前团队已研发出4套棉花基因编辑系统,在全球广泛应用。

早在2013年,团队尝试将水稻、拟南芥的

CRISPR 编辑体系引入棉花,没有获得成功。后经不断尝试,团队根据棉花的生物学特性,把调控元件改为棉花自身元件,第一套棉花基因编辑系统于2017年创建,编辑效率达85%。

科研攻关持续进行,棉花基因编辑系统第二套、第三套和第四套相继成功。脱靶效应测试证明,团队创建的基因编辑系统精准度高、脱靶率极低。“打靶精准是基因编辑成功与否的关键。”金双侠称。

国际知名学术期刊《植物科学趋势》今年还邀约金双侠团队撰写研究成果综述并在线发表。近期,该团队在棉花中首次建立高效CPF1和单碱基编辑系统,进一步充实了棉花基因编辑工具箱。

农作物里存在病虫害 诱导基因

基因编辑技术以生物体内特定基因为干涉目标,或阻碍其产生不良特征,或对其修改使之朝积极方向变化。

“可以媲美甚至超越克隆技术。”金双侠如是说,基因编辑技术可在基因组水平上对DNA序列进行定点改造,与以往物理和化学诱变相比,更精准、更便捷,可以做到“指哪打哪”,对人类医疗、遗传疾病治疗和改良动植物农艺性状及生命科学众多基础研究意义重大。

金双侠说,水稻、棉花、小麦等作物病虫害的发生,正是作物基因和病毒“里应外合”导致。作物基因组中存在病虫害诱导基因,平时处在沉默状态,一旦病毒来袭,这些“奸细”就活跃起来,造成作物病害,现在通常采取外界药物喷洒或生物抵抗方式防治。

利用丰富遗传材料培育“绿色”棉花

苹果切开后容易变色,难看、不好吃。苹果不能左右科技,但科技可以改变苹果。

当前,国外农业公司已研制出非褐变苹果品种,并在美国上市销售。这种苹果通过基因编辑技术,将其导致褐变的基因敲除,切开后在空气中就不会再被氧化变色。

这只是基因编辑技术在作物育种上的一次小试牛刀。基因编辑应用场景数不胜数。金双侠介绍,除了不变色的苹果,该技术还可更快、更高效地培育新品种,大大增加作物产量,提升农作物抗旱、抗病虫能力,增加营养价值。

目前,金双侠团队用基因编辑技术,研发出棉花除草剂抗性材料,实现对除草剂的抗性,已在小范围实验中取得成功。同时,该团队利用高通量基因编辑技术对数以千计的棉花基因进行饱和突变,以期创造出丰富的遗传材料,培育更多抗病虫、产量高、品质好的“绿色”棉花。

金双侠认为,虽然基因编辑技术源头在国外,但国内一大批科研工作者正在水稻、玉米、小麦、油菜等重要作物中开发原创性基因编辑系统,抢占农作物基因编辑制高点。