

视觉中国供图

编者按 为纪念乙肝病毒发现者巴鲁克·布隆伯格的诞辰,从2011年开始,世界卫生组织将7月28日定为世界肝炎日。目前多种病毒性肝炎都有了有效疫苗,但我国乙肝病毒感染者人数仍高达近130万例。在病毒性肝炎的防治过程中,各种生物技术相继登场。

防治病毒性肝炎 除了疫苗还有这些生物技术

洪恒飞 本报记者 江耘

今年7月28日是第10个世界肝炎日。肝炎是因多种综合致病因素导致患者肝脏细胞受到一定程度的损伤,从而引发患者肝功能异常,常见原因为肝炎病毒(甲型、乙型、丙型、丁型及戊型)等所致,也有脂肪肝、药物性肝炎等非感染因素所致。

2019年,世界卫生组织调查显示,乙型和

丙型肝炎每年造成140万人死亡;肝炎病毒感染者的人数比艾滋病病毒感染者高9倍,是仅次于结核病的第二大致命传染病。

现如今,多种病毒性肝炎虽然有了有效疫苗,但现有患者数目仍然庞大。令人期待的是,近年来,一批生物技术相继涌现,参与到人类与病毒性肝炎的攻防战中,为肝炎防治提供了更多可能。这些生物技术研发进展如何?它们如何各展所长?科技日报记者采访了相关专家。

细胞免疫疗法

定向清理病毒的“巡航导弹”

尽管新的抗病毒药物不断出现,迄今仍没有能完全清除乙肝病毒的有效手段,主要原因是现有药物无法清除肝细胞内的乙肝病毒共价闭合环状DNA(cccDNA),导致停药后极易复发。细胞免疫疗法及时进入了科研人员的视野。

通俗地讲,细胞免疫疗法是运用生物技术和生物制剂对从病人体内采集的免疫细胞进行体外培养和扩增后回输到病人体内的方法,可激发、增强机体自身免疫功能,从而达到控制甚至清除肝细胞中病毒的效果。

记者了解到,浙江大学医学院附属第一医院(以下简称浙大一院)检验科主任陈瑜教授团队从机体抗乙肝病毒特异性免疫应答角度为切入点,在我国最早建立了乙肝病毒特异性T细胞免疫应答研究技术平台,历经20年攻关研究,发现乙肝病毒特异性T细胞分泌IFN- γ (一种干扰素)的能力直接影响乙肝病毒的清除。IFN- γ 是唯一能清除肝内乙肝病毒cccDNA的细胞因子。

陈瑜说,项目成果开辟了通过调控激活乙肝病毒特异性T细胞实现病毒清除和乙肝肝

治的新途径,为研发相关新型靶向免疫治疗技术提供了理论依据,为乙肝治愈带来了新希望。目前,该研究成果已于指导乙肝新型治疗性疫苗研发,并写入国际指南。

而在国外,2017年7月,杜克-新加坡国立大学安东尼奥·贝尔托莱蒂教授及其团队在世界上率先使用了mRNA(信使RNA)转导方法,利用分子生物学技术来修饰患者的T细胞,当经过TCR(T细胞受体)基因修饰的T细胞回输进患者体内时,T细胞会找寻和识别感染病毒的肝细胞,抑制或清除病毒感染,以此实现乙肝特异性TCR重定向T细胞用于慢性乙肝患者的治疗。

公开资料显示,贝尔托莱蒂正与广州和上海的医院合作,研究治疗肝移植后的乙肝复发,尝试为这些患者开发细胞免疫疗法。

贝尔托莱蒂曾表示,制造这种乙肝病毒特异性T细胞的过程复杂,还需找到一种简单的方法实现生产,即在患者身上少量注射就可以重建免疫系统。这一疗法在动物模型中已被证明有效,真正应用到临床上还有段路要走。

与实验生物学仅关注单个基因和蛋白质不同,系统生物学要研究所有基因、蛋白质等组分间的相互关系。但浙江中医药大学生命科学学院院长兼副院长、国家中医药管理局“脂代谢研究三级实验室”负责人窦晓兵坦言,对证候的生物学基础缺乏全面、系统和深入的研究,严重阻碍了中医药疗效的进一步提高。

“系统生物学研究,要综合运用临床循证医学、实验室系统生物学和计算机的技术与方法。”窦晓兵介绍说,首先要建立中医药诊疗慢性乙肝循证医学工作平台,在此平台上获取治疗慢性乙肝主要证候(肝郁脾虚、湿热中阻、瘀血阻络、脾肾阳虚、肝肾阴虚等)治疗的最佳证据,按临床中医药疗效评价规范方案治疗相应病症,以疗效较好病例的相应实验标本,进一步进行系统生物学研究。

窦晓兵说,循证医学工作平台建立之后,还需再建立系统生物学研究工作平台,在此平

人工肝培育

在重振肝脏功能中被寄予厚望

因为体内乙肝病毒无法彻底清除,一些乙肝患者的病情会恶化,发展成肝硬化,需要接受肝移植。但供体肝缺口较大,医学界将很大一部分希望寄托于人工肝。

“人工肝可分为非生物型、生物型和混合型,是帮助短期内肝脏出现严重障碍的患者代替肝功能,通过清除体内毒素,补充蛋白质等必需物质后,促进肝细胞再生的一种支撑系统。”全国肝衰竭与人工肝专家委员会副主任、浙大一院感染病科和传染病诊治国家重点实验室副主任黄建荣教授解释,在临床得到普遍应用的为非生物型人工肝,学界对人工肝的研究,正致力于非生物型联合生物型人工肝治疗。

生物型人工肝由体外培养的外源性肝细胞生物反应装置组合而成,具有肝脏特异性解生物合成及转化功能,但缺乏理想的肝细胞源和高效生物反应器,是导致相关临床治疗效果不佳的两大症结,国内外均没有显著进展。

台上对上述标本进行基因组、蛋白质组、代谢组学等实验研究……如此循环往复,才能形成慢性乙肝证候系统生物学临床-科研一体化工作平台,提高中医药防治慢性乙肝机制的研究能力和水平。

据了解,基于系统生物学的肝炎防治,主要研究慢性乙肝中医证候与乙肝病毒基因突变、人白蛋白基因表达谱、关键蛋白质和代谢网络的相关性。相关研究结果表明,乙肝病毒不同位点基因变异率与中医证候密切相关。

“已有的系统生物学临床研究采用针对性的对症方药进行治疗,结果发现在临床证候得以改善的同时,其乙肝病毒的基因突变株的复制得到一定程度的抑制。同时,某些中药复方、左归丸等中医药被证明对于肝炎具有防治功效。”窦晓兵说,系统生物学方法为中医药防治肝炎提供了强有力的工具和机遇。

黄建荣告诉记者,过去的二十多年里,浙大一院团队曾先后尝试过猪肝细胞和人源性肝细胞的培养,相关研究均因治疗细胞数量达不到需要的 10^6 量级、无法有效增殖等原因而收效甚微。

“经过持续研究,我们于2015年建立了国内首个永久性永生化的肝细胞系HepLL,为生物型人工肝研究提供了潜在肝细胞源。”黄建荣透露,团队研制的微囊化永生化的肝细胞规模化制备系统,可实现冻存 10^6 数量级,满足了生物型人工肝治疗的需要。另外,团队结合最新研制的微囊漏斗型流化床式新型生物反应器,创建了拥有自主知识产权的新型生物人工肝系统,并开展了肝衰竭动物实验。

“肝衰竭的实验小猪在治疗后,血氧、乳酸浓度明显降低,血糖及氨基酸水平相对平稳,生存时间从6小时延长到了96小时。意味着这一人工肝系统安全、有效,达到国际领先水平,为下一步的临床试验奠定了基础。”黄建荣表示。

证候系统生物学

让中医药治疗肝炎更标准化

近年来,传统中医药针对肝炎的防治受到广泛关注,证候系统生物学是综合运用中医证

候学和现代系统生物学的理论与方法的新交叉学科。

灵敏度提高近百倍

新检测技术可更早发现乙肝病毒携带者

本报记者 马爱平

2020年度“愿天下再无肝炎”7·28世界肝炎日主题论坛近日在线召开,中国工程院院士、浙江大学附属第一医院李兰娟教授在会上分享了由浙江杭州树兰医院牵头,来自全国50余家医院的感染病科医生共同参与的乙肝患者乙肝病毒DNA(HBV DNA)检测调研的中期结果。

“根据截止到6月底的数据,在对既往接受过恩替卡韦治疗一年以内的300名患者进行HBV DNA高灵敏度检测后,结果显示:如果使用普通检测方法,40%患者无法检测到HBV DNA;但采取高灵敏度检测技术,可以发现这些漏检患者的体内存在病毒低水平复制的情况。”李兰娟说。

高灵敏检测发现病毒低水平患者

2016年,世界卫生组织(下简称WHO)提出了到2030年消除肝炎危害的目标,它已成为全球肝病防治领域的“一号课题”。

李兰娟表示,随着乙肝疫苗的推广,丙肝病毒筛查的推进,我国新增感染者的数量大幅降低。在乙肝防治发展的过程中,由于检测技术的限制,过去无法发现低水平病毒复制的患者,使得这些患者没有尽早地接受抗病毒治疗。

北京中医药大学东方医院感染科主任王贵强教授表示,定量检测HBV感染者血浆中乙肝病毒的DNA,是了解患者乙肝病毒复制水平的可靠指标,也是诊疗和指导用药的重要指标。但目前市场上的主流检测试剂盒,大多是基于煮沸法核酸提取的方法,检测下限一般为500IU/ml-1000IU/ml,也就是患者体内的病毒含量达到这个水平才能检测出来。而基于磁珠法提取核酸的检测试剂,灵敏度大幅提高,检测下限只需20IU/ml甚至10IU/ml。这样,医生就可以检测到体内病毒含量只有20IU/ml的低水平病毒复制患者,提前开始抗病毒治疗,从而有效抑制病情发展。

高灵敏HBV DNA检测技术是一种荧光定量PCR技术,它是在常规PCR基础上加入荧光标记探针或相应的荧光染料来实现其定量功能

的。其原理是,随着PCR反应的进行,PCR反应产物不断累积,荧光信号强度也会相应增加,从而通过荧光强度变化来检测病毒的含量。

浙江杭州树兰医院牵头,全国50余家感染病科医生和专科医院合作,对服用恩替卡韦一年以内的300名患者进行了乙肝病毒的DNA检测,不同检测方法得出了上述不同的结果。“用恩替卡韦治疗后,更高灵敏度检测方法能发现低水平病毒感染的存在,可以发现没有彻底转阴的情况,从而继续加强治疗。”李兰娟表示,这只是中期结果的数据,整个调研项目将入组1800例样本,观察评估慢性乙肝患者抗病毒治疗的效果。通过高灵敏DNA检测,医生能尽早发现低水平乙肝病毒复制的患者,进而用药物把患者的HBV DNA降到20IU/ml,降低患者发展成肝癌的风险。

微生物组指纹或可用来诊断肝纤维化

除了这些越来越灵敏的DNA检测技术,科

学家们还在开发其他新型检测方法。近日,美国索克研究所和加州大学圣迭戈分校的科学家合作,在《细胞代谢》杂志发表论文称,他们开发出一种基于微生物组的新型诊断工具,能在人类患者中以90%灵敏度高效低成本地识别肝纤维化和肝硬化患者。

微生物组是一个动态的活体传感器,能反映人体健康和疾病的微小变化,因此,它能准确地读出人体健康状况,可能是一个意想不到的健康指标。新方法利用患者的粪便作为检测样本,通过算法来获得患者的肠道微生物环境,并绘制出与病症相关的肠道微生物图谱。

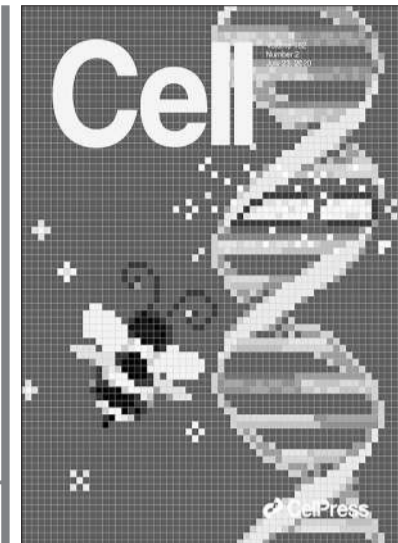
他们利用微生物基因组和粪便样本中代谢物的数据,发现了一个与肝硬化诊断相关的微生物群特征。通过对两个不同国家的独立患者群体的验证,科学家发现这种指纹图谱可以准确识别90%以上患者的肝硬化,验证了该方法在不同基因和饮食上的有效性和准确性。

封面故事

主持人:本报记者 聂翠蓉

碱基编辑器效果好不好 机器学习模型能预测

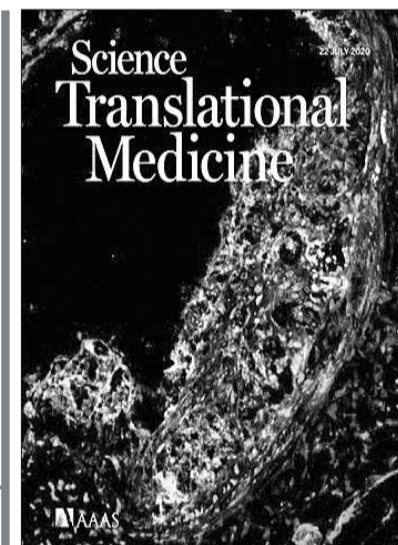
《细胞》
2020.7.23



虽然碱基编辑器被广泛用于对基因进行定点编辑,但至今为止,我们对于碱基编辑器编辑效果的决定因素有哪些并不十分了解。美国哈佛大学刘如谦团队利用11个最受欢迎的碱基编辑器,对哺乳动物细胞中约3.8万个基因位点进行编辑的数据,创建了能精准预测碱基编辑器基因编辑效果的机器学习模型BE-Hive。研究人员发现,通过对3388个疾病相关单核苷酸突变的编辑的验证,发现BE-Hive预测准确率高达90%以上,甚至能准确预测出哪些等位基因不会被编辑。研究人员还利用BE-Hive模型,发现了某些碱基编辑器的“怪癖”——比如之前一般是将碱基C(胞嘧啶)变为T(胸腺嘧啶)的常规路线,有时会将碱基C变为G(鸟嘌呤)或A(腺嘌呤),从而帮助未来设计全新的碱基编辑器,改进碱基编辑器的基因编辑能力。

治疗动脉粥样硬化 巨噬细胞暗藏作用靶点

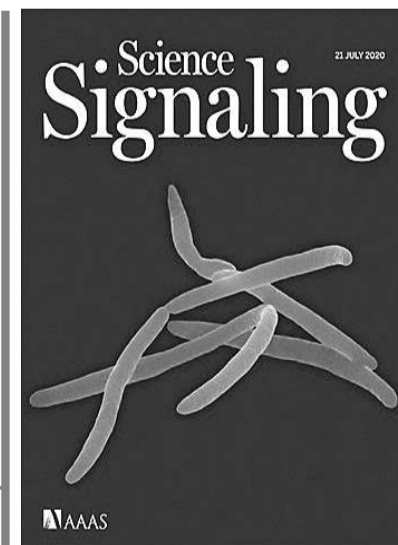
《科学·转化医学》
2020.7.22



动脉粥样硬化病变中的巨噬细胞能促进炎症和斑块的形成,但因缺乏对相关机制的深入了解,研发靶向巨噬细胞的药物一直是心血管领域的一大空白。美国哈佛大学医学院教授施进军(音译)在最新研究中发现,钙调素依赖性蛋白激酶 γ (CaMKII γ)可作为巨噬细胞中的一个靶点,用一种小干扰RNA(siRNA)纳米颗粒靶向作用于它,可抑制动脉粥样硬化。他们用小鼠动脉粥样硬化模型进行实验发现,siRNA纳米颗粒靶向巨噬细胞,可促进斑块稳定,减少坏死面积,增加纤维化表面的糖基结合,以黏附巨噬细胞中促进动脉粥样硬化的基因可以作为siRNA纳米粒子的作用靶点,从而为治疗动脉粥样硬化的药物研发提供了新的研究方向。

科学家揭示口腔细菌 引发结肠癌的机制

《科学·信号》
2020.7.21



具核梭杆菌是一种常见的口腔细菌,此前有研究表明,这种细菌能直接侵入结肠肿瘤,但关于这种细菌如何导致癌症仍然存在疑问。近日,美国弗吉尼亚理工大学科学家丹尼尔·斯莱德和同事们,揭示了具核梭杆菌导致结肠癌的机制。他们采用一种改良的半乳糖苷酶无标记基因缺失方法发现,具核梭杆菌通过Fap2蛋白与癌细胞表面的糖基结合,以黏附并侵入癌细胞,进而刺激癌细胞释放能诱导癌细胞扩散的细胞因子IL-8和CXCL1。具核梭杆菌还能吸附并感染中性粒细胞和巨噬细胞,引起额外的促癌蛋白释放。研究人员表示,通过接种疫苗或用半乳糖苷化合物来抑制细菌与宿主细胞的结合,可能是一种减少细菌感染导致结肠癌转移的有效策略。