



[www.LifeOmic.com](http://www.LifeOmic.com)

[www.LifeOmic.cn](http://www.LifeOmic.cn)

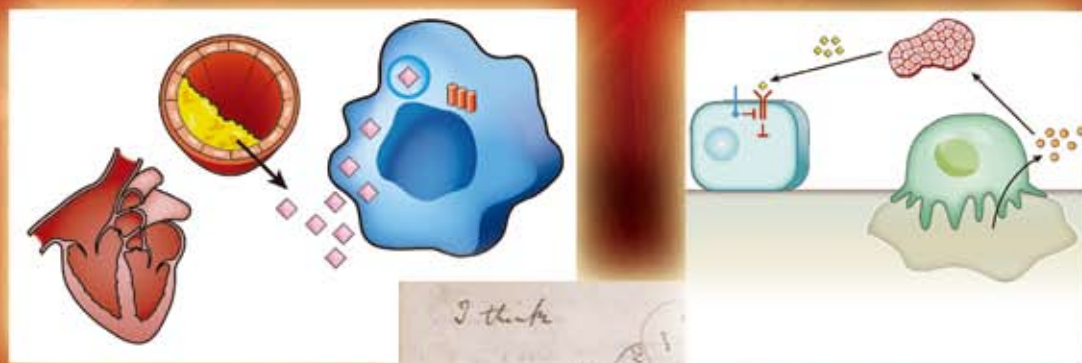
[www.LifeOmic2.com](http://www.LifeOmic2.com)

# 生命奥秘

2012年 6月刊  
总第46期

## LifeOmics

### 生物学前沿研究选介



大脑观测站

给“聪明动物”的断言泼冷水

无奇不有

生命世界

解读生命

走进科学

# 目录 | CONTENTS

## 专题译述

### 生物学前沿研究选介

#### 前言

一、炎症小体与人体健康的关系 .....	02
1. 炎症小体是细胞内的天然免疫感受器 .....	02
2. 通过对炎症小体的调控来控制炎症反应的强度 .....	05
3. 炎症小体与代谢疾病的关系 .....	08
4. 炎症小体与黏膜免疫反应的关系 .....	09
5. 炎症小体未来的研究方向 .....	10
二、DNA损伤反应与抗肿瘤治疗的关系 .....	12
1. DNA损伤与DNA损伤反应 .....	12
2. 癌症 .....	16
3. 对各种癌症治疗方案的选择问题 .....	17
4. 尚存的问题 .....	18
三、肿瘤的克隆性进化 .....	23
1. 突变驱动力及克隆增殖动态学 .....	23
2. 肿瘤的生态环境 .....	24
3. 肿瘤基因组及肿瘤克隆的组织结构的影响 .....	26
4. 选择单位和肿瘤干细胞的作用 .....	29
5. 达尔文的旁路效应 .....	31
四、诱导多潜能干细胞在基础研究和临床治疗中的前景展望 .....	34
五、骨骼对有机体整体生理学的研究意义 .....	41

#### 下一期（2012年7月刊）预告：揭开自闭症的神秘面纱

目前，人们对自闭症诊断技术以及基础研究的支持力度正在逐渐加大，但是关于自闭症，我们还是有很多不解之处。下一期生命奥秘将带领大家更深入地认识自闭症。

## 热点话题

大脑观测站 .....	45
-------------	----

## 生命百态

给“聪明动物”的断言泼冷水 .....	51
---------------------	----

本刊文章主要由国外网站文章编译而成，如有版权问题，请版权所有人与本刊联系。  
凡本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处“生命奥秘”。  
本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

# 专题 译述

*Worthy Issues*

## 生物学前沿研究选介

### 前言

《自然》（*Nature*）发表一期“生物学前沿进展（Frontiers in Biology）”特辑（*Nature Insight*, Vol.481, No.7381, pp277-318），主要探讨的内容包括：稳态组织（tissue homeostasis）中先天免疫信号通路（innate immune signalling）的作用及其对病原体感染的反应；DNA损伤反应机制（DNA damage response）对开发抑制剂类药物的作用及其对肿瘤疾病的治疗功效；患者自身细胞来源的多潜能干细胞（pluripotent stem cell）的治疗前景及其对肿瘤的促进作用；以及小鼠遗传特性对研究骨生理学的意义。

由于篇幅有限，无法均等叙述上述所有进展，仅选取部分内容与大家分享，希望对相关领域的科研人员有所启发。

# 一、炎症小体与人体健康的关系

炎症反应（Inflammation）是机体在面临感染时发生的一种急性的保护性反应，可能会造成组织损伤，但是总体效果是为了限制感染，避免给机体带来更大的伤害。不过一旦炎症反应失控，或者演变为慢性炎症，那么就会给机体带来二次损伤和免疫病理损伤。机体在感受到急性损伤信号或者状态失稳时就会启动炎症反应机制。经过长期的共同进化，体内的几套识别系统已经能够很好地分辨出内环境是否稳定以及机体是否遭受到了各种损伤。其中一些受体可以识别出各种不同的保守病原体相关分子模式（pathogen-associated molecular patterns, PAMP）。这种分子模式主要见于各种微生物当中，一旦体内出现了这些分子，机体就能够通过对这些分子模式的识别分辨出体内组织当中存在的各种病原体，因为在正常情况下体内是不应该存在这些分子的。还有一些受体可以识别宿主来源的信号，这些信号叫做损伤相关分子模式（damage-associated molecular patterns, DAMP）。在机体组织的内环境中，因为各种微生物感染或其它损伤而出现不稳定情况时会释放出这些分子信号，机体马上就能够感知到体内出现了问题。

炎症小体（Inflammasome）是一种蛋白质复合物，它们能够识别各种不同的炎症刺激信号，其中就包括PAMP和DAMP信号。炎症小体还能够控制IL-1 $\beta$ 和IL-18等多种重要的促炎症细胞因子的合成。另外，研究发现炎症小体还能够对炎症反应以及细胞pyroptosis途径等多种重要的细胞生理途径进行调控。最近的研究已经发现了好几条特异性的分子激活机制以及多种细胞内源和外源性的配体分子。另外，这些复合体在帮助机体对抗微生物感染的战斗中还可以发挥其它多种作用，同时还发现它们与代谢综合征（metabolic syndrome）或炎症性肠病（inflammatory bowel disease, IBD）等疾病密切相关。更重要的是，如果构成炎症小体的蛋白质发生了突变，会导致好几种人体免疫疾病发生。由此可见，炎症反应与我们人体的健康息息相关。

## 1. 炎症小体是细胞内的天然免疫感受器

### 1.1 炎症小体能控制caspase-1酶的活性

IL-1 $\beta$ 是一种典型的促炎症反应细胞因子，它广泛参与多个炎症反应过程，因此必须从转录水平和翻译后水平对该蛋白的表达进行严密的调控。IL-1 $\beta$ 表达之后最开始是以蛋白质前体（pro-protein）的形式存在的，在IL-1 $\beta$ 的序列中并没有典型的信号序列，所以它不能够正常分泌，该因子的活化以及释放过程都受到了半胱氨酸蛋白酶caspase-1的调控。同样，IL-18的处理和释放分泌过程也受到了caspase-1的调控。IL-1 $\alpha$ 和经由非传统蛋白质分泌途径分泌的成纤维细胞生长因子2等其它蛋白质的分泌过程也都同样受到了caspase-1的调控。另外，caspase-1还是细胞pyroptosis途径里

不可或缺的必需因子之一，在细胞遭受微生物感染时经常会出现pyroptosis的现象，DNA会断裂成块，细胞萎缩坏死，并释放出各种炎症因子和细胞因子。caspase-1与其它半胱氨酸天冬氨酸酶一样，在合成之初都是以没有蛋白酶活性的酶原（zymogen）形式存在，只有在和其它几个蛋白质共同组成炎症小体，并且形成二聚体之后（如图1所示），才会表现出水解酶的活性。其中富含亮氨酸的重复单位结构域（leucine-rich repeat, LRR）被认为是能够抑制水解酶活性的单位，但是在各种激活信号的直接或间接作用之下，这种抑制作用就可以被解除；而另外一个核苷酸结合结构域（nucleotide-binding domain, NBD）则负责同源或异源寡聚体的合成作用，这是形成炎症小体的关键步骤。在活化信号的作用之下，炎症小体感受器（inflammasome sensor）可以通过直接结合同源caspase活化及招募结构域（caspase activation and recruitment domain, CARD），或者通过含有pyrin结构域（PYD）和CARD结构域的受体凋亡相关斑点样蛋白（adaptor apoptosis-associated speck-like protein, ASC）的帮助，间接与其PYD结构域结合的方式招募同样具有CARD结构域的caspase-1酶原——pro-caspase-1蛋白。

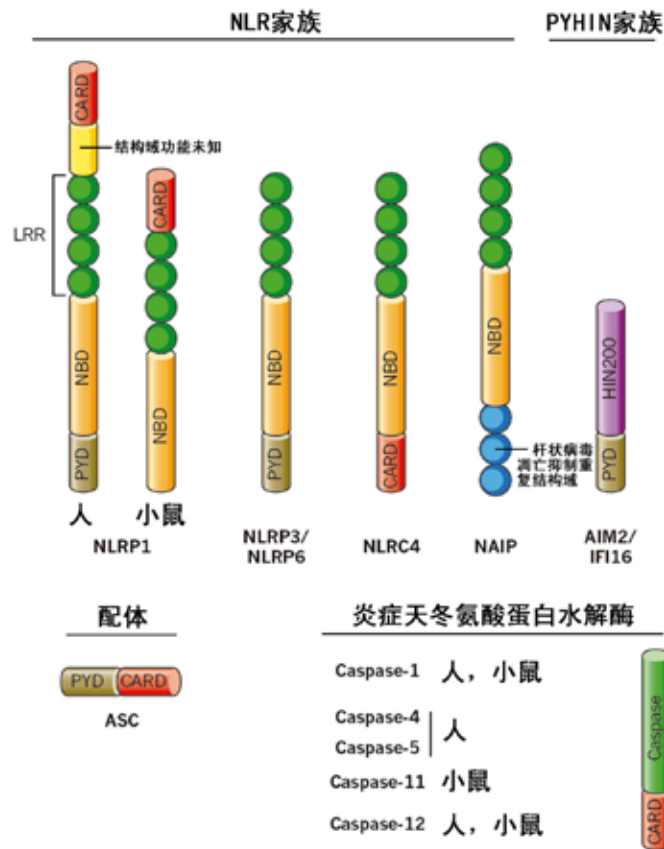


图1 炎症小体组成蛋白包含的各种结构域简介。

## 1.2 各种信号因子都能够促进炎症小体形成

各种外源和内源信号因子都能够促进炎症小体的形成。每一个蛋白质感受到的信号因子的活化能力是不一样的，很多蛋白感受的信号因子彼此间都会有重叠。可是AIM2和NLRC4炎症小体分别只会被特定的PAMP和DNA双链断裂损伤信号以及特定的细菌蛋白信号激活。NLRP3炎症小体则可以被很多种信号激活，比如PAMP、DAMP或者细菌毒素蛋白等。这些能够激活NLRP3炎症小体的各种信号因子配体在结构上的多样性堪比Toll样受体一类的天然识别受体，这些天然受体的结构也是多种多样的，所以它们可以识别大自然中种类繁多的天然配体，但是主要的识别对象还是比较保守的结构基序。因此科学家们提出了好几种模型，来解释这些信号因子是通过哪种机制激活NLRP3炎症小体的。这些彼此之间并非完全不一样的机制中都包括同样一条途径，即在各种不同的辅助因子的帮助下，同时识别直接的和间接的信号因子。

## 1.3 炎症小体活性调控机制

机体必须对炎症小体的活性进行严格调控，避免炎症反应失控，炎症细胞因子大量表达，致使细胞死亡。这种调控发生在转录水平和转录后水平。经过这种调控达到的首要目的就是在许多种细胞中，以NLRP3为首的各种炎症小体感受器的本底表达水平相对都比较低，必须在诱导信号的刺激作用下才会大量表达。这类信号一般指的都是I类信号，很多微生物的配体、细胞因子或活性氧分子（ROS）等都能提供这种信号。

此外，对炎症小体组成分子进行可变剪接也是一条非常重要的调控手段，这种方式可以获得具备不同活性的多种蛋白变体。实际上，ASC蛋白的各种剪接变体的确具有互不相同的功能，可以充当各种炎症小体受体，甚至还有一种变体居然具备抑制活性。

另外，宿主细胞表达的炎症小体活性调控蛋白主要是通过通过与CARD或PYD等同型结构域发生相互作用，或者通过直接抑制caspase-1酶的功能的方式来限制炎症小体的活性。

对炎症小体组份蛋白的亚细胞定位以及细胞内的转运过程进行调控也是一条非常重要的调控途径，这是因为在静息态的细胞当中，ASC蛋白主要定位在细胞核内。

还有一条调控机制就是控制炎症小体的组份因子，让不同的组分蛋白参与组成炎症小体，因为有学者观察到细胞因子对NLRC4下游活性的调控作用是依赖ASC的，可是细胞的pyroptosis作用却是不依赖ASC的。

对caspase-1酶进行各种不同的处理也很有可能是一条比较重要的炎症小体活性调控机制，因为不能进行自我水解的caspase-1酶水解细胞因子的活性是会受到影响的，但还是能够在沙门氏菌（Salmonella）感染时经由NLRC4介导的途径启动pyroptosis反应。

细胞还可以通过与自体吞噬（autophagy）等细胞应激反应机制相互作用的方式对炎症小体的反应活性进行调控。自体吞噬作用会导致蛋白质复合体和细胞器等细胞底物在自体溶酶体（autolysosome）中降解，代谢产物会被机体再利用。令人惊奇的是，如果细胞的自体吞噬功能出现问题，那么炎症小体的活化阈值也会随之下调。这已经被实验所证明，实验发现，如果细胞内活性氧分子水平升高，线粒体功能会出现异常，但



是此时细胞对这些异常线粒体的清除能力也会有所下降，这就说明NLRP3很有可能在其中起到了异常信号感受器的作用。

还有一种控制炎症小体活性的方法就是下调细胞因子的表达和分泌量，或者下调细胞间的相互作用。最典型的例子就是下调I型干扰素的表达量或者是CD4+ T细胞与巨噬细胞或树突状细胞之间的相互作用，从而从转录水平和转录后水平上下调炎症小体的活性。上述所有这些调控机制会协同作用，在时间和空间上对炎症小体介导的各种反应过程进行全方位的调控。总而言之，我们人体已经进化出了一整套调控机制，对炎症小体进行严密的监控，就是为了避免炎症反应过度对人体带来伤害。

## 2. 通过对炎症小体的调控来控制炎症反应的强度

### 2.1 炎症小体与抗微生物反应

在体内，炎症小体参与了抗微生物感染的天然免疫反应。其中被研究得最广泛、最深入的炎症小体就是NLRP3炎症小体。研究发现，NLRP3炎症小体广泛参与了抗细菌免疫反应、抗病毒和真菌免疫反应以及抗寄生虫免疫反应。尽管这方面的实验证据仅限于少量的、发现NLRP3炎症小体能够直接识别各种相关病原体并被活化的实验，但是有很多研究都表明，炎症小体的活化还与细胞应激反应和细胞损伤信号有关。甲型流感病毒就是一个很好的例子，可以表明病毒是通过间接途径激活NLRP3炎症小体的。在人体感染甲型流感病毒之后，Toll样受体7（TLR7）可以识别病毒的RNA，然后诱导其它NLRP3炎症小体组份蛋白大量表达。接下来，流感病毒编码的离子通道蛋白M2会促使反面高尔基网（trans-Golgi network）的pH值趋向7，导致钾离子外流，活性氧分子大量形成，进而促使NLRP3炎症小体组装。最近发现，微生物来源的mRNA能够激活NLRP3炎症小体，这种激活作用是一种依赖受包含TIR结构域的配体诱导表达的β干扰素（TIR-domain-containing adaptor-inducing interferon-β，TRIF）的作用方式。这样，NLRP3炎症小体就能够感知微生物的感染信号，进而让机体分辨出入侵身体的是活的细菌还是死的细菌，从而启动专一性针对有活力微生物感染的免疫反应。在小鼠感染炭疽芽孢杆菌（*Bacillus anthracis*）的试验中发现，小鼠NLRP1炎症小体的活化机制也是启动抗微生物感染的关键途径，炎症小体可以诱导被感染的巨噬细胞经caspase-1酶介导的pyroptosis途径程序性死亡，从而限制感染的范围，并且启动后续的中性粒细胞反应对抗细菌感染。人体的NLRP1炎症小体在组装过程中需要ASC的帮助，但是小鼠的NLRP1b炎症小体却可以不依赖ASC，可以直接激活caspase-1酶。和NOD2以及NLRP3一样，NLRP1也能感知胞壁酰二肽（muramyl dipeptide, MDP，这是一种细菌细胞壁成分）信号，这说明在面对微生物感染时，不同的信号识别受体之间可能存在协同作用。NLRC4炎症小体的活化主要是由沙门氏菌（*Salmonella*）、假单胞菌（*Pseudomonas*）、军团杆菌（*Legionella*）以及耶尔森菌（*Yersinia*）等

细菌分泌的III型 (T3SS) 和IV型 (T4SS) 分泌物介导的, 因为这些分泌物能够促使NLRC4的配体鞭毛蛋白 (flagellin) 进入细胞内部, 激活NLRC4信号通路。另外还存在一条不依赖鞭毛蛋白的NLRC4炎症小体活化途径, 这条途径主要依赖的是对T3SS蛋白PrgJ的识别作用。有意思的是, 在受到军团杆菌感染时, NLRC4炎症小体的活化依赖的是另外一种NLR蛋白——NAIP5蛋白, 可是它在沙门氏菌和假单胞菌感染时却只是部分需要NAIP5蛋白的帮助就能够激活NLRC4炎症小体。最近, 科学家们终于搞清楚了导致这种差异的原因, 这是因为有各种不同的NAIP家族蛋白与NLRC4炎症小体结合, 所以赋予了NLRC4炎症小体结合各种不同配体的能力, 因此NAIP2–NLRC4复合体结合的是PrgJ蛋白以及其它与PrgJ蛋白结构相似的蛋白, 而NAIP5–NLRC4复合体结合的是鞭毛蛋白。所以各种不同的病原体受体都能帮助NLRC4识别微生物感染信号, 扩大了NLRC4炎症小体的监视范围。最近的研究又发现, AIM2蛋白可以识别细菌和病毒的双链DNA, 从而对各种胞内感染的微生物启动抗感染免疫反应, 比如土拉热杆菌 (*Francisella tularensis*)、单核细胞增多性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 以及DNA病毒等。

在各种微生物感染时, 各种炎症小体的独特效应作用都对机体的防御反应起到了非常重要的作用。虽然炎症小体诱导表达的IL-1 $\beta$ 和IL-18分别是帮助机体清除流感病毒和志贺氏痢疾杆菌 (*Shigella*) 的必需因子, 但是在人体感染鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella enterica* Typhimurium)、嗜肺性军团病杆菌 (*Legionella pneumophila*) 或泰国伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia thailandensis*) 时, 由caspase-1介导的pyroptosis凋亡作用还是起到了最为关键性的作用。综上所述, 各种不同炎症小体之间的相互协同作用似乎是我们人体对抗各种微生物感染的重要免疫防御机制。在鼠伤寒沙门氏菌感染时, 这种协同作用机制就表现得特别明显, 此时即便NLRP3或者NLRC4中间有任何一方出了一点问题, 也不会出现感染加重的情况。可是如果小鼠的NLRP3途径和NLRC4途径都出了问题, 那么就会与缺失了caspase-1酶的小鼠一样, 变得非常容易受到各种微生物的感染 (图2)。

于是, 很多病原体为了避免激活炎症小体, 都会编码表达一些抑制因子, 抑制炎症小体的作用。比如流感病毒编码的NS1、牛痘病毒 (cowpox virus) 编码的Crm1等都属于这类抑制因子, 它们通常都是直接对炎症小体的关键组份蛋白发挥作用, 直接抑制caspase-1酶的活性。KSHV编码的ORF63蛋白也是这种抑制因子, 它能够与NLR感受器结合, 阻止NLRP1和NLRP3炎症小体形成。反过来说, 众多微生物全都具备这种炎症小体抑制机制, 这也能够从一个侧面说明炎症小体在抗微生物感染机制中具有非常重要的地位。可以预见, 近几年内有关炎症小体如何感知病原体感染信号, 以及炎症小体如何与其它天然免疫机制发生相互作用、调控抗微生物免疫反应等方面的研究一定会成为一大热门。

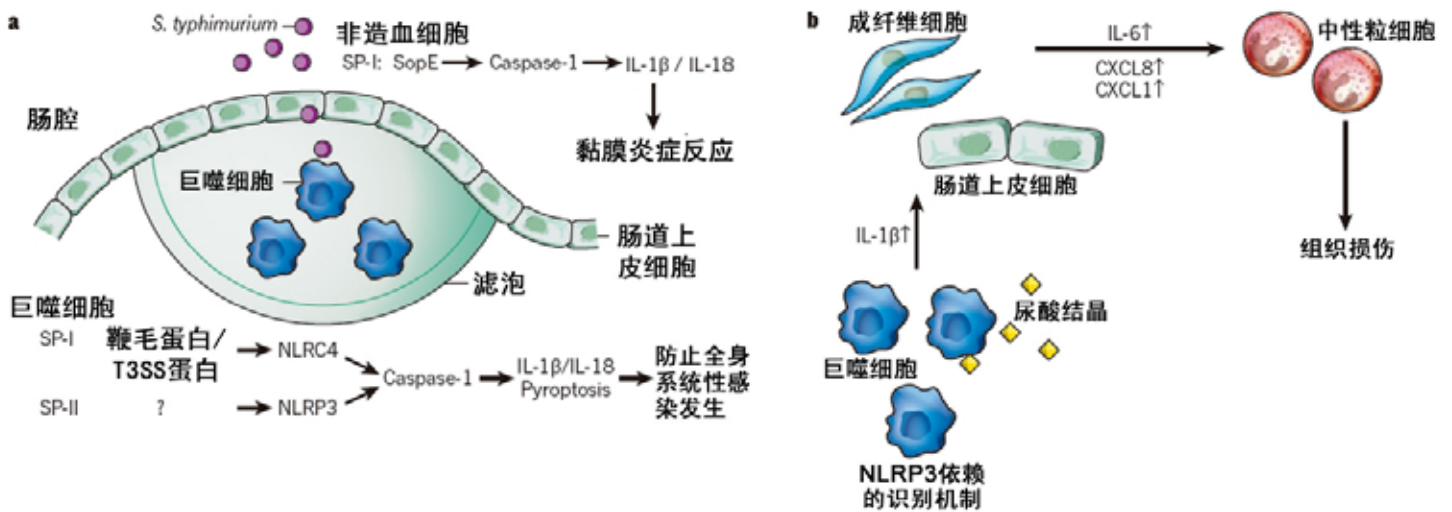


图2 微生物感染即自身免疫性疾病发生时炎症小体对炎症反应的调控作用机制。a，鼠伤寒沙门氏菌进入人体肠道之后会穿透肠道上皮细胞构成的天然屏障感染人体。b，巨噬细胞对尿酸分子的吞噬作用会激活NLRP3炎症小体途径等后续反应。使用IL-1β抑制剂能有效缓解痛风患者的临床症状。

## 2.2 特定复合物引起的炎症小体活化反应

小鼠和人体研究发现，除了各种感染性病原体之外，还有很多非感染性的物质也会促使炎症小体出现异常活化，这一现象可能就与无菌性炎症（sterile inflammation）疾病有关。比如晶体沉积病（crystal deposition diseases）就是一大类因为各种内源性或外源性晶体分子（crystalline molecule）诱发的炎症损伤性疾病。其中最典型的外源性致病因子就是二氧化硅和石棉，它们在人体的肺部沉积之后会被肺部的巨噬细胞吞噬，产生大量ROS，促使溶酶体裂解，导致NLRP3炎症小体活化，最终分别诱发矽肺病（silicosis）和石棉肺病（asbestosis）。内源性致病因子中最常见的就是尿酸钠分子（monosodium urate, MSU）和磷酸钙分子（calcium phosphate）。这两种分子都能活化巨噬细胞中的NLRP3炎症小体。实际上，科学家们早就知道痛风病（gout）是因为尿酸钠分子在体内大量沉积所致，但是直到最近才发现，在缺失了NLRP3的小鼠体内，尿酸钠分子不能促使中性粒细胞浸润，也不能诱发炎症反应，所以不会导致痛风疾病发生（图2）。基于以上研究成果，已经有人开始进行临床试验，研究IL-1β在痛风治疗中的作用。初期的实验结果非常不错，这说明炎症小体异常活化现象的确在人类晶体沉积疾病中起到了一定的作用。另外，科学家们在骨性关节炎（osteoarthritis）这种非常常见的退行性骨关节病患者的关节腔液中发现，其中尿酸的水平与IL-1β和IL-18的水平呈正相关关系，和疾病的严重程度也呈正相关关系。最近还发现磷酸钙晶体分子能够激活NLRP3炎症小体。羟基磷灰石晶体（Hydroxyapatite crystals）是骨骼的组成结构之一，在骨性关节炎患者的关节腔液中也能经常发现羟基磷灰石晶体，它们可以通过NLRP3炎症小体途径刺激IL-1β大量表达，促使炎症反应发生，导致关节病变。不过我们还需要继续开展科学研究和临床试验，探讨针对这些炎症小体以及各自底物进行干预，治疗上述疾病的可能性。

还有一个非常有意思的例子就是铝（alum），它也是一种NLRP3炎症小体活化因子，而铝盐正是我们最常用的人体疫苗佐剂。体外实验表明，巨噬细胞接触铝之后会通过NLRP3依赖的途径激活caspase-1酶，另外几个缺失了NLRP3炎症小体的小鼠体内试验也证实，铝盐不能够诱导适应性免疫反应（adaptive immune responses）发生。不过其它几项研究却对此结果表示了异议，他们认为疫苗诱导产生的适应性免疫反应是通过ASC途径，而不是caspase-1途径（即不依赖炎症小体的途径）。最近还有一项研究发现了另外一条不依赖NLRP3的铝佐剂免疫途径，在这条途径里，铝盐佐剂会与树突状细胞的胞膜结合，发生不完全的胞吞作用，然后通过树突状细胞诱导体液免疫反应。不过免疫佐剂以及炎症小体在诱导免疫反应中的具体作用机制尚未明了，有待进一步的研究。

### 3. 炎症小体与代谢疾病的关系

最近几十年来，肥胖症在全世界范围内的发病率都在不断攀升。研究发现，肥胖症与胰腺组织（pancreatic tissue）、脂肪组织（adipose tissue）、肝脏组织（hepatic tissue）、心血管系统（cardiac tissue）以及肌肉组织（muscle tissue）等多个器官的慢性代谢紊乱和炎症反应均有关联（图3），所以这一大类疾病被统称为“代谢性疾病（metabolic syndrome）”，其中就包括胰岛素敏感性（insulin sensitivity）降低、胰腺β细胞功能异常（pancreatic β-cell dysfunction）、非酒精性肝病（non-alcoholic fatty liver disease）和动脉粥样硬化（atherosclerosis）等病理改变。试验研究以及临床证据已经明确证实，IL-1β和IL-18分子与这些病理改变和代谢疾病有关。但是其中组织特异性炎症小体活化的相关分子机制的研究才刚刚起步。

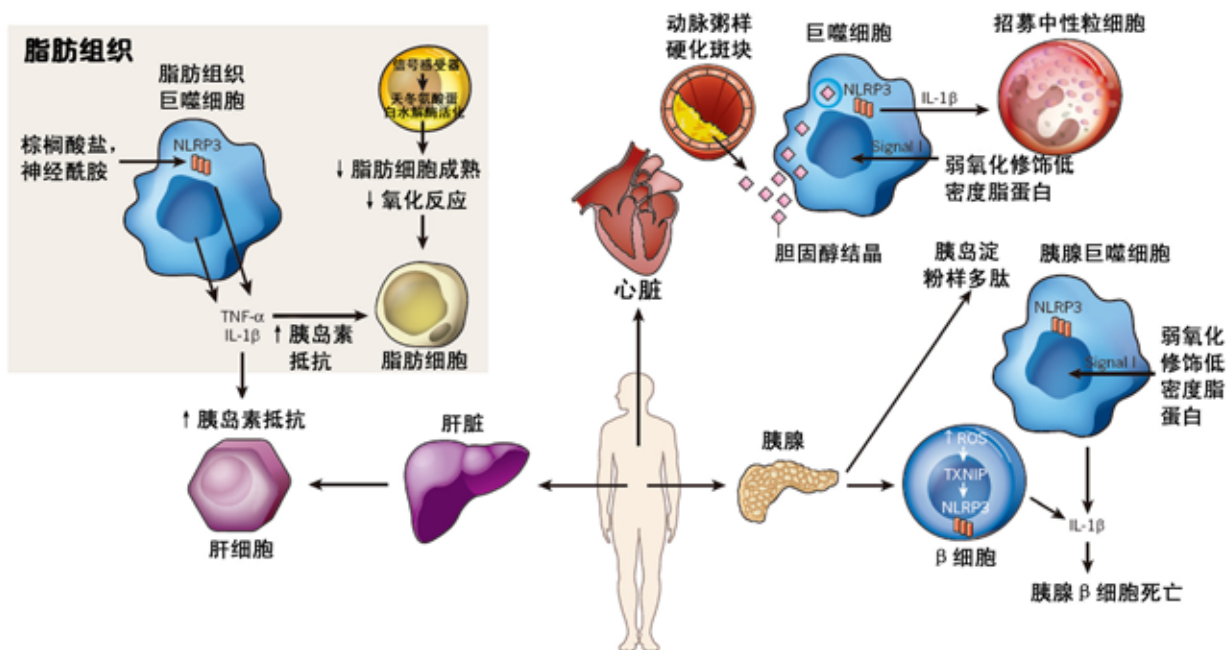


图3 炎症小体与代谢疾病的关系。

## 4. 炎症小体与黏膜免疫反应的关系

人体的消化道黏膜组织仅仅借助一层上皮细胞（epithelial cell）就形成了一整套完整的肠道微生物生态系统（microbial ecosystem）。一方面能够避免炎症反应机制对体内共生的各种有益微生物和各种食物抗原发动免疫攻击，另外一方面又能够保证随时对各种入侵人体的病原微生物展开精确的打击行动。哺乳动物进化出了一整套非常复杂的黏膜免疫保护机制，这套免疫保护系统主要由上皮细胞、间质细胞（stromal cell）以及造血细胞来源的各种细胞组成。这些细胞彼此之间，并且与周围的微生物环境之间合作密切。一旦这种相互作用受到干扰和破坏，就会诱发自身免疫疾病（autoinflammation），并且很有可能会导致炎症性肠病。已经有科研人员借助化学方法建立的肠道自身免疫疾病模型对炎症小体识别各种外源和内源信号的能力进行了科学研究。有意思的是各个试验的结果各有不同（图4）。

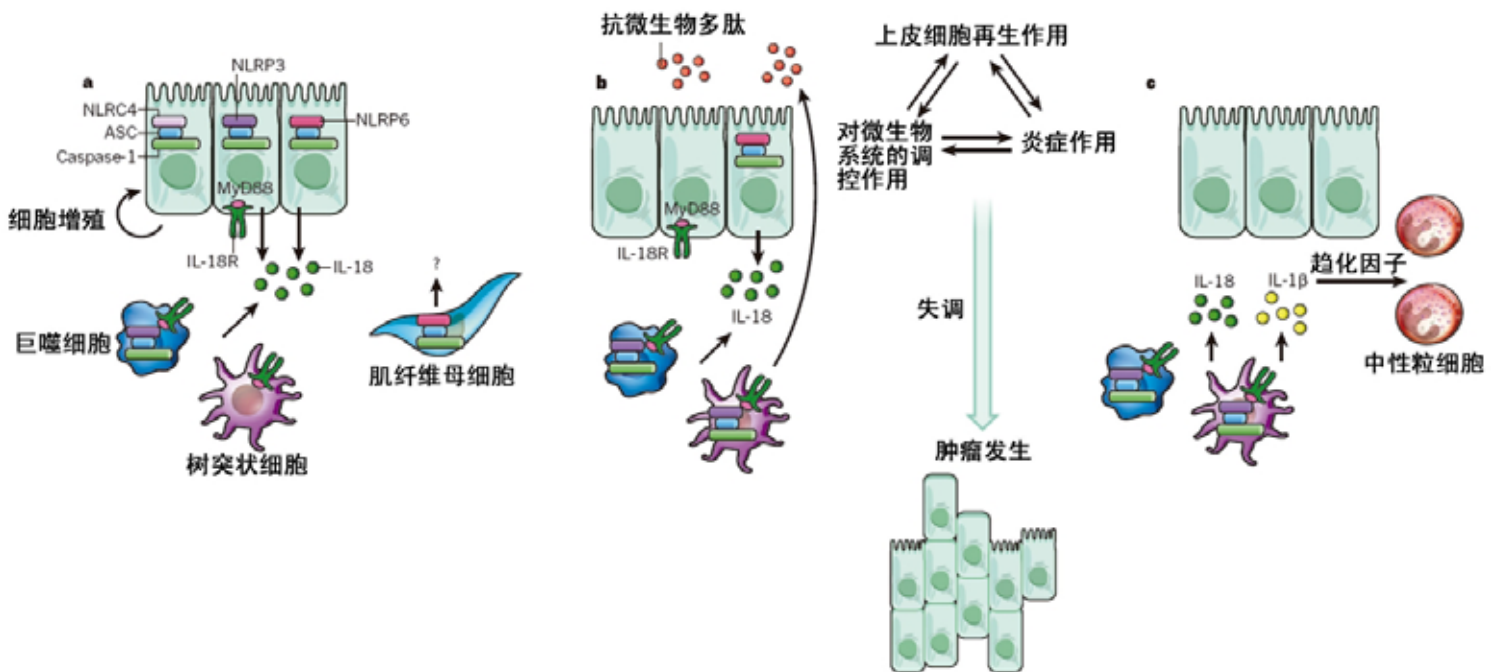


图4 炎症小体对黏膜组织稳态及免疫反应机制中多个步骤的调控作用。人体肠道中的多种造血细胞和非造血细胞都能表达NLRP3、NLRP6和NLRC4炎症小体。这些炎症小体对上皮细胞再生、肠道微生物系统以及黏膜炎症反应等过程都能够发挥调控作用。上述所有这些过程之间也是彼此相互联系的，任何一点出了问题都有可能形成肿瘤。**a**，上皮细胞再生调控机制。**b**，炎症小体对微生物系统的调控作用。**c**，炎症小体对炎症反应的调控作用。

## 5. 炎症小体未来的研究方向

在天然免疫反应这个研究领域里，发现能够调控IL-1 $\beta$ 因子和IL-18因子表达的炎症小体是蛋白质复合物这一成果，这绝对算得上是一个里程碑式的大发现。但是还是有很多问题现在还没能找到答案，比如机体如何对炎症小体复合物的生化功能及其基因表达途径进行调控，炎症小体在各种疾病中的作用和意义等。这些问题都将是未来几年里的研究热点。

还有一个非常重要的问题就是有哪些感受器蛋白参与了活化信号的识别过程。尽管利用纯化的炎症小体组份蛋白NLRP1和AIM2进行的体外重组试验已经证实它们分别能够与各自的配体直接结合，但目前还没有发现能够与其它炎症小体组份蛋白直接结合的配体分子。此外，很有可能存在一些未知蛋白，可以促进NLRP3识别结构各异的各种活化信号分子以及配体分子。这种“桥接机制（bridging mechanism）”很有可能将细胞应激反应（钾离子外流、活性氧分子产生以及溶酶体裂解等反应）和NLRP3识别微生物蛋白的机制联系到了一起。我们还需要开展更深入的研究确定这些桥接分子的具体“身份”。实际上，NAIP蛋白就是NLRC4炎症小体的“编外”组份蛋白，它专门负责帮助NLRC4炎症小体识别各种微生物来源的配体信号。我们还观察到了一个非常有意思的现象，有好几种常见炎症小体的效应因子及受体因子缺失的表型都不能用已知的NLR或PYHIN分子感受器及其配体理论来解释，这说明一定还存在其它的感受器和配体分子。比如我们最近就发现了一种新的感受器——IFI16，它专门感知病毒DNA信号。

早期研究发现，人体的炎症小体组份蛋白突变与好几种遗传性自身免疫疾病相关，不过这些疾病都能够用中和IL-1 $\beta$ 作用的办法加以治疗，这一现象说明，炎症小体过度活化对人体是有害的。但是最近的小鼠研究又发现，炎症小体在小鼠黏膜免疫反应中的作用可能是一种局限性的、兼具利弊双重功能的作用。为了弄清楚炎症小体在不同细胞和组织中的作用，我们还需要建立可控基因敲除小鼠等新型试验材料。这些新的技术手段能够帮助我们对意义重大，但是又比较复杂的问题和领域更好地开展研究，比如研究炎症小体在代谢调控、炎症反应以及肠道正常菌群维护等方面的作用。

另外一个值得注意的就是最近发现的NLRP6炎症小体缺失型，这与Prevotellaceae菌和TM7菌等能够诱发自身免疫性疾病的微生物的生长有关。炎症小体对微生物信号的感知作用、对组织修复和再生过程的调控作用以及对正常黏膜免疫反应和炎症反应的调控作用的具体机制也都非常值得研究。有意思的是，之前的小鼠和人体研究已经发现，肠道微生物系统炎症小体缺陷或异常都会促使肥胖或动脉粥样硬化等代谢性疾病发生。实际上，最近对一个欧洲家庭开展的肠道微生物系统调查研究发现，Prevotellaceae菌是人体肠道中非常多见的一种细菌，它与人体体重指数偏高有关。另外，对非洲农村儿童粪便里正常菌群的研究进一步证实Prevotellaceae菌常见于欧洲人体，这种在肠道微生物方面的差异很有可能是遗传因素和环境因素共同作用的结果。炎症小体和肠道微生物在人体体重、代谢以及炎症反应等方面的调控作用也是非常有意思的一个研究方向。

在炎症小体发展的第一个十年里，我们开展得最多的就是体外研究和小型动物模型的体内试验，希望今后的研究能逐渐发现异常的炎症小体和人体疾病之间的关系。如果能够再开发出特异性的炎症小体活化抑制剂，那么很多与炎症小体相关的疾病就不会再是困扰患者和医生们的难题了。

# miRNA / 基因筛查芯片 及定制服务



## 帮您找准靶点， 正中红心

芯片采用基于SYBR Green的qPCR检测方法，与杂交探针芯片相比，具有假阳性低、灵敏度高、操作简便等特点。主要应用于基因表达量差异筛查、miRNA筛查及iPS、癌症和信号通路等中的相关生物靶点的筛查和研究。

名称	描述
人源全基因组 miRNA筛查芯片	将已验证的1126条特异引物固定在96孔反应板上制备的特异表达量miRNA筛查芯片
基因筛查芯片	采用qPCR检测方法，避免假阳性 覆盖多种癌症、信号通路等生物功能研究领域
miRNA筛查芯片	采用qPCR检测方法，避免假阳性 覆盖多种癌症、信号通路等生物功能研究领域
iPS筛查芯片	包含有保守区域DLK1-Dio3内65个iPS相关miRNA，可用于检测干细胞的分化程度或诱导性iPS细胞的全能性水平，同时也可筛选特异miRNA用于细胞多能性功能研究。
芯片定制服务	可根据客户需要定制个性化的筛查芯片。

## 二、DNA损伤反应与抗肿瘤治疗的关系

德国生物学家Theodor Boveri（1862–1915）晚年时出版了一本颇具预言意味的新书。这本新书其实是他一生手稿的汇编，他在里面阐述了自己的肿瘤遗传学基础理论，比如他提出的“翻译（translation）”或“损伤（impact）”等概念，这些理论在当时引起了广泛的赞誉。Boveri曾经对海胆（sea urchin）的染色体和细胞行为进行过研究，他认为肿瘤就是因为细胞染色体组成发生了某种异常而导致的。一个世纪之后的今天，我们已经非常清楚地知道遗传不稳定性（genomic instability）是绝大部分的实体瘤细胞（solid tumour）和成年后发病的白血病肿瘤细胞（adult-onset leukaemias）的一大特色。在绝大多数肿瘤细胞中，这种遗传不稳定性都非常明显，具体表现为染色体的数量或结构出现异常，比如DNA出现点突变、插入突变或缺失突变等结构异常。如果这些突变出现在关键基因（平均每一种肿瘤中这种关键基因的数量不到10个）所在区域，那么就会让整个细胞的行为发生改变，使细胞具备某种选择优势，促进肿瘤疾病的发生和发展。更重要的是，这些突变还会影响到肿瘤对临床医生们采取的各种抗癌疗法的反应性。现在，随着基因组测序技术的发展，通过对这些肿瘤细胞的基因组进行测序发现，除了这些关键基因发生了突变之外，在一个肿瘤细胞的基因组中通常都会存在数千个突变位点。这些非关键突变又被称作“乘客突变（‘passenger’ mutation）”，它们并不会对肿瘤疾病产生非常直接的作用，但是很有可能会在其它各种环境因素的作用下，或者在维持基因组稳定性和完整性的分子机制出现异常时表现出一些伤害作用。

### 1. DNA损伤与DNA损伤反应

如上所述，如果细胞基因组出现失稳现象则会带来灾难性的后果，所以细胞也进化出了一整套错综复杂的内在互锁机制（interlocking mechanism），以维护基因组的稳定性和完整性。这可是一项艰巨的任务，因为细胞的基因组DNA无时无刻不在遭受各种内在和外在外在损伤因子的损害作用，这些损伤因子可以直接导致DNA序列出现异常改变，也可以通过给DNA序列造成损伤，然后通过细胞内在的DNA损伤修复机制进行非精确修复的方式在基因组中留下一些小纰漏。比如我们日常接触到的阳光中的紫外线每天就能给每个细胞造成 $1 \times 10^5$ 个DNA损伤，这种损伤主要是嘧啶二聚体（pyrimidine dimer）。如果这些损伤没有得到彻底修复，那么含有胞嘧啶（cytosine）的嘧啶二聚体就很容易发生脱氨反应（deamination），最终DNA链上本来的胞嘧啶碱基会变成胸腺嘧啶（thymine in），即发生了点突变。另外，日光或宇宙放射线还会带来电离辐射，这种电离辐射也能给DNA双链造成损伤，形成单链DNA断裂（SSB）或双链DNA断裂（DSB）。如果这些断裂的DNA链在修复过程中出现了差错，比如将原本不是连接在一起的两条断裂链错误地连接在一起，那么就会形成突变，导致基因组发生大范围



的结构重排。环境因素也会造成DNA损伤和突变，比如吸烟（据估计，长达40年的烟龄可以给每个细胞造成1000个DNA损伤）、化工产品、二氯二乙硫醚（mustard gas，即芥子气）以及各种抗癌的化疗药等。十年来，化疗药物一直都是临床上治疗癌症病人的主要手段，其中就包括能够使DNA碱基出现共价交联（covalent crosslink）的一类药物，包括顺铂（cisplatin）、卡铂（carboplatin）、奥沙利铂（oxaliplatin）和丝裂霉素C（mitomycin C）等；促进碱基烷基化的药物，比如甲基甲磺酸盐（methyl methanesulphonate）、替莫唑胺（temozolomide）等；以及通过抑制DNA链上的拓扑异构酶I和拓扑异构酶II，促使SSB和DSB发生的药物，如喜树碱（camptothecin）和足叶乙甙表鬼臼毒甙（etoposide）等。各种内源性的细胞生理进程也很有可能会造成DNA损伤，比如正常细胞代谢反应过程中产生的活性氧分子就会使DNA碱基氧化，发生SSB。DNA复制过程中如果出现差错，比如掺入了异常的碱基，也会因为之后容易发生脱嘌呤作用（depurination）或脱氨作用而造成突变。

DNA损伤出现的频率和多样性是与DNA损伤修复机制的复杂程度相对应的。总体来说，这些损伤修复机制全都可以被称作DNA损伤反应（DDR）。图1中介绍了几种常见的DDR机制。这些不同的DDR反应机制彼此之间既有各自的特点，同时又互相关联，相互作用。绝大部分的DDR反应都包含一系列比较相似，同时又受到细胞严格调控的反应步骤，其中主要包括以下三个步骤，即发现DNA损伤，招募DNA修复因子到损伤位置，以及最终完成修复。很多比较小的DNA损伤，比如氧化损伤（oxidative lesion）、烷化产物（alkylation product）、SSB等都可以经由碱基切除修复机制（base excision repair, BER）修复。在BER修复途径中，受损的碱基首先会从DNA双链上被切除掉，然后这一小段受损的DNA链骨架也会被切除，最后用一段新合成的DNA链完成整个修复过程。在整个修复反应里起到最关键作用的就是聚合酶PARP1和PARP2，它们可以感知SSB等DNA损伤信号，并且还能起到“传令兵”的作用，传递这种损伤信号。四种组成DNA的原料dNTP——dATP、dTTP、dGTP和dCTP在被掺入DNA链之前也有可能发生各种化学修饰反应，给基因组带来潜在的突变危险，所以除了BER修复机制之外，细胞内还存在一些“哨兵”，比如NUDT5酶，它们负责保证dNTP原料的安全性。

BER修复机制可以搞定小规模DNA异常，可是在面对大规模的单链DNA损伤（比如紫外线引起的能够导致DNA双链结构异常的SSB）时就显得力不从心了，此时还得核苷酸切除修复机制（nucleotide excision repair, NER）出马。NER修复机制通常又可以被细分为转录过程中的NER修复机制（transcription-coupled NER）和全基因组NER修复机制（global-genome NER）。所谓转录过程中的NER修复机制指的是在转录过程中由于出现了DNA损伤，所以转录过程被中断，在转录过程中起到链延伸作用的RNA聚合酶感知到转录过程中断的信号，启动的NER修复机制；全基因组NER修复机制指的是由于DNA损伤导致碱基配对和DNA双螺旋结构都出现了异常，由此而引发的NER修复机制。虽然在这两种修复机制里各自使用的损伤信号感受机制也都各不相同，但是它们使用的修复机制却都大同小异，即先将损伤位置附近的DNA片段切除，然后再利用正常的DNA复制机制将缺口补齐。切除复制互补蛋白1（Excision repair cross-complementing protein 1, ERCC1）是这个修复过程中的关键酶。

细胞里最主要的DSB修复机制是同源重组修复机制（homologous recombination,

HR) 和非同源末端连接修复机制 (non-homologous end joining, NHEJ)。HR主要在细胞周期的S期和G2期发挥作用, 这是一种高保真的修复机制, 通过这种修复机制的作用, 可以将受损的DNA恢复原状。在HR修复途径中, 受损DSB周围的DNA序列先被切除, 然后再以另外一条同源姐妹染色单体上的正常DNA序列为模板, 合成一条全新的、完全正确的DNA链弥补DSB处的缺口, 完成修复。参与HR修复途径的关键蛋白因子包括BRCA1、BRCA2、RAD51和PALB2等。与HR修复机制不同, NHEJ修复机制在细胞周期的各个阶段都可以发挥作用, 是细胞内最主要的DSB修复途径。在NHEJ修复途径里也不需要同源染色单体提供正确的DNA模板, 这条修复机制可以直接将断裂的DNA双链末端连接起来, 所以叫非同源末端连接修复机制。但是NHEJ修复机制不是一种高保真的修复机制, 它有时会形成新的突变, 比如在DSB位置附近形成缺失突变或序列突变等。所以与HR修复机制相比, NHEJ修复机制虽然更为简单, 但是具备致突变能力。

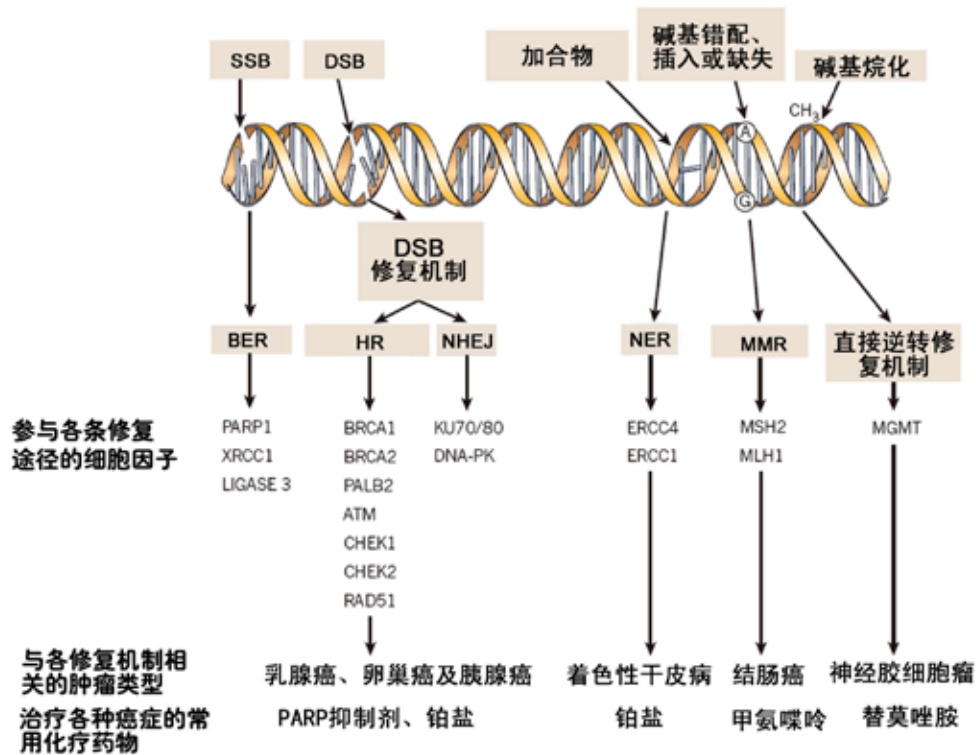


图1 各种维持基因组稳定性的DNA修复机制简介。

错配修复机制 (Mismatch repair, MMR) 也是非常重要的一种DDR反应机制。这条修复机制主要针对的是dNTP错误掺入以及在DNA复制过程中因为插入或者缺失突变形成的环状结构 (loop) 这样一类的遗传错误。当DNA出现这些错误时, 在序列中会掺入错误的错配碱基 (即可以形成没有遵循Watson-Crick配对原则的碱基对), 这种结构会破坏DNA双链的结构, 所以也是一种DNA损伤。细胞如果发现了这种损伤信号, 就会引发一系列的修复反应, 最终将包含错配位点在内的一段新合成的DNA片段切除, 然

后在原位重新合成一段新的DNA片段完成修复。这条修复机制里的关键蛋白是mutS同源基因和mutL同源基因的表达产物，比如MSH2和MLH1蛋白等。

最后要介绍的是跨损伤合成修复机制（**translesion synthesis**）及模板转换修复机制（**template switching**）。细胞依靠这套修复机制可以在存在DNA损伤的情况下继续完成DNA复制过程，而不用被迫中断。所以我们将跨损伤合成及模板转换修复机制看做是一种DDR反应。在DNA复制过程中，相对高保真度的DNA复制聚合酶会暂时地被低保真度的跨损伤聚合酶（‘**translesion**’ **polymerases**）取代，因为这种跨损伤聚合酶能够利用包含DNA损伤位点在内的DNA序列为模板，继续合成DNA链。一旦复制又越过了损伤位点，高保真度的聚合酶又会迅速取代保真度低的跨损伤聚合酶，完成后续的复制工作，合成出正常的DNA链。在模板转换修复机制中，复制机器会直接忽略复制叉处的DNA损伤，在对应的DNA新链中留下一个缺口。越过损伤之后，就会通过一套类似于同源重组修复的机制，以姐妹染色单体上的DNA链为模板，将新合成单链上的缺口修补完整。

在人体细胞内还存在一种机制，有时也会被看作是另外一种比较特别的DDR反应，这就是端粒机制。在人体每一条染色体的末端都存在一种叫做端粒的DNA片段（**telomeric DNA**）。细胞有维持端粒完整性的倾向，这种机制也是细胞保持基因组稳定性，避免突变发生的一种自我保护机制。端粒DNA不是一种位于染色体末端、暴露的DNA双螺旋结构，而是一种富含鸟嘌呤的DNA重复序列。所以端粒是一种环状结构，上面结合了多种蛋白质因子，比如端粒重复结合因子1（**telomere repeat binding factor 1, TERF1**）和端粒重复结合因子2（**TERF2**）；端粒保护蛋白1（**protection of telomeres 1, POT1**）、TERF1相互作用核因子2（**TERF1-interacting nuclear factor 2, TINF2**）等。这些蛋白因子和端粒一起形成了**shelterin**复合物。端粒这种位于染色体末端的帽子状结构能够防止不同染色体末端之间被各种DDR反应连接到一起。在大部分体细胞里，端粒DNA的长度会随着细胞周期而逐渐缩短，这就是所谓的端粒损耗（**telomere attrition**）过程。到最后，端粒会变得非常短，以至于不能有效地形成**shelterin**复合物。此时，在正常细胞里，p53蛋白介导的信号通路就会被激活，导致细胞衰老（**cellular senescence**）、死亡。这是一种正常的细胞自我保护机制，可以避免细胞无休止地增殖，即癌变的发生。如果这条p53信号通路出了问题，并且不同染色体的末端连接到了一起，那么就会形成具有两个着丝粒（**centromeres**）的染色体。在有丝分裂（**mitosis**）过程中，双着丝粒染色体（**dicentric chromosome**）上的每一个着丝粒都会与细胞的一极相连，两个着丝粒分别连着细胞分裂的两极。当同源染色体彼此分离时这两个着丝粒也会被分开，这样就形成了染色体末端。整个有丝分裂过程都是染色体易位（**chromosome translocation**）、局部DNA片段大量扩增或缺失等一系列致癌基因突变事件的高发时间段。被撕裂的染色体也是各种基因突变的“大本营”，会在这种染色体的基础之上“迸发”出各种各样的基因突变，这一现象已经在好几种肿瘤细胞中得到了证实。不论这种端粒保护机制是否真的存在，很多转移前肿瘤细胞或已经发生转移的肿瘤细胞的端粒和正常细胞相比的确要短得多，因此这些肿瘤细胞的染色体发生末端连接和双着丝粒染色体撕裂的机会就会更大一些。

在各种DDR反应中，最核心的反应都不会单独发挥作用，而是与其它各种补充机制共同发挥作用。比如染色质重构蛋白就能够帮助DNA修复装置进入到受损的DNA位

点。而同源重组修复机制必须依赖临近的姐妹染色单体的帮助才能完成。染色体聚集装置（**chromosome cohesion machinery**）很有可能也在其中发挥了非常重要的作用。另外，**DDR**核心反应机制还与细胞周期检查点装置（**cell-cycle-checkpoint machinery**）和染色体分离装置（**chromosome-segregation machinery**）等其它细胞因子有着非常紧密的联系和重要的相互作用。细胞内正因为有着一整套的相互作用机制，所以才能够在有丝分裂发生之前就完成**DNA**修复工作，保证遗传信息正确的**DNA**世代代遗传下去。

## 2. 癌症

人体肿瘤细胞最大、最普遍的特点之一就是基因组不稳定性。虽然科学家们现在还没有弄清楚在绝大部分的肿瘤细胞中，究竟是哪一（几）条**DDR**反应途径出了问题，但是他们还是已经掌握了很多不可争辩的证据，这些证据足以证实**DDR**途径功能异常的确与肿瘤表型出现有关。比如有**15%**的散发结肠癌病例都会表现出双核苷酸重复序列（**dinucleotide repeat sequence**）异常缩短或延长的现象。这种**DNA**突变形式又被称作微卫星失稳现象（**microsatellite instability**），它很有可能就是**DNA**错配修复机制出错造成的。我们不仅能够在散发的结肠癌患者体内观察到这种微卫星失稳现象，在家族遗传性非息肉性结肠直肠癌（**hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC**）患者中同样能够发现这种情况。**HNPCC**就是一种错配修复（**mismatch repair genes**）基因（比如**MSH2**、**MLH1**基因等）发生突变的疾病。

另外还有一个证据，在散发结肠癌患者人群和家族性结肠癌患者人群中都能够发现同源重组修复途径异常的证据。科研人员们对接近**500**例高度恶性的卵巢腺癌（**ovarian adenocarcinoma**）样本进行了包括基因组学、转录组学和表观遗传学（甲基化）等多个方面的综合研究之后发现，同源重组修复功能大约被破坏了**50%**。这种对**DNA**损伤修复机能的破坏作用很大程度上来自于**BRCA1**、**BRCA2**等修复基因发生了**DNA**突变或者表观遗传学沉默的作用。在家族性乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌患者人群中也都会发现因为**BRCA1**、**BRCA2**、**PALB2**、**ATM**、**RAD51C**及**RAD51D**等基因发生突变，从而影响了细胞同源重组修复功能的现象。在一些比较少见的全身性疾病中也会发现**DSB**修复相关基因因为突变而失去正常功能的情况。比如运动失调性毛细血管扩张症（**ATM**）、Bloom综合征（**Bloom's syndrome**）、范可尼贫血（**Fanconi anaemia**）、Rothmund-Thomson综合征（**Rothmund-Thomson syndrome**）、沃纳综合征（**Werner syndrome**）及奈梅亨破损综合症（**Nijmegen breakage syndrome**）等疾病都属于这种情况，虽然这些疾病导致的症状各不相同，但是全都有着共同点，即对辐射极度敏感，而这一点恰恰就是**DSB**不能得到及时修复的最有力证据。

另外一条证据就是科学家们发现在肿瘤新生物的发生发展过程中，**DDR**反应是被激活了，但是却没有正常的功能。诸如 $\gamma$  **H2AX**点一类的**DSB**标志物在癌前期病变中就会大量出现。有一种理论认为这些**DSB**修复机制的变化就是导致细胞癌变的初始因素。**MYC**、**RAS**等致癌基因的活化刺激了细胞**DNA**大量复制，形成了大量的复制叉

(replication fork)。可是数量如此众多的复制叉会迅速耗尽细胞内的dNTP等复制原料储备，或者因为多个复制叉纠结在染色体上的同一个位置，使复制叉上的复制进程很快停滞下来，形成大量的DSB。不论通过何种机制，这些停滞的复制叉都会激活DDR反应和细胞周期检查点，促使DSB在细胞有丝分裂发生之前尽快得到修复。在癌前病变发展成成熟肿瘤的过程中，ATM、ATR及p53这些关键的DSB信号转导机制蛋白和细胞周期检查点的功能都会失活。所以停滞的复制叉就不能被及时并有效的修复，这样携带着大量突变的DNA就会随着细胞有丝分裂进入到子代细胞当中，增加子代细胞的突变几率。

### 3. 对各种癌症治疗方案的选择问题

其实纵观癌症治疗史我们可以发现，癌症细胞的DDR反应失常这一特点早就已经是各个常见的化疗方案和放疗方案的“攻击目标”了。比如卡铂(carboplatin)、顺铂(cisplatin)等最常见的铂盐(platinum salt)类抗癌药就经常被用来与紫杉醇(taxane paclitaxel)这种抗癌药联用，治疗晚期卵巢癌患者。这是因为铂盐类抗癌药能够促使DNA分子发生各种分子内或分子间的交联，这种DNA交联情况可以被DDR反应机制检测到，然后通过NER修复途径和同源重组修复途径加以纠正。但是在很多，尤其是高度恶性的晚期卵巢癌患者体内，同源重组修复途径经常会出现各种功能障碍，所以铂盐类抗癌药物对这类患者的治疗效果就非常好。据估计，这类患者中有37%~55%的几率携带了BRCA1或BRCA2基因突变，或者是BRCA1基因因为发生表观遗传学改变而失活。顺铂还能够提高ERCC1阴性非小细胞肺癌(ERCC1-negative non-small-cell lung cancer)患者的存活率。但不幸的是，对于ERCC1阳性非小细胞肺癌患者没有这种功效。这是因为NER修复机制，以及ERCC1-ERCC4复合体是细胞清除铂盐所必需的，而ERCC1-ERCC4复合体的功能又尤其重要，所以如果细胞缺失了ERCC1蛋白，那么铂盐就会在胞内大量沉积，促进细胞凋亡。另外，烷化剂类抗癌药物(alkylating agent)也很有可能利用了和铂盐相似的作用机理，来发挥抗癌功效。比如O6甲基转移酶(O6-methyltransferase, MGMT)就能够直接逆转替莫唑胺(temozolomide)等抗癌药物在鸟嘌呤O6位置导致的DNA烷化反应。但是在某些肿瘤细胞里，MGMT基因的启动子区域会被甲基化修饰，所以MGMT蛋白的表达量会大幅度下降，不能发挥修复功效，此时烷化剂类抗癌药物造成的DNA烷化反应就不能被正确修复，最后只能在复制时用胸腺嘧啶替换掉异常的O6鸟嘌呤，形成突变。细胞如果发现了这种错配突变，就会启动错配修复装置，最终促使细胞走向死亡。因此，MGMT基因甲基化现象与神经胶质瘤(gliomas)等肿瘤对替莫唑胺类抗癌药物的反应性有关，所以现在MGMT基因的甲基化情况已经成为了一个可以指导临床用药的分子标志物。

还有一种思路就是针对DDR反应组份有针对性地开发抑制性药物作为抗癌药。比如拓扑异构酶抑制剂类药物依立替康(irinotecan, 拓扑异构酶I抑制剂)和依托泊苷(etoposide, 拓扑异构酶II抑制剂)就都属于第一代特异性靶向DDR反应组份的抗癌药物。拓扑异构酶能够促使DNA磷酸二酯骨架结构断裂以及重新连接，在基因转录或

DNA复制之前通过这种作用打开DNA的螺旋结构，如果使用了依立替康或依托泊苷这样的拓扑异构酶抑制剂就能够在细胞基因组中产生大量的DNA断端，所以在很多种癌症的临床治疗上都能取得不错的疗效（表1）。我们相信，下一代的DDR组份抑制剂，尤其是PARP抑制剂将给我们带来更大的惊喜。

表1 目前已经应用于临床，或者正处于开发阶段的DDR抑制剂类药物简介

药物所属类别	药物名称	药物目前所处阶段	用于治疗肿瘤类型
拓扑异构酶I抑制剂类药物	Irinotecan	已获批准可以应用于临床	主要用于结肠癌治疗
拓扑异构酶II抑制剂类药物	Etoposide phosphate	已获批准可以应用于临床	可应用于多种癌症，比如睾丸癌、Ewing肉瘤、肺癌、淋巴瘤、淋巴细胞性白血病、多形性成胶质细胞瘤等
DNA蛋白激酶抑制剂类药物	CC-115	目前处于I期临床试验阶段	用于治疗各种晚期实体瘤、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤等
PARP抑制剂类药物	Olaparib	两个II期临床试验已经完成，另外还有9个II期临床试验工作正在进行中	可用于治疗卵巢癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌和各种实体瘤
	Veliparib	16个II期临床试验工作正在进行中	可用于治疗卵巢癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌和各种实体瘤
	Rucaparib	两个II期临床试验正在招募志愿者	可用于治疗乳腺癌和各种实体瘤
	MK4827	I期临床试验已经完成，Ib期临床试验工作正在进行中	可用于治疗多形性成胶质细胞瘤、黑色素瘤、各种实体瘤以及各种白血病
CHEK1抑制剂类药物	AZD7762	I期临床试验已经完成	可用于治疗各种实体瘤
MGMT抑制剂类药物	Lomeguatrib	I期临床试验正在进行	可用于治疗结肠癌和各种实体瘤
端粒酶抑制剂类药物	Imetelstat	4个II期临床试验正在进行	可用于治疗各种实体瘤和白血病

## 4. 尚存的问题

### 4.1 药物靶标问题

尽管DDR反应一直都是大家研究的重点，但是各条DNA修复途径之间的生化关系和遗传学关系到目前为止都还没有被研究得非常清楚。不过，我们可以借助各种针对特定DDR反应途径的小分子抑制剂来研究这个问题。我们过去的研究主要针对的是ATM、ATR、DNA-PK等各种能够传导DDR信号的蛋白激酶，以及能够感知DNA损伤

信号并传递这种信号的PARP家族成员。比如ATM和DNA-PK基因突变的多重致死现象（**synthetic lethalities**，即各个基因单独发生突变时不会对细胞造成致死性的伤害，但是如果它们全都发生突变了就会导致细胞死亡）就说明ATM抑制剂类药物有可能会增加化疗药物对TP53基因突变癌症患者的疗效。同样，DNA-PK抑制剂也能够用于对ATM基因发生突变的癌症患者的临床治疗工作中。我们还发现有很多其它酶类也都能够参与DDR反应，比如参与苏素化反应、组蛋白修饰反应、乙酰化反应以及泛素化反应的各种酶。针对这些蛋白开发相应的抑制剂就能够帮助我们发现其它多重致死组合，为临床治疗提供更多的选择，更好地指导临床抗癌用药工作，比如能够调控类泛素化修饰（**Neddylation**，这是一种类似于泛素化修饰的翻译后修饰作用）的MLN4924等小分子抑制剂就是很好的例子。使用MLN4924类药物抑制了类泛素化修饰作用之后，就可以稳定DNA复制沉默因子（**DNA-replication licensing factor**）CDT1，这样就可以在不受细胞周期调控的状态下合成DNA，并且激活DDR反应。这些药物可以用于治疗DNA修复功能已经受损或者细胞处于复制应激状态下的肿瘤患者。

不过，这类针对DDR反应途径的抗癌药物在临床上的应用目前还存在一些问题。因为在经典的抗癌方案中加入这类药物很有可能会产生比较严重的副作用，所以还需要进一步开展临床试验，摸索出比较合适的剂量和疗程等用药信息。这些研究还可以解决一个困扰我们的问题，即干扰掉正常的DDR途径，对第一种癌症进行治疗之后是不是会诱发新的（第二种）癌症，因为已经有研究观察到了这种现象。理论上来说，这些副作用是应该可以通过调整用药量和用药时间来加以控制的，而且该理论是可以通过临床试验和临床前模型研究加以验证的。最后还需要强调的一点就是目前对DDR抑制剂类药物与信号转导通路抑制剂或放疗等其它抗癌方案联用的研究还开展得太少，其实这种联合疗法是很有希望的一种抗癌方案。

## 4.2 肿瘤干细胞以及肿瘤微环境的作用

在很多人体肿瘤组织里都含有一些具有一定自我更新能力和分化能力的肿瘤细胞，我们称之为肿瘤干细胞。这些肿瘤干细胞很有可能就是在抗癌治疗之后促使肿瘤复发的肿瘤启动细胞（**tumour-initiating cell**）。所以我们也应该好好研究上述DNA损伤疗法对这些肿瘤干细胞是不是同样有效，因为这事关整个抗癌治疗工作的成败。越来越多的证据显示，这些肿瘤干细胞里的DDR反应有它们自身的独特之处。比如有人认为在肿瘤干细胞里存在一种“不老链（**immortal strand**）”，即这些肿瘤干细胞完成有丝分裂之后还会保留父本DNA链，而不是新合成的子代DNA链。这种保留父本DNA链的方式可以减少DNA复制差错给干细胞带来的影响。不过这种不老链模型还没有得到实验的证实，目前还存在争议。有一些研究已经表明这些肿瘤干细胞的耐药性就是由于它们的DDR反应模式有所不同而导致的。比如对化疗前后的乳腺癌活检样本进行比对研究之后发现，肿瘤干细胞在组织中的比例在化疗之后有了大幅度的上升，这足以说明这些肿瘤干细胞对化疗药物存在耐药性抵抗。在小鼠动物模型的实验中发现，缺失了p53蛋白的肿瘤干细胞其DNA修复合活性会有一定程度的提高，同时细胞内AKT和WNT信号通路的水平也有所升高，这些改变都有助于提高肿瘤干细胞在接受放射线照射之后的存活率。比如在多形性成胶质细胞瘤（**glioblastoma multiforme**）组织中，肿瘤干细胞就能

够特征性地表达CD133（又被称作PROM1）分子。在移植了人多形性成胶质细胞瘤的动物模型接受过放射治疗后，这些CD133<sup>+</sup>的肿瘤干细胞的比例有了大幅度的提升，该实验说明这些肿瘤干细胞的确是多形性成胶质细胞瘤患者接受放疗之后再度复发的罪魁祸首。肿瘤干细胞的DDR反应活性和DNA修复能力的确是比普通细胞高一些。不过如果抑制掉这些细胞里的CHEK1和CHEK2激酶活性，就可以用放射线照射的方法杀死这些肿瘤干细胞，这说明我们还是希望用药物来解决肿瘤复发的问题。不过我们还需要开展更多的研究，更清楚、更系统地了解在肿瘤干细胞里DNA损伤和DDR反应对细胞的影响作用，以确定这方面药物的研发潜力。

如果我们真的开始以DDR反应分子为靶点，优化抗癌方案，那么还需要考虑肿瘤组织生存的微环境因素和与肿瘤组织混杂在一起的未癌变细胞因素。比如在一个胰腺癌组织中，至少有一半全都是未癌变的间质细胞，其中就含有胰腺星状细胞（pancreatic stellate cell）。至少从目前体外实验的结果来看，这些星状细胞可以让胰腺癌细胞对放疗有相当强的抵抗能力，所以我们在临床上对胰腺癌患者进行放射线照射治疗的效果非常差。其实科学家们也早就发现肿瘤间质细胞和肿瘤细胞之间存在一种相互作用和相互沟通的关系，这种相互作用关系能够保护肿瘤细胞免受放射线照射的伤害，不过我们现在对于肿瘤微环境和肿瘤之间的相互作用关系，以及肿瘤微环境对DDR反应的影响作用了解得还不是太透彻。这是因为对体内的分子机制进行研究相当复杂，而我们又缺乏能够有效反应细胞间相互作用的体外模型，所以这方面的研究进展得相当缓慢。这些都只是技术上的困难，并不是不能克服的，但是这些困难却给我们提出了一个新的、非常重要的问题，即为什么一直以来，我们对DDR反应的了解全都来自体外试验。如果我们希望得到效果更好的抗癌疗法，其实更应该对体内的DDR反应有所了解。

### 4.3 基因组“伤疤”

一直以来，临床上对肿瘤的分类一直依据的都是解剖学系统，即根据肿瘤组织生长的位置和临床组织病理学表现进行分类。不过现在我们正逐渐倾向于根据肿瘤细胞全基因组测序或外显子组测序之后发现的致病性突变（pathogenic mutation）情况对它们进行分类。因为根据这些致病性突变信息可以做到有针对性地选择靶向药物进行抗癌治疗。利用测序技术除了可以发现促使细胞癌变的致病基因之外，还能够了解到因为DNA修复机制障碍而诱发的其它基因损害信息，这些信息都有助于对肿瘤进行分类，还可以帮助科研人员发现新的、可用于指导临床治疗工作的分子标志物。从本质上来说，肿瘤细胞的所有突变信息全都能够通过DNA序列给表现出来，这些突变就好像镶嵌在肿瘤细胞基因组里的一个个“伤疤”，它们既能够反映出肿瘤细胞曾经遭受过的致癌因子的伤害，又能够反映出细胞修复机制的工作情况。已经有很多例子表明，这种测序方法在临床抗癌工作中的确具有非常大的应用价值。如同源重组修复机制发生障碍的肿瘤细胞全都具有标志性的、易错DSB修复机制（error-prone DSB repair mechanism）活性增高所造成的突变谱（mutational spectrum）特征。因此，在一名癌症患者的肿瘤组织中，如果同源重组修复机制发生障碍的肿瘤细胞比例越高，那么临床医生们就更应该给他（她）使用PARP抑制剂类药物进行抗癌治疗。微卫星失稳也是一个不错的例子。在很多情况下，肿瘤组织里的微卫星失稳现象都喻示DNA复制机制与生俱来的致突变



倾向，此时如果错配机制失常，那么细胞就无法纠正这些复制错误，就会产生大量的突变。由于DDR反应对于肿瘤的发生和发展，以及抗癌治疗方案的确定都有着非常重要的影响作用，所以我们也应该根据DNA修复机制异常情况对各种肿瘤进行分类，并且根据这些DNA修复机制异常的信息对癌症患者进行有针对性的个性化医疗（图2）。随着全基因组测序技术的飞速发展，我们很快就会得到一份涵盖了所有人类肿瘤基因组突变信息的癌症基因组图谱。有了这份图谱，前面所有的问题都能够迎刃而解。

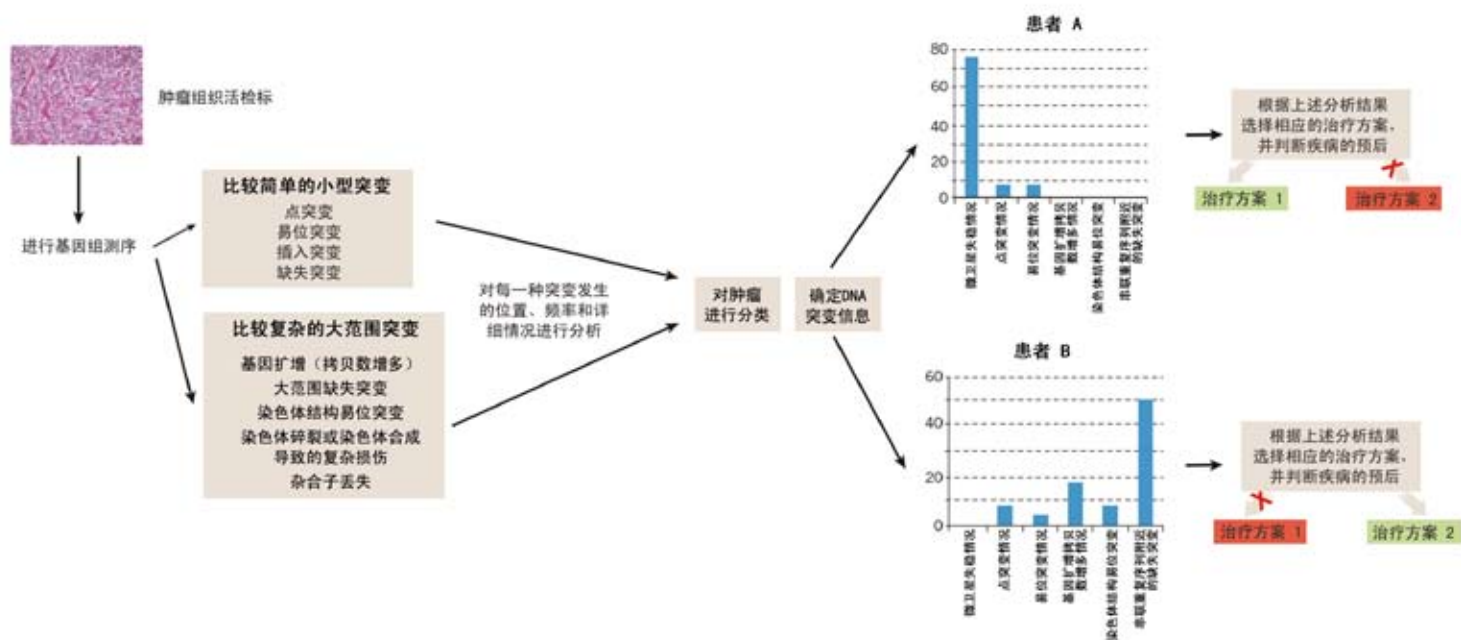


图2 肿瘤细胞里的基因组“伤疤”。我们可以以测序发现的这些基因组“伤疤”为依据，对肿瘤进行重新分类，从中选择最合适的特异性治疗方案，并判断各种肿瘤的预后情况

不过我们还需要很多能够标志DDR反应缺陷的分子标志物，以帮助我们发现这些DNA突变分子信号和DNA修复分子信号，从而选择合适的抗癌方案。可喜的是，我们现在已经看到了一些趋势，表明这的确是一条可行的途径。比如可以通过对肿瘤活检组织进行免疫组化染色分析的方式判断该组织里的肿瘤细胞是否对PARP抑制剂类药物易感，因为如果染色发现肿瘤组织里RAD51蛋白偏低，那么就说明对PARP抑制剂类药物易感，可以用这类药物进行治疗。同样也可以用免疫组化的方法对其它DNA修复蛋白进行检测，帮助制定抗癌方案。从理论上来说，我们应该能够发现标志绝大多数DDR反应通路的功能性分子标志物（functional biomarker），只不过在这些标志物走向临床之前还有一些技术和操作方面的困难需要克服。由于DDR反应只会在DNA发生损伤之后才会启动，所以不太适合用肿瘤活检组织做样品进行DDR反应水平的检测，而是应该在肿瘤细胞基因组承受着某种压力的情况下进行。比如我们就可以利用RAD51反

应来检测细胞同源重组修复的能力，但是进行这种测试首先需要给细胞的DNA造成伤害。比如对细胞进行放射线照射，使用化疗药物或PARP抑制剂类药物处理等。对于临床上的癌症患者来说，也就意味着他们在接受组织活检检查之前需要先进行一段时间的放疗或化疗，或者对取出的活检组织用化疗药物进行处理之后再行修复功能检测。但是这两种方案都存在着技术和伦理道德方面的问题。这是因为肿瘤细胞在体外环境中的反应有可能会和在体内时不一样，预先对患者进行放化疗处理，然后再进行分子检测在临床上也不太容易实施。不过无论如何，分子和功能检测都可以对肿瘤细胞进行分析和分类，在决定治疗方案之前判断出这些肿瘤是否存在诸如同源重组修复功能障碍，或者对PARP抑制剂类药物易感等信息，帮助医生们选择出最佳的治疗方案和药物，而不会再像以前那样只能简单地将肿瘤分为非家族性、三阴性乳腺癌。所以说发现这些标志着DDR反应水平的分子标志物意义重大。

基因组不稳定是所有肿瘤细胞最普遍的一大特征，这也是我们在抗癌工作中可以利用的一大突破口。近半个世纪以来，可以对DNA造成损伤的化疗药物一直都是临床抗癌工作中的“主力军”。将来如果运用得当，那些针对DDR反应分子的靶向药物将会给我们带来更大的惊喜。然而我们现在对这个领域的研究开展得还不够深入，比如我们对体内DDR反应的具体情况就不甚了解，也没有发现太多可用于指导临床用药的分子标志物，我们对DDR反应和其它细胞稳态系统之间的相互作用也一无所知，诸如此类的各种问题都亟待我们去了解和探究。我们相信，我们最初的原动力，即希望通过对DDR反应途径的彻底了解，帮助我们开发出最佳的抗癌药物和抗癌方案的想法，还会激励着我们在这个科学领域继续深入的研究下去。



# 生命世界 无奇不有

## www.LifeOmic.com

## 三、肿瘤的克隆性进化

### 1. 突变驱动力及克隆增殖动态学

达尔文进化体系 (Darwinian evolutionary system) 的基本理论就是生物体是在自然选择的压力和毫无目的的随机突变的共同作用之下完成进化的。而肿瘤很显然就非常符合这套规律。从DNA序列的角度来看,几乎所有的突变过程都会对两种作用力有一定的偏好。而肿瘤细胞里尤其多见的各种突变则是人体易错的修复机制,或香烟、紫外线、化疗药等多种遗传毒性物质的作用结果。肿瘤细胞具有的遗传不稳定性 (genetic instability),例如染色体异常或微卫星 (microsatellite) 等情况则是接触某些化学致癌物,或者说在这些化学致癌物的选择性压力作用之下造成的结果。可即便如此,突变并不会特异性地影响某个基因的功能,但也有例外,那就是发生了基因内突变或者是与淋巴细胞免疫球蛋白或T细胞受体编码基因相关的重组酶 (recombinatorial enzymes) 发生了突变。复发的肿瘤细胞就充分反映出克隆选择的强大作用。

所谓的肿瘤进化过程实际上就是具备选择优势,能够促进肿瘤克隆生长的“司机损伤 (‘driver’ lesion)”和毫无作用的“乘客损伤 (‘passenger’ lesion)”与有害的、能够抑制肿瘤克隆生长的“搭便车突变 (‘hitchhiker’ mutation)” (这种突变属于进化生物学的概念,实际上就等于肿瘤生物学中的“乘客突变”概念)之间相互作用得到的最后结果。另外还有一种“诱变损伤 (‘mutator’ lesion)”,它可以增加其它遗传突变发生的速度,而肿瘤生长局部组织里的微环境改变也会影响上述各种损伤的最终作用效果。要确定某种损伤是不是属于司机损伤就需要通过仔细的观察,看看肿瘤细胞里出现这些损伤的几率是不是要比我们预计的正常组织背景下出现突变的几率更高,以及这些突变是不是与肿瘤的生长有关,是不是属于我们常见的致癌突变,比如错义突变、无义突变、移码突变、剪接位点突变、磷酸化位点突变和缺失突变等,尤其当突变涉及到与细胞癌变过程有关的基因时则更加有可能会属于司机突变。通过对人体肿瘤样品进行的遗传学研究发现线索和证据还都需要进一步通过功能试验和动物模型试验加以确认。乘客损伤的作用也有可能是不确定的,或者说是根据具体情况而定的。比如,单等位基因只有在第二个等位基因也缺失的情况下才会影响到基因的功能,某个基因突变只有在另外一个基因也发生了突变的情况下才会带来表型上的改变,又或者只有在针对某个基因进行干预治疗的情况下突变才会发挥影响作用等。

只有少数的科研人员尝试过对“司机突变 (driver mutation)”的选择优势进行定量研究。Bozic等人使用非空间的群体遗传学模型 (non-spatial population genetics model) 对肿瘤克隆的连续性指数级生长进行过研究,推导出了一个公式,利用这个公式可以推导出中性的“乘客突变 (passenger mutation)”和有选择优势的“司机突变”在整个肿瘤群体中占有的比例。我们将这套公式运用到成胶质细胞瘤 (glioblastoma) 和胰腺癌 (pancreatic cancer) 上发现,司机突变所带来的平均选择

优势其实只有0.4%。如果不用这种推导的方法，要直接检测肿瘤克隆的选择优势，那就得进行长时间的跟踪观察，从肿瘤新生物出现开始观测，看看到达每一个时间点时肿瘤克隆能够生长到多大。

这种体细胞的进化依赖的是突变速率和克隆增长之间的相互作用。在基因组中，不同区域的突变速率都是各不相同的，而且每一种基因突变（比如单碱基突变和染色体重排、基因融合突变等）的出现速率也是不一样的，如果出现了遗传失稳的情况，突变的速率还会加快。据估计，表观遗传学改变的速率要比基因突变的速率高好几个数量级，这也是决定克隆进化的主要因素之一。自然选择也可以影响肿瘤新生物的表观遗传学修饰状况，因为表观遗传学状态在细胞分裂时会遗传给子代细胞，从而影响力子代细胞的表型。进化生物学研究技术可以对这种突变速率进行研究，虽然问题很多，但它们还是被广泛应用于肿瘤生物学研究工作当中。肿瘤克隆进化的传统模型认为，肿瘤细胞通过一系列的克隆增殖过程最终会形成一个可见的肿瘤新生物，这叫做选择性的扩增（**selective sweep**），但是这种情况只会发生在第二个“司机突变”出现的时间长于克隆占据整个肿瘤新生物的时间的情况下。此外，如果第二个突变出现在另外一个竞争性的克隆里，那么这两个克隆的生长就都会受限，这就是所谓的突变竞争（**mutual competition**）现象，也叫做克隆干扰（**clonal interference**）。由于肿瘤新生物的体积通常都比较大，含有的克隆较多，而且突变的速率也非常快，所以克隆竞争的情况是非常多见的。面对这种情况，最好的办法就是采取连续取样研究。根据目前仅有的一点数据我们发现，在肿瘤新生物发展的早期阶段，会有多个克隆同时在生长，直至最终有一个克隆胜出，大量扩增，最终占据优势地位。早期的证据表明，细胞发生转化（**transformation**）之后再大规模克隆样扩增的情况是非常罕见的。通过对晚期肿瘤病人（转移患者或者接受了化疗的患者）的肿瘤细胞进行连续取样得到的直接证据表明，选择性扩增过程就源于早就存在的遗传突变或某个亚克隆细胞群体。

## 2. 肿瘤的生态环境

组织生态环境（**tissue ecosystem**）为肿瘤的生长增殖提供了环境和场所，所以这也是一种选择条件。组织微环境非常复杂，是一个由多种成分组成的动态环境，它能够影响肿瘤克隆的进化（图1）。比如，转化生长因子 $\beta$ （**transforming growth factor- $\beta$** ）就是一种肿瘤生态环境调控因子。其它细胞因子和炎症因子也是比较常见的肿瘤细胞生态环境调控因子。

肿瘤细胞与其所在组织之间的相互作用是一种相互影响的关系。肿瘤细胞可以使组织微环境发生重构，形成一种有利于肿瘤细胞生长的微环境。反过来，肿瘤克隆的增殖又会受到微环境的限制和影响。不过，有一些微环境组份也能够促进新生肿瘤细胞的生长，比如在组织缺氧时出现的巨噬细胞浸润和新生血管生成（**neovascularization**）现象就能够促进新生肿瘤组织的存活和生长。数学模型显示，在比较稳定的、均一性较高的微环境中，肿瘤克隆通过进化选择（**evolutionary selection**）途径变得更富侵袭性（即恶性程度更高）的情况发生得比较少。由于原发灶所处位置的资源存在空间分配不均的情况，所以有肿瘤细胞选择“出逃”（转移），这

也同样可以解释为什么转移灶的位置存在选择的问题。临床前模型（preclinical model）表明，如果让原发灶部位的资源平均起来，就能够抑制肿瘤转移。随着肿瘤克隆和亚克隆的不断生长，转移瘤细胞开始侵入新的组织和生长部位，它们将经历新一轮的选择压力，从而形成更加多样化的克隆群体。这种恶性化的特征及其相关的高死亡率就构成了晚期肿瘤的标志性特点。

在经历过化疗或放疗之后，肿瘤组织的生态环境会发生一个根本性的改变。绝大部分的肿瘤细胞都会被杀死，但是这些治疗手段同样也是另外一种选择压力，可以让那些对治疗抵抗的肿瘤克隆有机会“东山再起”。更加值得关注的是，还有一些间质（stroma）或特定的组织部位可以为肿瘤细胞提供避难所，让它们免遭化疗和放疗的伤害。

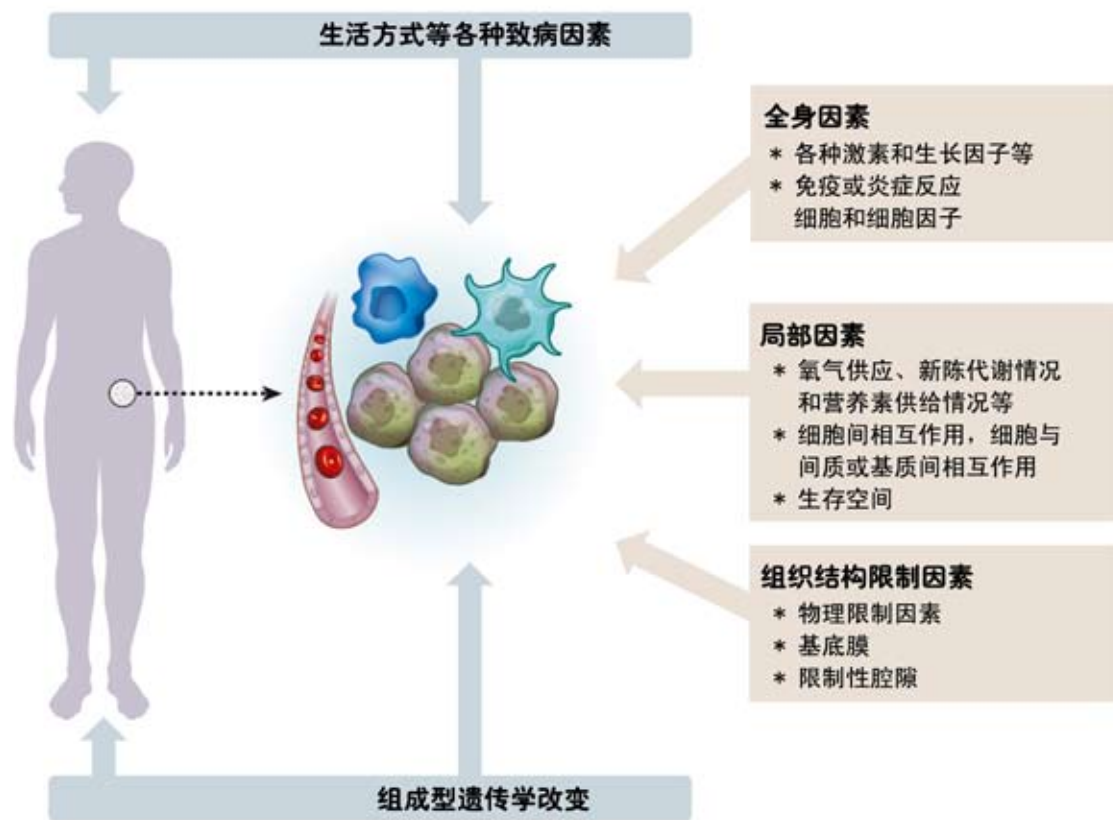


图1 肿瘤所处组织生态环境的复杂性。

### 3. 肿瘤基因组及肿瘤克隆的组织结构的影响

随着第二代全基因组测序技术的成熟，肿瘤细胞的全基因组测序工作也得到了大范围的开展，我们也得以看到了肿瘤细胞复杂的遗传学面貌及其进化特点。在绝大多数情况下，肿瘤细胞的转化和转移都是克隆样的，因为它们全都是单细胞来源的，所以我们可以对一个肿瘤组织中的所有细胞克隆进行全基因组测序，找出其中的突变信息和来源细胞，重建出整个肿瘤组织的基因型进化树。在肿瘤发生的最初阶段就已经限制了肿瘤的遗传多样性和克隆多样性。通过对染色体断裂位点作图、候选致癌基因测序以及大量的肿瘤组织样品功能筛查等工作，我们已经掌握了一个肿瘤复发的“司机突变”名单。不过这种基因组筛查工作也进一步展现出了肿瘤基因组的复杂程度。每一个肿瘤克隆都会携带成千上万的基因突变或者染色体异常。其中大部分的突变都属于中性突变，这是因为遗传失稳造成的。包括染色体异常扩增、缺失、转位或其它结构变异在内的各种染色体失稳（**chromosomal instability**）现象也是肿瘤细胞非常常见的一种突变，不过我们还不清楚在肿瘤细胞里，单碱基突变的速率是不是有所增加。在突变筛查工作中中性突变也会被记录在册，这是因为这些突变是在肿瘤克隆增殖过程中出现的“搭便车突变”。此外，研究结果也证实，在每一位癌症患者体内，每一个肿瘤克隆都有其独特的基因组特征。肿瘤细胞很有可能只需要为数不多的表型特征就足以克服各种限制，进化成高度恶性的、具备转移能力的恶性肿瘤。但是基因组研究数据表明，这种情况只有在多种不同的司机突变共同作用之下才会发生。

矛盾的是，基因组研究数据却显示肿瘤克隆并没有那么高的复杂程度。到目前为止，我们只是在一个诊断时间点采取了一个样品进行过一次检测。我们很清楚，进行连续采样，然后只需要借助传统的遗传学分析手段就能够发现肿瘤克隆的遗传多样性信息。对原发灶细胞和转移灶细胞进行配对全基因组测序的研究还比较少，但通过这种方式发现，转移灶细胞携带的突变都是独有的、克隆特异性的突变，当然，也带有原发灶来源细胞的痕迹。在这里，所谓的“基因组”可能会让人产生误解，因为在测序片段中有5%~50%的片段中会存在遗传突变，这说明这些突变中很大一部分都存在于某些亚克隆当中，如果我们对整个肿瘤组织提取DNA样品进行测序就无法发现突变的这种亚克隆分布趋势。这一点非常重要，尤其是在我们根据癌症患者的基因组测序结果选择合适的治疗方案时更是需要慎重考虑这种情况。毫无疑问，每一个肿瘤亚克隆是否能够得到有效的治疗，才是我们的抗癌治疗能否取得最终胜利的关键所在。不过这可是科学家们面临的一大挑战，从技术角度和生物信息学分析角度来看都不是那么简单，因为我们需要对肿瘤细胞进行深度测序，而且需要对单个的肿瘤细胞进行这种分析，了解整个肿瘤组织的遗传多样性情况，而且还需要不断的进行这种检测，以便在整个治疗过程中及时发现新情况，及时对治疗方案进行相应的调整。

#### 3.1 携带不同突变的各个亚克隆与克隆结构的影响

肿瘤克隆进化的经典模型认为，肿瘤克隆在进化过程中会逐渐获得新的突变，同时有竞争优势的亚克隆也会逐渐脱颖而出，最终占据优势地位，成为主流克隆。对肿瘤进展过程中从腺瘤（**adenoma**）、腺癌（**carcinoma**）直至最终转移瘤（**metastases**）的

组织病理学研究也证实了上述理论。在肿瘤进化的每一个阶段，每一个肿瘤细胞以及它们增殖形成的亚克隆都会各展所长，争夺生长资源和生活空间。单细胞多重突变分析技术（Multiplexed, single-cell mutational analysis）是研究肿瘤克隆组织结构的最佳选择，如果能够连续采样进行分析就更好了。可惜目前为止，这方面的研究开展的并不太多，不过这少数几个研究也已经为我们提供了足够的信息，揭示了各个肿瘤亚克隆携带的突变所具有的多样性面貌，这一结论和Nowell的模型也非常吻合。大量肿瘤组织切片和组织活检资料，以及最近的单细胞分析数据都表明，肿瘤进化的轨道非常复杂，而且进化方向也不是单一的，是非常多元的，就和图2中所示的Nowell模型一模一样，这是一株标准的达尔文进化树。如果我们想利用这个进化树上各个节点位置的突变数据简化出一条肿瘤克隆的进化历程，那么一定会得到错误的结论。对各个不同亚克隆的基因组突变数据进行比较，就很有可能发现它们之间的进化关系，以及它们与原始来源细胞之间的关系，还可以发现肿瘤进化发展过程中各个进化事件的顺序。肿瘤从同一个原始肿瘤细胞（ancestral cancer cells）逐渐发生克隆样进化的过程可以用图3中展示的例子进行解释，如同卵双胞胎会一起患上急性白血病，会一起转移，根据推断，双侧的睾丸还有可能都会癌变等。可是在这种情况下，肿瘤克隆会因为双胞胎有各自不同的生活习惯而表现出不同的基因型和表型，也就是像达尔文研究的加拉巴哥群岛（Galapagos Islands）鸟那样。

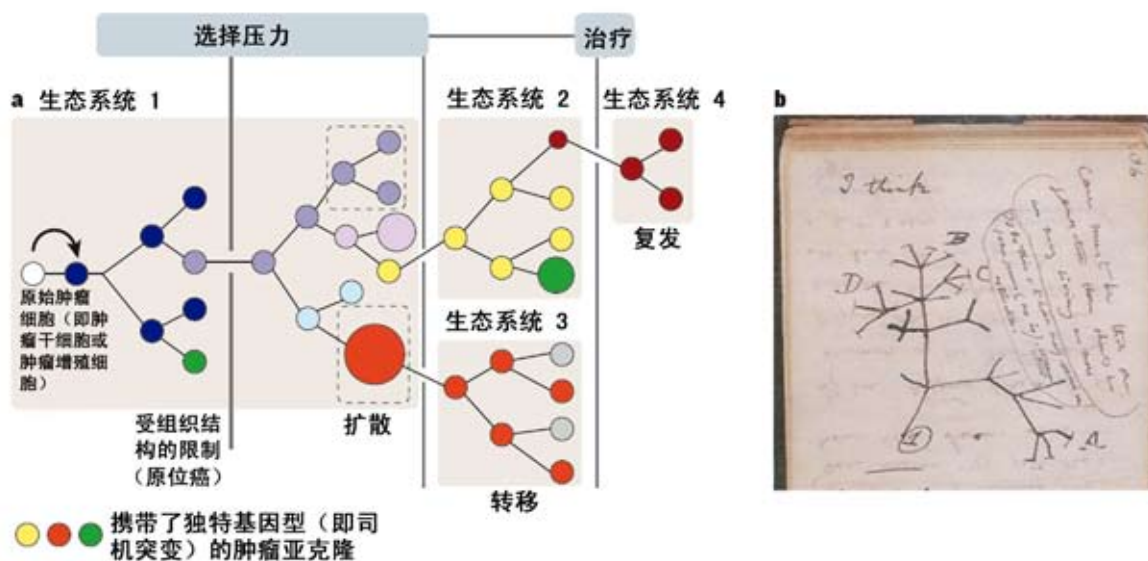


图2 肿瘤克隆的多路进化机制。a，肿瘤克隆。图中垂直的直线表示的就是组织结构的限制力和选择压力。图中介绍的是一种非常常见而又典型的实体瘤，不是白血病肿瘤克隆细胞，因为这种细胞会在很短的时间里（几年时间，而不是其它肿瘤常见的几十年时间）大量扩增，而且它们也不会受到太多组织的限制，突变事件也比较少。图中展示的1-4这四种生态系统代表了不同的组织生态系统。在生态系统1里面的小方框表示肿瘤生长的局部空间。颜色不同的实心小圆球分别表示一个亚克隆。在肿瘤原发灶中的各个亚克隆，从最小的到最大的，都可以在生长进化的过程中转移出去，形成转移亚克隆。b，达尔文手稿第1837页上的进化树。

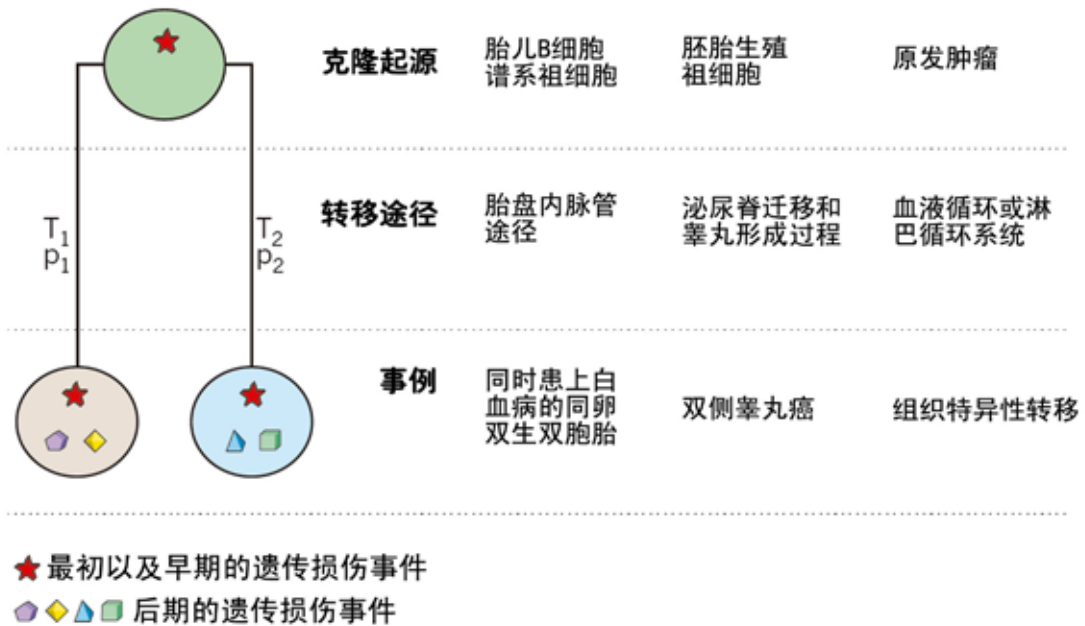


图3 各种不同的肿瘤克隆进化组织学途径。两个亚克隆发生进化的时间 $T_1$ 和 $T_2$ 可以是同一个时间，也可以是相隔数年的两个不同时间。两个亚克隆出现的概率 $P_1$ 和 $P_2$ 也是各不相同的。在绝大多数情况下（比如在同卵双生双胞胎中有90%的机会），在同卵双生双胞胎中只有一个会患上白血病。而双侧睾丸同时癌变的外显率现在还不清楚。

肿瘤组织里各个亚克隆的突变情况可以被用来调教“分子钟”，我们根据分子时间的早晚就能够判断出肿瘤在进化过程中各个事件的发生顺序。比如DNA甲基化修饰的改变情况和碱基对的突变情况可以被用来推测肿瘤克隆的增殖动力学情况，以及肿瘤形成、侵入和转移等事件发生的时间。还有可能通过对一个肿瘤样品的深度测序推测出它在进化过程中上述各个事件发生的相对时间。

肿瘤的亚克隆可能会和原发组织混合在一起，但是由于肿瘤克隆的单细胞来源特性以及多样化的进化途径，所以肿瘤组织能够在正常组织中形成独特的“领地”也就不足为奇了（图4a）。肿瘤克隆的进化还包括占据各个不同“领地”的亚克隆同时发生各不相同的突变和表型改变的情况，这对于我们根据组织活检结果而开展的临床诊断、治疗以及预后判断工作也都有着重要的意义。目前还不清楚所有这些亚克隆表现出的多样性是不是能够反应司机突变和选择优势所带来的影响作用，或者只是中性突变或表观遗传学改变的自然漂变（genetic drift）结果。肿瘤亚克隆结构上的多样性水平是可以检测的，这也是一个非常有用的肿瘤生物标志物，可以用于巴瑞特食道癌（Barrett's oesophagus）肿瘤恶性程度的判断，而且还与乳腺癌肿瘤的临床分期和亚型分型有关。



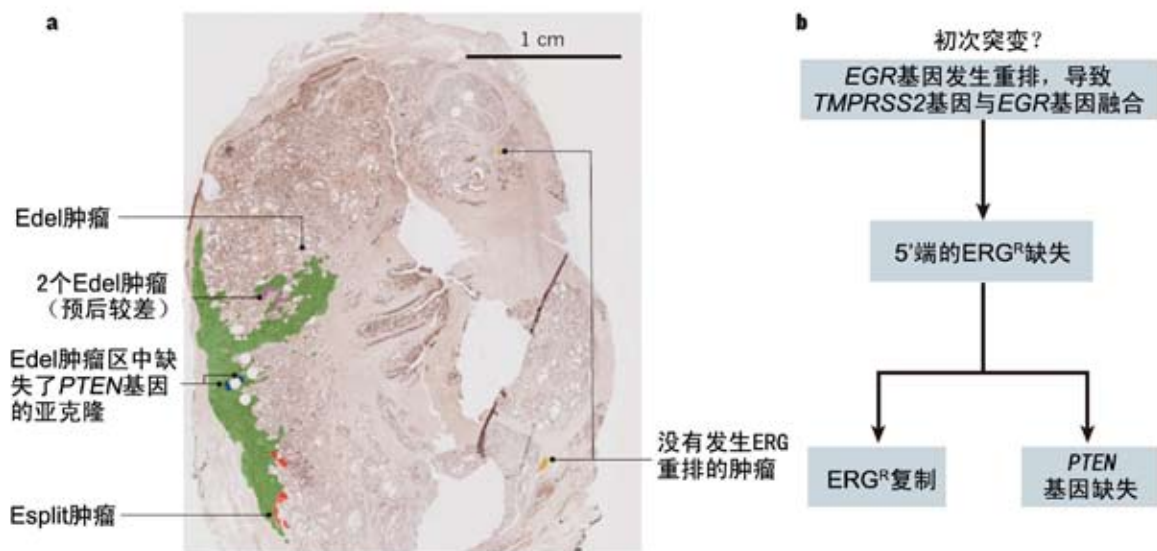


图4 肿瘤亚克隆的结构差异。**a**，前列腺癌的组织切片，用于检测遗传突变事件，即 *TMPPSS2*—*ERG* 融合基因（*EGR* 基因重排，*PTEN* 基因缺失）。**b**，推测的肿瘤克隆进化顺序。

#### 4. 选择单位和肿瘤干细胞的作用

进化理论认为，自然选择机制适用于任何具备多种繁殖能力的系统。在肿瘤的进化历程或者肿瘤治疗之后的复发过程中，最基本的选择单位就是细胞本身。这种细胞必须具备很强的繁殖能力，它们就是所谓的肿瘤干细胞（cancer stem cell），也被称作肿瘤起始细胞（cancer-initiating cell）或肿瘤增殖细胞（cancer-propagating cell）（图5）。

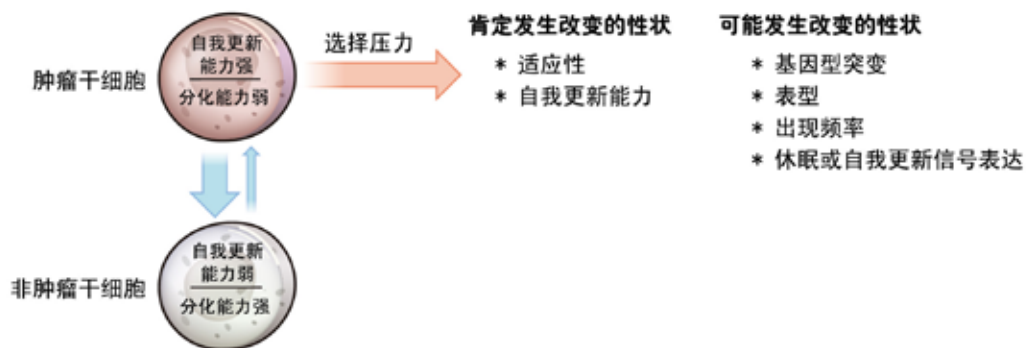


图5 选择压力对肿瘤干细胞的作用。

科学家们是在进行了白血病细胞移植实验之后才提出了肿瘤干细胞概念的，尽管已经有报道表明，肿瘤干细胞是所有类型的肿瘤共有的一种细胞，但科学界对这一理论还是存在争议。比如对于肿瘤干细胞的数量就存在很大争议，有人认为这是一种非常少见的细胞，可另外一部分人则认为这是一种出现频率很高的细胞；再比如肿瘤干细胞的表型是固定不变的，还是多变的，抑或是分为好几个层次的不清楚。但是考虑到肿瘤的进化机制，我们认为这种增殖能力超强的干细胞不太可能是一成不变的。肿瘤干细胞是肿瘤亚克隆不断增殖的源动力，所以它们在出现频率和表型特征方面应该是不断改变的。它们唯一不变的特征就是永远具有极强的自我更新能力（图5）。用异种移植方法（**xenotransplantation**）或检测基因表达信号的方法对肿瘤干细胞的活力或自我更新能力进行定量检测的方法已经被广泛应用于临床，通过这种方法可以预测出好几种肿瘤患者的预后情况。如果出现了异常的基因型，肿瘤干细胞的自我更新能力会进一步增强，可能其它的特征，比如表观遗传学特征等也会有所改变。科学家们可以根据这一特点开发检测试验技术，用于后续的预测。首先，肿瘤干细胞应该也会发生进化，同时在进化过程中改变表型和基因型，当然在抗癌治疗前后也会发生这些改变。有一些治疗措施甚至还会起到很强的选择作用，让肿瘤干细胞的存活能力和增殖能力进一步加强。其次，随着肿瘤的进化，自我更新能力最强的那些干细胞也会进一步得到选择增强的作用，但是这会牺牲掉一部分干细胞的分化能力。在慢性髓性白血病（**chronic myeloid leukaemia, CML**）患者和小鼠动物模型中都已经证实了这一点。还有一种更大的可能性，那就是肿瘤干细胞的自我更新能力会对称地加强，这样它们出现的几率也会大大增加。因此在一些缺失了**TP53 DNA**损伤检查点的情况下，肿瘤的进展会更快，临床预后更差，这似乎就是因为释放了肿瘤干细胞的转录信号，从而增强了它们的自我更新能力。总而言之，肿瘤干细胞的出现频率会随着疾病的进展逐渐升高。第三，谈到肿瘤微环境和治疗手段对肿瘤细胞施加的选择压力，这也会让肿瘤干细胞出现各种变异，在白血病细胞中已经证明了这一点。

所有这些情况都会对临床产生很大的影响。不论是肿瘤干细胞的出现频率还是其表型发生改变，如果这些能够自我更新的干细胞是驱动并维持肿瘤克隆不断增殖的源泉，这就说明它们是各种肿瘤突变事件的大本营。这一理论也得到了另外一种观点的支持，该观点认为，在任何类型肿瘤患者的治疗过程中，最为关键的目标就是彻底清除肿瘤干细胞。不过如果肿瘤干细胞在进化过程中不论在遗传学上还是在表观遗传学上都发生了改变，正如之前的实验所发现的那样，那么我们的治疗手段就注定会失败。这种遗传突变给肿瘤干细胞带来的适应性又进一步增强了肿瘤干细胞与生俱来的，对放疗和化疗的不敏感性。这可能是因为肿瘤干细胞与间质细胞的关系，以及有一部份肿瘤干细胞处于休眠状态的原因。还有可能是因为肿瘤干细胞**DNA**损伤修复的能力有所加强，或者药物流出泵（这是一种正常干细胞都具备的自我保护机制）的表达量有所增加。

在各种肿瘤组织中，亚克隆的遗传多样性就算不是普遍的，也是非常常见的一种现象。不过我们不能认为所有的亚克隆都是依靠肿瘤干细胞提供支持的，还有一些亚克隆源自增殖潜能有限的细胞，不过这部分亚克隆的进化能力也非常有限。为了顺应肿瘤干细胞的这种特点，我们在进行体内肿瘤干细胞试验时也会连续进行干细胞移植，防止增殖能力耗尽而给实验带来干扰。最理想的状况是对单个肿瘤干细胞的基因组进行研究，看看它和肿瘤亚克隆的关系，但目前进行这种研究还是不太实际的。不过也可以根据各

个亚克隆在移植前后的多样性和结构差别推测出肿瘤干细胞的遗传多样性。成胶质细胞瘤四分切片（**quadrant section**）表明，肿瘤亚克隆表现出遗传多样性，但是它们的基因型都是相关的，而且在所有的切片中都包含能在体内（颅内）肿瘤干细胞实验中检测出的细胞。更确切的数据来自亚克隆移植前后从单细胞水平，或者用单核苷酸多态性芯片对B细胞来源的急性淋巴细胞白血病进行研究的遗传学资料。取自每一位患者的多个亚克隆都可以进行体内肿瘤干细胞移植实验，不论它们的竞争能力有多么大的差异。我们还在等待有实验能够证明，肿瘤干细胞的遗传多样性是每一种肿瘤都普遍存在的一种特性，不过在没有证实之前，我们应该假定实际情况就是这样的，因为这对临床的抗癌治疗有非常重要的参考意义。

## 5. 达尔文的旁路效应

Nowell在他的著名论文中指出，还应该对发展到临床可见阶段之前的早期肿瘤开展更多的研究，充分了解肿瘤的进化机制及其调控机制。虽然各种抗癌疗法已经取得了一定的成功，但是实际上我们对晚期肿瘤和转移瘤还是毫无办法。肿瘤干细胞的遗传多样性，尤其是在基因失稳时出现的各种突变都给肿瘤细胞逃避抗癌治疗的杀伤作用提供了便利，最终导致治疗失败。另外，抗癌治疗手段还会施加其它一些非遗传作用机制的阳性选择作用，比如其它信号通路（或称致癌旁路）、休眠作用（**quiescence**）以及表观遗传学修饰等。不过其中有很多作用还是依赖的可遗传的、可选择的表现遗传学变异机制。现在大家都将希望寄托在肿瘤基因组学研究上，希望通过这种研究发现肿瘤的复发突变，药用靶点突变等，这将有助于开发出高度特异性的小分子抗癌药，也将促进个性化医疗（**personalized medicine**）的发展。这样，各种致癌突变或机制也就将变成阿喀琉斯之踵，成为我们攻击的目标。伊马替尼（**imatinib**）的成功以及酪氨酸非受体激酶抑制剂衍生物在慢性髓性白血病治疗中的成功就给了我们很大的鼓舞，但是慢性髓性白血病并不是我们常规意义上的典型肿瘤。从本质上说它属于恶化前（**pre-malignant**）疾病，可能就只有BCR-ABL1融合基因这一个致病因素，所以比较容易治疗。即便在最好的治疗情况下，肿瘤还是可能会复发，这有可能是由潜伏的（或者伴有耐药性的）肿瘤干细胞所致，也有可能是ABL1激酶靶标出现了突变所致。一旦慢性髓性白血病进化成了高度恶性的肿瘤，或者出现了白血病急性发作危象（**blast crisis**），遗传多样性高度增加，那么ABL1激酶疗法也会失效。

其它针对特定突变位点的小分子抑制剂在对晚期癌症患者的治疗工作中也取得了不错的治疗效果，但是疗效的持续时间不长，很快就会复发，而且复发的肿瘤已经变成了耐药的克隆。如果药物针对的不是肿瘤起始突变，那么即便这种突变在肿瘤组织中占据优势地位，我们还是可以选择缺乏这种突变的亚克隆作为抗癌治疗的主要目标。另外，携带了其它突变的亚克隆很有可能利用的是旁路致癌信号通路，这也可以作为药物作用的靶点，比如我们就可以用EGFR激酶抑制剂来治疗EGFR基因突变，和同时伴有MET致癌基因大量扩增的肺癌患者。

这种靶向治疗手段和个性化医疗的拥护者认为，根据每一位癌症患者的肿瘤基因组信息，联合使用多种针对同一信号通路里不同靶标的药物将有望彻底攻克癌症。根据这

一理论，联合彻底抗癌疗法（**synthetic lethal strategies**）应该大有希望。

能够自我更新的肿瘤细胞是各种抗癌治疗措施最终的杀灭目标，所以用高通量筛选的办法对各种高度特异性的抗癌抑制剂进行大规模筛查是一条不错的思路。科学家们还应该开发更多针对肿瘤细胞自我更新能力本身（尤其是和正常干细胞自我更新能力有区别的肿瘤特异性的自我更新能力），而不是某种突变基因型的抑制药物。以慢性髓性白血病为例，对于那些“天生”耐药的肿瘤干细胞（也有可能是休眠细胞），我们选择联合使用高度特异性的**ABL1**激酶抑制剂和组蛋白脱乙酰基酶抑制剂或**BCL6**等治疗手段。可是最终发现，这样也很难“搞定”这些适应能力极强的肿瘤（干）细胞，因为它们已经进化出了晚期癌症细胞的特点，达尔文旁路（**Darwinian bypass**）机制很有可能在其中发挥了作用，赋予这些细胞无穷的可能性。肿瘤细胞的进化多样性理论也给我们带来了许多启示，比如肿瘤是可以通过戒烟、避免阳光过度暴晒、接种疫苗等方法进行预防的，当然在肿瘤进化出丰富的遗传多样性并且扩散之前早期发现和干预也是非常重要的。

还有一种治疗策略就是针对肿瘤所处的微环境下功夫，即所谓的生态疗法（**ecological therapy**）。这种疗法的主要目的就是改变肿瘤赖以生存的环境。比如，抗血管发生方法就是一个很不错的肿瘤干细胞限制手段。再比如在前列腺癌患者治疗中常见的二膦酸盐（**bisphosphonates**）骨重构技术、在乳腺癌患者治疗中用到的芳香酶抑制剂（**aromatase inhibitors**）药物、缺氧手段、炎症抑制因子或肿瘤浸润巨噬细胞抑制因子以及抑制肿瘤干细胞与周围间质间的相互作用等。

另外，还有一种策略是不求彻底杀灭肿瘤，只需要对其加以控制，让令人恐怖的癌症转变为一种慢性疾病。由于肿瘤克隆的进化速度是与细胞间适应能力的差别相适应的，所以可以使用细胞毒性的抗癌药物快速筛选出耐药克隆。这样也清除了其它耐药竞争对手，让耐药性最强的克隆得以播散并转移。与此相反，使用稳定细胞的（**cytostatic**）药物则能够延缓肿瘤的进化过程，而且还能降低肿瘤患者的病死率，这是因为对抗癌药物敏感的肿瘤细胞并没有被杀死，还存在于患者体内，它们会和耐药的克隆竞争各种生长资源和生长空间，互相抑制。而且这种细胞稳定药物能够抑制细胞分裂，防止出现更多新的突变。**Gatenby**等人开展的研究表明，如果将移植了高度恶性的卵巢癌细胞**OVCAR-3**的小鼠动物模型体内的肿瘤体积维持在一定水平，不要发生较大的变动，这种小鼠的寿命要比切除了肿瘤的对照小鼠长得多。另外，为了将肿瘤体积维持在一定水平而使用的卡铂（**carboplatin**）的剂量也会逐渐减少。科研人员现在应该重点关注那些可以用来判断肿瘤的致死性是不是比较低，临床管理是不是更方便的肿瘤表型。

到今天，肿瘤的进化理论已经有**35**年的历史了，它已经经历了无数次的检验，所以已经可以被看作是一个真正的科学理论。体细胞进化的基本情况也已经被研究得比较透彻了，但是进化的动态过程还不是特别清楚。幸运的是，我们现在有了进化生物学的研究手段，可以运用这些技术来研究一些基本的肿瘤进化问题，比如在肿瘤进化过程中每一个事件发生的先后顺序；鉴别哪些是司机突变，哪些是乘客突变；认识肿瘤产生耐药性的机制，并找出应对的办法等等。肿瘤克隆多样化和选择动力学问题是所有问题中的关键点。当前的困难在于如何利用临床资源直接解决肿瘤的进化适应性问题，如何减缓、控制或者改变肿瘤的进化过程，延长患者的寿命，或者让肿瘤彻底变成一种不会致人死命的疾病。

# 特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

## 职位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

## 要求：

- 1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
- 2.具备良好的生命科学前沿触觉；
- 3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
- 4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
- 5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 [editor@lifeomics.com](mailto:editor@lifeomics.com)

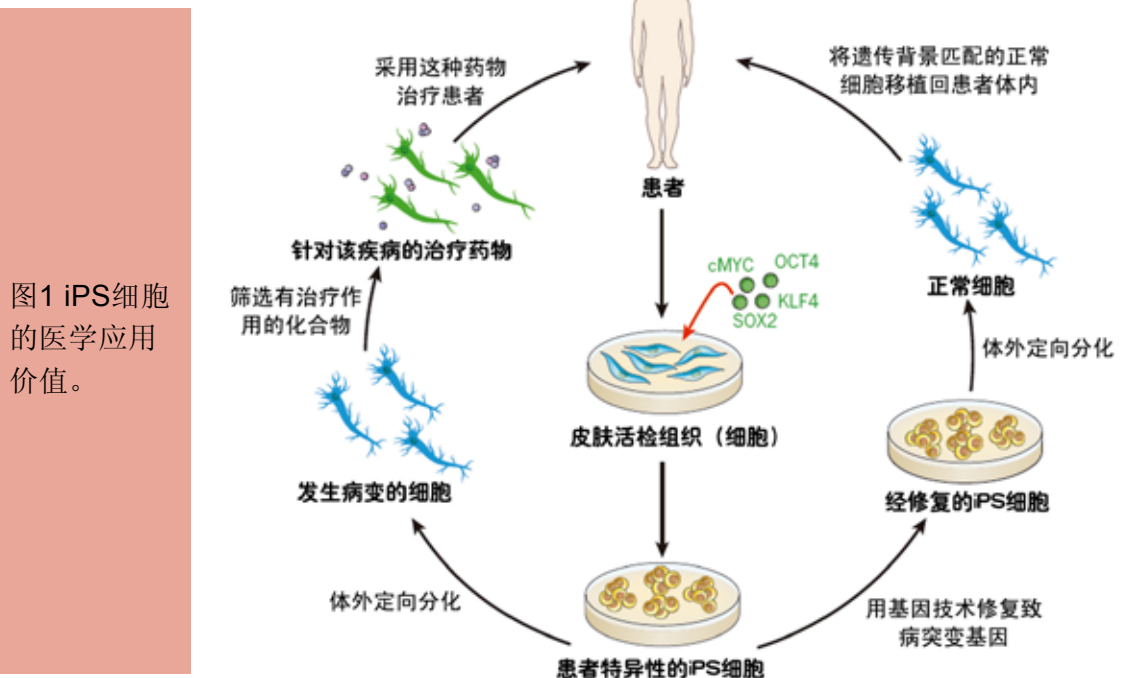
联系人：蔡小姐

## 四、诱导多潜能干细胞在基础研究和临床治疗中的前景展望简介

细胞重编程技术（reprogramming technology）的不断进步，让干细胞生物学研究有了飞速的发展。所谓细胞重编程技术，就是通过在体细胞内同时表达几种外源性重编程因子（reprogramming factor）的方法让体细胞重新获得多向分化的能力，并重新成为干细胞的一项技术。这项技术的出现让科学家们能够非常容易地构建出各种人体疾病的细胞模型，同时也为发展个性化细胞再生医疗技术带来了新希望。

### iPS细胞的医疗价值

长久以来，如何为每一位患者制备出他们个体特异性的干细胞（patient-specific stem cell）一直都是困扰再生医学专家们的一大难题，这也是他们一直在研究的重点课题。尽管存在种种困难，现在利用细胞重编程技术制备患者特异性和疾病特异性（disease-specific）的iPS细胞几乎已经成为了实验室里的一项常规操作。iPS细胞给科研人员们提供了一个非常好的、独一无二的平台，我们可以通过这些细胞充分认识各种疾病的发病机制、可以利用这些细胞进行体外药物筛选工作、可以利用这些细胞对各种药物和治疗方法的疗效进行评估，还可以对这些细胞进行遗传改造，然后用于细胞移植替代治疗等（图1）。



以图1这位神经变性疾病（neurodegenerative disorder）患者为例，我们可以获得这位患者自身特异性的iPS细胞。这种细胞主要可以用于两个方面：如果我们很清楚地知道导致这种疾病的致病突变，比如家族性帕金森氏病（familial Parkinson's disease）致病突变，那么临床医生就可以针对这个位点进行修复，如图1右侧所示。这种经过修复的iPS细胞能够继续定向分化为正常的神经元细胞，比如中脑的多巴胺能神经元细胞（dopaminergic neuron），然后被植入患者颅内的黑质纹状体轴区域（nigrostriatal axis），替换和修复病变的细胞；抑或可以让这种患者自身特异性的iPS细胞定向分化为病变的神经元细胞，构建出这种疾病的细胞病理模型，如图1左侧所示，然后用这种模型进行药物筛选，帮助我们发现治疗这种疾病的新药。近几年来，有关iPSi细胞应用成果的论文数量出现了井喷的趋势，并且还在逐年增加，这也说明该技术有着巨大的应用潜力（表1）。

表1 利用iPS细胞构建的病理模型

疾病名称	患者细胞携带的分子缺陷	从iPS细胞分化形成的终末细胞类型	利用iPS细胞分化出的病理细胞模型是否表现出了这种疾病的表形	是否用于药物筛选或功能试验
<b>神经系统疾病</b>				
肌萎缩性脊髓侧索硬化症（ALS）	过氧化物歧化酶1（SOD1）出现了Leu144Phe杂合型突变	运动神经元细胞及神经胶质细胞	尚未确定	否
脊髓性肌萎缩（SMA）	SMN1基因突变	神经元细胞、星形胶质细胞以及成熟的运动神经元细胞	是	是
帕金森氏病（Parkinson's disease）	多种因素，LRRK2基因或SNCA基因突变	多巴胺能神经元细胞	不能表现该疾病表型	是
亨廷顿氏病（Huntington's disease）	亨廷顿基因里CAG重复片段的拷贝数增多，达到或超过72个	尚未成功	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
唐氏综合症（Down's syndrome）	21号染色体是三倍体	包含有来自三个胚层组织的畸胎瘤	是	否
X染色体脆性综合症（Fragile X syndrome）	CGG三联体拷贝大量重复，导致FMR1基因沉默	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
家族性植物神经功能障碍症（Familial dysautonomia）	IKBKAP基因突变	中枢神经系统谱系细胞、外周神经元细胞、造血细胞、内皮细胞及内胚层细胞	是	是

续下

接上

疾病名称	患者细胞携带的分子缺陷	从iPS细胞分化形成的终末细胞类型	利用iPS细胞分化出的病理细胞模型是否表现出了这种疾病的表形	是否用于药物筛选或功能试验
<b>神经系统疾病</b>				
雷特综合征 (Rett's syndrome)	<i>MECP2</i> 基因杂合型突变	神经祖细胞	是	是
IIIB型粘多糖贮积症 (Mucopolysaccharidosis type IIIB, MPS IIIB)	<i>NAGLU</i> 基因纯合型突变	神经干细胞及已分化神经元细胞	部分表现	是
精神分裂症 (Schizophrenia)	病因复杂	神经元细胞	是	是
X染色体连锁肾上腺脑白质退化症 (X-linked adrenoleukodystrophy)、儿童脑型肾上腺脑白质退化症 (CCALD) 以及肾上腺髓周围神经病 (AMN)	<i>ABCD1</i> 基因突变	少突神经胶质细胞、神经元细胞	部分表现	是
<b>血液系统疾病</b>				
脱氧腺苷脱氨酶重症联合免疫缺陷 (ADA SCID)	<i>ADA</i> 基因突变或缺失	否	尚未确定	否
范可尼贫血 (Fanconi's anaemia)	<i>FAA</i> 和 <i>FAD2</i> 基因突变	造血细胞	不能表现该疾病表型	否
Schwachman–Bodian–Diamond综合症 (Schwachman–Bodian–Diamond syndrome)	多因素	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
镰状细胞贫血 (Sickle-cell anaemia)	HbS蛋白纯合型突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
$\beta$ 地中海贫血 ( $\beta$ -Thalassaemia)	$\beta$ 球蛋白编码基因纯合型缺失	造血细胞	尚未确定	否
红细胞增多症 (Polycythaemia vera)	<i>JAK2</i> 蛋白 Val617Phe杂合型突变	造血祖细胞 (CD34 <sup>+</sup> 、CD35 <sup>+</sup> )	部分表现	否
原发性骨髓纤维化症 (Primary myelofibrosis)	<i>JAK2</i> 基因杂合型突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否

续下



接上

疾病名称	患者细胞携带的分子缺陷	从iPS细胞分化形成的终末细胞类型	利用iPS细胞分化出的病理细胞模型是否表现出了这种疾病的表形	是否用于药物筛选或功能试验
<b>代谢系统疾病</b>				
Lesch-Nyhan综合症 (Lesch-Nyhan syndrome) (携带者)	<i>HPRT1</i> 基因杂合型突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
I型糖尿病 (Type 1 diabetes)	未知的多种致病因素	$\beta$ 样细胞, 可以表达生长激素释放抑制因子、胰高血糖素和胰岛素, 对葡萄糖有反应	尚未确定	否
III型高雪氏病 (Gaucher's disease, type III)	<i>GBA</i> 基因突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
$\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺乏症 (A1ATD)	$\alpha 1$ 抗胰蛋白酶编码基因纯合型突变	肝细胞样细胞 (胎儿)	是	否
糖原贮积病1a型 (GSD1a)	葡糖-6-磷酸酶编码基因缺陷	肝细胞样细胞 (胎儿)	是	否
家族性高胆固醇血症 (Familial hypercholesterolaemia)	<i>LDLR</i> 基因常染色体显性突变	肝细胞样细胞 (胎儿)	是	否
Crigler-Najjar综合征 (Crigler-Najjar syndrome)	<i>UGT1A1</i> 基因缺失	肝细胞样细胞 (胎儿)	尚未确定	否
遗传性高酪氨酸血症I型 (Hereditary tyrosinaemia, type 1)	<i>FAHD1</i> 基因突变	肝细胞样细胞 (胎儿)	尚未确定	否
庞贝病 (Pompe disease)	<i>GAA</i> 基因被敲除	骨骼肌细胞	是	否
进行性家族性胆汁淤积症 (Progressive familial cholestasis)	多种致病因素	肝细胞样细胞 (胎儿)	尚未确定	否
Hurler综合症 (MPS IH)	<i>IDUA</i> 基因缺陷	造血细胞	该细胞不能用于表现该疾病表型	否

续下

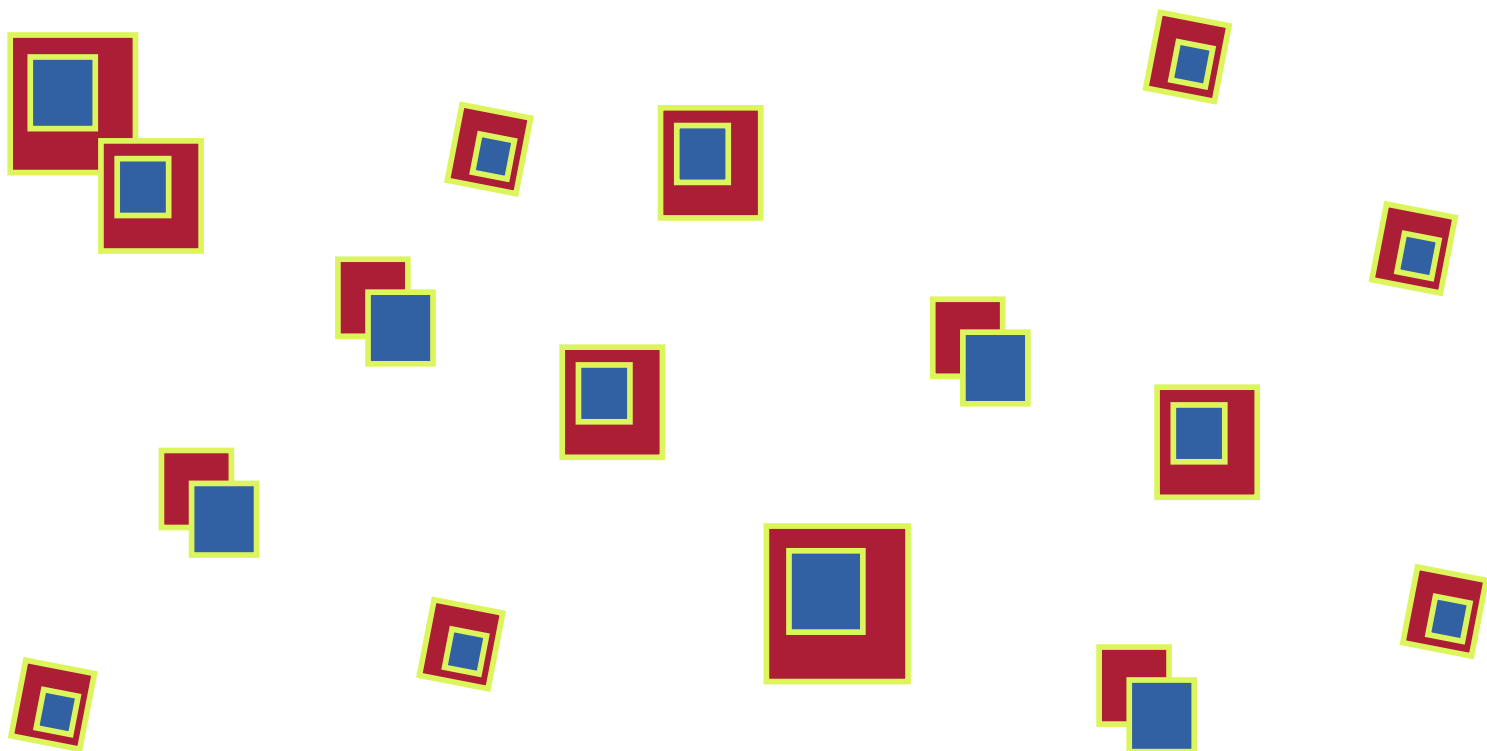
接上

疾病名称	患者细胞携带的分子缺陷	从iPS细胞分化形成的终末细胞类型	利用iPS细胞分化出的病理细胞模型是否表现出了这种疾病的表形	是否用于药物筛选或功能试验
<b>心血管疾病</b>				
豹斑综合征:遗传性皮肤病合并肥厚性心脏病 (LEOPARD syndrome)	<i>PTPN11</i> 基因杂合型突变	心肌细胞	是	否
I型长QT间期综合征 (Type 1 long QT syndrome)	<i>KCNQ1</i> 基因显性突变	心肌细胞	是	否
II型长QT间期综合征 (Type 2 long QT syndrome)	<i>KCNH2</i> 基因错义突变	心肌细胞	是	是
<b>原发性免疫缺陷疾病</b>				
严重联合免疫缺陷综合症 (SCID) 或渗漏型 SCID (leaky SCID)	<i>RAG1</i> 基因突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
Omenn综合症 (OS)	<i>RAG1</i> 基因突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
软骨-毛发发育不全症 (CHH)	<i>RMRP</i> 基因突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
单纯疱疹病毒性脑炎 (HSE)	<i>STAT1</i> 或 <i>TLR3</i> 基因突变	成熟的中枢神经系统细胞	不能表现该疾病表型	否
<b>其它疾病</b>				
杜氏肌营养不良 (Duchenne muscular dystrophy)	抗肌萎缩蛋白 (dystrophin) 编码基因缺失	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
贝克尔肌肉萎缩症 (Becker muscular dystrophy)	抗肌萎缩蛋白 (dystrophin) 编码基因发生不明突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
先天性角化不良症 (DC)	<i>DKC1</i> 基因缺失	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
囊性纤维化病 (Cystic fibrosis)	<i>CFTR</i> 基因纯合型缺失	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
Friedreich共济失调 (Friedreich's ataxia)	<i>FXN</i> 基因中 GAA三联体重复拷贝增多	二级神经元细胞、外周神经元细胞及心肌细胞	部分表现	否

续下

接上

疾病名称	患者细胞携带的分子缺陷	从iPS细胞分化形成的终末细胞类型	利用iPS细胞分化出的病理细胞模型是否表现出了这种疾病的表形	是否用于药物筛选或功能试验
<b>其它疾病</b>				
色素性视网膜炎 (Retinitis pigmentosa)	多个致病基因发生多种突变, <i>RP9</i> 、 <i>PR1</i> 、 <i>PRPH2</i> 或 <i>RHO</i> 基因突变	视网膜前体细胞、感光前体细胞、视网膜色素上皮细胞、视杆细胞	是	是
隐性萎缩型水泡上皮脱离症 (RDEB)	<i>COL7A1</i> 基因突变	造血细胞、表皮样角蛋白细胞 (该细胞可以在体内分化出所有三个胚层的细胞)	部分表现	是
硬皮病 (Scleroderma)	病因不明	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否
成骨不全症 (Osteogenesis imperfecta)	<i>COL1A2</i> 基因突变	无	该细胞不能用于表现该疾病表型	否



# OmicLink™ 即用型 ORF 表达克隆

4套已构建表达克隆即订即得

助您迈出基因功能研究第一步



## ORF表达克隆的优势

- ◆ 将约20,000条人源基因插入到慢病毒载体（Lv105）、哺乳动物载体（M02）、穿梭克隆等4套载体中构成的现货ORF表达克隆，即订即得；
- ◆ 45,000条人源、小鼠、斑马鱼基因；
- ◆ 100多种适用于不同表达系统的表达载体；
- ◆ 50多种不同功能的蛋白标签；
- ◆ 保证表达框序列正确性。

## ORF表达克隆的应用

- ◆ 蛋白的表达纯化、细胞定位，用于对目的基因或蛋白的功能研究与分析。
- ◆ 原位杂交探针的制作，用于检测组织或器官的基因表达谱。
- ◆ 在蛋白功能研究过程中，用于shRNA和miRNA抑制基因的功能拯救实验。
- ◆ 高通量筛选，可用于功能基因组学、蛋白组学和系统生物学的前沿领域。

## 五、骨骼对有机体整体生理学的研究意义

小鼠遗传进化研究已经无数次证实生物体内的绝大多数器官都有着比我们想象中多得多的功能。这也提示我们，不能仅仅利用分子和细胞手段对生物功能进行研究，还需要从整个器官和生物体水平上开展功能研究。对骨骼的研究就是一个很好的例子，我们通过整体研究已经发现，骨骼的功能远远不止基本的支持和骨架作用，它还与大脑、胰腺及消化道等诸多的器官有着广泛的联系，这也为我们研究多器官退行性病变的发病机制提供了一些新的线索。

对生理学（**physiology**）有两种定义。按照最现代的定义，生理学关注的应该是细胞内与某个功能相关的信号通路和基因表达情况，所以现代生理学又经常会被叫做分子生理学（**molecular physiology**）或者细胞生理学（**cellular physiology**）。可是传统的生理学关注的全都是在细胞外发生的各种事件和分子反应，所以也可以被叫做有机体整体生理学（**whole-organism physiology**），因为它主要关注的是器官与器官之间的相互作用，也就是**Claude Bernard**提出的“内环境（**milieu intérieur**）”。

我们现在主要利用下面两种方式对脊椎动物进行有机体整体生理学研究。第一种是以小鼠遗传学技术为基础的实验的方法，这也是在基因研究开展得非常红火的今天让生理学研究能够重新迎来第二春的首要功臣。通过这种方式，我们每一次研究都可以弄清楚一个基因在器官的相互作用中发挥什么作用。以骨骼生理学研究（**skeleton physiology**）为例，研究人员已经证实小鼠遗传学研究技术是一种非常可靠的人体生理学研究手段。这可能是因为在骨骼系统是在整个生物进化过程的最后阶段才开始出现的，所以绝大多数与骨骼生理学相关的基因在人类和小鼠中都高度保守，并且拥有相近的功能。第二种方式就是内科学（**internal medicine**）的观察方式。在人体发病或者用药之后产生副作用时我们都可以观察到一些异常的症状，这种症状其实就是体内生理学过程在体外的一种镜像表现，通过观察这些体外的改变可以了解体内生理学功能提供一些有价值的线索。在我们研究骨骼生理学及其分子机制的过程中，上述这两种方式均起到了非常重要的作用。

下面我们将以图示的方式简要介绍瘦素对食欲和骨量发挥共调控作用（图1）、骨来源的多功能激素——骨钙蛋白的作用（图2）、胰岛素、骨吸收过程与骨钙蛋白活化过程组成的正反馈通路的作用（图3）以及消化道与骨量（**bone mass**）之间的相互作用（图4）。

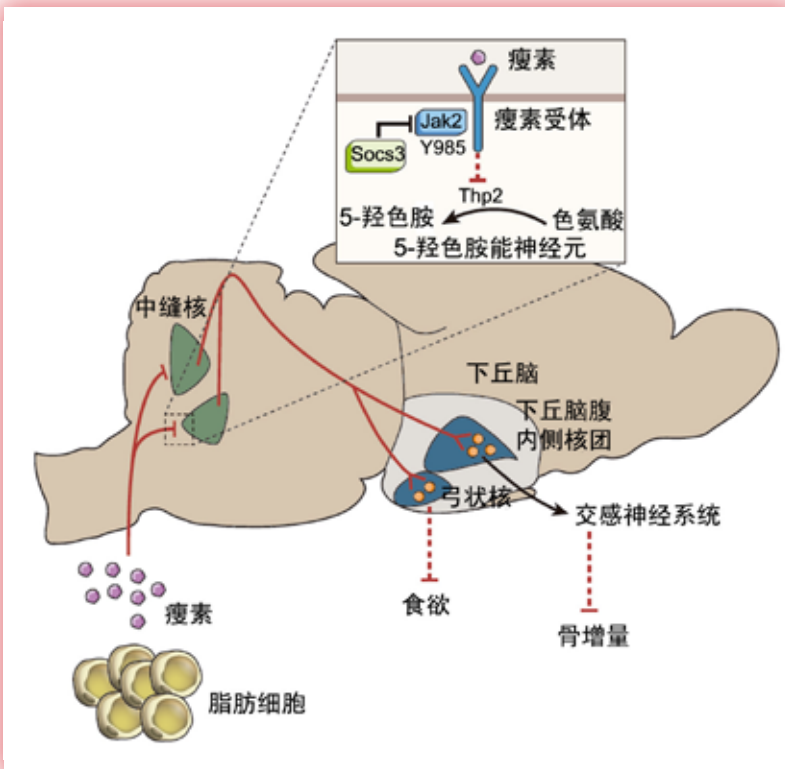
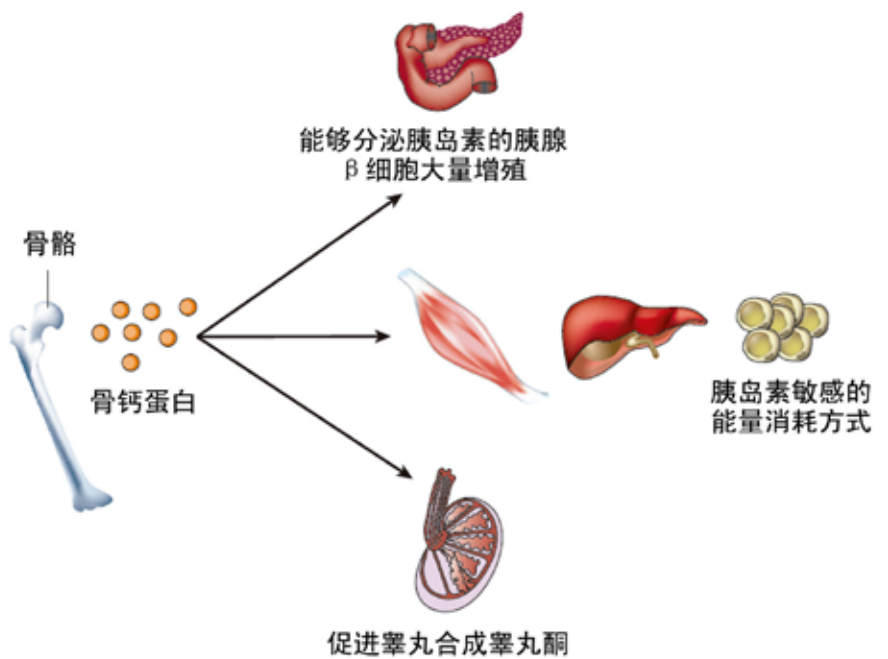


图1 瘦素对食欲和骨量发挥共调控作用。脑中缝核5-羟色胺能神经元能够表达瘦素受体，瘦素通过与瘦素受体结合激活该信号通路，降低色氨酸羟化酶2（tryptophan hydroxylase 2, Tph2）的表达量。色氨酸羟化酶2主要负责5-羟色胺的合成。瘦素信号通路需要Jak2因子参与，同时还受到Socs3因子的负调节。中缝核的5-羟色胺能神经元细胞的作用能够投射到下丘脑腹内侧核团和弓状核。下丘脑腹内侧核团神经元细胞里的5-羟色胺信号通路被激活之后可以抑制交感神经系统的活性，从而抑制骨量的增长。而弓状核细胞被激活之后则可以起到抑制食欲的作用。

图2 骨来源的多功能激素——骨钙蛋白的作用。未羧化的骨钙蛋白（undercarboxylated osteocalcin）能够刺激胰腺β细胞分泌胰岛素，还能够促进β细胞自身大量增殖；促进肌肉以胰岛素依赖的方式消耗能量，提高脂肪组织、肌肉组织和肝脏对胰岛素的敏感性。另外，骨钙蛋白还可以激活雄性动物睾丸间质细胞上的GPCR6A受体，促进睾丸间质细胞（Leydig cell）分泌睾丸激素，提高雄性动物的生殖能力。



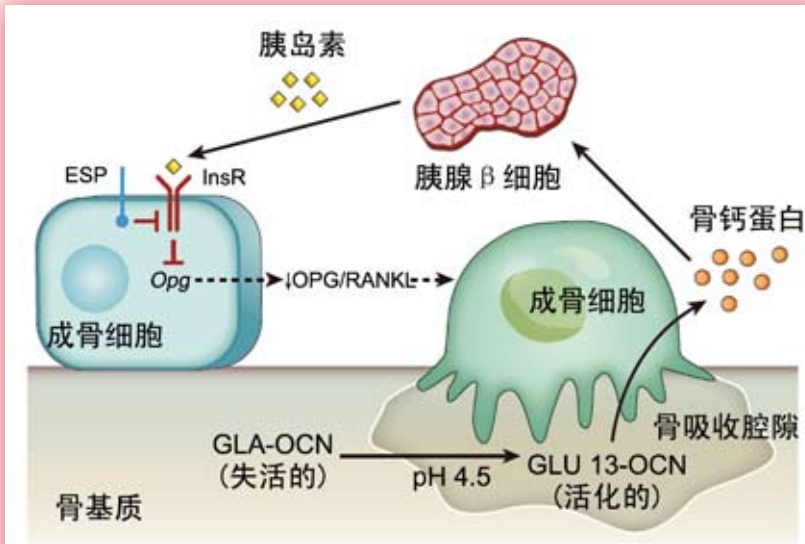
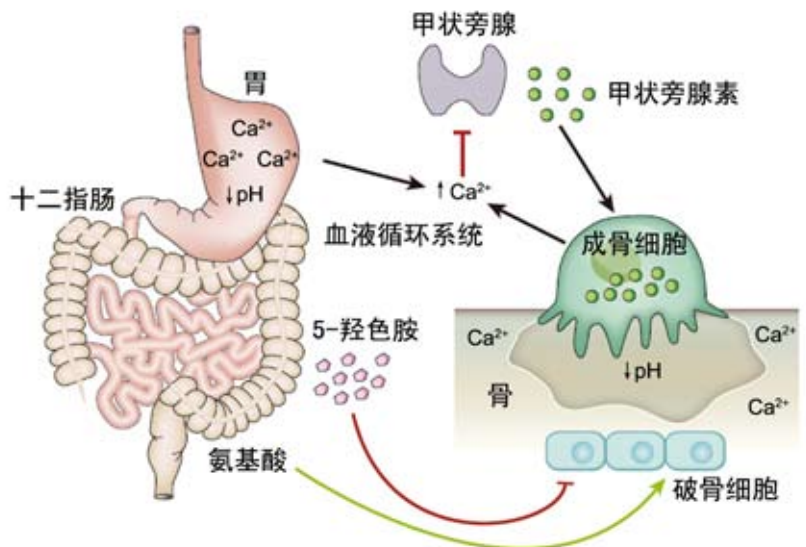


图3 胰岛素、骨吸收过程与骨钙蛋白活化过程组成的正反馈通路的作用。成骨细胞里的胰岛素信号通路被激活之后可以抑制骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 的表达。而OPG与NFκB配体激活因子受体 (receptor activator of nuclear factor-κ B ligand, RANKL) 之间的比例降低则又会促进成骨细胞的骨吸收作用。骨吸收腔隙里的酸性环境 (pH 4.5) 可以让储存在骨基质里的骨钙蛋白 (GLA-OCN) 发生脱羧基反应而被激活。这种被激活的骨钙蛋白 (GLU13-OCN) 反过来又能够促进胰腺β细胞分泌胰岛素, 还可以提高外周器官对胰岛素的敏感程度。

图4 消化道与骨量 (bone mass) 之间的相互作用。低pH值的胃酸可以保证钙离子的吸收, 所以也能够保证血钙离子浓度维持在正常的水平。血钙离子浓度反过来又能够影响甲状旁腺分泌甲状旁腺素, 甲状旁腺素是一种可以促进破骨细胞分化和骨吸收的激素。破骨细胞发挥的骨吸收作用也是在低pH值的条件下发生的, 该作用可以将储存在骨骼里的钙离子释放到血液循环系统里, 有助于维持正常的血钙浓度。十二指肠分泌的5-羟色胺能够对成骨细胞发挥作用, 抑制骨合成, 但是我们从食物中摄取的氨基酸 (蛋白质) 则可以促进成骨细胞合成骨胶原蛋白, 促进成骨作用。



原文检索:

<http://news.dxy.cn/bbs/topic/2158058>

Till Strowig, Jorge Henao-Mejia, Eran Elinav & Richard Flavell. (2012) Inflammasomes in health and disease. *Nature*, 481:278-285.

Mel Greaves & Carlo C. Maley. (2012) Clonal evolution in cancer. *Nature*, 481:306-311.

Christopher J. Lord & Alan Ashworth.(2012) The DNA damage response and cancer therapy. *Nature*, 481:289-293.

Daisy A. Robinton & George Q. Daley. (2012) The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy. *Nature*, 481(7381): 295-303.

Gérard Karsenty & Mathieu Ferron. (2012) The contribution of bone to whole-organism physiology. *Nature*, 481(7381): 314-318.

 YORK、筱玥/编译



## 研究前沿

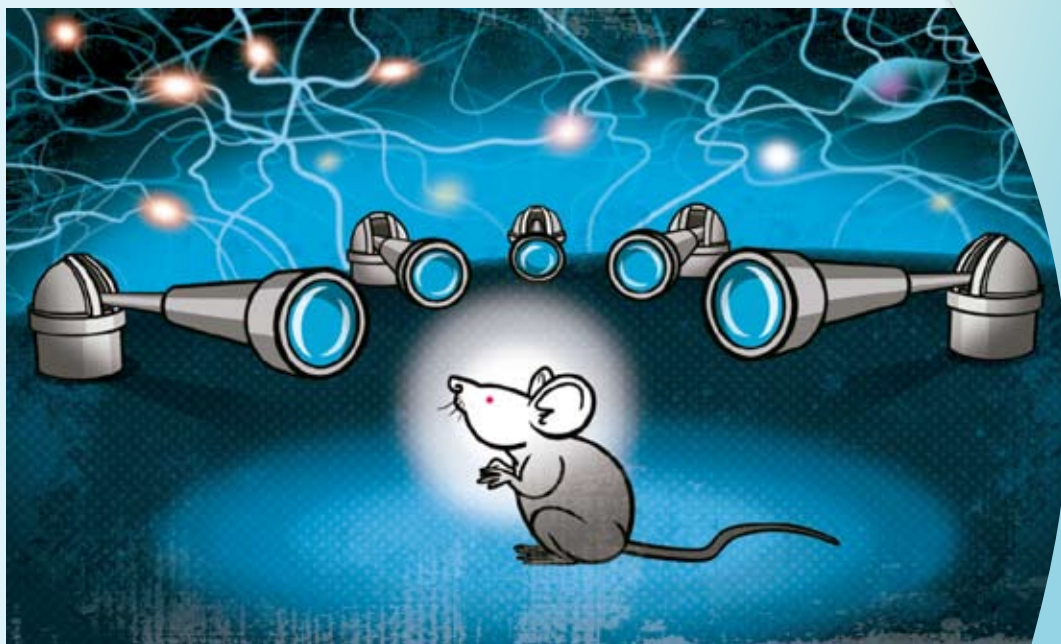
[www.LifeOmics.com](http://www.LifeOmics.com)



# 热点 话题

*Worthy Issues*

## 大脑观测站



艾伦脑科学研究所（Allen Institute for Brain Science）正在计划一个雄心勃勃的科研项目，他们要对小鼠的大脑进行全面的研究，这一项目将有望使神经科学（neuroscience）研究统一为一个整体。

神经科学研究领域一直以来都是一个相当分散的研究领域。在全世界大约有1万多家实验室在从事着这方面的研究工作。每一个实验室都在对各个时空层面上的大脑开展不同问题的研究。每个实验室使用的试验动物也都各不相同，他们所研究的行为和发育时间点也是各种各样的。在任何一次大型的国际神经科学研讨会上，与会者们都会为科学家们取得的“辉煌”成果而震惊。这是因为全世界大约有5万名，或者更多的科研人

员在神经科学的各个研究方向上努力工作，所以这是一个神经科学“大爆炸（scientific Big Bang）”的时代。

尽管这种科研的独立性是非常值得欣赏的，但是这种一盘散沙式的粗放科研模式也妨碍了神经科学研究领域的发展和成熟，我们也就不能制定出这个行业的标准科研模式和科研标准，当然更谈不上开展大型的科研合作项目了。神经生理学家们更有可能使用别人的“牙刷”，却不会使用别人的数据或分析软件；他们的科研成果通常都会被“珍藏”起来，绝不会发布到网络上与他人分享，除非学术论文发表之后，他们才有可能与其他人分享在研究工作中用到的某种分子化合物或者转基因动物模型等信息。正因为如此，所以在神经科学实验室之间进行数据比较会非常困难，也正因为如此，这个领域的科研进展才会如此之缓慢。

在美国华盛顿州西雅图市（Seattle, Washington）的艾伦脑科学研究所里，研究人员正在开展一个崭新的研究项目，他们将对神经科学的社会学问题（sociology）开展试验。这个项目的规模空前庞大，研究所的数百名科研人员、工程师和技术人员都将参与到这个项目中来。艾伦脑科学研究所是由慈善家Paul G. Allen于2003年出资创办的，他已经承诺，在这个必将加快神经科学研究进展的十年规划项目的头四年里捐赠3亿美元，用于支持这项工作。所以到目前为止，Allen先生已经在这个研究所投入了5亿美元的巨资。他们的目标就是吸引全世界最优秀的青年才俊来一同工作，建立起一系列的大脑“观测站”，发现、记录并干预小鼠大脑皮质（cerebral cortex，即大脑最外层的部分）的活动。他们使用的科研设备与用于观测外太空的天文望远镜不同，他们的设备能够跟踪记录厚度只有1个毫米的大脑皮质组织里复杂神经回路（neural circuits）之间的信息流动情况。

他们的目标是整合包括来自基因组学、解剖学、生理学、计算机建模等等各个方面的所有相关信息和知识，形成一整套全面介绍小鼠大脑皮质如何形成视觉的理论体系。按照Allen先生创办研究院时的意愿，他们将无偿公布所有研究信息和数据，以及其他各方面的相关资源，比如使用的转基因动物模型信息、探针或神经组织形态信息等，哪怕他们自己的工作尚未发表，也会及时的、毫无保留地公布这些信息。

他们相信，这种主动开放的态度必将让整个神经科学研究领域进入大规模合作工作的新时代，为各自为政的松散局面画上一个句号。如果要开展合作研究，就需要一个得力的科研团队，而不再是过去那种依赖一两个首席研究员领导工作的旧模式。他们现在就已经能够想象出未来的美好前景，那时，很多神经科学实验室里都会装备精良的大脑观测站——“大脑望远镜（mindscope）”，凭借这种新式的研究手段，他们将有望取得一系列重大的新发现。

虽然研究所现在的工作重点是研究小鼠的视觉形成机制，但是同时也会开展一些其它比较高级的大脑功能基础机制研究，比如感知觉（perception）、意识（conscious awareness）、决策（decision-making）以及行动指挥（action）等大脑功能的基础机制研究工作。如果搞清楚小鼠大脑的工作原理，就可以再推广到更高级的动物模型上，直至最终搞清楚我们自己大脑的工作原理。简单来说，这个庞大的项目应该会是一个有重大意义的创举，必将彻底改变我们对哺乳动物大脑的认识。



## 2020年远景展望

大脑观测站的首要任务就是研究大脑皮质（即所谓的大脑灰质）功能，因为大脑皮质是哺乳动物的标志之一，同时也是大脑认知能力和智力的摇篮。从大脑皮质的大小来看，它应该是目前宇宙中已知的最复杂的形态结构之一，仅仅根据大脑皮质标本是不能够判断出它是来自于哪一种哺乳动物的。哺乳动物全都拥有大脑，只不过人类的大脑碰巧比小鼠的大脑大一千多倍而已，详见下表。

### 人类和小鼠大脑的比较

通过下表的对比，我们就能够轻易发现，为什么对小鼠大脑进行研究要比对人体大脑进行研究容易得多。

对比项目	人类大脑	小鼠大脑
大脑质量	1500克	0.5克
大脑里神经元细胞的总数量	860亿个	7000万个
大脑里皮质神经元细胞的数量	160亿个	1400万个
大脑皮质里与视觉相关的比例	20%	10%左右
大脑皮质里与视觉相关区域的个数	30个	10个
上述视觉相关区域里神经元细胞的个数	50亿个	100~200万个
视觉神经的轴突个数	100万个	4.5万个

SOURCE: REFS 3-5

这个项目将从皮质神经元（cortical neuron）的解剖研究入手，运用分子技术对各种负责将信号传入或传出视觉皮质中枢以及其它皮质神经元核的神经元细胞进行计数和分类研究。该项目还将对这些神经元细胞某一个部分的电活动进行观测，对这些皮质神经元细胞进行从结构到功能的全方位研究。这是一个非常大的科学问题，不过并没有吓到研究人员，因为大脑皮质无非就是很多个基本的神经回路叠加在一起而已。

自核磁共振成像技术（MRI）诞生以来，人类大脑研究就发生了翻天覆地的变化，因为MRI技术能够让我们实时地了解到人类大脑的活动情况。不过这种检测信号非常模糊，反应速度也很慢，而且这些在MRI仪器上观察到的大脑活动区域并不是人类思想的来源，高度复杂的神经元细胞才是人类意识和思想的真正源泉。

幸运的是，科学家们现在已经可以对活体哺乳动物大脑里单个的神经元细胞进行研究了，这一切都得益于遗传技术的进步，让我们能够对神经元活体细胞进行荧光标记。经过遗传学改造之后，神经元细胞活化之后，或者运用最先进的光遗传学控制技术（optogenetics technique）进行操纵就能够发出荧光，读者可以参阅《生命奥秘》杂志的《光遗传学技术荣膺《自然-方法》2010年度生命科学技术》一文，了解更多光遗传学控制技术的信息。科学家们可以用这个方法暂时对参与某一个神经反应的某一种特

定的神经元细胞进行特异性、可逆性的控制，而且这种控制还可以在多个不同的时间反复进行。有了这种技术，科学家们就可以对神经系统进行干扰，了解更多的信息，让整个神经科学研究的模式都发生彻底的改变，从过去发现相互关系（**correlation**）到发现因果关系（**causation**），从过去在动物模型上能够观察到动物做出某种决定时哪一条神经回路被激活，到能够确定出这条回路就是动物进行决策所必须的那条回路等。

其它的技术进步也很有帮助，比如三维电镜技术（**three-dimensional electron microscopy**）就能够帮助神经科学家们对一个神经回路里的每一条轴突（**axon**）、每一个树突（**dendrite**）和每一个突触（**synapse**）进行可视化研究。我们需要的另外一项技术就是能够同时记录数千个神经元细胞电活动的技术。如果将所有这些技术全都结合到一起，那么就能够对大脑里某一个区域的结构和生理学功能有一个全面的了解。

最后，研究人员还将利用所有这些信息构建一个真实的、动态的小鼠大脑皮质及相关结构的计算机模型，利用这种模型建立一套理论，来解释大脑视觉皮质中枢的工作原理。研究所里，计算机建模实验室会设在实验室的隔壁，这样研究人员就能够经常串门，沟通起来会非常方便，进而缩短从提出假说到用试验验证假说之间所需要花费的时间，因为他们可以用虚拟的神经回路计算机模型不断地进行“试验”，直到模型最终得出实际观察到的结果为止。

虽然神经科学家们在过去的120年里已经发现了很多哺乳动物大脑的组成部件，但是到今天为止，我们还是完全不知道这些大脑的功能从何而来。然而这些才恰恰是最重要的知识，因为神经系统损伤和疾病给我们的生活、家庭和社会带来的损失和伤害实在是太大了。



虽然开展这个项目的困难很大，但是上述研究人员却并不是首次提出这个项目构想的人。由位于瑞士科学院（**Swiss Federal Institute of Technology in Lausanne**）的**Henry Markram**领导的欧洲人类脑科学项目（**European Human Brain Project**）就计划将来自22个国家的150名研究员联合起来，用计算机技术为小鼠、大鼠、猴子和人类的大脑构建计算机模型。不过艾伦脑科学研究所计划开展的这个大脑观测站项目与他们有所不同，只在该所范围之内开展合作，而且只针对小鼠的视觉皮质系统开展研究，所以范围要小得多。

艾伦脑科学研究所的研究人员也清楚，开展这种昂贵的科学研究肯定会招来一些非议，因为他们用掉的科研经费足以支撑数百个神经科学研究项目工作，所以他们有什么理由一定要用这么多资源开展这项研究呢？对于这个问题，他们的回答是已经有很多资助机构为那些小项目提供了数十亿美元的支持，所以艾伦脑科学研究所希望能够做一点前沿性质的研究。他们希望在这么大笔资金的支持下，用现有的各种高精尖技术对一个

大脑组织进行全方位的深入研究，他们的理念是集中火力攻其一点，而不是广泛撒网大海捞针。

当然科学研究存在风险，投入这么多的人力物力和财力也有可能不会得到预期的结果，采用的解剖学、生理学和计算机建模研究也很有可能不能够很好地融为一个整体，得不到所希望的小鼠视觉皮质模型。而且，他们也不能确保神经科学一定能够发展成一个很大的研究门类，但是究竟结果是什么样子，只有试了才知道。

原文检索：

Christof Koch & R. Clay Reid. (2012) Observatories of the mind. *Nature*, 483:397-398.

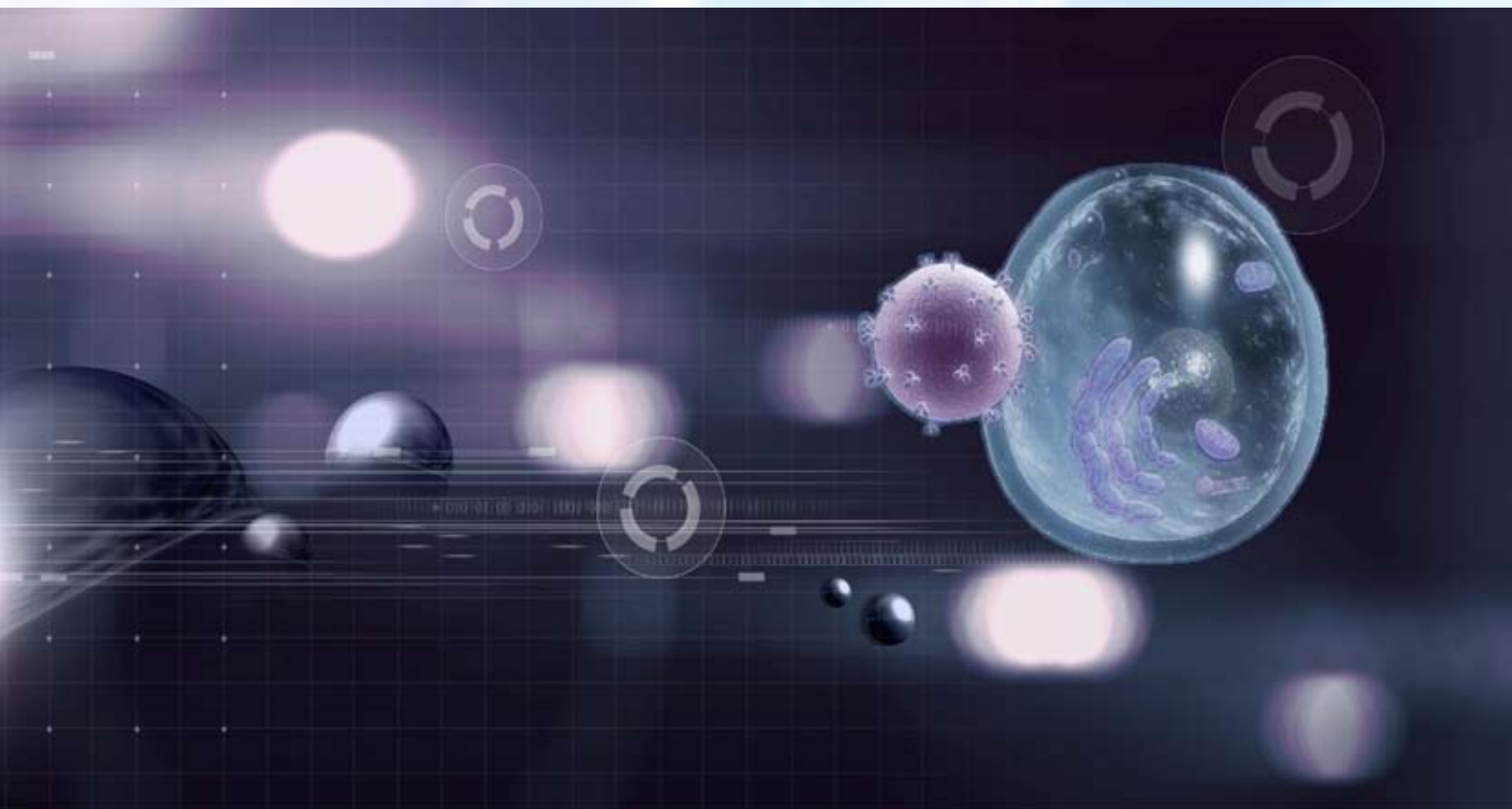


筱玥/编译



# 慢病毒颗粒包装服务

慢病毒质粒构建 + 病毒包装 + 质检 = **最快20个工作日**



## 产品优势

- ◆ 25000个人源/15000个小鼠基因，1126个人源/672个小鼠/408个大鼠miRNA，多种载体和标签可供选择
- ◆ 15000个已构建慢病毒载体人源基因表达克隆、1200个慢病毒载体miRNA前体表达克隆、1200个慢病毒载体miRNA inhibitor表达克隆
- ◆ 选择已构建好的表达克隆包装病毒，最快20个工作日即可提供病毒颗粒，病毒滴度  $>10^7$  copies/ml

## 应用范围

- ◆ 目的基因、miRNA的过表达与抑制表达
- ◆ 可转导大部分细胞，包括原代细胞、干细胞等难转染细胞
- ◆ 稳定细胞株筛选
- ◆ 癌症、基因组疾病等的基因治疗

# 生命 百态

*Amazing Lives*

## 给“聪明动物” 的断言泼冷水

虽然近年来有不少断言声称动物拥有高等智力，但如何测试出这些动物确实具有类似人类的认知能力呢？对此许多研究人员仍存争议。所以，在这炎热的初夏里，泼泼冷水也未尝不是好事。

目前，几乎每周都少不了会有一条新报道，讲述关于动物能完成某些我们以为只有人类才能完成的惊人技能：比如乌鸦能制造工具，黑猩猩似乎会为它们之中的死者哀悼，而大鼠大概会对另一只同胞的痛苦感同身受，诸如此类。

在动物变得如此聪明的时代，要是Charles Darwin活到今天，恐怕也会赞同这样的趋势。理由是他曾在其著作《人类的起源》（*The Descent of Man*）中写道：“人类和相对高等的动物之间的思维差异……是一种量的差异，而非质的差异。”而对于许多研究者而言，如果说新的证据代表着对行为主义经典观点的适时改变，那么他们往往会联想到心理学家B. F. Skinner——这位仁兄认为任何一种非人类物种都不能达到高级认知水平（*Science*, 25 January 2008, p. 404）。近年来，尽管一些研究者一直在反对将类似人类的才能安到其它动物的头上，却没有从认知上考虑更为简单的解释。

近日，一场更具质疑性的事件在伦敦奇切利皇家学会所发起的两场连续会议中上演。在这两场会议上，学者们都在探讨的问题是，当动物在进行某些看上去复杂的行为时，应该研究它们到底在做什么，而不是一味地报道更多有关它们具有惊异能力的发现。伦敦大学玛丽皇后学院（Queen Mary, University of London）的一位动物心理学家Lars Chittka表示，对于确认哪种动物最聪明的研究简直就像一场军备竞赛。但我们究竟在试图证明什么呢？

英国牛津大学（University of Oxford）的实验心理学家Cecilia Heyes也表示，有些研究者多次试图衡量人类与非人类之间思维的差距，这已经蜕变成一场“派对游戏（party game）”了。还有一些研究者谴责新闻媒体甚至某些科学家，认为他们夸大了对动物行为的诠释。不过来自马萨诸塞州梅德福塔夫斯大学（Tufts University）的一位哲学家Daniel Dennett则很巧妙地在《科学》（*Science*）上指出，同一领域的人往往分为两个阵营，一个属于浪漫主义，即很快就能在动物身上看到类似人类特性；另一个则是专泼冷水的理性主义，即倾向于从行为主义方面进行解释。Dennett认为，真理几乎总是杵在他们之间。



## 沙沙作响的香蕉

或许你很快会从香蕉联想到与人类最为接近的黑猩猩，而它着实在科学界引起了不小的地震。在伦敦会议（London meeting）上举办的一场名为“简单思维（Simple Minds）”的讨论会中，Heyes提出，许多研究人员低估了联想学习（associative learning），即两个事件（比如刺激和奖赏）相互关联的可能性。Heyes认为，这种学习方式普遍出现在动物和人类之中，并且在诠释动物实验时很有竞争性。而且，作为研究个案，Heyes对有关黑猩猩具有利他主义的论文进行了批评，这篇论文曾于去年发表在《美国国家科学院院刊》（*PNAS*）上。原因是一直以来，研究者都难以证实黑猩猩之间具有相互帮助的意愿；它们与人类不同，似乎只在受到外界压力或者请求的时候才会这么做，而不是自发的。



黑猩猩不会很快就做出互相帮助的反应，但在某些条件下却可能做出互助行为。

研究个案，Heyes对有关黑猩猩具有利他主义的论文进行了批评，这篇论文曾于去年发表在《美国国家科学院院刊》（*PNAS*）上。原因是一直以来，研究者都难以证实黑猩猩之间具有相互帮助的意愿；它们与人类不同，似乎只在受到外界压力或者请求的时候才会这么做，而不是自发的。



在上述提及的这项由美国亚特兰大埃默里大学（Emory University）的灵长类动物学家Victoria Horner 和Frans de Waal牵头的研究中，研究人员给予黑猩猩对两种不同颜色的“筹码”进行选择的机会。其中一种颜色能让实验人员分别将一只香蕉给予目标黑猩猩和它旁边笼子里的另一只黑猩猩，而另一种颜色则只为目标黑猩猩带来食物。结果，黑猩猩展示出了极好的风度，明显倾向于选择能为自己以及同伴分别带来一只香蕉的那种筹码。于是，研究小组得出了结论：黑猩猩的利他性比人们通常认为的要强。

然而，Heyes指出，由于香蕉是包在沙沙作响的纸里面的，所以当黑猩猩的同伴得到食物回报时，它们是看在眼里，听在耳中的。Heyes认为，也可能是黑猩猩开始喜欢上了沙沙作响的纸的声音，“就像Pavlov的狗逐渐喜欢上了铃声一样。”因此它们恐怕只是选择能产生双份交杂的那种声音的颜色罢了。

加拿大多伦多大学（University of Toronto）的心理学家Sara Shettleworth表示，她“完全同意”Heyes的意见。就连Horner也称这番评论是“发人深思”的。不过，她同时反驳说，不管“它们听到多少沙沙的纸声”，黑猩猩都只能得到一个香蕉。Horner还指出，如果真是联想学习这种机制一直在发挥主要作用，那么黑猩猩就不会排除另一个而选择这种颜色的筹码了。

尽管许多研究者仍然在讨论与人类亲缘关系较近的动物（比如黑猩猩）行为背后到底潜藏着什么，但他们普遍同意奇切利会议上由洛杉矶加利福尼亚大学认知学家Derek Penn提出的观点。Penn作了一场名为“动物不是人类”（Animals Aren't People）的报告，其中对刊登在2011年12月9日那期《科学》（Science）杂志上的论文（p.1427）进行了激烈的批评。这篇文章声称大鼠具有移情能力——或者，用科学新闻在线（Science's online）对这一报道的标题表示：“大鼠能感知彼此的痛苦”。这实在是够吸引人眼球的。

在这项研究中，伊利诺斯州芝加哥大学（University of Chicago）的神经生物学家Peggy Mason等人将一只大鼠关在一个只能从外面打开的塑料限制器中，大鼠在受到关押的大约20%时间里，都会发出警告的叫声。然后，他们将一只自由活动的大鼠置于“囚犯”附近，这只大鼠很快就学会了开门以释放它的同胞。并且，当限制器是空着的时候，自由活动的大鼠是不会打开笼门的。论文作者由此得出结论，认为作为帮助者的大鼠对其同胞的痛苦具有移情式的反应，所以才会助其逃出生天。

但是，Penn却提出了反对意见，他认为，研究小组没有证明任何一只大鼠真的处于痛苦之中，甚至没有进行至少一种重要对照。他说：“他们用的是并不痛苦的被囚大鼠。”另外，Penn在会议上播放了这些实验的视频，指出一旦笼门被打开，那么自由活动的大鼠就会进入笼子里与被囚的大鼠一道探索“囚笼”。这表明处在限制器里面并不是那么痛苦。



而没有参加会议的Mason则反驳说，一旦限制器被打开，它就变成了“一个能够进行探索的物体。事实上，大鼠恐怕更喜欢呆在限制器里面，而不是呆在开阔的外部空间。”对于缺乏没有痛苦对照的大鼠，Mason表示，目前研究小组已经在开展一项实验，表明被囚大鼠越惊恐，就越能唤起更具支援性的行为。当然，她同意大鼠很可能并未像人类那样能够意识到他人的精神状态，但表示她的团队所观察到的行为是“啮齿动物的类移情作用”。

然而，Penn又评论说，这项研究和近来所见的许多其它论文一样，都受到了所谓“常识心理学”的影响：即用“常识”而非严格的科学术语来解释动物和人类的行为。Penn还说，常识心理学会对动物的行为给予人性化的原因，比如“大鼠帮助解救笼中同伴的原因是被囚的大鼠感到恐惧。”这显然是从人类角度来看的，不免使人质疑其中的客观性。

Penn的报告演说引起了与会者的低声赞同。Dennett说：“我们的常识心理学标签上负有很多特有的人类包袱，当我们开始了解其它能完成大量同样的基础认知任务的方法时，就能够逐渐抛弃它们。”

## 鸟类有心智理论吗？

目前是否有替代方法来解释动物的奇异特性呢？荷兰格罗宁根大学（University of Groningen）的认知学家Rineke Verbrugge在奇切利进行了一场演讲，就是以鸟类为例（比如乌鸦）来探究这个问题的。最近有发现表明，这种鸟类能够制造工具并了解同伴的精神状态，后者被称为“心智理论”（能够推论他人想法、信念、欲望和意图等心智状态）——而此行为曾经是人类的专属。对此你有没有震惊的感觉呢？



比如，研究表明，西丛鸦（western scrub jay）没有认知上的“鸟脑”，那就可能不会有感知能力。而在英国剑桥大学（University of Cambridge）的Nicola Clayton等人所做的研究工作中，这种鸟似乎能为未来打算，方式就是在它随后最有可能需要的地方贮藏食物。其在2006年6月16日《科学》杂志（*Science*）第1662页上发表的这篇文风优雅的论文指出这种鸟很可能拥有心智理论。他们发现，若西丛鸦被其它鸟儿盯视，那它就会改变其贮藏行为——比如转移食物，这被他们称为再贮藏。因为西丛鸦常常偷盗别人贮藏的食物，这增加了它们关注其它鸟儿精神状态的可能性。

在Verbrugge的演讲中，她描述了由在读研究生Elske van der Vaart所做的计算机模型工作，这项工作发表在《公共科学图书馆—综合》（*PLoS ONE*）在线版上。Van der Vaart创造了“虚拟的西丛鸦”，其行为由简单的行为规则所支配。在这个模型中，当鸟儿感到不安时（比如出现另一只鸟儿，特别是出现了一个在禽鸟等级上更占优势的鸟儿时），它会更频繁地转移食物。这个模型也把西丛鸦惊人的记忆力考虑了进去，故而更接近实际。

因此，Van der Vaart的模拟鸟几乎完全复制了真正的西丛鸦行为。英国圣安德鲁斯大学（University of St. Andrews）的心理学家Amanda Seed表示，他们的模型与某些数据拟合得非常好。更有用的是，它提供了一些能够作为论据的预测。比如说，随着鸟儿压力水平的增大，就应该会激起它更多的再贮藏行为。

Clayton对这个模型“能为某些研究提供强有力的解释”表示同意，但她认为，它还是无法解释某些数据，这也是Heyes所提出的观点。比如说，Clayton的研究小组就西丛鸦的行为提出一个观点：上道才懂何谓贼。也就是说，先偷其它鸟儿食物的乌鸦更有可能去再贮藏自己的食物，以防被盗。这一结论无法用Van der Vaart的模型进行解释，但心智理论就可以。当然，Clayton也说，（证实这点）需要进一步的实验论证，目前她正和格罗宁根大学的团队讨论与他们合作的事宜。

Van der Vaart等人则强调他们没有证实西丛鸦不存在心智理论，因为仅凭心智理论不足以推导出那些发现。确实，与会者努力探讨的是证据的关键会落在哪儿：是那些声称动物拥有更高级认知能力的一方呢，还是认为动物认知能力较低的一方。对此，Van der Vaart表示：“我是有些希望他们能证明模型是错误的，但我想，尽可能地排除相对简单的解释才是要紧事。”

看来，他们的争论之路依然漫长，但我们仍期待真理能从不断碰撞的激励探讨中迸发出来，绽放出美丽的火花。

原文检索：

MICHAEL BALTER. (2012). 'Killjoys' Challenge Claims Of Clever Animals. *Science*. 335, 1036-1037.

 文佳/编译

A group of people are performing a human pyramid against a cloudy sky with a bright sun. The pyramid consists of four people standing on the ground, two people standing on their shoulders, and one person standing on the shoulders of the two people in the middle. The text is overlaid on the image in a bold, red font with a white outline.

**合办专题专刊**  
**网站广告合作**  
**邮件群发推广**

请致电 (020) 32051255