

生命奥秘

Lifeomics

2018年9月刊 总第108期

多发性 硬化症



- ▶ 变废为宝：旧DNA测序仪变身下一代生化仪
- ▶ 从蝌蚪到青蛙
——甚至体内的瘦素都难逃蜕变的命运

无奇不有

生命世界

解读生命

走进科学

目录 : CONTENTS

专题 — 多发性硬化症

前言	01
一、图解多发性硬化症	02
二、多发性硬化症发病原因揭秘	04
三、进展型多发性硬化症药物开发进展	09
四、干细胞移植治疗多发性硬化症	15
五、潜在治疗方法：改变食谱	20
六、观点：大胆一点，才能成功	25

下一期（2018年10月刊）预告：溶酶体贮积病

溶酶体贮积病（Lysosomal storage disorders, LSD）是一组遗传性代谢疾病，并且每一种疾病分型的发病率较低，但整体发病率较高，大约每7000人中就有一例LSD。虽然目前已确认的50多种LSD的症状差异非常大，但它们都有一个共同点——都由溶酶体病变引起。溶酶体是细胞的回收中心，各个细胞器彼此分工，并且协作得很好，共同完成细胞内物质的循环。对LSD疾病的研究不仅有助于开发更好的疾病疗法，还有助于我们揭开溶酶体这种一直以来未得到人们充分认识的细胞器的神秘面纱。

热点

变废为宝：旧DNA测序仪变身新一代生化仪	28
----------------------------	----

百态

从蝌蚪到青蛙	38
——甚至体内的瘦素都难逃蜕变的命运	
果蝇被冻晕的原因	41
——中枢神经系统宕机了	

专题

多发性硬化症

前言

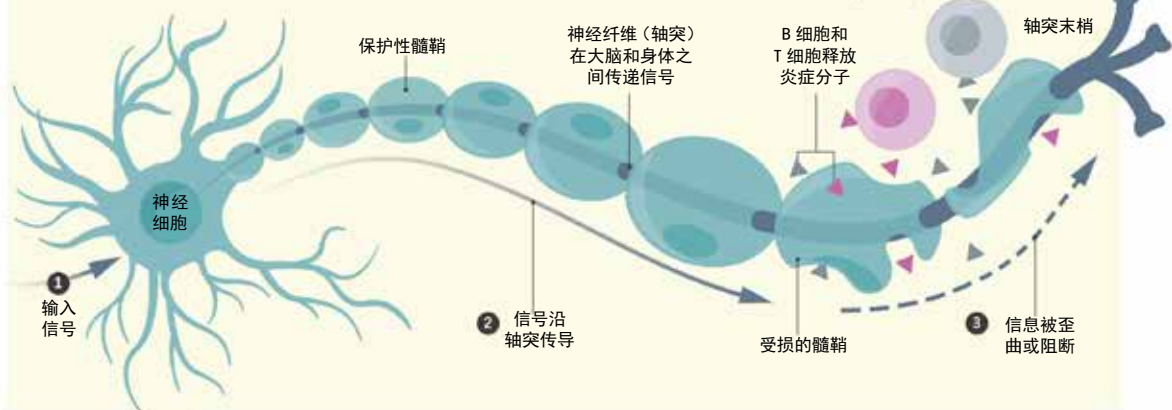
多发性硬化症（multiple sclerosis, MS）简直是一种毁灭性的疾病，它诱导机体自身的免疫系统侵蚀神经中枢系统，慢慢地让患者丧失身体活动能力。尽管研究人员已经对多发性硬化症研究了多年，但是仍然知之甚少，相关疾病机制还有待阐明，而且针对这种疾病的治疗方法也少之又少。不过，最新的研究致力于确认病因并开发创新性疗法，这意味着虽然该病的研究进程仍然很缓慢，但总算开始提速了。

一、图解多发性硬化症

多发性硬化症 (Multiple sclerosis, MS) 多在 20 至 40 岁时发病。这个年龄段的人群往往已经进入劳动力市场，并担负起养家糊口的责任了。

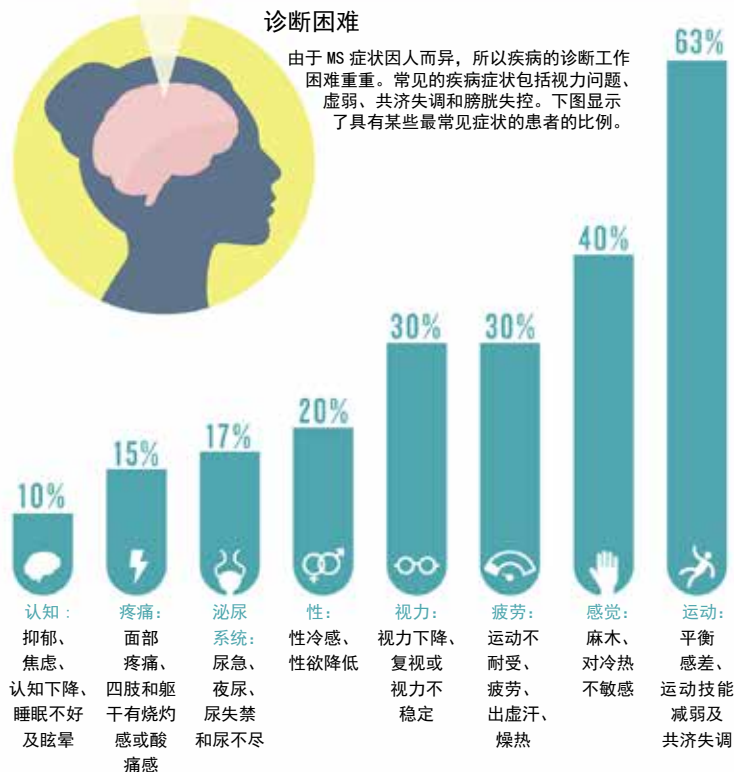
自身免疫疾病

MS 是一种由身体自身免疫系统破坏中枢神经系统组织而引起的疾病，目前尚无治愈方法。在 MS 中，T 细胞和 B 细胞会破坏脑、脊柱和视神经中神经纤维表面的保护性涂层——髓鞘。失去保护的神经纤维会被破坏降解。MS 症状随神经元被破坏部位的不同而不同。



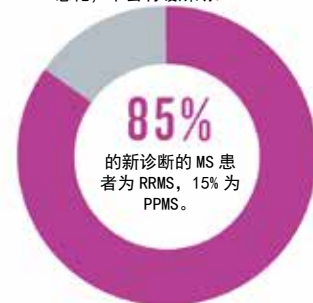
诊断困难

由于 MS 症状因人而异，所以疾病的诊断工作困难重重。常见的疾病症状包括视力问题、虚弱、共济失调和膀胱失控。下图显示了具有某些最常见症状的患者比例。



多发性硬化症的类型

复发-缓解型多发性硬化症 (relapsing-remitting multiple sclerosis, RRMS) 会在持续数月或数年的缓解期后又开始发作，且通常随着时间的推移而变得越来越严重。而在原发性进行型多发性硬化 (primary progressive multiple sclerosis, PPMS) 中，症状会持续恶化，不会有缓解期。



什么原因导致多发性硬化？

目前疾病原因不明，但科学家们认为 MS 的发生是遗传学和环境因素相互作用的结果。遗传易感性会带来风险，但任何特定基因的贡献似乎都不大。



环境因素

生活在远离赤道的地方可能会增加风险，这可能是因为阳光照射不足导致维生素 D 合成不足。



Epstein - Barr 病毒

尽管很少一部分感染过 Epstein - Barr 病毒的人会发生多发性硬化症，但几乎所有患有这种疾病的人都感染了病毒。



吸烟

许多研究发现吸烟者的多发性硬化症发生率高于非吸烟者。



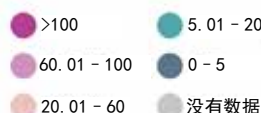
遗传因素

与维生素 D 缺乏同时发生时，*HLA-DRB1*1501* 等位基因和 *CYP27B1* 基因突变可能会增加 MS 的风险。*IL2RA* 基因突变可能增加没有疾病家族史的个体的风险。*IL7R* 突变与 PPMS 有关联。

全球发病率

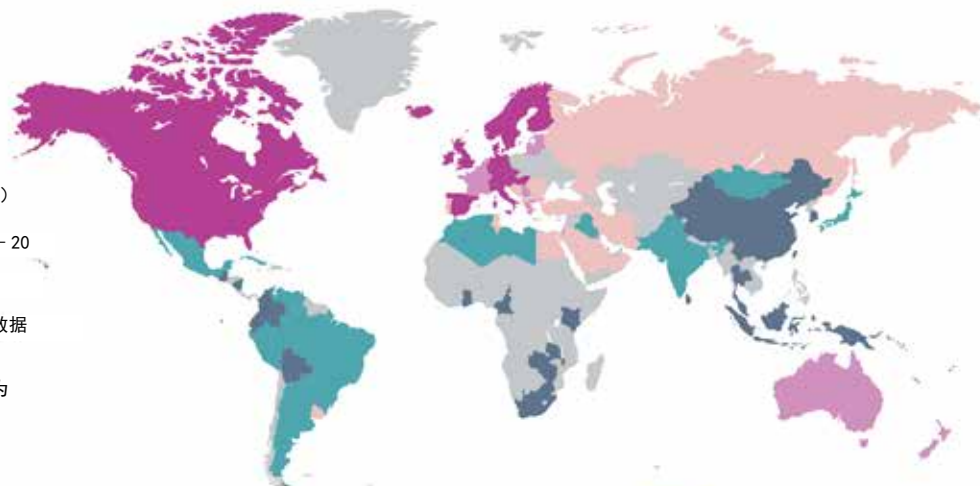
多发性硬化症在北欧最常见，这意味着阳光接触减少和维生素 D 缺乏症可能与 MS 有关。

每个国家发病率
(每 10 万人中 MS 患者人数)



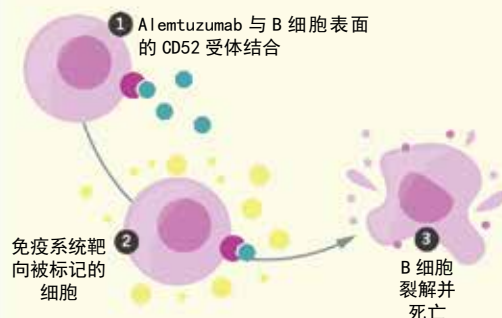
全球 MS 患者总人数估计为

230 万



改善疗法

一些药物已被批准用于治疗 RRMS，但目前还没有药物可以治疗 PPMS。患者一旦被确诊 MS，就需要尽快接受治疗，以减缓神经损伤的速度。

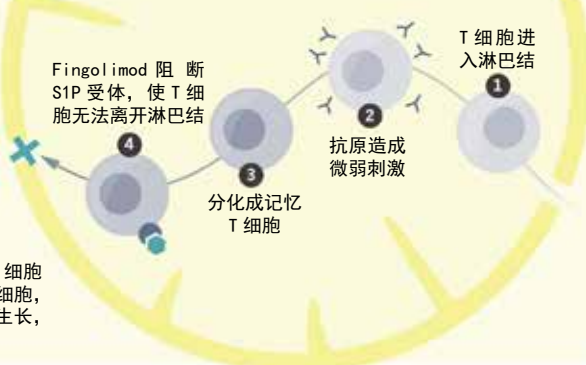


Alemtuzumab

Alemtuzumab 是一种被批准用于治疗白血病的单克隆抗体。其与成熟 B 细胞和 T 细胞表面上的 CD52 受体结合，然后免疫系统识别这些被“标记”的细胞，并将其杀死。Alemtuzumab 造成的 B 细胞消耗，可能可以促进 T 细胞的生长，但 T 细胞自身免疫性更低，且不造成炎症。

芬戈莫德(Fingolimod)

淋巴结中的 T 细胞会发育成中枢神经系统中的记忆 T 细胞，后者是 MS 患者的脑脊液中的主要免疫细胞。Fingolimod 与 T 细胞上的 S1P 受体结合，将这些细胞“囚禁”在淋巴结中，使其不能达到神经组织。



Sources: Multiple Sclerosis International Federation Atlas of MS 2013 (MSIF, 2013); MS Brain Health; National Multiple Sclerosis Society; gilenyahcp.com/Novartis Pharmaceuticals

二、多发性硬化症发病原因揭秘



Jacques Dutrisac是在加拿大渥太华同一社区长大的15名多发性硬化症患者之一。

越来越多的证据显示，病毒感染、维生素D缺乏以及遗传因素是多发性硬化症（multiple sclerosis, MS）的元凶。但目前研究人员还不清楚这些因素是如何共同作用并致病的。

1991年，Jacques Dutrisac被确诊为多发性硬化症（multiple sclerosis, MS）。这之后，当他第一次去加拿大渥太华总医院（Ottawa General Hospital）看医生时，在候诊室遇见了他的高中同学。同学告诉Dutrisac，她也得了MS，并且据她所知，还有一名高中同学也得了这个病。在Dutrisac长大的街区，20世纪60年代末到70年代后期之间长大的孩子中，有15人得了MS，并且其中14人彼此住得非常近——1公里内。据Dutrisac解释，其中4人住在同一条街，“整条小街住了不到100个人”；5人上同一所小学；7人读同一个高中。这些人的最大年龄差仅为8年。尽管他们住在一个主要以英语为母语的地区，15名患者中有10名是法裔加拿大人。

由于科学家们并没有对这个渥太华地区的MS病例群体进行统计分析，所以尚未排除群体性发病是偶然结果的可能性。然而他们对加拿大马尼托巴省的类似MS发病群体进行了分析。通过研究16年来确诊的MS新病例，科学家们发现了几个MS热点，它们主要集中在温尼伯市。温尼伯市的MS发病率是同省其它城市的两倍以上，同时也是一些周边城市的三倍以上。显然某些环境因素在影响着MS的发病率。

加拿大是全球MS发病率最高的国家，发病率为291例/10万人。但是，加拿大MS发病率的区域性差异非常大。几项研究指出，加拿大环境中的某些因素诱发了MS——实际上移民到加拿大的人发病率会迅速攀升到和非移民一样。

国家之间的差异给了科学家一些提示讯息。曼尼托巴大学（University of Manitoba）的统计学家、温尼伯研究（Winnipeg study）的作者之一Mahmoud Torabi指出，特定地区，如渥太华和温尼伯的MS高发，引起了研究者们对当地环境因素，包括传染病的爆发或多元文化城市的遗传差异等的关注。

直到最近，研究人员依旧无法确定为什么加拿大，尤其是特定城市的MS这么高发。但有一项国际研究工作——包含数据库分析、流行病学、微生物学、遗传学和免疫学——提供了大量的证据，提示了MS的病因。奥斯陆附近的阿克斯胡斯大学医院（Akershus University Hospital）的神经病学家、博士期间主要研究MS发病原因的Egil Røsjø表示，证据太多太繁杂，很难得到靠谱结论。不过很多证据从不同角度或多或少指向了同一个方向。

这些证据指出了MS的三大元凶：爱泼斯坦-巴尔病毒（Epstein-Barr, EBV）——一种引起单核细胞增多症（腺发热）的疱疹病毒，维生素D水平低，以及会增加MS敏感性的遗传突变。

但是这三者都非常常见，而MS则相当罕见，所以它们不可能单独起到关键作用。麦吉尔大学（McGill University）蒙特利尔神经学研究所和医院（Montreal Neurological Institute and Hospital）的神经科医师Amit Bar-Or认为，MS的发生应当是三者共同作用的结果，但三个因素如何共同作用，仍有待研究。

终身感染

受MS发病率的地理差异启发，研究者们已经进行了数百项流行病学研究，以确定环境因素的影响。据伦敦帝国学院（Imperial College London）的流行病学家Ioanna Tzoulaki解释，各个团队采用荟萃分析，汇集了几项研究数据，并囊括了数千名患者，而且分析了一系列的潜在病因。目前已经调查过的病因包括：感染、疫苗接种、其它疾病、手术、事故和毒素的暴露。Tzoulaki的团队对这些荟萃分析进行了回顾。没有参与回顾的Røsjø指出，他们分析了每一个可能的环境因素。

最有力的证据来自于针对MS与两种EBV感染迹象之间的联系的研究：单核细胞增多病史，以及EBV感染的生物标志物EBNA1。

Dutrisac可能就有单核细胞增多症病史。十几岁的时候，他经常感到疲劳，过去他可是一个热爱在冬天打冰球的活跃少年。Dutrisac也表示，他有时候会莫名其妙地感到疲劳。疲劳在MS中很常见，但也是单核细胞增多症的症状。单核细胞增多症常见于青少年和年轻成年人，症状包括发烧、疲劳、喉咙痛、淋巴结肿大和脾脏炎症。Dutrisac未被诊断患有单核细胞增多症，但他可能有EBV感染。许多暴露于EBV的人群，特别是儿童，并不会有明显症状，许多轻度病例往往会被漏诊。因此，尽管只有少数人被诊断患有单核细胞增多症，但估计全球有90%的人在40岁之前就已暴露于EBV。EBV感染是终生的。Røsjø指出，EBV根本无法清除，一旦被感染，终生都无法摆脱。

据Bar-Or解释，关于EBV感染如何导致

MS，目前有三种理论。一种可能性是EBV会感染中枢神经系统（central nervous system, CNS），特别是脑部。EBV可以杀死少突胶质细胞（oligodendrocyte），这是一种产生髓鞘（包裹在神经纤维上的一层绝缘膜）的细胞。髓鞘可以提高神经冲动的传导速度，这对正常的神经功能至关重要。

在CNS中，EBV感染也可能会引发免疫反应。在这种反应中，一种名为CD8的免疫细胞会试图杀死病毒，但与此同时却损伤了少突胶质细胞和神经元。Bar-Or承认这个理论存在争议，因为虽然有些研究人员在CNS中发现了病毒，但其他人却无法重复这一结果。

第二个理论涉及分子模拟，其中免疫系统可能会将在髓鞘形成过程中起重要作用的髓磷脂碱性蛋白（myelin basic protein, MBP）误认为入侵的EBV。免疫系统的T细胞携带可以识别MBP和EBV的受体，当T细胞被EBV激活时，它们可能也会攻击与EBV非常类似的MBP，从而导致髓鞘丢失。

第三种可能的机制则涉及B细胞。在正常的免疫反应中，当机体对入侵的细菌和病毒作出反应时，B细胞、骨髓细胞和T细胞之间存在相互作用，清除外来入侵物后，它们则会负向调节免疫响应。Bar-Or指出，这种平衡机制，有助于防止免疫响应时间过长和强度过高，从而损伤正常细胞功能。也许EBV是通过激活B细胞，来打破免疫平衡，促进炎症。Bar-Or还表示，某些研究人员支持这种理论，因为移除B细胞的MS治疗方法成功降低了MS的复发。

维生素D浮出水面

MS世界地图显示，离赤道越远，发病率越高。这种地理分布表明，MS可能与维生素D水平较低（常见于生活在冬季漫长阴暗地区的人群中）有关。但是，麦吉尔大学（McGill University）研究维生素D和遗传学的内分泌学家Brent Richards指出，支持这一理论的证据主要来自观察性研究，这并不能说明因果关系。例如，是维生素D的低水平导致MS，还是MS以某种方式降低了维生素D水平？他还提出，另一个复杂因素是维生素D与许多健康的生活习惯有关。如果经常出去走动，你身体会更健康，维生素D水平往往会更高。在这种情况下，健康的生活方式可能会降低MS的发病率，而地理差异可能是由其它因素引起的。

通过随机对照试验（randomized controlled trial, RCT）来证明因果联系不仅复杂、耗时长、成本高，而且很可能申请不到资金赞助，因为这样的RCT研究不会测试药物。Richards的小组通过进行一项被他称为“nature's RCT”的研究来解决这个问题。他们分析了大型数据库，找到了降低维生素D水平的遗传突变，然后检索MS患者的遗传数据库，确定了携带这些突变的人群的MS发病率。结果他们发现，先天性维生素水平低的人发生MS的风险较大，并且随着维生素D水平的逐步降低，MS风险逐步增加。Richards指出，这一发现意味着，患者在有MS之前，就有维生素D水平低的遗传特征。这很重要，因为疾病是无法影响基因的。

随着维生素D和MS有关联的证据越来越多，研究者们开始讨论低水平的维生素D如何导致MS。Bar-Or指出，维生素D的水平已被证明可影响MS相关的许多细胞类型，包括骨髓B和T细胞的免疫反应。Richards补充指出，有

大量文献将维生素D缺乏与MS疾病风险联系起来。

Røsjø认为，这可能与EBV也有联系。他的研究在验证一种理论——维生素D可以增强对EBV的免疫反应，反之，缺乏维生素D可能导致EBV免疫响应不良。他认为免疫反应较弱会提高生物标志物EBNA1的水平。尽管人们还没有探明分子水平的原理，但EBNA1水平在某种程度上可以反映MS疾病发展的风险。而体外研究则表明，体内活跃的维生素D（1, 25-二羟基维生素D₃）抑制了被EBV感染的B细胞抗体的合成。

Røsjø的研究证明了这一理论。在一项长期的、有安慰剂对照的、对MS患者进行高剂量维生素D补充的研究中，Røsjø发现，在前48周内，抗EBNA1的抗体水平显著下降，但随后反弹，不过之后的48周内该抗体始终未能回归到原来的水平。Røsjø表示，这项研究首次证明了维生素D与EBV存在相互作用。维生素D可能会对MS产生短期的影响，但是随着时间的推移，这种影响会慢慢消失。

该研究还探讨了两种与EBV一样、来自疱疹病毒家族的病毒——水痘带状疱疹病毒（varicella zoster virus）（可引起水痘和带状疱疹的病毒），以及巨细胞病毒（cytomegalovirus）。结果显示，这些病毒的抗体水平不受维生素D的影响。Røsjø认为，EBV有一些特别的，我们无法解释的东西。

Røsjø还发现，即使是大剂量的维生素D也不能长期帮助那些已患MS的患者，但是他认为在初次感染EBV时补充维生素D可能会发挥作用。Røsjø认为维生素D和EBV在青春期可能是决定MS风险的关键因素。

遗传因素

MS的一个大难题是它存在家族聚集现象，但也可能偶尔发生在没有家族病史的人身上。曾为渥太华的MS患者奔走的Meagan McEwen也是MS患者，她的男友也是MS病友，她也发现了这个问题，并表示，她男朋友家里有很多人也患上了MS。但McEwen家里只有她患有MS。这个悖论推动了全世界数百项研究。

包括Bar-Or在内的一组研究人员重点关注加拿大儿童MS发病相关的危险因素。有一个研究团队，包括Bar-Or在内研究了几种主要的危险因素，包括EBV、维生素D和HLA-DRB1基因（人类白细胞抗原（HLA）复合物之一，在免疫反应中有重要作用）的特定突变。马尼托巴大学（University of Manitoba）神经病学家、该研究的负责人之一Ruth Ann Marrie指出，研究儿童的好处之一是他们的出生时间和发病时间相对较短，也即外部或相关事件发生的概率比较小。

Bar-Or和Marrie发现，世界各地与MS的最强烈相关的遗传突变是HLA-DRB1 * 15，携带该突变的儿童发生MS的概率增加了一倍。自2011年该成果发表以来，已知影响MS风险的基因突变数量已从大约50个增加到200个左右。

Bar-Or强调，这些MS相关突变都不是异常的——例如，这些突变都不是致病基因，不像一些突变单独就能引起疾病，如导致囊性纤维化的突变。他还表示，与MS患者相比，更

多的健康个体也携带了这些突变中的一个或多个。似乎环境因素或表观遗传——在不改变遗传密码的情况下，改变基因表达——才能解释这些差异了。Bar-Or认为，具有相同基因的两个人会因为表观遗传的不同，拥有不同的基因表达模式。

Marrie指出，遗传易感性也和地域有关，这可能有助于解释为何某些地区MS高发。例如，对爱尔兰的MS遗传风险因素的研究表明，在两个不同的郡，同一基因突变造成的MS风险是不同的。Bar-Or提醒，遗传因素起到的作用比较小，由它导致的MS发病风险甚至不到一半。因此，我们应该通过靶向环境因素来预防MS。

Marrie认为，未来MS研究的发展方向在于这些因素如何相互作用。既然现在我们已经确定了多个潜在因素，那么我们应该致力于寻找这些因素相互作用的机制，并确认暴露于不同因素的顺序是否重要。但是，Marrie和其他人也承认，明确证明任何这些因素的因果作用可能是不切实际的，甚至是不可能的。

没有一个研究人员能够确认哪种因素导致了加拿大MS的高发。是漫长而阴暗的冬天，还是常见于法裔加拿大人的基因突变？是当地EBV的爆发，还是三种因素的组合？

Dutrisac希望自己所在的患者群体可以帮助研究人员找到答案。他认为，答案就在那里。我们需要找到它。

三、进展型多发性硬化症药物 开发进展



左侧为健康个体的大脑扫描，右侧为多发性硬化症患者的大脑扫描，后者存在大量脱髓鞘病变。

研究人员发明了一些新药，它们在治疗一种相对不常见、更难治的多发性硬化症上非常有潜力。

Mitch Sturgeon已经尝试采用超过6种方法来治疗他的多发性硬化症（multiple sclerosis, MS）。这些疗法包括免疫调节剂、化疗药物和静脉扩张手术等。但即便如此，却没有一种方法能成功地阻止疾病的发展。10年前，他参加了利妥昔单抗（rituximab）的临床试验，病情获得了暂时的缓解。但是在2007年，当为期两年的利妥昔单抗临床试验结束时，研究人员得出的结论却是利妥昔单抗的治疗效果甚至比不上安慰剂组。没过多久，Sturgeon的MS复发了。

似乎各种疗法都对Sturgeon无效，这是因为他患的是原发性进展型多发性硬化症（primary progressive MS, PPMS）。PPMS是一种病程自开始便伴随着稳定的神经功能恶化、预后非常差的MS，其中10-15%的患者是PPMS。目前，FDA一共批准了14种治疗MS的药物，其中6种在过去5年才上市。然而，这些药物都是针对更常见的、存在复发—缓解周期的复发型MS。这些药物都对PPMS无效，因此像Sturgeon这样的患者，几乎没有可用的药物，只能承受持续的身体机能恶化。至于继发型多发性硬化症（secondary progressive MS, SPMS，大部分MS复发缓解反复的病人最终会发展成这种形式），目前市面只有一种免疫抑制剂通过了认证。该药物已上市16年，但由于存在严重的副作用，所以很少有医生会给病人开这种药物。

可喜的是，这一现状即将得到改变。今

年12月底前，FDA将会决定是否批准一种名为ocrelizumab的新药。该药物与利妥昔单抗的作用机制类似，即通过消耗免疫系统中的B细胞，从而抑制对MS发生、发展有重要作用的炎症。目前这种药物已在欧洲和澳大利亚等地接受审查。在3期试验中，ocrelizumab被证明优于现有药物（现有药物一般仅能降低MS复发率）。而且好消息是，对于诸如Sturgeon等PPMS患者来说，ocrelizumab在维持身体机能上明显优于安慰剂。

如果ocrelizumab通过了FDA的批准，那么Sturgeon则希望试试这种药。近两年来，他没有其他选择，只能长期高剂量服用一种名为Biotin（生物素）的维生素，即使该药物对他的MS没有任何作用。Ocrelizumab或许可以改善Sturgeon的状况。与此同时，一大波MS药物正在涌现。加利福尼亚大学旧金山分校（University of California, San Francisco）的神经病学家Stephen Hauser指出，终于有药物可以治疗进展型MS（PPMS和SPMS）了，不过这只是开始。

人们通常认为MS是一种免疫介导疾病，其中被错误导向的T细胞、B细胞和其它炎症驱动因子渗入大脑，破坏了神经纤维周围的保护性髓鞘，从而阻断了脑部和脊髓中的信号传导。另外，MS也是一种神经退行性病变，PPMS和SPMS的疾病症状尤其明显，该病会造成大脑白质和灰质的大面积受损。

从失败中吸取经验

目前研究人员仍然不太清楚进展型MS和复发性MS之间的差异，但大多数研究人员都认为复发性MS的特征是剧烈的炎症发作和脱髓鞘症状；而在进展型MS中，炎症相对较轻和缓慢，同时神经元由于多种不明原因缓慢死亡。

另一个区别在于血脑屏障的完整性。在复发性MS中，血脑屏障变得可渗透，允许免疫细胞和靶向它们的药物经血液进入大脑。相比之下，在进展型MS中，血脑屏障保持完整，炎症局限于脑部，进而导致脑萎缩和神经元损失。血脑屏障导致药物无法到达炎症这一情况，至少可以部分解释为何对复发性MS有效的免疫调节药物，对进展型MS却无效——药物无法到达目标。也有一种理论认为，进展型MS不是由炎症引起的，而是一种早期炎性损伤后发生的退行性疾病。

但这又涉及一个问题。进展型MS的试验倾向于囊括所有患有该疾病的人，无论患者是否存在活动性渗透型炎症的迹象。这种炎性病变可以由磁共振成像（magnetic resonance imaging, MRI）脑扫描检测，它在复发性疾病中非常常见，但在进展型MS中却非常少见，仅有少部分年轻且刚被确诊的患者才携带。因此，设计免疫调节剂的药物公司已经开始重新设计进展型MS的试验策略，并招募更有可能受益的患者。这种策略在临床试验中取得了更多的成功，但这同时意味着这些疗法可能并不适用于所有进展型MS的患者。

Ocrelizumab就是一个例子。与利妥昔单抗一样，ocrelizumab靶向B细胞表面的CD20。Ocrelizumab的独特之处是，清除B细胞的效率更高。更重要的是，利妥昔单抗包含小鼠组分，而ocrelizumab则被修饰为更接近于人体天然产生的蛋白质，因此由它引起的药

物相关的免疫反应风险会大大降低。

利妥昔单抗在临床试验中的疗效并没有超过安慰剂。不过，瑞士制药公司Roche注意到，年轻的原发性进展型MS患者，特别是有活动性炎症的患者，更有可能受益于利妥昔单抗。吸取了之前的教训，Roche公司调整了ocrelizumab临床后期试验的受试者招募标准和其它参数，选择更有可能患有活动性MS的患者——这一举措取得了良好效果。

2015年，Roche公司报告了包含732名受试者的试验结果。结果显示，与安慰剂组相比，ocrelizumab的定期输注将疾病进展的风险降低了24%，大大延缓了受试者在行走能力、上肢功能和脑容量上的衰退速度，并且没有重大的安全隐患。

Roche在美国的子公司Genentech的神经科学部门医学主任Peter Chin表示，这是第一个针对原发性进展型MS的、临床结果为阳性的3期临床试验。这个结果意义非凡，因其在多个疾病进展测量结果中都显示出一致性。

但是，这位药物试验调查员Hauser提醒，这种益处是“相对小的”，而且ocrelizumab可能不适用于疾病更晚期的老年患者。他还指出，鉴于此，在确定如何将这个消息传达给患者时，我们必须非常谨慎。

另一家瑞士制药巨头Novartis公司在测试siponimod对继发性进展型MS的疗效的临床试验中也发现，在试验中对病人进行分层，会给试验带来很大的帮助。siponimod是一种防止免疫细胞运输到脑部炎症部位的实验药物。它与诺华的另一药物fingolimod（已被批准用于治疗复发性MS，商品名为Gilenya）靶向白细胞表面的同一蛋白质。在今年早些时候发表的一项包含970名受试者、由纽约市西奈山伊坎医学院（Icahn School of Medicine）MS部门

主任Fred Lublin负责的临床试验中，他们发现fingolimod对原发性进展型MS没有疗效。但在一项包含1651名受试者，使用siponimod治疗继发型MS的临床试验中，相比于安慰剂组，siponimod把3个月确证残疾进展风险降低了21%。

瑞士巴塞尔大学医学院（University

Hospital Basel）的神经科医师、该试验的主要研究者Ludwig Kapps承认，总体疗效并没有那么好。但是，“比较惊人的是，研究人员也在病情严重的、有严重残疾的进展型MS患者身上看到了疗效”。Kapps在2016年9月的欧洲多发性硬化治疗和研究委员会年会上汇报了这一结果。

旧药重用

ocrelizumab和siponimod试验的成功大大鼓舞了Lublin，这两项试验他都有参与。Lublin指出，真正令人兴奋的是，他们在治疗两种非常难治的MS上取得了初步成功。然而，除了这两种免疫调节剂外，很少有药物进入了临床试验的最后阶段。

但是有一些仍处于临床试验早期的新药重点是缓解脑部损伤——进展型MS的标志（表1）。一些药物涉及干细胞，这些药物旨在恢复神经功能。大多数新药都集中于已被批准用于治疗其它疾病，并且可能对进展型MS有益的神经保护剂，或至少指向可能的分子途径。

表1 进入临床试验或注册阶段的MS药物一览

药物	作用机制	针对的疾病类型	临床试验期数
Ocrelizumab	CD20拮抗剂	PPMS	向监管机构递交文件
Siponimod	鞘氨醇-1-磷酸受体调节剂	SPMS	3
Masitinib	酪氨酸激酶抑制剂	PPMS和SPMS	3
高剂量biotin	维生素B7	PPMS和SPMS	3
Ibudilast	磷酸二酯酶抑制剂	PPMS和SPMS	2
Idebenone	辅酶Q10类似物	PPMS	2
Amiloride	保钾利尿剂	SPMS	2
Riluzole	谷氨酸释放抑制剂	SPMS	2
Fluoxetine	选择性5-羟色胺再摄取抑制剂	SPMS	2

例如，法国生物技术公司**AB Sciences**正在测试一种名为**masitinib**的抗癌药物，以查看它能否帮助罹患原发性和继发性进展型**MS**的患者。伦敦大学学院（**University College London**）的**Jeremy Chataway**率领的小组正在评估三种重新使用的人类药物——心脏疾病药物、抗抑郁药物和肌萎缩性侧索硬化症（也称为运动神经元疾病）药物——是否能治疗继发型**MS**。据**Chataway**解释，经过全面审查所有可以口服的、经过认证的、在**MS**保护上有初步数据的神经保护剂后，他们挑选出了3种药物。为了深入筛查可能对进展型**MS**病理有用的药物名单，他们还研究了数以千计的报告。

其中一种通过了**Chataway**团队的筛选，但并未纳入临床试验的药物是**ibudilast**，该药物在亚洲部分地区销售，用于治疗哮喘和中风相关症状。以前，**ibudilast**对于复发性**MS**患者并没有效果，但有一些迹象表明，鉴于它能阻止脑炎症相关的酶，所以它或许可以保护神经系统免受损伤。受该研究启发，俄亥俄州克利夫兰诊所**MS**中心（**Cleveland Clinic's MS centre**）的医学主任**Robert Fox**发起了一项试验，用**ibudilast**去治疗原发性进展型**MS**。**Fox**

表示，这是少数几个已有证据显示可以减少萎缩进展的分子之一。

ibudilast试验包括250名受试者，该试验旨在探索药物对脑萎缩的影响，这是**MS**治疗中期临床试验证明药物对大脑有效的标准方法。但是，与大多数同类试验不同，本研究还运用若干先进的成像技术和残疾测试，因此即使**ibudilast**显示无效，研究人员也可以通过直接比较来了解疗效指标是否可靠。

无独有偶，美国国家神经系统疾病和中风研究所（**US National Institute of Neurological Disorders and Stroke**）神经免疫疾病部门的负责人**Bibi Bielekova**也在努力改善疗效指标。**Bielekova**的小组统计比较了98例未经治疗的原发性进展型**MS**患者的58例结果指标，并得出结论，大多数脑扫描指标并不能有效地表征疾病进展。研究人员将4种不同的临床量表综合为一项名为**CombiWISE**的单一残疾评分。这一评分系统优于其它检测临床恶化的指标。

Bielekova认为，**CombiWISE**是目前评估**MS**疾病进展的最好方法。**Bielekova**在一项包含85人的、测试抗氧化剂**idebenone**对进展型**MS**的疗效的临床试验中使用了该指标。



Fred Lublin（左）为**MS**治疗取得的进展感到非常高兴。

回归本源

研究进展型MS的大多数研究者仍然谨慎乐观地认为，至少有部分新药会对进展型MS有效。但挑战是艰巨的，这很大程度上是因为目前人们还没有确认进展型MS的基本病理。纽约市美国国家多发性硬化症协会（US National Multiple Sclerosis Society）首席研究员Tim Coetzee指出，我们还需要更好地了解疾病的进展机制。

为了解决这些知识空白，加快新的治疗方向的进展，美国国家多发性硬化症协会与其他非营利性研究和倡导组织在2013年合作推出了进展型MS联盟。伦敦大学学院（University College London）院长兼联盟科学指导委员会主席Alan Thompson表示，这个总投入为2240万欧元（折合2,400万美元）的计划将成为全球最好的机构联盟的催化剂，MS研究领域并无先例。

2014年，该联盟资助了一系列从遗传学和疾病模型到概念验证试验的20个小型研究项目。今年早些时候，该联盟发放了三笔更大的资金，总额达1260万欧元，以用于药物研发工作和生物标志物开发工作。波士顿布莱根妇女医院（Brigham and Women's Hospital）的免疫学家Francisco Quintana获得了其中两笔资金。

Quintana将75,000欧元用于小鼠MS模型，以证明miglustat（一种目前用于治疗戈谢

病（Gaucher's disease）的药物）可以阻止星形胶质细胞（星形胶质细胞是促进大脑炎症的免疫细胞）的激活。另外，借助另一笔为期四年，总金额达420万欧元的基金，Quintana有望找到更多的、可以穿过血脑屏障，并阻断星形胶质细胞的功能，或阻断参与星形胶质细胞活化的代谢途径的药物。

Quintana指出，他们不能局限于开发作用于T细胞和B细胞的药物。调节这些细胞可能有助于治疗复发性MS，但进展型MS是由先天性免疫细胞，如小神经胶质细胞和星形胶质细胞驱动的。控制MS慢性进展的免疫细胞才是他们应该靶向的。

Quintana的研究工作最终可以帮助世界各地数百万因进展型MS而致残的人群。随着岁月的流逝，Sturgeon的病情继续恶化，现在他只能依靠动力轮椅和语音控制装置生活。现在他对旨在治疗晚期进展型MS的新药研发已经不抱希望了。如果明年ocrelizumab通过了认证，他就打算尝试一下。不过他也清楚，ocrelizumab对他有效的可能性“相当低”。

Sturgeon表示，他一直生活在希望和绝望的边缘。他在一个名为“享受生活”（Enjoying the Ride）的博客中记录了自己的经历。让他保持希望的一个理由是，“我们不再是被遗忘的群体，一些人开始关注MS，关注我们。这对我们来说很重要。”

四、干细胞移植治疗 多发性硬化症



目前就职于加拿大渥太华医院（Ottawa hospital）的Jennifer Molson曾经是一名病情非常严重的MS患者，不过她在该医院接受了干细胞疗法，现在病情已经得到了很好的控制。

一项风险较高的新型治疗手段可以治疗MS吗？

早在1999年，加拿大渥太华大学（University of Ottawa in Canada）的神经学家Mark Freedman和血液病学家Harry Atkins开展了一项全新的试验来研究MS，不过他们最后以失败告终。试验之后，虽然他们对MS的发病机制还是一无所知，但也不是毫无收获。

Freedman和Atkins的试验方案就好比计算机重启，他们希望“重置”人体的免疫系统，从观察自身免疫攻击的整个过程，以期了解MS的发病机制。不过按下这个重置开关是非常危险的，因为这首先需要给患者注入大量的致命毒性因子，杀死异常的免疫细胞，诱发神经退行性病变，然后再给患者输入自体造血干细胞，重建患者的免疫系统。Freedman和Atkins非常小心地完成了整个自体造血干细胞移植实验（autologous haematopoietic stem-cell transplantation, aHSCT），也给他们的患者多争取到了一点时间。

Freedman笑着指出，很可惜，试验失败了，但是他们还是很想了解MS患者的自身免疫系统是如何攻击中枢神经系统的。不过他们在这次试验中得到了意外收获——发现了一种新型的治疗方案。今年早些时候，他们报道了两人在加拿大渥太华医院开展的工作，他们一共为24名MS患者进行了aHSCT，结果有23名患者至今病情都没有复发。

据Freedman介绍，他们选择了多名病情恶化非常迅速的患者来开展实验，结果成功地挽救了他们的生命。而且疗效也持续了很久，有些患者超过了14年。绝大部分患者的病情都没有进一步恶化，其中有6名患者的神经系统甚至有了很大程度的恢复和改善。

其他一些医院也报道了类似的成功案例。最近发表的一篇荟萃分析对1995年以来发表的15项研究成果（共计纳入764名受试者）进行了汇总。结果发现，在接受aHSCT治疗的MS患者中，67%的人在术后5年内都没有发病。

可即便如此，很多神经病学家对这项高风险的手术还是持保留意见。aHSCT是血液病医生们最早发明的一项治疗手段，也是治疗血液系统肿瘤的最后手段。而且已经报道的这些研究成果都是规模很小的非对照临床研究，因此很多神经学家都认为，目前就对这项治疗方案投赞成票，还为时尚早。

美国马里兰大学医学中心（University of Maryland Medical Center in Baltimore）的神经学家Christopher Bever警告，他们之前已经有过很多先例了，在非对照研究中效果都非常好的药物一进入大型随机对照试验，就原形毕露，以失败告终。而且目前的现状是，全世界还有很多非正规医疗机构正贪婪地盯着干细胞治疗这块大蛋糕。

有风险的项目

毫无疑问，临床治疗肯定都是有风险的。比如免疫抑制剂可能会让患者死亡。在接受aHSCT的患者中，大约2%的人也会死于与移植手术相关的问题。虽然这个比例还在不断地降低（这说明我们对这项术式的认识和理解也在不断的加深），但是患者的术后恢复过程相当痛苦，也非常缓慢，而且副作用可能会伴随患者终身。因此Freedman也表示，这项手术并不适合所有人。

但是Jennifer Molson的确从这项手术中获益了。她于1996年21岁时被确诊患上了MS，她之所以会去就医，是因为她左手发麻，将一罐牛奶掉到了地板上。5年后，她的病情已经相当严重了，连洗澡、吃饭和穿衣这类日常活动都需要别人的帮助。以至于她不得不辞职在家，彻底放弃了成为一名警官的愿望，并且终日被困于轮椅上。

幸好后来的一次核磁共振检查给Molson带来了一线希望。据她介绍，那看起来就好像有人在她的脑子里放了一把奶酪擦。Molson当时的主治医生就是Freedman，他告诉Molson，“恭喜你，你的病情已经足够重了。我们可以让你进入我们的试验项目。”

2002年6月，Molson成为加拿大渥太华医院第5名接受aHSCT治疗的MS试验者。首先，Freedman等人从Molson的骨髓中采集了她的自体造血干细胞。10天之后，Molson接受了化疗，她体内所有的异常免疫细胞全都被化疗药物杀死，残留的免疫系统也受到了相当大的伤害。第11天，Freedman等人将Molson的自体造血干细胞回输到她体内，帮助她的身体“重启（重建）”整个免疫系统。

接下来的一个月，Molson的身体非常虚弱，一直都住在医院，然后又花了整整一年的时间在家休养，以恢复健康。据她介绍，她当

时完全不知道自己今后会变成什么样。她也一直因为MS的原因，不断地发生神经退行性病变，同时还开始出现了每天呕吐、脱发和化疗后记忆力衰退（chemo fog）等化疗的副作用。Molson的体力也变得非常差，同时还因为免疫力低下，患上了带状疱疹和血液感染。据Molson回忆，她当时极度抑郁，每天都在想，她该怎么办？

但是相比之下，Molson还是幸运的。第6名受试者在术后第62天就死于脓毒血症（sepsis）和肝脏损伤。

最终，Molson完全恢复了。她接受手术治疗之前，完全不能独自站立。可到了去年夏天，她都可以到寒冷的、并不平静的渥太华河上去划冲浪板（paddle boarding）了。Molson现在每天还需要服用一些药物，来缓解化疗带来的烧心、绝经等副作用，但是她的MS已经缓解了14年之久，而且一直都没有复发。Molson认为自己已经被治愈了，但是医生们并不这么认为。最终她们都同意Molson处于‘长期缓解’期。Molson目前在渥太华医院从事研究助理的工作。

扩展残疾状态量表（expanded disability status scale）是一种定量评价MS患者机体失能状况的指标。在参与Freedman试验的患者中，35%的患者在该项评分指标上都有明显的改善。

不过为什么会取得这样的疗效，还没有人能够说清楚，Freedman猜测，这可能是因为发生了髓鞘再生（remyelination）。MS患者体内的炎症反应会使神经元细胞发生脱髓鞘反应，脆弱的神经元细胞失去髓鞘的保护之后，就会发生退行性病变。少突胶质细胞（oligodendrocytes）可以帮助受损的神经元细胞重新产生新的髓鞘，但是随着病情的加

重，机体的这种再生修复能力也会逐步衰退。科研人员一直都在寻找能够促进髓鞘再生的药物和方法，可惜还没有成功过。

aHSCT中的干细胞可以帮助接受移植的患者重建机体的免疫力，避免感染，但是还

没人能够想到这些细胞会与髓鞘再生有关。不过之前有影像学数据显示，在某些接受了aHSCT的患者体内，髓鞘再生通路的确被激活了。

多种选择

关于如何为MS患者实施aHSCT，神经学家们还持有多种意见。Bever表示，对他来说，底线就是aHSCT是一种尚未获批的医疗手段。他认为Freedman等人的成绩的确非常棒，但是如果没有开展更大规模的对照临床研究，目前就下结论还为时尚早。Bever是不会给患者推荐这种手术的。

美国克利夫兰医学中心（Cleveland Clinic in Ohio）的神经学家Jeffrey Cohen则更加乐观。他认为，现有的证据已经证明，用这种方法来治疗现有所有疗法全都已经失效的患者是可行的。但是他也承认，这种患者毕竟总数不多，而且现有的证据并不足以支持可以扩大该术式的适用人群范围。

Freedman目前计划每个月开展2至3次aHSCT，同时也准备扩大适用人群范围，比如病情进展迅速，而且无法控制的患者。如果大家只是将这种手术看做最后一根救命稻草，那么就会错失很多非常好的治疗时机，白白浪费很多“长期缓解”的机会。如果病情发展到晚期，或者患者的身体状况已经无法接受化疗，那么再开展这种手术，就很可能是一件得不偿失的事情了。

也有很多类似的临床研究，在致力于解决这场争论。2012年，Freedman等人就准备招募114名患者，计划开展一项关于aHSCT的临床随机对照研究。所有受试者都会随机接受现

有的最佳治疗方案的治疗，如果病情进一步进展，则开始接受aHSCT。但是该实验一直没有得到足够的资金支持，而且志愿者招募也是一大难题，因为很多对照组患者都会因为去参加其它的试验而退出这个实验。有一些研究者希望使用更加安全、毒性更低的药物清除患者自身的免疫细胞，但是Freedman非常不认可这种方案，因为这种治疗不但不彻底，还会残留大量的自身免疫细胞。

还有一部分科研人员在尝试另外一种完全不同的方案，那就是间质干细胞（mesenchymal stem cell）治疗。在aHSCT中，使用造血干细胞的目的主要是重建患者的免疫机能，避免感染。但是如果使用间质干细胞，就可以增强细胞的再生能力。临产前研究表明，间质干细胞能够分泌保护神经轴突的因子，改善神经元细胞的存活能力，促使神经修复。

一些1期临床试验表明，这些间质干细胞也是非常安全的，因此已经有科研人员开始准备相关的2期临床试验，来验证其功效。比如Freedman就招募了40名病情复发，或者发生二次进展的MS患者，参加他们在加拿大的MESCAMS临床试验项目（这是一个多国多中心项目，除了加拿大之外，其他国家还有120名试验者参加试验）。他们预计在今年年底，或者明年年初公布该实验的结果。

Cohen也在准备一个间质干细胞的2期临床试验项目。他们今年一共招募了120名MS患者。而且他们团队还对实验技术进行了完善，比如间质干细胞的输入剂量；间质干细胞在注射之前是否需要冻存，还是不用冻存、体外培养之后直接注射等。这些事项看起来都很不起眼，但却都非常重要。

尽管这些干细胞试验还存在很多的不确定性，然而却有很多没有科学资质的医疗机构都在争先恐后地进入这个诱人的干细胞治疗领域。据Cohen介绍，世界各地由利益驱动的医疗机构都在开展实验性的医疗服务，任何MS患者只要找到他们，就可以接受相关的干细胞治疗。这也是一个大问题，而且Cohen等人完

全不知道这些机构都在干什么。

Molson还强调，的确有一部分走投无路的患者也会到这些医疗机构寻求帮助，因为他们已经对缓慢的科学进展失去了信心，希望在那里能够发生奇迹。她表示，她也非常希望病情能够好转起来，她完全能够理解这些患者。但是Molson在她开展的一项完全正规的临床试验中，也没有充分地认识哪怕是合法的医疗手段的所有风险，直到情况发生，然而为时已晚。所以患者们如果要接受这种手术治疗，一定要先咨询他们的医生。

将来，干细胞治疗一定会帮助到MS的患者，但是目前还不是时候。

资讯 · 频道

www.LifeOmics.com



五、潜在治疗方法：改变食谱



Ilana Katz Sand（右）试图了解饮食变化是否对患者有益。

改变饮食习惯或许能缓解MS的症状，但饮食方案的效果鉴定却需要一个前所未有的方案。

纽约市西奈山医院（Mount Sinai Hospital）的神经科医师和多发性硬化症（multiple sclerosis, MS）专家Ilana Katz Sand为MS患者列出的食物清单包括鱼、全谷物、坚果、杏仁露、蓝莓和胡萝卜。清单上排除了牛奶、奶酪、肉类、薯片和含有精制面粉或糖的食品。

Katz Sand在大量调研文献后发现，特定食物、补充剂或饮食限制与MS阳性存在一定联系。基于这种关联，她设计了上述适合MS患者的食谱。

但是，Katz Sand并不希望让患者食用单一成分的饮食，或食用现成的标准化膳食，而是希望患者能自己去购买食材，自己在家做饭。她指出，人不是小鼠，我们不能把病人关在笼子里，每天严格地给他们喂食。

这就是问题所在。有迹象显示，饮食（和

生活方式）的改变可以减少炎症，因此可能有助于控制MS病情，但我们不可能按照药物研究模式来开展饮食习惯方面研究。在测试新药时，研究人员会将人们随机分为治疗组或对照组，所有参与者和调查人员对这种划分一无所知，然后在一定时间内提供标准量的药物或安慰剂。这种被称为双盲、随机和对照试验的研究模式，是药物研究的黄金标准。

但是，通过这种方式来规范饮食行为是几乎不可能的，参与者知道自己吃的是什​​么，也知道自己是实验组还是对照组。对照组中的参与者几乎没有动力如此等待数月或数年，因此中途退出率非常高。目前科学家正在努力建立饮食研究的方法，但这并非一日之功。同时，在一个更重视用药来控制病情的环境中，MS患者并不想自行改变饮食习惯（毕竟饮食改变生效较慢）——而且并不总是有效。

低脂

通过饮食改变来治疗MS的想法由来已久。这方面的先驱是神经病学家Roy Swank。20世纪40年代，Swank就职于加拿大蒙特利尔大学（University of Montreal），研究方向就是MS。据他观察，MS在欧洲和美国等肉食国家很普遍，但少见于大多数肉类消费量较低的地区，如亚洲、非洲和南美洲。他在挪威找到了一个完美的研究案例：那里的人身处内陆，食用大量的肉和土豆。这些内陆居民的MS发病率比主要以鱼为食的沿海居民高。他向两个地区的神经科医师和医院管理人员发送了一份调查问卷，结果发现内陆挪威人的MS发病率比沿海居民高8倍。

1949年，Swank为挪威MS患者制定了一份食谱，他在饮食中减少了肉和奶制品，增加了鱼，其它推荐食物包括少量瘦肉、鸡蛋、坚果、谷物和脱脂奶。几十年来，Swank跟踪随访了144位参与者。在1990年的一项分析中，他指出，如果每天摄入的饱和脂肪低于20克，那么其中95%的患者能够在未来30年保持正常的活动。但一旦打破这种饮食习惯，哪怕之前已坚持了许多年，这些患者的MS还是会继续恶化。

然而，值得指出的是，按照今天的标准，Swank的研究是有缺陷的。意大利米兰卡罗贝斯塔神经学研究所（Carlo Besta Neurological

Institute) 的实验技术员兼《考科蓝评审》(Cochrane Reviews) 的负责人Mariangela Farinotti指出, 2012年, 《考科蓝评审》的调查人员研究了饮食与MS之间的联系, 结果证实Swank的研究不符合纳入标准。Swank的研究缺乏对照组和严格的筛查标准——由于当时没有成像技术, Swank的一些患者可能根本没

有这种疾病。至关重要的是, 在Swank研究的第四年, 大量病人退出了。

更糟的是, Farinotti的团队发现, 在《考科蓝回顾》审查的研究中, 没有任何一项显示出MS症状得到缓解。Farinotti表示, 他们并没有找到能证明某种饮食疗法对MS有效的证据。

重要的维生素

尽管缺乏证据, 但许多MS患者仍然相信, 生活方式或饮食改变等, 有助于减轻症状。来自欧洲、澳大利亚和美国的研究显示, 有50-75%的MS患者既接受药物治疗, 又服用补充剂, 或遵循特定食谱。

当免疫细胞攻击神经系统时, MS患者体内就会出现炎症, 鉴于此, 任何理论上已知能减少炎症的饮食和生活方式的改变应该对MS患者有帮助。

《考科蓝评审》并没有反驳饮食改变对MS患者有益的观点。例如, Farinotti等人没有开展与MS有关的维生素D研究, 因为另一个评审项目已经揭示维生素D有助于控制MS症状, 只是这个研究规模太小, 无法得到确切结论。而且, 由于Farinotti的团队只审查随机对照试验, 所以他们仅审查了6项研究, 所有这些研究都关注常见于鱼类的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA), 并且没有任何关于维生素、抗氧化剂或整体膳食的研究符合他们的标准。

这种约束使一些饮食治疗倡导者怀疑Cochrane的审查结果。爱荷华州VA医院(Iowa City VA Hospital)生活方式治疗诊所主任Terry Wahls指出, 他们没有服用补充剂, 只是吃普通食物而已。Wahls也是MS患者, 他

制定了一份广受欢迎的MS食谱, 该食谱与旧石器食谱(少吃谷物, 多吃肉)比较类似, 但增加了蔬菜摄取, 减少了肉类摄取。

自Cochrane评估完成以来, 许多研究, 包括一些符合Cochrane严格标准的研究, 显示了饮食变化对MS患者的益处。也许最引人注目的是一系列支持鱼肉中的PUFA可以使MS患者受益, 却将这些益处归因于维生素D的研究。2012年, 一项为期两年的挪威试验募集了92名患者, 其中一半患者接受了鱼油胶囊补充剂, 另一半服用安慰剂。根据磁共振成像(MRI)观察他们的病变处、疾病进展、疲劳水平或其它生活质量指标, 最后发现, 这两组并无差异。

今年早些时候, 研究报告指出, 其中30例复发-缓解型MS(85%的MS患者在初次诊断时, 会被认定成这种MS疾病)患者接受了高剂量的维生素D补充。这部分患者复发的概率相对较低, 并且MRI扫描结果显示, 可见的病灶少于23名对照组受试者。

挪威卑尔根大学(University of Bergen)的神经病学家Øivind Torkildsen指出, 维生素D和PUFA在某些鱼类中含量都很高, 而关于PUFA对MS有益的研究事实上也都涉及到维生素D。“我们错误地把疾病缓解归功于

PUFA，真正的功臣其实是维生素D。”

今年发表的另一项研究是一项包含61名患者的随机对照试验，结果发现那些不吃动物产

品或一年不吃补充剂的患者疲劳程度低于对照组。

巧妙设计

这些研究确实提示饮食改变可以使MS患者受益，但设计试验来验证饮食的益处仍然具有挑战性。Wahls在设计试验，以比较她的高脂肪、改良版的旧石器时代饮食和Swank的低脂饮食对MS患者的益处时，不得不做出一些艰难的选择。该研究获得了美国国家多发性硬化症协会（US National Multiple Sclerosis Society）100万美元的资助，旨在解释脂肪到底对MS有益还是有害。

Wahls将对100名患有复发性MS的患者进行长达12周的观察，然后将其随机分为Swank治疗组或Wahls治疗组。前12周，参与者将遵循相应的食谱，之后12周按照自己的喜好饮食。然后，Wahls等人将使用问卷来测量疲劳水平。Wahls表示，由于疲劳的改变比认知和步态的改变发生得更快，所以短期内使用疲劳水平作为指标会更为合适。为了尽量减少中途退出率，她选择不使用对照组，而是比较观察期间（自由饮食）和治疗期间（遵循食谱）的疲劳程度。

澳大利亚墨尔本大学（University of Melbourne）的神经病学家George Jelinek与Wahls相似，在被诊断出疾病之后，就开始研究饮食与MS之间的联系。他认为，缺乏对照组是个大问题。如果两种饮食的效果相同呢？会不会是安慰剂效应？

Wahls指出，即使这些治疗方法同样有效，12周的观察期也可以代替对照组。最好的结果是，相比于观察期，这两种饮食都能有效减少疲劳。

与此同时，Katz Sand也在计划开展自己的研究。例如，如何衡量参与者对食谱的遵守程度？应该选择高脂肪还是低脂肪食谱？如何阻止参与者中途退出？

为了获得可靠的研究方案，Katz Sand设计了一个包含30人，为期6个月的试点研究，并于10月初启动。经过一些初步研究，她选择了一种经过改良的地中海饮食，其中含有丰富的全谷物、水果、蔬菜和健康的脂肪，如在鱼、坚果和鳄梨中发现的那些富含不饱和脂肪酸。她剔除含有饱和脂肪的食物，如肉和奶酪。她允许食谱出现维生素D补充剂，但只有当参与者的维生素D低于正常水平时才可服用。

治疗组中的参与者还会接受关于饮食的深入教育，并定期与营养学家会面。为了测量参与者是否严格遵守食谱，参与者必须完成膳食调查表，并进行常规的血液测试，以测量其盐、脂肪酸和其它营养物质的含量。为了防止参与者中途退出，对照组将会每个月举行一次会议，讨论MS中的保健和健康问题。Katz Sand还实施了一个改良版的候选对照组名单，在研究结束时，被分配到对照组的参与者可以选择成为测试组，并接受与治疗组相同的饮食控制（但不会举行常规会议和监测）。

健康倡议的研究难点，例如饮食习惯和生活方式的变化影响了对多种疾病治疗的评估。但MS提供了一种可衡量的、研究饮食对健康长期影响的范例。国家多发性硬化症协会（National Multiple Sclerosis Society）卫生

保健服务和政策研究副总裁**Nicholas LaRocca**希望调查人员在未来能够对饮食改变如何减轻MS患者的症状做出量化的评价。

与此同时，如果Katz Sand的方法有效，

她将有助于为临床试验开发新的黄金标准。这将改善目前侧重药物治疗，轻视基于健康倡议的临床治疗现状。



百态·频道

www.LifeOmics.com

六、观点：大胆一点，才能成功



Bibi Bielekova认为，现在是时候放开胆量，开发更好的治疗MS的药物了。

中枢神经系统疾病给整个社会和全人类带来了极大的经济负担。进行性MS等神经退行性病变则在其中起到了重要的作用，而且是负担增加最快的一大主因。但是相关治疗药物的开发工作却进展缓慢，而且付出了昂贵的代价之后全都以失败告终。所以，现在是时候反思了。

目前治疗MS的手段全都作用于人体的免疫系统，这些治疗已经充分地证明了，除了有新的神经系统损伤出现之外，还存在其它的机制与MS患者的失能有关。我们也发现了很多潜在的病理细胞学机制，然而究竟哪些机制参与了MS的发病过程，现在还不清楚。

而且对于这样一种发病机制复杂的疾病，几乎不可能使用只针对其中某一条信号通路的药物就完全控制住病情，因此，需要一整套非常完整的综合治疗方案。但是制定这样的个体化治疗方案也需要从新药开发到临床实验，包括疗效评估等一整套工作全都取得突破。

不过心血管药物的成功给我们带来了信心，在心血管治疗领域，这种个体化的综合治疗方案早已成为了主流。借助于高血压、高凝状态，或者高脂血症等多种生物标志物，临床医生们可以明确患者的病程进展情况，从而为他们制定出最佳的综合治疗方案。

相比之下，MS的临床治疗就要落后得多，医生们只能根据副作用的大小和临床预期疗效，从为数不多的几种备选药物中选择一

种，为患者提供治疗，根本不能根据患者的发病机制来选择相应的药物。如果发现神经系统出现了新的病损，那么就得更换一种其它药物，当然，目前还是只能盲目地选择一种药物。很显然，这种治疗并非最佳的治疗，因为既然MS的发病包括了多种不同的发病机制，我们当然就应该同时使用相关的多种药物来开展治疗，只有这样才能取得最好的治疗效果。

可不幸的是，以目前的新药开发模式，我们很难做到这一点。因为现有的药物开发模式每次只能评价一款新药的临床疗效。如果有多种因素参与了MS的发病过程，那么只能使用针对其中某一条发病机制的药物，哪怕是效果非常好的“特效药”，也不可能为患者带来太大的临床获益，而且这种获益也很难在小规模的2期临床实验中显现出来。

尽管科研人员对于多发性硬化症的分子致病机制还不太了解，但他们没有放弃努力，开展了大量的、可靠的临床实验（每一个项目至少进行2年，至少有数百名患者参与这些临床实验）工作，来评价各种新药的疗效。虽然这也是一项费时费力，同时又非常昂贵的工作，但所幸也取得了一些不错的成果。比如全身使用免疫调节药物（immunomodulatory agent）治疗MS就取得了不错的治疗效果。如果能够在病变早期（通常指在50岁以下的患者使用）用药，那么可以将患者的失能率降低25%。但是另外那75%的患者该怎么办呢？

在任何时候，如果我们难以达到研究目标，那么就应该想一想，是否选择的研究思路

和方案有问题。很多时候，我们都会因为高昂的成本，而无法开展MS新药的3期临床实验工作，那么此时我们就应该考虑一下，是否可以采用其它的、更加有创造性的新方案了。

脑脊液检查可以为很多中枢神经系统疾病提供非常有价值的分子信息，但是目前在临床工作中却很少开展这种有创的脑脊液检查。有些研究者指出，如果患者知道要做腰椎穿刺抽取脑脊液做检查，就会拒绝参加临床实验。但是就我多年来从事MS临床实验工作的经验来看，虽然这些临床实验每3~6个月就会对患者进行一次腰椎穿刺检查，但只有不到10%的患者会因为这个原因不参加临床实验。我们也有强大的统计分析能力，只需要15名患者参加一个为期3个月的临床实验，就足以对药物的疗效作出准确的判断。这要比那些超级敏感的临床实验结果，或者影像学结果好得多，足以媲美在心血管疾病中使用的血压、血脂等生物标

志物。

在新药开发工作中使用脑脊液检查，最大的问题并不是腰椎穿刺，而是其本身对于疗效判断的不确定性。只有通过临床实验，才能够弥补这个信息空白，即将脑脊液检查发现的早期改变，与临床实验中观察到的最终疗效联系起来。在初期临床实验中增加脑脊液检查这种生物标志物指标，可以快速排除那些疗效不佳的药物，并且为后期的临床实验提供更加丰富的数据，帮助计算实验所需人数，或者优化给药剂量等。最后，在临床实验工作中使用更多的生物标志物，还可以帮助我们积累更多的数据，以便在新药开发阶段和后期的临床实验阶段设计出联合用药方案，更好地为患者服务。

如果我们真想成功地解决神经疾病这个大問題，以免被相关的经济负担压垮，那么现在就应该行动起来，制定出更加大胆的临床实验新方案。

原文检索：

1. Charles Schmidt. (2016) A DEGENERATIVE AFFLICTION. *Nature*, 540 : S2-S3.
2. Carolyn Brown. (2016) Aetiology: Neighbourhood watch. *Nature*, 540 : S4-S6.
3. Elie Dolgin. (2016) Therapies: Progressive steps. *Nature*, 540: S7-S9.
4. Asher Mullard. (2016) Stemming the tide. *Nature*, 540: S11-S12.
5. Sujata Gupta. (2016) Diet: Changing the recipe. *Nature*, 540: S13-S14.
6. Bibi Bielekova. (2016) Who dares, wins. *Nature*, 540: S10.

张洁、Eason/编译

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）。

岗位职责：

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。

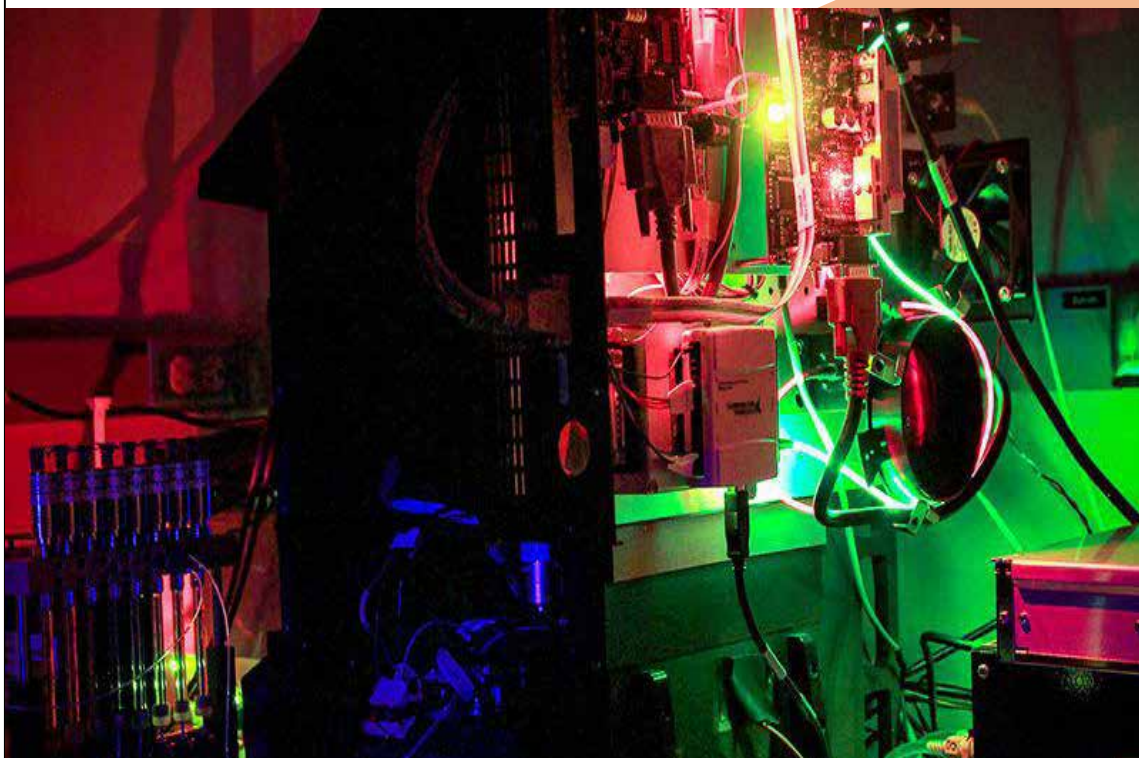
有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com

热点

变废为宝：

旧DNA测序仪

变身新一代生化仪



这个名为“Serenity”的新一代生物化学平台是由旧的DNA测序仪组装而成的。

过时的基因组测序机器大有用处——研究人员可以重新利用它们来推动新一代生物化学研究。

在加利福尼亚州斯坦福大学（Stanford University）的一个地下储藏室，一台名为GAllx的老旧Illumina DNA测序仪被肢解了——价值数十万美元的相机和激光器、光学器件和流体控制器被拆除出来后堆积在地板上，只剩下空外壳的旧仪器像尸体一样被捡起来。斯坦福大学的生物物理学家William Greenleaf表示，感觉这里就像是一个废品回

收站。

但是在过去6年里，这些部件却凝聚了Greenleaf实验室一半成员（9位研究者）绝大部分的心血。与大多数研究人员使用DNA测序仪来测序DNA不同，Greenleaf的研究小组是少数用测序仪完成其它目的的团队：用测序仪获取大分子的相互作用和RNA折叠成酶后发挥功能的信息，从而大规模研究蛋白质和核酸生

生物化学。

斯坦福大学生物化学家Dan Herschlag认为，这是一项革命性的技术。他用旧的DNA测序仪来研究RNA和其它分子之间的相互作用。Herschlag表示，这台仪器提供了“深入而广泛的定量信息，使研究人员能够为分子相互作用构建出更精确的生物物理和细胞模型，这是实现对生物系统真正预测性理解的关键步骤。

从广义来看，这项工作显示了重视硬件的一个意义——老旧或过时的仪器不一定是毫

无价值的。

今年毕业于Greenleaf实验室的生物物理学家Sarah Denny在被问及设备是否具有“即插即用”的简单性时笑了笑，并表示，做实验时机器很容易出现故障，所以你必须理解机器的原理。但鉴于仪器能提供的数据量，花费这些功夫是值得的。Denny的团队通过自己组装仪器，对RNA折叠有了更好的理解。事实上，科学领域的DIY常常有意想不到的收获。

芯片上的生物物理学

2008年时，GAIIx是一种非常热门的商品。一些测序中心甚至有几十台GAIIx，每台耗资约60万美元；在一周内，一台机器可以检测长达300亿个碱基的DNA序列。直到2011年，当Greenleaf在斯坦福大学（Stanford University i）建立他的实验室时，测序行业推出了硬件性能更优越的仪器——例如Illumina HiSeq 2000——其效率更高、对用户更友好，此时人们也开始抛弃旧设备。Greenleaf指出，旧的测序仪开始变成鸡肋了。

Illumina测序仪能够自动开展合成测序

过程。将DNA文库随机排列在流通池（flow cell）上，并在适当位置扩增以产生约1000个分子的小簇，每个分子代表DNA的单个片段。然后将DNA或核苷酸的构建模块转移到芯片上，每个芯片含有独特的荧光标记和可逆的化学修饰。该过程需确保在每个簇中仅添加一个核苷酸。然后，序列发生器对阵列进行成像，并根据每个位置的颜色，“调用”或读取添加的碱基。然后移除化学修饰，并重复该过程，允许基于碱基识别整个序列。

拆开重组

这些仪器的核心是配有液体处理器（添加和移除试剂）的高端显微镜。它们的一些组件——特别是相机、激光器和可移动的平台——可能要花费数十万美元。2009年，剑桥麻省理工学院（Massachusetts Institute of Technology）的RNA生物学家Christopher Burge意识到，可以重新利用这些硬件来做其它事情。

Burge指出，GAI基本上是一个泵送系统，将物质泵送到流通池，然后再送到成像系统上。他们意识到，也许可以把其它东西泵到流动池里。

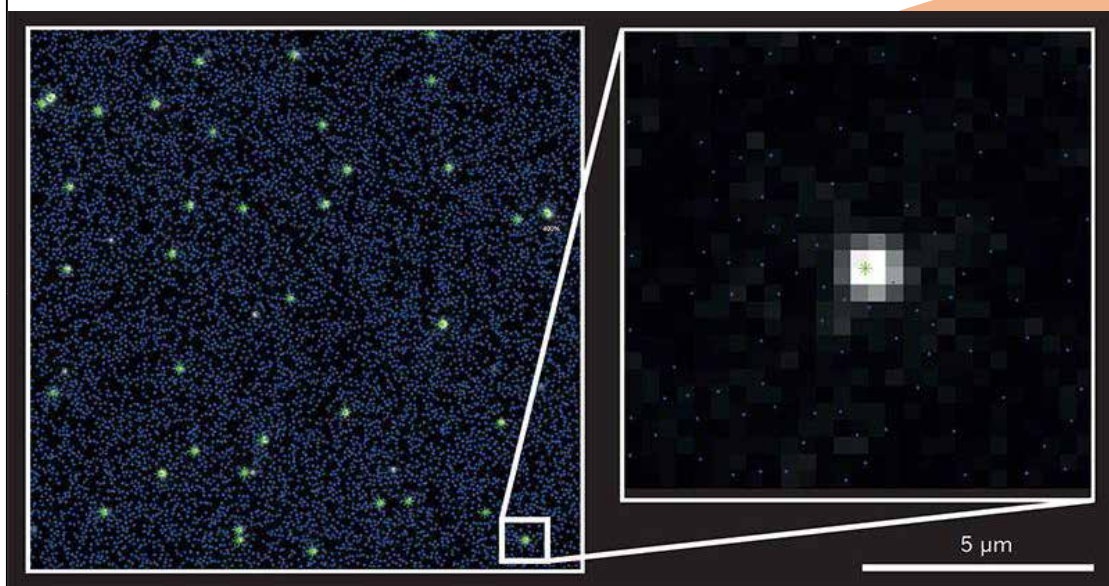
Burge还指出，这是因为GAIx是一个“开放式系统”，可经由名为“程序”的可修改的配置文件来控制，并可以通过更换试管，将一种试剂换成另一种试剂。在内部，机器同样开放，现成的第三方组件与电缆扎带连接在一起。生物化学家Gary Schroth表示，回

想起来，它看起来像是一个高中科学项目。Schrroth是加州圣地亚哥Illumina基因组学应用小组的负责人，并与Burge合作进行了早期研究。

相比之下，新的Illumina仪器更加精致，具有定制硬件、硬连线控制软件和条形码试剂——这些功能可改善用户体验，但不利于拆开重组。

Jacob Tome在康奈尔大学（Cornell University）的分子生物学家John Lis的实验室读研究生时，也参与了GAIx的拆开重组过程。他记得当时为了理解复杂的仪器控制软件，给Illumina的技术支持打了很多电话。Tome指出，没有对应的说明书可重新编程这台仪器，只能靠反复试验。

他还表示，他读博期间最兴奋的那段时间就是坐在测序仪前，写一个程序，然后看着仪器温度上升，并观察仪器泵会抽取哪个试剂。



测序单元的荧光成像揭示了特定化学簇的相互结合作用。

相比之下，Burge则幸运得多，因为他有贵人相助。通过与Schroth合作，他的团队修改了GAllx系统的程序，使其可以接受新试剂，还引入了暂停功能，调整了机器运行温度和成像参数。然后，研究人员应用该系统对酵母中一种名为Gcn4p的DNA结合蛋白的序列特征进行了全面的研究。

Burge表示，他们首次证明了，你可以把测序仪变成生物物理仪器，从而在很高的通量下衡量蛋白-DNA的相互作用。

在实验中，Burge的团队对流动池（通常在测序后流动池会被扔掉）进行了处理，以在每个簇中再生双链DNA。然后他们以逐渐增加的浓度将荧光标记的Gcn4p蛋白质注入到芯片的各个孔里，并使用改编过的软件命令测序仪对流动池进行成像。通过下载和处理最终图像，而不使用仪器通常输出的基本类别，团队可以测量每个点结合的Gcn4p的数量。由此，该小组可以推断出Gcn4p对芯片上每个序列的亲和力——总共有4.4亿个测量值。Greenleaf表示，这是非常漂亮、优雅的实验。它表明，GAllx平台有可能提供“令他兴奋的所有类型的测量：动力学测量、结合率和解离率以及平衡常数，以及理解DNA-蛋白质如何相互作用的所需的全部信息。

一些研究人员也使用类似的拆开重组方式来解决自身的问题。例如，在麻省理工学院（Massachusetts Institute of Technology），RNA生物学家David Bartel利用重组的测序仪

研究了mRNA，一种由DNA的一条链作为模板转录而来的、指导蛋白质合成的RNA。他的团队发现了mRNA分子末端的“A”碱基的数量——一种名为多腺苷酸化尾巴的特征——与动物发育中基因表达成蛋白质的效率有关。

德克萨斯大学（University of Texas）奥斯汀分校的生物物理学家Ilya Finkelstein也拆开重组了一个测序仪流动池，并采用CRISPR-Cas技术研究了一种名为Cascade的蛋白质的DNA结合偏好。Greenleaf团队的一些成员与加州大学（University of California）伯克利分校的CRISPR先驱Jennifer Doudna一起研究了为什么CRISPR中最常用的酶Cas9有时会切割DNA的错误位置。

研究人员还研究了将DNA芯片转换成超高通量RNA阵列的方法——这种方法可用于研究RNA-蛋白质相互作用或筛选被称为核酸适配体的折叠RNA分子库。

制作这种阵列的一大难题在于捕获转录的RNA。Lis和Greenleaf在双链DNA分子的末端独立地引入了一个物理模块，使RNA聚合酶（产生mRNA分子的酶）在碰到该物理模块时停止转录。在威尔康奈尔医学院（Weill Cornell Medical College），RNA生物学家Samie Jaffrey的团队——主要负责人是化学生物学家Nina Svendsen，当时是该实验室的博士后——使用一种特殊的病毒RNA聚合酶将新合成的RNA化学连接到芯片上，然后添加核酸酶降解模板DNA。

重组测序仪，研究疾病

对于斯坦福大学的生物物理学家Rhiju Das来说，这种RNA阵列已经成为诊断活动性结核病（active tuberculosis）的分子平台了。该项目开始时，一位同事发现了三种可以区分休眠和活动性结核病的RNA标记，但要找出一个单一的分子——‘核糖开关’，用于识别疾病所处的状态——并不容易。这样的诊断分子必须能够结合所有三种RNA，加上荧光报告基因，并根据结合的分子改变形状。Das指出，很显然，这并不容易。

为了解决难题，Das招募了他参与开发的在线游戏eterna的用户群。在该游戏中，玩家的任务是设计可以以某种方式折叠的RNA；其中潜力最大的结构被作为DNA测序文库的一部分，进而被合成出来，一次合成10,000个，并在GAIIX芯片上进行测试。每个设计有10,000次测量，每次实验大约产生1亿个数据点，然后这些数据点被反馈给玩家，帮助磨练他们的技能。Das指出，随着时间的推移，一些用户变得十分熟练。这些玩家现在已经发现了一些规则，可以让他们找到完美的核糖开关，即热力学上最适合各种测试的核糖开关。

Das的团队还参加了OpenTB挑战赛。经过3轮比赛，他们已经测试了来自187名玩家的近27,000种设计，确定了几个基本符合要求的方案。其中一个方案由马萨诸塞州法尔茅斯的退休工程师提交，它看起来就像是一座城堡的平面图，或者一个挨一个的锚。现在，在比尔和梅林达盖茨基金会（Bill & Melinda Gates

Foundation）的资助下，Das计划开始测试其中一些设计，以用作结核病的类似妊娠试验诊断。

与此同时，一些科学家采取了下一个合乎逻辑的步骤——将芯片上RNA转化为蛋白质。早在2016年，Svensen就表示，她可以利用抗生素嘌呤霉素将肽连接到合成阵列表面。今年6月，Greenleaf实验室的博士后Curtis Layton报道了他在大规模平行阵列上开发的一种名为Protein display的分析，可以分析156,140种名为SNAP标签的酶变体。他想研究将氨基酸序列与蛋白质功能联系起来的微妙规则。看到自己能够在这些机器上进行全新的蛋白质功能分析，他感到非常兴奋。

虽然结果令人兴奋，但过程却荆棘遍布：Layton花了4、5年俩开发他的方法和硬件，Svensen花了两年时间开发她的方法，而Jaffrey的实验室正在为这个方法申请创建一个全人类蛋白质组芯片。Svensen指出，当时购买一个GAIIX的测序试剂盒是5000美元。如果每次实验都花费如此多，那么你将无法进行多轮优化。因此，现在就职于英国邓迪大学威康中心抗感染研究中心（Wellcome Centre for Anti-Infectives Research at the University of Dundee）的Svensen在显微镜载玻片上进行了大量的测试，或者甚至使用了她所在研究中心的废弃流通池（流通池是一次性的，一次测序后就需要换掉）。

推广也并非易事

大多数GAIIX的重组工作都没有对仪器进行大的改动，主要还是通过调整软件来实现特定的功能。根据Jaffrey的说法，任何有旧的GAIIX的研究人员都可以采用这种方法。他表示，他们不想构建一个只有工程师才会用的东西，他们的方法可让任何研究人员都能使用该机器。

Greenleaf实验室也同意Jaffrey的说法。Layton指出，他们在RNA研究中用到的仪器是由斯坦福大学（Stanford University）遗传学家Patrick Brown捐赠的。为了纪念星球大战，他们给该仪器取名为千年隼号（Millennium Falcon）。（ps：星战里，千年隼是一艘经过船长Han Solo大幅改装的YT-1300型货船）Layton表示，虽然这是一台旧机器，但他们试图给它开发一些新用途。只要机器没问题，他们就可以获得很多其它途径无法获得的数据。

然而最终结果是，该团队认为这种方法是不可持续的。一方面，Layton表示，GAIIX不像现代测序仪那样具有按钮接口，相比于千年隼，反而更像是“阿波罗号宇宙飞船”，重组困难很大。同时，新一代测序仪速度更快，并且能读取更长的序列。因此，Illumina在2015年宣布她将是GAIIX的“终结者”，这意味着2017年7月后，Illumina公司将不再提供流通池、试剂和零件。

Layton团队对GAIIX系统做了如下改进：提取了GAIIX系统的光学、平台、摄像机、泵浦系统和激光器，还有测序仪的内置照明系统——从下方以锐角照亮样品、设计了一个新的印刷电路板来操作激光器、从GAIIX部件中取出自动进样器以自动添加试剂，并添加了一个板载温度控制器。

最重要的是，该团队设计了新的样品架，使得GAIIX成像系统可以容纳Illumina系统里更小的MiSeq芯片。Greenleaf指出，这使他们能够把荧光和测序的检测区分出来（Finkelstein也在MiSeq芯片上进行测定，然后在传统显微镜上进行成像。）

最后他们得到了一个让人兴奋的设备：一个紧凑的黑色立方体，表面看起来像台式电脑。最困难的部分是编写控制硬件所需的软件，并确定哪些信号会驱动何种操作。这真是一项艰巨的任务。但该项目吸引了大家对工程和软件设计的兴趣，尤其是对生化的兴趣。Winston Becker是一名医学院学生，同时也是Layton实验室的双博士，并拥有工程力学硕士学位，由于这个原因被吸引到该项目中。Becker想做一些非常实际的、非常量化的事情。显然，使用工程技能去构建实物的机会也令他非常兴奋。

但是，购买显微镜不是更容易吗？根据Greenleaf的说法，这不是一个合适的选择——或者至少不是一个经济实惠的选择。购买的仪器一般难以实现想要的功能。他估计，定制仪器可能会花费数十万美元。

Das根据Greenleaf的设计（以及Greenleaf实验室的帮助）组建了自己的仪器，他说这种体验“非常有趣”。但是，如果没有操作手册，你就必须去找人帮忙。这些仪器可能会出现令人烦恼的问题——例如，Das的仪器无法正确聚焦。经过两周，将故障排除后，Das才意识到他少放了一个镜头。此后，他编写了一份长达64页的说明书，而另一位研究员，来自斯沃斯莫尔学院（Swarthmore College）的Nick Kaplinsky则

(Swarthmore College) 的Nick Kaplinsky则发表了详细的博客评论, 描述了他将GAllx转变为“RootScope”——一种用于对植物根部进行成像的显微镜——的整个过程。

Das坚持使用科幻小说里的名字来给仪器命名, 他给自己改装的仪器命名为Red Dwarf (一部英国科幻小说的名字); 然后将随后改装的一台仪器命名为Nostromo (来自《外星人》(Alien))。Greenleaf实验室的其它成像仪, 包括Heart of Gold (《银河系漫游指南》(The Hitchhiker's Guide to the Galaxy))、Borg Cube (《星际迷航: 下一代》(Star Trek: The Next Generation)) 和Serenity (《萤火虫》(Firefly))。Greenleaf表示, 如果你搭建了一台仪器, 那么你就拥有命名权了。他的实验室里有十几个测序仪都处于肢解状态, 其中大多数是以运输成本获得的。

如果顺利的话, 这些仪器将成为Greenleaf研究的主力军。他的实验室最著名的仪器可能就是ATAC-seq——一种评估与蛋白质结合的染色质的亲和性的仪器。他实验室一半的成员都在做这项工作。现在, Greenleaf希望集合团队的所有成员, 使用改装的测序仪建立数学模型, 以准确反映细胞本身的大分子的相互作用。

问题是, 其他研究人员会效仿吗? Schroth指出, 因为仪器改装涉及试剂、硬件和分析工作, 如果过于定制化, 那么其它实验室就会难以重复, 至少在没有行家的情况下很难将实验重复出来。但Greenleaf等组装工程师则表示, 有一个简单的解决办法——开放现代平台进行探索。Burge表示, 然后科学界可以将这些仪器进行改装, 开发新用途, 让每个人受益。Finkelstein则认为, 如果你愿意, 这些测序仪还是可以有很多用途的。

原文检索:

Jeffrey M. Perkel. (2018) The hackers teaching old DNA sequencers new tricks. *Nature*, 559: 643-645.

张洁/编译



ORF表达克隆

助你实验顺利



- 多** —— 140,000+ 个 ORF 克隆；涵盖 20,000+ 个人类基因；150+ 种哺乳动物、慢病毒等表达载体；50+ 种蛋白融合标签
- 快** —— 可直接用于蛋白表达，无需亚克隆步骤
- 好** —— 保证序列，经过全长测序
- 省** —— 价格低至 0.4 元 /bp

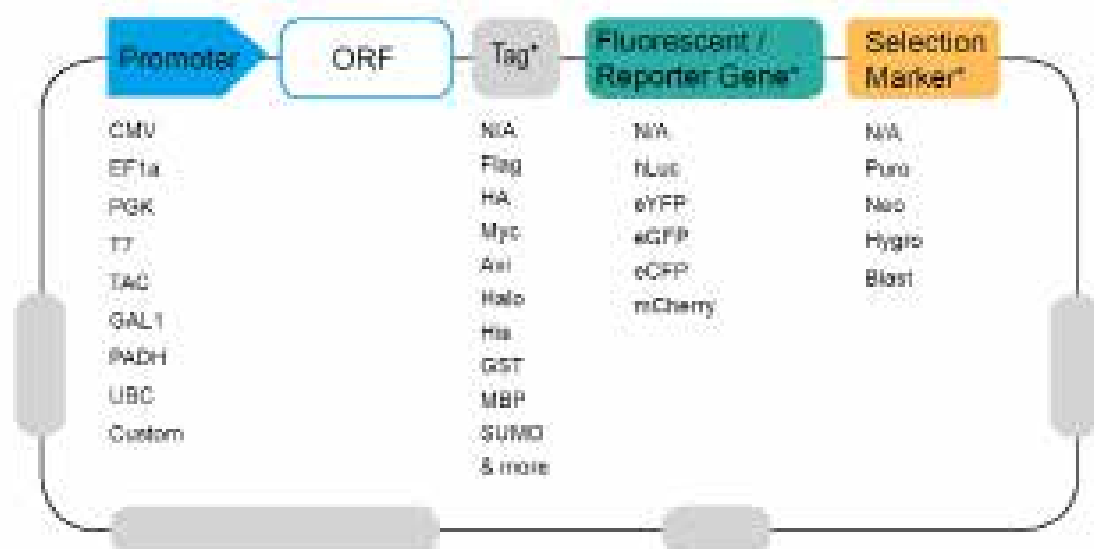


图 1. ORF 表达克隆载体选择

近 5 年

使用 GeneCopoeia 克隆产品发表

1000+ 篇 SCI 20 分以上 100+ 篇

克隆类型	载体	启动子	筛选基因	标签	报价		
					< 1000 bp	1kb - 4kb	> 4000bp
哺乳动物载体 表达克隆	M02	CMV	Neomycin	N/A	¥480 起	¥900 起	询价
	M03	CMV	Neomycin	C-eGFP			
	M06	CMV	Neomycin	N-3×HA			
	M07	CMV	Neomycin	C-3×HA			
	M12	CMV	Neomycin	N-3×Flag			
	M14	CMV	Neomycin	C-3×Flag			
	M29	CMV	Neomycin	N-eGFP			
	M35	CMV	Neomycin	C-Flag			
	M90	CMV	Neomycin	C-eGFP (monomeric)			
	M67	CMV	Hygromycin	N/A			
	M68	CMV	Puromycin	N/A			
植物载体 表达克隆	Lv105	CMV	Puromycin	N/A	¥480 起	¥998 起	询价
	Lv151	CMV	Neomycin	N/A			
	Lv152	CMV	Hygromycin	N/A			
	Lv153	CMV	N/A	N/A			
	Lv242	CMV	Puromycin	C-Flag			
	Lv201	CMV	Puromycin	SV40-eGFP-IRES-Puromycin			
	Lv206	CMV	Puromycin	SV40-mCherry-IRES-Puromycin			
	Lv158	EF1a	Puromycin	N/A			
	Lv233	EF1a	Puromycin	SV40-eGFP-IRES-Puromycin			
	Lv245	EF1a	Puromycin	C-Myc-SV40-mCherry-IRES-Puromycin			
	Lx304	CMV	Blasticidin	C-V5		¥900 起	
穿梭克隆	GC/CF	Entry clone		Gateway® 克隆技术兼容		¥998 起	
ORFeome	OC/CG	Entry clone				¥1300 起	

GeneCoposia, Inc. 是国际 ORF collection 合作组织 (ORFeome Collaboration) 成员，亚洲区提供 ORFeome 克隆系列代表。GeneCoposia 专注于基因功能研究领域 18 年，是 NCBI 推荐的克隆供应商。全球累计使用 GeneCoposia 克隆产品发表的 SCI 文章有 3000+ 篇。

客户发表文章举例

- Whole-body imaging of lymphovascular niches identifies pre-metastatic roles of midkine. 2017. *Nature*, IF 41.577. ORF lentiviral expression vector.
- Spatiotemporal control of intracellular phase transitions using light-activated optoDroplets. 2017. *Cell*, IF 31.398. FUS ORF clone.
- Allele-specific chromatin recruitment and therapeutic vulnerabilities of ESR1 activating mutations. 2018. *Cancer Cell*, IF 22.844. ER-HA tag cDNA.



百态

从蝌蚪到青蛙

——甚至体内的瘦素都
难逃蜕变的命运



若你觉得自己的青春年华过得有些局促，那么不妨与青蛙聊聊。确实，在成长的过程中，人类能够看见自己身上的各种变化；但你想：从蝌蚪变成青蛙，发生了多少颠覆性的变化！若不是有科学家探索其中的奥秘，其中的过程恐怕会颠覆大家的三观吧。所幸，青蛙的那些事儿并未逃过Robert Denver（美国密歇根大学（University of Michigan）的一位发育神经内分泌学家）的注意。最近，他与其团队开始研究这类问题，以了解这种无尾类动物

在从蝌蚪变成青蛙的过程中，消化系统发生了多少变化。虽然这种变化与同样发生在蝌蚪蜕变过程中显而易见的解剖学改变相比，可能不太为人所了解，但依然非常特殊，甚至可影响到生物体组织的各个水平。

其中，最根本的变化就是饮食偏好的演变：从素食的蝌蚪蜕变成肉食的蛙类。因此，它们的胃肠道结构需要发生改变，才能使其体内血淋巴的品味产生变化。对此，青蛙在蜕变的过程中，通过缩短肠道、翻新整个上皮层的

方式进行改造，这个过程需要停止进食。**Denver**等人感兴趣的是，激发青蛙停止进食的信号是什么？它们会如何改变青蛙的生长发育？

研究小组将光滑爪蟾（*Xenopus laevis*）作为典型的无尾类动物研究模型。他们首先确认：在蝌蚪的整个生长发育期，其摄食量稳步增长，然后在发生蜕变的高峰期急剧下降。在这个节点，其肠道同时缩短，内容物被清空，这就支持了上述观点：它们停止进食，让胃肠道进行改造。接着，研究小组继续研究瘦素（**leptin**，生物体内主要的饱感激素，能使蛙类以及我们人类产生饱腹感）参与的假说。他们监测了贯穿蝌蚪生长发育期的瘦素及其受体，结果发现，这种激素及其受体的初始状态发生了轻微的不同步现象：瘦素水平的增长先于蜕变发生，而位于下丘脑的瘦素受体（以及其功能）则在蜕变的高峰期增殖。

Denver等人通过两种方式对青蛙进行操控，研究瘦素的功能。第一，他们为蜕变前的蝌蚪注入重组蛙瘦素，结果发现，直至蜕变高峰即将出现之前，其饮食才受到抑制。第二，研究小组在蝌蚪的蜕变高峰即将出现之前中和其体内的瘦素，结果发现，这种功能性瘦素的

缺乏会使蝌蚪继续本该停止的进食。

因此，实验结果总共揭示了两个问题。第一，蜕变前的蝌蚪缺乏中枢性饮食控制。所以会无节制地进食，使其生长率达到顶点。这一点很重要，因为从一只极其脆弱的蝌蚪蜕变成不那么易受伤害的青蛙，只能在充足的体重储备下发生。第二，瘦素功能的演变贯穿整个生长发育过程。起初，瘦素对下丘脑起到催肥的作用，明确地对其发出“身体已经准备好蜕变了”的信号，使之开始分泌诱发蜕变的激素。当蜕变进行时，下丘脑最终在蜕变达到高峰后产生瘦素受体，使得瘦素的功能由催肥信号转变为进食抑制。在进食停止、肠道清空内容物的同时，其胃肠道就能为未来的荤食进行自主改造了。

在野外，光滑爪蟾在雌性产下成百上千的受精卵后，亲代就会迅速离开。对于这样的甩手掌柜方法，大多数人类恐怕会觉得难以接受，但请你们回想一下自己的青春期吧——当然，或许你们的后代会好过些，但他们有过——甚至想过无尾类动物的青春期时发生的种种由激素驱动的剧变吗？还有，请想象一下，如果你有几百个子女……怎么样，是不是可以接受了？

原文检索：

Melissa Cui Bender, Caroline Hu, Chris Pelletier and Robert J. Denver. (2018). To eat or not to eat: ontogeny of hypothalamic feeding controls and a role for leptin in modulating life-history transition in amphibian tadpoles. *Proc. R. Soc. B*, 285, 20172784.

文佳/编译

果蝇被冻晕的原因 ——中枢神经系统宕机了



一只小小的雄性黑腹果蝇（*Drosophila melanogaster*）。

如果你不是昆虫的粉丝，那么应该会比较喜欢冬天。这是为啥呢？据来自丹麦奥尔胡斯大学（Aarhus University）的Mads Andersen解释，大多数昆虫在受冻时都会陷入昏迷，且在完全昏迷之前，通常会先失去哪怕是一点儿的移动能力。那么，昆虫为何会被冻晕呢？

Andersen认为，这明显是由于某种神经肌肉功能关闭所导致的，但是，到底是因为昆虫的肌肉无法工作呢，还是由于它对环境的感知以及应答能力发生了障碍，目前尚不清楚。最近的研究表明，肌肉可能并非导致昆虫昏迷的罪魁祸首。因此，Andersen与其同事Johannes

Overgaard（奥尔胡斯大学），以及来自加拿大女王大学（Queen's University）的 Meldrum Roberts 决定共同研究一下在不同的气候条件下，不同果蝇的神经系统将会如何应对降温。

研究小组从 Overgaard 的实验室库存中找了五种果蝇——种类涵盖热带的 *Drosophila birchii* 和温带的 *Drosophila montana*，然后由 Andersen 把它们带到加拿大，观察其耐寒能力。

Andersen 表示，在加拿大做研究的原因之一，是 Meldrum 的实验室刚构建了他们想要用来研究果蝇中枢神经系统功能的技术，而他自己也学会了如何小心地将微电极插入果蝇极其细小的大脑中，以在它们受冻的情况下测量其控制运动的神经元电生理活动。其实，这件事非常困难。因为检测插入点是否正确的唯一途径是使果蝇受冻，这简直就是碰运气。

在试验中，他们缓慢地降低温度并进行观察。结果非常清晰：热带果蝇（*D. birchii*）的耐寒力相对要弱得多，随着神经元的“宕机”，其中枢神经系统失去了作用，导致它们在 10.3℃ 即陷入昏迷状态。而温带果蝇（*D. montana*）则比较厉害，坚持到了 1.1℃。接着，Andersen 费劲地插入第二个电极，用以测量果蝇脑内的钾浓度。结果也很清楚：在果蝇陷入昏迷的温度点，钾离子大量地涌出神经元，其中，热带果蝇失钾的水平高于温带果

蝇。对此，Andersen 表示，中枢神经系统的关闭很可能是由离子的被动转运和主动转运失调导致的。

Andersen 回到丹麦之后，与 Overgaard 继续开展研究。他们计划以其中一种黑腹果蝇（*Drosophila melanogaster*）作为对象，先让它们适应不同的温度，再观察其神经系统将会如何应对低温。为此，Andersen 不得不在奥尔胡斯大学建立了一个能够进行同样测量的新系统，并与本科生 Nikolaj Jensen 组队，让果蝇在 15-25℃ 的气温下进行适应，然后在其神经系统关闭的时候进行测量。这次，能适应最高温度的果蝇在 5.6℃ 陷入昏迷，而能适应 15℃ 条件的果蝇坚持到了 1.8℃。接着，他们进行了另一项测试：把氧气抽出，观察经过温度适应的果蝇能坚持多长时间，不同品种之间又有何差异。结果，最强壮的耐寒果蝇（*D. montana*）以坚持时间最长（19.8 秒）的成绩再次问鼎，而热带果蝇（*D. birchii*）则均在 10.5 秒内死亡。

这样，Andersen 证明了果蝇在低温下昏迷的原因是其神经系统功能的关闭，这一点也部分解释了不同果蝇种群在全球分布的原因。他还表示，昏迷的昆虫属于“生态学上的死亡”——既无法运动也无法繁殖，换句话说，就是低温（达到使其中枢神经功能丧失的条件）可限制果蝇开枝散叶。

原文检索：

Andersen, M. K., Jensen, N. J. S., Robertson, R. M. and Overgaard, J. (2018). Central nervous system shutdown underlies acute cold tolerance in tropical and temperate *Drosophila* species. *J. Exp. Biol.* 221, doi:10.1242/jeb.179598..

文佳/编译

A group of people are forming a human pyramid against a cloudy sky. The pyramid is composed of several layers of people, with the top layer having one person, the middle layer having two, and the base having three. The people are wearing dark clothing. The sky is filled with soft, white clouds. The overall tone of the image is motivational and collaborative.

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广

请致电 (020) 32051255



www.LifeOmics.com