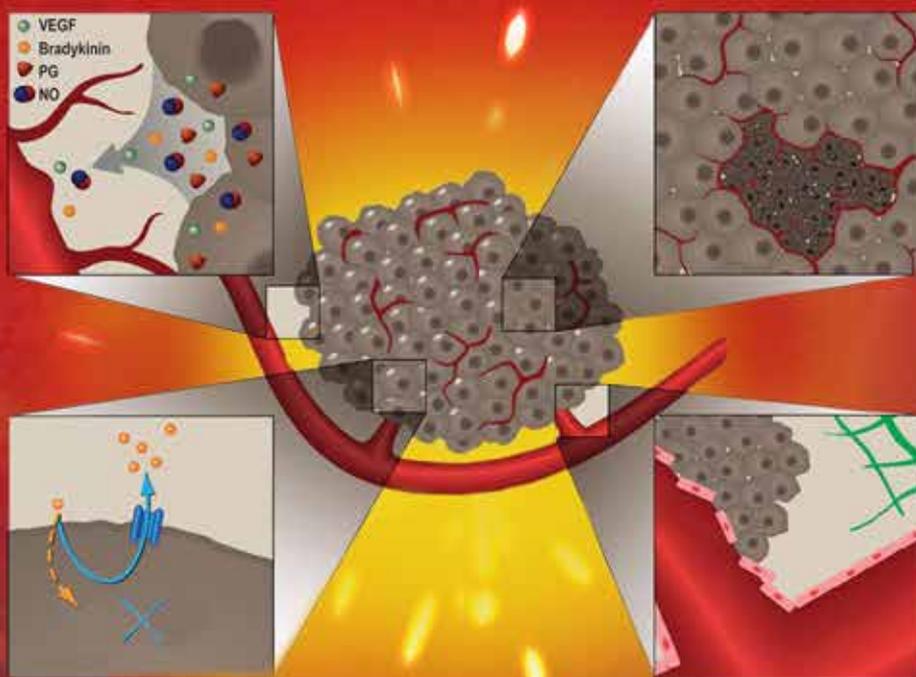


# 生命奥秘

LifeOmics

2016年12月刊 总第91期



纳米技术在肿瘤诊断和治疗中的最新进展

重新审视“致病”突变

蚂蚁也有内在成瘾性

无奇不有  
生命世界

解读生命  
走进科学



# 目录 CONTENTS

## 专题

### 纳米技术在肿瘤诊断和治疗中的最新进展

前言 .....	01
一、纳米技术在肿瘤诊断和治疗中的研究背景 .....	02
二、作为药物载体的纳米颗粒 .....	04
1. 常用纳米颗粒 .....	05
2. 纳米颗粒—药物复合物 .....	07
三、作为诊疗药物的纳米颗粒 .....	09
1. 肿瘤光力学疗法 .....	09
2. 基因沉默 .....	11
3. 光热疗法 .....	12
4. 纳米颗粒应用于分子成像 .....	14
四、纳米颗粒在肿瘤诊疗领域的综合应用 .....	17
五、纳米技术在肿瘤诊疗领域的发展前景 .....	19

下一期（2017年1月刊）预告：生物材料

下一期《生命奥秘》专题是《生物材料》。生物界经过几百万年的进化，已然成为了一个规模巨大的、超级有效的材料开发实验室。仿照自然界的生物，例如蜘蛛、贻贝、壁虎及荷叶等研制的生物材料超越了某些现存的、非常优秀的人体工程材料，而相关的仿制技术不但鼓舞了领域内的研究人员，还给他们带来了许多启发。

## 热点

重新审视“致病”突变 .....	24
------------------	----

## 百态

蚂蚁也有内在成瘾性 .....	31
鲨鱼动作灵活的奥秘 ——具有弹性的脊柱能传递持续可变量 .....	33

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

Worthy issues

## 纳米技术在肿瘤 诊断和治疗中的最新进展

特约编辑：叶景佳，女，博士，研究方向：肿瘤生物治疗及发病机制

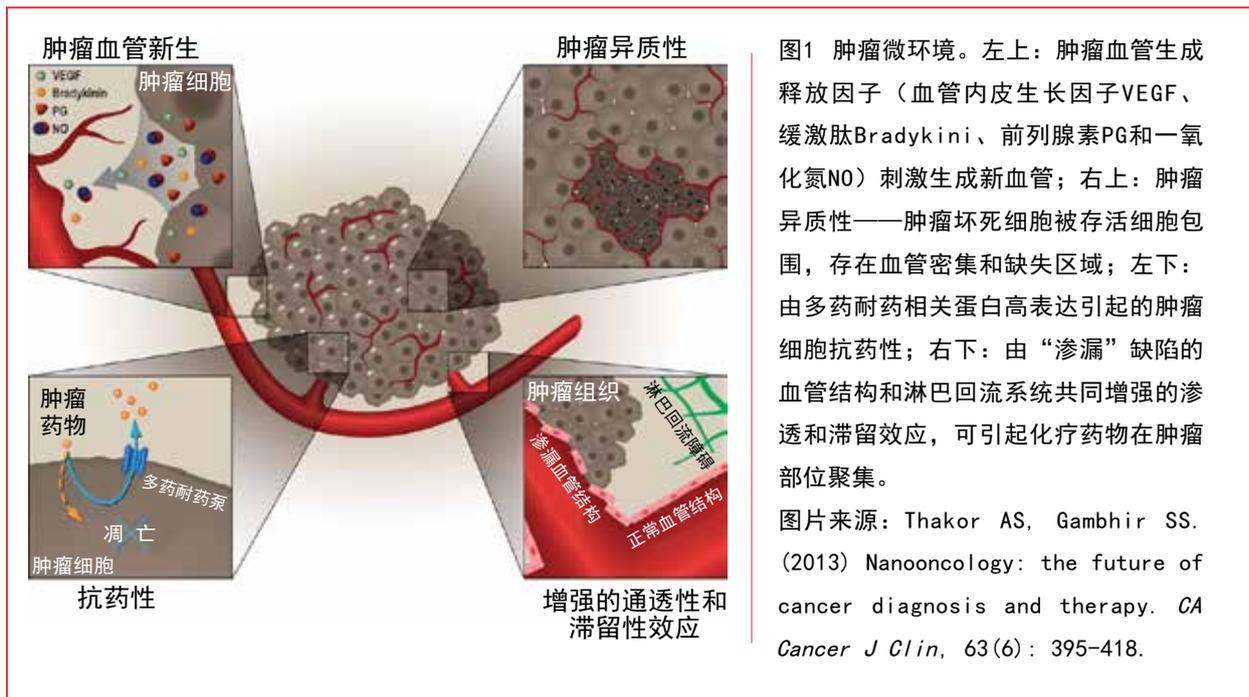
### 前言

近年来，随着对新型纳米材料的深入研究以及纳米颗粒在肿瘤诊断和治疗方面的持续应用，纳米医学经历了前所未有的发展。纳米颗粒特有的生物学特性使得它们可以高效地结合、吸附以及携带各类分子和基团（包括小分子药物、核酸、蛋白质和探针等）。由于颗粒的大小、形状及表面特性都可以根据实际需要设计和调整，所以纳米颗粒拥有出众的稳定性、“量身定制”的载药能力和明确的靶向性，因此适应各种不同的给药途径，能够应用到肿瘤诊疗的各个方面。最近刊登在《自然生物技术》（*Nature Biotechnology*）杂志上的一项成果引起了人们极大的兴趣。Xu等人用pH敏感键将阿霉素和聚L谷氨酸结合，制备成聚合物前药，然后将其装载到纳米颗粒发生器上，最后将生成的纳米-前药复合物直接注射到静脉中。该复合物可以自动富集到肿瘤部位，然后进入肿瘤细胞，释放出前药并利用肿瘤细胞pH值条件在核周区域裂解形成阿霉素，从而避免药物外排。该系统在40-50%的乳腺癌转移的动物模型中实现了功能性治愈（functional cure），为纳米技术应用于肿瘤治疗提供了绝佳的范例。本文介绍了纳米颗粒在肿瘤诊疗领域取得的最新进展，包括：纳米颗粒如何作为药物载体提高药物疗效；纳米颗粒本身如何作为诊疗试剂在光疗、基因治疗、热疗法和分子成像中发挥功能；以及如何基于纳米颗粒研发集诊断、靶向治疗和疗效监控于一体的整合系统，以用于肿瘤的诊断、治疗和进展监测。

# 一、纳米技术在肿瘤诊断和治疗中的研究背景

目前肿瘤的治疗仍以包括手术、放化疗的经典方案为主。肿瘤中存在多重生物屏障，它们往往干扰诊疗试剂和药物到达肿瘤局部，因此影响了检测和疗效。过去几十年间，人们对肿瘤微环境的认识大大促进了新的治疗肿瘤的策略设计。

由于肿瘤组织与周围的正常组织存在很大的区别，因此从非细胞间质成分（包括血管和间隙）到细胞组成都对药物向肿瘤细胞传递构成了障碍（图1）。



在这些非细胞的间质组分中，肿瘤血管分布情况存在明显的异质性：在肿瘤快速生长需要大量氧气和营养供应的部位血管密集；在肿瘤坏死部位得到的血液供应则相对少得多。另外，远离血管的肿瘤组织得到的氧气供应也比较少，一是因为氧气传递的距离增加，二是因为氧气传递过程中被靠近血管的肿瘤组织消耗。肿瘤新生血管与正常血管不同，前者由于增殖中的上皮细胞数量多、血管弯曲度大、外膜细胞缺乏以及基底膜异常等，上皮细胞间的间隙增大，范围可达380-780nm。而且其血管

内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）、缓激肽（bradykinin）、前列腺素（prostaglandin, PG）和一氧化氮（NO）的含量比较高，可形成肿瘤的高渗透性。在肿瘤细胞周围是由胶原和弹性纤维组成的间质环境。不同于正常组织，肿瘤间质组织拥有更高的间质压力，而且缺乏功能性的淋巴网络。有“渗漏”缺陷的血管构造，加上缺失的淋巴回流系统，引发了肿瘤的高通透性和滞留性效应，即EPR效应（enhanced permeability and retention, EPR）。尽管

EPR效应有助于将化疗药物传递到肿瘤血管丰富的部分，但难以到达缺少血管的肿瘤组织，这导致部分肿瘤细胞得不到有效的药物处理。同时由于这些部位的微血管压力较低，肿瘤微环境的渗透压高，减弱了药物在血管系统处的外渗作用，从而进一步加强了EPR效应。此外，由于这些部分缺少血管，因此氧气含量较低，细胞进行无氧酵解导致微环境中乳酸含量增加，这会引引起微环境对碱性药物的抗性，并阻止药物透过细胞膜扩散。

研究还表明肿瘤中存在两类细胞：一类是数量很少、相对静止的肿瘤干细胞；另一类是数量大、增殖快速的肿瘤细胞。后者是构成肿瘤组织的主要成分。肿瘤干细胞不仅能再生肿瘤细胞，还具有侵袭、转移以及自我保护能力。由于大部分治疗措施只是针对非肿瘤干细胞，而遗漏了拥有肿瘤再生能力的肿瘤干细胞，因此治疗后肿瘤容易复发。因此，设计针对肿瘤干细胞的治疗方案被认为是治疗肿瘤的关键。消灭肿瘤干细胞可以根治肿瘤，阻止肿瘤的复发和转移，因为肿瘤干细胞周围微环境中存在着控制细胞增殖和分化方向的各种信号，它们能引起肿瘤各种恶性表型的表达。鉴于此，对微环境中的非恶性细胞进行调控，影响肿瘤的进展和肿瘤细胞恶性表型，有可能是肿瘤治疗的另一种策略。肿瘤相关巨噬细胞（tumor associated macrophage, TAM）就是其中一个靶点。TAM被肿瘤细胞分泌的生长因子和趋化因子募集到肿瘤附近，并通过促进肿瘤细胞侵袭、迁移和血管生成促进肿瘤进展。这一点在高TAM浸润和预后不良之间的高度相关性中得到证实。

在肿瘤细胞内部，一系列的生化和代谢变化导致酶活性、凋亡调节、胞内和胞外运输机制变化，所有这些变化都和细胞耐药机制相关。这种耐药机制最显著的一个表现是多药耐药相关蛋白P-糖蛋白（P-glycoprotein）表达上调。该蛋白是一个ATP结合转运子，它可将多种化疗药物通过质膜泵出细胞外，从而降低药物靶向作用。对大多数化疗药物来说，靶向

性低不仅导致对非肿瘤细胞的细胞毒性，还使直接作用于肿瘤细胞的药物浓度不足，因而影响药效。

目前的研究集中于通过提高药物向肿瘤传递的效率以及靶向性来克服上述困难。例如药物和单克隆抗体结合，可特异性地结合到仅在肿瘤细胞中表达的分子靶点上。但是体内研究显示，通过静脉注射的单克隆抗体只有1-10/100000比例的药物能够达到靶点，这与分子成像试剂比例大致相当。利用纳米技术克服肿瘤诊疗中的药物传递问题已成为一种新兴策略。

近年来，研究人员在包括肿瘤诊断和治疗的纳米医学领域取得了前所未有的进展。纳米颗粒独特的生物学性能使其拥有远远大于其它颗粒的比表面积，这有利于吸收、结合、携带包括小分子药物、核酸、蛋白和探针等在内的多种化合物。此外，由于其大小、形状及表面特性都可以调整，因此拥有高稳定性、高药物携带能力、可结合亲水或疏水基团、兼容多种给药途径等性能，在药物治疗的各个方面都有很大的应用潜力。尽管最终的理化性质取决于原材料和设计（大小、形状等），纳米颗粒依然在相当大的温度和pH值范围内拥有相对稳定的性能。当然，部分纳米颗粒无法生物降解、溶出率偏低，这些引起人们对其安全性的质疑，尤其是在需要长期给药的情况下。

纳米颗粒可以根据材料来源分为生物材料（如磷脂、脂类、葡聚糖和壳聚糖等）、碳基材料（如碳纳米管）和无机（金属、金属氧化物和金属硫化物）纳米颗粒——包括半导体纳米颗粒（如量子点QD）。因为组分各异，这些纳米颗粒与细胞的相互作用也大相径庭。

在上述背景下，本文将从原理到应用两个方面来介绍纳米颗粒的特性及相关科技发展，以及纳米科技用于肿瘤诊疗策略的发展过程。本文基于肿瘤治疗过程中的难点，主要介绍如何通过纳米技术克服这些难点、纳米技术在肿瘤诊疗领域具有的优势和面临的挑战以及未来发展的方向。

## 二、作为药物载体的纳米颗粒

药物传递是纳米科技在肿瘤治疗中带来的革命性发展之一。纳米复合物主要包括：作为载体的纳米颗粒自身和化疗药物。药物可以被吸收、溶解或散布在整个纳米颗粒复合物中，或者通过共价键附着在纳米颗粒表面。除了设计制造用于药物运送的纳米颗粒，化疗药物本身也可被制备成纳米级别药物。关于紫杉醇的研究表明，与传统制剂相比，纳米级别的紫杉醇不仅在体外实验中显示出了增高的细胞毒性，在动物模型实验中的疗效也有了提高。这一切都是由于纳米颗粒有更好的生物利用率以及更长的维持疗效的时间，使药物浓度可以在更长的时间段里维持在最低有效浓度以上。除此之外，纳米制剂可以克服现有紫杉醇制剂存在的问题，包括水溶性低和与佐剂

CremophorEL（聚氧乙基代蓖麻油）相关的副作用。

为了使纳米药物可以有效地被传递到肿瘤细胞，必须满足图2的几个条件：**(A)** 纳米颗粒必须能够结合或携带药物。**(B)** 纳米药物复合物必须在血清里保持稳定以便实现全身给药。**(C)** 纳米药物复合物必须能够被送至肿瘤细胞（通过受体介导反应或EPR效应），以降低由非靶向性运送带来的并发症。**(D)** 纳米颗粒一旦到达肿瘤部位就立刻释放药物。**(E)** 残留的纳米载体需要由有一定半衰期的生物材料或生物惰性材料制成，以保证安全降解。如果使用非生物降解的材料，需要证明其在使用剂量范围内的安全性或能被清除。

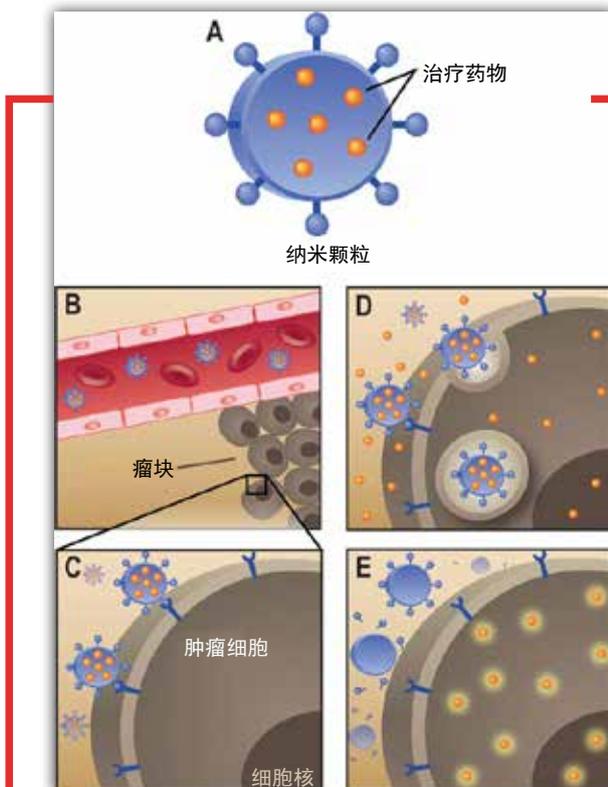


图2 纳米颗粒作为有效的化疗药物载体必须满足的条件。(A) 纳米颗粒必须能够结合或携带药物。(B) 纳米药物复合物必须能够在血清里保持稳定以便实现全身给药。(C) 纳米药物复合物必须能被送至肿瘤细胞（通过受体介导反应或EPR效应），以降低由非靶向性运送带来的并发症。(D) 纳米颗粒一旦到达肿瘤部位就立刻释放药物。(E) 残留的纳米载体需要由有一定半衰期的生物材料或生物惰性材料制成，以保证安全降解。如果使用非生物降解的材料，需要证明其在使用剂量范围内的安全性或能被清除。

图片来源：Thakor AS, Gambhir SS. (2013) Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin*, 63(6): 395-418.

# 1. 常用纳米颗粒

目前使用的纳米颗粒载体包括脂质体、固体脂类、聚合物、介孔二氧化硅（mesoporous silica）以及无机纳米颗粒（inorganic nanoparticles）。

## 1.1 脂质体

脂质体是可生物降解的纳米颗粒，它由自我组装的两性磷脂双分子层构成。脂质体可以包裹药物使其溶于水，并和细胞膜通过胞饮和吞作用将包裹在脂质体内部的药物释放到细胞内。研究表明使用脂质体可以提高药物的代谢和药效。为避免脂质体被细胞网状内皮系统（reticuloendothelial system, RES）快速清除，人们利用糖脂或聚乙二醇（polyethylene glycol, PEG）对脂质体表面进行修饰的研究已经取得了一定的成果。利用PEG等修饰纳米颗粒表面可以提高纳米载体的稳定性，可在

一定程度上避免被巨噬细胞吞噬，提高纳米颗粒在血液中的半衰期，促进其在肿瘤部位的积累。已有不少研究关注用脂质体运送化疗药物（如阿霉素、柔红霉素等）用于实体瘤和血液系统肿瘤。Doxil是一种PEG修饰的包裹阿霉素的脂质体，与普通制剂相比，药效高而副作用小，已被FDA批准可用于治疗卵巢癌、转移性乳腺癌以及人免疫缺陷病毒相关（human immunodeficiency virus-related, HIV）卡波西肉瘤。

## 1.2 固体脂类纳米颗粒

固体脂类纳米颗粒（Solid lipid nanoparticle, SLN）是上世纪90年代开发的，是除乳剂、脂质体和聚合物纳米颗粒之外的药物载体系统。由于它们坚硬的疏水核心被磷脂单分子层覆盖，所以在生物系统内比脂质体更稳定。这种系统结合了胶体脂质乳剂和固体基质颗粒的优点。由于可进行生物降解，毒性也小于聚合物或介孔二氧化硅纳米颗粒。SLN通常有0.1%-30%的固体（重量比）脂类分散到液体介质中，如有必要，可用0.5%-5%（重量比）的表面活性剂使其稳定。由于SLN制备过程中的参数相对容易调整，可以被设计成以下几种形式：1）药物覆盖在颗粒外形成一个“壳”；2）药物包裹在颗粒内部；3）药物在系统中均匀分布——不同的设计对应不同的药物释放策略。此外，由于药物在较低温度下

可进入SLN核心，在升温后再被释放出来，所以引入降温和升温技术可在SLN中控制治疗药物的装载和卸载。由于SLN将药物包裹在固态磷脂结构中，所以材料有序性越高，载药量就越低。通过提高材料的复杂性（如使用单甘脂、双甘脂、甘油三酯或不同链长的脂类），可提高药物装载量。在储存和制备过程中，温度变化会引起晶型改变，影响药物装载量，如温度升高会造成晶型有序性升高，将药物从基质中“挤压”出来，造成泄漏。因此除了根据药物特性挑选合适的载体材料，以及对药物进行一定的修饰之外，还可通过使用SLN的衍生物，如纳米结构脂质载体（nanostructured lipid carrier, NLC）或脂质药物偶联纳米颗粒（lipid drug conjugates nanoparticle）来提高药物装载量，以减少药物泄漏。

## 1.3 聚合物纳米颗粒

聚合物纳米颗粒 (polymer nanoparticle, PNP) 可组装成纳米微球或纳米胶囊。纳米微球通常为固态均相体系, 药物分子被吸附到它表面; 而纳米胶囊则由固体外壳覆盖着液相 (水相或油相) 核心, 药物被包在囊中。制备PNP可通过将现成的聚合物进行分散或在单体聚合过程中直接制备纳米颗粒, 还可通过对制备所涉及的化学反应过程进行调整和控制, 以获得需要的性能——如表面修饰促进生物分布性能、药代动力学控制及药物包覆等。研究表明通过精确控制药物和聚合物比例、聚合物分子量及成分等, 可以控制药物释放的速度和效率。人工合成的可生物降解聚合物纳米颗粒的代表有聚  $\epsilon$ -己内

酯、聚乳酸 (polylactic acid, PLA)、丙交酯和乙交酯共聚物 (poly(lactide-co-glycolide), PLGA)、聚羟基乙酸 (polyglycolic acid) 和聚氰基丙烯酸烷基酯 (alkylcyanoacrylate) 等。天然聚合物包括明胶 (gelatin)、葡聚糖 (dextran ester) 和壳聚糖 (chitosan) 等, 但它们在纯度和再现性方面都不及合成聚合物。研究人员目前已经对作为药物传递系统的PNP进行了深入的研究, 其中PLA及PLGA已获FDA批准用于人体。一种由白蛋白 (albumin) 制备的结合紫杉醇的天然聚合物纳米颗粒已被FDA批准用于治疗转移性乳腺癌。

## 1.4 介孔二氧化硅纳米颗粒

介孔二氧化硅纳米颗粒可为装载的药物提供物理屏障, 防止药物变性或降解。由于其表面的孔隙适宜装载药物, 又能将纳米颗粒组装成复杂的隧道网络结构, 所以适宜运送大量的药物。有不少研究都在关注可逆性启闭介孔二氧化硅纳米颗粒表面的孔隙, 以控制药物仅在到达靶点时释放, 实现运送过程中的“零

泄漏”。利用超分子、磁性纳米粒子、金纳米粒子 (gold nanoparticle, AuNP)、量子点、生物大分子以及聚合物分子等作为“开关”, 可构建由光辐射、分子竞争、氧化还原、pH值、温度、酶或神经递质等多种条件精确调控的药物靶向释放体系。

## 1.5 无机纳米颗粒

无机纳米颗粒包括由金属、金属氧化物和金属硫化物制备的一系列产品。这些产品可以被制备成多种大小、形状和孔径, 而且再现性极佳, 方便连接各种配体分子或化疗药物以实现肿瘤靶向传递及治疗。而且无机纳米颗粒表

面结构易于修饰改造, 能轻松地逃避RES。与脂质体及固体脂质纳米颗粒相比, 无机纳米颗粒在大多数温度和 pH值条件下都非常稳定。当然, 无机纳米颗粒的生物降解和溶出率低下问题是使用中需要考虑的问题。

## 2. 纳米颗粒—药物复合物

纳米颗粒作为药物载体时可以通过在表面结合药物或在内部包含药物等方式来保护药物不被降解或变性。纳米颗粒载体还可以同时运送两种或以上的药物以用于联合治疗。其新应用还包括递送无细胞毒性的前药，这些前药一

旦到达肿瘤部位就会被激活。例如设计对pH值敏感的Pt前药和聚酰胺复合物，它们在肿瘤的酸性微环境中可以迅速解离成更小的体积，便于药物扩散、渗透，从而增强疗效。

### 2.1 纳米颗粒—药物复合物的稳定性

较小的纳米颗粒（小于5 nm）能快速通过肾脏排泄掉，而较大的纳米颗粒（大于100 nm）则会被内皮网状系统RES清除。如果被RES截留则会大大影响纳米颗粒的生物利用率。用亲水PEG链修饰纳米颗粒表面可降低其免疫原性、避免被单核巨噬细胞识别和吞

噬，从而延长在循环系统中的作用时间。此外，未经修饰的纳米颗粒容易吸附蛋白质，会引起不必要的积聚，甚至形成血管栓塞或器官梗塞。而PEG修饰则可提供生物保护层，减少因蛋白吸附和积聚造成的不良后果，提高纳米颗粒的稳定性。

### 2.2 纳米颗粒—药物复合物往肿瘤细胞的运送

进入体循环后，纳米颗粒可以通过被动和主动运输两种途径到达肿瘤部位。在被动运输过程中，纳米颗粒通过肿瘤特有的EPR效应，离开体循环进入血管外区域，积聚到肿瘤细胞周围。为有效利用EPR效应，纳米颗粒必须小于100 nm。此外，纳米颗粒可以通过表面修饰（如将肽段、小分子、低聚糖及抗体等作为配体增加到纳米颗粒表面）主动定向到肿瘤部位，使其可以特异性识别和结合肿瘤细胞表面的靶分子。这些靶分子可以是受体或者

抗原，但必须满足能够在肿瘤细胞表面大量表达，在正常细胞表面无表达或含量低到可以忽略的条件。通过靶向定位到肿瘤细胞后，纳米颗粒就可以在增加靶向运输效率的同时降低对正常细胞的毒性，从而提高药物的治疗指数。研究显示，同时结合多种受体可以加强纳米颗粒与肿瘤细胞的作用。此外，PEG链修饰在提高纳米颗粒生物相容性的同时，还可作为肿瘤特异性配体与纳米颗粒之间的连接臂。

## 2.3 从纳米颗粒—药物复合物上释放药物

一旦到达肿瘤位点，纳米颗粒—药物复合物就必须解离释放出药物。当复合物与肿瘤细胞“绑定”时，根据不同的纳米颗粒—药物复合物体系的设计原理，可通过光、pH值、适配子及肿瘤细胞过量表达的酶等不同因素刺激，使药物通过扩散、溶胀、侵蚀或降解等多种途径从基质上脱离，以达到药物释放的效果。以金粒子包封介孔二氧化硅载药体系为例，有研究表明，利用远红外照射使金粒子与介孔二氧化硅之间的化学键断裂或分子作用力减弱，可开启阀门、释放装载的药物。根据刺激释放手段的多样性还可以设计多重响应的载药体系，以实现药物的阶梯式释放、不同药物分子的释放，以及药物释放的可逆调控等。

药物在肿瘤部位释放后，接下来的挑战是如何使药物进入肿瘤细胞发挥作用。即在药物向周围组织扩散之前，通过主动转运机制或者受体介导的内吞作用使药物进入肿瘤细胞发挥疗效。设计可以在进入细胞之后再释放药物的纳米颗粒—药物复合物是提高药物进入细胞的

效率的策略之一。在纳米颗粒上标记细胞穿透肽（Penetratin）和穿膜肽（transactivator of transcription, TAT）等都能促进纳米颗粒—药物复合物进入细胞。对于一些会很快被多药耐药相关生物泵运出细胞外的药物来说，这一点尤其重要，因为P糖蛋白通常能够识别质膜上的药物，但当药物通过胞饮或内吞作用进入胞质或溶酶体时则无法识别。一旦进入细胞，纳米颗粒的化学特征就可以协助释放药物。例如在药物通过巯醇基（thiol group）与纳米颗粒结合的情况下，细胞质内含量丰富的谷胱甘肽就可以破坏链接释放药物。当纳米颗粒—药物复合物不能完全进入肿瘤细胞时，药物被释放在胞外，这时纳米颗粒—药物复合物则需要通过扩散作用或者其它转运系统进入细胞。这种机制的不利之处在于一些药物可能会作用于周边的正常组织，这样不仅增加了副作用，还降低了药物的疗效。此外，由于肿瘤周围间质环境呈酸性，所以对药物传递也有一定的不良影响，如可对碱性化疗药物产生抑制作用等。

## 2.4 药物释放后清除参与的纳米颗粒

绝大部分基于生物降解材料构建的纳米颗粒—药物系统都支持在纳米载体降解后释放药物。当然，对于非生物载体，如在不同温度和pH值条件下都相对稳定的无机纳米颗粒，在释放药物之后它们如何被清除则是必须要考虑的。如果使用无机纳米颗粒，就必须要保证这

些载体可以安全地被排出体外，或者以非常稳定的形式在体内被处理或储存，如存在于无活性的巨噬细胞内。因此，最佳的情况是通过控制合成条件，一旦完成药物运送任务，纳米颗粒载体就可以被分解成无害的物质。

# 三、作为诊疗药物的 纳米颗粒

## 1. 肿瘤光动力学疗法

新近出的光动力学疗法（Photodynamic therapy, PDT）是传统治疗方法外又一种微创的、可行的疗法。PDT的关键是光敏剂（photosensitizer）。光敏剂能够将吸收到的光能转移给周围的氧分子，使其转化成单态氧，或转移到周围分子中转化成自由基——随后和氧分子作用产生超氧化物、过氧化氢和羟自由基。这些产物都具有细胞毒性，会对周围组织中的细胞（主要是细胞中的亚细胞器和质膜）产生损伤，并且最终通过三种途径杀伤细胞：1) 细胞凋亡或坏死；2) 提高机体免疫功能，增加肿瘤组织局部炎症因子浸润，并引起自噬作用导致细胞死亡；3) 破坏肿瘤组织微循环系统（如造成血管内皮损伤），使肿瘤细胞缺乏生长所需营养物质，而间接杀伤肿瘤细胞。此外，还有研究表明纳米颗粒装载的光敏剂（如亚甲蓝）可以在含氧和缺氧条件下促进活性氧分子/自由基（Reactive oxygen species, ROS）的产生，并在缺氧条件下消灭肿瘤干细胞（而肿瘤干细胞正是当前肿瘤治疗的重要靶点）。PDT的疗效很大程度上取决于光敏剂的光能转化效率及其选择性到达肿瘤组织并积累到有效浓度的能力。由于单态氧分子的半衰期短至3.5微秒，且仅能扩散0.01-0.02  $\mu\text{m}$ ，因此它们起效的范围只能局限于光敏剂分子聚集的部位（通常为线粒体或内质网）。由于许多光敏剂只能吸收波长小于700 nm的可见光范围，并且这些光的贯穿范围仅为几毫米，所以常规PDT的应用只能局限于体表病灶。但是，光学技术的进展已经让人们能够通过光纤结合内窥镜将光送入体内，这大

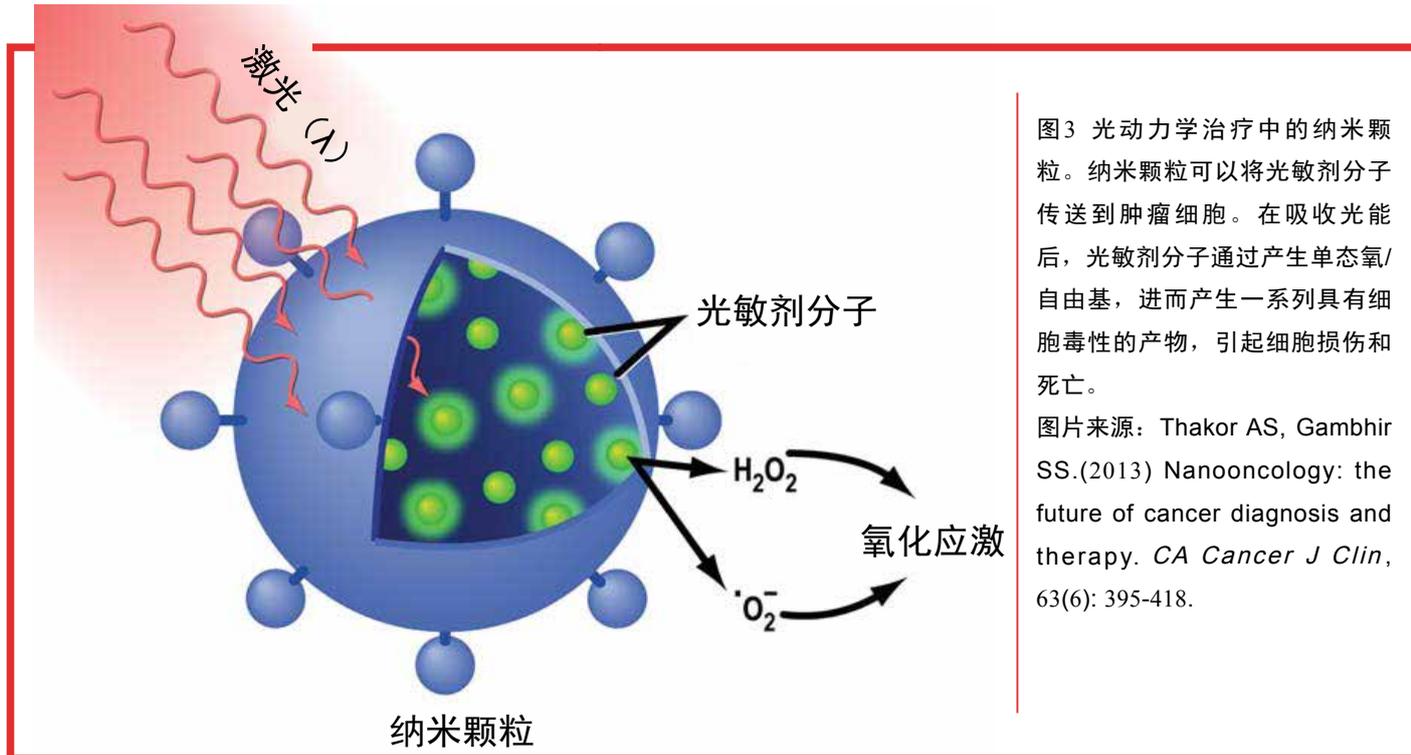
大拓展了PDT的应用范围。目前研究人员正在探索将PDT应用于多种肿瘤（包括但不限于皮肤、膀胱、前列腺、肺、食道、胰腺、胃和头颈部肿瘤等）的治疗。

纳米技术可以通过将光敏剂包装到纳米载体中的策略，最大程度地优化药物代谢动力学参数，在尽可能少地影响健康细胞的同时，增强对肿瘤细胞的靶向和杀伤作用，这为光动力学疗法的发展提供了巨大的机遇。除了提高特异性之外，纳米光动力学疗法还克服了光敏颗粒的溶解度问题和聚集倾向问题，这些问题都会严重影响试剂的理化及生物学特性。事实上，一个专门为纳米光动力学疗法设计的载体应该能够提供提供一个使光敏剂能在体内以单体形式存在的环境，并保持光化学特性——丝毫不损失或改变其光敏特性。此外，用于实体瘤治疗的纳米载体还需要将光敏颗粒的浓聚物传递到病变组织，并定位到特定的亚细胞结构。

目前，应用在PDT中的纳米颗粒（图3）可分为主动型与被动型。被动型PDT纳米颗粒是光敏剂的载体，它们可以经由生物降解材料或非聚合物材料（如陶瓷或金属材料）制备。由PLGA或PLA制备的生物降解纳米颗粒载体，由于载药量大，成为了脂质体之外的又一种选择。这点非常重要，因为光敏剂是高度疏水性的，在溶液中易聚集，这会导致它们直接给药的途径受到限制。此外，聚合物材料的形态和组成可以通过设计优化来控制聚合物降解，释放光敏剂分子。研究显示装载有光敏剂的纳米颗粒比“自由”光敏剂活性更高，并且体积较小的纳米载体由于更容易通过胞饮或内

吞作用进入细胞，将光敏剂释放在细胞内而不是细胞外环境中，因此比起体积更大的载体拥有更高的光毒性效应。另外，较小的纳米颗粒拥有相对更大的比表面积，因此与周围基质接触的面积也更大，释放光敏剂的效率也相对较高。非生物降解材料也能携带光敏剂，相对有机聚合纳米颗粒而言，非生物降解材料稳定性

更高，不受酸碱度变化、微生物感染等影响，而且能对体积形态、多孔性等参数进行精密调控。研究人员可根据肿瘤组织特征进行设计，提高肿瘤部位的光敏剂浓度，减少光敏剂在正常组织中的积累，减少药物使用量，提高疗效。



有的光子吸收染料能将低能量辐射转换成高能量放射，继而直接将分子氧转换成单态氧。利用这种系统可在深层组织激活能够穿透组织的光线（750-1000 nm波长），从而作用于更深层的组织。但染料毒性仍是一个非常重要的问题。对此，将染料包裹在生物惰性的纳米颗粒内部，可以降低其对正常组织的毒性，并将PDT应用于深层组织。不同的研究小组还在探索通过荧光共振将能量从吸收了光子的染料（能量供体）中传递到光敏剂（能量受体）中的策略——将染料和光敏剂装载到同一种纳米颗粒中——可以实现能量在染料之间的

传递。为有效实现这个设想，作为能量供体的染料装载量要远远高于作为能量受体的光敏剂。经修饰的介孔二氧化硅纳米颗粒，因其优越的生物相容性、稳定性以及能严密包裹疏水分子避免其运送过程中被泄漏等优点，可作为PDT中理想的运送载体，而且其多孔基质还有利于氧分子渗透。

主动型PDT纳米颗粒可以在不需要光敏剂存在的情况下产生单态氧或自由基。Samia等人首次发现了这一现象。他们发现除了光敏剂之外，半导体量子点（semiconductor QD）能通过三线态能量转移产生单态氧，这个过程

不需要光敏剂参与，但效率稍低。其他研究小组也在探索纳米颗粒除了作为光敏剂载体及拥有肿瘤靶向运输功能之外的其它优势，如活化介质的功能。这些纳米颗粒在经过x光照射后能发射出适当波长的光来激活光敏剂。这种方法可以为电离辐射能达到的身体深层组织提供治疗。与此类似，上转换纳米颗粒（**upconverting nanoparticle**）可以在微环境中将低能量辐射转换成高能量光来激活光敏剂。其具体过程是通过运用过渡金属或稀土离子，如镧系元素（**lanthanide**）的特性，同时吸收两种低能量光子，使纳米颗粒从稳定态转化到激发态来实现的。从量子机制来说，这一切是在吸收了第一个光子之后通过一种虚拟中介状态来实现的。

PDT作为一种辅助或补充疗法，在实体瘤的治疗中已取得了令人瞩目的进展。增强PDT效应或将PDT与其它形式的治疗方法结合起来已成为肿瘤治疗中非常有前景的诊疗策略。包括多聚糖、聚酯、胶束等在内的多种聚合物纳米颗粒为构建多模式诊疗系统提供了丰富多样的选择，有效地支持了这个方向的研究进展。纳米颗粒的设计需要从头设计，并遵循生物导向的原则，这样才能使药物聚集在药理学靶点，且在光敏剂运送过程中符合保持/优化光敏作用的特殊要求。在同一纳米平台的构建上纳入不同的要素，可将PDT与不同的治疗模式（如常规化疗、放疗）或成像方式（MRI、荧光）等相结合，推动PDT在肿瘤诊疗前沿的应用。



# 资讯 · 频道

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

## 2. 基因沉默

基因治疗涉及质粒DNA、反义寡核苷酸，或小分子干扰RNA (siRNA)，后者用于基因调控时所需的核酸量是最少的。siRNA是长度在20-25核苷酸、具有特定结构的双链RNA片段，它由胞质中的双链RNA (dsRNA) 经核酸内切酶Dicer切割而成。siRNA能干扰特定mRNA的翻译，可以在RNA解旋酶的作用下解链成正义链和反义链，其中反义链可与体内一些酶（包括内切酶、外切酶及解旋酶等）结合形成RNA诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC)。RISC与基因表达的mRNA同源区进行特异性结合，并在结合部位切割mRNA，使mRNA降解。siRNA的作用不仅包括引导RISC切割同源单链mRNA，还能作为引物与靶RNA结合并在RNA聚合酶 (RNA-dependent RNA polymerase, RdRP) 的作用下合成更多新的dsRNA。新合成的dsRNA再由Dicer切割产生大量的次级siRNA，使RNAi的作用进一步放大，最终将靶mRNA完全降解，引起特定基因表达沉默，也称为RNAi。该现象在快速分裂的细胞里可持续3-7天，在非分裂细胞内可持续数周。

随着肿瘤发生机制的逐渐阐明，越来越多的分子靶点可用于基因治疗。RNA干扰技术由于效率高、特异性强、并可以同时作用于多种基因，成为了非常有应用前景的治疗技术。大量体内、外研究表明，RNAi在调控与肿瘤发生及进展相关的多条通路，如细胞凋亡、衰老及细胞周期的调节等方面都有良好的效果。当然利用siRNA进行基因治疗也存在多种局限：1) 运送问题；2) 由于脱靶反应引起的副作用；3) 干扰与基因沉默相关的细胞生理功能；4) 诱导由干扰素和促炎症因子引起的免疫反应。

其中最主要的技术难题还是如何通过全身运送来传递有效剂量的siRNA到达靶细胞质。

常规的基因载体包括病毒载体和非病毒载体。病毒载体由于在人体使用的安全性问题方面仍存在争议，所以开发利用安全高效的非病毒载体，如纳米颗粒载体是相关研究的重点之一。未经修饰的siRNA在循环系统中非常不稳定，它在血清中的RNA酶作用下半衰期很短，并会被肾脏系统迅速清除。而且，由于大小及本身携带负电荷的问题，未经修饰的siRNA会受到细胞膜的静电排斥而难以进入细胞。尽管经过化学修饰的siRNA在保留RNAi能力的情况下增加了血管内的稳定性，并降低了免疫反应，但是探索其它途径，如运用纳米颗粒载体安全地运送siRNA仍是目前工作的焦点之一。纳米颗粒拥有相当大的比表面积，利于结合并运送大量siRNA。经组织特异性配体修饰后，纳米颗粒可以经静脉注射将siRNA运送到特定的肿瘤细胞。纳米颗粒还可以通过膜融合或受体介导的内吞作用通过胞内体途径有效地进入细胞。一旦进入靶细胞，来到胞内运输途径，siRNA就必须在被溶酶体降解之前逃逸。膜融合脂质和蛋白质、光敏分子、pH敏感脂质体和多聚物等都可帮助实现溶酶体逃逸。

在多种siRNA纳米颗粒运送系统中，纳米脂质体系统是最有可能实现临床转化的。纳米脂质体由生物相容性材料磷脂双分子层构成，拥有亲水核心，能通过形成复合物及静电作用稳定储存siRNA。它们的电荷是典型中性，大小在30-40 nm之间，很容易进入细胞。纳米脂质体系统能保护siRNA不被循环系统降解，但由于纳米脂质体系统在血清中半衰期较短，容易被RES系统清除，所以作为药物，它们需要被不断输液或多次给药。研究人员们正在研究如何利用可持续给药的聚合物产品来克服这些弱点。其中固体脂质纳米颗粒由于出色的生物相容性及低毒性受到了研究者的青睐。

非生物材料或人工合成纳米颗粒，如无机晶体和贵金属，由于具有高稳定性以及容易被

寡核苷酸修饰的特性，因而被人们当作基因载体来研究。这些载体的大小通常在5-100 nm之间，因为小于5 nm的颗粒很快就会被肾脏清除，大于100 nm的颗粒则易被RES捕获，随后被激活的单核细胞和巨噬细胞降解。而大于200 nm的颗粒则会激活补体系统，比起较小的颗粒会更快、更有效地被清除。Oishi等人首次将siRNA与金纳米颗粒通过层层叠加的结构组合起来，形成超分子结构，实现了siRNA的持续性释放。此外，因为人们对载体和药物进行化学修饰，所以基于介孔二氧化硅纳

米颗粒的运输策略的研究也正在如火如荼地开展中。

尽管多项利用纳米颗粒靶向运送siRNA的研究已进入临床试验阶段，并显示出了基因沉默的效果，但关于siRNA的疗效目前仍然了解不多，因为这牵涉到纳米颗粒的组合、分解时间，以及siRNA在RNAi作用中的起效时间等因素。此外，多项运用siRNA对慢性骨髓白血病、肝癌、神经母细胞瘤和进展期实体瘤进行治疗的临床研究还在进行中。



# 百态 · 频道

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

### 3. 光热疗法

对于细胞来说，40-45 °C 区间属于过高热温度，高于42 °C 会提高癌细胞对放、化疗的敏感度；高于45 °C 可直接引起细胞死亡。对肿瘤组织进行的温热疗法是指使用射频（radiofrequency, RF）、微波、磁场或超声波破坏细胞膜、引起蛋白质变性，使细胞发生不可修复的损伤，最终引起细胞死亡。尽管温热疗法对肿瘤细胞具有一定的选择性——因为肿瘤细胞对温度的耐受力较正常细胞有所下降，但是这种疗法还是会因引起肿瘤周围正常组织的损伤，而受到限制。光热疗法（Photothermal therapy, PTT）则可通过使光热试剂选择性作用于靶细胞而克服这个问题。

PTT与传统的手术以及放、化疗不同，它利用纳米材料把光电能转化为热能，然后运用这种热能对肿瘤病灶进行加热，并定点清除，是一种毒副作用小的新型微创疗法。

为提高光热试剂效率，研究人员需要提高其光吸收及光热转化效率。由于以天然发色基团及染料，如吖啶菁绿（indocyanine green）等为代表的传统试剂存在吸收率偏低或光褪色等问题，所以近年来研究者已经开发出了一系列由表面等离子体共振

（surface plasmon resonance, SPR）作用，在近红外光范围内（特别是650-900nm 波长范围）有强吸收的纳米材料，包括贵金属纳米颗粒、聚合物纳米材料、碳基纳米材料以及过渡金属硫化物半导体纳米材料等。近红外区是机体组织的透过窗口，大多数生物材料对这个范围的光吸收率极低，而近红外光在机体组织的透过率最高，对机体的损伤也最小。通常球形金纳米颗粒在可见光约520 nm 的波长范围拥有最强SPR吸收峰，但是金纳米棒在纵向和横向两个方向各拥有不同的光吸收带，其中横向吸收波段为520 nm，纵向吸收波段通常位于高频波段，并可通过改变颗粒的长宽比在近红外光范围内调节，可增加该纳米颗粒在体内应用PTT的吸引力。与此类似，金纳米壳的SPR吸收峰也可通过壳厚度到核心的半

径比来调节。

纳米颗粒的SPR吸收系数比普通光热染料高4-5个数量级。对金属纳米颗粒的光激发会引起加热的电子气形成。该电子气在约1皮秒（picosecond,  $10^{-12}$ 秒）内通过与纳米颗粒晶格交换能量而迅速冷却，而纳米颗粒晶格大约在100皮秒内通过与周围环境交换热量而迅速冷却，如此达到摧毁周围组织的效果。除了上述途径之外，对金纳米颗粒的加热还可在纳米颗粒周围引起空化气泡，造成机械应力，导致细胞损伤。

为提高PTT的效率，光敏性纳米颗粒首先需要通过在全身或局部给药后聚集在肿瘤部位。这可以通过对纳米颗粒进行肿瘤特异性靶向分子修饰来实现。细胞实验表明，连接了抗表皮生长因子受体抗体（anti-epidermal growth factor receptor, anti-EGFR）的金纳米颗粒可以有效地结合到表达EGFR的癌细胞上，然后通过适合波长的激光脉冲产生约70-80 °C 的温度，最终借助热消融作用引起细胞坏死。与此同时，研究人员以未被纳米颗粒标记的细胞作为对照，发现即便采用4倍能量的激光，也未检测到由PTT引起的损伤。接下来的问题就是该如何将光能特异性传递到肿瘤部位。对此可运用通过放置到肿瘤附近的内镜或者光纤将近红外激光探针运送到肿瘤部位的方式。不论是作为单独的治疗手段，还是配合其它疗法，PTT在体外实验、动物模型及人离体标本试验中都取得了良好的效果。另外，PTT在难治型头颈部肿瘤以及肿瘤干细胞等的治疗中也取得了一定的进展。

将氧化铁纳米颗粒溶液直接注射到肿瘤内部后，施加外部振荡磁场，使颗粒振动产热也能杀死肿瘤细胞。由于水中的铁纳米颗粒单位体积粒子密度高，利于能量吸收，所以适合非接触的肿瘤特异性的热能疗法。在前列腺癌、恶性胶质瘤及乳癌模型中，磁流体热疗都已显示出优越的疗效，并进入临床试验阶段。不过至今，人们还未能通过全身注射氧化铁纳米颗粒来实施磁流体热疗。

## 4. 纳米颗粒应用于分子成像

传统影像学采用x线平片、超声波、计算机断层扫描 (computed tomography, CT) 和磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 等技术来进行肿瘤筛查和追踪。不过, 所有这些形式都只能在当肿瘤已形成一个可观测到的实体 (约 $1\text{ cm}^3$ ) 时, 才能发挥检测作用, 而事实上这个尺寸的实体瘤中已含有约100万个肿瘤细胞。近10来年, 成像的观念模式已从解剖成像模式向分子成像转变, 后者能在远远早于实体瘤出现的时间, 在分子水平监测肿瘤的发生。分子成像能够在体内检测到原癌基因相关的遗传物质改变, 进而据此预定分子治疗的方案, 通过个体化治疗等手段为病人带来最大的利益。同时分子成像技术还能提供治疗后的可重复、非侵入的疗效监测和复发追踪。

传统成像技术可以选择性地使用成像试剂指示存在的特征 (如通过静脉注射造影剂进行血管或组织灌注), 但分子成像技术是必须要使用特定的成像试剂的。传统上, 测量范围在2000道尔顿及约 $1\text{ nm}$ 的小分子试剂 (如2-deoxy-2-( $^{18}\text{F}$ )fluoro-D-glucose, FDG) 都能被应用于正电子成像 (positron emission tomography, PET)。但由于这类试剂往往存在信号密度低、稳定性不佳、非特异结合, 且会被循环系统快速清除等种种不足, 所以需要开发新型探针试剂。纳米颗粒在克服这些限制方面显示出了巨大的潜力, 并且目前已被用于开发分子成像试剂。当进行光学成像时, 纳米颗粒可以提高信号密度, 在深层组织标记少量细胞就能提供稳定持久的信号。

纳米颗粒还拥有高亲和力, 可以结合多种配体, 并可与细胞靶向结合, 因此能将结合常数提高4-5个数量级。这个优势让更多的纳米颗粒积聚在肿瘤部位, 提高了信噪比, 使肿瘤组织相对于正常组织信号更强、更易辨识。大部分纳米颗粒成像试剂大于 $10\text{ nm}$ , 不易被肾脏从循环系统中清除, 因此与小分子相比,

前者可以在循环系统中存在更久, 这个特性在需要重复成像时非常有用, 避免了多次给药带来的麻烦。有趣的是, 研究表明, 较小的纳米颗粒在组织中的分布更均匀, 而且与球形纳米颗粒相比, 非球形的纳米颗粒 (如纳米碟、纳米管等) 可以被更有效地运送到靶区域。当然, 实际应用中还需要权衡非球形纳米颗粒中可能存在的更高毒性所带来的风险, 制定对应策略。由于肿瘤是一种多因素影响及多基因调控的疾病, 所以同时检测多个分子靶点可以提高肿瘤检测的特异性。对此, 一种方法是标记不同的纳米颗粒, 每种颗粒对应一种分子标记靶点, 然后将这些颗粒同时给药。这些结合到肿瘤细胞上的、不同标记的纳米颗粒给出的信号可用于绘制肿瘤分子靶点图谱, 为后续的治疗方案提供依据。另一种诊疗策略则是在肿瘤分子靶点图谱已知的情况下, 对同一种纳米颗粒进行多种配体 (已知在该肿瘤中表达上调) 的标记。因为当肿瘤比背景组织含有更多靶点时, 就会结合更多纳米颗粒, 显示更强的信号。另外, 纳米颗粒还能够采用多模式设计, 即通过两种及以上的不同方式成像 (如荧光和MRI)。为提高纳米颗粒成像试剂的运送效率, 不同研究小组正在研究分别注射亚单位或构建纳米颗粒平台。利用现成的触发条件, 如pH调节、还原作用、酶解作用等, 这些亚单位可以自组装成超分子纳米颗粒探针, 随后被用于分子成像。这种策略的优势在于这些亚单位体积可以更小, 因此更容易进入肿瘤, 可在目标靶点达到最大积聚量。比如可以在细胞中通过硫醇敏感的还原作用 (1, 2-氨基硫醇和2-氰基苯并噻唑) 聚集组装的含有钆的单体, 以及对特定蛋白酶 (如在肿瘤内高表达的弗林蛋白酶和caspase-3) 敏感的探针等。

在很多新型纳米试剂已进入临床前开发阶段的同时, 超顺磁性氧化铁纳米颗粒 (superpara- magnetic iron oxide nanoparticle, SPION) 已经被应用于肝癌、

心血管、细胞和淋巴的临床成像。粒径等于或小于20 nm的氧化铁（ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 和 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ）纳米颗粒在室温下通常显现出超顺磁性，这让它们可被广泛应用于临床诊断领域。SPION因其可生物降解而被认为在体内呈低毒性。在降解过程中铁原子被释放后进入正常的血浆铁池，随后可用于组装血红蛋白或其它代谢过程。由于SPION在生物体组织内的特异性分布特性有助于提高该部位肿瘤与正常组织的MRI对比度，所以它可以作为造影增强剂被应用于MRI，进行肿瘤及其它疾病的诊断。例如SPION可被RES细胞吞噬。正常肝组织如含有RES，会富集SPION；反之，若肝癌组织中不含有RES，则无法聚集SPION，这会在影像上与周围的正常组织形成反差。当然，对SPION进行靶向修饰可以反转这种差异。此外，在SPION上结合多肽序列，如（arginyl-glycyl-aspartic acid, RGD）——可特异性结合新生血管上皮细胞高表达的整合素（如 $\alpha v \beta 3$ ），从而指示肿瘤新生血管部位。起初研究者认为在SPION上结合单克隆抗体不现实，因为这会造成体积过大而很容易被RES清除，但多项研究表明结合单抗的SPION已在实验模型中被用于检测肠癌、小细胞肺癌和食管鳞癌。当然，纳米颗粒—抗体复合物增加的体积对纳米颗粒“隐形”特征不无影响。还有研究小组致力于在SPION上结合寡核苷酸适配子——一类人工合成的、小体积的、特定序列的寡核苷酸，它也能以很高的特异性和亲和力结合配体。

另一种新型光学成像纳米颗粒是量子点（quantum dot, QD）。这种纳米颗粒是以硒化镉（CdSe）为核、CdS或ZnS为壳的核—壳型半导体纳米晶体，它的体积范围在2-10 nm。由于QD具有独特的光学性质，其反射光波长不取决于QD的材质，而取决于大小，因此精确调控QD的大小可以调整反射光的波长和颜色，该作用被称为“量子尺寸效应”（size quantization effect）。与传统的荧光

分子相比，QD的光强度约高20倍，稳定性要强100倍，并且有更好的组织渗透能力和长期成像能力。目前QD已被广泛应用于分子生物学领域，人们可以利用它们开展DNA检测、细胞示踪和体内分子靶向等工作。QD还可以与多种配体（包括前列腺特异性膜抗原、EGFR、叶酸和RGD多肽等）结合，实现靶向定位。用RDG多肽标记双功能（PET-近红外）荧光QD还可构建多功能QD。结合了近红外荧光信号的组织穿透力更强、信噪比更高，同时PET信号可提供更高质量的层析图像，它因此能够发挥肿瘤靶向定位功能。

拉曼光谱（Raman spectroscopy）是另一种光学成像技术，它能克服荧光成像的多种局限。其原理是单色光照射到分子上时，大部分光子发生弹性散射，少数光子将能量传递到分子上引起振动，然后携带较低能量非弹性散射。这种入射光线与散射分子间的能量交换称为拉曼效应（Raman effect）。该效应通过能量交换获得分子振动的信息，进而获得物质的结构信息。由于拉曼效应的量级很低（约 $10^7$ 个弹性散射光子对应1个非弹性散射光子），因此其灵敏度以及在临床上的应用受到了限制。但是有赖纳米技术的进展，现在我们已经可以通过“表面增强拉曼散射”（surface-enhanced Raman scattering, SERS）现象来克服上述问题。SERS是一种等离子效应（plasmonic effect）。在金、银、铜等金属的粗糙表面或溶胶中，电磁场的增强会引起吸附分子的拉曼散射信号比普通拉曼散射（NRS）信号大大增强。鉴于此，构建以粗糙表面金纳米颗粒为核心，覆盖一层拉曼有机分子，然后将其整体包封在二氧化硅外壳内的结构，可以显著增强拉曼信号，如果将其用做检测深层组织皮摩尔浓度的纳米颗粒，它就成为了体内成像的理想试剂。尽管SERS纳米颗粒和QD有着非常广阔的应用前景，但想要进入主流临床应用，还需要先解决其潜在的生物毒性问题，尤其是在含镉元素成分的情况下。

## 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](mailto:editor@lifeomics.com)

## 四、纳米颗粒在肿瘤诊疗领域的综合应用

治疗诊断 (Theranostics) 学/科技指的是一种试剂可同时做诊断和治疗之用。例如, 单一纳米颗粒既可作为造影剂, 又可作为药物载体或治疗药物。如果将这些功能结合起来, 研制出集成成像和药物传递等功能于一体的“智能纳米颗粒”, 那么就能实现集诊断、靶向治疗和疗效监控于一体的整合系统。

通过设计这样的多功能纳米颗粒, 人们将有望加快药物研发的进程, 同时减少研发费用和降低研发风险。随着聚合与乳化工艺的发展, 人们可以将纳米颗粒制作成亲水和疏水面, 以结合不同活性的材料 (如同时结合亲水的造影剂和疏水的治疗药物, 反之亦然)。

用于MRI的SPION由于其独特的理化特性而被作为潜在的治疗诊断学试剂被人们深入研究——可以在其外部覆盖一层化疗药物 (如甲氨蝶呤、曲妥单抗和替莫唑胺), 或在双重乳剂胶囊内同时结合亲水和疏水化疗药物以用于改进治疗效果, 或制备成中空多孔结构用于装载化疗药物 (如顺铂), 实现可控药物释放。SPION还能通过交联结合DNA (如肿瘤抑制基因*p53*), 作为可通过MRI示踪的基因载体。其它更复杂的纳米技术 (例如使用聚合的脂质体载体——用有叶酸包裹的PEG化的脂质外壳实现肿瘤靶向, 同时装载了SPION用于示踪, 还携带了可控制释放的阿霉素用于杀死肿瘤细胞) 也在研制中。还有的技术采用SPION内核包覆多聚阳离子表面 (如聚乙烯亚胺等), 该表面可以通过静电相互作用结合siRNA, 形成磁向量载体, 在外部磁场作用下, 可快速定位并富集到靶细胞表面发挥功能。还可以用<sup>64</sup>Cu把SPION标记 (可同时用于PET /MRI成像) 后结合阿霉素 (用于肿瘤治疗), 接着再用RGD (精氨酸-

甘氨酸-天冬氨酸) 修饰 (提供肿瘤血管靶向功能)。还有将阿霉素通过 pH敏感的胺键结合到PEG化的SPION上, 以此实现在酸性肿瘤微环境中对药物释放的控制。最近《生物材料》(*Biomaterials*) 杂志报道了一种可用于注射的、装载了热敏超顺磁性氧化铁纳米颗粒的纳米胶囊水凝胶 (SPION-NHs) 系统, 该系统可在MRI长期监控下对肿瘤细胞进行多轮磁热治疗, 而且对肿瘤周围正常组织没有明显的损伤, 并可生物降解。

碳纳米管 (Carbon nanotube, CNT) 由于拥有极强的近红外光吸收能力, 因此可作为理想的光热疗法试剂, 同时也能应用于光声和光学成像 (图4)。有不少研究小组在利用CNT进行抗肿瘤免疫治疗研究, 结果显示CNT作为抗原递呈载体可提高肿瘤免疫原性, 从而引发机体对抗肿瘤的免疫反应。阳离子CNT还能用作siRNA载体用于基因沉默治疗。利用金纳米颗粒包覆超顺磁核心可提供既能用于MRI成像, 又能实现PTT的多功能纳米平台。

纳米颗粒还能被设计成同时运送一种以上的药物或活性物质的工具, 以通过不同的机制杀死肿瘤细胞。在一种纳米载体上通过精心设计, 组合两种不同作用机制和药物代谢动力学的药物, 可实现对抗肿瘤药物/光敏剂的生物作用途径的控制, 并提升药物到达身体同一部位的共定位效应。最近已有研究表明, 通过这种方法, 细胞毒性药物可以和光敏剂配合治疗肿瘤, 还可提供抗肿瘤协同效应, 诱导抗肿瘤免疫力提升, 以及在一定程度上逆转多药耐药反应。

另一项在材料科学前沿已成为纳米技术研究热点的潜在应用是整合非侵入性的光动力

学疗法PDT和光热疗法PTT。PTT通过可将近红外光谱的电磁能转化成热能的材料引起局部组织产生高热，导致细胞死亡。通常，在贵金属纳米颗粒，如金纳米棒表面覆盖光敏剂可促进试剂在肿瘤部位累积及PDT/PTT的协同作用。尽管治疗效果不错，但由于光敏剂和光热试剂的吸收波长存在差异，所以使用这种策略通常需要使用两种试剂，并配合两种不同波长的激光。因此，开发更加简单有效的策略，以同时进行PDT和PTT治疗，就成为了迫切需要解决的问题。Chen等人将金纳米颗粒（AuNR）和吲哚菁绿（ICG）装载至壳聚糖纳米颗粒中，该纳米颗粒-药物复合物可以在小鼠模型中将金纳米颗粒（AuNR）和吲哚菁绿（ICG）有效地传递至肿瘤细胞，并在

808 nm激光照射下同时产生足够的热能和活性氧，杀死肿瘤细胞。与单独进行光热疗法或光动力疗法相比，该方法有显著的协同效应，因此可以提高治疗效果。近来，Zhang等人的研究显示，装载有单一光敏剂二氢卟吩e6的聚多巴胺（PDA）纳米颗粒在对抗肿瘤细胞时显示出显著光动力治疗效果的同时，由于PDA纳米颗粒在808 nm激光照射下具有出色的光热转换能力，还可作为PTT的光吸收试剂；此外，PDA纳米颗粒也可作为一种非常有潜力的双模式光治疗药物。

尽管关于集诊疗功能于一体的多功能纳米颗粒的许多研究还处于细胞水平或动物模型水平，结果也有待于进一步验证，但无疑已展现了令人振奋的前景。

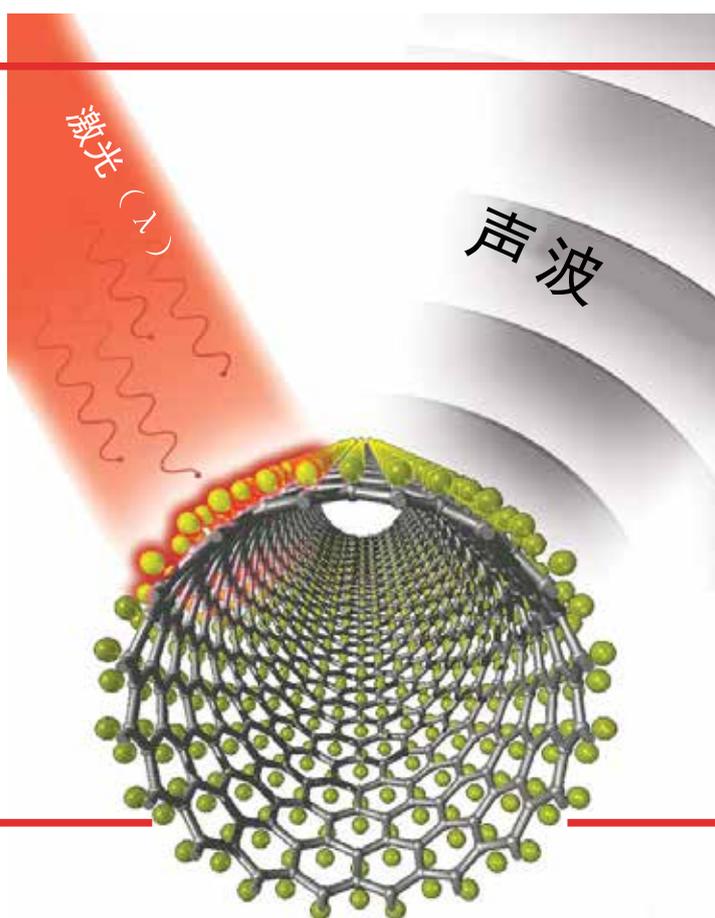


图4 应用于诊疗领域的纳米颗粒。经设计的纳米颗粒既可用于诊断，又可用于治疗。利用近红外光，碳纳米管除了可以通过光热疗法使肿瘤细胞热消融外，还可以被光声成像检测到。

图片来源：Thakor AS, Gambhir SS. (2013) Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin*, 63(6): 395-418.

## 五、纳米技术在肿瘤诊疗领域的发展前景

目前，国内医疗市场上的新药开发很大程度上依赖进口药物和专利。而进口药物的研发，多以当地人种为主要研究对象。由于遗传、地域及生活习惯等差异，研发对象从疾病谱到临床评价指标，与我国患者的现状都可能存在很大差异。抗癌药物也是一样，进口抗癌药物的研发技术不一定适合国内患者。新药研发应着眼于中国医疗的需求，把握中国疾病谱的特点，针对中国患者的遗传基因、地域环境和生活习惯等专门开发新药，并以“精准医疗”、“个性化医疗”为切入点，加大投入力度，以应对人民群众日益增长和不断变化的医疗需求。另外，以提供安全、合理、个性化的医疗服务为目标，以具有独特优势的各种形式的纳米技术为支持，进行各交叉学科新领域的研究以及研发和应用新型诊疗技术及药物，必定是未来医疗发展的主要方向，这将为业内人士提供大量的创新机遇和广阔的市场前景。

纳米生物传感器、生物芯片及纳米机器人

(图5)近年来屡见报道，这些纳米技术与基因生物学的技术产物已在体内的生物传感与智能配送试剂方面取得了一定的进展，并拥有巨大的发展潜力，为精准医疗的发展提供了有力的工具。利用这些新技术，针对肿瘤组织的特征，确立各种针对性的医疗策略是纳米技术应用于肿瘤诊疗的主要发展方向。这些方向包括：以肿瘤干细胞为靶点进行治疗、阻断肿瘤多药耐药机制、开发纳米综合诊疗平台、结合患者的个体特征(如遗传基因等)设计个性化的纳米药物或诊疗方案，同时不断提高纳米药物的生物相容性等。此外，将纳米药物与现有的放化疗手段结合，可在限制全身毒性作用的前提下增强对肿瘤的局部控制，如最近Appelbe等人的研究结果表明，图像引导放疗技术(Image-guided radiotherapy)可以通过损伤肿瘤微血管或细胞外基质，促进纳米颗粒在肿瘤部位的聚集。

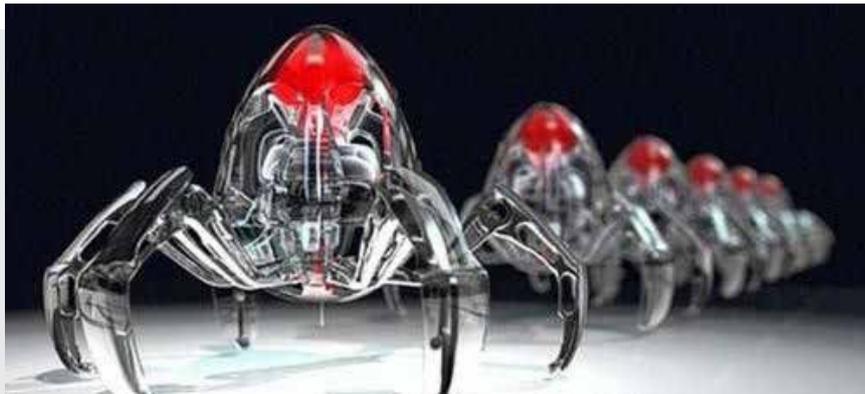


图5 纳米机器人。也许有一天，人类可以借助这些超微机器人攻克更多疾病。

图片来源：<http://www.pinnacle.cn/tag/%BB%FA%C6%F7%C8%CB/>

以黑素瘤的治疗为例，纳米技术的发展为克服肿瘤细胞耐药性和药物毒性的问题提供了多种可能的策略。目前，药物毒性仍是细胞毒性和免疫治疗的瓶颈。利用纳米技术提高抗肿瘤药物的定位给药效率，可以在提高药效的同时降低药物毒性。同时还有其他各种策略，如

优化药物代谢动力学、设计能够缓解已知的在黑素瘤中的耐药机制的药物，以及扩展现有药物的应用范围等来避开耐药性的问题等。一些正在进行中和新近结束的涉及纳米技术的黑素瘤临床试验见表1。

表1 涉及纳米颗粒和黑素瘤的临床试验。信息来源clinicaltrials.gov.

生物活性药物	疾病诊断	临床试验分期	状态/结果	临床试验编号
白蛋白结合紫杉醇和贝伐单抗对比伊匹单抗	不可切除黑素瘤IV级	II期	尚无结果	NCT02158520
白蛋白结合紫杉醇和贝伐单抗	不可切除黑素瘤IV级	I期	尚无结果	NCT02020707
白蛋白结合紫杉醇、贝伐单抗和卡铂对比替莫唑胺和贝伐单抗	不可切除黑素瘤IV级	II期	在无进展生存期（PFS）与总生存期（OS）出现好转但无统计学显著性差异	NCT00626405
白蛋白结合紫杉醇	不可切除黑素瘤IV级	II期	和标准治疗相比，可改善缓解率（RR）、无进展生存期（PFS）与总生存期（OS）	NCT00081042
白蛋白结合紫杉醇和卡铂	不可切除黑素瘤IV级	II期	中度良好耐受性并有较好的临床效果	NCT00404235
靶向PMSA肿瘤抗原，装载多西紫杉醇的聚合物纳米颗粒（BIND-014）	进展或转移癌	I期	尚无结果	NCT01300533
小分子抑制剂PLX7486、吉西他滨和蛋白结合型紫杉醇	进展期实体瘤包括黑素瘤	I期	尚无结果	NCT01804530
环糊精装载抗-核苷酸还原酶M2亚单位（R2）siRNA	进展期实体瘤包括黑素瘤	I期	终止，临床效果未报道，但在黑素瘤患者中有显示效果的证据	NCT00689065
长春新碱脂质体	黑素瘤及肝功能障碍	I期	完成，有药代动力学数据	NCT00145041
阿糖胞苷脂质体、环己亚硝脲和放疗	黑素瘤转移至柔脑膜	I期	尚无结果	NCT01563614
环糊精包含喜树碱聚合物	进展期实体恶性肿瘤	I/II期	完成，有令人鼓舞的安全及有效性数据	NCT00333502

表格来源：Brys, A.K., *et al.*, (2016) Nanotechnology-based strategies for combating toxicity and resistance in melanoma therapy, *Biotechnol Adv*, 34(5):565-577.

PFS（progression-free survival）：无进展生存期；OS（overall survival）：总生存期；RR（Response Rate）：缓解率。

注：临床试验分期：

I期临床试验：初步的临床药理学及人体安全性评价试验。观察人体对新药的耐受程度和药代动力学，为制定给药方案提供依据。

II期临床试验：治疗作用初步评价阶段。初步评价药物对目标适应症患者的治疗作用和安全性，为III期临床试验研究设计提供依据。

III期临床试验：治疗作用确证阶段。进一步验证药物对目标适应症患者的治疗作用和安全性，评价利益与风险关系，为药物注册申请获得批准提供充分的依据。

IV期临床试验：新药上市后由申请人自主进行的应用研究阶段。考察在广泛使用条件下的药物的疗效和不良反应；评价药物在人群中使用的利益与风险关系；改进给药剂量等。

目前人们将由纳米技术支持的各种诊疗手段，包括但不限于PDT、基因沉默、PTT及分子成像等，作为实体瘤的备选或辅助疗法，相关研究和应用也正处于快速发展期。纳米颗粒为构建针对肿瘤各种特性的纳米药物和多功能纳米平台构建提供了丰富的选择和技术支持。但随着纳米技术的应用越来越广泛，纳米颗粒生产工业的日益发展，提高纳米颗粒生产和使

用的安全性问题也必须引起足够的重视。由于纳米颗粒可直接穿透人体皮肤引发多种疾病，而纳米材料潜在的免疫毒性也会对健康产生不利影响，因此生产中的防护措施和废弃物排放对环境的影响——包括对环境中动物（如水中无脊椎动物）及植物的短期伤害和长期影响的研究、废弃物无害化处理工艺的研究，也应是纳米工业研究的主要的方向。

#### 原文检索：

1. Thakor AS Gambhir SS. (2013) Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin*, 63(6): 395-418.
2. Rong Xu *et al.* (2016) An injectable nanoparticle generator enhances delivery of cancer therapeutics. *Nature Biotechnology*, 34(4): 414-418.
3. Brys, A.K., *et al.* (2016) Nanotechnology-based strategies for combating toxicity and resistance in melanoma therapy. *Biotechnol Adv*, 34(5): 565-577.
4. Claudia Conte *et al.* (2016) Polymeric Nanoparticles for Cancer Photodynamic Therapy. *Top Curr Chem*, 370: 61-112.
5. Zhang ZQ, Song SC. (2016) Thermosensitive/superparamagnetic iron oxide nanoparticle-loaded nanocapsule hydrogels for multiple cancer hyperthermia. *Biomaterials*, 106: 13-23.
6. Appelbe OK, Zhang Q, Pelizzari CA, Weichselbaum RR, Kron SJ. (2016) Image-guided radiotherapy targets macromolecules through altering the tumor microenvironment. *Mol Pharm*, 13(10): 3457-3467.

# 全程助力启动子研究， 你不再孤单！

## GLuc-ON™ 启动子报告克隆

GLuc-ON™ 启动子克隆采用分泌型的Gaussia荧光素酶（GLuc）作为报告子，双报告基因载体系统以Gluc作为启动子报告基因，以分泌型碱性磷酸酶（SEAP）作为信号标准化的内参，可在活细胞中对超过20,000种人类和18,000种小鼠启动子进行实时活性分析。

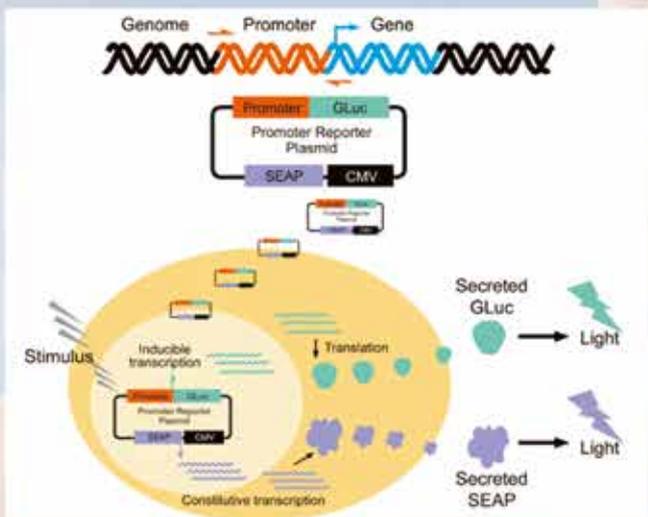


图1. GLuc-ON™ 启动子克隆工作流程。

### 优势

**活细胞分析：**含分泌型Gluc报告子和分泌型碱性磷酸酶，无需裂解细胞。

**实时研究：**所有启动子克隆均可直接用于细胞转染，可获得即时检测数据，与实时活性分析过程类似。

**高灵敏度：**采用GLuc作为报告基因，与萤火虫或Renilla荧光素酶相比灵敏度高1000倍。

### 启动子效率验证载体类型

载体	报告基因	跟踪基因	筛选标签	载体类型	配套试剂盒
pEZx-PG02	Gaussia luciferase (GLuc)	N/A*	Puromycin	非病毒	SPGA-G010 (100次反应)
pEZx-PG04	Gaussia luciferase (GLuc)	分泌型碱性磷酸酶 (SEAP)	Puromycin	非病毒	SPDA-D010 (100次反应)
pEZx-LvPG02	Gaussia luciferase (GLuc)	N/A*	Puromycin	慢病毒	SPGA-G010 (100次反应)
pEZx-LvPG04	Gaussia luciferase (GLuc)	分泌型碱性磷酸酶 (SEAP)	Puromycin	慢病毒	SPDA-D010 (100次反应)

产品与服务	质量承诺
启动子报告克隆	✓ 克隆经过测序验证，可直接用于转染 ✓ 双报告系统：无需裂解细胞，活细胞实时检测
启动子缺失与突变服务	
启动子效率验证服务	
荧光素酶检测试剂 (Gluc + SEAP, 活细胞实时定量检测)	
启动子的慢病毒包装服务	
<b>同时订购启动子报告克隆与荧光素酶检测试剂， 享9折优惠！</b>	

产品名称	描述	货号	价格
Secrete-Pair™ Dual Luminescence Assay Kit	检测Gaussia荧光素酶 (GLuc) 和分泌型碱性磷酸酶 (SEAP) 活性，可与GLuc-ON™启动子报告克隆和miTarget™ miRNA 3' UTR靶标克隆配套使用。	SPDA-D010 (100次反应)	¥1110
Secrete-Pair™ Gaussia Luciferase Assay Kit	检测Gaussia荧光素酶 (GLuc) 活性，可与GLuc-ON™启动子报告克隆配套使用。	SPGA-G010 (100次反应)	¥620

## Gaussia 荧光素酶

GLuc-ON™启动子克隆采用经过修饰的GLuc (mGLuc) 作为报告基因，能产生强烈且稳定的荧光信号，克服了人类野生型GLuc (wtGLuc) 信号衰退快等缺点。

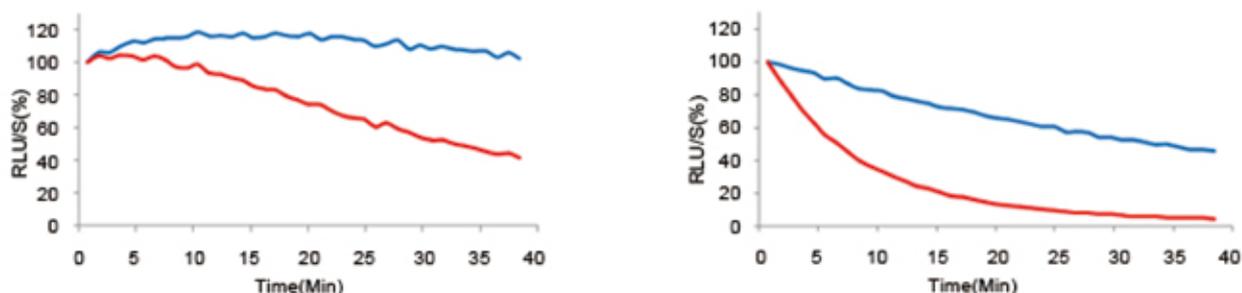


图2. mGLuc (蓝色) 和 wtGLuc (红色)的信号稳定性。



扫一扫，关注官方微信号  
易锦生物

### GeneCopoeia, Inc.

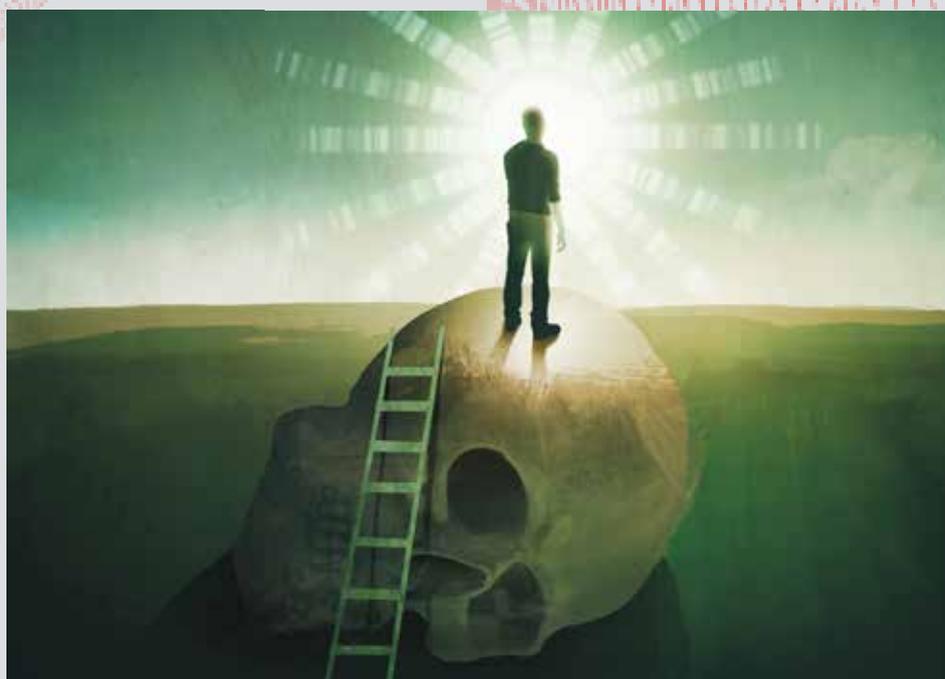
Tel: 4006-020-200 020-32068595  
 Email: sales@igenebio.com  
 Web: www.genecopoeia.com  
 www.igenebio.com

# 热点

Hot topics

重新审视“致病”突变

---



## 究竟世界上最大规模的基因组资源是如何潜移默化地改变着科研人员们对人类遗传学的认识的？

---

每个人的基因里都大约潜伏着54个突变，这些突变也许会让携带者生病，甚至死亡。但实际上，这些突变却没有危害我们的身体。Sonia Vallabh希望D178N突变也是这些无害突变种的一个。

2010年，Vallabh亲眼目睹她的母亲死于一种奇怪的疾病——致死性家族性失眠症（fatal familial insomnia）。患有这种疾病的患者大脑里会出现折叠错误的朊蛋白（prion proteins），这些异常蛋白会聚集在一起破坏患者的大脑。2011年，Vallabh也被查出携带了朊蛋白编码基因——PRNP基因，而且该基因与她母亲的一样，发生了D178N突变（该突变极有可能是导致她母亲发病的原因）。这无疑是在给Vallabh宣判了死刑，致死性家族性失眠症通常在50岁左右发病，而且进展极为迅速。但是当年只有26岁的Vallabh却非常平静地接受了这一切。她和她的丈夫Eric Minikel都辞去了极有前途的律师工作，转身成为了生物学的研究生。他们希望了解一切有关致死性家族性失眠症的知识，以及一切有可能干预这种疾病的手段。其中最重要的一项工作就是确定D178N突变是否是导致致死性家族性失眠症发病的原因。

这个问题几年前还很少有人提及，但是医学遗传学却一直处于不断的思考和发展之中。21世纪以来，基因组学研究获得飞速发展的同时，也给我们积累了海量的与疾病和失能有关的基因突变信息。在这些相关性中，有很多都是比较明确的关联关系，但是也有很多乌龙事件，有一些原本被认为是与疾病或死亡有关的突变，后来又被“平反”了。这主要归功于史上最大型的遗传学研究——外显子组集合研究（Exome Aggregation Consortium, ExAC），是它帮助我们发现了这些“披着狼

皮的羊”。

ExAC研究的思路非常简单，就是集合6万多人基因组里所有编码蛋白质的基因，即外显子组序列信息，然后将其构建成一个数据库，以供全世界的科研人员使用。通过对这些序列进行比对，研究人员可以了解这些序列的变异性。这个数据库为生物医学研究带来了巨大的影响，比如可以帮助科研人员识别非真实的疾病—基因关联；也可以帮助科研人员发现新的疾病—基因关联。通过观察不同人群的突变频率，还可以发现很多基因的功能，以及这些基因的作用机制。

美国哥伦比亚大学（Columbia University in New York City）的遗传学家David Goldstein认为，ExAC数据库颠覆了整个人类遗传学领域。科研人员们不用再从某种疾病，或者某种性状入手，寻找与其相关的遗传变异信息，而是可以直接从“可疑的”、看似与某种性状或疾病有关的变异信息入手，查看携带有这些变异的人们是否就是他们要找的，携带那种特定性状，或者患有某种疾病的人。对此，Goldstein这样评价：这完全是一种不同于以往的、全新的工作方式。

ExAC数据库还能够更好地帮助我们对整个家族进行遗传学诊断。比如与朊病毒（prion）密切相关的D178N突变几乎就只见于朊病毒相关疾病患者。在ExAC数据库诞生以前，没有人真的知道这种突变的发生频率究竟有多么低。如果这种突变的发生几率比罹患朊病毒相关疾病更高，那么就有可能说明Vallabh患病的几率其实没有她自己预计的那么高。

Minikel表示，他们需要搞清楚在健康人群中是否也能见到这种突变。

## 收集数据

ExAC数据库的诞生之路充满了困难和挫折。2012年，遗传学家Daniel MacArthur开始在美国麻省总医院（Massachusetts General Hospital, MGH）建立自己第一间实验室。他希望能够找到罕见肌肉疾病（muscle diseases）的致病突变基因。这需要两样东西的辅助，一是这些患者的基因组序列信息；二是健康人的基因组序列信息。如果某种突变在患者的基因组中出现的频率更高，那么它有可能就是致病突变。

可是MacArthur却很难找到他所需要的、足够的、非患者的序列信息。他需要大量的外显子组（exomes）序列信息，虽然科研人员已经获得了数千个外显子组序列，但这还是满足不了MacArthur的要求。至今还没有人将这些信息以一种标准化的方式汇集到一起，形成一个规模足够大的数据库。

于是MacArthur开始找他的同事们帮忙，希望他们能够与他分享数据信息。作为一个很早就开始涉足社交媒体的“时尚人士”，MacArthur也非常适合做这种工作，因为他写了很多生动的博客，和一语中的的推文，这让他年轻的科研人员中拥有很高的人气和影响力。而且MacArthur在拥有强大基因组测

序实力的美国博大研究院（Broad Institute in Cambridge, Massachusetts）拥有职位。最终，MacArthur从其他科研人员那里获得了数十万个外显子组序列，其中大部分都来自与博大研究院有联系的科研工作者。

接下来的工作就是数据解读和分析工作了，这也是最为重要的一项工作。虽然研究人员已经拿到了基因的测序结果，但还是采用好几种不同的软件（包括几款已经过时的软件）对最原始的数据进行了分析。因为如果在某人的基因组中发现了一个非常罕见的突变，那么它既有可能是真实存在的突变，也很有可能是软件分析时发生的误读，所以MacArthur需要一些手段帮助他将这些数据进行标准化处理。尽管博大研究院开发了一款基因组识别软件（genome-calling software），但是这款软件无法处理ExAC数据库这么大规模的数据量。鉴于此，MacArthur的课题组与博大研究院的软件开发部门开展了紧密的合作，对这款软件进行了升级测试。据MacArthur回忆，那一年半的升级测试工作真的是非常辛苦，他们几乎碰到了所有能够想象到的问题，而且当时他们对这些困难简直一筹莫展。

## Minikel

### 决定赌一把

2013年4月，就在Minikel努力解决生物信息学问题的同时，Vallabh正在美国麻省总医院学习干细胞试验技术。有一次在吃午饭之际，Minikel碰到了MacArthur，并向MacArthur讲述了他和Vallabh对健康人体内携带的D178N突变的疑惑。Minikel承认，他非常崇拜MacArthur。据Minikel介绍，他当时认为，如果他们能够让MacArthur思考这个问题，哪怕就半个小时，那也会是Minikel那一个月时间里最重要的一件大事。午饭后，Minikel和MacArthur一起回到了MacArthur的实验室。实验室的生物信息学家Monkol Lek正在ExAC数据库里检索数据。当时ExAC数

据库里已经收录了2万个已经被分析过的外显子组数据，可是他们并没有找到Vallabh的突变信息。虽然这并不是一个好消息，但是从乐观的一面来看，还是有继续研究的空间，于是Minikel决定加入MacArthur的团队，一起工作。

到2014年6月，MacArthur等人已经收集到了来自不同种族的、60706个健康人的外显子组数据。他们于2014年10月在美国加利福尼亚州圣地亚哥市举行的美国人类遗传学年会（American Society of Human Genetics, ASHG）上宣布开放ExAC数据库。这立刻引起了一阵轰动，科研人员和临床医生们都意识

到，他们对遗传风险的认识将会被改写。

很多与疾病有关的研究（尤其是近几年来发表的研究）都发现，我们之所以会认为有些突变是致病突变，是因为科研人员们只看到了患有这些疾病的患者携带了这些突变，并没有到健康的人群中查看这些突变是否也有致病作用。当然，这些健康人群提供的基线数据其实也主要来自欧洲裔人群，这也带来了一定的误差。

2016年8月，MacArthur团队在《自然》（*Nature*）杂志发表文章，公布了他们对ExAC数据库的分析结果。他们发现，有很多我们之前认为是有害的突变，其实极有可能

对人体并没有什么坏处。同样，之前还有一个科研团体曾经对192个“致病”突变进行过分析，结果却发现，这些突变其实都只不过是常见的突变。科研人员们对与这些突变有关的论文进行荟萃分析，试图找出证据证明它们就是致病突变，但是最终只能够找到确凿的证据表明，其中的9个突变才是真正的致病突变。按照美国医学遗传学和基因组学学院（American College of Medical Genetics and Genomics）的标准，这些突变绝大多数都属于良性突变（benign），因此，其中有很多突变最近已经获得了“平反”。



Daniel MacArthur说服众多科研人员，分享了数万人的遗传学数据。

这些工作也给临床实践带来了直接的影响。在同期发表的另外一篇文章中，来自英国牛津大学（University of Oxford, UK）的遗传学家Hugh Watkins重点介绍了与某种特定类型的心肌病（cardiomyopathy）有关的基因。这种心肌病患者的的心脏会逐渐衰竭，最终往往导致患者发生猝死。所以，现在有很多该疾病患者的家属都在开展该基因遗传学检测，以查看自己是否携带了这种遗传突变。很多检测结果为阳性的人都会选择佩戴一个植入性除颤器（implanted defibrillator）。而Watkins在对ExAC数据库进行检索之后发现，这些突变在健康人群中出现的几率其实比心肌病患者更高。以前认为，大约有60个基因都与一种心肌病有关，现在通过Watkins的研究发现，其中有40种突变毫无意义。

Watkins表示，如果你做完遗传学检测之后发现自己是某种疾病的高危人群，那么你可能会做一些过激的举动，甚至可能会伤害到一些人。可实际情况却是，你根本没有问题，你其实很安全。这就非常麻烦了。

即便是那些貌似非常确凿无误的“致病”突变，其实也不一定可靠，PRNP基因就是一个很好的例子。的确，有一些PRNP突变基因的确会导致疾病，但是有一些PRNP突变基因不是致病基因，或者只会轻微升高患病风险（图：并非致命的突变）。为了确定D178N突变的实际意义，Vallabh和Minikel收集了1.6万多名朊病毒疾病患者的遗传数据，然后与包括ExAC数据库在内的接近60万名健康人的遗

传数据进行了比对。

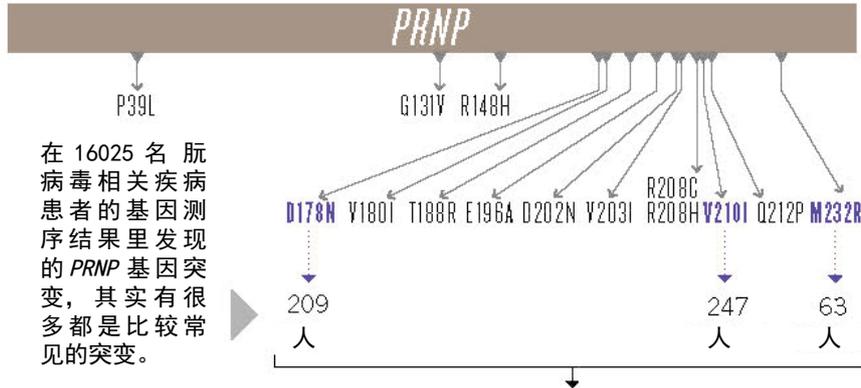
结果发现，在ExAC数据库中，有52人也携带了与朊病毒疾病有关的PRNP突变基因，但是如果根据这种疾病的发病率来推算，在ExAC数据库中，应该只有两个人携带这种与朊病毒疾病有关的PRNP突变基因。Minikel估计，这些貌似致命的突变可能只会稍微增加携带者的患病风险，而且其中有一些突变与朊病毒疾病根本就没有关系。

Minikel等人开展的这项工作也给Alice Uflacker等人带来了很大的启发。2011年，Uflacker的父亲Renan死于克雅氏病（Creutzfeldt-Jakob disease），去世时仅62岁。克雅氏病也是一种朊病毒相关疾病，该病患者的身体机能和智力都会迅速衰退。Alice发现她自己也携带了PRNP V210I突变基因。之前的研究显示，她的父亲就是死于这种突变基因的。2014年，Alice了解到了Minikel等人开展的工作，也知道这些突变其实只会轻微增加携带者的患病风险。果然，同样为携带者的Alice的祖父活到了93岁高龄。

可是Vallabh和Minikel却没有一丝轻松的感觉。在他们搜寻过的遗传信息中都没有发现D178N突变的踪迹，所以该突变极有可能真的是一个致病突变。随着他们俩的工作不断深入，这种感觉越来越明显。据Minikel介绍，他们在不断地验证最初的假设。他们从来就没有碰到过某个能够说‘这就是最糟糕的了’的时候，因为他们总能够发现更加糟糕的情况。

# 并非致命的突变

朊病毒疾病是一种非常罕见的神经变性疾病，其主要因朊蛋白发生错误折叠而致病。目前已知的 *PRNP* 基因“致病”突变已经达到了 63 种。但是我们很难估计出每一种突变的真实致病风险，即所谓的外显率是多大。不过 ExAC 数据库帮了我们大忙。



科研人员们通常在这种情况下都会假定外显率达到 100%，即只要你携带了这种突变，你就一定会患病。

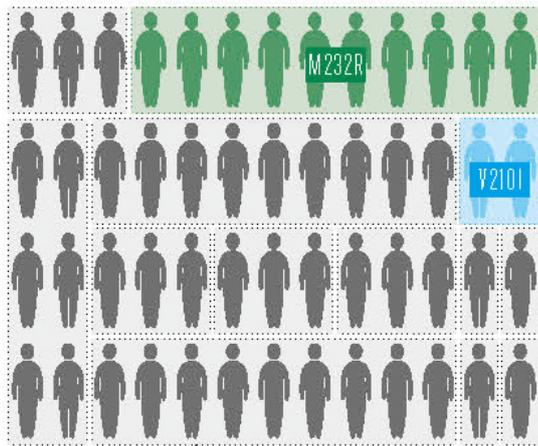
## ExAC 数据库研究

朊病毒相关疾病的总发病率为： 每年每 100 万人。

在 ExAC 数据库里，含有来自 60706 人的外显子组序列数据。

估计在 ExAC 数据库中 *PRNP* 基因发生突变的人数为：1.7。

实际在 ExAC 数据库中 *PRNP* 基因发生突变的人数为：52。



在 ExAC 数据库里如果有 10 个人携带这种 *PRNP* 基因突变，那么说明该突变基本不可能导致疾病，或者说该突变增加患病风险的几率非常低，外显率只有约 0.1%。

在 ExAC 数据库里如果有 2 个人携带这种 *PRNP* 基因突变，那么说明该突变有可能导致疾病，或者说该突变能轻微增加患病风险的几率，外显率约为 8%。

在 ExAC 数据库里如果没有人携带这种 *PRNP* 基因突变，那么说明该突变极有可能导致疾病，外显率约为 100%。

如果与 ExAC 数据库进行比对，之前得出的外显率数据都需要重新修正。

D178N

ExAC数据库通过突变基因的出现几率向我们展示了很多与基因有关的信息。MacArthur的课题组就发现，在ExAC数据库里，有3200个基因几乎从未发生过严重的突变，这说明这些基因都是非常重要的基因。其中有72%的基因也从未与任何疾病扯上过关系。当然，科研人员都非常想知道，这些基因是否真的与疾病无关。

MacArthur的课题组还发现了18万个严重突变的基因位点，这些突变都会使基因编码的蛋白彻底丧失正常的功能。在开展基因功能研究时，科研人员最常采用的方法是将这个基因敲除掉，即构建基因敲除动物模型（通常都是小鼠动物模型），以查看如果失去了这些基因，会发生些什么，从而推断出这些基因的功能。但是我们不能构建人类基因敲除模型。可是现在，我们找到了这么多“天然出现的”人类基因敲除模型，这对从事基因研究的科研人员来说，真可谓是一个天大的喜讯。MacArthur等人正在做一个排序，以查看应该优先对哪些基因进行研究，同时他们积极地与这些携带者取得联系，希望他们能够参加到后续的科研工作当中。

但是这都得等到ExAC数据库第二阶段的工作结束之后才可以实施。因为一个月将在加拿大温哥华召开今年的ASHG大会，ExAC数据库第二阶段的工作也将会在这次大会上对大家公布。届时，ExAC数据库的数据规模将扩大一倍，包括13.5万人的外显子组序列数据，以及1.5万人的全基因组序列数据。科研人员将可以对基因组中的调控区域进行研究。

ExAC数据库正在慢慢地变成医学遗传学研究工作中的标准工具。全世界的临床实验室现在都会在给患者提供遗传咨询报告之前，检索一遍ExAC数据库。如果发现某个突变在ExAC数据库中非常常见，那么该突变几乎就不太可能是一个有害的突变。美国国立人类遗传学研究院（US National Human Genome

Research Institute in Bethesda, Maryland）的遗传学家Leslie Biesecker表示，他们实验室就在日常的临床工作中用到了ExAC数据库。据他介绍，在他们评估每一个突变时，这个数据库都将是一个非常重要的评估因素。Biesecker以及众多遗传学家们已经开始了一项艰巨的工作，即对以往的遗传学文献进行梳理，这可能需要好几年的功夫。

Goldstein等科研人员一直在不断地重申一个观点，那就是不包含亚裔、非洲裔、拉丁美洲裔和其他非欧洲裔人群的遗传学数据极大地限制了人类遗传学的多样性研究，影响了我们对基因与疾病关系的研究，ExAC数据库可以让这个观点变得更加明晰。现在，这方面的呼声越来越高，即要求在开展遗传学与健康关系的大规模科学研究，比如开展美国精准医学项目（US Precision Medicine Initiative）时，必须纳入这些非欧洲裔人群。

对于Vallabh和Minikel而言，虽然ExAC数据库的结果并不是一个好消息，但也给他们提供了很多新的启发。Minikel发现，在ExAC数据库中，有3个人携带了一个拷贝的朊病毒蛋白沉默突变基因。如果他能够健康地生活下去，就说明，我们也可以让Vallabh体内的那个缺陷蛋白沉默掉，以防止异常的朊病毒蛋白大量聚集而致病。Minikel还与这名居住在瑞典的携带者取得了联系，这名携带者非常愿意参加Minikel的研究，并同意给他们提供细胞样品。Vallabh和Minikel现在均加入了美国博大研究院（Broad Institute）生物化学家Stuart Schreiber的实验室，并全身心投入到朊病毒相关疾病治疗药物的筛选工作当中。

Vallabh和Minikel等人用自己的实际行动向我们展示了ExAC数据库对临床医疗的意义和作用。Vallabh认为，他们再也回不去了，他们必须解决这个问题。他们自己就是非常好的例子。Vallabh今年32岁，比她母亲去世时的年龄只小了20岁，她等不起了。

原文检索：

Erika Check Hayden. (2016) SEEING DEADLY MUTATIONS IN A NEW LIGHT. *Nature*, 538: 154-157.

Eason/编译

# 百态

**A**mazing lives

蚂蚁也有内在成瘾性

---



佛罗里达蚂蚁 (*Camponotus floridanus*)。

如果以人类的高度向蚂蚁瞄一眼，恐怕很难发现两者的社会之间存在何等差异。因为人类和蚂蚁都生活在高度组织化的团体中，每一位成员都有固定安排好的角色，如同建筑结构一样层次分明。那么，同样地，人类的性格会受到黑暗面的影响（例如嗑药）。这一特点在蚂蚁中是否也存在？这就是美国斯克兰顿大学（University of Scranton）的Brian Entler等人想要研究的内容。

研究小组解释说，当给予混有成瘾性药物的食物时，某些昆虫可能由此产生成瘾性，这告诉了我们一个关于成瘾的神经生物学的基本问题。人类能对仅为自己带来快感的药物成瘾，然而目前尚未发现哪种动物似乎能够在没有食物额外诱惑的情况下产生某种药物的成瘾性。不过，Entler、John Canon和Marc Seid知道，蚂蚁可不管自己的冒险成不成功，反正就是喜欢到处跑着去寻找“奇珍异宝”。于是，他们提出一个设想：既然蚂蚁的积极性如此高昂，那么它们是否会陷入滥用性毒品依赖中呢？

Entler将佛罗里达木匠蚁（Florida carpenter ants）引诱到一个喂料器中，里面盛满了美味的糖浆。接着，他在6天时间内逐渐将糖撤去，同时提高具有高度成瘾性的吗啡

浓度，以使蚂蚁成瘾。起初，随着糖浆浓度的下降，蚂蚁对喂料器的兴趣也逐渐消失；但是，当糖浆被完全断供，仅存吗啡时，蚂蚁对喂料器又重新产生了兴趣。这是不是代表着蚂蚁对吗啡成瘾了呢？为了检验这一猜测，Entler给蚂蚁提供了两种美食——一个喂料器装满美味的糖浆，另一个含有成瘾性药物。结果，蚂蚁的选择非常明确，它们奔向了掺了咖啡的喂料器（尽管这一选择缺乏营养，但却能够满足它们的“习惯”）。与此同时，当Entler给那些从未接触过药物的蚂蚁同样的选择时，它们却明确地奔向美味的糖浆。很显然，前者是被吗啡所吸引的。不过，它们到底是在像真正的成瘾者那样寻求奖赏的快感，还是仅仅选择吗啡溶液的味道？

为了回答这一问题，Entler分析了蚂蚁的脑部，观察它们是否产生了任何指示成瘾性的神经递质迹象。结果发现，喂食咖啡的蚂蚁脑内的多巴胺水平较高，这指示它们具有寻求奖赏的行为。也就是说，蚂蚁是真正的成瘾者。对此，研究小组表示，这项研究确立了蚂蚁作为首个滥用药物的非哺乳动物模型，该滥用药物行为与哺乳动物的类似。同时，他们热切希望能够解开驱动蚂蚁，甚至是人类形成药物成瘾性的基础神经回路之谜。

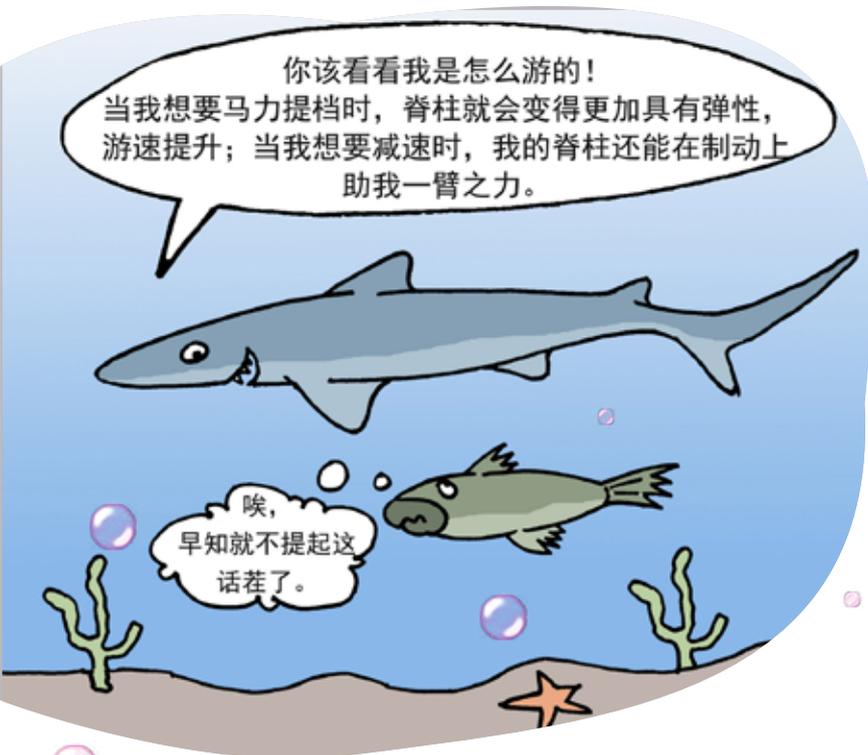
原文检索：

Entler, B. V., Cannon, J. T. and Seid, M. A. (2016). Morphine addiction in ants: a new model for self-administration and neurochemical analysis. *J. Exp. Biol.* 219, 2865-2869.

文佳/编译

# 鲨鱼动作灵活的奥秘

## ——具有弹性的脊柱能传递持续可变力



鲨鱼的游泳动作之所以如同进入催眠状态一般，说东就东，说西就西，关键在于弹性二字。美国佛罗里达州大西洋大学（Florida Atlantic University）的Marianne Porter表示，当鲨鱼的脊柱弯曲时，软骨可将能量储存其中，庞大的中心椎体结构（多块椎体组成脊柱）受到压缩。随后，能量在尾巴摆动时得到释放，同时发挥出其作用。

据Porter所言，具有弹性的脊柱能够储存及释放鲨鱼体内10%的能量，这在硬骨鱼中存在真正的优势。但是，Porter及其同事Randy Ewoldt和John Long猜测，鲨鱼的脊柱绝不仅仅是单纯的具有弹性那么简单，因为它们有着复杂的物质特点——鲨鱼的脊柱是由不同物质组成的。因此，研究小组决定探究一下白斑角鲨（spiny dogfish, *Squalus acanthias*）的脊

柱（由9-10块椎骨组成），以了解它的各部分如何用力。他们有计划地使鲨鱼来回扭动，模拟真正的游泳生理弯曲。结果发现，鲨鱼的尾摆频率可从每4秒一次至每秒两次不等。

三名研究人员测量了鲨鱼脊柱弯曲时该部分的位移和尾部用力，并计算出脊柱（能量储存处）的刚度和能量消耗（制动力）的变化。Porter等人表示，基于其机械行为，鲨鱼的脊柱可能起着弹性和制动的的作用。他们推测，当鲨鱼加速时，其明显具有弹性的脊柱可能会变得更加富有弹性，因此产生更多的推动力。同时，当鲨鱼持续大幅度地摆动尾部时，制动力也增加；而当速度减慢时，尾摆速率也会减缓。研究小组提出，鲨鱼的脊柱具有独特的物质组成特点，这为它们提供了“持续的变力传递”，使其以自己的方式平稳运行。

### 原文检索：

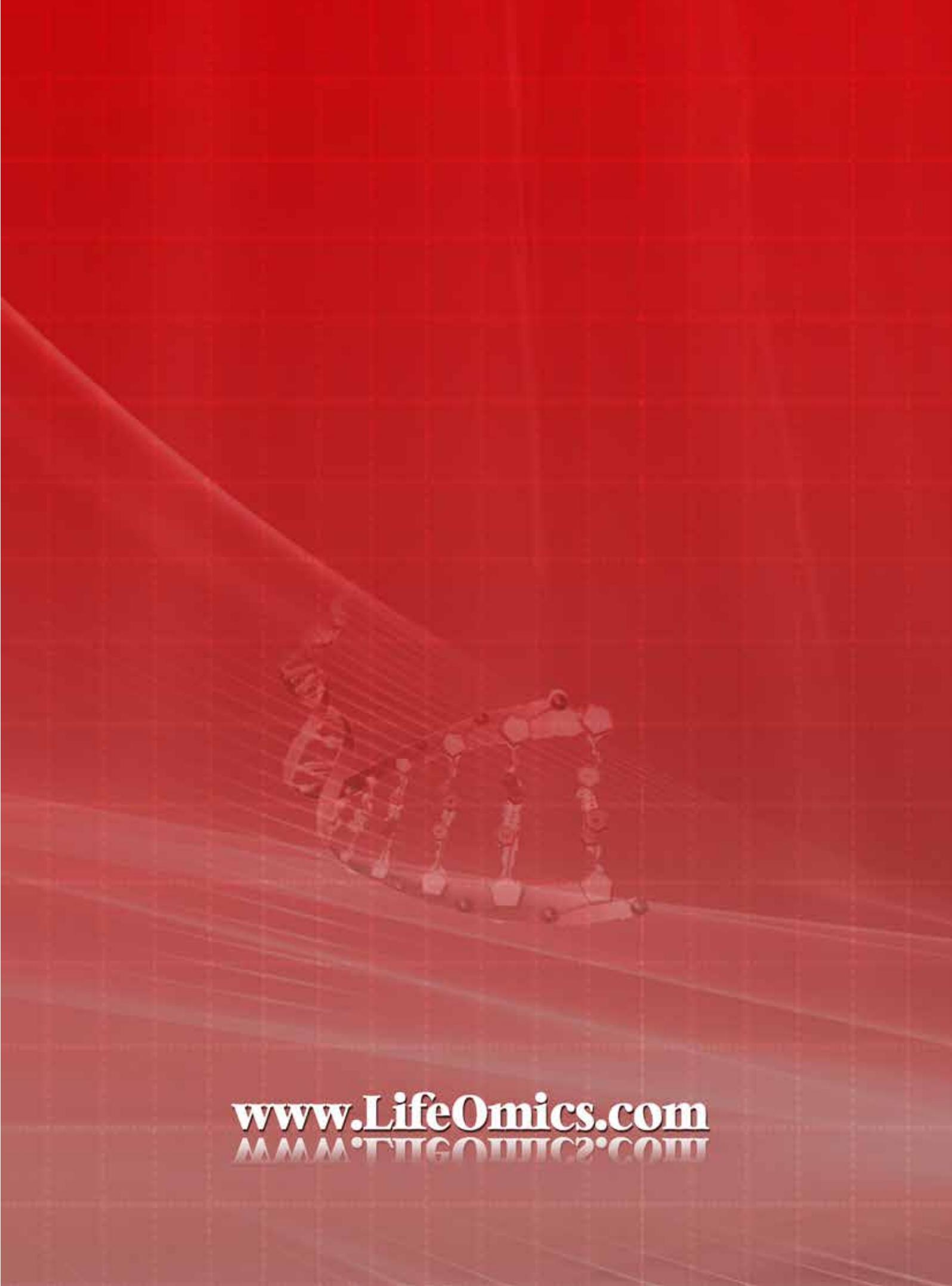
Porter, M. E., Ewoldt, R. H. and Long, J. H., Jr (2016). Automatic control: the vertebral column of dogfish sharks behaves as a continuously variable transmission with smoothly shifting functions. *J. Exp. Biol.* 219, 2908-2919.

文佳/编译

A group of people are performing a human pyramid against a cloudy sky. 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 people are wearing dark jackets and light-colored pants. The sky is filled with soft, white clouds, and a bright sun is visible in the upper left corner, creating a lens flare effect. The overall scene conveys a sense of teamwork and achievement.

**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](http://www.LifeOmics.com)  
[WWW.LIFEOMICS.COM](http://WWW.LIFEOMICS.COM)