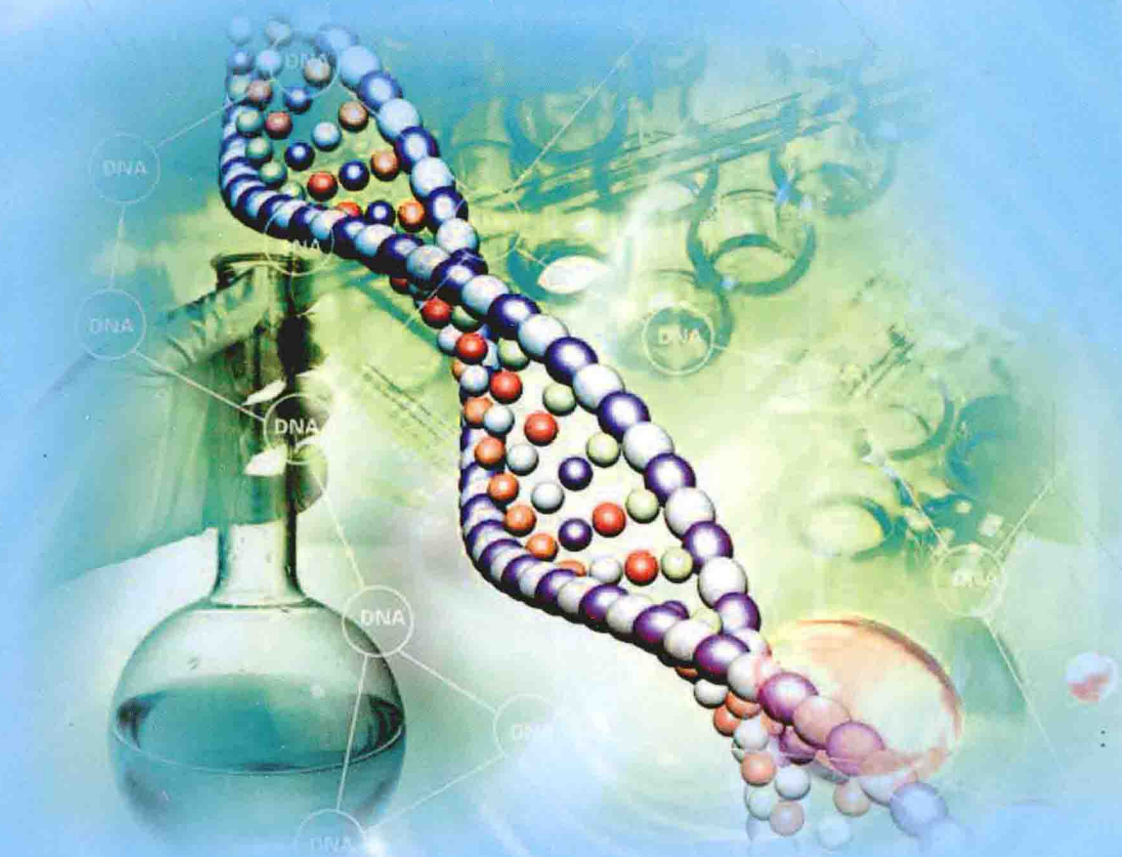


肝炎病毒·分子生物学丛书

现代基因治疗分子生物学

(第二版)

成军 主编



科学出版社

肝炎病毒·分子生物学丛书

现代基因治疗分子生物学

(第二版)

成 军 主编

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书共 37 章,详细介绍了基因治疗的基础理论与临床应用,内容包括基因治疗概论、基因克隆、基因的人工合成、基因的 PCR 扩增、基因转移的靶细胞、干细胞与基因治疗、基因的转移方法;基因治疗的各种载体;基因治疗的基因调控、RNA 干扰与基因治疗、DNA 疫苗、基因治疗的管理;以及各种疾病的基因治疗等。

本书内容翔实、资料新颖,适合临床医生、医学和分子生物学科研工作人员等参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

现代基因治疗分子生物学/成军主编. —2 版. —北京:科学出版社,
2014.9

(肝炎病毒·分子生物学丛书)

ISBN 978-7-03-041708-4

I. 现… II. 成… III. 基因疗法-分子生物学 IV. R456

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 196710 号

责任编辑:沈红芬 刘 晶/责任校对:郭瑞芝 刘亚琦
责任印制:肖 兴/封面设计:范璧合

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京通州皇家印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销



1993 年 2 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2014 年 9 月第 二 版 印张:48 1/2


2014 年 9 月第二次印刷 字数:1 110 000

定价:198.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)



肝炎病毒·分子生物学丛书



学术委员会

- | | |
|-----|--------------------|
| 庄 辉 | 中国工程院院士,北京大学医学部 |
| 田 波 | 中国科学院院士,中国科学院微生物所 |
| 斯崇文 | 教授,北京大学第一医院 |
| 徐道振 | 教授,首都医科大学附属北京地坛医院 |
| 陈菊梅 | 教授,中国人民解放军第 302 医院 |
| 翁心华 | 教授,复旦大学附属华山医院 |

《现代基因治疗分子生物学》

(第二版)

编写人员

主 编 成 军

编 者 (按姓氏汉语拼音排序)

蔡 超	程丹颖	成 军	董 茜	董金玲
董庆华	段雪飞	房高丽	付丽华	傅求真
高学松	郭 江	郭立民	韩志兴	侯 静
皇甫竞坤	蒋 力	李 鑫	李 越	李 玥
李 卓	李金奎	李庆海	李勤涛	李文东
李晓光	梁 博	刘 敏	刘景院	刘丽辉
刘顺爱	毛菲菲	孟一星	穆 毅	权学民
宋 蕊	宋毓青	孙挥宇	孙丽琴	孙荣华
田云飞	王 琳	王 琦	王 宇	王福祥
王清河	王艳斌	魏红山	温少芳	吴其明
吴淑玲	肖 琳	肖 江	谢 雯	谢 尧
邢卉春	杨 松	闫 杰	伊 诺	曾 辉
曾慧慧	张 斌	张 珂	张 强	张 伟
张梦然	张锦前	赵 方	赵红心	赵玉千
郑 迪	钟彦伟	庄立伟	朱向高	

肝炎病毒·分子生物学丛书

前 言

由甲型肝炎病毒(HAV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒(HDV)和戊型肝炎病毒(HEV)等五种肝炎病毒感染引起的急性和慢性肝脏疾病在全球流行,严重影响人类健康,给世界各国带来了沉重的医疗和经济负担,影响深远。最终控制由肝炎病毒感染造成的疾病流行,必须通过综合的防治措施。事实上,作为一类流行病和传染病,通过公共卫生体系和临床医疗体系的共同努力,在一定程度上做出了尝试,并取得了一系列卓有成效的业绩。但是,我们还必须清醒地看到,在世界范围内,肝炎病毒感染引起的肝脏疾病的防治仍然是医学界一项长期的重要任务。

研究肝炎病毒感染引起的急、慢性病毒性肝炎,以及肝硬化(LC)、肝衰竭(LF)和肝细胞癌(HCC),可以有很多可能的切入角度。事实上,近三十年来现代生物学和医学理论与技术的不断发展,也的确为肝炎病毒感染相关性肝病的研究提供了全新的思路。特别是20世纪70年代以来,分子生物学的理论和技术迅猛发展,为肝炎病毒及其相关的肝脏疾病研究,提供了前所未有的推动和支持。因此,在肝炎病毒及其相关的肝脏疾病研究领域,分子生物学理论和技术的应用,显著促进了肝炎病毒及其相关肝脏疾病的研究进展;同时,这些研究的成果,也进一步丰富了分子生物学理论和技术。因此,利用分子生物学理论和技术研究肝炎病毒及其相关肝脏疾病,始终是近三十年来最为活跃的领域之一。经过三十年的不断探索,肝炎病毒及其相关肝脏疾病领域积累了丰富的研究结果,同时为肝炎病毒感染相关肝脏疾病的治疗和预防提供了新的理论和技术手段,促进了肝炎病毒感染相关肝脏疾病的治疗和预防的进步。有鉴于此,为了更好地总结和利用已经取得的成就,促进这一领域的不断进步,我们与科学出版社一起策划了由八个分册组成的“肝炎病毒·分子生物学丛书”,将陆续出版。

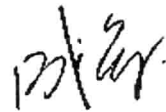
从肝炎病毒感染以后引起的急、慢性肝病,以及迁延不愈造成的肝硬化、肝衰竭、肝细胞癌的发生、发展整个连续的过程,可以人为地分成几个不同的层次和阶段。从病原学角度来看,用分子生物学研究肝炎病毒取得了很大成就;肝炎病毒直接的致病作用不是主要的致病机制,主要是通过免疫学机制;在细胞水平上,细胞凋亡(apoptosis)、细胞自噬(autophagy)和细胞周期(cell cycle)都参与了肝脏疾病的发病机制;肝脏炎症迁延不愈,产生过量的炎症细胞因子引起肝脏中胶原和非胶原糖蛋白代谢紊乱,逐步形成了肝脏纤维化;在诸多因素长期、相互作用的基础上,最终发展为肝细胞癌。这就是肝炎病毒相关的肝脏疾病发展的一个比较完整的过程。分子生物学理论和技术,同时也为分子生物学水平的治疗提供了前所未有的机遇,这就是基因治疗(gene therapy)。因此,为了从病原学、发病机制、细胞学变化、肝脏纤维化、肝细胞癌和分子生物学水平的治疗等阶段全面反映分子生物学理论和技术在肝炎病毒相关性肝脏疾病中的应用和进展,我们为“肝炎病毒·分子生物学丛书”设计了八个分册,即《现代肝炎病毒分子生物学》、《现代肝炎病毒分子免疫学》、《现代细胞凋亡分子生物

学》、《现代细胞自噬分子生物学》、《现代细胞周期分子生物学》、《现代细胞外基质分子生物学》、《现代肿瘤基因分子生物学》、《现代基因治疗分子生物学》。事实上,我们为这一计划已努力了18年之久。1993年,我们出版了这一系列的第一部专著《基因治疗》(学苑出版社),之后陆续出版了《现代肝炎病毒分子生物学》(人民军医出版社,1997)、《程序性细胞死亡与疾病》(北京医科大学出版社,1997)、《细胞外基质的分子生物学与临床疾病》(北京医科大学、协和医科大学联合出版社,1999)、《肿瘤相关基因》(北京医科大学、协和医科大学联合出版社,2000)。这些专著的顺利出版,为“肝炎病毒·分子生物学丛书”奠定了坚实基础。2009年,在科学出版社领导的关怀下,我们计划将八个分册陆续出齐,以形成“肝炎病毒·分子生物学丛书”的完整体系。2009年安排了《现代肝炎病毒分子生物学》(第二版)出版,2010年出版《现代细胞周期分子生物学》,2011年出版《现代肝炎病毒分子免疫学》和《现代细胞自噬分子生物学》,2012年出版《现代细胞凋亡分子生物学》(第二版)和《现代细胞外基质分子生物学》(第二版),2014年出版《现代肿瘤基因分子生物学》(第二版)和《现代基因治疗分子生物学》(第二版),从而最终完成“肝炎病毒·分子生物学丛书”八个分册的出版。在时机适当的时候,对每个分册陆续再版更新,以维持这套丛书不断更新的活力状态。

这一丛书的策划和出版,有幸得到了该领域内知名专家的肯定和鼓励。中国工程院院士庄辉教授、田波教授,肝病领域的资深专家斯崇文教授、徐道振教授、陈菊梅教授、翁心华教授欣然担任这套丛书的学术委员会委员,对这一套丛书的出版进行学术指导,从而保证了这一套丛书的学术质量。科学出版社也已将“肝炎病毒·分子生物学丛书”列为出版社的重点出版计划。相信这一计划将会取得圆满成功,丛书的出版也将会促进这一领域的进展。

这套丛书能够顺利出版,首先要感谢我的三位恩师:陈菊梅教授、斯崇文教授、Peter C. Melby教授,他们在我攻读硕士、博士学位以及进行博士后研究阶段给予了我无私帮助和悉心教育,他们的品德和修养、他们的胸怀和学识,永远是我学习的榜样。1997年我从美国得克萨斯大学完成博士后研究回国以来,在肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制研究方向上,共指导了120名硕士生、博士生及博士后研究人员。十几年的无数个日日夜夜,我们研究肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制,为之奋斗,为之痴狂,无怨无悔。感谢我的学生们的勤奋探索,使我有机会系统研究肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制。感谢无数个曾经在我人生的各个阶段给予我重要帮助的领导、师长、朋友和同事。没有他们的帮助,我就不能很好地学习和理解肝炎病毒的分子生物学致病机制,就不能很好地研究我将会为之奋斗一生的肝炎病毒和病毒性肝炎相关的课题。

一套信息量庞大的丛书的出版是一件十分艰难的事情,也是一项遗憾的艺术。面对陆续出版的分册,我们百感交集。一方面为我们取得的一点成绩而沾沾自喜,同时也为各个分册中存在的缺点乃至错误而惶恐不安。我们恳切期望本丛书的热心读者,能够直率地指出我们每一个分册中存在的问题和谬误,以便在再版时不断加以改进,共同促进分子生物学理论和技术在肝炎病毒和病毒性肝炎领域中的应用,为最终控制肝炎病毒感染及其相关的肝脏疾病而不断奋斗。



博士、教授

首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所

2010年6月于北京

第二版前言

自1993年《基因治疗》在学苑出版社正式出版,到现今由科学出版社出版第二版,并更名为《现代基因治疗分子生物学》,时间跨度整整有20年。《现代基因治疗分子生物学》为丛书的第八分册,也是最后一册,至此,科学出版社的重点出版计划“肝炎病毒·分子生物学”丛书终于完成了。

1986年我从第一军医大学军医系毕业,当时特别想继续攻读硕士学位。那时在广州军区总医院实习期间,由于工作认真,受到带教老师表扬过几次,内心深处觉得自己还是一个当医生的料。因此,就下决心报考临床医学专业的研究生。但不巧,1986年硕士研究生的招考,临床专业要求考生须具有两年及以上的临床工作经验,因此作为应届毕业生就受到了很大限制。当时妇产科、传染科专业招生每每遇到生源不足的情况,这两个临床专业允许应届毕业生报考,经过反复权衡,我对微生物学和免疫学专业也很感兴趣,所以最终选择了传染病学这个专业。1991年在决定报考博士研究生的时候,对传染病专业曾经有过一些动摇,为了改变专业,还专门拜访了一些知名教授,比较以后最终决定报考变态反应学专业,连导师都联系好了。但没想到当时的院长坚决反对我改专业,说如果不继续学习传染病专业,我就不能拿到报考的许可,无奈之下才勉强继续攻读传染病专业。一转眼,从事这个专业并热爱了将近30年。

1991年顺利考入北京医科大学,师从斯崇文教授,当时老师给我的题目是“乙型肝炎的基因治疗”。在老师的指导下,逐渐接触和熟悉基因分子生物学。待完成学位论文的时候,我对于病毒性肝炎及分子生物学已经产生了浓厚的兴趣。在完成博士学位论文的同时,我阅读了大量的文献,因此产生了写书的冲动。我所撰写的第一部专著就是《基因治疗》。1993年当我手捧一大摞手稿,找到科学出版社的时候,一名约50岁的编辑热情接待了我。当时这位编辑很和蔼地看看我、看看手稿,脸上挂着笑容,缓缓对我说:“我们科学出版社是全国自然科学最权威的出版社,出版的很多著作都是学部委员(现在称为院士)写的,出版的专著都是植物年鉴、动物年鉴、微生物年鉴等,好多是一个领域专家毕生的研究成果。但是,我们出版社从来没有给一个不到30岁的年轻人出过书。”结果可想而知。《基因治疗》虽然未能在科学出版社出版,但老编辑的话对我影响很大,对我也是个激励,从此以后就产生了一个想法:将来无论如何一定要在科学出版社出版我的书。

好多年过去了,陆续在北京医科大学出版社、协和医科大学与北京医科大学联合出版社、人民军医出版社出版了几部专著。当2007年科学出版社的沈红芬老师找到我,要我考虑在科学出版社出版专著的时候,多少年前的情景又浮现在我的面前。因此,我当即答应了沈老师的邀请,并且提出要出的话就出一套权威的、全面反映这一方向理论进展的丛书,并争取能够再版。我的这一提议也得到了沈老师的肯定和积极回应。因此,在原来几本专著

的基础上,进行了重新布局,根据病毒性肝炎的研究进展,特别是分子生物学理论和技术在病毒性肝炎研究中的应用和实践,我提出了“肝炎病毒·分子生物学”丛书的出版计划,包括《现代肝炎病毒分子生物学》、《现代肝炎病毒分子免疫学》、《现代细胞凋亡分子生物学》、《现代细胞自噬分子生物学》、《现代细胞周期分子生物学》、《现代细胞外基质分子生物学》、《现代肿瘤基因分子生物学》和《现代基因治疗分子生物学》八本独立成册、内容又相互联系的专著。从分子生物学角度来看,这套丛书对病毒性肝炎的本质和发展历程进行了系统论述。经过几年的努力,随着这本《现代基因治疗分子生物学》的出版,这套由八本专著组成的丛书终于出齐。

在回国后的这些年里,先后在军医进修学院、军事医学科学院、北京大学医学部、首都医科大学等招收了多名硕士生和博士生,国内也有许多喜欢我研究风格和研究方向的同行,因此到目前为止我曾经和 200 位学子共同探讨,帮助他们获得了硕士和博士学位,这是我深感自豪的事情。和我一起进行过研究的年轻学子们,同时也是这套丛书的主要编纂者,我也从他们的字里行间学到了很多,一直并永远心存感激。

回想《现代基因治疗分子生物学》的出版,标志着“肝炎病毒·分子生物学”丛书的完成,感慨颇多。人生很长,其实也很短。几十年的忙忙碌碌,觉得每天都在忙。无论如何,“肝炎病毒·分子生物学”丛书八个分册最终在科学出版社出齐了,这是多么令人感到高兴的时刻!这么浩繁、巨大的工程,我也有厌倦的时候,但我厌倦的解决办法不是停止写作,而是同时开始不同章节的写作。当一个章节实在厌烦到不能继续再写的时候,我会换一个章节继续写作。从这一套丛书完成的过程来看人生,觉得人生其实也不过是写一本书,等到再版的那个时候!

成 军

2014 年 7 月于北京

目 录

第一章 基因治疗概论	(1)
第一节 基因治疗的基本概念	(1)
第二节 基因治疗的发展	(4)
第三节 基因治疗的临床应用	(7)
第二章 基因克隆	(11)
第一节 基因克隆的基本原理	(11)
第二节 基因克隆的工具酶	(12)
第三节 基因克隆中的载体	(20)
第四节 基因克隆的程序	(23)
第五节 真核基因组 DNA 的克隆	(26)
第三章 基因的人工合成	(30)
第一节 基因人工合成的发展和策略	(30)
第二节 核酸小片段的人工合成	(31)
第三节 核酸大片段的人工合成	(36)
第四节 基因人工合成的应用	(38)
第四章 基因的 PCR 扩增	(42)
第一节 PCR 技术的发展	(42)
第二节 PCR 技术的原理	(43)
第三节 PCR 扩增目的基因	(48)
第四节 PCR 技术的应用	(50)
第五章 基因转移的靶细胞	(58)
第一节 靶细胞的选择条件	(58)
第二节 肿瘤浸润的淋巴细胞	(60)
第三节 血液细胞	(63)
第四节 实质器官细胞	(65)
第五节 其他靶细胞	(67)
第六章 干细胞与基因治疗	(72)
第一节 胚胎干细胞	(72)
第二节 成年干细胞	(73)
第三节 诱生性多能干细胞	(75)
第四节 肿瘤干细胞	(76)
第五节 干细胞应用于治疗领域面临的问题	(77)
第六节 干细胞治疗的临床试验	(78)

第七章 基因的转移方法	(82)
第一节 基因转移的物理法	(82)
第二节 基因转移的化学法	(87)
第三节 基因转移的融合法	(89)
第四节 颗粒轰击技术	(93)
第五节 病毒载体基因转移技术	(98)
第八章 反转录病毒载体	(104)
第一节 反转录病毒基因结构及其复制特点	(104)
第二节 反转录病毒载体的构建	(106)
第三节 包装细胞的构建	(108)
第四节 反转录病毒载体的应用	(110)
第九章 腺病毒载体	(116)
第一节 腺病毒的生物学特性和基因结构	(116)
第二节 腺病毒基因的改造	(118)
第三节 腺病毒载体与基因治疗	(123)
第十章 腺相关病毒载体	(134)
第十一章 单纯疱疹病毒载体	(145)
第一节 单纯疱疹病毒的基因结构	(145)
第二节 单纯疱疹病毒载体的构建	(147)
第三节 单纯疱疹病毒载体在基因治疗中的应用	(152)
第十二章 人类免疫缺陷病毒载体	(159)
第一节 人类免疫缺陷病毒的基因结构	(159)
第二节 人类免疫缺陷病毒基因的改造	(166)
第三节 人类免疫缺陷病毒载体与基因治疗	(173)
第十三章 慢病毒载体	(176)
第一节 慢病毒载体系统的结构及其优化	(176)
第二节 慢病毒载体与基因治疗	(180)
第十四章 杆状病毒载体	(186)
第一节 杆状病毒感染昆虫细胞	(186)
第二节 杆状病毒转导哺乳动物细胞	(187)
第三节 杆状病毒进入哺乳动物细胞的机制	(189)
第四节 病毒表达	(189)
第五节 病毒载体传代和病毒蛋白制备	(190)
第六节 基因功能和病毒感染的研究	(191)
第七节 稳定细胞系的传代	(191)
第八节 体内基因治疗	(192)
第九节 体外基因治疗	(193)

第十节	作为疫苗载体的免疫学反应和潜能	(193)
第十五章	空泡病毒载体	(195)
第一节	SV40 的分子生物学特性	(195)
第二节	SV40 的基因改造	(197)
第十六章	基因治疗的基因调控	(202)
第一节	基因调控的结构基础	(202)
第二节	基因靶技术	(206)
第三节	反转录病毒载体基因转移的调控	(212)
第四节	干扰素基因及其调控	(215)
第十七章	RNA 干扰与基因治疗	(219)
第一节	RNA 干扰技术的原理	(219)
第二节	RNA 干扰技术的应用	(223)
第三节	RNA 干扰技术与基因治疗	(227)
第十八章	miRNA 与基因治疗	(235)
第一节	miRNA 干扰技术的原理	(235)
第二节	miRNA 与疾病的关系	(237)
第三节	miRNA 在基因治疗方面的初步应用	(244)
第十九章	DNA 疫苗	(253)
第一节	DNA 疫苗的概况	(253)
第二节	肿瘤 DNA 疫苗	(256)
第三节	乙型肝炎病毒 DNA 疫苗	(260)
第四节	丙型肝炎病毒 DNA 疫苗	(263)
第五节	艾滋病 DNA 疫苗	(265)
第六节	狂犬病毒 DNA 疫苗	(271)
第七节	疟原虫 DNA 疫苗	(275)
第八节	结核分枝杆菌 DNA 疫苗	(279)
第二十章	基因治疗的管理	(283)
第一节	基因治疗的安全性	(283)
第二节	基因治疗的社会伦理问题	(286)
第三节	国外基因治疗审批机构	(287)
第四节	基因治疗的法律问题	(289)
第五节	关于我国基因治疗研究管理的建议	(290)
第二十一章	遗传病的基因治疗	(293)
第一节	遗传病的分类	(293)
第二节	遗传病基因治疗总体设想	(295)
第三节	苯丙酮尿症的基因治疗	(299)
第四节	白细胞黏附不全症的基因治疗	(300)

第五节	遗传性酶病的基因治疗	(304)
第六节	β -地中海贫血的基因治疗	(305)
第七节	Duchenne 肌营养不良的基因治疗	(306)
第八节	血友病的基因治疗	(307)
第二十二章	肿瘤的基因治疗策略	(310)
第一节	抗肿瘤基因治疗总体构想	(310)
第二节	抗癌基因转移	(312)
第三节	细胞因子基因转移与抗肿瘤基因治疗	(317)
第四节	MHC 基因转移	(321)
第五节	病毒基因转移	(324)
第六节	病毒主导性酶药物预施疗法	(325)
第七节	反义技术抗肿瘤	(327)
第八节	端粒酶基因转移	(329)
第九节	基因治疗抑制肿瘤转移	(332)
第十节	基因治疗逆转肿瘤耐药	(333)
第二十三章	肿瘤的基因治疗	(336)
第一节	食管癌的基因治疗	(336)
第二节	胃癌的基因治疗	(341)
第三节	胰腺癌的基因治疗	(348)
第四节	肝癌的基因治疗	(353)
第五节	肠癌的基因治疗	(361)
第六节	肺癌的基因治疗	(370)
第七节	神经胶质瘤的基因治疗	(378)
第八节	髓母细胞瘤的基因治疗	(384)
第九节	甲状腺癌的基因治疗	(392)
第十节	眼部肿瘤的基因治疗	(401)
第十一节	喉癌的基因治疗	(406)
第十二节	鼻咽癌的基因治疗	(414)
第十三节	肾癌的基因治疗	(419)
第十四节	膀胱癌的基因治疗	(426)
第十五节	前列腺癌的基因治疗	(432)
第十六节	乳腺癌的基因治疗	(440)
第十七节	卵巢癌的基因治疗	(448)
第十八节	宫颈癌的基因治疗	(453)
第十九节	淋巴瘤的基因治疗	(464)
第二十节	白血病的基因治疗	(470)
第二十一节	骨肿瘤的基因治疗	(479)

第二十二节 黑色素瘤的基因治疗	(487)
第二十四章 呼吸系统疾病的基因治疗	(526)
第一节 呼吸系统疾病基因治疗的策略和途径	(526)
第二节 囊性纤维化的基因治疗	(530)
第三节 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏症的基因治疗	(537)
第四节 其他呼吸系统疾病的基因治疗	(540)
第二十五章 心血管系统疾病的基因治疗	(544)
第一节 心血管系统疾病的基因治疗概述	(544)
第二节 家族性高胆固醇血症的基因治疗	(547)
第三节 血栓形成和再狭窄的基因治疗	(550)
第四节 心血管系统基因的转移与全身性疾病	(552)
第五节 心力衰竭的基因治疗	(555)
第六节 缺血性心肌病的基因治疗	(557)
第二十六章 消化系统疾病的基因治疗	(563)
第一节 消化系统疾病基因治疗的策略和条件	(563)
第二节 某些肝脏疾病的基因治疗	(569)
第三节 胃肠道疾病的基因治疗	(574)
第二十七章 血液系统疾病的基因治疗	(576)
第一节 血液系统疾病基因治疗的策略	(576)
第二节 血液系统疾病基因治疗的条件	(577)
第三节 地中海贫血的基因治疗	(579)
第四节 血友病的基因治疗	(585)
第五节 镰状细胞贫血的基因治疗	(591)
第二十八章 中枢神经系统疾病的基因治疗	(594)
第一节 神经系统疾病基因治疗的策略和条件	(594)
第二节 Lesch-Nyhan 综合症的基因治疗	(599)
第三节 其他中枢神经系统疾病的基因治疗	(602)
第四节 脑血管疾病的基因治疗	(607)
第五节 癫痫的基因治疗	(610)
第六节 Canavan 病的基因治疗	(613)
第二十九章 内分泌疾病的基因治疗	(617)
第一节 内分泌疾病基因治疗的策略和条件	(617)
第二节 胰岛素的基因结构	(624)
第三节 糖尿病的基因治疗	(626)
第四节 Prader-Willi 综合症的遗传学基础与治疗	(629)
第三十章 抗病毒基因治疗	(637)
第一节 抗病毒基因治疗的策略	(637)

第二节	基于蛋白质的基因治疗	(638)
第三节	基于核酸的基因治疗	(640)
第四节	基因疫苗	(646)
第三十一章	单链可变区抗体与基因治疗	(649)
第一节	单链可变区抗体的结构、特点与表达	(649)
第二节	单链可变区抗体的筛选	(652)
第三节	单链可变区抗体的应用	(654)
第四节	单链可变区抗体与细胞内免疫	(656)
第三十二章	获得性免疫缺陷综合征的基因治疗	(658)
第一节	人类免疫缺陷病毒感染及临床结局	(658)
第二节	人类免疫缺陷病毒感染的治疗	(659)
第三节	获得性免疫缺陷综合征的基因治疗	(660)
第三十三章	慢性乙型肝炎的基因治疗	(670)
第一节	慢性乙型肝炎基因治疗概论	(670)
第二节	慢性乙型肝炎基因治疗的现状与展望	(673)
第三节	慢性乙型肝炎基因治疗的研究进展	(678)
第三十四章	慢性丙型肝炎的基因治疗	(687)
第一节	丙型肝炎病毒感染及临床结局	(687)
第二节	丙型肝炎病毒感染治疗的发展	(693)
第三节	丙型肝炎病毒感染的基因治疗	(696)
第三十五章	肝纤维化的基因治疗	(703)
第一节	肝纤维化的分子机制	(703)
第二节	肝星状细胞的基因治疗	(712)
第三节	抗肝纤维化的基因治疗	(714)
第三十六章	免疫缺陷病的基因治疗	(724)
第一节	免疫缺陷病的分类	(725)
第二节	ADA 缺乏症的基因治疗	(729)
第三节	免疫调节因子的基因转移与表达	(735)
第三十七章	基因治疗人体试验	(740)
第一节	基础阶段	(740)
第二节	外源基因导入人体试验	(741)
第三节	基因治疗临床试验	(743)
第四节	人体基因治疗的展望	(749)
第五节	人体基因治疗的伦理问题	(750)
索引	(753)

第一章 基因治疗概论

基因治疗是指将外源功能基因导入靶细胞,以纠正或补偿基因缺陷和异常所致的疾病,从而达到治疗目的的治疗方法。基因治疗的概念于1972年提出,1989年Rosenberg等利用反转录病毒载体实施第一例人类基因治疗试验。前期基因治疗研究的失败一度使人们认为其前景黯淡。至2006年前后,莱伯先天性黑矇症(Leber's congenital amaurosis)、腺苷脱氨酶缺乏性重度联合免疫缺陷症(adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency)及X重度联合免疫缺陷症(X-linked severe combined immunodeficiency)等多种疾病的基因治疗相继成功实施,受此鼓舞,研究人员再度燃起对基因治疗研究的热情。2012年,alipogene tiparvovec(商品名为Glybera)成为首个在欧美被批准用于严格限制脂肪饮食却仍然发生严重或反复胰腺炎发作的脂蛋白脂酶缺乏症患者的基因治疗药物。至2014年,约有2000项基因治疗方法正在进行临床研究或被批准用于临床治疗。

第一节 基因治疗的基本概念

一、基因治疗的分类

基因治疗可分为体细胞基因治疗与生殖细胞基因治疗,目前只有体细胞基因治疗被批准用于人类疾病的治疗。体细胞基因治疗是将治疗基因转入患者的体细胞(非生殖细胞)内,因此治疗效果仅限于患者个体,而不会遗传给患者的下一代。目前仅在美国进行的体细胞基因治疗研究就超过600项。这些研究大多集中于严重的遗传缺陷,如免疫缺陷、血友病、地中海贫血与囊性纤维病等。这些疾病之所以成为基因治疗的目标,是由于这些疾病都是体内单基因缺陷所造成的。但目前只有少数临床研究获得临床批准或进入临床研究的后期阶段。

生殖细胞基因治疗是指用功能基因来修饰生殖细胞(包括精子与卵子),这些修饰后的生殖细胞在完成受精后可进一步分化,以致新生动物的全部体细胞均携带该功能基因,且能够遗传给下一代。但由于潜在的风险与伦理问题,生殖细胞基因治疗面临巨大的争议,目前未被批准用于人类疾病的治疗。

二、基因治疗的主要策略

基因治疗包括致病基因的原位替换(基因置换)、基因的异位替代(基因替代)、直接抑制有害基因的表达(基因失活)、增强机体免疫能力的基因治疗(免疫调节)及“自杀基因”等多种治疗策略。

基因置换是用正常的基因置换染色体上的致病基因。但目前基因定向同源重组的技术

还不能达到理想效果。基因替代是在体外将正常基因转移到患者的宿主细胞,只要求治疗基因能够替代致病基因在体内表达出功能正常的蛋白质,也称为基因增补,是目前最常用的基因治疗策略。基因失活用于已知某一疾病是由于某一基因的过度表达引起,可向患者体内导入某一抑制该基因的基因(如向肿瘤细胞中导入肿瘤抑制基因 p53 等)或有抑制该基因作用的核酸,或借助生物技术(反义 RNA、siRNA、核酶、肽核酸等)抑制或封闭该疾病基因的 mRNA 功能。免疫调节基因治疗是指将抗体或细胞因子(如肿瘤坏死因子 α 、干扰素 γ 等)的基因导入肿瘤细胞以激活体内免疫细胞的活力。其他基因治疗策略如“自杀基因”是指将病毒、细菌等原核生物中具有特殊功能的酶类基因转入哺乳动物细胞,其产生的酶能将无毒或毒性极低的药物前体转化成细胞毒性代谢产物,导致肿瘤细胞自杀,因此又称为病毒导向酶解药物前体疗法。

三、基因治疗的步骤

一个完整的基因治疗包括选择治疗基因、选择基因治疗的靶细胞、将治疗性基因导入细胞、外源基因的表达与检测,以及最终将外源基因导入体内 5 个步骤。理论上,视需治疗的疾病不同,细胞内的基因在理论上均可用于基因治疗,但可有针对性地进行选择,如生长因子、多肽类激素、细胞因子、可溶性受体及细胞内酶、转录因子等的基因均可作为治疗性基因。

基因治疗的靶细胞要求来源容易、易在体外培养和扩增、易于被基因转染并进行高效表达、易于体内移植或回输、用于人体后所携带的目的基因能稳定地表达并具有比较长的生存寿命。一般选择病变组织细胞或正常的免疫功能细胞,如淋巴细胞类、肿瘤细胞、造血干细胞、肌细胞或皮肤成纤维细胞等。造血干细胞是骨髓中具有高度自我更新能力、能永久重建造血的细胞,同时它能进一步分化为其他血细胞,并能保持基因组 DNA 的稳定,在体外经过扩增后已成为基因治疗最有前途的靶细胞之一。但其在骨髓中含量低,难以获得足够的量。皮肤成纤维细胞是一种容易获得、可在体外培养并进行遗传修饰的细胞。经修饰的细胞又容易移植回体内,必要时还可将已植入的细胞重新移走,终止其介导的基因治疗。例如,目前有多项研究将细胞因子基因转移到小鼠皮肤成纤维细胞,然后再移植回小鼠。这些细胞在体内持续分泌细胞因子,使小鼠对肿瘤的免疫功能明显增强。肌细胞有着特殊的 T 管系统,可与细胞外直接相通,利于注射的质粒 DNA 吞入细胞。而且肌细胞内的溶酶体和 DNA 酶含量也很低,质粒 DNA 以环状形式在胞质中存在但不整合入基因组 DNA,可在肌细胞内较长时间保留。

四、基因治疗的载体

基因治疗所用的载体主要分为非病毒载体和病毒载体。非病毒载体主要有裸 DNA、脂质体、阳离子聚合物等,其特点是毒性小、安全性高、外源基因长度不受限制。病毒载体是基因治疗中应用较多的载体,主要有反转录病毒载体(包括反转录病毒载体和慢病毒载体等)、腺病毒载体、腺相关病毒载体等,病毒载体的主要优点是具有有效进入细胞并且表达外源基因的能力。随着科学技术的发展,许多载体经过改造后已经应用到临床基因治疗中且基因长度不受限制。

(一)病毒载体

1. 反转录病毒 反转录病毒(retrovirus, RV)是单链 RNA 病毒,可高效地感染许多类