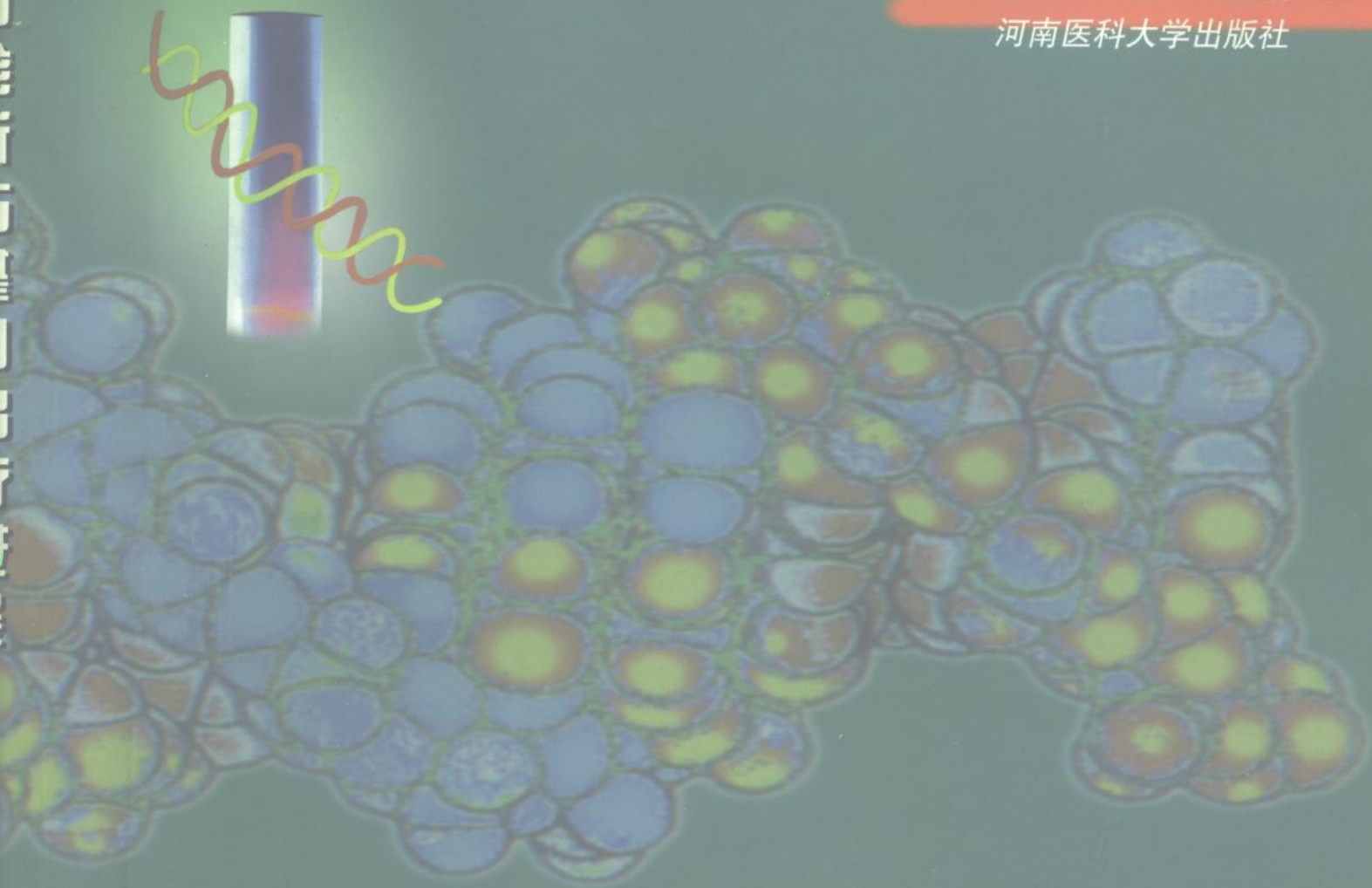


国 家 “ 九 五 ” 规 划 重 点 图 书

罗超权 主编
河南医科大学出版社



基因诊断与 基因治疗进展

9
2

R446
LCA
0-2

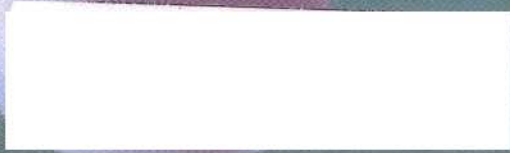
110750

国家“九五”规划重点图书

基因诊断与 基因治疗进展

罗超权 主编

河南医科大学出版社



图书在版编目(CIP)数据

基因诊断与基因治疗进展 / 罗超权主编. - 郑州: 河南医科大学出版社, 1999. 12

ISBN 7 - 81048 - 366 - 8

I . 基… II . 罗… III . ①基因 - 诊断 - 研究 ②基因治疗 - 研究 IV . R394

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 51975 号

河南医科大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

邮政编码 450052 电话 (0371)6988300

河南医版激光照排中心照排

河南第二新华印刷厂印刷

开本 850×1168 1/16 印张 23.5 字数 647 千字 彩插 1

2000 年 2 月第 1 版 2000 年 2 月第 1 次印刷

印数 1~3 150 册 定价: 85.00 元

编者

基因诊断与基因治疗进展

- 罗超权 中山医科大学生化教研室 教授 博士生导师
金由辛 中国科学院上海生物化学研究所 教授 博士生导师
伍新尧 中山医科大学生化教研室 教授 博士生导师
余新炳 中山医科大学病原生物学教研室 教授 博士生导师
胡学强 中山医科大学神经病学教研室 教授 博士
汤 郡 广州医学院微生物与免疫学教研室 副教授 博士
宁 波 中山医科大学免疫学教研室 副教授 硕士
光 炜 中山医科大学医学遗传学教研室 副教授 博士
郭俊明 中山医科大学生化教研室 副教授 博士
蒋玮莹 中山医科大学医学遗传学教研室 副教授 博士
盛文利 中山医科大学神经病学教研室 副教授 博士
郭奕斌 中山医科大学医学遗传学教研室 副教授 硕士
王传恩 中山医科大学微生物学教研室 讲师 博士
方建民 中山医科大学病原生物学教研室 讲师 博士
王 顺 中山医科大学神经病学教研室 讲师 博士
李学荣 中山医科大学病原生物学教研室 讲师 博士
李朝红 中山医科大学组织胚胎学教研室 讲师 博士
单越新 第一军医大学生化教研室 讲师 博士
赵 青 广州医学院生化教研室 讲师 博士

内容提要

基因诊断与基因治疗进展

该书为国家新闻出版署“九五”规划重点图书,由国内从事基因诊断与基因治疗的几家权威机构的著名专家撰写,反映了该领域的最新进展。

基因诊断与基因治疗,是在基因工程技术日益成熟的基础上发展起来的非常活跃的研究领域。本书分为基因诊断与基因治疗2篇,分别介绍近年来在遗传性疾病、遗传易感性疾病、传染病、肿瘤的基因诊断与基因治疗方面国内外的最新进展及应用,着重介绍近年发展的基本技术和具体实施方法,试图不仅使广大读者能从本书了解有关的基础知识,还能为拟从事相关工作的专业人员提供技术指南。

本书可作为高等院校生命科学和医学专业的教师、研究人员和拟开展这方面工作的临床医师等的参考书,也可作为相关学科研究生、继续教育学员的教材。

2000/40^{0.6}

前 言

基因诊断与基因治疗进展

随着科学技术的发展,生命科学与物理学、化学等学科的交融,对疾病的诊断与治疗的手段日新月异。诊断学从望、闻、问、切或视、触、叩、听的整体水平,经器官组织水平的定位诊断,细胞水平的病因、病理诊断,发展到分子水平的生化分析和免疫学检测的微量化、自动化,致病基因、疾病相关基因逐渐被揭露,若干疾病已能在基因水平诊断其病因、追踪疾病发展状态,或进行疗效监测;基因诊断技术也不断改进更新,成为诊断学的新分支。治疗疾病的手段也从常规的药物、放疗、化疗、手术治疗,增添了包括基因治疗在内的生物技术疗法。

基因诊断的病种已涉及遗传病,遗传相关性疾病,传染病,预防医学对水、土、大气、食物是否被病原生物污染,亲缘鉴定,法医的个人认定,种属鉴定,性别鉴定,等等。本书第一篇着重介绍近年迅速发展的基因诊断技术及其在诊断各类疾病中的应用。

自1990年合法地实施对人的第一例基因治疗开始,至1998年5月15日为止,全球实施基因治疗才2557例,且主要病例是肿瘤和艾滋病,这是由于基因治疗的技术和方法还有许多亟待完善之处。正所谓“工欲善其事,必先利其器”。本书第二篇主要介绍近年发展的基因治疗技术,以便多学科共同努力,促进这一领域的发展。这是编写本书的初衷。

本书各章节的执笔者,是广州、上海等地在第一线从事相关领域研究的专家学者。撰写时,对原理、技术配合图表作系统介绍,文字力求通俗易懂。虽然如此,编者的水平毕竟有限,而且编写的时间紧迫,难免有错漏之处,恳请读者批评指正。

本书可作为高等院校生命科学和医学专业的教师、研究人员及拟开展这方面工作的临床医生等的参考书;也可作为相关学科研究生、继续教育学员的教材。

编 者

1999年6月于广州

目 录

基因诊断与基因治疗进展

第一篇 基因诊断

第一章 基因诊断概述	(3)
第二章 基因诊断的基本技术	(5)
第一节 以 PCR 为基础的技术	(5)
一、低严谨性特异性单链引物 PCR	(5)
二、长片段 PCR 技术	(6)
三、异源双链分析法	(7)
四、连接酶链反应	(7)
五、变性梯度凝胶电泳	(8)
六、化学错配裂解	(8)
七、荧光定量 PCR	(9)
八、DNA 池扩增技术	(9)
九、同源基因定量 PCR	(11)
第二节 以核酸探针杂交为基础的技术	(13)
一、挂锁 FISH	(13)
二、比较基因组杂交	(16)
三、DNA 芯片	(16)
第三章 血液系统遗传病的基因诊断	(19)
第一节 血红蛋白病的遗传学	(19)
一、血红蛋白病的遗传学基础	(19)
二、血红蛋白病的分类和分子基础	(21)
第二节 血红蛋白病的诊断	(29)
一、实验室检查	(30)
二、 α 地中海贫血的基因诊断与产前诊断	(31)
三、 β 地中海贫血的基因诊断与产前诊断	(32)
第三节 遗传性凝血因子缺乏	(35)
一、甲型血友病	(35)
二、乙型血友病	(38)
三、丙型血友病	(40)
四、血管性假血友病	(40)

第四节 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症	(42)
一、概述	(42)
二、生化	(42)
三、发病机制	(43)
四、人类 G6PD 的遗传学特征	(43)
五、基因诊断	(45)
第四章 神经系统遗传病的基因诊断	(49)
第一节 假肥大型肌营养不良症	(49)
一、DMD/BMD 患者的基因诊断	(49)
二、携带者检出和产前诊断	(50)
第二节 强直性肌营养不良症	(51)
一、基因诊断	(51)
二、产前诊断	(52)
第三节 腓骨肌萎缩症及相关疾病	(52)
第四节 遗传性共济失调	(53)
一、常染色体显性遗传共济失调	(54)
二、常染色体隐性遗传共济失调	(58)
第五节 遗传性痉挛性截瘫	(60)
一、遗传学	(60)
二、病因及发病机制	(61)
三、病理	(61)
四、临床表现	(61)
五、辅助检查与基因分析	(61)
六、诊断与鉴别诊断	(62)
第六节 遗传性周围神经病	(62)
一、概述与分类	(62)
二、遗传性运动和感觉神经病	(63)
三、遗传性感觉得自主神经病	(65)
四、遗传性淀粉样变性神经病	(66)
五、遗传性压迫易感性神经病	(68)
第七节 神经皮肤综合征	(68)
一、结节性硬化症	(69)
二、神经纤维瘤病	(69)
三、着色性干皮病	(71)
第五章 其他遗传性疾病的基因诊断	(79)
第一节 苯丙酮尿症	(79)
一、临床表现	(79)
二、PAH 的分子结构与 PKU 的发病机制	(79)
三、PKU 的基因诊断	(81)
第二节 黏多糖贮积症	(91)
一、黏多糖贮积症的分类及临床表现	(91)
二、黏多糖的分子结构与黏多糖贮积症的发病机制	(93)
三、黏多糖贮积症的诊断方法	(94)

第三节 糖原贮积症	(111)
一、概述	(111)
二、糖原贮积症 I 型	(113)
三、糖原贮积症 II 型	(115)
四、糖原贮积症 III 型	(116)
五、糖原贮积症 IV 型	(117)
六、糖原贮积症 V 型	(119)
七、糖原贮积症 VI 型	(119)
八、糖原贮积症 VII 型	(120)
九、糖原贮积症 VIII 型和糖原贮积症 IX 型	(120)
十、糖原贮积症 X 型	(121)
十一、糖原贮积症 XI 型	(121)
十二、糖原合成酶缺乏症	(122)
第六章 遗传易感性疾病的基因诊断	(125)
第一节 家族性高脂血症的基因诊断	(125)
一、家族性脂蛋白脂酶缺陷	(126)
二、载脂蛋白 CII 缺乏	(128)
三、家族性卵磷脂胆固醇脂酰转移酶缺陷	(129)
四、载脂蛋白 E 与家族性 III 型高脂蛋白血症	(131)
五、影响血浆胆固醇水平的基因诊断	(133)
六、高脂血症相关基因突变的诊断技术	(136)
第二节 糖尿病的基因诊断	(141)
一、线粒体基因突变糖尿病	(141)
二、胰岛素基因突变病	(141)
三、胰岛素受体基因突变病	(142)
四、葡萄糖激酶基因突变病	(142)
五、其他基因突变病	(142)
六、糖尿病相关基因诊断技术	(143)
第三节 高血压的基因诊断	(146)
一、遗传与高血压	(146)
二、高血压病的基因诊断	(147)
三、前景展望	(149)
四、高血压相关基因的基因诊断技术	(150)
第四节 动脉粥样硬化的基因诊断	(152)
一、遗传与血管壁细胞生物学行为	(152)
二、AS 斑块组织基因表达检测及序列分析	(154)
三、AS 相关基因诊断技术	(155)
第七章 衣原体感染的基因诊断	(159)
第一节 沙眼衣原体感染的基因诊断	(159)
一、PCR 法	(159)
二、LCR 法	(161)
三、Q-beta 复制酶法	(162)
四、Gen-Probe AMPLIFIED CT(AMP CT)	(162)

第二节 肺炎衣原体感染的基因诊断	(163)
第八章 寄生虫病的基因诊断	(165)
第一节 疟原虫	(165)
一、核酸探针	(166)
二、PCR	(168)
第二节 利什曼原虫	(169)
一、k DNA 的扩增	(170)
二、18S rDNA 的扩增	(170)
三、其他 DNA 的扩增	(170)
第三节 溶组织内阿米巴	(171)
第四节 阴道毛滴虫	(172)
一、核酸探针	(172)
二、PCR	(172)
第五节 刚地弓形虫	(173)
一、核酸探针	(173)
二、PCR	(174)
第六节 卡氏肺孢子虫	(175)
一、核酸探针	(175)
二、PCR	(176)
第七节 隐孢子虫	(178)
第九章 基因诊断与肿瘤	(183)
第一节 概述	(183)
第二节 基因诊断与结肠癌	(184)
一、结肠癌变的分子机制	(184)
二、分子生物学检测	(185)
第三节 基因诊断与乳腺癌	(187)
第四节 基因诊断与肺癌	(188)
第五节 基因诊断与肝癌	(189)

第二篇 基因治疗

第十章 基因治疗概论	(193)
一、基因治疗的现状	(193)
二、遗传病基因治疗策略	(195)
三、肿瘤基因治疗策略	(195)
第十一章 体细胞的基因转移	(199)
第一节 非病毒介导的基因转移方法	(199)
一、磷酸钙共沉淀法	(200)
二、DNA 直接注射法	(200)
三、显微注射法	(200)

四、微粒子轰击法	(200)
五、受体介导的基因转移法	(201)
六、电脉冲介导法(电穿孔法)	(201)
七、脂质体转移法	(201)
八、非病毒介导的基因转移在临床上的应用	(202)
第二节 病毒介导的基因转移方法	(202)
一、逆转录病毒载体	(202)
二、慢病毒载体	(204)
三、腺病毒载体	(205)
四、腺相关病毒载体	(206)
五、痘苗病毒载体	(208)
六、其他病毒载体	(209)
第十二章 核酶	(211)
第一节 概况	(211)
第二节 结构与作用原理	(212)
一、tRNA ^{Phe}	(213)
二、锤头状 ribozyme	(213)
三、发夹结构	(217)
四、斧头结构	(218)
五、RNase P	(219)
六、第一组自我剪接	(219)
七、第二组 RNA 的自我剪接	(222)
第三节 ribozyme 应用技术	(224)
一、基本的设计原理	(224)
二、切点选择	(224)
三、设计 ribozyme 的计算机软件	(225)
四、体外合成	(226)
五、抗降解	(227)
六、剪切效率的提高	(228)
七、体外筛选技术	(229)
第四节 ribozyme 在活体内的应用	(231)
一、导入细胞的途径	(231)
二、转基因生物	(232)
三、在活体中的表达	(232)
四、胞内活性的检测	(234)
第五节 ribozyme 在医学上的应用	(235)
一、抗 AIDS	(235)
二、抗白血病	(236)
三、抗病毒病	(237)
四、抗肿瘤	(237)
五、抗抗药性	(237)
第十三章 反义 RNA 技术和反义基因治疗	(245)
第一节 天然反义 RNA 的发现及其调节	(245)

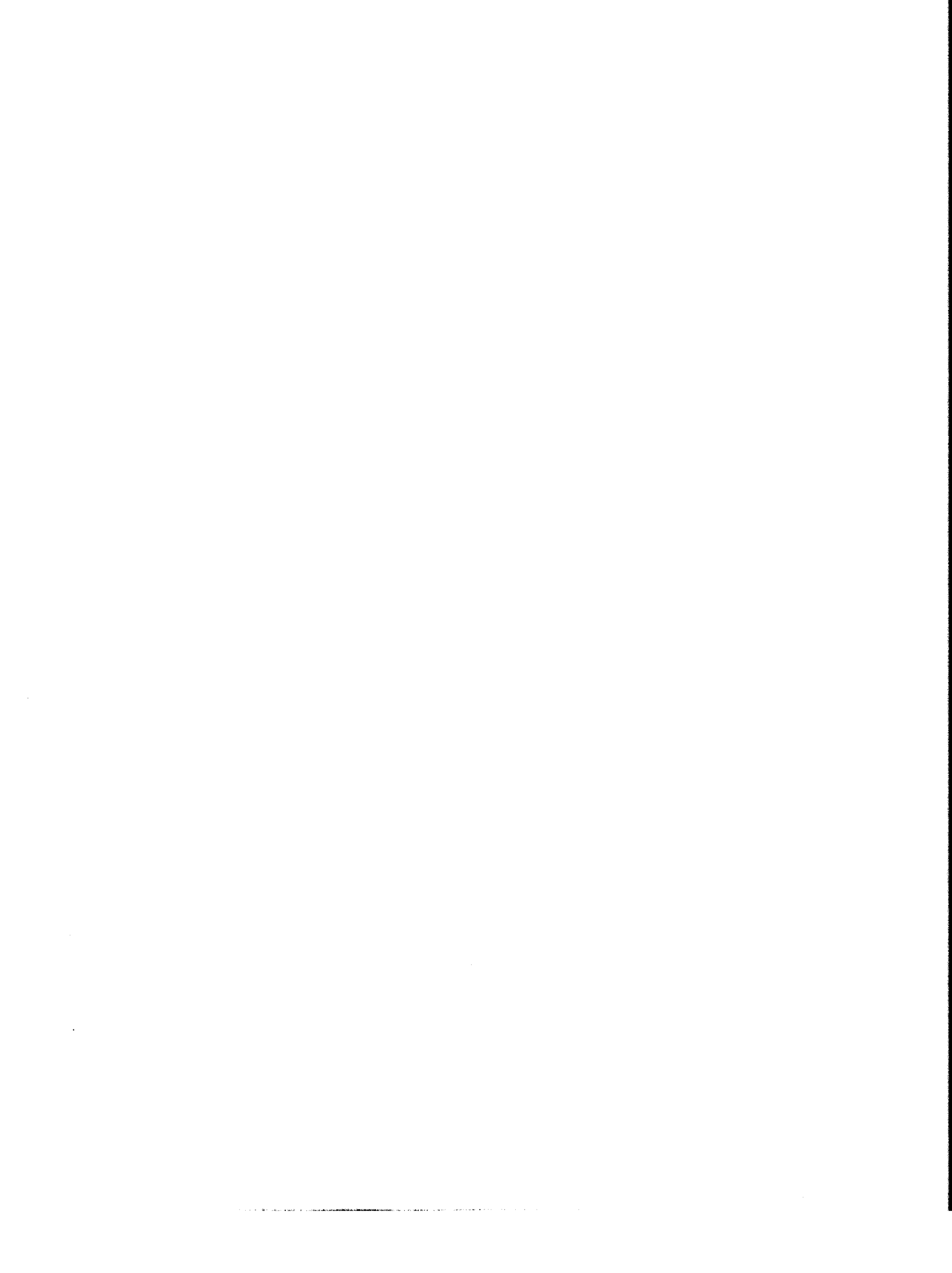
一、原核细胞中反义 RNA 调节	(245)
二、真核细胞中反义 RNA 调节	(246)
第二节 反义 RNA 的作用机制	(246)
第三节 人工反义 RNA 的设计与反义表达载体的构建	(247)
一、获得反义 RNA 的途径	(247)
二、反义 RNA 表达载体的构建	(247)
第四节 反义 RNA 的抗病毒作用	(249)
第五节 反义 RNA 的抗肿瘤作用	(250)
第六节 反义治疗方法	(251)
一、可诱导性反义基因载体和反义抗性靶基因载体共转染小鼠成纤维细胞	(251)
二、免疫沉淀法证明反义抑制和反义拯救	(252)
第十四章 恶性肿瘤的基因治疗	(255)
第一节 肺癌的基因治疗	(255)
一、肺癌的免疫基因治疗	(255)
二、肺癌的抑癌基因治疗	(256)
三、反义基因治疗	(257)
四、多药耐药基因抑制治疗	(258)
五、肺癌的联合基因治疗	(258)
第二节 肝癌的基因治疗	(260)
一、免疫基因治疗	(260)
二、抑癌基因治疗	(261)
三、反义核酸基因治疗	(261)
四、自杀基因治疗	(261)
五、联合基因治疗	(262)
六、病毒载体与肿瘤靶向性基因转染的研究	(262)
第三节 恶性黑色素瘤的基因治疗	(263)
一、免疫基因治疗	(263)
二、反义核酸与抑癌基因治疗	(264)
三、自杀基因治疗	(264)
四、联合基因治疗	(265)
第四节 癌胚抗原阳性肿瘤的基因治疗	(265)
一、引入抑癌基因	(265)
二、矫正癌基因突变或抑制癌基因表达	(266)
三、加强肿瘤抗原的免疫性	(266)
四、利用自杀基因及其旁观者效应	(266)
五、导入细胞因子	(268)
六、展望	(268)
第十五章 寄生虫病的基因治疗	(273)
第一节 概述	(273)
一、核酸疫苗的特点	(273)
二、核酸疫苗的安全性问题	(274)
三、核酸疫苗的免疫机制	(275)
四、寄生虫核酸疫苗	(275)

第二节 疟疾的基因治疗	(276)
一、红前期疫苗	(276)
二、红内期疫苗	(276)
三、传播阻断疫苗	(277)
四、疟疾的核酸疫苗	(278)
第三节 血吸虫病的基因治疗	(279)
一、血吸虫疫苗主要候选因子	(279)
二、发展血吸虫疫苗的策略	(281)
第四节 利什曼原虫病的基因治疗	(281)
一、第一代疫苗	(281)
二、第二代疫苗	(282)
三、第三代疫苗	(282)
第十六章 病毒性疾病的基因治疗	(285)
第一节 抗病毒感染基因治疗策略	(285)
一、增强机体免疫力	(285)
二、促进体内抗病毒蛋白的产生	(286)
三、细胞内免疫	(286)
第二节 AIDS 的基因治疗	(286)
一、HIV 的生物学特性	(287)
二、HIV 的致病机制	(290)
三、HIV 感染的基因治疗	(291)
第三节 病毒性肝炎的基因治疗	(300)
一、肝炎病毒的分子生物学	(301)
二、病毒性肝炎基因治疗的策略	(304)
三、反义技术抗肝炎病毒的原理与作用靶位	(305)
四、反义技术抗肝炎病毒的应用	(307)
五、免疫基因治疗	(312)
六、病毒性肝炎基因治疗存在的问题与展望	(313)
第四节 其他病毒性疾病的基因治疗	(313)
第十七章 遗传易感性疾病的基因治疗	(317)
第一节 高脂血症的基因治疗	(317)
一、LDL 受体缺陷的基因治疗	(317)
二、卵磷脂胆固醇脂酰转移酶过度表达治疗高脂血症模型	(318)
三、载脂蛋白基因缺陷小鼠基因替代	(318)
四、重组 LDL 受体基因的腺病毒载体在体内直接释放	(319)
第二节 糖尿病的基因治疗	(319)
一、IDDM 的基因治疗	(320)
二、NIDDM 的基因治疗	(321)
第三节 高血压病的基因治疗	(322)
一、血管紧张素原基因治疗高血压病	(322)
二、血管紧张素 II 受体基因治疗高血压病	(323)
三、激肽释放酶基因和心钠素基因治疗高血压病	(323)
四、其他基因治疗高血压病	(324)

第四节	动脉粥样硬化与再狭窄的基因治疗	(324)
一、	阻断 SMC 增殖的信号传导	(325)
二、	增强细胞内生长抑制基因的表达	(325)
三、	直接杀伤增殖的 SMC	(326)
第五节	心血管疾病基因治疗问题及展望	(327)
第十八章	遗传病的基因治疗	(333)
第一节	假肥大性肌营养不良症的基因治疗	(333)
一、	成肌细胞移植	(333)
二、	基因取代	(333)
第二节	地中海贫血的基因治疗	(334)
一、	治疗原则	(334)
二、	β 珠蛋白基因转移的治疗	(335)
三、	药物基因治疗	(335)
四、	反义核酸治疗	(336)
第三节	乙型血友病的基因治疗	(336)
一、	选择乙型血友病进行人类基因治疗研究的背景和理由	(337)
二、	病例的选择	(337)
三、	细胞注射制剂的制备及受试者基因治疗	(337)
四、	乙型血友病基因治疗疗效观察	(338)
第四节	苯丙酮尿症的基因治疗	(339)
一、	常规治疗	(339)
二、	基因治疗	(339)
第五节	黏多糖贮积症的基因治疗	(341)
一、	方法学	(341)
二、	MPS I 型的基因治疗	(342)
三、	MPS II 型的基因治疗	(342)
四、	MPS VI 型的基因治疗	(343)
五、	MPS VII 型的基因治疗	(343)
	中文索引	(349)
	英汉索引	(357)

part one
gene diagnosis

第一篇
基因诊断



第一章 基因诊断概述

(introduction to gene diagnosis)

诊断一词的外文 *diagnosis* 来自希腊文,有认识、判断的意思。现代汉语大词典对诊断的注释为:在检查病人的症状之后,判定病人的病症及其发展情况,由观察症候而断定疾病的性质。及早查明引起病理生理过程的原因,明确疾病的性质,是诊断学的主要任务。人们在与疾病作斗争的长河中,首先认识了病理生理的外观表现,根据疾病的症状,我们的祖先悟出了认识症状对诊治疾病的重要性。战国时期,秦越人总结了望色、闻声、观形、切脉四诊,继后发展为“望、闻、问、切”,这是一项非常了不起的科学总结,在两千多年的历史中,为保障人们的健康,发展民族的科技文化作出了重要贡献。显然,“望、闻、问、切”还只是认识疾病的肤浅手段。随着现代科技的发展,借助物理学的声学原理,1887~1888年间发明了双管听诊器。随后,西方医学的诊断手段发展为“视、触、叩、听”。“望、闻、问、切”与“视、触、叩、听”都是在整体水平上对疾病的来龙去脉作出判断。随着显微镜、体温计、血压计的发明,X射线的发现和应用,生物学、血液学和病理学的发展,使诊断技术进入了器官和细胞水平;寄生虫学和微生物学的发展,能对感染性疾病进行病因诊断;生物化学、免疫学的发展与应用,使诊断进入了生化领域的检测。20世纪50年代开始,人们对组成人体的生物大分子中的蛋白质和核酸的结构及其结构与功能的关系,有了较深入的认识。20世纪70年代以来,随着分子生物学的飞速发展,人们能够在分子水平上认识人类的遗传与变异的本质,对疾病的诊断达到基因水平。基因诊断的含义,简言之,是从基因水平阐明病因的症结所在。诚然,现代诊断学的内容包括临床病理形态、病理生理和病因诊断,而查明病因是有效地治疗和预防疾病的前提,是最理想的诊断手段。

疾病是由于人体或生物体自身的(遗传)因素,或由环境因素的影响,或遗传因素与环境因素共同作用,引起机体生理生化过程的异常,轻则表现出一时性的病理生理过程,重则发展成不可逆的病理变化,甚至导致个体生命的终结。

遗传性疾病是由于患者有某种基因的完全缺失、部分缺失或变异,造成其体内相应蛋白质的数量和(或)质量与正常人不同,不能执行正常的功能而表现的疾病。如我国常见的 α 地中海贫血和 β 地中海贫血,是由于患者的 α 和 β 珠蛋白基因的缺失或变异,不能合成正常的相应珠蛋白,患者体内红细胞的数量和质量与正常人不同而表现的贫血。基因诊断是应用分子生物学技术,制备特异的DNA或RNA探针,或寡核苷酸引物,直接分析相关个体的遗传物质,检测特定基因是否存在,是否有缺失、插入以及单碱基的突变,从而诊断是否患有或将患某种遗传病;也可通过羊水或脐血产前诊断胚胎是否有某种遗传缺陷,出生后是否会发病,从而判断有无继续妊娠的必要。

遗传相关性疾病是一类具有明显家族倾向发病的疾病,其致病基因尚未研究清楚,但与某种遗传标记具有显著相关性。流行病学资料显示,肿瘤、心血管疾病、糖尿病、高血压、红斑狼疮等可通过检测相关基因,进行连锁分析作出辅助诊断,在症状出现前作预测预报。