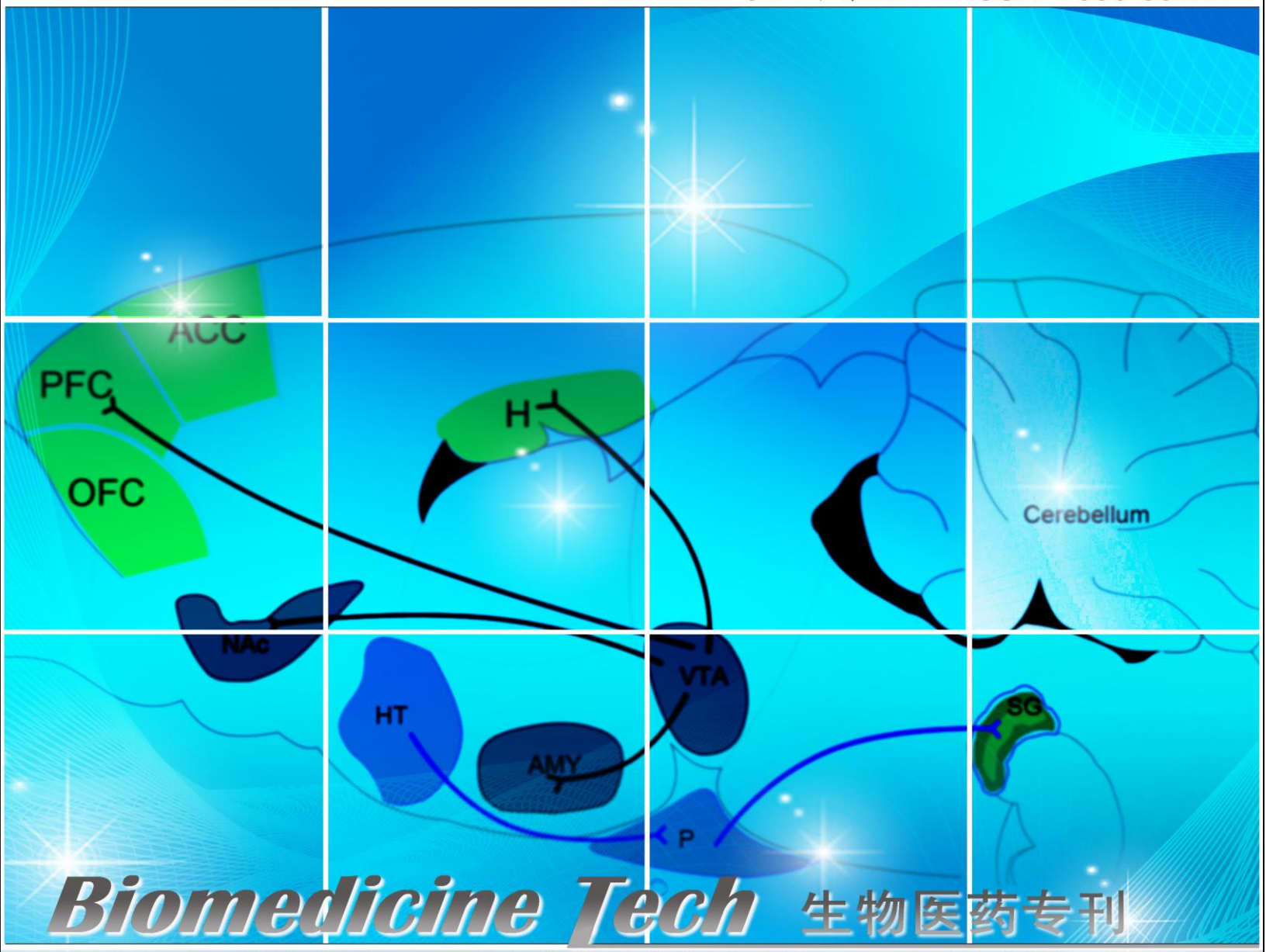
海外学人

Overseas Scholars

2012 年第 2 期 ISSN: 1556-861X



Biomedicine Tech 生物医药专刊

基础医学研究 医药领域数据管理 最新生物科技

CHINESE ASSOCIATION FOR SCIENCE AND TECHNOLOGY
U.S.A.
中國旅美科技協會
Chinese Association for Science and Technology, USA (CAST-USA)
www.cast-usa.net

中国旅美科技协会名誉顾问

杨振宁　清华大学教授、诺贝尔奖获得者
周光召　中国科协名誉主席、中国科学院前院长
朱丽兰　中国科学技术部前部长
邓文中　美国工程院院士、美国林同琰国际公司董事长
路甬祥　中国科学院前院长、全国人大常委会副委员长
宋　健　中国工程院前院长、全国政协前副主席
陈香梅　美国国际合作委员会主席

中国旅美科技协会机构与主要负责人

总会会长	董事会主席	理事会主席	预备会长
盛晓明	方　彤	曾大军	蔡逸强

总会副会长

于　浩　协助会长处理科协日常事务
郭　光　负责新闻通讯及杂志（新闻简报）
秦学文　负责企业交流与活动
汪　洋　负责会员发展
蒋为民　负责公共关系-美国事务
谢长春　负责东部各分会工作的协调
潘星华　负责总会东部赞助事宜
范　军　负责总会在国内的发展与活动
陆　强　《海外学人》主编，顾问委员会主席
庞　涛　负责学术活动（学术协调委员会主席）
陈志雄　负责组织学术会议
沈　琦　负责对外宣传
林馨恩　负责战略规划
贾鹏程　负责公共关系-中国事务
彭　伟　负责中西部各分会工作的协调
程晓红　负责总会中西部赞助事宜
高梅梅　负责财务
张　宣　总会法律顾问

海外学人

OVERSEAS SCHOLARS

2012 年第 2 期
ISSN: 1556-861X

本期责任编辑：蔡逸强　盛晓明
发　行　人：曾大军

《海外学人》编辑部

名誉主编：　王飞跃
主　　编：　陆　强
执行主编：　郭　光
编　　辑：　盛晓明　蔡逸强　陈志雄
　　王志梁　胡增建
美术/摄影：　徐　珺
公共关系：　蒋为民
专刊审稿人：　陈　新　韩明虎　胡志伟
　　李爱荣　马　超　潘星华
　　彭　伟　王志梁　吴湘玥
　　熊焕贵　郑文岭　庄守纲
　　何传华　于　浩

杂志主办

中国旅美科技协会
Chinese Association for Science and Technology, USA (CAST-USA)
www.cast-usa.net

中国旅美科技协会简介

中国旅美科技协会（旅美科协）是 1992 年夏在纽约成立的非政治性、非盈利性的民间团体。旅美科协的宗旨是促进旅美学人的信息交流，事业发展；加强团员友谊；发扬中华文化传统；增进中美两国人民之间的了解；推动中美在科技、经济、文化方面的交流与合作。 科协会员主要由来自科技、文教、工程、法律、金融、人文等各个领域的中国旅美专业人士组成。现有注册会员近五千人，非注册会员三千余人。协会由地区分会和专业学会组成，总部设在纽约。目前在全美有十多个分会及学会，会员分布在几十个州。总会设执行委员会负责日常工作，旅美科协还设有董事会、理事会、学术活动协调委员会和顾问委员会。

本期目录

1 前言……蔡逸强 盛晓明

5 阿尔茨海默病风险因素和遗传基因研究进展 …… 李爱荣

12 脊髓电刺激术治疗病理性疼痛的生理学机制 ……关 云

21 治疗用单克隆抗体及其在镇痛方面的应用……冷 强

26 抑郁动物模型及其机制的研究进展……张红星 韩明虎 曹君利

41 肾脏离子转运体和离子通道变异而引起的遗传性疾病 ……王 彤

49 成年肾脏里有没有干细胞？……郭建侃

52 蛋白质结构遗传复制的可能机理……叶学敏

60 睡眠呼吸障碍与其他呼吸系统疾病…… 彭 伟

68 无症状高尿酸血症及并发症……王幼松

72 前列腺癌的近距离放射治疗的临床研究和最新进展……翟勇军

80 基于软材料 PDMS 的微流控技术在生物医学领域的应用……韩 琳

89 生物医药领域中的数据管理……王一容

95 中美交流合作的重要桥梁 ------ 耶鲁大学……王 芳

100 孜孜不倦，毕生求索 ---- 薛社普院士传记摘编……陈克铨

116 福建省生物医药产业发展及相关人才政策介绍……吴小颖

123 耶鲁大学实验室简介……Yingqun Huang Yibing Qyang

脚踏实地，积以跬步

----- -《海外学人-生物医学专刊第二期》出版前言

蔡逸强[1]，盛晓明[2]

《海外学人》编委，本刊执行编辑，[1]耶鲁大学医学院内科系，[2]犹他大学医学院儿童医学系

又见读者！《海外学人–生物医学专刊第二期》终于面见读者了。

自 2010 年底《海外学人–生物医学专刊第一期》出版后，受到许许多多的科协会员朋友及各界朋友的关注和支持，阅读点击的人次至今已达四千多之数。这样的反馈对科协的领导团队，对《海外学人》的作者及编者们都是莫大的支持和鼓舞。会长方彤博士和主编陆强博士更是强调要再接再厉，把专刊一步一步地踏踏实实在较高的专业水准上办好。前会长曾大军博士及王飞跃博士更是在刊物出版上给予极力支持。这一切是本刊得以出版的重要前提。《生物医学专刊》新一期的再次刊出，不仅能够继续为中美专业华人朋友提供学术交流的平台，更为将来可能的专业合作提供重要的人才与专业信息！

正如在 2010 年《生物医学专刊》首刊出版时的感言中所感谢的，本刊的出版仍得归功于科协及各界朋友们无私和大力的支持！编者借此机会首先衷心感谢的是旅美科协“专业学术协调委员会(医学委员会)”成员，耶鲁大学医学院的马超博士和潘星华博士，及科协总会副会长于浩的大力支持。他们在第一时间内推荐介绍了多位华人专家学者，并多次联络和协调，使得稿件如期顺利完成。其次让编者深为感激的是所有的应邀作者们，他们在百忙的本职工作中，不仅挤出宝贵时间为本刊襆稿，还多次与编者反复讨论探讨文章编写的相关事宜，甚或多次修改格式编幅以期更适合本刊发表。作者们的唯真唯慎的科学精神和负责的态度，给编者留下深刻印象，更值得我们敬佩和学习！

本刊出版的文章专业上既涵盖基础医学研究的领域，又有临床医学领域的新信息；既涉及医药领域数据管理的内容，又介绍最新生物科技的应用。哈佛大学医学院讲师李爱荣博士对最常见的老年痴呆症阿尔茨海默病(AD)的风险因素尤其其遗传基因研究的进展作了全面而详细的介绍。李博士是遗传学方面研究的专家，她在耶鲁工作时就曾成功克隆出“多囊肝”的第一号致病基因。此次应邀在第一时间内送来悉心撰写的文稿，让编者甚为感激。约翰. 霍普金斯大学医学院助理教授关云博士的关于“脊髓电刺激术治疗病理性疼痛的生理学机制”的论文，总结并综述了他领导的实验室和其它研究小组近期在研究脊髓电刺激术镇痛的神经生理学和生化学机制方面的主要发现，探讨了未来的研究方向，并与读者分享其多年研究的心得。耶鲁大学医学院的冷强博士是离子通道方面研究的专家，他向读者介绍了与疼痛控制有关的另一种机制“电压依赖性钠离子通道”。介绍了其相关分子遗传学基础，同时还对应用单克隆抗体治疗其它

疾病作了简单综述。张红星、韩明虎、曹君利等作者则对抑郁动物模型及其机制的研究进展进行了详细的综述。西奈山医学院的助理教授韩明虎博士和徐州医学院的教授曹君利博士都是从事抑郁动物模型及其机制方面研究的专家，其综述让读者全面而详细的了解目前国际上有关抑郁动物模型的种类、特点及应用的进展。耶鲁大学细胞和分子生理系的王彤教授为本刊提供的文章，简练而全面地综述了肾脏领域的与肾小管的离子转运和离子通道基因相关的遗传性疾病的主要特点及其相关实验动物模型。王彤教授是用肾小管微灌注技术及其它遗传学和分子生物学方法研究肾脏离子转运方面的研究专家。耶鲁肾内科助理教授郭建侃博士则为读者介绍干细胞研究领域一个重要课题，即：肾脏是否有干细胞的存在？郭博士主要从事肾脏发生学及干细胞方面的研究，他的文章为读者提供一个与此相关的新信息。潍坊欣健生物科技有限公司总经理，原美国西奈山医学院研究员叶学敏博士的关于“蛋白质结构遗传复制的可能机理”的文章，则为读者了解“朊病毒”（即蛋白质“prion”）的复制的可能机制提出自己新的见解。另外，大盐湖城医院重症医学和呼吸科主任和犹他大学医学院内科客座教授，原中国旅美科技协会犹他州分会的会长彭伟医生在应邀后很快就送来关于睡眠呼吸障碍与其他呼吸系统疾病方面的研究进展的文章。其文描述慢性阻塞性肺病、哮喘、囊性纤维化及间质性肺疾病并发睡眠呼吸障碍的病理生理变化、临床特点及治疗方法。为读者提供了临床方面的重要信息。同样的，耶鲁风湿内科临床医生王幼松博士关于无症状高尿酸血症及并发症的文章，把此病症临床特点及目前的新认识介绍给读者，进一步充实本刊临床医学方面的信息。耶鲁大学医学院的住院医生翟勇军博士介绍讨论了目前临床上前列腺癌近距放射治疗而面临的水肿效应这一重要课题。为读者提供了新的研究成果。除了上述的基础和临床医学的研究方面的综述文章外，耶鲁大学生物医学工程系的韩琳博士的文章给读者介绍了软材料微流控芯片的制作过程和它在基因组学及蛋白质等领域的研究应用。此一新技术将在生物医学研究中发挥重要作用。勃林格殷格翰制药公司的资深商务分析师王一容还为本刊送来关于生物医药研究中的数据管理方面的文章，简练而明了，扩大了本刊的交流范围。为读者开拓了视野。

除上述占大多数编幅的专业学术文章外，我们还特邀耶鲁大学助理校务卿王芳女士介绍了耶鲁大学在中美交流中所起的重要作用。王芳女士在百忙中不仅较详细介绍了她所负责和参与的耶鲁大学与中国合作的交流项目，还提供了胡锦涛主席2006 年访问耶鲁时的珍贵照片。编者也特邀北京协和医学院细胞生物学系陈克铨教授为我们编写了关于中国著名的细胞生物学家、实验胚胎学家和生殖生物学家薛社普院士的人物传记。陈克铨教授不辞辛劳多次详细地与编者讨论文章的修改,并提供珍贵照片。薛社普院士的感人事迹以及陈教授的认真负责的精神，令人敬佩。此外，为满足越来越多的“海归”学人的创业和合作需要，本刊还特邀福建省公务员局副局长、福建省人力资源开发办公室副主任吴小颖博士介绍福建省生物医药产业发展现状及相关人才政策。吴博士在从

美国研修结束后回中国的几天内，即不辞旅途辛劳及时送来邀稿，表达出对《海外华人》及旅美科协的大力支持！最后，本刊还简要介绍了耶鲁大学医学院副教授 Yingqun Huang 博士及心脏学研究所助理教授 Yibing Qyang 博士所领导的实验室的研究情况。所有这些资讯无疑使得本刊的内容更为丰富多彩，范围更为广泛。相信将为《海外华人》的读者们提供有益又丰富的信息。

本刊最后的顺利出版，还归功于《海外华人》编委同事们及应邀审稿专家诸多朋友的无私支持和辛勤劳动。因篇幅所限笔者未能在此逐一列举，谨借此机会再次表示衷心的感谢。

《海外学人–生物医学专刊》自 2010 年首期刊出以来，各界的关注和支持给编者们以极大的鼓舞和鞭策，本刊作为第二期，内容上也有了进一步充实和丰富，我们仍意识到,《海外学人–生物医学专刊》尚处在起步阶段，然“不积硅步，无以致千里”我们依然抱着抛砖引玉的态度，诚恳地希望各界朋友们能继续给予大力的支持，并期望越来越多的高标准的专业文章投稿于本杂志。我们愿与朋友们一道，脚踏实地，一步一个脚印地办好每一期专刊，为中美华人朋友的专业交流提供有益的渠道和平台，增进友谊，促进合作而共同努力！

作者简介：

蔡逸强 博士

(yiqiang.cai@yale.edu)

中国旅美科技协会总会(2013 年度)候任会长，现任耶鲁大学医学院肾内科和多囊肾病研究中心副研究员(Associate Research Scientist)，毕业于中国湖南医科大学医疗系及日本国立德岛大学医学院，美国爱因斯坦医学院及耶鲁大学医学院博士后，从事多遗传性囊肾病研究。作为合作者共在国际学术刊物包括《科学》，《细胞》，《自然遗传学》(4 篇)，《自然细胞生物学》，《生物化学》等杂志，发表学术论文 40 多篇。其中多囊肾方面研究 30 篇已被同行引用达三千多篇次，占同领域发表论文总量的百分之三十多。作为第一作者的论文最高已被引用达 210 篇次。作为首席研究员的科研课题先后获“美国心脏学会科学家发展奖(基金)”和“美国多囊肾病研究基金”支持。此外,曾五次获“美国肾脏学会旅行奖”，还获美国国立卫生署(NIH)肾脏学培训基金及日本“滕井-大塚国际交流基金。现为美国肾脏学会会员，曾多次应邀到各院校包括布朗大学、加拿大阿尔伯特大学、韩国(汉城)淑明女子大学，及中国北京大学医学部、第二及第三军医大学、南方医科大学、中南大学等多所院校

作专题学术报告。多次应邀为“美国肾脏学会杂志”、“国际肾脏”杂志(美国)，及“癌症通信”杂志(德国)审稿。担任《Internal Medicine Open Acess》，《Hereditary Genetics Open Acess》等四个英文杂志编委。还应邀为欧洲编撰的“癌症百科全书”(第二版)(Springer)纂写“多囊肾病”一节。自 2008 年 6 月起还受聘为中国“中南大学”、“南方医科大学”及“成都医学院”的“客座教授”，及“成都医学院院报”编委。曾任三届中国旅美科技协会康州分会会长，及多次任中国旅美科技协会总会副会长。中国旅美科技协会的终身会员。

盛晓明 博士

(xiaoming.sheng@gmail.com)

中国旅美科技协会总会(2012 年度)会长，美国犹他大学儿童医学系副教授。一九八七年进入中国科技大学少年班学习，获工学学士、硕士学位。二〇〇二年在加拿大阿尔伯塔大学获得统计学博士学位。先后在美国犹他大学家庭与预防医学系及儿童医学系任助理教授及副教授，并兼任犹他大学统计委员会委员、医学院生物统计咨询中心共同主任。主要研究方向为数理统计方法及其在生物学、医学、社会学、经济学等领域的应用。先后参与加拿大四省肺癌研究、新生儿严重性病毒感染成因探讨、美国内华达州核试验放射性灰尘回落健康评估项目、上肢肌肉骨骼紊乱中风险因素的量化、西藏妇婴健康外联项目、自然家庭计划中 Creighton 模型的使用等科研课题，在国际性杂志上共发表几十余篇学术论文。在本专业内曾担任美国统计协会继续教育委员会主席、数理统计学会新研究员委员会主席，为多家医学及统计学科的期刊和杂志审稿。留学时曾担任所在大学中国学生学者联合会副主席，工作后担任中国旅美科技协会犹他分会的秘书长、主席以及总会理事、副会长。他是中国旅美科技协会的终身会员。

阿尔茨海默病风险因素和遗传基因研究进展

李爱荣
哈佛大学医学院神经系 （Boston, MA 02115）

前言

阿尔茨海默病(AD)是一种由于脑神经细胞渐进性退行性变和死亡而造成的神经性疾病，因德国医生阿尔茨海默(Alois Alzheimer)最先描述而得名。AD 是最常见的老年痴呆症类型，大约占老年痴呆症病人的 60~80%。最初症状包括记忆力减退、迷路、判断力下降等。随着病情的发展，病人将逐渐丧失认知和日常活动能力，并出现性情改变以及行为困难的情况。晚期 AD 病人会完全失智并最终导致死亡。确诊后病人平均生存约 10 年。AD 的发病机制迄今尚不清，但研究证明 AD 的发病与年龄、家族史和遗传基因变化等风险因素密切相关。AD 的神经病理学改变包括错折叠的蛋白质聚集和沉积，特别是聚合 β 淀粉样蛋白(Aβ)肽斑块和细胞内神经细纤维三角，同时还伴随着大量微血管损害，包括血管淀粉样蛋白沉积和病变大脑区域显著的炎症 [1,2]。

当阿尔茨海默首先于 1906 年描述 AD 时，人类的平均寿命只有 50 岁，很少有人活到 AD 的高发年龄，所以过去认为 AD 是一种少见病。现在人类寿命大大延长。美国统计局数字表明美国人平均寿命 79.6 岁，科学家发现 70 岁或 80 岁以上的老人 AD 发病率非常高。如果该病继续不能得到有效地预防和治疗，因为人口老龄化，AD 患者数量还会大幅增加,到 2050 年，患病人数预计达到 1 千 6 百万。AD 现占美国疾病死亡原因的第六位，也是前十位疾病死因中唯一无法预防、治愈甚至减缓病情发展的疾病。据 2002 至 2008 年统计局数字，大部分疾病的死亡率呈下降趋势，但是同期 AD 死亡率上升了 66%。

由于 AD 病情呈进行性加重，且无法治愈，因此，研究发现风险及遗传因素与 AD 发病之间的关系，将有助于有效地预防、诊断和治疗 AD。本文对 AD 风险因素以及遗传基因研究进展做一简要介绍。

风险因素和降低 AD 发病风险的措施

尽管 AD 多发于老年人，但并不属于正常老化的过程，而是一种疾病。最重要的风险因素包括年龄、家族史和遗传基因，这些风险因素都无法改变。此外，头部外伤、心脑血管疾病和环境因素与遗传因素的相互作用等也决定了 AD 的风险性，这些因素可以通过采取适当措施来避免或减少从而降低 AD 的发病风险 [3,4]。

1. 年龄

年龄是 AD 最大的风险因素。AD 多发于 65 岁以上的老年人，65 岁之后 AD 发病率每 5 年成倍增加。85 岁之后发病率高达 50%。但是，大约 5%的 AD 患者是年轻人，患病年龄可早至 30~40 岁。根

据最近统计学资料，大约 5 百 40 万 65 岁以上的美国人患有 AD，占 65 岁以上总人口数的 13%。65 岁以下和年轻的 AD 患者约计 20 万。

2. 家族史

AD 发病常有家族性，父母、兄弟姐妹或子女患有 AD 的人发病率比没有家族史的人患 AD 的可能性高 3.5 倍。如果有一位以上家族成员患 AD，风险性更高。家族史与遗传基因和环境因素都有关。

3. 遗传基因

遗传基因是重要的 AD 风险因素，据知高达 60%~80%的 AD 是由基因决定。此外，环境和表观遗传因素可能对决定一个人的 AD 风险起了重要作用，但是目前相关基本机制尚不清 [3]。本文将在下部分对 AD 遗传基因研究进展做详细叙述。

4. 头部外伤：

严重头部外伤增加 AD 风险性，尤其是重复性头部外伤或外伤引起意识丧失者。所以，注意安全、系好汽车安全带、运动时戴头盔和防止摔倒等都是保护大脑的措施。

5. 心脑血管病：

证据表示脑部健康与心脏血管健康紧密相连。大脑由心脏和血管提供养料。许多疾病造成心脏和血管的损害，从而增加患 AD 的风险，包括高血压、心脏病、中风、糖尿病和高胆固醇血症。因此及时治疗心脑血管病可以预防和减低 AD 发病。

6. 生活方式：

经常做运动和健身锻炼、均衡的饮食、减少饮酒、保持大脑与身体健康，似乎有助于降低患病风险。研究表明常做益智精神活动保持大脑活跃可能降低 AD 的风险。在一项由修女、神父和信教者参加的研究中，研究人员要求 700 多名受试者描述他们用于益智精神活动或保持大脑活跃所花费的时间量。这些活动包括听广播、看报纸、玩益智游戏、和参观博物馆。研究人员四年后随访受试者，发现常做益智精神活动受试者的老年痴呆症的风险比不作或很少做益智精神活动的受试者风险性平均水平至少低 47%。虽然研究尚未证明特殊的饮食或营养补充剂可以预防和治愈 AD，均衡的饮食有助于维持整体健康。

遗传基因研究进展

基因是 DNA(脱氧核糖核酸)分子上具有遗传信息的特定核苷酸序列的总称。基因记录和传递遗传信息，决定着人体健康的内在因素。AD 是一个复杂的多基因遗传病。遗传学上，AD 通常分为两种形式：少见的家族性早发性 AD 和常见的晚发性 AD。

家族性早发性 AD:

见于大约 5%的病人，发病年龄<60 岁；有家族性，符合孟德尔常染色体显性遗传规律，用遗传标记连锁和定位克隆的方法分析早发性 AD 的家系，确定了三个家族性早发性 AD 的基因 [1]：

1) 淀粉样前体蛋白(APP)，位于 21 号染色体，在 1987 年发现，是发现的第一个导致早发性 AD 的突变基因。所有家族性早发性 AD 患者中，APP 基因突变者占 5％至 20％，发病年龄通常在 50 岁。

2) 早老素 1(PSEN1)，位于 14 号染色体，于 1992 年确定，是发现的第二个导致早发性 AD 的突变基因。PSEN1 基因突变是引起早发性 AD 的最常见的原因，见于大约 50%的家族性早发性 AD。携带 PSEN1 基因突变的 AD 患者发病年龄从 29 到 62 岁不等，平均年龄仅 44 岁。带有某一特定的 PSEN1 基因突变的家庭成员往往在同一年龄发病。

3) 早老素 2(PSEN2)，位于 1 号染色体，于 1993 年发现，是发现的第三个导致早发性 AD 的突变基因, 与 PSEN1 同源。携带 PSEN1 基因突变的 AD 患者数量较少，目前仅有 6 个家系。

APP，PSEN1 和 PSEN2 都是常染色体显性遗传基因。迄今为止，在这 3 个基因上已经检测到了 200 多个突变。父亲或母亲如果携带基因突变，将有 50%的可能性传给子女。如果子女遗传了基因突变，几乎 100%会患早发性 AD，所以这些基因称为“预见性基因”[1]。

APP，PSEN1 和 PSEN2 基因的发现以及此后的分子遗传学和功能研究，显著加深了对 AD 神经退行性变病理机制的理解，奠定了“Aβ 肽学说”。Aβ 肽是 AD 病人脑内淀粉样班块的主要组成部分，由 APP 通过系列化的 β 和γ分泌酶切代谢生成，而早老素 1 和 2 是γ型分泌酶的催化中心的组成部分。Aβ 肽长度 36-43 个氨基酸不等，最常见的类型是 Aβ40 和 Aβ42，肽链长度与溶解性负相关，越长越难溶解。正常情况下 APP 代谢多数产生易溶的 Aβ40，容易从细胞内排出；但是 APP，PSEN1 或 PSEN2 的基因突变等因素引起细胞内难溶的 Aβ42 的过度生成、异常排出和过度积聚，从而激发 Tau 蛋白磷酸化、神经细纤维三角形成、血管炎性损害等一系列病理生理改变引起 AD[1]。

晚发性 AD:

见于大约 95%的病人，发病年龄通常≥60 岁。散发性，有或无家族性。晚发性 AD 呈复杂性遗传，携带基因变异并不一定引起 AD，只是影响一个人对 AD 的易感性，所以这些基因称为“易感性基因”。

载脂蛋白 E(APOE)，是第一个发现的导致晚发性 AD 的基因变异，也是已知的影响 AD 风险因素中最主要的易感性基因变异，可显著增加 AD 发病的风险 [5]。APOE 位于 19 号染色体，于 1993 年用遗传标记连锁和候选基因筛选的方法所发现。APOE 可以帮助载体运输血液中的胆固醇和其他类型的脂肪。APOE 基因有 3 个等位基因—APOEε2，APOEε3，和 APOEε4：

- APOEε2 相对少见，可能会提供对一些疾病的保护，包括 AD。

- APOEε3 是最常见的等位基因，被认为起中性作用，既不减少也不增加疾病的风险。

- APOEε4 出现于大约 25％到 30％的人口，和 40%的晚发性 AD 患者。

AD 患者比正常人带有 APOEε4 等位基因的可能性大。许多研究已经证实，携带 APOEε4 等位基因的人，往往比不带 APOEε4 的人增加 AD 的风险 4 倍。携带一个或两个 APOEε4 等位基因的人，往往比不带 APOEε4 的人发病年龄也较早。APOEε4 显著增加 AD 风险的确切机制尚不清楚，证据表明与增加 Aβ 积聚有关。AD 病人脑部 Aβ 肽斑块和细胞内神经细纤维三角斑块内包含大量积聚的 APOE，APOEε4 等位基因纯合子携带者表现出显著增加的 Aβ 肽斑块。APOE 有助于细胞间或细胞内 Aβ 的分解和清除，但 APOE 不同等位基因的功能强度有差异，尤其是 APOEε4 分解和清除 Aβ 的功能显著降低，从而增加 Aβ 积聚引起 AD 病理变化。然而，携带 APOEε4 等位基因只是增加风险因素，并不意味着一个人一定会得 AD，提示其他环境或遗传因素协同影响 AD 的易感性。此外，APOEε4 等位基因也与多种神经系统和心血管疾病相关联，比如帕金森氏病、多发性硬化症、年龄相关性黄斑变性以及心脑血管病，但关联没有与 AD 强。APOE 基因型检测对健康人并不必要，但是有助于老年痴呆症患者的诊断测试。

候选基因筛选

自成功发现 APOE 与 AD 的关联后，研究者用候选基因筛选的方法进行了大量的主要以 Aβ 为功能基础的其他潜在的相关性位点遗传关联的研究，但是在过去 30 年中测试的 700 多个候选基因的试验结果并不一致，提示候选基因筛选存在一定问题。潜在原因包括最初的假阳性和假阴性结果、异质性表现型、基因型和环境因素。只有少数基因在整合的资料分析中显示可能显著增加风险性，其中一些值得注意的基因包括血管紧张素转换酶（ACE）、去整合和含金属蛋白酶区蛋白质 10(ADAM10）、胆碱受体（CHRNB2)、死亡相关蛋白激酶 1(DAPK1）、白细胞介素 8(IL8)、甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)、鸟氨酸氨基甲酰(OTC)、sortilin 相关的受体 1(SORL1)、和转铁蛋白(TF）。这些基因的遗传影响力只有中度，而且随机整合分析的统计学也只有中度显著性。虽然这些候选基因位点的关联性 (OR) 介于 1.15~1.5 之间，在复杂性遗传病中也相当典型，但是其统计学显著意义的定义值 (即 P 值)~0.0001 和 0.01 之间，远远低于最近在全基因组关联研究（GWAS）中所用的 P 值(<<1×10^{-7})。这可能与多种因素有关，包括 I 型错误、样本量小、基因型试验差错、以及其他误差。AD 基因关联研究整合资料分析中显示 AD 遗传基因和其他常见病遗传基因类似，若风险等位基因 OR 值小于 2.0，或保护等位基因 OR 大于 0.5，基因风险性影响相对较弱。据估计，要达到这样的显著性，需要测试成千上万的病人，目前多数 AD 基因关联研究不满足该样本量的条件。所有 AD 基因关联研究结果集中汇集在 AlzGene 网站 (www.alzgene.com)[6]。该网站最初在哈佛大学医学院神经系创建,定期更新，是 AD 遗传连锁和关联研究的数据库。

全基因组关联研究(GWAS)

候选基因方法的主要局限性之一是它先入为主，注重基因位置。同时，由于过去开发多重基因分型检测有技术限制，一次只能检测一个或几个遗传标记，所以技术上也受限。然而，在过去五年中，芯片技术的出现彻底改变了遗传学的研究，它现在可以用一个试验评估成千上万的单核苷酸多态性(SNP)。通常情况下，这些芯片的单核苷酸多态性以高密度覆盖所有染色体，做到无预设假设的有效地全基因组关联测试。近几年先后有 11 个 AD 全基因组关联测试的报道，但迄今为止最重大的发现仍然是 APOE(P 值~1×10^{-160})，还有 30 余个其他位点与 AD 有遗传关联。

过去三年里 GWAS 的研究结果很大地促进了对晚发性 AD 遗传学的认识。GWAS 发现除 APOE 外与晚发性 AD 有遗传关联的基因包括 GRB2 相关结合蛋白 2(GAB2)，尤其在 APOEε4 等位基因携带者中效果显著，但在重复性研究中结果不一致。功能上，GAB2 蛋白质可能通过与 APP 和 PS1、PS2 的结合而影响 Aβ 的生成。其他数据表明也可能与 Tau 蛋白磷酸化和神经细纤维三角的形成有关。另一个以家系为基础的 GWAS 发现 ataxin1 (ATAXIN1）、siglec3 (CD33）和 14 号染色体上一个未知基因(GWA_14q31.2)位点[7]。

基因功能研究表明，ATXN1 表达的变化可能通过影响 β-分泌酶的 APP 裂解以调节 Aβ 的水平。CD33 属于唾液酸结合系列的免疫球蛋白样凝集素，可能作用于促进细胞间的相互作用以及调节免疫系统来影响 AD 病人脑部的炎性损害。一个值得注意的最近的有趣发现是，数据表明 Aβ 有抗菌肽作用，可能影响先天免疫系统的正常功能。其他全基因组关联研究发现的基因还有 X-连锁 protocadherin 11(PCDH11X)，是唯一检测到位于 X 染色体上的基因，但重复性研究结果不一。另外，载脂蛋白 J CR1(CLU)、补体成分(3b/4b)受体 1(CR1)、磷脂约束力网格蛋白装配蛋白(PICALM)、BIN1、EXOC3L2、类 NADP 依赖型亚甲基脱氢酶 1(MTHFD1L)位点均与晚发性 AD 风险性高度关联。目前，位于或临近 CLU、CR1 和 PICALM 的基因位点，均在重复性研究中得到证实，提示这些是真正的 AD 易感基因位点。其他位点，如 ATXN1、CD33、EXOC3L2、GAB2、MTHFD1L 和 PCDH11X，应当做重复性研究以进一步证实[7,8,9]。

后 GWAS 时代和新一代基因测序

尽管 GWAS 有很多重要的发现，GWAS 发现新位点的风险性影响效果很小，比如基因携带者只比不携带者增加 0.1-0.15 倍的风险，而携带 APOEε4 等位基因的人，往往比不带 APOEε4 的人增加 AD 的风险 4 倍。这些影响力甚微的基因对基因的发现过程是个挑战，以致于可能相当一部分遗传基因很难检测到，因此有必要采取其他行之有效的替代方法以确定其余的遗传易感性因素。这些方法包括确定 AD 遗传关联区域的影响基因功能的位点或变化，以及检测候选基因区域内罕见和结构的变化。此外，用新颖的数据分析方法来重新分析现有 GWAS 的数据可能会发现与疾病相关的新的结构性变化(如

基因插入、缺失、易位、和倒置)[10]。同时，新一代基因测序正在成为一种很有前途的方法。直接 DNA 测序的方法，包括外显子组测序(检测所有基因外显子编码区域序列)和全基因组测序(检测全基因组序列)，能有效地检测个体基因组中的遗传信息。对 AD 病人及家系进行直接 DNA 测序分析，将有助于少见 AD 基因的发现。

表观遗传因素

表观遗传因素指基因组中的调控基因信息。表观遗传因素不改变基因的序列，但是通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色体重塑、非编码 RNA 调控、假突变等等基因修饰以及蛋白质与蛋白质、DNA 和其它分子的相互作用，而影响和调节遗传基因的功能和特性，并且通过细胞分裂和增殖周期影响遗传。机体通过表观遗传因素联系外界环境因素和内在遗传因素，以更能适应外界环境的变化和保持基因组的稳定性。在尸检脑样品和淋巴细胞中用质谱法分析 12 个 AD 易感基因位点的表观遗传因素，发现年龄与 AD 易感基因位点的 DNA 甲基化程度显著相关。同时，一些参与 Aβ 肽处理(PSEN1，APOE)和甲基化动态平衡(MTHFR，DNMT1)的基因表现出显著的个体性表观遗传变异[11]。APOEε4 等位基因是目前唯一无可争议的晚发性 AD 遗传风险因素，APOE 基因呈双峰结构，5’启动子区域甲基化不足，而 3'CpG 岛完全甲基化。这些研究结果提示表观遗传变异与晚发性 AD 的发病有关。此外，表观遗传因素也对记忆形成有重要作用。组蛋白与 DNA 密切相关，组蛋白添加或去除乙酰基(-COCH3)或甲基(-CH3)功能体的化学修饰，可打开或关闭染色质结构，影响其中蛋白质合成酶的基因水平从而调节基因表达。研究发现环境因素改变 3 小时后就明显增加小鼠海马和皮质的组蛋白乙酰化，丰富的环境可以重塑染色质结构，使与记忆有关的基因在神经突触得到表达，从而增强记忆力[12]。由此推测用组蛋白去乙酰酶抑制剂有可能作为一种潜在的药物来治疗 AD 和其他神经退行性疾病，以达到恢复记忆的目的。动物试验表明组蛋白去乙酰酶抑制剂丁酸钠可以显著改善小鼠的记忆功能，但是组蛋白去乙酰酶抑制剂在人体的效应有待进一步研究。

结束语

AD 是个常见的复杂遗传病。年龄、家族史和遗传基因是 AD 最重要的风险因素。少数家族性早发性 AD 由 APP、PSEN1 或 PSEN2 基因突变引起，而已知的影响晚发性 AD 的最主要的基因变异是 APOEε4 等位基因。近年来，基于候选基因和 GWAS 的大量研究增加了人们对晚发性 AD 遗传风险因素的认识，但是，影响 AD 易感性的基因很大程度上仍然未知。人类基因组、高通量基因型测定和新一代基因测序技术的进步，以及新型的遗传数据分析方法、基因功能和表观遗传因素的研究，将极大地有助于 AD 易感基因的发现，从而促进 AD 的预防、诊断和治疗。

主要参考文献

1. Bertram L, Lill CM, Tanzi RE (2010). The genetics of Alzheimer disease: back to the future. Neuron 68, 270-81.

2. Knopman, D.S., et al. (2001) Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Neurology 56, 1143-1153

3. Gatz C.A. et al. (2006). Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. Arch. Gen. Psychiatry 63, 168–174.

4. Alzheimer's Association. http://www.alz.org/

5. Strittmatter, W.J., et al. (1993) Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. Proc Natl Acad Sci U S A 90, 1977-1981

6. Bertram, L., et al. (2007) Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. Nat Genet 39, 17-23

7. Bertram, L., et al. (2008) Genome-wide association analysis reveals putative Alzheimer's disease susceptibility loci in addition to APOE. Am J Hum Genet 83, 623-632

8. Grupe, A., et al. (2007) Evidence for novel susceptibility genes for late-onset Alzheimer's disease from a genome-wide association study of putative functional variants. Hum Mol Genet 16, 865-873

9. Li, H., et al. (2008) Candidate single-nucleotide polymorphisms from a genomewide association study of Alzheimer disease. Arch Neurol 65, 45-53

10. Wain, L.V., et al. (2009) The role of copy number variation in susceptibility to amyotrophic lateral sclerosis: genome-wide association study and comparison with published loci. PLoS One 4, e8175

11. Wang S-C, Oelze B, Schumacher A (2008). Age-Specific Epigenetic drift in late-onset Alzheimer's disease. Plos One 3, e2698.

12. Fischer, A., et al. (2007). Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. Nature 10, 1038.

作者简介：

李爱荣，牛津大学医学遗传学博士，耶鲁大学医学院内科做博士后研究。现任哈佛大学医学院神经系讲师。

脊髓电刺激术治疗病理性疼痛的生理学机制

关 云

约翰. 霍普金斯大学医学院麻醉系
(Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, 21205, USA)

摘要

慢性病理性疼痛严重地降低了病人的生活质量，并且给家庭和社会带来巨大的经济负担。在药物治疗效果不理想的情况下，脊髓电刺激术(spinal cord stimulation，SCS)可以做为控制慢性疼痛的有效方法，尤其是对于一些神经病理性疼痛。目前，关于SCS是如何抑制疼痛的详细机理仍然不十分清楚。为了有效地增加SCS的适用症和进一步增强其临床治疗效果，有必要对参与SCS镇痛作用的生理学机制进行深入的研究，并且探索能够产生最佳镇痛效果的刺激参数。我们实验室的工作采用了神经病理性疼痛动物模型从动物行为学和电生理学的角度对SCS的镇痛特点和机理进行了研究。本文总结并综述了我们实验室和其它研究小组近期在研究SCS镇痛的神经生理学和生化学机制方面的主要发现，并探讨了未来的研究方向。

关键词

脊髓刺激；神经损伤；神经病理性疼痛；闸门控制；背角；神经生理；大鼠；γ-氨基丁酸；五羟色胺；疼痛调控；WDR神经元。

前言

目前药物治疗慢性疼痛，如神经病理性疼痛的效果仍然不理想。几十年不断的临床实践证明脊髓电刺激术(spinal cord stimulation，SCS)可以做为供医生和疼痛患者选择的一个控制慢性病理性疼痛的有效方法，尤其是神经源性疼痛综合症[1,2]。经典的脊髓刺激术通过置放在患者椎管硬脊膜外的多导膜片电极施放高频率(50-60Hz)的电流激活脊髓背柱内的传导纤维，从而达到抑制疼痛在脊髓水平的传导而减缓疼痛。SCS的电刺激强度通常轻度而温和，患者在接受治疗时会感到在原先疼痛的区域出现感觉异常(paresthesia)，但不会有由于刺激而引起的很强不适感或疼痛。由于SCS不会像一些常用的镇痛药物如吗啡引起患者对治疗药物的成瘾性，同时SCS也没有明显的大多数镇痛药常有的严重副作用，因此近年来SCS被越来越多地应用于对慢性和顽固性疼痛的临床治疗中。在世界范围内，每年估计有超过30,000例患者接受了SCS刺激器的安置手术并得到治疗。虽然SCS在治疗慢性疼痛方面有效并具有很大的潜力，仍然有一些患者在接受SCS治疗后其疼痛症状没有得到明显的改善。因此，有必要对SCS镇痛机制有更好的了解，从而帮助医生合理地选择SCS适用症，优化刺

激参数，增强SCS的镇痛功效并最终达到对疼痛长期的解除。由于临床实践表明SCS减轻神经病理性疼痛的作用比对缓解其它原因引起的疼痛更为有效，在基础实验时采用神经病理性疼痛的动物模型比采用正常动物更适于研究其临床的镇痛机制[3]。近年来我们实验室以及其他研究者在这一领域的的研究增强了我们对SCS镇痛机制的进一步了解。在这里，我们综述了近期在研究SCS镇痛机制方面的进展和目前有关其脊髓节段性神经生理学和生化学机制的认识，并且探讨了未来增强SCS治疗效果和可能的研究方向。

疼痛的脊髓节段神经生理学机制

脊髓背角(spinal cord dorsal horn)是接受外周疼痛信号传入和对疼痛传导进行调控的重要区域。脊髓背角感觉神经元在外周神经损伤后会呈现长期的超兴奋现象，又称中枢敏化(central sensitization)。同时，脊髓内源性的疼痛调控功能出现紊乱而导致在脊髓节段对疼痛信号的抑制能力严重减弱。因此导致疼痛信号在脊髓水平的病理性放大和上行疼痛传导易化，最终引起痛觉过敏[4,5]。越来越多的临床和基础实验研究认为SCS的镇痛作用很大一部分是通过恢复和激活脊髓内的节段性疼痛抑制功能。损毁背柱可以明显减弱SCS的镇痛效果现象说明SCS的镇痛作用很大一部分是通过激活穿行于背柱中的Aβ－有髓神经纤维而达到的。背柱中的有髓神经纤维很多起源于胞体位于背根神经节内传导外周非伤害性刺激的有髓初级感觉神经元。根据疼痛的闸门学说(gate-control theory)，一些有髓初级感觉神经元在其中枢端同时发出神经纤维分别上行在背柱中和旁行进入脊髓背角并激活其中的抑制性中间神经元。这样激活背柱中的神经纤维可以抑制疼痛信号在脊髓节段的传导[6,7]。在由控制谷氨酸脱羧酶(Glutamate decarboxylase 1，gad1) 基因启动而表达的绿色荧光蛋白的转基因小鼠上，近期的细胞形态学和功能学研究发现很多的脊髓抑制性中间神经元位于脊髓背角浅层并表达γ-氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid，GABA)[8]。重要的是，综合证据显示很多这些γ-氨基丁酸能神经元可以被Aβ－有髓神经纤维的传入冲动所激活。这提供了刺激Aβ-有髓神经纤可以激活γ-氨基丁酸能神经元而抑制外周疼痛信号在脊髓背角传导的直接证据。一些临床研究结果提示这一机制应该对伤害性的病理疼痛和保护性的生理疼痛都有抑制效果。例如，SCS不但可以缓解因外周神经损伤，病毒感染，肿瘤侵袭引起的病理性疼痛，也可以抑制健康人的正常保护性生理疼痛收缩反射并降低了在生理条件下由高阈值C－纤维(C-fiber)所介导的热痛反应[9,10]。我们近期的电生理实验发现，在神经损伤组和未损伤组的对照大鼠上，采用与临床SCS相类似的刺激参数(50Hz，0.2ms)来电刺激背柱都显著地抑制了脊髓广动力范围神经元(wide-dynamic-range，WDR)对外周疼痛纤维或C－纤维传入的反应[11]。另外，即使在健康人中用低于其感觉阈值的轻度经皮脊柱电刺激也可以有效地降低正常的脊髓疼痛传导和抑制下肢疼痛刺激引起的屈肌反射[12]。然而，也有临床证据表明SCS对抑制病理性疼痛和降低痛觉过敏更有效[13]。目前尚不清楚产生这些不同结果的具体原因，部分可能是由于这些研究中所采用的SCS刺激参数和实验条件

不同，尤其是刺激的强度。根据闸门学说推断，SCS所产生的镇痛效果与其所能激活的Aβ-有髓神经纤维的数量在一定范围内应该呈正相关性。在采用清醒动物来研究SCS镇痛作用的实验研究中，SCS的刺激强度通常稍低于可以诱发由实验者肉眼所观测到的动物躯干或下肢肌肉收缩的刺激强度。这一强度通常被认为是清醒动物所能耐受的最高SCS刺激强度，又称运动阈值(motor threshold)或肌肉收缩阈值(muscle twitching threshold)[1,14,15]。这一阈值反应了电刺激背柱内的神经纤维产生的逆向传导的动作电位在到达相关脊髓节段后激活了同节段的运动反射弧而引起支配区肌肉的收缩[16]。然而，对于SCS在运动阈值刺激强度下所激活的Aβ-有髓神经纤维的数量一直不清楚。通过比较在神经损伤大鼠同侧坐骨神经所记录到的SCS所诱发的复合动作电位波型的大小，我们的研究发现SCS在运动阈值强度下只激活了很小一部分的Aβ-有髓神经纤维[15]。在实验动物上的这一发现与早期有关计算机模型所估测出的结果相一致[17]。此外，我们的实验结果还表明在SCS产生了明显镇痛效果的神经损伤动物上所记录到的坐骨神经复合动作电位比那些对SCS镇痛效果反应不佳的动物上所记录的要大。这说明激活更多的背柱纤维可能有助于SCS更有效地缓解疼痛。导致SCS激活更多背柱纤维的一个最基本的可能原因是更佳的SCS电极位置，如电极正好位于背柱的上方或更接脊髓表面。然而，除了电极位置，还有动物个体差异和其他许多因素可以影响SCS的镇痛效果。

除了胞体位于脊髓背角浅层的疼痛特异性投射神经元外，位于更深层的WDR神经元在疼痛的传导和调控中也起着重要作用。而且，WDR神经元也被认为是在闸门学说中重要的疼痛传导细胞(T-cell)[6]。很多WDR神经元可以被外周神经损伤，组织感染，以及强烈的伤害性疼痛刺激所致敏，从而表达出增高的细胞兴奋性和对外周刺激增强的反应性。这一脊髓背角神经元对外周刺激的超敏感化是在外周神经损伤和其他疾病后产生慢性病理性疼痛的重要中枢神经机制之一[18,19]。我们近期在整体动物上的电生理实验发现电刺激背柱所引起的对WDR神经元兴奋性的抑制与SCS所产生的镇痛效果有许多重要的相似之处。比如，SCS通常可以有效地缓解神经病理性疼痛的两个重要症状：自发性疼痛和机械痛敏感[2,20,21]。而在神经损伤的实验动物上，电刺激背柱和硬膜外SCS都可以显著地降低WDR神经元的自发放电和对外周机械刺激的反应[11,22]。神经元的自发放电现象被认为是神经损伤后引起自发痛和持续痛的一个重要原因[23,24]。在动物试验中，我们通过参考坐骨神经上记录到的逆向复合动作电位的性质和波形的大小来选择电刺激背柱的强度，从而确定所用的刺激强度低于Aδ和C－纤维的激活阈值而不引起疼痛和不适感。在患者接受SCS治疗时，同样可以在其下肢坐骨神经上记录到逆行传导的复合动作电位[25]。由于SCS和背柱电刺激对脊髓背角神经元活动的抑制作用明显和具有较高的可重复的，这为将来在设计一个闭路的生物反馈系统中利用神经元的活动变化作为信号来启动和终止SCS提供了一个重要的生物学基础和理论依据。

虽然闸门学说对我们理解有关SCS在脊髓节段的镇痛机制十分重要，但是有关闸门学说的具体知识还有待发现。比如，我们目前对于构成闸门机制的神经元回路，阻挡疼痛信号上行的“守门员”在脊髓背角的具体位置和生化学特征仍然不清楚。同时，作为最重要的阐述SCS镇痛作用生物学基础的闸门学说并不能全面解释清楚SCS的所有特征。因此是否在脊髓节段还存在参与SCS镇痛的其他机制有待进一步研究。比如，除了激活γ-氨基丁酸能神经元所介导的疼痛抑制作用，目前对于SCS是否也激活甘氨酸能(glycinergic)抑制性中间神经元而达到镇痛仍然不清楚。另外让人困惑的是，许多位于脊髓背角浅层的γ-氨基丁酸能抑制性中间神经元不仅可被A-有髓神经纤维所介导的非伤害性传入所激活，同时也接收高阈值的Aδ和C-神经纤维所介导的外周伤害性疼痛刺激[26,27]。这一发现与闸门机制所预测的外周伤害性疼痛传入信号降低抑制性中间神经元的活动恰恰相反。此外，我们还需要进一步研究不同的神经生理和生化机制是否参与了SCS对不同原因和性质的病理性疼痛(如组织感染，神经损伤，内脏痛，肿瘤，糖尿病)以及对不同疼痛症状(如自发烧灼痛，患肢痛，机械痛,热痛觉过敏)的缓解。除了激活抑制疼痛的脊髓闸门机制，刺激背柱纤维所产生的逆向传导的动作电位还可以直接引起脊髓背角神经元突触后抑制性，并可以易化突触前膜的去极化而导致对随后的外周感觉信号传入形成突触前抑制性[28,29]。研究表明SCS所引起的舒张外围血管的效果包括了脊髓多节段信号的整合[30]，但目前我们尚不清楚类似的机制是否也参与SCS对疼痛的抑制。

中枢神经元兴奋性的可塑性及SCS的长期镇痛效果

在动物模型上，SCS对中枢神经元兴奋性和疼痛症状的抑制效果经常在刺激结束后仍然可以持续一段时间[11,15,21]。这与临床所观察到的结果相一致，那就是患者不仅在接受SCS的期间感到疼痛有所缓解，而且在治疗停止后的一段时间内其疼痛症状也有所减轻[1,2]。甚至有一些患者在接受反复的SCS治疗后可以获得长期的疼痛缓解和康复。这一现象提示SCS的镇痛可能有两个组成部分：在刺激过程中产生的即时作用和在刺激结束后的延时效果。虽然经典的闸门学说和在SCS过程中所释放的抑制性神经递质可以解释伴随SCS的即时作用，我们对于产生的SCS的延时效果和长期作用的原因仍然了解的不多。我们认为有可能反复的SCS会渐行性地改善和消除导致慢性疼痛的病理机制，尤其是抑制对慢性疼痛的发生和维持都十分重要的中枢神经元敏化。近期，我们采用了与临床SCS治疗疼痛相类似的刺激参数来电刺激背柱。发现背柱刺激不但降低了神经损伤引起的中枢神经元敏化，也有效地抑制了反复电刺激C－神经纤维所诱发的脊髓WDR神经元兴奋性渐行性增强[11,31,32]。这些发现说明采用适当的频率和强度来刺激Aβ－神经纤维可以阻断和反转外周神经损伤或其他反复伤害性刺激所引起的脊髓背角神经元兴奋性增强。因此，在损伤后尽早地采用SCS不但可能会降低后期病理性疼痛发生的机会，而且会更有效地抑制疼痛。近期的一项研究支持这一观点：研究者发现，在神经损伤后的早期(1天)的动物中采用SCS可以比在晚期

(16天)达到有效和长期的镇痛效果[33]。这说明即使在神经损伤后，脊髓背角神经元的兴奋性仍然保持着一定的逆向可塑性。从这一角度来讲，神经损伤所导致的中枢神经元敏化与SCS所引起的去敏化体现了中枢神经元的双向可塑性。这一特征或对临床应用SCS治疗慢性疼痛中有重要的意义。例如，当需要评估SCS是否可能对患者的神经病理性疼痛有治疗效果从而决定对该患者进行相对昂贵和复杂的永久性SCS电极植入术之前，我们可以先安放可去除的非永久性电极并进行临床心理学测试来评估SCS是否可以有效降低该患者对反复短暂热刺激引起的热痛觉敏感增强。反复热刺激激活C-神经纤维引起脊髓背角神经元对伤害刺激反应的时间总合(temperal summation)和神经元兴奋性增强。由于SCS可以拮抗中枢神经元敏化的形成，在神经损伤后的早期和在外科手术(如腰椎间盘手术，膝关节手术，股骨头置换术)过程中采用SCS可能会达到减少神经疼痛和术后慢性疼痛发生的机率，降低疼痛的严重程度，和缩短疼痛持续的时间。采用反复的SCS与药物治疗相结合，尤其是使用抑制神经元敏化的药物，可能会更有效地抑制中枢神经元敏化和增强SCS的治疗效果。近期研究发现，脊髓硬膜下注射超低剂量的兴奋性谷氨酸受体阻断剂大大增强了SCS在神经损伤的动物上的镇痛作用，并使SCS在一些给药前对SCS无反应的动物上产生了明显的镇痛作用[34]。

目前，我们对有关脊髓背角神经元细胞内的各种信号传导系统在SCS后发生的变化还不清楚。例如，SCS是否会引起一些神经递质受体磷酸化或导致它们从突触细胞膜转移至细胞内，是否会引起某些受体或神经递质在基因转录和蛋白质表达水平发生改变，以及在这些变化中哪些导致了SCS产生长期的镇痛效果？具有启发意义的是，有关SCS引起的舒张外围血管效果的机制的研究发现SCS可以激活细胞外信号调节磷酸激酶(extracellular signal-regulated kinase ，ERK)和磷酸蛋白激酶(protein kinase B)系统[35]。此外，不同小组在神经损伤动物模型上的研究都发现SCS可以在脊髓浅层背角神经元启动早期基因c-fos的表达[36,37]。由于激活ERK和c-fos可以引起一系列细胞内信号传导的变化而导致神经元兴奋性和功能上的长期改变，这些变化可能是SCS能够产生的长期镇痛效果的原因之一。虽然ERK和c-fos可以被多种类型的外周刺激所激活，但是在生理条件下它们一般多被认为是伤害性外周刺激激活神经元的标志。Aβ－有髓神经纤维所传导的轻度机械刺激，如触摸感受野，在生理条件下通常不激活ERK和c-fos。但是在神经损伤后反复的触摸患肢可以引起ERK和c-fos在中枢神经元的表达，因而人们猜测它们参与了中枢神经元敏化的过程[38]。由此可见，SCS在神经病理性疼痛的条件下激活ERK和早期基因c-fos的表达而产生镇痛作用的原因仍然需要进一步研究和探讨。有一种可能是：ERK和早期基因c-fos的表达发生在脊髓背角的抑制性中间神经元上，从而引起抑制性中间神经元兴奋性增高并表达和释放更多的抑制性神经递质。由于c-fos可以调控许多下游基因的表达，未来的研究也需要找出哪一个下游基因的激活与SCS的长期镇痛作用有关。

长期的神经病理性疼痛也常常伴随着一系列的心理问题，如焦虑，抑郁，情绪控制障碍，记忆和学习能力的下降。由于神经病理性疼痛的症状复杂，病因多样，因此相对的临床治疗也应该是多元化的。针对不同患者的具体情况，我们应该设计个人化的全面治疗方案。除了抑制疼痛信号在脊髓节段的传导，SCS可能也会影响疼痛信息在整个神经传导通路各个水平的整合。因此，SCS不但会减低患者所感知到的疼痛的强度或范围，也同时可能会改善伴随慢性疼痛的负面情感和心理问题。愈来愈多的临床和动物实验发现表明，脊髓上游的中枢神经结构对于SCS的镇痛作用也十分重要。大约20年前的研究就已经发现，电刺激背柱所产生的对脊髓背角神经元的持续抑制作用有一部分是通过激活顶盖前核神经元(the anterior pretectal nucleus)而产生的[39]。顶盖前核神经元的传出可以激活对疼痛的下行抑制系统。重要的是，顶盖前核神经元的活动在SCS结束后仍然可以维持相当的一段时间，而且这一时程与SCS结束后的疼痛抑制所持续的时间相似。一系列的试验表明SCS激活了脊髓－脑干－脊髓的回馈式疼痛调控回路(spinal-brainstem-spinal loop)和启动下行疼痛抑制[40,41]。在这一过程中，由从脑干发出的下行纤维在脊髓释放的5-羟色胺起着重要作用[14,42]。 有证据表明，SCS可以在参与疼痛调控的脑干神经元引起短暂的c-fos表达。因此，反复SCS也可能引起脊髓以上中枢神经元的可塑性变化。这些发现说明，除了脊髓节段的抑制机制，远程的疼痛调控机制也参与了SCS的镇痛作用。目前还需要进一步研究SCS是否可以通过皮层丘脑束而降低大脑皮层神经元活动，进而达到直接抑制疼痛在皮层表达的效果。这些SCS在神经系统不同水平引起的的变化，以及激活的各种生理生化机制可能会同时作用而产生对疼痛的协同抑制效果。未来通过采用动物行为，细胞电生理和分子生物学方法对SCS镇痛特点和机制的研究将帮助我们更好地全面认识和有效地使用SCS治疗慢性病理性疼痛。

主要参考文献

1. Waltz JM: Spinal cord stimulation: a quarter century of development and investigation. A review of its development and effectiveness in 1,336 cases. Stereotact.Funct.Neurosurg. 1997, 69:288-299.

2 Kumar K, Taylor RS, Jacques L, Eldabe S, Meglio M, Molet J, Thomson S, O'Callaghan J, Eisenberg E, Milbouw G, Buchser E, Fortini G, Richardson J, North RB: Spinal cord stimulation versus conventional medical management for neuropathic pain: a multicentre randomised controlled trial in patients with failed back surgery syndrome. Pain 2007, 132:179-188.

3 Linderoth B, Meyerson BA: Spinal cord stimulation: exploration of the physiological basis of a widely used therapy. Anesthesiology 2010, 113:1265-1267.

4 Yan LH, Hou JF, Liu MG, Li MM, Cui XY, Lu ZM, Zhang FK, An YY, Shi L, Chen J: Imbalance between excitatory and inhibitory amino acids at spinal level is associated with maintenance of persistent pain-related behaviors. Pharmacol.Res. 2009, 59:290-299.

5 Torsney C, MacDermott AB: Disinhibition opens the gate to pathological pain signaling in superficial neurokinin 1

receptor-expressing neurons in rat spinal cord. J.Neurosci. 2006, 26:1833-1843.

6 Melzack R, Wall PD: Pain mechanisms: a new theory. Science 1965, 150:971-979.

7 Costigan M, Woolf CJ: No DREAM, No pain. Closing the spinal gate. Cell 2002, 108:297-300.

8 Daniele CA, MacDermott AB: Low-threshold primary afferent drive onto GABAergic interneurons in the superficial dorsal horn of the mouse. J.Neurosci. 2009, 29:686-695.

9 Saade N, Atweh AF, Tabet MS, Jabbur SJ: Inhibition of nociceptive withdrawal flexion reflexes through a dorsal column-brainstem-spinal loop. Brain Res. 1985, 335:306-308.

10 Marchand S, Bushnell MC, Molina-Negro P, Martinez SN, Duncan GH: The effects of dorsal column stimulation on measures of clinical and experimental pain in man. Pain 1991, 45:249-257.

11 Guan Y, Wacnik PW, Yang F, Carteret AF, Chung CY, Meyer RA, Raja SN: Spinal cord stimulation-induced analgesia: electrical stimulation of dorsal column and dorsal roots attenuates dorsal horn neuronal excitability in neuropathic rats. Anesthesiology 2010, 113:1392-1405.

12 Cogiamanian F, Vergari M, Schiaffi E, Marceglia S, Ardolino G, Barbieri S, Priori A: Transcutaneous spinal cord direct current stimulation inhibits the lower limb nociceptive flexion reflex in human beings. Pain 2011, 152:370-375.

13 Gybels J, Kupers R: Central and peripheral electrical stimulation of the nervous system in the treatment of chronic pain. Acta Neurochir.Suppl (Wien.) 1987, 38:64-75.

14 Song Z, Ultenius C, Meyerson BA, Linderoth B: Pain relief by spinal cord stimulation involves serotonergic mechanisms: an experimental study in a rat model of mononeuropathy. Pain 2009, 147:241-248.

15 Yang F, Carteret AF, Wacnik PW, Chung CY, Xing L, Dong X, Meyer RA, Raja SN, Guan Y: Bipolar spinal cord stimulation attenuates mechanical hypersensitivity at an intensity that activates a small portion of A-fiber afferents in spinal nerve-injured rats. Neuroscience 2011.

16 Gerasimenko YP, Lavrov IA, Courtine G, Ichiyama RM, Dy CJ, Zhong H, Roy RR, Edgerton VR: Spinal cord reflexes induced by epidural spinal cord stimulation in normal awake rats. J.Neurosci.Methods 2006, 157:253-263.

17 Holsheimer J: Computer modelling of spinal cord stimulation and its contribution to therapeutic efficacy. Spinal Cord. 1998, 36:531-540.

18 Woolf CJ: Central sensitization: uncovering the relation between pain and plasticity. Anesthesiology 2007, 106:864-867.

19 Latremoliere A, Woolf CJ: Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. J.Pain 2009, 10:895-926.

20 Stiller CO, Cui JG, O'Connor WT, Brodin E, Meyerson BA, Linderoth B: Release of gamma-aminobutyric acid in the dorsal horn and suppression of tactile allodynia by spinal cord stimulation in mononeuropathic rats. Neurosurgery 1996, 39:367-374.

21 Maeda Y, Wacnik PW, Sluka KA: Low frequencies, but not high frequencies of bi-polar spinal cord stimulation reduce

cutaneous and muscle hyperalgesia induced by nerve injury. Pain 2008, 138:143-152.

22 Yakhnitsa V, Linderoth B, Meyerson BA: Spinal cord stimulation attenuates dorsal horn neuronal hyperexcitability in a rat model of mononeuropathy. Pain 1999, 79:223-233.

23 Campbell JN, Meyer RA: Mechanisms of neuropathic pain. Neuron 2006, 52:77-92.

24 Djouhri L, Koutsikou S, Fang X, McMullan S, Lawson SN: Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors. J.Neurosci. 2006, 26:1281-1292.

25 Buonocore M, Bonezzi C, Barolat G: Neurophysiological evidence of antidromic activation of large myelinated fibres in lower limbs during spinal cord stimulation. Spine (Phila Pa 1976.) 2008, 33:E90-E93.

26 Takazawa T, MacDermott AB: Synaptic pathways and inhibitory gates in the spinal cord dorsal horn. Ann.N.Y.Acad.Sci. 2010, 1198:153-158.

27 Takazawa T, MacDermott AB: Glycinergic and GABAergic tonic inhibition fine tune inhibitory control in regionally distinct subpopulations of dorsal horn neurons. J.Physiol 2010, 588:2571-2587.

28 Narikawa K, Furue H, Kumamoto E, Yoshimura M: In vivo patch-clamp analysis of IPSCs evoked in rat substantia gelatinosa neurons by cutaneous mechanical stimulation. J.Neurophysiol. 2000, 84:2171-2174.

29 Shimoji K, Shimizu H, Maruyama Y, Matsuki M, Kuribayashi H, Fujioka H: Dorsal column stimulation in man: facilitation of primary afferent depolarization. Anesth.Analg. 1982, 61:410-413.

30 Barron KW, Croom JE, Ray CA, Chandler MJ, Foreman RD: Spinal integration of antidromic mediated cutaneous vasodilation during dorsal spinal cord stimulation in the rat. Neurosci.Lett. 1999, 260:173-176.

31 Li J, Simone DA, Larson AA: Windup leads to characteristics of central sensitization. Pain 1999, 79:75-82.

32 Wallin J, Fiska A, Tjolsen A, Linderoth B, Hole K: Spinal cord stimulation inhibits long-term potentiation of spinal wide dynamic range neurons. Brain Res. 2003, 973:39-43.

33 Truin M, van KM, Linderoth B, Smits H, Janssen SP, Joosten EA: Increased efficacy of early spinal cord stimulation in an animal model of neuropathic pain. Eur.J.Pain 2011, 15:111-117.

34 Truin M, Janssen SP, van KM, Joosten EA: Successful pain relief in non-responders to spinal cord stimulation: The combined use of ketamine and spinal cord stimulation. Eur.J.Pain 2011, 15:1049.

35 Wu M, Komori N, Qin C, Farber JP, Linderoth B, Foreman RD: Extracellular signal-regulated kinase (ERK) and protein kinase B (AKT) pathways involved in spinal cord stimulation (SCS)-induced vasodilation. Brain Res. 2008, 1207:73-83.

36 Smits H, Kleef MV, Honig W, Gerver J, Gobrecht P, Joosten EA: Spinal cord stimulation induces c-Fos expression in the dorsal horn in rats with neuropathic pain after partial sciatic nerve injury. Neurosci.Lett. 2009, 450:70-73.

37 Maeda Y, Ikeuchi M, Wacnik P, Sluka KA: Increased c-fos immunoreactivity in the spinal cord and brain following spinal

cord stimulation is frequency-dependent. Brain Res. 2009, 1259:40-50.

38 Ji RR, Baba H, Brenner GJ, Woolf CJ: Nociceptive-specific activation of ERK in spinal neurons contributes to pain hypersensitivity. Nat.Neurosci. 1999, 2:1114-1119.

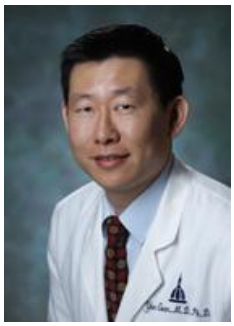
39 Rees H, Roberts MH: Activation of cells in the anterior pretectal nucleus by dorsal column stimulation in the rat. J.Physiol 1989, 417:361-373.

40 El-Khoury C, Hawwa N, Baliki M, Atweh SF, Jabbur SJ, Saade NE: Attenuation of neuropathic pain by segmental and supraspinal activation of the dorsal column system in awake rats. Neuroscience 2002, 112:541-553.

41 Saade NE, Tabet MS, Soueidan SA, Bitar M, Atweh SF, Jabbur SJ: Supraspinal modulation of nociception in awake rats by stimulation of the dorsal column nuclei. Brain Res. 1986, 369:307-310.

42 Linderoth B, Gazelius B, Franck J, Brodin E: Dorsal column stimulation induces release of serotonin and substance P in the cat dorsal horn. Neurosurgery 1992, 31:289-296.

作者简介：



关云，博士(MD，PhD)，1995年毕业于首都医科大学临床医疗系(Capital Medical University)。1998年毕业于中国协和医科大学研究生院(Peking Union Medical College)并获得神经生理专业硕士学位(导师谢意宽，樊继云教授)，同年被美国马里兰州立大学研究生院神经科学系(Program in Neuroscience，University of Maryland)录取并赴美攻读博士学位。从师于疼痛研究权威,《疼痛/Pain》杂志主编Dr. Ronald Dubner 博士从事疼痛机制，疼痛下行调控及临床疼痛治疗学等前沿课题的研究。2002年获得神经科学博士学位。2002-2005年于约翰.霍普金斯大学医学院继续神经病理性疼痛机制的博士后研究工作。2005-2006年任马里兰州立大学助理教授(Assistant Professor, University of Maryalnd)。2006年起任约翰.霍普金斯大学医学院麻醉系助理教授(Assistant Professor，Johns Hopkins University)，并有多篇学术论文发表在《国家科学院院刊/PNAS》、《科学杂志/Journal of Neuroscience》、《疼痛/Pain》、《麻醉学/Anesthesiology》、《自然/Nature》、《细胞/Cell》，《神经科学/Neuroscience》等国际学术刊物。

治疗用单克隆抗体及其在镇痛方面的应用

冷 强 (John Q. Leng)
耶鲁大学医学院细胞与分子生理系
(Yale University School of Medicine, New Haven, CT 06510)

人类使用免疫血清治疗疾病已有悠久的历史。两千多年前，早期形式的疫苗接种在中国就已经对保护人类抵抗传染病源起到了非常重要的作用。中国是世界上最早用免疫血清治疗疾病的国家之一。到18 世纪，疫苗接种在欧洲得到了进一步发展并逐步在世界各地实施。然而，用动物或人类血液中的免疫活性成分来治疗疾病的想法直到一个世纪以后才出现。例如：人们认识到，用毒素（如白喉毒素或病毒）免疫动物所产生的血清治疗同种病毒所引起的疾病的方法是非常有效的。19 世纪 80 年代，德国细菌学家 Von Behring 发现了一种抗毒素（抗体）。这种抗毒素虽不能杀死细菌但可以中和细菌毒素。随后他又发明了血清疗法。由于这一发现，他在 1901 年荣获了第一个诺贝尔医学奖。

用于人类疾病治疗的单克隆抗体从上世纪 80 年代中期开始研究，但由于难以克服的非人体组织免疫原性问题，使其发展受到限制。近几年来，研究人员已经找到了制作鼠/人嵌合型(Chimeric)、人源化(Humanized)和完全人源化(Fully human)单克隆抗体的方法，从而打破了上述局限。全世界第一个完全人源化单抗 Humira (adalimumab)是由美国 Abbott 实验室于 2002 年研制成功并用于临床。它是治疗类风湿关节炎(Rheumatoid Arthritis)的 100%的人类抗体。目前，全世界已有三十多个单抗药物正用于临床实践和治疗。单抗药物 2010 年的市场价值约为 850 亿美元，是全球药品市场最繁荣和最充满希望的领域之一。治疗用单抗对癌症、自身免疫病、心血管病、传染病和炎症等疑难病症，都有其独特的疗效。治疗用完全人源化单克隆抗体有着广泛的医用前景、重要的临床治疗意义和巨大的商业价值[2,8]。由此可见，单抗药物的研发是“爆发性”的，其市场的增长是爆炸性的。

治疗用单克隆抗体的分类

上世纪 90 年代初分子生物学的发展使得抗体分子基因的克隆成为可能，并且使得单抗的基因也能够被克隆到真核表达载体中。这样，任何重组单抗都可以以重建的方式从多样化细胞系中得到，这就解决了杂交瘤细胞系生产中的不稳定性等问题，从而能够实现优化重组抗体的制作，由此迎来了抗体工程的新时代。现有的四个主要的治疗性单克隆抗体类型如下（图 1）。

1．鼠源型(Murine mAbs)

鼠源型抗体由 100％小鼠蛋白质组成（如：OKT-3/1986），因而它的医疗应用受到局限。主要原因有：其副作用大、血清半衰期较短、不稳定和易引发人体免疫反应而降低疗效等。这些影响的核心是过敏 HAMA(human anti-mouse antibody response)反应。在此反应中，鼠抗体被人的免疫系统所产生的抗抗体清除。

2．人/鼠嵌合型(Chimeric mAbs)

嵌合型抗体由小鼠和人类抗体通过基因工程重组而成（如：Rituxan/1997）。在嵌合型抗体中，抗体可变区（抗原结合区 Fv）的鼠蛋白质成分的一部分被人体成分取代，而其不变区(F_C)为完全的人类抗体。在嵌合型抗体中，鼠蛋白质成分约占总蛋白量的 33％，嵌合抗体旨在尽量减少由鼠成份引起的 HAMA 反应。但尽管免疫原性配置减少，它仍然可以触发 HACA (Human Anti-Chimeric Antibody **response**) 反应而减弱其功效。

3．人源化(Humanized mAbs)

在抗体与抗原结合位点的高变区(CDRs)替换更多的人体成分，使鼠的成分减少到 5-10％。临床试验表明，这种类型的抗体很少或没有免疫原性反应，血清半衰期也延长。

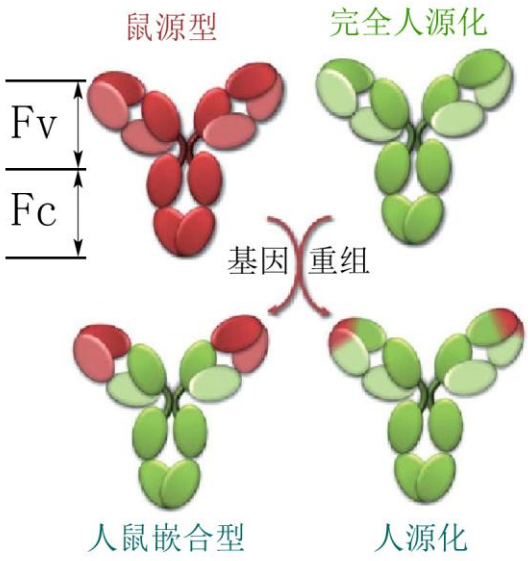


图 1. 治疗用单克隆抗体分类示意图

4．完全人源化(Fully human mAbs)

完全人源化单抗由 100％人类蛋白所组成。用基因重组的方式从人体细胞中得到。没有 HAMA 反应。因为不会被人的免疫系统迅速消灭，其所需剂量、使用频率都很低、副作用近乎等于零。完全人源化抗体是治疗用单抗中最高级的一代[2,7,9]。

镇痛用单克隆抗体药物

疼痛(pain)是一种复杂的生理和心理活动。包括有急性疼痛、炎症疼痛和神經病理性疼痛等。目前所使用的镇痛药主要有：抗炎止痛药、中枢神经性止痛药和麻醉性止痛药。这些药品都有许多副作用，如：易引起过敏反应、贫血、胃出血、肝损伤、肾功能降低以及易成隐等等。然而，镇痛用完全人源化单克隆抗体药物的副作用很小，镇痛效果却更好。

医学上认为，疼痛是由背根神经节(DRG)和周边神经元中的电压依赖性离子通道、特别是电压依赖性钠离子通道，及相关酶和受体的表达与功能的变化而引起的。现已发现的钠通道α亚基有 9 个不同亚型 ($Na_v1.1$-$Na_v1.9$)[10]。

最近国内外学者对 $Na_v1.7$ 的研究颇为关注：$Na_v1.7$ 产生瞬间的 TTX 敏感的钠电流与疼痛有关。2004 年 Yang(杨勇)等证明编码 $Na_v1.7$ 的 SCN9A 是原发性红斑性肢痛症(PE)的致病基因[14]。2006 年 12 月 Cox 等在 Nature 上发表文章[3]，其研究发现，巴基斯坦的一些街头艺人，能够行走在烧红的木炭上而不感觉疼痛，但他们的其他生理功能则完全正常。其基因检测表明，家族患者的 SCN9A 基因分别在第 10、13、15 外显子上出现 3 个纯合子的无意义突变(Nonsense mutation)，引起肽链合成终止，使钠通道蛋白完全失去功能而导致痛觉消失。这表明 SCN9A 编码的 $Na_v1.7$ 是对人类痛觉起关键作用的钠通道。同时，由于 SCN9A 不存在于心脏和中枢神经系统，因此阻断此通道不会影响心脏和中枢神经系统的功能[1,11]。

基因敲除小鼠的研究表明，SCN9A 基因与急性疼痛和炎性疼痛的发展密切相关[12]。目前已知的人类 SCN9A 基因突变至少导致三种疼痛功能障碍：先天性麻木(CIPA)，阵发性极端疼痛障碍(PEPD)和继承性红斑性肢痛症(IEM)。

$Na_v1.7$ 与疼痛相关的证据还来源于对炎症疼痛动物模型的观察。模型显示，$Na_v1.7$ 增加了 DRG 神经元疼痛反应。疼痛感受器 $Na_v1.7$ 基因敲除的小鼠对炎症性疼痛反应也明显减慢。然而其神经性疼痛(伤害造成的慢性神经疼痛)仍然完好无损。为了观察 $Na_v1.7$ 与外周感觉神经元的其他钠通道的相互作用，研究人员创造了 $Na_v1.7$ 通道和 $Na_v1.8$ 通道同时缺陷的小鼠。$Na_v1.8$ 缺陷小鼠缺乏炎性疼痛感(由组织损伤/炎症引起)和内脏疼痛感(由内脏器官的损害或伤害引起)，但有神经性疼痛。$Na_v1.7$ 和 $Na_v1.8$ 同时缺陷小鼠的热痛域值是 $Na_v1.7$ 缺陷小鼠的两倍。结果清楚地表明：$Na_v1.7$ 是与周边疼痛相关的主要钠通道，并与 $Na_v1.8$ 有功能偶联[5,10]。

以上特性表明：$Na_v1.7$ 钠通道是新一类选择性强、副作用小、无依赖性镇痛药物的理想分子靶标。镇痛用单克隆抗体药物将通过阻断 $Na_v1.7$ 的钠电流通路或提高其激活域值来实现镇痛的目的。

诺贝尔奖获奖者 Bert Sakmann and Erwin Neher 发明的膜片钳技术(1991 年)，导致了离子通道研究的巨大进步，并彻底改变了细胞离子通道的电生理学研究方法。这些离子通道都可作为药物的主要靶标。但由于缺乏针对这些离子通道的特定阻滞剂，使得离子通道研究成果的应用受到很大限制。目前各种以离子通道为靶标的单抗药物的研究正在全球迅速展开。自 1997 年以来的十多年间，约有 16 个以离子通道为靶标的治疗性单抗应用于临床，其中以针对钾、钙通道的抗体药物为主。然而，针对钠通道的抗体药物、尤其是针对 $Na_v1.7$ 的治疗性单抗，还没有在美国 FDA 公布的列表中出现[4,6,13]。因而，疼痛感觉迟钝与特定 $Na_v1.7$ 钠通道功能丧失的联系的研究，有重要的临床医疗意义。以 $Na_v1.7$ 钠通道为靶标的完全人源化治疗用单克隆抗体的研究，极有可能创造出新一代的镇痛药。

参考文献

1. Ahn H-S, Black JA, Zhao P, Tyrrell L, Waxman SG, and Dib-Hajj SD. Nav1.7 is the predominant sodium channel in rodent olfactory sensory neurons. Mol Pain 7: 32, 2011.

2. Brekke OH and Sandlie I. Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. Nat Rev Drug Discov 2: 52-62, 2003.

3. Cox JJ, Reimann F, Nicholas AK, Thornton G, Roberts E, Springell K, Karbani G, Jafri H, Mannan J, Raashid Y, Al-Gazali L, Hamamy H, Valente EM, Gorman S, Williams R, McHale DP, Wood JN, Gribble FM, and Woods CG. An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. Nature 444: 894-898, 2006.

4. Dallas M, Deuchars SA, and Deuchars J. Immunopharmacology: utilizing antibodies as ionchannel modulators. Expert Rev Clin Pharmacol 3: 281–289, 2010.

5. Dib-Hajj SD, Cummins TR, Black JA, and Waxman SG. From genes to pain: Na v 1.7 and human pain disorders. Trends Neurosci 30: 555-563, 2007.

6. Newsome BW and Ernstoff MS. The clinical pharmacology of therapeutic monoclonal antibodies in the treatment of malignancy; have the magic bullets arrived? Br J Clin Pharmacol 66: 6-19, 2008.

7. Paschke M. Phage display systems and their applications. Appl Microbiol Biotechnol 70: 2-11, 2006.

8. Tabrizi M, Bornstein GG, and Suria H. Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease. Aaps J 12: 33-43, 2010.

9. Thie H, Meyer T, Schirrmann T, Hust M, and Dubel S. Phage display derived therapeutic antibodies. Curr Pharm Biotechnol 9: 439-446, 2008.

10. Waxman SG. Neurobiology: a channel sets the gain on pain. Nature 444: 831-832, 2006.

11. Waxman SG. Neuroscience: Channelopathies have many faces. Nature 472: 173-174, 2011.

12. Wood JN, Boorman JP, Okuse K, and Baker MD. Voltage-gated sodium channels and pain pathways. J Neurobiol 61: 55-71, 2004.

13. Wulff H, Castle NA, and Pardo LA. Voltage-gated potassium channels as therapeutic targets. Nat Rev Drug Discov 8: 982-1001, 2009.

14. Yang Y, Wang Y, Li S, Xu Z, Li H, Ma L, Fan J, Bu D, Liu B, Fan Z, Wu G, Jin J, Ding B, Zhu X, and Shen Y. Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythermalgia. J Med Genet 41: 171-174, 2004.

作者简介：

冷强博士(John Q. Leng, PhD)，毕业于中国农业大学生物学院，获理学博士学位。现任耶鲁大学医学院细胞与分子生理系首席研究员(Principal Investigator)、实验室主任(Instructor)，是中国旅美科技协会康州分会理事。冷强博士从事离子通道的结构与功能的研究已有十五年之久。其研究课题先后获得了美国心脏学会(AHA)科学家发展基金(SDG)和美国国立健康研究院(NIH)R01 基金的资助，并参加了美国国立健康研究院 P01 基金资助的研究项目。在 PNAS、Nature-Genetics、EMBO J、JCI、中国科学(English version)、科学通报等杂志上发表三十余篇论文，其中封面论文两篇。其论文的总引用次数多达 880 次，并应邀为诸多杂志审稿。在过去的十几年的研究历程中，他首次用膜片嵌的方法证实了植物体内的胆碱能系统参与对气孔的保卫细胞的钾离子通道的调节。他还首次在非洲爪蟾蛙卵母细胞*(Xenopus laevis oocyte)*中表达了克隆的植物体内的环核苷酸门控的阳离子通道，为深入研究植物对环境响应的分子机理提供了崭新的平台。通过与耶鲁大学遗传系的 Lifton 院士合作，还首次发现了 WNK 激酶可作为分子开关对肾脏钾离子通道 ROMK 的调节作用，开创了 WNK 激酶在肾脏生理中作为信号传递通路信使的研究。不仅如此，他在肾脏钾离子通道 ROMK 对 pH 感应机理的研究中也取得了重要的进展，纠正了过去的错误结论。最近，他领导的研究小组首次鉴定了一个新的蛋白质贝塔亚基。该亚基与小通导性的 ROMK (Small Conductance K+ channel, SK) 能形成中通导性的钾离子通道 (Intermediate Conductance K+ channel, IK)，并首次在体外*(Xenopus laevis oocyte)*重建了 SK 和 IK 对 ATP 的敏感性，从而回答了肾脏生理学中久而未决的疑难问题。他曾先后应邀在哥伦比亚 (Columbia University)、布朗 (Brown University)、斯坦福 (Stanford University) 等美国十几所大学和美国肾脏协会(ASN)全国会议上做学术报告。他还应中国科学院生物物理所(IBC)、中国农业大学生物学院、山东省生物物理重点实验室和中国医学科学院基础医学研究所及北京协和医学院基础学院的邀请，赴华作专题报告。冷强博士还从事人类抗体和中药有效成分鉴定等研究，并已取得了重要进展。

抑郁动物模型及其机制的研究进展

张红星 [1] 韩明虎 [2,*] 曹君利 [1,*]

（[1]徐州医学院江苏省麻醉学重点实验室 徐州，江苏；[2]西奈山医学院药理与系统治疗学系 纽约，美国；*通讯作者）

摘要

抑郁症是一种慢性的、具有较高发生率和复发率的精神疾病，虽然治疗手段繁多但却难以达到满意的效果，究其原因主要是缺乏有效可靠的动物模型和对其发病机制的认识不足。本文就目前应用较多的动物模型及其检测手段、抑郁症发病的神经环路机制、细胞和分子机制以及临床治疗的研究进展进行了综述。

关键词 抑郁 动物模型 神经环路 腹侧被盖区 多巴胺

前言

跨国流行病学调查显示普通人群中约有 20%的人患过抑郁症。抑郁症主要表现为心情抑郁、快感缺失、易怒、集中精力困难以及饮食睡眠障碍等。除了抑郁症本身导致的自杀之外，抑郁症患者还表现出心血管疾病和 2 型糖尿病等其他疾病的发病率增高，因此抑郁症本身及其相关疾病对人类健康影响巨大，增加了社会和家庭负担，抑郁症及其相关的神经精神症状已经成为世界性的难题之一。本文将就抑郁的动物模型及其发病的神经环路机制、细胞与分子机制及其临床治疗方法进行综述。

理想抑郁动物模型的特征

人们对抑郁症发病机制的了解多来自动物实验，因此，复制与人类抑郁症高度吻合的动物模型显得极其重要。一般来讲，理想的抑郁动物模型具有两个特征：有效性 (validity) 和可复制性 (reproducibility)。其中有效性又分为三个方面：可以重建人类抑郁症的部分症状 (face validity)、动物模型症状的机制应与人类抑郁症相应症状的潜在机制相同或相似(construct validity)、现有的治疗抑郁的药物或手段可以改善模型动物抑郁样行为 (predictive validity)。可重复性包括两个方面内容：受过训练的人员均可成功复制、不同操作人员复制的模型造成的神经生物学改变一致。简单的讲就是，理想的动物模型即不同操作者均可制作的，能模拟人类抑郁症的部分甚至全部症状且其潜在机制与人类抑郁症的发病机制相同或相似，但目前尚不存在理想的抑郁症动物模型，现就目前常用的几种抑郁动物模型进行阐述。

动物模型

（1）习得性无助（learned helplessness）： 1960 年 Richard L.

Solomon 发现经历非控制性创伤事件动物有抑郁样行为学表现；后来 Overmier 和 Seligman 发现经历 3~5 分钟非控制性创伤刺激的动物会表现出行为应对、联想学习和情感表达缺陷，与抑郁症临床表现相似，并且可持续数小时，他们称之为“习得性无助”。习得性无助模型动物表现出诸多与抑郁相类似的神经行为学表现，比如体重下降和性活动减少，促肾上腺皮质激素释放因子和皮质酮水平提高等。通过人工选择现已培育出习得性无助大鼠和抗习得性无助大鼠，可直接用于抑郁相关的研究。最近研究发现抗抑郁药物或电休克治疗可以减少动物逃跑时间或减少习得性无助的发生率，但是临床上应用抗抑郁药物如安定、安非他命、氯丙嗪等却不能有效地治疗无助相关的抑郁症，说明习得性无助的动物和人类抑郁症之间尚存在较大差异。

该模型也存在以下缺点：①一旦停止电击抑郁行为持续时间较短，②不同实验室采用的模型制作方法不同，实验结果可重复性差，③不同种属的动物对该模型敏感性不同。

(2) 慢性温和应激模型(chronic mild stress, CMS）：第一个 CMS 模型由 Katz 等发明，后来经 Willner 等人发展成熟[5,7]。模型过程包括电击、浸入冷水、限制运动、昼夜节律颠倒和一系列其它无规律的应激刺激。该模型可以提高实验动物血浆皮质醇水平，降低对糖水的偏好。但是因为该模型多使用伤害性应激刺激，受到伦理学质疑，故其使用受到限制。后来改良的 CMS 模型采用了温和的无规律应激刺激，比如饮食剥夺、小幅降低室温、更换混养对象等，经过 3 周的慢性应激刺激动物出现兴趣缺失（表现为性欲降低，糖水偏好降低），侵略和探索能力下降，一般活动能力下降和皮毛状态恶化等，并且上述变化可在停止应激刺激后持续约 2 周。

该模型几乎可以模拟抑郁症的所有行为学表现且可被多种抗抑郁药逆转，并且一旦建立模型稳定性高，因此被多数研究所使用；该模型的缺点是建立耗时较长，操作复杂等。

(3) 嗅结节切除模型(Olfactory bulbectomy，OB)：嗅结节切除的大鼠表现出与抑郁患者相似的免疫、内分泌和神经递质系统的变化，且这些变化可以通过慢性给予抗抑郁药物得到纠正，但急性给药不能纠正，对抗抑郁药物的选择研究具有重要意义，但该模型局限于大鼠。2009 年，Hye-Min Kanga 等人报道了一种改良的光化学诱导的嗅球切除术方法(photochemically induced olfactory bulbectomy)用于小鼠实验研究，小鼠尾静脉注射光敏剂孟加拉红(Rose Bengal)后用卤素冷光源(cool halogen light)照射嗅球部位约 10 分钟，2 周后小鼠双侧嗅球被完全破坏，并且小鼠在强迫游泳实验和旷场实验中表现出了与抑郁动物一致的行为学表现，同时表现出抑郁相关的神经病理和神经生物学改变。改良模型的出现可能会增加嗅球切除模型的使用率。

(4) 社交挫败模型(social defeat model)：社交挫败模型是在啮齿类类动物中研究抑郁常用的动物模型。该模型的建立是基于雄性啮齿类动物的领地概念，体

积较小的雄性动物(intruder)会很快被体积较大攻击型较强的动物(residents)打败和征服。该模型制作过程：雄性 C57/B6 小鼠(intruder)放入单独饲养的 CD1 小鼠(residents)笼中，CD1 小鼠会攻击撕咬 C57 小鼠。每天实验持续 5-10 分钟，然后用一特制的带孔透明的有机玻璃板将两只小鼠隔开，但仍饲养在同一笼中，使两只小鼠仍保持感觉上的接触。第二天，C57 小鼠被放入另一只 CD1 小鼠笼中，重复同样的实验，持续 10 天。10 天后 C57 小鼠单独饲养。第 11 天，将 C57 小鼠进行社交活动(social interaction)测试：将被测试小鼠放入一个特制箱中，在这个特制箱中放入一个可容纳一个 CD1 小鼠的铁丝网，并根据一定的尺寸限定 2 个边角区(corner zone)和一个社交活动区(interaction zone)。当铁丝网内不放入 CD1 小鼠时，正常 C57 小鼠和模型 C57 小鼠活动度和活动区域没有差别；当铁丝网内放入 CD1 小鼠时，正常 C57 小鼠花费较多的时间在社交活动区，提示正常动物倾向于和其同类进行交流；而模型 C57 小鼠在放入测试箱后快速躲入边角区，在测试的大部分时间内都只在边角区活动，很少进入社交活动区，提示慢性挫败后的 C57 小鼠发展形成慢性社交挫败应激抑郁模型。模型小鼠还表现出与人类抑郁症状类似的表现，如兴趣缺失，体重增长减缓等，这些改变可以被抗抑郁药物或社交活动缓解，说明该模型有很好的社交缺陷模拟功能。该模型的突出优点就是可以很好的模拟抑郁症患者的社交恐惧特征，弥补了上述模型社会性质不足的缺点。

该模型存在以下缺点：①短期的社交挫败可能会引起动物焦虑和躁狂表象，使得模型纯度受损，因此需要持续 10 天或更长时间才能确切的模拟抑郁表现，特别是神经生物学表现；②由于雌性动物先天缺乏攻击性，该模型只局限于雄性动物的研究，而在人类女性抑郁发病率远高于男性。

(5) 母婴分离模型(maternal deprivation model)：该模型可以通过剥夺母婴之间的情感交流模拟社交和情感挫败引起的抑郁症状：动物在出生后的前 2~4 周内，每天与母亲分离 15min 至数小时(一般为 3~4h)。该模型主要模拟生命早期情感缺失对动物后期情感障碍的影响——模拟了人类童年不愉快经历对成年后抑郁症发生发展的影响。母婴分离所致的抑郁行为除了可以被抗抑郁药物对抗外，还可以通过抚摸或手握得到改善。该模型引起的神经生物学改变主要发生在下丘脑-垂体-肾上腺素轴、肾上腺素系统和阿片系统。同样，该模型的缺点是模拟的抑郁症状纯度不够，部分动物会出现焦虑、躁狂或易激惹的表现，只适用于研究生命早期时间对后期情感变化影响的研究。 母婴分离不但对新生动物有影响，还会引起动物母亲抚育行为的减退，引起其神经精神的改变，因此有关母婴分离对动物母亲的影响也值得研究。

(6)其他模型：在基础研究中，还有一些抑郁模型由于操作困难、难以模拟尽可能多的抑郁症状而不经常使用，比如药物诱导的抑郁模型、操作行为模型和遗传选择性抑郁模型等。虽然动物模型可以制订出严格的标准，但是不同实验室在同样

的动物模型上得到的结果仍有差异，说明基因-环境之间的相互作用对动物模型的建立影响深刻。

抑郁行为的衡量方法

运动行为衡量实验：行为绝望是抑郁患者的重要表现之一，也是患者出现自杀倾向的原因，在基础研究中可以通过一些简单的实验进行测量，进而反映动物抑郁程度或评价抗抑郁药物的疗效。

(1) 强迫游泳实验(forced swim test(：该实验由 Porsolt 等人于 1977 年首次提出。该实验的操作方法为：将实验动物放入装有适宜温度水且不可逃避的容器中，短暂适应后观察动物单位时间内有效位移、挣扎时间或静止时间（也称行为绝望时间）。由于大鼠先天具有较强的游泳能力，因此本模型多适用于以大鼠为研究对象的实验中。由于小鼠具有游泳能力且表现出较强的厌水性，所以小鼠可能更适合用于该方法，因此越来越多的研究开始将强迫游泳实验用于小鼠。

(2) 悬尾实验(tail suspension test)：该实验的操作方法为：将实验动物尾部用夹子或胶布固定，倒挂在悬尾测试仪的横杆或倒钩上，根据动物种类调整头部与悬尾测试仪底板间的距离(比如在小鼠选择 5~10cm)，短暂适应后观察动物挣扎时间或静止时间(也称行为绝望时间)。

强迫游泳实验和悬尾实验简单易行，被多数研究所采用。尽管两个实验的设计源于同样的理论基础(行为绝望)但是二者也存在微小的不同，可以互相补充使用，比如悬尾实验可以在温度不适合做强迫游泳实验或动物有运动障碍时使用，而强迫游泳实验则可以避免悬尾实验中出现的“爬尾现象”。但是最近逐渐有学者对这两个实验提出质疑：水环境和悬尾对实验动物来讲属于急性应急刺激，急性实验不能或者不能全面反映一个慢性疾病过程，且实验过程中急性应激系统的激活也会对实验结果造成影响。并且也有个别种系的动物不适合做上述实验，比如 C57/BL 小鼠因为倒挂时具有明显的“爬尾现象”而不适合做悬尾实验。

(3) 旷场实验(open field test)：该实验用于测量动物在新环境中的活动能力和评价抗抑郁药物有效性。该实验的操作方法为：在自然光照条件下，将实验动物置于底面平均分成若干面积相等小格，周边和底面均为黑色的方形旷场中。观察并记录动物在旷场内单位时间内的行为表现，包括水平活动距离、直立次数和离开中央格的时间等。该实验主要用于考察实验动物在新环境下的主动运动程度。

兴趣缺失衡量实验

兴趣缺失是抑郁患者的核心临床表现之一，表现为对食物、药物、性等奖赏刺激的兴趣降低。在基础研究中多以食物或药物作为奖赏刺激观察动物的兴趣缺失情况，用于衡量抑郁的严重程度或评价抗抑郁药物的有效性。

(1) 新环境饮食抑制实验(novelty-induced hypophagia)：该实验用于考察实验动物在新环境中对奖赏刺激的反映，主要用于衡量抗抑郁药物有效性。该实验的操作方法为：实验动物经历 12~24 小时的禁食禁水后置入一个含有奖赏刺激(比如

糖丸、糖水等)的新环境中，观察实验动物从进入新环境到进食进饮的时间。但是该实验需要排除由于动物个体食欲不同对实验结果带来的差异，而这一点很难做到。

(2)糖水偏好实验(sucrose preference test)：糖水偏好实验是衡量啮齿类抑郁动物兴趣缺失最常使用的方法，也是衡量抗抑郁药物疗效最常使用的方法。该实验的操作方法为：将实验动物置入放有两个饮水容器(一个装有饮用水，一个装有糖水，通常是浓度为 1~2%的蔗糖溶液)的饲养箱内，观察单位时间内动物饮用糖水和普通水的量，计算糖水/水的比例以衡量动物对糖水的偏好程度。观察的时间在不同实验室之间也存在差别，从 6 小时到 24 小时不等，通常观察时间较短时在实验之前会对动物进行禁食禁饮处理。

(3)颅内自我刺激实验（intracranial self-stimulation, ICSS）：上世纪五六十年代，Olds 等人开发了颅内自我刺激的方法，后来被用于奖赏系统相关的研究。该实验的操作方法为：在实验动物颅内参与内源性奖赏效应的脑区，比如海马、杏仁核等，置入刺激电极，电极通过软线连接笼子顶端的换能器(用于记录和实施电刺激)，短暂适应后训练动物踩踏置入笼中的踏板用于激活换能器实施电刺激，进而激活了内源性的奖赏系统产生快感。整个过程可以总结为“快感-寻找快感的动机-动机向行动的转化-寻找产生快感的刺激-按压踏板-再次产生快感”的循环。颅内自我刺激的优点是不会随着时间的延长而出现耐受，可以用于长时间的研究。但该法系有创操作且实施起来受到硬件及实验技术的限制故普及程度不高，只被少数实验室使用。

抑郁的神经环路机制

(1)中脑边缘多巴胺系统

兴趣缺失是抑郁症的核心症状之一，奖赏系统功能改变是其主要原因。中脑边缘多巴胺系统是目前公认的参与奖赏过程和兴趣形成最重要的神经环路。中脑边缘多巴胺系统由腹侧被盖区(ventral tegmental area，VTA)及其多巴胺能神经纤维投射区伏隔核(nucleus acumbens，NAc)，前额叶皮质(prefrontal cortex，PFC)等组成。该系统参与了食物、性等引起的自然奖赏过程，也参与了药物引起的奖赏过程(比如药物成瘾和滥用等)。临床人脑功能成像研究显示 VTA 参与抑郁过程，因此关于抑郁症兴趣缺失与奖赏系统之间联系的研究多集中于该系统。中脑边缘多巴胺系统的多巴胺能神经元来自腹侧被盖区，主要投射到伏隔核、前额叶皮质和杏仁核等脑区。VTA 多巴胺能神经元激活是奖赏系统激活表现：动物受到奖赏刺激该区多巴胺能神经元被激活，而当动物得不到预期的奖励或受到虐待则会抑制该区多巴胺能神经元的活性。来自人和动物的研究表明，抑郁时该区多巴胺能神经发生一系列电生理和分子生物学的变化，进而改变其投射区多巴胺或其他神经调质(如 BDNF)的释放量影响实验对象对奖赏刺激的反应。但是，也有个别研究发现恶性刺激也可激活 VTA 部分多巴胺能神经元，说明该区多巴胺能神经不只参与奖赏过程，还可能参与其他情绪的调控。

(2) 前额叶皮质-边缘系统环路

前额叶皮质-边缘系统网络由前额叶皮质、前扣带回(anterior cingulate cortex，ACC)、前嗅皮质(orbitofrontal cortex)和海马(hippocampus)组成。动物和临床研究都发现，该环路中神经元、胶质细胞和突触的大量丢失以及相应脑区体积的缩小可能参与抑郁的发展和维持过程。如：动物研究表明，在不同的抑郁动物模型中，动物的前额叶皮质、前扣带回皮质、前嗅皮质和海马中的神经元突起的数目和长度、突触嵴数目、星型胶质细胞数目和相应脑区的体积都出现不同程度的减少或缩小。人脑功能成像研究也发现，这些脑区的少突胶质细胞数目和突触嵴数目的减少、突触丢失、脑体积缩小。

在抑郁模型动物或人类患者的研究中发现前额叶皮质-边缘系统网络主要的病理学改变是神经突起和突触的退变，因此，未来针对该网络的研究方向可能是如何防止这些病理性改变。此外，抑郁所引起的前额叶皮质-边缘系统网络个脑区体积的变化和细胞构成的改变在模型动物和人类患者之间存在差异。

(3) 下丘脑-垂体-肾上腺素轴（Hypothalamic Pituitary Adrenal axis，HPA）

研究发现至少有 50%的抑郁患者存在下丘脑-垂体-肾上腺素轴的过度兴奋。抑郁患者的会出现肾上腺和垂体不同程度的肥大增生(下丘脑-垂体-肾上腺素轴兴奋的标志)以及血浆、尿液和脑脊液中皮质醇的浓度升高。抑郁过程中下丘脑-垂体-肾上腺素轴的兴奋主要是促皮质激素释放因子分泌增加的结果。促皮质激素释放因子引起的动物行为的改变与人类抑郁

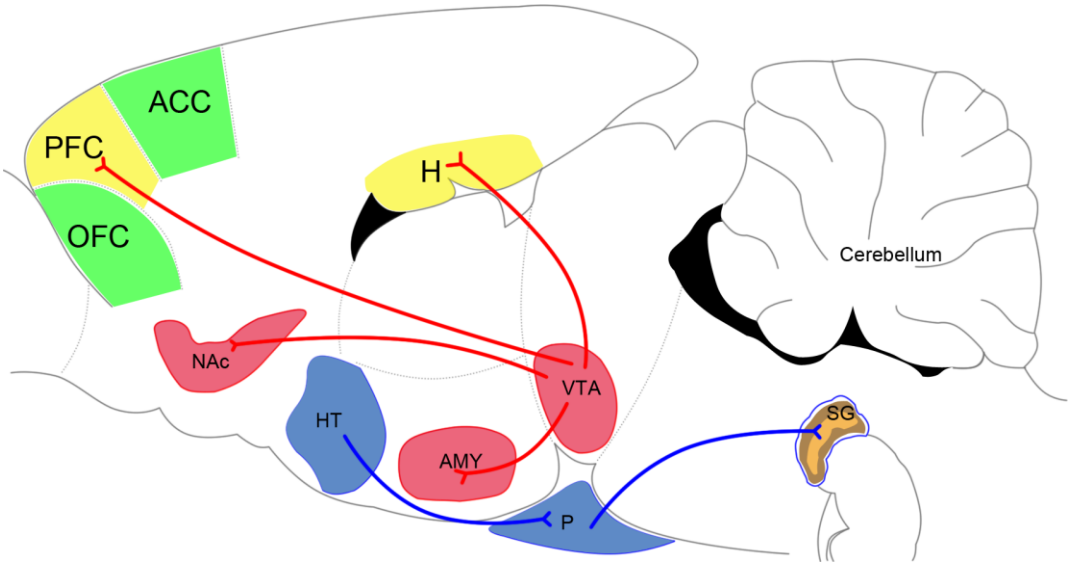


图 1. 参与抑郁的神经环路：中脑边缘多巴胺奖赏系统（红色）、前额叶皮质-边缘系统（绿色，黄色为与中脑边缘系统重合部分）和下丘脑-垂体-肾上腺素轴（蓝色）。VTA：腹侧被盖区、NAc：伏隔核、AMY：杏仁核、PFC：前额叶皮质、H：海马、ACC：前扣带回皮质、OFC：前嗅皮质、HT：下丘脑、P：垂体、SG：肾上腺。

症的表现相似，比如活动能力的改变、对食物和性的等奖赏刺激的反应改变以及睡眠的改变等。来自动物和人的研究均提示幼年的不愉快经历造成的下丘脑-垂体-肾上腺素周的活性改变可能是成年后抑郁症发病的原因，下丘脑-垂体-肾上腺素轴兴奋性较高的人群更容易患抑郁症；并且对于已治愈的抑郁症患者来说下丘脑-垂体-肾上腺素轴活性较高的复发的几率更大。接受抗抑郁药物治疗的患者或抑郁模型动物体内促皮质激素释放因子水平明显降低，说明该轴过度活动可以被抗抑郁药物逆转。

值得注意的是，上述环路并非独立的参与抑郁过程，而是存在相互的调节作用，比如 VTA 有部分多巴胺能神经纤维投射到前额叶皮质，多巴胺能神经元的兴奋会增加向前额叶皮质神经递质的释放进而影响其功能；抑郁时下丘脑室旁核和海马的促皮质激素释放因子和精氨酸加压素分泌增加进而激活下丘脑-垂体-肾上腺素轴；海马活性增强对下丘脑-垂体-肾上腺素轴起抑制作用；下丘脑-垂体-肾上腺素轴过度兴奋介导了重症抑郁患者的海马体积缩小过程。

中脑边缘多巴胺系统参与抑郁过程的细胞与分子机制

目前与抑郁相关的研究多集中在海马和前额叶皮质区等脑区。海马主要参与与抑郁相关的学习记忆过程，而皮质则主要参与记忆存储、注意力及行为过程，但是这些表现尚不能完全涵盖抑郁症的临床表现，比如有些患者表现出兴趣的缺失，体重的改变等。而这些改变很可能有机体奖赏系统有关。

近年来，Nestler 实验室把目光集中在与脑奖赏系统有关的脑区，他们发现：①由腹侧被盖区及其投射区伏隔核组成的中脑多巴胺能系统、杏仁核以及海马中的神经肽系统参与了正常和病理状态下的机体奖赏机制，比如性行为，抑郁状态和药物滥用等；②脑内奖赏机制可以解释多种抑郁相关的症状，比如兴趣缺失、活动力下降以及神经认知功能障碍等；③上述脑区并非单独参与脑内奖赏机制而是相互协作完成的。神经解剖学研究显示腹侧被盖区接受来自上述脑区的多种纤维投射，同时也向上述脑区发出多巴胺能投射纤维，于是越来越多的研究围绕腹侧被盖区及其多巴胺投射区展开。虽然早在 1982 年 Wise 等人就提出 NAc-VTA 通路可能参与抑郁过程，但是后续的报道却很少见，近十年来这一通路才成为抑郁可能发病机制的研究热点。

(1) 抑郁时中脑边缘多巴胺能神经元的电活动变化

多巴胺能神经元有两种自发放电形式，一种是单一放电，一种是爆发式放电。爆发式放电较单一放电能刺激多巴胺能神经元释放更多的多巴胺到相应的投射区，可以更有效的调节投射区神经元的活动，多巴胺能神经元通过放电模式和放电频率的改变参与了脑内奖赏环路相关的生理病理过程。Nestler 实验室利用社会挫败模型首次考察了 NAc-VTA 通路中多巴胺能神经元放电模式在抑郁过程中的作用，结果在体实验发现：慢性社交挫败能

够增加 VTA 多巴胺能神经元自发放电频率和爆发式放电频率，增加多巴胺能神经元超极化激活阳离子电流；自发放电频率和爆发式放电频率与社交回避行为(抑郁症的主要行为学表现之一)成反比；连续多次给予抗抑郁药物可以逆转慢性社会挫败模型导致的多巴胺能神经元放电频率、放电模式以及社会回避行为。该研究首次提供了慢性抑郁状态下 NAc-VTA 通路中多巴胺能神经元放电模式和放电频率特征，为后续研究提供了重要参考。

(2)抑郁时中脑边缘多巴胺系统的分子基础

BDNF 信号通路

BDNF 信号对情感过程的调节在海马和 NAc-VTA 环路中研究较多。在 NAC-VTA 环路的研究中直接进行 VTA 核团内注射 BDNF 能引起抑郁样行为；阻断 NAc 内 BDNF 受体 TrKB 则可以产生抗抑郁的效应。利用社会挫败模型进行了大量研究，结果发现在社会挫败小鼠表现出一系列与抑郁相关的行为学表现如糖水偏好降低，性活动减少，社交活动和一般活动减少等，这些行为学可以通过慢性使用抗抑郁药或条件性敲除 VTA 内 BDNF 基因进行纠正。但是在正常动物 VTA 或 NAC 中注射 BDNF 则可以提高可卡因奖赏效应,这说明 NAC-VTA 环路中 BDNF 对奖赏机制的调节作用可能具有情感依赖性。在正常状态下，NAC-VTA 环路中 BDNF 在潜在奖赏效应或药物依赖效应的形成中发挥重要作用；在精神疾病状态下 BDNF 则可能直接影响奖赏效应的机制，即便是在没有外界奖赏刺激的情况下也可发挥其效应。因此，BDNF 对于情感相关过程和药物奖赏效应的调节作用可能不同。

研究还发现社会挫败模型动物可以区分为为易感和不易感抑郁两个亚群。早期研究发现慢性社会挫败可以引起 NAc 中 BDNF 水平增加，以此为切入点进一步研究发现 NAc 中的 BDNF 信号介导了动物对社会挫败引起抑郁的易感性，并且采用基因敲除技术确定了介导这一过程的 BDNF 来源：鉴于 NAc 是 VTA 多巴胺能神经元的主要投射区且表达 BDNF，因此他们分别对 NAC 和 VTA 进行了 BDNF 敲除，结果发现敲除 NAC 中的 BDNF 并不影响社会挫败引起抑郁的易感性，而敲除 VTA 中 BDNF 则降低了动物对社会挫败引起抑郁的易感性。由此推断 NAC 中介导这一过程的 BDNF 可能来自 VTA，表明中脑边缘多巴胺系统中 BDNF 信号通路可能介导了抑郁及其易感性。

ERK 信号通路

细胞外信号调节激酶(ERK)是作为 BDNF 的下游分子参与诸多生理病理过程，多项研究发现脑内 ERK 信号通路参与药物奖赏及情绪调节过程，鉴于中脑边缘多巴胺系统及 BDNF 在抑郁过程中的重要作用，因此 ERK 可能参与抑郁过程。研究发现在急慢性应激条件下 VTA-ERK1/2 表达增加且动物在强迫游泳实验，悬尾实验和社交活动评价中表现出类似抑郁样的结果；通过基因转染技术提高 VTA-ERK1/2 的表达可以改变 VTA 多巴胺能神经元的放电模式，提高实验动物对抑郁的易感性；抑制 VTA-ERK1/2 可以逆转应激引起的多巴胺能神经放电模式和

频率改变；研究也表明抑制 VTA-ERK2 能改变动物抑郁样行为。但是该研究还发现高表达 ERK1/2 的动物则出现较正常动物更强的糖水偏好现象，其原因可能是 VTA 中过度表达的 ERK 不但可以引起抑郁症状而且也激活了促进食欲的神经环路，这也解释了有些抑郁症患者会出现体重增加的现象。该研究还提示 VTA 脑区任何激活 ERK1/2 的机制均可能参与抑郁过程的调节。

AKT 信号通路

研究发现海马和皮层的 AKT 信号通路活性改变参与了抑郁过程，一些药物通过增加 AKT 磷酸化水平可以逆转抑郁行为。鉴于上述发现，Krishnan 等通过研究发现①在社交挫败模型易感小鼠 VTA-AKT 表达减少，伴随多巴胺能神经元放电频率增加；慢性给予抗抑郁药可以增加 VTA-AKT 的表达；②采用药理学方法抑制 VTA-AKT 可以增加多巴胺能神经元放电频率，增加 VTA-GABA 能神经元抑制性突出后电位的幅度和频率，提示 VTA-AKT 信号介导了社交挫败模型易感小鼠 VTA 多巴胺能神经元和 GABA 能神经元电生理特征的调节。法医学研究也发现抑郁症患者 VTA-AKT 表达减少。

CREB 信号通路

CREB 是环磷酸腺苷反应原件结合蛋白，在脑内有广泛的表达。大量研究发现中脑边缘多巴胺系统中 CREB 参与包括抑郁在内的多种情感过程。早期研究发现，NAc-CREB 参与了多种药物和自然奖赏过程，比如可卡因，吗啡，尼古丁以及蔗糖等，这些研究提示 NAc-CREB 可能参与快感或兴趣过程的获得与维持。NAc-CREB 表达增加的动物表现出抑郁样行为：对可卡因兴趣降低，在强迫游泳等实验中活动能力减弱等，NAc-CREB 表达增加的转基因小鼠也表现出上述抑郁相关的抑郁样行为，而通过条件性基因敲除 NAc-CREB 则可以缓解上述改变，产生抗抑郁样效应。但是，全身 CREB 基因敲除的动物则产生躁狂的表现，可能与其他部位 CREB 功能缺失有关。NAc-CREB 短时间内的表达增加可能与应激或逃避行为有关，而长时间应激或处在恶劣条件下导致的 NAc-CREB 表达增加则参与包括抑郁在内的情感过程。

与 NAc-CREB 一样，VTA-CREB 也参与诸多药物和自然奖赏过程，比如吗啡，尼古丁等，但是针对 VTA-CREB 介导抑郁过程的研究较少。并且有的研究指出，VTA-CREB 参与药物奖赏和抑郁可能是分离的，也可能只参与其中某一过程，比如等人研究发现 VTA-CREB 介导了尼古丁奖赏过程而由此引起的 VTA-CREB 表达增加并不能引起抑郁样行为。

丘脑反馈肽类信号通路

1996 年 Wise 等人发现丘脑参与了奖赏过程，人们曾认为是由于 VTA 投射到 NAc 的多巴胺能神经纤维经过丘脑造成的，但是后来的研究发现丘脑内其它机制也参与了奖赏过程。下丘脑主司肽类分泌和调节饮食的神经元有大量神经纤维投射到 VTA 和 NAc，并且这些肽类被证实参与了中脑边缘多巴胺系统相关的奖赏机制和抑郁过程，比如 MCH，orexin 和 melanocortin 等。

MCH：MCH（Melanin-concentrating hormone）是一类由 19 个氨基酸组成的肽，在啮齿类动物其唯一的受体 MCH1 受体在中脑边缘系统表达丰富(主要在 NAc)。最近研究发现，MCH 介导的下丘脑-NAc 环路在奖赏机制和抑郁中发挥重要作用。直接 NAc 内注射 MCH 能增加实验动物的食欲，增加体重；NAc 内注射或全身给予 MCH1 受体的阻断剂则可抑制动物食欲，降低体重，而体重改变是抑郁症一个与奖赏机制相关的重要体征。MCH 基因敲除的动物表现出抗抑郁样行为，而 MCH 过表达的动物则表现出抑郁行为。另外，阻断 NAc 内 MCH1 受体可以产生抗抑郁样作用，改善抑郁动物在强迫游泳实验中的表现。上述证据表明，中脑边缘多巴胺系统 MCH 介导了抑郁过程。

Orexin：Orexin 是表达于下丘脑的另一反馈蛋白，主要参与睡眠与觉醒的调节。表达 orexin 的神经元大量投射到 VTA 等脑区，通过激活多巴胺能神经元上的 OX1 受体参与药物相关的奖赏机制。OX1 受体激活参与觉醒过程，orexin 表达缺失的动物容易产生嗜睡，而嗜睡人群患抑郁症的风险大大增加，阻断 OX 受体可以预防和治疗安非他命引起的 VTA 神经可塑性及行为改变。因此，Orexin 及其 OX1 受体可能介导边缘多巴胺系统参与的抑郁过程或抑郁中的嗜睡现象。

Melanocortin：Melanocortin 是另一种下丘脑反馈蛋白，其作用受体为 MC4 受体，大量表达在 NAc。动物实验表明，MC4 受体可能部分介导了药物相关的奖赏机制，并且阻断 MC4 受体能改善实验动物强迫游泳和逃跑实验结果，提示阻断 MC4 受体可能有抗抑郁作用。

另外，还有其他一些来自下丘脑的肽类参与了药物相关的奖赏机制和抑郁过程，比如 CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript)，NPY(神经肽 Y)，CRF(促肾上性激素释放因子），and ARP (agouti-related peptide)，促生长激素释放激素(GHSR)以及来自外周脂肪的瘦蛋白 leptin 等肽类。这些肽类不但独立发挥作用而且还可能通过作用于其他肽类发挥作用，例如 leptin 可能通过调节表达 OX 受体的神经元和 VTA 多巴胺能神经元参与体重的调节，进而可能参与抑郁过程的体重变化。

中脑边缘多巴胺能系统中上述信号通路和分子均参与抑郁过程，但是它们可能并非孤立的发挥作用，彼此之间可能存在密切的联系，比如在诸多生理病理过程中 BDNF-ERK1/2-CREB 作为一个信号通路发挥作用，而 BDNF 是 CREB 的下游产物，但是在抑郁过程中这种上下游或环形联系尚需进一步研究。除中脑边缘多巴胺能系统外，介导抑郁过程的脑区和机制还有很多，前者比如海马，前额叶皮质等；后者比如基因机制，表观遗传学机制等。这些不同脑区和不同机制及其与中脑边缘多巴胺系统之间在抑郁过程中的相互作用和联系也值得深入研究。

抑郁症临床治疗的研究进展

(1) 传统方法

治疗抑郁的传统方法包括药物和心理治疗，这些方法起效慢，容易复发，满意

程度差(约 60%的患者经传统方法治疗达不到满意的效果），约 1/5 的患者经长期治疗后发展为难治性抑郁症[122]。抑郁症的药物治疗和心理精神治疗方法在此不做赘述，请参考 Depression: The Treatment and Management of Depression in Adults (Updated Edition) PMID: 22132433 。http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22132433

(2)老药新用：氯胺酮抗抑郁

治疗抑郁的传统药物多针对五羟色胺和去甲肾上腺素等神经递质系统，起效缓慢(一般需要 1~2 周)，并且首次治疗仅对 1/3 的患者有效果。较早的动物研究发现， NMDA(N-methyl-d-aspartate)受体拮抗剂具有抗抑郁作用。最近临床研究也发现，单次静脉注射低于麻醉剂量的氯胺酮(NMDA 受体拮抗剂，一种麻醉药)能迅速产生抗抑郁效果(数小时即起效)，并可持续约 1~2 周的时间，对传统药物治疗无效的重症抑郁患者同样有效，一周三次连续两周多次给药抗抑郁效果可达 3 个月。氯胺酮应用于临床麻醉 50 余年来虽然被证实是安全的，但作为一种麻醉药，患者常伴有幻觉、神经认知障碍等副作用，还有成瘾和依赖的可能，并且动物研究表明 NMDA 受体有一定的神经毒性；虽然用于治疗抑郁的氯胺酮剂量低于临床麻醉剂量，但这些潜在的副作用仍可能会阻碍氯胺酮用于抑郁症的治疗。氯胺酮用于抑郁症的治疗最大的优点是起效快，可以缓解紧急出现的抑郁症状，比如自杀想法。

虽然临床研究证实氯胺酮可以有效的缓解抑郁症状，但是其机制尚不完全清楚。Li 等人的研究发现，氯胺酮能够激活哺乳动物细胞内雷帕霉素信号通路(mammalian target rapamycin，mTOR)，增加大鼠前额叶皮质突触嵴的数量并提高其功能，增加突触相关蛋白的表达，阻断 mTOR 信号通路则能抑制这些表现和氯胺酮的抗抑郁作用；他们的研究还发现，阻断 AMPA 受体信号通路也可以抑制氯胺酮引起的突触变化和抗抑郁作用，提示氯胺酮可能是通过阻断 NMDA 受体信号通路和增强 AMPA 受体信号通路发挥抗抑作用的。通过 Li 等人的研究我们不难发现，其他 NMDA 受体拮抗剂、调节 mTOR 信号通路的靶点和 AMPA 受体激动剂均可能具有抗抑郁作用，比如临床研究发现辉瑞公司开发的 NMDA 受体 NR2B 亚单位拮抗剂作为抗抑郁辅助药物表现出了与氯胺酮类似的快速起效的抗抑抑作用。

(3)物理治疗手段

电休克疗法 electroconvulsive therapy (ECT)：电休克疗法 1938 首次被证实对人类抑郁症有效，现在主要用于抗药性抑郁症和难治性抑郁症，有效率高达 80%，其优点是对治疗有效的患者可以重复使用，缺点是持续时间较短，副反应多，比如短暂的失忆（逆行性/顺行性遗忘），因此，电休克疗法不应作为首选手段用于抑郁症的治疗。

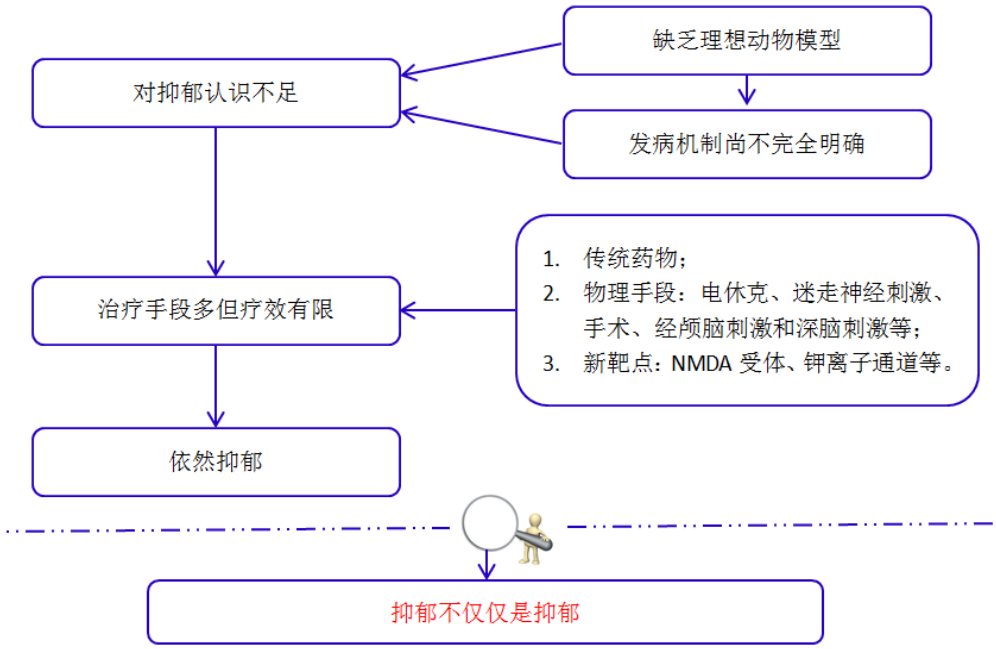


图 2. 抑郁研究与治疗的现状与展望。

经颅磁刺激 transcranial magnetic stimulation (TMS)：经颅磁刺激是近年来新出现的治疗抗药性抑郁症的手段之一，由于其无创的特点很快就被医生和患者接受。研究发现，对左侧前额叶皮质进行高频经颅磁刺激对约 1/3 的抗药性抑郁症患者有效。经颅磁刺激对抑郁症的治疗作用可能是调节介导抑郁症某些症状的神经环路的活性。相对于电休克疗法来说其优点是无创，无失忆等副作用。但是有的患者在刺激后 3 周抑郁症状较治疗前恶化，提示该法可能不适合重复使用。

深脑刺激 deep brain stimulation (DBS)：自 1987 年 Benabid 等人把深脑刺激引入临床以来，这项技术已经成功地用于治疗帕金森氏病、脑震荡和肌张力失常相关的运动障碍。从 2005 年 Mayberg 等人首次利用深脑刺激治疗抑郁症获得成功，至今人们已经发现深脑刺激治疗抑郁症的多个有效靶点，比如：膝下扣带回(subgenual cingulate cortes)、伏隔核(nucleus accumbens)、腹侧纹状体(ventral caudate/stiatum)、下丘脑脚(inferior thalamic peduncle)、外侧松果体(lateral habenula)苍白球内侧部(globus pallidus intemus)和小脑(cerebellum)。该项技术的优点是可长时间重复刺激且不产生耐受，但因价格昂贵，操作困难未得到推广。

迷走神经刺激 vagus nerve stimulation (VNS)：上世纪九十年代末 Rush 等人将迷走神经刺激术用于治疗难治性抑郁症。长期实施迷走神经刺激术对 50%的重症抑郁症患者产生较好的缓解作用，约 1/3 的患者完全缓解。其机制可能是受刺激的迷走神经将兴奋传至孤束核，然后经上行传导系统后到达并调节参与感情调控的脑区，比如杏仁核、中缝背核、蓝斑核等。需要注意的是，单次或短期刺

激治疗效果较差，长期刺激才能收到较好的治疗效果。

在上述治疗手段中，电休克治疗是最早使用的方法且有效率高达 80%，但由于其作用时间较短现已很少使用；迷走神经刺激由于其机制尚不清楚没有得到广泛的应用；经颅磁刺激术由于较高的复发率和恶化率其使用也受到了限制；而由于创伤大且损伤不可逆，手术治疗抑郁症已经几乎不作为治疗的选择，除非没有其他手段可以使用；自 2005 年第一例深脑刺激成功实施以来，该技术以其较高的有效率和较少的副作用与并发症受到了肯定，但因操作困难，费用昂贵未得到推广，但深脑刺激术可能是传统手段之外的效果确切、副作用最少、容易控制和最有应用前景的物理治疗手段。

在临床上，抑郁患者往往患有一种或多种其他的疾病，比如最常见的抑郁与慢性疼痛的共病患者。因此在研究抑郁发病机制时不应只局限于单纯的抑郁症，应联系临床在共病状态下进行研究。在共病状态下研究抑郁症的机制不但会加快基础研究向临床应用的转化而且对临床治疗抑郁症具有更大的指导意义。近年来，有的学者开始关注抑郁共病的研究，为抑郁的研究开辟了一个新的方向和领域，有可能成为抑郁症研究新的前沿和热点。

主要参考文献

[1] Krishnan V and Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. Nature, 2008, 455: 894-902.

[2] Nestler EJ and A Carlezon Jr. W The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. Biol Psychiatry, 2006, 59: 1151-1159.

[3] Feder A et al. Psychobiology and molecular genetics of resilience. Nat Rev Neurosci, 2009, 10: 446-457.

[4] Cao JL et al. Mesolimbic dopamine neurons in the brain reward circuit mediate susceptibility to social defeat and antidepressant action. J Neurosci, 2010, 30: 16453-16458.

[5] Krishnan V, Han MH et al. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. Cell, 2007, 131: 391-404.

[6] Schmidt HD and Duman RS. Peripheral BDNF produces antidepressant-like effects in cellular and behavioral models. Neuropsychopharmacology, 2010, 35: 2378-2391.

[7] Hyman SE, Malenka RC and Nestler EJ. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. Annu Rev Neurosci, 2006, 29: 565-598.

[8] Nestler EJ et al. Preclinical models: status of basic research in depression. Biol Psychiatry, 2002, 52: 503-528.

[9] Eisch AJ et al. Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: a role in depression. Biol Psychiatry, 2003, 54: 994-1005.

[10] Fibiger HC and Phillips AG. Increased intracranial self-stimulation in rats after long-term administration of desipramine. Science, 1981, 214: 683-685.

[11] Berton O and Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. Nat Rev Neurosci, 2006, 7: 137-151.

[12] Krishnan V and Nestler EJ. Linking molecules to mood: new insight into the biology of depression. Am J Psychiatry, 2010, 167: 1305-1320.

[13] Berton O et al. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. Science, 2006, 311: 864-868.

[14] Andrade P et al. Neurostimulatory and ablative treatment options in major depressive disorder: a systematic review. Acta Neurochir (Wien), 2010, 152: 565-577.

[15] Murrough JW and Charney DS. Cracking the moody brain: Lifting the mood with ketamine. Nature Medicine, 2010, 16: 1384-1385.

[16]. Li N et al. mTOR-Dependent Synapse Formation Underlies the Rapid Antidepressant Effects of NMDA Antagonists. Science, 2010, 329: 959-964.

[17] Mayberg HS et al. Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. Neuron, 2005, 45: 651-660.

作者简介：

曹君利，博士，教授，博士生导师。现任江苏省“科教兴卫工程”医学（麻醉学）重点学科带头人，江苏省麻醉学重点实验室主任，徐州医学院附属医院麻醉科副主任。1994 年毕业于徐州医学院获得医学学士学位，2006 年毕业于中国医科大学获得麻醉学博士学位。2006-2010 年分别在美国德州大学西南医学中心和科罗拉多大学攻读博士后和研究员工作。主要从事病理性疼痛及疼痛-抑郁共病的神经生物学机制研究。是《Pharmacology, Biochemistry and Behavior》杂志编委，Acta Pharmacologica Sinica、Journal of Neurochemistry、PLoSONE、Brain Research、Neurosci Lett 等国际杂志审稿人。入选 2011 年度江苏省“高层次创新创业人才引进计划”和江苏省“333 高层次人才培养工程”第二层次培养对象。

韩明虎 博士：1999 年在中国科学院上海生理所获得博士学位，在美国耶鲁大学医学院完成博士后研究。2002 年－2008 年在德州大学西南医学中心从事抑郁症和药物成瘾机制的研究，发现抑郁易感和非易感表型的分子及细胞机制，提出“主动非易感”概念（Cell，2007），被 Nature 选为

2007 年度 20 篇重要研究论文之一。2009 年任美国纽约西奈山医学院药理与系统治疗学系助理教授，博士生导师，继续从事抑郁症的研究与教学。综合运用电生理技术，病毒介导基因转导以及光敏通道技术（optogenetics）探索抑郁症易感和非易感的神经生理学机制和全新药物靶位。研究成果在多种著名学术刊物上发表，包括 Cell，Nature Neuroscience, Neuron, PNAS 和 Science。现所从事的研究得到美国国立卫生院，Johnson&Johnson 及国际精神健康研究组织（IMHRO）的资助。2007 年获 NARSAD 青年科学家奖，2011 年获 IMHRO 转化医学研究科学之星奖，2012 年获西奈山医学院 Lamport 奖。

张红星，中国医科大学麻醉学专业在读博士研究生。2007 年毕业于潍坊医学院麻醉学系获得医学学士学位，2010 年毕业于徐州医学院麻醉学院获得医学硕士学位。主要从事神经病理性疼痛以及疼痛-抑郁共病的神经生物学机制研究。研究成果发表在 Anesthesiology，Plos ONE, Pharmacology, Biochemistry and Behavior, Neurosci Lett. 等杂志。

肾脏离子转运体和离子通道变异而引起的遗传性疾病

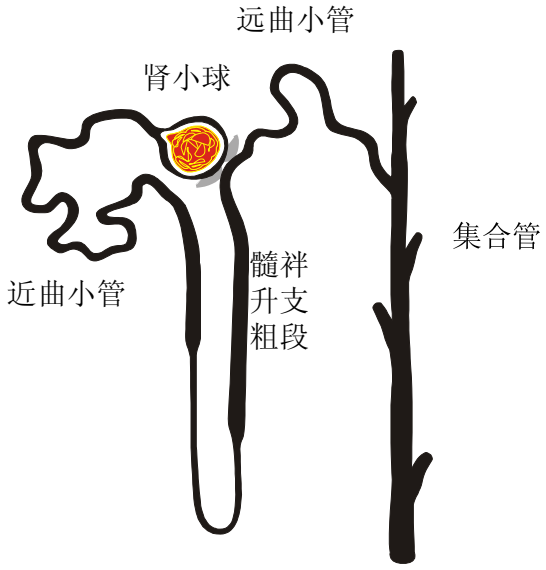
研究简介

王 彤

耶鲁大学医学院细胞和分子生理学系

(Yale University School of Medicine, New Haven, CT 06510)

肾脏是人体的一个重要器官，它的功能是多方面的，不仅调节水和电解质的平衡，而且在维持机体的酸碱平衡，维持正常的血容量和血压起着非常重要的作用。肾脏对水钠的重吸收直接影响到水盐代谢，而水盐代谢的变化又会影响到机体的血容量和血压。肾脏对水钠重吸收过高或过低都会导致水盐代谢失调。而肾脏对钾离子的分泌作用又是保持血钾平衡的关键环节，血钾过高或过低都会影响到正常的心脏功能或导致生命危险。肾脏的泌氢作用和对碳酸氢根(HCO_3^-)的重吸收是保持机体碱储备和维持机体酸碱平衡的关键步骤。所以由肾脏功能失调引起的疾病可能是多种多样的而且可能涉及到机体的各个系统。由于肾脏疾病涉及的范围非常广



肾单位

图1

泛，所以本文只集中简单介绍一些由于肾脏的主要离子转运体和离子通道基因变异所引起的遗传性疾病，和它们现有的动物模型和重要的参考文献。希望这些资料会对将来对这方面的研究工作有兴趣的学者们起到帮助的作用。

我们知道肾脏是由许许多多的肾单位构成的，而每个肾单位都具有其独立的功能。图 1 所示为肾单位的基本结构，而图 2 所示为肾脏的主要调节手段和主要离子转运体，离子通道在肾单位不同部位的分布。

肾单位(Nephron)包括肾小球、近曲小管、髓袢降支、升之粗段、远曲小管和集合管，而不同肾小管部位都具存其独特的功能，当然这些功能是取决于不同转运体和离子通道的分布。例如肾小球滤过水、离子和小分子的有机化合物，但对于蛋白质不通透。而滤过的大部分葡萄糖、水分和钠离子被近曲小管重吸收（大约65%滤过的钠离子和 HCO_3^-）。而髓袢吸收剩余的 25%, 再剩余的部分则被远曲小管和集合管所吸收入血液。近曲小管有泌氢作用，同时吸收 HCO_3^-而保持酸碱储备，而远曲小管和集合管的排钾作用是保持钾离子平衡的关键步骤。

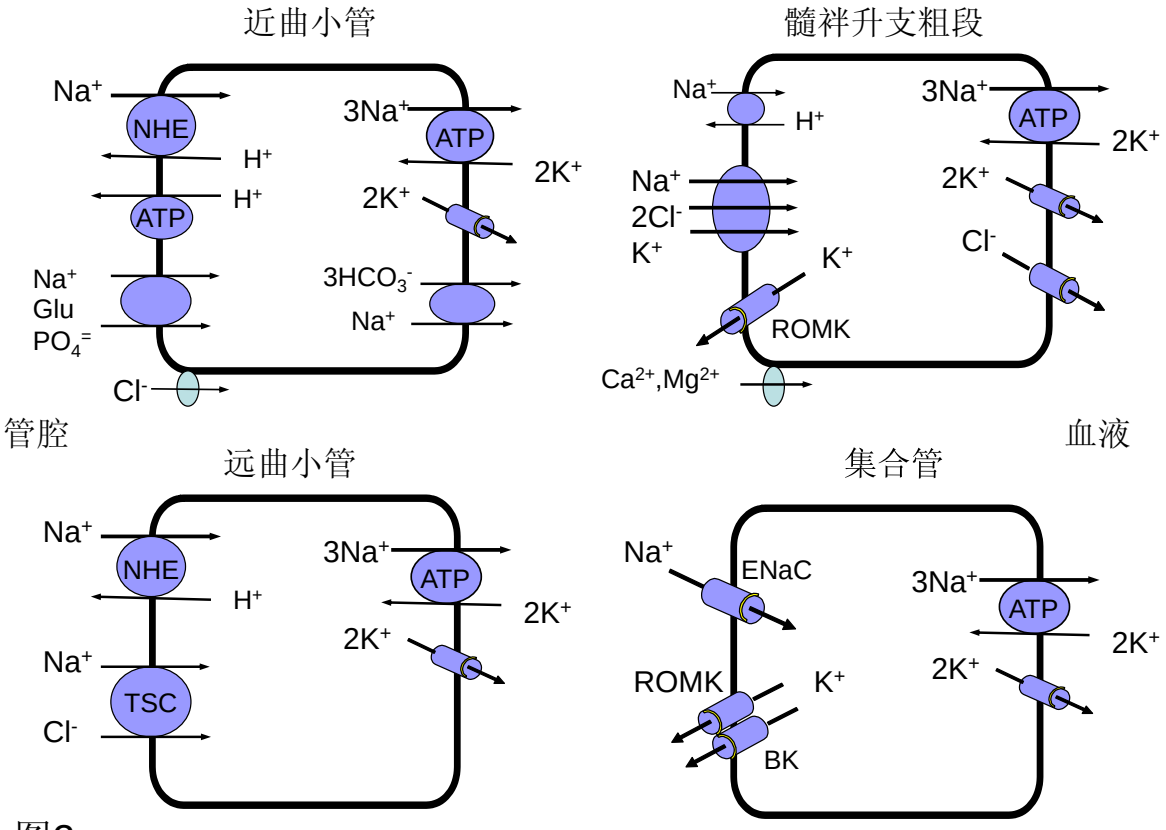


图2

表 1：肾脏离子转运体和离子通道基因变异引起的疾病：名称，症状，及动物模型

肾单位	肾脏离子转运体基因变异	疾病名称	临床症状	转基因动物模型	参考文献
近曲小管	ClCN5 (endosome-associated chloride channel) 基因变异	Dent's disease	蛋白尿，高尿钙，高尿磷，肾钙质沉着症 和肾结石	ClC-5 基因敲除小鼠	(21) (3) (12)
	NBC1 (Na/HCO_3^- cotransporter) 基因变异	肾小管 酸中毒（Ⅱ型）	近曲小管酸中毒	NBC1 基因敲除小鼠	(1) (6)
髓袢	I: NKCC2 (SLC12A2) II: ROMK (KCNJ1) III: CLC-Kb VI: Barttin's subunit V: Gain of functional mutation of CaR 基因变异	Bartter's 综合征 I, II, III, VI, V	多尿，多饮，低血压，脱水， 高醛固酮，高肾素，高前列腺素和肾小球旁器增生。 高尿钙。	NKCC2 基因敲除小鼠 ROMK 基因敲除小鼠	(7, 20) (13) (14) (17) (17) (22) (23)
远曲小管	TSC （NCC） Thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter 基因变异	Gitelman's 综合征	临床症状基本和 Bartter's 相同，但有低镁血症和低尿钙。	NCC or TSC 基因敲除小鼠	(18) (16)
远曲小管和集合管	H-ATPase 基因变异	肾小管 酸中毒（Ⅰ型）	远曲小管酸中毒	ATP6V1B1; 基因 敲除小鼠	(19) (4) (24)
集合管	ENaC 基因变异 epithelial sodium channel (ENaC)	PHA - I Pseudohypoaldosteronism 假性低醛固酮血症	低血压 低钠 综合征	alphaENaC 转基因敲除小鼠	(8) (10) (15)
	ENaC 基因变异	Liddle's syndrome	高血压 综合征	ENaC Liddle 转基因小鼠	(9) (15)

离子转运功能是由不同的离子转运体所完成的(图 2)。在近曲小管，主要离子转运体是 Na/glucose-cotransporter，负责重吸收 90%以上的糖，而这一转运体变异会导致尿糖症，而血糖并不会升高。而 Na/H-exchange(NHE)重吸收 65%以上滤过的 Na 并分泌 H^+，而 HCO_3^-则被重吸收入血。位于近曲小管基底膜的 Na/HCO_3^--exchanger(NBC)则对 HCO_3^-重吸收起决定性的作用，这一转运体变异则会导致肾小管酸中毒(Ⅱ型)或 Fanconi 综合征。Ⅱ型的发病率并不多见，而 NBC1 基因敲小鼠则是这一遗传病的研究模型(表 1)。近曲小管的另一种遗传性疾病是 Den's disease，它是由 C1CN5(endosome-associated 氯离子通道基因变异所引起的)。主要临床症状为蛋白尿、高尿钙、高尿磷和肾结石，C1C-5 基因敲除小鼠是这种疾病的动物模型。

髓袢升支粗段(TAL)的 Na/2Cl/K-Co-transporter(NKCC2)是主要的对 NaCl 重吸收的转运体，也是我们常用利尿剂“速尿”的靶作用点。NKCC2 基因变异导致

Bartter's 综合征Ⅰ型，主要临床症状为多尿、多饮、低血压、脱水、高醛固酮、高肾素和前列腺素血症，高尿钙但并不丢失镁。NKCC2 基因敲除小鼠是 Bartter's 综合征Ⅰ型的动物模型。除了 Bartter's 综合征Ⅰ型，还有其他 4 种类型的病变，他们是由于和 NKCC2 功能相关基因变异而引起的。例如 Bartter's 综合征Ⅱ型是由于在 Apical 的 K^+离子通道(ROMK)的变异。ROMK(kir1.1)是 ATP 调节的 K 离子通道，它在 TAL 的功能是保持 K^+从细胞内向外流入肾小管腔，从而形成正离子的电位差，这一功能也叫做 K^+的重循环，小管腔内的正电位差产生对 NaCl 重吸收的动力。如果这一功能丧失，则会直接影响 NKCC2 的功能从而减少对水和 NaCl 的重吸收，继而产生水盐丢失和低血压的临床症状，ROMK 基因敲除小鼠是 Bartter's 综合征Ⅱ型的动物模型。

图 3 显示了 Bartter's 综合征的类型和变异蛋白的功能作用部位。其中Ⅰ型病变最严重，而 NKCC2 基因敲除的小鼠存活率也最低~1%左右，Ⅱ型仅次于Ⅰ型而其他类型的症状均不如Ⅰ型严重。表Ⅰ和图 3 还显示了另一种遗传性疾病–Gitelman's 综合征。它是由于位于远曲小管的 Na/K-Co-transporter (NCC) 又称作 TSC(Thiazide-sensitive Na-Cl-Cotransporter)的噻嗪类敏感的 NaCl 转运体基因变异而形成。氢氯噻嗪是另一种常用的利尿剂，它也是初发高血压病首选药物，有温和的利尿作用。噻嗪的作用点是远曲小管的 NaCl 转运体。临床研究和遗

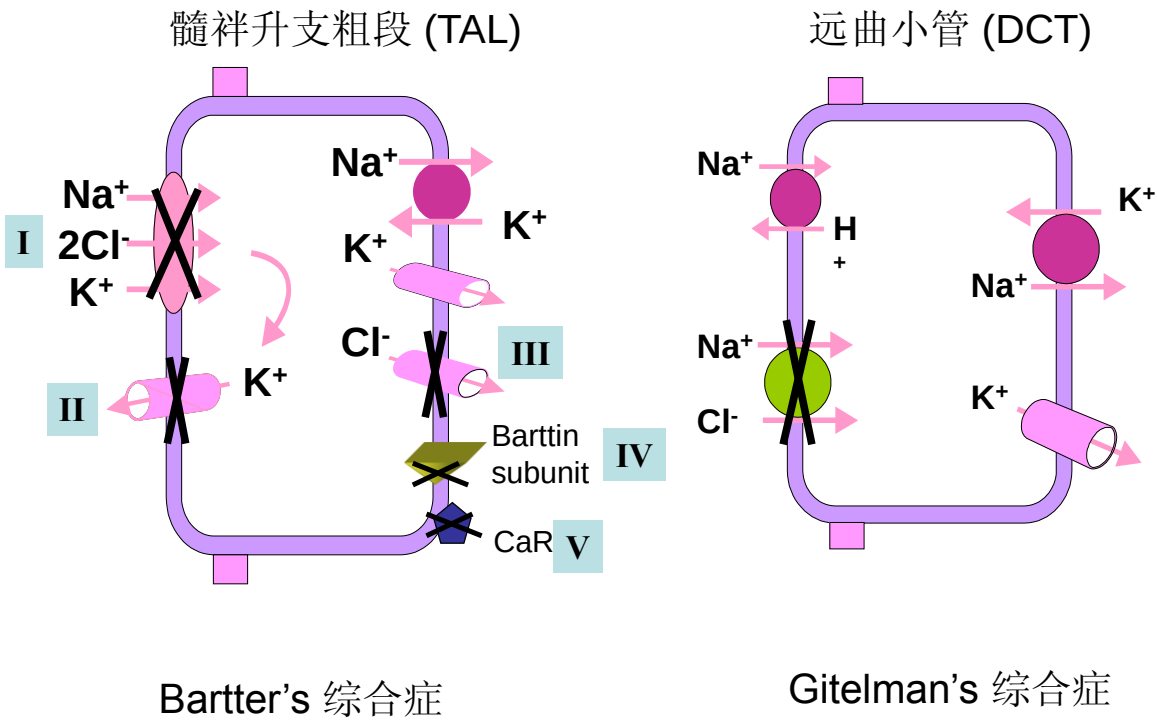


图3

传学研究报道，NCC 转运体基因变异引起的 Gitelman's 综合征，它的临床症状类似于 Bartter's，所以根据临床症状很难分辨是哪种疾病。两者唯一的不同是 Bartter's 丢失 Ca^{2+}但不会丢失 Mg^{2+}，而 Gitelman's 则相反丢失 Mg^{2+}保存 Ca^{2+}。至于 Ca^{2+}和 Mg^{2+}转运的异向调节机理还不是十分明确，目前还在研究之中。

另一类遗传性疾病是由于位于远曲小管的氢泵(H-ATPase)基因变异而引起的，称作“Ⅰ型肾小管酸中毒”。病变的蛋白分子是 H-ATPase、β1-subunit，从而影响肾小管的正常泌氢作用，而使体内 H 储留而形成酸中毒。H-ATP6vB1 基因敲除小鼠是这类疾病的动物模型。基因敲除的小鼠失去正常的肾小管泌氢作用，从而尿的 PH 升高而且对于刺激 H 分泌作用的反应不敏感。

位于集合管上皮细胞的钠离子通道，Epithelial Sodium Channel(ENaC)在对钠离子的重吸收和体内水盐平衡起非常重要的作用，因为它是机体对钠离子重吸收的最后调节部位，而 ENaC 直接被肾素-血管紧张素和醛固酮系统的调节，而保持机体的水盐代谢平衡和能以维持正常的血压。而当 ENaC 基因变异的情况下，钠的重吸收则失去正常机体神经和体液的调节作用从而导致平衡失调，此种失调可能是钠离子通道的功能过高或者过低。常见的两种遗传疾病就是 Liddle's 综合征和 PHA-1。如表Ⅰ所示，Liddle's syndrome 是一种遗传性高血压病，这种疾病是由于 ENaC 基因变异而导致钠离子通道的功能亢进，从而引起过多的钠离子被重吸收入血，形成水钠潴留，继而引起高血压。ENaC Liddle 转基因小鼠模拟 Liddle's 综合征，从而成为科研的动物模型。

相反 ENaC 基因变异而导致钠离子通道的功能过低，从而对醛固酮对他的调节失调也就产生了另一种遗传性疾病叫做 PHA-1(Pseudohypoaldosteronism)即假性低醛固酮血症。临床症状为低血压、低钠血综合征。而α-ENAC 转基因敲除小鼠则是这类疾病的动物模型。

肾脏是一个非常复杂而重要的人体器官，由于肾脏转运体，离子通道和调控蛋白基因变异而引起的遗传性疾病有数十种，而我们对这些的研究工作还局限于非常浮浅的阶段。转基因动物模型的成功建立给我们提供了非常有用的研究工具。我们实验室则集中于研究如何更好的利用转基因动物模型去探索疾病的发病机理，代偿途径和有效的治疗方案。

另外，基因变异并不一定都是对机体有害的事情。耶鲁大学遗传系 Lifton 教授的研究小组总结和报道了少有的 NKCC2、NCC 和 ROMK 基因变异的人群，发现这组遗传变异可以不发生高血压，而很少有心血管疾病引起的并发症。所以有些部位的基因变异可能对人体的健康产生有利的效果。而如何利用这些有利因素而纠正不利因素对人体健康的影响则成为目前科学研究的方向。

参考文献：

1.**Burnham CE, Flagella M, Wang Z, Amlal H, Shull GE, and Soleimani M**. Cloning, renal distribution, and regulation of the rat Na+-HCO3- cotransporter. *The American journal of physiology* 274: F1119-1126, 1998.

2. **Calado J, Santer R, and Rueff J**. Effect of kidney disease on glucose handling (including genetic defects). *Kidney Int Suppl* S7-13, 2011.

3.**Christensen EI, Devuyst O, Dom G, Nielsen R, Van der Smissen P, Verroust P, Leruth M, Guggino WB, and Courtoy PJ**. Loss of chloride channel ClC-5 impairs endocytosis by defective trafficking of megalin and cubilin in kidney proximal tubules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 8472-8477, 2003.

4. **Finberg KE, Wagner CA, Bailey MA, Paunescu TG, Breton S, Brown D, Giebisch G, Geibel JP, and Lifton RP**. The B1-subunit of the H(+) ATPase is required for maximal urinary acidification. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 13616-13621, 2005.

5. **Furgeson SB, and Linas S**. Mechanisms of type I and type II pseudohypoaldosteronism. *J Am Soc Nephrol* 21: 1842-1845, 2011.

6. **Gawenis LR, Bradford EM, Prasad V, Lorenz JN, Simpson JE, Clarke LL, Woo AL, Grisham C, Sanford LP, Doetschman T, Miller ML, and Shull GE**. Colonic anion secretory defects and metabolic acidosis in mice lacking the NBC1 Na+/HCO3- cotransporter. *The Journal of biological chemistry* 282: 9042-9052, 2007.

7. **Hebert SC**. Bartter syndrome. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 12: 527-532, 2003.

8. **Hummler E**. Epithelial sodium channel, salt intake, and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 5: 11-18, 2003.

9. **Hummler E**. Implication of ENaC in salt-sensitive hypertension. *J Steroid Biochem Mol Biol* 69: 385-390, 1999.

10. **Hummler E, Barker P, Talbot C, Wang Q, Verdumo C, Grubb B, Gatzy J, Burnier M, Horisberger JD, Beermann F, Boucher R, and Rossier BC**. A mouse model for the renal salt-wasting syndrome pseudohypoaldosteronism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 11710-11715, 1997.

11. **Ji W, Foo JN, O'Roak BJ, Zhao H, Larson MG, Simon DB, Newton-Cheh C, State MW, Levy D, and Lifton RP**. Rare independent mutations in renal salt handling genes contribute to blood pressure variation. *Nat Genet* 40: 592-599, 2008.

12. **Lin Z, Jin S, Duan X, Wang T, Martini S, Hulamm P, Cha B, Hubbard A, Donowitz M, and Guggino SE**. Chloride channel (Clc)-5 is necessary for exocytic trafficking of Na+/H+ exchanger 3 (NHE3). *J Biol Chem* 286: 22833-22845, 2011.

13. **Lorenz JN, Baird NR, Judd LM, Noonan WT, Andringa A, Doetschman T, Manning PA, Liu LH, Miller ML, and Shull GE**. Impaired renal NaCl absorption in mice lacking the ROMK potassium channel, a model for type II Bartter's syndrome. *J Biol Chem* 277: 37871-37880, 2002.

14. **Lu M, Wang T, Yan Q, Yang X, Dong K, Knepper MA, Wang W, Giebisch G, Shull GE, and Hebert SC**. Absence of small conductance K+ channel (SK) activity in apical membranes of thick ascending limb and cortical collecting duct in ROMK (Bartter's) knockout mice. *J Biol Chem* 277: 37881-37887, 2002.

15. **Pradervand S, Wang Q, Burnier M, Beermann F, Horisberger JD, Hummler E, and Rossier BC**. A mouse model for Liddle's syndrome. *J Am Soc Nephrol* 10: 2527-2533, 1999.

16. **Schultheis PJ, Lorenz JN, Meneton P, Nieman ML, Riddle TM, Flagella M, Duffy JJ, Doetschman T, Miller ML, and Shull GE**. Phenotype resembling Gitelman's syndrome in mice lacking the apical Na+-Cl- cotransporter of the distal convoluted tubule. *J Biol Chem* 273: 29150-29155, 1998.

17. **Simon DB, Karet FE, Rodriguez-Soriano J, Hamdan JH, DiPietro A, Trachtman H, Sanjad SA, and Lifton RP**. Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the K+ channel, ROMK. *Nat Genet* 14: 152-156, 1996.

18. **Simon DB, Nelson-Williams C, Bia MJ, Ellison D, Karet FE, Molina AM, Vaara I, Iwata F, Cushner HM, Koolen M, Gainza FJ, Gitleman HJ, and Lifton RP**. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* 12: 24-30, 1996.

19. **Stover EH, Borthwick KJ, Bavalia C, Eady N, Fritz DM, Rungroj N, Giersch AB, Morton CC, Axon PR, Akil I, Al-Sabban EA, Baguley DM, Bianca S, Bakkaloglu A, Bircan Z, Chauveau D, Clermont MJ, Guala A, Hulton SA, Kroes H, Li Volti G, Mir S, Mocan H, Nayir A, Ozen S, Rodriguez Soriano J, Sanjad SA, Tasic V, Taylor CM, Topaloglu R, Smith AN, and Karet FE**. Novel ATP6V1B1 and ATP6V0A4 mutations in autosomal recessive distal renal tubular acidosis with new evidence for hearing loss. *J Med Genet* 39: 796-803, 2002.

20. **Takahashi N, Chernavvsky DR, Gomez RA, Igarashi P, Gitelman HJ, and Smithies O**. Uncompensated polyuria in a mouse model of Bartter's syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 5434-5439, 2000.

21. **Tosetto E, Anglani F, Graziotto R, Citron L, D'Angelo A, and Gambaro G**. [Dent's disease: hereditary nephrolithiasis related to defective tubular endocytosis processes]. *G Ital Nefrol* 20: 578-588, 2003.

22. **Wagner CA, Loffing-Cueni D, Yan Q, Schulz N, Fakitsas P, Carrel M, Wang T, Verrey F, Geibel JP, Giebisch G, Hebert SC, and Loffing J**. Mouse model of type II Bartter's syndrome. II. Altered expression of renal sodium- and water-transporting proteins. *Am J Physiol Renal Physiol* 294: F1373-1380, 2008.

23. **Waldegger S, and Jentsch TJ**. Functional and structural analysis of ClC-K chloride channels involved in renal disease. *J Biol Chem* 275: 24527-24533, 2000.

24. **Wall SM**. The renal physiology of pendrin (SLC26A4) and its role in hypertension. *Novartis Foundation symposium* 273: 231-239; discussion 239-243, 261-234, 2006.

25. **Wang T**. Renal outer medullary potassium channel knockout models reveal thick ascending limb function and dysfunction. *Clin Exp Nephrol* 16(1):49-54, 2012.

26. **Wang T, and Giebisch G**. Tubule function in transgenic mice. *Exp Nephrol* 6: 447-453, 1998.

作者简介：

王彤（Tong Wang），耶鲁大学医学院细胞和分子生理学系教授。M.D., Professor, Department of Cellular and Molecular Physiology, and Nephrology, Yale University School of Medicine; PI of Integrated Kidney Function Core in Department of Cellular and Molecular Physiology; co-Director of Renal Physiology Core in George M O'Brien Kidney Center at Yale Nephrology. Associate member of "Transatlantic Networks on Hypertension, Leducq Foundation program". Member of American Society of Nephrology; American Society of Physiology; American Heart Association and Salt and Water Club in North of America.

编者注：编者感谢耶鲁医学院访问学者全宏志医生对本文中文编写键入的技术上的帮助。

成年肾脏里有没有干细胞？

郭建侃

（耶鲁大学医学院肾内科）

人身体的多个器官终生处于不休息状态，例如心脏、肺、和肾，尽管其工作强度受人生理状态和昼夜节律影响。遗传因素（例如多种直接影响肾功能的遗传病、糖尿病、心脑血管等疾病）和其他环境因素（人口老龄化、环境污染、药物滥用、食品安全、传染病等因素）都对肾功能造成威胁。人群中肾功能降低以至于个体的存活完全依赖于替代性治疗（透析，肾移植）的病人数以百万计，并且越来越多。随着干细胞研究的深入，众多科学家将希望寄托于干细胞---新的替代性治疗的材料。

干细胞能够自我复制和分化成为一种或多种体细胞，大致分为胚胎干细胞和成年干细胞。徐仁和、王珮玏（《海外学人》2010 第二期）对干细胞研究的历史及现状做了详尽的描述。简单来说，胚胎干细胞来源于着床前的胚胎，具有分化成身体中任何一种细胞的潜能（全能性）。而成年干细胞来源于特定的器官，其分化能力已经受到限制，往往只能分化成特定器官的细胞。

哺乳类动物的肾脏发育起源于输尿管芽（一种上皮细胞）与后肾间质细胞（胚胎期肾的干细胞）的交互诱导。目前公认的结论是肾发育完成之后，胚胎期肾的干细胞已经被完全耗尽。尽管到目前为止多个器官中已经发现成年干细胞的存在，肾脏中有没有成年干细胞依然没有定论。成年肾干细胞至少要具有以下特性：自我扩增；可以分化成一种或多种细胞；表达胚胎期肾的干细胞的全部或大部分标志性基因；如果提供合适的微环境，可以参与肾发育和/或者成年肾的修复。当然如果有合适的表面抗原，此类细胞可以用流式细胞仪分离，在体外培养扩增，然后移植回自体肾脏---这将是让病人受益的最佳方案。在成年肾脏中寻找肾脏干细胞因此成为一个艰辛并且前途未卜的任务。

不同实验室的研究结果简述如下：Juan Oliver 等认为肾乳头是成年肾干细胞的藏身之所 [1]；意大利 Romagnani 和德国 Marcus Mueller 实验室分别在人和小鼠的肾小球体壁(parietal epithelium)和肾近曲小管 S1 起始段发现成年肾干细胞/原细胞 [2,3]；Gupta 等人参照 MAPC 的培养方法从成年小鼠肾内培育出类似 MAPC 或者 MSC 的细胞 [4,5]。最近更有实验室发现成年斑马鱼的肾内有干细胞 [5]。

然而，很多其他实验室得出不同的结论。Ben Humphreys 等的最新结果认为肾近曲小管的修复没有干细胞/原细胞的参与，肾乳头缓慢扩增的细胞对肾损伤的修

复也没有贡献[6-8]。Mellisa Little 实验室可以用胚胎肾培养肾的干细胞，使之在培养皿内形成“肾球”（干细胞的一个特性），但是他们没有发现成年肾细胞可以在体外培养中形成肾球[9]。Little 实验室的结论是成年肾没有干细胞。

无论成年肾有没有或者我们能不能找到具有修复功能的肾干细胞，另外的一个解决方案是利用胚胎干细胞或者以病人自身的肾细胞为起始材料培养诱导全能干细胞，然后进行定向诱导分化，从而得到类似胚胎肾的干细胞。目前有多种手段可以诱导成年体细胞转变成具有等同于胚胎干细胞分化潜力的诱导全能干细胞。澳大利亚的 Ricardo 实验室在这方面有长足进展[10]。

哺乳类动物成年肾脏到底有没有成年干细胞？即使有，到目前为止至少文献中还没有足够多的令人信服的证据证明其存在。经过几年的努力，我们实验室成功地利用一种全新的方法从成年小鼠肾脏中培养出具有自我扩增和分化能力的干细胞。我们的初步结果证明成年肾含有肾干细胞（研究论文写作中）。随后的实验研究将优化培养条件，并且进一步利用体内实验验证其参与成年肾修复的能力。

参考文献

[1] Oliver JA, Maarouf O, Cheema FH, Martens TP, Al-Awqati Q: The renal papilla is a niche for adult kidney stem cells. J Clin Invest 2004, 114:795-804.

[2] Ronconi E, Sagrinati C, Angelotti ML, Lazzeri E, Mazzinghi B, Ballerini L, Parente E, Becherucci F, Gacci M, Carini M, Maggi E, Serio M, Vannelli GB, Lasagni L, Romagnani S, Romagnani P: Regeneration of glomerular podocytes by human renal progenitors. J Am Soc Nephrol 2009, 20:322-32.

[3] Appel D, Kershaw DB, Smeets B, Yuan G, Fuss A, Frye B, Elger M, Kriz W, Floege J, Moeller MJ: Recruitment of podocytes from glomerular parietal epithelial cells. J Am Soc Nephrol 2009, 20:333-43.

[4] Gupta S, Verfaillie C, Chmielewski D, Kren S, Eidman K, Connaire J, Heremans Y, Lund T, Blackstad M, Jiang Y, Luttun A, Rosenberg ME: Isolation and characterization of kidney-derived stem cells. J Am Soc Nephrol 2006, 17:3028-40.

[5] Diep CQ, Ma D, Deo RC, Holm TM, Naylor RW, Arora N, Wingert RA, Bollig F, Djordjevic G, Lichman B, Zhu H, Ikenaga T, Ono F, Englert C, Cowan CA, Hukriede NA, Handin RI, Davidson AJ: Identification of adult nephron progenitors capable of kidney regeneration in zebrafish. Nature 2011, 470:95-100.

[6] Humphreys BD, Valerius MT, Kobayashi A, Mugford JW, Soeung S, Duffield JS, McMahon AP, Bonventre JV: Intrinsic epithelial cells repair the kidney after injury. Cell Stem Cell 2008, 2:284-91.

[7] Song J, Czerniak S, Wang T, Ying W, Carlone DL, Breault DT, Humphreys BD: Characterization and Fate of Telomerase-expressing Epithelia during Kidney Repair. J Am Soc Nephrol 2011, 22:2256-65.

[8] Humphreys BD, Czerniak S, DiRocco DP, Hasnain W, Cheema R, Bonventre JV: Repair of injured proximal tubule does not involve specialized

progenitors. Proc Natl Acad Sci U S A 2011, 108:9226-31.

[9] Lusis M, Li J, Ineson J, Christensen ME, Rice A, Little MH: Isolation of clonogenic, long-term self renewing embryonic renal stem cells. Stem Cell Res 2010，5:23-39.

[10] Song B, Niclis JC, Alikhan MA, Sakkal S, Sylvain A, Kerr PG, Laslett AL, Bernard CA, Ricardo SD: Generation of induced pluripotent stem cells from human kidney mesangial cells. J Am Soc Nephrol 2010, 22:1213-20.

作者简介：

郭建侃，博士，山东日照人。本科毕业于南京大学生物系。1994-1997 就读于中国协和医科大学基础医学研究所生物化学与分子生物学系，1997 年获硕士学位。1997-2001 年在德国柏林就读博士研究生，主攻肾发育遗传学。2001 年六月获德国自由大学博士学位。2001-2002 年在英国纽卡斯尔大学医学院做博士后研究，一年后转到美国耶鲁大学医学院从事骨髓干细胞和肾损伤/修复的研究。自 2009 年起，被聘为助理教授。目前的主要研究方向是肾发育和肾干细胞。

蛋白质结构遗传复制的可能机理

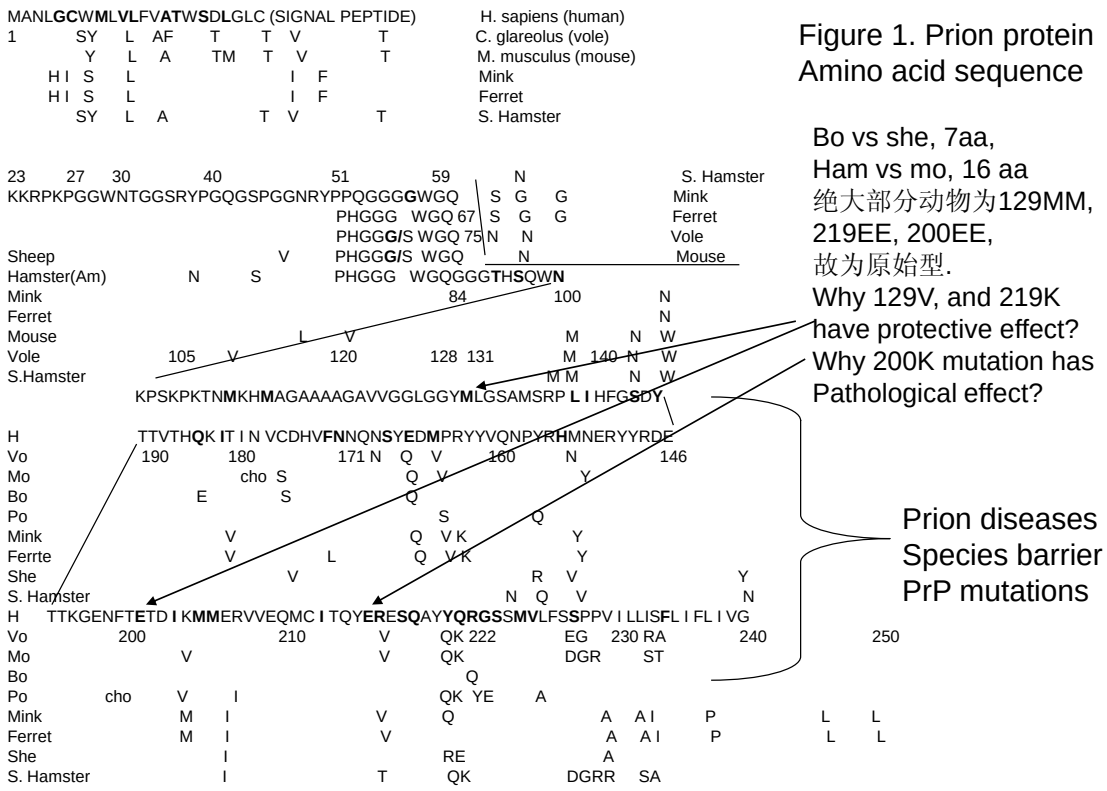
叶学敏

潍坊欣健生物科技有限公司

中国，山东省潍坊市高新二路 36 号，生物医药科技园，邮编：261205

除了 DNA 遗传信息可以自身复制之外，蛋白质结构特异信息也可以进行遗传复制，其机理至今尚是个谜。朊病毒就是一个很好的例子。早在 300 年前的欧州，人们就已经注意到绵羊和山羊会患上一种叫做“scrapie”的疾病，中文名为“羊瘙病”，其症状表现为：丧失身体协调性、站立不稳、烦躁不安、奇痒难熬，直至瘫痪死亡。羊因奇痒在木桩上摩磴刮擦止痒，故英文叫“scrapie”。很长时间来，羊瘙病都被认为是因为感染慢病毒而致。20 世纪 60 年代，英国生物学家阿尔卑斯用放射处理破坏病原物 DNA 和 RNA 后，其病变组织仍具感染性，因而认为“羊瘙病”的致病因子并非具有核酸，而可能只是蛋白质。由于这种推断不符合当时科学的主流认识，也缺乏更多有力的实验支持，因而没有得到人们的认同(网络资料)。

1982 年，美国加州大学普鲁森纳(Prusiner)教授经多年研究，提出羊瘙病实质的确是由蛋白质变构积聚所致。他将这种蛋白质称为“prion”(Prusiner，1982；1993)，中文叫做“朊病毒”。朊病毒致病的主要特点如下：①朊病毒蛋白有两种构象：细胞型(正常型 PrP^{c})和瘙痒型(致病型 PrP^{Sc})。两者是同一种蛋白质，其主要区别在于其空间构象上的差异。正常型 PrP^{c} 大部分为 a 螺旋(a-helix)(包括 42%a-helix 、 32%turn 、 23%coil)，极少部分(3-5%)为 β 折叠(β-sheet)。而致病型 PrP^{Sc} 有较多 β 折叠存在 (30%a-helix 、 11%turn 、 16%coil 、 43%β-sheet)，其中部分 a 螺旋转变为 β 折叠，降底了 a 螺旋含量。致病型 PrP^{Sc} 的溶解度较低，且抗蛋白酶(PK)酶解；②致病型 PrP^{Sc} 可胁迫 PrP^{c} 转化为致病型 PrP^{Sc}，实现自我复制，并产生病理效应；③基因突变可导致细胞型 PrP^{c} 中的 α 螺旋结构不稳定，至一定量时产生自发性转化，β 折叠增加，最终变为致病型 PrP^{Sc} 型，并通过自身异构复制倍增而致病。这种“唯蛋白”学说的提出立即在学术界掀起了滔天巨浪。因为这一学说认为朊病毒的蛋白质能为自己编码遗传信息。这种假说与传统分子生物学中的“中心法则”相悖，故当时无法被大多数学者接受(网络资料)。但随着时间推移，朊病毒一直没有找到核酸的存在，越来越多的实验和学者支持普鲁森纳教授的朊病毒学说。美国加州大学普鲁森纳教授也于 1997 年获得诺贝尔奖金(Prusiner，1998)。



图一, 朊旦白的结构, signal peptide(1-23), OR(51-90), N-freqment(23-124), C-globular(125-231)

2010 年，华东师范大学生命科学学院马继延教授团队在著名杂志《科学》发表了题为《用细菌表达的重组朊蛋白制备朊病毒》的学术论文，首次将大肠杆菌中表达的重组朊蛋白转变成了具有传染性的致病朊病毒，再次验证了“朊病毒”学说。但引起当今科学家最浓厚兴趣和关注的朊病毒复制机理，至今仍没有被阐明。

从 1989 年至今，我在纽约州基础研究所跟随著名慢病毒专家卡普教授(Dr.R.Carp)，多年来从事羊瘙病、朊病毒方面的研究。通过大量的实验研究和阅读相关文献，我从 2010 年开始便在多次学术演讲中提出用蛋白质双层叠结构复制模型来解释朊病毒的复制机理(Ye，2003；2011)。本文主要介绍这一蛋白质双层叠结构复制模型。

如图一显示人朊病毒蛋白一级结构，图中列出人朊蛋白氨基酸排列顺序从 1 至 240，其它动物羊(she)、牛(Bo)、猪(Po)、仓鼠(S. Hamster)、水貂(Mink)、雪貂（Ferret）、田鼠(vole) 、小鼠(mouse)等不同点氨基酸替换也在图中列出(Riek，1996；1997)。绝大部分动物为 129MM，219EE，200EE。某些位点上突变对宿主有保护作用，如 129V 和 219K 使得朊病毒病机率降低；而某些位点上突变对宿主有致病作用，如 200K 使得朊病毒病机率增加。

图二 A 显示正常朊蛋旦(PrP^C)一级结构包括 N 端一段可弯曲变动的片段

(N-flexible fragment)，从氨基酸(aa)序号23至124(residues 23-124)；另一段C端为呈良好状态的球状结构(a well-ordered globular C-terminal half)，从氨基酸序号125至231(residues 125-231)(Zahn，2000)。N-端氨基酸1-22aa为信号多肽，23-28aa(KKRPKP)为带正电荷的片段(positive charged cluster，CC1)，接着为核膜定位信号(nucleus localization signals，NLS)，51-90aa是多次8肽重复(octapeptides)，其中His69、His70、His77、His85、His96和His111位点是已知的与铜离子(Cu++)结合位点。N端可弯曲变动的片段有α-切割酶(α-secretase位点)和ß-切割酶(ß-cleavage)位点，在不同的状态下切割出不同功能的片段。

100-106aa为另一段带正电荷的片段(positive charged cluster，CC2)，113-120aa为一段具有回文结构的氨基酸序列AGAAAAGA，在目前所知的所有物种的朊蛋白中，这一多肽片段是保守且无变异的。在C端球状结构中有三段α螺旋(α-helices)，H1为145-154aa、H2为173-194aa、H3为200-228aa)，另有一短小反向平衡的β折叠(128-131aa和161-164aa)(Riek，1996；1997；Dormont，2002；Schatzl，1995；Calzolai，2000)。

图二, 朊蛋白结构示意图, 第113～127位的合成肽也能形成淀粉结构，形成淀粉样结构最强的多肽是位于第113～120位的氨基酸序列AGAAAAGA，这一多肽在目前所知的所有物种的PrP都保守，另外3个多肽, H1:145-154, H2:173～194, H3:200-228，并以α螺旋结构为主。

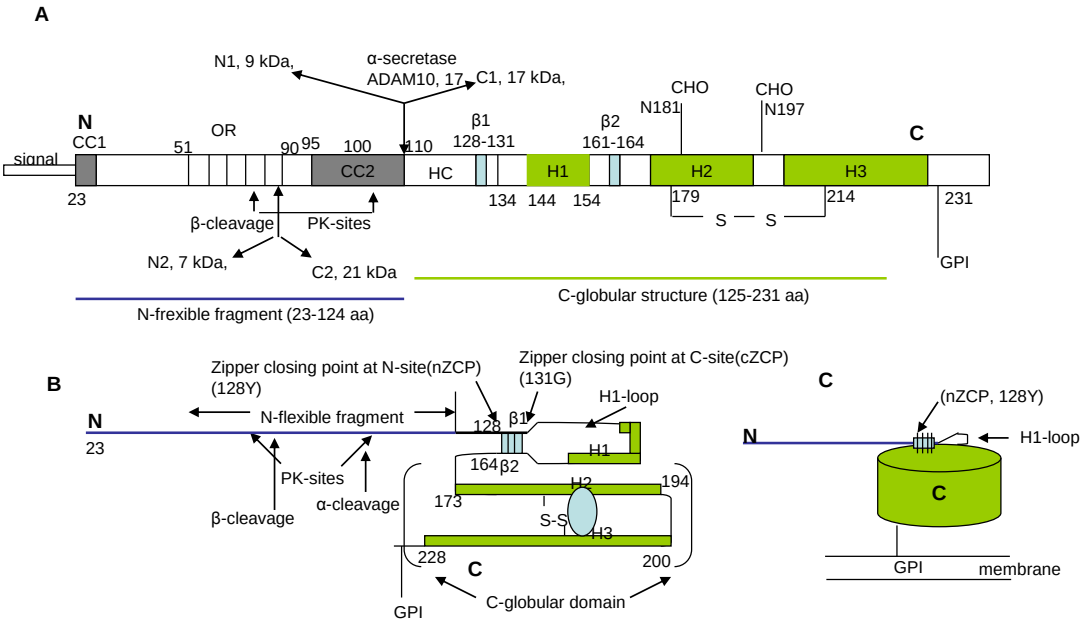


Figure 2. Schematic human PrP^C structure reported in literatures.
A, outline of the primary structure and possible cleavage sites.
B, outline of PK-, and α-, β-cleavage sites in N-flexible fragment and β and α structures in C-globular domain.
C, outline of N-fragment and C-globular domain.

如图二 B 所示，在二维平面上，这一短小反向平衡的 β 折叠(128-131aa 和 161-164aa)像拉链结构一样连结，形成了像手枪一样的形状，N 端一段可弯曲变动的片段(N-flexible fragment)像枪杆，C 端为呈良好状态的球状结构像枪把，128aa 与 164aa 上下连结形成了 N 端拉链结合止点(Zipper closing point at N-site, nZCP)，131aa 与 161aa 上下连结形成了 C 端拉链结合止点(Zipper closing point at C-site，cZCP)，132aa 至 160aa 形成一个肽环，被称为 H1 环(H1-loop)，H2 螺旋(173-194aa)与 H3 螺旋(200-228aa)由一双硫键(-S-S-)连结；朊蛋白在 230aa(人)或 231aa(鼠类)上通过糖基磷脂酰肌醇(a glycosylphosphatidylinositol，GPI)与细胞膜相连。

最后我们可简化为如图二 C 所示，N 端一段可弯曲变动的片段，一段 H1 环，和 C 端为呈良好状态的球状结构。朊蛋白通过糖基磷脂酰肌醇(a glycosylphosphatidylinositol，GPI)与细胞膜相连。

那么，正常的朊蛋白(PrP^{c})如何才能以致病异常的 PrP^{Sc} 为模板复制成带有相同持特异病变信息的 PrP^{Sc} 呢?首先，我们知道小鼠的 PrP^{c} 和 PrP^{Sc} 都有 209 个氨基酸(23-231aa)。两者的主要区别在于其空间构象上的差异。PrP^{c} 大部分为 a 螺旋(包括 42%a-helix，32%turn，23%coil)，极少部分(3-5%)为 β 折叠。

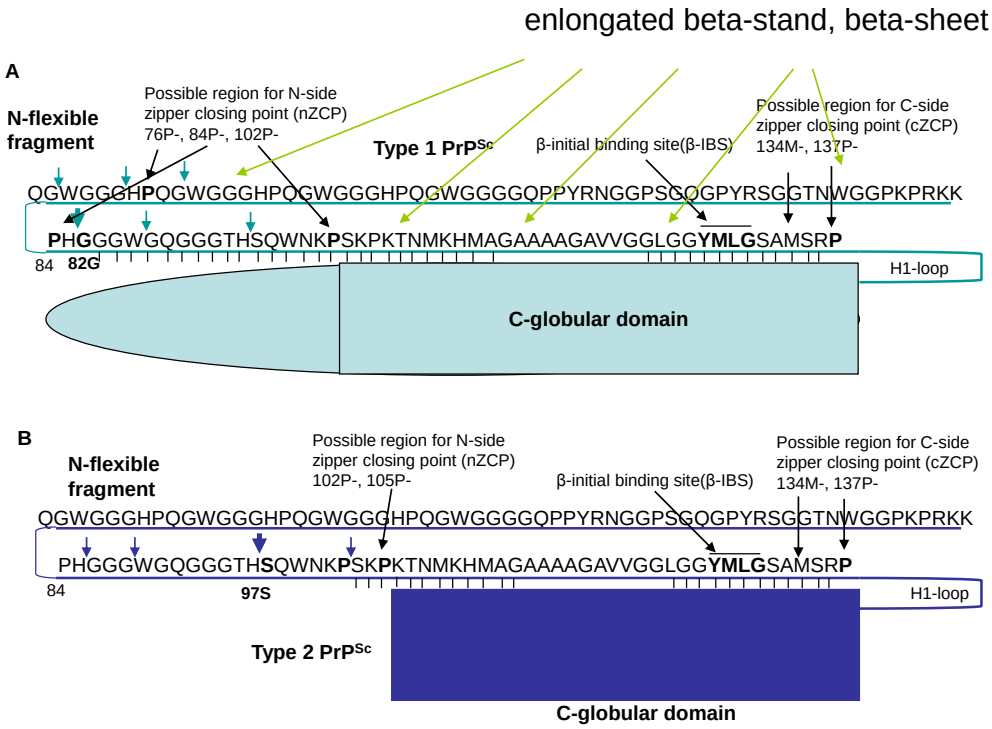


Figure 3. Propose schematic human PrP^{Sc} structures.
A, outline of the primary structure, β-initial binding side and possible PK cleavage sites in **type 1 PrP^{Sc}**.
B, outline of the primary structure, β-initial binding side and possible PK cleavage sites in **type 2 PrP^{Sc}**.
It is possible that different type of peptidyl prolyl *cis-trans* isomerases (PPIase) play a role in different subtype of prion diseases formation.

而 PrP^{Sc} 由于 a 螺旋转变为 β 折叠，降底了 a 螺旋含量，有较多 β 折叠存在(30%a-helix ， 11%turn ， 16%coil 、 43%β-sheet)。致病型 PrP^{Sc} 的溶解度较低，且抗蛋白酶(PK)酶解；用有限的蛋白酶(PK)酶解，PrP^{c} 被分解，而致病型 PrP^{Sc} 分解成 PrP27-30 主要片段，PrP27-30 片段包含 90-231aa，大约也有更多的 β 折叠存在(21%a-helix ， 9%turn ， 16%coil 、 54%β-sheet)(Pan ， 1993 ； Baldwin，1994)。这些结果表明很多肽段转变成 β 折叠，但究竟又是哪些多肽片段转变成 β 折叠呢?有学者认为 108-189aa，H1 和 H2a 螺旋(α-helices)最有可能转变成 β 折叠。

如图三所示, 假设致病型 PrP^{Sc} 的形成其实就是图二 B，PrP^{c} 短少(3-5%)β 折叠拉链结构向左右两边继续延伸的结果。那幺就符合 a 螺旋转变为 β 折叠，降底了 a 螺旋含量而增多 β 折叠含量的事实。同时，由于右边是 H1 环(H1-loop)，β 折叠拉链结构向右边继续延伸的长度有限，可能到 137P 为止，而 β 折叠拉链结构向左边继续延伸的长度相对较长(也可能是间断式延伸)，造成长短有异的多个 β 折叠含量，结果可能形成不同的致病型朊病毒粒子亚型, 如羊瘙病 22L，139A 和 ME7。其中 β 折叠拉链结构向左边继续延伸到 102P 或 105P，就可能成为一型(Type1，图三 A)PrP^{Sc} 和二型(Type2，图三 B)PrP^{Sc} 的分水岭。一型(Type1)PrP^{Sc} 可能由于 β 折叠拉链结构向左边继续延伸到 102P、84P 或 76P，而二型(Type2)PrP^{Sc} 可能由于 β 折叠拉链结构向左边继续延伸到 105P 即止。由于脯氨基酸(proline，P)有顺-、反-(trans- and cis-)二式构型，只有顺-(trans-)式构型才利于上下肽链形成氢键连结，从而使 β 折叠拉链结构向外边继续延伸，而反-(cis-)式构型不利于上下肽链形成氢键连结, 从而不利于 β 折叠拉链结构向外边继续延伸，所以我认为能否将 105P(proline)氨基酸从反-式变成为顺-式(from cis- to trans-)构型转变，将决定致病型朊病毒粒子亚型是一型(Type1) PrP^{Sc} 还是二型(Type2)PrP^{Sc} 的重要因素。在二型(Type2)PrP^{Sc} 朊蛋白分子中，105P 与 187aa 上下连结形成 N 端拉链结合止点(Zipper closing point at N-site，nZCP)，而 C 端拉链结合止点(Zipper closing point at C-site，cZCP)也向右边延伸，而形成一个小肽环，也被称为 H1 环(H1-loop)。当然，β 折叠拉链结构向左右二边继续延伸时在某些地点可能出现空档，即不存在氢键连结。这样就可以有不同长度、大小的 β 折叠片段，也有不同三维空间结构，形成多种各样的致病型朊病毒粒子 PrP^{Sc}，如上述的羊瘙病 22L，139A 和 ME7。

有了以上的基础，我们就可以探讨正常的朊蛋白(PrP^{c})如何才能以致病异常的 PrP^{Sc} 为模板，复制成带有相同持特异病变信息的 PrP^{Sc}。如图四 A 所示，在致病型 PrP^{Sc} 朊蛋白分子中，反向平衡的 β 折叠向左右两边延伸，a 螺旋转变为 β 折叠，降底了 a 螺旋含量而增多 β 折叠。当致病型 PrP^{Sc} 朊蛋白分子通过迁移运动到达不同细胞空间，在不同的细胞器时，如细胞膜表面，内包体(Bristle coated vesicle)，早期内质体

(early endosomes)，后期内质体/溶酶体(late endosomes/lysosomes)，多泡体(Multivestcular body)，和排出体(exosome)等胞体内外循环时(Veith et al.，2009)，由于酸碱度、离子浓度的变化，如 pH 值下降，氢离子增加，由氢链(H-bone)连结的反向平衡的 β 折叠会被重新打开，原来折叠的 β 层叠(β-strand)相互分开，可以认为 N-端转变成游离的正 β 层叠，与之相应的原互补的 C-端 β 层叠转变成游离的负 β 层叠。分开后的正、负 β 层叠形成激活的 β 层叠区(active β-zone)。

同样正常的朊蛋白分子(PrP^{c})中，由氢链(H-bone)连结的反向平衡的短小 β 折叠(3-5%)也会被重新打开，原来折叠的 β 层叠(β-strand)相互分开，N-端转变成游离的正 β 层叠，与之相应的原互补的 C-端 β 层叠转变成游离的负 β 层叠。分开后的正、负 β 层叠也形成激活的 β 层叠区(active β-zone)。

这样当大量正常和异常朊蛋白分子在同一细胞器或相遇，随着细胞内外循环移动到特定的微环境时，分开的正负 β 层叠重新配对结合，有五种可能性出现：

1)致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})自身正负 β 层叠重新配对结合，重新形成致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})单体；

2)致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})正负 β 层叠与另一致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})负正 β

图四, PrP^{Sc}分子复制的PrP^{Sc}朊蛋白双体--双重beta结构组合模型

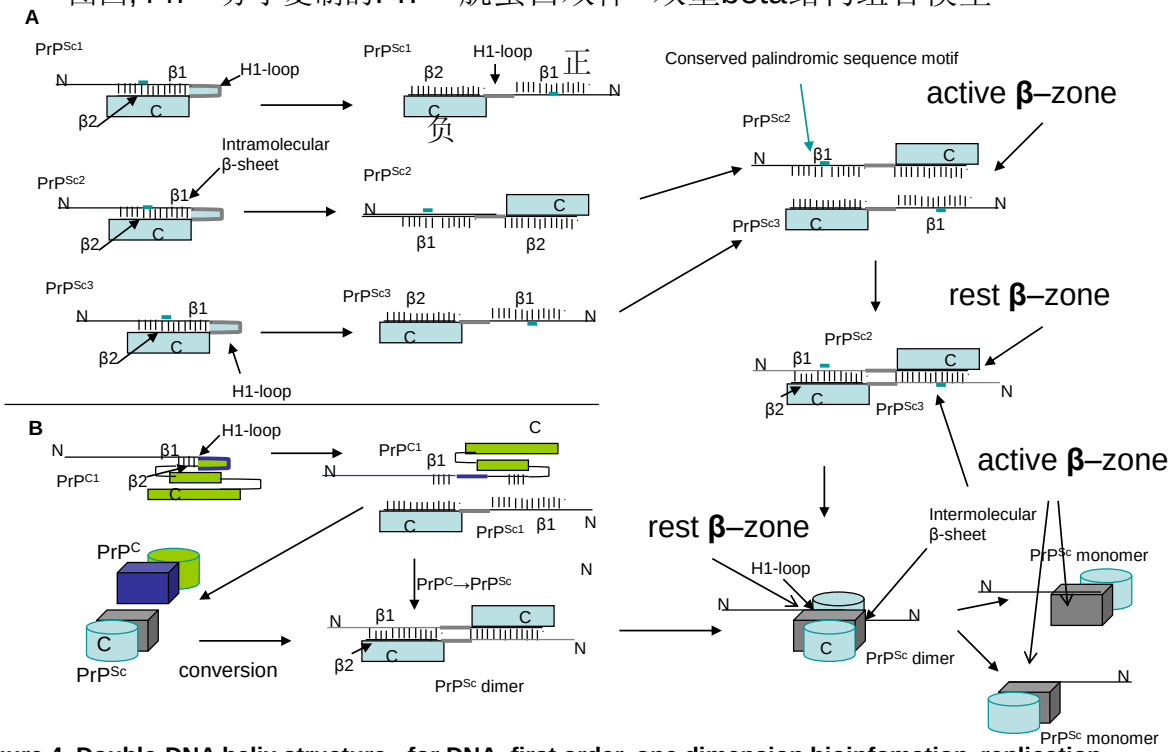


Figure 4. Double-DNA helix structure - for DNA, first order, one dimension bioinfomation, replication, Double-beta-sheets structure - for protein, second order, three dimension bioinfomation, replication. A. A. Possible PrP^{Sc} monomer and dimer formation by intermolecular β-sheet (H-bonds) binding. B. Possible model of PrP^{C} using PrP^{Sc} as a template to convert to PrP^{Sc}.

层叠重新配对结合，形成致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})双体(图四 A)；

3)致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})正负 β 层叠与另一正常的朊蛋白(PrP^{c})负正 β 层叠重新配对结合，首先正常的朊蛋白(PrP^{c})短小反向平衡的 β 折叠(128-131aa 和 161-164aa)与致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})(161-164aa 和 128-131aa)像拉链结构一样配对连结，然后致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})以其作为模板诱导正常的朊蛋白(PrP^{c})负正 β 层叠向左右双边延伸，并与之配对结合。这样就可复制出与特异的致病性朊蛋白(PrP^{Sc})有不同长度、大小的 β 折叠片段，其也有特定的三维空间结构，最终形成致病性的朊蛋白(PrP^{Sc})双体(图四 B)。这就是我所提出的蛋白质结构复制的物质基础；

4)正常的朊蛋白(PrP^{c})正负 β 层叠重新配对结合，重新形成正常的朊蛋白(PrP^{c})单体；

5)正常的朊蛋白(PrP^{c})正负 β 层叠与另一正常的朊蛋白(PrP^{c})负正 β 层叠重新配对结合，形成正常的朊蛋白(PrP^{c})双体。正负 β 层叠重新配对结合就形成休息的 β 层叠区(rest β-zone)。

当然，用本文介绍的这一蛋白质双层叠结构复制模型来解释朊病毒的复制机理是否正确，仍需要时间验证。我也乐意与同仁共同努力，破解当今科学家最感兴趣和关注的蛋白质遗传信息复制之谜。

参考文献:

[1]. Baldwin, M. A., K. M. Pan, et al. (1994). "Spectroscopic characterization of conformational differences between PrPc and PrPSc: an alpha-helix to beta-sheet transition." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 343(1306): 435-41.

[2]. Calzolai, L., D. A. Lysek, et al. (2000). "NMR structures of three single-residue variants of the human prion protein." Proc Natl Acad Sci U S A 97(15): 8340-5.

[3]. Dormont, D. (2002). "Prion diseases: pathogenesis and public health concerns." FEBS Lett 529(1): 17-21.

[4]. Pan, K. M., M. Baldwin, et al. (1993). "Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins." Proc Natl Acad Sci U S A 90(23): 10962-6.

[5]. Prusiner, S. B. (1982). "Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie." Science 216(4542): 136-44.

[6]. Prusiner, S. B. (1993). "Genetic and infectious prion diseases." Arch Neurol 50(11): 1129-53.

[7]. Prusiner, S. B. (1998). "The prion diseases." Brain Pathol 8(3): 499-513.

[8]. Prusiner, S. B. (1998). "Prions." Proc Natl Acad Sci U S A 95(23): 13363-83.

[9]. Prusiner, S. B., M. R. Scott, et al. (1998). "Prion protein biology." Cell 93(3): 337-48.

[10]. Schatzl, H. M., M. Da Costa, et al. (1995). "Prion protein gene variation among primates." J Mol Biol 245(4): 362-74.

[11]. Riek, R., S. Hornemann, et al. (1996). "NMR structure of the mouse prion protein domain PrP(121-321)." Nature 382(6587): 180-2

[12]. Riek, R., S. Hornemann, et al. (1997). "NMR characterization of the full-length recombinant murine prion protein, mPrP(23-231)." FEBS Lett 413(2): 282-8.

[13]. Veith N.M., Plattner H., Stuermer C.A.O., et al., (2009). Immunolocalisation of PrPSc in scrapie-infected N2a mouse neuroblastoma cells by light and electron microscopy. Eu J Cell Bio. 88:45-63.

[14]. Ye, X., Carp, R.I., Meeker H.C and Scallet A. 2003. Identification and Detection of Transmissible Spongiform Encephalopathies. In: Current Medicine Chemistry-Immunology, Endocrine and Metabolic Agents. Transmissible Spongiform Encephalopathies, Edited by X.Ye and R.I.Carp, 3:95-111.

[15]. Ye X., "A hypothetical model for prion misfolding and prion disease. In the BIT's 4th Annual Protein and Peptide Conference (PepCon-2011) "The New Leaders in Protein and Peptide Science" page 200, at China National Convention Center, Beijing, China from March 23-25, 2011.

[16]. Zahn, R., A. Liu, et al. (2000). "NMR solution structure of the human prion protein." Proc Natl Acad Sci U S A 97(1): 145-50.

作者简介：

叶学敏博士，毕业于广州中山大学生物系，于 1984 年到加拿大温哥华不列颠哥伦比亚大学，生命科学系，动物生理专业跟随著名生理学家、加拿大动物学会主席兰德尔教授攻读硕士，荣获三年加拿大爱国侨领 Mr. Harry Chin 奖学金。随后到美国纽约市立大学生物系获得博士学位。获得纽约州和美国联邦政府奖学金。叶学敏博士多年来在美国知名的研究机构从事医学研究，涉及广阔的科研领域，他在朊病毒(prion)、羊瘙病(scrapie)、疯牛病(BSE)、老年痴呆症、衰老模型；SAMP8 的肝病、酒精肝、脂肪肝肾病、眼病机理研究、系统生物学与中医学结合与人体健康等领域等都有较深的研究。叶博士曾在国际知名学术杂志用英文发表学术论文四十多篇，包括 30 篇学术论文发表在国际学术杂志，其中 23 篇学术论文为第一作者；还有 5 篇学术章节发表在国际学术专著；8 篇学术综述论文被邀请发表在国际学术杂志，其中 5 篇综述论文为第一作者；累计影响因子 70 多分。29 次被邀请在国内外大专院校做学术演讲。

睡眠呼吸障碍与其他呼吸系统疾病

彭 伟

（Salt Lake City, Utah）

睡眠呼吸障碍可导致肺泡低通气，缺氧和睡眠异常。而呼吸系统尤其是上呼吸道解剖和病理生理变化对睡眠呼吸障碍的发生和发展也起到了一定的促进作用。正常人和睡眠呼吸障碍患者对缺氧或高碳酸血症以及这二者造成的觉醒反应是不一样的[1-4]。患有呼吸系统疾病的病人本身易导致缺氧和高碳酸血症，因此睡眠呼吸障碍患者如伴发有呼吸系统疾病，比并发其他系统疾病更易造成缺氧和动脉血中 CO_2 潴留，而且程度也更加严重。而随之引起的病理生理变化和睡眠过程中的觉醒反应程度也明显不同。全面了解这方面的生理和病理生理变化，有助于提高对疾病的认识和制定相应的治疗方案。本文将归纳这方面的研究进展，然后再描述慢性阻塞性肺病、哮喘、囊性纤维化及间质性肺疾病并发睡眠呼吸障碍的病理生理变化，临床特点及治疗方法。

一、睡眠时的生理反应

（一）睡眠时的通气反应

正常的呼吸是由脑干呼吸中枢所控制，这包括呼吸频率、节律及信号的调控。信号来源包括由于 PH 和 $PaCO_2$ 变化产生的化学信号、存在胸腔壁和肺的受体产生的机械信号以及来源于大脑皮质中枢的呼吸行为信号。颈动脉体可感觉氧分压的变化而经第九对颅神经传至大脑呼吸中枢。然而缺氧本身不是一个敏感的刺激信号。特别是对通气反应 $PaO_2 \leq 60mmHg$ 以下时通气反应才增加。但是当 PaO_2 急剧降低至 30－40mmHg 时反而抑制呼吸中枢对缺氧的反应。颈动脉体和脑干的呼吸中枢均存在 CO_2 受体。动脉血中 CO_2 的增加比缺氧更能刺激呼吸中枢的通气反应。因而 $PaCO_2$ 增加，通气随之增加。过度通气引起 $PaCO_2$ 降低。随之这种刺激反应降低或消失。男性低氧性通气反应在非动眼期睡眠时降低 30%[1]。但女性则无影响[2]。然而在眼动期(REM)睡眠时男女均降低达 50－75%。这是因为男性比女性有较高的觉醒反应。所以在非动眼期而明显降低。当进入眼动期(REM)睡眠时 $PaCO_2$ 通气反应则更进一步降低[3]。在非动眼期睡眠时 $PaCO_2$ 的通气刺激阈值也升高。因此需要更高的 $PaCO_2$ 水平引起的呼吸反应。男女均一样。在快动眼期睡眠时呼吸变得不规则且快速。呼吸速度增加，肺潮气量降低达 40%。有人总结了睡眠时的一些肺通气及代谢变化主要为：每分通气量降低 0.5－1.5 升(L)，气道阻力增加，代谢率降低 10－15%。化学敏感性下降 20－25%，$PaCO_2$ 下降 3－10mmHg, 血氧饱和度降低 2%，$PaCO_2$ 升高 2－8mmHg。

（二）睡眠时的觉醒反应

觉醒指的是睡眠进入到清醒的一种状态。如果觉醒持续时间短暂，大脑皮质中枢还未来得及调整对外界的反应，人体又从觉醒进入睡眠状态。尽管脑电图上记录到这种变化，但人体本身并不能意识到。有许多受试者从多导睡眠图上发现高达100 次以上的觉醒，但受试后清晨的调查结果却大不相同，受试者仅记得有 3~5 次觉醒。

觉醒反应指的是在各种刺激信号作用下，人体突然从睡眠状态转为清醒状态，尽管脑电图上称为清醒状态，实际上由于这一反应变化太快，大脑皮质有一个由于处理和调节信号的延迟过程。有时人体实际上还处于一种模糊状态，甚至误以为浅睡眠。

低氧是一个较弱的觉醒反应刺激信号。有人发现血氧饱和度甚至低于至70%时很多人还不会出现觉醒反应。进一步研究发现，不论是非快眼动期(NREM)或快眼动期(REM)这种情况均一样。还有人还发现阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者在快眼动期对缺氧的觉醒反应比非快眼动期更低。

与低氧相比，动脉血中的 CO_2 浓度的变化是一个很强的觉醒反应刺激信号[4-5]。但大多数人出现在当呼气末期，CO_2 增加 15mmHg 以上；而且没有性别和睡眠阶段变化的差别。如伴有缺氧也同时增加了 CO_2 刺激信号的敏感性。

睡眠一般分为快眼动期和非快眼动期。后者又包括浅睡眠 1-2 期和深睡眠 3-4 期。增加气道阻力或阻塞可引起人类从睡眠中觉醒，但与快眼动期和睡眠 2 期相比，觉醒反应在睡眠 3~4 期阶段最低。在正常情况下，人的觉醒反应在快眼动期比非快眼动期快。有人做过实验，由于气道阻塞，人们从快眼动期觉醒的时间平均为 7~8 秒，而非快眼动期时觉醒时间平均为 20 秒。但阻塞性睡眠呼吸暂停综合征病人却相反，快眼动期反应时间比非快眼动期时间延长。原因不太清楚。有不少研究报道了慢性阻塞性肺病患者出现觉醒反应的原因。目前认为缺氧加高碳酸血症及呼吸机阻力增加虽可引起觉醒反应，但并不是主要原因。一般认为引起觉醒反应的最后通路是由于通气功的变化。通气功水平增高导致觉醒反应。因为睡眠呼吸障碍患者的觉醒是可以通过增加胸膜压力而诱发的。同时有人证明觉醒反应也常发生在没有缺氧或高碳酸血症情况下[6]。

二、睡眠呼吸障碍与慢性阻塞性肺病

慢性阻塞性肺病可导致昼夜间的低氧血症，而睡眠呼吸障碍除引起缺氧外还降低了睡眠的质量，然而，这二者之间是否存在相互关系还有待研究，已引起有关的研究人员的重视。现已发现慢性阻塞性肺病患者在夜间可出现通气和气体交换的异常[7-8]。而这种变化并不是由人们通常认为的支气管痉挛或气道阻力增加所引起。这是慢性阻塞性肺病合并睡眠呼吸障碍的结果。当这二种疾病同时存在时又称为重叠综合征[9-11]。

（一）病理生理变化

慢性阻塞性肺病患者在睡眠过程中可出现各种病理生理变化包括潮气量降低，呼吸频率增加。这是一种无效的通气方式。增加了功能残气量和死腔通气。慢性阻塞性肺病病人由于肺残气量增加以及肺气肿造成膈肌平坦。与正常人相比，膈肌工作效率明显降低，导致低潮气量。正常人睡眠时也会引起通气和肌张力的降低而使血氧分压发生变化。但由于降低血氧分压的部分位于氧合血红蛋白离解曲线的上端即平坦曲线部位，因此即使血氧分压有所降低，但血氧饱和度变化并不明显。然而慢性阻塞性肺病患者由于疾病的进展血氧分压已位于氧合血红蛋白离解曲线的下端即陡峭部位因此在睡眠时血氧分压虽稍有下降，则引起血氧饱和度的明显降低。有人对慢性阻塞性肺病患者夜间血氧饱和度进行了研究。非常有兴趣的是夜间睡眠时血氧饱和度的降低程度主要受白天血氧饱和度的影响。

Connaugton 报道白天平均血氧饱和度与夜间睡眠时最低的血氧饱和度成直线关系[12]。慢性阻塞性肺病的严重程度也对夜间血氧饱和度有一定的影响。美国对注册进行睡眠心脏健康的人群中轻型慢性阻塞性肺病患者研究表明。阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的发病趋势并不增加[13]。血氧饱和度降低也不明显。当二者并发一起时血氧饱和度明显降低。这也是重叠综合征的特征之一。还有人发现 FEV1/FVC 的比率越低，睡眠时血氧饱和度也越低。睡眠时慢性阻塞性肺病患者常因缺氧使睡眠结构紊乱，觉醒次数增加。一般讲患者常表现为睡眠效率和总时间降低，苏醒时间增加。在快动眼期(REM)和慢波睡眠阶段频繁觉醒与血氧饱和度降低有关，老年和女性患者更为明显。有一些研究表明与正常人群相比，慢性阻塞性肺病患者出现阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的发病率并不高。然而一旦出现重叠综合征则夜间低氧血症相当严重并促进了缺氧性肺动脉高压的发展，增加了右心衰的危险性，降低了5年生存率。

（二）临床表现

1. 睡眠质量降低。病人白天疲倦或嗜睡。夜间难以入睡或入睡后频繁觉醒以至于失眠。频繁觉醒多发生与快眼动期

2. 肺动脉高压和右心衰竭。由于缺氧所造成的肺动脉高压常在慢性阻塞性肺病患者并发了阻塞性睡眠呼吸暂停综合征后加重，最后导致反复右心衰竭。

3. 缺氧和高碳酸血症：慢性支气管炎型慢性阻塞性肺病病人在睡眠时比肺气肿型更易导致低氧血症和高碳酸血症。

4. 红细胞增多。

（三）诊断：

根据目前的临床资料一般对轻度慢性阻塞性肺病患者不进行睡眠呼吸障碍的普查。但如果出现如下临床表现则应考虑多导睡眠图的检查以排除并发睡眠呼吸障碍疾患特别是阻塞性睡眠呼吸暂停综合征。

1. 白天嗜睡，易疲劳，夜间频繁觉醒，难以维持正常的连续睡眠过程。

2. 白天患有中度到严重缺氧，高碳酸血症。

3. 肺动脉高压。

4. 右心衰竭。

5. 肥胖。

当慢性阻塞性肺病患者PaO_2≥60mmHg，但伴有白天嗜睡，红细胞增多，肺动脉高压及清晨头痛应高度怀疑并发阻塞性睡眠呼吸暂停综合征。夜间睡眠时的连续氧饱和度测定是一个可以利用的对可疑患者的初筛实验。

（四）治疗

1. 一般治疗：慢性阻塞性肺病患者应避免酗酒及镇静催眠药。

2. 氧疗：夜间氧疗。

3. 药物治疗：与慢性阻塞性肺病的治疗相同。

4. 非侵入性呼吸机的治疗：根据病人通常情况采用经鼻或口腔持续正压通气或者双水平正压通气。有的病人还需要同时应用氧疗。

三、 睡眠呼吸障碍与哮喘

哮喘是呼吸系统中的一个常见疾病。其发病率正在增加[14]。在美国哮喘的发病率为 5－10％。哮喘病人在急性发作或症状控制较差时，由于夜间频繁咳嗽、喘气和呼吸困难常打断正常睡眠。哮喘病人肺功能有周期性变化。最好时间是下午 4 点。最差时间是凌晨 4 点[15-16]。这就是为什么 3－4Am 时哮喘容易发作。据统计 40%哮喘患者有频繁夜间觉醒。94%的患者至少每月一次[17]。有人对哮喘患者进行了气道峰流速的监测，其结果发现夜间病人峰呼气流速降低约 10%。哮喘患者看急诊的时间一般多在半夜至早晨 8 点之间。这个时间段的死亡率也较高。有关这方面的机制尚不清楚。有人认为可能涉及多个因素包括夜间副交感神经张力和非肾上腺、非胆碱能神经活性增加，反酸，增加了气道反应性，气道炎症和气道分泌物。有人专门对哮喘病人进行了肺灌洗的研究。发现夜间比白天中性粒细胞、嗜酸性白细胞及淋巴细胞数增加。吸入支气管支张剂降低了昼夜间气道峰呼气流速的差异。有证据表明非肾上腺、非胆碱能神经系统引起支气管扩张。但睡眠时其张力降低导致支气管痉挛。睡眠时 β——肾上腺能受体变成不敏感也是原因之一。睡眠时增加了血浆中组织胺水平但降低了可的松的水平。睡眠时白三烯水平也升高。有证据表明睡眠时气道温度降低，人体核心温度降低导致支气管痉挛。还有人发现睡眠抑制了咳嗽，降低了粘膜纤毛的清除进一步导致哮喘症状加重。食道酸返流在夜间诱发哮喘的急性发作已得到多次证实。Harding 发现 50%哮喘病人有夜间食道返流症状。20%哮喘病人夜间出现觉醒是由于食道返流所致[18-20]。81%哮喘病人睡眠时有异常食道返流诊断证据，从而引起气道高反应性。抗返酸剂不仅减轻哮喘病人夜间症状，并改善气道峰呼气流速。

总之由于各种诱因所导致的哮喘发作在夜间引起入睡困难，频繁觉醒降低了睡眠效率。而白天疲倦使病情恢复过程延长。多导睡眠图的检查发现哮喘病人 4 期睡眠时间降低。频繁觉醒造成片段睡眠在

眼动期(REM)更为明显。与慢性阻塞性肺疾病患者相比低氧血症并不常见。

不少人研究了哮喘与阻塞性睡眠呼吸暂停综合征之间的关系。当二者并发时，打鼾和呼吸暂停可刺激咽喉部的神经受体而诱发哮喘症状加重。相反经正压通气治疗不仅改善了阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的症状，并且也促进了哮喘症状的控制。这种效果不仅体现在夜间也从哮喘病人白天症状的改善上看出。进一步临床研究还证实，如果哮喘病人并不伴有阻塞性睡眠呼吸暂停综合征，采用正压通气治疗并不改善哮喘症状。最近有人报道了一个新的临床综合征，即 CORE 综合征(Cough＋OSA＋rhinosinusitis＋esophageal reflux)。实际上一个由咳嗽、阻塞性睡眠呼吸暂停、鼻和副鼻窦炎及食道酸返流组成的一个重叠综合征[21]。这个综合征之所以引起重视是因为它可以导致明显的哮喘症状。

凡哮喘病人具有夜间睡眠障碍包括频繁觉醒，应进一步询问是否伴有夜间打鼾、呼吸暂停等阻塞性睡眠呼吸暂停的症状。当夜间返酸和哮喘症状有所控制，病人们仍然有中断睡眠或觉醒表现时应考虑对患者进行多导睡眠图的检查以确诊是否患有阻塞性睡眠呼吸暂停综合征。对同时并发有阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的患者，除加强对哮喘症状的控制外，还应使用正压通气治疗。对治疗过程中仍存在低氧血症者，还应加上氧疗。

四、睡眠障碍与间质性肺疾病

间质性肺疾病是由一组不同的肺疾病所组成，但它们都具有一个共同的特点，即肺间质的病理变化。因此在肺功能上表现出肺顺应性降低和肺弹性回缩力增加。这类病人常有浅而快的呼吸频率，肺通气水平常高于正常人。因此他们动脉血气中的 CO_2 水平相对降低。最常见包括寻常性间质性肺炎，结节病及超过敏性肺炎。

间质性肺疾病常常引起睡眠障碍。临床表现为增加了夜间睡眠时的觉醒次数，降低了睡眠的质量和效率。白天常表现出易疲劳和嗜睡。尽管由于肺间质的病变而影响肺的气体交换。但与慢性阻塞性肺病疾病的患者相比，由于他们特定的肺功能变化而使缺氧和高碳酸血症比较轻微。

肺间质的病变合并睡眠呼吸障碍后，其睡眠结构和气体交换都发生相应的变化。多导睡眠图的记录常表现出增加了 N1 期睡眠和降低了快动眼(REM)期的睡眠[22]。缺氧和血氧饱和度的降低主要表现在快动眼(REM)期。这与快动眼(REM)期时肺泡低通气有关。因此根据多导睡眠图的测量和气体交换的病理生理变化，临床上可分为三种类型：(1)单纯快动眼(REM)期低通气型。这类病人尚无阻塞性呼吸暂停，低通气出现在快动眼(REM)期。(2)复合性快动眼期和非快动眼期低通气型。低通气直接与睡眠有关。因此导致与睡眠有关的持续性低氧血症。(3)阻塞性呼吸暂停综合征型[23]。低氧血症与阻塞性呼吸暂停综合征密切有关。长期的夜间缺氧和睡眠呼吸障碍不仅影响病人身体健康，生活质量，而且还可导致肺动脉高压和右心衰竭。因此早期诊断间质性肺疾病患者并发的睡眠呼吸障碍对防止低氧血症和肺动脉高压具有重要的临床意义。一般认为对间质性肺疾病患者应监测夜间

的血氧饱和度。当病人出现与阻塞性睡眠呼吸暂停综合征有关的症状时，比如夜间睡眠时有打鼾，呼吸暂停，夜间觉醒次数增加和白天嗜睡时 ，应尽快进行多导睡眠图的测量。但有些间质性肺疾病患者在接受大剂量激素的治疗时也可造成夜间睡眠障碍。在鉴别诊断时要考虑这一影响因素。对间质性肺疾病患者并发睡眠呼吸障碍时的治疗方法，除对其本身疾病的治疗外，主要还是氧疗和非侵入性呼吸机的治疗[24]。治疗方法和原则与治疗睡眠呼吸暂停综合征基本一样。

五、睡眠呼吸障碍与囊性纤维化

囊性纤维化(Cystic Fibrosis，CF)是一个涉及多系统的遗传疾病。它由于位于人类第七染色体编码囊性纤维化经膜传递调节蛋白的基因突变所致。肺是最常见受累的主要器官之一。

CF 病人由于各种呼吸道的异常导致反复感染而影响睡眠。例如小气道阻塞，支气管扩张引起低氧和高碳酸血症。CF 病人也常患有慢性鼻窦炎和鼻息肉而造成上呼吸道阻力增加，使得阻塞性睡眠呼吸暂停综合征发生率增高。

Jankelowitz 等人利用睡眠日记和手腕表式移动记录器研究了 20 名 CF 患者的睡眠变化[25]。CF 病人常主诉睡眠不好。与正常人相比多导睡眠图常表现出频繁觉醒与多个分段睡眠。CF 病人与慢性阻塞性肺病患者一样睡眠时常出现缺氧和肺泡低通气。由于上呼吸道常有阻塞，患者每分通气量降低而导致低氧和高碳酸血症，这种情况在 CF 急性发作时尤为严重。

一般认为 CF 患者是否合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征应参照慢性阻塞性肺病的诊断思路。如下标准也可提供参照。(1)白天静息时氧饱和度低于 94%和 FEV1 小于预计值的 65%。(2)并发红细胞增多症和肺心病。(3)白天过度嗜睡或清晨醒后头痛[25]。上述三项标准加上夜间大声打鼾，呼吸暂停或由于低氧血症造成频繁觉醒。对具备这些条件的患者应进行多导睡眠图的测量，进一步确认是否并发阻塞性睡眠呼吸暂停综合征。

治疗方法与慢性阻塞性肺病并发阻塞性睡眠呼吸暂停综合征一样。对于睡眠有关的低氧血症应采取氧疗。经口或鼻腔正压通气是治疗阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的主要方法。如果患者同时伴有高碳酸血症的呼吸衰竭可选择双水平的非入侵性呼吸机进行治疗。

Reference

1.Douglas NJ, White DP, Weil JV et al. Hypoxic ventilatory response decreases during sleep in normal men. Am Rev Respir Dis 1982;125:286-289.

2. White DP, Douglas NJ, Pickett CK, et al. Hypoxic ventilatory response during sleep in normal premenopausal women. Am Rev Respir Dis 1982;126:530-533.

3. Douglas NJ, White DP, Weil JV et al. Hypercapnic ventilatory response in sleep adult. Am Rev Respir Dis 1982;126:758-762.

4. Hedemark LL and Kronenberg RS. Ventilatory and heart rate responses to hypoxia and hypercapnia during sleep in adults. J Appl Physiol 1982; 53: 307-312.

5. Berthon-Jones M and Sullivan CE. Ventilatory and arousal responses to hypoxia in sleeping humans. Am Rev Respir Dis 1982;125: 632-639.

6. Gleeson, K; Zwillich, CW; White, DP. The influence of increasing ventilatory effort on arousal from sleep. American Review of Respiratory Disease. 1990;142:295–300.

7. O'Donoghue FJ, Catcheside PG, Ellis EE, et al. Sleep hypoventilation in hypercapnic chronic obstructive pulmonary disease: prevalence and associated factors. Eur Respir J 2003;21:977-984.

8. O'Donoghue FJ, Catcheside PG, Eckert DJ, et al. Changes in respiration in NREM sleep in hypercapnic chronic obstructive pulmonary disease. J Physiol 2004;559:663-673.

9. Flenley DC. Sleep in chronic obstructive lung disease. Clin Chest Med 1985;6:51–61.

10. Weitzenblum E, Chaouat A, Kessler R and Canuet M. Overlap SyndromeObstructive Sleep Apnea in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. The Proceedings of the American Thoracic Society 2008;5:237-241.

11. Chaouat A, Weitzenblum E, Krieger J, et al. Association of chronic obstructive pulmonary disease and sleep apnea syndrome. Am J Respir Crit Care Med 1995;151:82-86.

12. Connaughton JJ, Catterall JR, Elton RA, et al. Do sleep studies contribute to the management of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease? Am Rev Respir Dis 1988;138:341-344.

13. Sanders MH, Newman AB, Haggerty CL, et al. Sleep and sleep-disordered breathing in adults with predominantly mild obstructive airway disease. Am J Respir Crit Care Med 2003;167:7-14.

14. Eder W, Ege MJ, von Mutius E, The asthma epidemic. N Engl J 2006;355:2226-2235.

15. Martin RJ. Circadian rhythms, nocturnal asthma, and management. Ann Allergy 1992;69:267-272.

16. Martin RJ. Nocturnal Asthma. Clin Chest Med 1992;13:533-550.

17. Turner-Warwick M. Epidemiology of nocturnal asthma. Am J Med 1988;85:6-8.

18. Harding SM. Recent clinical investigations examining the association of asthma and gastroesophageal reflux. Am J Med. 2003;115(suppl):39S-44S.

19 Harding SM. Acid reflux and asthma. Curr Opin Pulm Med 2003;9:42-45.

20. Harding SM. Gastroesophageal reflux, asthma, and mechanisms of interaction. Am J Med 2001;111(suppl):8S-12S

21. Kasasbeh A, Kasasbeh E, Krishnaswamy G. Potential mechanisms connecting asthma, esophageal reflux, and obesity/sleep apnea complex—A hypothetical review. Sleep medicine reviews 2007;11(1):47-58.

22. McNicholas WT, Coffey M, Fitzgerald MX. Ventilation and gas exchange during sleep in patients with interstitial lung disease. Thorax 1986;41:777-782

23. Perez-Padilla R, West P, Lertzman M, et al. Breathing during sleep in patients with interstitial lung disease. Am Rev Respir Dis 1985;132:224-229.

24. Gonzalez MM, Parreira VF, Rodenstein DO. Non-invasive ventilation and sleep. Sleep Med Rev 2002;6:29-44.

24. Jankelowitz L, Reid KJ, Wolfe L, et al. Cystic fibrosis patients have poor sleep quality despite normal sleep latency and efficiency. Chest 2005;127:1593-1599.

25. Milross MA, Piper AJ, Norman M, et al. Predicting sleep-disordered breathing in patients with cystic fibrosis. Sleep Med Rev 2004;8:295-308.

作者简介：

彭伟，博士，曾任中国旅美科技协会犹他州分会会长。现任中国旅美科技协会总会副会长。1977 年录取进入同济医学院，先后获医学学士，呼吸内科硕士和博士学位。毕业后留校工作于同济医学院附属同济医院呼吸内科任助教，讲师和副教授。1992 年成为英国 Wellcome Trust 研究基金获得者赴英国伦敦大学圣托马斯医院呼吸实验室从事缺氧性肺动脉高压的研究。1993 年受邀赴美国犹他大学医学院呼吸内科继续从事缺氧性肺动脉高压的研究，先后在国际著名杂志上发表文章。现已获得美国内科医师，呼吸专科和重症医学专科医师执照。在 2005 年国际胸科年会上获最佳病例奖。现任大盐湖城医院重症医学和呼吸科主任，罗易康复中心呼吸科主任，犹他大学医学院内科和首都经贸大学客座助理教授和教授。

无症状高尿酸血症及并发症

王幼松

耶鲁大学医学院内科系

高尿酸血症是指血液中尿酸水平高于正常上限的一种情况，在现代社会的发病率很高。60 年代以来，一直认为无症状高尿酸血症是痛风的初始状态。然而现代流行病学研究表明，在长期高尿酸血症的个体中，急性痛风性关节炎、痛风石、尿酸结石和慢性尿酸肾病的发病率相对并不高 [1-3]，大约有三分之二患高尿酸血症者的人不会产生痛风性关节炎或其它并发症 [1-5]。(3)

虽然如此，由于高尿酸血症普遍存在，它对人体健康仍然可能有很大影响。它可以造成与尿酸结晶沉积直接相关的症状(如关节病)和与尿酸结晶沉积无直接关系的症状(如高血压、慢性肾、心血管疾病和糖尿病等等)。

统计学上，高尿酸血症的发病率很难确定，因为大多数人的血液尿酸浓度并非呈正态分布。高尿酸血症和痛风之间存在明确的相关关系。在一项随访 15 年 2046 例健康男性血清尿酸水平的研究中表明，痛风年发病率为 4.9，0.5，和 0.1%，相对应血尿酸大于 9.0，7.0-8.9，和低于 7.0 毫克/升 [1]。相类似的一项 14 年随访研究发现，只有 12%的痛风发生在尿酸水平 7.0 和 7.9 毫克/升之间 [2]。痛风性关节炎的发病率在血液尿酸值超过饱和平均值的人群中相对很高(5%至 8%的美国成年白人男性和 25%的中国成年男性 [6])。痛风的发病率在 30~45 岁男性和 55~70 岁女性中最高，也就是在发生高尿酸血症约二十年后，此期间是一个很长的无症状高尿酸血症期。

持续性高尿酸血症是由于机体产生过多的尿酸和/或肾脏尿酸排泄减少的结果 [7]，这种状况可分为原发性高尿酸血症和继发性高尿酸血症。原发性是指在无疾病或药物影响尿酸代谢的情况下而产生的尿酸过饱和现象。继发性高尿酸血症是由疾病、药物、食物或毒素造成的。男性原发性高尿酸血症多形成于青春期，表现为儿童的尿酸水平达到成年男性的水平。在女性中，因为雌激素可以提高肾尿酸清除率，抑制肾脏尿酸吸收转运的阴离子通道 [8,9]，所以正常生育年龄女性的尿酸水平要低于正常成年男性。女性的原发性高尿酸血症通常是推迟到绝经后，此时女性的血尿酸值和年龄相应的男性相当。

现在通常认为高尿酸血症并不是一种疾病，造成疾病的是高尿酸血症的直接和间接后果。痛风性关节炎、尿酸性肾结石和肾病与血尿酸水平直接相关。尿酸钠/尿酸结晶沉积是造成此类疾病临床表现的重要病理因素 [10]。与之不同的是，虽然高尿酸血症也与高血压、慢性肾病、心血管疾病或糖尿病相关，高尿酸血症并不直接

造成此类疾病，尽管在拥有超饱和血尿酸水平的人群中，心血管疾病和其他疾病与高尿酸血症的相关度很高[11]。

高尿酸血症可视为一个必要但不充分的诱发痛风的因素。其它诱因包括大量的酒精(特别是啤酒和白酒[12])、肉类和海鲜的摄入[13]、利尿剂使用以及肥胖[14,15]。痛风石通常发生在痛风性关节炎患者中。然而，无症状高尿酸血症患者在接受非甾体抗炎药物或糖皮质激素治疗时，可以在没有急性痛风性关节炎的情况下发生痛风石。

尿酸和草酸钙尿路结石与尿酸排泄的增加有关。当每日尿中尿酸排泄量超过1100 毫克时，尿路结石的发病率接近50%[16]。持续的高尿酸血症曾被认为是导致尿酸性肾病的原因，因为在病理上，这些患者的肾脏中多有微小痛风石。但现在的研究表明，在血尿酸低于 13 毫克/升以下的男性和 10 毫克/升的女性中，高尿酸血症在慢性肾脏病的发病上没有临床重要性。与结晶沉积无关的肾功能恶化被认为是由高尿酸血症以外的危险因素造成的[11]。相反，在高于这些尿酸水平的男/女性病人中，没有足够的研究数据可以排除高尿酸血症对肾的毒性[4]。值得注意的是，在痛风和慢性尿酸肾病的患者中，有些病人有正常的尿沉检查，和肾功能不全的程度并不成正比[17]。此类患者可能有铅中毒[18]。

如果高尿酸血症严重且持久，要考虑其它因素，如淋巴或骨髓增生性疾病、银屑病、维生素 B12 缺乏、先兆子痫或铅中毒等。如果没有发现继发性因素，病人需要做 24 小时尿液测试。此间病人应正常饮食，不饮酒、不服用影响尿酸代谢的药物。在肾功能正常且尿酸水平稳定的人群中，测定尿酸和肌酐可以区分尿酸生产过剩(尿酸排泄大于 800 毫克/天或 12 毫克/公斤/天)与尿酸排泄减低这两种情况[10]。

需要强调的是“低排泄”实际上有正常的尿酸排泄率，因为在尿酸水平稳定的人中，生产和清除是相对应的。区别生产过剩和清除不足，可以指导对高尿酸血症的原因作进一步调查并指导降尿酸药物的选择。绝大多数(80%至 90%)高尿酸血症是由于过剩的嘌呤摄入，和/或尿酸排泄不足。约 10%-20%的个体是由内源性的尿酸生产过剩。肾尿酸转运的缺陷(分泌减少或重吸收功能增强)可能是先天遗传性的或后天继发的(如服用利尿剂)。大多数尿酸排泄率低但有正常肾小球滤过率的患者，肾功能无明显异常。

高尿酸血症及尿酸结晶沉积造成的最初症状除了急性尿酸性肾病外，很少造成生命危险[9]。同时由于历史上缺乏对于高尿酸血症在慢性肾脏疾病和其他相关疾病中作用的认识[4,19]，加之治疗通常需要长期用药并考虑其副作用，临床上并不提倡预防性药物治疗无症状高尿酸血症，虽然并没有随机试验支持或反对这种做法。但如果病人发展为痛风性关节炎、痛风石、肾结石及慢性肾功能不全或急性尿酸性肾病的风险很高，或者继发性疾病可治疗，以及造成高尿酸血症的药物或毒素可以被清除时[20,21]，应考虑采取药物治疗，包括以下三种具体情况：

1．持续尿酸浓度超过 13 毫克/升的男性和 10 毫克/升(595μmol/L)的女性。这些高值带有一定的肾毒性风险。这里有个例外是严重心衰的病人，因为这些病人可能因肾灌注不足和尿酸排泄减少造成显著的高尿酸尿症。此类患者通常具有严重的心脏疾病而且寿命有限(除非接受心脏移植)。慢性尿酸性肾病的风险相对低于治疗的价值。

2．每天尿中尿酸排泄超过 1100 毫克的病人有 50%的风险发展为尿酸结石[16,22]。这些病人的治疗，应从限制饮食中的嘌呤开始，同时减少总热量的摄入。限制酒精饮料特别是啤酒和烈性酒，但葡萄酒对尿酸的排泄影响不大。减少肉类和海鲜的摄入，但豆制品对尿酸排泄没有负面影响。如果这些限制饮食的措施不能使尿中尿酸降低至低于 1000 毫克/天，应考虑增加别嘌呤醇的药物治疗，从而使尿酸的排泄量减少至低于 800 毫克/天。

3．即将接受放疗或化疗，可能导致广泛的肿瘤溶解综合征的病人。此时应积极及时开始治疗，防止出现急性尿酸肾病和肿瘤溶解综合征[23]，包括静脉输液和别嘌呤醇，或重组尿酸氧化酶。

高尿酸血症是一种常见的“富贵病”。正确认识它的特点，可以使我们有效的针对于它进行防治，从而防止或降低它对健康的危害。

参考资料:

1. Campion EW, Glynn RJ, DeLabry LO. Asymptomatic hyperuricemia. Risks and consequences in the Normative Aging Study. Am J Med 1987;82:421-6.

2.Langford HG BM, Borhani NO, et al. Is thiazide-produced uric acid elevation harmful? Analysis of data from the Hypertension Detection and Follow-up Program. . Arch Intern Med 1987;147:645.

3. Hall AP, Barry PE, Dawber TR, McNamara PM. Epidemiology of gout and hyperuricemia. A long-term population study. Am J Med 1967;42:27-37.

4. WJ. F. Renal outcomes of gout and hyperuricemia. . Am J Med 1979; 67:74.

5. Johnson RJ FD, Herrera-Acosta J, Kang DH.45:18. Resurrection of uric acid as a causal risk factor in essential hypertension. . Hypertension 2005.

6. Lin KC, Lin HY, Chou P. Community based epidemiological study on hyperuricemia and gout in Kin-Hu, Kinmen. J Rheumatol 2000;27:1045-50.

7. Wyngaarden J, Kelley, WN. . Gout and hyperuricemia. . Grune and Stratton, New York, 1976.

8. Anton FM, Garcia Puig J, Ramos T, Gonzalez P, Ordas J. Sex differences in uric acid metabolism in adults: evidence for a lack of influence of estradiol-17 beta (E2) on the renal handling of urate. Metabolism 1986;35:343-8.

9.Ljubojevic M H-KC, Hagos Y, et al. . Rat renal cortical OAT1 and OAT3 exhibit gender differences determined by both androgen stimulation and estrogen inhibition. . Am J Physiol Renal Physiol 2004;287:F124.

10.Becker MA. Clinical Aspects of Monosodium Urate Monohydrate Crystal Deposition Disease (Gout). Rheum Dis Clin N Am 1988;14:377-94.

11.Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Rodriguez-Iturbe B, Johnson RJ, Herrera-Acosta J. Hemodynamics of hyperuricemia. Semin Nephrol 2005;25:19-24.

12.Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G. Alcohol intake and risk of incident gout in men: a prospective study. Lancet 2004;363:1277-81.

13.Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G. Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. N Engl J Med 2004;350:1093-103.

14.Lin KC LH, Chou P. . The interaction between uric acid level and other risk factors on the development of gout among asymptomatic hyperuricemic men in a prospective study. . J Rheumatol 2000;27:1501.

15.Choi HK AK, Karlson EW, Curhan G. . Obesity, weight change, hypertension, diuretic use, and risk of gout in men: the health professionals follow-up study. . Arch Intern Med 2005;165:742.

16.Yu T, Gutman AB. Uric acid nephrolithiasis in gout. Predisposing factors. Ann Intern Med 1967;67:1133-48.

17.Murray T, Goldberg M. Chronic interstitial nephritis: etiologic factors. Ann Intern Med 1975;82:453-9.

18.Shadick NA KR, Weiss S, et al. . Effect of low level lead exposure on hyperuricemia and gout among middle aged and elderly men: the normative aging study. . J Rheumatol 2000 27:1708.

19.Liang MH, Fries JF. Asymptomatic hyperuricemia: the case for conservative management. Ann Intern Med 1978;88:666-70.

20.Singer JZ, Wallace SL. The allopurinol hypersensitivity syndrome. Unnecessary morbidity and mortality. Arthritis Rheum 1986;29:82-7.

21.Hande KR, Noone RM, Stone WJ. Severe allopurinol toxicity. Description and guidelines for prevention in patients with renal insufficiency. Am J Med 1984;76:47-56.

22.Yu TF. Urolithiasis in Hyperuricemia and Gout. J Urology 1981;126:424-30.

23.Kjellstrand CM, Cambell DC, 2nd, von Hartitzsch B, Buselmeier TJ. Hyperuricemic acute renal failure. Arch Intern Med 1974;133:349-59.

作者简介：

王幼松，中国北京协和医科大学八年制医学博士毕业后赴美。于纽约石溪大学获得药理学博士之后又完成纽约哥伦比亚大学附属圣路克-罗斯福医学中心住院医训练，通过美国内科专科特考并获行医执照。现于美国耶鲁大学医学院免疫风湿科做专科训练。曾发表论文数篇并为美国医学学会及免疫风湿学会会员。

前列腺癌的近距离放射治疗的临床研究和最新进展

翟勇军

耶鲁大学医学院放射治疗系

概述

前列腺癌是男性中最常见的恶性肿瘤，是发生于男性生殖系统前列腺组织中的腺泡细胞异常无序生长的结果。前列腺癌的发病率具有明显的地理和种族差异。美国国立癌症研究院(National Cancer Institute)和美国近距放射治疗学会(American Brachytherapy Society)的最新统计数据表明[1,2]：美国在 2011 年新增前列腺癌病人案例为 240890，病人死于前列腺癌的人数为 33720。在导致男性癌症病人死亡的癌症中，前列腺癌名列第二位。

前列腺癌的临床研究和治疗是目前的癌症研究热点之一。随着病理机制研究的不断深入，各种治疗方法不断推陈出新。目前，前列腺癌的治疗依据病期、病理 Gleason 分级、血清前列腺特异性抗原(PSA)值、年龄、一般状态等不同而异，手段包括观察、根治性手术、外束放射治疗(EBRT)、放射性种子植入治疗(近距离放疗方法之一，Brachytherapy)、冷冻治疗、高能聚焦超声治疗和组织内肿瘤射频消融、前列腺癌内分泌治疗、化学药物辅助治疗等。

在各种治疗手段中，放射治疗在前列腺癌各阶段的治疗中都起着很重要的作用。例如，早期及复发危险低的前列腺癌病人可接受单纯外照射或近距离间质放疗，中期及中度复发危险的前列腺癌病人可用外照射加近距离间质放疗或术后补充放疗，高危及晚期病人可行前列腺区或转移病变部位的姑息减症放疗，结合去势内分泌治疗或化疗等。

随着计算机技术和放射影像学发展的高速发展，放射治疗技术正发生着重大变革。热点之一的前列腺癌的近距离放射治疗(Prostate Brachytherapy)，由于它对于低、中、高风险病人治愈率的优异表现，已经逐渐成为主流治疗方案之一被广大医生和患者采用。本文就着重讨论前列腺癌的近距离放射治疗的临床研究和最新进展。

近距离放射治疗的优缺点和研究新进展

1. 近距离放疗方案

近距离放射治疗(Brachytherapy)分为放射源暂时和永久植入两种方式。前列腺癌的近距离放射治疗(Prostate Brachytherapy)通常采用永久植入这种方式，放射源通常采用 ^{125}I，^{103}Pd 和 ^{131}Cs。前列腺放射种子永久植入式的近距离放疗(Prostate Permanent Implant Brachytherapy，PIB)是在 B 超和 X-射线

荧光成像引导下，参考预置的放射性种子分布治疗方案，医生通过治疗计划系统的引导装置将放射源植入到前列腺内，以内照射放疗的方式达到治疗肿瘤的目的，同时保证传递至周围正常组织结构的放射剂量最小。这个手术过程请参考图 1 所示[3]，整个种子植入手术过程持续大约一小时，植入的放射性种子数量范围在 80-120 之间，结合病人的实际情况而定。

2. 近距离放射治疗的优缺点

对前列腺癌的外束放疗方法(External Beam Radiation Therapy，EBRT)是用小型医用加速器的高能量 X 射线光子直接照射癌变部位。与前列腺癌的外束放疗方法相比, 前列腺放射种子永久植入式的近距离放疗(PIB)具有很多优点。例如，1. 比外束照射放疗(EBRT)可以给予前列腺局部更高的剂量。2. PIB 给予膀胱和直肠的剂量低于 EBRT 方法。3. 可给予持续低剂量放疗，可能比常规分次 EBRT 更有效，适宜治疗长期缓慢进展的前列腺癌。4. 低能量的放射性同位素 ^{125}I，有穿透到局部组织间的作用，疗效好，损伤小。5. 比外束照射治疗时间短，EBRT 方法需要患者花费 6 周时间来医院完成 30 次放射治疗，而 PIB 方法只需要一次一小时的手术植入。但是，前列腺癌近距放疗(PIB)也面对着一些挑战，例如，手术植入后放射剂量分布的准确评估问题。由于植入种子的过程中前列腺受到损伤，造成了治疗后前列腺水肿，从而使得种子的分布位置偏离预定位置，治疗过程中前列腺移动以及操作过程中的误差等不确定因素，需要通过手术后放射剂量分布的评估了解放射剂量在前列腺内是如何分布的，这种放射剂量的实际分布与近距离放射治疗的疗效及并发症密切相关。目前，手术后放射剂量分布评估常用 CT 和 MRI 扫描植入种子分布来完成。

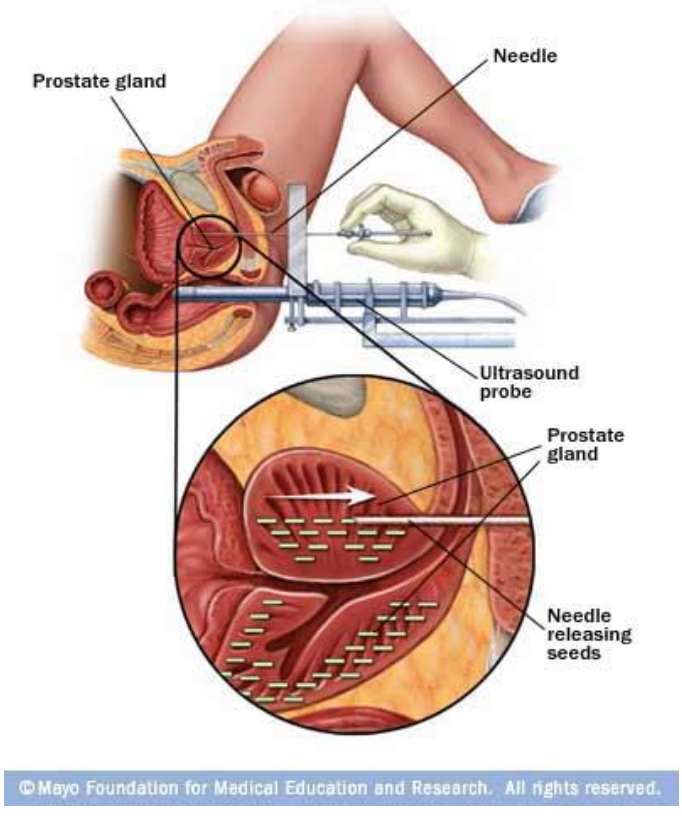


图 1. 前列腺放射性种子永久植入式的近距离放疗手术过程。(By courtesy of Mayo Foundation for medical education and research)。

3. 近距离放射治疗的研究新进展

耶鲁大学医学院放射治疗系(Department of Therapeutic and Radiology，School of Medicine)在近距放疗(Brachytherapy)的研究领域一直处于世界领先地位。其中著名学者 Ravinder Nath 教授和 Jay Chen 教授领导的耶鲁大学研究团队与来自其他

大学的合作者们一起取得了很多开创性研究成果，并且发表了此领域的经典文献[4,5,6,7,8]。这些研究成果指导着当今近距放疗的医学研究和临床实践活动。

目前，耶鲁大学医学院放射治疗系拥有 40 余个基金资助研究课题，其中有美国国立卫生研究院(National Institutes of Health)重大课题基金资助项目 P01 两个，R01 十四个。在全美放射治疗系的基础和临床研究排名中名列前茅。我们的前列腺近距放疗课题也获得美国国立卫生研究院 R01 重大课题基金资助(NIH Grant R01CA134627-01)。Jay Chen 教授做为基金负责人(Principle Investigator), 正在领导课题组深入研究水肿(Edema)效应对前列腺癌近距放疗的术后放射剂量分布的影响。下面的章节将给出详细的实验方法和初步的研究结果。

首先，我们设计了周密的试验方法。对于每个志愿参加研究的前列腺癌病人的腹部进行 CT 扫描，扫描时间分别为手术前一天，手术后 2 小时，手术后 1 天，6 天，11 天，15 天，30 天，和 42 天。这样我们就有了这个病人在这 42 天中的前列腺变化数据。然后，我们用耶鲁大学开发的医学影像处理软件[9](www.bioimagesuite.org 此软件曾是获 NIH 十年资助的 R01 重大课题，目前开放给全球研究人员免费使用)做这组 CT 影像的比较和鉴别(Deformable image registration)，获得前列腺中放射性种子的位置变化过程。我们目前一共收集了 5 位前列腺癌病人的 CT 影像。

计算放射性剂量在前列腺中的分布，我们采用 Ravinder Nath 教授的方法[4]。公式如下：

$$D_p = \int_0^\infty \dot{d}_p(t)dt = \int_0^\infty \sum_{i=1}^{M} S_{ki} \wedge \frac{r_0^2}{|\vec{r}_p(t)-\vec{r}_i(t)|^2}\, g\left(|\vec{r}_p(t)-\vec{r}_i(t)|\right)\overline{\varphi}_{an} e^{-\lambda_i t}dt \quad (1)$$

公式的 D_p 代表在小体积元 P 处的累计剂量，$\dot{d}_p(t)$是 t 时刻的剂量率，$\vec{r}_p(t)$是小体积元 P 在 t 时刻的位置，$|\vec{r}_p(t)-\vec{r}_i(t)|$是小体积元 P 离放射源 i 的距离，$S_{ki}$是初始的 air-kerma 的强度, $\wedge$是剂量率常数，r_0是参考距离(=1cm)，$g(r)$是径向剂量函数，$\overline{\varphi}_{an}$是平均各向异性常数，λ_i是放射性衰变时间常数。这些参数对于某种特定的放射源都是事先给定的。

将获得的前列腺中放射性种子的位置变化过程的数据代入上述公式中，就可以获得在不同时刻前列腺中放射剂量的实际分布，这种分布是在考虑了水肿效应的情况下得到的。

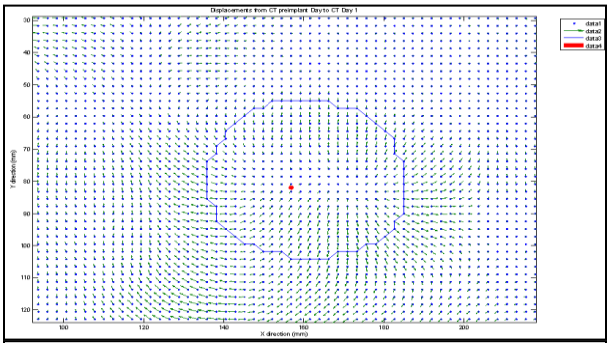


图 2.显示了前列腺 CT 图像的 x-y 平面图（手术后第一天和手术前相比较）。

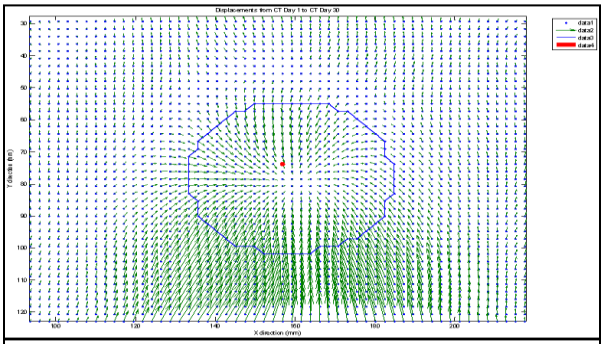


图 3.显示了前列腺 CT 图像的 x-y 平面图(手术后第 30 天和手术后第一天相比较）。

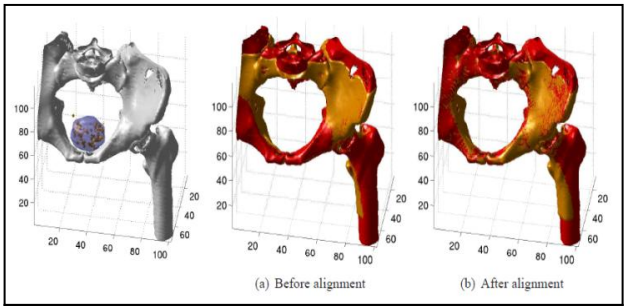


图 4. 前列腺所在的腹腔骨盆三维示意图。最左边的球状物是前列腺。

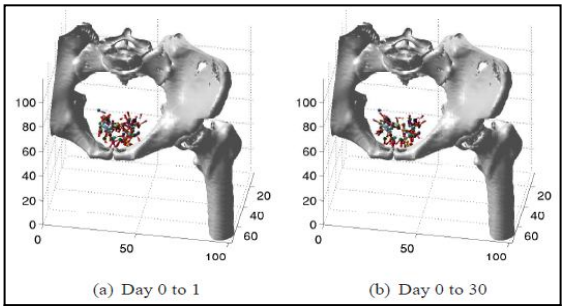


图 5. 放射性种子位置的动态分布示意图。(a)图为放射性种子从植入当天到一天后的位置变化。(b)图为放射性种子从植入当天到 30 天后的位置变化

研究结果和讨论分析

1. 放射性种子的位置变化

首先讨论放射性种子的位置变化[10,11,12,13]。图 2 和图 3 显示在某一时刻前列腺中的每个小体积元的位置变化。图 2 显示了前列腺 CT 图像的 x-y 平面图，红点是前列腺的中心位置，蓝色的环形表示前列腺的 x-y 横切面，在蓝色环内的各个点的箭头都是指向外扩散，这表明在放射性种子植入后(手术后第一天和手术前相比较)前列腺因为水肿效应变大，放射性种子的位置也随之发生变化。同理，图 3 也显示了前列腺 CT 图像的 x-y 平面图，但是在蓝色环内的各个点的箭头都是指向内收缩，这表明在放射性种子植入后(手术后第 30 天和手术后第一天相比较)前列腺因为水肿效应消失而逐渐恢复原来的大小，放射性种子的位置也随之发生变化。放射性种子的三维位置变化参见图 4 和图 5。

如果针对不同时间的 CT 图像，我们统计植入的放射性种子的质量中心距离(Center mass distance)，我们可以求得前

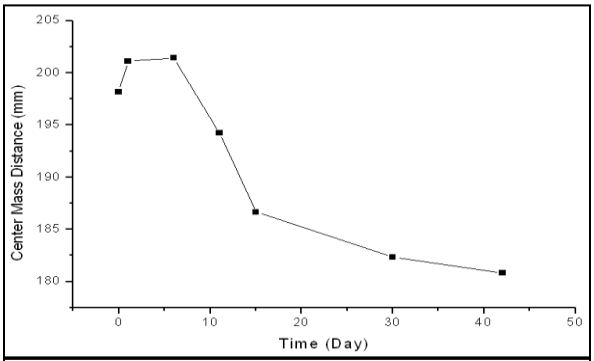


图 6. 前列腺水肿效应的变化曲线。

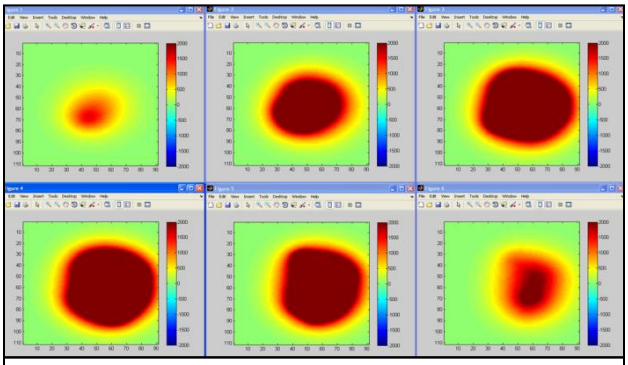


图 7. 动态剂量分布。从左到右依次切面为 Z=13，21，29，35，40，46 pixel。剂量累计值是从种子植入开始到第 42 天的时段。

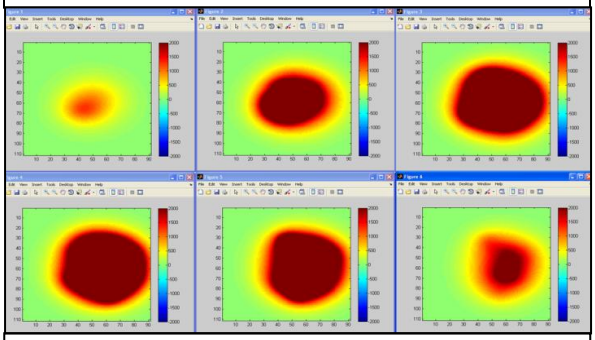


图 8. 静态剂量分布。从左到右依次切面为 Z=13，21，29，35，40，46。剂量累计值是从种子植入开始到第 42 天的时段。

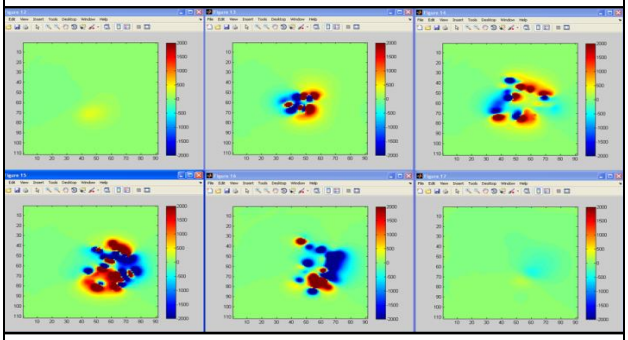


图 9. 剂量分布变化。从左到右依次切面为 Z=13，21，29，35，40，46。剂量变化累计值是从种子植入开始到第 42 天的时段。

列腺水肿效应的变化趋势(参见图 6)。图中的横坐标是 CT 扫描的不同时间，纵坐标是放射性种子的质量中心距离，此曲线表明前列腺在放射性种子植入后的前几天水肿最大，然后水肿随时间逐渐消失，直至前列腺恢复到原来状态。

2. 前列腺中放射性种子产生的剂量分布

前一节我们得到了放射性种子的位置分布变化，用公式(1)我们可以计算前列腺中的剂量实际分布。为了进一步分析水肿效应对剂量分布的影响，我们比较两种剂量分布：动态剂量分布和静态剂量分布。动态剂量分布(Dynamic case，参见图 7(定义为考虑了水肿效应的剂量实际分布，静态剂量分布（Conventional static case，参见图 8）定义为不考虑水肿效应的剂量理想分布。我们把动态剂量分布和静态剂量分布的差值定义为剂量分布变化(Dose distribution difference，参见图 9)。

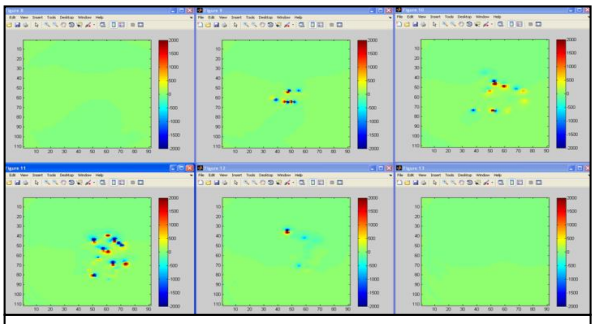


图 10. 剂量分布变化。从左到右依次切面为 Z=13，21，29，35，40，46。剂量变化累计值是从种子植入开始到第 6 天的时段。

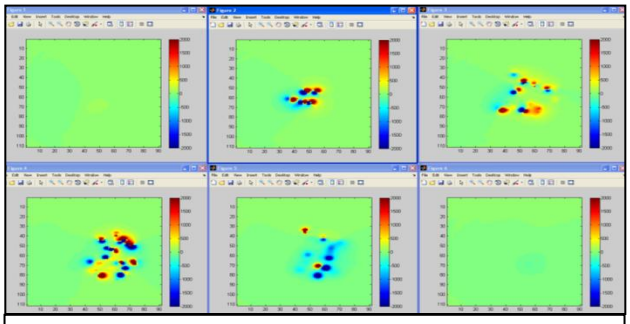


图 11. 剂量分布变化。从左到右依次切面为 Z=13，21，29，35，40，46。剂量变化累计值是从种子植入开始到第 11 天的时段。

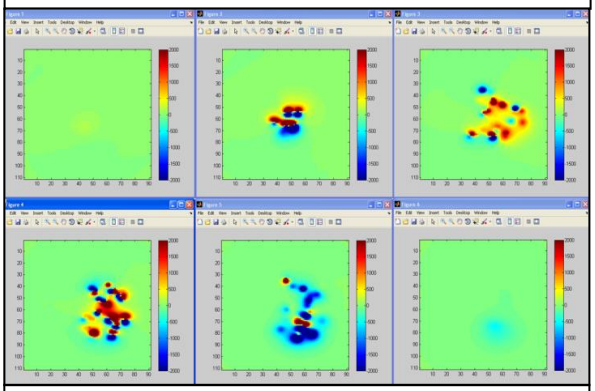


图 12. 剂量分布变化。从左到右依次切面为 Z=13，21，29，35，40，46。剂量变化累计值是从种子植入开始到第 15 天的时段。

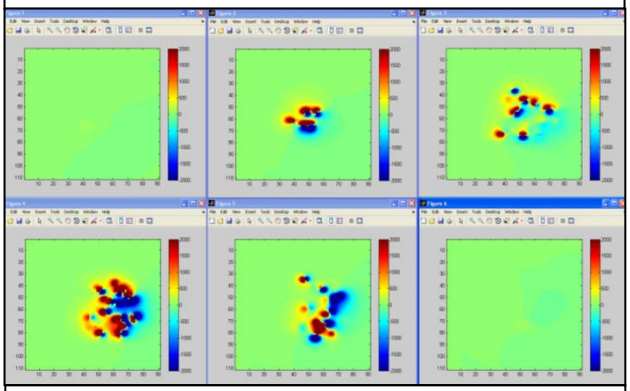


图 13. 剂量分布变化。从左到右依次切面为 Z=13，21，29，35，40，46。剂量变化累计值是从种子植入开始到第 30 天的时段。

表 1. 剂量分布变化的数据, 选取 120 cGy 作为截断值

	D0-->D6	D0-->D11	D0-->D15	D0-->D30	D0-->D42
超剂量区(%)	0.73	10.26	3.68	4.21	5.61
欠剂量区(%)	0.67	10.37	3.64	3.45	5.02
介于±120 cGy (%)	98.60	79.37	92.68	92.34	89.38
超或欠剂量区 (%)	1.4	20.63	7.32	7.66	10.62

注：D0=术后 2 小时， D6=术后第 6 天， D11=术后第 11 天， D15=术后第 15 天，D30=术后第 30 天，D42=术后第 42 天

表 1 列出了剂量分布变化的数据。我们选取 120 cGy 作为截断值，如果前列腺中某个小体积元的剂量变化大于 120cGy，那个小体积元就被记作超剂量区（hot spot, 图 9 中红色区），如果前列腺中某个小体积元的剂量变化小于 120cGy，那个小体积元就被记作欠剂量区（cold spot, 图 9 中蓝色区），这些剂量分布变化随水肿效应的改变都显示在图 9-13 中。我们可以看到超剂量和欠剂量区域是随着水肿的变化而变化位置，另外超剂量和欠剂量区域的大小百分比也是随着水肿的变化而变化，换句话说，受水肿影响，癌变部位和相邻重要器官得到的剂量与预期的剂量会有很大出入，这将直接影响前列腺癌的治疗效果。具体数据显示：超剂量区域可达 10.37%，而欠剂量区域可达 10.26%，超剂量和欠剂量的动态变化在 1.4%到 20.63%范围内。同理，我们可以选取 240 cGy 或更高的剂量作为截断值，用同样的方法去分析欠剂量区和超剂量区随着水肿效应的变化。

结语

本文讨论了前列腺癌近距放疗面临的水肿效应这一重要课题，通过对前列腺 CT 医学影像比较和鉴别，从而获得植入的放射性种子的位置随前列腺水肿的变化，最终获得前列腺中剂量的真实分布，因此可以正确评价这种放射剂量的实际分布与近距离放射治疗的疗效及并发症的密切关系。这些研究成果[10,11,12, 13]将会对前列腺癌病人的临床治疗产生积极的影响。

参考文献：

1. http://www.americanbrachytherapy.org/aboutabs/factsheet.cfm

2. http://www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveilance/documents/document/acspc-029771.pdf

3. http://www.mayoclinic.com/health/medical/IM03217

4. R Nath, LL Anderson, G Luxton, KA Weaver, JF Williamson, AS Meigooni, "Dosimetry of interstitial brachytherapy sources: recommendations of the AAPM Radiation Therapy Committee Task Group No. 43". Med Phys 22:209-234, 1995.

5. R Nath, H Amols, C Coffey, S Jani, Z Li, M Schell, C Soares, J Whiting, PE Cole, I Crocker, R Schwartz, "Intravascular brachytherapy physics: report of the AAPM radiation therapy committee task group no. 60". Med Phys 26(2):119-152, 1999

6. MJ Rivard, BM Coursey, LA DeWerd, WF Hanson, MS Huq, GS Ibbott, MG Mitch, R Nath, JF Williamson, "Update of AAPM Task Group No. 43 Report: A revised AAPM protocol for brachytherapy dose calculations". Med Phys 31(3):633-674, 2004.

7. MJ Rivard, WM Butler, LA DeWerd, MS Huq, GS Ibbott, AS Meigooni, CS .Melhus, MG .Mitch, R Nath, JF Williamson, "Supplement to the 2004 update of the AAPM Task Group No. 43 Report." Med Phys 34(6): 2187-2205, 2007.

8. R Nath, WS Bice, WM Butler, Z Chen, AS Meigooni, V Narayana, MJ Rivard, Y Yu, "AAPM recommendations on dose prescription and reporting methods for permanent interstitial brachytherapy for

prostate cancer: report of Task Group 137. Med Phys 36(11):5310-5322, 2009.

9. X. Papademetris, et al. “BioImage Suite: An integrated medical image analysis suite: An update,” The Insight Journal, 2006

10. Yongjun Zhai, X. Papademetris, D. Scheinost, K. Roberts, R. Nath, Z. Chen, “Voxel-based Imaging Analysis for Quantitative Characterization of Post-implant Prostate Edema in Permanent Prostate Brachytherapy”， Med. Phys. Vol. 37 No. 6, 3202(2010)

11. Yongjun Zhai, Y. Jiang, X. Papademetris, K. Roberts, R. Nath, Z. Chen, “Evaluation of Prostate Post-Implant Dosimetry by Tracking Edema Resolution with Deformable Image Registration” ， Med. Phys. Vol. 38, No. 6, 3733(2011)

12. Y. Jiang, Y. Zhai, X. Papademetris, P Pathare, K. Roberts, R. Nath, Z. Chen, “A Study of Prostate Edema Resolution Pattern by Principle Component Analysis”, Med. Phys. Vol. 38, No. 6, 3847 (2011)

13. Yongjun Zhai, Y. Jiang, X. Papademetris, K. Roberts, R. Nath, Z. Chen, “Tracking Palladium Seeds Implanted in Prostate Using Shape Analysis Approach”, Med. Phys. Vol. 39, No. 6, 3779（2012）

作者简介：

翟勇军，毕业于北京大学原子核物理与核技术专业，获学士和硕士学位，并荣获北京大学优秀毕业生奖章和证书。后赴美留学于 Texas A&M 大学的超导回旋加速器研究院，获原子核物理博士学位。然后在耶鲁大学医学院师从 Ravinder Nath 教授和 Jay Chen 教授从事放射医学物理的博士后研究（NIH Fellowship），此研究获美国国立卫生研究院（National Institutes of Health）R01 基金资助，并同时做为住院医（Medical Physics Resident) 在耶鲁-纽黑文医院的 Smilow Cancer Center 接受临床医学训练。翟勇军博士是美国放射医学物理专业学会“American Association of Physicist in Medicine(AAPM)”会员，美国肿瘤放射医疗学会“American Society for Radiation Oncology (ASTRO)”会员，和美国近距放射医疗学会“ American Brachytherapy Society(ABS) ”会员， 也是专业杂志“Medical Physics ”，“Brachytherapy”，和“ World Journal of Microbiology and Biotechnology”等国际专业期刊的特约审稿人。

基于软材料 PDMS 的微流控技术在生物医学领域的应用

韩 琳

（耶鲁大学生物医学工程系）

近年来生物医学突飞猛进的发展需要各种学科的技术平台。微加工技术为生物医学的研究提供了很多重要的试验手段与技术平台。其中基于微加工技术的 PDMS 软材料微流控芯片给生物医学领域的研究带来了重大突破。本文将介绍 PDMS 软材料微流控芯片的制作过程和它在生物医学领域的应用。

1. 微流控系统

最基本的微流控系统是在为尺度与介观尺度（纳升级）上研究流体行为，以及相关的设计与应用的，由物理，化学，和加工与生物技术等学科组成的领域。大部分的微流控芯片是基于半导体材料硅的，因为硅片拥有成熟的微加工技术。但是随着人类对生物科学的认识不断深化，深入的研究就需要借助于各种先进技术包括基于微加工技术的微流控芯片。由于基于半导体材料的微流控芯片的非透光性，操作模式的局限性和制作的复杂性，并不能满足生物医学研究的要求。因此基于软材料 PDMS (poly-dimethylsiloxane) 的微流控芯片应运而生。

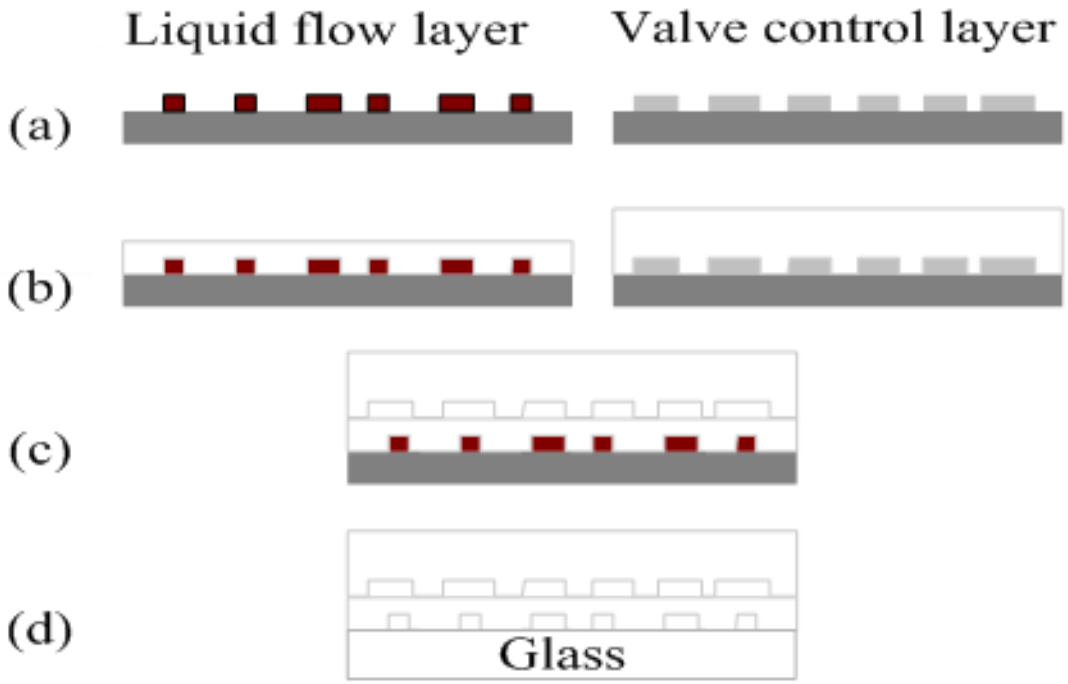


图 1 PDMS 微流控芯片制作流程示意图

基于 PDMS 的微流控芯片可以制作成带有控制阀和液体混合泵功能的芯片[1,2]，而且控制阀和液体混合泵的占用面积小，制作简单。控制阀和液体混合泵是靠气压控制液体的关断与流通。PDMS 微流控芯片是一种较软的聚合物。PDMS 材料价格便宜，而且它有很好的生物兼容性。PDMS 微流控芯片制作工艺简单，可以制作高密度的功能器件集成芯片。

微流控芯片在生物医学上有非常重要和广泛的应用，其中包括单细胞或少量细胞基因组学的研究[3,4,5,6,7,8]，PCR (polymerase chain reaction[9,10,11,12,13]操作，蛋白结晶[14,15]，蛋白相互作用的研究[16,17]，细胞培养[18,19]等等。

2. PDMS 微流控芯片的制作

最基本的带有控制阀的 PDMS 微流控芯片有两层 PDMS 制成。一层是通入各种反应液体的，另一层是控制液体流通的。制作的简单示意图如图 1 所示。首先是利用微加工技术制作液体流通层和控制阀层的模子。其具体工艺就是在硅片上用匀胶机涂上一层光刻胶。液体流通层用的一般是正胶，而控制阀层用的是负胶 SU8。光刻胶的厚度约为几十微米。通过掩模版曝光后得到设计的图案如图 1(a)所示。在液体流通层上用匀胶机涂上一层薄的配好的 PDMS，厚度约为几十微米；在控制阀层上倒上一层较厚的 PDMS，厚度约为 4-6 毫米，如图 1(b)所示。然后把这两片同时放进 80 摄氏度的烘箱使 PDMS 固化约 40 分钟。待 PDMS 固化后，把片子拿出烘箱，然后把控制阀的 PDMS 从硅片上揭下来，并在控制阀入口处打孔。如图 1(c)所示，把打完孔的控制阀 PDMS 与液体流通层的 PDMS 对准。对准后，把片子放入 80 摄氏度烘箱约一小时让两层 PDMS 结合牢固。把结合后的两层 PDMS 从硅片上揭下来，并在液体流入处打孔。最后把整个 PDMS 芯片贴在干净的玻璃片上。在 PDMS 与玻璃接触前，一般用氧离子束处理 PDMS 和玻璃表面以便 PDMS 能够很好的跟玻璃片粘结。图 2 所示为一制成的 PDMS 微流控芯片。

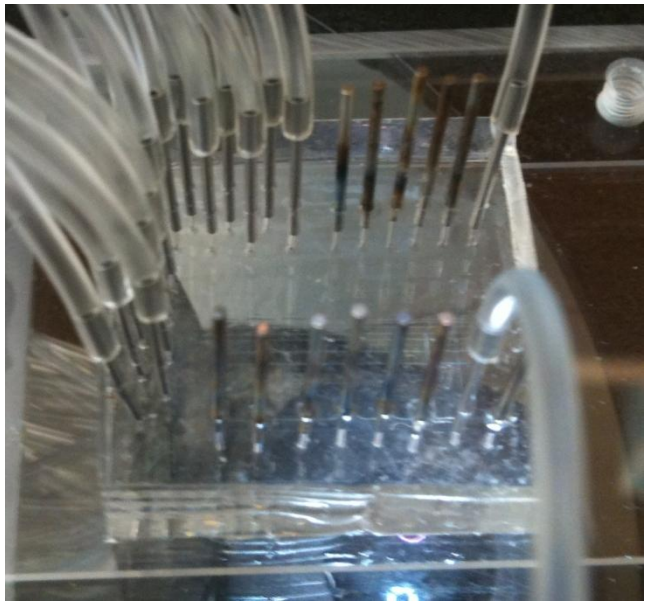


图 2 PDMS 微流控芯片

3. 微流控芯片在生物医学领域的应用

3.1 微流控芯片在基因组学的应用

基因组学可分为结构基因组学和功能基因组学。迄今，从结构基因组学来讲，包括人类在内的数千种生物的一圈基因组测序为目标的基因据结构初步分析已经完成。例如人类基因组，虽然若干模式基因组序列已经测定，但不同个

体之间的序列差异还有大量工作要做。这种差异主要是单碱基多态性和拷贝数变异，不仅构成了个体外在和生理差异的内在原因，也是决定大多数人类疾病发生的根本因素。功能基因组学以结构基因组成所取得的静态碱基序列信息为基础，在全基因组水平上，高通量大规模动态地分析多种基因的表达及其调节，基因及其表达产物之间的相互作用，及其在不同层次基因作用对生物功能的影响。近年来人们发现不仅蛋白质有相互修饰，结合并可调节相关基因表达和蛋白质的功能，生物体内占基因组主要信息的 RNA 也参加复杂的基因调控，DNA 的表观修饰不改变 DNA 序列但在分化，发育和疾病中也起重要作用。这些机制之间往往互相关联，共同调节特定生命过程。

无论结构基因组学或功能基因组学往往都学要大量的样品来获得全基因组信息。不仅细胞数量要求超多成为很多实验室的一个经济上的瓶颈，而且，在一些复杂的情况下，我们只能获得极其有限数量的细胞。因此从最小量的样品(如单细胞)获得全基因组信息对基因组学有着极其重要的意义。

PDMS 微流控芯片可以捕获单细胞并可以对捕获的单细胞进行裂解，DNA 扩增，DNA/RNA 的扩增和收集。通过扩增，可以得到足够量的 DNA 进行各种表征试验以及测序。PDMS 微流控芯片可以帮组我们进行单细胞的全基因组研究。图 3 所示为一单细胞基因组扩增的 PDMS 微流控芯片。

单细胞实验需要极其微量的反应试剂，并要尽量减少一切污染。传统生物学的操作方法很难控制极微量的反应试剂，而且很容易污染样品。基于微电子加工技

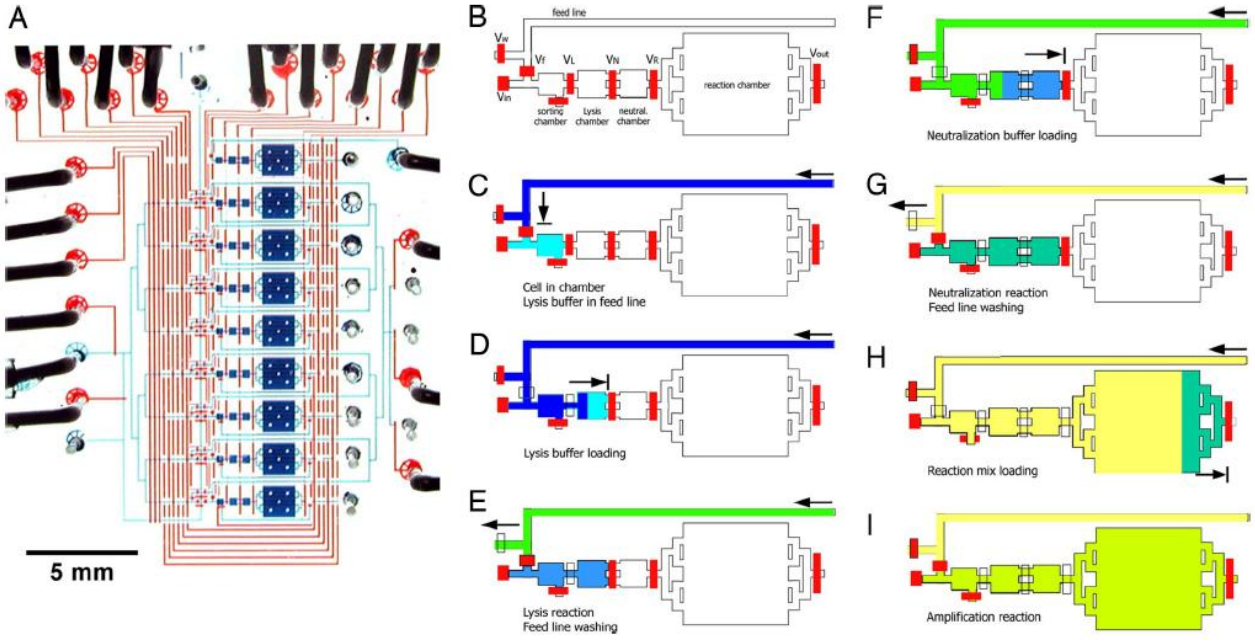


图 3 用于单细胞基因组扩增的 PDMS 微流控芯片。图 B-I 中所有红色的长方形均为控制阀[3]。

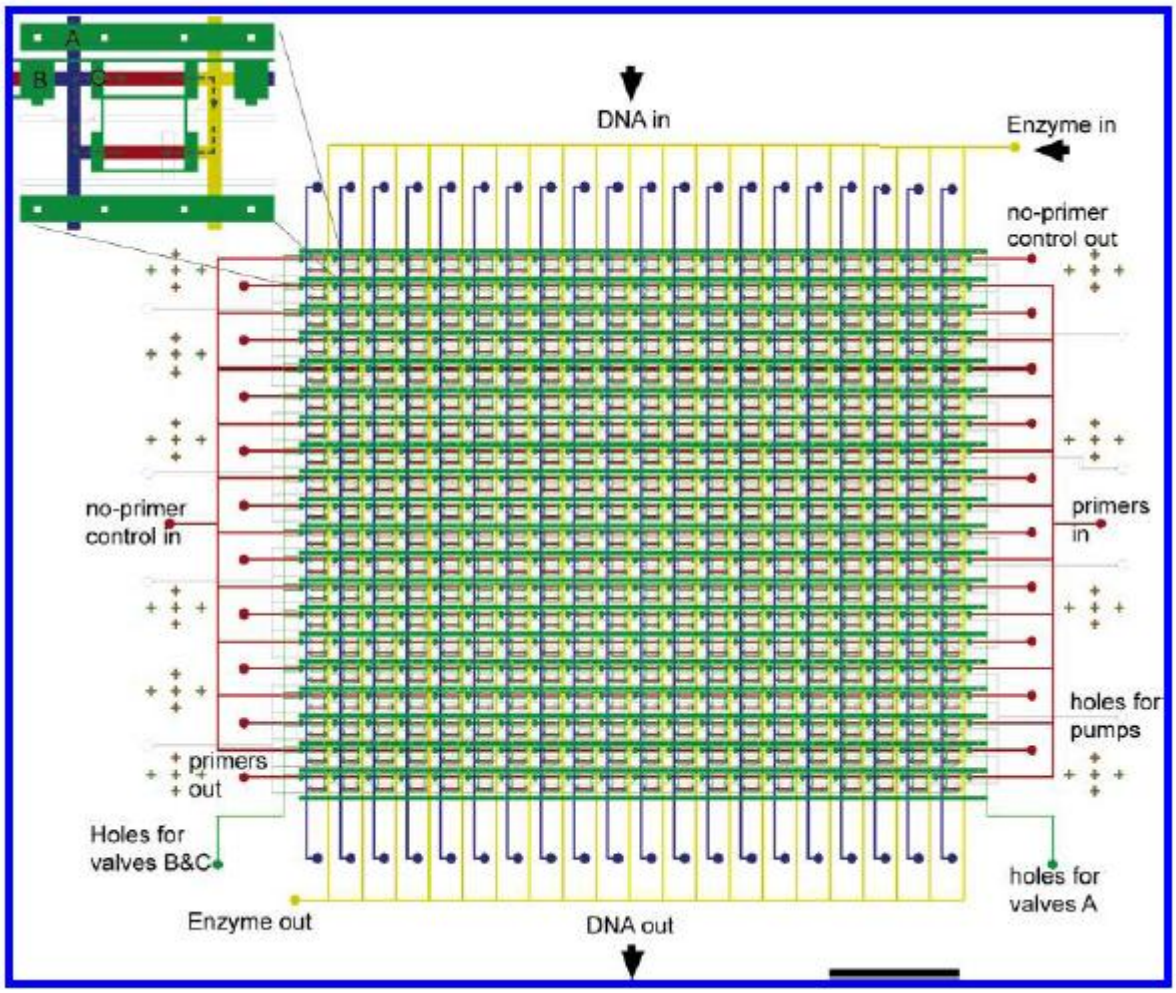


图 4 用于 PCR 反应的 PDMS 微流控芯片示意图[9]

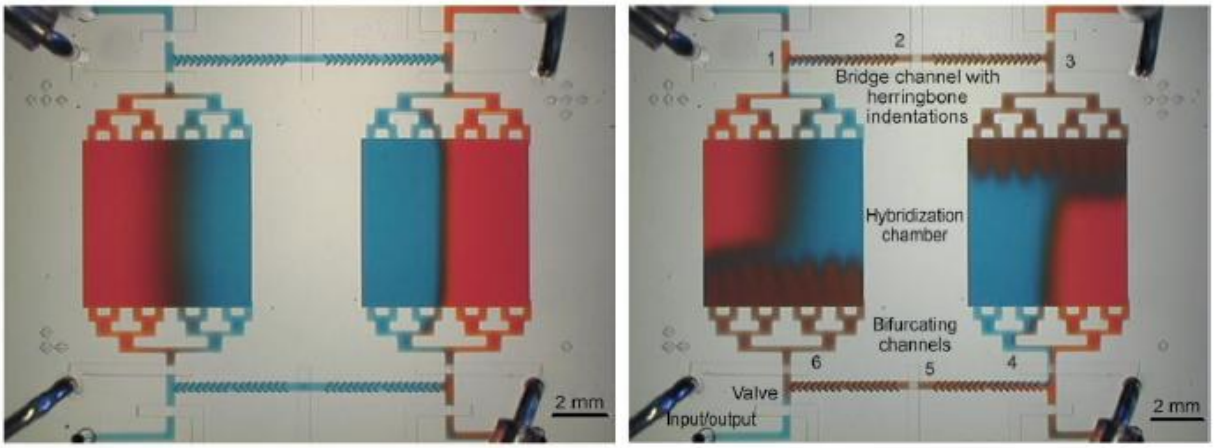


图 5 （a）反应室中一半冲入红色液体，另一半冲入蓝色液体，（b）微流控泵（1-3 and 4-6）顺时针循环。泵在两个反应室之间的连接桥中产生的压力使得两种液体相互混合[13]。

术制作的为流控芯片能够定量纳升级的试　　剂体积，而且由于反应是在封闭的芯片内

部进行，因此能够大大地降低样品的污染。一个微流控芯片可以同时做数十个单细胞实验，不仅能减少大量的操作时间，还能同时研究多个单细胞的特异性。

3.2 微流控芯片在 PCR 和基因杂交中的应用

尽管有多种方法可以探测 DNA 的存在，但是 PDMS 微流控系统在 PCR 的应用中具有更多的优点。比如它的热量传导快，反应体积小，污染少，而且由于 PDMS 微流控芯片具有较高的表面积/体积比，所以可以减少 PCR 的循环时间。PDMS 微流控芯片可以集成高密度的反应单元，因此可以同时进行多个 PCR 反应。如下图所示，PDMS 芯片可以同时进行 400 个 PCR 反应，每个 PCR 的反应体积为 3 纳升。

在基础研究和临床研究中，广泛应用 DNA 杂交技术来辨别基因和突变体，研究它们的相互关系，分析它们的表达。传统的杂交微阵列试验过程中由于没有液体的有效扩散，所以效率较低。PDMS 微流控芯片可以利用它的控制阀对反应液体进

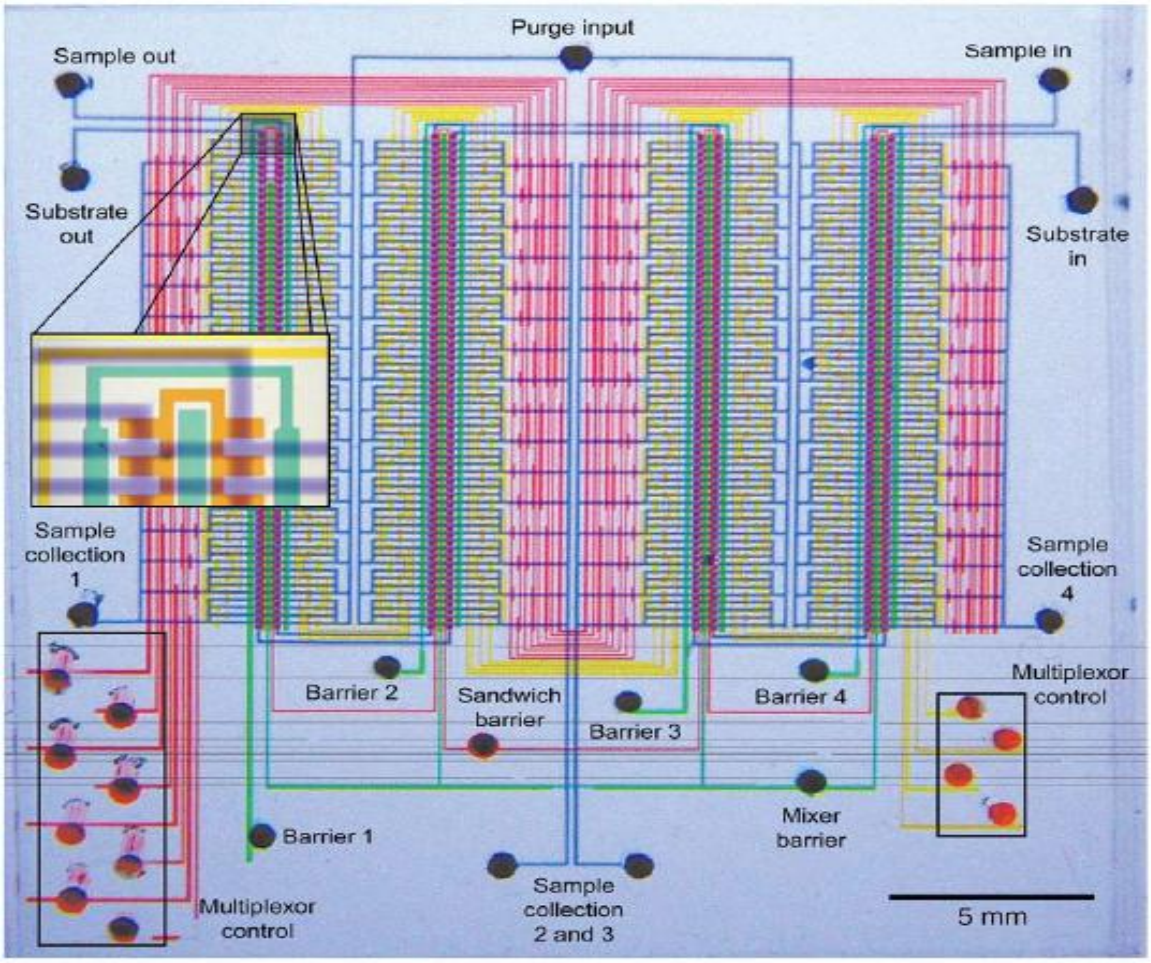


图 6 大规模集成的微流控芯片的光学照片。芯片中有 2056 个控制阀和 256 个可以独立反应的纳升级反应室[14]。

行有效的混合，所以能够很好地提高杂交效率。

3.3 微流控芯片在蛋白结晶研究中的应用

高质量的大分子结晶是结构生物学的一大难题。至今为止没有一种可行的有效的实验方法能够确定结晶的条件。研究多种重要的生物大分子的结构和结晶条件需要大量的实验。这些大量的实验就需要很多反应试剂。因此基于 PDMS 微流控芯片的纳升级的反应将使得结晶实验的研究变得现实。PDMS 微流控芯片能够集成高密度的纳升级的反应室，非常有利于研究生物分子结构的结晶。如图 6 所示，PDMS 微流控芯片可以同时进行 256 纳升级的结晶反应。

在 PDMS 微流控芯片中进行的结晶反应不但可以节省大量的试剂，而且可以研究在自由界面扩散中微米级尺寸范围内的质量传输的物理机制。自由界面扩散对结晶具有至关重要的作用。传统的液体界面是通过向毛细管的两端分别注入微升级得两种液体实现的。这种情况下，第二种液体很容易产生对流，从而导致较差的液相界面。然而微流控芯片不仅可以减少试剂体积，而且可以形成很好的液相界面。如图 7 所示，一个简单的蛋白结晶反应单元，其中可以同时进行三个不同试剂比例的结晶反应。三对微流控反应室，它们之间的液体接触通过它们之间的控制阀来实现。关闭中间界面的控制阀，两个反应室内分别充满反应试剂。开启控制阀，两种液体可以建立很好的液相界面并进行自由扩散。每种试剂的体积由各自的反应室来准确界定。图 7(d)所示为一片具有 48 个反应单元的 PDMS 结晶芯片，也就是说这片芯片可以同时进行 144 个反应。

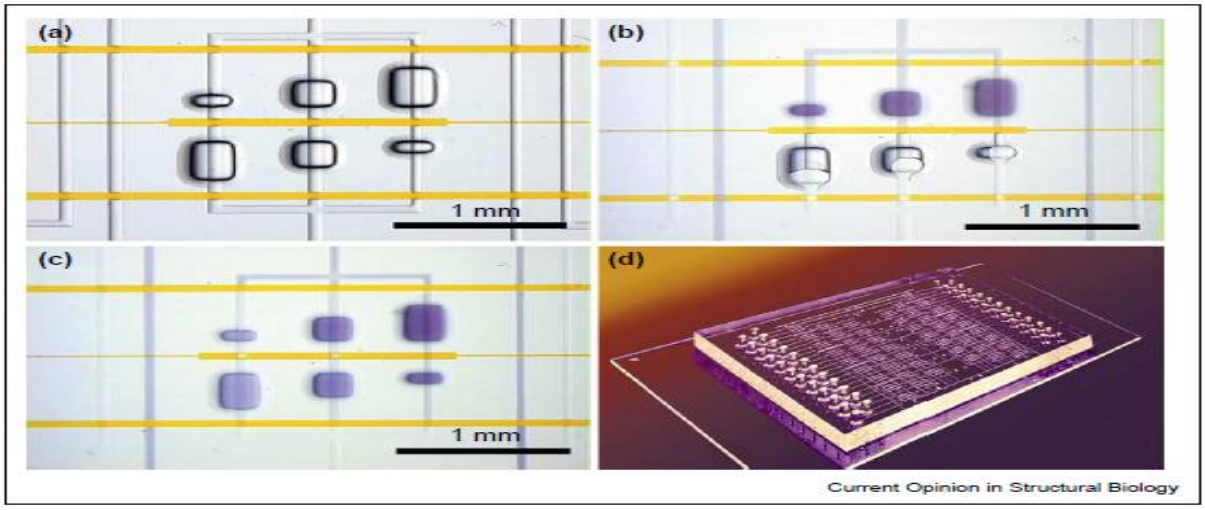


图 7 微流控结晶芯片。(a) 微流控单元可以进行三个不同混合比例的自由界面扩散结晶反应，反应室的体积分别为 5nL，12.5nL 和 20nL，三对反应室的体积比分别为 1:4，1:1 和 4:1。最终的混合体积均为 25 nL。（b）每对反应室之间的控制阀关闭，反应室中分别冲入反应试剂。(c) 每对反应室之间的控制阀开启，两种反应试剂进行扩散 (d) 具有 48 个反应单元的 PDMS 芯片[14]。

利用 PDMS 微流控芯片已经成功地结晶了多种大分子化合物和细胞膜蛋白。而且 PDMS 微流控芯片还可以大大缩短结晶的时间。传统的结晶实验需要一星期才能完成的，PDMS 微流控芯片只需要不到 12 小时就可以结晶了。

3.4 微流控芯片在细胞培养中的应用

细胞的生长受到多种外围环境条件的影响，其中包括培养液的成分和来自相邻细胞的信号。细胞生长的环境影响细胞的繁殖和分化。因此模拟和控制细胞尤其是干细胞的培养条件对生物医学具有很重要的意义。PDMS 微流控细胞培养平台可以结合它小型化和可以实时用显微镜监视的优点微量地变化细胞培养的条件进而研究细胞的生长特征。PDMS 微流控芯片可以培养多种细胞，比如牛的内皮细胞(Bovine endothelial cell)，老鼠的肝细胞，老鼠的胚胎神经细胞，人的神经干细胞和胚胎干细胞。PDMS 芯片可以用来测试不同的培养条件对细胞生长和形变，干细胞分化或维持细胞功能的影响。图 8 所示为一 PDMS 细胞培养微流控芯片。芯片上有 96 个独立的培养室，每个培养室的体积是 60nL。每个培养室可以设定不同细胞培养条件。PDMS 这种材料具有生物兼

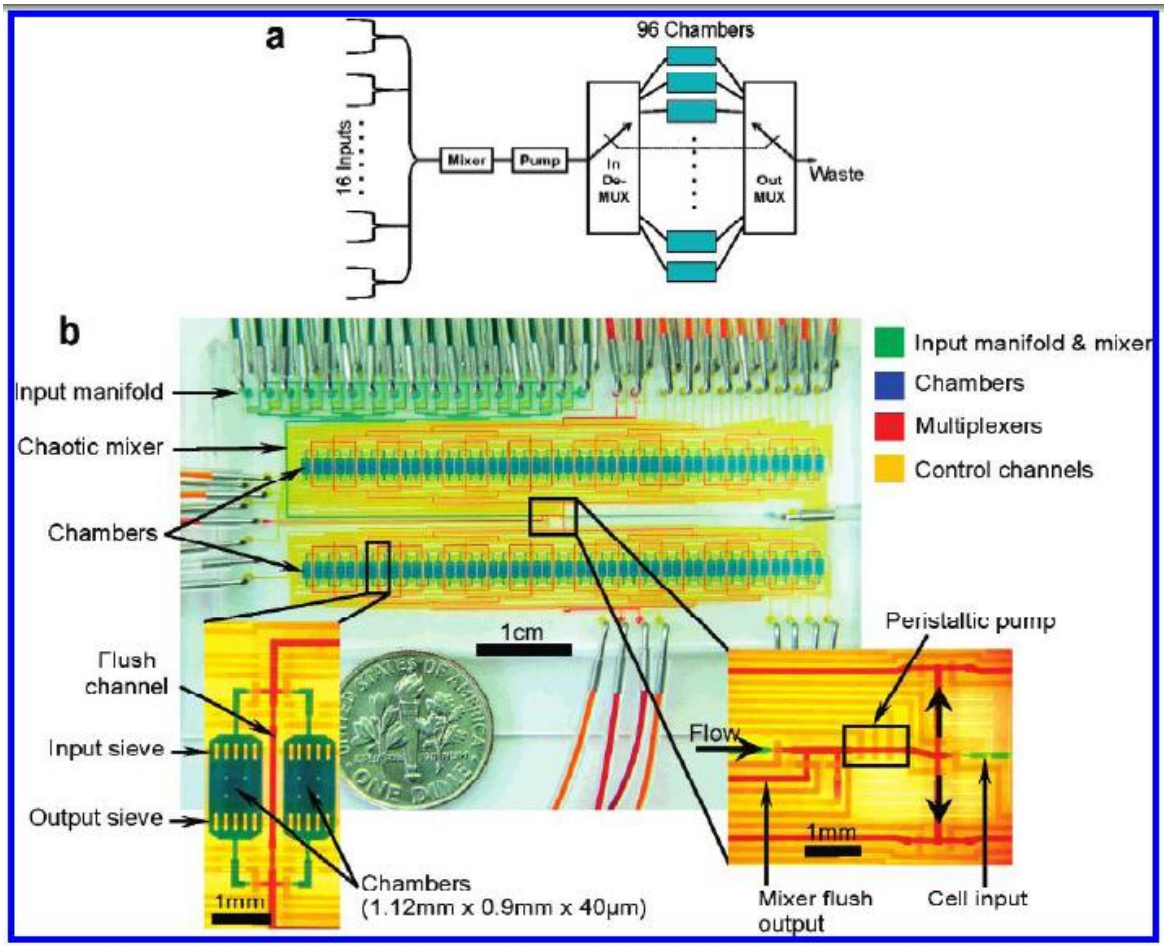


图 8 PDMS 细胞培养微流控芯片。(a)培养芯片液体流通的简化示意图 (b)细胞培养芯片的照片[18]。

容性，而且对氧气和二氧化碳有很好的渗透性。因此可以保证 PDMS 培养室内能够很好的与外界进行气体交换。

在细胞培养室中可以添加感兴趣的药物，进而研究细胞的生长情况。PDMS 微流控芯片可以精确地控制各种试剂或药物的体积。基于 PDMS 微流控芯片的细胞培养对生物医学的研究将提供重要的帮助。

4．总结与展望

PDMS 微流控芯片由于它本身的诸多优点，比如小型化、大规模集成化、纳升级小体积操作性、生物兼容性、制作工艺简单、制作成本低等，可以解决生物医学研究中的多个难题。比如可以研究单细胞的基因组、扩增单个染色体、扩增病体纯 RNA、PCR 及杂交反应、蛋白结晶、细胞培养等等。因此在今后的生物医学研究中将会有越来越多的应用，比如研究各种癌细胞的基因组特异性，或基因组修饰的特异性、进行 DNA 的合成等等。PDMS 微流控芯片将会在生物医医学研究中发挥重大的作用。

参考文献:

1．H．P． Chou, et al., “A microfabricated rotary pump”, Biomedical Microdevices 3:4, pp.323-330, 2001

2. M.A. Unger, et al., “Monolithic Microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography”, Science, vol. 288, pp. 113-116, 2000

3. Y. Marcy, et al., “Nanoliter reactor improve multiple displacement amplification of genomes from single cell”, PLoS Genetics, vol. 3, pp.1702-1708, 2007

4. J.W. Hong, et al., “a nanoliter-scale nucleic acid processor with parallel architecture”, Nature Biotechnology, vol. 2, pp.435-439, 2004

5. J.S. Marcus, et al., “Microfluidic single-cell mRNA isolation and analysis”, Analytical Chemistry, vol. 78, pp.3084-3089, 2006

6. Y. Marcy, et al., “Dissecting biological “dark matter” with single-cell genetic analysis of rare and uncultivated TM7 microbes from the human mouth”, The National Academy of Science of the USA, vol. 104, pp. 11889-11894, 2007

7. X. Xu, et al., “The genomic sequence of the Chinese hamster ovary (CHO)-K1 cell line”, Nature Biotechnology, vol. 29, pp. 735-741, 2011

8. T. Kalisky, et al., “Single-cell genomics”, Nature Methods, vol.8, pp.311-314, 2011

9. J. Liu, et al., “Solving the “World-to-chip” interface problem with a microfluidics matrix”, Analytical Chemistry, vol. 75, pp.4718-4723, 2003

10. E.A. Ottesen, et al., “Microfluidic digital PCR enables multigen analysis of individual environmental bacterial”, Science, vol. 314, pp. 1464-1467, 2006

11, J.S. Marcus, et al., “Parallel picoliter RT-PCR assays using microfluidics”, Analytical Chemistry, vol. 78, pp. 956-958

12. H. C. Fan, et al., “Microfluidic digital PCR enables rapid prenatal diagnosis of fetal aneuploidy”, American Journal of

Obstetrics &Gynecology, vol. 543, pp.543.e1-543.e7, 2009

13, J. Liu, et al., “Enhanced signals and fast nucleic acid hybridization by microfluidics chaotic mixing”, Angew. Chem. Int. Ed., vol. 45, pp. 3618-3623, 2006

14.C. Hansen, et al., “Microfluidics in structural biology: smaller, fater… better”, Current Opinion in Structural Biology, vol. 13, pp. 538-544, 2003

15. C. Hansen, et al., “A robust and scalable microfluidics metering method that allows protein crystal growth by free interface disffusion”, The National Academy of Science of the USA, vol. 99, pp. 16531-16536, 2002

16. D. Gerber, et al., “An in vitro microfluidics approach to generating protein-interaction networks”, Nature Methods, vol.6, pp. 71-74, 2008

17. X.R. Bao, et al., “Variability in G-Protein-coupled signaling studied with Microfluidic devices”, Biophysical Journal, vol.99, pp. 2414-2422, 2010

18. R. Gomez-Sjoberg, et al., “Versatile, fully automated, microfluidics cell culture system”, Analytical Chemistry, vol. 79, pp.8557-8563, 2007

19. R. Gomez-Sjoberg, et al., “Biocompatibility and reduced drug absorption of Sol-Gel –treated poly(dimethyl sloxane) for microfluidics cell culture applications”, Analytical Chemistry, vol. 82, 2010

作者简介：

韩琳，2003 年毕业于山东大学物理与微电子学院，获得理学学士学位，2006 年在清华大学微电子所获硕士学位，2011 年在普林斯顿大学电子工程系获博士学位。2011 年 4 月到耶鲁大学生物医学工程系作博士后。至今为止，发表学术论文 20 余篇，专利四项，在国际学术会议上作过 30 余次报告，并于 2010 年被剑桥大学邀请作学术报告。

生物医药领域中的数据管理

王一容
勃林格殷格翰制药公司，资深商务分析师
Boehringer-Ingelheim Pharmaceutical, Inc. Senior Scientist，Technology Applications,
yirongw@gmail.com

前言

生物医药研发的核心就是试验数据，有效的记录和管理试验数据能够把大量的数据变成有意义的试验结果，从而决定研发的方向。毋庸置疑，科研人员在研发过程中起着举足轻重的作用。在传统的研发过程中，科研人员负责包括设计试验，取得数据，记录数据，分析数据，并依据分析得出试验结论和试验报告。正是因为如此，如何有效地管理数据这个环节往往被忽略了。传统数据管理是一本本的试验室记录本，这种方法存在很多缺点：例如不便搜索，不便管理，容易出错，不便分享，所以耗费人力和时间。而更加致命的缺点是无法有效处理大量的数据和无法进行数据挖掘。为了解决现代医药研发费用高昂，利用计算机管理数据成为降低错误，压缩成本，提高效率，是目前国际医药研发的必然趋势。

办公软件和数据管理

上个世纪 90 年代计算机应用开始普及，最初的医药研发数据管理是使用传统办公软件，例如 Excel，记录和管理所得到试验数据。这种管理方法的优点是：

1. 简便 ——每个会使用办公软件的人都可以熟练的记录试验数据；

2. 成本低 ——几乎所有的试验室和公司都有办公软件；

3. 相对比较容易搜索和分享 ——可以局部搜索并通过文件分享等方法分享数据。

这些优点却也把很多研究人员和管理人员引入误区，认为试验数据数字化可以很轻松的通过这种方法实现。然而使用办公软件管理数据是有很大的局限性的，尤其是随着计算机硬件和试验室设备的飞速发展，生物试验人员可以在短时间内积累大量的试验数据，办公软件的局限性越来越明显。

首先，办公软件不适合储存管理结构复杂的数据。现代试验数据不再是孤立的“数据”，而是相互关联的数据网。试验室之间以及公司内部都有需要实时分享数据，而办公软件储存的数据仅仅是数字化的试验记录本，从本质上讲就继承了试验记录本的许多缺点。最明显的就是不适用于大量数据的管理，尤其是现代生物医药研究领域。

其次，综合数据分析能力不强。由于各种数据独立存储于不同的文件里，相互

不关联，研究人员很难将各类数据综合分析。

另外，由于欧美国家对医药研发数据的法律法规日趋严格，办公软件在数据安全性，数据完整性，数据互动以及数据恢复方面“先天不足”的问题愈发明显。

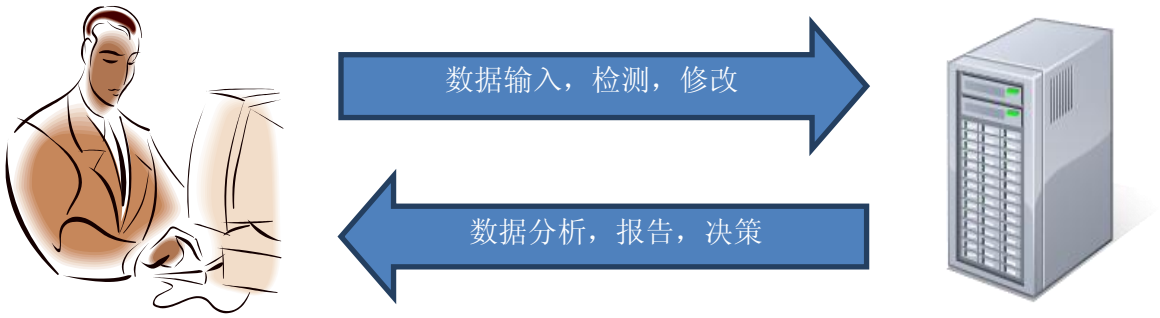
数据库的应用

办公软件的种种局限性使医药研究机构不得不重新寻找更好的数据管理方法。传统的数据库是很自然和显然的选择。与办公软件相比，数据库可以解决办公软件无法储存复杂数据的问题，同时标准化的数据库管理和备份可以在一定程度上保证数据的安全和恢复。但是大多数数据库操作复杂，需要有专业人员维护管理，不方便科研人员输入和导出数据。

21 世纪初，出现了可以直接读取医药研发仪器数据，进而管理分析这些数据而设计的软件前端界面，以此来帮助科研人员使用数据库系统。这样的前端界面和后端的数据库初步形成了比较适合现代生物科研的信息管理体系(如图一)。

这样的信息管理系统可以是单机系统(最简单的形式)，也可以是普通多机系统(服务器/客户两层系统)，或者是复杂多机系统包括数据库服务器/系统服务器/客户三层系统。在非常短的时间内，医药信息工程发展到以实验室系统的工作流程为模板而设计数据管理系统。这样的数据管理系统的复杂程度取决也工作流程本身的复杂程度。越是大型的企业/研究单位，其工作流程就越复杂，所需的信息管理系统也就越复杂。在短短不到 10 年的发展过程中，针对实验流程模块化数据管理成为医药信息工程发展的特色。

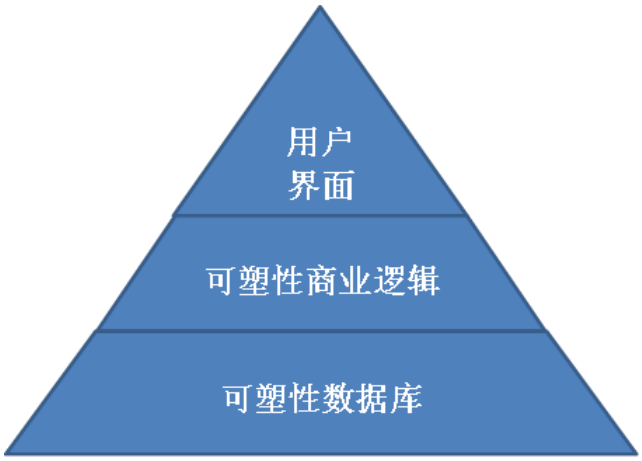
类似的信息管理系统在其他行业，包括制造业，销售行业应用更早也更为广泛。然而他们与医药数据信息管理不同的是，这些行业的工作流程相对简单而且比较固定(即使有些行业的工作流程会有变动，变动的频率也很低），而生物医药行业的工作流程的复杂性和频繁的改变，给医药数据管理提出了一个大的难题。



图一：初级信息管理系统

可塑性信息管理系统

如果想从根本上解决这个的难题，就需要一个可以适应多变工作流程的信息管理系统，也就是一个可塑性信息管理系统。系统的可塑性包括三个部分：一是前端界面可塑性，二是中端商业逻辑可塑性，三是后端数据库可塑性(如图二)。



图二：可塑性信息管理系统

三个部分相辅相成，数据库是核心，也是基础。其可塑性的设计是最重要也是最困难的。商业逻辑和用户界面的可塑性与用户的工作流程紧密相连，其可塑性设计最复杂并且直接影响到系统的可用性。因此，模块化设计的生物医药信息系统对设计者有很高的要求。设计人员必须对医药研发流程有充分的了解、对科研人员的需求有准确的认识、对应用软件设计有系统的规划、对数据库有长期使用经验。最终设计的医药数据管理系统既能够储存分析复杂的实验信息，又能够适应实验室多变繁复的实验过程。

比较理想的数据库类型包括了甲骨文(Oracle)10g 以上版本的数据库和开放代码的(Open Source)MySQL 数据库。在设计最初期，对于小型网络可以使用 SQL Express，也就是 MSSQL 的免费版本。在确定数据库类型和汉化调试后，可根据医药厂商商业逻辑的需要设计软件。目前中国医药厂商生产和研发部门迫切需要的一个功能是数据备份。然而其使用并不局限于数据备份。这种模块的设计最强大的功能主要集中于数据的更改可跟踪性，数据的整体查询和恢复。在此基础上，数据的交叉查询才有可能实现。

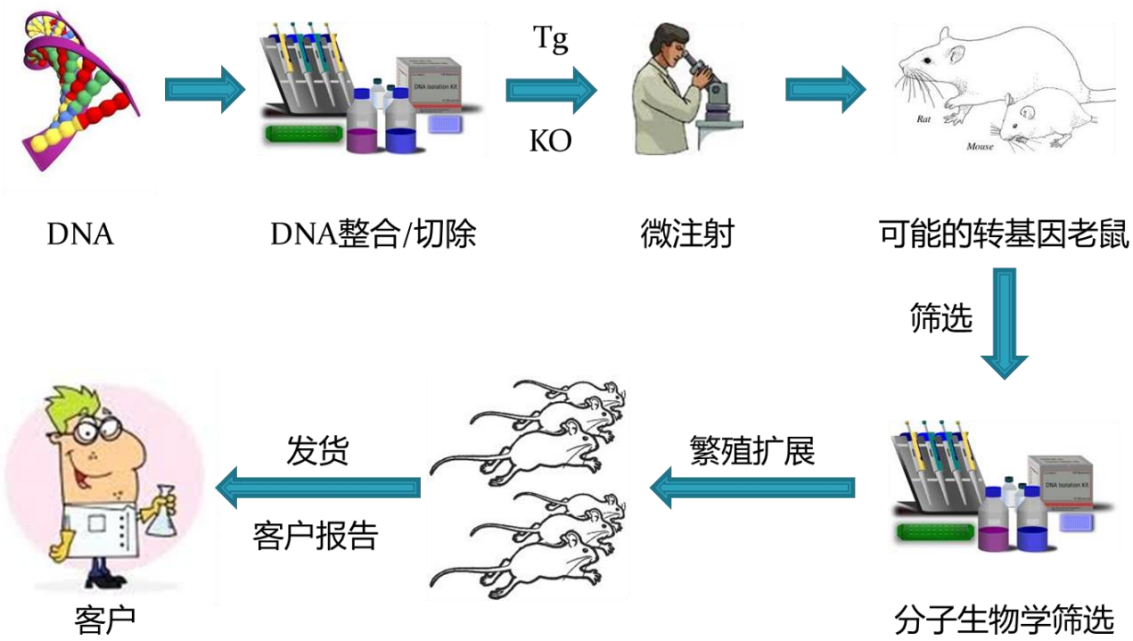
我们可以通过一个“原始数据管理”模块(Raw Data Management - RDM)的设计使用来讲解。当数据产生后，无论是直接存储到仪器操作计算机(Workstation)还是转移存储到文件服务器(File Server)，RDM 都可以在规定时间内将数据捕捉，抓取数据元，压缩储藏到数据库。捕捉到方式可以采取主动的“推”(Push)或者被动的“拉”(Pull)形式完成。由于 RDM 的设计可以涵盖原始数据和分析数据，在实际操作中，一般建议对原始数据使用“拉”的捕捉模式，对文件创造者这个模式属于隐藏性质的(transparency to end users)，保证新生原始数据被捕捉。对于分析数据，由于这部分不是食品药品管理局的重点检查数据，一般建议使用“推”的捕捉模式，也就是由文件创造者根据文件的重要性以及文件可能被审查的可能性来决定是否把文件存入数据库。

当这个文件被存入数据库后，被收集的数据元将作为文件是否被更新的参数同时存入数据库。文件数据元基本要包括文件产生地，文件名，文件类型，文件产生时间(Created Date)文件更改时间(Modified Date)，文件原始路径（File Path)，文件大小等。对于剪切复制(Cut & Paste)的文件，其产生时间往往晚于文件更改时间，而被误解成文件先被更改后来才产生的情况，需要在数据库内标注。文件数据元还应该包括文件的一些可更改属性，例如存档位(Archive Bit)，使用者权限(Privilege)，创建人(Owner)进行修改和保存。被捕捉文件可以以更改存档位

作为文件已经被捕捉到标识*。原始文件的使用权限根据厂商的要求可以更改为只能被阅读(Read-only)，重要的原始文件甚至可以在第一创建人被存入数据库后，被更改为系统帐户。文件保存是否需要被压缩，往往是根据厂商要求和数据库的功能限制决定。(*不同地区的不同法律法规部门，对于文件被捕捉标识有不同的要求。文中只提到速度快的存档位标识方法。而比较复杂的高水位标识 —— High Water Mark，即使用文件产生时间，文件更改时间，文件所在文件夹更改时间的复合标识法，暂不在本案例中讨论。)

由于文件更新后，操作系统会自动恢复存档位，所以对于更新文件数据库会存储更新后的版本。在数据分析和应对法律法规部门检查时，可以选取数据元或通过多个数据元组合，寻查(Query)数据库而得到相关数据。在得到数据后，可以利用相关数据元做初步分析，必要情况下可回装(Restore)所有相关数据做进一步交叉分析。

至于系统的用户界面，则完全由厂商决定。对于已经进入计算机数据管理多年，使用者有相当数据管理培训的厂商，建议使用数据库寻查(Database Query)模式。对于刚刚开始进入计算机数据管理的厂商，建议使用比较接近视窗系统的文件夹寻找模式。由于欧美厂商进入实验室计算机数据管理时间相对较长，而且数据元种类多而复杂，数据量也非常大，目前使用比较广泛的，具有代表性的是“沃特世-Waters”公司的科学数据管理系统(Scientific Data Management System–SDMS)就使用数据库寻查模式并要求配备专门 IT 人员对数据捕捉，回装，及统一分析做管理。而针对相对单一类型文件，如安捷伦(Agilent)的化学站



图三：转基因动物生产流程

(ChemStation)软件，及不具备数据管理的实验室人员使用的管理系统，开放实验室(Open Lab)则采用文件夹寻找模式，也广受实验人员欢迎。

模块化信息管理系统实例

本文介绍的这一系统用于转基因动物生产流程。使用该系统之前，该公司的数据管理处于非常初级阶段：

1. 数据分散于 Excel，实验记录本，以及多个独立的 Access 中。
2. 数据管理过程中有多次的重复数据输入，分析，打印，再输入，分析，打印的过程。
3. 实验员花费大量时间准备实验报告
4. 管理人员耗费大量精力收集实验数据，检测实验结果，准备客户报告。
5. 数据没有复制和恢复功能。

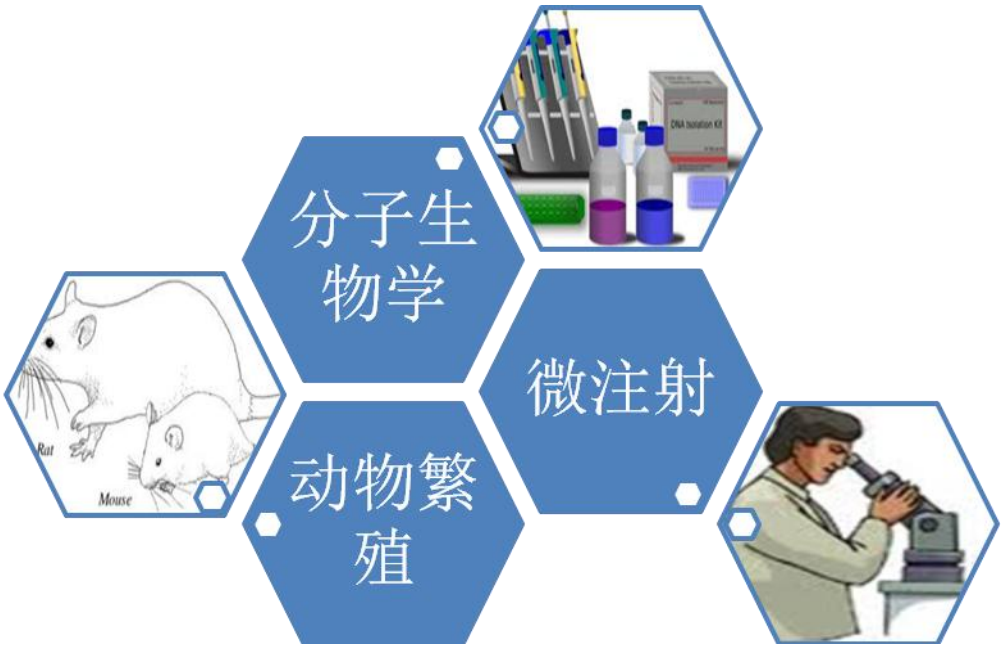
为了解决以上问题，进一步提高信息的管理和应用水平，信息工程人员设计了一个完整的信息管理平台来控制所有的信息流。此平台是根据该公司的生产流程(如图三)而设计的。

从图三这一简化的流程可以看出整个生产过程的复杂性。同时也可以看出流程中的模块特性，还有根据此特性，而提出了模块化设计模式(如图四)。

此种设计不仅可以解决上述的数据管理问题，而且使系统具有足够的灵活性，以便适应不断变化的操作流程。模块化设计还可以简化将来的系统设计。新的信息系统可以基于现有的系统而且系统设计的模块可以重复使用。

总结

综上所述，模块化信息管理系统可以大幅度提高现代研究机构的信息处理效率，更好的保存和管理宝贵的实验数据。此系统具有办公软件的简便易用的特点，



图四：模块化设计方案

又保留了数据库的复杂数据结构，为进一步的数据分析和挖掘提供了坚实的基础。

后记

本文介绍的系统目前为一个跨国生物技术公司所使用。具体的系统设计受知识产权保护，是无法公开的。但是本文介绍的设计思想可以广泛用于生物医药领域。

作者简介：

王一容，勃林格殷格翰制药公司，资深商务分析师（Boehringer-Ingelheim Pharmaceutical, Inc.，Senior Scientist，Technology Applications）。毕业于北京大学微生物系，并拥有计算机信息学硕士学位。十几年来潜心研究数据管理和数据挖掘在生物医药领域的应用，首先提出模块化系统设计理念。在他的领导下，为富比士（Fortune）100 强的跨国企业成功的完成了多个大型的数据系统整合管理系统，极大的推动了数据系统现代化在医药领域的应用。

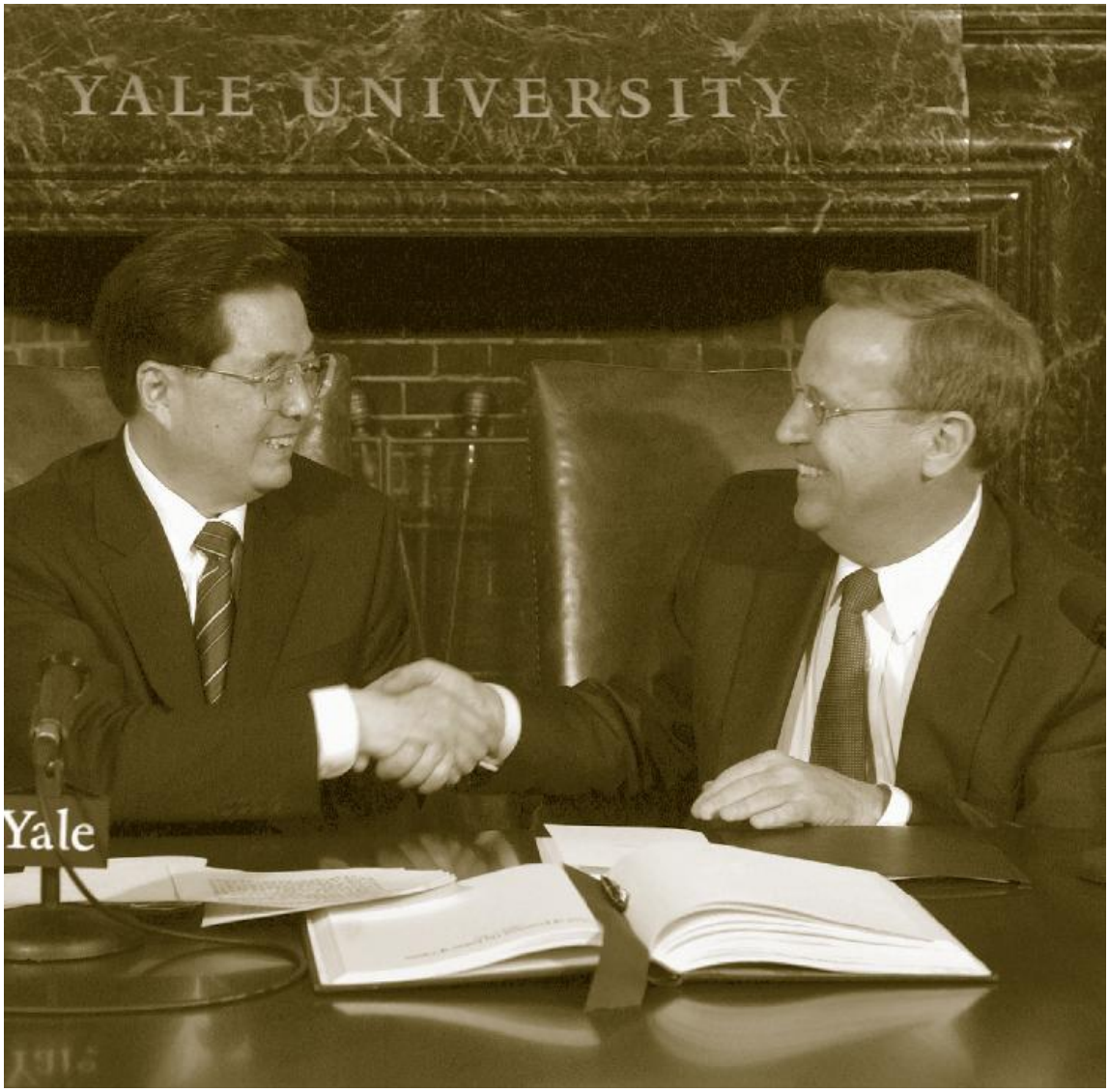
中美交流合作的重要桥梁

------ 耶鲁大学

王芳

耶鲁大学助理校务卿

耶鲁大学自创建至今已 311 年。三百多年来，耶鲁秉承追求卓越的原则，不断加强自我建设，努力打造成一所全球性大学。目前，大约有 650 名耶鲁的教授和研



图注：耶鲁大学校长雷文(Richard C. Levin)博士(右)欢迎胡锦涛主席(左)到耶鲁访问。

究人员参与了近 1000 国际研究合作项目。其中耶鲁在中国的学术合作(包括协作研究和独立研究)已有 115 项。耶鲁 26 所院系和中国大陆的 62 所高校、政府机构或独立研究机构建立了伙伴关系，并建立了 24 个研究点，从辽宁到新疆、从北京到香港，遍布大江南北。

耶鲁与中国的交往渊源始于一八五〇年中国第一个美国留学生容闳考进耶鲁大学那一时刻。“湘雅医学专门学校”(即原“湖南医科大学”，今“中南大学湘雅医学院”的前身)就是由耶鲁毕业生所创立的“雅礼协会”(“Yale—in—China”，1901 年)与湖南地方政府于1913 年所共同创建。而 2006 年胡锦涛主席在耶鲁的历史学性的访问，是耶鲁大学与中国开展了全方位合作的里程碑。除教学、科研外，耶鲁与中国政府联合举办高层次领导研讨班，继承并发扬了耶鲁“培养领袖人才”的光荣传统。

中国国家主席胡锦涛对耶鲁进行历史性访问

2006 年 4 月 21 日，胡锦涛主席对六百名耶鲁的学生、教授和管理行政人员就中国的经济和社会发展问题发表了讲话，这是中国国家元首在海外的讲话首次向中国现场直播。胡锦涛主席对耶鲁的访问是他此次来访美国仅有的三个目的地之一，

图注：胡锦涛主席(右一)在耶鲁大学向耶鲁校长雷文(Richard C. Levin)博士(右二)展示其所赠图书。左一为本文作者耶鲁大学助理校务卿王芳女士。

另外两个是波音总部和白宫。在向全校发表讲话以前，胡主席与雷文(Richard C. Levin)校长参加了一个互赠礼物的仪式。胡主席向耶鲁捐赠了 1346 卷涵盖人文和社会科学众多学科的中、英文图书，极大地丰富了耶鲁东亚图书馆的藏书。雷文校长向胡主席回赠了耶鲁校友容闳的画像和一本当年容闳赠送给耶鲁大学的图书。容闳是美国高等学校首位获得学位的中国人，代表着耶鲁和中国之间深厚和悠久关系。

耶鲁大学百人代表团访华

在 2006 年 4 月对耶鲁的访问中，胡主席以个人的名义邀请耶鲁大学一百位师生访华。耶鲁大学代表团于 2007 年 5 月在中国进行了为期十天的正式访问。胡主席在北京热情欢迎代表团的到来，随后代表团成员在人民大会堂参加了正式的招待宴会。代表团一行访问了北京大学、清华大学，复旦大学和西安交通大学。除了与中国 的学生学者交流之外，代表团成员还与政府官员会谈，并且游览了北京、上海和古城西安的主要文化和历史景点。

耶鲁大学五十人代表团访华

中国国务委员刘延东女士 2009 年 4 月访问耶鲁时邀请 50 名研究生访问中国。研究生院的 14 名学生和各专业学院的 34 名学生在中国进行了为期十天的文化和语言学习。他们访问了三所大学：北京外国语大学、复旦大学和华东师范大学，参观了天安门广场、长城、故宫、上海博物馆和东方明珠电视塔。除了每天的汉语课程之外，代表团成员还学习了中国书法，练习包饺子。为了增进对中国文化的了解，代表团一行与所访问学校的学生学者交流，并与当地家庭共进晚餐。

耶鲁大学高级领导研讨班项目

耶鲁大学的许多专科学院都参与了中国领导研讨班项目，培训包括政府机关领导、医院及地方环保机构负责人及高校领导在内的众多中国领导者和专业人士。

中国—耶鲁大学高级领导人才研讨班

耶鲁大学与中国教育部合作，于 2004 年首次举办大学高级领导人才研讨班，参加者为众多中国重点大学的校长及副校长。1998 年江泽民主席提出将少数中国大学办成世界一流大学，2003 年，前教育部部长、国务委员、现任人大常委会副委员长陈至立女士请雷文校长为中国的大学高级领导人才创建研讨班。研讨班利用讲座、案例研究和模拟展示了美国知名研究型大学中的主要管理职能的目标和具体实施方法。耶鲁的教学人员及行政领导与中国的同行们就美国研究型大学所面临的主要课题进行了研讨，其中包括人文教育、学术评论、教学人员的任用程序以及包括资金筹备和战略规划在内的行政实践。该研讨班旨在介绍中国可借鉴的美国模式和最优实践。该研讨班的第一、二期在纽黑文举办，第三期在厦门，第四期在西安，第五期于 2009 年秋季在纽黑文举办。

中国—耶鲁高级公务员研讨班

此项目是目前中国在海外设立的最高级别的政府领导培训项目，首届研讨班于

2005 年举办。该项目在最早的三年是耶鲁大学通过中国法律中心与中国国家行政学院合作举办的，重点关注－依法行政的有关问题。中央党校于 2009 年成为耶鲁大学的合作伙伴。参加项目的耶鲁大学的校友和其他专家包括美国总统 G. W. 布什，两名美国最高法院大法官，现任和前任美国部长级官员，纽约州州长和联合国秘书长。他们与耶鲁大学法学院、管理学院、森林与环境学院及文理学院的一流学者联合制定了该研讨班的具体内容。研讨班成员和授课者共同探讨了美国的治理和管制经验，提高对美国在法律、公共政策等重要问题上的最佳思维方式的理解。在完成研讨班的学习之后，十五名学员晋升到更高层的领导岗位。由于项目的成功举办以及研讨班成员的积极反馈，耶鲁正与中国的合作伙伴商讨如何延续此项目。

耶鲁—清华环境与可持续发展领导培训项目

耶鲁森林与环境学院和清华大学以及中国市长协会合作建立了为期三年的领导培训项目，帮助负责城市规划与发展的中国地方官员推广可持续的经济发展。该项目主要面向市长和 副市长，但参与者也包括国家级和省级政府官员和其他负责城市规划与发展的人士。研讨班成员首先在清华大学和耶鲁大学各进行三天的讨论会，然后在美国进行为期十天的实地考察培训。通过讲座、案例分析和实地考察，环境与可持续发展领导培训项目主要关注以下三个方面的议题：

环境与可持续发展的挑战与机遇；

土地使用规划、社会生态和企业生态的理念及其对城市规划与政策的影响；

可持续发展理念在城市规划中的应用，例如，水供给和质量、能源、降低污染、垃圾处理和其他重要的城市环境问题。

环境与可持续发展领导培训项目的前三期研讨班已于 2004 至 2006 年顺利完成，项目的成功使耶鲁大学和清华大学决定再举办三期研讨班。

中国发展中的女性领导者耶鲁大学高级研究班

耶鲁大学与中华全国妇女联合会合作，于 2010 年举办首期发展中的女性领导者高级研究班。研究班旨在提高中国高层女性领导者的领导能力，增进耶鲁大学和中国的合作，建立耶鲁大学在女性领导能力培训方面的旗舰地位。首期研究班成员包括中国省部级党政女性领导和国有企业和金融机构的高层女性管理者。鉴于中国对优秀领导者的需求、女性领导力的独特挑战以及耶鲁大学的学术优势，研究班重点讨论公共政策和管理中的女性领导能力。在中国进行为期一周的培训后，研究班成员在耶鲁大学学习政府管理、公共政策、社会发展、谈判和领导技巧。课堂培训之后，研究班成员前往纽约和华盛顿特区参观访问，与美国政府官员和商界领袖交流。

耶鲁与中国的学术合作项目概述

目前，耶鲁在中国进行中的学术合作(包括协作研究和独立研究)已有 115 项。

耶鲁 26 所院系和中国大陆的 62 所高校、政府机构或独立研究机构建立了伙伴关系，并且建立了 24 个研究点，遍布于从辽宁到新疆、从北京到香港的中国各地。

耶鲁教授在中国从事科研、教育、培训等许多领域的一百多项合作项目。他们中的许多人是耶鲁麦克米兰国际与地区研究中心下属的东亚研究中心的中国专家，其他教授来自法学院、医学院、森林与环境学院、管理学院、建筑学院和其他专业学院。合作项目的详细资料可通过“耶鲁与世界”网页获得(http://www.world.yale.edu)，以上的简介仅为目前正在开展的广泛的合作项目的一部分。

作者简介（编者注）：

本文作者耶鲁大学助理校务卿王芳(Wang，Fawn)女士，多年来一直专责耶鲁大学与中国的合作与交流项目。她参与了目前耶鲁大学与中国在各层面之间所有的六十七个合作项目。对于高端层面的合作项目，她的努力则贯穿在整个过程，从项目的提出、推动到具体操作的每个环节乃至其中的细节。这些项目包括外界关注度颇高的耶鲁与中国国家行政学院合作的高级公务员研讨班、与中国教育部合作的大学校长研讨班、与国资委合作的国营大型企业总裁研讨班，这三个项目涉及行政、教育、经济等诸多领域。她也因此赢得了校长雷文对她“耶鲁的大使”的赞誉。

孜孜不倦，毕生求索

---- 薛社普院士传记摘编

陈克铨

北京协和医学院细胞生物学

学术轨迹

薛社普是国内外著名的细胞生物学家、实验胚胎学家和生殖生物学家，中国科学院院士。七十年来，他全身心地投入到“细胞分化可调控性”的研究，留给我们的不仅仅是独创的思路和成果，更多的是如何做事、如何做人的启示。

20 世纪 30 年代，在就读国立中央大学期间，薛社普被王希成教授精彩的实验胚胎学课所吸引，对细胞分化产生了兴趣。受精卵是如何通过连续不断的细胞增殖、分化，形成胚胎乃至出生为一个新的个体？一个受精卵是怎样分化成 200 多种不同的细胞，构成人体的不同组织和器官，执行不同的功能，又彼此协同整合为

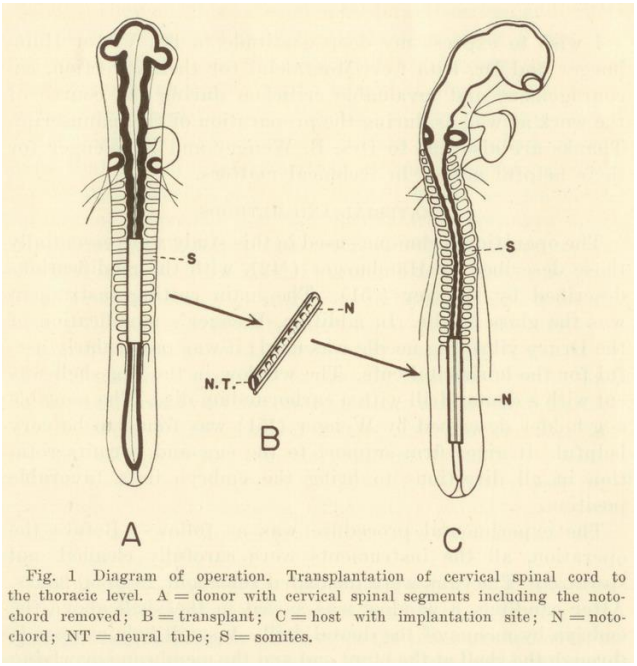


Fig. 1 Diagram of operation. Transplantation of cervical spinal cord to the thoracic level. A = donor with cervical spinal segments including the notochord removed; B = transplant; C = host with implantation site; N = notochord; NT = neural tube; S = somites.

图 1 鸡胚脊髓移植手术示意图

（将神经管 B 自鸡胚脊髓颈段移植到胸段）

（引自 P Shieh，The neoformation of preganglionic type in the cervical spinal cord of the chick embryo following its transplantation to the thoracic level J. Exp. Zool,117:359-395.1951）

一个有机的、各具特性的个体？其中的许多问题使他入了迷。

40 年代，薛社普到美国攻读博士学位，在“神经发生学之父”汉布格(Viktor Hamburger)教授的指导下，以准确的显微镜下脊髓移植手术(图 1)，论证了神经细胞的生长、退化和分化可在一定条件下予以调控，从而开始质疑“一旦分化为特定细胞就不能逆转”的传统观点。

50 年代，在抗美援朝激起的爱国热忱下，他提前半年完成博士论文答辩并立即归国。应沈其震院长的邀请，赴大连医学院任教，后又被沈其震点名调到北京，接着出任中国医学科学院实验医学研究所实验形态学系副主任，在那期间他建成了中国第一个实验鸡胚实验室和第一个同位素放射自显影实验室，为探索胚胎细胞正常分化与恶性变的不同规律累积了大量资料，并在 60 年代初期提出了“细胞增殖与分化存在可调控性”的科学观点。

60 年代后期，由于十年动乱的干扰，他被下放到“五七干校”。胚胎学家当了两年猪倌，却把猪养得特别好。这段经历使薛社普的科研思路发生了改变，想到要联系控制人口和常见病，如肿瘤等，把解决人民大众的疾苦融入到他的科研工作中。

70 年代至 80 年代，薛社普回到中国医学科学院开始大展身手，在中国首创的男性节育药棉酚(Gossypol)的研究中，在国内第一个用放射自显影术开展药代动力学研究，提出了棉酚抗精子发生的作用机理假说。使棉酚成为了我国牵动国际男性节育科研的领头课题。世界卫生组织(WHO)和美国人口委员会高度重视，邀请薛社普进行国际学术交流科研协作。(图 2)

90 年代，可以说是薛社普科研生涯的鼎盛时期，一方面从棉酚抗精子发生的作用机理到系统地研究精子的细胞分化规

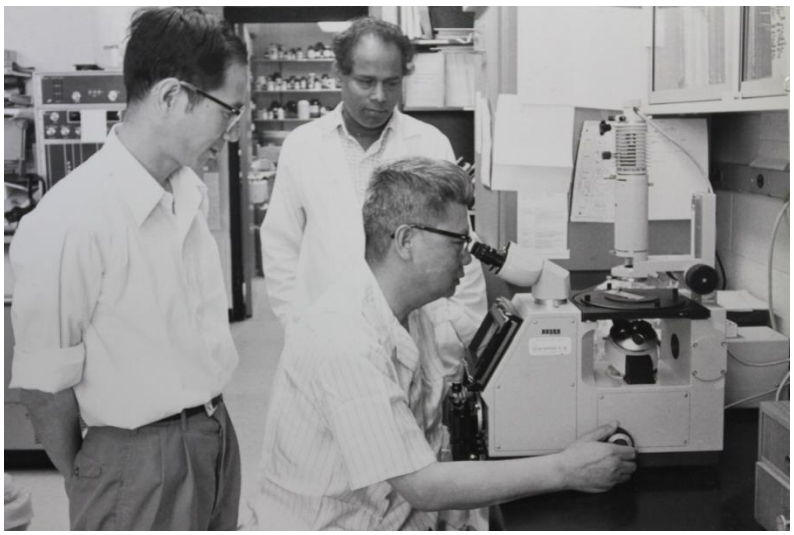


图 2 1981 年薛社普（正在作显微镜下观察）应美国人口委员会洛氏基金会邀请访问美加，就生殖生物学及男性节育药棉酚与同行进行交流

律，另一方面，从对单倍体精子细胞分化的深入探讨，扩展到对不含核的红细胞分化的调控研究，在国内外首创胞质体杂交模型，发现并命名了“红细胞分化去核因子”，提出了红细胞分化去核因子是哺乳类红细胞自然排核产物的假说，力求为细胞分化理论及防治肿瘤提供实验依据。

薛社普以 83 岁高龄跨进 21 世纪，他对细胞分化调控的研究热情丝毫不减，只是从第一线指挥转成在第二线指导。同时，他深入总结分析已经有的阶段成果，撰写综合性论文在国际期刊上发表(2006 年)，引起国际学术界的广泛关注。特别应该提到的是，早在 1993 年，他就手写了细胞重编程的研究计划，但未能如愿；2008 年，细胞重编程被 Science 杂志评为当年十大科学进展中第一位，他立即结合既往的研究进展，又起草了富有创建性的新研究方案。

七十年来薛社普对细胞分化调控研究的发现，与当今生命科学最热的课题—干细胞研究殊途同归，又另辟蹊径。

科研征程中的启示

薛社普将他的科学研究概括为十个字：“一个思路，两个细胞材料。”围绕这十个字，他付出了 70 个春秋的耕耘—收获—再耕耘，并企盼着未来的再收获。这里的“一个思路”，指的是以我为主开展细胞分化可调控性研究的思路，“两个细胞材料”，指的是精子细胞和红细胞。薛社普将这两个细胞的来龙去脉反复考察了许多遍，用它们来探究国际上一直关注的热点、迄今尚未解决的细胞分化可调控性问题，而且将细胞的增殖、分化、去分化(恶性变)、再分化(恶性逆转)顺理成章地联结在一起，使他的科研同时涉及到细胞分化及癌变两大领域，达到了有所发现，有所发明，有所创造。可以说，“一个思路，两个细胞材料”是薛社普毕生学术事业轨迹的主轴，从这个主轴派生出许许多多的人和事，产生了令人难忘的故事，留下了催人奋进的精神和哲理。值得我们仔细品味。

第一节 兴趣是动力，机遇是条件

薛社普从小就是个兴趣广泛的人。少年时期喜欢跟随祖父爬山游览，中学阶段积极参加游泳、摄影等各种兴趣小组活动，又爱上了校园内外的动植物，中央大学王希成教授生动的讲课使他对《实验胚胎学》着了迷。以致他到美国留学，从芝加哥大学到华盛顿大学，最后还是选择了他感兴趣的实验胚胎学。

他考取公费留美以后，起初申请去深造的是芝加哥大学动物系，导师选择的是著名的神经生物学家 Paul Weiss 教授，但是他还是对实验胚胎学情有独钟，被 Paul 发现和理解，将他推荐给神经发生学权威 Hamburger 教授，Hamburger 教授也是实验胚胎学家，写过颇具影响的专著《实验胚胎手册》，薛社普喜出望外。由此可见，兴趣，或者说是着了迷的事，或者说是好奇心，对一个人有多么的重要！它是一种力量，巨大的推动力。凭藉着这股兴趣，薛社普查阅了大量文献，熟练了相应的技术方法，特别是掌握了 Hamburger 认为很难的鸡胚神经管显微移植技术，完成了导师们非常满意的博士学位论文；并在这个过程中，用自己的实验

结果对传统观念提出了质疑，认为在一定的环境条件下，原定的细胞分化命运可以改变，那种“已经分化为特定细胞就不能逆转”的传统观点值得商榷。薛社普说：“这是我从事科研的初尝硕果和对细胞分化可调控性假说的萌芽。”(图 3)

兴趣一旦收获了“初尝硕果”的喜悦，就会引起更大的兴趣。回国初期，在大连医学院，在中央卫生研究院，薛社普利用宽松自由的环境，继续了他独立的学术研究，用他已经熟悉的实验胚胎学知识和技术，开展了鸡胚不同胚区、不同胚层的细胞分化以及其诱导的研究，**证实了他在博士论文中提出的假设**。他进而提出了“细胞增殖与分化存在可调控性”的科学**观点**。在此期间，薛社普在中国首先建立了鸡胚实验室，第一个建成了放射自显影实验室，最早发表了同位素放射自显影的论文。(图 4)

即使在文化大革命期间，他开展的鸡胚实验受到批判：“臭鸡蛋跟医学有什么关系？”薛社普还是没有动摇他的兴趣，没有动摇他“细胞分化可调控性”的研究方向。但是做了必要的因时因地的调整，

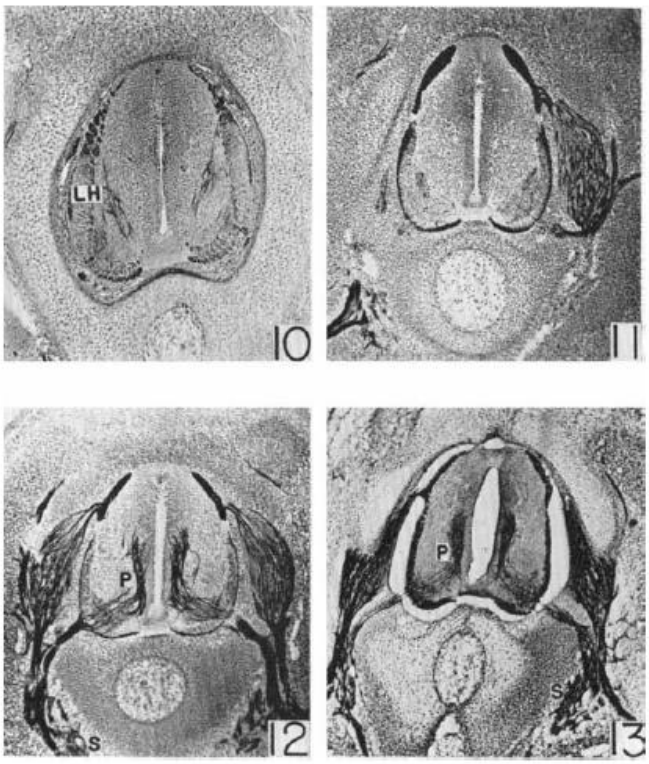


图 3　鸡胚神经管显微移植

(上排为正常颈段脊髓，左下为正常胸段脊髓，右下为颈段脊髓移植至胸段后，形态与胸段脊髓相似)

(引自 Shieh(Xue)，P．．The neoformation of preganglionic type in the cervical spinal cord of the chick embryo following its transplantation to the thoracic level.J Exp Zool, 1951；117:359-395)

将他的兴趣自觉地与医学实践及国情需要紧密结合起来了。在兴趣之外，多了一份责任心，责任心也是成功的动力。薛社普从此大显身手，20 世纪 80 年代以后，进入了他科研生涯的鼎盛时期。

毫无疑问，单有兴趣很可能只是一厢情愿，甚至可能是异想天开。兴趣必须得到检验，为此常常期待碰到机遇。薛社普很幸运，他能够对“已经分化为特定细胞就不能逆转”的传统观点提出质疑，是他抓住了在 Hamburger 实验室的机遇。但是另一方面，他又不无感慨地说：“从更高的逻辑水平上看，我当时只是揭示了客观存在的颈区脊髓流产交感节前神经柱和神经细胞分化的可调控性规律，忽视了这些细胞在神经管分化至一定阶段时便自动退化死亡(现称之为程序性死亡或凋亡)的另一面自然现象，错过了发现细胞程序性死亡这一自然规律的机遇。如果当时(1950 年)能意识到这个问题的重要性而予以实验研究的话，则在 20 世纪 50 年代便有可能发现细胞程序性死亡的规律，而不用等到 80 年代了。”[2]可见，机遇是成功的重要条件，科学家要学会“抓住机遇”，稍不留意，机遇是很可能从手指缝里溜走的。同时，我们的家长、老师、学校、社会应该为科学家创造各种自由发展的时间和空间机遇。

如果不是沈其震苏联考察回来，将勒伯辛斯卡娅的“活质学说”资料交给薛社普，并且建议薛社普跟她合作，中国第一篇放射自显影的学术论文不会见于 1958 年；如果没有棉酚抗生育机理研究的任务，薛社普就不会注意到，口服棉酚后，变态分化期精子细胞损伤最严重，最后死亡脱落，导致生精过程中断[3]，也就不会深入到对精子细胞分化调控的研究；更引起不了对红细胞的关注，又何谈“一个思路，两个细胞材料”的命题。

成功在于，薛社普抓住了机遇，而且抓住不放。“抓而不紧，等于不抓”。苹果从树上掉下来的现象谁没有看到？偏偏只有牛顿从中发现了自由落体定律；红细胞没有细胞核但具有携带氧气和二氧化碳的功能，精子细胞核不是通常的圆形或椭圆形而是长形，这些是每个学过生物学的

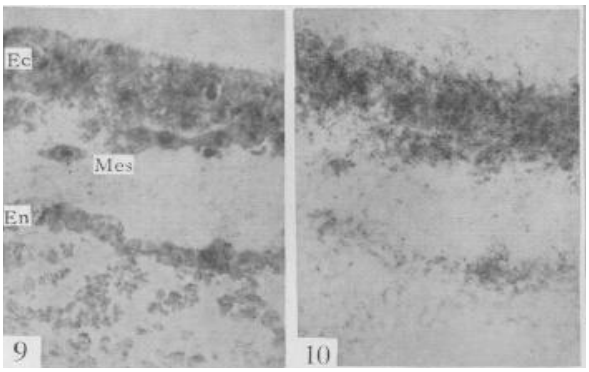


图 4 鸡胚发育中细胞与卵黄的放射自显影研究

(HE 染色[左]与放射自显影[右]照片对比，三胚层[Ec、Mes、En]上都显示有放射自显影颗粒，而最下方的卵黄球中没有自显影颗粒)

(引自薛社普，蒲以森：鸡胚发育期中细胞与卵黄对放射性硫(S35)-蛋氨酸摄取的对比研究，解剖学报，3(2):69. 1958)

人都知道的常识，偏偏只是薛社普把这看似两个毫无关联的细胞联系起来了，抓住了它们核浓缩的共性，成为了他手中研究细胞分化的典型材料。机遇对每个人是平等的，但有人发现了，抓住了，有人视而不见，轻易地丢失了。薛社普一直没有忘记 Hamburger 教授的一席话，那是 1990 年，薛社普回母校华盛顿大学探望恩师，恩师谈及他的两个学生 S.Cohen 和 Levi-Montalcini 获得了诺贝尔奖的时候，Hamburger 教授说：“只是您的师兄 E.D.Bueker 有点可惜了，其实是他最早观察到 NGF(神经生长因子)现象的，他毕业后‘下海’了，没有珍惜难得的机遇继续做下去而失之交臂。我让 Levi-Montalcini 继续做下去，她把握机遇，锲而不舍，最后取得了创新发现。”薛社普还引述了著名微生物学家巴斯德的一句名言：“在观察的领域中，机遇只是偏爱那些有准备的头脑。”

这是薛社普学术成长史上给予我们的一点启示。

第二节 勤奋是基础 创新是核心

薛社普在回顾他人生历程的时候，总结了三点体会，“一是求学时代的贫困和战火连天的艰辛岁月，锻炼了独立思考解决生活问题和树立了“科学救国”，走科学道路的志趣；二是有良师益友的教导，切磋协作和良好机缘，探索和塑造了自己的科研思维经验；三是靠自己的敬业勤奋学习，求真务实不气馁，执着求索钻研。”事实就是如此，勤奋陪伴了薛社普一生。

他九岁才就读小学一年级，年年学冠全年级，以优异成绩考进广东省最好的广雅中学，又以优异成绩考入国立中央大学，靠的是什么？透过薛社普给我们讲的故事，我们感到，勤奋是最基本的原因。他是寄养在姑母家上小学的，父亲在加拿大打工，生母已经去世，没有来自家庭的学习压力；比别的同学年龄大，穿的也比别的同学差，甚至被别的同学看不起，倒是贫困给了他一种动力：“一定要干出一番事业来”。在姑母家，总得下田劳动，也得打渔卖鱼，往往会拉下点功课，靠勤奋把失去的时间补回来；英语的口语不好，他会和同学到广雅校园里的亭阁后面练习对话，比别人多付出；大学一年级就开始做兼职中学教师，留学美国也不得不靠餐馆打工、绘制插图解决自己的生活费。薛社普的生活一直很清苦，但他不怕苦，吃得了苦，甚至会苦中作乐，唯一的对策就是勤奋。

对薛社普来说，勤奋不仅仅是吃苦，不仅仅是单纯的时间和体力的付出，不仅仅是夜以继日地学习、学习、再学习，工作、工作再工作。更主要的是，他勤于思考，善于发现，长于分析，巧于解决。这些还是源于 Hamburger 教授的影响。在薛社普就读博士学位期间，Hamburger 教授经常提醒他的一句话是：“要善于入微地观察，要抓住与正常时间、空间关系有变异的发生环节，多剖析，多思考，发现问题，寻根究底……”薛社普说，“他的这些科研思维经验、方法修养和治学作风给我印象极深。成为我科研生涯中 l 治学育人的准则。”让我们从棉酚课题的设计

和实践，看一看一位老师是怎样影响着学生的。

棉酚是从生棉油中提取的抗男性生育有效成分，薛社普于 1970 年开始了这项研究。在他主编的《男用节育药棉酚的实验研究》[4] 里，他汇编了十来年内他们撰写的 46 篇学术论文，从中不难看出薛社普的科研思维，他是如何勤于思考、发现问题、寻根究底的。

首先，要验证棉酚的抗生育作用。他运用了经典的形态学、生物化学、生理学和遗传学的实验手段，又采用了当时最新的一些技术方法，如放射自显影术、液闪测量；组织化学及超微细胞化学；显微分光光度术、荧光免疫、凝胶电泳、受体探测；生精细胞的分离与培养；亚细胞组分的超速离心分离；线粒体呼吸及氧化磷酸化功能的测定等等，对多种动物乃至志愿者进行了研究。实验的结果是肯定的，棉酚确实有抗生育的功能。接着，他要回答棉酚会不会产生“三致”(致癌、致畸、致突变)效应。通过对染色体畸变，显性致死突变、姐妹染色单体互换率、Ames 测验和子代观察五项指标的实验分析，没有发现与正常对照组有明显差异，表示在节育剂量下是安全的。他还做药代动力学和棉酚毒副作用的实验观察。从他的科研记录本、他亲笔写的科研计划书和结题报告中，不难看出他的勤奋工作和勤于思考。

计划生育是中国的国策，薛社普和他的团队是其中的一支科研骨干队伍。薛社普有这样的特点，他在设计课题的时候，不仅要预测实验的结果，而且包含了足以解释预期结果的相关实验，因而他的结果更加令人信服，更具权威性。凡是重要课

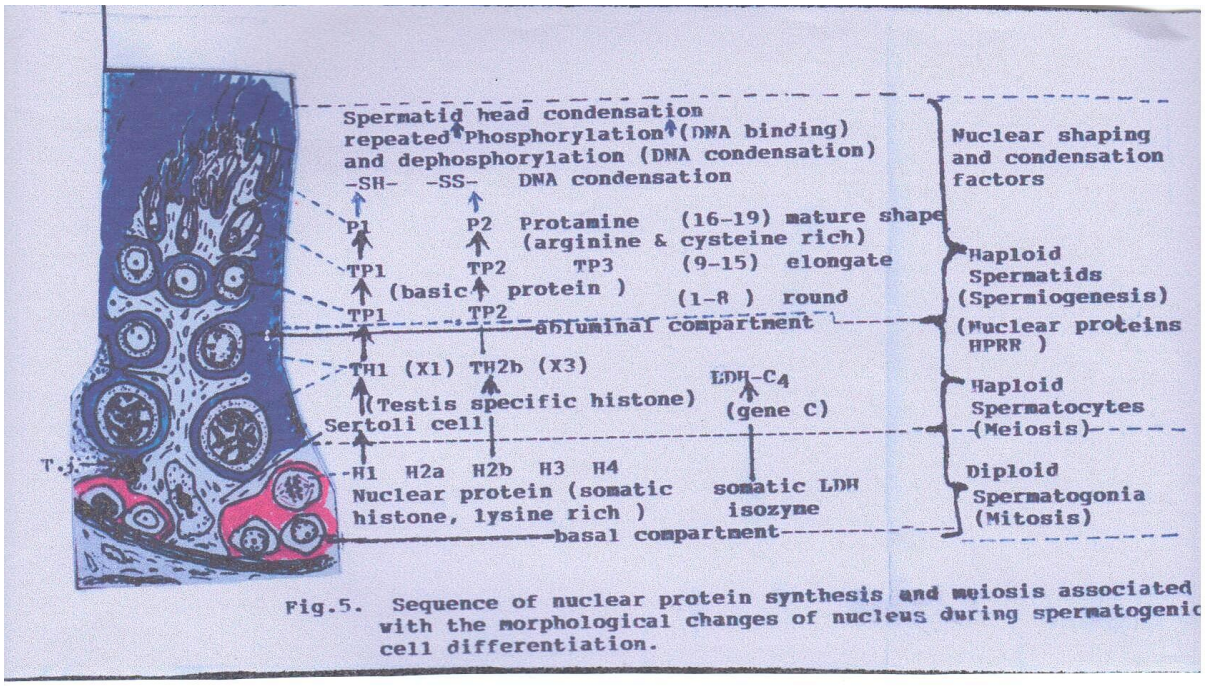


图 5　手绘科研路线图

（生精细胞分化过程中，伴随着核形态学改变，核蛋白合成与减数分裂的顺序）

题，他都会在查阅大量文献资料以后亲手画出一张路线图(图 5)来，犹如一位战略指挥官，面对着他的手绘图反复思考：主攻的堡垒在哪里，攻占堡垒前必须拿下的前沿据点又在哪里；需要组织什么样的部队，动用什么样的武器装备；头一仗怎么打，选准突破口；攻坚战怎么打，强攻薄弱环节。他以此调动各方面的积极性，充分发挥细胞生物学系各课题组的特长，虚心请求各交叉学科的协同配合。当他对课题思考成熟以后，便亲自写出科研计划书来，让我们去打印，发给每个成员，或者在黑板上边画图边讲解，让每个人心中有数。即使是一次具体的阶段性实验，他都会亲自在科研记录本上写上详细的计划。

薛社普科研生涯中更重要的亮点是创新。创新是他毕生从事细胞分化可调控性研究的内核，他的思维核心，他的成果特色。薛社普回国以后，继续了他在华盛顿大学开始的工作，进行细胞分化调控实验，做了不少鸡胚和蛙胚胚层的移植，以及鸡胚脊髓和感官原基的移植。实验再次表明，成神经细胞的分化受其外周支配组织的负荷量的微环境，即位置区域微环境所决定。但他逐渐意识到，追随以神经细胞为分化调控的主攻目标，只能锦上添花而已，因为 Hamburger 实验室已经远远地走在前面了。[3]

所以，在肯定了棉酚的抗生育作用，又证明了在抗生育剂量下，棉酚不会致癌、致畸、致突变以后，薛社普思考的重点放在研究棉酚的抗生育作用机理上。这时，他想出了一个别人没有想到的办法，提出了用同位素 ^{14}C 标记棉酚的方案，做了国内外没有做过的 ^{14}C 棉酚放射自显影实验，包括整体自显影(图 6)和光镜水平的自显影，一举阐明了棉酚在体内吸收、分布、累积、排泄和代谢的动态变化。他独到的实验研究揭示了棉酚作用的靶器官、靶细胞、靶细胞器，使中国成为棉酚

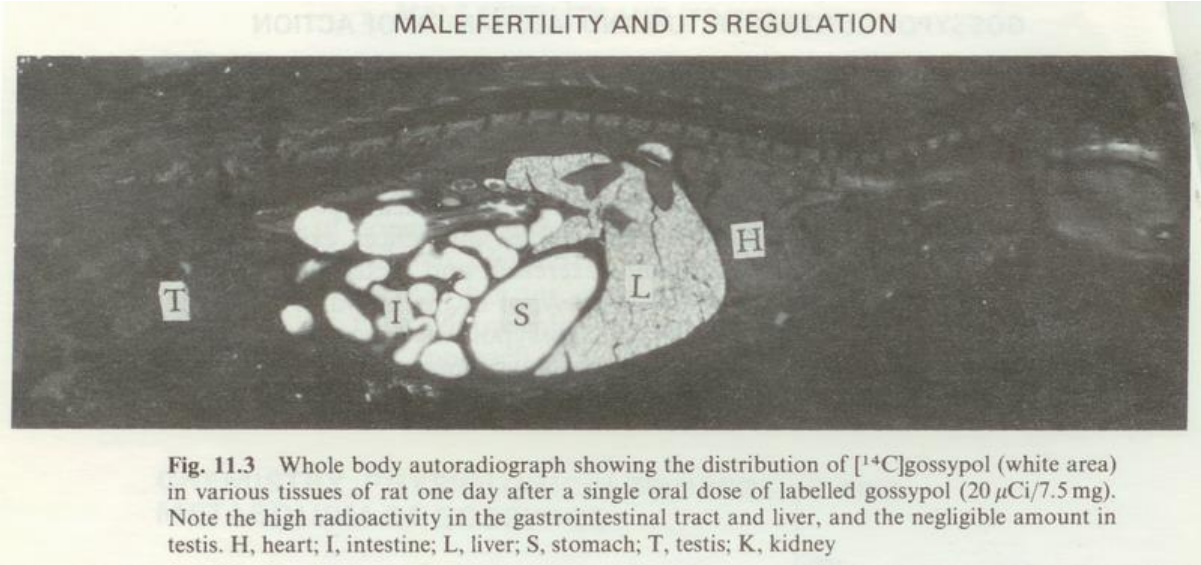


Fig. 11.3 Whole body autoradiograph showing the distribution of [^{14}C]gossypol (white area) in various tissues of rat one day after a single oral dose of labelled gossypol (20 μCi/7.5 mg). Note the high radioactivity in the gastrointestinal tract and liver, and the negligible amount in testis. H, heart; I, intestine; L, liver; S, stomach; T, testis; K, kidney

图 6　^{14}C 棉酚的整体放射自显影照片
（显示 ^{14}C 标记的棉酚在体内不同组织的分布）

乃至当时男性生殖生物学研究的国际领跑者。

棉酚的研究使薛社普注意到，精子细胞变态期细胞核浓缩、伸长变形及多余细胞质排出细胞之外的现象；联想到，哺乳类红细胞发生过程中出现核浓缩排核，失去了细胞核的终末分化红细胞还能存活120 多天，继续执行它的携氧功能。薛社普又把注意力集中到细胞核-细胞质的相互作用上，并且与肿瘤的研究结合在一起，最终选择把精子细胞和红细胞作为他赖以献身的“细胞分化可调控性”研究的两个细胞材料。

让我们就发现并命名“红细胞分化去核因子”来解析薛社普科学研究的特色：勤于思考，善于发现，长于分析，巧于解决。

在对精子发生与分化的调控研究中，薛社普发现精子细胞的分化特征是生物界细胞核变形和高度浓缩包装遗传物质。精子细胞终末分化的结果，使其由原来圆形的细胞演变为具有高度浓缩包装的头部和极性化为体尾部(鞭毛)的小生物体。其核浓缩和体形塑造正是研究单倍体生殖细胞终末分化机理和调控男性生殖生育途径的薄弱环节。回头审视双倍体的体细胞，薛社普又发现，只有哺乳类红细胞出现的核固缩和自然去核现象可与精子细胞核的变化相比拟 [5]。从组织学讲，这两种细胞相距甚远，但二者染色质的高度浓缩，却有着惊人的相似，都属于终末分化型不可逆地切断细胞分裂周期的现象，与普通体细胞周期中的染色质可逆性浓缩有本质区别。特别是红细胞，是体内唯一的将细胞核去除而以无核形式在血流循环中生长125 天的供氧细胞。一旦患了红白血病，则其细胞核不但不浓缩排核，反而是分裂增殖失控变成了致命的癌细胞，即红白血病细胞。因此薛社普选定核浓缩作为终末分化的关键切入点而进行了长期艰苦的研究。

在这些观察和发现的基础上，薛社普复习了红细胞的发生过程，从个体发生说，自造血干细胞-红系祖细胞-早幼成红细胞-中幼成红细胞-晚幼成红细胞-网织红细胞-红细胞的发生全过程中，在晚幼与网织之间有一次排核，以致最后形成了血液循环中的红细胞。显然，终末分化的红细胞是从有核的祖细胞逐步分化而来的。再从种系发生说，哺乳类以下动物的红细胞都是有核的。面对着生物学家司空见惯的这一现象，薛社普却作出了他的独特分析。他认为，哺乳动物出现红系造血细胞的排核是一种进化现象，以适应其末梢微循环的需要；而个体发生中的排核一定是某种排核因子(以后命名为去核分化因子)的作用，使没有核的红细胞变成圆盘状，这样，成熟的红细胞进入血流，容易通过末梢毛细血管。

经过多次挫折，反复实验，薛社普终于发现并提出了哺乳类红细胞发生过程中出现红细胞分化去核因子(erythroid differentiation denucleation factor, 简称EDDF)的工作假说。EDDF 就是进化上的衍生因子，它导致了从非排核物种演变至哺乳类红细胞的排核。

科学假说必须得到验证。为此，他又创建了胞质体杂交模型，独辟蹊径地采用网织红细胞与恶性骨髓瘤细胞杂交，先后建立了 8 个同种(小鼠-小鼠)和异种(小鼠-兔，小鼠-人)的胞质体杂种细胞(cybrid cells)模型(图 7)以及 1 个用大鼠有核红细胞与小鼠浆细胞瘤杂交建成的杂交细胞(hybrid cells)模型。[6]

既往的细胞杂交，多采用两个有核细胞的融合，杂交细胞存在两套遗传物质，结果比较复杂，分析起来也很困难；薛社普创建的胞质体杂交所采用的两个细胞中有一个是没有细胞核的，避免了两个有核细胞之间融合带来的复杂性，所得结果更有说服力。而且，他选用了网织细胞，不是已经成熟的红细胞，又是一个巧妙的设计，因为刚刚自然去核了的网织红细胞不仅富含珠蛋白 mRNA 可以作为遗传标志，而且由于它本身是 HGPRT(次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶)强阳性，与之融合的骨髓瘤细胞缺失此酶，易于在融合后用 HAT 选择性培养基来纯化杂种细胞。对胞质体杂种细胞的检测发现，骨髓瘤细胞的恶性分裂受到控制，还出现了核浓缩，激活了血红蛋白的表达，证明哺乳类红细胞胞质中确实存在对肿瘤细胞核活动起限制作用、抑制肿瘤细胞恶性分裂和重启分化基因表达活动的因子。

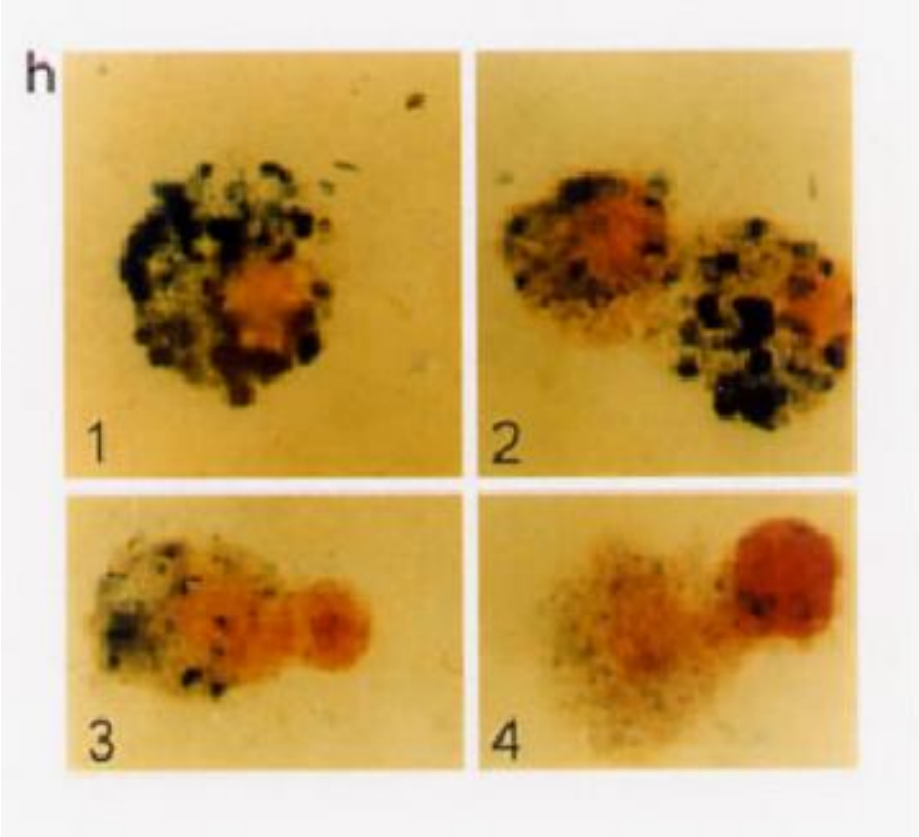


图 7 胞质体杂交照片 HL-60-AR 细胞(胞核染成红色)与小鼠网织红细胞经 PEG 诱导融合。融合后的胞质体杂交细胞表达血红蛋白(联苯胺染色阳性，呈蓝色)，并可看到核固缩、偏位、排出胞体。

薛社普永远不会停留在既有成果上止步不前，在胞质体杂交模型创建成功、去核分化因子的存在得到证实以后，他立即展开了新的思考，将去核分化因子，或叫细胞核浓缩因子提纯，并利用这些因子调控肿瘤细胞的恶性生长，为防治肿瘤提供理论依据，为肿瘤治疗开辟新途径。

第三节　执着是修养 务实是素质

科学假说，当然是在对某种科学现象细致入微的观察、反复思考、严谨分析、包括必要的初步实验以后才能提出来的，但是，要使假说反映客观真理，成为科学定律，具有理论意义，并展示其应用价值，指导实践，则需要通过严格的验证。

薛社普为求证他的红细胞分化去核假说，倾注了二十多年的心血，执着求索，锲而不舍，拿他的学生们的话来说，叫做“不追风”。

我们知道，在发现红细胞去核分化因子(EDDF)过程中，前期工作主要是他的团队在细胞生物学方面的证据积累，后期 EDDF 活性蛋白质的提纯和基因克隆则主要是与分子生物学家的协同工作。

前期工作包括了大量的细胞形态学和生物化学的观察与分析，例如扫描及透射电镜观察，红系祖细胞体外培养排核的观察，排核前后红细胞内核酸、酶、细胞骨架和血红蛋白以外活性蛋白质动态变化的分析，细胞融合，特别是融合后有关杂种细胞生长和基因表达指标的观察。后者又涉及到生长曲线、分裂指数、^{3}H-TdR 掺入率、软琼脂中的集落形成能力、裸鼠接种、核酸杂交等反映肿瘤细胞恶性逆转的指标。那时薛社普已经六十七岁了，其中有许多技术方法是他所不熟悉的，数不清经受了多少的挫折，克服了多少的困难，他总是闯过去了。1984 年在东京召开的第三届国际细胞生物学大会上，他宣读了这项研究的第一篇论文：A cybrid model for the reticulocyte cytoplasmic factor on the malignancy of myeloma cells.The 3rd International Congress of Cell Biology，Tokyo，Japan.P.420. 1984，接着又在《解剖学报》上正式发表。更大的困难发生在其后的《EDDF 的分离、提纯、活性分析及基因克隆》研究上。这主要是分子生物学的内容，薛社普很希望有分子生物学家与他合作研究，但是很少实现。究其原因，恐怕在于：1，薛社普期望阐明的内容太难了，2，研究所内的分子生物学研究组本身都承担着繁重的任务，分不出身来。薛社普能够理解，因为即使在自己的研究室内，认为不可能完成的意见也能听到，他自己的研究生为能按期毕业，也常常要求减低论文课题的目标。

另一方面，随着他年龄的增加，得到的科研基金资助越来越少，1998 年他进入资深院士行列以后，更是拿不到资助了。没有经费，他也没有办法再培养这方面的博士研究生。面对这些无法逾越的困难，薛社普从没有想过放弃，转而从实际出发，从夹缝中寻找办法。他的办法主要是，将研究生们送到兄弟单位去，请他们协助培养，包括中国科学院，军事医学科学院和北京师范大学；一个送到香港，一个送到美国；请所内兄弟科室、实验室协助的就更多了。这几位研究生带着薛社普制定的课题，带着有限的经费，利用那里实验室的条件，请那里熟识的分子生物学家帮助指导。他定期听取研究生们的汇报，分析结果，提出进一步深入研究的意见。好在，这种实事求是的办法，也是成功的。包括他自己直接指导的和联合指导的几位博士研究生，都取得了比较可喜的实验结果。

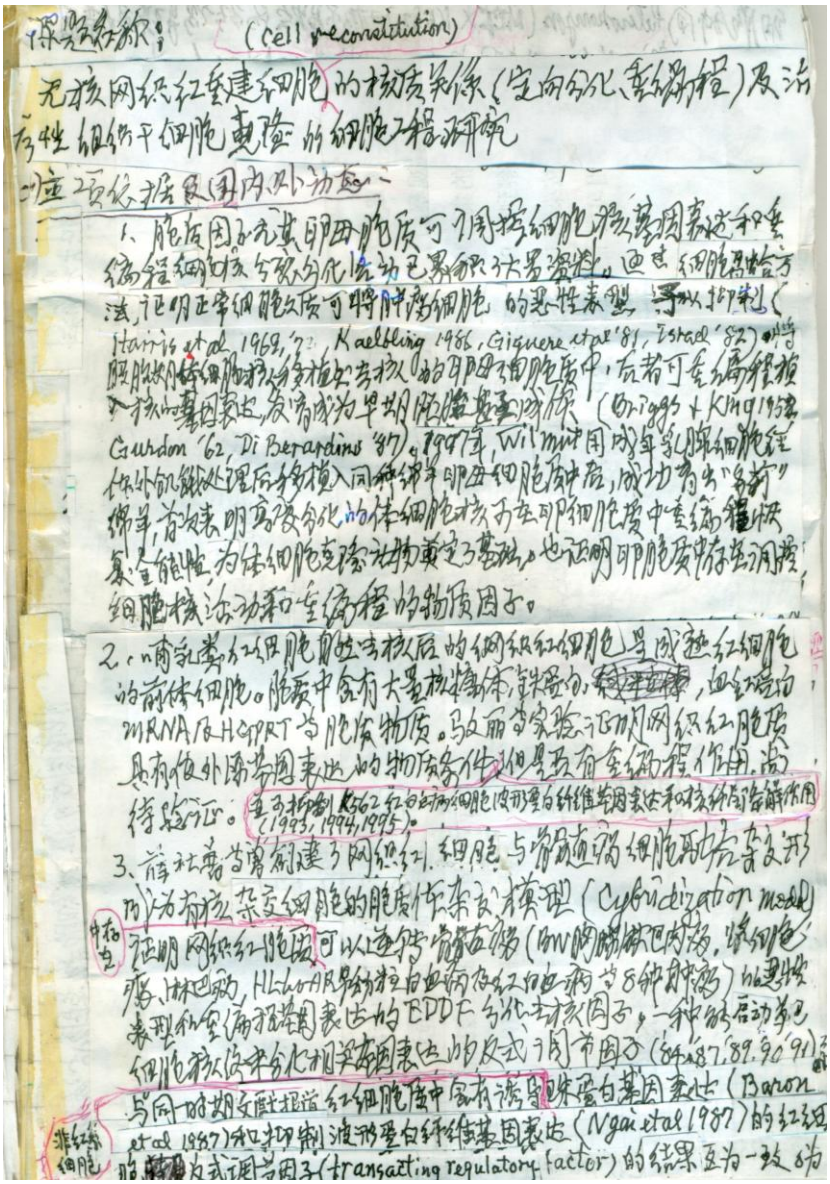


图 8 重编程研究计划的手稿(部分)

研究生们采用不同的技术路线，有的从红细胞中提取活性蛋白质，有的用“细胞钓蛋白质”，然后进行基因克隆，有的直接提取核酸进行基因克隆。他们分别从小鼠、大鼠、兔和人胚肝的造血细胞中分离提纯到一些 EDDF 活性蛋白、测定了氨基酸序列及 cDNA 片段序列。并且从中克隆到 6 种 EDDF 相关基因家族成员的全长序列或 EST 序列，经 GenBank 检索确认为新的基因序列。它们在基因文库里的编号分别是：AF040247、AF040248、AF055085、AF060220、AF048887 和 AA514190，其中 AF060220 是 AF055085 的延伸。AF060220 经 Northern 印迹分析表明，该 cDNA 仅在与造血相关组织如骨髓、脾脏中表达。AF048887 只在终末分化期出现核浓缩的人红细胞和睾丸中特异表达，它与睾丸中浓缩基因序列交叉，揭示了两者的核浓缩共有特性。

凡此种种，只能说是阶段性成果。薛社普希望达到的目标是，利用找到的去核分化因子调控肿瘤细胞的恶性生长。那么，克隆到的这 6 种 EDDF 相关基因家族成员就是他所期望的因子吗？需要证明。薛社普知道他已经力不从心了。他总是说，“我认为，我的方向是对的”，“我只是开了个头，我只做了一半”。他不愿意放弃，也不应该放弃。特别是，当他看到日本学者找到了两个浓缩因子之后，当他知道有人发现了 α 血红蛋白稳定蛋白，而这个蛋白的基因结构正与我们的 AF060220 序列相同的时候，更有一种继续做下去的迫切感｛该基因后来被哥伦比亚大学 Weiss 教授的实验室证明有稳定 α–血红蛋白功能并与 β–地中海贫血的发病有关。其结果分别在《自然》和《临床

调查杂志》发表(Nature. 2002；417:758-63；J Clin Invest. 2004；114:1457-66)。它现在被命名为 α-血红蛋白稳定蛋白(alpha hemoglobin stabilizing protein (Ahsp))，基因参考号为：NM_133245.1}；但是，他该怎么办呢？他越发相信红细胞去核分化因子大有做头，他唯一的愿望是有人做下去！他自己呢？1993 年，他根据国际上新的动向，亲笔书写了《无核网织红重建细胞的核质关系(定向分化、重编程)及治疗性组织干细胞克隆的细胞工程研究》(图 8)研究计划，但未能做下去；2006 年他在 Cell Proliferation 39:61-74 上发表了题为“ Erythroid differentiation denucleation factors (EDDFs) function as intrinsic, post-erythropoietin regulators for mammalian erythroid terminal differentiation.”的论文，并引起了广泛的关注；2008 年，细胞重编程被 ***Science*** 杂志评为当年十大科学进展中的第一位，年逾 90 的薛社普，又起草了一份课题申请书：《细胞增殖与分化(含去分化、重编程与再分化)的核物质浓缩相关因子调控细胞分化及癌变的研究》，供他的学生参考，希望将当年的课题深入下去，展开“网织红细胞重建有核细胞及外源核重编程的研究”。这些让我们再一次感受到他的科学前瞻性和孜孜不倦、毕生求索的光彩人生。

今年，在杨焕明院士和薛社普学生郑文岭、马文丽教授的积极争取下，科技部批准，十月中下旬将召开一次以“细胞重编程和细胞生物学前沿”为主题的香山科学会议，重点放在延续和深入薛社普的研究。

在薛社普的路线图里，他不仅要对已经发现的 6 种 EDDF 相关基因家族成员逐一有个交待，阐明它们的功能，而且还需要找到更多的 EDDF 家族成员，尤其是找到这样的去核分化因子，能够激活珠蛋白基因表达血红蛋白(活跃表达血红蛋白是哺乳类红细胞终末分化的主要特征)，又能够使红系或非红系骨髓瘤细胞恶性逆转；如果幸运的话，甚至找到不利于细胞核存活而终止细胞分裂周期的核浓缩因子，调控肿瘤细胞的恶性生长，激活分化基因(或抑癌基因)的表达，促进癌细胞再分化。不仅从进化观点上阐明红细胞自然去核机理，更用以丰富和发展细胞分化理论，并为肿瘤防治提供新思路、新途径。

薛社普设想，有没有可能，利用网织红细胞与各种预定的细胞杂交，或者利用红细胞中的胞浆因子刺激细胞核，在某种条件下，促使细胞重编程，诱导出我们需要的细胞，并应用于临床？薛社普还想到了我们的国宝级动物大熊猫，希望他的细胞分化可调控性理论以及去核分化因子(浓缩因子)能作些贡献。

这就是薛社普，他是那么的执着，他让我们看到了科学家应有的行为修养。他又是那么实事求是，务实是科学研究工作者应该具备的基本素质。红细胞的课题如此，当年棉酚的课题也是如此，自己拿不到基金资助了，他支持同事做；企业愿意资助，他与企业签订合同；企业解除合作，他无奈发出呼吁：“看待学术上的问题不能太功利了。”一个普普通通的学者，尽管是一位杰出的细胞生物学家，薛社普没有其他的选择。他尽力了，因为他

没有个人诉求；他呐喊了，因为科学事业不是他个人的私事。

现实社会中的一员

我们仿佛看到，站在面前的薛社普老师是这样的一位长者：不倦求索地做事，宽厚坦诚地做人，不图名利地面世，丰富多彩地生活。因而他，科研有成就，人格有魅力，心胸宽广，健康快乐。

他是一位普普通通、由旧社会过来的知识分子；又是一名具有爱国情操，志存科学救国、科教强国的民族精英。

幼时贫穷的境遇，迫使他接受了更多的锻炼，迎接提前直面的独立生活、独立应对各种状况的考验，他成功了；

处于弱势的现实，激发了勤奋学习的进取心，他小学成绩年年名列前茅，又以优异成绩考入最好的中学和大学。

身经法国统治下的越南，目睹日寇侵略狂轰滥炸母校的罪行；亲历民不聊生的云贵，痛感国民党腐败无能；抗美援朝的硝烟中毅然在华盛顿大学博士论文答辩后回国；五七干校的锻炼明确了科学研究要与国情需要相结合的方向；“爱国”是薛社普永恒的动力。

俗话说，名师出高徒。中央大学的王希成教授课讲得好，把薛社普引进了细胞分化的研究领域；华盛顿大学的Hamburger 教授搭建的实验平台，确立了薛社普的一辈子科研方向：细胞分化的可调控性，而且给了他如何做科研、如何淡对功名的榜样。师者，传道、授业、解惑者也，今天更需要呼唤名师。

毛泽东说过，关键在领导。沈其震伯乐识马，引进并培养了薛社普；郭福芝尊重知识、尊重人才，在关键时刻投入巨额资金，同意用同位素标记棉酚，使薛社普的研究走在国际前列。张鋆知人善任，支持薛社普学术上百家争鸣，委托他恢复中国解剖学会的工作；吴阶平关心扶持薛社普的“一个思路，两种细胞材料”，并主动推荐他遴选中国科学院院士。时代呼唤“以人为本”、一心为了祖国和人民的好领导。

“科学是没有平坦大道的”。薛社普抓住“细胞分化的可调控性”不放，不倦求索这一独创的课题、独特的思路，坚信自己的方向是正确的，一辈子不动摇，不追风，持之以恒。固然是因为有兴趣，兴趣产生动力，更是为了科学技术的发展，责任心就是动力。这种精神不仅难能可贵，而且是成功的必要条件。

如今的科学技术日新月异，学科越分越细。一方面需要不断学习，一方面需要科技合作。不断学习，知识更新，薛社普就是典范：他有“坐禅”的本领，看书、写总结、写基金申请书，他可以连坐数小时，一动也不动；他有扛资料的习惯，每次到美国去探亲，实际上大部分时间不是和女儿一家在一起，而是到各个学生所在的学系或实验室，进行学术交流，捧回来一大堆最新的书刊或者文献资料；如今，他还多了一个剪报的习惯。难怪他的学生林彭年深有感慨地说，每次回国看望薛先生，他都能和我们讨论学术上的问题，继续得到他的指导。

关于科技合作，他也做到了，他把自己的研究生送到其他分子生物学家那里去联合培养，让他们分享自己的研究成果。他更大力呼吁，“好多困难的事情，不能够靠单独的实验室，一个学科往往是解决不了的，要学科之间合作共同解决问题。”他还呼吁：“看待学术上的问题不能太功利了。”他殷切希望，他的以我为主、有独特思路的独创课题能够有年轻人继续做下去，揭开“细胞分化可调控性”之谜。

图 9 薛社普国画作品

他的学生刘友华说：“在我心目中薛先生胜过父亲的地位”，这句话说出了所有学生的心声；马文丽说：“能够成为薛先生的学生，是我人生的一大幸事”，汪兆琦说：“薛教授的前瞻性思路、锲而不舍的精神，忘我奉献的心态，影响着我的一生”。薛社普用他的行动感染了他的学生，严谨创新，执着求索，善于思考，勤于动手，为学生们树立了榜样；学术上精心指导，生活上悉心关怀，为学生提供宽松的环境，薛社普打造的团队不可能没有战斗力，不可能不出成果、出人才。

“我的学生获奖也是我和我的实验室的光荣”，“不要看重那些（诺贝尔奖）东西，主要是看对科学上的贡献，有没有用。”Hamburger 老师的话一直是薛社普的座右铭。他从来没有追求得什么奖，但是，后人会对薛社普的工作颁奖的。

有人问薛社普，你 94 岁了，身体还很好，视力好，听力好，走路也好，有什么秘诀吗？除了养鱼种花、填词书画(图 9)以培养毅力之外，薛社普说，“最大的原因恐怕在于‘心宽’。凡事不计较，即使碰到烦心的事，睡一觉也就过去了。”这就是现实的薛社普！我们衷心祝愿他永远健康快乐

基金项目：中国科学技术协会“老科学家学术成长资料采集工程”项目（项目编号：2010CJGC03-25）

图注：左为薛社普院士，右为本文作者

作者简介：

陈克铨，北京协和医学院教授。1961 年上海第一医学院毕业后被录取为中国协和医科大学解剖学研究生，师从张鋆教授，后留校任教，一度调至卫生部门工作。1982 年赴美国北卡罗来纳州立大学进修，回国后跟随薛社普开展男性生殖生物学和肿瘤细胞生物学科研。曾任中国解剖学会副理事长兼国际交流委员会主任，并以秘书长身份，在中国成功地主办了第 14 届国际形态学大会和第二届亚太解剖学者国际学术讨论会。

福建省生物医药产业发展及相关人才政策介绍

吴小颖

福建省公务员局，福建省人力资源开发办公室

一、福建省生物医药产业发展现状

福建位于中国东南沿海，与台湾隔海相望，是中国大陆最早实行改革开放的省份。近年来，福建省大力推进建设海峡西岸经济区的发展战略，并得到了中央的肯定和支持，经济社会发展迅速，2010年，全省经济总量达13800亿元人民币，财政总收入2056亿元人民币。随着经济社会的快速发展，在省委、省政府的高度重视下，福建的生物医药产业也进入了加快发展阶段。2009年，福建省生物医药产业总产值约250亿元人民币，其中医药工业总产值131.62亿元人民币，同比增长14.3%，全省规模以上医药企业达106家，其中21家年产值超亿元。近年来，全省共开展新药研发项目149项，其中最能代表医药科技水平的一类新药研发项目18项，已有2个一类新药成功上市，4个一类新药获得临床批件，一批具有自主知识产权、技术含量较高的新药产品产生了良好的经济效益，如福建广生堂药业的一类新药阿德福韦酯，去年产值约1.8亿元人民币。目前，福建已初步形成了生产化学原料药及其制剂、中成药、生物制药、中药饮片、卫生材料、医疗器械和药用包装材料等门类较为齐全的医药工业体系，厦门海沧生物医药集中区、福州生物与新医药产业基地、闽西北(明溪)药都、三明荆东生物医药集中区、永春生物医药产业园区、柘荣“闽东药城”建设已初见雏形；基因工程药物、新型疫苗与诊断试剂等生物医药研发取得重要进展，成为全球最大的金霉素原料药生产基地，亚洲重要的助听器和生物显微镜医疗器械生产基地、基因工程蛋白质药物生产基地，中国最大的卡那霉素系列产品原料药生产基地、硫酸奈替米星原料药生产基地、片仔癀出口基地(中成药单项创汇最高)、体外诊断试剂、抗艾滋病药物生产基地、抗乙肝病毒药物、鼠神经生长因子药物产业化基地，中国重要的β－内酰胺类抗生素及中间体7-ACA生产基地、免疫抑制剂药物生产基地、诊断试剂生产基地、南方红豆衫种植提取抗肿瘤“紫杉醇”药物生产基地、太子参种植加工基地等；蜂毒研究及产业化处于国际领先水平，生物农药苏云金芽孢杆菌产销量居全国前列，农业生物育种技术与作物转基因技术跻身全国先进省份，食用菌品种选育、菌草技术和产品开发成效显著并初具产业规模，脱毒种苗、生物肥料、生物饲料、动物疫苗等研制取得一定成效；培育出了福州抗生素股份有限公司、福州海王福药制药有限公司、福建金山医药实业集团有限公司、厦门星鲨集团有限公司、厦门中药厂、厦门特宝生物工程股份有限公司、厦门迈克制药有限公司、漳州片仔癀药业股份有限公

司、厦门养生堂生物技术股有限公司、福建汇天生物药业有限公司、闽东力捷迅药业有限公司、福鼎康乐药业有限公司、福建省明溪南方红豆杉生物有限公司、福建三爱药业股份有限公司等一大批制药重点骨干企业。

二、福建省生物医药产业发展机遇

今后五年及相当长一段时期，福建省生物医药产业面临着难得的发展机遇：

(一)具有良好的政策环境

2009 年 5 月，国务院颁布了《关于支持福建省加快建设海峡西岸经济区的若干意见》，标志着福建省提出的海峡西岸经济区发展战略已经从地方决策上升为国家战略，福建的发展前景更加广阔。今年 3 月，国家发展和改革委员会批准印发了《海峡西岸经济区发展规划》，提出要将福建建设成为东部沿海地区先进制造业重要基地，加快发展新兴产业，重点培育生物制药、化学新药、中药和天然药物等生物医药产业，推进生物资源系列开发。为加快海峡西岸经济区生物医药产业发展，福建省委、省政府制订出台了《福建省国民经济和社会发展第十二个五年规划纲要》、《福建省“十二五”战略性新兴产业暨高技术产业发展专项规划》、《福建省生物与新医药产业振兴实施方案》，将生物与新医药产业列为海峡西岸经济区七大战略性新兴产业之一加以重点培育，成立了省医药产业发展工作领导小组，提出到 2015 年的生物医药发展目标是：全省生物与新医药产业力争实现工业总产值 880 亿元，年均增长 22%；增加值 250 亿元；培育形成 20 家销售收入达 5 亿元以上龙头骨干企业(其中 2 家达 15 亿元以上)；建设和完善 20 家省级以上企业技术中心、20 个省级工程(技术)研究中心和工程(重点)实验室、10 个省级行业技术开发基地和产业技术创新战略联盟等产业创新公共服务平台，建立以企业为主体、市场为导向、产学研相结合的产业创新体系，10 项以上一、二类新药进入临床试验阶段，15 项以上具有自主知识产权的新药实现产业化，推广应用一批生物领域新品种、新技术；建设若干结构合理、特色鲜明、集聚效应明显、具有一定竞争力的产业基地和园区。为此，《福建省生物与新医药产业振兴实施方案》，配套出台了一系列加速推动生物与新医药产业发展的政策举措，为我省生物医药产业发展带来了前所未有的新机遇。

(二)具有一定规模的产业基础

全省现有规模以上医药生产企业 106 家，已形成生产化学原料药及其制剂、中成药、生物制药、中药饮片、卫生材料、医疗器械和药用包装材料等门类较为齐全的医药工业体系，奠定了福建医药产业发展的生产基础。

(三)具有良好的自然资源基础

福建气候条件优越，小气候环境多种多样，生物多样性保护较好，药用生物和矿物资源十分丰富，共有 445 科、2468 种，其中植物药 245 科、2024 种；动物药 200 科、425 种；矿物药 19 种。属我省地道名产药材 21 种，大宗主要药材 91 种，珍稀名贵药材 27 种。初步形成闽西北山区的南方红豆杉、三尖杉、建泽泻、建莲子、泰宁雷公藤、绞股蓝、鱼腥草、

鹿茸；闽东南山区和沿海的绿衣枳实、柘荣太子参、南玉桂、枇杷叶、茵陈、巴戟天、春砂仁、熊胆等 16 种中药材生产种植基地。同时，福建是海洋大省，海域面积大于陆地面积，海岸线长达 3300 多公里，海洋资源十分丰富，海洋微生物种类繁多，有 400 多种海洋生物可用于开发海洋药物。

(四)具有较强的教育科研基础

目前，我省有关高等院校已设立药学院(系)和生物医学工程、生物技术工程、海洋科学工程、生物化学与分子生物学、药理学、中药学、微生物学等重点学科。已有福建微生物研究所、福建医科大学生物工程研究开发中心、福建中医学院和福建中西医结合研究院、福建师大生物工程学院、福州博多生物技术有限公司、福州长富星新药研发中心、福建农林大学植物病毒研究所、福大福州生物工程研究所、厦门大学医学分子病毒学研究中心和细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室、厦门北大生物园研究中心、集美大学海洋微生物研究所、国家海洋局第三海洋研究所等科研机构，在微生物发酵工程研究、基因工程研究、中药研究、海洋药物研究等一些领域居国内较先进水平。拥有一批硕士以上学位和高级职称的科研骨干人才，建成一批药学的博士后科研工作站、企业博士后科研工作站、省级企业技术中心、临床试验机构、检验检测机构。

(五)具有较好的投资环境

我省是最早实施对外开放政策的省份之一，是东南沿海经济发达的省份之一，经济总量、经济年平均增长率、人均 GDP 年平均增长率均位居全国前列。福建基本形成综合配套的海、陆、空立体现代化交通网络，为医药产业的产品、原材料运输以及人员交往提供了便利的条件。我省拥有经济技术开发区、保税区、出口加工区、高科技园区、台商投资区等国家级开发区和省级开发区、工业园区。这些园区功能齐全、设施完善、服务周到、环境优美，有条件承接国内外企业大规模的投资。厦门、福州、泉州等一批中心城市有了很大发展，城市功能齐全，住宅、学校、医院、商业、文化、餐饮、娱乐、休闲等设施完善，城市品位不断提高，为医药产业各类创业者、投资者、生产者提供良好的生活配套服务和优美舒适的生活环境。我省有中国教育大省之称，福建籍的中科院、工程院院士人数众多，居全国各省区第三；我省是全国著名的侨乡，闽籍海外华侨、华人达 1000 多万人，海外留学生生物医学、药学等技术人才 5000 多人，可以为我省医药产业发展提供强大的智力支持。

三、福建省扶持生物医药产业发展的政策举措

(一)支持企业拓展市场

对拥有自主知识产权或市场占有率高的医药产品，经评审符合条件的，优先纳入医疗保险用药目录。按照国家基本药物管理办法的有关规定和程序，支持三类以上化学药品和六类以上中药及天然药物纳入国家基本用药目录或本省补充目录、乡镇卫生院基本用药目录、医疗保险和新农合用药目录。对有关企业经药品监督部门新批的药品和医疗器械(含医院耗材、检

验试剂）、新建企业(含新建生产线)投产的药品和医疗器械，在不高于同类药品和医疗器械入围价的情况下，直接挂网供医疗机构采购使用；各级政府部门、事业单位和团体组织使用财政性资金采购生物与新医药产品的，应优先购买列入有关自主创新产品目录中的生物与新医药产品。支持企业开展产品国际(境外)注册和美国FDA、欧盟 CE 及 CEP 等国际认证；对获得国际市场准入许可的药品、医疗器械及原料药，由企业所在设区市政府参照有关政策给予奖励。

(二)加大企业技术进步和技术改造投入

1. 推动一批重点项目列入中央新增投资计划，对列入国家重点投资计划的项目，加强监督检查，精心组织实施，确保项目顺利投产并发挥效益。2. 整合省直有关部门支持企业发展方面的资金，按照“部门管理、集中投入”的原则，重点用于以下方面：(1)项目产业化和技术改造。重点支持具有自主知识产权和市场容量大的生物与新医药产品产业化；支持现有企业通过改造、重组，引进新产品、新技术及扩大生产规模的投资项目；支持国内外大型企业来闽投资的项目；支持产业公共服务平台建设。(2)新产品研发和自主创新。充分利用“6·18”平台，推动项目对接，促进项目成果产业化。优先支持一批具有自主知识产权、高科技含量和市场前景的新产品开发，以及市场容量大的仿制药研制；将一、二类新药及三类新医疗器械的技术研发和产业创新公共服务平台建设优先列为省科技重大专项支持领域，将一、二类新药及三类新医疗器械的临床试验项目优先列入省行业技术创新重大专项，并根据项目类别及所处阶段予以统筹研究和专项资金支持，力争突破一批产业共性关键性技术，提升产业自主创新能力和核心竞争力。(3)节能减排。支持医药企业节能减排技术改造，对节能、节材、节水、资源综合利用重点工程以及循环经济试点园区配套项目等给予财政补助；对燃煤工业锅炉改造、余热余压利用、节约和替代石油、电机系统改造和能量系统优化等重点节能技术改造项目，节能量达 1000 吨标准煤以上的，按 150 元/吨给予奖励；实施合同能源管理财政补助政策，按投资总额的 10%～15%给予补贴，鼓励企业以合同能源管理模式进行节能改造；对减排成效显著的企业予以奖励。

(三)加大金融支持力度

1.加大信贷支持力度。人民银行、银监部门要加强政策引导，推动银行业金融机构加大对生物与新医药产业的信贷支持力度，对生物与新医药产业新产品开发、购买或受让可产业化成果及国际非专利技术、企业兼并重组、国内外大型企业来闽落户给予重点支持。2.完善融资担保体系。加大对生物与新医药产业信用担保机构的扶持力度，鼓励和支持在生物与新医药产业聚集区建立区域性担保公司；充分发挥担保公司的融资担保功能和省级再担保公司的信用增级、分担风险功能，引导银行业金融机构加强与担保公司互信合作，促进银行业金融机构加大信贷支持力度；对担保机构提供担保的贷款，银行业金融机构应提高审贷效率，并结合信贷风险，科学合理确定贷款利率水平；对为生

物与新医药企业提供融资担保的担保机构，按其年度担保额 16‰的比例给予补偿，并可优先获得省级再担保公司的再担保。3.拓宽融资渠道。支持创业投资机构通过创业投资方式对生物与新医药企业进行股权投资，负责运营省级创业投资资金的机构可按不超过其它创业投资机构实际投资额 50%的比例跟进投资。省级工商发展资金对投资我省生物与新医药企业的创业投资机构，按其投资额的一定比例给予补助。省直有关部门每年根据“6·18”项目对接情况，向创业投资机构推荐一批需跟进投资的生物与新医药对接项目，创业投资机构要优先组织力量进行评估，加快跟进投资步伐，推进产业加快发展。支持生物与新医药企业在境内外上市融资、再融资和通过发行企业债券、专项债券、短期融资券、中期票据等筹集发展资金；优先支持完成上市辅导的企业加快在主板、中小板或创业板发行股票募集资金的步伐。

(四)实行工业用地扶持政策

1.对列入《方案》的项目用地实行最优惠的地价政策，按我省工业用地最低价标准招拍挂出让土地使用权，并适当放宽其全部付清土地出让金的期限。2.鼓励企业“零增地”技术改造。对企业提高土地利用率和增加容积率利用现有厂区、厂房改造建设的项目，不再增收土地出让金；城镇基础设施建设配套费的地方留成部分实行先征后返，通过财政预算支出全额返还给企业。

(五)加快基地和园区建设

支持生物与新医药产业基地和园区在充分考虑当地生态环境特征和环境资源承载力的基础上，高水平、高标准地制订产业发展规划，优化公共资源配置，建设集研究开发、项目孵化、生产制造、物流配送、教育培训等功能于一体的生物与新医药产业体系；支持根据产业基地和园区特点，强化重大项目和产业链招商，依托“6·18”平台推进具有一定市场前景并进入临床试验阶段的生物与新医药项目对接；鼓励产业基地和园区出台更加优惠的财政政策，激励企业扩大再生产，促进项目对接和成果转化，推动项目生成和落地。产业基地和园区所在市、县(区)政府要建立分管领导挂钩联系重点企业、重点项目制度，定期召开专题会议，协调项目建设、企业发展的有关问题；项目所在地政府的有关职能部门要为重点项目的审批开设绿色通道，切实提高服务效能。省直有关部门合力支持重点生物与新医药产业基地和园区建设并给予必要的指导，加快推动国家中药现代化科技产业(福建)基地建设，重点推动厦门生物与新医药产业基地建设成为国家级产业基地，优先支持永春、三元、明溪等具备产业基础和发展条件的生物与新医药产业试点县(区)加速发展。

三、福建省生物医药产业发展相关人才政策

福建省委、省政府高度重视人才工作，把人才资源作为推动福建跨越发展的第一资源，认为人才优势是最具潜力的优势，人才竞争力是核心竞争力。福建省委书记孙春兰最近强调：要以更大的魄力做好引才用才工作；要从全局和战略的高

度，把人才工作放在更加突出的位置，像抓招商引资一样地抓招才引智，千方百计、不计代价地抓好人才工作；要坚持自主培养开发人才和引进省外、海外人才并重，重点吸引高层次人才和紧缺人才。大力发展生物医药产业同样离不开人才，同样必须紧紧依靠人才。近年来，福建省既出台了促进生物医药产业的专项人才扶持政策，也出台了与所有产业相关联的人才公共扶持政策：

（一）生物医药产业专项人才扶持政策

《福建省生物与新医药产业振兴实施方案》提出：大力推进人才队伍建设，集聚产业人才。落实我省引进高层次人才、建设海西人才高地的有关政策，大力培养和引进产业领军人才、高层次科技人才、高级管理人才；采取团队引进、核心人才引进等方式，鼓励并支持出国留学人员、海外华人华侨来闽创办生物与新医药企业或从事科研工作。构建与产业发展相适应的人才培养体系，按照产业发展要求，统筹教育资源，加强重点学科和特色专业建设；鼓励有条件的企业与有技术优势的院校合作办学，建立“订单式”人才培养机制，共同制订人才培养方案，提高人才培养的针对性和适应性；加大产业高技能人才的培养力度，开展职业技术培训，提高从业人员的素质和水平。创新分配激励机制，进一步落实和完善技术参股、入股等产权激励机制。加强产业技术人才的国际学术交流和培训。

（二）与所有产业相关联的人才公共扶持政策：

1、制订并出台了《中长期人才发展规划纲要（2010—2020 年）》

提出到 2020 年，福建人才发展的总体目标是:培养和造就数量充足、结构优化、布局合理、素质优良的人才队伍，构建人才资源支撑体系，确立人才竞争比较优势，进入全国人才强省行列，为比全国提前三年实现小康社会奋斗目标奠定坚实人才基础；部署了“加强高层次创业创新人才队伍建设、大力培养开发重点领域急需紧缺专门人才、统筹推进各类人才队伍建设、建设两岸人才交流合作区域中心、促进区域人才协调发展”等五项主要任；提出了实施促进人才投资优先保证的财税金融政策、实施产学研合作培养创新人才政策、实施有利于科技人员潜心研究和创新政策、实施人才创业扶持政策、实施引导人才向农村基层和欠发达地区流动政策、实施推进闽台人才交流合作先行先试政策、实施更加开放的人才智力引进政策、实施华侨华人和留学人才资源开发政策、实施鼓励非公有制经济组织、新社会组织人才发展政策、实施促进人才发展的公共服务政策等 10 大人才政策；紧紧围绕福建经济社会发展需要，提出实施“321 高层次创业创新人才引进培养工程”、“闽台港澳人才交流合作工程”等 15 项重大人才工程。

2、出台了引进、培养、使用和激励人才的“三大政策”

2010 年 1 月，我省制定出台《福建省引进高层次创业创新人才暂行办法》、《海西产业人才高地建设实施办法》、《海西创业英才培养实施办法》三个文

件，其中《福建省引进高层次创业创新人才暂行办法》对引进的海外高层次人才及创新团队到福建创办企业、受聘工作、开展合作研究等提供了一系列较为完善配套的政策支持。这些政策主要包括： 给予海外引进高层次人才每人 200 万元人民币补助；落户到园区创(领)办科技型企业的，由园区提供不少于 100 平方米的工作场所，5 年内免租金；引进人才未购买自用住房的，用人单位为其提供不少于 120 平方米的住房，5 年内免租金，或提供相应租房补贴。对承担我省重大科技项目、重大工程、重点建设项目，能突破产业关键共性技术难题的创新团队，给予 100-500 万元奖励或专项经费。引进人才从事科技项目产业化，并由其控股或拥有不低于 20%股权的企业，各级政府创业投资资金按有关规定给予股权投资；引进人才认定后 3 年内，缴纳个人所得税地方留成部分，当地财政全额奖励返还。此外，引进的高层次人才在职称评审、社会保险、医疗保健、配偶安置、子女教育等方面享受相应的优惠政策。在加大对引进人才支持力度的同时，我省还着力加强人才培养、使用和激励，努力营造让人才引得进、留得住、干得好的良好环境。《海西产业人才高地建设实施办法》主要是依托我省龙头骨干企业和高校、科研机构中具有产学研优势的技术和产品研发创新平台，为引进人才搭建干事创业的舞台；《海西创业英才培养实施办法》主要是对有效推动企业技术进步和海西产业优化升级的优秀创业创新人才进行重点培养和扶持，具体优惠扶持政策可登陆“福建引进人才网”(http://www.fjrs.gov.cn/fjrc/)查询。

3、务实贴心的引智引才服务保障

福建省各级政府人事部门建立了专门的引智引才工作机构，设立引进人才服务平台，建立起较为完善的制度和体系，定期征集并及时发布人才需求岗位信息，提供政策咨询、引进相关手续办理等服务，落实有关优惠政策和待遇，协调解决工作生活中存在的问题，积极主动为引进人才提供“一对一”、“保姆式”、“全过程”服务，保证引进人才在创业资金扶持、收入分配、职称评聘、配偶安置、入出境、住房、子女教育等方面政策待遇的全面落实。

作者简介：

吴小颖，管理学博士（农业经济管理）。现任福建省公务员局副局长、福建省人力资源开发办公室副主任；福建省九三学社省委常委、福建省九三学社省直工作委员会主任委员、福建省专家联谊会副会长、福建省人才研究会常务副会长。历任福建省光泽县副县长、福建省人事厅副厅长等职务。2011 年 6 月至 11 月担任领队率福建省中青年处级公务员培训团到康涅狄格州纽黑文大学学习，并到康州州政府实习。受邀为旅美康州科协顾问。

耶鲁大学实验室简介

1）Dr. Yingqun Huang is an Associate Professor of Yale School of Medicine, Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences. She received her medical degree from Shanghai Medical University (now Fudan University School of Medicine) in 1988 and her Ph.D. in Biomedical Sciences from University of Connecticut Health Center in 1997. She has a broad background in molecular biology and biochemistry, with specific training and expertise in RNA processing and RNA-protein interactions. During her graduate work she was interested in rules and mechanisms that govern the nucleocytoplasmic export of mRNAs. In her postdoctoral years she identified and mapped nuclear export elements on histone mRNAs and discovered that a subset of SR proteins (originally thought to be only splicing factors) can act as a new class of mRNA export factors. These discoveries changed some basic conceptions about mRNA export. After joining Yale as an Assistant Professor in 2003, she first focused on a little-studied mRNA nuclear export factor, NXF2, and found that it acts in concert with the fragile X mental retardation protein to modulate the stability of the mRNA of the major mRNA export factor NXF1, a process which may be important for the normal development and function of neurons and male germ cells. In the past several years she have become interested in the function of Lin28, which is highly expressed in human embryonic stem cells and is among four factors shown to reprogram somatic cells to induced pluripotent stem cells, or iPSCs.

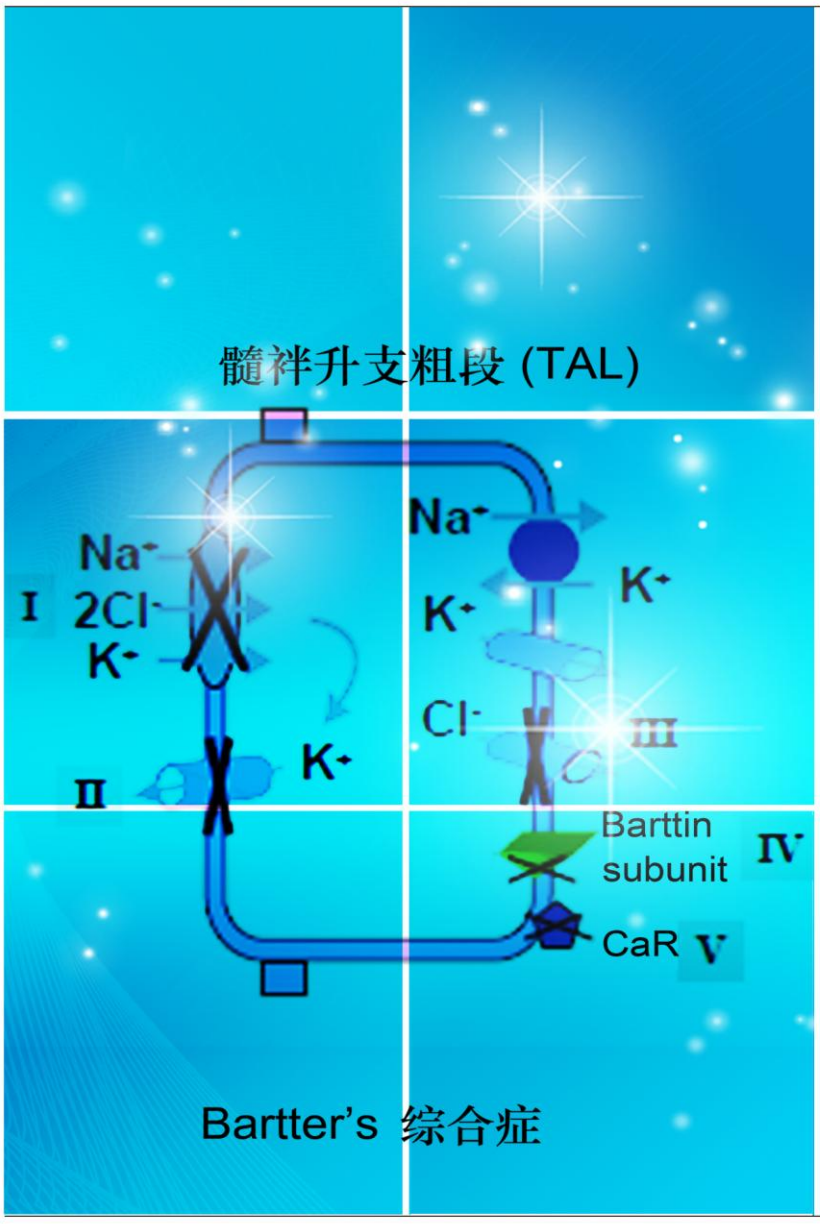
2）Dr. Yibing Qyang is an Assistant Professor of Department of Internal Medicine, Yale University School of Medicine. Dr. Qyang obtained his B.S. degree from the Department of Biochemistry, Nanjing University, China. He subsequently pursued graduate studies at the Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences. Then, he joined the Department of Molecular Genetics, University of Texas M.D. Anderson Cancer Center. After receiving his M.S. degree from Dr. Michele Sawadogo's laboratory, and Ph.D. degree from Dr. Stevan Marcus', he spent the next year conducting postdoctoral research at Baylor College of Medicine, where he studied myeloproliferative diseases with a mouse model of Presenilin deficiency. He next joined Dr. Kenneth R. Chien's laboratory at the University of California, San Diego and Cardiovascular Research Center, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School and Harvard Stem Cell Institute. He has been studying the renewal and differentiation of cardiovascular progenitor cells, marked by Isl1, a LIM-Homeodomain transcription factor. In October, 2008, Yibing Qyang became a principal investigator at Yale Cardiovascular Research Institute and Section of Cardiology, Dept. of Internal Medicine, and Yale Stem Cell Center. His research laboratory seeks to understand the basic biology of a novel population of cardiovascular progenitor cells (CPC) derived from heart tissues and embryonic stem (ES) and induced pluripotent stem (iPS) cells. These CPC are capable of making nearly an entire heart during heart formation and are marked by Isl1, a LIM-Homeo domain transcription factor. Through a high-throughput small molecule screen coupled with murine ES cell and embryonic heart developmental studies, his group has successfully discovered several small molecules modulating these CPC. One of our major goals is to further dissect the mechanisms governing the biology of these CPC. Dr. Qyang believes that knowledge from these studies will enable us to enhance activities of adult CPC in the injured heart in vivo to ameliorate heart diseases.

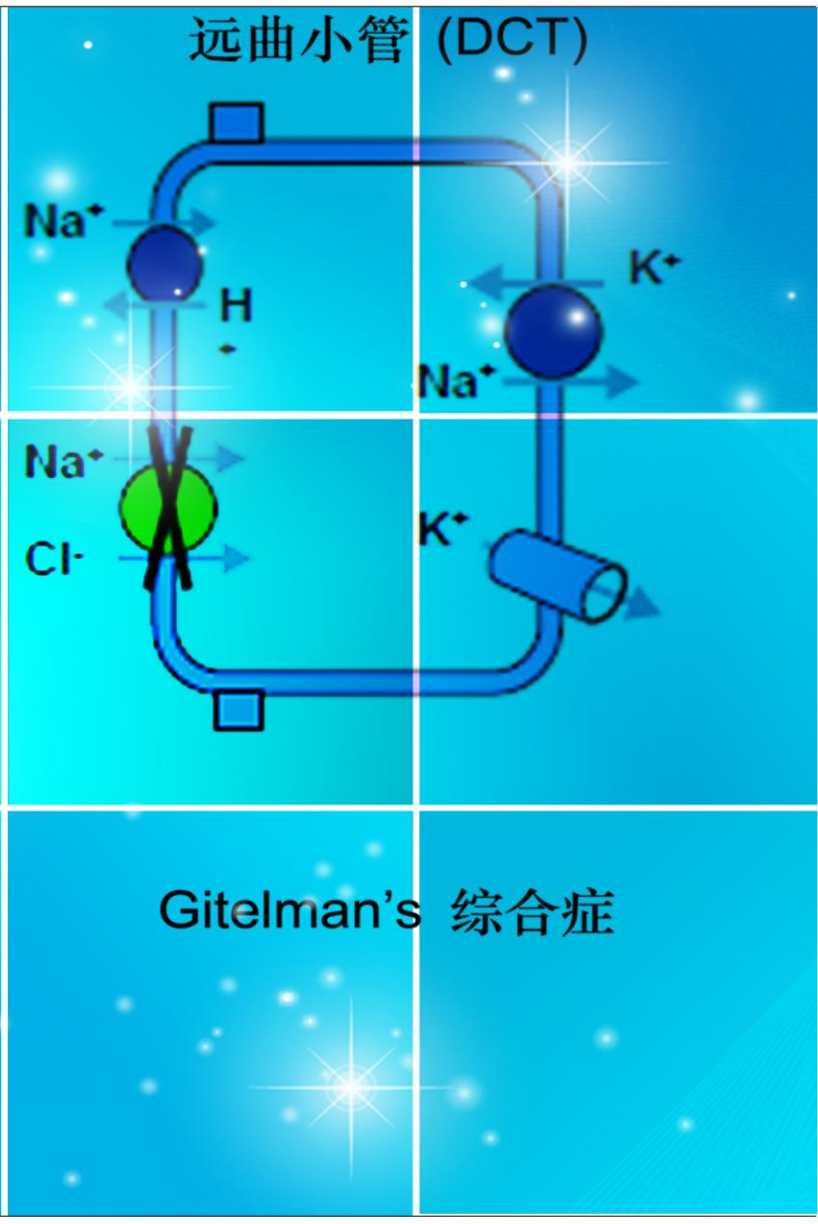
Adult stem cells may undergo aging, possibly affecting their ability to maintain organ

homeostasis. Therefore, our second research project is to obtain functional CPC and cardiomyocytes from human ES and iPS cells for cell-based therapy. In collaboration with Dr. Christopher Breuer's laboratory at Yale, the Qyang group will utilize bio-degradable scaffold to establish engineered heart tissues (EHT) with CPC and examine their contribution to heart repair and regeneration in animal models.

With purified CPC and cardiomyocytes from human ES and iPS, his third research project is to establish an in vitro cellular model to study human heart development and disease mechanisms by investigating the effect of genetic alterations on the functions of CPC and cardiomyocytes.

Lastly, the Qyang group would like to take advantage of our previous experience in high-throughput small molecule screening to establish assays for new chemical screens to directly reprogram heart fibroblast (scar-forming cells) and quiescent adult epicardial cells into CPC, essential for heart repair and regeneration. By modulating adult resident CPC directly in vivo, and exploring cell-based therapy coupled with tissue engineering in vitro, the Qyang group believe that the Qyang lab represents an exciting time on the forefront of heart repair and regeneration studies. They wholeheartedly welcome you to join our team and contribute to such exciting endeavors.


髓袢升支粗段 (TAL)
Na+
2Cl-
K+
I
II
Na+
K+
K+
Cl-
III
Barttin
subunit
IV
CaR
V
Bartter's 综合症


远曲小管 (DCT)
Na+
H+
K+
Na+
Na+
Cl-
K+
Gitelman's 综合症