

# 第十三章

# 基因治疗

# 手术治疗

- ❖ 矫正畸形
- ❖ 器官和组织移植
- ❖ 手术切除肿瘤组织

# 药物治疗

原则：补其所缺 去其所余

## ❖ 出生前治疗

羊水中甲基丙二酸含量增高，胎儿可能患甲基丙二酸症，会引起新生儿发育迟缓和酸中毒，应在出生前和出生后给母体和患儿注射大量VB<sub>12</sub>。

# 药物治疗

原则：补其所缺 去其所余

❖ 出生前治疗

❖ 症状前治疗

患儿甲状腺功能低下，应给予甲状腺素终生服用，以防患儿智能和体格发育障碍。

# 药物治疗

原则：补其所缺 去其所余

- ❖ 出生前治疗
- ❖ 症状前治疗
- ❖ 现症病人治疗

# 饮食疗法

原则：禁其所忌

❖ 产前治疗

❖ 现症病人治疗

# 基因治疗 (gene therapy)



运用DNA重组技术修复患者细胞中有缺陷的基因，使细胞恢复正常功能而达到治疗疾病的目的。

# 基因治疗的策略

**基因修正(gene correction):** 定点导入外源正常基因，代替有缺陷的基因，对靶细胞基因组无任何改变。属于直接治疗。

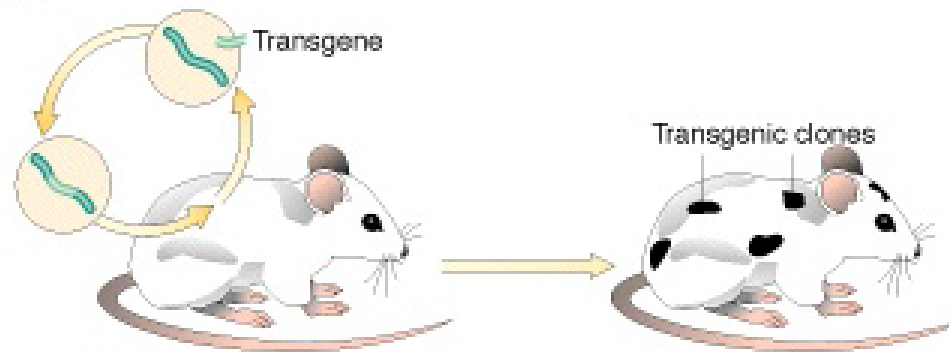
**基因添加(gene augmentation):** 非定点导入外源正常基因，而没有去除或修复有缺陷的基因。属于间接治疗。



# 基因治疗的基本方式

- ❖ 体细胞基因治疗：使患者症状消失或得到缓解，但有害基因仍能传给后代。

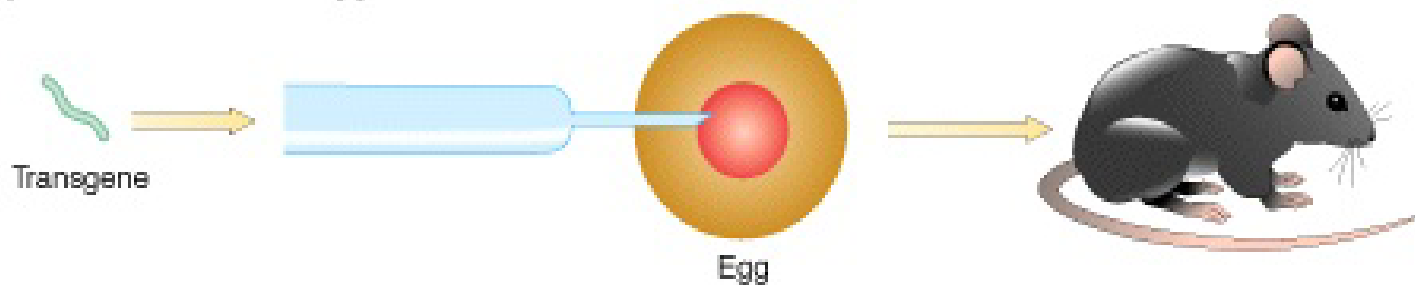
Somatic therapy



# 基因治疗的基本方式

- ❖ 体细胞基因治疗：使患者症状消失或得到缓解，但有害基因仍能传给后代。
- ❖ 生殖细胞基因治疗：可根治遗传病，使有害基因不再在人群中散布。

Injection of fertilized egg



# 基因治疗的关键

- ❖ 外源基因的安全导入；
- ❖ 外源基因高效正确的表达。

# 基因治疗的条件

- ❖ 疾病的发病机制及相应基因的结构功能清楚
- ❖ 已克隆正常基因，且明确该基因表达与调控机制
- ❖ 导入基因具有合适的受体细胞，并能有效表达
- ❖ 具有安全有效的转运载体和办法

# 病毒介导转移法

病毒介导基因转移 (virus mediated gene transfer) 是指以病毒为载体，将外源性目的基因通过基因重组技术，组装到病毒载体上，并使重组病毒感染受体宿主细胞，完成基因转移。

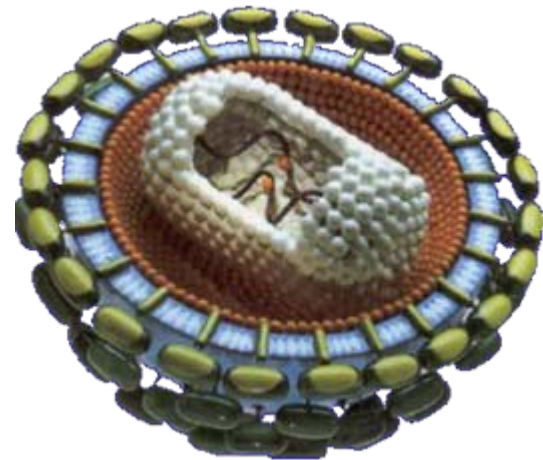
# 逆转录病毒(retrovirus)

## 😊 优点

- 能高效转染宿主细胞，转染率可达100%
- 宿主范围广泛
- 可转染大量细胞并长期停留，病毒基因和所  
载的外源基因都能表达

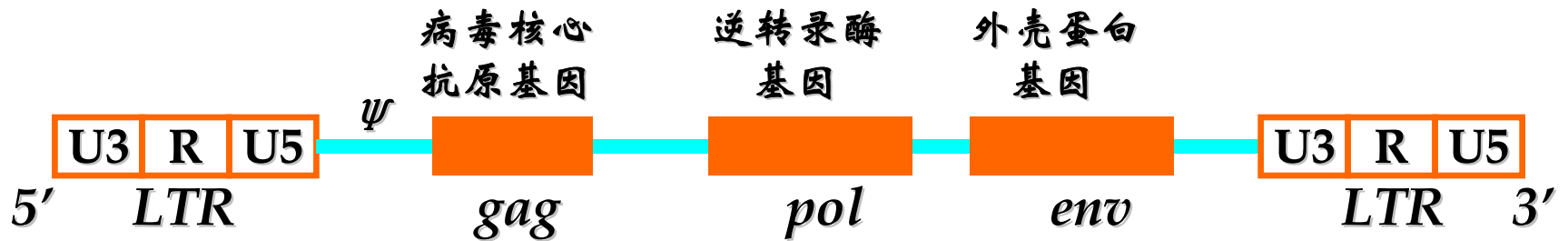
## ☹️ 缺点

- 病毒容量有限(7 kb)
- 随机插入
- 有致癌作用
- 仅对分裂期细胞有效



# 逆转录病毒(retrovirus)

## ❖ 逆转录病毒载体的构建(缺陷型病毒)



## 小鼠白血病毒(Mo-MLV)

# 逆转录病毒(retrovirus)

## ❖ 逆转录病毒载体的构建(缺陷型病毒)

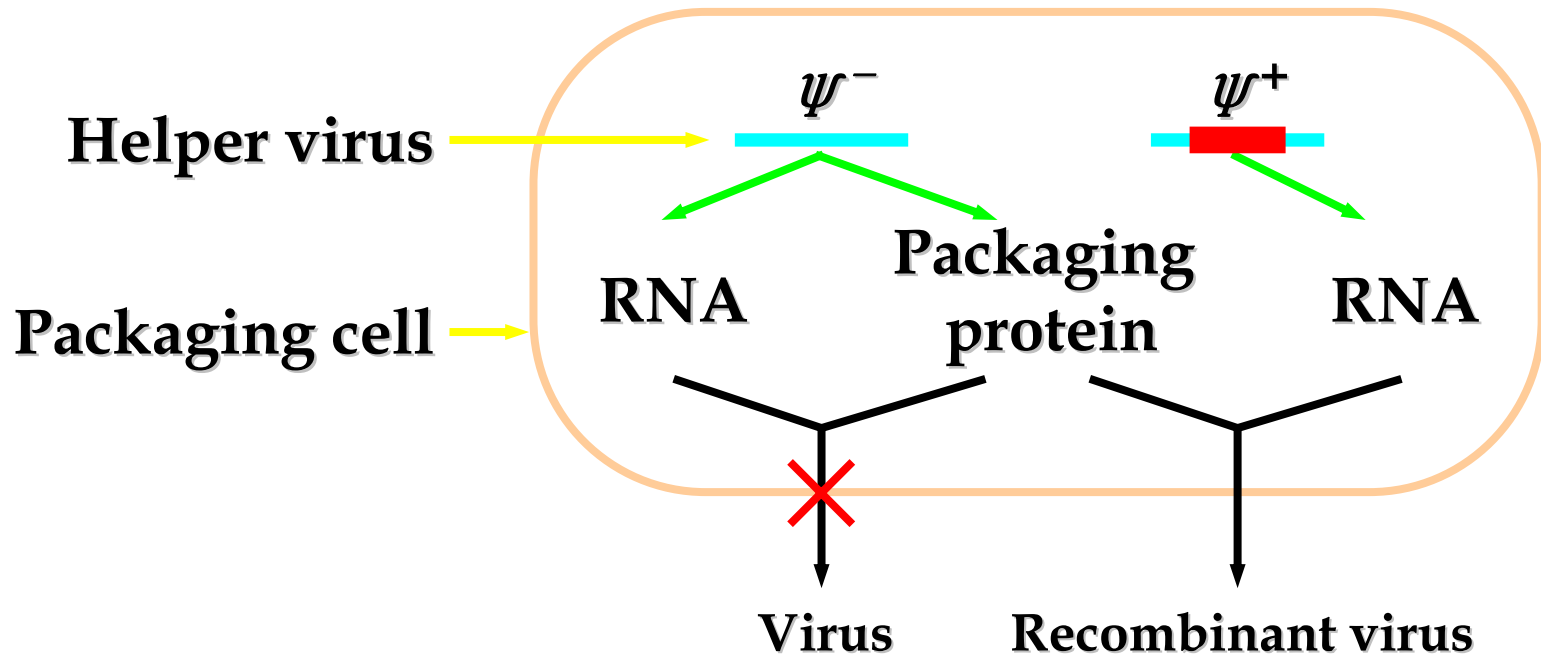


## 小鼠白血病病毒(Mo-MLV)



# 逆转录病毒(retrovirus)

## ❖ 逆转录病毒载体的包装



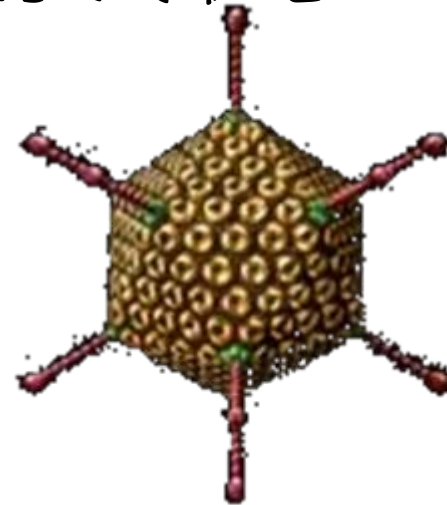
# DNA病毒

## 😊 优点

- 插入DNA片段较长
- 宿主范围广，不需要正在分裂的细胞
- 不整合，减少插入突变的潜在危险

## ☹️ 缺点

- 需反复给药
- 具有免疫原性



# DNA病毒

## ❖ 腺病毒(adenovirus)载体的优点

### ➤ 复制缺陷型病毒

☞ 可感染分裂和非分裂细胞

☞ 病毒颗粒稳定，易于浓缩和纯化

☞ 可导入多种靶细胞，并持续表达

☞ 无致癌性

# 靶细胞的选择

- ❖ 易于取材
- ❖ 便于体外培养
- ❖ 便于进行遗传技术操作
- ❖ 安全回输
- ☺ 皮肤成纤维细胞

# 反义核酸在基因治疗中的作用

应用DNA和RNA的碱基互补可形成同源或异源双链的原理，人工合成反义RNA(或DNA)，和mRNA互补，使其灭活，阻止其翻译成蛋白质，达到治疗疾病的目的。

- ❖ 反义RNA表达载体
- ❖ 反义RNA(或DNA)的体外显微注射
- ❖ 用脂质体运送反义RNA
- ❖ 其它方法：磷酸钙共沉淀法；电转染法；逆转录病毒介导等

# “自杀基因”疗法

“自杀基因”(suicide gene)的产物可将一种无害的药物(前药物)转化成有毒性的底物。

❖ 单纯疱疹病毒的胸腺嘧啶激酶(HSV1TK)

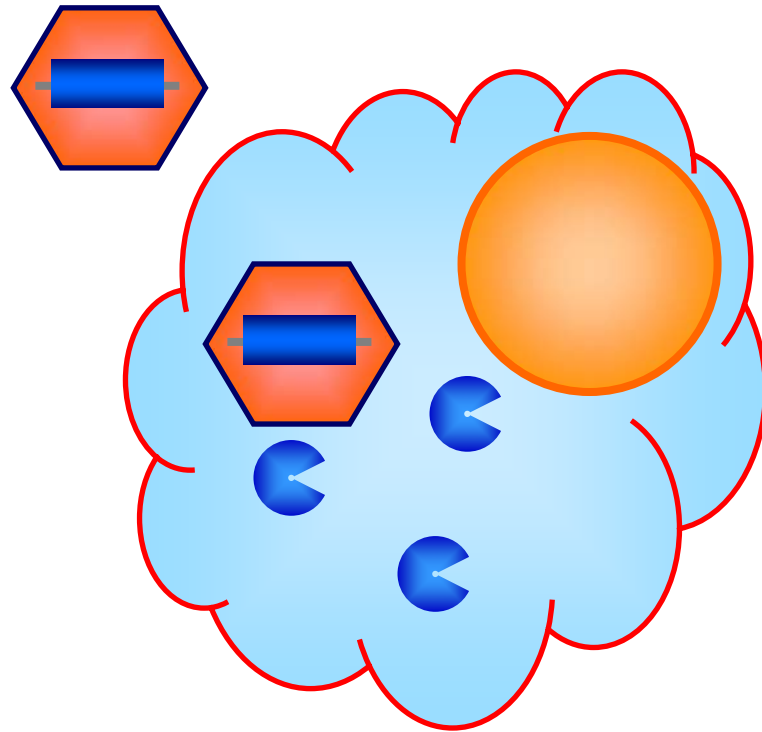


# “自杀基因”疗法

“自杀基因”(suicide gene)的产物可将一种无害的药物(前药物)转化成有毒性的底物。

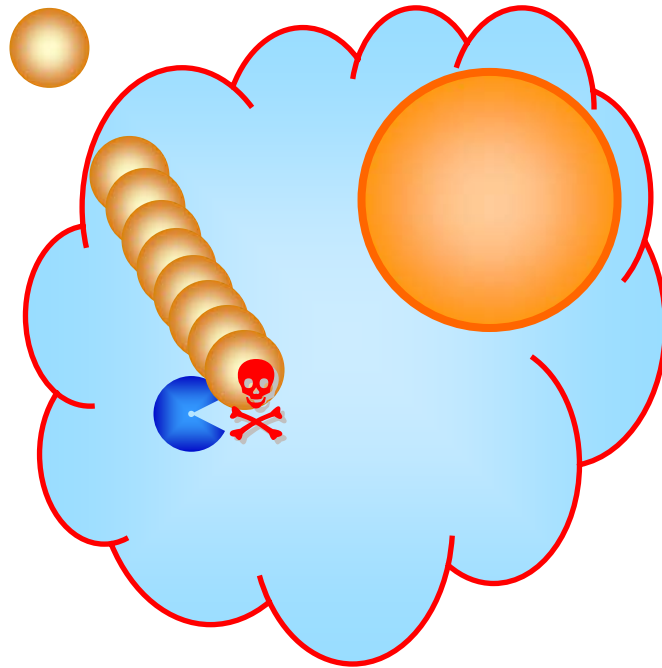
❖ 旁观者效应(by-stander effect)

# “自杀基因”疗法

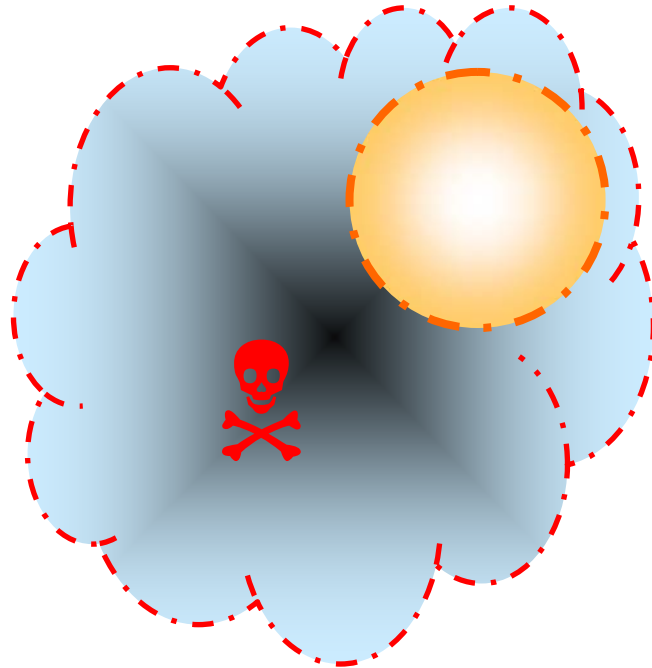




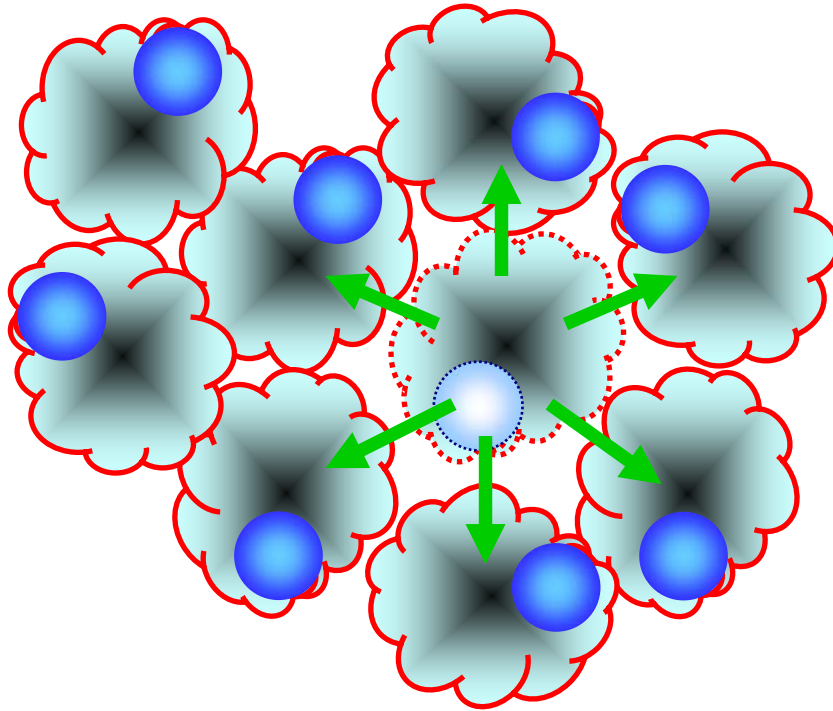
# “自杀基因”疗法



# “自杀基因”疗法

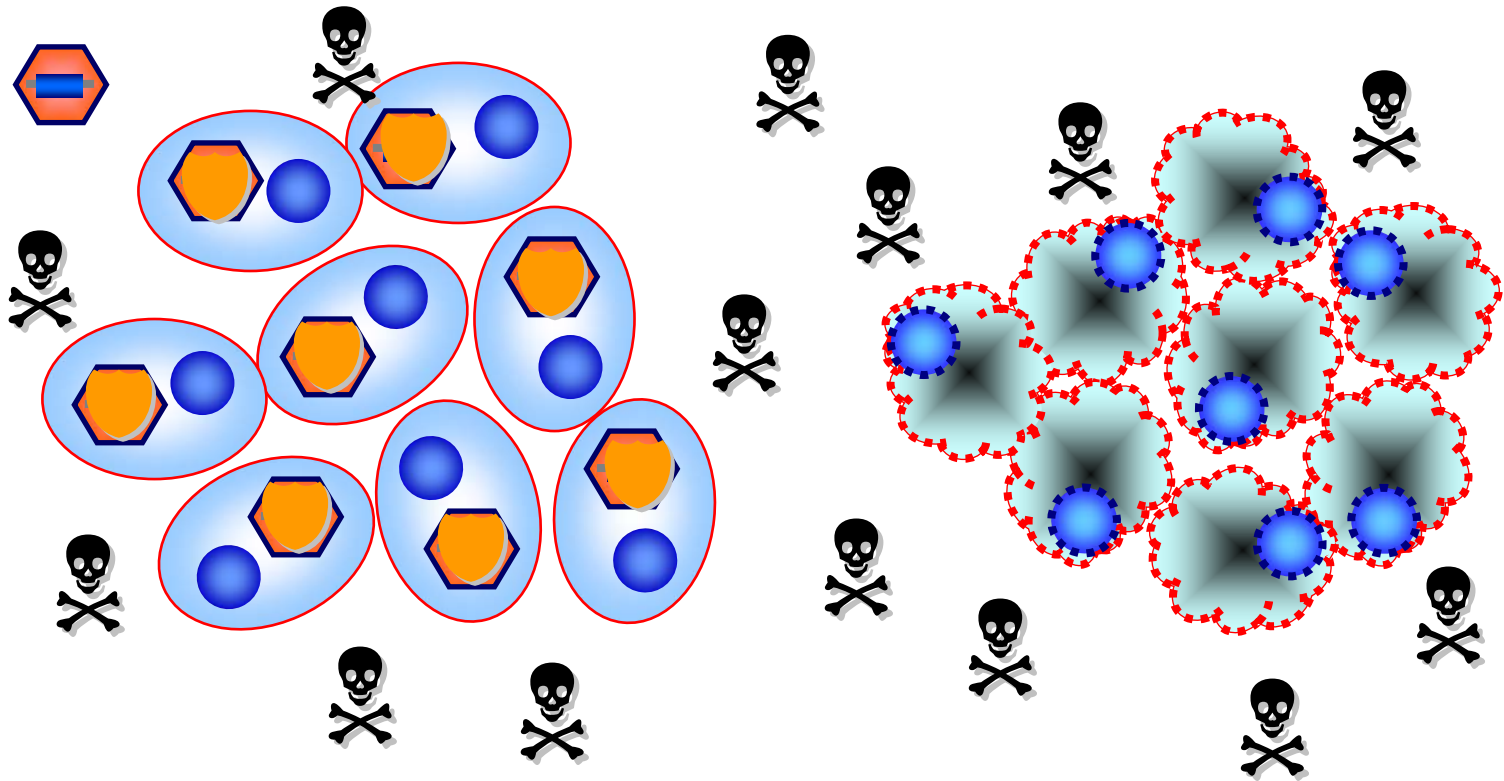


# “自杀基因”疗法



# 多抗药性基因疗法

## ❖ 多抗药性(MDR)基因

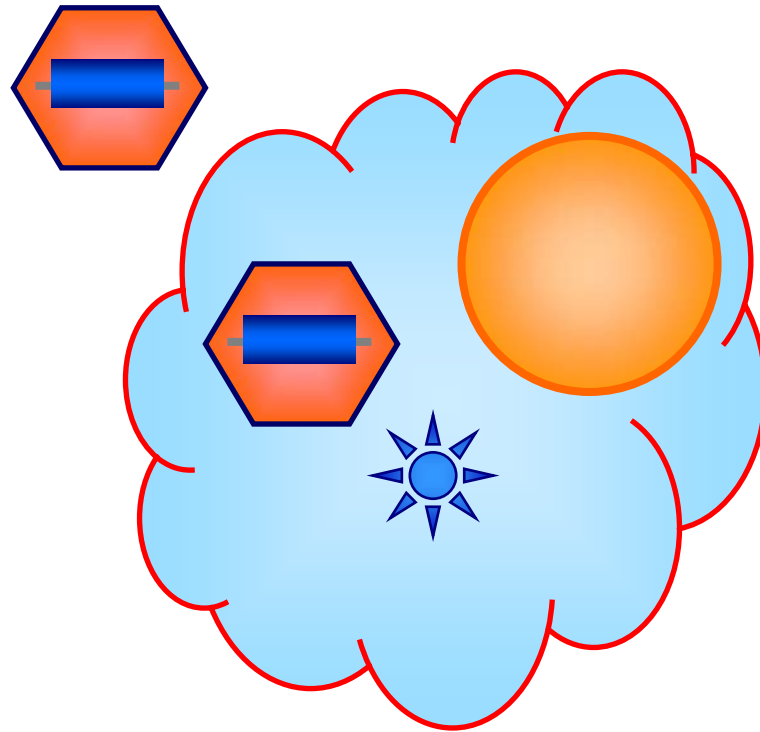


# 抑癌基因疗法

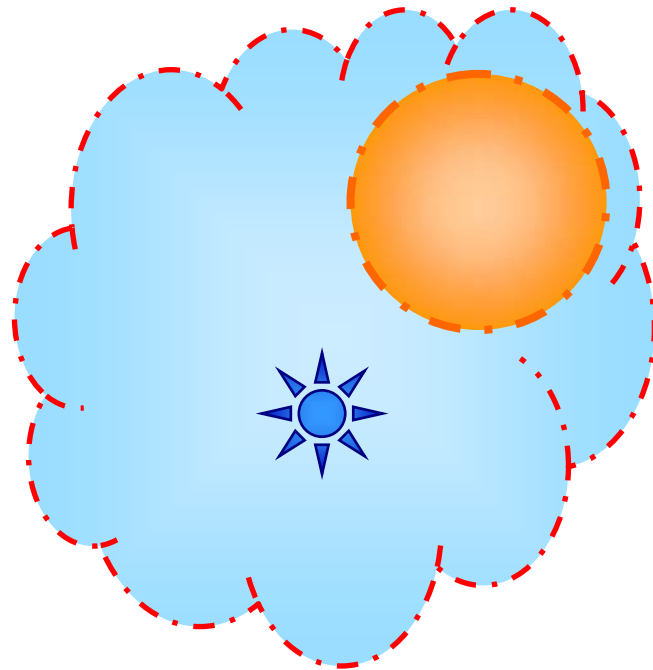
## ❖ 基因替代疗法

野生型抑癌基因的失活和肿瘤的发生密切相关，将野生型抑癌基因导入肿瘤细胞，替代和补偿有缺陷的抑癌基因，以抑制肿瘤的生长或逆转其表型，称为“基因替代疗法”。

# 抑癌基因疗法



# 抑癌基因疗法



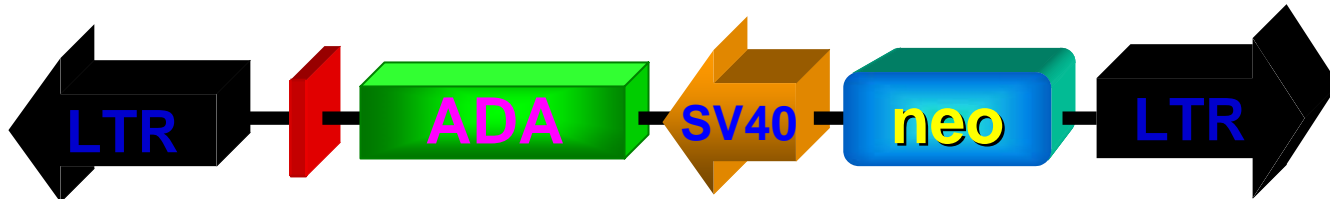
程序化死亡

# 基因治疗的临床应用

## ❖ ADA缺乏症

📖 French Anderson (NIH)

📖 September 14, 1990





# 基因治疗的临床应用



**Ashanti de Silva**

**Ashanti was the first patient to be treated with gene therapy.**

- ❖ **Injections repeated 7 times in first 10.5 months**
- ❖ **ADA: 1% ↗ 25%**

# 基因治疗的临床应用

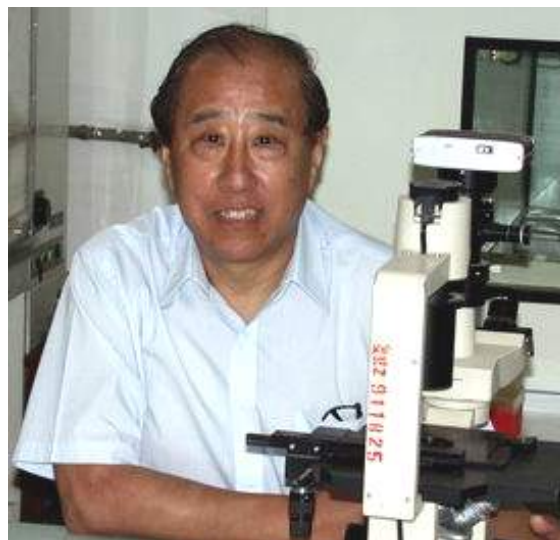
## ❖ 乙型血友病

▣ 薛京伦 (复旦大学)

▣ 1991, 腺病毒

▣ 皮肤成纤维细胞

▣ Factor IX: ↗ 5%



# 基因治疗的临床应用

## ❖ 肿瘤的基因治疗

### ➤ 细胞因子

1984~1987年，淋巴激活的杀伤细胞(LAK)

1986年，肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)结合IL-2

1991年，肿瘤坏死因子(TNF)治疗黑色素瘤

# 基因治疗的临床应用

## ❖ 肿瘤的基因治疗

- 细胞因子
- “自杀基因”

**1992年，HSV-TK 和 GCV**

# 基因治疗的临床应用

## ❖ 肿瘤的基因治疗

- 细胞因子
- “自杀基因”
- 肿瘤抑制基因

*pRB, p53, p16, p21, p27*

## 基因治疗临床实验的载体系统 (1999.09.10)

|           | 临床方案 |       | 病例          |               |
|-----------|------|-------|-------------|---------------|
|           | 数量   | 百分比   | 数量          | 百分比           |
| 腺相关病毒     | 4    | 1.1%  | 36          | 1.1%          |
| 腺病毒       | 71   | 17.9% | 437         | 13.3%         |
| 电穿孔       | 2    | 0.5%  | 20          | 0.6%          |
| 基因枪       | 4    | 1.0%  | 35          | 1.1%          |
| 疱疹病毒      | 1    | 0.3%  | 0           | 0             |
| 脂质体       | 73   | 18.4% | 735         | 22.4%         |
| 脂质体/腺相关病毒 | 2    | 0.5%  | 0           | 0             |
| 脂质体/腺病毒   | 1    | 0.3%  | 3           | 0.1%          |
| 裸 DNA     | 16   | 4.0%  | 69          | 2.1%          |
| Poxvirus  | 26   | 6.6%  | 130         | 4.0%          |
| 逆转录病毒包装细胞 | 20   | 5.1%  | 408         | 12.4%         |
| 逆转录病毒     | 158  | 39.9% | 1217        | 37.1%         |
| 逆转录病毒/基因枪 | 1    | 0.3%  | 6           | 0.2%          |
| RNA 转移    | 1    | 0.3%  | 30          | 0.9%          |
| 其它转染      | 7    | 1.8%  | 101         | 3.1%          |
|           |      |       | <b>3227</b> | <b>100.0%</b> |

# 存在的问题及解决方法

- ❖ 导入基因的持续表达
- ❖ 导入基因的高效表达
- ❖ 安全性问题