

# 生物产业动态

2023 年 第十一期

(总第一百八十二期)

东莞市生物技术产业发展有限公司

## 目 录

<b>国际动态</b> .....	<b>1</b>
<b>CELL 子刊：这个新靶点，让 CAR-T 细胞治疗实体瘤和脑肿瘤更进一步</b> .....	<b>1</b>
<b>强生医疗科技 MONARCH®经人体自然腔道诊疗机器人中国境内获批</b> .....	<b>2</b>
<b>司美格鲁肽迎来真正对手！礼来最强减肥药替尔泊肽获 FDA 批准上市</b> .....	<b>3</b>
<b>11 月 NATURE 杂志不得不看的重磅级亮点研究！</b> .....	<b>5</b>
<b>国内动态</b> .....	<b>13</b>
<b>中医药重要突破！SCIENCE 子刊：首次使用现代科学，解释中医的治疗原理</b> .....	<b>13</b>
<b>王泽峰团队综述 mRNA 疗法的进展和挑战</b> .....	<b>17</b>
<b>SCIENCE：张锋一次性发现了 188 种新型 CRISPR-CAS 系统</b> .....	<b>23</b>
<b>我国学者开发 AI 模型，首次实现胰腺癌大规模筛查</b> .....	<b>25</b>

## 国际动态

### Cell 子刊：这个新靶点，让 CAR-T 细胞治疗实体瘤和脑肿瘤更进一步

近日，圣裘德儿童研究医院的研究人员在 Cell 子刊 Cell Reports Medicine 上发表了题为：GRP78-CAR T cell effector function against solid and brain tumors is controlled by GRP78 expression on T cells 的研究论文。

该研究验证了靶向 GRP78 的 CAR-T 细胞在多种脑肿瘤和实体瘤中具有治疗效果。该研究还发现了肿瘤的一种耐药机制，一些肿瘤细胞会诱骗 CAR-T 细胞达 GRP78，从而让它们自相残杀。因此，GRP78-CAR-T 细胞对脑肿瘤和实体瘤的效应功能受 T 细胞上 GRP78 的表达水平调控。

这项研究验证了 GRP78 作为细胞治疗新靶点的潜力，对于开发靶向高表达 GRP78 的多种难治性脑肿瘤和实体瘤的免疫疗法具有重要意义。

通过对 T 细胞进行重编程，构建出选择性靶向和杀死肿瘤细胞、但不伤害健康组织的 CAR-T 细胞，在白血病等血液类肿瘤中展现了强大的治疗效果。但该方法对实体瘤和脑肿瘤效果不佳，其中一大原因是实体瘤中难以找到肿瘤特异性抗原。

为了提高 CAR-T 细胞疗法在实体瘤和脑肿瘤中的治疗潜力，研究团队将目标放在了一个新靶点上——细胞表面 GRP78 (csGRP78)。

GRP78 是一种关键的未折叠蛋白反应 (UPR) 调节因子，通常位于内质网中，在几种实体瘤和脑肿瘤中高表达 (包括成人胶质母细胞瘤、弥漫性内在脑桥胶质瘤、骨肉瘤、三阴性乳腺癌和尤文肉瘤)，当内质网应激升高时，GRP78 过表达并易位到癌细胞表面。作为一种常见的必需基因，GRP78 不易受抗原丢失的影响。此外，GRP78 在肿瘤细胞中的细胞表面异位是由多种机制驱动的，这降低了免疫逃逸的可能性。所有这些特征使 GRP78 成为实体瘤和脑肿瘤治疗中极具吸引力的靶抗原。

研究团队构建了靶向 GRP78 的 CAR-T 细胞 (GRP78-CAR-T 细胞)，并在细胞

和小鼠模型中成功地杀死了多种类型的癌症，包括急性髓系白血病（AML）、成人胶质母细胞瘤（aGBM）、弥漫性内在脑桥胶质瘤（DIPG）、骨肉瘤（OS）、三阴性乳腺癌（TNBC）和尤文肉瘤（EWS）。

研究团队一开始推测，更高水平的 GRP78 将使 CAR-T 细胞更容易定位和摧毁癌症，然而，事实并非如此，他们发现，肿瘤细胞表面表达的 GRP78 水平与 CAR-T 细胞杀死癌细胞的能力之间似乎没有关系。

研究团队进一步探索了这一现象背后的原因，GRP78-CAR-T 细胞在所有测试的肿瘤中表现出不同程度的抗肿瘤活性，这种活性可能依赖于 T 细胞表面 GRP78 的表达。

某些肿瘤细胞会改变 T 细胞激活和 T 细胞的 GRP78 表达，这些肿瘤细胞使靶向 GRP78 的 CAR-T 细胞的表面也表达了 GRP78，T 细胞表面表达的 GRP78 越多，它们就越不活跃，降低了其杀癌活性。此外，仍然活跃的 CAR-T 细胞会靶向并杀死了表面表达 GRP78 的同类。也就是说，肿瘤细胞能够欺骗 CAR-T 细胞，让它们自相残杀，从而让自己逃过一劫。

通过这些实验，研究团队揭示了 GRP78 的复杂性。由于它存在于许多难以治疗的肿瘤类型中，GRP78 仍然是一个诱人的癌症治疗靶点，但我们还需要扩大其与 T 细胞的相互作用的理解，以使靶向 GRP78 的免疫疗法可行，如果可行可以，靶向 GRP78 的 CAR-T 细胞可能成为一种适用于多种癌症类型的细胞疗法。

研究团队表示，我们总是需要找到新靶点来改善癌症治疗，从生物学角度来看，GRP78 是一个极具潜力的新靶点，但它又与之前的癌症相关分子不同。这项研究表明，对于下一代 CAR-T 细胞疗法的开发，我们需要认识到，并不是所有的靶点都是平等的。

## **强生医疗科技 MONARCH®经人体自然腔道诊疗机器人中国 境内获批**

近日，强生医疗科技在第六届中国国际进口博览会上正式宣布，旗下 MONARCH®经人体自然腔道诊疗机器人（电子支气管内窥镜导航控制系统）在中国境内获批上市。中国将成为 MONARCH®机器人在美国以外首个获得监管机构\*批准的市场。作为中国境内首个获批的经人体自然腔道诊疗机器人平台，医生通过

MONARCH®可在体表无切口的情况下，经支气管自然腔道开展诊疗。该产品的上市将加速推动中国肺癌诊疗的微创化和精准化，造福广大肺结节和肺癌患者。

强生全球资深副总裁、中国区主席宋为群表示，“强生医疗科技致力于不断引领疾病诊疗向微创化和精准化发展，并将医疗创新成果加速引进中国。我们很高兴 MONARCH®经人体自然腔道诊疗机器人在中国正式获批，期望 MONARCH®的上市能为术者进一步提高早期肺癌诊疗的便利度和精准度，为患者创造更加先进、优质的诊疗方案。”

肺癌是全球第一号癌症杀手，也是中国第一大新发及致死癌种，给社会和病患家庭造成了严重的疾病负担。近年来，我国肺癌发病率不断攀高，世界卫生组织国际癌症研究机构的 GLOBOCAN 数据库显示，2022 年中国新发肺癌病例约 87.1 万，死亡率在恶性肿瘤中位居第一。推动肺癌早防早治，护航老百姓身体健康，需进一步普及肺癌早期筛查和诊断。目前，肺结节活检手术，是肺癌早期诊断的重要手段之一。然而，由于早期肺结节通常位于肺深部且直径较小，增加了诊断难度，现有诊断技术并非能够完全识别。

由强生医疗科技创新研发的 MONARCH®诊疗机器人应用了光学识别、动态电磁导和镜体运动三个数据的多模态融合导航及游戏式手柄控制等创新技术，能够在双机械臂控制下，驱动伸缩式设计的柔性带镜通道，实现肺深部病灶抵达和连续视觉辅助下的精准操控，对提高肺癌诊断和治疗阶段的微创化和精准化具有划时代的意义。

早在 2021 年，MONARCH®诊疗机器人就曾以亚洲首秀的身份，亮相第四届中国国际进口博览会，获得了行业和大众的广泛关注。两年后的进博会上，MONARCH®作为中国境内首个获批的经人体自然腔道诊疗机器人平台，实现了“展品变商品”的转变。未来，MONARCH®诊疗机器人在临床上的应用将积极推动肺癌诊疗的数字化、微创化、精准化，进一步满足中国医患的诊疗需求，助力“健康中国”建设。

## **司美格鲁肽迎来真正对手！礼来最强减肥药替尔泊肽获 FDA 批准上市**

美国 FDA 批准了礼来公司开发的替尔泊肽（Tizepatide）作为减肥药物上市（商品名 Zepbound™），适用于肥胖（BMI 在 30 及以上）或超重（BMI 在 27 以

上，但伴有至少一种体重相关合并症，例如高血压、2型糖尿病或高胆固醇）的成年人减肥，与降低饮食热量和增加运动一起管理体重。此前，Tizepatide 已获 FDA 批准用于改善成人 2 型糖尿病患者的血糖（商品名为 Mounjaro™）。

Tizepatide 是礼来开发的一款葡萄糖依赖性促胰岛素多肽（GIP）受体和胰高血糖素样肽-1（GLP-1）受体的双重激动剂，能够对食欲、热量摄入和代谢功能产生协同作用。此次获批用于减肥后，其成为第一个也是目前唯一一个用于减肥的同时激活两种肠促胰岛素激素受体的治疗方法。

目前，礼来市值已达 5877 亿美元，是唯一市值超过 5000 亿美元大关的制药公司，遥遥领先于其他制药巨头。

此次获批是基于 SURMOUNT-1 和 SURMOUNT-2 这两项三期临床试验的结果。

全面超越司美格鲁肽？

在 2022 年 4 月 28 日公布的 SURMOUNT-1 的 3 期临床数据中，2539 名超重或肥胖的成年人参与，他们平均体重为 105 公斤，且没有患糖尿病。每周一次皮下注射替尔泊肽（Tirzepatide）治疗，治疗剂量分别为 5mg、10mg、15mg。所有治疗参与者均从 2.5mg 剂量开始，然后每四周增加 2.5mg 剂量，各组分别达到 5mg、10mg、15mg 剂量后维持。

经过为期 72 周的替尔泊肽（Tirzepatide）治疗，15mg 剂量组的参与者平均体重减轻高达 22.5%（24 公斤）。礼来公司表示，这是首个在 3 期临床试验中平均减重效果超过 20% 的研究性药物。

在 2023 年 4 月 27 日公布的 SURMOUNT-2 的 3 期临床数据中，938 名患有糖尿病的肥胖或超重患者参与，他们平均体重 100.7 公斤，经过为期 72 周的替尔泊肽（Tirzepatide）治疗，10mg 剂量组的参与者平均体重减轻 13.4%（13.5kg），15mg 剂量组平均体重减轻 15.7%（15.6kg），替尔泊肽（Tirzepatide）治疗在各种减肥和代谢测量方面的表现明显优于安慰剂。

从这两项 3 期临床试验结果来看，替尔泊肽（Tirzepatide）无论是在糖尿病患者还是在非糖尿病患者中的减肥效果都要优于其竞争对手司美格鲁肽（Semaglutide）。

在肥胖或超重的糖尿病患者中，司美格鲁肽（Semaglutide）在 68 周的治疗后，平均减重效果为 9.6%，而替尔泊肽（Tirzepatide）则为 15.7%。在非糖尿

病的肥胖患者中，司美格鲁肽（Semaglutide）平均减重效果为 15%，而替尔泊肽（Tirzepatide）则为 22.5%。

此外，在 2023 年 10 月 15 日公布的 SURMOUNT-3 的 3 期临床试验结果显示，在为期 12 周的强化生活方式干预（包括低热量饮食、运动和频繁的咨询）后使用替尔泊肽（Tirzepatide）治疗 72 周时间，总计 84 周时间里，肥胖或超重但没有糖尿病的参与者体重平均减轻了 26.6%（29.2 公斤），而安慰剂组仅为 3.8%（4.1 公斤）。这是药物减肥效果的新纪录。

为了更好地比较替尔泊肽（Tirzepatide）与司美格鲁肽（Semaglutide）的减肥效果，礼来公司于 2023 年 4 月启动了一项新的 3 期临床试验——SURMOUNT-5，这项临床试验旨在评估这两种减肥药物用于成人肥胖或超重且伴有体重相关合并症的非糖尿病患者的有效性与安全性。这也是替尔泊肽减重适应症首次头对头司美格鲁肽的临床研究。

或在五年内成为减肥药销售之王

据诺和诺德公布的 2022 年财报，2022 年司美格鲁肽（Semaglutide）销售额高达 109 亿美元，成为首款销售额超过 100 亿美元的 GLP-1 受体激动剂。更夸张的是，今年前三个季度，司美格鲁肽的销售额已经高达 142 亿美元，同比增长 86%。

此次替尔泊肽（Tirzepatide）作为减肥药物获批上市，成为新的“首选减肥药”，华尔街投资银行 Cowen 的分析师认为，替尔泊肽很可能在五年内成为销售额最高的减肥药。

## 11 月 Nature 杂志不得不看的重磅级亮点研究！

【1】Nature：科学家成功揭示神经递质转运蛋白的精细化结构

doi: 10.1038/s41586-023-06727-9

神经元能通过一种称之为神经递质的化学信号来彼此交流沟通，近日，一篇发表在国际杂志 Nature 上题为“Mechanisms of neurotransmitter transport and drug inhibition in human VMAT2”的研究报告中，来自美国圣犹大儿童研究医院等机构的科学家们通过研究利用结构生物学知识确定了囊泡单胺转运体 2 (VMAT 2, vesicular monoamine transporter 2) 的结构，其是神经元通信的关

键组成部分。

通过在不同状态下观察 VMAT2，科学家们就能更好的理解其是如何发挥功能的，以及蛋白质的不同形状如何影响药物的结合，这或许是治疗诸如小儿多发性抽动症（Tourette syndrome）等多动症疾病（过度运动）的药物开发的关键信息。单胺类化合物包括多巴胺、血清素和肾上腺素，其在神经元交流沟通中扮演着关键角色，这些分子影响着大脑的工作方式，控制机体的情绪、睡眠、运动、呼吸、循环和多种其它功能；单胺类是由是神经元所释放的神经递质（信号分子），但在其被释放之前必须首先被包装成为囊泡结构。

当神经递质被从突触（化学信号从一个神经元传递到另一个神经元的连接处）释放之前，囊泡就是储存神经递质的细胞区室，我们可以将囊泡想象成为神经元细胞的货船，神经化学物质能被包裹在其中，并被带到其需要去的地方。VMATs 就是这些囊泡膜上的蛋白质，其能将单胺类化学物移动到其中的空间，就像货船上的装载起重机一样。研究者 Chia-Hsueh Lee 解释道，VMATs 是将这些单胺类神经递质包装到突触囊泡中所需要的转运蛋白；一旦 VMAT 利用单胺类填充了囊泡，“货船”就会向突触间隙（神经元之间的空间）所移动，并在那里释放化合物。

**【2】Nature：重大进展！首次构建出心脏肌节中的粗丝在天然环境中的三维结构图**

doi: 10.1038/s41586-023-06690-5

近日，一篇发表在国际杂志 Nature 上题为“Structure of the native myosin filament in the relaxed cardiac sarcomere”的研究报告中，来自德国马克斯-普朗克分子生理学研究所等机构的科学家们通过利用一种名为低温电镜断层成像技术（electron cryo-tomography, cryo-ET）的前沿技术，在世界上成功获得了粗丝（thick protein filament，也称为粗蛋白丝，粗肌丝）在天然细胞环境中的首张高分辨率三维图像。这使人们得以一窥粗丝内部的分子分布和成分排列。这一新发现是理解肌肉在健康和疾病状态下如何运作的重要框架。

人类的心脏通常被描述为身体的发动机，它是一个非凡的器官，不知疲倦地跳动着，维持着我们的生命。在这个重要器官的核心部位，心脏收缩时会发生复杂的过程，在那里，粗丝和细丝（thin protein filament，也称为细蛋白丝，

细肌丝)在肌节(sarcomere)内相互作用,而肌节是骨骼肌和心肌细胞的基本组成部分。粗丝蛋白的任何变化都会对我们的健康造成严重影响,导致肥厚型心肌病和其他多种心脏疾病和肌肉疾病。

心房颤动、心力衰竭和中风-肥厚性心肌病可导致许多严重的健康问题,也是35岁以下人群心源性猝死的主要原因。Raunser说,“心肌是人体的核心发动机。当然,如果了解了它的构造和功能,对出现故障的它进行修复就容易多了。在肌肉研究的初期,我们已成功地利用低温电镜观察到了这些肌肉基本组成成分的结构以及它们之间的相互作用。然而,这些都是从活细胞中提取的蛋白的静态图像。它们只能告诉我们肌肉成分的高度可变性和动态相互作用如何使肌肉在天然环境中运动。”

**【3】Nature:** 当我们晕厥时会发生什么? 科学家识别出新型大脑和心脏之间的关联!

doi: 10.1038/s41586-023-06680-7

近40%的人会在其一生中至少经历一次晕厥(syncope)或晕厥发作(fainting spells),这种短暂的意识丧失,无论是疼痛、恐惧、炎热、换气过度还是其它原因所引起的,都占到了医院急诊室就诊患者的绝大部分;然而,关于人们“晕厥”的确切根源机制在很大程度上研究人员并不清楚。近日,一篇发表在国际杂志Nature上题为“Vagal sensory neurons mediate the Bezold-Jarisch reflex and induce syncope”的研究报告中,来自加利福尼亚大学等机构的科学家们通过研究首次识别出了心脏和大脑之间与机体晕厥之间的特殊遗传通路。

研究人员的独特方法之一就是心脏视为一种感觉器官,而不是长期以来认为大脑能发送信号,而心脏只是遵循指示的观点,这项研究中,研究人员运用多种方法更好的理解了心脏和大脑之间的特殊神经连接。研究者Vineet Augustine说道,我们发现,心脏也会向大脑发送信号从而改变大脑的功能,本文研究得出的信息或许更好地理解与治疗与大脑-心脏关联有关的多种精神和神经性疾病有关。我们的研究首次全面阐明了遗传定义的“心脏反射”,其忠实地概括了人类晕厥、在生理学、行为学和神经网络水平上的特征。

文章中,研究人员联合研究了与Bezold-Jarisch反射(BJR)相关的神经机

制，BJR 是一种在 1867 年首次被描述的心脏反射；几十年来，研究人员一直推测，以心率、血压和呼吸下降为特征的 BJR 或许与机体晕厥有关，但由于参与反射的神经通路目前尚不清楚，因此研究人员一直缺乏证明这一观点的信息。研究人员重点分析了称之为结神经节 (nodose ganglia) 的感觉簇背后的遗传学特性，其是迷走神经的一部分，能携带大脑和内脏器官（包括心脏）之间的传递信号；具体而言，迷走神经感觉神经元 (VSNs, vagal sensory neurons) 能将信号投射到脑干，并被认为是与 BJR 和晕厥直接相关，在研究人员寻找新型神经通路的过程中，他们发现，能表达神经肽 Y 受体 Y2（称之为 NPY2R）的 VSNs 与众所周知的 BJR 反应密切相关。

【4】Nature: 科学家们开发出“可注射的组织假体”有望为再生受损肌肉/神经提供新途径

doi: 10.1038/s41586-023-06628-x

近日，一篇发表在国际杂志 Nature 上题为“Injectable tissue prosthesis for instantaneous closed-loop rehabilitation”的研究报告中，来自韩国成均馆大学等机构的科学家们通过研究在生物材料技术和康复医学研究领域取得了重大进展，他们开发出了一种新方法，其能通过采用导电水凝胶形式的“可注射组织假体”与机器人辅助的康复协同结合，从而来愈合机体的肌肉损伤。

让我们想象一下你正在海里游泳，一条巨大的鲨鱼逐渐靠近并从你的大腿上咬下一块肉，从而导致腿上的运动/感觉功能完全丧失，如果不及时治疗的话，这种严重的肌肉损伤将会导致永久性的功能丧失和残疾，那么如何才能从这种损伤中恢复过来呢？针对这类肌肉损伤的传统康复方法一直在寻找一种高效的闭环步态康复系统，该系统能将轻量级外骨骼和可穿戴/植入式的设备结合在一起，这种辅助假肢系统对于帮助患者通过恢复与神经和肌肉损伤相关的感觉和运动功能非常必要。但不幸的是，当前电子材料的机械性能和刚性促使其无法与软组织相容，这就会导致摩擦和潜在的炎症，从而就会拖延患者的康复。

为了克服这些限制，研究人员开始转向研究一种被称为透明质酸 (hyaluronic acid) 的材料，这种材料通常能被用作平滑皱纹的填充剂；利用这种物质，研究人员就开发出了一种可注射的水凝胶来用作“组织假体” (tissue prostheses)，其能在肌肉/神经组织再生时暂时填补缺失的间隙，这

种材料的可注射性促使其要比传统的生物电子设备具有显著的优势，传统的生物电子设备不适合狭窄、深度或小的区域，并且需要进行侵入性的手术。由于具有高度的组织样特性，这种水凝胶就能与生物组织无缝对接，且并不需要手术就能轻松地施用于难以触及的身体部位。

**【5】Nature：首次发布人类胎儿大脑发育数字图谱**

**doi: 10.1038/s41586-023-06630-3**

近日，一篇发表在国际杂志 Nature 上题为“Normative spatiotemporal fetal brain maturation with satisfactory development at 2 years”的研究报告中，来自国外的研究人员发布了第一份数字图谱，显示了妊娠 14 至 31 周期间——人类发育的关键时期——胎儿大脑每个半球的正常成熟动态。该图谱是利用 INTERGROWTH-21st 项目中 2194 名胎儿在怀孕期间连续获得的 2500 多份三维超声脑部扫描图生成的，该项目是一项基于人群的大型研究，研究对象是生活在世界 8 个不同地理区域（包括全球南方的 5 个区域）的健康孕妇，这些孕妇的孩子在 2 岁时生长和神经发育良好。

这项新研究的独特之处在于，它首次采用标准化的方法和设备收集了国际三维超声扫描数据集，并利用先进的人工智能（AI）和图像处理工具进行了分析，从而构建了一张显示胎儿大脑如何随着孕期的进展而逐渐成熟的图谱。不同人群的胎儿大脑生长发育模式极为相似，这是神经科学领域的一项重要科学进步。这些结果与之前报道的来自同一参与 INTERGROWTH-21st 项目的人群的关于胎儿骨骼生长、新生儿体型和婴儿神经认知发育的研究结果完全一致。这些结果还强调了一个极其重要的公共卫生信息：必须满足孕妇在健康、教育、营养和环境方面的需求，以确保孩子的身体和大脑健康发育。

这些发现增加了 INTERGROWTH-21st 项目的全球影响，该项目之前制定了胎儿生长、新生儿体型和早产儿出生后生长的国际标准，这些标准正在世界各地广泛用于临床和研究目的。

**【6】Nature：科学家阐明人类亨廷顿氏症发生的生物性诱因 有望帮助开发新型靶向性疗法**

**doi: 10.1038/s41586-023-06701-5**

亨廷顿氏症（huntington's disease）会导致机体不自主的运动和痴呆症发

生，目前尚无治愈性手段且这种疾病是致命性的，近日，一篇发表在国际杂志 Nature 上题为“m1A in CAG repeat RNA binds to TDP-43 and induces neurodegeneration”的研究报告中，来自加州大学河滨分校等机构的科学家们通过研究首次发现他们能减缓果蝇和蠕虫疾病的进展，这或许就为开发治疗人类亨廷顿氏症的新型疗法打开了一扇大门。

理解这些研究进展的关键就是细胞中的遗传信息从 DNA 转化为 RNA，随后再转化为蛋白质的方式；DNA 是由四种核苷酸组成，包括腺嘌呤（A）、胸腺嘧啶（T）、鸟嘌呤（G）和胞嘧啶（C），这些核苷酸的顺序决定了 DNA 链中所包含的生物学指令；有时，一些 DNA 核苷酸会自我重复并扩大 DNA 链，然而在亨廷顿氏症中，这种扩增则会发生在三种核苷酸上，即 CAG（胞嘧啶-腺嘌呤-鸟嘌呤）上。扩增成大量重复的 DNA CAG 序列或许与亨廷顿氏症的早期发病和严重程度有关，而研究人员对于其它一些神经变性疾病也进行了类似的观察。

当这些 DNA 重复序列被翻译成为 RNA 时或许就会存在一些潜在的副作用，细胞会化学性地修饰额外的 RNA，而研究人员也了解到，这种修饰的 RNA 在机体神经变性过程中发挥着重要的作用。研究者 Yinsheng Wang 说道，我们首先发现，一种称之为甲基化的化学修饰或许会更频繁地发生在 RNA 的额外重复序列中，随后我们也在细胞中观察到了一种特殊蛋白的异常分布和积累，换句话说，甲基化能将一种重要的细胞蛋白转化为废物。

**【7】Nature: 揭示聚合酶  $\theta$  和  $\delta$  在聚合酶  $\theta$  介导的末端连接中起着至关重要的作用**

doi: 10.1038/s41586-023-06729-7

我们的 DNA 并非坚不可摧。在我们的一生中，DNA 会因自然和环境因素而断裂。值得庆幸的是，我们的身体有专门的酶和途径，可以通过几种不同的机制（即 DNA 修复途径）将断裂的 DNA 粘合在一起。

然而，有些癌症会为了自身的利益而劫持这些途径。在一项新的研究中，美国北卡罗来纳大学医学院生物化学与生物物理学系的 Susanna Stroik 博士和 Dale Ramsden 博士及其团队研究了一种鲜为人知的 DNA 修复途径，即聚合酶  $\theta$  介导的末端连接（polymerase theta-mediated end joining, TMEJ）。相关研究结果“Stepwise requirements for polymerases  $\delta$  and  $\theta$  in theta-mediated

end joining”发表在 Nature 期刊上。

该途径在许多遗传性乳腺癌、卵巢癌和前列腺癌患者（特别是那些涉及 BRCA1 和 BRCA2 基因突变的患者）中被发现上调，这项新的研究对该途径进行了逐步阐述，新知识可能会带来新的癌症疗法。Stroik 说，“携带这些乳腺癌突变的人，他们的癌症依赖聚合酶  $\theta$  的修复途径来维持肿瘤的存活和修复癌组织中的 DNA 损伤。如今，我们对这一途径有了更多的了解，理论上科学家们可能制造一种药物来破坏癌细胞中这一途径的关键部分，而不是使用传统的化疗方法，因为传统的化疗方法会在破坏癌细胞的同时破坏健康细胞。”

**【8】Nature：首次构建出肿瘤中 T 细胞表达的转录因子图谱，有望开发出更好的癌症免疫疗法**

doi: 10.1038/s41586-023-06733-x

T 细胞是免疫系统中参与杀死癌症的关键成分。肿瘤产生的信号会关闭这些 T 细胞，部分上是通过迫使它们逐渐分化（成熟）为一种功能低下的状态，即衰竭。近日，一篇发表在国际杂志 Nature 上题为“Single-cell CRISPR screens in vivo map T cell fate regulomes in cancer”的研究报告中，来自美国圣犹达儿童研究医院的研究人员全面研究了癌症中 T 细胞分化状态所涉及的转录因子。然后，他们利用这些信息在临床前模型中通过促进或阻止 T 细胞分化来增强抗癌活性。这些研究结果对癌症免疫疗法具有重要意义。

过继细胞疗法（adoptive cell therapy, ACT）中使用的 T 细胞用于靶向杀死癌细胞。作为 ACT 之一的嵌合抗原受体（CAR）T（CAR-T）细胞疗法对血癌有临床疗效，但对实体瘤的疗效不佳。这种疗效上的差异部分是由于肿瘤促进了 T 细胞衰竭，从而使得 T 细胞主动杀灭癌细胞的效率降低。这些作者发现，他们可以精确地打断 T 细胞分化过程，从而提高抗肿瘤疗效。研究者 Hongbo Chi 表示，T 细胞是肿瘤免疫疗法的基石，我们找到了一种对 T 细胞进行重编程的新方法，使它们更加有效。我们可以将它们推向一种特化状态，使它们成为功能更强的肿瘤杀伤细胞。

从概念上讲，T 细胞分化类似于一条从山上流下的河流。山顶是前体细胞，山底是衰竭细胞。理想的状态是介于这两个极端之间，就像山中间有一个湖，分化得足够但不过度，从而具有高增殖性和有效的抗癌活性。湖泊的水来自上方，

但也有一条溪流源源不断地将湖泊中的沿着山坡流下。如果不间断，湖中所有的水最终都会通过这条溪流排出，所有的 T 细胞都会衰竭。

**【9】Nature: 新研究定量确定发育中的胚胎内的细胞基因活性变化的细节**  
**doi: 10.1038/s41586-023-06720-2**

近日，一篇发表在国际杂志 Nature 上题为“Embryo-scale reverse genetics at single-cell resolution”的研究报告中，来自美国华盛顿大学的研究人员开发出一种技术，可以定量确定斑马鱼胚胎中发生的基因活性变化，这些变化是对关键基因的特定编辑做出的反应。这种方法可以定量确定数千个胚胎中数百万个细胞在发育过程中的基因活性和遗传变异的影响。

这些作者说，这一进展将加快对正常胚胎发育的研究，并促进对特定基因突变如何影响整个胚胎中的细胞并导致疾病的理解。如今我们可以利用斑马鱼来确定特定基因的缺失如何影响生物体内的所有细胞。这项新研究提供了关于基因发挥什么作用和在哪里发挥作用的重要线索，也许有一天会显示不同的疗法如何可能预防或治疗相关的遗传疾病。

以前的研究曾绘制过斑马鱼胚胎细胞基因表达差异图谱，但是这些图谱没有揭示单个胚胎之间的基因表达差异。这些早期的图谱还缺乏中后期胚胎发生时期的紧密时间点。此外，过去的研究结果仅代表了野生型生物或一些基因扰动在单个时间点的基因表达谱。在这项新的研究中，这些作者标记了 1800 多个胚胎的转录组。然后，他们通过在胚胎发育过程中的 19 个时间点取样，追踪每种细胞类型随时间发生的变化。他们还引入了 23 种不同的基因扰动，从而可以看到每种突变如何随着时间的推移影响生物体内所有细胞类型的基因表达和细胞发育。

为了追踪哪些细胞来自哪些胚胎，这些作者使用了一种名为 sci-Plex 的技术，这种技术是由华盛顿大学医学院基因组科学副教授 Cole Trapnell 实验室和华盛顿大学医学院基因组科学教授 Jay Shendure 实验室开发的。

**【10】Nature: 我国科学家揭示蛋白 CHIT1 促进灵长类动物脊髓中的运动神经元衰老**

**doi: 10.1038/s41586-023-06783-1**

近日，一篇发表在国际杂志 Nature 上题为“CHIT1-positive microglia

drive motor neuron aging in the primate spinal cord”的研究报告中，来自中国科学院大学领导的一项研究团队探究了与小胶质细胞相关的蛋白 CHIT1 在衰老中的作用。他们确定了衰老脊髓中与衰老相关变化有关的小胶质细胞的不同状态。它们将它们的存在与运动神经元的衰老联系起来，并提出将 CHIT1 作为衰老的一种潜在生物标志物。

这些作者利用多种技术，包括液滴微流控技术和单细胞标记逆转录测序技术，分析了脊髓中不同细胞类型的基因表达。在猴子和小鼠体内进行的涉及 CHIT1 处理的实验表明，运动神经元传导能力受损，身体活动能力下降。他们观察到小鼠脊髓中不存在 CHIT1+小胶质细胞，这表明这是一种灵长类动物特有的现象。

在灵长类动物和人类的活组织切片中，CHIT1 的特异性表达升高，这标志着一种以前未报道过的神经毒性小胶质细胞状态。这些作者将这种状态称为“衰老诱导的运动神经元毒性 CHIT1 阳性小胶质细胞 (aging-induced motor neuron toxic CHIT1-positive microglia, AIMoN-CPM)”。他们发现，CHIT1 阳性小胶质细胞优先定位在运动神经元周围，在年老猴子和老年人的脑脊液和血清中观察到 CHIT1 的水平升高。

## 国内动态

### 中医药重要突破！Science 子刊：首次使用现代科学，解释中医的治疗原理

中医药学包含着中华民族几千年的健康养生理念以及实践经验，凝聚着中国人民的和中华民族的博大智慧，可谓是“华夏瑰宝”。

中医药的起源还得追溯到原始社会，在人们不断地与自然灾害、猛兽、疾病做斗争的过程中，逐渐积累了经验并能对食物有所甄别。

而到了氏族公社后期，为了挽救更多无辜的生命，神农帝开始尝百草、定药性，经过整理和编撰形成了《神农本草经》，为中国传统医学奠定了坚实的基础。

图源：摄图网

如果说谈历史缺乏实感，那就看看近现代的中医药发展。

最“脍炙人口”的莫过于 2015 年诺贝尔生理学或医学奖授予了中国女药学家屠呦呦，以及另外两名科学家。其中，屠呦呦为青蒿素的重要发现者，该奖项以表彰她对疟疾治疗所做的贡献。

而在新冠肆虐的日子里，中医药抗疫方案“响彻”全球，为全球疫情防控贡献了中国智慧，将中国中医药再一次推向了国际视野。

然而，在理解中医药的机理根源方面一直存在着两大挑战，造就了其“难被认可”的局面：

i) 中医经典理论缺乏科学依据，阻碍了从现代生物学角度对中医的理解；

ii) 中草药化学成分的复杂性以及化学物质的治疗蛋白靶点往往是未知的，因此采用传统的“蛮力攻击”来筛选中草药/化学物质的方法并不可行。

近日，来自中国和美国多校联合的研究团队建立了网络医学框架，揭示了中医的治疗系统原理，即疾病症状与中草药靶点在人类蛋白质相互作用网络上的拓扑关系。这项研究或成为“破局”的开始——让传统中医（Traditional Chinese Medicine, TCM）不再是“神话”，通过真实世界临床数据验证，首次建立了解释中药治疗原理的科学理论。

其实，传统中医里不存在“疾病（disease）”的概念，因此将 TCM 与现代生物学关联起来的确是“困难重重”，比如「疾病模块」相关的研究结果无法直接运用于中医。

为填补这一空白，研究者提出了中药的网络医学理论与方法，认为中医临床辨证论治中的“对症下药”能通过人类蛋白质相互作用及其拓扑关系来解释。在这个方法中，研究者更关注症状而非疾病，该理念也与中医本身的“根据症状表型来诊断和治疗”的做法一致。

这里需要补充两个概念：**蛋白质相互作用**（Protein-protein interactome, PPI）和**网络医学**（Network medicine）。

PPI 是一个由蛋白质节点组成的网络，这些节点通过物理的方式相互作用和相互连接。

而网络医学是利用 PPI 揭示疾病和药物模式。网络医学表明，与疾病相关的蛋白质往往会在 PPI 中形成局部聚类模块，当两个疾病模块之间的网络距离较

短，意味着两者之间存在共病现象。同时，网络医学的建立还有助于预测药物疗效，从而开发出药物再利用的方法。

### 研究设计

首先，研究者尝试使用症状表型来描述中医的适应症和功效，探究症状的人类 PPI 模式。当然，之所以能采用这种方法，是因为“中医临床诊断和治疗都基于症状表型”的事实，同时有“症状表型中疾病分类学和蛋白质/基因关联数据”作为进一步的支持。

于是，研究者依靠症状-基因关联数据集确定了与各种症状相关的基因，并将这些基因映射到 PPI 中相对应的蛋白质上。

计算发现，两个症状的共有疾病数量与 PPI 模块之间的平均网络距离(Dab)呈负相关。即症状模块之间的网络距离越近，它们在疾病中的共现程度就越高，在生物学上也更为相似。

举例来说，发热和腹泻这对症状的网络距离 Dab 为 1.25，远低于平均值 2.01；因此，这两个症状的共病数达到 1278，远高于平均值 236。这也与认知一致，腹泻和发热会同时出现在很多疾病中，如炎症性胃肠病、新冠感染等等。

相反，眼痛和厌食的 Dab 较大 (2.91)，所以它们的共病数仅为 13。

下一步，便是将中草药引入其中，确定中药-症状网络来描述治疗效果。研究者开发了一种由 8 个“管道 (Pipeline)”组成的多模式方法，每个“管道”都会为每对草药-症状生成一个基于网络的指标。

为帮助大家更为直观地理解，还是以“发烧”症状为例，来探寻治疗该症状的有效草药。

中药银柴胡与“发热”症状相关蛋白模块之间的接近 z 评分为-4.32，高负值的网络接近 z 评分意味着该药物对症状有着明显的疗效。这与真实情况一致，中国药典 (CHPH) 中记录银柴胡为治疗发热的中药，也经常被中医用作治疗温病最后阶段的虚热。

接近 z 评分为-2.82 的黄柏，同样是中医公认的治疗发热的草药，可用于治疗肺炎和肺结核。具体来说，黄柏中的主要活性化学成分为小檗碱，具有抗炎和解热的作用。

相反，与 PPI 中“发热”模块相距甚远的草药，比如：川乌的接近 z 评分为

1.77，该分数意味着川乌不太可能对发热有效，这也与专家认知一致。在草药-症状网络上，川乌更接近于“腹痛”，z 评分为-1.25，其抗炎、镇痛和抗肿瘤的作用也得到 CHPH 和中医的认可。

至此，网络医学框架便被成功地搭建了起来，但其有效性和科学度究竟如何呢？

于是，研究者从湖北省中医院收集到 1936 例肝硬化患者的电子病历数据，共记录到 114 种症状、218 种草药和 23413 对草药-症状网络。接着，采用三种不同的方法，来验证“草药-症状对的网络接近度能预测草药治疗症状的有效性”。

首先，研究者比较了患者数据集中出现的（代表医生开处方中的草药）和临床数据集中缺失（代表医生未开出的草药）的中草药-症状的网络接近度，观察到在所有的 8 个邻近管道中，患者数据集中的中草药-症状的网络接近指标明显低于临床数据集中缺失的。

这意味着，中医医生倾向于开出治疗目标接近 PPI 中症状模块的草药，即近段草药更有效，也与医生专业知识一致。

接着，研究者对草药的“有效性”进行了定义，即接受草药的患者比不服用的情况下恢复得更好，则被认定为“有效的”。筛选后得到 986 对有效的草药-症状组合，而这些有效的草药-症状对往往有着更低的网络接近度值。上述结果与假设一致，也就是说，有效的草药-症状对位于网络近段。

最后，研究者采用倾向评分匹配（PSM）的方法，从 888 对草药-症状组合中筛选出 86 对，这 86 对病例治疗组的症状恢复率明显高于对照组，具有统计学意义。

而在中医网络框架中，这 86 对有效的草药-症状组合有着更低的网络指标，均处于网络近段，与 PSM 法评估得到的结果一致。

举例来说，白术与食欲不振这对草药-症状组合。

在真实世界中，研究者对比了接受白术治疗的食欲不振患者（病例组）和未接受白术治疗的患者（对照组）进行匹配。结果发现，白术明显改善了患者食欲不振的情况；具体来说，病例组恢复率为 79.53%，对照组恢复率为 72.51%，前者显著高于后者。

网络临近性显示，白术的蛋白质靶标与食欲不振症状模块之间的  $z$  评分为  $-2.45$ ，即白术在改善食欲不振方面具有潜在疗效。与上述结果对比可见：网络接近性的预测还是比较准确的。

中国药典中记载，白术是治疗胃肠功能紊乱的一味重要的中药。先前有研究表明，白术中提取出的白术内酯 1 能够调节胃肠功能，有效促进营养物质的吸收，从而发挥改善患者食欲的功效。

综上，本研究迈出了重要的一步——首次从复杂网络与系统角度提出了中药治疗原理的现代科学解释，并纳入真实临床数据论证了该网络医学框架的有效性。研究者依据草药靶标和症状关联搭建起人类蛋白质相互作用网络上的拓扑关系，构建了新的中药原理研究范式，或成为中医药理研究的热点方向。

“中医药同样是现代医学的医疗手段”。未来，随着更多的科研铺路，期待中医药这块瑰宝也能受到更多的关注，让更多人受益于中医药。

## 王泽峰团队综述 mRNA 疗法的进展和挑战

中国科学院上海营养与健康研究所 RNA 系统生物学研究组王泽峰研究员和魏欢欢副研究员受邀在国家自然科学基金委主办期刊《基础研究》(Fundamental Research) “RNA 生物学与治疗”专题发表了题为：mRNA therapeutics: New vaccination and beyond 的综述，探讨了 mRNA 疗法的最新进展，展示了其在疫苗研究以及其他领域的潜在应用，并着重介绍了新一代环形 mRNA 技术，提供了预防性疫苗以外的 mRNA 疗法的概述和展望。

在与疾病的斗争中，人类倾向于向生命本身学习，并利用自然界提供的一切。从次级代谢物到大分子，从细胞到器官，这些生命成分都可以被设计并应用于新的医学治疗。作为关键的大分子之一，信使 RNA (mRNA) 也有潜力被应用于新的治疗方法。mRNA 疗法的概念很简单，它使用体外转录的 mRNA 来指导体内具有药理活性的蛋白质的翻译。mRNA 理论上几乎可以产生任何功能性蛋白/多肽用于疫苗接种或蛋白替代疗法。

然而，自从 mRNA 编码药物的概念被构想出来以来，研究人员花费了几十年的时间 and 巨大的努力才最终成功地生产出商业产品。

COVID-19 大流行期间，两款新冠 mRNA 疫苗 (BNT162b2 和 mRNA-1273) 的紧

急使用授权凸显了 mRNA 作为一种新型疫苗的潜力，并引领了 mRNA 疗法的新时代。

与基于 DNA 和蛋白质这两种大分子的药物相比，mRNA 表现出一些非凡的优势。由于 mRNA 是蛋白质翻译的模板，基于 mRNA 的药物在许多方面压倒了蛋白质药物。具体而言，mRNA 克服了外源表达蛋白质的翻译后修饰、折叠、装配和定位的障碍。同时，它可以同时为由多个亚基组成的抗原编码多个蛋白质，解决了以正确的化学计量法重建蛋白质亚基的挑战。此外，mRNA 的生产和制造比蛋白质更快、更灵活、更方便，也更便宜，特别是作为在大流行期间快速筛选和开发疫苗产品的工具。另一方面，与 DNA 疗法相比，mRNA 不需要进入细胞核才能发挥功能，因此产生插入突变的风险可以忽略不计。此外，与 DNA 相比，mRNA 具有瞬时活性，减少了对宿主稳态构成负担的可能性。这些令人印象深刻的优势使 mRNA 疗法成为最新但最有前途的治疗策略，受到了研究界、资助机构和生物医学行业的极大关注。

尽管 mRNA 疗法已经实现了安全、可编程、灵活和具有成本效益的设计和生 产，但 mRNA 的固有特性和其他技术限制带来了相当大的挑战。三个主要挑战是——表达的稳定性和持续性、免疫调节和体内靶向给药。这些挑战引起了研究人员的极大兴趣，并付出了巨大的努力来寻找相应的解决方案。

在这篇综述中，王泽峰团队详细介绍了基于 mRNA 的疗法的进展和挑战，强调了有助于将 mRNA 技术扩展到疫苗以外的创新和解决方案。

从应用领域来看，当前的 mRNA 疗法可大致分为三类基本类型——针对传染病的预防性疫苗、针对癌症的治疗性疫苗，以及作为直接免疫疗法或其他蛋白质药物的蛋白替代药物。

mRNA 预防性疫苗的原理是将体外转录的 mRNA 递送到人体内，翻译出抗原蛋白，从而刺激免疫系统抵御病原体入侵。免疫系统可识别 mRNA 产生的抗原蛋白，通过主要组织相容性复合体 I (MHC I) 激活能够“杀死”感染细胞的细胞毒性 T 细胞 (CD8+ T 细胞)，或通过 MHC II 和辅助 T 细胞 (CD4+ T 细胞) 刺激 B 细胞产生中和抗体。

随着疫苗的不断改进，最近发生了范式转变，不仅将疫苗用于疾病预防，而且还用于疾病治疗。治疗性疫苗的研究主要集中在癌症领域，不仅由于癌症的固有特点，还因为最近在癌症免疫治疗领域的爆发和成功，包括免疫检查点阻断

(ICB)、嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T) 介导的治疗, 以及肿瘤特异性抗原。癌症治疗性疫苗的关键思路是使用肿瘤特异性抗原来训练人体免疫系统, 从而高特异性杀死癌细胞。由于 mRNA 与 DNA 疫苗相比具有更高的免疫原性, 能够编码多种抗原或具有多种表位的完整抗原, 以及快速制造的能力, 似乎具有巨大的潜力作为治疗性疫苗, 特别是作为癌症疫苗来启动和放大抗癌免疫反应。

对于癌症疫苗, 即使抗原可以诱导细胞免疫反应, 抑制性的肿瘤微环境也可能阻止 T 细胞浸润到肿瘤中, 导致 T 细胞耗竭。因此, 治疗性癌症疫苗可能需要与其他疗法 (例如免疫检查点抑制剂) 相结合, 以获得更好的疗效。总的来说, 由于肿瘤免疫的复杂性, 治疗性癌症疫苗的成功开发相当具有挑战性, 在抗原选择和临床试验设计方面都需要进一步优化。

除了 mRNA 疫苗, mRNA 在各种蛋白替代疗法中也有很大的潜力, 无论是作为免疫疗法 (例如抗体和细胞因子) 还是其他蛋白质药物。与只需要低剂量、短期抗原局部表达的 mRNA 疫苗不同, 大多数蛋白替代疗法需要特定组织中治疗性蛋白质的长期表达。

虽然每种 mRNA 疗法都有其独特的挑战, 但所有 mRNA 疗法都面临一些共同的挑战。第一个挑战是提高 mRNA 表达的稳定性和持续时间。由于 mRNA 易被降解, 导致 RNA 产品 (特别是长 RNA) 的生产、储存和运输成本较高。此外, 治疗性疫苗和蛋白替代疗法需要细胞中 mRNA 药物的长表达时间, 这可以通过提高 mRNA 的稳定性来实现。

第二个挑战是 RNA 的高固有免疫原性。外源性和配制的 mRNA 被各种固有免疫反应识别时具有免疫刺激作用。在蛋白替代疗法的应用中, 由于翻译抑制和细胞毒性, 固有免疫系统的激活是不希望发生的。

Katalin Karikó 和 Drew Weissman 等人通过假尿苷修饰等方法来抑制 RNA 的免疫原性并促进蛋白质翻译, 从而解决了这一问题。这项技术为 mRNA 的治疗应用做出了至关重要的贡献。然而, 这种核苷修饰相对昂贵, 并在序列设计中增加了额外限制。

第三个挑战是 mRNA 的体内递送。mRNA 需要进入细胞质才能翻译产生功能蛋白, 但由于 mRNA 体积较大且带电, 难以穿过细胞膜的阴离子磷脂双分子层, 限制了 mRNA 在体内表达目标蛋白。为了获得安全有效的 mRNA 细胞内递送, 许多递

送系统得到了证实，其中脂质纳米颗粒（LNP）表现出了应用潜力。但 LNP 的配方仍有很大的改进空间，特别是 mRNA 的治疗性疫苗和蛋白替代应用需要细胞或组织特异性递送，迫切需要进一步开发合理的递送系统。

在 mRNA 治疗的关键步骤中，包括序列设计、mRNA 合成和生产以及靶向给药，都面临着巨大挑战。此外，研究人员已经突破了线性 mRNA 药物的限制，开发了环形 RNA（circRNA）作为 mRNA 疗法的替代模式，其能够长期表达，求具有低免疫原性。它还提供了巨大的治疗潜力，特别是在 mRNA 预防疫苗之外的蛋白替代疗法中。

circRNA 是共价闭合的单链 RNA（ssRNA）分子，主要由 pre-mRNA 通过反式剪接产生。大多数 circRNA 源于编码蛋白质的基因，并包含完整的外显子。此外，含有外显子的 circRNA 主要定位于细胞质。总的来说，circRNA 虽然被归类于非编码基因，但其具有作为 mRNA 指导蛋白质表达的潜力，相关研究也证实了外源性 circRNA 可以在体内翻译蛋白。一些研究也表明，内源性 circRNA 同样可以翻译蛋白。

与线性的 mRNA 相比，circRNA 没有 5' 端帽子，因此可以进行非帽依赖性翻译。当在 circRNA 表达载体中引入内部核糖体进入位点（IRES）时，蛋白质可以有效地翻译。真核生物中 mRNA 和 circRNA 的翻译机制不同。简而言之，在 IRES 依赖性翻译中，大多数 IRES 受 IRES 反式作用因子（ITAF）的调节，这些 ITAF 有助于招募 mRNA 中的 eIF4G2 相关复合物，而不是 eIF4G1 相关复合物，它可以进一步招募 43S 复合物来启动翻译。

circRNA 分子的几个特点使其成为新一代 mRNA 药物的有吸引力的候选者，特别是作为蛋白替代疗法。首先，circRNA 比其同源线性 mRNA 具有更高的细胞稳定性，可能是因为它们体外对核酸外切酶的降解具有抵抗性，并且/或在体内对免疫诱导的线性 RNA 衰变机制具有抵抗性。circRNA 的第二个优势是，与线性 RNA 相比，纯化的 circRNA 具有较低的免疫原性，这对于长期表达非常重要。

circRNA 应用的一个主要挑战是体外大规模生产。体外合成 circRNA 的常用方法可分为两类：RNA 连接酶介导的直接连接和核酶介导的自剪接。使用 T4 RNA 连接酶直接将线性前体 RNA 环化是多年前开发的经典方法。这种方法可以生成无外源片段的 circRNA，其免疫原性最小。然而，其通常需要辅助的夹板（splint）

序列来完成环化。这种方法难以规模化生产。此外，连接酶的使用将增加产品纯化的复杂性，因此这种策略主要用于实验室研究。

circRNA 也可以通过引入自催化的 I 类内含子来产生，这些内含子起环化酶核酶的作用。这种优化的在真核生物中设计高效稳定的 circRNA 翻译的方法被称为 PIE (置换内含子-外显子)，已被进一步用于生产预防 SARS-CoV-2 的 circRNA 疫苗。但这种方法会在 circRNA 序列中留下了一个外来片段作为“疤痕”序列，这可能会扭曲 circRNA 的结构，引发先天免疫，从而限制其作为蛋白替代疗法的应用。科锐迈德的研究团队开发了一种名为 Clean-PIE 的方法，以生产免疫原性最小化的无疤痕 circRNA。此外，王泽峰团队开发了一种名为 CirCode 的新方法，使用自剪接 II 类内含子，以共转录的方式高效产生免疫原性低的无疤痕 circRNA，且可以扩展到大规模生产。由此产生的 circRNA 非常稳定，可以延长在不同细胞中蛋白质翻译的时间。

circRNA 的生产不需要 5' 端帽子和碱基修饰步骤，从而显著降低了生产的复杂性和成本。但作为一种新疗法，circRNA 仍然存在独特的技术障碍，包括高效环化和翻译的序列设计，以及高效的体内递送。

为了改善药理特性，mRNA 的序列设计和合成在 mRNA 治疗中至关重要。所有五个功能区域，包括 5' 端帽子、5' -UTR、编码区 (CDR)、3' -UT 和 poly(A) 尾巴，都必须仔细设计，以实现高效的蛋白质翻译。

circRNA 的设计应集中在三个区域：自催化内含子、IRES 和 ORF。一般来说，circRNA 的 ORF 设计被认为与线性 mRNA 相似，但无需碱基修饰。IRES 是设计的重点，因为它们不仅影响 circRNA 翻译效率，而且还具有通过结合组织特异性 IRES 反式作用因子 (ITAF) 来调节组织特异性表达的潜力。经典的 IRES 主要来自病毒序列，并在 circRNA 模式中用于驱动翻译。然而，最近的研究表明，许多其他序列可以作为 IRES 类元件或调控元件来促进 IRES 活性和刺激翻译。因此，筛选和优化宿主友好型和组织特异性的 IRES 对 circRNA 技术至关重要。此外，自催化内含子被发现显著影响循环效率，因此筛选和优化高度活化的自催化内含子也可能有助于 circRNA 药物。

RNA 生产的纯化是 mRNA 制造的下一个关键步骤。在 mRNA 的体外转录过程中，封帽、核苷酸修饰和 poly(A) 尾巴需要额外的资源。因此，在 mRNA 制造中，应

考虑这些步骤的成本和工作量的降低。circRNA 可以避免其中一些障碍，因为它们既不包含 5' 端帽子也不包含 poly(A) 尾巴。同时，circRNA 卓越的稳定性和低免疫原性似乎使核苷酸修饰变得不必要。此外，自剪接过程相对简单。因此，circRNA 的制造可以规避与线性 mRNA 相关的一些技术困难。mRNA 纯度是蛋白质生产和固有免疫的关键因素。这是因为通过严格的液相色谱纯化去除污染物，例如体外转录产生的双链 RNA (dsRNA)，可以消除免疫激活，并显著提高核苷酸修饰的线性 mRNA 的翻译。circRNA 生产中的体外转录和反式剪接污染物也影响了细胞免疫反应和 circRNA 表达的持续时间。与使用亲和液相色谱方法纯化 mRNA 的 mRNA 平台不同，circRNA 需要通过尺寸排阻色谱 (SEC) 从前体 RNA 和内含子 RNA 中纯化。当然，SEC 不一定是纯化 circRNA 的唯一方法，也可以在 circRNA 纯化中开发新策略。

大分子 RNA 的体内靶向递送是近几十年来 mRNA 疗法领域的一个重大挑战。其中，脂质纳米颗粒 (LNP) 是目前唯一被批准用于临床的新冠 mRNA 疫苗的递送系统，也是目前 mRNA 递送最广泛使用的方法，而其他许多递送方法则处于实验室研究和临床研究阶段。

通常，LNP 由四种成分组成，包括可离子化脂质、胆固醇、辅助磷脂和聚乙二醇 (PEG)-脂质。这四种成分可以形成稳定的纳米颗粒，以封装和保护易降解的 mRNA。纳米颗粒通过内吞作用进入细胞，并在内吞体的酸性环境中带正电荷，促进随后的 mRNA 释放到细胞质中。然而，LNP 制备的 mRNA 倾向于在肝脏中积累，可能是因为载脂蛋白 (ApoE) 与 LNP 结合，然后由 ApoE 受体介导摄取到肝细胞。大多数 LNP-mRNA 药物在静脉注射给药后集中在肝脏和脾脏中，少量在脂肪组织中。在肌肉注射的情况下，mRNA 药物的表达主要见于肝脏、肌肉和淋巴结。

此外，LNP 除肝脏外的器官递送可以通过修改脂质组成来实现，其中包括调整脂质特性和/或脂质比例。LNP 成分可以显著影响细胞内递送效率，决定递送的细胞特异性，并调节免疫原性。例如，在 LNP 中添加 SORT 脂质改变了 LNP 在体内的器官靶向性，实现了 mRNA 向其他器官和组织的递送。此外，还可以通过调整 LNP 组分的化学计量来实现靶向递送。还有研究显示，通过对合成脂质纳米颗粒库的体内筛选，简单改变 LNP 的头部结构，mRNA 可以被导向不同的肺部亚细胞类型。

自 20 世纪 90 年代概念验证以来，mRNA 疗法经历了漫长的发展路径，先后克服了几个主要的技术困难，包括稳定性差、先天免疫和递送问题。而新冠大流行的压力在最终将这一新技术变成现实方面发挥了至关重要的作用，这反过来为这种新药物模式的其他应用铺平了道路。尽管取得了早期成功，但该领域仍存在许多技术挑战，目前正在进行深入研究。新的 RNA 平台技术，包括 circRNA 和 saRNA，以及新的递送方法的发展，可能会将 mRNA 疗法扩展到新的前沿，例如细胞的体内编程。此外，为 mRNA 疗法开发的方法可能会对未来的 RNA 药物，包括长链非编码 RNA (lncRNA) 疗法，有所帮助。

中国科学院上海营养与健康研究所副研究员魏欢欢为该综述的第一作者和共同通讯作者，中国科学院上海营养与健康研究所王泽峰研究员为通讯作者。

## Science: 张锋一次性发现了 188 种新型 CRISPR-Cas 系统

CRISPR 基因编辑先驱张锋在 Science 发表了题为：Uncovering the functional diversity of rare CRISPR-Cas systems with deep terascale clustering 的研究论文。

该研究开发了一种新的搜索算法——基于快速局部敏感哈希聚类算法 (FLSHclust)，使用该算法对三个主要的公共数据库进行挖掘，这些数据库包含各种不同寻常的细菌的数据（包括在煤矿、啤酒厂、南极湖泊和狗唾液中发现的细菌），从中识别出了 188 种新型 CRISPR 系统，并对其中 4 个系统进行了详细表征，这些新系统可能被用来编辑哺乳动物细胞，其脱靶效应比目前的 CRISPR-Cas9 系统要少，也有可能在被用于诊断或用来记录细胞内部活动。

这项研究凸显了 CRISPR 前所未有的多样性和灵活性，也表明了大多数 CRISPR 系统是罕见的，只在不寻常的细菌和古细菌中发现。随着可用来搜索数据库的不断增长，可能还有更多罕见系统被发现。

张锋教授表示，生物多样性是一个宝库，随着对更多的基因组和宏基因组样本进行测序，我们对 FLSHclust 等更好的工具的需求越来越大，以搜索序列空间来寻找“分子宝石”。

CRISPR，即规律间隔成簇短回文重复序列 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)，是

一种细菌和古菌的防御系统，已被设计成多种用于基因组编辑和诊断的工具。

为了从蛋白质和核酸序列数据库挖掘新型 CRISPR 系统，研究团队开发了一种基于局部敏感哈希（locality-sensitive hashing, LSH）的算法，将相似但并不完全相同的对象聚类在一起。使用这种方法，可以在几周时间内探测到数十亿个蛋白质和 DNA 序列，而以前寻找相同对象的方法需要数月时间。研究团队进一步设计了自己的算法——基于快速局部敏感哈希聚类算法（FLSHclust），来搜索与 CRISPR 相关基因。

使用 FLSHclust 算法，他们发现的数千个 CRISPR 系统，可以分为几个现有类别以及许多新的类别。他们在实验室中更详细地研究了其中 4 个新系统。

该研究鉴定了一种 IV 型 CRISPR 系统——DinG-HNH，该系统具有插入到 CRISPR 相关 DNA 损伤诱导基因 G (DinG) 样螺旋酶中的 HNH 核酸酶结构域。该系统表现出 RNA 引导的 PAM 序列依赖的定向双链 DNA (dsDNA) 降解，这需要 ATP 水解和 DinG-HNH 蛋白的 HNH 核酸酶功能。这也是首次证明具有特定干扰机制的 IV 型系统。

该研究还鉴定了两种 I 型 CRISPR 系统——Cas8-HNH 和 Cas5-HNH，它们含有插入在 Cascade 的不同亚基中的 HNH 核酸酶结构域。这两个系统都进行精确的双链 DNA 切割和单链 DNA 切割。并进一步证明了这两种系统都可以应用于人类细胞的基因组编辑，并且该系统具有高度特异性，它们使用一个长达 32 个碱基对的 gRNA，而不是像 Cas9 那样的 20 个核苷酸的 gRNA。由于这些 I 型 CRISPR 系统的 gRNA 更长，因此可被用于开发更精准基因编辑技术，从而减少脱靶编辑的可能性。由于这两个系统与 CRISPR-Cas9 的大小相似，它们可以被现有的基因递送技术递送到动物或人类细胞中。

该研究还观察到 Cas5-HNH 系统对单链 DNA 具有旁系切割活性（Collateral Activity）。也就是该系统可以切割目标位点附近的 DNA 序列。张锋团队此前使用具有这一特点的 CRISPR-Cas13 开发了 SHERLOCK 系统，能够通过快速感应单个核酸分子来实现病原体的快速灵敏检测。研究团队认为，该系统也可以用于开发类似的诊断技术。

研究团队还探索了候选的 VII 型 CRISPR 系统，包括一个最小的 Cas7-Cas5 效应复合物，以及一个包括  $\beta$ -CASP 结构域的独特干扰蛋白，这些系统可能来源

于 III-E 型 CRISPR 系统，并且是 RNA 靶向的，因此可能用于 RNA 编辑。

### 挖掘数据

研究团队表示，该研究开发的 FLSHclust 算法在大型序列数据库挖掘中具有广泛应用前景，除了 CRISPR 系统，还可以帮助搜寻其他生化系统。任何人都可以使用这种搜索算法来研究蛋白质如何进化或发现新的基因。

这项研究也提示我们，该研究发现的 CRISPR 相关系统代表着与 RNA 指导机制相关的多样化生化活动的未开发宝库，具有巨大的生物技术发展潜力。

这项研究不仅说明了 CRISPR 系统的多样性，而且大多数都是罕见的，只在不寻常的细菌中才能被发现。例如，其中一些系统只在生活在煤矿水中的细菌中存在。如果不是使用这种算法，我们可能永远不会看到这些系统，而拓宽取样多样性对继续扩大我们所能发现的 CRISPR 系统多样性很重要。

值得一提的是，2023 年 6 月 27 日，中国科学院遗传与发育生物学研究所高彩霞研究组在 Cell 期刊发表了题为：Discovery of deaminase functions by structure-based protein clustering 的研究论文。

该研究创新性地运用人工智能（AI）辅助的大规模蛋白结构预测，建立起全新的基于三级结构的高通量蛋白聚类分析方法，实现了脱氨酶功能结构的深入挖掘，鉴定到完全区别于已知脱氨工具酶的全新底盘元件，并成功开发了一系列具有我国自主知识产权的新型碱基编辑工具。

## 我国学者开发 AI 模型，首次实现胰腺癌大规模筛查

上海市胰腺疾病研究所陆建平教授、邵成伟教授、曹凯医生等联合阿里达摩院、浙江大学医学院附属第一医院、中国医科大学附属盛京医院、复旦大学附属肿瘤医院、布拉格查理大学第一附属医院、上海交通大学医学院附属新华医院、约翰霍普金斯大学等顶尖机构的研究人员，在国际顶尖医学期刊 Nature Medicine 上发表了题为：Large-scale pancreatic cancer detection via non-contrast CT and deep learning 的研究论文。

该研究首次提出以“平扫 CT 联合人工智能”（平扫 CT+AI）进行大规模的胰腺癌早期筛查，在真实世界中的敏感性达 92.9%（判断存在胰腺肿瘤的准确率）、特异性达 99.9%（判断无肿瘤的准确率）。

Nature Medicine 期刊同期发表了题为: AI and imaging-based cancer screening: getting ready for prime time 的平论文章, 指出人工智能和基于图像的癌症筛查, 即将迎来黄金时代。

平扫 CT 在低资源地区的体检中心和医院中广泛应用。与增强 CT (诊断胰腺癌的主要影像学方法) 相比, 平扫 CT 使患者接受更低的辐射剂量, 并消除了患者对于对比剂产生不良反应的风险。

除了急诊科和社区医院常规使用的腹部平扫 CT 外, 胸部平扫 CT 也可以完全或部分扫描胰腺部位, 并在多种临床场景中是最常进行的 CT 检查。但即使是经验丰富的放射科医生也难以使用平扫 CT 来识别胰腺导管腺癌 (PDAC)。

最近的一些研究显示, 人工智能 (AI) 可以在各种医学图像分析任务上媲美甚至超越人类专家。此外, AI 还能够从常规图像合成对比增强的医学图像。

因此, 基于 AI 的平扫 CT 的机会性筛查有可能在多个临床领域促进广大无症状群体的 PDAC 早期检测, 同时减少额外费用和辐射暴露。

在这项研究中, 研究团队开发并训练了一种基于人工智能的胰腺癌早期筛查模型——PANDA (Pancreatic Cancer Detection with AI), 利用 AI 放大并识别平扫 CT 图像中肉眼难以识别的细微的病灶特征, 实现高效、安全的早期胰腺癌检测, 并克服了过往筛查手段假阳性偏高的难题。

PANDA 能够在平扫 CT 上准确地检测和诊断 PDAC 和非 PDAC 病变, 并可随时用于大规模无症状患者群体的机会性筛查。这将导致对被标准护理诊断技术漏诊的早期恶性肿瘤的安全和有效检测, 并在某些情况下使及时治疗成为可能。

PANDA 在来自单中心的 3208 例真实患者的数据集上进行训练, 在涉及 10 个中心 6239 例患者的多中心验证中, 其在 PDAC 识别方面的灵敏度和特异性均优于放射科医生的平均表现。在由 20530 例患者组成的真实世界多场景回顾性验证中, PANDA 检测的敏感性 (判断存在胰腺肿瘤的准确率) 为 92.9%, 特异性 (判断无肿瘤的准确率) 为 99.9%, 并从中发现了 31 例临床漏诊病变, 其中 2 例早期胰腺癌病患已完成手术治愈。

值得注意的是, PANDA 与平扫 CT 结合使用, 在鉴别常见胰腺病变亚型方面, 与使用增强 CT 相比, 具有非劣效性, 这表明 PANDA 有潜力作为一种新的大规模胰腺癌筛查工具。

值得一提的是，截至目前，PANDA 模型已在医院、体检等场景被调用超过 50 万次，每 1000 次只出现一次假阳性，该研究为胰腺癌筛查的诊疗指南改变提供新的证据支持，有望对未来胰腺肿瘤的诊疗流程、治疗决策、治疗费用等产生积极深刻的影响。除了用于胰腺癌诊断筛查意外，达摩院医疗 AI 团队正在联合全球多家顶尖医疗机构，利用 AI 技术探索低廉、高效的多癌筛查新方法，以期通过一次平扫 CT 就查出多种早期癌症。目前已经在胰腺癌、食管癌、肺癌、乳腺癌、肝癌、胃癌、结直肠癌等七种高发癌症上取得一系列进展。