



# 第八讲 疾病与人类健康

**经典单基因病**。至今已发现6, 000余种，其主要病因是某个基因位点上产生了缺陷等位基因。

**多基因病**。这些病的发生涉及多个基因及调控这些基因表达的环境因子之间的相互作用。大多数人类疾病，特别是危害较大的高血压、糖尿病、骨质疏松、精神及神经病等，都属于这一范畴。





**获得性 (acquired) 基因病**。主要是由病原微生物感染引起的传染病，虽然不符合经典的“世代遗传”方式，但基本上是病原微生物基因组与人类基因组相互作用的结果，都涉及基因结构与表达模式的改变。





## 8.1 肿瘤与癌症

**癌**（**cancer**）是一群不受生长调控而繁殖的细胞，也称恶性肿瘤。良性肿瘤则是一群仅局限在自己的正常位置，且不侵染周围其它组织和器官的细胞。





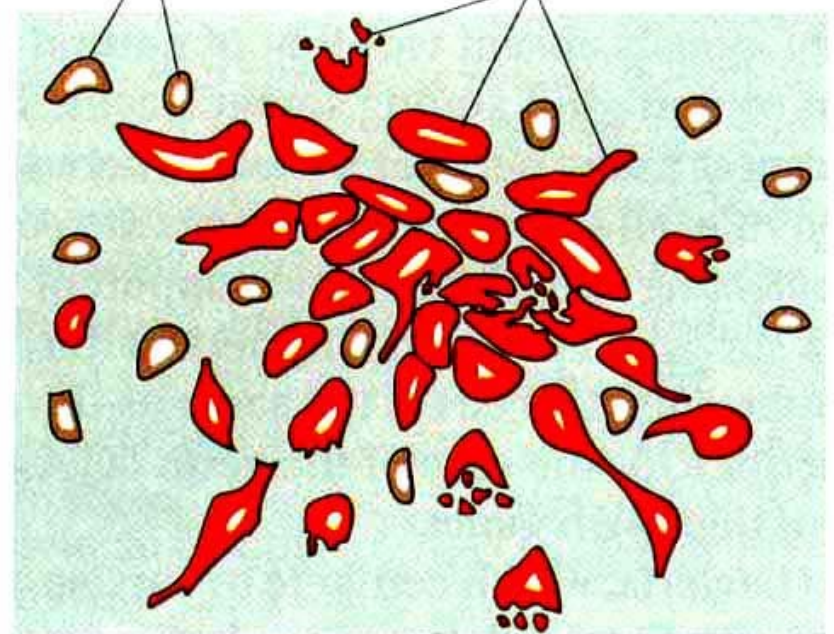
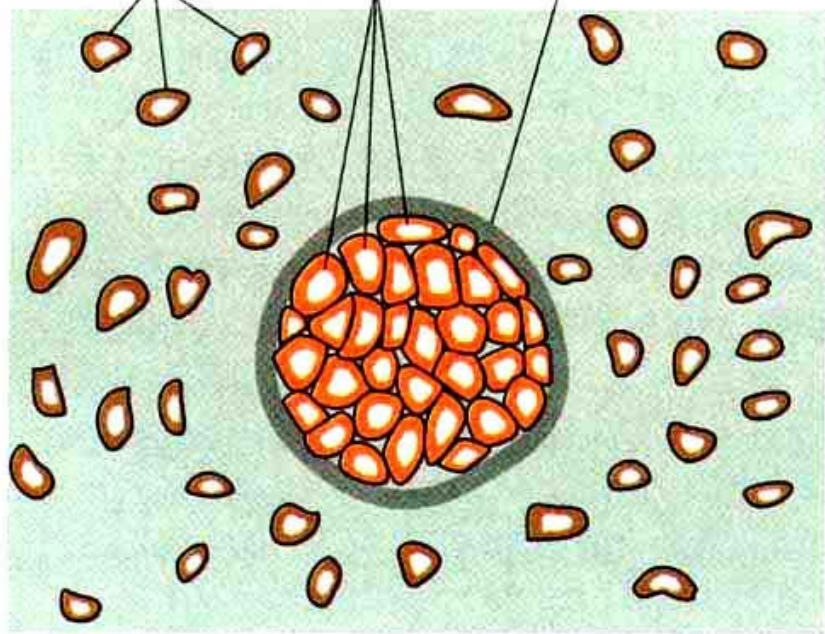
正常的管状腺体细胞

发生癌变的腺体细胞（分裂失控）

被纤维状结缔组织包裹的良性肿瘤

正常管状腺体细胞

有转移能力的腺体癌细胞



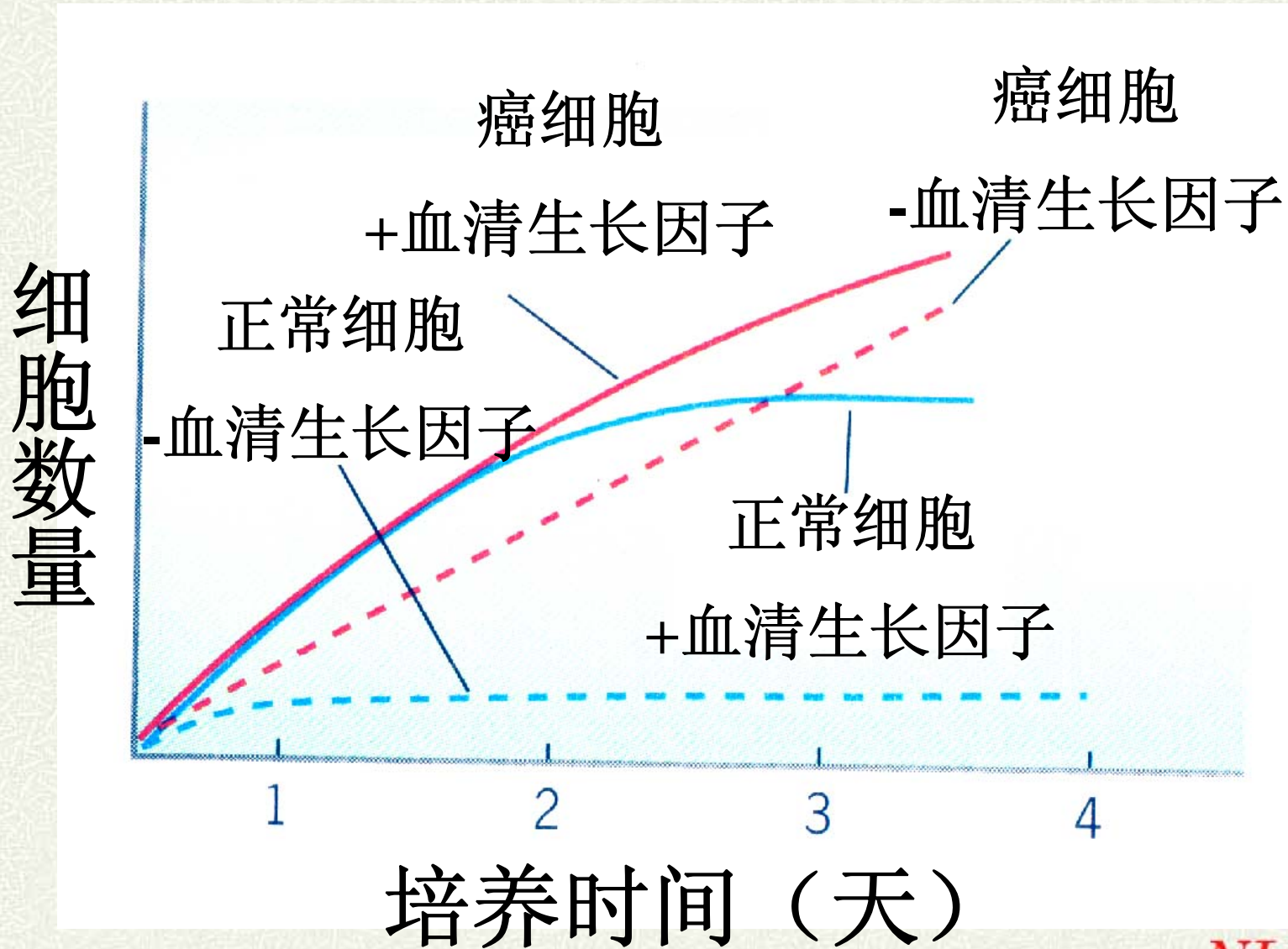
良性腺体瘤

恶性腺体瘤

图8-1 肿瘤组织示意图



# Cell and Molecular Biology, Fig 16.6







# 美国人群癌症概率统计

		出生-39	40-59	60-79	出生-死亡
<b>All sites</b>	男	1/62	1/12	1/3	1/2
	女	1/52	1/11	1/4	1/3
<b>Breast</b>	女	1/235	1/25	1/15	1/8
<b>Prostate</b>	男	<1/10000	1/53	1/7	1/6
<b>Colon-rectum</b>	男	1/1500	1/24	1/29	1/18
	女	1/1900	1/149	1/33	1/18
<b>Lung-bronchus</b>	男	1/2500	1/78	1/78	1/12
	女	1/2900	1/106	1/25	1/18



**癌基因**（**oncogene**）可分为两大类：

一类是**病毒癌基因**（**viral oncogene, V-onc**），编码病毒癌基因的主要有**DNA病毒**和**RNA病毒**。





**DNA病毒**包括乙型肝炎病毒、**SV40**和多瘤病毒、乳头瘤病毒、腺病毒、疱疹病毒和痘病毒。

**RNA病毒**主要是反转录病毒。反转录病毒致癌基因（**retrovirus onc**）可能是研究最多的病毒基因，它们能使靶细胞发生恶性转化。





第二类是**细胞转化基因**（**C-onc**），它们能使正常细胞转化为肿瘤细胞，这类基因与病毒癌基因有显著的序列相似性。





表 8-1 部分 C-onc 和 V-onc 基因编码区比较

基 因	C-onc 中的 密码子数	V-onc 中的 密码子数	不相同 氨基酸数	相似性 / (%)	V-onc 中 缺失的区域
Mos	369	369	11	97	无
Ha-ras	189	189	3	98	无
K-ras	189	189	7	96	无
Sis	220	220	18	92	无
Myc	417	417	2	99	无
Src	533	514	16	97	C 端
Fms	980	930	20	99	C 端
ErbB	1 210	600	99	83	N 端、C 端
ErbA	408	396	22	95	N 端
Myb	640	372	11	97	N 端、C 端





## 8. 1. 1 反转录病毒致癌基因

Rous在1910年发现带有单链RNA  
**肉瘤病毒**（一种反转录病毒）  
的鸡肉瘤无细胞滤液能在鸡体内  
诱发新的肉瘤。





这种病毒的基因组只有6-9kb。RNA上的基因数目很少，它们被包裹在由gag和env两个基因编码的蛋白质外壳中，其中env基因指导外壳蛋白的合成，gag基因则指导“鞘”蛋白的合成，这些“鞘”蛋白好像“道钉”一样“箍”在外壳的表面，维持外壳蛋白结构的稳定性。





该反转录酶再以病毒RNA为模板，转录出单链DNA分子，利用宿主DNA聚合酶指导合成第二条DNA链，以双链DNA形式整合到宿主细胞基因组中。

被整合的**反转录病毒**DNA分子称为**原病毒**（provirus），它能指导病毒mRNA的合成，并利用宿主细胞中的蛋白质合成机器，翻译生成病毒外壳蛋白等，最后组装成病毒颗粒。



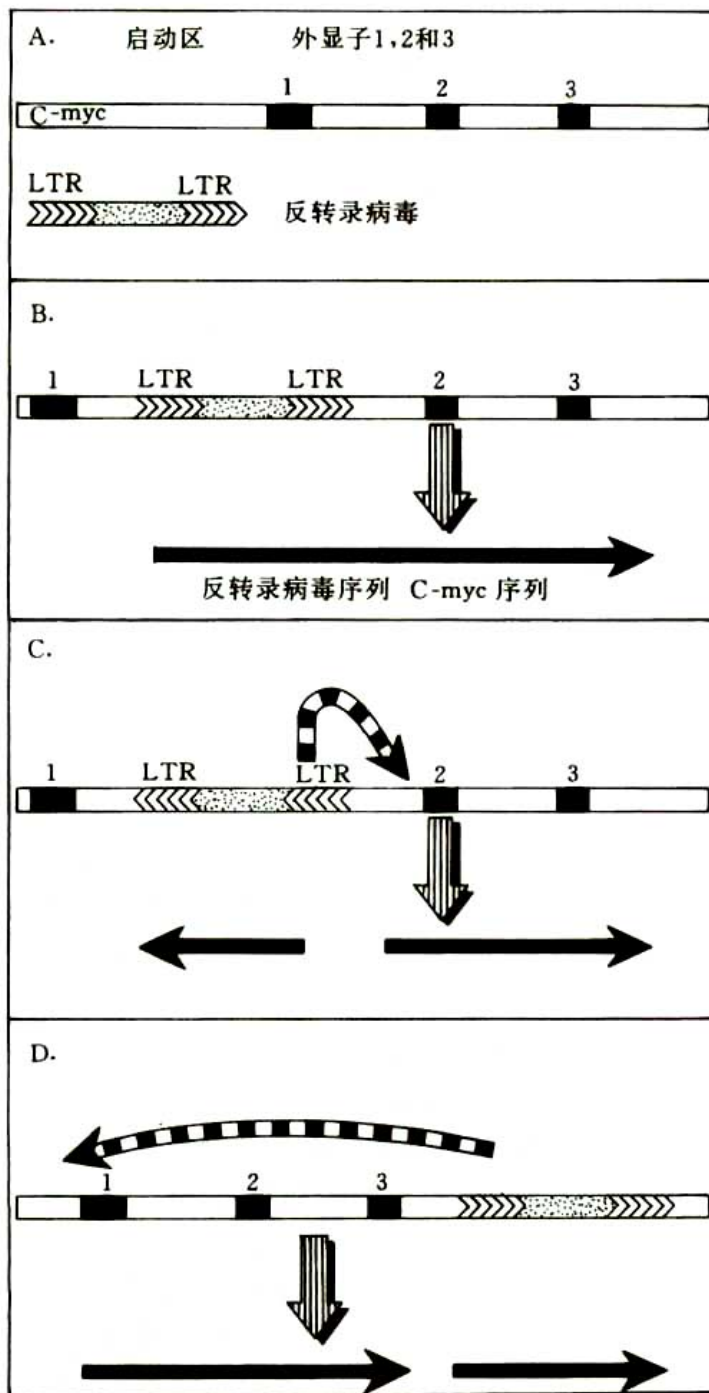


图8-4 反转录病毒插入引起C-myc基因活化的几种可能途径





肉瘤病毒V-**Src**基因，编码有**514**个氨基酸的**p60<sup>Src</sup>**磷酸化蛋白，其**C端250**个氨基酸是活性区域，负责将磷酸基团转移到酪氨酸残基上。它的作用主要是使多个靶蛋白发生磷酸化，从而影响它们的功能，加速细胞癌变的过程。





科学家发现，一种存在于细胞基部质膜附着点内被称为**枢纽蛋白**（**vinculin**）的细胞骨架蛋白的磷酸化可能是引起细胞癌变的中心环节。

质膜附着点的主要作用是通过细胞膜固着蛋白，将细胞固定在所处的表面，肌动蛋白纤丝也依附在上面。位于附着点内的枢纽蛋白则起着连接肌动蛋白纤丝束和细胞膜固着蛋白的作用。





正常情况下，该蛋白上的酪氨酸残基只有轻度的磷酸化。

转化细胞中，由于p60<sup>Src</sup>结合在附着点内靠近或位于枢纽蛋白处，使这一蛋白的磷酸化水平提高了**20**倍以上，明显降低了枢纽蛋白连接肌动蛋白纤丝束和细胞膜固着蛋白的功能，导致肌动蛋白纤丝束松散，细胞粘附能力减弱，容易发生脱落和转移。





## V-onc基因的起源

研究发现，反转录病毒基因组中所带有的**onc**基因并非来自病毒本身，而是这些病毒在感染动物或人体之后获得的细胞原癌基因。

动物或人原癌基因经病毒修饰和改造后，成为病毒基因组的一部分并具有了致癌性，其作用的靶分子也往往发生改变。



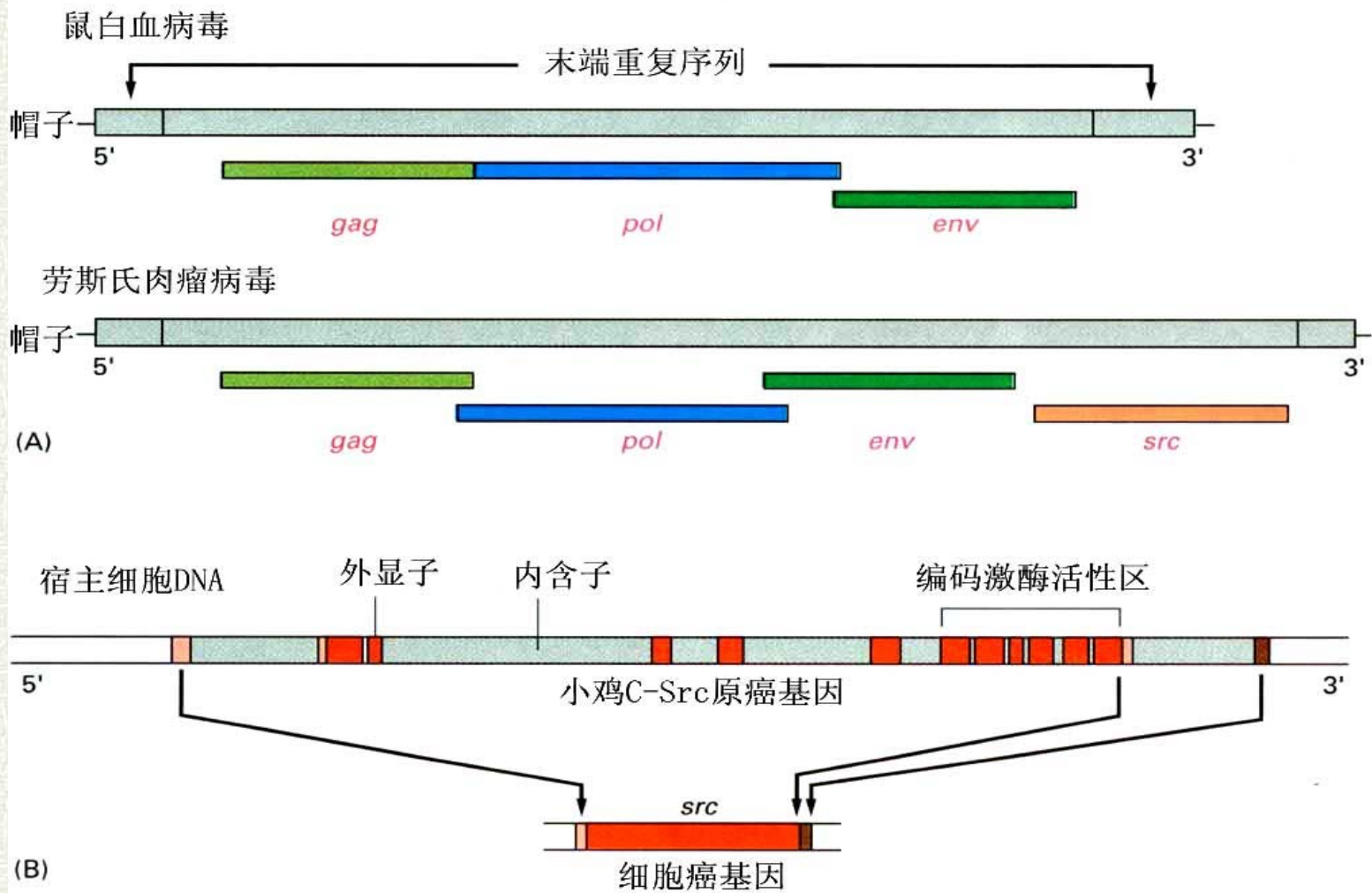


图8-5 劳斯氏肉瘤病毒基因结构及C-Src原癌基因的转变。

(A) 鼠白血病病毒(上)和劳斯氏肉瘤病毒(下)基因组及所编码的主要蛋白质。(B) 病毒感染后引起宿主细胞原癌基因转变成癌基因。





实验表明，在肿瘤细胞中，“生长控制点”不起作用，所以瘤细胞一直处于细胞周期循环之中。

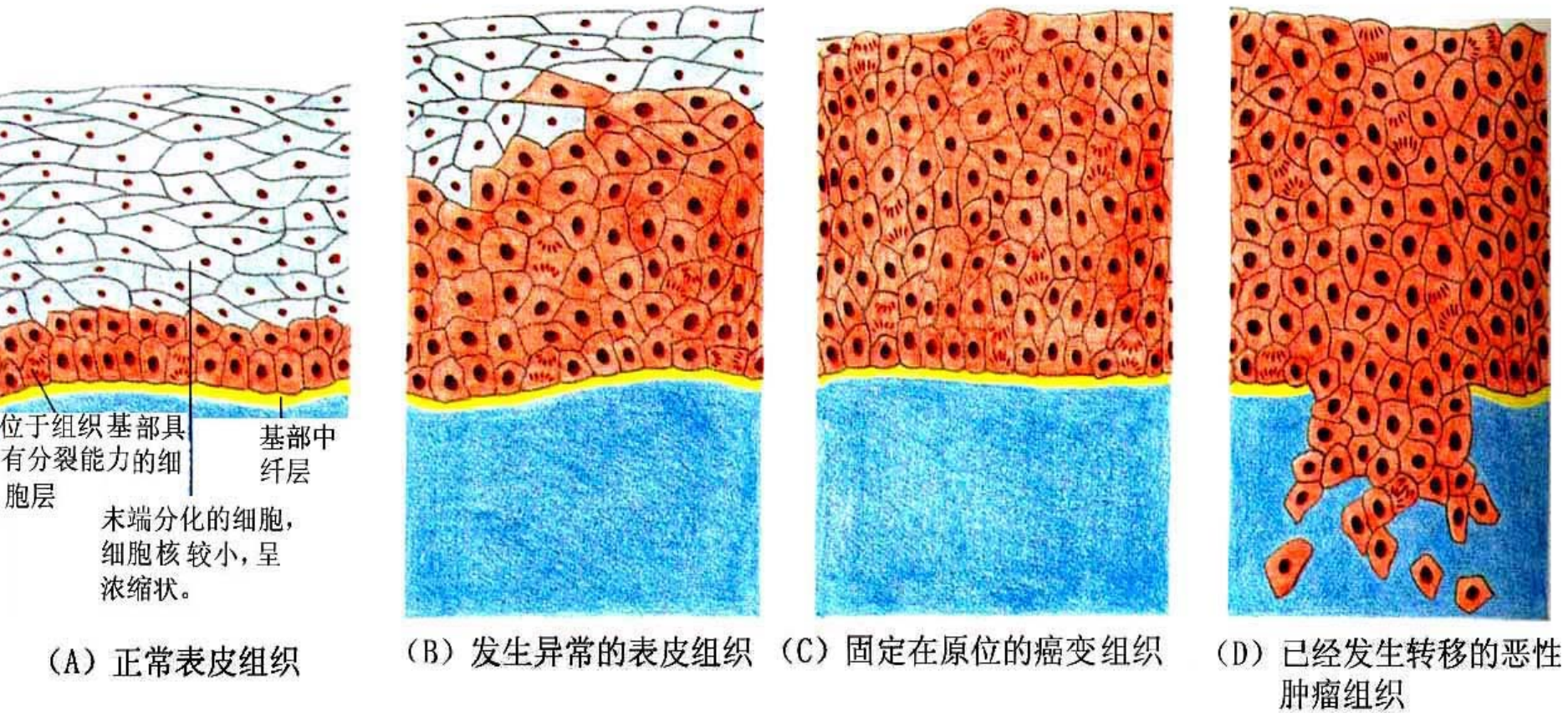


图8-6 上表皮癌的发生过程示意图





## 8.1.2 原癌基因产物及其分类

除了病毒感染外，许多非病毒因子（如放射性物质、化学试剂亚硝酸、烷化剂等）也能诱导细胞转化。这些因子并没有把致癌基因或其他致癌的遗传信息带入细胞，而仅仅通过某种激活机制改变了细胞内原有的遗传信息（内源基因发生突变），使细胞发生恶性转化。





## 8.1.3 原癌基因的表达调控

**原癌基因**在正常细胞中通常以单拷贝形式存在，只有低水平的表达或根本不表达。在很多情况下，原癌基因的结构发生了点突变或插入、重排、缺失及扩增等，改变其转录活性。



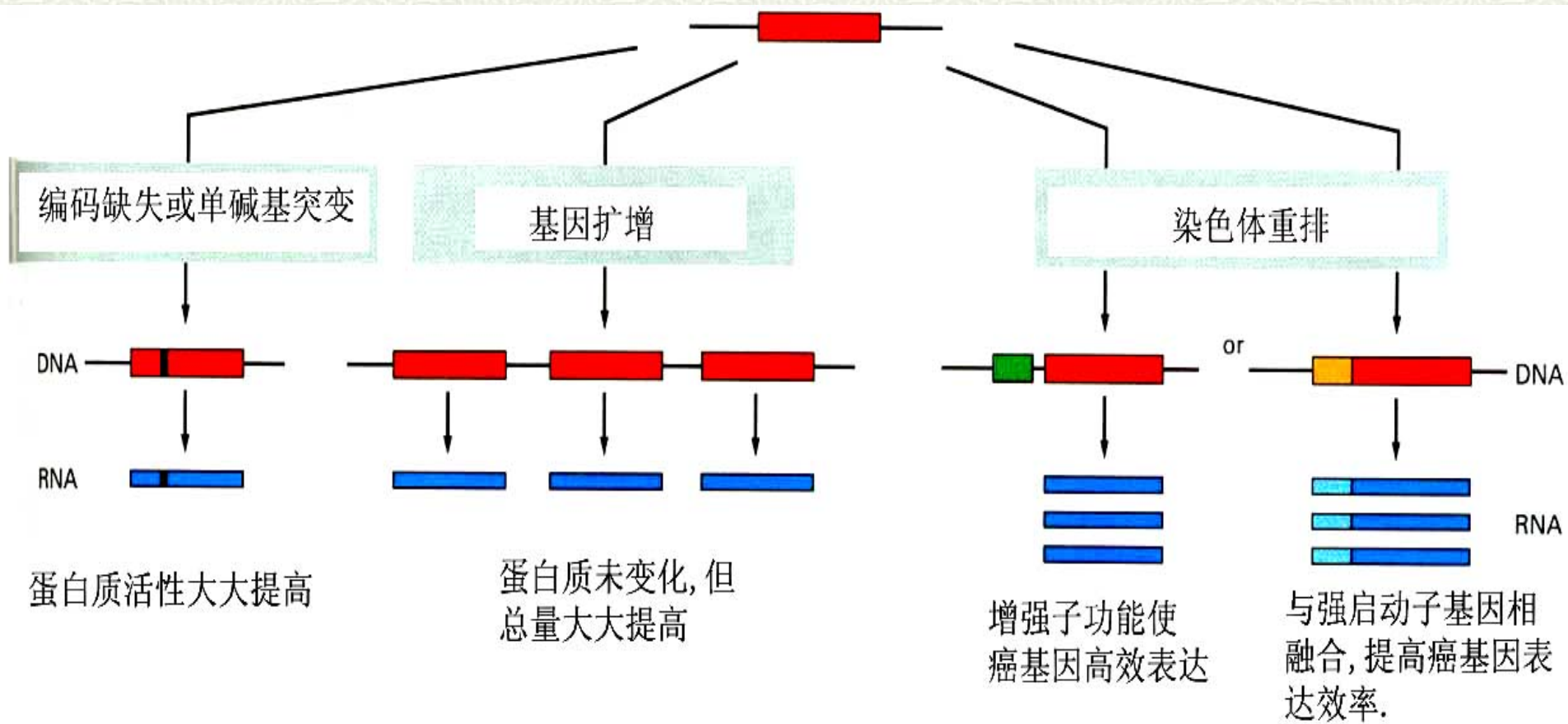


图8-8 细胞中原癌基因转变为癌基因的主要途径





# 1.点突变

研究发现，**ras**基因编码了一个分子量为 $2.1 \times 10^4$ 癌蛋白（**p21**），从人类膀胱癌细胞系**T24 DNA**中克隆的**Ha-ras 基因**能够诱发**NIH/3T3**细胞转化，而从正常细胞**DNA**中克隆的该原癌基因没有这种功能。





如人类肺癌细胞系Hs242的转化基因与Ha-ras高度相似，在这个基因中导致转化活性的遗传损伤是第二个外显子中引起p21蛋白第61位谷氨酰胺被亮氨酸所替代的一个点突变。所以，p21分子某些部位发生单个氨基酸替代足以引起蛋白质构象的改变，并使细胞获得转化活性。





## 2. LTR插入。

**LTR**是逆转录病毒基因组两端的**长末端重复序列**（**long terminal repeat**），含有强启动子序列，当**LTR**插入原癌基因启动子区域或邻近部位后，可从根本上改变基因的正常调控规律。

**LTR**插入到**c-myc** 5'上游启动子附近，使**c-myc**的转录水平大大增加。





### 3. 基因重排。

正常情况下，**c-myc**定位于8q<sup>24</sup>，**免疫球蛋白重链基因**（IgH）定位于14q<sup>32</sup>，轻链λ基因（Igλ）定位于22q<sup>12</sup>，轻链κ基因（Igκ）定位于2p<sup>11</sup>，。

在Burkitt淋巴瘤中，**c-myc**易位至IgH、Igκ或Igλ的位点，使Ig基因与**c-myc**相连在一起，Ig基因启动子使原来不表达的**c-myc**高表达。





在正常人体细胞中，非受体型酪氨酸蛋白激酶基因 $abl$ 位于第9号染色体上，表达量极低，不会诱发癌变。在慢性骨髓瘤病人细胞中，该基因却被转移到第22号染色体上，与 $bcr$ 基因相融合，表达量大为提高。



bcr基因位于第22号染色体

abl基因位于第9号染色体

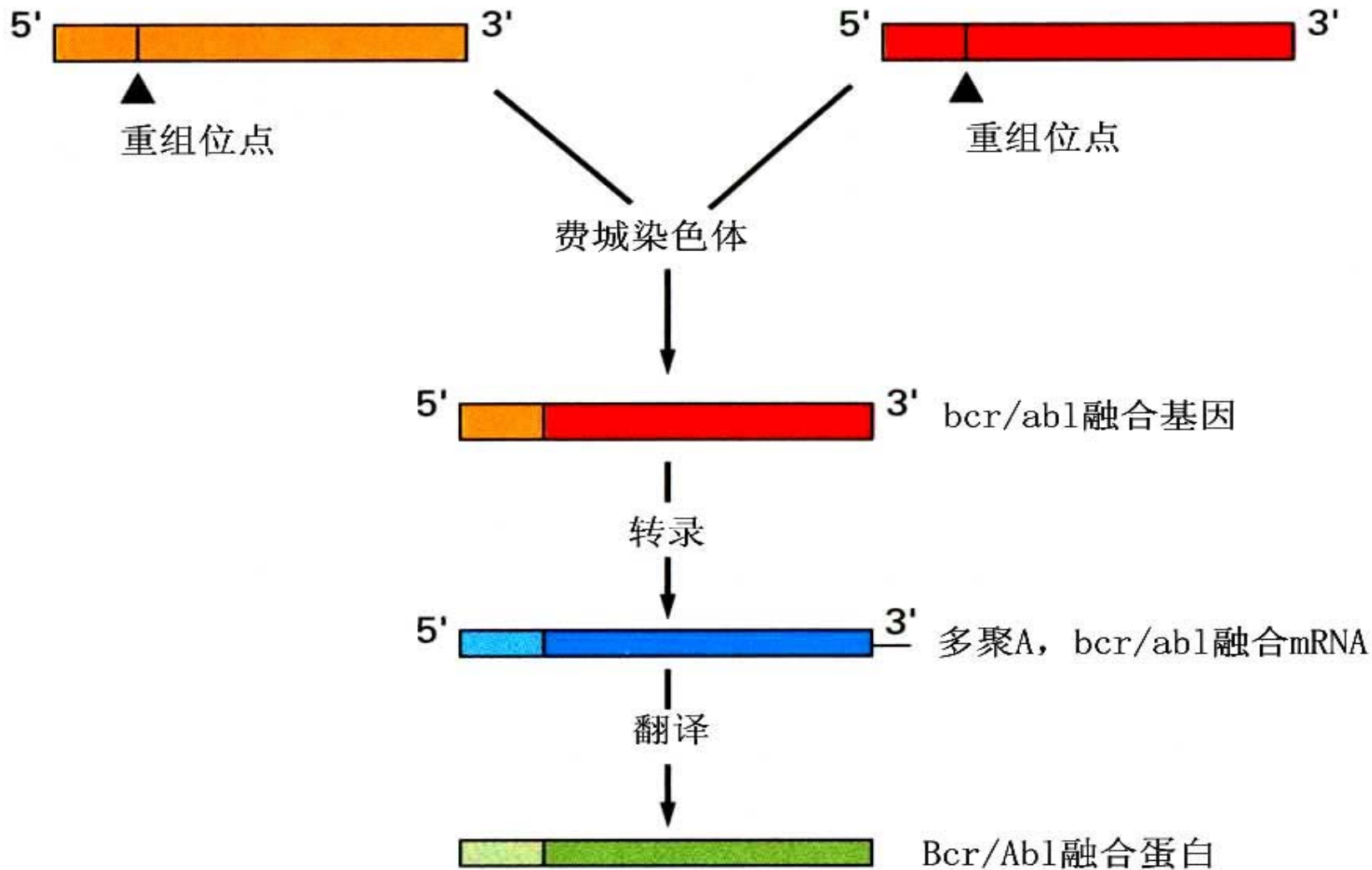


图8-10 *abl*原癌基因通过选择性染色体重排转变成细胞癌基因





4. **缺失**。很多原癌基因5'上游区存在负调控序列，一旦该序列发生缺失或突变，就丧失抑制基因表达调控的能力。如**Burkitt**淋巴瘤中**C-myc**可因负调控序列的缺失或**LTR**插入破坏其结构而增强表达。

5. **基因扩增**。使每个细胞中基因拷贝数增加，从而直接增加可用的转录模板。





## 8.1.4 基因互作与癌基因表达

### 1. 染色体构象对原癌基因表达的影响。

基因表达不仅取决于基因本身及其相邻区域的一级结构，也取决于其空间构象，即基因在染色体上的空间排列和染色质的结构。当两个基因相距太近时，往往不易形成有利于高效转录的空间结构。





基因与基因之间的间隔距离被定义为“**基因领域**”（**gene territory**）。同一**DNA**链上两个具有相同转录方向的基因间隔小于一定长度时，影响有效转录所必需的染色质结构的形成，从而使这两个基因中的一个或两个均不能转录或转录活性显著降低，产生所谓**基因领域效应**（**gene territorial effect**）。





正常人**c-myc**定位于第8号染色体，在其两侧分别存在强表达的基因，使**c-myc**处于两面受夹击的地位。在**Burkitt淋巴瘤**中，由于发生基因重排，使**c-myc**基因一侧的强表达基因消失，从而消除了对**c-myc**的基因领域效应，使后者的转录活性增强。





小鼠细胞中，**c-myc**的5'上游区域也存在一个强表达基因，全长**15kb**，距**c-myc**只有**3kb**。很显然，这一间隔距离太短，与基因有效转录应有的最小距离相差甚远，**c-myc**受基因领域效应的影响非常大，表达受抑制。

在**小鼠乳腺癌**细胞中，上述间隔距离被显著拉长，激活**c-myc**转录。





## 2. 原癌基因终产物对基因表达的影响。

癌基因产物通过介质传递生长刺激信号的部位有3处：

①癌基因产物本身模拟了生长因子，因而与相应的受体作用，以自分泌的方式刺激细胞生长；

②癌基因产物模拟了已结合配体的生长因子受体，从而在无外源生长因子时提供了促进细胞分裂的信号；





③癌基因产物作用于细胞内生长控制途径，解除此途径对外源刺激信号的需求。

人血小板衍生生长因子（PDGF）与猴肉瘤病毒（SSV）的V-ras癌基因产物，上皮生长因子（EGF）与Src及V-erb癌基因产物之间都存在着极高的相似性，表明生长因子与癌基因转化有关。





3. **抑癌基因**产物对原癌基因的调控。因为抑癌基因产物能够抑制细胞的恶性增殖，所以它被认为是一种隐性癌基因。当细胞内由于某种原因造成这些基因的表达受抑制时，原癌基因就活跃表达，引起细胞癌变。





**p53基因， Guardian of the genome.**

**1990年，科学家首次发现p53是一个肿瘤抑制基因。缺失该基因时，患 Li-Fraumeni Syndrome 。此外，病人极易患乳腺癌，脑癌和白血病。**



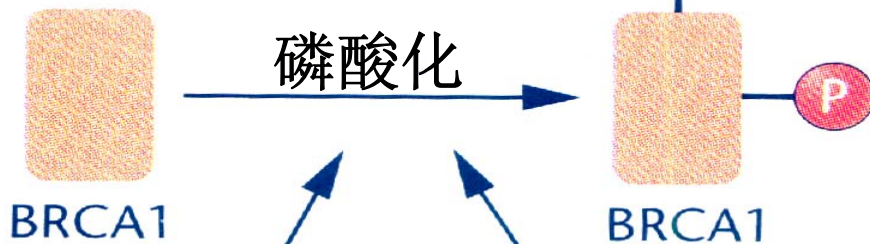


**p53**基因在星形细胞癌、乳癌、肺癌、肠癌及骨肉瘤中都有高频率缺失现象。从癌细胞中得到的**p53**基因，其保守序列区有单一位点的突变，推测可能由于这一突变导致**p53基因**产物结构与功能的改变，失去抑癌活性。

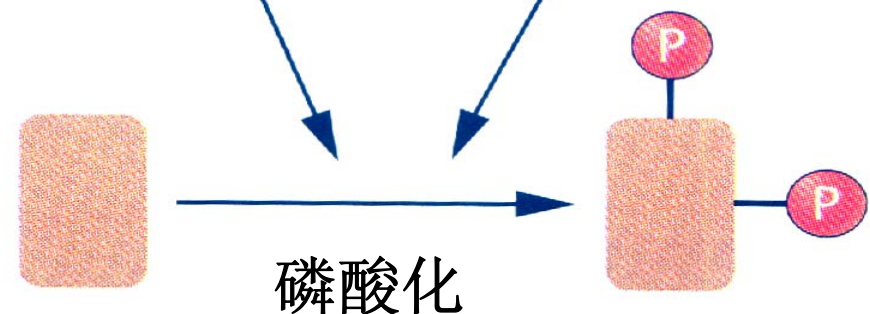




DNA损伤



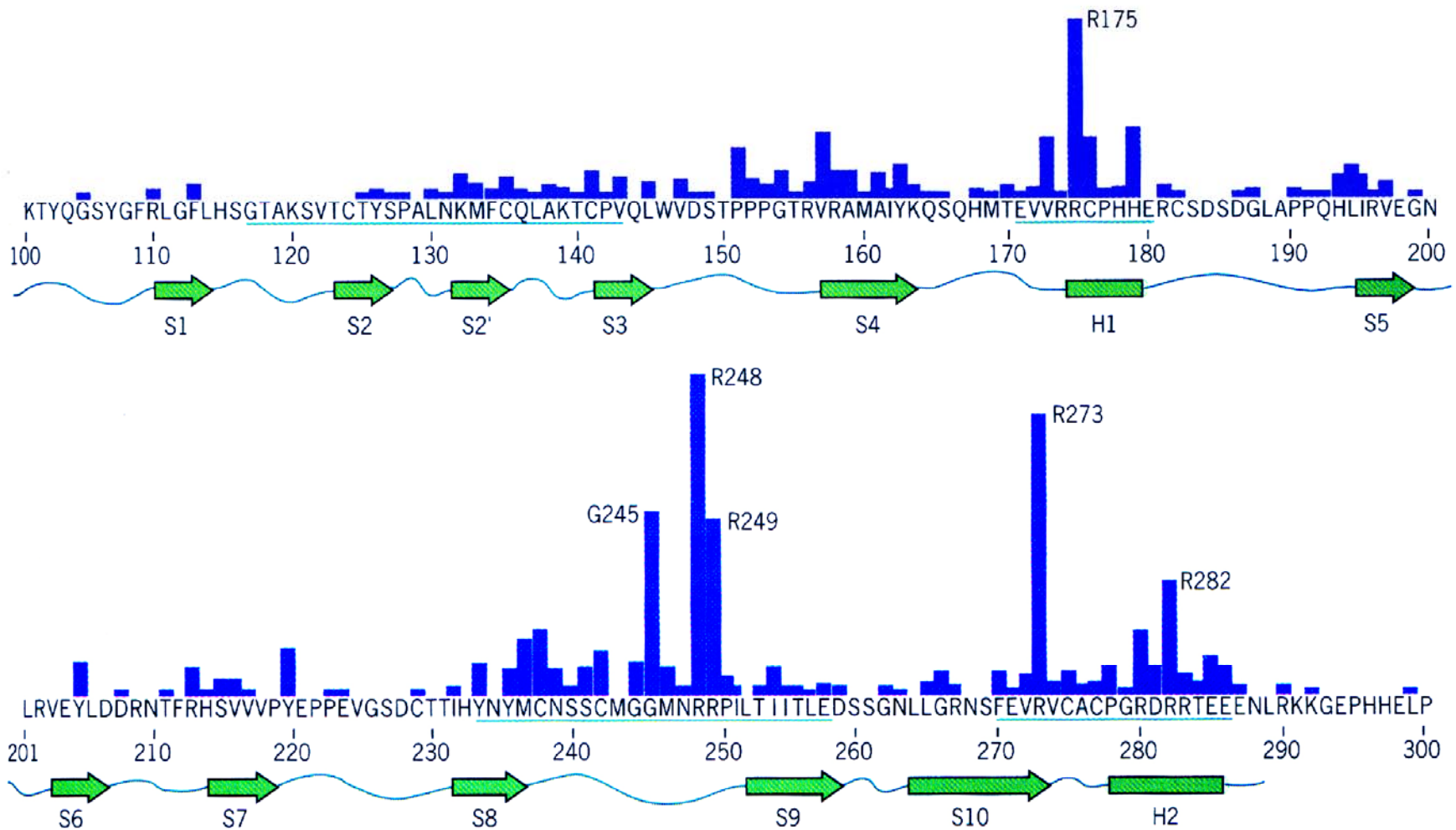
与BRCA2及  
mRAD51协同作用，通过同源重组的方式完成双链DNA损伤修复



**P53**

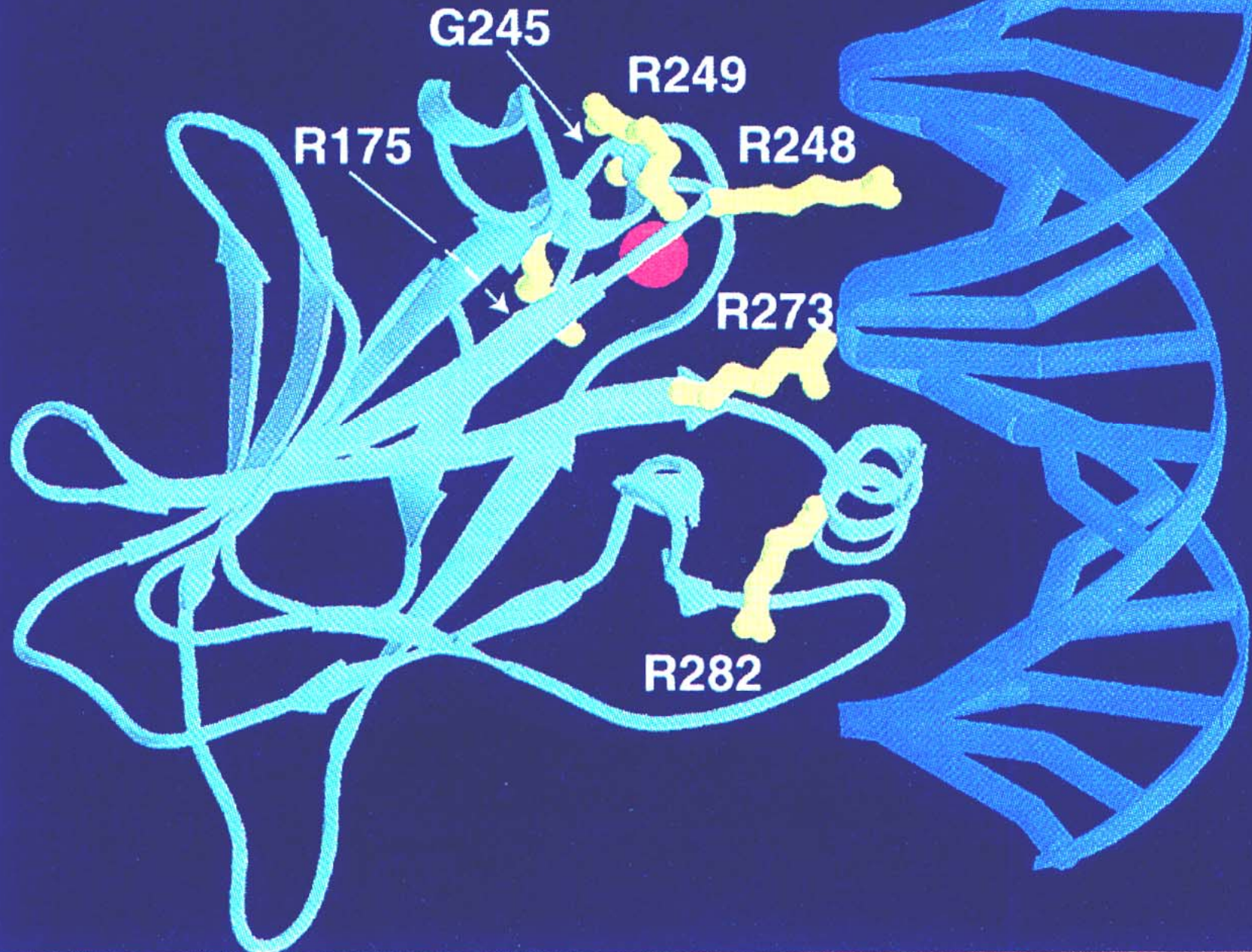
激活细胞周期调控  
机制，停止DNA合  
成，启动DNA损伤  
修复。





**p53**基因中最常见的单碱基突变所造成的氨基酸改变。









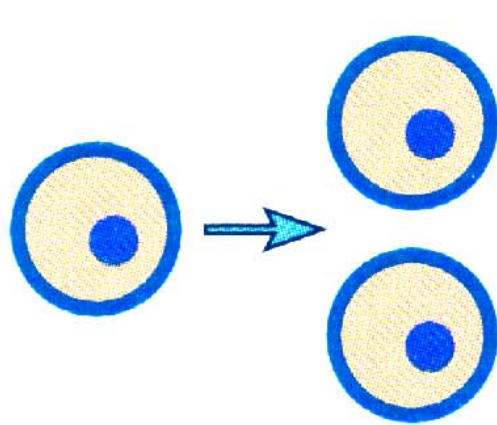
## p53基因与细胞癌变

- a. 正常情况下，细胞分裂与p53基因无关；
- b. 如果细胞中的DNA受损伤，p53基因被激活，使细胞受阻于G1阶段直到DNA被修复或启动细胞凋亡程序；
- c. 如果细胞中p53基因的两个拷贝同时被破坏，细胞可能直接死于有丝分裂过程中，也可能带着损伤继续分裂，从而导致发生恶性肿瘤。





# 细胞在DNA修复后继续分裂



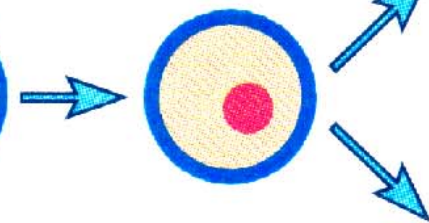
(a)

DNA损伤



(b)

P53含量升高，G1停滞

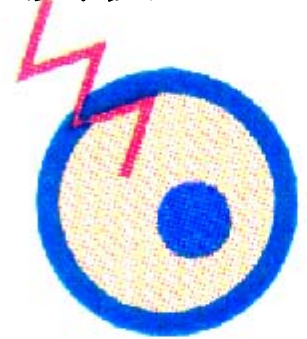


或者发生细胞凋亡

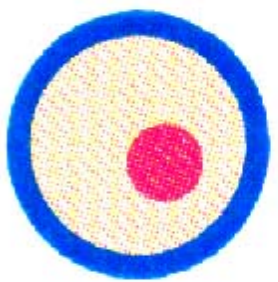


带有DNA损伤的细胞分裂，细胞的倍性发生变化

DNA损伤



没有p53基因  
没有G1停滞



癌变



有丝分裂失败，  
细胞死亡

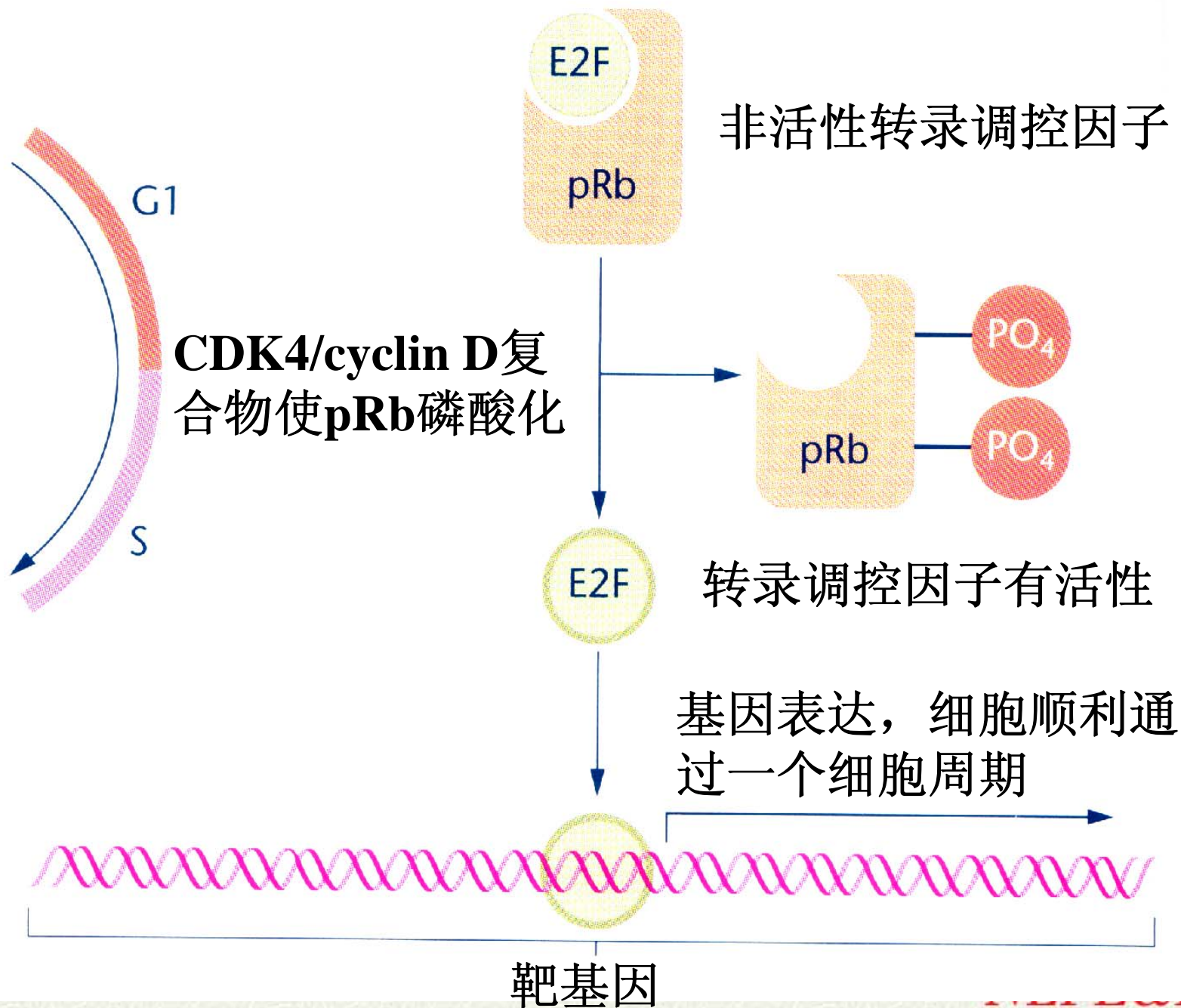
*NLPE&PGE*

C





**Rb基因**是从**视网膜纤维瘤**中克隆到的另一个抑癌基因，其功能是阻止处于 $G_0/G_1$ 期的细胞进入S期，从而控制细胞增殖。正常**Rb基因**的表达几乎可抑制所有培养细胞的分裂。







4. 外源信号对原癌基因表达的影响。细胞外信号（包括生长因子、激素、神经递质、药物等）作用于靶细胞后，通过细胞膜受体系统或其它直接途径被传递至细胞内，再通过多种蛋白激酶的活化，对转录因子进行修饰，然后激活一系列基因转录。

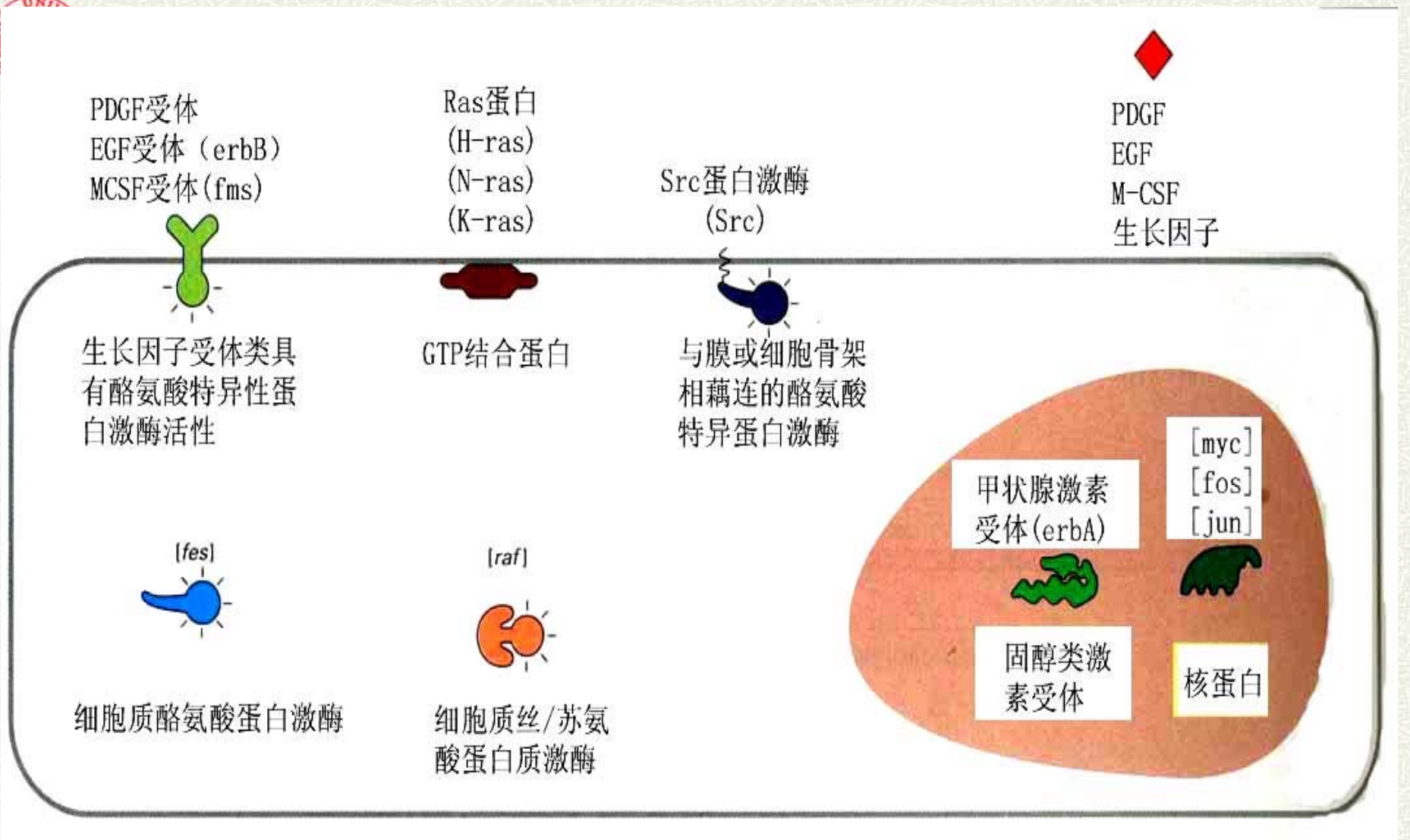


图8-11 许多原癌基因参与细胞信号转导过程

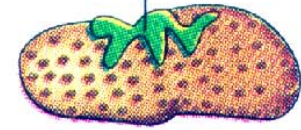




香烟

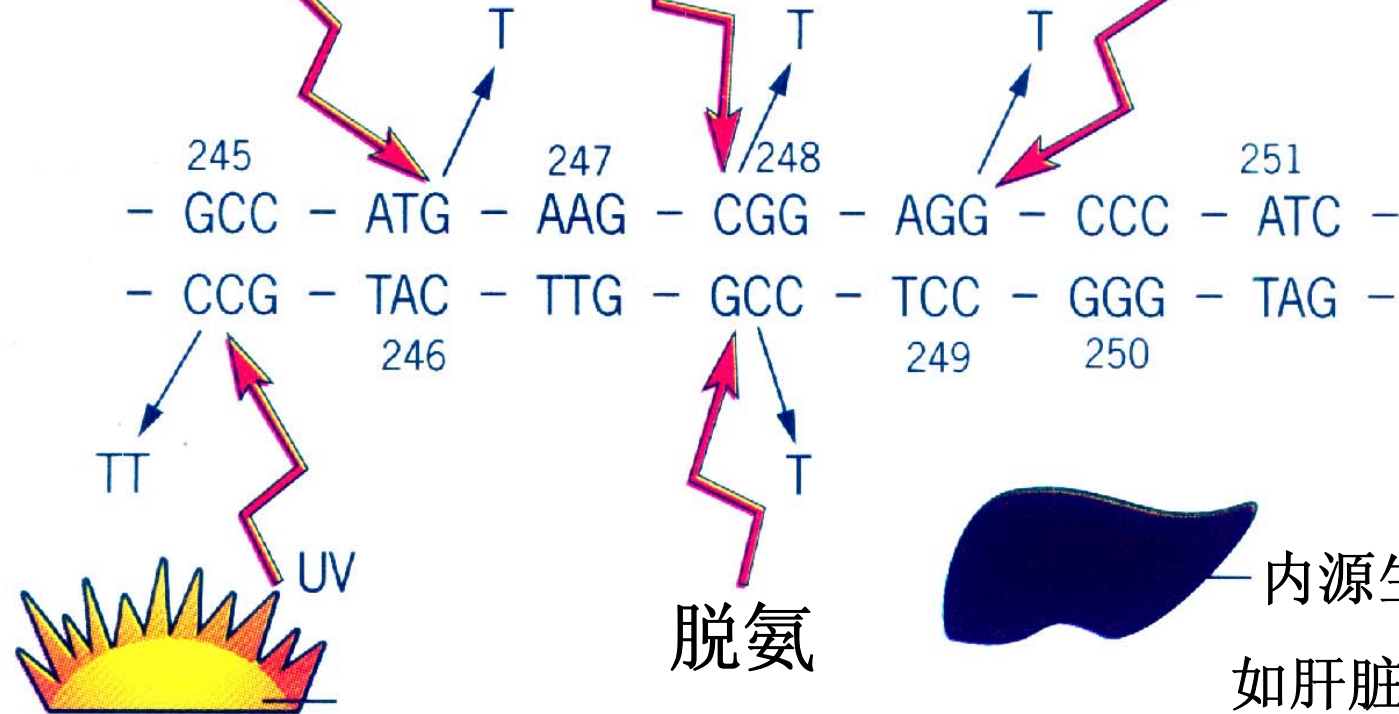
Benzo(a)pyrene

食物中的污染物

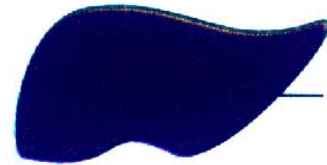


黄曲霉素 B1

脱氨



太阳光照射



内源生理代谢，  
如肝脏解毒功能等

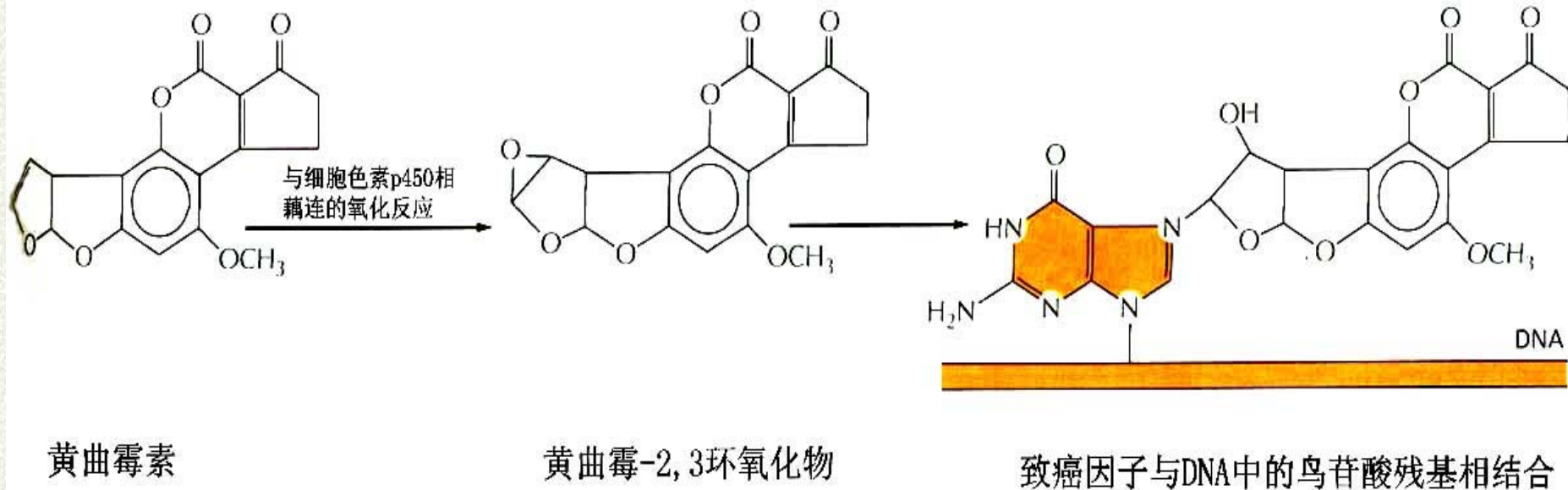
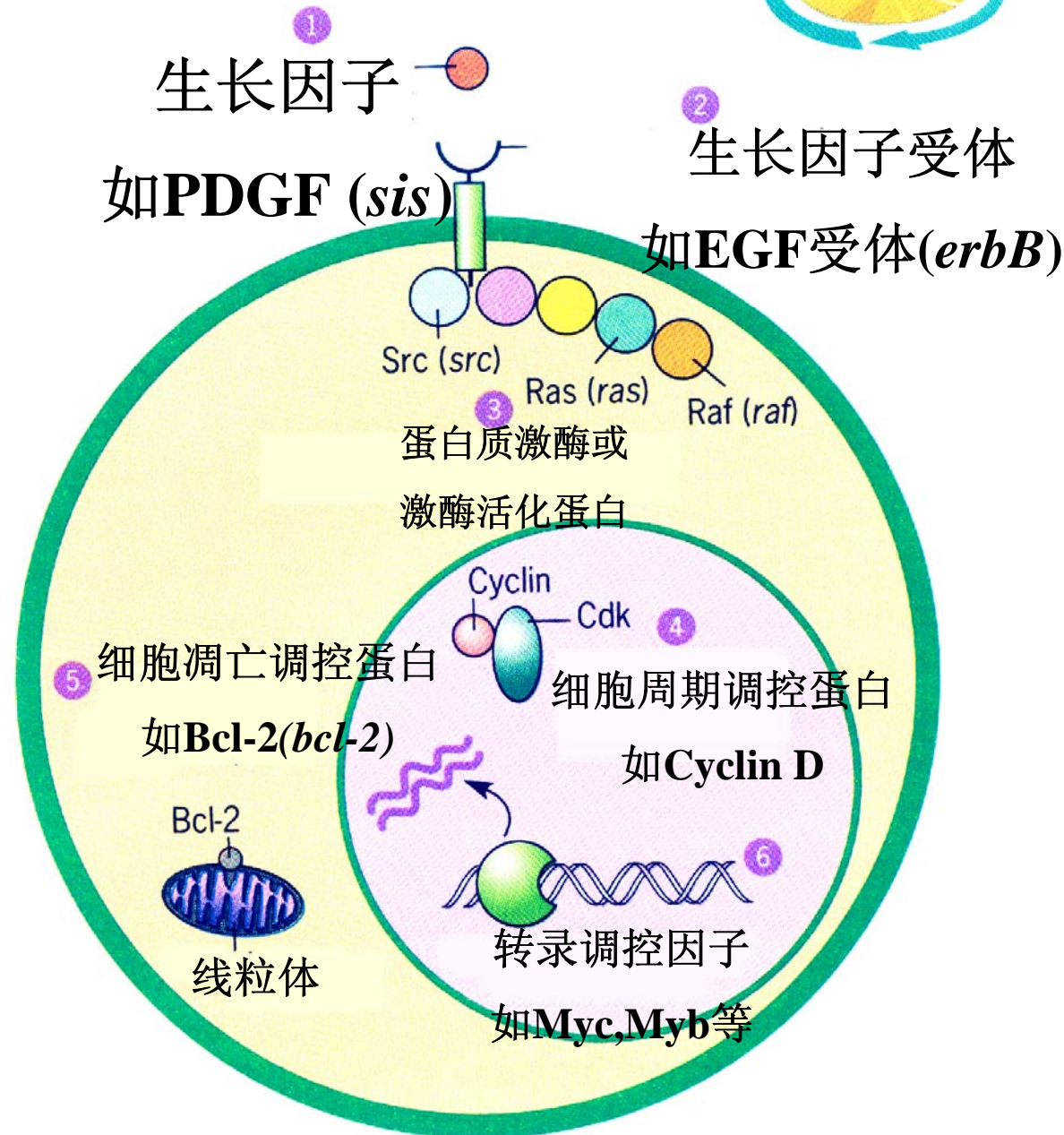
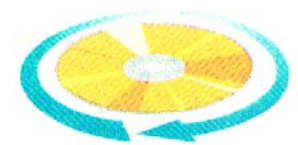


图8-7 黄曲霉素 (Aflatoxin) 导致细胞发生癌变的分子机制







根据原癌基因产物在细胞中的位置可分为3类。

与膜结合的蛋白：如**erbB**、**neu**、**fms**、**mas**和**src**；

可溶性蛋白：如**mos**、**sis**和**fps**；

核蛋白：如**myc**、**ets**、**jun**和**myb**等。





根据这些蛋白的功能，它们又常被分为6个功能群类别，

蛋白激酶类、

生长因子类、

生长因子受体类，

**GTP**结合蛋白类、

核蛋白类和功能未知类





## 8.2 人免疫缺损病毒——HIV

人免疫缺损病毒（HIV），俗称艾滋病病毒（AIDS），诱发人类获得性免疫缺损综合症。该病毒在分类上属反转录病毒科（Retroviridae）慢病毒属中的灵长类免疫缺损病毒亚属。1983年，法国巴斯德研究所的Montagnier和美国国家卫生研究院癌症研究所Gallo等人首次证实HIV是艾滋病的病因。





**HIV I**是从欧洲和美洲分离的毒株，与猴艾滋病毒只有约**45%**的相似性，它的致病力很强，是引起全球艾滋病流行的主要病原。

**HIV II**与猴艾滋病毒的相似性高达**75%**，其毒力较弱，引起艾滋病的病程较长，症状较轻，且主要局限于西部非洲（表**8-4**）。

有关**HIV**的研究主要是针对**HIV I**进行的。





表8-4 反转录病毒科主要成员

属名	典型成员
哺乳动物C型拟反转录病毒属	小鼠乳腺瘤病毒
D型拟反转录病毒属	鼠白血病病毒
禽C型拟反转录病毒属	Mason-Pfizer 猴病毒
泡沫病毒属	禽白血病病毒
人嗜T淋巴细胞病毒	人泡沫病毒
白血病毒属	人嗜T淋巴细胞病毒I型
慢病毒属	人免疫缺损病毒





## 8.2.1 HIV病毒粒子的形态结构和传染

艾滋病病毒粒子是一种直径约为**100nm**的球状病毒，包被着由两层脂质组成的脂膜，这种结合有许多糖蛋白分子（主要是**gp41**和**gp120**）的脂质源于寄主细胞的外膜。蛋白质**p24**和**p18**组成其核心，内有基因组**RNA**链，链上附着有反转录酶。





**HIV**依靠血、血制品以及人体分泌的奶液和精液等传播，主要感染**T**淋巴细胞，也感染**B**淋巴细胞和单形核细胞等。

**HIV**感染形成多核巨细胞，并导致细胞死亡。**HIV**病毒可以通过所感染细胞扩散到全身，已在淋巴细胞、脑、胸腺、脾等组织发现了该病毒。

自然界广泛存在着突变株。



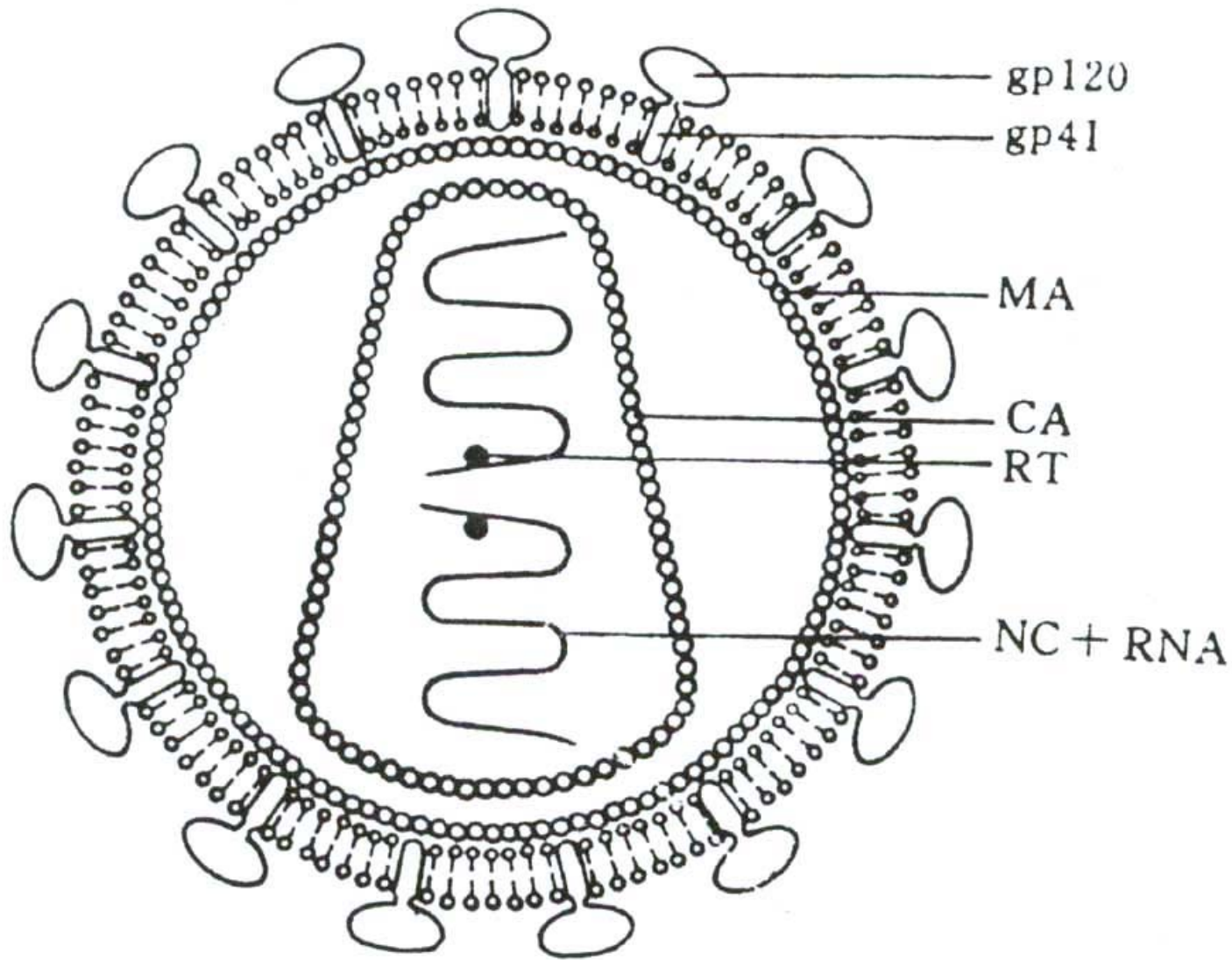


图8-12 HIV I病毒粒子结构模式图。其中gp120和gp41为外膜蛋白，MA为内膜蛋白，CA为外壳蛋白，NC为核衣壳蛋白，RT为反转录酶。



## 8.2.2 HIV基因组及其编码的蛋白

### 1. HIV基因组结构

HIV基因组由两条单链正链RNA组成，每个RNA基因组约为9.7kb。在RNA5'端有一帽子结构（ $m^7G5'GmpNp$ ），3'端有多聚(A)尾巴。

主要由5'末端LTR、结构蛋白编码区（**gag**）、蛋白酶编码区（pro）、具有多种酶活性的蛋白编码区（pol）、外膜蛋白（**env**）和3'末端LTR组成。





HIV I基因编码区有很多重叠，尤其在基因组的3'端。HIV基因组中的部分基因如Tat和Rev是不连续的，被插入的内含子分隔成两个外显子。

HIV I至少有4个功能性的剪接**供体位点**和6个**受体位点**。

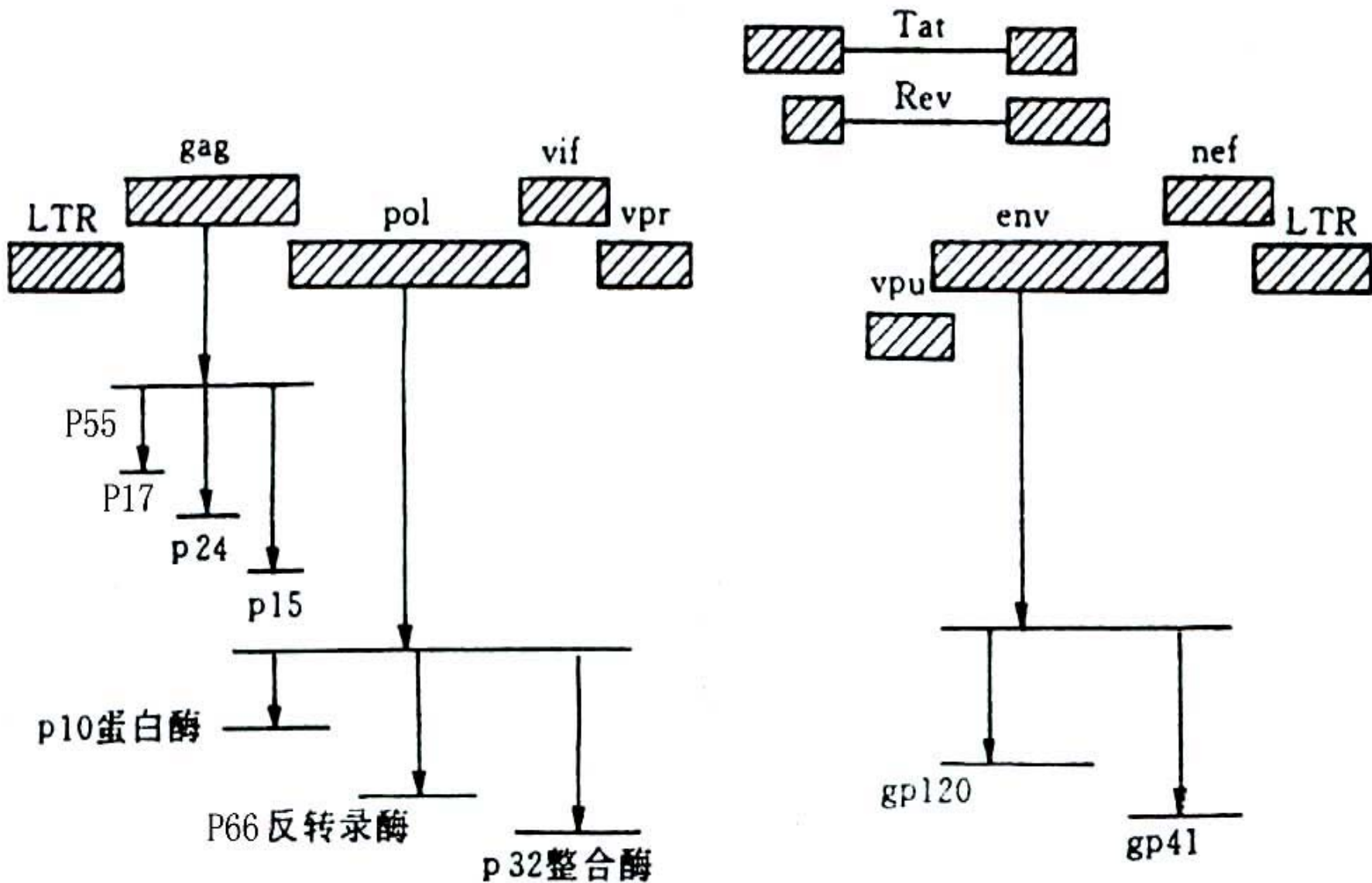


图8-13 HIV I基因结构和所编码的主要蛋白





## 2. HIV编码的蛋白质及其主要功能

**HIV**的结构蛋白主要包括**3**个基因。**gag**基因编码病毒的核心蛋白，翻译时先形成一个 $5.5 \times 10^4$ 的前体(p55)，然后在HIV蛋白酶的作用下被切割成p17、p24、p15三个蛋白。P24和p17分别组成HIV颗粒的外壳(CA)和内膜蛋白(MA)，p15进一步被切割成与病毒RNA结合的核衣壳蛋白(NC) p9和p7。





Po1基因编码病毒复制所需的酶类包括逆转录酶p66、整合酶p32。

从pol和gag基因重叠区内起始的一段序列为pro基因，它编码蛋白酶p22，在切割HIV蛋白前体的过程中起作用。

env编码 $8.8 \times 10^4$ 的蛋白质，经糖基化后其相对分子质量增至 $1.6 \times 10^5$ ，是HIV包膜糖蛋白Gp160的前体，可进一步被切割成Gp120和Gp41。





Gp120是外膜蛋白，感染细胞时可与细胞的CD<sub>4</sub>受体蛋白相结合，并与G蛋白偶联受体（GPCR）家族中的一个跨膜蛋白发生相互作用。

Gp41是跨膜蛋白（TM），嵌入病毒包膜脂质中，对HIV的侵染和致病有非常重要的作用。



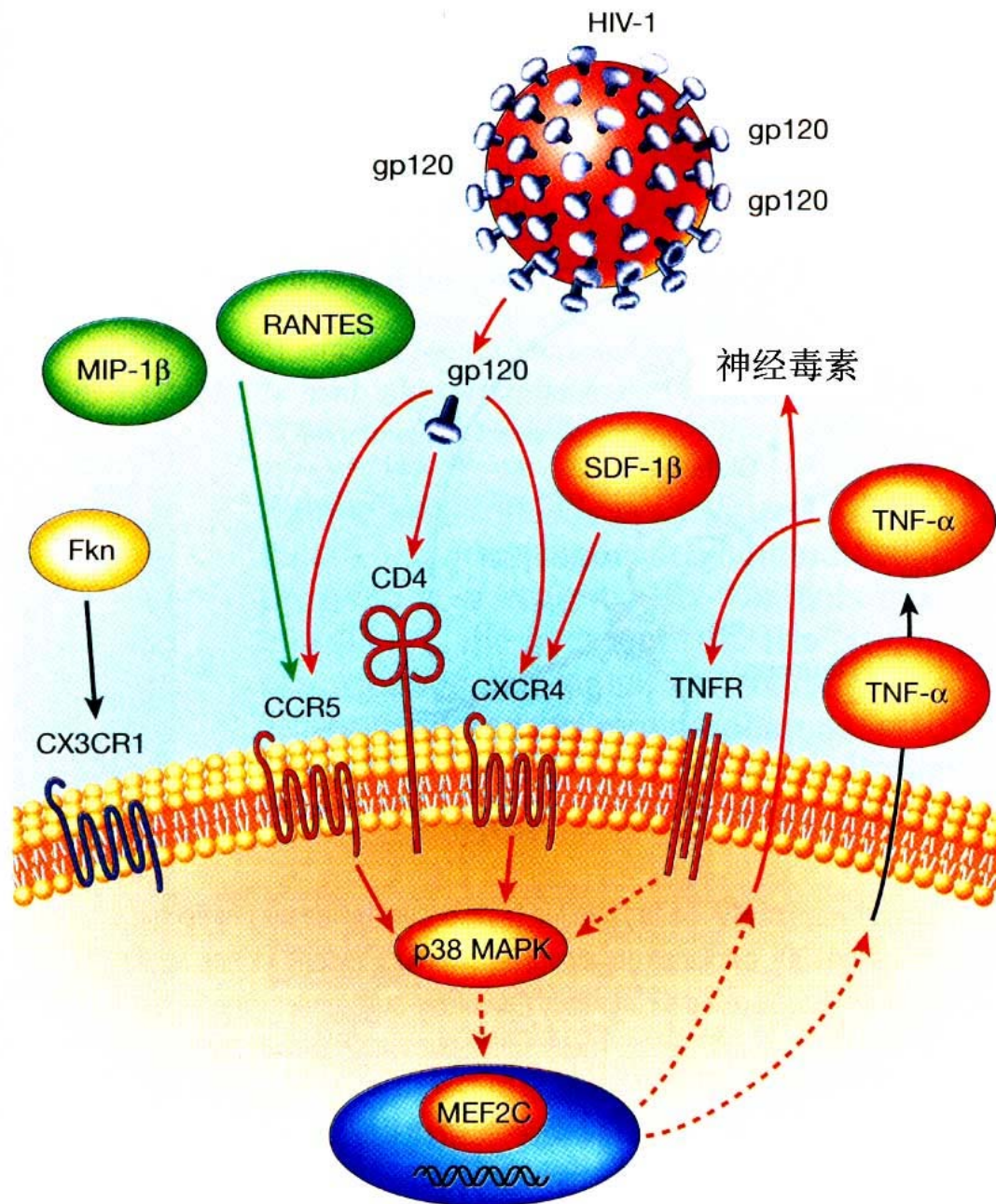


图8-14 HIV I 感染小神经质细胞和巨噬细胞过程中信号传导及与其受体CD<sub>4</sub>和辅助受体相互作用示意图。





### 3.HIV膜蛋白主要功能区

(1) 主要抗原决定簇：包括V3区（第301-324位的环状肽段）的主抗原决定簇及若干个较弱的决定簇，其中有两个分别位于Gp41的616-632位和724-751位。

(2) T细胞决定簇：两个辅助性T细胞决定簇T2和T1分别在105-117位的C1区和421-436位的C4区，一个主要细胞毒T细胞决定簇位于第308-322位。另有3个较弱的细胞毒T细胞决定簇在Gp41上。





(3) CD<sub>4</sub>受体结合区：该区位于423-427位（C4区）。在上述功能区以外的某些氨基酸突变也能影响gp120的功能，说明上述各功能区发挥作用还依赖于整个分子特定的空间构象。





## 8.2.3 HIV的复制

HIV与受体结合后，病毒核心蛋白和两条RNA链进入细胞。反转录酶以病毒RNA为模板合成单链DNA，并由宿主细胞DNA聚合酶合成双链DNA（**原病毒**），经环化后进入细胞核并整合到染色体上，随细胞的分裂传代。可长期潜伏。





## 主要过程如下：

①原病毒整合到宿主染色体上，无症状；②原病毒利用宿主细胞的转录和合成系统转录产生病毒mRNA，其中一部分编码病毒蛋白，与基因组RNA组装成新的病毒颗粒，从寄主细胞中释放出来侵染其它健康细胞；③寄主细胞瓦解死亡。





HIV 病毒粒子

宿主细胞

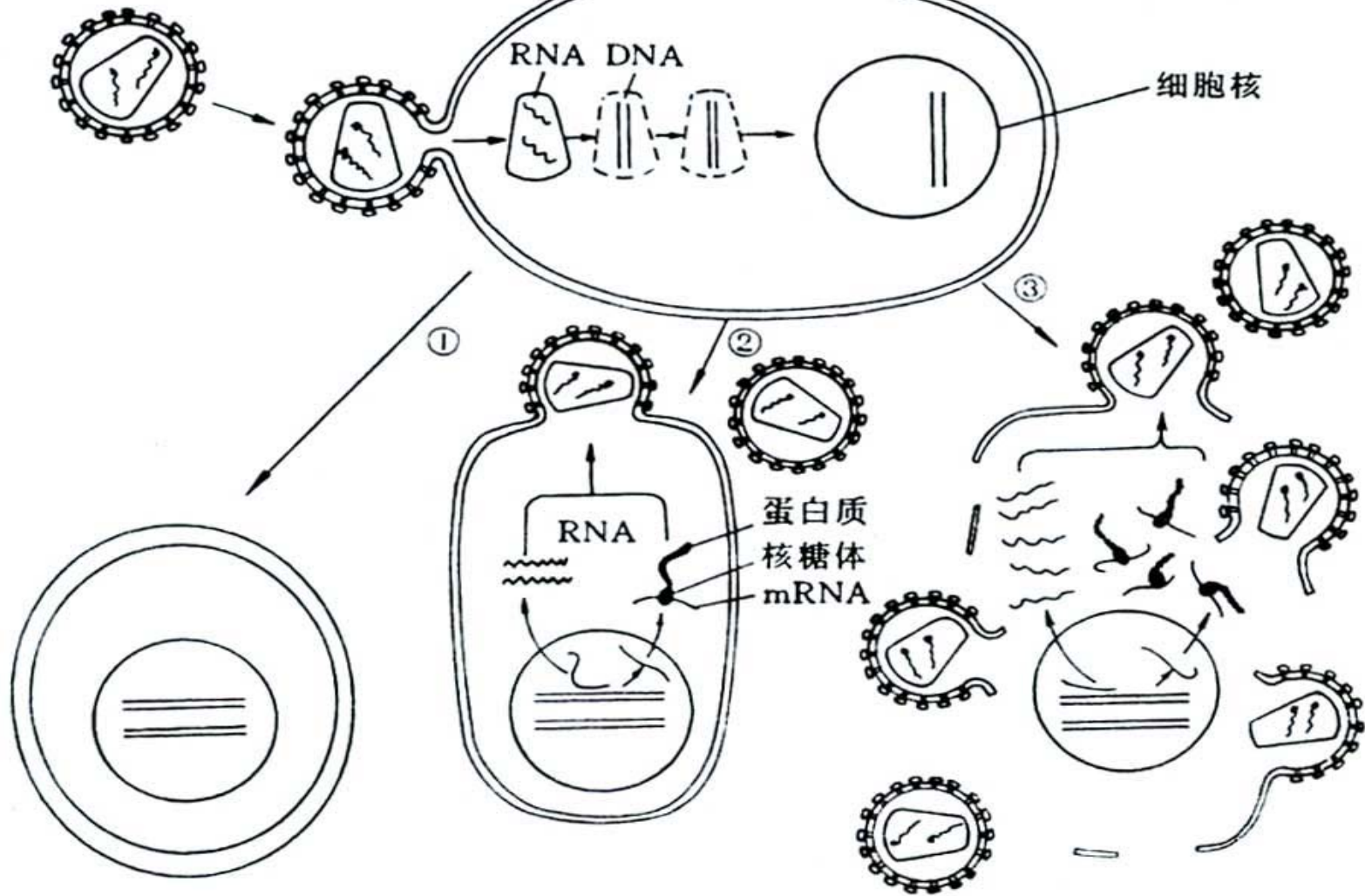


图8-15 HIV I在人体细胞内的复制和侵染过程示意图



## 8.2.4 HIV的感染及致病机理

HIV感染人体后立即大量复制和扩散，血清中出现HIV抗原，从外周血细胞、脑脊液和骨髓细胞中均能分离出HIV，是HIV原发感染的急性期。

大约70%以上的原发感染者在感染后2-4周内出现急性感染症状，包括发热、咽炎、淋巴结肿大、关节痛、中枢及外周神经系统病变、皮肤斑丘疹、粘膜溃疡等，持续1-2周后进入HIV感染的无症状潜伏期。





无症状潜伏期（可长达数年）。此时无任何临床症状，外周血中HIV抗原含量很低甚至检测不到。随感染时间的延长，HIV重新开始大量复制并造成免疫系统损伤。临床上病人感染逐步发展到**持续性全身性淋巴腺病（PGL）、艾滋病相关综合症（APC）**等，直至发展到艾滋病。





HIV除在细胞内大量繁殖造成细胞死亡外，还可通过以下几种途径导致免疫功能下降：

①HIV粒子表面的gp120蛋白脱落，与正常细胞膜上CD<sub>4</sub>受体结合，使该细胞被免疫系统误认为病毒感染细胞而遭杀灭；

②因T细胞CD<sub>4</sub>受体被gp120封闭，影响了其免疫辅助功能；





③HIV的gp120蛋白可刺激机体产生抗CD<sub>4</sub>结合部位的特异性抗体，阻断T细胞功能；

④带有病毒包膜蛋白的细胞可与其他细胞融合形成多核巨细胞而丧失功能。





## 8.2.5 艾滋病的治疗及预防

迄今为止仍无任何药物可以完全抑制HIV在感染者体内的增殖并彻底治愈艾滋病。

已批准的抗HIV病毒药物主要如表8-7所示。





表 8-7 已被批准的抗 HIV 药物

核苷酸型反转录酶抑制剂
Abacavir(ABC)
Stavudine(d4T)
Didanosine(ddI)
Zalcitabine(ddc)
Lamivudine(3Tc)
Zidovudine(AZT)
非核苷酸型反转录酶抑制剂
Efavirenz
Nevirapine
Delavirdine
蛋白酶抑制剂
Amprenavir
Indinavir
Lopinavir
Nelfinavir
Ritonavir
Saquinavir

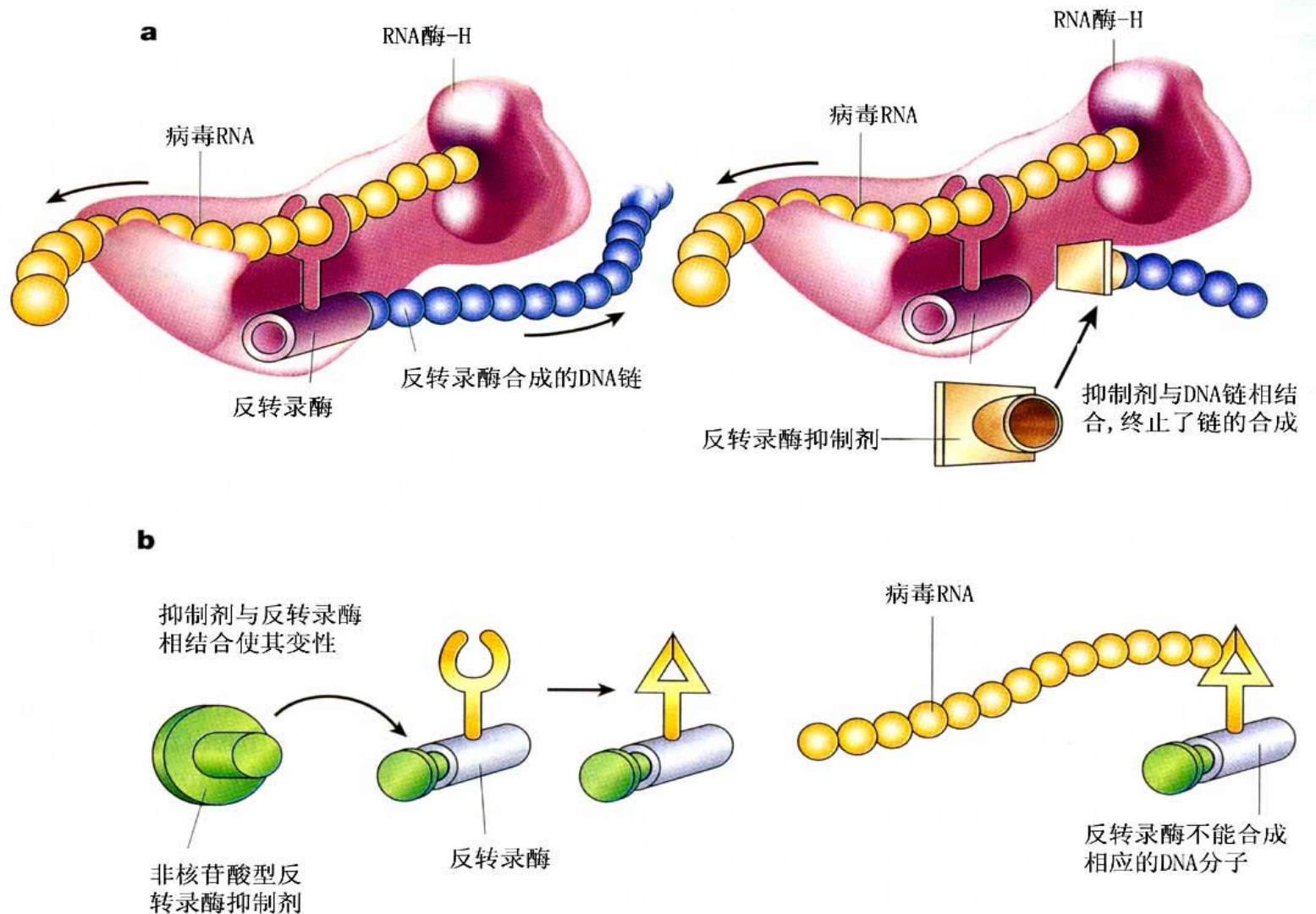


图8-21 核苷酸型和非核苷酸型反转录酶抑制剂的作用机制分析。a. 核苷酸型反转录酶抑制剂。由于它在结构上与脱氧核苷酸的相似性, 掺入后使病毒DNA的合成不能进行。b. 非核苷酸型反转录酶抑制剂。与反转录酶相结合, 通过限制该酶的移动性而影响它的活性。





## 8.3 乙型肝炎病毒——HBV

病毒性肝炎是严重威胁人类健康的世界性传染病，引起肝炎的病毒通称肝炎病毒（hepatitis virus）。目前已经知道的至少有**甲肝病毒（HAV）、乙肝病毒（HBV）、丙肝病毒（HCV）、丁肝病毒（HDV）和戊肝病毒（HEV）**等5种病毒。





甲肝病毒属小RNA病毒科，乙肝病毒属嗜肝病毒科，丙肝病毒与黄热病毒和瘟病毒相似，为RNA病毒。

丁肝病毒基因组由单链环状RNA分子组成，其外壳能识别乙肝病毒的表面抗原，是一种与乙肝有关的缺陷型病毒，需要有HBV的辅助才能复制增殖。

戊肝病毒基因组为单链正链有多聚(A)RNA，球形无包膜。





## 8.3.1 肝炎病毒的分类及病毒粒子结构

1986年，国际病毒命名委员会正式将乙肝病毒定为嗜肝DNA病毒科成员，1990年又将该科病毒分为**正嗜肝病毒属**和**禽嗜肝病毒属**，乙肝病毒是正嗜肝病毒属成员。





HBV完整粒子的直径为42nm，由外膜和核壳组成，有很强的感染性。

其外膜由病毒的表面抗原、多糖和脂质构成；核壳直径27nm，由病毒的核心抗原组成，并含有病毒的基因组DNA、反转录酶和DNA结合蛋白等。



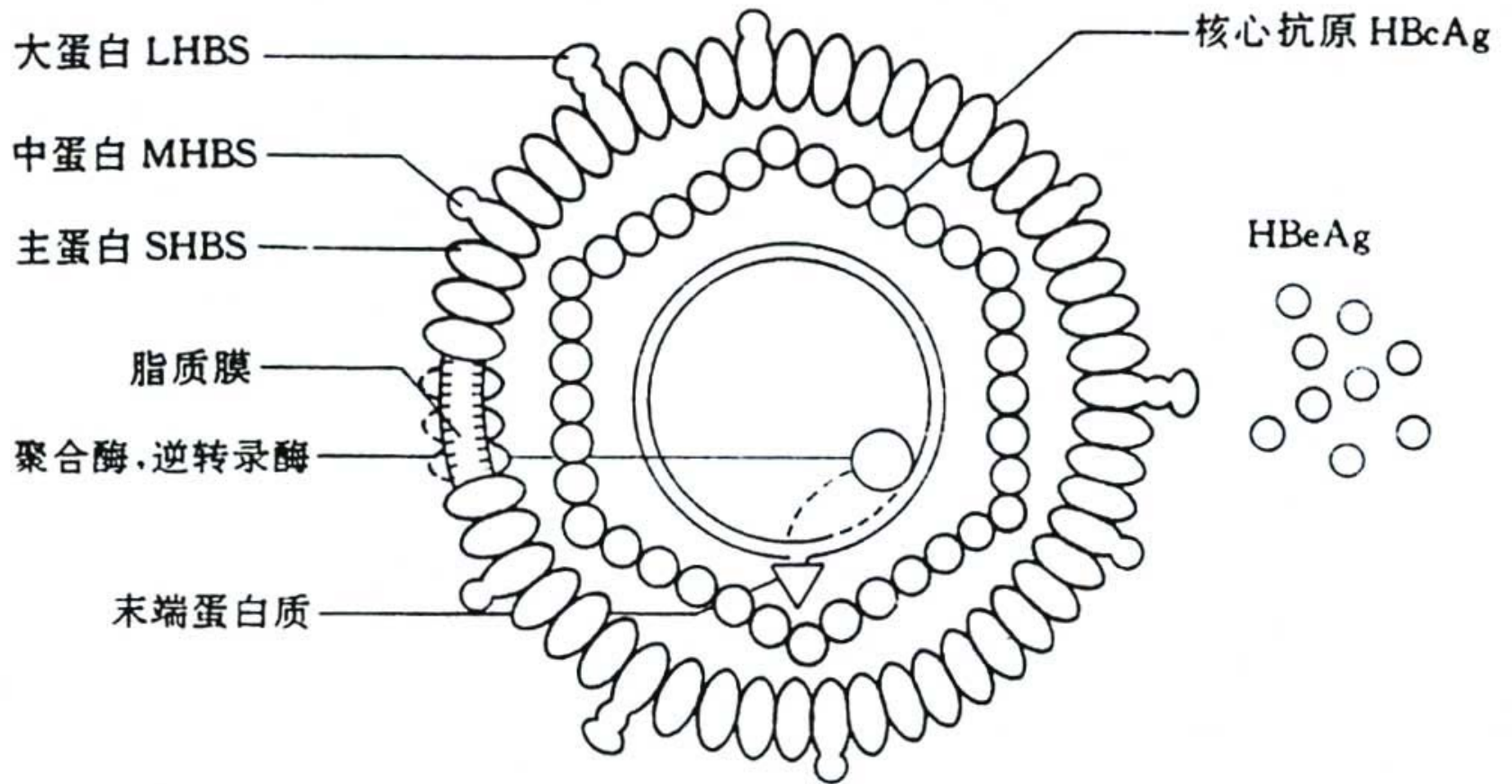


图8-22 HBV病毒粒子模式图



## 8.3.2 乙肝病毒基因组及其所编码的主要蛋白

乙肝病毒的基因组是一个有部分单链区的环状双链DNA分子，两条单链长度不同。

长链L（3.2kb）为负链，而短链S为正链，其长度不确定，约为负链的50%-80%左右。基因组依靠正链5'端约240bp的粘性末端与负链缺口部位的互补维持了环状结构。





在两条链的互补区两侧各有一个11碱基的直接重复序列（5'TTCAC-CTCTGC-3'），分别开始于第1842和1590核苷酸处，称为DR1和DR2。

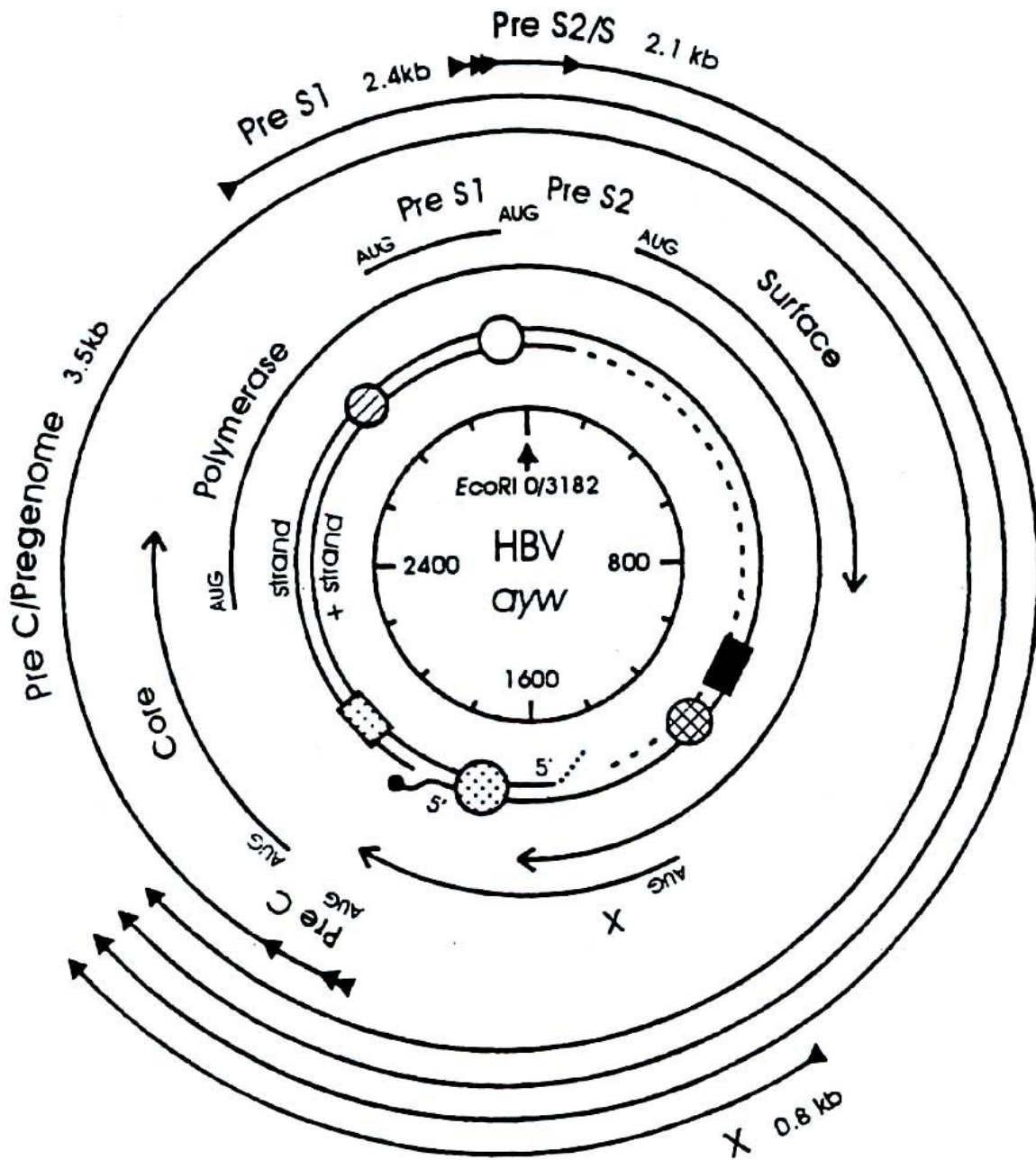


图8-23 HBV基因组结构  
(ayw株)。

- ⊗: X启动子
- : 增强子
- ⊙: 核心启动子,增强子II
- : S启动子
- ⊗: PreS1启动子
- ⊞: 多腺苷酸化信号





# HBV的编码区及产物

(1) **S编码区**。S编码区编码**乙肝表面抗原蛋白**，分别编码由226个氨基酸残基的**表面抗原主蛋白 (SHBS)**、108-115个氨基酸的原S1蛋白和55个氨基酸组成的原S2蛋白3部分组成。S蛋白和原S2蛋白组合在一起被称为中蛋白 (MHBS)，S蛋白和原S1、原S2蛋白组合在一起时被称为大蛋白 (LHBS)。





SHBS是病毒外壳蛋白和22nm颗粒表面抗原的主要成分，占病毒蛋白的70%-90%，中蛋白和大蛋白则暴露于病毒颗粒表面。

表面抗原有很强的免疫原性，是乙肝疫苗的主要成分。





(2) **P编码区**。长2532碱基，约占全基因组3/4以上，是最长的编码区，包含全部S编码区并与C和X编码区有部分重叠。

P编码区由3个功能区和一个间隔区构成，分别为末端蛋白（又称引物酶）、间隔区、反转录酶/DNA聚合酶及RNaseH。末端蛋白是病毒进行反转录时的引物。P编码区可能先翻译成 $9.5 \times 10^5$ 多肽，然后加工成较小的功能型多肽。





(3) **C编码区**。该区长639碱基，翻译产物为病毒核心抗原 (HBcAg)。其原初翻译产物是前核心蛋白，切除N端19肽和富含精氨酸的C末端后，成为E抗原 (HBeAg)，分子量为 $2.2 \times 10^4$ 蛋白，是核衣壳上唯一的结构蛋白。HBeAg是分泌型蛋白，可在血清中检测到。





(4) **X编码区**。是最小的编码区，编码X蛋白，覆盖了负链的缺口部位，虽然长度不等，但主要产物由154个氨基酸残基组成。X蛋白具有反式调控作用，能激活多个同源或异源启动子或增强子，与肝癌的发生有相关性。





### 8.3.3 HBV的复制

乙肝病毒基因组为双链DNA，但其复制并不通过半保留复制方式，而是通过反转录途径。



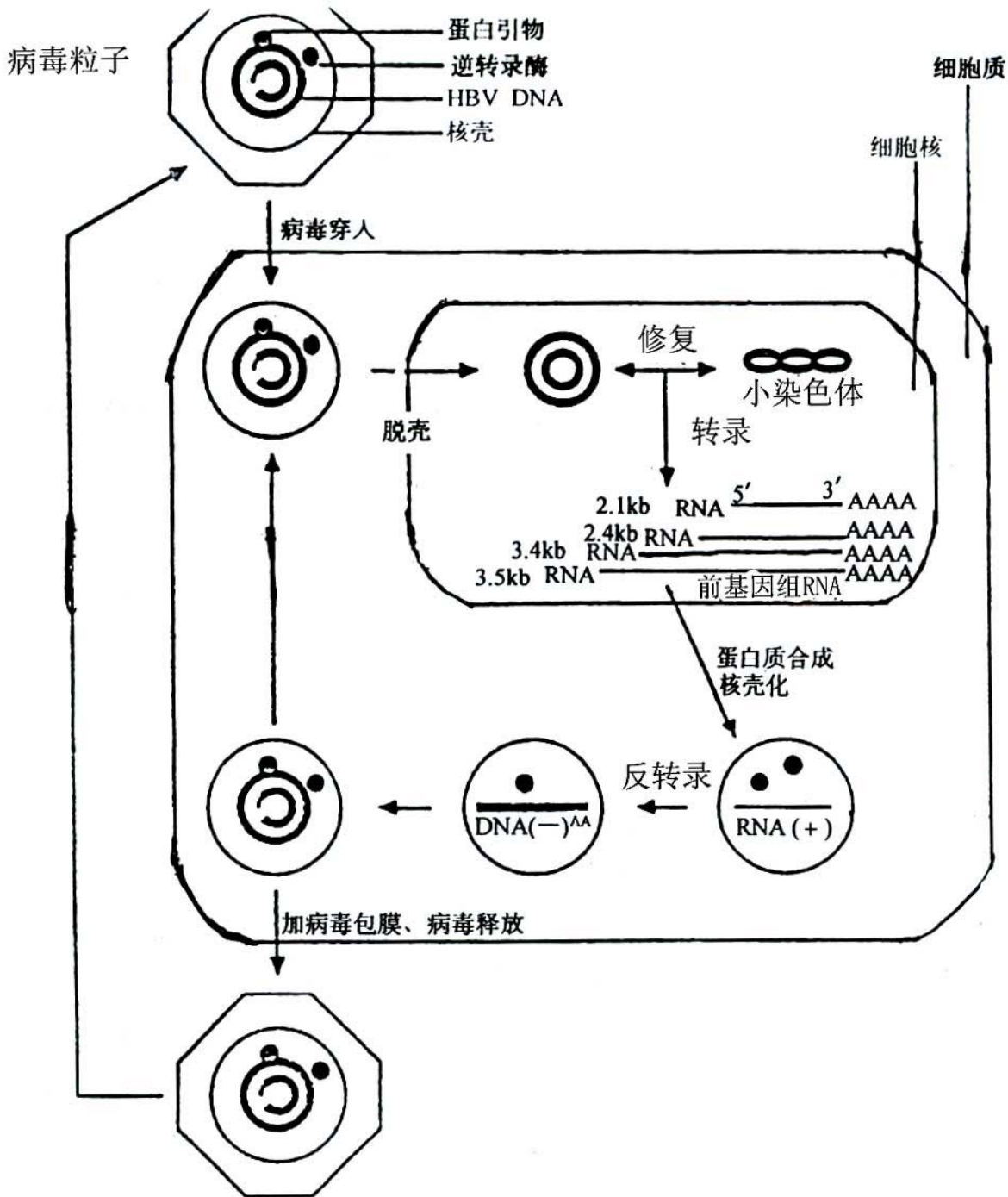


图8-24  
HBV基因组复制模式图。



## 8.4 基因治疗

人类疾病的发生，其实都是人体细胞中自身基因的改变或由外源病原体的基因产物与人体基因相互作用的结果。

### 8.4.1 基因治疗的历史沿革

1990年，科学家第一次用反转录病毒为载体把**腺苷脱氨酶基因（ADA）**导入来自病人自身的T淋巴细胞，经扩增后输回患者体内，获得了成功。5年后，患者体内10%的造血细胞呈ADA基因阳性。





# 基因治疗的两大途径

**ex vivo**与**in vivo**方式。

## **ex vivo**途径

将含外源基因的载体在体外导入人体自身或异体（异种）被“基因工程化的”细胞，经体外细胞扩增后输回人体。

这种方法易于操作，而且因为细胞扩增过程中对外源添加物质的大量稀释，不容易产生副作用。同时，治疗中用的是人体细胞，尤其是自体细胞，安全性好。





## in vivo途径

将外源基因装配于特定的真核细胞表达载体上，直接导入人体内。

这种载体可以是病毒型或非病毒型，甚至是裸DNA，有利于大规模工业化生产。

这种方式导入的治疗基因以及其载体必须证明其安全性，而且导入体内之后必须能进入靶细胞，有效地表达并达到治疗目的。





## 8.4.2 基因治疗中的病毒载体

用于基因治疗的**病毒载体**应具备以下基本条件：

携带外源基因并能装配成病毒颗粒；

介导外源基因的转移和表达；

对机体没有致病力。





# 1、病毒载体的产生

将适当长度的外源**DNA**插入病毒基因组的非必需区，包装成重组病毒颗粒。

将**4.5kb**的**lacZ**基因表达盒插入**HSV-1**病毒的**UL44**（编码糖蛋白**C**）基因的**Xba I**位点中，构建成重组**HSV**病毒。由于**UL44**基因产物对于**HSV**病毒在培养细胞中产毒性感染是非必需的，该重组病毒可以在细胞中增殖传代。





## 2、重组型病毒载体

在不改变病毒复制和包装所需的顺式作用元件的情况下，有选择性地删除病毒的某些必需基因尤其是前早期或早期基因以控制其表达，所缺失的必需基因的功能由同时导入细胞中的外源基因表达单位提供。一般通过同源重组方法将目的基因插入到病毒基因组中。





### 3、无病毒基因的病毒载体

在辅助系统的作用下，重组载体以特定形式（单链或双链**DNA**或**RNA**）被包装到不含有任何病毒基因的病毒颗粒中。这类载体的优点在于载体病毒本身安全性好，容量大。缺点在于往往需要辅助病毒参与载体**DNA**的包装，造成终产品中辅助病毒污染。





表 8-8 常用病毒载体的特性和适用范围

病毒载体	生物学特性	适用范围
反转录病毒载体	可感染分裂细胞 整合到染色体中 表达时间较长 有致癌的危险	<i>ex vivo</i> 基因治疗 肿瘤基因治疗
腺病毒载体	可感染分裂和非分裂细胞 不整合到染色体中 外源基因表达水平高 表达时间较短 免疫原性强	<i>in vivo</i> 基因治疗 肿瘤基因治疗 疫苗
腺病毒伴随病毒载体	可感染分裂和非分裂细胞 整合到染色体中 无致病性，免疫原性弱 可长期表达外源基因 在骨骼肌、心肌、肝脏、 视网膜等组织中表达水平较高	<i>in vivo</i> 基因治疗 <i>ex vivo</i> 基因治疗 遗传病基因治疗 获得性慢性疾病的 基因治疗
疱疹病毒载体	具嗜神经性，可逆轴突传递 可潜伏感染 容量大 可感染分裂和非分裂细胞	神经系统疾病的 基因治疗 肿瘤的基因治疗





## 4、基因治疗中的问题

基因导入系统

基因表达的可控性

需要更多的治疗基因

1) 基因导入系统。基因治疗中的关键问题是必须将治疗基因送入特定的靶细胞，并在该细胞中得到高效表达。这对于恶性肿瘤治疗尤为重要，如果不能有效地将治疗基因导入大多数肿瘤细胞，则至少要求它尽可能不进入或较少进入正常细胞。





## 2) 外源基因表达的可控性。

最理想的可控性是模拟人体内基因本身的调控形式，需要全基因或包括上下游的调控区及内含子序列，将对导入基因的载体系统产生严峻的挑战，因为今后设计的载体须有几十**kb**甚至上百**kb**的包装能力。





在目的基因上游区接上gal 4的顺式元件，用带有疱疹病毒VP16/gal 4 DNA结合区的孕酮受体的变异体作为激活蛋白。



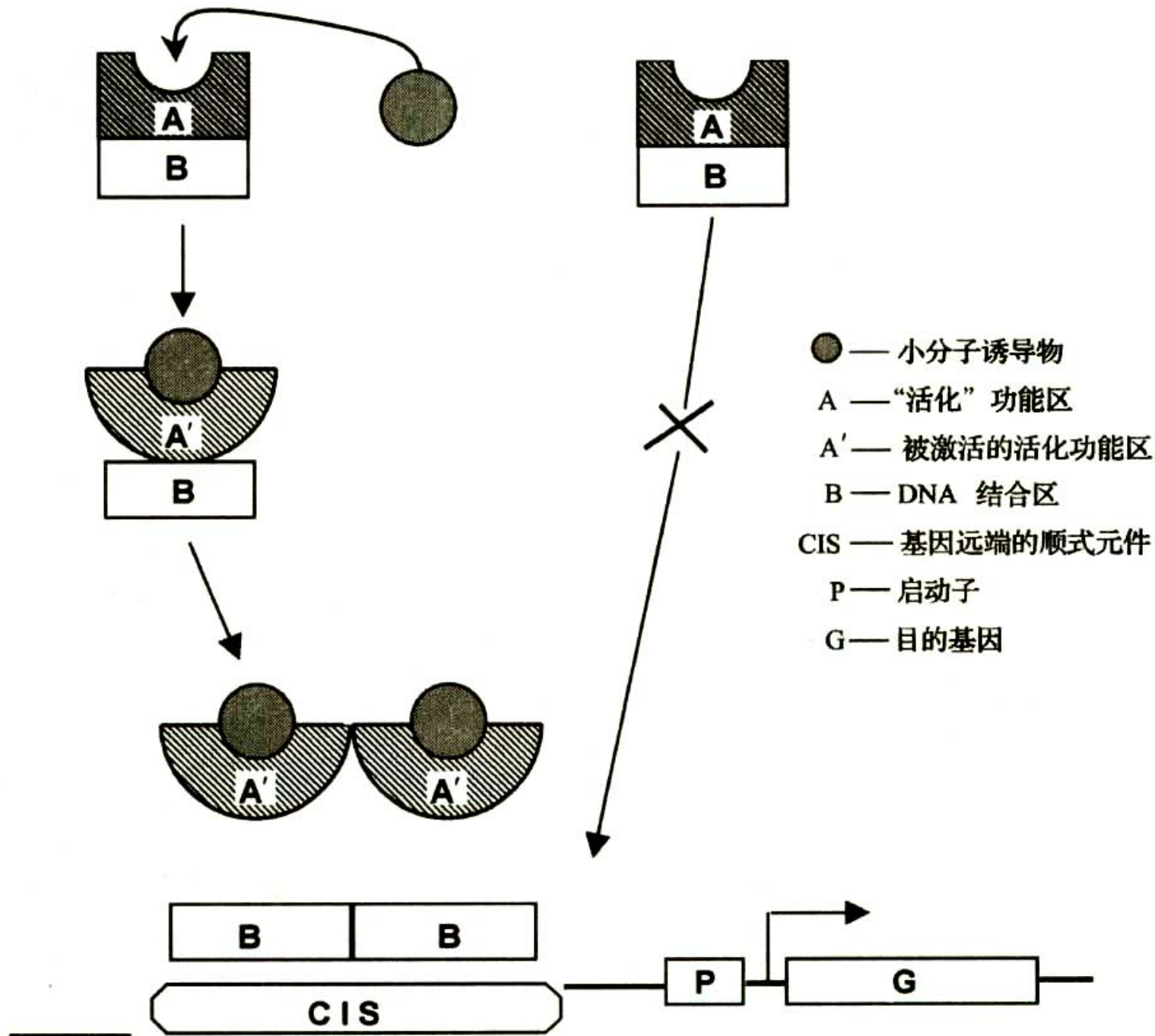


图8-26  
 导入基因的表  
 达诱导框  
 架图。



该变异体 (**PR-LBD $\Delta$** ) 只能与孕酮的拮抗剂 (**RU486**) 相结合而不与孕酮或其他衍生物结合。当体系中不存在**RU486**时, 治疗基因的表达水平极低; 而给予**RU486**后, **RU486**与**PR-LBD $\Delta$** 结合, 激活**VP16**, 杂种激活蛋白形成二体并通过**gal 4 DNA**结合区与治疗基因上游区的**gal 4**顺式元件结合, 启动治疗基因的表达。





3) 治疗基因过少。目前用于临床试验的治疗基因数量很少。绝大部分多基因疾病，如恶性肿瘤、高血压、糖尿病、冠心病、神经退行性疾病的致病基因还有待阐明，因此，可选择的靶基因不多。