我国科学家在攻克重大传染疾病的研究领域再下一城——

欲攻克丙肝先建成模型

本报记者 佘惠敏

全球现有近2亿人、我国有逾4000万人携带丙型肝炎病毒(HCV)。慢性丙肝是导致肝硬化和肝癌的主要凶手,丙肝病毒感染者每年新增100万,每年50万丙肝患者去世。

中国科学院武汉病毒所和生物物理所的唐宏、陈新文研究组经过利用免疫系统完整的小鼠,成功研制出世界上首个HCV持续感染、完整反映HCV感染自然史和慢性病毒性肝炎进展的动物模型。这一成果作为封面论文发表在8月27日《细胞研究》(Cell Research)杂志上。

模型的建成,为揭示丙肝的致病机制提供了迄今最先进的材料,它将从根本上推动丙肝防治的疫苗和药物研发,是我国科学家为攻克威胁人类的重大传染疾病作出的里程碑式贡献。

唐宏、陈新文研究组选择的ICR小鼠,成为实验成功的重要因素。(资料图片)

挑战:世界性难题

与人类基因组高度同源的小鼠,是一种重要的实验用模式动物,人们常常利用它来研究各种疾病的治疗方法。遗憾的是,小鼠缺少介导丙型肝炎病毒进入肝脏细胞的受体分子,因此小鼠不能感染丙肝病毒。

科学家们27年前就发现了丙肝病毒,却一直未能成功的感染小鼠,并让小鼠重现丙肝病毒感染的全过程和丙型病毒型肝炎。事实上,在过去的几十年里,世界各国众多的实验室一直在寻求理想的丙肝动物模型,均未成功。

"丙肝的动物模型难做的原因有二。"唐宏说,"一是因为病毒感染的自然宿主很少,只有人和黑猩猩。黑猩猩可作为丙肝病毒感染模型,但黑猩猩在病毒持续感染期不出现典型的慢性丙肝病症,所以黑猩猩不是完美的丙肝模型动物。加上黑猩猩是濒危动物,也限制了它的使用。第二,很多实验室通过不同的方式能使丙肝病毒在非自然宿主的其它动物身上有限的复制,但均无法观察到病毒性肝炎。这很难,因为涉及免疫反应。"

科学家们用小鼠来研制丙肝动物模型,已经历了三代技术发展:最早靠简单的物理方式,在尾静脉用瞬间高压的方法将病毒核酸注射进去,结果不太成功。第二代技术是将人的肝脏细胞移植到小鼠肝脏,操作本身技术难度大,可重复性差,且为了能让人的肝脏细胞在小鼠体内生长,需要把小鼠的免疫系统破坏掉以避免排异反应。这样做出来的模型,只能观察到几天的病毒复制,病毒很快就从小鼠体内消失了。第三代方案是把丙肝病毒进入肝脏细胞所需要的受体直接转移到小鼠的肝脏细胞,但病毒还是不能在小鼠肝脏中长期复制,除非将小鼠的免疫系统破坏。由于丙型病毒肝炎发病过程漫长,肝炎的产生需要免疫系统,因此,这样的小鼠无法用于丙型肝炎病理机制的研究。

2007年,病毒学专家陈新文和免疫学专家唐宏接下了国家的"973"项目,开始试图攻克这一难题。

武汉病毒所所长陈新文笑着说,"选择这个课题,因为我们有相关理论与技术的储备,也因为这是世界性难题,有挑战性。"中科院武汉病毒所和生物物理所相距甚远,前者在武汉,后者位于北京。选定课题方向后,这两个所的研究人员紧密协作,仅用数年时间,就培育出来后来被称为英雄小鼠的第一个成功的实验模型。

成功:人努力 鼠帮忙

在世界各国的丙肝病毒实验室里,用于实验的小鼠一般是一种叫做C57BL/6实验黑小鼠。而唐、陈研究组的"英雄"小鼠却是ICR实验小鼠。这个无意间的选择或许也是实验成功的重要因素。

"这是负责制备转基因小鼠的学生决定的,当初可能并没有想太多,只是这个品系适合做丙肝病毒受体的转基因操作。"唐宏说,"后来我们发现这种小鼠可能有适宜丙肝病毒复制的基因,而C57BL/6品系小鼠恰好缺乏这些基因。"

选择ICR小鼠,或许带有一点运气。然而小鼠并非拿来即用,在让小鼠感染丙肝病毒之前,还有无数繁难的功课要做。此前经过多年研究,人们已经发现丙型肝炎病毒感染需要CD81和B类I型清道夫受体,以及两个紧密连接分子claudin1和occludin的参与。"丙肝病毒进入人的肝脏细胞有4个受体分子,我们选择了CD81和occludin两个受体来做转基因,效果很好。"唐宏说,这两个受体是丙肝病毒进入小鼠细胞的必需分子。

对小鼠的转基因处理需要尾静脉注射,小鼠的尾静脉十分细小,难度可想而知。"我们现在找静脉下针,比医院的护士技术还高。"参与研究的赵洋助理研究员说。

经过转基因处理过的ICR小鼠含有CD81或occludin,还不能立即使用,要从它们交配产生的后代中选择兼具两个转基因受体的小鼠——根据遗传学规律,这种小鼠只占小鼠后代的四分之一。"小鼠8周长成,怀孕后4周可以生出下一代小鼠。"专门负责养小鼠的卓志勇说,"前前后后,这个实验总共用了近千只小鼠。"

得到兼具两个转基因受体的小鼠后,就要拿丙肝病毒的毒株来感染小鼠。"英雄"小鼠不仅能被实验室的实验病毒株感染,也能被医院送过来的临床分离株感染。自然感染也是研究组获得的突破之一。吉林大学第一医院牛俊奇教授团队就是这个实验所需临床分离株的提供方,他们一共为实验提供了6份病毒株。陈新文说,"他们从病人血液里分离出的病毒株非常纯净,保证了实验的成功。"

实验组解决了一个关键难题,在感染小鼠的血液中、肝脏中检测到了相当高的病毒滴度,病毒复制周期是完整的。而世界上其他研究小组制备的实验小鼠4天后就检测不到了。博士生陈继征说:"小鼠肝脏和外周血均出现了病毒血症,并已经持续近2年。"

小鼠能完整模拟丙肝病人的感染史,副研究员陈海荣指出,"80%的小鼠都能被HCV持续感染,并出现了典型的HCV急性感染和慢性病理进展,包括感染后1个月出现的脂肪肝,3个月开始出现的肝纤维化和6个月出现的肝硬化。这在其他动物模型中,包括黑猩猩,都是无法想象的。"

在论文的提要中,研究者们撰文:"有完整复制过程的慢性HCV感染和肝中毒的临床表现,第一次出现在免疫功能正常的小鼠中。"

目标:疫苗和新药

HCV小鼠模型的成功,为人们至今未能弄清的HCV致病机理提供了方便。

成年人感染丙肝病毒后,60%~80%会转化为慢性丙肝,而乙肝的成年感染者只有5%~10%会发展为慢性。"丙肝为什么会变成终身携带,为什么会导致肝硬化、肝癌?这些基础研究急需动物模型。"唐宏说。

丙肝与乙肝都可以导致肝硬化和肝癌,但大部分丙肝病毒感染症状不明显,容易被人忽视,导致不能早期诊断和及时治疗。有了动物模型,人们可以开发出更有效的检测技术。乙肝的预防性疫苗已经成功阻断乙肝病毒的大规模传播,丙肝至今没有疫苗,这也让丙肝的防控难度更高。唐宏说:"乙肝在我国能有效控制,靠的是预防疫苗接种和全民体检。现在有动物模型后,我们希望能把病毒感染的早期诊断方法做出来。有了小鼠模型以后,对于新药研发和疫苗研究也是个喜讯。"

过去由于没有合适的模型动物,丙肝疫苗的研制步履艰难。HCV小鼠模型的建立,还可以让丙肝的新药研发更有针对性。目前,丙肝的标准一线治疗方案是干扰素联合利巴韦林。这种方案总体疗效不错,但对丙肝病毒的不同亚型疗效参差不齐。我国的主要丙肝病毒流行株是HCV1b亚型,占中国丙肝患者总数的一半以上。干扰素联合利巴韦林的治疗方案恰恰对这种株型疗效不佳,治愈率在50%左右。陈新文说:"这种治疗方案是广谱的,不是针对丙肝病毒的靶点,效果不够好。加上丙肝病毒容易突变,很容易产生耐药性,需要新的药物来消灭耐药的病毒。"

世界各国都在研制抗丙肝新药。专门针对丙型肝炎病毒的蛋白酶抑制剂和聚合酶抑制剂药物已经在美国等发达国家投放市场,2011年美国投放的二线新药"索瓦迪",今年销售额达58亿美元,至今未投入中国市场。"就算投进来也用不起,新药是1000美元一片,一个疗程20万美金。"唐宏说,"我国需要研发自己的新药,要找到新的靶点,价格要更便宜。"

研究组已观察到,蛋白酶抑制剂特拉匹韦可以有效抑制丙肝病毒在实验模型小鼠中合成和急性丙肝病毒感染。"我们很乐意为丙肝新药和疫苗研发提供实验小鼠。"唐宏说,研究团队已为这个小鼠模型申请了专利。"我们建立HCV小鼠模型,一是要自主创新,二是要让丙肝的药物和疫苗更早做出来,更早用起来。"

科谱

近期的明星吸毒事件引发了公众对"大麻危害程度"的关注。作为联合国禁毒公约中的严格管制品,在滥用毒品种类中,吸食大麻的人最多,而其危害也有必要让公众更加了解——

大麻会降低青少年智商

大麻在美国非常常见,而且已经走在合法化的大道上了。美国科罗拉多州早在2012年就通过大麻合法化。据不完全统计,目前美国已允许17个州医用大麻合法化,此外,科罗拉多州和华盛顿州个人可以购买大麻供自己休闲娱乐使用,但年龄必须在21岁以上。尽管做了如此规定,还是有很多青少年吸食大麻。

青少年使用大麻,究竟会对他们产生什么影响呢?8月7日至8月10日,在华盛顿举行的美国心理学家第122届年会上,脑神经学家和心理学家们举行了"大麻使用合法化对公共卫生领域的影响"的讨论,指出频繁吸食大麻可对青少年大脑产生严重负面影响,包括认知能力下降、注意力不集中、记忆力差,甚至降低智商。

威斯康星-密尔沃基大学脑成像和神经心理学实验室负责人克里斯塔·利斯达尔(Krista Lisdahl)博士指出:"我们需要强调,经常吸食大麻类毒品,如每周1次,可危害健康并导致成瘾性和神经认知损害,对于年轻人来说造成的危害更大。"

利斯达尔认为,近年来大麻的使用越发频繁。根据2012年的一项研究显示,6.5%的中学高年级学生承认每天吸食大麻,这个数据在1993年时是2.4%。此外,31%的年轻人(18-25岁)承认在接受调查的近一个月内吸食过大麻。

在2012年发布的一项纵向研究结果显示,通过对1037位参与者从出生到38岁进行了跟踪调查,发现对大麻产生成瘾性的成人可失去平均达6点智商IQ值。

利斯达尔说,脑成像研究数据显示经常使用大麻者,特别是青少年人群,脑部结构出现显著异常改变。在16-19岁的研究人群中,如过去一年内大麻使用量增加,则可观察到与智力有关的脑灰质异常改变。

"谈到大麻使用合法化,我认为政策决策者需要加强监管,严格控制大麻的使用,防止其容易获得,并对成人和青少年使用者提供额外的治疗经费。"利斯达尔说。她还建议立法者加强对四氢大麻酚(即THC,大麻中产生精神作用的主要化学成分)的监管,从而降低对神经认知功能的潜在危险性。

在某些已可合法使用的药用大麻中,THC的含量较高,达特茅斯学院的艾伦·巴德尼博士(Alan Budney)指出。THC是大麻中产生精神作用的主要成分。部分研究显示频繁使用高效力的THC可增加抑郁症、焦虑和精神病的急性发作风险以及预后出现的各种问题。

"最近的几项研究提示大麻与精神疾病之间的关联主要与大麻的使用频率及活性成分的效力有关,"巴德尼说,"但令人感到遗憾的是,大众目前对于大麻使用的危害性的认识,还是基于人类早期抽大麻的时代,那时候大麻里的THC含量跟今天常见的大麻比起来要低得多。"巴德尼补充道,尽管当前青少年大麻成瘾性的治疗,包括简单的学校干预和门诊咨询等手段有一定效果,我们还需要就此进行更多的研究,从而开发更为有效的策略和干预措施。

来自美国加州太平洋科研与评估研究所的贝蒂娜·弗里斯(Bettina Friese)博士则认为,人们对大麻药用合法化的接受程度也可影响到青少年对药物风险的认知。根据她于2013年在蒙大拿州17482名青少年中收集的数据显示,在2004年支持大麻药用合法化的城镇里,青少年中间大麻的使用率较高。

(果壳网供稿)

网速为什么变慢了?

本报记者 殷立春

从8月12日下午4点开始,全世界的网络突然都变慢了,而且还可能会慢下去……

原因是什么?路由规则太多,溢出了。

上网时,我们大多都可能见过譬如192.168.1.1这样的数字串,这就是所谓的"IP地址"。这是人们平常访问的那些网站的"真实地址",当你输入www.guokr.com(这叫"域名")的时候,网络会把它转换成真正的地址111.13.57.142,然后才能找到这个网站在哪里。如果这个转换系统(也就是所谓的"DNS")出了问题,那网络就要出问题。而8月12日出现的问题不是这种。

常见的IP地址里的数字是有规定的:4个数字,每个可以从0到255,这被称为"IPv4"(互联网协议第四版)。那么一共就会有2^{32}个不同的地址,也就是将近43亿。而且这43亿地址还有不少是保留的,比如所有以9开头的原则上都是IBM的,12开头的都是AT&T的,17开头的则是苹果的,18开头的归麻省理工……因为人家抢得早。有些厚道的组织,比如斯坦福,本来占据了所有36开头的,现在正把多余的地址拿出来回馈社会,但这样的组织并不多。

技术人员没有预料到地址不够用的问题吗?据悉,IPv4诞生于1981年,早在80年代末他们就预料到了,可是新一代协议IPv6——可以提供3.4×10^{38}个地址——直到1998年才出台。IPv6到现在整整16年过去了,互联网上使用IPv6的人数大概4%。该数值基于访问google的人统计,若包括中国在内,真实数字只会更低。

为了推迟IPv4挤爆,同时又不去换新协议,人们在抓紧时间利用每一点残存的IP空间碎片。以前大手大脚一整块几万地址分给一个组织的好日子一去不复返了。

但是这对路由器来说就辛苦了。路由器依靠一个名为"路由表"的东西来快速找到方向,每一个机构拿到一段IP之后都会希望在路由表里加一句规则来加快自己的访问速度。但是每一条规则都要占据同样大小的空间,所以网上的地址越碎,需要的路由表就越大。

路由器会专门留出一块高速存储器来存路由表。譬如,某款路由器足够存100万个条目,而且留一半(512k)给v4,另一半给v6,怎么说都没问题吧!大部分路由器生产商都想当然认为512k足够用了,都给v4留了这么多,算是行业标准。不幸的是,对于互联网碎片化的程度,他们显然又低估了。

多年的增长已经让路由表突破了50万大关,而在8月12日,美国通信公司Verizon又一口气往v4路由表里加了15000个条目,使总数达到约515000个,超过了上限(相比之下,v6还只有可怜的2万个条目)。这些多出来的信息必须存在更慢的普通存储器里,导致了速度变慢甚至局部网络不稳定。Verizon很快发现了这个问题并把多出来的条目削了回去,但是余波至少持续了数小时。这就是所谓的"512k"事件,就是人们那天觉得网络慢了的主要原因。

但这不是问题的结束,只是开始。怎么说路由表都是肯定要自然增长的,没有这些公司也早晚会自己超过这个数字。而这些问题都出在路由器这个实打实的东西上,换路由器还要花钱。

诚然,我们可以继续拆东墙补西墙,来一次广泛的固件升级,把更多的快速存储器留给v4;而代价可想而知,就是进一步削减了留给v6的空间。

之前人们还以为内存640k就足够,两位数字存储年份就足够,32位储存秒数就足够,现在又一个上限被突破带来了麻烦,这肯定就是理所应当发生的事情。

本版编辑 来 洁

社址:北京市西城区白纸坊东街2号 读者服务窗:dzzs@ced.com.cn 010-58393509 查号台:58392088 邮编:100054 传真:58392840 定价:每月24.75元 每份:1.00元 广告许可证:京宣广0044号 广告部:58392178 发行部:58393121 昨日(北京)开印时间:4:30 印完时间:5:35 本报印刷厂印刷