

拿什么拯救我的大脑突触

——一位生物学家的神经胶质研究之路

2010年,神经生物学家 Beth Stevens 已经完成了从实验员到明星科学家的转变。时年 40 岁的她已经成为美国波士顿儿童医院项目负责人。她有一个整洁、崭新的实验室,并带领着一群热爱科研的博士后研究员。她的履历几乎毫无瑕疵,她的名字屡次出现在顶级杂志的论文作者中。

但与许多年轻科研人员一样,Stevens 担心自己站在研究失败的刀锋上。与选择小规模、易管理的项目不同,她将注意力投放在了那些与大脑和免疫系统有关的雄心勃勃的假设上。这些假设有助于揭示正常大脑发育和疾病产生。

尽管 Stevens 在斯坦福大学做博士后研究员时收集的初步数据很有希望,但其蕴含的信息仍模糊不清。“我在想,‘如果我的模型只是一个模型,我会让这些失望。’”她说。

无论如何,Stevens 和在斯坦福的导师 Ben Barres 一起,提出一种名为小神经胶质的脑细胞,在胚胎和稍后的发育期,能删除神经连接,以响应免疫系统补体经典途径的信号。如果整个系统出现故障,就会导致小神经胶质删除过多或过少的连接点(突触),这可能会导致发育和退化性疾病。

自那时起,他们不断获得新发现。仅今年,Stevens 和合作者已经在《科学》和《自然》杂志发表文章,将补体系统和小神经胶质,与精神分裂、阿尔茨海默氏病及西尼罗病毒等感染导致的认知问题等疾病联系在一起。Stevens 表示,未来将研究亨廷顿舞蹈症。

尽管正如一些科学家说的那样,此类研究可能不会有助于立刻产生疗法,但到 2017 年年初,将开展针对青光眼和其他神经退行性疾病的阻碍大脑补体系统的抗体的临床研究。

洪荒之力

Stevens 有一头卷曲的金发和一双锐利的蓝眼睛。“她就像一杯浓缩咖啡。”Stevens 曾在斯坦福的同事、北卡罗来纳州杜克大学神经学家 Cagla Eroglu 说。在一块大白板前,Stevens 在涂抹着一些数据,“时刻追踪她与 14 位博士后、研究生和技术员的研究动态”。

这时,Stevens 实验室的一个研究组可能正在寻找补体系统的分子触发机制,另一组可能在观察小神经胶质,其他人可能在弄清为何某些突触更易被删除。加州大学旧金山分校神经生物学家 Eric Huang 表示,Stevens 提出的兵分多路的策略是明智的,既能确保实验室产出,“也能为该领域打开许多新方向”。

透过办公室的窗户,Stevens 几乎能看到自己的故乡布罗克顿(马萨诸塞州)。她的父亲是一位中学校长,而母亲则是一名小学教师。“他们几乎所有的朋友都是老师。”她说,“我想我的父母仍希望知道这里发生了什么。”

直到高三,Stevens 才开始对科学感兴趣。当时,她的大学预修生物课老师讲述了自己在临床微生物学实验室工作的故事。尽管 Stevens 曾计划当一名医生,但她意识到自己更喜欢研究。“我并不真喜欢与患者互动,而是更喜欢找到他们的问题在哪里。”

1993 年,Stevens 即将毕业,教授推荐她前往国立卫生研究院(NIH)积累更多研究经验。她每周去 NIH 园区看招聘信息,“那时还没有

“我们的研究成果可能是一个作用更加广泛的机制而不是特定针对某种疾病。”

Beth Stevens
图片来源: Ken Richardson



在线招聘”。几个月过去了,她的简历石沉大海。一天,习惯浏览被 NIH 拒绝简历的神经学家 Douglas Fields 联系了 Stevens,表示愿意为 22 岁的她提供一份技术员工作。于是,她进入了 Fields 在国家儿童健康和人类发展研究所的实验室。

Fields 对大脑活动如何增加某些神经元基因的表达十分感兴趣,其中涉及一种编码黏着蛋白 L1。该分子能帮助神经胶质细胞缠绕神经的轴突。Stevens 每天都花数小时泡在实验室里,试着在培养皿中模拟该过程。最终,她成功了。Fields 将她的名字也加在了发表于《科学》杂志的论文作者名单中。对于技术员而言,这是少有的荣誉。

而且,神经胶质深深地吸引了 Stevens。于是,她决定到马里兰州大学攻读神经科学博士学位。毕业后,她回到 Fields 实验室担任技术员和实验室经理。这时,她得到时任国家神经病与中风研究所所长 Story Landis 的关注,Landis 建议 Stevens 去做博士后。

之后,Stevens 来到世界顶尖神经胶质学家 Barres 的实验室。Barres 回忆道,Stevens 有“洪荒之力”,“她几乎每天都加班到深夜,没有节假日”。她还积极参与实验室的社交生活,为每个成员组织生日派对。“她是真正享受研究。”Eroglu 说。

找到证据

博士后研究完成后,Stevens 接受了来自波士顿的工作邀请,又回到东部。专心解决大脑之谜。

找到在活体大脑中检验小神经胶质是否“吞下”突触碎片的方法,是 Stevens 面临的第一个挑战。Stevens 雇佣的第一位博士后 Dori Schafer 利用基因技术,使小鼠的小神经胶质在紫外线照射下发出绿色的光芒。通过采用高分辨率成像技术,第一个结果出现了。

Stevens 曾发现一些负责启动免疫反应清除

身体中致病因素的蛋白质,在标记需消除的虚弱或不需要的突触中也发挥着作用。这个过程会让像“吃豆人”一样的小神经胶质细胞吞噬靶向突触,从而为更加精确的大脑线路连接作好准备。

大脑中的神经连接会被不断修剪,这是大脑正常发育的一个至关重要的过程。Stevens 等人推测,在阿尔茨海默氏病患者大脑中,这种神经修剪的机制可能出现异常,从而造成突触丢失。

为了验证假设,Stevens 和同事对小鼠进行了操作,使小鼠一只眼睛比另一只更有活性,这就产生了两只眼睛一大脑不一致活性的神经回路。研究人员用染色的方法区分从左眼到右眼的信号,随后解剖了小鼠尸体,发现小神经胶质细胞可以优先修复活性不足眼睛神经回路的连接或者突触。相关研究成果刊登在《神经元》期刊。

“我们认为,随着更加深入地了解正常大脑中的突触修剪机制,对如何处理患者大脑中的这个机制我们也将有全新的理解。”Stevens 说。之后,研究人员又发现,在这种啮齿类动物模型中,斑块形成前有一个时间窗,而在这个时间窗里,小鼠的海马体(负责记忆和学习的大脑区域)中的突触发生了丢失。他们还发现了 C1q 这种参与正常突触修剪的蛋白的高表达。

研究小组又转而研究另一种蛋白——β 淀粉样蛋白。在斑块产生和硬化前,该蛋白质的可溶形式已经对突触有毒。研究人员将这种 β 淀粉样蛋白注入 3 组小鼠中(正常对照组、C1q 基因缺乏组、给予抗体阻断大脑中 C1q 功能组)。在第一组中,海马体中出现了大量的突触丢失,但在 C1q 被阻断的小鼠中没有发生突触丢失。这表明,C1q 和 β 淀粉样蛋白是在同一通路中一起工作的,前者是后者造成这种损害的必要条件。

利用该实验模型,研究人员接着研究了小神经胶质细胞的行为,发现可溶形式的 β 淀粉

样蛋白会刺激小神经胶质细胞吞噬突触。然而,抑制 C1q 能够保护细胞不受这种效果的影响。相关结论发表于《科学》杂志。

脑病新疗法

“他们的贡献引人注目。”欧洲分子生物学实验室的 Cornelius Gross 说,“经典补体系统一直被用于参与病原体或死亡细胞的吞噬过程,他们似乎找到了确凿证据。”Gross 也致力于小神经胶质研究。

Stevens 也认为,他们的研究成果具有深远意义,因为在很多疾病中都会出现突触丢失,例如自闭症、精神分裂症、亨廷顿氏舞蹈症和青光眼。Stevens 说:“让我们兴奋的是,我们的研究成果可能是一个作用更加广泛的机制而不是特定对某种疾病。”

尤其是今年年初,一项刊登在《自然》杂志的研究将精神分裂症与 C4 基因的变异联系在一起。这种基因同免疫系统存在关联,并且会标记需要清除的外来细胞。拥有这种基因的长形式,尤其是那些拥有多个长拷贝的人群更有可能患上精神分裂症。

研究负责人、哈佛大学医学院遗传学家 Steven McCarroll 指出,C4 也许与经典补体级联中的其他成分协同作用促进突触修剪。这些研究结果表明,针对这一通路的新疗法可以治疗多种神经退行性疾病和精神疾病。

不过,开发此类疗法为时尚早。研究人员尚未确定最初启动 C1q 表达的机制,而且 C1q 在大脑清除死细胞和帮助定位有害物质上还起到了积极作用。因此还需要进一步研究,才能了解如何操控它防止造成有害的突触丢失,同时还能维护大脑的正常功能。

不管怎样,Stevens 对未来充满希望,她跟同事也开始了另一段欢乐时光,“当人们有机会聚在一起,喝啤酒,你会发现我们的经历都差不多。” (张章)

CRISPR:在实验室打造“怪物”

基因编辑成进化发育生物学领域“杀手级”技术

从 1893 年至今,几乎在每年的夏季,年轻的发育和进化生物学者都会涌向美国马萨诸塞州伍兹霍尔,钻研业内的技术。在该校全球有名的海洋生物学实验室中,参与其年度胚胎学课程的学生都会解剖海胆和栉水母,此外还会移植来自不同动物的细胞。但是过去 3 年,这些满腔热情的学徒开始学习一些新东西:基因编辑。

精确而高效的 CRISPR-Cas9 基因编辑技术已经在生命科学实验室刮起一股风暴。现在,该技术正在席卷进化发育生物学界,这一领域的目标是探寻解释适应性进化的发育变化。

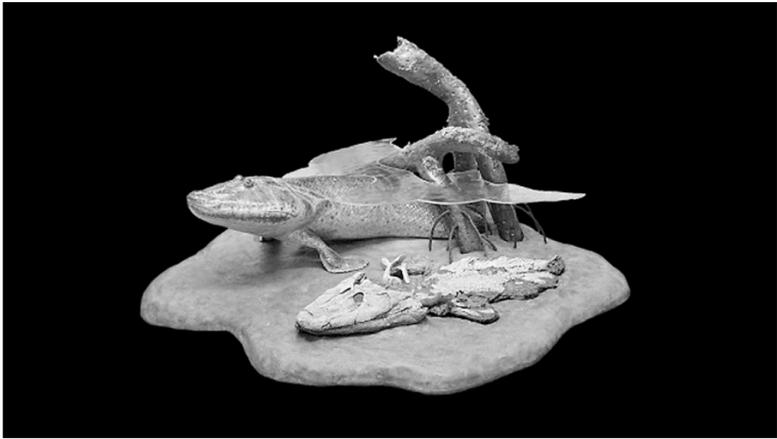
科学家并非简单地推断是什么导致诸如鱼类如何演化出四肢等历史上的类似过渡,而是利用 CRISPR 技术直接验证这些假设。这种方法非常简便:剪切掉那些认为与鱼鳍生长有关的基因,然后就能了解这些鱼是否会开始形成一些类似鳍的组织。

这正是科学家 8 月 17 日在《自然》杂志发表的内容,他们借助 CRISPR 技术解释鱼类如何长出脚并开始行走。其他研究人员也利用该技术了解蝴蝶如何进化出精美的色彩,并了解甲壳类动物如何长出爪子。

“CRISPR 是一种给生物学界带来变革性的技术,对于进化发育生物学来说也是如此。”美国华盛顿特区乔治·华盛顿大学进化发育生物学家 Arnaud Martin 说,“我们现在可以做以前难以开展的事。”

伊利诺伊州芝加哥大学古生物学家和发育生物学家 Neil Shubin 曾利用基因编辑技术检查鱼鳍的前端如何被四足类陆生脊椎动物的脚和脚趾替代。

研究人员已经知道,古代鱼类后来演化出四肢,Shubin 带领团队在 2004 年发现的一个距



提塔利克鱼模型与化石,该过渡期化石有助于解释鱼类如何开始长出四肢。
图片来源: Field Museum Library/Getty Images

今 37.5 亿年的古老化石似乎捕捉了这一过渡期的行为,他们还认为脚是进化过程中新出现的事物,在鱼类组织内并没有相应的对应体,因为鱼鳍和脚是用不同种类的骨骼形成的。

但是 Shubin 表示,基因编辑已经改变了他的想法。该团队利用 CRISPR 技术使斑马鱼缺失了若干种 hox13 基因,而研究人员已经认为这些基因在鱼鳍生长中扮演着关键角色。

这些突变型均未生长出完善的脚,Shubin 写道,但是一些人认为“相当于手指的鱼鳍”与

四足类动物发育出的手指和脚趾一样。“作为一名古生物学者,我研究和教授的是,这些是两种完全不同的骨骼,在发育或进化学上毫无关联。”Shubin 说,“但是这项研究结果改变了我的这种假设。”

斑马鱼是通用的模型有机体,其基因组通常在实验室进行编辑。但是 CRISPR 技术大大加速了 Shubin 团队的实验。下一步的一个研究将是敲除鱼类物种体内的 hox13 基因,使其更加接近古代获得四肢的鱼类,加州大学圣迭戈

分校进化发育生物学家 Aditya Saxena 和 Kimberly Cooper 说。多亏 CRISPR 技术,这些现在已经实现,他们在一篇跟随 Shubin 的文章同期发表的评论中说。

没什么原因会让人觉得这种技术不能用于其他研究以及其他生物物种。“CRISPR 似乎可以在任何一种有机体内普遍使用。”Martin 说,他已经成功将该技术用于一种叫作 *Parhyale hawaiensis* 的海洋甲壳类动物中。

在今年 1 月发表于《当代生物学》的一项研究中,他和加州大学伯克利分校同事 Nipam Patel 发现,使该物种体内不同的 Hox 基因失去活性会导致特定的身体附件如触须和爪子发育混乱。如果研究人员能够成功在实验室培养该动物,就能获得该动物的卵,Martin 表示,他们应该利用 CRISPR。

这样的灵活性对于进化发育研究人员来说非常重要,纽约大学发育神经生物学家 Claude Desplan 说,该团队将 CRISPR 技术应用于黄燕尾蝶,相关成果于今年 7 月发表于《自然》,该研究旨在检测黄燕尾蝶眼睛的光感受器如何比果蝇等昆虫识别更广泛的色谱。他们在实验室正在进行的实验已经将该基因编辑技术应用于黄蜂和蚂蚁。

到目前为止,发育进化生物学家一直在聚焦利用 CRISPR 技术删除一个基因的活性或是导入其他的基因,比如编码绿色荧光蛋白的基因,这可以更好地跟踪动物的发育。但是 Martin 期望研究人员可以很快利用该工具精确改变动物体内的 DNA 序列,从而检测具体基因变化的作用。它们可能包括调节 DNA 序列的改变,这会影响到基因在哪里以及什么时候处于活性状态,这或曾对四足类动物四肢演化的环境适应性有过贡献。(晋楠)

科学线人

全球科技政策新闻与解析

纳米孔专利之争落下帷幕



美国国际贸易委员会近日发布文件称,illumina 公司和英国牛津纳米孔公司的官司已经庭外和解。纳米孔公司同意不再出口或售卖包含氨基酸序列纳米孔的产品,并销毁目前库存的产品。

但该文件也明确表示,这些限制不会影响牛津纳米孔对 CsgG 的使用。CsgG 是相关诉讼开始后不就,牛津纳米孔发布的另一种新孔,基于全新的序列,其研发工作是否依靠 illumina 公司的专利技术依然是谜。

纳米孔测序比传统测序更便携和实惠,主要根据核苷酸通过孔隙产生的电流变化检测 DNA 序列。2014 年,牛津纳米孔推出了第一款商业化的纳米孔测序仪——MinION。而今年年初,illumina 公司在一份声明中称牛津纳米孔的 Minion 和 Promethion 设备侵犯了自己的专利。

illumina 公司起诉牛津纳米孔使用细菌驱动孔隙——耻垢分枝杆菌孔蛋白 A(MspA)侵犯了其 MSP 纳米孔和相关方法专利,称其产品与 MspA 至少有 68% 的相似点。

据悉,2010 年,美国华盛顿大学的 Jens Gundlach 首次证明 MspA 可用于 DNA 测序,并与阿拉巴马大学微生物学家 Michael Niederweis 合作证明 MspA 孔隙结合“棘轮系统”便可读取短 DNA 序列。2013 年,illumina 公司从阿拉巴马大学和华盛顿大学获得纳米孔测序技术授权。

这场专利之争引起了使用牛津纳米孔产品研究人员的密切关注。他们担心失去纳米产品或专利战会扼杀新平台发展。而且,由于相关技术的细节仍然保密,有可能导致专利诉讼陷入胶着。

不过,杜克大学专利法专家 Arti Rai 表示,“本应该将一些公正带入该体系,因为有时单靠语句,人们很难明确地知道你发明了什么。这是一个模糊的领域。”她还指出,最有可能的是,两个公司最终达成一致。

如果牛津纳米孔选择继续打官司,那它必须向法院和陪审团展示其设备背后的秘密。最后,该公司选择宣布了升级设备——R9。R9 实际上是 CsgG,来源于大肠杆菌的蛋白膜,在核苷酸通过孔隙时,这种蛋白比版本 R7 有更好的识别力。(张章)

古巴灭蚊抵御寨卡病毒



古巴杀灭蚊虫预防寨卡病毒传播。
图片来源: Desmond Boylan

雨天一结束,蚊子便涌入古巴猪湾附近旅游胜地的警卫室。其中一个警卫毫不犹豫地从办公桌下拿出一个看上去很像巨大吹风机的设备。这就是“蚊子枪”。他四处走动,喷洒浓密的白色熏剂。慢慢地,蚊子消失不见了。

现在,古巴到处浮动着这种杀虫剂“云”。原因是该国寨卡病毒流行,当地居民采取此类集中措施杀灭蚊虫。8 月 11 日,古巴 3 名居民由于当地蚊虫叮咬而感染寨卡病毒。

尽管寨卡病毒最终到达古巴让科学家和公共卫生官员感到失望,但他们并不惊讶。“很难避免病毒输入,因为很多人从世界各地来到古巴。”哈瓦那 *Pedro Kouri* 热带医学研究所病毒学部主任 *Maria Guzmán* 说。该国已经确诊了 30 例输入病例。

据悉,寨卡病毒主要由蚊子传播,也可通过性和血液等途径传播。只有约 20% 的寨卡病毒感染患者会出现发热、皮疹、结膜炎、肌肉和关节痛等症状,另外 80% 的感染者则不会出现症状。

除了 3 月出现的一例本土感染病例外,古巴一直未出现大规模疫情暴发。研究人员表示,这主要缘于其良好的卫生体系和针对媒介传播疾病的广泛监督计划。此外,古巴还建立了国家预报体系,以及政府机构和公共教育合作框架,鼓励喷洒杀虫剂和对蚊虫叮咬进行自我监控。

目前,寨卡病毒仍在不断蔓延。美国佛罗里达州州长里克·斯科特 8 月 19 日宣布,当地寨卡疫情已扩散到新的区域,在度假胜地迈阿密海滩发现了 5 例由本地蚊子叮咬感染的寨卡病毒患者。而且,美国食品和药物管理局近日发布旅行警告,建议孕妇避免前往温伍德和迈阿密海滩有关地区旅行,并更新了针对寨卡病毒的指南,敦促美国所有有血站在捐献血液中检测是否含有寨卡病毒。(张章)