

让“贝多芬小鼠”恢复听力

■本报记者 李惠钰

近日，美国哈佛医学院和波士顿儿童医院的研究人员利用一种新的基因编辑方法挽救了患有遗传性听力丧失的小鼠的听力，并在成功做到这一点的同时，没有产生任何明显的脱靶效应。相关研究结果已在线发表于《自然—医学》。

这种新的方法是将经典的CRISPR-Cas9 基因编辑系统改良优化的版本，能够更好地识别引起疾病的基因突变。这种精确的工具允许科学家们选择性地让一个称为 *Tmc1* 的听力基因的缺陷拷贝失活，同时让它的健康拷贝发挥功能，并且成功地在小鼠基因组的 30 亿个碱基中识别出 *Tmc1* 基因缺陷拷贝中单个错误的 DNA 碱基。

研究人员表示，这项研究代表了一个里程碑，因为它极大地提高了标准基因编辑技术的功效和安全性。论文通讯作者、哈佛医学院耳鼻喉科与神经病学教授 Jeffrey Holt 称，这为研究治疗一系列由基因的单个缺陷拷贝引起的遗传疾病的超定向方法打开了一扇大门。

双重识别克服挑战

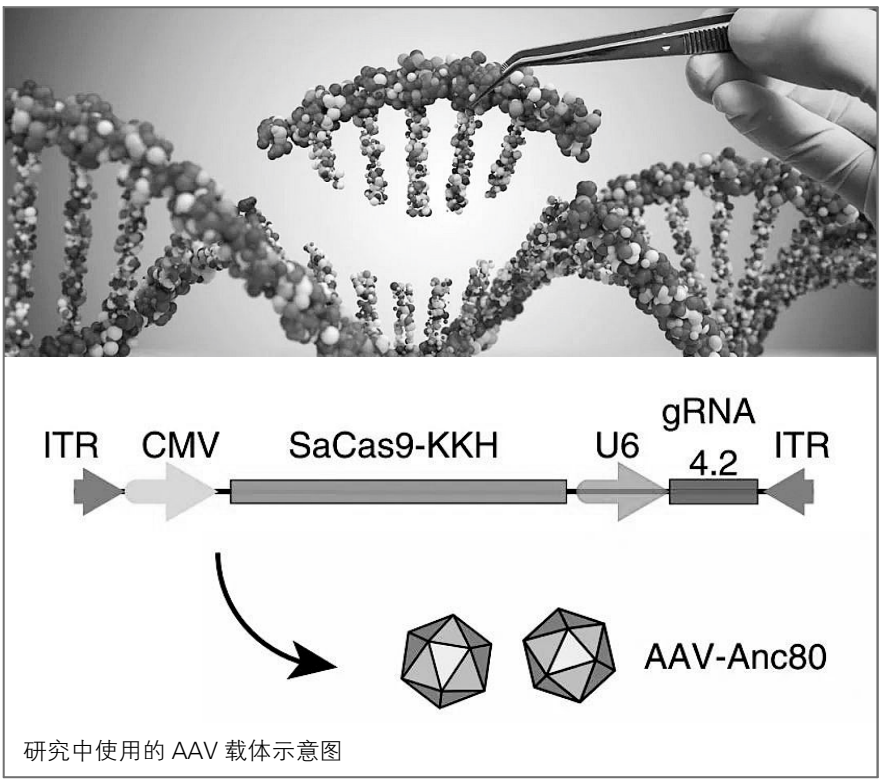
这些“贝多芬小鼠”之所以接收新的基因编辑方法的治疗，是因为其具有相同的导致人类进行性听力丧失的基因突变。这些小鼠的标志性缺陷是 *Tmc1* 基因的 DNA 序列中存在一个不正确的碱基——碱基 A 替换碱基 T，即单个碱基错误代表着正常听力和耳聋之间的差异。

中国科学院院士、遗传生物学家贺林告诉《中国科学报》，耳绒毛细胞具有传导听觉信号的功能，而 *Tmc1* 则起着维持耳绒毛细胞正常功能的重要作用。该等位基因发生突变，就会引起耳绒毛细胞逐渐退化和死亡，最终导致听力丧失。

要想保护“贝多芬小鼠”的听力，让 *Tmc1* 基因的突变拷贝失去功能或沉默，是最好的办法之一，但如何在不完美的基因拷贝失去功能的情况下完成，充满了挑战。

经典的 CRISPR-Cas9 基因编辑系统通过使用向导 RNA (gRNA) 来识别发生突变的靶 DNA 序列，一旦确定了靶 DNA 的位置，Cas9 就会进行定向切割。由于人类大多数显性突变是单核苷酸突变，理想的基因编辑治疗是在不影响野生型等位基因的前提下，有效且选择性地修正这些显性突变。

贺林同时指出，DFNA36 人细胞系就具有单核苷酸突变，特异性切除突变等位基因可以治愈耳聋，但单核苷酸突变很难识别，一般用切酶如 SpCas9 可导致多种错误切割。论文中也指出，SpCas9 (化脓性链球菌 Cas9) 就能够耐受目标 DNA 与 gRNA 的 7 种错配，此外，一些 Cas9 酶中的前间区序列邻近基序 (PAM) 也可耐受与靶 DNA 的错配。



研究中使用的 AAV 载体示意图

“一种新的基因编辑方法挽救了患有遗传性听力丧失的小鼠的听力，并在成功做到这一点的同时，没有产生任何明显的脱靶效应。这为研究治疗一系列由基因的单个缺陷拷贝引起的遗传疾病的超定向方法打开了大门。”

为了提高检测和破坏的准确性，研究人员利用特定设计的 SaCas9 (金黄色葡萄球菌 Cas9 复合物) 和 gRNA，可以产生特异性的 PAM 和靶基因序列的双重精确识别，特别是利用 PAM 的特异性，可以选择性地切割导致听力丧失的 *Tmc1* 突变等位基因，同时不产生任何明显的脱靶，也不影响正常的等位基因功能，极大地提高了基因编辑技术的功效和安全性，为精确治疗由单个基因拷贝突变引起的显性遗传疾病奠定了基础。

“我们使用双重识别系统来提高精确度，这种方法在靶向突变基因方面产生了前所未有的识别水平和准确性。”哈佛医学院布拉瓦特尼克研究所转化医学科学教授 David Corey 说。

基因编辑将成有力武器

遗传性耳聋的主要致病原因是由于决定耳聋的基因位点出现了异常的排序，使得正常表达机制出现了异常。贺林称，目前，已搞清楚或部分搞清楚的遗传性耳聋所涉及的基因就有上百种，这些异常往往要在特定环境的诱导下发生，

比如在药物、事故、灾害、环境等因素的作用下。

“治疗遗传性耳聋的最大难点是基因出了问题，因此这些年发展起来的基因编辑为治愈遗传性耳聋提供了有力的武器和光明的前景。”贺林说。

在此次研究中，出生不久就接受基因编辑治疗的两个月小鼠，听力与健康小鼠几乎无差别，6 个月的小鼠仍可保持对低频声音的正常听力，部分小鼠在接受治疗后的近一年里可保持稳定的听力。而在不干预的情况下，“贝多芬小鼠”1 个月大时就开始降低对高频声音的反应，6 个月左右完全失聪。

值得关注的是，DNA 分析结果显示，基因编辑仅发生在具有 *Tmc1* 突变的小鼠内耳细胞中。在接受注射但没有突变的小鼠中没有检测到编辑变化，且没有听力损失，表明该基因编辑方法具有极高的精确度和安全性。

“针对等位基因的致聋突变，可通过基因编辑技术的双重特异性识别策略，显著提高基因编辑技术的功效、安全性和稳定性。”复旦大学生物医学研究院副教授张文对《中国科学报》点评道，这种

方法可以特异性靶向单核苷酸突变的等位基因，不仅适用于 *Tmc1* 突变造成的遗传性耳聋患者，也有望治疗由单点基因突变而引起的另外 15 种遗传性耳聋，同样也有可能对五分之一的人类显性基因缺陷 (3759 种) 进行识别和治疗。

“该研究为一系列遗传疾病的治疗打开了大门，只要是由基因单拷贝引起的遗传缺陷，都有可能在此基础上开发高特异的靶向治疗。”Holt 认为，这将是真正的精准治疗。贺林和张文也纷纷对记者表示，这种高度特异和高度靶向的优化方法，为精确治疗由单个基因拷贝突变引起的显性遗传疾病奠定了基础，具有广泛应用前景，非常令人期待。”

不过，张文同时指出，国内对耳聋基因开展基因编辑治疗的例子尚不多见，但对眼睛失明和地中海贫血的基因编辑治疗正在进行一些尝试性工作。例如，中科院神经科学研究所研究员杨辉等人就提出了 DNA 单碱基编辑的问题和改进方法；北京大学生命科学学院教授魏文胜等人也提出新型的 RNA 单碱基编辑策略，改善了脱靶效应和安全性；中科院神经科学研究所研究员仇子龙等人还提出高效率的新型基因编辑具有解决遗传性致盲的潜力，这些研究都为将来的临床试验带来了更多的希望。

临床应用仍需慎重

实际上，基因编辑对于治疗人类疾病也只是迈出万里长征的第一步，研究人员提醒道，“特别是这样高精度的基因编辑疗法在用于人体之前，仍然还有许多研究工作要做。”

贺林等专家也指出，该方法虽然在小鼠模型和人细胞系上成功实现了基因编辑，并且能保持半年到一年的稳定功效，但在推广到临床试验之前，针对人体细胞或灵长类动物，增加时间和样本量进行毒性、功效稳定性试验，以及免疫原性的测试，也许是更为安全的策略。

据报道，俄罗斯科学家针对另一种缺陷基因 *GJB2*，准备用编辑方法治疗婴儿先天性耳聋，但在贺林及张文看来，虽然该技术有一定可行性，但风险可能大于收益。他们认为，很多遗传疾病可以通过体外受精、筛选胚胎的方法来预防，不需要进行基因编辑。

另外，专家们还强调，即使将来会考虑对成年人甚至婴幼儿的可行性治疗，但进行人类胚胎的基因编辑目前应当极力避免或禁止。总之，基因编辑人类胚胎应极为谨慎，技术还有待进一步成熟，而且必须符合伦理要求。

“要把治疗遗传性耳聋高效向前推进，遗传检测、遗传咨询和遗传治疗 (基因编辑) 三者齐头并进，将是最终取胜的法宝。”贺林强调说。

相关论文信息：<https://doi.org/10.1038/s41591-019-0500-9>。

新发现

本报讯 近日，记者从首都医科大学宣武医院获悉，该院神经外科教授张鸿祺团队在国际上首次全面阐释了脊髓动静脉畸形这一疾病的自然病史，显示了脊髓动静脉畸形是一类自然病史恶劣、急需临床干预的疾病。相关研究成果以封面文章形式刊登于神经学科顶级期刊《脑》。并且，该论文被期刊评为当期“编辑之选”文章。宣武医院神经外科博士研究生于嘉兴、副教授洪韬为共同第一作者，张鸿祺、洪韬为共同通讯作者。

脊髓动静脉畸形是一类好发于青壮年人群的先天性血管疾病，可因出血、静脉高压、盗血以及占位等病理生理机制造成患者严重残疾，是目前神经外科最富有挑战性的疾病之一。

据相关文献报道，脊髓动静脉畸形治疗并发症发生率可高达 25%。这就需要临床医师在充分理解自然病史的前提下制定更加合理的临床治疗策略。然而，病变的异质性和罕见性限制了脊髓动静脉畸形的临床研究，其自然病史始终未能明确。

为此，宣武医院神经外科教授凌锋和张鸿祺多年来致力于脊髓血管畸形的外科与介入治疗，积累了丰富的临床经验，建立了世界上最大的脊髓血管疾病病例数据库。

研究团队分析了 2007 年 1 月~12 月入院治疗的 466 例脊髓动静脉畸形病例资料，尤其是未治疗的数据，最终发现：该疾病多在青壮年发病，平均发病年龄约 25 岁。其中，节性病变的发病年龄最早约 22 岁，髓周动静脉瘘的发病年龄最晚约 27 岁。

“脊髓出血是该病最主要的发病方式，特别是位于 C3-C5 的病变更易出血起病。而在出血起病的病例中，有明确诱因的超过了 20%，这些诱因中将近 70% 为增加胸腹腔压力的事件，比如剧烈运动、便秘、怀孕生产等，因此患者应注意避免上述事件的发生。”张鸿祺说，超过 70% 的出血患者可在发病 2 个月内出现显著的自行缓解。



解，而慢性起病患者极少能自行缓解。

采访中，张鸿祺告诉《中国科学报》，加重风险是自然史研究的最核心结果。该研究团队通过计算发现脊髓动静脉畸形自然病史恶劣，一旦发病，脊髓功能整体加重风险、逐渐加重风险及突发加重 (脊髓出血) 风险分别高达 30%/ 年、17.7%/ 年以及 9.9%/ 年。此外，研究同时发现，脊髓功能障碍的突发或逐渐加重风险的高峰均位于发病近期，之后随观察时间延长而逐渐递减。

那么，早期的介入或者显微手术干预能否降低脊髓动静脉畸形加重风险呢？于嘉兴给出的答案是肯定的。“整体下降至每年 8.4%，其中被完全闭塞的病例的脊髓功能障碍加重风险较病变部分闭塞的病例更低。”

而此前的研究，对于出血起病的脊髓动静脉畸形患者，一些学者主张进行保守治疗，待水肿消退后再进行外科手术。但本研究发现，中胸段病变、高龄以及原发损伤较重患者不易自行缓解。“因此，我们建议这类患者采取更为积极的治疗方式，以争取更理想的临床预后。”洪韬说。

对于那些自行缓解的病例，虽无需急诊手术治疗，但此项研究仍建议，尽早行脊髓数字减影血管造影，明确并栓塞出血危险结构以降低再出血风险。

“如果是慢性起病往往意味着静脉高压、盗血或压迫等病理生理过程达到失代偿状态，其症状进行性加重的风险较高。这类患者通常需要根据病变血管构筑，尽早进行外科干预。此外，髓周动静脉瘘多是因脊髓静脉高压起病，也有更高的进行性功能障碍加重风险，仍需要早期干预。”于嘉兴表示。

谈及此项研究的意义，张鸿祺认为，该研究明确了不同临床风险各自的影响因素，临床医师可有针对性地采取更加恰当的干预策略，这有助于改善脊髓动静脉畸形患者的整体预后。

(张思玮) 相关论文信息：<https://academic.oup.com/brain/article/142/8/2265/5519987>

“冷眼看手术机器人”系列③

警惕机器人辅助手术并发症

■黄清华 王诚丽

机器人辅助手术损害是一种新类型的人身损害，对于损害的范围和程度、发生的原因和后果，目前学术界并无定论。对于这一问题的跟踪研究，不仅在医学上和司法上均具有重要价值，还会提升手术机器人安全水平。

机器人手术损害不容忽视

关于机器人辅助手术，美国直观外科公司 (ISI) 警告说：“可能存在的风险，包括大量的血液流失，以及意外的割伤、撕裂、穿孔、烧伤或其他器官和组织损伤，包括主要的血管、器官、输尿管和神经损伤”。由于机器人故障，动脉、血管、肠道、膀胱、阴道袖口、尿道、肾脏和其他组织都可能受到损伤。

此外，由于患者身体在手术中所处的位置，病人也可能会受到损害。以前列腺、肾脏和膀胱手术为例，根据发表在《泌尿学杂志》上的一项对 334 名患者的研究，在接受这些手术的人中，每 15 人中就有 1 人会因为是在手术台上的姿势造成压力而导致神经损伤，表现为手脚无力、麻木或不能动。

Business Insider 报道的“71 起达芬奇机器人辅助手术患者死亡原因”，包括出血 21 例，感染 10 例，心脏骤停 9 例，多器官功能衰竭 5 例，肺栓塞 2 例，双侧张力、气胸、缺血性脑卒中、麻醉过量、坏死性筋膜炎各 1 例，20 例没有报告具体的死亡原因。从专科情况来看，这 71 名死者中，22 例发生在妇科手术过程中，15 例发生在泌尿外科手术中，12 例发生在心胸手术期间，10 例发生在头颈部手术期间，3 例发生在结肠/直肠手术中，3 例

发生在普外科。

对此，美国医学协会主席詹姆斯·布里登博士曾在 2013 年 3 月 15 日发布的《关于机器人手术的声明》中指出：“由于广泛的市场营销和广告宣传，今天许多女性都听说了机器人 (辅助) 手术切除子宫的好处。但机器人 (辅助) 手术并不是子宫切除术唯一或最好的微创方法，也不是最划算的。当考虑最好的切除子宫的手术方法时，将营销宣传与现实分开是很重要的。”

三种损伤最常见

美国专门代理机器人辅助手术损害赔偿案件的律师事务所在其官网显示，三种最常见的机器人辅助手术损伤包括肠道损伤、膀胱和输尿管损伤及血管损伤。

肠道损伤即由机器人辅助手术引起的结肠、直肠或小肠损伤。手术后几天，患者会出现腹痛、腹胀，并会出现恶心、发烧、呕吐和/或腹泻等症状。如果这些症状没有得到及时的诊治，死亡就可能发生。

膀胱和输尿管损伤，如果在手术时发现可以及时修复。如果在手术过程中没有看到，随着尿液渗漏，患者会出现盆腔疼痛、发烧和血液感染。对膀胱和输尿管的修复需要根据损伤程度进行几次手术。患者可能长期存在盆腔疼痛、瘘管形成、性功能减退等问题。

对于血管损伤，腹部和骨盆内的动脉和静脉会因机器人机械臂撕裂而受伤。这些伤害变得非常严重，需要输血。如果血管壁受伤，会导致内出血，甚至在手术后几天内死亡。

要分清四类损害

在医学上，ISI 将手术损害，即相关的“负面结果、风险和并发症”分为四类。

第一类，即所有手术都可能发生的“负面结果、风险和并发症”，例如，出血或者麻醉风险，对器官、结构或组织的任何无意的切割、撕裂、穿刺、烧伤或损伤。第二类，所有微创外科技术，包括内镜外科和机器人辅助手术在内都可能发生的“负面结果、风险和并发症”，例如，因操作需要向腹腔内充气导致人体组织的暂时性肿胀。

第三类，即达芬奇辅助手术 (独有的) “负面结果、风险和并发症”。例如，使用达芬奇机器人可能会延长手术时间和麻醉时间。与任何外科设备一样，达芬奇系统也有可能出现故障或失灵，导致严重的损伤，或者需要改用另一种手术方式导致手术时间、麻醉时间更长，因而并发症增加。

第四类，指“典型的、特定的外科手术”的负面结果、风险和并发症”，而不论手术方式 (是否开放性手术、传统的腹腔镜或达芬奇辅助手术)。例如，肾盂成形术可能包括肾脏感染、(长期) 漏尿、尿道狭窄、肠伤、肾结石、支架狭窄或移动、尿中出血等。

这种分类方法，对于查明机器人辅助手术损害的性质、原因和责任，寻找具有针对性的手术风险控制方法，具有一定的意义。

关注持续并发症问题

经文献检索，持续并发症这一医学术语首次出现于泰勒案。该案原告方主张其夫泰勒患前列腺癌，接受达芬奇辅

助前列腺切除术在手术室内耗时大约 13~15 个小时。在长时间的麻醉状态下，泰勒出现了各种并发症——肌肉严重分解、肾衰竭和肺部肿胀。手术后，泰勒在重症监护室住了 20 天，神经和肌肉损伤加剧，这可能是由于他长期住在重症监护病房造成的。并且，他还在重症监护室里发生过脑卒中。

此后，泰勒的肩膀、后背、臀部和左臂都很虚弱，包括右腿萎缩、尿失禁等，还有认知缺陷，如健忘、抑郁和焦虑。他大部分时间都需要一根手杖。2012 年，泰勒死于前列腺切除术后 4 年，死亡原因是“高血压性心血管疾病”。

在诉讼中，原告方特别主张：泰勒的前列腺手术花费了 13 个多小时，而这个过程，如果是开放性手术通常只需要其中的一小部分时间。泰勒的直肠在手术中被撕裂，导致了大量失血后的休克。此外，泰勒突发脑卒中，导致失禁、肾脏和肺损伤，记忆丧失。泰勒在手术四年后去世，但直接原因是机器人辅助手术带来的持续并发症。

此案经过一段反复曲折，最终，华盛顿最高法院判决下级法院告知直觉外科公司，它有责任警告医院机器人辅助手术的危险，而不仅仅是警告医生。

从外科学、法医学和科技法学的角度来看，泰勒案提出了机器人辅助手术“持续并发症”的概念、范围和认定问题，这类并发症发生的条件、原因、危害和预防控制问题，事实因果关系的认定问题，处理这类“持续并发症”的法律与司法政策问题，以及对于现行相关法律制度的挑战，仍值得深入探究。

(作者单位分别为同济大学上海国际知识产权学院和郴州市第一人民医院)

资讯

我国迎来第二个“中国医师节”

本报讯 8 月 18 日，由中国医师协会主办的 2019 年中国医师节庆祝大会在北京召开。全国政协副主席李斌、十二届全国政协副主席韩启德、民政部副部长詹成付、中国医师协会会长张雁灵等领导及千余名医生共同出席大会。

今年 8 月 19 日是第二个中国医师节。此次医师节主题定为“弘扬崇高精神，聚力健康中国”。在庆祝大会现场，国家卫生健康委副主任王贺胜表示，2018 年我国总诊疗人次达到 83 亿，医学技术和医疗质量管理不断取得新突破，公共卫生能力整体提升，人均期望寿命达到 77 岁，婴儿死亡率降为 6.1‰。中国用较少的投入，取得了较高的健康绩效。

“但相比发达国家，我们还有很多方面的差距。我们的医生要立足人民需要，勤奋钻研，攻克疑难疾病，争取更多突破。”王贺胜说。

张雁灵在讲话中提到，中国现有注册医生 360.7 万人，乡村医生 138 万人。他们常年如一日践行全心全意护佑人民健康的初心和使命，医生正在成为中国社会备受尊重的职业，大家的荣誉感、获得感正在不断得到提升。

“希望不要为了过节，反而把医生搞得更累。”张雁灵说，设立“中国医师节”是党和国家对医生这一职业的重视和肯定，也是对生命的尊重。他希望通过这一节日，在全社会倡导一种“尊医”的文化。

在美国医师节 (每年 3 月 30 日) 的时候，美国的医院里会摆放一些康乃馨，患者自愿购买康乃馨送给他的医生，用这样简单又温馨的方式表达对医生的尊敬和感谢，这种互动也给医患关系带来温度。

“我们也可以通过一枝花、一首歌、一张海报、一个 LOGO 这样一些润物无声的方式，使‘尊医’文化渗透到每个人的心中。”张雁灵希望通过倡导“尊医”文化和落实医生权益保障机制，吸引更多的优秀青年医生投身到“性命相托”的医疗事业中。

随后，会上还举行了“中国医师之家”平台试运行启动仪式。该平台将完善医师会员服务管理体系、完善培训教育体系、建设医学科普服务体系、推动互联网+医学教育和科普服务的模式创新。

另外，首档医学人文大型综艺节目《医者仁心》也在庆祝大会上发布。据了解，该节目将于近期登上电视荧幕，节目采用跟诊、纪实等方式，多角度、深层次宣传医生的故事。

“我志愿献身人类的健康事业；自觉维护医学的尊严和神圣；敬佑生命，救死扶伤，平等仁爱，尊师重道；诚实守信，恪守医德，精益求精，慎思笃行；以上誓言，源于心，践于行！”由中国工程院院士、北京大学第三医院院长乔杰领誓，会场千余名医生集体宣誓，将此次庆祝大会推向高潮。(张思玮)