

[文章编号] 1000-1182(2010)04-0457-04

·学术讨论·

人类基因组计划和人类基因组单体型图计划: 口腔医学的机遇、挑战与对策思考

吴瑞卿 曾昕 王智

(口腔疾病研究国家重点实验室, 四川大学, 四川 成都 610041)

[摘要] 人类基因组计划和人类基因组单体型图计划的实施与逐步完成, 构建起一张精度更高信息更完整的多个人种遗传多态图谱, 有望破译人类遗传密码, 实现疾病的分子诊断与个体化治疗。本文简要在回顾人类基因组计划和人类基因组单体型图计划的建立过程、目标和已获得成果的基础上, 提出口腔医学领域通过人才培养模式的改进, 多学科交叉联合, 加强国家口腔医学研究基地的建设, 启动口腔医学领域国家重大基础研究计划4个方面的应对策略, 以迎接挑战。

[关键词] 人类基因组计划; 人类基因组单体型图计划; 口腔; 遗传易感性

[中图分类号] R 781 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1000-1182.2010.04.030

Human genomic project and human genomic haplotype map project : Opportunitiy, challenge and strategy in stomatology WU Rui-qing, ZENG Xin, WANG Zhi. (State Key Laboratory of Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] The human genomic project and the international HapMap project were designed to create a genome-wide database of patterns of human genetic variation, with the expectation that these patterns would be useful for genetic association studies of common diseases, thus lead to molecular diagnosis and personnel therapy. The article briefly reviewed the creation, target and achievement of those two projects. Furthermore, the authors have given four suggestions in facing to the opportunities and challenges brought by the two projects, including cultivation improvement of elites, cross binding of multi-subjects, strengthening construction of research base and initiation of natural key scientific project.

[Key words] human genomic project; human genomic haplotype map project; stomatology; genetic susceptibility

人类基因组计划和人类基因组单体型图计划的实施与逐步完成, 构建起一张精度更高信息更完整的多个人种遗传多态图谱, 有望破译人类遗传密码, 实现疾病的分子诊断与个体化治疗。本文简要回顾人类基因组计划(human genomic project, HGP)和人类基因组单体型图计划(human genomic haplotype map project, 简称HapMap)的建立过程、目标和已获得的成果, 在此基础上提出口腔医学所面临的机遇、挑战以及应对策略。

1 人类基因组计划概述

人类细胞的23对染色体上含有总量为5万~10万

个基因, 约 3×10^9 对碱基对。然而, 长期以来, 人类对导致人类5 000多种遗传性疾病、肿瘤和其他遗传易感性疾病的基因仍不十分明了, 这些基因约占总基因数的90%。

1990年, 世界性的跨世纪工程——人类基因组计划, 在美国的带动下正式启动。该计划的目标是在15年内, 通过提供30亿美元的资助, 完成人类全部DNA分子核苷酸序列的测定。随后, 英国、法国、日本、加拿大、俄罗斯、中国等许多国家积极响应。该计划得到世界各国的高度重视, 如欧洲建立了“欧洲人类基因组计划”, 日本建立了“人体前沿科学计划”^[1-3]。

中国的HGP起步较晚, 但中国人口众多, 有56个民族和许多遗传隔离群, 拥有世界上最丰富的遗传家系资源。1993年和1996年启动以“重大疾病相关基因的定位、克隆、结构与功能研究”为目标的

[收稿日期] 2009-04-09; [修回日期] 2009-06-20

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30801294和30725041)

[作者简介] 吴瑞卿(1987—), 男, 山西人, 学士

[通讯作者] 王智, Tel: 028-85503480

国家高技术研究发展计划(863计划)课题,1998年又正式确立HGP为国家计划并在上海成立了中国人类基因组研究中心,着重收集和保存我国民族独特的基因组,研究民族间基因组的差异^[4]。

2 国际人类基因组单体型图计划的概况

2.1 单核苷酸基因多态性、单体型、单体型图

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNPs)是人类基因组中最丰富的一种DNA序列变化,是指在基因水平上由单个核苷酸变异而引起的DNA序列多态性。人类的所有群体中大约存在1 000万个SNPs位点,其中稀有的SNPs位点的频率至少有1%。相邻SNPs的等位位点倾向于以一个整体遗传给后代。

位于染色体上某一区域的一组相关联的SNPs等位位点被称作单体型。大多数染色体区域只有少数几个常见的单体型(每个具有至少5%的频率),它们代表了一个群体中人与人之间的大部分多态性。一个染色体区域可以有很多SNPs位点,但是只用少数几个标签SNPs,就能够提供该区域内大多数的遗传多态模式。

单体型图将描述人类常见的遗传多态模式。它包括染色体上具有成组紧密关联SNPs的区域,这些区域中的单体型,以及这些单型体的标签SNPs。同时,单体型图还将标示出那些SNPs位点关联不紧密的区域^[5]。

2.2 国际人类基因组单体型图计划

HapMap是继HGP之后人类基因组研究领域的又一重大研究计划。HapMap计划起始于2002年,由美国、加拿大、中国、日本、英国、尼日利亚等国研究机构发起、参与及完成。中国由中国科学院北京基因组研究所牵头,承担3、21和8号染色体短臂单体型图的构建,约占总计划的10%。项目共取样270个正常个体,其中欧洲30个三联家系,亚洲45个中国人、45个日本人,非洲30个三联家系^[6]。

3 人类基因组计划和人类基因组单体型计划联系

人类基因组计划的最终目标是破译人类DNA分子的全部核苷酸顺序,建立人类遗传物质的一整套信息数据库。即绘制出遗传连锁图、物理图、序列图和转录图。这4张图谱组成了不同层次、分子水平上的人类第2张解剖图,可以在DNA全序列阐明的基础上建立染色体的三维结构。

国际人类基因组单体型图计划可看作基因组计划的第2个阶段。理论上,研究者通过对全部1 000万个SNPs位点都进行基因分型,也能够寻找疾

病易感的区域。但是,目前用这种方法进行鉴定的成本过于昂贵。通过单体型图计划将鉴定出20万~100万个标签SNPs位点,从而提供与1 000万个SNPs位点大致相同的图谱信息。HapMap项目向公众开放所有的试验数据,新的SNPs位点、SNPs基因分型试验设计、SNPs鉴定结果和频率,以及构建的单体型一经产生,将很快发布,以让任何研究者利用这些信息。这样将大幅度地减少成本使研究易于进行^[7]。

最终通过对DNA全序列的解析和SNPs易感位点的鉴定,使医学上的5 000多种遗传疾病以及恶性肿瘤、心血管疾病等由此得到预测、预防、早期诊断和治疗。除了这些基因组图谱外,各国的人类基因组和单体型计划还包括其他与之密不可分的内容,如模式生物、信息学技术、法律、社会问题的研究。

4 人类基因组计划和人类基因组单体型图计划的成就

现该计划已取得一系列成就。2000年6月26日人类基因组计划参与国宣布:人类基因组的工作草图(含90%以上人体碱基对的位置信息)已绘制完成,并于1年之后的2001年6月,科学家完成全部基因测序工作,拿出完成图。而人类基因组单体型图计划

期于2005年完成,共成功分型约100万个SNPs,全基因组平均3 kb一个SNPs位点。由于染色体块状结构,也即连锁不平衡的存在,一期数据可以捕获大部分基因组上的遗传差异信息。二期数据共成功分型300多万个SNPs位点,密度约为一期数据的3倍,构建起一张精度更高信息更完整的多个人种遗传多态图谱^[8-9]。

5 口腔医学领域的机遇与挑战

5.1 应用基础——确定几种常见口腔疾病的遗传易感性

5.1.1 口腔肿瘤的易感性 有证据表明某些癌症表现出遗传易感性,其中典型者称高外显综合征,提示在肿瘤的发生中除体细胞变异外,种系变异也起一定作用。越来越多的证据表明,癌症的遗传易感性与某种或某些基因的突变有关。而口腔肿瘤的基因易感性研究初步提示:gstt1、xrcc、gstml、p53、p450、白细胞介素-8等基因多态性与肿瘤表型相关^[10]。

5.1.2 口腔黏膜疾病的遗传易感性 黏膜病中最常见的2种免疫相关疾病口腔扁平苔藓和复发性阿弗他溃疡均提示有较强的遗传特征:有家族聚集现象,10%~12%的扁平苔藓患者有患该病的一级亲

属,而正常对照的一级亲属患病率只有0.4%。中国沈阳地区184例复发性阿弗他溃疡病例中直系亲属发病占60.4%。而过去30年中,世界各地对扁平苔藓和复发性阿弗他溃疡患者的重复研究^[11-12]表明,肿瘤坏死因子 α 、肿瘤坏死因子 β 、核因子- κ B、血管生长因子、Fc受体样因子3、白细胞介素-1、白细胞介素-6、白细胞介素-10、白细胞介素-8、干扰素- γ 、Serotonin transporter基因多态性可能与两者的易感性相关。牙周疾病的遗传易感性。牙周炎是一种宿主易感性的疾病,但其有效位点与疾病发生及表型的关系仍未确立。有研究^[13]发现,白细胞介素基因家族、集落刺激因子、肿瘤坏死因子、CD14、炎症介质、结构因子、S100A8基因上游调控区、基质金属蛋白酶、趋化性三肽甲硫氨酸-亮氨酸-苯丙氨酸受体基因多态性均与牙周炎表型相关。

5.2 经典遗传学分析方法的局限性与对策

上述口腔疾病遗传易感性的研究主要应用经典的SNPs方法,但存在下列问题。1)效率低。分析方法是一个一个基因位点进行PCR扩增后用凝胶电泳检测,耗时;若要进行全基因组的研究,费用巨大。2)难以发现未知的与疾病相关的基因。3)遗传结构多样。疾病病程改变具有多样性和复杂性,其遗传背景可能并非由单个高外显性基因决定,而是一些相关的低外显性易感基因累加的结果。所以单个或多个基因的特征并不能取得有意义的成果。所以基于HGP和HapMap项目资源,寻求一种具备高度自动化、高通量、高准确性和低成本的SNPs测定方法是将基因多态性研究推向广泛深入应用的必备条件。疾病有效基因的确立有赖于人类基因组测序的完成、测序技术的进步和生物信息学的发展。

HGP和HapMap为克服上述问题提供了可能性,并且,新近出现的在上述研究成果基础上兴起的全基因组扫描技术、生物信息学技术等,为克服经典遗传学分析方法的局限性提供了手段。这些研究方法的应用,有利于口腔医学领域实现:1)分子诊断。通过对候选基因的确认和研究,可能会揭示一批具有相同或相似分子机制的疾病亚型,以此分型行分子诊断;2)预后判定。口腔的疾病即使临床病损类似,却常常表现出不同的预后。所以揭示预后差异的遗传本质,将有利于高危人群早期干预措施的实施;3)个体化治疗。在未来疾病诊治中,或许对突变基因和或关键分子的检测将起决定性作用,成为比显微镜下组织学检查更重要的项目。建立于分子遗传机制基础上的个性化医疗已初显成效,通过不断完善,这种全新的战略有望使人类与肿瘤之间的

战役发生历史性转折,以至赢得最终胜利。

5.3 关于迎接机遇与挑战的几点思考

面对HGP和HapMap带来的机遇,必须密切注意以下几个方面,以迎接HGP和HapMap引领的基础研究领域取得的革命性突破对口腔医学带来的挑战,包括以下4方面。

5.3.1 人才培养模式 要调整人才培养计划,加强与生命科学前沿相结合,去除与现代学科前沿不适应的课程;生源来源要多元化,改革招生模式,允许基础学科的学生选学口腔医学,口腔医学的学生有机会学习生命科学的前沿理论和技术;让学生们早期接触科研,增强对科学研究的兴趣,发现学科前沿感兴趣的问题并进行相关的研究。

5.3.2 多学科交叉联合攻关解决口腔的重大科学问题 HGP和HapMap都是全球性的重大国际合作项目,其研究进展之快,牵动范围之广,都是史无前例的,更显示了多学科联合攻关的重要性。口腔医学要走出去,将相关的研究问题,引入基础科学的研究领域。同时,口腔医学也要请进来,将相关的先进的研究思想、技术、设备引入口腔医学研究领域;更重要的是,吸引重要的基础学科的人才,与口腔医学研究的人才一道,为同一目标、同一重大问题,共同攻关,取得突破。以充分利用HGP和HapMap实施所带来的契机,充分利用大多数口腔疾病累及人群广、位置表浅、观察容易、能反复取材研究的优势,致力于发现更多微小的与疾病关联的基因变异,避免重复的追随性的工作,寻找口腔炎症、免疫疾病、肿瘤等发生、发展的原因并寻找有效的防治方法,所得研究结果还可为其他领域的研究提供新的模式和思路。

5.3.3 加强国家口腔医学研究基地的建设 加强对国家级的研究基地——口腔疾病研究国家重点实验室的投入和建设,特别是完善基因组/蛋白组学研究技术平台,发挥国家重点实验室对口腔医学研究的核心骨干和牵引作用,引领全国口腔医学学科,充分利用我国的病源优势,在基础研究领域,也取得又快又好的发展。

5.3.4 尽快启动口腔医学领域国家重大基础 Research 计划 目前,全国还没有专门的针对口腔疾病的国家级重大基础 Research 计划,应利用我国HGP和HapMap带来的机遇,加强口腔医学的建设,以《国家“十一五”科学技术发展规划》等所倡导的建立和完善具有中国特色的生物技术创新体系,全面提升我国生物技术的整体竞争力的发展目标为基准,获取国家大力度科研经费支持,迎接国际基础科学发展所带来的挑战。国家有关部门应加以重视,予以支持。

总之,目前正处在人类遗传学发展的关键时刻,口腔领域的科研人员已做好准备,希望所获取的有效信息不仅可服务于口腔医学,也能为其其他医学提供研究的模版和基础。

【参考文献】

- [1] Collins FS, Galas D. A new five-year plan for the U. S. Human Genome Project[J]. Science, 1993, 262(5130) :43-46.
- [2] Venter J, Smith HO, Hood L. A new strategy for genome sequencing[J]. Nature, 1996, 381(6581) :363-366.
- [3] Dib C, Faure S, Flzames C, et al. A comprehensive genetic map of the human genome based on 5 264 microsatellites[J]. Nature, 1996, 380(6570) :152-154.
- [4] 陈竺, 李伟俞, 曼熊慧, 等. 人类基因组计划的机遇和挑战[J]. 生命的化学, 1998, 18(5) :5-17.
CHEN Zhu, LI Wei-yu, MAN Xiong-hui, et al. The opportunities and challenges of human genomic project[J]. Chemistry Life, 1998, 18(5) :5-17.
- [5] International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome[J]. Nature, 2001, 409(6822) :860-921.
- [6] International HapMap Consortium. The international HapMap project[J]. Nature, 2003, 426(6968) :789-794.
- [7] International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome[J]. Nature, 2005, 437(7063) :1299-1320.
- [8] International HapMap Consortium. A second-generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs[J]. Nature, 2007, 449(7164) :851-861.
- [9] Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, et al. Genome-wide association studies: Theoretical and practical concerns[J]. Nat Rev Genet, 2005, 6(2) :109-118.
- [10] Geisler SA, Olshan AF. GSTM1, GSTT1, and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: A mini-HuGE review[J]. Am J Epidemiol, 2001, 154(2) :95-105.
- [11] Perdigão PF, Guimarães AL, Victoria JM, et al. Serotonin transporter gene polymorphism(5-HTTLPR) in patients with oral lichen planus[J]. Arch Oral Biol, 2007, 52(9) :889-893.
- [12] Victoria JM, Correia-Silva Jde F, Pimenta FJ, et al. Serotonin transporter gene polymorphism(5-HTTLPR) in patients with recurrent aphthous stomatitis[J]. J Oral Pathol Med, 2005, 34(8) :494-497.
- [13] Komatsu Y, Galicia JC, Kobayashi T, et al. Association of interleukin-1 receptor antagonist +2018 gene polymorphism with Japanese chronic periodontitis patients using a novel genotyping method[J]. Int J Immunogenet, 2008, 35(2) :165-170.

(本文编辑 汤亚玲)

口腔外科新利器——赛特力公司超声骨刀

超声领域领先制造商法国赛特力公司于2005年推出了用于口腔外科的超声设备: Piezotome™超声骨刀。注册证号: 国食药监械(进)字2007第2230109号。超声骨刀主要用于骨切开术、骨整形术、骨嵴扩张、韧带切开术、上颌窦提升等棘手的精细手术。使用Piezotome™超声骨刀,可以毫不费力地进行精细的切割手术并且不会损伤软组织。术后疼痛轻微,愈合迅速。而且,不用十分费力,即可获得清晰的切割刀口。

由于选定的频率在28~36 kHz之间,所以Piezotome™超声骨刀只对硬组织有效,从而降低了软组织受损的危险。发生器间歇产生低幅值超声波振动,这种经调谐的超声切割可使组织放松并使其微结构得到最佳的修复,因而切割创面清晰整齐,有利于创口更好地愈合。

超声骨刀的工作尖坚固耐用,且振幅受到控制,因而切割精度非常高。另外,手柄操纵非常灵活,工作尖的设计符合解剖形态,易于进行非常棘手的手术。

Piezotome™超声骨刀还对切割表面有止血作用。超声空化作用可以限制血液渗出且利于从工作区清除骨屑,使医生能非常清楚地看到手术区,并可避免可能导致组织退化的术区温度升高及骨灼伤。

得益于最尖端的双向动力超声发生器SP Newtron®技术的推动, Piezotome™超声骨刀有如下出众的特性: 1)实时自动频率调节,可有效地感知手术操作; 2)推拉电路,功率强大并可准确连续控制工作尖振幅以保护脆弱的组织; 3)反馈机制,让使用和操作更轻松、精确。这3个特点构成了巡航控制系统™,使临床医师可轻松控制局面,确保手术绝对安全。

赛特力公司研发部门与口腔专家合作,独家推出专利产品——Intralift上颌窦内提升套装,利用水动力提升斯奈德膜,可实现上颌窦提升和植入种植体同期进行,大大缩短了治疗时间,令患者更加安全、舒适。

在原有LC拔牙尖基础上,又研制出了Extraction拔牙套装。拔牙尖可以用于拔除阻生齿,还可以完成根尖剥离、牙半切及截根术等。纤细的拔牙尖结合超声技术,能够轻松通过牙周膜间隙,剥离牙周膜。工作尖规则线性运动,避免了惯性碰撞,降低了邻牙损伤的危险,实现了快速微创治疗。

Piezotome™超声骨刀是进行预种植手术(骨切开术、上颌窦提升、拔牙)时的首选工具,此外还可用于传统的超声治疗。只要接上超声手柄,就可以使用超声领域的近80多个赛特力专业超声工作尖进行牙周病、牙髓病、洁牙及修复等治疗。Piezotome™超声骨刀——口腔外科手术成功和安全的保证。

更详尽的产品信息请咨询法国艾龙集团北京办事处(原法国赛特力-碧兰公司)。电话: 010-64657011/2/3/4; 电子邮件: beijing@cn.acteongroup.com; 网站: www.cn.acteongroup.com。

法国艾龙集团北京办事处