

[文章编号] 1007-385X(2006)04-0239-04

肿瘤靶向治疗的现状和展望

Targeted therapy of cancer: today and tomorrow

钱其军^{1,3}, 张琪^{1,2} (1. 第二军医大学东方肝胆外科医院基因-病毒治疗实验室, 上海 200438; 2. 中山大学附属第三医院肝移植中心, 广州 510630; 3. 浙江理工大学生命科学院, 杭州 310018)



[作者简介] 钱其军, 博士, 研究员, 浙江嵊州人, 现任第二军医大学东方肝胆外科医院基因-病毒治疗实验室主任、浙江省基因治疗研究中心常务副主任、浙江理工大学生命科学院新生物医药研究所副所长。1987年毕业于第一军医大学获医学学士学位, 1990~1993年就读于中国协和医科大学、中国医学科学院血液学研究所, 因硕士论文达到博士论文水平, 延期1年于1994年直接授予医学博士学位。2001~2003年被聘为香港大学临床肿瘤系肿瘤基因治疗实验室主任。在SCI收录杂志发表论文18篇, 其中作为通讯作者9篇。申请中国发明专利共17项, 已授权5项, 另有3项已进入美国申请。获上海市科技进步二等奖1项, 主持863课题2项、国家自然科学基金国际合作重大项目1项。

攻克癌症一直是医学界面临的重大挑战。尽管对癌症的基因组学及表观遗传学进行了大量研究, 在肿瘤的基因突变、表达谱及信号转导基础研究领域取得了重大进展, 但在临床上, 自从50年前Burchenal等开创癌症化疗以来, 癌症患者的生存期并未见显著增长。近年来, 针对肿瘤细胞受体、关键基因和调控分子为靶点的新型治疗方案已逐步从实验室走向临床, 这种特异性杀灭肿瘤细胞的肿瘤靶向治疗(targeted therapy)已对癌症的分子分型、疗效及预后产生重大影响。为此, 2006年5月美国Science作专题报道^[1], 认为这是癌症研究的新时代。本文根据国际上的最新学术观点, 结合我们的研究成果, 对肿瘤靶向治疗提出自己一些肤浅思考。

1 靶向基因-病毒治疗

肿瘤的靶向基因-病毒治疗是针对肿瘤细胞和正常细胞不同生物特性、信号转导通路等的差别, 利用基因工程技术对病毒的基因结构进行修饰、改造, 改造后的病毒(又称肿瘤细胞特异性增殖病毒或溶瘤病毒)能够特异地感染肿瘤细胞或在肿瘤细胞中特异性复制、增殖, 最终导致肿瘤细胞的裂解, 从而达到特异性靶向杀伤肿瘤细胞。它既可以单独作为溶瘤剂, 又可作为抗癌基因的有效载体, 随着病毒的复制而使抗癌基因得到高效表达, 同时发挥病毒治疗和基因治疗的双重疗效, 其理论及实验结果都优于单一的病毒治疗或基因治疗。

进入临床试验的第一个溶瘤病毒ONYX-015至今已逾10年, 期间陆续有不少溶瘤病毒先后进入临床试验, 但更多地还是处于临床前的动物实验研究。

对于病毒的改造主要集中在以下两种途径:(1)转录调控性(transcriptional regulation), 即利用外源性组织特异性启动子或者肿瘤启动子来调控病毒增殖的关键基因, 或者选择性缺失在正常细胞复制所必需而在肿瘤细胞中非必需的基因, 这其中又包括用单一启动子调控病毒的1个或多个关键基因或者用多个启动子来调控多个病毒关键基因, 这方面华人科学家俞德超博士做了大量首创性工作;(2)转染再靶向(transduction retargeting)改造, 以腺病毒为例, 主要有3种常用策略:①利用既能结合病毒载体又能同细胞表面受体结合的双特异性外源性再靶向配体;②对病毒载体的外壳基因进行改造使其具有细胞再靶向配体;③构建嵌合型病毒载体, 亦即病毒载体的衣壳蛋白来自另一病毒载体。

上海中科院刘新垣院士课题组和我们实验室在基因-病毒治疗方面都做了相当多的研究。我们实验室从最初的CNHK200(腺病毒E1B55 KD的增殖病毒), 到用人端粒酶逆转录酶启动子调控腺病毒E1a的CNHK300, 到双调控的增殖病毒CNHK500(分别用人端粒酶逆转录酶启动子和缺氧反应元件调控腺病毒的E1a及E1b基因), 到目前构建的嵌合型双调控腺病毒载体CNHK600-F35(在CNHK500基础上对E1a区的24个碱基进行突变, 同时病毒载体的Fiber来自35型腺病毒), 这一系列改造使抗肿瘤疗效及安全性都明显提高, 已获国家5项发明专利授权, 在Cancer Res、Mol Ther及

[基金项目] 国家高新技术发展规划(863计划)项目(2003AA216030); 浙江省自然科学基金重点项目(Z205616)

Clin Cancer Res 等杂志发表^[24]。其中 CNHK500-P53(现改名为 SG600-P53)已完成临床前所有实验,等待 SFDA 批准进入临床试验。刘新垣院士课题组利用增殖病毒载体携带多种抗癌基因如 Smac、Trail、IL-24 等,发现联合基因治疗较单一基因治疗具有更强的抗肿瘤疗效,甚至可以在动物体内完全杀灭肿瘤细胞。

尽管肿瘤的病毒治疗及以此为基础的基因-病毒治疗显示了明显的肿瘤靶向治疗前景,但距离成为临床的“主流方案”仍有相当一段距离,其主要问题在于:(1)临床研究的重要性:基因-病毒治疗绝大部分工作仍停留在实验阶段,人并不等于鼠,在小鼠中产生明显疗效及无明显副作用,并不代表在人体中同样有明显疗效及无副作用,因此进行临床试验是相当重要的;(2)特异性靶向肿瘤细胞问题:最近 Hajitou 等^[5]利用噬菌体与 AAV 结合技术,使病毒载体靶向肿瘤成为可能;(3)实现重复静脉给药:对如何减少中和抗体的产生,曾有人尝试用 IFN- γ 抑制 Th2 细胞,或用 CD20 抗体清除 B 淋巴细胞,使中和抗体产生减少,但其疗效不明显。最近, Diane^[6]等改造腺病毒 Hexon,认为可以冲破机体以前存在的对腺病毒的免疫中和作用,但仍存在着多次应用会再次产生新型腺病毒中和抗体的问题。更为简单实用的办法,是俞德超博士提出的采用类似肾透析原理的方案,将血液中的中和抗体去除,他们在这方面已取得了成功。另一种方法是将病毒放在一些靶向肿瘤的细胞内,细胞直接将病毒运送到了肿瘤内,从而不会被抗体拦截^[7];(4)选择合适基因:整体而言,单独的腺病毒对肿瘤杀伤太弱了,因此通过选择一些合适基因提高病毒对肿瘤细胞的杀伤力是重要的,也可以选用一些免疫因子或肿瘤抗原,使基因-病毒系统既能直接杀死肿瘤细胞,又能起到肿瘤疫苗的作用;(5)肿瘤细胞的异质性:大量的实验证明,肿瘤组织中的肿瘤细胞并非单一性,特别是肿瘤干细胞的认识日益加深,很多病毒载体(特别在基因及病毒治疗中广为应用的 5 及 2 型腺病毒)能否感染肿瘤干细胞值得进一步深入研究。

2 靶向肿瘤的单抗治疗

单抗具有靶点特异性高、副作用较低、更好的患者治疗依从性,可以有效携带化疗药物、放射性物质、毒素等各种“武器”到达靶目标,可以诱导针对疾病的免疫反应等突出的优点,是生物制药研究中备受关注的热门领域。

抗体靶向治疗得益于两个关键性技术的突破:即人鼠嵌合抗体、人源化抗体和人抗体技术及制备技术的成熟,基本上可以克服鼠源性抗体用于人体产生抗抗体(HAMA)的问题;在人体内的半衰期从鼠源性抗体小于 20 h 到人源化抗体和人抗体的半衰期为数天、甚至长达 21 d 之久。抗体库的建立和筛选以及多价重组抗体制备技术的发展使人们能够直接获得特异性强和亲和力高的单克隆抗体^[8]。

目前美国批准上市的 8 个靶向肿瘤的单抗中,其中 5 个是治疗血液系统恶性肿瘤,3 个是针对实体瘤,其靶标包括:(1)靶向白血病细胞表面表达的抗原,如针对抗原分子 CD20、CD33、CD52 的单抗或者耦合抗体;(2)以细胞表面 Her 家族为靶点的单抗,如针对 Her2 阳性的 Herceptin,和针对 Her1 的 MC-C225;(3)以 VEGF/VEGFR 为靶点,如作为晚期直结肠癌一线用药的 Bevacizumab(avastin)。

单抗联合化疗,疗效明显优于单一的化疗。尤其是抗肿瘤新生血管生成的 Bevacizumab,在和化疗药联用时表现出化疗增敏剂的作用,认为其可能的机制有:(1)抗血管生成药物使肿瘤的血管正常化,提高了化疗药的疗效;(2)抗血管生成的单抗阻止了细胞毒性化疗药治疗后的肿瘤细胞的快速再增殖;(3)抗血管生成药物增强了化疗药的抗血管生成的作用^[9]。

尽管进入临床使用的单克隆抗体显示出了良好的应用前景,但利用抗体治疗肿瘤仍存在着一些技术上的难题,如:抗体治疗要求抗体的剂量大、纯度高,而目前的生物工程技术水平还暂时无法满足如此大剂量重组蛋白药物的生产技术要求,且工艺复杂,因此使得单抗的生产成本和价格非常昂贵;对于实体瘤而言,由于实体瘤内部间质的压力较高,且存在淋巴回流,使部分大分子的单抗难以进入到肿瘤内部发挥抗肿瘤疗效。这使得人们开始尝试抗体的基因治疗。我们课题组最近成功构建了分别携带 Herceptin^[10]及 Rituximab 全长抗体基因的腺病毒,前者在卵巢癌的治疗实验中取得了良好的效果,后者可以彻底清除恒河猴体内 CD20 阳性的 B 淋巴细胞,这是一种全长抗体基因治疗肿瘤的新概念和新思路,从根本上区别于传统的抗体生产方法,即不需要经过在细胞罐中生产及纯化的程序,治疗效果及治疗成本均优于传统的肿瘤抗体治疗方法。目前单抗的研究主要集中在(1)寻找新的分子靶点;(2)抗体人源化;(3)偶联物分子的小型化;(4)单抗药物的高效化;(5)利用 DNA 重组技术制备具有抗体功

能的融合蛋白。

3 针对信号转导通路的靶向小分子化合物类药物

蛋白酪氨酸激酶(PTK)及其受体PTKR在细胞增殖、细胞分化、抗凋亡、抗化疗、抗放疗和血管生成等方面都具有重要的作用,是癌细胞生存和发展的重要分子。由于PTK及PTKR的普遍存在,以及在癌细胞生存中的关键作用,所以开发这一类抑制药对发展分子靶药物具有普遍意义,有巨大的发展潜力。靶向PTK的药物可能是针对细胞膜上的PTKR,也可以是细胞内的PTK,其作用机制可能通过以下途径实现:抑制肿瘤细胞的损伤修复,使细胞分裂阻滞在G₁期,诱导和维持细胞凋亡,抗新生血管形成等。目前针对细胞内PTK的药物主要为小分子类化合物,其成功的代表包括用于CML的依马替尼(imatinib,gleevec,STI571),用于非小细胞性肺癌的吉非替尼(gefitinib,iressa)及用于非小细胞性肺癌和胰腺癌的艾罗替尼(erotinib,tarceva)。依马替尼可选择地抑制酪氨酸激酶及BCR-ABL异常融合蛋白的表达,并抑制有BCR-ABL表达的白血病细胞的增殖,同时它在晚期、转移性胃肠道间质肿瘤(GIST)的治疗中也有较好疗效。由于这类药物具有非细胞毒性和靶向性的特点,主要对肿瘤细胞起调节作用和稳定性作用,因此它们在临床上的表现与细胞毒性药物有很大区别,比如药物毒性的作用范围和临床表现不同;I期临床研究中无法达到剂量限制性毒性和最大耐受剂量;与常规治疗(化疗、放疗)合用有更好的效果等等^[11]。

需要指出的是,尽管上述的酪氨酸激酶抑制剂取得了初期成功,但是对治疗有反应的病人常最终因为癌基因蛋白激酶基因的扩增、突变及其它一些机制而出现对上述药物的耐药。因此有必要针对第一代酪氨酸激酶抑制剂治疗过程中产生新基因突变导致的药物抗性而开发出新一代的药物,如Dasatinib(BMS-354825)是可同ABL蛋白结合的双向SRC-ABL抑制剂,但却不需依马替尼样的严格空间构型,它对于依马替尼耐药的CML有效。在对依马替尼耐药的GIST中,阻断VEGFR、PDGFR及KTI激活的多靶向酪氨酸激酶抑制剂SU11248(Sutent)显示出了潜在疗效。

4 细胞载体靶向治疗

某些细胞具有靶向肿瘤部位的特性,可利用细胞这一特性携带病毒载体进行系统给药治疗。近几

年的研究发现,一些免疫细胞,如巨噬细胞、T细胞、NK细胞、异体肿瘤细胞,以及某些干细胞,如血管前体细胞、间充质干细胞等都具有这种特性。这些肿瘤趋化细胞可以感应肿瘤微环境发出的信号,具有追踪肿瘤、传递基因的作用,但免疫细胞和肿瘤细胞存在诸多问题,如获取困难、少量与某些正常组织结合、靶向肿瘤特性不确切等。血管前体细胞不能靶向已形成血管的肿瘤,且细胞大量扩增也较困难。

肿瘤能够使间充质干细胞(MSC)协助构建间质或连接组织以支持肿瘤生长,MSC只识别和感应肿瘤或组织损伤细胞发送的信号,在运输途中几乎不被正常组织非特异性“捕捉”,但由于MSC主要来自骨髓,放疗后的病人难以大量扩增这类细胞。而应用人脐带组织分离到大量MSC,几乎没有免疫原性,有望用于靶向肿瘤的载体。最近我们应用这种MSC转染携带Herceptin基因的嵌合型腺病毒(Ad5/F35-Her),发现该系统可以在体内外高效表达该抗体,突破了全抗体难以进入肿瘤内部的难题,既降低了成本又提高了疗效。而今年3月,Thorne等^[7]将细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)同溶瘤病毒结合起来,提出免疫细胞-病毒生物治疗(immune cell-viral biotherapy)的概念,在其中CIK细胞象“特洛伊木马”一样将病毒运送到了肿瘤内,亦是利用细胞作为靶向载体的范例。

对于细胞靶向载体研究,还需要更清楚地认识细胞如何识别肿瘤信号的引导。随着这方面研究的不断深入,必将会人工设计出更为特异及有效靶向肿瘤的细胞载体,它犹如将白细胞趋化到炎症部位,实现真正意义上的肿瘤生物导弹的作用。

5 非直接靶向治疗

对肿瘤生长组织环境的深入了解为我们提供了新的肿瘤治疗策略,亦即靶向肿瘤周围的基质而非直接作用于肿瘤细胞。尽管早在1889年Paget就提出过“种子—土壤”学说,把癌细胞当种子,土壤是指癌症的微环境,不同类型的基质(stroma)就是这样的微环境,他认为转移是“种子”在适宜的“土壤”中生长发展的结果。但是直到近年,人们才真正意识到肿瘤进展是癌细胞与周围不同类型的基质细胞相互作用的结果。新的研究结果表明,在基质细胞中也发生了遗传性损伤,而且这些损伤可能对肿瘤的发展有重要影响。异常的基质环境不仅有助于肿瘤形成和进展,甚至是不可缺少的因素。肿瘤基质细胞稳定性好,被认为是癌症治疗的潜在靶标。广

为所知的是前面所提及抗血管生成策略,相关的药物和抗体已通过 FDA 批准进入临床。其他作用于肿瘤周围环境的策略还包括:(1)干预包绕肿瘤的非肿瘤基质细胞所提供的生长促进信号;(2)抑制促进肿瘤细胞逃逸入血液循环的特异性蛋白酶活性或利用这些酶激活使肿瘤显影的分子;(3)促进免疫系统对肿瘤细胞的反应,如使一些限制肿瘤免疫的细胞因子失活,如 T 细胞表面蛋白 CTLA-4^[1]。

6 肿瘤干细胞及潜在治疗靶点

肿瘤干细胞概念很早就有人提出,但最近几年才真正受到重视。肿瘤干细胞是肿瘤组织中少数具有无限增殖潜能的细胞,能驱动肿瘤的形成和生长,目前已在白血病、乳腺癌及脑胶质瘤中得到证实,尽管它是否存在于所有肿瘤中仍有争议。最近在多种肿瘤细胞系中发现存在类似干细胞的少数细胞亚群,它们 Hoechst 33342 染色阴性,像正常干细胞一样多处于细胞周期的静止期,对常规放化疗不敏感。虽然肿瘤干细胞在肿瘤中只占极少数,但它极有可能是肿瘤发生、耐药、复发及转移的根源。

因此设计针对肿瘤干细胞的治疗方案非常重要。但目前对肿瘤干细胞的认识主要是根据它类似干细胞具有无限增殖潜能及具有干细胞特征性标记,如 CD133 等,尚没有发现这群细胞的特征性抗原表达。如果肿瘤干细胞有特征性细胞表面抗原表达(而这个抗原在正常干细胞中缺乏表达),可以设计单克隆抗体去杀灭它,但这种概率不会太大。更大的可能来自肿瘤干细胞与正常干细胞内信号转导不同,Hh 与 Wnt 这两条途经中基因突变后的激活值得关注,而且从药理学方面来看采用小分子药物阻断这个途径是可行的。

7 展望

靶向治疗药物的研发与应用,对原有的肿瘤治疗学观念与模式将产生巨大的影响。尽管已取得了一定的疗效,但仍有很多问题有待解决。例如:疗效的预测问题,若能预见性地使用于可能有效的患者,则可避免不必要的经费投入;怎样与传统治疗方法配合或多种靶向治疗药物联合用药以提高抗肿瘤疗效;分子靶向药物的耐药性问题等等。随着肿瘤靶向治疗研究不断深入,肿瘤分类将由原来的组织分型逐步向分子分型转变,很多具有相同分子标记的肿瘤将采用相同的治疗方法,产生类似的预后。我们认为理想的新一代抗肿瘤药物应具有以下特征:

(1)能特异性地针对肿瘤组织,最好能主动寻找到原发灶及转移灶,不影响正常组织;(2)既能杀灭肿瘤细胞,也能杀灭肿瘤干细胞;(3)能进入肿瘤组织内部;(4)无免疫障碍;(5)生产工艺简单,价格低廉;(6)易于保存及运输。肿瘤靶向治疗将凭借其特异性与靶向性,在肿瘤治疗中发挥越来越重要作用,成为肿瘤治疗的主攻方向

[关键词] 肿瘤;靶向治疗;基因治疗;病毒治疗;抗体治疗;信号转导

[中图分类号] R73

[文献标识码] A

[参考文献]

- [1] Varmus H. The new era in cancer research[J]. *Science*, 2006, 312(5777): 1162-1165.
- [2] Zhang Q, Nie MM, Sham JT, *et al*. Effective gene-viral therapy for telomerase-positive cancers by selective replication-competent adenovirus combining with endostatin gene cancer[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(15): 5390-5397.
- [3] Su CQ, Peng LH, Sham JT, *et al*. Immune gene-viral therapy with triplex efficacy mediated by oncolytic adenovirus carrying mouse interferon-gamma gene yields efficient antitumor activity in immunodeficient and immunocompetent mice[J]. *Mol Ther*, 2006, 13(5): 918-927.
- [4] Zhang Q, Chen GH, Wang XH, *et al*. Increased safety with preserved antitumoral efficacy on hepatocellular carcinoma with dual-regulated oncolytic adenovirus[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, accepted.
- [5] Hajitou A, Trepel M, Lilley CE, *et al*. A hybrid vector for ligand-directed tumor targeting and molecular imaging[J]. *Cell*, 2006, 125(2): 385-398.
- [6] Diane M, Roberts, Anjali Nanda, Menzo JE, *et al*. Hexon-chimaeric adenovirus serotype 5 vectors circumvent pre-existing anti-vector immunity[J]. *Nature*, 2006, 441(7090): 239-243.
- [7] Thorne SH, Negrin RS, Contag CH. Synergistic antitumor effects of immune cell-viral biotherapy[J]. *Science*, 2006, 311(5768): 1780-1784.
- [8] Carter P. Improving the efficacy of antibody-based cancer therapies[J]. *Nat Rev Cancer*, 2001, 1(2): 118-129.
- [9] Kerbel RS. Antiangiogenic therapy: A universal chemosensitization strategy for cancer[J]? *Science*, 2006, 312(5777): 1171-1175.
- [10] Jiang MH, Shi WF, Zhang Q. Gene therapy for Her2 over-expression cancers using adenovirus mediated full-length anti-Her2 antibody[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, accepted.
- [11] Targeting tyrosine kinases in cancer: the second wave[J]. *Science*, 2006, 312(5777): 1175-1178.

[收稿日期] 2006-07-29

[修回日期] 2006-08-10

[本文编辑] 王莹