

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.02.006

· 院士论坛 ·

肿瘤基因治疗的研究现状和展望

邓洪新, 魏于全(四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室, 成都 610041)



邓洪新 细胞生物学博士, 肿瘤学博士研究生导师, 四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室研究员。教育部新世纪优秀人才基金获得者, 中国免疫学会青年工作者委员会第二届常务委员, 中国医药生物技术协会基因治疗分会第一届委员, 四川省免疫学会肿瘤免疫专业委员会第一届主任委员, 四川省免疫学会第一届常务理事, 四川省实验动物学会第二届常务理事国家自然科学基金评审专家。《Clin Cancer Res》、《Hum Gene Ther》、《Mol Cancer Ther》、《Int J Cancer》、《Int. J Nanomed》、《BMC Cancer》等杂志特邀审稿人。主要从事肿瘤相关基因的功能研究、肿瘤免疫基因治疗治疗和肿瘤抗血管生成治疗的基础研究和应用基础研究, 共在《Clin Cancer Res》、《J Biomed Nanotechnol》、《Hum Gene Ther》等 SCI 杂志上发表第一作者和通讯作者论文 40 篇, 承担国家自然科学基金、国家重大新药创制、国家“863 计划”、国家“973 计划”子课题等多项课题。共申请国家发明专利 10 项, 其中获得授权发明专利 7 项。E-mail: denghongxin01@163.com



魏于全 肿瘤学教授, 博士研究生导师, 中国科学院院士, 四川大学副校长, 生物治疗国家重点实验室主任, 四川大学华西医院肿瘤中心主任, 国家综合性新药研究开发技术大平台负责人, 教育部 2011“生物治疗协同创新中心”主任, 科技部“973 计划”基因治疗项目首席科学家, “863 计划”生物与农业技术领域生物工程技术主题专家组组长, 国家自然科学基金创新研究群体负责人, 教育部长江学者特聘教授, 1997 年国家杰出青年科学基金获得者, 中华医学会第 23 届理事会副会长, 教育部科学技术委员会生物与医学学部常务副主任, 第五届中国医药生物技术协会会长, 中国免疫学会常务理事, 中国医药生物技术协会基因治疗分会第一届副主任委员。国际杂志《Human Gene Therapy》副主编。主要从事重大疾病生物治疗和小分子靶向治疗药物的研发等, 在包括《Nat Med》、《PNAS》、《Blood》、《Cancer Res》、《Clin Cancer Res》、《J Immunol》、《J Biol Chem》等杂志上发表 SCI 论文 200 多篇。共申请国家发明专利 50 余项; 获得授权专利 30 余项; 自主研发了多个生物药和小分子靶向药物, 承担了多项国家重大、重点科研项目。E-mail: yqwei@scu.edu.cn

[摘要] 基因治疗(gene therapy)是随着 DNA 重组技术、基因克隆技术等成熟而发展起来的极具革命性的医疗技术之一, 它是以改变人的遗传物质为基础的生物医学治疗手段。经过近三十年的发展, 基因治疗已经由最初用于单基因遗传病的治疗扩大到恶性肿瘤、感染性疾病、心血管疾病、自身免疫性疾病、代谢性疾病等多种重大疾病的治疗, 其中针对恶性肿瘤的基因治疗临床试验方案占了总数的 2/3。本文将主要聚焦全球基因治疗的发展历史和我国肿瘤基因治疗的发展现状, 重点介绍肿瘤基因治疗所用的表达载体、基因导入系统、临床试验、重点产品的研发和产业化发展以及近年来基因治疗在恶性肿瘤、重大遗传性疾病等治疗领域所取得的重点突破。此外, 还从基因的体内递送、基因治疗的安全性、新技术用于肿瘤的基因治疗、肿瘤基因治疗与其他治疗方法的联合应用、基因检测技术与基因治疗相结合等五个方面, 对未来肿瘤基因治疗所面临的发展机遇和挑战进行重点阐述。有理由相信, 随着肿瘤基因治疗关键技术的不断突破, 未来几年将是肿瘤基因治疗产品上市的重要时期, 将为恶性肿瘤的临床治疗提供更多的新选择。

[关键词] 肿瘤; 基因治疗; 现状; 展望

[中图分类号] R730.54; Q789

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)02-0170-07

Tumor gene therapy: Current status and future perspectives

Deng hongxin, Wei Yuquan (State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu)

[基金项目] 国家重点基础研究计划课题资助项目(No. 2012CB917104); 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(No. 2012AA020802); 教育部新世纪优秀人才基金资助项目(No. NCET-11-0342)。Project supported by the National Key Basic Research Programs of China(No. 2012CB917104), the National Programs for High Technology Research and Development of China(863 Program)(No. 2012AA020802), and the Trans-Century Training Program Foundation for Talents from the Ministry of Education of China(No. NCET-11-0342)

610041, Sichuan, China)

[**Abstract**] Gene therapy is one of the most revolutionary medical technologies developing with the mature of the techniques of recombinant DNA and gene cloning and it is a kind of biomedical treatment based on changing human genetic materials. After nearly thirty years development, gene therapy has expanded from single-gene genetic diseases treatment to the therapy of malignant tumor, infectious diseases, cardiovascular disease, autoimmune disease, metabolic disease and other major diseases and about 2/3 of the gene therapy clinical trials are directed to malignant tumor. This article will mainly focus on the development history of world gene therapy and the development status of tumor gene therapy in China with emphases on the reviews of gene expression vector, gene delivery system, gene therapy clinical trials, the research and development of gene therapy major products and the industrialization development of gene therapy and the recent key breakthroughs in the malignant tumor and genetic diseases gene therapy fields. Besides, this article reviews with emphasis on the development opportunities and challenges of tumor gene therapy in the future from five aspects including gene delivery *in vivo*, safety of gene therapy, new technology in tumor gene therapy, tumor gene therapy combined with other therapeutic methods and gene detection technology united with gene therapy. We have reasons to believe that along with the continuous breakthroughs of key technologies of gene therapy, the next few years will be an important period of tumor gene therapeutic products coming to the market, which provides new choices for the clinical trials of malignant tumor.

[**Keywords**] tumor; gene therapy; status; prospect

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(2): 170-176]

基因治疗(gene therapy)是随着20世纪七八十年代DNA重组技术、基因克隆技术等成熟而发展起来的最具革命性的医疗技术之一,它是以改变人的遗传物质为基础的生物学治疗手段,在重大疾病的治疗方面显示出了独特的优势。经过近30年的发展,基因治疗已经由最初用于单基因遗传性疾病的治疗扩大到恶性肿瘤、感染性疾病、心血管疾病、自身免疫性疾病、代谢性疾病等重大疾病的治疗。截止到2014年7月,全球共批准2 076项基因治疗方案进入临床试验阶段,其中针对各种恶性肿瘤的基因治疗临床试验方案占了总数的2/3。2004年,全球第一个上市的基因治疗药物也是针对肿瘤治疗的,显示出肿瘤基因治疗是当前基因治疗最活跃、最重要的研究领域之一。本文将从全球基因治疗的发展历史和肿瘤基因治疗的发展概况、中国肿瘤基因治疗的现状以及肿瘤基因治疗未来的发展展望共三个部分进行讨论。

1 全球基因治疗发展历程

基因治疗是以改变人的遗传物质为基础的生物学治疗手段,是指将外源正常基因导入靶细胞,以纠正或补偿因基因缺陷或基因表达异常引起的疾病,以达到治疗疾病的目的。与其他治疗方法相比,其优势在于它可直接在分子水平上,有针对性地修复甚至置换致病基因或纠正异常基因的表达调控,从而治疗疾病。基因治疗是随着20世纪七八十年

代DNA重组技术、基因克隆技术等成熟而发展起来的最具革命性的医疗技术之一,将对传统制药业和疾病治疗模式产生深远的影响和冲击,必将成为21世纪重要的医药产业和重要的疾病治疗手段。

1968年,美国科学家迈克尔·布莱泽发表了《改变基因缺损:医疗美好前景》的文章,首次提出了基因疗法概念。1989年,美国批准了世界上第一个基因治疗临床试验方案,当然这不是一个真正意义上的基因治疗,而是研究示踪基因在人体内的分布和表达。1990年,美国NIH开始了世界上第一个真正意义上的基因治疗临床试验,他们利用基因治疗修复了一个患有严重复合免疫缺陷综合征(severe combined immunodeficiency disease, SCID)女孩体内腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)的活性,基因治疗8个月后,患儿体内ADA水平达到正常值的25%,她的免疫系统得到了恢复,后来该小孩健康成长^[1]。此后又进行第2例类似的基因治疗并获得客观的疗效,该疗法的成功使得基因治疗成为国际研究热点,全球基因治疗临床试验迅速增长。1999年法国巴黎内克尔儿童医院利用基因治疗使数名患有重症免疫缺陷(SCID-X1),又称“气泡男孩症”的婴儿恢复了正常的免疫功能,取得了基因治疗临床试验开展以来最大的成功。2010年7月, *New Engl J Med* 杂志发表了专题文章对该疗法进行总结,9名男婴实施了基因治疗9年,除1名男孩因患白血病死去,其他8名男孩的淋巴细胞水平都达

到正常值,体质量和身高并未停止增长,甚至可以像其他正常的孩子一样去上学^[2]。2014年, *New Engl J Med* 杂志报告了利用修改的安全性更高的 γ -retrovirus 病毒载体(SIN- γ c Vector)治疗了9位 SCID-X1 患者,除了1位患者死于腺病毒感染外,其他8位患者成功地恢复了免疫系统,存活最长的已经超过了3年^[3]。

早期基因治疗主要是针对单基因遗传病进行治疗,随着基因治疗的不断发展,现在更多的针对恶性肿瘤的基因治疗进入了临床试验阶段,目前全球有大约2/3的基因治疗临床试验方案是针对各种恶性肿瘤的,而针对恶性肿瘤治疗的基因治疗产品——“重组腺病毒-p53 抗癌注射液”也在全球率先上市,受到2004年 *Nat Biotech* 杂志的重点评述^[4]。最近几年,基因治疗在全球获得多项重要的突破,如2008年,在英国和美国开展的两项独立的 RPE65 基因治疗 Leber's 先天性黑矇病的 I 期临床试验,结果表明该疗法可显著改善盲人患者的视力,以上两项独立研究同期发表在 *New Engl J Med* 上^[5-6]。2009年艾滋病的基因治疗取得了重大进展,有报道给艾滋病患者输注 OZI 基因修饰的自体 CD34⁺ 干细胞,可阻止 HIV 病毒的繁殖和再感染其他细胞,使患者的免疫系统逐渐恢复并对 HIV 病毒产生免疫力,结果发表在 *Nat Med* 上^[7]。2009年,研究人员基因治疗 X-连锁性肾上腺脑白质营养不良症(adrenoleukodystrophy, ALD)取得了重大突破,他们给 ALD 患者移植 ABCDI 基因修饰后的造血干细胞,治疗2年之后的患者体内仍可检测到正常 ALD 蛋白表达,患者的症状也得到了明显改善,该结果发表在 *Science* 杂志上^[8]。这些重大的技术突破使得基因治疗新手段入选 *Science* 杂志2009年度十大突破之一, *Science* 杂志发表了专栏文章“A Comeback for Gene Therapy”^[9]。2010年, *Lancet Neurol* 杂志报道了一项帕金森病的基因治疗临床试验获得成功,并改善了部分患者的运动障碍,直到论文投稿前还没有出现任何的安全问题,显示出基因治疗在神经系统变性疾病中的应用潜力^[10]。

2011年,安进公司(Amgen)以10亿美元的价格收购了专业的基因治疗公司 BioVex,而该公司的主打产品为 GM-CSF 修饰的疱疹病毒产品——talimogene laherparepvec(俗称 T-VEC)^[11]。2014年12月,辉瑞(Pfizer)公司以2.6亿美元转让经费与 Spark 公司签署合作协议,共同开发 B 型血有病的基因治疗产品。这些大的收购计划显示了基因治疗正受到了国际跨国公司的青睐。

T-VEC 是一种能够表达 GM-CSF 并具有特异性溶瘤作用的疱疹病毒,它能靶向并裂解肿瘤细胞,激活机体的免疫系统,从而杀灭肿瘤细胞。T-VEC 已经完成了黑素瘤的 III 期临床试验,取得了较好的临床治疗效果^[12]。美国 FDA 将在2015年4月29日共同评审 T-VEC 的疗效和安全性,届时将决定是否批准 T-VEC 在美国上市。2008年,欧洲 Ark 公司研制的基因治疗产品 ADV-TK(商品名 Cerepro[®])在法国和芬兰被批准有条件地临床使用,用于恶性脑胶质瘤术后辅助治疗。II 期临床试验结果显示,ADV-TK 治疗后的患者生存期明显延长。此外,前列腺癌患者的 II 期临床研究显示 ADV-TK 联合放疗有更好的疗效,目前 Cerepro[®] 已经进入了 III 期临床研究, *Nat Biotech* 杂志在新闻栏目中对它治疗脑胶质瘤的重要进展进行重点评述^[13]。我国自主研发的与 Cerepro[®] 类似的基因治疗产品 ADV-TK 正在开展 III 期临床试验,从已完成的 II 期临床研究结果看,ADV-TK 对肝癌和难治性、复发性的头颈癌都具有显著疗效,特别是对肝癌肝移植后患者的治疗效果更显著,ADV-TK 治疗组患者3年生率为69.6%,而对照组为19.9%,主要结果发表在 *Clin Cancer Res* 上,并成为亮点文章^[14]。

回顾基因治疗的发展历程,可以发现基因治疗的对象已从最初的单基因遗传病扩展到恶性肿瘤、心血管疾病、感染性疾病、自身免疫性疾病等多种人类重大疾病。从1989年批准世界上首例基因治疗临床试验以来,全球基因治疗临床试验处于平稳发展态势。从1997年开始,全球每年批准的基因治疗临床试验方案大约70~120项。截止到2014年7月,全球共批准2076项基因治疗方案进入临床试验阶段,其中400多项已经进入了 II、III 期临床试验阶段。在所有的基因治疗临床试验方案中,超过总数的80%在美洲和欧洲进行,亚洲、澳洲、非洲等占较小的份额。中国这几年基因临床试验发展迅速,已经有24个治疗方案处于临床试验阶段,但仅占全球总数的1.3%。如果按照病种划分,针对恶性肿瘤的基因治疗临床试验方案占总数的2/3左右,其次是针对单基因遗传病、心血管疾病、感染性疾病、自身免疫性疾病等。如果按照基因导入的载体和导入方式划分,占总数70%的是使用腺病毒、逆转录病毒、腺相关病毒、牛痘病毒、疱疹病毒、慢病毒等各类病毒载体作为基因导入系统,而裸质粒 DNA、脂质体、阳离子多聚物等非病毒载体只占总数的30%(数据来自 www.wiley.co.uk/genmed/clinical)。

随着基因治疗技术的不断成熟,基因治疗产业

发展也取得了重要突破。2004年1月,我国上市了世界上第一个基因治疗药物——重组人 p53 腺病毒注射液(商品名今又生, Gendicine)以来^[4,16],还有治疗肿瘤的 H101 基因工程腺病毒注射液(商品名安柯瑞, Oncorine)^[15]、治疗严重肢端缺血(CLI)的基因治疗药物 Neovasculogen(plasmid-VEGF)^[16]、治疗脂蛋白脂酶缺乏症(LPLD)的基因治疗药物 Glybera^[17-18]共4个产品在中国、俄罗斯和欧盟上市。特别是2012年7月,欧洲药品管理局(EMA)在欧盟范围内批准由荷兰生物技术公司 UniQure 研发的以重组腺相关病毒(AAV)为载体的基因治疗药物 Glybera(AAV-LDL)上市,用于经严格限制高脂肪饮食却仍然发生严重或反复胰腺炎发作的脂蛋白脂酶缺乏症(LPLD)患者的治疗,LPLD是一种罕见的严重遗传性疾病,目前其他方法无法治愈。该产品于2013年在欧盟上市,这是西方国家首批获批上市的基因治疗产品,具有重要的象征意义^[19-20]。随着基因治疗技术的不断突破,未来3~5年将会有更多的基因治疗产品获批上市。

2 我国基因治疗的发展概况

回顾我国基因治疗的发展历程,可以发现我国基因治疗研究及临床试验与世界发达国家几乎同期起步。1987年,我国开展了血友病B的基因治疗研究;1991年,我国进行了世界上首例血友病B的基因治疗临床试验。经过二十多年的发展,我国基因治疗已经具有了较好的基础,特别在产业化方面我国抢占了世界先机。2004年1月,我国研发的基因治疗药物 Gendicine 被中国CFDA批准上市,它是一种重组 p53 腺病毒注射液,用于头颈部肿瘤的治疗,它也是全球第一个上市的基因治疗产品。2005年,我国研发的用于头颈部肿瘤治疗的基因治疗药物 H101 基因工程腺病毒注射液 Oncorine 上市,这也是全球第一个上市的溶瘤病毒基因治疗产品。除了2个上市的产品外,我国还有16个针对恶性肿瘤、心血管疾病、遗传性疾病的基因治疗产品进入了临床试验,其中13个产品针对恶性肿瘤进行治疗。此外,我国还有30~40项针对恶性肿瘤等重大疾病的基因治疗制剂处于临床前研究阶段,上百个项目处于实验室研究阶段。特别值得一提的是,我国研发的肿瘤基因治疗产品 ADV-TK 于2009年完成了II期临床试验,对肝癌和难治复发性头颈癌都具有显著疗效,目前该产品正在多家医院开展多中心的III期临床试验,预计将对我国肝癌、脑胶质瘤的治疗带来重点突破。此外,我国研发的重组人内皮抑素腺

病毒注射液 E-10A 治疗晚期头颈部鳞癌已经完成了II期临床试验,获得了较好的抗肿瘤血管生成效果^[21]。目前该产品正在全国30多家医院和北美地区开始III期临床试验研究,发展前景良好。我国研发的 KH901 是新一代用于治疗肿瘤的工程化溶瘤腺病毒基因治疗制剂,它能够表达 GM-CSF 刺激机体产生抗肿瘤免疫反应,此外还靶向溶瘤作用,该产品已完成II期临床试验,即将进入III期临床试验^[22]。此外,我国研发的具有抗肿瘤血管生成的基因治疗产品 EDS01 正在开展II期临床试验研究。我国研发的抗肿瘤基因治疗产品 OrienX010 是以溶瘤性单纯疱疹病毒 HSV-1 作为基因治疗载体,它能够表达 GM-CSF,可对多种头颈部肿瘤进行基因治疗,目前该产品已完成了I期临床试验,安全、有效。随着我国这些自主研发的肿瘤基因治疗产品相继开发成功,将对我国恶性肿瘤的治疗带来新的希望。

3 肿瘤基因治疗面临的挑战和展望

经过近30年的发展,基因治疗相关技术趋于成熟,若干关键技术获得突破。因此,未来几年将是全球基因治疗产品上市的重点时期,但基因治疗应用于恶性肿瘤等重大疾病的治疗还面临一些挑战,展望未来基因治疗的热点和亟待解决的科学问题主要有以下几个方面。

3.1 基因的体内递送问题

基因的体内递送问题是肿瘤基因治疗研究的热点和重要的科学问题,而如何将基因安全、高效地导入到肿瘤治疗部位是基因治疗的重要挑战。目前主要的基因导入系统有病毒载体和非病毒载体系统,病毒载体系统包括逆转录病毒(retrovirus)、腺病毒(adenovirus)、腺病毒相关病毒(adeno-associated virus, AAV)、单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)、痘病毒(poxvirus)、慢病毒(lentivirus)等^[23-24],非病毒载体包括质粒DNA、阳离子脂质体、PEI、纳米胶束等^[25-26]。目前大多数的肿瘤基因治疗缺乏靶向性,只能将表达载体导入到体表的肿瘤部位,使得治疗只能局限于一些头颈部肿瘤。即使有部分全身给药的基因治疗方案进入了临床试验,但由于缺乏肿瘤的靶向性或存在安全性等问题,使得基因难以安全、高效地靶向导入到肿瘤部位,最终导致疗效不理想,甚至会产生很大的毒性作用。

为了提高基因的靶向导入效率,科学家对基因治疗载体和基因导入系统进行了各种靶向性改造。肿瘤基因治疗产品的全身系统给药一直是科学家的梦想,2011年, *Nature* 杂志上报告了世界首次通过

静脉注射重组痘病毒 JX-594, 实现了癌症患者的靶向基因治疗。JX-594 是一种病毒的 TK 基因失活并能表达 GM-CSF 的重组痘病毒, 研究人员对该病毒进行了靶向改造, 使它只能在肿瘤部位复制和裂解肿瘤细胞。临床试验发现, 静脉注射 JX-594 后的 8~10 d, 87% 的患者体内发现了 JX-594 病毒只在肿瘤中复制的证据, 而正常组织并没有发现病毒复制, 患者对各剂量的该病毒耐受良好^[27]。该研究首次实现了人体内静脉注射重组病毒并使其在肿瘤组织中持续和有选择性地复制, 相对于直接瘤内注射而言, 静脉注射可针对全身的肿瘤进行治疗, 这也是肿瘤基因治疗的重大技术突破。此外, 运用特定的基因表达调控元件或借助于体内外的理化诱导因素, 使目的基因特异地在效应细胞中表达, 也是基因治疗靶向性改造的方法之一。美国 Calydon 公司用两个前列腺特异性抗原(PSA)启动子/增强子分别控制复制型腺病毒的 E1A 和 E1B 区, 构建了复制型腺病毒基因治疗产品 CV787, 它可靶向治疗前列腺癌, I 期临床试验显示出了安全、有效的应用前景。我国研制的工程化溶瘤腺病毒 KH901, 就使用 hTERT 启动子控制该溶瘤腺病毒, 能选择性地肿瘤细胞中复制并靶向溶瘤, 目前该产品已完成了 II 期临床试验。

3.2 基因治疗的安全性问题

安全性问题一直是基因治疗的热点问题。1999 年, 美国宾夕法尼亚州一位 18 岁的鸟氨酸转甲酰酶缺乏症患者死于基因治疗, 原因主要是治疗对象选择有误及用药剂量过大, 而这些都是可以避免的, 但这个事件致使当时很多基因治疗方案推迟实施。1999 年, 法国巴黎内克尔儿童医院利用基因治疗使数名患有 SCID-X1 病的婴儿恢复了正常的免疫功能, 但 9 名实施基因治疗的男婴中有 1 名因患白血病死去, 其他幸存的 8 名患者中也先后有 3 人患有白血病, 再次引起人们对逆转录病毒安全性问题的担忧, 目前逆转录因使用越来越少, 更多的基因治疗方案使用安全性更好的腺病毒、腺相关病毒等, 而我国目前所有处于临床试验阶段的基因治疗产品都没有使用逆转录病毒。为了提高基因治疗的安全性, 各国科学家和临床医生除了不断地改进技术和优化临床试验方案外, 2012 年 11 月, 美国 FDA 颁布了最新的《细胞与基因治疗产品临床前评估指南》, 该指南特别重视细胞治疗和基因治疗产品的临床前安全性评价, 对临床前安全性评价所使用的实验动物、试验方案、检测指标、动物体内的毒性反应、药代及毒代动力学、临床前报告等都做了详细规

定, 希望在动物水平上能够尽可能地暴露基因治疗产品的毒性, 这将这有助于在临床试验中更为安全^[28]。

3.3 新的技术用于肿瘤的基因治疗

随着现代生物技术的不断发展, 一些新的技术应用到了基因治疗研究中。基因治疗理想的情况是能在原位修复病变的基因, 目前较成熟的技术是同源重组, 但其复杂的操作体系以及极低的修复效率限制了在基因治疗中的应用。寡核苷酸介导的原位修复同样效率较低, 但操作相对简单, 如果未来能够提高修复效率那它的应用前景会很好。定点整合起源于生物系统的共生或寄生关系, 这种长期进化所建立的关系直接决定了定点整合对宿主基因组的破坏性较小。因此, 使用天然或改建的定点整合系统进行基因治疗是未来重要的研究方向。

最近几年, CRISPR/Cas9、TALEN 等靶向基因敲除技术可以快速、高效地编辑基因组中特定靶点的遗传信息, 在重大疾病治疗领域显示出了非常好的应用前景。特别是 CRISPR/Cas9 技术在疾病中的应用前景最受科学家及医药公司的关注, 诺华(Novartis)等大型制药公司和一些风险投资公司都非常看好这一新兴领域, 投入巨资, 希望尽快将 CRISPR/Cas9 技术用于临床治疗, 预计将给重大疾病的基因治疗带来革命性的变化^[29]。

RNA 干扰和 microRNA 等新型的靶向基因沉默技术在重大疾病的治疗方面也显示了非常好的应用前景, 被广泛用于基因功能研究、药物靶点筛选与鉴定、药物开发等领域。全球已经有 20 多个针对恶性肿瘤、遗传性疾病、病毒感染性疾病等的 RNA 干扰治疗药物进入临床试验阶段, 显示出了很好的应用前景。由于单个 microRNA 可能调控数百个靶基因的表达, 因而在恶性肿瘤、心血管疾病等复杂疾病的治疗方面更有优势, 未来将靶向传递载体、靶向调控元件与 microRNA 技术结合, 有望对复杂疾病进行靶向基因治疗。

3.4 肿瘤基因治疗与其他治疗方法进行联合治疗

基因治疗与化疗、放疗、免疫治疗、干细胞治疗等联合治疗也是未来肿瘤治疗的重要发展方向。有报道利用基因指导的酶前体药物治疗(gene directed enzyme prodrug therapy)肿瘤获得成功, 这一方法是将携带有能将无毒性的前体药物转变为有细胞毒性的药物的酶所编码的基因导入肿瘤细胞, 在酶的作用下会启动肿瘤内前体药物的毒性反应, 从而杀死肿瘤细胞。此外, 酶前体药物疗法还有“旁观者效应”, 可放大化疗的疗效^[30-31]。还有研究^[32]报道, 通

过基因治疗技术敲除肿瘤内多药耐药相关基因 *MDR1* 的表达,可以有效地减轻结肠癌患者对于紫杉烷等化疗药物的耐药性。我国自主研发的重组人内皮抑素腺病毒注射液 (E10A) 与化疗药物“紫杉醇+顺铂”联合后, II 期临床试验结果表明, E10A 联合化疗后综合疗效优于单纯化疗组,也可显著延长晚期、复发和/或转移的头颈部鳞癌患者的疾病无进展生存期。在基因治疗与免疫治疗联合方面, Amgen 公司的溶瘤病毒基因治疗产品 T-VEC 已完成了全部临床试验, 2015 年很有可能被美国 FDA 批准上市,用于黑素瘤的治疗。但在黑素瘤的 III 期临床研究发现, 单用该疗法尽管缩小了肿瘤体积并触发了系统性的抗肿瘤免疫反应, 但未能显著改善患者总的生存期。为了进一步提高 T-VEC 的疗效, Amgen 与默沙东 (Merck & Co) 达成合作, 计划启动 T-VEC 与 PD-1 抗体联合治疗转移性黑素瘤的 I 期临床试验, 将基因治疗联合免疫检查点抑制剂的抗癌鸡尾酒疗法可能是未来肿瘤治疗的重要发展方向。2015 年初, 英国医学研究委员会宣布英国将开展首项肺癌的干细胞与基因联合治疗的临床试验。

3.5 基因检测技术与基因治疗相结合

随着基因检测技术、大规模基因测序技术、生物信息学技术、大数据挖掘技术等不断进步, 利用基因检测技术可以更全面、准确地描述恶性肿瘤等多基因突变的复杂性疾病的突变基因、基因突变的位点、基因拷贝数的变化以及疾病相关的信号通路上重要基因的变化等情况。因此, 将基因检测技术与基因治疗相结合, 可为科学家和临床医生设计更合理的基因治疗临床方案提供更准确的信息, 更有利于开展肿瘤的“个体化治疗”和“精准医疗”, 将推动传统疾病治疗模式的变革^[33]。

4 结束语

近年来, 多项基因治疗关键技术在国际上取得了重大突破, 世界上首个基因治疗产品也率先上市用于恶性肿瘤的治疗, 越来越多的肿瘤基因治疗技术和产品受到国际大型制药公司的青睐, 相信随着基因治疗靶向技术、基因治疗产品规模化生产及质控技术、基因治疗产品临床前评价及临床试验等关键技术的突破, 以及基因编辑技术、RNA 干扰与 microRNA 技术等前沿技术不断应用于基因治疗, 未来几年将会是全球肿瘤基因治疗技术突破和产品上市的重点时期, 将为恶性肿瘤的临床治疗提供新的选择。

[参考文献]

- [1] Blaese RM, Culver KW, Miller AD, et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: Initial trial results after 4 years [J]. *Science*, 1995, 270(5235): 475-480.
- [2] Hacein-Bey-Abina S, Hauer J, Lim A, et al. Efficacy of gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(4): 355-364.
- [3] Hacein-Bey-Abina S, Pai SY, Gaspar HB, et al. A modified gamma-retrovirus vector for X-linked severe combined immunodeficiency [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(15): 1407-1417.
- [4] Pearson S, Jia H, Kandachi K. China approves first gene therapy [J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(1): 3-4.
- [5] Bainbridge JWB, Smith AJ, Barker SS, et al. Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(21): 2231-2239.
- [6] Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, et al. Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(21): 2240-2248.
- [7] Mitsuyasu RT, Merigan TC, Carr A, et al. Phase 2 gene therapy trial of an anti-HIV ribozyme in autologous CD34⁺ cells [J]. *Nat Med*, 2009, 15(3): 285-292.
- [8] Cartier N, Hacein-Bey-Abina S, Bartholomae CC, et al. Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy [J]. *Science*, 2009, 326(5954): 818-823.
- [9] Naldini L. A comeback for gene therapy [J]. *Science*, 2009, 326(5954): 805.
- [10] Marks WJ, Bartus RT, Siffert J, et al. Gene delivery of AAV2-neurturin for Parkinson's disease: A double-blind, randomised, controlled trial [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(12): 1164-1172.
- [11] de Vries CR, Kaufman HL, Lattime EC. Oncolytic viruses: Focusing on the tumor microenvironment [J]. *Cancer Gene Ther*, 2015. doi: 10.1038/cgt.2015.11. [Epub ahead of print].
- [12] Russell SJ, Peng KW, Bell JC. Oncolytic virotherapy [J]. *Nat Biotechnol*, 2012, 30(7): 658-670.
- [13] Osborne R. Ark floats gene therapy's boat, for now [J]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(10): 1057-1059.
- [14] Li N, Zhou J, Weng D, et al. Adjuvant adenovirus-mediated delivery of herpes simplex virus thymidine kinase administration improves outcome of liver transplantation in patients with advanced hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(19): 5847-5854.
- [15] Raty JK, Pikkarainen JT, Wirth T, et al. Gene therapy: The first approved gene-based medicines, molecular mechanisms and clinical indications [J]. *Cur Mol Pharmacol*, 2008, 1(1): 13-23.
- [16] Cherviakov IV, Staroverov IN, Nersesian EG, et al. Therapeutic angiogenesis in treatment of patients with chronic obliterating diseases of lower limb arteries [J]. *Ang Vascular Surg*, 2011, 18(3): 19-27.
- [17] Miller N. Glybera and the future of gene therapy in the European Union [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(5): 419-419.
- [18] Ylä-Herttuala S. Endgame: Glybera finally recommended for ap-

- proval as the first gene therapy drug in the European union [J]. *Mol Ther*, 2012, 20(10): 1831-1832.
- [19] Dolgin E. Gene therapies advance, but some see manufacturing challenges [J]. *Nat Med*, 2012, 18(12): 1718-1719.
- [20] Burnett JR, Hooper AJ. Alipogene tiparovec, an adeno-associated virus encoding the Ser(447) X variant of the human lipoprotein lipase gene for the treatment of patients with lipoprotein lipase deficiency [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2009, 11(6): 681-691.
- [21] Ye W, Liu R, Pan C, et al. Multicenter randomized phase 2 clinical trial of a recombinant human endostatin adenovirus in patients with advanced head and neck carcinoma [J]. *Mol Ther*, 2014, 22(6): 1221-1229.
- [22] Liang M. Clinical development of oncolytic viruses in China [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012, 13(9): 1852-1857.
- [23] Waehler R, Russell SJ, Curiel DT. Engineering targeted viral vectors for gene therapy [J]. *Nat Rev Genetics*, 2007, 8(8): 573-587.
- [24] Lichty BD, Breitbach CJ, Stojdl DF, et al. Going viral with cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(8): 559-567.
- [25] Cheng CJ, Tietjen GT, Saucier-Sawyer JK, et al. A holistic approach to targeting disease with polymeric nanoparticles [J]. *Nat Rev Drug Discovery*, 2015, 14(4): 239-247.
- [26] Torchilin VP. Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery [J]. *Nat Rev Drug Discovery*, 2014, 13(11): 813-827.
- [27] Breitbach CJ, Burke J, Jonker D, et al. Intravenous delivery of a multi-mechanistic cancer-targeted oncolytic poxvirus in humans [J]. *Nature*, 2011, 477(7362): 99-102.
- [28] FDA. Guidance for industry: Preclinical assessment of investigational cellular and gene therapy products [S/OL]. U. S. Department of health and human services, food and drug administration, center for biologics evaluation and research, 2013[2014-12-03].
- [29] Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering [J]. *Cell*, 2014, 157(6): 1262-1278.
- [30] Carruthers KH, Metzger G, During MJ, et al. Gene-directed enzyme prodrug therapy for localized chemotherapeutics in allograft and xenograft tumor models [J]. *Cancer Gene Ther*, 2014, 21(10): 434-440.
- [31] Zhang J, Kale V, Chen M. Gene-directed enzyme prodrug therapy [J]. *AAPS J*, 2015, 17(1): 102-110.
- [32] Maier P, Spier I, Laufs S, et al. Chemoprotection of human hematopoietic stem cells by simultaneous lentiviral overexpression of multidrug resistance 1 and O6-methylguanine-DNA methyltransferase P140K [J]. *Gene Ther*, 2010, 17(3): 389-399.
- [33] Lohr JG, Stojanov P, Carter SL, et al. Widespread genetic heterogeneity in multiple myeloma: Implications for targeted therapy [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(1): 91-101.

[收稿日期] 2015 - 03 - 05

[修回日期] 2015 - 03 - 18

[本文编辑] 黄静怡

· 科技动态 ·

有氧糖酵解是受训免疫的代谢基础

越来越多的证据显示先天免疫系统也存在免疫记忆能力。2011 年,荷兰内梅亨大学的 Netea 等提出“受训免疫”的概念,以描述能响应继发感染的先天免疫记忆反应。他们建立了“受训免疫”的体外模型,即用白色念珠菌的 β 葡聚糖诱导人的单核细胞,7 d 后细胞能产生针对多种感染源(LPS 等)的非特异性保护作用,表现为 TNF- α 、IL-6 等细胞因子表达上调,其形成机制可能与染色质表观修饰变化有关。

最近,Netea 教授和他的研究团队发现,由 mTOR 和 HIF-1 α 介导的有氧糖酵解是受训免疫的代谢基础,相关研究成果发表在 14 年 9 月 26 日的 *Science* 杂志上。Netea 团队使用染色质免疫共沉淀测序技术(ChIP-seq)检测 β 葡聚糖诱导人的单核细胞中组蛋白 H3 第 4 位赖氨酸甲基化(H3K4me3)和组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸乙酰化(H3K27Ac)的变化,发现受训单核细胞内参与糖酵解并影响 mTOR 通路活性的基因其启动子区激活显著增加,同时相关的转录因子 HIF-1 α 的表达水平也升高了。体内模型的 RNA 测序分析也得到了类似的结果。由此推测糖酵解可能是受训免疫的代谢基础。

Netea 团队使用高分辨率呼吸测量以及糖类检测技术证明,单核细胞形成受训免疫的过程中,糖代谢发生了由氧化磷酸化向有氧糖酵解的转变,类似瓦伯格效应(Warburg Effect)。继而发现,葡萄糖代谢的变化依赖于 dectin-1 受体感受 β 葡聚糖的刺激,进而激活 AKT-PI3K 信号通路,活化 mTOR 与 HIF-1 α , 介导糖代谢转化为有氧糖酵解;糖酵解的生产也部分依赖于基因组的甲基化修饰。最终通过体内外特异性抑制剂实验证明,有氧糖酵解对于诱导单核细胞形成受训免疫至关重要。而受训单核细胞糖代谢变化与表观变化时是否以及如何相互作用仍不清楚。研究者提出,一些可被 NAD⁺ 激活的表观酶(如 sirtuins 家族)可能在其中发挥作用。但诱导形成受训免疫的具体的表观酶类以及修饰位点、修饰机制仍需要进一步研究。

总之,这项研究首次把代谢变化和天然免疫记忆联系起来,说明免疫细胞的代谢改变可能是其发挥独特功能的基础。代谢相关表观酶类可能是一个新的研究角度。同时,天然免疫记忆的研究进展也有助于深入了解感染性与自身免疫性疾病的机制,并为寻找新的治疗方法和潜在靶点提供了实验基础。

[钦可为 摘译, 韩超峰 审阅. Cheng J, Quintin RA, Cramer KM, et al. *Science*, 2014; 345(6204): 1250684]