

单克隆抗体导向的肿瘤诊断与治疗

Monoclonal Antibody—Mediated Diagnosis and Therapy of Human Cancers

谢蜀生

(北京医科大学免疫学系,教授 北京 100083)

俞莉章 郭应禄 顾方六

(北京医科大学泌尿外科研究所,教授 北京 100034)

萨登·布卡

(北京医科大学免疫学系,硕士生 北京 100083)

1906 年埃利克(Ehrlich)首次提出可以对肿瘤进行导向治疗(Targeted therapy)。他的设想是:把能为肿瘤细胞特异结合的抗体与能杀死癌细胞的药物或毒素结合在一起,就可以制备出一种能特异杀死肿瘤细胞,而不损伤正常组织的“魔弹”(Magic Bullet)。在此后的 70 多年间,由于大量制备能与肿瘤细胞特异结合的抗体困难重重,“魔弹”的设想基本上只是存在于科学家的理想中和厚积了灰尘的文献里,几乎没有引起临床医学家的注意。1975 年,单克隆抗体技术的建立,使人们有可能大量地制备针对任何靶分子的特异抗体,在生物医学领域产生了重大的影响,同样也极大地推动了“魔弹”的研究。仅仅在短短的几年间,针对各种肿瘤的单克隆抗体相继问世。到 80 年代初,几乎所有抗人肿瘤的单抗都被制备出来。由于这些单抗对其相应的肿瘤具有高度特异的结合能力,制造“魔弹”就有了理想的载体。80 年代中期,抗肿瘤单抗作为导向载体与抗癌药物、毒素、放射性核素这些“弹头”分子组成的“魔弹”都被相继制造出来了。体外细胞杀伤的结果表明,这些“魔弹”可以选择性地杀伤与之结合的肿瘤细胞,而对其他细胞则无杀伤作用。这样就可以设想,“魔弹”一旦进入体内,就会像导弹一样对肿瘤进行定向追踪与杀伤,而不会损伤正常组织。80 年代中后期,对“魔弹”的研究形成了一个几乎席卷整个肿瘤学研究领域的热潮。科学家们把这种抗肿瘤新式武器称之为免疫毒素(Immunotoxin),或免疫偶联物(Immunoconjugate),统称为导向药物(Targeted drug)。而它们通俗的名字则被响亮地称为“生物导弹”。1987 年“导向药物的研究”也列入我国跟踪世界先进技术的“863 计划”,并予以实施。

一、导向药物研究的概况与进展

对导向药物的实际研究,使科学家很快发现,导向药物可以应用的领域决不仅仅限于肿瘤。任何在机体内会引起麻烦的细胞,都可以用针对它的导向药物将其清除。导向药物首先在异基因骨髓移植避免移植排斥反应中获得了完全的成功。供体骨髓在体外用免疫毒素将其中的 T 细胞(一种引起移植排斥的主要效应细胞)去除,就可以进行异体骨髓移植,完全避免了移植物抗宿主病(GVHD)的发生。用抗白血病细胞的免疫毒素体外去除自体骨髓中的白血病细胞进行自体骨髓移植,也取得了很好的效果。这些体外应用的研究再次证明,只要导向载体对靶细胞是高度特异的,由其制备的导向药物对靶细胞的杀伤就是高度特异,并且是非常有效的。但是,对肿瘤来讲,导向药物体内应用的效果如何才是导向治疗能否成功的关键。

研究首先在实验动物中进行。一种无毛的裸鼠(nude mouse),它没有胸腺,因此也没有 T 细胞,失去了排斥异体组织细胞的能力。多种人源肿瘤细胞都可以在这种裸鼠体内生长。这种带瘤裸鼠被广泛用于肿瘤生物学以及肿瘤诊断与治疗的实验动物模型。研究发现,静脉注射导向药物后,带瘤裸鼠的肿瘤生长明显受到抑制,一些体积较小的肿瘤甚至可以完全被去除。但人们也注意到,当肿瘤长到一定大小之后,导向药物要完全根除肿瘤则不可能。这主要是由于肿瘤内血管的分布及其解剖特点使导向药物不能充分地与每一个肿瘤细胞结合,这些残存的肿瘤细胞可以继续生长。这说明,导向药物体内应用要比体外复杂得多。紧接着就是直接对肿

瘤患者进行导向治疗。接受治疗的都是晚期肿瘤病人,几乎所有的I期临床研究报告都发现,实体肿瘤导向治疗的效果都不理想,并且还发现了更多的问题。其中最主要的,目前尚无法解决的问题是,导向药物对人体是一种异种蛋白,经血流注入体内会被免疫系统识别,在大约两周的时间内就可以产生抗抗体,或抗导向药物的抗体。这些抗体可以中和再次注入的导向药物,使之失效和被清除。这样,导向药物就不能长期反复使用,其治疗效果自然将受到严重限制。90年代起,肿瘤导向治疗的热潮归于平静,人们开始更理智、更现实地在这个研究领域内不断深入。近5年来,导向药物的研究在两个方面取得了实质性的进展。

1. 基因重组免疫毒素的研制

化学交联法制备导向药物难以标准化,也不可能大规模生产。80年代以来,由于抗体基因结构的阐明,以及基因重组技术的日趋成熟,基因重组抗体的研究取得了迅速的发展。基因重组免疫毒素是在基因工程抗体基础上,将抗体V区基因与毒蛋白的基因,在体外重组后转入大肠杆菌中直接表达产生出来的完整的免疫毒素分子。1989年,乔杜里(Chaudhary)首次将抗Tac(II—2受体 P_{55} 亚单位)抗体的 V_H 和 V_L 基因与绿脓杆菌外毒素 PE_{80} 基因重组,并在大肠杆菌中表达,获得了具有活性的重组免疫毒素,它可以特异杀伤表达II—2受体的靶细胞。以后,用各种导向载体的基因(包括一些细胞因子的基因)与毒素基因重组,获得了多种有活性的基因重组免疫毒素,其中一些已进入临床研究,取得了一定的疗效。基因重组免疫毒素无疑将是今后免疫毒素产业化生产的主要方式,但此类免疫毒素仍然存在异种蛋白引起的免疫应答问题。尽管导向载体,如抗体可以通过基因改造而人源化,但作为“弹头”的毒素仍是来源于植物或微生物,它们对人体仍是一种异体蛋白,在人体内应用时会产生抗毒素的抗体。因此在没有找到理想的人源毒素的情况下,基因重组免疫毒素在人体内长期反复使用仍不可能,其疗效仍将是有限的。

2. 导向药物的临床应用研究

90年代开始,国外导向药物研究的重点转向临床应用,以积累资料,发现问题,提出解决办法。用于治疗导向药物主要是免疫毒素,即抗体与毒素蛋白交联物。其原因是毒素的杀伤能力非常强,理论上一个分子进入细胞就足以杀死该细胞。因此用毒素作弹头,将大大提高这种生物导弹的杀伤力。免疫毒素治疗的肿瘤,临床应用最多的是血液系统肿瘤,如淋巴瘤、何杰金氏病等;实体瘤有黑色素瘤、卵巢癌、大肠癌、乳腺癌等。最近,维泰塔(Vitetta)等比较系统地总结了导向药物经血全身用药治疗各种肿瘤的结果。从疗效上看,血液系统的肿瘤,

如淋巴瘤的效果最好。在8个单独进行的I期临床免疫毒素治疗中,达到部分或完全缓解的比例是12~75%,考虑到所选病例都是晚期病人,而且接受的均为单疗程治疗,所以这个结果还是相当令人满意的。据说,目前已进入市场并已在临床上应用的抗癌药物,在相同的I期临床应用时,90%的药物,疗效都在5%以下。但除淋巴瘤外,其他实体瘤的免疫毒素治疗,对晚期病人均没有什么明显的效果。在毒副作用方面,免疫毒素主要引起毛细血管渗漏综合症,低蛋白血症和肝损伤等。这些毒性作用一般在停药后均可恢复。

导向药物临床应用研究中另一个令人瞩目的领域是,用放射性核素作“弹头”,与抗肿瘤单抗交联后制备的免疫偶联物,对肿瘤进行放射免疫显像(Radioimmunoimaging)和放射免疫治疗(Radioimmunotherapy)。用于联结抗体的同位素有 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{111}In 、 ^{99m}Tc 、 ^{90}Y 等。核素标记的抗体注入患者体内,可定向浓集于肿瘤部位,用 γ 照相机可以获得清晰的肿瘤显像(见封底图)。据报告,全身用药后,可以获得显像的肿瘤,直径最小只有1厘米,因此是一种特异、敏感的肿瘤诊断新技术。用发射高能射线的核素标记的抗体,注入体内可浓集于肿瘤部位,杀伤肿瘤细胞。这实际上是一种抗体导向的肿瘤局部放射治疗。这种方法提高了治疗的效率,却大大地减少了全身化疗对正常组织的损伤。放射免疫显像诊断与放射免疫治疗是目前导向药物研究中最活跃的领域。截止1995年10月,已召开了5届世界性的专题大会,进入临床研究的患者已近万人,其在肿瘤的临床诊断与治疗中的地位已经确立。

二、膀胱癌的放射免疫显像诊断与免疫毒素治疗

在实体瘤的导向治疗中,膀胱癌是一个特例。上已述及,导向药物在体外试管中对肿瘤细胞的杀伤效果是非常好的。膀胱是一个与外界相通的腔形器官,因此在本质上就是一个“肉型试管”。导向药物通过灌注进入膀胱,就可以直接与膀胱癌细胞结合,并有效地将其杀伤。临床的研究表明,抗体经膀胱灌注不会进入血流,反复灌注也不会产生抗抗体。因此导向药物经灌注治疗膀胱癌可以反复多次进行,避免了经血用药时产生的所有问题,因此膀胱癌是目前公认的,最适合于进行导向治疗的实体瘤。目前国外已报告的抗膀胱癌单抗有10多种,其特异性程度不一。这些抗体用放射性核素标记后,对膀胱癌进行放射免疫显像诊断,无论在实验动物,还是在患者体内,均获得了很好的效果。在膀胱癌的导向治疗上,国外已用单抗与阿霉素、丝裂霉

素、蓖麻毒素 A 链等弹头药物交联,制备了不同的抗膀胱癌导向药物。它们在体外杀伤肿瘤细胞和在裸鼠体内抑制人膀胱癌生长方面,都取得了明显的效果,但对膀胱癌病人进行导向治疗的临床研究,至今尚未见报告。

笔者(谢蜀生、俞莉章)1985~1987年在加拿大著名免疫学家迪纳(Diener)教授实验室进修期间,进入导向药物的研究领域。那正是对导向药物充满了乐观气氛的时期。迪纳教授是一个具有哲学思维习惯的科学家,他总能较冷静地对待各种学术思想的潮起潮落。他深知细胞癌变的生物学过程极其复杂,对肿瘤免疫治疗的前景,他一直抱着颇为谨慎的态度。因此尽管当时肿瘤是导向药物研究的最热点,但他却把骨髓移植选作他的研究方向。这样,笔者就从这个角度进入了导向药物的研究领域,主要工作是构建抗 T 细胞免疫毒素和抗白血病细胞的免疫毒素,并将它们应用于异基因骨髓移植和自体骨髓移植。工作是很有效率的。在迪纳教授实验室工作的两年中所受的训练,使笔者终身受益。这不仅表现在科学研究的方法上,更主要的是表现在科学的思维方法上。回国以后,除继续开展骨髓移植和免疫重建的实验研究外(谢蜀生,科技导报,1994;8:11),在肿瘤的导向药物研究上,由于清醒地认识到,当时已经出现了的实体瘤导向治疗的许多问题难以克服,所以笔者选择了在理论上最可能获得成功的膀胱癌作为研究对象。在卫生部和国家教委博士点基金的持续资助下,经过近 10 年的不懈努力,我们对膀胱癌的导向诊断与治疗进行了系统的基础研究,制备了对膀胱癌细胞具有高度特异结合能力的单克隆抗体 BDI₁。此抗体与¹³¹I、^{99m}Tc 交联后,可在移植了人膀胱癌的裸鼠体内获得清晰的肿瘤显像,并可明显抑制肿瘤的生长;与阿霉素、蓖麻毒素、苦瓜毒素交联后,可在体外特异地杀伤膀胱癌细胞和明显地抑制人膀胱癌移植在裸鼠体内的生长(见封三图),而对同时接种的人大肠癌细胞则无作用。在上述研究的基础上,我们进一步开展了对膀胱癌病人的导向诊断与治疗的研究。51 名患者经放射免疫显像诊断后,49 例获清晰的肿瘤显像,最小肿瘤直径仅为 0.5 厘米,充分显示了 BDI₁单抗与膀胱癌细胞的优良的结合能力,从而为膀胱癌病人的导向治疗奠定了基础。在开展膀胱癌病人的免疫毒素治疗的研究之前,我们首先制备了含苦瓜毒素的抗膀胱癌免疫毒素¹³¹I₁-MD。体外和裸鼠体内研究均证明了这个免疫毒素对人膀胱癌细胞有高度特异的强杀伤活性,我们仍然用¹³¹I 标记 BDI₁-MD 免疫毒素,并用它在带瘤裸鼠体内进行放射免疫显像和体内分布的研究,结果获得了清晰的肿瘤显像。量化的分析表明,BDI₁-MD 免疫毒素可在肿瘤(T)内高度浓聚,与正常组织(NT)之

比,其 T/NT 值最大可达 31.6,充分说明了 BDI₁-MD“生物导弹”在体内对人膀胱癌具有优良的识别能力。在此基础上,我们对 24 例膀胱癌患者进行了膀胱灌注的免疫毒素治疗(Immunotoxin Therapy)。其中,1 例经病理切片证实,肿瘤直径为 1 厘米的膀胱癌患者,经免疫毒素 10 次(1 疗程)灌注治疗后,肿瘤完全消失,病理切片检查未见癌细胞,随访 4 个月未见复发。另 1 例多次术后复发的膀胱癌患者,因反复卡介苗治疗形成尿道狭窄,无法进行膀胱镜检查,治疗前彩超发现膀胱侧壁有 1 个直径 1 厘米的乳头状肿物,经免疫毒素灌注治疗 1 个疗程后,彩超复查肿物完全消失,随访至今 14 个月,未见肿瘤复发。另有 2 例原发肿瘤,经 1 个疗程治疗后,肿瘤体积缩小 25~50%,其他 4 例肿瘤患者,经免疫毒素 1 疗程治疗后,肿瘤体积无明显变化。17 例经手术切除肿瘤的患者,免疫毒素灌注治疗 1 个疗程后,除 1 例复发外,其他 16 例随访 2~28 月,无 1 例复发。所有患者在治疗中无任何毒副作用,疗程完成后血清中也未出现抗免疫毒素的抗体。上述疗效均为 1 个疗程后的结果,而膀胱灌注免疫毒素的次数是可以无限的。可以预料,多疗程治疗的效果将会更佳。这些结果充分显示了膀胱癌免疫毒素疗法的巨大潜力。由于膀胱癌是高复发率的肿瘤,免疫毒素在防止术后肿瘤复发方面的效果,尤其值得重视。

目前,国际上实体瘤的导向治疗的效果均不理想,我们的工作是为迄今为止实体瘤免疫毒素治疗中,例数最多、疗效最好的首次报道。为了进一步全面评价膀胱癌免疫毒素治疗的效果,为临床治疗提供一个方便、有效、无创伤性的生物治疗方法,继续有组织地开展大样本的、多方案的临床综合研究是非常必要的。目前,“膀胱癌导向诊断与治疗的实验与临床研究”的课题已由国家自然科学基金委员会作为与澳大利亚的合作项目,报送澳方。此项目如获批准实施,必将在膀胱癌的导向诊断与治疗上取得重要进展。

三、结 语

肿瘤的导向诊断与治疗是随着单克隆抗体技术出现而发展起来的一种肿瘤诊断与治疗的新技术。10 多年来,大量的基础与临床研究证明,这种抗体导向的免疫偶联物在肿瘤的定位诊断上有很好的特异性和敏感性,其不足之处是对设备条件要求较高,并涉及同位素操作,不易在基层推广。在肿瘤治疗上,导向药物的疗效随肿瘤类型不同,而有较大差别。实体瘤的治疗效果普遍不理想,膀胱癌是个特例,值得进一步深入研究。

(下转第 24 页)

系列的行动避免它的发生,如通过改善产品结构、性能、提高产品质量等手段延长产品的生命周期。我们认为认识自然增长的分形规律,需要从事物的整体来考察,从更大层次、更大的系统角度来考察。一般来说,人们对管理对象的控制能力是有局限性的,有的东西可以控制,有的东西就不可以控制。例如,国民收入这样的宏观经济指标的增长,除了因人为的对经济体制的改革影响其增长过程之外,还要受到一个国家的整体文化水平、技术能力、经济基础等制约,而这些都不是短期可以改变的。因此,应用自然增长的分形规律,进行长期的、宏观的较大系统状态行为的预测,其结果具有一定的参考价值。

2. 提供一种解释现实现象与经济管理的理论

产品生命周期不断缩短是企业经营者们面临的一种普遍现象,这可以用自然增长的分形规律加以理解。就某一类产品而言,不断缩短的生命周期反映了该类产品的技术性能正在接近淘汰的末期。在更大的层次规模上讲,不断缩短的许多种类产品生命周期,反映了正在变化着的社会模式。就计算机的情况来讲,大型机的衰退,反映了社会上对便携式、个人计算机产品的需求倾向。近来PC机286、386、486、586的接连出现,暗示了新型的、与原有机种大不相同的新机种正在孕育之中,将成为下一个生命周期较长的一代产品。此外,大量产品生命周期的不断缩短,则可能反映了世界性经济的衰退与停滞。

处于增长过程不同阶段的事物,具有不同的管理特点。当管理的对象,比如说一种产品或整个企业的经营状况,处于高速发展之中,管理上也常常处于一个保守的时期。因为,管理者所面对的一切都在快速地发展,企业上下充满信心,企业容易形成一个整体。企业的管理工作具有规律性、可程序化,在管理上自然也就容易形成中央集权的运作模式,容易形成高度的官僚作风。这一时期管理工作

关注的重点,一般是领导体制建设、控制工作、观念导向、工作改善、企业兼并、扩大投资规模等事项。

当企业的发展处于低速增长时期,增长的波动变得较为明显和频繁,如产品的销售数量的升降起伏,这时企业面临的经营环境是不稳定的。这一时期的到来,意味着企业在发展过程中,一个增长阶段的结束或者新的增长阶段的开始。所以,低速增长时期可以看成是“冒险家的乐园”时期,也是引发企业经营体制深刻变革、启动创新与开发的繁荣时期。在这一时期,诸如企业的分解、分权化运动、内部企业家成长等现象纷纷涌现。管理工作的重点主要涉及诸如再造工程(reengineering)、自主工作(empowerment)、企业文化、规模递减(sizedown)和自组织单元等。

新旧增长阶段的交替中,旧的增长阶段的衰退伴随着新的增长阶段的上升,在低增长速度的前提下出现增长阶段的延长,也不符合自然增长过程的规律性。因此,我们应该提倡“即时创新”,不必等待,等待可能会贻误时机。混沌时期往往也是开始走向繁荣的时期,所以在低速增长的波动时期,管理者抓住机遇,也就抓住了未来;反之,则将被环境条件所淘汰。

3. 其它领域的研究与应用

增长过程是自然界和社会生活中的普遍现象,许多增长过程也都存在着增长的阶段性。这些都使得自然增长过程的分形规律的研究与应用,具有广阔的前景。如果说一个人的生命能力能用一个累加量来描述,那么,人在幼儿时代生病的频繁与老年时代的相似之处,就可以用自然增长的分形规律来解释。如果这一假定成立的话,它对人们的医疗保健将有重要意义。此外,一个企业的发展经历、某项技术水平的提高、一个社会演变等过程,都有待用自然增长的分形规律加以研究与应用。

(责任编辑 肖庆山)

(上接第20页)

近10年来,随着生物技术的发展,肿瘤生物治疗正在兴起。这种新疗法的效果究竟如何,由于应用历史不长,目前尚难定论,其答案只能从大量的临床应用研究中来。目前我国有关各种生物治疗的临床资料,包括疗效和毒副作用等主要来自国外的文献。国内对肿瘤生物治疗的反应(如肿瘤导向治疗和基因治疗等)常随着国外的评论而忽冷忽热。这是不正常的。以大样本的观察为主的研究领域,我国应当能提供更多的经验。笔者认为,对以生物高技术为基础的新疗法的临床研究,应当积极地、有组织地开展,而不应控制过严。中医中药是世界上实践最早的肿瘤生物疗法,几千年来的实践积累

了丰富的资料和经验。现代生物技术开辟了肿瘤诊断与治疗的新领域,在利用这种新技术、新疗法造福于人类方面,我国完全应该,也有可能走在世界的前列。

参考文献

- [1] Thrush G R, Vitetta E S. et al; Immunotoxin; An update. Ann. Rev. immunol, 1996, 14: 49—71
- [2] Russell P J et al; The use of monoclonal antibodies for the diagnosis and therapy of bladder Cancer. Bri. J. Urology 1993, 71: 121—129

(责任编辑 肖庆山)