

“魔弹”——保罗·艾利息的梦想与现实 “Magic Bomb”

王庆诚

(中国科学院上海生物化学研究所, 研究员)

保罗·艾利息 (Paul Ehrlich) 是德国伟大的细菌学家, 由于他的理论出色地阐明了免疫性的化学基础, 于 1908 年同俄国细菌学家梅契尼可夫 (Elie Metchnikoff) 分享诺贝尔生理学医学奖。他的另一项举世闻名的贡献是所谓的“魔弹”, 抗梅毒药——“606”的发明。“606”是一种有机砷化物, 其实并非神药, 它的治疗过程缓慢、痛苦, 且具有风险, 但它对梅毒的治疗确实有效。

正是这位免疫学和化学疗法的创始人艾利息, 在本世纪初曾设想用对器官具有亲和性的载体物质将药物或毒物带到病灶上去, 以制成疗效高但对正常的组织或细胞损伤甚小的理想药物——“魔弹”。当时的“魔弹”, 用今天的话讲, 就是“导弹”。我国目前对于艾利息设想的这种“导向药物”一般通俗地称为“生物导弹”。艾利息超越时代的这一天才设想, 在将近半个世纪里, 由于技术上的困难, 在实践上一直未见动静。直到 1948 年, 普雷斯曼 (Pressman) 和凯利 (Keightley) 重新明确提出“用抗体作为细胞生长抑制剂和放射性同位素的载体”, “导向药物”的研究才开始逐渐进入实践阶段。1951 年 Beierwaltes 尝试用碘-131 标记的抗体治疗人黑色素细胞瘤; 1953 年普雷斯曼和科恩戈尔德 (Korngold) 尝试用碘-131 标记抗体检测大鼠肿瘤; 1958 年 Mathe 等将氨甲喋呤连接到抗体上, 用以治疗 L1210 白血病; 1970 年 Moolten 和 Cooperband 将白喉毒素连接到抗体上制成免疫毒素, 以及 1972 年 Ghose 等将氯丁氮芥连接到抗体上用以治疗人黑色素瘤等都是抗体为载体的“导向药物”研究中开创性的先驱工作。这些工作论证了以抗体导向的药物有一定的选择性, 但当时所用的多克隆抗体专一性不很理想, 加上在技术上尚处于雏形阶段, 因此效果有限。

1975 年科勒 (Kohler) 和米尔斯坦 (Milstein) 发明了由杂交瘤生产单克隆抗体的技术, 从此导向药物进入了以单抗导向为主流的时代。单抗不仅可以识别特定的抗原, 而且可以识别同一抗原分子上不同的决定簇, 因此利用单

抗可以识别肿瘤细胞表面特征性的抗原, 将它们与正常细胞区分开来。如同军用的导弹一样, 导向药物也要求它们的运载体能尽可能地精确导向。迄今还没有人宣称自己的抗肿瘤单抗绝对不与正常组织发生交叉反应, 但有不少实验室确实已筛选到一批相当专一的针对肿瘤相关抗原的单抗。它们远较其他载体优越, 且可适用于各种肿瘤, 近年来导向药物的迅速发展是同单抗技术的兴起密切相关的。

导向药物的发展概况, 现就“弹头”分成三大类概述如下。

一、放射性同位素标记抗体

放射性同位素碘, 如 ^{131}I 和 ^{125}I 已被广泛用来标记抗体。特别是 ^{131}I 既可用于肿瘤定位, 又可用于肿瘤治疗。由于 ^{131}I 和 ^{125}I 的供应方便, 标记技术又成熟, 因此迄今仍是最重要的“弹头”之一。碘标的最大缺点是体内存在脱卤酶, 会使碘从抗体上脱落, 从而使肿瘤对非肿瘤组织的放射性强度的比降低, 严重影响碘标抗体定位或治疗肿瘤的效果。近年来, 科学家们从两个方面来解决这个问题。一方面, 设计了几种新的碘标方法。例如 Cytogen 公司用 2-羟基-5-碘-3-甲基苯甲酰肼与高碘酸氧化的抗体反应, 抗体上的糖氧化开裂产生的醛基与碘标酰肼生成西佛碱。这种标记产物的放射性碘很少被甲状腺以及其他器官吸收, 从而改进了其肿瘤定位的效果。另一方面, 通过双功能螯合剂如 DTPA 将放射性金属同位素标记到抗体上去的技术发展很快, 由于 ^{111}In 和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 等金属同位素半衰期短, 而且能量范围比 ^{131}I 更合适, 因此在肿瘤定位上比放射性碘效果更好。就肿瘤治疗而言, γ -射线因穿透能力太强, 不太理想。近年来发现 ^{90}Y 是很有希望的放射性“弹头”, 它的半衰期 (64 小时) 和发射的 β 射线的能量范围都较 ^{131}I 理想。Order 等用 ^{90}Y 标记抗人铁蛋白抗体治疗肝癌, 取得了很好的疗效, 而且使用 ^{90}Y , 病人不用防护, 可大大降低医疗费用。

另一条正在发展的途径是利用 α -射线治疗肿瘤。Cytogen 公司用发射 α -射线的 ^{212}Bi 标记的抗体治疗接种于裸鼠身上的人结肠癌,以未标记抗体作对照, ^{212}Bi 治疗组的平均肿瘤体积比对照组小90%以上。由于 α -射线的射程仅相当于一个细胞的直径,且对细胞的杀伤能力在各种射线中是最强的,因此是导向药物比较理想的“弹头”,值得探索、开发。此外 ^{10}B 在热中子照射下会变成 ^7Li 并发射 α -粒子的特性也引起许多科学家的注意。以 ^{10}B 笼状化合物标记抗体,在慢中子照射下可以有选择性地杀伤肿瘤细胞,在体外实验中已得到证实。目前在一个抗体分子上携带上千个 ^{10}B 原子已经成功,但即使这样,也可能只能在一些抗体对应的表面抗原丰富的细胞($>10^6$ 抗原分子/细胞)才会有效地杀伤细胞,所以这项技术还须继续改进。尽管有许多困难, α -粒子的优越性是十分诱人的,所以 ^{10}B 加慢中子照射的方案吸引不少硼化学、反应堆、免疫学、生物化学和医药等各方面专家联合起来攻关,构成了一个独特的领域,可能在黑色素瘤、脑瘤等肿瘤的治疗上会有一些效果。

二、免疫毒素

免疫毒素的“弹头”以细胞毒为主。代表性的“弹头”为细菌毒素,如白喉毒素和绿脓杆菌外毒素A以及植物的致核糖体失活蛋白(RIP)。上述细菌毒素是分子量在60 000 D左右的蛋白,能催化失活肽链延伸因子II,从而使蛋白质生物合成停止。它们由A、B两部分肽链构成,A链具上述酶活性,B链能与细胞表面的受体结合,并能在膜上打洞,帮助A链进入胞浆。

RIP是存在于植物中的一个很大的蛋白质家族,它们能使真核细胞的核糖体失活,因此称为致核糖体失活蛋白(简称RIP)。RIP可以分为两大类型。I型是单链的分子量在30 000 D上下,仅具失活核糖体的功能,典型的如美洲商陆抗病毒蛋白(PAP),肥皂草籽的RIP(Saporin),多花白树的RIP(gelonin)和天花粉蛋白等。II型由A、B两条链构成,中间由一个二硫键相连。A链的结构与功能均与I型RIP相似,B链具凝集素活性,能与多糖的半乳糖末端结合,此外还具有帮助A链穿透细胞膜的功能。蓖麻毒蛋白(ricin)和相思子毒蛋白(abrin)是典型的II型RIP,分子量均在60 000~70 000 D之间,B链比A链略长一点。上述两种毒蛋白的毒性十分强烈,微克量可致小白鼠死亡,但它们的A链或I型RIP由于不具结合细胞的功能,因此毒性要低上千倍。II型RIP与抗体交联生成的免疫毒素,在乳糖存在下其毒蛋白本身与细胞的非专一结合被竞争抑制,因此仍可有选择性地杀伤靶细胞,这个方案已被应用于体外处理骨髓,以去除其中的T细胞或白

血病细胞。1983年美国明尼苏达医学院首次用这个方案去除供体骨髓中的T细胞,成功地消除了异体骨髓移植中移植物对宿主的排斥反应。最近Xoma公司在用免疫毒素体外处理供体骨髓的同时,于移植后又在接受者身上注射抗人T细胞的由蓖麻毒蛋白A链制成的免疫毒素,取得很好的效果。据称这个方法如临床试验成功,可能60~70%找不到配伍骨髓的人也能作异体骨髓移植。这个方案在我国可能特别值得重视。由于观念上的问题,我国目前很难建立一个志愿捐献骨髓者的网,加上大多数家庭是独生子女,在兄弟姐妹中找配伍者也非常困难,上述方案如能在我国实用,不仅在技术上是进步,且对我国骨髓移植技术的发展具有战略性的意义。

虽然有人在研究结合位点被封闭的毒素与抗体的复合物,但还没有看到有关它们体内效果的成功报告。体内使用的免疫毒素目前都由抗体与毒蛋白A链或A链样蛋白构成。不污染B链的A链的毒性比天然毒素低二到三个数量级。由它们制成的免疫毒素的细胞专一性几乎完全取决于所用抗体。和放射性同位素标记抗体不一样,这些毒蛋白分子只有进入胞浆后才能抑制蛋白质生物合成,因此免疫毒素与细胞结合后的内吞过程和此后毒素分子从吞噬泡穿透到胞浆的过程十分关键。内吞容易与否同抗体针对的抗原性质有很大关系。同样的“弹头”与不同单抗结合,即使对同一种细胞,它们的细胞毒性常常差别很大。因此要求所用单抗不仅专一,而且要求其针对的抗原的细胞表面的抗原密度尽可能地大,且一旦相互结合后,很容易内吞,同时也要求抗原-抗体的结合常数尽可能地大。不同“弹头”的性质也有不少差别。由于蓖麻毒蛋白A链比白喉毒素A链更疏水,前者较易穿过膜,因而制成的免疫毒素对靶细胞的杀伤力也强。近年来,细菌毒蛋白A链已很少使用了。增强免疫毒素作用的另一条途径是使用一些小分子化合物,如氯化铵、氯喹等升高溶酶体的pH,以减少溶酶体对毒素分子的降解,从而提高免疫毒素活性。在这类化合物中,最有希望的是巴西金叶树甙(monensin)。它在不到100 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下即可明显增强免疫毒素效果,在体外实验中,有的免疫毒素的细胞毒性甚至被增强几万倍。它的整体毒性甚低,比较有望在体内作为增强剂应用。

在免疫毒素研究中,蛋白质工程具有巨大的潜力,并已取得一批引人注目的成果。人们一直设想制成一种新的毒素,其B链不具结合功能,但仍能帮助A链透过膜进入胞浆。利用点突变技术,尤尔(Youle)等人已制成了这样一种新的白喉毒素。由它制成的免疫毒素,对靶细胞的细胞毒性与用天然毒素制成的相当,但对非靶细胞的毒性又与由A链制成的相当。这样就解脱了这样一种矛盾,即用完整毒素制成的免疫毒素杀伤力强,但不专一;而用A链制成的免疫毒素专一

性好,但往往杀伤力较天然毒素低几个数量级。Pastan 实验室在基因水平上去掉绿脓杆菌外毒素 A 的结合区段,制成新的毒素 PE40。他们将 PE40 的基因分别与上皮生长因子 (EGF)、肿瘤生长因子 (TGF)、白细胞介素-2 (IL-2)、T-细胞表面抗原 CD-4,以及抗体重链和轻链的可变区 (Fab) 等的基因融合,得到了各种融合蛋白,它们可以说是不用化学交联制成的基因重组的免疫毒素。其中 IL-2-PE-40 已在动物实验中证明对抗移植排斥反应和治疗自身免疫引起的风湿样疾病有效,原因是 T 细胞在免疫活化后其 IL-2 受体量大增,所以容易为 IL-2-PE-40 杀死。基于艾滋病毒 (HIV) 感染后的细胞表面会表达病毒外壳蛋白,其中有些蛋白具有结合 CD-4 能力,因此 CD-4-PE-40 可以有选择性地杀死病毒感染细胞,但不杀未感染细胞,从而中断了 HIV 的复制。这个方案已获 FDA 批准,可以进行临床试验。

在实体瘤及白血病的治疗方面,目前已有十来家实验室和公司在进行临床试验,其中走得最远的是美国的 Xoma 公司。早在 1984 年底,他们已开始抗黑色素瘤免疫毒素的 I 期临床试验,现正在进行 III 期临床试验,他们的抗结肠癌的免疫毒素也已完成了 I 期临床试验。所有接受抗黑色素瘤免疫毒素的病人都已转移,许多人经化疗无效。在第一期试验时,22 个病人在治疗一年后,有一半存活,其中一人的转移灶经 CT 检查已消失,另有 5 人病情稳定。综合第 I、II 期试验结果,他们认为其效果与历史上用化疗医治类似病人的效果相当,但因免疫毒素的疗程仅 5~10 天,副反应是适度的,因此病人的痛苦比化疗要小得多。1983 年,英国《自然》(Nature) 杂志的一篇评论还称免疫毒素的体内效果十分勉强。但 Xoma 公司在 1984 年底即开始临床试验,不能不说是一项惊人的进展。况且目前 Xoma 临床试验所用免疫毒素尚是原型,还有许多改进的余地。在最近五六年,免疫毒素的研究越来越深入,发展了许多新技术,新设计,因此有理由期望它们在临床上取得更好的效果。

三、常规抗癌药物—抗体复合物

常规抗癌药物,如阿霉素、柔红霉素、丝裂霉素,氨甲喋呤和长春新碱等已与抗体制成复合物,显示了一定的选择性肿瘤杀伤作用。通常一个抗体分子被十几个药物分子修饰不至于严重影响它与抗原的结合活性,但连接的药物分子过多,难免造成抗体活性丧失。为此,有些实验室先将药物分子大量连接到葡聚糖,多聚赖氨酸或人白蛋白等高聚物上,然后再与抗体连接,这样一个抗体分子可以携带几十甚至上百个药物分子,从而提高了免疫复合物杀伤肿瘤的能力。在

细胞内,游离药物的作用远比药物—抗体复合物强烈,于是有人利用乌头酰胺在 pH4 时会自行分解的特性,借助乌头酸作桥将药物与抗体连接。在细胞吞噬泡内, pH 值通常在 4 左右,因此药物可从抗体上释放出来,增强了它们的效果。由目前已发表的报告看,似乎 Lilly 研究室的长春新碱类药物—抗体复合物的动物体内实验较为成功。但与前二种免疫复合物相比,至今还看不到很成功的临床试验报告。人们原先认为,这些已经临床实用的药物,经抗体导向后,应该最先走上临床试验,因为它们的风险最小。但遗憾的是,迄今它们的疗效仍是一个问题。与免疫毒素相比,这些药物的杀伤力太小。以化疗药物中最有效的阿霉素为例,大约要 5×10^7 个分子才能杀死一个细胞,而毒蛋白 A 链分子通常只要几个到几十个分子即可杀死一个细胞,即使一个抗体分子接上一百个药物分子,它们仍旧不能同免疫毒素的杀伤力相比拟。细胞表面的抗原是有限的,我们不可能依靠大大增加免疫复合物浓度来提高杀伤力,因为与抗原的结合是会饱和的。最近,NeoRx 公司开始转向研究霉菌毒素。它们是迄今发现的小分子毒物中最强烈的一类,可与绿脓杆菌外毒素 A 相比。由它们制成的免疫毒素对靶细胞的毒性也可同由 RIP 制成的免疫毒素相近,因此是很值得注意的一个动向。

用抗体导向的药物面临的一个共同的问题是,迄今大量使用的单抗多为小鼠或大鼠的免疫球蛋白,它们进入人体后会产生抗原体,导向药物也因此不能连续使用较长时间,通常只用一个疗程(一般不超过十天)。对于这个问题,近期的解决办法是导向药物与免疫抑制剂合用。Xoma 公司证明免疫毒素与环磷酰胺合用,在一个月內,抗原体在血液中的浓度处于相当低水平。用人源单抗代替鼠单抗是根本的解决办法。可惜人人杂交瘤技术的进展相当缓慢,近期内这个方案离实用甚远。替代的方案是发展嵌合抗体。其基本设想为:根据晶体衍射分析研究结果,发现人与鼠的免疫球蛋白的重链与轻链可变区的特殊结构十分相似,而鼠抗人肿瘤单抗是经过艰苦努力才筛选到的,因此应力求保持其结合部位不变。利用基因重组技术,将特定鼠单抗上的结合部位顺序转到人免疫球蛋白基因可变区的结合部位上,这样产生的嵌合抗体除了结合部位是鼠的,从而保留原有单抗的专一性外,其余部分均为人源的。这样的嵌合抗体可望大大降低其免疫原性,在人体血流内存留时间延长,而且抗体依赖的补体活性及杀伤细胞活性也可能增强。嵌合抗体技术的发展非常快,一旦实用,将在导向药物研究上发生革命性的变化。小分子药物—抗体复合物如采用嵌合抗体制备,因其免疫原性低,可能会受到更大的重视。而免疫毒素研究者

(下转第 54 页)

1.自然灾害系统是由气象灾害系统、海洋灾害系统、地质灾害系统、生物灾害系统所组成。每一个子系统主要是由所在圈层的物质运动和变异形成的,并受到地球整体运动的控制和其它圈层运动变化乃至天文的影响。每一个子系统又包含了若干个范围小的和更小的子系统,如地质灾害系统中包含地震灾害系统、环境地质灾害系统、山地地质灾害系统、平原地质灾害系统等。每一个更小的子系统,有自身运动的特殊性,但又受地质系统的总体结构和演变的制约。

2.自然灾害区划具有层次性。每一个灾害区都可以划分为若干不同规模、不同层次的危害小区。如介于长白山—辽东—胶东—东南沿海灾害带与大兴安岭—太行山—武陵山—十万大山灾害带之间的中国东部灾害区,被阴山、秦岭、南岭分割为东北灾害区、华北灾害区、华中灾害区、海南灾害区等。华北灾害区又可根据其特点分为滨海、燕山、西山、冀中等灾害小区。

3.自然灾害活跃期中存在不同尺度的周期。例如,在百年尺度的地震与旱涝周期中存在22年周期、11年周期等;海平面变化11年周期中包含5~6年、年、月、日周期变化等。

4.自然灾害的发展程序具有层次性。如台风可引起暴雨,暴雨引起洪水,洪水引发泥石流和滑坡,滑坡和泥石流又可能阻塞河流,破坏堤坝,并再次发生洪水,洪水使农作物受害……等。

总之,只要按照自然灾害系统层次性的客观规律,由个别而总体,由小而大,由局部而整体进行追踪,就不难发现它们的产生与地球各圈层物质的运动变化,乃至地球的整体运动的系统关系。

四、自然灾害系统的最优化分析和减灾系统工程

自然灾害系统的形成,虽然受着来自天、地、人诸方面的多因子的影响,但其中必有一种

起着主导的控制作用;每一个灾害系统中虽然包罗多种多样的灾害,但必然有原生和次生之分,主要和次要之别。因此,对自然灾害系统进行最优化分析,抓住自然灾害系统形成的主导因素和自然灾害系统中的原生灾害和主要灾害,显然是研究自然灾害发生、发展规律和制定减灾对策的关键。

比如,沿海地带的风暴潮、暴雨、洪涝、滑坡、泥石流等灾害,常常是台风引发的,显然研究台风的登陆时间、入径,及时发出预报和预警,采取适当的防御措施,是减灾的关键。再如,华北地区近年来许多地方发生了地裂缝、地面沉降,并导致海水入侵、土地盐碱化和土地沙化等灾害。究其原因,除干旱因素外过量抽取地下水是主要原因,因此制定科学的水法,对减轻该地区的灾害损失显然具有重要意义。

类似的例子不胜枚举。这些事实使我们不能不首先把所有的自然灾害看成一个相互联系的整体系统,并从整体运动的角度去研究。当天体与地球运动进入活跃时期,地球各圈层子系统必随之发生整体的或局部的变异,加之生物和人类活动的影响,一系列表现于不同子系统内的不同灾种的自然灾害便会相继产生或相伴而生。鉴于此,只有用系统科学的方法研究整个灾害系统的规律,才能掌握各个灾种的发生发展规律,这显然与系统论中最优化的分析方法是完全符合的。

由于自然灾害研究涉及范围极为广泛,囿于个别部门分门别类进行研究的方法,已不适应现代科学的发展和社会发展的需要,因此必须在各学科各部门工作基础上进行更大范围的交叉、综合,将我国悠久而丰富的史料与现代监测资料相结合,对天、地、生、人这个复杂的巨系统进行研究,提高灾害预测预报水平,攻克减灾措施中关键性的、共性的技术难关。

综上所述,只有把减灾看作一项系统工程,才符合最优化的原则。

(责任编辑 肖庆山)

(上转第28页)

可能会寻求更多种的“弹头”毒素制成嵌合抗体复合物,更替在临床上使用。

在美国,研究三大类型抗体导向药物的人员,大约各占1/3。目前各种方案孰优孰劣,尚无定论。况且许多事物往往各有利弊。例如发射 β 射线的同位素可杀死肿瘤周围一圈细胞,因此杀伤肿瘤较为彻底,但非专一毒性肯定也随之增强。反之其他类型导向药物可能专一性较好,但如遇有些细胞的对应抗原表达甚低,治疗时肿瘤可能会产生抗药变种。又如抗体小片段Fab穿透肿瘤的能力可能较强,但因其在血流中清除速度远较完整单抗为快,因此迄今仍难有定论说Fab

比完整IgG好。

抗体导向药物目前已跨出了襁褓时代,但远未成熟。它们的前景一直有争议。笔者认为,在科学史上,许多新发明,新学科都经历过一段艰难的开创和探索阶段,但由于它们的基本设想十分诱人,一旦突破将给人类带来极大的利益,因此能吸引大批杰出的专家为之献身。导向药物的发展潜力甚大,特别在免疫毒素和嵌合抗体的研究上进展很快,新设想层出不穷,正处在上升阶段。我们热切期望导向药物能逐步接近艾利息“魔弹”的理想,成为治疗肿瘤的有力的新武器,造福全人类。

(责任编辑 肖庆山)