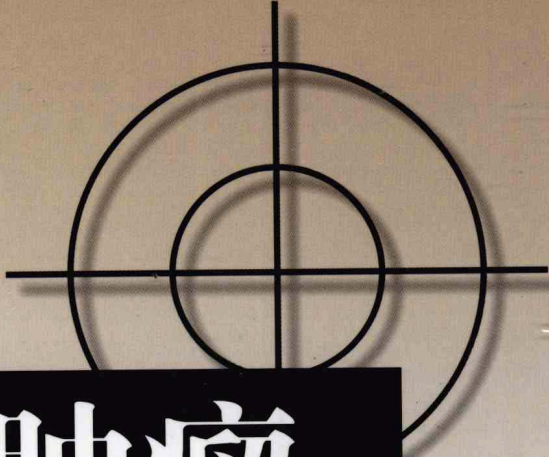
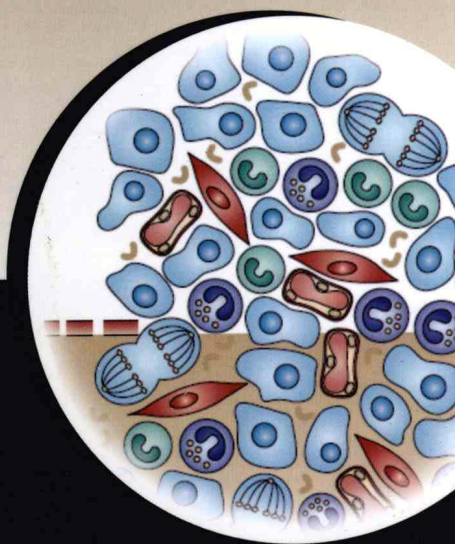




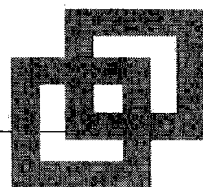
肿瘤

分子靶向治疗

主编 黄文林



人民卫生出版社



肿瘤分子靶向治疗

主 编 黄文林

副主编 管忠震 张晓实 郭亚军
朱孝峰 刘 强 陈国强

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

肿瘤分子靶向治疗/黄文林主编. —北京: 人民卫生出版社, 2009. 5

ISBN 978-7-117-11332-8

I. 肿… II. 黄… III. 肿瘤—治疗学 IV. R730.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 029615 号

肿瘤分子靶向治疗

主 编: 黄文林

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 中国农业出版社印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 889×1194 1/16 印张: 32.25

字 数: 1030 千字

版 次: 2009 年 5 月第 1 版 2009 年 5 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-11332-8/R · 11333

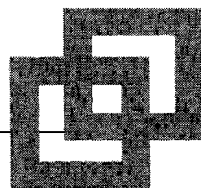
定 价: 74.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

编委

(以姓氏笔画为序)



- 马 军 (哈尔滨血液病研究所)
- 云径平 (中山大学肿瘤防治中心)
- 朱孝峰 (中山大学肿瘤防治中心)
- 刘 强 (中山大学肿瘤防治中心)
- 吴江雪 (中山大学肿瘤防治中心)
- 陈国强 (上海交通大学医学院)
- 张 力 (中山大学肿瘤防治中心)
- 张必良 (中国科学院广州生物医药与健康研究院)
- 张晓实 (中山大学肿瘤防治中心)
- 宋立兵 (中山大学肿瘤防治中心)
- 宋丽萍 (中国科学院微生物研究所)
- 姜文奇 (中山大学肿瘤防治中心)
- 夏建川 (中山大学肿瘤防治中心)
- 高诗娟 (中国科学院微生物研究所)
- 郭圣荣 (上海交通大学药学院)
- 郭亚军 (第二军医大学肿瘤研究)
- 黄文林 (中山大学肿瘤防治中心)
- 黄俊琪 (中山大学免疫学教研室)
- 曾木圣 (中山大学肿瘤防治中心)
- 管忠震 (中山大学肿瘤防治中心)

肿瘤靶向治疗是 20 世纪肿瘤分子生物学的标靶干预研究的标志性成果,并大大促进了肿瘤靶向药物的临床研发,同时,该技术不断渗透到其他领域,使之得到发展,并发展了与其相关的科学领域及产业。如何从传统的细胞毒抗肿瘤药物发展到肿瘤特异性抗原及关键分子靶标的结合和干预,为肿瘤治疗及肿瘤标志物的研究提出了新的课题和思路。

肿瘤分子靶向治疗包括单克隆抗体和小分子化学物质,从理论的建立到首个靶向药物的临床应用经历了近 30 年的研究历程,并逐渐成为使广大肿瘤患者收益的分子靶向药物。

肿瘤分子靶向顾名思义指治疗药物到达肿瘤发生的重要分子靶点,通过与受体或者调节分子结合,下调这些受体的表达或下游基因的活化,达到程序化逆转肿瘤细胞分化的能力,或者间接靶向肿瘤新生血管,使肿瘤细胞缺血而产生凋亡、坏死。

肿瘤分子靶向治疗的靶位种类繁多,随着肿瘤遗传学及肿瘤分子生物学的研究发展,使越来越多的潜在肿瘤发病机制及病理分子基础被揭示出来。针对这些关键分子靶点,通过生物信息学及计算机模拟,研究人员可设计与肿瘤标靶分子具有高亲和力的化学分子,并发展成肿瘤靶向药物。

本书共三篇,第一篇包括肿瘤细胞分化、分子病理,细胞周期、信号传导等章节以使读者了解肿瘤的基本特征;第二篇从肿瘤干细胞、血管生成及单克隆抗体等进一步引申肿瘤靶向治疗的相关领域;第三篇重点介绍了目前已经用于临床的肿瘤分子靶向药物的临床应用实例。从理论到应用较系统地介绍了肿瘤靶向治疗药物的历史及现状,供广大肿瘤专业研究人员、临床医师、药物研发科技人员及相关专业的学生阅读。在该书的编写过程中,中山大学肿瘤防治中心谭丽、左喻芳、燕海姣、嘉红云、应小芳、江山、邓蓉、孟祥祺、汪惠等同志承担了大量的辅助工作,才使书稿能顺利完成,在此一并致谢。

由于本人水平有限,书稿难免会出现错误,望广大读者见谅,并在使用过程中提出宝贵的意见。

主编 **黄文林**

2008 年 12 月于广州

目 录

总论	1
----	---

第一篇 肿瘤发生的分子机制

第一章 肿瘤信号转导	17
第一节 蛋白酪氨酸激酶信号转导途径	17
第二节 细胞程序性死亡的信号途径	33
第二章 细胞周期异常与肿瘤发生	45
第一节 细胞周期与肿瘤起源学说	45
第二节 细胞分裂与基因组稳定性	48
第三节 细胞周期调控蛋白与肿瘤发生	52
第四节 细胞周期监控机制的破坏与基因组紊乱	57
第五节 针对细胞周期调控的肿瘤靶向治疗	64
第三章 肿瘤转移	69
第一节 肿瘤浸润及转移学说	69
第二节 肿瘤转移的过程	72
第三节 肿瘤转移的微环境	78
第四节 肿瘤转移的分子机制	80
第五节 靶向治疗	90
第四章 肿瘤血管生成	98
第一节 肿瘤的血管生成	98
第二节 血管生成因子	99
第三节 血管生成抑制因子	106
第四节 原癌基因及抑癌基因在肿瘤血管生成中的作用	114
第五节 周细胞与肿瘤血管生成	117
第六节 针对肿瘤血管的靶向治疗	119
第五章 肿瘤干细胞	126
第一节 概述	126
第二节 肿瘤干细胞的生物学性状及分离鉴定	130
第三节 干细胞与恶性肿瘤发病的新假说	134
第四节 肿瘤干细胞与恶性肿瘤发病机制的研究	143
第五节 肿瘤干细胞与肿瘤耐药性	148
第六节 肿瘤干细胞的靶向治疗	151
第六章 肿瘤微环境	159
第一节 肿瘤细胞的特性及其调控机制	159

目 录

第二节 肿瘤间质	161
第三节 肿瘤微环境对血管的影响	168
第四节 肿瘤微环境对肿瘤免疫的影响	170
第五节 针对肿瘤微环境的靶向治疗研究进展	173
第七章 肿瘤分子病理	178
第一节 肿瘤分子病理研究的目的意义	178
第二节 肿瘤的分子病理	183
第三节 分子病理检测方法	188
第八章 肿瘤标志物与靶向治疗	192
第一节 肿瘤标志物概念	192
第二节 肿瘤标志物分类	192
第三节 常见肿瘤标志物	194
第四节 肿瘤标志物与靶向治疗	202

第二篇 肿瘤分子靶向治疗的手段

第九章 基于细胞分化的肿瘤靶向治疗	207
第一节 细胞分化的基本特征和机制	207
第二节 细胞分化异常与肿瘤	210
第三节 肿瘤诱导分化治疗	216
第十章 肿瘤靶向性抗体	222
第一节 人源化抗体及全人源抗体	222
第二节 肿瘤抗原	225
第三节 靶向表皮生长因子受体的单抗	229
第四节 针对白细胞分化抗原的抗体	235
第五节 靶向血管内皮生长因子的抗体	239
第十一章 免疫毒性的肿瘤靶向治疗	249
第一节 靶向性细胞毒治疗途径	249
第二节 抗体与毒素耦联——化学耦联抗体与纯化	251
第三节 Shiga 样毒素抗肿瘤	258
第四节 TK 基因细胞毒抗肿瘤	260
第十二章 肿瘤免疫学基础	264
第一节 免疫系统的基本组成和功能	264
第二节 免疫调节机制	273
第三节 肿瘤免疫逃逸机制	278
第四节 肿瘤免疫学理论的发展	284
第五节 化学治疗对肿瘤免疫的影响	289
第六节 肿瘤免疫治疗	293
第十三章 肿瘤的细胞免疫靶向治疗	305
第一节 T 细胞的靶向抗肿瘤治疗	305
第二节 自然杀伤细胞的靶向抗肿瘤治疗	314
第三节 树突状细胞的靶向抗肿瘤治疗	317
第十四章 RNAi 肿瘤治疗	324
第一节 RNAi 的分子机制和方法	324

第二节	RNAi 在肿瘤基因功能研究和靶标确认中的应用	337
第三节	RNAi 在肿瘤治疗中的应用	341
第四节	RNAi 肿瘤治疗研究中的最大挑战	346

第三篇 肿瘤分子靶向治疗药物及临床应用

第十五章	抗肿瘤小分子靶向药物	361
第一节	蛋白酪氨酸激酶抑制剂	361
第二节	非受体酪氨酸激酶抑制剂	367
第三节	蛋白酪氨酸激酶下游途径关键分子抑制剂	369
第四节	抗血管生成抑制剂	373
第五节	凋亡诱导剂	376
第六节	端粒酶抑制剂	376
第七节	细胞周期蛋白激酶抑制剂	378
第十六章	抗癌药物纳米粒的肿瘤治疗	386
第一节	抗癌药物纳米粒的肿瘤靶向性	386
第二节	肿瘤组织靶向性纳米粒	392
第三节	肿瘤细胞靶向性纳米粒	394
第四节	特定器官或肿瘤靶向性纳米粒	397
第五节	特异性抗肿瘤药物	401
第十七章	生物治疗在实体瘤的临床应用	410
第一节	小分子靶点药物	410
第二节	单克隆抗体	416
第三节	生物活性蛋白质、核酸和细胞	419
第四节	生物治疗的毒副反应	421
第五节	生物治疗面临的挑战和发展趋势	425
第十八章	白血病的分子靶向治疗	431
第十九章	靶向药物治疗实例分析	466
第一节	靶向药物治疗非小细胞肺癌实例分析	466
第二节	靶向药物治疗大肠癌实例分析	475
第三节	靶向药物治疗乳腺癌实例分析	483
第四节	靶向药物治疗淋巴瘤实例分析	489
第五节	靶向药物治疗白血病实例分析	492
第六节	靶向药物(索拉非尼)治疗晚期肾癌实例分析	494
第七节	靶向药物(索拉非尼)治疗肝癌实例分析	498
第八节	靶向药物(伊马替尼)治疗胃肠间质瘤实例分析	502

多少世纪以来,随着工业化革命的兴起,肿瘤像幽灵一般死死地纠缠着人类,每年要吞噬上百万人的生命。据世界卫生组织最近公布的统计资料,目前每年新增肿瘤患者约 700 万人,死亡的肿瘤患者人数约 500 万人,约每 6 秒钟就有一人死于肿瘤。

传统的肿瘤治疗方法如:化学疗法、放射线疗法及外科手术切除疗法虽然取得了一定的疗效,但由于这些治疗手段缺乏靶向性,在治疗的过程中会杀死大量的正常组织细胞,从而导致如机体免疫力下降等治疗的副作用。所以肿瘤靶向治疗越来越受到学界的重视,目前已经成为肿瘤治疗的研究热点。肿瘤分子靶向治疗是指在肿瘤分子生物学的基础上,将与肿瘤相关的特异分子作为靶点,利用靶分子特异制剂或药物进行治疗的手段。这种以病变细胞的异常分子为靶点的治疗,相对于手术、放疗、化疗三大传统治疗手段具有最彻底的“治本”功效。

早在 100 年前,Paul Ehrlich 就提出了“魔法弹头”的概念,即利用抗体靶向性将药物的细胞毒性集中在肿瘤细胞而使正常的组织不受影响。随着近年来分子生物学技术的不断发展,肿瘤分子靶向治疗技术也有了长足的进步。该领域主要包括具有靶向性的表皮生长因子受体阻断剂,针对某些特定细胞标志物的单克隆抗体,针对某些癌基因和癌细胞的遗传学标志的药物,抗肿瘤血管生成的药物,抗肿瘤疫苗,基因治疗等。分子靶向药物实际属于病理生理治疗,也就是封闭肿瘤发展过程中的关键受体和纠正其病理的过程。它们在临床上的共同特点是:具有靶向性;具有非细胞毒性作用;具有调节作用和细胞稳定(cytostatic)的作用;临床研究中不一定要达到剂量限制性毒性(DLT)和最大耐受剂量(MTD);毒性的作用谱和临床表现与现在常用的细胞毒类药物有很大区别;与常规治疗(放疗、化疗)合用可能有更好的协同效果。

一、抗体依赖性肿瘤分子靶向治疗

(一)肿瘤抗原的产生机制及分类

抗体介导的肿瘤分子靶向治疗或诊断以肿瘤抗原为基础。所谓肿瘤抗原,泛指在肿瘤发生、发展过程中出现或过度表达的抗原物质。机体产生肿瘤抗原的可能机制有:①基因突变;②细胞癌变过程中使原本不表达的基因被激活;③抗原合成过程的某些环节发生异常(如糖基化异常蛋白质特殊降解产物的产生);④胚胎时期抗原或分化抗原的异常、异位表达;⑤某些基因产物,尤其是信号转导分子的过度表达;⑥外源性基因(如病毒基因的表达)。

根据肿瘤抗原的特异性,可以将肿瘤抗原分成肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA)和肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)。肿瘤特异性抗原仅表达于肿瘤组织,而在正常组织中不表达或者微量表达;而肿瘤相关的抗原则没有严格的肿瘤特异性,他们在正常的组织中也存在,但是在肿瘤细胞中过量表达或者表达丰富。目前肿瘤特异性抗原(TAA)可以分为以下几类:

1. 癌症睾丸抗原(CTAs) 归于癌症睾丸抗原类的 TAA 是依据组织学分布的差异来分类的,它们可以分布在肿瘤组织、正常组织、睾丸精母细胞/精原细胞,偶见于胎盘。CTA 包括 MAGE, NY-ESO 和 SSX 基因家族及 GAGE/PAGE/XAGE 超家族。成人组织中通常处于沉默状态的基因被激活使得其在肿瘤中有选择性地被活化而引起这些基因的表达。自发性体液免疫和细胞免疫也存在抗几种 CTA 的抗体,包括 NY-ESO-1, MAGE-A 和 SSX。由于 CTA 具有免疫原性和限制肿瘤生长的特点,它的发现引起了基于 CTA 的肿瘤疫苗的临床发展。

2. 分化抗原 这类 TAAs 表达于同一谱系的正常细胞和肿瘤细胞中;最多见于黑色素瘤和正常黑色素细胞,与黑色素的生物合成有关,例如酪氨酸酶,Melan-A/MART-1,gp100/Pmel117,TRP-1/gp75。

3. 过量表达抗原 这类 TAAs 在恶性组织中的表达水平高于良性组织的水平。这种现象可以解释为正常组织中免疫原性的抗原决定簇表达弱,低于 T 细胞识别的阈值,而在恶性细胞中抗原决定簇的表达通过打破之前建立的免疫耐受引起抗肿瘤效应。

4. 肿瘤特异性(独特性)抗原 它们是由正常基因点突变而来(如 β -catenin,CDK-4),其分子组成的变化常常伴随着肿瘤的转化或进展。这些抗原只在特定的肿瘤中表达而被鉴定出来。独特性抗原是免疫治疗中最具专一性的靶向抗原;然而,这种潜在的优势却因临床使用的困难而被削弱,原因是它们只对表达该抗原的原发肿瘤产生免疫反应。

5. 融合蛋白 在一些恶性肿瘤,尤其是白血病中,癌症发生的分子机制与染色体易位有关,它会导致远距离基因的融合。这常常引起融合蛋白的合成,赋予各种类型的疾病不同的特征(例如慢性髓性白血病中的 bcr-abl 和急性早幼粒白血病中的 pml-RAR α)并且产生能够被 T 细胞识别的新的抗原决定簇,分别由 HLA I 类分子限制的方式提呈给 CD8⁺ T 细胞和由 HLA II 类分子限制的方式提呈给 CD4⁺ T 细胞。尽管这些 TAA 在白血病患者中显示出较弱的免疫原性,多肽和总蛋白已经在疫苗接种中用于负载树突状细胞。

6. 癌胚抗原 这类 TAA 表达于胚胎组织,肿瘤组织和成人特定的良性组织中,其表达量各不相同。癌胚抗原经常被作为恶性肿瘤诊断或预后的指标,而且由于它在正常组织中有限的表达,在肿瘤中过量表达的特性,被用作特殊免疫治疗的靶点。例如 α -胎球蛋白和癌胚抗原(CEA)。

7. 糖脂和糖蛋白 不同组织类型的恶性肿瘤可表达高水平的膜糖脂和糖蛋白或出现糖基化异常(如神经节苷脂和粘蛋白)。神经外胚层来源的肿瘤,例如黑色素瘤,恶性胶质瘤和神经母细胞瘤表达大量的神经节苷脂 GM2, GD2, 或 GD3,而这些在正常组织中表达很少。这些神经节苷脂可用作人类肿瘤主动或被动免疫的靶分子而受到关注。另外,由于 MUC-1 粘蛋白具有在 90% 的腺癌(乳腺,肺,胰,前列腺,胃,结肠和卵巢)过量表达的生化 and 免疫学特性,使得这种 TAA 成为免疫治疗手段中具有吸引力的靶点。

8. 已知基因的拼接变异体 这类 TAA 是由 SEREX 法鉴定出来的,在肿瘤患者中这些抗原被发现具有免疫原性。例如 Hodgkin 病中的网状内皮系统刺激素(restin)和胃癌中的 TACC1。

9. 肿瘤相关的自身抗原 这类 TAA 家族是由 SEREX 法鉴定出来的。它们表达广泛,在正常组织和肿瘤组织中表达水平相近。这些抗原的编码基因在肿瘤组织中并未发生改变;然而能诱导肿瘤患者产生抗体应答,在健康个体中却没有出现应答现象。其机制可能由于肿瘤所致的翻译后修饰,引起抗原加工、提呈发生改变。

(二) 针对肿瘤相关性抗原(TAA)的抗体依赖性肿瘤分子靶向治疗

人类大多数癌症都表达细胞表面糖蛋白,CEA,而且在胃肠道,乳腺和肺的腺癌中更是持续地进行表达。正常的上皮和内皮细胞也有表达,在肠上皮表达较为丰富。他们虽然分布广泛,但有证据表明 CEA 的抗体定义的表位在正常和恶性的上皮细胞中的表达不同。而且,在不同器官的肿瘤中观察到抗体定义的表位在表达方面也存在着差别。这些抗体为特异性地靶向人类的腺癌提供了机遇。

Her-2/neu(或 erb-B2)也是一个细胞表面蛋白抗原,在几种上皮肿瘤中均有表达,包括卵巢癌和 20%~30% 的乳腺癌。它是 I 型生长因子家族中有酪氨酸激酶活性的转膜糖蛋白中一个成员。这个家族包括表皮生长因子受体(EGFR),Her-2/neu,erb-B3 和 erb-B4(44)。这些蛋白受体(有或无基因扩增)在部分上皮肿瘤中是过表达的。但是他们在正常的组织中也有微弱的表达。与这些受体结合的配体包括 EGF, TGF- α , 双调蛋白, heregulin。能与 EGFR 家族的成员相结合的抗体在体内和体外均能抑制肿瘤细胞的生长,有可能受到一些信号的负调控。赫赛汀是一个非共轭结合的抗 Her-2/neu 抗体,近年来被 FDA 所推崇,正在进行临床评估。

总 论 $p53$ 基因的突变是很常见的(如在人类 50% 的恶性肿瘤都存在)。因为 $p53$ 基因的突变是一个热点,多种突变的 $p53$ 蛋白产物在人类恶性肿瘤都有表达。在正常细胞中几乎只能发现野生型的 $p53$ 。然而,突变引起的构象改变常常可导致隐蔽的表位暴露,使得产物在胞浆中进行蓄积并具有较长的半衰期。不

幸的是, *p53* 蛋白在胞内表达, 在细胞表面不表达, 并不适合以抗体为基础的靶向。c-myc 和 c-myb 这两个癌性蛋白在人类多种白血病和一些实体瘤中均有表达。然而这两个癌性蛋白也是在细胞内表达, 也不适合以抗体为基础的靶向。

近年来, 尤其是人类基因组项目中分子生物学方面的快速发展一定会发现人类更多的 TSA 和 TAA, 但不是所有的 TSA 和 TAA 都适合以抗体为基础的靶向治疗。

(三) 作为肿瘤治疗靶点的肿瘤相关抗原选择标准

近年来, 尤其是人类基因组项目中分子生物学方面的快速发展, 使研究者们发现了越来越多的肿瘤特异性抗原和肿瘤相关抗原。但并不是所有的肿瘤特异性抗原和肿瘤相关抗原都适合以抗体为基础的靶向治疗。下面总结一些可以作为肿瘤治疗靶点的肿瘤相关抗原的选择标准。①肿瘤相关抗原要在癌细胞表面表达, 以便被携带治疗药物的抗体识别并结合。②在理想状态下, 应该是只有作为靶点的肿瘤细胞表面才表达肿瘤相关抗原, 如果这种抗原的特异性不足, 那么至少在重要组织的细胞, 特别是干细胞不能表达作为靶标的肿瘤相关性抗原。③理想的肿瘤相关性抗原应该在所有的肿瘤细胞表面均有所表达, 但不幸的是, 多数的肿瘤相关性抗原呈一种异质性的表达方式, 仅仅表达于部分肿瘤细胞的表面。这就意味着利用免疫毒素治疗肿瘤不能完全杀死肿瘤细胞, 为了获得好的治疗效果, 在治疗过程中还要联合使用放射线疗法等治疗手段。④选择作为靶标的肿瘤相关性抗原必须要在大部分患者的肿瘤细胞表面表达。因为选择只在个别患者肿瘤细胞中表达的肿瘤相关性抗原作为靶标, 为每个患者单独制备相应的抗体是一个耗时且昂贵的过程。⑤作为治疗靶点的肿瘤相关性抗原在肿瘤细胞的表面要具有一定的密度和与抗体结合的高亲和力; 因为抗体耦合物的抗肿瘤效应是直接随着肿瘤细胞上可利用的结合位点的变化而变化的, 通过增加肿瘤细胞表面的配体结合位点可增加抗体耦合物的抗肿瘤效应。⑥作为治疗靶点的肿瘤相关性抗原必须是暴露在细胞表面的, 不应该被遮蔽也不能被分泌到细胞外。因为隐藏在肿瘤细胞基质中或大量地进入血液循环的肿瘤相关性抗原会阻止运载抗体与肿瘤细胞上的靶点结合。⑦TAA 的稳定性在与靶向抗体结合后也值得考虑。如果运载抗体的内化不起很重要的作用时(多数放射免疫耦合物会有这种情况), 所以 TAA 在结合到靶向抗体后就不能起到调节作用。例如, 在多数 B 淋巴细胞的表面 CD20 的密度很高, 很容易被牢固地锚定在细胞的表面以致在与抗体结合后可不被遮蔽, 很慢才会被内化, 这样对于 B 淋巴细胞的放射免疫治疗来说就成为一个理想的靶物。相反, 内吞作用对于免疫毒素来说是非常重要的, 多数药物抗体耦合物及那些利用钻孔电荷释放的放射免疫耦合物。对于这些免疫耦合物来说, 必须选择内化速度快的 TAA 与抗体联结, 如抗转铁蛋白受体的抗体。⑧作为治疗靶点的肿瘤相关性抗原的编码基因不能突变过快。

(四) SEREX 在肿瘤抗原鉴别中的应用

为了确定机体能否识别自身肿瘤, 血清学家通过自体细胞系与自体血清 western blot 杂交等方法确定了黑色素瘤、肾癌、神经系统肿瘤自体特异性抗体的存在。但是由于抗体的效价太低, 使肿瘤抗原很难纯化克隆。随着分子生物学的飞速发展, 特别是 cDNA 文库技术的应用, 为用自身抗体分离肿瘤抗原基因奠定了基础。Pfreundschuh 小组于 1995 年首先建立了 SEREX 分析法, 开创了血清学检测肿瘤抗原的新时代。SEREX 的理论基础是人体 B 淋巴细胞可以识别自身肿瘤抗原, 且部分抗原可以激发高价的 IgG 反应。cDNA 表达文库的应用, 使抗体浓度成百倍的增加, 解决了既往肿瘤抗原抗体反应中的关键问题。利用 SEREX 技术不光可以有效识别已知的 CTL 识别的抗原, 而且还可以用于寻找新的肿瘤抗原基因。目前科学家已经对一系列的肿瘤, 包括黑色素瘤、肾癌、脑胶质瘤等多种肿瘤进行了研究, 发现了 400 多个肿瘤抗原基因, 其中 100 多个为新基因。

(五) 不针对肿瘤相关性抗原的抗体依赖性肿瘤分子靶向治疗

对于有效输送抗肿瘤制剂来说, 肿瘤细胞并不是唯一的靶点。实体瘤的持续性生长需要快速生长的血管支持, 不断增殖的血管内皮细胞与正常的, 静态的内皮细胞不同, 在代谢通路, 基因表达, 免疫学和生物化学特征等多个方面都存在着差别。因此也可以以肿瘤血管为靶向对肿瘤进行分子靶向治疗。

1. 以肿瘤血管内皮细胞作为靶 以肿瘤血管内皮细胞作为靶标进行肿瘤治疗具有以下 3 方面优势: ①血管内皮细胞的腔面对注射制剂的流动会有一定的阻碍作用, 有利于制剂向肿瘤部位富集; ②少量的内

皮细胞的损害均能导致广泛的血管阻塞,最终导致肿瘤坏死;③内皮细胞趋向于对抗血管生存的制剂不产生抗性。目前对肿瘤血管靶向制剂的研究主要集中在生长因子受体、内皮因子、针对整合素的肿瘤血管等靶向药物设计和肿瘤血管血液凝集的诱导治疗等方面。大量的生长因子包括血管内皮细胞生长因子(VEGF)均可诱导和维持肿瘤新血管系统的增殖。研究发现 VEGF 的中和抗体能够抑制人类肿瘤的生长和转移,具有潜在的临床应用价值。进一步研究发现 VEGF 抗体并不能完全清除肿瘤,它仅仅只是抑制肿瘤中血管的生成,切断肿瘤的血液供应。当停止用药后,肿瘤的生长仍会复发。所以,在使用 VEGF 特异性抗体治疗肿瘤时,必须要与细胞毒药物联合治疗才能达到令人满意的治疗效果。

除了使用 VEGF 特异性抗体治疗肿瘤外,还可以使用 VEGF 相关受体的特异性抗体进行肿瘤靶向性治疗。目前已经发现了 4 种 VEGF 的相关受体,它们分别是:血管生成期间,在内皮细胞中选择性表达的 VEGFR1 和 VEGFR2,在淋巴管内皮细胞的内层表达的 VEGFR3,以及仅与 VEGF-165 异构体结合的第四种受体 neuropilin-1,其中 VEGFR1, VEGFR2 和 VEGFR3 均是Ⅲ型酪氨酸激酶受体家族中的成员。在细胞有丝分裂过程中,VEGFR2 是一种重要的信号受体,在人类许多实体瘤的血管形成中发挥了重要的作用。目前已经研究发现了几种 VEGFR 的特异性抗体可以有效地阻断 VEGF 与 VEGFR2 的结合,抑制内皮细胞的增殖和血管生成,显著地抑制了实验性肿瘤的生长。

2. 在肿瘤基质中的其他靶物 研究发现肿瘤的发生发展与肿瘤-宿主界面微环境的平衡状态密切相关。瘤内血管的内皮下基质也可以作为靶点进行肿瘤分子靶向治疗。肿瘤基质中的靶标物质包括:①有基质金属蛋白酶(MMP):血管生成素和其受体(Tie1 和 Tie2/Tek);PDGF 及它的受体;EGF 和 4 个 EGF 受体蛋白;纤维蛋白溶酶原激活剂;整合素(尤其是 $\alpha v\beta 5$ 和 $\alpha v\beta 5$ 整合素);结合腕蛋白(粘蛋白)等。②细胞因子,如 IL-8 等。

肿瘤基质的主要成分——成纤维细胞与癌细胞相互作用而活化,成为肿瘤相关成纤维细胞(CAFs)。成纤维细胞激活蛋白 α (FAP α)是特异性的表达于 CAF 表面的一种抗原分子,属于丝氨酸蛋白酶家族,在肿瘤-宿主界面基质的降解和重建中发挥着重要的作用,参与肿瘤的生长、浸润和转移。使用单克隆抗体 F19(用体外培养的人成纤维细胞免疫小鼠获得)可以特异性地识别成纤维细胞激活蛋白(FAP α)。在血管内注射携带¹³¹I 标记的抗体 F19 到肿瘤转移至肝部的患者体内,这些携带细胞毒的抗体在肿瘤和肝脏部位之间的分布比例为 21:1,这表明这部分抗体可以特异性地定位于瘤内毛细血管与肿瘤细胞之间。

VE-CAD 是一种内皮细胞特异性的钙粘素,它具有粘附功能。VE-CAD 在血管形成中参与以下几种生物学过程:内皮细胞迁移;细胞运动和增殖的接触性抑制;内皮细胞微管结构的形成和血管完整性的维持。所以使用 VE-CAD 的特异性抗体携带细胞毒药物可以抑制移植到小鼠身上的人类肿瘤移植物的生长以及 Lewis 肺癌的移植和转移。

整合素只有在血管生成期间才会表达,在正常成熟的血管中是不存在的。因此整合素是一种很好的抑制肿瘤血管生成的分子靶标。研究发现, $\alpha v\beta 3$ 整合素的特异性鼠源抗体 LM609 及 $\alpha v\beta 5$ 的特异性抗体在 Kaposi 肉瘤模型中能够抑制血管的形成;vitaxin,一种人源化形式的单克隆抗体,在几种肿瘤生长的实验模型中也能抑制血管的形成,在 vitaxin 的Ⅰ期临床试验中,在 1/14 患者发生了应答反应。

纤维连接蛋白(FN)是细胞外基质的重要成分,是一种具有多功能的糖蛋白大分子。实验结果显示,含有 ED-B 癌胚结构域的纤维连接蛋白可聚集在实体瘤的新生血管系统周围,针对纤维连接蛋白 ED-B 结构域的特异性抗体在实验性的肿瘤模型中可以选择性地分布在肿瘤血管的内部和周围。

内皮素(ET),尤其是 ET-1 是内皮细胞、血管平滑肌细胞和肿瘤细胞的分裂素。ET-1 和 ET-A 受体的结合可以刺激细胞的增殖,与 ET-B 受体的结合能够促进肿瘤的侵袭。目前已经发现有几种人类肿瘤细胞可以分泌 ET,ET-A 和 ET-B 受体的亚型。由于这些自分泌物质可以促进细胞的增殖和侵袭,所以这些物质的特异性抗体可以用于肿瘤分子的靶向治疗。

3. 根据其他因素进行的肿瘤分子靶向治疗 除了抑制血管的生成之外,针对血管形成相关或其他决定因素的特异性抗体也可以被用来选择性地输送细胞毒药物到肿瘤中。例如:肿瘤血管内皮细胞可以引起大鼠纤维肉瘤的显著复发,因此携带细胞毒的肿瘤血管内皮细胞特异性抗体可以选择性地抑制肿瘤血管内皮细胞的增殖和实验性肿瘤,包括人的 Kaposi 肉瘤移植物的生长。Endoglin 是 TGF- β 的一个受体,

是一种具有很好的研发前景的肿瘤靶向治疗的靶标之一。用¹²⁵I标记的抗 Endoglin 的抗体进行放射免疫治疗时可抑制由 MCF-7 形成的移植物生长。针对肿瘤血管的抗体也被成功地用来输送组织因子诱导肿瘤发生梗死。

(六)以抗体为基础肿瘤分子靶向治疗的发展前景

以抗体为基础对人类癌症进行治疗的尝试已经持续了 50 年之久。直到由 Kohler 和 Milstein 联合创建了单克隆抗体技术才使得以抗体为基础的方法治疗肿瘤得以实现。单克隆抗体技术确保了在数量和纯度上供应高质量的针对广泛的肿瘤特异性抗原和肿瘤相关抗原的抗体用以临床治疗。然而研究结果显示,这种以抗体为基础的治疗方法存在一定的局限性。其中最重要的问题就是产生了针对外来免疫球蛋白的快速免疫应答反应,产生了人抗鼠的免疫球蛋白抗体(HAMA)。这些 HAMA 随后能够与注射的单克隆抗体制备物结合,中和它们的功能,将它们从血液循环中清除掉。另外一种以抗体为基础的治疗方法局限性在于血液对于大分子药物的运载效率。目前已经发现肿瘤新生血管的结构和新生血管内的血流动力学都与正常宿主血管中的情况不同。而且肿瘤新生血管的生长和血流的模式存在许多变化,不仅从肿瘤到肿瘤,就是在同样肿瘤的不同模型中也是存在变化的。对肿瘤的直接测定结果显示在非坏死的肿瘤组织中,其血流速度通常比周围正常组织中要高,但是坏死繁荣肿瘤组织和肿瘤中半坏死的区域中血流速度较低,这使得注射到血管内的治疗药物在血管内的分布是不均匀的。在药物到达肿瘤血管内相应的部位后,以抗体为基础的药物必须通过跨越微血管壁进行运送,然后通过间隙空间到达肿瘤。决定药物分子跨越交换血管壁的因素包括:分子的大小、电荷以及分子在血浆间隙和细胞质之间的浓度、交换血管的表面积、液体的渗漏速度、血管压、间隙压及渗透压等。肿瘤血管的渗透作用通常比正常组织中血管的渗透作用强。但是在肿瘤血管中较高的间隙压抵消了肿瘤毛细血管的渗透作用,这使得药物从血管内向肿瘤间隙的渗透作用减弱。另外,渗出的药物分子是否能够进入肿瘤细胞主要取决于药物分子的弥散和运输的速度。如果渗出药物分子的动能非常低,那么它就很难到达肿瘤细胞。经过计算,免疫球蛋白弥散 1mm 的距离所需要的时间是几天,弥散 1cm 的距离需要几个月的时间,在药物分子弥散期间,渗出的蛋白质可能被细胞吞噬或者被细胞外的蛋白质水解酶降解而不能达到肿瘤细胞。

综上所述,为了提高运载抗体的靶向水平,需要解决以下两个问题:①降低抗体制备物的免疫原性;②降低抗体分子的大小以增加分子的渗透能力和定位能力。由于鼠源抗体的免疫原性主要是由于抗体的 Fc 片段引起的,利用抗体对肿瘤分子进行靶向治疗主要是利用由抗体的 Fv 区决定的靶向性运载药物,而不是以利用由 Fc 片段引起的级联反应或 ADCC 的活化作用对细胞施加自身的细胞毒作用。因此为了降低抗体的免疫原性可以除去抗体分子中的 Fc 基团。同时去除 Fc 基团还可以降低抗体分子的大小,增加抗体制备物的渗透能力。除此之外,还可以利用分子生物学技术来改造抗体以便有效地降低抗体的免疫原性和分子大小,改善抗体的结合活性。这类抗体包括:

1. 人源化抗体 利用基因工程技术将来源于啮齿目动物的可变区域与来源于人类的保守区域融合在一起制备人源化抗体。临床试验结果表明,人源化抗体的治疗效果非常有效。利妥昔单抗(rituximab)是第一个被 FDA 批准的治疗性的重组抗体,是人/鼠嵌合性抗体,即通过重组 DNA 技术将鼠的可变区基因嫁接到人的 IgG 的保守区基因中。虽然人源化的抗体表现出了很好的临床治疗效果,但是用于表达人源化抗体的哺乳动物细胞并不稳定,蛋白的表达量随着时间的延长而减少。

2. 完全人的抗体 另一种消除鼠抗体免疫原性的方法是制备人源抗体来取代鼠源抗体。制备人抗体的技术包括使用转基因人源化的小鼠(xenomouse)和噬菌体展示技术。人源化小鼠没有鼠的免疫组成,但是有大量人的 V-区基因。在进行免疫接种后,抗人的抗体通过人源化小鼠的 B 细胞被分泌出来。然后通过从 B 细胞中经 PCR 反应和文库选择分离出抗体编码的基因,然后将克隆转入到传统的生产抗体的细胞株中或通过经典的杂交瘤技术生产抗体。这种抗体 100%都是人的,而人源化的抗体只是 90%~95%是人的。实验证实,通过 xenomouse 技术可以获得肿瘤相关抗原的高特异性和高亲和性的抗体。使用抗体的噬菌体展示技术不仅可以制备出完全抗人的抗体,而且还可以制备出针对特异性抗原的抗体。另外,利用噬菌体展示技术制备人的抗体不存在利用 xenomouse 制备人的抗体是自身抗原耐受的问题。利用噬菌体展示技术制备人的抗体比通过传统的免疫和杂交瘤程序制备抗体的速度快,并且生产的抗体

可直接被分泌出来,具有理想的特异性或专一性。通过这种技术制备的抗体很容易被加工成具有高亲和力的抗体。噬菌体展示技术的一个最大的局限性就是对用于噬菌体选择的肿瘤相关抗原的纯度要求很高。

利用基因工程技术制备肿瘤相关抗原特异性抗体还要关注抗体与肿瘤相关抗原的亲合力。增加重组抗体的亲和力的一个非常有效的策略就是诱导 Fab 或者 scFvs(单链抗体)结构域发生突变。在直接的突变和亲和力选择之后,一些重组抗肿瘤相关抗原抗体的亲和力就会增加。实践证明,抗体的亲和力越高,与靶细胞表面结合后停留的时间就越长,治疗效果就越好。

二、受体依赖性肿瘤分子靶向治疗

除了抗体之外,科学家们也在研究许多肿瘤特异性的其他运载工具。第一代运载工具可以特异性地识别癌细胞表面过表达或者表达丰富的相关分子。这种运载工具包括外源凝集素;生长因子(如表皮生长因子,转化生长因子,胰岛素样生长因子,和转铁蛋白);细胞因子(如白介素-2,白介素-4,白介素-6);激素和低密度的脂蛋白(LDL)及酪氨酸家族受体。由激素、细胞因子和转铁蛋白靶向的细胞毒药物对于癌细胞的有效抑制作用在人肿瘤的移植模型中已经得到了证实,尤其是在肿瘤细胞表面存在大量高亲和受体的条件下这种抑制作用更为明显。

(一)激素类靶向性药物

以激素特异性受体为靶点,成功靶向性药物的激素包括促黑素细胞激素,胰岛素,促甲状腺激素和黄体化激素释放的激素。另外一些激素类似物的小分子肽也可以成功地靶向激素受体。例如奥曲肽是一种源于生长抑素的,由 8 个氨基酸组成的小分子肽,可以成功地靶向生长抑素受体-2。然而研究者们发现,在与激素携带的药物结合后,细胞表面的特异性受体会减少或者消失,这与部分肿瘤细胞表面抗原与特异性抗体结合后,另一部分相同抗原会被覆盖的调节现象十分类似。这一现象的出现为利用激素类靶向性药物治疗肿瘤提出了一个新问题。利用激素类靶向性药物治疗肿瘤的另一局限性在于这类治疗药物可能具有一定的免疫原性,会激起人体的免疫反应,影响治疗效果。

(二)低密度脂蛋白靶向性药物

增殖快速的癌细胞可吸收较多的脂蛋白,尤其是低密度脂蛋白(LDL)。因此,20 世纪 80 年代就有科学家提出了利用低密度脂蛋白介导药物输送靶向治疗肿瘤的技术,并对这一技术进行了详细的讨论。目前氮芥类、二氢卟吩以及一种光敏剂都已经通过和 LDL 一起或耦合到 LDL 形成复合物后成功地靶向到了癌细胞的表面。

(三)叶酸靶向性药物

叶酸受体通常是在上皮细胞腔面表达,而在肿瘤细胞腔内是高表达的。目前叶酸靶向治疗已经被广泛用于肿瘤的治疗中。这类治疗的优势在于:①叶酸受体与叶酸之间具有很高的亲和力;②叶酸的体积小,在肿瘤细胞中的渗透能力较好,免疫原性低;③叶酸无毒性,化学稳定性好,价格低廉;④由于叶酸受体通常在上皮细胞腔面表达,所以通过静脉注射的叶酸及其耦合物不可能与正常上皮细胞的叶酸受体结合,这样就增加了叶酸介导药物治疗肿瘤的靶向性。但是,叶酸介导的肿瘤靶向性治疗也存在一定的局限性,这种局限性在于叶酸是通过肾脏排泄的,细胞毒药物耦合的叶酸可能会与肾小管上皮细胞腔面上大量的叶酸受体结合,从而造成对肾脏的损害。

(四)以糖类为靶向受体进行的肿瘤特异性治疗

糖类定义中的肿瘤相关抗原属于糖脂、糖蛋白,部分这类抗原在癌细胞表面是高量表达的,例如 MUC1,是一种人乳脂小球,在正常细胞中属于细胞膜中一个完整部分,不能被分泌到细胞表面,但是当细胞恶性转化后,MUC1 则被大量分泌到癌细胞表面表达。利用可以与这类糖类特异性结合的基团作为肿瘤治疗药物的运载工具可以成功地实现肿瘤的靶向治疗。选择素在细胞的粘附和肿瘤的转移中发挥着重要的作用,所以肿瘤细胞也可能过表达选择素。研究发现,利用可以和选择素特异性结合的唾液酸作为运载药物的载体,可以明显抑制过表达选择素的肿瘤细胞生长。

第二代运载工具是指非特异性的大分子运载工具,包括右旋糖酐-70、新生牛血清清蛋白、DNA、聚氨

基酸、纳米粒子和微胶囊(如微球和脂质体)以及其他聚合物。虽然这些非特异性的大分子运载工具也趋向于在正常组织中蓄积,尤其是在吞噬细胞中蓄积,但是和正常的毛细血管相比,在肿瘤的毛细血管中由于存在较高的温度而使空隙膨胀得更广泛,增加了瘤内血管的渗透性。高温有利于提高运送这类大分子物质到达肿瘤细胞的效率。这类化学物质可以用来运载放射性核素或其他的毒性基团,用以肿瘤的成像和治疗。例如, ^{131}I 标记的间位碘代苄胍(MIBG)具有代谢稳定,可以选择性地被神经嵴的正常和恶性细胞吸收,以及可快速被肾脏清除等特点,可以被成功地用于神经母细胞瘤的显像和治疗,研究表明 ^{131}I 标记的间位碘代苄胍能增加3期神经母细胞瘤的治愈率并改善4期神经母细胞瘤患儿的应答率。

三、免疫系统依赖的肿瘤靶向治疗

基于诸多证据表明肿瘤细胞具有免疫原性,发展出了不同的临床治疗方案,目的是为了刺激或加强宿主对弱免疫原性肿瘤相关抗原的免疫反应以消除存在的肿瘤细胞病阻止疾病的复发。

(一)肿瘤细胞的免疫逃逸机制

虽然机体的免疫系统能对肿瘤细胞产生免疫应答,并消除肿瘤,但是仍有一定比例的原发性肿瘤在宿主体内生长,并易于转移和复发。也就是说,某些肿瘤能逃避机体免疫系统的攻击,这就是所谓的肿瘤免疫逃逸。深入认识这些肿瘤细胞免疫逃逸的分子生物学机制可以对肿瘤细胞进行更有效率的靶向治疗。能够引起肿瘤细胞逃逸的分子机制主要有以下几点:

1. 具有免疫原性的肿瘤相关抗原的低量表达 肿瘤相关抗原表达量低下可以使肿瘤细胞不易被宿主免疫系统识别。肿瘤细胞上肿瘤相关抗原表达减少的主要原因在于基因突变或者肿瘤相关抗原与非功能抗体结合。另外一个更重要的原因是肿瘤相关抗原基因启动子的甲基化导致不同的肿瘤相关抗原的表达缺失和下调,这一机制对于肿瘤治疗具有前瞻性的影响,因此受到越来越多的关注。依据免疫疗法是通过免疫监视有选择性的对肿瘤相关抗原阳性肿瘤细胞施加压力,最终,肿瘤相关抗原阴性的肿瘤克隆能够自然的过度生长,实现肿瘤细胞逃逸。

2. HLA I类抗原表达缺失或下调及抗原加工提呈障碍 各种肿瘤损伤将导致HLA I类抗原的表达缺失或下调,通常发生在宫颈癌、乳腺癌和结直肠癌中。不同的分子改变可能与HLA I类抗原的表达缺失相关。这其中包括:①从大范围的缺失到单个的点突变引起的 β_2m 基因突变,使得 β_2m 的表达或功能发生障碍,导致HLA I类抗原的表达完全缺失;②多种因素可以引起HLA I类抗原的表达完全下调,例如HLA I类基因启动子的高度甲基化或者参与抗原加工过程的分子表达缺失或下调(如TAP1的表达缺陷);③HLA基因定位的6号染色体的短臂部分缺失通常会引起单体型缺失;④HLA-A、-B、-C基因座的缺失或下调可引起HLA基因座转录调节的改变,包括下调基因座特异性转录因子的表达,或上调基因座特异性转录抑制因子;⑤仅在特定HLA I类分子等位基因中发生的突变,缺失或主要染色体重排,可引起HLA I类分子同种异型特异性的缺失。

3. 共刺激分子表达异常 T细胞活化除了需要提供“第一信号”即T细胞受体识别HLA提呈的TAA外,还需要提供“第二信号”,即靶向性肿瘤细胞表达的共刺激分子与T细胞合适的配体结合。缺乏“第二信号”会导致T细胞对TAA的耐受或T细胞凋亡。目前研究较多的共刺激分子有B7家族成员(如CD80,CD86)。肿瘤细胞通常缺乏共刺激分子的表达,因此它们不能启动有效的T细胞应答。

4. 免疫抑制分子的表达或释放 肿瘤释放的细胞因子在调节肿瘤细胞与免疫系统间复合物的相互作用中充当重要角色。它们能够影响免疫应答的类型(细胞或体液免疫)以及有效免疫应答产生的阶段,如抗原提呈和抗原提呈细胞的活化。一直以来人们认为,肿瘤细胞分泌的细胞因子能够损伤宿主的抗肿瘤反应,或者作为肿瘤生长因子。此外,肿瘤细胞释放的因子可以刺激血管的生成,紧密调节着肿瘤的发生发展过程。

肿瘤细胞表达释放可诱导粘附的细胞因子参与了细胞间的相互作用,如胞间粘附分子(ICAM)-1。这些分子表达的变化可能与免疫系统的功能损伤有关。拿ICAM-1来说,它在各种免疫应答如细胞介导的细胞毒性和抗原提呈中起关键作用。值得注意的是,在实体瘤患者血清中检测到ICAM-1的表达水平

升高并且与某些肿瘤疾病进展相关。此外,人们已经证实血液循环中的 ICAM-1 可以抑制自然杀伤细胞和 T 细胞介导的肿瘤细胞毒作用。这些现象表明血液循环中的 ICAM-1 水平升高有利于肿瘤逃避机体的免疫监视。由于血液循环中的 ICAM-1 具有促血管生成的活性,因此我们有必要研究肿瘤发生时 ICAM-1 的生物学活性。

5. 膜补体调节蛋白的过量表达 肿瘤细胞发生免疫逃逸的另一个重要机制是细胞表面过量表达膜补体调节蛋白。这些蛋白的作用可能与基于抗体的免疫治疗被广泛应用显著相关。在这方面已有报道,在非霍奇金淋巴瘤,多发性骨髓瘤,慢性淋巴细胞型白血病的患者中,肿瘤细胞表达高水平的 CD55 和 CD59 导致其对利妥昔单抗治疗产生耐药。

6. 促凋亡分子的表达 凋亡即程序性细胞死亡,由 FasL 结合到对应受体 FasR 上介导产生,对控制内环境稳态和下调免疫应答发挥重要作用。这一生理途径发生获得性缺陷时引起的自身免疫可以支持上述观点。有研究表明肿瘤细胞表达或释放功能型 FasL 能够给活化的 FasR 阳性 T 淋巴细胞提供死亡信号,介导特异性 T 细胞凋亡。

(二)肿瘤疫苗

有效特异性的肿瘤免疫治疗,是将不同形式的具有免疫原性的肿瘤相关抗原作为治疗试剂联合不同的免疫佐剂,如弗氏佐剂,明矾,卡介苗,QS-21,montanide,CpG,以及一些细胞因子一起注射到肿瘤患者中,这种治疗方法的目的是激发免疫系统产生抗肿瘤特异性应答。肿瘤治疗疫苗可以诱导机体产生强有力的细胞免疫应答。T 细胞介导的抗原特异性免疫识别由人白细胞抗原(HLA) I 类分子和 HLA II 类分子提呈的肿瘤相关抗原衍生肽,自然杀伤(NK)细胞介导的非抗原特异性免疫由缺乏识别信号的自身 HLA I 类分子激发的。尽管目前肿瘤疫苗的应用还存在一定的问题,但是临床试验结果表明接种了疫苗的患者的长期存活率和生活质量均得到了改善。

1. 肿瘤细胞疫苗 将自身或异体肿瘤细胞,经过物理因素、化学因素以及生物因素(病毒感染、基因转移等)的处理,改变或消除其致瘤性,保留其免疫原性,常与佐剂等联合应用,这样制备的疫苗称为肿瘤细胞疫苗。肿瘤细胞疫苗的特点是来自于自身或同种异体的肿瘤细胞带有肿瘤特异性或肿瘤相关性抗原,但是由于肿瘤细胞表达抗原的免疫原性较弱,不能诱导很强的特异性免疫反应。随着分子修饰技术及人们对机体抗肿瘤免疫的认识的提高对肿瘤细胞免疫的免疫原性进行了一系列增强。其中基因工程肿瘤细胞疫苗就是一个例子,即采用基因转导的方法,利用腺病毒、反转录病毒等载体将某种外源性功能基因靶向导入肿瘤细胞内,对肿瘤细胞进行基因修饰,从而提高其免疫原性。

2. 抗独特型抗体疫苗 抗-Id(抗独特型抗体)治疗属于不依赖肿瘤源性物质来诱导抗肿瘤免疫反应的治疗方法,是肿瘤治疗的新途径。利用肿瘤物质免疫治疗肿瘤的局限性在于肿瘤相关性抗原的免疫原性较弱,并且免疫系统对肿瘤抗原的耐受性也会造成抗肿瘤免疫治疗无效。因此,为了加强肿瘤免疫的治疗效果,打破免疫系统对肿瘤抗原的耐受性是至关重要的。免疫网络学说给研究者们提供了一个独特的研究思路来解决免疫系统对肿瘤相关抗原的耐受性这一问题。Lindemann 及 Jeme 在 1974 年提出了免疫网络学说,根据这一初始网络假说,Id-抗-Id 相互作用调节宿主对外源抗原的免疫应答。Id 及抗-Id 均可以调节细胞及体液免疫。外源抗原可被抗体及 T 细胞受体上的 Id 模拟。抗原免疫后产生对抗这一抗原的抗体,称为 Ab1。Ab1 可产生一系列的抗-Id 对抗 Ab1,称为 Ab2。一些 Ab2 分子能有效模拟外源抗原的三维结构。这些特殊的抗-Id 叫 Ab2 β ,可结合 Ab1 的互补位,引起特异性的免疫应答,与正常抗原引起的应答相似。抗-Id 的 β 型表达 Ab1 识别的抗原内影像,可用于模拟抗原。用 Ab2 β 免疫可引起抗-抗-Id(Ab3)的产生,它可以识别被 Ab1 确认的初始抗原。Ab2 β 激发免疫系统,可引起对抗细菌、病毒及寄生虫感染的特异性保护性的免疫应答。采用模拟的肿瘤相关抗原的 Ab2 β 刺激机体的抗肿瘤免疫应答,已在许多动物实验中得到证实,包括 B 淋巴细胞肿瘤、T 细胞性白血病、乳腺癌、结肠癌等。目前,有几种 TAA 抗-Id 已经开始临床验证,有些病例显示出一定的疗效。有的肿瘤相关性抗原,如黑素瘤相关蛋白聚糖(MPG)难于在动物体内诱导出其特异性抗体,但是模拟的 MPG 抗原的 Ab2 β 可诱导出肿瘤相关性抗原的特异性抗体,提示 Ab2 β 可以打破机体对某些肿瘤相关抗原的免疫耐受,诱导机体产生抗肿瘤相关抗原的免疫应答。

目前研究者们正想尽各种办法来努力提高抗独特型疫苗的免疫原性。鉴于 IL-6 具有促进 B 细胞和浆细胞分化的能力,因此人们在老鼠模型中尝试着通过 IgG1 CH2/CH3 区域将抗独特型 ACA125 单链 Fv 与人 IL-6 融合。结果显示抗原和 IL-6 融合蛋白能够通过增强抗原特异性体液免疫应答提高抗独特型免疫接种效率。其他临床初步结果表明基因工程抗独特型抗体在临床试验应用中可能具有一定优势。按照这种思路,在目前免疫接种乳腺癌肿瘤患者的临床试验中使用的模拟治疗性曲妥单抗的靶分子 Her-2 构象的人抗独特型单链片段,在鼠肿瘤模型中发现能有效诱导体液免疫应答。近来其他研究结果证明由抗独特型抗体激发的树突状细胞在老鼠模型中能够有效诱导体液和细胞免疫应答,产生保护性抗原特异性的抗肿瘤免疫。

3. DNA 疫苗 DNA 疫苗是目前肿瘤治疗中最新型、最有前景的一种方法。在许多动物模型中发现,DNA 疫苗能够激活机体免疫系统且可长期维持机体的体液和细胞免疫。DNA 疫苗通常由细菌 DNA 组成,其中含有编码特定 TAA 的 cDNA 和适当的启动/增加基因表达的启动子/增加子。DNA 疫苗的相容性好、安全性高,不会整合至宿主基因组中。

尽管 DNA 疫苗有诸多优势,但在肿瘤患者试验中出现了一些有争议的结果。在转移的黑色素瘤患者的临床 I 期试验中发现,瘤内注射编码酪氨酸酶的表达质粒,经过 8 周的治疗,26 个患者中仅有 6 个患者发生免疫应答。此外,有 16 患者在 1 年的随访中仍存活。然而,另外一项临床试验却发现,在转移的黑色素瘤患者中皮内或肌肉注射编码自身非突变的 gp100 表达质粒,试验组并未发现显著的免疫应答,也未出现明显的临床症状改善。

4. 肽疫苗 TAA 肽段能与特异的 HLA I 类分子结合,诱导机体对肿瘤细胞的免疫反应。并且 TAA 肽段可以在体外大量地合成,这两点使得肽疫苗用于肿瘤治疗得以实现。目前,肽疫苗已进入了临床试验研究,这项临床实验主要是针对转移的黑色素瘤患者进行的。

用于肽疫苗的 TAA 主要包括分化抗原和 CTA,要么单独给药,要么与各种免疫佐剂联合给药。肽疫苗是一种很安全的治疗方法,只产生很小的副反应。许多不同的临床试验都观察到较好的治疗效果,刺激机体免疫应答率在 42% 以上(表 1)。临床应答包括完全应答(有的甚至是永久应答)和部分应答。在做

表 1 TAA 肽段主要的临床试验

肽疫苗	佐 剂	临床反应	百分率(%)	肿瘤类型
gp100	IFA+IL-2	1 CR, 12 PR	42	黑色素瘤
MART-1 ₂₇₋₃₅	IFA	1 PR	5	黑色素瘤
gp100+MART-1 ₂₇₋₃₅ + 酪氨酸酶	GM-CSF 或 IL-12	5 CR, 6 PR	21	黑色素瘤
gp100	IFA+IL-2 或 GM-CSF	0	0	黑色素瘤
MART-1 ₂₇₋₃₅	IFA	>DFS	NA	黑色素瘤
gp100(210M)+酪氨酸酶	IFA+IL-2	>DFS	NA	黑色素瘤
MAGE-3. A1	None	3 CR, 4 PR	28	黑色素瘤
Tyrosinase	GM-CSF	0	0	黑色素瘤
NY-ESO-1	GM-CSF	3 SD	0	黑色素瘤
MART-1 ₂₆₋₃₅ + influenza matrix ₅₈₋₆₆	IL-2	1 CR, 1 PR	8	黑色素瘤
酪氨酸酶	GM-CSF	1 MR	20	黑色素瘤
HPV16 E7 ₁₁₋₂₀ , E7 ₈₆₋₉₃	IFA	2 SD	0	宫颈癌
Bcr-abl breakpoint peptide	QS-21	Not	NA	慢性髓性白血病
HPV E7 ₁₂₋₂₀	IFA	reported 3 CR, 8 SD	17	宫颈和外阴皮内瘤
Her-2/neu _{369-384, 688-703, 971-984}	GM-CSF	未见报道	NA	乳腺和卵巢肿瘤

总

论