

CANCER
BIOTHERAPY TECHNOLOGY

肿瘤 生物治疗技术

主编 宋 鑫 侯建红 谭 晶



人民卫生出版社

肿瘤生物治疗技术

主 编 宋 鑫 侯建红 谭 晶

副 主 编 秦叔逵 郭 军

编 者 (以姓氏拼音为序)

车学继	陈 艳	丁海燕	丁莹莹	董苏伟	葛春蕾
耿 涛	郭吉寅	郭 军	侯建红	华 琳	黄 杰
黄东祥	霍庚崑	郎智平	雷永虹	李瑞蕾	李 真
刘志敏	吕 娟	吕 丽	栾 丽	马 翔	秦叔逵
尚志梅	沈丽达	宋海峰	宋 鑫	宋登燕	谭 晶
谭庆华	王巍炜	王莹(男)	王莹(女)	项 鹏	肖春杰
肖砚斌	徐德红	徐圆圆	薛渊博	杨 军	杨宏英
杨金艳	张 娜	张 奇	张鸿青	张建华	张志伟

编写秘书 葛春蕾 李瑞蕾

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

肿瘤生物治疗技术/宋鑫,侯建红,谭晶主编. —北京:人民卫生出版社,2013

ISBN 978-7-117-17204-2

I. ①肿… II. ①宋…②侯…③谭… III. ①肿瘤-生物疗法 IV. ①R730.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 204211 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

肿瘤生物治疗技术

主 编: 宋 鑫 侯建红 谭 晶

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 25

字 数: 608 千字

版 次: 2014 年 12 月第 1 版 2014 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-17204-2/R · 17205

定 价: 68.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

前言

肿瘤生物治疗是肿瘤学科中最年轻,发展最活跃的领域。在过去的二十多年间,肿瘤生物治疗带给了人们无数的惊喜。无论是细胞治疗、疫苗治疗,还是分子靶向治疗,都硕果累累,显著的疗效和生存期优势令人振奋。

我国肿瘤生物治疗起步于 20 世纪 90 年代,随着国家相关法规的制订和出台,生物治疗医疗队伍不断壮大,各种生物治疗新理论、新技术、新方法、新药物逐步从实验室走向临床,使肿瘤综合治疗的理论和实践发生了革命性的变化。短短十年间,生物治疗以星火燎原之势遍布全国,北京、天津、上海、广东、云南、山西等省市相继开展了一系列肿瘤生物治疗技术,如 DC、NK、CIK、DC 联合 CIK 等过继性免疫细胞治疗;重组人 p53 腺病毒为代表的基因治疗;以吉非替尼、伊马替尼、西妥昔单抗、曲妥珠单抗为代表的靶向治疗,使我国肿瘤生物治疗的发展取得了令人瞩目的成绩。

但是我国肿瘤生物治疗技术的临床应用较先进国家起步晚,存在发展不平衡、缺乏有效规范等问题,生物治疗理论更是处于发展阶段,临床试验结果不均一,自体免疫细胞治疗至今仍缺乏确切的循证医学依据,多数生物治疗机构缺乏对肿瘤生物治疗严格的质量控制标准和实验室管理措施。尽管相关部门出台了一系列相应的政策和条例,国内一些先进的生物治疗机构也做了大量努力,但我国生物治疗技术的临床应用仍犹如海上行舟,纵然漫天星光却找不到一盏领航的灯塔。

本书是以相关法律法规为蓝本,结合肿瘤生物治疗行业的专业技术特点编撰。全书共 7 章,涵盖了肿瘤生物治疗概论,肿瘤生物治疗管理法规与制度建设,肿瘤生物治疗,包括免疫治疗、基因治疗及靶点药物治疗等的临床应用规范,肿瘤生物治疗临床护理、心理干预,生物治疗档案管理,以及生物治疗临床试验等方面内容。本书全面、及时地归纳了现行肿瘤生物治疗技术临床应用的原则和规范,为我国肿瘤生物治疗的开展和应用提供有力的借鉴。希望本书的出版能为我国生物治疗的发展贡献一份力量,更好地服务我国广大的肿瘤患者。

鉴于准备时间的仓促和编者自身水平的限制,本书难免存在诸多不足之处,望广大读者见谅,并恳请提出宝贵意见。

宋 鑫 侯建红 谭 晶

2014 年 8 月

目 录

第一章 肿瘤生物治疗概论.....	1
第一节 肿瘤生物治疗概况.....	1
第二节 肿瘤生物治疗在肿瘤综合治疗中的地位.....	5
第三节 肿瘤生物治疗的理论基础.....	6
第四节 肿瘤生物治疗的临床研究原则.....	9
第五节 肿瘤生物治疗的发展前景	11
第二章 肿瘤生物治疗管理法规与制度建设	15
第一节 肿瘤生物治疗伦理学基本原则	15
第二节 我国生物治疗医疗技术规范化管理	17
第三节 肿瘤生物治疗病房及细胞培养室管理要求	22
第三章 肿瘤生物治疗临床应用规范	39
第一节 肿瘤生物免疫治疗临床应用规范	39
第二节 肿瘤基因治疗临床应用规范	73
第三节 肿瘤靶点药物治疗临床应用规范	75
第四章 肿瘤生物治疗临床护理.....	105
第一节 肿瘤生物免疫治疗护理.....	105
第二节 肿瘤基因治疗护理.....	109
第三节 肿瘤靶向药物治疗护理.....	110
第五章 肿瘤生物治疗的心理干预.....	116
第一节 肿瘤生物治疗患者的心理特征.....	116
第二节 肿瘤生物治疗患者的心理行为干预.....	118
附件 5-1 症状自评量表(SCL-90)	121
附件 5-2 抑郁自评量表(SDS)	124
附件 5-3 焦虑自评量表(SAS)	126

附件 5-4 社会支持评定量表	128
附件 5-5 创伤后成长评定量表(PTGI)	130
第六章 生物治疗档案管理	133
第一节 病例治疗档案管理	133
第二节 细胞培养室仪器设备、试剂、制度档案管理	135
附件 6-1 生物治疗申请单	137
附件 6-2 自体免疫细胞治疗知情同意书	138
附件 6-3 基因治疗知情同意书(以重组人 p53 腺病毒注射液为例)	140
附件 6-4 靶向药物治疗知情同意书(以吉非替尼为例)	142
附件 6-5 生物制剂治疗知情同意书(以白细胞介素-2 为例)	144
附件 6-6 患者授权委托书	146
附件 6-7 自体免疫细胞治疗采血记录单	147
附件 6-8 自体免疫细胞制备及回输记录单(以 DC 细胞为例)	148
第七章 肿瘤生物治疗临床试验	151
第一节 肿瘤生物治疗临床试验设计	151
第二节 肿瘤生物治疗安全性评价	154
第三节 肿瘤生物治疗疗效评价	156
第四节 肿瘤生物治疗的随访	160
附件 7-1 自体××细胞治疗晚期非小细胞肺癌的 I 期临床试验知情同意书	162
附件 7-2 通用不良事件术语标准 4.03 版	168
附件 7-3 实体肿瘤的疗效评价标准 1.1 版	261
附件 7-4 白血病及淋巴瘤的疗效评价标准	270
附件 7-5 EORTC 生命质量量表	274
附录 1 实验室生物安全认可准则	284
附录 2 医学实验室质量和能力认可准则	307
附录 3 首批允许临床应用的第三类医疗技术目录	338
附录 4 医疗技术临床应用管理办法	340
附录 5 自体免疫细胞(T 细胞、NK 细胞)治疗技术管理规范	348
附录 6 肿瘤生物治疗常用仪器	351
附录 7 卫生档案管理暂行规定	352

附录 8 病历书写基本规范	355
附录 9 TIL 临床制备规范化研究	363
附录 10 DC-CIK 细胞临床制备规范化研究	369
附录 11 DC/肿瘤融合细胞疫苗制备规范化研究	375
附录 12 中英文对照及英文缩略词	379

第一章

肿瘤生物治疗概论

第一节 肿瘤生物治疗概况

肿瘤生物治疗(tumor biotherapy)是应用现代生物学技术、生物制剂和小分子化合物等,通过免疫、基因和靶向治疗的方法,激发机体免疫保护机制,干预肿瘤关键基因和信号传导通路中的重要分子,达到治疗肿瘤和预防其复发的目的。肿瘤生物治疗的作用机制包括:调节免疫监视,恢复机体免疫平衡;降低肿瘤对宿主的免疫抑制,提高机体肿瘤免疫应答;直接或间接的细胞毒性作用或抗肿瘤增殖作用;干扰肿瘤生物学行为,调节肿瘤细胞生长分化;减轻放化疗不良反应,增强宿主耐受力等。

肿瘤生物治疗在国外的发展历史悠久,早在 1985 年,美国国立卫生研究院就把肿瘤的生物治疗列为肿瘤综合治疗的第四大模式。2000 年,美国举行的“国际肿瘤生物治疗基因治疗年会”也指出,生物治疗是目前已知的唯一有望完全消灭癌细胞的治疗手段。我国生物治疗的发展起步于 20 世纪 90 年代,随着各大生物治疗专业组织的相继成立,中国肿瘤生物治疗的发展取得了令人瞩目的成绩。2009 年 6 月,卫生部 84 号文件准许自体免疫细胞治疗技术作为第三类医疗技术进入临床,并对细胞治疗技术的临床应用进行规范化管理,成为我国肿瘤生物治疗史上的里程碑事件。

肿瘤生物治疗包括:肿瘤生物免疫治疗、肿瘤基因治疗和肿瘤靶向治疗等。

一、肿瘤生物免疫治疗

(一) 过继性免疫细胞治疗

过继性免疫细胞治疗(adoptive cellular immunotherapy, ACI)是通过回输在体外培养扩增的、具有抗肿瘤作用的免疫细胞,直接杀伤肿瘤或激发机体抗肿瘤免疫反应的治疗方法。常见的过继性免疫细胞包括:淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine activated killer, LAK)、细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine induced killer, CIK)、肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)、树突状细胞(dendritic cells, DC)、自然杀伤细胞(natural killer, NK)和 DC-CIK 细胞(dendritic cells-cytokines induced killers, DC-CIK)等。

淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)是将外周血单个核细胞(PBMC)在体外经 IL-2 诱导培养出的一种非特异性杀伤细胞。LAK 细胞抗瘤谱较广,可以杀伤对 CTL、NK 不敏感的多种肿瘤细胞。

细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)是由血液或骨髓的单个核细胞在体外与多种细胞因子共同培养获得的一群NK样T细胞,兼有T细胞的抗瘤活性与NK细胞非MHC限制性的杀瘤特点。

肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)是存在肿瘤周围的一群异质性细胞,TIL在肿瘤周围浸润的程度及 $CD8^+$ T细胞所占的比例与肿瘤患者的预后呈明显正相关。用于过继性细胞治疗的TIL常从肿瘤组织中分离,并加入IL-2培养而获得。TIL是继LAK细胞之后的第二代抗肿瘤免疫活性细胞,其杀瘤活性较LAK细胞强约50~100倍。

树突状细胞(DC)是目前已知的功能最强的专职抗原呈递细胞,可激活初始T细胞,并诱导特异性的细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte,CTL)生成,在机体抗肿瘤、抗感染等方面发挥着重要的作用。目前认为,凡具有典型的树突状形态,膜表面高表达MHC II类分子,可移行至淋巴器官并刺激初始型T细胞增殖活化,并具有某些相对特异性表面抗原的一类细胞均可称为DC。用于过继性细胞治疗的DC多应用肿瘤相关抗原或抗原多肽体外冲击致敏DC,回输或接种于载瘤宿主,以诱发特异性CTL的抗肿瘤免疫反应。

自然杀伤细胞(NK)是机体重要的天然效应细胞,由骨髓造血干细胞发育而成,主要分布于外周血和脾脏,占外周血淋巴细胞的10%~15%。由于NK细胞对靶细胞的杀伤活性无MHC限制性,不依赖抗体,无需预先致敏直接杀伤肿瘤细胞,因此称为自然杀伤细胞。

DC-CIK细胞(DC-CIK)是指与DC细胞共培养的CIK细胞。成熟的DC细胞可有效地诱导抗原特异性T细胞增殖和活化,是机体抗肿瘤免疫反应的主要启动者和参与者,而CIK则具有T细胞的抗瘤活性与非MHC限制性杀瘤特点。DC-CIK细胞兼有DC与CIK两种免疫细胞的重要特性,可产生更为高效的免疫应答。

(二) 肿瘤疫苗

肿瘤疫苗是指含肿瘤抗原基因或肿瘤抗原肽的疫苗。肿瘤疫苗接种是通过人工设计的免疫应答来帮助人体产生“自卫”反应。肿瘤疫苗主要分为两大类:预防性疫苗和治疗性疫苗。预防性疫苗是一种天然病原体的改良形式或其组分,在病原体感染之前给予个体,从而建立长期存活的、病原体特异性的记忆淋巴细胞的扩增克隆,因此当个体首次遭遇此天然抗原时,会发生再次应答而非初次应答,大大降低个体罹患严重疾病的可能性。目前预防性疫苗用于预防病毒来源的肿瘤已获得相当大的成功,如人类乳头状瘤病毒(Human papilloma-virus,HPV)疫苗,主要用于预防HPV 16和HPV18型所导致的宫颈癌,在包括我国在内的多个国家已获得批准上市。治疗性疫苗是设计用于治疗或缓解已有疾病,而非预防疾病的疫苗。治疗性疫苗用于肿瘤治疗的原理主要是,利用被处理过的肿瘤细胞中独特的肿瘤抗原上调,引发有效的抗肿瘤免疫效应反应,通过刺激机体免疫反应来消除肿瘤。目前最为成功的治疗性疫苗为2010年4月美国FDA批准的用于治疗晚期前列腺癌的DC疫苗Provenge(sipuleucel T)。

肿瘤疫苗根据来源的不同,可以分为:细胞疫苗(cell-based vaccine),如肿瘤细胞疫苗、树突状细胞疫苗等;病毒疫苗(virus-based vaccine);蛋白/多肽疫苗(protein-and peptide-based vaccine);DNA疫苗(DNA-based vaccine);抗独特型疫苗(anti-idiotypic vaccine)和异种疫苗(xenogeneic vaccine)等。

细胞疫苗是将整个细胞,经过物理因素(如射线照射、高温)、化学因素(如酶解)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,保留其免疫原性而制成的疫

苗。抗肿瘤细胞疫苗常与佐剂联合应用,以提高其抗肿瘤疗效。

病毒疫苗多指突变病毒疫苗,其中病毒的基因组是有缺陷的,从而使其传染性丧失。突变病毒一方面能保护由机体免于遭受相应的野生型病毒感染;另一方面,也可用作载体负载免疫原性蛋白。

蛋白/多肽疫苗是利用一些独立的有保护性 T 细胞和 B 细胞表位的蛋白或多肽制成的疫苗。蛋白/多肽疫苗的确切分子组成是已知的,没有恢复其致病表型的可能性。此外,由于疫苗的基础片段相对较小,不易与其他更大的实质物质(如传染性病原体或遗传物质等)共纯化而被污染。

DNA 疫苗是指将肿瘤衍生 DNA 序列引入接种者,并在其体内直接合成具有免疫原性的病原体蛋白质。DNA 疫苗又包括重组载体疫苗和裸 DNA 疫苗。重组载体疫苗是利用相对减弱的病毒或细菌作为载体携带肿瘤 DNA 而形成的疫苗;而裸 DNA 疫苗则是将肿瘤抗原的编码基因克隆入质粒,在大肠埃希菌中大量复制,而不在人类细胞中进行。细菌大量培养后裂解,疫苗质粒经纯化后注射入接种者体内。

抗独特型抗体是由独特型刺激机体产生的抗体。独特型(idiotype, Id)即位于抗体分子可变区的抗原决定簇,是位于抗体可变区内高变区的遗传标志。本质上,独特型的差异是由抗体轻链可变区(VL)和抗体重链可变区(VH)内高变区氨基酸序列不同所致。这种氨基酸序列的差异也是抗体特异性的分子基础,不同特异性的抗体分子其独特型也不同。独特型由若干表位组成,称为独特位(idiotope)。

异种疫苗是利用异种生物的细胞、蛋白、多肽或基因等作为抗原制备的疫苗。该种疫苗的作用原理为利用异种同源基因在进化过程中所形成的微小差异,诱导机体产生针对异种同源蛋白及自身肿瘤靶抗原的交叉免疫应答,从而打破机体对自身肿瘤靶抗原的免疫耐受,激发机体抗肿瘤免疫应答,以达到治疗肿瘤的目的。

(三) 免疫调节剂

免疫调节剂是一类可特异或非特异地增强或抑制机体免疫反应的药物,也可称为免疫刺激剂或佐剂等。临床上常见的免疫调节剂有干扰素(interferon, IFN)、白细胞介素(interleukin, IL)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、集落刺激因子(colony stimulating factor, CSF)等细胞因子,胸腺肽,卡介苗及部分中成药,如一些抗癌中草药和生物调节样作用药物等。其中,细胞因子是应用最为广泛、疗效最为明确的免疫调节剂。

1. 细胞因子 细胞因子(cytokine, CK)是一类由活化的免疫细胞(淋巴细胞、树突状细胞、巨噬细胞等)和非免疫细胞(如成纤维细胞、血管内皮细胞、上皮细胞及某些肿瘤细胞等)所分泌的小分子蛋白物质的统称,能够作用于分泌细胞本身或邻近的其他细胞,具有调节固有免疫和适应性免疫效应、促进炎症反应、促进造血,以及刺激细胞活化、增殖、分化等多种生物学功能。

干扰素(IFN)为一类具有广谱的抗病毒、抗肿瘤和免疫调节功能的活性蛋白,因具有干扰病毒复制的作用而得名。根据其来源及生物学活性,干扰素可分为两大类:Ⅰ型干扰素(IFN- α 、IFN- β 、IFN- ϵ 等)和Ⅱ型干扰素(IFN- γ)。其中,IFN- α 是第一个用于临床的重组基因细胞因子。

白细胞介素(IL)是由多种细胞产生并作用于多种细胞的一类细胞因子。主要作用于 T 细胞、B 细胞及 NK 等多种靶细胞。通过靶细胞上的受体来传递免疫信息,激活、调控血细

胞的生长、分化和增殖,参与机体的免疫应答。由于最初由白细胞产生且在白细胞间发挥作用而得名。IL-2 是最早应用于抗肿瘤治疗的免疫调节剂之一。

肿瘤坏死因子(TNF)是一个分子家族,包括来源于巨噬细胞的 TNF- α 和来自淋巴细胞的 TNF- β 。TNF 一度由于其专一杀伤肿瘤细胞而不损伤正常细胞的特性而受到广泛关注。但遗憾的是,目前大多关于 TNF 的临床试验都因其带来的全身性毒性反应,如低血压、血管渗漏、发热和神经毒性等而宣告失败。

集落刺激因子(CSF)是一类刺激各类造血干细胞生长和分化的因子,包括 G-CSF、M-CSF、GM-CSF、EPO、TPO 和 SCF。目前,G-CSF、GM-CSF 和 EPO 已获批作为药物进入市场,主要用于化疗所致的严重粒细胞和红细胞减少等。

2. 胸腺肽 胸腺肽最初发现于牛的胸腺,被认为是一种胸腺激素。后来发现,胸腺肽普遍存在于各种组织细胞中。胸腺肽可分为 α 、 β 和 γ 族,各族又可分为不同的亚型。目前用于临床的主要是 α 族胸腺肽。 α 族胸腺肽具有免疫增强作用,可促进 T 细胞、NK、LAK、外周血单核细胞等的增殖及杀伤活性,促进 IL-1 β 、IL-2 和 TNF- α 等细胞因子的分泌。另外,其还与细胞的有丝分裂和细胞分化有关。

3. 卡介苗 卡介苗(bacille calmette-guerin,BCG)是最早用于肿瘤治疗的免疫佐剂,它的抗肿瘤机制尚未完全阐明,普遍认为其诱发非特异免疫反应和炎症,从而增强淋巴细胞的活性、中性粒细胞和巨噬细胞的吞噬能力,提高机体的抗肿瘤免疫反应。

4. 中成药 中医药防治肿瘤的研究,最早是从抗癌中草药的筛选工作开始的。半个世纪以来,我国已对 3000 余种中药和近 300 个复方进行抑瘤筛选,试验验证有效的中药有近 200 种,其中半数已进行了较为系统地临床验证,研发了长春新碱等近 40 个抗癌新品种。

二、肿瘤基因治疗

肿瘤基因治疗是在核酸水平上开展的肿瘤治疗。1993 年美国 FDA 给予基因治疗的定义为“基于修饰活细胞遗传物质而进行的医学干预”。2003 年中国国家食品药品监督管理局(SFDA)将其定义为“以改变细胞遗传物质为基础的医学治疗”。实质上基因治疗即一种以预防和治疗基本疾病为目的的人类基因转移技术,是以改变人的遗传物质为基础的生物医学治疗。根据治疗的主要途径可分为:抑癌基因治疗、癌基因治疗、免疫基因治疗、自杀基因治疗、药物敏感基因治疗和多药耐药基因治疗等。

抑癌基因(tumor suppressor gene),又名抗癌基因(antioncogene)、肿瘤易感基因(tumor susceptibility gene)。自 20 世纪 80 年代第一个抑癌基因 Rb 发现以来,目前已知的抑癌基因已有十余种。研究表明,半数以上的恶性肿瘤患者存在抑癌基因的失活,可见抑癌基因失活与肿瘤生长有着密切的关系。因此,将正常抑癌基因导入肿瘤细胞,以补偿和替代突变或缺失的抑癌基因,以达到抑制肿瘤生长或逆转其表型的抑癌基因治疗策略,成为肿瘤基因治疗中一种重要的治疗模式。目前应用较多的是 p53 抑癌基因治疗。

癌基因(oncogene)又名转化基因,是人类或其他动物细胞以及致癌病毒基因组中固有的,在一定条件下能使正常条件下的正常细胞转变为恶性细胞的核苷酸序列。癌基因治疗主要是利用碱基互补配对原则,将反义核苷酸导入细胞,或者导入核酶或干扰 RNA,通过与细胞内靶 RNA 结合,封闭或降解靶 mRNA,在翻译水平阻断癌基因的异常表达,或者破坏某个基因的结构而使其不能表达,从而达到治疗肿瘤的目的。

免疫基因治疗是利用基因进行的免疫治疗,是肿瘤基因治疗策略中研究最多的治疗方式,包括细胞因子基因治疗、肿瘤抗原基因疫苗治疗、MHC 基因治疗、共刺激分子基因治疗等。基因免疫治疗的优点主要在于,无需佐剂,可同时诱导体液和细胞免疫,且免疫应答持续时间长。

自杀基因治疗是在肿瘤细胞中导入编码某一敏感因子的基因,使该肿瘤细胞对原本无毒或低毒的药物产生特异的敏感性而被杀伤。当前自杀基因治疗研究大多通过编码病毒或细菌的酶来介导药物敏感性,即使肿瘤细胞产生可将药物的无活性形式转变成毒性代谢产物的酶,从而产生对药物的敏感性。常用的自杀基因有单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-TK)基因、大肠埃希菌胞嘧啶基因等。

药物敏感基因治疗是将外源基因插入肿瘤细胞,改变肿瘤细胞对药物的敏感性,使肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性显著提高。

耐药基因治疗则是在造血干细胞中导入耐药基因,使造血干细胞获得广谱的抗药性,或使用耐药基因的突变体,以获得比野生型更有效的骨髓保护作用,从而提高造血系统对化疗的耐药性,以便加大化疗剂量,在不造成白细胞或血小板下降的同时最大限度地杀灭肿瘤细胞。

三、肿瘤靶向治疗

肿瘤靶向治疗是通过有针对性的分子干预,阻止肿瘤细胞增殖和转移,恢复或提高机体抗肿瘤免疫效应,从而抑制肿瘤生长的治疗方法。肿瘤靶向治疗具有特异性强、治疗效果明显、不良反应少等特点,目前已有越来越多的靶向治疗药物获批进入临床,取得了令人欣喜的疗效。常见的靶向治疗药物包括:作用于特定分子靶点的小分子化合物,如吉非替尼(gefitinib)、索拉非尼(sorafenib)、伊马替尼(imatinib)、帕唑替尼(pazopanib)、瑞戈非尼(regorafenib)、曲美替尼(trametinib)、达拉非尼(dabrafenib)和威罗菲尼(vemurafenib)等;以及单克隆抗体,如曲妥珠单抗(trastuzumab)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、西妥昔单抗(cetuximab)、利妥昔单抗(rituximab)、阿伦单抗(alemtuzumab)、贝伐单抗(bevacizumab)、伊匹单抗(ipilimumab)和德尼单抗(denosumab)等。

用于靶向治疗的小分子化合物指具有明确作用靶点的非细胞毒性小分子化合物,可通过阻断肿瘤细胞中异常活化的激酶、生长因子和信号转导途径来抑制肿瘤的生长,从而达到治疗的目的。目前已被批准用于治疗肿瘤的小分子靶向药物主要属于酪氨酸激酶抑制剂和血管生成抑制剂等。

单克隆抗体治疗是以抗体为基础的免疫治疗,具有高度的特异性和专一性。单克隆抗体药物不仅可以直接启动生长抑制信号或诱导肿瘤细胞凋亡,也可间接激活宿主防御机制而发挥抗肿瘤作用。更为重要的是,单克隆抗体还可有效地携带毒素、放射性核素和化疗药物等各种“武器”达到靶位置发挥抗肿瘤效应,是当前生物制药研究一个备受瞩目的热门领域。

(侯建红 谭晶 肖春杰 李真)

第二节 肿瘤生物治疗在肿瘤综合治疗中的地位

手术、化疗和放疗是肿瘤治疗的三大传统手段。然而,随着现代医疗技术研究的进展和

人们对于生活质量的不断追求,传统治疗方式的弊端也不断涌现,如手术治疗难以清除所有肿瘤细胞,术后出现复发和转移的风险不可预知;放化疗毒副反应严重,部分患者无法耐受,很大程度地降低了患者的生活质量。生物治疗技术的问世,为肿瘤治疗打开了一个全新的领域,其生理、低毒和高效的特点,使其一出现便展现出蓬勃的生命力。目前,肿瘤生物治疗已经逐渐融合于肿瘤综合治疗的实践当中,成为肿瘤治疗过程中不可或缺的一部分。

肿瘤生物治疗以其独特的治疗优势在临床上占据着重要地位。免疫治疗可直接或间接地调节机体免疫反应,发挥全身性抗肿瘤效应,疗效持续时间长、不良反应轻微。基因治疗和分子靶向治疗目标明确,有效率高。更为重要的是,肿瘤生物治疗技术与手术、放化疗联用,可更有效地清除手术、放化疗后残余的癌细胞及微小病灶,有利于预防或减缓肿瘤的复发和转移,增强患者对放化疗药物的敏感性,提高放化疗疗效,从而提高肿瘤患者生存质量、延长生存期。

因此,肿瘤患者应提倡尽早接受生物治疗,而非仅仅将其作为其他常规抗肿瘤治疗失败后的一种补救措施。同时,生物治疗技术的开展应注意结合患者个体差异,包括肿瘤组织学分型、临床分期、肿瘤负荷和手术切除程度等,制订个性化治疗方案。

可以预言,肿瘤生物治疗将在术后患者的早期预防,辅助化疗和生物化疗中使患者获益,并在延长无进展生存期和总生存期,提高肿瘤患者生活质量等方面显示出其特有的优势。

(郭军 谭晶 张志伟)

第三节 肿瘤生物治疗的理论基础

2011年 Robert A. Weinberg 提出了最近十年肿瘤学研究的进展和热点,将其 2000 年提出的肿瘤细胞六大特征扩增到了十个:持续产生增殖信号(self-sufficiency in growth signals);对生长抑制信号不敏感(insensitivity to antigrowth signals);抵抗细胞死亡(resisting cell death);无限复制潜能(limitless replicative potential);诱导血管新生(sustained angiogenesis);激活侵袭与转移(tissue invasion and metastasis);基因组不稳定性及基因突变(genome instability and mutation);促进炎症发生(tumor promotion inflammation);能量代谢失调(deregulating cellular energetics)和免疫逃逸(immune escape)。新增肿瘤特性集中体现在基因组不稳定性、炎症、能量代谢及免疫调节方面。

恶性肿瘤是一类涉及多因素、多阶段病理过程的全身性疾病,肿瘤细胞的每一个生物学特性都涉及众多的分子信号通路和分子靶点,并伴有机体免疫紊乱。生物治疗则是根据肿瘤细胞与正常细胞在免疫及遗传特性中的差别,通过对机体自身免疫功能调节、基因水平干预以及信号传导通路中关键分子治疗,调节肿瘤细胞的生长、分化、凋亡、侵袭与转移等生物学行为,最终实现肿瘤的特异性治疗的治疗手段。

一、生物免疫治疗

生物免疫治疗是通过直接或间接调节机体免疫反应达到肿瘤治疗目的的治疗方式,包括过继性免疫细胞治疗、免疫疫苗治疗和免疫调节剂治疗等。在 20 世纪 60 年代末,Burnet FM 和 Thomas L 提出了免疫监视学说(immune surveillance theory),为肿瘤免疫学理论奠

定了基础。学说指出,机体免疫系统有监视肿瘤发生并通过细胞免疫机制清除肿瘤细胞的能力,机体免疫监视功能低下则易发生肿瘤。随着肿瘤免疫编辑学说(cancer immunoeediting)的兴起,人们逐渐认识到免疫系统在肿瘤形成过程中的双向性作用。免疫系统对肿瘤细胞的“免疫编辑”可使肿瘤细胞的生物学特性(如肿瘤抗原性等)获得重塑,增强其恶性程度和对机体免疫攻击的抵抗力。同时,肿瘤细胞还可通过各种机制,如降低自身免疫原性,异常表达 MHC 抗原,“覆盖”或封闭肿瘤细胞表面抗原,加工处理肿瘤抗原,缺失协同刺激信号等,逃避机体的免疫监视,发生“免疫逃逸”。

机体对肿瘤细胞的杀伤作用主要依赖于体内的 T 细胞,尤其是 $CD8^+$ CTL 和 $CD4^+$ Th1 细胞。因此,如何有效而充分地激活 T 细胞,一直是人们研究的重点。1970 年 Bretscher P 提出了“T 细胞激活双信号”假说,指出 T 细胞的活化至少需要双重信号的刺激:首先,依赖于由 T 细胞表面受体(T cell receptor, TCR)与抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC)表面的抗原肽-MHC 复合物(p-MHC)结合所启动的第一信号;其次,由位于 APC 表面的共刺激分子如 B 淋巴细胞激活抗原分子(B7)等,与 T 细胞膜上相应受体如 CD28 等结合所启动的第二信号。第一信号为特异的抗原提呈信号,第二信号为非特异性的、非 MHC 限制的共刺激信号,两个信号的整合可有效地诱导 T 细胞活化。

作为目前已知的功能最强的专职抗原提呈细胞,DC 在机体特异性免疫应答的诱导与调节中起着关键作用。淋巴组织来源的 DC 可表达高水平的 MHC-I 和 II 类分子、共刺激分子 B7-1 与 B7-2 以及某些黏附分子,如 LFA-1、LFA-3、ICAM-1 等,呈现其递呈抗原以刺激机体免疫反应的能力。利用 DC 细胞的这种生物学特性,目前临床上正广泛尝试将多种 DC 相关的自体免疫细胞技术应用于临床肿瘤治疗。

同时,作为第二信号中最重要的一对共刺激分子,即表达于抗原提呈细胞表面的 B7 分子与 T 细胞表面二聚体分子 CD28 之间的结合,可向 T 细胞内传递信号并启动 T 细胞活化。缺乏共刺激信号会导致 T 细胞应答下降,诱导 T 细胞失能。而细胞毒性 T 细胞抗原 4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA-4),一种 T 细胞活化抑制性受体,可与 CD28 竞争 B7 分子配体结合位点。2011 年 FDA 批准上市的抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ipilimumab,可通过阻断 CTLA-4 与 B7 配体的结合,恢复 T 细胞免疫活性,从而发挥抗肿瘤免疫效应,是近 30 年来首个临床试验证明可提高晚期恶性黑色素瘤患者生存期的药物。

二、肿瘤基因治疗

基因治疗(gene therapy)属于广义的生物治疗范畴,是通过对人体遗传物质进行修正、补充或改造以达到治疗疾病目的,或者将遗传物质导入人体组织或细胞所进行的疾病治疗。其核心是将特定的 DNA 或 RNA 片段转入机体细胞,以达到治疗疾病的目的。1972 年, Kornberg 成功完成了 DNA 重组试验,成为基因治疗道路上的重要里程碑,从此,人类得以将所需要的基因扩增并克隆到不同的表达质粒和病毒载体中。PCR 技术的诞生,进一步加速了人类克隆基因的能力。而近年来,基因转移技术的发展使基因治疗取得了突破性进展,目前发展起来的基因转移技术已有十余种。随着人们对疾病发病机制认识的深入和分子生物学技术的进步,基因治疗已不仅仅局限于导入正常基因以纠正基因缺陷,也可以导入特定的 DNA、RNA 片段,以封闭或抑制特定基因的表达,即反义技术治疗肿瘤或病毒感染等疾病。目前基因治疗的概念已扩展为:凡是采用分子生物学方法和原理,在 DNA 或 RNA 水

平上开展的疾病治疗都可称为基因治疗。

肿瘤基因治疗的基本策略主要有以下几种方式:基因替换(gene replacement)、基因修饰(gene modification)、基因添加(gene addition)、基因补充(gene supplement)和基因封闭(gene block)等。基因替换是通过同源重组等方法用正常基因原位置换已突变的基因片段,是最理想的基因治疗方法,但目前的技术水平尚难以达到。基因修饰则通过一定的手段对突变基因进行修饰,以纠正其异常结构和功能。基因添加为将额外的外源性基因导入细胞中表达的方法。而基因补充则是在细胞中补充已缺失或突变的基因,以达到治疗疾病的目的。基因封闭技术可通过反义核酸、核酶、RNA 干扰技术等方法阻止细胞中某些过度表达基因(如癌基因等)的表达,诱导肿瘤细胞分化或凋亡,抑制肿瘤生长。

基因治疗根据功能基因的导入方式不同,可分为体内基因治疗和体外基因治疗。体内基因治疗主要使用病毒作为基因运送载体,将基因直接导入患者组织;体外基因治疗则包括获取患者组织、体外细胞培养、治疗基因转入及基因获得细胞的回输等过程。目前已投入临床研究的基因治疗制剂有:基因转导 p53(如 AV-P53)、基因转导 DC(如 AAV-BA46-DC)和基因转导的 TIL(IL-2、TNF- α)等,疗效有待进一步的临床评价。值得一提的是,我国研制的 p53 重组腺病毒抗癌制剂(gendicine,今又生)是世界首个获准上市的基因治疗药物。

三、靶向治疗

靶向治疗是通过有针对性的分子干预,阻止肿瘤细胞的增殖和转移,恢复或提高机体抗肿瘤免疫效应,从而抑制肿瘤生长的治疗方法。肿瘤靶向治疗被认为是当前发展最迅速的、最有前景的肿瘤治疗手段之一,目前已广泛应用于乳腺癌、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、前列腺癌、黑色素瘤等多种恶性肿瘤。肿瘤靶向治疗与常规放化疗最大的区别在于,可特异性地作用于肿瘤突变位点、抑制肿瘤细胞异常信号传导通路、阻断肿瘤免疫抑制通路,达到杀灭肿瘤细胞、阻止其增殖的目的。常见的分子靶向治疗药物主要包括单克隆抗体和小分子药物等。

单克隆抗体是目前免疫靶向治疗的主要代表药物,其原理是利用抗原抗体特异性结合特点设计的治疗方法。肿瘤细胞表面表达的特异性肿瘤抗原均可成为单克隆抗体潜在的作用靶点。单克隆抗体治疗除可阻断抗原蛋白的功能外,还能够借助于机体的补体依赖细胞毒作用(complement dependent cytotoxicity, CDC)和抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)间接杀伤肿瘤细胞。目前在临床上应用比较成熟的单克隆抗体有利妥昔单抗、曲妥珠单抗和贝伐单抗等。

小分子药物可特异性地阻断肿瘤细胞生长增殖过程中所必需的信号传导通路,达到治疗目的。目前具有代表性的小分子药物有吉非替尼、伊马替尼等。作为可逆的选择性 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂,吉非替尼对表皮生长因子受体(EGFR)基因突变的非小细胞肺癌患者疗效显著;伊马替尼则可通过抑制生长因子受体酪氨酸激酶信号转导系统抑制肿瘤细胞生长,现已成功用于慢性髓细胞白血病和胃肠基质瘤等的治疗。其他小分子药物,如多靶点酪氨酸激酶抑制剂:索拉非尼、舒尼替尼等;mTOR 激酶抑制剂:如坦西莫司、依维莫司等,也已逐渐广泛应用于临床。

(李真 郭军 耿涛 宋鑫)

第四节 肿瘤生物治疗的临床研究原则

临床试验是在人体(患者或健康志愿者)进行的系统性研究,以证实或揭示试验方案的不良反应及(或)药物的吸收、分布、代谢、排泄和作用等,目的是确定试验方案的安全性与疗效。临床试验是肿瘤生物治疗发展的基础,只有坚持长期、完善的临床试验研究,才能为发展中的生物治疗技术提供可靠的循证医学依据。生物治疗药物或制剂的临床试验必须在严格的科研条件下设计、实施、评价、观察与管理,从设计到实施必须考虑研发的各个环节、统计意义和临床可行性等。

同时,临床试验的设计和开展必须在国家药政部门临床试验管理规范(GCP)指导下进行,遵循对照、随机、重复、均衡等基本原则。

一、药品临床试验管理规范

临床试验规范(good clinical practice, GCP)是有关临床试验的方案设计、组织、实施、监督、稽查、记录、分析和报告等全过程的规范。核心是强调安全性、有效性和科学性。目的是保护志愿受试者在新药研究中的权益并保障其安全,保证药品临床试验的过程规范可信,结果科学可靠。

GCP对临床试验设计、实施等多方面做了具体的规定,基本原则包括以下几点:必须符合《世界医学大会赫尔辛基宣言》、《药物临床试验质量管理规范》及遵守药品管理的有关法规;在进行人体试验前,必须明确试验目的,并权衡对受试者和公众健康预期的收益和风险,预期的受益应超过可能出现的损害。选择临床试验方法必须科学,符合伦理要求;受试者的权益、安全是临床试验考虑的首要因素,其利益高于科学家和社会的利益;临床试验必须遵循方案实施,该方案必须经伦理委员会批准,受试者在参加临床试验前,必须签署知情同意书;应充分尊重受试者的选择,给受试者提供医疗关爱;研究者都应具备承担该项临床试验的专业特长、资格和能力;所有临床试验文件应完整记录、处理及保存。

二、临床试验设计基本原则

(一) 对照原则

对照是指在试验研究的过程中,确立可供相互比较的组别,使不同处理因素的差异有一个科学的对比,可鉴别不同处理因素间的效应差异,抵消非试验因素的干扰和影响。常用的对照形式有安慰剂对照、空白对照、标准对照、自身对照、历史对照和相互对照等。医学上许多症状是可自愈的,能自行减轻和缓解的疾病也不少见,所以临床试验中设立对照是必不可少的。

(二) 随机原则

在临床试验中,随机化是一项极为重要的原则,即采用随机的方式,使每个受试对象都有同等的机会被抽取或分配到不同的试验组和对照组。包括随机抽样和随机分组等。随机化使各组受试对象在重要的不同处理因素的各方面具有较好的均衡性,提高试验结果的可比性。遵循随机化原则,能够更好地避免主观因素,控制系统误差,使样本具有极好的代表性。

(三) 重复原则

重复是指在相同试验条件下进行多次试验或观察,以提高试验结果的可靠性,包括对多个受试对象进行试验和对同一受试对象进行重复观测等。重复原则要求研究样本具有一定的数量,即在保证研究结果具有一定可靠性的条件下,确定最少样本数。重复原则的作用在于有利于将随机变量的统计规律性充分显露出来。

(四) 均衡原则

均衡原则又称齐同对比原则,是指试验组和对照组或各试验组之间,除了处理因素以外,其他一切条件应尽可能相同或一致。临床试验中常用的均衡措施包括交叉均衡法和分层均衡法。交叉均衡是在各试验组中又分别设立试验和对照的方法,以使两组的处理因素均衡一致。分层均衡法则是将非处理因素按不同水平划分为若干个单位组(层),然后在每个单位组(层)内安排处理因素。

三、临床试验设计的特殊问题

临床试验从研究的性质划分,属于实验性研究的范畴,但与动物实验研究不同,临床试验的受试对象是患者。由于涉及的对象为人,除必须遵循一般实验设计的基本原则外,还需考虑一些特殊的问题:

(一) 随机化方法

临床试验多采用分层、区组随机化方法。分层随机化有助于保持层内均衡性,特别是多中心临床试验中,中心就是一个分层因素。区组随机化有助于减少季节、疾病流行等因素对疗效的影响,但区组的大小应适当。当样本量、分层因素及区组大小确定后,由专业统计人员设计随机分配表。

(二) 盲法

盲法是控制观察性偏倚的一种重要措施。盲法原则应自始至终地贯彻于整个临床试验之中。双盲临床试验中,从随机数的产生、试验用药物的编码、受试者入组用药、试验结果的记录和评价、试验过程的监查、数据管理直至统计分析,都必须保持盲态。监查员必须自始至终地处于盲态。若发生了任何非规定情况所致的盲底泄露,并影响了该试验结果的客观性,则该试验将视为无效。

(三) 医学伦理

进行临床试验最重要的是不能给受试者带来不必要的痛苦、不舒服的感受或使其丧失自由。但在进行临床试验时难免会给受试者带来一些不便,这就需要在试验研究和保障受试者得到最好的医疗之间达到一个平衡点,即考虑医学伦理道德的问题。需注意以下几点:第一,临床试验必须符合《赫尔辛基宣言》和国际医学科学组织委员会颁布的《人体生物医学研究国际道德指南》的道德原则,即公正、尊重人格、力求使受试者最大程度受益并尽可能避免伤害。第二,进行药物临床试验必须有充分的科学依据。进行人体试验前,必须周密考虑该试验的目的、要解决的问题、预期的治疗效果及可能产生的危害。预期的受益应超过可能出现的损害。选择临床试验方法必须符合科学和伦理标准。第三,临床试验开始前,试验方案需经临床研究负责单位的国家临床试验机构伦理委员会审议同意,并签署批准意见后方可实施。在试验进行期间,试验方案的任何修改均应经伦理委员会批准方能执行。第四,在药物临床试验过程中,必须对受试对象的个人权益给予充分的保障,并确保试验的科学