

转化医学应用

主 编 刘 刚



科学出版社

转化医学应用

主 编 刘 刚

副主编 周 煦

编 委 王亚红 林子英 唐金凤

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书系统地介绍转化医学的概念和应用发展,基础研究与临床医疗之间建立的直接联系,讲述了药物研发、生物学工程等领域经典意义上的转化医学,将基础研究的成果转化成为实际患者提供的真正治疗手段,强调从实验室到病床旁的联接。全书共分6章,第一章,转化医学;第二章,自身免疫性疾病与转化医学;第三章,转化医学与代谢疾病;第四章,分子标志物与生物样本库;第五章,干细胞研究与转化医学;第六章,新药研发与转化医学。

本书是致力于转化医学研究的研究生、科研工作者的参考工具书,是转化医学入门教材。

图书在版编目(CIP)数据

转化医学应用 / 刘刚主编. —北京: 科学出版社, 2014.12
ISBN 978-7-03-042526-3

I. ①转… II. ①刘… III. ①医学—研究 IV. ①R

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第263303号

责任编辑: 周万颢 朱 华 / 责任校对: 胡小洁

责任印制: 徐晓晨 / 封面设计: 范璧合

科 学 出 版 社

出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2014年12月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2014年12月第一次印刷 印张: 6 1/2

字数: 149 000

定价: 38.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

近年来，转化医学是医学领域热门的话题之一。转化医学的理念是倡导实验室与临床研究的双向转化，加快成果的市场转化，最终使患者受益。随着医学的进步和分子生物学新技术的不断涌现，转化医学研究涉及的领域不断拓展。为了顺应时代的发展，政府、学术界还有工业界对转化医学都开始重视，而医院则成为临床医学研究和转化医学中心的主要孵化中心点。医院承担着孵化的使命，使得临床医学转化中心在全国逐渐地建立起来，共同探索和研究转化医学——这一热点问题。转化医学知识不断更新，给临床医生和基础研究工作者一个巨大的挑战。一方面医生在临床应用的过程中要随时关注新的进展和动态，这样才有可能掌握对转化医学的认识并寻找更有价值的参考资源，从而为患者提供更新、更好的诊疗技术。另一方面科研工作者不断探索疾病领域的新机制，对推动分子靶向药物的筛选有重要的意义。转化医学犹如一对天使的翅膀，眷顾着临床和科研使命，使临床服务于科研，科研也服务于临床，相互制约，相互扶持、成长、壮大。在医学转化实施过程中，仍然存在诸多挑战，如经济、伦理、监管、立法和实际运行等问题。

基于多年从事临床医学研究工作的责任和热情，我们组织有关人员编写了《转化医学应用》一书，书中涉及临床医学和基础科学的部分领域，在传统知识基础上力求将近年发展较快的一些生物系统方法学创新成果纳入书中，旨在与从事转化医学领域的同道共同学习交流，为临床医学研究向转化医学方向快速转变提供一些参考。

由于笔者知识水平有限，书中难免存在错漏和不足之处，恳请各位读者批评指正。

编 者

2014 年 7 月

目 录

前言

第一章 转化医学	1
第一节 转化医学的形成、发展与现状	1
第二节 转化医学的课题设计	2
第三节 转化医学的成功案例	4
第四节 转化医学与多学科交叉	9
参考文献	14
第二章 自身免疫性疾病与转化医学	16
第一节 概述	16
第二节 器官特异性免疫疾病	17
第三节 系统性自身免疫病	22
第四节 自身免疫疾病相关研究的转化	29
参考文献	30
第三章 转化医学与代谢疾病	31
第一节 概述	31
第二节 常见代谢性疾病及其治疗	34
第三节 代谢性疾病相关研究的转化	42
参考文献	43
第四章 分子标志物与生物样本库	45
第一节 分子标志物概述	45
第二节 肿瘤标志物	47
第三节 新型的分子标志物——microRNA	54
第四节 生物样本库概述	56
第五节 生物样本库的概念和发展现状	57
第六节 如何建立标准化规范化肿瘤生物样本库	60
第七节 生物样本的收集程序	62
第八节 生物样本库的伦理	64
第九节 生物样本的质量控制	65
参考文献	69
第五章 干细胞研究与转化医学	71
第一节 干细胞的研究进展	71
第二节 干细胞研究应用于转化医学的合理性	73
第三节 干细胞研究及应用中的“B2B”模式	75
第四节 干细胞转化医学研究的管理模式	77
第五节 干细胞转化医学研究的管理规则	78
参考文献	79

第六章 新药研发与转化医学	81
第一节 新药研发不断发展的前景——转化型研究	81
第二节 临床前新药开发工具——离体实验	85
第三节 生物标志物与新药开发	87
第四节 临床抗癌药物发展	91
参考文献	96

第一章 转化医学

第一节 转化医学的形成、发展与现状

近年来,随着我国对基础研究的力度加大,我国发表的医学论文数目已经跃居世界前列。基础研究方面也取得了很大的进步,每年国家自然科学基金资助的项目数量及力度呈逐年递增趋势,这些成果发表的文章内容有很多涉及基因治疗、干细胞分化、移植以及对分子机制及其治疗的研究,研究成果不可谓不丰富,也不可谓不深入,基础研究在各个领域已深入到一定层次,但同时这种越来越深入的分子水平的研究,与起初医学生命科学解决目前人类的基本健康问题的初衷相差甚远,在人类许多基本的健康问题还需亟待解决的今天,许多临床工作者放弃本该重点解决的临床诊疗问题,去一味探索几乎接近抽象的所谓高端科技和生命奥秘,脱离了临床工作者本该关注的主要问题。搞基础医学研究往往以发论文为目标,很多仅仅是为发表论文而已,大量的基础研究中,真正地被应用于或有潜力用于临床的屈指可数。以美国为例,虽然美国国家卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)近几十年来一直增加对医学研究的投资,但并没有产生相应的新的诊断和治疗方法。相反,研究结果距离临床应用仍停留在称为“死亡之谷”之间的差距。临床研究和企业的差距越来越大,为扭转这一局面,采用创新的计划已势在必行,并且要实行一些重大的变化,包括美国国立卫生研究院的同行评审过程的重大变化,为转化研究提供更多的资金,更多的资源用于培训和对具有发展潜力的年轻的临床研究工作者职业生涯的支持等。

1992年,Choi在*Science*首次提出了“Bench to Bedside”(B-to-B)的概念;1993年,“转化研究”这一术语首次在Pubmed上出现;1996年,Geraghty在*Lancet*提出了“转化医学”这一名词。转化医学的相关英文有translational research, translation science、translational medicine、translational medical research等不同提法。其中“translational research”在文献中的应用最为广泛,且绝大多数是指医学领域的转化型研究。但是“translational research”的概念过于宽泛,一般认为如果特指医学领域的转化型研究,采用“转化医学”(translational medicine)更为准确。

那么,转化医学到底是什么?2003年,Zerhouni在*Science*发表的文章提出了转化医学的概念。转化医学主要涉及基础医学与临床应用间的双向转化过程,是基础医学与临床应用之间的桥梁,是循环式的科学体系。明确转化医学的定义进一步完善转化医学的概念和内涵,制定出具有国际标准的定义是转化医学研究中的一项具有重大意义的任务。目前转化医学的概念还没有统一的国际标准,对于转化医学的认识,主流的观点是将“从实验室到临床使用的应用型研究”定义为转化医学,将在实验室获得的关于疾病病理及治疗机制的新认识开发出新的临床应用手段用于对疾病的诊断、治疗和预防等。然而,另有学者指出转化医学的概念还有新的内涵,即“将研究成果、结论应用到日常临床及健康保健工作中”,是一个将医学研究成果普及大众的过程。转化医学的实现需要有综合性转化医学团队共同完成。这一团队由转化医学中心或转化型研究机构、医院、预防与保健机构、社区

服务机构、医药企业等系统化的综合构成。从广义上讲,转化型研究主要指基础研究与应用领域的双向转化过程的相关研究。转化型研究应用于医学领域就产生了转化医学。

2006 年美国 NIH 成立了临床与科研成果转化奖励委员会 (Clinical and Translational Science Awards, CTSA), 并以每年 2 亿~5 亿美元的资助力度推进转化医学研究。到 2009 年, 已增加了 38 所转化医学研究中心, 至 2012 年增加到 60 个以上。同年 5 月, 苏格兰与惠氏制药公司启动世界上第一个转化医学合作研究中心, 总投资额接近 5000 万英镑, 主要研究可用于诊断及监测人类疾病的生物标志物 (如新近发现的蛋白质或指示剂), 这些生物标志物可通过患者的血液样本或 X 线片检测出来, 进而能用于疾病的诊断、监测疾病的进展以及观察患者对治疗的反应。2008 年新加坡国立大学及附属医院也建立了他们的第一个转化医学中心。

随着研究的深入, 一系列以转化医学为主题的会议逐渐增多, 虽然国内尚未提出建立大型转化医学研究计划, 但是各地区相继召开了一些转化医学的会议, 并且成立了一些转化医学中心。2007 年协和医院在国内首次召开“转化医学国际会议”, 2008 年温州医学院召开“国际遗传学和转化医学学术研讨会”, 2009 年上海召开了主题为“转化医学的理论与实践探讨”的会议、2010 年杭州召开了“西湖医药国际会议—转化医学”大会, 同时浙江大学医学院附属第一医院成立了转化医学中心。另外, 我国政府也对转化医学给予了高度的重视和支持, 《中共中央关于制定国民经济和社会发展第十二个五年规划的建议》《国家“十二五”科学和技术发展规划》《医药“十二五”规划》“健康中国 2020”战略研究等政策与规划, 均对转化医学的发展给予重视。“十二五”发展规划对转化医学单独立项, 投入高达 200 亿元, 目前国内已成立 75 家以三甲医院为主体的转化医学中心。2013 年 5 月 24 日, 德国凯杰 (QIAGEN) 公司和中国苏州生物纳米科技园宣布凯杰 (苏州) 转化医学中心正式投入运营, 成为中国第一个商业性的转化医学机构。此外, 由中国工程院院士王振义倡导的中国第一个转化医学中心已获国家批复, 于 2014 年在瑞金医院内开建占地 6 万平方米的上海转化医学中心, 将以肿瘤、心血管疾病、代谢性疾病三大临床难题为重点, 实现多学科交叉合作, 加速医学成果转化。

以“加快中国的医学模式转换, 促进中国医药卫生体制改革”为主题的第 13 次香山科学会议 2010 年 12 月 18~19 日在北京举行。会议执行主席、当时的卫生部部长陈竺院士作了题为《推动转化医学发展, 应对人民健康挑战》的主题评述报告。陈竺说, 转化医学的目的是为了打破基础医学与药物研发和临床医学之间固有的屏障, 在其间建立起直接的关联, 从实验室到病床, 把基础研究获得的知识和成果快速转化为临床治疗的新方法。陈竺强调, 转化医学的核心, 就是在从事基础科学发现的研究者与了解病人实际需求的医生之间建立起有效联系, 特别集中在基础分子生物医学研究向最有效和最适合的疾病诊断、治疗和预防模式的转化。

第二节 转化医学的课题设计

转化医学旨在基础与临床研究之间架起一座桥梁, 强调从临床中发现问题, 进行以某一个具体疾病为基础的研究, 促进基础研究成果快速为临床医学服务。任何一个以转化医

学的目标为方向的科研课题,无论其大小,都与选题及其课题的设计有直接关系,其研究成果的水平和价值取决于最终是否能实现临床应用。课题设计是整个课题研究中至关重要的一个环节,精心的课题设计和实施项目保证了研究的科学性、可靠性和诚信度,因此课题的选题设计也应是转化医学能否实现其临床应用的关键之一。以多中心协作研究,加快临床试验是目前的一个趋势。

1. 以转化医学为理念,选择正确的科研题目 选题的首要标准是创新性。研究者应具有自主实践能力和创新智慧,能从实践中吸取创新灵感,并将其凝练成为要解决的科学问题,然后回溯到基础医学的范畴进行机制机理的研究。同时,不只是个人兴趣和梦想的需要,更要以临床的实际情况为中心,尤其是要从当前国民经济和社会发展的需求出发,选择能真正服务社会的课题。当前,人类仍然面临许多亟待解决的健康问题,如恶性肿瘤、慢性非传染性疾病、感染性疾病、与社会环境和人类行为有关的疾病以及人口问题等。这里有许多课题可做,也蕴藏着巨大“商机”和空间。

2. 正确地指导思想是转化医学课题设计的前提 课题设计需要有正确的指导思想,否则其研究方案只能是一个缺乏理论依据和毫无实际价值的课题而已。那么课题设计遵循的原则是什么?

首先,我们要确定研究的目标是具有物质基础的,绝不能是空想;其次,确定在理论和实践中都有可行性后,就要集中精力聚焦目标,在设计中所做的一切考虑和所采用的所有方法都是为了能更快更准确地实现目标;最后,必须要遵循从事研究类型本身的规律,把握其特有的性质。近年来,基因组学、蛋白组学的巨大进步,为我们提供了更有利的工具。如在试验研究阶段,关键在于试验设计三要素、四原则和设计类型高质量的安排和落实,而进入临床试验研究,关键在于伦理道德的考虑、受试者的纳入和排除标准的制定,受试者依从性的提高和临床试验实施过程中的规范化流程和质量控制。

3. 课题设计中的对照问题 任何事物间的差异都是通过比较而显示出来的,没有比较就没有鉴别。设置对照就是为了消除非处理因素的干扰和影响,使得实验结果更具有可比性、可靠性和说服力。在设立对照时要求“组间一致性”,对照组和实验组之间的均衡性要合适,两组的一切条件应尽量均衡一致,均衡性越好,则可比性越强,这样的对比才能消除非处理因素导致的误差,对实验观察的现象作出最客观的科学结论。

4. 课题设计中的随机化问题 随机临床试验是评价新药物治疗的主要工具,随机对治疗组和对照组之间提供了公正的比较。随机化的实际意义是指对所研究的实验对象的抽样、分组和实施的过程中均应该随机化。但随机并不意味着随便、随意,例如,如果是在做关于神经系统相关方面的研究时,对实验小鼠抽样分组,将先抓到的小鼠分为一组,后抓到的分为一组,表面看来是在进行随机性分组,但事实却是先抓到的可能大都是不活泼的,而后抓到的多数是活泼的,这样的分组不是随机而是随意了,最后对结果会造成误差。在临床试验中最常见的问题是治疗组和对照组的比例失衡,这些丢失的资料减少了随机带来的公正性,导致治疗组实验结果潜在的偏差。

5. 课题设计中的偏差问题 谨慎“误差”对课题设计的影响。误差的出现可能是系统地或随机地引入。系统性或随机误差都会影响研究的结果。例如,如果一项研究的研究者被允许选择给谁使用新的疗法和谁仍然使用传统治疗,可能会下意识地只针对那些自己认

为最敏感的病人使用新的治疗方法。这是一个在选择上出现偏差的例子。相反，如果研究者盲目地对治疗药物进行分配，导致患者没有得到合适地治疗，则糟糕的情况出现，该项研究出现随机偏差。另外，对于临床试验受试者的资料收集终止或临床试验受试者停止参与及不适宜评估标准等问题的出现，要求数据的分析和试验前设计更加细化。在现代临床研究中，系统和随机的任何未知的因素都可能会影响最终结果，研究者应该平衡两者，以求偏差的影响被最小化。

第三节 转化医学的成功案例

肿瘤细胞产生和释放的某些物质，常以抗原、酶、激素等代谢产物的形式存在于肿瘤细胞内或宿主体液中，根据其生化或免疫特性可被识别或诊断肿瘤。肿瘤细胞的生物化学性质及其代谢异常，因此在肿瘤病人的体液、排出物及组织中出现质或量上改变的物质，被称为肿瘤标记物（cancer biomarkers）。肿瘤标记物在临床上主要用于对原发肿瘤的发现、肿瘤高危人群的筛选、良性和恶性肿瘤的鉴别诊断、肿瘤发展程度的判断、肿瘤治疗效果的观察和评价以及肿瘤复发和预后的预测等。

肿瘤标记物的发现是一个相对容易的过程，每年都有大量相关的文章发表，在 Pubmed 上可搜索到将近 26000 篇关键字为“cancer biomarkers”的文献，但至今，能用于监测肿瘤治疗反应并获得美国食品与药品监督管理局（FDA）批准的肿瘤标记物却不超过 30 个。由此可见，研究结果数量虽然可观，但是真正转化到临床实际应用的却屈指可数。肿瘤生物学是一个尚未完善，验证过程极其复杂和昂贵，并且没有相应的机制激励转化研究的学术体系。事实上大部分肿瘤标记物的研究还停滞在发现阶段，一些研究者只满足于发现某一标记物，而非致力于将其转化为可投入临床使用的成果，同时，信用问题、优先出版和专利信贷等问题也是导致研究无法顺利进入验证阶段的重要因素。

一些大型突破性研究成果从提出概念到实现往往需要几十年的时间，以美国为例，医疗行业尽管占了美国 GDP 的 13% 以上，并且还在飞速增长，虽然验证阶段的随机临床试验是评价新药物治疗的主要工具，随机对治疗组 and 对照组之间提供了公正的比较，但进行的难度很大，使得医疗行业的成果转化模式仍然是支离破碎。医疗行业可以借鉴电子行业的模式，这些大成果也可作为一种商业模式，但各自系统驱动的模式有所差异。

肿瘤标志物临床应用的成功转化取决于其验证路径，无论转化过程如何严谨，如果标志物缺乏必要的性能特征，则无法成功转化。然而，大多数肿瘤标志物的文献报道缺乏充分的敏感性和特异性，或欠缺规范的标本，如终末期癌症或者不匹配的病例组和对照组。因此，促进肿瘤标志物从基础研究到临床应用转化首要的问题便是改善其发现过程。肺癌是全球癌症死亡的最常见原因，由于早期缺乏临床症状而导致延误诊断，死亡率一直未见下降，年龄、遗传易感性和有毒物质（吸烟）均有可能增加患肺癌的风险。各种肺癌生物标志物已被鉴定，包括表皮生长因子受体（EGFR）的突变、EML4/ALK 融合基因、p53 基因突变、Ras /MAP 激酶突变、Her-2 的过表达和 PI3K/mTOR 突变。有研究指出，肺叶切除术的远期疗效最佳，但仅针对非小细胞型肺癌（non-small cell lung cancer, NSCLC）晚期阶段的老年患者。NSCLC 总体 5 年生存率低于 15%，而 I 期 5 年生存率却高于 50%，但

是 75%NSCLC 在晚期才被确诊,已错过手术时机。因此,我们迫切需要一种早期检测手段,在癌细胞侵袭机体之前发现癌症,如高危人群的筛选,吸烟史是一个重要因素。不容乐观的是,肺癌病情的迅猛发展与其异构性严重阻碍了通过筛选方法来降低死亡率的进程,每年筛查胸片、痰检,甚至大样本分析都无法有效减少死亡率。近期研究表明低剂量计算机断层扫描(LDCT)有利于降低肺癌患者的死亡率,美国胸外协会(American Association for Thoracic Surgery, AATS)建议使用 LDCT 进行年度肺癌筛查,可是目前 LDCT 的假阳性结果高达 96.4%,不能为肺癌的早期诊断提供可靠的依据。肿瘤伴随着基因和蛋白的变化而生长,比如甲基化, DNA (RNA) 点突变,蛋白质、碳水化合物、细胞因子和趋化因子的突变或异常表达,以及来自细胞膜过氧化反应的挥发性有机化合物,均可作为肿瘤标志物。有研究显示,肿瘤相关自身抗体检测可早于放射自显影 5 年发现 NSCLC。

肿瘤标志物最初用作癌症的诊断依据之一,但现在更趋向于用来预测疾病,同时也可监测药物的药效作用。鉴于癌症早期阶段非侵入性诊断的敏感度,血清 miRNA 和肿瘤相关抗原(tumor associated antigens, TAAS)及其抗体的检测是肿瘤早期诊断的研究热点。

小分子 RNA (MicroRNAs, miRNAs),是一种长度为 17~25nt 的非编码小 RNA,在转录后水平调控生物进程。最近有研究结果显示,miRNAs 的突变、异常表达或改变均参与了癌症的发生发展过程。miRNAs 被证明存在于血清和血浆中,更重要的是,miRNAs 可以持续处于被保护的状态,血清中 miRNAs 的水平是稳定的,可重复的,在同一物种的个体之间保持一致,所以可以直接从血清中提取 miRNAs 进行检测。同时,癌症中血清 miRNAs 的特定表达模式已被确认,miRNAs 作为非侵入性肿瘤标志物,有助于癌症的诊断、分期和预后。

蛋白质的突变或异常表达在癌症中会引起免疫反应,产生只见于癌症患者的自身抗体,这些抗体比临床确诊前的几个月甚或几年便可提早检测到。TAAs 及其相应的抗体可以作为肿瘤标志物应用于癌症的早期诊断和预后。有研究者回顾了 TAAs 及其相应抗体的现状,认为肿瘤标志物最有效的两个标准是其敏感性和特异性。血清 TAAs 和抗-TAA 抗体测试是简单而快速的,理论上仅需几微升血清即可进行检测。但是,TAAs 较低的初始浓度和癌症患者血中的异质性,对 TAAs 用于癌症的临床早期诊断造成了一定的障碍。目前,几个抗原 TAA 阵列已经被提出,另又研发了肿瘤抗原免疫反应的检测方法,血清抗体较抗原更稳定,初始浓度也较高,而且较易检测到,尤其是在癌症早期阶段。

个体化治疗(individualized drug therapy),是以每个患者的信息为基础决定治疗方针,从基因组成或表达变化的差异来把握治疗效果或副作用等应答的个性,对每个患者进行最适宜药物疗法的靶向治疗。患者一般不会只患有一种疾病,即使单一的疾病也会有不同的症状、体征和并发症等,除医学因素以外,还涉及生物学(基因、蛋白等)、社会经济和文化等因素,因此个体化治疗是今后临床治疗发展的主要方向。

许多临床医师在过去的数十年一直尝试从遗传学角度进行个体化治疗,传统的遗传学主要研究单个基因,基因组学则是研究所有人的基因,后者在临床上用于预测疾病,以及帮助实现遗传学向临床医学的转化。在过去的十年,相对于医学遗传学,研究者们更关注遗传学的临床转化,尤其是癌症的预防和管理,而基因组学的临床转化直接来源于遗传学实践。单一或多重遗传图谱,目前已应用于早期风险评估、诊断、预后和治疗等。个体化

遗传分析在临床上不可缺少，由此衍生了一个新兴的研究热点——“个性化基因组学（personalized genomics）”。2008 年，在 NIH 和疾病控制中心（Centers for Disease Control, CDC）召开了一个多学科专题讨论会，会议主题词便是个性化基因组学。个性化基因组学建立于多个学科的基础之上，包括基础遗传学、遗传流行病学、遗传与临床流行病学、行为科学和管理科学等。

遗传标记（genetic marker）是指在遗传分析上用作标记的基因，也称为标记基因，可追踪染色体、染色体某一节段、某个基因座在家系中传递的任何一种遗传特性。它具有两个基本特征，即可遗传性和可识别性，因此生物的任何有差异表型的基因突变型均可作为遗传标记。遗传标记包括形态学标记（morphological marker）、细胞学标记（cytological marker）、生物化学标记（biochemical marker）、免疫学标记（immune genetic markers）和分子标记（molecular marker）五种类型。

有学者提出，即使在对其功能性意义缺乏完整认知的情况下，遗传标志仍然可转化到临床应用。反向遗传学（reversed genetics）是指通过 DNA 重组等技术有目的地、精确定位地改造基因的精细结构以确定这些变化对表型性状的直接影响，由于这一由里及表的认知路线与传统遗传学的由表及里恰恰相反，故称为反向遗传学。单基因病（single gene disorders）是指由 1 对等位基因控制的疾病或病理性状，其发病基础的发现正是得益于反向遗传学，如血友病、囊性纤维化和乳腺癌等。BRCA1 被发现的 15 年来，它在细胞系中的作用不断被提出，其中包括一种来自于抗体的压力所导致病毒自身的变异——错义变异（missense variants），但其功能性意义的预测极具复杂性。同样的，与疾病相关的单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism, SNP）中约有 50 000~200 000 也受到了限制。SNP 是由单个核苷酸——A、T、C 或 G 的改变而引起的 DNA 序列的改变，造成包括人类在内的物种之间染色体基因组的多样性。编码区的 SNP 有同义和非同义两种类型，同义 SNP 并不影响蛋白质序列，而非同义 SNP 则会改变蛋白质的氨基酸序列。外显子的非同义 SNP 是最适合用来评估他们的功能性意义，但是同义 SNP 可影响 mRNA 的稳定性和改变剪接信号，并与雄激素不敏感综合征（androgen insensitivity syndrome, AIS）和血小板功能不全等疾病相关。内含子、调控区域，以及部分看似无用的内含子或大片无基因的区域或乏基因区域（基因沙漠）的 SNP，都可能对基因调控产生影响，如精神分裂症和结肠癌等。对于一些尚未确定的遗传变异，尽管对其生物学功能的完整认知是药物靶向治疗的关键，但却并非实现遗传学或基因组学预测性标记物的研究转化为临床应用的决定性因素。

基因拷贝数变异（copy number variation, CNV）和 SNP 是人类表型变异的两个重要潜在来源，但 CNV 位点的突变率远远高于 SNP，是人类疾病的重要致病因素之一，理论上 CNV 遗传也是符合孟德尔遗传规律的。有研究者提出从头拷贝数变异（de novo copy number）是孤独症遗传易感性的机制之一，该论点是基因组学时代一个标志性的早期发现。另外，从头点突变最近也被观察到与精神发育迟滞（mental retardation, MR）相关，但从头基因组变异（de novo genomic variation）在人类疾病中的机制至今尚未阐明。

孟德尔遗传规律的基础是减数分裂，因此对于不能进行减数分裂的生物不适用，如原核生物等。在孟德尔定律重新发现的当时，便已发现有许多遗传事例不符合独立分配法则，所有这些遗传现象都被称为非孟德尔式遗传（non-Mendelian inheritance）。表观遗传学（epigenetics）是研究基因的核苷酸序列不发生改变的情况下，基因表达的可遗传的变化的

一门遗传学分支学科,表观遗传现象包括 DNA 甲基化 (DNA methylation)、基因组印记 (genomic imprinting)、母体效应 (maternal effects)、基因沉默 (gene silencing)、核仁显性、休眠转座子激活和 RNA 编辑 (RNA editing) 等。基因沉默信号传递的非孟德尔遗传模式与结肠癌的发病机制密切相关 (如 MLH1), 但该基因的启动子表观突变在代代相传中可能会发生变化。比如启动子甲基化等表观遗传现象,在第一代基因组扫描若检测不到,在个体化基因组进化演变过程中需要将此考虑在内。

在过去的十年里,个体化基因组学取得了飞跃性的发展,同时遗传学-个体化治疗的转化,使得个体化基因组学的临床转化可以按图索骥。对于常见变体,个体化治疗与所需的大规模人体实验形成无法避免的矛盾;而较少见的疾病易感综合征和个别癌症基因组,测序技术的进步则使个体化基因组学成为现实。虽然个体化基因组学可能提高疗效并降低药物毒性,但是从遗传学的个体化发展的观点来看,经济因素仍然制约着生物药物开发。

DNA 修复基因所发生的细胞突变与癌症易感综合征 (cancer predisposition syndromes) 相关,比如遗传性非息肉病性结直肠癌,遗传性非息肉病性大肠癌 (hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC) 或乳腺癌易感蛋白 (breast cancer susceptibility protein, BRCA) 缺陷引起的乳腺癌和卵巢癌综合征,而在病变发生过程中 DNA 修复途径显得非常必要。此外,多态性变异可使功能不全的 DNA 修复能力也能影响癌症的易感性和预后。化疗药物的抗癌活性 (如烷化剂和铂化合物) 和放射治疗是一种对其诱导的 DNA 损伤在很大程度上与 DNA 修复有直接关系。癌细胞的 DNA 修复机制可识别和修复化疗/放疗引起的损伤,但同时也产生了治疗耐受 (therapeutic resistance), 是临床治疗产生负面影响的重要机制之一。通过药物抑制 DNA 修复可能会增加抗癌药物的细胞毒性,改善治疗耐药性,提高治疗效果。最近的证据表明, DNA 修复的抑制剂也为正常组织和肿瘤组织之间的靶基因差异提供了机会, DNA 修复药物将是癌症个体化治疗的新方向。

DNA 修复途径主要包括直接修复 (direct repair), 核苷酸切除修复 (excision repair)、碱基切除修复 (base excision repair) 和错配修复 (mismatch repair) 等,该途径在哺乳动物细胞中旨在维持基因组的稳定性,错配修复与肿瘤发生 DNA 错配修复基因缺陷可致细胞突变频率增加而形成突变表型 (mutator phenotype), 这些突变表型的存在使得基因突变的活动不断被放大、积累、最终导致肿瘤发生。DNA 修复基因的表达改变可能会对癌症生物学和侵袭性表型产生影响。DNA 修复因子的过表达可能促进肿瘤细胞存活,例如 ROS 在癌细胞中增加代谢活动而产生的 DNA 损伤性病变 (如 AP 位点、氧化的基础伤害、DNA 单链断裂、DNA 双链断裂), 临床上已证实 DNA 修复因子的过表达可能对癌症患者的预测和预后具有意义。虽然 ROS 净化系统可作用于癌细胞,但效果非常有限,最终仍然无法避免 ROS 诱导的 DNA 损伤。因此,癌细胞还可以利用 DNA 修复机制来促进 DNA 损伤性病变和维持细胞生存。

由此可见,靶向 DNA 修复是一种有效的抗癌治疗方案。DNA 修复抑制剂与化疗或放疗联合应用虽然可以增加癌细胞的杀伤率,但正常组织却同样无法幸免。合成致死 (synthetic lethality), 是结合两种不会致死的突变而造成致死效果的遗传致突变技术,这一治疗方案利用 DNA 修复途径之间的相互关系,似乎可以避免联合治疗方案的许多问题。PARP (poly[ADP-ribose] polymerase), 是一种 DNA 修复酶,在最近应用 PARP 抑制剂治疗 BRCA 基因缺陷的乳腺癌和卵巢癌的研究中,清楚地表明了 DNA 修复可能是很有效的合成致死目

标, 极具治疗癌症的潜力。

近年, 通过对分子信号途径的研究, 分子标志物和靶向治疗已经应用于临床, 由此拓宽了对肺癌分子机制的认识。一系列染色体或基因异常, 以及驱动基因的表现遗传与肺癌的恶性表型相关, 针对分子标志物的靶向治疗可选择性消除癌细胞。肺癌的靶向治疗有可能殃及周围脏器, 包括心肺损伤。肺癌的大多数毒性分子标志物主要表现为肺损伤或肺炎。寻找肿瘤分子标志物或靶向基因畸变需要多年的体外和体内实验, 目前已由美国国立癌症研究所 (National Cancer Institute, NCI) 的肺癌突变联盟 (Lung Cancer Mutation Consortium, LCMC) 确定 EGFR、KRAS、HER2、PI3K、BRAF 基因和 ALK 融合体为肺癌的驱动基因, 其中 EGFR、KRAS、HER2 和 ALK 融合体可用于靶向治疗效果的预测。以上驱动基因在肺癌形成肿瘤的过程中发挥了重要的作用, 包括增殖潜能改变、细胞凋亡信号传导、血管生成以及入侵/外渗等机制, 通过扰乱驱动基因途径的新型疗法疗效尚未明确。上述分子标志物在 NSCLC 中表现为不同程度的突变, 扩增或过表达。利用基因表达分析, 风险评估和决策树分析 (decision-tree analysis), 研究人员发现, DUSP6、MMD、STAT1、ErbB3 和 Lck 五个基因是无复发生存率和总生存率的独立预测指标, 这些基因的作用在肿瘤各阶段均可观察到, 包括细胞凋亡, 细胞分化和转移潜能 (metastatic potential)。

肺腺癌 (lung adenocarcinoma, LADC), 是肺癌的最常见类型, 亦是 NSCLC 中的一种, 其发病率一直居高不下, 并呈持续增长趋势。LADC 的基因组学分析提示, 这些肿瘤中含有不同的遗传学变异, 从而激活了致癌基因。大多数肺腺癌患者具有生长因子受体 (EGFR) 突变或 EML4-ALK 重排阳性, 对酪氨酸激酶抑制剂敏感。有相当数量的患者中具有原发或获得性耐药, 成为临床治疗中需解决的问题。由于多个癌基因之间的相互排斥, 以此为线索可发现其遗传学变异。每一例 LADC 都有成百上千的基因突变在其中, 这些致癌基因被认为是癌症的“驱动基因”。临床观察表明, 分子改变设计所谓的“驱动突变”可作为标记, 帮助患者受益于有针对性的治疗选择。分子靶向治疗通过药物对致癌基因产物的活化进行抑制, 目前已逐渐开始应用细胞毒性药物取代传统的化学治疗, 包括一线用药, 这些新的治疗途径将改善现有的治疗方法。

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR), 可由单一氨基酸置换突变或者框内氨基酸缺失突变所激活。EGFR 突变对 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKIs) 的应答, 提高了肿瘤患者的生活质量和无进展生存率 (progression-free survival)。有研究结果提示, 应用 TKIs 选择性作用于细胞的基因改变这一机制作为 LADC 的个体化治疗方案已进入实践阶段, 目前已有部分 LADC 患者从中获益。

在 Ras 家族中, 几乎所有与肺癌临床相关的基因突变都是由 KRAS 引发。发生突变的 Ras 一旦被激活, 可能导致细胞转化和持续增殖, 使 Ras 家族成为靶向治疗的目标。法尼基转移酶抑制剂 (farnesyltransferase inhibitors) 是一类正在试验中的分子靶向抗肿瘤药物, 可对 Ras 蛋白靶向修饰, 细胞信号转导通路中的 Ras 蛋白需要一个法尼基基团的修饰, 附着到细胞膜上, 若无正确的修饰和细胞膜定位, Ras 则无效。BRAF 是 Ras 下游的丝氨酸/苏氨酸激酶的一部分, BRAF 突变可见于肺癌, 但频率大大低于黑色素瘤。然而, RAF 激酶抑制剂索拉非尼是 RAF/MAP 激酶通路的抑制剂, 激活多个酪氨酸激酶 (VEGF 和 PDGF) 多途径参与肺癌的发生发展过程。只要激活 BRAF 信号, MEK1/2 将通过 ERK1/2 激活 MAP 激酶途径, 这些下游效应被认为是在人类肺癌细胞系被组成型激活 (constitutively

activation),即由于某些受体蛋白的过度表达,或受体功能获得性突变,又可理解为基因突变使受体成为异常的不受控制的激活状态,目前已研发出两种药物(CI-1040和PD03244901)。

磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)可抑制细胞凋亡和调控细胞生长,其编码的原癌基因PIK3CA属于脂质激酶家族,该基因可激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR),从而使将近75%的肺癌细胞被激活。mTOR是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是细胞生长调控途径的主要下游效应。PIK3CA基因在肺癌中的突变,介导了高水平的激酶活性和下游信号。最近,有制药公司试图分离PI3K同工型特异性抑制剂(IC486068和IC87114)用于治疗癌症。mTORC1和mTORC2,形成催化亚基作为细胞活化和治疗的靶点,雷帕霉素及其衍生物(CCI-779、RAD001和AP23576)可用于肺癌的临床治疗。

棘皮动物微管相关蛋白4(echinoderm microtubule-associated protein-like 4, EML4)/间变淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)融合基因(EML4/ALK)是NSCLC唯一的驱动基因突变,而克唑替尼(crizotinib)是ALK和c-MET基因或其变异体的双重阻断剂,临床前和临床试验已证实克唑替尼可显著影响放疗敏感性和EML/ALK阳性的肿瘤治疗反应率,ROS1重排最近被发现可以使克唑替尼保持敏感性,第二位点突变(L1152R、L1196M和C1156Y)则可抵抗克唑替尼治疗。

RET(rearranged during transfection)是公认的甲状腺癌驱动基因,2012年RET融合基因被发现。在RET中,功能获得性突变作为载体诱发了多发性内分泌腺瘤(multiple endocrine neoplasia, MEN)II型。MENS是一组有明显家族倾向的显性遗传性疾病,有多个内分泌腺发生肿瘤,且能产生多种与所在腺体相同的激素或激素类物质,因而引起极其复杂而且多变的内分泌征群,MEN II型的特点是甲状腺髓样癌,嗜铬细胞瘤和甲状旁腺功能亢进三者同时存在。通过对散发性甲状腺髓样癌病例的观察,有30%~50%可发现体细胞功能获得性RET基因突变,而且RET融合基因见于30%~50%散发性甲状腺乳头状癌的病例。针对晚期甲状腺髓样癌的治疗,美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准了两种抑制药物——凡德他尼(ZD6474)和卡博替尼(XL184)。

已有研究证实,RET融合基因也存在于小部分的NSCLC中,KIF5B-RET融合基因类似于LADCs中的EGFR突变,并提出嵌合性癌基因有望作为分子靶点对肺癌进行个体化治疗。RET基因很有可能成为LADC靶向治疗的新目标,抑制RET便可治疗某些类型的肺癌。完善以RET或其他酶为靶点的个体化治疗方案,将会使越来越多的LADC患者受益,基于体细胞基因改变机制而研发的“针对性抗癌药物”终将实现,而且不局限于某种类型的癌症,能使广大癌症患者重获新生。

最近,针对特定类型肿瘤的新疗法有助于临床治疗,驱动基因和可用于提示预后的分子标志物对于肺癌患者是个可喜的研究成果,有望提高疗效,但目前仍需大规模随机临床试验来进一步研究和验证,以确定这些分子标志物与临床的相关性。

第四节 转化医学与多学科交叉

随着生物科学的迅速发展,包括基因组学、蛋白质组学、分子生物学和生物信息学等

前沿科学和技术的不断创新,科学发现和诊断技术的日新月异为人类疾病的发生的探究提供了新的思路与方法,促进了临床诊断和治疗技术的发展。转化医学应运而生,并成为当前医药学界迅猛发展的新兴领域之一。目前,转化医学的发展趋势不仅要求研究者实现“实验室与临床之间的相互转化”,也强调要善于发挥各个学科的优势,多学科多层次交叉融合,协同作用,使得科学研究中得到的数据真正地应用于医疗领域;同时,达成了很多共识:即许多重要的健康问题,如糖尿病、心血管疾病和老年神经退行性疾病等,发病表型不同,病因途径十分复杂(包括高度相关的社会、心理和生物学因素),这些健康问题的性质已经突出了解决这些事项的效率问题的重要性。传统的单一机构已不能适应高效率解决问题的要求,迫切需要制定新的研究策略,解决这些病因复杂的疾病,这已超越了单一学科的学术边界,需将多种不同学科加以重新整合协作工作,才能更有效地解决医学重大的健康问题。

(一) 基础研究到临床应用的过渡

进入 21 世纪后,人类在生命科学领域的投入增加很多,但临床应用却很少,研与产严重脱节。生物科学各个学科长足发展,多项突破,发表论文数以万计,但是大部分研究都止步于此。积累的大量数据,没有适当地分析和利用,大多还停留在初级阶段。如何将庞大复杂的基础研究数据转化为能帮助解决临床问题的有用信息,是有待解决的难题。据资料介绍,1971 年至今美国用于肿瘤防治方面的研究经费多达 2000 亿美元,但却只“收获”了 156 万篇与肿瘤相关的研究论文,其中 80% 的文章研究使用的是小鼠、果蝇和线虫。值得注意的是,如此大量的研究成果并没能真正推动肿瘤防治的进步。另据美国一项调查发现,1990~2003 年间发表在国际权威刊物上的 49 篇高引用率文章中,45 篇称疾病的干预方法有效,但被以后的研究否定的有 7 篇,最初疗效被夸大的有 7 篇。最近 30 年里,癌症导致的死亡率没有发生根本性的变化。因此,在未来的医学科学研究中的自主创新主要方向应转向临床与实验室的密切结合,基础研究必须回答或解决临床问题。

基础医学、临床医学和药物开发都以各自为政的形式迅速发展,为生命科学的研究带来前所未有的深度和广度的同时,它们之间的隔阂也越来越明显。一直以来,临床医生和基础科研工作者之间都缺乏广泛而有效的交流合作:一方面,研究者在从事基础研究的过程中或者研究的初衷并未足够地重视其研究的目的是否适用于临床,并评估其研究应用于临床的可行性;另一方面,临床医生在日常工作中发现问题后,并未积极主动地思考将其凝练成为科学问题,并对之进行系统的研究。

随着临床研究复杂性的增加,临床和基础研究间的屏障正在增大,这使得新知识向临床的渗透以及向基础研究的反馈都更为困难。作为致力于克服或减少这种困难的新模式,在转化医学的推动和实施过程中,以下三个重要方面具有关键意义。

(1) 树立“团队科学”的理念。一些重大疾病的研究的复杂性已经远远超越了人们的预料。临床的问题解谜最终已经不能由单一专业的科学家来完成,以癌症相关研究为例,需要不同技能和学科背景的专业人员紧密合作,只有多学科交叉的团队(生物学家、工程师、计算机专家、临床专家等)才有可能彻底揭示环境、生活方式、遗传因素、分子机制对癌症发生的相互作用。

(2) 搭建学科交叉的开放式研究平台。把实验室发现的有意义结果转化为能提供临床

实际应用的手段,需要有强大的、稳定的多学科交叉的研究设施和平台,研究的经费要向这样的基地大力倾斜,对研究项目的协商和跟踪要有多学科介入的机制。更重要的是,要建立基于平台建设的标准化数据收集系统和可以把各方紧密联系起来的信息网络的框架。

(3) 培养新一代具有转化医学理念和能力的科学家。在实施培训工作中,一方面增强基础研究人员对临床知识的重视和尊重,另一方面,提供临床专家进入实验基地探索基础研究的机会,使双方均能不断熟悉对方的语言。最终将转化医学变成双向通道:从实验台到床旁,再从床旁到实验台,以此良性循环。科学家已经开始意识到了这种“B to B”模式具有的双通道效应:基础科学家给临床医师提供用于疾病医疗的新工具,临床研究者对疾病的进程和特性进行观察提供反馈意见来促进基础研究。

跨学科的理念是什么?一些复杂的研究项目需要深入层次的多种学科合作共同完成,定义为多学科跨学科合作,重新组合的学科团队效率超过原先的所在单一学科,多学科的成员为一个项目而工作,相互的交流方式更稳定,更加整合,系统更加优化,知识共享和沟通更加有效,而以往跨学科合作往往是临时性,零碎的知识整合。总而言之,跨学科团队是个新领域的整合,涉及一系列复杂的问题。

(二) 多学科合作——疾病的预防和诊断

生物标志物的研究是转化医学的一个重要内容。转化生物标志物起着将实验室主要由动物和细胞研究中取得的结果,安全有效的应用于临床的重要作用。生物标志物可以是DNA的甲基化、具有单核苷酸多态性(SNPs)的模板、蛋白质或代谢的改变、mRNA的改变等,而这些变化都与机体疾病状态的发生密切相关。生物标记物分为多种,常见的有转化医学使用的生物标记物、提示疾病程度或预后的疾病生物标记物、药效生物标记物、提示疾病不同阶段的生物标记物等。现在,以治疗靶向为目的的生物标记物被越来越多地研发、使用。通过高通量的检测方法,包括基因组学、蛋白质组学、肽组学、代谢组学等在内的组学平台,以及包括纳米技术、生物信息学、抗体芯片、高内涵筛选技术、无标记相互作用分析技术等筛选出可供早期诊断或者疾病预测的生物标志物。生物标记物的发展策略可因不同目的而定。临床医师更关注与疾病诊断、进展、预测、分期、预后、治疗、发病机制等相关的生物标记物。研究者们将找到的所有的生物标记物与生物信息学结合在一起,编织成信号注解互联网络,通过一个标记物的变化,从而推出其他分子的变化;因此,现在的生物标记物已不再是以一个点、一个面的形式存在,而是走向一个立体的应用途径。研究者在筛选生物标记物时,也更注重标记物与疾病的相关性,要求标记物与疾病的特异性高,从而在临床上具备应用价值。目前生物标志物已开始应用于冠心病、糖尿病、高血压、肥胖及血脂异常等病理或疾病状况,相关的生物标志物包括端粒长度、C反应蛋白、纤维蛋白原、白介素、肿瘤坏死因子等。通过体液(包括血液、尿液、脑脊液等)检测生物标志物是很方便的,同时对病人的影响也最小,因此在大规模早期普查、筛选中的优势很明显。

疫苗的发明与使用,是人类文明的伟大成就之一,疫苗学是一门复杂的多学科交叉科学,既依赖于理论研究又依赖于经验。从200多年前牛痘疫苗的发现,到如今各类疫苗的研发,包括微生物学、免疫学、流行病学、分子生物学等,都与临床试验有着紧密地相关。当代的疫苗学,尤其是病毒疫苗非常复杂,目前的研究主要集中于病毒的亚单位。HIV病