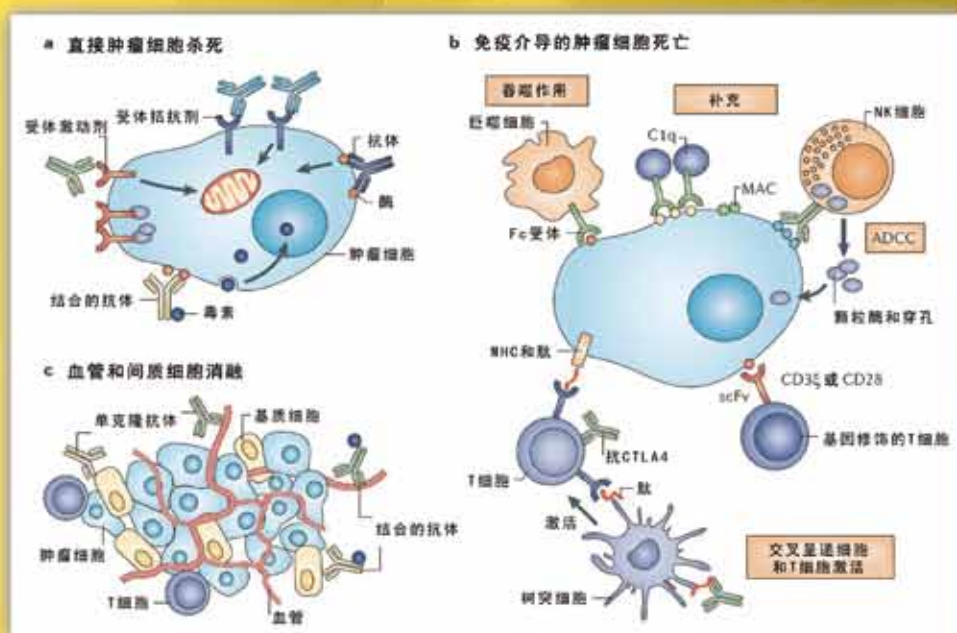


# 生命奥秘

## LifeOmics

2013年 10月刊 总第59期



## 肿瘤靶向治疗药物研究进展

破解大脑的奥秘

生物学家的激辩：海龟壳是怎么形成的？

无奇不有

生命世界

解读生命

走进科学

# 目录 | CONTENTS

## 专题

### 肿瘤靶向治疗药物研究进展

前言 .....	01
一、肿瘤靶向治疗概况 .....	02
二、靶向治疗药物的作用机制 .....	02
三、抗体类靶向治疗药物 .....	07
四、小分子类靶向治疗药物 .....	12
五、靶向治疗面临的问题 .....	21

#### 下一期（2013年11月刊）预告：肿瘤基因组研究进展概述

测序技术上的重大突破与测序成本的大幅下降，表明在不久将来，常规癌症疗法将不再侧重肿瘤起源器官，而是将重点放在肿瘤基因组特征上。这一根本目标，即能够阅读深埋我们体内的复杂的遗传密码，从而在治疗过程中为每位患者制定最佳的方案，将对医学的发展有着重要的启示作用。

## 热点

破解大脑的奥秘 .....	26
新一代测序技术在临床中的应用 .....	31

## 百态

生物学家的激辩：海龟壳是怎么形成的？ .....	39
--------------------------	----

本刊文章主要由国外网站文章编译而成，如有版权问题，请版权所有人与本刊联系。  
凡本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处“生命奥秘”。  
本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

# 专题

*Worthy Issues*

## 肿瘤靶向治疗药物研究进展

袁华，男，博士在读，研究方向：肿瘤患者的个体化治疗

### 前言

近些年，肿瘤靶向药物治疗的研究日益增多，越来越多的药物公司将新药开发集中在靶向药物上。2012年美国FDA一共批准了34种新药，其中11种是抗肿瘤药物，而这11种药物中大部分是靶向治疗药物。美国临床肿瘤学会（ASCO）年初发布的ASCO2012年度十七大重要进展中，有多项是关于肿瘤靶向药物治疗的。由此可见，靶向治疗目前已经成为肿瘤治疗领域最热门的研究，这为肿瘤患者提供了新的治疗选择。

# 一、肿瘤靶向治疗概况

直到20世纪80年代，新的肿瘤治疗方案探索仍然集中在阻断DNA合成、干扰细胞分裂的化疗药物上。尽管大部分化疗药物具有良好的抗癌效果，但是因为它们的选择性较差，在损伤肿瘤细胞的同时，对正常分裂细胞也会有程度不等的毒性反应，这无疑限制了它们的疗效。过去30年间，研究人员对肿瘤各种行为的分子机制和信号通路有了更透彻的了解，某些一旦突变或过量表达就能促使肿瘤形成的基因的发现，使分子靶向治疗成为可能。目前越来越多将细胞内重要分子作为治疗靶点的新药被开发研究，并且成功应用于临床，而且获得了良好的疗效，如曲妥珠单抗和格列卫等。

所谓靶向治疗（targeted therapy）就是将靶向药物与对促进肿瘤形成和发展有重要作用的蛋白相结合，抑制这些蛋白的功能，从而减缓肿瘤细胞的增殖和侵袭转移，达到治疗肿瘤的目的。目前广泛使用的细胞毒类细胞周期特异性抗肿瘤药物虽然能特异地杀死处于某一时期的肿瘤细胞，但同时也对处于分裂期的正常细胞造成巨大损伤，因此不能称为靶向治疗药物。最近20年进行的靶向药物研究主要是将参与肿瘤细胞分裂、分化、凋亡、迁移、侵袭、血管生成、淋巴转移，以及全身转移等

重要细胞活动的细胞通路中的关键蛋白作为靶点，寻找可能会与这些靶点特异结合，并且抑制其功能的特异性药物，最终达到治疗肿瘤的目的。

目前已经批准使用的靶向治疗药物主要包括单克隆抗体类和小分子类药物。前者的典型代表是曲妥珠单抗（Trastuzumab），它是一种人源化抗HER-2/erbB-2抗体，用于治疗HER-2蛋白过表达的乳腺癌患者。小分子抑制剂的典型代表药物是格列卫（gleevec）或伊马替尼（imatinib），它属于小分子物质，能够与慢性粒细胞白血病促癌基因BCR-ABL的产物Bcr-Abl蛋白相结合。这种蛋白具有异常的酪氨酸激酶活性，而且只在肿瘤细胞中出现，格列卫与其结合后能抑制它的功能，从而有效地控制慢性髓细胞白血病患者的病情<sup>[1~3]</sup>。

肿瘤的分子靶向治疗是非常有前景的一类抗癌药物，自1998年曲妥珠单抗正式治疗HER-2/erbB-2高表达的乳腺癌患者以及2001年格列卫正式被批准用于治疗干扰素耐药的慢性粒细胞白血病起，众多肿瘤分子靶向药物，如埃罗替尼、贝伐单抗、替西罗莫司等陆续诞生。分子靶向药物以其独特的优势和疗效，在肿瘤治疗中的作用日渐显著。

# 二、靶向治疗药物的作用机制

肿瘤靶向治疗主要的作用机制就是采用抗体类或小分子类药物抑制相应重要靶点的功能。理想的肿瘤靶点包括以下特征：（1）是一种对恶性表型非常重要的大分子；（2）在

重要的正常器官和组织中无明显表达；（3）便于在临床生物标本中重复检测；（4）与临床结果具有明显相关性。

现在比较热门的研究靶点主要包括以下几

类：（1）酪氨酸激酶：酪氨酸激酶可催化酪氨酸的磷酸化过程，激活相应的反应底物，进而引起信号传导通路的激活，促进细胞的生长、增殖、分化和凋亡等。在人类的一些肿瘤细胞中就存在酪氨酸激酶的过表达，如慢性髓性白血病（chronic myeloid leukemia, CML）肿瘤细胞中的Bcr-Abl酪氨酸激酶、胃肠道间质瘤（gastrointestinal stromal tumor, GIST）中的c-kit酪氨酸激酶，以及正常细胞和肿瘤细胞中都存在的人表皮生长因子受体（erbB）酪氨酸激酶等；（2）促进血管生成的相关分子。肿瘤血管的生成与肿瘤侵袭转移的恶性行为密切相关，已发现几十种调节因子会促进肿瘤血管的生成，如血管内皮细胞生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）、血小板衍生生长因子（platelet-derived growth factor, PDGF）、血管内皮生长因子受体（vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR）、血小板衍生生长因子受体（platelet-derived growth factor receptor, PDGFR）、转化生长因子（transforming growth factor, TGF）等；

（3）细胞周期中相关激酶：在细胞周期中有重要促进作用的激酶，如周期素依赖性相关激酶（cyclin-dependent kinase, CDK）和Aurora激酶等；（4）泛素蛋白酶体；（5）基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase, MMP）；（6）其他：法尼基转化酶、组蛋白去乙酰化酶（histone deacetylase, HDAC）、mTOR激酶以及肿瘤细胞内发生异常的信号传导通路，如Ras-MAPK、Jak-STAT、Wnt和PI3K-Akt通路。上述靶点的分类只是暂时的，随着对肿瘤分子生物学机制更深的了解，将会有更多的重要分子成为靶向治疗的新靶点。

靶向治疗药物直接针对引起癌变的分子机制，比传统化疗更具选择性和有效性，它具有调节和稳定细胞的作用。在临床治疗使用过程中不一定需要达到剂量毒性（DLT）和最大耐受量（MTD）便能获得良好的疗效。因此这类药物的毒性作用及临床表现与细胞毒药物有很大区别。而靶向治疗与常规化学、放射治疗合用，往往会获得更好的疗效。

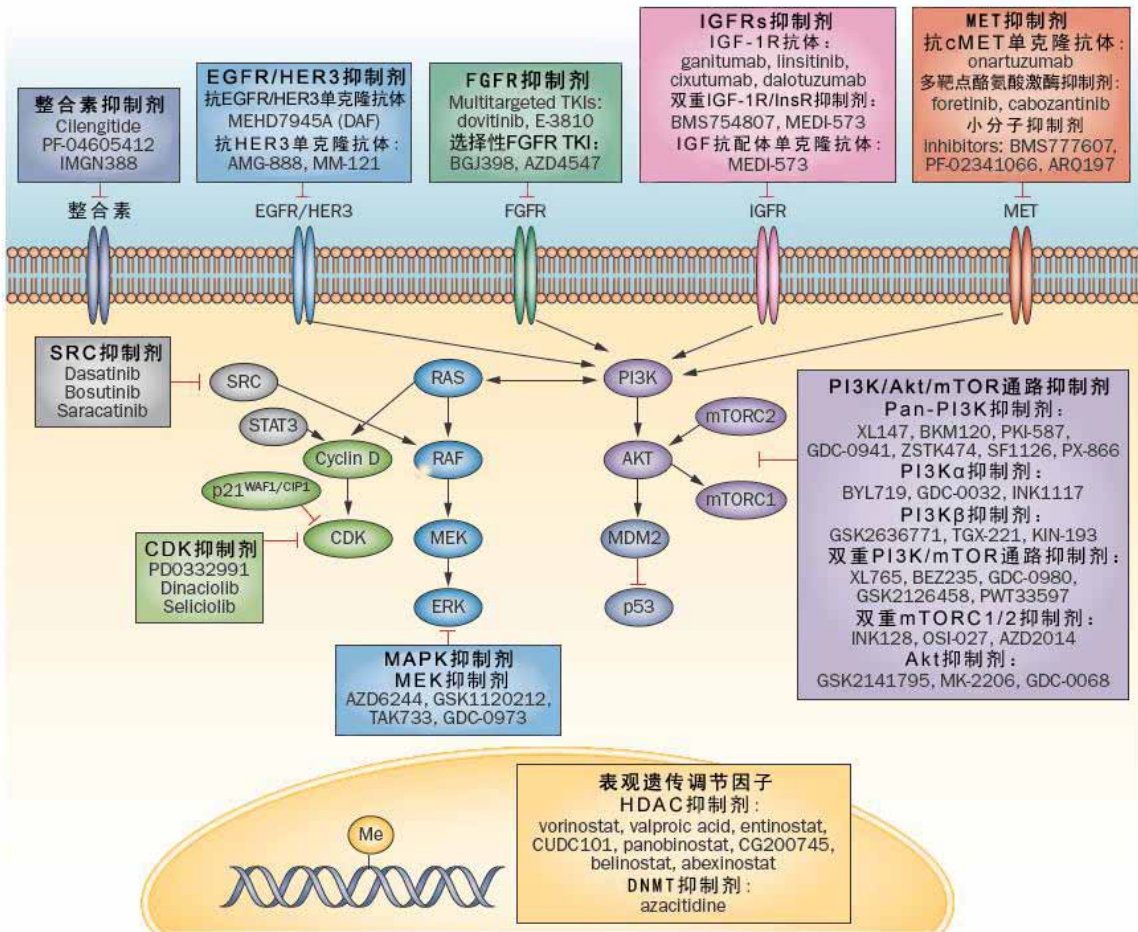


图1 正在研究开发的针对乳腺癌细胞的靶向治疗药物。

图片来源: Zardavas D, Baselga J, Piccart M. (2013) Emerging targeted agents in metastatic breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 10:191-210.

目前已经批准使用及正在研究的靶向治疗药物主要包括单克隆抗体类和小分子类。

单克隆抗体类靶向药物是靶向药物中非常重要的一类。它的原理是通过单抗对肿瘤表面相关抗原和特定受体特异性识别，然后把药物直接导向肿瘤细胞。单克隆抗体类靶向药物提

高了药物的疗效，降低了药物对循环系统及其它部位的毒性，减少了不良反应。

除单克隆抗体类靶向药物外，另一大类靶向药物是小分子类。目前小分子类药物以其独特的优越性正被越来越多地应用于临床。

表 1 靶向药物按作用机制分类<sup>[1,3]</sup>

类别	分类根据	亚类	药物作用机制/简介	代表药物
单克隆抗体类	单抗结构	抗肿瘤单克隆抗体药物	这类药物能直接结合肿瘤细胞，通过直接的抗原-抗体反应导致细胞死亡。	曲妥珠单抗、贝伐单抗、利妥昔单抗
		抗肿瘤单克隆抗体偶联物	由单抗与“弹头”药物两部分组成。	替伊莫单抗
	单抗作用靶点的不同	作用于细胞膜分化相关抗原的抗肿瘤单克隆抗体	/	利妥昔单抗、替伊莫单抗
		作用于表皮生长因子受体的抗肿瘤单克隆抗体	/	曲妥珠单抗、西妥昔单抗
		作用于血管内皮细胞生长因子的抗肿瘤单克隆抗体	/	贝伐单抗
小分子类	小分子药物作用靶点数目的不同	单一靶点的抗肿瘤小分子化合物类	这类药物是目前临床中使用最普遍、最成功的靶向药物	伊马替尼、吉非替尼
		多靶点抗肿瘤的小分子化合物类	由于单靶点的靶向药物治疗范围较狭窄，疗效有限，而且常会出现耐药性，而针对多靶点、多条通路的小分子靶向药物却能很好地弥补单靶点药物的不足，因此越来越多的多靶点小分子药物被开发出来，并显示出令人满意的疗效	索拉非尼、拉帕替尼

肿瘤靶向治疗目前已经成为肿瘤治疗研究领域的最大热点。Medscape网站上的数据显示，2012年美国FDA一共批准了34种新药，其中11种是抗肿瘤药物，而这些抗肿瘤药物中大部分是靶向治疗药物。例如，用于治疗运用其他治疗方法无效的晚期肾细胞癌患者的Axitinib（辉瑞公司）；治疗未接受过

HER2靶向治疗或化疗的HER2阳性转移性乳腺癌患者的帕尼单抗（罗氏公司）；用于治疗此前酪氨酸激酶抑制剂治疗不敏感或耐药的慢性髓性白血病患者的Bosutinib（拜耳公司）；用于治疗髓样甲状腺癌的Cabozantinib（Exelixis公司）；用于治疗其它药物治疗耐药或携带T315I突变的慢性髓性白血病，或



Ph染色体阳性的急性淋巴细胞白血病患者  
的Ponatinib (Ariad公司); 用于治疗接受标准  
治疗后病情仍然进展的转移性结直肠癌患  
者的Regorafenib (拜耳公司)等。此外还有  
许多正处于临床研究阶段的靶向药物, 例如  
Yervoy公司的Nivolumab, 它是一种抑制程序  
性死亡受体 (PD-1) 的单克隆抗体, 目前正  
在日本开展治疗黑色素瘤的II期临床研究, 以  
及肾细胞癌、非小细胞肺癌等肿瘤的相关治疗  
研究。

毫无疑问, 靶向治疗已在肿瘤治疗中发  
挥出不可替代的作用。美国临床肿瘤学会  
(ASCO) 年初发布的ASCO2012年度十七大  
重要进展中, 有多项是关于肿瘤靶向药物治  
疗的, 例如 (1) T-DM1能够显著提高曲妥珠

单抗治疗失败的HER2阳性的局部晚期或转移  
性乳腺癌; (2) 曲妥珠单抗+多西他赛治疗  
的基础上加入帕妥珠单抗可提高疗效; (3)  
多靶点药物Regorafenib为转移性结直肠癌患  
者带来总生存获益; (4) 标准化疗联合贝  
伐珠单抗可显著延长铂类耐药卵巢癌患者  
的疾病进展时间 (TTP); (5) 多靶点抑制剂  
Cabozantinib可显著延缓髓样甲状腺癌进展;  
(6) 酪氨酸激酶抑制剂Pazopanib延缓化疗  
抵抗性软组织肉瘤的进展。这些研究都说明肿  
瘤靶向治疗是现在及将来的研究热点。

随着分子肿瘤学技术的发展, 相信会有越  
来越多的肿瘤关键分子和通路被发现, 不久  
的将来将会有更多的肿瘤靶向药物诞生。



# 资讯 · 频道

www.LifeOmics.com

### 三、抗体类靶向治疗药物

利用抗体能与抗原分子发生特异性紧密结合的特性，我们可以将单克隆抗体与肿瘤细胞增殖、转移等重要信号通路上的某种蛋白相结

合，通过直接激活抗体依赖的细胞毒作用激活补体途径、产生抗独特型效果或者通过与细胞膜受体结合启动膜介导的生长控制作用。

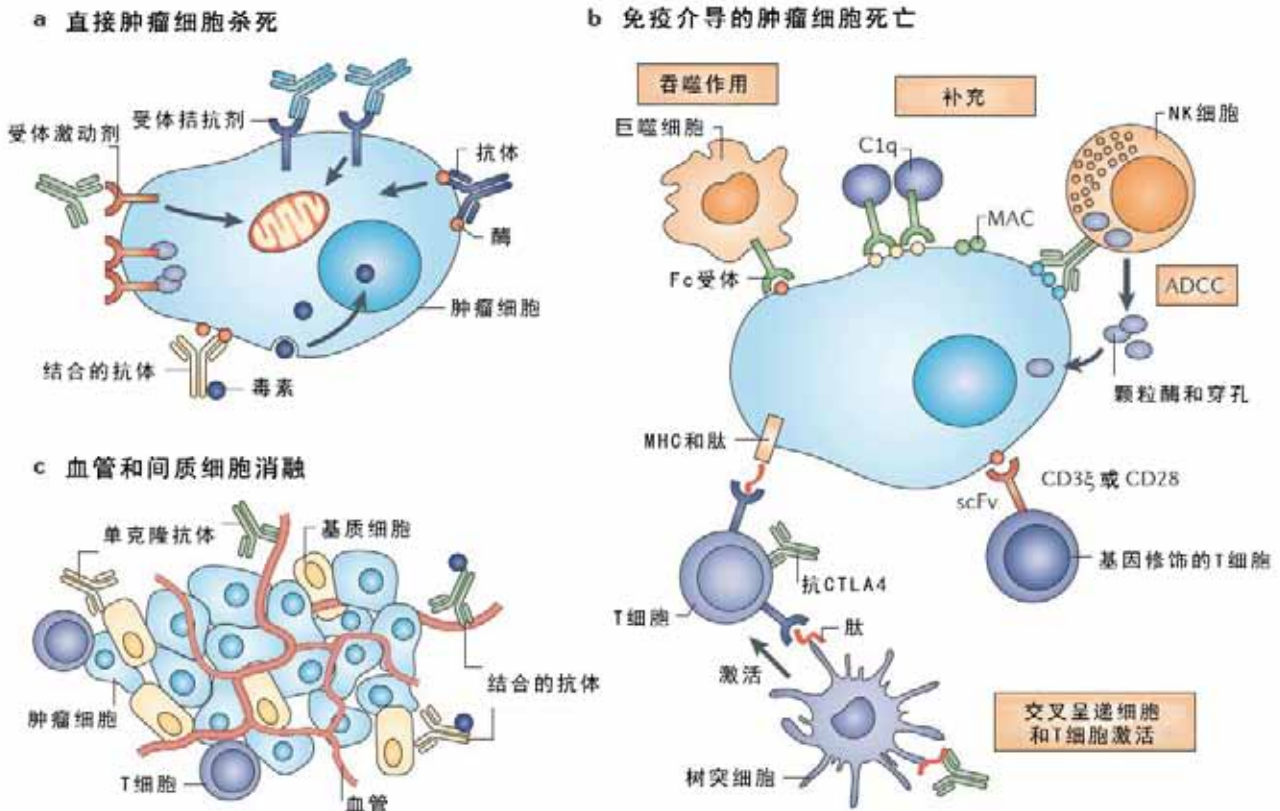


图2 抗体药物杀死肿瘤细胞的机制。

图片来源: Scott AM, Wolchok JD, Old LJ. (2012) Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer*, 12:278-87.

### 曲妥珠单抗 (trastuzumab)

第一个被批准用于肿瘤治疗的单克隆抗体是曲妥珠单抗，它能够与细胞表面的HER-2受体结合，干扰HER-2的自身磷酸化及阻碍异源二聚体形成，抑制信号传导系统的激活，从而抑制肿瘤细胞的增殖。这种受

体由HER-2基因编码——HER2是表皮生长因子受体家族(EGFR/HER1, HER2, HER3, HER4)中的一员，具有酪氨酸激酶活性，通过下游信号PI3K/Akt通路和MAPK通路参与细胞的生长、活化和增殖过程。大约有15-25%

的乳腺癌患者HER-2基因扩增或HER-2蛋白过度表达，HER-2功能增强，最终使得信号通路被过度激活。HER2阳性乳腺癌患者生存率较阴性者低，同时可能对某些化疗和内分泌治疗耐药，因此HER-2是乳腺癌靶向治疗的最佳靶点。曲妥珠单抗是美国FDA批准的第一个靶向HER2的分子靶向药物，当HER-2受体过表达的肿瘤患者接受曲妥珠单抗治疗时，曲妥珠单抗抗体会与HER-2受体结合，受体刺激细胞增殖的能力就会被阻断，因此，肿瘤细胞的生长便减缓或停止。

曲妥珠单抗适用于HER-2受体高表达的乳腺癌以及HER-2受体阳性的胃癌患者<sup>[4~5]</sup>。曲妥珠单抗对乳腺癌的有效率为15-24%。NCCN指南和St Gallen一致推荐，HER2阳性乳腺癌术后采用曲妥珠单抗治疗的标准时间是1年。四项大型临床研究的结果一致认为，曲妥珠单抗可以在完成辅助化疗后单药治疗1年，也可以在辅助阿霉素联合环磷酰胺方案，或表阿霉素联合环磷酰胺方案化疗后与紫杉醇或多西紫杉醇联合治疗4周期后用满1年，还可与多西紫杉醇、卡铂联合治疗6个周期后再用满1年<sup>[6]</sup>。一项III期临床试验结果表明，曲妥珠单抗联合表柔比星、环磷酰胺、及紫杉

醇治疗可手术切除的HER-2阳性的乳腺癌患者能降低52%的第二原发癌发生风险，相对死亡率降低33%。曲妥珠单抗的使用开辟了乳腺癌分子靶向治疗的新纪元，研究表明越早使用曲妥珠单抗，患者的获益越大。另外，国外一项国际协作研究结果显示，曲妥珠单抗治疗HER2阳性浸润性小叶癌与治疗浸润性导管癌一样有效，两种亚型患者的复发情况和曲妥珠单抗治疗获益情况无显著差异。目前在使用曲妥珠单抗治疗第一种患者时需进行HER-2检测，NCCN指南专门给出了HER-2检测的建议：免疫组化（IHC）染色结果为“+”者为HER-2（-），IHC染色结果为“+++”者为HER-2（+），IHC染色结果为“++”者需接受荧光原位杂交（FISH）检测，FISH结果阳性者为HER-2（+），否则为阴性，只有HER-2阳性患者才有使用曲妥珠单抗的指征。

除了曲妥珠单抗之外，目前已经被批准用于肿瘤靶向治疗的单克隆抗体药物还有利妥昔单抗、西妥昔单抗、贝伐单抗及帕尼单抗等。它们对B细胞淋巴瘤、结直肠癌、头颈部肿瘤及非鳞癌非小细胞肺癌的治疗有重要意义。

## 利妥昔单抗（Rituximab）

利妥昔单抗是一种针对CD20抗原的人鼠嵌合型单克隆抗体，是第一个被FDA批准用于临床治疗的单抗。95%以上的B细胞非霍奇金淋巴瘤（NHL）中存在CD20。利妥昔单抗进入人体后可与B细胞淋巴瘤细胞的CD20抗原发生特异的结合导致B细胞溶解，从而抑制B细胞增殖，诱导成熟B细胞凋亡，却不影响原始B细胞。它通过介导抗体依赖的细胞毒性（ADCC）、补体依赖的细胞毒性（CDC）作用和抗体与CD20分子结合引起的直接效应抑制细胞生长、改变细胞周期及通过凋亡等方式杀死淋巴瘤细胞。利妥昔单抗极大改善了弥漫性大B细胞淋巴瘤

（DLBCL）患者的预后，也提高了滤泡性淋巴瘤患者的生存率。1997年，FDA批准利妥昔单抗可用于治疗CD20阳性的B细胞非霍奇金淋巴瘤。单药治疗初治滤泡型非霍奇金淋巴瘤有效率达73%，bcl-2阴转率高，可显著延长患者的无病生存时间，尤其是bcl-2阴性患者。多中心III期临床试验中，对166例复发的滤泡性淋巴瘤病人总有效率为48%，其中完全有效（CR）率6%，疾病复发时间为13个月，平均有效时间为11.8个月。利妥昔单抗联合其它化疗药物也能提高对恶性淋巴瘤的疗效。在滤泡性淋巴瘤患者中，CHOP（cyclophosphamide+doxorubicin+

vincristine+prednisone) 方案、CVP方案联合使用利妥昔单抗后，患者的有效率、完全缓解率、无进展生存、总生存均显著增加。

此外，NCCN指南也推荐其用于CD20阳性的慢性淋巴细胞白血病（chronic lymphocytic leukemia, CLL）的治疗。

## 西妥昔单抗（Cetuximab）

西妥昔单抗是一种人表皮生长因子受体（EGFR）IgG1单克隆抗体，能够与细胞表面EGFR发生特异结合、封闭生长因子结合位点、阻止配体诱导的受体活化和磷酸化、抑制酪氨酸激酶活性以及阻断细胞内的信号转导途径，导致细胞周期在G1期停止，从而抑制肿瘤细胞的增殖、促进肿瘤细胞的凋亡，同时可减少基质金属蛋白酶和血管内皮生长因子的产生。目前FDA已经批准西妥昔单抗联合放疗治疗已经接受铂类药物为基础化疗的头颈部鳞状细胞肿瘤；以及联合CPT-11治疗EGFR阳性、伊立替康治疗失败或耐药的复发、转移性的结直肠癌，或者单药用于不能耐受化疗的结直肠癌患者<sup>[7]</sup>。早期的I、II期临床试验结果表明，西妥昔单抗治疗复发的和进展期的头颈部鳞状细胞肿瘤的缓解率分别是22%和67%。III期临床试验结果也表明，铂类为基础的化疗方案联合西妥昔单抗在治疗复发或转移的头颈部鳞状细胞癌患者时的总生存、无进展生存和

疾病缓解率都具有明显的提高。西妥昔单抗是目前发现的唯一可逆转化疗耐药的靶向药物。对EGFR阳性、CPT-11耐药的晚期结直肠癌患者，西妥昔单抗单药的有效率为11%，联合CPT-11有效率23%、联合5-Fu+CPT-11有效率为48-63%，联合FOLFOX4一线治疗转移性结直肠癌患者的有效率达72%。西妥昔单抗联合贝伐单抗、CPT-11治疗CPT-11耐药的晚期结直肠癌患者的有效率为37%，与一线化疗疗效相当<sup>[8]</sup>。目前这类药物主要用于转移性结直肠癌、头颈部肿瘤的治疗。值得注意的是，对于K-RAS基因发生突变的结直肠癌患者不能从西妥昔单抗治疗中获益，只有K-RAS基因野生型的患者才能获得较好的疗效。因此，在使用西妥昔单抗治疗时，医生需检测患者K-RAS基因的状态，筛选出对西妥昔单抗治疗有效的患者。此外，SCOPE1研究发现，对于食管癌患者而言，标准放化疗基础上加入西妥昔单抗能适当提高疗效。

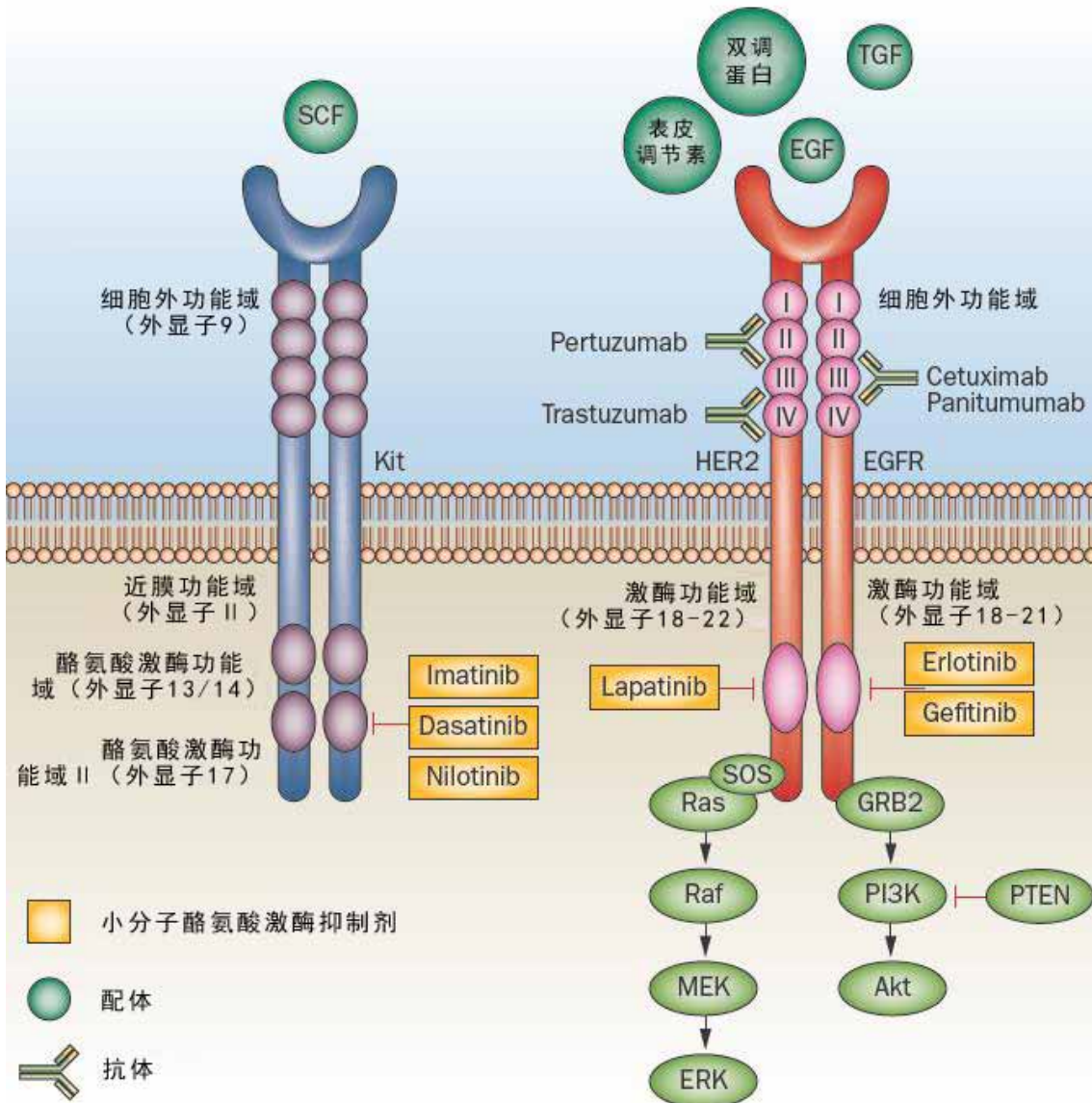


图3 KIT和EGFR—HER2通路靶向抑制剂。  
 图片来源：Martini M, Vecchione L, Siena S, Tejpar S, Bardelli A. (2011) Targeted therapies: how personal should we go? *Nat Rev Clin Oncol*, 15:87-97.

## 贝伐单抗 (bevacizumab)

贝伐单抗是美国第一个获得批准上市的抑制肿瘤血管生成的靶向药物。贝伐单抗通过鼠源单抗的互补决定区与人血管内皮生长因子 (VEGF) 结合并阻断其生物活性，阻止下游的信号通路，从而减少微血管生成并抑

制肿瘤细胞的增殖。虽然贝伐单抗单药治疗晚期结直肠癌患者的疗效有限，有效率仅为12%，但已有试验表明贝伐单抗联合其它化疗方案 (IFL方案：伊立替康、5-氟尿嘧啶及亚叶酸) 能提高晚期结直肠癌和非小细胞肺癌

患者的疾病缓解率、延长无进展生存和总生存时间<sup>[9]</sup>。贝伐单抗的使用将转移性结直肠癌患者的总生存时间延长到了30个月以上。贝伐单抗联合PTX+CBP方案可延长晚期非鳞状的非小细胞肺癌的中位生存期2.3月、临床缓解率提高17%、无进展生存提高近两个月。目前FDA已经批准贝伐单抗一线治疗晚期结直肠癌患者；贝伐单抗联合PTX+CBP方案一线治疗局部进展、复发或转移的非鳞状的非小细胞肺癌患者。同时，贝伐单抗对晚期胃癌、胃-食管交界癌、乳腺癌也有一定的疗效。研究表明，贝伐单抗联合DDP、CPT-11治疗晚期胃癌和胃-食管交界癌的II期临床研究中75%（12/16）的患者获得病理缓解；联合PTX后，患者的无进展生存达10.9月，高于单用PTX的6.1月。贝伐单抗联合PTX比单用PTX治疗晚期（IIIb和IV期）乳腺癌可以将无进展

生存（PFS）由6.11月提高到10.9月。

2013年美国临床肿瘤学会（ASCO）年会上还公布了贝伐单抗治疗新诊断的胶质母细胞瘤及转移性宫颈癌的研究进展。贝伐单抗治疗新诊断胶质母细胞瘤的III期双盲安慰剂对照试验的结论表明，使用贝伐单抗治疗新诊断的胶质母细胞瘤能使PFS有所提高，但患者OS并没达到显著性差异标准。考虑到II期临床试验的显著疗效，研究者认为应当尝试检验贝伐单抗与其它药物联用的疗效。一项来自Gynecologic Oncology Group协作组的III期随机临床试验评估了贝伐单抗联合环磷酰胺化疗对复发和转移性宫颈癌的疗效。结果表明贝伐单抗可以显著改善转移性宫颈癌患者的总体生存状况。贝伐单抗联合环磷酰胺可延长患者中位生存期4个月，具有显著的临床获益。

## 帕尼单抗（Panitumumab）

帕尼单抗是一种完全人源化IgG2单克隆抗体，与EGFR的亲合力更强，可以阻断下游信号途径的激活。同样，帕尼单抗可促进血管内皮细胞凋亡、抑制肿瘤血管生长及肿瘤侵袭转移等途径，从而发挥抗肿瘤效应。研究表明帕尼单抗对转移性结直肠癌具有较好的疗效<sup>[10]</sup>。对于复发或难治性转移性结直肠癌患者的II期临床试验结果表明，帕尼单抗治疗组

的相对缓解率是8-13%，21-33%的患者病情稳定。帕尼单抗对KRAS野生型的患者具有更好的临床疗效<sup>[11]</sup>。2006年美国FDA批准帕尼单抗用于治疗EGFR阳性化疗失败的转移性结直肠癌患者。但该药物目前在国内还未上市。2012年FDA批准帕尼单抗联合曲妥珠单抗和多西他赛治疗未接受过HER2靶向治疗或化疗的HER2阳性转移性乳腺癌患者。

## 易普利姆玛（Ipilimumab）

Ipilimumab的靶标是细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4（CTLA4）。Ipilimumab目前已经被批准用于治疗转移性黑色素瘤。CTLA4是调节细胞免疫的关键分子，机体缺乏CTLA4功能时会提高免疫系统T细胞对疾病的免疫能力；而增强CTLA4则会抑制免疫系统对疾

病的反应。Ipilimumab能靶向地与CTLA4结合，降低CTLA4的免疫抑制功能，导致T细胞过度增殖、白介素-2分泌增加，从而维持强有力的免疫能力。研究表明，Ipilimumab能提高晚期转移性黑色素瘤患者的总生存（10.0月 Vs 6.4月）。此外，易普利姆玛联合其它

靶向治疗药物治疗黑色素瘤患者也显示出相当的疗效。Jedd D.Wolchok医生在美国临床肿瘤学会ASCO2013年会上表明易普利姆玛联合Nivolumab治疗晚期黑色素瘤优于单药，在包括37例黑色素瘤患者的I期研究中，易普利姆玛（Ipilimumab）联合在研药物Nivolumab（Nivolumab是一种在研中的PD-1抑制剂，

已在单药治疗黑色素瘤和其它肿瘤时显示出活性）治疗III和IV期黑色素瘤，结果发现>50%的受试患者肿瘤体积缩小；治疗12周时，37例受试患者中有11例患者（30%）的肿瘤至少缩小80%，治疗缓解的患者中有90%表现出对该治疗的持续缓解<sup>[12,13]</sup>。

## Figitumumab

研究发现IGF-1R在多种肿瘤细胞中高表达，并能促进细胞的增殖。Figitumumab是一种靶向IGF-1R的人源化单克隆抗体，它能降低肿瘤细胞内IGF-1R的功能<sup>[14]</sup>。I期临床试验

研究表明，Figitumumab联合多西他赛对复发黑色素瘤、Ewing肉瘤、肾皮质肿瘤具有一定的疗效。

## T-DM1（trastuzumab-derivative of maytansina）

T-DM1是一种抗体-药物偶联物，是在曲妥珠单抗的基础上耦联了化疗药物的一种新型HER-2靶向治疗药物。将曲妥珠单抗充当制导装置，然后把具有抗微管作用的细胞毒药物DM1精确传递到HER2阳性的肿瘤细胞上，这样既可保证HER-2阳性肿瘤细胞的靶向性杀伤作用，又可通过细胞毒药物DM1进一步消灭肿瘤细胞。在治疗曲妥珠单抗治疗失败的HER2阳性的局部晚期或转移性乳腺癌时，对

比卡培他滨+拉帕替尼，T-DM1能显著延长至疾病进展时间（TTP），患者的两年中位生存率显著提高。这项研究已被评为美国临床肿瘤学会（ASCO）的十七大进展之一。目前罗氏公司正在开展T-DM1与曲妥珠单抗和帕尼单抗一线治疗转移性乳腺癌的头对头比较的III期临床研究。相信未来T-DM1能够成为治疗HER2阳性转移性乳腺癌的良药。

## 四、小分子类靶向治疗药物

除了单克隆抗体能特异地与靶点相结合外，通过实验室设计、合成的小分子抑制剂也能够与特定的分子结合并使其失活。与单克隆

抗体不同，这种小分子非常小，它能够进入细胞，与细胞内的蛋白结合。

## 伊马替尼 (Imatinib)

第一个已经被批准使用的小分子靶向药物是伊马替尼，它能与慢性粒细胞白血病（CML）的促癌基因*BCR-ABL*的产物、具有酪氨酸激酶活性的Bcr-Abl蛋白相结合，并且抑制它的功能。慢性粒细胞白血病的发生与t(9; 22)染色体易位有关，易位的结果是9号染色体上的部分*ABL*基因与22号染色体上的*BCR*基因融合，共同位于22号染色体上，成为Philadelphia染色体<sup>[15]</sup>。大约有90%的CML患者可检出该染色体。因为*BCR-ABL*源于两个不同基因DNA的融合，所以*BCR-ABL*会编码结构异常的蛋白Bcr-Abl酪氨酸激酶。它只存在于肿瘤细胞中，因此Bcr-Abl酪氨酸激酶是理想的治疗靶标。格列卫刚开始用于治疗慢性髓细胞白血病时，疗效非常显著。处于早期阶段的CML患者使用格列卫治疗6个月后，超过50%的患者得到了缓解<sup>[16]</sup>。IRIS试验研究表明，伊马替尼组和干扰素- $\alpha$ 组中CML患者的无进展生存率（PFS）分别是97%和80%，治疗18个月后的总生存是95%。该研究随访7年的结果显示无进展生存（PFS）和总生存（OS）分别是86%和81%。其它研究也显示伊马替尼治疗的患者的无进展生存（PFS）达80-90%<sup>[17]</sup>。如今，针对CML患者的标准治疗方法是化疗联合伊马替尼<sup>[18]</sup>。2001年5月10日，美国FDA批准伊马替尼治疗*BCR-ABL*基因错位的慢性粒细胞白血病（CML）。截至目前，没有一个靶向药物比伊马替尼成功，因为大部分肿瘤都不是由单个的突变引起的。

## 吉非替尼 (Gefitinib)

吉非替尼是一种表皮生长因子（EGFR）小分子酪氨酸激酶抑制剂（Tyrosine kinase Inhibitor, TKI）。它能与EGFR的ATP激酶结合位点上的三磷酸腺苷竞

此外，若胃肠道间质瘤（GIST）细胞中的*c-Kit*基因发生突变，将会导致c-kit酪氨酸激酶的形成。伊马替尼同样也可以抑制c-kit酪氨酸激酶的活性，因此可以治疗胃肠道间质瘤。2002年2月，美国FDA批准伊马替尼治疗胃肠道间质瘤（GIST）。

不幸的是，晚期CML患者经常发生*BCR-ABL*基因突变，使得Bcr-Abl酪氨酸激酶的结构发生改变，使伊马替尼与其无法紧密结合，进而对格列卫产生耐药。能够克服格列卫耐药的其它二代小分子药物目前已经开发出来，如尼洛替尼（Nilotinib）和达菲替尼等。尼洛替尼能够与ABL激酶更紧密地结合，对酪氨酸激酶的抑制作用比伊马替尼强30倍。此外尼洛替尼还能抑制Kit和PDGFR激酶活性。目前尼洛替尼已被批准用于治疗对伊马替尼耐药或不耐药的慢性粒细胞白血病（CML）、难治性或复发的Ph染色体阳性的急性淋巴细胞白血病（ALL）、胃肠道间质瘤（GIST）、以及初治的系统性肥大细胞增多症（SM）。

小分子靶向治疗药物除伊马替尼之外，目前已经批准使用的还有吉非替尼、埃罗替尼、索拉菲尼等，这些药物为非小细胞肺癌、肾癌、肝癌患者的治疗提供了新的选择。吉非替尼和埃罗替尼都是表皮生长因子受体酪氨酸激酶的抑制剂，对*EGFR*基因突变的晚期非小细胞肺癌和胰腺癌疗效较好。而索拉菲尼是小分子酪氨酸激酶抑制药物，已被美国FDA批准用于转移性肾癌、肝细胞癌以及对伊马替尼耐药的胃肠道间质瘤的治疗。

争，阻断其酪氨酸激酶活性，进而阻断EGFR的信号传导通路。2002年7月美国食品与药品管理局（FDA）批准吉非替尼单药治疗铂类和多西紫杉醇治疗失败的局部晚期或转移性



非小细胞癌。它是第1个被FDA批准应用于临床治疗的EGFR酪氨酸激酶抑制剂，主要应用于非小细胞肺癌的二线治疗，在东亚地区的非吸烟女性人群中疗效尤其好。对于EGFR基因突变非小细胞肺癌、病理类型是腺癌的患者，吉非替尼具有较好的疗效。非小细胞癌患者的EGFR基因的突变频率达40%-80%，不同的EGFR基因突变对抑制剂会产生不同的反

应。研究表明，EGFR基因发生突变的肺非小细胞癌患者接受吉非替尼治疗的放射缓解达94.1%，而野生型患者只有12.6%。对晚期头颈部鳞癌EGFR高表达的患者，一线临床获益率为45%。此外吉非替尼还可联合FOLFOX4治疗难治性晚期结直肠癌患者，有效率达23%。

## 埃罗替尼 (Erlotinib)

埃罗替尼是第一个被证实能够延长肿瘤患者生存的表皮生长因子受体(EGFR)小分子酪氨酸激酶抑制剂，对EGFR基因多倍体或扩增者疗效尤佳。埃罗替尼的应用，很大程度上提高了非小细胞肺癌患者的5年生存率，它是一种口服酪氨酸激酶抑制剂，与ATP竞争结合表皮生长因子受体(EGFR)胞外酪氨酸激酶功能域上的ATP-结合位点，结合后使下游的信号通路受阻，导致细胞周期停滞在G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub>期，有时导致细胞凋亡。非小细胞肺癌高表达EGFR受体，埃罗替尼能有效地治疗对至少一

种化疗方案耐药的非小细胞癌患者<sup>[19]</sup>。同时，埃罗替尼还可用于转移性非小细胞肺癌患者的维持治疗。III期临床试验结果表明，与安慰剂相比，埃罗替尼能显著提高晚期非小细胞癌患者的无进展生存和总生存。此外，一项国际多中心III期临床试验研究表明，埃罗替尼与GEM合用治疗晚期胰腺癌患者在临床获益率、无进展生存、总生存方面均优于单用GEM。目前GEM联合埃罗替尼已成为晚期胰腺癌的标准治疗方案。

## 舒尼替尼 (Sunitinib)

舒尼替尼是一种针对VEGFR-R2、R3和R1以及PDGFR-β、KIT、FLT-3、CSF-1R、RET等多靶点的小分子酪氨酸激酶抑制剂。2006年，美国FDA批准舒尼替尼用于伊马替尼治疗失败的胃肠道间质瘤(GIST)和转移性肾透明细胞癌的治疗。在伊马替尼治疗失败的胃肠道间质瘤患者中，舒尼替尼组无疾病进展时间为27个月，而未治疗组仅为6个月。此

外，伊马替尼对KIT基因第9号外显子突变的患者疗效较差，而舒尼替尼的疗效却较好。舒尼替尼治疗转移性肾癌也具有较好的疗效，一项III期临床试验报道一线治疗转移性肾癌，舒尼替尼组治疗有效率达24.8%，而干扰素组仅为4.9%，中位无进展生存分别是47.3周和24.9周<sup>[20]</sup>。

## 克里唑替尼 (Crizotinib)

克里唑替尼是一种双重酪氨酸激酶抑制剂，它能靶向抑制c-Met和ALK激酶。

抑制ALK酪氨酸激酶的磷酸化将下调Ras/MEK/ERK和PI3K/Akt通路的功能，最终导

致细胞凋亡。2011年8月26日，辉瑞公司的XALKORI（crizotinib）胶囊获得美国食品药品监督管理局（FDA）批准，这是第一个对间变性淋巴瘤激酶（ALK）进行靶向治疗的药品，同时获得批准的还包括配套的基因检测诊断，用于治疗ALK阳性的局部晚期或转移的非小细胞肺癌（NSCLC）。诸多的临床试验研究表明，以克里唑替尼为基础的治疗方案能明显提高非小细胞肺癌患者的无进展生存达9.2月。而研究克里唑替尼联合标准的单化疗药物的治疗方案治疗转移性非小细胞肺癌患者的III期临床试验还在继续，相信会有令人欣慰的结

果。

有ALK基因异常的儿童肿瘤，尤其是间变大细胞淋巴瘤和炎性及纤维母细胞肿瘤及神经母细胞瘤等，可能会从靶向ALK治疗中获益，因此靶向ALK治疗或许是儿童肿瘤有效的治疗策略。一项旨在探讨克里唑替尼用于难治性儿童实体瘤和间变大细胞淋巴瘤的安全性、可用于II期临床研究的剂量和抗肿瘤活性的研究结果显示，接受治疗的79例患儿中14例获得客观缓解、9例完全缓解、5例部分缓解，效果还是令人满意的。

## 索拉菲尼（Sorafenib）

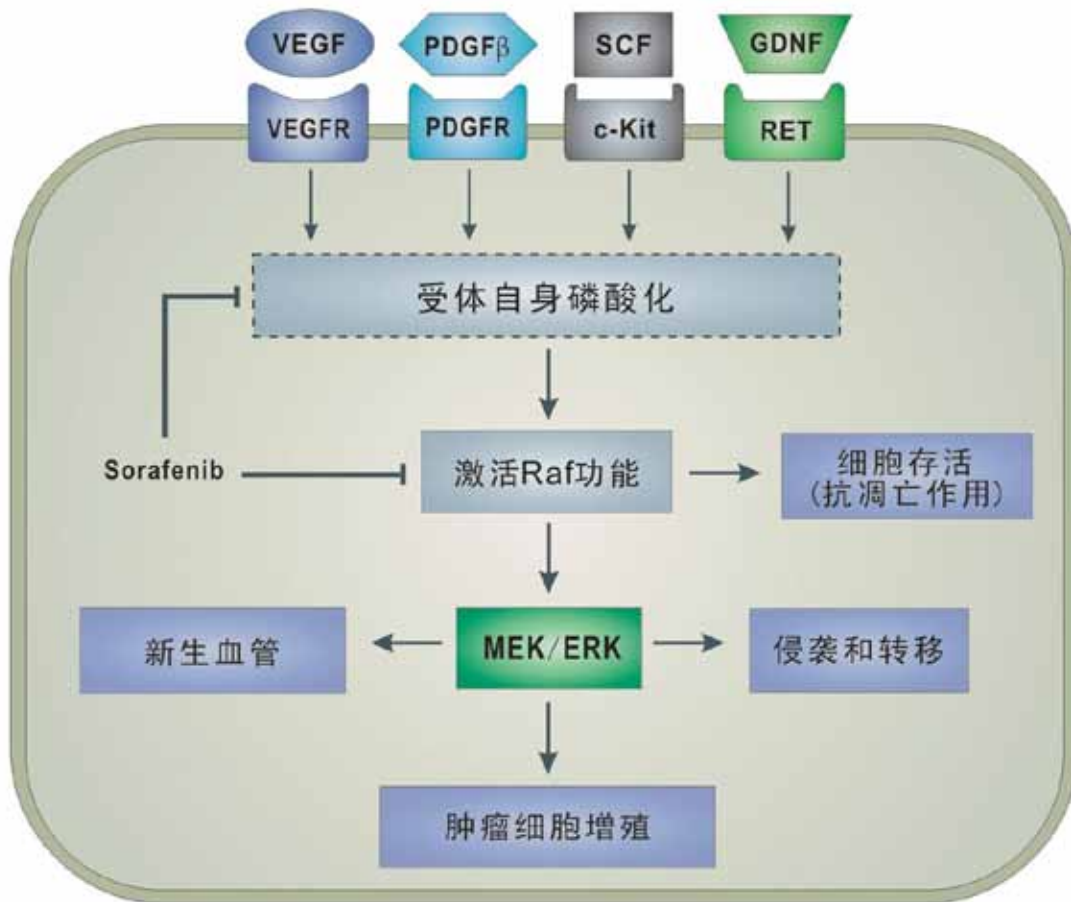


图4 索拉菲尼的作用靶点。

图片来源：Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, Schwartz B, Simantov R, Kelley S. (2006) Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5:835–844.

索拉非尼是靶向C-Raf、B-Raf、VEGFR-2、VEGFR-3、PDGFR- $\beta$ 、c-KIT及FLT-3的小分子TKI，主要用于阻断由于Raf基因突变所激活的Raf/MEK/ERK通路，减少细胞的增殖，诱导肿瘤细胞凋亡，抑制肿瘤血管生成，从而达到抗肿瘤效果。2005年底，第一个被美国FDA批准用于治疗晚期肾细胞癌（RCC）的靶向药物——索拉非尼成为业界广泛关注的研究成果。2011年5月，索拉非尼已至少在100个国家被批准使用。临床试验证明索拉非尼能有效治疗肾细胞癌、肝细胞癌、肺癌、黑色素瘤等疾病并具有较好的安全性和有效性，它与其它药物联合使用显示了良好的耐受性和治疗前景<sup>[21]</sup>。索拉非尼已被批准用于治疗晚期肝细胞癌<sup>[22]</sup>。目前针对晚期肝细胞癌还开发出了多种包含索拉非尼的治疗方案，例如阿霉素洗脱微球的TACE（DEB-TACE）+索拉非尼；索拉非尼+吉西他滨+奥沙利铂（GEMOX）方案及索拉非尼+卡培他滨+奥沙利铂（SECOX）方案等。这些联合

用药的方案都显示出了令人满意的疗效。还有一些正在进行的索拉非尼与其它药物联合使用的药物试验，例如Nintedanib，它是一种口服的酪氨酸激酶抑制剂，靶点包括VEGF、PDGF和FGF信号通路，一项国际多种的II期临床研究中，患者按照2:1的比例随机接受Nintedanib或索拉非尼治疗，预期2013年年底可以获得研究结果。针对索拉非尼治疗耐药和进展期肝细胞癌患者，目前也有较多的新型靶向药物。例如Tivantinib是一种MET的抑制剂，意大利Santoro等的多中心安慰剂对照的II期临床研究结果显示，选择性口服MET抑制剂Tivantinib，为晚期肝细胞癌患者，尤其是MET高表达的患者提供了二线治疗选择。Tivantinib单药或联合索拉非尼均显示对肝细胞癌有抗肿瘤活性。

此外，在2013ASCO年会上，研究者公布了DECISION研究的结果。他们发现，索拉非尼治疗可显著改善局部晚期或转移性放射性碘不摄取甲状腺癌（RAI）的无进展生存期。

## 阿法替尼（Afatinib）

阿法替尼是一种口服的表皮生长因子受体（EGFR）和人表皮受体2（HER2）酪氨酸激酶的不可逆抑制剂。它是第二代高效双重非可逆性的酪氨酸激酶抑制剂。适用于晚期非小细胞肺癌（NSCLC）及HER2阳性的晚期乳腺癌患者。最新的LUX-Lung6试验发现，在EGFR（ErbB1）突变阳性的非小细胞肺癌（NSCLC）患者中，阿法替尼的治疗效果优于标准化疗方案<sup>[23]</sup>。接受新型、在研化合物阿

法替尼治疗的患者在肿瘤重新开始生长之前的生存期将近一年，而接受标准化疗方案（吉西他滨/顺铂）患者的则不足半年。基于对数据的独立性评估的肿瘤评估结果显示，阿法替尼治疗组的无进展生存期（PFS）为11.0个月，而化疗组的则为5.6个月。此外，在治疗结束后一年，有47%的阿法替尼治疗者仍然处于无进展生存状态，而在化疗患者中，这一数字仅为2%。

## 尼达尼布（Nintedanib）

LUME-Lung1 III期临床试验结果显示，新型在研化合物、口服三联血管激酶抑制剂尼达尼布（BIBF1120）联合多西他赛可使非小

细胞肺癌（NSCLC）腺癌患者的生存期相较安慰剂联合多西他赛治疗组的患者延长2.3个月（两组分别为12.6个月和10.3个月）。

## 拉帕替尼 (Lapatinib)

拉帕替尼是继曲妥珠单抗后的第2个乳腺癌分子靶向新药，是一种口服的、可逆的小分子表皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂，能同时阻断HER-2和HER-1（EGFR）的同源二聚体或异二聚体。拉帕替尼联合卡培他滨治疗对蒽环类、紫杉类或曲妥珠单抗治疗失败的转移性乳腺癌患者具有明显延长的疾病进展时间（TTP）和无疾病进展生存时间（PFS）。同时，拉帕替尼对HER-2阳性的乳腺癌患者的疗效突出，与曲妥珠单抗不同，前者能透过血脑屏障，对HER-2阳性的乳腺癌脑转移患者疗效显著。值得欣慰的是拉帕替尼与曲妥珠单

抗无交叉耐药。目前拉帕替尼对HER-2阳性晚期乳腺癌疗效显著，单药治疗的有效率超过30%，即便对曲妥珠单抗治疗无效的患者，也具有一定的疗效。一项国际多中心的III期临床研究结果显示，对于HER-2阳性晚期乳腺癌，在卡培他滨化疗的基础上，联合使用拉帕替尼能够进一步提高治疗效果，减少脑转移和毒副作用的发生。此外，拉帕替尼可用于治疗一线治疗失败的EGFR过表达的肾癌患者，比起激素治疗来能明显延长中位无进展生存（TTP）和总生存时间。

## Regorafenib

Regorafenib是一种VEGFR2-TIE2酪氨酸激酶抑制剂，是抗血管生成药物。英国牛津大学报告的国际多中心随机安慰剂对照III期临床研究结果显示，Regorafenib可为接受伊马替尼和舒尼替尼治疗失败的晚期胃肠间质瘤患者带来显著的无进展生存获益。Regorafenib是第一个显示在标准治疗后进展的转移性胃肠

道间质瘤患者中显著获益的激酶抑制剂药物。此外，Grothey的研究表明，Regorafenib标准为标准治疗后进展的转移性结直肠癌患者带来明确的总生存获益，Regorafenib组和安慰剂组的中位总生存分别为6.4月和5.0月，为疾病进展的转移性结直肠癌患者提供了新的靶向治疗选择。

## Ibrutinib

Ibrutinib是一种可选择性地抑制Bruton's酪氨酸激酶（BTK）的不可逆靶向抑制剂，该酶是三种以上重要B细胞生存机制的介质，在促进慢性淋巴细胞白血病（chronic lymphocytic leukemia, CLL）进展的B细胞信号传导中起着关键作用。BTK的这种多重作用使其可以指挥恶性B细胞肿瘤进入淋巴组织，使肿瘤细胞能够接触必要的微环境而得以生存。美国食品药品监督管理局（FDA）已经批准Ibrutinib治疗经过治疗的复发或难治性套细胞淋巴瘤（MCL）及Waldenstrom巨球蛋白血症（WM）。同时，

FDA已经授予此药“突破性治疗”称号。美国研究者Adrian Wiestner的研究结果显示，试验性口服剂Ibrutinib能大幅度降低难治性慢性淋巴细胞白血病（CLL）的肿瘤负荷。这项II期、单中心试验中，经过12个月的随访，服用Ibrutinib的患者的疾病无进展生存（DFS）达到94%左右。经过6个月的治疗，50%以上的患者肿瘤负荷减轻，同时脾脏体积减小、肿瘤的骨髓浸润程度降低。在有外周血、淋巴结、器官转移的CLL患者中，该药均有较好的疗效。Ibrutinib是近十几年来最令人兴奋的治疗B细胞淋巴瘤和CLL的药物之一。

## Ponatinib

Ponatinib是泛BCR-ABL抑制剂，属第三代酪氨酸激酶抑制剂（TKI）。目前已被美国FDA批准治疗两种TKI药物治疗失败的慢性髓性白血病（CML）和Ph染色体阳性的急性淋巴细胞白血病，为其它药物治疗疗效不佳的CML患者提供了新的治疗选择。研究显示接

受Ponatinib治疗的患者的主要细胞遗传学缓解和血液学缓解率在33%-70%，不同亚型患者之间存在差异，其中慢性和急性期CML患者的缓解率在50-70%。相信Ponatinib能为晚期CML患者带来新的选择。

## Hsp90抑制剂及B-Raf抑制剂

研究发现，60%的黑色素瘤患者存在*B-Raf*基因功能激活突变。抑制Hsp90可以通过减少B-Raf蛋白产物来降低MEK及ERK通路的功能，进而减少信号传导、细胞增殖和迁移<sup>[24]</sup>。PF-4470296及PF-3823863这两种Hsp90抑制剂在黑色素瘤细胞系中具有明显的

抗肿瘤活性<sup>[25]</sup>。比较Vemurafenib（B-Raf抑制剂）和氮烯唑胺治疗携带*B-Raf*基因V600E突变的黑色素瘤患者的III期临床试验结果表明，Vemurafenib具有较长的无进展生存时间（5.3月 Vs 1.6月）和6个月总生存率（84% Vs 64%）。

## PARP抑制剂

PARP主要参与细胞内DNA单链的损伤修复，抑制PARP功能会导致这些单链损伤转化为DNA双链损伤。而*BRCA1/2*基因可以通过同源重组的方式修复这些DNA双链损伤。当*BRCA1/2*基因发生致病性突变时，细胞将不能进行同源重组修复。PARP抑制剂能够促进*BRCA1/2*基因发生突变的细胞凋亡。因此PARP抑制剂目前已被开发用于治疗携带*BRCA1/2*基因致病性突变的乳腺癌和卵巢癌患者。Olaparib是一种口服的PARP抑制剂，II期临床试验结果表明该药对进展期乳腺癌患

者具有一定的疗效。在该研究中，高剂量组（400mg，日两次）和低剂量组（100mg，日两次）的客观缓解率分别是41%和22%，中位无进展生存分别是5.7月和3.8月。另一项关于卵巢癌的研究表明，高剂量组和低剂量组的客观缓解率是33%和13%，中位无进展生存是5.8月和1.9月<sup>[5,26]</sup>。但是由于美国Maryid实验室的*BRCA1/2*基因检测专利、以及潜在的耐药等问题，目前PARP抑制剂还未被批准用于*BRCA1/2*基因突变相关肿瘤的治疗。

## PI3K/Akt/mTOR通路抑制剂

PI3K/Akt/mTOR通路在乳腺癌、结直肠癌、非小细胞肺癌中均有较高的突变频率，它可促进细胞内PIP2磷酸化为PIP3，进而促进细胞的增殖、抑制细胞凋亡。目前针对这条通

路已经研发出多种抑制剂。其中研究较多的是XL147和BEZ235。XL147是一种口服的PI3K抑制剂，BEZ235是双重的PI3K和mTOR通路抑制剂，它们对多种肿瘤细胞系均显示出了一

定的作用<sup>[27]</sup>。Everolimus和Temsirrolimus是目前已被批准的用于治疗进展期肾细胞癌和B细胞淋巴瘤的mTOR通路抑制剂。此外，体外试

验及早期的临床试验均肯定了依维莫司对内分泌治疗耐药的乳腺癌细胞的有效性。



# 百态 · 频道

[www.LifeOmic.com](http://www.LifeOmic.com)

## 特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

### 岗位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

### 要求：

- 1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
- 2.具备良好的生命科学前沿触觉；
- 3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
- 4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
- 5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 [editor@lifeomics.com](mailto:editor@lifeomics.com)

联系人：蔡小姐

## 五、靶向治疗面临的问题

靶向治疗作为一种特异的治疗方式具有明朗的前景，这种新的治疗手段使肿瘤患者又多了一种选择，并有效地提高了一些肿瘤（乳腺癌、慢性髓细胞性白血病、胃肠道间质瘤等）的治疗效果，为患者带来了巨大的益处。但是靶向治疗同时也面临着一些棘手的问题，诸如耐药、高昂的费用、不良反应及缺少较好的标记物等<sup>[28]</sup>。

一直以来，耐药是阻碍提高肿瘤治疗疗效的重要原因。与传统化疗药物一样，靶向治疗同样存在耐药问题。根据耐药出现的时间不同，可分为原发耐药和继发耐药。随着分子生物学的发展，人们不断认识到肿瘤存在异质性。肿瘤异质性决定了不同肿瘤患者的靶向治疗的靶分子存在差异，因此很多患者最初接受靶向药物治疗时不能获得疗效，这也决定了现在多数靶向药物的有效率只能在10%左右。另外，最初接受靶向治疗获得缓解的患者，例如接受曲妥珠单抗治疗的乳腺癌患者、接受伊马替尼治疗的胃肠道间质瘤患者等在一段时间后多数会出现耐药，其原因包括（1）肿瘤在发生、发展的初期可能源于单一基因的突变，但是随着肿瘤的发展，会出现较多复杂的突变来激活促癌通路的功能，靶向药物失去作用；（2）被抑制的靶点可能会通过其它潜在分子或通路之间构成新的信号网络来抵抗靶向药物的作用。患者一旦出现继发耐药，将严重影响预后。针对出现的耐药，我们可联合采用多种治疗方案来克服耐药：化疗联合靶向治疗、多重靶向药物联合及靶向药物联合免疫治疗等。例如联合使用PI3K通路靶向抑制剂和曲妥珠单抗能有效地提高对曲妥珠单抗耐药的乳腺癌患者的疗效。此外，针对继发耐药，研究二线靶向治疗药物显得尤为重要。

靶向药物抗肿瘤的花费也是巨大的。靶向药物的价格非常昂贵，接受曲妥珠单抗治疗

的乳腺癌患者每年需花费70,000-100,000美元；接受贝伐珠单抗治疗的转移性大肠癌患者和非小细胞肺癌患者每年分别需花费100,000和50,000美元<sup>[29]</sup>。一般患者很难承受如此高昂的花费。靶向治疗的间接花费也是惊人的，这些间接的花费包括用药前的突变检测、毒性反应的控制、患者心理及生活质量的改变等<sup>[30]</sup>。治疗前的突变检测有利于筛选出最适合靶向药物治疗的患者，如针对慢性髓细胞性白血病患者的*BCR-ABL*融合基因检测、针对非小细胞肺癌患者的*EGFR*基因检测等，这些基因的突变检测费用也较高。靶向治疗药物在有效提高患者疗效的同时也出现一些不良反应，例如心脏毒性和高血压等，控制这些慢性的毒性反应也需要较多的花费。靶向药物有效地延长了部分肿瘤患者的生存时间，针对这些患者的心理状态的改善、以及生活质量的调控也是面临的重要问题。这些间接的花费很大程度上增加了政府及患者的经济负担。

与传统化疗的细胞毒性药物治疗相比，靶向药物治疗过程中呕吐、中性粒细胞减少等常见不良反应明显减少。但靶向治疗药物虽然能有效地作用于促进肿瘤细胞生长的某条分子通路中的重要分子，有效地抑制该通路的功能，但这些通路在正常细胞中同样发挥作用，因此会出现一些表现方式不尽相同的不良反应，诸如皮肤、肌肉、心脏及胃肠等毒性反应。此外，由于靶向治疗与常规化疗的作用机制不同，某些治疗相关的不良反应的病理机制也可能不同，例如靶向治疗引起的口腔溃疡和化疗引起的口腔黏膜炎。同时，因为靶向治疗出现的时间较短，今后可能会出现一些尚未发现的长期毒性反应，这也应引起我们的重视。

靶向药物特异地治疗肿瘤患者推动了个体化治疗的发展，但即便如此，很多肿瘤患者对靶向治疗仍然无效，这就要求进一步寻找



可能预测患者疗效的新的分子标记物，进而筛选出最适合靶向治疗的患者人群。一项研究EGFR抑制剂吉非替尼治疗非小细胞肺癌的III期临床试验发现，EGFR基因突变的患者有效率达37.5%，而野生型EGFR患者的反应率是2.6%。这项研究明确地说明EGFR基因状态可以预测EGFR抑制剂对非小细胞肺癌的疗效。与此相反，抗EGFR的单克隆抗体对于野生型K-ras基因的晚期结肠癌患者效果较好，而对突变型患者疗效较差。同时，采用合适的标志物和技术来预测、评估患者的毒性反应也尤为重要。

以上这些问题都在一定程度上阻碍了靶向治疗的发展，相信随着肿瘤分子生物学的发展、结合临床转化研究，这些问题今后都将得

到有效的解决，真正地让患者获得最大的疗效。

作为一种新的、特异性较强的治疗方式，靶向治疗具有巨大的潜力。在刚刚结束的美国临床肿瘤学会（ASCO）2013年年会上，研究人员报道了许多肿瘤靶向治疗药物的研究结果，以及一些正在或即将开始的临床试验。毫无疑问，这些靶向药物显著地提高了肿瘤患者的生存、延长了晚期患者的寿命，将为肿瘤患者带来新的治疗选择。由于靶向药物良好的临床疗效、较少的不良反应，更多的患者愿意选择合适的靶向药物治疗。因此我们有理由相信，肿瘤靶向治疗将是未来的主流，靶向药物的开发将是研究的热点。



## 参考文献

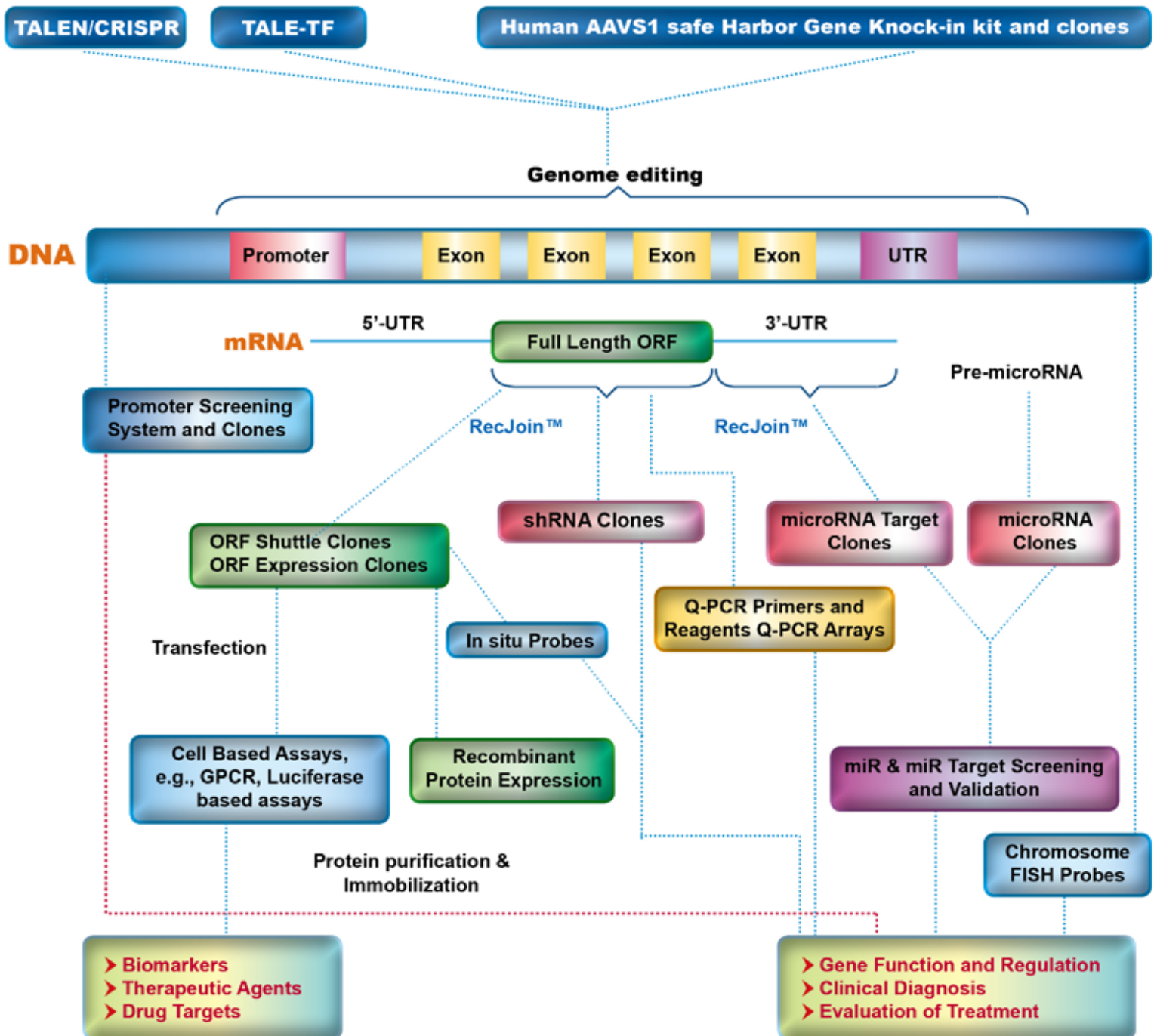
1. Scott, A. M., Wolchok, J. D. & Old, L. J. (2012) Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer*, 12, 278-87.
2. Soria, J. C., Blay, J. Y., Spano, J. P., Pivrot, X., Coscas, Y. & Khayat, D. (2011) Added value of molecular targeted agents in oncology. *Ann Oncol*, 22: 1703-16.
3. Stegmeier, F., Warmuth, M., Sellers, W. R. & Dorsch, M. (2010) Targeted cancer therapies in the twenty-first century: lessons from imatinib. *Clin Pharmacol Ther*, 87: 543-52.
4. Bang, Y. J., Van Cutsem, E., Feyereislova, A., Chung, H. C., Shen, L., Sawaki, A., Lordick, F., Ohtsu, A., Omuro, Y., Satoh, T., Aprile, G., Kulikov, E., Hill, J., Lehle, M., Ruschoff, J. & Kang, Y. K. (2010) Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*, 376: 687-97.
5. Audeh, M. W., Carmichael, J., Penson, R. T., Friedlander, M., Powell, B., Bell-McGuinn, K. M., Scott, C., Weitzel, J. N., Oaknin, A., Loman, N., Lu, K., Schmutzler, R. K., Matulonis, U., Wickens, M. & Tutt, A. (2010) Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet*, 376: 245-51.
6. Romond, E. H., Perez, E. A., Bryant, J., Suman, V. J., Geyer, C. E., Jr., Davidson, N. E., Tan-Chiu, E., Martino, S., Paik, S., Kaufman, P. A., Swain, S. M., Pisansky, T. M., Fehrenbacher, L., Kutteh, L. A., Vogel, V. G., Visscher, D. W., Yothers, G., Jenkins, R. B., Brown, A. M., Dakhil, S. R., Mamounas, E. P., Lingle, W. L., Klein, P. M., Ingle, J. N. & Wolmark, N. (2005) Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*, 353: 1673-84.
7. Vermorken, J. B., Mesia, R., Rivera, F., Remenar, E., Kawecki, A., Rottey, S., Erfan, J., Zabolotny, D., Kienzer, H. R., Cupissol, D., Peyrade, F., Benasso, M., Vynnychenko, I., De Raucourt, D., Bokemeyer, C., Schueler, A., Amellal, N. & Hitt, R. (2008) Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med*, 359: 1116-27.
8. Jonker, D. J., O'Callaghan, C. J., Karapetis, C. S., Zalcberg, J. R., Tu, D., Au, H. J., Berry, S. R., Krahn, M., Price, T., Simes, R. J., Tebbutt, N. C., van Hazel, G., Wierzbicki, R., Langer, C. & Moore, M. J. (2007) Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med*, 357: 2040-8.
9. Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W., Cartwright, T., Hainsworth, J., Heim, W., Berlin, J., Baron, A., Griffing, S., Holmgren, E., Ferrara, N., Fyfe, G., Rogers, B., Ross, R. & Kabbinavar, F. (2004) Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*, 350: 2335-42.

10. Peeters, M., Price, T. J., Cervantes, A., Sobrero, A. F., Ducreux, M., Hotko, Y., Andre, T., Chan, E., Lordick, F., Punt, C. J., Strickland, A. H., Wilson, G., Ciuleanu, T. E., Roman, L., Van Cutsem, E., Tzekova, V., Collins, S., Oliner, K. S., Rong, A. & Gansert, J. (2010) Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 28: 4706-13.
11. Douillard, J. Y., Siena, S., Cassidy, J., Tabernero, J., Burkes, R., Barugel, M., Humblet, Y., Bodoky, G., Cunningham, D., Jassem, J., Rivera, F., Kocakova, I., Ruff, P., Blasinska-Morawiec, M., Smakal, M., Canon, J. L., Rother, M., Oliner, K. S., Wolf, M. & Gansert, J. (2010) Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol*, 28: 4697-705.
12. Wolchok, J. D., Kluger, H., Callahan, M. K., Postow, M. A., Rizvi, N. A., Lesokhin, A. M., Segal, N. H., Ariyan, C. E., Gordon, R. A., Reed, K., Burke, M. M., Caldwell, A., Kronenberg, S. A., Agunwamba, B. U., Zhang, X., Lowy, I., Inzunza, H. D., Feely, W., Horak, C. E., Hong, Q., Korman, A. J., Wigginton, J. M., Gupta, A. & Sznol, M. (2013) Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*.
13. Sharma, A., Thompson, J. A., Repaka, A. & Mehnert, J. M. (2013) Ipilimumab Administration in Patients With Advanced Melanoma and Hepatitis B and C. *J Clin Oncol*.
14. Yin, D., Sleight, B., Alvey, C., Hansson, A. G. & Bello, A. (2013) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of figitumumab, a monoclonal antibody targeting the insulin-like growth factor 1 receptor, in healthy participants. *J Clin Pharmacol*, 53: 21-8.
15. An, X., Tiwari, A. K., Sun, Y., Ding, P. R., Ashby, C. R., Jr. & Chen, Z. S. (2010) BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors in the treatment of Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia: a review. *Leuk Res*, 34: 1255-68.
16. Kantarjian, H., Sawyers, C., Hochhaus, A., Guilhot, F., Schiffer, C., Gambacorti-Passerini, C., Niederwieser, D., Resta, D., Capdeville, R., Zoellner, U., Talpaz, M., Druker, B., Goldman, J., O'Brien, S. G., Russell, N., Fischer, T., Ottmann, O., Cony-Makhoul, P., Facon, T., Stone, R., Miller, C., Tallman, M., Brown, R., Schuster, M., Loughran, T., Gratwohl, A., Mandelli, F., Saglio, G., Lazzarino, M., Russo, D., Baccarani, M. & Morra, E. (2002) Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med*, 346: 645-52.
17. O'Brien, S. G., Guilhot, F., Larson, R. A., Gathmann, I., Baccarani, M., Cervantes, F., Cornelissen, J. J., Fischer, T., Hochhaus, A., Hughes, T., Lechner, K., Nielsen, J. L., Rousselot, P., Reiffers, J., Saglio, G., Shepherd, J., Simonsson, B., Gratwohl, A., Goldman, J. M., Kantarjian, H., Taylor, K., Verhoef, G., Bolton, A. E., Capdeville, R. & Druker, B. J. (2003) Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*, 348: 994-1004.
18. de Lavallade, H., Apperley, J. F., Khorashad, J. S., Milojkovic, D., Reid, A. G., Bua, M., Szydlo, R., Olavarria, E., Kaeda, J., Goldman, J. M. & Marin, D. (2008) Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia: incidence of sustained responses in an intention-to-treat analysis. *J Clin Oncol*, 26: 3358-63.
19. Gridelli, C., Maione, P., Bareschino, M. A., Schettino, C., Sacco, P. C., Ambrosio, R., Barbato, V., Falanga, M. & Rossi, A. (2010) Erlotinib in the treatment of non-small cell lung cancer: current status and future developments. *Anticancer Res*, 30: 1301-10.
20. Motzer, R. J., Hutson, T. E., Tomczak, P., Michaelson, M. D., Bukowski, R. M., Rixe, O., Oudard, S., Negrier, S., Szczylik, C., Kim, S. T., Chen, I., Bycott, P. W., Baum, C. M. & Figlin, R. A. (2007) Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*, 356: 115-24.
21. Llovet, J. M., Ricci, S., Mazzaferro, V., Hilgard, P., Gane, E., Blanc, J. F., de Oliveira, A. C., Santoro, A., Raoul, J. L., Forner, A., Schwartz, M., Porta, C., Zeuzem, S., Bolondi, L., Greten, T. F., Galle, P. R., Seitz, J. F., Borbath, I., Haussinger, D., Giannaris, T., Shan, M., Moscovici, M., Voliotis, D. & Bruix, J. (2008) Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 359: 378-90.
22. Bruix, J., Raoul, J. L., Sherman, M., Mazzaferro, V., Bolondi, L., Craxi, A., Galle, P. R., Santoro, A., Beaugrand, M., Sangiovanni, A., Porta, C., Gerken, G., Marrero, J. A., Nadel, A., Shan, M., Moscovici, M., Voliotis, D. & Llovet, J. M. (2012) Efficacy and safety of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: subanalyses of a phase III trial. *J Hepatol*, 57: 821-9.
23. Miller, V. A., Hirsh, V., Cadranel, J., Chen, Y. M., Park, K., Kim, S. W., Zhou, C., Su, W. C., Wang, M., Sun, Y., Heo, D. S., Crino, L., Tan, E. H., Chao, T. Y., Shahidi, M., Cong, X. J., Lorence, R. M. & Yang, J. C. (2012) Afatinib versus placebo for patients with advanced, metastatic non-small-cell lung cancer after failure of erlotinib, gefitinib, or both, and one or two lines of chemotherapy (LUX-Lung 1): a phase 2b/3 randomised trial. *Lancet Oncol*, 13: 528-38.
24. Kaplan, F. M., Shao, Y., Mayberry, M. M. & Aplin, A. E. (2011) Hyperactivation of MEK-ERK1/2 signaling and resistance to apoptosis induced by the oncogenic B-RAF inhibitor, PLX4720, in mutant N-RAS melanoma cells. *Oncogene*, 30: 366-71.
25. Mehta, P. P., Kung, P. P., Yamazaki, S., Walls, M., Shen, A., Nguyen, L., Gehring, M. R., Los, G., Smeal, T. & Yin, M. J. (2011) A novel class of specific Hsp90 small molecule inhibitors demonstrate in vitro and in vivo anti-tumor activity in human melanoma cells. *Cancer Lett*, 300: 30-9.
26. Tutt, A., Robson, M., Garber, J. E., Domchek, S. M., Audeh, M. W., Weitzel, J. N., Friedlander, M., Arun, B., Loman, N., Schmutzler, R.

- K., Wardley, A., Mitchell, G., Earl, H., Wickens, M. & Carmichael, J. (2010) Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet*, 376: 235-44.
27. Masuda, M., Shimomura, M., Kobayashi, K., Kojima, S. & Nakatsura, T. (2011) Growth inhibition by NVP-BEZ235, a dual PI3K/mTOR inhibitor, in hepatocellular carcinoma cell lines. *Oncol Rep*, 26: 1273-9.
28. Keefe, D. M. & Bateman, E. H. (2012) Tumor control versus adverse events with targeted anticancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol*, 9: 98-109.
29. Grosse, S. D. (2008) Assessing cost-effectiveness in healthcare: history of the \$50,000 per QALY threshold. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*, 8: 165-78.
30. Benedict, A., Figlin, R. A., Sandstrom, P., Harmenberg, U., Ullen, A., Charbonneau, C., Sandin, R., Remak, E., Hariharan, S. & Negrier, S. (2011) Economic evaluation of new targeted therapies for the first-line treatment of patients with metastatic renal cell carcinoma. *BJU Int*, 108: 665-72.

# 功能基因组研究线路概览 ( GeneCopoeia产品与服务 )

## Products and Services: A Functional Genomics View



# 热点

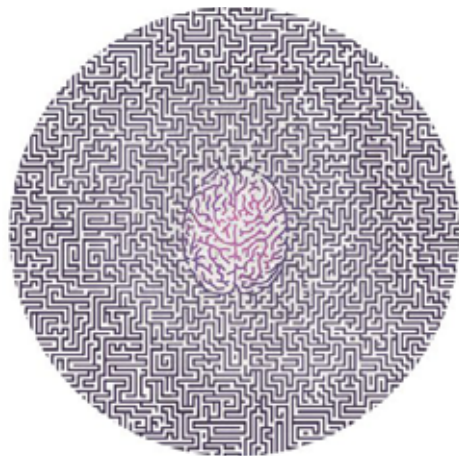
## Hot Topics

### 破解大脑的奥秘

美国和欧洲都准备投入数十亿美元来破解人类大脑的奥秘，从而了解我们自己的大脑是如何工作的。但是开展这项工作的技术难度也是相当大的。

美国加利福尼亚州斯坦福大学医学院（Stanford University School of Medicine in California）的神经生物学家Bill Newsome在今年的3月突然接到了美国国立健康研究院（US National Institutes of Health）的院长Francis Collins打来的一个电话，Newsome接到电话的第一个反应是惊讶，因为Collins这么突然地找他是为了问他是否能够共同承担一项预计为期十年的大型项目——一个旨在破解人类大脑奥秘的大型科研项目。这个工作在Newsome听来是一个吃力不讨好的、还没有成型的、麻烦的工作，反正一句话，只要他答应了，他的这个暑假就算是彻底完蛋了。但是24小时之后，Newsome改变了主意。“这个

时间点选得太好了，因为脑科学是21世纪最让人激动的研究方向了。” Newsome这样评价道，于是他决定干了。



这个项目的幕后大老板实际上是美国总统Barack Obama。就在Collins给Newsome打了那个电话两个星期之后的4月2号，美国总统Barack Obama就宣布将投资1亿美元（这只是初期投入，预计整个项目完成将需要10亿美元），启动脑科学研究计划（BRAIN Initiative）。欧盟也有类似的计划，在2013年的1月28日，欧盟宣布将投入5400万欧元（约合6900万美元）启动“人类大脑研究项目（Human Brain Project）”，并且计划在未来的十年内总计为这个项目投入约10亿欧元（*Nature* 482, 456–458; 2012）。

虽然美国和欧盟这两个脑科学研究项目的目的有所差异，但是从研究所能取得的成果来看，他们都解决了神经科学家们最关心的一个问题，那就是我们人类大脑里数十亿个神经元细胞和数万亿的神经连接（即突触）是如何组织在一起，并协调运作的，是如何让我们感受到爱情的甜蜜的？为什么会起冲突，又是如何解决数学难题，吟诗作赋的呢？此外，科学家们还了解人的一生中神经回路（circuitry）的变化机制，以及突触的不断形成与消退等机制。

## 1. 信号记录及检测技术

正如前面介绍的那样，在大脑活动时会产生大量的电信号，如果科研人员们想要了解这些电信号的具体含义，那么首先就得尽可能地同时记录下如此大量的神经元细胞产生的这些电信号。

目前最常用的方法还是在大脑组织里插入一根金属电极（探针），以此来记录大脑活动的电信号，但是这种技术存在相当大的问题。比如每一个电极上面都连着一根导线，通过这根导线来记录模拟电信号（analogue signal），比如电压的变动等信息，可是在导线的传输过程中，这些信号非常容易丢失，或

如果要达成上述这些研究目标，还需要很多创新的技术，比如能捕捉神经元细胞电活动信号的纳米技术、遗传学技术、以及光学等技术，通过这些技术能了解这些神经元细胞都干了些什么，还能以前所未有的分辨率描绘出大脑里的解剖联络通路，以及认识大脑是如何处置EB级的海量信息的。据美国芝加哥西北大学（Northwestern University in Chicago, Illinois）的神经科学家Konrad Kording介绍，我们人类的大脑在30秒内就可以处理和哈勃太空望远镜获得的全部数据同样多的信息。

这些年来科学家们也一直在解决这些问题，并取得了一些突破，比如在最近几年里取得了长足进展的光遗传学技术（用这种技术能够以非常高的精度用光刺激信号激活大脑深部的神经元细胞），以及以前所未有的细致度描绘的大脑解剖图谱等。到目前为止，绝大部分神经科学家还在以小鼠，或者线虫等比较简单的模式生物为研究对象，来认识在进化上相对保守的基础神经机制，他们试图通过这些认识来推测人类大脑的基础运行机制。接下来，将为您介绍几种在未来脑科学研究工作中一定会用得着的最新技术。

者失真。另外，为了尽可能减少对脑组织的损伤，这些导线必须非常细，比如达到像头发丝那么细的程度。近50年里，这种电极记录技术也取得了非常大的进步，差不多每7年就能上一个新的台阶，同时用电极监测的细胞数量可以翻一番，目前的电极已经可以同时监测数百个神经元细胞的电活动情况，不过我们还需要监测细胞数量更多、监测信号质量更高的电监测技术。

幸好现在有了新一代的硅制神经电极探针，可以让电极尽可能地做到微型化。电信号记录转换仪（将电极记录到的模拟信号转

换成方便分析的电信号)也能够像电极那样做到一小块硅芯片上,这样就大大缩短了电信号在导线里的传输距离,尽可能地减少了信号的损失和失真等情况。今年2月在美国加利福尼亚州旧金山市召开了半导体技术国际学会(International Solid-State Circuits Conference),比利时的纳米电极研究机构imec在这次大会上首次推出了这种神经电极记录仪的原型机产品。这种电极探针只有1厘米长、一美元钞票那么厚,可里面却装有52根超细的导线和开关,科学家们可以在456根硅电极之间轻松地进行无缝切换操作。

如果将这种探针插入小鼠的大脑中,那么探针里的记录电极就可以同时监测、并记录下探针所穿过的所有大脑组织层面,比如从皮质(cortex)到脑干丘脑(thalamus)里的电活动信号。这些信息能够帮助科研人员发现大脑各组织结构之间的联络关系。据imec研究中心负责生物及纳米电(nanoelectronics)研究事物的Peter Peumans介绍,他们这种电记录仪还可以进一步扩展,预计在3年之内,一个探针的容量可以提升到2000个记录电极和200多条导线。

除了被动的记录神经电活动信号之外,科学家们也希望主动的进行一些工作,比如主动刺激神经细胞,看看这些细胞会做出什么反应,在电活动层面和动物的行为层面都发生了哪些变化等等。每一个imec探针里都含有4个刺激电极(stimulating electrodes),他们计划将来能够在探针里装入20个,或者更多的刺激电极。但是由于这些刺激电极和探针里的记录电极会互相影响,所以也可能会放弃这种电刺激的方式,改用光刺激的方式。这就是所谓的光遗传学技术('optogenetic' technique),即先将视蛋白(opsins)这种光敏感的离子通道蛋白(light-sensitive ion-channel protein)插入到神经元细胞里,然后用一根光纤插入到大脑里,通过光刺激就可以激活表达特定视蛋白的神经元细胞。有一个研究小组最近就用光遗传学技术对小鼠进行过实

验,他们成功地复制了小鼠的某种行为,这种行为被认为与强迫症(obsessive-compulsive disorder)有关。

新一代光遗传学神经探针能够指哪打哪,高精度定向激活目标神经元细胞,不必再使用麻烦的光纤。比如今年4月,美国华盛顿大学(Washington University in St Louis, Missouri)的Michael Bruchas课题组就使用了一种无线的(无光纤)的光遗传学原型设备,激活了神经元上的视蛋白开关,这种设备采用的发光技术是一种能够被广播信号激发的发光二极管(light-emitting diodes)。Bruchas课题组将这种设备植入了小鼠的大脑中,激活了小鼠大脑里的奖励中枢(reward centre),结果小鼠很快就学会了如何打开发光二极管(即将它们的鼻子伸进一个洞里),这个实验说明,光刺激手段的确能够改变动物的行为。

科学家们一直在寻找更多的、天然的,或者是人工改造过的、能够对不同波长的光线起反应的视蛋白,以期能够帮助我们更好地研究神经系统的工作机制。神经探针里不仅能够装上各种电极来记录、或者激活成千上万的神经元细胞,还可以装上各种探测器,检测各种对神经活动有影响的因素,比如各种神经递质,或者温度等生理指标的变动情况。

未来可能还会出现很多更先进的研究手段。比如有一些科研人员就建议使用纳米级的光敏设备,将这些设备直接植入神经元细胞的细胞膜内,通过细胞对其供能,用无线的方式向外传送细胞的活动信息。

还有一种办法就是完全不用任何的检测设备,只是捕捉动作电位(action potential)留下的种种痕迹。Kording等人采用的就是这种策略,他们利用的工具是DNA聚合酶(DNA polymerase)。他们自己设计了一种DNA聚合酶,当细胞内钙离子浓度升高时,这种聚合酶就会将错误的碱基掺入到新合成的DNA链当中。我们都知道神经元细胞兴奋、出现动作电位时胞内的钙离子浓度就会升高,所以如果

细胞内表达这种DNA聚合酶，就会在DNA链中留下错误，通过测序就能够发现这些错误（比如错误序列的长度或者错误的序列），进而推测出动作电位的相关信息，比如在什么时

候出现过动作电位等。据Kording介绍，这种策略在理论上是完全可行的，不过他们现在的工作还只是处于起步阶段。

## 2. 作图技术

不论科研人员收集了多少有关神经元活动，以及神经通路的信息，最终他们需要的还是一副可靠的、超级细致的大脑神经网络解剖图谱。这就好像如果要了解一个城市的交通流量信息，只有拿到更详细的交通流量图，我们才能够更加准确地预测出高峰时段的交通状况。在我们的大脑里，神经网络解剖图谱就好比是交通流量图，而神经活动就好比是实际的交通运行状况。

一个多世纪以来，科学家们的作图方法一直都是大脑切片法，他们将大脑组织尽可能地切成薄片，然后对每一片大脑组织进行染色，再在显微镜下进行细致的观察。但是将那么多切片组织信息再集合起来，还原成一个立体的大脑可不是那么容易的。

即便如此，德国Jülich研究中心（Research Centre Jülich in Germany）的Katrin Amunts课题组还是决定啃下这块硬骨头，而且她们已经在上个月宣称完成了这项工作，公布了一幅人的三维立体大脑结构图，而且精细程度无与伦比。为了完成这项工作，Amunts课题组将一位65岁妇女的大脑组织切成了7400片，每一片的厚度只有20微米，然后进行了染色和镜下观察，得到了数TB的数据，最后在两台超级计算机上用了1000多个小时将这些信息整合在一起，还原出了原始的大脑立体结构。这个大脑结构图清晰地展示出了大脑上的褶皱，在传统的二维截面结构图里是无法展现这些褶皱的。据Amunts介绍，她们的这个项目用了整整十年的时间，现在她又开始对第二个人体大脑组织进行同样的解剖工作了，她希望能够找出这两个大脑组织之间的

异同点，据她估计，这一次应该用不了十年那么久。

美国哈佛大学（Harvard University in Cambridge, Massachusetts）的Jeff Lichtman和德国慕尼黑马克普朗克神经生物学研究所（Max Planck Institute for Neurobiology in Munich, Germany）的Winfried Denk则正在与德国的光学巨头——卡尔·蔡司公司（Carl Zeiss）合作，开发一款新型电子显微镜，这种显微镜可以观察25纳米（这只有细胞平均厚度的千分之一）的脑组织切片。“有了这种显微镜，大脑里发生的一切都逃不过我们的眼睛，不论是细胞里、细胞器里，还是突触里发生的任何改变，我们都会看得一清二楚。”Lichtman充满信心地说道。这款新机器预计在明年可以问世，交付给他们两个实验室使用。

据Denk介绍，使用传统的单电子束扫描（single scanning beam of electrons）电子显微镜，科学家们只能重建出1立方毫米的脑组织结构，如果要扫描整个小鼠大脑的所有切片，那至少需要好几十年时间，而最新的这种超级电子显微镜则拥有61道扫描电子束，完成这项工作只需要几个月的时间。Denk估计用这种超级电子显微镜可以用不到5年的时间重建出小鼠的三维立体脑组织结构图。

Lichtman和Denk还没有解决的一个问题是如何将这些二维图像重组成立体的三维图像。Denk的实验室用传统的电子显微镜做过一次试验，他们对一小块小鼠的视网膜（这是哺乳动物大脑里最简单的一个部分）组织进行



了扫描，得到了300GB的图像信息。但是单靠计算机无法将这些数据重建成一个立体的视网膜结构，于是他们找了230个人，用人工的方法（用眼睛看）才将这些切片重新拼接到了一起。据Denk介绍，如果脑组织再大一点，他们的这种方法就不管用了，必须开发一种新的计算机算法来解决这个问题。

如果对分辨率的要求不高的话，科学家们还是有比较简单的方法可以得到脑组织的立体结构的。其中一种方法就是CLARITY技术，这项技术在今年4月首次亮相时曾经引起过一阵轰动。美国斯坦福大学（Stanford University）的Karl Deisseroth等人发明了这种CLARITY技术，这是一种化学方法，他们通过将大脑组织里不透明的脂质成份替换成透明凝胶的方法，使整个大脑变成了一个透明的

组织，这样无需再做任何操作，就可以清楚地看到脑组织内部的结构。Deisseroth也曾经用这种CLARITY技术研究过一个患有自闭症的6岁小男孩的大脑，结果发现在这个小孩的大脑皮质区域里，神经元细胞形成了一种不同寻常的阶梯状结构（ladder-like arrangement）。还有很多科学家也都急于使用这种CLARITY技术对正常的脑组织进行研究（*Nature* 497, 550–552; 2013）。

不过不论这些活性检测技术和解剖观察技术的效率有多么高，还是有很多研究人员认为我们没必要观察每一个神经元细胞，他们认为，放过一些神经元细胞一样可以发现整个大脑的工作机制。Newsome就认为，他们根据蛛丝马迹就可以推测出整个大脑的运行机制。

### 3. 数据解析技术

在解析大脑的攻坚战中，最让人头疼的可能还是数据的储存和解析工作。如果使用Lichtman和Denk等人那种新型电子显微镜，一个立方毫米的脑组织就可以产生大约2000TB的图像信息。Denk估计一个小鼠大脑将产生60PB（petabyte）的数据，而一个人类大脑则会产生200EB（exabyte）的数据。

“这种数据规模不亚于包括Facebook和所有大型数据库在内的当今世界上所有数字信息的总和。” Lichtman介绍说。

而这还仅仅只是一个开始。因为每一个大脑都是独一无二的，所以神经科学家们肯定会收集更多人类大脑的信息，以及和这些大脑结构对应的神经活动信息。这样就会产生天量的数据存储需求。

欧洲的人类大脑研究项目计划开发一个模拟的人类大脑（brain simulation），科学家们可以与这个模拟大脑实时互动，这就更进一步的加重了数据的存储负担。该项目的参加成员之一，西班牙巴塞罗那超级计算机

中心（Barcelona Supercomputing Center in Spain）的Jesus Labarta Mancho表示，他们的任务之一就是开发一种新的计算机语言，让超级计算机能够更高效地运行，能在一秒钟的时间里模拟大脑好几个部分的工作，现有的超级计算机是无法胜任这项工作的。所以他们打算让超级计算机将源自大脑某一些区域（暂时不需要模拟的区域）里的信息全都进行压缩，这样释放出来的运算能力就可以全部用于“支援”计算当前需要模拟的脑组织区域里的信息。

即便这些数据全都可以被充分的压缩、打包，理论家们也必须解决需要先提出哪些问题的问题。“这就是一个先有鸡还是先有蛋的问题。只有我们充分认识了大脑的运行机制之后，我们才能知道应该如何看待这些数据。可是不知道如何看待这些数据，我们又怎么可能认识大脑的运行机制呢？”葡萄牙里斯本Champalimaud未知问题研究中心（Champalimaud Centre for the Unknown in

Lisbon) 的神经理论学家Christian Machens 解释说。

对于还有多少难题没有解决这个问题，理论家们也存在不同的意见，Kording等人认为，前面将要面临的问题难度相当大，他说道：“与这些问题相比，谷歌的搜索问题简直就是小儿科。大脑里的神经元细胞可能就和世界上的网页一样多，但是这些互联网网页之间也就只有那么几条单线联系，可每一个神经元细胞都要和成千上万个神经元细胞联络，而且还是非线性的网络联系，如果要解析这个网络，其难度可想而知。”

不过美国纽约冷泉港实验室（Cold Spring Harbor Laboratory in New York）的生物数学家Partha Mitra认为，最大的困难还是社会学方面的问题。Mitra认为，发现大脑的运行机制和发现‘上帝粒子（Higgs

boson）’可不太一样，因为每一个物理学家都只需要去发现这一个粒子，可是脑科学家们却要在经过深思熟虑之后设定很多个不同的目标，然后一大帮受过良好科研训练的研究人员再去追踪、并发现这些目标。

Newsome花了整整一个暑假的时间来思考需要追踪哪些目标，和他预计的一样，他的这个暑假算是彻底泡汤了。他参加了一系列的专家研讨会，为脑科学计划设定了一系列的研究目标，并且为此准备了一份报告，该报告将于今年9月公布。据Newsome透露，这份报告里不会承诺会解决所有的脑科学问题，只会提出一个工作时间表，按照这个长期的工作规划，我们将来可能会解决一些脑科学问题。

Newsome认为：“我们最终一定会认清所有的神经元细胞与人类行为之间的关系。认清这一点非常重要。”

原文检索：

Alison Abbott. (2013) Solving the brain. *Nature*, 499:272-274.



YORK/编译

## 新一代测序技术在临床诊断中的应用

### 一、基本情况

2005年，世界上首台新一代测序仪问世，并且很快就被应用到了如火如荼的医药领域当中。不论应用于何种疾病，新一代测序技术都能够在个性化医疗（personalized

medicine）领域占据一席之地，因为可以根据每个人的基因组将患有相同，或者不同疾病的患者分成不同的种类。由于制药公司也开始转变策略，从过去热衷于开发“重磅炸弹”式

的药物（blockbuster drugs，寓指市场反响强烈、利润很高的拳头产品）逐渐转向开发靶向治疗药物（targeted therapeutics），而且这些靶向药物的用药基础正是患者之间的基因组

及分子差异（变异），所以开发一种简便、快捷、准确，同时成本又不太高的测序诊断技术就显得尤为重要。

## 1. 第一代测序技术

20世纪70年代，分别由Fredrick Sanger和Walter Gilbert领导的这两个课题组一直在暗中较劲，他们都发表了详细介绍当时尚处于起步阶段的第一代测序技术的文章。Gilbert的方案是所谓的化学降解法，即先对DNA链进行化学修饰，然后对放射性标记的DNA末端进行切割，再进行凝胶电泳，最后通过放射自显影的方法来读取DNA序列。Sanger的策略则完全不同，他的方法是所谓的链终止法（chain termination technique），他使用的双脱氧核糖核酸（dideoxynucleotides）能够使延伸中的DNA链终止延伸，从而得到

DNA序列信息。由于Sanger测序法用荧光标记的引物取代了Gilbert测序法里的放射性引物，同时用毛细管电泳取代了凝胶电泳，所以Sanger测序法逐渐成为了科学研究和临床实验室里首选的测序金标准技术。耗时长达13年之久，总计花费27亿美元的人类基因组计划（Human Genome Project, HGP）也是依靠Sanger测序法才得以最终完成的。不过Sanger测序法因为测序的通量太低，同时价格又太高，所以不适于分析复杂的二倍体基因组序列。于是科学家们又开始着手开发新一代测序技术。

## 2. 当今的测序技术

目前，新一代测序仪市场主要由以下这三家公司把持，他们分别是生命科技公司（Life Technologies）、Illumina公司和罗氏公司（Roche）。这些新一代测序技术和Sanger测序技术最大的区别在于能够进行大规模的平行测序（massively parallel sequencing），所以测序的时间和费用都有了极大的降低，并且能够获得数十亿条序列信息（sequence reads）。在这些公司生产的新一代测序仪里，每一种化学标记技术都是独家专利，不过基本的原理都是非常简单的，即在DNA PCR扩增时，借助这些化学标志物在碱基插入DNA链时发出的信号来读取序列信息，这些

信号可以是光信号，也可以是H<sup>+</sup>流信号（H<sup>+</sup> ion fluxes）。SOLiD、HiSeq、GS FLX等最初级的新一代测序仪主要偏向的都是科研应用领域，可以在数天的时间内获得大量的DNA序列数据。不过这个速度还是不能满足临床应用的需求，在临床工作中需要速度更快的测序仪，同时也需要体积更小巧一点的测序仪，所以各大测序仪生产厂家又相继推出了新产品，比如生命科技公司基于离子流技术开发的Ion Torrent PGM测序仪，Illumina公司的MiSeq，和罗氏公司的GS Junior等。这些新产品让新一代测序仪走进了临床，成为了在临床诊断实验室里常见的设备。

## 二、新一代测序技术的临床应用

自2010年以来，使用新一代测序仪的临床试验数量有大幅度的增加（表2）。这些临床试验开展的测序工作无所不包，有全基因组测序，也有全外显子组测序，还有RNA测序和定向测序（targeted sequencing）。不论采取哪种测序方式，所有这些临床试验都是为

了发现致病的遗传异常，并且根据这些异常信息来指导临床诊疗工作。与此同时，这些信息也有助于生物制药企业开发出更多的靶向治疗药物，也可以帮助他们了解某些药物产生耐药性的原因。

表1 使用新一代测序仪作为主要检测手段的肿瘤研究项目一览表

研究项目/项目赞助人	国际临床试验注册NCT号/项目开始时间	研究疾病	项目简介	采用的测序技术
血浆乳腺癌特异性DNA检测项目，本项目由Dartmouth-Hitchcock医学中心（Dartmouth-Hitchcock Medical Center）资助	NCT01617915/6/ 2012年10月	乳腺癌	分析乳腺癌细胞内的染色体重排和基因组异常情况	全基因组测序
唐氏综合症及急性髓细胞样白血病全外显子组测序研究项目，本项目由儿童癌症组织(Children's Oncology Group)资助	NCT01507441/10/ 2012年2月	白血病	对白血病和唐氏综合症患儿的DNA标本进行检测，发现其中的异常情况	全外显子组测序
研究儿童肾上腺皮质肿瘤患者标本里的基因，本项目由儿童癌症组织(Children's Oncology Group)资助	NCT01528956/10/ 2012年2月	肾上腺皮质肿瘤	对肾上腺皮质肿瘤患者的基因进行研究	全基因组测序
开展定向测序及全基因组测序临床研究的可行性探讨，本项目由多伦多大学的教学医院联盟(University Health Network, Toronto)资助	NCT01345513/ 150/ 2011年3月	实体瘤	发现癌症患者体内的突变基因	全基因组测序
利用全基因组测序技术对晚期癌症患者进行的辅助性中试，本项目由美国斯科特斯戴尔医护中心(Scottsdale Healthcare)资助	NCT01443390/10/ 2011年9月	晚期癌症	对使用了尚处于临床试验1期阶段的抗癌药物的肿瘤患者进行调查，了解其疗效	全基因组测序

（接下表）

(续上表)

癌症基因组分析项目，本项目由韩国首尔国立大学医院（Seoul National University Hospital）资助	NCT01458604/ 100/ 2011年8月	恶性肿瘤	发现与药物相关的遗传变异，并对其进行分析	定向测序、全外显子组测序以及RNA测序
在急性髓细胞样白血病婴儿患者的组织标本中寻找RNA生物标志物，本项目由儿童癌症组织（Children's Oncology Group）资助	NCT01229124/20/ 2010年10月	白血病	分析患者的组织样品，寻找新的RNA生物标志物	RNA测序
对实体瘤进行分子学分析，本项目由圣裘德儿童研究医院（St. Jude Children's Research Hospital）资助	NCT01050296/ 360/ 2010年1月	儿科实体瘤	分析肿瘤的基因表达谱，寻找遗传突变	全基因组测序
对乳腺癌的转录组（Transcriptome）进行深度测序，本项目由美国阿肯色大学（University of Arkansas）资助	NCT01141530/30/ 2009年9月	乳腺癌	研究雌激素受体（ER）、孕激素受体（PR）及人表皮生长因子受体2（HER-2）三阴性乳腺癌的转录组调控情况	RNA测序

## 1. 肿瘤分子诊断领域

新一代测序技术（NGS）已经走进了临床，在很多临床应用领域里占据了一席之地，尤其是在肿瘤分子诊断领域（cancer molecular diagnostics）更是当仁不让的主力军，因为临床医生们需要根据患者的个体基因组信息对他们进行区分，实施个性化诊疗工作。随着诸如专门针对EGFR突变阳性肺腺癌患者的Tarceva等靶向治疗药物的诞生，临床上也依托免疫组化（immunohistochemistry）、DNA芯片（DNA microarray）、或者RT-PCR等技术相应地开展了一系列单基因检测项目（single

gene tests）。随着我们对肿瘤基因组认识的不断加深，随着大量的靶向抗癌药物进入临床试验，我们相信，未来肿瘤科医生一定会有更多、更有效的手段来对抗肿瘤。由于肿瘤基因组测序会得到肿瘤细胞基因组中的绝大部分序列，其中还包括转位（translocations）等多种突变信息，所以利用新一代测序仪也可以开展预后评估和疗效预测等方面的工作，帮助临床医生为每一位患者挑选出最合适的治疗方案。

比如通过全基因组测序就在一位急性髓细胞样白血病（acute myeloid leukemia）患

者的基因组中发现了一种新的插入融合突变（insertional fusion），即经典的***bcr3 PML-RARA***融合基因（***bcr3 PML-RARA fusion gene***），也正是因为这一发现，这位患者的主治医生才为他重新设计了一套治疗方案。通过对癌症患者进行全基因组测序，临床医生们可以根据检测结果设计出专属于这位患者自己的特异性探针，有了这对探针，医生们就可以监测患者的治疗效果，了解病情是否有复发，而所需的只是患者的一点血液而已。随着科研工作的不断发展，将来肯定会发现更多的生物标志物（**biomarker**），开发出更多的靶向治疗药物，这都会丰富临床医生的诊疗手段，让他们为每一位患者都制定出最合适的诊疗方案。

目前欧洲学界普遍认为，NGS取代桑格测序技术（**Sanger sequencing**）进行BRCA检测是未来市场的趋势。它的优势在于较低的测序成本、快速的Turnaround时间、简单的实验操作和后期的数据分析。**BRCA**是**Breast Cancer Susceptibility Gene**的缩写。**BRCA**

基因变异最早被发现与女性的乳腺癌和卵巢癌发病有密切的关系。**BRCA1**和**BRCA2**属于抑癌基因，叫乳腺/卵巢肿瘤感基因。正常细胞中，**BRCA1**和**BRCA2**可以帮助DNA损伤修复和维护DNA完整，防止癌细胞的产生。如果**BRCA1/2**产生基因变异，失去了这一保护，细胞产生癌变的几率大大增加。而**BRCA2**基因变异与男性的乳腺癌，胰腺癌和前列腺癌有密切关系。前段时间著名影星**Angelina Jolie**自爆已接受预防性双侧乳腺切除术，因为她本人罹患乳腺癌的风险极高。38岁的美国女星**Angelina Jolie**在《纽约时报》上发表了《我的医疗选择》一文，称由于自己携带有**BRCA1**基因，医生估计她患上乳腺癌的风险高达87%，患上卵巢癌的风险高达50%，她母亲在56岁时死于癌症。朱莉说切除术后，她患上乳腺癌的风险已降至5%。日后，有与安吉丽娜·朱莉同样担忧的女性就可以借助NGS技术进行**BRCA**检测，提早采取相关措施。

## 2. 遗传病筛查领域

新一代测序技术对于新生儿孟德尔式遗传病筛查项目（**screening of newborns for Mendelian disorders**孟德尔遗传病）也很有帮助。临床医生们通常都会根据表型与基因型的关系（**phenotype-genotype correlations**）进行单基因遗传检测，以此来明确诊断。不过孟德尔式遗传病也能够以非常复杂的形式存在，同一种表型可能是由多个基因来决定的，其中就有可能存在目前尚未被发

现的基因。在这种情况下单基因检测就显得无能为力了，可新一代测序技术解决起这种问题来却毫不费力，能够以极快的速度搞定这一切。最近儿童慈善医院（**Children's Mercy Hospital**）就成功地在50个小时内确诊了592种罕见的儿童疾病，这个活生生的例子生动地展示出了新一代测序仪在临床应用工作中的巨大潜力。

## 3. 产前诊断领域

在产前诊断方面（**prenatal diagnosis**），以新一代测序技术为依托的创

新检测手段也将会彻底改变传统的诊疗模式。**Sequenom**公司的分子医学中心（**Center for**

Molecular Medicine) 目前就推出了一种名为 MaterniT21 的产前诊断项目, 这是一种非侵入式的产前检测手段 (non invasive prenatal test), 能够诊断 21 三体综合症 (trisomy 21)。只需要抽取孕妇一点点血液, 检测其中微量的胎儿 21 号染色体就够了。这种非侵入式的产前检测手段, 以及类似的检测 13 三体或者 18 三体综合症的检测手段都具有非常高的敏感度和特异性, 一定能够在产前检查领域里找到自己的位置。

另外, 最近由 Y.M. Dennis Lo 和 Stephen Quake 领导的研究小组利用新一代测序技术检测到了胎儿染色体的非整倍体 (chromosomal aneuploidy) 情况。之前的工作已经发现, 在孕妇的血液当中含有胎儿的核酸 DNA 和 RNA (非细胞内的游离核酸), 同时也含有母体自身的游离核酸分子 (非细胞内的核酸)。科学家们开发出了多项使用这种游离的核酸分子进行分析和研究的技术, 比如对胎盘中的目标染色体 (比如 21 号染色体) 来源的 mRNA 进行检测, 又或者用数字 PCR

分析技术 (digital PCR analysis) 对大量的目标染色体位点进行相对定量检测 (与参考染色体位点对比) 等, 用这类技术可以确定胎儿是否存在非整倍体畸形的情况。

基于染色体相对定量的概念, Lo 和 Quake 的团队分别发现可以将母体血液里分离得到的游离 DNA 转化成 Illumina 文库 (Illumina library), 然后进行测序, 最后将测序结果与人类参考基因组比对, 确定这些序列在人类参考基因组中的位置。通过计算测出每一条染色体上的序列数量, 可以得到每一条染色体的相对定量结果。如果胎儿真的存在非整倍体的情况, 那么测得的结果就会明显的超出正常值。这项技术的准确性已经在检测 21 三倍体的产前诊断工作中得到了验证, 在检测 18 三倍体和 13 三倍体的产前诊断工作中也取得了很好的成绩。这些研究工作预示着一种新的胎儿非整倍体检测技术正式诞生, 也为在病理和非病理情况下用新一代测序技术对细胞外的游离 DNA 进行检测和分析提供了坚实的试验依据。

## 4. 感染性疾病和公共卫生监测领域

新一代测序技术还可以用于感染性疾病和公共卫生监测 (infectious disease and public health surveillance) 等领域。最近, 美国国立健康研究院 (NIH) 公布了一项研究结果, 汇报了他们在跟踪一次爆发疾病传播时使用实时测序 (real time sequencing) 技术的情况。2011 年, 中欧爆发了一次致命性的出血性肠道感染 (hemorrhagic intestinal infection), 当时 NIH 就使用生命科技公司的 Ion PGM 测序仪快速地找到了致病元凶——一种致死性的大肠杆菌 (*E. coli*)。在医疗机构里, 也可以使用新一代测序技术来跟踪耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 MRSA (即所谓的超级细菌) 的传播情况, 目前英国正有科研人员使用新一代测序技术为所有的 MRSA 菌株编辑、整

理一个数据库。

新一代测序技术能够让科研人员发现肿瘤基因组里的突变, 还可以应用于产前诊断 (prenatal diagnostics)、病原体检测 (pathogen detection), 以及遗传突变 (genetic mutations) 筛查等。虽然在临床工作中早已经采用 Sanger 测序、PCR、基因芯片等技术来检测遗传突变, 但是这些方法都有各自的局限性, 其检测能力远远不及新一代测序仪。比如, 虽然基因芯片可以检测出单碱基突变 (single nucleotide variants, SNV), 但是却不能够发现大规模的 DNA 异常, 例如大范围的碱基缺失, 或者 DNA 结构异常等突变, 可是在肿瘤基因组中这些突变都是非常常见的。相比之下, 全外显子组测序

(whole exome sequencing) 和全基因组测序 (whole genome sequencing) 能够准确地、全面地发现基因组中的各种DNA异常、遗传重组突变和其它各种突变。由此可见，新

一代测序技术是一种非常好的诊断技术，同时也是很有用的预后预测技术，能够帮助临床医生们准确地判定出每一位患者的特点，为个性化医疗的顺利开展铺平道路。

### 三、小结

与任何一种检测手段走入临床一样，最开始，新一代测序仪在临床机构中的广泛应用速度是非常缓慢的，除非取得了重大的突破，在伦理、技术、结果解析以及管理等相关领域存在的各种问题都得到了很好的解决。其中最重要的一个问题就是如何分析、解读海量的测序结果，这也是相当费钱的一项工作。这就需要临床生物信息学家和受过专门训练的临床医生们能够慧眼识珠，从海量的测序结果当中挑选出最有意义、对疾病诊疗工作最有价值的测序结果。

除此之外，保险公司和卫生监管部门也都必须积极地参与进来，让他们确保采用新

一代测序技术的检测项目都能够完成标称的检测内容，达到标称的检测目的。在这方面，包括美国疾病预防控制中心专门负责实验室检验标准的部门 (Centers for Disease Control Division for Laboratory Science and Standards) 以及美国病理学家学会 (College of American Pathologists) 在内的多个机构都已经行动起来，制定出了相关的管理细则，对测序检测项目的准确性、敏感性、特异性和可报告 (应用) 的范围等指标进行了定义和规范。这些工作还将明确有关新一代测序检测业务的具体赔偿事项。



### 参考文献

1. Saunders CJ, et al. Rapid whole-genome sequencing for genetic disease diagnosis in neonatal intensive care units. *Sci Transl Med* 2012;4(154ra135).
2. <http://www.sequenomcmm.com/Home/Health-Care-Professionals/Trisomy-21/About-the-Test>
3. <http://www.biologicalproceduresonline.com/content/15/1/4>
4. Karl V. Voelkerding, Shale A. Dames, and Jacob D. Durtschi. (2009) Next-Generation Sequencing: From Basic Research to Diagnostics. *Clinical Chemistry*, 55(4): 641-658.



YORK/编译





## 慢病毒完整解决方案

-  **40,000**个现货克隆，即选即包，完全**免费**！
-  ORF表达克隆的病毒低至**8000**元；miRNA、shRNA克隆的病毒低至**3000**元！
-  滴度高达 **$10^{10}$** copies/mL！
-  最快**20**个工作日内送货！
-  已发表几十篇**高分文章**，详情见官网。

活动时间：6月13日-12月31日

注：以上荧光图为真实实验结果图

# 百态

*Amazing Lives*

## 生物学家的激辩：海龟壳是怎么形成的？

海龟是一种充满神秘气息的动物，它不像鳄鱼和犰狳一样拥有骨质壳板状的外骨骼来护卫自己，而是走得更远，进化出了一只龟壳，从而能够固定住自身的肋骨环和脊椎，使之成为内骨骼的一部分。对于发育中的海龟胚胎是如何构建出这种身体堡垒的（这在脊椎动物之中属于独特的护卫结构），人们依然不甚清晰。不过，现在正有两位研究者对此针锋相对，试图向世人解释这一重大的进化之谜。

截止到目前为止，许多生物学家都认为海龟壳是由肋骨附近的表皮细胞形成的，它们在其发育的过程中转变成骨头，由此成为龟壳。不过现在，来自日本的发育生物学家提出了一个新的解释，这是基于小鸡、短鼻鳄鱼以及软壳龟胚胎的对照研究得出的结论，即认为龟壳是骨骼自身直接形成的副产物。2013年7月初举办的学术报告会的某一场会议上，组织方试图

使人们对海龟的进化达成共识；结果却没有任何一个观点能够赢得全场的支持——其中一些与会者断定，海龟构建龟壳的途径很可能不止一种。

来自赫尔辛基大学（University of Helsinki）的一位进化发育生物学家 Jacqueline Moustakas-Verho 组织了这场讨论，他表示，讨论虽然没有通过最终决议，但却是一种进步。如果人们对海龟如何构建龟壳有了较为清晰的认识，那么就可以解释另一个谜题：海龟是从哪一类爬行动物进化而来的？从一种无壳始祖动物逐渐变为今日具有防卫能力的动物是否是它们的进化途径？这一连串的问题仿佛一根链条，环环相扣，最终向我们展现出未知的海龟进化图景。试想，作为其中重要的一环，龟壳的形成岂非关键所在？



龟壳的形成。关于软壳龟的研究表明，龟壳是龟体内骨骼的副产品。

古生物学家们曾一度相信龟壳类似于犰狳的外骨骼，他们认为，海龟的这种骨性亚结构是由胚胎中一种叫做皮内成骨（osteoderms）的骨质壳板会聚形成的。不过早在十年前，宾夕法尼亚斯沃斯摩尔学院（Swarthmore College）的一位发育生物学家Scott Gilbert就追踪了红耳龟（red-eared sliders, *Trachemys scripta*）和拟鳄龟（snapping turtles, *Chelydra serpentina*）的胚胎发育情况，证明海龟体内的肋骨在发育时发生了不同寻常的转变，它们被拉长拉平，而非像其它脊椎动物一样绕着腹壁形成弯曲。而这些被拉宽的骨头最终相互接触，形成一个潜在的骨性架子，从而成为龟壳。因此，Gilbert认为，当外部的表皮细胞从肋骨处接收到骨形态发生蛋白（BMP）的信号时，龟壳就自主形成了。这个过程导致骨骼加固以及被包埋，从而形成甲壳。而在硬壳龟中，龟的甲板由角蛋白覆盖在平板的表面形成。

同时，有一些化石证据支持龟壳由表皮进化而来的观点。当人们在显微镜下观看已确知是来自2.6亿年前的海龟始祖动物正南龟（*Eunotosaurus*）的薄弱部分时，发现其龟壳的某些特定部分的骨组织看起来就像是硬化的表皮细胞——这或许就是龟壳进化的早期阶

段。而Gilbert则从一些现代硬壳龟的真皮细胞中检测到了一种叫做Smad1的磷酸化蛋白质，这是表明细胞与BMP相联系的标志。

然而，Shigeru Kuratani及其来自神户的理化学研究所发育生物学中心（RIKEN Center for Developmental Biology）的团队却在那场会议以及《自然通讯》（*Nature Communications*）7月9日那一期上提出了不同的见解。他们极其仔细地追踪了软壳龟胚胎中的薄膜、结缔组织、真皮层以及骨头的每一个阶段的发育情况。结果发现，软壳龟拥有甲壳所具有的大多数骨性亚结构，只不过是软组织而非甲板覆盖。

这些研究者报道了海龟肋骨末端的拉伸和随后的拉平作用，经过这些作用，肋骨最终变为具有大量骨质的勺状龟壳，这是Gilbert等人在他们的研究中未曾亲见的。而在软壳龟中，其肋骨由于缺乏真皮而停止生长。那个时候，被称为骨膜的外部骨层将骨细胞输送出来，用于构建龟背上的壳的外层。这项研究表明，龟壳来源于内部的骨骼，而不是来自于表皮或者外骨骼。这一观点不同于Gilbert所提出的见解。

Moustakas-Verho认为，平心而论，Kuratani的团队所完成的工作严谨而可靠，但他们所描述的龟壳发育情况是否符合所有的海龟，这一点仍不清楚。长期以来，古生物学家都认为软壳龟是由失去甲壳的硬壳龟进化而来，而龟壳末端的一些骨头似乎也沿袭了这个方向。但Gilbert等人却辩驳说，与其它海龟相比，它们很可能拥有不同的进化历程。

然而，Kuratani的来自日本理化学研究所的同事Tatsuya Hirasawa却认为，软壳龟在进化历程中到底是先于还是后于硬壳龟并不重要。据他们目前的研究来看，海龟的早期发育阶段一定程度上受一种被称为背甲脊（carapacial ridge）的结构指导。这种结构为所有海龟独有（其它脊椎动物都没有），是一种位于发育胚胎背部的团块物质，它控制着肋骨趋向四周的生长和分布，最终形成甲壳的

边缘。

对此，Gilbert认为，他和Kuratani都有可能是对的，因为某些种类的海龟依赖表皮细胞来包住肋骨，而这些表皮细胞由蛋白质激发产生骨化。而另一些种类的海龟则只依赖骨生长来完成龟壳的发育。会议上，几位研究者认为，如果对更多种类的海龟进行研究，那么可能有助于弄清软壳龟与硬壳龟的不同之处，以及龟壳的发育在哪些方面对于所有的海龟来说是共通的（如果有的话）。另外，Gilbert表

示，正如人们所说，“果蝇进化”并非就是“昆虫进化”，因为果蝇的进化毕竟与其它昆虫是不同的。同样的，我们所说的“非洲蟾蜍进化”也并非就是“两栖动物进化”，因为在两栖动物的不同进化类型中存在着大量的差异。而我们也必须确定所研究的海龟种类，尽管它们在解剖学上相似，但很可能利用了完全不同的途径，才变成现在这个样子。

这场激辩注定还要延续下去……

原文检索：

NAOMI LUBICK. (2013) Biologists Tell Dueling Stories Of How Turtles Get Their Shells. *Science*, 341, 329.



文佳/编译



**合办专题专刊**  
**网站广告合作**  
**邮件群发推广**

请致电 (020) 32051255

[www.LifeOmics.com](http://www.LifeOmics.com)  
[WWW.LIFEOMICS.COM](http://WWW.LIFEOMICS.COM)