

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.01277

转化医学:从转化研究到靶向治疗与个体化医学

杨义力^{1,2}

1. 第二军医大学长征医院转化医学中心,上海 200003

2. Cancer and Development Biology Laboratory, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, USA

[摘要] 生命科学在基因组学、干细胞和微电子技术等领域已取得了突破性进展,然而如何诊断、治疗包括癌症在内的许多重要疾病仍然是医学实践中亟待解决的难题。因此,“转化医学”这一新的概念应运而生,开展和加强“转化研究”已逐渐成为共识。值得注意的是,转化研究不仅包括采用各种新方法、新技术研究疾病的发生机制及诊断和治疗,也强调从临床实践中提出问题,研究和解决与疾病诊治有关的重要课题。转化医学的另一个重要内容是个体化治疗,即根据疾病在分子水平的改变而采用特异的靶向药物治疗。目前能进行个体化靶向治疗的案例仍屈指可数,但随着对许多疾病机制的深入了解,新的诊断技术和生物标记的发现,以及更多靶向药物的开发,个体化治疗有望在不久的将来,从特例成为临床实践中的常规。

[关键词] 转化医学;转化研究;个体化医学;靶向治疗

[中图分类号] R-3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)12-1277-07

Translational medicine: from translational research to targeted therapy and personalized medicine

YANG Yi-li^{1,2}

1. Center for Translational Medicine, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Cancer and Development Biology Laboratory, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, USA

[Abstract] Despite of tremendous progresses made in the genomics, stem cell technology, and microelectronics, challenges remain for the diagnosis and treatment of many diseases including cancer. Thus the conception of “translational medicine” appeared and it is generally believed that translational researches should be intensified. Translational researches not only include the application of new methods and advanced technologies, but also emphasize the raise of problems from clinical practice and study and solve them for diagnosis and treatment. Another important aspect of translational medicine is personalized treatment of diseases, i. e., using targeted drugs against specific molecular changes in individual patient. Although there are only a handful of examples for targeted therapy, we believe that, with the deeper understanding of the mechanisms of more diseases, discovery of more biomarkers and diagnostic methods, and development of more targeted drugs, personalized therapy will become popular in clinic in the future.

[Key words] translational medicine; translational research; personalized medicine; targeted therapy

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(12):1277-1283]

以 DNA 双螺旋结构的阐明及人类基因组的测序完成为标志,生命科学在分子和细胞水平有了突飞猛进的发展,一系列革命性新技术也使人类对生命现象的认识在器官、整体水平上有了长足的进步。然而,危害人类健康的主要疾病,包括心血管疾病、癌症、脑血管疾病、自身免疫性疾病等的发生机制仍不清楚,且在多数情况下缺少有效的治疗方法。现有的主要抗肿瘤药物,如顺铂、多柔比星、环磷酰胺、5-氟尿嘧啶、他莫昔芬、紫杉醇等均发现于 20~30 年前。在过去 10 年中,虽然相关的研究投入快速增

长,许多晚期肿瘤的 5 年生存率并没有显著提高,且由美国食品和药品管理局(FDA)批准的新型抗肿瘤药物反而逐年减少^[1]。因此,越来越多的人提出,必须重视把生命科学研究的新知识和新技术方法转化成征服各类疾病,改善人类健康的新疗法、新药物,使这种“转化医学”成为生物医学研究的重要课题^[2]。为达此目的,需要创造新型实验研究思路与方法,使对细胞及动物模型的研究能更切合人类疾病的实情;大力推动新技术、新方法在临床的应用;打破学科间的壁垒,鼓励基础与临床及不同新老学

[收稿日期] 2012-10-25

[接受日期] 2012-11-28

[作者简介] 杨义力,博士,教授。E-mail: nathanyang@hotmail.com

科间的合作研究,尤其是对疾病病理机制、药物反应的深入探讨。除这些“转化研究”外,广义的转化医学还应包括把新医学知识、新疗法、新药物用于保障人民健康,用于不发达国家与地区,以及发达或发展中国家的弱势群体。因此,近年来许多政府及非盈利组织增加了对转化医学的投资,目前已有多个转化医学的专业杂志问世,如 *Science* 旗下的 *Science Translational Medicine*。除国际、国内每年举办多个转化医学研讨会外,美国国立卫生研究院(NIH)已宣布增加对转化医学的资助,并成立新的转化医学研究所。国内的多所大学、医学院校也已建立了以转化医学为目标的研究中心。可以预见,这些人力、物力的投入将会极大推动转化医学的发展,也是我们提高科研和医疗水平的良机。

1 转化医学概述

尽管把有意识地进行转化研究作为医学目标是一个新概念,转化研究本身已有很长的历史。多巴胺的研究及临床应用就是一个典型的例子。在20世纪50年代,瑞典的 Carlsson 实验室用新的荧光测定方法发现,多巴胺不但是去甲肾上腺素的前体,也是一种神经递质,大量存在于与自主运动有关的脑区(基底核);动物实验表明肾上腺素能神经抑制药利血平可减少兔脑中的多巴胺水平,并可诱导肌肉运动障碍^[3]。由此他们敏锐地提出,有相似肌肉运动障碍的帕金森病可能与脑内多巴胺的缺失有关,并用动物实验证明左旋多巴能增加脑中多巴胺含量,减轻肌肉运动障碍的症状。该发现和假说很快引导了一系列临床研究,证明帕金森病患者脑中的多巴胺能神经元变性导致多巴胺含量减少^[4]。这些研究为用左旋多巴治疗帕金森病奠定了基础,Arvid Carlsson也因此获得了2000年诺贝尔生理学 and 医学奖。不难看出,他们的成功取决于新技术的发明与应用,新的实验思路与设计,以及基础与临床研究的结合。

转化医学涉及现代医学的各个领域,在过去的几年时间里逐渐形成的热点包括生物标本的采集、保存与资源共享(biobanking);生物标记(biomarker)的发现、验证与应用;靶向药物的开发;微小RNA和小干扰RNA在疾病发生及治疗中的作用;纳米技术在疾病诊断、治疗中的应用;血循环中DNA、肿瘤细胞的分析与识别;新型疫苗的设计、生产与试验;各类干细胞的识别、扩增和临床试验;化学生物学、蛋白质组学及新一代DNA序列测定、DNA单核苷酸多态性(SNP)在临床的试验与应用等。随着分析技术、实验方法的快速发展,由序列测

定、SNP、基因芯片分析等产生的数据以几何级数增加,如何从这些海量的数据中提取对疾病的诊断、治疗、预防有关的信息也成为转化医学的重要课题^[5]。同时,为使新药试验过程更合理、有效,已建立了新药的适应型临床试验(adaptive clinical trial)的设计与规范,正用于多种药物的各期临床研究。值得注意的是,生物标记检测、DNA分析使得预测一些疾病的易感性和对许多药物的反应性成为可能,这对许多疾病的预防、诊断、治疗产生了越来越大的影响。FDA已推荐医生对使用获得批准的70种药物的患者进行DNA分析,以发现可能的不良反应和调整用药剂量。美国医学会的资料表明,已有针对1000多种疾病的1200多个DNA检测方法可用于帮助诊断和治疗。新的测试方法不断发现,使得越来越多疾病的治疗能根据分子水平的改变而采用相应的方法和药物,个体化医学(personalized medicine)也由此成为转化医学研究与应用中最有活力的领域之一,已对疾病的诊治产生重要影响。逐渐增多的案例还表明,个体化医学是帮助靶向药物和靶向治疗成功的有效方法,而靶向药物的成功应用则使个体化医学在诊断和治疗发展的循环中达到新的高度。

2 靶向药物及靶向治疗

分子和细胞生物学的发展使我们对包括细胞生长、凋亡、转化、信号转导等在内的重要细胞内过程的分子机制有了深入了解,这不但帮助阐明了许多已使用的抗肿瘤药物的作用靶点与机制,也为进一步设计、选择作用于对细胞生死或信号转导起关键作用的分子的药物奠定了基础。一般把这些针对特定作用位点(如细胞内酶或细胞表面受体)上的蛋白质生物活性和结构而开发的药物称为靶向药物。由于这类药物能选择性地抑制或促进靶分子功能,从而更有效地、特异性地影响表达靶分子的细胞功能,因此,在治疗时产生的毒副作用较少。通常把在检验、分析靶蛋白表达的基础上应用靶向药物称作靶向治疗^[6]。

最先进入临床的靶向药物是抗B细胞表面分化抗原簇(CD)20的单克隆抗体利妥昔单抗(rituximab)。它开始用于非霍奇金淋巴瘤的治疗,现已扩展到多种B细胞淋巴瘤。有证据表明,利妥昔单抗也对多种自身免疫性疾病有一定疗效,已批准用于类风湿病的治疗。针对CD30、CD40、细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA4)等的抗体药物目前也已进入临床应用或临床试验。包括表皮生长因子受体(EGFR)、ErbB2(Her2/Neu)、ErbB3和ErbB4在

内的表皮生长因子受体家族蛋白在许多细胞的生长及肿瘤发生中起重要作用, 针对 Her2 的单克隆抗体曲妥珠单抗 (trastuzumab, Herceptin) 也是较早进入临床的靶向药物, 它对于高表达 Her2 的转移性乳腺癌有治疗作用; 随后开发的抗 EGFR 抗体西妥昔单抗 (cetuximab) 也通过临床证明对高表达 EGFR 的转移性结直肠癌和头颈部肿瘤有一定疗效。鉴于血管增生是肿瘤形成的必需条件, 另一类靶向药物是包括贝伐单抗 (bevacizumab) 在内的多种抗血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 抗体, 它们已应用于若干转移性肿瘤的临床治疗。值得注意的是, 抗 VEGF 抗体可能对老年性黄斑变性等与血管增生有关的疾病有显著的治疗效果, 由于这些退行性病症目前缺少有效的治疗方法, 这类靶向药物有可能为很多患者带来福音^[7]。最近的临床试验还证明, 抗 T 细胞表面抑制性受体 CTLA4 的伊吡力单抗 (ipilimumab) 能增强患者的抗肿瘤免疫力, 延长转移性黑色素瘤患者的生存期^[8], 这也是肿瘤免疫治疗的成功范例之一。总之, 单克隆抗体对若干肿瘤和其他疾病有一定疗效, 尤其是对造血系统肿瘤和转移的癌症以及与免疫、细胞因子有关的疾病。除继续开发针对不同靶点的新药, 进行抗体的人源化或产生人抗体外^[9], 把已有单抗与细胞毒药物、放射性核素结合以增强疗效, 寻找合适的生物标记以选择患者、监控疗效均为该领域研究和努力的目标。此外, 抗体制剂除可作为免疫原诱导中和抗体及过敏反应外, 有些抗体还可引起感染、肿瘤、自身免疫相关疾病, 以及心脏毒性、细胞因子释放综合征等, 应在临床试验和应用中加以注意^[10]。

慢性髓样细胞白血病 (CML) 的 22 号染色体变短是最早发现的肿瘤细胞遗传变异, 随后的一系列研究证明, 这种费城 (Ph) 染色体是由于 9 号与 22 号染色体末端的转位而形成, 使 9 号染色体上的原癌基因 *abl* 与 22 号染色体上的 *bcr* 形成融合基因, 编码的融合蛋白酪氨酸激酶活性持续增强, 进而促使细胞转化^[11-12]。伊马替尼 (imatinib, Gleevec) 是在高通量筛选基础上优化合成而发现的小分子, 能特异、有效地抑制 Abl、血小板源性生长因子受体 (PDGFR) 和 KIT 的酪氨酸激酶活性, 并在细胞试验中选择性地诱导 CML 细胞凋亡^[13]。I 期的临床试验发现, 伊马替尼的不良反应该很少, 有超过 90% 的 CML 患者取得完全缓解, 因而很快通过后期的临床试验从而进入临床应用, 成为第一个小分子激酶抑制剂药物, 极大地促进了靶向治疗和靶向药物的发展, 同时也为进一步深入了解 CML 的发病机制提供了线索^[13]。伊马替尼的临床应用和在急性髓样细胞

白血病 (AML)、CML 危象期的试验还发现: (1) 要取得持续有效的作用, 靶向药物常常需要与其他化疗药物联合使用; (2) 靶分子的突变是靶向药物产生抗性的主要原因之一。目前已有若干针对突变 Abl 的结构而设计的新药进入临床或正处于临床试验中, 为靶向治疗增添了新的方法^[14]。

和抗体药物相比, 小分子抗癌药物有较好的组织穿透性, 可在血液、组织中达到较高浓度, 常常有更好的疗效。它们无免疫原性, 在稳定性、方便使用、经济性方面也好于抗体药物, 因此是开发新靶向药物的重点。但是, 除伊马替尼外, 大多数靶向试剂没能成为有效的临床药物。其可能的原因之一是细胞内信号转导通常有多个替代分子、替代途径, 或以网络形式存在, 抑制或失活单一分子并不能持续、有效阻断转导通路, 影响细胞的生长与生存。如能采用相对“非特异”的小分子, 作用于特定系统的多个靶点或是可影响多个细胞内过程的靶蛋白, 就有可能取得较好的治疗效果。蛋白酶体是细胞内降解遍在蛋白化蛋白质的重要场所, 蛋白酶体抑制剂能阻断众多蛋白质的降解, 影响细胞周期、信号转导、DNA 修复等过程, 并诱导许多肿瘤细胞的凋亡。目前已有一个蛋白酶体抑制剂硼替佐米 (bortezomib, Velcade) 作为治疗骨髓瘤的药物进入临床, 多个同类分子也正用于各类临床试验^[15]。有证据表明, 抑制蛋白质遍在蛋白化起始的遍在蛋白活化酶 (E1) 抑制剂也能相对选择性地杀死肿瘤细胞^[16]。此外, 参与许多蛋白折叠、成熟的热休克蛋白 (HSP90) 和若干修饰 DNA、组蛋白的酶均可成为目前众多临床试验中小分子药物的作用靶点^[17-18]。其中, 组蛋白脱乙酰酶 (HDAC) 抑制剂伏立诺他 (vorinostat) 等已进入临床, 用于治疗皮肤型 T 细胞淋巴瘤。

许多小分子靶向试剂不能成为有效抗癌药物的另一个重要原因是肿瘤细胞的基因和信号转导改变的多样性。基因组分析及许多其他研究表明, 肿瘤细胞大多涉及近百个基因的突变, 并且同一类肿瘤细胞也有许多不同的基因突变, 从而导致多个转导系统的改变^[19]。例如对 24 例胰腺癌的分析发现, 它们平均有 63 个 DNA 突变, 可影响 12 个重要的细胞信号转导通路^[20]。这些突变在很大程度上反映了从正常细胞到转化细胞以及肿瘤细胞的发生、发展与转移过程。因而, 发现每一类, 甚至每一例肿瘤中促使细胞转化的起始改变是有效的靶向治疗的前提。近年来在肺癌和黑色素瘤等的研究与试验治疗中, 不但鉴别出部分肿瘤中的关键 DNA 突变, 并证明相应的靶向药物能够产生预计的有效治疗作用, 成为个性化医学的成功范例。

3 个体化医学

虽然中医等传统医学一直强调疾病的预防、诊断和治疗需因人、因时而异,但现代医学的发展在很大程度上受诊治外科与传染性疾病的影响,更倾向于建立标准的操作、诊断和治疗常规。随着人类基因组序列测定的完成及测序技术的快速进展、蛋白质组分析技术的建立与完善、基因芯片技术的发展和成熟以及各种生物标记的识别与应用,深入分析每个个体在正常及病理情况下分子、细胞的差异和特征已成为可能。应运而生的个体化医学是指根据每个患者的基因、蛋白质、代谢产物等个体特征而采用相应的预防和治疗方法,以提高医疗效率,减少不良反应。值得指出的是,检测、分析基因组中与疾病易感性有关的标记虽尚未在临床广泛使用,但已成为“消费者基因组学”(consumer genomics)的重要组成部分,这些“诊断”能否达到减少、延缓许多疾病的发生及指导“个体化预防”,仍有待更多资料的积累、回顾与前瞻性研究。另一方面,随着越来越多的靶向药物的开发以及对许多药物体内过程的了解,多种疾病,尤其是若干肿瘤的“个体化治疗”已成为可能,这些成功范例也为个体化医学的进一步发展奠定了基础。

3.1 EGFR与肺癌治疗 肺癌是最常见的人类肿瘤之一,其中大多为起源于上皮细胞的非小细胞肺癌(NSCLC)。许多研究发现,EGFR与肺癌的发生、发展及转移有密切关系,40%~80%的NSCLC有EGFR表达增加。值得注意的是,有些NSCLC表达细胞外区缺失的EGFR,还有些细胞表达的EGFR含激酶区的突变,它们均可导致激酶的自主激活。有证据证明,这些持续活化的EGFR在细胞的转化过程中起重要作用,也是肿瘤细胞存活与生长所必需^[21]。目前,已有两类针对EGFR的靶向药物:抗EGFR抗体和EGFR酪氨酸激酶抑制剂。一系列临床试验表明,抗EGFR抗体可略增强一线化疗药物对肺癌的疗效,但用激酶抑制剂吉非替尼和埃罗替尼治疗有EGFR激活突变的NSCLC患者,平均有效反应率可达71%(55%~82%),且毒副作用比现有的以卡铂为基础的化疗方案少,患者的生活质量也有明显提高^[22]。据此,美国临床肿瘤协会已正式提出,晚期NSCLC患者用激酶抑制剂作为一线治疗药物时应进行EGFR突变的检测、鉴定^[23]。值得注意的是,不但在含EGFR突变的肺癌中有约30%对激酶抑制剂不敏感,有反应的NSCLC也可通过多种机制对这些激酶抑制剂产生抗性,其中约50%是由于继发的T790M突变导致与抑制剂的结

合降低。其他的改变包括肝细胞生长因子受体MET的基因扩增,K-ras、PI3激酶和NF κ 系统的改变,使细胞能绕过EGFR而激活与生存、生长有关的转导通路^[24]。

3.2 B-raf与黑素瘤治疗 黑素瘤是起源于黑素细胞(melanocyte)的恶性肿瘤,虽然发病率少于皮肤的基底细胞癌和鳞状细胞癌,却较易发生转移,是皮肤肿瘤的主要致死原因(约75%)。此外,黑素瘤也可发生于包括肠道、眼睛在内的所有含黑色素的组织中。B-raf是Raf丝/苏氨酸激酶家族的成员。许多研究证明,生长因子和相应受体结合后,激活小GTP酶Ras,从而导致Raf的激活。Raf则进一步激活分裂原激活蛋白(MAP)激酶,调节细胞的生存、生长和分化^[25]。因此,Raf(包括c-Raf-1、A-Raf和B-Raf)在各种生长因子受体信号转导过程中起重要作用。人类肿瘤基因组工程的第一个主要成就是发现大约2/3恶性黑素瘤细胞有B-raf的突变,所有的突变均位于激酶区,其中约80%为第600位的缬氨酸残基变为谷氨酸(V600E),导致B-raf的持续激活。随后的研究证明,这些肿瘤细胞的生存依赖Raf/MAP激酶通路的激活^[26],针对突变B-raf的抑制剂在细胞培养和动物模型中能有效抑制肿瘤细胞的生长^[27]。最近完成的Ⅲ期临床试验进一步证明,与常规的达卡巴嗪(dacarbazine)治疗相比,突变B-raf抑制剂维姆那芬尼(vemurafenib)的疗效明显增强,有效率近50%^[28],有望成为治疗恶性黑素瘤的一线药物。

与伊马替尼、EGFR激酶抑制剂等靶向药物类似,肿瘤细胞在开始用药7个月左右产生对维姆那芬尼的抗性,这是阻碍其持续抗肿瘤作用的主要原因之一。但不同的是,肿瘤细胞产生维姆那芬尼的抗性主要不是通过B-raf的继发性突变,而是与PDGFR的上调及N-ras的激活突变有关^[29]。因此,在个体化治疗过程中,不但需要分析黑素瘤细胞中B-raf的突变,也应注意Ras的活性及其他生长因子受体的改变。这些结果也提示,可能与抗病毒、抗菌治疗类似,高度特异的靶向药物需和其他靶向或非靶向药物联合使用以产生持续有效的抗肿瘤作用。对转移性黑素瘤的治疗,联合使用维姆那芬尼和诱导免疫反应的伊吡力单抗也是值得探索的尝试。

3.3 药物遗传学与个体化用药 许多药物的治疗效果或不良反应均有显著的个体差异。20世纪50年代的一系列研究发现,多种遗传性酶缺陷或多态性能显著影响药物在体内的代谢和作用,导致药物遗传学(pharmacogenetics)的诞生。基因芯片技术的发展及基因组工程的完成,使得在全基因组中寻

找和检测与药物反应有关的基因、SNP 等成为可能。这类研究不但有助于避免药物的不良反应,也使药物个体化治疗的疗效提高成为可能,因而称之为药物基因组学 (pharmacogenomics), 肿瘤的靶向治疗中基因与生物标记的分析也是其内容之一^[30]。在 FDA 的推荐下, 现已有越来越多的药物说明中增加了与药物遗传学生物标记有关的信息, 随着包括高通量测序等 DNA 分析技术逐渐推向临床, 用这些信息指导疾病治疗将成为转化医学的重要组成部分。

用于抗炎、抗白血病和免疫抑制的硫代嘌呤类药物 (如硝基咪唑硫代嘌呤和 6-巯基嘌呤) 是药物遗传学研究的一个经典范例。在这类药物激活及失活过程中起关键作用的硫代嘌呤甲基转移酶 (TPMT) 有多种等位基因, 其中 *TPMT2*、*TPMT3A* 和 *TPMT3C* 基因编码的蛋白活性显著减低或无活性, 带有这些变异基因的个体 (约 0.25%) 在接受硫代嘌呤类药物治疗时极易发生骨髓抑制。直接检测基因可替代酶活性测定, 且不受输血等其他因素的影响。基因组分析也可以直接检测与药物毒副作用有关的非酶基因位点。如新近的研究发现, 带有 *HLA-B*5701* 的个体对抗 HIV 反转录酶抑制剂阿巴卡韦 (abacavir) 产生严重的过敏反应。在包括汉族在内的亚洲人中, 带有 *HLA-B*1502* 与治疗癫痫的卡巴西平 (carbamazepine) 产生严重的不良反应 (如中毒性表皮坏死松解症) 有密切关系^[31], 而在欧洲人中, *HLA-B*3101* 与卡巴西平过敏反应的发生有关^[32]。已有资料证明, 在 *HLA-B*1502* 阳性患者中避免使用卡巴西平可大大减少这类不良反应的发生^[33]。

利用基因组分析优化药物治疗是个体化医学的一个重要内容。人类基因组有 57 个编码细胞色素 P-450 酶 (CYP) 的基因, 其中 CYP1-3 是大多数药物在体内生物转化所必需的。CYP1-3 不但有 20 余种同工酶, 有些同工酶的基因还有丰富的多态性, 其中 CYP2D6 的变异体就多达 85 个。由于许多 CYP 的变异可导致酶活性的降低或丧失, 有些个体可因为是变异酶的纯合子而缺乏相应的酶活性, 另一些则由于是杂合子而导致相应酶活性降低。因而, 通过分析基因组或 CYP 的基因表达可得到指导多种药物的使用的信息。氯吡格雷 (clopidogrel) 是冠状动脉扩张、支架置放等治疗时用于预防心血管抗凝的重要药物, 在体内需经 CYP2C19 的作用而转化为活性药物。临床资料表明, 患者对抗凝治疗的反应有很大个体差异, 常用剂量的氯吡格雷对约 25% 的患者仅有很弱的抗凝作用^[34], 且抗凝效果不佳的患者术后各种并发症显著增加^[35], 因而早期鉴别、发现

这些患者对提高医疗质量有重要帮助。近年的研究发现, 与正常人相比, *CYP2C19* 突变 (尤其是 *2 和 *3) 的携带者使用氯吡格雷时, 血中的活性代谢产物显著减少, 对血小板的抑制作用降低^[36], 同时, 心血管系统并发症的发生率也明显增加, 说明检测 *CYP2C19* 基因的变异可用来指导氯吡格雷的使用。香豆素类口服抗凝药华法林等抑制维生素 K 环氧化物还原酶阻碍维生素 K 的利用, 因而减少凝血因子的合成。但这类药物的有效剂量有很大的个体差异, 对于有些患者常常会导致内出血等严重的不良反应。过去 10 多年的研究证明, *CYP2C9* 和维生素 K 环氧化物还原酶是影响这类药物反应性的主要因素, 把它们的基因组分析与临床资料相结合, 有望显著减少严重不良反应的发生。另一个可能受 CYP 多态性影响的常用药物是作用于雌激素受体的他莫昔芬 (tamoxifen), 该药需经 *CYP2D6* 的作用转变为有活性的内昔芬 (endoxifen) 而发挥作用。有资料表明, 他莫昔芬在带有两个编码有活性 CYP 等位基因的个体有较好的疗效^[37]。此外, 与前述抗肿瘤药物类似, 使用阻断 HIV 和其细胞受体 CCR5 结合的药物如马拉维若 (maraviroc) 时, 需分析患者基因组的 *CCR5* 基因以及 HIV 是否为亲 *CCR5* 亚型^[38]。

3.4 多 ADP 核糖聚合酶 [poly (ADP-ribose) polymerase, PARP] 抑制剂与合成致死 (synthetic lethality)

由于复制中的差错及自由基、电离辐射等外界环境的影响, 细胞的 DNA 经常会受到各种损伤, 包括点突变、单链或双链断裂以及链内或链间交联。因此, 细胞内需有多种 DNA 修复机制, 如核苷酸切除、碱基切除、同源重组、单链重接、错配修复、非同源末端连接等。许多研究发现, PARP (主要是 PARP-1) 能识别损伤的 DNA, 其催化产生的多聚 ADP-核糖能结合与募集许多参与 DNA 修复的蛋白质, 在电离辐射、烷化剂造成的 DNA 单链断裂的修复中起重要作用^[39]。*BRCA1* 和 *BRCA2* 是因和乳腺癌相关而发现的肿瘤抑制基因, 它们的突变可诱导乳腺癌、卵巢癌及胰腺癌的发生。近年来的研究证明, 它们及相关蛋白在 DNA 双链断裂修复的同源重组过程中起重要作用^[40]。

作为在 DNA 修复中起重要作用的酶, PARP 是开发新抗肿瘤药物的重要靶点之一, 最新合成的第三代 PRAP 抑制剂以苯甲酰胺或嘌呤结构为基础, 能高效、特异地抑制 PARP-1 和 PARP-2。临床前研究发现, 和导致 DNA 烷化的化疗药物或放疗一起使用时, 这些 PARP 抑制剂能防止 DNA 修复, 促使肿瘤细胞死亡。目前, 若干 I 期和 II 期临床试验正在进行中, 以确定这些组合能否成为某些晚期肿瘤

治疗的有效方法^[41]。有分析表明,在 PARP-1 缺失或受抑制的情况下,细胞内 DNA 的单链断裂可转变为双链断裂,需要由 BRCA 蛋白参与的同源重组机制来修复,以维持细胞生存。因而,PARP 抑制剂的杀肿瘤细胞作用在有 BRCA1 或 BRCA2 突变的细胞显著增强^[42]。这些结果也证明,细胞内两个非致死改变同时发生可导致细胞死亡,因而称为合成致死^[43]。由于化疗药物的应用通常受限于对正常细胞的毒性,发现这些非致死改变可能为肿瘤的化疗找出新的靶点,从而开发出有较少毒副作用的靶向药物。已有 II 期临床试验表明,单独使用 PARP 抑制剂对有 BRCA1 或 BRCA2 突变的晚期乳腺癌和卵巢癌的治疗有效率达 41% 和 33%,显著优于常规化疗的 20%,并很少有严重的不良反应^[44]。但值得注意的是,伊马替尼、EGFR 激酶抑制剂等靶向药物的初始疗效均达到 70% 左右,PARP 抑制剂的较低反应率是否与 BRCA 缺失细胞的基因组不稳定,很快产生替代的 DNA 修复途径或 PARP 抗性有关仍待进一步研究^[45]。另一方面,除 BRCA1 和 BRCA2 外,许多蛋白质参与 DNA 双链断裂的同源重组修复,已有研究发现,这些蛋白的突变或表达改变与一些乳腺癌、卵巢癌的发生有关,PARP 抑制剂可能对这些肿瘤有较好的疗效^[46]。

4 小结与展望

尽管转化医学的范围、定义仍在进一步探讨、发展中,开发新的有效药物无疑是它的中心议题之一。过去 10 多年的经验说明,经典的天然产物生物筛选、基于组合化合物库 (combinatorial chemical library) 的高通量筛选还需和以蛋白质结构为基础的计算机药物筛选、设计相结合,以便更快、更有效地找出针对各种靶分子的小分子抑制剂。计算机技术及细胞、分子生物学的发展使得系统地重新发现已在临床应用的千余种药物的新靶点、新用途成为可能。除运用基因工程等方法创造、选用有效的动物模型外,干细胞及组织工程的发展使人工再造的组织、器官也有望成为更快速、适合的药物测试平台。此外,不断改进的临床药物试验方法,尤其是可根据患者对实验药物的反应而不断调整的各期临床试验可大大提高效率,减少对患者的可能伤害。不难预计,随着 DNA、蛋白质技术的不断发展,各种生物标记的发现与验证,这些新思维、新技术、新方法将在今后的 5~10 年里转化出众多的新型药物,使疾病的个体化预防、诊断与治疗达到一个全新的境地。

5 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

(志谢 本文是和韩焕兴教授在第二军医大学长征医院转化医学中心筹建过程中逐渐形成,特此感谢韩焕兴、陆慧琦和田芳教授对本文的阅读、讨论和修改。)

[参考文献]

- [1] Hambley T W, Hait W N. Is anticancer drug development heading in the right direction? [J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 1259-1262.
- [2] Zerhouni E A. Space for the cures: science launches a new journal dedicated to translational research in biomedicine [J]. *Sci Transl Med*, 2009, 1: 1ed1.
- [3] Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists [J]. *Nature*, 1957, 180: 1200.
- [4] Carlsson A. Thirty years of dopamine research [J]. *Adv Neurol*, 1993, 60: 1-10.
- [5] Marko N F, Weil R J. Mathematical modeling of molecular data in translational medicine: theoretical considerations [J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2: 56rv4.
- [6] Hait W N, Hambley T W. Targeted cancer therapeutics [J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 1263-1267.
- [7] Landa G, Amde W, Doshi V, Ali A, McGevna L, Gentile R C, et al. Comparative study of intravitreal bevacizumab (Avastin) versus ranibizumab (Lucentis) in the treatment of neovascular age-related macular degeneration [J]. *Ophthalmologica*, 2009, 223: 370-375.
- [8] Hodi F S, O'Day S J, McDermott D F, Weber R W, Sosman J A, Haanen J B, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363: 711-723.
- [9] Nelson A L, Dhimolea E, Reichert J M. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9: 767-774.
- [10] Hansel T T, Kropshofer H, Singer T, Mitchell J A, George A J. The safety and side effects of monoclonal antibodies [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9: 325-338.
- [11] Davis R L, Konopka J B, Witte O N. Activation of the c-abl oncogene by viral transduction or chromosomal translocation generates altered c-abl proteins with similar *in vitro* kinase properties [J]. *Mol Cell Biol*, 1985, 5: 204-213.
- [12] Heisterkamp N, Jenster G, ten Hoeve J, Zovich D, Pattengale P K, Groffen J. Acute leukaemia in bcr/abl transgenic mice [J]. *Nature*, 1990, 344: 251-253.
- [13] Druker B J, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal G M, Fanning S, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells [J]. *Nat Med*, 1996, 2: 561-566.
- [14] Sherbenou D W, Druker B J. Applying the discovery of the Philadelphia chromosome [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117: 2067-2074.
- [15] Adams J, Kauffman M. Development of the proteasome inhibitor Velcade (Bortezomib) [J]. *Cancer Invest*, 2004, 22: 304-311.

- [16] Yang Y, Kitagaki J, Dai R M, Tsai Y C, Lorick K L, Ludwig R L, et al. Inhibitors of ubiquitin-activating enzyme (E1), a new class of potential cancer therapeutics[J]. *Cancer Res*, 2007, 67: 9472-9481.
- [17] Trepel J, Mollapour M, Giaccone G, Neckers L. Targeting the dynamic HSP90 complex in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 537-549.
- [18] Biancotto C, Frigé G, Minucci S. Histone modification therapy of cancer[J]. *Adv Genet*, 2010, 70: 341-386.
- [19] Pfeifer G P, Hainaut P. Next-generation sequencing: emerging lessons on the origins of human cancer[J]. *Curr Opin Oncol*, 2011, 23: 62-68.
- [20] Jones S, Zhang X, Parsons D W, Lin J C, Leary R J, Angenendt P, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses [J]. *Science*, 2008, 321: 1801-1806.
- [21] Ji H, Zhao X, Yuza Y, Shimamura T, Li D, Protopopov A, et al. Epidermal growth factor receptor variant III mutations in lung tumorigenesis and sensitivity to tyrosine kinase inhibitors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 7817-7822.
- [22] Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362: 2380-2388.
- [23] Keedy V L, Temin S, Somerfield M R, Beasley M B, Johnson D H, McShane L M, et al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation testing for patients with advanced non-small-cell lung cancer considering first-line EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 2121-2127.
- [24] Sequist L V, Waltman B A, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke A B, Fidias P, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors[J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3: 75ra26.
- [25] Wellbrock C, Karasarides M, Marais R. The RAF proteins take centre stage[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5: 875-885.
- [26] Solit D B, Garraway L A, Pratilas C A, Sawai A, Getz G, Basso A, et al. BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition [J]. *Nature*, 2006, 439: 358-362.
- [27] Yang H, Higgins B, Kolinsky K, Packman K, Go Z, Lyer R, et al. RG7204 (PLX4032), a selective BRAFV600E inhibitor, displays potent antitumor activity in preclinical melanoma models [J]. *Cancer Res*, 2010, 70: 5518-5527.
- [28] Chapman P B, Hauschild A, Robert C, Haanen J B, Ascierto P, Larkin J, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364: 2507-2516.
- [29] Nazarian R, Shi H, Wang Q, Kong X, Koya R C, Lee H, et al. Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation[J]. *Nature*, 2010, 468: 973-977.
- [30] Weinshilboum R M, Wang L. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: development, science, and translation [J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2006, 7: 223-245.
- [31] Chung W H, Hung S I, Hong H S, Hsieh M S, Yang L C, Ho H C, et al. Medical genetics: a marker for Stevens-Johnson syndrome[J]. *Nature*, 2004, 428: 486.
- [32] McCormack M, Alfirevic A, Bourgeois S, Farrell J J, Kasperavičiūtė D, Carrington M, et al. HLA-A* 3101 and carbamazepine-induced hypersensitivity reactions in Europeans[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364: 1134-1143.
- [33] Phillips E J, Mallal S A. HLA-B* 1502 screening and toxic effects of carbamazepine[J]. *N Engl J Med*, 2011, 365: 672-673.
- [34] Serebruany V L, Steinhubl S R, Berger P B, Malinin A I, Bhatt D L, Topol E J. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005; 45: 246-251.
- [35] Marcucci R, Gori A M, Paniccia R, Giusti B, Valente S, Giglioli C, et al. Cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients receiving coronary stenting are predicted by residual platelet reactivity to ADP detected by a point-of-care assay: a 12-month follow-up [J]. *Circulation*, 2009, 119: 237-242.
- [36] Mega J L, Close S L, Wiviott S D, Shen L, Hockett R D, Brandt J T, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360: 354-362.
- [37] Schroth W, Goetz M P, Hamann U, Fasching P A, Schmidt M, Winter S, et al. Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen[J]. *JAMA*, 2009, 302: 1429-1436.
- [38] Gilliam B L, Riedel D J, Redfield R R. Clinical use of CCR5 inhibitors in HIV and beyond[J]. *J Transl Med*, 2011, 9 (Suppl 1): S9.
- [39] Malanga M, Althaus F R. The role of poly(ADP-ribose) in the DNA damage signaling network[J]. *Biochem Cell Biol*, 2005, 83: 354-364.
- [40] Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 814-819.
- [41] Weil M K, Chen A P. PARP inhibitor treatment in ovarian and breast cancer[J]. *Curr Probl Cancer*, 2011, 35: 7-50.
- [42] Bryant H E, Schultz N, Thomas H D, Parker K M, Flower D, Lopez E, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase[J]. *Nature*, 2005, 434: 913-917.
- [43] Kaelin W G Jr. The concept of synthetic lethality in the context of anticancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5: 689-698.
- [44] Tutt A, Robson M, Garber J E, Domchek S M, Audeh M W, Weitzel J N, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial[J]. *Lancet*, 2010, 376: 235-244.
- [45] Chan S L, Mok T. PARP inhibition in BRCA-mutated breast and ovarian cancers[J]. *Lancet*, 2010, 376: 211-213.
- [46] Kitagishi Y, Kobayashi M, Matsuda S. Defective DNA repair systems and the development of breast and prostate cancer[J]. *Int J Oncol*, 2012 Nov 14. [Epub ahead of print]