

和机制不同,因此其可与其他治疗措施联合应用,而不增加其毒性。Bcl-2小分子抑制剂应用的最大障碍是其作用于肿瘤细胞的特异性及亲和力尚需提高。目前,新方法已经被用于新的有效药物的发现。

9 发现和设计 Bcl-2 小分子抑制剂的技术

最常用的高通量的扫描方法是FP分析,该方法已经用于小分子肽、HA-14-1和化合物4等Bcl-2抑制剂的研究。该方法的缺陷是耗时多,并且假阳性太多。FP分析与虚拟的计算机扫描技术相结合可以弥补各自的缺陷。

最近应用的一项高通量的扫描技术为构-效关系(SAR),应用NMR数据将小分子抑制剂的结构与其抑制效应相联系,并确定底物结合域的拓扑学。SAR是进行发现性分析的一项有前景的技术。

10 除 Bcl-2 之外的其他蛋白靶点

对于一些类型的肿瘤,抑制除Bcl-2之外的其他蛋白可能是更有效的治疗方法。如不管Bcl-2是处于活化或抑制状态,caspase活化的抑制剂Smac或IAP可以使某些肿瘤细胞不发生凋亡,因此对于某些肿瘤细胞,需要同时抑制Bcl-2和caspase以诱导

其凋亡。对于以线粒体非依赖性凋亡途径发生凋亡的细胞,需要发现可以活化线粒体非依赖性凋亡途径中的蛋白的小分子,或抑制在阻断细胞死亡过程中发挥作用的蛋白。此外,在许多肿瘤细胞中,生长因子的过表达及其受体的活化促进细胞增殖、抑制凋亡并且对激素和细胞毒治疗抵抗。有研究应用ZD-1839通过抑制表皮生长因子(EGF)受体介导的存活途径及活化Akt发挥抗肿瘤活性。而针对PI₃K及Akt介导的存活途径,应用了非特异性酪氨酸抑制剂,但由于其副作用较多,尚需改进。Ras蛋白是另一个可能的治疗靶点。

11 结语

细胞的凋亡抵抗显著促进了肿瘤的发生并导致化疗抵抗。可以诱导肿瘤细胞凋亡并且不损伤局部或全身正常细胞的药物的应用对于肿瘤治疗是一个重要的贡献。实验资料证实,Bcl-2抑制剂尤其是小分子有机化合物的应用可以在多种肿瘤细胞中发挥促进凋亡的作用。尽管关于抑制Bcl-2和Bcl-XL的机制还有待进一步阐明,仍可望设计出更有效和特异性更高的Bcl-2的小分子抑制剂,单独或与其他细胞毒药物联合用于顽固性恶性肿瘤的治疗。

改善癌症治疗的单克隆抗体

黄世杰编译

(军事医学科学院毒物药物研究所,北京 100850)

摘要:单克隆抗体已成为治疗许多人类疾病包括癌症的药物。医药史上,没有足够数量又高特异靶向实体瘤的单克隆抗体的存在,已妨碍成为有效治疗药的障碍。本文着重报道在直接改善基于抗体的治疗药物的靶向和加强药物靶向肿瘤后的疗效的抗体工程学研究方面的新进展。

关键词:癌症;单克隆抗体;单链Fv;免疫治疗

中图分类号:R979.1 文献标识码:A 文章编号:1001-0971(2005)01-0013-03

与人类免疫系统相容,治疗性抗体的生产能力已得到改善,单克隆抗体已在肿瘤疾患治疗中起较大作用。到2002年12月,FDA已批准5个单克隆抗体用于治疗癌症,另有10多个单克隆抗体处于临床后期试验阶段。FDA批准的治疗非何杰金淋巴瘤的利妥昔单抗(rituximab)又批准用于血癌。曲妥珠单抗(trastuzumab)批准用于治疗转移性乳腺癌,也是

唯一批准用于实体瘤的抗体治疗药物。制造靶向肿瘤有足够数量和特异性的单克隆抗体是很困难的。抗体工程学通过构建分子较小,多价抗体的方法改善了药物对肿瘤的穿透性。新近研究集中于解决药物的靶向性和增强药物靶向后的疗效。

1 改善药物对肿瘤的靶向性

抗体工程学的发展已促进许多新的具有独特生理性质和药代动力学特性的抗体组分的开发。

1.1 抗体组分的大小

较小的抗体分子能较快地穿透肿瘤,但抗体药物分子较小,也使其从实体瘤中和荷瘤病人体内迅速消除。因此,抗体组分需要足够大以维持循环中的浓度,使其能在肿瘤中累积,但能成功扩散进入肿瘤又需要抗体组分足够小。

1.2 抗体对肿瘤抗原的亲合力

必须很好平衡治疗性抗体的亲合力,使其足够高而能延长在肿瘤细胞上的滞留时间,但又不能太高,以至减弱抗体穿透肿瘤的能力。

1.3 结合价

4价的IgG同型二聚体与母型IgG比较,能使肿瘤生长的降低能力增强,3价的F(ab')₂复合物较2价的F(ab')₂增进肿瘤的摄入。但从2价增加至4价,则明显延长了在肿瘤细胞上的滞留时间(4价抗体为4.32% ID/g,而2价的为1.47% ID/g)。

1.4 电荷

实验动物在抗体注射前,先滴注带正电荷的赖氨酸或精氨酸,阻断肾小管的负电荷,可以明显降低放射性标记的抗体组分在肾中的积累。Pavlinkova等通过加入荷电的氨基酸到蛋白的羧端,改善抗-TAG-72 CC49_{sc} Fv的等电点,研究电荷对其在肾中累积的作用。使CC49等电点从8.1降至5.2,对非靶组织中的累积无明显影响,但与其他单克隆抗体组分比,母药_{sc} Fv在肾中累积极少,暴露的组分残基表面突变后,使抗-Tac(Fv)_{p38}免疫毒素的等电点从10.21降至6.82,使治疗指数提高3倍,而未影响抗肿瘤活性。

2 改善治疗功能

抗体药物引起抗肿瘤效应的机制有两种类型:第一类属于非结合型抗体,第二类属于递送毒性化合物的抗体,如放射性核苷酸或肿瘤特异性化疗药。

2.1 改变效应细胞的功能

2.1.1 细胞介导的细胞毒性 效应细胞作为免疫系统的组成,例如自然杀伤细胞(NK)和单核细胞/巨噬细胞代表抗癌变细胞的天然防御屏障。由免疫效应细胞识别癌变细胞,通过抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)和吞噬作用过程完成细胞介导的杀伤。抗p¹⁸⁵HER2 IgG1的突变,引起较母型IgG1分子过度表达HER2的SK-BR-3细胞株的较高ADCC活性。虽然未作在体实验,但体外实验表明,对FcγRIIb结合效应的缺乏,使ADCC活性增强,提示IgG1的改

变可以增加曲妥珠单抗和利妥昔单抗的效能。

2.1.2 补体依赖的细胞毒性 单克隆抗体可通过补体依赖的细胞毒性(CDC)引起补体的级联放大而杀死细胞。当单克隆抗体同细胞表面的抗原复合,与补体的第一组分C1_q结合,产生CDC。多单克隆抗体参与时,引起C1_q激活血清蛋白酶级联放大,杀死与抗体结合的细胞。利妥昔单抗的C_{H2}域上突变,其4个残基(D270, K322, P329和P331)突变成丙氨酸,C1_q结合下降,CDC活性降低。而利妥昔单抗残基为K326W时,使C1_q结合增长3倍,CDC活性增加2倍,而K326A/E333S残基双突变后,虽使C1_q结合和CDC活性增长2倍,但对ADCC没有影响。

2.1.3 半衰期/消除率 哺乳动物血清中完整的IgG浓度维持在恒定水平,其半衰期为数日。由FcRn, MHC-I型相关Fc受体部分调节稳态。Dennis等开发了一种增加Fab分子的血清持久性又不明显改变分子量的方法,即由D3H44抗组织因子Fab组分与小分子白蛋白结合的肽融合。与原始D3H44Fab组分比较,此种肽融合的Fab组分使兔和小鼠血清药物半衰期分别增加37和26倍。重要的是, Fab组分能同时和血清白蛋白与靶抗原组织因子结合。

2.1.4 糖基化 IgGs在CH₂内恒定区域297位Asn残基上进行N-糖基化连接。残基的糖基化状态,长期以来被认为是影响IgGs对效应配体,如FcγR和C1_q的结合能力。此后还影响它们参与Fc介导的功能,例如ADCC和CDC。

2.2 免疫结合物

单克隆抗体用于递送多种药剂,包括化疗药物、毒素、放射性同位素和细胞因子。选择恰当结合毒性药剂的单克隆抗体,能产生治疗的协同效应。

2.2.1 免疫药物结合物 化疗药物与肿瘤特异性抗体结合,可使药物在肿瘤内集中,因而可增加剂量,且减少对正常组织的毒性。靶向EpCAM抗原的免疫药物结合物BR-96-多柔比星,在大鼠模型上显示明显疗效,但在临床试验时,发现其治疗剂量的胃肠道毒性太大,不能接受。

2.2.2 免疫毒素 高特异肿瘤抗体的位点,用于多种毒素的靶向。由于催化特性,使这些毒剂毒性极强,数个分子,甚至1个分子就可杀死1个细胞。Kreitman等报道,在给予猕猴能耐受剂量的重组抗CD22免疫毒素RFB4(dsFv)-PE38后,小鼠体内的人Burkitt淋巴瘤异种移植完全消退。然而,此免疫毒素临床试验时,观察到的神经毒性不能接受,并有

威胁生命的血管渗漏综合征发生。

2.2.3 放免结合物 FDA已批准第一个人用治疗性放免结合物 ibritumomab。ibritumomab 是钷-90 标记的抗 CD20 单克隆抗体,在治疗非何杰金淋巴瘤临床试验中证明有效。用 ibritumomab 治疗的淋巴瘤病人总治疗反应率为 69%(完全有效为 25%,部分有效为 41%)。对程度较轻病例,治疗总反应率更高,为 82%(完全有效 27%,部分有效 56%)。

2.2.4 免疫细胞因子结合物 免疫抗体融合细胞因子用来直接加强病人对其自身肿瘤的免疫反应。新近融合 IL-12 和 L19 两种细胞因子的蛋白,在治疗小鼠肺转移性肿瘤时发现,其疗效优于仅融合 IL-12 一种细胞因子的蛋白。上述结合物治疗小鼠肺转移性肿瘤 22 d 结果发现肿瘤为盐水对照组的 1/5,为单 IL-12 融合蛋白的 1/4。

2.2.5 预靶向抗体结合物 在预靶向抗体治疗中,先给予一种抗体-酶或抗体-配体结合物,允许定位于肿瘤。当其从循环和正常组织中消除后,或者在消除剂除去其活性后,给予只在肿瘤上的预靶向抗体结合与激活的细胞毒剂。用这种方法,使细胞毒效应更进一步集中于肿瘤中。

2.2.6 抗体导向酶性前药治疗 在抗体导向酶性前药治疗(ADEPT)时,酶结合到预靶向抗体,此后酶能激活无活性前药的活性。临床试验中,CPG2 通过化学结合到 A5B7 抗 CEA 小鼠单克隆抗体组分

(ab)₂上,接着给前药 Bis-碘酶硫芥(ZD2727P),可使病人病情稳定。但在其后的 ADEPT 治疗过程中,病人因产生抗酶抗体和 HAMA 反应而使疗效减弱。

2.2.7 预靶向放射免疫治疗 通常大多数人应用预靶向放射免疫治疗(PRIT)时,用抗肿瘤单克隆抗体-抗生蛋白链菌素(MAb-SA)或单克隆抗体-生物因子(MAb-B)结合物全身给药,使其在数日内定位于肿瘤中。然后给予清除剂,即生物因子-半乳糖-人血清白蛋白或抗生蛋白链菌素,使仍然存在循环中的单克隆抗体结合物在肝脏中消除。然后给予仅与预定位于肿瘤上的单克隆抗体结合物结合的生物因子螯合钷-90 复合物。至今,许多 PRIT 临床试验还在实体瘤或弥散瘤病例中进行。在非何杰金淋巴瘤病人中观察到最好的治疗反应,给药的 7 名中有 6 名为客观的治疗反应,但在实体瘤病人中没有观察到明显的治疗反应。

3 结语

自从 Kohler 和 Milstein 首先开发出杂交瘤技术的 1/4 世纪中,已使基于抗体的治疗药物领域得到显著进展。许多抗体药物目前正进行临床试验,更多的药物在研制中。虽然美国 FDA 仅批准使用了少数抗体药物,但上述改善抗体药物的新途径药物在未来数年中将进入临床试验,此种基于抗体的治疗药物将真正进入昌盛时期。

醛固酮阻断剂依普利酮在心血管疾病中的作用

王丽娟综述 项美香审校

(浙江大学医学院第二附属医院心内科,浙江 杭州 310009)

摘要:肾素-血管紧张素-醛固酮系统过度激活及高醛固酮血症对心血管系统均有损伤作用。血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂和血管紧张素受体阻断剂(ARB)已被证实可有效降低血压和保护靶器官,减少心力衰竭的发病率和死亡率,但长期使用 ACE 抑制剂或 ARB 治疗后,血醛固酮浓度又会回到基线水平,即所谓“醛固酮逃逸”,因此降低了这些药物进一步的疗效。醛固酮受体拮抗剂螺内酯对心血管系统有显著的保护作用,但它的性激素相关副作用限制了其应用。新一代选择性醛固酮受体拮抗剂依普利酮为心血管疾病的治疗开辟了新的道路。

关键词:醛固酮阻断剂;依普利酮;心血管疾病

中图分类号:R972 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0971(2005)01-0015-05

醛固酮受体不仅存在于肾脏,也存在于心脏、血

管及脑中。多种生理因素如血管紧张素 II、血钾、ACE 抑制剂、内皮素、去甲肾上腺素及 5-羟色胺(5-