

# 生物技术和药物研究进展

刘 兢

(中国科学技术大学生命科学学院细胞免疫学实验室,安徽合肥 230027)

**摘要:**以单克隆抗体研究为例,从一个侧面介绍了生物技术及药物研究在中国科学技术大学的发展.先后研制过多种单克隆抗体.其中,用人 $\alpha$ 干扰素单克隆抗体制备的人 $\alpha$ 干扰素单克隆抗体亲和胶,成功地应用于干扰素的工业生产,解决了国内干扰素生产中的关键技术问题,并依此技术成立了安徽省第一家具有自主研发生物技术药物产品的生物技术公司;肿瘤抗原 p185<sup>erbB-2/HER-2</sup> 单克隆抗体有一种已被开发成肿瘤蛋白免疫组化诊断试剂,于2004年获得国家新药证书,现已转化为产品,另一种同类单抗正在用于抗体治疗药物的研发.此外,基于蛇毒抗栓组分的研究成果,与香港兆峰集团合资成立了兆峰科大药业公司,研发的蛇毒溶栓素已获得国家一类新药证书.今后更多的研发成果将在生物技术医药产业中得到应用.

**关键词:**单克隆抗体;干扰素;HER2;抗体药物;研发

**中图分类号:**Q81      **文献标识码:**A

## Research and development of biotechnology and drugs

LIU Jing

(School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

**Abstract:** As an example of R & D of Biotechnology and Drugs at USTC, several monoclonal antibodies (Abs) have been prepared for applications in industrial and medicinal applications. The Ab against human  $\alpha$ -interferon (IFN) was used to prepare the IFN affinity chromatography gel which can provide efficient means for the manufacture of IFNs. It made this key technique for manufacturing IFNs no longer rely on input. Based on these, Anhui Anke High Biotechnology INC was founded in 1995. One of the Abs against oncoprotein p185<sup>erbB-2/HER-2</sup> was developed for the diagnostic reagent of the cancers overexpressing oncoprotein p185 such as breast cancer and ovary cancer. This diagnostic reagent was proved by SFDA in 2004. Another Ab against p185 which can inhibit growth and proliferation of cancers overexpressing p185 is being developed into a therapeutic antibody drug. In addition, the fragments with anti-platelet aggregation activities have been developed for a potential anti-thrombus drug by a pharmaceutical company based on the research of the Labs in our school. More achievements are being made at USTC and will be

**收稿日期:**2008-06-28; **修回日期:**2008-08-10

**基金项目:**中国高技术研究发展(863)计划(2006AA02A245)和国家自然科学基金(30570362)资助.

**作者简介:**刘兢,教授.中国细胞生物学会常务理事和安徽省细胞生物学会理事长.1965年毕业于中国科学技术大学生物物理系,留校工作至今.曾任生物系总支副书记、书记、系副主任、主任,生命科学学院副院长等职务.1993~1999年先后三次作为访问学者在美国 Tufts 医学院、哈佛医学院和宾州大学医学院及约翰·霍普金斯大学医学院进行合作研究.主要从事肿瘤细胞表面受体及其抗体的研究.主持过国家自然科学基金、中国高技术研究发展(863)计划、安徽省科技攻关、中国科学院科技攻关等十多项国家和省、部级科研项目,分别获得过国家科技进步三等奖和安徽省科技进步一等奖以及中国科学院自然科学奖二等奖.获得国家发明专利三项,新药证书一个,在国际学术期刊 Nature、PNAS、BBRC、Proteins 等上发表过多篇学术论文. E-mail: jliu@ustc.edu.cn

applied to biotech industries.

**Key words:** monoclonal antibody; interferon; HER2; Antibody drugs; R&D

## 0 引言

1958 年生物物理系作为中国科学技术大学唯一一个与生命科学相关的系成立了,这也是国际上最早以生物物理命名的系科,贝时璋先生为首任系主任.后来虽然经过了“文革”及 1970 年的下迁等各种周折,我校的生物学科不仅没有缩小,反而迅速地发展起来:1978 年生物系成立,在原来单一的生物物理专业之外增加了两个新的专业方向——生化与分子生物学和细胞生物学;1998 年,生命科学学院成立,为更多的新型生物学科和交叉学科的发展提供了广阔的空间.

经过 30 多年的艰苦努力,生命科学已成为我校发展最快的学科之一.中国科学技术大学的校名本身就意味着科学和技术的不可分割性,这里仅以本人从事的单克隆抗体研究为例,从一个侧面介绍生物技术及药物研究在中国科学技术大学的发展.

抗体是一种具有高度特异性和多样性的免疫功能分子,人们付出了很多努力,试图获得大量、均一的抗体.1975 年单克隆抗体技术问世,为所有需要制备和使用特异性抗体的领域提供了全新的手段和制剂,在临床诊断和治疗中发挥了重要的作用.在科学研究和工程生产中也得到了广泛应用.因此人们将单克隆抗体技术定为 20 世纪影响生物学基础研究和产生巨大经济与社会效益的最重要的两大生物技术之一(另一个技术就是基因重组技术).

本实验室自上世纪 90 年代初开始单克隆抗体及其应用的研究,先后制备了多种单克隆抗体,其中一项被成功应用于干扰素的工业生产,一项被开发为诊断新药,已获得国家新药证书并转化成功,一项正在进行抗体治疗药物的研发,还有两项被用在科研课题的研究中.

以下重点介绍成功获得应用的两种单抗的研制情况,以供读者了解我校在生物技术和药物研究方面的进展.

## 1 干扰素单克隆抗体亲和胶的研制

### 1.1 背景

干扰素最初是从人外周血中发现的一种由病毒感染导致体内产生的细胞因子,它具有抗病毒、抗肿

瘤、增强免疫功能等效用,也是世界上第一个使用基因工程方法生产并用于临床治疗的细胞因子.20 世纪 80 年代末,我国以基因工程技术为基础的医药产业开始兴起,面临国内肝病治疗的巨大市场需求,基因工程干扰素的生产成为生物制药业的首选,生产干扰素的公司纷纷成立.虽然用大肠杆菌生产干扰素的技术当时在国内已经不成问题,但是这种生产的共同技术难点是如何使最终产品达到临床药品检定的要求标准.国外公司在纯化过程中都经过了一步特异性非常高的单克隆抗体亲和胶的处理,因此国内生产干扰素全都要依赖进口的单抗亲和胶,其不仅价格不菲,还不能保证供应,成了干扰素生产的瓶颈.

### 1.2 研究方法和结果

1992 年,我们与原安徽生物研究所联合攻关,首先制备出多株人  $\alpha$  干扰素单克隆抗体细胞株,然后通过共价方式与葡聚糖凝胶耦联,用于多种基因工程干扰素的纯化实验,最后获得了亲和力好、性能稳定的单抗亲和胶,仅两年时间就研制出工业急需的单克隆抗体亲和胶.使用该亲和胶纯化基因工程生产的干扰素,工艺简单,产品纯度高,成本也大大降低,因而受到包括深圳科兴等各大干扰素生产公司的欢迎,也彻底解决了国内干扰素生产过程中依赖进口亲和胶的问题.此成果“人  $\alpha$  干扰素单克隆抗体的研究及应用”于 1994 年获得了安徽省科技进步一等奖和 1995 年国家科技进步三等奖.

以此为基础,安徽生物所与我校合作成立了安科生物技术公司,它的第一个产品就是人  $\alpha$  干扰素单克隆抗体亲和胶.在此基础上,该公司又获得了基因工程人  $\alpha$  干扰素的生产批号,成为安徽省第一家具有自主研发生物技术药物产品的生物技术公司,在安徽生物高技术产业的发展中起到了带动作用.

## 2 单抗诊断药物的研制

### 2.1 背景

癌基因 HER2/ ErbB2 编码的蛋白 p185 是国际公认的重要的肿瘤表面抗原, p185/HER2 过表达型的肿瘤恶性化程度高、迁移性和浸润性强、病人治疗后容易复发,而且对化疗和放疗等传统疗法不敏感,因此具有更大的危害性<sup>[1]</sup>.据 Science 报道<sup>[2]</sup>,

美国的乳腺癌和卵巢癌病人有 25%~30% 属 p185 高表达型肿瘤,另外,在前列腺癌、非小细胞肺癌、胃癌等十余种癌症中也有相当比例属 p185 过表达型。

由于正常组织中几乎检测不到 p185 的存在,所以 p185 可以作为鉴别肿瘤预后的分子指标之一,尤其是乳腺癌, p185 被认为是判断其预后的独立因素. 因此,检测肿瘤抗原 p185 是否高表达,对肿瘤的鉴别诊断、估计预后和治疗方案的选择均具有重要意义<sup>[3]</sup>.

使用抗 p185 的单克隆抗体来诊断肿瘤组织是否 p185 高表达是鉴别乳腺癌及其他肿瘤最简便有效的工具,也是目前国际上最通用和首选的检测方法<sup>[4]</sup>. 国际上正式获得美国 FDA 推荐的抗 p185 单抗免疫组化诊断试剂仅有 Herceptest (DAKO) 和 CB11 (Ventana), 由于这两种诊断试剂价格昂贵,很难大面积推广,因而其他的进口单抗试剂在国内广泛流通. 我国自 90 年代初开始推广临床对肿瘤特别是乳腺癌病人进行 p185 表达的检测,现在已被国家列为临床乳腺癌病理检测分型的必要手段. 为了规范全国的 ErbB-2/HER-2 检测标准,我国已经拟定了一个 ErbB-2/HER-2 或 p185 检测的临床指南,但是由于检测抗体一直依靠国外进口,它们的来源不稳定,影响了临床诊断和治疗的准确性,也成为制约该项检测规范化重要瓶颈。

## 2.2 研究方法和结果

1996 年本实验室利用国际先进的免疫学方法“表面表位包埋法”研制出多株抗肿瘤表面抗原 p185 的单克隆抗体,它们都能特异性识别 p185 高表达肿瘤细胞表面的 p185 抗原的胞外区,并特异性抑制 p185 高表达乳腺及卵巢癌的生长<sup>[5]</sup>.

以此为基础,与安徽医科大学合作,对大量临床乳腺癌等癌症病人的病理组织和血清样品中 p185 的表达进行检测实验,通过上海、南京、合肥、蚌埠等多个三甲医院的上千例临床病理组织的实验研究,证明我们研制的单克隆抗体“特异性强,膜定位准确,染色背景低,而且其肿瘤病理切片的阳性染色结果与肿瘤的分级密切相关,与进口试剂相当”(专家鉴定结果). 2004 年以免疫组化诊断试剂申报的新药被国家新药评审中心批准,获得国家新药证书——“肿瘤蛋白 p185<sup>erbB-2/HER-2</sup>检测试剂盒(免疫组化)”. 这是国家食品药品监督管理局批准的国内第一个具有自主知识产权的免疫组化诊断试剂,为解决国内肿瘤 p185 抗原检测依赖进口的问题奠定了

基础.

该项研究先后获得两项国家发明专利. 2006 年,该成果转让给安徽安科生物股份有限公司,目前该公司生产的产品已通过国家食品药品监督管理局的检定,不久即可获得生产批号.

## 3 抗体治疗药物的研制

### 3.1 背景

众所周知,化疗药物对肿瘤的治疗有明显的效果,但是其毒副作用强,特别是 p185/HER2 高表达的肿瘤对化疗药物不敏感,因此迫切需要发展新的更有效的、特异性更强的抗癌药物,抗体的高特异性和低副作用使其成为研制新型靶向药物的理想选择. 由于仅仅肿瘤细胞 HER2 的表达调控就直接与细胞的癌化进程相关,因此它不仅可用于诊断,而且也是抗体药物研发的极好的靶标。

自 1986 年美国 FDA 批准第一个抗体药物 Orthoclone 上市,抗体药物的发展虽经历过一些曲折,但现在已是全球发展最快的新药领域之一. 当前肿瘤生物治疗的一个重要发展方向就是发展抗体药物,如目前国际公认的治疗 HER2/p185 高表达癌症的最佳方法就是采用单克隆抗体衍生药物加化疗药联合用药<sup>[6]</sup>. 据统计,现在生物制药中,单克隆抗体药物已占到约 31%.

但是,抗体治疗药物的研制比诊断药物要复杂和困难得多,它涉及的技术领域之广、研发费用之高、周期之长也是一般基因工程药物难以比拟的;抗体药物单剂用量大、药物的质量标准高、生产成本也高,导致价格极其昂贵,因此研制抗体药物的风险比一般基因工程药物大得多. 实际上,以 HER2/p185 为靶标的抗体药物研究一直没有停止,但是自 1998 年美国第一个抗 HER2/p185 抗体治疗药物赫赛汀 (Herceptin, 又名 Trastuzumab, 用于治疗 HER2 高表达乳腺癌) 上市以来,至今国际市场上还没有类似的抗体治疗药物上市. 尽管赫赛汀在临床应用中发现有少数心脏毒副作用的病例,250 mg/支的赫赛汀价格为 21 000 元左右,一个疗程要花费 20 多万元,可谓是天价,但市场上仍然是供不应求,成为近几年国际医药市场上年赫赛汀销售额在 10 亿美元以上的“重磅炸弹”之一<sup>[7]</sup>.

### 3.2 研究方法和结果

本实验室在前面获得的特异性抗 HER2/p185 单克隆抗体的基础上,通过基因克隆和重组等分子

生物学的方法构建了鼠单链抗体 scFv 与人抗体 Fc 融合的 scFv-Fc 嵌合抗体分子,通过基因转染,在哺乳动物 CHO 细胞中得到了高效表达. 纯化的嵌合抗体经细胞学、生化与分子生物学和免疫学等多种手段鉴定,被证明是一个与原鼠源单抗有相同特异性结合 HER2/p185 高表达肿瘤细胞的工程化的抗体<sup>[8]</sup>;体外(通过 MTT、长期增殖抑制效应等)和体内实验(通过肿瘤细胞荷瘤小鼠实验)均显示了明显的对 HER2/p185 高表达乳腺癌和卵巢癌的生长抑制活性.

经过近十年的努力,现已完成了嵌合抗体候选药物的前期研究. 另一方面,通过结构生物学和细胞生物学等手段研究证明,这一抗体药物具有与赫赛汀完全不同的识别位点,其作用机理也有区别<sup>[9]</sup>;值得一提的是,该抗体不具有类似赫赛汀的心肌组织交叉反应.

我国乳腺癌的发病率现在逐年在增长,已成为危害我国妇女健康的主要肿瘤之一,国内临床对 HER2/p185 靶向抗体治疗药物的需求很高. 中国高技术研究发展(863)计划在“十五”和“十一五”期间对此项目都给予了连续的资助,我们希望通过国家的支持和产学研结合,完成一个具有完全自主知识产权的新型抗 HER2/p185 高表达肿瘤的抗体靶向药物的研制,以满足临床的需求.

## 4 结语

30 几年来,中国科学技术大学在生物技术研究领域转化为产业的成果除了抗体外,还有其他一些项目,其中最重要的方向之一是蛇毒抗栓药物的研发. 早在 1980 年,徐洵、黄婉治等教授就对皖南尖吻蝮蛇毒的活性组分进行了大量研究,不仅发表了一系列文章,以徐洵为首的“尖吻蝮蛇毒的生化性质研究”项目还获得了中国科学院自然科学二等奖,而且由黄婉治教授分离得到的一种蛇毒成分并证明其具有独特的抗血小板聚集和溶血栓功能,以此成果为基础招商,得到香港兆峰集团的投资,于 1993 年在合肥成立了兆峰科大药业公司(简称兆科药业). 现在该蛇毒溶栓素已获得国家一类新药证书,进入临床试验,在治疗血栓和预防再梗方面表现出其独特的优势.

总之,可以说我校生物技术的研发成果已经为

地方经济建设和社会进步做出了积极的贡献. 随着生命科学学院从国外引进大批的优秀年青人才,他们不仅在基础生命科学研究的各个领域作出了杰出的成绩,同时也产生了一批具有直接应用前景的生物高技术成果,如田志刚教授研发的基因工程白介素-12,已经通过国家药检所的初检;温龙平教授的新型药物载体-透皮肤的的研究结果也显示出了十分诱人的应用前景等等. 随中国科学技术大学生命科学学院的发展,将会有更多生物技术的研究成果得到转化和应用,为国家的经济建设和社会发展做出更大的贡献!

## 参考文献(References)

- [1] Slamon D J, Clark G M, Wong S G, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of HER-2/neu oncogene [J]. *Science*, 1987, 235: 177-182.
- [2] Slamon D J, Godolphin W, Jones L A, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer [J]. *Science*, 1989, 244: 707-712.
- [3] Ross J S, Fletcher J A. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy [J]. *Stem Cell*, 1998, 16: 413-428.
- [4] Hynes N E, Stern D F. The biology of erbB-2/neu/HER-2 and its role in cancer [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1994, 1198: 165-184.
- [5] 王琛, 吴强, 李昀, 等. 表面表位包埋法制备肿瘤表面抗原 p185<sup>neu/c-erbB-2</sup> 单克隆抗体及其性质研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2000, 16: 539-546.
- [6] Goldenberg M M. Trastuzumab, a recombinant DNA-derived humanized monoclonal antibody: A novel agent for the treatment of metastatic breast cancer [J]. *Clinical Therapeutics*, 1999, 21: 309-318.
- [7] Gregory P Adams, Louis M Weiner. Monoclonal antibody therapy of cancer [J]. *Nature Biotechnology*, 2005, 23: 1117.
- [8] Cheng L, Liu A, Yang J, et al. Construction, expression and characterization of the engineered antibody against tumor surface antigen, p185c-erbB-2 [J]. *Cell Research*, 2003, 13: 35-48.
- [9] Hu S, Zhu Z, Li L, et al. Fine epitope mapping and structural analysis of an anti-ErbB2 antibody A21: Molecular basis for anti-tumor mechanism [J]. *Proteins*, 2008, 70: 938-949.