

# 用基因“魔剪”对抗恶性肿瘤 新研究初步证实可行

陈振鹏 本报记者 盛利

日前,《自然·医学》在线发表了全球首个CRISPR用于肿瘤治疗的人体I期临床试验结果,该研究的试验对象是晚期非小细胞肺癌患者,通过使用“魔剪”技术编辑非小细胞肺癌患者T细胞的PD-1基因后再回输到患者体内展开治疗。

在第三代基因编辑中,外号“魔剪”的CRISPR/Cas9基因编辑技术已广泛应用于各种临床研究中。此次发表的研究论文,进一步证实了CRISPR基因编辑在肿瘤治疗领域的可行性。

## 受PD-1单抗启发 筛选患者曾是一大难题

化疗、放疗等常规肿瘤治疗手段往往“杀敌一千,自损八百”,对人体免疫系统会造成较大损伤。

随着PD-1单抗药品在2014年末上市,癌症患者似乎看到了一丝曙光——通过跟PD-1蛋白结合阻挡一种信号通路,可防止肿瘤细胞诱导的免疫细胞程序性死亡并彻底破坏肿瘤细胞诱导的免疫耐受“阴谋”。但这种PD-1单抗也存在弊端:比如为了阻止癌细胞不断增殖,需对患者持续注射,整体成本比较高。“按当时的价格,每人每年的花费要高达90万至120万元人民币。”上述论文并列第一作者、成都美杰赛尔公司首席科学家邓涛说,那个时候PD-1单抗药物在国内还没有仿药,也不能合法进口。

随着肿瘤免疫治疗和细胞治疗时代的开启,尽快开发出创新的细胞生物治疗技术和产品,成为肿瘤患者和临床专家共同的期待。那么,能否用最前沿的基因编辑技术直接把T细胞上的PD-1基因删除呢?邓涛说,团队研究

## 六大环节完成试验 T细胞分离出来再“武装”

如果患者的免疫功能良好,肿瘤并不可怕。癌细胞是可以被免疫监视功能识别、抑制、清除的,即便少数存在于体内,患者也能与之“和谐共处”。然而,当“狡猾”的癌细胞一旦突破了人体免疫细胞防线,大肆转移、增殖,就很难被“消灭”了。从某种角度来说,基因编辑T细胞治疗就是重新“武装”人体卫士——免疫细胞,发挥免疫杀伤作用,控制肿瘤生长、清除癌细胞。

那么,在该临床试验中,基因编辑技术具

CRISPR/Cas9是一种用来搜索、剪切、替换DNA特定序列的特殊DNA剪切系统。与传统限制性内切酶相比,它可以识别多个不同的DNA位点,相当于一个“可调的分子剪刀”。此次I期临床试验中,除了要验证基因编辑细胞在人体应用的安全性问题,还要进一步探索这种方案在个性化精准治疗方面的可行性,及在安全、可行的前提下,能否观察到靶基因的编辑效应。

这项临床实验究竟是在什么背景下展开的?具体是怎么实施的?效果如何?什么时候能进入临床应用?日前,科技日报记者采访了业内相关专家。

认为这一设想可能会与PD-1单抗药物治疗有异曲同工之效,如果能够部分形成免疫记忆细胞,或许治疗上更为彻底,随着未来规模化生产,成本也相对可控。

此次全球首个CRISPR用于肿瘤治疗的人体I期临床试验,由四川大学华西医院卢铀教授课题组和产品开发方的邓涛团队合作完成。邓涛向记者介绍,在I期临床试验启动初期,尚无任何先例可循,其中仅为完成国际新药标准所要求最低11例患者的目标,研发团队就摸索了2年时间。“最大的难题之一是筛选患者。”团队成员、美杰赛尔技术总监喻莹博士说,入组患者至少要满足两个条件:第一,必须是通过标准的一线、二线、三线治疗无效的晚期患者;第二,其肿瘤细胞有PD-1靶基因表达。

“有些患者还没等到编辑细胞培养到足够使用的数量,人就‘走’了。”邓涛说,团队在2016年年中到2018年年底期间,按标准的I期临床试验要求进行数据处理,最终呈现出完整的I期临床试验结果。

体是如何实施的?此次研究试验的实施流程主要包括筛选患者、抽血、成分分离(T细胞提取)进行基因编辑、工程化扩增及第三方检测、回输人体等6大环节。

邓涛举例说,像抽血环节,一般抽50—100毫升的外周血,然后配送到相关GMP(满足优良制造规范的要求)洁净细胞实验室;在基因编辑环节,研究人员利用“魔剪”技术把PD-1基因剪切、重新连接,以消除PD-1基因的蛋白表达;在工程化扩增环节,需将编辑的

寻上述问题的答案。相关成果已发表于美国《内科学杂志》(Annals of Internal Medicine)杂志上。

## 用金属元素作“标签” 为不同类型细胞“合影”

此前,武汉协和医院急诊科主任张劲农一直强调重视“病毒继发细菌感染”,降低新冠肺炎重症率、死亡率,关键在于治好继发的细菌感染,这也是“武汉协和治疗方案”的核心。

“有些危重症病人往往不是死于病毒感染,而是死于继发细菌感染。”中国科学院院士、国家卫健委高级别专家组成员李兰娟也曾呼吁医务人员关注新冠病毒合并细菌感染的危害性。

陈德喜与这些学者的观点不谋而合。基于此,陈德喜带领团队甄选了两位患者的样本,分别是感染新冠病毒但未合并肺部细菌感染的患者(以下简称第一例患者),以及新冠病毒合并肺部细菌感染的患者(以下简称第二例患者),分别对他们的肺组织样本进行免疫细胞浸润分析。

为了更加清晰、准确地分析以上两种不同



视觉中国供图

T细胞在GMP实验室进行大规模扩增,相关基因编辑及细胞质检测。此外,编辑后的T细胞还要送到第三方平台去检测,以确定其安全且无任何污染;而在回输人体环节,则要将合格的细胞制品配送到GLP(优良实验室规范的简称)病房,在严密监控下回输到患者体内。

“在临床试验操作过程中,不同患者采取的治疗方案是有差异的,在针对重症患者的

## 验证安全性可行性 目标虽已达到但还需扩大样本

“随着治疗的进行,肿瘤组织中TIL(肿瘤浸润淋巴细胞)和外周血PBMC(外周血单个核细胞)的免疫多样性逐步升高……这说明了该治疗对重建患者免疫生态起到极大的作用……”这是论文对此次实验效果的分析描述。

喻莹说,目前已入组的11例常规治疗无效晚期患者在接受基因编辑T细胞回输治疗后,均无三级以上的副作用,有3例达到了8周稳定的疗效。此外,脱靶事件的中位突变频率仅0.05%。

这项备受瞩目的新技术何时才能投入一线治疗?“我们正在启动向国家药品监督管理局申报新药临床试验(IND)。”邓涛说。与此同时,很多人也在担心,万一价格太贵怎么办?喻莹对此表示,随着工艺流程进一步优化,成本会进一步显著下降。

目前CRISPR基因编辑技术主要用于遗

传病、艾滋病、肿瘤等的治疗。其中,在遗传病方面,张峰团队用CRISPR技术治疗单基因遗传疾病——Leber先天性黑蒙10型(LCA10),目前已有临床实验正在进行;在治疗艾滋病方面,北大邓宏魁团队将CCR5基因从病人造血干细胞上去除并移植回病人体内,以期达到长期低毒生存的较佳状态;而在治疗肿瘤方面,邓涛团队与美国卡尔·朱诺团队分别在肺癌治疗、骨肉瘤治疗方面取得相关临床结果。

“这些基因编辑临床试验最大的风险是如何保证精确性。如果一旦剪错了基因,就容易出现脱靶风险。这类风险主要针对生殖细胞和胚胎干细胞编辑领域时更要关注和谨慎,而对于成熟T细胞等成体细胞的编辑,该类风险就小得多。”邓涛表示,“此次I期临床试验的主要目的,就是验证安全性和可行性,现在目标已达到。”

免疫细胞的惨烈之战。

“第二例患者具有细菌性肺炎的典型组织学特征,并伴有肺泡损伤。”陈德喜告诉科技日报记者,该患者组织样本中存有嗜中性粒细胞和活化的巨噬细胞的簇状浸润,成熟T细胞(CD45RA和CD45RO)的弥散性浸润,以及NK和DC细胞的散布性浸润,并伴有局部I型胶原蛋白的过表达。

嗜中性粒细胞是人体内抗细菌的主力,常见的伤口化脓实际上就是嗜中性粒细胞“牺牲”后的产物。因此,第二例样本中大量存在嗜中性粒细胞实属意料之中。“不同的是,与第一例患者相比,合并细菌感染肺组织中,CD45RO+T细胞募集更加明显。这表明,一旦发生细菌性肺炎,CD4+T细胞募集的某些吞噬细胞可能在肺损伤中起主要作用。”陈德喜表示。

此外,陈德喜团队还发现,危重症患者外周血中巨噬细胞增加,B细胞和T细胞数量显著降低。然而肺脏却显示出不同的结果,T细胞数量增加,表明人体抵抗新冠病毒时,血液和肺脏内部的免疫细胞可能存在重新分配的过程。

研究还表明,两名患者免疫细胞的浸润分布不同,I型蛋白的表达也不同,具有相互独立的细胞亚群分布,这也从一个侧面揭示了不同病人对于病毒的免疫反应存在个体性差异。

“我们期望通过分析两类新冠肺炎患者肺部的免疫学特征,能够对临床治疗方案提供相应的指导和提示。当然,后续还需要更多的研究揭示新冠肺炎患者的免疫反应过程。”陈德喜说。

## 封面故事

主持人:本报记者 陆成宽

## 大量样本分析发现 癌细胞内竟存在细菌

《科学》  
2020.5.29

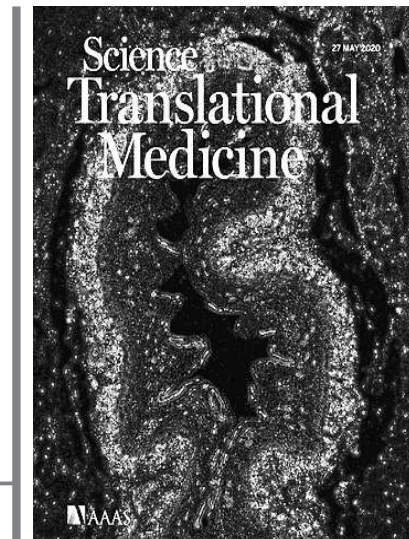
100年前,人类就在肿瘤中发现了细菌的存在,但它们的存在是对肿瘤有利还是对细菌本身有利还不清楚。为解决这一问题,以色列魏茨曼研究所的黛博拉·奈曼等研究人员分析了乳腺癌、肺癌、黑色素瘤、胰腺癌等常见的7种实体肿瘤样本,数量超过了1500份。他们发现,肿瘤内的细菌既存在于癌细胞内,也存在于免疫细胞内,而且细菌的组成会根据肿瘤的类型而变化。研究人员指出,不同的肿瘤有着不同的微生物组成。相比之下,乳腺癌肿瘤的微生物组更为多样和丰富。此外,研究人员也提到,这些细菌还和患者的吸烟史,以及对免疫疗法的反应有相关性。



## 一种缺特效药的食管炎 现在有了潜在治疗靶点

《科学·转化医学》  
2020.5.27

嗜酸性食管炎(EoE)是一种由食物免疫反应引起的疾病,目前缺乏普遍有效和持久的治疗方法。以前的研究表明,EoE中上皮屏障的破坏涉及丝氨酸蛋白酶抑制剂Kazal 7型的表达减少,美国辛辛那提大学的尼里·阿祖兹等研究人员现在研究了下游参与者潜在的治疗靶点。体外、体内和患者样本的研究表明,激活释放酶5(KLK5)及其底物蛋白酶活受体2(PAR2)是该通路的关键成分。这在EoE小鼠模型中也得到了证实:蛋白酶抑制剂在小鼠模型中对疾病有保护作用。这些发现表明,抑制蛋白酶活性可以恢复平衡,并缓解EoE病情。



# 细菌感染加剧新冠肺炎患者肺损伤? 新“合影”技术从免疫细胞中找到线索

实习记者 于紫月

提及新冠肺炎及其治疗方案,很多人第一反应便是抗病毒治疗。然而,临床中却发现,新型冠状病毒感染人体后,大肆破坏人体正常的免疫系统,引发多器官功能衰退,此时细菌也会趁虚而入,在免疫细胞和病毒的“混战”中“渔翁得利”。

细菌感染如何让新冠肺炎患者的肺脏雪上加霜?会因个体不同产生特异性结果吗?近日,北京佑安医院肝病研究所常务副所长陈德喜教授团队分析了两例新冠肺炎重症患者的肺组织样本,对肺组织免疫细胞类型及疾病进展过程中的肺损伤机理进行了探索性研究,致力于探



视觉中国供图

病理类型的肺组织免疫应答及炎症反应,研发团队采用了先进的成像质谱流式技术。

陈德喜介绍,传统的免疫组化分析测试技术往往一次只能检测一种标志蛋白,其中常用的免疫荧光技术最多也只能同时检测几种蛋白,成像质谱流式技术则在同期检测量上展现出显著优势。

成像质谱流式技术采用金属元素作为“标签”,可以实现同一视野下几十个标志物的同时检测,从而判读出细胞的种类或功能,就像是给多种不同类型的细胞“合影”,比传统方法的“单人照”更加准确而简便。迄今为止,将这种新型技术用在新冠肺炎免疫学研究的案例十分少见。

## 合并细菌感染 CD4+T 细胞或为肺部损伤“祸首”

众所周知,急性呼吸窘迫综合征是新冠肺炎主要的致死因素之一。研究发现,第一例患者的肺组织样本呈现弥漫性肺泡损伤、肺泡隔水肿、上皮细胞增殖等典型的急性呼吸窘迫综合征组织形态学特征。除了表现出CD4+T细胞和巨噬细胞的弥漫性浸润外,研究人员还观察到NK细胞的局部浸润。

CD4+T细胞是人体内免疫系统的“辅助手”,能指挥身体对抗病毒等外侵微生物。与之不同,NK细胞则是一类无需预先致敏就能非特异性杀伤病毒感染细胞的淋巴细胞。这些细胞的出现,表明第一例患者体内进行了一场病毒与

## 作物授粉和害虫防治 两者兼顾可少用农药

《植物科学趋势》  
2020.6

为减少昆虫在授粉时接触有害农药,人们一直在呼吁加速采用综合害虫管理(IPM)的方案。瑞典农业科学大学的保罗·伊根等研究人员认为,IPM并不是明确的“授粉者友好型”,必须加以调整以减少对授粉者的影响,并促进作物授粉害虫控制与生态系统服务之间的协同作用。为了协调这些不同的需求,研究人员引入了一个“害虫和授粉者综合管理”(IPPM)的系统框架,并强调了统一IPPM监测和经济决策过程的新工具。研究人员建议,在农业中越来越多地依赖杀虫剂和授粉者的情况下,需要IPPM来促进更加协调的、基于生态系统的可持续粮食生产战略。

