

# 生物产业动态

2016 年 第七期

( 总第九十五期 )

东莞市生物技术产业发展有限公司

## 目 录

|  |    |
|--|----|
| 国际动态.....                                | 1  |
| 日本研究使用 3D 打印技术生产血管等复杂组织.....             | 1  |
| NATURE   精准医疗最新综述，四类最有前景的生物标志物 .....     | 2  |
| 2016 年《财富》世界 500 强榜单出炉，上榜的医药企业都有谁？ ..... | 4  |
| 亚太成全球益生菌市场重要力量 .....                     | 5  |
| 国内动态.....                                | 7  |
| 中国天然植物提取物行业市场浅析 .....                    | 7  |
| 从欧美日法规思考我国 MAH 制度的趋势 .....               | 10 |
| 国家食品药品监督管理总局发布《网络食品安全违法行为查处办法》 .....     | 14 |
| 生物医药十三五规划制定完成，重点发展这些技术！ .....            | 16 |
| 专题报告——肿瘤精准细胞免疫治疗.....                    | 17 |
| 肿瘤精准细胞免疫治疗：梦想照进现实 .....                  | 17 |

## 国际动态

### 日本研究使用 3D 打印技术生产血管等复杂组织

目前，在再生医疗领域，日本多家科研机构在研究使用 3D 打印技术生产血管等复杂组织。佐贺大学将 iPS 细胞（人体诱导多功能干细胞）培育出的细胞群打印成管状结构，制成血管。京都大学利用 3D 打印技术制成包裹着神经的筒状组织，并将其移植到实验鼠身上，实现了神经的再生。日本政府预计到 2020 年前后，iPS 细胞将可用于治疗心脏病等疾病，正在加紧掌握与人体组织形状相近的人造立体组织移植技术。

iPS 细胞不仅被用于治疗眼部的疑难病症，未来还可能被用于治疗心力衰竭和脊髓损伤。在培育用于移植治疗的长血管和立体内脏时，管状和袋状的组织结构常需要使用很多细胞。研究团队认为，既然 3D 打印技术的原理是层层叠加树脂材料打印成立体作品，如果用细胞代替树脂，也可以打印出立体的组织。

佐贺大学教授森田茂树的研究团队将人类 iPS 细胞培养出可发育成血管的细胞群，并在多排细针组成阵列的微型基座上层层串起细胞，最后打印出长 2 厘米，直径 5 毫米的管状结构。

将管状结构细胞从细针上取下，内部使用培养液贯穿。数天后分化成不同种类的细胞会在内壁形成细胞层，最终形成血管。今后将在猪身上进行血管移植实验。

该研究使用了发源于九州大学的新创企业 Cyfuse 与涩谷工业合作研发的“Bio3D 打印机”。

目前有一种治疗心肌梗塞的方法是摘取患者的其他血管来替代被淤塞血管。但这种方法对体会造成很大的负担，使用人工血管容易造成再次淤塞，因此人们对 iPS 细胞制成的血管期待很高。

京都大学副教授池口良辅的研究团队使用可分化成皮肤等组织的细胞，制成长 8 毫米，直径 3 毫米的管状结构。将其移植到被切除部分神经的实验鼠的创口处，8 周后管内产生了神经连接，老鼠恢复行走能力。可见，筒状构造可培育长成神经的细胞，促进神经再生。计划 3 年后将该技术投入临床研究阶段。

## Nature | 精准医疗最新综述，四类最有前景的生物标志物

7月8日，《Nature Reviews Cancer》发表综述揭示了生物标志物在精准医疗领域中的发展现状，以肺癌为例概述了四种有前景的生物标志物，同时对国家级精准医疗研究面临的挑战进行解析。

### 精准医疗中四类最有前景的生物标志物

精准医疗依赖于生物标志物如何更好地将疾病风险、预后或治疗反应分类。生物标志物是指可以标记系统、器官、组织、细胞及亚细胞结构或功能变化以及可能发生变化的生化指标，可用于疾病诊断、判断疾病分期或者用来评价新药或新疗法在目标人群中的安全性及有效性等，具有非常广泛的用途。

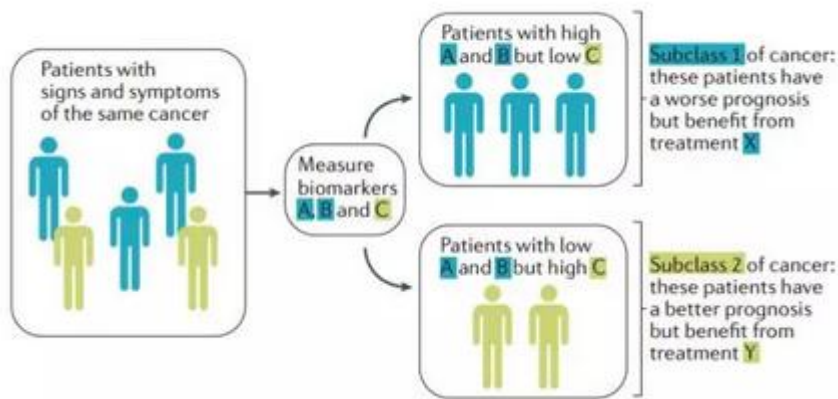
在本综述中，作者以肺癌为例概述了四类最有前景的生物标志物。传统上根据组织学将肺癌分为小细胞肺癌和非小细胞鳞状细胞癌或腺癌。1987年，研究人员在25%的非小细胞肺癌和50%的肺腺癌中确定了KRAS突变；2004年，研究人员在肺腺癌中发现了额外的突变——表皮生长受体（EGFR）；2004年，利用二代测序技术，研究人员确定了与肺癌相关的15种基因变化，这些变化有望为肺癌的治疗重新分类。

表：四类最有前景的生物标志物

| 生物标志物类型        | 以肺癌为例   |
|----------------|---|
| 肿瘤免疫和微环境生物标志物  | PD1、PDL1、VEGFA（血管内皮生长因子A）   |
| 遗传变异生物标志物      | KRAS、HER2、BRAF、MET、ROS1、RET、FGFR1（成纤维细胞生长因子受体1）、SRY-BOX2、PDGFRA（血小板源性生长因子受体-α）、DDR2（盘状结构域受体酪氨酸激酶2）、PIK3CA（PI3K的催化亚基-α）、PTEN、KMT2D/MLL2（一种组蛋白调控基因） |
| 上皮间质转化相关的生物标志物 | SLUG、FOXC2、TGFβ（转化生长因子-β）   |
| 治疗抗性和易感性生物标志物  | ERCC1、RRM（核糖核苷二磷酸还原酶）、TS（胸苷酸合成酶）  |

具有相同症状和体征的不同患者往往有不同的治疗结果，生物标志物可将同种癌症患者分为不同的类型，并利用鉴定生物标志物过程中收集到的大量数据对疾病进行预后判断。如图一所示，在I类患者中，对于那些携带与低生存率相

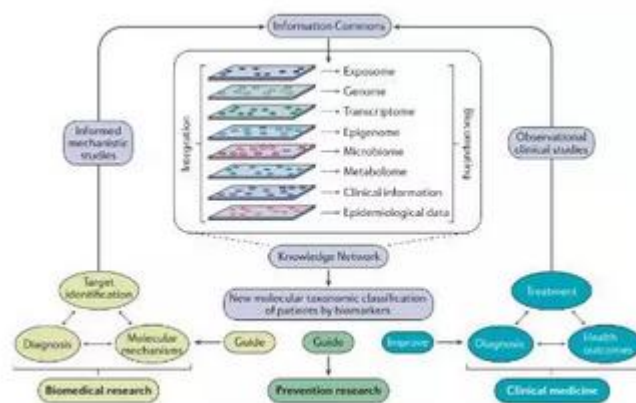
关生物标志物的患者（意味着有更差的预后），可采用攻击性更强的治疗方案（X 疗法），而对于那些携带与较好治疗效果相关生物标志物的患者（意味着有更好的预后），可采用攻击性不那么强的治疗方案（Y 疗法）。此外，在攻击性较强的疗法不适用的情况下，给预后较差的患者提供攻击性较低的疗法时，应告诉患者实情。



图一：生物标志物将患者重新分类

### 精准医疗中生物标志物发展面临的挑战

正如 2011 年美国国家医学研究委员会在精准医疗报告中所述：实现精准医疗必须先有两个“建立”：建立生物医学研究和疾病分类知识网络，建立信息共享中心让更多的研究者和医者共享成果。信息共享中心中应该囊括多方面数据，包括临床数据、人口统计学数据、流行病学数据、多种组学数据等。信息共享形成的知识网有助于预测疾病风险、疗效和预后等，从而有助于精准地将患者分类。对于新划分的患者类型，需进一步研究和随访，以确定最适合这类患者的护理标准。



图二：精准医疗研究策略

虽然近年来组学技术的发展加快了生物标志物的鉴定速度,但统计学强度低以及结果再现性率差阻碍了生物标志物的临床进程。实施精准医疗研究,需要收集大量的患者数据才能鉴定出可区分疾病风险和治疗反应的有效生物标志物,然而,研究人员、医疗机构等在数据收集中面临着很复杂的挑战,主要体现在以下几个过程:

1、收集、处理、运输和存储数以百万计的生物样本,并用不同的分子检测技术对样本数据进行分析;

2、收集电子病历数据,对不同类型的医疗记录和问卷调查数据进行整合,并储存数据;

3、分析不同来源的数据,包括问卷调查数据、分子检测数据以及电子医疗记录,慎重对待每类数据的优势和局限性;

4、结合不同学科的专业人员,包括临床医生、实验室研究人员、生物信息学家、生物统计学家以及律师;

5、在确保参与者的法律、道德及隐私问题得到保障的情况下,将所收集到的数据进行传播。

以精准医学为目的国家性研究受国家和地区资源的限制,对于上述的几条挑战,不同国家面临的压力不同。

## 2016年《财富》世界500强榜单出炉,上榜的医药企业都有谁?

7月20日,美国《财富》杂志发布了世界500强榜单。

不同于福布斯综合考虑年销售额、利润、总资产和市值,商业周刊排名仅限于发达国家,财富世界500强将世界各国企业依据收入作为企业排名的主要依据,因为《财富》的编辑们认为收入是衡量增长和成功最可靠、最有力证明、也最有意义的指标。

此次世界500强的医药企业共计15家,而去年仅有13家,新晋的两家分别是艾伯维和安进。生物谷小编整理了世界500强中医药企业部分榜单与大家分享。

| 2016年《财富》世界500强生物医药企业榜单 (单位: 百万美元) |      |                                      |          |         |    |
|------------------------------------|------|--------------------------------------|----------|---------|----|
| 排名                                 | 上年排名 | 公司                                   | 营业收入     | 利润      | 国家 |
| 18                                 | 30   | CVS Health公司 (CVS Health)            | 153290   | 5237    | 美国 |
| 52                                 | 66   | 美国快捷药方控股公司 (EXPRESS SCRIPTS HOLDING) | 101751.8 | 2476.4  | 美国 |
| 103                                | 118  | 强生 (JOHNSON&JOHNSON)                 | 70074    | 15409   | 美国 |
| 165                                | 178  | 拜耳集团 (BAYER)                         | 52436.6  | 4559.1  | 德国 |
| 167                                | 189  | 瑞士罗氏公司 (ROCHE GROUP)                 | 52390    | 9212.4  | 瑞士 |
| 175                                | 167  | 诺华公司 (NOVARTIS)                      | 51030    | 17783   | 瑞士 |
| 186                                | 211  | 辉瑞制药有限公司 (PFIZER)                    | 48851    | 6960    | 美国 |
| 205                                | 276  | 中国医药集团 (Sinopharm)                   | 44324.9  | 443.4   | 中国 |
| 233                                | 241  | 赛诺菲 (SANOFI)                         | 41460.3  | 4755.5  | 法国 |
| 246                                | 259  | 默沙东 (MERCK)                          | 39498    | 4442    | 美国 |
| 278                                | 309  | 英国葛兰素史克 (GLAXOSMITHKLINE)            | 36549.6  | 12867.2 | 英国 |
| 316                                | 478  | 吉利德科学公司 (Gilead Science)             | 32639    | 18108   | 美国 |
| 435                                | 455  | 阿斯利康 (ASTRAZENECA)                   | 24708    | 2825    | 英国 |
| 469                                | · ·  | 艾伯维 (AbbVie)                         | 22859    | 5144    | 美国 |
| 487                                | · ·  | 安进 (Amgen)                           | 21662    | 6939    | 美国 |

美国本土医药企业表现抢眼, 占了半壁江山 (8 家), 前三甲: CVS Health、美国快捷药品股份控股公司、强生也均为美国企业。

其中, CVS Health 排名第一, 营业收入 153290 百万美元, 利润 5237 百万美元。CVS Health 是美国最大的药品零售商, 在美国的 36 个州和哥伦比亚特区运营着超过 5, 400 家零售药店和专用药品店。

快捷药方公司排名第二, 营业收入是 101751 百万美元, 利润是 2476.4 百万美元。快捷药方公司是北美最大的药房福利管理公司之一, 其服务主要包括健身组织、健康保险、第三方管理者、雇员和由协会资助的福利计划。

强生虽然排名第三, 营业收入是 70074 百万美元, 但是利润确是前三甲中最高的, 高达 15409 百万美元, 作为一家产品多元化的医疗卫生保健品及消费者护理产品公司, 强生的生产及销售产品涉及护理产品、医药产品和医疗器材及诊断产品市场等多个领域。

中国医药集团是中国唯一上榜的医药企业, 是由国务院国资委直接管理的中国规模最大、产业链最全、综合实力最强的医药健康产业集团, 主业包括以预防治疗和诊断护理等健康相关产品的分销、零售、研发及生产, 拥有 11 家全资或控股子公司, 5 家上市公司: 国药控股、国药股份、天坛生物、现代制药、一致药业。据悉, 2003-2011 年, 集团营业收入年平均增幅 33%, 利润总额年平均增幅 44%, 总资产年平均增幅 35%, 2012 年实现营业收入超过 1600 亿元。

## 亚太成全球益生菌市场重要力量

随着人们对益生菌这种“好”细菌所具有的健康益处的认识不断提高，推动了全球益生菌市场的发展。而益生菌生产商也越来越真切地见证了亚太地区市场的重要性。

市场调研机构 BCC Research 公司指出，在未来 5 年中，整个益生菌市场的规模将会增长到 160 亿美元，到未来的 10 年末达到 500 亿美元，其复合增长率为 8%。

这家行业分析机构最近发表的一份报告预测，亚太地区市场将超越世界上所有地区，到 2020 年，其市场价值将增加到 192 亿美元，复合增长率达到 8.3%。

分析师 Aneesh Kumar 表示，日本是全球最大的益生菌消费国之一，并且这种消费正在以较高的速度增长。

日本已经是益生菌的一个成熟市场，其养乐多益生菌乳酸饮料早在 1935 年就在东京问世。日本从这种细菌中不断寻找到新的健康益处。比如，在今年 5 月份，一种含有干酪乳杆菌代田株的益生菌被发现可以降低压力。现在这种益生菌被推荐给即将参加全国性考试的日本医学院学生使用。

在日本市场继续推动益生菌消费的同时，BCC Research 公司预测，中国和印度等亚洲国家对益生菌的认识也在不断提高，这将进一步助推益生菌区域性市场的增长。2014 年，亚太地区的市场价值仅为 120 亿美元。在中国，婴儿配方奶粉领域尤其见证了益生菌的普及度在快速增长。

从全球范围来看，益生菌市场随着食品、饮料、膳食补充剂和动物饲料行业的发展而发生变化。而不断增加的健康问题，也推动人用和动物用益生菌市场的发展，这一领域不断取得的进步以及生产成本的大幅降低，也刺激着益生菌的消费。此外，食品和饮料行业的需求在不断增加，已经吸引了创业公司和小公司进入到益生菌行业。

2015 年，食品和饮料行业大约占全球益生菌市场 73% 的份额，预计到 2020 年，这一行业将继续保持它的主导地位。届时，食品和饮料行业预计将为全球益生菌提供 365 亿美元的销售额。与此同时，根据 BCC Research 公司提供的数据，到 2020 年，作为膳食补充剂用途的全球益生菌市场的价值应该达到 88 亿美元。在临床上，益生菌膳食补充剂被用来预防泻、便秘以及其它各种病症。



而到了 2020 年,用作动物饲料的益生菌将为整个市场贡献近 47 亿美元的销售额,益生菌之所以已受到畜牧业的欢迎,是因为行业日益认识到,益生菌能够提高动物的免疫力,并改善动物的健康状况。

## 国内动态

### 中国天然植物提取物行业市场浅析

根据 2015 年中国医药行业分析报告,改革开放以来,我国医药工业发展迅速,整个制药行业年均增长 17.7%,高于同期中国工业年均增长速度,同时也高于发达国家主要制药国近 30 年来的平均发展速度,未来我国医药行业最重要的特点就是化学药物、天然药(中药)和生物药品三分天下,其中传统化药制药增长速度逐步放慢,天然(中药)和生物药品成为新的增长点。

我国的天然药(中药)主要有中药材、植物提取物和中成药三种形态,中药材是最初级、附加值最低的中药产品,位于相对加工上游的位置,而中成药是深加工产品,附加值最高,但限制于制药技术、国际认同等诸多原因,位于中游的植物提取物反而在近年来比重大幅上升,市场前景可期。

#### 国内市场

我国的植物提取物厂家生产经营分散,多以中小企业为主,也有十几家规模较大的企业,如西安天成、康恩贝、九汇、千金方、青海湖药业等等,主要分布在陕西、浙江、湖南、四川、云南、广西及其他地区,国家对植物提取物采取鼓励政策,为其颁布了 GAP(道地药材与中药材生产质量管理规范)和 GMP(生产质量管理规范)等相应的标准依据,同时也出台了《新药审批办法》,将中药材中提取的有效成分和复方提取的有效成分列为一种新药。

很多植物提取物厂家的产品会出口亚洲、北美和欧洲,但随着近年来,我国经济的不断发展,追求自然、天然健康的生活理念逐渐深入人心,加之屠呦呦获得了 2015 年的诺贝尔生理或医学奖,我国传统中药重新受到追捧,国内市场辽阔,尤其是植物提取物作为采用了先进的工艺(如酶法提取、超声提取、超临界

萃取、微波萃取、膜分离技术等)和质量检测技术(气象、液相,重金属残留,微生物检测)充分体现了中药现代化的要求。

### 严格的质量标准

青海省青海湖药业有限公司是伊禧堂旗下产业,位于青海,拥有中药饮片、精制中药饮片、中药颗粒、以及特色药茶和草本饮品等多条产品线。青海湖药业负责人告诉生物谷记者,以其特色产品甘草为例,为保证植物的质量均一、稳定:

1、对国内以及国外部分地区进行实地考察取样,并长时间跟踪取样,确保甘草中主要成分的含量稳定,确定了新疆南部地区以及阿富汗地区的甘草为原料,并在当地就近建立酸粉提取厂;

2、与采收植物的草农建立长期合作关系,确保植物的收割质量,并建立严格的收购标准。

3、自己建立种植基地,从种子开始控制质量。

4、采用先进的技术手段对提取的产品进行加工处理,使其质量稳定、均一。

产品的质量检测采用国内外药典和行业标准或者根据客户的要求制定企业内控标准,无论提取的产品是用于药品、食品还是化妆品,都对重金属残留,微生物等进行检测并严格控制存存量。

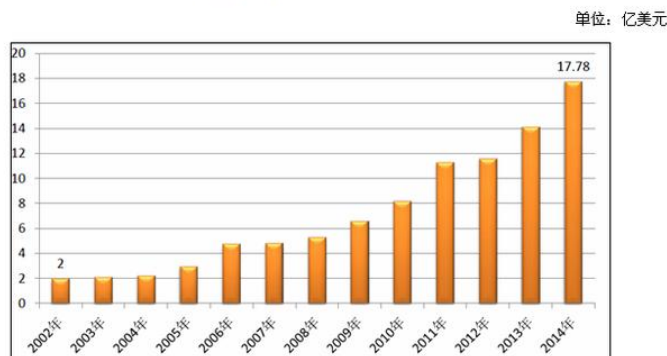
### 开辟保健品新市场

近年,CFDA颁布的《食品安全法(修订草案)》第五十六条规定:对在我国首次上市新品种、使用新原料和首次进口的保健食品实行注册管理;对其他声称具有特定保健功能的食品实行备案管理。将相当一部分保健食品的注册管理由“审批制”改为“备案制”,保健食品迎来“双轨制”的特色管理,减少行政审批的同时加强了市场的监管,对于丰富产品线控制食品安全提供了切实保障,也必将为植提物未来市场发展打下坚实的基础。

当集安全、有效、质优于一身的植提物迎来追崇天然、健康、回归自然的消费理念,产品与理念的高度匹配,必然促进植物提取物行业的进一步发展,但同时,机遇中也孕育着挑战,若植提物企业想要占据更多市场份额,也必然需要加大研发力度,提高科技水平,优化生产工艺,配置自动化设备,加工高品质产品素材,研制出更科学、更合理、更有效的保健食品,满足不同消费者需求,精细化管理,将服务做到最优。

## 国外市场

图表 2002-2014 年我国植物提取物出口规模



数据来源：国家海关总署

近年来，医药行业的发展遭遇了诸多困难，但是“植物提取物产业”，无论是出口还是内销，却逐渐地成为中药行业发展中最为迅速的一个产业。根据海关数据，2002 年我国植物提取物行业出口额仅为 2 亿美元，至 2011 年便已突破 10 亿美元大关，达到了 11.30 亿美元。2014 年我国植物提取物出口额跃升至 17.78 亿美元，同比增长 25.88%，发展速度快。

### 国外植物提取物市场走俏

20 世纪 80 年代初，欧美等发达国家掀起了回归大自然的热潮，人们对具有副作用的人工化合物关注度提升，转而追求天然、安全的植物提取物，1994 年，美国颁布了《膳食补充剂健康与教育法》，正式认可接受植物提取物作为一种食品补充剂使用，德国在立法程序上允许植物提取物作为处方药进行登记，《欧洲药典》则提出了提取物通则，对植物提取物以及纯化提取物的质量标准进行了规范分类。

其中，我国出口美国的产品则主要用于膳食补充剂和食品添加剂，出口日本的植物提取物主要用于保健食品与汉方药的生产，对印度出口产品主要是天然色素以及香精香料类产品，对韩国的出口主要是保健用植物提取物产品，对德国的出口主要是芦丁等药用植物成分。

### 更加精细化的发展方向

青海省青海湖药业负责人告诉生物谷记者：“与国内市场相比，国外市场准入门槛越来越高。欧盟企业大部分参照《欧洲药典》，其规范分类已很细致，按内在质量分为量化提取物、标准提取物和纯化提取物，还在作进一步的规范研讨，

总起来讲国内外市场的客户要求也越来越高，也促使我们必须提高产品品质，是符合市场发展趋势的。”

不同于原料药的出口，我国出口的植物提取物产品多经进一步加工，国外市场更加青睐单体成分，尤其是有效成分，进一步提高植物提取物产品的附加值，在带来更高利润的同时，也对我国的植物提取物厂家提出了更高的要求，同时，出于增强抗风险能力和增强自身研发投入能力，产业内频繁加快整合重组，也加快了我国这一行业的洗牌，目前，我国的植物提取物行业也改变了发展策略，国内市场之前一直倾向于粗提物，近几年也开始向单体成分方向移动。

### 结语

植物提取物作为刚性需求的产品，世界很多国家，包括主要经济体，对其需求旺盛，再加之中国潜力巨大的保健品市场的开放，植物提取物市场内在驱动力非常强劲，在国内市场和国外市场同时拉动的情况下，植物提取物产业的未来发展前景可期。

## 从欧美日法规思考我国 MAH 制度的趋势

随着我国上市许可人(MAH)制度试点省市审批体系的逐步执行，我国将在短期内并行两种药品上市审批体系：一是我国原有的药品上市许可和生产许可相“捆绑”的管理制度；二是学习欧美日等国家实行的生产许可和上市许可相分离的药品上市许可人制度。

### “捆绑”的弊端

药品上市许可和生产许可相“捆绑”的管理制度常见的弊端有三点。

一是限制了新药研发的积极性。新药开发是需要长期资金投入的工作，药品上市许可和生产许可相“捆绑”的管理制度，会导致研发机构无法拥有最终成果和市场权益最大化，从而使得大多数研发公司乃至生产企业更注重短期利益，做短平快的项目，例如化学药旧 3.1 类药品的争抢注册。

通过技术转让获得项目的生产企业，亦受利益驱动而忽略技术的重要性，于是往往由于项目的技术信息不对称，导致最终项目成果质量一般。最近的一致性评价所反馈的信息也可以证明上述观点。

二是批准文号大量闲置，大量浪费评审资源，也导致生产设备的闲置率过高。从国家供给侧改革的角度，大量不生产的“僵尸批文”及其背后“闲置”的生产资源正是改革的目标。对于我国药监部门而言，“僵尸批文”的再注册工作极大浪费了有限的注册审批资源。

三是“隐性持有批准文号”现象。药品批文所在的药品生产企业有可能只是药品的加工者，持有人有可能是研发机构、商业公司甚至个人。从现有的批准文号数据库中难以获知药品批准文号的真正持有人。往往在发生安全问题或利益分配不均需要通过法律途径等手段解决时，产权的持有人与委托方的关系才浮出水面。

值得注意的是，这些委托生产所产生的“产权纠纷、安全责任不清”问题难以通过法律途径解决。消费者安全性的权益亦难免由于责权不清晰且责任主体之间互相扯皮、互相推诿而无法得到保障。

依据我国现有关于合同制度的规定，在发生药品委托生产违约责任认定时，存在以下困难：一是违约责任主体之间关于药品委托生产合同条款认识的偏差导致违约责任认定不清。由于药品的委托生产工艺的复杂性，很多情况下如果事先并未将相关的数据资料记录保存妥当，一旦发生药品事故时，双方的责任很难认定，容易出现相互推诿的情况。二是合同任意性使得各方主体出于自身利益的考虑，通过设定不当免责条款，减轻自身责任，不利于药品安全性的保障。

其中的关键点在于，我国委托生产从明令禁止到监管制度逐渐完善的过程中，配套法规未能跟进，以明确生产者、研发者、销售者等其他相关责任主体的法律责任。

### “他山之石” 适否？

建立药品上市许可和生产许可相分离的管理制度，成为我国药品上市许可制度改革发展的自然选择和必然趋势，那么是不是实施 MAH 许可人制度就能解决以上矛盾呢？毕竟我国不同于欧美日等发达国家，制药企业众多、企业发展参差不齐、诚信道德体系尚不完善，制药企业造假而导致的药品安全风险事故时有发生，完全照搬欧美日等国较为成熟的经验来建立我国的 MAH 制度可行吗？

### 欧美 VS 中国：社会和行业背景

在欧美，申请人提交了具体某一产品的上市申请后，若通过审批，申请人便成为“上市许可持有人”，每种产品都有一个对应的上市许可持有人。如果我国照搬欧美的制度，亦即将药品上市许可和生产许可分成两部分进行管理，并扩大持有人范围，不再要求上市许可申请人必须是生产企业，非生产企业只需在提交申请时，提交其委托生产企业相关材料即可。

在我国现有状况下，这种改革较容易实现，改革难度和程序变动相对较小。同时，将申请人范围扩大，不对申请人做过多限制，更有利于医药行业市场化发展和竞争。

不过，我国国情不同于欧美，欧美制药行业集中度很高，整体社会诚信道德体系相对完善。此外，我国的政策执行难度还在于 MAH 潜在申请人的研发实力差距较大、责任承担能力难确定，在这种背景下，要面对如何更有效率地对数量激增的 MAH 申请人的资格进行认定，在批准后如何对申请人进行监管等问题。

### 日本 VS 中国：配套制度

日本 2005 年药事法的改革或许能给我们带来启示。日本药品上市的法规与我国相似度较高，是我国药事法规体系常常会借鉴的国家之一。

2005 年，日本建立该国特有的 MAH 制度。在此之前，日本与我国目前的审批制度基本类似，也是生产和上市捆绑在生产厂家一方的审批制度；2005 年新规则将生产许可和上市许可的申请相互独立，产品的上市许可申请由 MAH 提出。

与欧美不同的是，日本直接提出了“上市许可人执照”这一制度，MAH 必须首先从日本厚生省部长或县地方长官获得正式批准和/或许可证，拿到某一类的 MAH 执照后，才可以提出具体产品的上市申请。

日本规定 MAH 必须在日本境内且要符合药品质量管理规范 GQP 和药物警戒规范 GVP 的要求，即 MAH 必须能够保证其产品质量。

MAH 必须设置 3 名有资质的全职管理者：销售管理、质量保证和上市安全控制。其中，销售管理对 MAH 的职责进行总监管，确保良好的营销以及产品质量和安全标准。质量保证主要负责依据 GQP 检查产品质量，监管运输和出入库，并且把生产和质量控制过程中的变动信息通报给厚生省，为每种产品建立和确定发放标准，一旦产品召回，其要处理所有必要的信息沟通。上市安全控制主要负责

GVP 规范实施，在产品上市后监管产品安全，如果有任何不良反应或召回发生，负责将信息报告给日本厚生省。

由此可见，日本在进行《药事法》改革同时，对 GVP、GQP、GSP、上市后再审查、不良反应责任救济等多项配套制度进行完善，为上市许可和生产许可的分离奠定坚实的制度保障基础。

而我国目前 MAH 相应配套制度尚未完备，对 MAH 资格准入的要求还在摸索之中。同时，我国不同类型企业的发展规模参差不齐，设立相应的标准及准入难度较大。对仅从事研发的机构而言，设立上市后安全责任机构存在一定困难。此外，完善相应的保障体系，目前也面临较大的难度，需要国家从各方面去保障 MAH 责任承担能力，最大限度地保护消费者权益。

在我国，MAH 作为一项新的制度，其实施还需要配套措施跟进，特别是《药品管理法》等法律法规的修订，需理清各方职责。当前我国医药监管与保险等整体保障体系尚不健全的情况下，这项制度所涉及的监管有效性、药品安全、风险分担等社会问题，更是试点省份需要关注的。

### 配套制度进行时

其实，我国对 MAH 制度的配套政策也正在推进之中。

7 月 7 日，CFDA《总局关于做好药品上市许可持有人制度试点有关工作的通知》（食药监药化管[2016]86 号）重申了药品上市许可持有人需履行法律规定的主体责任，包括：药物研发符合《药物临床试验质量管理规范》（GCP）、药品生产质量管理、流通质量管理以及上市后质量监测与评价、不良反应监测、上市后研究、风险获益评估等责任；负责督促受托生产企业严格按照《药品生产质量管理规范》（GMP）的有关要求组织生产，并配合持有人履行上市后的监测、评价及召回、处置等责任。对于违反《药品管理法》等法律法规和《试点方案》有关规定的持有人及受托生产企业，持有人所在地省（市）药品监督管理部门应当依法查处，追究相关责任人的责任。

MAH 的合同模版也是试点省份企业所关注的。因为申请人委托生产药品的，在提交上市注册申请或者之后提交补充申请申报持有人信息时，须提交申请人与受托生产企业签订的书面合同以及相应的技术资料等。

除了签约金与销售分成等利益分配内容,笔者预计合同的关注点还包括:(1)受托生产企业的真实信息及产品生产场所;持有人的情况;(2)合同主体责任,包括生产的药品质量标准要求和生产监管职责;(3)药品流通前后质量保证、监督控制、产品状况记录;(4)药品流通条件保障,委托生产过程中涉及医疗机构、流通主体的资格及义务;(5)合同相关的技术资料,生产工艺的操作标准和程序;(6)受托生产企业的告知义务,包括对药品生产条件的变更、生产工艺的变更、药品生产许可内容的变更、临床实现效果的变更等;(7)受托生产企业对生产过程中发现的药性偏差情况、对产品不利影响等因素承担告知义务;(8)许可人对药品委托生产进行监督检查,并承担药品委托生产检查责任;(9)受托生产企业与持有人关于认定偏差的处理等。

合同更多的细节规定仍待 CFDA 进一步的规范。

## 国家食品药品监督管理总局发布《网络食品安全违法行为查处办法》

为贯彻落实《食品安全法》,规范网络食品交易行为,保证网络食品安全,2016年7月13日,国家食品药品监督管理总局毕井泉局长签署第27号令《网络食品安全违法行为查处办法》(以下简称《办法》)。该办法于2016年10月1日起施行,具体内容包括:

一是强化平台和入网食品生产经营者义务。《办法》明确了网络食品交易第三方平台提供者和通过自建网站交易的生产经营者备案、保障网络食品交易数据和资料可靠性、安全性以及记录保存交易信息等义务。规定了网络食品交易第三方平台提供者建立登记审查等制度、建立入网食品生产经营者档案、检查经营行为、发现入网食品生产经营者严重违法行为时停止提供平台服务等义务。

二是细化严重违法行为的具体情形。《办法》明确网络食品交易第三方平台提供者发现入网食品生产经营者因涉嫌食品安全犯罪被立案侦查或者提起公诉的,因食品安全犯罪被人民法院判处刑罚的,因食品安全违法行为被公安机关拘留或者给予其他治安管理处罚的,被食品药品监督管理部门依法作出吊销许可证、责令停产停业等处罚的应当停止向其提供网络交易平台服务。



三是明确违法行为的管辖。《办法》规定对网络食品交易第三方平台提供者食品安全违法行为的查处，由平台提供者所在地地县级以上地方食品药品监督管理部门管辖；对入网食品生产经营者的查处，由入网食品生产者所在地或者生产经营场所所在地县级以上地方食品药品监督管理部门管辖。因网络食品交易引发食品安全事故或者其他严重危害后果的，也可以由网络食品安全违法行为发生地或者违法行为结果地的县级以上地方食品药品监督管理部门管辖。消费者因网络食品安全违法问题进行投诉举报的，由网络食品交易第三方平台提供者所在地、入网食品生产者所在地或者生产经营场所所在地等县级以上地方食品药品监督管理部门处理。

四是强化调查处理职责。《办法》规定食品药品监督管理部门，对网络食品安全违法行为进行调查处理时，可以进入当事人网络食品交易场所实施现场检查；查阅、复制当事人的交易数据、账簿以及其他相关资料；调取网络交易的技术监测、记录资料。

五是细化抽样程序。《办法》规定食品药品监督管理部门通过网络购买样品进行检验的，应当按照相关规定填写抽样单，记录抽检样品的名称、类别以及数量，购买样品的人员以及付款账户、注册账号、收货地址、联系方式，并留存相关票据。检验结果不符合食品安全标准的，食品药品监督管理部门应当及时将检验结果通知被抽样的入网食品生产者。通过网络食品交易第三方平台购买样品的，应当同时将检验结果通知网络食品交易第三方平台提供者。

六是明确了责任约谈的情形。《办法》规定网络食品交易第三方平台提供者和入网食品生产者有下列情形之一的，食品药品监督管理部门可以对其法定代表人或者主要负责人进行责任约谈：发生食品安全问题，可能引发食品安全风险蔓延的；未及时妥善处理投诉举报的食品安全问题，可能存在安全隐患的；未及时采取有效措施排查、消除安全隐患，落实食品安全责任等情形。

七是强化了法律责任。《办法》规定网络食品交易第三方平台提供者未履行相关义务，导致发生严重危害后果的，由食品药品监督管理部门依照食品安全法责令平台停业，并将相关情况移交通信主管部门处理。《办法》还细化了“严重后果”情形：致人死亡或者造成严重人身伤害的；发生较大级别以上食品安全事故的；发生较为严重的食源性疾病的；侵犯消费者合法权益，造成严重不良社会

影响等。《办法》还明确网络食品交易第三方平台提供者未按要求建立入网食品生产经营者审查登记、食品安全自查等制度的或者未公开以上制度的，由县级以上地方食品药品监督管理部门责令改正，给予警告；拒不改正的，处 5000 元以上 3 万元以下罚款。

## 生物医药十三五规划制定完成，重点发展这些技术！

记者日前从权威渠道独家获悉，生物医药“十三五”规划已基本制定完成，按照相关工作流程，这一规划将在今年下半年正式出台。根据规划，“十三五”期间我国生物医药产业将重点发展重大疾病化学药物、生物技术药物、新疫苗、新型细胞治疗制剂等多个创新药物品类，同时发展生物 3D 打印技术等重大医疗技术。

根据规划，抗肿瘤、抗抑郁、糖尿病、肾病、心脑血管病等药物将是“十三五”期间重点发展的新药品类；在临床中有巨大应用前景的蛋白及多肽药物、新型细胞制剂等生物医药制剂也将得到优先发展；此外，生物 3D 打印、大分子药物、干细胞、基因等前沿性生物医药技术，在未来五年也将得到长足发展。

此外规划还提出，加快专利到期药物仿制上市。针对防治重大疾病或突发疫情等用药需求，仿创结合、系统集成，研制 20 到 30 个临床需求巨大的药物品类，并切实解决产业化问题，满足临床用药的急迫需求，到 2020 年国际专利到期的重要药物 90%以上实现仿制生产。

值得注意的是，生物医药“十三五”规划除了对“十三五”期间药物品类的研发和技术发展作出详细部署外，还对整个生物医药产业提出了新的发展目标，即进一步促进整个产业的国际化发展。根据规划，到 2020 年，要推动一大批生物医药企业实现药品质量标准与体系与国际接轨，其中至少 100 家药品制剂企业取得美、欧、日等发达国家和 WHO 认证，并实现药品出口；按照国际药品标准、研制并推动 10 到 20 个化学药及高端制剂、3 到 5 个新中药、3 到 5 个新生物技术药在欧美发达国家完成药品注册，并加快其进入国际市场。

规划还提出，到 2020 年，推动 3 到 5 家基础好的大专院校与制药企业联合建立具有高技术水平和研发能力的大型医药研发基地，同期建立国家级转化科学中心和协同创新中心，突破 10 到 20 项重大核心关键技术，初步建立国家药物创

新体系和创新团队，并使我国制药工业体系达到国际先进水平，并促成部分重点医药企业在国际市场站稳脚跟，力争国际销售收入平均突破百亿元水平。

国家制造强国建设战略咨询委员会向《经济参考报》记者介绍，发展生物医药产业意义重大。一方面，我国生物医药市场巨大，目前我国是全球第二大医药消费市场，2014年我国药品市场纯销售额已突破1.5万亿元。当前我国已进入老龄化社会，65岁以上人口超过1.2亿，医疗需求快速增长，将对我国生物医药产业未来发展提出新的要求；另一方面，虽然我国生物医药产业规模庞大，到2014年全产业销售额接近2.5万亿元，但我国药物的自主研发仍很薄弱，药品生产以仿制为主，原创性药物较少，生物医药关键技术也和国际水平有较大的差距。因此，培育发展生物医药产业，并力促整个产业涉足国际竞争，将成为提升我国生物医药产业整体发展水平和竞争力的关键。

为了能在“十三五”期间达到上述规划目标，规划还提出了多项战略支撑和保障措施。其中包括：遵照国际规范的药物临床试验质量管理规范(GCP)和药物非临床研究质量管理规范(GLP)，建立或标准化国际前沿的各项新药临床前和临床评价关键平台；优化和完善新药物优先评审和快速审批政策，强化审批检验人员队伍的扩充；细化落实国务院《关于改革药品医疗器械审评审批制度的意见》，保障新药审批。

招商证券等券商研报指出，生物医药产业作为我国确定的七大战略新兴产业之一，有巨大的现实意义和经济意义。一方面，加快发展生物医药产业，将进一步满足我国人民不断增长的卫生健康服务需求；另一方面，作为重要的产业，生物医药领域和化工等基础制造业部门息息相关，提升生物医药产业的整体发展水平，对促进上下游产业、带动化工等传统行业转型升级也有着巨大促进作用。

## 专题报告——肿瘤精准细胞免疫治疗

### 肿瘤精准细胞免疫治疗：梦想照进现实

自2015年1月20日美国总统奥巴马高调宣布启动“精准医疗计划(Precision Medicine Initiative)”以来，全球范围内掀起一股精准医疗热。

在国内，精准医疗也风生水起，受到业内学者、药企代表、患者等相关人群的广泛关注。精准医疗本质上是一种更为精确的个性化医疗，非常适用于恶性肿瘤的临床治疗。而相对于其他精准医疗策略，精准细胞免疫治疗（precision cell immunotherapy, PCIT）具有开发周期相对较短、投入相对较低的优势，适合我国的国情，具有巨大的应用前景，有望成为我国恶性肿瘤精准医疗的一大突破口。

### 精准医疗是肿瘤临床治疗的必然趋势

精准医疗（precision medicine）是通过基因组、蛋白质组等组学技术和医学前沿技术，对疾病进行精细分类及精确诊断，从而对疾病和特定患者进行个性化精准疗的新型医学概念与医疗模式。2011年，在“人类基因组计划”完成近10年后，这一概念由美国著名基因组学家Olson博士在其参与起草的美国国家智库报告《走向精准医疗》中首次提出。精准医疗模式集合了诸多现代医学科技发展的知识与技术体系，体现了医学科学发展趋势，也代表了临床实践发展的方向，将带来一场新的医疗革命并将深刻影响未来医疗模式。正是基于此考虑，2015年1月20日，美国总统奥巴马在白宫高调宣布启动“精准医疗计划”，拟通过分析100万名志愿者的基因信息，研究遗传性变异在疾病发生发展中的作用，了解疾病治疗的分子基础，为药物研发与患者“精准治疗”明确方向，以推动个性化医疗的发展，并希望以此“引领一个医学新时代”。

在美国提出的精准医疗计划中，恶性肿瘤的精准医疗是“重中之重”。美国国立卫生研究院下设的国家癌症研究所，将接受重点资助开展解码肿瘤基因及开发精准治疗研究。那么，为什么要从肿瘤着手开展精准医疗计划呢？诚然，这与当前日趋严峻的肿瘤防治形势相关，另一个重要的原因是提升肿瘤疗效的迫切需求。众所周知，肿瘤本质上是一种由一系列基因变异的积累导致的复杂遗传疾病，这意味着肿瘤的基因组是动态变化的，且存在着高度异质性。不同的疾病进展阶段以及不同的肿瘤细胞可能携带不同的变异信息，从而对以大规模人群为基础开发和测试药物的治疗模式构成了颠覆性挑战。据一项覆盖9个国家和地区的1217例患者的泛亚洲科研显示：如果没有基因检测鉴定相关的靶标却接受了靶向治疗，死亡风险将增加185%。而新一代测序技术能够无假设、高分辨率地分析基因组，获知这些不同的变异信息，能为制定更具针对性和有效性的防治措施

提供准确依据，指导医生对患者采取个性化用药。基于上述原因，精准医疗模式已然成为癌症治疗刻不容缓的任务，是恶性肿瘤治疗的大势所趋。

在具体操作中，肿瘤精准医疗通常可划分为以下三部曲：基因检测，大数据分析和用药指导。第一步，基因检测是患者变异信息的获知过程，如通过高通量测序方法获得肿瘤单核苷酸有义突变、拷贝数变异、基因移位和融合基因等海量基因变异信息，该环节中相关检测技术的精确性及所检测对象（如肿瘤组织标本）所反映信息的全面性是关键。第二步，大数据分析是相关变异信息的解码与提炼过程，即从海量的组学数据中抽丝剥茧、去粗存精，提取有价值信息，发挥前后两个环节之间承上启下的作用，该环节相应分析模型与分析方法的精确性是关键。第三步，用药指导是以大数据分析结果作为参考，制定因人因病而异的治疗方案的过程；而治疗的结果也可以反馈到第一个环节，通过新的环路保证治疗能随病情的变化而做出相应的调整。候选药物可涵盖所有类型恶性肿瘤临床用药，甚至用于其他疾病治疗的药物。该环节中，可供选择的治疗药物的丰富度直接关系到实施精准医疗治疗的成败。

精准医疗直指恶性肿瘤临床治疗的软肋，其好处不言而喻，已在临床治疗中越来越显现其价值。然而，每个患者多个癌细胞在癌变过程中与之相关的基因突变位点有成千上万处，而其中起决定性作用的基因突变往往不足十处，如何从每个患者成千上万处体细胞突变中找到每个肿瘤细胞真正的阿喀琉斯之踵，即引发癌变的关键基因，并非是一件容易的事；由于肿瘤的异质性，同一肿瘤患者不同癌细胞的基因突变并不一定相同，不同关键基因突变的随机组合，导致癌症治疗难度大为增加；更为严重的事是癌症细胞周期检查点已破坏，各种新突变及融合基因仍在不断累积，这些新突变及融合基因可能会破坏这些靶向药物的靶点及其下游信号，从而使靶向治疗药物失效。因此，看似已抑制了关键基因，但癌症细胞又建立新的关键基因并产生旁路。按精准医学模式，希望将癌症变为一种慢性病，但从发现靶点—使用靶向药物—靶点突变或建立新旁路—癌症复发—寻找新靶点—使用新靶向药物，这种反复的猫捉老鼠的游戏，传统药物开发手段难以开发满足所有变异信息的治疗药物，同时肿瘤基因突变的速度可导致费尽心思寻找到的药物在几个月时间内失效，患者只能辗转于不同药物的变换，对患者家庭乃

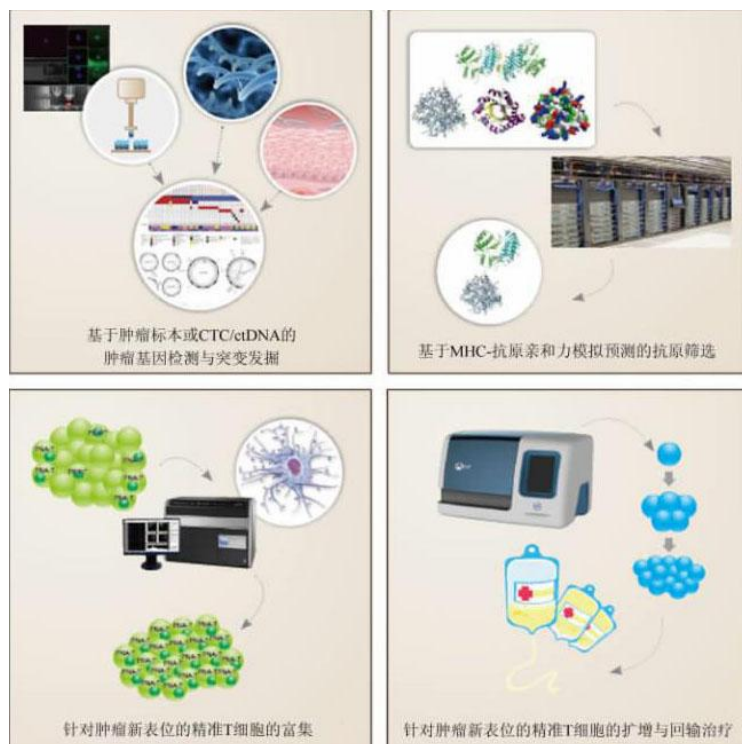
至整个医疗保险体系造成巨大经济负担。肿瘤精准医疗的这一系统性缺陷应值得引起充分的重视。

### 精准细胞免疫治疗是肿瘤精准医疗的重要突破口

人类的免疫系统具有高度的特异性，能正确区分正常和恶性细胞，能以高度的敏感性和特异性识别“非自我的”分子或细胞，功能正常的 T 淋巴细胞能通过其细胞表面 TCR 受体 (T cell receptor) 正确识别 肿瘤细胞中“非自我”改变，清除肿瘤细胞。因而，从这个意义上说，通过激活、修复、改构、甚至重建患者抗肿瘤免疫细胞反应的治疗方法，尤其肿瘤细胞免疫治疗，天然具有精准治疗的特征。通过激活患者体内残存肿瘤特异性 T 细胞的治疗方式，已被证实具有良好的临床疗效。更值得庆幸的是，不同 T 细胞所携带的 TCR 受体千差万别，具有高度的多样性，为实施针对不同肿瘤变异信息的精准医学治疗提供了足够的广度。而且，免疫细胞来源于患者自体，作为一种“活的药物”，具有自主性与自我适应能力，能有效缩短开发时间。因而，精准细胞免疫治疗有望成为肿瘤精准医疗的一个重要突破口。

本文定义的精准细胞免疫治疗是通过高通量基测序及大数据分析，获得针对癌细胞特异性新抗原 (neo-antigens) 和具有高效应的精准 T 细胞 (precision T cell for neoantigen, 简称为 PNA-T)，富集 PNA-T 细胞对肿瘤患者进行精准免疫治疗。涉及的步骤 (图 1) 包括：(1) 基因检测：高通量基因检测手段获取患者的癌细胞特有的基因变异信息 (包括突变、融合基因等)，从中筛选出能高效激活免疫反应的肿瘤特异性新抗原，这种新抗原可以来自细胞核、细胞质、细胞膜任何部位；(2) 免疫靶点的筛选：根据患者的主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 分型，寻找能引发强烈免疫的新表位 (neo-epitopes)；(3) 寻找并富集针对新抗原表位的 PNA-T 细胞：主要通过负载新表位的树突状细胞 (dendritic cells, DC) 刺激，标记后的 MHC-新表位耦联体流式/磁珠分选富集 PNA-T 细胞，克隆 PNA-T 细胞的 TCR 基因，通过转基因修饰手段快速获得转基因 PNA-T 细胞；(4) 过继细胞回输治疗：大量扩增 PNA-T 细胞，实施过继回输治疗，并跟踪 PNA-T 细胞的变化规律与肿瘤关系。因而，肿瘤精准细胞免疫治疗是更为个性化的免疫细胞治疗技术，属于第三代免疫细胞治疗技术 (三代免疫细胞治疗技术的比较见表)。

虽然肿瘤精准细胞免疫治疗是一个新概念,但该领域内研究者已进行了一些探索研究。2013年,rosenberg领导的团队率先采用外显子测序技术,鉴别在患者中表达的突变蛋白,并用一种MHC分子-抗原表位亲和力算法进行模拟预测评估,进而合成候选的抗原表位,开展免疫反应验证。通过此方法,研究人员能快速鉴别出了在患者肿瘤细胞上表达,能被肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL)识别的突变抗原。2014年,Rosenberg团队将该方法成功应用到临床,他们通过高深度外显子测序技术、免疫反应功能验证,筛选出一位转移性胆管癌患者的高频突变基因,并鉴定到其对应的TIL克隆,通过大量扩增该TIL克隆并实施回输治疗,使患者的病情得到有效控制。2014年底,另一个研究团队联合应用外显子测序技术、转录组测序技术、高通量蛋白质谱分析技术,及MHC分子-抗原表位亲和力模拟预测技术,寻找到能被T细胞识别从而高效激活免疫反应的多肽疫苗,该个性化肿瘤疫苗兼具预防性疫苗与治疗性疫苗的效能。笔者研究团队作为全国第一家获得细胞治疗应用批文的单位,对精准医疗在免疫细胞治疗方向中应用的重要性具有深刻的体会,前瞻性地开展了精准细胞免疫治疗的技术开发,搭建了高通量测序平台,采用了患者循环肿瘤细胞的富集与单细胞分离技术、免疫新靶点的生物信息学筛选技术等,为实施精准细胞免疫治疗打下坚实的基础。



## 精准细胞免疫治疗的大致流程

CTC: 循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell); ctDNA: 循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA); MHC: 主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex)

## 三代免疫细胞治疗技术的比较

| 发展阶段 | 名称         | 代表性产品  | 应用状态 | 疗效   | 技术难度 |
|------|------------|--|------|--|------|
| 第一代  | 非特异性细胞免疫治疗 | LAK、NK、CIK、DC(无抗原)-CIK   | 国内流行 | (1)能明显提高患者生活质量;<br>(2)少部分患者能延长生存时间                   | 简单   |
| 第二代  | 特异细胞免疫治疗   | 针对非个体化、肿瘤常见抗原的 DC 及 DC-CTL<br>针对个体化、未经筛选肿瘤抗原群的 DC 及 DC-CTL、TIL | 国际流行 | (1)能明显提高患者生活质量;<br>(2)有相当部分患者能延长生存时间;<br>(3)有些患者长期生存 | 中等   |
| 第三代  | 精准细胞免疫治疗   | 应用肿瘤新抗原特异性精准 T 细胞(PNA-T)进行治疗                                   | 未来方向 | (1)能明显提高患者生活质量;<br>(2)较多患者能延长生存时间;<br>(3)部分患者能被治愈    | 复杂   |

## 肿瘤精准细胞免疫治疗面临的技术难点

如前所述,免疫治疗的理想靶点具有区别于其他靶向治疗策略的特征:小分子靶向药物注重的是能有效干预对肿瘤细胞生长、侵袭、转移等细胞行为至关重要的基因及调控通路,而细胞免疫治疗的关注点是其能否有效地被免疫系统识别,引起有效的免疫反应。所以,同样从基因检测出发,精准细胞免疫治疗的侧重点具有其特殊性,目前仍有几大技术难题亟待解决。

## 方便快速地获取肿瘤患者的基因组变异信息

实际上,这是肿瘤基因检测所面临的共性问题。肿瘤基因检测最直接的对象是患者原代组织标本,但对于那些未进行过手术的肿瘤患者,肿瘤标本不易获取,而活检穿刺的技术虽已较为成熟,但患者接受度相对较低,尤其对那些已发生多处转移的患者。即便之前留有标本,但往往是几个月前甚至是几年前保存的局部标本,鉴于肿瘤基因组的动态性与异质性,它们反映的信息已经是过时的或者代表的信息不全。循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTC) 和循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 由肿瘤发生的各个部位释放入血,能良好地反映患者整体的肿瘤负荷、恶性程度、转移能力以及实时的基因突变信息。因而,选择 CTC 和 ctDNA 作为基因检测的样品来源,可以保证肿瘤治疗在取样信息上的全面精准,且与组织活检相比具有检查微创小、无放射性污染、经济等优点,并允许对治疗反应进行实时监测。



然而，如何获取高纯度的 CTC 细胞并进行基因测序，以及如何在外周血巨大噪音背景的情况下准确检测 ctDNA 是一项具有挑战的工作。笔者研究团队通过分离介质、抗体捕获、荧光扫描显微技术、激光显微捕获等整合技术平台可以高效获得单个 CTC 细胞用于基因检测；同时开发了通过油滴 PCR 实现在一个油滴内单个 CTC 基因检测技术，以及利用纳米孔径的芯片进行 ctDNA 的肿瘤突变基因检测技术。发展类似于 CAPP-Seq 的超灵敏测序方法，可以实现 100%地检出 2~4 期 NSCLC 患者 50%的 ctDNA，可以特异性（96%）检出等位基因突变，并将错误率降低至约 0.02%水平。这类技术平台有望利用 CTC 和 ctDNA 进行外周血肿瘤基因的精准检测，为精准细胞免疫治疗提供可靠的检测依据。

### 快速准确地筛选免疫细胞治疗的适合靶点

在肿瘤表观遗传修饰变异尚无法被有效利用的现实条件下，细胞免疫治疗更多的着眼点是肿瘤基因组遗传变异，而只有那些能形成新的氨基酸序列且在肿瘤细胞中有效表达的变异信息才能被免疫有效识别。因而，通过外显子组测序探知肿瘤的基因组变异信息，通过 RNA 转录组测序确定发生变异的 DNA 的转录情况，是寻找适合免疫治疗新抗原的常规方法。获得一系列候选新抗原信息后，如何从中筛选出能被抗原提呈细胞有效提呈的抗原，即新表位是至关重要的一步。通常的观点认为，能与 MHC 分子高效结合的抗原序列，能更好地形成 MHC 分子-抗原复合物，从而具备更高的概率被提呈到细胞表面，成为新抗原表位。因而，预测 MHC 分子与抗原的亲合力是该环节的关键要素。随着 MHC 分子的空间结构越来越清晰化、准确化，多种 MHC 分子-抗原复合物的数学模型已被建立，通过计算机模拟运算能预估出每种抗原与 MHC 分子的亲合力数值。但鉴于 MHC 分子亚型的多样性，新抗原前后氨基酸序列以不同组合、不同长度形成表位的多样性，数据庞大，目前该预测方法仍不够成熟，假阳性或假阴性仍普遍存在，需要后续耗时耗力的验证工作。因而，MHC 分子与抗原的亲合力的准确预估，仍有待于通过数据的不断积累、预测模型的不断优化来实现。

### 高效寻找 PNA-T 细胞的 TCR 组学技术

肿瘤精准细胞免疫治疗最终的效应细胞是 PNA-T 细胞。然而，虽然正常人的 TCR 多样性巨大，但肿瘤患者经过长期的免疫编辑，或经过其他非特异性治疗策略处理后，其 TCR 组多样性较正常人明显降低，TCR 多样性的降低预示着患者体

内预留的识别特定表位的 TCR 丰富度降低,即使经过上述两个步骤成功寻找到合适的新抗原表位,但可能无法在患者体内找到与之对应的 PNA-T 细胞(除非通过转基因 TCR-T 技术实现),精准细胞免疫治疗仍将以失败告终。因而,除了对肿瘤变异信息进行高通量检测分析外,还需从免疫 T 细胞角度进行考量,通过高通量测序的方法评估肿瘤患者体内是否存留能对肿瘤抗原起反应的 PNA-T 细胞。目前,利用 TCR 组学高通量测序技术可以较为准确地获得患者的 TCR 多样性数据,可以分析肿瘤患者和正常人之间 TCR 多样性的差异。但由于 TCR 与表位的作用并不是一一对应关系的,即同一个 TCR 可以结合不同的表位,而同一个表位也可能被不同的 TCR 所识别,显然它们之间亲和力会有所差异。而且 TCR 组库测序得到的是大量单独的 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链信息,这些 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链理论上可以通过不同的组合构成千差万别的 TCR。因而,以目前的技术水平仍难以解析出哪个 TCR-T 细胞具有识别特定抗原表位的功能。可以预想,如果通过技术进步以及抗原表位-TCR 配对大数据的积累,能最终实现获得针对特定抗原表位,能快速地鉴别出哪些 T 细胞携带的 TCR 基因能对其有效识别并发挥治疗作用,那么将大大缩短肿瘤免疫治疗的开发进程,为患者的治疗赢得宝贵的时间,并可以通过测序或数字 PCR 等手段检测体内这一群或者单个 PNA-T 细胞的克隆增殖情况,实时监测治疗的获益情况。笔者所在团队正致力于发展基于 CTC 和 ctDNA 为样本来源的肿瘤抗原测序技术以及 TCR 组库的测序技术,包括通过油滴技术实现高通量的单个 T 细胞的微乳滴 PCR (emulsion-PCR, emPCR) 测序来获得 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链的匹配信息,以此打开筛选特定抗原反应性 TCR 受体的方便之门。

### 新表位特异性 PNA-T 细胞的富集与扩增

实施精准细胞免疫治疗的最后阶段是 PNA-T 细胞克隆的富集与扩增,有三个策略可供选择:(1) 将新表位负载到患者自体的 DC 细胞中,然后应用成熟的 DC 刺激相应的 PNA-T 亚群特异性增殖。该策略的优点是相对成熟,但由于涉及 DC 的抗原负载、DC 内的抗原加工、DC 对 T 细胞的提呈等一系列过程,各个环节的技术障碍均会影响相应 T 细胞的富集效率;且 DC 细胞扩增不易,导致该流程耗费时间较长。(2) PNA-T 细胞的直接分选。通过在体外合成 HLA-抗原肽四聚体 (HLA-peptide tetramer) 能够有效地被特异性 T 细胞识别,配合流式细胞分选术,可以从淋巴细胞中分选出抗原特异性的 T 细胞克隆,再通过成熟的 T

细胞培养方案可大量扩增相应的 T 细胞克隆。但分选流式仪器价格昂贵，细胞通量有限，长时间分选会影响细胞活力，对后续细胞培养造成不良影响。为此，笔者实验室建立结合 HLA-抗原肽四聚体与免疫磁珠法的 T 细胞分选技术，有效提高细胞分选通量，且磁珠可通过后续切除消除其对细胞的影响，整个流程符合临床应用规范。下一步将设法将该技术集成到单一仪器设备中，提高操作的便捷性与稳定性。（3）通过转基因修饰手段，将克隆到的 PNA-T 细胞的 TCR 基因导入初始 T 细胞，使其快速具有识别并杀伤携带相应新表位的肿瘤细胞的能力。

### 基于 PNA-T 细胞变化规律的疗效的实时监控技术

疗效评估是过继细胞免疫治疗的一大技术难点。与其他治疗方式不同，经行过继细胞治疗后，肿瘤负载可能不会立即缩小，甚至可能暂时增大，不利于临床医生对病情的准确掌控。因而，应用 PNA-T 细胞对肿瘤患者实施过继细胞治疗，在治疗过程需要跟踪血液中 PNA-T 细胞及其来源记忆性 T 细胞的数量变化，对比观察其与肿瘤缩小或肿瘤复发、进展的关联性，同时实时监控血液中 CTC、ctDNA 的含量变化以及肿瘤新突变位点出现情况。通过数据的积累，建立关联 PNA-T 细胞体内动态变化规律与患者疗效的数学模型，从而实现医生能对病情实时作准确判定甚至预判的目标，以作出相应治疗对策的调整，使患者能更好地获益。

### 增强精准细胞免疫治疗体内疗效的辅助技术

相对于体外培养条件，肿瘤部位存在抑制免疫的微环境。例如，肿瘤细胞表面高表达的 PDL1 可与 T 细胞表面 PD1 结合，使浸润到肿瘤部位的 T 细胞失能，这也是为何一些免疫检查点（如 PD1/PDL1、CTLA4）单抗能通过重新激活体内残留的肿瘤特异性 T 细胞，而在实体瘤的临床治疗中发挥良好疗效的基本原理。另一方面，T 细胞的持续发挥作用，需要共刺激信号（T 细胞第二信号）的辅助，回输后的 T 细胞如缺乏共刺激信号，将很快衰竭死亡，这也是嵌合抗原受体（chimeric antigen receptor, CAR）T 细胞技术将第一信号与第二信号偶联在同一分子上的根本原因。因而，为有效提高精准细胞免疫治疗的疗效，一方面可以通过免疫检查点单抗的联合使用，阻断肿瘤微环境对回输后肿瘤特异性 T 细胞的不良干扰效应；另一方面，可以借助基因转染技术，将相应的传递共刺激信号元件在体外导入肿瘤特异性 T 细胞，从而延长回输后肿瘤特异性 T 细胞在体内的

存活时间与治疗作用。在此方面，笔者团队已建立一系列核心技术，申请中国发明专利 5 项（已授权 1 项），显示出良好的应用价值。

### 精准细胞免疫治疗与 CAR-T 细胞治疗的比较

在国际上另一种热门的免疫细胞治疗技术是 CAR-T 细胞治疗技术。精准细胞免疫治疗与它既具有共性特征，也有其各自的特殊属性，两者具体比较见表。

CAR 是识别肿瘤细胞膜上肿瘤相关抗原（tumor associated antigen, TAA）的单链抗体和胞内信号域 “免疫受体酪氨酸活化基序（immunoreceptor tyrosine-based action motifs, ITAM; 通常为 CD3 $\zeta$  或 Fc $\epsilon$  RI $\gamma$ ）” 通过铰链区相连构成的嵌合基因。将 CAR 基因通过基因转导/转染的技术导入患者 T 细胞后，使其表达 CAR 基因，获得的 CAR-T 细胞具有识别并攻击表达相应 TAA 的肿瘤细胞的能力。因而，CAR-T 技术本质是通过基因转染手段快速获得肿瘤杀伤性 T 细胞的方法。由于 CAR-T 细胞所识别的是肿瘤细胞表面的蛋白，而非与 MHC 分子结合形成 MHC-抗原复合物从而被提呈到细胞表面的抗原，因而可绕过 T 细胞的 MHC 分子限制性。而且，CAR-T 技术通常将 T 细胞的第一信号与第二信号偶联到同一分子结构中，使 CAR-T 细胞具有更强的自主性，基本无需其他类型免疫细胞的辅助即可发挥治疗作用。鉴于 CAR-T 技术的精妙设计，其具有广阔的应用前景。

精准细胞免疫治疗与 CAR-T 技术所采用的效应细胞均是患者自体的 T 淋巴细胞，不同之处在于所针对的靶点类型的差别：精准细胞免疫治疗瞄准的是患者特有的新抗原（即肿瘤特异性抗原），这些新抗原与 MHC 分子结合形成 MHC-抗原复合物后被提呈到细胞表面，在被提呈前，这些抗原可以分布在细胞各个位置，包括细胞核、细胞质、细胞膜上，可选择范围更广。所以，不管是效应细胞本身还是所针对的抗原，精准细胞免疫治疗均是个性化的。CAR-T 技术所针对的靶点是表达在肿瘤细胞膜上的肿瘤相关抗原，可供选择的范围较窄，特异性相对较差；但这一抗原可以是一类患者群体中普遍存在的抗原靶点，如表达于 B 细胞淋巴瘤细胞表面的 CD19 蛋白。因而，CAR-T 技术所选用的效应细胞来源是个性化的，但治疗靶点是非个性化的，无需通过高通量的检测手段配合。

通常情况下，精准细胞免疫治疗策略是从患者自体 T 细胞群体中寻找天然存在的、能针对新抗原的肿瘤特异性 T 细胞，归根到底采用的是未经人工改造的天然免疫细胞；而 CAR-T 技术涉及转基因过程，是人工改造的肿瘤特异性 T 细胞。

目前，转基因修饰技术多采用慢病毒载体系统，慢病毒为 RNA 病毒，其规模化生产及病毒稳定性均面临诸多技术障碍。为解决该难题，笔者实验室已研发出一套高效的非病毒载体系统，该非病毒载体比慢病毒载体具有更高的转染率，具有易于规模化生产及稳定性高的特点，将为 CAR-T 技术的广泛临床应用铺平道路。

### 精准 T 细胞（PNA-T）免疫治疗与 CAR-T 免疫治疗的比较

| 治疗类型  | 细胞类别            | 细胞来源 | 靶点抗原    | 靶点类型           | 适用群体   | 人工改造 | 高通量基因检测 |
|-------|-----------------|------|---------|----------------|--------|------|---------|
| CAR-T | 人工改造的肿瘤特异性 T 细胞 | 患者自体 | 肿瘤相关抗原  | 细胞膜蛋白          | 特定患者群体 | 必需   | 非必需     |
| PNA-T | 天然的肿瘤特异性 T 细胞   | 患者自体 | 肿瘤特异性抗原 | 细胞膜蛋白、核蛋白、胞质蛋白 | 患者特有   | 非必需  | 必需      |

### 结语

随着人们对恶性肿瘤认识的不断深刻，已经越来越意识到实施肿瘤精准医疗的必要性与迫切性。而相对于其他基因检测指导下的个性化治疗方式，精准细胞免疫治疗作为一种“活的药物”，为快速制定针对特定新抗原表位的治疗方式提供足够的广度与可行性。因而，有理由相信，精准医学的“重中之重”是肿瘤精准医学，而中国的肿瘤精准医学突破口在于肿瘤精准细胞免疫治疗。随着精准细胞免疫治疗各项配套技术的日趋成熟与完善，它将在恶性肿瘤治疗中发挥越来越重要的作用。