

产业发展

生物制药的现状和未来(二):发展趋势与希望

胡显文^{1*} 陈惠鹏¹ 汤仲明² 马清钧¹

(1 军事医学科学院生物工程研究所 北京 100071 2 军事医学科学院放射医学研究所 北京 100850)

摘要 随着基因组和蛋白质组研究的深入,越来越多的与人类疾病发展相关的靶标被确定,使得我们能够研发更精确的药物来防治这些疾病。这意味着生物制药将有更多机会获得突破性进展,最终将使更多更好的生物技术药物被批准上市。综述了生物制药发展的几个趋势,主要有:(1)哺乳动物细胞表达的产品将在相当长的时间内占统治地位;(2)治疗性抗体将会是生物制药领域第二次创新高潮;(3)越来越多分子量、结构复杂的功能蛋白将被开发成生物技术药物,尤其是用于治疗遗传性疾病的药物;(4)对已批准上市的生物技术药物的化学修饰尤其是 PEG 化以改善药物性能;(5)通过某些药物的定点突变获得第二代新生物技术药物,如胰岛素、EPO 和 t-PA 的突变体;(6)组织工程、细胞治疗和基因治疗充满了机遇和挑战。

关键词 生物制药 重组蛋白 治疗性抗体 哺乳动物细胞培养 PEG 化 组织工程 市场

生物制药产业作为 21 世纪最具希望和发展潜力的新兴高技术产业,不仅对国民经济的发展产生巨大的拉动作用,并且为人类的疾病防治带来更多、更安全、更有效、甚至难以替代的手段。“珍惜生命和关注健康”是人类永恒的主题,因此生物制药产业将永远是“朝阳产业”。本文对生物制药发展的几个趋势做一简要综述。

1 哺乳动物细胞表达的生物技术药物所占比重越来越大

生物制药的发展初期都是表达一些分子量较小、结构简单的蛋白质,如胰岛素、干扰素或集落刺激因子,氨基酸残基都在 200aa 以下,一般只有 1~2 对二硫键甚至没有二硫键,因此采用大肠杆菌表达系统既经济又简便。但是,生物制药的发展趋势是从细胞因子等激动剂为主的产品,转变为以拮抗作用为主的新生物技术药物,如天然 IL-1 拮抗剂、中和作用的单抗如 Remicade、TNF- α 拮抗剂受体-Fc 融合蛋白 Enbrel、 α -1-蛋白水解酶抑制剂、抑制 HIV-1 与 CD4⁺ 细胞融合的 Pro-542 等^[1]。越来越多的分子量、结构复杂的功能性蛋白得到开发,如抗体

和酶,都是分子量在 50~200kDa 的糖蛋白。由于这些蛋白结构复杂,二硫键多,并且翻译后的修饰如糖基化对蛋白活性的影响很大,采用原核表达系统往往不能满足蛋白表达的需要。而采用哺乳动物细胞表达既能保证重组蛋白质二硫键的正确配对和蛋白质折叠、又能保证蛋白质的糖基化,即用哺乳动物细胞表达的重组蛋白与天然蛋白在结构和功能上都高度一致。

表 1 列举了 FDA 在 2000 年以后批准的创新生物技术药物,用酵母表达的有 2 种,用大肠杆菌表达的产品只有 4 种,而且 Lantus (53aa)、Natrecor (32aa)、FORTEO (34aa) 都是分子量为 3.5~6kDa 的低分子量多肽,表明大肠杆菌在多肽的生产上还有优势,但是在生产分子量、结构复杂的蛋白上潜力很小。与此形成鲜明对比的是,通过动物细胞培养生产的生物技术产品则有 22 种,除了两种组织工程产品外,其余都是蛋白类产品,这些蛋白类产品包括治疗性抗体(分子量一般在 150kDa 左右),酶如 TNK-tPA (58kDa)、Aldurazyme (83kDa)、Fabrazyme (100kDa),凝血因子 VIII ReFacto (170kDa),蛋白 C Xigris (55kDa),融合蛋白 Alefacept (91.4kDa) 等,都是分子量、二硫键多、空间结构复杂的糖蛋白(表 1),只有使用 CHO 等哺乳动物细胞表达系统,这些蛋白的生产才成为可能。从 2000

收稿日期:2004-12-02

* 电子信箱:hu.xianwen@tsinghua.org.cn

年以后 FDA 批准的生物技术药物来看,哺乳动物细胞表达系统更受到 FDA 和各大制药公司的重

视。我国生物制药与欧美国家的主要差距就是哺乳动物细胞表达的产品极少。

表 1 2000 年后 FDA 批准生物技术创新药物
Table 1 Innovation biotech drugs approved by FDA since 2000

产品	商品名	公司	说明	适应症(批准时间)	生产系统
insulin glargine	Lantus	Aventis	胰岛素突变体	糖尿病(2000.4)	E*
rh IL-1Ra	Kineret	Amgen	IL-1 拮抗剂	类风湿关节炎(2001.11)	E
nesiritide	Natrecor	Scios	利尿钠肽	充血性心力衰竭(2001.8)	E
teriparatide	FORTEO	Eli Lilly	甲状旁腺激素 1-34	骨质疏松(2002.11)	E
insulin aspart	NovoLog	Novo Nordisk	胰岛素突变体	糖尿病(2000.5)	Y*
rasburicase	Elitek	Sanofi-Synthelabo	酶	血浆高尿酸(2002.7)	Y
Gemtuzumab ozogamicin	Mylotarg	Celltech/ Wyeth	Anti-CD33 抗体	CD33 ⁺ 急性髓性白血病(2000.5)	M*
tenecteplase	TNKase	Genentech	t-PA 突变体	急性心肌梗死(2000.6)	M
human chorionic gonadotropin	Ovidrel	Serono S. A.	绒膜促性腺激素	不孕症(2000.9)	M
Alemtuzumab	Campath	Ilex/Millennium/Berlex	anti-CD52 抗体	慢性 B 细胞淋巴瘤(2001.5)	M
rhBMP-7	Osigraft	Stryker	骨形成蛋白-7	胫骨连接(2001.3)	M
fibroblast-derived dermal substitute	Dermagraft	ATS/Smith & Nephew	人成纤维细胞,真皮替代物	糖尿病足底溃疡(2001.9)	M
bi-layered cultured skin	OrCel	Ortec	人造生物皮肤	烧伤(2001.2)	M
darbepoetin alfa	Aranesp	Amgen	EPO 突变体	肾性贫血(2001.9)	M
Drotrecogin alfa	Xigris	Eli Lilly	蛋白 C	脓毒症(2001.11)	M
Ibritumomab tiuxetan	Zevalin	IDEC	Y-91 标记 Anti-CD20 抗体	non-Hodgkin's 淋巴瘤(2002.2)	M
rhBMP-2	INFUSE Bone Graft	Wyeth	骨形成蛋白-2	脊柱退行性疾病(2002.7)	M
urokinase	Abbokinase	Abbott	尿激酶	肺栓塞(2002.10)	M
Adalimumab (anti-TNF α)	HUMIRA	CAT/ Abbott	anti-TNF α 抗体	重度类风湿关节炎(2002.12)	M
Alefacept	Amevive	Biogen/Idec	LFA3-Fc 融合蛋白	中重度慢性银屑病(2003.1)	M
antihemophilic factor VIII	ReFacto	Wyeth	凝血因子 VIII	血友病 A 型(2003.3)	M
I-131 Tositumomab (Anti-CD20)	BEXXAR	Corixa/ GlaxoSmithKline	I-131 标记 Anti-CD20 抗体	non-Hodgkin's 淋巴瘤(2003.6)	M
Omalizumab	Xolair	Genentech/Novartis	Anti-IgE 抗体	中重度哮喘(2003.6)	M
laronidase	Aldurazyme	Genzyme	酶替代治疗	粘多糖病(2003.4)	M
Algasidase beta	Fabrazyme	Genzyme	酶替代治疗	Fabry's 病(2003.4)	M
Efalizumab	RAPTIVA	Xoma/ Genentech	anti-CD11a 抗体	中重度慢性银屑病(2003.10)	M
Bevacizumab	Avastin	Genentech	anti-VEGF 抗体	转移性直、结肠癌(2004.2)	M
Cetuximab	ERBITUX	ImClone/ BMS	anti-EGFR 抗体	转移性直肠癌(2004.2)	M

E*:大肠杆菌表达系统;Y*:酵母表达系统;M*:哺乳动物细胞表达系统

从销售情况看,哺乳动物细胞表达的产品也已占据主要地位,年销售额超过 20 亿美元的 6 个生物技术药物均是哺乳动物细胞表达的产品,而销售额位于前 10 位的生物技术药物,有 8 个产品为哺乳动物细胞表达的产品^[2]。从 2003 年的统计结果看(数据来自 IMS 公司),哺乳动物细胞表达的产品销售额占 65%,大肠杆菌表达产品占 28%,酵母表达产品占 7%。而随着近年来越来越多的哺乳动物细胞表达的生物技术药物获准上市,到 2007 年预计动物细胞表达的产品市场份额将占 70%~75%。但是,在中国的生物制药产业中,已批准上

市的动物细胞表达产品只有 EPO 和乙肝疫苗,尽管这两种产品的使用剂量都在 μg 级水平,但是这两种产品的生产能力都很小,动物细胞大规模培养技术已成为生物技术药物生产最关键和最具挑战性的技术^[3,4]。

2 治疗性抗体发展迅猛

由于抗体分子与靶标抗原具有高度特异的亲和力和,抗体类药物在治疗过程中表现出专一性强、疗效好、毒副作用小等特点,成为各大制药公司研究开发的热点领域。1986 年 FDA 批准了第一个治

疗性鼠源单抗-Orthoclone OK-T3 用于防止肾移植的超急性排斥。但是,随后抗体药物的开发却陷入低潮,在将近 8 年的时间内,FDA 都没有批准治疗性抗体药物。主要原因是:在这段时间内,许多用于临床治疗试验的单抗均源自小鼠细胞,这些鼠源单抗在临床试验中疗效很不理想,存在以下缺点:(1)半寿期很短,只有 30~40 小时,远小于完整人源抗体的半寿期(10~21 天),在人体中易被清除。(2)人体免疫细胞 Fc 受体结合鼠 IgG 的 Fc 段的能力很差,不能有效引发抗体依赖性介导的细胞毒(ADCC)效应和补体依赖性细胞毒效应(CDC),即不能发挥抗体的生物学功能。(3)反复使用鼠源单抗会产生人抗鼠抗体(HAMA),HAMA 反应可以有效快速地破坏这种鼠源单抗,并且 HAMA 反应可能会引发严重的过敏反应^[5]。

鼠源抗体人源化技术的出现,大大促进了治疗性抗体药物的开发,人源化技术包括嵌合抗体(chimeric antibody, 60%~70%人源化)制备技术^[6]和人源化抗体(humanized antibody, 90%~95%人源化)制备技术^[7],用这些技术制备的抗体克服了鼠源抗体的缺点,使得治疗性抗体成为目前最大的一类生物技术药物。上世纪 90 年代中期,FDA 批准了多种抗体类药物,如嵌合抗体 Remicade、Rituxan、ReoPro,人源化抗体如 Herceptin、Synagis 等。应用噬菌体显示人抗体库技术^[8]和转基因小鼠 XenoMouse

技术^[9]可以制备人源抗体,这些技术又为治疗性抗体药物的研发提供了新技术方法。2002 年 FDA 批准的用于类风湿关节炎治疗的单抗 HUMIRA,就是使用噬菌体显示技术构建的人源抗体,标志着治疗性抗体的研究与开发又上了一个新台阶。到 2004 年 2 月,FDA 已批准了 17 种治疗性抗体,2 种受体-Fc 融合蛋白(抗体样分子)^[2,10],这些药物在治疗肿瘤、类风湿关节炎和 Crohn's 病、抗器官移植排斥、防治病毒感染、抗血小板凝聚等方面表现出非常理想的疗效^[10]。2002 年美国制药协会统计有 369 种生物技术药物处于临床试验阶段,其中 75 种是抗体类产品,预计在 2008 年,还会有 17 种抗体类药物上市。治疗性抗体已成为品种最多的一类生物技术药物。

抗体类药物不仅在临床治疗上有出色表现,在市场方面也表现不凡^[11]。有 7 种抗体类产品位列销售额前 50 位的生物技术药物行列中(表 2),其中有 4 种进入了前 10 位^[2]。目前抗体类药物的销售额已占整个生物技术药物市场的 1/5,而到 2008 年,抗体类药物的年销售额将达到 200 亿美元,占生物技术药物市场的 1/3。尽管抗体药物的发展如火如荼,但我国抗体药物的研发却举步维艰,至今还没有一个人源化(基因工程)抗体药物上市,其根本原因是我国上游构建和中下游生产尤其是动物细胞大规模培养技术的落后。

表 2 截止至 2004 年 6 月年销售额位列前 50 位生物技术药物中的抗体类药物
Table 2 Top therapeutic antibodies world wide by annual sales of 2003.6~2004.6

商品名	排位*	2003.6~2004.6 销售额(亿美元)*	公司	适应症	说明
REMICADE	3	22.730	Centocor	Crohn's 病;类风湿关节炎	anti-TNF α 嵌合抗体
ENBREL	4	20.220	Amgen/Wyeth	类风湿关节炎;银屑病	TNF α R-Fc 融合蛋白
RITUXAN	6	19.340	Genentech	非霍奇金淋巴瘤	anti-CD20 嵌合抗体
HERCEPTIN	10	8.268	Genentech	乳腺癌	Anti-EGF RII 人源化抗体
SYNAGIS	20	6.017	MedImmune	小儿呼吸道合胞病毒	Anti-F-protein 人源化抗体
HUMIRA	23	4.822	CAT/Abbott	Crohn's 病;类风湿关节炎	anti-TNF α 人源抗体
ReoPro	34	3.275	Centocor	抗凝	Anti-GPIIb/IIIa 嵌合抗体

* IMS 公司 Kibby 博士提供的年销售额及排位数据

3 分子量、结构复杂的蛋白质的生产

许多遗传性疾病如血友病、溶酶体贮积病、肺囊性纤维化等都是难于治愈危及生命的疾病,其病因都是基因突变等导致体内缺乏某种生理活动(代谢过程)所需要的酶^[12]。这些酶都是分子量、结构非常复杂的蛋白质,在基因工程时代到来之前,有的只能通过从人体血液或组织中提取才能获得,不仅来

源有限,而且易传播传染性疾病,如治疗血友病的凝血因子。还有一些非遗传性疾病,由于某些蛋白的分泌不足导致疾病,如不孕症,或者提高某些蛋白(酶)的浓度可以缓解或治愈某些疾病,如治疗心梗的 TNK-tPA、治疗脓毒症的蛋白 C^[13]或治疗高尿酸症的 Rasburicase。随着真核表达系统的日臻成熟,以及大规模动物细胞培养技术的进步,FDA 近年来批准了多种高分子量的复杂蛋白药物(表 3),这些药物

在治疗血友病、戈谢病、法布莱氏病、粘多糖病、囊性纤维化、不孕症、心肌梗死、脓毒症和高尿酸症等发挥了关键作用,虽然遗传性溶酶体贮积病的病例很少,但这些能挽救生命并且没有其他替代药物的生物技术药物有着极好的市场表现,例如,全球戈谢病人只有 5000 ~ 6000,而用 Cerezyme 治疗的病例达到 3800^[12],每 1 例病人 1 年的药费需要 170000 美元,1998 年销售额达到 4.7 亿美元^[2],2001 年为 5.7 亿美元,位列当年生物技术销售额的第 10 位,而预计到

2007 年的销售额可达 9.48 亿美元^[12]。又如 2003 年 4 月批准上市的治疗法布莱氏病的 Fabrazyme,当年销售额便达到 0.57 亿美元,预计到 2007 年的销售额可达 3.97 亿美元。而凝血因子 VII NovoSeven 和促滤泡素 Gonal-F 的年销售额都超过 4 亿美元。令人遗憾的是,由于表 3 所列产品绝大多数是哺乳动物细胞表达的产品,除了 TNK-tPA 正在申请临床外,表中所列产品我国目前还不具备开发能力,更遑论生产能力。

表 3 几种重要的分子量、结构复杂的蛋白质生物技术药物

Table 3 Some macromolecular protein biomedicines with complex structure approved by FDA

商品名 (产品)	排位 *	2003.6 ~ 2004.6 销售额 * (亿美元)	公司	适应症(批准时间)	分子量(氨基酸残基) 表达系统
Aldurazyme(laronidase)	-	0.12	Genzyme	粘多糖贮积病(2003.4)	83kDa(628aa), CHO
Cerezyme(imiglucerase)	40	2.38	Genzyme	I 型戈谢病(1994.5)	60.4kDa(497aa), CHO
Fabrazyme(β -glucosidase)	-	0.57	Genzyme	法布莱氏病(2003.4)	100kDa(796aa), CHO
Pulmozyme(α -dornase)	39	2.57	Genentech	囊性纤维化(1993.12)	37kDa(260aa), CHO
NovoSeven(factor VIIa)	25	4.43	Novo Nordisk	A 或 B 型血友病(1999.3)	50kDa(406aa), BHK
Kogenate FS(factor VIII)	41	2.29	Bayer	A 型血友病(1989.3)	170kDa, BHK
BeneFix(factor IX)	47	1.65	Wyeth	B 型血友病(1997.2)	55kDa(415aa), CHO
Gonal-F(follitropin)	26	4.04	Serono S. A.	不孕症(1998.9)	(203aa), CHO
Ovidrel(rhCG)	-	-	Serono S. A.	不孕症(2000.9)	70kDa(237aa), CHO
Xigris(Protein C)	48	1.56	Eli Lilly	脓毒症(2001.11)	55kDa, CHO
TNKase(tenecteplase)	-	-	Genentech	急性心肌梗死(2000.6)	58kDa(527aa), CHO
Elitek(rasburicase)	-	-	Sanofi-Synthelabo	高尿酸症(2002.7)	136kDa(1204aa), Yeast

* IMS 公司 Kibby 博士提供的年销售额及排位数据

4 PEG 化以改善产品性能

对原产品的化学修饰尤其是 PEG 化以改善产品的性能是近年来生物技术药物发展的新趋势。最近几年 FDA 几乎没有批准一个新的细胞因子类药物,但是却批准了几个 PEG 化的细胞因子产品(见表 4)。PEG 化是指将聚乙二醇(PEG)分子通过化学交联共价结合到多肽或蛋白质药物上^[14](图 1),PEG 化有以下优点:(1)极大延长了药物半寿期;(2)降低了某些药物的免疫原性;(3)增强药物活性;(4)降低药物毒性;(5)血浆的药物浓度波动小,可提高疗效;(6)可减少给药次数;(7)可改变药物作用机制。表 4 列举了 FDA 批准的几个 PEG 化蛋白药物,90 年代批准的 PEG-L-天冬酰胺酶和 PEG 化腺苷脱氨酶都不是基因重组蛋白,而基因重组的干扰素和 G-CSF,其 PEG 化的产品由于其更好的疗效,在市场中都比原产品表现更好(表 5)。2003 年 6 月 ~ 2004 年 6 月的销售额,PEG 化 G-CSF 为 15.3 亿,而 G-CSF 的销售额只有 13.6 亿美元。由于 PEG 化干扰素的血浆浓度波动小,其抗病毒能力远好于未 PEG 化干扰素,如

治疗丙肝的疗效从 24% ~ 28% 提高至 50% ~ 68%,因此,两种 PEG 化的干扰素- α PEGASYS 和 VIRAFERON PEG 的销售情况远好于原代产品,并有逐渐替代原代产品的趋势。

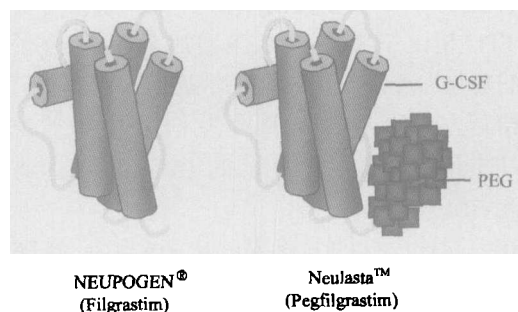


图 1 G-CSF 和 PEG 化 G-CSF 分子结构模型

Fig. 1 Molecular structure model of G-CSF and PEGylationized G-CSF

5 构建突变体以创造新一代速效、长效或增效和性能更好的产品

利用基因工程技术对已有的蛋白质药物进行改造以获得性能更好的产品,也是近年生物技术药

表 4 FDA 批准的 PEG 化生物技术药物
Table 4 Approved PEGylationized biotech drugs

商品名	公司	适应症(批准时间)	影响*
SOMAVERT PEG 化生长激素	Pfizer	肢端肥大症(2003.3)	改变了 GH 作用机制,选择性结合 GH 受体以阻断 GH 信号转导,降低血清中胰岛素样生长因子(IGF-1)等的浓度。
Neulasta PEG 化 G-CSF	Amgen	嗜中性白细胞减少症(2002.1)	皮下注射时的半寿期从 210min 延长到 15~80h,给药频率从 1 次/d 改为 1 次/14d(即一个化疗疗程一次),减少了血浆药物浓度的波动
PEG-Intron PEG 化干扰素 α -2b	Enzon/ Schering- Plough	淋巴瘤、白血病、乙肝、丙肝 (2001.8)	半寿期提高 5 倍,弱化了与受体的结合,表观清除率降低 7 倍,减少了给药频率(从 3 次/周降为 1 次/周)。血浆药物浓度的波动很少,极大提高了抗病毒活性。疗效显著提高,治疗丙肝 48 周后,疗效从 24% 提高至 49%。
Pegasys PEG 化干扰素 α -2a	Nektar/Roche	淋巴瘤、白血病、乙肝、丙肝 (2002.10)	半寿期从 3~8h 延长到 65h,弱化了与受体的结合。体内抗病毒活性提高 12~135 倍,抗癌活性提高 18 倍,减少了给药频率(从 3 次/周降为 1 次/周)。治疗丙肝的疗效从 28% 提高到 68%。
Oncaspar(天然提取) PEG-L-天冬酰胺酶	Enzon/Rhone- Poulenc	急性成淋巴细胞白血病 (1994.2)	半寿期从 20h 延长到 357h,降低了天冬酰胺酶的免疫原性,极大减轻了不良免疫反应
Adagen(天然提取) PEG 化腺苷脱氨酶	Enzon	恶性复合免疫缺陷症(SCID) (1990.3)	酶的活性提高 1800 倍

* 根据各药品说明书和文献[13]整理

表 5 2003.6~2004.6 几种 PEG 化生物技术药物销售额
Table 5 Annual sales of 2003.6~2004.6 of some
PEGylationized biomedicines

商品名(产品)	排位*	销售额 (亿美元)*
NEULASTA(PEG-G-CSF)	7	15.3
NEUPOGEN(G-CSF)	8	13.6
PEGASYS(PEG-INF α -2a)	17	6.62
VIRAIFERON PEG(PEG-INF(-2b)	19	6.03
INTRON A(INF α -2b)	28	3.83

* IMS 公司 Kibby 博士提供的数据

物发展的趋势,这明显表现在胰岛素、EPO 和 t-PA 突变体药物研究与开发方面。Amgen 公司利用定点突变技术开发的第二代 EPO 产品 Aranesp,与第一代 EPO 相比,N-糖链从 3 条增加至 5 条,分子量从 30kDa 增加到 37kDa,其半寿期延长了 3 倍^[15],因而给药方式从 2~3 次/周改为 1 次/周,虽然 2001 年 9 月才获准上市,但该药品的年销售额已达到 20 亿美元,排位第五。

在中国糖尿病的发病率已达 3% 以上,且随着生活水平的提高发病率有上升的趋势。全球基因重组胰岛素类产品的年销售额已超过 50 亿美元,成为除 EPO 和抗体类药物外的第三大类生物技术药物。在 2003.6~2004.6 年度销售额的前 50 位的生物技术药物中(表 6),有 11 种基因重组胰岛素类产品,而胰岛素的突变体 Humalog、Lantus、Novolog 等由于其优良的性能,在市场上都有很好的表现。一般速效、中效、长效和双重胰岛素都是通过剂型的改变以改变胰岛素的吸收,其生物活性成分都是

重组人胰岛素,如 2002 年 10 月欧洲共同体授权 Novo Nordisk 公司 7 个抗糖尿病药物重组胰岛素(rDNA)的更新换代产品:长效 Insulatard、双重作用 Mixtard、长效作用 Montard、长效作用 Protaphane、非常长效 Ultratard、快速作用 Velosulin、速效作用 Actrapid 等。而通过定点突变技术构建胰岛素突变体如速效胰岛素 Humalog、Novolog 和长效胰岛素 Lantus,则是改变胰岛素分子结构以改变药物吸收速度或药代动力学,从而起到速效或长效的作用。例如,Humalog 就是将胰岛素 B 链的 Pro28Lys29 突变为 Lys28Pro29,而 Novolog 则是将 B 链的 Pro28 突变为 Asp28,这样,胰岛素突变体 Humalog、Novolog 在皮下注射后具有吸收快、起效快、作用时间短和餐后尖峰状的生理学分泌相似的特点,用药更灵活方便。Lantus 是将胰岛素 A 链的 Asn21 突变为 Gly21,在 B 链的末端增加了 Arg31Arg32 两个氨基酸,使其成为第一个真正长效药物,恒定的药代动力学(PK)和药效动力学(PD)时间至少持续 24h,和相对恒定基线胰岛素生理水平相似。

溶栓药物 t-PA 自 1987 年 FDA 批准以来,一直是治疗心肌梗死溶栓治疗的首选药物,由于用药剂量大(100mg/人),给药方式比较复杂(15mg 推注 + 50mg 滴注 30min + 35mg 滴注 60min),寻找安全、有效、给药剂量小且方便的溶栓药物一直是生物制药领域的研究课题。FDA 批准的两种 t-PA 突变体 r-PA 和 TNK-tPA 具有溶栓效果好、使用剂量小、使用方便和安全性较好的特点^[16],已成为 t-PA 的更新换代产品(表 7)。不过,由于欧美等发达国家采用

PTCA 等介入治疗方法治疗心梗已非常普遍,溶栓治疗的市场有萎缩趋势,1998 年 t-PA 产品的销售额曾达到 5 亿美元^[2],而现在则没有一种 t-PA 产品的销售额超过 1.5 亿美元。但是在中国 PTCA 等介入治

疗只在几个大城市的几个大医院开展较普遍,由于技术较复杂,很难普及到中等城市和一般医院,溶栓效果好、安全性好的溶栓药物的市场应该非常大。

表 6 销售额位列前 50 位生物技术药物中胰岛素类产品^{*}

Table 6 Recombinant insulin products in the top 50 biomedicines by annual sales of 2003.6 ~ 2004.6

产品名	上市时间	销售排位	2003.6 ~ 2004.6 年销售额(亿美元)	说明
Humalog	Feb-96	11	8.097	胰岛素突变体,速效
Lantus	Jun-00	12	7.759	胰岛素突变体,长效
INS. PROTAPHANE	Aug-83	21	6.010	胰岛素,长效
ACTRAPHANE	Oct-82	22	4.965	胰岛素,速效
HUMULIN NPH	Sep-82	24	4.667	胰岛素
Novolog	Sep-99	27	3.919	胰岛素突变体,速效
Humalog MIX	Jan-99	30	3.629	胰岛素突变体,双重
Humulin MIX	Sep-82	31	3.588	胰岛素,双重
INS. ACTRAPID	Jun-82	32	3.556	胰岛素,速效
INS. HUMULIN REG	Sep-82	44	1.818	胰岛素,普通
NovologMix	Feb-02	46	1.691	胰岛素突变体

* IMS 公司 Kibby 博士提供的年销售额及排位数据

表 7 三种 FDA 批准的 t-PA 及其突变体产品的比较

Table 7 Key characteristics of newer thrombolytic agents rPA and TNK-tPA compared with t-PA

产品及批准时间	分子量及表达系统	给药剂量及方法	90min 再通率	半寿期 (min)	Fibron 特异性	结构
t-PA 1987.11	63 ~ 70kDa, CHO	15mg bolus + 50mg infusion + 35mg infusion	50% ~ 63% (TIMI 3) 73% ~ 82% (TIMI2 + 3)	3 ~ 8	++	野生型 t-PA, 包含 Finger(F)区、EGF 样 (E)区、Kringe 1 (K1)区、Kringe 2 (K2)区、活性区(P)
r-PA 1996.10	39kDa, E. coli	18mg bolus + 18mg bolus	60% ~ 63% (TIMI 3) 83% ~ 85% (TIMI2 + 3)	15 ~ 18	+	t-PA 突变体, 缺失 F、E、K1 区, 保留 K2 和 P 区
TNK-tPA 2000.6	58kDa, CHO	0.5mg/kg, 1bolus	63% ~ 66% (TIMI 3) 79% ~ 88% (TIMI2 + 3)	18 ~ 20	+++	t-PA 突变体, T103N, N117Q, KHR296-299AAAA

6 组织工程产品、细胞治疗和基因治疗等
全新生物技术产品的开发期望大困难多

组织工程和细胞治疗是近十年来非常热门的研究领域,许多组织工程和细胞治疗产品都处于临床试验中,目前 FDA 批准了 6 种组织工程皮肤,如 Apligraf、Dermagraft、OrCell 等,和一种组织工程软骨 Carticel(表 8)。但是,由于还存在许多科学和伦理问题,组织工程和细胞治疗的概念炒作非常多,而实际上目前已上市的产品仅仅是组织工程皮肤^[17]和组织工程软骨等技术相对简单的产品,所谓的人造生物器官等复杂组织工程产品仍停留在概念上。

组织工程皮肤、组织工程软骨和组织工程骨等在美国、德国、英国、法国、荷兰、意大利等国家都有多种产品上市。表 8 列举了几种主要的已上市的组织工程产品的一些信息^[18]。总的来说,组织工

程产品的市场还很小,全球组织工程皮肤的市场在 2 千万美元左右,而组织工程软骨的市场不会高于 4 千万美元,相反那些不含活细胞的生物材料在皮肤溃疡、软骨修复和骨修复的治疗和市场中却有较好表现。此外,由于组织工程产品含有活细胞,其产品在生产、运输、保存、使用等方面还存在许多问题,生产成本和使用成本居高不下,而相对重组蛋白类生物技术药物,组织工程产品的市场很小。因此,即便是全球领先的、美国最早和最大的两家组织工程皮肤生产商 Organogenesis Inc 和 Advanced Tissue Sciences 也在 2002 年秋天宣告破产,而有些组织工程皮肤产品如 CellActiveSkin、Epidex、BioTissueTechnologies 公司生产的 BioSeedS、BioSeedM,以及 MelanoSeed 等都因严重亏损而在 2002 ~ 2003 年停产。组织工程的详尽情况,可以参阅 Hüsing 等非常出色的总结报告^[18]。

表 8 几种批准上市的组织工程产品
Table 8 Some approved tissue-engineering products

产品类别	产品名称	公司	适应症	细胞	生物材料	年销售额
组织工 程皮肤	Apligraf	Novartis/Organogenesis(USA)	糖尿病和静脉郁积 溃疡	异体成纤维细胞和 角化细胞	牛胶原	12000000 \$ (2000)
	Dermagraft	Advanced Tissue Sciences(USA)	糖尿病和静脉郁积 溃疡	异体成纤维细胞	PLGA 可降解聚合 物	4450000 \$ (2002)
	OrCell	Ortec(USA)	糖尿病和静脉郁积 溃疡	异体成纤维细胞和 角化细胞	牛 I 型胶原	未知
	Transcyte	Smith and Nephew(USA)	烧伤	成纤维细胞	皮肤基质与尼龙垫 层	未知
	Vivoderm	Convatec(USA)	皮肤溃疡、烧伤	自体皮肤细胞		未知
	Epicel	Genzyme Biosurgery(USA)	皮肤溃疡、烧伤	自体皮肤细胞		未知,2001 年全球有 75 人 使用
	CellActiveSkin 2002 年底停产	IsoTis (Netherlands)	溃疡	异体成纤维细胞和 角化细胞	PEG 生物可降解聚 合物	545000 \$ (2002)
	Epidex 2002 年底停产	Modex Therapeutics (NL/Switzerland)	皮肤移植	自体角化细胞		157000 \$ (2002)
	BioSeedS 2003 年春停产		慢性皮肤溃疡	自体角化细胞	胶状生物粘性基质	450000 \$ (2002)
	BioSeedM 2003 年春停产	BioTissue Technologies (German)	口腔黏膜缺陷	自体口腔黏膜细胞	胶状生物基质	
	MelanoSeed 2003 年春停产		白癜风	自体黑色素细胞	胶状生物基质	
	Carticel [®]	Genzyme Biosurgery (USA)	膝关节软骨修复	自体软骨细胞		18400000 \$ (2001) 20040000 \$ (2002)
	BioSeedC	BioTissue Technologies (German)	软骨修复	自体软骨细胞	胶状生物基质	500000 \$ (2002)
	chondrotransplant	co. don (German)	关节软骨修复	自体软骨细胞		1000000 \$ (2001) 550000 \$ (2002)
组织 工程骨	CellActive Cart 2002 年停产	IsoTis (Netherlands)	膝关节软骨修复	自体软骨细胞	PEG 生物可降解材 料	187000 \$ (2002)
	osteotransplant	co. don (German)	骨修复	自体成骨细胞		
	BioSeed OralBone	BioTissue Technologies (German)	下颚骨外科手术	自体颞骨细胞	胶状生物基质	250000 \$ (2002)

由于细胞治疗和基因治疗目前还有许多技术问题没有解决,尚处于研究阶段,有一些零散的治疗个例,但是大规模有说服力的临床试验结果寥寥无几,除了我国批准了一个 P53 重组腺病毒注射液以外,基因治疗的安全性尚未厘清,在欧美基因治疗产品由于其严重的副作用甚至一度终止了所有的基因治疗临床试验近 2 年,直到 2004 年 7 月才恢复,并且恢复的试验主要是考察基因治疗的安全性而非有效性。因此组织工程、细胞治疗和基因治疗等这些全新的治疗手段大规模应用于临床还需

相当长的时间。

7 结 语

诺贝尔奖获得者 Goldstein J B 曾说:“回顾过去几百年人类发展的历史,我们可以这样总结,19 世纪是以蒸汽机为代表的工业革命的世纪,20 世纪是以计算机和通讯为代表的信息技术的时代,而 21 世纪将是以生物制药为代表的生命科学与技术的世纪”^[19]。生物技术是 21 世纪科技领域令人瞩目的高新技术,为人类解决疾病防治、人口膨胀、食

物短缺、能源匮乏和环境污染等一系列关系国计民生的问题带来了希望。随着现代医药生物技术的发展以及人类基因组计划的完成和遗传病基因的不断发现,越来越多的人类功能基因得到克隆、表达和应用,对医药领域产生了巨大影响。目前转基因动植物、基因重组技术、蛋白质工程、抗体工程、细胞工程和基因治疗等新技术的研究取得重大突破与发展,为医药生物技术开拓了一个新领域,并为产生大量有益于人类健康的医药生物技术产品奠定了基础,成为本世纪一个新的经济增长点。可以预测,有关生物技术药物的申报、临床和使用将越来越多,生物制药产业不仅将成为利润丰厚的支柱产业,也将为人类健康提供更多更好的保障。

致谢 衷心感谢全球著名药物市场调研咨询公司 IMS 的 Dr. Bibby 提供的 2003 年全年和 2004 年上半年前 50 位生物技术药物销售额的宝贵数据。

参考文献

- [1] Allaway G P, Davis-Bruno K L, Beaudry G A, et al. Expression and characterization of CD4-IgG2, a novel heterotetramer that neutralizes primary HIV Type 1 isolates. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 1995, 11(5): 533 ~ 539
- [2] 胡显文,陈惠鹏,汤仲明,等. 生物制药的现状和未来(一): 历史与现实市场. *中国生物工程杂志*, 2004, 24(12): 95 ~ 101
Hu X W, Chen H P, Tang Z M, et al. *China Biotechnology*, 2004, 24(12): 95 ~ 101
- [3] 胡显文,李佐虎,肖成祖. 细胞工程在生物制药工业中的地位. *生物技术通讯*, 2001, 12(2): 117 ~ 122
Hu X W, Li Z H, Xiao C Z. *Letters in Biotechnology*, 2001, 12(2): 117 ~ 122
- [4] Thiel K A. Biomufacturing, from bust to boom ... to bubble? *Nature Biotechnology*, 2004, 22(11): 1365 ~ 1372
- [5] 胡显文. 治疗用单克隆抗体药物的开发. *中国医药情报*, 2000, 6(5): 11 ~ 14
Hu X W. *Chinese Pharmaceutical Information*, 2000, 6(5): 11 ~ 14
- [6] Morrison S L, Johnson M L, Herzenberg L A, et al. Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 6851 ~ 6855
- [7] Jones P T, Dear P H, Winter G, et al. Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature*, 1986, 321: 522 ~ 525
- [8] McCafferty J, Griffiths A D, Winter G, et al. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature*, 1990, 348: 552 ~ 554
- [9] Green L L. Antibody engineering via genetic engineering of the mouse: XenoMouse strains are a vehicle for the facile generation of therapeutic human monoclonal antibodies. *J Immunol Methods*, 1999, 231: 11 ~ 23
- [10] Brekke O H, Sandlie J. Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2: 52 ~ 62
- [11] Pavlou A, Reichert J. Monoclonal antibodies market. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3: 383 ~ 384
- [12] Weber Yaron. Lysosomal storage diseases market. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3: 9 ~ 10
- [13] Lolis E, Bucala R. Therapeutic approaches to innate immunity: severe sepsis and septic shock. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2: 635 ~ 645
- [14] Harris J M, Chess R B. Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2: 215 ~ 221
- [15] Elliott S, Lorenzini T, Asher S, et al. Enhancement of therapeutic protein *in vivo* activities through glycoengineering. *Nature Biotechnology*, 2003, 21: 414 ~ 421
- [16] Ohman E M, Harrington R A, Cannon C P, et al. Intravenous thrombolysis in acute myocardial infarction. *Chest*, 2001, 119 (Supp): 253S ~ 277S
- [17] 胡显文. 人造生物皮肤. *生物技术通讯*, 2000, 11(3): 215 ~ 218
Hu X W. *Letters in Biotechnology*, 2000, 11(3): 215 ~ 218
- [18] Hüsing B, Bührle B, Gaiser S. Human tissue engineered products-today's markets and future prospects. *Lifescience, jr. es/docs/TE-WP1-Final Report*, 2003
- [19] Goldstein J. Burgers, Chaps, and genes: great issues for medicine in the twenty-first century. *Annals New York Academy of Sciences*, 1999, 882: 9 ~ 21

The Present and the Future of Biopharmaceuticals(2): Trends and Prospects

HU Xian-wen¹ CHEN Hui-peng¹ TANG Zhong-ming² MA Qing-jun¹

(1 Beijing Institute of Biotechnology Beijing 100071, China 2 Beijing Institute of Radiation Medicine Beijing 100850, China)

Abstract Both genomics and proteomics are contributing to understanding and determining more targets which involved in the development of human disease, and will enable us to develop more precise medicine to treat and prevent more diseases. This means there will be more opportunities for biopharmaceutical breakthroughs, eventually, more and better biomedicines will be approved. There are several trends in development for biopharmaceuticals: (1) the products expressed by mammalian cell will dominate the biopharmaceutical industry for a long time. (2) Therapeutic antibodies represent the second wave of innovation created by the biopharmaceutical industry. (3) More and more macromolecular and functional proteins with complex structure will be developed into therapeutic medicines, especially for treatment of hereditary diseases. (4) Chemical modifies, especially PEGylation of approved biomedicines to improve efficacy is one of the trends in development of new biotech drugs. (5) Site-directed mutagenesis of some biotech drugs to get second generation biomedicines, such as mutants of EPO, insulin and t-PA. (6) Tissue engineering, cell therapy and gene therapy are full of opportunities and challenges.

Key words Biopharmaceuticals Recombinant protein Therapeutic antibody Mammalian cell culture PEGylation Tissue engineering Market