生命奥秋

LifeOmics

2017年9月刊 总第98期

肾

癌

CRISPR技术专利大战

一次关于生物多样性的变革

无奇不有
生命世界
你读生命
走进科学

目录 CONTENTS

专　题 — 肾癌

前言 01

一、肾癌离我们有多远，让数据说话 02

二、细论疾病风险 04

1. 肥胖悖论：脂肪有助于提高肾癌生存率 04

2. 酒精摄取：酒精有助于降低肾癌发病率 08

三、药物研发 13

1. 靶向疗法：难以捉摸的肿瘤靶点 13

2. 免疫疗法：精准调控式免疫攻击 19

四、观点荟萃 24

1. 关注基因组以外的肾癌诱发因素 24

2. 从五个方向改善肾癌疗法 26

下一期（2017年10月刊）预告：再生医学

下一期《生命奥秘》将以《再生医学》为专题。所谓再生医学，指的是能将机体的生理机能回复到类似初始状态的一系列方法和技术。下文将详细介绍再生医学的发展历程，及其相关的研究进展。

热点

CRISPR技术专利大战 31

百态

一次关于生物多样性的变革 38

本刊文章主要由国外网站文章编译而成，如有版权问题，请版权所有人与本刊联系。
凡本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处“生命奥秘”。
本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

Worthy Issues

专题

肾癌

特约编辑：张洁，女，博士在读，研究方向：神经生物学

前言

尽管肾癌一直“低调”而“神秘”，但它却是全球十大癌症杀手之一。由于肾癌难以被发现和治愈，同时人们对它的了解也不多，所以一直没成为研究热点，大众关注度也不足，继而也无法推动疾病相关发现的进程。幸运的是，随着研究人员研究的不断深入，情况将会改观。

研究人员现在正在深入了解肾癌的一些谜团——例如为什么肥胖似乎是肾癌的危险因素，但却会降低肾癌的危险程度；为什么酗酒是很多癌症的风险因素，但似乎又有助于预防肾癌。

此外，研究人员还通过遗传学和生化标记物来逐渐了解肾癌的病因。但部分研究人员认为，除了基因组之外，还应该考虑环境和生活方式等因素对肾癌发生、发展的影响。

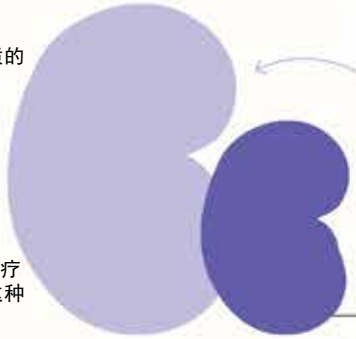
多年来，肾癌患者可选的治疗方案少之又少，几乎只能选择手术切除肿瘤，而且患者生存时间很少超过一年。但是近十年来，肾癌的治疗方法呈爆炸性增长，新型靶向药物已能靶向控制肿瘤生长和血管新生的通路。虽然这些药物对晚期癌症有效，但无法阻止肿瘤复发。另一类药物则通过增强机体免疫力，杀伤肿瘤。

即使有了这些进步，肾癌还是有许多未解之谜。在诸多领域，研究者们还需要继续努力，不断开发预测和检测肾癌的新方法，并且减少药物的副作用，同时延长治疗效果的持续时间。只有这样，我们才能最终战胜肾癌。

一、肾癌离我们有多远，让数据说话

“沉默的杀手”

肾癌是影响身体过滤血液中废弃物质的功能的一系列疾病的统称。尽管肾癌发病率高，生存期短，但相比于其它“高调”的癌症，它低调得多，是一位“沉默的杀手”。它的沉默体现在两方面：一方面，肾癌早期没有明显症状，70% 的肾癌患者都是在常规体检或其它疾病检查中被发现的；另一方面，学界和大众对肾癌的关注相对较少，肾癌缺乏有效的治疗手段。但随着对肾癌研究的深入，这种状况将逐渐改变。



2012 年，全球[1]

338,000

肾癌新发病例

143,000

肾癌死亡人数

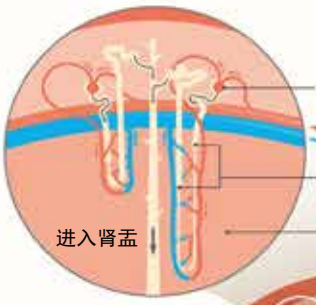
男性肾癌发病率是女性的**两倍**。

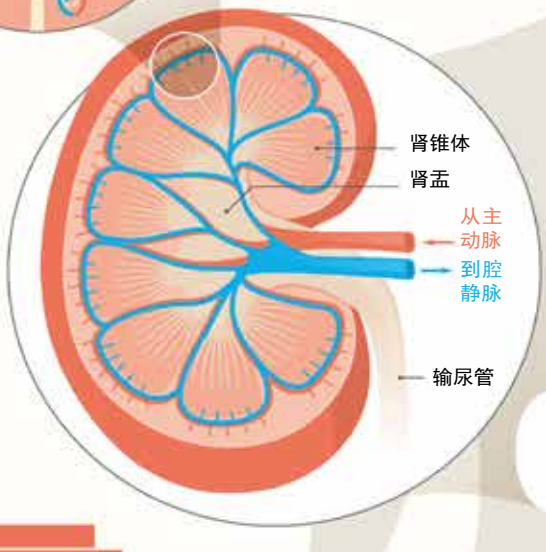
常见形式

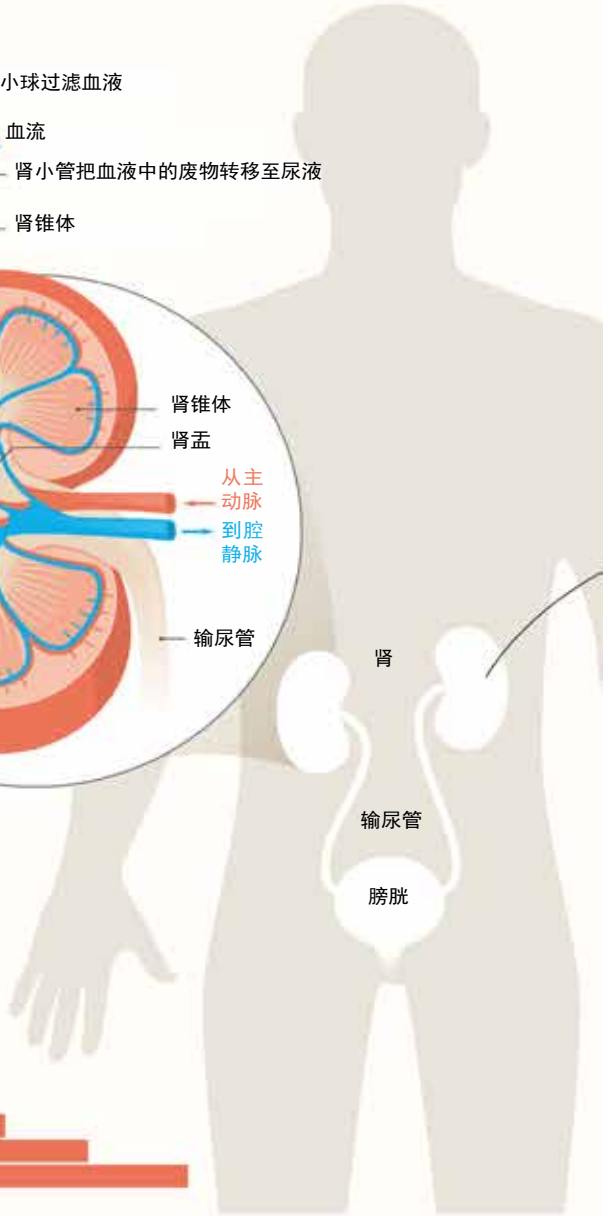
肾细胞癌（renal cell carcinoma, RCC）是肾癌最常见的形式，它影响肾脏内部的肾小管通过肾小球将废物从血液运输到尿液中。RCC 具有多种亚型，其中透明细胞癌最为常见。剩余的 10% 的肾癌是移行细胞癌（transitional cell carcinomas），它始发于肾盂细胞和输尿管细胞[2]。

肾细胞癌：

- 透明细胞癌
- 乳头状癌
- 肾嫌色细胞癌
- 肾嗜酸细胞瘤
- 其它



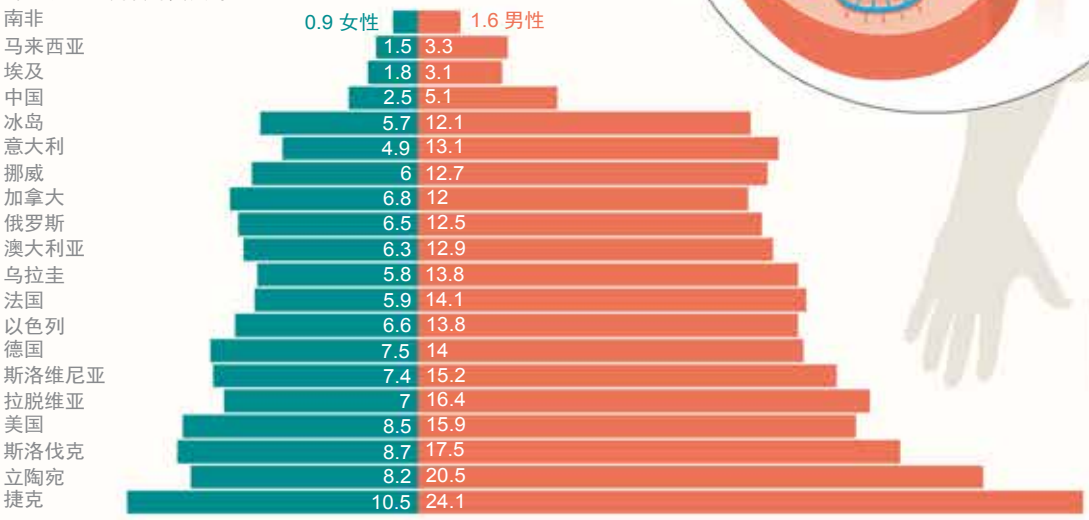




各国肾癌发病率

肾癌在一些国家的发病率远高于另一些国家[3]。发达国家 RCC 的发病率比发展中国家高四倍以上。 一般来说，移行细胞癌发病率的地域差异较小。

每十万人的肾癌发病率



诱发因素

吸烟和肥胖是肾癌最大的风险因素。

吸烟

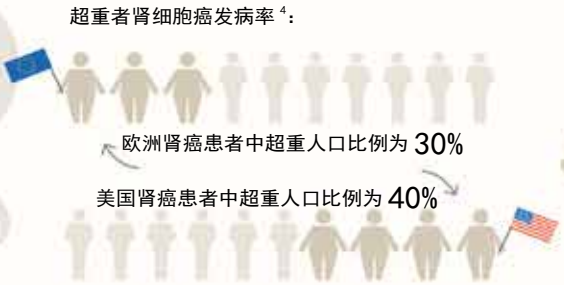
发达国家吸烟人数的下降有助于减少肾癌发病率[4]。

肥胖

BMI 指数每增加 5 个点，男性肾癌发生率增加 24%，女性增加 34%。全球肥胖人口的增加可能是肾癌发病率增加的重要因素[4]。

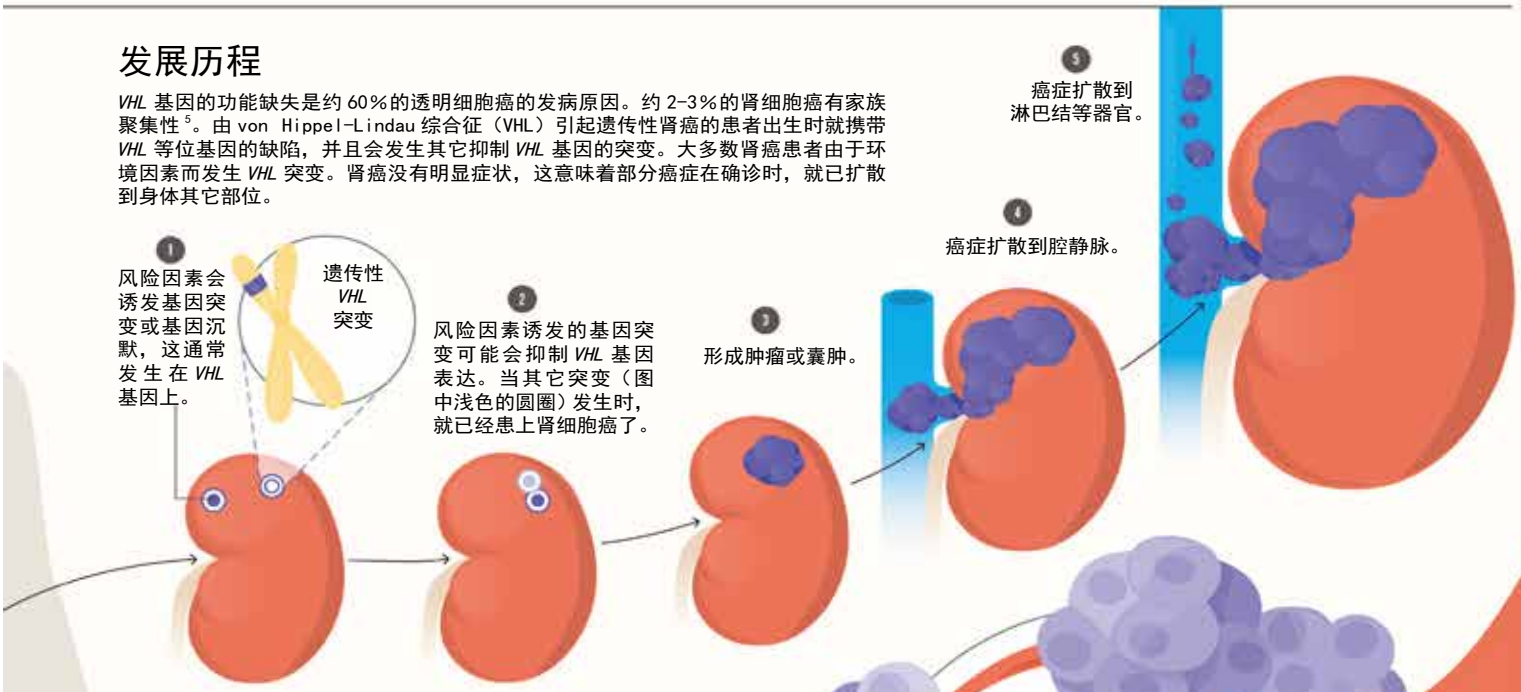
高血压

肾癌的风险随着血压升高而增加。虽然肥胖可以增加血压，但两个风险因素是独立的，同时有这两种风险因素的人的发病率高于只有其中一个风险因素的人[4]。



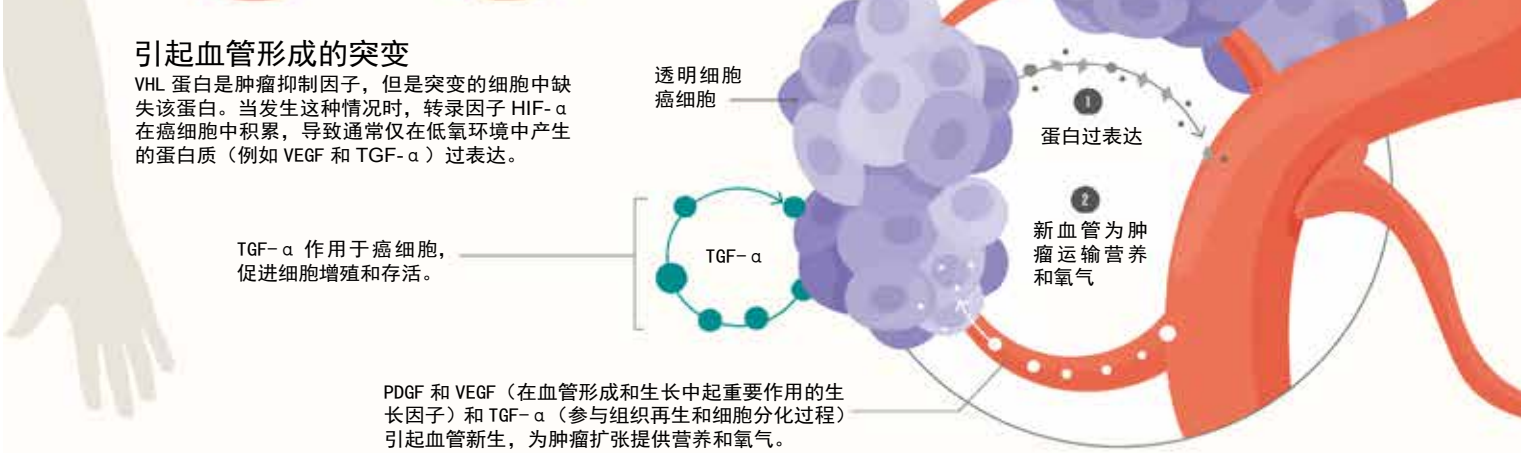
发展历程

VHL 基因的功能缺失是约 60%的透明细胞癌的发病原因。约 2-3%的肾细胞癌有家族聚集性[5]。由 von Hippel-Lindau 综合征（VHL）引起遗传性肾癌的患者出生时就携带 *VHL* 等位基因的缺陷，并且会发生其它抑制 *VHL* 基因的突变。大多数肾癌患者由于环境因素而发生 *VHL* 突变。肾癌没有明显症状，这意味着部分癌症在确诊时，就已扩散到身体其它部位。



引起血管形成的突变

VHL 蛋白是肿瘤抑制因子，但是突变的细胞中缺失该蛋白。当发生这种情况时，转录因子 HIF-α 在癌细胞中积累，导致通常仅在低氧环境中产生的蛋白质（例如 VEGF 和 TGF-α）过表达。



Sources: 1. Znaor, A. *et al*. *Eur. Urol*. 67, 519 – 530 (2015). 2. Cohen, H. T. *et al*. *N. Engl. J. Med*. 353, 2477 – 2490 (2005). 3. Ferlay, J. *et al*. *GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. (IARC, 2012)*. 4. Chow, W.-H. *et al*. *Nature Rev. Urol*. 7, 245 – 257 (2010). 5. Rini, B. I. *et al*. *Lancet* 373, 1119 – 1132 (2009).

二、细论疾病风险

1 肥胖悖论：脂肪有助于提高肾癌生存率

脂肪在肾癌中的作用非常复杂。虽然肥胖人群肾癌发生率更高，但他们的生存率也更高。这个“肥胖悖论”是真的存在吗？还是只是因为实验设计不严谨而带来的“伪现象”。

在佛罗里达州奥兰多举办的2015年泌尿生殖癌症研讨会（2015 Genitourinary Cancers Symposium），一个研究团队的研究成果震惊了所有参与者。在肾癌的海报展示环节上，丹娜法伯癌症研究院（Dana-Farber Cancer Institute）由 Laurence Albige领导的研究小组展示了一项包括4657例转移性肾癌患者的研究结果。按照体重指数（BMI）的指标，将近三分之二的患者属于超重或肥胖人群。这种分类非常有意义——目前已确定的是，肥胖是肾癌的风险因素。但令人震惊的是，他们发现，患者的BMI越高，他们的生存期越长。

事实上，这一发现并不稀奇，因为越来越多的研究发现，肾癌中存在“肥胖悖论”。此外，“肥胖悖论”也存在于其它疾病，例如心脏病、糖尿病，甚至还有髋部骨折。加州大学（University of California）肾脏专家Kamyar Kalantar-Zadeh是首批报告这些混杂结果的研究者之一。他做了个形象的比喻：“肥胖就像是那个把你带进肾癌监狱里的人，但在监狱里

他反而成为了你的朋友。”

然而，这个想法颇具争议。事实上，奥兰多研讨会上的另一张海报上的结论与Albige的结论完全相反。来自布莱根妇女医院（Brigham and Women's Hospital）和哈佛陈曾熙公共卫生学院（Harvard T. H. Chan School of Public Health）的Kathryn Wilson等人梳理了两项纵向研究的数据，确定了以575个个体作为肾癌研究对象。作为两项长期流行病学研究的一部分，这些患者被追踪了三十多年。当研究人员细查这些患者的病史，并查看他们的BMI轨迹时，他们发现，肥胖个体不仅肾癌发病率高，死亡率也更高。

哈佛陈曾熙公共卫生学院的流行病学家Martin Lajous指出，真正的问题是，肥胖悖论是不是真实的生物学现象。Lajous没有参与这项研究，他认为，更有可能的是，困惑的结果只是“不良分析策略带来的伪现象”。

确定肥胖悖论是否真正存在于肾癌中，对于治疗和管理该疾病的临床医生而言非常重要。例如，胖子和瘦子是否会发展出不同类型的肾癌？治疗时需要考虑体重因素吗？而且临床医生是否应该建议肾癌患者节食？

纽约纪念斯隆凯特林癌症中心（Memorial Sloan Kettering Cancer Center）的流行病学家Helena Furberg表示，因为肥胖日益流行，我们需要搞清楚肥胖悖论究竟是怎么回事。

悖论的根源

早在20世纪80年代初，法国的一个研究团队发现，晚期肾脏疾病的透析患者心血管并发症较少，并且如果他们超重，那么生存时间就会更长。接下来几十年的研究证实了该发现。2012年，韩国的研究人员发现这种悖论也适用于肾癌。

最常见的肾癌类型是肾细胞癌。这种疾病的最大危险因素是肥胖。美国肾癌病例中肥胖人口占40%，在欧洲则占30%。此外，世界范围内的肾癌发病率一直在增长 ——从1997年到2007年，美国肾癌发病率每年增加2.6%，韩国肾癌发病率则每年增长6%。为了进一步调查肥胖在肾癌中的作用，韩国研究人员在1994年至2008年间跟踪随访了1543例接受手术切除肾肿瘤的患者。结果他们发现，相比于正常体重的患者，肥胖的肾癌患者死于肾细胞癌的风险降低了53%。

为了确认他们的研究结果是否与其他实验室的结果一致，研究团队进行了全面的文献检索，并找到了15项来自欧洲、亚洲和美国的癌症特异性生存研究。研究人员发现，最低BMI分类的患者5年生存率约为76%，而最高BMI类别的患者5年生存率几乎为93%。

但是这些研究纯粹是观察性的。该论文的共同作者、首尔淑明女子大学（Sookmyung Women's University）的流行病学家Jung Eun Lee指出，他们不知道确切的机制。

寻找机制

在美国，Furberg和纪念斯隆-凯特琳癌症中心（Memorial Sloan-Kettering Cancer Center）的肾脏专家Ari Hakimi在他们的研究中也发现了肥胖悖论。不过他们的团队意识到，可以从更深层次来分析这些数据。

在2000年代中期，美国国家癌症研究所（US National Cancer Institute）和国家人类基因组研究所（National Human Genome Research Institute）一起，启动了癌症基因组图谱计划（the Cancer Genome Atlas, TCGA），以分析不同癌症的基因组。美国和加拿大的癌症研究所开始收集肿瘤的基因组信

息——纪念斯隆-凯特琳癌症中心就是其中之一。在TCGA团队选择进行基因组检测的透明细胞肾癌患者中，约四分之一（126名患者）曾在纪念斯隆-凯特琳癌症中心接受手术。

Furberg和Hakimi等人收集了这126名患者的医疗数据，并计算每位患者在手术前的BMI。他们想知道 BMI是否对肿瘤的基因表达产生影响。他们发现，的确如此。结果显示，肥胖患者*FASN*基因的表达较低。*FASN*编码酶脂肪酸合酶，这种酶负责合成脂肪酸——能量的主要来源。*FASN*基因表达若发生变化，则有可能会导致肾癌生长缓慢。这可能是肥胖对肾癌患者起保护作用的原因。

Albiges团队跟进了Furberg和Hakimi的工作，比较了正常体重和肥胖个体转移性肾癌的生存率。他们发现，肥胖患者的生存率更高，同时脂肪酸合酶的表达相对较低。Kalantar-Zadeh指出，纪念斯隆-凯特琳团队通过基因组分析，从更高层次解释了脂肪悖论。

身体脂肪分布

Lajous等肥胖悖论怀疑论者认为，以BMI作为肥胖的指标并不恰当。因为肌肉比脂肪重，所以健美爱好者可能与肥胖者有相同的BMI。吸烟者一般比较瘦，通常会被囊括在瘦子组别。另外，BMI也不考虑导致肌肉萎缩的相关疾病，因此肥胖的人可能也有正常的BMI，而目前已经知道，肌肉减少的癌症患者存活率相对低。

为了了解肾癌的肥胖悖论，一些研究人员现在正在寻找肾脏周围的脂肪。身体器官周围的脂肪不仅可以为器官提供保护，还可用于代谢。

Pennington生物医学研究中心（Pennington Biomedical Research Center）的代谢研究员Steven Heymsfield指出，如果你去除了所有的脂肪，肾脏功能也会受影响。

里斯本大学（University of Lisbon）的分子肿瘤学家Ricardo Ribeiro一直在研究各种器官的脂肪，观察其分子特征，测量其厚度。Ribeiro表示，他们正在研究特定脂肪库的重要性。

虽然Ribeiro对肾脏脂肪的研究还处于初步阶段，目前还无法得知结果，但是他早期对前列腺癌的研究可以为肾癌脂肪悖论提供一些线索。身体里的脂肪，包括器官旁的脂肪，有棕色、白色等不同的颜色。婴儿出生时，体内主要是棕色脂肪；随着人类变老，越来越多的棕色脂肪被白色脂肪替代。然而，运动似乎可以将白色脂肪转变成米色脂肪——白色和棕色之间的中间地带。

Ribeiro已经发现，前列腺周围脂肪的颜色影响着前列腺癌的侵袭性。分子分析和显微镜观察结果显示，前列腺癌周围的脂肪主要是白色的。当Ribeiro研究不同颜色的脂肪细胞和前列腺肿瘤细胞之间的相互作用时，他发现肿瘤在白色脂肪存在下更具侵袭性。这表明脂肪不提供生存优势——肥胖悖论在前列腺癌中不存在。

肾脏周围的脂肪似乎以棕色为主，且与体重无关。Ribeiro的团队正在调查肾脏周围脂肪的分子组成，特别是与肿瘤紧密接触的组织。该团队还对200个肾癌患者进行CT扫描，测量肾脏脂肪沉积物的厚度和密度，以查看这些指标在衡量肥胖上是否比BMI更全面。

Ribeiro表示，现在还不知道到底是怎么回事。但他认为，肾脏周围脂肪的颜色及其厚度也许可以解释为何肥胖能抑制肾癌。

方法论的问题

即使研究人员，例如Ribeiro能找到更精确的方法来测量肥胖，肥胖悖论的批评者也依旧坚持认为，研究人员在选择考察对象时，存在普遍的偏见。

以纪念斯隆-凯特琳癌症中心的研究为例。当Hakimi和Furberg等人开始研究肾癌的肥胖悖论时，他们首先研究了所有的方法——因为方法不当，会导致结果扭曲。Hakimi指出，他们的第一个问题是“这个现象能不能用其它混杂的因素来解释？”

为了研究这个问题，研究人员分析了几个变量。他们测量了肿瘤大小，发现正常体重组和体重超重组肿瘤大小并没有多大差异。他们还测量了白蛋白——营养状况的表征——的含量，最后发现正常体重组和超重组仍然没有差异。（低白蛋白提示患者由于疾病，已开始衰弱）若有可能，他们还会咨询患者是否在术前经历过减肥。但结论也没有变化。

Furberg指出，他们进行了多种参数的调整，研究结论还是不变。

研究缺乏的一条信息是患者多年的体重轨迹——研究仅包括手术前几周才进行的一次体重测量。但是，肥胖悖论的批评者认为，单一的BMI测量是有问题的，在癌症里尤其如此。刚刚在麦吉尔大学（McGill University）完成博士学位学习的流行病学家Hailey Banack表示，与其它具有肥胖悖论的疾病，如糖尿病和心血管疾病不同，癌症可能在出现临床病症之前，就导致了体重减轻。因此，仅在手术之前测量人的BMI，甚至仅通过询问患者最近体重是否减轻，可能会把以前肥胖而最近正常的人和常年BMI正常的人分到一组。更重要的是，持续的减肥会增加癌症的侵袭性。这些都可能是正常体重个体不良预后的原因。

正是因为如此，Wilson团队的研究成果才如此引人注目。在该研究中，研究人员收集了开始于1976年的护士健康研究（Nurses' Health Study）和随后始于1986年的男性健康专业随访研究（Health Professionals Follow-up Study）参与者的医疗史。这两项研究每两年记录一次参与者的BMI指数。若以长时间的BMI指数作为分组的依据，那么肾癌中肥胖的好处就消失了。

医疗咨询

Heymsfield指出，探寻肾癌肥胖悖论的另一个问题是，医生该如何对肾癌病人提出建议。 病人该不该减肥？什么时间开始节食最合适？

大多数研究肾癌肥胖悖论的学者认为，改变医学指南，鼓励患者增肥完全是无稽之谈。毕竟，确诊后再变胖并不会立刻就产生保护作用。

相反，Banack和Furberg都认为，肥胖悖论的一种可能解释是，胖子和瘦子会发生不同亚型的肾癌。虽然超重（或以前肥胖）可能会引起肾癌，但对于正常体重的人来说，肾癌发生的原因是其它因素，如环境因素和遗传因素。因此，瘦子的癌症更具侵袭性。

Banack认为，虽然看起来肥胖具有保护

人们在肾脏周围发现脂细胞的沉积物。

性，但这是一种错觉。她指出，这可能是因为由其它因素引发的癌症更严重。

Furberg希望有一天可以根据个人的BMI或一些其它更适合的肥胖指标来指导肾癌的个性化治疗，以及提供更好的预后。Furberg表示，他和同事们正在研究，看是否可以更好地了解不同体型个体发生的肾癌类型。

梦之队

多个研究肾癌肥胖悖论的团队一反常态，并没有进入白炽化的竞争状态。相反，他们选择了合作，这在整个科学研究历史上，都是极其不同寻常的。

布莱根妇女医院（Brigham and Women's Hospital）泌尿科医师Mark Preston表示，合作对他们来说更有意义。

合作团队的安排是这样的：纪念斯隆凯特林团队评估Wilson、Preston等人纵向研究队列中参与者的肿瘤基因组；各个小组通过评估腰围和BMI，弥补BMI作为单一肥胖指标的不足。毕竟健美爱好者很少有大肚子。

Preston猜测，两个研究里都有部分东西是正确的，只是研究者们还没找到关键因素。

2 酒精摄取：酒精有助于降低肾癌发病率

每周一到两杯酒似乎能降低肾癌的发病风险。

虽然酒精摄取会增加肝癌、乳腺癌和直肠癌的发病风险，但却似乎会降低肾癌的发病风险。

一些“坏”习惯可能是有益的，这并不稀奇。例如，红葡萄酒和巧克力中的白芦藜醇（resveratrol）是一种有效的抗氧化剂，能降低癌症和心血管疾病的风险。虽然饮用红酒让人心情舒畅，但后来的研究表明，饮用葡萄酒并不能让人更长寿——至少白芦藜醇没有延长寿命的功能。

然而肾癌的情况并不相同。大规模研究表明，中度酒精摄取与较低的肾癌风险之间的联系是实际存在的——根据性别、年龄和饮酒量的不同，中度饮酒者比不饮酒者的肾癌发生率低20-30％。例如，首尔淑明女子大学（Sookmyung Women's University）的营养流行病学家Jung Eun Lee表示，一名中度饮酒者——每天消耗一杯中度葡萄酒或等量其它酒的人 ——罹患肾癌的风险降低了28％。Lee认为证据非常可靠，他们发现酒精可以降低罹患肾癌的风险。

然而，其中具体的生物学机制仍然是一个谜。研究者们提出的猜测包括利尿效应、雌激素等激素与胰岛素的相互作用等。鉴于肾癌的风险因素错综复杂、相互关联，因此辨明发挥作用的因素实非易事。目前可以确定的是，吸烟、糖尿病或高血压人群患肾癌的风险会增加。这三种因素都和饮酒有关。

利尿假说是最简单的：酒精通过促进排尿，减少潜在的致癌物质在肾脏中滞留的时间。一些研究人员建议，我们可以通过查看肾细胞癌和液体摄入的相对风险来检测该假说——因为如果是利尿作用，摄取等量的其它液体也可以起到类似的保护作用。但研究者并没有发现这种联系。液体的摄取似乎并不重要，但酒精的保护作用仍然存在。

Lee等人发现，总液体摄入增加并没有降低肾细胞癌的风险。这可能表明，我们可以排除液体摄取的稀释效应，排除利尿假说。

佛罗里达州杰克逊维尔的梅奥诊所（Mayo Clinic）研究肾癌的分子流行病学家Alexander Parker指出，如果利尿假说本身是正确的，其它利尿剂也应该有一定的保护作用。但目前还没有证据支持这一理论。Parker还表示，这个假设如果是真的，那么就意味着膀胱癌也存在这种保护作用，毕竟液体在膀胱滞留的时间比在肾脏滞留的时间长得多。但事实并非如此。我们并没有看到酒精对膀胱癌的保护作用。

另一种可能则是酒精影响身体对胰岛素的反应。Lee指出，有证据表明轻至中度酒精摄入可以提高胰岛素敏感性，而胰岛素敏感性低可导致糖尿病。鉴于糖尿病与肾脏疾病有关，这种机制或许合理。但是，到目前为止，没有研究者研究这种潜在联系。

性别差异

一些研究暗示，酒精对女性的保护作用强于男性。剔除其它因素，饮酒女性的肾癌发生率低于饮酒的男性。

Parker表示，美国女性每周饮用超过三份标准酒精饮料（每一份可能是一小杯葡萄酒或一罐啤酒），与没有饮酒的人相比，肾癌的发病率有所降低。但饮酒对男性肾癌的发病率并没有什么影响。中国浙江大学研究人员的另一

项荟萃分析发现，男性和女性饮酒患者发生肾癌的风险低于非饮酒者，但女性的风险降低更明显。

似乎，酒精对女性的保护效果大于对男性的保护效果。但不要太早下结论。Lee在2007年的一项研究得到了与此矛盾的结论：男性和女性同样受益于饮酒（见图“同等受益”）。该研究没有发现任何性别差异。

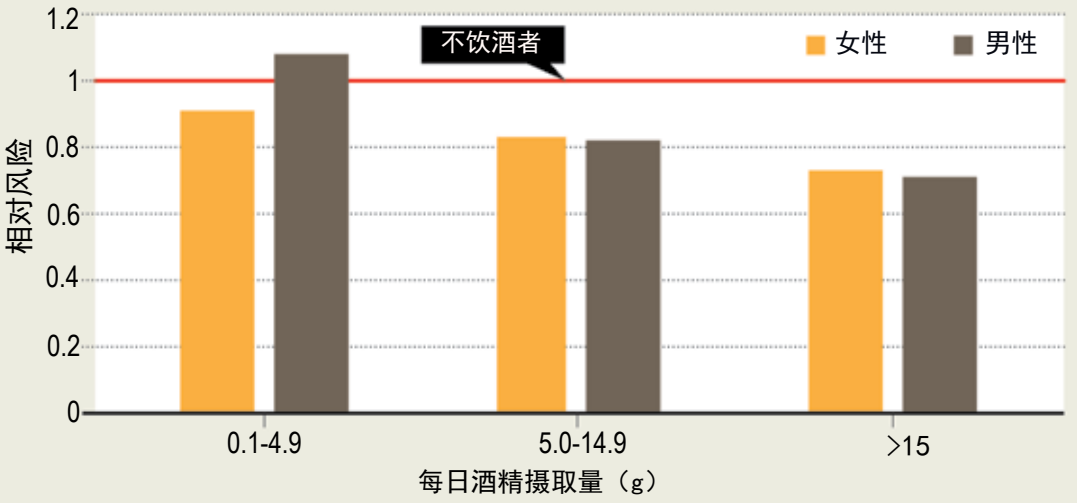
对此，Parker则表示，事实上，有很多项研究都显示了性别之间的一些差异，虽然这些差异很小。在Parker的研究中，与非饮酒者相比，男性饮酒者的相对风险为0.8-1.5，而女性则为0.2-0.9。浙江大学的荟萃分析结果与此相似，男性为0.69-0.91，女性为0.47-0.76。Parker指出，尽管差异几乎总是很小，但确实存在。当12、13个研究中有8或9个研究能看到这种现象，那就很有意思了。然而，可能迄今为止的研究中这种差异并没有显著的统计意义。目前仍然没有规模足够大的研究来明确地得出结论。如果饮酒对女性有更强的保护作用，这种差别也不大。

Parker现在正试图明确酒精的保护作用是否来自雌激素。雌激素代谢后，被分解成反应性醌类，这种分子可以损害DNA。雌激素水平在女性中高于男性，因此如果酒精与雌激素相互作用，并阻止它们损伤DNA，那么酒精对女性的“偏爱”就情有可原了。

为了测试这个想法，Parker正在调查代谢酒精的酶有遗传变异的妇女是否在肾癌风险方面也有降低。对于能够快速代谢酒精的妇女来说，酒精的保护作用应该相对较弱，因为酒精被更快地排出体外。Parker预计，这项研究将在未来6个月内出结果。

同等受益

一项分析发现，相比于不饮酒者，每天一杯酒（>15g 组）的男性和女性肾细胞癌的发病率有所降低。



酒精的保护剂量

如果酒精确实具有保护性，那么该喝多少？斯德哥尔摩Karolinska研究所营养流行病学家Alicja Wolk研究了约59,000名40至76岁的瑞典妇女。结果她发现，每天喝2.5-4.3克或每周喝1-2杯葡萄酒的女性发生肾癌的风险比每周喝酒少于一杯的女性要低三分之二。

Wolk指出了一个问题，即在此剂量之上，酒精的保护效果究竟是随着摄取量的增加而突然消失、逐渐消失，还是保持不变？前两种情况并不罕见。正如Wolk所说，这在生物学中经常发生。例如，维生素的适量摄取也有一个范围，超过这个范围就过犹不及了。但这个问题的数据相对较少，还不能直接下结论，毕竟很少女性一周喝几杯酒以上。

此外，Wolk发现，女性似乎每天需要喝至少2.5克的酒精，才会有明显的保护效果。同时，如果女性每天摄取的酒精超过4.3克，这种保护效果就会消失。

Wolk还指出，其中一个混杂因素是男性和女性的酒精消费常常有差异。相比瑞典中年男性，瑞典中年女性并不太能接受饮酒。瑞典年轻姑娘们喝酒喝得多一点，但Wolk的研究并不包括这个群体。该研究采取让参与者自我陈述的方式，并且没有区分情景性饮酒和日常饮酒。为了进一步确定酒精的保护作用，精细衡量酒精摄取量非常重要。

Wolk指出，目前酒精保护作用的生物学机制只能靠推测。一个潜在的线索是，酒精似乎对超重的女性有更多的保护作用。这提示了酒精和甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白和胰岛素之间的联系。以前有研究表明，绝经后妇女中，饮酒者的甘油三酯、胆固醇和低密度脂蛋白都相对较低。

Parker补充说，酒精有可能与饮食中的其它物质以某种方式相互作用，或者酒精饮料的类型也可能是一个因素。剥离其它因素，而单独考察酒精的效果并不是一件容易的事。Lee 2012的年荟萃分析显示，啤酒、葡萄酒或烈酒的保护效果没有显著差异。

由于肾癌的类型并不单一，所以问题变得更加复杂。透明细胞癌是最常见的肾癌，约占肾癌的70％。罕见的肾癌类型，如乳头状肾细胞癌几乎没有研究数据。Parker补充说，不同类型的肾癌异质性非常高，因此酒精的保护作用可能并不适用于所有类型的肾癌。但问题是，因为一些类型的肾癌很罕见，对照组和队列研究很难募集到足够的志愿者。2015年美国有大约62,700例肾癌，乳头状细胞癌仅占十分之一，其它类型更不常见。

Lee指出，肾癌研究主要集中在欧洲和北美开展。虽然美国的研究包括一些非裔美国人，但不清楚这些发现是否适用于全球人口。人们可能会问，这是否适用于中东人？亚洲人？我们应该开展更大规模的研究，除招募非裔美国人外，还要招募来自亚洲和中东的志愿者。

此外，分离不同危险因素的影响也很重要。Lee指出，早在2007年，她的研究就表明，即使在吸烟、高BMI和高血压人群中，酒精仍然具有保护作用。但是，如果要检查不同的风险因素组合（例如，吸烟+肥胖与单独吸烟），那么就需要不同的统计方法。然而，为肾癌的深入流行病学研究寻找资金可能是一件非常困难的事，因为该疾病不像其它癌症那样常见，并且不像神经胶质瘤、肝癌或胰腺癌那样致命。用Parker的话来说，那就是肾癌有些尴尬。

Lee希望能在韩国等国家开展进一步研究，以揭示肾癌的民族差异，以及酒精保护的

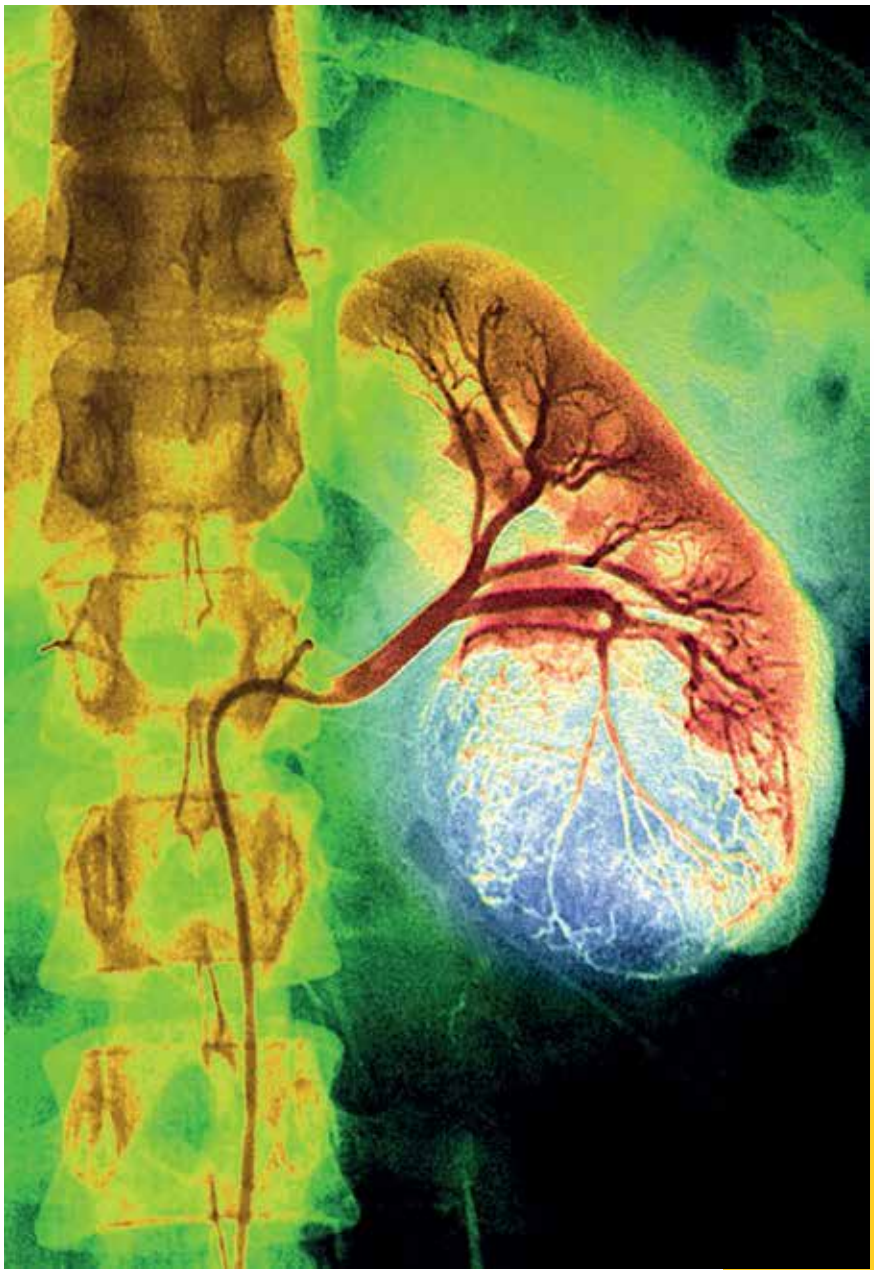
性别差异和剂量差异。

同时，Parker乐观地认为，未来癌症遗传学的研究可能会得到一些线索。他表示，酒精似乎是保护性的，但也许它仅针对某种分子类型，这就是他们下一步要研究的问题。环境因素和基因-环境互动等都值得研究。

酒精与某些生活方式的因素相结合也许是问题的关键所在。Parker提到了红酒中的白芦藜醇——曾被看作可以防止心脏病发。初期研究存在的问题是，红酒摄取可能和其它因素混合在一起了。或许是因为那些地区天气寒冷，心血管疾病发病率低。并且，饮用红葡萄酒的人通常幸福感较高，或有通过饮用红酒等方式来缓解压力的习惯。这些心理、情绪上的因素也会影响心血管疾病的发生。此外，或许还存在一些与红葡萄酒发生相互作用的食物，因此保护作用很可能并不仅仅是来自白芦藜醇。酒精对肾癌的保护情况与此类似——是酒精本身有保护作用呢，还是饮酒所代表的生活方式、态度有保护作用，还是酒精会与其它食物相互作用，进而产生保护作用呢？这些问题，都有待解答。

三、药物研发

1 靶向疗法：难以捉摸的肿瘤靶点



肾癌的X射线成像显示，该肾癌为透明细胞肾癌。

晚期肿瘤可能已有对应的靶向药物，但是为什么这些治疗方法无法阻止早期肿瘤复发？

肾癌让临床医生屡屡受挫。肾癌对化疗的耐药性很强，并且通常在发生转移之后才被发现。到2013年，临床试验中接受治疗的晚期肾癌患者的平均生存期仅为两年半。

纽约纪念斯隆凯特林癌症中心（Memorial Sloan Kettering Cancer Center）的医学肿瘤学家Robert Motzer指出，25年来，他一直在这里照顾肾癌患者。上世纪80年代，Motzer刚开始工作时，肾癌患者接受化疗后，平均生存期还不到一年。

过去几十年来，肾癌治疗的研究进展十分缓慢。但在过去一年，三种新药的问世为肾癌患者带来了希望。对此，巴黎癌症研究所古斯塔夫•鲁西（Gustave Roussy）的肾癌专家Bernard Escudier指出，这些治疗方法代表了“将改变我们治疗病人的方式，并延长生存期的第一次大革命”。其中的关键进展是研究靶向肾癌中促进肿瘤血管新生和生长的基因突变。这些新药靶向的是肿瘤发生发展过程中的具体途径，并且极有可能能够转化为个性化治疗，从而比以前的治疗更有效，副作用更少。Motzer表示，这些新药将在一年内进入临床，从而彻底改变肾癌治疗的现状。

但这场肾癌治疗革命似乎遗漏了早期肾癌——靶向治疗不能防止早期肿瘤复发，并且可能具有严重的毒性作用。不过值得庆幸的是，这个喜忧参半的情况将帮助研究者们深入了解肾癌的发病机制。

“伏击”癌症通路

研究者们发现，大多数透明细胞肾细胞癌（clear-cell renal cell carcinoma, RCC）患者都存在VHL基因失活（RCC患者数目占全部肾癌患者的70%）。*VHL*通过调节血管生成——心血管的形成来抑制肿瘤。肿瘤生长需要血管提供血氧，而VHL失活则会促进血管形成，从而促进肿瘤生长。

1971年，美国血管研究者Judah Folkmanl首次提出通过阻断血管生成来遏制肿瘤生长。此后，研究人员一直试图落实这种想法。第一种抗血管生成药物贝伐单抗（bevacizumab）于2004年被批准用于转移性结肠癌。如今，该药物已被批准用于多种癌症，包括晚期RCC。索拉非尼（sorafenib）和舒尼替尼（sunitinib）是首批被批准的专用于RCC的抗血管生成药物，它们分别于2005年和2006年获得批准。Motzer指出，这些药物改变了肾癌的治疗方式。现在我们抛弃了化疗，转向了靶向治疗。这开辟了肾癌治疗的新时代。

继索拉非尼和舒尼替尼后，各种针对肾癌的靶向药物纷纷问世。接下来的十年里，帕唑帕尼（pazopanib）和阿西替尼（axitinib）（见图“肾癌治疗的新时代”）进入了大众的视线。这些药物靶向参与血管生长的酪氨酸激酶受体或血管内皮生长因子受体（VEGFR）。2016年春季，美国食品和药物管理局（FDA）批准了另外两种VEGFR抑制剂卡博替尼（cabozantinib）和乐伐替尼（lenvatinib）（与依维莫司（everolimus）联用），以用于治疗RCC。这些新批准的药物比之前的药物更有效，同时对早期癌症的

治疗效果更佳，且对生存期的延长更明显。对此，Motzer认为这可能是因为这些药物靶向的是VEGFR之外的其它途径。

另一类新药靶向与血管生成相关的另一种酶mTOR。西罗莫司（temsirolimus）和依维莫司（everolimus）分别于2007年和2009年经过FDA批准，用于治疗晚期RCC。

此外，还有一类药物靶向一种存在于多种癌症中的蛋白：PD-L1配体与T细胞上的PD-1受体结合，并阻止这些免疫细胞攻击癌症细胞。2015年11月，Nivolumab被批准用于治疗晚期RCC。检查点抑制剂可以阻断T细胞上的PD-1，促进免疫细胞探测和杀死肿瘤。

潜力与问题

包括去年上市的新药在内，目前的肾癌药物都有明显且混合的治疗效果。Motzer团队开展了几种新药的随机试验，结果发现这些药物一般都能改善患者的生存期。帕唑帕尼和舒尼替尼将平均存活期提高到两年半。Motzer指出，虽然肾癌患者得到了一段时间的缓解，但随后普遍都会复发。他们很少看到病情完全缓解的情况。

这些结果让宾夕法尼亚大学Abramson癌症中心（University of Pennsylvania Abramson Cancer Center）的肾癌和前列腺癌专家Naomi Haas非常失望。她表示，药物经过批准后，进一步对它进行试验的动力就小了。随着时间的推移，她们意识到这些药物有很多副作用，而且只有一小部分患者得到了完全的康复。

并且这些药物不适用于早期肿瘤。如果RCC在扩散到肾脏之前被发现，那么患者的存活率就会很高。不幸的是，因为早期肿瘤很少引起疼痛或明显出血，所以很难被常规体检或其它疾病检查发现。如果肿瘤没有在早期被发现，那么就只能在发生转移后才会被发现了。

纪念斯隆凯特林癌症中心（Memorial Sloan Kettering Cancer）的医学肿瘤学家Robert Motzer。

肾癌治疗的新时代

靶向药物改变了肾癌治疗的方法。最近批准的新药为患者提供了更好的生存机会。

药物	品牌	靶向途径	美国FDA何时批准用于治疗RCC*	欧洲药品管理局何时批准用于治疗RCC*
索菲拉尼（Sorafenib)	Nexavar	VEGFR	2005	2006
舒尼替尼（Sunitinib）	Sutent	VEGFR	2006	2006
西罗莫司（Temsirolimus）	Torisel	mTOR	2007	2007
依维莫司（Everolimus）	Afinitor	mTOR	2009	2009
贝伐单抗（Bevacizumab）	Avastin	VEGF-A	2009	2008
帕唑帕尼（Pazopanib）	Votrient	VEGFR	2009	2010
阿西替尼（Axitinib）	Inlyta	VEGFR	2012	2012
Nivolumab	Opdivo	检查点抑制剂 PD-1	2015	2016
卡博替尼（Cabozantinib）	Cabometyx	VEGFR、MET和AXL	2016	尚未批准
乐伐替尼（Lenvatinib）	Lenvima	VEGFR	2016	尚未批准

注：*代表以前被批准用于治疗其它类型癌症的药物。

目前对早期肿瘤的主要治疗方法是手术切除。根据肿瘤的大小，临床医生切除部分或全部肾脏，可能还会切除附近的肾上腺和淋巴结。还要进行后续随访来监控肿瘤复发或扩散的情况。化疗、激素治疗和使用白细胞介素-2或干扰素的免疫治疗的临床试验结果都显示，这几种治疗方法下的肿瘤复发率并无差异。

临床医生可以使用一种名为列线图表（nomogram tables）的预测工具来评估患者的复发风险。该表包括诸如肿瘤分期、患者的状态（例如症状或身体素质）、肿瘤分级（基于Fuhrman分级系统）和肿瘤坏死情况等标准。如果根据这些标准，肿瘤复发的概率达到40%及以上，则认为肿瘤是高风险的。

在今年早些时候的一项研究中，Haas研究了抗血管生成药物舒尼替尼和索拉非尼对早

期RCC患者（这类患者的复发风险较高）的治疗效果。因为这些药物能有效阻止晚期癌症的发展，研究者们希望它们同时也能防止肿瘤复发。但事实并非如此。Haas指出，他非常惊讶地发现，用药组和对照组的复发风险几乎是一样的。

最终该项研究被提前终止了。在复发时间方面，手术切除肿瘤后使用药物的试验组与对照组相比并没有显著差异。原因是什么？Haas认为，这个答案将有助于研究人员更好地了解RCC扩散的机制。

据Haas解释，靶向治疗可能不适用于早期RCC，因为与大的、高度血管化的转移性肿瘤相比，形成新肿瘤的“微转移瘤”并没有自己的血液供应系统。

相比晚期患者的副作用，这些药物对早期患者的副作用更严重。这些副作用主要包括高血压、手足综合征（手掌足底形成了红斑，感觉迟钝）、皮疹和疲劳。Hass指出，目前尚不清楚为什么早期肾癌患者的副作用更严重。参与她的研究的患者可能比晚期阶段的患者更健康，因此这些人可能更容易注意到，并报告副作用。Hass认为，没有肿瘤时，药物可能会导致更严重的副作用。这些药物没有攻击目标，即肿瘤，因此‘脱靶’效应更为明显。它们会攻击正常的器官，从而让患者感觉比较难受。

Escudier指出，现在有试验在研究其它VEGFR抑制剂对早期RCC的治疗效果，但他对结果并不乐观。Escudier表示，很有可能所有这些试验结果都是阴性的。这些药物也在乳腺癌和直肠癌等其它类型癌症的临床试验中惨遭滑铁卢。他对Hass项目的阴性结果“并不感到意外”。

改变护理标准

不要沮丧，还是有好消息的。抗血管生成药物改变了对晚期RCC的护理标准，延长了患者的寿命，并提高了生活质量。

从化疗到免疫治疗，再到抗血管生成药物，随着新药从实验室进入临床，推荐用药的方案也随之发生改变。RCC有四种药物选择，因为在大多数情况下，肿瘤最终会对靶向特定通路的药物产生抗性，所以解决抗性的策略是不同药物交替使用——通常是换成靶向其它途径的药物——直到肿瘤完全消失。

治疗方案可以变化，一线治疗主要包括免疫治疗、VEGFR抑制剂或mTOR抑制剂。一旦肿瘤发生抗性且出现发展，患者将换成另一种治疗方案——不同的VEGFR或mTOR抑制剂或检查点抑制剂nivolumab。

但是Motzer通过将靶向三个途径的两种药物联用，取得了很理想的效果。他使用的两种药物是靶向VEGFR和成纤维细胞生长因子受体（该受体也被认为在RCC血管生成中起作用）的乐伐替尼和靶向mTOR的依维莫司。这两种药物组合比单用依维莫司效果更佳。虽然Motzer预计有所改善，但他没想到效果差异这么明显：药物组合阻止癌症发展的时间中位数为14.6个月。

该临床2期试验结果使得FDA批准了乐伐替尼与依维莫司联合用于治疗晚期RCC。

Motzer现在正在计划一项随机对照试验，以比较乐伐替尼与其它两种药物的组合疗效，对照组使用舒尼替尼。

Motze和Escudier也发现，卡博替尼使用组的生存期比依维莫司使用组的生存期长。Motzer表示，他们不知道为什么两种药物联用效果如此之好。除抑制VEGFR外，卡博替尼还能抑制其它两种酪氨酸激酶——MET和AXL。这两种酶在RCC患者体内表达水平也偏高，并且与不良预后相关。Motzer还表示，药物联用的良好效果，可能是因为与这两种酶发生了相互作用。

个性化治疗

新的治疗方法意味着治疗方案可能会随之改变。Escudier表示，现在研究的优先事项是确定如何为患者选择最佳治疗方案。了解如何最优化使用现有药物非常重要。例如，如果一种药物对约30%的患者非常有效，那么医生如何确定哪些人应该服用这种药物？

虽然目前根据复发风险、癌症阶段，以及之前接受的治疗对患者进行分层治疗，但这种分层其实是非常粗糙和不准确的。个性化治疗的关键在于根据患者肿瘤发生的特定通路异常选择药物——也就是为正确的患者选择正确的药物。

在不久的将来，治疗RCC的策略应当是先确定靶标，而不是直接联用靶向多种通路的药物。Escudier指出，不久后，他们将只会对那些mTOR通路发生畸变的患者使用mTOR抑制剂疗法。但是如果要决定哪种疗法效果最好，那么临床医生就需要一些测试来确定是哪个通路发生了畸变。测试方法可以是用生物标志物或基因组和下一代测序方法来确定肿瘤的表型。接下来的几年，我们应该能很快看到基于肿瘤表型选择治疗方案的试验结果。个性化治疗不仅更有效，而且还有助于避免一次服用几种药物的叠加副作用。

研究人员还需要了解药物治疗的时间和剂量。Escudier表示，剂量要够，才能保持药效；但同时又不要太过，以防止产生严重的副作用。靶向治疗的良好效果改变了晚期RCC患者的治疗目标。过去，临床医生常用的治疗目标是无进展生存期（多长时间癌症复发）和总生存期（病人的存活期）。现在，他们甚至开始以癌症消失为治疗目标了。根据对新药的响应率和已报告的生存率，Escudier预计，未来20%-30%的患者将可以完全康复。

Escudier还指出，患者生存率的提高有了双重的改善。医生和患者时常见面，成了朋友。不过最终患者还是没能活下来。目前还没有办法治愈RCC，这的确很让人沮丧。Escudier希望，新疗法能带来更好的预后，为患者带来福音。

2 免疫疗法：精准调控式免疫攻击

免疫检查点抑制剂等免疫疗法提高了身体的免疫力，能有效抵御肾癌。

2013年，Robert Motzer治疗了一位71岁的晚期肾癌男性患者。该患者几乎已处于死亡的边缘。作为纽约纪念斯隆凯特林癌症中心（Memorial Sloan Kettering Cancer Center）的医学肿瘤学家，Motzer当时正在招募一批患者，为一项特别有希望的新疗法进行1期临床试验。该试验联合使用了两种名为检查点抑制剂的免疫疗法。这两种药物可以提高机体免疫力，杀伤肿瘤。那位71岁的患者参加了这项研究，并且非常幸运地存活了下来。Motzer指出，他现在还是完全康复状态。Motzer看到他现在每两周进行一次维持治疗。现在的问题是，该患者是否可以停止维持治疗。

免疫治疗推动了肾癌的研究。Motzer的患者服用的其中一种药物是检查点抑制剂nivolumab。该药物于2015年11月（以及2016年4月在欧洲）经过批准，用于治疗晚期肾癌。Nivolumab是第一种可延长对一线治疗无响应的肾癌患者寿命的药物。研究人员现在正试验各种新的免疫治疗疗法，以期延长患者的生存期，甚至治愈肾癌。

这些免疫疗法都利用了免疫系统的步兵——T细胞的免疫力。激活的T细胞能杀死肿瘤细胞，并防止癌症传播到大脑和其它器官。马萨诸塞州波士顿总医院

（Massachusetts General Hospital）的免疫学家Marcela Maus指出，T细胞不仅能杀伤肿瘤细胞，还能记住癌症细胞的特征。

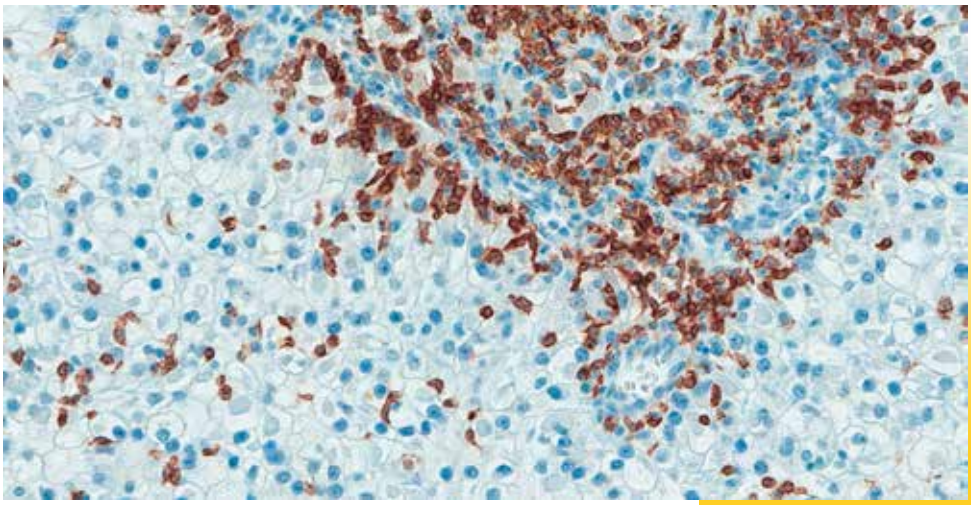
Motzer和Maus一样，非常热衷于使用免疫疗法治疗肾癌。Motzer认为，其它治疗方法很难让人兴奋。新的免疫疗法是现有疗法里最具潜力的。

肾癌是全球第十二大最常见的恶性肿瘤。2012年新确诊的肾癌病例数目为338,000。肾癌常发生于65岁或以上的人群。在美国，肾癌的5年存活率在75％和81％之间。然而，大约30％的患者会发生转移，预后更差。由于尚不明确的原因，肾癌对化疗或放疗响应不佳。

少数情况下，肾癌会自发消退。因此，科学家早在19世纪末就推测，癌症很容易受到免疫攻击。肿瘤学中的第一种免疫治疗——重组形式的白细胞介素-2（IL-2），于1992年被美国监管机构批准用于治疗晚期转移性肾癌。IL-2是一种参与细胞间传递的细胞因子。通过增加杀伤肿瘤的T细胞和自然杀伤细胞的数目，经IL-2治疗后，5％-10％的患者可以得到完全缓解（所有癌症症状都消失），其中一些患者在接受治疗后的几十年里都没有复发。但IL-2的毒副作用非常明显。虽然高剂量的IL-2效果最好，不过通常会导致患者身体衰弱，引起恶心、呕吐、皮疹、低血压、胃肠道出血、腹泻和混乱等副作用。

在20世纪中期，耐受性更佳的靶向疗法的出现，大大丰富了肾癌治疗工具箱。第一种靶向药物是抗血管生成药索拉非尼和舒尼替尼。这两种药物抑制血管内皮生长因子（VEGF，一种参与肿瘤血管形成的蛋白质）的受体，从而阻断肿瘤新生血管获取营养。另外两种靶向药物——2007年被批准的坦西莫司（temsirolimus）和2009年被批准的依维莫司（everolimus）——其作用机制是阻断参与癌细胞生长和增殖的mTOR蛋白。

靶向治疗可以延长肾癌患者的生存时间，但靶向治疗的问题也很大：肿瘤最终会对它们形成抗性。Motzer的病人都遇到了这种情况——在开始nivolumab试验前这些患者都对舒尼替尼和依维莫司有了抗性。



T细胞（被染成红色）渗透到透明细胞癌中的透明细胞里。

检查点抑制剂和药物组合

根据俄亥俄州克利夫兰诊所癌症中心（Cleveland Clinic Cancer Center）的医学肿瘤学家Jorge Garcia的说法，当靶向药物不再起作用时，医生就会选择采用nivolumab。Nivolumab的靶标是一种名为PD-1的蛋白质。PD-1是一种免疫检查点，它可在T细胞过度激活，损伤正常组织之前抑制T细胞活力。T细胞的杀伤作用太强，因此需要PD-1等检查点来抑制活力。肿瘤可以利用这种机制来保护自己。PD-1位于T细胞表面，与癌细胞表面的PD-L1受体结合，这种结合哄骗了T细胞，使其不再将肿瘤看作异类。Nivolumab阻断了PD-1与PD-L1的结合，从而将癌细胞暴露出来，遭受免疫攻击。

另一个免疫检查点抑制剂ipilimumab阻断的是另一种检查点CTLA-4。该检查点在免疫细胞造成过多炎症之前，抑制免疫反应。通过阻断CTLA-4，ipilimumab可以保持T细胞活性，使得它们可以继续识别和杀死癌细胞。但是，相比仅影响肿瘤中T细胞的nivolumab，ipilimumab能激活全身的免疫细胞，因此，副作用更强。对此，马萨诸塞州波士顿的Beth Israel Deaconess医学中心的医学肿瘤学家David McDermott指出，正是因为nivolumab比CTLA-4阻断剂的副作用小，所以“所有类型的患者，包括年老和严重的患者”都可以使用。

现在Motzer等人正在进行一项3期试验，以研究nivolumab和ipilimumab联用来治疗晚期肾癌。这种药物组合的基本原理是两种药物在检查点作用周期的不同时期起作用：通过阻断CTLA-4，ipilimumab可增强T细胞活性，而PD-1和PD-L1则作用于肿瘤微环境中的细胞。Motzer表示，到目前为止，初步结果看起来前景非常好。40%的受试者有持续的响应，这是很重要的，因为这个响应率已经可以和10多年来的标准一线治疗舒尼替尼相媲美。McDermott则警告说，把CTLA-4抑制剂加入药物组合，可能有利也有弊。它可以增加疗效，但随之而来的毒副作用也更明显。

在另一个3期临床试验中，研究者将VEGF抑制剂贝伐单抗和检查点抑制剂atezolizumab联用。这种药物组合的理由是抗血管生成可减缓肿瘤生长，从而为免疫治疗创造更有利的条件。Atezolizumab靶向PD-L1受体，而非PD-1。不过这种方法效果是否会更好，目前还不明确。罗氏药物研发中心（Roche Pharma Development）肿瘤部门的主管、anezolizumab的开发者Dietmar Berger认为，阻断PD-L1更安全，因为临床前研究表明这样可以降低自身免疫副作用的风险。但是McDermott警告说，在没有参照数据的情况下，对靶点PD-L1或PD-1进行优劣比较，都还只是推测而已。

肾癌疫苗的作用

检查点抑制剂是目前最先进的肾癌免疫疗法。但据加利福尼亚州洛杉矶Cedars-Sinai医疗中心（Cedars-Sinai Medical Center）的肿瘤学家Robert Figlin指出，其他方法也很有潜力，尤其是癌症疫苗。

癌症疫苗依靠患者的肿瘤细胞或肿瘤相关产物来提高机体针对恶性肿瘤的免疫反应。Figlin是ADAPT（一项使用AGS-003疫苗的3期试验）研究的首席研究员。在该研究中，科研人员首先提取了患者的血源性树突状细胞——一种抗原呈递免疫细胞，然后将这些细胞暴露于来自这名患者的肿瘤RNA，从而制备出疫苗。随后，他们将疫苗重新输回患者体内，以期这些树突状细胞能够刺激机体免疫系统去攻击携带肿瘤的RNA标记的细胞。

Figlin指出，到目前为止，肾癌疫苗已经无法压制肿瘤周围组织的免疫抗性了。为了

解决这个问题，ADAPT试验联用AGS-003与抗血管生成药物舒尼替尼。舒尼替尼能抑制一些限制免疫响应的白细胞，例如源于骨髓的抑制细胞和调节性T细胞。一项2期试验的结果令人鼓舞：21名患者中有13名都得到了一定的缓解，尽管没有一个患者完全康复。已完成患者招募计划的3期研究预计将于2017年年中得出结果。Figlin表示，他们已经治疗了400多名患者了，期间没有遇到任何重大的安全问题。

Figlin等人希望查明部分肾癌患者的响应更好，并且对免疫疗法的响应大于其它疗法的原因。在每年每位患者的治疗成本高达10万美金的情况下，寻找能预测患者对免疫疗法产生响应的生物标志物是肾癌免疫疗法的优先研究课题。然而，到目前为止，这项研究还是徒劳无功。Motzer指出，他们还没有找到可在临床上应用的肾癌生物标志物。McDermott则补充说，科学家之前认为肿瘤中的PD-L1水平可能是一个生物标记物，但结果让人失望，部分原因是PD-L1是瞬时表达的。这意味着，如果你对肾脏的错误部分进行取样，你就可能会得到假阳性结果。McDermott强调，目前正处于研究阶段的其它潜在生物标志物包括表达$CD8^+$的T细胞和肾脏中肿瘤浸润性白细胞的数目。

McDermott表示，目前很明确的一点是，癌症侵袭性越强，突变越多，免疫治疗起效的可能性就越大。这是因为高度突变的癌症表达更多引起免疫应答的异常抗原。我们需要更好地了解哪些突变会引起免疫响应。McDermott等人希望有更持久的响应，同时期待能看到更多病人处于生存期曲线的末端。McDermott对提高生存期的中位数没有那么感兴趣，他想看到的是，更多的病人病情得到缓解，并且能尽快停止用药。

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

职位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
2.具备良好的生命科学前沿触觉；
3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com

四、观点荟萃

1 关注基因组以外的肾癌诱发因素

John Leppert

Chirag Patel

John Leppert和Chirag Patel指出，我们需要将流行病学和环境暴露研究相结合，以充分挖掘精准医疗的潜力。

被确诊为肾癌的患者经常问医生：为什么我会得癌？确诊之后，患者往往会回顾家族史，或考虑他们是否具有致癌物质暴露史。许多人会问，他们的饮食、行为（如吸烟、饮酒或缺乏运动）或其它问题（如高血压或慢性肾脏疾病）是否是肾癌的病因。他们想知道，自己应该怎么做，才能最大限度地提高对治疗的响应率，或降低手术后的复发率。不幸的是，我们也不知道答案。这种无知状态是时候要改变了。

当然，过去20年来，我们一直以惊人的速度提高自己对肾癌生物学的理解。分子分类重塑了我们对这种疾病的理解，这种疾病现在被认为是发生于肾脏的一系列癌症，每种肾癌具有不同的生物学机理和预后。*VHL*基因突变的发现有助于确定血管生成在肾癌最常见亚型RCC中的重要性。癌症基因组图谱计划（The Cancer Genome Atlas）等诸多努力已经寻找到多种与肿瘤形成相关的分子和遗传事件，并且已经鉴定出疾病相关突变和潜在的新治疗靶点。尽管这些工作加深了我们对肾癌的理解，但我们认为它们从根本上是有缺陷的，因为它

们高估了肾癌中基因突变的作用。这种错误认识误导人们以为，精准医学本身就能实现患者为中心的卫生医疗系统，并改善公共卫生。

最根本的问题从“为什么”开始。这些“为什么”并不局限于患者的“为什么是我？”，更广泛的问题包括：为什么肾癌是少数几个发病率稳步增加的癌症之一？腹部成像技术的推广只能部分解释这种现象：高灵敏度腹部成像技术的广泛使用提高了肾癌的检出率。为了解决“为什么”的问题，必须由流行病学和风险因素研究共同解答这个问题。

肾癌流行病学的研究已经明确了几个潜在的环境风险因素和患者个人因素。吸烟和肥胖是已知的、但影响不大的因素。虽然诸如石棉和溶剂等物质的暴露与该疾病暂时相关，但不影响临床决策。然而，常规的流行病学研究显示，单次暴露与疾病风险之间关联不大。此外，这些研究通常缺乏详细的临床、肿瘤学和治疗数据，使得难以将致癌物质的暴露与癌症的发生相关联。这导致了研究中广泛存在偏见，各个研究不一致，研究结果也不可重复。因此这些研究对临床决策意义不大。

其实我们可以做得更好。为了解开复杂的癌症谜题，我们必须分析复杂环境因素和病人的个人因素。流行病学与生物信息学、遗传学和表观遗传学相结合，有望大大加快我们对肾癌病因学的理解。从现有数据集分析物质暴露和肾癌发生之间的关系是一种理想的方法，因为这样可以找出与癌症发生相关的特定物质暴露，以便进一步研究。例如，电子病历现在可以提供病人病史的综合信息。诸如美国妇女健康倡议（US Women's Health Initiative）等群体已经存储了生物标本，以帮助研究者将分子变化与癌症结果联系起来。这些数据集以及癌症登记处中的数据集提供了一种低成本的方式来评估遗传和环境对疾病发生的影响。此外，科学家们可以整合这些已经有价值的数据集，从而鉴别与肾癌发生相关的患者个人因素，并重复、验证他人的研究。

纵观历史，群体水平的环境暴露数据总是很难被收集起来，并且很难将其与癌症发病率相关联，因此扩大现有阵列研究，收集基因组和物质暴露数据至关重要。例如，如果将包含大量患者个体风险因素与环境暴露的生物标志物数据的美国国家健康和营养调查（US National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES）与国家癌症登记数据整合，那么将可以帮助研究者分析环境暴露、癌症发病率和临床结果之间的关联。群体暴露数据将帮助我们开发更好的预测模型，使用遗传因素以外的更多相关变量。

若要实现肾癌流行病学的现代化，从而适应精准医学，那么就需要结合多种科学方法来整合这些不同的数据集。不过，值得注意的是，我们不能夸大这项工作的潜在益处。这些数据的整合对于理解新发现的突变和基因-环境互动至关重要。这些数据还能提示哪类病人对新疗法起响应。最重要的是，这些工作可以帮助我们解答那些“为什么”的问题。了解肾癌的病因，可能有助于回答最大的问题——我们如何从群体水平预防或显著降低肾癌发病率。

2 从五个方向改善肾癌疗法

Robert J. Motzer

Robert J. Motzer指出，要想在肾癌治疗领域取得真正的进展，我们必须关注五个主要领域。

过去十年，晚期肾癌的治疗取得了前所未有的进展。在2005年以前，大部分有远端转移的患者存活期都不到一年。肾癌（肾细胞癌）对化疗有高度耐受性，当时只有一种获批疗法——高剂量白细胞介素-2（IL-2）。但这需要住院来管理严重的毒性，并且只对少数患者有效。后来，研究者们发现，肾癌的主要类型——透明细胞肾癌的一个特征是促进血管生成的一个*VHL*基因发生了突变，肾癌的治疗才翻开了新的一页。此后，舒尼替尼和其它6种抗血管生成药物（帕唑帕尼、阿西替尼、索拉非尼、贝伐单抗、卡博替尼和乐伐替尼）相继被研发，并得到监管部门批准。这些药物，连同两种mTOR抑制剂和免疫治疗药物nivolumab已成为主要的治疗手段。仅过去一年，就有三种新药获得批准。通过按照肿瘤的进展而逐个使用靶向药物和切换药物，大多数患者都能存活得更久了。

作为一名致力于治疗晚期肾癌，并通过临床研究改善疗效的医学肿瘤学家，我经常被问

的一个问题是：晚期肾癌的治疗尚未被满足的需求是什么？”

五个未满足的需求

首先，完全缓解和持久响应。通常情况下，不到一半的患者肿瘤在治疗后会收缩，这是部分响应，肿瘤的某些部分仍然存留。而完全缓解，即肿瘤完全消失的情况是罕见的，并且几乎所有肿瘤在治疗后的两年里都会复发。在比较两种常见的一线抗血管生成药物帕唑帕尼和舒尼替尼的3期试验中，患者响应率分别为31％和24％。服用这两种药物后，只有少于1％的患者得到完全缓解。两年后，超过75％的患者都会复发。据报道，新的免疫疗法可以达到长期的响应：nivolumab的3期临床试验以先前接受过抗血管生成治疗的患者为受试者，其响应率为25％，但很多患者的响应都是持久性的。免疫治疗药物联用的临床试验，以及免疫治疗和抗血管形成药物联用的临床试验正在进行中，这些药物组合可能可以延长响应持续时间，并提高完全缓解率。

第二，生物标志物。目前我们尚未开发出血清或肿瘤生物标志物来指导肾癌治疗。尽管*VHL*基因在几乎所有透明细胞肾细胞癌中都是突变或沉默的，并且有研究报道指出了可以诊断肾癌的其它基因（例如*BAP1*），但这些突变都不能作为靶向治疗的响应预测指标。识别生物标志物可以帮助医生为每名患者选择最适合的药物和新的治疗靶标。

第三，减少药物相关毒性。肾癌需要长期护理，患者在治疗期间会发生一些令人难受的副作用。疲劳、脚底上的疼痛疮和腹泻都与服用抗血管生成药物相关，并且对患者的影响非常大。不同药物的副作用不同，一些情况下通过改变选择的药物可以避免副作用。例如，相比舒尼替尼，帕唑帕尼的疲劳和皮肤毒性更小，但是具有更多的肝毒性。除了生产更安全的药物，我们还需要更好地确定毒性机制，并懂得如何更好地驾驭它们。免疫治疗领域就有一个很好的例子——与mTOR抑制剂依维莫司相比，服用nivolumab的患者严重副作用更少。这是一个重要的发现，因为依维莫司一直被认为是耐受性最好的肾癌药物之一。

第四，非透明细胞肾细胞癌。药物开发主要针对透明细胞肾细胞癌，毕竟70％-90％的肾细胞癌都是透明细胞肾细胞癌。剩余的肾细胞癌被统称为非透明细胞肾癌，包括乳头状肾癌、肾嫌色细胞癌和肾移行细胞癌。这些类型的肾癌相对罕见，并且异质性较高。因此，很少有研究来探索非透明细胞肾癌的生物学机制，并且很少有针对这些亚型的新药临床试验。这个领域需要更多的关注。

五，早期检测。目前还没有在早期筛查肾癌的原发性肿瘤或转移瘤的办法。肾癌通常在

其它疾病的超声诊断中被发现。近20%的患者在初诊时已发生远端转移，另外20%-30%的患者肿瘤在手术后扩散。缺乏肾癌的早期筛查导致发生肿瘤转移的患者比例较高，而肾癌转移通常是致命的。

除了这五个未满足的需求，我们还需在降低治疗成本、了解肾癌的病因和寻找预防策略等方面做出努力。提高对这些需求的认识可以推动临床试验和基础研究。

原文检索：
1. Graham Shaw. (2016) The silent disease. *Nature*, 537(7620): S98-S99.
2. SUJATA GUPTA. (2016) The fat advantage. *Nature*, 537(7620): S100-S102.
3. J ESSE EMSPAK. (2016) Fortifying spirits. *Nature*, 537(7620): S103-S104.
4. CAROLYN BROWN. (2016) An elusive cancer target. *Nature*, 537(7620): S106-S108.
5. CHARLES SCHMIDT. (2016) Controlled attack. *Nature*, 537(7620): S109-S110.
6. John Leppert and Chirag Patel. (2016) Beyond the genome. *Nature*, 537(7620): S105.
7. Robert J. Motzer. (2016) What next for treatment? *Nature*, 537(7620): S111.

GeneCopoeia™
Expressway to Discovery

慢病毒包装服务

重磅来袭，低至 2000 元！

活动截止日期：2017 年 11 月 30 日

- 重磅新推出小规格，不分长短，震撼价2000元
- 高滴度 $> 1\times10^{8}$ TU/mL
- 实验周期短；现货产品多
- 小规格分装，避免反复冻融
- 100000+个现货ORF质粒，10000+个miRNA上调和下调质粒，5000+个shRNA质粒，5000+个启动子质粒（物种涵盖人小鼠大鼠），免使用费

产品名称	滴度	规格	特惠价
ORF 慢病毒 Promoter 慢病毒 lncRNA 慢病毒	$> 10^{8}$ TU/ml	100ul（50ul× 2管）	¥2,000
miRNA 过表达慢病毒 miRNA inhibitor 慢病毒	$> 2\times10^{8}$ TU/ml	50ul（50ul×1管）	¥2,000
shRNA 慢病毒	$> 2\times10^{8}$ TU/mL	50ul（50ul×1管） 200ul（50ul× 4管）	¥2,000（单条shRNA） ¥6,400（一套4条）

客户发表文章举例：

- A predictive computational framework for direct reprogramming between human cell types. 2016. Nature Genetics, IF 27.959. Lv165 vector expressing CDH1, FOS, FOXQ1, IRF1, MAFB, REL, SMAD1, SOX9, SOX17, TAL1 or TCF7L1.
- Integrin-α10 dependency identifies RAC and RICTOR as therapeutic targets in high-grade myxofibrosarcoma. 2016. Cancer Discovery, IF 20.011. Lentivirus construct bearing ITGA10 (Lv151).
- Helicobacter pylori-induced cell death is counteracted by NF-κB-mediated transcription of DARPP-32. 2016. Gut, IF 16.658. Lentivirus particles expressing DARPP-32 shRNA or control shRNA.
- Micellar delivery of miR-34a modulator rubone and paclitaxel in resistant prostate cancer. 2017. Cancer Research, IF 9.122. Lentivirus encoding GFP and luciferase (LP-hLUC-Lv201-0200).

GeneCopoeia™
Expressway to Discovery

凡同时购买慢病毒包装系列产品
（该优惠对单次下单有效）

DIY 系列 慢病毒包装试剂

任意 2 款： 9.5 折！

任意 3 款： 8.5 折！

任意 4 款： 7.5 折！

活动截止日期：2017 年 11 月 30 日

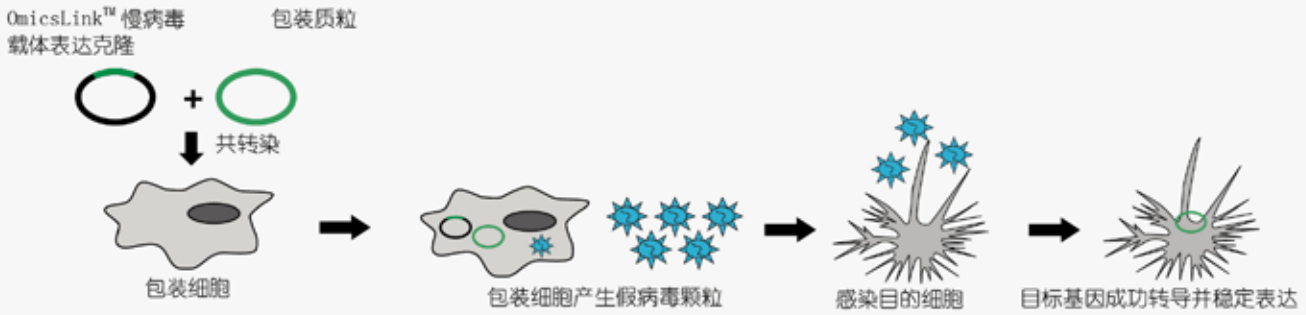


图 1. 慢病毒包装使用流程

产品列表

产品名称	产品特点	货号	规格	目录价
Lenti-Pac™ 慢病毒包装试剂盒 Hot ！	含优化的慢病毒包装质粒、高效转染试剂和专利滴度增强配方。	LT001	20 rxns	￥4736
		LT002	40 rxns	￥7912
		LT003	5 rxns	￥1500
Lenti-Pac™ 慢病毒浓缩试剂盒 Hot ！	操作简便，甩掉复杂操作或复杂仪器，普通离心机＋简单几步。	LT007	50 ml	￥1500
Lenti-Pac HIV qRT-PCR 慢病毒滴度检测试剂盒	利用 qPCR 法快速、简便测慢定病毒拷贝数。	LT005	20 次 RT+ 50 次 qPCR	￥2850
MycoGuard™ 支原体检测试剂盒（PCR 法） Hot ！	拉响工具细胞防卫战，全面防范支原体捣乱！	MP001	50 rxns	￥1250
MycoGuard™ 支原体检测试剂盒（生物化学发光法）	拉响工具细胞防卫战，全面防范支原体捣乱！	MP002	10 rxns	￥1700
		MP003	50 rxns	￥5000

★ 强烈建议，转染细胞前进行支原体检测，以保证实验顺利进行

客户发表文章举例：

- Comprehensive models of human primary and metastatic colorectal tumors in immunodeficient and immunocompetent mice by chemokine targeting. 2015. Nature Biotechnology, IF 41.667. Lenti-Pac HIV Expression Packaging Kit (LT001).
- GPRC5A suppresses protein synthesis at the endoplasmic reticulum to prevent radiation-induced lung tumorigenesis. 2016. Nature Communications, IF 12.124. Lenti-Pac HIV Expression Packaging Kit (LT001).
- Increased internalization of complement inhibitor CD59 may contribute to endothelial inflammation in obstructive sleep apnea. 2016. Science Translational Medicine, IF 16.796. EndoFectin MAX transfection reagent.
- Akt3 is a privileged first responder in isozyme-specific electrophile response. 2017. Nature Chemical Biology , IF 15.066. MycoGuard Mycoplasma PCR Detection kit (MP001).

复能基因 FulenGen　易锦生物 iGeneBio

扫一扫，关注官方微信

地址：广州科学城揽月路 3 号 F 区 8 楼 (510663)　电话：4006-020-200　020-32068595　邮箱：sales@igenebio.com　网址：www.fulengen.com　www.igenebio.com

Hot Topics

热点

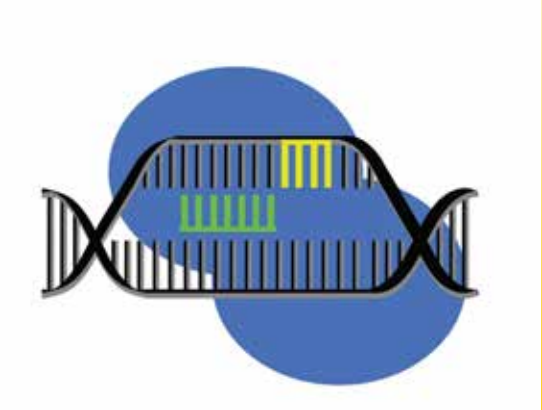
CRISPR技术专利大战

有关Cas9核酸酶的知识产权纠纷将损害整个基因组编辑研究领域未来的创新和发展。

基因组编辑技术（Genome editing technologies）正在迅速地被大家认可和接受，它已然对生物科技的发展起到了革命性的作用。最近，CRISPR核酸酶（CRISPR nucleases）已经被广泛地应用于基因组编辑实验当中。到目前为止，使用得最为广泛的CRISPR核酸酶非源自化脓性链球菌（*Streptococcus pyogenes*）的Cas9酶（SpCas9）莫属。不过相关的知识产权之争也妨碍了科研工作者们利用这项技术来开展基因组编辑研究。下面，我们将介绍几个以美国联邦巡回法院判例法（Federal Circuit case law）为依据，围绕Cas9酶知识产权问题做出的判决，或者正在审判之中的案例。从目前的情况来看，这些判决可能将损害基因组编辑技术未来的创新和发展。

第一个与CRISPR技术有关，能够在真核细胞内发挥功能的基因组编辑酶就是SpCas9。这种核酸酶能够将DNA切断，形成双链DNA断裂缺口（double-stranded break, DSB），同时也可以识别紧邻基因组内靶位点3’端、以NGG形式存在的、前间区序列邻近基序（NGG proto-spacer-adjacent motif, PAM）序列（图1）。自从SpCas9被发现并确定了功能之后，它就被广泛应用于包括原核生物和真核生物在内的各个物种的基因组编辑工作。

图1 Cas9蛋白介导的基因组编辑反应。图中蓝色表示的就是Cas9核酸酶，它能够与绿色的向导RNA（guide RNA, gRNA）链结合。向导RNA的另外一个部分能够与目标DNA链互补结合，以保证编辑位点识别的精确性。黄色的PAM位点必须位于向导RNA链的下游，在该处会形成双链DNA断裂位点。PAM位点里的DNA碱基能够与Cas9核酸酶里的氨基酸残基发生相互作用，导致Cas9核酸酶的构象发生改变，行驶核酸酶的功能，切断DNA双链。



SpCas9是第一个被科研人员们广泛接受和认可的Cas9核酸酶，但是很快，人们又发现了更多的Cas9酶。这些同源酶与SpCas9酶拥有很多相同的特点，比如都具备HNH结构域和RuvC结构域；不过它们在序列上都与SpCas9的同源性比较低，在生化特性和基因组编辑工作中的用途方面（比如适用细胞等）也都与SpCas9有所不同。

比如，源自金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）的SaCas9与SpCas9的氨基酸序列就只有17%的相似性，前者主要识别NNGRRT PAM位点，而不是后者识别的NGG PAM位点。在首次证实SaCas9可用于哺乳动物细胞基因组编辑工作的那个研究中，除了SpCas9之外，还一共检测了6种不同的Cas9酶，结果发现SaCas9是唯一可用的Cas9酶。不过在体外实验中，也有5种Cas9酶可以诱导DSB发生。该实验也说明，在不同的系统里，各种不同的Cas9酶的功能也是不同的，而且还是不可预测的。

除了SaCas9和SpCas9之外，科研人员们还发现了大量的Cas9酶。用SpCas9的序列在NCBI中针对非冗余蛋白数据库做BLAST分析，至少可以搜索到777个结果，同源性超过了75%。这些BLAST分析结果与SpCas9的相似性为27%-96%，其中只有3个结果的相似性超过了90%，只有19个结果的相似性超过了70%（图2）。不过在这些BLAST结果中，有一些都是尚未得到鉴别的蛋白质，甚至是疑似蛋白质，还有一些蛋白质已被体内实验或体外实验中进行过验证，结果人们发现其中只有一部分蛋白是有功能的。尽管我们没有发现太多可用于基因组编辑工作的Cas9酶，而且这些蛋白之间的序列相似性都比较低，但是发现这些蛋白的研究人员还是都申请了专利，而且很多都成功地获得了专利，这些专利基本上已经完全覆盖了整个Cas9酶家族。

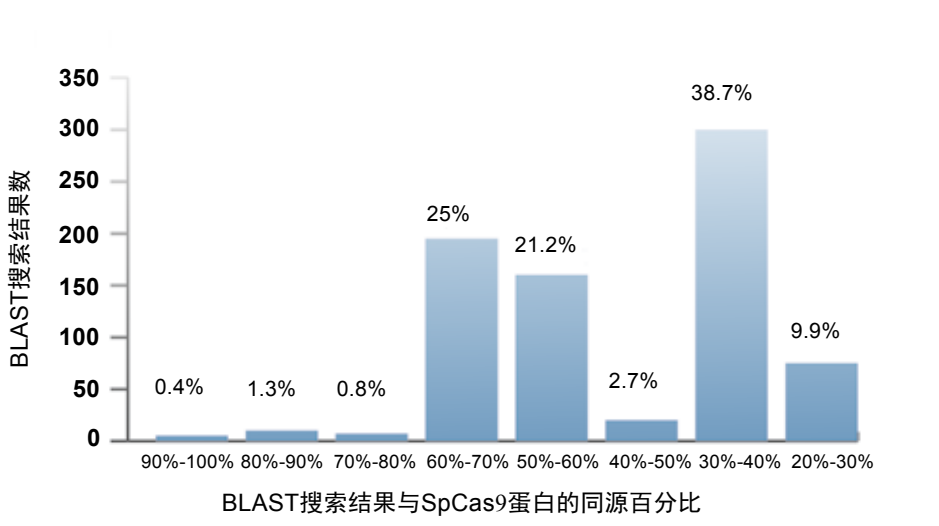


图2 BLAST搜索结果与SpCas9蛋白的同源百分比。通过BLAST搜索，人们发现一共有777个蛋白与SpCas9蛋白的同源百分比超过了75%。图中每个柱子顶端的数字表示在所有BLAST结果中有大比例的蛋白质与SpCas9蛋白的同源性在每个柱子底部标示的数字范围内。

Doudna和张锋的专利之争

在有关Cas9酶的专利大战中，有两个人是最著名的，那就是美国加州大学伯克利分校（University of California, Berkeley）的Jennifer A. Doudna和美国马萨诸塞州坎布里奇博大研究院（Broad Institute in Cambridge, Massachusetts）的张锋。他们争论的焦点就是谁才是发现Cas9酶可用于基因组编辑工作的第一人。他们俩都为Cas9酶及其使用申请了广泛的专利。不过最关键的一点是，Doudna一方申请专利的数据主要集中在原核生物实验方面，而张锋等人则主要集中在真核生物实验方面。虽然张锋的专利申请时间晚于Doudna最初的专利申请时间，但是张锋却因为美国专利和商标局（United States Patent and Trademark Office, USPTO）的专利快速审查机制而更早获批。

授予张锋的专利，以及暂未被授予Doudna的专利，基本上已经完全覆盖了需要用到全部Cas9酶的各个方面。专利的范围出人意料地也覆盖了与Cas9酶序列同源性非常低的各种酶，而实际情况是，并非所有的Cas9酶都具有核酸编辑的功能。更重要的是，我们根本就还不知道，如何预测Cas9酶是否能够行驶基因组编辑的功能。因此，哪怕是一个实验经验非常丰富的实验人员，也不知道做Cas9实验能否成功。

很显然，张锋和Doudna的专利申请产生了纠纷，而争论的焦点问题就是谁最先发明了Cas9酶技术。美国专利和商标局专利案件

上诉委员会（Patent Trial and Appeal Board, PTAB）关于该案件的裁决是，双方的专利申请没有冲突，因此张锋的专利依旧有效，而Doudna的专利申请也可以继续进行。这样一来，每一位希望用Cas9酶技术开展真核生物研究的科研人员都必须获得张锋的许可，否则就会面临侵权的起诉。目前，该判决已经提交了上诉。

美国加州大学在一份声明中指出，他们的专利申请工作正在顺利进行之中，他们的专利申请是："他们发明了CRISPR基因，而且发明了该基因在所有细胞中进行基因编辑的使用方法"。他们还指出，有充分的证据表明，是Doudna和Charpentier团队第一个发明了这项可应用于所有条件和所有细胞操作的技术。张锋的专利只是针对在特定细胞内使用CRISPR–Cas9系统的情况，与Doudna的专利申请并没有明显的专利差异（patentably distinct）。Doudna本人在一次采访中也指出，这次的判决就好像是给张锋的绿色网球授予了专利，可是她们将获得所有网球的专利。如果Doudna的专利申请真的获得了批准，那么今后所有打算使用CRISPR–Cas9系统的科研人员不仅需要获得张锋的授权，同时也需要获得Doudna的授权。哪怕使用的是SpCas9，或者是与SpCas9相似性很低的酶也不行。不过大家都估计，Doudna只能获得限于原核生物的专利授权。在早期的植物转化实验中，发明人也试图为转化的植物细胞申请专利。不过因为优先日期（priority dates）的问题，这些申请被判无效。美国联邦巡回法庭（Federal Circuit）发现，只有到了他们做出裁决的时候，科研人员们才有可能转化单子叶植物（monocots）的细胞。同样的，美国专利和商标局专利案件上诉委员会也指出，Doudna等人发明CRISPR–Cas9系统的时候还不可能对真核细胞进行基因组编辑操作。

专利审查标准

专利审查期间会有一位审查工作人员对专利的用途、可实施性、书面描述、新颖性和创新性进行审查。美国专利法35 USC §112规定，专利申请必须符合书面描述和可实施性的要求，要以完整、清晰、准确的语言阐述怎样制作和使用该发明，还应包括发明者认为的最佳使用示例。这也是美国联邦巡回法院一直强调的真实性和严谨性。美国联邦巡回法院一再重申，专利申请描述必须非常清楚，能够让从事该专业的普通人也可以很轻松地理解相关内容，并且操作成功。

专利书面描述方面的要求。一个严谨的专利申请书写，对DNA和蛋白质序列也是有非常严格的要求的，该判例最早来自1997年加州大学和Eli Lilly公司的案例（*The Regents of the University of California v. Eli Lilly and Company*）。当时美国联邦巡回法院认为，加州大学提交的人胰岛素cDNA、脊椎动物胰岛素cDNA和哺乳动物胰岛素cDNA的信息不符合专利书写要求。加州大学的科研人员使用cDNA克隆技术，分离得到了大鼠胰岛素原基因的cDNA序列。虽然加州大学的科研人员只得到了大鼠的基因序列，但他们却向美国专利商标局要求，对包括人、脊椎动物、哺乳动物的胰岛素原基因cDNA序列，甚至是含有这些序列的微生物都提出专利保护申请。Eli Lilly公司在回应加州大学侵权诉讼时辩护道，加州大学的这种专利保护要求是无效的，因为加州大学的专利申请书写不符合美国美国专利法35 USC §112的规定。

美国联邦巡回法院指出，加州大学的专利申请书并没有给出任何与人胰岛素原cDNA的结构或者物理特性相关的信息，也没有给出相应的核酸序列信息。而且，“脊椎动物胰岛素cDNA”、“哺乳动物胰岛素cDNA”这种说法本身也不符合专利申请书的书写要求。法庭认为，这种书写无法区分不同的基因（genus），只能够表明功能，但是功能上的定义不足以定义一个基因，因为这种功能定义只能够表明该基因具有某种功能，但不能指明这是哪个基因。法庭还指出，专利法要求，对发明的描述不是对某个结果的描述，即不能描述该发明能做什么，功能是什么，而应该描述该发明是什么。为了满足基因专利的书写要求，就不能只写出cDNA的名字，或者cDNA编码的蛋白质的名字，这是远远不够的。

张锋的专利申请就明确指明，是为“2型Cas9蛋白编码核酸序列”申请专利。但是Doudna的申请书就只写了为“Cas9蛋白”申请专利。他们二人的申请书都要求覆盖所有Cas9蛋白，没有任何序列方面的限制，与Eli Lilly案件情况类似。

《专利申请审查手册》（*Manual of Patent Examining Procedure*, MPEP）指出，专利审核人员在审核每一个基因专利申请时，都必须判断该申请是否代表了一大类基因，是否会让从事该专业的专业人员认为，该申请真的就是一项新发明。该基因能够涵盖多少种类，则根据专业人士的专业程度和专业知识，以及该基因自身的变异程度而定。如果专业程度很高，那么只需要列举很少量的种类就够了；如果基因自身的变异程度比较大，那么就需要列举更多的种类。由于各种Cas9蛋白的序列相似度都很低，而且在申请专利时，Cas9基因组编辑技术才刚刚诞生不久，所以大家都认为，在审核Cas9蛋白的专利申请时需要采用非常高的要求，一定要在专利申请书里详细地描述Cas9蛋白的各项信息。正如我们在前面提到的，Cas9蛋白序列的变异性非常大。在NCBI的数据库中，大部分Cas9蛋白的序列与SpCas9蛋白序列的同源性还不到70%，而且在BLAST结果中，差不多一半的蛋白与SpCas9蛋白序列的同源性还不到40%（图2）。不过虽然各种Cas9蛋白都拥有相同的基序，但是我们还不知道哪一些序列才是Cas9蛋白能够正常发挥作用所必需的序列。从事Cas9蛋白同源性（orthologs）研究的科研人员向我们清楚地展示了那些在体外能够正常发挥作用的Cas9蛋白，到了真核细胞内往往就不能发挥核酸酶的作用。

在实际的工作当中，美国专利和商标局在审核专利申请时，如果申请书里给出了一个蛋白质的序列，审核人员通常也会将专利申请书要求涵盖的范围减少5%。而要求给蛋白质的名字申请专利则是完全不可能的。审查人员往往很快就会指出，在蛋白质研究领域大家都知道，哪怕对蛋白质序列做一点很小的改动，也会让蛋白质彻底丧失其应有的功能。专利审查人员认为，虽然蛋白质里一个氨基酸发生改变，可能不太会影响其功能，但是这种突变积累下去是会增加蛋白质丧失活性的可能性的。针对基因保守序列，审核人员也会要求必须明确这些保守序列对于蛋白质活性的影响，如果没有写明这方面的信息，该申请书也是不合格的。

专利申请审查人员最常发现问题的另外一个地方就是，我们不能根据某一段氨基酸序列与一段已知序列在结构和同源性方面的相似

度，来预测该序列的功能。他们指出，哪怕是一点很小的突变，也会改变一段多肽的活性，甚至使其完全失活。由于Cas9蛋白的结构千差万别，所以更加不可能根据Cas9蛋白的序列来预测其结构和功能。Ran等人也用实验证实了Cas9蛋白的这种不可预测性。

那么在专利申请书中，是否能够使用“Cas9蛋白”这样的名字呢？目前看起来是不行的，因为各种Cas9蛋白的序列变化太大，而且我们也无法判断哪一种序列结构才是保证蛋白在某种细胞内能够正常发挥功能所必需的。

可行性方面的要求。对所有Cas9蛋白都提出专利申请，这也不符合可行性要求。所谓缺乏可行性，指的是在提出专利申请的时候，没有提供相应的证据，证明可以让任何一位在该领域的专业人士根据专利说明，完全掌握并使用这项专利技术，而不需要进行太多次的实验。

提出可行性要求是为了在鼓励原始创新与鼓励技术改进之间取得一个比较好的平衡。不过这也是在专利侵权纠纷中最常被提到的一条。因为可行性要求的存在，所以专利申请人必须在申请书里详细介绍他的这项发明，以便让同领域的任何一位专业人士都可以很轻易地掌握这项技术。如果同行们需要经过大量的实验才能够重复这项专利，那么这就是不可行的，该专利申请也就是无效的。设置这项要求是为了防止专利发明人无限扩大专利保护的范围，也是为了让其他发明人能够有更大的发明空间，对某项发明加以改进，而不用担心专利侵权的问题。

《专利申请审查手册》第2164.01章节中明确指出，在判断专利可行性的时候，需要看该专利申请是否提供了足够全面的相关信息，对该发明有充分详细的介绍，能够让该领域里的任何一位专业人士都可以根据该发明介绍很轻松就掌握这项发明技术。美国联邦巡回法院就此专门准备了一系列问题，来判断专利申请是否可行。其中就包括专利覆盖的范围、目前该技术发展的现状、该技术的可预测性和可行性案例。对任何Cas9蛋白提出的专利申请，如果缺乏可预测性（即不能够判断在某种细胞内是否能够正常使用这种Cas9蛋白，也不清楚蛋白内的PAM位点在哪），那么就认为该专利申请缺乏可行性。

在案件审理期间，张锋等人提供的证据证实了他们专利申请的可行性。他们指出，SaCas9蛋白应该被授予专利，不应该纳入本案之中。还特别提到，为了使用Cas9蛋白的同源蛋白，相关的实验技术人员首先需要明确每一个同源蛋白里PAM位点的序列。不过这也无法保证该Cas9同源蛋白能够在真核细胞里正常地发挥作用。Ran等人的研究成果也证实了这种观点。博大研究院认为，应该授予SaCas9蛋白专利，而不是Cas9蛋白专利，这也说明了在审查Cas9蛋白专利时，专利可行性要求的重要性。

这条规则也证实了对所有Cas9蛋白提出专利申请是不可行的。Ran等人对Cas9蛋白同系物开展的研究，以及最近发表的一项古细菌（archaeal）Cas9蛋白研究都表明，我们目前无法预测哪一个Cas9蛋白能够在哪一个细胞内正常工作，很多Cas9核酸酶在异源系统（heterologous system）里都不能正常地工作。实际上，在Ran等人检测的Cas9蛋白中，5/6的蛋白在体外实验中都没有问题，可是到

了细胞内实验就无法正常进行工作了。古细菌来源的Cas9蛋白在大肠杆菌里也无法正常的工作。在本案中，博大研究院非常有策略地强调了这样一点："与某一个催化位点具有同源性，这并不能证明序列同源性无关。SaCas9与SpCas9序列同源性低，结构差异巨大的事实也说明，使用SaCas9蛋白开展实验具有非常大的不确定性。"他们也在法庭辩论时突出强调了这一点。Ran等人的研究表明，从科学的角度来看，没有哪个Cas9蛋白肯定具有基因组编辑的作用。因此，也没有哪一位生物科研人员敢保证，进行Cas9蛋白基因组编辑实验一定会成功。

结论

CRISPR研究领域已经吸引了大量的资金，其中有一部分资金用在了科学研究方面，也有很多资金用到了打官司上，还有大量的风险投资基金进入了相关的生物技术公司，在努力开发商用的Cas9技术。还有很多公司正在努力开发他们自己的技术。再加上基因组编辑技术具有非常重要的意义和价值，因此所有人都非常关注这场CRISPR专利战。如果专利保护范围设定得当，就能够鼓励后来者开发出更好的Cas9技术。

设置专利保护就是为了促进科技的发展。不过专利发明人在获得专利保护的同时，也教会了所有的同行们这一技术。因此在专利保护范围和专利披露之间需要一个很好的平衡，如果这两方面取得了平衡，就可以促进科技的发展。所以对专利保护范围需要进行严格的审查，如果保护的范围太广，那么就会阻碍后续的创新和发明。同样的，如果这次CRISPR专利的保护范围被授予过广，那么一定会阻碍Cas9蛋白技术的发展。

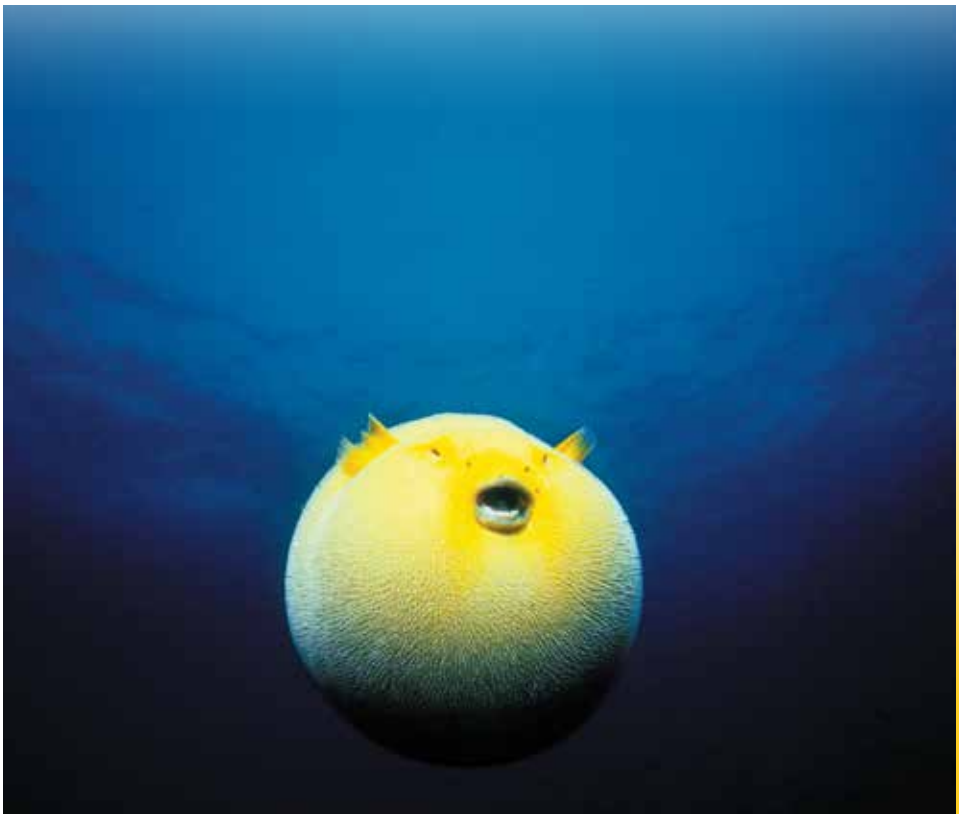
原文检索：

Benjamin N Gray & W Murray Spruill. (2017) CRISPR–Cas9 claim sets and the potential to stifle innovation. *Nature Biotechnology*, 35(7): 630-633.

Eason/编译

Amazing Lives
百态

一次关于生物多样性的变革



常见物种（例如图中的白点叉鼻鲀（guineafowl pufferfish, *Arothron meleagris*）可能对其生态系统起重要作用。

目前，生态学家在评估生态系统是否健康时，愈加关注的是物种特性——而非种属。

故事从Emmett Duffy说起。那时，他正在巴拿马海岸附近约5米深的水下，一条巨大的带有褐白色条纹的刺鲀（porcupinefish）映入了他的眼帘。这条鱼慢悠悠地游动着，要不是受到庞大的麋角珊瑚（elkhorn coral, *Acropora palmata*）树状分枝的庇护，恐怕就要被海洋中的肉食动物盯上了。这个场景使得Duffy——一位海洋生物学家——瞬间顿悟。此前，他去过加勒比海岸的多个地方，那儿的珊瑚种类更丰富，也更具有多样性，只是体积较小，附近的鱼类体型也同样偏小。而在这儿——博卡斯-德尔托罗群岛（Bocas Del Toro archipelago），却能在麋角珊瑚丛间看到多种大型鱼类。对此，Duffy表示，这些大鱼之所以能够在此大量生长，可能就是因为周围环境非常适合它们躲藏和生存。

对于Duffy而言，偶遇刺鲀（*Diodon hystrix*）为他长期以来一直在琢磨的问题带来了形成概念的契机：生态系统的健康恐怕不仅仅依赖于现有的物种数量，还依赖于其特性的多样性。目前，Duffy是华盛顿史密森学会（Smithsonian Institution）Tennenbaum海洋观测网络（Tennenbaum Marine Observatories Network）的主管。他表示，上述理念符合功能—特性生态学之名。多年以来，他的研究室也一直将其作为工作的一部分，但他总觉得这个课题太过学术化，也太抽象。

不过，这个理念却在生态学界逐渐盛行起来。它的表述是：生物多样性不必仅仅是某个生态系统中某类物种的数量，物种的不同特征及其能力范围内的影响对于保持生态系统的健康和复原力也同样重要。因此，需要测量有关物种的特征，比如生物体型或者在进化树中的枝长。

上述思维的转换对于生态学而言或具深意。毕竟，人们有必要了解和预测动植物是如何适应不断变化的气候条件的。目前，功能多样性的概念已经开始影响生态学家对生态保护的思考，有些政府部门甚至已经开始将生物特性的研究纳入其管理政策范围。例如，伯利兹（Belize）在几年前就开始保护鹦嘴鱼（parrotfish）免遭过度捕捞——这不仅仅是因为其数量缩减，更重要的是这种鱼能够为珊瑚清除海藻，从而对珊瑚礁的生存起到至关重要的作用。

来自科尔多瓦大学（University of Córdoba）的生态学家，兼阿根廷国家科学和技术研究委员会（Argentina’s National Scientific and Technical Research Council (CONICET)）成员的Sandra Díaz表示，仅仅追求大体的种群数目，尚不足以使人们充分利用已有的关于真实世界如何运转的海量信息。当然，也有一些专家仍然在关注种群数目。目前，到底该怎么定义这个“特性”，仍然是人们争论的根本问题。如果缺乏全球各个环境中物种特性和种群多样性的原始数据，那么由此做出的任何抉择都会过于短浅。对此，美国康涅狄格州纽黑文市（New Haven, Connecticut）耶鲁大学（Yale University）

的进化生物学家Walter Jetz表示，对于新的理念，他确实感到非常兴奋，但依然忧虑不已。毕竟，在面对目前有限的数据时，科学界的确需要非常慎重。

来自种群特性与数量的较量

几十年来，关于生物多样性的研究在本质上都不过是一个数字游戏：人们认为，生态系统所拥有的种群数目越多，就会越稳定，同时应对外界变化的复原力也越强。这种思维模式之所以有其意义，原因就是人们对某个生态系统的结构以及其中物种所起的作用了解甚少。而且，那时的技术尚无法测评物种的多个特性，即便测了，也无法处理那些会可能产生某种结论的大量数据。但现在不同了，科学的进步已经改变了这一切。比如，分子生物学的发展促使人们能够研究微生物种群。人造卫星亦能够评估各种特性数据（例如林冠高度和海洋浮游生物生产力）。另外，统计工具和计算能力的飞跃也有助于利用现已产生的所有数据。

据美国圣保罗明尼苏达大学（University of Minnesota）的生态学家David Tilman称，目前，已有研究者正在以新的思维模式来研究生态系统——至少在正规研究中已经出现。1994年，他发表了一篇极具里程碑意义的论文，这篇文章通过20世纪80年代的一场大旱灾，追踪了明尼苏达州草原的种群多样性。结果显示，与种群稀少的地区相比，种群丰富的地区经受旱灾的能力要强得多。这支持了生物多样性与稳定性之间具有联系的观点，但是，它们之间的关系并非是线性的，因为只需要很少的耐旱草种就能极大地增强某块地的复原力。

三年之后，Tilman及其合作者利用289块小型自种草地（其中分布着不同的种群数目和功能多样性水平）进行研究，并得出了一些调查结果。结果中出现了一些明确的特性（比如C4光合作用路径以及固氮作用），并且表明，这些特性对草地整体健康产生的影响比物种数量产生的影响更大。

差不多在同时，纽约哥伦比亚大学可持续环境地球研究中心（Columbia University’s Earth Institute Center for Environmental Sustainability）主任Shahid Naeem也把眼光放在了种群数目之外，研究生态系统的功能问题，并将焦点集中在食物网中不同水平的物种多样性上。他表示，孤立地去看种群数目，就好比是只列出一辆汽车的各个部件而忽略它们的功能，自然无法为车子何时开始发生故障提供指引。话说回来，现在的研究者正如从没见过汽车的原始人，当然只能站在那儿挠破脑袋。可是现在汽车没法发动了，到底是哪儿出了问题，这正是他所思考的。

从20世纪90年代中期起，人们开始打下了功能多样性的研究基础。当时的研究对象主要集中在植物和林木上，因为这类生态系统相对容易操控。后来，研究对象逐渐扩展到了鸟类、海洋生物和土壤。美国柯林斯堡（Fort Collins）科罗拉多州立大学（Colorado State University）的一位土壤生态学家Diana Wall表示，她的团队数年来一直关注功能特性和生物多样性，其中部分原因是土壤微生物的活动比它们本身更容易识别。谈到研究者们已经更好地掌握了土地上下部分的特性和种群相关知

识，她难掩兴奋，并告诉我们，两种前沿知识均有助于了解生态系统对种群和功能的依赖性。

搞清轻重缓急

自然资源保护生物学家们对于功能特性很感兴趣，因为它能影响人们做出应该保护什么的决定。研究者和环境学家则特别关注具有丰富物种的地区，例如亚马逊热带雨林和澳洲大堡礁。但Rick Stuart-Smith——澳大利亚塔鲁那（Taroona）塔斯马尼亚大学（University of Tasmania）的一位生态学家——却另辟蹊径，提出重新定义生物多样性热点。其办法就是将功能特性整合进来，这样就能点出此前在研地区的重要程度。对于Stuart-Smith而言，识别出可能具备资质的特定地区尚为时过早，还需要更多深入的研究。但他表示，功能—特性生态学终将延伸到保护政策中，对于政府遴选保护区的抉择也会产生作用。

然而，有关生物多样性的新思维模式也会显示出此前未能认识到的弱点。法国蒙彼利埃大学（University of Montpellier）的一位海洋生态学家David Mouillot表示，种群丰富的地区似乎对特性的缺失存在保护作用，这是因为人们假定特性所具备的功能可见于许多物种。但事实上，某些功能却只为一种或少数生物所具备。目前，他的团队正在抓紧锁定这些罕有的功能。

功能多样性就像是一个镜头，有助于创造出更细微的生态系统图。加利福尼亚州斯坦福大学（Stanford University）卡内基科学研究院全球生态学系（Carnegie Institution for Science’s Department of Global Ecology）的一名生态学家Greg Asner用一台特殊的光谱成像仪来绘制出秘鲁境内森林的15种特性。Asner表示，过去传统的研究利用物种丰富度的概念来识别该国拥有的三类森林——干旱林、漫滩林和沼泽林。而今，Asner团队则关注哪一种特性可能具有辨识度，从而将其与新的功能组区分开来。结果，他们发现了7个关键特性，并基于这些特性将森林进行分类，随之获得了以7个特性为基础形成的36个组合。这些发现将有助于秘鲁重新协调其保护组合措施。

Asner告诉我们，他也曾经被请去婆罗洲北部鉴定一块约400000公顷的地区，基于其特性制定保护措施。对方想知道的是，在上百万英亩的土地中，从哪儿才能获得最有变异性的特性？又该如何限制这些最大的功能性变异？

对方的关注给予了Asner及其他研究人员很大的鼓励。毕竟，生态系统非常复杂，一旦某个特定的物种、功能甚至生态系统程序发生缺失，就再也无法挽回了——至少在目前的技术和知识范围之内无法做到。Asner的原话是，我们地球尚无哪种科学技术能够模拟自然和进化的方式设计出一片森林。

但是，还有一些专家认为，在未获得更多完整数据之前，不建议做出任何基于功能特性的决定。Jetz就是其中的代表，他曾研究过植物和脊椎动物（特别是鸟类）的功能特性。对此，他表示，在数据模型中，只要缺失某个物种，就可能缺乏仅有它才能呈现出来的关键功

麋角珊瑚（elkhorn coral, *Acropora palmata*）的分枝能掩蔽大鱼的行踪，只是这到底属于功能特性还是某种相互关系，研究人员尚无定论。

能。他还警告说，届时，不仅仅会出现数据的缺口，还可能会出现偏见。例如，研究人员该去哪儿选择抽样，这个问题可能导致数据来源的偏差，从而可能使人们倾向于选择或者忽视某些特定地区或者环境类型。

对于全球共同努力，创造更完整、更广泛的自然世界特性数据库，Naeem也是乐见其成的。他表示，有朝一日，当人们真正对某块野地产生兴趣时，其中要做的一个重要工作就是获取所需数据，这是每个人都必须跟进的事情。

因此，这类建立诸如陆地和水体环境数据库的工作正在进行中。TRY——德国耶拿马克斯普朗克生物地球化学研究所（Max Planck Institute for Biogeochemistry）的托管服务器，属于国际性植物科学家网络，自2007年以来一直在做关于特性和功能的公开访问数据库。目前，该数据库已拥有约10万种植物的相关信息。

除此之外，还有由Mouillot创建的ReeFish数据库，该数据库旨在提供所有热带鱼的特性和地理信息。此外，还有关于珊瑚礁的生命调查（Reef Life Survey），该调查于2007年由Stuart-Smith和海洋生态学家Graham Edgar启动，目前已有来自所有海洋盆地的5000多种生物特性记录。

与此同时，Duffy在为史密森学会的全球海洋观测计划（Marine Global Earth Observatory programme）打先锋，以他的话来说，这是“制定出全球海洋生态系统生物多样性和功能间联系的一个重要机会”。目前，该网络只有10个观测点，未来将致力于建立全球性的、跨越两极的观测网络。

应该承认的是，上述工作都颇有建树，不断进展。然而，尽管人们对关注各生态系统功能特性的重要性已经产生了共识，但似乎还未曾清晰地界定到底什么才是“特性”。不过，有一条是公认的：动物与植物的跨界研究将是一件难事。如果要做，具体该怎么获取信息？到底应该是停留在观察表面特性（比如叶子大小）上，还是深入到个体的基因序列呢？这些问题都值得人们深思。

与此相比，动物的日常饮食更像是一个灰色地带。有些研究者在评估某种生物的功能特性时，就会纳入其饮食类型。例如，观察它是吃多种生物还是只吃某种鲜花。然而，还有些人把纳入饮食的做法当成笑柄。Naeem就是其中的代表之一。他表示，若非基于某个基因组，就算不上特性。比如，狐狸可能是有某些明确的饮食偏好，但如果有机会的话，也会吃包装狗粮。这能说明什么问题？只有与基因相关联的特性——比如肉食动物的牙齿大小——才会影响其饮食，才能够用于推断它们的饮食类型。

关于特性的探讨

物种之间的相互关系也成为人们争论的一个话题。对此，某些人可能会说，正如Duffy在巴拿马海岸观察到的那样，一条刺鲀利用珊瑚礁隐藏自己的行踪，这就是物种之间的相互关系——而不算是一个特征。但Duffy认为，特征可以产生影响，也是物种之间相互作用的反映。在上述例子中，珊瑚的特征是分枝结构和大小——这就是能使刺鲀生存下来的特征。

另一个争论的问题是，要不要对某个生态系统的特性进行重要性排序。一些研究者正在努力识别最有价值的特性，而有些人（比如Mouillot）则采取不可知的方式。Mouillot表示，他们没有针对特性进行排序，也不会提出某两三种特性是最重要的，而其它就可以边缘化的观点。

在所有功能多样性的论调中，也许只有一种走对了方向，从而最终发现生物多样性的真正含义，那也是生态学家和生态环保人士的最终目标。与此同时，人们也在研究某个生态系统内物种的进化史，试图了解与减缓生物多样性缺失有关的效应。有人将这种“种系发生多样性”视为除了功能和物种多样性之外的“第三条腿”。目前，全球的研究人员也在努力填补其它空白。其中一个大型德国财团已经开展了一些工作，研究土地集约利用如何影响功能多样性。当然，他们还需要完成更多工作，以观察空间坐标数据和景观水平上的交互作用到

底充当什么角色，而不是仅集中在微观水平和单点研究上。

不过，到目前为止，研究者们已经接受了功能特性的复杂性，尽管那都是他们为了理解生态系统而添加上去的。其中包括Jetz——虽然他曾警告人们不要急于以功能多样性为准做出任何决定。当然，现在的数据可能不够完善，但功能特性已经能够悄然地将生态系统的重要性传递给科学界之外的人们，也包括政策制定者和经济学家，这比物种丰富度所曾使用的方式更加切合实际。Jetz的解释是，如果只是少了一两个物种，那很难向非专业人士解释其中的含义。但要明确地展示功能缺失是如何毁掉某个生态系统的，还是可能的，而且或许还能产生更大的影响。因此，如果这条路能够使更多的人参与进来，那么总归是一件好事。

原文检索：

Rachel Cernansky. (2017) The biodiversity revolution. *Nature*, 546: 22-24.

文佳/编译

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广
请致电(020)32051255

www.LifeOmics.com