

从第一个用于创烧伤治疗的基因工程国家一类新药研发与转化应用看创烧伤治疗“中国方案”的创立



付小兵^{1,2} 李校堃³

¹解放军总医院医学创新研究部创伤修复与组织再生研究中心,北京 100853;²解放军总医院第四医学中心全军创伤修复与组织再生重点实验室,北京 100048;³温州医科大学药学院,温州 325035

通信作者:付小兵,Email:fuxiaobing@vip.sina.com

【摘要】 创新与转化应用是近年来国内科学界反复讨论的重要话题。本文系统回顾生长因子研发和在我国创烧伤治疗中的应用过程及基于具有中国特色的创面治疗学科体系建设过程中形成创烧伤治疗“中国方案”的感悟和体会。希望这些弥足珍贵的历程能够对同行,特别是对青年一代具有一定的借鉴和启示作用。

【关键词】 创伤和损伤; 烧伤; 基因工程; 生长因子

Establishment of "Chinese way" for trauma and burn management based on the engineered growth factors research and application

Fu Xiaobing^{1,2}, Li Xiaokun³

¹Research Center for Wound Repair and Tissue Regeneration, Medical Innovation Research Department, the PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ²The Key Laboratory of PLA Wound Repair and Tissue Regeneration, the Fourth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100048, China; ³School of Pharmaceutical Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

Corresponding author: Fu Xiaobing, Email: fuxiaobing@vip.sina.com

【Abstract】 Innovation and translation application are important topics that have been discussed repeatedly in national community of science and technology in recent years. We do a systemic review about the research and development history of growth factors, their application in trauma and burn management in China, and the conception and experience about the establishment of "Chinese way" for trauma and burn management in the process of constructing a disciplinary system for wound treatment with Chinese characteristics. It is our hope that these

precious experiences will provide references and inspiration to our peers, especially the young generation in their research.

【Key words】 Wounds and injuries; Burns; Gene engineering; Growth factors

近年来,中国国力不断增强,在国际各领域的地位日益提升,影响越来越大。在科技领域,人们对发出“中国声音”、提出“中国方案”和形成“中国创造”的呼声越来越高,要求越来越强烈。我们认为,这是一个民族正在崛起和复兴的重要标志,是科学技术从以往向西方学习、在西方后面跟跑、与西方并跑,到逐步超越甚至领先的具体体现。

在医药卫生领域,经过几代人的努力,到20世纪,中国在某些方面实际上已经走在了世界的前列,如人们熟知的断肢再植、烧伤救治以及青蒿素的发现与疟疾治疗等。本文总结20世纪采用生物技术治疗创烧伤的创新过程,以及生物技术应用用于创烧伤治疗“中国方案”的创立获得的启示,供相关领域专家,特别是青年一代专家参考。

1 专家们志同道合促进了以生长因子为代表的生物技术药物的研发及用于创烧伤治疗

20世纪80年代中期付小兵大学毕业后从事野战外科研究,重点集中在火器伤致伤机制与防治领域,其间曾赴云南老山前线参加战伤救治与战伤调

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211125-00397

本文引用格式:付小兵,李校堃.从第一个用于创烧伤治疗的基因工程国家一类新药研发与转化应用看创烧伤治疗“中国方案”的创立[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(1):4-8. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211125-00397.

Fu XB, Li XK. Establishment of "Chinese way" for trauma and burn management based on the engineered growth factors research and application[J]. Chin J Burns Wounds, 2022, 38(1): 4-8. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211125-00397.



查。由于经历了实际的战伤救治,他感觉到部分战创伤创面采用传统的治疗方法很难达到理想的愈合效果,应该建立一些新的治疗技术来提升战创伤救治水平。从老山前线回到大学以后,付小兵开始了解从生物领域,特别是萌发了用生长因子来治疗战创伤的想法。1986年诺贝尔生理学或医学奖授予因生长因子研究而成果丰硕的科学家,进一步启发和坚定了他从生物领域来研究战创伤治疗的决心。通过查阅有限的资料,付小兵比较详细地了解到多种生长因子生物学特性及其与组织生长、发育、修复与再生的关系等,感到该领域有太多科学问题需要解决、有广阔的临床应用前景可以开发。1991年付小兵编著出版了国际上第1部《生长因子与创伤修复》^[1],从而开启了从生长因子领域探索与治疗战创伤之旅。之后,他赴国外留学深造,进一步开阔视野,同时具体研究生长因子与组织修复和再生的关系。

从动物组织提取生长因子费时、费力,且产量非常低,以微克甚至纳克计算,在出国以前付小兵了解到国内有专家开始研究如何通过基因工程方法来生产生长因子。1993年底他留学回国后,在一个偶然的机会与当时正在中山医科大学(现中山大学)攻读博士学位的李校堃博士建立了联系,了解到暨南大学林剑教授等正在进行重组牛碱性FGF(rbFGF)开发,已经有相关产品需要进行药效学评价。当时付小兵需要生长因子进行创伤修复深入研究,与林剑教授和李校堃博士研发的生长因子需要进行药效学实验不谋而合,为此他们之间结成了一个小的研发团队,仅靠3万元人民币就完成了个国家一类新药的药效学评价。紧接着,需要开展rbFGF多中心临床试验研究,付小兵与李校堃博士一起去拜访了北京积水潭医院烧伤科沈祖尧教授,希望由北京积水潭医院牵头进行多中心临床试验研究并获得沈教授的慨允和全力支持,由此又组成了以北京积水潭医院牵头,解放军第三〇四医院(现解放军总医院第四医学中心)、上海长海医院(现海军军医大学第一附属医院)以及中山医科大学第一附属医院(现中山大学附属第一医院)等参加的临床试验团队。其间我国烧创伤界当时的中年一代著名专家,包括沈祖尧、郭振荣、张明良、陈玉林、谢君鹤、孙永华和葛绳德等教授都积极参与到这一多中心临床试验研究中。在老一代专家,如黎鳌院士、盛志勇院士和王正国院士等的全力支持

下,事实上形成了一个包括生长因子研发(暨南大学、珠海东大生物制药公司)、基础研究(解放军第三〇四医院等)、临床研究(北京积水潭医院、解放军第三〇四医院、上海长海医院以及中山医科大学第一附属医院等)在内的一个创新药物攻关联合体,涉及产、学、研、用等多个方面。当时没有响亮的口号,没有人去考虑利益分配、更没有人去计较论文署名以及将来可能产生的经济效益等。团队只有1个目标,就是如何尽快将生长因子转变为治疗创烧伤的国家一类新药,最终造福于患者。

2 产学研结合解决了生长因子成药以及应用于创烧伤治疗过程中的几个关键问题

2.1 解决了重组蛋白质稳定性差和成药性困难等一系列难题

针对rbFGF存在高比例疏水性氨基酸以及易于形成二聚体等工程技术难题,时任暨南大学药物研发中心主任的李校堃及其团队在缺少先进仪器、人员经费短缺的困难条件下,瞄准关键技术核心问题,利用分子伴侣并优化宿主密码子偏好性等技术,建立了rbFGF系列蛋白高效表达系统,使表达量超过国际同期水平的5倍。在此基础上,建立了rbFGF高效纯化系统,将rbFGF纯度由80%提升至99%以上,还建立了rbFGF高稳定性递送系统等。以上关键技术的突破,为基础研究和临床试验研究提供了生长因子来源,为把以rbFGF为代表的生长因子开发成治疗创烧伤的国家一类新药奠定了基础。在rbFGF成功研发的基础上,针对蛋白质结构与功能,团队在深入分析研究的基础上,将FGF进行人源化修饰改造,在解决人源化改造和大规模制备工艺技术中的“卡脖子”难题的基础上,首次完成重组人酸性FGF(rhaFGF)的大规模制备。2006年,世界上第1个人源化生长因子rhaFGF获国家一类新药证书并批准上市。

2.2 深入阐明了生长因子促创面愈合机制

尽管诺贝尔奖评奖委员会在授予生长因子研究诺贝尔生理学或医学奖时已经明确指出“这项研究(注:指生长因子研究)为基础科学研究开辟了一个具有广阔重要性的新领域。由于这项研究,人们对许多疾病都将产生新的认识,包括发育异常、老年性痴呆中的退行性改变、伤口愈合延缓以及肿瘤等”,但生长因子与创伤修复和组织再生的确切机制仍然需要进一步阐明。基于生长因子与组织生

发育的密切关系,团队首先明确了“创面愈合是可以加速的”这一基本概念。同时基于生长因子应用于创烧伤创面治疗的显著效果,在国际上首先发现并报告了在生长因子作用下已经分化的表皮细胞可以通过去分化途径转变为表皮干细胞,并且阐明了这种去分化作用是生长因子加速组织修复与再生的重要细胞学基础^[2]。发现了组织在受创条件下靶细胞膜生长因子受体数量与亲和力改变将导致创面修复延迟,这是外源性应用生长因子促进创面愈合的重要根据。阐明了生长因子与靶细胞膜上 FGF 受体结合位点以及生长因子促分裂效应与非促分裂激素样活性改变对组织修复与再生的作用,包括后期提出体内存在生长因子调节系统^[3]。以上认识为生长因子临床应用奠定了理论基础。

2.3 搞清楚了生长因子促抑创面愈合的剂量效应关系

多少生长因子应用于创面可以产生最大的促愈合效果,同时又节约生长因子用量和防止可能发生的不良反应?团队首先明确了生长因子应用于创面治疗的基本原则,即不是生长因子剂量越大促进创面愈合的效果越好,而是在一定剂量下创面愈合效果与剂量呈线性关系。通过反复实验,团队首创了一个评价因子与创面愈合关系的动物模型,即在小型猪背部通过自制的打孔器形成直径 1.8 cm、总面积 2.54 cm² 的圆形创面,深度达到肌层。该创面在没有药物干预的条件下 14 d 左右可以自行愈合,而采用生长因子干预后,愈合时间可以提前至 10 d 左右,整个过程时间可控,创面受外界因素干扰比较少,非常利于评价生长因子对创面愈合的作用。基于这一模型,团队明确了每平方厘米创面生长因子用量在 60~150 活性单位(根据不同类型创面,剂量有所调整)可以达到最佳促愈合效果,而避免了过量应用生长因子产生浪费和导致可能的不良反应的发生。

2.4 解决了患者关心的如何使生长因子“看得见、摸得着”的问题

由于生长因子是以微克甚至纳克形式存在于安瓿中,“看不见”也“摸不着”,患者常常误认为安瓿中不存在生长因子而提出投诉。针对该情况,团队设计采用赋型剂甘露醇来增加生长因子体积,使生长因子与甘露醇结合,依靠甘露醇的体积使生长因子由“不可见”变为“可见”。同时,研究表明,甘露醇与生长因子结合,还可以起到保护生长因子活

性的作用,这样收到一举两得的效果。

2.5 完成了多中心临床试验证明生长因子对创面愈合具有显著促进作用

20 世纪 90 年代开展药物多中心临床评价试验研究还没有现在这么规范,经费投入也没有现在那么多,公司与临床试验人员之间,包括患者相互之间没有太大的经济利益关系,临床研究主要由学者们肩负的事业心和责任感推动着进行。rbFGF 基因工程表达成功和形成产品以后,迅速组成了由北京积水潭医院牵头,解放军第三〇四医院、上海长海医院以及中山医科大学第一附属医院等参加的多中心临床试验队伍。临床试验研究病例以浅 II 度和深 II 度烧伤创面患者为主,其他创面,包括供皮区以及体表慢性创面也纳入到临床试验范围。通过多中心临床试验队伍共 32 个医疗单位共同努力,完成了对 1 024 例患者的评价,证明 rbFGF 具有促进肉芽组织生长、加速上皮化和显著缩短创面愈合时间的作用,进一步可缩短患者住院时间和减轻患者负担等^[4]。

3 国际著名杂志发表中国采用生长因子治疗创烧伤创面多中心结果,发出“中国声音”

以生长因子为代表的生物技术应用用于创烧伤治疗是一个新的尝试,这一创新如何国际上获得同行认可是一个重要问题,于是考虑在国际著名杂志上发表相关研究结果。为此,我们在 1 000 多例临床试验病例中选择了 600 例患者具有严格对照的浅 II 度和深 II 度烧伤创面治疗结果,包括愈合时间(生长因子治疗浅 II 度烧伤创面愈合时间是 9.9 d,对照是 12.4 d;生长因子治疗深 II 度烧伤创面愈合时间是 17 d,对照是 21.2 d),肉芽组织生长情况以及病理学检查等,写成论文投稿给《柳叶刀》(《Lancet》)杂志。当时只知道《柳叶刀》杂志是国际上最古老和著名的医学杂志之一,但不了解杂志审稿严格、发表论文竞争激烈以及发表困难很大等,现在只能以无知而无畏来形容当时的勇气了。很快《柳叶刀》杂志完成了审稿程序,认为这是采用生物技术治疗烧伤的典范。在仅仅补充了部分统计学数据以及提供部分患者知情同意资料后,1998 年 11 月 21 日,国际上第 1 个采用由我国科学家原创研发的 rbFGF 治疗烧伤创面的多中心临床试验结果以《Randomised placebo-controlled trial of use of topical recombinant bovine basic fibroblast growth factor for

second-degree burns》^[5]在《柳叶刀》杂志以论著形式发表,并且该期《柳叶刀》杂志在《讨论要点》(Talking Points)对论文的发现又进行强调性介绍,称之为“一个促进愈合的时刻(A time to heal)”。同年,英国广播公司科技栏目通过电话对付小兵进行了专访,并以“牛的激素治疗烧伤,中国科学家发现rbFGF能够缩短创面愈合时间和提高愈合质量(Cow hormones beat burns. Scientists in China found that recombinant bovine basic fibroblast growth factor (rbFGF) decreased healing time and improved healing quality)”进行高度评价。之后,Dermatology Times等国际重要媒体也相继进行了详细报道,称之为“生物技术使得生长激素促进皮肤再生(Skin regeneration through growth hormone factors. Biotechnology makes advances)”。《国际创伤修复与再生》(《Wound Repair and Regeneration》)杂志主编W.J. Lindblad教授在有关中国创伤治疗的评述中写到,中国的创伤治疗研究既包含了现代因素,又结合了传统内容,是了解中国创面治疗的窗口^[6]。以上国际著名杂志、媒体、重要同行的高度评价,是国际上认可中国在以生长因子为代表的生物技术应用用于创烧伤治疗方面走在了国际前列,引领当时国际一个重要方向的标志,是创伤医学发出“中国声音”的具体体现。

4 创建以生长因子为代表的创烧伤治疗特色体系,“中国方案”获得国际同行认可

生长因子作为生物治疗创烧伤的手段之一,其促进创面愈合效果非常显著,获得了国内外认可和高度评价。但总体来讲,创伤与创面治疗是一个系统工程,并非单一药物或单一方法能够解决和完成的。因此,如何把以生长因子为代表的创面生物治疗从治疗选择变成常规治疗手段,从治疗药物上升至治疗体系,从创面专科扩展至整个创烧伤医学领域,最终建立以生物治疗为核心、多种技术方法融为一体的创烧伤治疗“中国方案”是我们在生长因子基因工程药物研发成功后进一步思考的问题。2000年以来,我们首先转变观念,提出把创面,特别是体表慢性难愈合创面看成是一种疾病,需要开展专科治疗的重要学术思想。基于这个创新学术思想,在开展中国体表慢性难愈合创面流行病学调查明确主要病因学以及建立创面治疗专科等体系化建设的基础上^[7],逐步把外科清创处理创面、创面负

压治疗准备创面、先进敷料保护(治疗)创面以及生长因子应用促进创面愈合等作为创烧伤创面治疗“中国方案”进行界定、规范和应用,这样使整个创烧伤创面治疗从一个点和一个面扩展至一个体系和一个方案。在这个“中国方案”中,负压引流和先进敷料等都是国外发明的,只有生长因子治疗规范是中国人创建的。这个综合治疗方案的应用,使典型单位体表慢性难愈合创面愈合率从以往的60%上升至94%左右,治疗患者超过6500万人次。其中以FGF为代表的生长因子相关生产标准被《中国药典》收载,并且孵化出以酸性FGF、EGF等为代表的近10个生长因子基因工程产品。这些产品已经成为国家创烧伤基本治疗药物和国防战备药物储备,在国内取得了显著的社会效益和经济效益。与此同时,“中国方案”并不是中国人自娱自乐的称谓,而是在国际上广泛应用并获得充分认可的方法。美国创伤愈合学会、欧洲创面管理协会和日本烧伤整形科协会等都把以FGF为代表的生物治疗作为创烧伤和创面治疗的基本药物进行推荐。自临床应用以来,生长因子及其相关产品入选国家商务部对外援助目录,部分产品出口东南亚多个国家,最近又作为高科技产品在部分一带一路国家和地区应用。2012年,国际著名创面愈合专家、英国南安普顿大学R. Mani教授在有关中国创面治疗的评述中以“向东方看(Looking East)”进行高度评价,文中写到“过去人们去西方是因为西方的工业化和人们生活水平高。而现在,关于创面治疗,你需要向东方看”^[8]。

5 几点体会

20世纪90年代一个以青年人为主自发形成的团队在仅用了大约8年时间,研发经费总计投入在1000~2000万人民币的条件下研发并成功上市了国际上第一个用于创烧伤治疗的基因工程国家一类新药rbFGF,这与当时国际上普遍认为的一个一类新药成功研发需要10年时间,投入10亿元相比大相径庭,时间与经费投入都非常小。这一研发过程和部分体会,2018年付小兵院士曾经在《中华创伤杂志》院士论坛中有一个概要介绍^[9]。这个案例充分体现了在中国一个国家一类新药的创新过程和建立的创新机制。作为当时研发团队的重要参与者,我们回顾以生长因子为代表的生物技术的研发及在创烧伤治疗中应用的整个过程,有以下几点

体会。

5.1 结合临床以造福于患者的研究具有生命力

基于不同的工作性质以及需求开展科学研究是成功的基础。在一个以临床医疗为主要任务的单位开展科学研究,必须结合临床需求,以解决临床治疗难题和瓶颈问题的研究才具有生命力,也才能够出成果。而对于一个研发临床治疗药物的企业而言,与临床的结合可以获得事半功倍的效果。

5.2 志同道合不以利益为牵引的合作才能成功

利益是建立在相互信任和志同道合基础上的。对不同的人来讲,其需求的利益是完全不同的。专家学者如果把经济利益放在第 1 位,可能其发展将会受到较大限制;而如果把学术创新和学术荣誉作为第 1 追求,把服务患者作为己任,那他们在创新和转化应用中将处于主动和引领地位。在生长因子研发与临床转化应用过程中,没有人去追求经济上的得失,而依靠这一过程的发现、创新与服务于患者治疗,团队产生了国家杰出青年科学基金获得者、长江学者、中国工程院院士在内的一大批高层次人才,获得了包括国家科技进步一等奖和国家技术发明奖等近 10 项国家级奖项,特别是显著提高了创烧患者治愈率,满足了国家在该救治领域的重大需求。我们认为这是在这一创新过程中科学家和临床医师获得的应有回报,也是学者追求利益的体现。

5.3 抓住机遇、不惧质疑的研究有可能产生创新

要创新就要有所突破,就需要打破传统,突破固有思维。我们有关表皮细胞在生长因子作用下发生去分化现象的发现,尽管早期只是一个偶然观察到的现象,早期也存在着证据不足以及难以服众的问题,受到质疑甚至各种攻击。但我们没有因此而放弃,而是抓住机遇,深入研究从而从去分化角度揭示了组织修复与再生的新机制,这一发现被《新英格兰医学杂志》(《The New England Journal of Medicine》)称之为是“组织修复与再生机制的第 4 种解释”^[10]。著名杂志《生物科学》(《BioScience》)主编 T.M. Beardsley 教授在他有关细胞分化的评述《Back to the Future》中,把付小兵团队有关表皮细胞去分化现象称之为“对细胞去分化给予了精彩的总结”^[11]。因此,创新的发现稍纵即逝,如果抓不住苗头,如果受到质疑就退缩,就有可能半途而废,与发现失之交臂,唯有坚持才能够获得胜利的喜悦。

5.4 树立信心、立足全球视野的研究才能获得认可

历史已经证明中国人具有伟大的创造精神。在立足于本职工作的前提下,既不妄自菲薄,也不狂妄自大,把创新做到世界的认可是完全有可能的,但这需要发现者有一个全球的视野与胸怀。在生长因子应用于创烧治疗研发之初,实际上并没有形成一个全球认可的目标,只是希望为战创烧治疗提供一种创新的生物治疗技术而已。随着研发的深入,特别是关键技术的突破、创新理论提出以及临床取得显著效果,一种把生长因子研发与创烧治疗从国内走向国际的宏伟目标油然而生,并付诸了行动。实践证明,只要有真正的创新和切切实实的转化应用,真正造福了患者,最终是会获得国内外同行的高度认可的,来自中国的创新一定会冠以“中国方案”和“中国创造”而载入史册。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 付小兵. 生长因子与创伤修复[M]. 北京:人民军医出版社, 1991.
- [2] Fu X, Sun X, Li X, et al. Dedifferentiation of epidermal cells to stem cells in vivo[J]. Lancet, 2001, 358(9287): 1067-1068. DOI: 10.1016/S0140-6736(01)06202-X.
- [3] Xiao J, Lin Z, Qin H, et al. Growth factor regulatory system: a new system for not truly recognized organisms[J]. Sci China Life Sci, 2020, 63(3): 443-446. DOI: 10.1007/s11427-019-1590-x.
- [4] Fu X, Shen Z, Chen Y, et al. Recombinant bovine basic fibroblast growth factor accelerates wound healing in patients with burns, donor sites and chronic dermal ulcers[J]. Chin Med J (Engl), 2000, 113(4): 367-371.
- [5] Fu X, Shen Z, Chen Y, et al. Randomised placebo-controlled trial of use of topical recombinant bovine basic fibroblast growth factor for second-degree burns[J]. Lancet, 1998, 352(9141): 1661-1664. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)01260-4.
- [6] Lindblad WJ. Bridging traditions[J]. Wound Repair Regen, 2001, 9(1): 1. DOI: 10.1046/j.1524-475x.2001.00001.x.
- [7] 国家卫生健康委办公厅. 国家卫生健康委办公厅关于加强体表慢性难愈合创面(溃疡)诊疗管理工作的通知[EB/OL]. (2019-11-29)[2021-11-25]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7659/201912/602716f0471944b8b63b0adabe4546df.shtml>.
- [8] Mani R. Looking east[J]. Int J Low Extrem Wounds, 2012, 11(3): 146. DOI: 10.1177/1534734612456921.
- [9] 付小兵. 治疗创烧国家一类新药基因工程生长因子的研发与转化应用: 主要历程与思索[J]. 中华创伤杂志, 2018, 34(12): 1057-1061. DOI: 10.3760/ema.j.issn.1001-8050.2018.12.001.
- [10] Kørbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair - a new therapeutic concept? [J]. N Engl J Med, 2003, 349(6): 570-582. DOI: 10.1056/NEJMra022361.
- [11] Beardsley TM. Back to the future[J]. BioScience, 2007, 57(8): 643.

(收稿日期: 2021-11-25)