

干扰素 及其临床应用

骆 毅 于际生 杜庆生 雷凤珍 编著



中国科学技术出版社

干扰素及其临床应用

骆 毅 于际生 杜庆生 雷凤珍 编著

中国科学技术出版社

内 容 提 要

近10年来干扰素的临床应用研究发展很快,而DNA重组技术的出现又使干扰素大规模生产成为现实。本书综合归纳国内外对干扰素临床应用的基础理论研究、动物实验及临床观察,重点介绍干扰素的生成、特性、生物活性,及其作用的分子机理、药动学与免疫学基础等知识;并详细介绍了干扰素防治感冒、疱疹病毒感染性疾病、宫颈糜烂、乙型肝炎、各器官恶性肿瘤、狂犬病毒感染及神经系统慢病毒感染性疾病的临床研究近况。

(京)新登字175号

干扰素及其临床应用

骆 毅 于际生 雷凤 编著

责任编辑: 许 慧

封面设计: 郑领祥

中国科学技术出版社出版 (北京海淀区白石桥路32号)

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

河北省〇五印刷厂印刷

开本: 787×1092毫米1/32印张: 4.75

字数: 100千字

1991年12月第1版 1991年12月第1次印刷

印数: 1—2200册 定价3.20元

ISBN 7-5046-0664-2/R·129

序

干扰素，是细胞内能够阻止病毒复制的活性物——即一组特殊蛋白质。近年来，经生物学和生物化学研究已经确认干扰素起源于机体细胞并具有多种生物活性。早在1957年就被人们发现这种蛋白质，至今已有30余年的历史。但是，在前25年，由于干扰素供应短缺，价格昂贵，使得临床应用干扰素的研究进展非常缓慢。自1970年以来，临床研究所采用的干扰素都是人白细胞干扰素。八十年代后，由于DNA重组技术可以大规模生产干扰素，从而使得国内外学者进行了大量的基础理论、动物实验和临床研究，并在常见病和难以治愈性疾病的防治方面取得了可喜成果。这些经验为我国防治常见病，保障人民健康，进一步阐明病毒感染性疾病和免疫性疾病的病因、病理和防治规律，有了一个良好的开端。

骆毅、于际生、杜庆生、雷凤珍四位同志协作，编写的这本《干扰素及其临床应用》、从基础到临床，系统地反映了国内外的最新研究成果。这样的专题参考书，为广大医务人员提供了有益的参考资料，对我国防治常见病的开展，也起到了促进作用。这本书内容新颖、充实、全面，当然也难免有不足之处。希望广大读者通过实践和研究，再进一步提高。

为此，我为此书的出版表示祝贺，为作者们的辛勤劳动表示钦佩。

北京医科大学第一医院教授 袁锦楣

1991年11月

序

免疫学是在80年代发展比较迅速的学科，而DNA重组技术的出现，又使干扰素的大规模生产成为现实。近10年来国内外学者对干扰素的临床应用进行了大量的研究。基础理论研究、动物实验及临床观察等方面均有很大进展，并在常见病的预防、治疗方面也取得了可喜成果。然而目前我国还缺乏系统介绍干扰素研究现状的专著。我们编写本书的主要目的，就是将有关干扰素临床应用的研究成果进行初步综合归纳，以供内、外、妇、儿、神经等科医务工作者参考。

由于编著者学识水平所限，错误及不当之处在所难免，衷心希望读者批评指正。

编 者

1991年10月

目 录

第一章 干扰素的作用方式和临床应用	(1)
一、 总论	(1)
二、 历史回顾	(5)
三、 干扰素的性质及生成	(7)
四、 应用DNA重组技术大规模生产干扰素	(9)
五、 检测技术	(9)
六、 反应细胞的干扰素活性	(12)
七、 干扰素的生物活性	(15)
八、 疾病状态时的干扰素	(21)
九、 干扰素疗法的适应症	(22)
第二章 干扰素活性的分子机理	(26)
一、 干扰素—受体的相互作用	(26)
二、 干扰素对基因的调节	(29)
三、 干扰素所诱发的细胞功能改变	(29)
四、 干扰素对瘤形成表达的调节	(31)
第三章 干扰素应用的免疫学基础	(33)
一、 干扰素的分型及其产生细胞	(33)
二、 干扰素的一般生物效应	(34)
三、 干扰素的诱生及其作用特点	(35)
四、 干扰素对细胞的生长和增殖效应	(38)
五、 干扰素与神经内分泌系统的相互关系	(38)
第四章 干扰素的药代动力学	(41)
一、 干扰素的药代动力学	(41)

二、动物实验.....	(42)
三、人体内试验研究.....	(51)
第五章 干扰素疗法的临床毒性及处理措施.....	(55)
一、急性毒性.....	(55)
二、亚急性和慢性毒性.....	(56)
三、器官和系统毒性.....	(57)
四、处理措施.....	(63)
第六章 干扰素防治感冒.....	(65)
第七章 干扰素治疗慢性乙型肝炎.....	(69)
一、临床概况.....	(69)
二、乙型肝炎感染与发病率.....	(70)
三、干扰素作用机理.....	(70)
四、临床疗效.....	(71)
五、影响干扰素疗效的因素.....	(73)
六、提高疗效的措施.....	(76)
第八章 干扰素治疗肿瘤.....	(76)
一、血液及造血系统肿瘤.....	(76)
二、神经系统肿瘤.....	(80)
三、其它器官肿瘤.....	(84)
四、结论.....	(86)
第九章 干扰素治疗疱疹病毒感染.....	(87)
一、慢性子宫颈炎.....	(87)
二、神经系统疱疹病毒感染.....	(89)
第十章 干扰素在狂犬病毒感染患者体内的作用 及生成.....	(98)
一、干扰素对狂犬病毒感染作用的动物 实验.....	(99)

二	鼠在感染狂犬病毒期间干扰素的生成 及其作用	(102)
三	结论	(104)
第十一章	干扰素治疗亚急性硬化性全脑炎	(106)
一	病因学和发病机理	(107)
二	临床病程的变化	(108)
三	治疗观察	(109)
第十二章	干扰素治疗多发性硬化	(114)
一	全身性干扰素疗法	(117)
二	干扰素诱生剂疗法	(125)
三	鞘内注射干扰素疗法	(126)
第十三章	干扰素治疗肌萎缩性侧索硬化	(128)
一	病毒学研究	(128)
二	治疗试验	(131)

第一章 干扰素的作用 方式和临床应用

一、总 论

1957年Isaacs和Linbenmann两人，在细胞上清液和动物身上发现一种能阻止病毒复制的活性物质，他们就把它称为干扰素（Interferon）。当时他们就已经认识到干扰素自然防御的可能性，並可能作为一项治疗措施。

尽管干扰素的发现仅有30年的历史，但有关研究却进展惊人。目前已经确定，Isaacs和Lindenmann发现的干扰素实际上是一组分子，它们可以分成3种类型即IFN- α 、IFN- β 和IFN- γ （图1）。这些干扰素按照诱生它们的动因及生成它们的细胞类型不同，其性质也有所不同。其中IFN- α 和IFN- β 又称Ⅰ型或病毒型干扰素，由病毒感染或细菌刺激而诱导生成。IFN- α 从白细胞中产生，IFN- β 从成纤维细胞中产生。IFN- γ 又称为Ⅱ型或免疫型干扰素，是由特异性抗原、有丝分裂素或其它非特异性抗原刺激剂，诱导T淋巴细胞，而从T细胞的免疫应答中产生的。以上3种干扰素的理化性质也不相同。如IFN- α 和IFN- β 在pH值为2时稳定，而IFN- γ 在pH值为2时不稳定。

能诱生干扰素的物质很多，包括：微生物（病毒、立克次氏体、细菌、原生动物、衣原体、真菌等），细菌提取物、植物提取物（致有丝分裂素，植物血凝素），合成多聚合物

(如聚肌胞、聚磷酸盐等)。特异性免疫诱导也可产生干扰素。

干扰素的诱生机理：干扰素是从病毒感染细胞中释放出

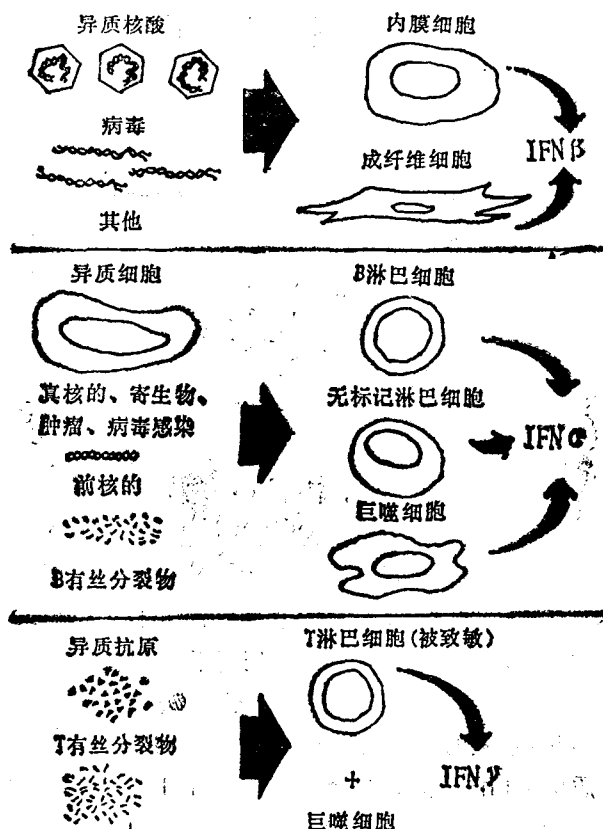


图1 异质核酸、异质细胞、异质抗原所诱生的成纤维细胞干扰素 (IFN_{β})、白细胞干扰素 (IFN_{α})、免疫干扰素 (IFN_{γ})。

来的一种蛋白质。致敏淋巴细胞在特异性抗原或植物血凝素的免疫应答中，也可产生干扰素。干扰素基因存在于机体细胞核的染色体上，在生理状态下，受一种蛋白抑制物的控制阻止其启动基因的活性，使干扰素的结构基因不能转录并合成干扰素的mRNA。细胞受到病毒或诱导剂的作用后，便产生一种灭活抑制蛋白的特殊因子，这种因子与抑制蛋白相结合，使之变成不活动状态，因而干扰素基因的控制被解除。干扰素基因摆脱抑制后，很快被激活转录成mRNA。后者在细胞核内合成后，迅速转移到胞浆核糖体，翻译成干扰素前体。然后借助于信号多肽的功能，使干扰素前体搬运到细胞膜，信号多肽被切割，成熟的干扰素就分泌到细胞外。由于干扰素蛋白质已经能够得以纯化，干扰素基因也能够茵体内复制。现已揭示出干扰素的多种活性，包括抗病毒活性、抗增生活性、免疫调节活性和激素样活性等部分特征。

✓干扰素具有下列生物活性：

抗病毒活性；

对裂殖细胞的抗增殖活性；

对某些细胞的直接溶解活性；

免疫调节活性；

巨噬细胞的激活；

自然杀伤细胞的细胞毒性增强；

淋巴细胞的细胞毒性增强；

激素样活性。

为了诱生这些活性，干扰素必须先激活产生效应基因蛋白质的细胞（见图2）。从图2可以看出，干扰素诱生物作用于细胞以释放出IFN基因（A），从而导致IFN mRNA的产生（B），mRNA转录成IFN蛋白质（C）该蛋白质分泌到

细胞外液 (D)，继之，作用于细胞膜上的受体 (E)，IFN 刺激细胞并释放基因 (F)，产生效应蛋白 AVP，已证明 AVP 具有抗病毒和细胞的其它一些应变能力。激活的细胞也可以刺激邻近细胞产生 AVP，但机制尚不清。简言之，一种干扰素的诱生物与细胞的相互作用引起干扰素 mRNA 的诱生，转录成干扰素 mRNA，然后从生成的细胞中释放出干扰素蛋白质。一旦释放到生成的细胞以外，它就与生成的细胞及周围细胞的细胞膜上特异性受体相互作用。干扰素的抗病毒作用，主要是靠结合到细胞膜上的受体系统。膜受体是有特异性的，一般认为干扰素的种属特异性决定于细胞膜的受体系

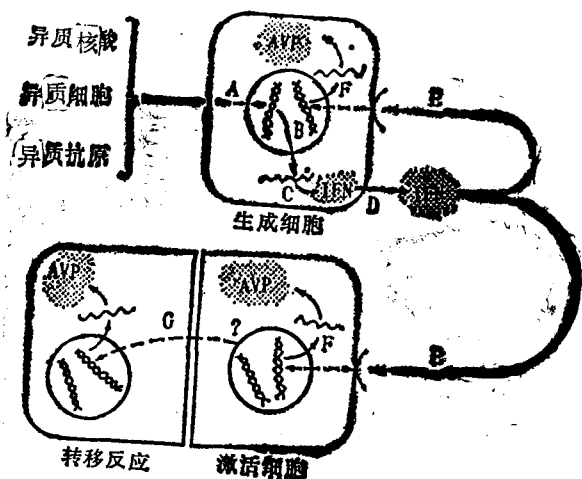


图 2 干扰素的诱导、生成、作用的细胞内表现 (示意图)

统。随后引起的抗病毒作用是没有特异性的。一旦干扰素接触到它的靶细胞，即诱导细胞内产生一系列代谢变化。干扰素作用于细胞膜后，产生一种特异性因子，与效应蛋白基因组的蛋白抑制物相结合，并使之灭活。但效应蛋白基因解

除抑制后即被激活，从而合成了数种效应蛋白。这些新合成的蛋白质能抑制病毒特异的mRNA的翻译，改变病毒蛋白质的合成。在这种情况下，在受干扰素保护的病毒感染细胞中，病毒基因物质仍然释放，但新病毒却不能装配，病毒的复制受到抑制，从而起到抗病毒作用。这种包括两个组成部分的系统类型，与激素有相似之处。激素的重要特性是可以作用于远离产生它的细胞上，而干扰素产生后也可通过血流分布到全身各处体液、组织和器官而发挥作用。这些蛋白质在反应细胞构成阻抗病毒状态——称为抗病毒蛋白质。这些抗病毒蛋白质大部分已被了解。有人注意到，反应细胞也能够通过未明机理刺激邻近细胞达到阻抗病毒状态，这些抗病毒蛋白质，有人称为“翻译抑制蛋白”。

研究充分证明：干扰素是体内抗多种病毒感染的一种自然防御物，它对于动物和人体内自发性生长的肿瘤也起着破坏作用。事实上，应用干扰素治疗病毒性疾病和恶性病的临床试验已经取得某些成功。这些试验性干扰素疗法的应用也包括治疗神经学上相关性疾病，如格林—巴利综合征，Reye氏综合征和多发性硬化。遗憾的是，干扰素疗法不无副作用，包括神经学副作用。

目前，干扰素疗法已经被准许用于某些恶性病和病毒性疾病。可是，在作为一种药物应用前需要详尽了解干扰素的作用，以便全面达到它的预期目的。

二、历史回顾

1957年 Isaacs Lindenmann 就观察到：采用热一灭活的流感病毒使小鸡的某一部分绒毛尿囊膜受到感染后释放出

一种物质进入周围介质，而使得小鸡绒毛尿囊膜的另一部分具有抗病毒感染的活性。他们把这种物质称为干扰素。小鸡干扰素已被证明是一种蛋白质。在小鸡干扰素与小牛干扰素的比较研究中证实：干扰素具有“种属特异性”，即小鸡干扰素对于小牛的细胞无活性。最近，又观察到一些交叉种属特异性。事实上已有研究表明，人IFN- α 的两种亚型对牛细胞的抗病毒活性比对人细胞更强。

通过生物学和生化学的研究已经确认，干扰素起源于细胞，其性质与其说取决于诱导它的病毒，倒不如说起源于它的细胞。而且，由抗病毒蛋白质所制备的抗血清经灭活后的抗病毒能力与干扰素的性质不同。放线菌素D能够有效地阻碍宿主 mRNA 的合成，也能阻碍干扰素的诱生，而对多数病毒RNA的复制则没有阻碍效应。最后，在细胞特异染色体内对干扰素基因进行编码。

干扰素不能直接灭活病毒，若需要构成一个抗病毒状态就要求有代谢力的活化细胞对于干扰素有一段长的暴露时间。干扰素与特异性受体蛋白结合并通过所需要的细胞 mRNA 和蛋白质合成过程来激活细胞。现已鉴别出多种干扰素诱生的蛋白质。

尽管人们早已认识到干扰素的抗病毒性质，但对其具有的生长调节活性、免疫调节活性及激素活性直到后来才予以证明。干扰素的生长调节活性和免疫调节活性表明，它可以作为有效的抗肿瘤药物，但对其疗效的研究评价，受到两个因素的限制：（1）干扰素的生产量非常小；（2）干扰素纯化的难度很大。

Cantell及其同事们证实：干扰素已能相对地大量生产，並可以接触到Sendai病毒（仙台病毒）的白血细胞上清液中

部分纯化，从而提供了临床应用干扰素的可能性。其实，Strander等人应用Cantell氏干扰素治疗肉瘤已提出了该药具有抗肿瘤作用的最早证据。但由于人干扰素的相对缺乏，早期临床试验仍然受到阻碍。

利用DNA重组技术生产干扰素大大地缓和了人干扰素的缺乏状况。从诱生细胞中提取活化干扰素 mRNA 及通过 *Xenopus* 母卵细胞内对它转录的试管内活性证据是关键性早期步骤，从而导致应用 DNA 重组技术在菌体内生产人干扰素，这样由细菌生成极大量的干扰素蛋白质并从细菌培养中得以纯化。

随着DNA重组技术大规模地用于生产干扰素，因而，临床试验研究也就集中到干扰素对于病毒性疾病和肉瘤的强有力的治疗效果上来了。

三、干扰素的性质及生成

1. 生物学性质

在干扰素被纯化和单克隆抗体可应用之前，早期所进行的干扰素研究就已鉴别出干扰素的一组主要性质。简而言之，把一种干扰素看做含有一种蛋白质的分子，它对于病毒的稳定性没有直接作用，但它可通过在反应细胞内激活 mRNA 和蛋白质合成产生一种广谱抗病毒作用，而且对特殊范围的病毒也可产生抗病毒作用。现已鉴别出符合这些标准的多种分子，它们被分成3组干扰素，即 $\text{IFN-}\alpha$ ， $\text{IFN-}\beta$ 和 $\text{IFN-}\gamma$ 。对这3组干扰素分子的分组是根据产生它们的细胞类型、诱生它们的动因及其抗原与分子的联系。

2. 干扰素的诱生

IFN- α 是通过病毒、异质核酸和多种其它因素合成的聚合物,细菌及其它各种成分、肿瘤细胞或异性细胞来诱发淋巴细胞和巨噬细胞而产生。至少有17种不同的IFN- α 亚型遗传顺序在人DNA中编码,其中自然表达的至少有8种。IFN- α 的所有基因均位于人第9位染色体的同一区,IFN- α 分子由166种氨基酸所组成。

IFN- β 是通过异质核酸包括病毒核酸来诱发生成纤维细胞和内皮细胞所产生。至少有两种IFN- β 亚型的遗传顺序是在人DNA中编码,这两种均能自然表达。IFN- β 亚型的一种基因被编码,它位于人第9位染色体上IFN- α 基因的密邻区。IFN- β 分子由166种氨基酸所组成。

IFN- γ 由以前被致敏的异质抗原或模仿这种诱生的有丝分裂刺激T淋巴细胞生成(图1)。这些IFN- γ 诱生物与T淋巴细胞相互作用损害了半乳糖而遗留在淋巴细胞膜上,因此,IFN- γ 也可由半乳糖氧化酶所诱生。IFN- γ 的遗传顺序只有一种可在人DNA中鉴别出来,它位于人第12位染色体上。IFN- γ 分子由146种氨基酸所组成。

3. 干扰素类型间的联系

IFN- α 和IFN- β 在核苷和氨基酸水平上具有明显的对应性。它们与反应细胞表面上的同一受体分子相互作用(见下文)但它们似乎又通过相同的机理产生其生物活性。因此,这些干扰素可能由一种普通遗传下来的干扰素基因通过转向衍化而产生。

IFN- γ 与IFN- α 或IFN- β 在核苷水平上或是在氨基酸水

平上都不具有明显的对应性。 $\text{IFN-}\gamma$ 与它本身唯一的受体分子相互作用以激活反应细胞，而且有一些证据表明： $\text{IFN-}\gamma$ 是通过与 $\text{IFN-}\alpha$ 和 $\text{IFN-}\beta$ 不同的机理而产生其抗病毒活性。

然而， $\text{IFN-}\gamma$ 与 $\text{IFN-}\alpha$ 和 $\text{IFN-}\beta$ 在二次结构上表明有某些相似性。此外，所有这三种干扰素至少具有某些诱生抗病毒状态所包括的共同位点。资料表明：尽管 $\text{IFN-}\gamma$ 与 $\text{IFN-}\alpha$ 、 $\text{IFN-}\beta$ 没有相关性，但 $\text{IFN-}\gamma$ 可能是集合衍化的典型。

四、应用DNA重组技术大规模生产干扰素

当前，应用DNA重组技术可以大规模生产干扰素，其工艺流程说明见图3。简言之，从诱生细胞中提取mRNA分子并得以纯化，用减毒逆转录酶制备mRNA互补DNA(cDNA)拷贝。每种cDNA拷贝插入相匹配的含有一个可选择标志的表达载体（通常为细菌质粒），如抗生素耐药性的基因。然后，将表达载体引入细菌如大肠杆菌内。在相应选择的药物存在情况下（抗生素）细菌开始复制，并对吸收了表达载体的细菌进行筛选，接着又鉴别出产生干扰素的复制品，丢弃其余的复制品。产生干扰素的大肠杆菌复制品具有干扰素基因的cDNA并可以大批培养。从培养的细菌中提取干扰素并通过各种技术给以纯化，其中包括特异结合在亲和性柱体上所制备的单克隆抗体。

五、检测技术

一般来说，干扰素滴定度表示为每毫升的抗病毒单位