

干扰素治疗



世界卫生组织 编

技术报告丛书 679

人民卫生出版社

本报告为国际性专家组的集体观点，并不代表世界卫生组织的决定或规定的政策

干 扰 素 治 疗

世界卫生组织 编

赵利淦 译

向近敏 校

技术报告丛书 676



世界卫生组织委托中华人民共和国
卫生部由人民卫生出版社出版本书中文版

世界卫生组织是联合国的一个专门机构，主要负责国际卫生事务与公共卫生。该机构创建于1948年，大约有155个国家的卫生专业人员通过世界卫生组织交流他们的看法和经验，以使世界上所有公民于2000年达到一种能从事社会和经济生产活动的健康水平。

世界卫生组织，通过与该组织会员国的直接技术合作以及促进会员国之间的这种合作，进而促进综合卫生事业的发展，预防与控制疾病，改善环境条件，开发卫生人力，协调与发展生物医学和卫生事业研究以及制订与落实卫生计划等。

这些多方面的努力包括多种多样的活动，譬如：制订影响会员国人口的初级卫生保健制度；促进妇幼卫生；与营养不良作斗争；在全世界范围内根除天花；控制疟疾并控制包括肺结核和麻风病在内的其他传染病；促进群众性免疫运动以预防一些可以预防的疾病；改善精神卫生；提供安全供水；培训各类卫生工作人员等。

朝着全世界更加卫生而迈进，这还需要国际上的合作，如：制订生物制品、农药和药物的国际标准；制订环境卫生标准、推荐国际非专利药品的名称；执行国际法规，修订疾病、创伤和死因国际分类法以及收集与散发卫生统计资料等方面。

有关世界卫生组织很多方面工作的详细情况刊载在该组织的出版物中。

* * *

*

世界卫生组织技术报告丛书报道各国专家组所提供范围广泛的医疗和公共卫生方面的最新科技消息。这些专家组成员并不代表各政府或其他机构，而是不计报酬地竭尽个人所能地工作。报告丛书每年出版15~20种，售价：60瑞士法郎。

有关这些技术报告以及世界卫生组织的全部出版物的简介，定期刊载于《世界卫生组织月报》，本刊是世界卫生组织活动的定期评述，用中文、英文、法文、俄文和西班牙文出版。预订价（全年共6期）：20瑞士法郎。

世界卫生组织科学组干扰素治疗小组

日内瓦, 1982年3月1~4日

成员

O. G. Andzaparidze 教授

苏联, 莫斯科病毒制品研究所所长 (小组副主席)

A. Billiau 教授

比利时, 卢万, 卢万大学, Rega 研究所

E. C. Borden 博士

美国, 威斯康星州, 麦迪逊市, 威斯康星大学临床癌症中心临床肿瘤科

K. Cantell 教授

芬兰, 赫尔辛基, 国立公共卫生研究院病毒学系主任

N. B. Finter 博士

英国, 贝克纳姆, 干扰素、Wellcome 生物技术科学和 Wellcome 研究实验室主任

G. J. Galasso 博士

美国, 马里兰州, 贝塞斯达, 国立卫生研究院, 国立传染病和变态反应研究所, 微生物学和传染病规划, 发展和应用处主任。

S. E. Grossberg 教授

美国, 威斯康星州, 密尔沃基, 威斯康星医学院, 微生物学系主任 (小组主席)

J. Hilfenhaus 博士

德意志联邦共和国, 马尔堡, 贝林沃克副主任, 干扰素规划主任

A. Lister 博士

英国, 伦敦, 圣·巴塞洛缪医院, 医学肿瘤学系, 国际癌症研

究基金会副主任

V. Ramalingaswami 教授

印度，新德里，印度医学研究部部长

H. Schellekens 博士

荷兰，Rijswijk, TNO 灵长类动物中心

H. Strander 博士

瑞典，斯德哥尔摩，卡罗林斯卡医院，放射科

手塚山先博士

日本，东京，国立卫生研究院，中央病毒诊断实验室主任

A. J. Zuckerman 教授

英国，伦敦热带医学和卫生学院，医学微生物学系主任

秘书处：

F. T. Perkins 博士

日内瓦，世界卫生组织生物学主任（秘书）

B. Sankaran 博士

日内瓦，世界卫生组织诊断治疗和康复技术处主任

目 录

1. 引言	1
2. 干扰素的生产	2
2.1 用人细胞生产的干扰素	4
2.1.1 含人 α 干扰素的制剂	4
2.1.2 含人 β 干扰素的制剂	5
2.1.3 含人 γ 干扰素的制剂	6
2.2 用重组 DNA 技术生产干扰素	6
2.2.1 人 α 干扰素	6
2.2.2 人 β 干扰素和人 γ 干扰素	7
3. 干扰素的安全性	7
3.1 细胞	7
3.2 生产和纯化	8
3.3 干扰素治疗的可能长期后果	9
4. 国际参考制剂: 生物学活性的标化和测定	9
5. 干扰素诱导剂	11
6. 临床研究	11
6.1 干扰素的副作用	12
6.2 抗原性	13
6.3 干扰素对病毒性疾病的效果	14
6.3.1 上呼吸道感染	14
6.3.2 疱疹病毒感染	14
6.3.3 与乙型肝炎病毒有关的慢性肝病	16
6.3.4 与病毒有关的乳头状瘤和疣	17

6.3.5 其它病毒性疾病·····	18
6.3.6 展望·····	18
6.4 干扰素治疗恶性肿瘤·····	19
6.4.1 全身治疗·····	19
6.4.2 局部给药·····	21
6.4.3 展望·····	22
7. 小结·····	22
参考文献·····	25
附录：干扰素的标准化测定·····	28

干扰素治疗

世界卫生组织的一个科学小组的报告

世界卫生组织的一个有关干扰素治疗的科学小组于1982年3月1~4日在日内瓦举行了会议。会议由助理总干事陆如山博士代表总干事主持召开的。他指出,现代技术能够生产比过去产量大得多的干扰素。这意味着不象早期临床试验那样,现在可以生产大量的干扰素供应更多的病人。因此,许多国家纷纷要求对干扰素的近况,特别是临床效果作一个评价。

陆博士还特别提到,世界卫生组织正对不同生物学活性的干扰素制剂进行测定的国际化问题非常关注,并认为这些标准应保证继续有用,特别是对于用重组DNA技术生产的干扰素更是如此。

1. 引言

1957年,在病毒感染的细胞培养中发现了一种物质,这种物质具有调动其它细胞抗病毒感染的能力,当时就把这种物质命名为干扰素(IFN, interferon)。后来,人们发现,干扰素还可以在其它的情况下产生,例如,某些细菌产物和低分子量的化学物质也可以诱导细胞产生干扰素。特别是用双股RNA刺激时,更可产生大量的干扰素。干扰素的抗病毒作用在于诱导和/或活化细胞的某些蛋白以阻止病毒复制,阻止病毒成分合成和/或阻止这些病毒成分组合

成新的病毒颗粒。

动物实验已经证明，动物能从病毒感染中自然恢复，内源性干扰素起着重要的作用。干扰素系统被阻抑时，感染病毒的动物发病率和死亡率可明显增高，而且还可能使一种无毒力的病毒感染变成一种致死性感染。在病毒感染的早期产生的干扰素，可以延迟病毒复制和推迟病毒感染向全身扩散。这样，便为机体发展体液免疫和细胞免疫赢得了时间。

人们常用两种方法来利用干扰素的抗病毒潜力：(a) 应用外源性干扰素，(b) 应用一些能诱生干扰素的物质（即所谓的“干扰素诱导剂”）。动物实验已经证明，早期给予干扰素或干扰素诱导剂，可以阻止病毒性疾病发生，而给药较晚，则几乎没有效果。一般说来，等到疾病的症状已经出现后再给药，常常是无效的。

除了抗病毒作用外，干扰素对细胞还有许多作用，如抑制细胞生长和免疫调节作用。干扰素和干扰素诱导剂的抗肿瘤作用可能取决于这些不同类型的作用的总和。在干扰素大量生产的方法没有建立以前，是谈不上对干扰素应用于人类治疗的研究的。

本书的目的是报告一些国家的卫生行政部门在生产干扰素方面，以及在评价他们的干扰素制剂的临床疗效方面已经取得的一些进展。这份报告可帮助一些卫生行政部门审理他们国家正在将获得的干扰素作为临床应用研究的申请要求，并且帮助他们为临床使用干扰素创造条件。

2. 干扰素的生产

现已通过用缩写词 IFN 来表示干扰素。到目前为止，人干扰素 (Hu IFN) 已经发现了三型，它们分别是人 α 干

扰素 (HuIFN- α), 人 β 干扰素(HuIFN- β) 和人 γ 干扰素(HuIFN- γ)。人 α 干扰素有许多亚型, 可能总数有14种, 每一种都是一个特殊基因的产物。这些亚型的氨基酸序列的差别可高达30%以上, 有些生物学差别在体外也可以观察到。这些差别的临床意义还不大清楚。

人 β 干扰素只有一种类型, 它具有人 α 干扰素的若干相同的氨基酸序列。但是, 在其化学和生物学特性方面, 人 β 干扰素很容易与人 α 干扰素相区别。同样, 人 γ 干扰素也只有一种类型, 它的结构与其它干扰素不同。

α 、 β 和 γ 干扰素这些名称作为干扰素的分类是按照它们的结构特征。相反, 常常使用的所谓白细胞干扰素, 淋巴母细胞干扰素和纤维母细胞干扰素, 则与这些干扰素制剂的相应的细胞来源有关(见表-1)。所谓“免疫”或“II型”干扰素, 即以前所称的可能含有其它淋巴因子的 γ 干扰素的粗制品。白细胞干扰素和淋巴母细胞干扰素都含有几种人 α 干扰素。而在不同实验室制备和提纯的白细胞干扰素制剂, 其中所含各型 α 干扰素的数量和比例可能不同。同样, 淋巴母细胞干扰素根据所用的细胞和提纯的方法, 其中所含各型 α 干扰素的数量和比例也可能不同。

当人的一种干扰素的基因信息经过转录和翻译成功能性干扰素蛋白时, 便产生了干扰素。干扰素基因可能在人细胞内天然存在, 它可以通过一种适当的刺激而激活, 它也可以通过重组 DNA 技术插入细菌, 酵母或其它细胞内。

表-1 人细胞产生的干扰素制剂

人干扰素制剂	常用的诱导系统	成 分	旧 名 称
白细胞干扰素	白细胞淡黄层和病毒*	人 α 干扰素的不同亚型	I 型Le(白细胞)干扰素 pH ₂ 稳定干扰素 外源性细胞诱导的干扰素
淋巴母细胞干扰素	B 淋巴母细胞和病毒	人 α 干扰素的不同亚型	I 型Ly(淋巴母细胞)干扰素 pH ₂ 稳定干扰素 外源细胞诱导的干扰素
纤维母细胞干扰素	纤维母细胞和双股 RNA	人 β 干扰素	F(纤维母细胞)干扰素 Fi 干扰素 I 型干扰素 pH ₂ 稳定干扰素
“免疫”干扰素	白细胞淡黄层或 T 淋巴母细胞和致有丝分裂因子	人 γ 干扰素	T 干扰素 I 型HF(免疫)干扰素 pH ₂ 不稳定干扰素 抗原诱导的干扰素 致有丝分裂因子诱导的干扰素

* 仙台病毒或新城病毒。

2.1 用人细胞生产的干扰素

2.1.1 含人 α 干扰素的制剂

(a) 白细胞干扰素。直到最近, 来自血库的人白细胞(淡黄层) 仍然是制备白细胞干扰素最常用的来源^[1]。简单说来, 这种血液经过抗凝后收集在一起, 进行离心。所谓的“淡黄层”细胞, 它常经过离心后沉积在血浆和红细胞之间的界面上, 经过分离后, 将其悬浮在含有人血清的一种新鲜的缓冲盐溶液中。加入诱导病毒, “淡黄层”细胞受到刺激后便产生干扰素。诱导病毒常用仙台病毒 (Sendai vi-

rus), 这种病毒一般在鸡胚内生长良好。干扰素制备于 18 小时内完成, 而粗制的人 α 干扰素需要离心才能与白细胞分离。

这种粗制干扰素常常要用酸性硫氰酸钾沉淀作进一步提纯, 在不同的 pH 下分段再沉淀, 沉淀物用乙醇抽提。最后提纯的干扰素 (P-IFN) 制剂的比活性每毫克蛋白大约含有 3×10^6 国际单位 (IU) (大约为 1% 纯度的人 α 干扰素蛋白)。一个献血者 0.45 升血的淡黄层可获得大约 5 万国际单位。这种技术制备白细胞干扰素道理简单, 而且不需要高级设备。但经验表明, 需要特别注意细节问题。作为治疗目的从白血病人体内所得到的白细胞, 同样也可以用作制备白细胞干扰素的材料。

(b) 人类淋巴母细胞干扰素。许多人类转化细胞经适当地诱导后也可产生干扰素。一株特殊的 B 淋巴母细胞株, Namalwa 细胞株, 已被用作大量生产人 α 干扰素的来源。

这种 Namalwa 细胞, 可用同淡黄层细胞一样的方法, 用仙台病毒刺激; 此法的优点是细胞可以悬浮培养。一种 4,000 升容量的培养罐已用于工业规模的生产, 这种生产已产生了经济效益。有一个小组^[2], Namalwa 细胞干扰素常规提纯到 80~95% 的纯度。这种干扰素产品至少含有 8 种人 α 干扰素亚型, 它们的化学性质、物理性质, 抗原性和生物学特性都不同, 这种类淋巴母细胞干扰素制剂正在进行广泛的临床试用。

2.1.2 含人 β 干扰素的制剂

成纤维母细胞干扰素, 即人 β 干扰素, 从培养的成纤维细胞获得。有两种二倍体细胞株分别来源于新生儿的包皮或胚胎组织和某些传代细胞株^[3~5]。到目前为止, 将这些细胞

用合成的核糖核酸，即聚肌苷酸-聚胞苷酸 (polyriboinosinic-polyribocytidylic acid) 处理，在代谢抑制剂，放线菌素 D (dactinomycin) 和放线菌酮 (cycloheximide) 存在的情况下，按一个恰当的时间顺序加入，已获得了最好的结果。这样制备的 β 干扰素可以用各种方法提纯，已经用于临床试验的这种干扰素制剂每毫克蛋白含有 10^6 国际单位以上。

由于成纤维细胞只能贴壁生长，因此设计了一些特殊的技术以扩大大量培养所必须的外表面积。虽然如此，要达到大规模的工业生产仍然相当困难。

2.1.3 含人 γ 干扰素的制剂

用植物凝集素、链球菌内毒素或其它致有丝分裂因子刺激入淡黄层细胞，便产生人 γ 干扰素。有人认为这种干扰素来源于 T 淋巴细胞。粗制的人 γ 干扰素制剂常常含有各种淋巴因子以及人 α 干扰素和人 β 干扰素。但是，由于这种分子不稳定，因此进行纯化相当困难。到目前为止，这种类型的干扰素还未见临床应用的报道。

2.2 用重组 DNA 技术生产干扰素

用细菌和酵母生产干扰素是生产价格相当低廉的单一干扰素蛋白的方法。

2.2.1 人 α 干扰素

人 α 干扰素基因已经用大肠杆菌 (原核) 和酵母 (真核) 细胞克隆化。有个小组已经成功地获得 6 种不同的干扰素基因的表达，据报道，已经生产了很高的干扰素蛋白^[6]。

一些特定的亚型制剂，主要是人 α_2 干扰素（重组株A）和 α_1 干扰素（重组株D），已经纯化到80~95%，并已用于临床试验。不同克隆的 α 干扰素亚型其生物学活性可能不同。

2.2.2 人 β 干扰素和人 γ 干扰素

人 β 干扰素和人 γ 干扰素也可以通过重组DNA技术从细菌、酵母和动物细胞中获得。天然的人 β 干扰素和人 γ 干扰素是糖蛋白，而通过细菌细胞产生的干扰素不含有这种糖类。目前已有少数有关这种干扰素生物学特性的资料，而有关它们的临床作用却知道很少。

3. 干扰素的安全性

不同类型的干扰素制剂的安全性必须考虑与生产各型干扰素的细胞有关，与所采用的生产方法和提纯技术有关，而且还可能与长期给予干扰素有关。

虽然人干扰素制剂在某些异种细胞，如牛和兔细胞内可能有抗病毒作用，但是在恒河猴、*cynomolgus*猴或者兔子这些动物中，它们的副作用并不是都能表现出来的。而且，人干扰素对这些动物具有抗原性，这意味着在啮齿动物进行的慢性毒性研究的结果对人类来说是可疑的。这就说明对那些长期接受干扰素治疗的病人需要进行密切的观察。

某种类型的干扰素制剂是否批准临床使用，这个国家的有关部门的决定是很重要的，但是考虑下面这些内容将具有一定的指导作用。

3.1 细胞

在用人血细胞制备人 α 干扰素或人 γ 干扰素制剂时，遇

到的问题与从血库的人血浆生产某些制品的情形是相似的。应遵循世界卫生组织^[7]颁布的关于人血和人血制品的收集、处理和检定规程。因为是把许多份供血者的血液混合在一起作为生产细胞，所以更广泛的质量控制检查，如检查巨细胞病毒的存在是不切合实际的。

培养的人细胞也已作为生产干扰素之用。已发展一种象检查人纤维母细胞作为制备活病毒疫苗那样的非常有用的广泛安全试验，这种试验适合于检查人 β 干扰素。如果用转化的人细胞，如B淋巴母细胞或类纤维母细胞，那么还要考虑其它的问题。已准备作为人 α 干扰素一种来源的 Namalwa 细胞，来自一名伯基特淋巴瘤患儿，并以此患儿的名字命名。这种细胞是多倍体细胞，对免疫抑制小鼠有致瘤性，它们含有爱泼斯坦-巴尔病毒 (Epstein-Barr virus) 一半的基因组，但是不产生感染性病毒。在这种细胞内已证明没有可传播的特殊的致癌因子存在，在用这些细胞制备的粗制人 α 干扰素中，也证明没有这种因子存在。但是，这样一种因子在理论上必须予以考虑。因此，从 Namalwa 细胞（或其它转化细胞以及白血病细胞）制备的人 α 干扰素，应注意提纯。经过提纯的人 α 干扰素应表明是不含有病毒和细胞 DNA 的。这样，即使有一些至今还不能识别的致癌因子存在于这些细胞内^[8]，也能得到一种可能是安全的干扰素产品。

3.2 生产和纯化

用来诱导干扰素产生的物质，或者细胞培养液的某些成分，或者用于提纯过程中的某些化学物质，都可能混杂在干扰素的制成品中；例如，小牛血清用于纤维母细胞和 Na-

malwa 细胞培养。虽然在干扰素制成品中混杂的量必须降低到最低水平，但是对容许残留到何种水平，现在还没有统一的意见。

3.3 干扰素治疗的可能长期后果

虽然干扰素在病毒感染期间，也许在许多其它的情况下，在人体内自然形成，但是通过各种技术制备的干扰素，或通过几个途径注射这些干扰素，可能产生什么不利的长期后果，仍然是一个需要认真考虑的问题。例如，可能形成对干扰素的抗体。

在新生的小白鼠和大白鼠中，用同源性干扰素制剂注射，已经在肝脏和肾脏产生了严重的毒性作用。但是，给幼猴和幼兔用人白细胞干扰素，则未见这种毒性作用。

由于干扰素可能有重要的调节功能（例如，对骨髓），可以想象，持续给予干扰素制剂可能有远期后果。因此，接受这种治疗的病人应在严密的监视下进行。

4. 国际参考制剂：生物学

活性的标化和测定

干扰素制剂通常是一种复合性蛋白。即使作为临床使用的那些干扰素也可能含有某些污染的蛋白。例如，除了有生物学活性的干扰素以外，有些干扰素分子在制备、提纯和贮藏期间失去了活性。所谓“比活性”，通常指的是这种特定制剂同所含总量蛋白的生物学效力之比。它以单位/毫克蛋白表示。这种效力的生物系测定是用一种培养细胞对病毒增殖的抵抗力的程度来估计，或者用这种干扰素样品作一系列

稀释处理来抵抗病毒增殖作为结果。样品的滴度是指抑制病毒增殖和生长的那个人为的测定终点的稀释度。这个滴度的倒数即表示干扰素的效价，以单位/毫升表示。现在使用的是一种病毒-细胞同各种不同类型的终点相结合的一种修正法。目前还没有一种能普遍接受的生物学测定法，也还没有正式指定通过纯化制品建立的可作为干扰素生物学活性测定的参考检查法。然而，各种干扰素的滴度可用一些适当的干扰素国际参考制剂来校准（参看附录）。

现在计划使用的国际参考制剂是作为干扰素生物学测定时校正使用的。校准的一个基本要求是，在用国际参考制剂测定时作一些剂量反应曲线，实验室内部参考品和试验标本的剂量反应曲线应该平行，否则活性不能用国际单位来表达。由于人 α 干扰素、 β 干扰素和 γ 干扰素的剂量反应曲线不同，所以一型的标准不能代替另一型。某一类型的细胞对不同类型的人干扰素的敏感性可以各不相同。

除了它们的抗病毒活性以外，干扰素还有许多其它的生物学效应。对是否需要可行的标化试验作为这些非抗病毒活性测定，目前还没有统一意见。而国际参考制剂又不能用于这方面的校准。此外，尚未对干扰素的国际参考制剂的抗原成分或含有亚型的比例作过分析。虽然如此，国际参考制剂如能正确使用，仍有极其重要的参考价值。

美国国立卫生研究院生产的几种参考多克隆抗血清是很有用的。他们已经生产了抗人白细胞、抗人类淋巴瘤细胞和抗人纤维母细胞干扰素的抗血清^[9]。抗 γ 干扰素的抗血清不久也将应用。

最近发展了放射免疫或酶免疫测定法，这两种方法的使用既有赖于干扰素纯化的均一，也有赖于单克隆抗体的供