



// 1989

医药卫生科学技术进展

中国人民解放军总后勤部卫生部

5.81

前 言

为了提高医药卫生水平,增强人民健康,使医药卫生更好地为国防现代化建设服务,为国家社会主义四个现代化建设服务,总后勤部卫生部聘请军内医药卫生专家撰稿,委托军事医学科学院情报研究所主办,编辑出版了这本《医药卫生科学技术进展》,拟每年出版一册,供卫生部门领导,科技人员,教学人员和广大医务工作者参阅。

本专辑围绕全国医药卫生实践活动中的重要问题和全军医药卫生科学研究规划,在军事医学、基础医学、临床医学、预防医学、中医学和药理学等领域内进行选题,以最新文献和科技成果材料为主,力求内容新颖,论述全面,文字简炼,反映当前国内外研究现状和水平,并对今后的发展趋势和研究方向予以评述。因此,本专辑不仅可作为开阔学术思路,供有关人员了解某些学科或专业领域的进展概况,进行总体研究的参阅文献,而且可作为规划,计划论证的参考材料。

本专辑共收集了25篇文章,内容涉及到当前医药卫生工作的十多个学科领域,作者搜集了大量资料,运用自己的丰富知识和实践经验,阐述了有关领域内令人感兴趣的问题,读者可从这些文章中获得有益的启示。

本《进展》在总后勤部卫生部的领导下,全军各单位和军内外医药卫生专家对这项工作给予了大力支持。借此,我们对他们表示衷心的感谢。

本《进展》期望以名副其实的努力,为读者提供有益的信息,故有错误或不当之处,敬请批评指正。

《医药卫生科学技术进展》编辑组

1989年12月

目 录

单克隆抗体技术研究进展	白 炎(1)
人干扰素生物工程研究的进展	肖成祖(6)
医用病毒学研究进展	朱关福(12)
逆转录病毒介导的基因转移研究进展	王嘉玺(16)
痢疾菌苗研究的进展	高杰英(24)
骨髓移植的进展	曹履先(29)
内分泌生理学的研究进展	孙希诒(33)
疾病监测的进展	张习坦(40)
消毒研究的进展	刘育京(45)
医学检验的若干进展和发展趋向	朱忠勇(53)
超声医学诊断技术的进展	简文豪(58)
麻醉学研究进展	郑斯聚(65)
肿瘤标志研究进展	李春海(71)
神经病学研究进展	宰春和 邵福源(79)
神经外科研究进展	赵崇智(86)
冠心病诊治的进展	车善初 郑华光(93)
消化性溃疡病发病机理及治疗研究进展	蔡有章(99)
耳鼻咽喉科研究的进展	汪 磊(105)
艾滋病诊治研究进展	程 违(108)
创伤(战伤)感染研究进展	田惠民(114)
灾害医学的发展	乐昌恒(119)
创伤(战伤)病人最佳营养研究进展	赖业馥(125)
辐射防护剂研究进展	黄明欣(130)
中医药在军事环境医学中的应用	张瑞钧(135)
现代作战飞机的航空医学研究进展	樊树桐(141)
航天医学研究进展	吴国兴(146)

单克隆抗体技术研究进展

军事医学科学院基础医学研究所 白炎

提要 自1975年杂交瘤技术创立以来,单克隆抗体已广泛应用于医学生物学的各个领域。近年来第二代单克隆抗体已经出现。这包括用细胞融合方法或化学交联方法制备的双功能抗体,这种抗体的两个Fab段分别识别两种不同抗原。用DNA重组方法制备的人-鼠嵌合抗体、将小鼠抗原决定簇互补区“移植”到人免疫球蛋白相应部位的重构抗体、将抗体轻、重链相联而成的单链抗体、或由抗体及其他活性分子构建而成的新型抗体等都属于第二代抗体。此外,在单克隆抗体应用方面也已突破经典抗体的概念,正在探讨如何使抗体分子发挥酶、抗原等生物活性作用。本文对抗体酶以及抗独特型抗体作为疫苗作了简介。

1975年Milstein及Köhler^[1]创立杂交技术以来,单克隆抗体已广泛应用于医学生物学不同研究领域,在疾病诊断及治疗中发挥了重要作用。它也为开创研究及诊断治疗的新方法、新领域提供了有力的手段。近年来,随着分子生物学研究进展,以及对抗体分子结构及功能的深入研究,用细胞工程或遗传工程技术可对抗体分子进行改建,赋予其新的功能,或开发新的抗体应用领域,因而使单克隆抗体技术又向前发展一步,出现了第2代单克隆抗体:双特异性抗体、遗传工程重组抗体^[2]。同时人们也在试图用抗体分子作酶——酶抗体^[3],或作抗原,以发展成抗独特型抗体疫苗^[4]。现将单克隆抗体技术有关新进展简述如下:

一、双特异性抗体 (bispecific antibodies)

天然抗体是双价单特异性抗体,它的两个Fab段都识别一种相同的抗原决定簇。人们设法对天然抗体进行改造,使抗体分子的每一个Fab段各自识别不同的抗原决定簇,这便是双特异抗体。最初,用化学方法,将两个抗体各自重链间的二硫键拆开,每个抗体都还原成含有一个Fab段的单价抗体,进而将这两个含特异性不同Fab段的单价抗体重新组合,形成双特性异抗体^[5]。也有人用化学交联剂如SPDP将两种特异性不同的单克隆抗体连接,形成两个抗体分子的聚合体,这类抗体也具有双特异性^[6]。但用化学方法制备的双特异抗体在方法学上还有许多问题未能解决,制备过程中常导致部分抗体失活,故未广泛应用。杂交瘤技术发明者Melstein^[7]于1983年又建立了一种用细胞融合方法制备双特异抗体的方法。他将分泌抗辣根过氧化物酶单克隆抗体的杂交瘤细胞诱导成对HAT选择培养液敏感的细胞,再将其与经生长激素抑素(somatostatin)免疫小鼠脾细胞融合,用HAT选择培养液挑选出融合细胞(杂交——杂交瘤细胞,hybrid hybridoma),通过筛选,得到分泌双特异抗体的杂交——杂交瘤,进行克隆化培养并获取大量抗体。这种抗体一般含三种成分:两个融合母本细胞自身抗体及双特异性抗体,需经进一步分离纯化,以获得纯净双特异性抗体。Melstein曾用他制备的双特异性抗体,一次孵育及显色后,便在脑组织冰冻切片上显示出生长激素抑素的分布。近年来人们又将用

于制备杂交——杂交瘤的母本杂交瘤通过转基因如新霉素抗性基因 (neogene) 或用 8-氮鸟嘌呤、6-巯基嘌呤等诱导, 成为对某种细胞毒性抗菌素, 如新霉素类似物 G418 有抗性, HAT 敏感的细胞。这种细胞既可与另一普通杂交瘤细胞直接融合, 又可与小鼠免疫脾细胞融合, 用含 G418 的 HAT 选择培养液便可将杂交——杂交瘤细胞挑选出来。

双特异性抗体在疾病诊疗中有很好的应用前景。例如制备识别有关抗原 (如肿瘤标志, 微生物抗原等) 及抗标记物 (如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、半乳糖苷酶等) 的双特异抗体, 既可用于酶联免疫测定, 又可用于免疫组化染色, 显色过程只需一个双特异抗体, 较常规方法既有简便、快速、非特异反应轻等特点, 又可克服目前作化学方法标记抗体时, 各批产品间的不稳定性。在治疗方面, 可用针对肿瘤细胞及药物或毒素的双特异性抗体, 将药物或毒素导向肿瘤细胞, 增强对瘤细胞的特异性杀伤。如有人^[8]将抗 CEA 癌膜抗原及长春新碱的双特异抗体注射到荷瘤裸鼠体内, 与不给抗体的对照组比较, 抗体组动物结肠癌组织中药物浓度提高 10 倍, 癌组织发生变性、萎缩、坏死。也有人用抗蓖麻毒素 A 链及抗肿瘤的双特异性抗体, 在动物实验中获得好结果。也有报道用抗人 T 细胞标志 CD₃ 抗原及肿瘤细胞的双特异抗体, 将细胞毒性 T 细胞导向至肿瘤组织, 以利杀伤瘤细胞^[9]。双特异抗体用于体内有其独到优点: 由于抗体及毒素或药物均未经化学修饰, 活性较好。此外, 双特异性抗体为单价抗体, 可减少对抗原调变。这类抗体在体内半衰期较长, 毒性较小。

二、重组抗体

目前所应用的单克隆抗体多为鼠源性, 在临床治疗中常使患者产生抗异种蛋白的免疫反应。人源性单抗在临床治疗中较鼠源性抗体优越, 但在制备中尚有许多难题需要解决。此外, 若能将抗体的特异性与其他生物活性因子的功能结合, 这种高度特异性的生物活性物质在医学生物学领域将有广泛应用前景。目前, 随着遗传工程技术的进展, 对抗体分子进行人工改建或修饰已成为可能: 这主要包括构建免疫球蛋白轻或重链变区基因及有关目的基因如毒素基因、酶基因等, 重组基因片断, 并将其插入到在细菌及真核细胞中都有抗性标记的穿梭质粒 (shuttle vector) 中, 然后将此重组质粒转染骨髓瘤细胞, 利用质粒中的药物抗性标志如新霉素抗性基因, 噻酚酸抗性基因 (gpt-gene), 在含有新霉素类似物 G418 及噻酚酸的选择培养液中, 选择出经重组免疫球蛋白基因转染的骨髓瘤细胞, 再通过克隆化培养后获得分泌重组抗体的转染细胞瘤 (transfectoma)。转染细胞瘤培养上清或制备腹水, 可获得重组抗体^[10]。有人也观察到可以将编码抗体分子的外源性 DNA 导入高等动物胚系细胞^[11]。因而可否用转基因动物大量生产重组抗体也在研究中。

目前正在研究中的重组抗体有以下几种类型:

1. 人鼠嵌合抗体 (chimeric antibodies)

为保持鼠源性抗体的特异性, 但又使抗体具有人源成分, 以减少鼠源性抗体在治疗中的副作用, 1984 年以来不少研究者将鼠源性抗体与抗原结合的可变区基因与人源免疫球蛋白白定区基因重组, 得到了一批有功能的嵌合抗体^[12,13]。有人也制备了一套含人不同免疫球蛋白类及亚类定区的嵌合抗体, 以便研究人免疫球蛋白的功能。

为进一步减少嵌合抗体中的鼠源成分, 人们对免疫球蛋白可变区结构即其框架区 (framework regions FRs) 及决定簇互补区 (complementarity determining regions CDRs) 的 X 线立体构象、功能等进行了深入研究, 并将编码与抗原发生结合的小鼠单抗

CDRs 区核苷酸序列“移植”到编码人免疫球蛋白变区的骨架区,以取代编码人免疫球蛋白 CDRs 的核苷酸序列,所得抗体有人称之为重构抗体 (reshaped antibodies 或 reconstituted antibodies),它的大部分结构为人的成分,但还保持着鼠源性抗体的特异性。例如广泛用于骨髓移植中的鼠源性单抗 CAMPATH-1 被用来构建重构抗体,所制成的重构抗体象大鼠来源的 CAMPATH-1 一样有效地与人淋巴细胞及单核细胞结合,并能固定补体或通过细胞介导杀伤人淋巴细胞。这个重构的 CAMPATH-1 能否避免大鼠源性 CAMPATH-1 临床应用时诱导中和抗体产生的问题,还有待进一步观察^[14]。

2. 单链抗体 (single chain antibodies)

将抗体轻、重链可变区基因与一编码人工合成多肽接头 (synthetic peptide linker) 核苷酸序列连接起来,并使所编码的轻、重链变区结构域 (domains) 以正确方式折叠,形成一有活性的抗体分子。单链分子可能由工程菌合成,因而可降低成本。由于其分子小,在体内的抗原性可能也较小,对组织穿透力较强。若将人工接头部分换成毒素,也可能用于肿瘤等疾病治疗。一旦大量制备单链抗体的技术问题获得解决,单链抗体可能在诊断及治疗方面得以应用。

3. 具有新功能的抗体构建

用基因重组技术制备的免疫毒素或抗体-酶融合蛋白也有相当应用前景。将免疫球蛋白及毒素基因重组在一起,并使之在受体细胞中得到表达。可简化免疫毒素制备程序,便于免疫毒素的推广使用。抗体-酶融合蛋白的制备,不仅可能制备出供 ELISA 免疫酶联反应或免疫组化染色的高质量试剂,也为难以纯化的酶提供一条较为理想的纯化途径:将抗体-酶融合蛋白经抗原亲和柱纯化,再将融合蛋白中抗体成分去除,以获得纯酶。此外,抗体的恒定区也可根据不同活性物质,不同受体,癌基因等取代,形成具有不同功能的抗体,以满足科研及临床上的多种需要。

三、酶抗体 (catalytic antibodies)^[3]

近年来通过抗体与抗原决定簇结合过程中对抗原结合位点及其构型的详细研究,以及对酶催化作用的深入了解,发现这两类不同的生物大分子有一相似功能:即是与另一成分结合。酶的催化作用在于它可降低由反应物到产物的化学反应过程中形成不稳定中间产物所需的能量,因而增加了反应速度。酶分子通过与不稳定中间产物结合而降低化学反应的活化能,实现其催化作用。鉴于抗体分子的多样性,若能制备针对某化学反应中的中间产物抗体,此抗体便可能象酶一样与其结合,从而抗体也可具有催化活力。但化学反应中的中间产物极不稳定,不可能作为抗原诱生抗体。有人使用化学方法合成了分子形状及电荷分布都与某化学反应中间物类似的稳定分子,以此稳定分子模拟反应中间物,并作为半抗原免疫动物,采用杂交瘤技术,制备了抗原结合部位的构型与化学反应中间物相匹配的单克隆抗体,这种单克隆抗体对该化学反应具催化作用。例如有人研究酯类水解反应,将反应中间物中央的碳原子用磷原子取代,制备出一分子形状及电荷分布与原中间产物类似的稳定磷酸酯。并用此磷酸酯为半抗原,免疫动物并进行融合后,筛选出对酯类水解有催化活性的单克隆抗体,有的抗体可使水解速度增加 1000 倍,有些抗体可提高水解速度 100 万倍。也有人用磷酸胆碱免疫动物,制备及筛选出对碳酸酯水解有催化作用的抗体,此抗体可使反应速度增加 100 倍。

目前酶抗体的研究尚处于开始阶段,若是此研究进展顺利可在医学生物学方面有应用

的前景。如能制备出对蛋白、核酸等大分子有催化活力的抗体,无疑对这些大分子空间构象及功能研究有巨大意义。也有人设想研制水解病毒的抗体,有可能通过注射这类抗体治疗受病毒感染的患者。若获得对血栓中蛋白有水解活力的抗体,可用来破坏已形成的血栓。从而对心血管疾病进行防治。

四、抗独特型抗体

虽然 Jerne 于 1974 年已提出免疫网络学说^[15],但直到最近人们才逐渐对抗独特型抗体的实际应用方面进行了探讨,其中对抗独特型的抗体疫苗应用的可能性,引起了人们极大兴趣。研究表明抗体 (Ab_1) 既能与相应抗原结合,其本身又有免疫原性。与相应抗原结合的 Ab_1 变区某一氨基酸序列和构型所形成的抗原决定簇为抗体独特型抗原决定簇 (Id)。由它所诱生的抗体为抗独特型抗体 (Anti-Id 或 Ab_2)。任何一个 Ab_1 包括不同种、不同个体或同一个体的 Ab_1 都可诱生相应 Ab_2 。 Ab_1 、 Ab_2 相互作用形成一免疫网络,在免疫调节中起重要作用。 Ab_2 有四种不同类型^[16]: $Ab_{2\alpha}$ 为识别 Ab_1 变区构架结构 (framework) 的 Id, $Ab_{2\alpha}$ 与 Ab_1 结合不影响 Ab_1 与抗原结合,属抗原非抑制性的 Ab_2 。 $Ab_{2\beta}$ 识别 Ab_1 与抗原作用的 Id,其三维结构与抗原类似,为抗原的内影像,因而可模拟抗原。 $Ab_{2\gamma}$ 不识别与抗原作用的 Id,但其识别部位与抗原结合 Id 相关,因 $Ab_{2\gamma}$ 与 Ab_1 作用,引起 Ab_1 三维构形改变,从而妨碍了 Ab_1 与抗原结合,所以 $Ab_{2\gamma}$ 也为抗原抑制性 Ab_2 。 $Ab_{2\epsilon}$ 是一种既识别框架结构 Id,又识别抗原结合部位 Id,又称 epibody。上述四种 Ab_2 中,只有 $Ab_{2\beta}$ 可以模拟抗原,刺激机体免疫反应。有人用抗 HBsAg 单克隆抗体制备了抗 Id 抗体,并筛选出可模拟 HBsAg 的 $Ab_{2\beta}$,将此抗体注射小鼠,使小鼠产生了抗 HBsAg 抗体。对 Ab_2 抗体发展成为新一代疫苗的可能性正引起人们的极大关注。此外,抗独特型抗体也可诱发特异性抗肿瘤反应^[17]。动物实验表明 $Ab_{2\beta}$ 对肿瘤作用不尽相同,有些有明显保护作用,有些则促进肿瘤生长,表明免疫网络调节方向不同,产生抗肿瘤作用也不同。具有抗肿瘤作用的 $Ab_{2\beta}$ 对肿瘤的治疗作用也在研究中。抗独特型抗体在某些自家免疫疾病的发病中也起重要作用^[18]。如用抗乙酰胆碱受体配基 Bio-Q 的抗独特型抗体可在动物模型中诱发重症肌无力表现;抗甲状腺素独特型抗体在甲状腺功能亢进的发病研究中也有重要作用。现一些研究者正在用抗独特型单克隆抗体来揭示某些自家免疫病发病机理。

80 年代初,军内有关单位也开展对单克隆抗体技术的研究。几年来通过科技人员共同努力,不仅掌握了鼠源单抗制备技术,对人源单抗制备技术、电融合方法、杂交瘤细胞大规模培养方法等进行了探讨。同时也获得了一批抗微生物(如病毒、细菌、寄生虫、原虫、立克次体、支原体等)单克隆抗体,抗肿瘤(如胃肠癌、肝癌、胰癌、肺癌、白血病及一些肿瘤标志)的单克隆抗体、抗某些淋巴因子、补体、酶、激素等的单克隆抗体。其中一些抗体已可配套使用,在传染病诊断(如乙型肝炎病毒、肾综合征出血热病毒、登革热病毒、日本乙型脑炎病毒、嗜肺性军团杆菌等感染疾病),肿瘤诊断(如胃癌、白血病免疫分型等),淋巴因子的纯化(如干扰素等),以及有关研究工作中发挥了良好的作用。有些单位也开始用放射性同位素标记单克隆抗体或构建免疫毒素,以期提高肿瘤体内定位及治疗效果。但对第 2 代单克隆抗体的研制,或进一步开拓单克隆抗体应用领域,在军内尚属起步阶段,对双特异抗体、嵌合抗体、抗独特型抗体作为疫苗等的研制还在进行探索。为使我军单克隆抗体研究工作不断前进,还需进行不懈的努力。

参 考 文 献

- [1] Kohler G and Milstein C. Nature 1975; 256:495.
- [2] Williams G. TIBTECT 1988; 6:36.
- [3] Lerner RA and Tramontano A. Scientific American 1988; 258:42.
- [4] Zhou EH, et al. Microbiol Sci 1987; 4:36.
- [5] Nisonoff A, et al. Nature 1962; 194: 355.
- [6] Perey P, et al. Nature 1985; 316:354.
- [7] Mileteín C, et al. Nature 1983; 305:537.
- [8] Corvalan JRF, et al. Cancer Immunol Immunother 1987; 24:138.
- [9] Lanyavecchia A, et al. Eur J Immunol 1987; 17:105.
- [10] Morrison SL. Scienel 1985; 229:1202.
- [11] Brinster RL, et al. Nature 1983;306:332.
- [12] Morrison SL, et al. Proc Natl Acad Sci 1984; 81:851.
- [13] Boulianne GL, et al. Nature 1984; 321:643.
- [14] Newmark P. Biotech 1988; 6:468.
- [15] Jerne NK. Ann Immunol 1974; 125c:373.
- [16] 李明远、王道若. 中国免疫学杂志 1988;4:245.
- [17] 黄志伟. 单克隆抗体通讯 1988;3:1.
- [18] Erlanger BF, et al. Immunol Rev 1986; 94:23.

人干扰素生物工程研究的进展

军事医学科学院生物工程研究所 肖成祖

提要 干扰素(IFN) 生物工程的研究使IFN研究进入了一个崭新的历史阶段,基本上解决了 IFN 临床应用的供应。未来可能会出现一批疗效更高、毒性更小的新型 IFN。国内科研计划, 总后七五攻关项目中都把 IFN 生物工程研究作为重点之一。本文就 IFN 生物工程研究的三个方面进展加以介绍。

干扰素(IFN)的研究迄今已有 30 多年历史了。今天许多国家, 包括英国、日本、联邦德国、加拿大、美国、苏联、比利时等, 以及我国都已获准作为一种药物用于临床。这除了因为大量实践已证明它对治疗癌症和病毒病, 包括某些烈性病毒病确有相当疗效外, 还由于它的生产供应问题已基本上得到了解决。而在这方面首先应归功于生物工程技术的发展。可以说, 没有生物工程技术的高速发展就没有 IFN 的今天。反之, IFN 在生物工程研究方面取得的巨大进展, 也大大地促进了整个生物工程技术的进一步发展。

IFN 生物工程的研究大体上可以分为上、中、下游三部分, 上游包括基因工程和蛋白工程, 中游包括发酵和细胞工程, 下游为纯化和质量的控制。现就这几方面谈谈近年来取得的进展。

一、干扰素基因工程的进展

采用基因工程新技术大量生产 IFN 是 IFN 研究工作中一项重大的突破。自从 1979 年年底日本的 Taniguchi 等报道 IFN- β 重组成功后, 短短几年内许多国家都相继报道各类 IFN 包括 α 、 β 和 γ 干扰素的基因工程都获得了成功。我国病毒所侯云德教授^[1] 1982 年率先重组 IFN- α D 获得了成功, 现已由长春生物制品所开始试生产。接着其他单位, 如上海生化所、复旦大学、遗传所、第二军医大学、以及军事医学科学院等单位, 也都先后分别在 α 、 β 和 γ 等各种 IFN 的研究中获得了成功。这些年在基因工程方面的进展有如下一些。

1. 改进重组技术, 增强表达

1980 年初, 无论是 α 和 β 干扰素, 表达水平均很低, 通过一系列改进措施, 如改用 PL 启动子、trp 启动子及其他高效表达系统, 同时采用不同的重组结合位点等措施, 现在的表达水平一般都可达到 $10^8 \sim 10^9 \text{ IU/L}$, 甚至可达到 10^{10} IU/L ^[2], 这相当于上千名供血者供血量诱生的 IFN。

2. 用化学方法合成了多种 IFN 基因, 并都已获得了表达

由于核苷酸合成仪的进展, 使该工作的进展很快。目前已知用化学方法合成了完整的 α_1 、 α_2 、 β 和 γ 等多种基因, 而且表达量都在 10^7 IU/L 以上, 甚至达到 $4 \times 10^9 \text{ IU/L}$ ^[3]。我国上海生化所刘兴垣等^[4] 最近也报告合成了完整的 IFN- γ 基因, 并已在大肠菌获得了高效表达。Demayer 等证明用化学合成的基因产生的 IFN- α_1 和自然的 IFN- α_1 在抗

病毒活性、酸稳定性、种特异性、抗血清的失活,以及 2' 5' A 酶的激活等方面的活性都是一样的。这可以说是基因工程中又一重大进展,因为它提供了人为地创造新型 IFN 的可能。

3. 更换受体细胞

初期的基因工程都采用大肠菌作受体细胞,但它存在着某些不足,主要是大肠菌不能将 IFN 分泌在体外,必须将菌体破碎,这就增加了提纯的困难,而且还含有毒素之类的有害因子。因此有人改用枯草菌和酵母菌作受体菌,也获得了高效表达。采用这些菌的优点是它们不产生热源,易培养,在工业上已广泛用以生产各种氨基酸、抗生素等。但它们仍然存在着不足,即用它们制备的 IFN 仍然与自然 IFN 不同,表现在缺乏糖化等翻译后修饰。所以近年来有不少学者开始采用哺乳动物细胞和昆虫细胞来进行表达,特别是用 CHO 细胞和家蚕细胞的表达取得了令人鼓舞的巨大进展。

1984 年 Chernajovsky 等^[5]报告用 CHO-dhfr 细胞高效表达了 IFN- β ,接着 Mory 等又先后报告用同一细胞表达了 IFN- α 和 IFN- γ ^[6],产量分别为 $50,200 \times 10^4 \text{ IU} / 10^6$ 细胞/天。它们突出的优点是不需要再诱生,产生的 IFN 中 90% 以上可分泌在体外,而且最重要的是该 IFN 与自然的一样是经过糖化学修饰的。另外,由于它是用细胞培养的,后处理纯化也较容易,只通过一步抗体亲和层析比活就可达到 $10^8 \text{ IU} / \text{mg}$ 蛋白。我国军事医学科学院王嘉玺等^[7]正在进行该研究。另一个值得注意的动向是用昆虫细胞进行表达。1983 年 Smith 等报道了用苜蓿丫纹夜蛾 (*autographa californica*) 的核多角体病毒 (NPV) 作载体,与 IFN- β 基因重组后在昆虫细胞中得到了很高表达,产量为 $5 \times 10^6 \text{ u} / 10^6$ 细胞。接着 1985 年 Maeda 等^[8]用家蚕 (*bombyx mori*) 的 NPV 作载体,与 IFN- α 基因重组,结果不仅在家蚕细胞 (BM-N) 中可高效表达 ($7 \times 10^6 \text{ U} / \text{ml}$),而且在蚕体的血淋巴中也可高效表达,产量为 $4 \times 10^7 \text{ U} / \text{ml}$,经过 IFN- α 单抗亲和层析,比活达到 $1 \times 10^8 \text{ U} / \text{mg}$ 蛋白。最近他们改进方法后,产量又增加了四倍,每毫升血淋巴的产量高达 $1.9 \times 10^8 \text{ U} / \text{ml}$ 。据悉,用该病毒作载体已被广泛地用于其他外源性基因的表达,如 IL-2, IGF II, HIV 的 gp41 蛋白和 HBsAg 等,看来这确是一个很有前景的表达系统。

二、干扰素蛋白工程的进展

在基因工程基础上发展起来的蛋白工程,这几年在 IFN 的研究中进展很快,它主要是通过基因的切割、杂交和定位突变等技术,从而产生了一系列具有新特性的新型 IFN,并通过该技术对 IFN 的构效关系和活性部份有了更深入的了解。

1. 利用基因杂交技术产生了一系列比亲代更优裕的 IFN

Weck 等和 Rehberg 等最早进行了 HuIFN- α A 和 α D 的基因拼接工作,结果发现杂合的 IFN- α A/D (Bgl II),在鼠细胞上显示出比亲代的 α A 和 α D 高得多的抗病毒活性。1986 年 Meister 等^[9]将重组的 IFN- α B 和 α D 进行分子切割、杂交获得的 rHuIFN- α B/ α D,含 α B1-60 和 93-166 位氨基酸, α D61-92 位氨基酸,该 IFN 在鼠细胞上的抗病毒活性也分别比亲代的 α D 和 α B 高 500 和 5000 倍。由于这些杂合 IFN 已跨越了种族特异性,就有可能在小鼠身上来研究人 IFN 的防治效果。Gangemi 等^[10]就在小鼠模型上证明了 rHuIFN- α B/ α D 对 HSV-1 和 LP-BM5 (可引起小鼠免疫缺失症的逆转录病毒) 有很好的防护效果。又如 Porter 等^[11]将人的 IFN- α 和 IFN- β 基因进行

各种区域内的组合, 结果发现 IFN- β 第 9-56 位氨基酸被 IFN- α 第 7-54 位氨基酸取代的杂合 IFN, 其抗增殖和抗病毒活性之比为野生型 IFN- β 的 40 倍, 并证明该两种生理活性是可以分离的。我国生化所^[12]用基因杂交获得的 IFN- α A/ α 1, 它的活性分别比 α A 和 α 1 高 4 倍和 20 倍。近年来由于实验和临床效果证明, IFN 与 IL-2 或 TNF 伍用有更好的治疗肿瘤的效果, 因此有人已开始用基因拼接的方法来制备 IFN/IL-2 或 IFN/TNF 等杂合蛋白, 如 Feng 等^[13]进行 IFN- γ 和 TNF- β 之间的分子杂交获得的 IFN- γ /TNF- β , 具有较 IFN- γ 和 TNF- β 单用, 甚至在同样剂量相加时更好的抑制 ME-180 肿瘤细胞增殖的效果。我国第四军医大学的张维震与病毒所同志一起最近也取得了该杂合蛋白的表达。Seno 等则将 IFN- γ 和 IL-2 基因拼接起来, 并获得了具有两者抗原性和生物功能的杂合蛋白。

2. 利用定位突变技术产生新型 IFN

由于目前对 α 、 β 和 γ , 以及各亚型 IFN 的一级结构已基本搞清, 加之用化学法合成寡核苷酸, 甚至整个 IFN 基因的设备和技术条件已具备, 因此近年来有不少学者采用定位突变或总突变的技术, 改变 IFN 基因的一个碱基或一段碱基, 从而获得了一系列具有新特性的新型 IFN, 有的增加了活性, 有的提高了稳定性, 有的改变了种族特异性。如 Mark 等^[4]曾报道, 采用点突变技术将 IFN- β 第 17 位的半胱氨酸改换成丝氨酸, 结果该 IFN- β ser17 的稳定性明显增加, 从而使抗病毒活性增加了 10 倍。我国李亦平等^[15]也取得了同样的效果。Luk 等^[16]用点突变的方法改变了 HuIFN- γ 中两个氨基酸, 结果抗病毒活性提高了 40 倍。又如 Alton 等^[17]用化学合成法合成了一条与 IFN- α 的 12 种亚型平均相差 18 个氨基酸的基因, 它表达的 IFN- α con1 的比活较目前各种 IFN 均高, 可达 3×10^9 IU/mg 蛋白。再如 Nisbet 等^[18]用丝氨酸置换 IFN- α 1 第 1 位的半胱氨酸, 对该 IFN 在人细胞上的活性影响不大, 而在牛细胞上的活性丧失了约 95%, 相反, 第 123 位的酪氨酸被甘氨酸取代后则导致它在人细胞上的活性丧失 95%, 而在牛细胞上的活性无影响。

3. 利用改变基因的技术研究了 IFN 结构与功能的关系

上述的采用基因杂交和定位突变技术获得的一系列具有新特性的 IFN, 实际上许多也都是在研究结构和功能关系中发现的。如 Mark 等就是在研究 IFN- β 中二硫键的位置对活性的影响后获得了 IFN- β ser17 这一新型 IFN 的。因为实验证明 17 位的半胱氨酸对活性无影响, 而 141 位的半胱氨酸若被酪氨酸取代则活性全部丧失, 这表明 31~141 位间的二硫键对活性是极端重要的。Wetzel 等则证明在 IFN- α 的两对二硫键、1-98, 29-138 中, 后者在保持活性和稳定性方面是主要的。Weber 等^[19]在分析 IFN- α_1 和 α_2 两者的氨基酸序列中, 发现在 166 个氨基酸中有 28 个氨基酸不同, 它们在人和鼠细胞上的活性相差很大, 于是他们逐个地或分段地将两者相互取代, 结果发现当将 α_1 第 125 位的精氨酸取代 α_2 第 125 位的甘氨酸后获得的 IFN- α 2R125, 它在鼠细胞上的活性增加了 140 倍, 而当进一步用 α_1 第 121 位的赖氨酸取代 α_2 第 121 位的精氨酸, 获得的 IFN- α 2K121R125 在鼠细胞上的活性进一步增加到 400 倍, 这表明这些残基与鼠 IFN 受体的直接接触有关。Nisbet 等^[18]表明在所有的人 α 和 β_1 干扰素中第 123, 130 和 136 位的酪氨酸都是保守的, 他们用甘氨酸逐个取代, 结果发现第 123 位或 136 位的改变可导致 IFN 在人细胞上的抗病毒活性丧失 95% 以上, 但第 123 位的变化并不影响在牛细胞上的

活性, 这表明第 123 位的酪氨酸残基对人细胞有特异的作用。Camble 等^[20] 在另一保守区第 33 位改变了一个精氨酸残基, 结果使 IFN- α_2 的抗病毒和抗增殖活性也均大大降低。

除了上述的用基因拼接和定位突变的方法来研究其结构与功能的关系外, 有人还采用去除某一片段的方法来研究其对功能的影响。如 Rinderknecht 等^[21] 证明 HuIFN- γ 的 C-末端对生物活性是重要的, 因为切除该端 10 个残基, 活性大大下降。Arakawa 等^[22] 用胰酶轻度消化纯化的 rHuIFN- γ , 使该 IFN 形成含 90% 分子量为 15800 的和 10% 分子量为 14400 的混合 IFN- γ 。前者 N 端是完整的, 后者缺 14 个残基, 两者在 C 端均缺失 13 个残基, 结果该 IFN 的活性较未消化的活性下降 1000 倍。这同样证明了 C 端对 IFN- γ 活性的重要性。反之, Alton 等在 N 端去掉了 Cys-Tys-Gys 三个氨基酸, 结果对 IFN- γ 的活性无影响。Ackermant 等^[23] 用细菌的蛋白酶 thermolysin 将 IFN- α_2 消化成 IFN- α_2 (1-110) 和 IFN- α_2 (111-153) 两部分, 发现抗病毒活性主要在 N 端 110 个氨基酸内。Streuli 等也证明对 IFN- α_2 来说, N 端对在人细胞上的活性是重要的。相信通过这一系列对结构功能关系的分析和深入地了解, 就有可能找出对活性, 对细胞受体等最重要的部份, 而人为地改造成更好的 IFN。

三、发酵和细胞工程的进展

关于用发酵罐大量增殖工程菌, 并生产各种人用的 α 、 β 和 γ 干扰素, 在许多国家已形成工业化生产规模, 并已被批准投放市场或用于临床。如美国 Roche 公司的 Roferon-A (rIFN- α_2a), Schering-plough 公司的 Intron (rIFN- α_2), Cetus 公司的 Betaserum (rIFN- β ser17), 西德 Boehringer 公司的 Berofer (rIFN- α_2c), 日本武田化工公司的 Carferon (rIFN- α_2c), 以及西德 Biogen 公司和美国 Amgen, Genetech 公司生产的 rIFN- γ 等。我国长春生物制品所生产的 rIFN- α_D 也已被卫生部批准外用。由于这些用工程菌发酵生产的重组 IFN 的问世, 使 IFN 的临床试验和使用有了保证, 这应该说是 IFN 研究中的一大飞跃。在发酵工程中这些年的进展主要表现在发酵系统的微机控制, 工程菌高密度培养技术的采用, 低成本培养基的选择, 以及破壁、复性等设备和技术的进步等、可望用工程菌生产的 IFN 将进一步提高产量和质量, 进一步降低成本。

尽管目前已有一大批工程菌生产的重组 IFN 投入了市场, 但从临床实践中发现该 IFN 具有两个重要的缺陷: ①生产的 IFN 未经糖化和其他翻译后修饰, 尽管活性不受影响, 但它的代谢和稳定性与自然 IFN 不尽相同。甚至有人认为, 这与使用重组 IFN 容易产生抗体有关。②生产的 rIFN- α 常常是单一亚型的, 而实验表明多亚型的自然 IFN 的效果优于单一亚型。因此正如前述, 一方面近年来已有人用真核细胞来表达各种 IFN, 另一方面仍在寻找高产细胞, 并改进诱生、培养条件和设备, 大量生产自然 IFN 以供临床比较和使用。为此细胞工程, 细胞大量培养的技术也有了相当大的发展。目前已用于 IFN 大量生产的技术和设备如下:

1. 悬浮培养

这主要用于人白细胞 IFN- α 和 γ 的生产。另外如英国的 Wellcome 公司和日本 Sumimoto 公司用以培养 Namalva 细胞, 并生产 IFN- α , 命名为“Willferon”和“Sumiferon”都已达到相当大的规模。他们用的生物反应器容积为 8000 升, 是目前世界上仅次于日本生产烟草细胞的反应器了。该产品已被许多国家批准用于临床。国内第二军医

大学杜平等^[24]和作者实验室^[25]也在进行试生产。

2. 微载体培养

美国的 Searle 公司和日本的 Toray 公司等用 cytotex 微载体培养 FS-4 细胞, 并用诱生剂 poly I: C 超诱导生产的 IFN- β , 如“Torayferon”已被批准并广泛地被用于肝炎的治疗。近年来 Sano 等则报告已用微载体大量培养工程细胞——CHO 细胞生产 rIFN- γ 。我们^[26]用自制的 MC-1 型微载体培养 L929 细胞大量生产高活性 IFN 也获得了成功。

3. 多层盘培养

联邦德国 Renschler 公司用该设备大量生产 HuIFN- β , 他们认为用该法生产较用微载体生产的产量高, 但不容易进一步放大。

4. 巨载体细胞培养

有人进一步液化成微囊培养。如 Familletti 等^[27]用藻酸钠固定工程 CHO 细胞生产 rIFN- α 和 rIFN- γ 都取得了很好的结果, 该培养法可持续数月, 并每天进行收获。

5. 灌流培养

如 Strand 等^[28]用微载体结合中空纤维对二倍体细胞进行灌流培养并生产 IFN- β , 结果比单层培养的产量增加 12 倍。

近年来除了上述的在细胞培养和生产技术及设备方面有了巨大发展外, 无血清和低血清培养基的研究也有了新的进展, 因此进一步提高哺乳动物细胞生产的 IFN 的产量和质量, 并降低其成本, 也是完全有指望的。

在细胞工程进展中还值得提出的是近年来已有一些转基因动物成功的报告^[29,30], 他们将 IFN 基因直接注射于受精卵细胞, 结果在后代小鼠的体内可找到分泌的 IFN, 人们正试图以此来培养出抗病毒能力较强的新种。

四、纯化和产品质量的控制

IFN 的纯化和质量控制是形成产品的重要一环。关于 IFN 纯化技术可参阅 Berg 的综述^[31], 它主要包括超滤、盐析、层析、抗体结合的高压液相等。通过这些方法提纯系数可达到 80000 倍, 比活达到了 10^8 – 10^9 IU / mg 蛋白, 有的已获得结晶。但是作为临床使用, 对其纯度的要求该多高, 目前还有争论。根据多次专家会议的讨论和有关规定^[32,33], 一般认为用正常细胞, 如血白细胞, 二倍体成纤维细胞, 包皮细胞如 FS-4 等生产的自然 IFN- α 、 β 和 γ , 比活达到 10^6 IU / mg 蛋白即可。用传代细胞如用 Namalva 细胞生产的 IFN- α 等则尽可能要达到 10^7 IU / mg 蛋白。而用基因工程生产的, 特别是用细菌发酵生产的各种重组的 IFN 则要求达到 95% 以上的纯度才允许使用。此外用传代细胞或工程菌等生产的重组 IFN 还必需检查核酸的含量, 一般要求低于 100 – 10 pg / 10^6 IU。除比活和核酸的要求外, 其他如无菌试验、毒性试验等则与其他生物制品的要求一样, 这里就不多说了。

五、结语

干扰素的生物工程研究已把 IFN 的研究推向了一个崭新的历史阶段, 可以毫不夸张地说, IFN 的生物工程研究是进行得最广泛、最深入和最有成效者之一。它不仅在今天已解决了 IFN 的生产和供应问题, 并大大发展了生物工程技术, 将来它们会出现一批更加有效的新型 IFN, 而且必将对基因调控、以及对寻找更有效的防治病毒病、肿瘤病等药物方面的研究起着巨大的促进作用, 因此可以肯定, IFN 的生物工程研究还将继续发

展,大有可为。

参 考 文 献

- [1] 侯云德等.中国医学科学院学报 1982;4(6):327.
- [2] Langer JA, et al. J Invest Dermatol 1984; 83(Suppl 1):128S.
- [3] Jay E, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1984; 81(8):2290.
- [4] Yang D, et al. Abstracts of 1988 Annual Meeting of ISIR, Kyoto, 1988; 45.
- [5] Chernajovsky Y, et al. DNA 1984; 3(4):297.
- [6] Mory Y, et al. DNA 1986; 5(3):181.
- [7] 王嘉骏等.第二届全国基因工程学术讨论会论文摘要汇编 1989;18.
- [8] Maeda S, et al. Nature 1985; 315(6020):592.
- [9] Meister A, et al. J Gen Virol 1986; 67(pt 8):1633.
- [10] Gangemi JD, et al. J Interferon Res 1989; 9(2):227.
- [11] Porter AG, et al. DNA 1986; 5(2):137.
- [12] Wang EL, et al. Abstracts of 1988 Annual Meeting of ISIR, Kyoto, 1988; 46.
- [13] Feng GS, et al. Science 1988; 241(4872):1501.
- [14] Mark DF, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1984; 81(18):5662.
- [15] 李亦平等.生物工程学报 1987; 3(2):90.
- [16] Luk SYS, et al. J Interferon Res 1987; 7(6):752.
- [17] Alton K, et al. The Biology of the Interferon System 1983.(Demaeyer E, et al Eds) Elsevier 1983; 119.
- [18] Nisbet IT, et al. The biology of the Interferon System 1985 (Stewart JJ WE, et al Eds) Elsevier 1986; 19.
- [19] Weber H, et al. EMBO J 1987; 6(3):591.
- [20] Camble R, et al. Biochem Biophys Res Commun 1986; 134:1404.
- [21] Rinderknecht E, et al. The Biology of the Interferon System 1984(Kirchner H, et al Eds) Elsevier 1985; 397.
- [22] Arakawa T, et al. J Biol Chem 1986; 261(18):8534.
- [23] Ackerman SK, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1984; 81(4):1045.
- [24] 杜宇等.临床级 Namalvs 细胞干扰素国产化系统研究 上海第二军医大学 1985
- [25] 肖成祖等.军事医学科学院院刊 1989;13(3):236.
- [26] 肖成祖等.病毒学杂志 1987;14:43.
- [27] Familletti PC, et al. Bio / Technology 1988; 64:1.
- [28] Strand JM, et al. Biotech Bioeng 1984; 26:508.
- [29] 史元元等.第二届全国基因工程学术讨论会论文摘要汇编 1989; 16.
- [30] Hekman ACP, et al. J Biol Chem 1988; 263(24):12155.
- [31] Berg K. Acta Pathol Microbiol Scand 1982; 90C(Suppl 279):1.
- [32] Attallah AM, et al. J Infect Dis 1980; 142(2):300.
- [33] Liu TY, et al. Interferon: Research, Clinical Application, and Regulatory Consideration(Zoon KC, et al Eds), elsevier, 1984; 279.

医用病毒学研究进展

军事医学科学院微生物学流行病学研究所 朱关福

提要 本文分析了病毒与疾病的密切关系,指出待研究病毒的广度及重点。简要介绍医用病毒学的发展现状,阐明病毒病的病原学诊断已进入临床推广应用阶段,但有关病毒病的治疗及控制措施不多,尚处于研究发展时期。医用病毒学的今后研究任务,除仍需进一步提高病原学诊断水平外,急需加强病毒病的防治研究;为加速这方面的研究进展,应注意诊、防、治研究协同进行,组织好多学科、多层次的密切合作。

一、病毒学与医学的密切关系

我国当前广泛流行的三种严重的传染病:肝炎、流行性出血热和腹泻,前两种都是由病毒引起,后者约有2/3病例的病原也是病毒。肝炎是我国头号急待控制的传染病,本病目前可分为甲型、乙型、非甲非乙型及丁型4种,它们的病原体分别是肠道病毒72型(小RNA病毒科)、乙型肝炎病毒(嗜肝DNA病毒科)、非甲非乙型肝炎病毒(尚未培养成功,可能属于肠道病毒)及丁型肝炎病毒(属于类病毒);其中乙型肝炎,在我国带毒及发病人数已超过1亿,居世界首位;甲型肝炎也屡屡发生暴发流行。1988年上海一次流行,经济损失超过百亿元;非甲非乙肝炎从1986年在新疆出现暴发流行,至今仍在发展;丁型肝炎也已在国内发现而被注意。流行性出血热由布尼病毒科汉坦病毒引起,在我国确证有流行的疫区已达26个省、市、自治区,疫区迅速蔓延,且向大、中城市及沿海港口扩散。腹泻是常见多发病,虽然严重性不如前两种疾病,但其影响人民健康的广度,则有过之而无不及,在部队行军作战或野外作业时更易发生暴发流行;本病又是一种多病原性疾病,可引起本病的病毒主要是轮状病毒,此外有冠状病毒、杯状病毒、星状病毒、肠道腺病毒、以及许多以发现地名命名的小圆形病毒如诺沃克病毒、夏威夷病毒等等。

近年来传染病在我国呈现升高趋势,其中病毒病又占主要地位。1987年登革热在广东佛山出现暴发流行后,迅速在广东扩展,包括现在的海南省,也波及广西;4个型别的病毒先后出现,临床上已发展出现登革出血热,虽然目前发病数有所下降,但仍未平息,要警惕卷土重来。狂犬病是人们熟知的病毒病,发病后难以挽救;本病在欧美已基本控制,病例极少,过去在我国也仅有散发病例,近年来由于养狗失控,狂犬病病例急剧上升,且已遍及全国,成为相当严重的社会问题;过去本病传播媒介以犬为主,现已逐渐扩展至各种家畜如猫、猪、羊、牛等,以及野生动物如狼、狐、熊、獾等,因此疫区迅速蔓延扩大,危机丛生,受害者以农民为主,边防军也屡遭袭击,据不完全统计,本病年死亡率已达8000人左右,达到世界首位,须要引起重视。

除传染病外,几乎临床各科疾病多与病毒感染有不同程度的关系。如老年人多见的糖尿病及痴呆,小儿多见的心肌炎及先天性畸形,甚至目前多见的经常复发的口腔溃疡也与病毒感染有关。病毒与疾病不仅关系十分密切,而且关系相当复杂;一种疾病可以由多种

病毒引起,例如上述的肝炎及腹泻,而一种病毒又可引起许多疾病,例如小 RNA 病毒科中柯萨奇病毒可以引起咽炎、胸痛、心肌炎、胃肠炎、阑尾炎、胰腺炎、睾丸炎、阴道溃疡等。综上所述,可见临床医学的发展离不开病毒学的进展:50 年代后随着病毒学中组织培养技术的引用及相继微量细胞培养的建立,标记抗体技术的发展,为病毒病的临床病原学诊断提供了实用手段。由于临床医学的需要及随着技术的发展,使满足需要已有可能;因此在 60 年代初,医用病毒学逐步形成临床病毒学。它的任务是利用医学病毒学的理论及技术,解决病毒病的病原学诊断、治疗及控制。

二、医用病毒学的发展现状

医用病毒学的发展,使基础学科中的病毒学进入应用阶段;在临床上已解决不少病毒病的病原学诊断;对少数病毒病已有特效治疗药物如疱疹感染;人们已基本控制天花,正在为控制麻疹而努力工作;有关这方面的进展概况可参阅《病毒学报》^[1],本文将作总结性简述,并予适当补充。

病毒病的病原学诊断已可作为临床检验项目,广泛采用。目前最简便的检测方法是应用抗体捕捉(ELISA),结合光合生物素及链丝亲合素放大系统,检出特异性 IgM 抗体;只要具备合适抗原,多可在临床及时作出早期快速病原学诊断。如要获取感染病原体或检出可能存在的新病毒,则需进行病毒分离工作;目前采用微量细胞培养,已可在一般实验室中直层流安全操作柜内进行。病原学诊断的进一步发展要求是:再提高诊断的特异性及敏感性,以获取更确切的诊断结果;简化操作方法,使诊断更易推广进行;加速检出时间,使临床可更及时获得处理病人的依据。为此,近年来正在为检出病毒抗原、组分及代谢产物等,进行着大量研究工作。在方法学上标记抗体技术的改进及新建,仍受关注;50 年代提出的简便乳胶凝集试验,近年来因乳胶工业的进展及单克隆抗体的发展,为解决当时关键性难题——非特异性反应,提供了有利条件,又被重新选作研究对象,已取得较好进展。目前在检出病毒组分中应用较多的是采用核酸探针作杂交试验,它具有高度特异性,且能用于检测混杂标本;但通常由于标本中病毒含量较少,因此难以直接在标本中获得检出结果;采用近年建立的多聚酶链反应(polymerase chain reaction, PCR),即可将标本中少量核酸作体外扩增而易于检出。它的作用原理是双股 DNA 经加热退变与引物退火后,通过水生耐热菌的耐热 DNA 多聚酶(Taq DNA polymerase)的作用,在体外反复扩增;一般经过 30 次扩增,可使 1 个拷贝 DNA 迅速增至 10^6 拷贝^[2];采用本方法不仅大为提高核酸杂交试验的检出阳性率,且可用以检查难以培养的病毒,目前已成功地用于在尿标本中检出巨细胞病毒及血清标本中检出乙型肝炎病毒^[3]。

分子病毒学的研究进展使人们逐步深入了解病毒本质,这为开展抗病毒治疗研究不断提供参考依据。当前针对病毒分子特征而研究抗病毒药物的主要方向是抑制病毒酶系,其中尤以逆转录酶抑制剂如叠氮胸苷(AZT)及 9-(1,3-双羟基-2-丙氧基-甲基)鸟嘌呤(DHPG)的效果更为突出。研究的另一途径是试图抑制或阻断病毒复制过程,从而起到治疗病毒病的效果;例如试用反义 RNA 以阻断 mRNA 转译蛋白质;利用细胞受体的抗体阻止病毒感染敏感细胞;选出抑制病毒核酸合成的制剂如三氮唑核苷(病毒唑)。为增强药物的抗病毒疗效,正在开展载体介导抗病毒治疗研究。主要有三种途径:将药物包于脂质体或聚酯微囊中,使药物持续发生作用;将药物结合针对表面抗原的单克隆抗体,使药物起定向作用;将药物结合氧还前药(redox prodrug),使药物能通过血脑屏障起作

用,例如病毒唑结合尼古丁酸酯可以阻止乙型肝炎病毒在小白鼠引起肝炎。干扰素因有抗病毒作用而被发现,而干扰素的抗病毒作用是间接的,是通过细胞抑制病毒合成而起抗病毒感染作用,目前试验结果多显示需要大剂量干扰素,才能在临床试用见效,因此从实用方面推断,干扰素很可能会成为抗病毒药的伍用剂。

要达到控制病毒病的目标是十分艰巨的任务。目前全世界仅有天花被基本消灭;但它的效果也是十分巨大的,单就经济而言,全世界可节约开支10亿美元以上。目前认为控制病毒病的有效措施是采用减毒活疫苗。继天花之后,世界卫生组织寄希望于再消灭麻疹。由于活疫苗使用不很安全,在使用范围上也有一定限制,随着生物工程技术的发展,近年来人们正在多途径地探索新型疫苗,包括基因工程疫苗、人工合成多肽疫苗、具有抗原内形象作用的抗独特型抗体等,其中发展前景较好、发展速度较快的是基因工程疫苗,如乙型肝炎基因工程疫苗已在扩大试用,取得一定效果。这类亚单位疫苗的主要缺点是免疫原性不强,要能达到实用,必需配合研制人用佐剂,这方面进展不大,急需加强开展配套研究项目。将保护性多肽与三肽系化合物混合,构成免疫刺激复合物(Iscom),在动物试验中发现被接种动物可持续产生高滴度抗体,这是增强免疫效果的新探索方向。

三、加速医用病毒学进展的目标及措施

病毒病的病原学诊断已在临床可进入推广实用阶段,当然还需要进一步予以提高。诊断仅是手段,诊断的目的在于要进行针对性治疗,最好能达到控制疾病;而要解决这防治问题,目前已有的方法及措施尚少,国外正在从分子病毒学入手,大力开展着这方面的研究工作,而在国内尚是薄弱环节,急待加强研究力量;为加速研究进展,必需注意以下三个问题。

要有目标地解决病毒病防治问题,必需主要从深入了解病毒本质入手,即应用分子病毒学技术,阐明各种病毒的结构组成、功能及复制;在这类项目研究过程中,远期目标是探索有效防治措施,而恰当计划安排,可以在近期先获得提高病原学诊断水平的效果,例如为研究基因工程疫苗就需要找出病毒保护性基因,而为此进行基因分析时就可得到各种基因片段,这可为核酸杂交试验提供各种不同用途的探针。

病毒病的发生及发展是受多因素决定的,它是病原体、机体及环境三者相互作用的结果;为此,要彻底解决病毒病防治,必需掌握各种基础理论资料作全面分析,才能获得恰当的措施。病毒是病毒病发生的首要条件,因此首先要了解病毒本质,这是病毒学的研究任务;病毒病的发展与发病及免疫机理有关,这是病理生理及免疫学的研究任务;要恰当使用药物治疗,就需了解药物对病毒及机体的作用原理,这主要是药理学及药物学的研究任务;要想控制病毒病,就需要掌握发病规律及传播流行规律,这就要有传染病学、流行病学、空气生物学及医用昆虫学等进行研究。综上所述,可以看出,必需组织多学科的合作,才能获得供全面分析的基础理论资料,才能完成防治研究目标。

要最终解决病毒病的防治,还必需从微观到宏观,组织多层次的合作研究。当前有一种错误倾向,认为只有分子水平研究才是有价值的,这是片面性论调;事实上要解决医学问题,机体水平、细胞水平及分子水平研究是相互联系,不可偏废的;从病原学诊断发展来看,它经过从机体水平(动物试验)到细胞水平(组织培养),再进入分子水平如核酸杂交、色谱分析、各种电泳等等;而病毒病的治疗研究,又必将从分子水平(如研究抑制病毒大分子合成),结合细胞水平的抗病毒试验,最后又要回到机体水平——动物模型试