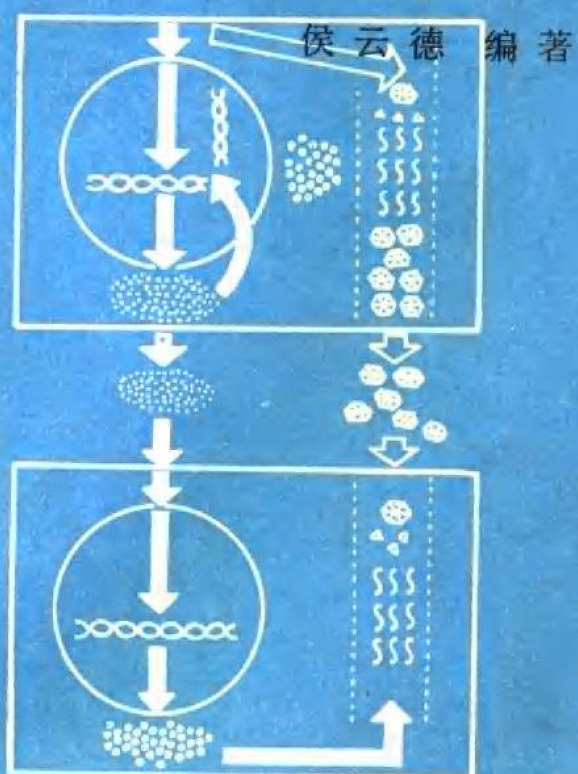


干扰素

及其临床应用



江苏科学技术出版社

内 容 简 介

这是一本有关干扰素的专著。作者综合了国内外大量的文献资料, 结合自己多年的研究成果, 对干扰素的本质、生物学活性, 它与免疫和肿瘤的关系以及干扰素系统的作用原理进行了阐述, 同时介绍了干扰素的制备、测定、药理、临床应用等方面的内容。本书基本上反映了国内外干扰素研究的新成果, 可供广大病毒学、肿瘤学、细胞学、免疫学、临床医学以及分子生物学工作者参考, 也可作为医学、生物学大专院校的教学参考书。

干扰素及其临床应用

侯云德 编著

出版: 江苏科学技术出版社

发行: 江苏省新华书店

印刷: 淮阴新华印刷厂

开本787×1092毫米 1/16 印张17.25 字数425,000

1981年3月第1版 1981年3月第1次印刷

印数1—2,300册

书号 14196·066 定价 1.62 元

前 言

自 1957 年 Isaacs 等发现干扰素以来,迄今已有二十多年的历史。干扰素是在适宜的诱生剂作用下,由具有正常生理功能的细胞基因组控制着产生的一种或多种蛋白质。它具有抗病毒繁殖、抗肿瘤等多种活性,其活性的发挥又受细胞另一基因组的控制。干扰素系统普遍存在于动物界,它是维持机体或细胞功能自我稳定的一种重要的防御系统。

近年来的研究表明,干扰素对某些病毒感染和肿瘤有明显的预防和治疗作用,正在引起医学、生物学界极大的重视,并推动了医学、生物学的发展。目前,对干扰素的研究是现代医学、生物学中一个新的领域,它是与病毒学、肿瘤学、细胞学、免疫学、临床医学以及分子生物学有关的一门边缘学科。它的研究成果不仅在病毒性疾病、肿瘤的防治上有其现实意义,而且对研究病毒的繁殖机制与免疫、肿瘤的发生、真核基因的调控机制等方面也有一定的理论价值。

在本书编写过程中,作者既参照了国外有干扰素研究的新成果,也结合了我国的实际情况以及作者自身的实践。全书分十四章,系统地介绍了干扰素从理论到临床应用的各个方面,每章均附有参考文献。本书可供医学、生物学工作者以及临床医生进行实验研究与临床实践时参考。

由于水平所限,书中可能存在错误和不妥之处,希望读者批评指正。

侯云德

于北京中国医学科学院病毒学研究所

1980年6月

目 录

第一章 干扰素研究在医学上的重要性以及研究历史概况.....	1
一、干扰素研究在医学上的重要性.....	1
二、干扰素研究的历史概况.....	2
三、我国干扰素研究的进展.....	5
四、当前干扰素研究的方向.....	6
第二章 干扰素的定义及理化性质.....	11
一、干扰素的定义.....	11
二、干扰素系统的普遍性及在生物进化过程中的作用.....	13
三、干扰素的物理性质.....	15
四、干扰素的化学性质.....	19
五、干扰素的抗原性.....	21
第三章 干扰素的生物学活性.....	27
一、干扰素的抑制病毒繁殖活性.....	27
二、干扰素对病毒以外微生物的抑制作用.....	32
三、干扰素对细胞生长的抑制作用.....	34
四、干扰素的其他生物学活性.....	37
五、干扰素对细胞膜的作用.....	38
第四章 干扰素与免疫系统.....	44
一、免疫干扰素 (Ⅱ型干扰素)	44
二、干扰素对免疫系统的影响.....	49
第五章 干扰素系统在病毒感染与免疫中的作用.....	57
一、干扰素在急性病毒感染过程中的作用.....	53
二、干扰素在防止病毒再感染中的作用.....	62
三、干扰素系统与持续性病毒感染.....	63
第六章 干扰素与肿瘤.....	69
一、有关肿瘤病毒的基本知识.....	70
二、病毒溶肿瘤作用.....	73
三、肿瘤病毒的干扰素诱生能力.....	73
四、干扰素对肿瘤病毒在试管内繁殖及细胞转化的作用.....	76
五、干扰素对肿瘤病毒引起动物肿瘤的影响.....	78
六、干扰素对动物移植肿瘤生长的影响.....	80
七、干扰素诱生剂的抗肿瘤作用.....	81
八、干扰素抗肿瘤作用的可能原理.....	84

第七章 干扰素诱生剂	92
一、干扰素诱生剂的分类	92
二、病毒诱生剂	93
三、人工合成的双链 RNA——聚 I:C	102
四、细胞内繁殖的微生物	105
五、细菌产物	108
六、多聚物	111
七、低分子物质	113
八、免疫干扰素诱生剂	115
九、其他类型的干扰素产生	115
十、中草药	116
第八章 干扰素的诱生与作用原理	127
一、干扰素的诱生原理	128
二、干扰素抗病毒状态的建立	144
三、干扰素活性的表达	147
四、研究干扰素基因调控的意义	152
第九章 人干扰素的生产与制备	158
一、人白细胞干扰素的生产与制备	158
二、人脐血干扰素的生产与制备	165
三、人成纤维细胞干扰素的生产与制备	173
四、类淋巴母细胞干扰素	179
五、非淋巴细胞来源的非整倍体细胞干扰素	184
六、干扰素生产的新领域	184
第十章 干扰素活性的测定	189
一、干扰素抗病毒活性的测定方法	189
二、影响干扰素抗病毒活性测定的一些因素	195
三、干扰素诱生剂的测定方法	198
四、干扰素单位的标准化	199
第十一章 干扰素的药物动力学	202
一、干扰素在机体内的清除速率	202
二、干扰素在体内各器官的分布	204
三、干扰素在体内的降解与排出	206
第十二章 干扰素的临床应用	208
一、干扰素临床应用的基础条件	209
二、干扰素局部应用防治病毒病	211
三、干扰素全身应用治疗病毒病	222
四、肿瘤的干扰素治疗	229
五、器官移植患者的干扰素治疗	232
第十三章 干扰素诱生剂的临床应用	236
一、干扰素诱生剂临床应用的基本特点	236

二、病毒减毒活疫苗作为干扰素诱生剂在临床上的应用	236
三、聚 I:C 和聚 ICLC 在临床上的应用	238
四、其他干扰素诱生剂的临床应用	240
第十四章 干扰素研究的现状	242
一、对干扰素本质的研究	242
二、干扰素的多种生物学活性	244
三、干扰素的作用机制	246
四、Ⅱ型干扰素(γ 干扰素)	247
五、干扰素制剂的大量生产	252
六、干扰素临床应用	254
英中名词索引	258

第一章 干扰素研究在医学上的重要性以及研究历史概况

一、干扰素研究在医学上的重要性

二、干扰素研究的历史概况

(一) 病毒间干扰现象研究时期 (1957年以前)

(二) 干扰素性质研究时期 (1957~1970年)

(三) 干扰素系统的分子生物学研究时期 (1970年以后)

三、我国干扰素研究的进展

四、当前干扰素研究的方向

结 论

参考文献

一、干扰素研究在医学上的重要性

干扰素是具有正常生理功能的细胞在适宜的诱生剂作用下产生的一种糖蛋白。它具有抗病毒繁殖、抗肿瘤等多种活性,是机体自身产生的一种抵御外来病毒的入侵、维持机体或细胞功能自我稳定的防御性物质。干扰素系统普遍存在于动物界,至少是从低等的脊椎动物到人是如此。在高等植物也有类似干扰素系统的存在。干扰素系统对生物的进化可能具有重要作用。另一方面,干扰素的生物活性很高,采用非纯净的制剂就足以对某些病毒感染或肿瘤产生明显的预防和治疗作用。所以干扰素自1957年问世以后(Isaacs等),二十多年来引起了医学、生物学界极大的重视,并对医学生物学研究以很大的推动。据目前所知,干扰素研究在医学上的重要性表现在如下几个方面:

1. 干扰素具有广谱的抗病毒繁殖活性,几乎对所有病毒都有不同程度的作用。目前已经证明干扰素对某些病毒性疾病有肯定的预防和治疗作用,而且可以大剂量长期使用,毒性很低,是一种比较理想的、很有前途的抗病毒药物。另外,鉴于目前抗病毒药物尚未根本解决,通过对干扰素特异性抑制病毒繁殖的作用机制的研究,可以为寻找其他抗病毒药提供线索。

2. 干扰素与免疫系统关系极为密切。干扰素在病毒免疫中起着重要作用,不论是急性病毒感染还是慢性病毒感染,其发病机制都与干扰素系统的功能有关。此外,干扰素对整个机体的免疫反应也有明显的影响,它在一定条件下对免疫反应起增进作用或抑制作用;对巨噬细胞和自然杀伤细胞的功能有促进作用。而Ⅰ型干扰素本身又是致敏淋巴细胞释放的一种活性物质,更把干扰素与免疫系统联系了起来。

3. 干扰素对肿瘤细胞生长有明显抑制作用,也可抑制实验肿瘤的生长,不论是化学致癌的,还是病毒致癌的都有一定作用。在用人白细胞干扰素治疗成骨肉瘤的小量试验中已经获得令人鼓舞的结果。干扰素是人类与肿瘤作斗争中一种很有希望的抗肿瘤药物。

4. 干扰素可能对器官移植做出贡献。器官移植患者由于长期使用免疫抑制药物,易患病毒性感染,肿瘤的发生率也比正常人高,而干扰素不仅有抗病毒、抗肿瘤作用,而且还有抑制机体对移植异体器官的排斥作用。

5. 干扰素是细胞基因控制产生的一种蛋白质,由于活性高,有种属特异性,易于检测,是研究真核细胞基因调节表达的一个良好模型,引起细胞学家和分子生物学家很大的兴趣。

由此可见,干扰素的研究涉及病毒学、肿瘤学、细胞学、免疫学、临床医学以及分子生物学等领域,是现代医学、生物学研究中比较活跃的一个新兴边缘学科。它的研究不仅在病毒性疾病以及肿瘤的防治上有很大的实际意义,而且对病毒的繁殖机制与免疫,肿瘤的发生,真核基因的调控机制等方面也有重大的理论意义。当前,国际上对干扰素的研究极为活跃,差不多每年要召开几次有关干扰素研究的学术讨论会。世界上很多国家,如美国、英国、法国、日本、德意志联邦共和国、比利时、芬兰、瑞士、瑞典、苏联、南斯拉夫等国都有研究干扰素的专门机构。1975年由Sloan Kettering肿瘤研究所发起,在美国召开了有15个国家、200多名科学家参加的干扰素治疗肿瘤国际工作会议,决定加强国际协作,加快干扰素的研究。次年又成立了一个“干扰素系统分子生物学国际实验室”,制订了研究规划,就干扰素的生产,干扰素蛋白的一级结构,干扰素的基因调控,干扰素对免疫系统的作用,干扰素对肿瘤及病毒病的防治作用等进行广泛的研究。1979年在美国纽约又召开了第二次国际干扰素会议,有26个国家、约400名科学家和临床医生参加,扩大了研究范围。由此可见,近几年来干扰素已日益受到人们的重视,不久在这方面可望取得重大进展。

二、干扰素研究的历史概况

(一) 病毒间干扰现象研究时期(1957年以前)

病毒是严格地在细胞内进行复制的。但当两种病毒同时感染宿主细胞时,除发生基因重组或复原等核酸水平的相互作用外,还有基因产物的互相作用。后者除互补和加强现象外,最常见的就是干扰现象。病毒间互相干扰的现象早在干扰素发现之前就已为病毒学家所重视。在本世纪初,医学文献中就报道某些可能是由于干扰素的作用。二十年代开始研究两种现象,即组织免疫和病毒干扰。Magrassi(1935)描述了能引起脑炎的疱疹病毒株在家兔体内干扰同型病毒的不引起脑炎的毒株的生长;Hoskins(1935)报道黄热病的亲神经株能保护猴子免受同一病毒的嗜内脏株的致死作用。随后病毒间干扰现象的例子多不胜数。先后发现干扰现象可以发生在无免疫学关系的病毒之间(Dalldorf等1937,1938;Dalldorf1939;Duffy等1952;Vilches等1947),也可发生于同一病毒的无毒株对有毒株之间以及相近病毒之间(Gard1944;Schlesinger等1952;Andrewes等1948)。此外,还发现有自家干扰现象。干扰现象不仅发生在动物机体水平,在组织培养细胞上也同样发生(Lennette等1946;Huang1943;Lockard等1958)。这一时期主要是对干扰现象的观察和归纳,停留在对事物认识的感性阶段。但是,有一点对随后干扰素的发现是很重要的,就是在病毒感染组织的局部,早在血清中出现抗体之前,就有抗病毒活性。Gard(1944)证明,这种活性并非由于抗体所致,他发现感染脊髓灰质炎病毒的鼠脑中含有一种抗病毒因子,这种因子与病毒颗粒无关,在试管内也不与病毒相结合。他提出这一因子在细胞内起抗病毒作用,并称之为“免疫体”(Immune body)。Lennette等(1946)在组织培养上研究病毒干扰现象,他们发现在培养液的超滤液中和在受染细胞的细胞提出液中有抗病毒活性,并说明病毒干扰现象的活性物质不是病毒本身。Burnet等(1952)将A型流感病毒MEL株注射到鸡胚绒毛尿囊膜上,在18~20小时以后再静脉注射NWS株病毒,没有发生NWS引起的出血性脑炎。由于鸡胚不产生特异性抗体,所以,这一保护作用不能归因于抗体,也不应想象是病毒间干扰现象,因为在此实验条件下,MEL株病毒不进入鸡胚血液到达脑中,这必然

是由于产生了一种非抗体性的物质所致。多少年来很多作者企图寻找这种物质 (Andrewes 1942; Ziegler 等 1944; Henle 等 1945), 虽然没有成功, 却为随后干扰素的发现奠定了基础。

(二) 干扰素性质研究时期 (1957~1970 年)

干扰素是 1957 年 Isaacs 和 Lindenmann 在研究病毒之间的干扰现象时意外发现的。他们将灭活的流感病毒和鸡胚绒毛尿囊膜块在 37°C 下培养。原来他们期望培养液中的干扰活性在病毒吸附于细胞之后而降低, 但事实上并非如此, 除去病毒后的培养液中仍有一种干扰物质。他们把这种物质称为干扰素 (Interferon) (图 1-1)。干扰素一经发现, 人们迅速对干扰素的性质进行了广泛的研究。虽不能全部, 却能部分解释过去观察到的病毒间的干扰现

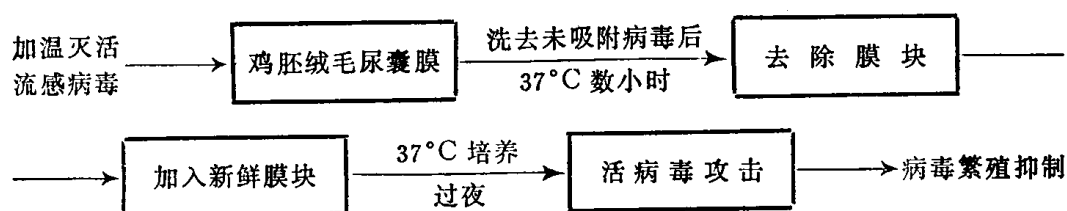


图 1-1 干扰素的发现示意图

(仿 Isaacs and Lindenmann 1957)

象。经大量研究, 证明干扰素是在病毒感染时从细胞释放的一种蛋白质, 它不直接作用于病毒, 而在细胞内发挥抗病毒繁殖的活性。干扰素有相对的种属特异性 (Tyrrell 1959)。在实验中发现干扰素不仅涉及干扰现象, 而且也涉及持续性病毒感染 (Henle 等 1959; Ho 等 1959)、病毒的毒力 (Enders 1960)、组织免疫、和病毒感染的恢复 (Isaacs 等 1960 a,b; Wagner 1960)。在干扰素发现后的第二年, 就发现干扰素在动物机体内可以产生抗病毒作用 (Nagano 等 1958; Isaacs 等 1959; Atanasiu 等 1960; Cantell 等 1960)。这说明干扰素可能有临床应用的意义。在干扰素发现后六年, 根据实验观察已知道干扰素是细胞基因的产物 (Heller 1963; Wagner 1963), 而干扰素作用于细胞后的抗病毒作用发生在病毒进入细胞之后、病毒核酸复制之前 (Ho 1961; Mayer 等 1961; Grossberg 等 1962; De Somer 等 1962; Lockart 等 1962)。Taylor (1964) 的实验曾推测到干扰素作用于细胞后抗病毒繁殖作用的发挥可能是干扰素刺激细胞合成了另一种抗病毒蛋白, 这一推测在十年后已得到完全的证明。

在六十年代初期就成功地获得了干扰素的抗血清, 推翻了早期认为干扰素无抗原性的结论 (Nagano 等 1961; Paucker 等 1962)。以后又进一步发现, 即使同种属的干扰素, 其分子大小也是不均一的 (Smith 等 1967)。

1961 年 Gresser 证明人周围血白细胞可以在试管内诱生较高滴度的干扰素, 这为以后人白细胞干扰素的生产提供了基础。1966 年 Glasgow 发现了一个有趣的现象, 就是曾免疫一种病毒的白细胞在试管内用同一病毒处理后, 诱生的干扰素比对照要高得多, 这导致了免疫干扰素 (I 型干扰素) 的发现。在早期采用粗制干扰素进行人和动物病毒感染的防治研究中就已经获得可喜的苗头 (Jones 等 1962; Denys 1963; Finter 1964)。

在发现多种病毒均能诱生干扰素后不久就相继发现某些细菌 (Youngner 等 1964)、细菌内毒素 (Stineberg 等 1964)、立克次体 (Hopps 等 1964) 也能诱生干扰素。1967 年 Merck 研究小组成功地 (引自 Hilleman 1969) 人工合成一种双链核苷酸——聚次黄嘌呤核苷酸: 聚胞嘧啶核苷酸 (Poly I:C), 在小白鼠体内和细胞培养上均可诱生高滴度的干扰素。另一

方面,也发现干扰素不仅可以抑制病毒繁殖,而且对细菌(引自 Grossberg 1972)、衣原体(Hanna 等 1966; Mordhorst 等 1967; Reinicke 等 1967)、原虫(Remington 等 1968; Schultz 等 1968)也有一定程度的抑制作用。不过彼等所采用的干扰素制剂并未提纯。

从六十年代开始,人们就从事研究干扰素与肿瘤形成的关系。许多肿瘤病毒可以诱生干扰素,也可以为干扰素所抑制。De Maeyer 等(1967)证明不同的致癌物质可以阻断干扰素的合成。同样,干扰素可以抑制某些肿瘤病毒在试管内使细胞转化的过程,但已转化的细胞不能为干扰素所逆转(Oxman 等 1967 a,b)。

总结这一时期的研究,可以说对于干扰素的性质积累了大量资料,对于干扰素的本质与作用也有较为全面地了解。认识到干扰素是一种具有多种生物学活性的蛋白质,是细胞基因的产物,其活性的发挥也受细胞基因的控制。这就说明,只有进一步采用分子生物学的方法阐明干扰素的本质及基因调控原理,才能为使干扰素造福于人类提供基础。

干扰素的发现虽可以解释大多数的病毒干扰现象(Henle 等 1959; Burke and Isaacs 1960; Wagner 1960; Vilcěk 1960; Henderson and Taylor 1961; Strandstrom 等 1962; Neva 等 1964; Friedman 1964; Parkman 等 1964),但也有报道,在病毒干扰现象中还可能存在着其他方式,目前所知至少可能还有如下三种方式:

1. 受体破坏 Henle、Henle(1943)和 Ziegler, Lavin 等(1944)发现,鸡胚绒毛尿囊膜经紫外光灭活的流感病毒处理后便产生对活流感病毒的抵抗,并表明这是由于破坏了细胞对病毒的受体所引起的。同样,紫外光灭活的 NDV 处理组织细胞可以抵抗活 NDV 的攻击,这种灭活病毒能够很快破坏在细胞表面的同种病毒的受体(Baluda 1957, 1959)。大约 1~3 天,当细胞受体重新修复后,又恢复了对病毒感染的敏感性。

2. 缺损性干扰颗粒 Huang、Wagner(1966)证明,滤泡性口腔炎病毒(VSV)的缺损性 T 颗粒可以干扰该病毒的感染性 B 颗粒的繁殖。在 B 颗粒感染后 2 小时再加入 T 颗粒,同样可以引起抑制,这说明干扰现象的出现不是由于抑制吸附所致。随后发现,来自 T 颗粒的短 RNA 片断可以与合成部位的 B 颗粒的长 RNA 片断相竞争(Stampfer、Baltimore 等 1969)。目前已经证明,在大量的病毒细胞系统中有缺损性干扰颗粒的存在,这在自然的病毒感染恢复过程中,可能发挥作用(Huang and Baltimore 1970; Stewart II 1973; Huang 1977)。

3. 内在性干扰 Marcus、Carver(1965)报道,非洲绿猴肾细胞感染风疹病毒后可以抵抗 NDV 的攻击,但不能抵抗其他许多病毒的攻击。这种内在性干扰并不是由于破坏了 NDV 的受体所致。Sindbis 病毒、西尼尔病毒和 Polio 病毒都可诱导这种类型的干扰(Marcus、Carver 1967)。

上述几种干扰方式与干扰素之间究竟有否某种内在联系,尚需研究。

(三) 干扰素系统的分子生物学研究时期(1970 年以后)

1970 年以来世界各国对于干扰素的研究有如下两个明显的特点:第一,在进一步寻找更有效的干扰素诱生剂的同时,更重视对外源性干扰素的研究,研究外源性干扰素的生产方法以及临床防治效果;第二,大力开展干扰素系统的分子生物学的研究,包括干扰素蛋白结构的分析与各种活性之间的关系,干扰素活性发挥的作用原理,干扰素的基因调控等。

1970 年以来干扰素研究的主要进展如下:

1. 在外源性干扰素的生产技术上有较大提高,除常规生产白细胞干扰素外,在人二倍体细胞上,采用大分子合成抑制物的超诱导的基因调控技术,可以使外源性干扰素的产量提

高 $10\sim 1,000$ 倍(Tan 等 1970)。大约 5×10^7 个成纤维细胞可以诱生 1×10^6 单位的人成纤维细胞干扰素。400 毫升血液收集的白细胞可以生产 1×10^6 单位的人白细胞干扰素。目前每 10^6 单位的人成纤维细胞干扰素或人白细胞干扰素价值约 30 美元。指望近几年内可降低 10 倍。现在正在研究的是除上述两种干扰素外,还有采用类淋巴细胞悬浮培养大量生产干扰素,后者的抗原性与白细胞干扰素相似,并已试用于成骨肉瘤患者的治疗(Strander 1977)。另外,采用多倍体的干扰素高产量细胞系来大量生产干扰素也正在进行研究之中。

2. 采用人-动物杂交细胞的染色体基因表达的分析方法,已经初步表明人纤维细胞干扰素的生产受第 2、5、9 对染色体的控制;干扰素作用于人细胞后产生的抗病毒状态受 21 对染色体长臂远端基因的控制。在实用上已初步表明,第 2、5 对染色体呈多倍体的 Va 2V 细胞系是干扰素高产量细胞系;第 21 对染色体呈三体性的细胞系(T-21)对干扰素的敏感性远远高于 D-21 细胞系(Creagan 等 1975; Tan 等 1973; Tan 等 1974; Tan 1975)。

3. 已经成功地提取出人和动物细胞的干扰素 mRNA,在异种细胞培养上或异种无细胞蛋白合成系统中,或在非洲爪蟾(Xenopus laevis)的卵中转译成具有供细胞种属特异性的干扰素蛋白(Metz 1976)。

4. 改进了干扰素的提纯技术,发展了亲和层析、刀豆球蛋白-A-琼脂糖层析等技术,可以使人和动物干扰素的纯度达 $>10^8$ 单位/毫克蛋白。并已证明人白细胞干扰素的分子是不均一的(Knight 1976)。Stewart II (1978) 已经证明,在糖化作用抑制的条件下,细胞仍能生产正常量的人和动物干扰素,并保持其全部活性。目前人白细胞和成纤维细胞干扰素多肽的氨基酸排列顺序已经清楚。

5. 证明了干扰素对免疫系统起调节作用。在一定条件下干扰素可以抑制或增进免疫反应。干扰素可以刺激巨噬细胞和 NK 细胞的活性。

6. 关于干扰素的诱生和作用原理有进一步的阐明。证明了干扰素诱生剂 Poly I:C 作用于细胞膜,并不需要进入细胞内就可以诱生干扰素(Taylor-Papadimitriou 等 1975)。干扰素作用于细胞膜,也不需要进入细胞,就可以使细胞建立抗病毒状态(Ankel 等 1975)。干扰素诱生的抗病毒蛋白中证明有一种 eIF-2 蛋白激酶和一种 ppp A2' P5' A2' P5' A 合成酶。干扰素抑制病毒的复制原理,依据不同类型的病毒,可以发生在转录水平上或转译水平上,也可以是阻断病毒颗粒的后期成熟或释放(Billiau 等 1976; Ramoni 等 1977)。

7. 人白细胞干扰素的临床防治研究已经表明,对多种病毒性感染,包括鼻病毒与流感病毒感染、疱疹性角膜炎、巨细胞病毒感染、慢性活动性肝炎、水痘-带状疱疹以及成骨肉瘤都有一定的临床疗效(Interferon Takes Serious Dis. 1976; Merigan 等 1975; Strander 1977)。

纵观 20 多年来干扰素的研究趋向,可以看到,就研究规模来说,是逐步扩大了;就研究水平来说,由过去偏重在细胞水平转到偏重在分子水平;就研究的目的性来说,由过去偏重在理论方面转到偏重在实用方面以及为解决实用方面的问题所涉及的一系列基本理论。目前世界各国研究的一个主要目标就是早日使干扰素能用于疾病的防治。

三、我国干扰素研究的进展

早在六十年代初期中国医学科学院病毒研究所黄祯祥等就开始进行干扰素的研究。1963 年毛江森、黄祯祥报道,皮下注射乙脑病毒(中山株)的小白鼠脑内有微量干扰素的存在。

随后, 又对乙型脑炎病毒-鸡胚细胞系统中干扰素的产生与病毒繁殖动态的关系进行了详尽的研究, 说明干扰素的高峰出现在病毒感染后 48~72 小时, 比病毒繁殖的高峰稍晚。干扰素到达高峰后滴度的维持与病毒的接种量有关, 大量接种时到达高峰后滴度有较快的下降, 小量接种时则无明显的下降, 直至 120 小时。彼等又研究了在该系统中产生的干扰素的性质, 在 pH2 稳定, 经 60°C 1 小时加热不破坏, 4°C 可以较长期保存, 经 105,000g 离心不沉淀(毛江森等 1964)。王树声等(1964)报道, 乙脑病毒经加热或福尔马林灭活后, 在丧失感染性的同时也丢失了产生干扰素的能力以及引起自家干扰的能力。这与流感(Isaacs 等 1957)、痘苗(Glasgow 等 1962)、腮腺炎(Henle 等 1959; Cantell 1960)、新城鸡瘟、鸡瘟(Burke 等 1958)以及 Rous 肉瘤(Bader 1962)等病毒用紫外光照射或加热灭活后仍有干扰素诱生能力不一样, 而与森林脑炎(Vilček 1963)及 Sindbis 病毒相似(Ho 等 1962)。1965 年毛江森、黄祯祥又研究了乙脑病毒感染性核酸在鸡胚细胞上诱生干扰素的动态。

田淑芳(1964)、吴淑华(1964, 个人通讯)就几种干扰素的测定方法的敏感性在痘苗-鸡胚细胞及 WEE-鸡胚细胞系统各自进行了比较, 说明空斑抑制法、繁殖抑制法较病变抑制法为敏感。王敏超(1974, 个人通讯)采用中性红染料吸收法测定人干扰素, 并就本方法的适宜条件进行了研究, 认为染料吸收法的敏感性与病变抑制法相似, 但前者可重复性强, 避免了病变法的主观判断对结果的影响。

1973 年以来, 我们从事人干扰素体外生产条件的研究。我们发现人脐血白细胞诱生干扰素的能力高于成人周围血白细胞; 人脐全血高于人脐血白细胞; 人脐全血高于成人全血。据此, 我们用人脐全血代替国外常规使用的成人血白细胞来生产干扰素。我们又比较了不同诱生病毒的诱生能力以及诱生干扰素的各种条件。在适宜条件下, 每毫升脐血可生产粗制干扰素 20,000 单位/毫升, 比成人血白细胞干扰素的单位产量要高两倍以上, 而且制备方法简便, 便于推广, 适用于小规模生产干扰素(吴淑华等 1978)。杨崇泰等又比较了五种人干扰素的提纯方法, 并研究了人脐血干扰素的理化性质。结果表明, 从操作简便、纯度大、活性高等方面综合考虑, 以 KCNS 盐析法和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 分级盐析法较为理想。经改进后的 KCNS 盐析法和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 分级盐析法, 可使人脐血干扰素活性分别提高到 $2\sim6\times 10^4$ 单位/毫克蛋白和 $1\sim1.4\times 10^5$ 单位/毫克蛋白。经鉴定, 人脐血干扰素是一种糖蛋白, 其分子量约为 28,000(杨崇泰等 1979a)。同时, 我们又进行了中药黄芪对干扰素系统的影响的研究, 以及采用黄芪干扰素制剂预防感冒的流行病学效果观察, 初步结果表明有一定效果, 可使感冒发病人次降低 50% 左右(侯云德等 1979)。使用人脐血干扰素预防流感也有一定效果(姚堃、夏廉博等 1978, 个人通讯)。目前, 我们已能生产临床级的人白细胞干扰素(10^6 单位/毫克蛋白)。

中国医学科学院病毒学研究所人在成纤维细胞培养上研究了干扰素的超诱导条件, 从而使成纤维细胞干扰素的产量提高 100 多倍(吴淑华等 1979), 并成功地从聚 I:C 诱生的成纤维细胞中提取了干扰素 mRNA, 且在非洲鲫鱼卵中转译成功(杨崇泰等 1979b), 为干扰素基因调控研究奠定了基础。

四、当前干扰素研究的方向

鉴于干扰素是宿主细胞自身产生的一种高活性的蛋白质, 具有抗病毒、抗肿瘤的作用, 长期使用毒性较低, 因此, 七十年代以来干扰素已成为病毒学家、生物学家、肿瘤防治工作

者研究的重点对象。当前干扰素研究的主要方向是着重进行与使干扰素能早日普遍地应用于人类疾病的防治这一目标有关的基础理论与临床研究。

(一) 干扰素分子生物学的研究

首先集中力量完善干扰素的提纯技术, 制备均质分子的干扰素纯品, 弄清楚干扰素多肽活性部分的氨基酸序列, 进一步阐明干扰素的诱生与作用原理, 弄清楚发挥干扰素抗病毒作用的活性物质的一级结构以及抗病毒及抗肿瘤的作用原理。

(二) 干扰素的基因调控与遗传工程的研究

阐明干扰素的基因调控原理对了解干扰素系统的本质有十分重要的意义。在此, 要进一步阐明真核细胞干扰素的结构基因与调节基因的定位, 以及基因调节控制的表达方式; 弄清细胞控制干扰素活性发挥的基因定位。进一步研究超诱导的作用原理。干扰素遗传工程的关键问题是要研究干扰素 mRNA 的检测与提纯方法, 有一定纯净的干扰素 mRNA 才能获得一定量的 cDNA, 或者根据类干扰素 (去糖) 的氨基酸序列人工合成干扰素基因, 利用一定的质粒, 带入大肠杆菌, 建立干扰素的无性增殖系, 大量生产。1979 年底干扰素遗传工程在瑞士和日本已经获得成功, 这将对整个医学研究起到巨大的推动作用。

(三) 干扰素与免疫系统的关系值得进一步深入研究, 特别是免疫干扰素的特性以及在病毒感染过程中的意义, 干扰素对其他免疫反应的影响, 干扰素与持续性病毒感染机制的关系等, 后者的研究将对慢病毒感染的防治提供理论依据。

(四) 人外源性干扰素的大量生产仍是重点研究的内容。除大量生产白细胞干扰素外, 大量生产成纤维细胞干扰素也十分重要。生产类淋巴细胞干扰素和非整倍体细胞干扰素也是一个方向。此外, 采用遗传学的方法, 选育干扰素高产量细胞株或系, 特别是建立组成性生产干扰素细胞系也具有十分重要的实用和理论意义。

(五) 干扰素临床应用的研究

在我国具体条件下干扰素的临床应用应当优先考虑下列疾病:

1. 急性呼吸道病毒感染;
2. 疱疹性角膜炎;
3. 红眼病;
4. 慢性支气管炎患者急性病毒感染引起的急性发作及病毒性肺炎;
5. 乙型脑炎;
6. 成骨肉瘤、肺腺癌、早期鼻咽癌、肝癌及食道癌等恶性肿瘤;
7. 狂犬病;
8. 急慢性肝炎;
9. 器官移植患者预防性治疗;
10. 病毒性神经根炎;
11. 病毒性腹泻;
12. 流行性出血热等。

结 论

干扰素是一种具有高度生物学活性的蛋白质, 有明显的抗病毒、抗肿瘤活性, 是现代医学和现代生物学研究中比较活跃的一个新兴的边缘学科。它不仅在病毒性疾病以及肿瘤的防

治上有很大的实际意义,而且对病毒的繁殖机制与免疫,肿瘤的发生,真核基因的调控机制等方面也有重大的理论意义。目前,国际上干扰素的研究已取得重大进展,并在防治实践中获得了可喜的苗头,已经证明干扰素对某些疾病是有防治效果的。我国科学工作者自1963年就开始从事干扰素的研究,在干扰素的生产方法,基因调控,中西医结合的临床应用等方面都有明显的成就,目前正在集中力量为使干扰素早日普遍地应用于疑难病和常见病的防治而努力奋斗。

参 考 文 献

- 王树声等:微生物学报 10:363, 1964.
 毛江森等:微生物学报 9:247, 1963.
 毛江森等:微生物学报 10:339, 1964.
 毛江森等:微生物学报 11:326, 1965.
 田淑芳:研究生论文 中国医学科学院病毒学研究所, 1964.
 吴淑华等:微生物学报 18:225, 1978.
 吴淑华等:中国医学科学院院报 1:13, 1979.
 杨崇泰等:微生物学报 19:96, 1979a.
 杨崇泰等:Interferon Scientific Memoranda 5, 1979.
 侯云德:Interferon Scientific Memoranda 3, 1979.
 Symp. on 2nd International Meeting on Interferon, 1979.
 Andrewes, C. H.: Brit. Exp. Pathol. 23:214, 1942.
 Andrewes, C. H. et al.: Brit. J. Exp. Path. 29:329, 1948.
 Ankel, H. et al.: In Gerald, A. "Effect of Interferon on Cells, Viruses and Immune System" p. 99, 1975.
 Atanasiu, P. et al.: C. R. Acad. Sci(Paris) 251:1687, 1960.
 Bader, J. D.: Virology 16:436, 1962.
 Baluda, M. A.: Virology 4:72, 1957.
 Baluda, M. A.: Virology 7:315, 1959.
 Billiau, A. et al.: Virology 73:537, 1976.
 Burnet, F. M. et al.: Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci 30:447, 1952.
 Burke, D. C. et al.: Brit. J. Exp. Pathol 39:452, 1958.
 Burke, D. C. et al.: Acta Virol 4:215, 1960.
 Cantell, K.: Arch. f. g. Virusforsch 10:510, 1960.
 Cantell, K. et al.: Lancet ii:682, 1960.
 Creagan, R. P. et al.: Fed. Proc 34:2222, 1975.
 Dalldorf, G. et al.: Science 85:184, 1937.
 Dalldorf, G. et al.: J. Exp. Med 67:333, 1938.
 De Maeyer, E. et al.: 1938. cit. from Cantell, K. In Finter N. B. "Interferons and Interferon Inducers" P. 1, 1973.
 Dalldorf, G.: J. Imm. 37:245, 1939.
 Denys, P.: Lancet ii:174, 1963.
 De Somer, P.: Virology 16:63, 1962.
 Duffy, C. E. et al.: PSEBM 80:279, 1952a.

- Duffy, C. E. et al.: PSEBM 81:154, 1952b.
- Enders, J. F. Trans. Coll. Phycns. Philad. 28:68, 1960.
- Finter, N. B.: BMJ ii:981, 1964.
- Friedman, R. M.: Nature 201:848, 1964.
- Gard, S.: Acta Med. Scand. 119:27, 1944.
- Glasgow, L. et al.: J. Exp Med 115:503, 1962.
- Glasgow, L. A. et al.: J. Bact. 91:2185, 1966.
- Gresser, I.: PSEBM 108:799, 1961.
- Grossberg, S. E. NEJM 287:122, 1972.
- Grossberg, S. E. et al. J. Imm 88:708, 1962.
- Hanna, L. et al.: PSEBM 122:417, 1966.
- Heller, E.: Virology 21:652, 1963.
- Henderson, J. R. et al.: Virology 13:477, 1961.
- Henle, G. et al.: Am. J. Med. Sci. 210:369, 1945.
- Henle, W. et al.: Science 98:87, 1943.
- Henle, W. et al.: J. Exp. Med. 110:525, 1959.
- Hilleman, M. R.: Science 164:506, 1969.
- Ho, M. et al.: J. Imm. 89:177, 1962.
- Ho, M. et al.: Virology 9:446, 1959.
- Ho, M.: PSEBM 107:639, 1961.
- Hoskins, M.: Amer. J. Trop. Med. Hyg. 15:675, 1935.
- Hopps, H. E. et al.: Bact. Proc. 1964:115, 1964.
- Huang, A. S.: Bact. Rev. 41:811, 1977.
- Huang, C. H.: PSEBM 54:158, 1943.
- Huang, A. S. et al.: Nature 226:325, 1970.
- Huang, A. S. et al.: Virology 30:173, 1966.
- Interferon takes serious diseases: Sci. News. 109:130, 1976.
- Isaacs, A. et al.: Proc. Roy. Soc. Ser. B. 147:258, 1957.
- Isaacs, A. et al.: Lancet ii:946, 1960a.
- Isaacs, A. et al.: Lancet ii:69, 1960b.
- Isaacs, A. et al.: Lancet ii:324, 1959.
- Jones, B. R. et al.: Lancet ii:875, 1962.
- Knight, E.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA 73:520, 1976.
- Lennette, E. H. et al.: J. Exp. Med. 83:195, 1946.
- Lockard, R. Z. et al.: J. Inf. Dis. 103:163, 1958.
- Lockard, R. Z. et al.: Virology 18:493, 1962.
- Magrassi, F.: Z. Hyg. Infektionskr. Med. Microbiol. Immunol. Virol. 117:573, 1935.
- Marcus, P. I. et al.: Science 149:983, 1965.
- Marcus, P. I. et al.: J. Virol. 1:334, 1967.
- Mayer, V. et al.: Acta Virol. 5:264, 1961.
- Merigan, T. C. et al.: In "Perspect Virology" 9:249, 1975.
- Metz, D.: Nature 259:362, 1976.
- Mordhorst, C. H. et al.: Amer. J. Ophthalmol 63:1107, 1967.

- Nagano, Y. et al.: C. R. Seances Soc. Biol. Filiales 152:1627, 1958.
- Nagano, Y. et al.: C. R. Seances Soc. Biol. Filiales 115:1183, 1961.
- Neva, F. A. et al.: J. Imm. 93:466, 1964.
- Oxman, M. N. et al.: Proc. Nat. Acad. Sci USA 57:941, 1967a.
- Oxman, M. N.: Virology 32:122, 1967b.
- Parkman, P. D. et al.: J. Imm 93:595, 1964.
- Paucker, K. et al.: Virology 18:145, 1962.
- Ramoni, C. et al.: J. Gen. Virol. 37:285, 1977.
- Reinicke, V. et al.: Acta Path. Microbiol. Scand. 69:478, 1967.
- Remington, J. S. et al.: Science 161:804, 1968.
- Schultz, W. W. et al.: Nature 220:709, 1968.
- Schlesinger, R. W. et al.: In "The Viruses" ed. F. M. Burnet et al. P. 167, 1952.
- Smith, T. J.: J. Exp. Med. 125:579, 1967.
- Stampfer, M. et al.: J. Virol. 4:154, 1969.
- Stineberg, W. R. et al.: Nature 204:712, 1964.
- Stewart I, W. E.: In "Selective Inhibitors of Viral Functions" pp 1-26, 1973
(Carter W. C.)
- Strander, H.: Blut 35:277, 1977.
- Strandstrom, H. et al.: Virology 16:384, 1962.
- Stewart I, W. E.: In "Evaluation Program: Section 6144, Sloan-Kettering Institute for Cancer Research".
- Tan, Y. H. et al.: PNAS USA 67:464, 1970.
- Tan, Y. H. et al.: JEM 137:317, 1973.
- Tan, Y. H. et al.: Science 186:61, 1974.
- Taylor, J.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 14:447, 1964.
- Taylor-Papadimitriou, J. et al.: In Gerald, A. "Effects of Interferon on Cells, Viruses and the Immune System" P. 147, 1975.
- Tyrrell, D. A. J.: Nature 184:452, 1959.
- Vilches, A. et al.: J. Imm. 57:125, 1947.
- Vilcek, J.: Nature 187:73, 1960.
- Vilcek, J.: Acta Virologica 7:107, 1963.
- Wagner, R. R.: Bact. Rev. 24:151, 1960.
- Wagner, R. R.: Virology 21:652, 1963.
- Youngner, J. S. et al.: Science 144:1022, 1964.
- Ziegler, J. E. et al.: J. Exp. Med. 79:379, 1944.

第二章 干扰素的定义及理化性质

一、干扰素的定义

二、干扰素系统的普遍性及在生物进化过程中的作用

三、干扰素的物理性质

(一) 分子量

(二) 等电点

(三) 热稳定性

(四) pH稳定性

(五) 紫外光及 γ 射线

四、干扰素的化学性质

(一) 化学本质

(二) 对酶或化学试剂的敏感性

五、干扰素的抗原性

结 论

参考文献

一、干 扰 素 的 定 义

干扰素是在特定诱生剂的作用下由细胞基因组控制产生的一(或多)种蛋白质,具有抗病毒繁殖及肿瘤生长等多种生物活性,其活性的发挥又受细胞另一基因组的控制。所以,干扰素是细胞功能的一种产物,它不同于迄今所知的其他抗病毒药物。据此,确定某种物质为干扰素,必需具备下列条件:

1. 这种抗病毒繁殖和肿瘤生长的物质必须是一种蛋白质。
2. 这种蛋白质是受细胞基因组调节控制的。在正常生理状态下,细胞并不自发产生干扰素,只是在诱生剂的作用下才产生。
3. 这种物质的抗病毒活性的发挥又受细胞另一基因组控制,它本身并没有直接的抗病毒作用。
4. 这种抑制物的抗病毒活性必须是广谱的,不是仅对一种特定的病毒。

以上四条标准的应用说明如下:

1. 干扰素是一种蛋白质,因此,常以测定其对某些蛋白酶类的敏感性来进行鉴定。例如,Baron 等(1963)表明,由新城鸡瘟病毒诱生的小白鼠血清干扰素加一定浓度的胰酶,在 37°C 作用 1 小时即可破坏其活性。它对 DNA 酶或 RNA 酶是有抵抗的。

2. 这种蛋白质是受细胞基因组控制而产生的,因此,在诱生剂作用后可以从诱生细胞中提取出干扰素 mRNA,后者可在异种蛋白合成系统中(异种细胞培养、麦胚无细胞系统、非洲爪蟾卵中)转译出具有供细胞种属特异性的干扰素蛋白质(Metz 1976) 另一方面,在无特定诱生剂的作用下,细胞的干扰素基因组并不活动转录合成相应的 mRNA。过去有一种见解,即细胞可以自发产生干扰素,实际上是不确定的。

Smith 等(1967)、Nagano 等(1966)、Northrop 等(1967)都相继报道过,在家兔腹腔巨噬细胞和人骨髓组织培养的上清液中,在未加诱生剂的情况下,测出有干扰素样的活性。但是上述实验并不能排除隐性病毒感染的可能性或其他小量诱生剂(如内毒素)污染的可能性。有某些类淋巴细胞株,如 Namalwa、Akuba、JH、TC-33 可以“自发”地产生干扰素,这