

# 细胞因子及其相关靶点的治疗进展

刘耀文编译

( 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850 )

摘要 : 细胞因子应用的研究改进了许多重要疾病的治疗措施。这些治疗进展主要来自两种不同的策略 : 一种是应用纯化的重组细胞因子 ; 另一种是应用药物抑制上调的内源性细胞因子的损伤效应。有效的细胞因子治疗药有造血生长因子( 集落刺激因子 ) 和干扰素 , 而肿瘤坏死因子拮抗剂明显改善了一些感染性疾病的疗效。本文将对干扰素及肿瘤坏死因子拮抗剂等的研究进展进行重点阐述。

关键词 : 细胞因子 ; 干扰素 ; 肿瘤坏死因子拮抗剂

中图分类号 : R730.51 文献标识码 : A 文章编号 : 1001-0971( 2005 ) 01-0036-03

细胞因子是由机体血液中白细胞及一些其他细胞分泌的调节蛋白 , 具有调节先天和适应性免疫反应、炎症反应等多种活性。目前 , 已知的细胞因子基因和蛋白的数量已达数百种 , 并且仍在不断发现。本文主要阐述了干扰素( IFN ) , 特别是 IFN-β 的治疗进展 , 以及抗肿瘤坏死因子( TNF ) 制剂 , 如嵌合型单克隆抗体英昔单抗( infliximab , Remicade ) 在类风湿性关节炎( RA ) 等炎症治疗方面的应用。

## 1 细胞因子治疗方法

### 1.1 干扰素及其特性

IFN 是一群可诱导的细胞因子 , 起初根据其抗病毒活性而得以确定 , 在先天和适应性免疫反应中具有重要功能。IFN-α/β( I 类 ) 家族包含多种基因 , TNF-γ( II 类 ) 家族在哺乳动物中包含单个基因。另一个近期确定的干扰素样细胞因子家族暂称为 IFN-λ , 与 I 类 IFN 家族有关( 表 1 )。

与大多数细胞因子一样 , IFN 的基础分泌量很低。在受到病毒、微生物、双链 RNA 等一些物质刺激后 , 可诱导树突状细胞、单核细胞和巨噬细胞等产生 IFN-α/IFN-β 蛋白 ; IFN-γ 主要由 T 细胞和自然杀伤细胞受到活化刺激后产生。各类 IFN 均结合于不同的异二聚体受体。所有的 IFN 通过活化 JAK-STAT 信号通路 , 导致包含 IFN-刺激反应元件或 IFN-γ 活化序列的基因转录活化。由于 IFN-α/IFN-β , IFN-γ 和 IFN-λ 活化的信号通路和靶基因部分重叠 , 因此具有一些共同的生理活性 , 但由于其产生于不

同位点 , 对不同刺激发生反应 , 结合于不同的受体 , 故又有各自不同的功能。

表 1 干扰素分类及其主要特征

IFN-α/β( I 类 )	IFN-γ( II 类 )	IFN-λ( 仅在人类发现 )
基因和蛋白		
IFN-α	IFN-γ	IFN-λ <sub>1</sub> ( IL-28A )
IFN-β		IFN-λ <sub>2</sub> ( IL-28B )
IFN-ω		IFN-λ <sub>3</sub> ( IL-29 )
IFN-κ		
IFN-ε		
IFN-ζ( 仅存在于反刍动物 )		
limitin( 仅在小鼠中发现 )		
基因定位		
人类 9 号染色体	人类 12 号染色体	人类 19 号染色体
小鼠 4 号染色体	小鼠 10 号染色体	
受体		
IFN-α 受体 1 和 2 的异二聚体	IFN-γ 受体 1 和 2 的异二聚体	IFN-λ 受体 1 和 IL-10 受体 2 的异二聚体

### 1.2 IFN-α 的临床应用

来源于人白细胞的天然 IFN 制剂是包含 IFN-α 和少量 IFN-β 的混合制品。起初应用于病毒感染性疾病的临床试验研究中 , 取得了令人满意的效果。其后 , 逐渐成为一种恶性肿瘤( 如骨肉瘤等 ) 病人的辅助性治疗。天然 IFN 虽可在多种条件下使用 , 但由于在多数试验中病人人数较少 , 很难得出明确的

结论。目前,重组 IFN- $\alpha$  已获准治疗多种疾病,常常与核苷类似物利巴韦林联合使用,用于治疗慢性丙型肝炎。

### 1.3 IFN- $\beta$ 的临床应用

IFN- $\beta$  在人类和其他大多数哺乳动物体内由单基因编码,由于主要产生于人类成纤维细胞,最初被称为成纤维细胞 IFN。在 IFN- $\beta$  与 IFN- $\alpha$  蛋白之间约有 30% 的序列同源性。IFN- $\beta$  与其他 IFN- $\alpha$ /IFN- $\beta$  家族成员结合于相同的受体,但是结合方式又略有不同,因此导致了其功能的细微差异。此外,IFN- $\beta$  具有单一的糖基化位点,与 IFN- $\alpha$  具有不同的药代动力学特征,而且 IFN- $\beta$  更易于结合于组织中,在血浆中极少能检测到。

产生于人类成纤维细胞的天然 IFN- $\beta$  在日本和德国已注册用于治疗一些病毒感染性疾病。但在 IFN- $\beta$  cDNA 克隆成功之后,天然 IFN- $\beta$  大多被重组人 IFN- $\beta$  所替代。重组人 IFN- $\beta$  在多数国家仅获准用于治疗多发性硬化症(MS)复发,该药可使疾病恶化率降低,身体残疾的进展减缓。目前,正在探索重组 IFN- $\beta$  的其他临床应用,包括治疗 RA。

由于 MS 的病因可能与病毒感染有关,早期应用腰椎穿刺将天然人 IFN- $\beta$  进行鞘内注射,结果治疗组病人病情恶化的比例较对照组明显降低。新近研究显示,应用 IFN- $\beta$  皮下和肌肉注射对于治疗 MS 同样有效。

一种可降低 MS 恶化率的重组 IFN- $\beta$  是经过修饰的蛋白,即人类 IFN- $\beta$  蛋白 17 位的丝氨酸被半胱氨酸所替代,这一改变使得蛋白在大肠杆菌合成及后来的纯化中更加稳定,这种 IFN- $\beta$  制剂商品名为 Betaseron(IFN- $\beta$ -1b),隔日一次每次皮下注射 800 万 IU。另一重组 IFN- $\beta$  制剂来源于中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,商品名为 Avonex(IFN- $\beta$ -1a),MS 病人每周一次肌肉注射 600 万 IU,经磁共振成像检测结果显示,该药可降低疾病的恶化率,使身体残疾和病情进展减慢。另一个近来获批的 IFN- $\beta$  为 Rebif。一项针对缓解后复发的 MS 病人的随机、对照、多中心试验,比较了 Rebif 44  $\mu$ g 皮下注射每周 3 次与 Avonex 30  $\mu$ g 肌肉注射每周一次的疗效。结果发现,Rebif 的治疗周期及应用剂量比 Avonex 更加有效。研究显示,对于缓解后复发的 MS,IFN- $\beta$  多次大剂量使用疗效更佳。IFN- $\beta$  治疗 MS 的作用机制尚未完全清楚。

### 1.4 IFN- $\gamma$ 集落刺激因子和 IL-2

重组 IFN- $\gamma$  仅获准用于治疗慢性肉芽肿性疾病和重症恶性骨硬化病等少见病。某些造血生长因子,如集落刺激因子(CSF)可刺激造血细胞增殖、定向分化及终末细胞的功能活化,已获准临床应用的有粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒-巨噬细胞集落因子(GM-CSF)和红细胞生成素。重组 IL-2(aldesleukin, Proleukin)已获准用于治疗转移性肾癌和转移性黑色素瘤,也用来试验性治疗 AIDS 病人,增加 CD4<sup>+</sup> 细胞数量。此外,尚有许多细胞因子,包括 IL-10、IL-11 和 IL-12 等也已进行动物实验和临床试验,但仍未获得批准。

## 2 细胞因子作为治疗靶点的研究

### 2.1 单克隆抗体 A<sub>2</sub>/cA<sub>2</sub> 的开发及研究

最初的研究表明,A<sub>2</sub> 抗体可以中和人 TNF,与之结合具有高亲和力和特异性。而 TNF 是细菌性脓毒血症病理机制中的关键介质,从而为应用抗 TNF 抗体治疗此类疑难疾病带来希望。为了降低 A<sub>2</sub> 的免疫原性,改善其药代动力学特性,科学家们研制了 cA<sub>2</sub> 嵌合型抗体,其中,鼠抗体的可变区约占 30%,其余为人 IgG 序列。I/II 期临床试验证实,cA<sub>2</sub> 单剂量达到 10 mg·kg<sup>-1</sup> 时没有副作用。该数据有助于其后治疗 RA 和克隆病等一系列临床试验的成功。

### 2.2 应用 TNF 拮抗剂治疗 RA 的机制

20 世纪 80 年代,人们开始探讨细胞因子在 RA 发病机制中的作用,最早从 RA 病人关节滑液中鉴定出的是 IL-1,其后是 TNF,IL-6,IL-2,GM-CSF 等主要的致炎性细胞因子。

有证据表明,IL-1 在许多动物模型中介导关节损伤,而 IL-1 受到 TNF,GM-CSF 和免疫复合物的调节。应用特异的 TNF 抗血清可阻滞 IL-1 的产生。研究发现,TNF 及其受体在 RA 滑膜中表达上调,TNF 在风湿病关节组织原位表达。动物模型也进一步提供了 TNF 在 RA 中重要性的证据,应用抗鼠 TNF 的单克隆抗体治疗,可使胶原诱导的关节炎减轻,减少关节中细胞浸润及关节损伤。人类 TNF 在转基因小鼠中过表达可诱发关节炎,并可被抗人 TNF 单克隆抗体所抑制。

### 2.3 RA 的临床试验

由于 TNF 阻滞剂的安全性未能确定,cA<sub>2</sub> 抗体首先被用于难治性关节炎的治疗。开放性研究结果显示,治疗组关节强直和疼痛减轻,肿胀和触痛缓

解,血液检查显示,炎性标志 C 反应蛋白和 IL-6 在最初治疗的 1 周内明显下降。

正式的双盲、随机、安慰剂对照试验在欧洲的四个中心进行,使用  $cA_2$  1 和  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  与安慰剂对照比较,结果显示,8% 的安慰剂组患者达到有效标准,而  $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$   $cA_2$  组有效率为 44% ( $P = 0.0083$ ),  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  组为 79% ( $P < 0.0001$ )。在其后的 II 期临床试验中,比较了 1, 3,  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的  $cA_2$  单用且与每周 7.5 mg 的甲氨蝶呤(MTX)合用的疗效。结果显示,  $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的  $cA_2$  在无 MTX 辅助下不能获得长期疗效,而 3 和  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  则有效。当与 MTX 合用时,各剂量  $cA_2$  均有效,  $cA_2$  与 MTX 的协同作用机制尚不明确,但在应用 MTX 患者血液中可检测到高水平的  $cA_2$ ,且抗自身抗体反应明显降低。TNF 对于感染的保护性免疫反应已在实验模型中建立,因此,应用抗 TNF 治疗可能有增加感染的危险。但目前证

据表明,抗 TNF 治疗的疗效大于应用药物后的危险性。

### 2.4 结语

英昔单抗是第一个有效治疗 RA 的 TNF 拮抗剂。另外两个 TNF 拮抗剂依他那西普和阿达木单抗也获准用于 RA 及一些炎症性疾病的治疗,如银屑病等。在治疗肾小球肾炎、淀粉样变性、溃疡性结肠炎和脉管炎等疾病中获得了阳性结果。此类药物治疗具有重要的医学及药理学意义。

展望未来,抗 TNF 治疗不可能仅仅限于目前已经注册的三种制剂,其他制剂已用于临床试验,包括聚乙二醇化的可溶性的 TNF 受体及聚乙二醇化单克隆抗体 Fab 片段,抗细胞因子治疗也不仅限于 TNF 及 IL-1 受体拮抗剂,其他细胞因子(如 IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-6, IL-8 等)也正在成为动物实验及临床试验的目标。

## 组合给药在药代动力学高通量筛选中的应用

姜云云<sup>1</sup>, 范国荣<sup>1</sup> 综述 刘皋林<sup>2</sup> 审校

(1. 第二军医大学药学院,上海市药物代谢产物研究重点实验室,上海 200433;

2. 第二军医大学长征医院药学部临床药理研究室,上海 200003)

摘要:组合给药,即同时给动物服用多种药物,可以实现体内高通量筛选,这种方法目前应用不是很广泛,因此有较大的研究空间。该法的实施依赖于现代分析技术的高灵敏度和高选择性,尤其是 HPLC/MS/MS 联用技术的使用。本文将对组合给药法的实验设计、分析技术及应用状况作一综述。

关键词:组合给药;药代动力学;高通量筛选

中图分类号:R969.1;R914.2 文献标识码:A 文章编号:1001-0971(2005)01-0038-04

新药研发是一个快速发展的领域,随着组合化学等高新技术的出现,大大加快了候选药物出现的速度。每年都有成千上万个化合物需要筛选,目前新药研发的关键不再是化合物的来源问题,而是如何快速地对这些化合物进行筛选。传统的筛选方法需要消耗大量的样品和实验动物,但筛选的效率却并不高。因此,迫切需要建立一套全新的药物筛选体系,以提高新药研发的成功率,缩短研究周期,降低开发成本。

20 世纪 80 年代出现了一种全新的药物筛选体系,即高通量筛选(high throughput screening, HTS),又

称大规模集群式筛选。目前,HTS 已被广泛应用于候选药物的生物活性筛选,每天可以筛选成千上万个化合物,但在新药研发的药代动力学筛选中尚未被推广应用。虽然目前已经建立了许多研究候选药物的吸收、分布和代谢的体外筛选模型,体内的药代动力学筛选仍然不是很成熟。

体内药代动力学筛选在新药研发过程中是相当重要的,因为药物在体内的代谢过程极为复杂,受到很多因素的影响,如很多原因都可以造成药物口服生物利用度低,其中包括药物难以透过肠粘膜、存在肝脏或肠道的首过效应、存在 P-糖蛋白(P-gp)参与的外排机制,或通过胆汁迅速排泄等,因此,很难用简单的体外模型进行分析。此外,可以通过口服或