

侯云德 张丽兰 张利萍 卫学军

中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所

病毒基因工程国家重点实验室

病毒生物技术国家工程研究中心

2007年10月

序

  1980年由侯云德编著的“干扰素及其临床应用”一书由江苏人民科技出版社出版以来已经有27年了[1]。重组人干扰素自1986年美国FDA及1989年我国SFDA批准投放市场以来也各有21年和18年了，干扰素的基础和临床研究又已取得了较大进展。目前,干扰素-a的治疗适应症逐年扩大，现已经包括慢性乙、丙、丁型肝炎;非甲、非乙肝炎；HPV 感染；西尼罗河病毒感染,毛细胞性白血病；AIDS相关的Kaposi氏肉瘤；慢性髓细胞性白血病；非Hodgkin氏淋巴瘤和皮肤T-细胞淋巴瘤，肾细胞癌；膀胱癌,卵巢癌,和宫颈癌；基底细胞癌；转移性黑色素瘤；多发性骨髓瘤；多种血管瘤；和转移性小肠类癌瘤；尖锐湿疣和蕈样肉芽肿病（mycosis fungoides）等。 [2]我国还批准了带状疱疹、疱疹性角膜炎、慢性宫颈炎等，以及干扰素a2b作为预防SARS的技术储备药物。[3]

  我国乙型肝炎的感染率和发病仍然居高不下，干扰素将在我国的病毒性传染病预防和控制上继续作出贡献。口服干扰素，PEG化和非PEG化的长效干扰素，III型干扰素（干扰素l）的研究和开发将继续改进和提高干扰素的防治效果。2005年9月出版的”中华实验和临床病毒学杂志”刊登了包括10篇干扰素研究文章的专辑就是反映了当今干扰素研究领域的一个侧面。

  近年来国际上在抗病毒和抗癌症的研究领域中，更多地集中在开发先天的免疫调节剂和抗病毒物质。干扰素系统作为一种先天性机体防御系统,日益受到人们的关注；干扰素信号传递途径与Toll受体传递途径的相关性研究使人们对生命体的先天性防御机制有了更进一步的认识。机体的先天性防御机制在不断地进化,病原微生物,特别是病毒感染细胞、抵制机体的先天性防御机制也在不断进化；科学家不断发现,不论是DNA病毒,还是RNA病毒都有促进自己在细胞内繁殖的能力,和克服机体防御反应,包括抗干扰素能力的机制；从而使干扰素的改进和应用获得广阔的前景。

   病毒是地球上最丰富和最多样性的病原体。纵观任何生命体的基因组就可证实病毒已经存在很长时间。据估计约有40%的人类基因组是导源于祖先病毒基因组的片段,约1% 的基因组序列是由完整的内源性反转录病毒所组成[4]。病毒对人类基因组的影响是十分明显的.为了对付病毒的侵犯,干扰素系统是人体细胞生存必须要具备的基本系统。目前还没有发现某种细胞能够存在，而缺少干扰素系统的。从机体的先天性防御机制来说，开发和研究干扰素等天然抗病毒和免疫调节物质，具有十分重要的意义。

采用干扰素预防或治疗病毒感染,还要考虑研制拮抗病毒本身编码的抵制干扰素的药物,使之与干扰素联合应用可能是今后的研究方向。

     本书各章节均是由工作在第一线的科技工作者编写的，其中第二章“干扰素的诱生和作用机制”特邀请具有深厚科学研究造诣的香港大学李嘉诚医学院金冬雁教授和中山大学中山医学院黎孟枫教授编写。本书可供从事病毒学、免疫学研究人员的借鉴，也可供临床医务工作者的参考。

     由于本书涉及基础和临床广泛的领域，难免有不妥之处，欢迎提出宝贵意见。

参考文献:

1．侯云德  干扰素及其临床应用  江苏人民科技出版社，1981

2．美国健康与人类服务部出版的“AIDS info” March 13, 2007

<http://aidsinfo.nih.gov/DrugsNew/pdfdrug_tech.asp?int_id=34>

3. SFDA“关于重组人干扰素a2b喷雾剂应急预防使用的通知”国食药监注[2005]501号

4.Sverdlov, E.D. (2000). Retroviruses and primate evolution. Bioessays 22, 161-171.

侯云德

2007年10月于北京

**干扰素及其临床应用**

目  录

序

第一章  干扰素概述:定义和分类

参考文献

第二章  干扰素的诱生和作用机制

一、概述

二、Toll样和RIG-I样受体与干扰素的诱生

三、干扰素受体、其他信号转导蛋白及干扰素作用机制

四、病毒对干扰素系统的抑制作用

参考文献

第三章  干扰素-a(interferon alpha,IIFN-a)

一、概述

二、人干扰素-α的亚型

三、干扰素-a的生物学活性

四、多种干扰素-a亚型的生物学意义和在进化上的关系

参考文献

第四章 干扰素临床应用的制剂及现状

一、干扰素临床应用的种类和剂型

二、干扰素-α临床应用理论基础

三、干扰素-α治疗肿瘤

四、干扰素-a治疗病毒病

五、干扰素-a2b的药代动力学

参考文献

第五章  干扰素治疗肿瘤的疗效

一、 毛细胞性白血病(HCL)

二、慢性骨髓性白血病(CML)

三、黑色素瘤

四、肾癌

五、肺癌

六、消化道癌

七、其他肿瘤

参考文献

第六章  干扰素治疗病毒性肝炎

一、乙型肝炎

二、丙型肝炎

三、D 型肝炎

参考文献

第七章  干扰素治疗人乳头瘤病毒感染

一、慢性宫颈炎

二、生殖器尖锐湿疣（condyloma acuminata）

参考文献

第八章  干扰素治疗其它病毒病的疗效

一、性疱疹

二、AIDS病

三、带状疱疹

四、SARS

五、 普通感冒等急性上呼吸道病毒感染

六、其它疾病

参考文献

第九章  干扰素-a临床治疗的副反应

参考文献:

第十章  干扰素-b

一、概述:

二、干扰素-b治疗MS

三、干扰素-b治疗HCV

参考文献

第十一章  其它Ｉ型干扰素

一、干扰素-d(interferon delta,IFN-d)

参考文献
二、干扰素-k

参考文献

三、干扰素w(interferon omega ,IFN-w )

参考文献

四、干扰素-t(interferon tau,IFN-t)

参考文献

五、人干扰素-e（interferon epsilon,IFN-e）

参考文献

六、IFN-ζ(zeta)/Limitin

参考文献

第十二章  干扰素-γ

一、概述:干扰素-γ属II型干扰素

二、干扰素-g的临床应用:

参考文献

第十三章  III型干扰素(干扰素-l1-3)

参考文献

第十四章  干扰素诱生剂

一、Aldara （Imiquimod）

参考文献

二、Ampligen

参考文献

三、黄芪

参考文献

四、甘草甜素（Glycyrrhizin）

参考文献

五、其它的免疫调节剂

参考文献

 **干扰素及其临床应用**

第一章  干扰素概述:定义和分类

   英国的病毒学家 [Alick Isaacs](http://en.wikipedia.org/wiki/Alick_Isaacs) 和瑞士的研究者 [Jean Lindenmann](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Jean_Lindenmann&action=edit),在伦顿的国立医学研究所内研究病毒的干扰现象时发现,用灭活的流感病毒处理的鸡胚绒(毛)尿囊膜培养对随后的活流感病毒的繁殖起干扰作用,作者称这种起干扰作用的物质为“干扰素”（Isaacs  et al 1957）,并获得国际公认。

  其实早在1954年，在日本东京大学传染病研究所，有2位日本病毒学家，[Yasu-ichi Nagano](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Yasu-ichi_Nagano&action=edit) 和 [Yasuhiko Kojima](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Yasuhiko_Kojima&action=edit)，在改进天花疫苗时就指出家兔的皮肤或睾丸事先用紫外光灭活的病毒匀浆接种后对随后于同一部位的活病毒感染有抑制作用。作者假说，浆体中存在一种“抑制因子”，是与病毒颗粒分开的。但是，同一浆体也可在小鼠引起抗病毒抗体。直到1958年,将浆体进一步纯化,才证明上述抑制因子是与病毒颗粒分开的。因此日本科学家的工作未得到国际的公认,但是,日本科学家无疑是发现干扰素的先驱者。

   根据干扰素（interferons，IFNs）的定义，干扰素是一类至少在同种细胞上具有广谱抗病毒、抗细胞分裂、免疫调节活性和在不同途径上影响细胞的代谢、生长和分化的蛋白质，其活性的发挥需新合成RNA和蛋白质。它是一类重要的细胞素。经过近半个世纪的基础和临床研究，说明它是一种重要的广谱抗病毒、抗肿瘤治疗药物。(图1-1)

|  |
| --- |
| 干扰素 |

|  |
| --- |
| 与特异性细胞受体结合 |

|  |
| --- |
| 信号传递 |

|  |
| --- |
| 基因激活 |

|  |
| --- |
| 抗细胞增殖活性:细胞膜的改变；细胞骨架的改变；刺激细胞分化；调节生长因子的表达；抑制癌基因的表达；逆转恶化细胞的表型；激活p53基因的表达. |

|  |
| --- |
| 免疫调节活性:诱导其它细胞素的表达；激活巨噬细胞,NK细胞；上调HLA I 和II的表达；调节肿瘤相关抗原的表达. |

|  |
| --- |
| 抗病毒活性:抑制病毒基因的复制. |



图1-1  干扰素的生物学活性示意图

（参考Cytokines & Cells Online Pathfinder Encyclopaedia）
Version 19.4 (April 2007)

   迄今所知, 人干扰素存在多个型别:干扰素-a,b,d,g,e,k,l,t,w,ζ(zeta) /Limitin等型别,它们的主要特点和可能的临床应用见表1-1。

目前看来,IFN-ε, –κ, -τ,和–ζ,在人类仅一种形式:IFN-k。

目前,研究较多、并用于临床治疗的有a,b,g；其它型别干扰素是否有临床应用价值尚在研究之中。

   迄今所知，人、小鼠、牛、马等哺乳动物的干扰素至少有α、β、γ等三个血清抗原型。从不同的干扰素受体来说,人干扰素有I,II和III型（Pestka et al2004）。IFN-a,IFN-b称为I型干扰素；IFN-w和IFN-t等也属于I型；IFN-g为II型干扰素。干扰素l1-3为III型干扰素。历史上曾有一种IFN-b2,早已定名为IL-6，不属于干扰素。在历史上曾有白细胞干扰素，成纤维细胞干扰素，免疫干扰素等名称，现也均已不采用。

表1-1  不同型别干扰素的主要特点和其临床应用或可能的临床用途一览表

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 干扰素型别  | 主要特点 | 临床应用和可能的临床用途 |
| 干扰素-a | 属I型干扰素；约有23个变种。较详细研究的有约13种亚型。分子量为19-26 kDa,由156-166个氨基酸组成。 115-151之间为保守序列。基因集中在9p22。受体基因位于21q22.1。 | 世界上批准用于治疗病毒病和恶性肿瘤的主要干扰素-a有:干扰素-a1b,a2b,a2a。,治疗约40种适应症。包括我国将干扰素-a2b列为预防SARS的储备药物之一。 |
| 干扰素-b | 同属I型干扰素；主要由成纤维细胞所产生,为糖蛋白,166个氨基酸。Cys31/141 之间的二硫键对其生物学活性的发挥是必需的。在 DNA水平上与干扰素a有30 %的同源性。 干扰素a和干扰素-b结合于同一干扰素受体。 | 美国FDA批准治疗多发性硬化。 |
| 干扰素-g | 属II型干扰素；由T细胞和NK细胞刺激所产生。二聚体蛋白质有2处糖基位点，143个氨基酸，无二硫键，对酸不稳定。与干扰素a和b无明显的同源性。基因在12q24.1.受体基因位于6和21对染色体。 | FDA批准治疗慢性淋巴肉芽肿；我国FDA批准治疗类风湿性关节炎,但是确切疗效尚待进一步研究。 |
| 干扰素-w | 属I型干扰素；是人白细胞干扰素的自然成分。又称为干扰素-aII1。与干扰素-a的其它成员高度同源,与之相关的是牛滋养层蛋白质TP-1。干扰素w结合于与干扰素-a和b同样的细胞受体。 | 研究治疗1型丙型肝炎,疗效尚不确定。国内研究干扰素-w预防SARS,并列为预防SARS的储备药物之一。 |
| 干扰素-t | TP-1属1型干扰素,172个氨基酸与IFN-w相关。反刍动物滋养层在植床以前几天分泌多种形式的IFN-t。 在识别母体和建立孕体上起有重要作用。在周围血淋巴细胞中,抗HIV的能力比干扰素-a强35倍, 在导源于单核细胞的巨噬细胞中比干扰素-a强100倍。  | 可能成为潜在的抗肿瘤药物,而无一般干扰素的毒性作用。有报道可以预防实验性变态反应性脑脊髓炎；还能预防实验性脑脊髓炎超级抗原的重新激活。  |
| 干扰素-d  | 属I型干扰素,猪孕体的滋养外胚叶与干扰素-g共同表达,149 个氨基酸。 | 　 |
| 干扰素-l(1-3) | 属III型干扰素（Pestka et al 2004）,包括干扰素-l-1,2和3,也各称为IL-29,IL-28A和IL-28B。基因位于第19对染色体。其受体由2个亚单位组成:CRF2-12(干扰素-lR1)和CRF2-4(IL-10R2)。干扰素-l-1,2和3均通过同一组受体系统进行信号传递。  | 因为与I和II型干扰素的受体有所不同,因而可能治疗新的适应症。 |
| 干扰素-k  | 属I型干扰素；207个氨基酸,N端27个氨基酸是信号肽,与1型干扰素的其它成员有约30%的同源性。与肝素可密切结合。在静止期的树突状细胞和单核细胞可表达干扰素-k mRNA。与干扰素-a和干扰素-b使用同一受体。 | 皮肤是机体最外围的防御器官, 干扰素-k的基因可在上皮角化细胞组成性表达,可能与其功能密切相关。 |
| 人干扰素-e:　  | 属I 型干扰素。189个氨基酸,N端21个氨基酸为信号肽。3个Cys,位于53, 163和175。其中有一个Cys是不参与形成二硫键的。基因在9p21.2-21.3,有2个N糖基化位点, 位于74和83位。在许多成人组织中组成性地表达。 | 动脉硬化症 ? |
| 干扰素-ζ(zeta)/Limitin  | Limitin 是由182个氨基酸组成的蛋白,它与IFN-a,IFN-b,IFN-ω有约30%同源性,是干扰素家族的一个新成员。 | Limitin具有干扰素的活性而无骨髓抑制活性。 |

参考文献:

侯云德:干扰素及其临床应用  江苏人民科技出版社 1981

侯云德:分子病毒学 学苑出版社 1990

Cantell K.:[The Story of Interferon](http://www.tower.com/details/details.cfm?wapi=101842768) 1997
[DANIEL J. J.CARR](http://search.deepdiscount.com/search?w=DANIEL%20J.%20J.%20CARR&categoryId=*&x=0&y=0):Interferon Methods And Protocols Humana Pr Inc 2005

Isaacs, A and Lindenmann, J. (1957) "Virus Interference. I. The interferon" Proc. Roy. Soc. Lond. B Biol. Sci. 147:258-267

Nagano, Y. and Kojima,Y. (1954) “Pouvoir immunisant du virus vaccinal inactivé par des rayons ultraviolets” C.R. Seances Soc. Biol. Fil. 148:1700-1702

Nagano, Y. and Kojima,Y. (1958) “Inhibition de l'infection vaccinale par un facteur liquide dans le tissu infecté par le virus homologue” C.R. Seances Soc. Biol. Fil. 152:1627-1629

Vilcek, Novel interferons. Nature Immunology, 2003, Volume 4, pages 8-9

**第二章  干扰素的诱生和作用机制**

金冬雁 (香港大学李嘉诚医学院)

黎孟枫 (中山大学中山医学院)

一、概述

  五十年前Issacs和Lindenmann在研究病毒干扰时发现了干扰素。半个世纪以来，干扰素研究始终是现代分子生物学的一个前沿领域。对此，我们可以从几个方面来认识。首先，干扰素是第一个发现的细胞因子，也是研究得最清楚的细胞因子之一。干扰素及其他细胞因子是高等动物体内的重要生物调节分子，有关干扰素及细胞因子的研究，长期是细胞与分子生物学的热点。第二，干扰素系统是先天免疫(innate immunity)的重要组成部分。可以说，干扰素系统的基本功能，就是细胞识别和感应外来核酸，并产生相应的生物学效应。干扰素研究推动了分子免疫学的发展。第三，干扰素的临床应用开辟了基因工程制药的新纪元，也反过来促进了干扰素基础研究的深入发展。

  干扰素的诱生和作用机制，是干扰素基础研究的重点，也是其中最活跃和进展最快的领域。干扰素诱生和作用机制的阐明，不仅为其他细胞因子以及先天免疫原理的研究奠定了基础，而且也为基因调控和细胞信号转导两大领域的蓬勃发展作出了重要的贡献。一方面，干扰素的诱生归根结底要取决于基因的表达与调控。干扰素基因是真核基因表达调控研究的重要模型，例如有关增强体(enhanceosome)的概念，就是Maniatis等通过研究b干扰素基因的转录调控而建立的(Maniatis et al., 1998)。另一方面，有关细胞信号转导研究的许多突破，都是从干扰素系统取得的。例如STAT信号转导蛋白，就是在研究干扰素效应基因时所发现的(Schindler et al., 2007)。据不完全统计，仅在2006和2007两年内，以干扰素的诱生和作用机制为主题的综述就有十多篇 (de Weerd et al., 2007; Fujita et al., 2007; Hiscott, 2007; Honda and Taniguchi, 2006; Honda et al., 2006; Kawai and Akira, 2006; Meylan and Tschopp, 2006; Ozato et al., 2007; Paun and Pitha, 2007; Schindler et al., 2007; Uematsu and Akira, 2007; van Boxel-Dezaire et al., 2006; Yoneyama and Fujita, 2007)，可谓琳琅满目。我们认为，本领域在近年内取得的研究成果，特别是在Toll样受体、RIG-I样受体和干扰素信号转导等方面的研究突破，代表了干扰素分子生物学研究发展史上的新里程碑。这些研究成果，不仅丰富了我们对干扰素系统的认识，而且为抗病毒治疗提供了新的靶点和策略，对于病毒和其他病原体的疫苗研究，也有重要的意义。本章将根据2007年以前的文献资料，对干扰素的诱生和作用机制作一简略回顾。限于篇幅，我们的论述比较概括。读者如果希望了解更多细节，可以参考前面所引的多篇综述。

二、Toll样和RIG-I样受体与干扰素的诱生

  近年来有关干扰素诱生方面的主要研究进展，是发现和阐明了Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)和RIG-I样受体(RIG-I-like receptor, RLR)的功能。这两类受体，其识别对象(也可以称为主要配体)是病毒核酸，包括单链和双链RNA。简而言之，病毒或其他病原体侵入细胞后，细胞通过TLR和RLR对病毒核酸以及其他病原体的特征分子(例如细菌脂多糖)进行识别，并进而激活一系列的下游信号转导蛋白，最终导致细胞转录因子的激活和干扰素等效应蛋白的诱生。以病毒核酸及细菌脂多糖为例，此类由病原体所表达、与宿主细胞活性分子有所不同并为细胞TLR和RLR所识别的特征分子或结构，可称为病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)。也可以说，干扰素的诱生，就是由病毒核酸所引发的一种细胞自我保护反应。以下我们分别就TLR和RLR及其在干扰素诱生过程中的作用作一介绍。

1．TLR与干扰素诱生

   TLR的名称来源于果蝇的一种发育调节蛋白Toll。最初的研究表明，缺失Toll蛋白的果蝇特别容易被真菌感染，而且不能诱生一种抗真菌肽(Hoffmann et al., 2003)。以后又发现，Toll基因有缺陷的小鼠突变株对细菌脂多糖的反应性很弱。这些在模式动物中进行的开创性研究，为阐明TLR的生物学功能指明了方向。在哺乳动物细胞中现已发现13种TLR，均为跨膜蛋白。TLR位于胞质内的结构域与白细胞介素1受体的胞质区十分相似，并因此并成为TLR/IL1受体域(Toll/IL1 receptor domain, TIR)；但它们的胞外域却相差很远。TIR可介导蛋白质之间的相互作用，也就是说，来自不同蛋白质的TIR常可相互 结合。各种不同的TLR各司其职，分别识别不同的PAMP。例如TLR4主要识别细菌脂多糖，而TLR9的识别对象是未甲基化的细菌CpG DNA。与病毒感染及干扰素诱生有关的主要是TLR3、TLR7和TLR8，除此以外TLR4和TLR9也有一定的作用。TLR3、TLR7、TLR8和TLR9位于内体膜上，负责识别病毒核酸。而TLR4位于细胞膜上，其识别对象是位于细胞外或细胞表面的病毒蛋白，例如呼吸道合胞病毒的F蛋白。

  内体(endosome)是动物细胞内的一种细胞器，内体膜来自质膜，内体内则含有胞吞的摄入物。病毒常常通过受体介导的胞吞作用进入细胞内，在病毒包膜与内体膜发生融合后，病毒核酸得以释放。一个研究得最清楚的例子就是流感病毒，其M2蛋白是一个质子泵，可保证内体的偏酸性环境，在此条件下其血凝素发生构象改变，从而诱导病毒包膜与内体膜融合，为病毒RNA与内体膜TLR的相互作用创造了条件。作为细胞内与胞吞作用密切相关的细胞器，内体的结构可以保证TLR只与外来入侵的核酸发生反应，而不会识别自身的DNA或RNA。

  TLR3主要识别双链RNA。病毒复制过程中通常会产生双链RNA，而双链RNA及聚肌胞苷酸作为主要的干扰素诱生剂很早就被人们所认识，并应用于实验室研究和临床试验。TLR3的发现，只不过是从分子水平上认识双链RNA诱生干扰素的机制的关键一步。随着TLR3研究的逐步深入，从TLR3与双链RNA结合到干扰素基因转录得到激活的整个信号转导通路，现已基本阐明。简而言之，TLR3与衔接蛋白TRIF均含有TIR结构域，相互间可通过此结构域形成信号转导复合体，激活下游的TBK1和PI3K蛋白激酶，最终使多种被称为干扰素调节因子(interferon regulatory factors, IRF)的转录因子(主要是IRF3、IRF5和IRF7)得到磷酸化修饰，并结合于干扰素基因启动子上的干扰素刺激效应元件(interferon-stimulated response element, ISRE)，激活干扰素基因的转录，从而诱生干扰素(参见图1)。在此同时，TRIF也可以通过TRAF6激活IKK激酶，使细胞质内的IkB抑制蛋白被磷酸化，并进一步因泛素化而被降解，导致NFkB转录因子从细胞质进入细胞核，结合于干扰素基因上的kB位点，并激活基因转录(参见图2-1)。



   图2-1. 干扰素的诱生和作用机制。病毒的各种PAMP (Viral PAMPs)被细胞受体(Receptors)所识别，经过不同的信号衔接蛋白(Adaptors)，激活多种蛋白激酶(Kinases)，对特定的转录因子(Transcription Factors)或其调节蛋白进行磷酸化修饰，导致转录因子从细胞质进入细胞核内，结合于启动子上的相关效应元件，最终激活干扰素基因或干扰素效应基因的转录。引自Fields Virology第五版251页(Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2007)。

  TLR7和TLR8可与单链RNA结合。它们对来自RNA病毒的富含GU的单链RNA比较敏感；但对含有较多修饰碱基的哺乳动物细胞RNA，则相对较不敏感。再加上细胞RNA并不出现于内体，TLR7和TLR8一般不被细胞RNA所激活。这样的机制，可以确保细胞特异性识别病原体核酸，而不对细胞本身的核酸产生过度的反应。TLR7和TLR8通过激活下游信号转导通路诱生干扰素的基本原理，与TLR3类似，仅在细节上略有不同。由于TLR7和TLR8也含有TIR，它们被单链RNA激活后可与衔接蛋白MyD88的TIR结构域相互作用，导致下游的TBK1、MAPK和IKK蛋白激酶被激活，分别激活IRF、AP1(即c-Jun和ATF2的二聚体)和NFkB等三种转录因子，刺激干扰素基因的转录(参见图2-1)。

2．RLR与干扰素诱生

RIG-I的全名是视黄酸诱导基因I(retinoic acid inducible gene I)。顾名思义，RIG-I的表达可被视黄酸所诱导。除此之外，RIG-I既是很强的干扰素诱生剂，其本身的表达也可被干扰素或病毒感染所诱导，构成一个完整的正反馈调节回路。事实上，RIG-I就是日本学者Yoneyama和Fujita等在寻找能够激活干扰素基因启动子的新基因时，从大量cDNA中筛选出来的(Yoneyama et al., 2004)。RIG-I为RNA解旋酶，其羧基端含有解旋酶域，而氨基端则有两个胱冬蛋白酶募集域(caspase recruitment domain, CARD)。CARD由六段反平行a螺旋所组成，主要可介导蛋白质间的相互作用。也就是说，不同蛋白质可通过各自的CARD相互结合。这一特点与TIR类似。比起TLR，RLR家族的成员要少得多；目前只发现三个结构极相似的RLR，也就是RIG-I、MDA5和LGP2。由于对RIG-I研究最多，以下的讨论将集中于RIG-I。

RIG-I位于细胞质内，而且RIG-I与双链RNA的结合最强，因此，RIG-I被认为是细胞质内双链RNA的特异性传感蛋白。然而，最近的研究表明，RIG-I不仅可与双链RNA结合，也可以识别带有5¢三磷酸的单链RNA，例如流感病毒和狂犬病毒的基因组RNA，以及通过体外转录制备的带有5¢三磷酸的单链RNA(Hornung et al., 2006; Pichlmair et al., 2006)。细胞RNA的初级转录物与病毒RNA一样，都带有5¢三磷酸，那么RIG-I是如何区分细胞与病毒RNA的呢？我们知道，细胞RNA要经过多种转录后加工，例如mRNA的加帽以及tRNA的碱基修饰等。研究表明，经过加工的细胞RNA不再被RIG-I所识别(Hornung et al., 2006)，所以推断细胞RNA的加工和修饰应当是RIG-I得以区分细胞与病毒RNA的关键。

  病毒单链和双链RNA被RIG-I所识别后，ATP继而也与RIG-I的解旋酶域相结合，诱导RIG-I发生构象改变，暴露出原来隐蔽在蛋白质内部的CARD，以便与下游信号衔接蛋白VISA(又称为IPS1、MAVS或Cardif)的CARD结构域相互作用。VISA位于线粒体外膜，可通过细胞质内的TRAF3将RIG-I的激活信号传递给下游的TBK1和IKK蛋白激酶，导致IRF3/7和NFkB的激活和干扰素基因的表达。这后面几步的信号转导，在刺激干扰素诱生的各种机制中，基本都是共同的(参见图1)。

  除识别病毒的单链和双链RNA以外，细胞仍需对DNA病毒作出反应。而在某些自身免疫病中，细胞对自身的DNA也会出现免疫反应。我们知道，即使DNA病毒在复制过程中也可能出现双链RNA，并因此诱生干扰素。同时，在病毒感染及组织损伤过程中，双链DNA也可诱生干扰素。最近日本学者Taniguchi的研究组发现了位于细胞质内一种新的双链DNA传感蛋白，他们称之为依赖DNA的IRF激活蛋白(DNA-dependent activator of IRF，DAI)，又名ZBP1和DLM1。DAI可与双链DNA结合，并通过TBK1激活IRF3/7。采用RNA干扰的技术阻断DAI的表达后，双链DNA不再能够诱生干扰素。因此，DAI可能是细胞识别外来DNA的重要一环(Takaoka et al., 2007)。

  前面分别介绍了TLR和RLR诱生干扰素的机制，但这两种机制在细胞是如何分工配合的呢？TLR和RLR均可识别各种形式的病毒核酸，但它们在细胞中所处的位置不同。TLR主要位于细胞表面和内体膜，而RLR以及DAI都在细胞质内。如果说TLR负责的是第一道防线，那么RLR和DAI就是细胞对病毒作出反击的第二道防线。TLR和RLR识别的对象都是病毒核酸，而它们诱生干扰素的信号转导通路也有相当一部分有所重叠。两种诱生机制的密切配合，可以确保细胞对病毒感染的各种复杂情况作出准确有效的反应。

  除TLR和RLR之外，PKR蛋白激酶也可以被双链RNA所激活(García et al., 2006)。PKR激活后可诱导多种生物学效应，其中之一就是通过TRAF3而激活IKK激酶，最后导致NFkB的激活和干扰素的诱生(参见图2-1)。从这个意义上也可以说，PKR是TLR和RLR以外参与干扰素诱生的另一种病毒核酸受体。

3．干扰素基因表达的调控

  b干扰素基因表达的调控，是研究真核基因转录调控的重要模型。目前有关干扰素基因表达调控的主要结论，基本出自b干扰素基因的实验研究。经过比较a干扰素和b干扰素基因的顺式调节元件，发现两者十分相似。最近，对于Ⅰ型和Ⅲ型干扰素基因的启动子和增强子元件的比较研究也表明，这两类干扰素尽管受体有所不同，但其诱生机制是基本相同的(Onoguchi et al., 2007；Österlund et al., 2007)。至于g干扰素(即Ⅱ型干扰素)，则主要是由T细胞、天然杀伤细胞和天然杀伤T细胞所分泌的；其诱生机制有所不同，是通过由细胞因子激活Janus激酶(JAK)及STAT信号通路，并最终激活STAT、NFkB、AP1和T-bet等转录因子而实现的(Young, 2006)。

  从图2-1中可见，Ⅰ型和Ⅲ型干扰素基因的正调节元件主要包括ISRE、AP1位点和kB位点。与ISRE结合的主要是IRF家族的转录因子，包括IRF3、IRF5和IRF7。与AP1位点结合的反式激活蛋白就是AP1，即由c-Jun和ATF2两种bZIP家族的转录因子所组成的异源二聚体。至于kB位点，则是转录因子NFkB的靶位点。各种诱生干扰素的上游刺激信号，最终都要通过IRF、AP1和NFkB这三种转录因子才能发挥作用。

在Ⅰ型和Ⅲ型干扰素诱生的过程中，IRF、AP1和NFkB三种转录因子之间也存在协同关系。它们需要共同组成一个高分子量的蛋白质复合体，才能实现增强干扰素基因转录活性的功能。这一蛋白质复合体，就叫增强体(enhanceosome)。增强体形成后，还要募集更多的转录调节蛋白，例如具有组蛋白乙酰转移酶活性的GCN5和CBP。组蛋白的乙酰化，将进一步诱导核小体的修饰，通过染色质重塑(chromatin remodeling)而刺激干扰素基因的转录。

三、干扰素受体、其他信号转导蛋白及干扰素作用机制

  在分子水平上分析干扰素的作用机制，其基本模式和规律与干扰素的诱生也有几分类似(参见图2-1)。其中某些转录因子，例如IRF类的转录因子，在干扰素的诱生和作用机制中都有特定的功能，从一定意义上反映了它们之间的有机联系。无论是干扰素的诱生，还是干扰素对细胞的作用，都包括以下几个关键步骤。第一，是配体与受体的结合。例如病毒核酸与TLR和RLR的结合，或干扰素与干扰素受体的结合。第二，是配体与受体结合后将激活信号传递给下游的衔接蛋白。此类衔接蛋白未必有催化活性，但多含有介导蛋白质间相互作用的结构域。它们的主要作用就是承上启下，把从受体上所收到的激活信号以接力的方式传给下游的蛋白激酶。在某些情况下，参与信号转导的衔接蛋白可能不只一个。第三，衔接蛋白激活蛋白激酶，对转录因子或与转录因子结合的抑制蛋白进行磷酸化修饰。第四，转录因子被激活后，从细胞质内易位，进入细胞核内，并激活干扰素基因或干扰素效应基因的表达。

  近年来对干扰素作用机制的研究成果，主要集中在信号转导方面。以下我们将分别就干扰素受体、JAK-STAT信号转导通路、IRF转录因子以及干扰素效应基因等方面作些简单介绍。

1．干扰素受体

  Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型干扰素的受体各有不同，但其共同的特点是均由两个亚基组成，并通过形成异源二聚体而激活。Ⅱ型干扰素的受体由IFNGR1和IFNGR2两个亚基组成；其中IFNGR1可与g-干扰素结合，而IFNGR2则为辅助亚基。g干扰素与受体结合后，IFNGR1和IFNGR2形成异源二聚体，通过激活JAK-STAT信号转导通路，使STAT1转录因子与g干扰素效应基因启动子内的g干扰素激活序列(IFN-g-activated sequence, GAS)结合，刺激此类基因的表达。Ⅲ型干扰素的受体由IL28R1和IL10R2两个亚基组成，其下游的信号转导通路也是JAK-STAT (Sheppard et al., 2002)。以下着重介绍的是I型干扰素的受体。

  I型干扰素受体由IFNAR1和IFNAR2两个亚基组成。IFNAR1和IFNAR2均可与干扰素结合，但必须在两个亚基同时表达的情况下与干扰素的结合的亲和力才能达到最高。通过可变剪接，IFNAR1和IFNAR2可以形成多个功能并不完全相同的剪接变体。其中有些剪接变体失去了跨膜区，成为可溶性受体；它们与干扰素结合后，在不同情况下既可抑制也可刺激干扰素的活性，可以起到一定的调节作用。多年来，采用核磁共振和定点诱变等技术研究过人IFNAR2的结构及其与a2干扰素的结合。IFNAR2的胞外区含有两个免疫球蛋白样结构域，各形成两对高度保守的二硫键。IFNAR2上与干扰素结合的残基主要为疏水性的脂肪族氨基酸，它们在分子表面形成一个疏水带。不同亚型干扰素一级结构上的差异，决定了它们与I型干扰素受体结合的亲和力各有不同，并因此产生不同的生物学效应。I型干扰素受体没有激酶活性，但其胞质区可与JAK结合，并通过JAK对STAT转录因子进行磷酸化修饰，最终导致I型干扰素效应基因的表达。与I型干扰素受体结合的还有负调节蛋白SOCS，SOCS可以抑制JAK对STAT的磷酸化。

2．JAK-STAT信号转导通路

  从前面的叙述中就可以看到，JAK-STAT信号转导通路在各型干扰素的作用机制中都有重要的地位。除此以外，JAK-STAT也可介导各种细胞因子的生物学作用(Shuai and Liu, 2003; Murray, 2007)。JAK包括Jak1、Jak2、Jak3和Tyk2四种酪氨酸激酶，而STAT家族的转录因子则包括STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5和STAT6等七种兼有信号转导及转录激活活性的蛋白质。不同的JAK和STAT蛋白相互配合，构成复杂的信号网络，将干扰素及其他细胞因子与受体结合所启动的信号，分别最终转化为细胞核内转录因子的特异性激活以及效应基因的特异性表达。

  JAK-STAT信号转导通路的激活是从JAK结合于干扰素受体胞质区的靠近质膜一端而开始的。由于IFNAR1和IFNAR2可分别与Tyk2和Jak1结合，推断它们可以通过交互磷酸化，使各自的酪氨酸激酶活性得到激活。激活的JAK可对干扰素受体胞质区的酪氨酸残基进行磷酸化修饰。由于STAT含有专门识别磷酸化酪氨酸的SH2结构域，因此受体磷酸化后STAT也被募集到受体的胞质区，继而也被JAK所磷酸化，并形成二聚体，随后进入细胞核内。STAT1-STAT1同源二聚体可以直接结合于GAS，激活g干扰素效应基因的转录。而STAT1-STAT2异源二聚体则与IRF9转录因子形成三元复合物，被称为干扰素刺激基因因子3 (interferon-stimulated gene factor 3, ISGF3)。ISGF3结合于干扰素效应基因(例如P56、P15等)启动子的ISRE元件上，导致基因转录的激活(参见图2-1)。在美国工作的华人学者傅新元，是最早发现上述作用机制的科学家之一 (Fu, 1992)。

  JAK-STAT在干扰素和其他细胞因子作用机制中担当着承上启下的角色，它们一方面要接收来自受体的输入信号，另一方面又要向效应基因输出控制信号。在此过程中，JAK-STAT并不是简单的信差，而是兼有信号加工、整合和放大等功能。而且，JAK-STAT信号转导还受到严格的调控。前面叙及可与干扰素受体结合的SOCS蛋白，就是调节JAK-STAT功能的一类比较重要的抑制因子。除此之外，STAT的活性还可通过去磷酸化、蛋白酶解、乙酰化、O-糖基化、泛素化、苏素化(即与泛素样蛋白SUMO缀合)、ISG化(即与泛素样蛋白ISG15缀合)等方式进行调控。改变STAT因子输入或输出细胞核的相对比例，也是重要的调控方式。

3．IRF转录因子

  前面已经谈到IRF转录因子在干扰素诱生和作用机制中均有重要功能。IRF家族包括从IRF1到IRF9等九个成员。所有IRF蛋白都含有高度保守的DNA结合域，大约由120个氨基酸组成。这一DNA结合域位于氨基端，可形成螺旋-转角-螺旋结构。IRF所识别的ISRE元件的共有序列为GAAANN和AANNNGAA，见于干扰素基因及干扰素效应基因；后者常被称为干扰素刺激基因(interferon-stimulated genes, ISG)。除IRF1和IRF2之外，IRF蛋白的羧基端含有IRF结合域(IRF association domain, IAD)，负责与其他家族的蛋白或转录因子结合；例如IRF9可与STAT1-STAT2结合形成ISGF3。IAD与SMAD转录因子的MH2结构域有点相似。在诱生干扰素过程中最为重要的几个IRF是IRF3、IRF5和IRF7。IRF3与IRF7高度同源，它们对I型干扰素诱生的关键性作用，已通过基因敲除小鼠而得到充分证明。IRF3在各种细胞中均有组成性的表达；IRF7在多数细胞的表达量很低，却可被I型干扰素所诱导。值得注意的是，IRF3和IRF7均受到与IKK相关的蛋白激酶TBK1和IKKe的调节。它们的羧基端IAD结构域可被TBK1和IKKe所磷酸化，通过X射线衍射技术研究IRF3的结构，发现IAD的两个亚域可形成高度致密的疏水核，将几个关键的氨基酸残基埋藏起来，从而抑制IRF3的二聚化和激活。病毒感染后诱导TBK1和IKKe对上述亚域内的残基进行磷酸化修饰，可解除原有的抑制活性，导致IRF3的激活。这些研究阐明了IRF3和IRF7激活的结构基础。

4．干扰素效应基因

  干扰素的效应基因林林总总，介导了多种多样的生物学功能。对于几种主要的干扰素效应基因，文献中已有充分的介绍(Samuel, 2001)。例如介导干扰素的抗病毒活性的主要是PKR蛋白激酶、2¢,5¢-寡腺苷酸合成酶(2¢,5¢-oligoadenylate synthetase, OAS)、RNA酶L、RNA特异性腺苷脱氨酶(RNA-specific adenosine deaminase, ADAR)和Mx蛋白。以下首先对这几种干扰素效应基因作一简单评述。

PKR的主要作用是对翻译起始因子eIF2a进行磷酸化，从而抑制细胞及病毒mRNA的翻译。OAS可通过本身的酶活性促使RNA酶L的激活，从而导致病毒RNA的非特异性降解。ADAR是催化RNA编辑的一种重要的RNA修饰酶，可将腺苷改变为肌苷。这样，双链RNA中的A就转变为I，碱基配对被破坏。病毒RNA的编辑可导致编码信息及生物学功能的重大改变。现已证明，Mx蛋白具有GTP酶活性，而且这一活性是其抗病毒功能所必需的。Mx蛋白可以识别流感病毒及布尼亚病毒的核壳样结构，并改变其亚细胞定位，从而影响病毒颗粒的装配(Haller et al., 2007)。

  除上述几种与抗病毒作用有关的干扰素效应基因以外，近年来采用cDNA微阵(cDNA microarray)技术进行分析，还发现或证实了其他一些重要的干扰素效应基因，包括Ⅰ类和Ⅱ类MHC分子、P56蛋白(即ISG56蛋白)和P15蛋白(即ISG15蛋白)。其中MHC分子表达水平的升高，可能与细胞免疫反应的增强有关。P56含有多个34肽重复序列，可介导与其他蛋白质的相互作用。P56的其中一个结合蛋白是Int6，也就是翻译起始因子eIF3的一个亚基。因此，P56可以抑制蛋白质的合成(Sen and Peters, 2007)。P15蛋白是一种小分子的泛素样蛋白。与泛素和苏素相类似，P15也可在E1、E2和E3等三种酶的作用下缀合到其他蛋白质上。这种翻译后修饰作用可以调节多种蛋白质的活性，例如前面谈到的JAK、STAT和RIG-I蛋白。此外，UBP43蛋白酶还可以切除蛋白质上的P15。因此，P15对蛋白质的可逆性修饰可以象分子开关一样，特异性打开或关闭某种活性。这种分子开关的特性与蛋白质的磷酸化-去磷酸化、乙酰化-去乙酰化和泛素化-去泛素化等类似。

  干扰素的作用究竟与RNA干扰(RNA interference, RNAi)或微RNA (microRNA, miRNA)的功能有何关系，目前还很不清楚。但我们知道，与PKR结合并调节其活性的两种双链RNA结合蛋白TRBP和PACT，也可与介导miRNA产生及RNAi作用的Dicer核酸酶结合(Kok et al., 2007)。它们在功能上有何内在联系，仍待进一步深入研究。另一方面，最近发现b干扰素可诱生多种细胞miRNA，其中一些miRNA可与丙型肝炎病毒RNA结合，并抑制其活性。同时，干扰素可抑制另一个可促进丙型肝炎病毒复制的细胞miRNA的表达(Pedersen et al., 2007)。因此，干扰素可以通过调节细胞miRNA的表达而发挥抗病毒功能。

四、病毒对干扰素系统的抑制作用

  由于病毒与宿主细胞之间长期的相互作用及共同进化，病毒采用多式多样的反措施来对抗和抑制干扰素系统的作用，也就不出为奇了。近年来对这一领域的研究非常活跃，有关论文的数目很多，内容很丰富，进展也很快。因此，要对这方面的研究动态进行全面深入的介绍，很不容易。表1中我们选取了几个较有代表性的例子，简单介绍了病毒蛋白或RNA对干扰素系统的抑制作用。结合表2-1列出的例子，以下我们再分别从三个方面，概括地介绍病毒对干扰素的诱生、干扰素信号转导及干扰素效应基因的抑制作用。

病毒可以通过多种方式抑制干扰素的诱生。首先，双链RNA是主要的干扰素诱生剂。多种病毒均可编码双链RNA结合蛋白，从而规避干扰素的诱生。研究较多的病毒双链RNA结合蛋白包括流感病毒NS1、Ebola病毒VP35、痘苗病毒E3L、单纯疱疹病毒US11等，均有抑制干扰素诱生的活性。病毒对抗干扰素诱生的第二种策略，就是与RLR结合并阻断其功能。例如流感病毒NS1就可与RIG-I结合，并抑制其诱生干扰素的活性(Pichlmair et al., 2006)。病毒的第三种策略，就是抑制参与干扰素诱生的信号转导蛋白。其中研究较深入的例子，就是丙型肝炎病毒的NS3-4蛋白酶。该酶可以作用于TRIF、TBK1和VISA蛋白，甚至直接将其降解，从而抑制干扰素的诱生(Li et al., 2005; Meylan et al., 2005; Otsuka et al., 2005)。此外，多种病毒蛋白均可抑制IRF3或IRF7的激活，或可加速其蛋白质组解。最后，病毒还可以通过抑制细胞mRNA的转录及蛋白质合成来对抗干扰素的诱生。流感病毒的NS1是一种多功能蛋白，除有前述抑制RIG-I等作用以外，还可以抑制一种与细胞前mRNA 3¢末端的加工有关的蛋白CPSF30，从而抑制细胞功能性mRNA的产生。有部分学者认为，这一活性对NS1抑制干扰素诱生起到十分重要的作用(Kash et al., 2006)。

表2-1. 病毒对干扰素系统的抑制作用举例

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 病毒蛋白(或RNA) | 细胞蛋白 | 作用机制 |
| 流感病毒NS1 | RIG-I、PKR、IRF3等 | 与之结合后抑制其活性、抑制蛋白质合成 |
| 丙型肝炎病毒NS3-4 | TRIF、TBK1、VISA | 切割细胞蛋白使其失去功能 |
| SARS冠状病毒NSP1 | STAT1 | 降低其磷酸化水平 |
| 轮状病毒NSP1 | IRF3 | 加速其蛋白酶解 |
| 痘苗病毒A46R | TLR4、MyD88、TRIF等 | 与TIR结合后阻止其与其他蛋白结合 |
| Ebola病毒VP35 | RIG-I | 与双链RNA结合后阻断RIG-I功能 |
| 巨细胞病毒 pp65 | IRF3 | 阻止IRF3从细胞质进入细胞核 |
| KSHV病毒RTA | IRF7 | 加速其蛋白酶解 |
| EB病毒BZLF1 | IRF7 | 阻断其功能 |
| 单纯疱疹病毒ICP0 | PI3K | 抑制其激酶活性 |
| 腺病毒VAI  (RNA) | ADAR | 抑制其RNA编辑活性 |
| EB病毒EBER1 (RNA) | PKR | 抑制其激酶活性 |

  病毒对干扰素系统的抑制作用，还可表现在病毒蛋白对干扰素信号转导通路的负调节活性。例如SARS冠状病毒的多个病毒蛋白，都可抑制干扰素的诱生或作用。其中NSP1蛋白可以选择地降低STAT1的磷酸化水平，但对STAT2、Jak1和Tyk2则没有影响(Wathelet et al., 2007)。此外，狂犬病毒P蛋白不仅可以抑制STAT1从细胞质进入细胞核内，还可以抑制核内STAT1的DNA结合活性(Vidy et al., 2007)。由于STAT1活性被抑制，ISGF3无法正常工作，干扰素的作用可被有效抑制。

   不少病毒对干扰素效应基因也有抑制作用。例如腺病毒的VAI和EB病毒的EBER1或EBER2，都是具有调节功能的病毒小RNA。它们可形成具有多个双链区的复杂二级结构，与PKR结合后可抑制其蛋白激酶活性(Langland et al., 2006)。对于VAI抑制ADAR酶活性的作用，也有报道(Lei et al., 1998)。此外，也有一些学者相信，丙型肝炎病毒的NS5A蛋白，对PKR、OAS和RNA酶L具有抑制作用(Bode et al., 2007)。

  从以上的介绍中可以看到，病毒对干扰素系统的抑制作用，是十分复杂多样的。不仅同一种病毒可以有多种对抗干扰素的机制，同一种病毒蛋白也可能通过多个细胞靶蛋白而起作用。限于篇幅，我们的讨论比较概括。希望了解更多细节的读者，可以参考近期的多篇综述 (García-Sastre and Biron, 2006; Haller et al., 2006; Roy and Mocarski, 2007; Weber and Haller, 2007)。

参考文献：

侯云德，金冬雁： 现代分子病毒学选论科学出版社 1994

Bode, J.G., Brenndörfer, E.D., and Häussinger, D. (2007).Subversion of innate host antiviral strategies by the hepatitis C virus. Arch. Biochem. Biophys. 462, 254-265.

de Weerd, N.A., Samarajiwa, S.A., and Hertzog, P.J. (2007). Type I interferon receptors: biochemistry and biological functions. J. Biol. Chem. 282, 20053-20057.

Fu, X.Y. (1992). A transcription factor with SH2 and SH3 domains is directly activated by an interferon a-induced cytoplasmic protein tyrosine kinase(s). Cell 70, 323-335.

  Fujita, T., Onoguchi, K., Onomoto, K., Hirai, R., and Yoneyama, M. (2007) Triggering antiviral response by RIG-I-related RNA helicases. Biochimie 89, 754-760.

García-Sastre, A., and Biron, C.A. (2006). Type 1 interferons and the virus-host relationship: a lesson in détente.  Science 312, 879-882.

  García, M.A., Gil, J., Ventoso, I., Guerra, S., Domingo, E., Rivas, C., and Esteban, M. (2006). Impact pf protein kinase PKR in cell biology: from antiviral to antiproliferative action. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 70, 1032-1060.

  Haller, O., Kochs, G., and Weber, F. (2006). The interferon response circuit: Induction and suppression by pathogenic viruses. Virology 344, 119-130.

Haller, O., Staeheli, P., and Kochs, G. (2007). Interferon-induced Mx proteins in antiviral host defense. Biochimie 89, 812-818.

  Hiscott, J. (2007). Triggering the innate antiviral response through IRF-3 activation. J. Biol. Chem. 282, 15325-15329.

  Hoffmann, J.A. (2003). The immune response of Drosophila. Nature 426, 33-38.

Honda, K., and Taniguchi, T. (2006). IRFs: master regulators of signalling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. Nat. Rev. Immunol. 6, 644-658.

  Honda, K., Takaoka, A., and Taniguchi, T. (2006). Type I interferon gene induction by the interferon regulatory factor family of transcription factors. Immunity 25, 349-360.

  Hornung, V., Ellegast, J., Kim, S., Brzozka, K., Jung, A., Kato, H., Poeck, H., Akira, S., Conzelmann, K.K., Schlee, M., Endres, S., and Hartmann, G.

(2006)5′-Triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. Science 314, 994-997.

Kawai, T., and Akira, S. (2006). TLR signaling. Cell Death Differ. 13, 816-825.

Kash， J.C., Goodman, A.G., Korth, M.J., and Katze, M.G. (2006). Hijacking the host-cell reponse and translational control during influenza virus infection. Virus Res。 119, 111-120.

  Kok, K.H., Ng, M.-H. J., Ching, Y.-P.， and Jin, D.-Y. (2007). Human TRBP and PACT interact with each other and associate with Dicer to facilitate the production of small interfering RNA. J. Biol. Chem. 282, 17649-17657.

  Langland, J.O., Cameron, J.M., Heck, M.C., Jancovich, J.K., Jacobs, B.L. (2006). Inhibition of PKR by RNA and DNA viruses. Virus Res. 119, 100-110.

  Lei, M., Liu, Y., and Samuel, C.E. (1998). Adenovirus VAI RNA antagonizes the RNA-editing activity of the ADAR adenosine deaminase. Virology 245, 188-196.

  Li, K., Foy, E., Ferreon, J.C., Nakamura, M., Ferreon, A.C., Ikeda, M., Ray, S.C., Gale, M. Jr., and Lemon, S.M. (2005). Immune evasion by hepatitis C virus NS3/4A protease-mediated cleavage of the Toll-like receptor 3 adaptor protein TRIF. Proc Natl Acad Sci USA 102, 2992-2997.

  Maniatis, T., Falvo, J.V., Kim, T.H., Kim, T.K., Lin, C.H., Parekh, B.S., and Wathelet, M.G. (1998). Structure and function of the interferon-b enhanceosome. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 63, 609-620.

  Meylan, E., Curran, J., Hofmann, K., Moradpour, D., Binder, M., Bartenschlager, R., and Tschopp, J. (2005). Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. Nature 437, 1167-1172.

  Meylan, E., and Tschopp, J. (2006). Toll-like receptors and RNA helicases: two parallel ways to trigger antiviral responses. Mol. Cell 22, 561-569.

  Murray, P.I. (2007). The JAK-STAT signaling pathway: input and output integration. J. Immunol. 178, 2623-2629.

  Onoguchi, K., Yoneyama, M., Takemura, A., Akira, S., Taniguchi, T., Namiki, H., and Fujita, T. (2007. Viral infections activate types I and III interferon genes through a common mechanism. J. Biol. Chem. 282, 7576-7581.

Österlund, P.I., Pietilä, T.E., Veckman, V., Kotenko, S.V., and Julkunen, I. (2007). IFN regulatory factor family members differentially regulate the expression of type III IFN (IFN-λ) genes. J. Immunol. 179, 3434-3442.

Otsuka, M., Kato, N., Moriyama, M., Taniguchi, H., Wang, Y., Dharel, N., Kawabe, T., and Omata, M. (2005). Interaction between the HCV NS3 protein and the host TBK1 protein leads to inhibition of cellular antiviral responses. Hepatology 41, 1004-1012.

Ozato, K., Tailor, P., and Kubota, T. (2007). The interferon regulatory factor family in host defense: mechanism of action. J. Biol. Chem. 282, 20065-20069.

Paun, A., and Pitha, P.M. (2007). The IRF family, revisited. Biochimie 89, 744-753.

Pedersen, I.M., Cheng, G., Wieland, S., Volinia. S., Croce, C.M., Chisari, F.V., and David, M. (2007). Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. Nature 449, 919-922.

Pichlmair, A., Schulz, O., Tan, C. P., Naslund, T. I., Liljestrom, P., Weber, F., and Reis e Sousa, C. (2006). RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5′-phosphates Science 314, 997-1001.

Roy, C.R., and Mocarski, E.S. (2007). Pathogen subversion of cell-intrinsic innate immunity. Nat. Immunol. 8, 1179-1187.

Schindler, C., Levy, D.A., and Decker, T. (2007).JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. J. Biol. Chem. 282, 20059-20063.

Sen, G.C., and Peters, G.A. (2007).Viral stress-inducible genes.
Adv. Virus Res. 70, 233-263.

Sheppard, P., Kindsvogel, W.,  Xu, W., Henderson, K., Schlutsmeyer, S., Whitmore, T.E., Kuestner, R., Garrigues, U., Birks, C., Roraback, J.,Ostrander, C., Dong, D., Shin, J., Presnell, S., Fox, B., Haldeman, B., Cooper, E., Taft, D., Gilbert, T., Grant, F.J., Tackett, M., Krivan, W., McKnight, G., Clegg, C., Foster, D., and Klucher, K.M. (2003). IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. Nat. Immunol. 4, 63-68.

Shuai, K., and Liu, B. (2003). Regulation of JAK-STAT signaliing in the immune system Nature Reviews Immunol. 3, 900-911.

Takaoka, A., Wang, Z.C., Choi, M.K., Yanai, H., Negishi, H., Ban, T., Lu, Y., Miyagishi, M., Kodama, T., Honda, K., Ohba, Y., and Taniguchi, T. (2007). DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response Nature 448, 501-505.

Uematsu, S., and Akira, S. (2007). Toll-like receptors and type I interferons. J. Biol. Chem. 282, 15319-15324.

van Boxel-Dezaire, A.H.H., Rani, M.R.S., and Stark, G.R. (2006). Complex modulation of cell type-specific signaling in response to type I interferons. Immunity 25，361-372.

Vidy, A., El Bougrini, J., Chelbi-Alix, M.K., Blondel, D. (2007) The nucleocytoplasmic rabies virus P protein counteracts interferon signaling by inhibiting both nuclear accumulation and DNA binding of STAT1. J Virol. 81, 4255-4263.

Wathelet, M.G., Orr, M., Frieman, M.B., and Baric, R.S. (2007). Severe acute respiratory syndrome coronavirus evades antiviral signaling: role of nsp1 and rational design of an attenuated strain. J. Virol. 81, 11620-11633.

Weber, F., and Haller, O.(2007). Viral suppression of the interferon system. Biochimie 89, 836-842.

Yoneyama, M., and Fujita, T.(2007). Functions of RIG-I-like receptors in antiviral innate immunity. J. Biol. Chem. 282, 15315-15318.

Yoneyama, M., Kikuchi, M., Natsukawa, T.,Shinobu, N.,Imaizumi, T.,Miyagishi, M., Taira, K., Akira, S., and Fujita, T. (2004). The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. Nat. Immunol. 5, 730-737.

Young, H. (2006). Unraveling the pros and cons of interferon-g gene regulation. Immunity 24, 506-507.

**第三章  干扰素-a (interferon alpha, IIFN-a)**

一、概述:

干扰素-a历史上曾用名为:

B-细胞干扰素([B-cell interferon)](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?000873)；
血浆沉淀淡黄色表层干扰素([Buffy coat interferon)](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?001277)；
外源性细胞干扰素([Foreign cell-induced interferon](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?003314))；
白细胞干扰素([Leukocyte interferon](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?005083),[LeIFN](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?005034))；
淋巴母细胞干扰素([Lymphoblast interferon](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?005256),[LyIFN-alpha](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?005254))；
类淋巴母细胞干扰素([Lymphoblastoid interferon](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?005257),[LyIFN-alpha](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?005254))；
[Namalwa细胞干扰素( Namalwa interferon](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?006049))；
[pH2-稳定干扰素(pH2-stable interferon)；](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?006733)

I型干扰素([Type-1 interferon)](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?008688)；
RSV-诱导因子([RSV-induced factor](http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?007250))。
   干扰素-a是由单核细胞/巨噬细胞,类淋巴母细胞,成纤维细胞和一系列不同的细胞在病毒,核酸,肾上腺皮质激素和低分子物质(n-丁酸盐, 5-溴去氧尿苷)诱导下产生的。

  不同的干扰素-a约有23个变种。经详细研究而肯定的有13种亚型[IFNA1](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA1), [IFNA2](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA2), [IFNA4](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA4), [IFNA5](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA5), [IFNA6](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA6), [IFNA7](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA7), [IFNA8](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA8), [IFNA10](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA10), [IFNA13](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA13), [IFNA14](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA14), [IFNA16](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA16), [IFNA17](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA17),[IFNA21](http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/data/get_data.php?gd_app_sym=IFNA21)。分子量为 19-26 kDa,由149-172个氨基酸组成。干扰素a的基因长约1-2 kb,集中在染色体 9p22。

  所有干扰素-a具有共同的保持序列，位于115-151，而N端却变异较大。有4个Cys, 位于1，29，99，139。在1-99和29-139之间形成二硫键，其中29-139之间的二硫键对生物学活性的发挥是必需的；IFN-a1b在86位有第5个Cys。1-99的二硫键对活性影响不大。IFN-a2b,2a,1a、b、c、d、e无N糖基化位点。

IFN-a2b对pH2是稳定的。IFN-a2b基因位于9p22。不含内涵子，编码165个氨基酸。

   所有细胞素在结构上呈4 束α螺旋: 上、上、下、下, 称为A、B、C、D,由2个长环( AB和CD)和1个短环(BC)所连接。干扰素有一额外的α螺旋,以替代一长环CD；IFNs的5个α螺旋的排列是:上、上、下、上、下,标为A—E。（图3-1）



                                图3-1 干扰素-α的结构

人干扰素-a基因结构及其编码多肽组成情况的比较详见表3-1：

表3-1 人干扰素-a基因结构及其编码多肽组成情况的比较

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 分子结构 | A | B | C | D | F | H | K | L |
| 分泌信号 | 23 | 23 | 23 | 23 | 23 | 23 | 23 | 23 |
| 起始氨基酸 | C | C | C | C | C | C | C | C |
| 终止密码子 | TGA | TGA | TGA | TAA | TGA | TGA | TGA | TGA |
| 氨基酸数 | 165 | 166 | 166 | 166 | 166 | 166 | 166 | 166 |
| MW(KD) | 19219 | 19472 | 19384 | 19392 | 19308 | 19719 | 19683 | 19497 |
| 内含子 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S-X-T(S) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 信号肽切割位点 | G-C | G-C | G-C | G-C | G-C | G-C | G-C | G-C |

 成人在生理条件下，无病毒感染或其它刺激物存在的条件下不诱生干扰素-a，在周围血中测出干扰素-a，常表示有病理情况。

  1986年美国FDA 首先同时批准基因工程干扰素-α2a(Roche 公司)和干扰素-α2b (Schering Plough公司)投放市场；基因工程干扰素-β、γ也相继于1990年、1993年获准投放市场。目前有90多个国家批准干扰素治疗约40多种疾病。

  国内由中国预防医学科学院病毒学研究所等单位共同研制并开发的人α1b型、α2a型,a2b型,g型基因工程干扰素已经我国药品监督管理局批准投放市场,它是我国经国家正式批准的第一批基因工程高技术药物,其中人基因工程干扰素-α1b系我国首创,与国外同类产品比较,具有副作用低的优点。但是，国际上干扰素的许多适应症是使用干扰素a2b型获得的；也是使用量最大的。深圳科兴生物技术公司，北京三元基因公司等生产的是干扰素-α1b；北京远策药业,北京凯因生物等公司等生产的是干扰素-a2b（rIFN-a2b）。

二、人干扰素-α的亚型

   关于人干扰素-a不同亚型的标记，过去文献上比较混乱，大致可以归纳如表3-2。

表3-2 人干扰素-a不同亚型的标记

|  |  |
| --- | --- |
| 重组干扰素 | 自然干扰素 |
| Goeddel 等 | Nagata等 | Rubinstein等 | Hobbs 等 |
| A | α2 | α1  | (a) |
| B |   | α2 | b1 |
| C,C1 |   | β1 | b2 |
| D  | α1 | β2 | b3 |
| E |   |   |   |
| F | α6 | β3 | c1 |
| G | α7 | γ1 | c2 |
| H | α8 | γ2 | c3 |
| I | φα10 | γ3 | d1 |
| J-1,J-2 | α11 | γ4 | d2 |
| K | α13 | γ5 |   |
| L | α14 |   |   |

(引自Langer et al 1985)

     此外还有:IFN-a4a,IFN-a4B,IFN-a5,IFN-a74,IFN-a76,IFN-a88等。

    在重组干扰素中，根据核苷酸和氨基酸序列的比较，人干扰素-α不同标记亚型之间的关系，

  如表3-3 所示。

表3-3 人干扰素-a不同标记的亚型序列的关系

|  |  |
| --- | --- |
| Goeddel 分类 | Nagata分类 |
| K | = α6 |
| G | = α5 |
| A | ≈α2 |
| D | ≈α1 |
| C ≈L | = ψα10 |
| J1≈J2 | ∽α7 |
| B ≈B2 | = α8 |

(引自Langer et al 1985)

  以上研究得较为深入、临床上应用较为广泛的α2 和α1 型干扰素，一般认为均有多个等位基因，

如表3-4 所示。

表3-4  人干扰素-α1 和-α2 的等位基因

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 亚型 | 等位基因   | 氨基酸序列 |
| 31 | 56 | 100 | 114 | 158 |
| IFN —α1\* | 1a  | Met | Val | Ala | Val | Leu |
|   | 1b | Met | Val | Ala | Ala | Leu |
|   | 1c | Val | Ala | Val | Ala | Val |
|   | 1d | Met | Val | Val | Ala | Leu |
|   | 1e | Val | Ala | Ala | Ala | Val |
|   |   |   |   |   |   |   |
| IFN —α2 |   | 23 | 34 |   |   |   |
|   | 2a | Lys | His |   |   |   |
|   | 2b | Arg | His |   |   |   |
|   | 2c | Arg | Arg |   |   |   |

    \*上述IFN-α1型干扰素基因的变异是我国病毒基因工程国家重点实验室发现的。

    黎孟枫等(1991,1992)；毕志刚等(1992,1993)；侯云德(1991)

三、干扰素-的生物学活性

 1．抑制病毒繁殖活性

    干扰素-具有广谱的抗病毒活性,表现在病毒繁殖量的减少以及由此而引起的细胞损伤的减少。干扰素-的活性较高,大约1毫克纯化的干扰素-就有2.6亿个活性单位；大约10个干扰素-分子就可以使1个细胞产生抗病毒状态。干扰素-的抗病毒作用是抑制,而不是杀灭。干扰素-的抗病毒活性有相对的种属特异性。不同细胞对干扰素-作用的敏感性也不相同；另一方面不同病毒对干扰素-作用的敏感性也不同。一般来说,在同种细胞或机体内,干扰素-对多种DNA、RNA病毒都有一定的作用,但其敏感程度却千差万别。此外，不同感染类型的病毒－细胞系统对干扰素-作用的敏感性也不同。目前所知,病毒的细胞感染,常见有两种情况:一是病毒感染细胞后,病毒的遗传物质在一般情况下并不整合到细胞的基因组中去，由于病毒的大量繁殖,可使细胞发生病变,引起损伤,但随着感染的恢复,受病毒感染的细胞也随之被清除,甚至用分子杂交的方法也查不出病毒基因的痕迹。大多数急性病毒感染可能属于这一类。另一种情况是病毒感染细胞后,病毒基因较易整合到细胞DNA中,在某些情况下可以不断合成新的病毒抗原,有时是非感染性颗粒,有时也可以是完全感染性颗粒,由于形成抗原-抗体复合物,从而造成组织损伤,或可使正常细胞发生转化。一些肿瘤病毒,可能还有某些慢性病毒感染属于这一类。干扰素-对上述两种病毒感染的作用在体外的研究证明是不同的。(侯云德1981,1990)

    病毒感染时，受染细胞很快就产生干扰素，并分泌到细胞外，进入血流，干扰素很快与未受感染的细胞受体结合，使细胞产生抗病毒状态。根据干扰素的作用机制，干扰素是不会引起一般意义上的抗性的。但是，病毒在感染人细胞的长期进化过程中，有些病毒编码某种蛋白质来消除干扰素的生物学活性，如流感病毒的非结构蛋白质NS1等。人类病毒与人类细胞的相互作用的过程中，某些病毒，如痘病毒，编码干扰素的受体来抵消干扰素的活性，但多数病毒的抗干扰素作用是影响干扰素的信号传导。

2．抑制细胞分裂活性

     干扰素-在试管内和机体内有对细胞生长的抑制作用。 临床上在使用治疗量的人干扰素- 3∽4天后,一般可见粒性白细胞下降,血小板下降和网织红细胞下降。这一骨髓抑制作用与干扰素-用量密切相关,一般在血清干扰素-水平>=50单位／毫升时才会发生,但这一副作用是可逆的,在停药后3∽4天,可以恢复正常。干扰素-的抑制细胞分裂活性也有相对的种属特异性。

    Geng Y,等（2000）报道,干扰素-通过信号传导诱导的“效应”蛋白是介导干扰素-活性的基础。根据他们的研究结果，认为干扰素-诱导的“200家族”中的p202RP 和MNDA蛋白是干扰素-抗细胞分裂活性的基础。

 3．免疫调节活性

    干扰素-可以增加淋巴细胞表面某些组织相容性抗原,β-2微球蛋白和IgGFc受体的表达,从而调节许多免疫反应。干扰素-可增加人单核细胞和巨噬细胞表面IgG Fc受体数。Fc受体对单核细胞的功能是很重要的,这包括免疫复合物的清除、吞噬作用,和依赖于抗体的细胞毒(ADCC)反应。

    干扰素-对巨噬细胞的功能有激活作用；可以调节T细胞的功能，在用大剂量的人白细胞干扰素制剂治疗病毒性疾病的过程中,也发现接受干扰素治疗的患者周围血淋巴细胞对PHA的反应受到抑制。 干扰素-可以调节B细胞的功能,在一定条件下起抑制或增进作用。在临床上大量使用干扰素-时,也发现有抗体反应抑制的情况。

     另一方面,干扰素-可以增加IgE介导的组织胺的释放。

   干扰素-和干扰素-诱生剂在试管内和机体内可以刺激人NK细胞的活性。NK细胞不仅可以在试管内直接地、非特异性地杀伤一系列细胞,而且在它与靶细胞相作用时分泌干扰素-。rIFN-αJ无刺激NK细胞活性。接受干扰素-治疗的肿瘤患者的周围血淋巴细胞的NK活力也有明显增加,甚至在每日注射干扰素-长达9个月的病人,这一增加仍然可以持续。

4．抗肿瘤活性

   干扰素-有明显的抗肿瘤作用。肿瘤病毒在试管内引起细胞转化的能力与在动物机体内引起肿瘤的能力是相平行的。早在干扰素发现后不久就已证明,干扰素可以抑制某些RNA或DNA肿瘤病毒在试管内的细胞转化作用。而且,在动物实验中,干扰素不论对由肿瘤病毒引起的动物肿瘤,还是对动物移植肿瘤均有明显的抑制作用。

     在用IFN-治疗肾癌的过程中,干扰素可降低EGF受体的表达。

   日本科学家Takaoka等人(2003)发现，干扰素/可激活p53基因，这将有助于对细胞转化进行抑制。研究者发现,在癌细胞和抗病毒的免疫反应中,p53诱导的程序性死亡与干扰素活性有关。这一发现为人们长期寻找的干扰素的抗癌活性的机制提供了一个可能的分子基础。另外，研究还发现，p53会被病毒激发，从而导致被病毒感染的细胞在病毒有机会进行增殖之前死亡。p53基因被删除的小鼠，在其野生型同窝小鼠完全康复的情况下会死于病毒感染。

 5．对细胞的分化和发育过程的影响

   影响非成熟肌肉细胞的成熟，球蛋白基因的诱导，tRNA的甲基化，在肿瘤细胞上癌胚抗原的表达。干扰素-对中枢神经系统细胞和神经内分泌系统具有激素样活性。注射高剂量干扰素-后，干扰素-可调节中枢鸦片样肽的活性，能引起睡眠和行为的改变。

   此外，在临床使用干扰素-治疗带状疱疹和单纯疱疹的过程中，发现干扰素-有镇痛作用。侯云德等在动物试验中证明了这一点，并在实验室研制成功具有更强镇痛作用的脑啡肽-干扰素-（专利号：ZL 94 1 15496.3.）。Wang YX 等（2001）也证明了干扰素-不仅是一种免疫调节因子，也是一种镇痛分子。并认为干扰素的免疫调节作用和镇痛作用与干扰素-分子的不同结构域有关。镇痛作用的结构域位于122Tyr周围。紧靠122Tyr的是36Phe，后者如突变为Ser后，镇痛作用完全消除，抗病毒活性保留40.5%。这说明36 Phe 残基包括在干扰素-镇痛结构域之内。

四、多种干扰素-亚型的生物学意义和在进化上的关系

    多数学者认为HuIFN-α和IFN-β家族在25，000年以前是同一祖先；更准确地说IFN-比IFN-的起源更早。IFN-ω与IFN-α基因在12，000万年以前开始分开，而IFN-α分为许多亚型则始于8500万年以前，也就是在哺乳类动物形成以前。根据γ型干扰素的晶体结果推测它与α、β型干扰素也来源于同一祖先。

     β、γ型干扰素只有一个型别，它们与干扰素-的性质相差很大是不必说，但是，为什么干扰素-有这么多亚型呢? 它们的存在究竟有什么生物学意义。一种见解认为不同亚型是由于进化过程中的突变所引起的，并无特定的生物学意义，例如IFN -αL相当第20位氨基酸处是终止密码，因此，它是伪基因，可为由于突变产生的等位基因SMT Ⅲ.1A所代替而具有功能性。另一种见解认为，在进化过程中，由于淘汰选择的结果，每一亚型在机体内均有其特殊功能，正如机体中有许多种GTP酶(G-蛋白 )一样。

    作者认为，IFN-的多种亚型是一种进化过程，也就是基因突变的过程，同时也是淘汰选择的过程，在进化的过程中，对机体有利则留，则发展； 对机体无利则去，则淘汰。目前已有许多证据说明，干扰素-的不同亚型是有其不同的生物学意义的,理由是:

    ⒈ 同一病毒在不同细胞中诱生的干扰素-有的亚型种类有很大差异，反映了不同细胞干扰素反应的生理功能。仙台病毒在人白细胞中诱生的干扰素，以α1为主，其次为α2，并有少量的α14，而同一病毒在类淋巴母细胞中诱生的干扰素-，却以α2为主，α1为次，无α14；从急性髓母细胞性白血病患者提取的白细胞，诱生的干扰素-亚型又大不相同，主要是α2和α14，比α1 的转录物高2-3倍；仙台病毒在人单核细胞中诱生的干扰素-主要是α8(αB)。

    ⒉干扰素-的不同亚型在不同细胞培养上表现不同的抗病毒活性。如表3-5 所示。

表3-5 不同干扰素-亚型在不同细胞上的相对抗病毒活性

|  |  |
| --- | --- |
| 细胞类型 | 相对抗病毒活性( 以WISH细胞为100% ) |
| 不同干扰素-亚型 |
| α1 | α2 | α8(B) | αC | αF  | Le |
| WISH( 人 ) | 100 | 100                     | 100 | 100 | 100 | 100 |
| HeLa( 人 )     | 6                             | 3 | 32 | 25  | 316 | 50 |
| MDBK( 牛 ) | 6300 | 20 | 1000 | 400 | 200 | 1600 |
| L929(鼠 ) | 63 | 0.5 | 1 | 0.8 | 未做 | 80 |
| RK13( 兔 ) | 160 | 2 | 160 | 100 | 0.1 | 160 |
| Vero( 猴 ) | 100 | 16 | 63 | 63 | 0.8 | 250 |

    许多实验室也得到上述类似的研究结果：HuIFN-α1在MDBK细胞上的抗病毒活性比WISH细胞高20～30倍左右，而HuIFN-α2a,2b则无明显差别。

    ⒊不同干扰素-亚型对不同病毒的敏感性不同，我们的研究表明,HuIFN-α1抑制出血热病毒繁殖的能力比IFN-α2a高15倍，对其他病毒的敏感性也有差别。

    ⒋Zoon K等从自然的类淋巴母细胞干扰素中分离出18种干扰素-亚型，比较了它们诱导IL-1 的能力。在单核细胞中的细胞毒活性，增强NK细胞的活力和Ⅰ型HLA在HL-60细胞上的表达。结果表明，不同干扰素-对上述4种活性的差别很大。例如蛋白4 可以大量诱生IL-1，而蛋白14却基本无此活性。

    ⒌不同的重组干扰素-对NK细胞的促进作用有90倍的差异，其中α8(B),α2(A),α1(D),αC 较高,α6(K),αF 较低,α7(J)最低。

      6.HuIFN-α1可以增加单抗细胞MHCⅡ的表达而IFN-α2则不能。

      7.IFN-α2a和IFN-α2b临床应用的经验表明，前者有约20.9%的患者产生抗体，而后者仅约为6.9%。

    8.Larrea E,等（2001）发现，在人周围血单核细胞（PBMC）干扰素系统受病毒激活后选择性地表达不同亚型的干扰素-，而在慢性丙型肝炎病人 PBMC 选择性地表达IFN-5。

  其实,图2-4已经从I 型干扰素的信号传递的分子基础上解释了细胞类型的特异性,干扰素亚型的特异性和个体反应的差异性。

   由此可见，干扰素-α的不同亚型是具有不同的生物学特性的,是有其分子基础的,在临床上是不一定能完全相互代替的。(侯云德(1991,1993)；林建新等(1984)，彭金枝等(1983a,b)。

参考文献：

毕志刚，黎孟枫等: 人α1c型干扰素基因在部分中国人基因组中占有优势

中华微生物学与免疫学杂志, (6):1 —5,1992

毕志刚, 黎孟枫, 黄晓军等: 人α1c型干扰素等位基因在部分中国人中占有优势

中华微生物学和免疫学杂志  13:56,1993

常春燕，侯云德: 黄芪刺激小鼠NK细胞同时诱生干扰素   医学研究进展  10:5,1982

陈炬，李玉英，侯云德等: 人α-干扰素cDNA在转化的烟草植株中表达

中国科学( B 辑 )3:253—260,1990

陈晓燕，黎孟枫等: 人a1/158V 型（a1c 型）干扰素基因在大肠杆菌中的表达及其产物的初步纯化

病毒学报, 8(4): 327—331, 1992

崔宏，侯云德: 人αD 型干扰素基因在大肠杆菌中表达水平的提高

中华微生物学和免疫学杂志  5:133,1985

崔宏，侯云德: 人IFN αD cDNA  3'端非编码区对基因表达的影响

病毒学报  1:97,1985

崔宏，侯云德等: 人αD 型干扰素在大肠杆菌中表达水平的提高

中华微生物学和免疫学杂志  5:133,1985

丁炎平,谭维彦，胡荣等: 小鼠干扰素/上皮生长因子受体结合域融合蛋白的构建及其抗肿瘤活性的提高

中国科学（Ｃ辑）27，4：366-372，1997

韩峰 吴淑华，薛水星等：在大肠杆菌中提高人α1b型基因工程干扰素的表达

生物工程学报12（增刊）：62-66，1996

侯云德  干扰素及其临床应用  江苏人民科技出版社，1981

侯云德  分子病毒学     学苑出版社  1990

侯云德，吴淑华: 干扰素  人民卫生出版社，1981

侯云德: 干扰素     "基础免疫学 "  人民卫生出版社  p.33,1982

侯云德等: 人白细胞干扰素基因无性繁殖系的建立及其在大肠杆菌中的表达

中国医学科学院院报  4:327,1982

侯云德等: 人αD 型干扰素基因在大肠杆菌λPL的指导下表达 微生物学报  24:205,1984

侯云德等: 采用终止起始密码子重叠序列(TGATG) 在大肠杆菌中表达

病毒学报  1:298,1985

侯云德等: 人αD 型干扰素基因在大肠杆菌中的高效表达

同济医科大学学报  1:1,1986

侯云德等: SV40 DNA HindIII B片段在大肠杆菌中增加人αD 型干扰素的表达

病毒学报  1:278,1985

侯云德，王伟，李燕: 人αI 型干扰素突变体(HuIFN—α1/86D)具有较高的生物学活性和热稳定性

自然科学进展—国家重点实验室通讯  (1):77—79,1990

侯云德: 干扰素的不同亚型与临床应用 中华实验和临床病毒学杂志，5(4): 53-539,1991

侯云德：急性呼吸道病毒感染的病原学与防治 中国协和医科大学出版社 2005

侯云德：干扰素研究的意义  中华实验和临床病毒学杂志, 2005年 19(3):3

侯云德: 干扰素的不同亚型与临床应用  中国生物制品学杂志  6(4):145,1993

金奇等: 人α1 型干扰素cDNA全序列测定    病毒学报  3:294,1987

李玉英，侯云德: 类淋巴母细胞干扰素的诱生特性

中国医学科学院院报  2:248,1980

李 燕等: ELISA 方法检测人重组干扰素   病毒学报  5:191,1989

李 燕等: 采用乳酸脱氢酶释放法检测重组干扰素的NK增强活性

中华实验和临床病毒学杂志4(2): 159,1990

李 燕，侯云德: 人α1 型干扰素86位单一氨基酸置换可以改变其生物学活性

中华微生物学和免疫学杂志，10(4):248—251,1990

李 燕，侯云德: 采用乳酸脱氢酶释放法检测重组干扰素的NK增强活性

中华实验和临床病毒学杂志, 4(2): 160—162，1990

李同据 吴淑华，韩峰等：

人乳头瘤病毒6b型H增强子样序列在大肠杆菌中增强基因转录和-干扰素表达

 病毒学报14，2：104-108，1998

黎孟枫，曾庆等: 中国人ω1 型干扰素基因的克隆，一级结构测定以及在大肠杆菌中的表达

中国科学( B 辑 ), (10):1058—1062,1992

黎孟枫等: 一种α 1型干扰素基因新变种的发现，鉴定、表达及表达产物的纯化

自然科学进展－国家重点实验室通讯，(2):175 —179,1992

黎孟枫等: 人ω1 型干扰素基因在大肠杆菌中的表达

病毒学报, 8(2): 184 —186,1992

黎孟枫, 张沁, 曾庆等: 脑啡肽—干扰素融合蛋白具有较高的抑制肿瘤细胞生长活性

中国科学(B辑), 24(3):283-288,1994

黎孟枫，金奇等, 侯云德等: 一种αI 型干扰素基因新变种的发现和鉴定

中国科学( B 辑 )4:397 —402 ，1991

林建新，侯云德等: 在不同干扰素诱生能力的人细胞系中干扰素基因组成的比较研究

遗传学报  11:147,1984

林建新，侯云德等: 在不同干扰素诱生能力的细胞中干扰素基因表达的比较研究

中国医学科学院院报  6:244,1984

陆长德，侯云德: 在p8218 中克隆的人白细胞干扰素基因的分析

中国医学科学院院报  6:1,198

马学军 杜东毅，尹华利等：特异结合人IFN1b中和抗体的两个短肽

病毒学报13，2：169-172，1997

马学军 胡荣待吕海等：噬菌体表面表达人干扰素1c/86D

中华实验和临床病毒学杂志12，3：213-216，1998

马学军 胡荣，吕海等：人干扰素1c/86DAB环突变文库的构建及细胞筛选

病毒学报14，5：83-86，1998

彭金枝，侯云德等: 自然与重组干扰素抗病毒活性的比较研究

中华微生物学免疫学杂志  3:319,1983

彭金枝，侯云德等: 干扰素与其他抗病毒药在组织培养上抗腺病毒繁殖的研究

中国医学科学院院报  6:116,1984

彭金枝 吴淑华 张丽兰 侯云德 Colby B.:人自然干扰素（a、b）与基因工程干扰素在细胞培养上抗病毒活性的比较研究

中华微生物学和免疫学杂志 3（5）：319-322，1983

王 伟，侯云德: 人α1 型干扰素突变体(IFN—αI/86D)的组建及其生物学活性的研究

病毒学报，6(4):322—326,1990

熊绍银: 干扰素-2a    中国新药杂志  1997， 6：18-19

吴淑华等: 人白细胞干扰素的制备与纯化 中国医学科学院院报  2:98,1980

吴淑华等: 人脐带血干扰素特性的研究   微生物学报  18:225,1978

吴淑华等: 在人二倍体细胞上影响干扰素超诱导因素的研究

中国医学科学院院报  1:13,1979

吴淑华等: 不同型别干扰素抗病毒活性的比较研究 病毒学报  4:195,1988

薛水星 吴淑华，韩峰等：在大肠杆菌中高效表达人1b型基因工程干扰素

自然科学进展7，3：322-326，1997

杨崇泰，侯云德等: 干扰素mRNA在非洲鲫鱼卵母细胞中的翻译

中国医学科学院院报  2:1,1980

杨崇泰，侯云德: 不同方法纯化干扰素及其特性的研究  微生物学报  19:96,1979

杨崇泰，侯云德: 干扰素mRNA的研究 中华微生物学和免疫学杂志  1:11,1981

曾庆等: 人α2b型干扰素基因的修饰合成及其在大肠杆菌中的表达

病毒学报, 8(3): 205 —209,1992

赵海燕，侯云德等: 人白细胞干扰素的批量生产和I 期临床研究

医学研究进展  10:4,1982

赵小侠，侯云德等: 2-5A生物学活性的研究  中国医学科学院院报  6:367,1982

赵小侠，侯云德等: 干扰素与2-5A抗病毒和抗细胞分裂活性的研究

中华微生物学免疫学杂志

赵小侠，侯云德等: 自然和重组干扰素抗肿瘤细胞的活性 中华肿瘤杂志  6:15,1984

赵小侠，侯云德: 人干扰素基因组在哺乳动物细胞中的表达

中国医学科学院院报  6:398,1984

张向明等: 纯化人rIFN—αD 某些生化特性的研究病毒学报   4:197,1988

周建华，侯云德: 人αD 型干扰素纯化研究  中华微生物学和免疫学杂志  5:69,1985

周圆等: 一种重组人α1 型干扰素突变体IFN —α1/86D 的纯化与鉴定

病毒学报  9(1):35,1993

智刚，侯云德等: 重组人α2a干扰素的高效表达与纯化  病毒学报，7(2): 142—147, 1991

朱 待祯等: 转基因水稻植株再生及外源人α干扰素cDNA的表达

中国科学( B 辑 )(2):149 —155 ,1992

   Bi ZG, Li MF et al: Analysis of human  interferon alpha 1, alleles in genomes of Chinese   Chinese Science Bulletin  38(20):1752,1993

   [Goeddel DV, Yelverton E, Ullrich A, Heyneker HL, Miozzari G, Holmes W, Seeburg PH, Dull T, May L, Stebbing N, Crea R, Maeda S, McCandliss R, Sloma A, Tabor JM, Gross M, Familletti PC, Pestka S.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=6159538&ordinalpos=36&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum):Human leukocyte interferon produced by E. coli is biologically active.Nature. 1980 Oct 2；287(5781):411-6.

   [Hobbs DS, Pestka S.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=6175638&ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)Purification and characterization of interferons from a continuous myeloblastic cell line.J Biol Chem. 1982 Apr 25；257(8):4071-6

   Hou Yunde et al: Expression of human αD interferon gene i[Nagata S, Mantei N, Weissmann C.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=6159536&ordinalpos=37&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)The structure of one of the eight or more distinct chromosomal genes for human interferon-alpha.Nature. 1980 Oct 2；287(5781):401-8.

   [Langer JA, Pestka S.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=3866800&ordinalpos=36&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum) Changes in binding of alpha interferon IFN-alpha A to HL-60 cells during myeloid differentiation. Interferon Res. 1985 Fall；5(4):637-49.

    LI MF et al: Identification and Expression of a Novel Variant of

    Human Interferon α1 Gene and Purification of the Expression

    Product      Progress in Natural Science,2(3): 269－274,1992

    Li MF et al: Animal Trophoblast Protein Gene-Line Sequence of Human

    Interferon-ω1 Gene Isolated and Cloned From Chinese Fetal Liver

    Cells     Progress in Natural Science,2(1): 74—76,1992

    Li MF et al:: A Novel Variant of Human Interferon－α1 Gene

    Science in China(Series B)35(2):200 —206,1992

**第四章 干扰素临床应用的制剂及现状**

一、干扰素临床应用的种类和剂型

既然不同亚型干扰素各有其独特的性质，反映在临床应用上也有所不同.目前，临床上使用的干扰素主要制剂如表4-1及4-2所示.

表4-1 目前临床上使用的主要干扰素制剂

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 干扰素型别 | 商品名 | 生产单位或研制单位 |
| rIFN-α2a（注射液，粉针剂，栓剂） | Referon A(Roche) | Hoffmann-LaRoche， 长春生研所，沈阳三生,海南新大洲等 |
| PEG-rIFN-α2a（长效注射液）及PEG- rIFN-α2a/病毒唑 | PEGASYS | Hoffmann-LaRoche |
| rIFN-α2b（注射粉针剂，注射液，栓剂,喷雾剂等） | Intron A(S-P)，远策素(远策) | Schering—Plough，北京远策,安徽安科,北京凯因，上海华新，深圳英特龙，哈尔滨白天鹅，天津华立达,长春生研所等. |
| PEG-rIFN-α2b（长效注射粉针剂）及PEG-rIFN-α2b/病毒唑 | PEG-Intron® Redipen®  | Schering-Plough |
| 干扰素喷雾剂: rIFN-α2b,rIFN-w | 预防SARS储备药物 | rIFN-α2b:北京远策; rIFN-w:军科院 |
| rIFN-α1b（注射粉针剂，注射液，滴眼，阴道栓剂） | 赛诺金(科兴)等 | 深圳科兴，北京三元,上海、长春生研所 |
| IFN-αcon | INFERGEN | Amgen,北京双鹭等 |
| rIFN-β1b/17Ser | Betaseron | Berlex Lab, Chiron |
| rIFN-b1a | Avonex | Biogen |
| rIFN-γ1 | Immuneron(Biogen) | Biogen,Actimmune，Genetech, 病毒所,上海生研所，上海生化所, 二军大 |
| 自然IFN-β |   | 东丽 |
| Namalva干扰素 | Welferon | Welcome |
| 低剂量自然干扰素  | Alferon LDO | Amarillo BiosciencesHemispherx Biopharma |
| LeIFN | Alferon | Interferon Sciences等 |
| 高度纯化的多种型别的自然干扰素 | Multiferon(R) | Viragen |

表4-2美国FDA批准干扰素产品一览表（1982-2006）

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 　产品(粗体字指重组产品)　 | 研制公司 | 应用 | FDA 批准时间 |
| Actimmune® (干扰素-g1b) | InterMune Pharmaceuticals, Inc. | 治疗慢性肉芽瘤病(granulomatous disease); 治疗严重, 恶性骨胳石化症(osteopetrosis) | 1990.122000.2 |
| Alferon N®(干扰素-aN3, 来源于人白细胞,系自然干扰素) | Interferon Sciences, Inc | 治疗性疣 | 1989.10 |
| AVONEX®[Cinnovex](http://en.wikipedia.org/wiki/Cinnovex)(干扰素-b1a)(哺乳动物细胞生产的,糖基化的) | Biogen Idec | 治疗复发-缓解型多发性硬化;治疗在MS起始发作后,如果脑 MRI扫描显示有疾病不正常的特点 | 1996.52003.2 |
| Betaseron® (干扰素-b1B)(大肠杆菌生产的,非糖基化的的rIFN-b17Ser) | Berlex Laboratories (Schering-Plough)和 Chiron Corp.的子公司) | 治疗复发-缓解型多发性硬化;新标记包括继发性进展性MS患者研究的资料;和适应症部分反映 Betaseron是治疗复发型 MS以减少临床恶性加重发作的次数 | 1993.82003.3 |
| Infergen® (interferon alfacon-1)(复合干扰素) | InterMune Pharmaceuticals, Inc., and Amgen | 治疗18或多或18岁以上的HCV患者,具有代偿性肝病,并有抗HCV血清抗体和/或HCV RNA阳性; 其次治疗HCV感染患者,后者对起先干扰素治疗过程是可以耐受的 | 1997.101999.12 |
| Intron A® (干扰素-a2b) | Schering-Plough Corp. | 治疗毛细胞性白血病;性疣; AIDS相关的 Kaposi氏肉瘤;非甲,非乙肝炎;乙型肝炎;慢性恶性黑色素瘤; 延长治疗慢性丙型肝炎;与化疗联合治疗滤泡性淋巴瘤;治疗儿科乙型肝炎 | 1986.61988.61988.111991.21992.7 1995.121997.31997.111998.8 |
| Pegasys® (PEG干扰素- a2a)(长效干扰素) | Roche and Nektar Therapeutics, Inc. | 治疗过去未用干扰素-a治疗的具有肝病代偿能力的丙型肝炎患者;联合病毒唑治疗过去未用干扰素-a治疗的具有肝病代偿能力的丙型肝炎患者; 与Copegus (病毒唑)联合治疗 HCV患者合并有 HIV感染者 | 2002.102002.122005.2 |
| PEG-Intron™ (PEG化的干扰素- a2b)(长效干扰素) | Enzon, Inc., and Schering-Plough Corp. | 单药治疗HCV;与病毒唑联合治疗有肝病代偿能力的HCV患者 | 2001.12001.8 |
| Rebetron™ (干扰素-a2b与病毒唑联合) | Schering-Plough Corp. | 联合治疗具有肝病代偿能力的,在用干扰素a治疗后复发的HCV患者;治疗具有肝病代偿能力的,过去未用干扰素a治疗后复发的HCV患者 | 1998.61998.12 |
| Rebif®(干扰素-b1a)(哺乳动物细胞生产的糖基化干扰素-b) | Serono S.A., and Pfizer, Inc. | 复发性多发性硬化 | 2002.3 |
| Roferon-A® (干扰素-a2a) | Hoffmann-La Roche, Inc. | 治疗毛细胞性白血病; AIDS相关的Kaposi氏肉瘤;HCV, Philadelphia染色体阳性的慢性髓细胞性白血病的慢性期 | 1986.6.1988.111995.101995.11 |
| Wellferon® (干扰素-an1, 类淋巴母细胞生产的自然干扰素) | GlaxoSmithKline | 治疗18岁或18岁以上的有肝病代偿能力的HCV患者 | 1999.3 |

(摘自美国FDA公布的1982-2006年批准的生物技术新药)

在上述干扰素制剂中, 除HuIFN-γ主要治疗慢性肉芽肿病;国内用于治疗类风湿性关节炎,疗效还可能存在问题; HuIFN-β治疗多发性硬化外,在国际上,rIFN-α2b应用最为广泛.重组干扰素是单一基因型的，而自然干扰素则含有各种亚型.自然Namalva 干扰素在99% 纯度时，发现有18个主要和5 个次要的干扰素成分;自然白细胞干扰素也有类似情况.不同亚型干扰素具有不同的生理功能，自然干扰素包含有不同亚型的干扰素，理论上说，相同剂量的自然干扰素的临床效果应当远比单一亚型的重组干扰素为好，但是根据我们严密对比研究的结果表明，自然干扰素治疗慢性宫颈炎的疗效(停药后1,6 月，12月 )比相同剂量的干扰素-α1b，确要高些，但是没有统计学意义.Ideo等报导，用重组IFN-α2a和自然类淋巴母细胞干扰素相比治疗15例丙型肝炎的结果表明，Welferon的疗效比IFN -α2a的疗效稍佳，并有统计学意义, 但他们比较的这两种干扰素均不是自然细胞产生的.

    Amarillo Biosciences公司生产的的低剂量自然干扰素,在美国FDA批准治疗艾滋病患者由HPV引起的口腔炎的临床试验.10年前曾进入中国市场,治疗肝炎;后来曾组织过3次大规模临床研究,其疗效不能肯定,退出中国市场.但是,ABI的低剂量口含干扰素曾成功地进入非洲10国,治疗肝炎;在SARS流行其间证明对预防SARS有效;在禽流感流行其间证明对预防禽流感有效,并成功地进入东南亚国家市场销售,包括越南,柬埔赛, 老挝.编者认为,低剂量的干扰素仅有诱导干扰素的启动活性,即小剂量干扰素对随后病毒感染时诱导干扰素有增强作用;它的治疗作用机制及疗效尚待进一步研究.

  关于干扰素抗体的产生率，显然自然干扰素要比重组干扰素-2a,2b 要低.有些已产生干扰素抗体的患者就缺少对干扰素的治疗反应, 不过, 再用自然干扰素治疗，继续有干扰素反应.

总之，不同干扰素-α亚型的临床治疗经验还不多，有待不同亚型干扰素投放市场后进一步进行临床治疗反应的研究.

二、干扰素-α临床应用理论基础

     干扰素是第一个采用重组DNA 技术研制成功、并最早用于临床的细胞素。干扰素作为一种天然的人体抗病毒蛋白质更受到人们的关注,干扰素将要成为21世纪抗病毒、抗癌症的最为广泛的药物之一，这是因为：

第一，病毒(和一部分细菌)必需要在细胞内才能复制，病毒感染本质上有许多特点不同于细胞外可以繁殖的细菌或寄生虫感染；首先，病毒感染与癌症一样更多地与机体免疫系统的受损有关，如在HBV慢性感染时，由于免疫系统受损，特别是先天性免疫反应,如病毒产生抗干扰素的蛋白,HLA-1表达下降等原因，细胞毒性T细胞就不能有效地清除受HBV感染的细胞，而使之持续不愈；在急性病毒感染时，患者的症状常是由于炎性因子的过量表达所引起的，如禽流感，SARS时发生的“细胞因子潮”等；灭活病毒疫苗接种后发生再感染时常可引起异常免疫反应，反而使病情加重，如登革热病毒灭活疫苗，麻疹病毒灭活疫苗，动物冠状病毒灭活疫苗，RSV灭活疫苗等；有些自家免疫性疾病的原始病因也可能是病毒感染；病毒感染还与癌症密切相关，如乙、丙型肝炎与原发性肝癌型，人乳头瘤病毒与宫颈癌、喉乳头状瘤，HHV8与Kaposi氏肉瘤，EBV与鼻咽癌等；有的病毒感染表现为隐性持续性感染，如HSV，及幼儿时的水痘，病愈后病毒并不消灭，而是潜伏在神经根，当免疫力低下时发展为沿肋间神经分布的带状疱疹.所以防治急、慢性病毒病常常要考虑免疫调节药物，而干扰素是天然的抗病毒蛋白质，应是研究的重点之一.

 第二，机体内存在条件性有益的细菌或条件性致病菌，如肠道内的大肠杆菌，阴道内的乳酸杆菌，但是迄今尚无发现机体内存在明显有益的病毒.目前所知，机体的先天性防御反应对细胞内繁殖的病毒和可以在细胞外繁殖的细菌是不同的；例如干扰素系统,组织细胞受到病毒感染时，细胞的最早的原始防御反应就是诱生干扰素，常在1分或数分钟内完成，诱导的干扰素立即释放到细胞外，进入血流，与尚未受到病毒感染的细胞受体特异性结合，诱发细胞内一系列反应，表达一系列蛋白质，来对付即将来临的病毒感染，也就是说使尚未受到病毒攻击的细胞处于抗病毒感染状态.虽然机体内的防御反应无法对付潜伏的HSV，HZV基因的存在，因为它们在潜伏时仅是有限的基因表达，或者已经整合到人染色体的病毒基因.从这一机体的先天性防御机制来说，开发干扰素等天然抗病毒和免疫调节物质，具有十分重要的意义。

第三，病毒是地球上最丰富和最多样性的病原体.纵观任何生命体的基因组就可证实病毒已经存在很长时间. 据估计约有 40%的人类基因组是导源于祖先病毒基因组的片段, 和约 1%的基因组序列是由完整的内源性反转录病毒所组成 [4].病毒对人类基因的影响是十分明显的.为了对付病毒的侵犯, 干扰素系统是人体细胞生存必须要具备的基本系统.目前还没有发现某种细胞能够存在，而缺少干扰素系统的.

第四,根据细胞内病毒感染的特点，理想的抗病毒感染药物需要达到下列要求：首先它能够特异性阻断病毒复制的过程，而不损及正常细胞；其次,同时具有免疫调节活性，能够清除已经被病毒感染的细胞；而且还要求能够阻断DNA病毒或DNA前病毒（通过反转录酶）的基因整合到人染色体.但是，目前还没有一种化学合成药同时具备这三种功能.然而干扰素确同时具备这些功能，这是人类及其它高等动物长期进化的结果.所以，研究天然抗病毒物质具有举一反三的作用.

   第五，根据上述干扰素的特性，以及干扰素长期临床应用的经验，干扰素预防急性病毒感染最为有利，效果最佳；干扰素治疗急性病毒感染仅在发病的极早期才会发挥一定效果；这是因为干扰素是人体天然的预防病毒感染的物质，病毒感染在出现临床症状时，由于自身干扰素的产生，病毒滴度往往就已经开始下降.但是，在慢性或持续性病毒感染时，干扰素治疗可以发挥作用，因为在慢性感染时，人体的干扰素系统往往受损，但是，最好与其它药物联合应用，如干扰素与病毒唑联合治疗丙肝；干扰素治疗癌症与治疗慢性、持续性病毒感染的情况有类似之处，干扰素与其它抗癌化疗药物联合应用常可发挥最大的治疗效果。

   第六,采用干扰素预防或治疗病毒感染,还要考虑研制拮抗病毒本身编码的抵制干扰素的药物,使之与干扰素联合应用可能是今后的研究方向.

三、干扰素-α治疗肿瘤

干扰素-α的抗肿瘤作用,其机制可能不是独立的,而是综合性的.目前所知,包括如下4个方面:

    ⒈ 是由于干扰素-α抑制肿瘤病毒的繁殖.因为,有一种假说认为,感染性病毒或整合到细胞DNA的病毒基因的持续存在,对癌变过程的发展是必需的,而动物经干扰素-α治疗后可以抑制这种病毒感染,从而表现为抗肿瘤的作用.某些明显由病毒引起的肿瘤,如人的毛细胞白血病,喉乳头瘤,性疣等,干扰素-α对之有明显的效果.

    ⒉ 是由于干扰素-α直接抑制肿瘤细胞的生长.考虑到干扰素-α不仅可以抑制肿瘤病毒诱生的肿瘤的生长,且可以抑制移植性肿瘤和由化学致癌物诱生的肿瘤的生长,而上述肿瘤尚无直接证据由病毒所引起,因此不能用干扰素-α的抗病毒作用来解释抗肿瘤现象.那么,干扰素α抑制肿瘤细胞生长的作用可能是抗肿瘤生长的直接原因,何况有些作者已经证明,异常迅速分裂的细胞对干扰素的敏感性远远大于正常细胞.

    ⒊ 是由于干扰素-α调动了机体免疫系统杀伤肿瘤细胞.干扰素-α可以促进巨噬细胞的功能,引起肿瘤细胞的迅速破坏与减少;干扰素-α抑制机体抗体反应,从而可能降低肿瘤保护抗体即封闭抗体的水平,使免疫系统更有效地作用于肿瘤;干扰素可以增加某些肿瘤细胞如L1210细胞的肿瘤特异性移植抗原的表达,以利于肿瘤细胞被杀伤清除;干扰素-α可以增进NK细胞的活力,而NK细胞是机体执行免疫监视作用的一种重要细胞;另一方面,临床上使用干扰素-α治疗恶性肿瘤,凡有缓解或好转的,常与周围血NK细胞的活力增加相平行.

  ⒋用癌基因转化成纤维细胞的模式研究结果表明,调节癌基因的表达乃是干扰素-α抗肿瘤活性的一个重要机制.日本科学家Takaoka等人(2003)发现，干扰素-a/b可激活p53基因，这将有助于对细胞转化进行抑制.

   由此可见，干扰素-α是一种较理想的肿瘤抑制蛋白。它能调节正常的和恶性化细胞的生长和分化.它的抗细胞生长作用涉及多种途径, 包括诱导G0/G1 的抑制, 抑制Rb磷酸化, 下游调节G1 细胞周期调节蛋白(cyclines) 和cycline A,  抑制E2F DNA 的结合和c mys 的表达.干扰素拮抗组织和生血生长因子的有丝分裂活性, 下游调节涉及信号转导的胞浆酪氨酸和丝氨酸—苏氨酸肿瘤蛋白.在干扰素-α作用后, 可观察到细胞自动力的抑制, 细胞表面纤维结合素(fibronectin)的增加, 破坏的细胞支架(cytoskeleton)的重排.

表4-3 干扰素-α治疗肿瘤的疗效

（包括与化疗合用）

|  |  |
| --- | --- |
| 肿瘤 | 疗效( 完全和部分缓解  % ) |
| 1.毛细胞白血病 | 70～90% |
| 2.慢性髓细胞性白血病: |   |
| 慢性早期 | 〉70% |
| 慢性晚期 | 25% |
| 暴发型  | 10～15% |
| 3.非何术金氏淋巴瘤 |   |
| 低度 | 40～50% |
| 中/ 高度 | 10～15% |
| 4.T 细胞淋巴瘤 |   |
| 未治疗 | 〉90% |
| 顽固性 | 45～70% |
| 5.多发性骨髓瘤 |   |
| 未治疗 | 50% |
| 顽固性 | 15% |
| 6.表面膀胱癌 | 〉50% |
| 7.恶性类癌 | 47% |
| 8.Kaposis'肉瘤 | 30～40% |
| 9.卵巢癌 | 18% |
| 10. 肾细胞癌 | 14.6% |
| 11. 恶性黑色素细胞癌 | 10～15% |
| 12. 神经胶质瘤 | 17% |
| 13. 乳腺癌 | 10% |
| 14. 恶性胰腺肿瘤 | 部分改善 |
| 15. 晚期直肠癌 | 部分改善 |
| 16. 食道癌 | 部分改善 |
| 17. 非小细胞性肺癌 | 部分改善 |
| 18. 小细胞性肺癌 | 部分改善 |

四、干扰素-a治疗病毒病

干扰素是人体中抵抗病毒感染的天然蛋白质，它具有理想抗病毒药物的所有条件：它能抑制病毒在细胞内的繁殖；激活免疫系统，清除被病毒受染的细胞；并能防止病毒基因整合到宿主细胞的染色体DNA中.

    目前, 干扰素治疗病毒病的疗效情况见表4-4:

表4-4干扰素(包括长效干扰素)治疗病毒性和其他非肿瘤疾病的疗效

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 病毒病 | 病毒病原 | 疗效 |
| 1.慢性活动性肝炎 | HBV | 约40% 患者HBe 阴转. |
| 2.丙型肝炎 | HCV | 约25% ～50% 患者ALT 下降或正常，与病毒唑联用可提高疗效. |
| 3．丁型肝炎 | HDV | 改善，持久反应率不超过20% |
| 4.艾滋病 | HIV-1，HIV-2 | 抑制艾滋病患者HIV 的复制；延长HIV 带毒无症状者发病的潜伏期; Koposi's肉瘤可以缓解，增加血清β2M水平；与AZT 联合应用可以改善症状 |
| 5.唇复发性疱疹  | HSV-1， | 缩短病程，减轻疼痛 |
| 6．生殖器官疱疹 | HSV-2 | 缩短病程，减轻疼痛 |
| 7.带状疱疹 | VZV | 缩短病程阻止扩散，减轻病痛 |
| 8.肿瘤患者水痘 | VZV | 降低致命性的内脏合并症 |
| 9.病毒性角膜炎 | HSV-1，腺病毒 | 缩短病程，减少复发, 痊愈率>90 |
| 10.红眼病 | 肠道病毒70 | 缩短病程 |
| 11.慢性宫颈炎包括宫颈湿疣 | HPV,HSV，CMV | 远策公司生产的干扰素a2b,宫颈局部应用(100万单位/ml),60% 显效，95% 有效；与黄芪联合应用可提高疗效50%. |
| 12.肛门—生殖器扁平湿疣 | HPV | 40-50% 治愈率 |
| 13.青年喉乳头状瘤 | HPV—11 | 肿瘤消失或缩小，易复发 |
| 14.寻常疣 | HPV | 改善 |
| 15.巨细胞病毒病 | HCMV | 尿毒症消失，降低发病率 |
| 16.急性上呼吸道感染 | HRV，1-3型副流感病毒，3，7型腺病毒，A,B型流感病毒等 | 远策公司生产的干扰素喷雾剂a2b(900MIU/3ml.临床研究表明可用于预防,短病程，排毒减少 |
| 17.外阴前庭炎 | 50%与HPV有关 | 改善临床症状 |
| 18.Behcet's病( 征 )生殖器溃疡，口疮及眼色素层炎 | 不明 | 减轻症状或完全消除.但是眼色素层炎，视神经乳头炎无改善，停药后复发. |
| 19．呼吸道合胞病毒感染 | RSV | 志愿者试验表明，攻击前后均给药, 可以明显减轻症状. |
| 20.SARS及其它冠状病毒感染 | HcoV,SARS病毒 | 远策公司生产的干扰素喷雾剂a2b(900MIU/3ml预防有效.已经被SFDA批准为技术储备药物 |

**参考文献 ：**

侯云德  干扰素及其临床应用  江苏人民科技出版社，1981

侯云德  分子病毒学     学苑出版社  1990

Becker Y: Antiviral Drugs and Interferon 1984

Byrne G I.Interferon and Nonviral Pathogens Marcel Dekker Inc 1988

[Chang SH](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Chang+SH%22%5BAuthor%5D), [Gong X](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Gong+X%22%5BAuthor%5D), [Yang ZY](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Yang+ZY%22%5BAuthor%5D),et al: Expression in Pichia pastoris and properties of human serum albumin-interferon alpha2b chimera Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao. 2006 Mar;22(2):173-9.

Ottenbrite, R M. & Butler, G; Butler, G:[Anticancer and Interferon Agents: Synthesis and Properties (Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Volume 24)](http://www.alibris.com/search/detail.cfm?chunk=25&mtype=&qisbn=9780824771898&S=R&bid=8815187643&pbest=&pqtynew=&page=1&matches=5&qsort=p) Marcel Dekker Inc, New York 1984

Paul Came and William Carter: [Interferons and Their Applications (Handbook of Experimental Pharmacology)](http://www.amazon.com/Interferons-Applications-Handbook-Experimental-Pharmacology/dp/0387125337/ref%3Dsr_1_9/102-7072603-7406568?ie=UTF8&s=books&qid=1188689315&sr=8-9)  1983

**第五章  干扰素治疗肿瘤的疗效**

 一、 毛细胞性白血病(HCL)

    “Cancer” 一字的含义包括200 种以上的恶性肿瘤.经典的化学合成药治疗肿瘤的反应率一般在15—29% , 虽然八十年代早期的研究已经表明,干扰素对多种肿瘤有明显的抑制作用, 但其效果均不足以获得美国FDA 的批准.基于干扰素可引起高分化B 细胞瘤的缓解, 所以临床学家选择了一种罕见的毛细胞性白血病来进行治疗研究.结果表明, 经人干扰素-α治疗后, 很快提高了抑制周围血细胞和血小板的能力, 患者的免疫状况改进了, 骨髓和血液中的毛细胞下降了, 患者的机会感染消失了, 也不再需输入血小板和红细胞了.低剂量干扰素-α治疗也有效, 在缓解后内源性干扰素的产生能力可恢复到正常.这一重大进展促使美国FDA 于1986年6 月批准干扰素a2和a2b同时投放市场, 随着全世界有数十家药品审批单位也批准干扰素-α投放市场.虽然最近已有化学合成药可替代α型干扰素.α治疗该病的部分作用, 但干扰素α作为第一个重组DNA 药物的研制成功, 无疑对随后生物治疗的发展起了重要的推动作用.

    干扰素α治疗毛细胞性白血病有大约90% 的疗效.但是, 大约有50% 的病人在仃药后复发, 不过大部分复发的病人对干扰素重新治疗还是有反应的.最近报导, 干扰素α长期治疗可使82% 的患者有长达6 年的存活期.

    为什么干扰素-α对毛细胞白血病有如此明显疗效, 目前尚不清楚, 不过, 细胞分化、抑制细胞周期和细胞程序性死亡可能起重要作用.

    毛细胞是高分化前浆细胞性B 细胞, 表达CD25抗原.CD25及其生长因子, IL-2 , 的存在可能是重要的. 因为, 缺少CD25抗原的HCL 对干扰素治疗不敏感.另一个重要线条是HCL患者有高水平细胞内自由钙和CD20磷酸化.CD20的磷酸化依赖于钙/ 调钙蛋白依赖性蛋白激酶II和蛋白激酶C.干扰素-α可下游调节CD20的磷酸化和降低细胞内高水平的钙;干扰素α也可激活蛋白激酶C , 它对蛋白激酶II有负调节作用.有趣的是, CD20在结构上与EB病毒隐性膜蛋白1 (LMP1)十分相似, 后者是一种转化癌基因病毒蛋白, LMP1可激活bcl2基因, 以阻止细胞的程序性死亡. 由于在HCL 有bcl2的表达, 干扰素α可间接地下游调节该基因, 使之发生程序性死亡.HCL 另一个高表达的癌基因是c Src,一种酪氨酸蛋白激酶, 也可被干扰素α所抑制.在不正常的酪氨酸激酶, 细胞内的高钙水平, CD20的磷酸化和细胞分化的阻断之间可能存在着某种联系.

    其他B 细胞肿瘤对干扰素-α也有不同程度的敏感性.细胞素结合化疗对多发性骨髓瘤、低度淋巴瘤也有疗效; 对慢性淋巴细胞性白血病、无痛性骨髓瘤和冷沉淀球蛋白尿( cryoglobulinemia) , 如果在早期长期进行干扰素-α治疗也有相当疗效.

  二、慢性骨髓性白血病(CML)

      早在80年代早期, 用部分纯化的白细胞干扰素治疗CML , 就发现有明显疗效; 随后用重组高纯度干扰素α进一步研究表明, 干扰素治疗可使患者骨髓的Philadeiphia染色体阳性细胞的减少, 甚至消失.

      CML 伴有Philadelphia染色体畸变体, 后者的形成是由于第9 和第22对染色体之间的交互转位, 从而形成嵌合bcl-abl 癌基因.其蛋白产物与正常的c-Abl 蛋白比较, 具有较高的酪氨酸激酶活性.CML 导源于多能性造血干细胞,常为未分化性白血病, 在周围血有未分化的髓细胞和淋巴样母细胞.该病通过骨髓移植，部分患者可被治愈, 但单纯化疗不能影响预后.干扰素α治疗有明显疗效.大约75% 的良性患者在干扰素治疗后血相完全恢复正常; 不少患者的缓解期可长达8 年之久.

    干扰素-α抑制CML 细胞的途径之一可能是通过下游调节bcl-abl 基因的表达.在治疗前, Bcl-Abl 蛋白的表达可阻止细胞程序性死亡, 以使肿瘤细胞积聚和超期存活.

    干扰素-α对多发性骨随瘤也有良好的疗效: 对过去治疗过的病人, 有15%-20% 的治疗反应率; 对过去未经治疗的病人, 其治疗反应率要高得多.由于传统的化疗对多发性骨随瘤也有好的疗效, 所以, 现在常将化疗与干扰素α联合应用以增加其反应率或延长其缓解期.干扰素-α与化疗联合应用治疗非Hodgkin's 淋巴瘤也获得良好疗效.

Hehlmann R等（2003）为评估羟基脲（hydroxyurea，HU）对干扰素治疗CML的影响，

进行了IFN 与 HU 联合治疗和HU单一治疗的随机对比研究 (CML-study II).自 1991年2月到1994年12月, 收集了376例新诊断的处于慢性期的CML ，进行随机分组.其中有340例Ph/BCR-ABL阳性，可以作出评估.在 IFN/HU联合治疗组，完全的血液学反应率比HU单一治疗组高，为 59 对32%. 联合治疗的存活率也明显地优于HU组. 结合到过去的研究结果，联合治疗组的疗效也优于干扰素单独治疗组.

   三、黑色素瘤

      黑色素瘤的发病率在上升.去年美国有约47,000 新病例，比20年前增加了一倍.去年有约7,700人死于此病，居25-30岁死于癌症之首.

目前, 晚期恶性黑色素瘤的化疗效果并不满意, 经典的化疗药物Dacarbazine 治疗黑色素瘤的总反应率仅为17%,完全反应率为4%, 反应期平均为6 个月.单独干扰素-α治疗黑色素瘤的反应率为16%,而干扰素-α与化疗药物联合应用的疗效却报道不一.II期临床的治疗结果令人鼓舞, 但III 期临床结果的报道有矛盾.南非Pretoria大学Falkson 报道, Dacarbazine+IFN α2b治疗黑色素瘤的反应率为53%(16/30),而单独干扰素治疗的反应率为20%(6/31).澳大利亚Thomson 小组报道, 联合治疗的反应率为21%(18/87),而单独IFN-α2a 为17%(14/83).

    Marin-Cola等应用IFN/IL-2治疗黑色素瘤患者82例，总有效率23%，他们发现，随着干扰素-α剂量的增加，总有效率可增加至42%，但毒性反应也随之加重.目前，IFN-α/IL-2+化疗治疗晚期黑色素瘤的生物化疗方案总有效率为41%-60%，中位存活38周，术后病人给予干扰素作为维持治疗，可明显延长无病生存和总生存期.

Pittsburgh大学医学院肿瘤研究所黑色素瘤研究中心的研究表明（Palkhivala et al 2001），800例高危黑色素患者，除均用常规治疗外，一半加用干扰素-a2b治疗，一半加用GMK疫苗治疗.疗程1-2年后，干扰素-α组死亡和复发比疫苗组降低33%.

    四、肾癌

      在北欧, 肾癌占所有肿瘤的1.4% ,所有肿瘤死亡率的1.5%; 男性发病率2倍于女性; 高发年龄在60岁左右.根据美国癌症协会统计, 美国每年有27600例肾癌新病例.5 年存活率为50%,目前, 最好的治疗反应率仅为20%.

增殖速度较慢的肾细胞癌在单独用干扰素-α治疗后大约有10-20% 得到缓解.美国Memorial Sloan Kettering 癌症中心采用IFN-α和维生素A 类似物13 cis retinoic acid联合应用治疗24例晚期肾癌患者, 有29% 有治疗反应, 其中1 例有完全反应, 6 例有部分反应.过去单独用干扰素-α治疗或联合Vinblastine治疗仅有10% 的治疗反应.美国Houston MD Anderson癌症中心的Sella,A  报道, IL-2 + IFN-α+Fluorouracil联合应用治疗转移性肾细胞癌的反应率可达43%.在这46例II临床研究中, 所有病人每日皮下注射IFN-α4X10(6)U/m2 , 共29天;连续输注IL-2 2X10(6)U/m2 和Fluorouracil 600mg /m2 共5 天.其中, 4 例(8%)有完全反应, 15例(35%) 有部分反应.

据Wagstaff等(1995)统计, 有31篇报道, 1100例转移性肾癌患者用重组人干扰素-α, 或自然白细胞干扰素, 或类淋巴母细胞干扰素进行治疗, 总反应率为14.6%.仅有肺转移的病例, 反应率可高达34%(32/93).

      法国学者的经验表明，皮下注射IL-2 和干扰素-a对转移性肾癌是有益的（[Culine S](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Culine+S%22%5BAuthor%5D)等2006）

 五、肺癌

    1996年廖美琳等报道210例I期非小细胞肺癌（NSCLC）术后辅以干扰素治疗，第1、2、3年生存率明显优于单纯手术组和术后化疗组.1997年我国安徽省肺科医院史清明等报72例非小细胞肺癌患者，在化疗同时，随机分为单纯化疗组和化疗加白细胞干扰素组（成都生物制品研究所出品），干扰素肌肉注射，每日1次，每次100万单位，共20天，结果经统计学处理，有显著性：疗效表现在：?提高了近期疗效；?降低了骨髓抑制程度；?减慢了肿瘤的生长速度；?缩短了化疗的间期.

   六、消化道癌

     干扰素-α与5-Fu联合应用治疗结肠癌比单纯化疗得效果要好.

1992年Wadler收集干扰素-α+5-Fu治疗晚期直肠癌，总有效率为26%-63%.另一些作者认为干扰素-α+5-Fu治疗晚期直肠癌并不能延长存活，联合应用CPT-11（羟基喜树硷）+5-Fu+CF是当前治疗晚期大肠癌的较好的化疗方案.

     香港一组研究人员应用干扰素-α+ADM治疗75例不能进行手术的原发性肝癌，与单用ADM治疗相比，疗效提高，中位生存时间延长.黄俊显等报道，干扰素-α联合肝动脉栓塞治疗54例中晚期肝癌，疗效优于单用肝动脉栓塞治疗.

     李玉升等（1998）应用干扰素-α+5-Fu+CBP+PDD治疗晚期食道癌获得较好疗效.

     Bernhard 等（1995）应用干扰素-α+CF+5-Fu治疗晚期胰腺癌，14%部分缓解，14%稍有缓解，但疼痛控制率大于60%.

Ajani等（1996）报道，应用干扰素-α+5-Fu+PDD治疗作为胃癌术前化疗，有效率达40%.另有报道，应用干扰素-α+5-Fu有效率达45%-54%.

    七、其他肿瘤

      肠神经内分泌瘤也同样对干扰素-α有治疗反应.皮肤鳞状上皮癌和基底细胞癌对干扰素或干扰素加视黄醛衍生物(retinoid)治疗有较好疗效.蕈样霉菌病(mycosis fungoides),一种由于IL—7 刺激产生的TH细胞肿瘤也对干扰素或视黄醛衍生物治疗敏感.

      成骨肉瘤是一种导源于中胚叶的肿瘤, Rb和p53 突变的机率很高, 手术后干扰素-α治疗可提高存活率.

      Kaposi肉瘤是一种血管原性增生性疾病, 常见于AIDS病患者,干扰素-α治疗后大约有40% 患者得到缓解.最近证明, 儿童致命性肺血管瘤(pulminary hemangioma) 也对干扰素治疗有良好疗效.

     有报道干扰素α+5-Fu+PDD作为头颈部鳞癌的新辅助化疗，3周后有效率达93%，其中完全缓解率为54%（引自李玉升等1998）.Vokes等报道干扰素-α+PDD+5-Fu+CF治疗晚期头颈部癌，41例可评价，结果25例完全缓解，16例部分缓解.

      Medenica等（1996）测定18例前列腺癌患者血清干扰素抑制因子均有不同程度增高；经干扰素-α+激素治疗2年后，10例完全缓解中位生存6年.

      干扰素-α治疗脑神经胶质瘤也有较好疗效；Paker等（1996）报道一组32例应用IFN-b联合超分割放疗，中位生存8个月.

      干扰素-α+13-顺式-维甲酸治疗晚期皮肤癌有效率达25%，局部晚期者有效率达93%（引自李玉升等1998）.

      干扰素-α对治疗表面膀胱癌、卵巢癌、原发性脑瘤等也有一定疗效.

干扰素-α是一种骨髓生成抑制素，也用于治疗系统性肥大细胞增多症，（systemic mastocytosis ，SM），（ Schernthaner GH等2000）.

干扰素-a和b 可预防HCV引起的肝细胞肝癌患者的复发,但其机制尚不清楚.(Sun HC et al 2003).

**参考文献：**

丁炎平,谭维彦，胡荣等: 小鼠a干扰素/上皮生长因子受体结合域融合蛋白的构建及其抗肿瘤活性的提高 中国科学（Ｃ辑）27，4：366-372，1997

黄晓鸣, 侯云德等: 带有上皮生长因子受体干扰序列的γ干扰素新分子具有较高的抗肿瘤细胞增殖活性    自然科学进展—国家重点实验室通讯(2):194 —198,1990

黎孟枫, 张沁, 曾庆等: 脑啡肽—干扰素融合蛋白具有较高的抑制肿瘤细胞

          生长活性    中国科学(B辑), 24(3):283-288,1994

王培申，侯云德等: 白细胞干扰素治疗鼻咽癌病例报告 中国医学科学院院报  1:78,1981

曾毅，侯云德等: 干扰素诱发B95—8 细胞VCA —EA抗原和Raji

        细胞EA抗原的表达 中华微生物学和免疫学杂志  1:142,1982

赵小侠，侯云德等: 干扰素与2 —5A抗病毒和抗细胞分裂活性的研究

                           中华微生物学免疫学杂志

赵小侠，侯云德等: 自然和重组干扰素抗肿瘤细胞的活性  中华肿瘤杂志  6:15,1984

Allen IE, Ross SD, Borden SP,et al: Meta-analysis to assess the efficacy of interferon-alpha in patients with follicular non-Hodgkin's lymphoma.

                 J Immunother. 2001 Jan-Feb;24(1):58-65.

Bostrom PJ, Uotila P, Rajala P, Nurmi M, Huhtaniemi I, Laato M.Interferon-alpha inhibits cyclooxygenase-1 and stimulates cyclooxygenase-2 expression

    in bladder cancer cells in vitro.  Urol Res. 2001 Feb;29(1):20-4.

Brachmann A, Franke I, Gollnick H.  Successful treatment of angiosarcoma of the scalp by intralesional cytokine therapy and surface irradiation.   J Eur Acad Dermatol Venereol. 2000 Sep;14(5):412-5.

[Culine S](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Culine+S%22%5BAuthor%5D), [Iborra F](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Iborra+F%22%5BAuthor%5D), [Mottet N](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Mottet+N%22%5BAuthor%5D) et al: Subcutaneous interleukin-2 and interferon-alpha in metastatic renal cell carcinoma: results of a French regional experience in Languedoc Am J Clin Oncol. 2006 Apr;29(2):148-52.

Ellwanger U, Seiter S, Dummer R,et al: Dacarbazine and interferon alpha with or without interleukin 2 in metastatic melanoma:  a randomized phase III multicentre trial of the Dermatologic Cooperative Oncology Group (DeCOG). Br J Cancer. 2001 Apr;84(8):1036-42.

Geng Y, Choubey D.  Differential induction of the 200-family proteins in Daudi Burkitt's lymphoma cells by  interferon-alpha.

                 J Biol Regul Homeost Agents. 2000 Oct-Dec;14(4):263-8.

Hauschild A, Garbe C, Stolz W,et al : Interferon-alpha2a and 13-cis-retinoic acid with radiation treatment for high-grade glioma.

Neuro-oncol. 2001 Jan;3(1):35-41.

Hehlmann R, Berger U, Pfirrmann M, Hochhaus A, Metzgeroth G, Maywald O, Hasford J, Reiter A, Hossfeld DK, Kolb HJ, Loffler H, Pralle H, Queisser W, Griesshammer M, Nerl C, Kuse R, Tobler A, Eimermacher H, Tichelli A, Aul C, Wilhelm M, Fischer JT, Perker M, Scheid C, Schenk M, Weiss J, Meier CR, Kremers S, Labedzki L, Schmeiser T, Lohrmann HP, Heimpel H.： Randomized comparison of interferon alpha and hydroxyurea with hydroxyurea monotherapy in chronic myeloid leukemia (CML-study II): prolongation of survival by the combination of interferon alpha and hydroxyurea. Leukemia. 2003 Aug;17(8):1529-1537.

Huncharek M, Caubet JF, McGarry R. Single-agent DTIC versus combination chemotherapy with or without immunotherapy in metastatic melanoma: a meta-analysis of 3273 patients from 20 randomized trials.

Melanoma Res. 2001 Feb;11(1):75-81.

[Kinouchi T](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Kinouchi+T%22%5BAuthor%5D), [Sakamoto J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Sakamoto+J%22%5BAuthor%5D), [Tsukamoto T](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Tsukamoto+T%22%5BAuthor%5D),et al: Prospective randomized trial of natural interferon-alpha versus natural interferon-alpha plus cimetidine in advanced renal cell carcinoma with pulmonary metastasis.

 J Cancer Res Clin Oncol. 2006 Apr 4;

Kirkwood JM, Ibrahim J, Lawson DH,et al:   High-dose interferon alfa-2b does not diminish antibody response to GM2 vaccination in  patients with resected melanoma: results of the Multicenter Eastern Cooperative Oncology Group Phase II Trial E2696.  J Clin Oncol. 2001 Mar 1;19(5):1430-6.

Kubo S, Nishiguchi S, Hirohashi K,et al:  Influence of previous interferon therapy on recurrence after resection of hepatitis c virus-related hepatocellular carcinoma.           Jpn J Cancer Res. 2001 Jan;92(1):59-66.

Matin SF, Rackley RR, Sadhukhan PC, et al:   Impaired alpha-interferon signaling in transitional cell carcinoma: lack of p48    expression in 5637 cells.

                 Cancer Res. 2001 Mar 1;61(5):2261-6

Merle P, Zoulim F, Vitvitski L, Trepo C The prophylaxis of hepatocellular carcinoma by interferon-alpha in virus-induced  cirrhosis

                 Gastroenterol Clin Biol. 2000 Dec;24(12):1166-76.

Motzer RJ, Rakhit A, Ginsberg M,et al:   Phase I trial of 40-kd branched pegylated interferon alfa-2a for patients with  advanced renal cell carcinoma.

                 J Clin Oncol. 2001 Mar 1;19(5):1312-9.

Niemela M, Maenpaa H, Salven P,et al:  Interferon alpha-2a therapy in 18 hemangioblastomas. Clin Cancer Res. 2001 Mar;7(3):510-6.

Steiner T, Junker U, Henzgen B, Nuske K, Durum SK, Schubert J.

   Interferon-Alpha Suppresses the Antiapoptotic Effect of NF-kB and Sensitizes Renal  Cell Carcinoma Cells in vitro to Chemotherapeutic Drugs.

                 Eur Urol. 2001 Apr;39(4):478-83.

[Sun HC](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Sun+HC%22%5BAuthor%5D), [Tang ZY](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Tang+ZY%22%5BAuthor%5D), [Wang L](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Wang+L%22%5BAuthor%5D), et al:Postoperative interferon alpha treatment postponed recurrence and improved overall survival in patients after curative resection of HBV-related hepatocellular carcinoma: a randomized clinical trial. J Cancer Res Clin Oncol. 2006 Mar 24;

Tang ZY. Preventive treatments for recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma--a literature review of randomized control trials.

 World J Gastroenterol. 2003 Apr;9(4):635-40.

Westermann J, Reich G, Kopp J,et:Granulocyte/macrophage-colony-stimulating-factor plus interleukin-2 plus interferon alpha in the treatment of metastatic renal cell carcinoma: a pilot study.Cancer Immunol Immunother. 2001 Jan;49(11):613-20

**第六章  干扰素治疗病毒性肝炎**

一、乙型肝炎



图6-1 乙性肝炎病毒颗粒

  乙型肝炎是一种经血传播的世界性传染病.全球有3.5亿人感染乙型肝炎,我国是高发区,带毒者约占人口的10%.现患者有3000万慢性乙型肝炎，每年还有200多万例的急性肝炎发生.目前的危害性远比艾滋病高.乙肝疫苗在城市的普遍推广可以大幅度地降低感染率,但在我国的广大农村虽已经可以免费接种,但是实际上尚未推广,而且还有数千万现病人需要治疗.乙肝的流行病学和血清学指标见表10-11 和图4-6.

表6-1   乙、丙型肝炎的流行病学

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 流行病学 | 乙型肝炎 | 丙型肝炎 |
| 1．全球感染人数 | 约3．5亿人 | 约1．7亿人 |
| 2．全球年新病例 | 约5000万人 | 约2000万人 |
| 3．有症状的感染者 | 30-50% | 30% |
| 4．需住院病例 | 6% | ？ |
| 5．急性感染转为慢性者 | 5-10% | 85% |
| 6．急性感染导致爆发性肝坏死 | <1% | 1% |
| 7．发生肝癌的危险性 | 比正常人高12-300倍 | 5%（20年后）1-4%/年（一旦肝硬化） |
| 8．慢性感染导致肝硬化 | 30% | 70% |

表6-2 乙肝的血清学指标

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 缩写 | 名称 | 意义 |
| HBsAg | HBV表面抗原 | 在感染后30-60天可以检出 |
| Anti-HBs | HbsAg的抗体 | 提供长期免疫 |
| HBcAg | HBV核心抗原 | 仅作为病毒颗粒的内部成分在血液中发现 |
| IgM Anti-HBc | 抗HBcAg IgM抗体 | 急性感染后产生，维持6个月 |
| HBeAg | HBV e抗原 | 病毒快速繁殖的指标 |
| Anti-HBe | 抗HbeAg抗体 | 与病毒停止繁殖和病毒感染力的降低相平行 |
| HBV DNA | 血清中病毒DNA | 病毒繁殖的指标 |

  据此,治疗乙肝的病例选择要求为：HBV复制的指标阳性，转氨酶升高，肝组织活体检查为慢性肝炎。转氨酶正常或接近正常的病例或有免疫抑制的患者常无治疗反应。

  干扰素-a2b治疗慢性病毒性肝炎和典型的乙型肝炎病毒感染的剂量为一般为3-10MU，每日1次，皮下注射，4个月为1疗程.(现在许多医院的治疗方案为3-5MU，隔日1次，皮下注射，3个月为1疗程,连续2个疗程,共用药90瓶).治疗后大约有43-44%的患者转氨酶（ALT）转正，(图4),活体肝组织病理改善，HBV DNA或HBeAg阴转率为36-37%. HbsAg均阴转率低约为10%；HbeAg单独阴转率绿约30%以上； HbsAg单独阴转的占10%；复发率为 5-10%.

这些转变是由细胞免疫系统介导的.干扰素治疗慢性活动性肝炎有较好的治疗反应.原始感染的病人和免疫耐受的病人对干扰素治疗也不同.(见图5)

干扰素治疗乙型肝炎的免疫反应包括如下几个方面:

1. 增加 MHC I抗原的表达,将病毒抗原递呈到细胞毒T淋巴细胞(CTLs)  ( H.Harris,1986)

2.直接激活 CTLs  (P.von Hoegan, 1995)

3. 增加NK细胞活性 (J. Ortaldo,1984)

4.在Th1 而不是在Th2的分化过程中诱导IL-12受体(IL-12R)b2 亚单位在天然Th细胞上的表达( L.Rogge,1997)



图6-2  干扰素-a2b治疗慢性乙型肝炎的疗效

根据干扰素的特性和临床经验要达到干扰素治疗肝炎最佳疗效的病例为:

1. 高水平血清转氨酶( ALT > 100 IU/L);

2. 低HBV DNA 水平(< 200 pg / ml);

3. 肝活已检查呈活性状态;

4. 有代偿能力的肝病;

5. 病毒在复制 (HbeAg阳性);

6. HDV 抗体阴性;

7. HIV抗体阴性;

8. 非免疫抑制机体

**C hepatocytes**

|  |
| --- |
| Th1细胞（CD+Th细胞） |

|  |
| --- |
| 细胞毒性T细胞 |

|  |
| --- |
| 受感染肝细胞溶解 |

|  |
| --- |
| IL-10 |

|  |
| --- |
| IL-4 |

|  |
| --- |
| 抑制剂 |

|  |
| --- |
| Th2细胞(CD+Th细胞) |

|  |
| --- |
| B细胞 |

|  |
| --- |
| 病毒中和 |



图6-3  慢性乙型肝炎的免疫反应

  干扰素治疗一般为每周3次，每次3-9MU，疗程延长至12个月，尽管如此，仃药后的复发率仍高。 1992年初和同年7 月我国和美国FDA均先后分别批准IFNα1b和a2b治疗慢性乙型肝炎。现有20多个国家批准采用细胞素治疗乙型肝炎.乙型肝炎与肝细胞型肝癌有密切的关系, HBV X 蛋白的反式激活作用可能与癌变有关; 而干扰素可以控制这一过程.

    对HBeAg阴性的慢性乙型肝炎患者干扰素效果不理想.Lampertico et al （1997）使用干扰素-a2b长期治疗HBeAg阴性， HBV-DNA阳性的慢性乙型肝炎患者；共42例，随机对照，治疗组21例，4例肝硬化；对照组21例，3例肝硬化用干扰素a2b治疗，600万单位，每周3次，连续24个月.结果表明，干扰素组有1/3病例HBV持续抑制，81%病人减轻.

   香港[Hui CK](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Hui+CK%22%5BAuthor%5D)等（2006）报道，PEG-IFN-a2a治疗慢性乙型肝炎48周在HBsAg的阴转方面优于PEG-IFNa2b治疗24周.
   干扰素-a2a治疗慢性乙型肝炎时，当剂量小于5X10 MU/d时副作用轻，随着剂量的加大，副作用也随之增加；接受干扰素-a2a/b治疗的大多数患者在给药2-8小时内出现“流感样”症状，采用退烧药可减轻症状.干扰素-a2a偶尔可诱发或加重慢性乙型肝炎或慢性丙型肝炎患者的自身免疫反应，如甲状腺功能紊乱，牛皮癣等；偶尔还可见白血病，血小板减少症，视觉障碍，失眠，高甘油三脂血症，总脂蛋白和高密度脂蛋白，胆固醇降低，房室阻滞，超声心动图改变等。由于副反应太大，不能耐受而终止治疗的达17%左右.在长期使用干扰素-a2a治疗患者中约有10-20%产生血清中和抗体.但干扰素-a2b的产生率较低,约为3-5%.

图6为干扰素-a治疗慢性活动性肝炎的典型反应.

|  |
| --- |
|   |

|  |
| --- |
|   |

|  |
| --- |
|   |

|  |
| --- |
| 0     1      2      3     4      5      6                 12       24治疗开始后(月) |

|  |
| --- |
| 正常ALT |

|  |
| --- |
| **HBsAg** |

|  |
| --- |
| **HBeAg** |

|  |
| --- |
| **HBV DNA** |

|  |
| --- |
| 干扰素a |

|  |
| --- |
| - ALT |

|  |
| --- |
| - Anti**-**HBe |

|  |
| --- |
| **- Anti-HBs** |



图6-4干扰素-a治疗慢性活动性肝炎的典型反应

  HBV有多种基因型，目前已知有8个基因型.我国初步统计,主要是B,C型流行,其中B型对干扰素治疗反应率高,预后较好;但是研究数量有限,尚待进一步研究.

干扰素-a慢性乙型肝炎的禁忌症:

1.伴有其它主要疾病:心脏病, 肾衰,严重糖尿病,癫痫;

2.代偿性肝硬化;

3.白细胞低于 < 1500 或血小板< 80,000

4.患有自家免疫性疾病,如甲状腺病 ( 历史上有自家免疫性疾病 + ANA滴度 > 1:160)

5.精神上有明显的压抑症.

ª病毒酶抑制剂治疗乙性肝炎的疗效

  Lamivudine (2',3'-dideoxy-3'-thia[cytidine](http://en.wikipedia.org/wiki/Cytidine), 3TC) 是一种强的反转录酶抑制剂. GlaxoSmithKline公司的商品名为 Epivir® 和 Epivir-HBV®. (贺普丁)，临床使用证明是安全的，能抑制HBV的繁殖。但6个月的短期治疗不能清除病毒，12个月以上，HBV 聚合酶基因变异而产生抗药性。 Lamivudine治疗慢性乙型肝炎的 II和 III期临床结果表明， 患者每日用100 mg 拉米夫定治疗1年， 持续性HBeAg阴转率为17%，治疗2年 增至 27%。拉米夫定还可以预防肝移植后的HBV复发。



图6-5 拉米夫啶的化学结构

  Lamivudine的优点是 (1)耐受性好； (2) 口服方便 (3)对肝脏功能不能代偿的患者也安全. lamivudine 的缺点是（1）缺少免疫系统对受染肝细胞的清除；（2）抗药性突变体的产生，平均为23%；但在亚洲患者的临床研究中发现治疗2年后突变体高达38%（PCR）；（3）治疗时间长，常需2年。

 干扰素的优点是：（1）干扰素是人体细胞分泌的自然抗病毒蛋白，具有广谱抗病毒作用，不引起病毒基因组的变异，仅有3-5%的长期使用患者产生干扰素抗体；改用不同型别干扰素继续有效；（2）疗程4-6个月，而拉米夫定疗程达2年；（3）抗病毒感染治疗的原则要求不仅能抑制病毒繁殖，还需激活机体的免疫反应以清除受病毒感染的细胞，干扰素具有这种双重功能，拉米夫定仅抑制病毒反转录酶，不具免疫增强作用。干扰素治疗乙型肝炎的不足是： (1)副作用较拉米夫定大，但不致影响疗效；（2）需肌肉注射，不如拉米夫定口服方便；(3) 对肝脏功能不能代偿的患者，还有安全性问题.

  第二代的抗HBV药物是Adefovir dipivoxil过去称为 bis-POM PMEA, 商品名为 Preveon® 和Hepsera®, 口服的反转录酶抑制剂(ntRTI) 治疗HBV；对 [HIV](http://en.wikipedia.org/wiki/HIV)无效.

Adefovir 是由Czech科学院的有机化学和生物化学研究所[Antonín Holý](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Anton%C3%ADn_Hol%C3%BD&action=edit)发明的, 由 [Gilead Sciences](http://en.wikipedia.org/wiki/Gilead_Sciences)公司开发治疗 [HIV](http://en.wikipedia.org/wiki/HIV)的（ Preveon）.但是, 1999.11.美国FDA没有批准,因为在60 或 120 mg 剂量时有严重肾毒作用. [Gilead Sciences](http://en.wikipedia.org/wiki/Gilead_Sciences) 继续研究治疗HBV的临床实验, 10 mg就有效.2002年9月20日FAS批准它治疗HBV(Hepsera.);2003年3月欧共体也获得批准.

  Hepsera也是为片剂，每日10 mg ，也作用于阻断 HBV DNA 多聚酶的合成, 后者涉及病毒的繁殖.
   在进行空白对照试验中，患者包括:具有肝代偿功能的和"e" 抗原阳性的 (HbeAg)或 "e" 抗原阴性(HbeAg阴性,或前核心抗原有突变)的乙肝患者。2次关键试验的48周研究结果的资料发表在2月 27日出版的“ New England Journal of Medicine”杂志上.前核心抗原有突变的乙肝病毒在全球范围内的乙肝病毒携带者中约占50%.在地中海和东南亚的国家中流行, 约占 30 - 80 %的慢性乙肝病人. Hepsera 还可用于对拉米夫啶有抗性的患者.
   在临床试验中 Hepsera 可逆转或减慢肝损伤的进展, 降低血清HBV DNA 水平和增加血清指标的转变率和肝功的正常率水平.它与对照组比较和过去曾用干扰素治疗的患者比较有较好的疗效.
   治疗48周的过程中出现的副反应有：乏力，头疼, 腹疼，恶心，肠胃气涨,腹泻和消化不良. 如延长治疗可发生血清肌氨酸酐（creatinine）中重度的可逆性增高, 平均疗程49周和最高109周. 血清肌氨酸酐的改变常见于肝脏移植前后的对拉米夫啶有抗性的患者.疗程达129周时肾功能异常多见. Hepsera 仃药后，可观察到临床和实验室检查指标的加重.



Adefovir dipivoxil



Adefovir:2-(6-aminopurin-9-yl)ethoxymethylphosphonic acid

[分子式:](http://en.wikipedia.org/wiki/Chemical_formula) [C](http://en.wikipedia.org/wiki/Carbon)8[H](http://en.wikipedia.org/wiki/Hydrogen)12[N](http://en.wikipedia.org/wiki/Nitrogen)5[O](http://en.wikipedia.org/wiki/Oxygen)4[P](http://en.wikipedia.org/wiki/Phosphorus);MW: 273.186 g/mol

Entecavir ([INN](http://en.wikipedia.org/wiki/International_Nonproprietary_Name)) ([IPA](http://en.wikipedia.org/wiki/International_Phonetic_Alphabet): 是第三代治疗HBV的反转录酶抑制剂商品名为 Baraclude ([BMS](http://en.wikipedia.org/wiki/Bristol-Myers_Squibb)).



2-amino-9-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)- 2-methylidene-cyclopentyl]-3H-purin-6-one

[Formula](http://en.wikipedia.org/wiki/Chemical_formula) [C](http://en.wikipedia.org/wiki/Carbon)12[H](http://en.wikipedia.org/wiki/Hydrogen)15[N](http://en.wikipedia.org/wiki/Nitrogen)5[O](http://en.wikipedia.org/wiki/Oxygen)3

 [Mol. mass](http://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_mass) 277.279 g/mol

根据Bristol-Squibb公司研究的结果, entecavir(BARACLUDE)比Lamivudine优越

表6-3二次研究的组织学改善情况

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | A1463022研究(HbeAg阳性患者) | A1463027研究(HbeAg阴性患者) |
|   | BARACLUDE | Lamivudine | BARACLUDE | Lamivudine |
|   | 0.5mg(n=314)a | 100mg(n=314)a | 0.5mg(n=296)a | 100mg(n=287)a |
| 组织学改善(Knodell记分) |
| 改善b | 72%\* | 62% | 70%\* | 61% |
| 不改善 | 21% | 24% | 19% | 26% |
| Ishak 纤维化记分 |
| 改善c | 39% | 35% | 36% | 38% |
| 无变化 | 46% | 40% | 41% | 34% |
| 恶化c | 8% | 10% | 12% | 15% |
| 缺少48周活体检查 | 7% | 14% | 10% | 13% |

a:患者的Knodell坏死性炎症记分>/=2

b: Knodell坏死性炎症记分从基线下降>/=2, Knodell纤维化记分无恶化

c: Ishak 纤维化记分,改善=从基线下降>/=1和恶化=从基线增加>/=1.

\*:p<0.05

a:Roche公司的COBAS PCR扩增仪检测(LLOQ=300拷贝/ml)\*:p<0.05

表6-4在二次实验中48周的终点结果

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | A1463022研究(HbeAg阳性患者) | A1463027研究(HbeAg阴性患者) |
|   | BARACLUDE | Lamivudine | BARACLUDE | Lamivudine |
|   | 0.5mg(n=354) | 100mg(n=355) | 0.5mg(n=325) | 100mg(n=313) |
| HBV DNAa |
| 未检测出比例(<300拷贝/ml) | 67%\* | 36% | 90%\* | 72% |
| 从基线的平均改变(log10拷贝/ml | -6.86\* | -5.39 | -5.04\* | -4.53 |
| ALT正常化(</=1XULN | 68%\* | 60% | 78%\* | 71% |
| HbeAg血清阴转 | 21% | 18% | NA | NA |

  据国内上海静按中心医院姚光弼教授研究认为entecavir 治疗中国慢性HBV患者876例有较高的抗HBV活性,较低抗药性变异率,由于lamivudine.



图6-6  用entecavir 或 lamivudine (ETV-023)治疗后HBV半部DNA的改变.

  目前,由于新一代抗反转录酶抑制剂的批准上市,抗lamivudine的HBV毒株的出现, 一般已不再用.

   过去,临床上曾大量研究过干扰素与反转录酶抑制剂联合使用治疗乙型肝炎,但是其效果目前还不理想;与干扰素与病毒唑联合应用治疗丙型肝炎的情况不尽相同.

§干扰素与拉米夫啶联合治疗

以下介绍荷兰鹿特丹Erasmus MC大学医学中心Solko W. Schalm总结了近几年来慢性乙型肝炎的联合治疗的情况.重点是乙型肝炎的联合治疗：

ª联合治疗的基本原理

  全球有3.5亿慢性乙型肝炎,其中 50% (1.75 亿) 有慢性乙型肝炎的体征和症状.与HIV感染者相比为0.4亿人. 所有有临床表现的都需要治疗, 单药治疗,或用经典干扰素治疗 16-26 周,或用经典的拉米夫啶治疗1年,仅对少数的群体有效.因此,当前的治疗方案对60-90%的慢性HBV病人是不适宜的. 为了降低慢性乙肝的发病率和死亡率需要开发更有效的治疗方案.

对大多数病人来说,有效的治疗反应是基于 HBV DNA 长期抑制,伴随着 ALT的转正, 然而持久的治疗反应还需要机体的免疫诱导.干扰素仅有轻-中度的抑制病毒复制能力,但是能在敏感的机体可诱导有效的宿主免疫反应;对比拉米夫啶,它对大多数病人有明显的抑制病毒复制能力,但没有临床相关的免疫调节功能; 另外长期使用拉米夫啶还会产生抗药性.

  因此,在逻辑上干扰素与拉米夫啶联合应用的效果可望在治疗的患者增加抑制病毒的能力,预防拉米夫定抗药性的产生和诱导机体的免疫反应.治疗的目的是持久性的治疗反应: HBV DNA < 10e5 拷贝数/毫升, ALT在停止治疗后 6-12个月内转为正常.

在小量人群中,由于某种免疫缺损,如肾透析,HIV,器官移植患者等,慢性乙肝的治疗可能无效.另外,在干扰素治疗中可能因毒性而不能治疗 (晚期肝硬化,自家免疫性疾病,有精神压抑的历史者). 对这些患者更需要联合治疗.

正在进展成肝硬化的乙肝病人; 伴有活动性肝炎的肝硬化病人,有静脉曲张性出血,产生腹水,肝癌的危险性; 高度病毒血症的慢性乙型肝炎有传播HBV的危险性;伴有额外肝脏并发症的慢性乙型肝炎.

表6-5 目前的单药治疗与联合治疗的对比

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 治疗药物 | 抗病毒 | 免疫反应 |
| 干扰素 | + | ++ |
| 拉米夫啶 | ++ | \_\_ |
| 联合治疗:干扰素+拉米夫啶 | +++ | +++ |
| 联合治疗: 拉米夫啶+adefovir, entecavir(为产生抗性的抗病毒药) | +++ | \_\_ |

©综述所选择的研究:

  目的是要包括所有发表的大量的随机试验资料(每次24例或以上) 有代偿和免疫活性的慢性乙肝比较干扰素+拉米夫啶与经典的单药治疗拉米夫啶治疗(>100 mg/日疗程 52周), 经典的干扰素治疗:(10 MIU tiw 或5 MIU QD,疗程16-26 周)或空白对照. 除所选的4项研究外 (Schalm SW et al.2000, Barbaro G,et al 2001;Schiff ER et al 1998;Sanantonio T et al  2002;) 还包括24例或以上的接受拉米夫啶和干扰素进行治疗多个其它研究 (Tatulli I, et al 20015).

  治疗前病人的情况,特别是病毒的水平和类型, 转氨酶水平和过去的干扰素治疗可以影响联合治疗的效果.因此,不同的研究,仅在校正基值后才能进行比较.

©HbeAg阳性的肝炎

  曾进行3次大量随机的 HbeAg阳性慢性乙肝的治疗研究. 在第一次国际性的研究中(Schalm SW et al.2000 ),有 226 例过去未接受治疗的病人随机接受联合治疗:在用拉米夫啶预治疗 8 周(n=75), 干扰素-a 10MIU,3/周, 16周 (n=69)以后,用拉米夫啶 100 mg/日和干扰素-a 10MIU,3次/周 ,疗程16 周;或者单独拉米夫啶 100 mg/日,疗程 52 周(n=82). 其原始的疗效终点是在52周的HbeAg血清转化( HbeAg阴转, HbeAb阳转和 HBV DNA阴性).

在52周,HbeAg阴转率:联合治疗组为29 %;,干扰素组为 19%;拉米夫锭组为 18% (p=0.10和 p=0.12).联合治疗组与拉米夫啶单药组在52周时的HbeAg阴转率,在个案计划的比较分析180例病人时是有显著性差异的 (分别为36% 对 19%; p=0.02).

当时作者的结论是拉米夫啶和干扰素联合治疗的优越性应当做进一步的不同联合治疗方案的研究.

在第二篇发表的研究中,意大利研究者(Barbaro G,et al 2001)比较了 24周的干扰素联合治疗与 52周的拉米夫啶单药治疗,共151例HbeAg阳性慢性乙肝患者; 其中有20例对过去的干扰素治疗无反应性.这项研究完成了 94-96 % 的病人, 包括对联合治疗能良好耐受的病例.联合治疗组治疗结束后,HbeAg阴转率和血清 HBV DNA阴转率 为 35% ;而拉米夫啶单药治疗组为19%.在联合治疗组,HBeAg 和 HBV DNA的复发为 7% ; 拉米夫啶单药治疗组为21% . 联合治疗组的持久性的 HBeAg 阴转率为 33%;明显不同于拉米夫啶单药治疗组的15% .

在治疗设计时,最重要的要素是较长的联合治疗的疗程 (24周),在治疗结束时 (24或 52周)和追踪结束时(48 周后)进行评估. 这些试验的结果进一步支持联合治疗的优越性,这可增加HbeAg阳性乙肝患者持续反应率.

但是,试验报告同时还发现与过去的观察不同的情况.拉米夫啶治疗后, ALT转正率是 27%,肝组织活检改进率( Knodell 评价)为27% ,明显地低于另外的大量病例的研究. 另外,其总体的持续性反应率为 33%,

因此,综合结果表明联合治疗与发表的干扰素单药治疗的结果没有明显差异.不同于干扰素或PEG干扰素与病毒唑联合治疗HCV明显地优于干扰素或PEG干扰素的单独治疗.

另一次研究是比较 52 周的联合治疗和52周的PEG化的干扰素单药治疗的效果,结果也是类同.

第三项大量随机的研究(Schiff ER et al 1998)包括238例慢性 HbeAg阳性的乙肝病例,对过去的干扰素治疗无反应性者. HbeAg反应率(HBeAg阴转, HBeAb 阳转,HBV DNA 阴转)在治疗开始后12个月与空白对照组相似, (13%, n=56), 拉米夫啶 (18%, n=119) 和联合治疗16周后(在用拉米夫啶进行预治疗8 周后)(12%, n=63),没有统计学意义(Schiff ER et al 1998). 不幸的是在 1998年发表的摘要没有全文发表.这项未经证实的重要的初步研究结果是:联合治疗这类病人没有优越性;作者应公布个别病人的资料,以便科学家作进一步分析.

©抗Hbe阳性的乙肝

  第四项随机对照拉米夫啶-干扰素联合治疗的研究(Sanantonio T et al  2002)包括 50例抗Hbe阳性的慢性乙肝病例.

用拉米夫啶治疗100 mg/日 (n=26)共12个月,或拉米夫啶治疗100 mg/日+干扰素 5 MIU ,每周3次,在基础线上,所有病人 HBVDNA阳性,血清转氨酶升高. 21例过去曾用干扰素进行过治疗. 在治疗过程中,所有病人ALT转正和HBV DNA转阴. 当用定量PCR进行评估时, 拉米夫啶-干扰素联合治疗组 HBV DNA水平的下降快于拉米夫啶单药治疗组. 拉米夫啶-干扰素联合治疗组和拉米夫啶单药治疗组的病毒血症清除率在2个月时各为54 和27%;在6个月时各为 83和62%. 联合治疗的治疗反应率可维持到治疗结束;相反, 拉米夫啶单药治疗组由于有HBV突变的YMDD发生,而有5/26 (20%)的反跳.当治疗结束后,大多数病人复发; 在 18个月的持久性反应率:联合治疗组为 17% ;单药组为19%..

   由此可见,联合治疗可预防或推迟YMDD突变体HBV的出现, 但在12个月的疗程中,对单药拉米夫啶组观察不到持久性反应率的增加.

  意大利学者对29例连续性抗HBe/HBV DNA 阳性的患者的预期性批量研究 (Tatulli I, et al 20015)证明, 12 个月的联合治疗(拉米夫啶 +干扰素 6 MIU 3次/周)可以高度有效地诱导和维持病毒学和生化学指标的缓解(93%). 在联合治疗中未发现有YMDD突变体的 HBV.但是,在24个月的持续性治疗反应仅为14%.

香港中文大学Henry L Chan 等人研究PEG-干扰素与拉米夫啶联合治疗乙肝的疗效如表4-10  所示.

表6-6 PEG-干扰素与拉米夫啶联合治疗乙肝的病毒疗效

Mean Log HBV DNA ± SD

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 周 | PEG-干扰素与拉米夫啶 | 拉米夫啶 | P值 |
| -8 | 8.0 ±0.9 | - | - |
| -4 | 7.1±1.0 | - | - |
| 0 | 6.6±1.4 | 8.6±0.9 | 0.0008 |
| 4 | 4.1±1.9 | 6.6±1.4 | 0.002 |
| 8 | 2.9±1.9 | 5.4±2.1 | 0.006 |
| 16 | 2.8±2.4 | 5.7±1.8 | 0.004 |
| 24 | 2.8±2.6 | 5.0±2.3 | 0.045 |

§核苷类似物的联合治疗

©对拉米夫啶有抗性的乙肝

  adefovir 和lamivudine 联合治疗对拉米夫啶有抗性慢性乙肝和HIV / HBV 合并感染, 患者为代偿失调的肝硬化或为肝移植后的复发性 HBV感染.

   在HIV/HBV合并感染的研究中(Tatulli I et al: 2001) 35 例用拉米夫啶治疗 (150 mg ,每日2次)作为抗反转录病毒治疗方案的一部分, 由于接受adefovir 10 mg,每日1次,共 48周使HBV发生 YMDD 突变,血清 HBVDNA 和转氨酶都反弹. 抗HIV的治疗仍维持. 在所有病人均观察到HBV复制受到抑制.血清 HBV DNA 平均从 10e8 ( log 8) 下降至10e5(24周)和10e4(48周). HbeAg阴转为 2/33 (6%).副反应是轻的. 血清 ALT从 8周到20周增加, 然后下降直到 48周; 病人中在每个时间内血清ALT的变数很大. 血清肌氨酐酸的增加,超过基线,大于 44 umol/L(2例); adefovir或抗病毒治疗可使血清肌氨酐酸回到基线.

在由于慢性乙肝的晚期肝硬化的研究中(Benhamou Y et al. 2001), 39例用拉米夫啶进行治疗 (每日100 mg ) ,由于接受加adefovir (每日10 mg)治疗出现YMDD 突变体 HBV,而使病毒反跳.在24周的初步结果 证明平均HBV DNA 从10e8 ( log 8)下降到10e5.所有病人血清HBV DNA有 2个对数的下降 ,30% 有 4个对数的下降.15%患者血清HB DNA转阴. HbeAg阴转的有 5/29 (16%).在许多病人中,HBV DNA的抑制与生化指标和临床症状的改善是相关联的. Child-Pugh 评价从6  下降到 5; 离基线的平均变化为 0,8,这一结果有统计学意义( p<0.001).除约有 50%的病人,其ALT转正外, 血清胆红素和白蛋白也明显改善. 副反应不常见. 未见血清肌氨酐酸增加( 0.5 mg/dL); 有1例乙肝恶化在16周死亡,1例因静脉曲张性出血而死亡.

在第三项研究中(Perillo R et al. 2001)有 131例在同种肝移植后肝炎,对拉米夫町啶有抵抗.( HBsAg, HBV DNA > 10e6 ( log 6) 血清转氨酶增高) ,接受 adefovir 治疗,10 mg,每日1次加基础治疗.; 治疗期不确定. adefovir 的剂量按肌氨酐酶的清除和免疫抑制相关的肾毒性而进行调整. 24和 48 周的血清 HBV DNA, 肝活性和肝功见表 14,这与过去的结果相似.

表6-7  Adefovir 附加治疗与生化学指标的改善

|  |  |
| --- | --- |
|   | 不正常试验的百分比 |
| 肝功指标 | 基线 | 24周 |
| 胆红素 | 38 | 18 |
| 白蛋白 | 51 | 26 |
| 凝血时间 | 51 | 41 |
| 转氨酶ALT | 95 | 49 |

ª展望

  目前,治疗慢性乙型肝炎的一线药物仍应以干扰素-a为主,因为干扰素不会产生一般意义上的抗药性;针对抑制病毒繁殖环节的药物,没有免疫调节活性,不能清除已经受病毒感染的细胞,而且均会产生不同程度的抗性.但是,目前干扰素或PEG干扰素治疗HBV患者的效果尚不理想,应当加强研究,提高疗效.可能的研究方向有:

1.干扰素与新一代反转录酶抑制剂或蛋白酶抑制剂联合应用治疗慢性乙型肝炎;

2.干扰素与其它的免疫调节剂联合应用治疗慢性乙型肝炎,如干扰素与SciClone公司生产的胸腺肽a1联合应用治疗乙型肝炎;

3.目前已知,III型干扰素(干扰素-l1,2,3)的受体不同于I和II型干扰素,使用III型干扰素治疗乙型肝炎可能有不同结果;

4.采用蛋白质工程的技术改造天然干扰素,以期获得更好的治疗效果.

二、丙型肝炎

  丙型肝炎有6个型别。经常变异。在我国大多数是1型；在美国，75%是1型。其中1a 型多于 1b型.1a 和 1b型HCV常与严重丙肝相关，并对干扰素-a2b治疗不敏感。

HCV是于1988年发现的.丙型肝炎从感染到肝损伤可长达20年.丙肝可导至肝硬化，肝癌和肝衰歇.在美国,丙肝是进行肝移植的主要原因；美国有450万丙肝病人.全球有约1.7-2.0亿病人.据估计，丙型肝炎如不治疗，其病死率将超过艾滋病.干扰素是在治疗丙型肝炎的药物中最为成功的一个.

表6-8 丙型肝炎血清学的指标

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 缩写 | 名称 | 意义 |
| HCV RNA | 丙型肝炎RNA | 在感染后1周内可以检测出 |
| Anti-HCV | HCV抗体 |   |
| Anti-C100 | 检测HCV抗体的第一代试剂 | 在感染后2-5个月可检出 |
| Anti-C22 | 检测HCV抗体的第二代试剂 | 在感染后1-2个月可检出 |
| Anti-C33 | 检测HCV抗体的第二代试剂 | 在感染后1-2个月可检出 |

jINTRON A治疗丙型肝炎的疗效

  干扰素治疗方案为：每次3-5MU，每周3次，6-12个月为一个疗程。大约有50-70% 的患者对干扰素治疗是敏感的.大约有15—30% 患者有持久反应, 导至肝功恢复正常.治疗有效的患者在仃药后复发率高达40-60%。Damen M等（2001）认为干扰素长期治疗，可以明显地增加病毒学的稳定的反应率，特别是对用传统方法治疗后复发的病例.

k  国产干扰素-a2b 治疗丙型肝炎的疗效

  1996年我国由北京医科大学人民医院肝病研究所(为卫生部药物临床验证基地)与天津市传染病医院,浙江医大传染病研究所,常州市第三人民医院, 焦作市人民医院, 西安医科大学第一附属医院, 河南医科大学第二附属医院等单位对远策素(北京远策药业有限责任公司生产的重组人干扰素-a2b)治疗丙型肝炎进行多中心临床研究.

远策素 (rIFN-a2b),300万IU/肌肉注射，隔日一次，共3个月为一个疗程。共选丙型肝炎患者144例，其中对照组44例，治疗组100例,病程均在6个月以上, 平均病程2.4年.

病例选择标准为:ALT升高超过正常值1倍以上,HCV RNA阳性,抗HCV阳性或阴性.无其

它心、肾、内分泌、造血系统的明显疾病.

  所有患者在用干扰素治疗后，多数随着治疗时间的延长，其自觉症状如乏力、纳差、腹胀等均有不同程度的改善；最常见的副反应是发热，多数病人在37.3--39℃之间，随着用药时间延长而逐渐减轻甚至消失，其他全身关节痛、肌肉痛及流感样症状也较多见，但均较轻，全部病人均可耐受，无1例因此而停药.

  在用药过程中白细胞、血小板有部分病例有所下降，但给予生血药物后，可以恢复及坚持用药.

ALT治疗2个月后复常率超过50%，疗程满3个月后ALT复常率40%，下降率(和治疗前相比下降≥50%)23%，总降酶有效率可达63%.用药2个月后HCV RNA阴转率50%，3个月疗程结束后则达64%，抗HCV无变化.

这说明,远策素 (rhIFN-a2b)治疗丙型肝炎的疗效是确切的，且副作用轻、病人均可坚持治疗，因此SFDA批准进行Ⅲ期临床验证.验证结果与INTRON A 相似(结果未列).

§治疗前后症状体征变化

表6-9  远策素(rhIFN-a2b)治疗丙型肝炎患者治疗前后症状体征变化(n=100)

|  |  |
| --- | --- |
| 用药时间 | 出现症状、体征的病例数 |
| 乏力 | 纳差 | 恶心 | 腹胀 | 低热 | 黄疸 | 肝大 | 脾大 |
| 用药前 | 54 | 34 | 5 | 17 | 39 | 3 | 10 | 6 |
| 1个月 | 30 | 12 | 2 | 4 | 28 | 0 | 8 | 6 |
| 2个月 | 14 | 3 | 0 | 1 | 18 | 0 | 8 | 6 |
| 3个月 | 5 | 3 | 0 | 0 | 7 | 0 | 8 | 5 |

§治疗前后副反应产生情况

表6-10 远策素(rhIFN-a2b)治疗丙型肝炎患者治疗前后副反应产生情况(n=100)

|  |  |
| --- | --- |
| 时间 | 出现副反应的例数 |
| 发热 | 肌肉关节痛 | 头痛 | 脱发 | 精神改变 |
| 用药前 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1个月 | 60 | 68 | 10 | 0 | 0 |
| 2个月 | 0 | 10 | 0 | 3 | 2 |
| 3个月 | 0 | 3 | 2 | 5 | 0 |

  由表4-14可以看出最常见的副反应是发热、肌肉关节痛、头痛等感冒样症状，但随着治疗时间的延长，以上副反应即甚至消失，发热体温在37.3℃至39℃之间，且多在2周以内完全消失，病人均可耐受.

§用药前后外周血相的变化

表6-11  远策素(rhIFN-a2b)治疗丙型肝炎患者治疗前后外周血相的变化(n=100)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | WBC(<40510n/L) | PLT(<100510n/L) |
| 治疗前 | 5.89                  | 144.40 |
| 1个月 | 4.63 | 135.70 |
| 2个月 | 4.81 | 120.83 |
| 3个月 | 5.10 | 115.19 |

  由表6-11中可以看出在用药治疗过程中WBC及PLT常有不同程度下降，100例丙型肝炎患者中WBC下降最低者达2.7×109者，PLT下降最低至4.5×109者，给生血药物后多数均恢复正常，至疗程结束时，仍有3例低于正常，但所有因治疗引起的WBC及PLT降低的患者，无1例出现严重感染及出血倾向，也没有因此而停药终止治疗.

§治疗前后肝功的变化

表6-12  远策素(rhIFN-a2b)治疗丙型肝炎患者治疗前后肝功的变化(n=100)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 用药时间 | ALT(IU/L) | AST(IU/L) | TP(g/L) | ALB(g/L) | A/G |
| 用药前 | 127.40 | 85.02 | 70.9 | 43.6 | 1.63 |
| 1个月 | 62.88 | 53.04 | 72.6 | 42.6 | 1.58 |
| 2个月 | 47.26 | 42.56 | 73.0 | 43.6 | 1.89 |
| 3个月 | 56.90 | 49.92 | 74.6 | 44.3 | 1.54 |

§治疗前后ALT及AST变化情况

表6-13    远策素(rhIFN-a2b)治疗丙型肝炎患者治疗前后ALT及AST变化情况(n=100)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 用药时间 |   | 1个月 | 2个月 | 3个月 |
| AIT | 复常 | 21/100 (21.0) | 24/100(34.0) | 40/100(40.0) |
|   | 下降\* | 24/100(24.0) | 28/100(28.0) | 23/100(23.0) |
|   | 总有效率 | 45/100(45.0) | 62/100(62.0) | 63/100(63.0) |
|   | 无效 | 55/100(55.0) | 38/100(38.0) | 37/100(37.0) |
| AST\* | 复常 | 13/61(29.5) | 30/61(49.2) | 30/61(49.2) |
|   | 下降\* | 8/61 (13.1) | 9/61(14.8) | 9/61(14.8) |
|   | 总有效率 | 26/61 (42.6) | 39/61(63.9) | 39/61(63.9) |
|   | 无效 | 35/61 (57.4) | 32/61(36.1) | 22/61(36.1) |

\*下降：ALT下降水平超过用药前的50%

\*\*有部分患者未曾检测AST

   由表6-12，-13可以看出血清总蛋白及白蛋白用药前后无明显改变，A/G比值虽有轻度下降，但无统计学意义.

多数病人用药后ALT及AST均有明显复常及下降，和治疗前期比总有效率≥60%，治疗2个月后ALT复常率超过30%，疗程满3个月后，复常率达到40%,如再加上下降的约23%，总有效率（降酶作用）可达63%.

§用药前后病毒学指标的变化

表6-14远策素(rhIFN-a2b)治疗丙型肝炎患者治疗前后病毒学指标的变化情况(n=100)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | HCV  RNA | 抗HCV |
|   | 阴性 | 阳性 | 阴性 | 阳性 |
| 用药前 | 0/100 | 100/100（100.0） | 6/100（6.0） | 94/100（94.0） |
|    1 个月 | 22/100（22.0） | 78/100（78.0） | 7/100（7.0） | 93/100（93.0） |
| 2个月 | 50/100（50.0） | 50/100（50.0） | 8/10098.0） | 92/100（92.0） |
| 3个月 | 64/100（64.0） | 36/100（36.0） | 9/100（9..0） | 91/100（91.0） |

\*括弧内数字为阴转率或阳性率

    表6-14显示,随着治疗时间延长，HCV RNA阴转率逐渐增加，3个月疗程完成后HCV RNA阴转率可达64.0%，但抗HCV无明显变化.

§.治疗组与对照组病毒学指标的比较：

　　对照组44例为应用其它降酶保肝药物治疗的丙型肝炎患者，其中男性39例，女性5例，平均年龄38.8岁；平均病程3.7年.此组病人和治疗组同样观察生化及病毒学指标，结果见表22.

表6-15远策素(rhIFN-a2b) 治疗组与对照组病毒学指标的比较

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|   | 治疗组 | 对照组 | P值 |
|   | 例数 | % | 例数 | % |   |
| ALT 复常及下降 | 63/100 | 63.0 | 17/44 | 38.0 | ＜0.05 |
| HCV RNA阴转 | 64/100 | 64.0 | 0/44 |   | ＜0.001 |

\*较治疗前降低≥50%，对照组中无例ALT复常.

   由表6-15可以看出应用北京远策药业有限责任公司生产的rIFN-α2b治疗丙型肝炎患者无论在抗病毒HCV  RNA的阴转率的作用及降低转氨酶的作用均明显的优于一般降酶保肝治疗的效果，两者之间的差异有统计学意义.

§国产干扰素-α2b 治疗丙肝临床研究的结论

1.多数丙型肝炎患者，随着治疗时间的延长，其自觉症状如乏力、纳差、腹胀等均有不同程度的改善，但肝、脾肿大的改善不明显.

2.最常见的副反应是发热，多数病人在37.3-39℃之间，随着用药时间延长而逐渐减轻或消失.最长者约在10天左右，不超过2周.其它全身关节痛、肌肉痛及流感样症状也较多见，但均轻微，全部病人均可耐受，无1例因此停药.

3.在用药过程中，WBC及PLT常有不同程度下降，WBC最低者降至2.7×109/L；PLT最低降4.5×109/L，给予生血药后，均恢复正常，仅三例结束疗程仍低于正常值.但此类患者无1例出现严重感染及出血倾向.

4.多数病人用药后ALT、AST明显下降（和治疗前相比下降50%以上），治疗三个月后复常及下降的总有效率均超过60%.

5.血清总蛋白、白蛋白用药前后无明显变化，A/G比值虽有轻度下降，但无统计意义.

6.用药2个月后HCV RNA 阴转率达50%， 3个月疗程完成后阴转率达到64%，但抗HCV则无明显变化.

7.和44例应用一般常规降酶保肝药物治疗的丙型肝炎患者比较在ALT复常、下降及HVC RNA阴转，rIFN-α2b治疗组明显优于常规组、二者之间的差异有统计学意义.

8. III期临床试验的疗效与INTRON Ａ类似.

lPEG-干扰素-a2b治疗丙肝的疗效

2001年1月美国FDA批准Schering-Plough研制的长效干扰素a2b “Peg-Intron(TM)”投放市场治疗慢性丙型肝炎.Peg-Intron皮下注射，每周1次，疗程1年.患者可以自己注射.

  在一次随机研究中，共1,219 例成人患者，比较了PEG-INTRON和INTRON A的疗效.使用PEG-INTRON时，采用的剂量为0.5, 1.0 或1.5 mcg/kg，皮下注射，每周1次；使用INTRON A 时，每次 3 MIU，皮下注射，每周3次，48周，仃药后再观察24周.结果表明，PEG-INTRON 1.0 mcg/kg剂量组24%患者有持久性病毒学反应和转氨酶转为正常，而INTRON A 组仅为12%.

采用PEG(40kd) IFN a2a 治疗慢性丙型肝炎，每周一次的病毒学的反应率高于每周3次注射普通干扰素.安全性相似，PEG(40kd) 干扰素a2a的适宜的剂量为180微克.（Reddy KR 2001, Zhang F.2003）

m PEG-INTRON与病毒痤联合应用治疗丙肝的疗效

  保持持久反应性的因素为：低病毒血症，除1以外的基因型，无肝硬化，肝内铁含量低，E2基因核苷酸变异小.延长疗程（>12个月）可以增加治疗反应的持续性.对无治疗反应性或复发的病例可考虑联合治疗，包括干扰素加indomethacin，干扰素加ketoprofen，干扰素加ribavirin.

  1998年6月3日美国FDA批准Schering Corporation（Kenilworth NJ）重组干扰素-α2b与Rebetol（ribavirin）联合应用治疗丙型肝炎，商品名为Rebetron.临床试验表明，联合治疗6个月，仃药追踪6个月，大约有45%的患者HCV水平持续降低，而单用干扰素再治疗只有5%.联合治疗后，患者肝脏活体组织检查有50%有炎症改善，而单纯用干扰素治疗为34%.Rebetol和干扰素治疗丙肝有严重的毒副作用，必须在医生严密监视下进行，包括死胎，致畸，因此妇女在接受时和在治疗后6个月不能怀孕.Rebetol可引起贫血，特别是有心血管疾患者尤为严重；干扰素还有精神症状，包括抑郁、自杀行为等.

总结干扰素-α2b与病毒唑治疗丙型肝炎的疗效如下图所示：

 

图6-7  不同干扰素-α2b制剂治疗丙型肝炎的持续性疗效（病毒学反应）

n干扰素与免疫增强剂联合应用治疗丙肝的疗效

  SciClone Pharmaceuticals 于2001年1月开始进行ZADAXIN 加PEG化的干扰素-a2a治疗丙型肝炎的III期临床试验.其中ZADAXIN是一种免疫系统增强剂，以促进机体的自然抗病毒和抗肿瘤能力.

  最近Maxim Pharmaceuticals宣布（2001.4.20）采用干扰素a联合Ceplene（histamine dihydrochloride）治疗丙型肝炎72周完成II期临床结果表明，有40%的病人获得完全、持久的治疗反应，使用高剂量的Ceplene（10 mg/周）高达44%.而单独使用干扰素组只有16%的病人获得完全、持久的治疗反应.目前正在进行干扰素、病毒唑和Ceplene联合治疗丙型肝炎.特别是I型，它对干扰素不敏感，但在美国和亚洲有70%丙型肝炎是由I型引起的.

使用Ceplene治疗丙肝的理由是，许多癌症病人和慢性病毒病患者的免疫系统受到抑制 ，不能清除受病毒感染的细胞，而Ceplene可以恢复机体的免疫功能.目前，Ceplene是一种尚在研究中的药物，除治疗丙肝外，还在12个国家用于治疗晚期转移性黑色素瘤和急性髓细胞性白血病（III期临床）以及晚期肾癌（II期临床）.

  oInfergen 加 Actimmune 治疗无反应的HCV

  InterMune公司今日宣称，回顾性临床分析评估每日用Infergen(R) (IFNcon-1)加每周3次的 (TIW) Actimmune(R) (干扰素g1b) 治疗慢性HCV患者,后者对用 peg化干扰素-a2加ribavirin质量无反应者. 临床资料分析日在Chicago召开的消化道疾病周 (DDW) 会议上发表. HCV患者第一线用PEG 干扰素加 ribavirin治疗后约有一半患者无病毒学反应(SVR) 和成为PEG干扰素无反应者. 在美国有 20万人为 PEG干扰素无反应者,这一数量还在增加,每年约增 5万人.

对PEG干扰素加ribavirin治疗无反应者开始进行为期48周的治疗: 15 微克/日 Infergen 加50微克干扰素-γ(Actimmune) TIW,不加ribavirin. 在 72周,测定血清HCV RNA.月有34% (17/50) 的患者获得SVR.

在进行此实验以前, 共50 例患者进行回顾性分析,患者的平均血红蛋白质降低,这是一种ribavirin治疗后的常见副反应.但是这些患者在用Infergen加 TIW Actimmune(不加ribavirin) 治疗8周后, 血红蛋白质水平恢复正常. 值得一提的是用于逆转 ribavirin相关性贫血的EPO对Infergen 加 Actimmune 治疗方案并不需要.

研究者的出结论:Infergen 单独或与Actimmune联合应用所引起的细胞抗病毒反应不同于干扰素alpha-2a 或 PEG-干扰素-a2b (BIO： May 16 2005).

   法国学者[Souvignet C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Souvignet%20C%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Lejeune O](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Lejeune%20O%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Trepo C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Trepo%20C%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus).等人（2007）就迄今干扰素治疗HCV进行了总结。总结认为在过去的10多年中集中使用干扰素a2作为抗病毒和免疫调节剂治疗HCV有了很快的进展：首先，作为单药治疗效果不理想，在后,干扰素a 与病毒唑联合使用提高了抗病毒效果. 使约 50%的患者达到持久性的病毒学反应,其特征是 在受感染的个体最终清除病毒.惊奇的是, 这种协同作用迄今尚不能解释. 第三步是使用PEG化的干扰素，每周皮下注射1次以替代每周3次. PEG干扰素与病毒唑联合应用治疗 24-48周是目前的标准治疗方案，可使近60%的患者有持久的病毒学反应. 开发干扰素-a新剂型正在进行之中，初步结果令人鼓舞.

三、D 型肝炎

    慢性D 型肝炎的干扰素治疗方案为：9-10MU，每周3次，12个月为1个疗程，暂时性缓解（ALT正常，HDV RNA阴性）率不超过50%.持久反应率不超过20%.

**参考文献：**

Bailon P, Palleroni A, Schaffer CA,et al: Rational Design of a Potent,   Long-Lasting Form of Interferon: A 40 kDa Branched   Polyethylene Glycol-Conjugated  Interferon alpha-2a for the Treatment of Hepatitis C.

                 Bioconjug Chem. 2001 Mar 21;12(2):195-202.

Barbaro G, Zechini F, Pellicelli AM, et al. Long-term efficacy of  interferon alpha-2b and lamivudine in combination compared to lamivudine monotherapy in patients with chronic hepatitis B. An Italian multicenter randomized trial. J Hepatol 2001;35:406-11

Benhamou Y, Bochet M, Thibault V, et al. Safety and efficacy of adefovir dipivoxil in patients co-infected with HIV-1 and lamivudine-resistant hepatitis B virus: an open-label pilot study. Lancet 2001;358:718-23

Benasco C, Serrano TT, Casanova A,et al:. Efficacy of interferon for chronic hepatitis C virus-related hepatitis in kidney transplant candidates on hemodialysis:results after transplantation. Am J Gastroenterol. 2001 Apr;96(4):1170-7.

Berg T, Hopf U, Schuff-Werner P. Sustained remission of chronic hepatitis C after a change to human leukocyte interferon-alpha in a difficult-to-treat patient with breakthrough phenomenon associated with antibodies against recombinant interferon-alpha.Am J Gastroenterol. 2001 Feb;96(2):612-4.

Bergamini A, Bolacchi F, Cerasari G,et al:. Lack of evidence for the Th2 predominance in patients with chronic hepatitis C. Clin Exp Immunol. 2001 Mar;123(3):451-8.

[Bini EJ](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Bini+EJ%22%5BAuthor%5D), [Mehandru S](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Mehandru+S%22%5BAuthor%5D).:Sustained virological response rates and health-related quality of life after interferon and ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection and persistently normal alanine aminotransferase levels. Aliment Pharmacol Ther. 2006 Mar 15;23(6):777-85.

[Bocher WO](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Bocher+WO%22%5BAuthor%5D), [Schuchmann M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Schuchmann+M%22%5BAuthor%5D), [Link R](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Link+R%22%5BAuthor%5D),et al: Consensus interferon and ribavirin for patients with chronic hepatitis C and failure of previous interferon-alpha therapy Liver Int. 2006 Apr;26(3):319-25.

Chang TT, Gish RG, de Man R et al. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg positive chronic hepatitis B. N Engl J Med 2006; 354: 1001–10.

Chinese Society of Hepatology and Chinese Society of Infectious Disease. Chinese guideline for the prevention and management of chronic hepatitis B. Chin Hepatol 2005; 10: 348–57.

Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Chandra P, Rabenau H, W Doerr H：Treatment of SARS with human interferons Lancet 2003; 362: 293-94

Colonno RJ, Rose R, Baldick CJ et al. Entecavir resistance is rare in nucleoside naive patients with hepatitis B. Hepatology 2006; 44:1656–65.

Comanor L, Minor J, Conjeevaram HS,et al:  Impact of chronic hepatitis B and interferon-alpha therapy on growth of children.

                 J Viral Hepat. 2001 Mar;8(2):139-47.

Cotler SJ, Ganger DR, Kaur S,et al:  Daily interferon therapy for hepatitis C virus infection in liver transplant recipients.

Transplantation. 2001 Jan  27;71(2):261-6.

Dahmen A. Herzog-Hauff S. Bocher WO. et al Clinical and immunological efficacy of intradermal vaccine plus lamivudine with or without interleukin-2 in patients with chronic hepatitis B.  J Med Virol 2002;66:452-60

Damen M, Weegink CJ, Mauser-Bunschoten EP,etal:  Sustained virological response in chronic hepatitis C patients after a 6- and a 36-month interferon-alpha2b treatment schedule: a multicenter, randomized, controlled study.

                  Scand J Gastroenterol. 2001 Jan;36(1):97-104.

De Vera ME, Smallwood GA, Rosado K,et al:  Interferon-alpha and ribavirin for the treatment of recurrent hepatitis C after liver transplantation.

            Transplantation. 2001 Mar 15;71(5):678-86.

Di Martino V V, Boudjema H, Delacour T,et al: Treatment of Chronic Hepatitis C with Amantadine Hydrochloride in Patients Who Had Not  Responded to Previous Treatment with Interferon-alpha and/or Ribavirin.

                 Clin Infect Dis. 2001 Mar 1;32(5):830-831.

Fung SK, Lok ASF. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? Hepatology 2004; 40: 790–2.

Heijtink RA, Janssen HL, Hop WC,   Interferon-alpha therapy for chronic hepatitis B: early response related to  pre-treatment changes in viral replication.

                    J Med Virol. 2001 Mar;63(3):217-9.

Hepatitis B fact sheet WHO/204 Geneva: World Health Organization. October 2000. http:/www.who.int/infs/en/fact204.html (21 December 2005, date last accessed).

Hillon P  [Ribavirin in combination with interferon alpha-2b in the treatment of chronic hepatitis C].  Presse Med. 2001 Feb 24;30(7):335-6. French.

[Hui CK](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Hui+CK%22%5BAuthor%5D), [Lai LS](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Lai+LS%22%5BAuthor%5D), [Lam P](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Lam+P%22%5BAuthor%5D), et al:. 48 weeks pegylated interferon alpha-2a is superior to 24 weeks of pegylated interferon alpha-2b in achieving hepatitis B e antigen seroconversion in chronic hepatitis B infection. Aliment Pharmacol Ther. 2006

Lai CL, Shouval D, Lok ASP et al. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. N Engl J Med 2006; 354: 1010–20.

Kioko Ono-Nita S, Kato N, Shiratori Y, et al:Current Options for the Therapy of Chronic Hepatitis B Infection.Curr Infect Dis Rep. 2001 Apr;3(2):137-142.

Kundu SS, Kundu AK, Pal NK. Interferon-alpha in the treatment of acute prolonged hepatitis B virus infection. J Assoc Physicians India. 2000 Jul;48(7):671-3.

Lampertico P，Del Ninno E， Manzin A et al： A random， controlled trial

   Of a 24-months course of interferon alpha 2b in patients with

   Chronic hepatitis B who had hepatitis B virus DNA without HbeAg

   In serum   Hepatology  1997，26（6）：1621-1625

Larrea E, Alberdi A, Castelruiz Y,et al:   Expression of interferon-alpha subtypes in peripheral mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C: a role for interferon-alpha       J Viral Hepat. 2001 Mar;8(2):103-10.

Liang XF, Chen YS, Wang XJ et al. A study on the sero-epidemiology of hepatitis B in Chinese population aged over 3-years old. Chin J Epidemiol 2005; 26: 655–60.

Liaw YF, Leung N, Guan R et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update. Liver Int 2005; 25: 472–89.

[Liu CJ](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Liu+CJ%22%5BAuthor%5D), [Lai MY](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Lai+MY%22%5BAuthor%5D), [Chao YC](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Chao+YC%22%5BAuthor%5D),et al:Interferon alpha-2b with and without ribavirin in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B: a randomized study. Hepatology. 2006 Apr;43(4):742-9.

Lok ASF, McMahon BJ. AASLD practice guidelines: chronic hepatitis B. Hepatology 2007; 45: 507–39.

Manns MP, Cornberg M, Wedemeyer H.  Current and future treatment of hepatitis C.

    Indian J Gastroenterol. 2001 Mar;20 Suppl 1:C47-51.

Marcellin P, Martinot M, Boyer N,et al:   Treatment of hepatitis C patients with normal aminotransferases levels. Clin Liver Dis. 1999 Nov;3(4):843-53. Review.

Min AD, Jones JL, Esposito S,et al: Efficacy of high-dose interferon in combination with ribavirin in patients with chronic hepatitis C resistant to interferon alone.

               Am J Gastroenterol. 2001 Apr;96(4):1143-9.

Naumann U, Wiedenmann B, Hopf U.  Pilot study of interferon-alpha high-dose induction therapy in combination with  ribavirin plus amantadine for nonresponder patients with chronic hepatitis C.  Z Gastroenterol. 2001 Feb;39(2):145-51.

Neri S, Ierna D, Antoci S,et al:  Association of alpha-interferon and acetyl cysteine in patients with chronic C  hepatitis.

                 Panminerva Med. 2000 Sep;42(3):187-92.

Papatheodoridis GV, Manesis E, Hadziyannis SJ.The long-term outcome of interferon-alpha treated and untreated patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B.  J Hepatol. 2001 Feb;34(2):306-13.

Patten SB.  McHutchison JG, Ware JE Jr,et al:   The effects of interferon alpha-2b in combination with ribavirin on health related quality of life and work productivity.    J Hepatol. 2001 Jan;34(1):140-7.

Perillo R, Schiff E, Hann HWL,et al. The addition of adefovir dipivoxil to lamivudine in decompensated chronic hepatitis B with YMDD variant HBV and reduced response to lamivudine. Hepatology 2001;34:suppl 349A

Peters M, Hann HW, Martin P, et al Adefovir dipivoxil (ADV) alone and in combination with lamivudine (LAM) suppresses lam-resistant hepatitis B virus (HBV) replication: 16 week interim analysis. J Hepatol 2002;36:suppl 6-7

Queneau PE, Osaer F, Bronowicki Jpet al: Treatment of mild chronic hepatitis C with interferon alpha-2b: results of a multi-centre randomized study in 80 patients.

                 Eur J Gastroenterol Hepatol. 2001 Feb;13(2):143-7.

Reddy KR, Wright TL, Pockros Pjet al:  Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared with interferon  alpha-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C.   Hepatology. 2001 Feb;33(2):433-8.

Sanantonio T, Niro GA, Sinisi E,et al. Lamivudine/interferon combination therapy in anti-HBe  positive chronic hepatitis B: a controlled pilot study. J Hepatol 2002;36: 799-804

Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J, et al. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. Gut 2000;46:562-8.

Schiff ER, Neuhaus P, Tillmann H, et al. Safety and efficacy of adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine resistant HBV in patients post liver transplantation. Hepatology 2001;34:suppl 446A

Schiff ER, Karayalcin S, Grimm IS, et al. Lamivudine and lamivudine/interferon combination therapy in patients with hepatitis B who previously failed interferon. Hepatology 1998;28:suppl 388A

Serfaty L, Thabut D, Zoulim F, et al Sequential treatment with lamivudine and interferon monotherapies in patients with chronic hepatitis B not responding to interferon alone: Results of a pilot study. Hepatology 2001;573-577.

Sherman M, Yurdaydin C, Sollano J et al. Entecavir for treatment of lamivudine-refractory, HBeAg-positive chronic hepatitis B.

Gastroenterology 2006; 130: 2039–49.

[Souvignet C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Souvignet%20C%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Lejeune O](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Lejeune%20O%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Trepo C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Trepo%20C%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus)：Interferon-based treatment of chronic hepatitis C. Biochimie. 2007 May 8;

Tatulli I, Francavilla R, Rizzo GL,et al. Lamivudine and alpha-interferon in combination for precore mutant chronic hepatitis B. J Hepatol 2001;35:805-10

Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ et al. Two-year assessment of entecavir resistance in lamivudine-refractory hepatitis B virus patients reveals different clinical outcomes depending on the resistance substitutions present. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 902–11.

Yan JH, Bifano M, Olsen S et al. Entecavir pharmacokinetics,safety, and tolerability after multiple ascending doses in healthy subjects. J Clin Pharm 2006; 46: 1250–8.

Yao G, Ji Y, Yang M, Xu D, et al:  Long-term efficacy of recombinant interferon alpha 2a in the treatment of chronic hepatitis C: a randomized prospective study comparing two dose schedules in Chinese patients.

                 Chin Med J (Engl). 1998 Oct;111(10):922-6.

Yao G, Chen CW, Lu WL et al. Entecavir is superior to lamivudine for the treatment of chronic hepatitis B: results of a phase 3 Chinese study (ETV-023) in nucleoside-naive patients. J Hepatol 2006; Suppl 2: S193 (abstract 519) (and poster presented at the Forty-first Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, Vienna, Austria, 2006).

Yao G, Chen CW, Lu WL et al. Entecavir achieves superior virologic response compared to lamivudine for the treatment of chronic hepatitis B: 2-year results from a phase 3 study in nucleoside-naïve Chinese patients in China (ETV-023) Hepatology 2006; 44 Suppl 1:559–60A. (abstract 997) (and poster presented at the Fifty-seventh

Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, MA, USA, 2006).

Yao G, Zhou X, Xu D et al. Entecavir results in early viral load reduction in chronic hepatitis B patients who have failed lamivudine therapy: a randomized, placebo-controlled study in China (Study ETV-056). J Hepatol 2006; 44 Suppl 2: S193 (abstract 518) (and poster presented at the Forty-first Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, Vienna, Austria, 2006).

Yao G, Zhang D, Wang B et al. A study of the dosage and efficacy of entecavir for treating hepatitis B virus. Chin J Hepatol 2005;13: 484–7.

Yao G, Ji Y, Ren H et al. One year trial of entecavir for Chinese chronic hepatitis B patients failed with lamivudine therapy. Chin J Infect

Dis 2006; 13: 385–9.

Yao G:Entecavir is a potent anti-HBV drug superior to lamivudine:experience from clinical trials in China: Journal of Antimicrobial  Chemotherapydoi: 10.1093/jac /dkm175 ( June 6, 2007)

Yee LJ, Tang J, Gibson AW,et al:    Interleukin 10 polymorphisms as predictors of sustained response in antiviral therapy  for chronic hepatitis C infection.

                 Hepatology. 2001 Mar;33(3):708-12.

Yuce A, Kocak N, Ozen H, Gurakan F.   Prolonged interferon alpha treatment in children with chronic hepatitis B. Ann Trop Paediatr. 2001 Mar;21(1):77-80.

Younossi ZM, Mullen KD, Zakko W, et al: A randomized, double-blind controlled trial of interferon alpha-2b and ribavirin vs. interferon alpha-2b and amantadine for treatment of chronic hepatitis C non-responder  to interferon monotherapy.

                 J Hepatol. 2001 Jan;34(1):128-33.

Zhang F.Pegylated interferons in the treatment of chronic hepatitis C. Chin Med J (Engl). 2003 Apr;116(4):495-8. frankliver@yahoo.com.cn

Zoulim F. Hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside naive patients: does it exist. Hepatology 2006; 44: 1404–7.