

猪脾转移因子注射液的研制

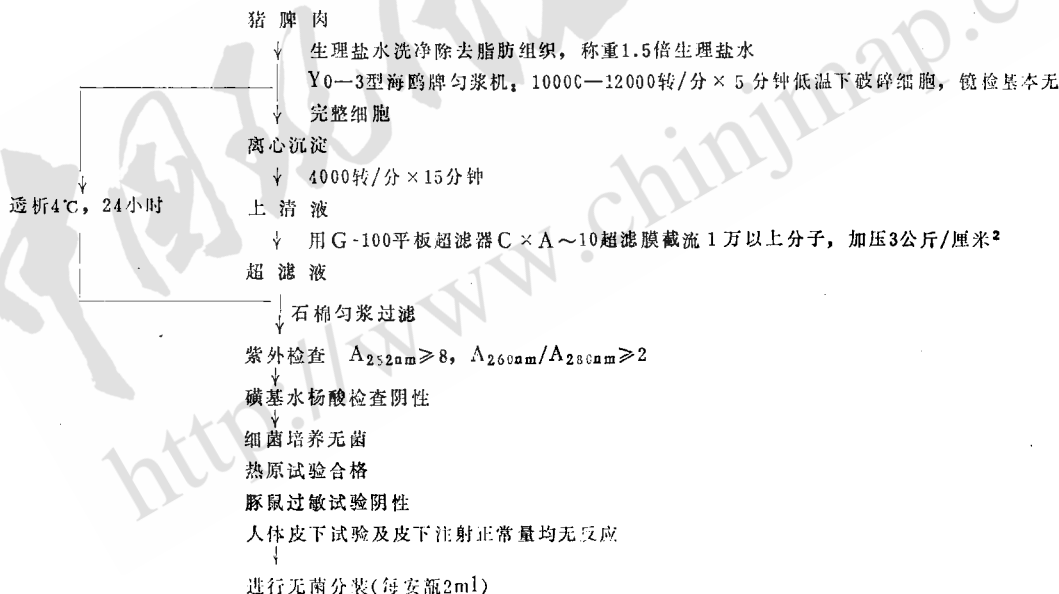
浙江嘉兴卫校 乐志培* 金立祥 于寿昌 屠捷红 蔡文 徐瑞芬

自1955年 Lawrence 提出转移因子 (TF) 的作用以来,大量实验和临床研究表明: TF 是白细胞中一种分子量在 3500~5000 之间的小分子化合物。目前国内生产和临床使用的 TF 并非单一物质。实际上是白细胞的分子量在 1 万以下的多种小分子化合物^[1]。一般多用人体细胞如外周血白细胞、人脾、扁桃腺等提取,由于材料来源所限产量难以满足临床需要,而且来源于人体的材料常有携带肝炎病毒的危险。因此,近年来有单位从猪脾提取转移因子获得成功,并将其与人脾

TF 作生化指标、生物活性及临床疗效对比试验,证明两者成分类似,具有一致的生物活性。细胞学检查、动物及人体试验均证明猪脾 TF 没有毒性,亦未引起过敏反应。临床试用显示对多种疾病具有较好疗效^{[1][2]}。

目前我国生产 TF 一般采用葡聚糖凝胶 (G-25) 层析法、透析法和超滤法。我们采用截流分子量 1 万的超滤法制备猪脾 TF,效果良好,同时我们也用透析法生产出合格的 TF 针剂。

一、制备方法:



* 现在通讯处: 嘉兴市教育学院。

二、成品检查及生物学试验

我们用超滤法生产三批TF：850216，850406，851216，透析法生产二批TF：850214*，851218*，其中：850216、850406二批曾在细胞匀浆后冻融十天。

(一)猪脾TF制剂含量及几种生化指标测定结果

1. 紫外测定结果(表1)，表明所有批号TF均符合质量要求： $A_{252nm} \geq 8$ ， $A_{260nm}/A_{280nm} \geq 2^{[1][2]}$ ，猪脾TF紫外最大吸收峰在250nm~252nm。

表 1

批 号	A 值				A_{260nm}/A_{280nm}
	A_{250nm}	A_{252nm}	A_{260nm}	A_{280nm}	
850216	19.13	19.30	18.63	7.40	2.52
850406	13.88	14.15	13.00	4.55	2.86
851216	17.60	17.40	14.52	4.00	3.62
850214*		17.45	16.01	6.79	2.36
851218*	14.40	14.20	11.57	3.49	3.32

2. RNA 含量测定：地衣酚法测得TF的RNA含量结果(表2)，表明，所有批号均超过标准($RNA > 30\mu g/ml$)^[3]。

表 2

批 号	850216	850406	851216	851218*
RNA 含量 (ug/ml)	500	130	310	530

3. 多肽含量测定：Lowry法测得TF多肽含量结果(表3)，表中可见所有批号均超过标准(多肽 $> 300\mu g/ml$)^[3]。

(二) TF生物活性测定： E_a —花结重建试验结果(表4)^[1]。

E_a ：活性花结 $\bar{X}_E$ ， $\bar{X}_C$ ：实验管或对照表 3

批 号	850216	850406	851216	851218*
多 肽 含 量 (ug/ml)	1080	670	520	500

管花结%平均值。

由表4看出：所有猪脾TF均有增高 E_a —花结形成率的作用，且 $\frac{\bar{X}_E - \bar{X}_C}{\bar{X}_C} \times 100\%$ 都超过 $> 20\%$ 。

表 4

处理(对照、批号)	$E_a\%$	$\frac{\bar{X}_E - \bar{X}_C}{\bar{X}_C} \times 100\%$	$> 20\%$
	$(\bar{X}_E, \bar{X}_C)$		
(1) 生理盐水	4.0	—	—
850216	12.6	206.50	+
(2) 生理盐水	4.0	—	—
850406	45	1025.00	+
(3) 生理盐水	0.11	—	—
851216	36.7	32354.60	+
(4) 生理盐水	0.11	—	—
851218*	29.5	26718.20	+

(三) TF 制剂生物学试验

1. 无菌试验：葡萄糖肉汤、厌氧、霉菌培养基培养7天无任何混浊。

2. 家兔热原试验合格

3. 豚鼠过敏试验阴性

(四) 蛋白质定性试验：

磺基水杨酸试验阴性。

三、讨 论

1. 迄今为止TF的分子结构尚未确定。Burger(1979)总结多年酶学研究提出了TF的分子结构模型^{[3][4]}；Wil'son(1979, 1982)也提出了对结核菌素反应特异的牛的TF的分子结构模型，是一种寡核糖核苷酸多肽(二核苷酸八肽)，与人的TF分子结构模型相比其基本结构相似，仅核苷酸的碱基种类及磷酸位置有所不同^[4]。实验证明：TF是细胞免疫反应中的一个重要因子，能选择性地激发和增强机体的细胞免疫反应，TF能将某种特定的细胞免疫能力转移给受者，并能非特异性地增强机体免疫功能，改善单核细胞与含有免疫球蛋白G(IgG)复合体结合的能力及促进干扰素的释放等。因此，TF

可用来治疗细胞功能低下或缺陷的有关疾病。TF 应用结果表明：对某些抗菌素难以控制的病毒性、霉菌性疾病以及细胞内细菌感染性疾病有明显疗效，对类风湿关节炎、全身性红斑狼疮有一定疗效，也可作恶性肿瘤辅助治疗药物^[5]。最近报导：TF 能通过提高单核细胞内环鸟苷一磷酸 (CGMP) 水平刺激单核细胞产生白细胞介素₁ (IL₁)^[6]，IL₁ 能使活化的 T 细胞转化成为能释放白细胞介素₂ (IL₂) 的 T 细胞^[7]，而最终提高细胞免疫功能和体液免疫功能^{[6][7]}。

2. 我们分别用超滤法、透析法制备猪脾转移因子注射液各项指标均达到质量标准。供试制中应用细胞匀浆机破碎细胞后直接进行离心、超滤或透析，省去冻融，效果良好。如 851216、851218* 两批生物活性较冻融过的 850216、850406 两批更高。透析工艺中我们设计了一种简单的透析装置，使用方便，能避免污染，提高 TF 含量，有利于：批量生产。在同一批投料中超滤法制备的 TF 较透析法制备的 TF 生物活性 (E₅₀-花结重建率) 为高。

3. 关于制备 TF 的方法，我们体会，是层析法生产 TF 含量较低，难以达到质量要

求，但能将 TF 各组分逐一分离，适用于实验室分离活性组分的研究。透析法生产简便不需要特殊设备，利于小单位应用，但产品含量及生物活性不如超滤法。超滤法制备的 TF 含量及生物活性高，质量稳定，但由于我们使用的是小型的实验用超滤器，超滤速度较慢，如工业批量生产应用大型超滤器。

本实验承嘉兴市药检所参与部分项目检测，特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 朱显征等：第四军医大学学报1984年4期第255页，第263页
- [2] 朱显征等：第四军医大学学报1984年3期第172页
- [3] 马燕等：“生化药物杂志”1986年1期第32页
- [4] 李在连：国外医学免疫学分册，1984，4期第1页。
- [5] 上海医药工业研究院主编：药品集第四分册《变态反应药物及免疫增强剂》第97页，上海科技出版社，1986年。
- [6] 高泰庸：“国外医学免疫学分册”1984年3期第116页
- [7] 吴易元：“国外医学免疫学分册”1984年6期第284页