

生物工程在国外制药工业中的应用概况(一)

浙江医科大学基因工程研究室 韩晓旭

生物工程是本世纪七十年代开始发展起来的一门新兴技术。广意的生物工程包括遗传工程、细胞工程、酶工程和发酵工程。其主要的技术核心是遗传工程和细胞工程。生物工程能广泛用于医药、食品、农业、化工、能源以及环保等各个部门,因此西方专家预测在今后5年至20年内,随着这门新兴学科的不断发展和用于生产实践,不仅会收到巨大的经济效益,而且与之有关的工业结构也会发生深刻地变化。

由于美国在分子生物学、细胞遗传学以及计算机等学科的迅速发展,因而使其生物工程的发展和应用于世界的领先地位,特

别是制药工业。笔者根据最近收集到的资料*,按产品类别(激素与调节蛋白;血液制品与疫苗;单克隆抗体产品与DNA探针产品)对生物工程在国外(主要是美国)制药工业中的开发与应用情况做一概述。本文介绍第一部分,即用生物工程技术开发激素与调节蛋白类产品的情况,供国内制药或药剂工作者参考。

一、激素与调节蛋白

1. 胰岛素

八十年代以前,世界上的胰岛素完全来自肉类加工的副产品(即猪和牛的胰脏)。近年来美国糖尿病患者的增长率达到5~6%,

* 本文主要根据1984年美国出版的一份调研报告(Commercial Biotechnology: An International Analysis)的第五章编写的。

远远超过了人口增长率。1981年美国需要使用胰岛素的糖尿病患者为150万人,用掉了纯胰岛素0.75吨,预计到1985年和1986年时,将要有210万人使用胰岛素^[1]。

从七十年代起,美国开始用重组DNA技术(遗传工程的具体操作技术)进行胰岛素的研制。礼莱(Eli Lilly)公司于1978年9月,首先宣布研制出实验室水平的重组DNA的胰岛素。其具体做法是先合成人胰岛素基因,然后插入质粒并在大肠杆菌K12菌株中克隆,经过分离和纯化后,再用二硫键连接AB链,于是产生了人胰岛素。经高效液相层析(HPLC)法测定表明,由重组DNA技术生产的胰岛素与人胰脏分泌的胰岛素完全一样。通过免低血糖试验以及其它一些实验,均表明用重组DNA技术生产的胰岛素与人胰脏分泌的胰岛素有相同的生理活性。

礼莱公司用重组DNA技术生产的胰岛素,1982年被美国FDA正式批准上市,这是该机构批准的第一个用重组DNA技术生产的药品,其商品名为Humulin^[1]。由于Humulin的生产成本低、生产不受动物脏器来源的限制、没有过敏反应等优点,因此预计其产销量在今后十年内将明显增长。表1列出了美国和欧洲的胰岛素市场情况^[1]。从表1中可以看出,无论是美国还是欧洲,预计1985年的胰岛素销售额将比1981年翻一番。礼莱公司保持着大部分的美国市场,但其最大的潜力在于用Humulin占领外国市场。

表1 美国和欧洲的胰岛素市场,
礼莱公司估计的销售额(百万美元)

	1981年	1985年预计
美国市场:		
礼莱公司的销售额.....	\$ 133	\$ 205(包括Humu/in)
总市场销售额.....	\$ 170	\$ 345
欧洲市场:		
礼莱公司的销售额.....	\$ 12	\$ 100(包括Humu/in)
总市场销售额.....	\$ 140	\$ 285

2. 干扰素

干扰素是一类免疫调节蛋白,它能调节细胞对病毒感染以及对癌细胞增殖的应答。目前已知的干扰素类型至少有三种:α-干扰素(白细胞干扰素)、β-干扰素(成纤维细胞干扰素)、γ-干扰素(免疫干扰素)。早期进行的一些临床试验,证明了干扰素对控制病毒感染是有效的,特别是与其它药物结合使用时效果更好^[2]。然而,由于这些用人血制备或是用成纤维细胞培养制备的干扰素数量非常有限,因此无法进行深入的临床试验。

七十年代末和八十年代初,日本和美国等国分别用细胞融合技术(细胞工程的主要操作技术)以及重组DNA技术生产出较大量的干扰素,为进一步扩大临床试验创造了条件。表2列出了1984年用常规方法与重组DNA方法生产的干扰素进行的某些临床抗病毒试验^[1]。

评价干扰素治疗癌症的一些临床试验也在进行,但到目前为止,只能得出一些有限的结论。某些试验表明干扰素抑制肿瘤转移的能力较强,但诱导免疫细胞去杀灭癌细胞的能力则较差^[1]。1983年以来,曾用干扰素进行了第I期(安全性)和第II期(有效性)治疗癌症的临床试验,这些试验的主持单位有美国的国家癌症研究所、Schering-Plough公司、英国的Wellcome基金会以及瑞士的Hoffman-La Roche公司等。进行的试验项目有急性和慢性白血病、黑色素瘤、恶性和非恶性淋巴瘤、大肠癌以及肺癌等。

当前进行评价的大多数重组DNA技术生产的干扰素是由大肠杆菌产生的,但酵母菌的使用正在增加。酵母不需要细菌那样严格的培养条件,从培养基中就能分离出干扰素。此外,由于酵母比细菌更接近较高等的生物,可更容易地向蛋白质中添加糖分子,也就是说,用酵母生产天然干扰素要比用细菌生产更有可能^[3]。由英国Celltech公司资助

表 2 用 α -或 β -干扰素进行的人病毒疾病的临床治疗试验

疾 病 名 称	干 扰 素 (来 源)	试 验 发 起 者	试 验 情 况 说 明
生殖器疱疹	α -干扰素(重组DNA)	NIAID(美国) ^a	肌肉注射剂
	α -干扰素(人血)	Enzo Biochem(美国) ^b	局部软膏剂(商品名Enzoferon)
	β -干扰素(成纤维细胞)	Inter-Yeda(以色列) ^c	复方霜剂(商品名Frone)
唇 泡 疹	β -干扰素(成纤维细胞)	Inter-Yeda	复方霜剂(商品名Frone)
	α -干扰素(人血)	Enzo Biochem	局部软膏剂(商品名Enzoferon)
疱疹性角膜炎和腺病毒 结膜炎	α -干扰素(重组DNA)	Schering-Plough(美国) ^d	局部软膏剂
眼周疱疹	β -干扰素(成纤维细胞)	Inter-Yeda	复方霜剂(商品名Frone)
带状疱疹	β -干扰素(成纤维细胞)	Bioferon(联邦德国)	已在西德批准销售
	α -干扰素(重组DNA)	Hoffmann-La Roche(瑞士) ^e	
巨细胞病毒	α -干扰素(重组DNA)	Hoffmann-La Roche	
乙型肝炎	α -干扰素(重组DNA)	NIAID	为期5年的150个病例的试验, 药品的商品名为Vidarabine
	α -干扰素(重组DNA)	Takeda化学公司(日本)	
多发性硬化	α -干扰素(人血)	国家多发性硬化病协会(美国)	皮下注射
亲肌侧索硬化	α -干扰素(重组DNA)	Hoffmann-La Roche	静脉注射

a. NIAID = 国家变态反应与传染病研究所。

b. Enzo Biochem 公司是由纽约血液中心获得的血液制备 α -干扰素的。

c. 该公司正在以色列、欧洲和加拿大进行第Ⅰ期临床试验。

d. 该公司在国外进行临床试验所使用的干扰素是用 Biogen S.A. 公司克隆的基因生产的。

e. 由美国 Genetech 公司克隆并生产的这种干扰素, 正由瑞士的这家公司进行试验和评价。

的研究者们已报道了每升酵母发酵液可生产高达15毫克的 α -干扰素, 即30亿单位^[4](成人每次的注射剂量为100万至1亿单位)。瑞士的 Hoffmann-La Roche 公司则报道可用单克隆抗体系统将 α -干扰素纯化1000倍以上^[1]。

无论是哪种干扰素, 对治疗癌症看来都没有确切的疗效。用重组DNA技术生产的干扰素还缺少天然干扰素中的某些糖基, 这些缺少的糖基对干扰素的功能是否有影响也还不清楚。此外, 注射干扰素时, 会引起病人发热、疲劳等类似感冒的副作用。由于这些原因, 尽管对干扰素已进行了广泛的研究, 但其应用前景仍然存在不少问题。使重组DNA技术生产的干扰素获得批准, 看来也需要一段较长的时间。这些问题都大大地影响了美国公司用生物工程开发干扰素的积极性^[1]。

尽管如此, 由于用重组DNA技术生产的干扰素不受血源的限制以及有较好的抗病

毒效果, 特别是用于研究免疫应答的细胞功能时, 有非常重要的应用价值(例如了解爱滋病的病因等)^[1], 因此西方国家还是按计划在发展此类干扰素。

3. 生长激素

生长激素是一类由脑垂体分泌的大分子激素, 其主要的生理功能是控制婴幼儿的生长, 对骨骼和肌肉的生长以及蛋白质等物质的合成具有调节作用。

生长激素与胰岛素不同, 由动物胰脏提取的动物胰岛素能有效地用于糖尿病的治疗; 然而用动物脑垂体提取的动物生长激素却不能用于治疗儿童的侏儒症。因此, 长期以来此种产品都是从人尸体脑垂体中提取。在美国, 国家脑垂体管理局(National Pituitary Agency)控制着这种常规的生长激素的生产和销售^[1]。瑞典的 Kabi Vitrum AB 公司, 是世界上从人尸体脑垂体生产生长激素的最大的制造商^[5]。

表3 用重组DNA技术开发的某些有药用可能的激素和调节蛋白^[1]

物质名称	结构大小 (氨基酸数)	功 能	研 究 情 况	研 究 者 (公司或机构)	用 途
生长调节剂:					
生长激素	191—198	促进生长	1979年克隆并表达	Genentech(美国) 与Kabigen AB(瑞典) 合作 UCSF与礼来合作	促进生长
生长激素释放抑制因子	14	抑制生长激素分泌	1977年克隆并表达	UCSF与Genentech合作	胰岛素的辅助剂
Somatomedins	44—59	对生长激素的间接作用	1982年克隆并表达	Chiron(美国)	促进生长,
生长激素释放因子	44	增加垂体生长激素分泌	1982年分离并合成	Salk研究所(美国)	促进生长
钙调节剂:					
降钙素	32	抑制骨吸收	用重组DNA生产	Genentech, Amgen(美国)	治疗骨病
甲状旁腺激素	84	防止降钙素分泌	已克隆但没有生产	马萨诸塞总医院	治疗骨质疏松; 钙调节
生殖激素:					
促黄体激素	β -链115	女性: 诱导排卵 男性: 刺激雄激素分泌	正在克隆	Integrated Genetics (美国)与Serono实验 室(意大利)合作	抗 生 育
促卵泡成熟激素	β -链115	诱导卵巢的生长	正在克隆	(同上)	促进生殖
人绒毛膜促性腺激素	β -链147	类似促黄体激素	正在克隆	(同上)	妊娠试验
弛缓素	52	产道扩张, 子宫松弛	正在克隆	Genentech	软化生殖道的骨结缔 组织, 抗关节炎(?)
神经活性肽:					
β -内啡肽	31	痛觉缺失	已克隆并表达	Amgen及其它	止 痛
脑啡肽	5	痛觉缺失	正在克隆	(同上)	(同上)
胰内啡肽	未收集到资料	未测定	(同上)	Endorphin, Inc	(同上)
淋巴激素和免疫活性肽:					
白细胞介素-2	133	促进T细胞生长	已克隆并表达	Ajinomoto(日本) 日本癌研究所 Immunex(美国) Cetus(美国) Genex(美国) Biogen(美国) Genetics Institute(美国) 干扰素科学公司(美国) Quidel(美国)	维持T细胞培养; 免疫疗法
胸腺素(部分5)	10—150	促进骨髓细胞的成熟, T-细胞分化	已纯化	乔治华盛顿大学	免疫缺陷病治疗
胸腺素(α -1)	28	促进T细胞形成	1979年已克隆	Hoffmann-LaRoche (瑞士)	全身性红斑狼疮; 其它免疫紊乱症
胸腺激素因子	9	T-细胞的促进功能	无资料	无资料	在免疫抑制的病人 中抗病毒保护
巨噬细胞抑制因子	无资料	抑制巨噬细胞移行	细胞融合	Denki Kagaku(日本)	免疫疗法

续表

呼吸系统调节剂:

α -1-抗胰蛋白酶	45000	预防肺泡壁破坏	在酵母中表达	Zymos Corp(美国)	治疗肺气肿
	(分子量)			与Cooper实验室(美国)合作	

除了侏儒症外,美国专家估计大约有高达3%的儿童患有体质延迟性矮身材(Constitutionally delayed short stature),而基因技术公司(Genentech)推测在这些儿童中有三分之一的人能用生长激素校正治疗^[6]。除此之外,生长激素还能用于治疗烧伤、创伤、骨折以及某些恶病质时氮吸收的不足^[1]。

随着生长激素临床试验和各项研究的不断深入,用尸体脑垂体生产的生长激素当然远远不能满足需要。因此,用重组DNA技术开发生长激素,就成为生物工程用于制药工业的另一个重要项目。美国的基因技术公司和加利福尼亚大学的科学家,于1979年首先报道了人生长激素基因的克隆和表达^[1],他们的工作分别得到美国礼来公司和瑞典Kabi Gen AB公司的资助并进行了第Ⅱ期临床试验。基因技术公司生产的人生长激素(商品名Protropin)目前已被FDA批准上市。

4. 其 它

除了上述两种激素和一种调节蛋白(干扰素)以外,美国和其它一些国家还用生物工程对其它一些激素和调节蛋白进行了研究(表3)。

主要参考文献

- [1] Commercial Biotechnology, An International Analysis, 1984
- [2] Lacob, L., Intrathecal Interferon in Multiple Sclerosis, Arch. Neurology 39:609, 1982
- [3] Hitzeman, R. A., Secretion of Human Interferons by Yeast, Science 219:620, 1983
- [4] Tuite, M. F., Regulated High Efficiency Expression of Human Interferon-Alpha in Saccharomyces cerevisiae, EMBO J. 1:603, 1982
- [5] Scrip 555, KabiViteum Receives Swedish Approval for Recombinant DNA Production Jan. 12, 1981, p. 6
- [6] Swift, R., Director of clinical Affairs, Genentech Corp. to W. P. O' Neill, Apr. 5, 1983