

· 综 述 ·

HIV 增殖抑制剂研究现状

浙江省医学科学院药物研究所药理研究室(杭州) 臧星星 钱伯初

自1981年美国首次报道 AIDS 以来, 未曾有任何疾病象 AIDS 那样受到世界各国的高度重视, 我国境内也已发现 5 例 AIDS 病例和 11 例抗体阳性者。自从 1983—1984 年发现 AIDS 的病原体是人类免疫缺陷病毒(HIV) 后, 短短数年间已积累了相当的知识^[1]。现已明瞭, HIV 是一种逆转录病毒, 通过 CD₄ 受体侵入 T 辅助细胞(T_H, OKT₄⁺), 经逆转录酶作用形成 DNA, 以前病毒形式整合到淋巴细胞染色体中, 后经 mRNA 转译为病毒蛋白而装配成病毒颗粒, 从而杀死 T_H 细胞导致机体免疫功能崩溃。由于 AIDS 疫苗的研究尚未取得突破性进展^[2], 所以寻找 HIV 增殖抑制剂便成为举世瞩目的课题。

苏 拉 明

HIV 和所有的逆转录病毒在它们的增殖周期中需逆转录酶。锥虫病和线虫病治疗药苏拉明能抑制数种动物逆转录病毒的逆转录酶^[4,5]。鉴于无论是感染人或者动物的病毒的逆转录酶都有相似的氨基酸顺序^[6], 所以美国国立癌症研究所 Mitsuga^[7] 等观察了苏拉明在体外对 HIV 的影响。将 HIV 颗粒和成熟的易感 T 细胞株 H₉ 一起培养 6 天后, 用间接免疫荧光试验检测, 发现 72—76% 的细胞表达了 HIV 基因产物 p24gag 蛋白, 表明 HIV 已侵入 H₉ 细胞且在其中增殖。若在培养基中加入 50 ug/ml 苏拉明即可明显减少

阳性细胞。苏拉明预先和正常 T 细胞株 YTA1(OKT₄⁺, Tac⁺, 辅助 B 细胞产生 Ig) 培养 12 小时, 再加入感染 HIV 的 H₉ 细胞, 则能阻断病毒对 YTA1 的细胞病变作用, 而对照组细胞在第 6 天时已可见明显的细胞病变作用, 至第 10 天时几乎完全死亡。苏拉明还可阻止培养液—细胞间或细胞—细胞间的病毒扩展。Mitsuga^[8] 等进一步用同位素标记的病毒特异性 RNA 探针研究了病毒在 RNA 水平上的表达。TM₃ 细胞接触病毒后 9 天 36% 的细胞在 RNA 水平上表达了 HIV 基因, 而在培养的 0、2、5 天时加入苏拉明则只有 1、5、20% 的细胞在第 9 天 HIV RNA 阳性。

用苏拉明治疗线虫病和锥虫病 60 年来已积累了大量临床药理学知识。Mitsuga 等的发现之所以引起人们的极大兴趣还在于苏拉明在人血浆半衰期长达 40 天, 体内消除十分缓慢, 因此可作为长效药, 每周给药一次。Rouvroy^[9] 给 5 例 AIDS 相关症状者(ARC) 静脉注射苏拉明 20 mg/ml, 每 5 天一次共 35 天, 1 例患者治疗后 T_H/T_s 比例明显升高, 3 例病人的迟发型过敏反应变为阳性, 表明细胞免疫功能有所增强, 其它临床症状也有好转。Brodin^[10] 用该药治疗 10 例具 Kaposi's 肉瘤的 AIDS 和 ARC, 治疗期间外周血病毒含量降低或转阴, 但停药后又分离出病毒, 这表明苏拉明在体内同样可在一定程度上抑制 HIV 增殖。个别病人在治疗

早期出现病毒含量短暂升高,可能是苏拉明引起的发热激活了淋巴细胞,而淋巴细胞的激活被认为是HIV增殖的一个适合因素。另外,亦有不少相反的临床研究结果^[11]。Cheson用本品以0.5—1.5g剂量治疗97例AIDS者近一年,发现当病毒培养转阴而减少药物剂量时又回复为阳性,除仅1例完全缓解外,70例患者病情继续恶化。法国的Saimot对29名患者进行了3个月的治疗后病情并无好转,且有11例死亡。NIH 7个临床研究中的研究资料表明只有1个中心认为AIDS用苏拉明治疗后临床症状好转。由于上述继后的临床研究出现矛盾的结果,所以近来对苏拉明的研究兴趣已明显下降。

叠氮胸腺嘧啶脱氧核苷(AZT)

美国在1964年已合成本品,但其抗HIV活性却至1985年才被发现^[12]。该药不但能阻断接触HIV的H₂细胞表达p24gag蛋白和细胞病变效应,在0.5 μm时即能完全抑制正常人外周血单个核细胞接触病毒后产生逆转录酶,此作用可被胸腺嘧啶脱氧核苷逆转。AZT是胸腺嘧啶脱氧核苷类似物,当其被病毒逆转录酶误用而进入DNA链后,因其缺少羟基而不能与核苷酸糖上的羟基进行磷酸酯化相连,导致DNA新链无法连接从而遏制病毒核心蛋白合成。Yarchoan^[13]用该药治疗19例AIDS或ARC,获得明显疗效。前二个月以1、2、2.5、5 mg/kg剂量静脉注射,后四周用加倍量口服,治疗后患者体重增加,15例病人循环T细胞总数、T_H细胞数、T_H/T_s均明显增加,免疫功能部分重建,高剂量组淋巴细胞内病毒消失,迟发型皮肤过敏试验治疗后转为阳性。1986年以来,美国公共卫生服务部的十几个医疗中心观察了AZT的疗效,282名试验者中服药和安慰剂各一半。安慰剂组有16人死亡,而服用

AZT组仅有1人死亡。显然,AZT可延缓AIDS患者的病程。1987年3月,英国首先批准使用该药,随后法国亦允许出售此药,迄今已有数千名AIDS患者服用该药。AZT的最新商品名为Zidovudine^[3,14],目前市场上已有100 mg的胶囊剂出售^[3]。口服5 mg/kg,4小时一次,生物有效率为60—70%,稳态血药浓度为0.4~7.1 μmol/l,经体内代谢为葡萄糖醛酸化物后通过肾脏排泄。目前已明瞭HIV可侵犯脑细胞,由于AZT可透过血脑屏障,在脑脊液中药物浓度可达血浆的一半,所以AZT还可防止病毒侵袭中枢神经系统所致的脑损伤性脑病。

虽然AZT被认为是目前最好的治疗AIDS药物,但严重的副作用限制了该药的应用^[3,14,15],AZT可抑制骨髓而导致严重贫血,服用该药时需每月输血补偿,有些病人因无法耐受副作用而被迫停药。近来,美国的几个治疗中心正在研究AZT和无环鸟苷合用的治疗AIDS方案^[16],因为两者协同作用的效果优于单独用药的总和,辅以无环鸟苷,较低剂量AZT即可达到同样的疗效,而副作用却大为减少。

T 肽

T肽的发现是Pert研究肽链如肽受体及绘制大脑受体图形15年的结果^[17]。Pert等在寻找HIV和其它已知物质共有的基因序列时发现了含有4个苏氨酸的T肽。后者也是血管活性肠肽的(VIP)氨基酸序列的一部分。T肽可能系通过阻止病毒进入细胞而阻止HIV在淋巴细胞内的复制,因为T肽的氨基酸序列和HIV的被膜蛋白gp120序列同源,能象gp120一样结合CD₄受体。实验表明,T肽对病毒感染的抑制率85%,能逆转gp120引起的脑组织损伤,它以抗HIV受体抗体的同样方式与大脑(包括动物和人)相结合。1986年10月瑞典的Weterberg用T肽治

疗4名重危AIDS病人,使症状显著减轻,淋巴细胞增加,服药期间未见不良反应。只有当输注药物速度过快时才出现血压下降。

1例有严重牛皮癣患者在用药4周后皮损消失,但停药后又复发。动转实验表明T肽毒性甚微,未能测出半数致死量。据称T肽是当前唯一有前途的治疗AIDS药物。目前,美国国立精神卫生研究所正在进行关于T肽阻止病毒进入单核-巨噬细胞系统的研究,同时,正在进行较大规模的人体试验。

干扰素及其诱导剂

基于AIDS病人淋巴细胞受抗原或有丝分裂原刺激后产生干扰素(IFN)的量明显下降,因而考虑到可用重组干扰素治疗AIDS。已经知道,IFN可抑制多种逆转录病毒,据此Ho^[18]等将正常人外周血单个核细胞和不同浓度的IFN一起培养,18小时后接种HIV,在第7—10天用间接免疫荧光试验测定HIV抗原的表达。结果发现在4~64u/ml的低浓度时即可呈现抑制作用,IFN浓度增高到256~1024 u/ml时可完全抑制HIV抗原的表达。IFN的体外抑制浓度在人体内是完全可以达到的,10⁷~10⁸ U注入人体,血浓度可达50~300 U/ml。IFN治疗AIDS的临床试验在许多中心获得了进展。1984年NIH召开的治疗AIDS专题讨论会上,有报告认为IFN治疗AIDS确有一定疗效,可使50%患者的伴发Kaposi's肉瘤消退。Krown等^[19]也获得类似结果,剂量为36~54×10⁸ U,每天一次肌注连续四周,随后每周三次连续四周为一疗程,34例患者中8例完成缓解,5例部分缓解。用小剂量时效果较差,只有1例部分缓解。DNA重组技术产生IFN的成功为该药常规治疗AIDS提供了可能。

正常生理状态下人体细胞并不自发产生IFN,而诱导剂的存在可刺激IFN的产生,从而抑制HIV增殖。最近,对Ampligen的

研究证实了这一设想^[20,21]。Ampligen是一种失配的双链RNA,在体外能干扰T细胞内的HIV感染。用Ampligen预处理的C₃T细胞培养物经HIV接触4天后,表明几乎无逆转录酶活性,而对照组的逆转录酶活性明显升高,在CEM细胞中也获得了相似的作用结果。美国多中心的研究组在NIH的支持下进行了Ampligen的临床研究^[22],10例HIV阳性的AIDS或ARC每周给药2次,每次200—250 mg,共18周,未出现副作用或毒性。治疗后外周血单个核细胞HIV RNA减少到不能检出的水平。所有病人的迟发型皮肤过敏反应有所增强,临床症状迅速而显著好转,但重症患者疗效较差。关于Ampligen的抗病毒作用至少部分是由于在T细胞中诱导IFN产生所致。看来,IFN诱导剂的运用是抑制HIV增殖的一个新的途径,值得进一步研究。

其它抑制剂

丰富的中草药显然亦是寻找HIV增殖抑制剂的潜在资源^[23],研究证明从甘草中提取的甘草甜素体外能破坏感染HIV的细胞,阻止HIV增殖和抑制细胞病变作用。初步试用于2名AIDS和1名ARC及7名无症状携带者,该药可阻止无症状携带HIV者病情恶化。中药小柴胡和人参汤据称都能有使HIV破坏和增加T_H细胞的作用。

另外,经初步研究发现现有抑制HIV增殖的药物有HPA-23,磷甲酸钠,苄霉素等,尚待进一步研究。

结 束 语

短短几年来HIV分子生物学研究的显著进展为进行HIV增殖抑制剂的筛选和深入研究提供了基础。目前,虽然这项工作已在世

(下转第7页)

(上接第43页)

界范围内展开,但尚未找到非常满意的HIV增殖抑制剂。由于目前我国境内也已发现AIDS患者,所以,HIV增殖抑制剂的研究必将引起我国药学工作者的重视。

参 考 文 献

- [1] Mann J: World Health Forum 1987;8: 361
- [2] Jacques H, et al: Immunol Today 1987; 8:193
- [3] Lancet 1987;I:876
- [4] de Clercq E: Cancer Lett 1979;8:9
- [5] Stefanova R, et al: Dokl Bolg Akad Nauk 1987;40:123
- [6] Toh H, et al: Nature 1984;305:827
- [7] Mitsuga H, et al: Science 1984;226:172
- [8] Mitsuga H, et al: Cancer Res 1985;45:9
- [9] Rouvroy D, et al: Lancet 1985;I:878
- [10] Broden S, et al: Lancet 1985;I:627
- [11] Lancet 1986;II:51
- [12] Mitsuga H, et al: Proc Natl Acad Sci USA 1985;82:7096
- [13] Yarchoan R, et al: Lancet 1986;I:575
- [14] Bightk: Nature 1986;323:283
- [15] Sandstrom E: Medical Progress 1986;13 (9):13
- [16] New Scientist 1987;114:24
- [17] Pert C: Science 1987;235:1138
- [18] Ho DD, et al: Lancet 1985;I:602
- [19] Krown SE, et al: Cancer 1986; 57:1662
- [20] Mitchell WM, et al: Lancet 1987;I:890
- [21] Montefiori DC, et al: Proc Natl Acad Sci USA 1987;84:2985
- [22] Carter WA, et al: Lancet 1987;I:1286
- [23] Dharmananda S: Bull OHAI 1987;12:24