

· 药理 ·

## 生物技术药品近年来的发展

杨玉龙 任海祥

(南京军区南京总医院 南京 210002)

**摘要** 本文概述了近年来国内外生物技术药品与生化药品的研究与发展,论述了生物技术与生物药品间的关系,介绍了近代生物技术在某些生物药品生产中的应用。

**关键词** 生物技术药品;生化药物;基因工程;酶工程;细胞工程

### The recent progress of drugs with biotechnology

Yang Yulong, Ren Haixiang

(Nanjing General Hospital of Nanjing Command)

**ABSTRACT** The recent progress in research and development of biotechnical drugs and biochemical drugs were outlined in this paper. The relationship between biotechnology and biologics was discussed and application of modern biotechnology to some biologics was introduced.

**KEY WORDS** biotechnical drug, biochemical drug, gene engineering, enzyme engineering, cell engineering

生物技术是七十年代后期发展起来的一门新型跨学科技术。1953年DNA双螺旋结构的发现和1976年基因转移技术的发明给传统的生物工业带来了全新的视野和深刻的革命。

近代生物技术包括基因重组、细胞融合、固定化酶、固定化细胞等,应用范围十分广泛。医药是其一个主要的应用领域。1990年全世界生物技术研究开发公司有1760余家,其中70%以上从事医药产品的开发。我国目前也有140多家企业和研究单位从事生物技术药品的研究与开发<sup>[1]</sup>。这导致了近年来生物技术药品的迅速发展。七十年代后期,临床上生物技术药品只占新产品的1/10,而到1989年则上升到1/3<sup>[2]</sup>。

#### 一、生物技术与生物药品的关系<sup>[1,3~6]</sup>

所谓生物药品是指来源于生物或其产物的生物制品和生化药物。由于许多生物药品在生物体内或其产物中含量很少,加之从脏器提取还存在病毒感染的可能,因此不仅分离技术要求高且得量少,成本高,限制了它们在临床上研究与应用。而生物技术以再生的生物资源为原料生产生物药品,从而可获得过去难以得到的足够数量用于临床的研究与治疗。如生长激素释放因子(Somatostatin)从50万只羊脑中才得到5mg,而这通过生物工程方法从9L细菌发酵液中即可得到。又如人生长激素(HGH),在450L发酵液中所含的量相当于6万具尸体中所得。再如1g胰岛素要从7.5公斤新鲜猪或牛胰脏组织中提取得到。目前世界上糖尿病患者有6000万人,每人每年约需1g胰岛素,这样总计需从

45 亿 kg 新鲜胰脏中提取,这实际上是办不到的。而生物技术则很容易解决这一难题。

由于上述优点,生物技术以每年递增百分之几十的速度迅速发展。仅 1990—1991 年度美国 FDA 就批准了 11 项生物技术新药申请。目前还有 100 多种生物技术药品等待 FDA 审批。西德拜耳公司预测,到 2000 年生物技术药品总销售额可达 153 亿美元。目前生物技术药品的销售额约占药品总销售额的 10%。

## 二、生物技术在生物药品生产中的应用

目前全世界研究、开发的生物技术药品有七大类(生物活性物质、单克隆抗体及诊断试剂、疫苗、酶诊断试剂、靶向药物、抗生素、氨基酸)数十个品种。

1. 胰岛素 七十年代起美国研究用重组 DNA 技术生产胰岛素。1978 年礼来公司获得成功并于 1982 年被 FDA 批准生产上市<sup>[7]</sup>。这是第一个被 FDA 批准上市的生物技术药品。该产品活性与天然胰岛素相同但具有成本低、不受动物脏器来源限制,不产生过敏反应等优点。我国上海生物工程基地采用胰岛素基因在大肠杆菌上表达,其表达水平已大大超过国际水平,目前已进入中试。

2. 人生长激素(HGH) 与胰岛素不同,从动物上提取的生长激素不能用于治疗。因此过去只能从人的尸体中分离得到,获量极少,远不能满足需要。瑞典 Kabi-Gen AB 公司是世界上最大的从人尸体上提取制造 HGH 的厂家<sup>[7]</sup>。美国基因技术公司采用重组 DNA 技术 1979 年首次实现了人生长激素基因的克隆与表达。1987 年 FDA 批准了该公司生产的 HGH。礼来公司的 HGH 产品也已上市<sup>[8,9]</sup>。国内上海细胞所应用基因重组技术得表达型质粒,在宿主菌中获得较高水平表达。目前已建成 100 立升发酵生产 HGH 的中试工艺,每升培养液可得 15mg 左右产品,纯度达 95% 以上<sup>[10]</sup>。

3. 干扰素 是一种调节细胞对病毒感

染及对癌细胞增殖应答的免疫球蛋白。目前已知干扰素有  $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ - 三种类型。它们早先是用入血或用纤维细胞培养制备。因而数量少,也不易得纯品。七十年代末,美、日等国应用细胞融合和 DNA 重组技术生产干扰素。三种干扰素在大肠杆菌、酵母菌和哺乳动物细胞上均有高表达<sup>[7]</sup>。利用家蚕多角病毒改造载体  $\alpha$ -干扰素基因表达产量可达  $1.9 \times 10^8 \mu\text{g/ml}$ ,比在大肠杆菌上高 200 倍<sup>[11]</sup>。目前 1 升发酵液中获得  $\alpha$ -干扰素相当于从 1200 升入血中提出的量<sup>[4]</sup>。重组的  $\alpha$ -干扰素 1987 年上市,已在 49 个国家被批准销售,适应症多达 15 个<sup>[9]</sup>。国内上海生物制品所与预防医学科学院病毒所协作完成了注射型  $\alpha$ -干扰素的中试。100 立升发酵,干扰素表达量为 12.9mg/L,总收率 11.8%,纯度 98.6%。重组的  $\gamma$ -干扰素国外也有多家公司生产。国内刘新垣等应用基因工程在大肠杆菌上表达已完成中试,年产量可达 30g,产品,产品纯度 99%,已达国际先进水平<sup>[10]</sup>。

4. 白介素-2(IL-2) 是一淋巴因子,为免疫系统新型治疗剂。其传统的生产方法以人血为原料。现在采用重组的 IL-2 基因在大肠杆菌、酵母和哺乳动物细胞内均获得了高表达并已应用于临床。用该法生产的 IL-2 对多种肿瘤、乙肝及艾滋病有效<sup>[11]</sup>。国内 IL-2 研究已达国际水平,上海生化所已完成中试生产,10L 发酵罐可得 1g 产品,产品纯度达 95% 以上<sup>[1,12]</sup>。

5. 造血生长因子 目前已有三个成员被批准上市,它们是美国 Amgen 生物技术公司生产的促红细胞生成素(EPO,1989)和粒细胞集落刺激因子(G-CSF,1991)<sup>[1,18]</sup>及 Immunotech 公司生产的粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF,1991)。国内南京大学生化系和预防医科院病毒所等单位正在开展这方面的研究<sup>[9]</sup>。EPO 的主要功能是刺激红细胞生长及增加红细胞内血红素的合成,临床上用于治疗肾病性贫血和 AZT 治疗艾滋

病导致的贫血。G-CSF 和 GM-CSF 目前也已通过基因工程由大肠杆菌制得。前者治疗因化疗引起的中性白细胞减少症。后者用于非恶性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、急性淋巴细胞性白血病的骨髓移植后促进定位<sup>[14,15]</sup>。

6. 肿瘤坏死因子(TNF) 它是机体在细菌或其它产物刺激下由单核巨噬细胞系统细胞分泌的一种蛋白因子。临床上用于肿瘤治疗<sup>[16]</sup>。国外目前已可采用基因工程方法制备重组 TNF<sup>[9]</sup>。国内南京大学生化系研究重组 TNF 取得了突破性进展。他们在国内首先成功实现了适宜大规模分离纯化的条件,使基因表达的 TNF 纯度高达 99%,达到了国际水平。

7. 超氧化物歧化酶(SOD) 是一种能催化超氧阴离子发生歧化反应的金属酶,可防治因超氧负离子异常增高引起的一切疾病,还有很好的抗衰老作用<sup>[11,17]</sup>。SOD 可从鸭、猪、牛、马的血中提取得到<sup>[18]</sup>。国内已建立了从牛、马血中制取 SOD 的新工艺,产品纯度超过进口的 Sigma 产品。国外近年来已可通过基因工程生产 SOD。1988 年重组的 SOD 已被批准上市<sup>[4]</sup>。

8. 组织血纤维蛋白溶酶原激活剂(TPA) 为一高效、特异性血栓溶解酶。临床上用于治疗血栓,对急性心肌梗塞和不稳定心绞痛也有较好疗效。其疗效优于尿激酶且无全身性出血的倾向<sup>[20]</sup>。TPA 可从组织提取制得,从 5kg 猪心可得 TPA 1.46 mg<sup>[21]</sup>。也可通过细胞培养获得<sup>[22]</sup>。基因重组的 TPA 产品也已问世。美国 Genentech 公司生产的第一个基因重组 TPA-Activase 1987 年已通过 FDA 批准生产上市<sup>[9,20]</sup>。

9. 疫苗 目前已有多种生物技术疫苗应用于临床。如乙肝疫苗、艾滋病疫苗、疟疾疫苗、狂犬病疫苗、疱疹疫苗、伤寒疫苗、霍乱疫苗、血吸虫疫苗等。其中特别值得提及的是乙肝疫苗。它是迄今为止基因工程中最成功的例子之一,第一代乙肝疫苗是用血浆制备

的<sup>[11]</sup>。第二代乙肝疫苗是在酵母中表达乙肝病毒表面抗原制成基因工程疫苗。该疫苗仅有乙肝表面抗原蛋白,临床使用疗效与血液制品一样,安全且价格低。最近已有第三代乙肝疫苗问世。法国巴斯德研究所和原西德 Exgene 公司将乙肝病毒 S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> 基因分别在中国仓鼠卵细胞和小鼠成纤维细胞中表达。由此制得的乙肝疫苗对通常无应答的人和远东病人也有较好效果。目前美、日等国一些公司已生产基因工程乙肝疫苗<sup>[9]</sup>。国内 1991 年,长春、北京两个生物制品所已完成基因工程乙肝疫苗的中试<sup>[1]</sup>。

10. 水蛭素(Hir) 它是由 65 个氨基酸组成的单链多肽。能特异性地与凝血酶产生高亲和力结合。是目前最先进的抗栓药物。国内已对其进行眼科、冠心病等的临床研究<sup>[10]</sup>。Hir 来源于水蛭唾液,含量很少,分离纯化困难。从 1984 年以来,国外许多研究单位开展了对水蛭素的基因工程研究。目前采用全合成的 Hir 基因和克隆技术获得的 cDNA 在大肠杆菌和酵母中获得表达<sup>[28]</sup>。国内韩玉珉等将合成的 Hir 基因在酵母中表达,产品与天然水蛭素 HVz 相同<sup>[24]</sup>。

11. 单克隆抗体(McAb) 临床上 McAb 主要有三个用途,诊断、治疗、纯化。McAb 诊断特异性好、快速、准确灵敏。目前已有单抗诊断试剂盒 80 多种。单抗用于治疗也已显示出良好前景。1986 年美国 FDA 批准了第一个人用治疗的 McAb-OrthocloneOKT3,用于急性肾移植排斥<sup>[25]</sup>。荷兰和德国新近批准了 Centocor 公司生产的名为 Centoxin(HA-1A)的抗内毒素人 McAb,用于治疗败血症及败血性休克<sup>[26]</sup>。美国 ABS 公司最近开发出具有良好溶栓作用的 McAb-NH-1<sup>[20]</sup>。国内医科院抗菌素所与预防医科院病毒所合作将白血病 McAb 与抗肿瘤药争光霉素 A6 联结制备了抗白血病的 McAb<sup>[6]</sup>。McAb 与特异性抗原产生可逆结合,由此制成免疫吸附柱用于纯化抗原,效果

很好。如其纯化重组 DNA 生产的干扰素, 纯度从 0.1~0.3% 提高到近 90%<sup>[27]</sup>。

### 三、其它生化药物

尽管随着近代生物技术的发展许多生化药物目前已可通过细胞工程、基因工程等方法制得。但利用生物资源通过传统的提取工艺制备某些生化药物以及对生化提取新领域的开发研究仍然值得重视。

1. 血小板衍生的生长因子(PDGF) 该因子是储存在血小板  $\alpha$ -颗粒中的一种碱性蛋白质。能刺激多种细胞进入分裂增殖周期, 在伤口愈合、胆固醇与磷脂合成的调节, 动脉粥样硬化等过程中起重要作用。它可通过对提取的猪血小板进行冻融裂解, 再经多次离子交换吸附和柱层析纯化制得<sup>[28]</sup>。

2. 复合氨基酸 以人胎盘和猪血为原料经酸水解制备。其口服液可提高贫血患者的血红蛋白, 促进胎儿生长发育, 对治疗妊娠贫血、营养不良、胎儿宫内发育迟缓有很好疗效<sup>[29]</sup>。

3. 肝素 是一种磺酰胺基葡萄糖, 具有抗凝、抗血栓、调整血脂、抗炎、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤、抗病毒及治疗冠心病心绞痛等多种作用。肝素是非均一性的, 其中低分子量肝素(LMWH)比普通肝素更好, 具有抗栓作用强、出血危险小、生物利用度高、半衰期长及使用方便等优点, 是一类很有发展前途的抗栓新药<sup>[17]</sup>。国内山东医大等单位以肝素生产的副产品低抗凝肝素为原料经亚硝酸控制裂解和凝胶层析制得 LMWH<sup>[30]</sup>。

4. 溶栓酶 这方面广泛使用的有尿激酶、链激酶。国内尿激酶从人尿中提取得到。国外则开发了基因工程产品<sup>[11]</sup>。尿激酶和链激酶虽能较好的溶解血栓但不能预防血栓及再通后重新堵塞。且有出血副作用<sup>[23]</sup>。近年来从蛇毒和蚯蚓中开发出了两类新的溶栓酶<sup>[31, 32]</sup>, 前者有腹蛇抗栓酶, 已经国家批准为一类新药。由蚯蚓中提取得到数个具抗栓作用的酶, 抗血栓活性优于尿激酶。广州空军

医院研制的地龙抗栓酶 1993 年已通过国家新药审批。

5. 抑肽酶 它是从牛组织中提取得到的, 用于胰腺炎治疗已有 40 多年历史。近年来发现它降低出血的新适应症<sup>[31]</sup>, 在英国已获准用于高危心脏外科, 减少出血。因而受到外科医生的欢迎。

6. 肝细胞生长因子 国外研究不多, 1982 年起有所报道。它可从乳猪、乳牛、乳鼠等肝脏中提取得到, 具有提高巨噬细胞功能等多种作用, 对治疗重症肝炎和慢性肝有良好疗效<sup>[10]</sup>, 国内南京军区八一医院等研制的肝细胞生长因子已通过国家新药鉴定。

7. 胸腺制剂 研究应用较多的是胸腺激素。它是胸腺产生、分泌的一类激素样物质, 具有调节细胞免疫的作用。胸腺素和胸腺肽已用于治疗红斑狼疮、类风湿、重症肌无力等自身免疫性疾病和病毒性感染及调节老年人的免疫功能<sup>[17]</sup>。胸腺中还具有免疫抑制成分。可能成为作用独特且低毒的免疫抑制剂<sup>[17, 33]</sup>。我国从 1987 年起就开始了这方面的研究。

8. 转移因子(TF) 是来自淋巴细胞、可将供体的某种特定细胞免疫功能特异性地转移给受体的一种因子。临床上对治疗慢性支气管炎、支气管哮喘、湿疹和与人血丙球蛋白合用治疗带状疱疹及小儿肠炎均有较好疗效, 对病毒性感染效果尤佳。它可从人白细胞和猪、牛的脾脏提取得到<sup>[10, 17]</sup>。

9. EPA 和 DHA EPA(二十碳五烯酸)和 DHA(二十二碳六烯酸)活化大脑机能, 具有调整血脂、抑制血小板聚集、抗炎和调节免疫等作用<sup>[20]</sup>, 被称之为“脑黄金”。二者可从鱼油中提取得到, 为鱼油多不饱和脂肪酸的主要成分。日本近年来进行了新资源的开发研究。开发出了从土壤霉菌或苔藓中获得大量 EPA 的新的技术, 并利用超临界 CO<sub>2</sub> 从狭鳕鱼精巢中成功地提取了 EPA 和 DHA。

10. 新型降压肽类物质 日本研究者从

鳗鱼心脏中提取获得一种由 36 个氨基酸构成的降压激素—心室性钠利尿肽 (VNP)<sup>[20]</sup>。其降压效果为同类激素的 10 倍。他们还从鸡蛋中提取出三种由 3-4 个氨基酸构成的肽类物质。它们为血管紧张素转化酶抑制剂,具有抑制高血压的作用。

#### 四、结束语

现代生物技术是一项和医药产业结合极为密切的高新技术。它的发展使新药研究与开发提高到一个新的水平,为医药工业开辟了更为广阔的新领域。二十一世纪是近代生物技术的世纪。未来生物技术药品的发展前景是不可估量的。一切新药研究机构和医药工业界对于生物技术药品的发展都应当给予足够的重视。近年来随着科学技术的发展,生化提取领域的开发研究取得了新的成果,传统的以天然生物资源为原料通过生化方法制取生化药物的发展也步入了一个新的阶段。在近代生物技术药品突飞猛进发展的今天,它仍然是药物百花园中不容忽视的一个领域。

#### 参考文献

- [1]张骁,束梅英.国内外生物技术医药产品研究开发现状.医药情报,1993,(3):23
- [2]邢梦龙.生物技术与新药研究开发.医药情报,1993,(4):1
- [3]莽克强.生物工程在医药方面的进展.生物工程学报,1985,1(1):4
- [4]喻致祥,楚望三.生物技术医药产品的发展动态.医药情报,1990,(4):25
- [5]美国九十年代生物技术制品展望.医药情报,1991,(1):42
- [6]牛晓洪.生物技术在药学中的应用.陕西医学杂志,1987,16(5):39
- [7]韩晓旭.生物工程在国外制药工业中的应用.现代应用药学,1987,4(1):38
- [9]陈耀鸿.国内外生物技术的发展概况.医药情报,1991,(2):18
- [10]吴梧桐,吴文俊,王友同,等.近年来生物技术医药产品发展动态.中国药学杂志,1994,29(2):69
- [11]张林元,邓小昭.遗传工程药物进展.中国药学杂志,1990,25(12):709
- [12]刘新垣,虞建良,郑宏大,等.基因工程人白细胞介素-2的生物功能研究.生物工程学报,1991,7(1):18
- [13]Pharmaceutical Manufactures Association. Bio/Technology. 1991;9(10):947
- [14]沈志祥,李静.集落刺激因子在临床上的应用.新药与临床,1991,10(2):108
- [15]夏曙辉,杨玉龙,宋炳生.粒细胞集落刺激因子(G-CSF)及其临床治疗作用.药学进展,1992,16(3):134
- [16]王文章.肿瘤坏死因子及其研究进展.中华医学杂志,1988,68(2):112
- [17]王凤山,刘立,张天民.我国几种生化药物研究现状及其发展方向.中国医药工业杂志,1994;25(1):38
- [18]杨琴,邹国林,朱汝幡等.鸭血超氧化物歧化酶(SOD).生物化学杂志,1989;5(2):169
- [19]袁勤生,陈浩,姚菊芳,等.牛马血 SOD 的制备新工艺.生化药物杂志,1991,7(3):657
- [20]陈执中,章月华.生化新药研究动向,中国药学杂志,1994,29(1):12
- [21]周克元,凌光鑫,刘国勋,等.组织纤溶酶原激活物的分离纯化.中国医药工业杂志,1991,22(12):529
- [22]血栓溶解剂 Tisokinase.日本医药信息,1992;4(1):9
- [23]李凤知.抗栓药物的研究和临床应用现状及新型抗栓药-水蛭素的研究进展.医药卫生科学技术进展,第一版,人民军医出版社,1992,P130
- [24]韩玉珉,葛庆远,王增丰,等.重组水蛭素的纯化和鉴定.生物化学杂志,1991,7(3):657
- [25]Emmons C, et al. Iowa-Med, 1987;77:78
- [26]首次批准 Centoxin.中国医药工业杂志(信息版),1991,(9):13
- [27]任庚夫.医药领域的生物技术概况.抗生素,1980,11(3):284
- [28]施产甫,许琳,肖祥华,等.猪 PDGF 的部分纯化.生物化学与生物物理学进展,1989;16(5):343
- [29]田金良,张仁健,卜秀芬,等.人胎盘、猪血粉酸水解的复合氨基酸的临床应用.氨基酸杂志,1989;(2):38
- [30]罗根,张天民.由低抗凝肝素制得低分子肝素的分子量与抗血栓作用的关系.中国药学杂志,1991;26(9):552
- [31]徐积恩.治疗用酶的应用进展.医药情报,1993;(1):56
- [32]牛勃,程牛亮,单鸿仁,等.地龙溶栓酶的制备及其鉴定方法.CN 1037345A,1989
- [33]隋晓平,张天民.猪胸腺免疫抑制提取物的研究.山东医科大学学报,1989;27(2):59