

重组人干扰素 α -2b 喷雾剂预防 SARS 等 呼吸道病毒感染的人群试验研究

于德宪 陈清 张丽兰 刘翼 喻志爱 李志峰 张丽萍 胡贵方
段招军 楚心唯 张滨 俞守义 侯云德

【摘要】 目的 评估重组人干扰素 α -2b 喷雾剂(远策素喷雾剂)预防 SARS 等常见呼吸道病毒感染的效果。方法 研究对象共 14 391 人,用药剂量为 90 万 IU/次,每日 2 次,连用 5 d,末次用药后 15 d 取血,或用药前和用药 3 周后采取双份血清。采用随机、对照方法检测血清抗 SARS-CoV-IgG 抗体;采用双盲、随机、安慰剂对照方法测定血清抗常见呼吸道病毒(B 型流感病毒、副流感病毒 1~3 型,呼吸道合胞病毒及腺病毒 3、7 型)的血清 IgM 抗体。结果 两次实验中,干扰素组血清 SARS 病毒 IgG 抗体阳性率均较试验组高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。但用药组应用干扰素后副流感病毒 1~3 型,B 型流感病毒,腺病毒 3、7 型和呼吸道合胞病毒 IgM 抗体阳性率(依次为 6.45%、4.52%、4.30% 和 17.20%)均低于对照组(依次为 19.40%、13.60%、7.12% 和 25.62%)。其中副流感病毒、B 型流感病毒、腺病毒 3 种病毒 IgM 抗体阳性率差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结论 应用远策素喷雾剂鼻和咽部喷雾能不同程度地降低用药人群常见呼吸道病毒的感染率。

【主题词】 干扰素 α -2b; 呼吸病毒感染; 严重急性呼吸综合征

A field trial of recombinant human interferon α -2b for nasal spray to prevent SARS and other respiratory viral infections YU De-xian*, CHEN Qing, ZHANG Li-lan, LIU Yi, YU Zhi-ai, LI Zhi-feng, ZHANG Li-ping, HU Gui-fang, DUAN Zhao-jun, CHU Xin-wei, ZHANG Bin, YU Shou-yi, HOU Yun-de.*
Department of Epidemiology, The Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

【Abstract】 **Objective** To study the preventive effect of recombinant human interferon α -2b for nasal spray against SARS and other common respiratory viral infections by serum-epidemiological method. **Methods** A randomized, placebo-controlled, double-blind field trial study in populations with 14391 persons from SARS prevalent cities or provinces in China during May-Jun, 2003 and Dec-Apr, 2004. Interferon α -2b was given twice per day, once 9×10^5 IU by nasal spray for 5 days. Serum samples were taken at 15 days after last administration. Serological tests included SARS IgG antibody and IgM antibodies against influenza B, parainfluenza virus types 1-3, adenovirus type 3, 7 and respiratory syncytial virus by using commercial ELISA kits. **Results** No statistically significant difference in serum SARS IgG antibody positive rate was found between the interferon and control groups among 2757 serum samples. On the other hand, after using interferon, all four respiratory viruses (parainfluenza virus types 1-3; influenza B, adenovirus types 3, 7 and respiratory syncytial virus) in interferon group had lower IgM antibody positive rates than those in control group. Among them there were statistically significant differences between the interferon and control groups for parainfluenza virus, influenza B and adenovirus. The preventive efficacy of interferon against four respiratory viruses was different, from high to low, the rank was Flu B (66.76%), parainfluenza types 1-3 (66.75%), RSV (39.61%) and adenovirus (32.86%). The average preventive efficacy was 50.27%. **Conclusion** The recombinant human interferon α -2b for nasal spray could decrease the rates of common respiratory viruses infection in the selected population.

【Key words】 Interferon alfa; Respiratory viral infections; Severe acute respiratory syndrome

基金项目:国家 863 计划资助(2003AA208206;2003AA208209)

作者单位:510515 广州,南方医科大学流行病学教研室(于德宪、陈清、刘翼、李志峰、胡贵方、楚心唯、俞守义);北京远策药业有限责任公司(张丽兰、喻志爱、张丽萍、张滨);病毒生物技术国家工程研究中心北京金迪克生物技术研究所(段招军、侯云德)

由呼吸道病毒引起的急性呼吸道病毒感染是人类发病率最高的常见病、多发病,从严重的 SARS 到普通感冒,引起急性呼吸道病毒感染的病毒种类繁多,多达数百种;是采用特异性疫苗难以预防的重要病原体,因此,非特异性预防成为研究的方向^[1]。Jefferson 等^[2]收集了有关干扰素 (IFN) 研究的 241 次试验、230 篇报告和文章,对它们进行归纳分析后认为,IFN 对感冒有很高的预防效果;预防实验性感冒的保护效果为 46% (37% ~ 54%);对自然感冒为 24% (21% ~ 27%),使实验性感冒缩短病程,但是,由于有副反应而难于投放市场。例如,延长使用时间可以引起血涕等^[2,5]。

2003 年春 SARS 在我国流行,波及全球。2003 年 4 月我国学者段招军等^[6]和舒跃龙等^[7]首先发现 IFN 在细胞培养上对 SARS 病毒的繁殖有强烈的抑制作用。北京远策药业有限责任公司率先改进了鼻腔喷雾剂的组方,研制成重组人 IFN- α_{2b} 喷雾剂 (远策素喷雾剂),并经过中国食品药品监督管理局的“绿色通道”,审查和批准后进行了流行病学的安全性和预防 SARS 及其他急性呼吸道病毒感染的效果观察。

我们在 2003 年 5 月 SARS 流行期间采用实验流行病学的方法,总观察对象 14 391 人,分为二个阶段对远策素喷雾剂预防 SARS 等呼吸道病毒感染开展了评价研究。研究结果表明,使用远策素喷雾剂未发现严重血涕等副反应,基本上是安全的;大量的血清学检测表明,远策素喷雾剂对预防常见的上呼吸道病毒感染有一定效果。

1 对象和方法

1.1 试验对象 2003 年 5 月下旬至 6 月中旬在 6 个现场同时铺开工作,研究对象共 14 391 人,均为 SARS 流行区的易感人群,分布于河南、北京、天津、河北、内蒙和广东六省市,21 个单位。其中 8881 人为用药组,5510 人为对照组 (空白对照),收集调查表 13 254 份,脱落 1137 人,完成的研究应答率为 92.1%,共采血约 6892 人份 (双份血清)。2003 年 12 月至 2004 年 3 月,又在广州市和珠海市 3 个军人集体单位,选择对 SARS 易感的 1220 人进行了观察研究,年龄 17 ~ 35 岁,其中实验组 545 人,对照组 675 人。

入选标准:能够理解并能按要求用药和填写调查表的成年人,知情同意,自愿参加。**排除标准:**有

IFN 过敏史的人,患有肿瘤、糖尿病、慢性肝炎等免疫力低下的患者,孕妇及哺乳期妇女。

剔除标准:对已被选入本临床研究,属于以下情况之一者:(1)不符合纳入标准,或符合排除标准者;(2)未用药者;(3)无任何记录者。

脱落标准:对已被选入本临床研究,属于以下情况之一者:(1)受试者依从性差,不能按时按量用药;(2)受试者不愿意继续进行临床试验,向研究者提出退出者。

第一阶段在 2003 年 5 ~ 6 月期间进行,在高危人群中采用多中心、整群抽样和分组同期平行的方法进行实验,对照为空白对照。第二阶段在 2003 年 12 月至 2004 年 3 月进行,在人群中采用双盲、安慰剂对照和随机分组的方法进行试验。

1.2 药物和用药方法 药物为远策素喷雾剂,由北京远策药业有限责任公司研制 (国家药品监督管理局临床试验批号:2003L01500,药物生产批号:20030502),300 万 IU/ml。用量和方法:每日喷两次,每次分别喷左右鼻腔、咽喉各一次 (即 90 万 IU/次),连用 5 d (共 900 万 IU)。对照组采用外形与药物完全相同但不含药物成分的安慰剂 (生理盐水),使用方法和时间与用药组相同。

1.3 血清采集 用药前和用药后 15 天,各采一次血;或仅在用药后 15 天采单份血。分离血清后放 -20℃ 保存待检。

1.4 血清抗 SARS-CoV-IgG 抗体检测 采用北京华大吉比爱生物技术有限公司生产的“冠状病毒 IgG 抗体检测试剂盒”。方法按使用说明书进行。两次阳性者则确定为阳性。

1.5 血清抗呼吸道病毒 IgM 抗体检测 统一采用深圳赛尔生物技术有限责任公司的呼吸道病毒 IgM 抗体诊断试剂盒,包括流感病毒 B (Flu B)、副流感病毒 1 ~ 3 (PIV1-3)、腺病毒 3 和 7 型 (ADV, 3 和 7 型) 和呼吸道合胞病毒 (RSV) 4 种呼吸道病毒检测试剂盒。操作步骤严格按照说明书进行。本研究以特异性呼吸道病毒血清 IgM 抗体阳性为呼吸道病毒感染的指标。

1.6 统计学分析 采用 SPSS10.0 统计软件进行数据整理和 χ^2 检验。

预防效率计算方法:

预防效率 (%) =

$$\frac{\text{对照组血清该病毒 IgM 抗体阳性率} - \text{用药组血清该病毒 IgM 抗体阳性率}}{\text{对照组血清该病毒 IgM 抗体阳性率}}$$

× 100

2 结果

2.1 对 SARS 发病率的影响 两个阶段两组观察人群均没有发生 SARS 病例,故未能评价本药物对 SARS 发病率的影响。

对 2003 年 1 月份以来在广州军队医院住院的 SARS 确诊患者 149 例以及疑似患者 14 例进行的流行病学调查表明,所有上述病例在发病前 10 日均未用过任何 IFN 制剂。而这些医院接触 SARS 的医务人员中,使用自制的 IFN- α 或其他 IFN 滴鼻液者共 1020 人,无一人发生 SARS、疑似 SARS 和流感。在北京两次 SARS 流行期间,约有 9 万余人使用远策素喷雾剂,经过通讯调查,凡用 IFN 喷鼻的,在 10 d 内均未有发热症状。

2.2 血清 SARS 病毒 IgG 抗体检测 抽取了接触 SARS 患者机会相等的 1730 人的双份血清,其中试验组 930 人,对照组 800 人,同时间内进行 SARS 病毒 IgG 抗体检测。结果表明,由于双份血清的阳转率很低,说明 SARS 流行期间,人群的隐性感染率很低,难以以双份血清的抗体 4 倍增加来判断 IFN 的预防效果。因此,改为观察用药组与对照组的总抗体阳性率来评估对 SARS 的干预作用。结果表明,IFN 组血清 SARS 病毒 IgG 抗体阳性率为 2.15%,而对照组为 3.50%,对照组较用药组高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

另一批血清学试验表明,IFN 组血清 SARS 病毒 IgG 抗体总阳性率为 1.94% (9/465),对照组为 2.85% (16/562),两组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 血清呼吸道病毒 IgM 抗体阳性率 我们选择常见的呼吸道病毒 IgM 抗体检测盒,包括 PIV1 ~ 3

型、Flu B、RSV 和 ADV 3 和 7 型,对用药组 1771 人份血清和对照组 2061 人份血清进行检测。由于 Flu A 抗原并非当年的流行毒株,所以不包括在内,结果见表 1。

由表 1 可见,用药组 4 种呼吸道病毒血清 IgM 阳性率均低于对照组,总的预防效率为 50.27% ($P < 0.01$)。其中对 PIV 感染的预防效率达 66.75%,对 Flu B 感染的预防效率达 66.76%,对 ADV 感染的预防效率为 32.86%。RSV 感染率也低于对照组,但差异无统计学意义。

3 讨论

进入 21 世纪以来,全球经济一体化、人口老龄化和城市化的进程在加速。全球传染病特别是病毒性传染病的流行十分猖獗;因此,预防和控制突发性传染病的流行,特别是预防和控制突发性急性呼吸道病毒性传染病的流行,更是关系到我国广大人民的健康,关系到国家安全和经济建设的大事。目前,我国从事高危病毒和未知病毒研究的人员,每天要面对不明发热患者的广大医务工作者,以及发生疫情后的广大人民群众,至今还没有一种可以自己应用,保护自己不受感染的预防性生物制剂。这一切均说明,我国作为世界人口和经济大国,研制预防和控制突发性急性呼吸道病毒性传染病流行的药物和疫苗是显得多么迫切。

1973 年,Merigan 等^[8]在英国医学研究中心普通感冒研究室首先证实了 IFN 能预防呼吸道病毒感染。随后人们进行了大量的研究,至今国外已完成 200 多次人体试验,多数证明 IFN 对呼吸道病毒(包括流感病毒、鼻病毒、冠状病毒、RSV 等)感染有预防作用。但是,也有些临床研究未能证明 IFN 对某

表 1 4 种呼吸道病毒血清 IgM 在实验组和对照组检测情况

Tab. 1 Positive rates of IgM antibody to common respiratory viruses in interferon and control groups

病毒抗体 Viruses	用药组 Interferon group		对照组 Control group		保护率(%) Protection rate	P 值 P value
	检测数 No. of cases detected	阳性数(%) No. positive	检测数 No. of cases detected	阳性数(%) No. positive		
PIV	465	30(6.45)	562	109(19.40)	66.75	<0.01
Flu B	376	17(4.52)	375	51(13.60)	66.76	<0.01
RSV	465	20(4.30)	562	40(7.12)	39.61	=0.05
ADV	465	80(17.20)	562	144(25.62)	32.86	<0.01
合计 Total	1771	147(8.30)	2061	366(16.69)	50.27	<0.01

些呼吸道病毒有保护作用^[4,5,9]。另外,因为 IFN 应用的不良反应,使得目前 IFN 尚未能应用于呼吸道病毒感染疾病的实践中。

IFN 是人体非特异性病毒免疫的重要因子之一,就其本质来说,它所具有的抗病毒活性是广谱的,几乎对所有病毒都有一定程度的抑制作用,是机体对病毒感染最早的免疫反应。一般来说,IFN 对 RNA 病毒比 DNA 病毒敏感;在 RNA 病毒中,正链 RNA 病毒又比负链 RNA 病毒敏感,在同一 DNA 或 RNA 病毒中,不同病毒科、病毒属或病毒株对 IFN 的敏感性又有很大差别。从病毒感染来说,出现症状往往是在病毒繁殖的高峰以后,而临床症状往往又是病毒感染过程中引起的异常免疫反应所引起的。所以,干预病毒感染重在预防,许多抗病毒药物一般仅在早期有效。据此,从理论上说,IFN 是预防多种病毒感染最佳的模式,它是人类长期进化的自然防御机制^[10]。

IFN 预防鼻病毒和冠状病毒感染已有大量的实验室和临床研究的基础,效果比较肯定。IFN 预防流感不如冠状病毒感染有效。IFN 迄今尚未投放市场的主要原因是鼻黏膜的刺激反应,特别是血涕副反应,感冒原是一类自限性疾病,如有较严重的副反应,就不值得开发成为药物。

所以,我们在研制远策素喷雾剂时,重点改进了组方,降低了鼻黏膜刺激症状。结果,大量人群试验证明远策素喷雾剂是安全的,未发现有血涕副反应。

2003 年我国 SARS 流行,在当时的特定条件下,设立的 IFN 组和对照组,难以做到双盲、随机。因为研究人员无法保证对照组人员不私下使用其他免疫制剂、IFN 或其他的抗病毒药物。所以,这可能是血清研究资料未获得统计学意义的原因。但是,我们进行的实验室研究和猴体试验,均证明 IFN 对 SARS 病毒感染具有确切的预防效果^[6,7,11]。我们的研究结果也被国外许多学者所重复^[12]。在对几种急性呼吸道病毒感染的血清流行病学研究中,IFN 组的 PIV1 ~ 3 型、Flu B 和 ADV 的血清 IgM 阳性检出率明显地低于对照组,且差异有统计学意义;其预防效

率分别达到 66.75%、66.76% 和 32.86%。Flu A 的试剂盒中所用的抗原不是当年的 A 型流感流行病毒株,当年的 Flu A 的抗原性已有变异,所得结果不可靠,故未列出;RSV 主要是新生儿和儿童时期的常见病,成人感染率低,这可能是差异无统计学意义的原因。

根据实验室研究,猴体试验和大规模的流行病学研究^[6,7,11],说明远策素鼻腔喷雾剂的组方是合理的,在人群中大面积使用是安全的,没有发现国外报道的血涕副反应,并证明了远策素喷雾剂对预防常见呼吸道病毒感染具有一定预防效果。

参 考 文 献

- 1 侯云德. 急性呼吸道病毒感染的病原学与防治. 北京:中国协和医科大学出版社,2005. 1-9.
- 2 Jefferson TO, Tyrrell D. Antivirals for the common cold. *Cochrane Database Syst Rev*, 2001, (3):CD002743.
- 3 Shumilov VI, Ivannikov IuG, Ogarkov PI, et al. Epidemiologic effectiveness of poludane in preventing influenza and other acute respiratory diseases in troops. *Voen Med Zh*, 2002, 323:45-47, 93.
- 4 Sperber SJ, Levine PA, Sorrentino JV, et al. Ineffectiveness of recombinant interferon-beta serine nasal drops for prophylaxis of natural colds. *J Infect Dis*, 1989, 160:700-705.
- 5 Tannock GA, Gillett SM, Gillett RS, et al. A study of intranasally administered interferon A (rIFN-alpha 2A) for the seasonal prophylaxis of natural viral infections of the upper respiratory tract in healthy volunteers. *Epidemiol Infect*, 1988, 101:611-621.
- 6 段招军, 张丽兰, 谢志萍, 等. 不同型别重组人干扰素在细胞培养上抗 SARS 病毒的研究. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2003, 17:205-208.
- 7 舒跃龙, 段招军, 王征, 等. SARS 冠状病毒全基因组 cDNA 芯片的研制以及人重组干扰素 α -2b 抑制 SARS 病毒复制分子机制的初步研究. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2003, 17:209-212.
- 8 Merigan TC, Reed SE, Hall TS, et al. Inhibition of respiratory virus infection by locally applied interferon. *Lancet*, 1973, 17: 563-567.
- 9 Higgins PG, al-Nakib W, Barrow GI, et al. Recombinant human interferon-gamma as prophylaxis against rhinovirus colds in volunteers. *J Interferon Res*, 1988, 8:591-596.
- 10 侯云德. 分子病毒学. 北京:学苑出版社,1990. 598-647.
- 11 Haagmans BL, Kuiken T, Martina BE, et al. Pegylated interferon-alpha protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques. *Nature Med*, 2004, 10:290-293.
- 12 Loutfy MR, Blatt LM, Siminovitch KA, et al. Interferon alfacon-1 plus corticosteroids in severe acute respiratory syndrome: a preliminary study. *JAMA*, 2003, 290:3222-3228.

(收稿日期:2005-07-05)