SEC口服液有效剂量判定依据和准则

陈廷祚
（成都生物制品研究所　成都 610023）

在讨论协合药厂更新产品SEC口服液有效剂量时，有两个不同于其它同类产品的特殊要求是必须加以慎重考虑和认真讨论的。一是产品的有效因子SEC可否穿过肠道粘膜屏障进入体内而不被降解为肽类；二是判定产品有效剂量的主要依据何在，有没有一个判定准则？用一句话来回答这两个问题，那就是要根据SEC特性及其验证结果做出判断。具体地说，SEC在穿过粘膜层进入GALT后，必须保持其蛋白的完整性，应能激活T细胞大量增殖，并产生各种细胞因子。由此等免疫反应测得的数据，结合文献中使用in vitro或in vivo方法所作的SE毒性试验和免疫力试验报道以及近10年来协合公司对原有的两种SEC制剂，即注射用高聚生和BM口服液在基础研究上所作出的努力和在临床应用上所积累的前所未有的经验，应当可为SEC口服液的有效剂量提出一个暂定的最低值。

此处所称的最低值，实际上就是现今人们所指的生理剂量；如果用于癌症治疗时，也可称之为治疗剂量。所谓生理剂量，在西方文献中（Fleischer,1994）主要是针对人来说的，其含义为投入体内的SE，决无可能引起食物中毒症状或造成机体损害。之所以使用“最低值”一词是为了保证制品绝对安全，亦即此一最小剂量能使在人体内产生足够的免疫力，但又不导致免疫耐受性的形成。据此可知，不求最大　但求稳妥应该成为判定SEC口服液有效剂量的准则。稳者稳操胜券之谓也，不会引起免疫耐受性。妥者妥帖之谓也。杜甫有一诗句：“拥兵镇河汴，千里初妥帖”，指的是当年开封一带有重兵把守，何愁不安全的意思。

但是，在用动物检测SE的毒性时，由于各类动物对SE的敏感性存在很大的差异，尤其经常使用的普通动物，非但基本上不表现人类食物中毒的症状，即使有某些症状出现，也因动物种类、期龄、使用剂量、投入途径等因素的影响而有不同的结果。见表1。现在已知，猴子（恒河猴）、猩猩等灵长类动物对SE的敏感性是仅次于人的生物，但因价格昂贵，在一般实验室中是不经常使用的。基于这些方面的考虑，使用普通动物作SE毒性试验是不合适的，但据Harris等人（1993）用SE的两种结构物所做的试验证明，无论可否引发呕吐等症状，与SE的免疫功能全然没有关联，因而用普通动物作免疫试验仍然是最好的选择。由这一论点引伸出来的另一个问题是，用不敏感的普通动物进行测定所获数据能否

反映灵长类或人类真正的免疫状态，或者，由文献资料提供的鼠类和灵长类试验数据能否推导得人的生理剂量或治疗剂量？为了进一步说清楚这个问题，以下将仅就文献中关于用灵长类进行SE毒性实验的报道作一番简要的回顾。

表1　不同种类动物对SE的敏感性

投入途径	小鼠	大鼠	豚鼠	家兔	猫	狗	牛	猪	猴	猩猩	人
iv,ip	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
po或ig	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+

注：+、-表示可否引发症状（打干呕、呕吐、腹泻）；po经口，ig胃内

自从九十年代初兴起SAg研究热以来，一些学者陆陆续续用SE，主要是SEB，其次是SEA作了po或ig毒性试验的观察。从总的情况来看，猴子远较一般实验动物敏感，根据试验品纯度不同，前者致呕吐剂量约在5-50μg/kg之间。例如，Wilson（1959）早年就曾经用SEB ig试验比较过猴子（初试30只分3组，复试4只分2组）和猩猩（5只）的敏感度。试验结果证明，猴子的中毒剂量为≥111μg/kg（初试：11/19；复试：5/10阳性），生理剂量为≤44-55μg/kg（初试复试各5只均为阴性）。在用猩猩所作的试验中，中毒剂量为≥2.05μg/kg，而生理剂量则为≤1.07μg/kg。据Wilson估计，尽管所用SEB为由Bergdoll(1956)提供的粗提品，猩猩的敏感度要比猴子大10倍。

最近，有人用SEC做了po毒性试验。试验品均由等电聚焦法提炼而得，纯度高。Edwards等人（1997）的结果为，猪尾猴的中毒剂量为10μg/kg（由于只用了这一剂量，难以断定其为最低中毒剂量）。Schlievert等人（2000）用了8只猪尾猴分为三组，投入的剂量分别为10，1.0和0.1μg/kg，结果如表2所示。剂量虽有10倍之差，但结果是

表2　猪尾猴SEC po试验

剂量μg/kg	致呕吐数
10	2/2
1.0	2/4*
0.1	0/2

注：分母分子分别表示猴子数及呕吐阳性数
*这4只猴子全都出现腹泻

可信的，中毒剂量可定为≥1μg/kg，而生理剂量则为≤0.1μg/kg。

用人进行的SE口服试验在1930，1931和1957即见诸报道，但均未言明中毒剂量的数值。Sugiyama（未发表的资料）曾经用2个人作了SEB口服试验，各先服1μg，后服10μg均未获成功。Raj和Bergdoll（1969）用3个人作了SEB口服试验的结果为，投服50μg（纯度50%）后均可致病，但发症时间因体重、年龄而有所不同。他们认为，纯品中毒剂量估计在20-25μg之间。

综上所述不难看出，这些少数学者的报道由于用以检测SE的型别、样品纯度、试验方法各有不同，因而对于他们所获数据难以作出直接的比较，但是，如果以现有的认知来考虑人的生理剂量似乎是目前仅有的选择：人对SE的敏感度最高。猩猩的敏感度有可能接近人，但比猴子高10倍，而猴子的数值似乎可以按Schlievert等人的结果，即以≤0.1μg/kg为依据，由此推导人的生理剂量则应为≤0.5μg/kg（按体重50kg计，50×0.1÷10=0.5μg=500ng）。这一数值应被认为是生理剂量的最大值；若与SEC口服液一次剂量（300ng）相比，后者仍然低于前者。然而，SEC口服液的实际进入体内的有效剂量可能远远低于300ng。关于这点将从以下引述的资料中得到解答。

首先，要发问的一个问题是，SE 是怎样由肠腔到达GALT的呢？答曰：这是通过M细胞（肠壁的一种特殊的上皮细胞）将SE转运到GALT中去的，由此，T细胞得以在该处被激活。以下两篇文章就是为了说明SE是怎样进入上皮细胞的模型试验结果。

Hamad等人（1997）用in vitro和in vivo两种方法比较了SEA和SEB能否穿过肠道上皮细胞的试验结果。一种方法是用Caco-2细胞（由腺癌患者分离但为缺失MHC II 类分子的肠道上皮细胞系）体外培养系统进行的。试验结果说明，SEB有穿过性，即Caco-2细胞有转运SEB的能力，而SEA则否；后者所得数据与对照HRP相当，仅具非特异性的被动渗透作用，两者的穿过力相差3-6倍。另一种方法是用小鼠所作的试验。小鼠由ig投入200μg SEB或SEA后证明两者都能很快进入血流，2小时后血清含量即可达到2.75pg /ml（SEB）和0.1pg/ml （SEA），说明两者转运SE 或穿过肠壁的能力存在很大的差别，前者进入血液的数量比后者大20多倍.。此处应该指出的是，投入量是如此的大，而进入GALT以达血流的量又是如此的小，差额之巨，令人咋舌！

Shupp和Pontzer（2000）用两种细胞系作了体外SEB转运试验，除Caco-2外，另一种是人结肠上皮细胞系（T-84）。试验结果表明，前一种细胞可双向转运，而后一种细胞只发生单向转运，但两者均表现有剂量依赖性。他们还用小鼠作了SEB ig试验，发现SEB在脾内（属全身淋巴组

织)和在培氏斑块内(属局部淋巴组织，即GALT)发生的免疫应答不同：前者有剂量倚赖关系，而后者则否，即不论剂量大小，均可引起同样的免疫应答。

至今，文献中尚未见到直接观察SEC穿过肠道粘膜层的报道，但由上面引述的SEB和SEA ig试验，以及其它学者就SEC所作的ig免疫试验研究，足以间接地说明，SEC也应该和SEB或SEA一样，可以进入机体，并在到达GALT和进入血流时，将会受到巨大的损失。尽管已知SEC较能抗胃酸（Schlievert等人，2000），但因肠腔内尚含有胰酶，以及各种细菌的蛋白酶等对SE的破坏作用是难以估计的。当然，粘膜层的屏障作用也是不应忽视的一面，因为尽管SEC的分子量不算很大，只有27kDa，但在穿过肠壁的过程中遇到的阻力是可以想像得到的。这些不利的因素显然是造成巨大损失的原因。据此可以推测，SEC口服液的一次剂量虽然很大，但实际进入血流中的数量，有可能和SEB或SEA的情况相似，几乎是微乎其微的。然而，这仅仅是一种推测，却足以引起人们的关注乃至忧虑。忧虑何在？答曰：在于较长时间服用后，有无可能导致免疫耐受性的问题。人们持有这一忧虑是无可非议的。因为目前已知，任何抗原，尤其作为SAg的一种SEC，能使T细胞迅速丧失其免疫应答性，乃至克隆消除，由此导致免疫耐受性的形成，而免疫耐受性正是目前医学界中最难以对付的自体免疫性疾病，尤其OT是导致发炎性肠道疾症等的诱发病因。当年瑞典在企图使用SEB提纯品开发成为抗癌制品之所以迅速转向融合蛋白工程产品的研发，以及国际上迟至今日尚未见有人单用SE进行开发性研究，原因或在于此。在目前，人们的注意力，主要集中在如何从病因上寻求SE对自体免疫性疾病的根本解决，然而这又非近期所能办到的事。

自六十年代末，B细胞和T细胞的区分被确认以后，免疫耐受性概念之所以得以建立是免疫学中的一项重大成就，尤其近年来，经口服用各种抗原所引起的经口免疫耐受性（oral tolerance，缩作OT），是免疫学中研究得比较深入而透彻的一个课题。Weiner（1997）曾就引发OT的机制发表过一篇综述。此处将先介绍一下文献中关于SE引发OT的学术进展概况。

对SE引发免疫耐受性的惯常说法是，由腹腔(ip)或静脉(iv)将SE注入小鼠体内$1^{1}/_{2}$小时后，载有Vβ3及Vβ8分子的T细胞即被激活，开始增殖，并产生细胞因子。至第2日，细胞增殖数到达峰值。如于此时再作一次注射，此值尚可进一步提高。随后到第7-10日出现克隆消失，乃成为低或无免疫应答状态，从而免疫耐受性得以建立。这是最典型的说

法。实际上，T细胞由有免疫应答，发展为低或无免疫应答直到细胞凋亡的过程有九种不同的模式；其中有四种模式未见细胞增殖，即可达成免疫耐受性（Acha-Orbea,1997）。

小鼠由胃内（ig）投入SE后，OT的发展过程大致同上述，但有其特殊之处，例如，一般须投入较大的剂量，50以至200μg，而经由ip或iv注入者，通常使用的剂量只需5-10μg。

最近，Spiekermann和Nagler-Anderson(1998)的一篇关于用SEB作小鼠ip和ig免疫的报道，第一次披露了其在投入后48小时对GALT（培氏斑块，简称PP，和肠系膜淋巴集结，简称MLN）和外周淋巴组织（简称PLT，例如脾脏）中的T细胞引起的两种不同的反应。小鼠投入剂量均为50μg SEB。结果表明，由ip注入SEB 48小时后，脾脏中的$CD4^+V\beta 8^+$和$CD8^+V\beta 8^+$两种T细胞数大见增长，而在PP中，前一种细胞数稍有增加，后一种细胞数则保持在基线上。另一方面，由ig投入后48小时的情况与由ip注入者不同。在脾内的T细胞数，基本上没有明显的变化，但在12小时，在PP内的两种T细胞就开始大幅增殖，至48小时，$CD4^+V\beta 8^+$ T细胞数退回到基线，而$CD8^+V\beta 8^+$ T细胞仍继续增殖。在MLN中的增殖情况，只$CD4^+V\beta 8^+$ T细胞增殖较为明显。以上所述，只是ig注入后48小时观察。至于以后的发展，与其他学者所述相同，即在ip注入SEB后第10日，全身各处包括粘膜组织在内的$CD4^+V\beta 8^+$ T细胞均发生显著消除，但当使用两个不同剂量（50和200μg）经ig投入时，脾和PBL中的$CD4^+$和$CD8^+V\beta 8^+$ T细胞，其消除情况则有所不同：脾中的两种T细胞均未见消除，而PBL只在使用大剂量时才有显著消除。这一结果与Hamrad等人的发现一致。但是，$CD4^+V\beta 8^+$ T细胞则在GALT各处均见有明显消除，虽则这一消除不如ip注入者显著。

与上述结果相呼应的是，用竞争性RT-PCR法检测纯净$V\beta 8^+$ T细胞中的细胞因子mRNA含量时，发现在ig投服50μg SEB后4小时，由PP和脾内诱导的IL-2和IFN-γ mRNA量，前者比后者约高出10倍。

稍前，Hamad等人（1997）在用小鼠观察ig投入SEA和SEB能否穿过肠壁时，也曾比较过两种投入方法对小鼠体内载有$V\beta 3^+$和$V\beta 8^+$的$CD4^+$T细胞数的影响。ig和ip剂量仍均为200μg，并于第2日和第10日采血检测血液中两种T细胞的变化情况，结果如图1所示。

由图1说明，正如所料，经ip注入的SEA或SEB，均可于第2日致使T细胞大量增殖，并于第10日出现克隆消除。这一过程如上例所述是达成免疫耐受性的典型模式。另一方面，经由ig投入者则不然，不仅未见T细胞增殖，而且克隆消除的速率，SEA尤较SEB为显著。这一现象是

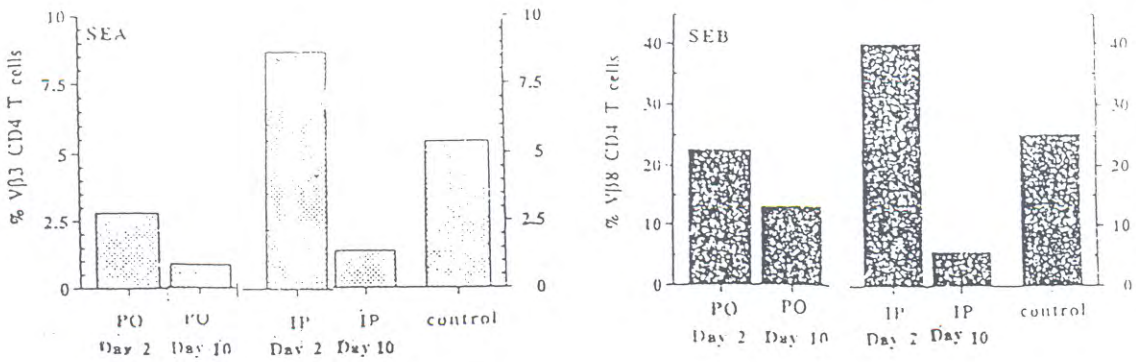


图1、小鼠由po或ip投入SEA或SEB各200μg后于第2日及第10日检测血液中两种T细胞亚组群体数的消长情况（据Hamad等人，1997，并作了重排）

ig，或者ig与SEA、或与SEB所特有，或者纯系偶然，或者由于其它原因所致，一时还难以说明。至于SEC的情况如何，更非所料。原因是，如前述，关于SE导致免疫耐受性的研究，至今大都限于SEA和SEB这两个型别，而且在多数情况下，使用注射法将SE注入小鼠体内，很少涉及ig。

所幸，SEC近年来已逐渐引起了各方的注意，特别是畜牧兽医界。

截止目前，由牛，狗或羊分离得的、产SEC的金葡菌菌株陆续有不少报道。Edwards等人（1997）在两年内曾由患皮肤化脓症的狗分离得、产SEC的中间型葡萄球菌（Staphylococcus intermedius）若干菌株。据称，在这一型分离物的培养液上清液中，有5%-40%分离物数检出有SE存在。他们用其中一个SEC，与牛和羊分离得的金葡菌菌株所产的SEC（分别称之为SECcanine，SECbovine和SECovine）提纯品和与国际上现有的三个SEC亚型，即SEC1，SEC2和SEC3作了生物学、序列分析和免疫学性的比较，结果认为，SECcanine与其它各SEC相互之间差别很小，序列等同性＞95%，分子量也比较一致，约为27kDa，但pI均为7.0。至今，由人和动物的金葡菌分离物的*sec*等位基因序列分析已定出9个不同的等位基因。

SEC也是奶牛乳房炎分离物产生的一种最为常见的毒素。全球有约70%的奶牛数感染上了临床类型不同的乳房炎，即使是轻度感染或无症感染也可导致产奶量大幅度下降。据称，美国每年因乳房炎所蒙受的损失达20亿美元，其中仅产奶量下降一项约占此数的69%至80%。

美国爱达荷州立大学农学院的G. A. Bohach早在1987-1989就有关于SEC1和SEC2生物学免疫学特性研究的报道，以后沉寂了约莫10年，近来在美国农业部、卫生部、爱达荷农业实验站的支助下，又连续发表了几篇这些方面的论述。在最近发表的一篇综述(Ferens和Bohach, 2000)中，

他提出的一个论点，认为金葡菌之所以能够在奶牛的乳房炎腺体中持续存在，归因于：1，SAg的产生，引起免疫抑制和，2，金葡菌在腺体上皮细胞内的内化作用(internalization)。

以下仅就SEC引起免疫抑制有关的陈述扼要转述于后。

他们用SEC在体外激活PBMC法，根据同位素标记物〔^{3}H〕胸腺嘧啶掺入PBMC细胞的DNA量检测T细胞的增殖情况。由结果说明，被激活的PBMC在最初4日只出现比较微弱的增殖，甚至显得有些 稍稍下降的反应，但由第5日开始即见大量增殖，直到第6日到达峰值，这点与其它SAg的情况不同，后者核酸合成的峰值是在培育后的4日而不是推迟到第6日。

对增殖T细胞表面上的激活标志物，即T细胞表面上的$CD4^{+}$和$CD8^{+}$测定结果也很特殊。在培育最初96小时，T细胞个体体积有见增大，并开始有标记物表达，说明已被激活，然而却未见其有所增殖，CD4和CD8这两个T细胞亚组群体数的比率依然未变或者稍有下降。但在随后3日，即第7日，情况发生了改变：$CD4^{+}$ T细胞和$CD8^{+}$ T细胞均发生猛烈增殖，而且后者的增幅远远超过前者，以致在培育第7日，PBMC培养物中CD4：CD8的比率由正常值≥1.5降至≤0.3。他们还发现，$CD4^{+}$ T细胞的这一过早凋亡和$CD8^{+}$ T细胞的猛烈增殖是由于在被激活的$CD8^{+}$ T细胞表面上出现另一种称为激活分子3，即ACT3所致。$CD8^{+}$ T细胞同时有这一分子量为120kDa的分子出现，表明这种T细胞正处于高度不正常的状态。至于人或鼠类的PBMC或在此等生物活体内的T细胞经用SEC激活后，现已证明并无这一分子表达。

其次，他们还用RT-PCR法对被SEC激活的奶牛PBMC培养物中非粘附细胞所表达的细胞因子mRNA作了测定。测定结果显示，所诱导产生的细胞因子，对T细胞功能起着关键作用的只有IL-4。它如IL-10，IFN-γ也有产生但不重要。IL-4是属于Th2一类的细胞因子，有促进Th2细胞生长和抑制大吞噬细胞功能的作用。在这一实验中未见有IL-12的表达。IL-12细胞因子是与IL-4起着相反作用的Th1另一类的细胞因子，它是Th1细胞和NK细胞的刺激剂。被SE激活的人或鼠类T细胞，通常只产生IL-12、IL-2等而无IL-4表达。在前面引述的奶牛PBMC培养试验中，$CD4^{+}$ T细胞之所以在培育的第4日未见细胞增殖，显然和IL-4细胞因子的高度表达和IL-12细胞因子的down-regulation（下调）有直接关联。现在还难以断定，由体外试验观察得的这一特殊现象究竟是奶牛这类反刍动物特有的表现，抑或是SEC这一从未被仔细研究过的SAg型碰上奶牛而成为两者共有的特性。总之，这是一个新的、又是比较复杂的问题，必将在日后逐步得到阐明。

为了说明SAg这把双刃剑如何在SEC口服液有效剂量制订工作中得到合理的运用，以下将对SAg的主要特性及其与免疫耐受性，主要与OT形成的关系作一简要的复习。

有关T细胞免疫的论述是近年来免疫学中的一个主要话题，尤其SAg及其与T细胞免疫的关系更为突出。这是因为，由SAg所导致的免疫反应，最明显的表现在于其对反应性T细胞的作用力度非常强大。反应性细胞（reactive或responsive cell）是指能被SAg激活的T细胞。这在起初，仅限于少数载有某些特定Vβ分子的T细胞，一般只约占所有T细胞总数的5-20%或更高，因而有寡克隆刺激（oligoclonal stimulation)之称。这点与普通抗原完全不同，后者虽属多克隆刺激，但能被其激活的T细胞数远远不及0.01%。

被激活的T细胞随即发生增殖，并产生多种、数量不等的细胞因子。在反应性细胞增殖的过程中，最令人注目的是$CD4^+$和$CD8^+$两种T细胞在数量以及两者比率上发生的变化，而这一变化是与使用剂量、免疫方法等因素密切相关的。一些疾病病情的发展往往在这两种细胞数的比率上有所反映。

但是，除免疫细胞外，操纵免疫反应的往往在实际上是细胞因子。细胞因子分为两类：Th1细胞因子，如IL-2、IL-12、TNF-α、IFN-γ等，是支持细胞免疫机制的一类细胞因子。Th2细胞因子，如IL-4、IL-5、IL-6、IL-10等，是促进体液因子生成的另一类细胞因子。通过这些不同细胞因子对不同免疫细胞，包括大吞噬细胞、NK细胞等的协同作用，产生不同的免疫效果。正如最近Torres等人（2001）在一篇综述中所说的那样：SE可以干好事，如建立长期抗肿瘤免疫或增强抗体产生（通过SE作用于T依赖性或T非依赖性抗原）；也可以干坏事，如引起食物中毒或TSS；还可以干令人难以对付的事，如自体免疫性和免疫缺陷性疾病等顽症。建立长期抗肿瘤免疫是他们根据小鼠试验得出来的结论，例如以荷瘤小鼠（黑色素瘤）经用灭活的瘤苗免疫后7天，用SEA或SEB进行治疗，再过7天，用活瘤细胞攻击的结果有60-100%的小鼠数可存活136天，而对照小鼠于攻击后约14天死亡。很显然，自体免疫性疾病确实是难以对付的顽症。德国马克思·勃朗克生物学研究所Jan Klein教授于1992年在他出版的一本免疫学专著中曾经指出，免疫耐受性有可能是免疫学中最后一个有待攻克的基本问题。一旦在理论上有所突破，有可能最终被引用于自体免疫性疾病和异体移植的治疗。

经口免疫耐受性（OT）是近年来日益受到人们关注的一个新名词。在Weiner（1997）发表的一篇有关OT引发机制的综述中，他断言，引发

OT的决定因素是抗原的投入量。小剂量投入的结果是诱导Th2细胞产生IL-2，IL-10等细胞因子和Th3细胞产生TGF-β抑制性细胞因子，从而造成免疫性抑制，称为主动抑制：表现为低应答性或无应答性。另一方面，如以大剂量投入时，其结果则可造成Th1和Th2细胞功能减退，以至克隆消除，见图2。

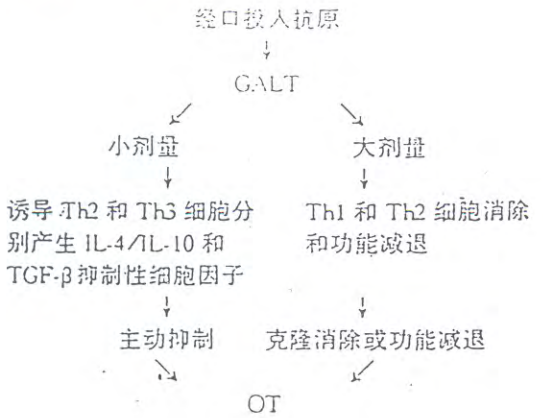


图2、引发OT的机制

T细胞亚组是按其产生不同细胞因子和各自功能区分的。Th1（$CD4^+$）细胞产生IFNγ，Th2（$CD4^+$）细胞产生IL-4和IL-10，而TH3（$CD4^+$）或Th3（$CD8^+$）细胞则产生TGF-（转化生长因子，β型，Transforming growth factor-beta）。

由此可见，OT是一种由低免疫应答性渐次发展为无免疫应答以至克隆消除的免疫状态，而促使这一状态形成的主要因素是细胞因子：通过被SE激活的T细胞所产生的细胞因子，单独或联合作用于其自身（同种）或其它免疫细胞，并由此产生不同的免疫应答。Jan Klein（1992）对细胞因子所下的定义也是这么说的："细胞因子是指免疫细胞在被抗原激活后所产生的一类非Ig、非TCR物质，借其对免疫细胞的作用，促进旨在消灭病原体和修复受损组织的作用"。在这一定义中，未谈及SE的促退作用，因为促退作用是特例，虽则一般抗原，无论是B细胞或T细胞抗原，两者均可导致免疫耐受性或OT的形成。因此，SEC也应该和SEA或SEB一样，在用于癌症作为辅助治疗时，如果不在剂量上作出慎重的选择，不只无助于恢复健康，尚可招致免疫耐受性的恶果。

如前述，在用小鼠所作的免疫力试验中，足以引发免疫耐受性或OT所需的SE剂量，由ip或iv注入者，一般约为5-10μg或以上，而由ig投入者，则需50μg或高达200μg。为了说明这些剂量与协合两种SEC产品最高治疗剂量之间的差距，作了以下的比较：

1、高聚生：一次剂量10-20ng

设人体重以50kg和小鼠每只以20g计，则两者注入剂量比为：

人=0.4ng/kg

鼠=250-500μg/kg

若按瑞典学者Hedlund等人（1990）由in vitro法培养PBMC

试验得出的估计，激活小鼠细胞需用比人细胞大1000倍量的SE，则在此例中，即使按高聚生一个或多个疗程计算仍然远远低于激活小鼠T细胞所需的量。

最近有一则报道，用SEA由iv注入小鼠体内，只需10ng，其T细胞即被激活，并且不会发生细胞凋亡（Monda1等人，2001）。此值经换算后得0.5μg/kg，若与高聚生一个或多个疗程相较，也是难以比拟的。

2、SEC口服液：一次剂量200-400ng，连续服一个月，则为6-12μg，两者服入剂量比为：

人=8ng/kg（一日）或0.24μg/kg（一个月）

鼠=2.5mg/kg

（参阅猪尾猴的SEC生理剂量≤100ng/kg）

在上述计算中，SEC口服液的投入量是以其全量都能进入GALT为依据的。然而实际情况并非如此，这由Hamad等人的工作得到充分说明：小鼠ig投入200μg后，血清检出量仅有个位数量级pg的水平，差别之大，令人吃惊。据此可以说明，SEC口服液的安全系数不是其它一般制品所能比拟的。实际上，这是一种对协合药厂两种SEC制品的超高要求。不超高要求就不足以保证取得上述促进作用和避免发生促退作用。这一超高要求在实质上就是，剂量要“超小”，亦即比Weiner所称的“小剂量”还要小的剂量，才能达到免于发生OT的目的。本文现在提出，协合药厂的两种SEC产品应以现用的剂量作为有效剂量暂定的最低值，其依据固然出之于这方面的考虑，但更为重要的是近乎十年的临床实践，这是制品安全有效的根本保证。之所以采用“暂定的最低值”一词是为了说明，协合药厂并不满足于现状，要留有余地，为日后在制品质量上求得进一步的改进和提高。

有一些关心协合药厂的友好曾经不止一次地提出，协合的产品虽好，就是成分复杂，何不早日下手改进？不可否认，协合人也早有此想法，但是碍于以下两个因素，一时还难以做出改变。一是协合的产品基本上是凭经验开发成功的，即以实践为先导，随后上升为理论，而不是像国外那样，新产品往往是在理论指导下开发出来的。二是协合的产品有其独特之处。例如，用之于癌症治疗时，对因放化疗导致白血球计数下降的患者，有明显的升白作用，而这一作用在理论上又有悖于SE的作用机制。这是产品自身的一对矛盾，也存在着两难的选择：或者是不顾产品的纯度，保留升白作用，或者与之相反，确保其纯度，舍其升白作用。

用。

在围绕白血球计数这个问题上，当年瑞典一些学者在试图用SEB开发成为抗癌产品时，似乎曾经有过另一番考虑，“鱼”与“熊掌”能兼得乎？瑞典隆德大学科研力量之强，尤其在SE免疫问题上是举世尽人皆知的。他们和法玛西亚这个大财团下属的肿瘤中心组成团队，为此奋斗了十多年。他们从一开始就为SEB对白血球造成伤害的可能性忧心重重，以致放弃了单用SE的探索，并迅即转向SEA和单抗结合物，以至最终又转向融合蛋白开发性研究。为了说明他们放弃单用SEB进行研发的原因，以下将事情经过和他们当时的考虑作一简介，以利于协合药厂在改进和提高产品质量的思路上有所借鉴。

在九十年代初，Kalland等人（1991）在用SE检测被激活的T细胞的毒性活力时发现，有一种称为SDCC（SAg依赖性细胞介导的细胞毒性）的反应能杀伤肿瘤细胞，但是这种杀伤作用，与肿瘤细胞表面上有无MHC II类分子存在有绝对依赖关系：有这类分子存在，肿瘤细胞乃成为靶细胞。这可以使用缺失MHC II类分子的突变细胞系和将MHC II类分子转染给小鼠成纤维细胞按[51]铬释放法所作的试验得到证明。他们还做了小鼠抑瘤试验。于小鼠皮下植入同种I-A+和I-E+（与人的MHC II类分子相当）的B淋巴细胞瘤，次日开始注入SEB，每周2次，共7次，观察42日。实验结果是比较令人满意的，抑瘤率（以肿瘤直径计）达80%，有75%的小鼠数延长了存活期。尽管取得了上述成果，甚至在Hedlund（1992）用小鼠作了SEB毒性实验证明，因T细胞激活引起的SDCC未见发生明显的毒性作用之后，他们对提纯的SEB可否用作抗癌药品仍然持有疑虑，以致最终不得不放弃了这一企图。

因此，放弃这一企图的原因似乎只在有无MHC II类分子这个问题上，这在当时是无可非议的。因为SDCC的理论，也就是SAg的作用机制就是如此：SE必须先与靶细胞表面上的MHC II类分子结合为复合物，然后才能被TCR识别出来，由此T细胞得以被激活，终将靶细胞杀死。除某些癌症的癌细胞外，可能受到伤害的几乎包括所有的白细胞，因为在这些细胞的表面上都有MHC II类分子表达。此外，T细胞在被激活后，以及体细胞在被细胞因子，例如IFN-γ作用后也有可能成为表达有MHC II类分子的靶细胞。关于SE产品对白细胞的这种杀伤作用，瑞典在1997用SEB融合蛋白在美国所作的I期临床考核中，也确实得到了证明：晚期癌症患者于注射后4-5小时有使白血球计数下降的作用（Giantonio等人，1997）。

协合的两种SEC产品已经在临床实践中使用了多年，为何在对白血

球这个问题上出现这样理论与实践上的矛盾？又为何在这种“知其然而不知其所以然”的情况下，不追不问？其实，在医学史上，这种“刨根问底”的思想一直在指导人们的行动。在1998年阿司匹林发明100周年时，人们在完全不知其作用机制的情况下，懵懵懂懂地热销了100年，直到一二十年前才弄清楚它妙在何方。再早，硝酸甘油也有类似的经历。其作用机制困扰了科学家们达一百多年，终于在上个世纪八十年代被三名诺贝尔奖获得者（1998）解开了迷团。当然，协合的问题比起上述情况是不可同日而语的。这是因为，就金葡菌的代谢产物而论，尽管存在一定的难度：单是各种酶类，少数其他毒素等就不下廿多种，即使将那些与菌体结合的成分排除在外，为数也不会太少，但是，对这些成分的鉴定和分离，只是工作安排问题。至于这些成分是单独在起作用，或联合作用，乃至另有升白因子存在，都应在今后着力逐一加以研究，求得最终解决。

时代不断在前进。SAg这一新生事物，通过SE的探路，已经起了先锋的作用，尤其近年来在攻克若干顽症方面所作的努力是令人瞩目的。就癌症来说，前面提到Torres等人（2001）的工作，以及最近印度一些学者（Monda1等人，2001）在用两种SAg，即SEA和SpA所作的基础性研究，值得人们向他们学习，学习他们的新思维。路途虽然遥远，但在最终必将给人类带来幸福。

协合药厂置身于这个SE小天地，前途是光明的，但这只是个开始，大量困难的工作还在后头。在当前，令人鼓舞的是国内科研条件和人力资源较之过去已大有改善。例如，SE的提纯、检测方法、流式细胞仪的应用，诊断用品的供应等几方面，以及在某些较大的医院里，甚至已可就患者T细胞亚组的区分、各种附属分子作出定量测定。这些将为病情的考察、产品效果的考核提供重要的依据。

注

SEC—staphylococcal enterotoxin, serotype C

SAg—superantigen

其余均系国际上通用的缩写。

References

Acha-Orbea,H.(1997): Chapter 11. Superantigens and tolerance. In: Leung,D.Y.M.,et al.(eds.)(1997):Superantigens: Molecular Biology,Immunology,and Relevance to Human Disease.Mareel Dekker.

Edwards,V.M.,et al.(1997): Characterization of the canine type C enterotoxin produced by Staphylococcus intermedius pyoderma isolates. Infect Immun 65/6:2346-2352.

Ferens,W.A. and G.A.Bohach(2000):Persistence of Staphylococcus aureus on mucosal membranes: Superantigens and internalization by host cells. J Lab Clin Med 135:225-230.

Fleischer,B.(1994): Superantigens (Review article). APMIS 102:3-12.

Fleischer,B.(1994): Lymphocyte stimulating "superantigens" of Staphylococcus aureus and Streptococcus pyogenes.In: Wardström, et al.(Eds.): Molecular pathogenesis of surgical infections. Zbl Bakt Suppl 27:171-181.

Giantonio,B.J.,et al.(1997): Superantigen-based immunotherapy: A phase I trial of PNU-214565,a monoclonal antibody-staphylococcal enterotoxin A recombinant fusion protein,in advanced pancreatic and colorectal cancer. J Clin Oncol 15/5:1994-2007.

Hamad,A.R.A.,et al.(1997): Transcytosis of staphylococcal superantigen toxins. J Exp Med 185/8:1447-1454.

Harris,T.O. et al.(1993): Lack of complete correlation between emetic and T-cell-stimulatory activities of staphylococcal enterotoxins. Infect Immun 61:3175-3183.

Hedlund,G.,et al.(1990): Staphylococcal enterotoxins direct and trigger CTL killing of autologous HLA-DR$^+$ mononuclear leucocytes and freshly prepared leukemia cells. Cell Immunol 129:426-434.

Kalland,T.,et al.(1991): Staphylococcal enterotoxin-dependent cell-mediated cytotoxicity. Curr Topics Microbiol Immunol 174:81-92.

Klein,Jan (1990): Immunology. Blackwell Scientific Publications.

Mondal,T.K.,et al.(2001): Synergistic immunopotentiating effects induced by T-cell and B-cell superantigen in mice. Immunol Invest 30:169-180.

Ray,H.D. and M.S.Bergdoll(1969):Effect of enterotoxin B on human volunteers. J Bacteriol 98:833.

Schlievert,P.M.,et al.(2000): Pyrogenic toxin superantigen site specificity in toxic shock syndrome and food poisoning in animals. Infect Immun 68:3630-34.

Shupp,J.W. and C.H.Ponzer (2000): The dose/response relationship of staphylo-enterotoxin B on the immune system and gut epithelium. FASEB 14:A1556.

Spiekermann,G.M. and C.Nagler-Anderson (1998): Oral administration of the bacterial superantigen staphylococcal enterotoxin B induces activation and cytokine production by T cells in murine gut-associated lymphoid tissue . J Immunol 161:5825-31.

Torres,B.A.,et al.(2001): Superantigens: The good,the bad,and the ugly. Exp Biol Med 226:164-176.

Weiner,H.L.(1997): Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. Immunology Today 18:335-343.

Wilson,B.J.(1959): Comparative susceptibility of chimpanzees and Macaca mulatta monkeys to oral administration of partially purified staphylococcal enterotoxin. J Bacteriol 78:240-242.