

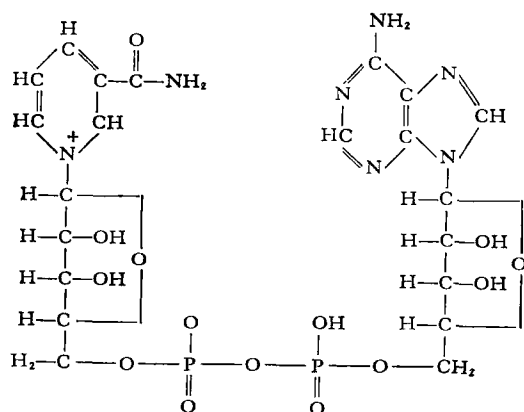
酵母的综合利用

——从生产辅酶 A 下脚水中提取辅酶 I 的简便方法

中国科学院上海生物化学研究所东风生化试剂厂

上海酵母厂*

辅酶 I 又名烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (Nicotinamide Adenine Diphosphate: NAD^+) 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_{14}\text{N}_7\text{P}_2$, 分子量为 663; 等电点为 3.0; 化学结构如下:



辅酶 I (NAD^+) 是生物体内必须的辅酶, 在生物氧化还原酶系中占有重要位置。因此 NAD^+ 不仅是一种重要的生化试剂, 同时也可能用来作为一种生化药物治疗某些疾病。有关 NAD^+ 的制备方法有过不少报道, 大致可以分成以下几类: (1) 提取法^[1], (2) 发酵法^[2], (3) 强化法^[3], (4) 生物合成法^[4], (5) 有机合成法^[5]。这些方法均未大规模投入生产。目前国内主要系从新鲜酵母中生产 NAD^+ ^[1]。无产阶级文化大革命及批林批孔运动的深入开展, 促进了我国生物科学事业及医学科学事业的发展, 国内 NAD^+ 的需要量日益增加, 原有 NAD^+ 的生产无论从工艺或产量上都不适应科学事业发展的需要, 更谈不上考虑将 NAD^+ 试制成新的生化药物。1974 年初我们遵照毛主席的有关教导, 在认真进行调查研究的基础上摸索一条从生产辅酶 A 下脚水中提取 NAD^+ 的简便工艺。经过反复多次中型扩大试验, 结果证明每吨鲜酵母(湿重)的下脚水中可制得 70 克左右、纯度为 70% 以上的 NAD^+ 。新工艺具有周期短、成本低及设备简单等优点。若每年生产 20 公斤 NAD^+ 计, 单从酵母一项可为国家节约

人民币 70 余万元, 为酵母的综合利用又开辟了一条新的途径。目前已将 NAD^+ 产品制成无热源、无菌的粉针, 在上海市第三人民医院、第九人民医院、华山医院等临床单位的大力协助下, 经过半年来的临床实践, 说明该针剂对因化学治疗或其他原因引起的白细胞减少, 冠状动脉硬化症均有较好的疗效。

材料与设备

1. 材料

- (1) 球形 122# 弱酸水杨酸苯酚甲醛型树脂 16—50 目——扬州制药厂生产。
- (2) 732# 强酸苯乙烯型树脂——上海树脂厂生产。
- (3) 717# × 8 强碱苯乙烯型树脂 80—100 目——上海树脂厂生产(经加工磨细后使用)。
- (4) 711# × 4 低交联强碱苯乙烯型树脂 16—50 目——上海树脂厂生产。
- (5) 769# 活性炭 80—100 目——上海活性炭厂生产。

2. 设备

- (1) 过滤柱——内径 9 厘米, 高 100 厘米, 内装经浓盐酸处理后又经水洗到中性的黄砂, 装柱高度约为 30 厘米。
- (2) 吸附柱——内径 20 厘米, 高 250 厘米, 内装 122# 树脂 45 升, 树脂层高为 140 厘米。
- (3) 分离柱——内径 20 厘米, 高 150 厘米, 内装 20 升 717# 树脂, 树脂层高为 60 厘米。
- (4) 炭柱——内径 12 厘米, 高 100 厘米, 内装 769# 活性炭 7 升, 炭层高为 60 厘米。

3. 各类树脂处理

- (1) 黄砂过滤柱 黄砂先用大量自来水漂洗, 然后用浓盐酸浸泡六小时, 自来水洗至中性即可。
- (2) 122# 树脂处理 每次用毕后的树脂, 先用自来水逆洗树脂至流出液呈清, 然后用 2N 氢氧化钠 200

* 协作单位

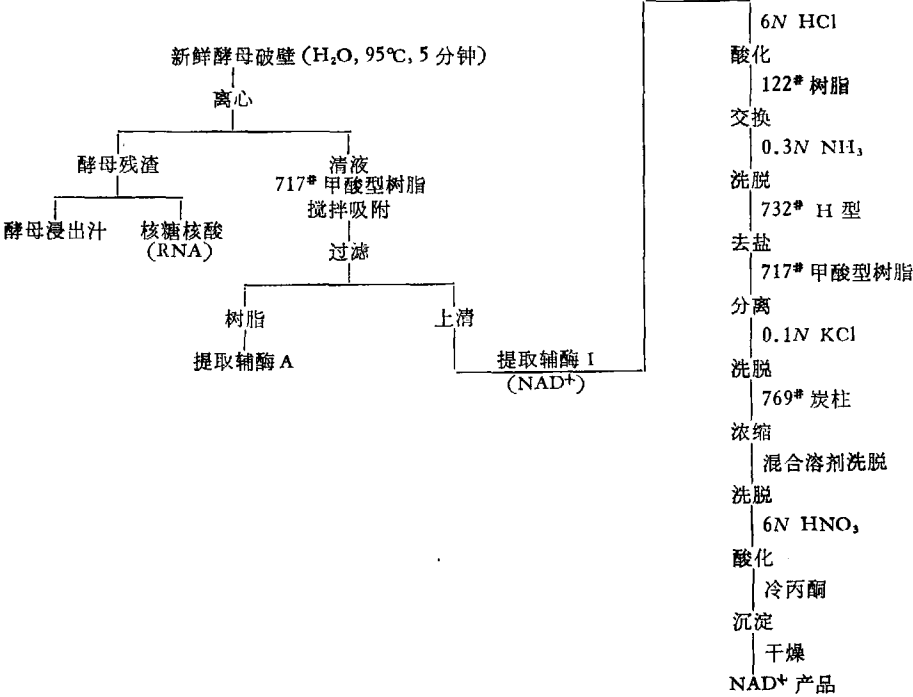
升(16公斤氢氧化钠溶解在200升水中),顺洗树脂,当流出液呈碱性后控制流速700毫升/分,碱液洗涤后,用300—400升水洗去碱液至中性,再用2N盐酸200升(工业盐酸40升稀释至200升)处理,最后用300—400升水洗去酸液至流出液pH4左右备用。

(3) 717#树脂处理 将用毕后的717#树脂,用减压翻动,待树脂静止沉下时,虹吸树脂上部的混浊液,这样重复多次,直至树脂上层的液体较透明为止,用2N氢氧化钠100升(8公斤氢氧化钠/100升)流经树脂,开始流速可快一些,直至流出液pH呈碱性后,调节

流速400毫升/分,当碱液流完后约用200升蒸馏水洗去碱液,当流出液pH达8.0,再减压搅动树脂数分钟,待树脂自然沉降,如有混浊物产生,可同前一样虹吸除去之,然后用2N盐酸100升处理(20升工业盐酸/100升水),流速同碱处理,用蒸馏水洗至流出液pH至5.0,最后用100升2N甲酸铵处理(6.8升甲酸加3.4升氨水稀释至100升),流速300毫升/分,待甲酸铵流完后让树脂在甲酸铵溶液中再继续浸泡8小时,使用前用蒸馏水200升洗去甲酸铵即可。

NAD⁺ 的生产方法

1. 工艺流程



2. 生产方法

(1) 破细胞 将330公斤新鲜压榨酵母投入搅动的330升沸水中直接用蒸气管尽快升温至95℃,保持5分钟后,放入存有大约330公斤碎冰的容器内,冷却至室温,用酵母连续式离心机分离,最后约得1.8吨破细胞液,含辅酶A8—10单位/毫升,含NAD⁺50微克/毫升。边搅拌边加入预先处理好的717#强碱甲酸型树脂25公斤以吸附辅酶A,约需12小时(见表1),然后过滤清液约1,800升,按以下方法提取NAD⁺。

表1 717#树脂吸附破细胞液中的辅酶A及NAD⁺的比例关系

717#树脂 搅拌时间 (小时)	辅酶A 单位/毫升	吸附百分率 (%)	NAD ⁺ 微克/毫升	吸附百分率 (%)
0	6.04	100	54	100
2	5.54	18	—	—
4	5.39	11	51	6
8	1.25	79	52	4
12	1.08	82	45	17
16	0.29	95	44	19

(2) 提取* NAD⁺ 清液 1800 升加入 6N 盐酸 17 升, 调 pH 至 2, 此时呈淡咖啡色混浊液, 先流经 (φ 49 厘米 × 100 厘米) 黄砂过滤柱, 再串取 122[#] 柱 (φ 22 厘米 × 250 厘米), 流速控制在 3 升/分, 上柱总时间约 7 小时, 上柱结束后, 用蒸馏水直接洗涤 122[#] 柱, 流速 3—5 升/分, 直至流出液呈透明淡黄色为止, 约需 900 升。调节树脂上层的液位至离树脂层约 15 厘米处, 换 0.3N 氨水洗脱 NAD⁺, 流速 1 升/分, 每 40 升收集一桶, 一般最初 80 升可弃去, 继续收集的 120 升, 为呈深咖啡色泡沫溶液, 立即边搅拌边加入 732[#] H⁺ 树脂 16 公斤左右, 使溶液 pH 下降至 5.0, 过滤除去树脂, 并用 40 升蒸馏水洗脱阳树脂, 合并滤液及洗液, 用少量氨水调至 pH 7.5, 然后上 717[#] 柱吸附 NAD⁺, 流速为 500—700 毫升/分, 上柱完毕后, 用 200 升蒸馏水洗脱 717[#] 树脂, 流速为 1 升/分, 最后以 0.1M 氯化钾 240 升洗脱 NAD⁺, 洗脱流速 500—700 毫升/分, 717[#] 洗脱液可直接与小炭柱串取 (φ 12 厘米 × 100 厘米), 炭柱吸附结束后, 用 50 升蒸馏水洗脱, 将液位降至与炭柱面相同, 然后用混合溶剂 (醋酸乙酯: 丙酮: 水: 氨水 = 100:400:500:2) 洗脱 NAD⁺, 流速 100 毫升/分, 分部收集, 洗脱液经常用丙酮测试有否 NAD⁺ 沉淀, 将呈沉淀的部分合并, 一般开始流出约 4 升可弃去, 自加丙酮呈沉淀时开始收集 5 升左右为 NAD⁺ 部分, 用 6N 硝酸中和至 pH 2.0, 在剧烈搅拌下, 快速加入 3 倍体积的冷丙酮 (最好是 -15℃), 即有大量白色沉淀产生, 放置 30 分钟后, 倾出上层丙酮后离心, 3000 转/分, 2 分钟, 上清丙酮液弃去, 沉淀为 NAD⁺, 再用少量丙酮洗一次, 干燥后得白色或淡黄色 NAD⁺ 20—25 克, 一般含量均在 70% 以上 (水分未计算在内)。但偶而也可能得到纯度低于 70% 的产品, 则可进一步纯化之。

(3) 纯化去热源** 15 克含量为 62%, 热源不合格之 NAD⁺, 溶于 1000 毫升无热源水中, 用 6N 氢氧化铵调 pH 至 7.0, 上 Cl 型 711[#] 强碱离子交换层析柱, 直径为 4.5 厘米内装 711[#] 树脂 500 毫升, 上柱流速控制为 5 毫升/分, 上柱结束用 10 升无热源水洗脱树脂, 然后用 6 升 0.1M 氯化钾或氯化钠洗脱 NAD⁺, 洗脱溶液可直接串联 400 毫升 769[#] 活性炭柱, 然后用 8 升无热源水洗脱炭柱, 用混合溶剂洗脱炭柱中的 NAD⁺, 流速 8—10 毫升/分, 最初 400 毫升可弃去, 继

续收集 700—800 毫升, 折叠滤纸过滤, 滤液用 6N 硝酸调节 pH 至 2.0, 加入 3 倍体积丙酮沉淀, 离心, 沉淀用丙酮洗一次, 干燥得 8.8 克含量为 75% 之无热源 NAD⁺ 产品 (见表 2)。

NAD⁺ 测定方法

1. 醇脱氢酶的制备

取市售优质新鲜酵母约 1 公斤, 在铝盘中铺成薄层, 在室温下用电风扇吹干, 并在研钵中磨成粉约得 200 克, 加入 600 毫升 0.066M 磷酸氢二钠, 于 37℃ 缓慢搅拌 2 小时后, 移置室温, 继续搅拌 3 小时, 离心 (3000 转/分以上) 15 分钟, 上清液迅速加热至 55℃, 并维持 15 分钟, 立即冷却至 0℃, 离心 (4000 转/分) 5 分钟, 取出上清液, 每 100 毫升缓慢加入 50 毫升 -15℃ 冷丙酮, 使酶始终保持在 -2℃ 左右, 此步操作必须在冰盐浴中进行, 0℃ 离心 (4000 转/分) 10 分钟, 取出上清液再按第一次体积每 100 毫升加冷丙酮 55 毫升, 0℃ 离心 (4000 转/分) 10 分钟, 沉淀悬浮在约 50 毫升水中, 对冷蒸馏水透析 3—4 小时, 离心除去白色沉淀, 上清液每 100 毫升加固体硫酸铵 36 克, 0℃ 放置 30 分钟, 0℃ 离心 (4000 转/分) 30 分钟, 沉淀溶于 20 毫升蒸馏水, 低温保存备用, 或将沉淀悬浮于含 3% 焦磷酸钠和 1% 甘氨酸, pH 8.0 的 2M 硫酸铵溶液中, 低温可保持数月, 不影响其活力。

2. 蛋白质测定

将酶液稀释 10 倍, 测定 280 (毫微米) 波长的光密度值

$$\text{光密度 (O.D.)}_{280 \text{ 毫微米}} \times 0.72^{***} \times 10 \\ = \text{酶蛋白毫克数}$$

3. NAD⁺ 测定

(1) 试剂 0.5M 乙醇-0.1M Tris (三羟甲基氨基甲烷) 溶液 pH 10 (称 4.6 克无水乙醇加 2.4 克 Tris 最后稀释至 200 毫升)。

(2) 测定 NAD⁺ + 乙醇 $\xrightarrow{\text{醇脱氢酶}}$ NADH + 乙醛
准确称取干燥 NAD⁺ 10 毫克, 用蒸馏水溶解在 10 毫升的容量瓶中, 取 0.2 毫升 NAD⁺ 溶液加入 1 厘米光径的比色杯中, 再加入 0.4 毫升乙醇-Tris 缓冲液, 加 2.3 毫升水, 先读取 340 毫微米 O.D 值, 然后加入 0.1 毫升醇脱氢酶 (含酶蛋白 30 微克左右), 搅拌均匀, 室温反应数分钟, 并读取 340 毫微米的 O.D 值, 直至读数不再升高为止, 一般在 2—5 分钟趋向平衡, 否则说明活力不佳。从加酶后的读数 A₂ 减去加酶前的读数 A₁, 再减去酶本身的 O.D 值 A₀, 即为生成 NADH

表 2 NAD 纯化去热源

处 理 前			处 理 后			
重量 (克)	含量 %	热 源 三兔升温℃	重量 (克)	含量 %	热 源 三兔升温℃	回收 %
15	62	3.3	8.8	合格 7.5	合 格 (0.8)	71.2

* 以下操作最好在 15℃ 以下进行

** 所有器皿及树脂均须要用无热源水清洗处理。若单考虑提纯则用普通蒸馏水即可

*** 0.72 为醇脱氢酶的消光系数

的 O.D 读数 ΔA , 按以下公式计算

$$\Delta A = A_2 - A_1 - A_0$$

$$\frac{\Delta A \times \text{稀释倍数}}{e \times e_{340} \text{ 毫微米}} \times M \times \frac{1}{\text{已知 1 毫升原液内的 NAD}^+ \text{ 重量(毫克)}} \times 100\%$$

$$= \text{NAD}^+ \text{ 百分含量}$$

e = 比色杯的光路(厘米);

M = NAD⁺ 分子量 = 663

e_{340} 毫微米 = NAD⁺ 消光系数⁽¹⁴⁾ = 6.22×10^3

例: 按上述方法, 取样 0.2 毫升 $\Delta A = 0.470$

$$\text{纯度} = \frac{0.470 \times 15}{6.22 \times 10^3} \times 663 \times \frac{1}{1 \text{ 毫克}} \times 100\%$$

$$= 75.2\%$$

结果与讨论

酵母是许多生化试剂及生化药物的重要来源之一, 核酸, 蛋白质, 酶, 辅酶, 多糖等物质往往从酵母中提取, 所以对酵母的综合利用是值得重视的一个问题, 有工作报道^[13]酵母经过合理的处理, 可同时提取核酸, 蛋白质及维生素。最近有人报道^[6]将酵母经化学方法提取核酸后, 清液还可制成一种有抗癌作用的水溶性多糖药物。然而从酵母中同时提取辅酶 A 及 NAD⁺ 的理想方法迄今未见有报道。本文根据我国实际情况, 从生产辅酶 A 的废液中满意地提取了 NAD⁺。各步收率见表 3。

表 3 NAD⁺ 生产过程中各步回收情况

No	工艺步骤	废液体积(升)	NAD ⁺ 含量(克)	回收率(%)
1	原液*	1900	92	100
2	0.3N 氨水洗脱	120	73	79.4
3	732* 树脂去盐	120	73	79.4
4	0.1N 氯化钾洗脱	240	34	37
5	丙酮沉淀	—	30**	37

* 原液成分复杂, 很可能测定数据偏高;

** 产品纯度 70% 以上

目前全国生产辅酶 A 的单位甚多, 大部分是采用白地霉作原料, 因此我们用上海药用辅料厂的白地霉及南京酒厂生产的白地霉按本文介绍的工艺与酵母作了比较(表 4)。比较的结果, 从白地霉中提取的 NAD 不论产量或质量均不比从酵母中提取的差。

NAD⁺ 是一种二性化合物, 等电点为 3.0, 因此在 pH 低于 3 的条件下, 该分子净电荷为正电, pH 大于 3 为负电, 根据这个性质, 将 NAD⁺ 溶液调节至 pH 2.0,

表 4 从白地霉和酵母中提取 NAD⁺ 的比较

批号	投料量 公斤	白地霉		酵母	
		产量 (克)	含量 %	产量 (克)	含量 %
1	10	0.53	81.5	0.5	77
2	10	1.1	77	0.63	76.4
3	10	1.4	78.7	1.1	74

NAD⁺ 就能被阳离子交换, 本文采用扬州制药厂生产的球形 122* 树脂, 比华东 122* 树脂具有机械强度高吸附 NAD⁺ 能力强的优点(表 5)。从图 1 结果说明扬州 122* 树脂洗脱峰形较华东 122* 树脂集中和回收率高, 在扩大试验时也同样获得良好的结果(图 2)。

表 5 不同树脂吸附 NAD⁺ 的比较

情况 名称	树脂	华东 122*	扬州 122*
上柱		168.13 毫克	149.21 毫克
流出液		77.4 毫克	0
实际吸附		90.73 毫克	149.21 毫克
吸附百分率**		60%	100%

* 各取树脂 100 毫升进行比较;

** 吸附%以扬州 122* 吸附 100% 计算

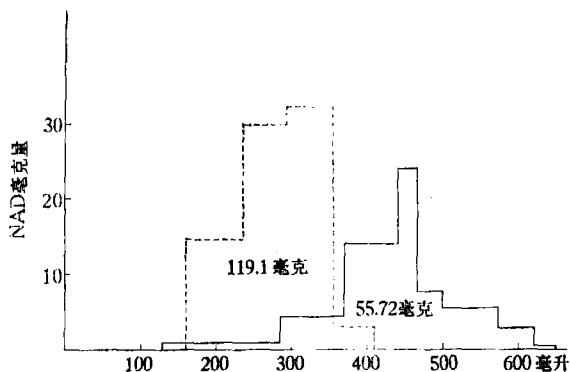


图 1 不同的 122* 树脂氨水洗脱的比较

--- 扬州 122*; — 华东 122*

一般讲 NAD⁺ 在偏酸或偏碱的条件下均容易破坏, 如 NAD⁺ 在 0.1N 盐酸, 100℃, 8 分钟则就破坏 50%, 若在 0.1N 氢氧化钠, 20℃, 15 分钟, 就破坏 50%, 本文观察了室温破细胞液在中性及 pH 2.0 的条件下对 NAD⁺ 的破坏情况。发现在 pH 2.0 (15—20℃) 放置 24 小时, 尚未见到明显的破坏, 而 pH 7.0 放置 48 小时就发现有长菌现象, 因此我们认为破细胞液在上柱前, 全部进行酸化对生产是有利的。1969 年有人报道 NAD⁺ 在 pH 1.5 条件下也未见破坏, 与本文

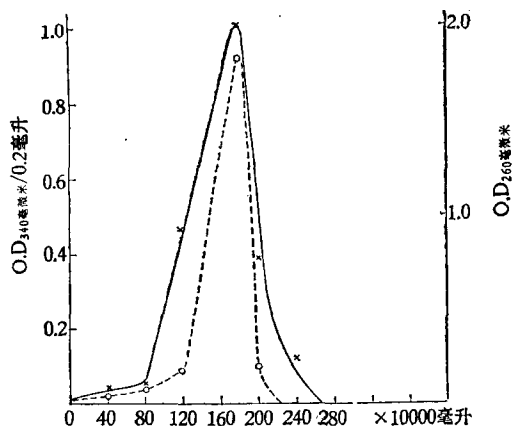


图2 扬州 122# 氨水洗脱图

--- 原液稀释 51 倍 $O.D_{260}$ 毫微米 读数;
— 取原液 0.2 毫升, 用酶反应
后 $O.D_{40}$ 毫微米的读数

结果相似。

用 0.3N 氨水洗脱 122# 树脂的洗脱液不宜久放, 须尽快用树脂中和, 我们采用 732# 树脂去盐法^[6]代替前文^[1]使用粗颗粒活性炭去盐具有周期短, 损失少的优点 (表 3) 特别可省去吡啶氯仿等有机有毒溶剂, 对工业生产是有利的。加 732# 树脂中和时, 必须在剧烈搅拌下进行, 避免局部过酸, 造成 NAD^+ 吸附, 最好中和至 pH 5.0, 然后再用少量氨水调节 pH 至 7.5, 上 717# 分离柱。在实践过程中, 用 0.1M 氯化钾从 717# 柱上洗脱 NAD^+ 的峰形重复性尚佳 (图 3)。故大生产时, 勿需分部收集, 可直接串联炭柱浓缩。

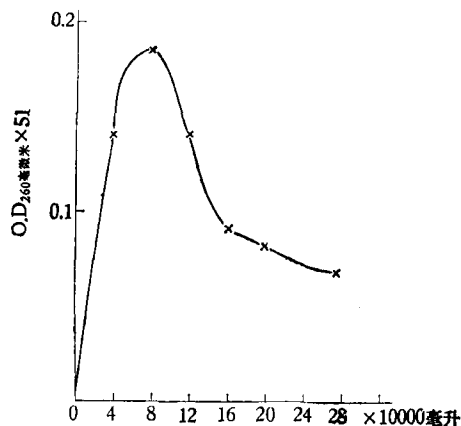


图 3

按本方法生产之 NAD^+ , 通常可做到无热源的产品, 但由于大生产过程中难免带入热源物质, 假如样品

热源用三兔升温试验测定在 $1.4^\circ C$ 左右, 则可将样品配成 1% NAD^+ 浓度, 加入针用活性炭 (0.2—0.4%) 在 $0^\circ C$ 搅拌 30 分钟, 用处理过的纸浆或滑石粉滤去炭粉, 上清为热源合格的 NAD^+ 溶液, 如热源过高, 则可采用文内介绍的低交联树脂纯化方法, 不但可高效除去热源物质, 对 NAD^+ 的含量也有一定的提高 (见表 2)。

随着综合利用的上马, 必将考虑 NAD^+ 作为药物的应用, 这方面尚未见到临床报道。我们认为 NAD^+ 是生物体必须的辅酶之一, 它在生物氧化过程中起电子传递作用, 在生物体内许多脱氢酶的作用都属于这一类型 (图 4)。

生命现象是一个需能的过程, 细胞的更新和各种活动, 维持整个生命的结构和平衡, 都需能量才能进行, 由于 NAD^+ 对活化多酶系统, 促进核酸、蛋白、多糖的合成及代谢, 增加物质运转和调节控制, 改善代谢功

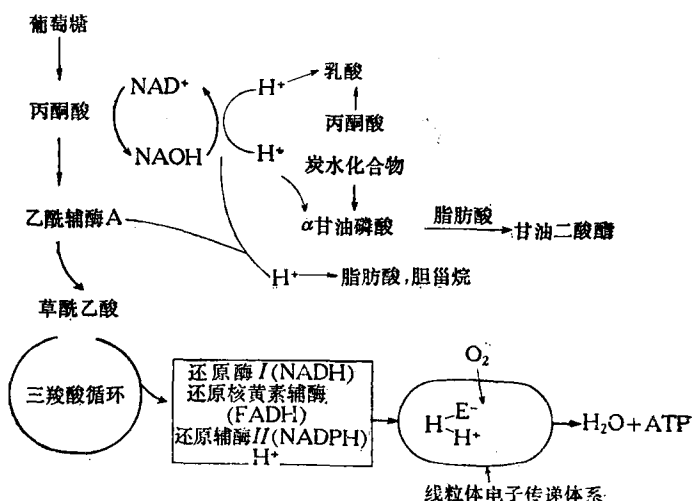


图 4 NAD^+ 与多酶系统的关系

能均有密切关系, 所以对细胞的再生和修复, 具备了物质基础, 临床实践说明对治疗白细胞减少症确有疗效。

有人报道在狗的肝脏手术时, 使人为造成心肌梗塞条件下, 发现梗塞组织中 NAD^+ 含量比正常组织少, 这可能是在心肌梗塞的条件下造成了 NAD^+ 的流损或者是糖苷酶的活力增高或者 NAD^+ 合成的减弱。在狗的左心室管壁内或管壁外, 观察到在缺氧的情况下, $NADH$ 增加, $NAD^+/NADH$ 比值下降, 壁内比壁外低, 这现象与上述报道相似, 但究竟 $NAD^+/NADH$ 与血管扩张存在什么关系, 有待进一步证实。

最近发现 $cAMP$ ^[7] 对促进代谢, 扩张血管均有一定的作用, 临床上已作为治疗冠心病的药物, 而 NAD^+ 经过临床试验与 $cAMP$ 一样可用于治疗冠心病。虽然 NAD^+ 与 $cAMP$ 在生物体内作用方式不一样, 前者作为电子传递体, 后者作为第二信使物质, 但都具有促进代谢, 活化多酶系统的特点, 因而有可能这两种物质从不

同的角度最终产生类似的效果。当然有关这方面的药理尚不清楚,有待深入工作加以阐明。

临 床 结 果

1. 治疗冠心病心绞痛

上海市第三人民医院 45 例

用药剂量: 每次 5 毫克溶于生理盐水 2 毫升中作肌肉注射, 每日一次, 以 14 天为一疗程, 大多数应用 2 个疗程。

疗效评定: 系按 1974 年全国冠心病高血压病普查预防座谈会修订的《冠心病心绞痛及心电图疗效评定参考标准》进行评定, 在治疗前后观察症状及心电图的改变。疗效见表 6

表 6 心绞痛症状及心电图疗效

疗 效	总例数	显效	有效	无效	加重	有效率
症状改善	45	4	31	7	3	77.8%
心电图疗效	43	5	16	20	2	48.8%

副反应: 在 45 例治疗过程中除偶见头晕, 口干者外, 余无不良副反应。

典型病例介绍

例一 张××, 男, 41 岁, 技术员, 有胸闷及心前区隐痛, 发作已二年余, 高脂血症已二年。心电图示 II、III、avF 导联 ST 段呈水平线压低 0.5 毫米, 诊断为冠心病心绞痛高脂血症乃给以肌注辅酶 I (NAD⁺) 每次 5 毫克, 每日一次, 七天后症状缓解, 十四天复查心电图示 II、III、avF 导联 ST 段由压低回复至基线。

例二 钱××, 男, 52 岁, 干部, 二月前曾因患“急性前壁中隔心肌梗塞”而住院治疗, 并伴有高脂血症。出院后仍时有胸痛发作, 心电图示 V₃—V₆ QR 型, 伴 T 波深度倒置, TV₃ 呈双向, 诊断为“前壁中隔心肌梗塞(缺血期)”给以肌注 NAD⁺, 每次 5 毫克, 每日一次, 七天后症状明显减轻, 28 天疗程结束, 复查心电图示 V₃—4T 波倒置变浅, TV₃ 由双向变为直立, 症状更见减轻。

表 7 疗程与心绞痛症状疗效的关系

疗程	例数	疗 效								有效率 %
		显 效		改 善		无 效		加 重		
		例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	
14 天	15	0	0	8	53.5	5	33.3	2	13.2	53.5
28 天	13	2	15.4	11	84.6	0	0	0	0	100
共 计	28	2	7.1	19	67.9	5	17.9		7.1	75.0

结论: 通过 45 例冠心病的近期疗效观察, 认为辅酶 I 对改善冠心病心绞痛, 胸闷等症状有效, 有效率达 77.8%, 心电图改善的有效率为 48.8%, 且随着疗程的延长, 症状及心电图改善亦较明显。见表 7 及表 8

表 8 疗程与心电图疗效的关系

疗 程	例数	疗 效						有效率
		显 效		有 效		无 效		
		例	%	例	%	例	%	%
14 天	17	1	5.9	6	35.3	10	58.8	41.2
28 天	9	1	11.1	5	55.6	3	33.3	66.7
共 计	26	2	7.7	11	42.3	13	50.5	50.5

2. 血液疾病

上海市第三人民医院, 华山医院, 第九人民医院 50 例

用药剂量: 每天一针, 每针 5 毫克溶解在 2 毫升生理盐水中, 肌注, 14 天为一疗程。

疗效标准: 显效——治疗后血液白细胞计数升至 4000/立方毫米以上或比治疗前升高至 50% 以上。有效——治疗后血液白细胞计数较治疗前升高在 30% 以上。无效——治疗后血液白细胞升至较治疗前增高 30% 以下或不变者。

50 例患者血液白细胞计数均在 3500/立方毫米以下, 临床上大多伴有不同程度的乏力, 食欲不振或头晕等症状。病因诊断为再生障碍性贫血者 3 例, 脾功能亢进者 4 例, 因接触放射线引起者 1 例, 胶原病者 7 例, 应用亚胺 154 治疗银屑病过程中白细胞降低者 14 例, 原因不明者 21 例。

总例数	显 效		有 效		无 效		总有效率	
	例	%	例	%	例	%	例	%
50	26	52	14	48	10	20	40	80

副作用: 50 例中出现口干 10 例, 注射局部均稍有不同程度疼痛感, 此外均未发现有特殊的副作用。

典型病例

例一 王××, 女, 39 岁, 诊断为脾功能亢进症伴白细胞减少已十年, 曾用鲨肝醇, 利血生及 B₁₂ 等治疗, 白细胞增高不明显, 白细胞为 2800/立方毫米, 乃改用肌注 NAD⁺, 每天 5 毫克, 14 天为一疗程后复查白细胞升至 5100/立方毫米, 属显效。

例二 王××, 男, 57 岁, 患慢性溃疡性结肠炎已二年余, 近一月发现白细胞减少, 曾用辅酶 A, 利血生等治疗, 白血球未见明显上升, 为 3300/立方毫米, 乃改用 NAD⁺ 肌注, 5 毫克/天, 一周后复查为 4300/立方毫

米,肌注二周后为 4800/立方毫米,且精神及食欲均明显改善。

例三 朱××,女,28岁,医务人员,患再生不良性贫血已4年,曾三次住院,经中西医结合及多种药物治疗,效果均不明显,白细胞为2550/立方毫米,血小板8万/立方毫米,经肌注NAD⁺,每天5毫克,30天后复查白细胞为5200/立方毫米,血小板10万/立方毫米。

例四 袁××,女,71岁,退休工人,患肝硬化脾机能亢进症已5—6年,白细胞2600/立方毫米,肝功能絮状浊度试验明显异常,曾用肝精,B₁₂,CoA,利血生及B₆,疗效不明显,经肌注NAD⁺针剂*,每天5毫克,30天后白细胞由2600升至4800/立方毫米→6100→5200/立方毫米,肝功能也明显改善。

例五 潘××,女,30岁,患系统性红斑狼疮病史2年,有低烧及关节疼痛,乏力,食欲减退,精神萎靡,白细胞3550/立方毫米,即应用NAD⁺针剂,每日肌注5毫克,一周后白细胞为3550/立方毫米,二周后为5700/立方毫米,三周后为5600/立方毫米,同时感到精神好转,食欲改善,低温消失,红斑隐退,病情处于稳定状态。

通过上述90例的临床报告,证明NAD⁺针用于治疗冠心病及升白血球方面已确有疗效,此外对肝炎疾病也初步看到一些结果。总之临床还在继续深入进行,对于NAD⁺针剂的使用范围,用药剂量及给药途径等方面,尚待进一步工作。

参 考 资 料

- [1] 中国科学院生物化学研究所东风生化试剂厂:生物化学与生物物理学报,5,(5),535,1965。
- [2] 緒方浩一等:醱酵工学雜誌,50,(1),46,1972。
- [3] Takuo, Sakai: Agr. Biol. Chem., 37,(5) 1049, 1973。
- [4] 大津英二等:生化学,37,(9),550,1965。
- [5] Hughes, N. A.: J. Chem. Soc., 3727; 3733, 1957。
- [6] 上海味精厂,中国科学院生物化学研究所:自溶法生产呈味核苷酸的改进,1968。
- [7] 中国科学院生物化学研究所东风生化试剂厂等:医学工业,8,1973。

[本文于1975年6月24日收到]

* 临床所用的针剂均由天津生化制药厂、上海延安制药厂等单位的大力协助进行装针,特此致谢

(上接第12页)

胞中再现这一现象已屡见不鲜。因此,如能认识AFP的生物学功能,不仅可以对控制肝癌有帮助,而且可能对控制所有的癌症提供新的途径。等电聚焦电泳测得,至少有两种形式的AFP分子共存,是否其中一种是正在行使生物功能的分子,而另一种是待行使生物功能的分子?(2)胚胎随着它的发育与成熟,AFP的基因是怎么被关闭的?癌变时,致癌因子又是如何打开这个基因的?这些作用的物质基础是什么?对这些问题的研究,可能有助于理解癌变的内外因作用过程,为肝癌的防治提供更多的依据。

检测 AFP 用的生化制剂的不断发展

肝癌高发于第三世界国家,遵照毛主席关于“中国应当对于人类有较大的贡献”的教导,甲种胎儿蛋白诊断早期肝癌已在中国逐渐普及,可以预计不久后也将对第三世界作出贡献。1972年以来,上海市第六人民医院检验组、上海生物制品研究所、北京生物制品研究所、成都生物制品研究所等单位陆续生产检测AFP用的抗血清。随着普及工作与提高工作的不断发展,当前各应用单位主要需要的是,间接反向血球凝集试

验检测AFP所需要的成套生化制剂和各种类型放射免疫检测AFP所需要的成套生化制剂。生产这些制剂的关键是制备足够量和高纯度的AFP。免疫吸附亲和层析纯化AFP的技术(中国科学院上海生物化学研究所,1973;后字244部队生化教研室,1974),现已应用于生产,推动了生产的发展。可以期望,上述两类生化制剂不久必将能充分供应。由于免疫吸附亲和层析法具有从复杂体系中特异性地浓缩低浓度AFP的优点,因此,用胎盘血、脐带血作为原料提取AFP,是胎盘综合利用的一条有效途径。

结 束 语

灿烂的思想之花,必然结成丰满的经济之果。无产阶级文化大革命和批林批孔运动,促进了人的思想革命化,科技人员和医务工作者投身到党领导下的群众性科研运动中,走科研为无产阶级政治服务、为工农兵服务、与生产劳动相结合的道路,使人体甲种胎儿蛋白的研究取得了很大的进展。今后,只要坚定不移地沿着这条道路继续前进,可以预期,肝癌的防治研究在不久的将来必然会取得更大的进展。