

干擾素研究的近展

(Recent Advances in the Study of Interferon)

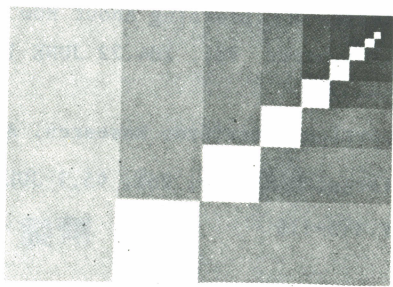
〈MONTO HO Pharmacological Reviews Vol.34, No.1 P₁₁₉₋₁₂₉ 1982〉

翻譯者：侯乃月
指導者：蔡妍菊

一、緒論

1957年，Isaacs和Lindenmann發現一種可溶性物質——干擾素(Interferon)，可以用來解釋目前尚不為人詳知的病毒干擾(viral interference)現象。

細胞受病毒或其他刺激物感染，使其產生干擾素，而有抗病毒的能力。經過二、三十年的研究，對干擾素其產生機制、如何作用、生物活性及臨床上的適用性，目前已有了長足的進展。現僅就在生物學上和臨床使用方面，作簡略的概述。



二、干擾素是什麼？

干擾素像其他多勝類荷爾蒙一樣，是具高度特殊活性的細胞產物，而且很難大量收集。干擾素的活性是以 4×10^9 mg protein / 單位 (或 2.5×10^8 單位 / mg) 來計量。通常經過處理得到的差不多是數千單位，最多也不過數百萬單位。例如，一單位血液(500ml)約可產生一百萬單位，或約 $4 \mu\text{g}$ 的干擾素。由於細胞並不大量製造干擾素，目前臨床試用上很難獲得足夠的量。

干擾素不是單指一個蛋白質，而是一組蛋白質，其間有些差異：

1. 有種族特異性，一種族只產生其種族特殊的干擾素。人類細胞只產生人類干擾素。這種特異性是限制干擾素大量製造的因素之一。

2. 干擾素因其產生細胞型不同而有所異。人類白血球與纖維母細胞(fibroblast)所

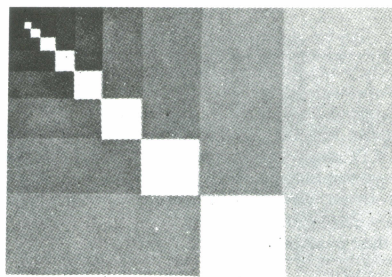
產生出來的干擾素並不相同，雖然某部分相似，但抗原性完全不同。

3. 干擾素產生的型式，也因誘導方式不同而有差異。目前試驗出的至少有兩種。其一是由病毒、多核醣核酸 (polyribonucleotides) 和內毒素等所誘導的。另一種稱“r”或“免疫”或“型式II”干擾素，在pH 2時很不安定。包括人類的免疫干擾素在內，很多都是對熱不安定的，這類干擾素可說是因“免疫誘導”的結果。當致敏化B或T淋巴球在特殊抗原作用後，即會產生此種干擾素。例如，將淋巴球或結核病患的淋巴球和純蛋白質的衍生物PPC一起培養，就會產生免疫干擾素，此時的干擾素類似於lymphokine，且在細胞免疫上是一重要物質。

三、誘導物與干擾素的誘導

最早被發現的干擾素誘導物乃病毒。後來發現雙鏈核醣核酸 (double-stranded polyribonucleotides) 具有強力誘導力，其中最普遍的是合成的多核醣纖維糖酸 (polyribosivic acid) 和多核醣胞核苷酸 (polyribocytidylic acid) 的聚合體。病毒誘導的基本要素可能是雙鏈的RNA，但是尚有許多種誘導物不能用核酸來解釋。例如多醣類、微生物，可經不同的方式來誘導吞噬細胞產生干擾素。

誘導干擾素跟誘導酵素不同，它是“瞬間”的 (one shot affair)。一般相信干擾素在未被誘導出前，是一種被抑制住的細胞蛋白



質，而且其產生會為蛋白質合成的抑制物 (如cycloheximide) 及mRNA合成的抑制物 (如actinomycin) 所抑制。由此我們可利用抗代謝物來確定干擾素的誘導時期。

另一項研究誘導過程的重要步驟是找出一特定時期，加入抗代謝物 (antimetabolites) 來加強干擾素的誘導。此現象可以干擾素合成的inhibitor或repressor被抑制來解釋。此repressor可能是在干擾素產生過程中被誘導出的蛋白質。若以cycloheximide及actinomycin來抑制之，則可增加干擾素的產生。目前已將此法運用在培養纖維母細胞干擾素的產生。我們亦能由產生干擾素的細胞分離出干擾素mRNA，而應用於其他細胞，如Xenopus oocytes。

四、產生干擾素的羣落篩選

最近成功地研究出以plasmid-transformed E. coli來產生 α 和 β 人類干擾素。Nagata等人收集了5000 clones，其中“Hif-2h”可產生 2×10^4 單位/升。Goeddel等也獲得相似的結果。(表1) 其中在pL 31 clone製造165個a.a.組成的干擾素是經由

TABLE 1
Cloning of α -interferon in *Escherichia coli* (20)

1. mRNA (poly (A) RNA) is collected from KG-1 (human myeloblast) cells induced with Sendai virus.
2. cDNA prepared from mRNA by reverse transcriptase.
3. cDNA tailed with deoxyC residues annealed with plasmid pBR322.
4. *E. coli* K12 strain 294 transformed by plasmid which have tetracycline and ampicillin resistance markers.
5. Positive clones were those whose plasmid DNA hybridized with interferon cDNA (30 out of 500).
6. One of these produced LeIFA (pL 31).

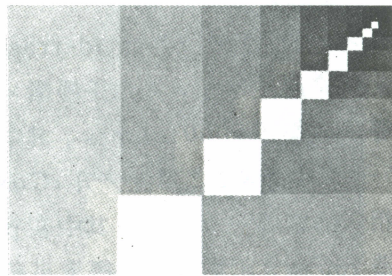
23-a.a. 的 signal peptide 來產生，產量為 2.5×10^8 單位/升。有趣的是，當分析其核酸和胺基酸排列時，發現彼此很類似，但卻不相同，且其生物活性亦各有差異。例如（表 2）的干擾素產生者範圍就不同。Genetech group，已證實有 A. B. C. D. E. F 和 W。Nagata's clone 可能和 W 相同。

TABLE 2
Host range of cloned α -interferon

Cell Line	Species	Cloned Interferon			Natural q-Interferon
		A	B	F	
WISH*	Man	100	100	100	100
Vero	Monkey	250	250	1400	400
BILK	Hamster	400	2	0	50
RK-13	Rabbit	12	15	0	120
L	Mouse	150	16	500	0

From N. Stebbing, Genetech.
* 100 signifies 100% of base-line antiviral effect with VSV as challenge virus.

Nagata, Mantei, 和 Weissmann 由雜種的噬菌體和胎兒之染色體收集而來的基因庫，以 P^{32} 標記干擾素 $\alpha 1$ cDNA，從 24 萬 clones 中分離出 16 個(+)雜交的噬菌體 clones。只有 8 個較獨特染色體核酸的排列被分離出來。 α 干擾素的基因是缺少 introns 的。 β 干



擾素依 Derynck 等的報告，此干擾素的基因被 insert 到 thermoinducible expression plasmid 中，在 λ 噬菌體 P_L promoter 控制下產生 unglycosylated β 干擾素。我們也希望 clone γ 干擾素，因為 cloning 比較易於了解其結構、基因、和對這些分子的控制。

現在人類 α 干擾素 clones 第一期、第二期的研究已部分完成，必定能很快運用到醫療上。我們可作以下的結論：(1) 干擾素的供應短缺可獲解決。(2) clones 物質的生物活性（包括其副作用）和淋巴球干擾素非常類似。

五、干擾素的作用機制

干擾素作用於受病毒感染的細胞上，但並不對病毒有直接的影響，亦不抑制其吸附在細胞上。我們可由干擾素處理過的雞細胞，會抑制小兒麻痺病毒 RNA 的複製得知：干擾素具有抑制病毒核酸 transcription 及 translation 的能力。

干擾素的作用需要合成中間蛋白質——Taylor 蛋白質。所謂 Taylor 蛋白質，可能指許多種物質，詳細情形尚未被確知。Kerr 和 Brown 在經干擾素處理過的細胞中，發現一種少見的 2', 5'-isoadenylate 被合成，能活化細胞內核糖核酸酶 F，使 mRNA 分解，因而抑制蛋白質合成，包括病毒蛋白質合成的抑制。

蛋白質激酶 (Protein kinase) 亦可能是 Taylor 蛋白質之一。在干擾素處理過的細

胞內發現蛋白質激酶，能將 eIF-2 磷酸化。
 eIF-2 是蛋白質 translation 的起始因子之一。
 如此 eIF-2 活性消失，因而抑制蛋白質合成，
 病毒蛋白質同樣亦受抑制。

其實已有許多抗病毒方法被研究。包括病毒 mRNA 的抑制，病毒胜肽 (viral peptides) 的延伸停止、抑制病毒釋出 (尤其是 oncoronavirus)。在 Moloney 白血病病毒，干擾素會聚集在未裂開的醣蛋白上，可能是裂開酵素的合成被阻斷了。主要概況可見 (圖一)。

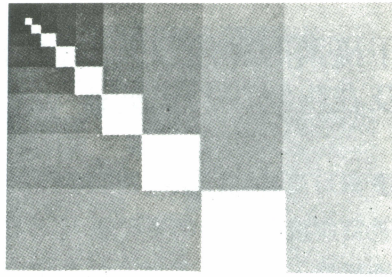
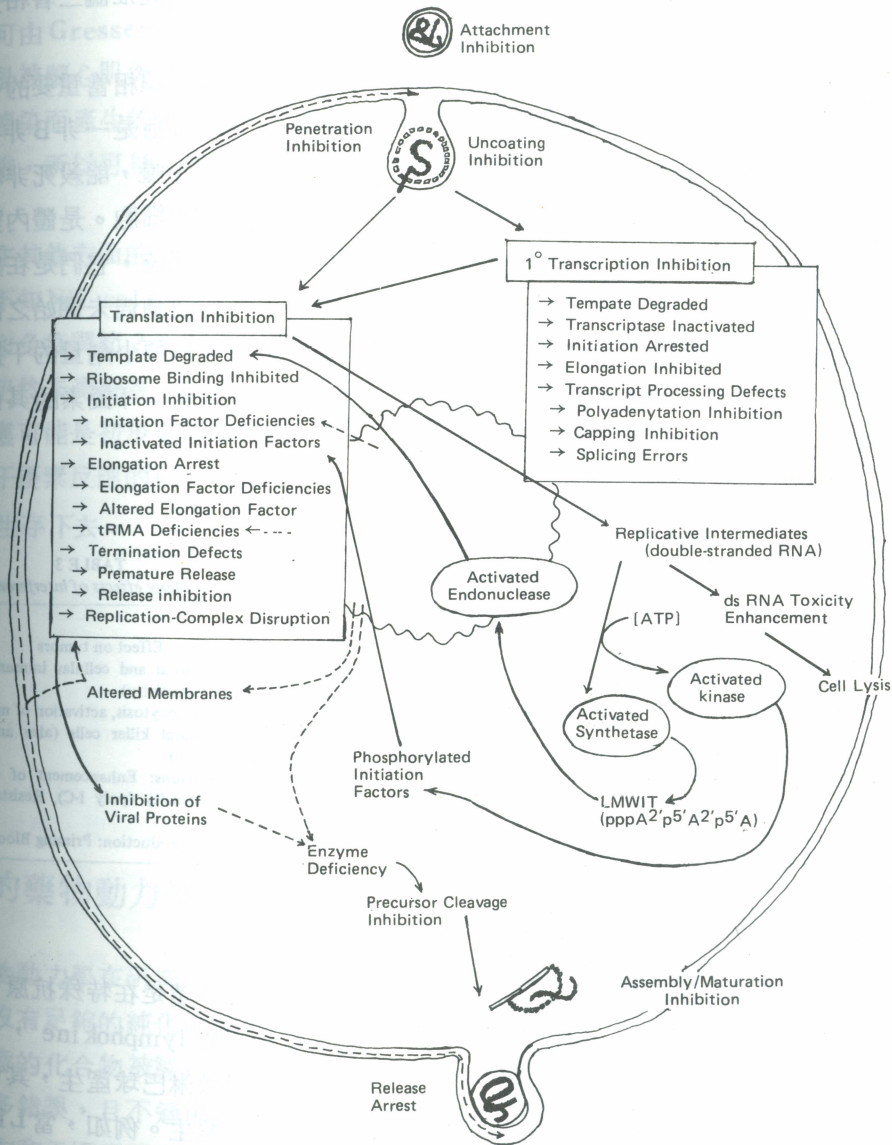


Figure 1 The many antiviral action of interferon.



六、干擾素的作用及其生物領域 及在生物學的重要性

干擾素可直接抑制某些腫瘤的生長，是以廣泛地被當作抗腫瘤藥物。干擾素不會殺死正常或惡性細胞，亦不會完全抑制之，它的效用很小，且是可逆的。像 Daudi 細胞，只要 1 個單位，便能將之抑制住。它並不阻斷細胞週期中的任一時期，卻會減慢所有時期的進展。Creasey 等人研究人類 α 干擾素在黑色素瘤 cell line 上的作用時發現在高濃度且不活動期的細胞（“A”或 G₀-G₁ 狀態），比在“B”時期的細胞（包括 S 和 G₂+M 時期）對干擾素較為敏感。或許干擾素會影響 DNA 合成的準備期，而一旦 DNA 已開始合成，即使再加入干擾素，亦僅產生很小的抑制作用。

由於阻斷髓組織分化而引起的白血球過少症是干擾素最重要副作用之一。Nissen 等人在培養基群落試驗中發現群落數目減少，但“clusters”（少於 40 個細胞）數目卻增加，這些細胞大部分是未成熟顆粒性球的先驅。他們認為干擾素會抑制骨髓細胞群落的產生，導致白血球過少症。干擾素在免疫反應方面有許多功用，尤其是在抗體合成和遲發性過敏反應上。Braun 和 Levy 發現從老鼠腹腔注射少量羊 RBC 時，會增加抗體的產生，但大劑量卻會抑制抗體的產生。然而干擾素對遲發性過敏反應的作用卻與劑量無關，而與時機有關。在抗原進入前 24 小時給予干擾素，會抑制其致敏反應，但在抗原進入後幾個小時，再給予干

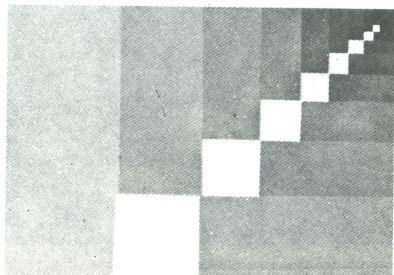
擾素，則會加強其致敏反應。同時，抗原誘導出的干擾素，會增強過敏反應。

由免疫效用方面來看，干擾素會影響細胞膜表面。Pfeffer 等發現纖維母細胞 β 干擾素作用後，細胞體積、蛋白質、DNA 含量、及正常和腫瘤細胞之吸附表面，都因而增加。干擾素會增加培養細胞對白喉毒素之抵抗力，可能是妨礙其吸收。干擾素亦會干擾親甲狀腺素（thyrotropin）和霍亂毒素的吸收，若在干擾素之前，給予細胞親甲狀腺素，也能阻止抗病毒的進行。由此推論二者相互競爭於作用部位。

干擾素有一項相當重要的作用是刺激 NK 淋巴球。NK 細胞是一非 B 非 T 淋巴球，其表面有 Fc 受容體，能殺死非特異性腫瘤細胞和受病毒感染的細胞。是體內對抗腫瘤細胞增殖之重要防禦系統，它們是在感染後一至三天，而特殊免疫活動尚未開始之前，受干擾素刺激而形成的。只要小劑量的干擾素便能刺激 NK 細胞的產生。干擾素的其他活性如（表 3）。

TABLE 3
Many effects of interferon

1. Antiviral Effects
2. Cell suppressive effect: Effect on tumors
3. Modulation of humoral and cellular immunity (antibody synthesis and delayed hypersensitivity)
4. Enhancement of phagocytosis, activation of macrophages
5. Stimulation of natural killer cells (also antibody dependent cell-mediated cytotoxicity)
6. Cell surface alterations: Enhancement of surface antigens (H-2), Enhancement of toxicity (poly I-C), Resistance to toxin (diphtheria)
7. Effect on interferon production: Priming Blocking



干擾素不僅是在特殊抗原下，由致敏化淋巴球所產生的 lymphokine，也能由非特定的 mitogen 刺激淋巴球產生，其中 α （或 β ）與 γ 都有可能產生。例如，當 LPS (lipopolysaccharides) 注入老鼠後，產生對酸穩定、非

γ 的老鼠干擾素。巨噬細胞培養中，由 LPS 刺激產生的干擾素，也是 β 型。 γ 干擾素是由其它型在酸中不穩定和抗原性分化而來的。

γ 干擾素的生物活性和其它的不一樣，對老鼠的肉瘤 MC-36，其抗腫瘤能力強於 β 干擾素。在致敏化老鼠脾細胞，抗體數大約是 β 的 2000 倍。在 Jerne 的試驗中，差不多 2.4 單位的 γ 干擾素就能減少產生對抗羊 RBC 的抗體細胞數目。

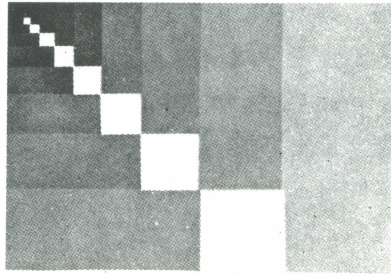
干擾素是細胞的自然產物，其在人類的防禦系統上佔有相當的重要性，尤其在對病毒方面。此觀點我們可由 Gresser's 所做的實驗中獲得證實。當老鼠被腦心肌炎病毒感染，若以抗血清來中和因感染而產生的干擾素，則受染的老鼠情況較嚴重，所以可見干擾素具有保護作用。

然而干擾素在其他方面的功能目前尚不清楚，例如，我們不知 NK cell 在正常動物中如何維持時？如何作免疫調節？它到底有多重要？這些問題目前仍然未得解答。

干擾素的反應可能是初步免疫系統的一部分。先天即缺乏干擾素反應的例子並未發現，可能這種人無法生存下去。

七、干擾素的藥物動力學

干擾素的藥物動力學在研究上有相當大的困難，乃因為(1)沒有足夠的純化干擾素可資利用，及一令人滿意的化合物被製造出。(2)傳統的生物分析有很多錯誤，且不適用在測量些微差異性上。(3)沒有和干擾素蛋白質相當的代謝



產物，亦缺乏其分解和代謝的資料。

我們對血中濃度的觀點，主要是得自抗生素。直接影響其作用目標的藥物，持續的濃度會轉移成高度抗菌效力。但是干擾素沒有如此的轉移現象，也不直接作用在病毒，而是間接的使細胞對病毒有抵抗力。因為這種效應須花費時間，所以細胞在受病毒感染時並不須暴露在高濃度的干擾素下，而是要在感染前數小時給與干擾素，即可發生此效應。

通常抗生素的血中濃度可反應出組織中的濃度，但是對於吸收和代謝不清楚的蛋白質不能以此來推斷。血中干擾素多從體內各部分排出，而纖維母細胞和 β 干擾素的血中濃度很低，可能是因被組織吸收。由此推測可能血中濃度愈低，其療效愈好。但不幸的是資料不足，無法證實。

干擾素在血中的表現很像 2 萬 daltons 分子的蛋白質，其不似大分子蛋白質（如白蛋白或球蛋白）無法通過內皮細胞，但亦不似多肽類小分子一樣自由滲透。兔子靜脈注射後，干擾素的半衰期約 11 分鐘，老鼠和人類的 α 干擾素亦獲得近似的數值。可知干擾素除非是穩定的不斷被誘導，才能維持相當的血中濃度。

可以“兩室模式”來考慮干擾素的藥物動力學。第一是“中央室”包括血液、細胞外空間、高度灌流的組織及器官，能不可逆地排出干擾素。第二是“周邊室”由灌流較差的組織，像肌肉、皮層、脂肪和中樞神經組成，干擾素進入較慢。中央室和周邊室之間能可逆的轉移。干擾素最初濃度快速下降稱“Alpha”分

配期，第二次較緩下降稱“Beta”分配期。 α 、 β 分別是兩分配期的斜率，以 1/分 或 1/時 (min^{-1} or hour^{-1}) 為單位。在兩時期的干擾素半衰期如下：

$$T_{1/2\alpha} = \frac{\ln 2}{\alpha} = \frac{0.693}{\alpha}$$

$$T_{1/2\beta} = \frac{\ln 2}{\beta} = \frac{0.693}{\beta}$$

$T_{1/2\beta}$ 數值是測量組織中干擾素的濃度多寡，較 $T_{1/2\alpha}$ 重要。

若以 IM 投與，則其出現於血液較費時。一天五百万單位的 α 干擾素血中濃度約僅 30 單位/毫升。而 β 干擾素，即使劑量升至 20 万單位，也不會在血漿中出現。 β 干擾素與組織的結合力較強，且容易由血中廓清。在血管室的干擾素很難進入腦脊髓腔、腦、胎盤、胚胎和前房水及玻璃狀液內，同樣地由這些地方要進入血管也很難。

兔子腎臟約可排出 0.28%~2.0% 的干擾素，而人體則無法測得相同結果。以 NDV 在兔子體內誘導干擾素，用傳統的腎廓清率公式 UV/Pt 來計算

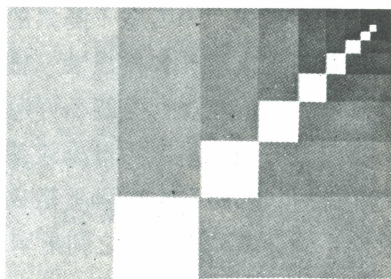
$U = t$ 時間內所收集干擾素的濃度

$V =$ 尿量

$t =$ 收集時間 (分或時)

$P = t$ 時間內血漿中干擾素平均濃度

兔子血漿中 NDV 所誘導的干擾素，在腎臟以 30.6 ml/hrkg 的速率排出，大約是腎



小球每小時濾過率的 25%。而當以 20×10^6 單位注射入人體，然後收集 24 小時的尿液，並未測出干擾素。若 IV 注射 4.8×10^6 單位的干擾素，經 2 小時，可維持一定血中濃度，但仍未出現於尿中。或許人類干擾素較兔子的更難排出，這可能是因其分解或組織攝取的差異所致。

八、干擾素的毒性

干擾素最常見的副作用是發燒。不論是否與高劑量的腎上腺皮質素共用，某些病人給予部分純化的人類白血球干擾素 2.5 百万至 5 百万單位，都會發燒。甚至於每天劑量高達 5×10^5 單位/公斤/天，所升高的體溫尚能忍受，且在 3 或 4 劑量後就會降低下來，一星期後對熱的忍受性即會消失。較純的 α 和 β 干擾素比較不會引起發燒。

淋巴腫瘤且有帶狀疱疹的病人，以高劑量 α 干擾素治療 3 - 5 天後，其白血球、網狀血球和血小板可逆性地受抑制。慢性肝炎病患以 8.5×10^4 單位/公斤/天的劑量或長期使用，亦會抑制這些細胞，但肝功能正常者否。故肝功能不好或長期使用，會加強與骨髓有關的副作用。Cheeseman 等發現隔日肌肉注射 4.3×10^3 單位/公斤 於免疫抑制腎移植病人，會引起暫時性白血球和血小板減少症。但在干擾素治療後並無不可逆的骨髓抑制發生。暫時性骨髓抑制之機制尚未被了解。最好的解釋是：干擾素會減少骨髓細胞群落的形成。這可能是抗細胞增殖的功用，也是干擾素的基本生

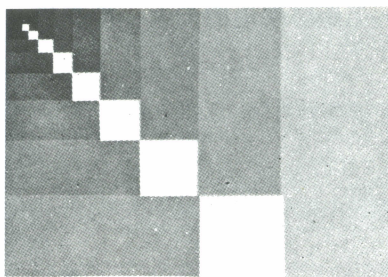
物特性之一。

長期給予干擾素，會導致輕微到中度的肝功能不良。依Merigan的經驗，長期給予 1.7×10^5 單位/公斤/天，或更少的劑量，病人會有無力和不適的現象。尤其是對癌症患者為甚。Gutterman等發現70歲以上的癌症病人，更會發生疲勞、厭食和體重減輕的現象，16%的病人有輕微禿頭發生，另外亦會出現唇疱疹、口乾、眼乾的併發症。

曾使用過纖維母細胞干擾素的病人，對牛血漿抗體會發生反應（牛血漿是培養基中用來製造干擾素的一種成分）。某些病人會產生立即性表皮過敏反應。

鑑於干擾素具有許多免疫效應，故對免疫系統的干擾可能被視為是不良的作用。Hafkin等發現每天給予大於 10^5 單位/公斤 α 干擾素，可減少單純疱疹病毒對淋巴球的 transformation.

Gresser等以標價為1:80萬的C243老鼠干擾素 $0.3 \sim 3 \times 10^6$ 單位/mg蛋白質，每天 6.4×10^6 標準單位/公斤的劑量投與老鼠新生兒，結果在9至14天內全死，且其肝臟有退化跡象。而以10倍稀釋劑量或注射較老的老鼠，卻沒有任何損害。若新生老鼠注射6至8天後，其肝臟的損害是可逆的，但會導致進行性免疫複合體的腎小球腎炎。這些變化是否為老鼠獨特的，或僅限於新生老鼠、抑或僅因大劑量之故，目前尚不清楚。



九、干擾素的臨床應用(病毒感染)

干擾素是無毒的，並能對抗許多病毒。在東歐，尤其是蘇維埃聯邦，干擾素已被用在呼吸道感染的治療多年了。由經驗中說明了對照研究治療效用的重要性。對照研究是費時且有時是無法實行的。

在對照實驗下，干擾素在人類臨床的有效狀況如下：

1. 預防和改善 rhinovirus 在鼻內引起普通感冒的症狀。
2. 單純疱疹角膜炎，複發次數和急性症狀的減輕。
3. 每天2千萬單位的劑量，可減少淋巴瘤病人的死亡率和其帶狀疱疹的蔓延。
4. 減少病毒血症和腎移植者巨細胞毒 (cytomegalovirus) 引起的症狀。
5. 減少陰唇疱疹的活性。

干擾素可減少慢性活性肝炎的抗原。病毒核心抗原和 DNA polymerase 在病者血中也會減少。或許干擾素對慢性 DNA 病毒感染是有效的。但困擾的是無論治療多久，始終很難治癒患者的 Antigenemia (HBs Ag)。

在臨床的研究顯示，干擾素必須每天給予百萬單位/公斤，至少4或5天才會有效。

干擾素在臨床應用上，因無法得到臨床效用所需的量，而受到阻礙。干擾素可能成為重要的預防藥物之一，也可能被用來補助其他治療。干擾素目前已在生物醫學領域內開創一新

的展望，但距醫學治療尚有一段距離。

十、干擾素的臨床應用(癌)

Dunnick 和 Galasso 列出截至 1979 年干擾素對抗過的腫瘤有：骨性肉瘤 (Osteogenic Sarcoma)、多發性骨髓瘤、年幼型咽乳頭狀瘤、子宮頸癌、乳癌、非 Hodgkin 氏淋巴瘤、黑色素瘤、尖形濕瘤。每一結果都是有效且受歡迎的。其中最著名最具影響的例子是，瑞士的 Hans Strander 使用干擾素治療骨性肉瘤。33 個病患以 3×10^6 單位/天的干擾素，連續 30 天投予後，接著每週三次以 3×10^6 單位持續 17 個月的治療 (總計量為 7.5×10^8 單位)。結果 3 年後，69% 仍然活著、61% 病人

無轉移現象發生。以傳統化學療法——methotrexate 或 adriamycin 治療，作為對照組，所得的數據是 34% 和 37%。

Borden 和 Gutterman 等作了更進一步的嘗試：43 個乳癌患者，每天接受 3—9 百萬單位的干擾素，持續 28 到 84 天。12 人 (55%)，部分減輕 (客觀的改進，減少 50% 可測知的損害)，6 人 (14%) 有改善 (減少 25%—50% 可測知的損害)，但沒有病人獲得完全的減輕。Borden 的病人 26 個當中，尚有 7 人繼續惡化。Gutterman 等在 10 個多發性骨髓瘤病患，發現 1 人完全治癒，6 人改善。而在 11 個惡性淋巴瘤患者，有 2 人痊癒，5 人病況減輕。

我們大膽地作如下的結論：(1) 如 F. Rauscher 所言，干擾素並非抗癌藥物。(2) 其結果雖非更好，但至少不比傳統癌症治療藥物差。(3) 改進劑量可能會改善結果。(4) 干擾素可說是新奇的抗癌物質。雖然其單獨使用是否為有效物質尚不知，但可加強其他藥物的效用。毫無疑問地，未來的研究將會回答這些問題。