

อินเตอร์เฟอรอนและการรักษาโรคมะเร็ง

พรเทพ เทียนสว่างกุล*

Tiensiwakul P. Interferon and cancer-therapy. Chula Med J 1985 Aug; 29 (8) : 923-934

Interferon, an antiviral substance, has recently been evaluated as a possible agent for cancer therapy. In this article, the biology of interferon has been reviewed in general. The emphasis, however, has been placed on the antitumor activities of interferon and includes results from the phase I and II clinical trials sponsored by the American Cancer Society.

On exposure to interferon, cells develop an "antiviral state", mediated by the activation of ds RNA-dependent protein kinase, induction of 2' -5' A synthetase and endonuclease. In addition to the antiviral activity, anticellular proliferation and immunoregulatory effects of interferon have been extensively investigated.

Results from phase I and II of the clinical trials suggest that interferon effective for some types of tumor such as osteosarcoma, melanoma, certain types of leukemia, breast cancer, has not been effective for advanced breast cancer, malignancy of colon and rectum, and renal carcinoma.

Recently, type II interferon has been shown to potentiate antitumor activity of type I interferon. A combination of type I and II interferons therefore, may be implemented in the short coming clinical trials for more efficiency in cancer therapy. Further-more, interferon has been demonstrated to increase the effectiveness of certain drugs namely cimetidine for melanoma treatment, when they were administered together. Interferon also changed the biology of multiple myeloma cells in such a way that they became responsive to a chemotherapy not previously responsive. Therefore, both the combined interferons type I and II and the combination of interferon with a certain drug have yet to be seriously evaluated in cancer therapy.

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หลังจากการค้นพบสารอินเตอร์เฟอรอนเป็นครั้งแรกโดย Isaacs และ Lindenman ในปี ค.ศ. 1957⁽¹⁾ อินเตอร์เฟอรอนก็ได้รับความสนใจมากขึ้น มาตามลำดับในฐานะที่เป็นสารต่อต้านไวรัส ในระยะหลายปีหลังมานี้ บทบาทของอินเตอร์เฟอรอนได้เปลี่ยนไปจากสารต่อต้านไวรัสมาเป็นตัวควบคุม (regulator) หน้าที่ของเซลล์ซึ่งรวมถึง modulation ของปฏิกิริยาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immune responsiveness) และการเจริญเติบโตของเซลล์ จนกระทั่งเร็ว ๆ นี้ American Cancer Society ได้มีการศึกษาอย่างจริงจังในการใช้อินเตอร์เฟอรอนในการรักษาโรคมะเร็งโดยแบ่งเป็น phases ต่าง ๆ ซึ่งขณะนี้การศึกษา phase I และ phase II ได้เสร็จสมบูรณ์แล้ว

คำว่าอินเตอร์เฟอรอนแต่เดิมใช้เรียก soluble factor ที่มีคุณสมบัติต่อต้านไวรัสซึ่งสร้างจากเซลล์ของ chicken choriollantoic membrane ภายหลังจากที่ได้รับเชื้อไข้หวัดใหญ่ ต่อมาได้พบว่าไวรัสตัวอื่นก็สามารถกระตุ้นให้เซลล์ต่าง ๆ สร้างอินเตอร์เฟอรอนได้เหมือนกัน เซลล์พวกนี้อาจได้มาจากคน, หมู, ไก่, แมว, สุนัข, วัว, กระจ่าง, หนู, หนูตะเภา, แกะ, หนูพุก, ลิง, เต่า, งู, ปลา และสัตว์อื่น ๆ อีก ถึงแม้ว่าไวรัสหรือส่วนของไวรัสใช้เป็นตัวกระตุ้นในการสร้างอินเตอร์เฟอรอน⁽²⁾ แต่สารอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ไวรัสก็สามารถกระตุ้นให้เซลล์สร้างอินเตอร์เฟอรอนได้ ทั้งในร่างกายและในหลอดทดลอง สารพวกนี้ (nonviral interferon inducers) ได้แก่ endotoxins, polysaccharides, phytohemagglutinin, แบคทีเรีย, ริกเกตเซีย, โพรโตซัว, synthetic polynucleotides (poly I, poly C), ฯลฯ.

ในคนเรายอมรับกันว่ามีหลายยีนส์ (genes) ที่โค๊ด (code) สำหรับอินเตอร์เฟอรอน อย่างน้อย

ที่สุดพบ C-DNA ของอินเตอร์เฟอรอนสร้างจากเม็ดเลือดขาวของคน (Le-IFN) อยู่ 8 ชนิดด้วยกัน และ C-DNA ทั้ง 8 ได้ถูกเรียงลำดับไว้เรียบร้อยแล้ว⁽³⁾ นอกจากนั้นยีนส์ที่โค๊ดสำหรับอินเตอร์เฟอรอนที่สร้างจาก Fibroblasts ของคน (HF-IFN) ก็มีผู้แยกได้แล้วเช่นกัน⁽⁴⁾

เนื่องจากความปรารถนาที่จะใช้อินเตอร์เฟอรอนในการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็ง แต่ไม่สามารถที่จะเตรียมอินเตอร์เฟอรอนได้เป็นจำนวนมากเพียงพอจากเม็ดเลือดขาวของคน จึงได้มีการพยายามที่จะใช้ recombinant DNA techniques ในการสร้างอินเตอร์เฟอรอนของคนจากแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* จากการทดลองเบื้องต้นพบว่าอินเตอร์เฟอรอนของเม็ดเลือดขาวของคนที่สร้างขึ้นจาก *E. coli* สามารถป้องกันลิง (squirrel monkeys) จากการตายโดยการติดเชื้อไวรัส encephalomyocarditis virus⁽⁵⁾ มีการศึกษาอื่น ๆ อีกที่ช่วยสนับสนุนว่าสัตว์แต่ละชนิดสามารถสร้างอินเตอร์เฟอรอนหลายชนิด ตัวอย่าง เช่นพบว่าสำหรับคนมีอินเตอร์เฟอรอนอย่างน้อยที่สุดอยู่ 3 ชนิด คือ fibroblast-, lymphocyte-, และ immune interferon แต่ละชนิดแตกต่างกันในด้าน antigenicity และไม่ทำปฏิกิริยากับ cross-react ต่อกัน⁽⁶⁾ ดังนั้นการศึกษาทางด้านคุณลักษณะและการเตรียมให้บริสุทธิ์ของอินเตอร์เฟอรอนชนิดต่าง ๆ โดยใช้ monoclonal antibody จึงน่าจะเป็นประโยชน์มาก ซึ่งเรื่องนี้ Secher และ Burke⁽⁷⁾ ได้รายงานถึงการใช้อย่างมีประสิทธิภาพในการเตรียมอินเตอร์เฟอรอนของเม็ดเลือดขาวของคน นอกจากนั้นแล้วอาจคิดแปลงการใช้ monoclonal antibody สำหรับวิธีของการตรวจหาอินเตอร์เฟอรอนโดยใช้วิธี RIA และ ELISA ซึ่งสามารถใช้แทนที่วิธีการเดิม (conventional titration assay) ซึ่งเป็นวิธีที่ชักช้าและน่าเบื่อ^(8,9,10)

ในสมัยก่อนอินเตอร์เฟอรอนจำแนกออกได้เป็น type I อินเตอร์เฟอรอน (ผลิตจากเม็ดเลือดขาว หรือ fibroblast ติดเชื้อด้วยไวรัส) และ type II อินเตอร์เฟอรอน (ผลิตจากเม็ดเลือดขาวโดยวิธี immune induced) การแบ่งชนิดของอินเตอร์เฟอรอนโดยวิธีนี้เหมาะสมสำหรับการใช้งานทางคลินิก เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการตั้งระบบเรียกชื่อ (nomenclature) ของอินเตอร์เฟอรอนขึ้นใหม่เป็น IFN- α , IFN- β สำหรับอินเตอร์เฟอรอนที่ผลิตจากเม็ดเลือดขาวและ fibroblasts ตามลำดับโดยใช้ไวรัสเป็นตัวกระตุ้น, และ IFN- γ ซึ่งผลิตจากเม็ดเลือดขาวโดยกระตุ้นด้วยระบบภูมิคุ้มกัน⁽¹¹⁾ รายงานของการทดลองอันหนึ่งพบว่าเมื่อฉีดอินเตอร์เฟอรอนเข้าไปในสัตว์ก่อนที่จะฉีดไวรัสที่ทำให้เกิดเนื้องอกปรากฏว่าทำให้อเนื้องอกเกิดได้ช้าลง แต่ถึงแม้ว่าจะเกิดเนื้องอกก็ทำให้ขนาดของเนื้องอกเล็กลงและนอกจากนั้นยังมีผลทำให้อุบัติการของสัตว์ที่มีเนื้องอกลดลงด้วย ในการทดลองที่กล่าวมานี้เข้าใจว่าอินเตอร์เฟอรอนจะมีผลต่อการแบ่งตัวของไวรัสหรือมีผลกระทบต่อบางสิ่ง ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ระดับเซลล์ ซึ่งเป็นผลทำให้อุบัติการของการเป็นเนื้องอกลดลง

1. คุณสมบัติต่อต้านมะเร็งของอินเตอร์เฟอรอนต่อ transformed cells ที่เกิดจากไวรัสและที่ไม่ได้เกิดจากไวรัส

พบว่าการใช้อินเตอร์เฟอรอนในการรักษามะเร็งของเม็ดเลือดขาวในหนู (murine leukemias) ที่เกิดจากการติดเชื้อ Friend leukemia virus จะไม่ได้ผลเมื่อให้ในระยะติดเชื้อ แต่ถ้ายังคงให้อินเตอร์เฟอรอนติดต่อกันไปภายหลังระยะติดเชื้อจะมีผลต่อการแบ่งตัวของไวรัสของมะเร็งของเม็ดเลือดขาว⁽¹²⁾ ดังนั้นเราอาจพิจารณาถึงความเป็นไปได้ 3 ประการ ที่จะอธิบายถึงอิทธิพลของอินเตอร์เฟอรอน

ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง คือ 1. อินเตอร์เฟอรอนอาจมีผลโดยตรงต่อเซลล์มะเร็งหรือ 2. อาจมีผลโดยตรงต่อ host (ซึ่งอาจเป็นคนหรือสัตว์), หรือ 3. อาจมีผลโดยตรงต่อทั้งสองอย่าง กลไกของการต่อต้านมะเร็งของอินเตอร์เฟอรอนได้ศึกษากันมากโดยใช้เซลล์มะเร็งที่เกิดจากไวรัส⁽¹³⁾ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเซลล์ที่ติดเชื้อด้วยไวรัส SV-40^(14,15) ผลปรากฏว่าในเซลล์ที่ติดเชื้อด้วย SV-40, อินเตอร์เฟอรอนจะมีผลต่อขบวนการทั้ง transcription และ translation ก่อนที่เราจะศึกษาต่อไปในโมเดลนี้เราควรทราบก่อนว่า SV-40, เป็นไวรัสขนาดเล็กที่สามารถทำให้เกิดมะเร็งได้ ในสิ่งประกอบด้วย circular double stranded DNA ซึ่งแบ่งตัวในนิวเคลียสของเซลล์โดยไม่มีผลกระทบท่อการสังเคราะห์ macromolecule ของเซลล์⁽¹⁶⁾ Jakobson และคณะ⁽¹⁵⁾ ได้ศึกษาผลของอินเตอร์เฟอรอนต่อ SV-40 gene expression ในช่วงหลังของ lytic cycle หลังจากการแสดงออกของหน้าที่ต่าง ๆ ในช่วงแรก (early expression) ของการติดเชื้อ SV-40 และ replication ของ viral DNA ได้เริ่มแล้วและพบว่าถ้าใช้อินเตอร์เฟอรอนก่อนที่จะเริ่มให้การติดเชื้อ จะลดจำนวนของ SV - 40 RNA แต่ถ้าใช้อินเตอร์เฟอรอนภายหลังให้การติดเชื้อ จะไม่สามารถป้องกันการสังเคราะห์ของ SV-40 RNA ซึ่งในกรณีหลังนี้ การ transcription ของ “early” และ “late” RNA เป็นปกติ แต่การสังเคราะห์โปรตีนของไวรัสถูกจำกัด ทั้งนี้เนื่องจากการจำกัดในขบวนการ translation ของ messenger RNA ของไวรัส การค้นพบดังกล่าว จึงได้กระตุ้นให้มีการศึกษาถึงปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในเซลล์ที่ได้รับการรักษาด้วยอินเตอร์เฟอรอน^(17,18) เมื่อเซลล์ถูกอินเตอร์เฟอรอนจะทำให้เกิด “antiviral state” ซึ่งจะมีผลต่อการ replication ของทั้ง RNA และ

DNA ของไวรัส กลไกของปฏิกิริยาเกิดจากอินเตอร์เฟอรอนไปกระตุ้น ds RNA-dependent protein kinase (s) ซึ่งมีผลทำให้เกิด phosphorylation ของ polypeptide และ initiation factor (eIF-2) และมีผลทำให้การสร้างโปรตีนหยุดชะงัก นอกจากนั้นไปกระตุ้น 2'-5' A synthetase ทำให้สร้าง 2'-5'-linkage oligoadenylic acid triphosphate (ppp A (2' p5' A)) ซึ่งเป็นตัวป้องกันไม่ให้เกิดการสังเคราะห์ของโปรตีน และยังไป inactivate transfer RNA (t RNA) บาง species^(17,18) ผลประการสุดท้ายคือไปกระตุ้น endonuclease ที่อยู่ในรูปของ inactive form ให้เป็น active endonuclease ซึ่งสามารถทำลาย m-RNA ทำให้มีผลต่อการสร้างโปรตีนเหมือนกลไกอื่น ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว

นอกเหนือจากปฏิกิริยา antiviral state แล้ว อินเตอร์เฟอรอนยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ เซลล์อินเตอร์เฟอรอนของหนูช่วยเพิ่มการแสดงของ cell surface histocompatibility antigens ในเซลล์ L-1210 นอกจากนั้นยังพบประจุลบที่ผิวของเซลล์เพิ่มขึ้นเป็นการเพิ่ม electrophoretic mobility ไปยังขั้วบวกในเซลล์ของหนู (Ly cells), พบว่าอินเตอร์เฟอรอนมีผลต่อ gangliosides ของผิวหน้าเซลล์ เปลี่ยน electrochemical gradient ของเยื่อหุ้มเซลล์ และเพิ่มระดับ cyclic AMP ในเซลล์ ด้วยการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าอินเตอร์เฟอรอนมีผลต่อเซลล์มะเร็งของเม็ดเลือดขาวของหนู (murine leukemia cells) ซึ่งมี endogenous leukemia viruses เป็นผลทำให้ extracellular viruses ลดลง แต่ทำให้เกิดการรวมตัวกันเพิ่มขึ้นของไวรัสที่ผนังของเซลล์^(19,20,21) กลไกของปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้ยังไม่ทราบแน่นอน แต่คิดว่าอาจเกิดจากอิทธิพลของ

อินเตอร์เฟอรอน (ไม่ใช่ผลจาก antiviral effect) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผนังด้านนอกของเซลล์ ทำให้ไม่สามารถที่จะปล่อยไวรัสออกจากเซลล์ได้เมื่อเร็ว ๆ นี้ Kaplan และคณะ⁽²²⁾ รายงานว่าพบการปล่อยของ tumor growth factors (TGFs) ออกมาจาก SV-40 transformed cells ออกไปในมีเดียซึ่งเตรียมเพื่อใช้เลี้ยงเซลล์ดังกล่าวนี้ แพลเตอร์ตัวนี้จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตต่อเซลล์มะเร็งและเข้าใจว่าถูกโค๊ดโดยยีนส์ของเซลล์⁽²³⁾ ดังนั้นข้าพเจ้าคิดว่าจะเป็นที่น่าสนใจมากถ้าหากจะมีผู้ทำการทดลองเพื่อพิสูจน์ว่าผลของอินเตอร์เฟอรอนสามารถทำให้ป้องกันการปลดปล่อยของ TGF จากเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งถ้าพบว่าเป็นจริงก็อาจกล่าวได้ว่าเหตุที่เซลล์มะเร็งไม่เจริญ ภายหลังจากที่ได้รับอินเตอร์เฟอรอนอาจเป็นผลที่เกิดจากขาด TGF ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ ซึ่งเกิดจากอิทธิพลโดยทางอ้อมของอินเตอร์เฟอรอนและอาจเป็นกลไกการต่อต้านมะเร็งอันหนึ่งของอินเตอร์เฟอรอน แต่อย่างไรก็ดียังไม่มีการทดลองเพื่อสนับสนุนสมมติฐานดังกล่าว

เราทราบกันแล้วว่าอินเตอร์เฟอรอนป้องกันการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งหลายชนิด การลดอัตราการแบ่งตัวเกิดจากเพิ่มระยะเวลาของการเจริญให้ยาวขึ้นมากกว่าที่จะทำให้เกิดการหยุดโดยเฉพะที่ช่วงใดช่วงหนึ่งของวงจรการแบ่งตัว อินเตอร์เฟอรอนของคณนั้น สามารถหยุดการแบ่งตัวของ Daudi line ซึ่งเป็น human Burkitt cells⁽¹²⁾ ของ SV40-transformed cells (A-244 และ Rsb)^(24,25) และของ human brain tumor-derived cell lines แต่จะไม่หยุดการแบ่งตัวของ non transformed cell line⁽²⁶⁾

นอกจากนั้นอินเตอร์เฟอรอนยังอาจทำให้เกิดการปรับปรุง (modification) ที่ผนังของเซลล์ ทำ

ให้เซลล์มะเร็งมีความไว (sensitive) ต่อกลไกในการต้านทานต่อสิ่งแปลกปลอมของร่างกายหรืออาจทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงในด้านพฤติกรรมของเซลล์มะเร็ง ได้มีการพิสูจน์แล้วว่าหลังจากการผ่านไปเรื่อย ๆ ของ Moloney sarcoma virus transformed cells หรือ X-irradiated-transformed cells โดยมีอินเตอร์เฟอรอนรวมอยู่ด้วยจะทำให้เกิดการเปลี่ยนทางลักษณะของเซลล์จากลักษณะของเซลล์ที่เป็นมะเร็งไปเป็นลักษณะที่มะเร็งน้อยลง⁽¹²⁾ นอกจากนี้ยังพบว่าอินเตอร์เฟอรอนทำให้เซลล์มะเร็งไม่สามารถที่จะเจริญเป็น colonies หรือสามารถทำให้เกิดมะเร็ง เมื่อฉีดเข้าไปในหนู⁽²⁷⁾

นอกเหนือจากคุณสมบัติในการต่อต้านไวรัสและคุณสมบัติต่อต้านการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งแล้วอินเตอร์เฟอรอนยังมีคุณสมบัติเป็นสารควบคุมระบบภูมิคุ้มกันโดยช่วยกระตุ้น activity ของ host natural killer cells (NK)^(28,29,2) ช่วยกระตุ้นขบวนการทำลายเซลล์มะเร็งของ macrophage (macrophage tumoricidal activity)⁽³⁰⁾ ช่วยกระตุ้น mixed lymphocyte reaction และ HLA expression ของ lymphocytes และช่วยกระตุ้น antibody dependent cell mediated cytotoxicity⁽³¹⁾ เชื่อกันว่าคุณสมบัติในแง่ที่เป็น immunomodulation ของอินเตอร์เฟอรอนจะเป็นกลไกที่สำคัญในการต่อต้านมะเร็งของอินเตอร์เฟอรอนในร่างกาย ถึงแม้ว่าจะมีรายงานมากมายที่แสดงให้เห็นว่าอินเตอร์เฟอรอนสามารถหยุดการแบ่งตัวของเซลล์ในหลอดทดลอง แต่ก็ยังมีรายงานน้อยมากที่กล่าวถึงผลดังกล่าวในร่างกาย อินเตอร์เฟอรอนสามารถเพิ่ม NK cell activity ในหนู^(32,28) และในคน นอกจากนี้โดยการฉีดอินเตอร์เฟอรอนเข้าไปในหนูปรากฏว่าสามารถทำให้ลดรอยหรือสามารถเพิ่มพูน⁽³³⁾ ปฏิกริยาของ primary

antibody response ของหนูที่ถูกฉีดได้พบว่าเมื่อเลี้ยง lymphocytes ในหลอดทดลองพร้อมกับอินเตอร์เฟอรอนจะพบว่าอินเตอร์เฟอรอนสามารถกระตุ้นให้ NK cells ผลิตปล่อยสารที่เรียกว่า natural killer cell cytotoxic factor (NKCF) ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการฆ่าเซลล์มะเร็งของ NK cells^(34,35) ดังนั้นข้าพเจ้าจึงคิดว่าน่าจะเป็นไปได้ที่อินเตอร์เฟอรอนอาจกระตุ้นให้ macrophage ผลิตปล่อย soluble factors (s) ที่เรียกว่า macrophage cytotoxic factor (s) จึงทำให้เพิ่มอัตราการฆ่าของเซลล์มะเร็งโดย macrophage ซึ่งเป็นกลไกในการทำลายมะเร็งของ macrophage แต่ยังไม่มียางานการศึกษาเรื่องนี้

2. การใช้อินเตอร์เฟอรอนในการรักษาโรคที่ติดเชื้อไวรัส

อินเตอร์เฟอรอนได้ถูกนำไปใช้ในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากไวรัสหลายชนิดในคน ทั้งการให้อินเตอร์เฟอรอนแต่เฉพาะที่หรือการให้ทั้งระบบ ปรากฏว่าใช้ได้ผลสำหรับรักษาโรคไวรัสที่เกิดจากเชื้อ herpes virus⁽³⁶⁾ และสำหรับโรคที่เกิดจากไวรัส hepatitis B⁽³⁷⁾ อินเตอร์เฟอรอนใช้ได้ผลเป็นที่น่าพอใจสำหรับโรคอื่น ๆ อีก เช่น keratoconjunctivitis ที่เกิดจาก adenovirus, chronic cytomegalovirus และ Epstein-Barr virus infections

3. การใช้อินเตอร์เฟอรอนสำหรับการรักษาโรคมะเร็ง

คุณสมบัติในการต่อต้านมะเร็งของอินเตอร์เฟอรอนได้รับการยอมรับอยู่ทั่วไปแล้ว จนกระทั่งเมื่อเร็ว ๆ นี้ได้มีการพยายามใช้สารนี้ในการรักษาโรคมะเร็งในคน การทดลองในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งโดยใช้อินเตอร์เฟอรอนปรากฏว่าได้ผลดี สำหรับโรคมะเร็งบางอย่างที่ได้ผลดีที่สุดที่น่าจะเป็นกลุ่มของผู้ป่วยที่เป็น osteosarcoma ที่โรงพยาบาล

Karolinska ประเทศสวีเดน ซึ่งอยู่ในรายงานของ Strander และคณะ⁽³⁸⁾ นอกจากนั้นการใช้อินเตอร์เฟอรอนยังประสบความสำเร็จพอสมควรในผู้ป่วยที่เป็น⁽⁴⁰⁾ multiple myeloma^(38,39), และ malignant melanoma

4. การใช้อินเตอร์เฟอรอนที่ผลิตโดยใช้เทคนิคของ recombinant DNA สำหรับการรักษาโรค

ในการศึกษาทางคลินิกโดยใช้อินเตอร์เฟอรอนที่ผลิตมาจากเม็ดเลือดขาวและ fibroblasts โดยใช้วิธีที่แก่นั้นปรากฏว่ามีผลข้างเคียงทำให้คนไข้เกิดอาการต่าง ๆ เช่น เป็นไข้, ปวดตามกล้ามเนื้อ, ปวดหัว, กลัวแสง, อาการที่ผิวหนัง, เม็ดเลือดขาวต่ำ, และ lymphocyte ต่ำ^(38,36,41) ผลข้างเคียงดังกล่าวนี้คล้ายกับที่พบในคนไข้ที่ใช้ chemotherapeutic agents ดังนั้นจึงคิดกันว่าพิษที่เกิดขึ้นนี้อาจเนื่องมาจากอินเตอร์เฟอรอนที่ใช้ไม่บริสุทธิ์พอ จึงได้มีค้นคว้าหา วิธีที่จะทำให้ได้อินเตอร์เฟอรอนที่บริสุทธิ์ กระทั่งเมื่อเร็ว ๆ นี้ได้มีการผลิตอินเตอร์เฟอรอนของเม็ดเลือดขาวของคนซึ่งได้มาจาก “clone” โดยวิธี genetic engineering ทำให้เราสามารถได้อินเตอร์เฟอรอนซึ่งเป็นชนิดเดียวกัน (homologous) จาก clone เดียวของ IFN- α (single cloned IFN- α) ซึ่งมีความบริสุทธิ์สูงถึง 98% และมี specific activity สูงถึง 2×10^8 U/mg ได้มีการศึกษาถึงปฏิกิริยาต่อต้านไวรัสของอินเตอร์เฟอรอนที่ได้มาจาก clones ทั้งที่เป็นของเม็ดเลือดขาวและของ fibroblast ในหลอดทดลอง, และมีรายงานว่า อินเตอร์เฟอรอนของเม็ดเลือดขาวใน sub-type อันหนึ่ง คือ Le-IFA สามารถป้องกัน squirrel monkeys ให้รอดพ้นจากความตาย จากการติดเชื้อ encephalomyocarditis virus (EMC)⁽⁵⁾ และสามารถป้องกันการติดเชื้อในตาของกระต่าย จากเชื้อไวรัส herpes (HSV-1)⁽⁴²⁾ นอกจากนั้น

ในการศึกษา Phase I trial โดยการใช้ recombinant leukocyte A interferon (IFL-vA) พบว่ามีคุณสมบัติต่อต้านมะเร็งต่อ non-Hodgin's lymphoma, ต่อ Hodgkin's disease, ต่อ chronic lymphocytic leukemia, ต่อมะเร็งเต้านม, และต่อ melanoma แต่อย่างไรก็ตามเป็นที่ผิดหวังอย่างยิ่งที่พบว่าอินเตอร์เฟอรอนที่ผลิตจาก clone โดยใช้ genetic engineering นั้น ยังมีพิษทำให้เกิดอาการข้างเคียงเช่นเดียวกับอินเตอร์เฟอรอนที่ผลิตโดยใช้ไวรัสซึ่งเป็นวิธีเก่าและจากการศึกษาคุณสมบัติของอินเตอร์เฟอรอนชนิดใหม่ทางด้าน pharmacokinetic พบว่าคล้ายกับอินเตอร์เฟอรอนผลิตโดยวิธีเก่า จากการรายงานครั้งล่าสุดใน phase II trial ปรากฏว่า IFL-vA ไม่สามารถใช้รักษาคนไข้ที่เป็นมะเร็งเต้านมระยะลุกลาม⁽⁴³⁾ ซึ่งเราต้องรอผลรายงานของกลุ่มอื่นต่อไป

5. ศักยภาพ (Potential) ของการใช้ “อินเตอร์เฟอรอนรวม” (combined interferons) สำหรับการรักษาโรคที่เกิดจากไวรัสและการรักษา มะเร็ง

วิธีใหม่ในการรักษา มะเร็ง ให้ได้ผลดีโดยใช้ “อินเตอร์เฟอรอนรวม” (combined interferons) ซึ่งเป็นผลรวมของอินเตอร์เฟอรอนของ type I และ type II ปกติแล้วเชื่อกันว่าอินเตอร์เฟอรอนชนิด type I (ซึ่งได้จากการติดเชื้อของไวรัสในเม็ดเลือดขาวและ fibroblasts) จะมีคุณสมบัติในการต่อต้านไวรัสค่อนข้างสูงแต่มีผลต่อต้านมะเร็งและผลในทางกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่ำ แต่อินเตอร์เฟอรอนชนิด type II (ซึ่งได้จาก immune induced) มีคุณสมบัติในการต่อต้านมะเร็งและผลในทางกระตุ้นภูมิคุ้มกันสูง แต่มีคุณสมบัติในการต่อต้านไวรัสต่ำ จนกระทั่ง Fleischmann และคณะ⁽⁴⁴⁾ ได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้ “อินเตอร์เฟอรอนรวม” type I และ type II สามารถป้องกันหนูไม่ให้เกิดเนื้องอก

จากเซลล์ P-388 การทดลองอันนี้นับว่าเป็นครั้งแรกที่ได้มีการใช้ “อินเตอร์เฟอรอนรวม” เขาได้แสดงให้เห็นว่าการใช้ “อินเตอร์เฟอรอนรวม” ชนิด type I และ type II ทำให้เกิดผลต่อต้านมะเร็งได้สูงกว่า 10 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับเมื่อใช้อินเตอร์เฟอรอนชนิด type I แต่เพียงอย่างเดียวและได้ใช้อัตราส่วนของ type II ต่อ type I = 1 : 1,000 เพื่อแสดงให้เห็นว่าอินเตอร์เฟอรอน type II ไม่สามารถป้องกันหนุต่อการเจริญของเซลล์ P-388 แต่สามารถที่จะส่งเสริมคุณสมบัติในการต่อต้านมะเร็งของอินเตอร์เฟอรอนชนิด type I การทดลองอีกอันหนึ่งก็แสดงให้เห็นเหมือนกันว่าการใช้ “อินเตอร์เฟอรอนรวม” ในหนู Balb/C ที่เป็น mammary carcinomas สามารถป้องกันการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าใช้อินเตอร์เฟอรอนชนิด Mu-IFN- β หรือชนิด Mu-IFN- γ เพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่ง⁽⁴⁵⁾ รายงานเมื่อเร็ว ๆ นี้พบว่าอินเตอร์เฟอรอนชนิด type II เพิ่มศักยภาพให้แก่อินเตอร์เฟอรอนชนิด type I ทั้งคุณสมบัติในการต่อต้านมะเร็งและคุณสมบัติในการต่อต้านไวรัส ทั้งนี้โดยมิใช่เป็นการเพิ่มขึ้นตามส่วน (additive) แต่เป็นการเพิ่มพูนแบบประสานงานกัน (synergistic) ทำให้เพิ่มคุณสมบัติดังกล่าวขึ้นมากถึง 10 เท่า^(44,46)

กลไกของการเพิ่มคุณสมบัติในการต่อต้านไวรัสได้ทดลองโดยวิธี kinetic โดยใช้ความเข้มข้นของอินเตอร์เฟอรอนชนิด IFN α/β ในระดับต่าง ๆ เปรียบเทียบกับ “อินเตอร์เฟอรอนรวม” ของ IFN- γ และ IFN- α/β ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าปฏิกิริยาของเซลล์ต่อ “อินเตอร์เฟอรอนรวม” ทำให้เกิด transcription ของ mRNA สำหรับโปรตีน ที่ต่อต้านไวรัสได้อย่างรวดเร็ว ผลการเพิ่มศักยภาพที่กล่าวนี้ปรากฏว่าน่าจะเป็นที่ระดับ pre-transcriptional step แต่อย่างไรก็ตามกลไกของ

การเพิ่มศักยภาพต่อปฏิกิริยาการต่อต้านมะเร็งยังไม่ได้พิสูจน์

ไม่น่าสงสัยเลยว่าในอนาคตอันใกล้นี้เราควร จะเริ่มการใช้อินเตอร์เฟอรอนรวม (combined interferon-treatment) ในการรักษาคนไข้ที่เป็นโรคมะเร็ง เมื่อเราสามารถเตรียมสารอินเตอร์เฟอรอนชนิด immune หรือชนิด type II ได้บริสุทธิ์ และได้เป็นจำนวนมาก

6. ข้อคิดและอนาคตของการใช้อินเตอร์เฟอรอนในการรักษาโรคมะเร็ง

เนื่องจากมะเร็งที่ใช้ในการศึกษาถึงผลต่อต้านมะเร็งของอินเตอร์เฟอรอนมีหลายชนิดและเกิดขึ้นที่อวัยวะหลายอย่างตั้งแต่ที่ผิวหนัง เช่น melanoma จนถึงที่อวัยวะภายใน เช่น มะเร็งที่ไต ดังนั้นการใช้อินเตอร์เฟอรอนแก่คนไข้ จึงมีหลายวิธีตั้งแต่การให้เฉพาะที่ (local administration) เช่น การใช้อินเตอร์เฟอรอนโดยวิธี ฉีดเฉพาะที่บริเวณที่มีพยาธิสภาพสำหรับ melanoma ซึ่งปรากฏว่าได้ผลดี หรือการให้อินเตอร์เฟอรอนในรูปของครีมใส่ทางช่องคลอดในการรักษา vaginal flat condylo-ma⁽⁴⁷⁾ จนถึงการใช้แบบเข้าร่างกายทั้งระบบ โดยวิธีฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือเข้าหลอดเลือด ซึ่งขั้นตอนในการศึกษานี้ American Cancer Society ได้แบ่งขั้นตอนออกเป็น phase I of clinical trails ซึ่งเป็นการศึกษาหาขนาดสูงสุดที่ควรใช้ และขนาดเป็นพิษของอินเตอร์เฟอรอนเช่นเดียวกับการศึกษาหา pharmacokinetics และผลทางชีววิทยาในร่างกายหลังจากการศึกษา phase I เสร็จสิ้นลงก็ได้เริ่มมีการศึกษา phase II of clinical trials ซึ่งเป็นการศึกษาการใช้อินเตอร์เฟอรอนเฉพาะมะเร็งบางชนิด สรุปผลของการศึกษาใน phase I ทั้งในสหรัฐ, ยุโรป และญี่ปุ่น พบว่าวิธีฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (IM) เป็นวิธีที่คงระดับอินเตอร์เฟอรอนให้

อยู่ได้ในระดับสูงได้นานกว่าโดยวิธีฉีดเข้าหลอดเลือดดำ (IV) โดยขึ้นสุดถึง 15 ถึง 57 IU/ml ในเวลา 2 ถึง 6 ชม. หลังจากฉีดอินเตอร์เฟอรอน 3 ล้านหน่วย โดยวิธีฉีดเข้ากล้ามเนื้อและจะอยู่ได้นานถึง 12 ชม. แต่อย่างไรก็ตามการให้โดยวิธีฉีดเข้าหลอดเลือดดำก็สามารถให้ได้เป็นจำนวนมาก ซึ่งปกติแล้วเราใช้อินเตอร์เฟอรอนประมาณ 10-50 million units/sqm อาทิตย์ละ 3 ครั้ง ประมาณ 3 เดือน นอกจากวิธีการให้ที่แตกต่างกันแล้วชนิดของอินเตอร์เฟอรอนก็มีส่วนสำคัญเหมือนกันโดยพบว่าอินเตอร์เฟอรอนที่เตรียมมาจาก fibroblast จะมีคุณสมบัติยึดแน่น ติดกับกล้ามเนื้อเมื่อให้โดยวิธีฉีดเข้ากล้ามเนื้อเมื่อเปรียบเทียบกับอินเตอร์เฟอรอนที่เตรียมมาจากเม็ดเลือดขาว ดังนั้นจึงทำให้ระดับอินเตอร์เฟอรอนในเลือดต่ำและขึ้นในระดับสูงได้ช้ากว่าแต่คุณสมบัติอื่น ๆ ไม่แตกต่างกันมากนัก⁽⁴⁸⁾

นอกจากนั้นขนาดของอินเตอร์เฟอรอนที่ใช้ก็สำคัญมากเชื่อกันว่า ขนาดที่ใช้เพียงพออยู่แล้ว การเพิ่มขนาดมากกว่านี้คงจะไม่ช่วยทำให้การรักษาได้ผลดีกว่าที่เป็นอยู่ นอกจากจะเป็นการสูญเสียโดยเปล่าประโยชน์

ประการสุดท้ายเนื่องจากอินเตอร์เฟอรอนที่ใช้ อาจเตรียมมาจากวิธีเก่าจาก fibroblast หรือเม็ดเลือดขาวติดเชื้อไวรัสหรืออาจเป็นอินเตอร์เฟอรอนที่เตรียมมาจากแบคทีเรียโดย recombinant DNA ข้อดีของ recombinant interferon คือ สามารถผลิตได้เป็นจำนวนมากและราคาถูกซึ่งทำให้การศึกษาในกลุ่มคนจำนวนมาก เป็นไปได้และสามารถให้ขนาดสูงได้ด้วย ซึ่งไม่สามารถทำได้โดยใช้ conventional interferon แต่ผลของการศึกษาใน phase II ซึ่งได้เริ่มมีรายงานกันมาบ้างแล้วปรากฏว่าการใช้ recombinant interferon ไม่ได้ผลเป็นที่น่าพอใจเท่ากับการใช้ leukocyte interferon

ซึ่งเคยรายงานมาแล้วโดยกลุ่มของ Cantell^(49,43,38) ดังนั้นจึงมีข้อโต้แย้งว่าเหตุผลอันหนึ่งในการที่ได้ผลไม่ดีหรือไม่ได้ผลอาจเป็นเพราะใช้ recombinant interferon ซึ่งเป็นหนึ่งใน 12 subtypes ของอินเตอร์เฟอรอนของคนที่เคยใช้กันมาก่อนและเรายังไม่ทราบกันแน่นอนว่าผลรวมของ subtypes อื่น ๆ จะมีส่วนในการต่อต้านมะเร็งหรือไม่

จุดยืนอันหนึ่งและนับว่าสำคัญที่สุด คือ ข้อสงสัยที่ว่าอินเตอร์เฟอรอนรักษาโรคมะเร็งได้แน่หรือไม่ ขณะนี้คงจะเร็วเกินไปที่จะสรุปได้แต่ผลจากการศึกษา phase II พบว่ามีผลเล็กน้อยถึงปานกลางในมะเร็งบางอย่าง เช่น non-Hodgkin's lymphoma, multiple myeloma, osteogenic sarcoma, melanoma, acute and chronic leukemia และมะเร็งเต้านม ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะลุกลาม และมะเร็งลำไส้ใหญ่ กลุ่มที่ใช้ได้ผลบ้าง เช่น การศึกษาผลของการใช้อินเตอร์เฟอรอนในการรักษา melanoma และมะเร็งที่ไต ที่ Memorial Sloan-Kettering Cancer Center ในนิวยอร์ก พบว่าหลังจากการใช้อินเตอร์เฟอรอนที่ผลิตจากแบคทีเรีย (vIFN-A) โดยวิธีฉีดเข้าหลอดเลือดดำ จำนวน 50 million units/sqm, 3 ครั้งต่ออาทิตย์, นาน 12 อาทิตย์ พบว่าในคนไข้ 33 คน ปรากฏว่าขนาดของมะเร็งลดไปครึ่งหนึ่งอยู่ 5 คน ส่วนที่เหลือขนาดไม่เปลี่ยนแปลง ในกลุ่มนี้ผลการตอบสนองต่อการรักษาด้วยอินเตอร์เฟอรอนได้แค่ 15% หรือ 20% ซึ่งอาจไม่ถือว่าได้ผลดีสำหรับมะเร็งอย่างอื่น แต่สำหรับมะเร็งที่ไต อาจถือได้ว่าได้ผลดีเพราะการรักษาด้วยเคมีบำบัดใช้ได้ผลเพียงแค่ 10% เท่านั้น⁽⁵⁰⁾ ในกลุ่มอื่น ๆ เช่น การศึกษาในคนไข้ที่เป็น malignant melanoma ที่ Mayo clinic พบว่าคนไข้ 6 คน ใน 31 คน ตอบสนองต่อการรักษาโดยการใช้อินเตอร์เฟอรอน (vIFN-A) ส่วนในกลุ่มที่การ

รักษาไม่ได้ผล เช่น กลุ่มของ Sherwin และคณะ ที่ National Cancer Institute⁽⁴³⁾ พบว่าผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเต้านมระยะลุกลามทั้งหมด 17 คน ได้รับการรักษาโดยใช้ recombinant interferon ขนาด 50 million units/sqm body surface area โดยวิธีฉีดเข้ากล้ามเนื้อ 3 ครั้งต่ออาทิตย์, เป็นเวลา 3 เดือน ปรากฏว่าไม่ได้ผล ซึ่งคล้ายกับผลของการรักษาผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งที่ลำไส้ใหญ่ โดย Chaplinski และคณะที่ Duke University Medical Center⁽⁵⁰⁾ ดังนั้นอินเตอร์เฟอรอนน่าจะใช้ได้ผลสำหรับมะเร็งบางชนิดแต่ไม่ได้ผลต่อมะเร็งชนิดอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตามความหวังของเราที่จะพยายามรักษามะเร็งให้ได้ผลดียิ่งขึ้นโดยใช้อินเตอร์เฟอรอนรวมของ type I และ type II ที่ได้กล่าวมาแล้วก็ยังคงเป็นความหวังอีกอันหนึ่ง

ถึงแม้ว่าอินเตอร์เฟอรอนเพียงอย่างเดียวไม่สามารถรักษามะเร็งได้ แต่ก็อาจใช้ในการเพิ่มศักยภาพของสารอื่น ที่ใช้รักษามะเร็ง ตัวอย่าง เช่น การใช้อินเตอร์เฟอรอนร่วมกับ cimetidine ในการ

รักษาคนไข้ melanoma โดย Oster และคณะ⁽⁵⁰⁾ นอกจากนั้นยังมีรายงานจาก Costanzi และคณะ⁽⁵⁰⁾ ว่าถึงแม้ว่าอินเตอร์เฟอรอนจะใช้ได้ผลสำหรับคนไข้ multiple myeloma แต่เมื่อต้องการใช้อินเตอร์เฟอรอนแล้วกลับมาใช้เคมีบำบัด (chemotherapy) ใหม่ ปรากฏว่าอินเตอร์เฟอรอนได้ทำให้การเปลี่ยนแปลงบางอย่างแก่เซลล์มะเร็งของคนไข้ทำให้คนไข้กลับมามีตอบสนองต่อการรักษา ทั้ง ๆ ที่คนไข้ไม่ตอบสนองต่อเคมีบำบัดมาก่อน⁽⁵⁰⁾ ดังนั้นการใช้อินเตอร์เฟอรอนร่วมกับสารอื่น อาจเป็นความหวังอีกอันหนึ่งในการรักษาโรคมะเร็งในอนาคต นอกเหนือจากการใช้อินเตอร์เฟอรอนรวมดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณคุณสมใจ ตัญศิริ เจ้าหน้าที่แผนกธุรการ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการพิมพ์นิพนธ์ต้นฉบับ

อ้างอิง

1. Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference I. The interferon. Proc Roy Soc Lond (Bid) 1957; 147 : 258-267
2. Tiensiwakul P, Khoobyarian N. In vitro mechanisms of antitumor activity of adenovirus fiber protein. (in press 1984)
3. Goeddel DV, Leung DW, Dull TJ, Gross M, Lawn R, McCandliss R, Seeburg PH, Ullrich A, Yelverton E, Gray PW. The structure of eight distinct cloned human leukocyte interferon cDNAs. Nature 1981 Mar 5; 290 (5801) : 20-25
4. Derynck R, Content J, De Clercq E, Volckaert G, Tavernier J, Devos R, Fiers W. Isolation and structure of a human fibroblast interferon gene. Nature 1980 Jun ; 285 (5766) : 524-549
5. Goeddel DV, Yelverton E, Ullrich A, Heynecker HL, Miozzari G, Holmes W, Seeburg PH, Dule T, May L, Stebbing N, Crea R, Maeda S, McCandliss R, Sloma A, Taber JM, Gross M, Familletti PC, Pestka S. Human leukocyte interferon produced by E. coli is biologically active. Nature 1980 Oct 2 ; 287 (5781) : 411-416
6. Langford MP, Weigent DA, Georgiades

- JA, Johnson HM, Stanton GH. Antibody of staphylococcal enterotoxin A-induced human immune interferon (IFN- γ). *J Immunol* 1981 Apr ; 126 (4) : 1620-1623
7. Secher DS, Burke DC. A monoclonal antibody for large-scale purification of human leukocyte interferon. *Nature* 1980 June 12 ; 285 (5765) : 446-450
 8. Stachelin T, Deurer B, Schmidt J, Takacs B, Stocher J, Miggianno v, Stahli C, Rubinstein M, Levy WP, Hershberg R, Pestka S. Production of hybridomas secreting monoclonal antibodies to the human leukocyte interferons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981 ; 78 : 1848-1852
 9. Secher DS. Immunoradiometric assay of human leukocyte interferon using monoclonal antibody. *Nature* 1981 Apr 9 ; 290 (5806) : 501-503
 10. Meurs E, Rougeot C, Sveb J, Laurent AG, Hovanessian AG, Robert N, Gruet J, Montagnier L, Dray F. Use of anti-human leukocyte interferon monoclonal antibody for the purification and radioimmunoassay of human alpha interferon. *Infect Immunol* 1982 Sep ; 37 (3) : 919-926
 11. Stewart WE. Interferon nomenclature. *Nature* 1980 Jul 10 ; 286 (5769) : 110
 12. Gresser I, Tovey MG. Antitumor effect of interferon. *Biochem Biophys Acta* 1978 Oct ; 516 (2) : 231-247
 13. Tiensiwakul P, Khoobyarian N. Adenovirus fiber protein produces synthesis of interferon in mouse spleen cell and macrophage cultures. *Inter-virology* 1983 Apr ; 20 (1) : 52-55
 14. Oxman MN, Levine MJ. Interferon and transcription of early virus specific RNA in cells infected with sv40. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971 Feb; 68 : 299-302
 15. Yakobson E, Prives C, Hartman JR, Winocour E, Revel M. Interaction of viral protein synthesis in monkey cells treated with interferon late in simian virus 40 lytic cycle. *Cell* 1977 Jan; 12 (1) : 73-81
 16. Black PH. The oncogenic DNA viruses : a review of in vitro transformation studies. *Ann Rev Microbiol* 1968; 22: 391-426
 17. Farrel PJ, Sen GC, Dubois MF, Ratner L, Stattery E, Lengyel P. Interferon action : two distinct pathways for inhibition of protein synthesis by double-stranded RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978 Dec; 75 (12) : 5893-5897
 18. Hovanessian AG, Meurs E, Aujean O, Vaquero C, Stefano S, Falcoff E. Antiviral response and interaction of specific proteins in cells treated with immune (type II) interferon analogous to that from viral interferon (type I) treated cells. *Virology* 1980 Jul ; 104 (1) : 195-203
 19. Billiau A, Edy VG, Sobis H, De Sommer P. Influence of interferon on virus particle synthesis in oncornavirus carrier line : evidence for a direct effect on particle release. *Int J Cancer* 1974 Mar ; 14 (3) : 335-340
 20. Friedman RM, Ramseur JM. Inhibition of murine leukemia virus production in chronically infected AKR cells : a novel effect of interferon. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974 Sep; 71 (9) : 3542-3544
 21. Pitha PM, Rowe WP, Oxman MN. Effect of interferon on exogenous, endogenous and chronic murine leukemia virus infection. *Virology* 1976 Apr ; 70 (2) : 324-338
 22. Kaplan PL, Topp WC, Ozanne B. Simian Virus 40 induces the production of polypeptide transforming factor (s). *Virology* 1981 Jan : 108 (2) : 484-490

23. Robert AB, Lamb LC, Newton DL, Sporn MB, De Larco JE, Todaro GJ. Transforming growth factor : isolation of polypeptides from virally and chronically transformed cells by acid/ethanol extraction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980 Jun; 77 (6) : 3494-3498
24. Gaffney EV, Picciano PT, Grant CA.A. Inhibition of growth and transformation of human cells by interferon. *J Natl Cancer Inst* 1973 Apr ; 50 (4) : 871-878
25. Kuwata T, Fuse A, Morinaga N. Effects on cell and virus growth in transformed human cell lines. *J Gen Virol* 1976 Jan ; 33 (1) : 7-15
26. Cook AW, Carter WA, Nidzgorski F, Akhtar L. Human brain tumor-derived cell lines : growth rate reduced by human fibroblast interferon. *Science* 1983 Feb 18 ; 219 (4586) : 881-883
27. Hicks NJ, Burk DC, Morris AG. The re-establishment of growth control in murine sarcoma virus-transformed cell treated with interferon. In : De Meyer E, Galasso G, Schlekens H, eds. *The Biology of the Interferon System*. New York : Elsevier/ North-Holland, 1981. 157-160
28. Djeu JY, Heinbaugh JA, Holden HT, Herberman RB. Augmentation of mouse natural killer cell activity by interferon and interferon inducers. *J Immunol* 1979 Jan ; 122 (1) : 175-181
29. Einhorn S, Blomgren H, Strander H. Interferon and spontaneous cytotoxicity in man I. Enhancement of the spontaneous cytotoxicity of peripheral lymphocytes by human leukocyte interferon. *Int J Cancer* 1978 Oct ; 22 (4) : 405-412
30. Boraschi D, Neiderhuber JE. Regulation of macrophage suppression and cytotoxicity by interferon : role of Ia bearing macrophages. *J Immunol* 1982 Nov; 129 (5) : 1854-1858
31. Santoli D, Trinchieri G, Koprowski H. Cell mediated cytotoxicity against virus-infected target cells in humans II. Interferon induction and activation of natural killer cells. *J Immunol* 1978 Aug ; 121 (2) : 532-538
32. Senik A, Gresser I, Maury C, Gidlund M, Orn A, Wigzell H. Enhancement by interferon of natural killer cell killer cell activity in mice. *Cell Immunol* 1979 Apr ; 44 (1) : 186-200
33. Vignaux F, Gresser I, Fridman WH. Effect of virus-induced interferon on the antibody response of suckling and adult mice. *Eur J Immunol* 1980 ; 10 : 767-772
34. Wright SC, Bonavida B. Selective lysis of NK-sensitive cells by a soluble mediator released from murine spleen cells and human peripheral blood lymphocytes. *J Immunol* 1981 Apr; 126(4) : 1516-1521
35. Farram E, Targan SR. Identification of human natural killer soluble cytotoxic factor (s) (NKCF) derived from NK enriched lymphocyte populations : specificity of generation and killing. *J Immunol* 1983 Mar; 130 (3) : 1252-1256
36. Merigan TC, Rand KH, Pollard RB, Addallah PS, Jordan GW, Fried RP. Human leukocyte interferon for the treatment of herpes zoster in patients with cancer. *N Eng J Med* 1978 May 4; 298 (18) : 981-987
37. Scullard GH, Pollard RB, Smith JL, Sacks SL, Gregory PB, Robinson WS, Merigan TC. Antiviral treatment of chronic hepatitis B virus infection I. Changes in viral marker with interferon combined with adenine arabinoside. *J Infect Dis* 1981 Jun; 143 (6) : 772-783
38. Strander H, Cantell K. Studies on antiviral and antitumor effect of human leukocyte interferon in vitro

- and in vivo. In : Waymouth C, ed. Human Leukocytes Interferon. Maryland : Tissue Culture Association, 1974. 49-56
39. Ito M, Buffett RF. Exogenous interferon use in humans for treatment of malignancies. In : Stringfellow DA, ed. Interferon and Interferon Inducer-Clinical Applications. New York : Marcel Dekker, 1980. 89-111
40. Horoswicz JS, Leong SS, Ito M, Buffett RF, Karakoussis C, Holyolu E, Job L, Dolen JG, Carter WA. Human fibroblast interferon in human neoplasia : clinical and laboratory study. *Cancer Treat Rep* 1978 Nov; 62 (11) : 1899-1906
41. Gutterman JU, Blumenenscheis GR, Alexanian R, Yap HY, Burda AU, Cabanillas F, Hortobagyi, Gn Hersh EM, Rasmussen SL, Harmon M, Kramer M, Pestka S. Leukocyte interferon-induced tumor regression in human metastatic breast cancer, multiple myeloma, and malignant lymphoma. *Ann Intern Med* 1980 Sep; 93(3) : 399-408
42. Smolin G, Stebbing N, Friedlander M, Friedlander R, Okunoto M. Natural and cloned human leukocyte interferon in herpesvirus infection of rabbit eyes. *Arch Ophthalmol* 1982 Mar ; 100 (3) : 481-483
43. Sherwin SA, Mayer D, Ochs JJ, Abrams PG, Knost JA, Foon KA, Fein S, Oldham RK. Recombinant leukocyte A interferon in advanced breast cancer : results of a phase II efficacy trial. *Ann Intern Med* 1983 May ; 98 (5 part 1) : 598-602
44. Fleischman WR Jr, Georgiades JA, Osborne LC, Johnson H M. Potentiation of interferon activity by mixed preparation of fibroblast and immune interferon. *Infect Immun* 1979 Oct ; 26 (1) : 248-253
45. De Clercq E, Zhang Z, Huygen K, Leyten R. Inhibitory effect of interferon on the growth of spontaneous mammary tumors in mice. *JNCI* 1982 Sep ; 69 (3) : 653-654
46. Fleischmann WR Jr, Kleyn KM, Baron S. Potentiation of antitumor effect of virus-induced interferon by mouse immune interferon preparations. *JNCI* 1980 Nov; 65 (5): 963-966
47. Verterinen E, Mayer B, Cantell K. Treatment of vaginal flat condyloma with interferon cream. *Lancet* 1984 Jan ; 21 (8369) : 157
48. Yamazaki S. Current status of clinical interferon research in Japan. *Jap J Med Sci Biol*; 1983 : 261-271
49. Sherwin SA, Knost JA, Fein S, Abrams PG, Foon KA, Och JJ, Schoenberger C, Mollish AE, Oldham RK. A multiple-dose phase I trial of recombinant leukocyte A interferon in cancer patients. *JAMA* 1982 Nov 19; 248(19) : 2461-2466
50. Hager T. The interferon-cancer trials : hardly hopeless but not too heartening. *JAMA* 1983 Aug 26; 250(8) : 1007-1010