

# Interferon

## Veelzijdig geneesmiddel?

*Interferon* is de naam die in 1957 door de Britse viroloog Alick Isaacs gegeven werd aan een stof die uitgescheiden wordt door cellen na besmetting met een virus. Het is in staat homologe cellen (d.w.z. cellen van dezelfde diersoort) resistent te maken tegen een invasie van virussen van welke soort dan ook. De ontdekking van interferon gebeurde in de bloeitijd van het onderzoek op het terrein van de antibiotica, stoffen die allerhande gevreesde infecties door bacteriën (pneumonie, pleuritis, angina, meningitis, kraamkoorts, etc.) onder controle brachten. Geen enkele van deze antibiotica kan echter iets uitrichten tegen virusinfecties. Zelfs op de dag van vandaag kan men zeggen dat de geneeskunde nog steeds wacht op het eerste effectieve antivirale middel. Ziekten als gewone verkoudheid, kinderverlamming, mazelen en griep kunnen zelfs op dit ogenblik alleen maar met lapmiddeltjes bestreden worden. Wel kent men voor vele virusziekten effectieve entstoffen. Dit is ondermeer zo voor mazelen, rode hond, pokken en poliomyelitis. Entstoffen hebben echter alleen een voorbehoedende, geen genezende kracht. Als de virusziekte eenmaal vaste voet heeft gezet in het organisme is er geen kruid tegen gewassen en kan men alleen het verdere verloop afwachten. Bovendien bestaan er voor de meeste virusziekten zelfs geen effectieve of praktisch toepasbare entstoffen.

Het mag dus geen wonder heten dat het natuurlijke antivirale bestanddeel dat in 1957 ontdekt werd zich tot op heden heeft mogen verheugen in een bloeiende belangstelling. In 1974 verscheen in dit tijdschrift een artikel waarin de toenmalige stand van onze kennis inzake interferon belicht werd.\*

\* Zie H. Schellekens en L. J. L. D. van Griensven, *Interferon, basis voor een therapie van virusziekten?* *Natuur en Techniek*, 42, 11 (1974) - Cat. nr. 329.



Interferon wordt slechts in kleine hoeveelheden door cellen geproduceerd en het is uitermate labiel zodat zij die interferon willen zuiveren met gigantische moeilijkheden te kampen hebben. Het is gebleken dat interferon vele verschillende werkingen uitoefent op de cellen in ons organisme; het is dus veel meer dan een antiviraal bestanddeel. Hierdoor zou het niet alleen tegen virusziekten doch tegen tal van andere ziekten een nuttig geneesmiddel kunnen worden. Dit verklaart wellicht ook waarom de

Interferon is een stof die in de weefsels van mens en dier geproduceerd wordt. Het grijpt op vele plaatsen in het celmetabolisme in, vermoedelijk op een indirecte wijze. Interferon remt niet alleen de vermenigvuldiging van virussen in geïnfecteerde cellen maar het maakt ook de immunrespons doelmatiger. Daardoor speelt interferon een belangrijke rol in de verdediging van ons lichaam tegen belagers zoals virussen en kanker.

A. Billiau  
Rega Instituut  
Katholieke Universiteit Leuven



virologen tegen elke prijs het zo moeilijke werk van productie, zuivering en karakterisering willen voortzetten.

In de nu volgende paragrafen zullen we de diverse werkingen van interferon belichten. We zullen hierbij iets minder aandacht besteden aan de antivirale werking, die reeds eerder in dit tijdschrift behandeld werd. De meest recente gegevens over de toepasbaarheid van interferon bij virusziekten van de mens zullen worden beschreven.

Op het Rega Instituut van de Universiteit te Leuven wordt humaan interferon geïsoleerd. Daartoe worden op grote schaal menselijke bindweefselcellen in cultuur gekweekt (geheel boven, vergr. 100x). Deze cellen worden aangezet tot het produceren van interferon (boven) dat in de vloeistof boven de cellen (het groei-medium) terecht komt. Interferon wordt geïsoleerd door aan medium afkomstig uit 250 met cellen volgegroeide flessen, glasparetjes toe te voegen (links). Hieraan hecht interferon waarna het medium wordt verwijderd en interferon in een klein volume wordt 'losgekweekt' van de glasparetjes (zie schema pag. 130).

### De antivirale werking van interferon

Onder alle biologische agressoren waaraan ons organisme blootstaat nemen de virussen een bijzondere plaats in. De meeste biologische agressoren zijn cellen zoals bacteriën en parasieten. Ook kankers zijn cellen of cellen-aggregaten en er kan een strijd ontstaan tussen onze cellen en die van de agressor. Het strijdtoneel speelt zich af in de biosfeer. Virussen daarentegen zijn geen cellen. Het zijn stukjes erfelijk materiaal (DNA of RNA) die onze cellen binnendringen. Ze onttrekken het synthese-apparaat van de cel aan de controle van de celegeen genen en buigen het om zodat virusdeeltjes worden gesynthetiseerd. Het strijdtoneel speelt zich dus af in de sfeer van de genen, in de genosfeer.

Een cel die met interferon in contact is geweest, is gedurende ongeveer 24 uur ongevoelig voor virusinfecties. De genosfeer van een cel die behandeld is met interferon is dus klaarblijkelijk afgeschermd tegen de invloed van een virus. Hoe deze afscherming tot stand komt is tot op heden een duister punt. Hoe meer het onderzoek vordert, hoe duidelijker het wordt dat er niet één doch vele redenen zijn waarom een cel na behandeling met interferon resistent is tegen virusinfectie. De bouwstenen en werktuigen die de cel gebruikt voor haar eigen opbouw en vermenigvuldiging worden ook gebruikt voor de vermenigvuldiging van het virus. Als interferon één bepaald werktuig volledig zou uitschakelen (bijv. de ribosomen\*) dan zou de cel even veel schade lijden als het virus. Wellicht komt het hierdoor dat interferon op vele plaatsen ingrijpt, doch nergens een volledige blokkade veroorzaakt. Door een dergelijke fysiologische regulatie van de beschikbaarheid van energie, bouwstenen en werktuigen slaagt het er blijkbaar in een selectieve pressie uit te oefenen tegen de invasie van virussen zonder al te veel schade te berokkenen aan de cel zelf.

Uit de studie van het antiviraal effect van interferon is aldus naar voren gekomen dat interferon een fysiologische regulatiefactor is: het is een signaalmolecule. Een cel die deel uitmaakt van een weefsel (bijv. het darmslijmvlies) en die besmet wordt met een virus (bijv. poliovirus) produceert interferon, dat onmiddellijk

en in zeer hoge concentratie in contact komt met naburige cellen. Deze worden daardoor in een gewijzigde fysiologische status gebracht waardoor ze weliswaar niet meer optimaal functioneren doch wel resistent worden tegen virusinfectie. Als even later ook deze cellen besmet raken zal het virus hier minder snel vermenigvuldigd kunnen worden.

Vanuit dit standpunt bekeken zou interferon dus een signaalmolecule zijn die op korte afstand werkzaam is, met name als communicatiemiddel tussen aangrenzende cellen. Verscheidene eigenschappen van interferon zijn in overeenstemming met deze visie. Interferon is uitermate actief: een concentratie van  $10^{-9}$  tot  $10^{-10}$  mg/ml (d.i. 0,000000001 tot 0,000000001 mg/ml) in het kweekmedium van cellen volstaat om ze resistent te maken tegen virussen. Interferon heeft ook een vrij kort

levensduur als het in de bloedsomloop gebracht wordt. Als alle cellen in een orgaan met virus besmet zijn, zal er voldoende interferon vrijkomen om het in de bloedsomloop en zelfs in de urine te kunnen meten. Dan zullen ook organen op afstand, bijv. het ruggemerg in het geval van poliomyelitis, gewaarschuwd kunnen worden voor het naderende gevaar. Zowel bij experimentele als bij natuurlijke virusinfecties vindt men interferon in het bloed (zie Fig. 1 en 2). Het blijkt dus dat interferon ook als langeafstands boodschapper dienst kan doen.

Alhoewel interferon uitermate actief is, kan het toch de virusinfectie niet uitroeien. Het remt alleen de virusvermenigvuldiging in cellen. Cellen in ons organisme die door virusdeeltjes geïnfecteerd worden zijn veroordeeld, ongeacht of ze vooraf van hun naburen een dosis interferon kregen. De 'bedoeling' van in-

Fig. 1. Groepjes van 3 muizen werden besmet met mengovirus door injectie in de buikholte. Op verschillende tijdstippen werd telkens een groepje gedood. Er werd nagegaan hoeveel virus en hoeveel interferon aanwezig was in de milt en de hersenen. Deze organen zijn met name bekend als de plaatsen waar het virus zich laat vermenigvuldigen. Het virus wordt eerst vermenigvuldigd in de milt; pas later neemt de virusconcentratie in de hersenen toe. Men neemt aan dat het ingespoten virus uit de buikholte in het bloed komt en door de milt geïmporteerd wordt; dit orgaan is een soort relais (tussenstation) voor het virus. Van hieruit worden massale hoeveelheden virusdeeltjes in het bloed uitgestort, waardoor de hersenen besmet raken. De dieren sterven aan hersenontsteking (encephalitis). In de grafieken ziet men dat de curven voor interferonproductie (onder) nagenoeg parallel lopen met die van de virusproductie (boven). Het interferon dat ter plekke in een orgaan gevormd wordt komt dus te laat om dit orgaan nog te beschermen. Het interferon dat in de milt gevormd wordt bereikt het bloed (zie Fig. 2) en zou dus in theorie de hersenen tijdig kunnen bereiken en beschermen. Toch is dit blijkbaar niet het geval. Men moet dus aannemen dat het interferon alleen de replicatie van het virus uitstelt om zo het organisme de gelegenheid te geven een meer effectief verdedigingsmechanisme (de immunerespons) te mobiliseren.

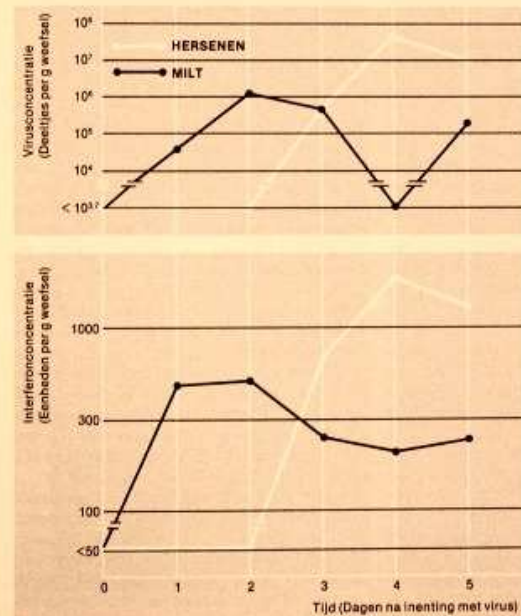
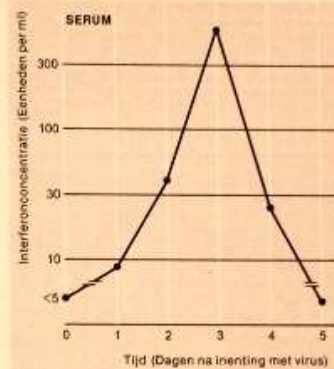


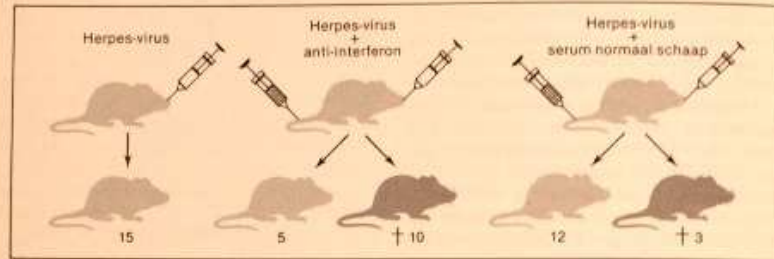
Fig. 2. Het verloop van de interferonconcentratie in het bloed van muizen na infectie met mengovirus. (Voor details: zie het bijchrift van Fig. 1).



\* Ribosomen zijn werktuigen bij de eiwitsynthese.

Fig. 3. Deze proef illustreert de belangrijke rol van interferon dat gevormd wordt tijdens een virusinfectie (endogeen interferon). Muizen werden besmet met herpesvirus (dit is het virus dat bij de mens koortsblaasjes op de lippen veroorzaakt). Bij zeer jonge muizen veroorzaakt het een dodelijke hersenontsteking; oudere muizen zijn echter resistent tegen het virus. In deze proef gebruikte men muizen van 12 weken. In de

groep die alleen virus kreeg was er geen sterfte. Aan een andere groep muizen gaf men, naast het virus, ook serum van een schaap dat antistoffen tegen muizeninterferon bevatte. Hier was de mortaliteit zeer hoog. Serum van een normaal schaap had ook wel een nadelig effect maar dit was statistisch niet significant. (J. C. Guillon en I. Gresser, Ann. Microbiol. (Inat. Paat.) 129A, 207-216, 1978).



terferon is dus niet de cellen te beschermen tegen het virus doch de virusreproductie te remmen. Als het interferonmechanisme hierin slaagt heeft het organisme voldoende tijd om een *immunrespons* tegen het virus op gang te brengen. Deze immunrespons ontstaat door contact van witte bloedcellen (lymfocyten) met virusdeeltjes. Het omvat de synthese, door *B-lymfocyten*, van antistoffen die specifiek gericht zijn tegen het invaderende virus. Tevens worden *T-lymfocyten* gegenereerd die de virusdeeltjes rechtstreeks herkennen en doden.

Het interferonmechanisme is dus een vertragingmanoeuvre die erop gericht is aan het organisme voldoende tijd te geven om het uiteindelijk wapen, de immunrespons, te ontwikkelen.

Dat deze vertragingmanoeuvre een belangrijke rol speelt in het natuurlijke verloop van een virusziekte werd overduidelijk bewezen door proeven waarbij men dieren behandelde met antistoffen tegen interferon. Deze antistoffen maken het interferon inactief. Als nu een virusinfectie optreedt heeft het dan gevormde interferon geen effect; het wordt immers geneutraliseerd. Bij dergelijke dieren waren de gevolgen van de virusziekte dan ook veel erger. Men mag dus wel aannemen dat interferon een essentieel element is in de verdediging van ons organisme tegen virusinfecties (zie Fig. 3).

#### Klinische toepassing van interferon bij virusziekten

We zagen reeds dat bij de ontdekking van interferon in 1957, alle hoop gevestigd was op een mogelijke klinische toepassing. Er rezen echter twee belangrijke vragen die ook heden nog ten dele onopgelost zijn. Allereerst rees de vraag of men wel voldoende interferon van menselijke oorsprong zou kunnen bereiden om klinische proeven te ondernemen. Vervolgens rees ook de vraag of en onder welke voorwaarden toediening van exogeen interferon bij machte zou zijn virale infecties te beïnvloeden.

Het eerste probleem was vooral een technische aangelegenheid; het is thans mogelijk om menselijk interferon te bereiden uit verse witte bloedcellen van bloedgevers. De cellen worden geënt met virus. Hierop produceren ze interferon van het L-type (L = leucocyt, witte bloedcel). Men kan ook humaan (menselijk) interferon bereiden uit cellen die men kweekt in flessen uitgaande van stukjes menselijke huid (zie Intermezzo). Een klein huidfragment levert na kweken voldoende cellen op om gedurende verscheidene jaren interferon te produceren. Het interferon uit deze cellen (fibroblasten, ongedifferentieerde bindweefselcellen) verschilt van dat uit witte bloedcellen en wordt aangeduid met de benaming fibroblasteninterferon (F-interferon).

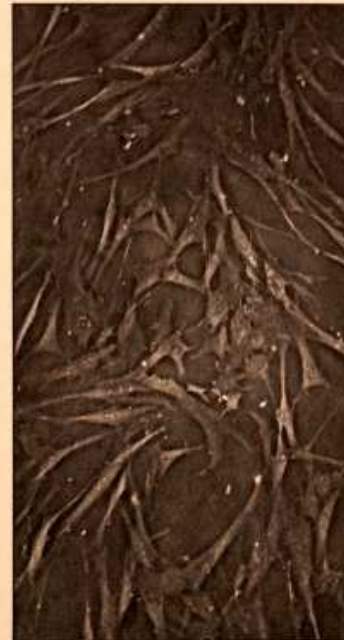
#### INTERMEZZO

### De productie van interferon voor klinische proeven

In enkele centra in de wereld wordt thans interferon bereid voor klinische proefnemingen. Interferon van het L-type wordt vooral bereid door Dr. K. Cantell in het Staats Serum Instituut van het Finse Rode Kruis te Helsinki.

In de laatste jaren werden gelijksortige projecten gestart in Zwitserland en in de Verenigde Staten. Dit interferon wordt bereid uit de witte bloedcellen, die worden afgeroomd van het bloed afkomstig van transfusiediensten. Het substraat is dus vrij goedkoop; normaal worden deze witte bloedcellen gewoon weggegooid. De

Twee microscopische opnamen van een cultuur van humane fibroblasten op een plastic oppervlak. De cellen werden in levende toestand, dus ongekleurd, met behulp van een fasecontrastmicroscop gefotografeerd. In sommige cellen is de kern duidelijk te zien. De foto links toont een pasgeente cultuur. De cellen hebben zich gehecht en strekken zich uit op het plastic oppervlak. Duidelijk zijn de lange vezelachtige uitlopers van de cellen te zien (vandaar hun naam fibroblasten; (fibr = vezel) (vergr. 135x). Op de foto rechts is een nagenoeg volgroeide cultuur te zien. De cellen groeien niet over elkaar heen, maar tegen elkaar aan totdat het hele oppervlak met cellen bedekt is (monolayer-cultuur). Dan is de cultuur klaar voor de inductie van interferon. (Vergr. 135x).



#### PRODUKTIE EN ZUIVERING VAN F-INTERFERON.

##### a. Het kweken van humane huidcellen.

1. De cellen worden verkregen van een menselijk embryo (miskraam) of van een voorhuid (besnijdenis).
2. Uit de stukjes huid worden fibroblasten gekweekt, die aan de plastic bodem van de flessen hechten (zie foto's op pag. 129).
3. Als de celculturen zijn voltooid, worden ze gesplitst (telkens worden de cellen uit één fles overgebracht naar twee nieuwe flessen; dit wordt een passage genoemd).
4. Na 3 à 5 passages wordt een gedeelte van die cellen verzameld en ingevroren in vloeibare stikstof (zo zijn ze onbeperkt houdbaar en kunnen ze opnieuw in kweek gebracht worden).
5. Het overgrote deel van de cellen wordt verder gekweekt in rollerflessen (zie foto's hiernaast). Deze flessen hebben een oppervlak van circa 850 cm<sup>2</sup>. Door de flessen te laten rollen kan voistaan worden met 250 ml groeimedium. Na 8 passages in rollerflessen, uitgaande van 1 fles, heeft men dus 256 flessen; deze bevatten ongeveer 22 m<sup>2</sup> cellen.

##### b. Het aanzetten van cellen tot interferonproductie.

6. Groepen van 250 flessen worden geïnduceerd met synthetisch RNA (net als bij een virusinfectie worden de cellen aanzet tot de productie van interferon). Daartoe wordt het oude medium verwijderd en per fles 25 ml vers medium (met daarin RNA) gegeven.

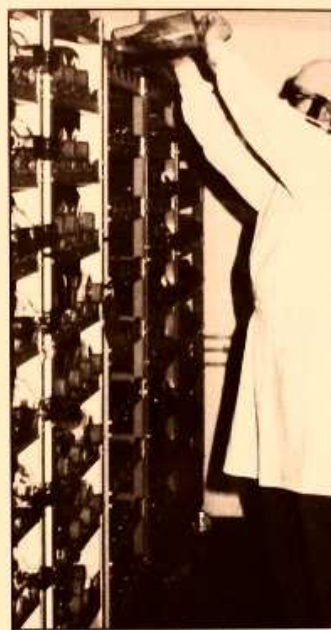
##### c. Het isoleren van interferon.

7. 24 uur na de inductie wordt het medium verzameld (ruim 6 liter). Hierin bevindt zich het interferon.
8. De vloeistof wordt gecentrifugeerd om losgelaten cellen te verwijderen.
9. Aan de nu heldere vloeistof worden glaspareltjes toegevoegd (zie foto op pag. 124-125). Aan deze glazen korreltjes hechten specifieke eiwitten, o.a. het interferon. 99% van de eiwitten blijft echter in de oplossing achter. Zo wordt een eigenschap van interferon gebruikt om een grote zuivering te verkrijgen.
10. De vloeistof wordt afgegoten.
11. De glasparels worden gewassen met een neutrale zoutoplossing; daardoor worden verontreinigingen verwijderd, terwijl interferon aan de korrels vast blijft zitten.
12. Het interferon wordt losgemaakt van de glasparels, door deze te wassen met 300 ml zure zoutoplossing. Deze 300 ml bevat dan al het interferon uit 250 flessen of uit ongeveer 10 miljard cellen.
13. De vloeistof wordt nu ingedikkt tot 50 ml en daarna onder vacuüm en bij lage temperatuur ingedampt, zodat een droge stof wordt verkregen (dit proces wordt vriesdrogen genoemd). Deze stof wordt nu als interferon-preparaat gebruikt.



moelijkheid is dat men al het bloed uit een grote landstreek nodig heeft om een interferonfabriek van enige afmetingen te voorzien. Dit is alleen mogelijk in landen waar de transfusedienst gecentraliseerd is. Bovendien biedt deze wijze van interferon produceren weinig uitzicht voor de toekomst, met name omdat al het ingezamelde bloed van de hele wereld wellicht niet voldoende zou zijn om aan de vraag te beantwoorden. Een mogelijke oplossing voor dit probleem bestaat erin L-interferon te bereiden uit witte bloedcellen die men kan doorkweken in cultuurvaten. Dit is alleen mogelijk met leukemische witte bloedcellen, dus met kankercellen. Tegen het gebruik van kankercellen als substraat voor de bereiding van een geneesmiddel voor de mens bestaan er uiteraard wel enige bezwaren.

Met interferon van het F-type heeft men deze moeilijkheid niet. Men kan het bereiden uit nor-



male cellen uit de huid of het longweefsel van menselijke embryo's. Deze cellen kan men zeer lang doorkweken in daartoe geschikte flessen of cultivatoren. Het kweken is echter een uitermate dure onderneming. Ze vereist dure reagentia zoals serum van pasgeboren kalveren en is uitermate arbeidsintensief zoals blijkt uit het produktieschema op de linker pagina. De productie van F-interferon is op dit ogenblik wellicht 5 of 10 maal duurder dan die van L-interferon. Toch zijn er enkele centra waar men op vrij grote schaal F-interferon bereidt, met name te Leuven (zie bovenstaande foto's) en te Buffalo in de staat New York. F-interferon heeft namelijk het potentiële voordeel dat er andere toepassingsmogelijkheden bestaan en dat de productie niet lijdt onder de beperking van een gekluisde toevoer van witte bloedcellen. Men kan overigens vooropstellen dat technologische ver-

In de modellafabriek van interferon, in het Rega Instituut van de Leuvense Universiteit, wordt interferon op grote schaal geproduceerd. Deze fabriek werd gestart in de periode 1974-1977 met steun van het Belgische Ministerie van Economische Zaken. Per jaar wordt hier ongeveer 1.500 miljoen eenheden injectieklaar F-interferon geïsoleerd. Dit interferon wordt gebruikt voor onderzoek in het laboratorium en ook voor klinische proeven.

Links: De splitsing van de celculturen (stap 5 uit het schema).

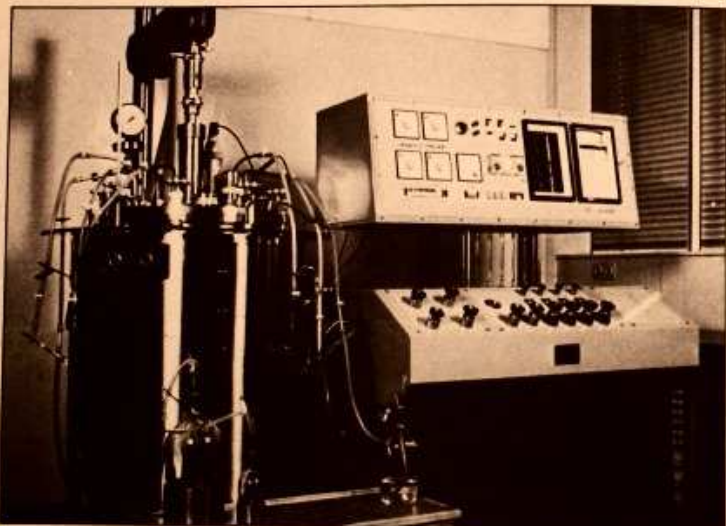
Midden: De incubatie van de celculturen in rollerflessen op de rollermachines in de warme kamer bij een constante temperatuur van 37°C.

Rechts: Het verwijderen van het medium voor de inductie (stap 6 uit het schema).

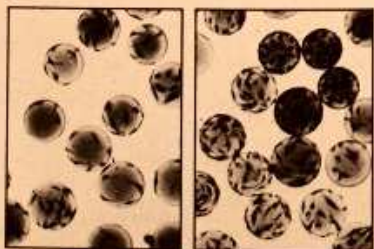
beteringen de productie van F-interferon goedkoper zal maken. Zo werd te Bilthoven een systeem uitgewerkt waarbij fibroblasten gekweekt kunnen worden op het oppervlak van korrels uit een plastische stof. De korrels worden in grote cultuurtanks gesuspenderd en automatisch voorzien van voedingsstoffen. Hierdoor zal het misschien mogelijk worden F-interferon te produceren in grote vaten, veeleer dan in afzonderlijke kleine flessen. Men zal dan wellicht kunnen overschakelen van het ambachtelijke stadium naar een werkelijke industriële productie.

Op het Rijks Instituut voor de Volksgezondheid te Bilthoven werd een alternatieve methode ontwikkeld om cellen in grote hoeveelheden te kweken. De cellen groeien op bolletjes die in het medium zijn gesuspenderd (een zgn. microcarriercultuur). Hierdoor is het mogelijk de cellen in een homogeen cultuur systeem te kweken. In dit systeem kunnen de kweekomstandigheden (pH, temperatuur, zuurstofconcentratie) nauwkeurig gemeten en geregeld worden. Verder biedt dit systeem goede mogelijkheden voor schaalvergroting, zoals gebruikt zou kunnen worden bij de productie van interferon.

Links op de foto de kweektank (volume 200 l) met een kweekvolume van 150 l en rechts het meet- en regelpaneel.



Een microcarriercultuur van menselijke fibroblasten. De cellen groeien op bolletjes DEAE-Sephadex (de diameter van de bolletjes is ca. 0,2 mm). Links de celgroei na 23 uur en rechts na 53 uur.



De tweede vraag, met name of exogeen interferon in staat is virusinfecties te beïnvloeden werd vooral bestudeerd door proeven bij dieren. Het bleek snel dat interferon toegediend vóór of zeer vroeg tijdens de virusinfectie inderdaad de ziekte kan afremmen. Interferon toegediend na verschijning van de eerste ziektekenen heeft nagenoeg geen effect (zie Fig. 4). Uit hetgeen we eerder zagen kunnen we gemakkelijk een verklaring hiervoor geven: tijdens de vroege stadia van de virusinfectie maakt het organisme zelf grote hoeveelheden interferon. Vanaf dat ogenblik is het

eigenlijk nutteloos nog exogeen interferon bij te geven.

Uit deze proeven moet men afleiden dat exogeen interferon alleen nuttig kan zijn als het gegeven kan worden voordat de massale virusreproductie plaatsvindt of bij die virusinfecties waar geen endogene interferonproductie optreedt. Voor beide omstandigheden zijn er voorbeelden in de menselijke pathologie, doch zij vertegenwoordigen een kleine minderheid van de virusinfecties.

We vermelden hier enkel als mogelijke toepassing de behandeling van een chronische le-

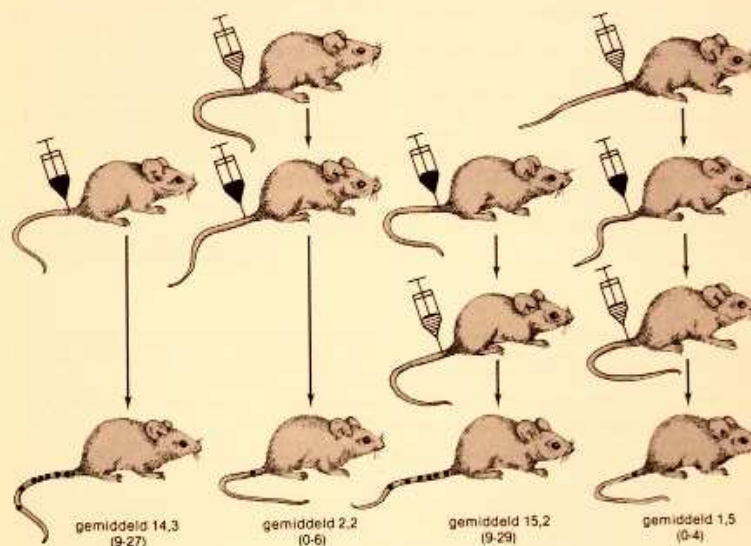


Fig. 4. Het profylactisch (voorbehoedend) effect van toegediend interferon. Groepen van 10 muizen werden besmet door een injectie van vaccinia-virus in de bloedbaan. Vaccinia-virus wordt gebruikt om mensen in te enten tegen pokken; bij de muis veroorzaakt het pokletsels op de staart. Muizen die alleen virus kregen hadden veel van dergelijke letsels. Interferon gegeven vóór de besmetting belette de vorming van letsels; interferon gegeven na de virusbesmetting had geen effect. Hieruit blijkt dat, wat de toepassing bij de mens betreft, men niet te veel verwachtingen moet koesteren om een virusziekte te behandelen, wel om ze te voorkomen. (P. De Somer en E. De Clerq, Appl. Microbiol., 16, 1314, 1968).

Interferon  
Vaccinia-virus

verziekte ontstaan door infectie met het hepatitis-B-virus (HB-virus). Vele mensen raken met dit virus besmet. Meestal gebeurt dit als gevolg van een bloedtransfusie of van een injectie met een besmette injectiespuit. Maanden na het binnendringen van het HB-virus ontstaat dan een acute ontsteking van de lever met koorts, onwelzijn en geelzucht. De meeste personen genezen hiervan zonder blijvende nadelige gevolgen; bij een klein percentage van de patiënten echter slaagt de immuunrespons er niet in het virus te elimineren. Er wordt ook geen interferon geproduceerd. De levercellen blijven virus produceren en er volgt een uitputtingslag tussen de immuunrespons en het virus. De lever wordt vernietigd en er volgt een fatale levercirrose.

Er bestaat voor deze ziekte geen betrouwbaar diermodel zodat de proeven met interferon noodgedwongen op mensen moeten gebeuren. Zowel met het L- als het F-type van huumaan interferon werden gunstige resultaten behaald. Door langdurige toediening van interferon schijnt men de virusreproductie voldoende te kunnen onderdrukken om de immuunrespons in staat te stellen het virus te overwinnen en uit te roeien.

Wellicht zijn er nog andere ziekten die voor interferotherapie in aanmerking komen. In het bijzonder wordt gedacht aan de zgn. *auto-immuun-ziekten*\* zoals reuma, de ziekte van Crohn, multiple sclerose, e.a. Het zoeken naar een afdoend middel tegen deze ziekten is erg belangrijk. Toch blijft het ook een ontgoocheling te moeten vaststellen dat interferon niet het verwachte resultaat gegeven heeft bij de behandeling van de gewone doch economisch belangrijke virusziekten zoals gewone verkoudheid en griep.

#### Ander effecten van interferon en hun mogelijke toepassing in de geneeskunde

Interferon heeft nog vele andere werkingen op cellen in het algemeen en op bepaalde gespecialiseerde cellen in het bijzonder. De onderstaande tabel geeft een samenvatting van de belangrijkste van deze effecten. Op enkele hiervan komen we nog terug, maar eerst willen we de vraag stellen naar de logische samenhang van al deze effecten.

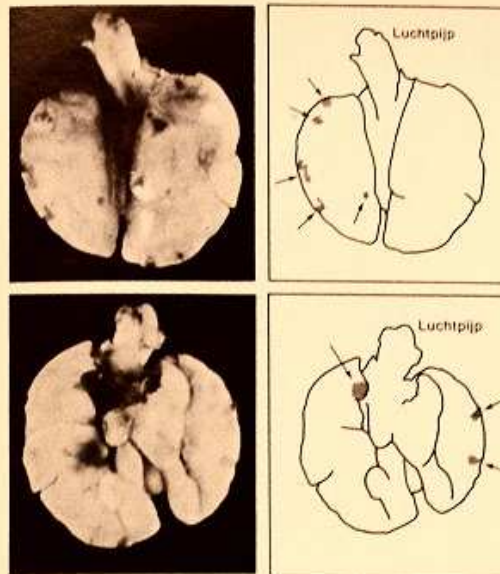
Zou het kunnen zijn dat het organisme bij een virusinfectie één enkele stof produceert met als uiteindelijk doel de bewerkstelling

digheden wordt een dergelijk zelfmoordproces belemmerd door een ingewikkeld geheel van regelmechanismen (tolerantiemechanismen).

\* Auto-immuunziekten is de benaming voor ziekten die ontstaan doordat de immuunrespons zich richt tegen antigenen van onze eigen weefsels. Onder normale omstan-

#### DE NIET-ANTIVIRALE WERKINGEN VAN INTERFERON

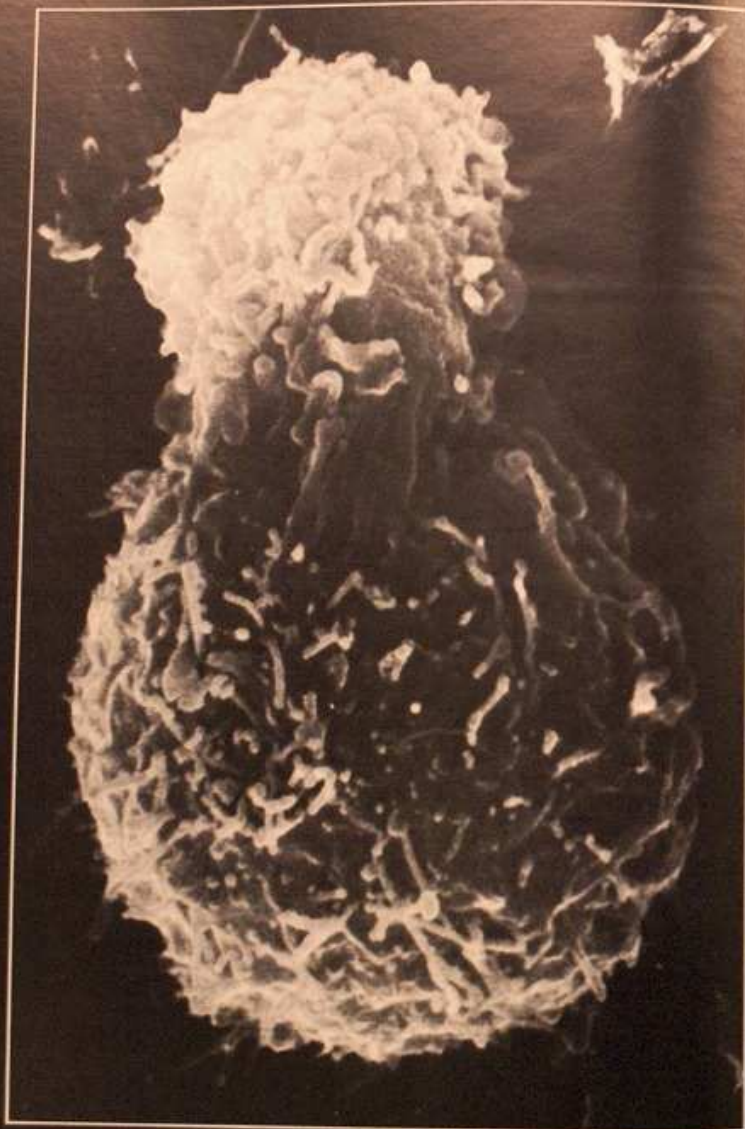
- **Remming van de celdeling.**  
Interferon remt het delingsritme van cellen, maar is niet toxisch (giftig) voor die cellen.
- **Activatie van macrofagen.**  
Macrofagen zijn een soort grote witte bloedcellen (macro = groot, Gr. phagein = eten) die allerlei deeltjes zoals bacteriën in zich opnemen (fagocyteren) en doden. Macrofagen remmen de groei van tumorcellen en spelen ook een belangrijke rol bij de immuunrespons.
- **Beeïnvloeding van de eiwitsynthese.**  
Interferon verhoogt de vorming van bepaalde eiwitten, o.a. van sommige enzymen, maar ook van merkmoleculen op de membraan van kankercellen.
- **Effect op de immuunrespons.**  
Interferon beïnvloedt de functie van de witte bloedcellen bij de immuunrespons, met name van de macrofagen, de B- en T-lymfocyten (Zie fig. 5 en 6).



De antikankerwerking van interferon kan bestudeerd worden door bij muizen in de dijspier of onder de huid een bepaald soort kankercellen te enten. Over een periode van ca. 14 dagen ontwikkelt zich dan een primaire tumor ter hoogte van de injectieplaats. Na nog een week vindt men uitzaaiing van de tumor in de longen (boven ribzijde, onder hartzijde van de longen; uitzaaitumoren zijn aangeduid met pijltjes). Na ongeveer 4 à 5 weken sterven de muizen. Als men de dieren vanaf het begin behandelt met een hoge dosis interferon (meer dan 100.000 eenheden per dag), dan ontwikkelt de primaire tumor zich trager en zelfs na 3 à 4 weken is er macroscopisch geen enkele longuitzaaiing zichtbaar.

van al deze zo uiteenlopende effecten? Of moeten we al deze effecten veeleer als onvermijdelijke nevenwerkingen van interferon zien? Wellicht is interferon niets anders dan een sleutelmolecule in de regulatie van de normale levensprocessen van alle cellen. Het brengt wellicht in alle cellen tal van wijzigingen teweeg, die het resistent worden tegen virus als netto effect hebben. Om deze resistentie te verwerven moet in iedere cel eerst de celmembraan worden gewijzigd, de groei worden vertraagd en bepaalde eiwitten worden gesynthetiseerd. In gespecialiseerde cellen, zoals de immunocyten, moet dit onvermijdelijk gepaard gaan met wijzigingen in de uitoefening van de gespecialiseerde functie van die cellen, in casu de vorming van antistoffen en het aanvallen van *targetcellen* (target = doelwit). Men kan dus van het standpunt uitgaan dat de zgn. niet-antivirale werkingen van interferon niet *naast* de antivirale werking geplaatst worden maar *ervóór*: zij zijn wellicht een 'conditio sine qua non' voor het antivirale effect.

Inmiddels is het echter een feit dat de niet-antivirale werkingen van interferon thans meer de belangstelling wekken dan het antivirale effect. De belangrijkste reden hiervoor is de waarneming dat interferon in staat is de groei van kankergezwellen bij muizen af te remmen. Voor de oorspronkelijke proeven op dit gebied gebruikte men tumoren die opgewekt werden door het toedienen van een kankerverwekkend virus; de antitumorwerking van interferon werd derhalve aan het antivirale effect van interferon toegeschreven. Later vond men dat ook niet-virale kankers van muizen gevoelig zijn voor behandeling met interferon. In sommige van deze modellen kan interferon zelfs wedijveren met de beste moderne stoffen ter bestrijding van kanker. Het was derhalve noodzakelijk naar andere verklaringen te zoeken voor dit antitumoreffect. Een dergelijke verklaring kan men gemakkelijk vinden in de reeds eerder vermelde niet-antivirale werkingen waarvan we er nu enkele kort zullen bespreken.



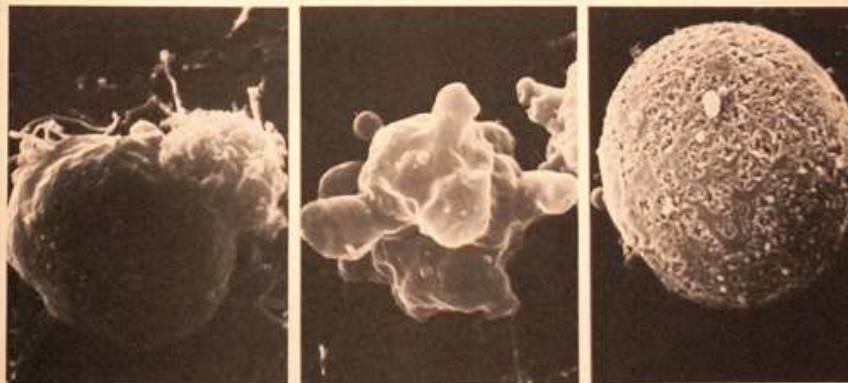
DE ANTITUMOR ACTIVITEIT VAN INTERFERON
- Remming van de celgroei
- Verhoging van de expressie van antigenen op de membraan van de tumorcellen (zie fig. 6)
- Activatie van cellen die de tumorcellen kunnen aanvallen: <ul style="list-style-type: none"> <li>- "natural killer" - cellen</li> <li>- T-lymfocyten (zie fig. 5 en 6)</li> <li>- macrofagen</li> </ul>

Scanning elektronenmicroscopische opnamen van opeenvolgende stadia in het vernietigingsproces van een kankercel. Links: Een "dubbelcel", gevormd door de hechting van een T-lymfocyt (de kleine cel boven) aan het slachtoffer, de grote kankercel (vergr. 15.500x). Interferon speelt een belangrijke rol bij de herkenning van de kankercel door de T-lymfocyt (zie Fig. 6). Onder: Het contact tussen de T-lymfocyt en de kankercel heeft grote gevolgen want vrij snel na de hechting van de T-lymfocyt begint de doodstrijd van de kankercel. Het oppervlak van de kankercel wordt glad (foto A, de T-lymfocyt is nog gehecht, vergr. 4500x) en vertoont daarna vreemde uitstulpingen (zgn. "biebs", foto B, de T-lymfocyt heeft al losgelaten, vergr. 3700x). Tenslotte sterft de kankercel, hetgeen te zien is aan de gaten in de membraan (foto C, vergr. 6000x). Interferon versnelt dit proces (zie Fig. 6). (J. E. Ryser, B. Sondat, J. C. Carottini en K. T. Brunner, Eur. J. Immunol. vol. 2, 110-117, 1977).

In de eerste plaats remt interferon de celgroei. Het doodt de cellen niet, doch vertraagt alleen het delingsproces. Cellen kunnen erg verschillen in gevoeligheid voor het celgroei remmend effect van interferon. Toch zijn tumorcellen niet meer of minder gevoelig dan normale cellen maar door het feit dat tumorcellen zich doorgaans sneller delen dan normale cellen is het effect van interferon hier wel duidelijker waar te nemen.

Het celgroei remmend effect van interferon kan echter niet het gehele antitumoreffect verklaren. Als muizen geïnjecteerd worden met tumorcellen, waarvan de groei niet geremd wordt door interferon, kunnen ze toch nog hun profijt halen uit een behandeling met interferon. Om dit te verklaren doet men een beroep op andere niet-antivirale effecten van interferon waardoor de relatie tumor-gastheer gewijzigd wordt in het voordeel van deze laatste (zie Fig. 5, 6 en de tabel links).

De gastheer herkent de tumorcel uit de normale cellen doordat de tumorcel op haar membraan "merkmoleculen" (de zgn. TSTA of Tumor-Specifieke Transplantatie-Antigenen) draagt. Dankzij deze herkenning kunnen witte bloedcellen de tumorcel benaderen en doden. De belangrijkste cellen die dit kunnen doen zijn (1) de macrofagen, (2) de "natural killer" of NK-cellen en (3) de gesensibiliseerde T-lymfocyten of "killer"-cellen. Macrofagen en NK-cellen vindt men bij ieder individu, ongeacht of



hij een tumor draagt of niet. 'Killer'-cellen ontstaan uit de normaal aanwezige populatie van T-lymfocyten door contact met de tumorcellen. Het doelwit ('target') van ieder van deze drie categorieën van cellen is de tumorcel, de draagster van de merkmoleculen. Interferon heeft een invloed op ieder van de vier cellen die bij dit strijdtonel betrokken zijn: het ver-

hoogt de bereikbaarheid van de merkmoleculen zodat de targetcel gemakkelijker herkend en gegrepen kan worden, en het activeert ieder van de drie aanvallende celcategorieën. Interferon heeft nog andere effecten die voor de verklaring van zijn antikankerwerking van belang zijn, zoals bijvoorbeeld het beïnvloeden van het sensibiliseringsproces van de

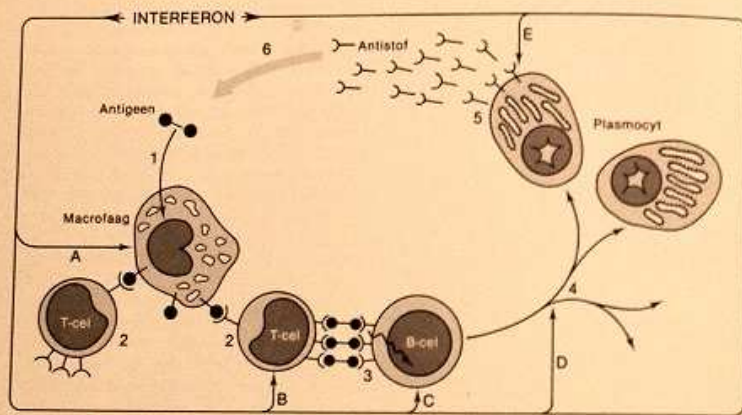


Fig. 5. Het effect van Interferon op de *humorale immuunrespons*. Een van de belangrijkste verdedigingsmechanismen van ons organisme tegen allerehande agressoren (bacteriën, virussen, kanker, ...) is ons vermogen om antistoffen tegen de agressor te vormen. Deze antistoffen circuleren in de lichaamsvloeistoffen (vloeistof = humor), weerstand die berust op antistoffen wordt daarom *humorale immuniteit* genoemd. Bij de *humorale immuunrespons* zijn 3 categorieën van cellen betrokken: macrofagen nemen vreemde bestanddelen (antigenen) van de agressor in zich op (1), rangschikken ze op hun celmembranen en bieden ze aan aan de zeldzame T-lymfocyten (2) die met deze antigenen kunnen reageren. Daarna vermenigvuldigen zich de T-lymfocyten, binden antigenen en bieden het aan aan de enkele zeldzame B-lymfocyten (3) die op hun beurt ook een interactie aangaan met deze antigenen. Deze B-lymfocyten gaan zich dan ook weer vermenigvuldigen (4) en talrijke plasmacyten worden gevormd. Plasmacyten scheiden daarop grote hoeveelheden antistoffen uit, die zich specifiek aan het antigenen binden (5), met andere woorden die de agressor aanvallen. Op verschillende stadia (aangegeven door hoofdletters A, B, C, D en E) van de *humorale immuunrespons* wordt door Interferon ingegrepen. Langs deze weg kan Interferon de verdediging tegen biologische agressoren beïnvloeden.

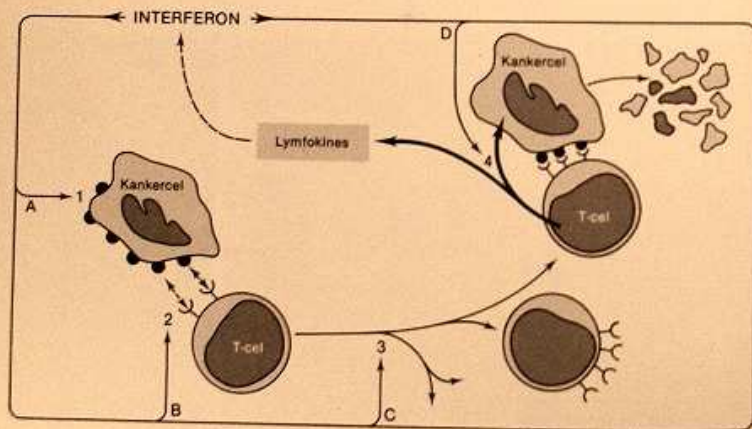


Fig. 6. Het effect van Interferon op de *cellulaire immuunrespons*. Een belangrijk onderdeel van de immuunrespons tegen biologische agressoren is het vermogen van T-lymfocyten om rechtstreeks - dus zonder tussenkomst van B-lymfocyten - de agressor aan te vallen. Kanker cellen (1) worden herkend door enkele zeldzame T-lymfocyten (2). Deze laatste vermenigvuldigen zich (3) en vallen de kanker cellen aan (4). De geactiveerde T-cellen enteren bij wijze van spraken de kanker cellen en laten ze dan weer los (zie foto's op pag. 136, 137). Even later barst de kanker cel; het is alsof de T-lymfocyt er een 'tijdbom' in geplaast heeft. Verder komen bij deze fatale ontmoeting ook *lymfokines* vrij. Dit zijn stoffen die een ontstekingsreactie teweegbrengen waarbij meer bloed in het betrokken weefselgebied gepompt wordt en waarbij allerehande cellen, vooral macrofagen, ter plaatse geroepen worden om het slagveld op te ruimen. Interferon grijpt in op deze keten van gebeurtenissen (aangegeven met de letters A, B, C en D). Het verhoogt de expressie van antigenen op kanker cellen zodat ze beter herkend worden (A). Het beïnvloedt de stimulatie (B) en de vermenigvuldiging (C) van T-lymfocyten en verstrekt ook het tijdbomgebeuren (D). Tenslotte dient vermeld dat één van de *lymfokines* die vrijkomt bij de *cellulaire immuunrespons* zelf een interferon is, het zgn. *immuun-interferon*.

T-lymfocyten. Verder zijn er nog andere ziekten bekend die berusten op een stoornis in de functie van één van voornoemde celcategorieën. De ziekte van Crohn is een veel voorkomende en ernstige darmziekte die volgens sommigen berust op een defect in de macrofaagfunctie. Ook hier mag men een eventueel gunstig effect van interferon verwachten.

#### Zal men de antikankerwerking van interferon in de geneeskunde te nutte kunnen maken?

De strijd tegen kanker vordert slechts met trage schreden: als een nieuw middel gevonden wordt is men doorgaans blij als men de patiënten 5 of 10% meer overlevingskansen kan bieden. Anti-kankermiddelen zijn bovendien zeer toxisch; ze hebben tal van onaangename nevenwerkingen. Zal het met interferon ook zo zijn? Of zal men met interferon een reuzestap voorwaarts kunnen zetten? Alhoewel er thans nog geen antwoord op deze klemmende vragen is, zijn de voortekenen gunstig.

Dank zij de inspanningen van slechts enkele laboratoria in de wereld, waaronder het Rega Instituut van de Leuvense Universiteit, is er thans genoeg humaan interferon voorhanden om klinische proeven op kankerpatiënten te ondernemen. Sedert verscheidene jaren worden in het Karolinska Ziekenhuis te Stockholm patiënten met beendertumoren behandeld. Het L-interferon voor deze proeven werd bereid door de Nationale Bloedtransfusiedienst te Helsinki. Uit de ervaringen te Stockholm opgedaan blijkt dat de vrij kleine hoeveelheden interferon die men kon geven (wegens de geringe beschikbaarheid van het produkt) een duidelijke verhoging van de overlevingskansen opleverden. Bovendien werd geen enkele belangrijke toxische nevenwerking waargenomen.

Men mag verwachten dat onderzoekers over de hele wereld door deze resultaten aangemoedigd zullen worden om aan hun respectievelijke regeringen de fondsen te vragen voor bereiding van humaan interferon en voor verdere klinische en laboratoriumproeven. Nog onlangs konden we via de nieuwsmidia vernemen dat de American Cancer Society een bedrag van 2 000 000 dollar zal besteden voor de aankoop van interferon in Finland voor het uittesten en ondernemen van proeven op kankerpatiënten.

Bronvermelding illustraties:  
Rijks Instituut voor de Volksgezondheid, Bilthoven, pag. 132.  
Institut Suisse de Recherches Expérimentales sur le Cancer, Epalinges sur Lausanne, pag. 136, 137.