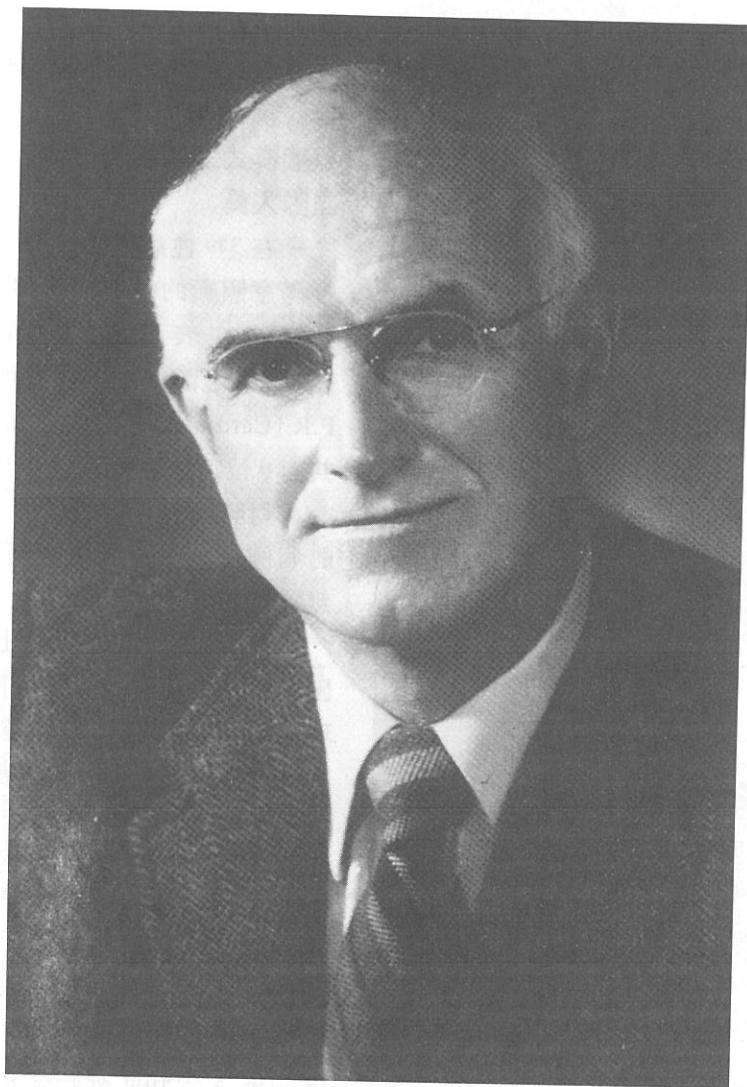


# 1990 年諾貝爾醫學獎得主 Dr. Joseph E. Murray



*Joseph E. Murray*

Dr. Joseph E. Murray 完成人類第一個成功的腎臟移植，並致力於抗排斥藥物的研究，開創了人類器官移植的先河，他也因此獲得 1990 年諾貝爾醫學獎。腎臟移植的發展帶動了人體其他器官如心臟、肝臟、胰臟等的移植，移植醫學的發展不只是人類疾病治療的新方法，也是免疫學的新突破。目前 Dr. Murray 任職於麻州布里罕婦幼醫院。

# Dr. Joseph E. Murray 自傳

Joseph E. Murray, M.D. 著 蔡育泰 譯

我出生在麻薩諸塞州一個位於波士頓南方三十英哩處叫做 Milford 的小鎮。我的祖父母是南愛爾蘭及英國的血統。我母親在我外祖母從義大利移民到美國不久後出生於 Rhode Island 的 Providence。我父親是律師兼地方法院的法官。我母親是學校老師。我父母皆受益於這個國家所提供的教育機會，也因此肯定教育機會的重要。他們的言教和身教都強調著每個人都需要教育。

從早期的記憶中，我就要當一位外科醫師了。可能是小時候受到照顧我們小孩健康的家庭醫師的特質所影響。高二上化學課時，第一次看到元素週期表時的興奮依然歷歷在目。自然界的規律實在很奇妙，於是我想儘可能的學習自然科學。

高中畢業後，我選擇了一所小的文理學院，叫做 College of the Holy cross 就讀。我主修拉丁文、希臘文、哲學及英文。因為我認為在醫學院我可以得到充足的科學教育，所以關於化學、物理及生物我都儘量少修。

四年在哈佛醫學院的日子正如同我以前的夢想一樣。同學和教授都很積極和友善，醫院裡有著各式各樣的病人。雖然讀書和醫院工作的時間都很長，但生活卻很豐富、充實。音樂廳及博物館皆在走路可到的地方，白天要運動也可到附近的球場。我們愛好唱歌的一群人每週聚會，腳踏車旅行及舞會更增加生活的變化。這簡直就是天堂。

當在醫學院的時間只剩下幾個月的時候，我與幾位同學和他們的異性朋友一同參加波士

頓交響樂團音樂會。這時我發現有一個可愛的女孩子，她實在比跟她在一起的那位男孩子好太多了。在音樂會中場休息時，我與她走到迴廊，並得知她的名字是 Bobby Link，一位主修聲樂及鋼琴的音樂系學生。當休息時間結束後，我領悟到她將是我未來結婚的對象。

畢業後經過實習時斷斷續續的約會，以及後來緊張忙碌的戰爭時期我當軍醫時短暫的會面，Bobby 與我在 1945 年七月結婚。我們有六個小孩，三男三女。無論在教育、醫學、護理、商業或科學上他們在各自的領域中對社會都有貢獻。Bobby 結婚後，花了 15 年時間進修其專業上的音樂，她的音樂同時也持續地使我們家庭及社交生活更多采多姿。

我在醫學院裡的活動當中，唯一和研究有關的是關於當時新的上皮細胞的 Papanicolaou smear 的研究。我發表一篇報告在學生波以烈士頓學會 (Student Boyleston Society) 上，Dr. Arthur Hertig 為我的指導教授。後來，我在 Peter Bent Brigham 醫院當外科實習醫生時將這項技術應用到臨床上。

我對組織及器官移植的興趣是在賓州的 Valley Forge General Hospital (VFGH) 的軍中經驗所引起的。作為一個只有九個月實習經驗的中尉，我被隨機指派到 VFGH 來等待到海外的任務。那時第二次世界大戰正猛烈地進行著，萊茵河還沒被越過，突圍之役 (the Battle of the Bulge) 也正進行著。

VFGH 主要是一家整形外科中心。在那裡，我投注我所有的空閒時間在整形外科病房

中，病房內有上百個因戰爭而受傷的病人。我喜歡和病人聊天，幫他們穿衣服，以及觀察想像中外科重建手術後的結果。

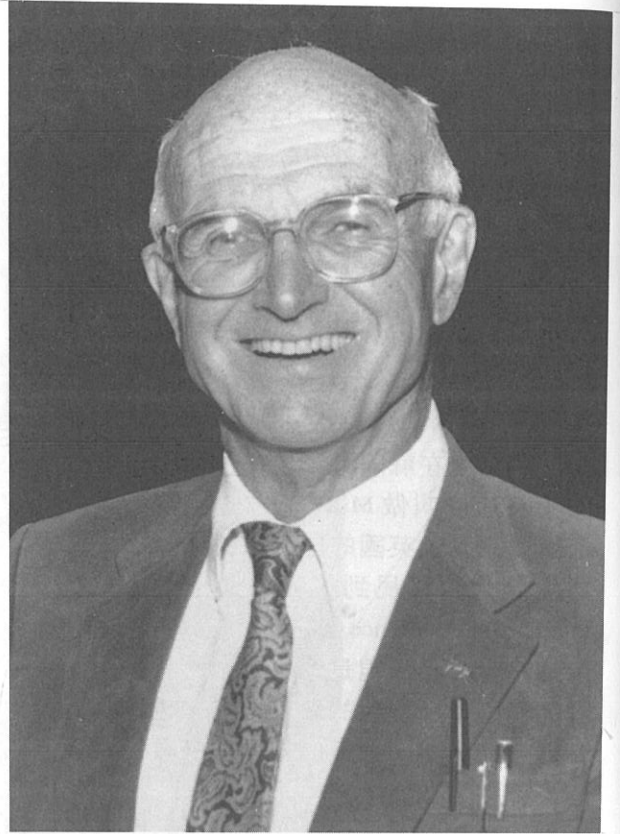
我在此間實習了數年直到整形外科主任 James Barrett Brown 上校，留意到我不分晝夜地出現在病房。他要求讓我留在 VFGH，而不像其他「九個月的天才」一樣被派往海外。三年後，也就是在戰爭結束之後兩年，我終於在 1947 年 11 月除役。

在當兵時，我們經常要照顧許多燒傷的病人。有的病人被燒傷的面積是如此的廣，使得可供移植的皮膚不足而無法進行自體移植。但為了保住他們的性命，我們仍從別人移來皮膚，做為暫時的敷蓋之用。

外來皮膚緩慢的排斥作用吸引了我。個體是如何判別外來的皮膚或是自己的皮膚？Brown 上校與我經常討論這個問題。後來 Brown 成為平民後曾經以暫時的皮膚異體移植治療過許多燒傷的病人，觀察並記錄從不同人移來的皮膚的差異性。他暫時性的提出一個假說，認為皮膚提供者與接受者之間的基因相關性越大，其移植的排斥就越緩慢。在 1937 年，他作了一個試驗將一對雙胞胎的皮膚互相移植，結果兩位皆永久存活。這項成果成為我研究器官移植的原動力。

我一生做為一個結合人性及科學的外科醫師・科學家，我已經得到很大的回饋。在我們每天的病人中，我們看到人性的本質；對陌生的恐懼，失望絕望，勇氣、瞭解、希望、退縮、英雄主義。如果我們留心的話，我們更可以發現新的須要解決的問題和新的探索的路徑。

我們實驗室的工作包含了和非臨床科學家的接觸。1960 年諾貝爾獎得主 Sir Peter Medawar，是我們實驗室及醫院的常客。他曾經在看了早期的腎臟移植病人後說，這是他第一次到醫院病房來。1988 年的兩位諾貝爾獎得主，Dr. George Hitchings 和 Dr. Trudy Elion，他們把我們實驗室當作自己的家一樣而且他們也知道我們許多實驗狗的名字。Sir Roy Calne（在哈佛醫學院我們的實驗室工作



且 1960-61 年間在 Peter Bent Brigham 醫院當外科研究人員)經常和我到紐約的 Tuckahoe 拜訪他們，並討論試驗用藥。再提到少數幾個其他基礎的研究者－Billingham, Eichwald, Amos, van Rood，他們也使我們的生活更增添色彩。

Medawar 說得最好：「這整個時期是免疫學的黃金時代，是綜合發現大有斬獲的時代，一個大家都認為該好好活著的時代。為這些問題而工作的我們都知道其他每一個人，而且儘可能的經常見面以交換意見及實驗室的新消息。

在休閒方面，我則熱衷於體力的運動。我們家曾露營、徒步旅行、乘牛車旅行，或背著背包行走過五大洲的部份地區。富競爭性的網球一直讓我感到有趣。我們家族，有十一個孫子、孫女，每年經常聚在一起，通常是每年夏天在麻薩諸塞州 Martha 的 Vineyard Island。

我們廣大的夢想已經在生活中受到祝福。

我唯一的願望就是在這個地球上再多活十輩子。如果那是可能的話，我會各花一輩子在胚胎學，基因、物理、天文及地質學。剩下的輩子想做為一個鋼琴家，隱居鄉間者，網球選手

及世界地理雜誌的作家。如果你看到這裏，你可能會發現我有一輩子還沒用到。那就是我要保留，使我可以再選擇另一個一生做為外科醫師・科學家。

HARVARD MEDICAL SCHOOL

JOSEPH E. MURRAY, M.D. (Emeritus)  
PROFESSOR OF SURGERY  
CHIEF OF PLASTIC SURGERY:  
*Brigham & Women's Hospital  
The Children's Hospital*



MAILING ADDRESS:

108 ABBOTT ROAD  
WELLESLEY HILLS, MA 02181

TEL.: (617) 235-4356  
FAX: (617) 235-2612

March 25, 1993

Chien-Ching Hsu, Chairman  
*Chung Shan Chyau Magazine*  
Chung Shan Medical & Dental College  
Department of Medicine  
6F, No. 6, Lane 58, Ta Chuan Street  
Taichung, Taiwan R.O.C.

Dear Dr. Hsu:

Dr. Murray is in receipt of your letter of March 4. As Dr. Murray is traveling at the present time, he asked that I get back to you.

Dr. Murray's busy schedule makes it impossible for him to commit the time to write an article for your magazine at the present time; however, he asked that I send you reprints of his Nobel lecture and an article he wrote which appeared in the journal *Science* in June 1992. I am also enclosing an 8 x 10 black and white photo for your use.

With very best wishes.

Sincerely,

*Julia M. Varriale*

Julia M. Varriale (Mrs.)  
Personal Secretary to  
Joseph E. Murray, M.D.

Enclosures (3)



# 人類第一個成功的器官移植

Joseph E. Murray, M.D. 著 蔡育泰 譯

## 前言：

如果榮耀是歸於整個機構而不是個人，那麼三十年前的 Peter Bent Brigham Hospital 就有資格得到這種殊榮（諾貝爾獎）。即使早期的努力曾遭過許多悲慘的挫敗，這家醫院的主管及行政階層仍不動搖他們對於治療末期腎臟疾病病人這個看似不切實際目標的堅持而支持他們持續投注心力的是一些偶發的成功事例，例如同卵雙胞胎移植。當時的主導人首推內科主任 Dr. George Thorn 及外科主任 Dr. Francis D. Moore。由於他們的領導力、創造力、勇氣及大公無私的特質使得 Peter Bent Brigham 這家醫院成了當時世界上獨一無二的資源(1)。

## 簡介：

雖然早在這世紀的前半就有零星的腎臟移植(2)(3)，但有計畫的器官移植卻是在 1940 年後才開始。當時在巴黎、倫敦、愛丁堡和波士頓就有一些臨床醫師在為尚未處理過的接受者中做腎臟移植，然而當時有許多科學家及有經驗的臨床醫師對這項試驗提出警告及悲觀的預測。

有許多生物科學家無法了解什麼因素使臨床醫師樂觀的想要找出可以治療末期尿毒病人的方法，或許是因這些病人大部分是年輕而且原本是健康的。有功能的腎臟移植的報告偶爾也會出現(4)(5)(6)；這些成功的暗示是對未來的鼓舞。

這次演講，我將集中重點在波士頓的 The Peter Bent Brigham Hospital（現在稱為 The Brigham & Women's Hospital）的腎臟移植計

劃及解釋這家小醫院對器官移植的參與情形。內科、外科部門及 Dr. Gustave J. Dammin 下的病理科部門為主導。而醫院的大多數部門也直接或間接地參與腎臟移植。

器官移植的成功是由三件事情所構成：腎臟疾病的研究，在雙胞胎的皮膚移植以及外科上的決心。

## 腎臟疾病

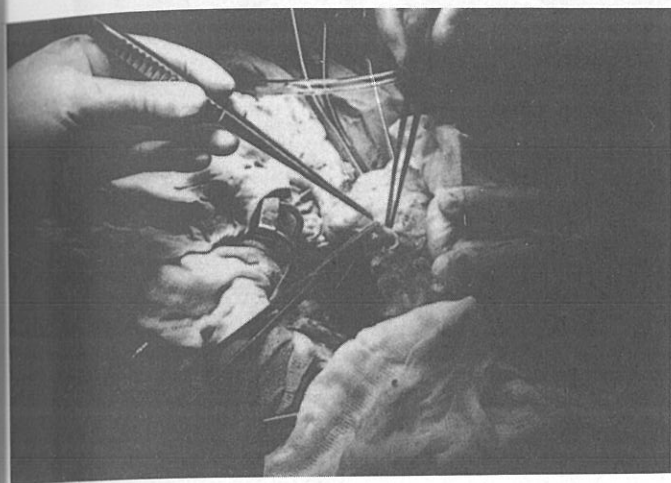
Dr. Henry Christian 及 Dr. Soma Weiss，這兩位在哈佛當教授的醫生對腎臟疾病有極大的興趣。1943 年 Dr. Thorn 接替 Dr. Weiss 的職位後，他和他的同伴 Dr. James O'Hare 延續了這個興趣，特別是高血壓與腎臟疾病的關係。第二次世界大戰後，Dr. Thorn 從荷蘭邀請了 Willelm Kolff 到波士頓來展示他在被德國人拘禁期間所發明的（尿酸）離透析機器。並由 Dr. Carl W. Walter 幫忙改良設計，於是 Kolff-Brigham 發明了“人工腎臟”。在 1948 年首次用於病人，而建立了治療急性腎臟疾病和末期腎衰竭病人的一個影響深遠、革命的階段。

因腎透析只能暫時改善病人病狀，所以激發吾人想尋求一個永久解決之道的動機。

## 雙胞胎皮膚移植的故事

這段故事涵蓋了生物上的同卵雙生與異卵雙生的現象。接觸同卵雙生的經驗是從治療燒傷開始的，異卵雙生則是從 Freemartin cattle 開始的。

1932 年 Kansas City 的 Dr. E. Padgett 有一



早年血管縫合術的進步，是促使器官移植美夢成功的功臣之一。

個皮膚異體移植的報告，對於嚴重燒傷而沒有足夠皮膚行自體移植的病人，從家人及不相關的人取皮膚來覆蓋。雖然這些接受皮膚移植的病人皆無法永遠存活，但大部份能保存一段時間以避免體液流失並且足以等待提供皮膚的部位再長出皮膚來。但是要確定確實的皮膚存活時間是相當不容易的。有的皮膚似乎逐漸消失並被鄰近的皮膚取代。有的會很快的被排斥掉(7)。

從家人取來的皮膚似乎存活的比來自不相關的人更久。不過，即使觀察了上百個異體皮膚的移植，也沒有人知道確切的存活時間。唯一確定的就是在 St. Louis 的 Dr. J.B. Brown 在 1937 年成功地將同卵雙胞胎的皮膚互相移植，而永久存活(8)。

這個事實雖然有其應用上的限制，卻是組織與器官移植問題的唯一曙光，直到 Gibson 及 Medawaz 發現第二次從同一供給者的皮膚移植的排斥現象比第一次來得快(9)。這個“第二次”現象說明其排斥過程是不相同的，它暗示著一種潛在的、可以被操控的免疫反應的步驟。

異卵雙胞的故事是 1779 年 John Hunter 對於 freemartin cattle 的敘述開始的(10)。Freemartin 就是一公一母雙胞胎的牛，但是公牛是正常的而母牛卻不是具生育能力。Hunter

引用羅馬人對此現象的描述並敘述了他後來在英國收集到的幾對異卵雙胞胎的生理特質。

1917 年 Lillie 解剖數對 Freemartin cattle 的胎盤，並注意到胎盤血液在這些不同性別雙胞胎間的混合(11)。但直到三十年後才由 Owen 發表這種胎盤血液混合循環的包容性結果(12)。接著 Anderson 在 1949 年報告了在 Freemartin 及正常公牛間的成功皮膚移植(13)。

當 Billingham, Brent 及 Medawar 的報告描述了剛出生時將供給者細胞注入異體移植接受者中產生的後天免疫包容性將 Freemartin 的故事帶到了最高潮(14)。他們指出這是一個相對於 Owen 的自然發生模型的實驗。雖然無法用於臨床上，但卻使免疫上許多令人絕望的問題更樂觀。

Michael Wooduff 爵士是愛丁堡的尖端器官移植外科醫師，他發現一對一男一女的雙胞胎共用來自不同型態的紅血球成分。在他們有共用的胎血循環的先決條件下，他成功地將他們的皮膚互相移植(15)。因此確立了人類的 Freemartin 觀念。

### 外科上的決定因素

1912 年 Dr. A. Carrel 因血管縫合以及血管和器官的移植而得到諾貝爾獎。他清楚地確認在實驗動物上自體移植和異體移植有不同的存活時間。不過，他並沒有將移植破壞過程的排斥作用觀念化。

Quinby 在 1916 年利用狗腎自體移植模型來研究去神經後對腎功能的影響(16)。十年後 Mann 及 Williamson 發現狗腎自體移植及異體有不同的存活時間(17)(18)，但他們卻沒有繼續長時間地觀察自體移植。第二次世界戰後，Dempster (19) 及 Simonsen (20) 發表了影響深遠的狗腎臟移植，主要關於異體移植排斥作用的生物及生化作用。他們說明了無論是皮膚或腎臟的異體移植皆帶有一個共同的抗原，接受者在之後接受同樣提供者的組織時會產生敏感。在這些報告中，都有一個心照不宣的假設，就是腎臟自體移植，其功能最後還是會被破壞掉。這可能是缺少神經或淋巴支配的因素。

從生理的觀點來看，如果人類的腎臟移植



管。尿液利用輸尿管皮膚造口術收集到一個袋子裡<sup>(2)</sup>。

有些人類的移植比狗的還好。可能的解釋是尿毒症或經常發生在腎臟上的急性腎小管壞死 (acute tubular necrosis) 會有助於壓抑免疫反應。有一個病人接受移植後，腎功能發揮將近六個月而且病人的生化測試及血壓皆正常，

### 三個蹤跡相合

這三個蹤跡在 1940 年代末期在 Peter Bent Brigham 醫院合在一起。所有腎臟移植所需要的技術都到齊了：對腎臟疾病有足夠的經驗與知識，能夠透析，而且有高度技術和想像力的外科醫師。為了使傷害達到最小，第一個在未處理的人體上的移植是利用局部麻醉，將第三顆腎加在大腿上。Dr. David Hume 是這些病人的外科醫師，他將腎血管吻合到大腿的血要成功的話，我們需要將腎臟移植到一個永遠沒有免疫障礙的地方。因為有許多狗的腎移植試驗要做，我發展了一個可以再做的手術，把放在下腹部利用腹部內血管吻合及輸尿管膀胱造口吻合術來將液抽出。從此以後這變成了普遍的腎臟移植過程。對於部份自體體移植後的腎臟，兩年完整的功能性研究證實它們是正常的<sup>(21)</sup>。

這顯示器官移植可以矯正腎在病理生理上的不正常。

1945 年在 Brigham 的第一個腎臟移植有必要特別加以解說。病人是一位年輕的女性，腎衰竭且有產科併發病。此次移植的目的是要提供暫時的腎臟功能，直到她的腎臟能從急性腎小管壞死恢復功能為止。

利用局部麻醉及輸尿管皮膚造口術將外表的腎臟吻合到肘前的空間。

根據當時 Dr. Robert J. Claster 說：尿的分泌量極少，而且確定是沒有，必須趕快拯救病人脫離險境。腎臟功能不好，而且只有短暫的功能。而病人繼續有強烈的症狀出現。雖然當時我們不了解何種是最好的方法來處理腎臟失去功能，不過，很幸運地，她最後仍變好了，離開醫院時，她的腎功能正常、身體健康。

不過 Dr. Glaser 後來報告說病人快樂的狀態是短暫的，因為她幾個月後因猛暴性肝炎死去。Dr. Glaser 仍記得提供腎臟的那位病人。她得到全身性紅斑痕瘡。一般得到這種病的人，腎臟多半遭到破壞，但她的卻沒有<sup>(23)</sup>。

### 同卵雙生胞胎病人

1954 年的秋天，美國公立衛生服務處的

Dr. Donald Miller 通知 Dr. Merrill 一個嚴重的腎臟病人。Dr. Miller 還建議他或許可以接受腎臟移植，因為他有一個健康的雙胞胎兄弟。不用說，器官移植的工作小組對於這種基因相容的器官移植的可能性感到興趣。他們已準備將實驗室的外科技術應用到人身上。

剩下的便是道德問題。要把健康的人器官移走而使別人受益，這是在醫療史上第一次要健康的人坐在手術檯動大手術。在跟本地及外地各個教派的牧師磋商後，我們都覺得對器官接受者、提供者及他們家人動手術是合理的。我們詳細討論了準備細節、麻醉、手術過程，可能的併發症及總合的結果。

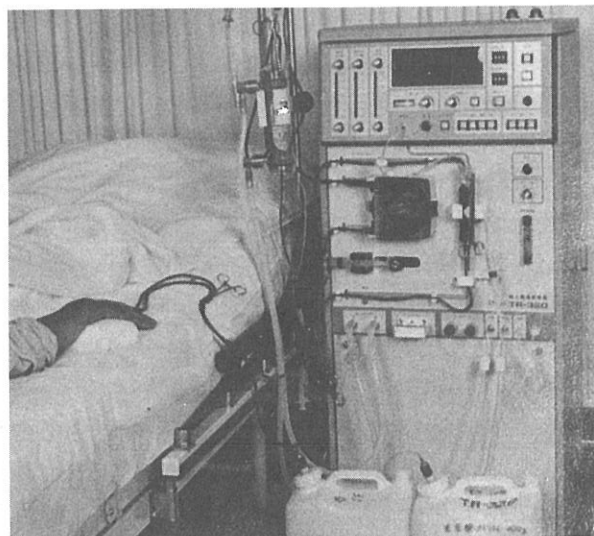
在我們手術前會議總結的時候，一位器官提供者 Ronald 問及：「如果他決定捐贈器官，醫院是否願意負起責任來照顧他以後的健康？」他的手術外科醫師 Dr. Harrison 說：「當然沒有。」但他緊接著一個問題：「Ronald，你認為在你需要幫忙的時候，在這房間裡的人有人會拒絕嗎？」Ronald 於是不言，他了解到他的未來是仰賴於我們對專業的責任感，而不是法律上的保險。

當工作小組決定開始進行手術時，一個專業的擔子落在進行器官提供者腎臟切除術的醫師身上。這是因為他的病人是被預期要正常地存活的。相反地，在進行器官移植這一方面的醫師則是為即將死去的病人動手術，即使手術失敗，也無法怪罪他們。

移植後的腎臟立即發揮功能，在病人的腎及心肺功能有戲劇性的進展。這偉大的成功說明了器官移植是可以拯救生命的。就某些意義而言，雖然我們達成長久以來的目標，但我們只是向未來探索。因為我們並沒有解決生物上不相容的問題，而是避開了這個問題(24)(25)。

### 隨後的實驗室及臨床研究

這個衝擊是世界性的，而且也刺激了眾多實驗室企圖想突破免疫上的障礙。這些實驗性的方案包括了：全身 X 光照射後再接著注入骨髓、連續地移植以麻痺免疫系統、事先將抗原暴露，以紅血球及白血球的型態來將器官提供



洗腎治療的情形。病情嚴重的患者每週必須接受一至三次，每次長達四至五小時。

者及接受者配對，以及使用如 toluene 及 nitrogen mustard 之類的藥物。

在實驗室及臨床上我們繼續研究。在一系列的尿毒病人當中，我們注意到皮膚移植存活了一段較長的時間，這說明了尿毒狀態可能會抑制免疫機能(26)。在一系列狗的實驗中，我們將腎部份挖空，將毒素注入腎動脈，形成暫時的缺血，或熱的效應，以造成腎缺陷的狀態，但卻沒有成功。而使用類固醇或抗凝集素以延長移植的存活時間也告失敗(27)。

為了研究“X 射線骨髓(X-ray marrow)”這個對人類最有潛力的方案，我們利用了老鼠及兔子。使用致命量或尚未致命量的全身 X 射線照射，接著注入來自一個或多個提供者的骨髓，由此我們可以得到有限度的活得較久的皮膚移植(28)。

我們以類似的方法在 1950 年代移植了幾對雙胞胎。有一對是在 1956 年移植的，兩年後她懷孕了(29)。她現在是位祖母，也是腎臟移植病人當中存活最久的。提供給她器官的人是一位健康的祖母。剛開始雙胞胎被認為是個特殊例子，但後來卻發現世界各地似乎都出現這樣的例子。據估計至少有十五個病人接受器官移植，是從雙胞胎中來的。

這些年來有幾個病人，其單獨的腎臟受到



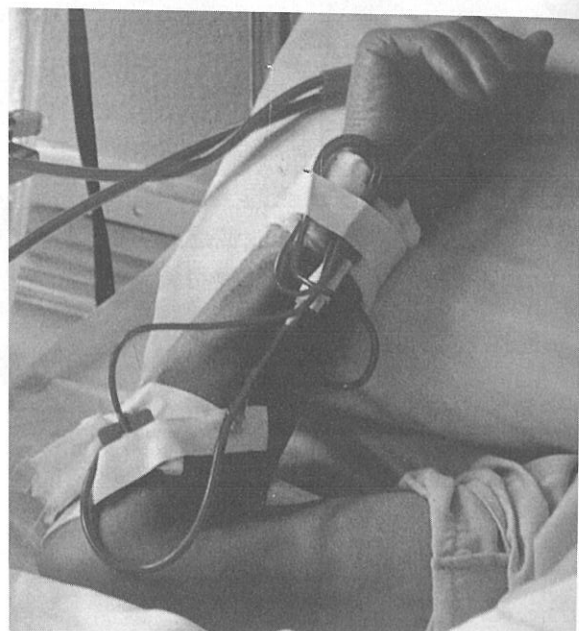
意外的損害。因為我們得到具有鼓勵性質的實驗結果相當有限，用X射線骨髓法（亦即全身X射線照射後，接著注入骨髓和腎臟移植）來治療這些病人似乎成了可行的方法。對大部份的病人而言，這種方法使腎臟立即發揮功能且持續數週，但十二個病人中只有一個能持續超過三個月。

我們第三個病人是個成功的例子。他是異卵雙生且接受沒有骨髓需求的非致命量全身X光照射。在1959年由Dr. James B. Dealy執行手術，從他雙胞胎兄弟移來腎臟。他從一些手術後併發症中康復過來。之後有一大段完全的正常生活，直到25年後因心臟問題去逝。他是世界上第一個成功的異體腎臟移植，並且鼓勵和刺激我們繼續使用這個方法，直到有可用的藥為止(30)(31)(32)。在巴黎的Hamburger工作小組之後也有類似的成功例子：異卵雙胞胎的腎臟移植，接續著非致命劑量X光照射。

### 第一個人類遺體器官移植

雖然我們在1958年就在兔子的實驗中用Thio TEPA來取代全身的X光照射(33)，但真正的突破是Schwartz及Dameshek在1959年介紹的免疫抑制藥(34)。他們施以兩週的抗代謝藥：6-Mercaptopurine，能使兔子不產生人類血清蛋白的抗體。這種「藥劑引發的包容性」能持續下去直到停止給藥為止，而且這隻動物還能與別種蛋白質抗原反應。所以包容性似乎對給藥期間進入的抗原有特異性。倫敦的Roy Calne (35)及維吉尼亞州的Charles Zukoski (36)以狗的腎臟移植來測試這個藥，而且得到令人振奮的結果。

在Sir Peter Medawar的建議下，Calne在1960年前來波士頓與我在哈佛醫學院的Dr. Francis D. Moore的部門和Peter Bent Brigham醫院一起工作。Calne把我們介紹給Burroughs-Wellcome實驗室的Dr. Hitchings和Dr. Elion，他們是熱誠認真的工作夥伴。由於Calne的到來及使用Dr. Hitchings提供的藥，使異體移植的存活率快速且明顯的改善。不久，我們實驗室就有許多兩邊腎臟都切除的狗靠著單一異體移植來的腎臟存活著。有些活



了幾個月，有的還活了上年。一隻母狗和有藥物治療的公狗還生了一窩正常的小狗。有一隻狗還從嚴重的下頷骨髓炎康復，這說明牠並不是完全免疫不良的——一個我們害怕長期使用藥物會導致的狀態(37)。在這一段期間，我們測試了Hitchings及Elion的其他藥物。他們兩人皆是我們經常的訪客，而且也知道我們大部份狗的名字。BW-322這個實驗用藥，是6-MP的衍生物，似乎有最佳的療效指標。這個藥現在被稱為azathioprine，或Imuran，已經在世界各地用了20年來支持器官移植。現在已有了新藥而且也在研究擴展它的用處及降低它的毒性。

由於這些結果的確定，我們決定將這些藥用在人類上以抑制免疫反應。第一個接受azathioprine的病人是在1961年三月接受腎臟移植的。移植後一個月內皆正常，但後來病人死於藥的毒性，因為狗的劑量對人類而言是有毒的(38)。

我們第二個病人也死於藥劑毒性，雖然我們已把劑量減半。這是在我們的經驗中，第一次能反逆排斥過程。當病人白血球過少，我們停止用藥，而排斥作用則開始發生。當他的白血球數有改善時，我們重新給藥而使排斥過程反逆，而且腎功能也會改善。但無論如何，一個月後他終究還是形成了敗血症。



我們第三個病人，在1962年四月接受移植，是用遺體腎臟移植並接著 azathioprine 治療。他存活超過一年，而且是世界上第一個無關係的腎異體移植成功的病例。我們將這個結果發表在 *New England Journal of Medicine* (39)，及病例報告於 *Journal of the American Medical Association* (40)。加州大學洛杉磯分校的 Dr. Willard Goodwin，幾乎在同時介紹了用皮質醇來做副屬治療藥(41)。接著，有許多器官移植團體也都開始了他們的器官移植計劃。

在1965年的異體腎移植，從有遺傳基因關係移植的腎臟，存活率約80%，而遺體移植約65%。區域性的及全國性的器官捐贈計劃已建立起來，且有國際腎臟移植登記 (*International Renal Transplant Registry*) (42)。在馬、綿羊和兔子體內所準備的抗淋巴球血清及免疫球蛋白，還有胸管淋巴球的抽取是我們測試中最有效的方法。目前估計，世界上已進行了二十萬個人類腎臟移植。

### 其他器官

腎臟移植的成功自然地引導我們去移植其他的器官。Moore 發展了 orthotopic canine 狗肝移植的外科技術(43)，也就是 Starzl 第一個成功的肝移植所使用的模型程序(44)。Calne 回到英國劍橋後，也發展了影響深遠的肝移植經驗。Starzl 和 Calne 完成了將近15年的世界上大多數的肝臟移植(45)。今天，肝移植在頻率上僅次於腎臟，而且也在世界各地進行著。

下一個要移植的器官是心臟。Lower 及 Shumway 已經在1961年在狗上發展了外科技術，而且也計劃應用到人類上。自從 Barnard 在1967年第一次人類心臟成功移植後，其他沒有免疫學背景的心臟外科醫生進行移植手術，雖然增加了許多心臟移植病人，但只眼睜睜地看他們在幾個月內因產生排斥而死去。在1968至1970年這段期間無疑是器官移植最黑暗的時期。只有史丹佛大學承襲心臟移植的優點，繼續 Shumway 的計劃，終於在1970年得到永久性的成功(46)。現今由於新藥的發展，心臟移植是一個被認同且可被接受的治療。

接著就有單邊肺臟及雙邊肺臟的移植，以

及心肺移植。胰臟，不管有沒有與腎臟一同移植，也頗普遍。多器官移植也有成功的例子。在1989年，就有8,890個腎臟移植，2,160個肝臟移植，1,673個心臟移植，413個胰臟移植，67個心肺移植在美國進行(42)。

出乎意料地，以前常被拿來做研究的皮膚移植，已被證實是最困難的。皮膚是個體對抗外在環境最有用的機制，而且也已演化成對抗外來蛋白質最強的障壁。然而對皮膚的研究導致了其他器官移植的成功。Medawar 在比較了皮膚與腎臟移植的存活率後，以其慣常的口吻說：「器官移植的成功，已推翻了皮膚移植的暴政。」

### 未來的展望：

雖然各種抑制免疫的方法拯救了許多人的生命，但治療過程仍會出現嚴重的併發症。我們的目標是要使器官接受者能對器官有免疫包容性，並減少對藥物的需求。有一個線索，不管是在實驗室中(49)或在人身上(50)，肝臟本身能產生免疫包容性因子，如此便能減少免疫藥物的需求。尋找天然的免疫抑制藥似乎也是可能的，這些就像45年前要成功地移植器官一樣地有可能。(©The Nobel Foundation 1991.)

### BIBLIOGRAPHY

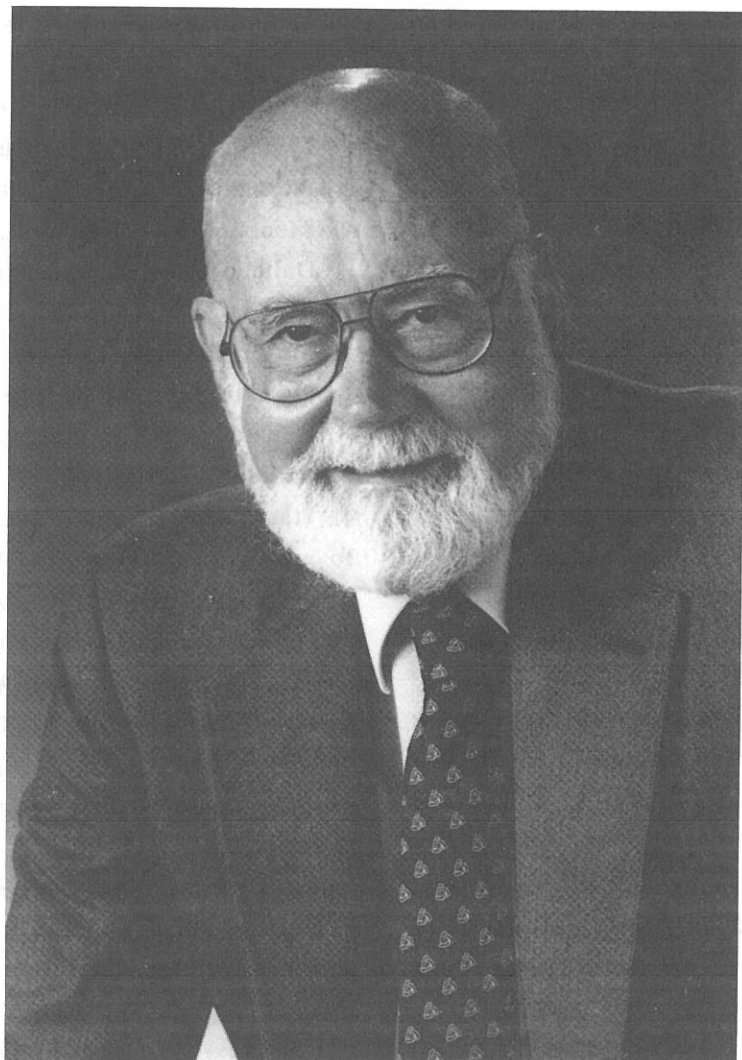
1. Starzl, T.E.:The Landmark Identical Twin Gase. *JAMA*. 251:2572, 1984
2. Moore, F.D.:*Transplant, The Give and Take of Tissue Transplantation*. Simon and Schuster New York, 1972, p. 66.
3. Groth, C.E.:*Collective Review. Landmarks in Clinical Renal Transplantation*. S.G.& O. 134:323,1972.
4. Lawlor, R.H., Weat, J.W., McNulty, P.H., Clancy, E.J. and Murphy, P.P.:*Homotransplantation of the Kidney in the Human: Supplemental Report of a Case*, *JAMA*. 147:45, 1951.
5. Kuss, R. Teinturier, J., and Milliez, P.: *Quelques Essais de Greffe du Rein chez L'*

- Homme. Mem. Acad. Chir. 77:755,1951.
6. Michon, L., Hamburger, J., Economos, N., Delinotte, P., Richet, G., Vaysse, J. Antoine, B.: Une Tentative de Transplantation Renale chez L'Homme: Aspects Medicaux et Biologiques. La Presse Medicale: 61:1419,1953
  7. Padgett, E.C.: Is Iso-skin Grafting Practicable? Southern Med. J. 25:895,1932
  8. Brown, J.B.: Homografting of Skin: With Report of Success in Identical Twins. Surgery. 1:558,1937
  9. Gibson, T. and Medawar, P.B.: Fate of Skin Homografts in Man. J. Anat. 77:299,1942-43
  10. Hunter, J.: On the Free Martin. Royal Coll. Surg. XX, Fed. 25,1779
  11. Lillie, F.R.: The Theory of the Free-Martin Science. 43:611,1916
  12. Owen, R.D.: Immunogenetic Consequences of Vascular Anastomoses Between Bovine Twins. Science. 102:400, 1945
  13. Anderson, D., Billingham, R.E., Lamkin G. H. and Medawar, P.B.: Use of Skin Grafting to distinguish between Monzygotic and Dizygotic Twins in Cattle: Heredity. 5:379, 1951
  14. Billingham, R.E., Brent, L. and Medawar, P. B.: Actively Acquired Tolerance of Foreign Cells. Nature. 172:603,1953
  15. Woodruff, M.F.A. and Lennox, B.: Reciprocal Skin Grafts in a Pair of Twins Showing Blood Chimerism. Lancet. 2:476,1959
  16. Quinby, W.C.: The Function of the Kidney When Deprived of Its Nerves. J. Exper. Med. 23:535,1916
  17. Williamson, C.S.: Further Studies on the Transplantation of the Kidney. J. Urology. 16:231,1926
  18. Sterioff, S., Rucker-Johnson, N.: Frank C. Mann and Transplantation at the Mayo Clinic. Mayo Clinic Proceedings. 62:1051,1987
  19. Dempster, W.J.: The Homotransplantation of Kidneys in Dogs. Brit. J. Surg. 40:477,1953
  20. Simonsen, M., Buemann, J., Gammeltoft, A., Jensen, F. and Jorgensen, K.: Biological Incompatibility in Kidney Transplantation in Dogs. Acta. Path. Microbiol. Scand. 32:1,1953
  21. Murray, J.E., Lang, S., Miller, B.J. and Dammin, G.J.: Prolonged Functional Survival of Renal Autografts in the Dog. SGO. 103:15,1956
  22. Hume, D.M., Merrill, J.P., Miller, B.F. and Thorn, G.W.: Experiences with Renal Homotransplantation in the Human: Report of Nine Cases. J. Clin. Inv. 34:327,1955
  23. Glaser, R.J. Footnotes to Kidney Transplant History. Focus: March 31,1988, page 8. Published by Harvard University News Office for the Medical Area, 25 Shattuck Street, Boston, MA, 02115
  24. Murray, J.E., Merrill, J.P. and Harrison, J. H.: Renal Homotransplantation in Identical Twins. Surg. Forum. 6:432,1955
  25. Merrill, J.P., Murray, J.E., Harrison, J.H. and Guild, W.R.: Successful Homotransplantation of the Human Kidney Between Identical Twins. JAMA. 160:277,1956
  26. Dammin, G.J., Couch, N.P. and Murray, J.E.: Prolonged Survival of Skin Homografts in Uremic Patients. Ann. NY Acad. Sci. 64:967, 1957
  27. Lang, S., Murray, J.E. and Miller, B.F.: Homotransplantation of Ischemic Kidneys into Dogs with Experimentally Produced Impairment of Renal Function. Plas. Rec. Surg. 17:211,1956
  28. Wilson, R.E., Dealy, J.B., Sadowsky, N., Corson, J.M., and Murray, J.E.: Transplantation of Homologous Bone Marrow and Skin From Common Multiple Donors Following Total Body Irradiation. Surgery. 46:261,1959
  29. Murray, J.E., Merrill, J.P., and Harrison, J. H.: Kidney Transplantation Between Seven Pairs of Identical Twins. Ann. Surg. 148:343, 1958
  30. Murray, J.E., Merrill, J.P., Dammin, G.J., Dealy, J.B., Walter, C.W., Brooke, M.S. and Wilson, R.E.: Study of Transplantation

- Immunity After Total Body Irradiation: Clinical and Experimental Investigation. *Surgery*. 48:272,1960
31. Merrill, J.P., Murray, J.E. Harrison, J.H., Friedman, E.A., Dealy, J.B. and Dammin, G. J., Successful Homotransplantation of the Kidney Between Nonidentical Twins, *New Eng. J. Med.* 262:1251,1960
  32. Murray, J.E., Merrill, J.P., Dammin, G.J., Dealy, J.B., Alexandre, G.P.J. and Harrison, J.H.: Kidney Transplantation in Modified Recipients. *Ann. Surg.* 156:337,1962
  33. Porter, K.A., and Murray, J.E.: Homologous Marrow Transplantation in Rabbits After Triethylenethiophoramide (Thio-TEPA). *AMA Archives of Surgery*. 76:908,1958
  34. Schwartz, R. and Dameshek, W.: Drug-Induced Immunological Tolerance. *Nature*. 183:1682,1959
  35. Calne, R.Y.: The Inhibition of Renal Homograft Rejection in Dogs by 6 Mercaptopurine. *Lancet*. 1:417 1960
  36. Zukoski, C., Lee, H.M., and Hume, D.M.: The Prolongation of Functional Survival of Canine Renal Homografts by 6 Mercaptopurine. *Surgical Forum*, 11:470,1960
  37. Calne, R.Y., Alexandre, G.P.J., and Murray, J.E.: A Study of the Effects of Drugs in Prolonging Survival of Homologous Renal Transplants in Dogs. *Ann. NY Acad. Sci.* 99:743,1962
  38. Murray, J.E., Balankura, O., Greenburg, J.B. and Dammin, G.J.: Reversibility of the Kidney Homograft Reaction by Retransplantation and Drug Therapy. *Ann. NY Acad. Sci.* 99:768,1962
  39. Murray, J.E., Merrill, J.P., Harrison, J.H., Wilson, R.E. and Dammin, G.J.: Prolonged Survival of Human-Kidney Homografts by Immunosuppressive Drug Therapy. *N.E.J. Med.* 268:1315,1963
  40. Merrill, J.P., Murray, J.E., Takacs, F., Hager, E.B., Wilson, R.E. and Dammin, G.J.: Successful Transplantation of Kidney from a Human Cadaver. *JAMA*. 185:347,1963
  41. Goodwin, W.E., Kaufman, J.J., Mims, M.M., Turner, R.D., Glasscock, R., Goldman, R. and Maxwell, M.M.: Human And Renal Transplantation I. Clinical Experiences with Six cases of Renal Transplantation. *J. Urol.* 89:13,1963
  42. Murray, J.E., Barnes, B.A. and Atkinson, J. C.: Fifth Report of the Human Kidney Transplant Registry. *Transplantation*. 5:752,1967
  43. Moore, F.D., Smith, L.L., Burnap, T.K., Dallenbeck, F.D., Dammin, G.J., Gruber, U. F., Shoemaker, W.C., Steenburg, R.W., Ball, M.R., & Belko, J.S.: One Stage Homotransplantation of the Liver following Total Hepatectomy in Dogs. *Transplantation Bulletin*. 6:103,1959
  44. Starzl, T.E., Groth, C.G., Bretschneider, L., Penn, I., Fulginiti, V.A., Moon, J.B., Blanchard, H., Martin, A.J., Porter, K.A.: Orthotopic Transplantation of the Human Liver *Ann. Surg.* 168:392,1968
  45. Calne, R.C. & Williams, R. Liver Transplantation in Man. I. Observations on Technique and Organization in Five Cases. *Brit. Med. J.* 4:535,1968
  46. Dong, E., Griep, R.B., Stinson, E.B., Shumway, N.E. Clinical Transplantation of the Heart. *Ann. Surg.* 176:503,1972
  47. U.S. Dept. of Health and Human Services, Division of Organ Transplantation, 5600 Fishers Lane, Rockville, MD 20857
  48. Medawar, P.B.: Transplantation of Tissues & Organs: Introduction. *Brit. Med. Journal*. 21:97,1965
  49. Calne, R.Y., Sells, R.A., Pena, J.R., Davis, D.R., Millard, P.R., Herbertson, B.M., Binns, R.M., Davies, D.A.L.: Induction of Immunological Tolerance by Porcine Liver Grafts, *Nature*. 233:472,1969
  50. Davies, D.R., Pollard, S.G., and Calne, R. Y.: Forum on Immune Suppression: Hellenic Transplantation Society. Athens, Greece, Nov. 6-8,1990

# 1990年諾貝爾醫學獎得主

Dr. E. Donnall Thomas



*E. Donnall Thomas*

在骨髓移植未發展之前，白血病患者存活機會非常渺茫。1956年 Dr. E. Donnall Thomas 成功完成人類第一個骨髓移植。他首先提出骨髓移植的構想並確立其治療法，使過去苦無治療方法的病患，獲得生機。骨髓移植早期多用於治療再生不良性貧血和急性白血病。目前由於新一代更優良的抗排斥藥物配合下，骨髓移植可推廣至多發性骨髓瘤、淋巴瘤及固態腫瘤的治療。Dr. Thomas 在這方面厥功至偉，稱他為「骨髓移植之父」實不為過。目前 Dr. Thomas 任職於西雅圖哈奇森癌症研究中心。



# Dr. E. Donnall Thomas 自傳

E. Donnall Thomas, M.D. 著 劉淳菁 譯

我的父親，Edward E. Thomas 醫師，出生於 1870 年，四歲時坐著馬車，全家搬到了德州。在這荒漠的地帶，他幾乎沒有受過正式的教育，但他還是在 University of Louisville, Kentucky，得到了他的醫學士學位。父親的第一任太太死於肺結核，而我則是他第二位太太的唯一兒子。我在他 50 歲時出生，父親是在德州的一個小鎮當一位家庭醫師，而我們在一起時，無所不談，從馬匹到病人電話求診到高科技的醫學。

我的高中同學有 15 人，而我即使在這一小群人裡也是毫不出色。1973 年在我進入 University of Texas，第一個學期我的成績也只有「B」而已。但是當一年一年的課業變得更困難而有挑戰性時，我開始喜歡念書了，特別是化學及化工方面，四年後我取得了學士，再過兩年後我得到了碩士學位。

在我大學時正逢經濟大恐慌的後幾年，錢幾乎是不存在的，而我必需在幾個較奇特的場所工作，其中之一便是在女生宿舍餐廳當侍者。在一個一月的早上，德州很稀罕地下雪了，而在這個早上，我遇到了那位和我一起打雪戰的人，Dorothy Martin，從以前到現在都一直陪著我奮鬥和努力，我們共同養育了三個孩子。老人在 Montana 當內科醫師，老二是從商，而女兒則是 University of Washington 的傳染病科的主治醫師，我們一共有 8 個孫子。

我在 1943 年進入了哈佛醫學院。在這段期間，Dorothy 放棄了她的記者工作，成爲一位實驗室技術人員，而且一直工作贊助家裡。

她在寫作，實驗室技巧及圖書方面對我的工作有極大的幫助，我在 1946 年取得了我的醫學士學位。

以後便是我一連串實習醫師的訓練，在我的摯友 Dr. Clement Finch 的領導，有了一年血液學的訓練，軍中待了兩年，一年在 M.I.T. (麻省理工學院) 的研究工作，兩年的位院醫師，而最後於 Boston 任總醫師，在那時 Dr. Joseph Murray 爲一名外科住院醫師，因我們在移植方面的共同興趣，我們成爲了好友及工作上的夥伴，他的第一位腎臟移植病人便是在我的病房接受照顧。

在醫學院時，我開始對骨髓及白血病產生興趣而 Dr. Sydeny Farber，因給了我第一個實驗室，更刺激了我在這方面的研究。很幸運地，我目睹了第一個得到 ALL (Acute Lymphoblastic Leukemia) 的小孩因服用了 antifolate drug (抗葉酸藥) 而病情得到了緩解，而這之後，我開始對會刺激骨髓功能的因子產生興趣。這一方面也是因爲 Allan Erslev 在 erythro-poietin 方面所致，在 M.I.T. 這幾年一直致力於刺激因子的我一直都希望能把這應用於骨髓刺激因子，但很幸運地，我離開了這方面的研究，因爲這方面因基因重組 (recombinant technology) 的技術，這幾年才真正地往前邁開一大步。

我一直都被一些其它的實驗深深地吸引著：由 Dr. Leon Jacobsen 的研究指出，遮蔽的脾臟可防止老鼠受到幅射線的破壞，而 Egon Lorenz 也證明骨髓注射也同時有保護作



用，在1955年，Main and Prehn刊登的論文中，指出受骨髓注射所保護的老鼠可接受其骨髓捐贈者的皮膚移植，利用細胞學診斷捐贈者染色體顯示，這種幅射保護作用仍是由於骨髓細胞的存活而致。

在1955年，由於Dr. Joseph Ferrebee的邀請，我到了New York一個Columbia University的關係機構，我們馬上開始著手在人體及在狗的骨髓移植，選擇狗是因為在臨床照顧上和人類較相同，除了在某些同卵雙胞胎(identical twins)，我們立即發現異體移植是相當困難的，於是我和工作同仁們集中精神於狗的移植，雖然這段期間我們渡過了許多寒冷的冬天，但是我們也因此有機會大量討論，使我們的工作更有效率。這些年對我以後的研究有極多的幫助，因為大部份的基本原理都是在那段期間發展出來的。

在1963年，我受到了Dr. Robert Williams，一位極富盛名的內分泌學家的邀請而到了西雅圖University of Washington。由於Dr. Williams深知大學的醫學部還在啓蒙階段，且被孤立在美國的西北部，他便和它的研究機構取得合作關係，使醫學部能在學術研究上更進一層，因此，我進入了Seattle公立醫院(Public Health Hospital)。

從此以後，故事似乎就變很短了，我們召集了一群年輕而極度智慧的工作同仁；在免疫及生物放射的研究；從Amos, Payne及Dausset所借有關Human Histocompatibility的知識；緊急加護醫學的護士組成；最後我們知道得到Aplastic Anemia, Adv. Leukemia或是遺傳疾病可因骨髓移植而治癒。

我們的醫師及護士們已證明他們有著極度奉獻的精神及沉著的態度。當然，我們也是有遇到似乎無法克服的困境，在1972年，Seattle Public Health Hospital因政府的緣故而面臨關閉。在經過多次溝通後，我們找到一個暫時的醫院。三年後，我們搬到了另一個癌症研究中心，在那兒有更好的設備及更多機會擴展我



FRED  
HUTCHINSON  
CANCER  
RESEARCH  
CENTER

Clinical Research Division  
1124 Columbia Street  
Seattle, WA 98101

April 30, 1993

Chien-Ching Hsu  
Chairman of the Chung Shan Chyau magazine  
6F, No 6, Lane 58, Ta Chuan Street  
Taichung Taiwan  
Republic of China

Dear Dr. Hsu:

Thank you for your kind letter of March 4 requesting an article for your magazine. Unfortunately, I have a very heavy travel schedule as well as a number of other professional commitments so do not have time to write an article at this time. I am enclosing a copy of my talk at the Nobel Prize celebration in Stockholm. It also includes some biographical information. If you write to the Nobel Foundation, Box 5232, S-10245, Stockholm, SWEDEN, you can probably get permission to print part or all of it.

I hope that this will meet your needs.

Sincerely yours,

E. Donnell Thomas, M.D.  
Professor of Medicine, Emeritus, UW  
Member, FHRC

EDT/dt  
Enclosures

們的研究，當這些研究還在繼續發展時，已經有四千多位骨髓移植完成了。

要把這一生幫助過我，與我共事過的成員一一列出是相當困難的。這20年來，我的人生觀及許多的靈感均是由每天和這一小群工作同仁中所影響，這些人也是在醫學領域上有極大的特色，Bob Epstein, Reiner Storb, Dean Buckner, Reg Clift, Paul Neiman和Alex Fefer和我在Seattle開始了許多的歷險，除了Bob以外，其他到今天仍共事著。Ted Graham在我的動物實驗中扮演了一個重要的角色，在這段期間，我們又有了Joel Meyers, Fred Appelbaum, John Hansen及其他許多貢獻者一起和我分享這個獎。

# 骨髓移植的過去、現在和未來

E. Donnall Thomas, M.D. 著 劉淳菁 譯

在40年代，當我還在就讀醫學院時，在不同遺傳基因的個體實施移植手術，幾乎都會排斥，然而Burnet's假說及Medawar's實驗開始為移植免疫學及耐受性的可能開創了一條路(Nobel Laureates,1960)。養殖的老鼠及人類同卵雙胞胎似乎可以接受彼此之間的移植，Dr. Murray以及他的同事們成功地完成了第一宗由同卵雙胞胎的腎臟移植。在那時候是一種英雄式的戰勝，但現在看來幾乎只是例行公事。而骨髓移植的可能性似乎更微小，因骨髓細胞並不能被種植的。

在1939年，Osgood等人(1)在再生不能性貧血(Aplastic anemia)的病人體內注射了一些骨髓，但並無收獲。Reker等人(2)在一個政府的原子能機構試圖利用同種技術，使受過輻射的實驗狗之骨髓功能可再復發。這些研究報告都在1950年時發表。現在看起來，這些實驗是失敗了，因為動物所受的輻射線，無法達到可同組織移植的免疫抑制能力。

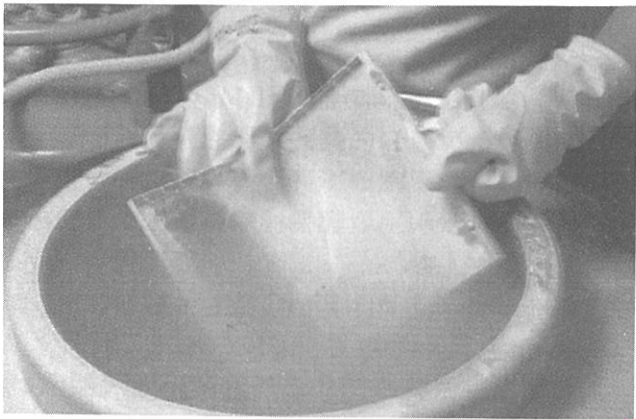
1949年，Jacobson等人(3)發現由鉛保護脾臟的動物不會受致死劑量輻射線的傷害。剛開始被認為這是因為脾臟刺激因子的保護作用。後來Lorenz等人(4)發現同種動物利用骨髓注射也可達到保護作用。那時候，因我自己在刺激因子上的研究(5)及骨髓代謝的工作(6)(7)使我對這些研究深感興趣。

在1955年，Main和Prehn發表的論文表示，因骨髓注射而免受到輻射傷害的老鼠，可接受其骨髓捐贈者的皮膚移植。這個觀察強烈的指出捐贈者細胞的轉移可形成一種耐受性

(8)。同樣在1955年，Ford等人(9)利用細胞學顯示捐贈者的細胞可經骨髓注射保護受輻射的老鼠。那年夏天，我搬到了New York和Dr. Joseph Ferrebee一起追蹤這幾個及其它相關的實驗。我們決定開始研究不同品種，特別是狗之骨髓移植，還有在因疾病而需要利用骨髓注射的病人。

在1975年，我們發表了第一篇在移植上的報告，我們稱它為「靜脈注射」(intravenous infusion)。因只有一位病人有暫時性的移植，無法稱真正的骨髓移植(10)。我們從這個報告學到了兩件事：(1)大量的人類骨髓，如果事先準備得當，可以注射他人身體而不造成傷害；(2)人類中不同組織的移植是非常困難的。因為我們考慮到輻射線的暴露，早期的經費都是由原子能委員會供給的。在同一篇報告，我們也強調，這些研究指出人類骨髓可以被收集及儲藏，同時也可安全給與。給與後的細胞可在一個競爭性，對其不利的環境中生長，在一個原子能、反應爐和原子彈的時代，人類終於可以從此方面得到一些好處。如果老鼠或是猴子，在接受致死劑量的輻射線後，注射骨髓後可因此治好，我們當然也可從人類中做這種治療方法。白血病的人需要骨髓及放射治療；尿毒症的人需要一多餘的腎臟，這些病人都需以緊急方法處理。對骨髓移植的病人，要能永久地接受外來腎臟，移植同一捐贈者的骨髓可能是必須的，免疫抑制藥物在那時尚未使用於骨髓移植。

不同組織(Allogenic)間的移植一直都沒有



在液態氮中冷凍保存的自體骨髓。同源骨髓移植後須實施免疫抑制療法。

令人滿意的結果，但是我們卻有其它的機會於同卵雙胞胎之間作骨髓移植。我們第一個同卵雙胞胎，其中一位有著頑固的白血病，接受了致死劑量以上的輻射線及同基因的骨髓注射(11)。他們血液變化的恢復及身體的康復都顯示了身體可因骨髓注射而免受到致死輻射的傷害。而幾個月後，白血病的再發使我們懷疑骨髓移植治療白血病的機轉可能如下：很明顯地，消除白血病需要的不只是放射線，有兩句可行的步驟，第一、病人在接受輻射線後移植同源的骨髓，此種方法會使白血病在這個免疫環境下無法生存(Barnes et al.1956)。這個模式在某些老鼠會成功(Barnes et al 1957, Mathe and Bernard, 1958)。然而這些老鼠後來都因排斥性產生遲發性外來骨髓疾病(Delayed Foreign Marrow Disease)而造成大量死亡。在這裡我們必需研究這個遲發性外來骨髓疾病對人類有益或有害，或是否可在臨床上利用藥物控制。第二、去除白血病可利用化學療法及 X-Ray，移植的成功率和體內的白血病細胞(Leukemic Cells)成反比—白血病細胞愈少，治癒率愈高(Burchenal et al. 1951, Mathe et al, 1959)。這告訴我們，當病人的疾病在緩解期時，接受放射治療成功率會增高，它更顯示出，放射治療後馬上做化學治療會更有效率。很不幸地，這期間需經過 15 年到我們可

真正在白血病緩解期的病人做骨髓移植。

在 50 年代，其他人也嘗試在人體上做異基因(allogenic)移植，Mathe 等人在 '59 年報告南斯拉夫的意外輻射時許多病患利用骨髓注射來治療(12)。現在看來，這些報告並沒什麼意義(13)。雖然有一白血病人達到了較久的異基因骨髓移植，然而病人卻產生慢性 GVHD (Graft-Versus-Host Disease) 結果死於感染性併發症(14)。

在 1955 年初期，Dr. Joseph Ferrebee, Dr. Harry Lochte, Jr. 和我及其他同事們在狗體內開始做骨髓移植。狗的來源取得容易，經常使用於移植研究，且臨床上步驟和人類大致相同。當 Dr. John Mannick 和我們一起共事時發現，狗可接受超過人類三倍以上之致死輻射劑量，而如將照射前的骨髓先放至一邊而照射後再利用骨髓注射的方法則可恢復(15)。骨髓移植可利用周邊血液或是骨髓(16)，且這些負責使康復的細胞可以在冷凍下保存一段很長的時間(17)(18)。

然而，在異基因移植狗和人體的結果都是一樣地令人沮喪，不是移植失敗便是手術後雖然成功，卻產生致死的排斥性(GVHD)(19)(20)。偶爾我們也會遇到令人興奮的例子，通常是多胎性(狗)的捐贈者。移植步驟都很順利，細胞學診斷確定了捐贈骨髓者的持續性，通常與接受者為不同的性別(21)。大部份都能擁有正常的生活(22)。很明顯地—移植是非常有可能性的一我們只是不知從何處做起。

Delta Uphoff 曾經報導過，某些品種的老鼠可因 mehtotrexate (MTX) 而減輕其 GVHD(23)，我們也發現移植後注射 MTX 可減少其發生率及減輕排斥性的嚴重度，我們花了許多時間及精力探討不同 MTX 的攝生法(20)(24)。這個及其他對於狗的研究都有著豐富的資訊，在 1972 年時整合(25)，最重要的是，成功的異基因移植需要的是密切的組織相排配合性(histocompatibility matching)，而那時我們正發展出組織相排的分類法(26)。我們終於偵查到 DL-A 抗原也顯示了在配合度高的多胎性動物骨髓移植的成功率相當的高(27)。這些研究指出同樣

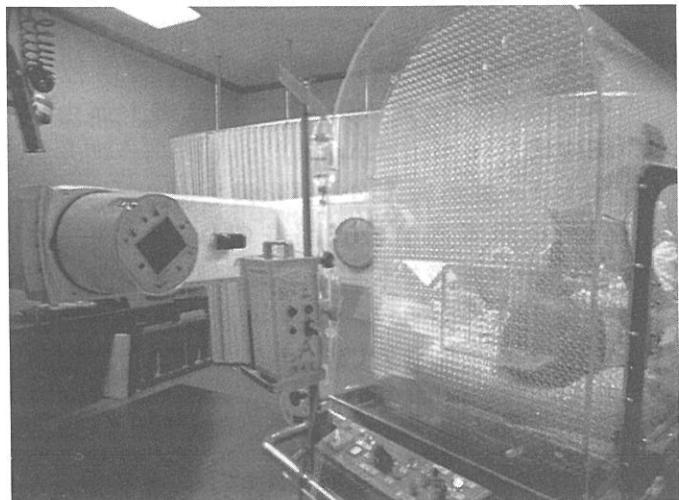
地在人類也需要用到可配合的兄弟姐妹 HLA 捐贈者。

許多異基因移植的失敗率使得許多學者放棄了在這方面的研究，但是在積極的腎臟移植下，HLA (human histocompatibility antigen) 的學問迅速的進步。當我們發展出 DLA 相對性的知識時，我們也同時對 Dausset (Nobel Laureate, 1980), van Rood, Payne, Bodmer 及 Amos 在 HLA 系統方面的研究，到了 1967 年，我們感覺到可以再繼續異基因移植的研究，在認同照顧高度白血病人接受異基因移植是件非常困難的工作，我們開始組一個必要的工作隊。我們向 National Cancer Institute 申請了經費，隔年通過了申請。我們開始整合及訓練一個護理工作隊，對照顧無骨髓功能而且可能會有伺機感染的病人相當熟識。1968 年的 11 月，Dr. Robert Good 及其同事們為一位有免疫能力喪失的嬰兒做了第一宗有高配合性的骨髓移植<sup>(28)</sup>。而我們也在 1969 年的 3 月為一位高度白血病人做了第一宗有配合性的骨髓移植，捐贈者為其兄弟或姊妹。

這些研究為人體異基因移植劃下了一個新的年代。從開始的實驗背景，早期的臨床成功率，及問題的描述都刊登在 1975 年的 *New England Journal of Medicine* <sup>(29)</sup>。在為許多末期白血病人做骨髓移植的追縱時發現，利用 Kaplan-Meier 氏的存活率圖表現，可發現一平原期，而也增加了這些病人被治癒的可能性<sup>(30)</sup>。

異基因移植現在於世界 200 多個醫學中心都有執行，且可用骨髓移植治療的疾病也愈來愈多。至今每年有大約 5,500 位異基因及 4,000 位同基因的骨髓移植，其中，嚴重的病患經骨髓移植後已存活了 20 年以上。最近的報導刊出了西雅圖工作隊在患自 acute myeloid leukemia <sup>(31)</sup> <sup>(32)</sup>，chronic myeloid leukemia <sup>(33)</sup> <sup>(34)</sup> aplastic anemia 及 thalassemia major <sup>(35)</sup> 的病人中所做的異基因移植的摘要，其中 Lucarelli 等人<sup>(36)</sup>對於 thalassemia major 有很多的經驗。

在 allogeneic 骨髓移植早期，最主要的問題便是宿主（移植排斥）或是移植 (GVHD) 的



骨髓移植之前，以放射線和藥物完全消滅癌細胞，為預防感染須在無菌室內進行。

免疫反應。為了要保存移植的骨髓，我們必需對病人照顧致死劑量以上的幅射線，但很明顯地，一旦移植後便不能照射。雖然 MTX 的使用在前面有提過，但陸續地有更好的藥品問世，Schwaryt and Dameshek <sup>(37)</sup> 發現了 6-mercaptopurine 的免疫抑制機轉；Hitchings 和 Elian 發展出 Immuran，Santos 和 Owens 開始在移植手術使用 cyclophosphamide 做免疫抑制劑<sup>(38)</sup>。到最近，cyclosporine 被証實對器官移植極為重要，Cyclosporine 雖然在骨髓移植病人中臨床試驗結果並沒有比 MTX 好，然而短時間的 MTX 加上六個月的 cyclosporine 證明非常有效且是現在的標準用法<sup>(39)</sup> <sup>(40)</sup>。慢性 GVHD 且嚴重的病人可以用長期 corticosteroid 治療來控制<sup>(41)</sup>。T-cell 的減少雖然降低 GVHD 的發生率，但卻增加了移植的失敗率或是惡性變化的機會<sup>(42)</sup>。現在，更新的藥物仍然在研究中。

在成功的移植例子裡，惡性疾病的復發一直是個問題。為了要殺死更多的惡性細胞，大劑量的化學治療藥品及放射治療必須使用。而增加移植前的藥物強度也因為會造成其它重要器官的傷害，特別是肺及肝<sup>(43)</sup>，也因此而作罷。現在，干擾素 (interferon) 的使用正在探討中。



因為會有移植反應及因其治療，病人在移植手術後通常免疫能力下降，伺機感染的機會也同樣大量提升(44)。細菌或是黴菌感染可用抗生素治療(45)。預防性 acyclovir 可以控制 Herpes simplex 或 zoster infections (46)，而由巨細胞病毒(cytomegalovirus) 引起的肺炎則非常難治療，其為病人的主要死因之一(42)。如果病人及捐贈者血清檢查都是 CMV (-)，則使用 CMV (-)捐贈者的血液製品可預防感染(48)，使用預防性 ganciclovir 似乎可以在 CMV(+) 的病患或捐贈者預防 CMV 感染。在長期骨髓移植的生存者，使用 ganciclovir 時劑量應逐漸增加。

在病人裡，只有 1/4 ~ 1/3 會有 HL-A identical sibling，而再更進一步的探討，有大約 10% 的病人並沒有使用兄弟或姊妹的 HL-A (49)，有了國內及國外的世界性調查，許多捐贈者的組織分類也逐漸建立中。現在有 300 以上的骨髓移植均是經過自願者及電腦篩選來使用

同種的 HL-A。結果呢，利用外表相似的捐贈者或捐贈者有一 HL-A haplotype 似乎都和配對過，利用兄弟姊妹做捐贈者，效果都差不多。

如果病患缺少合適的捐贈者，也可將自己的骨髓先移走，儲藏，經強烈積極治療後再放回體內。自體骨髓移植的基本概念及長期儲藏已大約有 30 年的歷史了(52)。最近，自體移植有更驚人的發展，可使病人的腫瘤更有效率的被破壞。一個自體骨髓移植雖然可避免 GVHD 的問題，但是卻會因 graft-versus-leukemia 的影響增加復發率，而且癌細胞留在儲藏的骨髓之可能性也加大。

單株細胞抗體 (monoclonal antibodies)(Kohler and Milstein, Nobel Laureates, 1984) 在很多方面都應用於骨髓移植。抗 T-cell 抗體在實驗室內可用於去除骨髓內正常或是惡性的 T-cells；在活體內則可預防或是治療 GVHD。單株抗體和毒素結合時可用來治療 GVHD，

TABLE-1

Disease	Survival
Acute leukemia in relapse	0.10—0.30
ALL, first of second remission	0.30—0.60
AML, first remission	0.45—0.70
CML, chronic phase	0.60—0.90
CML, accelerated or blastic phase	0.10—0.30
Lymphoma, Hodgkin's diseases	
after failure of first line therapy	0.40—0.60
after failure of second line therapy	0.10—0.30
Immunological deficiency disease	0.50—0.90
Aplastic anemia, transfused	0.50—0.70
Aplastic anemia, untransfused	0.80—0.90
Thalassemia major	
without liver damage	0.85—0.95
with liver damage	0.60—0.85

Abbreviations:

AML, acute myeloid leukemia

ALL, acute lymphoblastic leukemia

CML, chronic myeloid leukemia



與放射同位素 (isotopes) 結合則可減少因腫瘤而接受放射治療所曝露的輻射劑量。

一直到最近，骨髓移植已發展到利用分子生物學的模式來製造血液生長因子？(Hematopoietic growth factor) 臨床試驗發現 G-CSF 及 GM-CSF 均可加速骨髓的恢復，不論是異基因或自體移植。其它的生長因子也漸漸地進入臨床試驗的階段。一些像 IL-2, IL-6, cloned T-cells 及 interferon 之類的生物反應調節者是否可加速移植的恢復，可抗細菌、黴菌，或是抗腫瘤，都在研究中。

造血幹細胞的確認及純化一直都是血液實驗學者的目標，而在這個方面也有很大的進步。已純化的幹細胞，沒有任何腫瘤細胞，在自體移植中有極大的重要性。反轉錄病毒的媒介大大地提高了基因轉換的效率，而純化的幹細胞在許多的疾病中正是採取基因轉換最理想的目標。但事實上，基因轉換至造血幹細胞中臨床上尚未真正開始應用，而且像地中海貧血 (major) 這種疾病需要更進一步的研究來確定。

總括來說，骨髓移植已從一個只限於實驗室的步驟到現在被認為是許多疾病最理想的治療方法。下列的一個表顯示了最常使用骨髓移植的疾病及其 5 年存活率。進步雖然緩慢卻穩定的成長。而更新且更重要的發展在實驗結果有很大的進步，對以前認為是無法醫治的病可提供更長的生活率或是更高的痊癒率。

最後，骨髓移植能有像今天這樣多的成就，我們絕對不能忘記動物實驗的功勞。一開始在齧齒動物，再來是狗。人體的應用是依類於許多其它科學的發展，像 histocompatibility, 免疫抑制劑的運用，輸血的技巧，特別是血小板，抗生素的發展及抗癌的化學藥物。我由衷的代表許多前期諾貝爾獎得主及候選人來表示感激：今天我們可以慶祝這項成功都是因為有許許多多的其它人在這個方面或相關研究中的貢獻。(©The Nobel Foundation 1991.)

#### REFERENCES

1. E.E. Osgood, M.C. Riddle and T.J. Mathews, Ann. Intern. Med. 13, 357-367 (1939).
2. P.E. Rekers, M.P. Coulter and S. Warren,



NOBELSTIFTELSEN  
The Nobel Foundation

May 25, 1993.

Chien-Ching Hsu  
Department of Medicine  
Chung Shan Chyau Magazine  
6F, No.6, Lane 58, Ta Chuan Street  
Taichung, Taiwan R.O.C.  
Fax : 00986-4-3890964

Dear Sir,

Referring to your letter concerning permission to publish in your Magazine **Chung Shan Chyan**, the Nobel lectures delivered by Professor Murray and Dr. Thomas, Nobel Laureates in Physiology or Medicine 1990.

We are pleased to grant you permission to translate the lectures into Chinese and publish them in your Magazine. The permission is free of charge but we ask you kindly to apply the following credit line:  
© The Nobel Foundation 1991.

Sincerely yours,

Kristina Fallenius  
Information Department

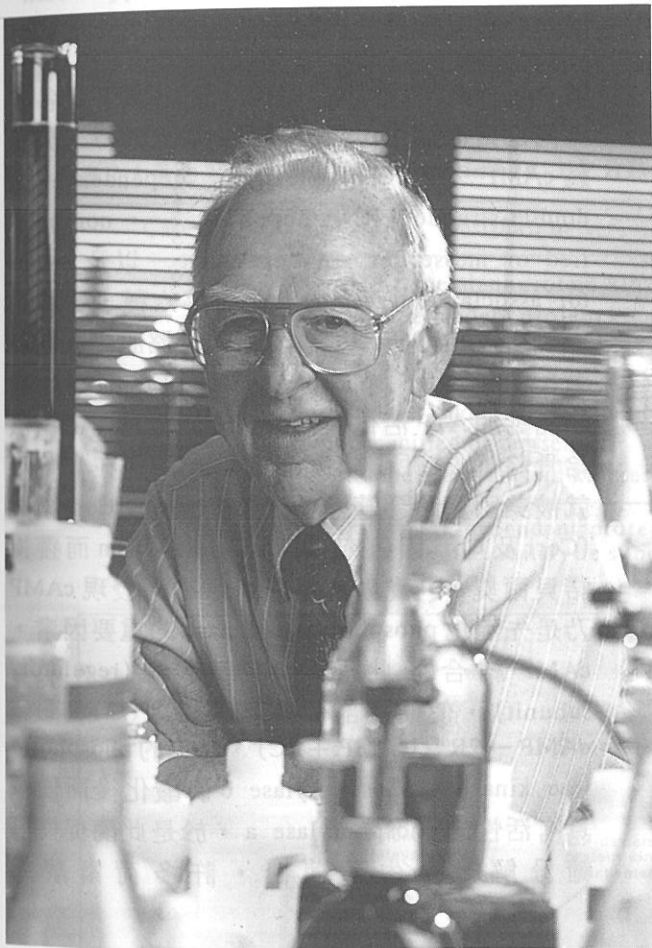
Arch. Surg. 60, 635-667 (1950).

3. L.O. Jacobson, E.K. Marks, M.J. Robson, E. O. Gaston and R.E. Zirkle, J. Lab. Clin. Med. 34, 1538-1543(1949).
4. E. Lorenz, D. Uphoff, T.R. Reid and E. Shelton, J. Natl. Cancer Inst. 12, 197-201(1951).
5. E.D. Thomas, F.B. Hershey, A.M. Abbate and J.R. Loofbourow, J. Biol. Chem. 196, 575-582(1952).
6. E.D. Thomas, Blood 10, 600-611(1955).
7. E.D. Thomas and H.L. Lochte, Jr., Blood 12, 1086-1095(1957).
8. J.M. Main and R.T. Prehn, J. Natl. Cancer Inst. 15, 1023-1029(1955).
9. C.E. Ford, J.L. Hamerton, D.W.H. Barnes and J.F. Loutit, Nature 177, 452-454(1956).
10. E.D. Thomas, H.L. Lochte, Jr., W.C. Lu and J.W. Ferrebee, N. Engl. J. Med. 257, 491-496(1957).
11. E.D. Thomas, H.L. Lochte, Jr., J.H. Cannon, O.D. Sahler and J.W. Ferrebee, J. Clin. Invest. 38, 1709-1716(1959).

12. G. Mathe, H. Jammet, B. Pendic, et al., *Rev. Franc. Etudes Clin. et Biol.* IV,266-238 (1959).
13. G.A. Andrews, *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. Med.* 93, 56-74(1965).
14. G. Mathe, *Diagnostic et Traitement des Radiolesions aiguës*, O.M.S., Geneva, P. 197-230(1964).
15. J.A. Mannick, H.L. Lochte, Jr., C.A. Ashley, E.D. Thomas and J.W. Ferrebee, *Blood* 15, 255-266(1960).
16. J.A. Cavins, S.C. Scheer, E.D. Thomas and J.W. Ferrebee, *Blood* 23, 38-43(1964).
17. E.D. Thomas and J.W. Ferrebee, *Transfusion* 2, 115-117(1962).
18. J.A. Cavins, S. Kasakura, E.D. Thomas and J.W. Ferrebee, *Blood* 20, 730-734(1962).
19. E.D. Thomas, C.A. Ashley, H.L. Lochte, Jr., A. Jaretzki, III, O.D. Sahler and J.W. Ferrebee, *Blood* 14, 720-736(1959).
20. E.D. Thomas, J.A. Collins, E.C. Herman, Jr., and J.W. Ferrebee, *Blood* 19, 217-228 (1962).
21. R.B. Epstein and E.D. Thomas, *Transplantation* 5, 267-272(1967).
22. E.D. Thomas, G.L. Plain, T.C. Graham and J.W. Ferrebee, *Blood* 23, 488-493(1964).
23. D.E. Uphoff, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 99, 651-653(1958).
24. R. Storb, R.B. Epstein, T.C. Graham and E.D. Thomas, *Transplantation* 9, 240-246(1970).
25. R. Storb and E.D. Thomas, in *Proceedings of the Sixth Leukocyte Culture Conference*, Ed. M.R. Schwarz. Academic Press, New York, pp. 805-840(1972).
26. R.B. Epstein, R. Storb, H. Ragde and E.D. Thomas, *transplantation* 6, 45-58(1968).
27. R. Storb, R.H. Rudolph and E.D. Thomas, *J. Clin. Invest.* 50, 1272-1275(1971).
28. R.A. Gatti, H.J. Meuwissen, H.D. Allen, R. Hong and R.A. Good, *Lancet* ii,1366-1369 (1968).
29. E.D. Thomas, R. Storb, R.A. Clift, et al., *N. Engl. J. Med.* 292,832-843, 865-902(1975).
30. E.D. Thomas, N. Flournoy, C.D. Buckner, et al., *Leuk. Res.* 1, 67-70(1977).
31. R.A. Clift, C.D. Buckner, E.D. Thomas, et al., *Bone Marrow Transplantation* 2, 243-258 (1987).
32. R.A. Clift, C.D. Buckner, F.R. Appelbaum, et al., *Blood*, 76:1867-1871(1990).
33. E.D. Thomas, R.A. Clift, A. Fefer, et al., *Ann. Intern. Med.* 104, 155-163(1986).
34. E.D. Thomas and R.A. Clift, *Blood* 73,861-864(1989).
35. R. Storb, C. Anasetti, F. Appelbaum, et al., *Seminars in Hematology*, (in press).
36. G. Lucarelli, M. Galimberti, P. Polchi, et al., *N. Engl. J. Med.* 322, 417-421(1990).
37. R. Schwartz and W. Dameshek, *Nature* 183, 1682-1683(1959).
38. G.W. Santos and A.H. Owens, Jr., *transplant. Proc.* 1, 44-46(1969).
39. R. Storb, H.J. Deeg, L.D. Fisher, et al., *Blood* 71, 293-298(1988).
40. R. Storb, H.J. Deeg, M. Pepe, et al., *Br. J. Haematol.* 72, 567-572(1989).
41. K.M. Sullivan, R.P. Witherspoon, R. Storb, et al., *blood* 72, 555-561(1988).
42. P.J. Martin, J.A. Hansen, B. Torok-Storb, et al., *Bone Marrow Transplantation* 3, 445-456(1988).
43. S.I. Bearman, F.R. Appelbaum, A. Back, et al., *J. Clin. Oncol.* 7, 1288-1294(1989).
44. R. Witherspoon, D. Noel, R. Storb, H.D. Ochs and E.D. Thomas, *Transplant. Proc.* 10, 233-235(1978).
45. C.D. Buckner, R.A. Clift, J.E. Sanders and E.D. Thomas, *Transplant. Proc.* 10, 255-257 (1978).
46. J.D. Meyers, *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 47, 128-136(1985).
47. J.D. Meyers, N. Flournoy and E.D. Thomas, *Rev. Infect. Dis.* 4, 1119-1132(1982).
48. R.A. Bowden, M. Sayers, N. Flournoy, et al., *N. Engl. J. Med.* 314, 1006-1010(1986).
49. P.G. Beatty, R.A. Clift, E.M. Mickelson, et al., *N. Engl. J. Med.* 313, 765-771(1985).
50. J.A. Hansen, C. Anasetti, P.G. Beatty, et al., *Bone Marrow Transplantation* 6, 108-111 (1990).
51. P.G. Beatty, J.A. Hansen, E.D. Thomas, et al., *Transplantation*, (in press).
52. C.D. Buckner, F.R. Appelbaum and E.D. Thomas, in *Organ Preservation for Transplantation*, Chapter 16, (A.M. Karow, Jr. and D.E. Pegg, Eds.) Marcel Dekker Inc., New York, pp. 355-375(1981).

# 1992年諾貝爾醫學獎得主

## Dr. Edwin G. Krebs



Dr. Edwin Krebs 和 Dr. Edmond Fischer 發現可逆轉蛋白質加磷氧基作用，即磷酸鹽脫離蛋白質的過程。他們發現第一種執行磷酸鹽脫離過程的催化酵素，並為其定位，這一

UNIVERSITY OF WASHINGTON  
SEATTLE, WASHINGTON 98195

*Edwin G. Krebs, M.D., Professor Emeritus  
Department of Pharmacology, M-15  
Howard Hughes Medical Institute, Sr. Investigator Emeritus  
School of Medicine  
Telephone: (206) 543-8500*

April 27 1993

Dr. Chien-Ching Hsu  
Department of Medicine  
Chung Shan Chyau Magazine  
6F, No. 6, Lane 58, Ta Chuan Street  
Taichung, Taiwan  
R.O.C.

Dear Mr. Hsu:

Thank you for your letter of March 22, 1993, inviting me to write an article for your student magazine. Although my other commitments make it impossible for me to compose such an article, I will take the present occasion to extend my best wishes to the student body and to express my hope that each of you has a successful career in whatever branch of medicine you select. My own choice of a career was basic research, but I feel that I would also have enjoyed practicing medicine.

Sincerely

Edwin G. Krebs, M.D.

EGK:cb

Enc.

重要發現，開啓了至今最活躍、運用最寬廣的領域。目前 Dr. Krebs 於西雅圖華盛頓大學生化系從事研究工作。

# 1992年諾貝爾醫學獎的研究貢獻

## 蛋白質之磷酸化動態與細胞功能之調控

著 林仁混 台大醫學院毒理研究所所長  
蕭水銀 台大醫學院生化研究所所長

### 細胞訊息之傳遞 (signal transduction) 及細胞功能之調節

細胞接受外界之刺激及荷爾蒙 (第一傳遞訊息者; the first messenger) 之作用, 產生第二傳遞訊息者 (second messenger) 如 cyclic AMP 及 cyclic GMP, 此二者可分別活化蛋白激酶 A (protein kinase A) 及蛋白激酶 G (protein kinase G), 此等酶繼而催化細胞內各種蛋白質之磷酸化 (表 1), 如各種酶、藥物受體、細胞膜離子通道以及調控基因表現之蛋白質等, 這些細胞蛋白質之活性大小乃是調節細胞功能如生長、分化、腺體分泌、肌肉收縮、神經衝動及免疫的主宰, 可逆性磷酸化 (reversible phosphorylation) 蛋白質又是調節蛋白質活化的重要反應之一, 因此控制蛋白質磷酸化的酶 (protein kinase) 及去磷酸化酶 (protein phosphatase) 之研究對細胞功能調控之重要性, 由此得以瞭解, 美國費雪 (Edmond H. Fisher) 及克普斯 (Edwin G. Krebs) 是研究蛋白激酶及蛋白去磷酸酶的先驅者, 他們的研究工作不但開啓了近三十年來有關細胞能之調控的研究, 而且對各種疾病之產生如癌症、免疫失調及神經疾患的瞭解, 有助於診斷及治療疾病之新藥的開發, 因此費雪及克普斯的重要貢獻, 榮獲今年諾貝爾醫學獎, 實是實至名歸, 本文擬分別介紹蛋白激酶、蛋白去磷酸酶及臨應用之研究, 以說明此研究工作之重要性。

### 蛋白激酶 (protein kinases)

蛋白激酶是催化蛋白質磷酸化的酶 (圖 1), 此磷酸化反應是可逆性的, 亦可借去磷酸

酶 (phosphatases) 作用完成, 蛋白激酶受各種不同因素而活化, 可分類為六種 (表 2), 分別為 cAMP-, cGMP-,  $Ca^{2+}$  dependent-, double-stranded RNA-dependent-, nonspecific or messenger-independent- 以及 receptor associated tyrosine kinases 等六種, 費雪及克普斯遠在 1955 年就發現白兔骨骼肌之肝糖磷酸酶 (glycogen phosphorylase) 可為細胞抽取物加鈣加 ATP 活化, 進而分解肝糖為葡萄糖供給骨骼肌收縮所必須的能量, 此酶遠在 1943 年就被美國聖路易華盛頓大學 Green 及 Cori 結晶 (Cori 及 Cori 因研究 glucose metabolism 而獲得諾貝爾獎), 費雪及克普斯等繼而發現 cAMP 乃是先活化 phosphorylase kinase 的重要因素, cAMP 結合於此酶之調節部位 (regulatory subunit), 使催化部位游離而活化 ( $C_2R_2 + 2cAMP \rightarrow 2R \cdot cAMP + 2C$ ), 活化的 phosphorylase kinase 使 phosphorylase b 磷酸化後而變成具有活性的 phosphorylase a, 於是此酶促使肝糖分解, 產生葡萄糖, 許多荷爾蒙如

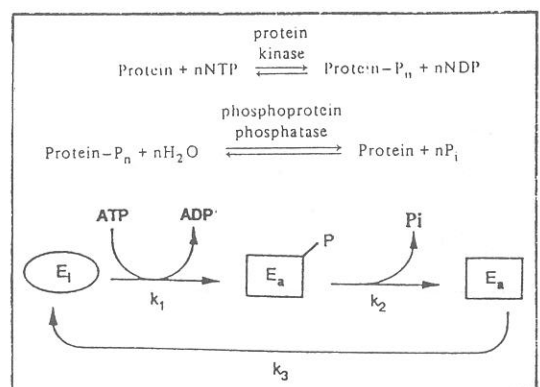


圖 1: 蛋白質可逆性磷酸化之反應式。

adrenaline 及 glucagon 與受體結合後，促使 adenylate cyclase 活性增加及 cAMP 上升之結果，活化 phosphorylase，抑制 glycogen synthase 以及 protein phosphatase - 1 inhibitor - 1 之激活，均與促進肝糖分解有關，而均受蛋白磷酸化之調控(圖2)，這種調控機制，由 glycogen metabolism 之研究，推廣至其他 lipid(lipase)，cholesterol(HMG - CoA reductase) 及 glucose metabolism(fructose - 1, 6 - biphosphatase, pyruvate dehydrogenase, pyruvate kinase) 相關之酶的研究(表1)，最近的研究更指出藥物受體如  $\beta$  - adrenergic receptors 及 nicotinic acetylcholine receptors

之 desensitization 乃是受體蛋白磷酸化的結果，另外，細胞膜鈣離子通道之打開也是受 cAMP - protein kinase A 磷酸化調控，而細胞內肌漿網(sarcoplasmic reticulum)之  $Ca^{2+}$  - ATPase 活性亦受 phosphorylated phospholamben 激活，細胞內鈣離子又是各種細胞功能如荷爾蒙及神經傳遞化學物質之釋放、肌肉收縮、細胞生長及巨噬細胞吞噬作用所必需的因素，更有進者，RNA transcriptase 及 topoisomerase II 活性也受磷酸化調節，由此可以瞭解由 protein kinase 引發各種功能蛋白質之磷酸化所產生的作用，遍及各種細胞，此層面之廣泛及重要性也就可想而知。

表 2：蛋白激酶( *protein kinases* ) 之分類。

Category	Designation	Recognized entities
1	cAMP-dependent protein kinases	Type I and Type II <sup>a</sup>
2	cGMP-dependent protein kinases	one known entity
3	Ca <sup>2+</sup> -dependent protein kinases	phosphorylase kinase and myosin light chain kinase
4	double-stranded RNA-dependent	one known entity
5	nonspecified or messenger-independent protein kinases	many known examples

<sup>a</sup> The two types of cAMP-dependent protein kinase differ in the nature of their regulatory subunits but have identical catalytic subunits

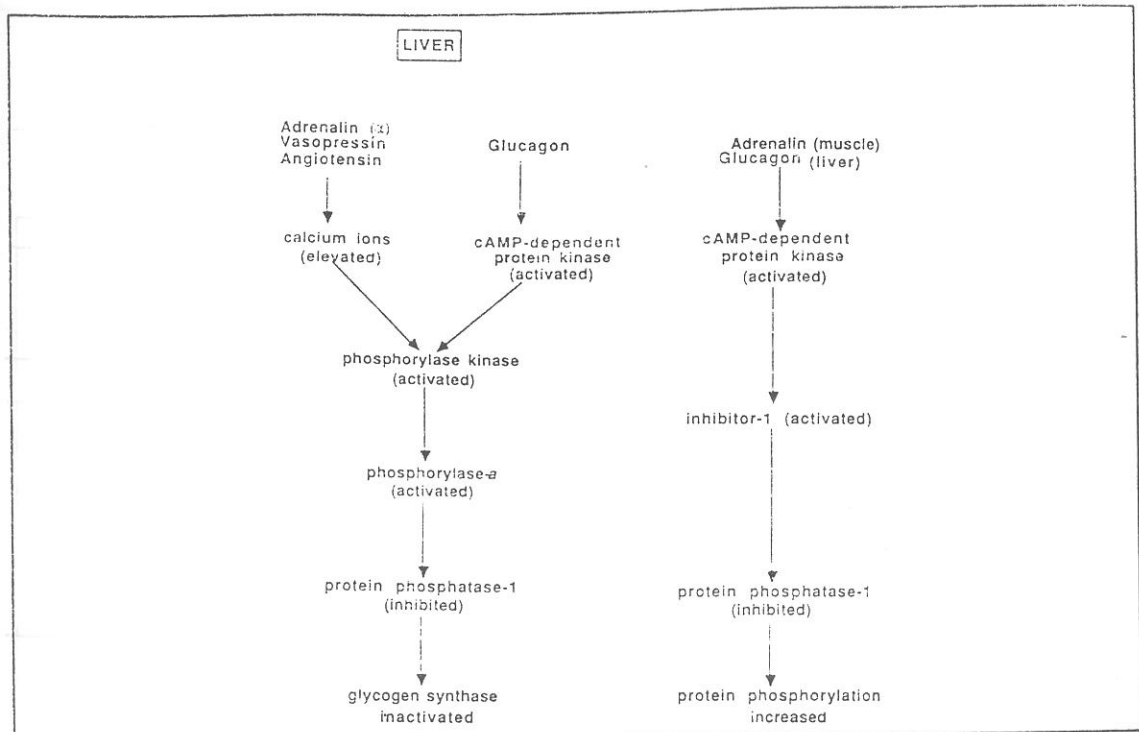


圖 2：各種荷爾蒙增加肝臟及骨骼肌之鈣及 cAMP 量所引發各種蛋白激酶及去磷酸酶活性的變化。



Protein kinase A 受 cAMP 激活，催化蛋白質之 serine 或 threonine 磷酸化，故稱 Ser/Thr protein kinase，而 protein kinase G (受 cGMP 激活) 及 protein kinase C (受  $Ca^{2+}$ ，diacylglycerol 及 phosphatidyl - inositol 激活) 也同屬 Ser/Thr protein kinase，這是與後面談及的 tyrosine kinase (使 tyrosine 磷酸化之酶) 不同，如表 3 所示，Protein kinase A，G 及 C，存在於各種細胞，一般而言，大部份細胞如血小板、腦、白血球、平滑肌、肺、腎、及肝之 protein kinase C 活性比其他二種高，而以血小板 protein kinase C 最高，腦其次，其他如上序列依序降低，而脂肪、心臟及骨骼肌之

protein kinase A 比 C 高，至於 protein kinase G 之活性均甚低，只有在肺、心及腦略高，這三種不同的激酶均能促不同種的 histone 磷酸化，但催化反應速率有所不同 (表 4)，由此影射細胞內不同蛋白質受此三種激酶磷酸化之反應速率不同，可能具有各自的特殊受質，而調控不同的細胞功能，相對地，同一組織的不同激酶受各種不同的荷爾蒙或藥物的調節也不盡相同，例如肝臟受 glucagon 作用，只增加 cAMP，而增加 protein kinase A 活性 (表 5)，而 vasopressin 只增 cAMP 及 phosphatidylinositol 分解，繼而增 protein kinase C 活性，這些不同的激酶受到不同的刺激被激活後，除了

表 1：早期發現的磷酸化修飾的酶。

酶	報告年度
Glycogen phosphorylase	1955
Phosphorylase kinase	1959
Glycogen synthase	1963
Hormone-sensitive lipase	1964, 1970 <sup>a</sup>
Fructose-1,6-bisphosphatase	1966, 1977 <sup>a</sup>
Pyruvic dehydrogenase	1969
Hydroxymethylglutaryl CoA reductase	1973
Acetyl CoA carboxylase	1973
DNA-dependent RNA polymerase	1973
Pyruvate kinase (liver)	1974
Cholesterol ester hydrolase	1974
R subunit of Type II cAMP-dependent protein kinase	1974
Reverse transcriptase	1975
Phosphofructokinase (liver)	1975
Tyrosine hydroxylase	1975
Phosphorylase phosphatase inhibitor	1975
Phenylalanine hydroxylase	1976
eIF2-kinase	1977
cGMP-dependent protein kinase	1977
Tryptophan hydroxylase	1977
NAD-dependent glutamate dehydrogenase (yeast)	1978
Glycerophosphate acyltransferase	1978

<sup>a</sup> In those instances in which a substantial period of time elapsed between initial and subsequent reports two dates are listed.

表 3：蛋白激酶 C、A、G 之組織分布及活性之比較。

Tissue	Protein kinase C	Protein kinase A	Protein kinase G
Platelets	6300	340	—
Brain	3270	250	6
Lymphocytes	1060	320	<1
Granulocytes	530	160	—
Small intestine smooth muscle	770	560	—
Lung	360	290	13
Kidney	280	150	—
Liver	180	130	2
Adipocyte	170	270	2
Heart	110	230	7
Skeletal muscle	80	110	—

\* Rat tissues were employed except for platelets, lymphocytes, and granulocytes which were obtained from human volunteers. The enzymes were assayed under comparable conditions with calf thymus H1 histone as a model substrate. Detailed conditions will be described elsewhere (Minakuchi *et al.*, 1981). Values are units per milligram of protein. One unit of protein kinase activity was defined as the amount of enzyme that incorporated 1 pmole of phosphate from ATP into H1 histone per minute.

各自引發細胞各種反應之外，而且會有迴饋反應去控制另一種激酶之反應，以便維持細胞接受刺激，立即反應後，又回歸原狀，以維持內在恆定之狀態，這種調控的重要機轉如圖3所示，受體A受刺激，引起 phosphatidylinositol 分解，diacylglycerol 生成，繼而激活 protein kinase C 而產生細胞反應，另外，diacylglycerol 釋出 arachidonic acid，合成 prostaglandins

及 peroxides，此反應激活 guanylate cyclase，增加 cGMP - protein kinase G，再迴饋抑制 phosphatidylinositol 分解(圖3)，這種多樣化的細胞功能之調節機制，乃由蛋白質可逆性的磷酸化反應所引導，因此研究控制蛋白質磷酸化反應的各種酶，就變成探求細胞活性及生命奧秘的重要一環。

表4：蛋白激酶C、A、G對五種不同的 histones 磷酸化速率之比較。

Histone	Reaction velocity (cpm)		
	Protein kinase C	Protein kinase A	Protein kinase G
H1 histone	17,000	3,830	4,500
H2A histone	2,850	2,470	5,560
H2B histone	4,380	17,000	17,000
H3 histone	1,210	468	670
H4 histone	240	260	450

\* Protein kinases C, A, and G employed in this experiment were partially purified from rat brain, rabbit skeletal muscle, and bovine cerebellum, respectively. Detailed conditions have been described elsewhere (Takai et al., 1977b; Iwasa et al., 1980).

表5：各種荷爾蒙對不同組織作用改變 phosphatidylinositol 及 cyclic nucleotides 之比較。

Stimulus	Tissue	Phosphatidylinositol turnover	Cyclic GMP	Cyclic AMP
Glucagon	Liver, fat cell	→	→	↑
Adrenergic (β)	Various	→	→	↑
Prostaglandin E <sub>1</sub>	Various	→	→	↑
Adrenergic (α)	Various	↑	↑	→ or ↓
Cholinergic (muscarinic)	Various	↑	↑	→ or ↓
Vasopressin	Liver	↑	↑	→
Thrombin	Platelets	↑	↑	→ or ↓
Met-Leu-Phe	Granulocytes	↑	↑	→ or ↓
Glucose	Langerhans' islets	↑	→	→
Plant lectin	Lymphocytes	↑	↑	→ or ↓

\* ↑, →, and ↓ denote increased, unchanged, or decreased values, respectively.

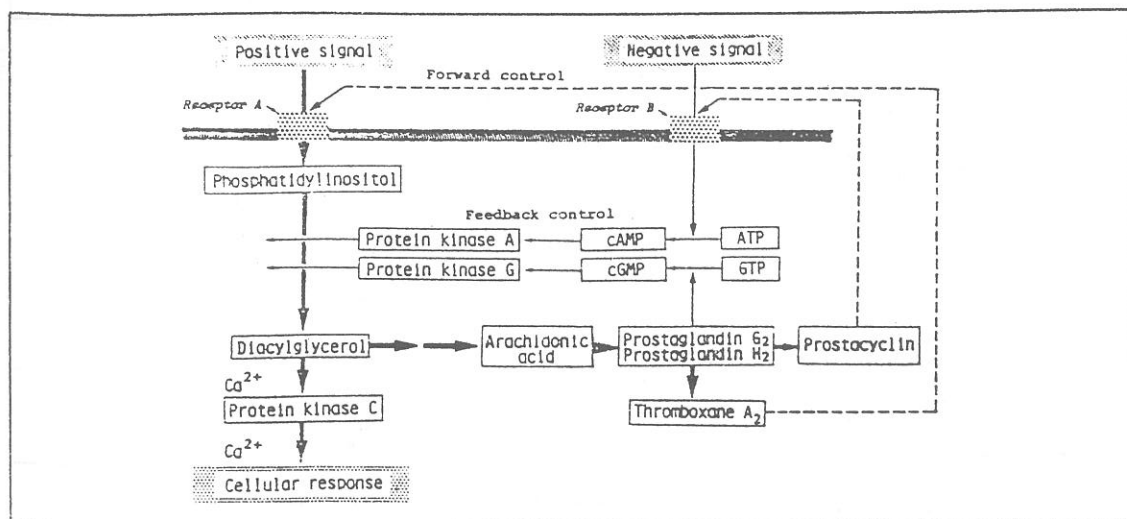


圖3：細胞訊息之傳遞及蛋白激酶A、G、C活性變化之相互作用。

## 蛋白去磷酸酶 (protein phosphatase)

上述細胞蛋白質之功能受磷酸化及去磷酸反應調控，催化去磷酸反應的酶 (protein phosphatase) 活性也因此直接或間接負責細胞訊息傳遞的角色，由於 protein kinases 分 Ser/Thr 及 Try phosphorylation 二大類，相對地，protein phosphatases 也分成 Ser/Thr 及 Tyr phosphatases 二大類，Ser/Thr protein phosphatases 又分 4 種 types (表 6) 分別為 PrP-1, PrP2A, PrP2B 及 PrP2C，前三種酶氨基酸順序比對結果 (圖 4)，發現 PrP-1 catalytic subunit 與 PrP2A 及 PrP2B 有 49% 及 39% 之共同性而 PrP2A 及 PrP2B 則具有 43% 之共同性，PrP2B 之化學構造比較特別，N-terminus 具有不尋常的 polyproline sequence (Pro)，在 catalytic subunit 有二段 (R，各為 7 及 6 個氨基酸)

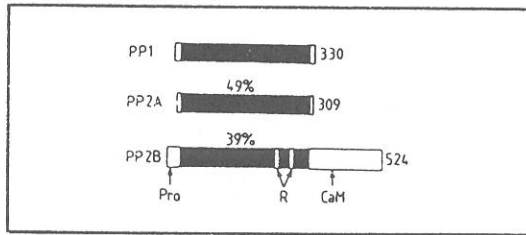


圖 4: Serine/Threonine 蛋白去磷酸酶化學構造之比較, Pro: Polyproline; R: regulatory site; CaM calmodulin binding domain。

是與 19KD regulatory subunit 結合處，而 C-terminus 有一段是 Calmodulin binding domain (Cam)，因此 PrP-2B 是唯一受到  $Ca^{2+}$  - CaM 活化的去磷酸酶，這四種去磷酸酶之受質，活化劑及抑制劑均有很大差異 (表 6))，PrP-1, PrP-2A 及 PrP-2C 分別受 Fa/GSK-3, polyamines 及  $Mg^{2+}$  活化，而 PrP-1 可為內生性 inhibitor-1 及海線毒素 okadaic acid 所抑制，而 phenothiazines 如 chlor-

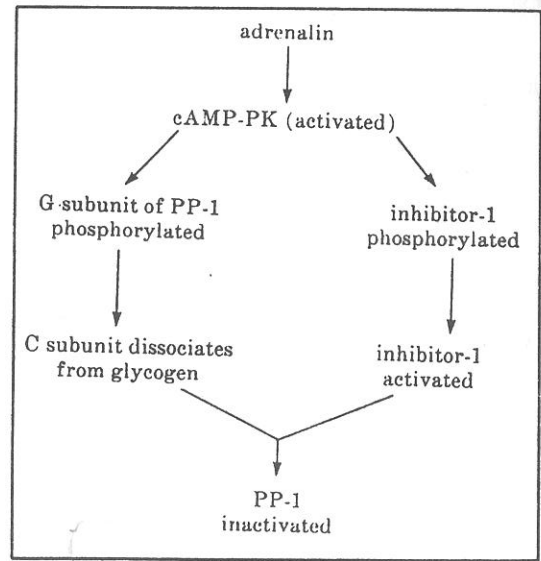


圖 5: Adrenaline 抑制骨骼肌蛋白去磷酸酶 (PP-1) 之分子機轉 (G, glycolytic associated; C, catalytic)。

表 6: Serine/Threonine 蛋白去磷酸酶之種類。

	PrP-1	PrP-2A	PrP-2B	PrP-2C
<b>Substrates</b>				
Phosphorylase kinase $\alpha$	$\beta$	$\alpha$	$\alpha$	$\alpha$
Phosphorylase $a$	Yes	Yes	No	No
Histone H1 (cA-PK) <sup>a</sup>	Yes	Yes	No	No
Histone H1 (PK-C)	No	Yes	No	No
Histone H2B	Yes	Yes	No	Yes
Myosin light chain	Yes	Yes	Yes	Yes
<b>Activators</b>				
Polyamines/polycations	No	Yes	No	No
$Mg^{2+}$	No	No	No	Yes
$Ca^{2+}$ /calmodulin	No	No	Yes	No
F <sub>2</sub> /GSK-3	Yes	No	No	No
<b>Inhibitors</b>				
I <sub>1</sub>	Yes	No	No	No
I <sub>2</sub>	Yes	No	No	No
Heparin	Yes	No	No	No
Okadaic acid	Yes	Yes <sup>b</sup>	No	No
Calyculin A	Yes <sup>c</sup>	Yes	No	No
NaF	Yes	Yes	Yes	No
Orthovanadate	Yes	Yes	No	Yes
Phenothiazines	No	No	Yes	No

<sup>a</sup>Histone H1 phosphorylated by cAMP-dependent protein kinase (cA-PK) and by protein kinase C (PK-C) demonstrates a different capacity to be dephosphorylated by these protein phosphatases (246).

<sup>b</sup>PrP-2A<sub>c</sub> is inhibited with 10-fold lower K than PrP-1<sub>c</sub> (82).

<sup>c</sup>Calyculin A shows similar apparent inhibition of both PrP-1<sub>c</sub> and PrP-2A<sub>c</sub> (241).

promazine 則只抑制 PrP-2B，因此我們瞭解各種荷爾蒙或藥物可經由改變不同 protein phosphatases 活性而改變細胞功能，更有進者，protein kinases 及 phosphatases 活性又受 phosphorylation-dephosphorylation 調控，例如 Adrenaline 之作用活化 cAMP - protein kinase A，此酶分別催化 PrP - 1 之 G - subunit 及 inhibitor - 1 之磷酸化 (圖 5)，G - subunit 磷酸化結果，使 catalytic PrP - 1，subunit 自 glycogen 游離活化且轉移至細胞質 (圖 6)，結果受磷酸化的 inhibitor-1(active) 結合而抑制，更強化了 adrenaline 所引發的 phosphorylase kinase，phosphorylase 及 glycogen synthase 磷酸化的效果。由於 akadaic acid 是 PrP - 1 及 PrP - A 的抑制劑，具有很強的 tumor promotion 作用，因此有關 protein phosphatases 調控細胞生長的重要性，由此可見一斑，有關此方面的研究，在本文後面再討論。

### Tyrosine kinases 之研究

我們瞭解 Ser/Thr protein kinases 及 phosphatases 對細胞訊息之傳遞及細胞功能調控之重要性後，最近對於另一類所謂 tyrosine

kinase 及 phosphatases 之研究，又展開另一波重要的層面，而費雪及克普斯近期之研究工作也集中在此，尤其是 protein tyrosine phosphatases 之化學構造及功能之闡明，貢獻良多，下一段再斜述。

有關 Tyrkinases 研究之重要性，最先來自於研究 epidermal growth factor receptor (EGF-R) 與 EGF 結合後，受體結構改變導致 receptor molecule 靠細胞質一端的內在 tyrosine kinase 被激活，於是一方面產生 autophosphorylation，另一方面是促使細胞內其他蛋白質的 tyrosine 磷酸化，這些反應與 growth factor 促進細胞生長關係密切。後來繼續發現其他 growth factors 如 platelet derived growth factor (PDGF)，fibroblast growth factor (FGF) 及 insulin like growth-factors (IGF) 之受體，也均具有 tyrosine kinase 活性，所以這些 tyrosine kinase 命名為 receptor tyrosine kinases，此領域之研究出現另一高潮，乃是有些 oncogene products 如 neu/HER-2，v-fms 及 v-kit 均具有 tyrosine kinase 活性，由此研究，推論 receptor tyrosine kinase 之構造及活性不正常，會導致細胞生長不正常，如癌症之產生。

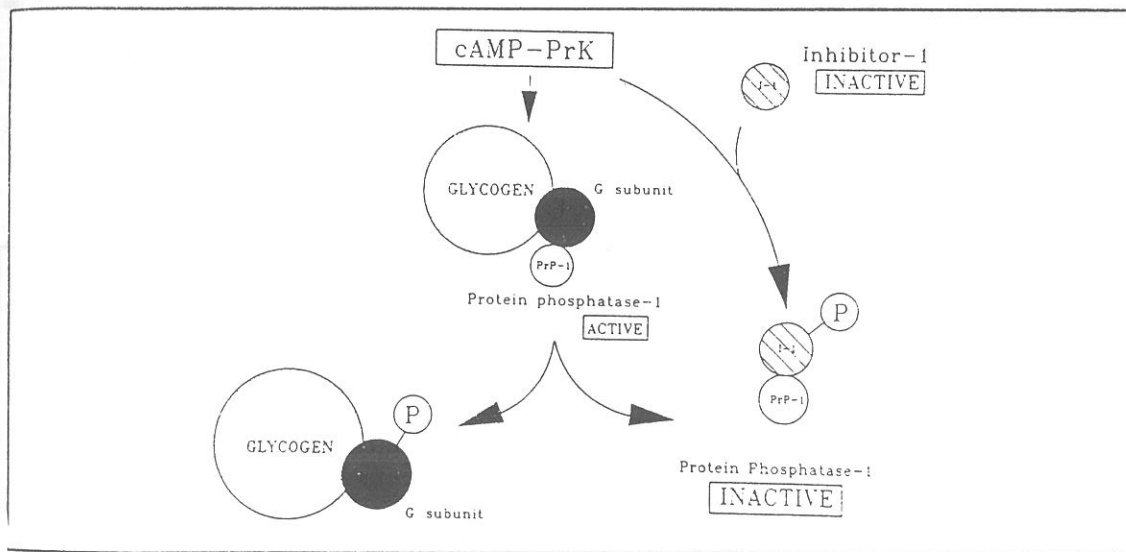


圖 6：蛋白激酶及去磷酸酶之磷酸化反應之相互作用，荷爾蒙促進 cAMP - PrK 蛋白激酶之活性結果，同時去磷酸酶 PrP - 1 之 glycogen subunit 及 inhibitor - 1 之磷酸化，因此使 inhibitor - 1 變成活躍型，而 PrP - 1 之 catalytic subunit 脫離並轉移至細胞質內，遭受 inhibitor - 1 抑制，如此的變化加強了 glycogen 磷酸化反應，最終是放大該荷爾蒙促進 glycogenolysis 之作用。



如圖7所示，receptor tyrosine kinase(PTK)是一種 transmembrane protein，N-terminus 突出細胞外，富含 cysteine，是 ligand 結合的部位，C-terminus 在細胞內，具有 tyr.kinase、受

質結合及 ATP 結合部位，依照化學構造的差異，PTK 分三大類(圖8)：第一類是 EGF-R 及 neu/HER-2，是 single polypeptide，細胞外 N-terminus 含二個重覆的片斷(富含 cysteine)

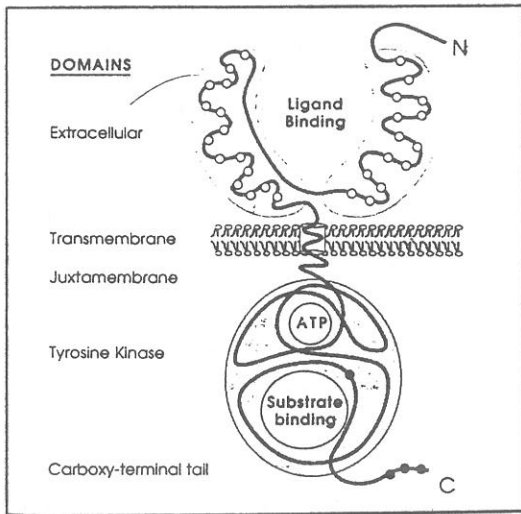


圖7：Receptor tyrosine kinase (RTK) 之構造。

RTK細胞膜外N-terminus 段富含 cysteine(o)，是 ligand 結合處，細胞內C terminus 段具有 tyrosine kinase 及 ATP 和 substrate 結合處，tyrosine(o) 為磷酸化部位。

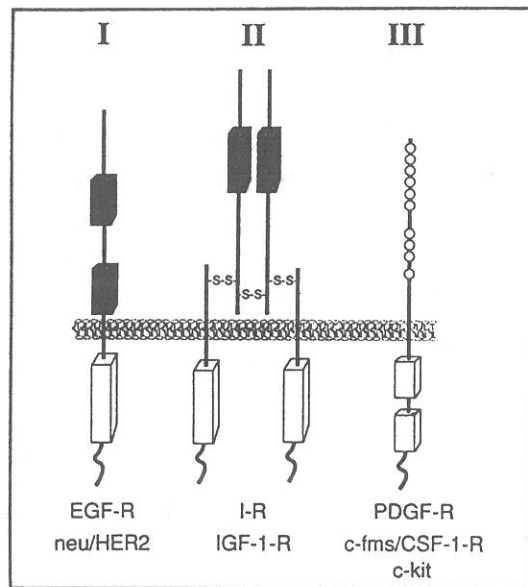


圖8：Receptor tyrosine kinases (RTK) 之種類及構造。

RTK之細胞外N-terminus 為富含 cysteine-rich repeat (■, 0) 段，而細胞內C-terminus 則含 tyrosine kinase (□)。

表7：三大類受體 tyrosine kinases 的構造及基因特性之比較。

	Subclass I		Subclass II		Subclass III		
	EGF-R	HER2/neu	I-R	IGF-1-R	CSF-1-R/c-fms	PDGF-R	c-kit
Ligand	EGF TGF $\alpha$ p19 <sup>incc</sup>	unknown	insulin (IGF-1)	IGF-1 (insulin, IGF-2)	CSF-1	PDGF-A <sub>2</sub> PDGF-B <sub>2</sub> PDGF-AB	unknown
Length of polypeptide chain (aa)	1186	1255 <sup>a</sup>	A <sup>c</sup> : 1343 <sup>a,b</sup> 719 $\alpha$ 620 $\beta$ B <sup>c</sup> : 1355 <sup>a,b</sup> 731 $\alpha$ 620 $\beta$	1,337 <sup>b</sup> 706 $\alpha$ 627 $\beta$	972 <sup>a</sup>	1,067	976 <sup>a</sup>
Length of major domains (aa)							
Extracellular	621	632	A <sup>c</sup> : 719 $\alpha$ 731 $\alpha$ 194 $\beta$ B <sup>c</sup> : 731 $\alpha$ 194 $\beta$	706 $\alpha$ 196 $\beta$	512 <sup>a</sup>	499	520 <sup>a</sup>
Transmembrane	23	22	26	25	25	23	
Cytoplasmic	542	580	403	435	543	433	
Molecular weight Calculated	131,360	137,820	A <sup>c</sup> : 152,700 <sup>b</sup> 82,400 $\alpha$ 69,700 $\beta$ B <sup>c</sup> : 154,000 <sup>b</sup> 83,700 $\alpha$ 69,700 $\alpha$	151,870 <sup>b</sup> 80,420 $\alpha$ 70,870 $\beta$	106,000	120,000	109,740
Native	175,000	185,000	210,000 <sup>b</sup> 135,000 $\alpha$ 95,000 $\beta$	210,000 <sup>b</sup> 135,000 $\alpha$ 90,000 $\beta$	165,000	180,000	145,000
mRNA (kb)	10.5 5.8	4.8	10.3 9.6 8.5 6.7	11 7	4.3	5.3	5
Chromosomal location (human)	7p1.1-7p1.3	17q21	19p13.2-19p13.3	15q26	5q33-5q34	5q31-5q32	4cen-q21

<sup>a</sup> Length includes signal sequence.

<sup>b</sup> Precursor precursor.

<sup>c</sup> Two insulin receptor splicing variants have been described that were designated A (28) and B (29).

均差  
F-R  
细胞  
ine)

及 C-terminus tyr. kinase ; 第二類 RTK 由四個 subunits 構成 (  $\alpha$  2  $\beta$  2 ) 如 insulin 及 insulin-like growth factor receptor ,  $\alpha$  subunit 含一個 cysteine-rich segment ,  $\beta$ -subunit 之細胞內段含 tyrosine kinase , 而第三類 RTK 也是 single polypeptide 如 PDGF-R , C-fms/CSF-1-R 及 C-kit , 其構造與第一類不同的是細胞外無 cysteine-rich repeat , 但仍保留 conserved cysteine residues , 這些 PTK 之 binding

ligands 、 polypeptide chain 、 分子量及基因位置如表 7 所示 , 比對 viral oncogenes 及 cellular proto-oncogenes 構造之差異 , neu 在 transmembrane segment 只有一個氨基酸 Val 變成 glutamate , 而 v-erb B , v-kit 及 v-fms 分在 C-terminus 有 34 , 49 及 40 氨基酸之缺失 ( 圖 9 ) , 由此得知 RTK 之構造稍有變化 , 就可使其功能產生極大變化 , 而造成細胞生長失去控制之現象 。 以上三類 RTK 之演化 , 似乎來自原

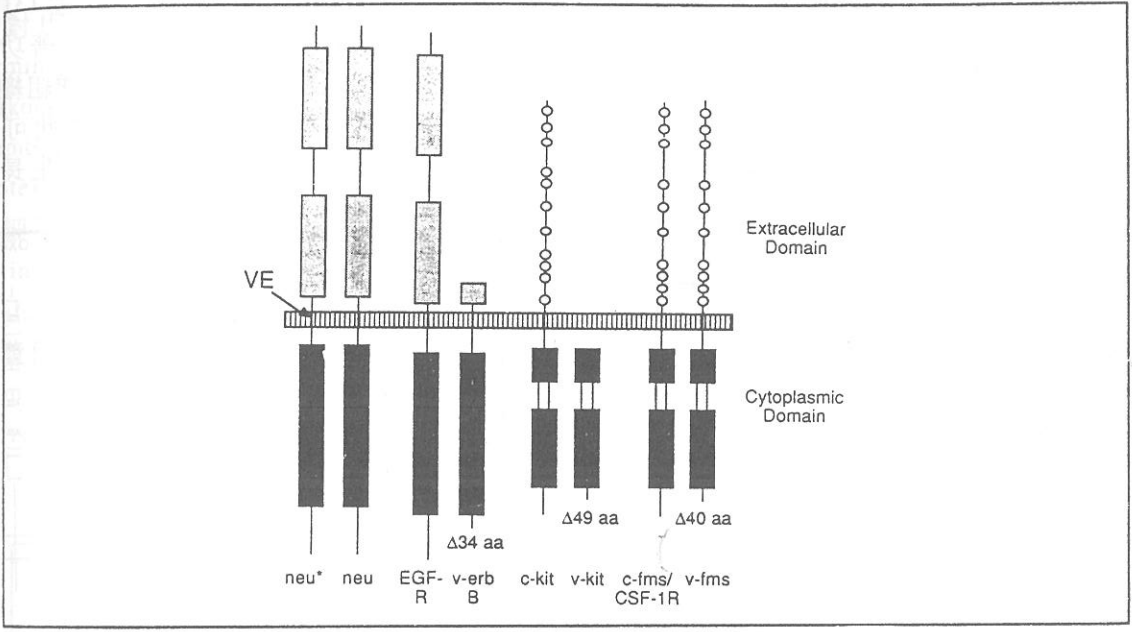


圖 9 : 比較 receptor tyrosine kinase (RTK) proto-oncogene 及 oncogene 之構造。

Oncogene neu\* 在 transmembrane 處 valine(V) 經突變成 glutamate(E) , 而 oncogenes v-erbB , v-kit 及 v-fms 之 C-terminus 端分別有 34 , 49 及 40 之氨基酸缺失 (  $\Delta$  ) 。

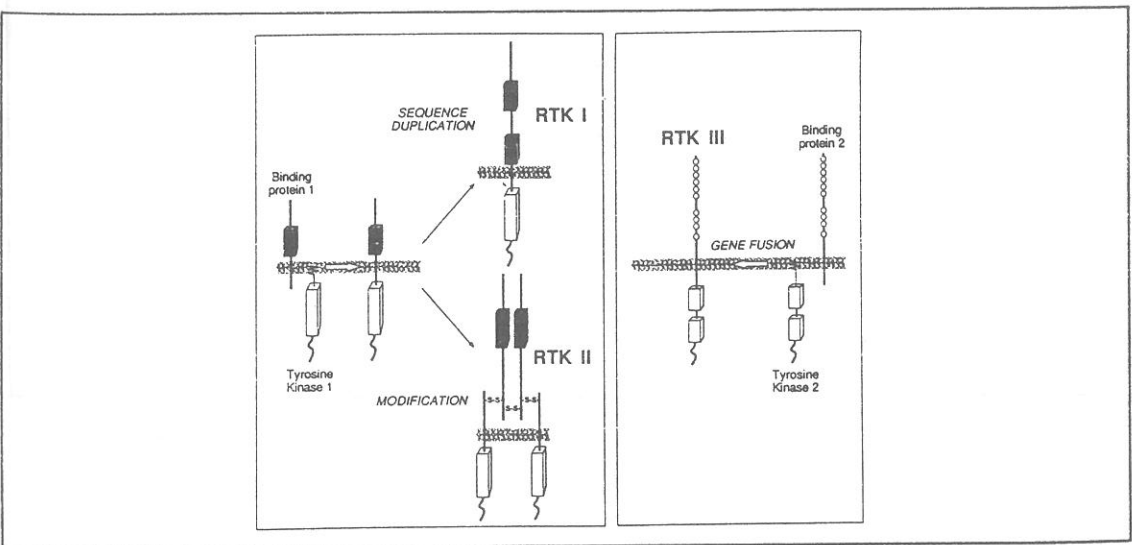


圖 10 : 三種不同的 receptor tyrosine kinases (RTK) 之演化。

先二個不同的 subunits (binding protein 1 及 tyrosine kinase (圖 10)，經由不同的組合而產生第一及第二類 RTK，而第三類則由 binding protein 2 及 tyrosine kinase 2 經 gene fusion 而產生。

最近研究神經生長因素如 nerve growth factor (NGF) 以及 brain derived neurotrophic factor (BDNF, neurotrophins) 之受體可歸納為二大類，分別為  $P75^{NGFR}$  及  $P140^{trkA}$  (圖 11)，後者也具有 tyrosine kinase 活性，同屬於  $P75^{NGFR}$  者尚有 FAS antigen (誘發 apoptotic cell death)，tumor necrosis factor receptor (TNFR I 及 TNFR-II，圖 12)，這些受體之共同點是細胞外 N-terminus 含有三至四個 cysteine-rich regions，顯然地，這些受體不但負責訊息傳遞，促進細胞生長，似乎對細胞之死亡也有關連。而第二類神經生長素受體  $P140$

$trkA$ ，B 是 proto-oncogene *trk* 之產物，具有 tyrosine kinase 活性，與 NGF 結合後，可 utophosphorylation，許多種神經細胞如 sensory neurons, PC12, neuroblastomas 對 NGF 有反應者，均有  $P145^{trkA}$  存在，另外有  $P145^{trkB}$  及  $P145^{trkC}$  及果蠅神經分離  $P140$  Dtrk 均屬同一類 PTK，轉染 (transfection)  $P14^{trka}$  於變異型 PC12 cell，本來對 NGF 沒反應者，轉染後可對 NGF 有反應，而生長神經突出，分析這類 *trk* 受體之構造，顯示細胞外 N-terminus cysteine-rich-leu-rich-cys-rich 之特殊構造 (圖 13)，而且連接二個 IgG-C2 這是負責細胞黏著功能，這二類神經細胞之受體也發現於別種組織，例如正在發育的腎臟含有  $P75^{NGFR}$ ，由此可見  $P75^{NGFR}$  及  $P140^{trkA}$  不只調控神經細胞生長，別種細胞也有關連。

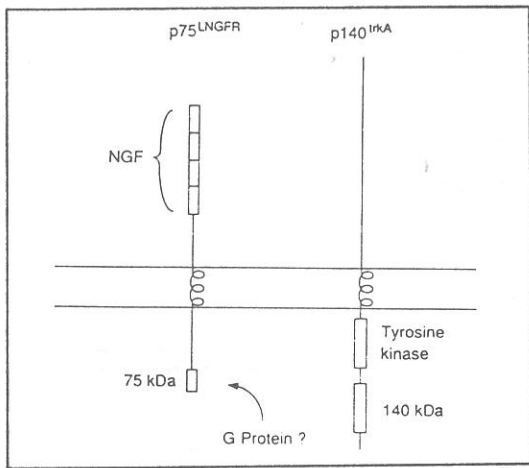


圖 11：二種不同的神經生長素受體 (NGFR) 之構造。

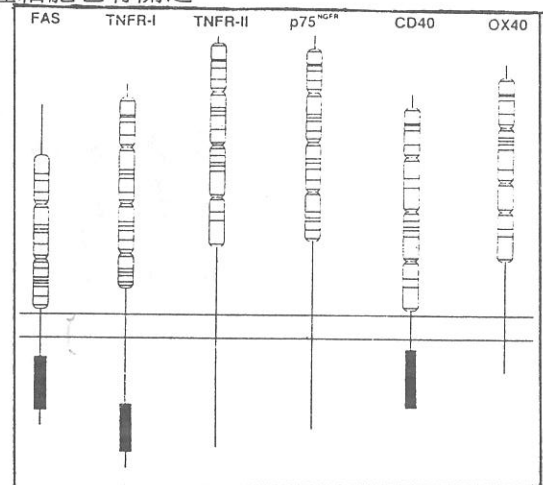


圖 12：神經生長素受體 (NGFR)  $P75^{NGFR}$  及同屬之構造，細胞外 N-terminus 段凹入之平行線乃 cysteine-rich region。

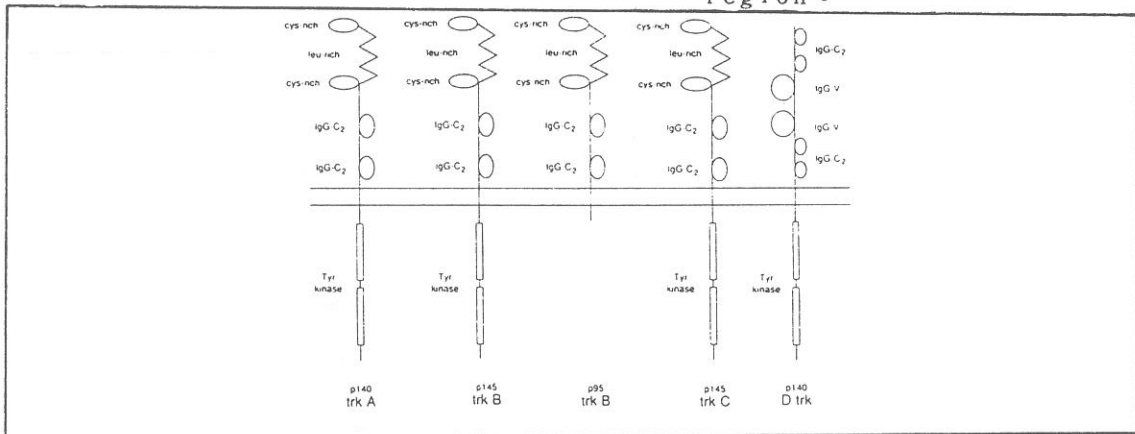


圖 13：神經生長素受體 (NGFR) 具 tyrosine kinase  $P140$  *trk* 及同屬者之構造。NGFR 之細胞外 N-terminus 含 cysteine-rich region 及 immunoglobulin C<sub>2</sub>，負責細胞黏著 (cell adhesion) 作用。

## Protein tyrosine phosphatases (PTPS)對細胞功能之調控

由於 receptor tyrosine kinases 使蛋白質磷酸化後導致細胞生長及分化，而 oncogene product 引發細胞不控制的生長又與其 tyrosine kinase 活性有關，因此，調節 phospho-tyrosine protein 之去磷酸反應也就相對的被重視，費雪及克普斯最近有關 PTPS 之研究也擴大了他們原始有關 protein kinase 研究的領域。費雪等於 1988 年，自人類胎盤分離及純化 PTP-1  $\beta$ ，比對 PTP-1  $\beta$  之構造與 CD45 者之細胞內 C-terminus 具有 2 個 PTP repeats，CD45 屬於 leukocyte common antigen (LCA)，是 transmembrane protein，佔 surface membrane proteins 10%，只存在於 hematopoietic cells，在細胞外 N-terminus 之構造變異較大，連接 sphingolipid containing myristate，除多處 glycosylation 外，且富含 cysteine (圖 15)，對受質去磷酸作用之特異性與 PTP-1  $\beta$  不同，CD45 促使 myelin basic protein (MBP) 去磷酸之作用比對 reduced carboxamidomethylated lysozym

好，而 PTP-1  $\beta$  則相反 (表 8)，除此之外，二者受各種藥物之作用也不同，如 Zn 及 Mn 抑制

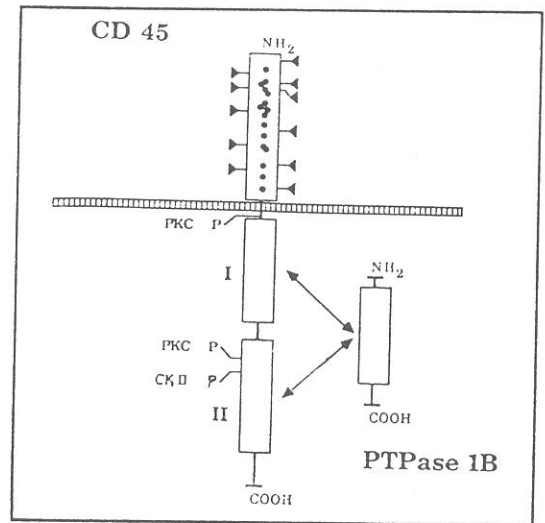


圖15: CD 45及 protein tyrosine phosphatase 1B (PTPase 1B)之構造。

CD45之細胞外N-terminus端有cysteine-rich region (•)及glycosylation site (▲)，而細胞內C-terminus端有 tyrosine 受磷酸化(P)。

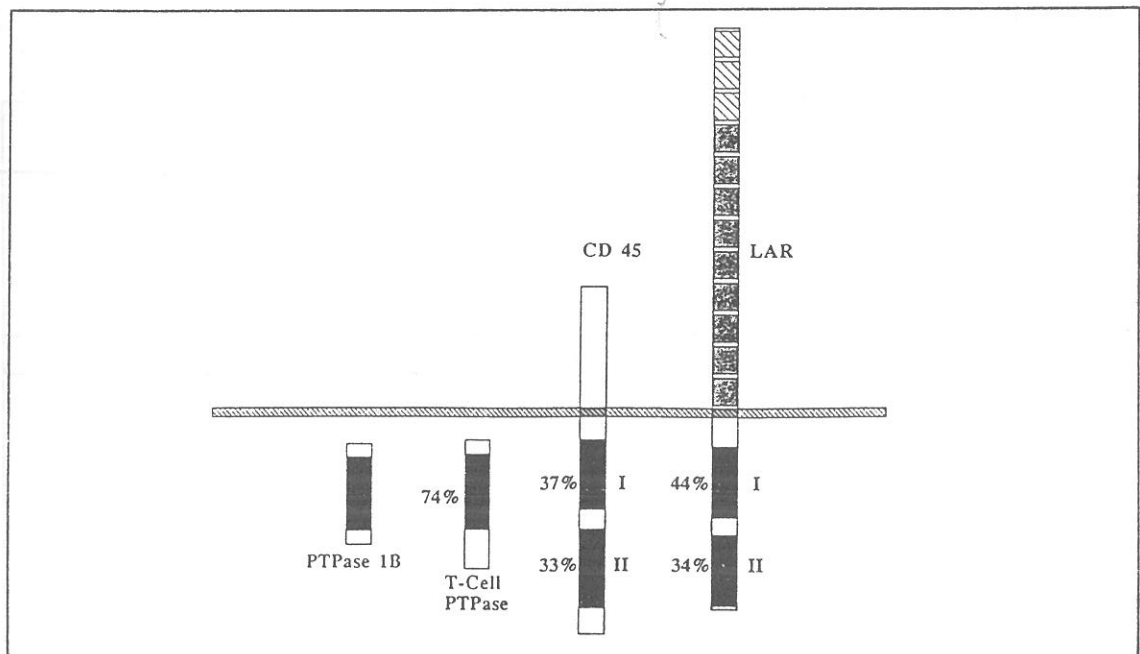


圖14: Protein tyrosine phosphatases (PTPase) 屬之構造，PTPase之細胞內C-terminus tyrosine kinase (■) 氨基酸序列比較 (homology 百分比)，LAR (leukocyte antigen related protein) 之細胞外N-terminus 含 Ig-like (▨) 及 non Ig-like (▩) 處與 neural cell adhesion molecule (NCAM) 之 sequence 相近。



PTP-1  $\beta$  但加強 CD45 活性，spermine 促進 CD45 之作用比 PTP-1  $\beta$  強 8 倍，相反地，heparin 具抑制 PTP-1  $\beta$  比較強。在 T-lymphocytes 之 CD45 發現與 T cell receptor 連接，與促進 phosphatidylinositol (PI) metabolism 有關，在 mutant T cell 缺乏 CD45 protein，刺激 T cell receptor，不能使 PI turnover，此缺陷可用 CD45 cDNA transfection 而恢復正常，另外，oncogene src proteins 具有 tyrosine kinase 活性，此活性被 tyrosine phosphorylation 抑制，CD45 使之 dephosphorylation，則 tyrosine kinase 活性才又出現。

另一種蛋白與 CD45 相近，而存在於白血球細胞膜上，也是 leukocyte common antigen related (LAR) 者，也具有 PTP 活性，與 CD45 不同者，在細胞外 N-terminus 具有二至三個 tandem immunoglobulin G-like domains，並連接二至九個 fibronectin type III (FN III) repeats，這些構造與 cell adhesion molecules (CAM) 如 fasciclin，NCAM 及 L1 相似 (圖 16)，在果蠅所分離的 DLAR 及 DPTP 也有類似構造，此顯示 PTP 之另一功能是負責 cell-cell 及 cell-matrix 互相作用，以控制細胞生長及分化，可能與 cell contact inhibition 有關。目前已知的二十一種 PTPs 依照它們是否與受體結合以及細胞外 N-terminus 構造之差異分為 4 types，如表 9 所列，由此可知 PTPs 之構造及功能之複雜性及多樣性。

以上有關 cytosolic PTPs 及 membrane receptor PTPs 之催化反應及作用分別以圖 17 及圖 18 說明，growth hormone receptor tyro-

表 9：去磷酸酶 (PTPase) 之種類及特性 (R, receptor; NR, nonreceptor)。

PTP	Organism	Type	Size*	PTPase domains
CD45	Human	R type I	1120-1281	2
	Rat	R type I		2
	Mouse	R type I		2
LAR	Human	R type II	1881	2
	<i>Drosophila</i>	R type II	1997	2
DPTP	<i>Drosophila</i>	R type II	1439	2
HPTP $\beta$	Human	R type III	1975	1
RPTP $\alpha$	Mouse	R type IV	793	2
	Human	R type IV	774	2
	Human	R type IV	793	2
	Mouse	R type IV	793	2
HPTP $\epsilon$	Human	R type IV	681	2
HPTP $\delta$	Human	R type II?	>1523	2
	Human	R type ?	>610	2
	Human	R type ?	>555	2
HPTP $\zeta$	Human	R type ?	>613	2
	Human	R type ?	>530	2
PTP 1B	Human	NR PTP	435	1
	Rat	NR PTP	432	1
TC-PTP	Human	NR PTP	415	1
Yop 2b	<i>Yersinia</i>	NR PTP	468	1
VH1	Vaccinia virus	NR PTP	171	1
pyp <sup>1+</sup>	<i>S. pombe</i>	NR PTP	550	1

\*Number of amino acid residues.

表 8：去磷酸酶 PTPase 1B 及 CD45 之特性。

	Human placenta PTPase 1B	Human spleen CD45
Molecular mass (kDa)	37.5	180-220
SH dependence	Yes	Yes
Substrate specificity	Tyrosyl residues	Tyrosyl residues
RCML <sup>a</sup> : Specific activity <sup>b</sup>	~ 20 000 U mg <sup>-1</sup>	~ 1000 U mg <sup>-1</sup>
$K_m$	280 nM	~ 15 $\mu$ M
MBP <sup>a</sup> : Specific activity <sup>b</sup>	~ 17 000 U mg <sup>-1</sup>	~ 21 000 U mg <sup>-1</sup>
$K_m$	250 nM	1-4 $\mu$ M
<i>Modulators of RCML dephosphorylation</i>		
Vanadate and Molybdate	Inhibitory	Inhibitory
Zn and Mn	Inhibitory	Activating
Spermine	1.5-fold activation	12-fold activation
EDTA	3-fold activation	2-fold activation
Heparin and poly(Glu-Tyr)	IC <sub>50</sub> 20-50 nM <sup>c</sup>	IC <sub>50</sub> > 200 nM

<sup>a</sup>Abbreviations: RCML, reduced carboxamidomethylated and maleylated lysozyme; MBP, myelin basic protein.

<sup>b</sup>1 unit = 1 nmol phosphate released min<sup>-1</sup>.

<sup>c</sup>IC<sub>50</sub> = concentration causing 50% inhibition.

sine kinase autophosphorylation 是 active form，受 PTP 作用，去磷酸後變成 inactive，另外細胞內 protein A 受 phosphorylation 後，產生 physiological responses，然後受 PTPase 去磷酸後，其作用終止（圖 15）。相反地，membrane

receptor PTPase 與 ligand 結合，變成 active form，催化 phosphorylated inactive src tyrosine kinase 去磷酸化，而有 tyrosine kinase 活性，於是促使 protein A 磷酸化而產生作用（圖 18）。

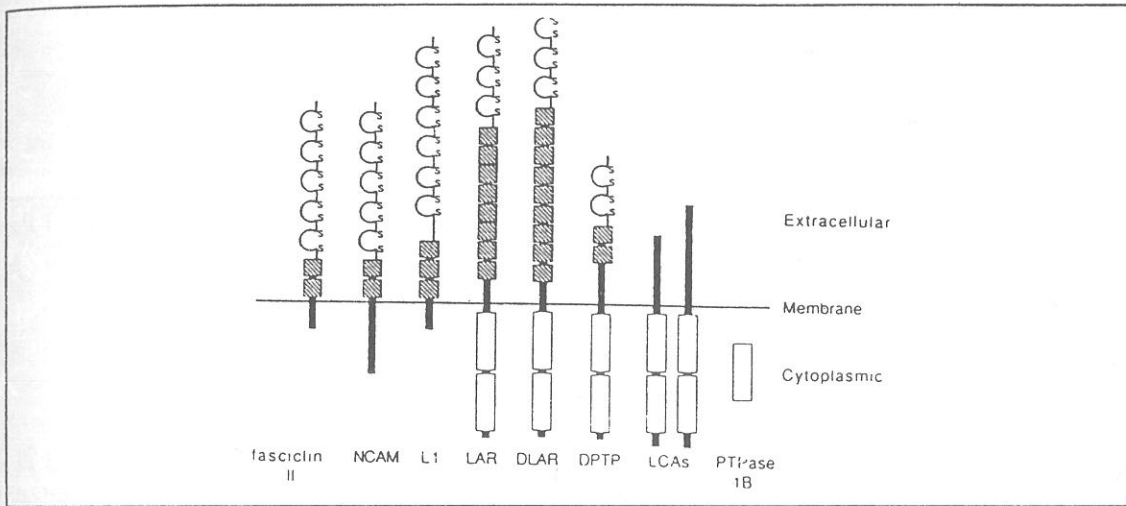


圖16：Protein tyrosine phosphatase (PTPase) 屬與 cell adhesion molecule (CAM) 屬之構造。

注意細胞外 N-terminus 含 cysteine-rich region (C<sub>2</sub>) 及 immunoglobulin-like, fibronectin type III-like 及細胞內 PTPase domain (□) 之比較。

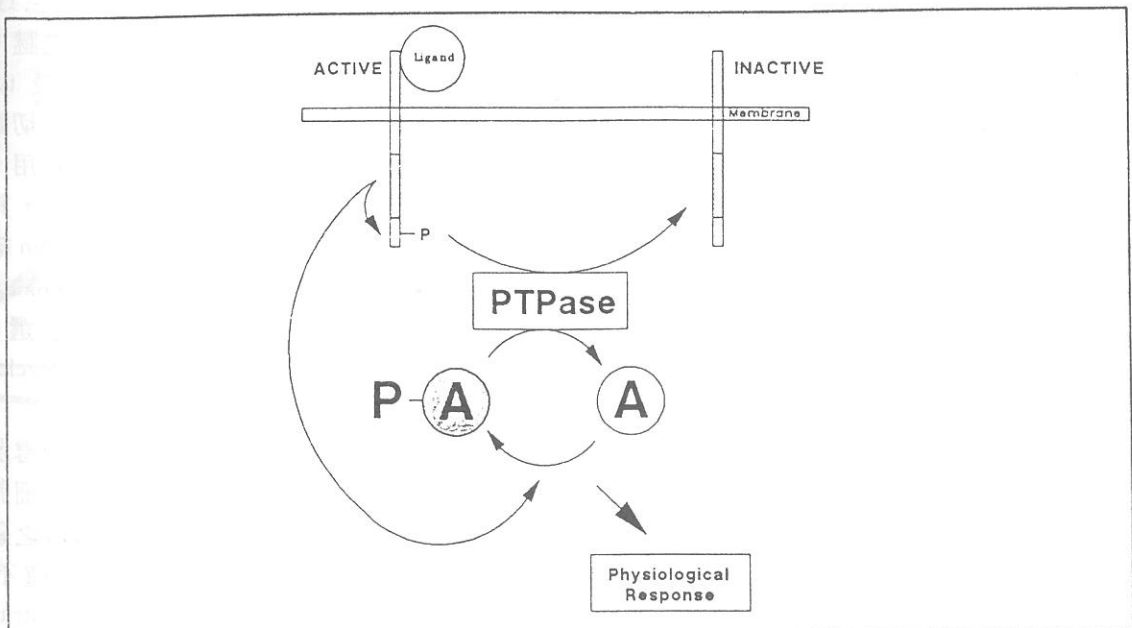


圖17：細胞蛋白質 tyrosine 磷酸化之調節。

細胞膜 tyrosine kinase receptor 受 growth factor 作用，自體磷酸化，變成活化型，促使蛋白質 A 磷酸化，而細胞內 protein tyrosine phosphatases (PTPases) 使受體及 A-P 去磷酸後，而變成不活躍型。

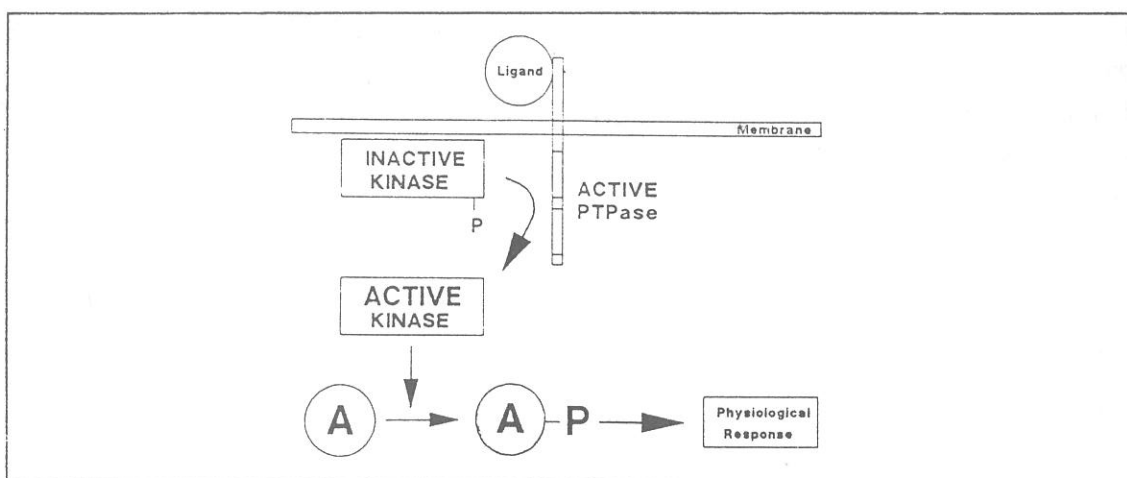


圖18: Receptor tyrosine phosphatases (PTPases)之生理功能,細胞膜上PTPase與ligand結合後,變成有活性型,促進phosphorylated inactive kinase去磷酸後,變成active kinase,於是使蛋白質A磷酸化,結果產生生理效應。

## 本研究之啓示、臨床應用及展望

細胞蛋白質可逆性的磷酸化,乃是細胞訊息傳遞及細胞功能調控的重要機轉之一,控制此可逆性反應的蛋白激酶 (protein kinase) 及去磷酸酶 (protein phosphatases) 不但種類多而且構造也不盡相同,顯示細胞蛋白質磷酸化反應受到多樣性及複雜性的調控,不但如此,這些酶的活性除了接受許多荷爾蒙及藥物調節外,酶本身也受磷酸化調控,因此細胞內各種重要的蛋白質活性在精密磷酸化調控網內,達成和諧的動態平衡,以維持細胞功能的正常。因此本調控網失常時會導致各種疾病,而有些能調節此控制網的藥物就能治病,因此引發臨床應用的無限希望,舉例說明如下:

1. Oncogene neu/HER-2, v-erb B, v-kit 及 v-fms 具有 tyrosine kinase 活性,這是由 proto-oncogene mutation 或 truncation 而來,此顯示細胞 tyrosine kinase 失常,可能是引發癌症的原因之一,因此開發 tyrosine kinase 的作用藥物,可為抗癌新藥之展望。
2. Okadaic acid 抑制 protein phosphatase 作用,具有 tumor promotion,顯示細胞內 protein phosphatases 是 tumor suppressor,探求 okadaic acid 的拮抗藥或促進 protein phosphatase 之藥物,也可能具有抗癌效果。
3. Nerve growth factor 的受體具有 tyrosine kinase,最近自腦中分離之 neurotrophins 可

促進神經生長及分化,因此蛋白質磷酸化反應與神經生長及分化有密切關係,開發 neurotrophin 類藥物,可應用於神經受傷、老化等等退化性神經疾患之治療。

4. 細胞的老化及定序的死亡 (programming death, apoptosis) 似乎與某些蛋白質如 FAS 及 TNF 有關,這些蛋白質及受體也皆具有 tyrosine kinase,因此進一步研究 tyrosine kinase 之功能,可望揭開老化之謎。
5. 白血球細胞之 tyrosine kinase 及 tyrosine phosphatases 活化,與免疫力有密切關係, Cyclosporin 具有特強的免疫抑制作用,廣泛使用於器官移植,減少排斥作用,其作用機轉乃是 cyclosporin 與 immunophilin 結合的複合物,去抑制 tyrosine phosphatase、calcineurin 之結果。所以篩選抑制 calcineurin 之藥物,可望開發比 cyclosporin 好的藥物。

細胞蛋白質磷酸化的調控經由費雪及克普斯之研究啓發後,已有許多進展,對細胞功能之調控有更進一步的瞭解,但此領域之研究揭開另一層面的新知寶藏,例如各種不同的 kinases 及 phosphatases 的 specific substrated 是那一種,membrane receptor phosphatases 之 binding ligands 是什麼,以及尚有許多 unknown kinases 及 phosphatases 有待我們去研究及開發。(本文曾刊載於「當代醫學」第十九卷,第十一、十二期)