DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.04.032

白细胞介素-2和白细胞介素-4基因转染人胃癌细胞株治疗胃癌的实验研究

An experimental study on immunotherapy for human gastric cancer by interleukin 2 or/and interleukin 4 gene transfer into tumor cells

周志强 刘为纹 (第三军医大学附属西南医院消化内科)重庆, 630038

IL_2与 LAK细胞或 TILs联合应用的过继免疫疗法,仅对少数胃癌治疗有效,对大多数胃癌病人则无明显的治疗作用,而且常伴有严重的毒副作用。治疗失败的原因主要是全身给予细胞因子,不符合细胞因子的作用机理。为了在局部分泌细胞因子,一些研究小组将细胞因子基因转染入肿瘤细胞表达,动物体内研究表明,转染细胞在局部分泌细胞因子不仅可以避免全身性副作用,而且可以诱导机体产生抗肿瘤免疫反应。

本实验的目的是研究 IL_2, IL_4基因转染人胃癌细胞株的可行性与有效性。我们用真核表达载体将 IL_2, IL_4基因转染入人胃癌细胞株,观察基因转染对胃癌细胞株的生物学特性和 LAK细胞对肿瘤杀伤作用的影响,并研究体外大剂量γ射线照射对肿瘤细胞存活和分泌细胞因子的作用,最后,我们观察了基因转染细胞在裸鼠体内致瘤性的改变。

(1)人胃癌细胞株表达 IL_2, IL_4。人 IL_2 cDNA, IL_4 cDNA分别插入到真核表达载体 BMGNeo的 SalI和 XhoI位点。用脂质体转染法将 BMGNeo-hIL_2, BMGNeo-hIL_4转染入人胃癌细胞株 SGC-7901细胞,随机挑选阳性克隆检测 IL_2表达为 20~131 u/10^6/24 h, IL_4表达为 20.0~60.12 ng/10^6/24 h。有两个克隆同时表达 IL_2和 IL_4(86.2 U+48.8 ng/10^6/24 h; 96.5 U+20.01 ng/10^6/24 h)。这表明人 IL_2和 IL_4基因可以单独或联合转染入人胃癌细胞株,并表达有活性的细胞因子。

(2)体外肿瘤细胞形态和生长能力。在培养条件下,分泌细胞因子的胃癌细胞株与亲本胃癌细胞株的生长形态和生长能力相比无明显差异,表明 IL_2, IL_4基因转染和表达,并不改变胃癌细胞株的体外生长特性。

(3) IL_2, IL_4基因转染细胞 MHC抗原表达。用免疫组织化学和间接免疫荧光染色法,研究 IL_2, IL_4基因转染对胃癌细胞株 MHCⅠ、Ⅱ类抗原表达的影响。虽然 MHCⅠ、Ⅱ类抗原表达与肿瘤细胞的免疫原性有关,但是,我们的实验结果表明, IL_2, IL_4基因转染并不改变胃癌细胞株表面 MHCⅠ,Ⅱ类抗原的表达。

(4)增加 LAK细胞的肿瘤杀伤作用。IL_2激活外周血淋巴细胞得到 LAK细胞,按效应细胞/靶细胞比率 5:1,加入 LAK细胞和胃癌细胞株,以 MTT比色法测 LAK细胞的肿瘤杀伤作用。结果表明, IL_2, IL_4基因单独或联合转染胃癌细胞株可以明显增强 LAK细胞的肿瘤杀伤作用,而且, IL_2和 IL_4基因转染胃癌细胞株,比转染 IL_2或 IL_4单项基因,更有效地增强 LAK细胞的作用。这个结果表示: IL_2, IL_4基因转染细胞与 LAK细胞联合使用,可能是治疗胃癌的有效方法,将 IL_2和 IL_4基因联合转染同一胃癌细胞株表达,可以更有效地增强机体抗肿瘤免疫反应。

(5)γ射线照射对胃癌细胞株分泌细胞因子的影响。临床应用含分泌细胞因子的胃癌细胞株作为肿瘤疫苗时,要求消除细胞的任何致瘤能力。大剂量的γ射线照射可以消除胃癌细胞的生长能力,但在一定时间内仍然维持它们的代谢活性。体外照射 50 Gy γ射线后,胃癌细胞株尽管失去增殖能力,但是仍然可能持续分泌 IL_2或 IL_4, 2~3周,胃癌细胞株 5周内 100%死亡,这对于避免将有致瘤能力的胃癌细胞株输入病人体内,有重要的意义。

(6) IL_2, IL_4基因转染胃癌细胞株的体内致瘤性。我们将 IL_2或/和 IL_4基因转染胃癌细胞株接种于裸鼠体内以评价转染细胞的体内致瘤性。亲本胃癌细胞株和转染 Neo载体的胃癌细胞株在 5周内均形成肿瘤,而 IL_2及 IL_2和 IL_4基因联合转染的胃癌细胞株接种裸鼠体内 12周仍未见肿瘤形成,表明 IL_2, IL_2和 IL_4基因联合转染人胃癌细胞株,可以消除转染细胞的致瘤性。由于人 IL_4有明显的种属特异性,与我们预计结果一样,人 IL_4基因转染细胞在裸鼠体内可形成肿瘤。

亲本胃癌细胞株与 IL_2基因转染细胞 1:1混合接种于裸鼠体内时,也不形成肿瘤,表明 IL_2基因转染细胞诱导机体产生的抗肿瘤免疫反应,可以排斥混合接种的亲本胃癌细胞株,即 IL_2基因转染胃癌细胞株可以产生"旁观者效应"。

我们的实验结果表明,细胞因子基因可以转染入人胃癌细胞株,并表达有活性的细胞因子。细胞因子基因转染胃癌细胞株,作为肿瘤疫苗,诱导机体产生抗肿瘤免疫反应,可能是免疫治疗胃癌有效方法。

关键词 胃癌;基因治疗;免疫治疗;白细胞介素-2;白细胞-4;肿瘤疫苗

中图法分类号 R735.2

(收稿: 1996-07-03;修回: 1996-07-09)

(编辑 王 红、沈锡庚)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net