

# 多抗甲素体外对人淋巴细胞IL-2生成及反应性的影响

胡其乐 王 泓 王浴生 陈荣秀\* 沈炜明\*

(华西医科大学, 成都 610041; \*四川抗菌素工业研究所, 成都610044)

**摘要** 本文结果表明, 多抗甲素 (polyactin A, PA) 在 0.01~100 $\mu$ g/ml 的浓度范围内能显著提高入淋巴细胞在 PHA 作用下分泌白细胞介素 2 (IL-2), 表达 IL-2 受体以及对 IL-2 发生反应的能力, 此作用呈剂量依赖性。PA 在低浓度 (0.01~0.1  $\mu$ g/ml) 时, 尚能拮抗正常人血清中 IL-2 抑制物的活性。上述结果提示 PA 能促进 IL-2 的生成和反应性, 从而增强细胞免疫功能。

**关键词** 多抗甲素; 白细胞介素 2; 淋巴细胞

新型抗肿瘤抗生素多抗甲素 (PA), 是从  $\alpha$ -溶血性链球菌 33<sup>#</sup> 株培养液中提取的  $\alpha$ -甘露聚糖肽类物质, 临床对多种人体肿瘤有良好疗效<sup>(1,2)</sup>, 动物实验证明有明显免疫促进作用<sup>(3~8)</sup>。本文研究了 PA 体外对正常人淋巴细胞分泌 IL-2, 表达 IL-2 受体, 对 IL-2 发生反应以及对血清 IL-2 抑制物活性的影响。

## 材 料 和 方 法

**材料** PA: 成都利华制药厂产品; 依赖 IL-2 淋巴细胞株 CTLL 由上海医科大学提供; 标准 IL-2 为 1000 U/ml, Sigma 产品; 细胞培养液由 RPMI 1640 配制, 同前文<sup>(8)</sup>; 植物血球凝集素 (PHA): 广州医药工业研究所生产; <sup>3</sup>H-TdR 购于上海 Q 原子能研究所。

**IL-2 的产生和测定** 按常规方法, 用淋巴细胞分离液从健康成人静脉血分离淋巴细胞 (PBL)。每个培养管加入 PBL  $1 \times 10^6$  个、PHA 200  $\mu$ g, 培养液 1 ml 以及不同剂量 PA。置 CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h 后, 离心并吸出含 IL-2 的上清液。在 96 孔细胞培养板中, 每孔加入 CTLL 细胞  $1 \times 10^4$  个、培养液及上述上清液或标准 IL-2 液各 100  $\mu$ l。每一标本均为三复孔。置 CO<sub>2</sub> 培养箱培养 18 h 后, 每孔加入 <sup>3</sup>H-TdR 37  $\mu$ Bq, 继续培养 6 h。点样、烘干, 用液体闪烁计数器 (Beckman, LS 9800) 测定各孔细胞的 <sup>3</sup>H-TdR 参入量 (cpm 值), 并计算各待测上清液中 IL-2 的含量, 以 U/ml 表示<sup>(9)</sup>。

**IL-2 吸附试验** 将淋巴细胞 (PBL)  $1 \times 10^6$  个/ml 置含 PHA (80  $\mu$ g/ml) 及不同浓度 PA 的培养液中培养 72 h, 取出用 Hanks 液洗 3 次, 再用含标准 IL-2 (50 U/ml) 的培养液将其稀释成  $1 \times 10^7$ /ml 的细胞悬液。置 4 $^{\circ}$ C, 不时摇动。4 h 后离心取上清液, 按上述方法测定其中剩余 IL-2 的活性。

**淋巴细胞 IL-2 反应性测定** 浓度为  $1 \times 10^6$ /ml 的 PBL, 在含 PHA (80  $\mu$ g/ml) 及不同浓度 PA 的培养液中培养 3 天后, 用 Hanks 液洗涤 3 次, 加入培养板 ( $2 \times 10^5$  个/孔) 内, 每一标本加 3 复孔。各孔加入含标准 IL-2 (50 U/ml) 的培养液 200  $\mu$ l, 培养 60 h 后, 每孔加 <sup>3</sup>H-TdR 37  $\mu$ Bq, 继续培养 12 h, 收集细胞, 测定 <sup>3</sup>H-TdR 参入量。

**血清 IL-2 抑制物活性测定** 培养板每孔加入 CTLL 细胞  $1 \times 10^4$  个, 培养液 200  $\mu$ l (含

标准 IL-2 10 U;混合正常人血清 1 或 5% 以及不同浓度的 PA, 每一组合均为 3 复孔。培养板置 CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 18 h 后, 各孔加入 <sup>3</sup>H-TdR 37 μBq, 继续培养 6 h, 按上述方法测 <sup>3</sup>H-TdR 参入量。

## 结 果

### 一. PA 对人 PBL 分泌 IL-2 的影响

培养液中含有不同浓度 PA 或不含 PA 时, CTLL 细胞 <sup>3</sup>H-TdR 参入量无显著差异, 提示在本实验条件下, PA 不影响 CTLL 细胞的生长, 对上述测定方法无影响。

由图 1 可见, PA 能促进 PBL 分泌 IL-2, 而且在一定剂量范围内 (0.01~100 μg/ml), 这种促进作用随 PA 浓度的增加而增强。

### 二. PA 对活化淋巴细胞吸附 IL-2 的影响

静止期淋巴细胞经 PHA 等促有丝分裂原刺激活化后, 方能在细胞膜上表达 IL-2 受体, 吸附培养液中 IL-2。三次实验结果基本一致, 图 2 所示为其中一次结果。由图 2 可见, 经含有 PA 培养液培养过的淋巴细胞, 其上清液 IL-2 活性明显降低, 提示 PA 能促进淋巴细胞表达 IL-2 受体, 且呈剂量依赖关系。

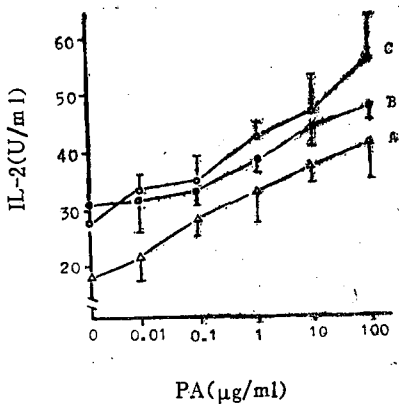


Fig 1. Effect of PA on *in vitro* IL-2 production of human lymphocytes. A, B and C represent 3 individual experiments.

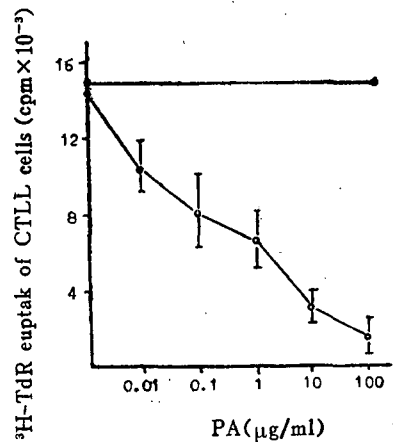


Fig 2. Activity of a standard IL-2 preparation before (●) and after adsorption with human lymphocytes cultured in medium containing PHA and PA (○).

### 三. PA 对活化淋巴细胞与 IL-2 反应的影响

表达 IL-2 受体的活化淋巴细胞, 可对 IL-2 发生反应, 因而能在 IL-2 的作用下增殖。由图 3 可见, 淋巴细胞在 PHA 刺激活化过程中, 加入 PA 后对 IL-2 的上述反应明显增强, 且随 PA 浓度的增高而加强。

### 四. PA 对人血清 IL-2 抑制物活性的影响

正常人血清中存在调节 IL-2 活性的 IL-2 抑制物。在本文的测定系统中, 此抑制物对 IL-2 的活性有很强的抑制作用。测定系统中加入 0.01 或 0.1 μg/ml PA 时, 可明显拮抗 IL-2 抑制物的作用, 而 PA 的浓度增加到 1, 10 或 100 μg/ml 时, 此拮抗作用反而不明显 (如图 4 所示)。

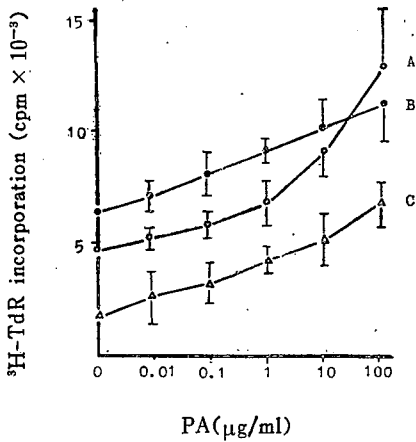


Fig 3. Effect of PA on the responsiveness to IL-2 of human lymphocytes. A, B and C represent 3 individual experiments.

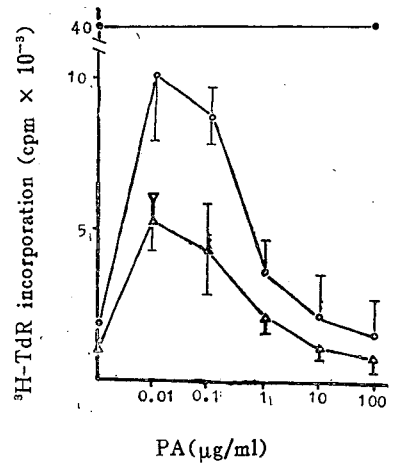


Fig 4. *In vitro* effect of PA on the activity of IL-2 inhibitor in human sera. The concentrations of human sera in culture were 0% (●), 1% (○) and 5% (△) respectively.

## 讨 论

本文结果首次证明, PA 在体外能促进人外周血淋巴细胞分泌 IL-2, 表达 IL-2 受体, 并增强其对 IL-2 发生反应的能力。

IL-2 是由活化淋巴细胞分泌的一种淋巴因子, 在机体细胞免疫中起着重要作用。在抗肿瘤免疫反应中, IL-2 能活化对肿瘤细胞有直接杀伤作用的免疫活性细胞<sup>(10,11)</sup>。动物实验和临床试用证明有一定抗肿瘤作用<sup>(12,13)</sup>。由于 PA 有促进淋巴细胞分泌 IL-2, 并能增强对 IL-2 反应的活性, 因此 PA 可用于肿瘤的治疗或辅助治疗。

本文结果表明, PA 在一定剂量范围内对人淋巴细胞 IL-2 生成及对 IL-2 反应有促进作用, 且呈剂量依赖关系, 此作用特点对临床应用是有利的。然而 PA 对正常人血清中 IL-2 抑制物活性虽有拮抗作用, 但并不呈剂量依赖关系, 此现象目前尚难以解释, 有待进一步探讨。

## 参 考 文 献

1. 邓明亭, 等. 多抗甲素治疗肺癌临床观察. 抗生素 1984; 9:327.
2. 谢名英, 等. 多抗甲素在乳腺癌化疗中的地位. 同上 1985; 10:316.
3. 庄镇华, 等. 多抗甲素对小白鼠网状内皮系统吞噬功能的影响. 同上 1982; 7:80.
4. 曾祥元, 等. 多抗甲素对小鼠胸腺影响的电镜观察. 同上 1986; 11:346.
5. 曾祥元, 等. 多抗甲素对小鼠脾脏超微结构的影响. 同上 1983; 8:140.
6. 曾祥元, 等. 多抗甲素免疫活性的研究. 同上 1985; 10:43.
7. 王天然, 等. 多抗甲素对小鼠抗体生成的作用. 中国药理学通报 1988; 4:172.
8. HU QL, et al. Enhancement of IL-2 production and response in normal and tumor-bearing mice by polyactin A. *Asia Pacific J Pharmacol* 1989; 4:251.
9. 匡彦德, 等. 白细胞介素 2 的检测及其诱生条件分析. 上海医科大学学报 1987; 14:10.
10. 佃守·他.  $\gamma$ -IL-2 の全身投与と NK, LAK 活性, 医学のあゆみ 1986; 137:1027.

11. Droge W, et al. Capacity of different cell types to stimulate cytotoxic T lymphocyte precursor cells in the presence of IL-2. *J Immunol* 1986; **132**:2749.
12. 杉山保幸, 他. R-IL-2在用いた受動免疫療法に関する検討. 日癌誌 1986; **21**:858.
13. Rosenberg SA, et al. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *New Engl J Med* 1985; **313**:1485.

## EFFECTS OF POLYACTIN A ON *IN VITRO* IL-2 PRODUCTION AND RESPONSIVENESS OF HUMAN LYMPHOCYTES

QL Hu, H Wang, YS Wang, RX Chen\* and WM Shen\*

(Department of Microbiology and Immunology, West China University of Medical Sciences, Chengdu 610041; \*Sichuan Industrial Institute of Antibiotics, Chengdu 610044)

**ABSTRACT** The effects of a novel antitumor antibiotic polyactin A (PA) on *in vitro* IL-2 production and IL-2 responsiveness of human lymphocytes were investigated. The results show that PA in a concentration range from 0.01 to 100  $\mu\text{g/ml}$  obviously augmented *in vitro* IL-2 production, IL-2 receptor expression and responsiveness to IL-2 of human lymphocytes in the presence of PHA, and that these enhancing effects of PA were dose-dependent. The results demonstrated the potentiating effect of PA on cellular immunity and suggested the suitable use of PA in clinical treatment of tumors. The possible application of PA to the treatment of immune disorders involving deficiency of IL-2 production and/or IL-2 responsiveness of lymphocytes is also considered.

**Key words** Polyactin A; IL-2; Lymphocytes