

微囊化小鼠白介素-12 基因工程细胞的长效抗肿瘤作用

孝作祥, 郑 树*, 潘月龙

(浙江大学肿瘤研究所, 浙江 杭州 310009)

摘要: 目的 探讨通过微囊化能否获取长效抗肿瘤的小鼠白介素-12(mIL-12)基因工程细胞。方法 构建 pcDNA3.1/mIL-12 重组表达质粒, 然后稳定转染 CHO 细胞, 采用海藻酸钠微囊制作技术, 将 mIL-12 基因修饰的 CHO 细胞包裹。观察微囊化 mIL-12 基因工程细胞的 mIL-12 释放, 并将微囊化细胞植入荷瘤小鼠体内, 测定小鼠的抗肿瘤免疫功能及抑瘤效应。结果 微囊化 mIL-12 基因工程细胞产生的 mIL-12 蛋白可自由透过微囊膜。植入荷瘤小鼠体内 21 d 后, 微囊化 mIL-12 基因工程细胞治疗组血清中 mIL-12, mIL-2 及 mIFN- γ 水平分别为 (549 ± 53) , (180 ± 29) 和 $(1008 \pm 156) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 而 mIL-4, mIL-10 水平则显著降低。脾脏细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)活性及自然杀伤细胞(NK)活性均显著增高, 肿瘤生长受到显著性抑制, 荷瘤小鼠的存活期明显延长。结论 微囊化 mIL-12 基因工程细胞在体内可持续、稳定地释放 mIL-12, 能激发机体产生持久而强大的抗肿瘤免疫反应, 对实验小鼠产生明显的抗肿瘤效应并延长其生存期。

关键词: 细胞微囊化; 白介素; 基因疗法; 肿瘤

中图分类号: R979.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2002)05-0348-06

白介素-12(IL-12)是最具有抗肿瘤应用前景的细胞因子之一, 但其在 II 期临床实验中却可出现严重毒副作用^[1,2]。近年来 IL-12 的基因治疗倍受重视。IL-12 基因治疗的关键是能否激发机体持久的

抗肿瘤免疫反应。其中 IL-12 表达的量和时间是重要的影响因素, 长期较高浓度地表达 IL-12, 可以诱导持久免疫^[3], 进而产生强大的抗肿瘤效应。

微囊化细胞(microencapsulated cells)技术与基因工程的结合可为 IL-12 的基因治疗提供一条行之有效的途径。微囊化细胞是应用海藻酸钠等亲水性高分子材料将细胞包裹所形成的球囊, 当植入在体内后, 囊内细胞可保持存活并防止细胞逸出囊外; 这一途径可使基因工程细胞产生的重组蛋白长时间、稳定地释放, 在体内持续发挥其功能^[4]。

在本研究中, 构建了重组表达质粒 pcDNA3.1/mIL-12, 稳定转染中国仓鼠卵巢(Chinese hamster ovary, CHO)细胞, 将可持续释放小鼠 IL-12(murine IL-12, mIL-12)的基因工程细胞进行微囊包裹, 植入荷瘤小鼠体内。观察微囊化 mIL-12 基因工程细胞在体产生 mIL-12 的稳定性及其抗肿瘤免疫反应。探讨对实验性肿瘤的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

SuperfectTM转染试剂和 G418(geneticin)购自美国 GibcoBRL 公司; RPMI-1640 购自 Hyclone 公司; 海藻酸钠(alginate sodium)、氯化钡(BaCl_2)及各种孔径的微滤器均购自美国 Sigma 公司。mIL-2, mIL-12, mIL-14, mIL-10 和 mIFN- γ ELISA 检测试剂盒购自 Endogen 公司; 细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)活性检测试剂盒购自美国 Promega 公司; 双腔式微囊发生装置由本所自行研制。

1.2 动物及细胞株

BALB/c 小鼠, δ , 6~8 周, 购自上海西普尔-必凯动物有限公司; 结肠腺癌细胞株 CT26 细胞及 YAC-1 细胞由浙江大学免疫研究所提供; CHO 细胞由本所常规传代培养。

1.3 质粒构建

按文献^[5]构建具有生物学活性的 mIL-12 双亚

收稿日期: 2002-01-28 接受日期: 2002-07-22

作者简介: 孝作祥(1964-), 男, 山东省新太市人, 主治医师、讲师, 在读博士研究生, 主要从事肿瘤化疗、基因及生物治疗的临床和基础研究工作; 郑 树(1931-), 女, 浙江省杭州市人, 浙江大学医学院肿瘤学教授, 博士生导师。

* 联系作者 Tel: (0571)87214404, Fax: (0571)87214404, E-mail: Zhengshu@mail.hz.zj.cn

基 pcDNA3.1/mIL-12 表达质粒。

1.4 pcDNA3.1/mIL-12 表达质粒转染 CHO 细胞及 mIL-12 释放水平测定

用转染试剂 SuperFect™ 将 pcDNA3.1/mIL-12 表达质粒转入 CHO 细胞(按说明书操作), 药物 G418 进行筛选, 获得单克隆高分泌 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞。常规 RPMI-1640 培养液(含 10% 新生小牛血清)中培养 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞, 每隔 2 h 收集培养上清, -20℃ 保存, 用 ELISA 方法检测 mIL-12 表达量。

1.5 微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞的制备及 mIL-12 释放测定

按改良的文献[6]中的方法进行, 简述如下: 将海藻酸钠配置为 1.5% 溶液, 分别用 1.2, 0.8, 0.45 及 0.22 μm 的微滤器过滤、除菌。将 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞按比例 ($0.5 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 海藻酸钠) 混合于海藻酸钠溶液中, 用双腔式微囊发生装置将细胞悬浮液喷射入 4.9% 的 BaCl₂ 溶液 (pH 7.4) 中, 10 min 后, 用 1 × PBS 液洗涤 3 次, 置于含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 中, 孵箱中培养 (37℃ 5% CO₂)。镜下动态观察囊内细胞的生存情况。每隔 2 h 收集培养上清 1 次, -20℃ 保存, 用 ELISA 方法检测 mIL-12 的释放量, 绘制释放曲线。

1.6 荷瘤小鼠模型及其治疗

将处于对数生长期的 CT26 细胞用 1 × PBS 洗 2 次, 悬浮于无血清 RPMI-1640 中 ($2 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$), 于小鼠右后腿 sc 0.1 mL, 即 2×10^5 个 CT26 细胞。d 2 将 60 只荷瘤小鼠随机分为 4 组, 每组 15 只, 分别给予不同的治疗。于治疗 21 d 后随机取每一组中的 5 只小鼠处死。其余小鼠观察长期存活。

RPMI-1640 组: sc RPMI-1640, 每只小鼠 0.2 mL。

CHO 细胞微囊组: sc CHO 细胞微囊, 每只 1×10^5 个细胞。

CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞组: sc CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞, 每只 1×10^5 个细胞。

CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞微囊组: sc CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞微囊, 每只 1×10^5 个细胞。

1.7 小鼠细胞毒 T 淋巴细胞活性及自然杀伤细胞活性检测

均采用 4 h ⁵¹Cr 释放法, 检测自然杀伤细胞 (natural killer, NK) 活性时选用 YAC-1 细胞为靶细胞, 效/靶比为 50 : 1; 检测细胞毒 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTL) 活性时以 CT26 细胞作为靶

细胞, 效/靶比为 20 : 1。NK 及 CTL 活性如下式计算:

$$\text{杀伤活性}(\%) = (\text{实验孔 cpm} - \text{自然释放孔 cpm}) / (\text{最大释放孔 cpm} - \text{自然释放孔 cpm}) \times 100\%$$

1.8 小鼠血液中细胞因子的检测

小鼠被处死前摘眼球放血, 采用 ELISA 方法(按说明书操作)检测其血清中 mIL-2, mIL-12, mIL-4, mIL-10 及 mIFN-γ 水平。

1.9 肿瘤大小及荷瘤鼠生存期观察

接种 CT26 结肠腺癌细胞造模后, 仔细观察小鼠生存情况和肿瘤的生长。每 2 d 用游标卡尺测量 1 次肿瘤大小 (最大径 + 垂直径/2)。每组 10 只荷瘤鼠用于观察生存时间, 所有存活小鼠观察到 60 d 止。

1.10 统计学处理

应用 SPSS 10.0 统计软件处理, 以成组样本 *t* 检验, 分析各组之间差异。以 Kaplan-Meier 过程分析来检测各组荷瘤鼠的生存时间。

2 结果

2.1 微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞培养上清 mIL-12 释放水平

将 mIL-12 基因转染 CHO 细胞 (CHO/pcDNA3.1/mIL-12) 包裹成直径约为 0.5 mm 的海藻酸钠微囊(图 1)。将微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞与非微囊细胞体外培养, 用 ELISA 方法检测培养上清中 mIL-12 的含量。结果显示 2×10^5 个微囊化 CHO/

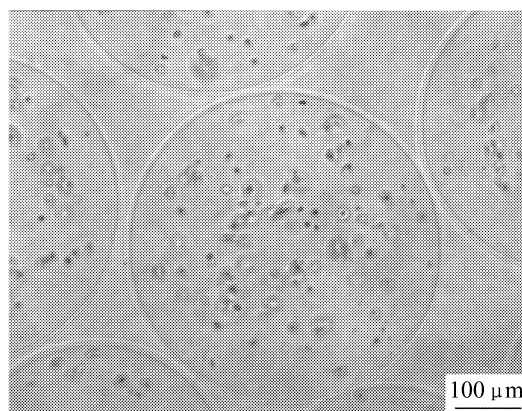


Fig 1. CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells-loaded microcapsules, showing homogeneous distribution of the cells.

pcDNA3.1/mIL-12 细胞与非微囊细胞培养上清中平均 mIL-12 浓度为 24 h 达 5.56 和 5.62 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 最高表达量为 24 h 达 50.1 和 51.2 ng。将测定培养上清中的 mIL-12 浓度绘制分泌曲线, 两组之间无明显差别(图 2)。表明 mIL-12 蛋白能够自由通透海藻酸钠微囊膜。

2.2 细胞毒 T 淋巴细胞活性及自然杀伤细胞活性测定

微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞治疗组的 NK 及 CTL 活性分别为 (59.3 ± 8.2) % 和 (60.9 ±

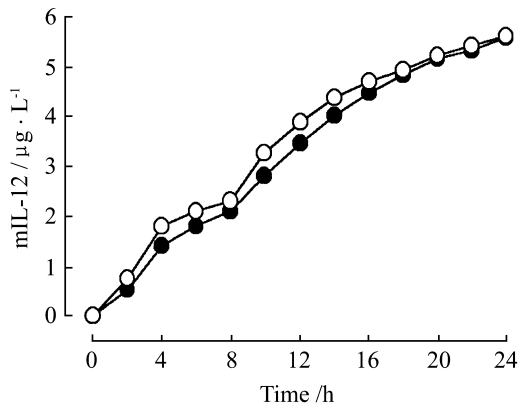


Fig 2. In vitro release of mIL-12 from microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells. (○) CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells, non-encapsulated, (●) microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells. Microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells were suspended in conditioned medium at a density of 2×10^5 cells per well. The medium samples were collected every 2 h and assayed for mIL-12 using ELISA. Medium from CHO/pcDNA3.1/mIL-12 monolayer cells was used as a positive control. This figure indicated that mIL-12 protein could release freely from the microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells.

Tab 1. Natural killer (NK) activity and cytotoxic T lymphocytes (CTL) activity induced by various treatment

Group	NK/%	CTL/%
RPMI-1640	17.3 ± 3.0	21.1 ± 2.2
CHO cell capsule	19.0 ± 1.5	22.8 ± 3.6
CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells	19.7 ± 2.2	21.6 ± 1.7
CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cell capsule	59.3 ± 8.2**	60.9 ± 11.2**

The YAC-1 and the CT26 cells were used as target cells for the NK or CTL assay, respectively. The cytotoxic activity were determined at effector: target (E:T) ratios of 50:1 (for NK) and 20:1 (for CTL) by a standard 4 h ^{51}Cr release assay. $\bar{x} \pm s$, $n = 5$. ** $P < 0.01$, compared with other three counterpart groups, respectively.

11.2) %, 与其他各组比较差异明显升高(表 1)。表明微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞植入体内后能有效地激活小鼠的细胞免疫活性。

2.3 治疗后荷瘤鼠血清中各细胞因子水平

经微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞治疗后 21 d, 荷瘤小鼠血清中 mIL-12, mIL-2 及 mIFN- γ 呈高水平, 分别为 (549 ± 53), (180 ± 29) 和 (1008 ± 156) $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$; 而 IL-4, IL-10 则明显降低。与其他各组比较, 差异均有显著性意义(表 2)。

2.4 对小鼠移植瘤的抑制作用及小鼠存活期的影响

微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞移植后, 肿瘤生长受到显著抑制, 与其他各组比较, 差异有显著意义 ($P < 0.01$, 图 3)。每组荷瘤鼠 10 只用于观察生存时间。对所有存活鼠至少监测 60 d, 结果显示

Tab 2. Cytokine levels in serum after various treatment in the tumor-bearing model

Group	Cytokine level in serum/ $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$				
	mIL-12	mIL-2	IFN- γ	mIL-4	mIL-10
RPMI-1640	95 ± 24	45 ± 14	162 ± 29	96 ± 14	90 ± 17
CHO cell capsule	85 ± 32	42 ± 11	169 ± 31	105 ± 18	105 ± 15
CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells	87 ± 22	39 ± 12	176 ± 28	89 ± 11	92 ± 10
CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cell capsule	549 ± 53**	180 ± 29**	1008 ± 156**	25 ± 10**	27 ± 8**

Tumor-bearing mice in different groups were sacrificed at 21 d after treatment, and blood samples were collected for the detection of cytokines by ELISA. $\bar{x} \pm s$, $n = 5$. ** $P < 0.01$, compared with corresponding other three counterpart groups, respectively.

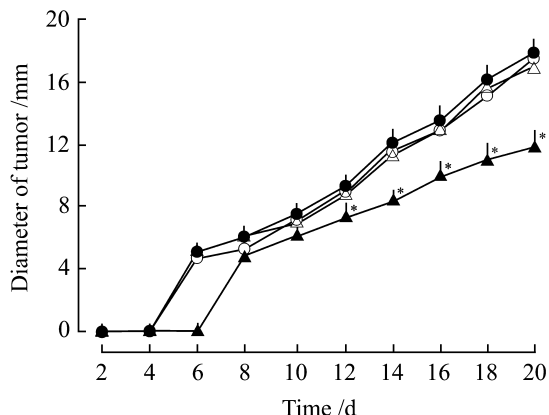


Fig 3. Inhibition of tumor growth by microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells. Two days after tumor inoculation, mice were injected sc with RPMI-1640 (○), CHO cell capsule (●), CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells (△) and CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cell capsule (▲), respectively. Tumor measurements were made with calipers every other day after tumor challenge. $\bar{x} \pm s$, $n = 15$. * $P < 0.05$, compared with other three groups, respectively.

微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞治疗组较其他各组小鼠存活期显著延长 ($P < 0.05$, 图 4)。

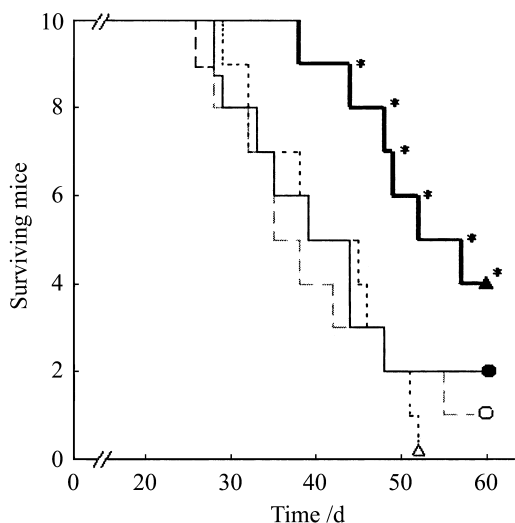


Fig 4. Survival time after various treatment in the tumor-bearing model. Two days after tumor inoculation, mice were injected sc with RPMI-1640 (○), CHO cell capsule (●), CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells (△) and CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cell capsule (▲), respectively. Ten tumor-bearing mice ($n = 10$) in each group were observed for their survival time. All surviving mice were monitored for at least 60 d. * $P < 0.05$, compared with other three counterpart groups, respectively.

3 讨论

本研究显示应用微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞植入体内后,囊内细胞可保持存活并防止细胞逸出囊外。通过长时间、稳定地释放有活性的重组蛋白,在体内持续发挥其功能,从而诱导强有力的抗肿瘤免疫反应,并对鼠结肠癌模型有显著疗效。

近年来研究表明,通过 IL-12 基因工程细胞治疗激发的局部免疫反应,可增强全身性的抗肿瘤免疫效应、减少全身性的毒副作用^[7,8]。最近已有 I 期临床试验的报道^[9]。这些基因治疗应用自体或同系的成纤维细胞或肿瘤细胞为 IL-12 基因的载体细胞,经体外培养、转染及筛选后直接注入体内。由于基因工程细胞在体内存活时间短,不能长时间、持续地产生 IL-12 活性蛋白,影响了抗肿瘤疗效的提高。而自体体细胞或肿瘤细胞需经体外长时间培养、转染及筛选等操作的困难也不利于临床的应用。与此不同,微囊化 IL-12 工程细胞可在体内长时间、持续分泌 IL-12 活性蛋白的特性,有希望为 IL-12 治疗肿瘤提供一条行之有效的途径。

由于海藻酸钠微囊的半通透性、“免疫隔离”特性和良好的组织相容性,既能保持微囊化细胞在体内长时间存活又可重复进行体内治疗^[10]。已有不少报道证实微囊化细胞技术已成功用于其他疾病的治疗^[6,10,11]。本实验结果显示,体外培养的微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞与非微囊化细胞的 mIL-12 最高表达量 24 h 可达 50.1 和 51.2 ng。囊内的 mIL-12 蛋白可自由透过微囊膜,从而保证了微囊化细胞移植入体内后可充分发挥其生物效应;在微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞 sc 21 d 后,荷瘤鼠血清中 mIL-12, mIL-2 及 mIFN- γ 呈显著性高水平,而 IL-4, IL-10 则明显降低。表明持续稳定的 mIL-12 蛋白表达促进了 Th0 向 Th1 的分化,使荷瘤鼠体内以 Th2 细胞因子占优势状态(肿瘤免疫逃逸的机理之一)转变为以 Th1 细胞因子占优势;同时,微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞治疗组的细胞毒 T 淋巴细胞活性及自然杀伤细胞活性明显升高。这些结果显示微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞产生的 mIL-12 能有效地诱导 IFN- γ 产生、增强自然杀伤细胞活性、促进细胞毒 T 淋巴细胞活性和 Th1 的分化,这与文献报道的 IL-12 产生抗肿瘤活性的主要机理一致^[12]。

值得指出的是应用微囊化 CHO/pcDNA3.1/

mIL-12 细胞治疗后,产生显著抗肿瘤效应的同时,未观察到严重的毒副作用,如毛发凌乱皱缩、懒散无生气等这些在应用 IL-12 重组蛋白全身治疗时常出现的副作用。而微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞治疗组荷瘤鼠的生存期显著延长。这表明此治疗途径与应用 IL-12 重组蛋白全身治疗相比较,表现出更好的耐受性和安全性的优势。

以上抗癌免疫效应是由 10^5 个 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞经微囊化包裹后所产生的。较文献报道的 mIL-12 肿瘤疫苗以及电穿孔法将 IL-12 质粒导入机体正常组织的方法更能有效地发挥其抗癌免疫效应^[13,14]。此作用的产生是由于微囊化细胞在体内像“细胞工厂”一样可持续而稳定地分泌 mIL-12,长时间维持较高血水平的 mIL-12,从而激发持久而强大的抗肿瘤免疫反应,达到抗肿瘤的生物效应。

综上所述,微囊化 CHO/pcDNA3.1/mIL-12 细胞在荷瘤鼠体内可长时间持续产生并释放 mIL-12,从而激发机体产生持久的抗肿瘤免疫反应,对小鼠移植瘤有显著的抑制作用而无严重毒副作用。本研究为应用细胞因子基因治疗恶性肿瘤提供了一条有效途径。

4 参考文献:

- [1] Rakhmievich AL, Timmins JG, Janssen K, Pohlmann EL, Sheehy MJ, Yang NS. Gene gun-mediated IL-12 gene therapy induced anti-tumor effects in the absence of toxicity: a direct comparison with systemic IL-12 protein therapy[J]. *J Immunother*, 1999, **22**(2):135 - 144.
- [2] Leonard JP, Sherman ML, Fisher GL, Buchanan LJ, Larsen G, Atkins MB, et al. Effects of single-dose interleukin-12 exposure on interleukin-12 associated toxicity and interferon-gamma production[J]. *Blood*, 1997, **90**(7):2541 - 2548.
- [3] Puisieux I, Odin L, Poujol D, Moingeon P, Tartaglia J, Cox W, et al. Canarypox virus-mediated interleukin-12 gene transfer into murine mammary adenocarcinoma induces tumor suppression and long-term antitumoral immunity[J]. *Hum Gene Ther*, 1998, **9**(17):2481 - 2492.
- [4] DeVos P, DeHaan B, VanSchilfgaarde R. Effect of the alginate composition on the biocompatibility of alginate-polylysine microcapsules[J]. *Biomaterials*, 1997, **18**:273 - 278.
- [5] Chen W, Shao CS, Shen JG, Bao JF, Pan JP, Han W, et al. Construction of bi-cistronic co-expression plasmid of mIL-12 and the expression *in vitro* or *in vivo* [J]. *J Zhejiang Univ (Med Sci)*(浙江大学学报-医学版), 2002, **31**(1):15 - 19.
- [6] Joki T, Machluf M, Atala A, Zhu J, Seyfried NT, Dunn IF, et al. Continuous release of endostatin from microencapsulated engineered cells for tumor therapy [J]. *Nat Biotechnol*, 2001, **19**(1):35 - 39.
- [7] Tahara H, Zeh HJ, Storkus WJ, Pappo I, Watkins SC, Gubler U, et al. Fibroblasts genetically engineered to secrete interleukin 12 can suppress tumor growth and induce antitumor immunity to a murine melanoma *in vivo* [J]. *Cancer Res*, 1994, **54**(1):182 - 189.
- [8] Adris S, Chuluyan E, Bravo A, Berenstein M, Klein S, Jasnin M, et al. Mice vaccination with interleukin 12-transduced colon cancer cells potentiates rejection of syngeneic non-organ-related tumor cells [J]. *Cancer Res*, 2000, **60**(23):6696 - 6703.
- [9] Kang WK, Park C, Yoon HL, Kim WS, Yoon SS, Lee MH, et al. Interleukin 12 gene therapy of cancer by peritumoral injection of transduced autologous fibroblasts: outcome of a phase I study [J]. *Hum Gene Ther*, 2001, **12**(6):671 - 684.
- [10] Chang PL, Van raamsdonk JM, Hortelano G, Barsoum SC, MacDonald NC, Stockley TL. The *in vivo* delivery of heterologous proteins by microencapsulated recombinant cells [J]. *Trends Biotechnol*, 1999, **17**(2):78 - 83.
- [11] Machluf M, Orsola A, Atala A. Controlled release of therapeutic agents: slow delivery and cell encapsulation [J]. *World J Urol*, 2000, **18**(1):80 - 83.
- [12] Shurin MR, Esche C, Peron JM, Lotze MT. Antitumor activities of IL-12 and mechanisms of action [J]. *Chem Immunol*, 1997, **68**:153 - 174.
- [13] Hanna E, Zhang X, Woodlis J, Breau R, Suen J, Li S. Intramuscular electroporation delivery of IL-12 gene for treatment of squamous cell carcinoma located at distant site [J]. *Cancer Gene Ther*, 2001, **8**(3):151 - 157.
- [14] Yamashita YI, Shimada M, Hasegawa H, Minagawa R, Rikimaru T, Hamatsu T, et al. Electroporation-mediated interleukin-12 gene therapy for hepatocellular carcinoma in the mice model [J]. *Cancer Res*, 2001, **61**(3):1005 - 1012.

Long-term anti-tumor effects of microencapsulated murine interleukins-12 engineered cells

XIAO Zuo-Xiang, ZHENG Shu, PAN Yue-Long

(Cancer Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China)

Abstract: **AIM** To investigate if long-term anti-tumor murine interleukin-12 (mIL-12) gene-engineering cells could be obtained by microencapsulation. **METHODS** Reconstructed plasmid pcDNA3.1/mIL-12 was transfected into CHO cells stably by SuperfectTM, then CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells were encapsulated in alginate microcapsules. mIL-12 release from the microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells was confirmed using ELISA assay. Microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells were transplanted subcutaneously into the tumor-bearing mice with CT26 cells. The anti-tumor immunoreaction responses and the anti-tumor activities of the microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells were evaluated. **RESULTS** mIL-12 protein could release freely from the microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells. After the microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells were transplanted subcutaneously into the tumor-bearing mice for 21 d, the serum average concentrations of mIL-12, mIL-2 and mIFN- γ in the

mice treated with microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells were (549 ± 53), (180 ± 29) and (1008 ± 156) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, but the serum concentrations of mIL-4 and mIL-10 were decreased significantly compared to the controls. The cytotoxicity of the CTL from the splenocytes and the NK activity were significantly higher in the mice treated with microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells. Moreover, mIL-12 released from the microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells continuously and stably brought a significantly inhibition of tumor proliferation and a prolonged survival time of tumor-bearing mice. **CONCLUSION** The results showed that microencapsulated CHO/pcDNA3.1/mIL-12 cells expressed significant antitumor effects in the experimental tumor-bearing mice by activating anti-tumor immune responses *in vivo*.

Key words microencapsulated cells; interleukins; gene therapy; tumor

(本文编辑 乔虹)

欢迎订阅 2003 年《中国药理学杂志》

《中国药理学杂志》是由中国药学会主办,中国药理学杂志编辑部出版的综合性药理学学术刊物。月刊,国内外公开发行。读者为高、中级药理学工作者及其医药卫生人员。内容包括药理学各学科,辟有专题笔谈、综述、中药与天然药物、药理、药剂、临床药理学、药品检验及质量、药物化学、药物与临床、生物技术、新药介绍、药理学史、药理学人物、药事管理、学术讨论、科研简报等栏目。创刊近 50 年来在医药卫生界影响较大,享有很高声誉,连续获得国家科委、中宣部、新闻出版署共同主办的第一、二届全国优秀科技期刊评比一等奖,新闻出版署和国家科委联合主办的首届国家期刊奖以及中国科协第一、二届优秀科技期刊一等奖。2001 年被国家新闻出版总署列入中国期刊方阵“双高期刊”。

本刊为大 16 开,每期定价为 10.00 元。国内邮发代号:2-232,国外代号:M313。地址:北京东四西大街 42 号(100710);电话:(010)65229531;传真:(010)665597969。