

行政院國家科學委員會補助專題計畫成果報告

計畫名稱：基因療法-利用SCID老鼠建立腫瘤基因療法的
模式(3/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC 89-2314-B-002-014-M51

執行日期：民國八十九年八月一日至民國九十年七月三十
一日

計畫主持人：賴明陽 教授

計畫參與人員：王志強先生

執行單位：台大醫學院臨床醫學研究所

中文摘要

本年度的計畫中，我們利用腺病毒攜帶不同的細胞激素基因來治療小鼠白血病的動物模式。為了建立一個能夠有效的小鼠白血病動物模式，我們利用小鼠的白血病細胞株來注射小鼠，再進一步了解有關樹突細胞和細胞激素基因應用在腫瘤的治療的效果。同時，我們也利用腺病毒載體來表現如IL-12及IL-18的細胞激素，進一步來感染樹突細胞，看是否能夠在樹突細胞表現。我們利用能夠表現綠色螢光蛋白的腺病毒載體來感染樹突細胞，結果發現能夠表現相當高量的綠色螢光蛋白。同時，利用腺病毒表現IL-12的基因來感染樹突細胞，再收集上清液來測定IL-12的濃度。結果發現，樹突細胞能夠表現相當高量的IL-12。我們利用樹突細胞再加上腫瘤的溶解物，並利用表現IL-12基因的腺病毒加以感染，再追蹤小鼠的存活情形。在追蹤一段時間後，結果發現利用IL-12基因的腺病毒感染的樹突細胞再合併腫瘤細胞的溶解物，可以得到較好的治療效果。所以我們今年的研究結果顯示利用合併樹突細胞和細胞激素基因腺病毒載體一起來治療小鼠的白血病模式，能夠得到相當不錯的治療效果。

Abstract

It has been well documented that cultured dendritic cells could be used as a powerful tool to induce immune response. This study demonstrated that the dendritic cells pulsed with murine RL male 1 leukemic tumor cells lysate can induce protective immune response. In addition, the effect of dendritic cells seemed to be tumor antigen dependent. It was also observed that unpulsed dendritic cells can also inhibit the growth of tumor cells. In this study, we try to compare the inhibitory effect of tumor growth between different manipulations of dendritic cells, including dendritic cells pulsed with tumor cell lysate, dendritic cells pulsed with total RNA, and dendritic cells transfected with IL12 plasmid or adenoviral vector expressing IL-12 or GM-CSF genes, injected into mice before the challenge of tumor cells. These data suggested that dendritic cells could induce inhibition of tumor cell with pulsed either tumor cells lysates or total RNA. In addition, the data also suggested that dendritic cells transfected with IL12 plasmid could enhance the inhibitory effect of tumor growth. Furthermore, the protective mechanisms and immune effector cells induced by the therapeutic approaches are also investigated. Although more studies concerning detailed mechanisms are needed, we believe cytokine genes engineered dendritic cells might exert better therapeutic effect on murine model of leukemia.

計畫目標：利用樹突細胞合併腺病毒載體表現細胞激素基因來治療小鼠的白血病模式

成果報告：

我們在過去三年來一直利用樹突細胞來治療腫瘤的動物模式，能夠表現細胞激素基因的腺病毒載體來增強我們想要的免疫反應。為了進一步將細胞激素送入樹突細胞內，再注射入動物體內，以增強免疫反應。我們先利用可以表現IL-12基因的腺病毒來感染樹突細胞，先測定是否會導致樹突細胞的死亡。結果發現即使在M.O.I.1000的情形下，似乎對樹突細胞也不會造成死亡，樹突細胞還是有著相當好的存活率(Figure 1)。而利用會表現螢光蛋白基因的腺病毒來感染樹突細胞，則發現其有效的感染率大約都可以達到65%以上(Figure 2)，此一結果跟我們去年利用質體(plasmid)來感染樹突細胞時大約不到10%的感染率，可以說是相差很多。而同樣的，利用表現IL-12的腺病毒來感染樹突細胞，再收取上清液來測定其中IL-12的濃度，結果發現可以表現出相當高濃度的IL-12(Figure 3)。而此一結果是我們所樂意見到的，因為這樣一來，也許便能夠有效地利用感染腺病毒-IL-12的載體感染樹突細胞而得到更好的細胞性免疫反應。同時利用樹突細胞處理過腫瘤細胞溶解物和腺病毒表現IL-12基因也發現的確能夠有效地降低腫瘤的發病，而延長小鼠的存活(Figure 4)。

1. Lin, Y.-L., Lu, C.-W., Wang, S.-H. and Chiang, B.-L. Direct delivery of dendritic cells exert therapeutic effect on tumor growth in murine model. (In manuscript)*
2. Tsai, B.-Y and Chiang, B.-L. Direct delivery of cytokine genes engineered dendritic cells exert therapeutic effect on tumor growth in murine model. (In manuscript)*

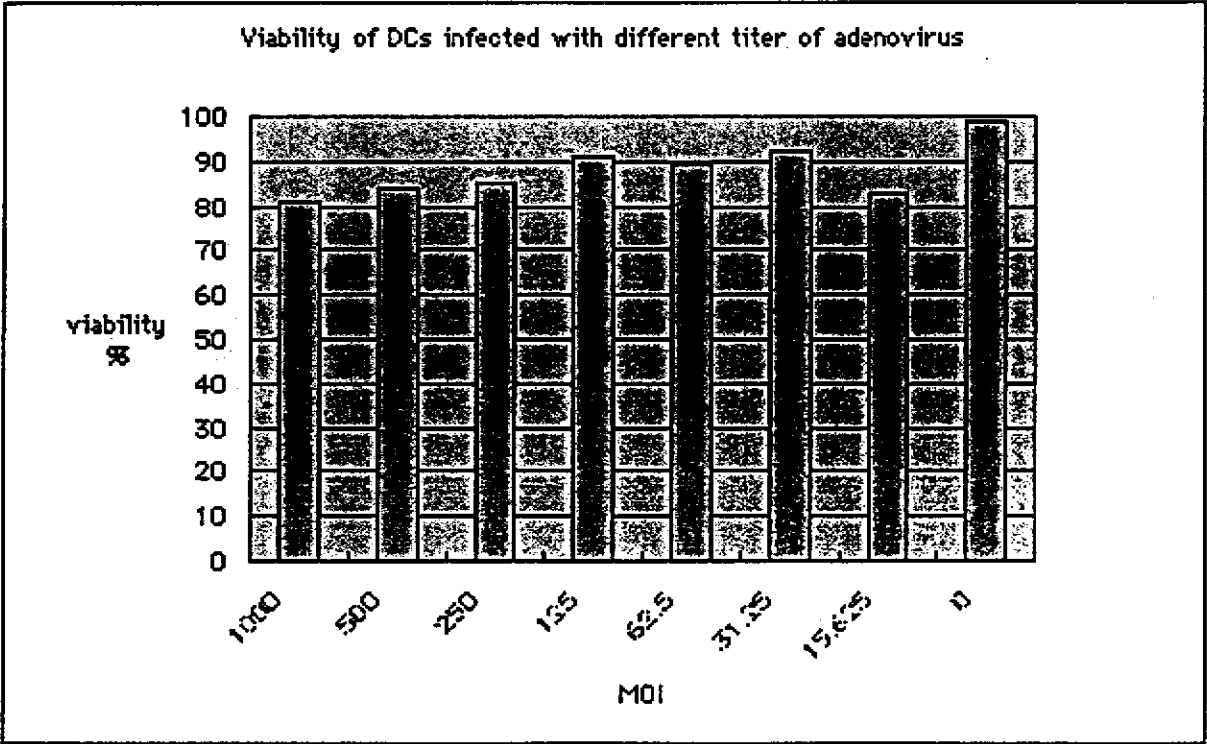


Fig 1

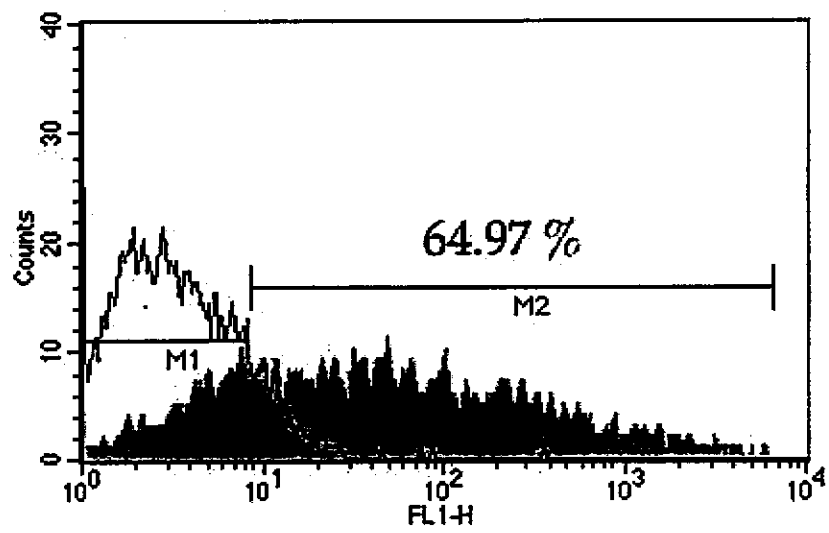


Fig 2

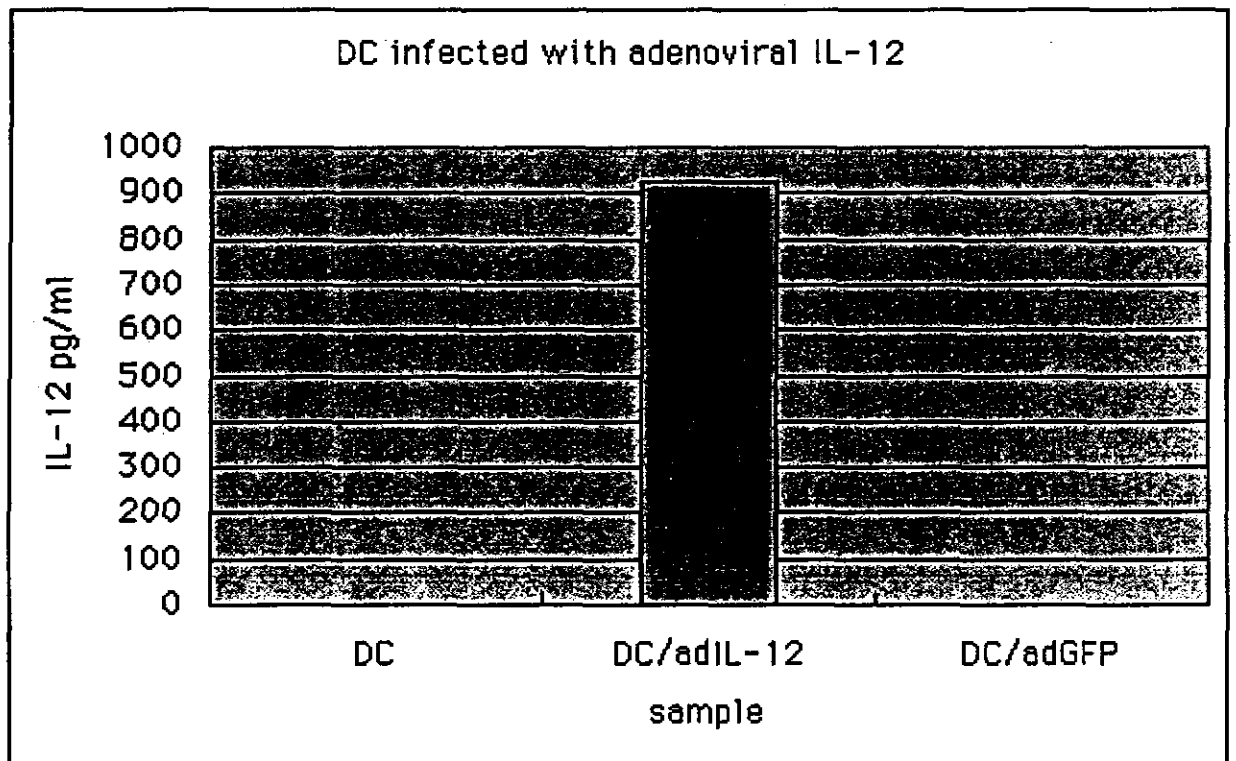


Fig 3

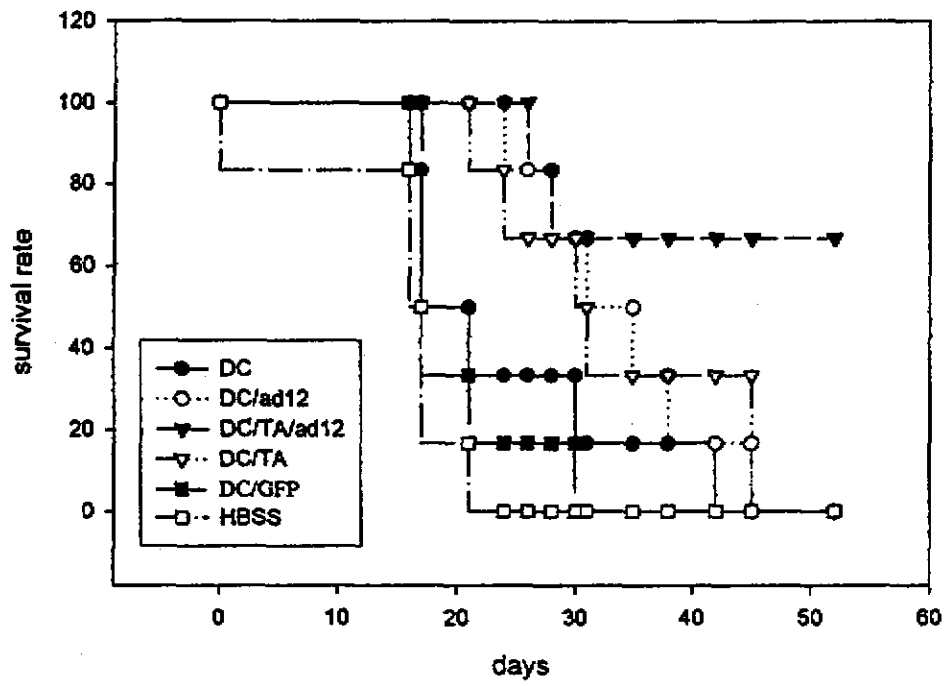


Fig 4