

实验研究

IL-6 在人低代脑膜瘤细胞增生中的 自分泌抑制调节作用

雷 霆 刘 睽 白祥军 李 洛 张欣原* 王志明* 胡文安 薛德麟

摘 要 目的:研究人脑膜瘤细胞表达甾体激素和神经肽类受体与自分泌 IL-6 间的关系。方法:采用激素和神经肽类观察了低代培养人脑膜瘤细胞分泌 IL-6 的效应。结果:发现激素 Dexamethasone 和神经肽 CGRP、VIP、CCK 及生长抑素均可影响 IL-6 分泌,而 IL-6 则进一步调节脑膜瘤细胞的生长。结论:该结果提示激素及神经肽类可通过影响 IL-6 自分泌生长抑制环而调节脑膜瘤细胞的增生。

关键词 脑膜瘤 生长因子 IL-6

近年来研究发现,人脑膜瘤中表达多种甾体激素和神经肽类受体,如盐皮质激素、甲状旁腺基因相关肽(CGRP)、血管活性肠多肽(VIP)、胆囊收缩素(CCK)和生长抑素(SRIF)等,这些激素或神经肽类在其它细胞类型可影响 IL-6 的分泌状况^[1-6],为此,我们应用上述激素或肽类对体外培养低代脑膜瘤细胞增生与 IL-6 分泌间的关系进行了探讨。

1 材料与方 法

1.1 细胞培养和实验过程

8 例手术切除脑膜瘤组织留取标本进行体外细胞培养,所有患者术前经影像学诊断及术后病理学诊断证实。细胞培养时,新鲜切除的肿瘤组织立即置入 PBS 缓冲液中,其中含 200 mg/L 链霉素、 2×10^5 U/L 青霉素和 2.5 mg/L 二性霉素。肿瘤用手术刀切碎,然后加入 1 g/L 胶原酶,在 37℃ 过夜消化,离散细胞然后用含 10% 胎牛血清(FCS)、必需氨基酸、20 mmol/L HEPES、0.75% NaHCO₃、100 mg/L 链霉素和 1×10^5 U/L 青霉素的 MEM 培养基洗涤 1 次,再混于 MEM 培养基,转至 75 cm² 培养瓶内于 37℃ 培养,待细胞贴壁生长至 70% 融合时传代,每实验组等分为 12 个 25 cm² 培养瓶,每瓶含细胞数约 $0.5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^5$,然后在 37℃ 培养 18~24 h,使细胞平衡得以贴壁。之后有新鲜改良的 MEM 培养基(其中 10% 胎牛血清换以 5% 经活性炭处理的胎牛血清)洗涤一次后,细胞培养于新鲜的基础改良

MEM 培养基,其中含和不含不同浓度的 Dexamethasone(2~200 nmol/L),CGRP(0.25~25 nmol/L),VIP(2~200 nmol/L),Somatostatin(1~100 nmol/L),CCK(10~1 000 nmol/L)。每小组 3 个培养瓶,37℃ 培养 5~7 d 后收集培养基并保存于 -20℃,再用放免法测定 IL-6 的浓度,同时进行每瓶细胞计数。

1.2 IL-6 抗体对³H-TdR 掺入效应

低代培养脑膜瘤细胞(1×10^5)分装至玻璃培养试管,使细胞平衡及贴壁 24 h,然后去除培养基并换以新鲜培养基,培养基中含有非免疫血清(对照)或 IL-6 抗体(稀释滴度 1:500)。24 h 后,每管加入 1μ Ci³H-TdR,继续培养 4 h,然后用 β 闪烁仪测定³H-TdR 的掺入量。

2 结 果

2.1 IL-6 刺激和抑制效应

在培养的脑膜瘤细胞,Dexamethasone 对 IL-6 分泌效应在 3/3 例呈剂量相关的 IL-6 分泌抑制作用(图 1):尽管小剂量 VIP(2 nmol/L 和 20 nmol/L)时对 IL-6 无明显刺激效应,但大剂量 VIP 可显著刺激 IL-6 分泌,最明显时可达 3 倍的作用;在

作者单位:同济医科大学同济医院神经外科(武汉,430030)

* 内蒙古蒙医学院中心实验室

本课题受卫生部杰出青年科研基金资助

CGRP 可观察到更强的刺激效应,如在 2.5 nmol/L 和 25 nmol/L 时,均可增加约 3 倍的 IL-6 分泌;上述刺激效应分别见于 3/3 例 VIP 和 3/4 例 CGRP 实验组;尽管在 3 例 CCK-8 实验组仅观察到 1 例 IL-6 分泌有刺激效应,但在 SRIF 观察到 3/4 例却表现出剂量相关 IL-6 抑制作用,最大效应可达 50% (图 2)。

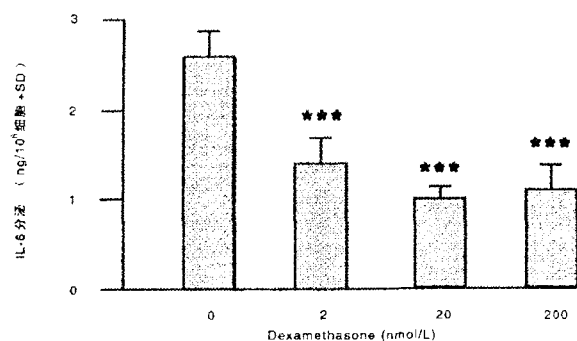


图 1 Dexamethasone 对脑膜瘤细胞分泌 IL-6 的抑制作用

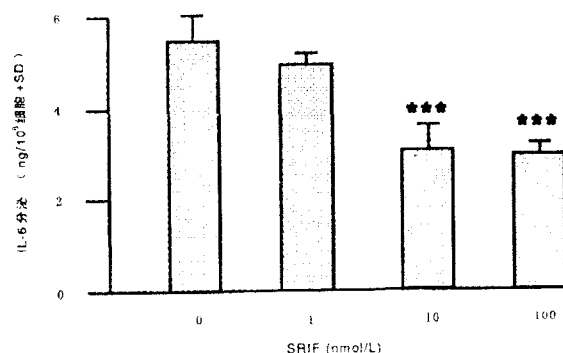


图 2 SRIF 对脑膜瘤细胞分泌 IL-6 的抑制作用

2.2 IL-6 抗体³H-TdR 掺入效应

在 4/4 例培养的脑膜瘤细胞,IL-6 抗体明显刺激³H-TdR 掺入,刺激强度在 130%~170%之间。

2 讨论

以上研究虽然发现脑膜瘤细胞一方面表达多种垂体激素和神经肽类受体^[1,2],另一方面还分泌 IL-6 起到自分泌(autoocrine)抑制脑膜瘤细胞增生的

效应^[3],但却无上述受体的表达与 IL-6 分泌间的关系研究。本研究发现,垂体激素和多种神经肽类可通过影响 IL-6 的分泌而介入脑膜瘤细胞的自分泌增生抑制环^[4]。在以往有关垂体激素与 IL-6 的关系研究也发现,Dexamethasone 抑制基质细胞 IL-6 分泌,而 IL-6 可激活下丘脑-垂体-肾上腺轴增加皮质醇水平^[1]。尽管脑膜瘤细胞表达 IL-6 的效应表现不一,但由于 CRGP 和 VIP 促进 IL-6 分泌是通过激活腺苷酸环化酶^[5],而 SRIF 抑制 IL-6 分泌又是通过抑制 cAMP 的产生^[6],因此,推测上述物质的作用机制可能在于影响 cAMP 第二信使系统。在我们的进一步研究中,采用 IL-6 抗体则可促进脑膜瘤细胞增生,表明抗体中和了自分泌的生长抑制环中内源性 IL-6^[3]。由此推测,一方面自分泌生长抑制环可能是肿瘤生长缓慢的因素之一,另一方面也提示可通过干扰自分泌环达到肿瘤的内分泌治疗目的^[1-4]。

参 考 文 献

- Schrell UMH, Adams EF, Fahlbusch R *et al.* Hormonal dependency of cerebral meningiomas: Femal sex steroid receptors and their significance as specific markers for adjuvant medical therapy. *J Neurosurg*, 1990, 73: 743
- Todo T, Adams EF, Rafferty B *et al.* Secretion of interleukin-6 by human meningioma cells: Possible autocrine inhibitory regulation of neoplastic cell growth. *J Neurosurg*, 1994, 81: 394
- Adams EF, Rafferty B, Mower J *et al.* Human acoustic neuromas secrete interleukin-6 in cell culture: Possible autocrine regulation of cell proliferation. *Neurosurg*, 1994, 35: 434
- Ray A, Tatter SB, Santhanam U *et al.* Regulation of expression of interleukin-6: Molecular and clinical studies. *Ann N Y Acad Sci*, 1989, 362: 557
- Tatsuno I, Somogyvari-vigh A, Mizuno K *et al.* Neuropeptide regulation of interleukin-6 production from pituitary: stimulation by pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and cationin gene-related peptide. *Endocrinology*, 1991, 129: 1797
- Koper JM, Markstein R, Kohler C *et al.* Somatostatin inhibits the activity of adenylate cyclase in cultured human meningioma cells and stimulates their growth. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992, 74: 543

(1998-10-20 收稿, 1999-01-05 修回)