

二乙基二硫代氨基甲酸钠对口腔扁平苔癣患者白细胞介素 2 产生能力的影响及临床疗效

苏 萌、钱定华¹、陈约翰 (第二军医大学长海医院口腔科, 上海 200433, 中国)

Effect of diethyldithiocarbamate on Interleukin 2 production of patients with oral lichen planus and its clinical therapeutic efficacy

关键词 扁平苔癣; 二乙基二硫代氨基甲酸钠; 白细胞介素 2

SU Meng, QIAN Ding-Hua¹, CHEN Yue-Han
(Department of Stomatology, Changhai Hospital,
The Second Military Medical University, Shanghai
200433, China)

ABSTRACT Diethyldithiocarbamate (DTC), a biological augmenting agent specific for T cells, was applied to treat patients with incipient oral lichen planus (OLP) who had been refractory to traditional therapy. DTC was administered orally (5 mg · kg⁻¹, twice a week) for at least 3 months. Interleukin 2 (IL-2) production and lymphocyte proliferation of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were measured before and after the treatment. The bioactivity of IL-2 was determined by the use of IL-2 dependent cell line CTLL-2 and human recombinant IL-2. The results indicated that both IL-2 production of PBMC and lymphocyte proliferation increased ($P < 0.01$). Clinical symptoms were improved significantly. The effective rate in 30 patients was 86.7%. It is suggested that the mechanism involves that DTC improves the cellular immunity of the patients.

KEY WORDS lichen planus; diethyldithiocarbamate; interleukin 2

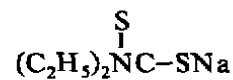
摘要 用二乙基二硫代氨基甲酸钠(DTC)口服(每周2次, 每次 250-500 mg, 3个月为1个疗程)治疗口腔扁平苔癣 30人, 治疗后病人外周血单个核细胞产生白细胞介素 2 的能力及淋巴细胞增殖能力提高 ($P < 0.01$), 临床症状显著改善。对 30 例患者的治疗总有效率为 86.7%。提示 DTC 的临床疗效与其提高患者的细胞免疫功能有关。

Received 1990 Mar 23

Accepted 1991 Jan 25

¹ Research Institute of Natural and Synthetic Drugs,
School of Pharmacy, The Second Military Medical
University, Shanghai 200433, China

二乙基二硫代氨基甲酸钠 (sodium diethyldithiocarbamate, DTC, 商名 Imuthiol) 是一种免疫增强剂。DTC 对 T 细胞具有免疫增强和调节作用^(1,2), 用于治疗 T 细胞功能低下有关的疾病具有较好的疗效^(3,4)。口腔扁平苔癣(OLP)是一种病因不明但较为常见的口腔粘膜病, 一些学者认为, 细胞免疫功能异常在 OLP 发病中起重要作用⁽⁵⁾。我们对 OLP 患者外周血单个核细胞(PBMC)产生白细胞介素 2 (IL-2)能力及淋巴细胞增殖能力的研究表明它们均低于正常人(待发表资料)。本文研究用 DTC 治疗 OLP 的临床疗效, 以及患者用药前后 PBMC 产生 IL-2 能力和淋巴细胞增殖能力的变化, 以期扩大 DTC 在细胞免疫功能低下有关疾病中的应用, 并有助于阐明 OLP 的发病机制。



sodium diethyldithiocarbamate

MATERIALS AND METHODS

药物与试剂 DTC 由本校药学院中西药研究室合成, 制成肠溶性胶囊供口服用, 每粒含 DTC 250 mg。淋巴细胞分离液为上海试剂二厂产品。PHA-P 为 Difco 产品。RPMI-1640 培养基为 Sigma 产品。[³H]TdR 系中国科学院上海原子核研究所产品, 比活度 481 TBq · mol⁻¹。

病人 选择临床确诊为 OLP 的病人 30

人(男 12, 女 18), 年龄 30-68 (48.5 ± 11.0) a (yr). 病程 1 个月至 10 (3.1 ± 3.1) a (yr). 病理损害多数为糜烂型(20 人), 少数为网纹型和斑块型. 对全部病人进行疗效观察, 其中 18 人测定用药前后 PBMC 产生 IL-2 和淋巴细胞的增殖能力.

DTC 用法和剂量 每次口服 250 或 500 mg, 每周服 2 次, 每 2 周随访 1 次, 3 个月为 1 个疗程. 对其中 18 人在用药前和疗程结束时, 检测其血内 IL-2 产生和淋巴细胞增殖能力的变化.

IL-2 的产生及生物活性测定 取病人外周血, 用淋巴细胞分离液分出单个核细胞层, 培养液洗 2 次, 用含 10% 人 AB 型血清的 RPMI-1640 培养液调整细胞密度为 $1 \times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$, 加入 PHA-P 溶液 (每瓶原装粉剂用 5 ml 培养液稀释, 分装, 在 -20°C 保存, 融冻后一次性使用), 使其在培养体系中的终浓度为 1%. 将上述细胞悬液 1 ml 置 24 孔培养板中, 在含有 5% CO_2 的饱和湿空气中, 37°C 下培养 72 h 后, 吸取含 IL-2 上清, 滤过后于 -20°C 保存待测.

测定含有 IL-2 的上述待测标本支持 IL-2 依赖细胞株 CTLL-2 生长的能力⁽⁶⁾. 取传代培养的 CTLL-2 细胞(锥蓝拒染率应 $>95\%$), 培养液洗 2 次, 用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液调整细胞浓度至 $7.5 \times 10^4 \cdot \text{ml}^{-1}$ 或 $1 \times 10^5 \cdot \text{ml}^{-1}$, 取 0.1 ml 加到 96 孔培养板中, 再加按 2 的整数次幂依次稀释 (即次一稀释倍数为前一稀释倍数的 2 倍) 的待测样品 0.1 ml, 每一样品做 6-7 个稀释度, 设 2-3 复孔. 同时设只有 CTLL-2 细胞而不含 IL-2 上清的空白对照及人重组白细胞介素 2 (rH IL-2) 标准品对照, 在 5% CO_2 , 37°C 培养 18 h 后, 每孔加入 $[^3\text{H}]\text{TdR}$ 18.5 kBq, 继续培养 6 h, 用细胞收集仪收集细胞于玻璃纤

维纸上, 液体闪烁法测定 CTLL-2 细胞 $[^3\text{H}]\text{TdR}$ 参入 dpm 值.

被测样品中 IL-2 生物活性定量按照概率分析方法⁽⁶⁾进行. 先将各不同稀释度所对应的 dpm 值换算成每次测量范围内最大 dpm 值的百分数, 再对换算后的数据进行最大 dpm 百分数在 \log_2 稀释度(实际稀释倍数取以 2 为底的对数所得值)上的回归, 以 rH IL-2 标准品回归直线上最高 dpm 值的 50% 所对应的稀释倍数的倒数作为活性计算单位, 按下式求被测样品中所含的 IL-2 单位数.

$$U \cdot \text{ml}^{-1} = (\text{支持 } 50\% \text{ 最大程度生长的待测样品稀释倍数}) \cdot (\text{rH IL-2 标准品在相同条件下的稀释倍数})^{-1} \times 1 U \cdot \text{ml}^{-1}$$

淋巴细胞增殖能力测定 取经淋巴细胞分离所得到的 PBMC, 用含 10% AB 型血清的 RPMI-1640 培养液调整细胞浓度至 $2.5 \times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$, 加入 PHA-P 溶液(终浓度为 1%). 将此细胞悬液 0.2 ml 加到 96 孔培养板中, 每一样品设 3 复孔, 以无 PHA-P 组为对照组, 在含有 5% CO_2 的饱和湿空气中, 37°C 下培养 48 h 后, 每孔加入 $[^3\text{H}]\text{TdR}$ 18.5 kBq, 继续培养 24 h, 用细胞收集仪收集细胞于玻璃纤维纸上, 液体闪烁法测定 $[^3\text{H}]\text{TdR}$ 参入 dpm 值, 实验结果以 Δdpm 值(即实验组 dpm 值与对照组 dpm 值之差)表示.

RESULTS

DTC 对 OLP 病人 PBMC 产生 IL-2 能力及淋巴细胞增殖能力的影响 经 DTC 治疗 3 个月后, 病人 PBMC 产生 IL-2 能力显著增加, 治疗前后被测样品每毫升含 IL-2 单位数分别为 0.44 ± 0.34 及 1.09 ± 1.01 ($n=18$, $\bar{x} \pm \text{SD}$, $P < 0.01$). 淋巴细胞增殖能力也显著增加, 治疗前及 1 个疗程结束时分别为 $42\ 196 \pm 36\ 326$ 及 $57\ 687 \pm 27\ 690$ (Δdpm , $n=18$,

$\bar{x} \pm SD, P < 0.05$).

临床疗效 OLP 临床疗效按 1980 年全国“两病”防治座谈会制定的标准⁽⁷⁾判定。治疗后 26 人临床症状得到显著改善，总有效率达到 86.7%。30 例病人中，治愈 6 人，显效 8 人，明显好转 12 人，无效 4 人。OLP 的临床类型与 DTC 的疗效也有一定关系，糜烂型患者服用 DTC 后临床效果较为显著。我们所治疗的 20 例糜烂型病人中，17 人有效。

DISCUSSION

OLP 病人用 DTC 治疗 1 个疗程后，有效者 IL-2 产生能力及淋巴细胞增殖能力均显著提高。4 例治疗无效者有 2 例疗后 IL-2 产生及淋巴细胞增殖能力较疗前降低，提示 DTC 对 OLP 临床疗效显著的原因可能在于服用 DTC 后病人原来处于低下水平的细胞免疫功能得到恢复或改善。

OLP 诊断较容易，治疗却十分困难。过去一般用类固醇激素、氯喹等免疫抑制剂治疗，疗效不佳，副作用大。而 DTC 则疗效明显。有 8 例经外院多年治疗不愈的病人，经 DTC 治疗后临床症状也得到改善。一般用药 2-4 周后，病情明显好转，糜烂面缩小，充血区消退，白色网纹变浅。经 3 个月治疗后，大部分病人临床症状改善或痊愈。个别疗效不明显者经第二个疗程治疗，症状也得到改善。我们还发现，DTC 对糜烂型和网纹型 OLP 疗效较好，但对斑块型 OLP 疗效较差。这一结果与病理学研究文献结果⁽⁸⁾一致。

DTC 无抗原性、热原性，也无毒性，口服简便安全，患者乐意接受，除可显著改善临床症状外，更重要的是避免了过去常规使用免

疫抑制剂而引起的副作用。因而 DTC 的临床疗效优于类固醇激素等免疫抑制剂。

ACKNOWLEDGMENT 本校药学院药理教研室郑钦岳教授惠赠 rH IL-2 标准品。

REFERENCES

- 1 Renoux G, Renoux M, Guillaumin JM. Immunopharmacology and immunotoxicity of zinc diethyldithiocarbamate. *Int J Immunopharmacol* 1988; 10: 489
- 2 Mossalayi MD, Descombe JJ, Musset M, Tanzer J, de Laforest PG. *In vitro* effects of sodium diethyldithiocarbamate (Imuthiol[®]) on human T lymphocytes. *Int J Immunopharmacol* 1986; 8: 841
- 3 Clumeck N, Hermans P. Antiviral drugs other than zidovudine and immunomodulating therapies in human immunodeficiency virus infection: an overview. *Am J Med* 1988; 85(2A): 165
- 4 Renoux G, Renoux M. Diethyldithiocarbamate (DTC): a biological augmenting agent specific for T cells. In: Fenichel RL, Chirigos MA, eds. *Immune modulation agents and their mechanisms*. NY: Marcel Dekker, 1984: 7-20
- 5 Walker DM. The inflammatory infiltrate in lichen planus lesions. An autoradiographic and ultrastructural study. *J Oral Pathol* 1976; 5(5): 277
- 6 Gillis S, Ferm MM, Ou W, Smith KA. T cell growth factor: parameters of production and a quantitative microassay for activity. *J Immunol* 1978; 120: 2027
- 7 Huang YJ, Zhang WQ, Zeng GM, Wang SY, Li BQ, Ying RD. An evaluation of treatment of oral lichen planus by activating blood circulation and eliminating stasis. *Chin J Stomatol* 1985; 20(1): 26
- 8 Matthewz JB, Scully CM, Potts AJC. Oral lichen planus: an immunoperoxidase study using monoclonal antibodies to lymphocyte subsets. *Br J Dermatol* 1984; 111: 587