

人粘液表皮样癌MEC-1细胞诱导分化实验研究

陈宇萍 司徒镇强

海军总医院分子生物学研究室 北京 100037

恶性肿瘤是一种分化异常疾病,其细胞属于未分化成熟的细胞,具有再分化潜能。许多恶性肿瘤细胞在一些分化诱导剂的作用下,可以向良性或正常细胞分化。粘液表皮样癌是比较多见的恶性唾液腺肿瘤,发病率居恶性唾液腺肿瘤首位,其对传统化疗不敏感,放射治疗效果不稳定,低分化型者手术局部复发病率高,术后5年生存率0%。本实验用六亚甲基二乙酰胺(Hexamethylene Bisacetamide HMBA)作为诱导剂,对人涎腺粘液表皮样癌细胞系MEC-1细胞进行体外诱导(诱导浓度1mM),探讨HMBA对粘液表皮样癌细胞有无诱导分化作用,寻找有效的治疗粘液表皮样癌的方法,为临床治疗应用和进一步诱导分化研究提供依据和参考。

实验分两组:用药组与对照组,经细胞生长动力学,细胞形态学,细胞DNA含量等指标观察,结果如下:

1. 用药组MEC-1细胞的增殖明显受抑制:细胞生长抑制率74%。倍增时间由对照组27.38小时延长至38.07小时;分裂高峰分裂指数下降率66%,实验过程中两组死细胞数无差别,表示用药组细胞生长缓慢不是由杀伤作用所致。

2. 用药组MEC-1细胞形态出现向成熟细胞分化的趋势:细胞大小趋于一致,胞浆丰富,胞核异性降低,核浆比减小,用多功能图像分析仪测定细胞核浆比,对照组 $\bar{x} \pm SD$ 为 0.489 ± 0.007 ,用药组 $\bar{x} \pm SD$ 为 0.210 ± 0.013 ($P < 0.01$)。电镜下细胞表面微绒毛减少,细胞器趋于成熟,核形规整,胞浆内出现代表正常分泌功能的成熟酶原颗粒。

3. 用药组细胞DNA含量明显降低($P < 0.01$)。以牙龈纤维细胞DNA峰值作为二倍体DNA参考值,绘制DNA分布直方图。用药组二倍体细胞增多,超四倍体细胞减少,与对照组比较均有显著差异($P < 0.01$)。

本实验结果显示,在HMBA作用下MEC-1细胞有向成熟细胞分化的趋势,而且诱导所需浓度低,分化作用明显,有进一步研究的价值。

MTT法检测平阳霉素对肿瘤细胞的药物活性研究

苏金华 颜江华 杨善民

厦门大学抗癌研究中心 厦门 361005

本文选用两种细胞株:人肝癌BEL-7402和肺腺癌L-342细胞,利用MTT法检测平阳霉素对两株细胞药物敏感性的探讨。将每毫升含 10^6 个细胞的培养液按 $(\frac{1}{2})^n$ ($n=0\sim7$)梯度稀释,种于96孔板($100\mu\text{l}/\text{孔}$),5% CO_2 ,37℃,培养34h,加MTT $20\mu\text{l}$ (母液 $2\text{mg}/\text{ml}$);再37℃培养4h,加DMSO $100\mu\text{l}$ 溶解,测570nmOD值,结果贴壁生长的BEL-7402细胞的平均OD值为 $0.31(0.43\sim0.24)$,悬浮生长的L-342细胞的平均OD值为 $0.27(0.29\sim0.24)$,两者无显著性差别($P > 0.05$)。MTT甲氧产物最大吸收波长为550~570nm,细胞浓度在一定范围内与甲氧量近似成正比,MTT浓度以每孔 $4\mu\text{g}$,孵育时间4小时为宜。将平阳霉素(母液 $1\text{mg}/\text{ml}$)按 $(\frac{1}{10})^n$ ($n=0\sim5$)梯度稀释,加到每孔含有10000个细胞的培养板中,同上法测570nmOD值,结果显示平阳霉素对BEL-7402细胞的生长抑制率为 $27.42 \pm 6.99\%$,而L-342细胞的最大生长抑制率为46.84%,最小为11.39%。说明该方法能反映出同一药物对不同细胞的敏感性差异。此外,加药时刻与药物作用时间对细胞生长抑制率也有影响,一般细胞培养4小时加药或药物作用48h效果会更好,由此可见,Mosman建立的MTT法,具有客观、方便、迅速、重复性好和不需特殊设备等优点,特别适宜评价肿瘤药物的抗癌活性,因而在肿瘤

和免疫学等领域得到日益广泛的应用。

人肺癌细胞株A549自分泌抑制因子的初步研究

江紫生 汪泱 袁铿 章红 熊跃斌 戴志芳

江西省医学科学研究所 南昌 330006

本文应用人肺癌细胞株A549,在无血清的萃取条件培养液中,37℃,5%CO₂,培养8天以后,收集培养上清,经12000 rpm30分钟,去除沉淀,上清装入透析袋,用聚乙二醇包埋,快速浓缩而成粗提物,即称为该细胞的自分泌抑制因子(ACIF),并对它的作用进行初步探讨。我们利用人源5种传代肿瘤细胞株A549、K562、HL60、Smmc7721、BT325为靶细胞,以不同浓度的ACIF进行生长抑制试验,采用台酚兰染色计数法及³H-TdR掺入法,两法结果基本一致,对亲源细胞A549,则随浓度升高抑制作用增强,而对其它ACIF的生物学特性及其体内作用,有待研究。

急性淋巴细胞性白血病患者骨髓血 $\nu\delta$ T细胞的动态分析

李新燕 张学光

苏州医学院免疫研究室 苏州 215007

$\nu\delta$ T淋巴细胞是一群具有特殊功能的T细胞,在机体自身稳定和免疫反应中起着极其重要的作用,业已证实, $\nu\delta$ T细胞具有MHC非限制性细胞毒作用,能够杀伤各种肿瘤靶细胞,包括NK敏感和NK抵抗细胞,Wright等已研究证实:从B淋巴瘤患者分离得到的 $\nu\delta$ T细胞具有特异性识别患者自体肿瘤细胞表面Ig的独特型抗原和杀伤肿瘤细胞的作用。

白血病是造血细胞中止在某一分化发展阶段,并呈恶性克隆性增殖的疾病,本文分析了40例急性淋巴细胞性白血病(ALL)患者治疗前后 $\nu\delta$ T细胞的动态变化,以期探讨 $\nu\delta$ T细胞与ALL患者机体免疫功能状态的相关性及在抗肿瘤过程中的可能作用。

40例ALL患者均为经FAB分型确诊的初诊或复发患者,经免疫学进一步分型:T-ALL:10例,B-ALL,(包括杂合型及未分化型)30例,5例完全缓解,病人3例为B性白血病,1例T-ALL,1例髓性白血病,采用抗TCR单克隆抗体的间接免疫荧光分析技术,治疗前ALL患者骨髓血中 $\nu\delta$ T细胞的百分率与正常骨髓血相比,差别无显著性($P>0.05$),5例完全缓解个体中,但经常规化疗完全缓解后,3例 $\nu\delta$ T细胞显著性增加, ($p<0.01$),个别病例可高达39%。由此表明 $\nu\delta$ T细胞的动态变化与机体的肿瘤状态密切相关,进而提示这群细胞在机体抗肿瘤的免疫反应中起着重要作用。其在肿瘤过继免疫疗法中的应用值得进一步探讨。

人 $\nu\delta$ T细胞细胞毒活性研究

李新燕 张学光

苏州医学院免疫研究室 215007

细胞毒性T淋巴细胞(CTL)杀伤肿瘤细胞的作用是机体抗癌机制的重要环节,也是肿瘤过继免疫疗法中的主要效应细胞之一。因此寻找能特异杀伤肿瘤细胞的CTL是目前肿瘤生物疗法中急待解决的焦点之一。 $\nu\delta$