

二十年来国内建立的肝癌细胞系及其特性

方肇勤 管冬元

原发性肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,在各类癌肿中的发病率居第三位,恶性程度高,病情发展迅猛,病死率高,严重地威胁着我国人民的身心健康。因此,在我国肝癌研究领域一直比较活跃,研究水平居世界领先地位。1962 年,陈瑞铭等学者建立世界上第一株肝癌细胞系以来,江苏启东的王金兵等建立了 QGY-7703 系^[1],广东的葛日萍等建立了 GHC-3 系^[2];其它如沈翠英等用化学致癌剂奶油黄诱发 Wistar 大鼠建立的 RLC-801 和 RLC-802 系^[3],程一翟等将用四氯化碳诱发成功的 C₃H/HeN 品系小鼠的腹水型肝癌 MH₁₃₄ 经极限稀释及克隆化方法在体外培养、传代而建立的 MH₁₃₄-88 系^[4]等等。二十年来在全国各地以不同病人,采用不同方法相继建立了多种肝癌细胞系,为肝癌的细胞生物学、分子生物学、分子遗传学、免疫学和实验治疗学的研究提供了不同价值的模型。但是迄今尚未有人对以上细胞系的来源及生物学特征进行系统整理、比较,使其利用受到限制。有鉴于此,本文综述了近 20 年来所建立的肝癌的细胞系及有关研究文献,简要比较各细胞系的异同。

1 不同肝癌细胞系的来源及其生物学特征

迄今,不同学者对已建立的细胞系的生物学特征进行了大量的实验研究,兹从组织来源、细胞形态、生长情况、动物移植、染色体分析、对植物血凝素刀豆素 A (Con-A) 的凝集反应、甲胎蛋白 (AFP) 的检测、乳酸脱氢酶 (LDH) 及 γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 的检测, HBsAg 的检测以及 5'-核苷酸-磷酸酯酶同工酶 (5'-Nppasev) 的分析等方面加以比较,列表如后:

2 肝癌细胞系的不同特性及其实验价值

无论是临床还是实验室的研究,均发现肿瘤具有明显的异质性和复杂性,正如上表所述,不同的肝癌细胞系存在着不尽相同的生物学特性,这为我们针对某些实验选择不同的细胞系提供了便利。例如,一般认为肝癌的发生与机体感染乙型肝炎病毒 (HBV) 有着密切的联系。杨月等^[5]研究认为 PLC/PRF/5 细胞系是 HBV 导致肝细胞癌变及其机理研

究的理想细胞系,其细胞中含有大部分、甚至可能是全部的 HBV 基因组,在体外培养中能持续、稳定地产生 HBsAg。因此是一种体外研究 HBV 与原发性肝癌关系的珍贵的实验模型。

细胞系在体外培养,通常需在基础培养液中加入一定量的动物血清,才能维持较好的生长与繁殖。但是,由于血清所含成分会对一些实验分析产生影响,而去除这些成分又有一定的难度。无血清和/或无蛋白的培养技术的出现和应用,在一定程度上解决了这一难题。葛日萍等^[2]报道 GHC-3 系可以在 5% 以下小牛血清的培养液中长期稳定生长,甚至短期内能完全撤除血清,而其特性不变,再反回到原培养液中能继续生长繁殖。顾琪等^[6]认为, AH66-91 细胞也能迅速地转入无蛋白溶液中生长期,可用于肿瘤细胞自主生长因子的研究。然而,为保证细胞生长与传代,必需在基础培养液中添加一些来源不易,价格昂贵的物质(如某些因子或微量元素等)。同时细胞虽然在低血清或无血清下培养可排除血清因素对实验结果的干扰,但同时也改变了细胞正常的生长环境,因此该细胞系的所有生物特性是否仍然稳定,尚待以后的实验进一步证实。

至于细胞系的来源与其恶性程度。目前,多数学者认为肝癌主要源于肝细胞,胆管上皮细胞或原始干细胞^[7]。但所建各肝癌细胞系究竟是什么组织来源,一些报道尚不明确。建议通过对细胞遗传学与生物学特征逐一确证其组织来源。其次不同细胞系的恶性特征不尽相同。具体表现在其传代时间,接种后成长率以及所选测特异物质的指标不同。80 年代以来随着对癌基因与抗癌基因的深入研究,已证实肝癌细胞至少有 6 种基因高表达,同时伴有抗癌基因丢失或失活^[8]。十分明显,正是肝癌细胞中癌基因的种类不同,表达水平不一致,导致了不同肝癌细胞系的不同生物特性,并提示其癌变的机制不同。顾健人等^[9]应用多种癌基因片段作探针,发现 BEL-7402 系虽经体外培养 80-100 代,冷冻保存约 8 年之久,仍表达出临床肝癌相同的 N-ras 基因,在转录与表达水平上依然活跃。随着这类研究的深入,势将逐渐发现不同肝癌细胞系在基因转录与

附表

不同肝癌细胞系及其生物学特征表

名 称	组织来源	形态观察	生长情况	动物移植 后成长率	染色体 分析	Con-A 凝集反应	AFP 检测	HBsAg 检测	LDH,γ-GT 检测	5-NPPasev
[1,11] QGY-7703	人肝 细胞癌	上皮样	5-7 天 传代一次	快	主流 111- 117 条近 似五倍体	阳性	阳性	阴性		阳性
[2] GHC-3	人肝 细胞癌	上皮样	倍增时间 33 小时	慢	范围 42- 59 条众数 52-56 条		阳性		LDH 阳性	
[5,11,12] PLC/PRF/5	人肝细 胞癌	上皮样		慢	范围 49- 233 条众 数 56 条	阳性	阳性	阳性		阳性
[13] YY-8103	人肝 细胞癌	上皮样	5-7 天 传代一次	慢	范围 47- 213 条众 数 64 条	阳性	阳性	阴性	LDH 阳性	
[11,14] SMMC-7721	人肝 细胞癌	上皮样	7-10 天 传代一次	快	范围 44- 107 条主流 54-58 条		阳性		LDH,γ-GT 均为阳性	阳性
[11,15] BEL-7402	人肝 细胞癌	上皮样	倍增时间 20 小时	快	主流为 48-61 条		阳性		LDH 阳性	阳性
[16] BEL-7404	人肝 细胞癌	上皮样	倍增时间 26 小时	快	主流为 50-67 条		阳性		LDH 阳性	
[3] RLC-801	大鼠 诱发肝癌	上皮样	3-5 天 传代一次	快	范围 32- 174 条众 数 43 条	阳性	阳性		LDH,γ-GT 均为阳性	
[3] RLC-802	大鼠 诱发肝癌	上皮样	3-5 天 传代一次	快	范围 32- 174 条众数 82 及 42 条	阳性	阳性		LDH,γ-GT 均为阳性	
[6] AH66-91	大鼠腹 水型肝癌	园形	5-7 天 传代一次	快	范围 36- 60 条干 数 52 条		阳性			
[4] MH134-88	小鼠腹水 型肝癌	园形	3-5 天 传代一次	快	范围 66- 76 条众 数 73 条		阳性			
[17] H ₂₂ -Fo/L	小鼠腹 水瘤	园形或 椭圆形	2-3 天 传代一次	快	范围 39- 98 条众 数 43 条		阳性			
[18] H ₂₂ -F ₂₅ /L	小鼠腹 水型肝癌	小园球形	1-2 天 传代一次	快	范围 43- 90 条干数 43 或 86 条					

注:表中空白处系原系未作测试

表达水平上的特征。

关于肝癌细胞系遗传上的异质性。宝建中等^[10]育出三个不同生长力和转移力的亚细胞系: 7721—CA, 7721—CB, 7721—CS(CA,CB,CS)。其中 CS 应用单个细胞克隆化技术, 从 SMMC-7721 系中选亚系的裸鼠体内成癌率, 自发转移率以及 H-ras 癌

基因蛋白等肿瘤标记物检测的阳性率均明显高于 CB 组。马氏等^[1]比较 SMMC-7721, BEL-7402, QGY-7703 三个细胞系,发现除 SMMC-7721 细胞的染色体主流范围与建系时基本相同外,其余两系均发生了不同程度的左移。而迄今对其细胞变异的成因,以及不断传代后其变异的程度,尚缺乏系统的研究。因此,在选用不同细胞系作实验研究时,必须留意所选细胞系生物学特性的变异,以保证实验结果的稳定与可靠。

参 考 文 献

1 王金兵,等. 启东肝癌细胞系(QGY-7703)的建立及其特征. 中华肿瘤杂志, 1981, (4): 241~243.
2 葛日萍,等. 新建的一株人体肝癌细胞(GHC-3)及其特性. 肿瘤, 1991, (3): 136~138.
3 沈翠英,等. 大鼠肝癌细胞株 RLC-801 和 RLC-802 的生物学特性. 上海第一医学院学报, 1983, (1): 34~39.
4 程一耀,等. MH134-88 体外细胞系的建立及其生物学特性的研究. 大连医学院学报, 1992, (2): 20~23.
5 杨 月,等. PLC/PRF/5 肝癌细胞系的研究概况. 上海第一医学院学报, 1982, (1): 248~250.
6 顾 洪,等. 大鼠腹水型肝癌 AH66-91 的建系及其生物学特性研究. 肿瘤, 1995, (2): 116~117.
7 张曼聪,等. 实验性肝癌的组织发生. 肿瘤, 1990, (4)

: 183~184.
8 孙文佑,等. 原癌基因及抗癌基因检测在肝癌诊治中的前景展望. 国外医学肿瘤学分册, 1994, (6): 352~354.
9 顾健人,等. 人原发性肝癌转化基因——N-ras 的研究. 肿瘤, 1985, (5): 52~55.
10 宝建中,等. 克隆化人肝癌裸鼠移植瘤株的建立及其转移性状观察. 肿瘤防治研究, 1995, (2): 65~68.
11 马瑾瑜,等. 人体肝癌细胞的生物学特性观察. 上海第一医学院学报, 1984, (2): 107~112.
12 A lexa ander JT, et al. S Afr Med J, 1976, 50: 2124.
13 叶克龙,等. 人体肝癌细胞系 YY-8103 若干生物学特征的初步观察. 上海第一医学院学报, 1984, (6): 423~428.
14 董荣春,等. SMMC-7721 人体肝癌细胞株的建立及其生物学特性的初步观察. 第二军医大学学报, 1980, (1): 5~9.
15 陈瑞铭,等. 人体肝癌体外细胞系 BEL-7402 的建立及其特征. 实验生物学报, 1978, (11): 37~49.
16 陈瑞铭,等. 体外培养三个人体肝癌细胞系的建立及特征. 中国科学, 1979, (12): 1225~1233.
17 王剑锋,等. 小鼠腹水型肝癌细胞系(H₂₂-FO/L)的建立及其生物学特性观察. 中华病理学杂志, 1991, (1): 65.
18 凌茂英,等. 小鼠肝癌细胞系 H₂₂-F₂₅/L 的建立及其生物学特性. 中华肿瘤杂志, 1991, (1): 13~15.

肾透明细胞癌 8 年后转移 1 例

饶植谋 罗光明 杨 强

肾透明细胞癌是肾腺癌的一种类型。临床常较早发生远处转移,其预后难以估计。现将我院收治 18 年后转移病例报告如下:

患者,徐某某,男性,山西人,汉族,离休干部,现年 68 岁。患者 1987 年 3 月因血尿 3 天入院检查发现左肾上极肿瘤,行左肾切除术。当时病理检查见左肾盂有一直径 5cm 肿物,切面呈分叶状,灰白色兼有出血和坏死,肿物浸及肾实质。显微镜检查:瘤细胞体积大,多边形,细胞轮廓清楚,胞浆丰富淡染,透明状或空泡状,核小而深染,圆形,核位于细胞中心或偏位,个别核稍大。诊断:左肾透明细胞癌。术后临床常规处理,一般情况恢复良好。1995 年 10 月,患者因近月感反复咳嗽,咳痰,伴有痰中带血,经检查发现右下肺肿物 5×4cm,临床诊断:右下肺癌。行右下肺叶切除术,术后送检右下肺组织。病理检查见:右下肺支气管周围可见

一 5×4×3cm 的肿物,切面灰白色,结节状,质硬,可见包膜。显微镜检查:瘤细胞较大,胞浆透明空泡状,核小深染,大小欠一致,有一定异性。与 87 年 3 月肾组织切片形态基本一致。

肾透明细胞癌是肾癌常见的一种类型,病理诊断有时须与肾腺瘤相鉴别,肿瘤体积的大小,有无浸润,细胞形态及核的异型性等均为其鉴别的主要依据。肾细胞癌除向周围邻近组织扩展外,常通过淋巴和血道转移。在发生血道转移时,且往往在肾原发瘤症状出现之前,就有明显的转移灶症状,常见的转移部位为肺,次为骨等器官。本例患肾癌切除 8.5 年后发生肺转移,转移发生的时间间隔较长。甚为少见,故报道供预后参考。

作者单位: 610061 成都,中国人民解放军第四五二医院病理科