

肿瘤研究论文集

中国医学科学院編

上海科学技术出版社

1962

参加第八届国际肿瘤会议论文汇编

肿瘤研究论文集

中国医学科学院 编

前 言

今年七月，第八届国际肿瘤会议将在莫斯科举行，我国部分肿瘤工作者准备向会议提出他们自己的科学论著。共计论文33篇。现在，我们将这些论文汇集成册，付诸出版，以期在肿瘤研究工作中能起学术交流的作用。

編 者 1962年7月

目 录

前 言

組織培养内四个人体恶性肿瘤細胞株及一个单細胞純株的

建立及其特性.....何 申 陈泉光 白月清 (1)

正常人胚細胞在体外长期培养后的改变及其与肿瘤細胞株的比較

.....何 申 潘宣婧 陈泉光 白月清 (15)

获得人体細胞瓶中克隆(Clone)及其細胞遺傳学性质.....吳 旻 (31)

一株人体肝癌細胞的建立及一些初步的觀察陈瑞銘 (39)

銻胺羧螯合物抗癌作用的研究.....胥 彬 周金煦 陈瑞婷 沈美玲 (48)

N-甲酰溶肉瘤素的抗肿瘤作用.....韓 銳 王振綱 何 适 朱天錫 (57)

N-甲酰溶肉瘤素治疗恶性肿瘤的初步临床报告

.....吳恒兴 周际昌 孙 燕 馮慧英 (71)

鼻咽癌的組織学类型、生物学特性和組織发生学的研究

.....梁伯强 陈劍經 祝家鎮 胡媛芳 朱小曼 宗永生 (88)

鼻咽癌的X綫檢查: 鋇胶浆造影的价值.....郭广柏 林振时 梁耀成 (114)

食管鳞状上皮癌病理分型的研究.....吳 鑑 刘玉清 刘玉文 吳英愷 (132)

食管鳞状上皮癌癌旁上皮早期癌变的研究.....孙紹謙 吳 鑑 (143)

食管鳞状上皮癌切除治疗的远期結果.....吳英愷 黄国俊 张 璋 (155)

食管癌的放射治疗.....张哲舫 谷銑之 (159)

食管癌术前放射与外科綜合治疗 113 例总结.....黄国俊 王建璋 刘玉清 吳 鑑 (164)

华北地区食管癌发病情况的調查研究.....李光恒 高潤泉 吳英愷 (172)

創伤引起小鼠子宮頸癌变的实验观察.....李銘新 蔡海英 魏慧娟 (178)

激素对小鼠子宮頸癌变的影响.....李銘新 蔡海英 陈定先 宗永生 (187)

局部因素与全身因素的綜合作用对于誘发小鼠宮頸癌、阴道癌

与尿道癌的实验研究.....杨 簡 高 进 陈妙兰 (202)

子宮頸癌患者尿内雌激素、孕二醇、17-羥皮质醇及垂体促性腺

激素的測定.....余銘鵬 刘彤华 张保如 成凤鈴 沈起英 刘熾明 吳爱如 (234)

子宮頸癌病因調查的初步探討余銘鵬 成凤鈴 刘彤华 蔡海英 刘熾明 吳爱如 (250)

子宮頸癌細胞化學的研究——Ⅱ 美藍-三苯四氮茂試管塗片法

- 在早期診斷子宮頸癌的应用 (5969 例的初步分析) 顾健人 黃子民 邓文曼 (258)
- 宮頸細胞塗片所見 632 例癌前病變与早期癌之研究 楊大望 (267)
- 子宮頸癌放射治疗的臨床觀察 柯应夔 (282)
- 子宮頸癌放射治疗病例的疗效分析 王 琪 张惜阴 (288)
- 上海市十年来子宮頸癌手术治疗經驗介紹 林元英 (299)
- 子宮頸癌普查工作报告 林巧稚 高潤泉 张茱芬 陈本真 (307)
- 发生自第二級胆管的原发性上皮細胞癌的病原学和病理发生学(摘要)
..... 侯宝璋 (316)
- 原发性肝癌中肿瘤-宿主的关系(摘要) 侯宝璋 (317)
- 原发性肝癌: 107 例(尸檢)的病理学上的探討
..... 应越英 馬正中 徐元鼎 雷学熹 梁书峯 刘膺心 (318)
- 原发性肝癌的外科治疗 王成恩 李国材 (339)
- 原发性肝癌: 207 例的臨床觀察 林兆耆 楊永彰 陈士傑 夏德全 (353)
- 絨毛膜上皮癌和恶性葡萄胎的化学与手术治疗 (67 例臨床总结)
..... 宋鴻釗 吳葆楨 何萃华 (363)
- 乳癌根治术与扩大根治术的疗效比較
..... 金显宅 张天泽 王德元 郑宝珍 李月云 黃萃庭 (381)

組織培养內四个人体恶性肿瘤 細胞株及一个单細胞純株的 建立及其特性

何 申 陈泉光 白月清

中国医学科学院实验医学研究所实验形态学系

用組織培养方法长期培养的人的正常及恶性的体細胞与其他的哺乳类細胞比較, 应是更接近人体情况的实验材料。它們在生物学, 尤其是肿瘤研究的領域內, 曾广泛应用。从 Murray 的綜述中⁽¹⁾, 可以得到較全面的了解。近两三年又增加了不少新的工作。

为了进行細胞学方面的研究, 我們的实验室建立了四个人肿瘤来源的細胞株; 为了获得遺傳上来源單純的細胞株, 曾将其中一株分离出单細胞純株(Clone)。这五个人肿瘤株是: 恶性神經鞘瘤(MEN), 纖維肉瘤(MEF), 肺鱗状上皮癌(MEP), 骨軟骨肉瘤(MEO)及其純株(515)。

Gey 等⁽²⁾曾建立一株人的纖維肉瘤, 具成纖維細胞的形态; 而我們的 MEF 虽来源相似, 但后来具类上皮細胞的形态。有关肺癌的細胞株, 就我們所知, 已建立的有 Maben 株⁽³⁾、Detroit-6 株⁽⁴⁾、LAC 株⁽⁵⁾及 MAC-21 株⁽⁶⁾。前二者各来自肺癌病人的胸水与胸骨骨髓, 后二者来自肺腺癌。我們的 MEP 是来自肺鱗状上皮癌。与 MEN 及 MEO 来源相同的(恶性神經鞘瘤及骨軟骨肉瘤)細胞株尚未見到报导。

本文的目的就是报导这四个肿瘤株及一个純株的建立过程、細胞形态、生长速度及进行异种移植于鈷⁶⁰照射的及皮质素处理的大鼠的結果。

材料及方法

材料来源 建立細胞株所用的材料均为外科手术的新鮮材料, 经过病理診斷(图 2~5)。取材日期、患者年龄、性別等見表 1。

在 1960 年 8 月分离 515 純株所用材料系培养了 19 个月的第 108 代的 MEO 株。

表 1

用于建立细胞株的肿瘤材料

肿 瘤 名 称	取 材 日 期	患 者		代 号
		年 龄	性 别	
恶 性 神 經 鞘 瘤	1958,11,19	37	男	MEN
骨 軟 骨 肉 瘤	1959,1,8	21	男	MEO
纖 維 肉 瘤	1959,1,9	21	女	MEF
肺 鳞 状 上 皮 癌	1959,3,10	46	男	MEP

在异种移植及测定生长速度的工作里,均用培养了两年以上的 MEN、MEP 及半年以上的純株 515。用来进行异种移植的并有 MEF 株,与 MEP 的培养時間相近。

培养基

(1) 半固体培养基——7~10 天鸡胚的浸出液(1:1)与加肝素的鸡血浆,用于肿瘤組織块的原始培养及其后細胞未貼瓶前的培养。在分离单細胞的工作里,用稀釋的鸡胚浸出液(1:3),并将浸出液及鸡血浆在用前重复离心。

(2) 人血清培养基——30 份人血清加 70 份 Hanks 液⁽⁷⁾,用于 MEN、MEO 及 MEF 的原始培养及其后的多次再培养,直到这三种肿瘤培养的生长迟緩时止。

(3) 人血清-乳蛋白水解物培养基——15 份人血清、15 份 1%乳蛋白水解物、70 份 Hanks 液,用于 MEP 的全部培养及 MEN、MEO 及 MEF 生长迟緩阶段及其后的培养;并用于所有的細胞种株(包括后来建立的单細胞純株 515)的常规培养。

(4) 适应性培养基——将生长旺盛的种株換以新鮮的培养基(人血清 30 份,2%乳蛋白水解物 10 份, Hanks 液 70 份)。在 37°C 經 18~24 小时后,再換出培养基。将用过的培养基又經离心沉淀,Seitz 濾器过滤,保存于 4°C 冰箱,作为培养单細胞用。

以上液体培养基每毫升均加 200 微克鏈霉素及 200 单位青霉素。血清均为成人的,在 56°C 灭活 30 分钟。

操作方法

(1) 建立細胞株——一般用容积为 15 及 60 毫升的扁瓶培养。肿瘤材料先經肉眼选择,有时并作冰冻切片,以保证材料的质量;再經洗滌,剪碎成 1 立方毫米大小,浸在鸡胚浸出液內,然后撒在涂了血浆的瓶底上。血浆凝固后,加入培养基,将 pH 調整为 7.6,在 37°C 孵育。以上操作爭取在手术后两小时内进行。

几天后,将鋪滿瓶底的細胞或用 0.1%胰酶处理,或用弯头吸管刮下,打散成悬液,分种到几个瓶內。等到細胞能不需血浆直接粘瓶时,就用单层培养的方法,即不再加血浆,將細胞悬液直接撒到瓶內,使細胞长成均匀的薄层。細胞生长稳定后,一般在 5~7 天傳代一次,作为种株培养。

(2) 单細胞分离——我們在 1960 年采用了 Sanford⁽⁸⁾ 方法中的毛細管及适应

性培养基,而在操作上加以修改。我們简化制造悬液的手續,不用胰酶消化及过滤以减少对細胞的損害,并且在显微镜下,严格控制吸到管內的細胞数,每段小管只盛一个細胞。

先以吸管輕輕冲洗局部瓶壁,使細胞脫落,稍打散作成悬液。这种悬液內分裂相很多。每个 120 倍視野內含約 20 个細胞。我們利用安装在显微解剖器上的微量注射器来控制毛細管以保証每段管(长 7~10 毫米)內只有一个細胞,又控制这一細胞的位置,使它保持在管前端 3~4 毫米的地方。最后,吸一些鸡胚浸出液,使形成凝块而封閉管口。折断毛細管,又經過檢查,用一滴血浆和适应培养基,培养在 D 3.5 卡氏瓶底。随着单細胞的增殖,每一天半至两天换培养基一次。每天記錄細胞的增长、pH 和形态。

(3) 生长速度的測定——用 0.25% 的胰酶消化培养,作成悬液。用血球計数板計数。按每瓶 2 毫升培养基含約 7 万細胞的数量,分装到 15 毫升扁瓶內。次日,选择貼瓶及生长良好的培养,在連續 7 天內,每天用二胺四醋酸二鈉 (Versene) 消化两瓶細胞,計数,并每隔日換一次培养基。

(4) 异种移植——根据 Toolan⁽¹⁰⁾ 的方法,用 40~60 克的剛断奶的日本种雄性大白鼠,在移植的当天或前一天,以鈷⁶⁰ 照射全身,剂量为 300~350 r。将制备的細胞悬液接种于大白鼠的左腋皮下。同时,注射皮质素(5 毫克)于另一側(次周再注射 2.5~5 毫克)。以上操作从制作悬液到接种完毕,要求不超过 2 小时。每日檢查接种动物的发展。一般在 2~3 周內解剖出皮下的結节,用 Bouin 固定,切片,苏木精-曙紅染色,在显微镜下观察。

結 果

1. 建立細胞株 原始培养內的組織块在 37°C 經過 1~4 天,均有細胞移出,并且迅速增殖。在恶性神經鞘瘤(图 6)、骨軟骨肉瘤及纖維肉瘤的培养內,主要均为似成纖維細胞。在肺鱗狀上皮癌的培养內,首先出現的是类上皮細胞。10 天以后,似成纖維細胞也出現,逐漸成为主要的細胞成分。經多次繁殖傳代后,細胞增殖速度減慢,大部細胞脫落,殘存的細胞体积变大,胞浆突起增多,核及核仁均增大。

恶性神經鞘瘤的培养在第 16 周出現染色較深的小而整齐的一类上皮細胞,成簇成团地在瓶底多处出現(图 7),迅速代替了原有的增大的細胞。其他的肿瘤培养在第 7~8 周也如此(图 8)。

恶性神經鞘瘤的培养在第 19 周时,这种类上皮細胞能不需血浆直接貼瓶生长,并能用单层培养的方法傳代。其他的肿瘤在第 9~12 周时也如此;由此成为能长期在体外生存的細胞株。到 1962 年 3 月各株細胞在体外已經三年余,傳 200 代以上。

以上四株的細胞基本上均为多边形的、具恶性細胞形态的类上皮細胞(图 9~11, 13)。細胞較密时,能平鋪成一层,鑲嵌排列。核及核仁增大,染色质增多,經常有单

核及多核的巨細胞。分裂相很多。多極分裂及畸形分裂也常見(圖 23,24)。在四株之間,還可以看到以下區別: MEN 及 MEF 均略具梭形(圖 10,11)。MEN 較小(圖 10),MEF 有時呈楔形(圖 11)。二種細胞不形成緊密的群落。MEP 及 MEO 為較典型的多邊形細胞,突起短,形成緊密的群落。這些特點在培養三年之後,仍可辨認出來。

在細胞轉變前,肺鱗狀上皮癌未曾接觸過胰蛋白酶,但自一開始培養時,就用含乳蛋白水解物的培養基。其他細胞株在細胞生長遲緩時才改用這種培養基,但在轉變的細胞出現前,均接觸過胰酶。

自惡性神經鞘瘤分出的另一組培養,從未接觸過胰酶,與上述的惡性神經鞘瘤培養同時改換為含乳蛋白水解物的培養基。但細胞始終保持梭形的形態,生長緩慢,280 天內只傳了 4 代而終止。

在惡性神經鞘瘤的第五天培養的染色標本上(圖 6),看到有少數大而具圓核的梭形細胞。染色質很多,似腫瘤細胞。此外有些細長的梭形細胞,具大的卵形核,有 1~2 核仁,似 Murray⁽¹⁰⁾ 所描述的神經鞘瘤或許旺(Schwann)氏細胞。

2. 單細胞分離 在許多含有單細胞的毛細管中,有 6 管內的單細胞均已在次日分裂成 2~3 個不等。16 天后,有 3 管達到 17、30 和 78 個細胞。前二管內的細胞逐漸萎縮,只最後一管內的細胞能繼續繁殖,發展良好。在第 33 天,細胞數達 500 余个。次日,數目銳減到 300 余。此時將玻璃管移到新瓶內,細胞數量又逐漸增加,發展到第 39 天,細胞移出管口,形成一個膨大如“火柴頭”形的細胞群。培養 41 天(圖 25)後,已可看到細胞外形的大小不一。又經 4 天,面積增加數倍,形成邊緣光滑的緊密群落。在第 48 天,細胞很拥挤,面積的增大放緩。此時用胰酶消化,使細胞散在瓶底,逐漸長成許多新的群落。在第 63 天進行第一次傳代。此後,這細胞株(515)就進入經常性的傳代。它的形態與 MEO 相似。有時巨細胞及多核細胞很多(圖 12)。

3. 生長速度測定 用 MEN、MEP 及 515 各進行了 4、8 及 9 次實驗,求得各株在連續 7 天內的每天平均細胞數,列於表 2 及圖 1。

圖版 I (圖 2~9) Bouin 固定,蘇木精-曙紅染色。

圖 2 惡性神經鞘瘤。手術材料的病理切片。(×200)

圖 3 纖維肉瘤。手術材料的病理切片。(×200)

圖 4 骨軟骨肉瘤。手術材料的病理切片。(×200)

圖 5 肺鱗狀上皮癌。在中部為大片腫瘤細胞。手術材料的病理切片。(×200)

圖 6 惡性神經鞘瘤的原始培養。培養 5 天。(×280)

圖 7 轉變期的培養。惡性神經鞘瘤,培養 125 天,傳 11 代。箭頭指示變大的成纖維狀細胞。深色的小細胞為新形成的。(×200)

圖 8 轉變期的培養。骨軟骨肉瘤,培養 54 天,傳 4 代。圖示變大的成纖維狀細胞及新形成的類上皮細胞。(×200)

圖 9 MEO 株的 140 代培養。單層培養。(×200)

图版 I

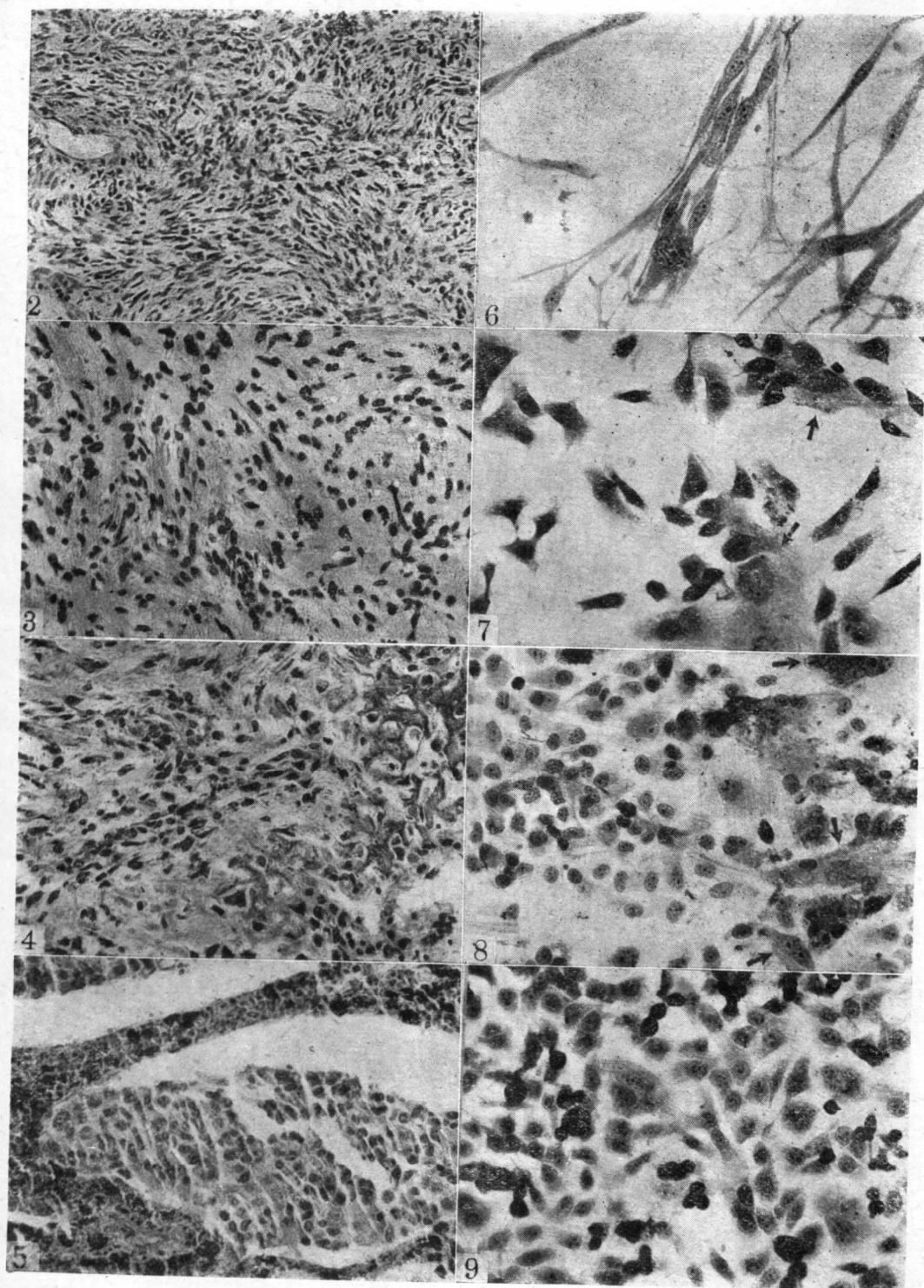


表2 MEN, MEP 及 515 在 7 天內的細胞平均增长情况 (細胞数 $\times 10^4$)

培 养 天 数	MEP	MEN	515
0	7	7	7
1	6.84	9.07	9.99
2	13.06	14.51	17.36
3	22.88	24.71	27.92
4	34.43	43.20	45.05
5	57.83	75.43	77.95
6	85.80	86.14	96.11
7	120.36	130.15	138.95

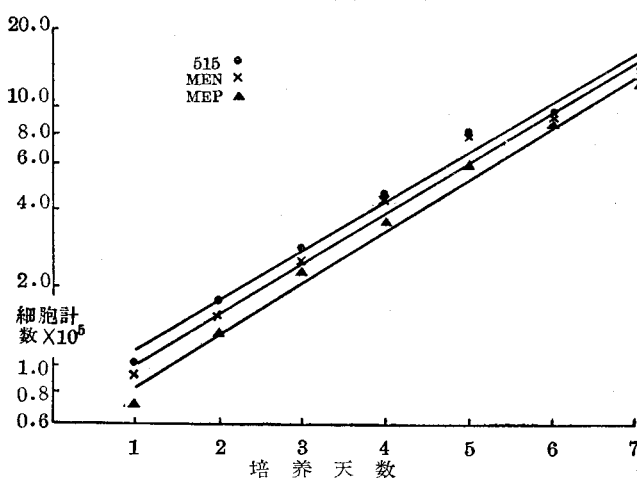


图1 細胞株 MEN, MEP 及純株 515 生长速度的比較。

如图1所示,它們生长的情况极相近似,其差异在統計学上无显著意义。MEP 与 MEN 間, $P > 0.80$; MEP 与 515 間, $P > 0.20$; MEN 与 515 間, $P > 0.50$ 。它們在 7 天內增长一代所需的时间 (M.G.T.) 大致为: MEN, 37.6 小时; MEP, 37.7 小时; 515, 38.7 小时。在 7 天末所增加的倍数为: MEN, 18.6 倍; MEP, 16.2 倍; 515, 20 倍。

图版 II (图 10~17) Bouin 固定,苏木精-曙紅染色。

图 10 MEN 株的 40 代培养。单层培养。(×200)

图 11 MEP 株的 28 代培养。单层培养。(×200)

图 12 515 純株的 6 代培养。单层培养。(×200)

图 13 MEP 株的 200 代培养。单层培养。(×200)

图 14 接种 7.48×10^6 个 MEN 株 220 代的細胞 7 天后的結节。图示巨細胞及許多分裂相。右下角有一四极赤道板。(×500)

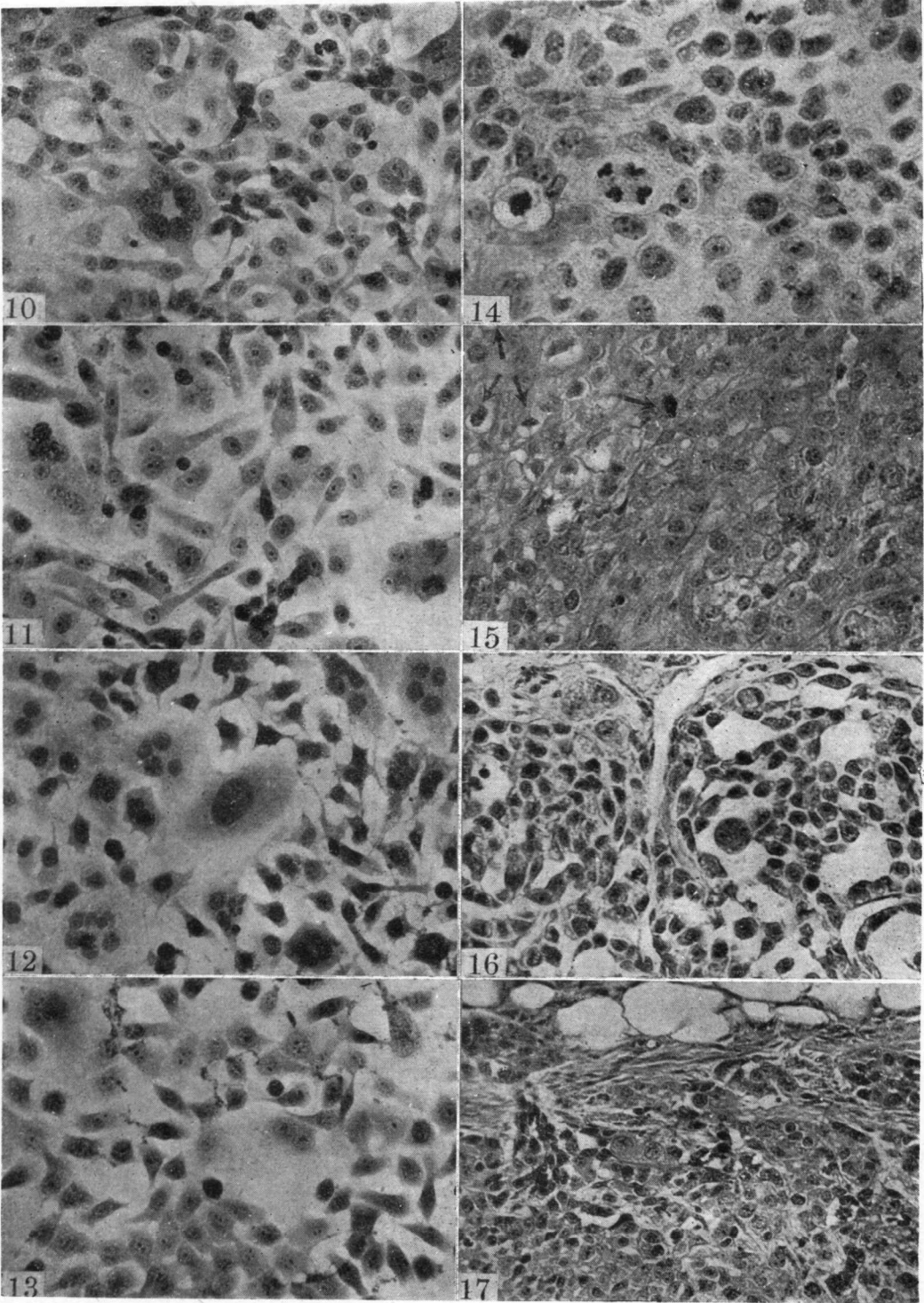
图 15 接种 7.5×10^6 个 MEP 株 199 代的細胞 12 天后的結节。图示許多分裂相。(×300)

图 16 接种 2.1×10^6 个 515 純株的細胞 21 天后的結节。示巨細胞及似腺泡状排列的类上皮細胞。(×300)

图 17 接种 9×10^6 个 MEP 株 194 代的細胞 13 天后的結节。(×200)

(图 14~17 均系細胞株在鉍⁶⁰ 照射及皮质素处理的大鼠皮下所形成的結节的切片。)

图 版 II



4. 异种移植 我們共接种了 68 只大鼠, 得到一些初步結果。MEN、MEP、MEF 及 515 均能在大鼠皮下形成結节。体积从几个立方毫米到一个立方厘米以內。在显微镜下可以看到植入細胞与培养內的細胞相似而略小。各株細胞的結节都具有培养細胞的恶性形态, 如核大、核仁大、分裂相繁多、巨細胞、多核細胞及多极分裂相常見等(图 14~19, 22)。MEP 的結节更与原来的肿瘤組織有一定的相似处(比較图 5 与 17)。

結节发展的一般情况如下:

在接种后的 3~11 天(A), 植入的細胞健康活跃, 多分裂相。一般均有一坏死中心。宿主纖維較少。个别結节在 18 及 26 天仍保持这种初植入时的状态。这种結节属于 MEP 及 515 的較多。MEN 沒有。

在接种后的 8~21 天(B), 結节內宿主組織的成分增加, 形成伸向結节中部的纖維网。坏死中心縮小或消失。夹杂在纖維內尚存在有軟骨及硬骨。在这一阶段, 或則植入細胞保持活跃的增殖, 在結节內占主要成分(B-1); 或則植入細胞仅少数成活, 較多坏死, 宿主組織占主要成分, 有中度纖維化(B-2); 或則找不到植入細胞, 結节全部纖維化(B-3); 或則在接种后数日內形成結节, 但迅速被吸收, 6~12 天解剖时一无所获(B-4)。MEP 及 515 的 B-1 及 B-2 情况較多, MEN 的 B-4 情况較多, 且发生較早(5~13 天)。

在接种后的 17~27 天(C), 少数的結节內尚有殘存的一些植入細胞, 否則就无异于全部纖維化了。在 MEN, 这种情况发生較早, 在第 8 及 10 天。

尚有一种情况(D)为不形成任何結节。在 MEN 这种情况較多。

图版 III (图 18~25)

图 18 接种 16×10^6 个 515 純株 64 代的細胞 4 天后的結节。图示許多分裂相及几个各极赤道板。Bouin 固定, 苏木精-曙紅染色。(×400)

图 19 接种 4.33×10^6 个 515 純株 74 代的細胞 19 天后的結节。箭头指示单核及多核巨細胞。Bouin 固定, 苏木精-曙紅染色。(×500)

图 20 接种 9×10^6 个 MEP 株 194 代的細胞 13 天后的結节。植入細胞为骨(右下)、軟骨(中下)及宿主的纖維組織(左上)所包围。中部細胞显然退化。Bouin 固定, 苏木精-曙紅染色。(×100)

图 21 接种 16×10^6 个 515 純株的細胞 20 天后的結节。約 1/2 的包膜为軟骨及骨所占据。生长在纖維質包膜下的植入細胞比在軟骨及骨下的好。Bouin 固定, 苏木精-曙紅染色。(×35)

图 22 接种 16×10^6 个 515 純株的細胞 11 天后的結节, 再轉种 16 天后的第二代結节。图示許多分裂相。Bouin 固定, 苏木精-曙紅染色。(×35)

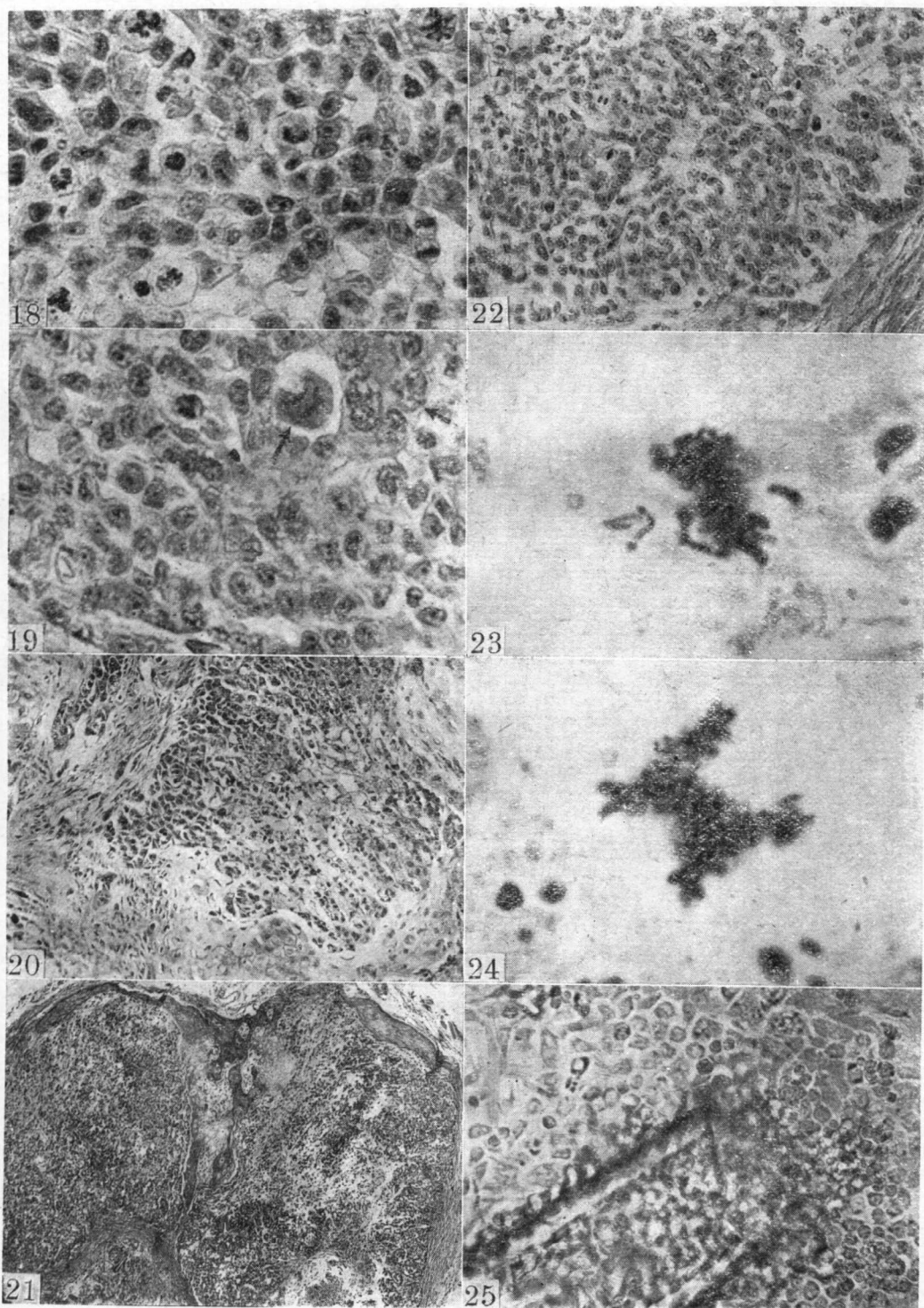
(图 18~22 均系細胞株在鈷⁶⁰照射及皮质素处理的大鼠皮下所形成的結节的切片。)

图 23 MEF 株的細胞分裂相。图示落后染色体。Bouin 固定, 鉄苏木精染色。(×2000)

图 24 MEF 株的細胞分裂相。四极分裂赤道板。Bouin 固定, 鉄苏木精染色。(×2000)

图 25 单个細胞分离后 41 天的培养。图示細胞大小不匀。未染色的活培养, 普通光学显微照象。(約×100)

图版 III



现将各株細胞植入后的結果列于表 3。凡有植入細胞存在的結节，列为阳性結果(+)。找不到植入細胞的，或是根本不形成結节的，均列为阴性結果(-)。

表 3 各种細胞接种于大鼠皮下的結果

細胞株	MEP		515		MEF		MEN		发展情况
接种天数 \ 結果	+	-	+	-	+	-	+	-	
3~11	6		6		1				A
8~21	5		10		3		2		B-1, B-2
8~21				2		3			B-3
6~21		3		2		3	7 (5~13天)		B-4
17~27	1		1		1		2 (8,10天)		C
—				2		2		6	D
鼠阳性只数/总数	12/15		17/23		5/13		4/17		
%	80		73		38		23		

由表 3 情况看来,接种后 MEN 不易形成結节或吸收較早(C,D),只少数結节有活跃的植入細胞(B-1,B-2),宿主的纖維組織发生較早(C),MEN 与 515 及 MEN 与 MEP 之間,結节形成率的差异有統計学上的显著意义(MEN 与 515, $P < 0.005$, MEN 与 MEP, $P < 0.005$)。

MEF 接近 MEN 的情况,結节形成率也較低。MEF 与 MEN, MEP 与 515 及 MEF 与 MEP 之間,其差异在統計学上不显著。

MEP 及 515 的結节形成率較高(80%及 73%)。宿主纖維网的侵入較慢。細胞的增殖較快,形成的細胞团紧靠包膜,并向包膜凸出,有些甚至突破包膜(图 11),发展到附近的宿主結締組織內。

随着宿主纖維組織的增加,出現了軟硬骨的形成(图 21)。骨形成的地点就在結节上的宿主纖維束內。最早的骨质在 9 天的結节內出現。在 MEP、MEF 及 515 均有,占它們結节数的 40%。在骨結構較密的結节內看到植入細胞被骨及軟骨的小梁包圍或被压挤,呈现变性及坏死(图 20)。

結节的大小与接种細胞数量沒有一定的关系,但能否形成結节却与細胞接种量有些关系(見表 4)。在較大接种量(1400 万以上),各株均能形成結节。接种量較小时(少于 700 万),MEN 不能形成結节。在較适中的接种量(700~1400 万),MEN 与 MEF 頗相近,均較 MEP, 515 的形成結节的能力为差。

曾用 515 及 MEF 的結节作傳代的嘗試,原来含有活跃細胞的結节均能够繼續生长(图 22),只傳了一代。

表 4

各株細胞在大鼠皮下形成結节与細胞接种量的关系

細胞接种量(万)	MEP		515		MEF		MEN	
	RN/RI*	%	RN/RI	%	RN/RI	%	RN/RI	%
>1400	1/1	100	6/6	100	2/2	100	—	
700~1400	10/12	83	8/13	61	2/9	22	4/13	30
<700	1/2	50	3/4	75	1/2	50	0/4	0
总 計	12/15	80	17/23	73	5/13	38	4/17	23

* RN: 生結节鼠只数; RI: 接种鼠只数。

討 論

Baron⁽⁵⁾, Добрынин⁽¹¹⁾ 及 Eagle⁽¹²⁾ 均看到肿瘤組織的細胞在建株过程中从纖維細胞型轉变成成为上皮細胞型。Moore⁽¹³⁾ 指出, 人的多种正常組織的細胞株也有这种过程。不論来源是正常的还是恶性, 最終形成的这种細胞株能在体外无限繁殖, 具有恶性形态。轉变的机制还不了解, 細胞的来源也不清楚。在連續培养的环境中, 可能促使細胞經過某些适应, 也可能促使这种体細胞发生突变。虽然 Berman⁽¹⁴⁾ 和 Hayflick⁽¹⁵⁾ 均看到細胞培养內的一些变化的情况, 但均需要作进一步的肯定。Sanford⁽¹⁶⁾ 新近的工作用純株分析的方法来研究形态变化, 认为变异是主要的因素, 細胞对培养环境的适应有利于变异。

从我們目前的工作尚不能确定我們的細胞株的准确来源, 但是它們和它的肿瘤株以及轉变了正常株一样, 均具有显著的恶性特征。

肿瘤細胞株除了必然具有恶性形态之外, 其它的恶性特征是什么, 也是一个繼續研究中的問題。Syvertson⁽¹⁷⁾ 建議从来源、生长、形态、代謝、移植性等各方面作比較。我們从几方面将这几株与熟知的肿瘤細胞株 HeLa⁽¹⁸⁾ 作比較。

在形态方面, 它們与 HeLa 細胞基本相似, 全为类上皮細胞, 具有一定的肿瘤細胞的形态。

HeLa 細胞的純株比正常来源的純株較早出現多型性是吳旻⁽¹⁹⁾ 在分离純株时觀察到的。我們的 515 更早显示这种性质。

HeLa 細胞平均增长一代的时间为 36.5 小时(Yamada⁽²⁰⁾) 及 48 小时(Eagle⁽²¹⁾), 与我們的結果(37.6~38.6)相近。不过在測定的过程中, 前者不換培养基, 后者每日換培养基。

我們實驗室的潘复婧同志曾在 1959⁽²²⁾ 报导了 MEP、MEN、MEF 与 HeLa 的細胞內均有較强的酸性磷酸酶及三磷酸腺苷酶的反应及較弱的碱性磷酸酶反应。而与 Detroit-6⁽⁴⁾, FL⁽²³⁾ 及 580⁽¹¹⁾ 等可能来源自正常組織的細胞株不同。

Friedman 及 Fogh⁽²⁴⁾ 确定 Toolan 的肿瘤細胞在处理动物的异种接种上的四

項标准, 即: (1) 生长迅速, (2) 移植易, (3) 核/胞质比例大, 細胞大小不匀, (4) 具恶性細胞的染色特点。我們的細胞株所形成的結节均符合(1)(2)兩項。第(3)項也具体表现在多分裂相、細胞增殖迅速上。瘤結的大小可与 Manuelidis⁽²⁵⁾用 HeLa S₃ 得到的瘤結(7毫米)相比。从移植率来看移植的难易: MEP 与 515 为 80% 及 75%, 較易移植; MEN 与 MEF 較难。总之, MEP 及 515 能满足 Toolan 的四項要求。

侵潤及傳代也是恶性的重要指标, MEP 与 515 均能突破宿主的包膜向周圍的結締組織侵潤。MEF 与 515 均显示有限的移植可能性。未曾用 MEP 与 MEN 作过傳代的嘗試。

占 MEF, MEP 与 515 結节数 40% 的結节內均产生軟骨与硬骨。目前只見到 Friedman 及 Fogh⁽²⁴⁾移植張氏的結合膜⁽²⁶⁾細胞株时发现一例鈣化及骨化。这是否为一种宿主的保护机制? 至少它似能有效地限制了肿瘤細胞的发展。这恐怕是这几种肿瘤結节体积不超过 1 立方厘米的原因之一。宿主的不相容(incompatibility)的作用可能影响了部分的恶性得不到表现。

無論如何, 从这一个特定的宿主的环境看来, MEP 及 515 表現一定的恶性, MEN 及 MEF 則較差。在我們最近的工作中⁽²⁷⁾, 用改变了的正常株与正常組織的原始培养作异体移植, 前者的細胞形态与肿瘤株相似, 接种結果也相近。后者則完全不形成結节。看来这种改变了的正常細胞是不正常的, 可能具有一定的恶性性质。

結 論

这几个細胞株的似肿瘤細胞的形态, 較高的生长速度, 单細胞純株多型性的出現, 一些組織化学的反应等均与普遍承认的 HeLa 肿瘤細胞株相似。从异种移植的結果看来, 515 及 MEP 有显著的恶性行为, MEN 則由于其結节的形成率較低, 恶性不很显著。

参 考 文 献

1. Murray, M. R.: Uses of tissue culture in the study of malignancy, in "The Physiopathology of Cancer." 2nd ed. N. Y. Hoeber-Harper, 469~516, 1959.
2. Gey, G. O., Gey, M. K., Inui, F. and Vedder, H.: The effects of crude and purified penicillin on continuous cultures of normal and malignant cells. *Bull. John Hop. Hosp.*, 77: 116~131, 1945.
3. Frisch, A. W., Jentoft, V., Barger, R. and Losli, E. J.: A human epithelium-like cell (Maben) derived from an adenocarcinoma of lung. *Am. J. Clin. Path.*, 25: 1107~1112, 1955.
4. Berman L. and Stulberg, C. S.: Eight culture strain (Detroit) of human epithelial-like cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 92: 730~735, 1956.
5. Baron S. and Rabson, A. S.: A culture strain (LAC) of human epithelial-like cells from an adenocarcinoma of the lung. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 96: 515~518, 1957.