

人癌细胞培养

〔日〕大星章一 菅野晴夫 主编

人 癌 细 胞 培 养

[日] 大星章一 菅野晴夫 主编

吴政安 王永潮 李申德 译

科 学 出 版 社

1979

内 容 简 介

全书分为三部分,第 I 部分总论,主要叙述人癌细胞的培养技术。第 II 部分人癌来源的培养细胞株,收集了现在日本建立并维持着的全部人癌细胞的培养株,详细记述了它的建株过程和生物学特性,尤其对这些人癌细胞培养株的细胞形态,通过丰富的光学显微镜和电镜照片给予读者清晰的概念。第 III 部分人癌细胞培养在医学生物学中的应用,对有关动物培养细胞的新知识和癌细胞的增殖与分化、生癌机理、病因病毒、免疫及其对癌治疗的尝试等作了较详尽的论述。内容新颖、丰富而又简单扼要。

本书既是研究专著,又是一本人癌细胞培养的技术指导手册。可供临床医生、病理学工作者、从事癌症防治研究工作的医务人员和医学院、大专校生物系师生、生物学工作者及从事细胞培养的技术人员等参考。

大星章一 菅野晴夫 編集

人癌细胞の培養

朝倉書店,1975

人 癌 细 胞 培 养

〔日〕大星章一 菅野晴夫 主編

吴政安 王永潮 李申德 译

*

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1979年2月第 一 版 开本: 787×1092 1/16
1979年2月第一次印刷 印张: 24 1/4 插页: 60
印数: 0001—16,330 字数: 553,000

统一书号: 13031·901

本社书号: 1277·13—10

定价: 4.90 元

译 者 的 话

恶性肿瘤是严重威胁广大人民群众健康的常见病之一。敬爱的周总理无限关怀人民的健康，过去一再鼓励医务人员和科学工作者要刻苦钻研，攻克医学难关。他反复强调，在防治肿瘤上，中国应该作出贡献。他满腔热情地嘱咐我们说：你们这一代应把癌症攻下来。在此种崇高精神的鼓舞下，我们利用日常工作的余暇，翻译了本书，推荐给读者，以便了解国外人癌细胞培养的研究现状，希望对我们今后工作的开展有所裨益。不幸，在此书的翻译过程中，敬爱的周总理和我们永别了，癌症夺去了他宝贵的生命。我们在万分悲痛之中，振作精神，加紧工作，花了近一年的夜晚时间，完成了本书的译校工作。这一点对我们来说是一个安慰，总算是为了实现总理遗愿作出了我们微小的贡献。

自1952年George Gey从人宫颈癌组织建立了HeLa细胞株以来，人癌细胞的培养的可能性，虽然已经明白无疑，但人癌细胞培养的研究并未盛行起来。究其原因，一方面是由于培养条件的限制和技术上的困难，另一方面也在于对人癌细胞培养的意义还缺乏明确的认识所致。随着分子生物学与细胞生物学研究的发展，人们逐渐认识到人癌细胞的培养对探明癌变机理、临床诊断、药物筛选和治疗等都具有重大的意义。因而近年来人癌细胞培养的工作也兴旺发达起来，文献日益增多，但有关人癌细胞培养的专著并不多见。就我们所知，除了Jørgen Fogh编的“离体人癌细胞”(Human Tumor Cell *in Vitro*) (Plenum Press, 1975)一书，似乎就只有本书。

本书共分三个部分：第一部分为总论，主要介绍了人癌细胞的培养技术。这一部分在叙述上深入浅出，通俗易懂、条理清楚、系统性强，可单独成为实用的细胞培养技术指导手册；第二部分介绍了日本迄今建立与维持的全部人癌细胞的培养株，详细地记述了建株过程及其生物学特性，有很大的参考价值；第三部分介绍了人癌细胞培养在医学生物学领域的应用。除了阐述有关的动物培养细胞的崭新知识之外，还论述了癌细胞的增殖与分化、生癌机理、病因病毒、免疫及其在癌症治疗方面的应用等，指出了人癌细胞培养在医学生物学上的意义。

本书由从事人癌细胞培养研究的第一线的专家执笔撰写，内容丰富、涉猎文献资料比较全面，所收集的人癌培养细胞的光学显微镜和电子显微镜图片是十分宝贵的癌细胞病理学的参考资料。鉴于执笔人有四十位之多，书中的叙述与所用术语难免有不统一之处，这些在翻译时都做了一定的弥补。

由于译者水平所限，译文中错误与不妥之处在所难免，谨请读者批评指正。

中国科学院动物研究所细胞生物学室 吴政安
北 京 师 范 大 学 生 物 系 王永潮
中国医学科学院肿瘤防治研究所细胞生物学室 李申德

1977年8月

序

癌的基础研究向来以动物的实验癌为主要对象进行,而近年来正迅速地转向细胞水平的研究。培养人癌细胞的目的,在于把人癌的研究就方法学上提高到基础研究的水平。也就是说,以人癌的新的病理学为目标。通过人癌细胞的培养,不仅使一向为基础研究者感到很渺茫的人癌成为切近的东西而予以重新估价,同时,由此可期望人癌的研究做到可重复性和定量性。

本书就是根据这样的考虑,全国性地广泛集中了我国一向有志于人癌细胞培养的研究者,将其研究成果汇编成册的。在构成本书中枢的第II编中,收集了现在在我国建立并维持着的全部人癌细胞培养株,详细记述了它的建株过程和生物学特性。尤其对这些癌细胞培养株的细胞形态,通过丰富的光学显微镜照片和电镜照片进行了图集式地编辑,也考虑到使用这些细胞的研究者的方便,这是本书的一个特色。再者,为了使本书更加丰满,在第I编的总论中,以癌细胞的培养技术为中心进行了记述,使本书作为一本实用的组织培养书亦十分有用。在第III编中,适当编入有关的动物培养细胞的新知识,同时论述了癌细胞的增殖与分化、生癌机理、病因病毒、免疫及其对癌治疗的尝试等多方面的有关癌细胞培养在医学生物学中的意义。此外,也讨论了作为人癌的在体实验系的裸小鼠。

本书既是研究专著,又是新近有志于人癌细胞培养的研究者所必需的技术入门书,而且还兼有作为理解癌的新的细胞病理学的解说书的性质。我们相信,本书的出版不仅对以人癌为研究对象的临床医师与病理学家有益处,而且还将广泛地对医学、药理学与生物学各方面的研究者有益处。

本书承蒙多方人士执笔,从规划到出版,只用了很短的时间即告完成。这应完全归功于各位撰稿人的热忱,在此谨表衷心谢意。

大星 章一

菅野 晴夫

1975年2月

(吴政安 译)

执 笔 者

癌 研 究 会 癌 研 究 所	菅 野 晴 夫
京 都 第 一 红 十 字 医 院 检 查 部	三 宅 清 雄
北 里 大 学 医 学 部 妇 产 科 教 研 室	蔵 本 博 行
东 京 医 科 大 学 外 科 教 研 室	辻 啓 次 郎
国 立 癌 中 心 医 院 内 科	下 山 正 德
冈 山 大 学 医 学 部 癌 源 研 究 設 施	佐 藤 二 郎
东 京 大 学 医 学 科 学 研 究 所 癌 细 胞 学 研 究 部	黑 木 登 志 夫
新 泻 大 学 医 学 部 病 理 教 研 室	大 星 章 一
国 立 癌 中 心 研 究 所 病 理 部	亀 谷 徹 雄
国 立 癌 中 心 研 究 所 病 理 部	下 里 幸 雄
庆 应 义 塾 大 学 医 学 部 妇 产 科 教 研 室	野 澤 志 朗
庆 应 义 塾 大 学 医 学 部 病 理 学 教 研 室	坂 口 弘
广 岛 大 学 原 子 弹 放 射 性 医 学 研 究 所 内 科	鎌 田 七 男
熊 本 大 学 医 学 部 微 生 物 学 教 研 室	日 沼 赖 夫
国 立 癌 中 心 研 究 所 病 理 部	宫 本 包 厚
冈 山 大 学 医 学 部 妇 产 科 教 研 室	新 太 喜 治
东 京 医 科 大 学 外 科 教 研 室	早 田 義 博
京 都 大 学 医 学 部 微 生 物 学 教 研 室	伊 藤 洋 平
庆 应 义 塾 大 学 医 学 部 泌 尿 科 教 研 室	田 崎 寛
放 射 医 学 综 合 研 究 所 生 理 病 理 研 究 部	春 日 孟
国 立 癌 中 心 医 院 脑 神 經 外 科	高 倉 公 明
金 泽 大 学 医 学 部 整 形 外 科 教 研 室	高 瀬 武 平
金 泽 大 学 医 学 部 整 形 外 科 教 研 室	真 鍋 昌 平
北 海 道 大 学 医 学 部 整 形 外 科 教 研 室	石 井 清 一
弘 前 大 学 医 学 部 外 科 教 研 室	今 充 茂
京 都 大 学 结 核 胸 部 疾 病 研 究 所 病 理 部	森 川 隆 昭
放 射 医 学 综 合 研 究 所 损 伤 临 床 研 究 部	石 原 清 美
国 立 医 院 医 疗 中 心 临 床 研 究 部	山 田 武 彦
东 北 大 学 抗 酸 菌 病 研 究 所	橘 武 彦
三 菱 化 成 生 命 科 学 研 究 所 脑 神 经 化 学 教 研 室	天 野 忠 久
京 都 府 立 医 科 大 学 病 理 教 研 室	北 村 晋 作
京 都 府 立 医 科 大 学 小 儿 科 教 研 室	今 宿 小 路 正 夫
癌 研 究 会 癌 研 究 所 病 理 部	宇 多 小 路 正 夫
冈 山 大 学 医 学 部 内 科 教 研 室	三 好 勇 夫

大阪大学医学部放射性基础医学教研室	武部 啓
东京大学医学科学研究所病毒感染研究部	日野 茂男
东京医科大学外科教研室	吉田 纮一
东京大学医学科学研究所癌病态学研究部	藤井 源七郎
东京大学医学科学研究所癌病态学研究部	关口 守正
国立癌中心医院	木村 禧代二

目 录

译者的话	i
序	iii

I. 总 论

1. 人癌细胞培养的意义	[菅野 晴夫]	1
(一) 细胞与生存		1
(二) 癌细胞的分化		2
(三) 癌变		2
(四) 人癌病毒		3
(五) 治疗		3
2. 人癌细胞培养的历史	[三宅 清雄]	6
3. 培养技术		9
3.1. 培养室	[藏本 博行]	9
(一) 培养室的设备		9
(二) 培养室内的无菌操作		10
3.2. 培养器械		11
(一) 大型设备		11
(二) 培养器皿		13
3.3. 培养液		16
(一) 盐溶液		16
(二) 合成培养液		17
(三) 天然培养液		23
(四) 抗菌素		25
(五) pH 的调整		26
3.4. 洗刷与灭菌		26
(一) 洗刷		26
(二) 灭菌		28
3.5. 培养材料的取材方法及原代培养		30
(一) 组织	[辻 啓次郎]	30
(二) 体腔液	[下山 正德]	34
(三) 血液		35
3.6. 培养方法		36
(一) 单层培养	[辻 啓次郎]	36
(二) 悬浮培养	[下山 正德]	37
(三) 克隆(clone)培养法	[佐藤 二郎・常盤 孝義]	38
(四) 半固体琼脂内集落形成	[下山 正德]	40

(五) 琼脂平板培养法	[黑木 登志夫]	42
(六) 转管培养法、旋转培养法	[佐藤 二郎]	44
3.7. 培养细胞的冻存		46
3.8. 培养细胞的输送	[大星 章一]	48
4. 观察方法		53
4.1. 相差显微镜	[三宅 清雄]	53
4.2. 电影摄影		54
4.3. 一般染色	[大星 章一]	56
4.4. 特殊染色与酶细胞化学	[龟谷 微]	57
4.5. 电子显微镜	[下里 幸雄]	58
4.6. 扫描电子显微镜	[野澤 志朗·坂口 弘]	60
4.7. 染色体	[鎌田 七男]	61
4.8. 生长率测定及细胞死活的鉴别	[藏本 博行]	63
4.9. 荧光抗体法——检查 EB 病毒抗原	[日沼 赖夫]	67
4.10. 铁蛋白(ferritin)抗体法	[宫本 包厚]	70
4.11. 酶抗体法	[龟谷 微]	72
5. 培养人癌细胞的鉴定	[大星 章一]	77
(一) 癌细胞在体内的特性		77
(二) 癌细胞在体外的特性		78
(三) 正常细胞的培养		78
(四) 培养细胞在体外的自然癌变		78
(五) 培养人癌细胞的鉴定		79
(六) 细胞株的污染		81

II. 人癌来源的培养细胞株

A. 已知的有代表性的人癌来源的培养细胞株		84
1. 单层培养细胞	[新 太喜治]	84
2. 浮游培养细胞	[大星 章一]	90
B. 我国建立的人癌来源的培养细胞株		92
3. 胃癌	[大星 章一]	92
4. 乳腺癌	[大星 章一·下山 正德]	94
5. 肺癌	[早田 義博·辻 啓次郎]	98
5.1. 鳞状上皮癌		100
PC-1 株		100
PC-5 株		100
5.2. 腺癌		101
PC-2 株		101
PC-3 株		102
PC-4 株		102
PC-7 株		103

PC-8 株	103
LC-28 株.....[大星 章一]	104
5.3. 燕麦细胞癌	104
OAT 株	104
PC-6 株	108
6. 子宫癌	110
6.1. 宫颈癌	110
OG 株	110
SiHa 株	112
6.2. 宫体癌	113
HEC-1 株	113
HEC-6 株	117
OE 株	118
7. 肝癌	121
7.1. 肝细胞癌	121
7.2. 胆管癌	123
8. 膀胱癌	125
9. 绒毛膜上皮肿瘤	128
10. 黑色素瘤	133
HMV 株	133
SEKI 株	135
11. 脑肿瘤	138
12. 神经母细胞瘤	141
13. 骨肿瘤	146
13.1. 骨肉瘤.....[高濑 武平·真鍋 昌平]	146
13.2. 骨巨细胞瘤.....[石井 清一·佐佐木 铁人·梅田 弘敏]	148
14. 淋巴母细胞样细胞株	153
14.1. 培养株的形态和细胞起源.....[下山 正德·大星 章一]	153
14.2. 扫描电子显微镜.....[今 充]	156
14.3. 染色体.....[鎌田 七男]	158
15. 何杰金氏病	166
Aichi-4 株	166
HPL-Hod 株	167

III. 人癌细胞培养在医学生物学中的应用

1. 染色体	171
1.1. 人癌细胞的染色体	171
1.2. 人白血病的染色体	176
1.3. 培养人癌细胞的染色体	179
1.3.1. 肺癌	179

1.3.2. 宫体癌	[藏本 博行]	186
2. 培养人癌细胞的裸小鼠*移植	[大星 章一·下里 幸雄]	197
3. 利用旋转培养进行的组织再组	[新 太喜治]	204
4. 淋巴母细胞样细胞株的生物学	[橘 武彦]	208
(一) 前言——人淋巴细胞的两种细胞集团		208
(二) 免疫球蛋白的产生与表面免疫球蛋白		208
(三) 其他媒介物的产生		212
(四) 细胞膜受体		213
(五) 绵羊红细胞玫瑰花结形成		215
(六) T 细胞来源的培养细胞与 B 细胞来源的培养细胞		215
5. 增殖与分化		219
5.1. 癌细胞的增殖与分化	[菅野 晴夫]	219
(一) 肿瘤的未分化性与分化性		219
(二) 实验肿瘤的分化		219
(三) 逆转试验或分化的试验(肿瘤逆转)		220
(四) Friend 白血病细胞的分化		221
5.2. 肺癌培养细胞的超微形态及其与功能和组织发生的关联		
.....	[下里 幸雄]	226
(一) 关于肺癌组织类型的分类及其组织发生的一般概念		226
(二) 各种组织类型的肺癌来源细胞培养株的形态		226
5.3. 神经母细胞瘤		234
5.3.1. 小白鼠神经母细胞瘤的分化	[天野 武彦]	234
(一) 关于小鼠神经母细胞瘤 C1300		234
(二) 自实验性脑瘤确立神经细胞克隆的尝试		244
5.3.2. 人神经母细胞瘤的分化		244
(一) 形态方面	[北村 忠久·三宅 清雄]	244
(二) 代谢方面	[今宿 晋作]	248
5.4. 黑色素瘤——黑色素的形成	[春日 孟]	257
5.5. 绒毛膜上皮癌——其增殖与胎盘绒毛膜特异的物质生产能力及形态 分化	[藏本 博行·龟谷 徹]	262
5.6. 淋巴细胞		267
5.6.1. 淋巴细胞在试管内的幼稚化	[宇多小路 正]	267
5.6.2. 淋巴母细胞样细胞株的分化	[三好 勇夫·坪田 輝彦]	270
6. 着色性干皮症与生癌	[武部 啓]	277
(一) 着色性干皮症的原因		277
(二) DNA 修复的机理		278
(三) 人培养细胞的 DNA 修复及其实验法		279
(四) 着色性干皮症细胞的修复缺损与生癌的相关性——直接模型与间接模 型		283
7. 病毒		285
7.1. 人癌病毒研究的现状与未来	[伊藤 洋平]	285

• x •

(一) 肿瘤病毒的潜伏性	285
(二) 已知的肿瘤病毒与人癌	285
(三) 对未知人癌病毒的探讨	286
7.2. EB 病毒.....[日沼 赖夫]	289
(一) 细胞水平的 EB 病毒感染	289
(二) EBV 基因组在细胞内的存在形式	292
(三) EBV 的分离	293
(四) EBV 持续感染细胞株的建立	293
(五) EBV 的定量法	294
(六) EBV 抗体的检出	294
(七) 对猴的感染	295
(八) 人感染 EBV 后的发病.....	295
7.3. 疱疹 2 型病毒	[伊藤 洋平] 298
7.4 C 型病毒.....[大星 章一·日野 茂男·吉田 纮一]	299
(一) 大鼠的 C 型病毒	299
(二) 培养人癌细胞与 C 型病毒	303
8. 免疫	[関口 守正] 313
(一) 淋巴细胞-肿瘤细胞混合培养反应 (MLTR).....[藤井 源七郎]	313
(二) 细胞毒试验	[関口 守正] 318
9. 化学疗法	[下山 正徳·木村 禧代二] 324
(一) 抗癌药物的细胞杀伤作用的定量法	324
(二) 抗癌药物的细胞杀伤作用的方式	327
(三) 各种抗癌药物的细胞杀伤动力学的分析	336
(四) 人癌细胞培养株的药物敏感性	339
10. 放射线疗法	[春日 孟] 345
(一) 培养细胞的放射敏感性	346
(二) 人黑色素瘤细胞的放射敏感性	348
(三) 从 Elkind 恢复曲线来研究.....	351
(四) 人黑色素瘤细胞对低 LET 射线的抗性.....	354
(五) H ₁ N ₁ 细胞辐射抗性研究结果的概要	357
索引	362
图版	

I. 总 论

1. 人癌细胞培养的意义

对于为什么要进行人癌细胞培养的问题,从事人癌培养的研究者作何回答呢?首先,大概会回答说:想在玻璃器上培养人癌细胞,并对其性状进行各种检查。1952年 George Gey 从人的宫颈癌建立 HeLa 细胞株以来,至今一直连续传代并在世界各研究室得到广泛采用一事使人大为感叹。我们的行动首先起始于朴素的愿望——想培养一下人癌细胞。然而,自 HeLa 细胞建立以来,虽然培养人癌细胞的可能性已经明白无疑,但很难说曾受到热心的支持。直到最近,人癌培养才盛行起来。这一方面可能由于技术上的困难,但更重要的原因可能是由于对培养的意义缺乏明确的认识。

利用培养细胞已取得的或正在取得的知识,正在形成与历来以固定组织、细胞为基础的学问不同的一门新的、动态的细胞生物学——或许可以把它称之为基因的细胞生物学。人癌细胞培养的意义,从基础方面来看,可肯定癌细胞在崭新的细胞生物学中占有极为独特的位置,另一方面,它必将对癌的病因、诊断、治疗等一切领域作出广泛而有意义的贡献。

(一) 细胞与生存

当把癌细胞从体内移至体外时,首先成为问题的是它显示什么性状并在哪些方面与正常细胞不同。细胞培养的基本困难,除了细菌等的感染外,可概括为难于适应营养等环境的变化。包括血清在内,对培养液的研究,也就是对细胞营养要求的研究。另外,培养状态——即细胞是紧贴玻璃壁生长还是以悬浮状态生长、紧贴玻璃壁生长时是单层生长还是多层生长等——是同基本的细胞性质与周围环境紧密相关的。例如,HeLa 细胞通常是单层生长的,但在转管培养下可得到悬浮培养。众所周知,随着血清浓度和培养液种类的不同,细胞形态和生长速度也不同(可参阅 Ciba Found. Symposium, 1971; Cold Spring Harbor Monograph, 1973 等)。

应用人癌细胞培养最初取得的明显成绩,是关于染色体变化的研究。在检查原来的肿瘤细胞的染色体组型时,常用直接法或短期的瘤原代培养。大家知道,同一种细胞在长期培养的过程中会发生染色体的变化。以 HeLa 细胞的克隆(clone)为例,不同的克隆在对血清的要求、集落的形态以及染色体等方面是不同的。这种异质性究竟是由于原株的 HeLa 细胞是由遗传上不同的细胞混杂所致,还是由于培养过程中遗传性不稳定所致,或二者兼有,这些问题还没有弄清楚。

正如以 HeLa 细胞所代表的,肿瘤细胞系被信以为可以无限地持续增殖。然而,根据 Hayflick 等用人胚细胞培养的实验,正常细胞(正二倍体细胞)的寿命是有限的[细胞株

(cell strain)],一般可经历约 50 次的分裂,亦即传 50 代。这一事实可以说为老化提供了基本的出发点。如果这种看法是正确的话,则似乎可以把癌细胞规定为不老化或不死亡的细胞[细胞系(cell line)]。不过,要维持细胞的正常状态,培养条件是个问题。有报告指出,如果给予皮质酮,则可延长细胞寿命,以及如严格控制 pH 则可使正常细胞株化。今后有必要继续进行研究。

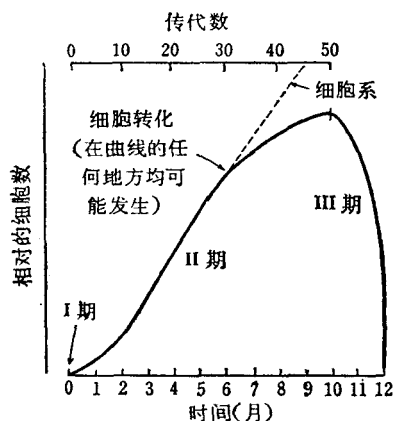


图 1.1 细胞株与细胞系(Hayflick 等,1961)

就迄今所知,正常人细胞的世代或增殖都是有限的,细胞相互间存在着 Abercrombie 等(1954, 1958)的所谓的接触抑制(contact inhibition)[这种抑制更确切地应称之为密度抑制(density inhibition)]。反之,癌细胞可无限增殖,细胞彼此之间缺乏接触抑制。以上两点可作为癌细胞与正常细胞在性状上的基本不同点。至于这观点是否正确,以及在什么条件下适用等问题,有待今后研究解决。

(二) 癌细胞的分化

据说如把正常细胞连续进行培养,则已分化的细胞逐渐丧失其特征而成为未分化状态。亦即据称有一个进展状态(progression)。然而,业已查明,如添加某种物质,则有可能培养分化状态的软骨细胞及黑色素瘤细胞。因此,培养所引起的未分化状态就是由于培养液中缺乏为分化所必需的物质所致。另一方面,已经知道由于连续培养而变成未分化状态的细胞尚保持着本来的特性(基因型特性——genotype character)并且能够对此进行诱导。

有一种观点从癌的未分化的特点出发,认为它类似于培养细胞。然而,一直认为二者毕竟是相似而非完全相同。业已查明,即使是癌细胞,只要给予条件就可以分化,它保持着原有的特性并能够对此进行诱导。对于癌细胞的本来特性——即基因表现——受抑制的状态,究竟是发生在遗传信息由 DNA 传递到 mRNA 的转录水平,还是发生在由 mRNA 到蛋白质的翻译水平的问题,有必要进行深入的研究。但是,无论如何从“去分化”(dedifferentiation)的观点来看,可以认为结果都是一样的。从以往的肿瘤病理学的观点来考察癌的成熟与分化时,重要的是,这种分化究竟是属于癌范围内的分化还是属于癌范围以外的能恢复到正常的分化。另一方面,从癌基因表现的变化导致性状的差异这种观点来看时,区别癌范围内的分化还是癌范围外的分化则目前还不会成为问题。

关于癌分化的研究,是关系到从本质上了解癌的特性,从而理解它的大问题。

(三) 癌 变

已经知道,正常细胞(正二倍体细胞)经过长期培养后可自然癌化,或者染色体数及形

态发生改变,成为所谓转化细胞(“癌变细胞”)。另一方面,用正常人细胞做体外诱癌实验虽然是很有可能的,但由于取材及保持材料均一性的困难,未必能盛行,所以今后有必要进行正确而细致的实验。根据用皮肤成纤维细胞进行的诱癌试验,容易长癌的先天性异常(如 Fanconi 综合症及 Klinefelter 综合症)患者的成纤维细胞,远比正常人的细胞容易癌变(Miller 等, 1969)。也就是说,确实存在着先天的致癌性的差异,这一事实犹如在着色性干皮症所看到的,揭示存在着基因水平的缺陷。如同治疗先天性代谢异常疾病那样,在致癌性上也许有可能通过引入为弥补基因水平的缺陷所需要的基因来达到治疗乃至预防的目的(基因治疗、遗传工程)。另外,也有可能应用这种技术来发见乃至筛选(基因筛选)对生癌有高度危险性的人群。但这些措施的实施必须是极端慎重的。

(四) 人 癌 病 毒

为了证明培养的人肿瘤细胞中可能含有的人癌病毒,曾进行过长期的努力,而伯基特肿瘤细胞中 Epstein-Barr 病毒(EBV)的发现,为人癌病毒的研究开辟了新的纪元。在人癌病毒的探索中,首先是:

(1) 要从培养细胞中直接发现和分离病毒,并进行鉴定。为此,建立了一些诱导其中的内在病毒的方法,如给予 BUdR 等药物或用细胞融合法等。另外,还采用了一些复杂的技术,如用已知病毒感染培养细胞,以“营救”(rescue)其内在病毒等。

(2) 作为间接的证明,可采用免疫学的方法:当细胞内有病毒存在时,该细胞具有由病毒诱发的特异性抗原(群),可以通过找出这种抗原来推测病毒的存在。也可采用生物化学的方法:通过测定某种 RNA 肿瘤病毒所特有的酶(如逆转录酶)来测知病毒的存在。

(3) 还可采用分子生物学的方法,通过证实 60—70SRNA 的存在及分子杂交方法证实在癌细胞内存在同已知肿瘤病毒核酸同源的核酸来推测病毒的存在。人的培养细胞是研究病毒的重要材料。人的培养的癌细胞和其他培养细胞均用于增殖病毒。根据对小型 DNA 肿瘤病毒、SV40 及多瘤病毒的研究得知,通过宿主细胞的几次更换,病毒的相当大部分将成为来源于宿主细胞的成分。在通过人细胞的动物肿瘤病毒的 DNA 上也发生同样的 DNA 的重组,这一事实是十分重要的。

在研究人癌病毒中的一个障碍是,还没有找到容易繁殖人源病毒的细胞系。无论是 EB 病毒还是在人胎盘中见到的属于所谓“过客病毒”的 RNA 病毒均为如此。当前的首要问题是,建立适宜于这类病毒增殖的细胞系。

(五) 治 疗

人癌细胞培养在治疗方面的应用,首先考虑到在癌化学疗法上的应用。但在免疫方面,也很有可能开辟广泛的应用。在化疗领域中:

(1) 原发癌的药物敏感性试验与药物的筛选:取患者的肿瘤进行短期培养,并选择出对该原代培养细胞最有效的抗癌药物给予患者,就有可能更有效地使用抗癌药物。这种想法的立足点是,即使是相同脏器的同种癌,不同患者的癌的性质以及对抗癌药的敏感

性等可能各不相同,所以应选择对不同患者不同状态下的癌最有效的药物进行治疗。为此,必需确立简便而又高效的培养方法和敏感性的试验方法。

以上设想虽在化学疗法初期已经有了,但至今进步甚微。这种方法首先可能在白血病最容易行得通。事实上,从白血病患者取出白血病细胞,在体外进行药物敏感性试验后再应用于患者时,其结果未必选择到对患者最适宜的药物。亦即,已经逐步弄清患者的因素是同样重要的,抗癌药物只是在宿主和肿瘤相互关系的基础上才发挥其效果。单纯从事肿瘤与药物之间的检查是不够的。有必要把这一方法同下述检查宿主免疫状态等方法结合起来,进行全面的分析。

(2) 新的抗癌药的筛选:若用长期培养细胞株进行药物敏感性试验,现已知道,淋巴细胞与上皮细胞对同一药物的敏感性有差别。亦即,依肿瘤的组织来源不同而有差别。另一方面,也已经知道有时在体外的敏感性与在体内的效果是相平行的。这预示着有可能利用此方法来了解正在研究的化疗药物对哪些肿瘤有效,亦即用作新发现抗癌物的筛选手段。例如,来自人口腔底部鳞癌细胞株 KB 细胞被用于抗癌药物的筛选。为此,首先应保存多种人癌细胞株。

这一想法的基础是,人癌细胞株来源于人癌,所以在新药物的筛选上比使用动物癌细胞更有利。据称在筛选对人白血病有效的药物时,小鼠白血病 L1210 细胞是最好的,最近还认为应加上 P388 株。至少在药物的选择方面,要保证人癌细胞是人癌的最好代表,从而能最好地反映疗效,看来是不现实的。因此,应在充分考虑每种人癌细胞株适用与否之后,再根据其用途加以利用。

作为在免疫方面的应用,首先:

(1) 作为诊断方面的手段,现已开始了广泛的研究。这方面似乎正在通过对淋巴细胞、特别是 B 细胞与 T 细胞的比例以及对 T 细胞功能的研究来推测宿主的免疫状态及肿瘤的进展,以及进而用作推测预后的手段。另外,有人试图寻找出淋巴细胞中的癌特异性抗原(广义的癌胚蛋白)将它用于癌的诊断。

(2) 作为免疫疗法,有人尝试由宿主取出癌细胞,经处理使其抗原性增高后,再接种于宿主,使其肿瘤免疫性增高,以期达到原肿瘤的缩小及增殖的抑制。

(3) 收集淋巴细胞,作一定的处理(或者不加处理)后输给患者,企图利用淋巴细胞的抗癌性进行治疗。这些方法都正在成为今后令人向往的课题。

另一方面,淋巴细胞的幼稚化为我们提供了新的知识。在人末梢血的淋巴细胞中加入植物血凝素(PHA)后进行短期培养,可使淋巴细胞变为母细胞。利用这一方法,人染色体的分析变得很容易进行,因此使伴有染色体异常的疾病及淋巴细胞动态的研究取得了显著的进展。除 PHA 外,还有其他各种物质可引起淋巴细胞的幼稚化。另外,利用刀豆球蛋白 A 及其他植物凝集素等进行的细胞凝集及细胞膜方面的研究,取得了显著的进展,为肿瘤细胞学打开了新的局面。这些研究与上述在免疫学方面的应用的研究之间,有着紧密的联系。

结 语

上面,就人癌细胞培养的意义分别作了简单的叙述。要做这些工作,首先要为建立

人源细胞株创造方便条件。现在,能够比较容易进行长期培养的是间质细胞,内胚层和外胚层的上皮细胞则往往不易成功。所以,无论是正常细胞还是恶性细胞,首要的问题是确立易于培养所需组织的所需细胞的方法。其次,就是利用这些技术进行人正常细胞及恶性细胞的生物学的研究。为此,可认为进行各种突变株的分离及其遗传学分析将会作出巨大的贡献。这样,人癌细胞培养的技术在癌的病因、诊断、治疗等各方面,将有可能作出更加有意义的贡献。

〔菅野 晴夫〕

(李申德 译)

参 考 文 献

- [1] Abercrombie, M. and Ambrose, E.: Interference microscope studies of cell contacts in tissue culture. *Exp. Cell Res.*, 15: 332—345, 1958.
- [2] Abercrombie, M. and Heaysman, J.: Observations on the social behavior of cells in tissue culture. *Exp. Cell Res.*, 6: 293—306, 1954.
- [3] Gey, G., Coffman, W. and Kubicek, M.: Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Res.*, 12: 264—265, 1952.
- [4] Hayflick, L. and Moorhead, P.: The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.*, 25: 585—621, 1961.
- [5] Miller, R. W. and Todaro, G.J.: Viral transformation of cells from persons at high risk of cancer. *Lancet*, i: 81—82, 1969.
- [6] Tooze, J. (Ed.): The culture of mammalian cells in the molecular biology of tumor viruses. Cold Spring Harbor Lab., 1973.
- [7] Wolstenholme, G.E.W. and Knight, J. (Eds.): Ciba Found. Symposium. Growth control in cell cultures. Churchill Livingstone, Edinburgh-London, 1971.