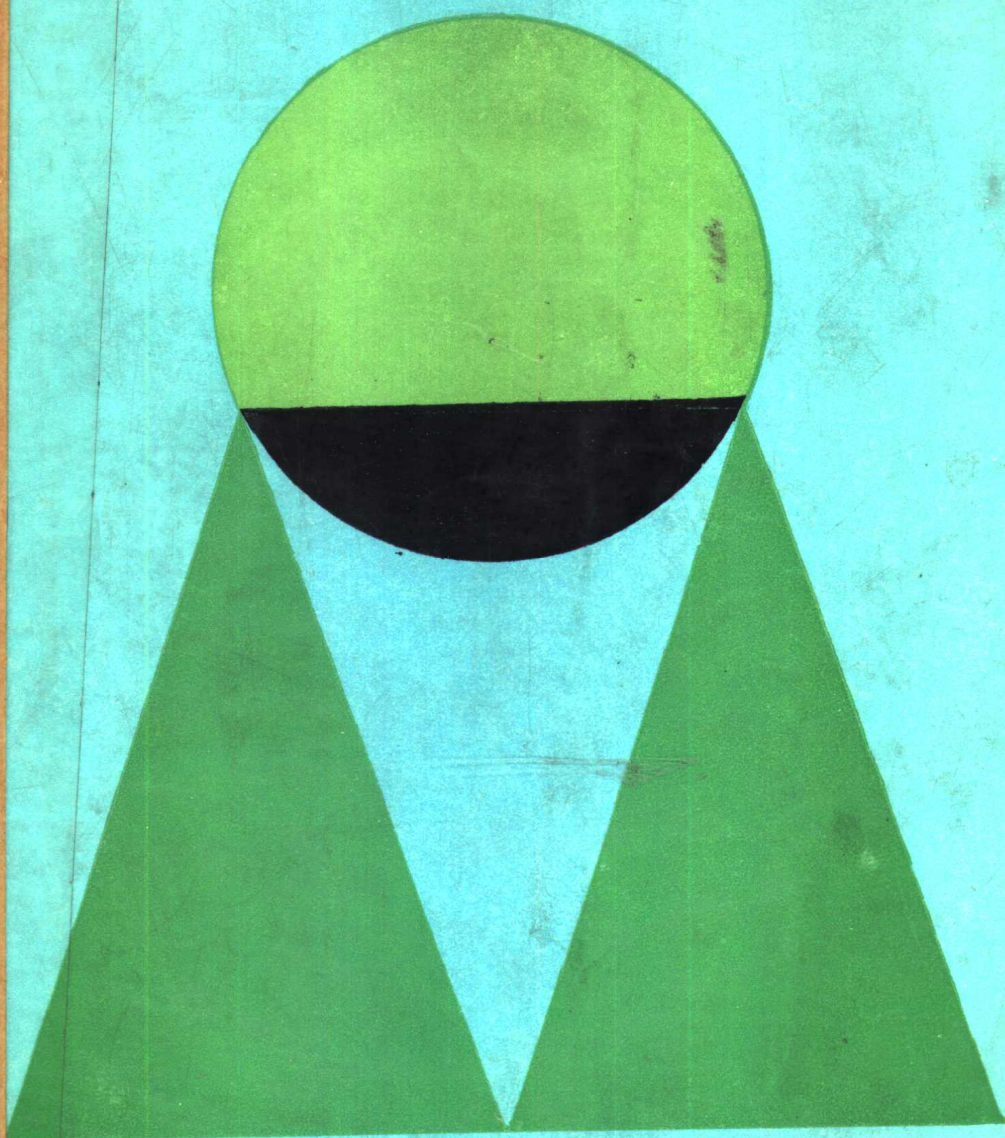


实验肿瘤学基础

王衡文 主编 程立 副主编



人民卫生出版社



实验肿瘤学基础

主 编 主 衡 文

副主编 程 立

编 委

吴秉铨 姚曾序 顾健人 高 进

人 民 卫 生 出 版 社

(京) 新登字 081 号

实验肿瘤学基础

王衡文 主编

人 民 卫 生 出 版 社 出 版
(北京市崇文区天坛西里10号)

人民卫生出版社胶印厂印刷
新华书店北京发行所发行

787×1092毫米16开本 20³/₄印张 461千字
1992年1月第1版 1992年1月第1版 第1次印刷

作 者（按姓氏笔画排列）

王 衡 文	中国科学院上海细胞生物学研究所
区 宝 祥	中山医科大学肿瘤研究所
朱 世 能	上海医科大学
吴 秉 铨	北京医科大学病理解剖学教研室
陈 渊 卿	上海肿瘤研究所
郑 杰	北京医科大学病理解剖学教研室
张 玉 砚	中国科学院上海细胞生物学研究所
张 宗 梁	中国科学院上海细胞生物学研究所
周 柔 丽	北京医科大学生物化学教研室
周 金 煦	中国科学院上海药物研究所
姚 鑫	中国科学院上海细胞生物学研究所
姚 曾 序	中国科学院上海细胞生物学研究所
顾 健 人	上海肿瘤研究所
高 进	中国医学科学院基础医学研究所
钱 振 超	大连医学院病理生理教研室
章 云 津	北京医科大学生物化学教研室
程 立	上海医科大学病理生理学教研室

实验肿瘤学是肿瘤防治研究的基础
学科。回顾我国癌症研究从始至
今实验肿瘤学的科学家们都发挥
了巨大作用。促进了我国癌症研究的
日新月异。今后必将会有更大更
大作用作出更大贡献。

木
九二一廿

序

实验医学的兴起，使人类医学跨越了直接以病人为实验对象所受的伦理学和方法学的限制，充分利用自然科学的一切新成就，从而为人类征服疾病开创了新的纪元。实验肿瘤研究在人类抗癌防癌工作中也是如此。而由于肿瘤研究的复杂性，实验肿瘤学已成为一门独立而综合性很强的实验科学。自中华人民共和国成立以来，实验肿瘤研究不断蓬勃发展并得到了丰硕成果，但尚缺乏一本适于年轻工作者和研究生用以掌握基础理论知识和常用工作方法的参考书。本书是针对此情况而编写的，内容包括实验肿瘤学不同方面的理论和方法学的介绍，国内有关的最新成就，以及每一方面研究存在的问题和发展前景。为便于年轻工作者使用，在单卷的书中各章篇幅力求简洁，参考文献力求较新而易查到。建国以来曾有一代学者为实验肿瘤学在国内的人才培育、材料准备和课题开拓贡献了辛勤劳动以至自己的生命，谨以本书来纪念他们的功绩。本书的出版受到卫生部陈敏章部长和其他领导同志的大力支持，一并在表示衷心的感谢，并将继续努力工作以报答其鼓励。

王 衡 文

1989年6月于上海

目 录

第一章 实验肿瘤研究简史	1
第二章 肿瘤实验研究主要材料和方法	7
第一节 肿瘤实验研究的意义和发展	7
第二节 实验室常用动物的自发瘤及其应用	7
一、两栖类自发瘤	7
二、鸟类的自发瘤	7
三、哺乳类动物自发瘤	8
(一) 小鼠	8
(二) 大鼠	8
(三) 金仓鼠	8
(四) 家兔	9
第三节 诱发肿瘤的建立和应用	9
一、诱发肿瘤的基本方法和途径	9
二、诱发肿瘤的基本要求	10
三、诱发肿瘤举例	10
(一) 食管癌模型的建立	10
(二) 肝癌模型的建立	11
(三) 肺部肿瘤模型的建立	12
第四节 可移植性肿瘤模型的建立	13
一、同种可移植性肿瘤	13
(一) 我国目前瘤株建立的单位和瘤株种类	13
(二) 可移植性肿瘤的建立方法	18
(三) 肿瘤移植方法	18
(四) 瘤细胞长期冷冻保存	19
(五) 瘤株保种传代的操作常规简介	19
(六) 瘤型和生物学特性在传代过程中的变化	20
二、异种移植	20
(一) 裸鼠在肿瘤异种移植中的地位和应用	20
(二) 异种移植的其它方法	22
第五节 无菌动物在肿瘤研究中的应用	22
一、无菌动物的基本概念	22
二、无菌动物的产生和培育	22
三、无菌动物在肿瘤研究中的作用	23

第六节 组织培养在肿瘤研究中的应用	23
一、细胞和组织培养方法	23
二、常用培养方法	25
三、瘤细胞培养中的注意事项	25
四、培养细胞生物学特性的检查	26
五、单细胞分离培养法	26
第七节 器官培养技术在肿瘤研究中的应用	27
一、概念	27
二、常用的器官培养方法	27
三、体内器官培养方法	28
四、肿瘤侵袭研究中体外球体培养模型的建立	29
五、器官培养技术应用举例	30
第三章 肿瘤化学(物理、激素、生物毒素)病因的实验研究	33
第一节 导言	33
一、肿瘤病因和流行病学研究的关系	33
二、人类肿瘤病因实验研究简史	33
第二节 体内实验	34
一、被试物的选择和其质量的控制	34
二、动物的选择	35
三、动物的管理和饲养	35
四、工作人员的安全保护	35
五、被试物实验前的毒理学研究	35
六、三个月亚急性实验	35
七、慢性诱癌实验	36
(一) 总的方面	36
(二) 每组动物的数目	36
(三) 处理的剂量水平	36
(四) 给予被试物的方式和途径	37
(五) 实验期间对动物的观察和病理学处理	37
(六) 实验数据的统计学处理	37
(七) 总结	37
八、慢性动物实验存在的问题及可能的解决方法	38
(一) 慢性动物实验工作量过于庞大	38
(二) 动物实验数据不能外推于人	39
第三节 短期筛检试验	39
一、短期筛检试验的理论依据	39
二、短期试验的分类	39
(一) DNA 损伤试验	39

(二) 致突变试验	39
(三) 染色体效应试验	40
三、配套短期试验的意义	40
四、成组短期试验的最佳设计	41
五、寻找能够补充Ames试验的其他短期试验	42
(一) 在英国的协作研究	42
(二) 国际的协作研究	42
六、对短期试验效用的怀疑和重新评价	43
(一) 美国国家环境卫生科学研究所的近期报道	43
(二) 对Tennant等报告的反应	43
第四节 培养细胞的转化试验	45
一、主要的实验材料与方法	45
二、成纤维细胞株(有限细胞株)	45
(一) 细胞培养	46
(二) 转化试验	46
三、成纤维细胞系(无限细胞系)	48
(一) 用细胞系的主要操作方法	49
(二) 使用细胞系做转化试验的优缺点	49
第五节 肿瘤化学(物理、激素、生物毒素)病因研究举例	50
一、云南锡矿地区肺癌病因研究	50
二、上海轮胎行业肺癌高发的病因研究	51
三、华北高发的食管癌的病因研究	52
(一) 发霉食物和食管癌发生的关系	52
(二) 患区新发现的亚硝胺致癌性的研究	52
(三) 高发区居民接触或形成亚硝胺的研究	53
(四) 其他病因因子的研究	53
(五) 小结	54
第六节 肿瘤化学(物理、激素、生物毒素)病因研究中的一些问题	54
一、判断综合因素的致癌性较难	54
二、在病因线索中选择出关键性因素加以检查也有一定的困难	55
三、很难将动物实验结果外推于人,在流行病学资料不足的时候尤为如此	56
四、有些常见人类癌症的病因研究得还不够可能同人体代谢特点有关	56
第四章 肿瘤病毒病因的实验研究	59
第一节 病毒致癌作用的研究简史	59
第二节 研究方法问题	62
一、肿瘤细胞的培养	62
二、肿瘤病毒的激活	63
三、应用电镜技术检查病毒	64

(一) 超薄切片·····	64
(二) 负染色·····	64
(三) 排除假象问题·····	65
四、应用免疫电镜技术检测病毒抗原·····	65
(一) 铁蛋白标记抗体·····	65
(二) 过氧化物酶标记抗体·····	66
五、应用核酸分子杂交技术检测病毒基因组·····	66
第三节 培养细胞的转化·····	68
一、化学因素诱发细胞转化·····	68
(一) 大鼠气管上皮细胞 (RTE细胞) ·····	69
(二) 大鼠食管上皮细胞 (REE细胞) ·····	70
(三) 人类表皮形成角质细胞 ·····	72
二、肿瘤病毒诱发细胞转化·····	73
(一) 转化的条件·····	73
(二) 转化状态的固着和逆转·····	74
(三) 生长因子与转化·····	75
三、转化细胞的特性·····	77
(一) 细胞表面的变化·····	78
(二) 生化代谢的变化·····	79
第四节 RNA肿瘤病毒·····	83
一、RNA肿瘤病毒的分布和分类·····	83
(一) 泡沫病毒亚科·····	84
(二) 慢病毒亚科 ·····	84
(三) 致瘤病毒亚科·····	84
二、致瘤性RNA病毒的超微结构·····	84
(一) A型病毒·····	84
(二) B型病毒·····	84
(三) C型病毒·····	85
(四) D型病毒·····	85
三、RNA肿瘤病毒的生物化学特性·····	86
(一) 理化组成·····	86
(二) 核酸·····	86
(三) 蛋白质·····	86
(四) 酶类·····	86
(五) 脂类和碳水化合物·····	87
四、RNA肿瘤病毒的抗原性·····	87
(一) 型特异性抗原或亚组特异性抗原·····	87
(二) 组特异性抗原 (GS 抗原) ·····	87

(三) 种群抗原.....	88
五、RNA肿瘤病毒的基因组结构和功能.....	88
六、RNA肿瘤病毒的复制.....	89
七、RNA肿瘤病毒的生物学分类和其作用特点.....	90
(一) 内源性病毒.....	90
(二) 外源性病毒.....	90
八、RNA肿瘤病毒与动物肿瘤.....	92
(一) RNA肿瘤病毒与动物白血病.....	92
(二) RNA肿瘤病毒与动物肉瘤.....	96
(三) RNA肿瘤病毒与小鼠乳腺癌.....	98
九、RNA肿瘤病毒与人类T 细胞白血病.....	99
(一) 人类T 细胞白血病与其病毒的分离.....	99
(二) HTLV - 1 型病毒的血清流行病学调查.....	100
(三) HTLV - 1 型病毒对培养细胞的感染和转化作用.....	100
第五节 DNA 肿瘤病毒.....	103
一、DNA肿瘤病毒的分类.....	103
二、DNA肿瘤病毒的一般特性.....	104
三、多瘤病毒科.....	104
(一) 多瘤病毒科的一般生物学特性.....	104
(二) 多瘤病毒科的基因组结构.....	105
(三) 多瘤病毒科病毒基因组的编码产物及其功能.....	106
四、乳头状瘤病毒科.....	107
五、腺病毒科.....	108
(一) 腺病毒的一般生物学特性.....	108
(二) 腺病毒的超微结构和致瘤能力.....	109
(三) 腺病毒的基因组编码产物及其功能.....	109
六、疱疹病毒科.....	110
(一) 疱疹病毒的一般生物学特性.....	110
(二) 疱疹病毒的结构.....	110
(三) 疱疹病毒的基因组和其功能.....	111
七、乙型肝炎样病毒科.....	112
八、DNA肿瘤病毒引起细胞转化的机理.....	112
九、动物肿瘤与DNA肿瘤病毒.....	113
(一) 蛙肾腺癌与Lucke'病毒.....	113
(二) Marek病与Marek疱疹病毒.....	113
(三) 多型肿瘤与多瘤病毒.....	114
(四) 兔淋巴瘤与疱疹病毒.....	114
(五) 猴淋巴瘤与疱疹病毒.....	114

十、人类肿瘤与DNA肿瘤病毒·····	115
(一) Burkitt淋巴瘤和鼻咽癌与EB病毒·····	115
(二) 原发性肝癌与乙型肝炎病毒·····	117
(三) 子宫颈癌与乳头状瘤病毒·····	119
第五章 肿瘤发病学研究·····	123
第一节 正常细胞恶性变机理的学说·····	123
一、基因改变引起恶性变·····	124
(一) 主要学说·····	124
(二) 主要证据·····	125
二、基因表达调控失常引起恶性变·····	127
(一) 去阻遏说·····	127
(二) 膜改变致癌说·····	127
(三) 转化基因说·····	128
(四) 胚胎基因“开关”说·····	129
第二节 肿瘤的形成、发展与演进·····	130
一、肿瘤的形成过程·····	130
(一) 总和作用(或累加作用)说·····	131
(二) 两阶段学说·····	131
(三) 多击—多步说·····	134
二、肿瘤的演进·····	136
第三节 肿瘤细胞的起源、发育和分化·····	137
一、肿瘤细胞的起源与肿瘤异质性·····	138
(一) 肿瘤的单克隆起源与多克隆起源·····	138
(二) 肿瘤干细胞·····	138
(三) 肿瘤干细胞的起源·····	139
(四) 肿瘤的异质性及其起源·····	141
二、肿瘤细胞的分化和其控制·····	143
(一) 肿瘤细胞的分化·····	143
(二) 肿瘤细胞分化的控制·····	144
第六章 肿瘤基因和抗癌基因·····	149
第一节 肿瘤基因和抗癌基因的概念及意义·····	149
一、肿瘤基因与抗癌基因错误的命名和概念·····	149
1. 所谓肿瘤基因或原癌基因·····	149
2. 在正常生物体中, 原癌基因并不是静止和不表达的基因·····	149
3. 肿瘤基因与逆转录致癌病毒的关系·····	149
4. 部份原癌基因确实与恶性变有关·····	149
5. 当前普遍认为原癌基因的产物与细胞生长有关·····	150
6. 肿瘤基因或原癌基因的命名很不确切·····	150

二、肿瘤基因、原瘤基因和抗瘤基因的概念	150
(一) 原瘤基因和抗瘤基因属看家基因	150
(二) 原瘤基因等为生命所必需	150
(三) 原瘤基因和病毒基因的关系	150
(四) 原瘤基因的异常激活	150
(五) 恶性变和致瘤基因的关系	150
三、肿瘤基因对恶性变机理研究的贡献	150
(一) 70年代的两种恶性变学说	151
(二) 病毒和化学致癌	151
(三) 细胞遗传学	151
(四) 生长因子及受体	151
(五) 膜生物化学及第二信使系统的研究	151
第二节 肿瘤基因及其产物的分类	151
一、蛋白质磷酸化激酶类	151
二、生长因子及生长因子受体	153
三、ras族——膜信号传递蛋白	153
四、核蛋白——分裂信号效应蛋白	153
五、其它	154
第三节 人类肿瘤的肿瘤基因	154
一、从人体肿瘤中证实的肿瘤基因	154
(一) 应用DNA转染技术分离和定位肿瘤基因	154
(二) 从染色体易位结合分子克隆技术来确定激活的肿瘤基因	154
(三) 从基因的异常表达来确定激活的肿瘤基因	154
二、人原瘤基因在染色体的定位	156
第四节 肿瘤基因的激活机理	156
一、DNA重排	156
(一) 促进子的插入	156
(二) 负调控区的失活或丢失	156
二、基因放大	157
三、点突变	157
(一) ras基因点突变的意义	157
(二) 细胞转化中ras基因等的点突变可能是选择的结果	157
四、其它调控的异常	157
(一) 反式(trans)调控系统	158
(二) 转录后的调控异常	158
第五节 肿瘤基因的协同作用	158
一、单个肿瘤基因的作用	158
二、两类肿瘤基因的协同作用	158

三、人体细胞系统肿瘤基因的作用·····	159
1. 可能尚需其他肿瘤基因的参与·····	159
2. 可能尚需抗癌基因的失活或丢失·····	159
3. 可能尚需细胞内基因组遗传稳定性受破坏·····	159
第六节 肿瘤基因研究的几个重要方面·····	159
一、肿瘤基因与分化的关系·····	159
二、肿瘤基因与化学致癌·····	159
三、肿瘤基因激活与多阶段恶性变学说的关系·····	160
四、肿瘤基因与肿瘤的演进·····	160
第七节 抗肿瘤基因·····	161
一、抗肿瘤基因的概念·····	161
二、抗肿瘤基因的实验证据·····	161
(一) 遗传性肿瘤中某些基因的丢失·····	161
(二) 正常和恶性细胞杂交中正常细胞染色体对恶性行为的抑制·····	161
(三) 抗肿瘤基因的性质和生物学意义·····	161
第八节 人原发性肝癌的肿瘤基因研究·····	162
一、人原发性肝癌中的N-ras·····	162
1. 通过DNA转染证明N-ras为人肝癌的转化基因·····	162
2. 肝癌中N-ras的过量表达·····	163
3. 肝癌中N-ras的重排与放大·····	163
二、人原发性肝癌中其它激活的肿瘤基因·····	163
(一) C-myc的过量表达与基因放大·····	163
(二) ets ₂ 的过量表达·····	164
(三) IGFII的过量表达·····	164
三、N-ras、C-myc、ets ₂ 及IGFII在肝癌癌变中的可能作用·····	164
1. N-ras的可能作用·····	164
2. C-myc、ets ₂ 及IGFII的可能作用·····	164
3. 它们可能参与肿瘤侵袭过程·····	164
四、HBV与人原发性肝癌·····	164
1. HBV DNA整合·····	164
2. 人肝癌中存在游离复制型的HBV DNA·····	165
3. HBV感染与细胞遗传稳定性·····	166
五、病毒与化学致癌剂引起人肝癌癌变的两种可能模式·····	166
1. 子宫内HBV感染·····	167
2. 个体发育过程中先接触化学致癌剂后感染HBV·····	167
第九节 评论·····	168
一、对癌基因与抗癌基因的评论·····	168
1. 癌基因与抗癌基因的相对意义·····	168

2. 促进和抑制生长物质的双重性·····	169
3. 肿瘤是一种异常生长·····	169
二、对癌基因研究的战略及具体技术的评论·····	169
(一) 传统的研究技术路线·····	169
(二) 新的战略的探索·····	171
第十节 结语和展望·····	172
1. 概念上的突破·····	172
2. 技术上的突破·····	172
第七章 肿瘤细胞特征及其行为·····	176
第一节 肿瘤的超微结构特征及意义·····	176
一、肿瘤细胞的超微结构特征·····	176
(一) 肿瘤细胞核的改变·····	176
(二) 肿瘤细胞质的改变·····	177
(三) 肿瘤细胞表面和细胞连接·····	180
二、肿瘤细胞超微结构的意义·····	181
(一) 肿瘤的良好恶性·····	181
(二) 癌瘤与肉瘤的区别·····	181
(三) 鳞状细胞癌与腺癌的区别·····	182
(四) 肿瘤病因学和组织发生学·····	183
第二节 恶性细胞的染色体·····	184
一、肿瘤染色体标本的制备·····	184
二、染色体显带及其在恶性细胞染色体研究的应用·····	186
三、恶性细胞染色体分析的方法·····	187
(一) 恶性细胞染色体数目的分析·····	187
(二) 恶性细胞染色体结构的分析·····	187
(三) 肿瘤异常染色体和核型的表达方式·····	188
四、恶性肿瘤的非随机性染色体变化·····	188
(一) 人类白血病的非随机性染色体异常·····	188
(二) 人类实体瘤的非随机染色体异常·····	189
(三) 肿瘤患者的体质性染色体变化·····	189
(四) 实验动物恶性肿瘤的染色体变化·····	190
五、染色体畸变在肿瘤发生中的意义·····	191
(一) 小鼠与人类体细胞杂交·····	191
(二) 肿瘤基因的定位与肿瘤染色体断裂点的一致性·····	191
(三) 染色体易位与肿瘤基因的激活·····	192
(四) 肿瘤患者染色体脆性部位·····	192
(五) 染色体上HSR和DM是基因扩增在亚细胞水平上的表现·····	192
第三节 肿瘤细胞侵袭性的研究·····	194

一、侵袭性的概念	194
二、侵袭性研究的方法和途径	194
三、恶性细胞侵袭过程形态学特征的研究	195
四、有关恶性细胞侵袭诸因素的研究	196
(一) 侵袭性细胞本身的功能	196
(二) 宿主在侵袭过程的积极作用	199
五、研究中仍待解决的问题	200
第四节 肿瘤细胞转移性的研究	201
一、研究转移的实验动物模型	203
(一) 同族或同基因型动物体内的移植瘤模型	203
(二) 免疫缺陷动物体内的人类肿瘤异种移植转移模型	205
(三) 体内和体外结合的转移性癌细胞筛选系统	205
二、宿主的免疫防御对肿瘤转移影响的实验研究	207
1. 自然杀伤细胞	207
2. 淋巴因子激活杀伤细胞	208
三、转移性恶性细胞DNA特性的研究	208
第八章 肿瘤的若干生化问题	211
第一节 DNA与肿瘤的发生	211
一、DNA甲基化与细胞恶性变的关系	211
(一) DNA甲基化是真核基因表达中的调节信号	211
(二) DNA甲基化与恶性肿瘤发生有密切关系	212
二、DNA修复机理的缺损与肿瘤发生	214
(一) DNA序列是高度精确和稳定的	214
(二) 致癌剂与DNA大分子的结合	215
(三) 损伤DNA的修复—ADP—核糖基转化酶系统	217
三、DNA插入、重组、扩增与肿瘤发生	218
(一) DNA在生物演化过程中呈多型性	218
(二) DNA交换、易位和重组与肿瘤发生	218
四、线粒体DNA与肿瘤	220
第二节 肿瘤的生化特点	222
一、肿瘤细胞生长失控的分子基础及其与肿瘤基因表达的关系	222
二、肿瘤细胞表面大分子及其生物学意义	224
(一) 转化细胞及肿瘤细胞表面复合糖的改变	225
(二) 肿瘤细胞表面分子与转移潜能	229
(三) 肿瘤细胞表面成分的脱落及其临床意义	233
(四) 细胞表面成分的研究方法	233
三、肿瘤细胞的代谢	235
(一) 核酸代谢的变化	235

(二) 蛋白质代谢的变化·····	235
(三) 酶的改变·····	237
(四) 糖代谢的改变与宿主的恶病质·····	238
(五) 异位激素的分泌·····	239
第九章 肿瘤和宿主相互关系·····	244
第一节 肿瘤免疫·····	244
一、导言和研究简史·····	244
二、肿瘤抗原及其免疫原性·····	244
(一) 肿瘤相关移植抗原·····	245
(二) 肿瘤共同抗原·····	246
(三) 癌胚抗原或逆行性抗原·····	247
三、抗肿瘤细胞的免疫反应·····	247
(一) T 淋巴细胞的反应·····	247
(二) 天然免疫细胞的反应·····	251
(三) B 淋巴细胞反应·····	260
四、免疫监管·····	260
(一) 免疫逃逸·····	261
(二) 肿瘤特异抗原的诱导·····	261
五、应用生物反应调整战略治疗肿瘤·····	262
1. 什么是BRMs战略·····	262
2. BRMs制剂的分类·····	262
3. BRMs的基本目标·····	262
4. BRMs战略是以现代分子生物学和肿瘤免疫生物学为理论基础而设计的新战略·····	262
5. 生物反应调整战略和进展·····	262
6. 前景和问题·····	263
六、抗肿瘤单克隆抗体·····	264
(一) 单克隆抗体的产生·····	264
(二) 单克隆抗体的应用·····	265
(三) 存在问题和解决方法·····	267
第二节 肿瘤间质·····	268
一、肿瘤的纤维结缔组织·····	269
二、肿瘤的血管·····	270
(一) 实体瘤的发展过程·····	271
(二) 肿瘤血管形成过程的研究·····	271
(三) 肿瘤血管形成因子的发现和本质·····	271
(四) 肿瘤血管形成因子导致血管形成的机理和过程·····	272
(五) 移植肿瘤中影响血管形成的因素·····	273
(六) 其它影响肿瘤血管形成的因子·····	273