DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.06.063
第23卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 6
2001年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2001


文章编号:1000-5404(2001)06-0751-01

个案与短篇

# 肝细胞和肝癌细胞粘弹性的对比研究

# Comparative study on the viscoelastic properties of hepatocytes and hepatocellular carcinoma cells

张 钢[1],龙 勉[2],吴泽志[2] ([1]第三军医大学高原军事医学系病理生理学教研室,重庆 400038;[2]重庆大学生物工程研究院,重庆 430044)

本研究以正常肝细胞和肝癌细胞(Hepatocellular carcinoma cell, HCC)为研究对象,用微管吸吮技术(Micropipette aspiration technique)研究了长春花碱(Vinblastine, VBL)和细胞松弛素D(Cytochalasin D, CD)对两种细胞粘弹性的影响,从细胞骨架角度阐明肝癌细胞粘弹性改变的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞样本的制备

肝细胞由正常肝组织经0.05%胶原蛋白酶Ⅳ(Sigma)消化后用梯度离心的方法分离和纯化制得[1],HCC细胞经人肝癌细胞株(SMMC-7721,第二军医大学)传代培养,实验组细胞浓度约$5\times10^6$个/ml。CD的处理是在细胞悬液中加入0.25~5.0 mg/L的CD,37 ℃孵育30 min;VBL的处理是在细胞培养的上清液中加入0.05~2.00 mg/L的VBL,37 ℃孵育24 h,微管吸吮实验在3 h内完成。

### 1.2 微管吸吮实验系统及微管吸吮实验

微管吸吮实验系统及实验方法见文献[2]。

### 1.3 粘弹性模型

用标准线性固体模型(Kelvin模型)拟合实验数据[3]。$t$检验对结果进行显著性分析。

## 2 结果

在VBL(0.05~2.00 mg/L)作用下,肝细胞的粘弹性系数$K_1$、$K_2$和$\mu$均明显升高;HCC细胞$K_1$在0.05 mg/L VBL作用下明显升高,增高浓度时则呈浓度依赖性下降,$K_2$和$\mu$则呈单调浓度依赖性下降。在CD(0.25~5.00 mg/L)作用下,肝细胞和HCC细胞的粘弹性系数$K_1$、$K_2$和$\mu$均显著下降,相同条件下HCC细胞的粘弹性系数下降幅度较肝细胞相应幅度大。

## 3 讨论

细胞骨架对于维持细胞内部结构的分布和参于细胞的运动等具有极其重要的作用,同时,它也是调控细胞增殖、参于细胞恶性转化的重要因素。VBL是以微管为靶细胞器的细胞骨架结构干扰剂,其通过与微管蛋白结合,阻止其聚合形成微管。肿瘤细胞由于其微管结构本身或细胞内环境的改变,其微管结构对干扰剂的处理可能表现出与正常细胞不同的敏感性,这在小鼠纤维母细胞株3T3细胞已被证实[4]。本研究中VBL所用浓度的低剂量区是该药开始抑制到100%地抑制3T3细胞增殖的浓度范围,高剂量区是该药化疗时在体内的理论分布浓度范围[5]。研究表明,在VBL作用下,肝细胞和肝癌细胞的粘弹性系数呈现不同的效应强度和方式,这一方面表明微管结构和机能状态的完整性是维持细胞相应被动变形机能的必要条件,同时也提示两种细胞微管结构和机能状态存在明显的差异。在VBL作用下,肝癌细胞的弹性系数$K_1$、$K_2$和粘性系数$\mu$基本上呈浓度依赖性下降,这在一定程度上可能反映了该药临床化疗时的细胞流变学效应。

细胞松弛素D是细胞微丝结构的干扰剂,它能选择性地抑制肌动蛋白单体聚合成微丝,从而破坏微丝结构,并引起细胞的吞噬、趋化运动等功能的减弱乃至完全丧失。我们的研究发现在所用的剂量范围内两种细胞的弹性系数$K_1$、$K_2$和粘性系数$\mu$均明显降低,这表明微丝结构的完整性也是维持肝细胞和肝癌细胞粘弹特性和被动变形能力的必要条件。相同条件下肝癌细胞粘弹性系数下降幅度较肝细胞大,这表明肝癌细胞较正常肝细胞对微丝骨架干扰剂更为敏感。

细胞粘弹性是与其运动和变形能力有关的一个重要的生物物理特性,对肝癌细胞而言,它可能影响到肿瘤细胞浸润与转移的能力。本研究发现,在骨架干扰剂作用下,肝癌细胞粘弹性系数明显降低,这表明在药物作用下细胞被动变形能力增加,但由于药物作用所致细胞骨架结构破坏将引起细胞主动变形机能障碍,这对于决定细胞的浸袭和转移特性可能具有更加重要的意义。肿瘤细胞的浸润与转移除与其所处化学环境的影响有关外,还与相应微观力学环境的相互作用密切相关,我们在研究中发现肝癌细胞的弹性系数$K_1$、$K_2$较之肝细胞的相应值明显增高,且癌细胞对细胞骨架干扰剂的效应与正常细胞存在明显差异,这反映了癌细胞在细胞骨架结构和机能状态的变化,这种变化可能影响到癌细胞浸润和转移特性以及癌细胞与其微观力学环境的相互作用。

关键词:肝癌细胞;粘弹性
中图法分类号:R730.21 文献标识码:B

## 参考文献:

[1] Braet F, De Zanger R, Sasaoki T, *et al*. Assessment of a method of isolation, purification and cultivation of rat liver sinusoidal endothelial cells[J]. Lab Invest, 1994, 70(6): 944-952.
[2] 吴泽志,李志清,龙 勉,等.烧伤大鼠粒细胞与内皮细胞粘附力学特性的研究[J].生物医学工程学杂志,1996,13(3):219-222.
[3] Sung K L, Sung L A, Crimmins M, *et al*. Dynamic changes in viscoelastic properties in cytotoxic T-lymphocyte-mediated killing[J]. J Cell Sci, 1988, 91(Pt 2): 179-189.
[4] Kamedh N, Seif R. Effect of microtubule disorganizing or overstabilizing drugs on the proliferation of rat 3T3 cells and their virally induced transformal derivatives[J]. Cancer Res, 1988, 48(17): 4 892-4 896.
[5] 李 振.恶性肿瘤的化学治疗与免疫治疗[M].北京:人民卫生出版社,1993.118-124.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39370198)
作者简介:张 钢(1970-),男,博士研究生,讲师,主要从事病理学与病理生理学方面的研究,发表论文6篇。电话:(023)68752339-8301
收稿日期:2000-01-15;修回日期:2000-11-15

(编辑 薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net