DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.11.020

成活性;而肿瘤组织则具较强VEGF诱导的血管生成活性,意味着在膀胱癌的发生、发展过程中VEGF诱导的血管生成是其主要的新生血管生成途径,其与膀胱癌的生长、转移有着密切关系。

由于AG在肿瘤的发生、发展过程中发挥着重要作用,许多学者着手研究抗AG来治疗肿瘤及预防复发与转移已取得一定进展。抗AG治疗肿瘤是通过切断肿瘤赖以生长、转移的营养、氧份以及迁移通道,使肿瘤停止生长、转移,同时也可能促进了肿瘤细胞的凋亡。应用人$VEGF_{121}$多克隆抗体抑制导入人$VEGF_{121}$ cDNA的Hala细胞及PLC/PRF/5肝癌细胞在裸鼠体内生长成功[10]。Kim等[11]也在研究中发现,注射$VEGF_{165}$单抗抑制了裸鼠移植瘤的生长。Asano等[12]研究结果显示:经裸鼠静脉注射抗VEGF单抗MV303几乎完全抑制HT1080移植瘤的生长,并有效抑制肿瘤的肺转移。由于肿瘤AG与众多生长因子相关,应用单一血管形成因子的拮抗剂或血管形成因子单抗治愈肿瘤的可能性较小,联合抗血管疗法与化疗、放射免疫治疗等疗法,发挥强有力的协同作用是临床抗AG治疗肿瘤研究的重点。我们应用于实验的人膀胱癌表达VEGF为强阳性,为应用抗VEGF单抗联合放免治疗膀胱癌提供了前提条件。

参考文献:

[1] Strohmeyer D, Strohmeyer T. Angiogenesis—principles and significance in urologic tumors[J]. Urology, 1996, 35(5): 357—362.
[2] Folkman J, Shing Y. Angiogenesis[J]. J Biol Chem, 1992, 267(16): 10 931—10 934.
[3] Ferrara N, Henzel W J. Pituitary follicular cell secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1989, 161(2): 851—858.
[4] 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养[M]. 西安: 世界图书出版公司, 1996. 102—176.
[5] Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent[J] ? J Natl Cancer Inst, 1990, 82(1): 4—6.
[6] Dickinson A J, Fox S B, Persad R A, *et al*. Quantification of angiogenesis as an independent predictor of prognosis in invasive bladder carcinomas[J]. Br J Urol, 1994, 74(6): 762—766.
[7] O' Brien T, Cranston D, Fuggle S, *et al*. Different angiogenic pathways characterize superficial and invasive bladder cancer[J]. Cancer Res, 1995, 55(3): 510—514.
[8] Crew J P, O' Brien T, Bradburn M, *et al*. Vascular endothelial growth factor is a predictor of relapse and stage progression in superficial bladder cancer[J]. Cancer Res, 1997, 57(23): 5 281—5 285.
[9] Crew J P, O' Brien T, Bicknell R, *et al*. Urinary vascular endothelial growth factor and its correlation with bladder cancer recurrence rates[J]. J Urol, 1999, 161(3): 799—804.
[10] Kondo S, Asano M, Matsuo K, *et al*. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is detectable in the sera of tumor-bearing mice and cancer patients[J]. Biochem Biophys Acta, 1994, 1 221(2): 211.
[11] Kim K J, Li B, Winer J, *et al*. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth *in vivo*[J]. Nature, 1993, 362(6423): 841—844.
[12] Asano M, Yukita A, Matsumoto T, *et al*. Inhibition of tumor growth and metastasis by an immunoneutralizing monoclonal antibody to human vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor 121[J]. Cancer Res, 1995, 55(22): 5 296—5 301.

(编辑 薛国文)

经验与短篇

文章编号:1000-5404(2000)11-1064-01

硫芥中毒对大鼠淋巴细胞的影响

Effects of sulfur mustard on the rat lymphocytes *in vitro*

王仕丽, 杨清武, 魏相德, 董兆君 (第三军医大学预防医学系军事毒理学教研室, 重庆 400038)

本实验以培养淋巴细胞为研究对象,探讨硫芥对淋巴细胞毒性作用的敏感性。

作者简介:王仕丽(1962—),女,四川省绵阳市人,实验师,主要从事神经性毒剂的急性毒性方面的研究。电话:(023)68752356

收稿日期:2000-07-15;修回日期:2000-10-30

1 材料和方法

1.1 动物、试剂和仪器

Wistar大鼠,雌雄不拘,体重180~320 g,本校实验动物中心提供标准动物;硫芥,为军事医学科学院六所提供,纯度97.5%;

(下转1068页)

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

[7] Andrea T, Yohiaki T, Catherine S, *et al*. Gastrin and glycine-extended progastrin processing intermediates induces different programs of early gene activation[J]. J Biol Chem, 1995, 270(47): 28 337—28 341.

[8] Seva C, Kowalski-Chauvel A, Blanchet J S, *et al*. Gastrin induces tyrosine phosphorylation of Shc proteins and their association with the Grb2/Sos complex[J]. FEBS Lett, 1996, 378(1): 74—78.

[9] Hill C S, Treisman R. Transcriptional regulation by extracellular signals: mechanisms and specificity[J]. Cell, 1995, 80(2): 199—211.

[10] He S W, Shen K Q, He Y J, *et al*. Regulatory effect and mechanism of gastrin and its antagonists on colorectal carcinoma [J]. World J Gastroenteology, 1999, 5(5): 408—416.

[11] Kameyama M, Nakamoro S, Imaoka S, *et al*. Adjuvant chemo-endocrine chemotherapy with gastrin antagonist after resection of liver metastasis in colrectal cancer[J]. Gan To Kagakn Ryoho, 1994, 21(13): 2 169—2 171.

（编辑 陈聪连）

（上接1064页）

RPMI1640培养液，MTT（华美生物工程公司），IL-2，IL-6放免试剂盒（解放军总院东亚免疫技术研究所提供），淋巴细胞分离液（上海化学试剂工厂提供），L-NAME（sigma）；ELISA检测仪（四川分析仪器设备厂），细胞培养箱（美国），全自动V闪烁记数仪（法国）。

1.2 实验操作

实验期间，动物进食、饮水无限制，动物随机分为正常对照组，低毒组（0.5 LD_{50}= 1.60 mg/kg）和高毒组（0.8 LD_{50}= 2.70 mg/kg），各组动物分别于中毒后4、24、72和120 h不同时相点活杀取脾，称重并计算脾净重/体重比值，以%表示脾/体比值。于适量1640培养液中剪碎，100目尼龙网过滤，等量培养液洗3次，离心5 min，弃上清液，再加入适量培养液洗3次，以培养液调整细胞数为10^6/ml于37 ℃，5%CO_2培养箱中培养。然后分别加入COA和LPS（各5孔）培养48 h，于终止前4 h加入MTT（5 μl，20 μl/孔）观察结晶形成情况并拍照，离心并小心吸取上清，加二甲亚砜（50 μl/孔）待结晶完全溶解后于ELISA检测仪器检测T、B淋巴细胞的转化和增殖情况。用放免试剂盒方法测定培养液中IL-2、IL-6浓度。

1.3 统计学处理

所有数据以$\bar{x} \pm s$表示，以本校数学教研室设计的SPMR医用统计程序包进行多因素及双因素方差分析和t检验。

2 结果

大鼠硫芥中毒后4 h脾重/体重比已开始下降。中毒后3 d，大鼠脾重/体重比最低，0.5 LD_{50}和0.8 LD_{50}中毒组分别为对照组的0.41%±0.11%和0.23%±0.94%。中毒后5d，大鼠脾重/体重比有所恢复，但仍明显低于对照组。硫芥中毒24 h，T淋巴细胞的转化增殖开始明显下降，3 d降低并与对照组比较有非常显著差异（$P<0.01$），5 d逐渐呈恢复，但仍有显著差异。与T淋巴细胞的变化相似，硫芥中毒后4 h，B淋巴的细胞的转化增殖明显降低（$P<0.05$）。3 d下降至最低水平（$P<0.01$）。5 d后逐渐呈恢复趋势，从二剂量比较可见，B淋巴细胞硫芥中毒剂量加大转化增殖抑制加重。中毒4 h，硫芥中毒大鼠脾淋巴细胞培养上清液IL-2含量即明显降低（$P<0.01$）。1 d和3 d其含量降低已超出试剂盒检测灵敏度范围无法取得数据，5 d逐渐恢复但IL-2含量与对照组比较仍差异明显（$P<0.01$）。对照组大鼠培养淋巴细胞上清液中IL-6含量为（467.93±15.63）ng/ml，0.8 LD_{50}硫芥中毒后4 h开始下降，72 h降至（176.98±16.31）ng/ml（$P<0.01$），120 h有所回升，但仍然明显低与对照组（$P<0.01$）。

3 讨论

淋巴细胞对硫芥极其敏感，大鼠硫芥中毒后淋巴细胞呈进行性下降。此脾/体比值下降较早，而且严重。这改变反映了淋巴细胞的作用趋势。脾脏是免疫活性细胞积聚的场所，免疫功能变化必定反映在免疫器官改变[3]免疫功能的降低显然表现在脾重的下降，换而言之，脾脏重量的下降是硫芥的细胞毒性作用所致淋巴细胞数量下降的结果。结果表明，硫芥中毒后机体免疫功能严重抑制，具有出现早，恢复亦快的特点。

淋巴细胞的激活和增殖是发挥各种免疫功能的前提和条件[5]，机体免疫功能的下降首先表现在T、B淋巴细胞的转化和增殖能力。中毒后淋巴细胞转化和增殖能力与中毒4 h无明显变化，而B细胞则明显降低，二者于中毒后3d达最低水平。5 d开始恢复，此结果提示T、B淋巴细胞对硫芥敏感性有所不同。

T、B淋巴细胞的转化和增殖能力受细胞数量、刺激物的性质、细胞表面的受体等多种因素的影响。从结果可见引起T、B细胞转化和增殖力下降可能是硫芥中毒所致细胞数量下降的原因。淋巴细胞分泌的细胞因子IL-2、IL-6在硫芥中毒后的含量变化趋势与细胞数量变化一致。

综上所述，硫芥中毒后机体免疫功能明显抑制，具有体液免疫比细胞免疫更为敏感的特点。当硫芥引起免疫功能下降，会大大增加中毒后感染机会，威胁机体功能的恢复。

因此，硫芥中毒时，及早评价和提高机体免疫功能的措施具有重要意义。

关键词：硫/中毒；淋巴细胞
中图法分类号：R595.4 文献标识码：B

参考文献：

[1] Papageorgiou A, Nikolaropoulos S S, Arsenou E S, *et al*. Enhanced coytogenetic and antineoplastic effects by the combined action of two esteric steroidal derivatives of nitrogen mustards[J]. Chemotherapy, 1999, 45(1): 61—67.

[2] Lardot C, Dubois V, Lison D. Sulfur mustard upregulates the expression of interleukin-8 in cultured human keratinocytes[J]. Toxicol Lett, 1999, 110(1—2): 29—33.

（编辑 谢义霞）

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