DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.01.037

带,对照空白载体无此蛋白泳带,分子量符合由硷基序列推导氨基酸计算 scFV 融合蛋白分子量,表明 pIgScFv在 BL21菌中获得表达。间接免疫荧光试验示,McAb3D3与 A549细胞反应性荧光亮度(++),ScFv融合蛋白(+),空白载体对照(-),表明 ScFv融合蛋白有一定抗原结合活性。

我们采用逆转录 PCR法,利用设计合成引物,从鼠抗人肺癌单克隆抗体 3D3杂交瘤细胞中分离出其轻重链可变区基因,并将 McAb3D3轻重链可变区基因分别克隆至 pIg20载体,并通过 pIg20载体所含(GLy4 SER)3 Linker基因序列,将 VH和 VL基因连接,构建 ScFV 基因,表达制备出 McAb3D3 ScFv融合蛋白。该融合蛋白含 McAb3D3 VL、VH片段,Linker肽及 58个氨基酸葡萄球菌蛋白 A,分子量为 35 KD,且表达 ScFv有抗原结合活性。McAb3D3识别的抗原在人肺癌细胞膜上有较高表达。由于 Fv片段分子小,穿透力强,易被清除等特点,十分适合于临床治疗、影像诊断及抗体分子构象分析等。因此,表达制备 ScFv融合蛋白有潜在应用前景。

关键词 单克隆抗体;基因;表达
中图法分类号 R392.11
(收稿: 1997-12-10;修回: 1998-01-06)
(编辑 王 红)

卵巢癌的腹腔播散机制与放化疗作用的实验研究

The experimental studies on the mechanism of abdominal cavity dissemination of ovarian cancer and the effects of radiochemotherapy

程 湘* 程天民 (第三军医大学预防医学系防原医学教研室 全军复合伤研究所)重庆,400038

卵巢癌是妇科最常见的恶性肿瘤之一,病死率极高。腹腔播散是病变发展及导致死亡的重要环节,对其发生机制知之尚少。卵巢癌的治疗也采用放疗和化疗,但选用何种药物及放化疗如何组合以提高疗效,尚缺乏系列研究。本课题建立了大鼠卵巢肿瘤模型和具有较高恶性潜能的癌细胞亚系,从宏观到分子多个层次、在体与离体相结合上,研究了卵巢癌腹腔播散的特点及可能机制,并以多种化疗药物和不同照射剂量相组合,研究对卵巢癌的治疗、主要是抑制腹腔播散的效果。较系列的研究获得以下主要结果:

(1)首次用人工基质胶 Matrigel分离 3AO卵巢癌细胞系,建立了亚系 M951。M951细胞的生长情况与 3AO细胞相似,但粘附力较高,腹腔播散发生率也较高,这反映了卵巢癌细胞的异质性,M951细胞具有更高的恶性程度。高粘附力亚系的建立,为卵巢癌腹腔播散机理的研究提供了较理想的模型。

(2)采用 DMBA埋线法给药,成功地建立了大鼠卵巢肿瘤模型,具有癌发生率高、诱癌时间短、组织学类型较多、腹腔播散多见、可发生局部浸润和多种途径的转移等特点,是卵巢癌研究的较理想模型。我们观察到大鼠卵巢肿瘤组织中有正常卵巢结构存在,腺癌组织中有囊腺瘤,鳞癌组织中有正常鳞状上皮向鳞癌的过渡区,表面未见转移的肺脏实质组织中有微小转移灶存在,这些病理所见有利于探讨卵巢肿瘤的发生机制。

(3)首次以新鲜制备的大鼠腹膜为粘附组织,建立了卵巢癌细胞粘附腹膜的体外模型,具有较好地模似体内过程和可直接观察干预因素的影响等特点,适合于体外研究卵巢癌腹腔播散过程中的粘附机制。

(4)采用体外粘附腹膜模型,研究了卵巢癌细胞表达 CD44与其粘附腹膜能力的关系,结果显示 CD44表达与卵巢癌细胞粘附腹膜具有很好的相关性,首次提出直接证据,证实 CD44分子与卵巢癌细胞粘附腹膜能力相关,参与了卵巢癌的腹腔播散过程。对大鼠卵巢腺癌组织行 CD44的免疫组化研究,结果显示卵巢腺癌中有 31.6%的阳性表达,与组织学类型和有无转移之间未见肯定关系。提示除 CD44以外,还会有其它粘附分子参与卵巢癌的腹腔播散过程。

(5)以多种化学药物和不同照射剂量以及辐射联合化学药物作用于体外培养的 3AO细胞和 M951细胞,结果显示这两种细胞对 5-氟脲嘧啶和更生霉素的敏感性相似,对顺铂、长春花碱和环磷酰胺的敏感性有差异。辐射对 M951细胞的杀伤作用不如 3AO细胞,加入顺铂和长春花碱后,杀伤作用增强,说明放射联合化疗药物可协同杀伤卵巢癌细胞。

(6)M951细胞接种裸鼠腹腔后,分 5组进行治疗,结果显示单纯照射无治疗作用,低剂量顺铂单独或联合照射均可部分抑制卵巢癌细胞的腹腔播散,高剂量顺铂联合照射可完全抑制腹腔播散。表明必须也是可能建立科学的放疗化疗联合方案,以最大限度地提高卵巢癌的治疗(包括抑制腹腔播散)效果。

本研究结果中关于卵巢癌高粘附力细胞亚系的建立、大鼠卵巢肿瘤组织的部分病理变化及腺癌组织 CD44表达、卵巢癌细胞体外粘附腹膜模型的建立、用不同恶性潜能的亚系研究卵巢癌细胞表达 CD44与粘附腹膜能力的关系,以及在体和离体相结合研究放射联合化学药物治疗卵巢癌细胞腹腔播散等内容,尚未见文献报道。这些研究结果,不仅有助于深化对卵巢癌发病机制的认识,为开辟新的治疗途径提供线索,同时也为卵巢癌腹腔播散的治疗提供了重要的实验依据,值得临床验证和应用。所建立的模型和方法还为进一步研究提供了重要的基础条件。

关键词 卵巢癌;致癌;二甲基苯蒽;形态学;CD44;透明质酸;粘附;播散;转移;化疗;放疗;放化疗
中图法分类号 R737.31
(收稿: 1997-12-09;修回: 1998-01-06)
(编辑 王 红)

* 程 湘,女,34岁,主治医师,讲师,博士研究生

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