DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.04.033

人肺癌转移动物模型建立及其生物学特性的研究*

A study on establishment of metastatic models for human lung carcinoma in mice and their biological characteristics

魏 泓 史景泉** 陈意生** (第三军医大学基础部实验动物学教研室) 重庆, 630038

以免疫缺陷动物为中心环节,开展人肺癌转移动物模型建立及其生物学特性的研究,将人肺癌转移动物模型建立、部分肿瘤转移基因和转移抑制基因表达与肺癌转移关系、hu-PBL-SCID小鼠免疫重建模型建立及其人淋巴细胞对人肺癌转移影响这三部分研究有机结合。

(1)建立及复制了6株不同转移特性的人肺癌裸鼠移植瘤模型:以人肺巨细胞癌细胞系 PLA-801的两个细胞克隆 C株及 D株,建立了 PLA-801C及 PLA-801D裸鼠皮下移植瘤模型;以人肺巨细胞癌 PLA-801D裸鼠皮下移植瘤作为瘤源,建立了 PLA-801D-AS裸鼠腹水瘤模型;以 PLA-801D-AS裸鼠腹水瘤模型的肺转移灶细胞进行裸鼠皮下连续传代,建立了 PLA-801DL裸鼠皮下移植瘤模型;以人肺腺癌裸鼠移植瘤培养细胞 Anip973,复制了 Anip973裸鼠皮下移植瘤及腹水瘤模型。6株裸鼠移植瘤生物学特性稳定,其淋巴结及肺转移率由低到高依次为 PLA-801C皮下瘤(0%、0%)、Anip973皮下瘤(8.6%、4.3%)、Anip973腹水瘤(100%, 12.0%)、PLA-801D皮下瘤(100%, 31.6%)、PLA-801DL皮下瘤(100%, 52.6%)、PLA-801D-AS腹水瘤(100%, 80.0%)。人肺癌转移动物模型的建立可为恶性肿瘤转移的基础研究及实验治疗提供研究工具,具有同源性的不同转移力人肺癌裸鼠移植瘤模型的建立对肺癌转移机理的对比研究具有意义。同时,将上述不同转移特性的人肺巨细胞癌 PLA-801C、PLA-801D、PLA-801DL及人肺腺癌 Anip973四株裸鼠皮下移植瘤作为瘤源,分别移植于 ^{60}Co-γ辐射裸鼠、单纯脾切除或复合 ^{60}Co-γ辐射脾切除裸鼠、T及 B细胞严重联合免疫缺陷的 SCID小鼠,筛选建立高转移肺癌模型的实验模式。结果表明:脾切除或复合 ^{60}Co-γ脾切除裸鼠更有利于移植瘤转移表型表达,在裸鼠及 SCID小鼠体内未发现转移的 PLA-801C移植瘤在脾切除裸鼠出现淋巴结转移,提示低转移瘤株与高转移瘤株是一个相对概念,肿瘤转移表型的表达是肿瘤与宿主相互作用的结果。

(2)以免疫组化染色法对不同转移特性的 PLA-801C、PLA-801D、PLA-801DL、Anip973四株裸鼠皮下移植瘤进行 nm23基因、整合蛋白、Ⅳ型胶原酶、尿激酶表达的观察。同时对87例有或无淋巴结转移的人肺癌临床标本进行了 nm23基因及Ⅳ型胶原酶表达的观察,并在裸鼠体内观察了整合蛋白 β_1抗体及整合蛋白配体分子中的 RGD序列多肽对移植瘤 PLA-801DL生长及转移的影响。结果表明:① 四株人肺癌裸鼠移植瘤呈基本一致的较高水平 nm23表达,87例临床标本的阳性率为78.2%,无论鳞癌还是腺癌,有或无淋巴结转移,无论原发癌还是淋巴结转移癌,其间均无显著差异。提示 nm23在人肺癌中并非以肿瘤转移抑制基因的角色发挥作用。② 4株人肺癌裸鼠移植瘤整合蛋白亚单位 α_2、α_5、α_6A α_6B β_1免疫组化染色表明,4株移植瘤均呈 α_2、α_5、α_6B阴性,β_1的表达除 Anip973呈强阳性、PLA-801DL呈弱阳性外,也均呈阴性,但四株移植瘤除 PLA-801C外,其余3株均呈 α_6A强阳性。同时,整合蛋白 β_1亚单位抗体及其配体 RGD多肽对 PLA-801DL移植瘤影响的体内试验也表明,对其转移不见明显影响,这与 PLA-801DL移植瘤呈整合蛋白低表达的结果相符。③ Ⅳ型胶原酶免疫组化染色结果表明,Anip973、PLA-801D、PLA-801DL裸鼠移植瘤呈阳性反应,而 PLA-801C则呈阴性反应;人肺癌临床标本阳性率87.4%,有淋巴结转移的肺癌阳性率95.3%,无淋巴结转移的肺癌阳性率79.5%,其差异显著。表明Ⅳ型胶原酶的表达与肺癌转移力呈明显正相关。④ Anip973及 PLA-801D呈尿激酶阳性,而 PLA-801DL及 PLA-801C则呈尿激酶阴性。

(3)将人外周血淋巴细胞经腹腔移植于 SCID小鼠后,成功地建立了 hu-PBL-SCID小鼠模型。在移植后4周,其小鼠血清中存在人免疫球蛋白,其脾淋巴细胞中,所检测的8种免疫表型人淋巴细胞亚群均存在,表明淋巴细胞在 SCID小鼠体内出现了增殖或重建。但 hu-PBL-SCID小鼠及未免疫重建的 SCID小鼠体内 PLA-801DL移植瘤的生长及转移情况未见明显差异,提示 hu-PBL-SCID小鼠体内的各类人淋巴细胞不具有明显的抗肿瘤活性。

关键词 疾病模型,动物;肺肿瘤;肿瘤转移基因;肿瘤转移抑制基因;小鼠

中图法分类号 R363; R730

(收稿: 1996-07-10;修回: 1996-07-16)

(编辑 王 红、沈锡庚)

* 重庆市中青年科技专家基金资助项目

** 病理学教研室 重庆, 630038

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