DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.04.033

(1)乳腺囊性增生病不典型增生细胞超微结构变化特征主要是细胞膜和细胞核发育不良和去分化现象,且这些变化随不典型增生程度加重更趋明显,在Ⅱ级不典型增生的部分细胞与癌细胞的某些超微结构变化已非常相似,提示乳腺囊性增生病不典型增生向乳腺癌的演变过程及其明显的内在联系。

(2)在不典型增生细胞中表皮生长因子受体(EGFR)和雌激素受体(ER)阳性率均增高,提示其功能及活性改变和有c-erb B_1 基因激活,EGFR和ER含量增加在促进乳腺上皮细胞的异常增生中具有重要作用。

(3)从正常乳腺上皮细胞、乳腺囊性增生病一般性增生细胞、不典型增生细胞到乳腺癌,细胞核仁组成区嗜银蛋白(AgNORs)数量、增殖细胞核抗原(PCNA)表达阳性率和细胞核DNA含量逐渐增加,且随着不典型增生程度加重其细胞增殖特点逐渐接近乳腺癌细胞,提示在乳腺上皮细胞癌变过程中不但有细胞结构和功能的明显变化而且可从多方面反映出其细胞增殖特性的明显异常。

(4)本组检测了ras、c-myc、c-erb B_2 癌基因蛋白和抗癌基因P53蛋白表达,在乳腺囊性增生病部分不典型增生细胞中均有不同程度的表达,提示有相应的癌基因改变。同时发现,在Ⅰ级不典型增生细胞中多为单一癌基因产物表达,Ⅱ级不典型增生中30%有2种癌基因产物表达,而大多数乳腺癌有2种或2种以上癌基因产物的过度表达。因此,推测乳腺囊性增生病不典型增生癌变可能至少需要2种以上癌基因改变,在这个过程中癌基因改变的积累可能是最终导致癌表型出现的原因。

(5)肿瘤相关抗原表达检测结果提示,在大部分乳腺癌和部分不典型增生细胞中有胚胎性肿瘤相关抗原y抗原和免疫抑制性酸性蛋白(IAP)的表达,且随着不典型增生程度的加重至乳腺癌这2种肿瘤相关抗原表达的阳性率逐渐增高,提示在乳腺的不典型增生细胞中,不但有某些癌基因改变及其产物的过度表达,同时还存在胚胎性基因的调控失常和其它异常基因产物的表达。在部分不典型增生细胞中的这些具有癌趋向的异常生物学行为变化与其随后可能发生的癌变均有重要联系。

(6)经本实验观察,二甲基苯蒽诱导Wistar大鼠乳腺癌发生的动态过程是:乳腺导管上皮细胞增生→不典型增生→乳腺。大鼠乳腺癌发生过程不同阶段的细胞超微结构变化特点、DNA含量和AgNORs数量等的变化规律与在人体乳腺囊性增生病癌变过程中观察到的变化相似。

(7)在二甲基苯蒽诱导Wistar大鼠乳腺癌发生的启动期和促进期应用三苯氧胺和/或全反式维甲酸可以明显地延迟和阻止乳腺癌发生,联合应用这两种药物效果更好,无论在二甲基苯蒽诱导大鼠乳腺癌发生的启动期和促进期联合用药均未见乳腺癌发生。

(8)经观察ER表达、细胞超微结构和细胞核DNA含量等变化,结果提示三苯氧胺阻止乳腺癌发生的作用是通过抑制上皮细胞增殖而实现的。应用全反式维甲酸阻止乳腺癌发生的作用机制之一可能是激活了细胞的程序死亡基因,通过诱导细胞向终阶段分化,促使已有异常增生的细胞凋落,从而阻断了乳腺上皮细胞癌变过程的发展。

(9)在二甲基苯蒽诱导大鼠乳腺癌发生的促进期联合应用三苯氧胺和维甲酸组,组织学检查未发现有不典型增生和乳腺癌,该组细胞超微结构、细胞核DNA含量和ER表达等均与对照组正常乳腺上皮细胞的检查结果相似,提示在DMBA诱导大鼠乳腺癌发生的促进期联合应用三苯氧胺和维甲酸可抑制乳腺癌前病变的发展、逆转乳腺癌前不典型增生病变,使其最终向正常细胞分化,预防乳腺癌的发生。

综上所述,乳腺上皮细胞癌变是一个复杂的、有多种因素参与的、逐渐演变的细胞生物学变化过程,其中的很多机制仍有待进一步研究阐明。本研究结果加深了对乳腺囊性增生病不典型增生细胞癌变过程的了解,对于临床病人的处理和监测乳腺癌发生具有一定意义。对乳腺癌前期病变联合应用三苯氧胺和维甲酸可能抑制癌变过程的进展、逆转上皮不典型增生,预防乳腺癌发生。

关键词 乳腺囊性增生病;不典型增生;乳腺肿瘤;癌发生;二甲基苯蒽;预防

中图法分类号 R655.8

(收稿:1995-06-25;修回:1995-07-15)

胶质瘤生物学特性和NDGA诱导分化治疗作用及其机理的研究*

The biological features of gliomas and the effects of NDGA on the growth and differentiation of gliomas and their mechanism

卞修武 史景泉 (第三军医大学基础部病理学教研室)重庆,630038

本研究以人脑胶质瘤外检标本(124例)、人恶性胶质瘤细胞系SHG-44及其异种移植瘤和实验性大鼠胶质瘤为材料,在研究胶质瘤增殖活性和一些癌基因和肿瘤抑制基因产物表达的基础上,重点观测去甲二氢愈创木酸(nordihydroguaiaretic acid,NDGA)对胶质瘤生长、分化的影响,探讨其体外和体内抗肿瘤作用及其机制。主要结果如下:

(1)核仁组成区嗜银蛋白(AgNORs)、增殖细胞核抗原(PCNA)、癌基因c-erbB-2和P^{21} ras、表皮生长因子(EGF)及其受体(EGFR)、P^{53}蛋白表达的组织化学和免疫组化研究显示,AgNORs颗粒图像分析和PCNA免疫组化反应强度能反映胶质瘤增殖活性,并与胶质瘤分化和恶性程度相关;它们对于了解胶质瘤的生物学特性、患者预后有较大的辅助作用。c-erbB-2、

(下转353页)

* 国家自然科学基金资助项目,No.39170341

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

上清液直接进样分析的前处理方法，容易操作，样本预处理时间短，对防止 ATP 分解及测试结果的准确性起到了好的效果。

关键词　腺苷酸类；色谱法，高效液相

中图法分类号　R446.1

参考文献

1 王洛四. 高效液相色谱法分析腺苷酸. 军事医学科学院院刊，1988；13(2)：203

2 Jones DP. Determination of pyridine dinucleotides in cell extracts by high performance liquid chromatography. J Chromatogr，1981；225：446

3 顾建国，荣　沛，王义明等. 反相 HPLC 法测定大鼠梗塞心肌组织中 ATP、ADP 与 AMP. 中国药科大学学报，1989；20(2)：103

4 Juengling E，Kammermeier H. Rapid assay of adenine nucleotides or creatine compounds in extracts tissue by paired-ion reverse-phase high performance liquid chromatography. Anal Biochem，1980；102：358

5 张新明. 一种简便、灵敏测定腺苷酸的高效液相色谱法. 分析仪器，1991；4：45

6 马丽英，梁殿权，王孝铭等. 高效液相色谱(HPLC)对游离腺苷酸类的测定. 生物化学与生物物理进展，1983；5：64

(收稿：1994-09-15；修回：1995-06-24)

****

(上接 344 页)

EGFR 和 P^{21} ras 在胶质瘤表达率均很高，但可能主要参与胶质瘤恶变的早期阶段；而 P^{53} 过度表达和/或在细胞内积聚则涉及胶质瘤发生、发展的整个过程。

(2)应用细胞内显微注射和流式细胞术等方法研究了 NDGA 对人恶性胶质瘤细胞系 SHG-44生长、分化的影响及其机制。结果显示，SHG-44细胞具有 GFAP-vimentin 共存特性，并发现有 P^{21}ras 和 P^{53}蛋白表达，PCNA 阳性反应强。在含有 100μmol/L 的培养基中瘤细胞生长受抑制，细胞增殖活性降低，细胞周期也有明显改变(G_0G_1期细胞增多，S 和 G_2/M 期细胞显著减少)，但活力细胞百分比无显著变化；细胞异型性变小，甚至呈正常星形细胞表现；胞浆中胶质细丝增多，且其中 GFAP 增加而 vimentin 减少，并伴有线粒体退变；P^{53}蛋白表达也减弱。NDGA 可能是通过抑制 SHG-44细胞 DNA 合成、阻遏细胞增殖周期等环节抑制瘤细胞生长，并诱导其分化，对 P^{53}过度表达或积聚也有一定程度的抑制作用。

本研究建立了胶质瘤细胞内微量注射的方法并首次应用于 NDGA 作用的观察，结果发现，NDGA 直接进入细胞内(约 0.015 pg/细胞)后对细胞的影响与其在细胞外的作用相似，但作用更迅速、持久，表明 NDGA 可能不需要首先对细胞表面或受体的影响而发生上述作用。

(3)制作了人恶性胶质瘤细胞异种移植瘤模型，应用流式细胞术和中间丝蛋白免疫电镜等技术观测了 NDGA 对异种移植瘤生长和分化的影响。本实验所制作的移植瘤在裸鼠体内传代稳定，保持了人恶性胶质瘤特性。NDGA 可降低此移植瘤成瘤率，并具有抑制肿瘤生长、诱导分化作用，与体外实验结果一致。本结果首次证实了 NDGA 对胶质瘤异种移植瘤具有诱导分化治疗作用，并探讨了它对血管生成因子 bFGF 表达的影响。NDGA 这种抗肿瘤作用除了干扰线粒体结构和功能、抑制 DNA 合成和阻遏细胞周期外，可能还与影响 bFGF 表达水平密切相关，并有促进含 GFAP 中间丝合成、组装作用。

(4)合成 N-乙基-N-亚硝基脲(ENU)并经胎盘和皮下给药分别在妊娠晚期孕鼠子代和3 d 龄 Wistar 大鼠经12个月诱发出 CNS 胶质瘤，成瘤率分别为73.2%和68.3%(其中胶质瘤占90.0%和92.9%)；胶质瘤呈小灶性、多灶性、混合性特点并伴有胶质增生存在，后者在胶质瘤组织发生学上有重要意义。先经胎盘给药、仔鼠生后3 d 再经皮下追加给药1次可增加胶质瘤发生率，恶性胶质瘤的比例也增加，并伴有更多的胶质增生病灶出现。NDGA 可降低胶质瘤发生率、间变率及 CNS 外肿瘤的发生，对主要脏器无明显毒性，提示其良好的应用前景。其预防作用可能与其抗突变、在胶质瘤的促发阶段起阻遏作用有关。

关键词　神经胶质瘤；去甲二氢愈创木酸(NDGA)；诱导分化治疗；免疫细胞化学；流式细胞术；N-乙基-N-亚硝基脲(ENU)

中图法分类号　R739.264

(收稿：1995-07-18；修回：1995-07-27)

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