DOI:10.16016/j.1000-5404.1996.02.041

肝癌患者ET水平增高,除部分肝癌患者伴有肝硬化而致ET升高外,可能还因为肝癌组织中肿瘤血管增生活跃,新生的血管内皮细胞合成和分泌大量的ET。Nakamuta等[4]测定了肝癌及肝硬化组织匀浆的ET含量分别为0.50±0.38 ng/g蛋白和0.40±0.28 ng/g蛋白,同血浆水平变化一致,肝癌组ET水平高于肝硬化组,且肝癌直径越大,ET越高,但与AFP无相关性。至于ET与肝硬化、肝癌的确切关系,ET是否可作为肝癌的标志物有待于进一步研究。

关键词 肝硬化;肝肿瘤;内皮素

中图法分类号 R575.2

参考文献

1 Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S *et al*. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature,1988;332:411

2 Sawamura T, Kimura S, Shinmi O *et al*. Analysis of endothelin-related peptides in culture supernatant of porcine aortic endothelial cells: Evidence for biosynthetic pathway of endothelin-1. Biochem Biophs Res Commun,1989;162:1287

3 Mustafa SB, Ganshi CR, Harvey SAK *et al*. Endothelin stimulates platelet-activating factor synthesised by cultured rat Kupffer cells. Hepatology,1995;21(2):545

4 Nakamuta M, Ohashi M, Tabata S *et al*. High plasma concentrations of endothelin-like immunoreactivities in patient with hepatocellular carinoma. Am J Gastroenterol,1993;88(2):248

(收稿:1995-08-10;修回:1996-02-20)

(编辑 冯崇英)

肝细胞的直接分离与培养

The direct separation and culture of liver cell

吴喜贵 许森水 (第三军医大学基础部生物化学教研室)重庆,630038

肝细胞的分离、培养是细胞生物学和细胞工程的必需技术。亦广泛应用于生物化学、分子生物学和药理学等方面的研究中。传统的肝细胞分离方法是采用含胶原酶的缓冲液对肝脏进行原位灌注。我们在研究工作中建立一种用不含胶原酶的无钙离子的Hank's溶液对大鼠进行肝脏原位灌注直接分离肝细胞的方法,本方法制备的细胞用于培养和实验获得相当满意的结果,现总结如下。

1 材料与方法

1.1 材料

Wistar雄性大鼠150~180 g,由本校动物饲养中心提供。LDB-M电子恒流泵。尼龙布(200目)。其余试剂为AR级。

1.2 方法

1.2.1 大鼠肝脏原位灌注 大鼠乙醚麻醉后,打开腹腔行肝门静脉插管,用37℃无钙离子的Hank's缓冲溶液(含0.1% BSA;500 U/ml肝素)pH7.4,用电子恒流泵进行肝脏原位灌注,待肝脏表面湿润变软呈现淡黄色均匀纹理时停止灌注。

1.2.2 肝细胞的分离 摘取灌注后的肝脏置于小烧杯内,在冰浴中用组织镊轻轻挤压,然后加适量的0.1%BSA Krebs-Ringer碳酸盐缓冲液pH7.4,轻轻摇动,200目尼龙布过滤以去除肝组织块。细胞滤液用50×g离心60 s,弃上清,细胞再用同样条件洗2~3次,尽量除去细胞碎片及杂质。最后用Krebs-Ringer碳酸盐通过冲液制成一定浓度的细胞悬浮液备用。

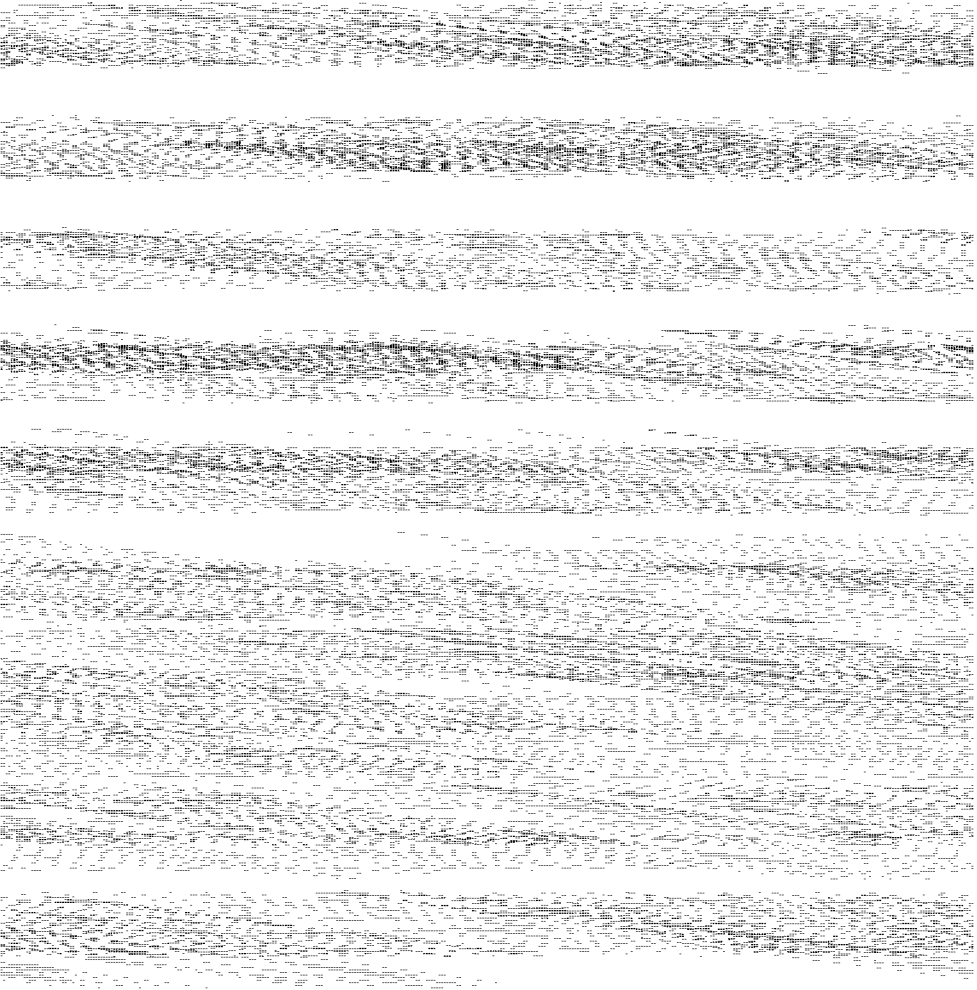
1.2.3 原代肝细胞培养 制备的肝细胞按常规的细胞培养的方法进行,以1640增养基为介质,于37℃ CO_2孵箱中培养生长。6 h后换第一次培养基,以后每24 h换一次培养基。

1.2.4 肝细胞胰岛素受体结合试验按文献[1]方法操作。

2 结果

采用不含胶原酶的Hank's溶液原位灌注大鼠肝脏,直接分离的细胞显微镜下观察其形态完整,分散度好(见图1)。台盼蓝排异试验细胞成活率平均为84.4%(n=5)。细胞产率大约为(7~10×10^6个/g(湿重)。用1640培养基培养细胞,6 h可见细胞完全贴壁,24 h后细胞大量生长(见图2)。正常大鼠肝细胞胰岛素受体结合试验,Scatchard作图分析为一条凹面向上的曲线(见图3),其最大结合率(B/T%)平均为25.06±0.52;最大结合容量(RO)平均为18.6×10^{-9} mol/L。

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



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