

凝集素与细胞凝集

I. 伴刀豆球蛋白A及植物血凝素对正常细胞、胚胎及肿瘤细胞的凝集效应

朱正美 顾天爵
(上海第一医学院)

自从 J. C. Aub^[1] 于 1963 年报道麦胚凝集素(WGA)对正常及肿瘤细胞的凝集作用有显著差异之后,已在数十种肿瘤及病毒转化的细胞也得到类似的结果^[2]。近年来又发现胚胎^[3]及分裂细胞^[4]也像肿瘤细胞一样易被凝集素凝集。因此,对凝集素的凝集效应与细胞癌变、繁殖和分化的关系,受到高度重视。

我们以正常肝、肝癌及胚胎肝细胞为研究材料,系统分析凝集反应的现象及各种影响因素,希望能对正常与胚胎、肿瘤细胞对凝集素的凝集效应不同这一现象提出较为系统和完整的实验根据,以利于了解其内在本质。

本文报道了九种肿瘤细胞、三种胚胎细胞和正常肝细胞对 ConA 及 PHA 两种凝集素的凝集效应。

材料和方 法

(一) 试剂 伴刀豆球蛋白A(ConA) Phamacia 产品。植物血凝素(PHA)广东红豆盐水浸取粗制品。胶元酶上海医药工业研究所产品。

灌洗液——含 140mM NaCl, 5.4mM KCl, 0.8mM MgSO₄, 0.8mM 磷酸钠, 25mM 碳酸氢钠(pH 7.4)。用于脏器灌洗及分离细胞。Hanks 液(不含葡萄糖)——作为细胞凝集反应介质液。

(二) 细胞来源 人胚为 4~8 月胎龄的水囊引产胎儿;实验动物肿瘤有:小鼠 S₁₈₀、S₃₇、H₆₁₅、黑色素瘤(M-HP)、子宫颈癌(U₁₄)、脑瘤(B₁₂) 实体瘤及小鼠腹水型 S₁₈₀, 腹水型肝癌(HepA)、腹水型子宫颈癌及艾氏腹水瘤腹水型肿瘤与人肝癌(7402HL) 培养细胞株。以上瘤株除 H₆₁₅ 来自贵州遵义医学院, 7402HL 来自上海肿瘤研究所之外,均由中国科学院

药物研究所提供。

(三) 细胞悬液的制备 (1) 腹水细胞,抽取腹水加入大量生理盐水,离心洗涤 3 次,用血细胞计算盘计数,制成约 10⁶/毫升细胞悬液。(2) 实体瘤及肝、肾、胸腺等脏器经血管用灌洗液充分灌洗,除去血液及包膜,剪碎,用钝器刮过 140 目铜网(或用胶元酶消化,用吸管吹打分散)后用 4~6 层 150 目尼龙布过滤,除去组织碎片及细胞团块,再离心除去细胞碎片,制得在相差镜下形态完整、基本分散的细胞悬液,并经计数制成约 10⁶/毫升细胞悬液。

反应体系及结果判断

(一) 反应体系

ConA(或 PHA)溶于无糖 Hanks 液,倍比稀释成不同浓度,加入细胞悬液,最终细胞浓度为 1×10⁶/毫升,混匀,置 37℃ 保温,对照管以无糖 Hanks 液代替凝集素液,同时保温观察。

(二) 结果判断

使用以下两种方法判断凝集强度,凝集强度的判断标准见表 1。

表 1 细胞凝集反应强度判断标准

凝集反应强度	相差镜下所见
-*	基本分散,可有少数几个细胞相连
±	几个细胞相连较多,但仍基本为单细胞
+	<10个细胞相连较多,分散细胞仍多
++	>10个细胞相连,分散细胞减少
+++	数十个细胞相连,分散细胞少
++++	>100个细胞相连,几无分散细胞

* 与对照管相比较结果一致者为(-)。

表2 实验肿瘤细胞对 ConA PHA 的凝集效应*

肿 瘤	ConA		PHA	
	凝 集 强 度	分散细胞减少率	凝 集 强 度	分散细胞减少率
S ₁₈₀ (小鼠肉瘤)	++	56.1%	+~++	57.6%
S ₃₇ (小鼠肉瘤)	+	27.0%	+	31.2%
B ₁₂ (小鼠脑瘤)	++	51.9%	+	44.7%
M-HP(小鼠黑色素瘤)	++	86.5%	++	80.3%
U ₁₄ (小鼠子宫颈癌)	+	19.6%	±	12.1%
H ₆₁₅ (小鼠肝癌)	+~++	33.6%	未测定	未测定
HepA(小鼠腹水型肝癌)	+++	85.2%	++	64.1%
艾氏腹水瘤	+++	87.5%	++	63.1%
S ₁₈₀ (腹水型肉瘤)	+++	90.3%	未测定	未测定
U ₁₄ (腹水型子宫颈癌)	+++	86.6%	未测定	未测定
人肝癌7402 (培养细胞株)	++	未测定	未测定	未测定
正常肝细胞 (成龄小鼠)	-	1.3%	-	0%

* 细胞在 30μg/ml ConA 或 PHA 中, 37℃ 保温30 分钟。

结 果

(一) 肿瘤细胞对 ConA 及 PHA 的凝集效应

分别观察比较了实体型和游离型两种类型共 9 种肿瘤细胞对凝集素的凝集效应, 结果见表 2。

由表 2 可见, 所观察的 9 种肿瘤细胞对 ConA 及 PHA 的凝集效应均比正常小鼠肝细胞强, 腹水型肿瘤细胞更强于实体型肿瘤细胞。如将 S₁₈₀ 及 U₁₄ 接种于腹腔后所生长的腹水型细胞, 其凝集效应强于接种于皮下的实体型肿瘤细胞, HepA (腹水型) 的凝集效应也明显强于 H₆₁₅ (实体型)。Nicolson 等^[5]在 SV3T3 细胞株也观察到, 稀疏游离生长的细胞比群集生长或生长到相互接触时的细胞对 RCA 的凝集效应强。这些现象都提示细胞的生长状态也影响其凝集效应, 即细胞间的接触与其对凝集素的凝集效应。

(二) 三种胚胎细胞对凝集素的凝集效应

测定结果见表 3, 三种取自人胎儿 (5~7 月) 的细胞均能被 30μg/ml 浓度的 ConA 及

PHA 明显凝集。

表 3 胚胎细胞对凝集素的凝集效应

	ConA 30微克/ 毫升	PHA 30 微克/ 毫升
胎 肝(5月)*	++	+++
胎 肾(7月)**	++	++
胎胸腺(6月)**	++	未测定

* 37℃, 保温 30 分钟。 ** 37℃, 保温 15 分钟。

(三) 不同胎龄人胎肝细胞对 ConA 的凝集效应

观察了胎龄 4~8 月的胎肝细胞在不同浓度 ConA 中的凝集效应, 如表 4 所示, 随着胎龄的增长, 细胞分化程度的逐渐成熟而凝集效应递减。

有关胚胎细胞的凝集效应, 前人多以鸡胚、鼠胚为材料, 人胚仅见有关胎肺成纤维细胞 (可被 ConA、PHA 凝集)^[6]及胎小肠上皮细胞 (ConA 使之明显凝集)^[7]的报道。本文除观察肝、肾、胸腺三种人胚胎细胞的凝集效应外, 同时比较了不同胎龄肝细胞的凝集强度, 结果充分表明凝集效应与细胞分化程度密切相关。West 与 McMahon^[8]用荧光标记 ConA 观

察到粘菌 (*Slime mold Dictyostelium Discoidium*) 发育过程中细胞膜上糖蛋白的种类及数量均有明显改变。此外, 用鸡胚视网膜神经细胞^[9]也得到类似结果。因此, 可以认为人胎肝细胞对凝集素凝集效应的改变也是反映胚胎发育过程中质膜上糖蛋白(或糖脂)的衍变。近年来, 大量工作证明癌变细胞出现反分化(de-differentiation)现象, 所以肿瘤细胞易被凝集素凝集, 是否也是这一现象的特征之一, 是值得注意的。

表 4 不同胎龄人胎肝细胞的凝集效应*

胎 龄**	ConA 浓度 $\mu\text{g/ml}$		
	500	60	30
4	未测定	##	未测定
5	##~##	##	##
6	##~##	##	##~+
7	##	+	+
8	+	未测定	未测定
成 人	+	±	-

* 37°C 保温 30 分钟。

** 胎龄按胎儿坐高(头顶到坐骨结节的高度)确定。

小 结

本文报道的八种实验动物肿瘤细胞及一株

人肝癌细胞均在低浓度(30微克/毫升) ConA 及 PHA 中明显凝集, 这和文献报道的一般规律相一致。三种人胚胎细胞也和文献报道的动物胚胎细胞的结果类同, 而且随着胎龄的增长, 分化的成熟, 凝集程度也逐渐减弱, 八个月胎龄的肝细胞其凝集强度已接近于正常成人肝细胞。腹水型肿瘤细胞比较实体型的更易凝集, 这可能表示细胞之间相互接触可能影响细胞表面膜的性能。

参 考 文 献

- [1] Aub, J. C. et al. 1963. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 50: 613.
- [2] Nicolson, G. L. 1976. *Biochim. Biophys. Acta.*, 458: 1.
- [3] Moscona, A. A., 1971. *Science* 171: 905.
- [4] Fox, T. D. et al. 1971. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68: 244.
- [5] Nicolson, G. L. and Lacorbiere, M., 1973. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70: 1672.
- [6] Glimelins, B. et al. 1974. *Int. J. Cancer*, 14: 314.
- [7] Weiser, M. M., 1972. *Science*, 177: 525.
- [8] West, C. M. and Mc Mahon, D., 1977. *J. Cell Biol.*, 74: 264.
- [9] Mintz, G. and Glasser, L., 1978. *J. Cell Biol.*, 79: 132.

人 体 巨 噬 细 胞 的 研 究

V. 单核细胞-巨噬细胞的 HLA-DR 抗原及其在淋巴细胞体外增殖反应中的作用*

张友会 黄亚玖**

(中国医学科学院肿瘤研究所)

对小鼠的主要组织相容性复合体(H-2系统)的大量研究证明, 除关系到同种异体移植植物被排斥的 H-2D 和 H-2K 之外, 在这两个位点之间还有一个与免疫反应密切联系的 I 区。它由五个亚区组成, 所编码的抗原称为 Ia 抗原。H-2D 和 H-2K 抗原见于所有有核细

胞的表面, 而 Ia 抗原仅存在于某些细胞, 如 B 淋巴细胞和巨噬细胞的表面。巨噬细胞的 Ia 抗原在免疫反应诱导阶段巨噬细胞与 T 细胞相互作用中是极为重要的^[1]。在人类主要组织相容

* 本工作在美国圣地亚哥 Scripps 研究所完成。

** Scripps 研究所分子免疫室。