

两种表面标志测定结果的比较

在建立了以上两项检测条件的基础上, 我们随机抽取 10 例献血员外周血, 用花环法和膜荧光法对每份样品同时作 SmIg 和 EB 病毒受体的测定和阳性细胞百分率计数。表 1 结果表明, 用花环法测得的人外周血 SmIg 阳性的 B 淋巴细胞平均为 19.1% (15.3%—21.5%) \pm S.D. 5.36%。利用膜荧光法测得有 EB 病毒受体的 B 淋巴细胞平均为 21.6% (15%—26.5%) \pm SD 11.7%。两项结果经统计学处理 $P > 0.05$, 表明无明显差异, 而且存在相关性 ($r = 0.88$, $T_r < 0.01$)。至于从表 2 所列的每份样品检测阳性细胞百分率看, 用 EB 病毒受体作为检测 B 淋巴细胞的手段其结果稍高于用 SmIg 测定的结果, 很有可能是由于少数无表面标志细胞存在的缘故。

本实验表明, 利用 EB 病毒受体和 F(ab)₂ 抗体致敏 SRBC 形成花环来检测人外周血 B 淋巴细胞, 其结果是可以互为印证的。两种方法都是目前测定 B 淋巴细胞较可靠的手段, 但

后者实验过程时间短, 而且不需要荧光显微镜设备, 所以更为可取。

参 考 文 献

- [1] Greaves M. F. & Brown. 1975. *Clin. Immunol. Immunopath.*, 3: 514—524.
- [2] Stanworth D. R. & Turner M. W. 1978 in "Hand Book of Experimental Immunology." (D. M. Weir ed) 6: 19—20.
- [3] Garvey, J. S., et al. 1977. in "Methods in Immunology" (Garvey, J. S. eds) pp. 256—264.
- [4] Parish C. R. et al. 1978. *J. Immunol. Method.*, 20: 173—183.
- [5] Parish C. R. et al. 1974. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.*, 178: 47—63.
- [6] Goding J. W. 1976. *J. Immunol. Method.*, 10: 61—66.
- [7] Haegert D. G. et al. 1976. *J. Immunol.*, 116: 1426—1430.
- [8] Bach J. F. 1978. in "Immunology" (Bach J. F. ed) pp. 75.
- [9] Eirrhorn et al. 1978. *Cell. Immunol.*, 35: 43—58.

细胞松弛素 D 用于鉴别正常细胞与肿瘤细胞的初步探讨

章 静 波

(中国医学科学院肿瘤研究所细胞生物室)

细胞松弛素 (Cytochalasin) 是一类真菌的代谢产物^[1], 迄今已发现有十余种。由于它们具有广泛的细胞生物学效应, 颇为人们所重视。在殊多的生物活性中, 细胞松弛素 B (Cytochalasin B, 简称 CB) 可诱发恶性细胞形成多核细胞, 而不诱发正常细胞形成多核细胞这一特性吸引了细胞学家, 尤其是肿瘤细胞生物学家的注意^[2-5]。迄今对 CB 的作用研究得较多, 对其余几种代谢产物作用的研究较少。我们曾经报道国产细胞松弛素 D (Cytochalasin D, 简称 CD) 也具有诱发长期培养的人体食管癌 ECa-109 细胞系形成多核及排核作用^[6]。然而, CD

的这种细胞生物学特性是否亦如 CB 一样, 对于恶性细胞具有普遍性? 对于正常细胞是否也可诱发出多核细胞及排核现象? 也就是说 CD 对于恶性细胞及正常细胞的作用有否不同, 从而用以作为鉴别正常细胞与肿瘤细胞的一种工具? 为探索上述问题, 我们选用了多种恶性细胞及正常二倍体细胞, 以及原代培养细胞, 在 CD 作用下进行了比较, 现将结果报道如下:

材 料 与 方 法

一、细胞素 (株) 及原代培养

(1) 人体食管癌 109 细胞素 (简称 ECa 109 细

胞)^[4]：为我室从人体食管癌标本建立的上皮样恶性细胞系，在体外已传代生长约5年。

(2) 人体肝癌BEL-7402细胞系^[8]：为上海细胞生物学研究所从人外肝癌标本建立的恶性上皮细胞系。本实验室从我所细胞免疫室获得。

(3) 中国地鼠卵巢巢细胞(简称CHO细胞)：原为自美国引进的成纤维细胞系。本实验所用CHO细胞为中国医学科学院基础医学研究所细胞生物系细胞培养组提供。动物接种证明具有致瘤性。

(4) 人胚肺二倍体细胞：为从北京市生物制品所购得的二倍体成纤维细胞，动物接种实验证明无致瘤性。

(5) 鸡胚心脏原代培养的成纤维细胞：由北京市生物制品所购得白色莱杭鸡种蛋，在温度为37.5℃，相对湿度约50%的条件下孵育，13天后于无菌条件下取出鸡胚，打开胸腔，取出心脏，在Hanks'缓冲液中切开心脏，洗去余血，再剪成大小约1—2mm³的小块，接种于培养瓶中，约2天后长出成纤维细胞。

以上数种细胞系(株)以及原代培养皆用含20%小牛血清的199培养基维持生长繁殖，pH为7.2左右，每毫升培养基内加青霉素100单位，链霉素100微克(下称常规培养基)。每25毫升培养瓶内接种3×10⁵个细胞。用于实验的为传代后两天的细胞。(原代培养不予传代接种)。

二、细胞松弛素D

本试剂为云南省植物研究所植物生理室从竹菌(*Engleromyces goetzii*)中提取的白色粉末状结晶^[9]。事前用少量二甲基亚砜助溶，再以Hanks'缓冲液适当稀释，贮存于4℃冰箱内，临用时以199常规培养液稀释成每毫升含0.1微克的浓度。

药物处理方法为细胞传代后48小时吸去原培养液，换入上述含CD的常规培养液。对照组不含CD，但含同样极少量的二甲基亚砜。

结果与讨论

在前篇报道中^[6]，我们曾观察到在一定范围内随着CD浓度的增加，以及随ECa-109细胞接触CD时间的延长，ECa-109细胞形成双核，多核及排核作用也增强。由于本实验用了多种细胞，为使处理各种细胞条件一致，以利比较，本实验所用CD浓度一律为0.1微克/毫升，CD处理时间皆为48小时。各组细胞用甲醇固定，姬姆萨液染色。在总共5次实验中，每次皆随机选出500个细胞，进行核数分析及排核百分率的分析。表1总结了各种细胞对CD的反应。从表中可以看出：

(1) 各种恶性细胞，无论是人体食管癌细

表1 各种恶性细胞及正常细胞在0.1微克/毫升CD作用下48小时后，形成多核、双核、及排核作用的比较

		核数百分率 (%)			排核百分率 (%)
		一核	二核	多核	
ECa-109	CD处理	28	55	17	9
	对照	100	0	0	0
BEL-7402	CD处理	20	37	43	38
	对照	94	4	2	0
CHO	CD处理	40	39	21	13
	对照	100	0	0	0
人胚肺	CD处理	100	0	0	0
	对照	100	0	0	0
鸡胚心肌原代培养	CD处理	99	1	0	0
	对照	100	0	0	0

表中数据(%)为5次实验结果平均值。

胞，或是人体肝癌细胞，或是中国地鼠卵巢巢细胞在CD作用下皆有多核细胞形成(图版图1, 2, 3)。这三种细胞形成多核细胞的百分率分别为17%、43%、以及21%。形成的双核细胞分别为55%、37%、及39%。而正常的人胚肺二倍体细胞以及鸡胚心脏成纤维细胞未见多核细胞的形成，双核细胞也极少见(图版图4, 5)，我们这一结果与O'Neill^[2]，Steiner^[4]以及Medina^[5]等应用CB的结果相似。但是他们的实验表明，CB诱发的多核细胞的百分率更高。这可能与所用细胞松弛素的种类，浓度以及细胞系不一有关。

此外，这三种恶性细胞形成多核的百分率不同，而正常细胞全然不形成多核细胞，自然地使我们考虑形成多核百分率的多少是否与恶性的程度有关？这可作为一个存疑而须继续用诸如动物接种，体外浸润性等试验进行深入的研究。

(2) 在CD作用下，恶性细胞皆有排核现象发生，而正常细胞不见排核现象。再则，人体食管癌细胞，人体肝癌细胞以及CHO细胞发生排核的百分率也是各不相同的，它们分别为

9%，38%，以及13%。从比例看似与形成多核的百分率有平行的关系。至于形成排核的多少是否也与恶性程度有关，也需进一步用其他实验方法证实之。

我们的实验意义在于：从结果看正常细胞与恶性细胞对CD的反应截然不同。因此CD有可能用来作为鉴别正常细胞与肿瘤细胞的一种工具。虽然迄今用于鉴别正常细胞与恶性细胞的标准很多^[10]，但多数只适用于转化的成纤维细胞。适用于上皮细胞，尤其适用于人体的恶性上皮细胞的标准仍不多。虽然同种动物以及无胸腺裸鼠的接种，以及半固体琼脂上的生长十分可靠，但十分费时费事。如果CD能十分准确地鉴别正常细胞与恶性细胞，尤其是鉴别人体的正常细胞与恶性细胞，这必当是一种十分快速，经济，容易操作的好方法。诚然，用更多的良性与恶性细胞系，以至原代培养的正常组织与肿瘤组织进行深入的实验，以求确证则是十分必须的。

小 结

在0.1微克/毫升的细胞松弛素D的作用下48小时，人体食管癌Eca-109细胞、人体肝癌BEL-7402细胞，以及中国地鼠卵巢细胞系CHO，皆可形成多核及发生排核现象。形

成多核的百分率分别为17%，43%，及21%；形成排核的现象分别为9%，38%以及13%。而在细胞松弛素D作用下人胚肺二倍体细胞，以及鸡胚心肌成纤维细胞既不形成多核，也极少有双核细胞出现，更无排核现象发生。我们认为CD的这种细胞生物学性质可以用来作为鉴别正常细胞与恶性细胞，尤其是人体正常细胞与人体恶性细胞的一种工具。

参 考 文 献

- [1] Carter SB., 1967 *Nature (Lond.)* 213: 261—264.
- [2] O'Neill FJ., 1974 *J. Natl. Cancer Inst.* 52: 653—657.
- [3] O'Neill FJ., 1975 *Cancer Res.* 35: 3111—3115.
- [4] Steiner R, Altenburg B, Richard CS, Dudley JP., Medina D, and Butel JS., 1978. *Cancer Res.* 38: 2719—2721.
- [5] Medina D., Oborn CJ., and Asch BB., 1980 *Cancer Res.* 40: 329—333.
- [6] 章静波、薛新华：1979 解剖学报 10: 88—91.
- [7] 中国医学科学院肿瘤防治研究所细胞生物组：1976 中华医学杂志 7: 412—415.
- [8] 陈瑞铭、朱德厚、叶秀珍、沈鼎武：1978 实验生物学报 11: 37—50.
- [9] 王钧、王世林、刘学系、万象义、陈远腾 1978 微生物学报 18(3) 248—252.
- [10] Borek C. 1979 *Radiation Research* 79: 209—232.



全国首届生殖生物学学术讨论会在京召开

一九八〇年十一月二十四日至二十九日，在北京香山召开了《全国首届生殖生物学学术讨论会》。出席这次大会的有来自全国有关高等院校、中国科学院所属研究所、中国医学科学院以及许多地方研究单位的代表共一百余名。

大会开幕式由张致一教授主持，动物学会副理事长宋如栋同志对召开这次会议的目的和要求作了简短扼要的讲话。医科院基础医学研究所薛社普教授介绍了世界各国生殖调节研究的科研动态。北京农业大学董伟教授介绍了国际第九届家畜繁殖会议情况。张致一教授介绍了生殖生物学基础理论研究的某些新进展。这些报告对与会代表今后进一步开展工作很有启发。

会议主要采取分组（分为生物组、医学组、畜牧水产组）宣读生殖生物学研究成果的报告，并组织专题讨论和技术交流。报告和论文从软体动物生殖机制的研究直至人类生育调节，内容丰富，有些已深入到亚细胞和分子水平。代表们认真地参加了各组的学术活动，并畅所欲言，踊跃提问，自由争论，充分发扬了百家争鸣的学术民主风气。

会议还倡议成立中国生殖生物学学会，以加强国内外生殖生物学工作者的联系，促进经验交流，推动本学科的发展。预期在一九八二年召开全国生殖生物学学会成立大会。

中国科学院上海细胞生物学研究所——王珮瑜——