

# 人白细胞干扰素对子宫内膜腺癌细胞系的作用研究

吴中明 张逸群 刘祖林

**摘要:**目的 观察人白细胞干扰素(IFN- $\alpha$ )对我们建立的子宫内膜腺癌细胞系(JEC)的细胞生长和细胞周期的影响。方法 将不同浓度:2000 u/ml、500 u/ml、100 u/ml 的 IFN- $\alpha$  与 JEC 共同培养 7 天, 检测 JEC 细胞生长曲线、细胞的凝集素受体表达, 并用流式细胞仪分析细胞周期的变化。结果和结论 IFN- $\alpha$  对 JEC 细胞的增殖有抑制作用, 浓度越大, 抑制作用越明显, 但不影响凝集素受体的表达; IFN- $\alpha$  可使 JEC 细胞 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期增加、S 期增加和 G<sub>2</sub>/M 期阻滞, 前者与 IFN- $\alpha$  浓度呈正相关, 而后者则为负相关。

**关键词:** 子宫内膜腺癌细胞系; 白细胞干扰素; 生长曲线; 细胞周期; 凝集素受体

IFN- $\alpha$  治疗肿瘤的效果变化较大, 不同的肿瘤甚至同一类型肿瘤而不同病人, 反应可能各异<sup>[1]</sup>。肿瘤细胞系是研究肿瘤细胞生物学行为的工具, 绝大多数研究 IFN- $\alpha$  的抗增生机理是以不同的、特别是血液系统的癌系细胞为基础的。我们在建立人子宫内膜腺癌细胞系(JEC)时<sup>[2]</sup>, 报道过 JEC 的体外药物敏感试验<sup>[3]</sup>, 本文探索 IFN- $\alpha$  对该细胞系的影响, 为临床应用 IFN- $\alpha$  治疗子宫内膜癌提供依据。

## 1 材料与方法

1.1 JEC 为贴壁生长的上皮样细胞, 用含 10% 新生小牛血清 RPMI1640、按每孔  $1.0 \times 10^5$ /ml 加入 24 孔板培养。

1.2 IFN- $\alpha$  成都生物制品研究所生产, 实验时用 JEC 细胞培养液稀释成每 ml 含: 2000<sup>u</sup>、500<sup>u</sup> 和 100<sup>u</sup> 浓度。在 JEC 传代 8 小时细胞贴壁后, 吸出原培养液, 加入不同浓度的 IFN- $\alpha$ , 每孔 1.0ml, 37°C 5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养, 2~3 天换液一次。从第二天开始, 用 0.2% 胰蛋白酶消化 3 孔细胞, 连续 9 天, 计数, 取其平均值绘制生长曲线, 并以未加 IFN- $\alpha$  者为对照。

1.3 流式细胞术 取经 7 天 IFN- $\alpha$  作用的 JEC 细胞, 消化吹散后用预冷 75% 酒精固定, 溴化乙啶一步插入性 DNA 定量染色, FACS420 型流式细胞仪(Becton Dickinson 公司生产)测定 DNA 含量并分析细胞周期分布。

1.4 IFN- $\alpha$  对 JEC 细胞凝集素受体的影响 取未加 IFN- $\alpha$  的 JEC 细胞和经不同浓度 IFN- $\alpha$  作用的 JEC 细胞作涂片, 干后冷丙酮固定, 用 12 种凝集素: 麦胚凝集素(WGA)、刀豆凝集素(ConA)、豌豆凝集素(PSA)、花生凝集素(PNA)、菜豆凝集素(PHA)、双花扁豆凝集素(DBA)、扁豆凝集素(LCA)、大豆凝集素

(SBA)、荆豆凝集素(UEA)、西非单叶豆凝集素(BSL)、蓖麻凝集素(RCA)和槐凝集素(SJA)及 ABC 试剂盒(均为美国 Vector 公司产品)检测。

## 2 结果

2.1 IFN- $\alpha$  对 JEC 生长的影响 加入不同浓度 IFN- $\alpha$  后, 在倒置镜下与对照组比较, 均可见到 JEC 细胞扩展速度受到抑制, 并有细胞脱落现象, 这种现象随 IFN- $\alpha$  的浓度升高而增强, 至第 7 天时, 虽然每孔仍有贴壁细胞生长, 计数结果表明, 试验组比对照组减少 2.8~6.1 倍, 但值得注意的是加入 IFN- $\alpha$  后癌细胞数比接种时的数量均有不同程度的增长(图 1)。

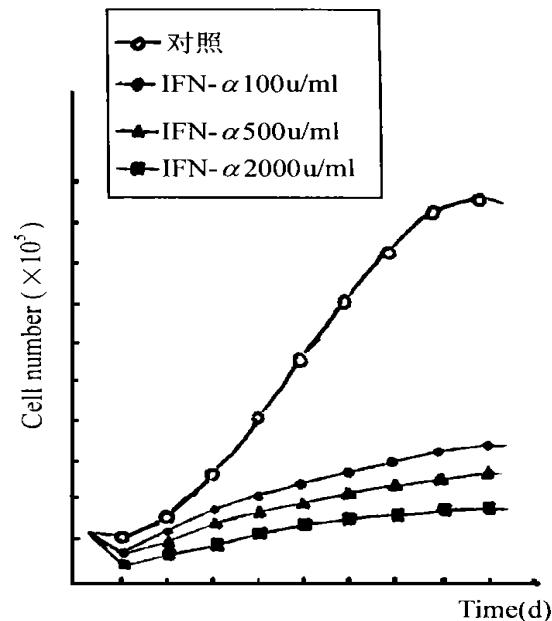


图 1 IFN- $\alpha$  对 JEC 生长曲线的影响

2.2 IFN- $\alpha$  对 JEC 细胞周期的影响 JEC 细胞与 IFN- $\alpha$  共同孵育 168 小时, 流式细胞仪检测的直方图见图 2, 细胞周期的分布见附表。结果表明, IFN- $\alpha$  作用后, JEC 的 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期和 S 期细胞显著增加( $P < 0.01$ ), 而 G<sub>2</sub>/M 期细胞则显著减少( $P < 0.01$ )。

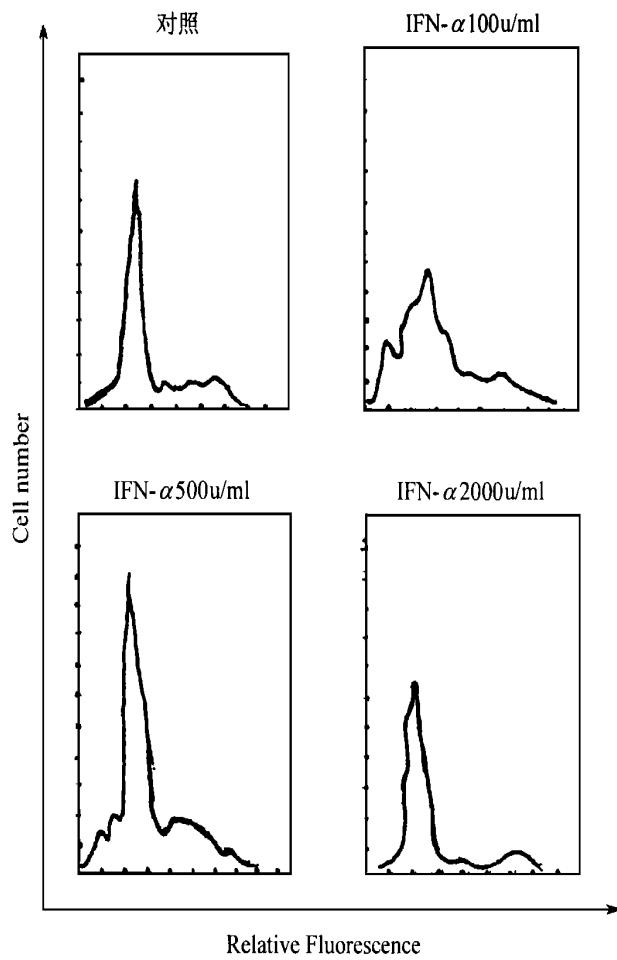


图2 JEC 细胞周期分析

## 附表

IFN- $\alpha$  对 JEC 细胞周期的影响

IFN- $\alpha$ 浓度	作用时间	细胞周期(%)		
		G <sub>1</sub> /G <sub>0</sub>	S	G <sub>2</sub> /M
2000 <sup>u</sup>	168h	63±3.7	20±1.2	17±1.0
500 <sup>u</sup>	168h	61±5.2	27±2.3	12±1.3
100 <sup>u</sup>	168h	59±9.1	35±5.4	6±0.9
对照		55±4.0	16±1.2	29±2.1

2.3 IFN- $\alpha$  作用后 JEC 的凝集素受体表达用 ABC 法测定, WGA、ConA、PSA、PHA、LCA 和 RCA 显阳性反应, 而 PNA、DBA、SBA、UEA、BSL 和 SJA 均为阴性。经不同浓度 IFN- $\alpha$  作用 1~7 d 后, 同法检查, 各凝集素受体的阳性或阴性表达都无变化。

## 3 讨论

IFN- $\alpha$  已经用于治疗各种病毒性疾病和恶性肿瘤。IFN- $\alpha$  的临床应用, 一疗程常规为 5~10 天。本研究采用癌系细胞与 IFN- $\alpha$  共同孵育 168 h, 与文献<sup>[1, 4, 5, 6, 7]</sup> 观察 12~96 h 比较, 所用的时间较长而合乎实际。本文结果表明, IFN- $\alpha$  对 JEC 细胞生长有明显抑制作用, 与对照组比较, 经 7 d 孵育后, 癌细胞总数少 2.8~6.1 倍, 但 IFN- $\alpha$  并不能使所有的癌细胞脱落, 相反地仍有较多的细胞生存下来, 这些细胞一旦换上没有 IFN- $\alpha$  的正常培养液, 照常可以增殖。

IFN- $\alpha$  对细胞增殖的影响是一个复杂的过程, 不同的肿瘤细胞的作用机理可以是不同的, 即使是同

一类型的肿瘤, 细胞周期的变化也互有区别。Arona 等曾报道<sup>[1]</sup> 两株人骨髓瘤细胞对 IFN- $\alpha$  相反的反应结果, IFN- $\alpha$  可以抑制 ANBL-6 细胞从 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期到 S 期, 但却能刺激 KAS-6 细胞的发展, 表明了 IFN- $\alpha$  对瘤细胞生长影响的异质性。IFN- $\alpha$  对 JEC 细胞周期的作用是多方面的, 首先不同浓度的 IFN- $\alpha$  均可使 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期明显升高, 并随 IFN- $\alpha$  剂量增大而作用增强; 其次, IFN- $\alpha$  可使 S 期比例增高, G<sub>2</sub>/M 期比例减少, 这两种变化与 IFN- $\alpha$  剂量则显负相关。提示适宜的 IFN- $\alpha$  剂量, 即可产生 S 期效应, 肿瘤细胞 S 期持续堆积, 导致不能有效地进入 G<sub>2</sub>/M 期而衰竭<sup>[5, 6]</sup>。

肿瘤细胞的多种受体与其生物学行为有关。JEC 细胞是一个雌激素受体和孕激素受体阴性的细胞, Lindner 等报告<sup>[7]</sup>, IFN 的抗瘤效应似乎与雌激素受体表达无关, 本研究用 ABC 定性方法的结果表明, IFN- $\alpha$  对 JEC 的凝集素受体表达亦无明显影响, 提示 IFN- $\alpha$  诱导细胞抑制非依赖 WGA、ConA、PSA、PHA、LCA 和 RCA 受体而产生, 但从定量的角度, IFN- $\alpha$  与这些凝集素受体的关系仍有待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Tanura A and Diane F. J., Differential myeloma cell responsiveness to

- [1] interferon-alpha correlates with differential induction of p<sub>19</sub>INK4d and cyclin D<sub>2</sub> expression. *J Biol Chem* 1998, 273(19): 11799
- [2] 吴中明, 刘祖林, 张逸群等. 人子宫内膜腺癌细胞系 JEC 的建立(研究简报). *遵义医学院学报*, 1991, 14(1): 44
- [3] 吴中明, 张逸群, 何年馨等. 子宫内膜腺癌细胞系 JEC 药物敏感性研究. *肿瘤防治研究*, 1993, 20(1): 17
- [4] Yangisawa K, Yamauchi H, Kaneko M, et al. Suppression of cell proliferation and the expression of a bcr-abl fusion gene and apoptotic cell death in a new human chronic myelogenous leukemia cell line KT-1, by interferon alpha. *Blood*, 1998, 91(2): 641
- [5] Qin XQ, Runkel L, Deck C, et al. Interferon beta induce S phase accumulation selectively in human transformed cells. *J Interferon Cytokine Res* 1997, 17(6): 355
- [6] Sangfelt O, Erickson S, Castro J, et al. Induction of apoptosis and inhibition of cell growth are independent responses to interferon alpha in hematopoietic cell lines. *Cell Growth Differ* 1997, 8(3): 343
- [7] Lindner DJ and Borden EC. Synergistic antitumor effects of a combination of interferon and tamoxifen on estrogen receptor-positive and receptor-negative human tumor cell lines in vivo and in vitro. *J Interferon Cytokine Res* 1997, 17(11): 681

## Effect of Interferon Alpha on Endometrial Adenocarcinoma Cell Line

WU Zhong-ming ZHANG Yi-qun LIU Zhu-ling

Zunyi Medical College, Zunyi 563003

**Abstract Objective** To observe effect of interferon alpha on cell growth and cell cycles of human endometrial adenocarcinoma cell line (JEC) established in our laboratory. **Methods** Effect of cell growth curve and lectin receptors on the cells were detected after incubation with different concentration at 2000<sup>U</sup>/ml, 500<sup>U</sup>/ml, 100<sup>U</sup>/ml of interferon alpha for 7 days, and alteration of cell cycle were analysed using flow cytometry. **Results and Conclusion** Interferon alpha can inhibit the proliferation of JEC and the growth of the cells were dose-dependently suppressed. There were no changes in expression of lectin receptors. The cells showed G<sub>1</sub>/G<sub>2</sub> and S increase, but G<sub>2</sub>/M arrest, it was positive correlation between the former and the concentration of interferon alpha, however, the two latters were negative correlation.

**Key words:** Endometrial adenocarcinoma cell line; Interferon alpha; Growth curve; Cell cycle; Lectin receptors

## 吡喃阿霉素、阿霉素在联合化疗治疗恶性肿瘤中的比较

黄杰 郑显明 巫云立

我科自 1996 年 8 月 ~ 1998 年 9 月使用深圳万乐药业有限公司生产的 THP 与 ADM 为主的联合化疗治疗恶性肿瘤进行临床比较, 报告如下。

### 1 资料和方法

#### 1.1 临床资料

THP 组: 17 例, 男性 11 例, 女性 6 例, 年龄 35~66 岁, 平均 48 岁, 非小细胞肺癌 12 例。ADM 组: 15 例, 男性 9 例, 女性 6 例, 年龄 32~65 岁, 平均 45.5 岁, 非小细胞肺癌 10 例, 两组均为晚期病人。

#### 1.2 治疗药物及方法

THP 组: 方案 CTX+THP+DDP, THP 用量 25 mg/m<sup>2</sup>, 静推第 1、8 天, 3~4 周重复。ADM 组: 方案 CAP(CTX+ADM+DDP), ADM 用量 40 mg/m<sup>2</sup>, 静推第一天, 3~4 周重复, 两组均治疗两周期以上。

### 2 结果

2.1 近期疗效 两组均无 CR 病例, THP 组总有效率为 52.9%, ADM 组总有效率为 40%。

2.2 毒副作用 两组在化疗过程中均配合使用恩丹西酮等止吐药, 消化道反应较轻。骨髓抑制白细胞下降 II 度以上 THP 组占 23.5%(4/17), ADM 组占 60%(9/15)。血小板下降

II 度以上 THP 组占 23.5%(4/17), ADM 组占 26%(4/15)。脱发率 II 度以上 THP 组、ADM 组分别为 23.5%(4/17)、53.3%(8/15), THP 组无心脏毒性, ADM 组有 2 例, 两组均无明显肝肾毒性。

### 3 讨论

THP 作为新型蒽环类抗肿瘤药物, 其抗肿瘤活性强, 抗肿瘤谱广, 文献报道与 E-ADM 疗效相当, 优于 ADM, 在心脏毒性方面低于 E-ADM、ADM, 在骨髓抑制方面无差异性, 剂量限制主要为骨髓抑制, 表现为白细胞、血小板下降, 尤以白细胞及血小板下降明显。本文 THP 组、ADM 组有效率分别为 52.9%(9/17) 和 40%(6/15), 与文献报道相似。血液系统毒性主要为白细胞及血小板下降, 多为 I ~ II 度, 经使用升白细胞药物后一般在 1~2 周内恢复。脱发 II 度以上 THP 组为 23.5%(4/17), ADM 组 53.3%(8/15), 胃肠道反应两组相似, 由于两药结构上的差异, THP 心脏毒性降低, 本文中 THP 组无明显心脏毒性反应, 而 ADM 组中有两例发生心脏毒性, 通过以上临床观察, 认为 THP 是一个安全的蒽环类抗癌药物, 尤其是脱发、心脏毒性轻, 值得临床推广应用。