

# 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、100u/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<sup>5</sup>/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 $^{\circ}$ 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)、碗豆凝集素(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)。

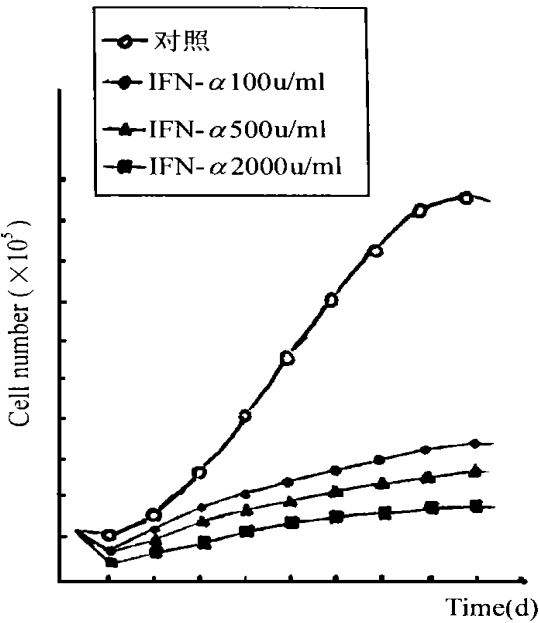


图 1 IFN- $\alpha$  对 JEC 生长曲线的影响

2.2 IFN- $\alpha$  对 JEC 细胞周期的影响 JEC 细胞与 IFN- $\alpha$  共同孵育 168 小时后,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( $P<0.01$ )。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39160077)  
作者单位:563003 遵义医学院

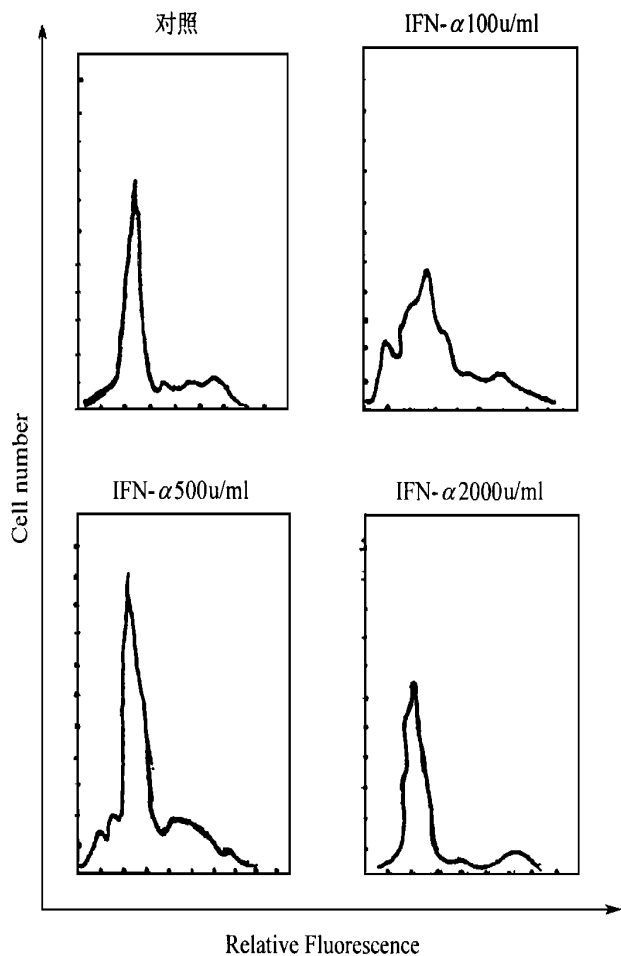


图 2 JEC 细胞周期分析

附表 IFN-α 对 JEC 细胞周期的影响				
IFN-α 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-α 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-α 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-α 已经用于治疗各种病毒性疾病和恶性肿瘤。IFN-α 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-α 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-α 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-α 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-α 的正常培养液, 照常可以增殖。

IFN-α 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-α 相反的反应结果, IFN-α 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-α 对瘤细胞生长影响的异质性。IFN-α 对 JEC 细胞周期的作用是多方面的, 首先不同浓度的 IFN-α 均可使 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期明显升高, 并随 IFN-α 剂量增大而作用增强; 其次, IFN-α 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-α 剂量则显负相关。提示适宜的 IFN-α 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-α 对 JEC 的凝集素受体表达亦无明显影响, 提示 IFN-α 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-α 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

interferon- $\alpha$  correlates with differential induction of p19INK4d 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] Yanagisawa 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 latter 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 CTP (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。