

[文章编号] 1007-385X(2007)02-0163-06

· 论 著 ·

人肝癌裸鼠连续传代的病理变化特征

陶文照¹, 徐冰², 龚志锦¹, 倪灿荣¹ (1. 第二军医大学长海医院病理科, 上海 200433; 2. 南方医科大学实验动物学教研室, 广州 510515)

[摘要] **目的:** 探讨裸鼠人肝癌 20 年连续传代的病理变化特征。**方法:** 裸鼠人肝癌组织模型(SMMU-LTNM)连续观察 20 年(1987-2007 年), 皮下移植瘤传至 228 代, 建立腹腔移植瘤、肝原位移植瘤及 NOD-SCID 小鼠肝原位移植瘤的病理资料, 经光镜、电镜、图像分析、染色体分析、周围血液 AFP 检测等方法分析病理变化特征。**结果:** (1) 上述 4 种肿瘤模型的局部侵袭和转移均长期存在: 皮下移植瘤的局部侵袭率为 59.70% (40/67), 肺内转移率为 37.10% (23/62); 腹腔移植瘤的肺内转移率为 59.02% (36/61); 肝原位移植瘤的肝内转移率为 18.18% (4/22), 肺内转移率为 31.82% (7/22); NOD-SCID 小鼠肝原位移植瘤的肺内转移率为 53.85%。(2) 皮下移植瘤的组织学变化: 第 10 代前的瘤细胞分化和组织结构与原发性肝癌近似, 以 II 级分化、粗梁型为主; 第 11 代至 225 代瘤细胞以分化 III 级、团块型为主, 电镜下亦证实瘤细胞分化更差。(3) AFP 检测第 32 代前为 92 500 $\mu\text{g/L}$, 第 33 代至 130 代 AFP 下降为 6 729 $\mu\text{g/L}$, 220 代 AFP 检测为 1 000 ~ 5 000 $\mu\text{g/L}$ 。(4) 腹腔移植瘤的瘤细胞群体与肺转移瘤的瘤细胞群体 DNA 含量分布范围明显增宽, 2C ~ 6C 不等, 峰值明显右移, 前者的分布范围比后者更宽; DNA 含量分别为 2.60 ± 0.20 和 2.10 ± 0.26 。(5) 染色体检测, 第 55 ~ 206 代(相隔 12 年)部分瘤细胞染色体变为裸鼠染色体。**结论:** 裸鼠皮下移植瘤可连续传代 20 年, 局部侵袭及转移的恶性生物学行为不变; 瘤细胞分化更差, AFP 下降, 部分瘤细胞染色体变为裸鼠染色体。这些病理变化可能与裸鼠内环境影响和瘤细胞的多潜能分化有关。

[关键词] 肝细胞癌; 裸鼠; 连续传代; 病理变化

[中图分类号] R735.7 **[文献标志码]** A

Pathological changes of human hepatocellular carcinoma after continuous passing in nude mice

TAO Wen-zhao¹, XU Bing², GONG Zhi-jin¹, NI Can-rong¹ (1. Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Laboratory Animal Science, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the pathological changes of human hepatocellular carcinoma (HCC) after continuous passing in nude mice. **Methods:** The mice model of HCC SMMU-LTMN were continuously observed for 20 years (1987-2007). The subcutaneously transplanted carcinoma had been passaged for 228 generations. The pathological data of abdominally transplanted HCC, orthotopically transplanted HCC in nude mice, and orthotopically transplanted HCC in NOD-SCID mice were recorded. The pathological studies were conducted by light microscope, electron microscope, image analysis, chromosomal analysis, and measurement of alpha-fetoprotein (AFP) in peripheral blood. **Results:** (1) The local invasion and metastasis of tumors were present in all the above 4 models for a long time. The local invasion rate and the pulmonary metastasis rate of subcutaneously transplanted tumors were 59.70% (40/67) and 37.10% (23/62), respectively. The pulmonary metastasis rate of abdominally transplanted tumors was 59.02% (36/61). The intra-hepatic and pulmonary metastasis rate of the orthotopically transplanted tumors were 18.18% (4/22) and 31.82% (7/22), respectively. The pulmonary metastasis rate of HCC in NOD-SCID mice was 53.85%. (2) The tissue structure and the differentiation of the 10th generation tumor cells was similar to those of primary HCC, with grade 2 differentiation and coarse trabecular pattern as the main characteristics. From the 11th generation to the 228th generation, the main characteristics of tumor cells were grade 3 differentiation and lump pattern. Electron microscope also showed worse differentiation. (3) The AFP level was 92 500 $\mu\text{g/L}$ in cells before the 32th generation; it decreased to 6 729 $\mu\text{g/L}$ from the 33th-130th gener-

[作者简介] 陶文照(1929-), 男, 江苏如东人, 教授, 主要从事肿瘤病理学研究

[通讯作者] 陶文照, E-mail: wztiao2002@yahoo.com.cn

ation cells; and the level of the 220th generation was 1 000-5 000 $\mu\text{g/L}$. (4) The DNA contents had a wide distribution (from 2c to 6c) in abdominally transplanted tumors and the pulmonary metastatic tumors; the mean DNA index in the former tumors (2.60 ± 0.20) was wider than the that in the latter (2.10 ± 0.26). (5) From the 55th generation to 206th generation, it was found that tumor cells had integrated into the chromosome of the nude mice. **Conclusion:** The subcutaneously transplanted HCC in nude mice can be stably expressed for 20 years, with no change in the local invasion and metastasis ability of HCC. The differentiation of the tumor cells worsenes and the AFP level is decreased in the blood; some chromosome of tumor cells integrate into the chromosome of nude mice, which may be related to the internal environment of nude mice and the multi-potential differentiation of the tumor cells.

[**Key words**] human hepatocellular carcinoma; nude mice; continued generation; pathological change

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(2):163-168]

自 1969 年 Ryaard^[1]首次将人结肠癌组织移植于无胸腺的裸小鼠体内,成功地建立了人类肿瘤皮下移植瘤模型后,国内外利用裸小鼠已经建立了人类多种肿瘤移植瘤的模型。人肝癌组织裸鼠模型于 1976 年 Shimosato 首先报道,国内 1982 年汤钊猷等报道了 5 株人肝癌裸鼠模型,后来有人建立裸鼠人肝癌高转移的模型进行机制和治疗性研究^[2-5]。作者于 1987 年建立 1 株具有局部侵袭和转移的裸鼠人肝癌组织模型^[6]。本工作总结该模型连续传 228 代、历时 20 年(1987-2007 年)的病理变化特征,探讨人肝癌在裸鼠体内的形态、侵袭、转移以及染色体的变异,为防治肝癌提供基础性资料。

1 材料与方法

1.1 动物组织模型的建立

选用作者建立的 1 株人肝癌组织裸鼠模型(SMMU-LTNM),采用裸鼠皮下移植瘤 67 例、腹腔移植瘤 61 例、肝原位移植瘤 22 例、NOD-SCID 小鼠肝原位移植模型的病理资料。NOD-SCID 小鼠和裸鼠购自第二军医大学实验动物中心,实验动物合格证号为 SCXK(沪)2002-0006;由上海市肿瘤研究所提供实验小鼠的合格证号为 SCXK(沪)2002-0001。

1.2 血清学检测

处死小鼠前,采用摘除眼球法取血,130 代前每次传代时检测 AFP,以后每隔 1~2 年检测 AFP。 $\gamma\text{-GT II}$ 仅在 210 代时检测过 1 次,凡出现 I、II、III 任一带均为阳性。

1.3 解剖学和组织学检查瘤体的各项指标

常规解剖,观察瘤体大小、数目、附着部位、肿瘤的局部侵袭和转移等。取瘤体、主要器官、淋巴结等组织,用 10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋,切片, H-E 染色,光镜观察。

1.4 电镜检查皮下移植瘤

每隔 3~4 年皮下移植瘤作一次常规透射电镜

制片, H7 000 电镜观察,有 2 例作扫描电镜观察。

1.5 DNA 含量测定

对 7 例腹腔内移植瘤肺转移的裸鼠,作 Fenlgen 染色,采用美国 Apollo 公司 DN3500 图像分析仪,每张切片 100 个瘤细胞,并测定 4 例正常成人肝细胞各 100 个作 DNA 含量二倍体(2C)对照。

1.6 染色体变异检测

第 55 代、206 代各检测过多次,中间相隔 12 年。对移植瘤采用细胞培养方法,由长海医院妇产科和第二军医大学国际协作肿瘤研究所协助检测,每代各测 10 个瘤细胞的分裂染色体数,并观察染色体的变异性。

2 结果

2.1 移植瘤的生长方式和组织学变化

皮下移植瘤、腹腔移植瘤、肝原位移植瘤均经过潜伏期约 2 周、增殖期 3~5 周、相对静止及坏死期,从瘤体中央开始坏死,瘤体边缘是存活的。10 代前瘤细胞分化及组织结构与原人肝癌细胞近似,以 II 级分化、粗梁型为主;11 代以后的瘤细胞为 III 级分化、团块型为主,瘤间质少,可见毛细血管和血管湖,薄层不完整的纤维包膜,偶见癌栓(图 1A)。

2.2 移植瘤超微结构改变

上述 3 种移植瘤均具有人肝癌细胞的超微结构特点。透射电镜下见瘤细胞核大而形不规则,核仁大而多,有网状核仁,可见核分裂相及假包涵体形成。胞质内细胞器的含量有明显差异,有的粗面内质网增多,呈同心体排列;有的内质网扩张,线粒体密集,肿胀,其嵴减少,可见脂肪滴及空泡。细胞间隙明显增宽,可见血窦结构,偶见毛细胆管样结构。第 107 代(1998 年 11 月)及 220 代(2006 年)见瘤细胞分化更差,核大而不规则或呈波浪形,网状核仁呈链条状排列,细胞器更少(图 1B、C)。第 4 代时扫描电镜下见瘤细胞断裂面多呈卵圆形、长条形,表

面伸出多数微突,并以微突与相邻瘤细胞连接,瘤细胞呈梁状排列,有血窦结构。

2.3 NOD-SCID 小鼠与 BALB/c 裸小鼠肝原位移植瘤的比较

两种小鼠肝内成瘤率均为 100%,但 NOD-SCID 小鼠的瘤体积和瘤重明显大于裸小鼠,发生的肺转移率也明显高于裸小鼠(图 2A);经统计学分析,两

者瘤体积、瘤重及肺转移率的差异具有非常显著意义($P < 0.01$,表 1)。SCID 小鼠的 AFP 值为($22\ 384.62 \pm 38\ 769.70$) $\mu\text{g/L}$,裸小鼠的 AFP 值为($5\ 525.00 \pm 9\ 945.67$) $\mu\text{g/L}$,NOD-SCID 小鼠组 AFP 值高于裸小鼠组,但统计学无显著差异($P > 0.05$)。两种小鼠 γ -GT II 均为阳性。

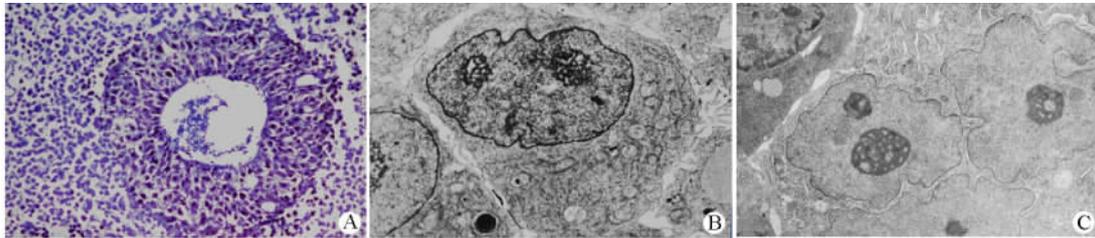


图 1 皮下移植瘤的组织学和超微结构

Fig. 1 Histology and ultrastructure of subcutaneously transplanted tumor

A: 220th generation nude mice of subcutaneously transplanted tumors, grade 3 differentiation (H-E, $\times 264$);
B: 4th generation tumor cells with obvious mitosis, with 2 reticulate nucleoli (EM, $\times 6\ 000$); C: 219th generation tumor cell nuclei were obviously woven, with larger nuclei and less cytoplasm (EM, $\times 4\ 000$)

表 1 两种小鼠的成瘤和转移情况比较

Tab. 1 Comparison of tumor growth and metastasis in 2 groups

Groups	<i>n</i>	Tumor growth rate(%)	Tumor volume (V/cm^3)	Tumor mass (m/g)	Lung metastasis rate(%)
Nude mice	8	100	1.02 ± 0.70	2.87 ± 0.44	0
NOD-SCID mice	13	100	$4.48 \pm 0.93^{**}$	$7.02 \pm 1.15^{**}$	53.85^{**}

** $P < 0.01$ vs nude mice

2.4 移植瘤局部侵袭和转移的特点

皮下移植瘤局部侵袭和转移,突破包膜 12 例,侵入肌组织 15 例,侵入腹腔 9 例,侵入肋骨、脾、胰各 1 例,局部侵袭率为 59.70%(40/67);经血路转移肺的发生率为 37.10%(23/62)。腹腔移植瘤侵袭肌组织 5 例、小肠和胰各 2 例、肾和睾丸各 1 例,局部侵袭率为 18.03%(11/61);肺转移率为 59.02%(36/61)(图 2B),肝内转移率为 8.20%(5/61)。

肝原位移植瘤的局部侵袭与转移,瘤组织对肝组织呈侵袭性或膨胀性生长,前者见瘤细胞与肝细胞紧密接触至肝细胞呈溶解性坏死,或者瘤细胞伸出伪足沿肝窦间隙侵入;后者侵袭至肝细胞呈压迫性萎缩坏死。肝内转移率为 18.18%(4/22),可见门管区小叶间静脉内有瘤栓形成,瘤组织突破血管壁向肝组织内侵袭(图 2C)。肺内转移率为 31.82%(7/22)。上述 3 种不同部位的移植瘤从未

发现有淋巴结转移。

2.5 移植瘤细胞 DNA 含量变化

正常人肝细胞群体的 DNA 含量分布范围局限,其峰值位于 DNA 含量 2C 水平;移植瘤的细胞群体和肺转移瘤的细胞群体的 DNA 含量分布范围明显增宽,2C~6C 不等,峰值明显右移;腹腔内移植瘤的细胞群体 DNA 含量分布范围比肺转移瘤更宽些(图 3)。肺转移瘤细胞核 DNA、NP 和 NMD 的 3 种形态特征定量显示,移植瘤 > 肺转移瘤 > 正常人肝细胞。移植瘤和肺转移瘤的各种测量值与正常人肝细胞比较,均有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,表 2)。

2.6 移植瘤细胞染色体的变化

第 55 代时中期分裂相染色体数为 37~88 个,平均为 62.5 个;第 206 代的染色体数为 54~110 个,平均为 72.9 个。并发现后者的部分瘤细胞中的染色体变异为裸鼠染色体(图 4)。

2.7 血清学的检测结果

1 ~ 32 代检测血清 AFP 的平均值为 92 500 $\mu\text{g/L}$, 33 ~ 130 代检测血清 AFP 的平均值为

6 727 $\mu\text{g/L}$, 220 代时检测 AFP 为 1 000 ~ 5 000 $\mu\text{g/L}$ 。 $\gamma\text{-GT II}$ 检测在 220 代时显示阳性。

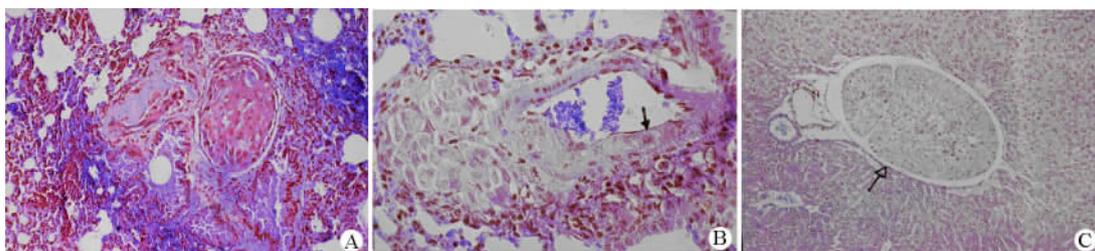


图 2 移植瘤的转移

Fig. 2 Metastasis of transplanted tumors

A: NOD-SCID mice 210th generation, the metastasis tumor thrombs in smaller artery branch of lungs ($\times 250$); B: The pulmonary metastasis tumors, tumor cells (\uparrow) invaded smaller artery branch of lungs, infiltrating artery wall into the lung tissues ($\times 504$); C: The intrahepatically transplanted tumor, liver portal area in interlobular vein metastatic tumor thrombus (\uparrow) ($\times 115$)

表 2 正常人肝细胞、裸鼠腹腔移植瘤及肺转移瘤细胞核的形态特征

Tab. 2 Cell nucleus morphologic charateristics of normal human liver cells, abdominal transplanted tumors in nude mice and pulmonary metastasis tumors

Groups	Morphologic characteristics					
	NA($A/\mu\text{m}^2$)	NP($L/\mu\text{m}$)	NMD($L/\mu\text{m}$)	FF	NR-PA	DNA
Normal human liver cells	28.61 \pm 1.74	33.82 \pm 4.42	5.79 \pm 0.16	0.36 \pm 0.07	0.58 \pm 0.06	2.0 \pm 0.07
Abdominal transplanted tumors	43.07 \pm 1.51 * * \blacktriangle	59.29 \pm 8.03 * * \blacktriangle	7.07 \pm 0.16 *	0.20 \pm 0.06 * \blacktriangle	0.42 \pm 0.06 *	2.6 \pm 0.20 * \blacktriangle
Pulmonary metastasis tumors	38.95 \pm 5.15	49.64 \pm 10.93	6.70 \pm 0.42	0.26 \pm 0.09	0.48 \pm 0.09	2.1 \pm 0.26

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs normal human liver cells; $\blacktriangle P < 0.05$ vs pulmonary metastasis tumors

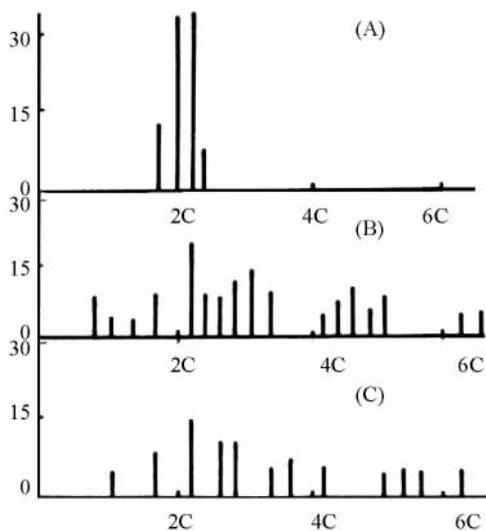


图 3 正常人肝细胞 (A) 和裸鼠人肝癌腹腔内移植瘤 (B) 及其肺内转移瘤 (C) 的 DNA 含量

Fig. 3 DNA contents in normal human liver cells (A), abdominal transplanted tumors (B), and pulmonary metastasis tumors (C)

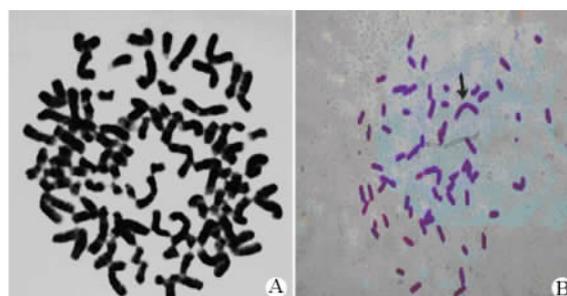


图 4 移植瘤细胞染色体的变化

Fig.4 Chromosome changes of transplanted tumor cells ($\times 1\ 000$)

A: 55th generation tumor cells chromosome with human hepatocellular carcinoma characteristics; B: 206th generation chromosome have obvious changes, with less specific chromosome (\uparrow), the chromosome of partial tumor cells changed into the chromosome of nude mice

3 讨论

3.1 人肝癌裸鼠模型连续传代的形态和功能

根据文献^[7]报道,移植瘤最初的形态与功能基

本上保持了人肝癌的特点,本模型所得结果亦符合这一点。Hirohashi 等^[7]报告,5 株 LTNM 中有 4 例近似原先人肝癌的形态特征,但有 1 株来自人肝癌梁状组织结构型,在裸鼠移植后变为分化差的腺癌。上海医科大学报道 5 株 LTNM,个别模型癌细胞分化由Ⅳ级降为Ⅲ级和由Ⅲ降为Ⅱ级。而本模型从第 11 代开始,癌细胞分化由原Ⅱ级变为Ⅲ级分化;其组织结构由粗梁型变为团块型;其超微结构显示分化更差。本模型在 32 代前 AFP 平均值 92 500 $\mu\text{g/L}$,第 33 代至 130 代(建株后 3 年)检测 AFP 平均值下降为 6 729 $\mu\text{g/L}$,在 220 代时(建株后 19 年)监测 AFP 仍为低水平阳性。这与临床上分化差的肝癌 AFP 分泌量少的观点是一致的。

肝癌细胞的染色体变异已有不少报道^[8-9]。本模型瘤细胞的染色体数,55 代的平均值为 62.5 个,而在 206 代,相隔 12 年后其染色体数平均值增至 72.9 个。部分瘤细胞明显变异为裸鼠染色体,但仍保留有人肝癌细胞的染色体。一般认为这种瘤细胞内并存两种染色体是裸鼠对瘤细胞的排异反应,而对瘤细胞来说是一种适应过程,实际上是细胞的杂交现象。但这些不变异的肝癌细胞染色体是否为人肝癌细胞特征性、本质性的染色体,对此有待进一步探讨。

上述移植瘤形态与功能的变化,是人肝癌细胞受裸鼠机体内环境影响所致,还是肝癌细胞具有多种分化潜能的一种反应,或者两者兼有,这方面资料还少,有待进一步研究。

3.2 移植瘤的局部侵袭与转移过程

恶性肿瘤的侵袭机制有肿瘤的机械压迫、瘤细胞迁移和细胞外基质酶性降解等因素^[10-12]。Reich 等^[10]研究表明,转移瘤侵袭基底膜是因Ⅳ型胶原酶分泌增加,致使基底膜破坏。本研究 3 种移植瘤对靶组织的侵袭过程是:(1)瘤细胞在大量增殖的基础上,对靶组织包膜密切接触,并产生压迫作用,使包膜萎缩变性坏死;(2)瘤细胞突破包膜后沿组织间隙浸润,并同时向主质细胞侵袭,有些瘤细胞侵入细胞内;有些瘤细胞与肝细胞紧密接触,致肝细胞溶解坏死,但没有压迫性萎缩性改变;(3)瘤细胞侵袭、破坏血管,致瘤细胞侵入血液,产生血路转移。本组模型中曾观察到瘤细胞侵入血管壁内的图像。在肝原位移植瘤中有 4 例发现门管区小叶间静脉内瘤栓,在此基础上发生新的转移灶。肿瘤的侵袭是一极其复杂的生物学过程,不仅与肿瘤本身的生长特性、对组织的机械压迫、运动性和产生溶解的能力有关,还与宿主的组织结构和功能密切相关。恶性

肿瘤最基本的生物学特征就是侵袭与转移,而后者又是前者的延续。早年报道裸鼠移植瘤,多强调无侵袭和转移。有学者观察到 6 种癌细胞株裸鼠移植瘤皮下传代过程中不同移植瘤均有不同程度侵袭与转移。本组 SMMU-LTNM 的 3 种不同部位的移植瘤均有不同程度的肺和肝内转移。

一些研究结果表明,瘤细胞的 DNA 倍体水平与肿瘤生物学特性有关。肝癌 DNA 含量水平与肝癌生物行为具有明显相关性,是反映生物学特性有价值的客观指标。而本研究表明腹腔移植瘤的 DNA 含量要高于肺转移瘤,推测可能与肿瘤的异质性有关,即肺转移瘤是一群体积较小、DNA 含量较高的瘤细胞克隆。

目前,癌转移分子病理学研究表明,转移是癌组织多基因活动和多种细胞特性的总和,并且受到宿主体内环境影响^[13-14]。本研究近期应用两种不同免疫缺陷动物作肝原位移植结果表明,T、B、NK 细胞联合免疫缺陷的 NOD-SCID 小鼠肺部移植率明显高于 T 细胞免疫缺陷的 BALB/c-nu/nu 裸小鼠,这说明肿瘤的转移与免疫功能有关。本模型连续传代 228 代,历时 20 年,其恶性生物学行为不但未改变,而瘤细胞分化更差,这可能与移植瘤具有恶性遗传基因有关。近期动物实验结果表明,特定基因的改变可明显延长或缩短生物体的寿命,提示生物体的衰老过程是受遗传基因控制的程序性过程^[15-17]。

[参考文献]

- [1] Rygaard J, Povlsen CO. Heterotransplantation of a human malignant tumor to nude mice[J]. Acta Pathol Microbiol Scand, 1969, 77(4): 758-760.
- [2] Rashidi B, Sun FX, Jiang P *et al.* A nude mouse model of massive liver and lymph node metastasis of human colon cancer[J]. Anticancer Res, 2000, 20(2A): 715-722.
- [3] Sun FX, Tang ZY, Lui KD, *et al.* Establishment of metastatic model of human hepatocellular carcinoma in nude mice via orthotopic implantation of histologically intact tissues[J]. Int J Cancer, 1996, 66(2): 239-243.
- [4] Yamada N, Chung YS, Arimoto Y, *et al.* Establishment of a new human extra hepatic bile duct carcinoma cell line(OCUCh-LMI) and experimental liver metastatic model[J]. Br J Cancer, 1995, 71(3): 543-548.
- [5] Zhang ZL, Liu ZS, Sun Q. Effects of thalidomide on angiogenesis and tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma in nude mice[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(2): 216-220.
- [6] 陶文照, 郑唯强, 龚志锦. 人肝癌组织裸鼠腹腔内和肝原位移植显示肿瘤侵袭与转移[J]. 第二军医大学学报, 1998, 19(1): 54-56.

- [7] Hirohashi S, Shimosato Y, Kameya T, *et al.* Production of alpha-fetoprotein and normal serum proteins by xenotransplanted human hepatomas in relation to their growth and morphology[J]. *Cancer Res*, 1979, 39: 1819-1828.
- [8] 王娟,倪虹,陈力,等. 肝癌细胞的染色体变异[J]. *国外医学:遗传学分册*, 2004, 27(2): 90-93.
- [9] Hwang HJ, Kim GJ, Lee GB, *et al.* A comprehensive karyotypic analysis on Korea hepatocellular carcinoma cell lines by cross-species color banding and comparative genomic hybridization[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2003, 141(2): 128-137.
- [10] Reich R, Thompson EW, Iwamoto Y, *et al.* Effects of inhibitors of plasminogen activator, proteinases, and collagenase IV on the invasion of basement membranes by metastatic cells[J]. *Cancer Res*, 1988, 48(12): 3307-3312.
- [11] Aznavoorian S, Murphy AN, Stetler-Stevenson WG, *et al.* Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis[J]. *Cancer*, 1993, 71(4): 1368-1383.
- [12] Tarin D, Matsumura Y. Recent advances in study of tumor invasion and metastasis[J]. *J Clin Pathol*, 1994, 47(5): 385-390.
- [13] 王吾如. 关于癌转移分子病理学研究[J]. *中华病理学杂志*, 1994, 23(4): 197-199.
- [14] Tang ZY, Ye SL, Liu YK, *et al.* A decade's studies on metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2004, 130(4): 187-196.
- [15] Hekimi S, Guarente L. Genetics and the specificity of aging process[J]. *Science*, 2003, 229: 1351-1354.
- [16] 陈等,张俊武. 小鼠衰老相关新基因 Arzc 的克隆[J]. *中国医学科学院学报*, 2005, 27(2): 194-198.
- [17] Semeiks JR, Grate LR, Mian IS. Text-based analysis of genes, proteins, aging and cancer[J]. *Mech Ageing Dev*, 2005, 126(1): 193-208.
- [收稿日期] 2006 - 12 - 24 [修回日期] 2007 - 02 - 19
[本文编辑] 郁晓路

· 科技动态 ·

类前列腺素 DP1 受体的活化可通过调节肺树突状细胞功能与诱导调节性 T 细胞来抑制哮喘

哮喘是一种 Th2 淋巴细胞介导的炎症性疾病,其主要特点是气道嗜酸性粒细胞增多与气道重建、杯状细胞增生,及支气管高反应性。前列腺素是强大的炎症调节分子,可以作用于造血或非造血细胞上的不同受体,从而增强或抑制炎症。前列腺素 D2(PGD2)在肺内主要来源于肥大细胞,它的受体是 DP1 与 DP2。一般认为 PGD2 是一种促炎分子,可导致血管舒张、支气管收缩及嗜酸性粒细胞与 Th2 细胞的浸润。但是,近年来研究发现,前列腺素产生的缺失或减少反而加重了哮喘等炎症反应。因此推测,前列腺素可能作用于不同的受体而发挥各自的促炎或抗炎效应。譬如, PGE2 可通过作用于 EP4 或 EP3 受体而分别发挥促进或抑制 Th2 反应。那么是否 PGD2 也可通过选择性地作用于 DP1 或 DP2 受体而发挥抗炎效应呢? 目前仍然不完全清楚。2000 年美国《科学》杂志报道了 DP1 受体敲除小鼠的哮喘症状明显减轻,提示 DP1 受体可能介导了 PGD2 的促炎效应。另有报道, PGD2 的促炎效应也可由 DP2 受体来介导,可导致嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞与 Th2 细胞的浸润与支气管高反应性。

最近,来自荷兰的 Lambrecht 实验小组在 2007 年 2 月的《实验医学杂志》上报道了吸入 DP1 选择性激动剂可通过调节肺树突状细胞(DC)的功能来抑制哮喘。该研究发现,小鼠在哮喘激发前吸入 DP1 激动剂可有效抑制哮喘的主要症状与病理特征,并且能够影响肺树突状细胞的成熟与功能。而且,经 DP1 激动剂处理 DC 的小鼠纵膈淋巴结内 Foxp3⁺ CD4⁺ 调节性 T 细胞的比例增加,同时体外暴露于 DP1 激动剂的 DC 能够在体外及体内诱导 OVA 特异性的 CD4⁺ T 细胞分化为调节性 T 细胞,这些调节性 T 细胞以 IL-10 依赖的方式来抑制哮喘的炎症反应。DP1 激动剂对 DC 的影响是由 CAMP 依赖的蛋白激酶 A 来介导的。进一步研究发现,内源性配体活化 DP1 受体可抑制小鼠气道炎症,因为选择性造血细胞内 DP1 缺失的嵌合小鼠其气道炎症反应明显增强,而且抗原荷载 DP1 缺失的 DC 能更好地诱导肺内气道 Th2 免疫反应。

该研究结果与《科学》杂志报道的采用 DP1 受体敲除小鼠所得到的结果截然相反,后者发现 DP1 受体敲除小鼠的哮喘症状明显减轻,从而表明 DP1 的活化可加重炎症反应。这两个研究的差异在于前者研究中 DP1 的缺陷只是造血细胞,而肺内表皮细胞、成纤维细胞及平滑肌细胞等结构细胞并没有 DP1 缺陷;而后者研究中所有结构细胞及造血细胞的 DP1 都有缺陷。又因为肺内各种结构细胞在哮喘发生发展中也发挥了重要的作用,因此结构细胞对 PGD2 所产生的促炎症效应可能掩盖了造血细胞对 PGD2 作用所产生的抗炎效应。根据 PGD2 促炎效应的理念, DP1 选择性拮抗剂已被推荐为一种新的抗哮喘药物。而该研究结果恰好与上述理念相反,这些 DP1 选择性拮抗剂可能通过影响 DC 的功能而增强过敏原的致敏与哮喘炎症反应。因此该研究结果提示, DC 上 DP1 受体可能是诱导调节性 T 细胞及控制气道炎症程度的一个重要机制,这一机制可用于开发设计新的哮喘治疗方案;选择性 DP1 激动剂通过影响气道 DC 功能而发挥抗炎作用对治疗哮喘有重要的临床意义。

[许熊飞 摘译,郭振红 审阅. Hammad H, Kool M, Soullie T, *et al.* *J Exp Med*, 2007, 204(2): 357-367]