

文章编号: 1000 - 582X(2002)09 - 0066 - 03

肝癌细胞形态和生长行为对基底拉伸的响应*

王红兵, 黄岂平, 秦建, 卢晓, 王远亮, 蔡绍哲

(重庆大学 生物工程学院生物力学与组织工程教育部重点实验室, 重庆 400044)

摘要: 采用“四点弯曲梁加载装置”, 对培养的人肝癌细胞株 SMMC - 7721 施以拉伸刺激, 通过显微计算机图像处理系统了解其形态变化, 流式细胞仪了解其增殖行为, 结果发现 1) 加载 24 h 后 SMMC - 7721 G2 - M 期 8.63%, 对照组 15.92%; 2) 加载 72 h 后 SMMC - 7721 铺展投影面积缩小; 3) 加载 24 h 后 SMMC - 7721 分裂指数 0.46, 对照组 0.55。加载可部份抑制 SMMC - 7721 的生长。

关键词: SMMC - 7721; 机械拉伸; 生长抑制

中图分类号: Q66

文献标识码: A

本世纪初人们已认识到物理力对调节组织的宏观生长的重要性。最新的研究表明体外直接的机械干扰可改变许多不同种类细胞的新陈代谢^[1]。细胞骨架系统为细胞传导和整合机械信号提供了分子通路^[2]。肿瘤细胞快速的生长增殖行为, 使其细胞骨架解聚与聚合等功能活动频繁, 细胞骨架稳定性下降, 对肿瘤细胞施以机械刺激, 分析其对肿瘤细胞生长行为的影响, 对认识肿瘤增殖的调控有一定意义。

1 材料与方法

1.1 肝癌细胞传代培养

SMMC - 7721 人肝实质细胞瘤从上海细胞所购买。接种于 25 ml 培养瓶中单层培养, 培养基: 1640 加 10% 天然小牛血清, 加入青霉素 100 m/ml, 链霉素 100 ug/L, 置于 37℃, 5% CO₂, 恒温恒湿培养箱中。

1.2 细胞加载装置及方法

1) 细胞加载装置: 加载系统由控制电路、线性伺服电机传动装置、培养器皿固定支座(自制), 可弯曲的弹性长方形板(梁)以及在该板中央制成的细胞培养小室(处于伸张变形区域)等部份构成(见图 1)。

该系统可以控制梁的弯曲变形, 通过挠度变化使培养小室基底表面伸张变形, 牵张生长于器皿底部的细胞, 使细胞处于周期性的牵张—回复作用中。由于

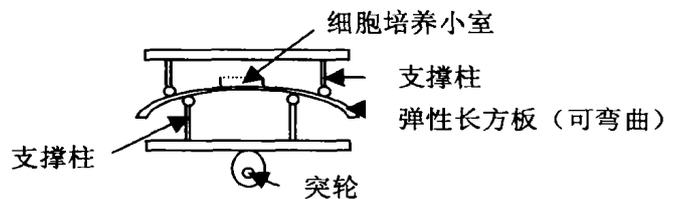


图 1 四点支撑梁加载系统示意图

四点弯曲梁结构的对称性, 板的 2 个作用点之间处于等弯区, 因此可保证细胞受到的牵张应变处处相等。其应变最大值的大小由下式给出:

$$\epsilon_{\max} = \frac{tY}{s(L - 1.2s)}$$

式中 t 为梁的厚度, L 为梁的长度, Y 为梁的挠度, s 为载荷作用点距梁支座处的距离。

2) 细胞加载方法: 根据实验需要预先调整计算好加载应变量, 该装置可实现 500 $\mu\epsilon$ 、1 000 $\mu\epsilon$ 、1 500 $\mu\epsilon$ 三级加载。板长 19 cm、厚 0.2 cm, SMMC - 7721 以 2×10^4 /ml 接种在板中央的小室内, 24 h 后开始拉伸实验, 本实验伸张应变为 1 500 $\mu\epsilon$ 。

1.3 显微形态观察及计算机图像处理

采用计算机图像处理系统(Image Tool, NIH)测量细胞粘附投影面积。即以灰度值为依据勾勒粘附细胞的边界, 并由分析软件自动计算出投影面积。

1.4 细胞增殖动力学检测

使用流式细胞仪(FACS Calibur, Becton Dickinson

* 收稿日期: 2002 - 05 - 16

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(19732003)

作者简介: 王红兵(1960 -), 女, 重庆市人, 讲师, 学士。主要从事细胞流变学研究。

Co., USA)对细胞动力学进行检测。每 50 万个细胞用 50 mg/ml PI(碘化乙啶), 20 mg/ml DNA 酶染液 0.5 ml 处理。

2 实验结果

2.1 细胞铺展面积及长短径之比随加载时间的变化

加载 24 h SMMC - 7721 粘附铺展面积、细胞长短径之比与对照组相比无明显差异, 加载 72 h 细胞铺展面积缩小。

表 1 不同加载时间 SMMC - 7721 铺展面积、细胞长短径之比

	面积/mm ²	细胞长径/短径
对照组	0.002 028 ± 0.000 65	0.39 ± 0.23
实验组 24 h	0.002 255 ± 0.001 328	0.43 ± 0.44
实验组 72 h	0.001 326 ± 0.000 507*	0.46 ± 0.19

* P < 0.05

2.2 细胞增殖动力学检测

加载 24 h 实验组与对照组 G₀ - G₁ 期及 S 期无明显差异, 实验组 G₂ - M 期下降, 分裂指数 (G₂ - M + S / G₀ - G₁ %) 实验组 0.46, 对照组 0.55

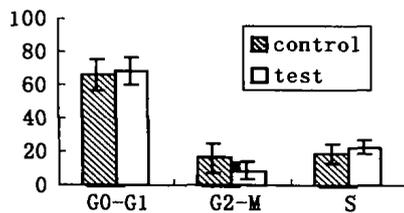


图 2 SMMC - 7721 加载 24 h 后和对照组流式细胞仪检测结果

2.3 加载后 SMMC - 7721 形态变化与对照组的比较

加载 24 h 细胞形态与对照组无明显差异, 加载 72h 细胞形态变化较明显。



图 3 不同加载时间 SMMC - 7721 形态

3 讨论

肿瘤细胞骨架发育不良, 其形状不规则, 结构张力稳定性降低^[3,4]。本研究发现对 SMMC - 7721 施以拉

伸应变 (1 500 με) 其形态变化过程较长, 加载 24 h 后铺展面积无明显变化, 加载 72 h, 铺展面积明显缩小, 正常组织细胞响应机械刺激可快速调整形态, 出现适应性反应, 其后特征形态恢复并保持稳定^[5]。但 SMMC - 7721 加载后原有的形态特征变化较大。故肿瘤细胞对位置信息判断力下降, 而呈序生长。

加载 24h SMMC - 7721 分列增殖指数 (0.46) 较对照组 (0.55) 降低, 细胞周期分布, 加载组 G₂ - M 期 (8.63%) 较对照 (18.72%) 下降, S 期较 (22.91%) 对照组 (23.60%) 无明显差异。加载后 SMMC - 7721 生长增殖部分抑制, 且细胞堆积于 S 期使进入 G₂ - M 期的细胞减少。一般认为 S 期 DNA 复制受阻, 可出现上述现象^[6]。但分裂细胞存在大量的微管重排, 从胞质微管解聚而形成的纺锤体对细胞分裂的实现至关重要。机械力是通过影响纺锤体形成或是其它途径 (比如周期蛋白表达) 而影响肿瘤细胞生长行为, 还有待于进一步探索。

参考文献:

- [1] INGBER D E, FOLKMAN J. Tension and compression as basic determinants of cell form and function: utilization of a cellular tensegrity mechanism[A]. Stained cell shape determinants[C]. Regulation and Regulatory Role. Orlando: FL Academic press. 1989: 1 - 32.
- [2] INGBER D E. Tensegrity the architectural basis of cellular mechanotransduction[J]. Annu. Rev Physiol. 1997, 59: 575 - 599.
- [3] INGBER D E, JAMICSON J D. Tumor formation and malignant invasion role of basal lamina[A]. In: Tumor Invasion and Metastasis[C]. Liotta LA. Hart I R eds. Nijhoff The Hague: 1982, 335 - 357.
- [4] HASKIN C. CAMERON 1, AFHANASIOU K. Physiological levels of hydrostatic press are alter morphology and organization of cytoskeletal and adhesion proteins in MG - 63 osteosarcoma cells[J]. Biochem Cell Biol, 1993, 71: 27 - 35.
- [5] LANYOU L E. Using functional loading to influence bone mass and architecture: objectives, mechanisms, and relationship with estrogen of the mechanically adaptive process in bone[J]. Bone, 1996, 18: 37 - 45.
- [6] DVORIT S. ZVI R, ROBERT H. et al. Selective activity of phenyl acetate a - gainst malignant glioma: resemblance to fetal brain damage in phenylke - tonuria[J]. Cancer. Res, 1994, 54: 891 - 895.

(下转第 74 页)

Tensile Properties of Coal – Roadways Bolting Steel at Low Strain Rate

JIANG Li, ZHANG Xu - ping

(Department of Material Engineering, China University of Mining & Technology, Xuzhou 221008, China)

Abstract: The effect of low strain rate on strength of Q235 mild steel, 20MnSi hot – rolled and quenched + high temperature tempered steel have been studied in this paper. The research results show that yield strength of Q235 mild steel is decreased by about 14% , and that of 20MnSi hot – rolled and quenched + high temperature tempered steel are respectively decreased by about 4% and 1% at about $4.6 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ of strain rate compared with common tensile test, i. e. $2.5 \times (10^{-4} \sim 10^{-3}) \text{ s}^{-1}$ of strain rate. The mechanisms of the effect of low strain rate on strength of these steels are discussed. The research results are of great importance to the design, choosing and application of rockbolt steels that are applied to the conditions of rock creep in coal mine roadways.

Key words: bolt; mild steel and HSLA steel; low strain rate; strength

(责任编辑 陈移峰)

(上接第 67 页)

Effect of Mechanical/Stretch on Growth and Morphology of Hepatocellular Carcinoma Cell

WANG Hong - bing, HUANG Qi - ping, QIN Jian, LU Xiao, WANG Yuan - liang, CAI Shao - xi

(College of bioengineering Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: In order to research the effect of stretch on the cells, the four – point supporting bending system is applied to stretch the SMMC – 7721 hepatocellular carcinoma cells. Then, the proliferation of the cells was determined by FCM, and the morphology is measured by computer – image – processing, the result show that

(1) The percent of $G_2 - M$ phase of SMMC – 7721 is reduced after 24 h stretch (8.63% in 24 h stretched group and 15.92% in control). (2) The project area of SMMC – 7721 is reduced after 72 h stretch. (3) The proliferation of SMMC – 7721 is inhibited by stretch (the division index of SMMC – 7721 in 24 h stretched group is 0.46, in control group is 0.55).

Key words: SMMC – 7721; proliferation inhibition; stretch

(责任编辑 陈移峰)