

3种胶质瘤细胞株(U87、U251及T98G)体外趋化组织细胞淋巴瘤细胞(U937)的实验研究

杜凯, 李春杉, 谢元润, 王俊, 占厚强, 丁鹏
(昆明医科大学第一附属医院神经外科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 观察胶质瘤细胞株 U87 (人脑星形胶质母细胞瘤细胞)、U251 (人神经胶质细胞瘤细胞) 及 T98G (人胶质母细胞瘤细胞) 对 U937 (组织细胞淋巴瘤细胞) 的趋化活性. **方法** 体外传代培养 U87、U251、T98G 及 U937 细胞, 应用 Transwell 法观察 3 种胶质瘤细胞株 (U87、U251 及 T98G) 对 U937 细胞的趋化活性. **结果** Transwell 小室下孔细胞离心浓缩后白血球计数板计数; 3 种胶质瘤细胞株对于 U937 细胞趋化活性明显高于正常对照组 ($P < 0.05$); U87 对于 U937 细胞趋化活性明显高于 U251 及 T98G ($P < 0.05$); U251 及 T98G 对于 U937 细胞趋化活性差异无统计学意义 ($P > 0.05$). **结论** 3 种胶质瘤细胞株 (U87、U251 及 T98G) 可促进 U937 细胞的趋化迁移, U87 趋化活性更为明显.

[关键词] 胶质瘤; 趋化; 组织细胞淋巴瘤细胞

[中图分类号] R739 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 03-0038-03

Experimental Study on The Chemotaxis of Three Kinds of Glioma Cell Line (U87, U251 and T98G) to Stiocytic Lymphoma Cell (U937) in Vitro

DU Kai, LI Chun-shan, XIE Yuan-run, WANG Jun, ZHAN Hou-qiang, DING Peng
(Dept. of Neurosurgery, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To observe the chemotaxis of glioma cell line U87, U251 and T98G to U937. **Methods** We Subcultured U87, U251, T98G and U937 cells in vitro, used Transwell to observe the chemotaxis of three kinds of glioma cell line (U87, U251 and T98G) to U937. **Results** By Transwell method, we got the white blood cell count, compared with control group, the chemotaxis of three kinds of glioma cell line to U937 was apparently higher ($P < 0.05$). The chemotaxis of U87 to U937 is apparently higher than U251 to T98G ($P < 0.05$). The chemotaxis of U251 and T98G to U937 had no statistical differences ($P > 0.05$). **Conclusion** U87, U251 and T98G can accelerate U937 cell migration, the chemotactic activity of U87 is more obvious.

[Key words] Glioma; Chemotaxis; U937

单核细胞为人体重要的免疫细胞, 分布于全身各组织器官, 其作用是多方面的, 既可参与特异性免疫应答, 又可分泌血管生长因子和细胞外基质生长因子, 促进肿瘤细胞的浸润性生长^[1,2]. 较多实验已证实肿瘤组织可趋化单核细胞的聚集, 然而关于胶质瘤细胞对于单核细胞的趋化作用仍

少有研究. 因此, 探讨胶质瘤细胞株的单核细胞趋化活性, 对于认识胶质瘤的发生、发展及其治疗有着重要意义.

1 资料与方法

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项基金资助项目 (2010CD157)

[作者简介] 杜凯 (1988~), 男, 山东潍坊市人, 在读硕士研究生, 主要从事神经外科临床工作.

[通讯作者] 丁鹏. E-mail: pengdfmc@163.com

1.1 材料

U87、U251、T98G及U937细胞均购自PeproTech公司; DMEM/F12培养基购自Gibco公司; Transwell小室购自Corning公司.

1.2 方法

1.2.1 胶质瘤细胞株培养及上清收 U87、U251及T98G分别培养于12孔板DMEM/F12(含10%胎牛血清)培养基中,待细胞生长至90%满时,更换为无血清培养基,继续培养24h,将培养基上清转移至离心管,12 000 r/min离心10 min后收集上清备用.

1.2.2 单核细胞的体外培养 U937细胞培养于RPMI1640(含10%胎牛血清)培养基中进行体外传代培养,细胞主要呈悬浮生长,一般为圆形或椭圆形,取生长良好传代细胞备用.

1.2.3 趋化实验 实验分为4组:(1)正常对照组;(2)U87细胞培养上清组;(3)U251细胞培养上清组;(4)T98G细胞培养上清组.

Transwell小室下孔中加入上述4组液体,正常对照组为无血清培养基500 μ L,其余各组为各细胞培养上清500 μ L,上孔中加入 1×10^5 个U937细胞,细胞悬液体积为100 μ L,置于培养箱中培养120 min,取下孔细胞离心至50 μ L备用.计数方法:使用白血球计数板进行细胞计数,每组重复实验3次.

1.3 统计学处理

实验数据应用SPSS统计软件进行分析,实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据间的显著性检验用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

3种胶质瘤细胞株(U87、U251及T98G)的U937细胞趋化活性,3种胶质瘤细胞株对于U937细胞趋化活性明显高于正常对照组($P < 0.05$);U87对于U937细胞趋化活性明显高于U251及T98G($P < 0.05$);U251及T98G对于U937细胞趋化活性差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1、图1.

3 讨论

单核细胞为中胚层来源的髓系细胞,是一类多潜能干细胞,具有趋化、迁移及黏附能力,经血液运输至全是各组织器官内,发育成熟为巨噬细胞.单核巨噬细胞的生物学作用是多方面的,既可参与

表1 3种胶质瘤细胞株(U87、U251及T98G)的U937细胞趋化活性 [$(\bar{x} \pm s)$], 120 min]

Tab. 1 The chemotaxis of U87, U251 and T98G to U937 [$(\bar{x} \pm s)$], 120 min]

组别	n	趋化U937细胞数量(个)
正常对照组	3	2.00 \pm 0.40
U87细胞组	3	12.4 \pm 1.00 [#]
U251细胞组	3	6.67 \pm 0.23 [*]
T98G细胞组	3	5.93 \pm 0.23 [*]

与正常对照组比较, $^*P < 0.05$; 与U251组及T98G组比较, $^{\#}P < 0.05$.

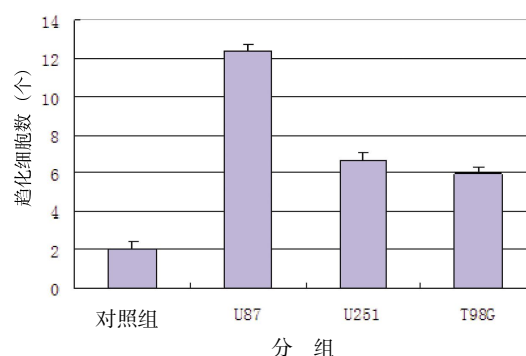


图1 3种胶质瘤细胞株(U87、U251及T98G)的U937细胞趋化活性 [$(\bar{x} \pm s)$], 120 min]

Fig. 1 The chemotaxis of U87, U251 and T98G to U937 [$(\bar{x} \pm s)$], 120 min]

机体的免疫反应,又可通过分泌相应细胞因子参与肿瘤组织的浸润迁移及血管生成,相关实验研究也证实其参与多种疾病的分子转化过程^[3,4].

近年来多项实验研究证实,肿瘤组织可明显趋化单核巨噬细胞的聚集进而影响肿瘤组织的生物学行为.然而肿瘤组织趋化单核细胞的方式及机制目前尚不明确,近期相关研究主要针对单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的单核细胞趋化作用.Kuroda等研究发现,胃癌肿瘤组织通过分泌MCP-1募集肿瘤相关巨噬细胞,参与肿瘤血管生成^[5].Koide等的研究指出,食管癌组织中高表达的MCP-1与单核细胞浸润程度及预后相关^[6].在宫颈癌^[7]、乳腺癌^[8]及直肠癌^[9]等的研究中同样发现,MCP-1高表达并伴有大量单核巨噬细胞的浸润.国外相关文献报道,肿瘤相关单核巨噬细胞与恶性肿瘤血管生成、转移及预后密切相关,并可作为恶性肿瘤预后评价的独立指标^[10].

综上所述:单核细胞的浸润影响肿瘤组织的生物学行为,并可被多种肿瘤组织趋化.笔者的研究证实,3种胶质瘤细胞株(U87、U251及T98G)可明显趋化单核细胞的迁移.然而,胶质瘤中单核

细胞的趋化迁移是受多因素影响的,参与的细胞因子众多,本实验旨在明确胶质瘤细胞株的单核细胞趋化活性,今后将进行更为复杂的实验研究,进一步明确参与此过程的具体细胞因子及相关性。

[参考文献]

- [1] FUJIMOTO H, SANGAI T, ISHII G, et al. Stromal MCP-1 in mammary tumors induces tumor-associated macrophage infiltration and contributes to tumor progression Journal Article [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(6):1 276 - 1 284.
- [2] BAILEY C, NEGUS R, MORRIS A, et al. Chemokine expression is associated with the accumulation of tumour associated macrophages (TAMs) and progression in human colorectal cancer Journal Article [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2007, 24(2):121 - 130.
- [3] 关泉林, 于晓辉, 霍永忠, 等. 肝癌组织巨噬细胞移动抑制因子的表达及对肿瘤细胞增殖和血管形成的影响 Journal Article [J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 25(1): 39 - 45.
- [4] 郑晓霞. 单核细胞趋化蛋白在子宫内膜癌的表达和临床意义 Journal Article [J]. *中国妇幼保健*, 2012, 37(26):4 116 - 4 117.
- [5] KURODA T, KITADAI Y, TANAKA S, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 transfection induces angiogenesis and tumorigenesis of gastric carcinoma in nude mice via macrophage recruitment Journal Article [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(21):7 629 - 7 636.
- [6] KOIDE N, NISHIO A, SATO T, et al. Significance of macrophage chemoattractant protein-1 expression and macrophage infiltration in squamous cell carcinoma of the esophagus Journal Article [J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99(9):1 667 - 1 674.
- [7] KLEINE-LOWINSKI K, GILLITZER R, KUHNE-HEID R, et al. Monocyte-chemo-attractant-protein-1 (MCP-1)-gene expression in cervical intra-epithelial neoplasias and cervical carcinomas Journal Article [J]. *Int J Cancer*, 1999, 82(1):6 - 11.
- [8] NEUMARK E, ANAVI R, WITZ I P, et al. MCP-1 expression as a potential contributor to the high malignancy phenotype of murine mammary adenocarcinoma cells Journal Article [J]. *Immunol Lett*, 1999, 68(1):141 - 146.
- [9] YOSHIDOME H, KOHNO H, SHIDA T, et al. Significance of monocyte chemoattractant protein-1 in angiogenesis and survival in colorectal liver metastases Journal Article [J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(4):923 - 930.
- [10] ARENBERG D A, KEANE M P, DIGIOVINE B, et al. Macrophage infiltration in human non-small-cell lung cancer: the role of CC chemokines Journal Article [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2000, 49(2):63 - 70.

(2014 - 11 - 06 收稿)