

全反式视黄酸对胃癌细胞 BGC-823 和 MKN-45 肝转移模型的作用

陈玉强 吴乔 陈正明 陈福 苏文金

【摘要】 目的 研究全反式视黄酸(ATRA)对胃癌细胞实验性肝转移能力的影响。方法 将胃癌细胞 BGC-823 和 MKN-45 注射于裸小鼠脾包膜下,隔日给裸小鼠灌服 ATRA。术后 6 周处死裸小鼠,解剖脾脏及肝脏肿瘤并用免疫组织化学方法测定其肿瘤血管密度;以放射免疫法测定血清癌胚抗原(CEA)。结果 ATRA 抑制胃癌细胞脾包膜下移植瘤的生长及其肝转移,抑制率分别为 50.0% (BGC-823) 和 33.3% (MKN-45);使脾移植瘤和肝转移瘤的肿瘤血管密度降低。ATRA 还可使肝转移模型鼠血清 CEA 含量分别下降 50.24% (BGC-823) 和 43.10% (MKN-45)。结论 ATRA 能有效抑制胃癌细胞的实验性肝转移,从而抑制胃癌细胞分泌 CEA 以及抑制肿瘤血管的形成。

【关键词】 视黄酸; 胃癌细胞; 转移; 肿瘤血管密度; 癌胚抗原

Effects of all trans retinoic acid on the liver metastatic model of gastric cancer cells, BGC-823 and MKN-45 CHEN Yuqiang*, WU Qiao, CHEN Zhengming, et al.* Department of General Surgery, The 174th Hospital of PLA, Xiamen 361003, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of all trans retinoic acid (ATRA) on experimental liver metastatic ability of gastric cancer cells. **Methods** BGC-823 and MKN-45 cells were injected into spleen subcapsule of nude mice, who were administrated ATRA every other day after operation. Six weeks after operation, the nude mice were executed. Tumors in spleen and liver were examined pathologically and microtumor vessel density (MVD) was measured by using immunohistochemical method and serum carcino-embryonic antigen (CEA) by radioimmunoassay. **Results** In the nude mice treated with ATRA, the growth of spleen subcapsule tumor and its metastatic ability to liver were inhibited, and the metastatic rate was decreased by 50% (BGC-823) and 33.3% (MKN-45). Spleen MVD and liver MVD were reduced. The serum CEA of BGC-823 and MKN-45 cell liver metastatic model was decreased by 50.24% and 43.10% by ATRA. **Conclusion** ATRA can effectively suppress the experimental liver metastasis of gastric cancer cells, which is relevant with the decrease of CEA and MVD.

【Key words】 Retinoic acid; Gastric cancer cell; Metastasis; Microtumor vessel density; Carcino-embryonic antigen

视黄酸在体外能影响胃癌细胞的粘附、运动和
对基质的降解以及转移相关基因的表达^[1]。我们
研究全反式视黄酸(ATRA)对胃癌 BGC-823 和
MKN-45 细胞株裸小鼠肝转移模型的作用,探讨视
黄酸对实验性肝转移能力的影响及其作用机制。

材料和方法

1. 细胞株:胃癌细胞株 BGC-823 和 MKN-45 购
自上海细胞所细胞库。细胞用含体积分数为 10%
小牛血清、 1×10^5 U/L 青霉素和 0.1 g/L 链霉素的

RPMI1640(Gibco 产品)培养液,在 37℃、体积分数
为 5%CO₂ 的培养箱中培养。

2. 实验动物:6~8 周龄 BALB/c 裸小鼠(SPF
级,厦门大学抗癌中心)在无特定病原体的层流架
(SEL-1 型,上海西普-必凯实验动物有限公司)内饲
养。室内恒温、恒湿、定期消毒,在无菌操作下定期
更换笼具、垫料、饮用水和标准饲料(上海西普-必凯
实验动物有限公司生产的耐高压颗粒饲料)。

3. 胃癌细胞裸小鼠肝转移模型的建立^[2]与药
物处理:选裸小鼠 12 只,皮下注射 0.1 ml 体积分数
为 0.5%CCl₄ 橄榄油。次日,裸小鼠腹腔内注射 0.
2 ml 质量分数为 0.625%硫酸妥钠,10 min 后,取左
肋缘下切口,体积分数为 75%酒精消毒术野 3 次,
逐层进腹。取出脾脏,于脾包膜下注入 0.05 ml(含

作者单位:361003 厦门,解放军第 174 医院普外科(陈玉强);
厦门大学肿瘤细胞工程国家专业实验室(吴乔、陈正明、苏文金);厦
门大学抗癌研究中心(陈福)

1.25 ×10⁶ 个细胞)细胞悬液。压迫止血后逐层关腹。随机将裸小鼠分成 2 组,处理组隔天通过胃管灌入 0.7 mg ATRA;对照组用不含 ATRA 的溶液同样处理。术后 6 周采血后处死裸鼠,并解剖。

4. 肿瘤微血管密度的免疫组织化学分析^[3]:肿瘤组织常规固定、石蜡包埋切片。体积分数为 3% H₂O₂ 孵育 5 min,消除内源性过氧化物酶的活性。体积分数为 10% 山羊血清封闭后,加入 1:100 的兔抗人第 因子相关抗原抗体,37 孵育 30 min 或 4 过夜。滴加生物素标记的二抗,37 孵育 30 min。加辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素,37 孵育 30 min。二氨基联苯胺(DAB)显色,自来水充分冲洗,梯度酒精脱水,二甲苯透明,封片。显微镜观察肿瘤微血管密度,低倍镜下寻找肿瘤血管热点视野,高倍镜下计算血管数,取 10 个视野,以平均值表示。

5. 癌胚抗原(CEA)的测定:裸鼠处死前,先经眼动脉采血,血液凝固后离心取上清,-20 保存待测。以放射免疫法常规测定 CEA。

6. 统计学处理:实验数据以均数 ±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,t 检验。

结 果

1. ATRA 对裸小鼠移植瘤生长及肝转移的作用见表 1。

表 1 ATRA 对裸小鼠胃癌细胞肝转移的作用

组别	株	脾瘤数(个)	平均脾重(g)	肝转移率(%)	肝瘤数(个)	平均肝重(g)
对照组	B	18	1.27 ±0.65	100.0	107	2.79 ±1.24
	M	10	0.77 ±0.33	83.3	40	2.12 ±0.39
实验组	B	8	0.58 ±0.37 *	50.0	30	1.43 ±0.67 *
	M	6	0.42 ±0.16 *	50.0	10	1.52 ±0.50 *

注:B:胃癌 BGC-823 细胞株;M:胃癌 MKN-45 细胞株;下表类同;成瘤率各组均为 100% 与对照组比较,*P < 0.05

2. ATRA 对肿瘤血管密度的影响见表 2。

3. ATRA 对 BGC-823 和 MKN-45 细胞肝转移模型鼠血清 CEA 含量的影响及抑制率见表 3。

表 2 ATRA 对裸小鼠肿瘤血管密度的影响

组别	株	脾肿瘤		肝肿瘤	
		血管密度	抑制率(%)	血管密度	抑制率(%)
对照组	B	12.70 ±2.74		11.56 ±2.91	
	M	8.70 ±2.11		10.40 ±2.55	
实验组	B	9.07 ±3.04 *	28.85	7.46 ±2.58 *	35.47
	M	7.00 ±1.89	19.54	8.89 ±2.32	14.52

注:与对照组同种细胞株比较,*P < 0.05

表 3 ATRA 对胃癌肝转移裸小鼠血清 CEA 含量的影响(μg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	BGC-823	MKN-45
对照组	2.07 ±2.01	2.37 ±1.54
实验组	1.03 ±0.98	1.23 ±0.97
抑制率(%)	50.24	48.10

讨 论

我们应用胃癌裸小鼠肝转移模型研究 ATRA 在体内对 BGC-823 和 MKN-45 细胞转移的抑制作用,结果显示裸小鼠灌入 ATRA 后,胃癌细胞脾包膜下移植瘤的生长受到抑制,脾内肿瘤转移数减少; ATRA 还能显著抑制癌细胞肝转移,使裸鼠肝转移率降低,转移瘤数减少,说明 ATRA 能显著抑制 BGC-823 和 MKN-45 细胞的实验性肝转移。

动物实验证实,先经静脉给裸鼠注射大量 CEA,使 CEA 在肝细胞上达到饱和状态,再注射转移能力比较弱的癌细胞,则 CEA 能够显著提高癌细胞在肝组织中的转移集落数^[4]。本实验的结果显示,ATRA 能使胃癌细胞的肝转移模型鼠的血清 CEA 水平下降,说明 ATRA 通过降低胃癌细胞表达 CEA 而抑制其裸小鼠脾移植瘤的肝转移。本实验结果还表明,ATRA 抑制 BGC-823 和 MKN-45 细胞的脾移植瘤以及肝转移瘤的血管形成,说明 ATRA 是一种有希望的抗胃癌肿瘤血管形成药物。

参 考 文 献

- 1 陈玉强,吴乔,陈正明,等.视黄酸对胃癌细胞 MGC-80-3 体内外转移能力的影响.华人消化杂志,1998,6:869-872.
- 2 杨善民,陈福,张长弓,等.人胃癌裸小鼠肝转移模型的建立.中华肿瘤杂志,1993,15:195-197.
- 3 Martin L, Green B, Renshaw C, et al. Examining the technique of angiogenesis assessment in invasive breast cancer. Br J Cancer, 1997,76:1046-1054.
- 4 金顺钱,张伟.参与肿瘤细胞转移的细胞表面粘连带受体.国外医学肿瘤学分册,1994,21:131-134.

(收稿日期:1999-05-23)