

# 二色桌片参酶解液的抗胃癌 细胞 MGc80-3 作用<sup>1</sup>

陈正明<sup>1</sup> 陈玉强<sup>1④</sup> 张 驰<sup>2</sup> 曹顺达<sup>3</sup> 吴 乔<sup>1</sup> 苏文金<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 厦门大学肿瘤细胞工程国家专业实验室 厦门 361005,

<sup>2</sup> 厦门大学分析测试中心 厦门 361005, <sup>3</sup> 厦门中药厂 厦门 361003)

**摘要** 用二色桌片参 [*Mensamaria intercedens* (Lampart)] 酶解液处理培养的人胃腺癌细胞 MGc80-3 后有如下效应: 对其生长的抑制率可达 32.75%, 经处理后细胞铺展更好, 透光性较好, 细胞表面较光滑, 微绒毛少, 核膜规则而光滑, 核仁明显. 在软琼脂中的集落形成率由 0.0167% 下降为 0.0045%. Con-A 介导的细胞凝集率在 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度中下降 40.2 个百分点, 在 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  中下降 35.4 个百分点; 对裸小鼠致瘤的瘤重下降 33.07%. 结果表明二色桌片参酶解液对该胃癌细胞的生长有一定的抑制作用, 对其恶性表型有一定的逆转作用.

**关键词** 二色桌片参, 胃癌细胞, 抗癌效应

中国图书分类号 Q 2.28, Q 556

已有的研究表明, 海参含有抗肿瘤活性成分, 在实验动物中可使瘤体缩小, 体质改善, 并可抑制癌细胞的转移<sup>[1,2]</sup>; 对培养的转化细胞也有多方面的作用<sup>[3]</sup>. 二色桌片参 [*Mensamaria intercedens* (Lampart)] 是一种大量产于福建沿海的海参纲动物, 其酶解液具有一定的抗转化肺成纤维细胞作用<sup>[3]</sup>, 但是否对恶性程度更高的其他细胞系有作用, 尚未有更新的文献报道. 本文研究该海参酶解液抗恶性程度较高的低分化胃癌细胞 MGc80-3 的作用, 试图进一步证实其抗癌效应.

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

细胞系 人胃低分化粘液腺癌细胞(MGc80-3)<sup>[4]</sup>, 本实验室保存.

海参酶解液 500 g 海参干粉加入 9 100 mL 蒸馏水中, 加复合蛋白酶水解, 经脱腥脱臭处理, 并经过高温高压 ( $7 \times 10^4$  Pa, 110  $^{\circ}\text{C}$ , 30 min) 灭菌, 在这种条件下蛋白酶已经完全失活, 每 100 mL 酶解液含海参干粉 5.5 g.

### 1.2 方 法

细胞培养和生长曲线的测定 按文献[3]方法进行. 海参酶解液加入培养液中, 配成 2% (V/V) 浓度, 以此培养液对细胞作连续培养, 对照组细胞培养液加 2% (V/V) D-Hank s 液.

<sup>1</sup> 本文 1997-09-17 收到; 厦门市海洋科技资助项目  
<sup>④</sup> 现工作单位: 中国人民解放军 174 医院

形态观察 1) 光镜观察: 取生长成单层的细胞于倒置相差显微镜(DIAPHOT-300, NIKON, JAPAN)下观察并拍照。2) 电镜观察: 按常规方法。

碱性磷酸酶(ALP)活力的检测 按文献[5]方法进行。

伴刀豆球蛋白-A(Con A)凝集实验 按文献[6]方法进行,并按下式计算细胞凝集率:

$$\text{凝集率} = \frac{\text{未加 Con A 组单细胞数} - \text{加 Con A 组单细胞数}}{\text{未加 Con A 组单细胞数}} \times 100\%$$

软琼脂中集落形成率的测定 参考文献[7]方法并作了改进,在 24 孔板中每孔铺一层含 0.5% 琼脂的 RPMI 1640 全培液(200  $\mu\text{L}$ /孔),上层为含  $1 \times 10^5$  个细胞/mL、0.3% 琼脂的 RPMI 1640 全培液(15%NCS),每孔 1 mL,每组 6 孔,于 5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^{\circ}\text{C}$  下培养 2 周后观察并计算其集落形成率,细胞数大于 40 的为阳性集落。

$$\text{集落形成率} = \frac{\text{集落数}}{\text{接种细胞数}} \times 100\%$$

裸小鼠异种移植 按文献[3]方法进行。

## 2 结果

### 2.1 细胞的生长状况

从生长曲线(图 1)可以看出,细胞经处理后,生长所受到的抑制主要表现在后期,最大抑制率为 32.75%。

### 2.2 细胞的形态观察

光镜观察 在光镜下可以看到,对照组 MGc80-3 细胞铺展不良,形态较圆,透光性差(图版 1-A),用该酶解液处理后,细胞铺展较好,较扁平,透光性好(图版 1-B)。

电镜观察 1) 扫描电镜下可见细胞外表面微绒毛丰富,呈放射状(图版 2-A),而经处理两代(12 d)后,表面微绒毛减少并缩短变粗(图版 2-B)。提示其表面结构趋于正常,说明该海参酶解液有类似诱导分化剂的作用。2) 在透射电镜下可见 MGc80-3 细胞具有典型的癌细胞特征,核形极不规则,核膜多凹陷,(图版 3-A),而处理后,癌细胞特征有所改善:有相当比例的细胞核形较规则,核膜较光滑,核异染色质减少,核仁明显(图版 3-B)。说明该海参酶解液对诱导这种癌细胞的逆转有一定作用。

对细胞 ALP 活力的影响 本实验使用的 MGc80-3 细胞属胃腺癌细胞,在正常胃组织中,碱性磷酸酶(ALP)活力不高,但癌变后,其表达增强<sup>[8]</sup>。经检测发现,MGc80-3 细胞处理组与对照组的 ALP 活力有显著差异,处理组明显下降(表 1),表明 MGc80-3 细胞经海参酶解液处理后其分化程度有一定的提高,恶性程度下降。

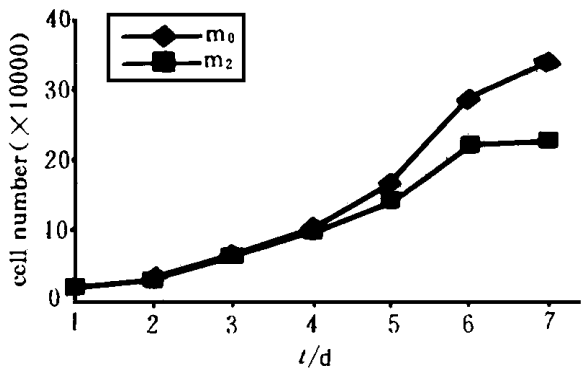


图 1 MGc80-3 细胞的生长曲线

M0: 对照组 MGc80-3 细胞;

M2: 2% 浓度处理组 MGc80-3 细胞

Fig. 1 Growth curve of MGc80-3 cell

表1 MGc80-3 细胞 ALP 活力的变化(A 值)

Tab. 1 The ALP Activity of treated and untreated M Gc80-3 cell(A value)

细胞数	1K		2K		3K		4K	
	Mc	Mt	Mc	Mt	Mc	Mt	Mc	Mt
空白对照	0.053	0.059	0.061	0.064	0.090	0.092	0.112	0.120
$\bar{X} \pm SD$	0.580 ± 0.012	0.467 ± 0.020 <sup>a)</sup>	0.909 ± 0.021	0.751 ± 0.012 <sup>a)</sup>	1.509 ± 0.070	1.325 ± 0.026 <sup>a)</sup>	2.308 ± 0.053	1.873 ± 0.066 <sup>a)</sup>
抑制率(%)	19.6		17.4		12.2		18.9	

a) p < 0.01, Mc: 对照组 M Gc80-3 细胞, Mt: 处理组 M Gc80-3 细胞

Con A 介导的凝集实验 在 Con-A 介导下 M Gc80-3 细胞的凝集率有显著降低(表 2), 100 μg/ml 组下降 40.2 个百分点, 200 μg/ml 组下降 35.4 个百分点, 表明该海参酶解液可提高其抗 Con A 凝集的能力, 提示其恶性程度有所降低.

在半固体琼脂中的集落形成率 我们对两种细胞集落形成率的测定结果如表 3, 从表可看出, M Gc80-3 细胞可在软琼脂中形成集落(图版 4), 处理组的集落形成率比对照组明显偏小, 差异极显著(表 3).

可见 M Gc80-3 细胞经海参酶解液处理后在软琼脂中形成集落的能力有所下降, 即停泊依赖性增强, 说明其恶性程度有显著下降.

表2 MGc80-3 细胞在 Con A 介导下的凝集率

Tab. 2 Percentage of Con A-mediated agglutination of M Gc80-3 cell (%)

组别 <sup>a</sup>	100 μg/mL	200 μg/mL
M 0	56.6	72.2
M 2	16.3	36.8
M 0- M 2	40.3	35.4

a: M 0: M Gc80-3 细胞对照组; M 2: M Gc80-3 细胞 2% (V/V) 浓度海参酶解液处理组

表3 MGc80-3 细胞在软琼脂中形成的集落数及集落形成率

Tab. 3 Colony number and colony forming percentage of M Gc80-3 cell growing in soft agar

组别 <sup>a</sup>	平行样本						$\bar{X} \pm SD$	集落形成率(%)
	1	2	3	4	5	6		
M 0	12	10	15	20	24	19	16.7 ± 5.3	0.0167
M 2	2	4	1	9	6	5	4.5 ± 2.9 <sup>b)</sup>	0.0045

a: 同表 2 注; b): P < 0.01

表4 MGc80-3 细胞致瘤的瘤重

Tab. 4 Weight of tumor caused by M Gc80-3 cell (mg)

组别	平行样本								$\bar{X} \pm SD$	抑瘤率(%)
	1	2	3	4	5	6	7	8		
对照组	896	867	2 284	3 680	1 841	261	4 300	507	1 829.5 ± 1 510	
处理组	1 139	1 360	3 870	680	811	135	890	911	1 224.5 ± 1 127	33.07

裸小鼠异种移植 本实验取 8 只裸小鼠检测 M Gc80-3 细胞的生瘤性. 分别将两种细胞注入裸小鼠后肢皮下, 饲养 4~6 周后观察结果. 所有小鼠均可生瘤, LDH 同工酶电泳证实与培养细胞同源. M Gc80-3 细胞处理后的平均抑瘤率为 33.07%.

### 3 讨 论

M Gc80-3 细胞是一种低分化、恶性程度高的人胃腺癌细胞, 经本海参酶解液处理后, 其表型有如下变化: 1) 生长有所抑制, 最高抑制率为 32.75%; 2) 光镜下的形态较扁平, 铺展较好, 透光性好(折光率小)(图版 1-B), 细胞表面微绒毛减少, 核形较规则(图版 2-B); 3) 在软琼脂中的集落形成率有所下降, 由 0.0167% 下降为 0.0045%(表 3); 4) Con A 介导下的凝集率也有下降, 在 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Con A 浓度中下降 40.2 个百分点, 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Con A 浓度中下降 35.4 个百分点(表 2); 5) 其 ALP 活力变弱, 处理组与对照组差异极显著( $p < 0.01$ )(表 1). 在裸小鼠致瘤实验中, 瘤重的抑制率达 33.07%. 从这些特点来看, 该海参酶解液对 M Gc80-3 细胞的恶性表型有较明显的逆转作用. 其中有一点值得注意的是, 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Con A 浓度中的凝集率并不比在 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Con A 浓度中的凝集率高, 这可能是由于在 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Con A 浓度中, 细胞表面的 Con A 受体与 Con A 的结合已达饱和, 因而提高 Con A 的浓度并不能产生更高的凝集率.

从本实验结果来看, 2% 浓度下二色桌片参酶解液对体外培养的 M Gc80-3 胃癌细胞有一定的诱导分化作用, 这一点与我们以前的结果是一致的<sup>[3]</sup>. 许多细胞毒药物如亚砷酸钠、抗癌抗生素等可作为外源性的诱导分化剂而起作用早有报道<sup>[9]</sup>. 近年则有较多文献报道了从一种海苔藓虫(Marine bryozoan) *Bugula neritina* 中提取的苔藓虫素 1(Bryostatin 1) 的多方面的抗癌机制, 它的抗肿瘤的机制之一是诱导特定肿瘤的分化, 它在体外可诱导从急、慢性白血病人体内分离的细胞发生分化<sup>[10, 11]</sup>, 也可诱导其他培养细胞如 HL60 和 U937 的分化, 并抑制其生长<sup>[12, 13]</sup>. 由此可见, 细胞毒药物也可有诱导细胞分化的作用, 是否海参中已发现的功能物质有此功能, 还有待于将来大量深入的工作来阐明.

### 参 考 文 献

- 1 马克韶, 郝晓阁, 王莉. 刺参酸性粘多糖抗肿瘤转移的实验研究. 海洋药物, 1982(1): 21~25
- 2 李春艳, 孙广生. 玉足海参提取物对小鼠 S-180 的抑瘤作用. 海洋药物, 1983(1): 27~31
- 3 陈正明, 陈玉强, 曹顺达等. 二色桌片参酶解液对转化细胞的效应. 台湾海峡, 1997, 16(3): 270~274
- 4 王凯华. 人体胃低分化粘液腺癌细胞系 M Gc80-3 的建立及其生物学特性的初步观察. 实验生物学报, 1983, 16(3): 257~267
- 5 颜江华, 林炳珍. 选择性测定 B 细胞分化的新方法-碱性磷酸酶比色法. 厦门大学学报(自然科学版), 1992, 31(1): 93~96
- 6 Buick R N, Stanisic T H, Fry S E et al. Development of an Agar-Methyl Cellulose Clonogenic Assay for Cells in Transitional Cell Carcinoma of the Human Bladder. Cancer Res, 1979, 39: 5 051~5 056
- 7 Hamburger A W, Salmon S E. Primary bioassay of human tumor stem cells. Science, 1977, 197: 416~463
- 8 黄介飞. 胃粘膜肠上皮化生及胃癌粘膜组织内酶的变化. 国外医学(肿瘤学分册), 1984, (1): 4~8
- 9 陈惠黎. 肿瘤逆转. 汤钊猷主编. 现代肿瘤学. 上海: 上海医科大学出版社, 1993: 157~167
- 10 Lilly M, Tompkins C, Brown C et al. Differentiation and growth modulation of chronic myelogenous leukemia cells by bryostatin. Cancer Res, 1990, 50: 5 520~5 525

- 11 Gignac S M, Bushie M, Pettit G R et al. Expression of proto-oncogene c-jun during differentiation of B-chronic lymphocytic leukemia cells . Blood, 1989, 74: 1 747 ~ 1 757
- 12 Drexler H G, Gignac S M, Johns R A et al. Bryostatin 1 induces differentiation of B-chronic lymphocytic leukemia. Leukemia ( Baltimore) . 1990, 4: 441 ~ 444
- 13 Stone R M, Sariban E, Pettit G R et al. Bryostat in 1 activates protein kinase C and induces monocytic differentiation of HL-60 cells. Blood, 1988, 72: 208 ~ 213

## The Effects of Enzyme-digested Solution from *Mensamaria intercedens* (Lampart) on Gastric Cancer Cell M Gc80-3 in Culture

Chen Zhengming<sup>1</sup> Chen Yuqiang<sup>1</sup> Zhang Chi<sup>2</sup>  
Cao Shunda<sup>3</sup> Wu Qiao<sup>1</sup> Su Wenjin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The State Lab. for Tumor Cell Engin., Xiamen Univ. Xiamen 361005

<sup>2</sup>The Analysing and testing Center of Xiamen Univ. Xiamen 361005

<sup>3</sup>The T Traditional Chinese Medicine Factory of Xiamen, Xiamen 361003)

**Abstract** The purpose of this work is to study the anti-cancer effect of enzyme-digested solution from sea cucumber —— *Mensamaria intercedens* (Lampart) . The gastric cell line M Gc80-3(Human Gastric Gland Carcinoma) was selected. Several data were detected and proved that this sea cucumber enzyme-digested solution had effects on this cancer cell line. Results were shown as below: After treated, the growth inhibition percentage is 32. 75% to this cell line. The cells have better transparency, spread well, and have fewer microvillies, obvious nucleoli. The nucleus has regular appearance with smoother membrane. The colony forming percentage in soft agar is decreased from 0. 0167% to 0. 0045% . The percentage of Con A-mediated agglutination is decreased by 40. 2% in 100 $\mu$ g/mL Con A group and 35. 4% in 200  $\mu$ g/mL Con A group. Tumor weight caused in the nude mice is decreased by 33. 07% .

The enzyme-digested solution from *Mensamaria intercedens* (Lampart) has the effect of inhibiting the cancerous phenotype and can somewhat induce the differentiation of this cancer cell line, but whether it can affect other cancer cell lines and what is the mechanism should be further studied.

**Key words** *Mensamaria intercedens* (Lampart) , Gastric Cancer Cell, Anti-cancer Effects

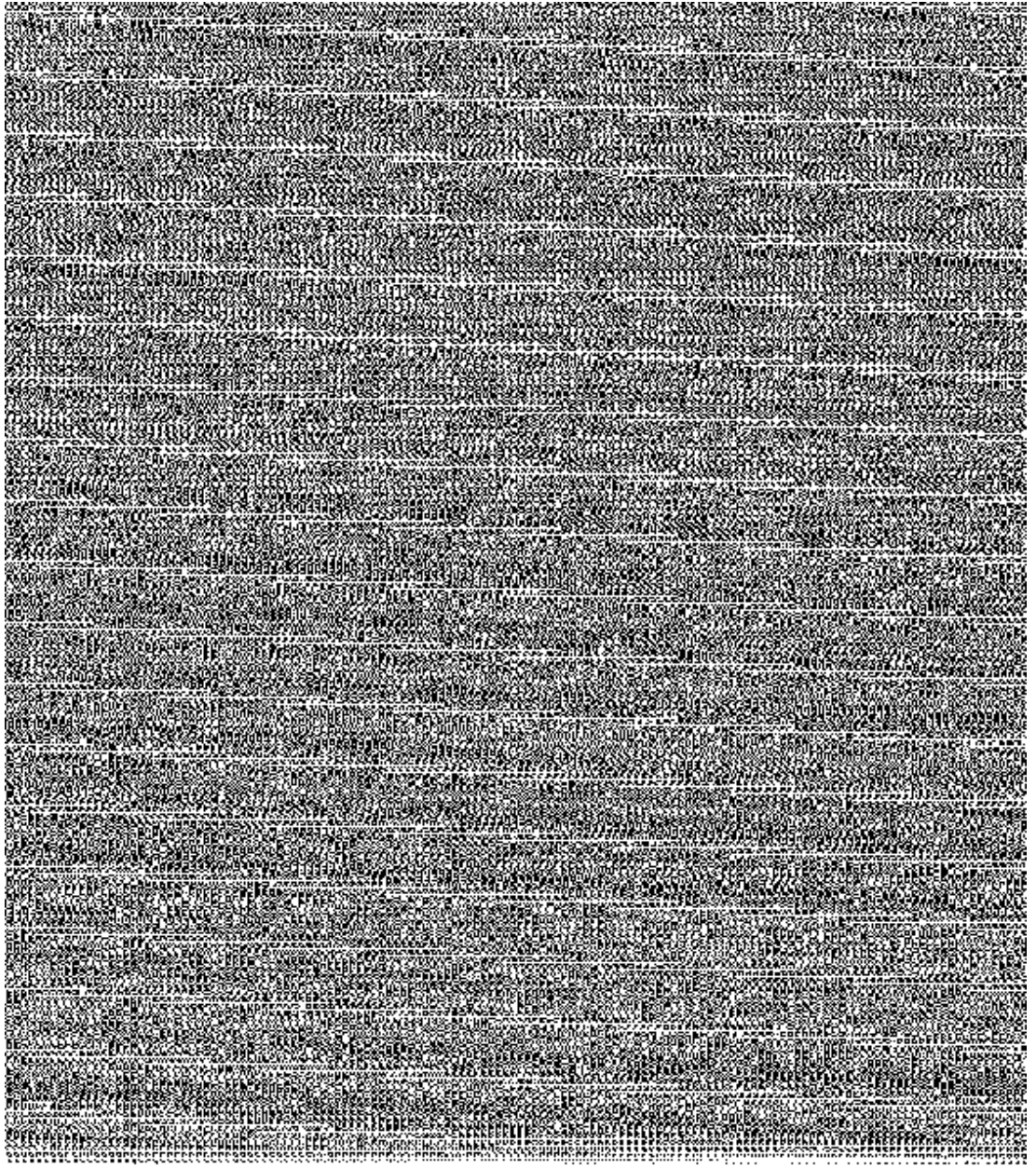


图 1 相差显微镜下的 M Gc80-3 细胞. 示: (A) 对照组细胞形态较圆, 铺展不良. (B) 处理组细胞铺展较好, 较扁平. (× 125)

图 2 扫描电镜下的 M Gc80-3 细胞. 示: (A). 对照组细胞具丰富的微绒毛 (Mv) (× 6000). (B). 处理组细胞微绒毛变少并缩短变粗 (× 5000)

图 3 透射电镜下的 M Gc80-3 细胞. 示: (A). 对照组细胞核 (Nu) 不规则, 核膜 (Ne) 多凹陷, 核呈分叶状, (× 14000). (B). 处理组细胞核 (Nu) 呈卵圆形, 核膜 (Ne) 光滑, 核仁 (Nl) 明显 (× 10 000)

图 4 M Gc80-3 细胞在软琼脂中形成的一集落 (× 125)