

视黄酸对胃癌细胞恶性表型的影响¹

陈玉强^④ 陈正明 吴 乔^④ 苏文金

(厦门大学肿瘤细胞工程国家专业实验室 厦门 361005)

摘要 研究 t-RA 对胃癌细胞的作用和探讨其作用机理. 结果表明: 1) t-RA 能够有效地抑制胃癌细胞的生长. 2) t-RA 能够降低胃癌细胞在软琼脂中形成集落的能力. 3) t-RA 能够降低胃癌细胞的粘附能力. 4) t-RA 能够抑制胃癌细胞在裸鼠中形成肿瘤的能力. 4) 扫描电镜观察显示, 经 t-RA 处理后, 胃癌细胞表面的微绒毛消失. 以上结果表明, t-RA 对胃癌细胞的恶性表型有显著的抑制作用. t-RA 可能作为治疗胃癌的有效药物.

关键词 全反式视黄酸, 生长抑制, 恶性表型, 胃癌细胞系

中国图书分类号 Q 753, Q 228

视黄酸(retinoic acid, RA) 不仅在调节许多类型正常细胞的生长和分化过程中起着重要的作用, 被认为是上皮细胞分化的调节因子^[1], 而且体内外研究也证实, 视黄酸能够抑制肉瘤、黑色素瘤细胞的恶性生长, 以及几种上皮肿瘤的发生和发展^[2~5]. 临床治疗则表明, 视黄酸在抑制不同类型的早期癌症形成过程中效果显著, 能够抑制口腔粘膜白斑等癌前病变, 抑制头部和颈部鳞状细胞癌以及皮肤癌等的第二期肿瘤的发生^[6, 7]. 由此表明, 视黄酸是一种很有希望的抗癌防癌药物.

视黄酸对胃癌的作用在国内外研究较少, 为了探讨其作用机制和评价视黄酸预防和治疗胃癌的作用, 本文以两株恶性程度较高的胃癌细胞株: MGC80-3 和 BGC-823 细胞为对象, 通过体外细胞生长率、细胞集落形成率、细胞粘附能力和体内致瘤率等的测定, 评价视黄酸对这些癌细胞生长的抑制作用等. 结果表明, 全反式视黄酸能明显逆转胃癌细胞的恶性表型.

1 材料与方 法

1.1 细胞培养和药物处理

细胞生长在 RPMI-1640 培养液中(含 10% 小牛血清和青霉素 100 U/mL、链霉素 100 μ g/mL), 细胞接种 24 h 后加入全反式视黄酸(all-trans retinoic acid, t-RA) 处理. MGC80-3 细胞系来自厦门大学抗癌研究中心, BGC-823 细胞系购自上海细胞所细胞库.

1.2 细胞生长测定(MTT 法)

按文献[8]方法进行.

¹ 本文 1997-10-09 收到; 国家教委留学回国人员科研启动基金和福建省自然科学基金资助项目

^④ 现工作单位: 中国人民解放军第 174 医院, 厦门 361003

^④ 通讯联系人

1.3 软琼脂集落形成实验

将琼脂溶解在 RPMI-1640 培养液中,使琼脂的终浓度分别为 0.5% 和 0.3%,在培养皿(φ 35 mm)中加入 1 mL 含琼脂 0.5% 的培养液作为垫层.在含琼脂 0.3% 的培养液中加入细胞,使细胞终浓度为 10⁵/mL(实验组则同时在培养液中加入 t-RA),混匀后取 1 mL 铺展在垫层上面,凝固后于 5% CO₂ 培养箱培养,两周后观察,计算集落数(直径大于 80 μm 的集落为阳性,随机计算 20 个视野).结果行 t-检验.

1.4 细胞粘附率测定

按文献[9]方法进行.10⁵ 细胞接种入自制 HABM 模型的上室,分别培养 2、4、6 h 后,消化羊膜上的细胞,计数并计算粘附率.

1.5 裸鼠成瘤试验

以 10⁻⁶ mol/L 的 t-RA 处理细胞 20 d.消化细胞,用生理盐水制成 10⁷/mL 的细胞悬液,按 0.3 mL/ 每只裸鼠的接种量将细胞接种在裸鼠后肢皮下(右侧为对照组,左侧为实验组),4 周后处死裸鼠,取出肿瘤称重,测量体积,计算抑瘤率.

1.6 扫描电镜样品制备

以 10⁻⁶ mol/L 的 t-RA 处理细胞 10 d.按常规方法制样.

2 实验结果

2.1 视黄酸对胃癌细胞生长的抑制作用

MTT 测定表明,10⁻⁶ mol/L 的 t-RA 对胃癌细胞生长的抑制率分别为 58.9%(MGc80-3)和 59.8%(BGC-823),即使用 10⁻⁸ mol/L 的 t-RA 处理细胞,抑制率也在 20% 左右(图 1),表明胃癌细胞的恶性生长受到有效的抑制.

2.2 视黄酸对胃癌细胞软琼脂集落形成率的影响

结果表明,胃癌细胞集落形成能力较强,形成的集落数多.经 t-RA 处理后,细胞集落形成能力下降,形成的集落数明显减少,最大集落抑制率接近 50%(表 1).

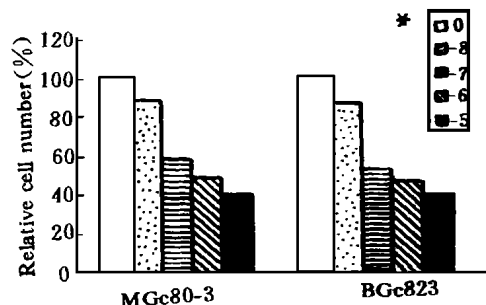


图 1 视黄酸对胃癌细胞生长的影响

视黄酸浓度单位: 10⁻ⁿ mol/L(下同)

Fig.1 Inhibitory effect of t-RA on growth of gastric cancer cells

表 1 视黄酸对胃癌细胞软琼脂集落形成的影响

Tab. 1 Effect of t-RA on colony formation of gastric cancer cell in soft agar

| 细胞株 | 集落形成数 | | | 抑制率(%) | |
|---------|-------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 对照 | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ |
| MGc80-3 | 10.2 ± 0.17 | 5.68 ± 0.18* | 6.24 ± 0.22* | 44.3 | 38.8 |
| BGC-823 | 8.68 ± 0.50 | 4.35 ± 0.13* | 5.62 ± 0.37* | 49.9 | 35.3 |

2.3 视黄酸对胃癌细胞粘附率的影响

结果如表 2 所示, t-RA 对胃癌细胞粘附能力的影响随时间延长而显著增强, 当 10^{-6} mol/L t-RA 处理细胞 30 d 时, 对细胞的粘附率影响较小, 实验组和对照组没有显著差别 ($p < 0.05$); 当处理细胞 80 d 时, 对细胞的粘附能力影响较大, 实验组和对照组差异显著 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$).

表 2 视黄酸对胃癌细胞粘附能力的影响
Tab. 2 Effect of t-RA on adhesive ability of gastric cancer cell

| 细胞株 | t-RA 处理时间 (d) | 细胞粘附率 (%) | | |
|---------|------------------|------------|-------------|--------------|
| | | 2 h | 4 h | 6 h |
| MGC80-3 | 0 | 18.8 ± 4.3 | 29.2 ± 3.5 | 40.3 ± 4.5 |
| | 30 | 20.3 ± 4.3 | 27.8 ± 6.0 | 38.0 ± 4.0 |
| | 80 | 9.8 ± 2.4 | 12.2 ± 2.1* | 17.8 ± 3.3** |
| BGC-823 | 0 | 9.0 ± 3.1 | 20.5 ± 2.8 | 26.7 ± 2.0 |
| | 30 | 8.7 ± 2.8 | 18.3 ± 1.5 | 24.3 ± 2.0 |
| | 80 | 5.8 ± 2.0* | 11.0 ± 2.3* | 16.0 ± 2.5** |

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

2.4 视黄酸对胃癌细胞裸鼠成瘤能力的影响

经 10^{-6} mol/L t-RA 处理后, 胃癌细胞在裸鼠体内的成瘤能力明显减弱, 表现在瘤体质量和瘤体体积明显小于对照组, 两者差异显著 ($p < 0.05$) (表 3).

表 3 视黄酸对胃癌细胞致瘤率的影响
Tab. 3 Effect of t-RA on tumorigenesis of gastric cancer cell

| 细胞株 | 成瘤数 | 平均质量 (g) | 抑瘤率 (%) | 平均体积 (cm ³) | 抑瘤率 (%) |
|---------|-----|------------------|---------|-------------------------|---------|
| MGC80-3 | 5/6 | 1.41 ± 0.89(对照) | | 10.87 ± 6.48(对照) | |
| | | 0.63 ± 0.41(处理)* | 55.3 | 4.28 ± 2.91(处理)* | 60.6 |
| BGC-823 | 6/6 | 1.61 ± 1.18(对照) | | 12.54 ± 7.48(对照) | |
| | | 0.33 ± 0.31(处理)* | 79.5 | 2.55 ± 2.53(处理)* | 79.7 |

* $p < 0.05$

2.5 视黄酸对胃癌细胞表面结构的影响

电镜观察表明, 胃癌细胞表面有许多大小不一的小泡状突起和较为丰富的微绒毛, 细胞边缘有许多细长的丝状或指状伪足向外伸出. 经 t-RA 处理后, 细胞表面微绒毛消失, 边缘丝状伪足也消失, 细胞表面出现皱痕状结构(图版图 1~4).

3 讨论

前人研究已证实,视黄酸能够抑制许多类型癌细胞的恶性生长^[2,3].本文实验表明,以不同浓度的t-RA处理细胞时,都会抑制胃癌细胞的生长,并且这种抑制作用与t-RA的浓度呈依赖关系:随着t-RA浓度的增加,对癌细胞生长的抑制率升高(图1).临床上通常使用 10^{-6} mol/L浓度的t-RA治疗病人^[10],本文以此浓度处理细胞时,生长抑制率达50%以上.结果既表明MGC80-3细胞和BGC-823细胞对视黄酸细胞敏感,又证实t-RA能够有效地抑制胃癌细胞的恶性生长,表明视黄酸有可能用于胃癌治疗.

转移是恶性肿瘤最重要、最基本的特征之一.临床诊断表明,许多癌症患者的死因与体内癌细胞的大量转移相关,恶性细胞的转移能力明显大于良性细胞,并且这种细胞常常伴随着较高的粘附能力^[11].本文实验结果表明,t-RA在抑制胃癌细胞生长的同时,还能够1)降低癌细胞形成集落的能力,对集落形成的抑制率接近50%(表1);2)降低癌细胞粘附能力,并且随t-RA处理时间的延长,作用更为显著($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$)(表2);3)降低癌细胞在裸鼠体内的致瘤能力,所形成的瘤体在重量和体积上均与对照组存在显著差异($p < 0.05$)(表3);4)癌细胞表面的微绒毛和周围的丝状伪足消失(图版图1~4),这一结构的变化与转移能力密切相关,将降低癌细胞在体内的转移速度.t-RA处理后引起的这些变化表明,t-RA很可能抑制胃癌细胞的转移.当然,肿瘤的转移是一个多步骤、多因素和多基因的过程,相关基因之间的相互调节决定了细胞的命运,如细胞的粘附作用主要由癌细胞表面的一些特异受体介导^[9],而视黄酸的作用也主要是由核受体——视黄酸受体和视黄素受体介导^[12],这两类受体间有没有相互作用?是如何相互作用的?显然,这些问题的解决对于进一步阐明视黄酸抑制胃癌细胞转移的机理具有重要的意义.

参 考 文 献

- 1 Gudas LJ, Sporn MB, Roberts AB. Cellular biology and biochemistry of the retinoids. New York: RavenPress, 1994: 443 ~ 520
- 2 Deluca L. Retinoids and their receptors in differentiation, embryogenesis and neoplasia. FASEB J, 1991, 5: 2 924 ~ 2 933
- 3 Jetten A, Nervi C, Vollberg T et al. Control of squamous differentiation in tracheobronchial and epidermal epithelial cells: Role of retinoids. J. Natl. Cancer Inst. Monogr, 1992, 13: 93 ~ 100
- 4 Shklar G, Schwartz J, Grass D et al. Inhibition of human buccal pouch carcinogenesis by 13-cis retinoic acid. Oral Surg, 1980, 50: 45 ~ 52
- 5 Moon R, Metha R. retinoid inhibition of experimental carcinogenesis. Boca Raton, FL. CRC Press. 1990, 501 ~ 518
- 6 Boone C, Kelloff G, Malone W. Identification of candidate cancer prevention agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. Cancer Res, 1990, 5: 2 ~ 9
- 7 Smith MA, Parkinson DR, Cheson BD et al. Retinoids in cancer therapy. J. Clin. Oncol. 1992, 10: 839 ~ 864
- 8 吴乔, 曾定, 苏文金等. 视黄酸受体转录水平的改变与癌细胞生长的关系. 厦门大学学报(自然科学版), 1997, 36(5): 787 ~ 794

- 9 孙宝栋, 宋今丹. 不同的人大肠癌细胞体外侵袭力及相关生物学特性的比较研究. 细胞生物学杂志, 1996, 18(4): 185 ~ 188
- 10 Lee JS. Phase I evaluating of all-trans retinoic acid in adults with solid tumors. J. Clin. Oncol. 1993, 11: 959 ~ 966
- 11 Daneker GW, Piazza AJ, Steele GD et al. Relationship between extracellular matrix interactions and degree of differentiation in human colon carcinoma cell lines. Cancer Res. 1989, 49: 681 ~ 686
- 12 Zhang XK, Pfahl M. Regulation of retinoid and thyroid hormone action through homodimeric and heterodimeric receptors. Trends Enderinol. Metab. 1993, 4: 156 ~ 162

Effect of Retinoic Acid on the Phenotype of Gastric Cancer Cells

Chen Yuqiang Chen Zhengming Wu Qiao Su Wenjin

(The State Lab. for Tumor Cell Engineering, Xiamen Univ., Xiamen 361005)

Abstract In this study, we investigated the role of all-*trans* retinoic acid (t-RA)

in human gastric cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*. Our data showed that 1) t-RA effectively inhibited the growth of gastric cancer cells. 2) t-RA decreased the colony formation ability of gastric cancer cells in soft agar. 3) t-RA decreased adhesive ability of gastric cancer cells. 4) t-RA suppressed the growth of tumor induced by gastric cancer cells in nude mice. 5) Scanning electron microscope showed that microvilli on the surface of gastric cancer cells disappeared after t-RA treatment. The results above suggest that t-RA can reverse the malignant phenotype of gastric cancer cells. t-RA may provide therapeutic possibility for gastric cancer.

Key words All-*trans* retinoic acid, Growth inhibition, Malignant phenotype,

Gastric cancer cell lines



图版说明

- 图版 1 扫描电镜观察 BGC-823 细胞表面结构
- 图版 2 扫描电镜观察 t-RA 处理后的 BGC-823 细胞表面结构
- 图版 3 扫描电镜观察 MGc80-3 细胞表面结构
- 图版 4 扫描电镜观察 t-RA 处理后的 MGc80-3 细胞表面结构