

全反式视黄酸体外处理胃癌细胞 对其裸小鼠皮下移植瘤的影响^{*}

陈玉强^{**} 陈 福 陈正明 吴 乔 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

用全反式视黄酸(ATRA)处理3株胃癌细胞株MGc80-3、BGC-823和SGC-7901(ATRA终浓度为 10^{-6} mol/L)连续20 d,再移植于6~8周龄的BALB/c裸小鼠后肢皮下,观察移植瘤生长情况,4周后处死裸小鼠,解剖肿瘤并行组织学检查。结果表明,ATRA体外处理胃癌细胞能延长其移植瘤的潜伏期和倍增时间,有效地抑制移植瘤的生长,抑制率分别为51.4%、66.0%和88.6%,抑制作用的强弱次序与移植瘤的恶性程度正好相反。

关键词 全反式视黄酸 胃癌细胞 移植瘤 裸小鼠

视黄酸(retinoic acid, RA)是维生素A的衍生物,对于细胞的生长、发育和分化都具有重要作用^[1]。近年的研究表明视黄酸能抑制各种致癌、促癌因素诱发动物和人的恶性肿瘤,视黄酸不仅能有效地治疗急性早幼粒细胞白血病,且能治疗皮肤癌、早期乳腺癌和早期肺癌等,是一种有效的防癌、治癌药物^[2-4]。但视黄酸用于治疗胃癌未见报道。胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,我国又是胃癌的高发区,其死亡率居恶性肿瘤之首位^[5]。作者曾在体外研究中发现全反式视黄酸(ATRA)能有效抑制胃癌细胞株MGc80-3、BGC-823和SGC-7901的恶性生长并诱导细胞分化(另文报道)。本文报道ATRA体外处理胃癌细胞对其裸小鼠皮下移植瘤的作用。

材 料 和 方 法

1. 动物饲养 6~8周龄的BALB/c裸小鼠(SPF级,厦门大学抗癌中心提供)在层流架(SEL-1型,上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供)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、饮水和标准饲料(上海西普尔-必凯实验动物有限公司生产的耐高压颗粒饲料)。层流架内环境满足SPF要求。

2. 细胞培养和药物处理 胃癌细胞株为MGc80-3(厦门大学抗癌中心提供)、BGC-823和SGC-7901(上海细胞所细胞库提供)。细胞用含10%小牛血清、 10^5 U/L青霉素和0.1 g/L链霉素的RPMI-1640(GIBCO产品)培养液,在37℃、5%CO₂的培养箱中培养。细胞接种24h后,加入ATRA(Sigma产品,由DMSO和乙醇配制成 10^{-2} mol/L的母液,再以PBS稀释至所需浓度),终浓度为 10^{-6} mol/L,隔天换液,每隔4d传代,连续处理20 d。对照组用不

^{*} 本文由福建省自然科学基金(项目编号: C96002)和国家教委留学回国人员科研启动基金资助

^{**} 现工作单位: 中国人民解放军第174医院, 厦门 361003

含 ATRA 的溶剂同法处理。

3. 胃癌细胞裸小鼠皮下移植瘤的形成和观察 倾去培养液, 细胞用 PBS 洗 2 遍后, 加入少量 0.25% 胰酶-EDTA 消化液, 细胞脱壁成单细胞后, 收集细胞, 并用 PBS 再洗 2 遍, 最后制成 $10^9/L$ 的单细胞悬液。裸小鼠后肢用 75% 酒精消毒 2 次, 将 0.3 ml 细胞悬液注于其皮下(4 $\frac{1}{2}$ 号针头), 压迫 3 min。右侧注射对照组细胞, 左侧注射处理组细胞。每株癌细胞分别接种 6 只裸小鼠。术后观察肿瘤形成情况, 第 2 周起每周测量肿瘤直径, 按文献[5]方法计算肿瘤倍增时间。第 4 周以颈椎脱臼法处死全部裸小鼠, 解剖瘤体, 称重, 常规固定, 石蜡包埋切片, HE 染色后光镜检查。

4. 统计方法 处理组与对照组比较用 t

表 1 ATRA 体外处理胃癌细胞对其裸小鼠移植瘤生长特征的影响

细胞株	组别	<i>n</i>	成瘤率%	潜伏期/d	倍增时间/d	坏死情况
MGc80-3	对照组	5	100(5/5) ^a	2.80 ± 0.84	2.26 ± 0.40	严重(2/5) ^b
	ATRA 组	5	100(5/5)	3.80 ± 0.84	3.27 ± 0.68*	少许
BGC-823	对照组	6	100(6/6)	3.00 ± 0.63	2.33 ± 0.25	少许
	ATRA 组	6	100(6/6)	4.33 ± 1.03*	3.38 ± 1.16	少许
SGC-7901	对照组	6	100(6/6)	3.50 ± 0.55	2.52 ± 0.54	少许
	ATRA 组	6	33.3(2/6)	6.00 ± 1.00**	3.57 ± 0.58*	少许

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与相应对照组比较, 下表同。^a 括号内为成瘤鼠数/接种鼠数, ^b 括号内为移植瘤坏死鼠数/成瘤鼠数

平, 呈多发性结节状, 切面灰白色, 质地中等, 中央有少许坏死。大部分移植瘤边界较清楚, 只有 MGc80-3 对照组的 3 个移植瘤与后肢肌肉组织及皮肤有粘连。MGc80-3、BGC-823 和 SGC-7901 胃癌细胞用 ATRA 处理后在裸小鼠上形成移植瘤的重量和体积与对照组相比均有显著性下降(表 2)。方差分析表明 ATRA 体外处理对移植瘤重量的抑制率在 MGc80-3 和

检验, 细胞株之间比较用方差分析。抑瘤率作平方根反正弦变换后再统计。

结 果

1. 移植瘤生长特征 3 株胃癌细胞对照组侧的裸小鼠皮下移植成瘤率均为 100% (MGc80-3 组术后第 2 天意外死亡 1 只), 但移植瘤形成的潜伏期及肿瘤倍增时间有所不同, 且术后第 3 周 MGc80-3 组有 2 只裸小鼠的移植瘤较大并出现中央坏死、皮肤溃烂, 荷瘤鼠逐渐消瘦, 行动迟缓。处理组侧移植瘤的潜伏期或(和)肿瘤倍增时间延长(表 1)。SGC-7901 细胞经处理后的移植成瘤率仅为 33.3%。

2. 移植瘤解剖结果 移植瘤表面高低不

SGC-7901 之间有显著性差异($P < 0.05$), 对移植瘤体积抑制率在 MGc80-3 与 BGC-823 之间有显著性差异($P < 0.05$), 在 MGc80-3 与 SGC-7901 之间则有非常显著性差别($P < 0.01$)。

3. 病理学检查 经 ATRA 体外处理后, 胃癌细胞的移植瘤的细胞形态与对照组(表 3)比较无明显的变化。

表 2 ATRA 体外处理胃癌细胞对其裸小鼠皮下移植瘤重量和体积的影响

细胞株	<i>n</i>	瘤重/g		抑瘤率%	瘤体积/cm ³		抑瘤率/%
		对照组	ATRA 组		对照组	ATRA 组	
MGc80-3	5	1.41 ± 0.89	0.63 ± 0.41*	51.4 ± 17.7	10.87 ± 6.48	4.28 ± 2.91*	61.9 ± 7.6
BGC-823	6	1.61 ± 1.18	0.33 ± 0.31*	66.0 ± 35.3	12.54 ± 7.48	2.55 ± 2.53*	77.4 ± 21.0
SGC-7901	6	0.54 ± 0.53	0.09 ± 0.17*	88.6 ± 18.1	2.68 ± 2.45	0.20 ± 0.33*	92.7 ± 13.6

表 3 三株胃癌细胞移植瘤细胞形态的比较

细胞株	形态	大小	核	核仁	核浆比	分裂指数/%
MGC80-3	多边形	大	大	多	高	63
BGC-823	多边形	较大	大	较多	较高	57
SGC-7901	多边形	小	小	少	低	47

讨 论

胃癌是常见的恶性肿瘤, 由于缺乏有效的药物治疗, 目前大部分病人的预后仍不理想。体外的研究表明, ATRA 具有一定的抗肿瘤活性, 能抑制早幼粒细胞白血病的早幼粒细胞增生, 也能抑制畸胎瘤、神经母细胞瘤、黑色素瘤和乳腺癌等细胞的生长^[4,6]。Haenszel 等^[7]已发现胡萝卜素(维生素 A 在体内代谢的前体)的低摄入与胃癌的发生有关。Miasoedov 等^[8]也发现胃癌患者血清的维生素 A 水平低下。因此, ATRA 作为维生素 A 的衍生物有可能用于治疗胃癌。作者将 3 株胃癌细胞株 MGC80-3、BGC-823 和 SGC-7901 在体外用 10^{-6} mol/L 的 ATRA 连续处理 20 d 后, 移植于 6~8 周龄的 BALB/c 裸小鼠的后肢皮下。结果, 经处理的胃癌细胞, 其移植后的恶性生长受到明显抑制, 但移植瘤的细胞形态不受影响。Jiang 等^[9]也报道 ATRA 不能改变胃癌细胞株 SC-M1 的裸小鼠移植瘤的组织学形态, 在神经母细胞瘤和乳腺癌细胞的动物实验中也有类似情况^[10]。

比较 3 株胃癌细胞的移植瘤的恶性表现(表 1~3), 可见其恶性程度次序为 MGC80-3 > BGC-823 > SGC-7901。ATRA 体外处理对胃癌细胞移植后恶性生长的抑制程度(表 2), 则依次为对 MGC80-3 < 对 BGC-823 < 对 SGC-7901, 与胃癌细胞移植瘤的恶性程度正好相反。

参 考 文 献

- Gudas LJ, Sporn MB, Roberts AB. Cellular biology and biochemistry of the retinoids. In: Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS, eds. *The Retinoids*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994. 443-520
- Smith M, Parkinson DR, Cheson BD, et al. Retinoids in cancer therapy. *J Clin Oncol*, 1992, 10: 839-864
- 孙关林. 维甲酸的临床研究与应用. *实用内科杂志*, 1990, 10: 270-271
- Wu Q, Li Y, Liu R, et al. Inhibition of trans-retinoic acid-resistant human breast cancer cell growth by retinoids X receptor-selective retinoids. *Mol Cell Bio*, 1997, 17: 6598-6608
- 汤钊猷, 主编. *现代肿瘤学*. 上海: 上海医科大学出版社, 1993. 47-70
- 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: 787-794
- Haenszel W, Correa P, Lopez A, et al. Serum micronutrient levels in relation to gastric pathology. *Int J Cancer*, 1985, 36: 43-48
- Miasoedov DV, Vunitskaia LV, Chernukhina LA, et al. Blood vitamin A contents in patients with stomach cancer. *Voprosy Onkologii*, 1989, 35: 945-958
- Jiang SY, Shyn RY, Chen HY, et al. *In vitro* and *in vivo* growth inhibition of SC-M1 gastric cancer cells by retinoid acid. *Oncology*, 1996, 53: 334-340
- Teelmann K, Tsukaguchi T, Klaus M, et al. Comparison of the therapeutic effects of a new carotenoid, Ro 40-8757, and all-trans- and 13-cis-retinoic acids on rat breast cancer. *Cancer Res*, 1993, 53: 2319-2325

(收稿日期: 1998-03-03)

Effects of All - trans Retinoic Acid Treatment of Gastric Cancer Cells *in Vitro* on Their Growth in Nude Mouse Xenografts

Chen Yu - qiang Chen Fu Chen Zheng - ming Wu Qiao Su Wen - jin
(The State Laboratory for Tumour Cell Engineering, Xiamen University,
Xiamen 361005)

Abstract

To investigate the effects of all - trans retinoic acid (ATRA) on the growth of gastric cancer cells in nude mouse xenografts, three gastric cancer cell lines, MGC80 - 3, BGC - 823 and SGC - 7901, were treated with 10^{-6} mol/L ATRA for 20d, and then inoculated subcutaneously in the right hind legs of nude mice respectively, while the untreated ones in the left hind legs. Four weeks after the implantation, the nude mice were executed, the xenografts were removed and examined pathologically. The results showed that the incubation periods and/or the double times of the xenografts of the treated group were prolonged, and their growth was inhibited significantly with inhibitory rates of 51.4% (MGC80 - 3), 66.0% (BGC - 823) and 88.6% (SGC - 7901) respectively, These indicated that ATRA treating *in vitro* could inhibit the growth of the gastric cancer cells in nude mouse xenografts, and the degrees of inhibition were negatively correlated with the malignancy of the cancer cell lines.

Key words All - trans retinoic acid Gastric cancer cell line Xenograft Nude mouse

· 读者、作者与编者 ·

本刊新增一位副主编

本刊新近聘请中国人民解放军传染病中心主任张宜俊主任医师为副主编。