

前列腺素E₁和亚硒酸钠对A₅₄₉肺癌细胞

DNA含量的影响

湖北医学院病理解剖学教研室 刘志芳* 田鸿生

〔摘要〕本实验观察了PGE₁和Na₂SeO₃对体外培养的A₅₄₉细胞DNA含量的影响。实验分为四组：I组作为对照组，II，III，IV组培养基内分别加入10ng PGE₁/ml，10ng PGE₁和1μg Se/ml，1μg Se/ml。使用显微分光光度计测量结果表明，II组（10ng PGE₁/ml）和IV组（1μg Se/ml）A₅₄₉细胞内DNA含量明显降低。通过测定单个细胞的DNA含量，我们发现PGE₁和Se作用后A₅₄₉细胞各周期比率发生了改变。IV组的组方图峰值左移。我们对PGE₁和Na₂SeO₃可能的抑制机制进行了讨论。

关键词：前列腺素E₁；亚硒酸钠；DNA含量；A₅₄₉细胞

在肿瘤研究领域，关于前列腺素（以下简称PGE）与恶性肿瘤的关系的研究屡见报道。不论是内源性或外源性的PGE，对体外培养的肿瘤细胞都有明显的抑制作用^{〔1〕}。Schrauzer^{〔2〕}提出，硒对PGs的合成有一定的作用^{〔2〕}。我们过去的实验曾证明硒酵母和Na₂SeO₃（以下简称Se）对大鼠诱发性支气管鳞癌具有明显的抑制作用^{〔3〕}。在另一实验中我们发现PGE₁和Se对A₅₄₉肺癌细胞的分裂增殖、细胞内DNA水平和CAMP/CGMP相对比值、癌细胞浸润特性等方面都有一定的影响^{〔4〕}。本实验进一步观测了PGE₁和Se对A₅₄₉细胞DNA含量的影响，从而为PGE₁和Se的抗癌机理的研究提供理论根据。

材料和方法

1. 细胞

（1）A₅₄₉人肺癌细胞系 1986年2月从武汉大学生物工程中心引进。将细胞常规培养于含10%小牛血清的RPMI-1640培养液内，每毫升培养液内加青霉素及链霉素各100单位。以5% Na₂HCO₃溶液调整pH至7.2。隔天换液一次，5~7天传代一次。

（2）2BS人胚肺二倍体细胞。87年9月10日购于卫生部武汉生物制品研究所，已传至第29代。培养方法同A₅₄₉细胞。

2. 药物及试剂

（1）PGE₁购自白求恩医科大学药理教研室。每安瓿200μg。先用pH7.2的PBS溶解成为100μg PGE₁/ml的溶液，然后用RPMI-1640培养液

稀释，最终为10ng PGE₁/ml使用浓度。

（2）Na₂SeO₃，化学纯（上海金山兴塔化工厂出品）。先用双蒸水配成1000μg/ml浓度，使用时用RPMI-1640培养液稀释为1μg/ml。

3. 分组及处理

将长满瓶壁的A₅₄₉细胞用等量的0.25%胰酶和0.2% EDTA混合液消化，制成细胞悬液，台盼蓝染色，进行活细胞计数，然后接种于培养瓶内（瓶内预先放置盖玻片），置37℃ CO₂孵箱培养。实验分4组：

I组的培养液内不加任何药物、作为对照组；

II组的培养液内加10ng PGE₁/ml；

III组的培养液内加10ng PGE₁和1μg Se/ml；

IV组的培养液内加1μg Se/ml。

显微分光光度计测定A₅₄₉细胞DNA含量的变化：

实验的第4天，取出盖玻片，立即用固定液〔甲醇：冰醋酸=3：1（v/v）〕固定1小时，以Feulgen方法显示DNA。奥地利REICHERT—Jung UNIVAR显微分光光度计作镜扫描测定。光源波长560nm，测阑直径1μm。Commodore微型电子计算机作数值处理以及绘制以相对DNA含量对细胞数的组方图，并以正常人胚肺二倍体细胞2BS的DNA含量作为对照数值。

结果

正常人胚肺二倍体（2BS）DNA的相对平均含量为6.537，A₅₄₉细胞为8.706，比2BS细胞高1.33倍，差别有高度显著性（P<0.01）；实验的第4天，I组与II组相比较，A₅₄₉细胞DNA相对含

* 现在湖北中医学院附属医院脏象肝病研究所

量显著降低 ($P < 0.01$)。Ⅲ组 A_{549} 细胞DNA相对含量与Ⅰ组比较无明显差别。只加Se的Ⅳ组 A_{549} 细胞DNA相对含量则显著降低 (表1)。

表1 PGE₁和Se作用后 A_{549} 细胞内DNA相对含量

组别	$\bar{X}$	SE	MIN	MAX	P
2 BS	6.537	0.149	3	13.2	—
I	8.706	0.163	5.4	15	$< 0.01^*$
II	8.088	0.147	4.8	13.8	$< 0.01^{**}$
III	8.519	0.154	4.8	14.4	$> 0.05^{**}$
IV	7.679	0.142	4.8	14.4	$< 0.01^{**}$

注: 2BS 正常人胚肺二倍体细胞

• 与2BS细胞比较

•• 与对照组(Ⅰ组)比

我们以2BS细胞DNA含量组方图对照(图1, 2BS), 其峰值定为2C值。以横轴通道4之前为DNA 2C含量细胞; 2C与4C之间的细胞即通道5~10为S期细胞; 大于4C者为高倍体细胞(6)。由此计算, G₁期细胞数占46.1%, S期细胞数占40.7%, G₂+M期细胞数占9.8%, 大于4C的高倍体细胞占2.4%。根据Ⅰ组(对照组) A_{549} 细胞组方图(图1, I)计算, G₁期细胞为0, S期细胞占65.4%, G₂+M期细胞占7.7%, 另外有26.8%为高倍体细胞。这一结果表明 A_{549} 细胞大多数处于S期, 还有一部分为高倍体细胞, DNA含量较多。从组方图可以看出, A_{549} 细胞的DNA组方图的峰向右偏离于2C值(与2BS细胞比较)实验的第4天, 只加Se的Ⅳ组DNA组方图稍向左偏移(与Ⅰ组比较)(图1, IV)。其它实验组变化不明显(图1)。

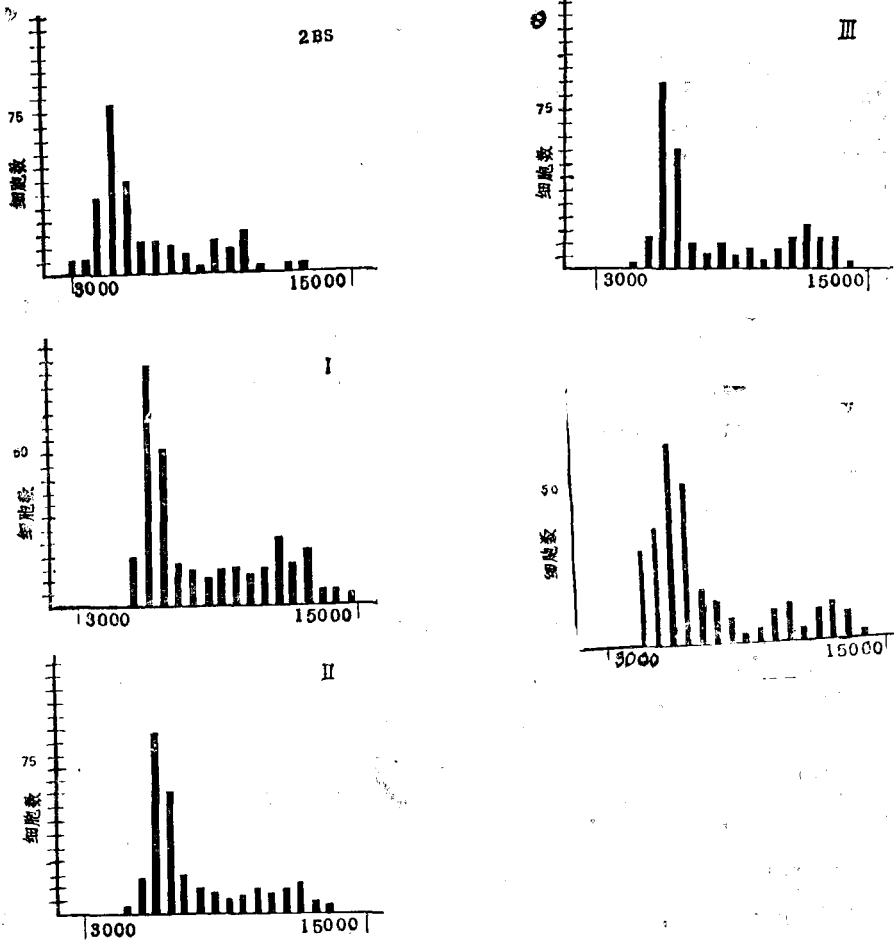


图1 PGE₁和Se作用后 A_{549} 细胞DNA相对含量的变化

在只加PGF₁的Ⅱ组中, S期细胞数增加(75.5%, $P < 0.01$), G₂+M期细胞数无明显变化(7.4%), 高倍体细胞数明显减少(16.8%, $P < 0.01$)。

Ⅲ组G₁期细胞为0.3%, S期细胞为67.3%, G₂+M期细胞占4.7%, 高倍体细胞数没有明显改变, 为27.7% ($P > 0.05$)。说明PGE₁和Se联合作用能使G₂+M期细胞减少, 且能使G₁期细胞数增加($P < 0.01$)。

在只加Se的Ⅳ组, G₁细胞为11%, S期细胞为67%, G₂+M期细胞占5%, 大于4C的高倍体细胞为17%, 表明Se作用后, 高倍体细胞明显减少($P < 0.01$), 且G₁期细胞数增加(表2)。

表2 2BS细胞及PGF₁和Se作用前后 A₅₄₉细胞周期比率

组别	G ₁ 期	S期	G ₂ +M期	高倍体细胞
2BS	46.3	40.7	9.8	2.4
I	0	65.4	7.7	26.8
Ⅱ	0.3	75.5	7.4	16.8
Ⅲ	0.3	67.3	4.7	27.1
Ⅳ	11	67	5	17

注: 2BS 正常人胚肺二倍体细胞

I组为对照组

讨 论

目前, 用组织化学或细胞化学方法通过显微分光光度计对肿瘤细胞核DNA含量进行定量分析研究已在肿瘤领域中得到广泛应用。^(6,7) 我们的实验结果发现, 1μgSe/ml (Ⅳ组) 作用于A₅₄₉细胞后, 细胞群体总的DNA含量显著降低, 其DNA

组方图稍向左偏移。细胞群体DNA含量的降低, 并非完全由于DNA的合成受到抑制所致。可能的一个原因是DNA含量较丰富的4C细胞和高倍体细胞比率的降低。而G₂+M期细胞都减少, 可能因为在Se的作用下, 从S期进入G₂期的过程中部分发生阻滞。也可能是由于Se对A₅₄₉细胞的G₂期细胞有损伤作用或引起部分G₂期细胞破坏, 因而从G₂期进入M期的细胞减少。以上两种原因最终都可导致G₂+M期细胞数减少。即Na₂SeO₃对A₅₄₉细胞的分裂增殖有较明显的抑制作用, 与我们另一实验所观察到的实验结果基本一致。

PGE₁在10ng/ml浓度下(Ⅲ组)能使A₅₄₉细胞DNA相对含量明显降低, 并且使高倍体细胞数明显减少。在PGE₁和Se的联合作用下(Ⅳ组), 能够使处于G₂+M期的细胞数减少。这为PGE₁和Na₂SeO₃在肿瘤的防治方面提供了一些理论依据。

参 考 文 献

1. Thomas DR et al, Characteristics of HT-29.J.Surg. Res. 1974; 16:5:463-465
2. Schrauzer GN, (Abstracts in English) Munch.med. wschr. 1985; 127:29/30:731-734
3. 田鸿生等, 肿瘤防治研究1985; 12:3:125
4. Pattison JR, et al. London Academic Press. 1979:1-9
5. 王登顺, 国外医学(肿瘤学分册)1987; 3:136-141
6. 黄威权, 国外医学(肿瘤学分册)1985; 4:208-212

THE EFFECT OF PROSTAGLANDIN E₁ AND SODIUM SELENITE ON THE DNA CONTENT IN A₅₄₉ CELLS IN VITRO

Liu Zhi-fang et al

Dept. of Pathol. Hubei Medical Coll'ge, HuBei

Institute of Viscera-State of TCM and Liver Diseases.

Affiliated Hospital, Hubei College of TCM, HuBei

The effect of prostaglandin E₁ and Sodium Selenite on the DNA content in A₅₄₉ cells was investigated in vitro.

The A₅₄₉ cells were divided into four groups: Group I was cultured in the medium alone for control. Group Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ were cultured in the medium added with 10ngPGE₁/ml, 10ngPGE₁, 10ngPGE and 1μgSe/ml, 1μgSe/ml, respectively.

By means of UNIVAR microscope photometer, it was found that DNA content in A₅₄₉ cells treated with 10ngPGE₁/ml (group Ⅱ) or 1μgSe/ml (group Ⅳ) concentration was decreased ($P < 0.01$). By the determination of DNA content in each individual cell, we found that the location of cells in each phase compartment was changed. The peak in group Ⅳ moved to the left.

The possible mechanisms of the inhibitory effect by PGE₁ and Na₂SeO₃ were discussed.

KEY WORDS: PGE₁; Na₂SeO₃; DNA content; A₅₄₉ cell