

硒酸钠对人前列腺癌细胞 PC-3 细胞株 活力和增殖的影响

张保国¹ 杨劲松¹ 姚乐申² 沈苏南³

1. 南京医科大学附属南京市第一医院肿瘤科, 江苏南京, 210006;
2. 南京大学医学院附属鼓楼医院泌尿外科, 江苏南京, 210008;
3. 南京大学医学院细胞生物学教研室, 江苏南京, 210093

[摘要] 目的:研究硒酸钠(一种主要的无机含硒化合物)对人前列腺癌细胞系 PC-3 生长和增殖的影响。方法:用硒酸钠对体外培养的人前列腺癌细胞 PC-3 进行药物处理,然后用 MTT 法测定细胞的活力,用 ³H-TdR 掺入法测定细胞的增殖情况。结果:24 小时作用时,硒酸钠中剂量组 A 值显著低于对照组,高剂量组 A 值与对照组有极显著差异。48 小时作用时,硒酸钠低剂量组 A 值显著低于对照组,中剂量和高剂量组 A 值与对照组有极显著差异;48 小时的硒酸钠处理抑制 PC-3 细胞的增殖,中剂量组与对照组相比有显著差异,高剂量组与对照组有极显著差异。结论:硒酸钠可抑制 PC-3 细胞的活力,抑制细胞增殖,并且这两种作用都呈剂量依赖效应。

[关键词] 硒酸钠; PC-3 细胞系; MTT 法; ³H-TdR 掺入法

中图分类号:R737.25 文献标识码:A 文章编号:1007-3639(2005)02-0153-03

Effect of sodium selenate on the viability and proliferation of PC-3 cell line, a kind of human prostate cancer cell ZHANG Bao-guo, YANG Jin-song, YAO Le-shen, et al (Department of Oncology, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing Jiangsu, 210006, China)

[Abstract] **Purpose:** To study the effect of sodium selenate on the viability and proliferation of PC-3 cell, a kind of human prostate cancer cell. **Methods:** Sodium selenate was administered to PC-3 cells, and MTT assay and ³H-TdR adulterated assay were used to estimate the viability and proliferation of cell. **Results:** When cells were treated with Sodium selenate for 24 h, the optical density (A) of middle-dose group decreased significantly, and the A of the high-dose group decreased dramatically. When cells were treated for 48 h, the A of the low-dose group was significantly lower than that of the control group, while the A of the middle-dose and high-dose groups was much lower than control. When cells were treated for 24 h, the proliferation of middle-dose group decreased, and that of high-dose group decreased markedly. **Conclusion:** Sodium selenate can inhibit the viability and proliferation of PC-3 cells, and these actions occur in a dose-dependent manner.

[Key words] sodium selenate; PC-3 cell; MTT assay; ³H-TdR adulterated assay

硒是一种人体必需的微量元素之一,人类流行病学研究发现硒的摄入量和癌症发生率呈负相关关系。硒摄入缺乏往往伴随着癌症发生率的增高^[1-3],而增加硒的摄入可降低某些癌症的发生率和死亡率,包括前列腺癌,子宫癌,直肠癌,乳腺癌等^[4-6]。目前,硒元素作为一种有防癌抗癌效果的微量元素,已引起学术界的广泛重视,逐渐成为了一个研究热点,而国内关于硒元素抗癌特性的研究报道还很少。关于含硒化合物的抑癌机制,主要有以下 4 种:含硒化合物可降低化学致癌物质与 DNA 的共价结合^[7],防止癌症的发生。含硒化合物对某些癌细胞具有特殊的杀伤作用^[8,9]。当体内细

胞长时间暴露于过多的氧化压力时,细胞就会进入一种遗传不稳定的状态,导致癌症的发生;而硒元素能参与并促进体内多种抗氧化酶的合成(如谷胱甘肽氧化还原酶,硫氧还蛋白还原酶),缓解氧化压力,预防癌症发生^[10,11]。含硒化合物可调整和激活身体的免疫功能,从而间接地抑制肿瘤的生长。

迄今为止,人们对于硒元素预防肿瘤发生的机制已经较为清楚,主要涉及上述, , 等 3 种机制。然而,许多临床和实验证据表明:对于已经患有癌症的人或动物,增加硒元素摄入可抑制肿瘤的生长和恶化^[6,12]。硒元素的这一作用主要应从上述第 种机制去探讨。但是目前对于硒元素可抑制那些种类的癌细胞,以及其发挥抑制效应的途径还很不清楚,需要进一步研究。本工作的目的就是研究硒

第一作者简介:张保国,男,主治医师。

酸钠(一种主要的无机含硒化合物)对人前列腺癌细胞系 PC-3生长和增殖的影响。

1 材料和方法

1.1 材料、仪器 人前列腺癌细胞 PC-3购自上海细胞所细胞库,硒酸钠和 MTT购自 Sigma公司,胰蛋白酶和 RPMI1640培养基购自 GBCO公司,优质小牛血清(中国杭州四季青生物技术公司),³H-TdR购自中国原子能研究所。冷冻离心机(Heraeus公司,400R),CO₂培养箱(Heraeus, BB5060UV),BHC-1300生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司),酶标仪(Bio-Rad 550),ZT-型多空细胞样品收集器,Beckman LS-6500液闪计数器。

1.2 PC-3细胞的培养 将购买的细胞培养于 RPMI1640培养基中(其中添加 10%小牛血清,100 u/ml青霉素 100 μg/ml链霉素),细胞传代使用 0.25%胰蛋白酶消化,每 2天换 1次培养液。当细胞培养至一定规模时,用胰酶消化获得细胞,PBS多次洗涤,调节细胞密度至 10⁵个/ml,将细胞接种到 96孔板中,每孔 0.1ml,细胞接种后继续培养 24小时,然后用于不同的实验。

1.3 MTT法检测细胞的活力 将 96孔板中的细胞分为 4组,分别为对照组,硒酸钠低、中、高剂量组。对照组用普通培养液继续培养,硒酸钠作用组用添加了硒酸钠的培养基培养,药物终浓度分别为 5、10和 15 μmol/L。加药后分别继续培养 24和 48小时,然后每孔加 MTT 200 μl(5 mg/ml),4小时后弃去培养基,每孔加二甲基亚砷 100 μl,酶标仪上测定 A_{570nm}。

1.4 ³H-TdR掺入实验 按上述方法以不同浓度的硒酸钠处理细胞 48小时后,加入³H-TdR(5 × 10⁴ Bq/cell),继续培养 12小时后,用胰酶消化细胞,用多空样品收集器收集细胞于 999型纤维膜上,烘干加闪烁液,于 Beckman LS-6500 液闪计数器上计数^[13,14]。

1.5 统计处理 实验结果用 SPSS 10.0统计软件进行统计,统计方法为 t检验,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 硒酸钠对 PC-3细胞活力的影响 由表 1可见,硒酸钠可抑制 PC-3细胞的活力。24小时作用时,硒酸钠中剂量组 A 值显著地低于对照组,高剂量组 A 值与对照组有极显著差异。48小时作用时,硒酸钠低剂量组 A 值显著低于对照组,中剂量和高

剂量组 A 值与对照组有极显著差异。

表 1 硒酸钠对 PC-3细胞活力的影响

作用时间	对照组 A 值	硒酸钠低剂 量组 A 值	硒酸钠中剂 量组 A 值	硒酸钠高剂 量组 A 值
24 h	0.408 ± 0.032	0.398 ± 0.028	0.369 ± 0.33*	0.342 ± 0.029#
48 h	0.566 ± 0.047	0.514 ± 0.036*	0.451 ± 0.041#	0.396 ± 0.034#

与对照组相比, *: $P < 0.05$; #: $P < 0.01$ 。

2.2 硒酸钠对 PC-3细胞增殖的影响 48小时的硒酸钠处理后,可抑制 PC-3细胞的增殖,低剂量组(2057 ± 217)cpm 与对照组(2110 ± 268)cpm 相比差异无显著性,中剂量组(1858 ± 158)cpm 与对照组相比差异有显著性,高剂量组(1704 ± 165)cpm 与对照组相比,差异有极显著性,并且硒酸钠对细胞增殖的抑制作用呈剂量依赖效应。

3 讨论

实验证据表明:在饮食中补充硒元素是一种有效的预防和治疗前列腺癌的方法^[15,16]。本实验的结果表明,硒酸钠可抑制 PC-3细胞的活力,并且这种抑制效应呈剂量依赖关系。24小时作用时,硒酸钠中剂量组细胞活力显著地与对照组,高剂量组与对照组有极显著差异。48小时作用时,硒酸钠低组细胞活力显著低于对照组,中剂量和高剂量组与对照组有极显著差异,可见硒酸钠可长时间抑制 PC-3细胞的活力,随着作用时间的延长,硒酸钠作用组与对照组细胞活力的差距进一步扩大。³H-TdR 掺入实验的结果表明,硒酸钠处理可显著抑制 PC-3细胞的增殖,并且这种抑制作用呈剂量依赖效应。

有研究^[17]用亚硒酸钠处理 LNCaP 细胞(一种人前列腺癌细胞)的结果表明,亚硒酸钠不仅可以抑制 LNCaP 细胞的增殖,甚至可以在较短的时间内促使其凋亡(这一点与我们的实验结果存在一定的差异)。这一研究的结果与我们的结果基本上是一致的,即硒酸钠和亚硒酸钠都可以抑制前列腺癌细胞的增殖。实验结果间的差异可能是由于所用的含硒化合物以及肿瘤细胞系不同的缘故。

有研究^[18]对硒蛋氨酸(selenomethionine)的研究得出令人更为兴奋的结果,硒蛋氨酸不仅可以抑制人前列腺癌细胞 DU-145 的增殖,而且还能抑制人乳腺癌细胞 MCF-7 和人黑色素瘤细胞 UACC-375 的增殖,可见硒元素的抗癌活性是相当广泛的。

虽然许多实验证据都证明,硒元素可以抑制前列腺癌的发展,但是其产生作用的具体分子机制和信号传导过程还不为人知,需要进一步研究。

[参考文献]

- [1] Clark LC, Cantor KP, Allaway WH. Selenium in forage crops and cancer mortality in US counties [J]. *Arch Environ Health*, 1991, **46** (1): 37-42.
- [2] van den Brandt PA, Goldbohm RA, van't Veer P, et al. A prospective cohort study of toenail selenium levels and risk of gastrointestinal cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1993, **85** (3): 224-229.
- [3] Garland M, Morris JS, Stampfer MJ, et al. Prospective study of toenail selenium and cancer among women [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1995, **87** (7): 497-505.
- [4] Yoshizawa K, Willett WC, Morris JS, et al. Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1998, **90** (9): 1219-1224.
- [5] Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Norkus EP, et al. Prospective study of serum micronutrients and ovarian cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1996, **88** (1): 32-37.
- [6] Blot WJ, Li JY, Taylor PR, et al. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1993, **85** (18): 1483-1492.
- [7] El-Bayoumy K, Chae YH, Upadhyaya P, et al. Inhibition of 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced tumors and DNA adduct formation in the mammary glands of female Sprague-Dawley rats by the synthetic organoselenium compound 1,4-phenylenebis (methylene) selenocyanate [J]. *Cancer Res*, 1992, **52** (9): 2402-2407.
- [8] Ronai Z, Tilbotson JK, Traganos F, et al. Effects of organic and inorganic selenium compounds on rat mammary tumor cells [J]. *Int J Cancer*, 1995, **63** (3): 428-434.
- [9] Sinha R, Said T, Medina D. Organic and inorganic selenium compounds inhibit mouse mammary cell growth in vitro by different cellular pathways [J]. *Cancer Lett*, 1996, **107** (2): 277-284.
- [10] Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, et al. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase [J]. *Science*, 1973, **179** (11): 588-590.
- [11] Ganther HE. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase [J]. *Carcinogenesis*, 1999, **20** (7): 1657-1666.
- [12] Yu SY, Zhu YJ, Li WG. Protective role of selenium against hepatitis B virus and primary liver cancer in Qidong [J]. *Biol Trace Elem Res*, 1997, **56** (1): 117-124.
- [13] 张有顺, 黄玲, 杨红玲, 等. 肝癌患者 C1K 细胞的诱导及对肝癌细胞毒作用的研究 [J]. 上海免疫学杂志, 2003, **23** (4): 201-203.
- [14] 龚素珍, 刘培庆, 鲁伟等. 醛固酮促进心室成纤维细胞增殖作用 [J]. 中国应用生理学杂志, 2001, **17** (1): 64-66.
- [15] Combs GF. Impact of selenium and cancer - prevention findings on the nutrition - health paradigm [J]. *Nutr Cancer*, 2001, **40** (1): 6-11.
- [16] Pathak SK, Shama RA, Mellon JK. Chemoprevention of prostate cancer by diet-derived antioxidant agents and hormonal manipulation [J]. *Int J Oncol*, 2003, **22** (1): 5-13.
- [17] Jagadananda G. Rapid induction of apoptosis in prostate cancer cells by selenium: reversal by metabolites of arachidonate 5-lipoxygenase [J]. *Biochem and Biophys Res Commun*, 2004, **315** (4): 624-635.
- [18] Claire R, Julie A. Scott, AT, et al. Inhibitory effect of selenomethionine on the growth of three selected human tumor cell lines [J]. *Cancer Letters*, 1998, **125** (2): 103-110.

(收稿日期: 2004-07-01 修回日期: 2004-10-14)