

维生素 E 和硒对正常及其恶性细胞 增殖的联合作用

呼文亮 许静洪 张海莲

(延安医学院生化教研室)

摘 要 为进一步评价补充维生素 E 和硒的安全性,本文以正常仓鼠幼肾成纤维细胞株(BHK-21/C13)及其多瘤病毒转化的恶性细胞株(BHK-21/Py Y)为对象,探讨了不同浓度的维生素 E 和硒对该对细胞增殖情况的单独和联合作用。结果显示:7 μ mol/L 的维生素 E 使 BHK-21/c13 和 BHK-21/P yY 细胞株在 96h 的细胞计数分别增加 11% 和 16%;0.1 μ mol/L 的亚硒酸钠对上述二株细胞的增殖无影响;同时补充以上相同浓度的维生素 E 和亚硒酸钠,96h 时的 BHK-21/C13 的细胞计数增长 78%,而 BHK-21/P yY 未改变。提示:低浓度的维生素 E 和硒的联合应用,在安全性方面优于二者的单独使用。

关键词 维生素 E 硒 细胞增殖 肿瘤

不少作者报道;某些抗氧化性营养物质的摄入量减少,患癌症等疾病的危险性增加^[1,2],越来越多的细胞培养及动物实验的结果也表明:某些抗氧化剂、特别是维生素 E 和微量元素硒具有多方面的抗肿瘤效应^[2,3]。据此,不少作者认为应增加这些微量营养物质的每日摄入量^[4]。虽然一般对维生素 E 的安全性持乐观态度^[7],但对硒在一下浓度下敌友不分的细胞毒性作用却应谨慎从事^[5,6],尤其是对于几种抗氧化性营养物质对正常及其同源恶性组织或细胞的综合作用的研究,尚嫌不够。为此,本文采用正常仓鼠幼肾成纤维细胞株(BHK-21/C13)及其多瘤病毒转化的恶性细胞株(BHK-21/P yY)为对象,探讨了一定浓度的维生素 E 和硒对该对细胞增殖情况的单独和联合作用。

1 材料和方法

1.1 试剂

维生素 E(α -生育酚)和亚硒酸钠系 Sigma 公司产品,小牛血清(FCS)、Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)、Phosphate buffered saline(PBS)和胰蛋白酶-EDTA 购自 Gibco 公司。

* 收稿日期:1994-12-06

* 国家教委优秀青年教师基金和陕西省教委重点科研基金资助项目。

1.2 细胞培养

BHK-21/C13 和 BHK-21/PyY 细胞在 37℃、含 5%CO₂ 的空气条件下,在含有 10% FCS 的 DMEM 中进行单层常规培养。不同浓度的 α -生育酚(溶于 95%乙醇)和亚硒酸钠在接种细胞时加入基础培养液(DMEM+10%FCS)。基础培养液的 α -生育酚和硒浓度分别为 0.0072 和 0.019 μ mol/L。全部实验使用同一批号的 FCS。细胞在含有和不含有 α -生育酚和硒的基础培养液中生长不同时间后,找出对细胞生长无明显毒性的一定浓度的 α -生育酚和硒,并观察二者的联合作用。

收获细胞时,将单层细胞依次用 DMEM 洗二次,胰蛋白酶消化,PBS 液洗两次,在 PBS 液中计数细胞(使用 Coulter Counter)。培养基用 Milli-Q 纯水配制。

1.3 统计

采用 T 检验,结果用均值士标准误表示。

2 实验结果

培养基中亚硒酸钠的浓度未超过 0.1 μ mol/L 时,与对照组相比,非转化株及转化株的细胞计数均无明显改变 $p>0.05$ (表 1,2);硒浓度大于 0.5 μ mol/L 时,两种细胞的生长均受到抑制 $p<0.01$ (表 1,2)。

培养基中加入 7 μ mol/L 维生素 E,与对照组相比,非转化株及转化株的细胞计数分别增加了 11%和 16%, $p<0.01$ (表 3,4);维生素 E 的浓度达到和大于 28 μ mol/L 时,两株细胞都被抑制 $p<0.01$ (表 3,4)。

培养基中同时加入 0.1 μ mol/L 的亚硒酸钠和 7 μ mol/L 的维生素 E 后,非转化株的细胞数比对照组增加 78%, $p<0.001$,转化株的细胞数与对照组无显著差异, $p>0.05$ (图 1,2)。

表 1 不同浓度硒对 BHK-21/C13 细胞生长的影响

生长时间 (小时)	硒浓度(μ mol/L)——细胞数目(百万)					
	0	0.01	0.05	0.1	0.5	2.5
0	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
48	0.22 \pm 0.02	0.23 \pm 0.01	0.22 \pm 0.01	0.22 \pm 0.01	0.19 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01*
72	0.41 \pm 0.02	0.41 \pm 0.02	0.42 \pm 0.02	0.40 \pm 0.02	0.33 \pm 0.02*	0.23 \pm 0.02*
96	1.70 \pm 0.10	1.73 \pm 0.11	1.65 \pm 0.10	1.60 \pm 0.10	1.28 \pm 0.08*	0.98 \pm 0.07*
120	1.17 \pm 0.09	1.19 \pm 0.09	1.16 \pm 0.09	1.15 \pm 0.09	0.89 \pm 0.08*	0.75 \pm 0.06*

n=9, * $p<0.01$

表 2 不同浓度硒对 BHK-21/PyY 细胞生长的影响

生长时间 (小时)	硒浓度(μ mol/L)——细胞数目(百万)					
	0	0.01	0.05	0.1	0.5	2.5

0	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
48	0.21±0.01	0.21±0.01	0.22±0.01	0.21±0.01	0.17±0.01 *	0.13±0.01 *
72	0.39±0.02	0.38±0.02	0.40±0.02	0.38±0.02	0.32±0.02 *	0.30±0.01 *
96	1.54±0.10	1.58±0.11	1.52±0.10	1.42±0.10	1.11±0.07 *	0.96±0.07 *
120	1.10±0.09	0.99±0.08	0.98±0.08	0.96±0.08	0.81±0.07 *	0.67±0.06 *

n=9, *p<0.01

表 3 不同浓度 α-生育酚对 BHK-21/C13 细胞生长的影响

生长时间 (小时)	α-生育酚浓度(μ mol/L)——细胞数目(百万)					
	0	7	14	21	28	49
0	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
48	0.20±0.01	0.21±0.01	0.24±0.02	0.22±0.01	0.19±0.01	0.18±0.01 *
72	0.41±0.02	0.47±0.03 *	0.50±0.03 *	0.45±0.03	0.35±0.02 *	0.25±0.02 *
96	1.58±0.11	1.76±0.12 *	1.94±0.13 *	1.73±0.12	1.39±0.10 *	1.19±0.10 *
120	1.08±0.08	1.20±0.09	1.28±0.09 *	1.14±0.10	1.07±0.09	1.01±0.09

n=9, *p<0.01

表 4 不同浓度 α-生育酚对 BHK-21/PyY 细胞生长的影响

生长时间 (小时)	α-生育酚浓度(μ mol/L)——细胞数目(百万)					
	0	7	14	21	28	49
0	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
48	0.17±0.01	0.18±0.01	0.20±0.01 *	0.17±0.01	0.17±0.01	0.16±0.01
72	0.35±0.02	0.41±0.02 *	0.55±0.03 *	0.38±0.02	0.34±0.02	0.33±0.02
96	1.47±0.12	1.71±0.13 *	1.83±0.13 *	1.49±0.11	1.21±0.07 *	1.10±0.09 *
120	0.94±0.08	1.34±0.10 *	1.62±0.12 *	1.25±0.10 *	1.10±0.09	0.98±0.08

n=9, *p<0.01

3 讨论

已知过高浓度的硒产生毒性,我们的结果进一步证实了这一点:硒水平达到 0.5μmol/L 时,不仅抑制肿瘤细胞的繁殖,但同时也抑制正常细胞的生长(表 1,2)。虽然高浓度硒的细胞

毒性机理不完全清楚,但与其诱导突变和抑制DNA合成不无关系^[8,9]。因此,补硒应以低浓度为宜,因为:该水平的硒对细胞生长无明显影响(表1,2)。

已有报道:细胞培养过程、特别是培养末期有“稳态水平”的脂质过氧化反应,它对细胞增殖可能具有下调作用^[10]。基础培养液中的维生素E浓度很低,可能不足以防止这种反应。维生素E是一种强大的自由基清除剂,所以在基础培养基中加入低浓度的维生素E后,显著刺激细胞的生长(表3,4)。

然而,维生素E水平达到或超过 $28\mu\text{mol/L}$ 时,对两株细胞也产生抑制作用(表3,4),可见:高浓度的维生素E也有细胞毒作用。很可能是由于维生素E在高浓度时具有促氧化效应^[11],因而抑制细胞增殖。

有趣的是,培养基中同时加入对细胞生长有刺激作用或无明显细胞毒性的 $7\mu\text{mol/L}$ 的维生素E和 $0.1\mu\text{mol/L}$ 的亚硒酸钠后,在细胞生长曲线的高峰处(即96小时)测定细胞数目(表1,2,3,4),发现:非转化株的细胞数大幅度增加,而转化株则不受影响(图1,2),这表明:两种物质联合应用时,对正常和恶性细胞的增殖表现出某种不同的互补性或协同性。这一现象值得进一步探讨。显然,维生素E和亚硒酸钠的联合应用优于两者单独使用。

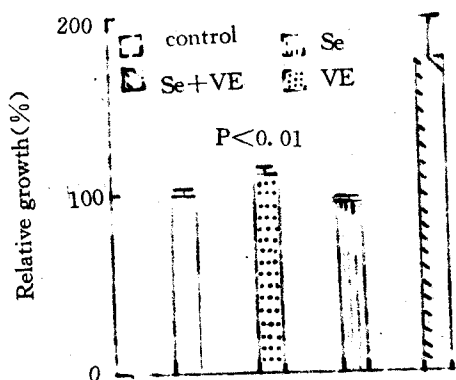


Fig 1 Relative growth of BHK-21/C13 Cells In Vitamin E and sodium selenite supplemented medium. VE: vitamin E ($7\mu\text{mol/L}$); Se: selenite ($0.1\mu\text{mol/L}$). $n=9$

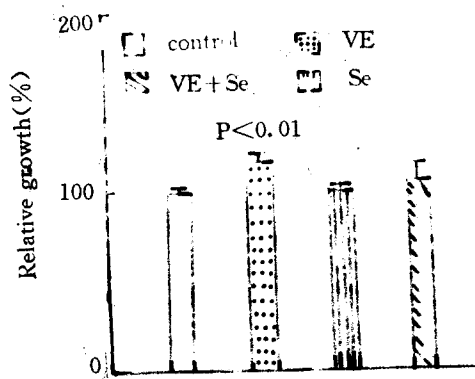


Fig 2 Relative growth of BHK-21/PyY cells in vitamin E and sodium selenite supplemented medium. VE: vitamin E ($7\mu\text{mol/L}$). Se: selenite ($0.1\mu\text{mol/L}$). $n=9$

参 考 文 献

- 1 Gey, KF, Brubacher, GB and Stahelin, HB. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 1987; 45(5 suppl): 1368-77.
- 2 Diplock, AT. Antioxidant nutrients and diseases prevention; an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53(1 suppl): 189S-193S.
- 3 Wang, YM, Parewal, M, Nixon, B, et al. Vitamin E and cancer prevention in an animal model. In Diplock, AT, Machlin, LJ, Packer, L, et al (eds). *Vitamin E: Biochemistry and health implications.*

- New York: The New York Academy of Sciences, 1989; 203—212.
- 4 Diplock, AT. Dietary supplementation with antioxidants. Is there a case of exceeding the recommended allowance? *Free Rad. Biol. Med.* 1987; 3(3): 199—201.
 - 5 赖凯华, 陆瑞芳, 徐达道. 硒、维生素A、E对人类乳腺癌细胞增殖的影响. *营养学报*. 1992; 14(1): 48—53.
 - 6 Golczewski, JA, Frenkel, GD. Cellular selenoproteins and the effects of selenite on cell proliferation. *Biological Trace Element Research*. 1989; 20: 115—126.
 - 7 Kappus, H, Diplock, AT. Tolerance and safety of vitamin E. Illinois, USA: VERIS, Lagrange, 1991; 5—27
 - 8 Gruenwedel D W, Cruikshank M K. The influence of sodium selenite on the viability and intracellular synthetic activity (DNA, RNA and protein) of hela's cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1979; 50: 1
 - 9 Ray J H, Altenburg L C. Sister—chromatid exchange induction by sodium selenite; Plasma protein—bound selenium is not the active SCE—inducing metabolite of Na_2SeO_3 . *Mutation Res*, 1982; 102: 285
 - 10 Burdon, RH and Rice—Evans, C. Free radicals and the regulation of mammalian cell proliferation. *Free Rad Res Comms*. 1989; 6(6): 345
 - 11 Chan, H W—S and Coxon, DT. Lipid hydroperoxides. In: *Autoxidation of unsaturated lipids*. ed Chan H W—S, pp 17—50, London, Academic Press (1987)

Effect Of Co—supplementation With Vitamin E and Selenium On Normal and Malignant Cell Proliferation

Hu Wen Liang Xu Jing Hong Zhang Hai Lian

(Division of Biochemistry, Yanan Medical College)

Abstract In order to evaluate vitamin E and selenium in terms of safety, We have investigated individual and combined effects of vitamin E and selenium at different concentration on proliferation of a normal baby hamster kidney fibroblast cell line (BHK—21/C13) and its polyoma virus transformed counterpart (BHK—21/PyY). The results showed that vitamin E (α -tocopherol), at a concentration of $7\mu\text{mol/L}$, stimulated BHK—21/C13 and BHK—21/PyY growth by 11% and 16% respectively; selenium (sodium selenite), up till to $0.1\mu\text{mol/L}$, had no effect on growth of both cell lines; co—supplementation with vitamin E and selenium at the same concentrations as mentioned above increased BHK—21/C13 growth rate by 78%, while BHK—21/PyY cell line remained unaltered. The results suggest that co—supplementation with vitamin E and selenium at low concentration is better than separate supplementation of them in the light of safety.

Key words vitamin E selenium cell proliferation tumour