

硒对体外培养肿瘤细胞生长的抑制作用

曹洁 综述 李瑞珍 龚书明 审校

第四军医大学军队卫生学教研室 西安 710033

自从 Clayton 和 Baumann 首先提出硒为抗癌元素以来, 硒与肿瘤的关系引起了人们的广泛关注。自本世纪七十年代至今, 大量流行病学调查和动物实验研究证实, 硒与多种人类肿瘤的发病率呈负相关^(1,2), 而且硒能抑制实验动物自发性、移植性及化学致癌剂或病毒诱发的肿瘤^(3,4)。但迄今为止, 硒的抗癌机制仍不十分清楚。近年来, 应用体外培养肿瘤细胞研究硒的抗癌作用及其机理愈来愈成为硒抗癌研究中的一条重要途径。目前报道较多的是硒对白血病细胞和肝癌细胞增殖作用的影响。本文主要就这方面的研究进展做一概述。

1. 硒与白血病细胞

1979年, Ebert 与 Malinin 报道, 无机硒化合物对 Friend 小鼠红白血病细胞 (FELC) 有诱导分化作用。以后, Cox 等对硒诱导 FELC 分化的作用机制进行了研究, 指出硒直接抑制了 DNA 甲基化酶而导致 DNA 甲基化不足, 可能是硒对 FELC 诱导分化的一种作用机制⁽⁵⁾。1987年, Frenkel 等人证明, 亚硒酸盐与巯基化合物生成的产物三硫代硒对 DNA、RNA 聚合酶均有抑制作用。他们推测硒的抗肿瘤作用可能是抑制 DNA 聚合酶的结果。最近国内学者也相继研究证实, 亚硒酸钠能干扰人早幼粒白血病细胞 (HL-60) DNA 的代谢而抑制其生长, 并能诱导 HL-60 细胞分化^(6,7)。1983年, Lucas 等研究发现, 含硒核苷同类物硒吡咯核苷在一定的药物浓度下 ($\geq 1\mu\text{M}$) 不仅抑制 HL-60 细胞的繁殖生长, 而且还可诱导其分化成熟。这种诱导分化作用可能与硒吡咯核苷抑制了鸟苷酸生

物合成的关键酶——磷酸次黄苷脱氢酶 (IMPO) 有关。

体外一系列实验发现, 硒化合物对生物代谢具有双相作用, 即在低浓度时能促进细胞的生长和代谢; 高浓度时 (一般大于 10^{-8}M) 即能抑制其生长。 10^{-4}M 的硒半胱氨酸可导致 HL-60 细胞 90% 死亡, 亚硒酸钠致死 70%, 毒性显著大于硒酸钠 (30%) 和硒蛋氨酸 (10%)⁽⁸⁾。这表明硒对细胞作用的强弱取决于硒化物的剂量和形式。

2. 硒与肝癌细胞

1985年赵清正等⁽⁹⁾研究发现, 硒浓度为 10^{-6}M 时, 肝癌细胞 $^3\text{H-TdR}$ 、 $^3\text{H-UR}$ 和 $^3\text{H-Leu}$ 掺入抑制率分别是 7%、5.5% 和 6.8%, 随硒浓度增加, 抑制作用增强; 当硒浓度为 10^{-4}M 时, 抑制率分别为 27.5%、27.5% 和 23%, 而对正常肝细胞则无影响, 说明硒能选择性地抑制肝癌细胞的生物大分子合成。最近, 秦锁富等报道, 在培养液中分别加入不同剂量的亚硒酸钠, 发现除 $0.83\mu\text{mol/L}$ 对细胞生长无影响, $40\mu\text{mol/L}$ 有明显的毒性外, 在 $2.5\mu\text{mol/L}$ 至 $10\mu\text{mol/L}$ 剂量范围内可明显抑制人肝癌细胞株 SMMC-7721 的生长, 随培养时间的延长, 抑制程度增加, 可见亚硒酸钠对细胞生长抑制作用具有剂量和时间依赖性关系。进一步研究发现, 经亚硒酸钠处理后, SMMC-7721 细胞膜上纤维连接蛋白 (Fn) 沉积量和培养液中的 Fn 同时增加, 揭示亚硒酸钠可诱导 Fn 的合成, 这可能与细胞接触抑制恢复有关。同时观察到 SMMC-7721 细胞经亚硒酸钠作用后, 甲胎蛋白分泌减少, 反映亚硒酸钠能诱导恶性细胞重新分化, 使其向正常方向逆转。他们的

研究还证实, 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 亚硒酸钠可抑制 SMMC-7721 人肝癌细胞 $^3\text{H-TdR}$ 掺入率, 且硒与维甲酸联合应用时, 对细胞生长和 $^3\text{H-TdR}$ 掺入的抑制均有加和作用^(10,11)。

于树玉等⁽¹²⁾曾报道, 亚硒酸钠可选择性地作用于肝癌细胞线粒体, 阻止其老化膨胀, 抑制其氧化谷氨酸、丙酮酸, 通过调控线粒体结构和功能, 限制肝癌细胞能量代谢, 从而达到抑制肝癌细胞的生长。有实验证明, cGMP 含量与肿瘤生长成正比, 而 cAMP 有使恶性细胞逆转及抑制癌细胞生长的作用。亚硒酸钠可选择性地抑制肝癌细胞环磷酸腺苷磷酸二酯酶 (cAMP-PDE) 活性, 使 cAMP 含量升高, 从而拮抗致癌剂诱发 cGMP 升高的作用⁽¹³⁾。陈焕朝等⁽¹⁴⁾最近报道, 将小鼠腹水型肝癌 (HepA) 癌细胞在体外短期培养于 k-B. BSS 中 2 小时, 然后加入亚硒酸钠 (1 $\mu\text{g/ml}$), 发现给硒后对细胞存活无影响, 却可使癌细胞中 cGMP 水平下降 33%, 并认为硒的这一作用并不是通过抑制二酯酶, 而可能是对抗过氧化物和自由基的产生所致。

3. 硒与其它肿瘤细胞

Lewko⁽¹⁵⁾等报道亚硒酸盐 1.27 ~ 12.7 $\mu\text{mol/l}$ 可以进行性地抑制人体乳腺肿瘤细胞株的生长, 随着生长的抑制, 24 小时内尿蛋白的合成降低, 他们认为这是由于硒对延长因子 EF-2 的抑制作用。将硒加入硒敏感型细胞株 (CMT-13) 培养基中培养, 尿嘧啶在 RNA 中的掺入率降低。Webber⁽¹⁶⁾等研究证实, 含硒 $1 \times 10^{-6} \sim 2 \times 10^{-6}\text{M}$ 的培养液能抑制 50% 人类前列腺癌细胞 Du-145 的生长, 且此种癌细胞比 HeLa 细胞及鼠类乳腺肿瘤细胞对于硒所致的 DNA 合成抑制更为敏感。

有人报道, 在 HeLa 细胞培养中, $10^{-4} \sim 10^{-8}\text{M}$ 亚硒酸钠可明显抑制 DNA、RNA 的合成, 随着剂量增加, 抑制作用加大, 存在着明显的剂量依赖性⁽¹⁷⁾。柴希运等最近实验证

实, 将 HeLa 细胞分别与 2.5 μM 和 10 μM 亚硒酸盐共同孵育, 结果该细胞 DNA、RNA 和蛋白质的合成均明显降低。药物动力学研究表明, 亚硒酸钠对 HeLa 细胞 DNA 的毒性作用阈浓度为 0.5 ppm/cell; 当浓度为 2 ppm/cell 时, DNA 合成降低到 40%, 但这种毒性作用为可恢复性的, 即使亚硒酸钠浓度高达 130 ppm, 受损细胞在正常环境中仍在自行修复⁽¹⁸⁾。

1983 年, 敖鹏⁽¹⁹⁾实验证明, 1 $\mu\text{m/ml}$ 亚硒酸钠可阻断体外培养人食管癌细胞的各细胞周期的进程, 从而抑制细胞的分裂和增殖, 而这一剂量对人胚肺细胞则无影响, 因此认为硒对食管癌细胞的抑制具有特异性。谢根法⁽²⁰⁾报道, 10^{-5}M 亚硒酸钠作用于 SGC-7901 胃癌细胞系 72 小时, 可杀死 54% 的 SGC 细胞, 且随着亚硒酸钠作用时间的增加, SGC 细胞系形成集落的能力逐渐下降, 说明亚硒酸钠对细胞增殖有一定的抑制作用。

另外, 有人把不同硒化合物与艾氏腹水瘤细胞相作用, 结果表明细胞毒力最强的是亚硒酸钠和二氧化硒, 温育 4 小时, 使细胞生存下降 90%, 而硒酸钠则无影响⁽²¹⁾。有研究指出, 亚硒酸钠能影响艾氏腹水瘤细胞线粒体的呼吸及氧化磷酸化。其抑癌机制可能与硒抑制癌细胞某些底物的氧化从而不能供给充足能量有关。

但也有少数实验发现, 硒对某些肿瘤细胞生长具有促进作用。薛君武⁽²²⁾等报道, 人体肺小细胞癌的 15 个标本在含硒的 HITES 细胞培养液中培养, 其中 93% 显示生长良好; 还发现该培养液对来自人体结肠、卵巢及肺部的腺癌的 58 个标本中的部分标本生长良好。硒在 G_2 培养液中对人类 U-251MGsp 和鼠类 C₅-2BD 胶质瘤的繁殖, 以及在 IS-RPMI 培养液中对人类肝癌细胞 HuH-7 的生长有促进作用。尽管如此, 大多数研究结果仍支持硒是肿瘤细胞抑制剂的论点。

4. 结语

硒具有抗癌作用的证据, 绝大多数来自动物实验的结果。但动物抑癌实验周期长, 且干扰因素多, 不能很好地解决硒抗癌的机制问题。近十多年来, 硒的体外抗癌研究颇受人们的关注。实验表明, 硒对肿瘤细胞增殖具有明显抑制作用。同时, 应用培养肿瘤细胞研究硒的抗癌机制也已取得了一些成果。但是, 硒作为抗癌剂从实验研究到实际应用还有相当一段距离。尚存在一些问题有待进一步探讨, 如进行硒的体内药物动力学研究, 结合动物抑癌实验和临床试验, 为确定硒的抗癌作用剂量提供理论依据; 从分子水平进一步阐明硒在生物大分子合成中的作用。此外, 亚硒酸钠是目前硒抗癌的一种主要形式, 有人报道, 有机硒易被人体吸收, 且毒性较无机硒低⁽²³⁾。因此, 应努力寻找更有效的抗癌硒化物, 并通过体外系统筛选, 逐步应用于人类癌症的预防和治疗。

参考文献

- Allaway WH, et al. Selenium molybdenum and vanadium in blood. *Arch Environ Health* 1968; 16: 342.
- Bogden JD, et al. Composition of tobaccos from countries with high and low incidences of lung cancer. 1. Selenium, polonium-210, alternaria, tar, and nicotine. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 27.
- Clement IP. Selenium inhibition of chemical carcinogenesis. *Fed Proc* 1985; 44: 2573.
- Milner JA. Effect of selenium on virally induced and transplantable tumor models. *Fed Proc* 1985; 44: 2568.
- 姜绪荣, 等. 硒与血液系统肿瘤. *国外医学·医学地理分册* 1990; 11 (3): 97.
- 谢根法, 等. 硒抑癌作用的实验研究. *癌症* 1992; 11 (1): 40.
- 姜绪荣, 等. 亚硒酸钠抗白血病作用实验研究的初步探讨. *中华血液学杂志* 1990; 11 (1): 27.
- 原瑜. 不同硒化合物的生物学作用及临床意义. *国外医学·医学地理分册* 1991; 12 (4): 148.
- 赵清正, 等. 亚硒酸钠对大鼠肝癌生长的抑制作用及对肝癌细胞 DNA、RNA 蛋白质合成的影响. *中华肿瘤杂志* 1985; 7 (2): 158.
- 秦锁富, 等. 亚硒酸钠对人肝癌细胞株甲胎蛋白、纤维连接蛋白及细胞膜糖链的影响. *肿瘤* 1991; 11 (3): 133.
- 秦锁富, 等. 视黄酸和亚硒酸钠对人肝癌细胞生长和 DNA 合成抑制的相加作用. *癌症* 1992; 11 (1): 14.
- 于树玉, 等. 硒对肝癌及正常肝线粒体的膨胀——收缩、ATP 酶活性及氧化功能的影响. *中华肿瘤杂志* 1983; 5 (4): 319.
- 于树玉, 等. 亚硒酸钠对致癌剂黄曲霉毒素 B₁ 和二乙基亚硝胺诱发 cGMP 升高的拮抗作用. *中华肿瘤杂志* 1985; 7: 372.
- 陈焕朝, 等. 硒的抗癌机制研究——亚硒酸钠对环磷鸟苷的作用. *生物化学杂志* 1990; 6 (4): 371.
- Lewko WM, et al. Effect of sodium selenite on growth and protein synthesis in cultured human breast cancer cells. *Fed Proc* 1983; 42: 669.
- Webber MM, et al. Inhibitory effects of selenium on the growth of DU-145 human prostate carcinoma cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 130: 603.
- Gruenwedel DW, et al. The influence of sodium selenite on the viability and intracellular synthetic activity (DNA, RNA, and protein synthesis) of the HeLa S₃ cell. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979; 50: 1.
- 李洞, 等. 用放射性同位素研究硒的药物动力学. *国外医学·医学地理分册* 1990; 11 (3): 102.
- 敖鹏. 亚硒酸钠对体外培养的人食管癌上皮细胞和人胚肺二倍体细胞生物效应. *肿瘤防治研究* 1983; 10: 19.
- 谢根法, 等. 硒抑癌作用的实验研究. *癌症* 1992; 11 (1): 40.
- 顾康生. 硒的毒性与安全用量. *国外医学·医学地理分册* 1991; 12 (4): 145.
- 薛君武. 硒与癌症的化学预防. *国外医学·耳鼻咽喉分册* 1987; 1: 7.
- 田鸿生, 等. 硒酵母和 Na₂SeO₃ 对大鼠诱发性肺癌抑制作用的初步观察. *肿瘤防治研究* 1985; 12 (3): 123.