维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2005)03－0442－02

外源性透明质酸酶对人乳癌细胞株体外增殖的影响

王 良, 任国胜, 涂 刚

(重庆医科大学临床学院普外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨外源性透明质酸酶(Hyaluronidase, Hyase)对人乳癌细胞株增殖的影响。方法:应用 MTT 法和流式细胞仪观察外源性 Hyase 对人乳癌细胞株增殖率及细胞周期分布的影响。结果:ZR－75－30 细胞株实验组 A 值(0.674±0.221)明显高于对照组(0.563±0.046),$P<0.05$;实验组 S 期细胞百分率(%)为 18.36±0.65,对照组为 2.19±0.10;实验组 G_0/G_1 期细胞百分率(%)为 44.49±4.33,对照组为 62.14±26.97,两组比较均有显著性差异($P<0.05$)。MDA－MB－435 细胞株实验组 A 值(0.694±0.054)明显高于对照组(0.578±0.072),$P<0.05$。MDA－MB－231 细胞株实验组 A 值(0.736±0.059)明显高于对照组(0.637±0.046),$P<0.05$。结论:外源性 Hyase 可能具有促进人乳癌细胞株增殖的作用。

【关键词】透明质酸酶;乳癌;细胞周期

【中国图书分类法分类号】R737.9,R737.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2004－08－26

The effect of exogenous hyaluronidase on proliferation of human breast cancer cells in vitro

WANG Liang, et al

(*Department of General Surgery, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the effect of exogenous hyaluronidase on proliferation of human breast cancer cells in vitro. *Methods*: The proliferation of human breast cancer cell line ZR－75－30 were detected by MTT－assay and flow cytometry. *Results*: The absorbency value(A) of ZR－75－30 in study group treated with Hyase (0.674±0.221) was significantly higher than that in control group(0.563±0.046). The percentage of phase S cells in study group(18.36±0.65) was higher than that in control group(2.19±0.10); the percentage of phase G0/G1 cells in study group(44.49±4.33) was lower than that in control group(62.14±26.97). The absorbency value(A) of MDA－MB－435 in study group (0.674±0.221) was significantly higher than that in control group(0.563±0.046). The absorbency valve(A) of MDA－MB－231 in study group (0.674±0.221) was significantly higher than that in control group(0.563±0.046). *Conclusion*: Exogenous hyaluronidase may promote the proliferation of breast cancer cell lines in vitro.

【Key words】Hyaluronidase; Breast cancer; Cell cycle

肿瘤的侵袭转移机制十分复杂,涉及肿瘤细胞与宿主细胞、肿瘤细胞与细胞外基质(Extracelular Matrix,ECM)间的相互作用。透明质酸酶(Hyase)又称"扩散因子",与透明质酸(Hyaluronic acid,HA)均是 ECM 的重要成分。Hyase 降解 HA,降低细胞间黏附,促进细胞外基质去聚合,可能有促进肿瘤细胞迁移的作用。我们在前期的研究中已发现分泌 Hyase 较多的人乳腺癌细胞株,其侵袭力也较强[1]。本研究利用外源性 Hyase 作用于三株恶性程度不同的人乳癌细胞,观察外源性 Hyase 对其生长增殖的影响,拟进一步探讨 Hyase 与人乳癌浸润转移的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

三株人乳癌细胞 ZR－75－30、MDA－MB－435 和 MDA－MB－231 购于中国科学院上海生物研究所细胞库,Hyase 购于美国 Sigma 化学制品公司。

1.2 四甲基偶氮唑盐法检测细胞增殖率

将处于对数生长期的人乳癌细胞分别制成 5.0×10^4/ml 的细胞悬液,接种到 96 孔板中,每孔 200μl。①实验组:用 Hyase(50μg/ml)分别刺激三株细胞,每孔 20μl;②对照组:用

作者介绍:王 良(1971－),男,硕士,主要研究方向:乳腺癌。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371393)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 Hyase 对三株人乳癌细胞株增殖的影响(吸光度 A 值)

组别	ZR-75-30	MDA-MB-435	MDA-MB-231
实验组	0.674±0.234	0.694±0.054	0.736±0.059
对照组	0.563±0.078	0.578±0.072	0.637±0.046
细胞增殖率(%)	19.72%	20.07%	15.54%
P 值	<0.05	<0.05	<0.05

RPMI1640 分别刺激三株细胞,每孔 20μl。24h 后换上无血清 RPMI1640,并加入 MTT(5mg/ml,每孔 20μl),继续孵育 4h。加二甲亚砜 200μl/孔,于自动酶标仪 570nm 处测定每孔的吸光度(A)值。细胞增殖率(%)=[(实验组 A 值-对照组 A 值)/对照组 A 值]×100%。

1.3 流式细胞仪分析细胞周期

实验组加入 Hyase(50μg/ml),对照组加入等量 RPMI1640 培养液。作用 24h 后,将细胞用 PBS 洗涤、离心、70%的冰乙醇固定,经 PI 染色后上流式细胞仪,用 488nm 激发波长测定样品,分析细胞周期。

2 结 果

2.1 外源性 Hyase 对三株人乳癌细胞株增殖的影响

三株细胞的实验组 A 值(0.674±0.234,0.694±0.054,0.736±0.059)明显大于其相应的对照组 A 值(0.563±0.078,0.578±0.072,0.637±0.046),$P<0.05$。增殖率分别为 19.72%、20.07%、15.54%。外源性 Hyase(50μg/ml)可明显促进人乳癌细胞株的增殖,见表 1。

2.2 外源性 Hyase 对 ZR-75-30 细胞周期的影响

实验组细胞周期中 S 期细胞比例(18.36±0.65)%明显高于对照组 (2.19±0.10)%;G_0/G_1 期细胞比例(44.49±4.33)%明显低于对照组(62.14±26.97)%。

3 讨 论

肿瘤侵袭转移是一个复杂的过程,有不同调节机制涉及这一过程,其中细胞外基质(ECM)与肿瘤扩散关系极为密切。透明质酸(HA)和透明质酸酶(Hyase)是 ECM 中最重要的成分之一,参与肿瘤的侵袭转移过程。文献报道在卵巢癌、子宫内膜癌、进展期前列腺癌、膀胱癌中 Hyase 的活性增高或 mRNA 表达增强与肿瘤细胞的增殖及侵袭转移潜能密切相关[1]。Lin 等[2]将 Hyase 基因 HYAL1 构建入肿瘤细胞 DNA 中,结果发现处于 S 期的细胞百分率明显升高,G_0/G_1 期细胞百分率明显下降。

人乳癌细胞 ZR-75-30 为雌激素受体阳性细胞,恶性度较低,在课题组的前期研究中发现它自身的 Hyase 分泌量很低;MDA-MB-435 和 MDA-MB-231 为雌激素受体阴性、恶性度较高的人乳癌细胞株,它们的 Hyase 分泌量较高[3]。本研究利用外源性 Hyase 作用于这三株人乳癌细胞,经 MTT 法检测发现外源性 Hyase 有促进人乳癌细胞株增殖的作用,增殖率分别为 19.72%、20.07%、15.54%。经流式细胞仪检测实验组 ZR-75-30 细胞周期分布,S 期细胞百分率与对照组相比明显升高,G_0/G_1 期细胞百分率明显下降,同样提示外源性 Hyase 可促进人乳癌细胞株的增殖。

肿瘤细胞增殖是肿瘤侵袭转移的第一步。Csoka 等[4]的研究发现 Hyase 分解 HA,破坏 ECM 成分与框架,将固定在 ECM 中暂时没有发挥活性的细胞因子如成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)、转化生长因子(TGF)等释放出来,并认为这些生长因子的升高,促进了肿瘤细胞的增殖和迁移,这可能是 Hyase 促进肿瘤细胞增殖的原因。本研究的结果提示外源性 Hyase 可能是通过促进肿瘤细胞增殖而导致肿瘤的侵袭转移,但其相互关系和作用机制有待进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] Lokeshwar VB, Soloway MS, Block NL. Secretion of bladder tumor derived hyaluronidase activity by invasive bladder tumor cells[J]. Cancer Lett, 1998;131:21-27.

[2] Lin G, Stern R. Plasma hyaluronidase (Hyal-1) promotes tumor cell cycling[J]. Cancer Lett, 2001;163(1):95-101.

[3] 王小毅,任国胜,石 远,等.肝素对透明质酸酶不同表达水平的人乳腺癌细胞侵袭力的影响[J].第三军医大学学报,2002;24(10):1219-1221.

[4] Csoka TB, Frost GI, Stern R. Hyaluronidases in tissue invasion[J]. Invasion Metastasis, 1997;17:297-311.