

大肠癌细胞分泌的 β -葡萄糖醛酸苷酶 与其侵袭力关系的研究*

冯 树 宋今丹

(中国医科大学细胞生物学卫生部重点实验室 沈阳 110001)

β -葡萄糖醛酸苷酶(β -glucuronidase, β -G)是一种由细胞粗面内质网合成的基质降解酶,可降解细胞外基质中的蛋白聚糖,破坏基底膜而参与肿瘤侵袭与转移^[1,2]。本文应用Fischman法检测了6种人大肠癌细胞系培养液中 β -G的活力,籍以探讨人大肠癌细胞分泌 β -G的能力与其侵袭力间的关系。

材 料 和 方 法

1. 细胞

6种人大肠癌细胞系CX₁、CCL 187、CCL 227、CCL 228、CCL 229、CloneA均由美国哈佛大学Dana-Farber肿瘤研究所惠赠。

2. 试剂

DMEM培养基,酚酞 β -葡萄糖醛酸苷钠盐为Sigma公司产品;甘氨酸为上海康达氨基酸厂出品;十二烷基硫酸钠(SDS)为Serva公司产品。

3. 主要仪器

岛津160型紫外分光光度计。

4. 细胞培养及处理

六种人大肠癌细胞系均以 2.5×10^5 /ml接种于含10%小牛血清、2 U/ml庆大霉素的DMEM培养液中,在100%湿度、37℃、5%CO₂培养箱中培养。细胞培养3日后,换液,继续培养24小时,计数细胞并收集培养液,1000转/分,离心15分钟,上清经浓缩,调整体积至ml/ 5×10^6 cell。

5. β -G活力测定

(1) 制备酚酞标准曲线

(2) 参照Fischman^[3]法测定 β -G活力。以酚酞 β -葡萄糖醛酸苷钠盐为底物,于pH 4.5,37℃,保温18小时,释放的酚酞在pH 10.2呈粉红色,在岛津160型紫外分光光度计上测定540 nm处OD值。以酚酞标准曲线计算酶活力。酶活力单位为 10^6 个细胞每小时所释放产物酚酞的微克数($\mu\text{g}/10^6 \text{ cell} \cdot \text{h}$)。

6. 结果统计

t检验。

结 果

1. 酚酞标准曲线

见图1。

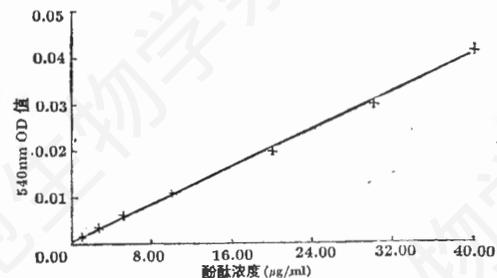


图1 酚酞标准曲线

2. β -G活力

见表1。

由表1可见,高侵袭力人大肠癌细胞CCL 227、CCL 228、CloneA及CCL 229分泌至培养液中的 β -G活力均显著高于低侵袭力的人大肠癌细胞CX₁和CCL 187。

表1 体外培养人大肠癌细胞培养液 β -G活力

细胞系	分化程度 ^[4,5]	侵袭力 ^[4-6]	样本数n	β -G活力 $\bar{X} \pm S$
CX ₁	高	低	6	1.29 ± 0.17
CCL 187	高	低	6	1.96 ± 0.28
CCL 229	高	高	6	3.37 ± 0.34*
CCL 227	高	高	6	2.46 ± 0.18*
CCL 228	高	高	6	2.73 ± 0.19*
CloneA	高	高	6	3.22 ± 0.38*

注* $P < 0.01$ 与CX₁、CCL 187比较

讨 论

β -G广泛存在于人和哺乳动物组织和体液中,具有分解类固醇葡萄糖醛酸和酸性蛋白聚糖及参与胆红素代谢等生理功能,但在某些情

* 国家自然科学基金资助项目

况下也会产生病理作用。过去的研究已证实多种恶性肿瘤组织中 β -G活力较其临近正常组织高^[7,8]。 β -G为粗面内质网合成的重要糖苷酶,能催化蛋白聚糖 β -糖苷链的分解,破坏基底膜而促进肿瘤侵袭和转移。Nicolson等^[9]报道,高侵袭力鼠黑色素瘤细胞分泌 β -G的水平高于低侵袭力鼠黑色素瘤细胞。迄今,对于 β -G与大肠癌关系的研究还多限于饮食导致肠道细菌的 β -G活力改变与大肠癌发生病因学的研究,因为肠道内的 β -G可使经血达大肠的已经肝脏解毒的一些致癌物再次被代谢为致癌物而导致大肠癌的发生,但尚未见到关于大肠癌细胞合成、分泌 β -G的能力与其侵袭力间关系的研究报道。

为研究大肠癌细胞合成、分泌 β -G的能力与其侵袭力的关系,本研究首次以生化方法检测了6种培养的人大肠癌细胞分泌至培养液中的 β -G活力。结果显示,高侵袭力大肠癌细胞CCL 227、CCL 228、CloneA及CCL 229分泌的 β -G活力均明显高于低侵袭力大肠癌细胞CX₁和CCL 187。

大肠癌细胞的恶性表型与其分化程度密切相关,一般认为,高分化癌细胞侵袭力低,低分化癌细胞侵袭力强。但也不尽然,孙宝栋、宋分丹^[9]已用人羊膜基底膜体外侵袭模型证实,高分化的CCL 229细胞即为一高侵袭力细胞系。本研究中观察到,CCL 229细胞分泌的与侵袭相关的 β -G活力较高。

本研究结果提示,培养的大肠癌细胞分泌

β -G的能力与其侵袭力有关,侵袭力强的癌细胞分泌 β -G的水平较侵袭力弱的癌细胞高。从本研究结果来看,大肠癌细胞分泌 β -G的水平可作为判断其侵袭力强弱程度的依据。

摘 要

以Fischman法检测了6种培养的人大肠癌细胞系分泌至培养液的 β -葡萄糖醛酸苷酶活力。结果显示高侵袭力细胞系分泌的该酶活力显著高于低侵袭力细胞系,提示培养的人大肠癌细胞分泌的 β -葡萄糖醛酸苷酶水平可作为判断其侵袭力高低的有用指标。

关键词: 人大肠癌细胞系 β -葡萄糖醛酸苷酶 侵袭力

参 考 文 献

- [1] Iozzo, RV. 1984, *Human Path.*, 15: 2—10.
- [2] Poole, AR., 1970, *Cancer Res.*, 30: 2253—2259.
- [3] Fischman, W H. et al., 1967, *Clin Chim Acta*, 15 (3): 435—447.
- [4] George, W. et al., 1989, *Cancer Res.*, 49: 681—686.
- [5] Edward, C. et al., 1991, *Arch Surg.*, 126: 1498—1502.
- [6] Sun BD, Song JD., 1995, *Cell Reserch*, 5: 135—142.
- [7] Fishman, WH., et al., 1959, *Cancer*, 12: 240—245.
- [8] 戴冬秋等, 1992, *中华肿瘤杂志*, 14 (4): 316—317.
- [9] Nicolson, GL. et al., 1993, *J Neuro-Oncology*, 18 (2): 139—149.

STUDY ON THE RELATIONSHIP BETWEEN INVASIVENESS AND β -GLUCURONIDASE SECRETED BY HUMAN COLORECTAL CARCINOMA CELL LINES

FENG Shu SONG Jin Dan

(Key Laboratory of Cell Biology, Ministry of Public Health of China, China Medical University, Shenyang 110001)

ABSTRACT

The activities of β -glucuronidase secreted from six human colorectal carcinoma cell lines that synthesized by the endoplasmic reticulum were measured with Fischman's method. The result showed that the high invasive cell lines secreted more β -glucuronidase than the low invasive ones. It was indicated that the secreted β -glucuronidase might provide a useful measurement for the invasiveness of human colorectal carcinoma cell lines.

Key words: Colorectal carcinoma cell line β -glucuronidase Invasiveness