

金雀异黄素诱导人胃癌细胞凋亡的形态学研究*

刘颖 宋丹凤 崔健梅 张玉梅 崔洪斌

(哈尔滨医科大学公共卫生学院,黑龙江 哈尔滨 150001)

摘 要:为研究金雀异黄素对人胃癌细胞凋亡的诱导作用,采用光镜、电镜观察金雀异黄素(Genistein, Gen)抑制人胃癌细胞 SGC-7901 增殖的形态学改变。结果显示:经 Gen 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作用 48 h 后,SGC-7901 细胞出现典型的凋亡形态。相差显微镜下表现为细胞变圆、体积缩小;荧光显微镜观察凋亡细胞多为核亮呈致密斑块、碎片状;电镜下可见染色质浓集、核固缩。结果证实:Gen 具有诱导人胃癌细胞凋亡的作用。

关键词:异黄酮类 癌 细胞死亡

中图分类号:Q946;R15;R735.2

文献标识码:A

文章编号:1004 - 8456(2001)05 - 0003 - 02

金雀异黄素(Genistein, Gen)是存在于天然植物中的异黄酮成分,具有多种生物学作用,有研究报道 Gen 对人乳腺癌细胞增殖有抑制作用。^[1,2]本研究以人胃癌 SGC-7901 细胞株作为离体试验对象,进行了 Gen 诱导人胃癌细胞凋亡的形态学观察。

1 材料与方法

1.1 金雀异黄素(Genistein, Gen)和 RPMI1640 分别购自美国 SIGMA 和 GIBCO 公司;吖啶橙(AO)为原平皓公司产品。

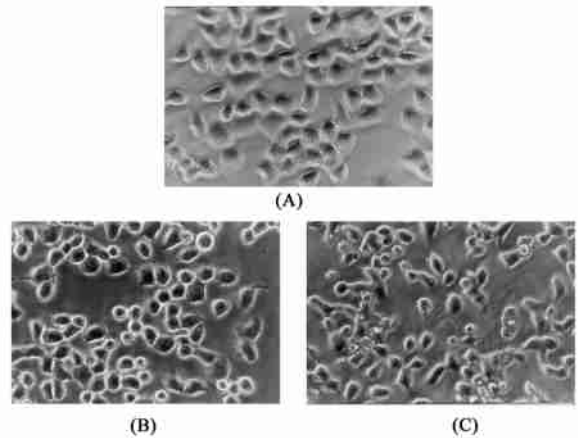
1.2 SGC-7901 细胞(北京市肿瘤研究所提供)用 RPMI1640 培养液置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱中培养,24 h 后细胞贴壁良好时换液,对照组加完全培养液,实验组加含终浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Gen 的完全培养液,两组细胞培养 24 h,48 h 后,分别于倒置显微镜下观察拍照。

1.3 荧光染色^[3] 用 0.02% EDTA 消化收集培养 48 h 的实验组和对照组细胞,制成浓度为 1×10^6 个/mL 的细胞悬液,用 AO(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 作荧光染色,于荧光显微镜下观察细胞形态变化。

1.4 电镜观察 两组细胞培养 48 h 后用 EDTA 消化收集, PBS 洗两遍, 2.5% 戊二醛及 1% 锇酸固定,环氧树脂(812)包埋,超薄切片,枸橼酸铅和醋酸铀双重染色, JEM-1200EX 电子显微镜下观察。

2 结果

2.1 倒置相差显微镜观察 对照组细胞贴壁生长良好,边界清楚,呈上皮样细胞形态。Gen 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作用 24 h,部分细胞变圆,体积缩小,细胞附壁疏松。Gen 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作用 48 h,可见较多细胞崩解为碎片(图 1)。



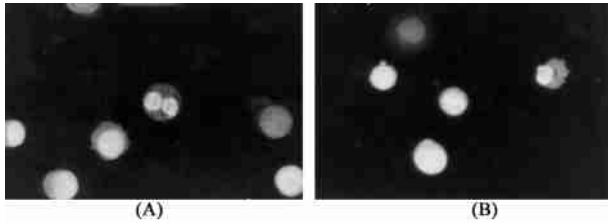
A, 对照组; B, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Gen 作用 24 h 的形态;
C, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Gen 作用 48 h 的形态($\times 100$)。

图 1 倒置相差显微镜下 SGC-7901 细胞形态

2.2 荧光显微镜观察 对照组在培养 48 h 后,大多数细胞呈正常形态;细胞经 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Gen 作用 48 h 后,细胞呈现核浓缩,核碎裂呈大小不等的圆形小体(图 2)。

2.3 电镜观察 对照组细胞表面有丰富的微绒毛、胞浆适量、各细胞器清楚、核膜完整、核染色质电子密度低;实验组经 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Gen 诱导 48 h 后,多数

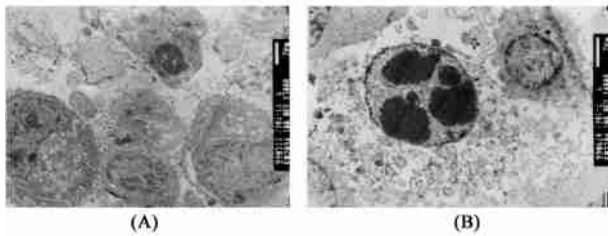
*国家自然科学基金资助项目(39970637)



A,对照组细胞染色质结构正常、染色均匀;B,10 µg/mL Gen作用48 h,凋亡细胞核呈致密斑块、碎片状(×200)。

图2 SGC-7901细胞荧光染色

细胞微绒毛消失,胞质密度增高,核染色质电子密度增高固缩成几个团块状(图3)。



A,对照组;B,10 µg/mL Gen作用48 h,凋亡细胞核染色质固缩成团块状。

图3 SGC-7901的超微结构

3 讨论 大豆制品中富含的植物雌激素 Gen 是近年来受到食品科学界广泛关注的非营养素成分。大量流行病学调查研究表明^[4,5]亚洲国家居民的乳腺癌、前列腺癌发病率显著低于西方发达国家,是亚洲国家居民大豆制品的人均消费量为西方发达国家的20~50倍,认为大豆具有抗癌作用,主要缘于其中的大豆异黄酮成分,特别是三羟异黄酮 Gen。Gen抑制肿瘤细胞增殖,是通过诱导细胞凋亡实现的。^[6,7]凋亡是细胞生理死亡的主要方式,在机体生长、发育及维持自身稳定中起重要作用。越来越多的资料表明:细胞凋亡与肿瘤有着密切关系,因为肿瘤不仅是

增殖和分化异常的疾病,同时也是凋亡异常的疾病,故研究细胞凋亡为肿瘤的治疗提供了新的思路。

本实验通过形态学观察表明:Gen对人胃癌SGC-7901细胞增殖有抑制作用,其作用与诱导细胞凋亡有关。荧光染料AO能进入细胞膜正常的细胞,胞膜正常的凋亡细胞因核DNA浓缩致密,并切割成大小不等的片段,所以呈致密浓染荧光增强的颗粒状或块状,本实验中可见有较典型的凋亡细胞。电镜下本实验10 µg/mL Gen作用48 h后可见核染色质固缩成几个高电子密度的块状聚集物、胞质浓缩、胞浆空泡化等形态学改变。这些改变表明Gen对SGC-7901细胞增殖抑制作用是由于激发了SGC-7901细胞的凋亡,但其机理有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Mindy S, et al. Dietary Phytoestrogens[J]. Annu Rev Nutr, 1997, 17:353—381.
- [2] Adlercreutz H, et al. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk[J]. J Nutr, 1995, 125:757—770S.
- [3] 韩锐. 抗癌药物研究与实验技术[M]. 北京:北医大协和医大联合出版社, 1997, 389.
- [4] Huachen Wei, et al. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein[J]. Soc Exp Biol Med, 1995, 208:124—129.
- [5] Stephen Barnes, et al. The chemopreventive properties of soy isoflavonoids in animal models of breast cancer[J]. Breast cancer Research and Treatment, 1997, 46:169—173.
- [6] Stephen Barnes, et al. Biochemical targets of the isoflavone genistein in tumor cell lines[J]. Soc Exp Biol Mol, 1995, 208:103—113.
- [7] Ohmori T, et al. Apoptosis of lung cancer cells caused by some anti-cancer agent is inhibited by bc1-2[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1993, 192(1):30—36.

Morphological research of apoptosis on human gastric cancer cell line SGC-7901 induced by genistein/Liu Ying, Song Danfeng, Fang Xiaohua, et al. //Chinese Journal of Food Hygiene. - 2001, 13(5):3~4

Abstract: The mechanism of inhibitory proliferation by genistein on human gastric cancer line SGC-7901 was investigated. The effects induced by genistein on SGC-7901 were observed using light microscope, electron microscope. The results showed that the typical apoptosis morphological changes were observed after the SGC-7901 cell lines were exposed to 10 µg/mL genistein for 48 h. These changes included that cells turned round and shrinkaged, the chromatin condensed could be seen. These findings demonstrated that genistein can induce apoptosis on human gastric cancer SGC-7901 cells.

Author's address: Liu Ying, Harbin medical university, Harbin 150001, PRC.

Key Words: Isoflavones Carcinoma Cell Death