

4, 5, 7- 三羟基异黄酮对子宫内膜癌细胞株 shikawa 细胞增殖的影响

孙 兵/周 莉

(汕头大学医学院附属肿瘤医院妇科, 广东
汕头 515031)

Influence of Genistein on Uterine Endometrial Cancer Cell Line, Ishikawa

SUN Bing, ZHOU Li

(Department of Gynecology, Affiliated Tumor Hospital, Shantou University Medical College, Shantou Guangdong 515041, China)

【摘要】背景与目的: 探讨 4, 5, 7- 三羟基异黄酮 (Genistein) 对子宫内膜癌细胞增殖的影响。材料与方法: 采用 5- 溴-2'- 脱氧尿苷细胞增殖酶联免疫测定法, 检测浓度为 12.5、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 Genistein 对体外培养子宫内膜癌细胞的增殖和生长抑制作用。结果: 12.5 ~ 25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 Genistein 对 Ishikawa 细胞有增殖作用, 当 Genistein 的浓度达到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时则为抑制作用。结论: 随着 Genistein 浓度的变化而对子宫内膜癌细胞起着增殖或生长抑制作用。

【关键词】 4, 5, 7- 三羟基异黄酮; 子宫内膜癌细胞; 影响

中图分类号: R11.74

文献标识码: A

文章编号: 1004 - 616X(2006)03 - 0238 - 02

【ABSTRACT】 BACKGROUND & AIM: To determine the influence of 4, 5, 7- triatomic isoflavone (genistein) on uterine endometrial cancer cells. MATERIALS AND METHODS: Uterine endometrial cancer cells (ishikawa) were cultured *in vitro* with different genistein concentrations, and the influence of genistein on cell proliferation and growth inhibition was determined by 5-bromo-2'-deoxyuridine incorporation assay (BrdU). RESULTS: The concentration of genistein at 12.5 ~ 25 $\mu\text{mol/L}$ could significantly enhance cell proliferation. The concentration of genistein at 100 $\mu\text{mol/L}$ significantly inhibited cell proliferation. CONCLUSION: The proliferating or inhibitory effects of genistein on endometrial cancer cells vary with genistein concentrations.

【KEY WORDS】 genistein ; uterine endometrial cancer cell;

4, 5, 7- 三羟基异黄酮 (Genistein), 是大豆异黄酮的主要成分, 由于它的植物性雌激素作用, 已被广泛应用于雌激素水平下降的更年期妇女。近年有报道, Genistein 对肿瘤有预防和抑制生长作用^[1,2]; 北京大学人民医院的薛氏等人研究报告了 Genistein 对在体外培养子宫内膜癌细胞株 Ishikawa 细胞受雌激素受体 α 、 β 的调节影响^[3], 但是, Genistein 对子宫内膜癌细胞增殖作用影响的研究报道还很少, 为此我们探讨了 Genistein 对子宫内膜癌细胞增殖作用的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞培养和药物处理 细胞株 Ishikawa 细胞由日本大分大学医学部妇产科教授惠赠, 置含有 10% 胎牛血清、100 IU/ml 的青霉素, 50 mg/ml 的链霉素的 RPMI1640 培养液, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 100%、5% CO_2 培养箱中培养。然后细胞按每孔 1×10^4 接种于 96 孔板, 24 h 后更换培养液, 用含有 Genistein (购于 Sigma 公司) 的培养液继续培养 48 h, 终浓度分别为 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 、25 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$, 每个浓度组设 4 个平行孔, 以未添加 Genistein 为对照组。

收稿日期: 2005 - 10 - 08; 修订日期:

作者简介: 孙 兵 (1967 -), 女, 辽宁省本溪市人, 博士, 研究方向: 生殖医学和妇科肿瘤。Tel: 86 - 754 - 8542672, E - mail: sunbing0210@yahoo.com.cn

1.2 细胞增殖的测定 用 5- 溴 -2'- 脱氧尿苷细胞增殖酶联免疫 (BrdU 标记法) 试剂盒 (购于德国 Roche 公司)。按说明书严格操作并参照文献^[4], 在 $\lambda = 450 \text{ nm}$ 的酶标仪上测量细胞的吸光度以反映细胞结合 BrdU 的量, 用百分率评价细胞的增殖作用, 实验重复 4 次。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 11.5 for windows, 数据用结合 BrdU 量的百分率表示, 并用 $\pm s$ 描述; 数据处理采用多项式回归, 方差分析, 各组与对照组比较用 Dunnet *t* 法分析, 以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

Genistein 对 Ishikawa 细胞 BrdU 结合量的影响见表 1。对表 1 数据作方差分析, 结果得 $F = 24.54$, $P = 0.000$, 可以认为不同浓度 Genistein 细胞结合 BrdU 的量不同, 各实验组数据与对照组数据进行比较, 结果除 50 $\mu\text{mol/L}$ 组与对照组的差异无统计学意义外, 其余各浓度组与对照组的差异均有统计学意义, 其中 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 和 25.0 $\mu\text{mol/L}$ 高于对照组, 而 100 $\mu\text{mol/L}$ 组则低于对照组。由此可见, 当 Genistein 浓度在 12.5 ~ 25 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对 Ishikawa 细胞有增殖促进作用; 当 Genistein 浓度达 50 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对 Ishikawa 细胞没有影响; 当 Genistein 浓度达 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 反而对 Ishikawa 细胞的生长有抑制作用。

表 1 Genistein 对 Ishikawa 细胞 BrdU 结合量的影响. ($n = 16, \bar{x} \pm s$)
Table 1 The influences of genistein on the BrdU incorporation of Ishikawa ($n = 16, \bar{x} \pm s$)

genistein ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	<i>n</i>	BrdU incorporation (%)	<i>P</i>	Value
0	16	96.07 ± 13.32		
12.5	16	128.90 ± 13.81*	0.004	
25	16	132.78 ± 6.42*	0.002	
50	16	113.48 ± 7.80	0.148	
100	16	63.15 ± 13.98*	0.004	

Compared with control group, * $P < 0.005$; *P* Value was from Dunnet *t* test

从表 1 来看, Genistein (x) 浓度与 BrdU (\hat{y}) 合成量呈现曲线关系, 以最小二乘法估计拟合曲线回归方程为 $\hat{y} = 1.061 - 0.000161X + 0.01165X^2$, $R = 0.873$, $P = 0.000$, $F = 27.149$, 剩余标准差 $S_{y, x, x^2} = 0.1466$, 用此曲线方程可对 Genistein 不同浓度的 BrdU 结合量进行评价。

3 讨论

有报道在动物小鼠实验中 Genistein 是雌激素受体的调节剂, 并具有选择性, 在正常和恶性子宫内膜组织中起作用^[5], 和薛氏等人的研究结果相一致^[4], 机体活细胞具有结合 BrdU 的能力, 而死亡细胞则没有此能力,

结合 BrdU 的量代表活细胞的数目, 结合 BrdU 的量越多, 则表明细胞生长越活跃, 说明 Genistein 对细胞的增殖作用越强; 反之, 则说明 Genistein 对细胞有生长抑制作用。本实验结果可看出, Genistein 浓度为 12.5 ~ 25 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对 Ishikawa 细胞有明显促进增殖作用, 而随着 Genistein 浓度升高至 50 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对 Ishikawa 细胞的增殖作用却不再继续增强, 当 Genistein 浓度升高至 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 则显示了明显的生长抑制作用。这种现象产生的可能机理是, 随着 Genistein 浓度的逐渐增高, 使细胞中雌激素受体逐渐达到饱和状态, 而继续增高时则显示了负反馈的增生抑制作用, 也就是说, 受到体内雌激素浓度的影响, 当体内雌激素浓度达到一定程度时, Genistein 与雌激素竞争性结合雌激素受体而起到抑制癌细胞生长作用。当然这可能是细胞株 Ishikawa 细胞本身特有的性质, 所以真正在体外培养子宫内膜癌细胞和体内实验有待进一步研究, 本实验首次证实了 Genistein 对子宫内膜癌细胞的影响作用不是单纯的促进增殖或者生长抑制作用, 而是受 Genistein 浓度影响而变化, 为今后阐明 Genistein 对子宫内膜癌作用机制提供了一定的实验室依据。

(本实验得到了日本大分大学医学部妇产科教室的宫川勇生教授和奈须家荣博士的大力支持和指导, 在这里深表感谢; 以及在修改过程中得到了四川大学公共卫生学院陈彬教授在统计学方面的帮助, 在此一并致谢。)

参考文献:

- [1] YU Zeng-li, LI Wen-jie, LIU Fu-yun, *et al.* Inhibition of proliferation and induction of apoptosis by genistein in colon cancer HT-29 cells [J]. *Cancer Letters*, 215(2004): 159 - 166.
- [2] 方庆伟, 刘颖, 宋丹凤, 等. 大豆异黄酮抑制人乳腺癌细胞生长及作用机制研究 [J]. *卫生研究*, 2002, 31(5): 367 - 369.
- [3] 薛晓欧, 魏丽惠. 金雀黄素对子宫内膜癌细胞 ER α 和 ER β mRNA 水平的调节 [J]. *北京大学学报*, 2005, 137(3): 278 - 280.
- [4] Nishida M, Nasu K, Ueda T. *et al.* Endometriotic cells are resistant to interferon-gamma-induced cell growth inhibition and apoptosis: a possible mechanism involved in the pathogenesis of endometriosis [J]. *Mol Hum Reprod*, 2005, 11(1): 29 - 34.
- [5] LIAN Zeng-lin, Niwa K. Preventive effect of isoflavones, genistein and daidzein on estradiol-17 β -related endometrial carcinogenesis in mice [J]. *Jpn. J. cancer Res*, 2001, 92(7): 726 - 734.
- [6] Kayisli UA, Aksu CA, Berkkanoglu M. *et al.* Estrogenicity of isoflavones on human endometrial stromal and glandular cells [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(12): 5 539 - 5 544.

