

# 鼻咽癌细胞的糖皮质激素受体 含量及受新酮醛的影响

吴乃允 桂治宁 卢汉平 张怀德

(实验核医学教研室)

简志翰 马志楷 潘伟雄

(病理生理教研室)

**提要** 以  $^3\text{H}$ -地塞米松 ( $^3\text{H}$ -dexamethasone,  $^3\text{H}$ -Dex) 为放射配基, 测定鼻咽癌细胞糖皮质激素受体 (GCR) 含量, 结果当用地塞米松 (Dex) 非标记配基作竞争性试验时, GCR 水平较高, 而且低分化鼻咽癌上皮细胞 (CNE-Ⅱ) GCR 含量明显高于高分化细胞 (CNE-Ⅰ) ( $P < 0.05$ ); 用新酮醛、新鱼腥草素或多糖替换 Dex 作竞争物时, CNE-Ⅰ 细胞由于受新酮醛作用影响, GCR 含量明显高于 Dex 作用时的含量 ( $P < 0.05$ ); CNE-Ⅱ 细胞 GCR 含量提示新酮醛、新鱼腥草素、Dex 三者的作用大致相同 ( $P > 0.05$ )。此外, 以 CNE-Ⅰ 和 CNE-Ⅱ 作竞争物时均测不到 GCR 含量, 且为负值。

**关键词**  $^3\text{H}$ -地塞米松 糖皮质激素受体 鼻咽癌细胞株

新酮醛、新鱼腥草素对移植性小鼠肝癌细胞 DNA 合成, 抑制移植性肿瘤生长, 抑制艾氏腹水癌细胞内 cAMP 水平及抑制 CNE、HeLa 细胞内 cAMP-PDE 活性均有一定影响<sup>[1~5]</sup>, 但对 CNE GCR 的影响, 尚未见有报道。以  $^3\text{H}$ -Dex 为放射配基, Dex 为竞争剂, 检测 CNE-Ⅰ 和 CNE-Ⅱ 细胞的 GCR 含量及新酮醛、新鱼腥草素或了哥王替换 Dex 对上述细胞 GCR 的影响, 拟为鼻咽癌理论研究及临床应用研究提供参考。

## 材料与方 法

### 试剂及药物

1. [1, 2, 4- $^3\text{H}$ ] 地塞米松 ( $^3\text{H}$ -Dexamethasone ethanol solution,  $^3\text{H}$ -Dex) 英国 Amersham 产品。地塞米松-磷酸钠 (Dex-磷酸钠, Dex); 广州天心制药厂提供。RPMI-1640; 日本产品。新酮醛: 中山医科大学天然药物研究室研制合成。新鱼腥草素: 中山医科大学天然药物研究室研制, 广东郁南制药厂产品, 批号 8201001。了哥王植物性多糖: 中国军事科学院药理室提供。

2. 细胞株 鼻咽癌高分化上皮细胞株

(CNE-Ⅰ) 及鼻咽癌低分化上皮细胞株 (CNE-Ⅱ) 均由中山医科大学病理生理教研室提供。

### 方 法

1. 细胞悬液制备 经体外培养 24 小时后的 CNE-Ⅰ、CNE-Ⅱ 细胞株, 以 0.05% 胰酶消化成单个细胞,  $4\sim 1^{\circ}\text{C}$  250g 离心洗涤 5 分钟, 重复 3 次, 后用 RPMI-1640 培养液稀释成  $10^6/\text{ml}$  的细胞悬液。

2. CNE-Ⅰ、CNE-Ⅱ 细胞的 GCR 的测定方法 实验设个底组、总计数组、总结合组 (TB)、及非特异结合组 (NSB)。本底组只有细胞悬液 0.1ml; TB 组及 NSB 组的每 1 管 (管中预先备有 0.15ml 1640 培养液) 分别加入细胞悬液 0.1ml 及  $^3\text{H}$ -Dex 0.1ml, NSB 组的各管再加入 Dex (或新酮醛或新鱼腥草素或了哥王) 0.1ml (Dex 浓度为  $^3\text{H}$ -Dex 的 2000 倍, nM 计), 随后置  $21^{\circ}\text{C}$  水浴保温 2.5 小时。保温结束后, 每管立即加入冰冻的 pH7.4 的磷酸缓冲液 (PBS) 5ml 以终止反应。然后  $0\sim 4^{\circ}\text{C}$  250g 离心 10 分钟, 弃去上清, 沉淀加 PBS 重新混悬, 再离心, 重复 3 次, 以去除游离  $^3\text{H}$ -Dex。沉淀部分用无水乙醇洗涤, 重复 3 次, 共 2.5ml。最后集中洗涤液于已备有 5ml

闪烁液的闪烁杯中，用 LKB 液闪仪测量其放射性，计算 GCR 的有关参数。GCR 含量以结合位点/细胞表示。SB = TB - NSB。

本实验除 CNE-Ⅱ 细胞进行饱和曲线测定(<sup>3</sup>H-Dex 最终浓度分别为0.87, 1.85, 3.46, 6.66, 10.22, 13.94, 19.41nM)外，文中其余数据均为 <sup>3</sup>H-Dex 16nM 单点饱和测定的结果。

### 结果与讨论

CNE-Ⅱ 细胞的特异结合饱和曲线测定表明，曲线起始端的 GCR 含量随 <sup>3</sup>H-Dex 浓度的增高而增高。浓度为0.87nM 时，GCR 为 18.54fmol/ml；3.46nM 时，GCR 为 59.08fmol/ml；当浓度增到 13.94 nM 时，GCR 为 104.70fmol/ml，曲线趋于平坦；浓度再增高 (19.41nM)，GCR 的含量无明显增高 (GCR 为 111.59fmol/ml)。提示特异结合趋于饱和 (据此单点测定均采用 16nM)，Kd 为 5.64 × 10<sup>-9</sup>M。表明 CNE-Ⅱ 细胞具有 <sup>3</sup>H-DexGCR 的基本特征。CNE-Ⅱ 细胞存在着 GCR。Scatchard 图呈一直线，相关系数 r = -0.965<sup>9</sup>

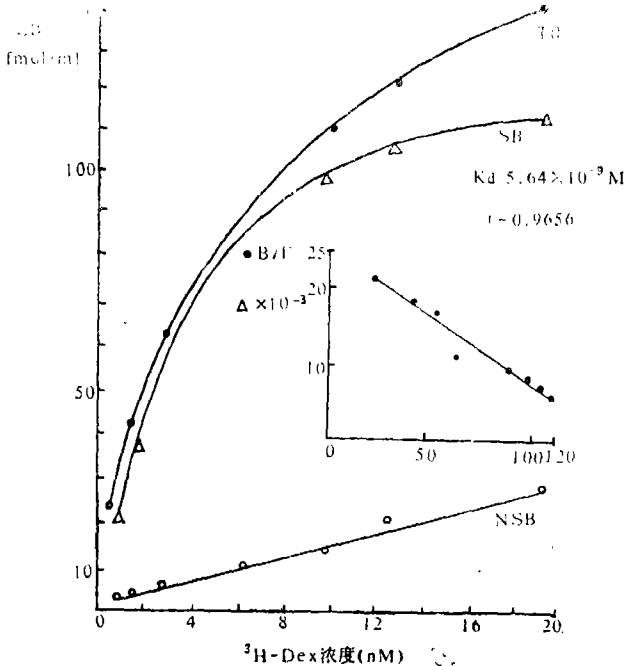
CNE-Ⅱ 细胞的 GCR 含量 (40 587 ± 14 253) 明显高于 CNE-Ⅰ 的 GCR 含量 (14 742 ± 3 996), P > 0.05。以新酮醛或新鱼腥草素替换 Dex 进行结合反应时，CNE-Ⅰ 和 CNE-Ⅱ 均可测到不同水平的 GCR，其中：①在 CNE-Ⅰ 细胞中，加新酮醛组的 GCR 为 26 343 ± 3 400 结合位点/细胞，其含量明显高于加 Dex 时含量 (14 742 ± 3 996), P > 0.05，而加新鱼腥草素组的 GCR 为 21 256 ± 4 967 结合位点/细胞，与 Dex (14 742 ± 3 996) 相比则无明显差异 (P > 0.05)；②在 CNE-Ⅱ 细胞中，新酮醛和新鱼腥草素的 GCR 分别为 36 742 ± 6 426 和 30 863 ± 11 635 结合位点/细胞，无明显差异，P > 0.05。新酮醛 (36 474 ± 6 426)、新鱼腥草素 (30 863 ± 11 635)、Dex (40 587 ± 6 800) 三者的 GCR 含量大致相同 (P > 0.05)。

了哥王在 CNE-Ⅰ 和 CNE-Ⅱ 的测定中均测不到 GCR 含量，且为负值。

上述结果是否新酮醛、新鱼腥草素及多糖改变了 CNE 细胞的糖皮质激素受体蛋白及非特异受体蛋白的特性，抑是干扰了 <sup>3</sup>H-Dex 与糖皮质激素受体蛋白的结合，有待进一步探讨。

### 参 考 文 献

1. 吴乃允，等。新酮醛等药物的抑瘤作用。中山医科大学学报 1987；8(4):15
2. 吴乃允，等。新鱼腥草素对小鼠移植性肝癌抑制作用的研究。中山医学院学报 1984；5(4):35
3. 潘启超，等。己酰乙醛亚硫酸钠加成物(新酮醛)的药理作用及免疫活性研究。中山医科大学学报 1986；7(2):33
4. 陈炳生，等。新鱼腥草素对小鼠艾氏腹水瘤的作用及癌细胞内cAMP水平影响的研究。中山医学院学报 1985；6(2):27
5. 曾熙兰，等。新酮醛、新鱼腥草素和多种植物多糖对体外培养鼻咽癌细胞和HeLa 细胞的作用及其癌细胞内cAMP-PDE活性变化关系。中山医科大学学报 1987；8(3):9



附图 CNE-Ⅱ 饱和曲线和Scatchard图

# THE LEVEL OF GLUCOCORTICOID RECEPTORS OF NASOPHARYNGEAL CARCINOMA CELLS AND THE EFFECTS OF NEW KETO-ALDEHYDE AND OTHERS ON IT

Wu Naiyun    Gui Zhining    Lu Hanping    Zhang Huaide

(Department of Experimental Nuclear Medicine)

Jian Zhihan    Ma Zhikai    Pan Weixiong

(Department of Pathophysiology)

This paper reports the determination of the level of glucocorticoid receptors (GCR) in CNE nasopharyngeal carcinoma cells by using  $^3\text{H}$ -dexamethasone as radioligand. The results showed that CNE-1 and CNE-2 can have a higher level of GCR, by using non labeling Dex ligand as competitor. The value of GCR in poorly differentiated nasopharyngeal carcinoma epithelial cell line (CNE-1) is significant higher than in well defferentiated nasopharyngeal carcinoma cell line (CNE-2) ( $P < 0.05$ ). There were some effects on the level of GCR in CNE-1 and CNE-2 by using New keto-aldehyde, Neo-Huttuynium or polyglucose as competitor instead of non labeling Dex ligand. When New keto-aldehyde was used the level of GCE in CNE-1 was significantly higher than non labeling Dex ( $P < 0.05$ ). However, the level of GCR in CNE-2 has no significant defference with those after using New keto-aldehyde, Neo-huttuynium or polyglucose. GCR levels in CNE-1 and CNE-2 were negative when polyglucose was used.

**Key words**     $^3\text{H}$ -Dexamethasone    Glucocorticoid receptors    Nasopharyngeal carcinoma cells