

研究快报

人肺腺癌细胞株中蛋白激酶 C 的位移及亚硒酸钠的调节作用

陈焕朝 黄佳康 魏长利 于树玉

(中国医学科学院肿瘤研究所, 北京 100021)

关键词 蛋白激酶 C, 硒, 人肺癌细胞

蛋白激酶 C(PKC) 在传导生长因子和有丝分裂原的增殖信号中有重要作用, 因而与细胞的癌变和增殖关系密切。有研究表明, 高活性表达的 PKC 对于细胞癌变和其增殖状态的维持是必需的。我们曾报道, 具有抗癌作用的人体必需微量元素硒能够抑制 PKC 活性的表达。本文研究了硒对人肺腺癌细胞株细胞中 PKC 胞内定位的影响。

人肺癌细胞株培养于 RPMI1640 培养液中(含 10% 小牛血清及青链霉素), 置于含 5% CO₂ 的培养箱内。细胞密度达到每毫升 1×10^6 细胞时, 加入亚硒酸钠 (Na_2SeO_3) $1 \mu\text{g}/\text{ml}$, 作用 1h 和 24h 后, 消化离心收集细胞, Tris 缓冲液中超声破碎; 4℃, 105000g 离心 1h, 收集上清备用; 沉淀加入含 1% NP-40 的缓冲液, 在 4℃ 下搅拌过夜; 4℃, 10000g 离心 30min, 收集上清。两次上清分别过 DEAE-Sephacel 柱 (0.5ml), 以含 300mmol/L NaCl 的缓冲液洗脱, 其洗脱峰分别为胞浆中和膜组分中部分纯化的 PKC, 作活性测定。测定方法为 γ -³²PATP 掺入法, 以底物组蛋白中 ³²P 的量表示酶活, 测定体系中含 TPA (佛波酯) 和混合磷脂。结果发现, 硒与肺癌细胞共同孵育后, 不但抑制了 PKC 的活性, 而且改变了 PKC 的亚细胞分布。肺癌细胞 PKC 活性为 $574.5 \text{ pmol}/(\text{mg} \cdot 5\text{min})$, 给硒 1h 后下降至 $188.0 \text{ pmol}/(\text{mg} \cdot 5\text{min})$, 仅为对照组的 32.7%; 给

硒 24h 后为 $171.5 \text{ pmol}/(\text{mg} \cdot 5\text{min})$ 。在不给硒的对照组肺癌细胞中, 占总 PKC 活性 46% 的酶存在于膜组分, 54% 的酶存在于胞浆中。膜 PKC 与胞浆 PKC 的比值远高于文献报道的正常细胞中 PKC 的分布。PKC 在胞内的定位决定了其活性是否表达, 一般以无活性形式存在于胞浆中, 受到 TPA 等促增殖剂刺激后, 转移至膜上被活化。硒与癌细胞共同孵育 1h 后, 膜组分中高比例的 PKC 显著降低, 由原来的 46% 降至 20.2% 24h 后为 19.8%, 结果表明, 硒主要地抑制了膜组分中亦即活性形式存在的 PKC。实验同时检测了给硒前后 cAMP 和 cGMP 含量的变化, 发现 cAMP 增加, 而 cGMP 下降, (P 值均小于 0.05), 说明硒使癌细胞的信号传导系统发生了不利于其增殖分裂的生化改变。PKC 在胞质与膜之间的移位效应, 关系到细胞的增殖。PKC 已被证明是促癌剂 TPA 的胞内受体。利用逆转录表达载体产生的超表达 PKC 的大鼠成纤维细胞经 TPA 处理后, 其表型和生长特征都产生明显的与转化细胞相似的特点。PKC 由胞浆向膜上的转移, 是转导 TPA 等增殖信号的基本步骤, 因而这一位移现象是具有重要生理意义的。关于硒对 PKC 的抑制及其亚细胞分布的调节, 其作用机制有待进一步研究, 但硒对 PKC 的影响, 可能为硒抗癌作用机理的中心环节。