

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 01. 006

肿瘤防治专题

硒对顺铂诱导的肺癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭及 MDA、GSH-Px 活性的影响

丁华, 郭浩, 陈杉, 王森, 龙芬, 陈坤, 冉瑞智

基金项目: 湖北省卫生健康委员会资助项目(WJ2021M259)

作者单位: 445000 湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院肿瘤二科

通信作者: 冉瑞智, E-mail: fvxbb82@163. com

【摘要】目的 探讨硒对顺铂(CIS) 诱导的肺癌细胞(A549) 增殖、凋亡、迁移、侵袭及丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px) 活性的影响。**方法** 2021 年 7 月—2022 年 3 月于恩施州土家族苗族自治州中心医院硒实验室进行实验。以对数期的 A549 细胞为研究对象, 计算 CIS 和亚硒酸钠(Na_2SeO_3) 的半数抑制浓度(IC_{50})。将 A549 细胞分为对照组(C 组)、CIS 组、 Na_2SeO_3 组、CIS + Na_2SeO_3 组, C 组常规培养 48 h, CIS 组加入 12 $\mu\text{mol/L}$ CIS 培养 48 h, Na_2SeO_3 组加入 Na_2SeO_3 110 nmol/L 培养 48 h, CIS + Na_2SeO_3 组先加入 Na_2SeO_3 110 nmol/L 培养 24 h, 随后加入 12 $\mu\text{mol/L}$ CIS 继续培养 24 h。采用 CCK-8 法检测 A549 细胞活力, 流式细胞仪检测 A549 细胞凋亡, Western-blot 检测凋亡、迁移侵袭蛋白表达, Transwell 实验检测 A549 细胞迁移、侵袭个数; 测定细胞活性氧(ROS)、MDA、4-羟基壬烯醛(4-HNE)、GSH-Px 水平。**结果** CIS 的 IC_{50} 为 12.02 $\mu\text{mol/L}$, Na_2SeO_3 的 IC_{50} 为 110.20 nmol/L。与 C 组比较, CIS 组、 Na_2SeO_3 组 A549 细胞活力、迁移个数、侵袭个数、MMP-9、MMP-3 蛋白水平均显著降低($F/P = 147.876 / < 0.001$ 、 $78.926 / < 0.001$ 、 $43.071 / < 0.001$ 、 $36.862 / < 0.001$ 、 $75.431 / < 0.001$), 凋亡率、cleaved-caspase9、cleaved-caspase3 蛋白、ROS、MDA、4-HNE 水平显著升高($F/P = 15.625 / < 0.001$ 、 $8.131 / 0.004$ 、 $22.371 / < 0.001$ 、 $45.779 / < 0.001$ 、 $5.216 / 0.019$ 、 $25.084 / < 0.001$), GSH-Px 活性比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 CIS 组比较, CIS + Na_2SeO_3 组 A549 细胞活力、迁移个数、侵袭个数、MMP-9、MMP-3 蛋白水平降低($t/P = 9.340 / < 0.001$ 、 $9.573 / < 0.001$ 、 $9.746 / < 0.001$ 、 $6.788 / 0.001$ 、 $9.481 / < 0.001$), 凋亡率、cleaved-caspase9、cleaved-caspase3 蛋白、ROS、MDA、4-HNE 水平升高($t/P = 10.911 / < 0.001$ 、 $9.098 / < 0.001$ 、 $10.809 / < 0.001$ 、 $6.069 / 0.002$ 、 $9.218 / < 0.001$ 、 $15.945 / < 0.001$), GSH-Px 活性比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** Na_2SeO_3 可加强 CIS 诱导的 A549 细胞凋亡, 抑制其增殖、迁移、侵袭, 可能与促进 ROS、MDA 产生有关。

【关键词】 肺癌; 亚硒酸钠; 顺铂; 增殖; 迁移; 凋亡**【中图分类号】** R734.2**【文献标识码】** A

Effects of selenium on the proliferation, apoptosis, migration, invasion, MDA and GSH Px activities of lung cancer cells induced by cisplatin Ding Hua, Guo Hao, Chen Shan, Wang Miao, Long Fen, Chen Kun, Ran Ruizhi. Department of Oncology, Enshizhou Tujia and Miao Autonomous Prefecture Central Hospital, Hubei Province, Enshi 445000, China

Corresponding author: Ran Ruizhi, E-mail: fvxbb82@163. com

Funding program: Project of Hubei Provincial Health Commission(WJ2021M259)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of selenium on the proliferation, apoptosis, migration, invasion, malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities of lung cancer cells (A549) induced by cisplatin (CIS). **Methods** From July 2021 to March 2022, the experiment was conducted in the Selenium Laboratory of the Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture. The median inhibitory concentration (IC_{50}) of CIS and sodium selenite (Na_2SeO_3) was calculated on A549 cells in logarithmic phase. A549 cells were divided into control group (Group C), CIS group, Na_2SeO_3 group, CIS + Na_2SeO_3 group. Group C was routinely cultured for 48 h, and CIS group was added with 12 $\mu\text{mol/L}$ CIS was cultured for 48 h, Na_2SeO_3 group was added with Na_2SeO_3 110 nmol/L for 48 h, CIS + Na_2SeO_3 group was added with Na_2SeO_3 110 nmol/L for 24 h, and then 12 $\mu\text{mol/L}$ CIS was cultured for 24 h. CCK-8 method was used to detect the viability of A549 cells, flow cytometry was used to detect the apoptosis of A549 cells, Western blot was used to detect the expression of apoptosis and migration invasion proteins, and Transwell test was used to detect the number of A549 cells migra-

ting and invading; The levels of ROS, MDA, 4-HNE and GSH-Px were measured. **Results** The IC_{50} of CIS is 12.02 $\mu\text{mol/L}$, IC_{50} of Na_2SeO_3 is 110.20 nmol/L. Compared with group C, the activity, migration, invasion, MMP-9, MMP-3 protein levels of A549 cells in CIS group and Na_2SeO_3 group decreased ($F/P=147.876/ < 0.001$, $78.926/ < 0.001$, $43.071/ < 0.001$, $36.862/ < 0.001$, $75.431/ < 0.001$), apoptosis rate, cleaved caspase9, cleaved caspase3 protein, ROS, MDA The level of 4-HNE increased significantly ($F/P=15.625/ < 0.001$, $8.131/0.004$, $22.371/ < 0.001$, $45.779/ < 0.001$, $5.216/0.019$, $25.084/ < 0.001$), and there was no significant difference in GSH-Px activity ($P>0.05$). Compared with CIS group, A549 cells in CIS + Na_2SeO_3 group had lower activity, migration, invasion, MMP-9, MMP-3 protein levels ($t/P=9.340/ < 0.001$, $9.573/ < 0.001$, $9.746/ < 0.001$, $6.788/0.001$, $9.481/ < 0.001$), higher apoptosis rate, cleaved caspase9, cleaved caspase3 protein, ROS, MDA, 4-HNE levels ($t/P=10.911/ < 0.001$, $9.098/ < 0.001$, $10.809/ < 0.001$, $6.069/0.002$, $9.218/ < 0.001$, $15.945/ < 0.001$), There was no significant difference in GSH-Px activity ($P>0.05$). **Conclusion** Na_2SeO_3 can enhance the apoptosis of A549 cells induced by CIS and inhibit their proliferation, migration and invasion, which may be related to the promotion of ROS and MDA production.

【Key words】 Lung cancer; Sodium selenite; Cisplatin; Proliferation; Migration; Apoptosis

肺癌是一种全球发病率、病死率均较高的恶性肿瘤,起源于支气管、气管组织,其中约 85% 病例为非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) [1]。多数患者初诊时已为 II ~ III 期,5 年生存率为 13% ~ 60%,而对晚期 NSCLC 患者积极给予综合治疗可以提高 5% ~ 10% 的生存率 [2-3]。硒为人体所需的微量元素,具有增强免疫力、促进智力发育、保护呼吸系统等功效 [4]。亚硒酸钠 (sodium selenite, Na_2SeO_3) 为临床常用含硒药物,可增高胃癌细胞活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平、破坏线粒体功能等,从而抑制胃癌细胞增殖,诱导其凋亡 [5-6]。 Na_2SeO_3 还可以通过增强氧化应激,促进顺铂 (cisplatin, CIS) 诱导的乳腺癌细胞的凋亡 [7]。但是 Na_2SeO_3 对 CIS 诱导 NSCLC 细胞的影响,其机制是否涉及氧化应激均不清楚。因此,本实验采用 Na_2SeO_3 和/或 CIS 处理 NSCLC 细胞,在体外探究 Na_2SeO_3 对 CIS 诱导 NSCLC 细胞的影响,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 细胞: 人 NSCLC 细胞株 A549, 购于中国科学院细胞库。(2) 试剂: CIS (纯度 $\geq 98\%$)、 Na_2SeO_3 (纯度 $\geq 99\%$) 购于美国 Sigma 公司; F-12K 培养基购于美国 Invitrogen 公司; ROS (DCFH-DA 探针)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; CCK-8、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 羊抗兔 IgG 抗体、兔源 cleaved-caspase9、cleaved-caspase3、GAPDH、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) -9、MMP-3 抗体、4-羟基壬烯醛 (4-hydroxynonenal, 4-HNE) 试剂盒购自英国 Abcam 公司。(3) 仪器设备: DM2500 荧光显微镜购自德国 Leica 公司; Attune

NxT™ 流式细胞仪、Multiskan™ FC 酶标仪购自美国 Thermo 公司; Mini-Protein 电泳槽、Mini Trans-Blot 转膜仪器购自美国 BioRad 公司。

1.2 实验方法 2021 年 7 月—2022 年 3 月于恩施土家族苗族自治州中心医院实验室进行实验,将 A549 细胞于室温下融化后接种至 T 25 培养瓶中,用含 1% 青-链双抗、10% 胎牛血清的 F-12K 培养液进行培养,每 2 d 换液 1 次。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 CCK-8 法检测 A549 细胞活力: 取对数生长期 A549 细胞进行以下实验。(1) 不同浓度 (0、1.25、2.5、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$) CIS 或不同浓度 (0、6.25、12.5、25、50、100、200、400 nmol/L) Na_2SeO_3 处理 A549 细胞 48 h,向每孔加入 CCK-8 试剂 10 μl 继续培养 4 h。培养结束后于酶标仪读取每孔 A549 细胞的吸光度值 (A)。(2) 取对数生长期的 A549 细胞,分为对照 (control, C) 组 (常规培养 48 h)、CIS 组 (加入 CIS 12 $\mu\text{mol/L}$ 培养 48 h)、 Na_2SeO_3 组 (加入 Na_2SeO_3 110 nmol/L 培养 48 h)、CIS + Na_2SeO_3 组 (先加入 Na_2SeO_3 110 nmol/L 培养 24 h,随后加入 CIS 12 $\mu\text{mol/L}$ 继续培养 24 h),各组 A549 细胞按照不同给药剂量进行处理、培养后,CCK-8 法检测细胞活力。A549 细胞活力 (%) = (A 药物 - A 空白) / (A 对照 - A 空白) $\times 100\%$ 。

1.3.2 流式细胞仪检测 A549 细胞凋亡: 离心收集各组 A549 细胞 (1×10^5 个),加入 Binding 缓冲液 100 μl 重悬,再顺次加入 Annexin V-FITC 染液、PI 染液各 5 μl 并混匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min,最后加入 Binding 缓冲液 400 μl 混匀,上流式细胞仪检测,用 FlowJo 软件分析 A549 细胞凋亡率,其中 Annexin V-FITC + /PI + 为凋亡细胞 (右上象限)。

1.3.3 Western-blot 检测相关蛋白表达: 离心收集各

组 A549 细胞 (1×10^6 个), 加入裂解液, 冰上裂解 30 min 提取总蛋白, 用 BCA 蛋白试剂盒进行浓度测定。SDS-PAGE 电泳分离蛋白质 20 g, 再将蛋白转移到 PVDF 膜上, 加入封闭液 (5% 脱脂牛奶) 孵育 1 h, 加入一抗 cleaved-caspase9、cleaved-caspase3、MMP9、MMP3、GAPDH 抗体 (英国 Abcam 公司, 1:1 000) 4℃ 孵育过夜, 洗膜。加入羊抗兔 IgG (1:2 000) 常温孵育 1 h, 洗膜。滴加化学发光剂, 在暗室中曝光拍照并半定量分析。

1.3.4 Transwell 实验检测 A549 细胞的迁移和侵袭:

(1) 迁移实验。离心收集各组 A549 细胞, 加入无血清培养基重悬。取 1×10^4 个 A549 细胞加入 Transwell 小室上部, 取含血清培养基 200 μ l 加入小室下部, 培养 48 h。小室冲洗后, 浸在 4% 多聚甲醛中 35 min, 风干后浸在结晶紫中 40 min, 显微镜下拍照。(2) 侵袭实验。在小室上部加入 Matrigel 胶过夜, 凝固后再加入细胞, 其余同迁移实验。统计迁移和侵袭的 A549 细胞个数。

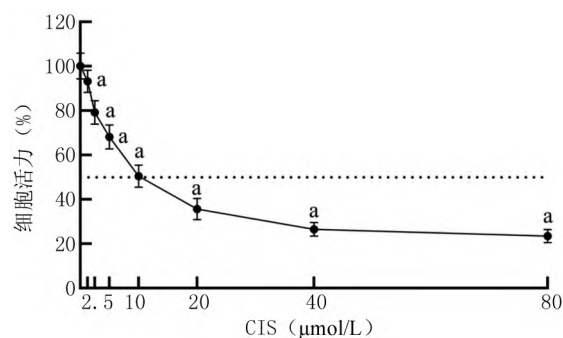
1.3.5 细胞 MDA、ROS、4-HNE、GSH-Px 水平测定: 离心收集各组 A549 细胞, 冰上裂解, 收集上清, 用 MDA、4-HNE、GSH-Px 试剂盒测定各指标水平。另外, 在 CIS 和/或 Na_2SeO_3 处理 A549 细胞 48 h 后, 换为无血清培养基 (含 DCFH-DA 10 mol/L), 培养 20 min 后离心收集细胞, 用上样缓冲液重悬, 流式细胞仪测定 ROS 水平。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 25.0 和 GraphPad 8.0 软件统计并分析实验数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 顺铂对 A549 细胞增殖的影响 分别用 CIS 0、1.25、2.5、5、10、20、40、80 μ mol/L 处理 A549 细胞 48 h 后, 在 CIS 1.25 ~ 80 μ mol/L 时 A549 细胞增殖活性显著下降, 见图 1。经计算 CIS 的 IC_{50} 为 12.02 μ mol/L, 采用 12 μ mol/L CIS 进行实验。

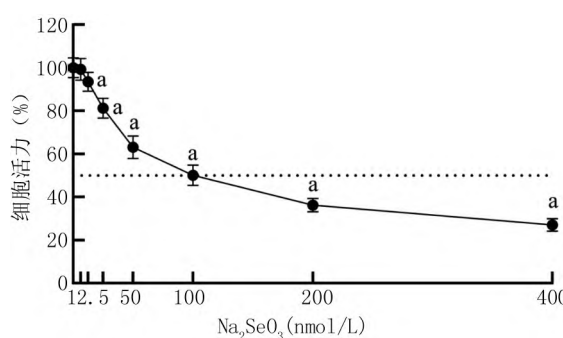
2.2 亚硒酸钠对 A549 细胞增殖的影响 采用 Na_2SeO_3 0、6.25、12.5、25、50、100、200、400 nmol/L 处理 A549 细胞 48 h, 在 Na_2SeO_3 12.5 ~ 400 nmol/L 时 A549 细胞增殖活性显著下降, 见图 2。经计算 Na_2SeO_3 的 IC_{50} 为 110.20 nmol/L, 采用 110 nmol/L Na_2SeO_3 进行实验。



注: 与 0 μ mol/L CIS 比较, $^a P < 0.05$

图 1 不同浓度 CIS 对 A549 细胞增殖活性的影响

Fig. 1 Effect of different concentrations of CIS on the proliferation activity of A549 cells



注: 与 0 nmol/L Na_2SeO_3 比较, $^a P < 0.05$

图 2 不同浓度 Na_2SeO_3 对 A549 细胞增殖活性的影响

Fig. 2 Effect of different concentrations of Na_2SeO_3 on the proliferation activity of A549 cells

2.3 亚硒酸钠增强顺铂对 A549 细胞增殖的抑制 与 C 组 A549 细胞活力 (100.00 ± 2.05) % 比较, CIS 组 (50.49 ± 7.36) %、 Na_2SeO_3 组 (49.85 ± 6.52) % 降低 ($F/P = 147.876 / < 0.001$); 与 CIS 组比较, CIS + Na_2SeO_3 组 (29.47 ± 3.61) % A549 细胞活力降低 ($t/P = 9.340 / < 0.001$); 而 CIS 组、 Na_2SeO_3 组 A549 细胞活力比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 亚硒酸钠增强顺铂诱导的 A549 细胞凋亡 与 C 组比较, CIS 组、 Na_2SeO_3 组 A549 细胞凋亡率及 cleaved-caspase9、cleaved-caspase3 蛋白水平均显著升高 ($F/P = 15.625 / < 0.001$, $8.131 / 0.004$, $22.371 / < 0.001$); 与 CIS 组比较, CIS + Na_2SeO_3 组 A549 细胞凋亡率及 cleaved-caspase9、cleaved-caspase3 蛋白水平升高 ($t/P = 10.911 / < 0.001$, $9.098 / < 0.001$, $10.809 / < 0.001$); 而 CIS 组、 Na_2SeO_3 组细胞凋亡率及 cleaved-caspase9、cleaved-caspase3 蛋白水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 4 组 A549 细胞凋亡率及 cleaved-caspase9、cleaved-caspase3 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of A549 cell apoptosis rate and cleaved caspase9 and cleaved caspase3 protein levels in group 4

组别	n	凋亡率 (%)	cleaved-caspase9	cleaved-caspase3
C 组	6	9.15 ± 1.83	0.40 ± 0.13	0.64 ± 0.17
CIS 组	6	20.19 ± 4.16 ^a	0.73 ± 0.18 ^a	1.17 ± 0.12 ^a
Na ₂ SeO ₃ 组	6	18.15 ± 4.37 ^a	0.69 ± 0.15 ^a	1.12 ± 0.16 ^a
CIS + Na ₂ SeO ₃ 组	6	37.26 ± 5.82 ^{ab}	1.30 ± 0.19 ^{ab}	1.89 ± 0.23 ^{ab}
F 值		44.925	31.540	52.342
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 CIS 组比较, ^b $P < 0.05$

2.5 亚硒酸钠增强顺铂对 A549 细胞迁移、侵袭的抑制 与 C 组比较, CIS 组、Na₂SeO₃ 组 A549 细胞迁移个数、侵袭个数及 MMP-9、MMP-3 蛋白水平显著降低 ($F/P = 78.926 / <0.001, 43.071 / <0.001, 36.862 / <0.001, 75.431 / <0.001$); 与 CIS 组比较, CIS + Na₂SeO₃ 组 A549 细胞迁移个数、侵袭个数及 MMP-9、MMP-3 蛋白水平均显著降低 ($t/P = 9.573 / <0.001, 9.746 / <0.001, 6.788 / 0.001, 9.481 / <0.001$); 而 CIS 组、Na₂SeO₃ 组 A549 细胞迁移个数、侵袭个数及 MMP-9、MMP-3 蛋白水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 3、图 4、表 2。

2.6 亚硒酸钠增强顺铂诱导的 A549 细胞氧化损伤 与 C 组比较, CIS 组、Na₂SeO₃ 组 A549 细胞中 ROS、MDA、4-HNE 水平显著升高 ($F/P = 45.779 / <0.001,$

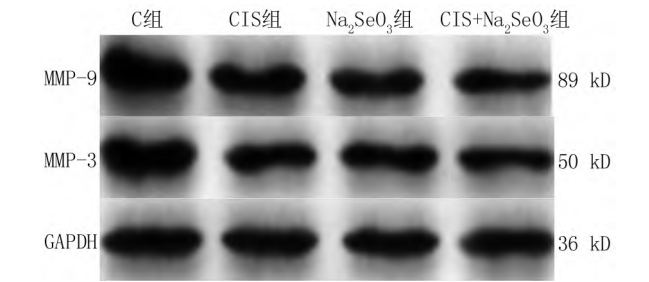


图 4 Western-blot 检测各组 A549 细胞 MMP-9、MMP-3 蛋白表达
Fig. 4 Western blot was used to detect the expression of MMP-9 and MMP-3 protein in A549 cells of each group

5.216/0.019、25.084 / <0.001); 与 CIS 组比较, CIS + Na₂SeO₃ 组 A549 细胞中 ROS、MDA、4-HNE 水平升高 ($t/P = 6.069 / 0.002, 9.218 / <0.001, 15.945 / <0.001$); 而 CIS 组、Na₂SeO₃ 组 ROS、MDA、4-HNE 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 4 组间 GSH-Px 活性比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 5、表 3。

3 讨论

肺癌在中国恶性肿瘤中的发病率和病死率均居首位, 虽然诊疗技术不断提升, 肺癌患者的整体 5 年生存率仍不理想^[8], 仍有必要寻找肺癌治疗的新策略。我国肺癌患者的病理类型以 NSCLC 为主, 因此本研究采用 NSCLC 细胞进行研究。硒为维持多种生理过程所必需的微量元素, 其摄入量与前列腺癌、胃癌等肿瘤的

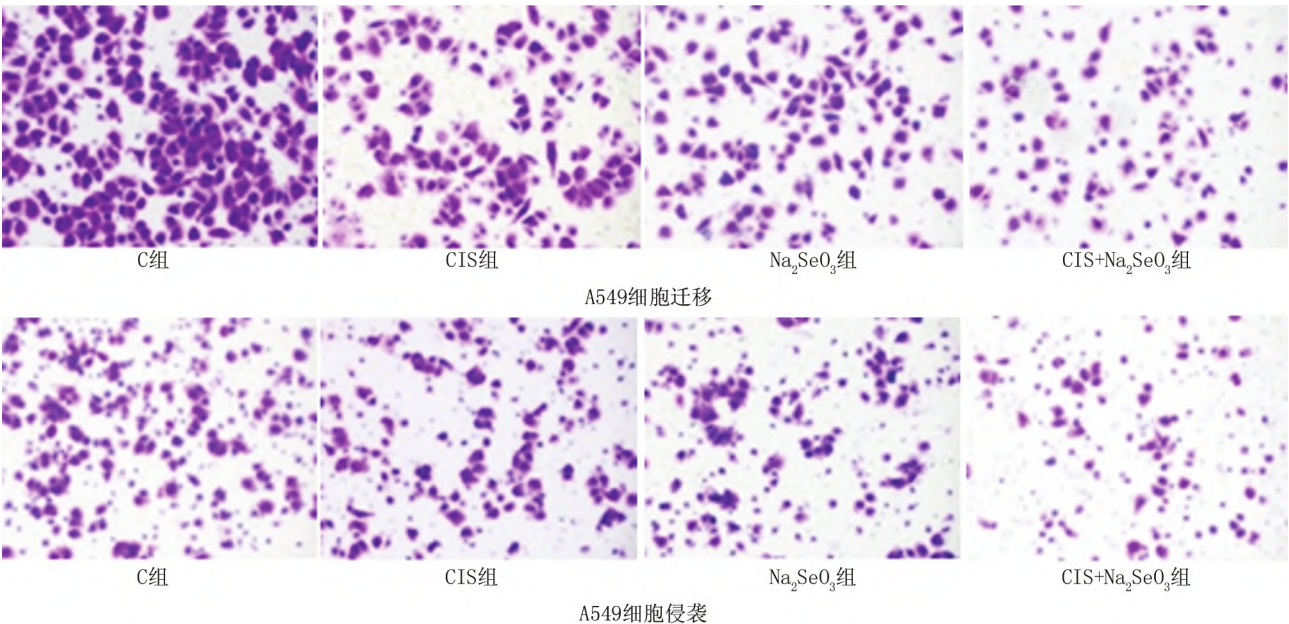


图 3 各组 A549 细胞迁移、侵袭情况
Fig. 3 Migration and invasion of A549 cells in each group

表 2 4 组 A549 细胞迁移、侵袭个数及 MMP-9、MMP-3 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of migration and invasion number of A549 cells in group 4 and MMP-9 and MMP-3 protein levels

组 别	n	迁移(个)	侵袭(个)	MMP-9/GAPDH	MMP-3/GAPDH
C 组	6	203.10 $\pm$ 12.47	137.00 $\pm$ 10.79	2.15 $\pm$ 0.19	1.96 $\pm$ 0.11
CIS 组	6	132.33 $\pm$ 10.65 ^a	92.60 $\pm$ 9.24 ^a	1.48 $\pm$ 0.16 ^a	1.27 $\pm$ 0.10 ^a
Na ₂ SeO ₃ 组	6	128.60 $\pm$ 11.53 ^a	86.33 $\pm$ 10.82 ^a	1.39 $\pm$ 0.15 ^a	1.25 $\pm$ 0.13 ^a
CIS + Na ₂ SeO ₃ 组	6	85.40 $\pm$ 9.32 ^{ab}	49.20 $\pm$ 5.43 ^{ab}	0.96 $\pm$ 0.11 ^{ab}	0.83 $\pm$ 0.09 ^{ab}
F 值		116.607	89.271	60.353	111.571
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

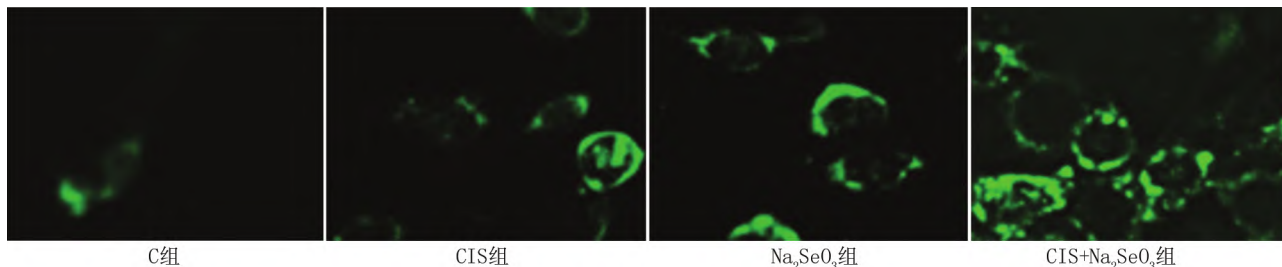
注: 与 C 组比较, ^aP<0.05; 与 CIS 组比较, ^bP<0.05

图 5 各组 A549 细胞 ROS 荧光比较

Fig. 5 ROS fluorescence comparison of A549 cells in each group

表 3 4 组 A549 细胞 ROS、MDA、4-HNE 水平及 GSH-Px 活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of ROS, MDA, 4-HNE levels and GSH-Px activity of A549 cells in four groups

组 别	n	ROS	MDA(mol/mg)	4-HNE(g/mg)	GSH-Px(U/mg)
C 组	6	1.00 $\pm$ 0.18	1.82 $\pm$ 0.25	1.17 $\pm$ 0.13	181.65 $\pm$ 16.04
CIS 组	6	3.73 $\pm$ 0.65 ^a	2.51 $\pm$ 0.43 ^a	1.65 $\pm$ 0.12 ^a	179.24 $\pm$ 17.56
Na ₂ SeO ₃ 组	6	3.80 $\pm$ 0.74 ^a	2.47 $\pm$ 0.52 ^a	1.61 $\pm$ 0.14 ^a	185.63 $\pm$ 19.84
CIS + Na ₂ SeO ₃ 组	6	5.16 $\pm$ 0.45 ^{ab}	4.01 $\pm$ 0.39 ^{ab}	2.57 $\pm$ 0.19 ^{ab}	183.71 $\pm$ 12.51
F 值		60.577	30.804	95.485	0.162
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.921

注: 与 C 组比较, ^aP<0.05; 与 CIS 组比较, ^bP<0.05

发病率呈负相关,提示硒具有预防癌症的特性^[9-11]。本研究观察到 Na₂SeO₃ 可以增强 CIS 对 A549 细胞的抑增殖作用,且 Na₂SeO₃ 可以促进 CIS 诱导的 A549 细胞凋亡。Doello 等^[12]发现,Na₂SeO₃ 单独或联合吉西他滨可以有效降低胰腺癌细胞迁移和菌落形成能力,减少癌症干细胞球的形成,与本研究结果相似。而 Na₂SeO₃ 对 A549 细胞凋亡的促进作用可能通过对细胞内基因进行干预,触发 caspase-3、caspase-9 等一系列半胱氨酸酶的激活,从而促进凋亡^[13]。既往研究多集中在 Na₂SeO₃ 的抗凋亡作用,本研究还观察到,Na₂SeO₃ 可以抑制 A549 细胞迁移和侵袭,并增强 CIS 对 A549 细胞的抑迁移、抑侵袭作用。

硒在最佳剂量下具有抗氧化活性,而在超营养剂量下表现出促氧化活性^[14]。超量的硒可劫持细胞内的抗氧化系统(谷胱甘肽系统和硫氧还蛋白系统)以

产生 ROS,从而发挥抗癌作用^[15-16]。Na₂SeO₃ 具有很强的氧化硫醇能力,为最有效的抑癌硒化合物之一^[17]。本研究发现,Na₂SeO₃ 可以在不改变 GSH-Px 活性的前提下,加剧 CIS 诱导 A549 细胞的 ROS 释放和氧化损伤。Na₂SeO₃ 能够通过亚硒酸盐—三硫化硒—还原的过硫化硒—硒阴离子(selenide anions, HSe⁻)多个步骤转化为 HSe⁻,在癌细胞内大量积聚,进一步与氧气进行氧化还原循环释放大量 ROS,造成癌细胞损伤^[18-19]。Wu 等^[20]研究表明,腹腔注射 Na₂SeO₃ 可有效抑制肝癌细胞诱导的小鼠腹膜癌,这与本结果相似。Wu 等^[20]指出,Na₂SeO₃ 能促进癌细胞损伤和细胞凋亡,这与硒在癌细胞中的选择性累积和 ROS 的大量产生直接相关,然而 Na₂SeO₃ 的作用机制仍待进一步探究。

综上所述,Na₂SeO₃ 可加强 CIS 诱导的 A549 细胞

凋亡,抑制其增殖、迁移、侵袭,其机制可能与促进 ROS 产生有关,但是其在癌细胞中选择性积累的机制并不清楚,尚待后续研究明确。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

丁华、陈杉: 设计研究方案,实施研究过程,论文撰写; 王森、龙芬: 提出研究思路,实施研究过程,分析试验数据,论文修改; 陈坤: 提出研究思路,分析试验数据,资料搜集整理,论文审核; 冉瑞智: 提出研究思路,课题设计,论文修改,论文审核

参考文献

- [1] Thai AA, Solomon BJ, Sequist LV, et al. Lung cancer [J]. Lancet, 2021, 398 (10299): 535-554. DOI: 10. 1016/S0140-6736 (21) 00312-3.
- [2] Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM classification for lung cancer [J]. J Thorac Oncol, 2016, 11 (1): 39-51. DOI: 10. 1016/S0140-6736(21) 00312-3.
- [3] Chaft JE, Rimmer A, Weder W, et al. Evolution of systemic therapy for stages I-III non-metastatic non-small-cell lung cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18 (9): 547-557. DOI: 10. 1038/s41571-021-00501-4.
- [4] Rayman MP. Selenium and human health [J]. Lancet, 2012, 379 (9822): 1256-1268. DOI: 10. 1016/S0140-6736(11) 61452-9.
- [5] 吴泉峰, 方孝俊, 杨小琴, 等. 亚硒酸钠联合阿霉素前体药通过丝裂原活化蛋白激酶信号通路介导胃癌细胞 SGC-7901 的增殖凋亡 [J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35 (10): 1874-1877. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1001-9030. 2018. 10. 029.
- Wu QF, Fang XJ, Yang XQ, et al. Sodium selenite combined prodrug of adriamycin mediated the proliferation and apoptosis of gastric cancer cell SGC-7901 through mitogen-activated protein kinase signal pathway [J]. Chin J Exp Surg, 2018, 35 (10): 1874-1877. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1001-9030. 2018. 10. 029.
- [6] 谭子富, 张碧涛, 杨小琴, 等. 亚硒酸钠联合阿霉素前体药通过调控活性氧水平及线粒体功能促进胃癌细胞 SGC-7901 凋亡 [J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35 (11): 2075-2078. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1001-9030. 2018. 11. 031.
- Tan ZF, Zhang BT, Yang XQ, et al. Sodium selenite combined with adriamycin precursor drug promoted the apoptosis of gastric cancer cells SGC-7901 by regulating reactive oxygen species level and mitochondrial function [J]. Chin J Exp Surg, 2018, 35 (11): 2075-2078. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1001-9030. 2018. 11. 031.
- [7] Sakalli Cetin E, Naziroglu M, Cig B, et al. Selenium potentiates the anticancer effect of cisplatin against oxidative stress and calcium ion signaling-induced intracellular toxicity in MCF-7 breast cancer cells: involvement of the TRPV1 channel [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2017, 37 (1): 84-93. DOI: 10. 3109/10799893. 2016. 1160931.
- [8] 中华医学会肿瘤学分会, 中华医学会杂志社. 中华医学会肿瘤学分会肺癌临床诊疗指南 (2021 版) [J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43 (6): 591-621. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112137-20210207-00377.
- Oncology Society of Chinese Medical Association, Chinese Medical Association Publishing House. Oncology Society of Chinese Medical Association guideline for clinical diagnosis and treatment of lung cancer (2021 edition) [J]. Chin J Oncol, 2021, 43 (6): 591-621. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112137-20210207-00377.
- [9] Diamond AM. Selenoproteins of the human prostate: Unusual properties and role in cancer etiology [J]. Biol Trace Elem Res, 2019, 192 (1): 51-59. DOI: 10. 1007/s12011-019-01809-0.
- [10] Gong HY, He JG, Li BS. Meta-analysis of the association between selenium and gastric cancer risk [J]. Oncotarget, 2016, 7 (13): 15600-15605. DOI: 10. 18632/oncotarget. 7205.
- [11] Radomska D, Czarnomys R, Radomski D, et al. Selenium as a bioactive micronutrient in the human diet and its cancer chemopreventive activity [J]. Nutrients, 2021, 13 (5): 1649. DOI: 10. 3390/nu13051649.
- [12] Doello K, Mesas C, Quinero F, et al. The antitumor activity of sodium selenite alone and in combination with gemcitabine in pancreatic cancer: An In Vitro and In Vivo Study [J]. Cancers (Basel), 2021, 13 (13): 3169. DOI: 10. 3390/cancers13133169.
- [13] Zhang T, Zhao G, Zhu X, et al. Sodium selenite induces apoptosis via ROS-mediated NF- κ B signaling and activation of the Bax-caspase-9-caspase-3 axis in 4T1 cells [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (3): 2511-2522. DOI: 10. 1002/jcp. 26783.
- [14] Kursvietiene L, Mongirdiene A, Bernatoniene J, et al. Selenium anticancer properties and impact on cellular redox status [J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9 (1): 80. DOI: 10. 3390/antiox9010080.
- [15] Powers M, Liu L, Deemer D, et al. Selenite inhibits notch signaling in cells and mice [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (5): 2518. DOI: 10. 3390/ijms22052518.
- [16] Kim SJ, Choi MC, Park JM, et al. Antitumor effects of selenium [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (21): 11844. DOI: 10. 3390/ijms222111844.
- [17] Radomska D, Czarnomys R, Radomski D, et al. Selenium compounds as novel potential anticancer agents [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (3): 1009. DOI: 10. 3390/ijms22031009.
- [18] Misra S, Boylan M, Selvam A, et al. Redox-active selenium compounds—from toxicity and cell death to cancer treatment [J]. Nutrients, 2015, 7 (5): 3536-3556. DOI: 10. 3390/nu7053536.
- [19] Zhao G, Dong R, Teng J, et al. N-Acetyl-L-cysteine enhances the effect of selenium nanoparticles on cancer cytotoxicity by increasing the production of selenium-induced reactive oxygen species [J]. ACS Omega, 2020, 5 (20): 11710-11720. DOI: 10. 1021/acsomega.0c01034.
- [20] Wu X, Zhao G, He Y, et al. Pharmacological mechanisms of the anticancer action of sodium selenite against peritoneal cancer in mice [J]. Pharmacol Res, 2019, 147 (1): 104360. DOI: 10. 1016/j. phrs. 2019. 104360.

(收稿日期: 2022 - 08 - 16)