

# 三种化合物对温石棉促人胚肺细胞增殖作用的影响

樊晶光 王起恩 刘世杰 赵修南

**摘要** 为了探讨几种化合物对温石棉促人胚肺 (HEL) 细胞增殖作用的影响, 用不同浓度的柠檬酸铝、混合稀土或亚硒酸钠溶液浸泡温石棉 1 小时后, 再将其与人胚肺细胞共同孵育, 通过测定 [<sup>3</sup>H] TdR 掺入量, 来了解人胚肺细胞的增殖状况。结果显示, 2.5~10<sup>4</sup> g/ml 的温石棉, 时间作用在 24 小时之内, 或 20~80<sup>4</sup> g/ml 温石棉, 时间作用在 6 小时之内均可促使人胚肺细胞增殖。与未处理温石棉组相比, 经三种化合物处理的温石棉其促细胞增殖作用明显下降。提示, 采用三种化合物溶液浸泡温石棉, 有可能减轻温石棉的致癌危害性。

**关键词** 石棉类 人胚肺细胞 细胞增殖

**Study on the Effects of Several Chemicals on Chrysotile-induced Cell Proliferation in Human Embryo Lung-Cells** Fan Jingguang, Wang Qien, Liu Shijie. Department of Labor Health, Beijing Medical University. Beijing 100083

**Abstract** To explore the effects of several chemicals on chrysotile-induced cell proliferation in human embryo lung (HEL) cells, after soaking in aluminium citrate, mixed rare earths or sodium selenite solutions respectively at different concentrations for 1 hour, the chrysotile were incubated with HEL cells, then, the proliferation of HEL cells were determined by [<sup>3</sup>H] TdR incorporation assay. The results showed that chrysotile at concentrations of 2.5~10<sup>4</sup> g/ml with 24h action time, or at concentrations of 20~80<sup>4</sup> g/ml with 6h action time could promote the proliferation of HEL cells, but the chrysotile pre-treated by these chemicals mentioned above only induced less cell proliferation. The results indicated that the carcinogenicity of chrysotile might be reduced by soaking with these compounds.

**Key words** Asbestos, Human embryo lung cells (HEL), Cell proliferation

许多研究表明, 石棉是一种完全致癌物, 即石棉不仅有诱癌作用, 而且具有促癌作用, 但目前对石棉的促癌机理尚不清楚。有研究报道, 石棉在低剂量的情况下, 可通过激活细胞中的蛋白激酶 C (PKC) 活性或持续诱导 c-fos 和 c-jun 癌基因的表达等, 而促进细胞增殖, 这可能是石棉促癌的机理之一<sup>[1]</sup>。本研究用不同浓度柠檬酸铝、混合稀土或亚硒酸钠溶液浸泡温石棉 1 小时后, 再将其与人胚肺 (HEL) 细胞共同孵育, 通过 [<sup>3</sup>H] TdR 掺入法, 测定了

其对人胚肺细胞增殖的影响, 现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验用细胞株

HEL 细胞由军事医学科学院提供。用 0.125% 胰蛋白酶+ 0.01% EDTA 消化传代, 用含 10% 小牛血清和双抗的 MEM 培养液于 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 的条件下培养, 3 天传代一次。

### 1.2 石棉样品的制备

选用青海茫崖产温石棉, 用冰冻切片机制成 5~20<sup>4</sup> m (> 10<sup>4</sup> m 者占 50%) 的石棉纤维, 置 60℃ 烤箱中烘干备用。临用前将石棉加入磷酸盐缓冲液 (PBS) 或双蒸水中, 超声 10

作者单位: 100083 北京 北京医科大学劳动卫生教研室  
(樊晶光\*, 王起恩, 刘世杰), 军事医学科学院 (赵修南)

\* 现在劳动部劳动保护科学研究所 (北京, 100029)

分钟,并用混悬器振荡 2分钟,配成一定浓度均匀的混悬液。

1. 3 石棉纤维的预处理

将一定量的温石棉悬液与不同浓度的混合稀土、柠檬酸铝(含 Al<sup>3+</sup> 9.3%)或亚硒酸钠溶液相混后,分别在室温下作用 1小时,2 000r/min离心 10分钟,弃去上清液后,再用 PBS将下部沉淀配成一定浓度均匀的混悬液。

1. 4 [<sup>3</sup>H] TdR掺入试验

将 HEL细胞接种于 24孔板(5× 104个细胞/孔),待细胞生长至对数生长期时,加入不同浓度的温石棉悬液或经浸泡过的温石棉

悬液,培养 3小时后,再加入终浓度为 1<sup>μ</sup>ci/ml 的 [<sup>3</sup>H] TdR,继续培养 3小时,然后用胰酶消化,将细胞收集到玻璃纤维滤膜上,80℃烘干,置于内含 5ml闪烁液的液闪瓶中,用液闪仪测定 cpm值。

1. 5 数据处理

采用 Primer软件中的 t检验程序对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2. 1 不同剂量和作用时间温石棉对人胚肺细胞增殖的影响

表 1 温石棉对人胚肺细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

石棉 μg/ml	cpm值		
	3h	6h	24h
0	1 043± 195	1 06± 134	1 16± 75
2.5	NT <sup>△</sup>	1 127± 115	1 793± 126 *
5	NT	1 404± 152	1 905± 119 *
10	NT	1 468± 250	1 653± 75 *
20	1 840± 225	1 70± 140 *	1 247± 100
40	1 610± 293	1 614± 255	937± 239
80	1 53± 90	1 246± 211	910± 25 *

△未检测;\* 与对照组相比 P < 0.05;\*\* 与对照组相比 P < 0.01

由表 1可见,较低剂量的石棉,在染毒 24小时内均促进 [<sup>3</sup>H] TdR的掺入,但较高剂量的石棉对 DNA的作用呈双向效应,即在染毒时间较短时呈促进作用,而随着染毒时间的延长,则呈现抑制效应。表明较高剂量的石棉短时间染毒和低剂量的石棉均可促进细胞增殖,而较高剂量的石棉长时间染毒其本身即可抑制细胞增殖。

2. 2 三种化合物对温石棉促人胚肺细胞增殖作用的影响

表 2 柠檬酸铝对石棉促人胚肺细胞增殖作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

石棉(μg/ml)	柠檬酸铝(μg/ml)	cpm值	抑制率(%)
80	0	1 53± 90	—
80	20	1 445± 120	17.6
80	40	1 288± 261	49.8
80	80	975± 178 *	113.9

\*\* 与未处理石棉组相比 P < 0.01

表 3 混合稀土对石棉促人胚肺细胞增殖作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

石棉(μg/ml)	混合稀土(μg/ml)	cpm值	抑制率(%)
80	0	1 53± 90	—
80	20	1 255± 271	56.56
80	40	1 216± 81*	64.55
80	80	880 ± 99 *	133.40

\* 与未处理石棉组相比 P < 0.05;\*\* 与未处理石棉组相比 P < 0.01

表 4 亚硒酸钠对石棉促人胚肺细胞增殖作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

石棉(μg/ml)	亚硒酸钠(μg/ml)	cpm值	抑制率(%)
80	0	1 53± 90	—
80	20	1 150± 239	78.1
80	40	1 08± 187	92.0
80	80	1 065± 131*	95.5

\* 与未处理石棉组相比 P < 0.05;\*\* 与未处理石棉组相比 P < 0.01

由表 2-4可见,经三种化合物预处理石棉组的 cpm 值均低于未经处理石棉组的 cpm

值,并且表现出不同程度的剂量依赖性。其中用等量柠檬酸铝或混合稀土溶液浸泡的石棉组的 cpm 值,甚至还低于正常对照组的数值。表明,用三种化合物溶液浸泡石棉,均可不同程度地抑制石棉的促细胞增殖作用。但在三种化合物与石棉量的比值为 1/2 或 1/4 时,亚硒酸钠的抑制率似乎比其他二者效果更好。

### 3 讨论

众所周知,细胞增殖在癌症发生发展的许多阶段均起重要作用,特别是各种遗传毒性物质在体内或体外诱导肿瘤的发生均需一个完整的细胞增殖周期以启动此程序,这是因为,由基因改变而产生的突变至少需要一个完整的细胞增殖周期才能固定下来<sup>[2]</sup>。而且,细胞增殖速度的加快,也可增加基因突变的机会<sup>[3,4]</sup>。

Coin 等<sup>[5]</sup>使小鼠吸入染毒温石棉后,通过测定 [<sup>3</sup>H] TdR 的掺入量,发现胸膜间皮细胞明显增生。给小鼠气管注入长的青石棉纤维后,胸膜间皮细胞及胸膜下细胞也出现明显的增生反应<sup>[6]</sup>。Quinlan 等<sup>[7]</sup>用两种不同浓度 (0.18 和 8.2 mg/m<sup>3</sup>) 的温石棉对大鼠进行吸入染毒,结果于染毒第 5 天,高剂量石棉组大鼠的支气管上皮细胞、肺间质细胞、胸膜间皮细胞的 5-溴-2-脱氧尿嘧啶的掺入量均明显高于对照组。本研究结果发现,将人胚肺细胞与温石棉共同孵育后,其 [<sup>3</sup>H] TdR 掺入量显著增加,证实了温石棉在体外染毒也有促细胞增殖作用。这可能是石棉促癌的机理之一。

与未处理石棉组相比,经三种化合物处理的石棉组,其 [<sup>3</sup>H] TdR 掺入量明显降低,且表现出不同的剂量依赖性,表明用三种化合物预处理石棉,均可抑制石棉的促细胞增殖作用。其中加入量为石棉比值的 1/2 或 1/4 的亚硒酸钠,比其他两种化合物同一比值的抑制率更高些,这可能与以往报道硒可抑制石棉引起动物肺癌或间皮瘤发生的情况有相似趋势。

Marsh 等<sup>[8]</sup>报道,石棉可诱导大鼠气管上皮细胞中鸟氨酸脱羧酶 (ODC) mRNA 转录活

性增加和酶活性增强,但若在培养介质中同时加入过氧化羟酶则可抑制石棉对 ODC 酶活性的诱导。Timblin<sup>[9]</sup>将石棉和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分别加入到仓鼠气管上皮细胞培养液中,发现二者均可诱导其 c-jun 癌基因的转录。上述结果表明, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在石棉的促细胞增殖中起着一定的作用。本研究发现,用三种化合物预处理石棉后,其诱导人胚肺细胞产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 明显减少 (另文发表),这可能是三种化合物抑制其促细胞增殖的机理之一。

综上所述,用三种化合物溶液浸泡石棉,均可不同程度地抑制石棉的促细胞增殖作用,从而有可能减轻温石棉的致癌危害性。

### 4 参考文献

- Heintz NH, Janssen YM, Mossman BT. Persistent induction of c-fos and c-jun expression by asbestos. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 1993, 90: 3299
- Borek C and Sachs L. The number of cell generations required to fix the transformed state in X-ray involved transformation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1967, 57: 1522
- Ames BN and Gold LS. Mitogenesis increases mutagenesis. *Science (Washington, DC)*, 1990, 249: 970
- Cohen SM and Ellwein LB. Cell proliferation in carcinogenesis. *Science (Washington, DC)*, 1990, 249: 972
- Coin PG, Moore LB, Roggli V and Brody AR. Pleural incorporation of <sup>3</sup>H-TdR after inhalation of chrysotile asbestos in the mouse. *Am Rev Respir Dis*, 1991, 143: A604
- Adamson Ian YR, Bakowska J, Bowden DH. Mesothelial cell proliferation after instillation of long or short asbestos fibers into mouse lung. *Am J Pathol*, 1993, 142: 1209
- Quinlan TR, Berube KA, Marsh JP, et al. Patterns of inflammation, cell proliferation, and related gene expression in lung after inhalation of chrysotile asbestos. *Am J Pathol*, 1995, 147: 728
- Marsh JP, Mossman BT. Role of asbestos and active oxygen species in activation and expression of ornithine decarboxylase in hamster tracheal epithelial cells. *Cancer Res*, 1991, 51: 167
- Timblin CR, Janssen YW, Mossman BT. Transcriptional activation of the proto-oncogene c-jun by asbestos and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is directly related to increased proliferation and transformation of tracheal epithelial cells. *Cancer Res*, 1995, 55 (13): 2723 (收稿: 1997-12-18)