

• 基础研究 •

一氧化氮对骨肉瘤细胞表面 CD44 表达的影响

张新宇 匡正达 杨传铎

[摘要] 目的 研究一氧化氮(NO)对体外培养的骨肉瘤细胞株表面 CD44 表达的影响及意义。方法 在体外培养骨肉瘤细胞株培养液中加入不同浓度的亚硝酸钠(SNP)以产生外源性 NO,用免疫组织化学的方法研究细胞表面 CD44 抗原成分的变化。结果 肿瘤细胞表面 CD44 抗原在 SNP 存在的情况下表达明显下降。结论 NO 可以一定程度上抑制骨肉瘤细胞株 CD44 的表达,可能引起肿瘤细胞转移能力的改变。

[关键词] 一氧化氮;骨肉瘤;亚硝酸钠;CD44

Effect of nitric oxide on expression of CD44 of osteosarcoma cell line ZHANG Xin-yu, KUANG Zheng-da, YANG Chuan-duo. Department of Orthopaedics, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China

[Abstract] Objective To study the influence of nitric oxide on the expression of CD44 of human osteosarcoma cell line (HOS). Methods Different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) were added into the culture solution of HOS in vitro. Through immunohistochemistry method (SP), the expression of CD44 were observed. Results The expression of CD44 was depressed when the concentration of SNP was increased. Conclusion Nitric oxide can depress the expression of CD44 of HOS and maybe change the invasive or metastatic abilities of HOS.

[Key words] nitric oxide; Osteosarcoma; sodium nitroprusside; CD44

中图分类号:R738.1 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2005)07-0552-01

[本文著录格式] 张新宇,匡正达,杨传铎.一氧化氮对骨肉瘤细胞表面 CD44 表达的影响[J].中国康复理论与实践,2005,11(7):552.

一氧化氮(NO)与肿瘤细胞的生长和转移有一定的关系。以往的研究发现,NO 可以抑制体外培养的人骨肉瘤细胞(HOS)的生长能力和跨膜侵袭能力^[1-2]。本文在此基础上,进一步探讨 NO 对 HOS 细胞表面 CD44 表达的影响。

1 材料和方法

1.1 细胞培养 骨肉瘤细胞株 HOS-8603(中山医科大学病理教研室)用含 20%小牛血清的 RPMI 1640 培养基 37℃ 5% CO₂ 培养。

1.2 实验方法 细胞浓度为 2×10^4 / ml,接种于放有盖玻片的直径 3.5 cm 小培养皿中,培养 12 h 待细胞贴壁后,每孔分别加入亚硝酸钠(SNP, Sigma)并使终浓度达到 50、100、200、500、1000、2500、5000、10000 和 30000 μ mol/L,对照组加等量的 0.01 mol/L PBS,继续培养 12 h,取出盖玻片,用 PBS 浸洗 3 次,每次 1 min,10%中性福尔马林固定 30 min,进行细胞表面 CD44 免疫组织化学染色(SP 法),染色步骤按说明书操作(福建迈新公司)。HOS 细胞膜染成棕黄色颗粒为阳性,每张任取 5 个视野,结果分别做半定量分析。

2 结果

对照组细胞表达最强,SNP 各组随着浓度的增加,CD44 的表达呈现逐渐下降的趋势。若以 PBS 组染色结果为“+++”,则经 SNP 处理后的细胞染色强度从“+++”至“±”不等。见封三图 4.1~4.4。

3 讨论

NO 是由 NOS 催化 L-精氨酸反应而生成的多功能信号分子,多数资料显示,其与肿瘤的转移潜力呈负相关^[3-5]。SNP 是一种 NO 产生的供体物质,生物组织

中存在着的还原性物质可以使 SNP 还原并生成 NO^[6],且 NO 的生成量与 SNP 终浓度成正比,并随时间的推移呈线性升高。

以往实验在细胞培养液内加入不同浓度的 SNP,可使细胞内 NO 产生相应浓度的变化,随着加入 SNP 浓度的增加,细胞存活数量呈逐渐减少的趋势,说明 NO 在体外可以杀伤骨肉瘤细胞并有一定的浓度依赖性;同时,在体外随着 NO 浓度的增加,骨肉瘤细胞株的跨膜侵袭能力也呈下降趋势。

CD44 是一种膜表面蛋白,在很多肿瘤细胞膜中都有表达,可使细胞粘附于细胞外基质和靶器官组织中,与肿瘤的生长和侵袭能力有密切关系。从细胞表面 CD44 的染色情况看,在体外加入 NO 供体 SNP 后,CD44 的表达随 SNP 浓度的增加呈下降趋势,说明 NO 对骨肉瘤细胞表面粘附蛋白的合成或表达起破坏作用,其跨膜侵袭和转移的抑制作用,可能与 CD44 表达下降有关,其中的具体作用机制和方式还不甚清楚,但可为继续研究如何有效抑制骨肉瘤细胞的转移能力提供线索。

[参考文献]

- [1] 张新宇,秦斌,史占军.外源性一氧化氮对骨肉瘤细胞株 HOS 生长能力的影响[J].中国矫形外科杂志,2000,7(11):1092-1095.
- [2] 张新宇,靳安民,史占军,等.一氧化氮对骨肉瘤细胞体外跨膜侵袭能力的影响[J].第一军医大学学报,2002,22(2):134-136.
- [3] Mullins DW, Burger CJ, Elgert KD. Paclitaxel enhances macrophage IL-12 production in tumor-bearing hosts through nitric oxide[J]. J Immunol, 1999, 162(11): 6811-6818.
- [4] Albina JE. On the expression of NOS by human macrophages. Why no NO[J]? J Leukocyte Biol, 1995, 58(6): 643-649.
- [5] Ekmekcioglu S, Ellerhorst JA, Mumm JB, et al. Negative association of melanoma differentiation-associated gene (mda-7) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in human melanoma: MDA-7 regulates iNOS expression in melanoma cells[J]. Mol Cancer Ther, 2003, 2(1): 9-17.
- [6] MacPherson H, Noble BS, Ralston SH. Expression and functional role of nitric oxide synthase isoforms in human osteoblast-like cells[J]. Bone, 1999, 24(3): 179-185. (收稿日期:2005-01-13)

作者单位:100039 北京市,武警总医院骨科。作者简介:张新宇(1968-),男,辽宁沈阳市人,博士,主治医师,主要从事骨肿瘤的相关研究。