

冰盐水对苯并(a) 芘诱发小鼠前胃组织癌变过程的影响

Influence of ice brine on the process of B(a) P inducing anterior stomach neoplasms in mice

党海珍*, 魏品康, 张霄峰 (第二军医大学长征医院中医科, 上海 200003)

[摘要] 目的:观察冰盐水对苯并(a) 芘[B(a) P]诱发小鼠前胃癌变过程的影响及其可能的作用机制。方法:昆明种小鼠随机分为4组,分别为正常对照组、B(a) P 诱导组、B(a) P 加冰盐水诱导组(冰盐水组)和B(a) P 加冰水诱导组(冰水组),后3组分别在体内诱导小鼠前胃癌变。比较各组小鼠生存状态以及前胃肿瘤的发生情况;放免法检测各组小鼠第20周正常胃黏膜组织中血栓素 B_2 (TXB $_2$)的表达情况。结果:正常对照组未见肿瘤形成,其余3组均见肿瘤形成,并经病理证实。冰盐水组、冰水组和B(a) P 诱导组前胃肿瘤发生率分别为70%、50%和43.33%,冰盐水组成瘤率明显高于冰水组和B(a) P 诱导组($P < 0.05$),而后两者间无显著差异。与正常对照组相比,B(a) P 诱导组、冰盐水组和冰水组 TXB $_2$ 表达明显升高($P < 0.01$ 或 0.05);冰盐水组和冰水组高于B(a) P 诱导组($P < 0.05$),而冰盐水组和冰水组无显著差异。结论:饱和浓度的冰盐水对B(a) P 诱导小鼠前胃癌变具有促进作用;其可能通过促进小鼠前胃黏膜 TXB $_2$ 过表达发挥促肿瘤作用。

[关键词] 胃肿瘤;苯并芘;冰盐水;血栓烷 B_2

[中图分类号] R 735.2 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2006)11-1266-02

食管癌、胃癌是上消化道常见的两大癌症,死亡率极高,其发病与饮食关系密切。苯并(a) 芘[B(a) P]是一类具有致癌作用的多环芳烃族化合物,有大量资料表明其对多种动物均具有致癌性^[1]。研究^[2]表明小鼠喂饲含B(a) P 饲料(250 mg · kg⁻¹)可诱发前胃癌,喂饲时间长可诱发肺癌及白血病。本研究中小鼠给予B(a) P 后,再予饱和浓度的冰盐水灌胃干预,观察饮食因素对消化道肿瘤的影响并探讨其可能机制。

1 材料和方法

1.1 动物与试剂 昆明种雌性小白鼠120只,6~7周龄,体重(20 ± 2.9) g,由第二军医大学动物实验中心提供[动物合格证号为SYXK(军)2002-044]。B(a) P 购于德国Fluka公司,纯度为98%。血栓素 B_2 (TXB $_2$) 放免试剂盒由北京东亚技术研究所提供,批号:051126。

1.2 动物分组和处理 120只小鼠观察2周后,随机分为4组,每组30只,分别为:正常对照组;B(a) P 诱导组;B(a) P 加冰盐水组(冰盐水组);B(a) P 加冰水组(冰水组)。将B(a) P 溶于色拉油中,浓度为5 g · L⁻¹,小鼠ig剂量为0.01 ml · g⁻¹,正常对照组给予相同量的不含B(a) P 的色拉油,持续ig 4周,每周2次。在给予B(a) P 4周后冰盐水组加饱和浓度的冰盐水灌胃,冰水组加冰蒸馏水灌胃,冰蒸馏水及冰盐水的温度为0~4℃,小鼠ig剂量为0.01 ml · g⁻¹,每周3次。实验中小鼠予冰水、冰盐水灌胃后,每20 min 测一次肛温,以体温计插入小鼠肛门测肛温,检测时间为3~5 min。

1.3 观察指标

1.3.1 一般指标及成瘤情况 观察各组小鼠一般情况,生长状态,开始灌胃后第12周、16周、20周各组分别断髓处死10只动物,记录每组的荷瘤动物数、肿瘤的平均直径和动物的荷瘤数,并将鼠胃置于中性甲醛溶液中固定,H-E染色,光学显微镜检查。

1.3.2 小鼠胃黏膜中TXB $_2$ 的检测 各组小鼠取正常胃部黏膜组织,每只50 mg,应用TXB $_2$ 放免试剂盒测定TXB $_2$ 含量。

1.4 统计学处理 采用SPSS软件包对小鼠肿瘤发生率、肿瘤平均直径、平均荷瘤数及TXB $_2$ 含量进行方差分析。

2 结果

2.1 各组小鼠一般情况 实验过程中正常对照组小鼠毛发有光泽,活动灵敏,其余3组动物均可见脱毛,少活动,便秘;冰盐水组和冰水组小鼠可见耸毛、蜷缩、四肢发冷、耳壳发白,肛温一般下降1.5℃左右,2 h后恢复正常。

2.2 小鼠前胃组织病理观察 正常对照组小鼠的胃表面光滑,无肿瘤出现;B(a) P 诱导的小鼠前胃癌,可见黄白色,形状大小不一的呈乳头状肿物,最大直径为5.3 mm,呈现菜花样外观。H-E染色:正常对照组小鼠的胃组织结构排列有序,前胃上皮各层细胞层次明显,并且鳞状上皮细胞和腺上皮细胞排列整齐(图1A);经B(a) P 诱导形成的前胃肿物的切片结果,可见前胃复层扁平上皮过度角化,基底细胞局灶性增生,棘细胞肥大,排列紊乱,并且呈乳头状向下生长,病理诊断为异型增生(图1B);有些可见前胃上皮基底细胞增生活跃,排列紊乱,并穿过基底膜向下生长,形成前胃鳞状细胞癌(图1C)。结果表明,本实验中B(a) P 诱导组、冰盐水组和冰水组利用B(a) P 均成功地建立了小鼠前胃癌模型。

2.3 各组小鼠前胃肿瘤的进展及成瘤率情况 第12、16及20周动物处死后取出胃,冰盐水组的肿瘤平均直径大于B(a) P 诱导组和冰水组,但无统计学差异;冰盐水组第20周肿瘤平均直径大于第12、16周,与第12、16周比较有显著性差异($P < 0.05$);B(a) P 诱导组和冰水组第20周肿瘤平均直径大于第12、16周,但与16周时无统计学差异,见表1。第12、16、20周动物处死后对小鼠前胃癌的统计结果:冰盐水组的成瘤率明显高于B(a) P 诱导组和冰水组,统计学比较有显著性差异($P < 0.05$),B(a) P 诱导组和冰水组无显著性差异。见表2。

[作者简介] 党海珍,博士,副主任医师。

* Corresponding author. E-mail: danghaizhen@126.com

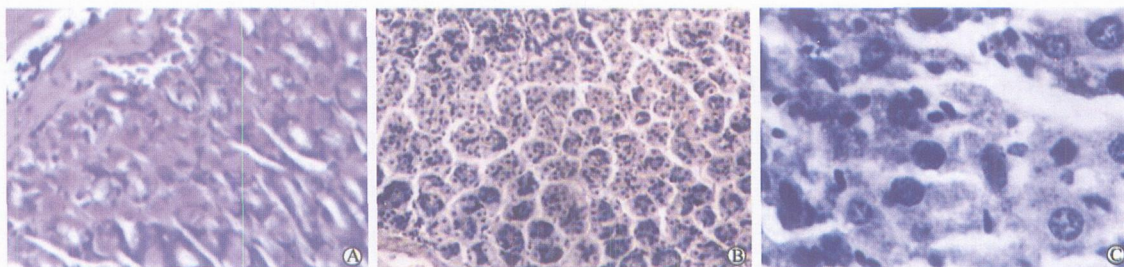


图 1 各组小鼠前胃组织 H E 染色

A:正常对照组小鼠胃黏膜(×100);B:胃黏膜异型增生(×100);C:小鼠前胃鳞状细胞癌(×400);B、C 源于 B(a)P 诱导组

表 1 第 12、16、20 周各组小鼠肿瘤的平均直径

(n=10, $\bar{x} \pm s, l/cm$)

组别	灌胃后时间(t/week)		
	12	16	20
正常对照组	0	0	0
B(a)P 诱导组	0.16 ±0.06	0.17 ±0.06	0.19 ±0.07
冰盐水组	0.17 ±0.06	0.19 ±0.07	0.23 ±0.09 *
冰水组	0.16 ±0.05	0.18 ±0.07	0.21 ±0.08 *

* P<0.05 与第 12 周相比; P<0.05 与第 16 周比较

表 2 各组小鼠成瘤率比较

[(n/N) %]

组别	灌胃后时间(t/week)			总计
	12	16	20	
正常对照组	(0/10)0	(0/10)0	(0/10)0	(0/10)0
B(a)P 诱导组	(2/10)20 *	(4/10)40 *	(7/10)70 *	(13/30)43.33 *
冰盐水组	(5/10)50 *	(7/10)70 *	(9/10)90 *	(21/30)70 *
冰水组	(3/10)30 *	(5/10)50 *	(7/10)70 *	(15/30)50 *

* P<0.05 与正常对照组相比; P<0.05 与 B(a)P 诱导组相比

2.4 各组小鼠第 20 周正常胃黏膜中 TXB₂ 表达 冰盐水组、冰水组和 B(a)P 诱导组胃黏膜组织中 TXB₂ 的表达水平 (pg/ml) 明显高于正常对照组 (335.32 ±94.46, 284.69 ±56.58, 211.90 ±83.73 vs 164.77 ±32.65, P<0.05 或 0.01), 其中冰盐水组的 TXB₂ 的水平约为正常对照组的 2 倍;冰盐水组和冰水组胃黏膜组织中 TXB₂ 的表达水平明显高于 B(a)P 诱导组 (P<0.01); 而冰盐水组和冰水组间无显著差异。

3 讨论

寒热研究至今已有 40 余年,在动物实验中进行寒热的研究对探讨体质与疾病发生发展的相关性有重要的理论意义。有研究表明 PGE、PGF 与中医寒热辨证密切相关。血栓素 A₂ (TXA₂) 主要是由血小板微粒体合成并释放的一种具有强烈促进血管收缩和血小板聚集的生物活性物质,但它的性质极不稳定,代谢为无活性的 TXB₂,故以此作为定量指标。B(a)P 的致癌性较强,本研究利用 B(a)P 成功地在昆明种小鼠体内建立前胃癌变模型,病理分析结果为鳞状细胞癌,这与以往的研究^[13]结果相一致。

有研究^[4]表明尽管肿瘤的发生是遗传因素与环境因素共同作用的结果,但不良嗜好(吸烟、饮酒、口味嗜咸)、不良饮食生活习惯(三餐不按时、喜爱吃烫食和进食速度快)、食

管和胃的慢性病是食管癌和胃癌高发的主要危险因素。有实验^[5]表明高盐饲料配合诱癌剂可诱发大鼠胃癌。我国河南省的一项调查显示,居民食盐消耗量与胃癌发生有关。高浓度盐可能通过刺激胃黏膜,导致壁细胞脱落,从而破坏胃黏膜屏障,引起胃炎的发生,使 DNA 的合成和细胞增殖增加,最终导致胃癌的发生^[6]。但仅用高盐并不致癌,高盐可能仅为辅助致癌因素。

中医的病因学理论认为嗜食生冷寒凉易造成寒性脾胃疾患。陈艳芬等^[7]以冰-氢氧化钠(或加冰水)所造的胃寒模型在理论和方法上均可行。本实验观察寒邪(冰水)对动物发病过程的影响,并予辅癌因素(饱和浓度的盐水)对动物的寒性体质进行干预,模拟了一个寒的机体环境。从寒邪干扰后动物耸毛、蜷缩、四肢发冷、耳壳发白的外在表现,肛温下降以及动物胃黏膜组织 TXB₂ 升高等结果可以看出本实验小鼠接近中医寒证的表现。在寒的体质下,发现在 B(a)P 的诱癌作用下,被寒邪干预的体质,在高盐这一辅癌因素的影响下,易于肿瘤的发生发展,可见体质的差异、促癌因素的影响和消化道肿瘤的发生发展有一定的相关性,其作用机制有待进一步深入的研究。

(致谢:本实验得到第二军医大学长海医院病理科倪灿荣等老师的大力支持,特此致谢!)

[参考文献]

- [1] 孙长颢,吴坤,王朝旭,等. 致癌物与抗癌物研究进展[M]. 长春:吉林科学技术出版社,1997:40-50.
- [2] 陈炳卿,薛英本,杨艳梅,等. 苯并(a)芘诱导小鼠前胃癌模型的建立及共轭亚油酸对其预防作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2002,16:354-357.
- [3] 张晓峰,李百祥. B(a)P 诱导小鼠前胃癌过程中组织病理学变化[J]. 中国癌症杂志,2004,14:422-424.
- [4] 吴建中,丁建华,李苏平,等. 泰兴市食管癌、胃癌和肝癌遗传流行病学调查[J]. 河南肿瘤学杂志,2002,15:89-91.
- [5] 朱晓东,林庚金,许祖德,等. 高盐饲料配合甲基硝基亚硝基胍诱发大鼠胃癌[J]. 上海实验动物科学,2003,23:85-88.
- [6] Lam SK. 9th Seah Cheng Siang Memorial Lecture: gastric cancer - where are we now[J]? Ann Acad Med Singapore, 1999, 28:881-889.
- [7] 陈艳芬,陈蔚文,李茹柳. 寒、热型胃黏膜损伤模型的对比和应用研究[J]. 广东药学院学报,2005,21:290-291.

[收稿日期] 2006-07-08

[修回日期] 2006-10-30

[本文编辑] 贾泽军