

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2015.07.06

消溃平液抗胃癌癌前病变的实验研究

赖四海, 吴建维, 陈小燕, 郭玉庆, 郑宵月

(深圳市第八人民医院 消化内科, 深圳 518101)

摘要:[目的]通过动物实验观察消溃平液抗胃黏膜细胞突变、癌变的作用。[方法]①应用化学致癌快速筛选短期实验的细胞非程序合成(UDS)的方法,做大鼠体内和体外突变实验,观察消溃平液对化学致癌物 MNNG 诱导的大鼠外周血白细胞突变的阻断突变作用。②用小鼠 90 只,分为 3 个组,1 组饮自来水,2 组自由饮含 150 ug/ml 致癌物—MNNG 的自来水,3 组自由饮含 150 ug/ml MNNG 加含 25 mg/ml 消溃平液自来水,2 周后处死动物,胃切片病理诊断癌变。**结果**①体内诱导实验,大鼠经 2 周饲养诱导 UDS 值从 4120.31 ± 188.22 降到 3151.28 ± 82.91 , $P < 0.01$;体外诱导血中白细胞 UDS 值由 4187.22 ± 592.42 下降到 3102.23 ± 306.58 , $P < 0.01$;②小鼠饮含致癌物 MNNG 组 30 只中 17 只发生了胃黏膜癌变,而饮用 MNNG 同时加饮 25 ml/l 消溃平液 30 只中 5 只发生癌变,抑癌率 70.58%。**结论**消溃平液能抑制致癌物 MNNG 对大鼠外周血白细胞诱发突变的作用;对小鼠胃黏膜增生癌变有高效的抑制作用。

关键词:消溃平液;DNA 非程序合成;MNNG;白细胞;胃黏膜增生癌变

中图分类号:R735.2

文献标志码:A

文章编号:1671-038X(2015)07-0472-03

Experimental study of Xiaokuiping liquid of anti-precancerous lesions in gastric cancer

LAI Si-hai, WU Jian-wei, CHEN Xiao-yan, GUO Yu-qing, ZHENG Xiao-yue

(Department of Gastroenterology, the Eighth People's Hospital of Shenzhen City, Shenzhen 518101, China)

Corresponding author: LAI Si-hai, E-mail: godai@126.com

Abstract: [Objective] To observe the role of Xiaokuiping liquid in anti-mutation and anti-canceration by animal experiment. [Methods] (1) The effect of Xiaokuiping liquid on rat peripheral blood leukocytes, which was induced mutation by chemical carcinogens MNNG, was observed in rat mutation experiments in vivo and in vitro based on the method of unscheduled DNA synthesis(UDS) test of chemical carcinogenesis rapid screening short-term experiment. (2) 90 mice were divided into 3 groups. No. 1 group mice were given tap water. No. 2 group mice were given 150 ug/ml carcinogens-MNNG diluted with tap water. No. 3 group mice were given MNNG and 25 mg/ml Xiaokuiping liquid diluted with tap water. After 2 weeks, the animals were sacrificed and the stomach histopathology was examined to diagnose canceration. [Results] (1) In vivo induction experiments, the UDS value was decreased from 4120.31 ± 188.22 to 3151.28 ± 82.91 ($P < 0.01$). In vitro, the UDS value of blood leukocytes was decreased from 4187.22 ± 592.42 to 3102.23 ± 306.58 ($P < 0.01$). (2) 17 mice of No. 2 group were found canceration in gastric mucosae in contrast to the 5 mice of No. 3 group. The tumor-inhibition rate was 70.58%. [Conclusion] Xiaokuiping liquid can inhibit the mutation of rat peripheral blood leukocytes induced by chemical carcinogens MNNG, and can effectively inhibit the hyperplasia and canceration of the mouse gastric mucosa.

Key words: Xiaokuiping liquid; unscheduled DNA synthesis; MNNG; leukocyte; gastric mucosa hyperplasia and canceration

萎缩性胃炎的胃黏膜异型增生是胃癌癌前病变已为人们所公认^[1-2]。不同程度的异型增生皆可逆转或恶变^[3]。对这种病变进行预防性治疗,阻断其发生突变、癌变,降低胃癌发病率,一直是医学界研究和急于攻克的难关^[4]。消溃平液是一位名老中医的经验方剂(黄芪、白芷、乌贼骨、白芍、桂枝、郁李仁、甘草),笔者曾于2006年申报并被列入科技局计划的科研课题,研究结果证明本方剂在临床上治疗慢性胃炎、消化性溃疡确实有显著疗效。为了进一步探索本方剂在抗胃癌癌前病变方面的作用,进行了抗突变、癌变的实验研究,报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

由实验动物中心提供 Wister 健康雄性大鼠,体重(90±10)g。省实验动物中心繁殖的昆明种小鼠,雄性,体重(20±2)g 90 只。消溃平液,本院制剂室提供。

1.2 试剂和仪器

化学致癌物: N-甲 基-N-硝 基-要 硝 基 胍(MNNG)Fluka 公司产品。储备液浓度 130 mg/ml,避光,4℃保存,使用时配制。自动液闪计数仪, Rerkielmer 产品。

1.3 方法

消溃平液对 MNNG 诱导大鼠外周血白细胞非程序合成的影响方法按文献进行^[5]。大鼠断头取血 2 ml,肝素防凝,等量的与 RPMI1640 培养液含 (HU20 mm, 3 H-TdR10μCi/ml)混合后,置浴 30 min,取出 0.8 ml 置试管内,加入 MNNG 5 ul,终结浓度为 6×10⁻⁷ M,再加[3 H]-TdR185 KBq,总体积

为 1 ml,置 37℃温浴慢振 3 h,置冰浴 10 min 后,加 2 ml 生理盐水终止反应,用多头细胞收集器,将标本抽滤至玻璃纤维膜上,依次加入蒸馏水 30 ml, 5%酸氯醋酸和无水乙醇各 10 ml 洗涤,膜片自然干燥,平置于盛有 2 ml 闪烁液的瓶中,测定计数,每个样品设三个平行管取平均值,细胞计数以 10⁶ WBC 的“min⁻¹”表示 UDS 的水平。

体内试验:将大鼠 18 只,随机分为 3 个组,每组 6 只,均喂基础饲料,1、2 组饮自来水,3 组自由饮用 25 mg/ml 消溃平液,2、3 组 2 周内用 MNNG 灌胃每次 200 μg/kg 共 10 次,于末次灌胃后 24 h 断头取血,测定各组白细胞 UDS 值^[5],结果见表 1。

体外实验:将 24 只大鼠,随机分为 4 个组,每组 6 只,均喂基础饲料,1、3 组饮自来水,2、4 组自由饮用消溃平液 20 mg/ml,2 周后断头取血,3、4 组血样加入 MNNG,4 个组血样测定结果见表 2。

方法:消溃平液对 MNNG 诱导小鼠胃黏膜增生癌变的抑制作用,小鼠分 3 个组,每组 30 只,均喂基础饲料,1 组饮自来水,2 组自由饮含 150 ng/ml 的 MNNG 自来水溶液,3 组饮含 25 mg/ml 消溃平液和含 150 ng/ml MNNG 自来水溶液。2 周后处死动物,胃切片病理诊断^[6],结果见表 3。

2 结果

消溃平液对多次经 MNNG 灌胃大鼠白细胞 UDS 值的影响见表 1。

消溃平液对体外加 MNNG 大鼠血白细胞 UDS 值的影响见表 2。

消溃平液对小鼠胃黏膜增生癌变的抑制作用见表 3。

表 1 消溃平液对多次经 MNNG 灌胃大鼠白细胞 UDS 值的影响

组别	动物数/只	饮用水	MNNG/(mg·kg ⁻¹)	UDS/(10 ⁶ WBC·min ⁻¹)
第 1 组	6	自来水	0	3202.25±129.26 ¹⁾
第 2 组	6	自来水	200	4120.31±188.72
第 3 组	6	消溃平液	200	3151.28±82.91 ¹⁾

与第 2 组比较,¹⁾P<0.01。

表 2 消溃平液对体外加 MNNG 大鼠血白细胞 UDS 值的影响

$\bar{x} \pm s$

组别	动物数/只	饮用水	MNNG/(mg·kg ⁻¹)	UDS/(10 ⁶ WBC·min ⁻¹)
第 1 组	6	自来水	0	3212.00±157.03 ¹⁾
第 2 组	6	消溃平液	0	2936.00±512.24 ¹⁾
第 3 组	6	自来水	6×10 ⁻⁷	4187.22±592.42
第 4 组	6	消溃平液	6×10 ⁻⁷	3102.23±306.58 ¹⁾

与第 3 组比较,¹⁾P<0.01。

表 3 消溃平液对小鼠胃黏膜增生癌变的抑制作用

组别	动物数 /只	胃黏膜癌变 /只(%)	癌变抑制率 /%
1(对照组)	30	0	
2(MNNG)	30	17(56.87)	70.58
3(实验组)	30	5(16.67)	

3 讨论

肿瘤的发生可分为两个阶段,即始动阶段和促动阶段,始动阶段与细胞突变密切相关,因此,抑制突变的产生,对肿瘤的预防有重要意义^[7],本次研究是用化学致癌物 MNNG 作诱导大鼠外周血白细胞 DNA 非程序合成的影响,从表 1、表 2 可见,不论是在体内试验和体外实验,消溃平液能明显降低 UDS 指数,表 1、表 2 结果实验组与对照组相比 $P<0.01$ 和 $P<0.01$,说明本方剂对大鼠血白细胞免受致癌物对 DNA 损伤,以阻断细胞突变的效果明显。用 MNNG 促小鼠胃黏膜增生癌变实验,从表 3 可见 2 组、3 组虽然均自由饮用含致癌物 MNNG 的水溶液,但是第 3 组同时在水中加入了 25 mg/ml 的消溃平液以期能保护小鼠胃黏膜,其结果 2 组 30 只小鼠有 17 只发生了胃黏膜癌变,而 3 组 30 只,只有 5 只发生癌变,消溃平液抑癌率达 70.58%。

近年来的研究证实,一些中药中含有抗癌变成分^[8-9],消溃平液组方中以黄芪、党参为君主药,黄芪抗癌方面的研究颇多,但对抗细胞突变方面的研究很少,本方剂抗细胞癌变的始动期就有显著的抑制突变作用,预示本方剂在组方上是有其独到之处。当前治疗细胞凋亡干预已成为国内外肿瘤治疗的一个新热点,但是至今仍未研究出具有特异性诱导肿瘤凋亡的药物,而黄芪却能通过各种途径诱导肿瘤细胞凋亡,且对正常细胞没有任何毒副作用,其作用机理有:阻滞肿瘤细胞增值周期的 S 期或 C2-M 期^[10-11];影响细胞凋亡信号传导途径;调控癌基因和抑制癌基因的表达等^[12-13]。

黄芪含有丰富的有机硒,硒可抗癌的机理是在人体内能减少和避免致癌化学物产生自由基对细胞 DNA 的损伤,致癌物 MNNG 可通过一系列反应产生亲电子的自由基,消溃平液抗细胞 DNA 的损伤,可能与阻断自由基反应有一定关系。有人研究硒在抗癌中会随着含量的增加而作用越增高,但是高到一定的剂量后其作用反而下降,高剂量时,会具有遗传毒性会促癌变^[14],笔者认为,虽然黄芪中含的是

有机硒,在用的剂量上应恰当。

本次研究结果表明,消溃平方剂,不仅能抗化学毒物 MNNG 致小鼠胃黏膜细胞增生癌变,而且可以在肿瘤发生的始动阶段大鼠血白细胞突变有非常显著的阻断作用,这一点在防治方面有很重要意义。

参考文献

[1] MING S C, BAJTAI A, CORREA P, et al. Gastric dysplasia. Significance and pathologic criteria [J]. Cancer, 1984, 54:1794—1801.

[2] LI C Q, LIU W W. Intestinal metaplasia, dysplasia and gastric cancer: a study of mucohistochemistry, immunohistochemistry and cell DNA quantitative analysis [J]. J Medical Coll PLA, 1992, 7:192—196.

[3] SARAGA E P, GARDIOL D, COSTA J. Gastric dysplasia. A histological follow-up study [J]. Am J Surg Pathol, 1987, 11:788—796.

[4] 李 琼, 刘 晏, 吴坚炯. 慢性萎缩性胃炎的治疗进展 [J]. 中医学报, 2013, 28(176):114—115.

[5] 诸亚君, 陈望秋, 曹禄森, 等. 富硒麦芽粉对黄曲霉素诱导外周血白细胞 DNA 非程序合成的影响 [J]. 营养学报, 1990, 12(3):248—252.

[6] 王 刚, 赵 钦. 两种白茶的抗突变和体外抗癌效果 [J]. 食品科学, 2009, 30(11):240—242.

[7] 周 杰, 朱萱萱, 王海丹, 等. 黄芪多糖对人胃癌细胞系 MGC-803 的生长抑制作用及细胞周期的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(5):1116—1119.

[8] 张秋菊, 刘 斌. 基于细胞凋亡机制的黄芪抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中国老年医学杂志, 2013, 33(11):2729—2731.

[9] 许 波, 叶 柏. 中医药治疗胃癌癌前病变的研究进展 [J]. 光明中医, 2013, 28(4):858—862.

[10] 陈 光, 臧文臣, 刘显清, 等. 黄芪多糖对动物肿瘤细胞凋亡影响的研究 [J]. 中医药学报, 2002, 30(4):55—56.

[11] 刘鹏熙, 周瑞芳, 谭 敏. 黄芪注射液对 basa-l like 型乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株增殖和凋亡的影响 [J]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2009, 3(2):181—186.

[12] 孙 聪, 韩业超, 洪 敏, 等. 黄芪多糖抑制大鼠神经胶质瘤细胞增殖的实验研究 [J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(1):41—43

[13] 申海涛, 张祥宏, 郑 末, 等. 经口给予黄芪提取物对 H22 肝癌荷瘤小鼠影响的实验研究 [J]. 中国肿瘤临床, 2006, 33(14):821—824.

[14] 曹 洁, 李瑞珍, 史永亮, 等. 亚硒酸钠和维甲酸对 MNNG 诱导人全血白细胞非程序 DNA 合成的影响 [J]. 癌变畸变突变, 1998, 10(1):15—17.