

肿瘤防治

四川省食管癌死亡率与发硒含量关系探讨

王朝俊 肖志芳 江映虹 李耀根 黄先和 陶德明

(华西医科大学 成都 610044)

摘要 用荧光法检测了四川省食管癌高中低发地区正常人群和高发区食管癌患者发硒含量。结果显示三个不同的地区发硒含量有显著差异,而高发区正常人群和食管癌患者间无明显差异。结合本省情况认为,硒相对不足可能是食管癌的发癌因素之一。

关键词 食管癌 死亡率 发硒水平

微量元素与肿瘤发生关系的研究日益受到重视,国外已有不少资料报道^[1]。国内有关硒与食管癌死亡率关系的研究报告不多,虽然已有用膳食中补充硒的方法在我国食管癌高发区进行人群干预试验^[2],动物实验也证实,补充硒对亚硝酸诱发大鼠食管癌有阻断作用^[3]。我国食管癌发病率在不同地区间有极大差异,是否与各地人群硒的含量有关尚不得而知,本研究拟从这方面进行探索。

材料和方法

1 样品的采集和处理

从四川省食管癌死亡率不同水平的县采取正常人群头发样品,包括食管癌高发区川西北阆中县、盐亭县;中发区的川东万县、梁平县;低发区的川西温江县和川南叙永县。为了便于比较,均选择农村常住居民,同时还采集了高发区食管癌患者手术前的发样。

于后发际至耳后一段,取齐头皮 1~3 cm 的头发约 2 g,装入采样袋,带回实验室用不锈钢剪成约 0.5 cm 长发段,以 2% 海鸥牌洗涤剂(上海合成洗涤剂五厂)在搅拌下浸泡 30 min,用重蒸水洗净,60℃烘干,置干燥箱中保存备用。

2 测定方法

精确称取发样 0.3 g,放入磨口三角瓶中,加混合酸(5% 钼酸钠 高氯酸 无硒硫酸=1.5 2 1.5) 10 ml,放置过夜。于沙浴上加热至溶液变为清亮无色,并有白烟出现,再继续消化至溶液开始转变成淡黄微带绿色,立即取下。

于上消化液中加入 20 ml EDTA 混合液(7.4% EDTA-2Na 10% 盐酸羟胺 0.02% 甲酚红=20 2 1),混匀,用氨水及盐酸调 pH 至 1.5~2,冷水浴中冷却。在暗室内进行以下操作:加入 0.1% 2,3-二氨基萘溶液 2 ml,混匀后于沸水浴中加热 5 min,取出用冷水冷

却,加环己烷 5 ml,在振荡器上振摇萃取 4 min,待分层后分取环己烷 1 ml 于石英皿中,用 930 型荧光光度计(上海第三分析仪器厂)在激发滤片 360、荧光滤片 510 + 530 处测定荧光强度。

测定结果表明,在 0~0.5 μg/ml 范围内荧光强度与硒含量间呈线性关系,所得工作曲线 $r=0.9994$,该法的最低检出量为 6.8 ng Se,3 个水平的加标回收试验所得回收率为 92.5%~100.5%,变异系数均在 5% 以下。

结 果

共检测了四川省食管癌不同死亡率水平的 6 个县正常人群的头发表品 179 例,包括:盐亭县 80 例,年龄从 3 岁到 55 岁,男性 37 例,女性 43 例,男女性别间发硒含量无显著差别(男性均数 0.2918×10^{-9} ,女性 0.2843×10^{-9} ;阆中县、温江县、万县、叙永县各 20 例,梁平县 19 例。高发区盐亭县食管癌患者 59 例,男性 28 例,女性 31 例,年龄 40~68 岁。

1 6 个县正常人群发硒含量(表 1)

从表 1 方差分析结果表明,各个县正常人群间发硒含量有明显差别,并可看出一种趋势,川西北盐亭县和川东梁平、万县较低,川西温江县、川西北阆中县较高,川南叙永县最高。

2 食管癌患者及食管癌死亡率不同的三个地区人群发硒含量比较

本次所选择的 6 个县按其食管癌死亡率分别属于我省高中低发区,3 个地区硒含量见表 2。

3 个地区正常人群及食管癌患者的发硒含量经秩和检验显示,3 个不同地区之间有显著差别,但高发区正常人群与食管癌患者之间没有显著差异。

3 不同年龄组间发硒含量比较(表 3)

盐亭县正常人群不同年龄组间,其发硒含量经统计学处理没有显著差异。

表 1 六个县正常人群发硒含量比较

项目	盐亭	阆中	万县	梁平	温江	叙永
样本量	80	20	20	19	20	20
均数	0.2883	0.5294	0.3986	0.3015	0.4931	0.8255
方差	0.056	0.056	0.022	0.010	0.040	0.092
总变异	13.825					
组间变异	5.2296	$F = 21.0515$	$P < 0.001$			

表 2 食管癌组及食管癌死亡率不同地区正常人群发硒含量比较

组别	样本	发硒含量($\times 10^{-9}$)	秩和	平均秩和
低发区	40	0.6593	7541.5	188.538
中发区	39	0.3556	4876	125.026
高发区	100	0.3365	10121	101.21
癌患者	59	0.3181	6141.5	102.358

表 3 盐亭县正常人群不同年龄组间发硒含量比较

年龄组	样本	均数(10^{-9})	方差	总变异	组间变异	组内变异	F	P
3~19	20	0.2537	0.047					
20~29	20	0.3759	0.085	4.4128	0.2102	4.2026	1.2673	0.2916
30~39	20	0.2520	0.023					
40~	20	0.2700	0.066					

讨 论

微量元素硒与肿瘤之间的关系曾是一个争论的问题^[1]。经过近年来的研究,更倾向于认为硒对肿瘤的发生有阻断抑制作用^[4,5]。流行病学资料也表明,硒的含量与一些肿瘤的死亡率呈负相关^[6]。四川省西北系食管癌高发地区,川西、川南为低发区,死亡率相差几十倍,川东介于其间,导致这种差别的原因,除已发现与霉菌、亚硝胺、缺乏新鲜蔬菜等因素以外,是否与营养素如微量元素硒的缺乏有关,是值得探讨的问题。

本项研究从上述三个地区采集头发样品,用荧光法检测了硒的含量,结果发现高中低三个地区之间经方差分析有显著性差异。食管癌死亡率高的地区发硒含量低(仅阆中县例外值得探讨),食管癌死亡率低的地区发硒含量高,经检测呈负相关。陈云(1982)在调查四川克山病时,测出川西北食管癌高发区的剑阁和南部县的几个公社居民发硒水平也低^[7],也佐证该地区食管癌的高发与硒的不足可能有一定关系。其中盐亭县是川西北食管癌高发区的中心,发硒含量最低,而且从3岁到40岁以上的4个年龄段比较,发硒水平相近。确实表明盐亭县属低硒地区,各种年龄段没有摄取硒的差别。

食管癌的发病原因比较复杂,很可能是多种因素综合作用的结果。硒在食管癌发生中的作用尚不清楚,是

否正如动物实验所证实的那样^[3],在有其他致食管癌物质存在时,硒可以发挥阻断抑制肿瘤发生的作用,当硒不足时则抑制能力减弱,导致食管癌的高发,值得深入研究。

检测了59例盐亭县的食管癌患者,其发硒含量与盐亭县的正常人群相近,受检患者都是病情不重,全身情况较好而准备手术切除的病人,但也可提示,在食管癌高发区用发硒含量来作为食管癌的初筛检测指标是很不可靠的。

硒是人体的必须微量元素,执行着机体内不可缺少的生理生化功能,但过量时也会引起中毒。有关硒的生理剂量范围、血硒或发硒生理阈值、缺乏和过量的界限等,目前还无客观依据,没有统一标准,尚需通过大量的深入研究加以解决。因此本研究所提到的高硒、低硒是指本次检测的相对结果而言。

参 考 文 献

- 1 陈君石 微量元素——硒的研究 国外医学卫生学分册 1997, (1): 27~31
- 2 黎钧耀, 布洛特, 李冰, 等 中国林县居民癌症和其他常见病营养预防试验效果初步报告 中华肿瘤杂志, 1993, 15 (3): 165~181
- 3 王朝俊, 罗德元, 邓士林, 等 硒对大鼠食管癌的阻断作用研

- 究 华西大学学报, 1988, 19(2): 154~ 157
- 4 Van-Rensburg SJ, Hall JM, Du-Brugu DB, et al Effects of various dietary staples on esophageal carcinogenesis induced in rats by subcutaneously administered N-nitrosomethylbenzylamine. JNCT, 1985, 75(3): 561~ 6
- 5 Bogden JD, Chung HR, Kemp FW, et al Effect of Selenium and molybdeum on MBN-induced esophageal lesion and tissue trace metals in the rat J-Nutr, 1986, 116(2): 2432~ 42
- 6 Raymond FB. Selenium and cancer: Meaning of serum Selenium levels J. Nutr, 1986, 116(8): 1584~ 6
- 7 程云. 四川省克山病的某些流行特点与硒的内外环境调查 营养学报, 1982, 4(3): 215~ 220

(收稿 1997-10-28 修回 1998-03-02)

(上接 7 页) 硒虽是生物体必需的微量元素, 但当浓度超过一定限值时, 就会产生毒害作用。Na₂SeO₃ 的细胞毒性作用使细胞内游离 Ca²⁺ 浓度显著升高。在实验浓度和时间内, Na₂SeO₃ 对细胞的脂质过氧化没有显著性影响。这表明在没有诱发脂质过氧化的因素下, 在较短时间内 Na₂SeO₃ 对细胞的脂质过氧化无影响。SeO₃²⁻ 与细胞膜的作用, Se 能取代膜上的 -SH 和 -S-S- 等基因中 S^[7], 当 SeO₃²⁻ 浓度增大时, 细胞膜上的 S 大量被 Se 取代, 从而导致细胞膜的结构和功能受到破坏。这种破坏作用可能造成细胞外 Ca²⁺ 内流^[11]。同时, Na₂SeO₃ 对膜 Ca²⁺-ATP 酶活性的抑制作用, 降低了细胞主动运输 Ca²⁺ 的能力, 使胞内多余的 Ca²⁺ 不能被清除, 造成胞内游离 Ca²⁺ 超载。当胞内 Ca²⁺ 持续处于高浓度状态时, 会对细胞产生损伤^[8]。胞内 Ca²⁺ 浓度的急增可能刺激胞内结合 Mg²⁺ 的释放或是引起线粒体破裂, 使线粒体内的 Mg²⁺ 释放到胞浆中。所以 SeO₃²⁻ 的毒性作用也使胞内 Mg²⁺ 浓度升高, 但来得较迟缓。对于 SeO₃²⁻ 对 Ca²⁺-ATP 酶和 Mg²⁺-ATP 酶产生不同的抑制作用的原因, 有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Shamberger RJ. Biochemistry of selenium. New York and London: Plenum Press, 1983. 31
- 2 Gabor S, Ciugudeanu M, Surcel D. Effects of selenium on quartz-induced cytotoxicity in macrophage Environ. Res, 1985, 37: 29~ 299
- 3 中国科学院北京动物研究所细胞生物膜组 细胞膜的制备. 生物化学与生物物理进展, 1979, 1: 22
- 4 Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. A assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 1979, 95: 351~ 358
- 5 Grynkiwicz G, Poenie M, Tsien RY. A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties. J. Biol Chem. 1985, 260: 3440~ 3450
- 6 Murphy E, Freudenrich CC, Levy LA et al Monitoring cytosolic free magnesium in cultured chicken heart cells by use of the fluorescent indicator Fura2/AM. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86: 2981~ 2984
- 7 王 夔编著 生物无机化学 北京: 清华大学出版社, 1988 197~ 205
- 8 温和瑞, 王金希, 陈荣三, 等 α-石英对离体巨噬细胞内游离 Ca²⁺ 的影响 无机化学学报, 1993, 9(3): 266~ 270

Effects of Sodium Selenite on Cell

Wen Herui Chen Rongsan

(Department of Chemistry, Canna Teachers College, Ganzhou 341000)

Abstract The effects of Na₂SeO₃ on macrophage were studied by means of the survival percentage of macrophage, the lipid peroxides, the cytoplasmic free Ca²⁺ and Mg²⁺ concentration, the activity of Ca²⁺-ATPase and Mg²⁺-ATPase of erythrocyte membrane. The results showed that the high concentration Na₂SeO₃ (10⁻⁴ mol·L⁻¹) had the cytotoxicity. The poisonous effect of Na₂SeO₃ on macrophage led to the increase of cytoplasmic free Ca²⁺ and Mg²⁺ concentration, but the increase of cytoplasmic free Mg²⁺ concentration was slower than that of cytoplasmic free Ca²⁺ concentration. High concentration Na₂SeO₃ inhibited the Ca²⁺-ATPase and Mg²⁺-ATPase activity. But the inhibition to Mg²⁺-ATPase was weaker than that to Ca²⁺-ATPase.

Key words Sodium Selenite Cytotoxicity Lipid Peroxides Cytoplasmic free Ca²⁺, Mg²⁺ Ca²⁺-ATPase Mg²⁺-ATPase

(收稿 1997-10-07 修回 1998-03-13)