

亚硒酸钠对大鼠胃癌形成和胰岛 B、D 细胞的影响及机制

苏衍萍¹, 唐军民², 唐岩², 高慧英¹

(1. 泰山医学院组胚学教研室, 山东 泰安 271000; 2. 北京大学医学部人体解剖与组织胚胎学系, 北京 100083)

摘要:目的 探讨亚硒酸钠对大鼠胃癌形成和胰岛 B、D 细胞的影响及机制。方法 用 MNNG(20 mg/kg) 给大鼠灌胃, 每天一次, 连续 10 天, 以诱导大鼠胃癌形成。用 HE 染色与 AB-PAS 染色方法观察硒对 MNNG 诱导 Wistar 大鼠胃癌形成的影响; 用免疫组织化学 SP 法显示胰岛内胰岛素细胞(B 细胞)、生长抑素细胞(D 细胞), 并对其结果进行图像分析和统计学处理。结果 饮水中加入 2 mg/L 和 4 mg/L 的亚硒酸钠加重了胃粘膜的糜烂、出血, 促进了胃粘膜的肠上皮化生, 高硒组比实验对照组 ($P < 0.01$), 出现了浆膜下平滑肌瘤, 增加了平滑肌瘤的发生率。B 细胞的面数密度(NA) 各组之间没有显著性差异 ($P > 0.05$), 但平均光密度(MOD) 低硒组比正常对照组和实验对照组显著升高 ($P < 0.01$)。D 细胞的面数密度实验对照组和加硒各组比正常对照组显著降低 ($P < 0.01$), 但是 MOD 值各组之间没有显著性差异 ($P > 0.05$)。结论 在 MNNG 所致胃癌的过程中, 饮水中加入 2 mg/L、4 mg/L 亚硒酸钠不能降低大鼠胃癌的发生; 其机制可能与亚硒酸钠的胰岛素模拟作用有关。

关键词:亚硒酸钠; 大鼠; 胃癌; 胰岛素; 生长抑素

中图分类号: R392.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-7115(2005)-0004-04

Effect of sodium selenite on Wistar rat gastric carcinogenesis and B, D cells in pancreas islet

SU Yangping, TANG Jurmin, TANG Yan, GAO Huiying

(Dept. of Histology and Embryology, Taishan Medical College, Taian 271000, China)

Abstract: Objective: To investigate effect of sodium selenite on Wistar rat gastric carcinogenesis and B, D cells in pancreas islet. Methods: Weaning male Wistar rats were divided into four groups randomly: the high selenium group (4 mg/L), low selenium (2 mg/L) group, experiment control group and normal control group. The Wistar rat gastric cancer was induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 20 mg/kg) gavage daily for 10 days. The surface characters of gastric mucosa were observed with naked eyes. Histopathologic changes were observed by methods of HE staining and AB-PAS response. Changes of A and B cells in pancreas islet were detected by SP immunohistochemical method. Image and statistical analysis of the immunohistochemical results were given. Results: Dietary Na_2SeO_3 (2 mg/L, 4 mg/L) aggravated gastric erosion and hemorrhage and promoted intestinal metaplasia of gastric mucosa, high selenium group compared experimental control group $P < 0.01$. The liomyoma formed in the process of Wistar rats gastric carcinogenesis. Dietary Na_2SeO_3 (2mg/L, 4 mg/L) increased incidence of liomyoma. The numeric density of area (NA) of insulin immunohistochemical positive cells was not significantly different, but mean optical density (MOD) of insulin secretory cells was significantly higher in low selenium group than in experimental and normal groups ($P < 0.01$). NA of somatostatin immunohistochemical cells was significantly lower in dietary selenium and experimental groups than that in the normal group ($P < 0.01$). MOD was not significant in each group ($P > 0.05$). Conclusion: Dietary Na_2SeO_3 (2 mg/L, 4 mg/L) by piped drinking may not decrease the incidence of Wistar rat gastric cancer induced by MNNG. The mechanism may be associated with the function of selenium imitating insulin.

Key words: sodium selenite; rat; gastric cancer; insulin; somatostatin

硒是人体所必需的微量元素, 硒对肿瘤的预防和治疗作用目前尚不能肯定^[1,2]。由于我国胃癌的发病率和死亡率很高, 高胰岛素血症在恶性肿瘤的

发生和发展过程中起着重要的作用。为此我们研究了亚硒酸钠对 MNNG 致 Wistar 大鼠胃癌的影响及其对胰岛内 B、D 细胞的影响, 以探讨硒与肿瘤发生

* 基金项目: 山东省教育厅资助项目 (J00K67)

作者简介: 苏衍萍(1966—), 女, 山东菏泽人, 副教授, 硕士, 主要从事硒与肿瘤关系的研究。

的关系及其机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

断乳雄性 Wistar 大鼠 62 只, 体重 31 ~ 56 g, 由北京大学医学部实验动物科学部提供。随机分为正常对照组 (NorG, 10 只)、实验对照组 (ExpG, 22 只)、低硒组 (LSeG, 15 只) 高硒组 (HSeG, 15 只), 正常对照组饮用自来水, 常规饲养; 实验对照组给予 MNNG 灌胃, 常规饲养; 低硒组为灌 MNNG 前一周饮用 2 mg/L 含硒水, 高硒组为灌 MNNG 前一周饮用 4 mg/L 含硒水。

1.2 动物模型建立

MNNG 由北京大学医学部第一临床医院基因室邓大君教授惠赠, 用二甲基亚砷 (DMSO) 助溶, 配成 1 g/L 溶液, 现用现配。实验开始 1 周后 (即断乳大鼠饲养一周后), 给 Wistar 大鼠 MNNG 灌胃 (20 mg/kg), 正常对照组以同样浓度的二甲基亚砷 - 生理盐水灌胃, 每日一次, 连续 10d, 期间每天称体重以调整致癌剂 MNNG 给药量。密切观察大鼠的营养状况及摄食和饮水情况。实验开始后 43 周开始取材, 一次性处死大鼠。

1.3 取材与染色

取大鼠胃组织, 固定在 40 g/L 多聚甲醛溶液中, 常规石蜡包埋, 切成 5 ~ 6 μ m 厚切片, 行 HE 和 AB-PAS 染色, 进行病理诊断, 胞质内蓝色及紫蓝色颗粒的细胞为肠上皮化生。分别选用兔抗人胰岛素单克隆, 兔抗生长抑素多克隆抗体 (购自北京中山生物试剂公司), 行常规 SP 免疫组织化学染色。

1.4 图像分析

将以上免疫组织化学染色结果, 用 LeicaQ 500 MC 图像分析仪进行图像分析。测定空白区灰度值, 然后每个标本随机选取 10 个视野, 行二值化处理后, 测定阳性细胞灰度。被测灰度换算成平均光密度 (MOD) 值。MOD 值 = 1gGREV0/ GREV1; GREV0: 空白区灰度值; GREV1: 被测视野灰度值。

1.5 统计学处理

用 SPSS10.0 统计软件对组间均数进行方差分析, 对病理诊断结果进行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 病理诊断结果

正常组大鼠胃的浆膜面光滑、红润, 粘膜皱襞清晰。实验对照组和加硒组均有不同只数的大鼠胃粘膜糜烂、出血, 有白色或黄色的渗出物 (图 1), 并且低硒组重于实验对照组, 高硒组重于低硒组, 特别高硒组胃壁失去弹性, 粘膜皱襞消失。实验对照组和

加硒组均有不同只数的大鼠胃大弯浆膜面可见 1 肿块, 直径约 0.2 ~ 1 cm, 在距离幽门约 1 cm 处, 表面光滑、突破浆膜, 与周围组织无粘连, 除了 1 只有出血外, 其余均无出血和坏死, 从肿块的大小看, 加硒组大于实验对照组, 高硒组略大于低硒组, 均为单发肿块 (图 2, 表 1)。HE 染色: 浆膜下肿块为平滑肌瘤。显微镜下观察可见肿瘤处平滑肌增厚、排列紊乱, 而且增生活跃, 细胞核略增大, 不见核分裂像 (图 3)。胃粘膜腺体排列规律, 但是可见高硒组胃底腺腺腔略大, 腺细胞无异常发现。AB-PAS 反应: 正常组大鼠胃粘膜游离面均为紫红色颗粒 (图 4 右)。其他各组均发现一定数量的大鼠胃粘膜近游离面细胞胞浆内有蓝色及紫蓝色颗粒, 多少不等, 其为肠上皮化生, 粘膜不完整 (图 4 左)。并且低硒组高于实验对照组, 高硒组高于低硒组 (表 1)。

表 1 大鼠病理诊断结果

组别	n	平滑肌瘤发生率 %	肠上皮化生发生率 %
NorG	10	0	0
ExpG	22	23	45.5
LSeG	15	46.6	66.7
HSeG	14	42.8	92.9*

注: 与实验对照组比较: * $\chi^2 = 8.33, P < 0.01$

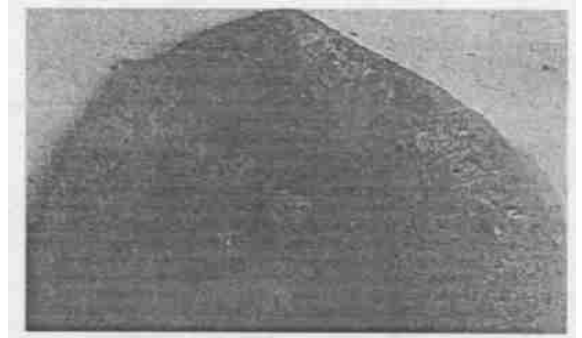


图 1 大鼠糜烂胃粘膜



图 2 大鼠胃浆下肿瘤

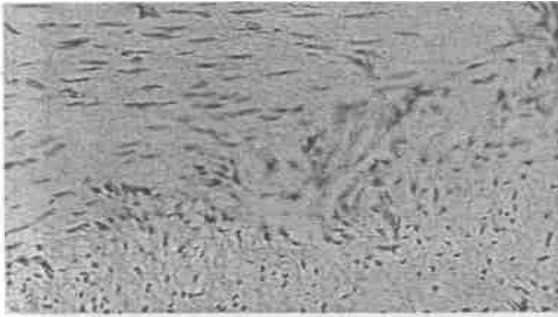


图3 浆膜下肌瘤(HE, ×200)

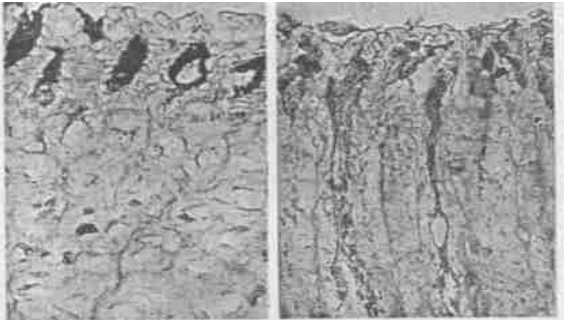


图4 左:糜烂胃粘膜;右:正常大鼠粘膜,(AB-PAS, ×200)

2.2 免疫组织化学结果

免疫组织化学阳性结果呈现棕黄色,阴性对照无着色,阳性结果均定位于胞质。B细胞数量较多,主要位于胰岛的中央部(图5)。D细胞数量很少,约占胰岛细胞总数的5%,细胞形态不规则,常可见细长的突起(图6),正常对照组D细胞的数量明显高于其他各组。图像分析结果见表2。

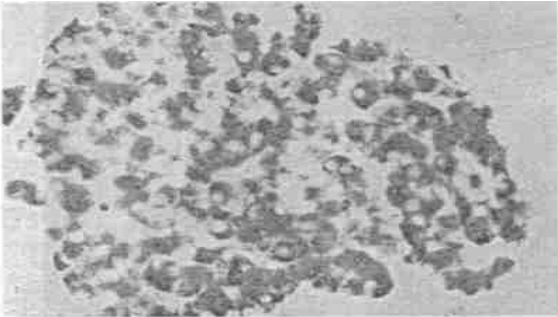


图5 大鼠胰岛素阳性细胞(S-P, ×200)



图6 大鼠生长抑素阳性细胞(S-P, ×200)

表2 胰岛内B、D细胞图像分析结果($\bar{x} \pm s$)

组别	NA		MOD	
	B	D	B	D
NorG	46.08 ±24.58	19.45 ±8.50	0.136 ±0.036	0.154 ±0.048
ExpG	43.27 ±27.93	5.50 ±3.94**	0.133 ±0.0065	0.182 ±0.025
LSeG	38.00 ±24.65	2.50 ±1.87**	0.181 ±0.024##	0.183 ±0.042
HSeG	40.87 ±25.33	3.50 ±1.76**	0.145 ±0.034	0.155 ±0.028

注:NA:为面数密度,MOD为平均光密度;与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与正常对照组和实验对照组比,## $P < 0.01$ 。

B细胞的面数密度加硒各组略有降低,但是各组之间没有显著性差异($P > 0.05$),D细胞的面数密度实验对照组和加硒各组比正常对照组明显降低($P < 0.01$),但是加硒各组与实验对照组相比没有显著性差异。B细胞的平均光密度,低硒组比正常对照组和实验对照组显著升高($P < 0.01$),高硒组与其相比没有显著的差异。D细胞的平均光密度各组之间没有显著性差异($P > 0.05$)。

3 讨论

近年来,人们认为,硒的摄入可以预防肿瘤的发生和发展,降低癌症患者的死亡率^[3~5],但事实上各国学者对硒是否具有普遍的抗癌作用一直存在争议^[1,2],甚至有促进肿瘤发生和发展、提高肿瘤发病率的报道^[6]。我们在给大鼠MNNG灌胃的前一周饮用含硒水,持续整个实验过程,在实验开始的43周处死大鼠,在MNNG诱导Wistar大鼠腺胃癌过程中,饮水中加入2 mg/L和4 mg/L的亚硒酸钠可以增加胃粘膜糜烂、出血、肠上皮化生的发生率,提示在饮水中加入2 mg/L和4 mg/L的亚硒酸钠并不能预防肿瘤的发生,反而促进大鼠实验性胃癌的形成。并且在MNNG诱癌过程中发生了浆膜下平滑肌瘤,亚硒酸钠可以增加平滑肌瘤的发生率。亚硒酸钠是一种类胰岛素物质,可激体外的大鼠脂肪细胞运输葡萄糖,将葡萄糖载体1和2(GLUT-1, GLUT-2)转移至细胞膜表面,而且亚硒酸钠在活体内同样具有模拟胰岛素的作用^[7,8]。高胰岛素血症在肿瘤的发生发展中起重要作用,胰岛素水平增高可以抑制胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP)合成,胰岛素样生长因子结合蛋白血浆浓度降低则引起胰岛素样生长因子(IGF)活性增强,胰岛素样生长因子作为促进有丝分裂因子对肿瘤的生长有促进作用,同时胰岛素本身也有促肿瘤生长的作用^[9]。本实验给大鼠MNNG灌胃的前一周饮用含硒水,持续43周,是否饮水中加入2 mg/L和4 mg/L的亚硒酸钠反馈抑制了大鼠自身的胰岛内B细胞的分泌活动?对此我们进行了研究,结果显示B细胞面数密度加硒各组略有降低,但是胰岛素免疫组织

化学阳性染色加硒组比正常对照和实验对照组增强,特别是低硒组明显增强。提示:B细胞分泌胰岛素增加。而同时D细胞的NA实验对照组和加硒各组比正常对照组明显降低,提示胰岛内B细胞分泌水平的升高可能与D细胞分泌水平的下降有关。亚硒酸钠对胰岛素的模拟作用加之B细胞分泌水平的升高可以导致胰岛素样作用进一步增强,从而促进大鼠胃粘膜的糜烂、渗出和肠上皮化生。因此在MNING所致胃癌的过程中,饮水中加入2 mg/L、4 mg/L亚硒酸钠不能降低大鼠胃癌的发生;其机制可能与亚硒酸钠的胰岛素模拟作用有关。

参考文献:

[1] Vinceti M, Wei ET, Malagoli C, et al. Adverse health effects of selenium in humans[J]. Rev Environ Health, 2001, 16(4): 233-251.
[2] Vinceti M, Nacci G, Rocchi E, et al. Mortality in a population with long-term exposure to inorganic selenium via drinking water

[J]. J Clin Epidemiol, 2000, 53(10): 1062-1068.
[3] Klein EA. Selenium: epidemiology and basic science[J]. J Urol, 2004, 171(2): S50-53.
[4] Klein EA, Thompson IM. Update on chemoprevention of prostate cancer[J]. Curr Opin Urol, 2004, 14(3): 143-149.
[5] Sinha R, El-Bayoumy K. Apoptosis is a critical cellular event in cancer chemoprevention and chemotherapy by selenium compounds[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2004, 4(1): 13-28.
[6] Thompson HJ, Becci PJ. Effect of Graded dietary levels of selenium on tracheal carcinomas induced by 1-methyl-1-nitrosourea[J]. Cancer Lett, 1979, 7(4): 215-219.
[7] Ezaki O. The insulin-like effects of selenate in rat adipocytes[J]. J Biol Chem, 1990, 265(2): 1124-1130.
[8] McNeill JH, Delgatty, HL, Battell MLAD. Insulin like effects of sodium selenate in streptozocin-induced diabetic rats [J]. Diabetes, 1991, 40(12): 1675-1678.
[9] Augustin LS, Gallus S, Negri E, et al. Glycemic index, glycemic load and risk of gastric cancer[J]. Ann Oncol, 2004, 15(4): 581-584.

(收稿日期 2004-12-26)

⁹⁰Sr 敷贴治疗疤痕 80 例

孟斌,于文霞,马雅,孙自平,陈跃

(山东省医学科学院放射医学研究所核医学研究室,山东 济南 250062)

关键词: ⁹⁰Sr 敷贴治疗法; 疤痕修复

中图分类号: R619⁺.6 文献标识码: B 文章编号: 1004-7115(2005)-0007-01

自1999年以来,我们研究室使用⁹⁰Sr敷贴治疗手术后疤痕修复51例,疤痕增生29例,取得满意的疗效,现报道如下。

1 临床资料

1.1 病例资料 手术后疤痕修复54例,年龄6~48岁,疤痕增生29例,年龄10~31岁,共计80例,其中男性18例,女性62例。疤痕疙瘩面积:0.5 cm × 0.5 cm ~ 2 cm × 4 cm。

1.2 方法 采用中国原子能研究院生产的⁹⁰锶皮肤敷贴器,用铅胶皮屏蔽疤痕周围的正常皮肤,每次剂量为2~6 Gy,每天或2天治疗一次,10次为一个疗程。

1.3 结果 29例疤痕增生中有22例在一个疗程治疗后的10天内疤痕消失;51例术后疤痕修复的患者,50例在一个疗程内痊愈,刀口平复,无新生疤痕疙瘩,至今无发现复发。

2 讨论

疤痕疙瘩最有效的治疗方法应该是同位素敷贴治疗,其中⁹⁰锶最为方便^[1,2]。尤其是术后疤痕修复和面积在2 cm²以下的疤痕疙瘩效果为好。⁹⁰锶为β射线,在组织中的最大穿透力为11 mm,3 mm的

组织可吸收90%的射线,对皮肤表层皮肤破坏作用明显,不会损伤深层组织。疤痕疙瘩是结缔组织过度增生形成坚硬且有弹性的结节或板块。射线照射后可以降低疤痕疙瘩中过度增生细胞的分裂速度,延长细胞的分裂间期,经锶敷贴照射4次后即可见局部色素沉着,颜色逐渐变为暗红色,一般经8次敷贴照射后即可见疤痕局部变软变薄、局部脱皮和脱屑。较大的疤痕疙瘩手术后如不及早使用敷贴治疗,往往刀口愈合后变得又粗又硬,不断侵蚀正常皮肤,形成新的疤痕疙瘩,但及早用锶敷贴治疗可有效防止新的疤痕形成,并使术后皮肤表面平整。⁹⁰锶敷贴治疗疤痕疙瘩无创伤、无痛苦、费用低、方法简单、疗效确切。不失为治疗疤痕疙瘩和术后疤痕修复的最佳治疗方法之一。

参考文献:

[1] 葛俊恒,李振声,赵瑞力. 126例疤痕疙瘩术后放疗分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 1994, 8(4): 228-230.
[2] 王连友,姜日文,刘峰. 四种方法治疗疤痕疙瘩的临床疗效观察[J]. 白求恩医科大学学报, 1999, 25(3): 30.

(收稿日期 2004-12-18)