

# 硒对大鼠食管癌的阻断作用研究

王朝俊 罗德元 邓士林 李玉琼 刘瑜玲

肿瘤研究所

硒为人体必需的微量元素,实验发现硒可以阻止化学致癌物的诱癌作用。作者用甲基戊基亚硝胺诱发大鼠食管癌的同时,给大鼠长期饮用含亚硒酸钠的自来水溶液,结果显示亚硒酸钠对大鼠食管粘膜的增生、癌前及癌病变均具有明显的阻断作用。

**关键词** 硒 微量元素 大鼠 诱发 阻断 食管癌

硒不但为机体的必需微量元素<sup>[1]</sup>,而且还具有抗癌特性,能阻止癌细胞生长,是一种值得进一步研究的抗癌剂<sup>[2]</sup>。在所查资料中尚未见硒对食管癌的阻断作用的研究报道。为探索食管癌发生因素中微量元素的作用,并为营养干预研究提供实验依据,作者进行了此项研究。

## 材料和方法

亚硒酸钠( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) 分子量172.94,化学纯,北京化工厂制造。用无离子水配成1%的溶液,供动物饮用时,以自来水稀释成一定浓度。

甲基戊基亚硝胺(N-methyl-N-amyl-nitrosamine,简称MANA) 四川省农业科学院农药研究所合成和鉴定。

**实验动物及分组** Wistar 大鼠206只,四川重庆中药研究所提供,体重150g左右,雌雄各半,分成以下5组。

1.单亚组:40只,按5 mg/kg 后肢肌注MANA菜子油溶液,每周一次,共29周。

2.亚硒组:43只,MANA给予量同单亚组,并在饮水中添加 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ,其浓度为1~40天20 ppm,41~70天10 ppm,71~500天5 ppm,自由饮用。

3.单硒组:43只,硒给予量同亚硒组。

4.菜子油组:40只,每周肌注与单亚组同体积菜子油1次,共29周。

5.空白对照组:40只。

观察 定期测体重调整MANA剂量,动物自然死亡后常规解剖,重点观察食管及胃。并取死亡动物部分肝组织和部分动物血液,用荧光法常规测硒含量。动物标本常规固定、包埋、染色,光镜观察。

## 结果

MANA肌注共29周,总剂量145mg/kg。亚硒酸钠水溶液饮用共500天,延续观察至601天时,处死余下的7只动物(菜子油组3只、单硒组4只)结束实验。实验中各组体重未见明显差异(见图)。

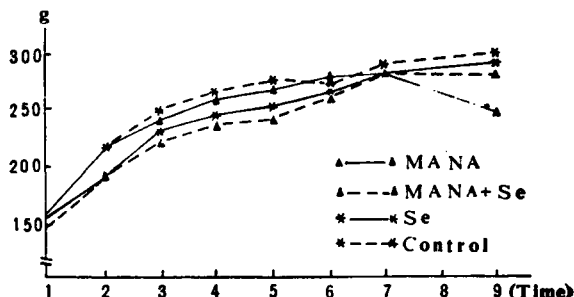


图. 每个组的平均体重曲线

Fig. Mean body weight curves of each group

### 一、肉眼观察

在注射局部未见肿瘤。各组均见部分动物有肺炎、肺脓肿。菜子油组及对照组各有 1 只大鼠的胸部皮下发现包块(镜检为乳腺瘤)。各组肿瘤性病变集中发生在食管,其病变发生率见表 1,食管粘膜的肉眼病变可分为增厚、颗粒状小结节,以及形状各异和大小不等的肿瘤结节(直径 $\geq 1$  mm)三种。由表 1 可见,单亚组三种病变均高于亚硒组( $P < 0.05$ ),其中患瘤例数有高度显著性差异( $P < 0.01$ )。单亚组瘤结总数、每鼠平均瘤结数以及瘤结体积明显大于亚硒组(表 2)。此外,极少动物前胃粘膜亦可见增厚粗糙、溃疡及脐样病变。

### 二、组织学观察

将食管粘膜组织学病变分为增生、癌前病变(包括乳头状瘤及非典型增生)和鳞状细胞癌(包括早期癌、乳头状癌、浸润性癌)三种进行比较(表 1)。可见单亚组三种病变均多于亚硒组( $P < 0.05$ ),其中癌前病变和癌两组间差异有高度显著性( $P < 0.01$ )。前胃粘膜病变单亚和亚硒组发生例数均少,无显著性差异( $P > 0.05$ )。腺胃及其他内脏器官未见增生及肿瘤性病变。

### 三、硒含量检测

在实验的 3~6 个月内,取部分大鼠血液与自然死亡大鼠的部分肝组织,用常规的荧光法进行硒含量检测,可见在饮水中补充硒后,血液及肝组织的硒含量均有所增加(表 1)。

表 1. 大鼠食管病变及硒含量  
Table 1. The pathological changes of the esophagus and selenium measurements in rats

Group	Rats observed No.	Survival time (day)	Cases with the pathological changes of the esophagus (%)						Amount of the selenium (ppm)	
			Naked eye			Under microscope			IB	IL
			T	G	TN	H	PC	C		
MANA	36	235	33(92)	24(67)	27*(75)	34(94)	25(69)	17(47)	0.1340	0.2372
MANA + Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	40	245	25(63)	17(43)	11 <sup>b</sup> (28)	29(73)	11(28)	7(18)	0.2489	0.3259
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	32	388	0	0	0	1(3)	0	0	0.2727	0.3538
Oil	34	392	0	0	0	2(6)	0	0	—	—
Control	32	325	0	0	0	2(6)	0	0	0.1382	—

T = Thickening(增厚粗糙)    G = Granule(颗粒结节)    TN = Tumor nodule(瘤结)    H = Hyperplasia(单纯增生)  
 PC = Precancer(癌前)    C = Carcinoma(癌)    IB = In blood    IL = In liver  
 MANA vs MANA + Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>:  $P < 0.05$ ; a vs b, PC vs C:  $P < 0.01$

表 2. 单亚组和亚硒组食管瘤结发生情况比较  
Table 2. Comparison of the condition in esophageal tumor nodule between MANA group and MANA plus Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> group

Group	No.	Total	No. of tumor		Size of tumor		
			Per rat		mm. in diameter		
			Mean	Most	1-4	5-10	11-
MANA	27	146	5.4	12	127	18	1
MANA + Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	11	18	1.6	5	18	0	0

No. = Number of bearing tumor

## 讨 论

### 一、硒对诱发性大鼠食管癌的阻断作用

流行病学调查发现,人群中患咽、食管、胃、肠等肿瘤的死亡率与该地区硒含量水平呈负相关<sup>[3]</sup>。某些种类癌患者血硒含量较同年龄对照组为低<sup>[4]</sup>。实验研究表明,硒具有阻断多种化学物质对动物的致癌作用<sup>[5~8]</sup>,对肺癌、肝癌、结肠癌及乳腺癌等有减弱或抑制作用<sup>[9]</sup>。本实验中,用MANA作引发食管癌的阳性化合物,在给大鼠皮下注射MANA的同时,在饮水中补充亚硒酸钠,观察其对MANA诱发大鼠食管癌的拮抗作用。结果表明,单纯补充硒持续500天,其存活时间较其他组为长,未见任何器官生长肿瘤,空白组及菜子油组存活时间与单硒组相近,尚发现乳腺自发瘤,此结果与文献报道硒能抑制乳腺自发瘤的结果相似<sup>[10]</sup>。本实验结果还表明,亚硒组食管粘膜患瘤鼠数(11/40, 28%)、每鼠平均瘤结数(1.6个)与鳞癌发生率(7/40)都明显低于单亚组(27/36, 75%; 5.4个/只、癌17/36),具有高度显著性差异。亚硒组瘤结的体积小于单亚组,浸润程度比单亚组轻,均说明硒对MANA诱发大鼠食管癌有明显的阻断抑制作用。而且,硒除了对癌肿的明显作用外,对肿瘤发生的前期阶段,如增生和癌前阶段的病变也显示了明显的减弱和抑制效果,表明硒对肿瘤发生的各个阶段均有抑制作用。

在饮水中补充硒后,大鼠的血硒及肝组织硒含量均高于对照组,表明人工给予硒后,确实提高了大鼠体内硒含量水平,从而能够参与有关抗癌抑癌的生物作用过程。

### 二、剂量与阻断效果

硒化物具有抗突变与抗癌效应<sup>[11]</sup>,并能对抗多种化学致癌物,它主要在肿瘤发生的启动和早期促进阶段发挥作用<sup>[10]</sup>。本实验在给MANA的前期阶段,设计了较大剂量,然后维

持在5 ppm水平,因而显示了显著的阻抑效果。

虽然,硒既可作为维持机体某些重要生理机能的必需微量元素,又可发挥抑癌作用,但剂量过大也可引起一定的毒性反应。什么剂量才恰当?目前尚无一致意见。本实验前3个月内剂量较大,以后维持在一定水平,从体重曲线看,二者并无显著差异,单硒组平均存活日数比对照组长,与菜子油组相近,未见显示其毒性作用。硒与MANA合用后,存活日数比单亚组有所增加,但未显著延长,表明其未能完全对抗MANA的慢性毒性作用。因此,什么剂量才是硒的有效剂量或最佳剂量,以及寻找最佳制剂及有价值的指标来监测其毒性等,还待深入研究。

## 参 考 文 献

1. 孔祥瑞主编。必需微量元素的营养、生理及临床意义。第1版。合肥:安徽科学技术出版社,1982:296~320。
2. 杨玉学。硒的生物学作用与抗癌性。生命的化学1986;6(3):39。
3. 陈君石。硒的致癌与抗癌。国外医学参考资料卫生学分册1977;(1):27。
4. Sundstrom H. Low serum selenium concentration in patients with cervical or endometrial cancer. *Int J Gyn Obs* 1984; 22(1):35.
5. Thompson HJ, et al. Effect of combined selenium and retinyl treatment on mammary carcinogenesis. *Cancer Res* 1981; 41:1413.
6. Brit DF, et al. Inhibition by dietary selenium of coloncancer induced in the rat by bis(2-oxopropyl) nitrosamine. *Cancer Res* 1982; 42:4455.
7. Teel RW, Kain SR. Selenium modified mutagenicity and metabolism of benzo (a) pyrene in an S9-dependent system. *Mutat Res* 1984; 127:9.
8. Thompson HJ. Effect of an in-organic and organic form of dietary selenium on the promotional stage of mammary carcinogenesis in the rat. *Cancer Res* 1984; 44(7):2803.
9. Medina D, et al. Mitochondrial inclusions in selenium treated mouse mammary epithelial cell lines. *Cancer Res* 1983; 43:2100.

10. 张万东. 硒抗癌的研究进展. 国外医学参考资料肿瘤学分册 1985, (1): 6。  
11. 胡国刚, 等. 亚硒酸钠对MNNG和MNU诱导离体V79

细胞姐妹染色单体互换 (SCE) 频率的影响. 中华肿瘤杂志 1985, 7 (1): 22。

(1987年4月15日收稿)

## STUDY ON BLOCKAGE OF ESOPHAGEAL CANCER IN RATS WITH SELENIUM

Wang Chaojun Luo Deyuan Deng Shilin  
Li Yuqiong Liu Yuling  
*Institute of Cancer Research*

This paper reports the influence of selenium ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) on carcinogenesis of the esophageal cancer in rats which was induced by methyl-amyl-nitrosamine (MANA). MANA 5mg/kg bd, wt. was injected intramuscularly once a week for 29 weeks.  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  was given into drinking water with 20 ppm for 1-30 days, 10 ppm for 31-70 days and 5 ppm for 71-500 days. The experiment was

finished after 601 days and the incidence of pathological changes of the esophagus was observed. The result showed that selenium had a significant influence on the blockage and inhibition to hyperplastic, precancerous and cancerous changes of the esophageal mucosa in rats. This outcome exhibited a significant difference in statistics.

**Key words** Selenium Rat Induction Blockage Esophageal cancer

### 08 Selection and Application of Internal Standard and Carrier when Using Chromatographic Method to Determine Drug Concentrations in Biological Material

Zeng Jingze, et al. *Department of Clinical Pharmacology, West China University of Medical Sciences.*

*Chin Pharm Bull* 1987, 22(1):32.

A review is presented with 16 references including a paper written recently by the authors. When a chromatographic method (TLC, HPLC, GC or GC-MS) is used to determine drug concentrations in biological material, an internal standard (I.S.) is added to the samples before sample pretreatment. The response ratios (peak heights or peak area) of the drug/I.S. are plotted against the concentration of the drug in

biological material. It permits improvement in the accuracy and the precision of the assay. I.S. to be selected should be the compound with a similar chemical structure and physicochemical properties of the drug to be assayed. According to the law of propagation of errors, it is possible to evaluate the I.S.. Addition of a carrier compound improves both analytical recovery and reproducibility. Selection of the carrier compound is the same as I.S.. Because the carrier peak is not used for drug quantitation, it is better not to response to the detector, or its chromatographic peak does not interfere with the peaks of I.S. and drugs. Some compounds may serve as an I.S. and carrier. The authors have successfully employed rifadin as I. S. and carrier for DL-473 determination in plasma by RP HPLC.