

硒对胃癌大鼠肾上腺皮质 3 β -HSD 和 SDH 组织化学的影响

史福军¹ 李艳萍¹ 唐军民² 唐岩²

(1 新乡医学院组织学与胚胎学教研室, 新乡 453003; 2 北京大学医学部组织胚胎系)

摘要 目的: 观察硒在预防大鼠实验性胃粘膜癌变过程中肾上腺皮质组织化学的变化。方法: 用断乳雄性 Wistar 大鼠, 分为盐水对照组、N-甲基-N-硝基-亚硝基胍(MNNG)和 Selenite + MNNG 组, 用组织化学和图像分析方法观察大鼠肾上腺皮质的变化。结果: 补硒组大鼠肾上腺皮质束状带和网状带细胞内琥珀酸脱氢酶(SDH)和 3 β -羟基类固醇脱氢酶(3 β -HSD)的组化反应减弱, 与 MNNG 组相比有显著性差异, 与对照组相比略有增加, 但无统计学意义。MNNG 组大鼠 SDH 和 3 β -HSD 的反应增强, 与对照组相比有显著性差异。结论: 硒在预防大鼠实验性胃癌过程中, 可能参与了肾上腺皮质功能的调节。

关键词 胃癌; 亚硒酸钠; 肾上腺皮质; 大鼠

Histochemical effects of selenium on adrenal cortex in experimental rats with gastric cancer

SHI Fu-Jun, LI Yan-Ping, TANG Jun-Min, TANG Yan

(Department of Histology and Embryology, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003)

Abstract Objective: To observe histochemical changes produced by selenium(Se) on the adrenal cortex in experimental rats with gastric cancer. Methods: Weanling Wistar male rats were divided into saline control groups, N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) group, Se supplementation group before MNNG gavage. The changes of the adrenal cortex were studied by histochemistry and image analysis. Results: Compared with MNNG group, the cells of fascicular and reticular zones of adrenal cortex in Se group showed decreased activity of succinic dehydrogenase (SDH) and 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD), but the difference in comparison with control group was insignificant. The activity of 3 β -HSD and SDH in MNNG group increased significantly compared with control group. Conclusion: The results indicate that Se might participate in the regulation of adrenal cortex function.

Key words gastric cancer; sodium selenite; adrenal cortex; rat

硒是人体必需的微量元素, 大量的动物实验以及体外细胞培养的结果都显示硒对肿瘤有拮抗作用^[1,2]。硒通过提高机体免疫功能而发挥抗癌作用的假说^[3,4]也日益受到重视。而硒与机体内分泌的关系所知甚少。本实验旨在观察硒在预防胃癌发生过程中对肾上腺皮质的影响, 以探讨硒在机体自然抗肿瘤过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 动物与分组 断乳雄性 Wistar 大鼠(北京医科大学实验动物中心提供)30 只, 体重 50

~60 g, 随机分为 3 组: 对照组, 实验组和补硒组, 每组各 10 只。所有大鼠常规饲料喂养 1 周后(即断乳大鼠饲养 1 周后), 实验组大鼠以 MNNG 灌胃(20 mg/kg); 正常对照组大鼠以同样浓度的生理盐水灌胃; 补硒组大鼠在灌胃前用含硒(2.0 mg/kg)的饲料喂养 1 周, 然后用 MNNG 灌胃(20 mg/kg)。以上各组每日灌胃一次, 连续 10 天。灌胃结束后, 观察动物的生长和进食情况, 每周称体重一次, 详细记录饲料摄入量。至 24 周时, 先处死 5 只实验组大鼠, 取胃窦, 剥离胃粘膜, 制成胃粘膜上皮细胞悬

液,用碘化丙啶(propidium iodide,PI)荧光染料进行DNA染色,流式细胞仪测定异倍体细胞。确定实验组大鼠胃粘膜有异倍体细胞形成后,各组大鼠同期取材,每组5只。

1.2 组织化学染色 将各组大鼠断头处死,均取右侧肾上腺,用4%甲醛固定做HE染色。取左侧肾上腺OCT包埋,液氮骤冷,恒冷箱切片,厚10 μm,间隔切片(每片间隔20 μm)。用Chayen法显示琥珀酸脱氢酶(SDH),用Poul等方法显示3β-羟基类固醇脱氢酶(3β-HSD)。不同组切片裱在同一载玻片上,以保证结果的可比性。

1.3 图像分析 每例动物取5张切片,每片间隔20 μm,用Leica Q500MC图像分析仪测量阳性物质的平均光密度(MOD),对测试结果进行t检验。

2 结果

2.1 大鼠胃粘膜异倍体细胞的检测 流式细胞仪结果见表1。

2.2 3β-HSD组织化学观察 3β-HSD的反应产物为紫蓝色颗粒,位于胞质内,此酶在正常大鼠肾上腺皮质各带细胞胞质内均为阳性,以束状带和网状带细胞较强(图1)。实验性胃癌大

鼠3β-HSD组化反应增强(图2);而补硒组大鼠3β-HSD组化反应减弱(图3)。

2.3 SDH组织化学观察 SDH的反应产物为紫蓝色颗粒,位于线粒体内。正常大鼠肾上腺皮质各带细胞胞质内均显阳性反应,以束状带和网状带细胞较强,反应颗粒在胞核周围分散分布,胞核为阴性(图4)。实验性胃癌大鼠SDH组化反应增强(图5);而补硒组大鼠SDH组化反应减弱(图6)。

表1 胃粘膜上皮细胞DNA含量

Tab 1 DNA content in gastric mucosa epithelium cells by flow cytometry

Group	n	Rate of heteogene(%)
Control	5	0
Experimental	5	100
Selenium supplementation	5	60

2.4 图像分析结果 补硒组大鼠3β-HSD和SDH的阳性颗粒的平均光密度(反应酶活性)比实验组减弱($P < 0.05$),比对照组略有增加($P < 0.05$),实验组大鼠3β-HSD和SDH的阳性颗粒的平均光密度比对照组增大,差异具有显著性($P < 0.05$,表2)。

表2 3β-HSD和SDH的平均光密度

Tab 2 Mean optical density of 3β-HSD and SDH in 3 groups

Group	Control	Experimental	Selenium supplementation
3β-HSD	0.3650 ± 0.0921	0.5135 ± 0.0830	0.3702 ± 0.0612
SDH	0.3425 ± 0.0832	0.5020 ± 0.0911	0.3572 ± 0.0813

a, $P < 0.05$ experimental vs saline control; b, $P < 0.05$ selenium supplementation vs experimental; c, $P > 0.05$ selenium supplementation vs saline control

3 讨论

硒与人类多种癌症的发病率呈负相关,能明显预防和抑制动物自发性、移植性和化学致癌剂诱发的肿瘤的发生、发展、播散和复发^[5,6]。硒作为谷胱甘肽过氧化物酶(GSP-Px)的重要组成部分,参与清除与癌症发生有关的自由基而发挥其抗癌活性。本实验中补硒组大

鼠胃粘膜上皮细胞异倍体发生率明显低于实验组,表明亚硒酸钠在早期就能阻断MNNG对大鼠胃粘膜的损伤,起到预防和抑制大鼠实验性胃癌的发生。3β-HSD是类固醇激素合成过程中,由孕烯酮转变为孕酮的关键酶,孕酮可在某些酶的作用下分别形成皮质酮,皮质醇和雄甾酮。大鼠主要的糖皮质激素是皮质酮。SDH位于线粒体内,是三羧酸循环中的酶,也是呼吸

链的氧化还原酶复合体的组成成分之一,它的活性的强弱,标志着细胞内能量即 ATP 生成的多少。由于肾上腺皮质激素的合成需要还原型辅酶 II (NADPH) 参与,后者主要来源于糖代谢过程磷酸戊糖循环,而在此过程中需要 ATP 供能。实验组大鼠肾上腺皮质 3β -HSD 和 SDH 组化反应增强,提示在大鼠实验性胃癌过程中,肾上腺皮质合成激素的功能增强;而补硒后, 3β -HSD 和 SDH 组化反应减弱,表明肾上腺皮质合成激素的功能减弱。提示硒在预防实验性胃癌发生过程中,可能参与了对肾上腺皮质的调节,有关机制有待进一步探讨。

参考文献

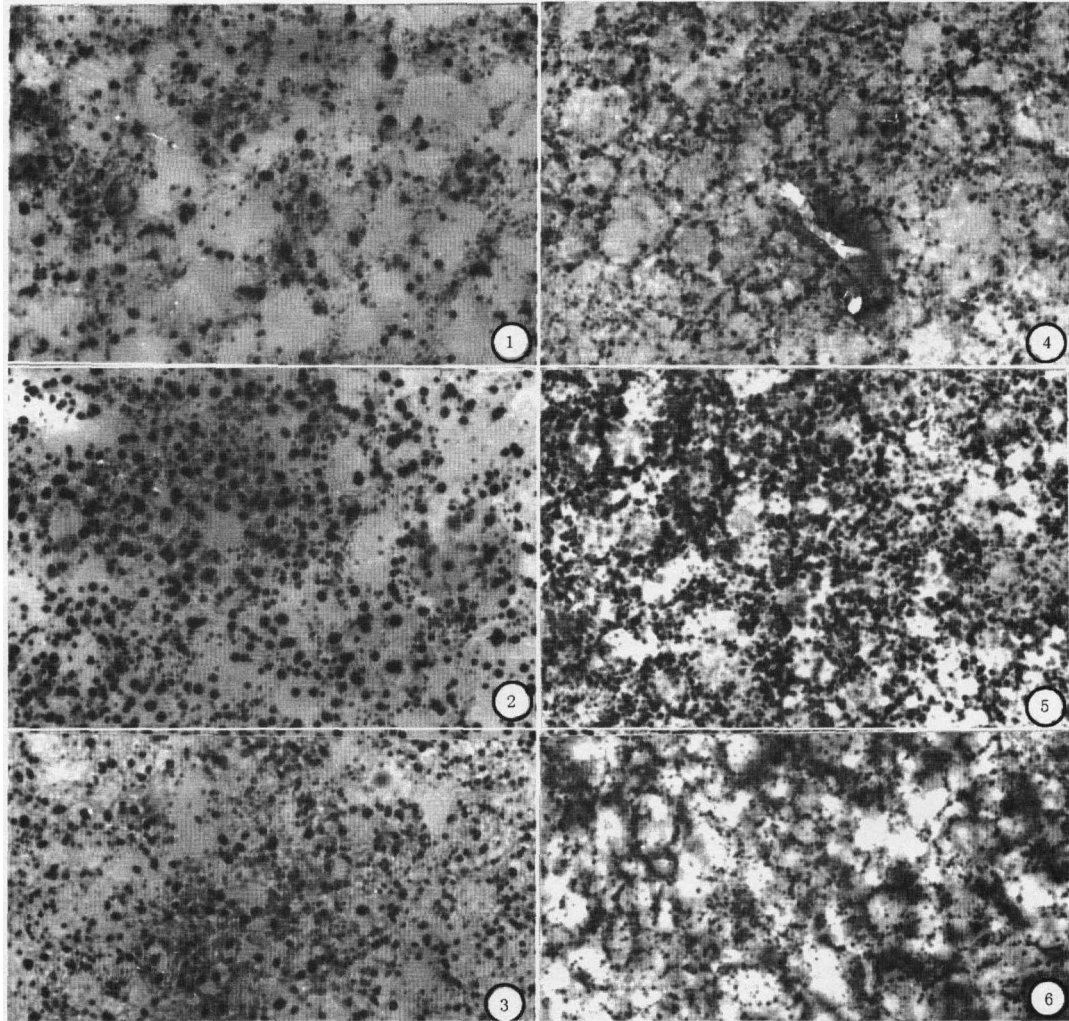
- 1 Tempero MA, Deschner EE, Zedeck MS. The effect of selenium on cell proliferation in liver and colon: intracellular distribution of selenium and the growth of mammary cells culture. *Biol Trace Elem Res*, 1986, 10(2-3):145-152.
- 2 Matthew J, Kuchan J, Milner A, et al. Influence of intracellular glutathione on selenium-mediated growth inhibition on canine mammary tumor cells. *Cancer Res*, 1992, 52(4-5):1091-2010.
- 3 Taylor EW, Ramanathan CS, Jailuri RK, et al. Selenium and cellular immunity: evidence that selenoproteins may be encoded in the +1 reading frame overlapping the human CD4, CD8 and HLA-DR genes. *Biol Trace Elem Res*, 1995, 45(2):85-95.
- 4 Talor EW, Ramanathan CS, Jailuri RK, et al. Abasis for new approaches to the chemotherapy of AIDS. Novel Genes in HIV-1 potentially encode selenoproteins expressed by ribosomal frame shifting and termination suppression. *J Med Chem*, 1994, 37(5):2637-2654.
- 5 诸亚君,曹禄森,于树玉. 亚硒酸钠与维生素 E 对三甲基胆蒽诱发肉瘤的影响. *肿瘤防治研究*, 1994, 21(2):67-69.
- 6 Colitz GA. Selenium and further trials required. *JAMA*, 1996, 276(24):1984-1996.

图版说明

- 1 正常大鼠肾上腺皮质 3β -HSD 组化反应, $\times 400$.
- 2 实验性胃癌大鼠肾上腺皮质 3β -HSD 组化反应, $\times 400$.
- 3 补硒组大鼠肾上腺皮质 3β -HSD 组化反应, $\times 400$.
- 4 正常大鼠肾上腺皮质 SDH 组化反应, $\times 400$.
- 5 实验性胃癌大鼠肾上腺皮质 SDH 组化反应, $\times 400$.
- 6 补硒大鼠肾上腺皮质 SDH 组化反应, $\times 400$.

Explanation of figures

- Fig 1 3β -HSD histochemical reaction in the adrenal cortex of rat in saline control group, $\times 400$.
- Fig 2 3β -HSD histochemical reaction in the adrenal cortex of rat in experimental group, $\times 400$.
- Fig 3 3β -HSD histochemical reaction in the adrenal cortex of rat in selenium supplemented group, $\times 400$.
- Fig 4 SDH histochemical reaction in the adrenal cortex of rat in saline control group, $\times 400$.
- Fig 5 SDH histochemical reaction in the adrenal cortex of rat in experimental group, $\times 400$.
- Fig 6 SDH histochemical reaction in the adrenal cortex of rat in selenium supplemented group, $\times 400$.



解剖学杂志 2003年26卷2期

郭晓华教授逝世

原中山医科大学组织学与胚胎学教研室主任、教授、博士生导师郭晓华同志,于2003年1月25日凌晨因病医治无效不幸逝世,享年75岁。郭晓华教授曾任中国解剖学会理事、中国细胞生物学会理事、广东省解剖学会理事长和解剖学杂志编委。

中山大学中山医学院组织学与胚胎学教研室