

强化全营养乳对环磷酰胺致突变和移植性肿瘤的抑制作用

田庆伟 王永明 王 伟 王笃圣 金 玲

天津医科大学公共卫生学院 天津 300070

摘要 以小鼠骨髓细胞微核试验评价了强化全营养乳(Fortified Full-Nutritional Milk, FFNM)抑制间接诱变剂环磷酰胺(Cyclophosphamide, CP)的诱变作用,并观察了 FFNM 对小鼠移植性 S_{180} 肉瘤、艾氏腹水癌(Ehrlich Ascites Carcinoma, EAC)及可移植性小鼠膀胱癌 BS_{739} 生长的影响。结果表明,预防性给予 FFNM 可以明显抑制 CP 引起的小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成,说明 FFNM 对化学诱变剂引起的染色体断裂有一定保护作用,具有抗突变作用。FFNM 对皮下移植 S_{180} 和 BS_{739} 所形成的实体肿瘤的生长具有一定的抑制作用,而未能延长移植 EAC 动物的存活期。该乳制品在肿瘤病人中的作用,值得进一步研究。

关键词 强化全营养乳;致突变作用;微核试验;移植性肿瘤

THE INHIBITORY EFFECT OF FORTIFIED FULL-NUTRITIONAL MILK ON MUTAGENICITY INDUCED BY CYCLOPHOSPHAMIDE AND TRANSPLANTED TUMOR IN MICE

Tian Qingwei, Wang Yongming, Wang Wei, Wang Dusheng, Jin Ling

College of Public Health, Tianjin Medical University, Tianjin 300070

石棉有可能通过影响石棉的致突性而降低其致癌作用。

参考文献

- 1 Lu J, Keane MJ, Ong T, et al. In vitro genotoxicity studies of chrysotile asbestos fibers dispersed in simulated pulmonary surfactant. *Mutat Res*, 1994;320:253
- 2 Kodama Y, Joreiko CJ, Maness SC, et al. Cytotoxic and cytogenetic effects of asbestos on human bronchial epithelial cells in culture. *Carcinogenesis*, 1993;14(4):691
- 3 Hart GA, Kathman LM, Hesterberg TW. In vitro cytotoxicity of asbestos and man-made vitreous fibers: role of fiber length, diameter and composition. *Carcinogenesis*, 1994;15(5):971
- 4 Fatma N, Khan SG, Aslam M, et al. Induction of chromosomal aberrations in bone marrow cells of asbestotic rats. *Environ Res*, 1992;57:175
- 5 Durnev AD, Dauge-Dauge NO, Korkina LG, et al. Peculiarities of the clastogenic properties of chrysotile asbestos fibers and zeolite particles. *Mutat Res*, 1993;319:303
- 6 Osgood C and Sterling D. Chrysotile and amosite asbestos induce germ-line aneuploidy in *Drosophila*. *Mutat Res*, 1991;261:9
- 7 Yegles M, Saint-Etienne L, Renier A. Induction of metaphase and anaphase/telophase abnormalities by asbestos fiber in rat pleural mesothelial cells in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1993;9:186
- 8 Fatma N, Jain AK, Rahman Q. Frequency of sister chromatid exchange and chromosomal aberrations in asbestos cement workers. *Mutat Res*, 1991;348:103
- 9 Donmez H, Qzkul Y, Ucak R. Sister chromatid exchange frequency in inhabitants exposed to asbestos in Turkey. *Mutat Res*, 1996;361(2-3):129
- 10 Yegles M, Janson X, Dong HY, et al. Role of fibre characteristics on cytotoxicity and induction of anaphase/telophase aberrations in rat pleural mesothelial cells in vitro: correlation with in vivo animal finding. *Carcinogenesis*, 1995;16(11):2751
- 11 Ault JG, Cole RW, Jensen CG, et al. Behavior of crocidolite asbestos during mitosis in living vertebrate lung epithelial cells. *Cancer Res*, 1995;55:792
- 12 Fan JG, Wang QE, Liu SJ, et al. Pretreatment of Chrysotile with Rare Earth Compounds Lowered Its Cytotoxicity by Lessening Surface Charge. *Biomed Environ Sci*, 1998;11(2):125

(1998-01-25 收稿;1998-06-07 修回)

Abstract The mice bone-marrow polychromatic erythrocytes (PCE) micronucleus test in vivo to check the antimutagenic effect of fortified full-nutritional milk (FFNM) on mutagenicity induced by cyclophosphamide (CP) was carried out and anticarcinogenic potentials of FFNM on transplanted sarcoma S₁₈₀, bladder carcinoma and Ehrlich ascites carcinoma in mice were tested. The experimental results indicated that FFNM with preventive administration significantly inhibited CP induced bone-marrow micronucleus formation in mice, which suggest that FFNM exhibited a protective effect on mutagen-induced chromosomal breakage, i. e. it have a antimutagenic action. In addition, to a certain degree, FFNM might inhibit growth of transplanted substantive tumor. These results suggested that FFNM might be of potential value in its clinical applications.

Key words fortified full-nutritional milk; antimutagenic effect; micronucleus test; transplanted tumor

随着环境污染的日益加剧,癌症正成为危害人类健康的主要疾病之一。目前,用于肿瘤治疗的放射疗法和化学疗法多具有一定的毒副作用和遗传毒性作用,因此,对放疗、化疗及术后肿瘤病人除需要加强其营养支持,及时补充易于摄入、易于消化吸收、营养全面而且营养价值较高的营养品外,尚希望能有助于患者体内损伤尤其是遗传损伤的减轻与恢复。寻找一种既能为晚期病人提供充分的营养所需,又能具有遗传损伤保护作用的营养品制剂,将对肿瘤患者症状的改善、肿瘤的防治具有重要意义。为此,我市有关科研人员以近代营养学和医学理论结合传统中医药学的观点研制了以枸杞、甘草、薏苡仁、红花、魔芋、香菇、胡萝卜等 19 种药食强化的全营养乳(FFNM)。在对其进行了毒理学安全性评价的基础上,本文以小鼠骨髓细胞微核试验对其抗诱变作用进行观察,并比较了普通营养乳(Ordinary-Nutritional milk, ONM)与 FFNM 对小鼠移植性肿瘤 S₁₈₀肉瘤、艾氏腹水癌以及可移植性小鼠膀胱癌 BST₇₃₉生长的影响。

材料与方法

1 材料

1.1 受试样品

普通营养乳:主要成份为脱脂牛奶、鸡蛋、大豆蛋白、葡萄糖等,灭菌后封装,低温保存。由天津健保营养保健品有限公司提供。

强化全营养乳:除普通营养乳成份外尚含枸杞、红花、薏苡仁、甘草、魔芋、香菇、胡萝卜等 19 种药食成份,提供单位同上。

1.2 受试动物、瘤源、药品

本校实验动物科学部提供的昆明种封闭群小鼠。T₇₃₉近交系小鼠由中科院肿瘤研究所动物中心提供。S₁₈₀肉瘤瘤株、艾氏腹水癌(腹水型)瘤株由天津市医药科学研究所提供。可移植性膀胱癌 BST₇₃₉瘤株引

自南京铁道医学院。环磷酰胺(Cyclophosphamide, CP)由上海第十二制药厂生产。

2 实验方法

2.1 FFNM 对 CP 诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成的影响 选上述昆明小鼠,随机分为五组,每组雌雄各 5 只。各组处理如下:阴性对照组给予蒸馏水 ig,阳性对照组以 CP25mg/kg, ip,均采用间隔 24h 两次给药法,末次给药后 6h 杀鼠取材;抗诱变组分别以 6.25ml/kg, 12.50ml/kg 和 25.00ml/kg FFNM 每日灌胃给药,连续 2wk,于给药第 13d、14d 按阳性对照组给 CP 方法给 CP 两次。颈椎脱臼法处死动物,取胸骨按常规方法制片, Giemsa 染色,油镜下观察每只动物 1000 个骨髓嗜多染红细胞(Polychromatic erythrocyte, PCE)。记录出现微核的 PCE 数,一个 PCE 中出现两个或两个以上的微核时,仍按一个微核细胞计数。计算各组微核率及微核抑制率。

微核抑制率(%) = $\frac{\text{阳性对照组微核细胞数} - \text{抗诱变组微核细胞数}}{\text{阳性对照组微核细胞数}} \times 100\%$

各组微核细胞数按泊松分布经 Freemar Tukey 平方根转换后进行方差分析及 Dunnett's t 检验⁽¹⁾。

2.2 FFNM 对小鼠移植性肿瘤生长的影响 按中华人民共和国卫生部药政局 1993 年 7 月公布的“新药临床前研究指导原则”中“抗肿瘤药物药效学指导原则”的方法进行⁽²⁾。

2.2.1 S₁₈₀肉瘤 选用昆明种小鼠 64 只,随机分为四组,每组雌雄各 8 只。阴性对照组和阳性对照组每日给予蒸馏水,普通营养乳组给予普通营养乳,强化全营养乳组给予 FFNM。各组均灌胃给药,灌胃量 25ml/kg/d,连续 4wk。于无菌条件下每鼠腋窝皮下接种 S₁₈₀肉瘤细胞悬液 0.2ml(相当于 6×10^5 个癌细胞)。各组接种后继续给药 12d(阳性对照组于接种后给予 CP 20mg/kg/d, ip)。停药 24h 后处死动物,称体重,解剖剥离瘤块,称瘤重。以 t 检验对各组平均瘤重进行比较。

2.2.2 EAC 实验动物分组及给药方式同 2.2.1 (每组 12 只小鼠), 给药 4wk 后各鼠腹腔接种 EAC 细胞悬液 0.2ml, 观察比较各组小鼠平均存活时间。

2.2.3 BST₇₃₉ 实验动物选用 T₇₃₉ 近交系小褐鼠, 每组雌雄各六只。采用 BST₇₃₉ 瘤株皮下接种, 分组及处理同 2.2.1, 接瘤后连续给药 14d 处死动物。

结 果

1 FFNM 对 CP 诱发小鼠骨髓细胞微核效应的影响

结果如表 1。方差分析结果表明, FFNM 抗诱变组与阳性对照组微核率之间有统计学差异 ($F = 45.71$, $P < 0.01$), 进一步的 Dunnett's t 检验发现, 各剂量组与阳性对照组差异均有高度显著意义 ($P < 0.01$)。各抗诱变组微核发生率随 FFNM 的剂量增加而降低, 微核抑制率分别为 28.5%、39.1 和 49.8%, 表明各抗诱变组微核发生率与 FFNM 剂量之间存在着剂量依赖关系。

Table 1 Inhibitory effects of FFNM on micronuclei (MN) in cyclophosphamide-treated mice

Groups	FFNM		CP		No. of PCE Scored	No. of MNPCE	Frequency of MN (%) ($\bar{x} \pm s$)	Rate of suppress (%)
	Dose (ml / kg)	Days	Dose (mg / kg)	Days				
Negative control	0	14	0	2	10 000	21	2.10 \pm 1.23	-
Positive control	0	14	25	2	10 000	235	23.50 \pm 4.57	-
FFNM	6.25	14	25	2	10 000	168	16.80 \pm 3.48 * *	28.5
	12.50	14	25	2	10 000	143	14.30 \pm 4.10 * *	39.1
	25.00	14	25	2	10 000	118	11.80 \pm 2.66 * *	49.8

* $P < 0.01$ compared with the positive control group

2 FFNM 对小鼠移植性肿瘤形成及生长的影响

实验结果如表 2 - 4 所示。表 2 及表 4 中均可见阴性对照组小鼠肿瘤平均重量远大于 1.0g, 表示肿瘤生长良好, 本实验有效。普通营养乳组平均瘤重与阴性对照组未见差异 ($P > 0.05$), 而 FFNM 组与阴性对照差别具有统计学意义 ($P < 0.05$), FFNM 组对 S₁₈₀ 和 BST₇₃₉ 肿瘤抑制率分别达 28.1% 和 32.0%。

表明经口预防性给予 FFNM (25ml/ kg/ d) 对小鼠移植性实体肿瘤的生长具有一定的抑制作用。而同样的剂量和给药方式, 未见 FFNM 对移植 EAC 小鼠存活时间的延长 (见表 3)。

从表 2、表 4 中亦可看出, ONM 组和 FFNM 组给药 4wk (即接瘤前) 和给药 6wk (即实验末) 时, 小鼠体重与阴性对照组差别有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明两种营养乳对小鼠的生长发育均有一定促进作用。

Table 2 Inhibitory effects of FFNM on subcutaneous tumor growth in S₁₈₀ sarcoma-transplanted mice after 12 days

Groups	No. of mice	Body Weight (g) ($\bar{x} \pm s$)			Weight of tumor ($\bar{x} \pm s$)	Rate of suppress (%)
		Before administration	Before transplantation	The end of experement		
Negative control	16	20.8 \pm 1.4	28.6 \pm 2.8	33.3 \pm 4.5	3.2 \pm 0.8	-
ONM	16	20.5 \pm 1.4	31.3 \pm 3.1 *	35.6 \pm 5.1	2.9 \pm 0.9	9.4
FFNM	16	20.4 \pm 1.3	30.8 \pm 2.5 *	37.2 \pm 5.6 *	2.3 \pm 1.0 *	28.1
Positive control	16	20.3 \pm 1.3	28.1 \pm 2.2	32.1 \pm 4.7	0.7 \pm 0.2 * *	78.1

* $P < 0.05$ compared with the negative control group * $P < 0.01$ compared with the negative control group

Table 3 Effects of FFNM ON survival days of EAC-transplanted mice

Groups	No. mice	Survival days ($\bar{x} \pm s$)	Prolonged rate of life (%)
Negative control	12	7.2 \pm 1.5	-
ONM	12	7.4 \pm 1.4	2.8
FFNM	12	6.9 \pm 1.4	- 4.2
Positive control	12	11.4 \pm 1.6	58.3

Table 4 Inhibitory effects of FFNM on subcutaneous tumor growth in BST₇₃₉-transplanted mice after 14 days

Groups	No. of mice	Body Weight(g) ($\bar{x} \pm s$)			Weight of tumor ($\bar{x} \pm s$)	Rate of suppress (%)
		Before administration	Before transplantation	The end of experement		
Negative control	12	17.4 \pm 1.5	23.4 \pm 2.6	26.3 \pm 2.6	2.5 \pm 0.5	-
ONM	12	17.2 \pm 1.4	25.8 \pm 2.8 *	28.9 \pm 3.1 *	2.4 \pm 0.5	4.0
FFNM	12	17.6 \pm 1.4	26.6 \pm 3.1 *	29.7 \pm 3.4 *	1.7 \pm 0.6 **	32.0
Positive control	12	17.2 \pm 1.6	21.9 \pm 3.0	25.0 \pm 2.8	0.4 \pm 0.2 **	84.0

* $P < 0.05$ compared with the negative control group

** $P < 0.05$ compared with the negative control group

讨 论

中药是祖国医学的宝贵遗产,长期以来在防病治病中发挥了重要作用。有些中药本身具有“药食同源”的特点,既具有中药的保健作用,又具有营养作用。近年来的研究表明,很多中药具有抗诱变、抗肿瘤作用^(3~6)。本实验 FFNM 中除含丰富动、植物蛋白质、脂肪、醣类等营养素外,尚加入了富含多种维生素、矿物质等的枸杞、薏苡仁、甘草、香菇、胡萝卜等多种已为研究证实具有抗诱变活性的药食兼用中药^(5,7)。具有营养价值高、营养全面、配比合理等特点。实验结果表明了预防性给予 FFNM 对化学诱变剂 CP 诱发的哺乳动物遗传损伤(染色体断裂)有明显的保护作用,具有抗突变作用。预防性给予 FFNM 对小鼠移植性实体肿瘤的生长具有一定的抑制作用。本文结果提示 FFNM 是一种较为理想的营养保健制品,该营养乳对肿瘤患者的营养与保健作用以及在肿瘤防治中的应用前景,值得进一步研究。其抗诱变及抗肿瘤作用的机理,考虑与其成份中胡萝卜素、硒、香菇多糖、VitE 及黄酮类等多种物质的抗氧化、清除自由基、增强免疫功能及肿瘤细胞抑制等综合作用有关⁽⁸⁾,值得进一步探讨。

化、清除自由基、增强免疫功能及肿瘤细胞抑制等综合作用有关⁽⁸⁾,值得进一步探讨。

参考文献

- 1 金丕焕主编. 医学统计方法. 第一版. 上海:上海医科大学出版社,1993;58:67
- 2 中华人民共和国卫生部药政局. 新药临床前研究指导原则汇编(药学、药理学、毒理学). 1993年7月:P137
- 3 曹群立. 九种中药抗诱变作用的研究. 癌变·畸变·突变,1990;2(1):24
- 4 邱佳信,唐莱娣,左建平,等. 中药的反突变作用的研究. 上海中医药杂志,1985;9:46
- 5 刘明哲,赵革平,黄品钱,等. 41种中药的诱变和抗诱变作用的研究. 癌变·畸变·突变,1992;4(3):25
- 6 周宗灿,傅娟龄,王莹,等. 57种中草药甲醇提取物体外抗致突变作用筛选. 卫生毒理学杂志,1989;3(4):212
- 7 刘德祥. 102种中药水溶性提取物抗诱变筛选. 癌变·畸变·突变,1991;3(2):117
- 8 郑鹏然,周树南. 食品卫生全书. 第一版. 北京:红旗出版社,1996:824-831

(1997-12-11 收稿;1998-06-07 修回)