DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.07.006
第22卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 7
2000年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2000


文章编号:1000-5404(2000)07-0627-04

论著

# 红毛五加多糖对体外人胃癌细胞的抑制作用

吕晓英[1],曾令福[2],李 由[1],王维祥[1],王双印[1] ([1]成都军区军事医学研究所,昆明 650032;[2]华西医科大学,成都 610041)

提 要:目的 研究红毛五加多糖对人胃癌细胞、人胚腱细胞及正常人外周血淋巴细胞的选择性抑制作用特点。方法 采用细胞形态学方法和MTT法。结果 该多糖选择性地抑制了胃癌细胞的活性和功能状态,而对人胚腱细胞影响甚微,对正常人外周血淋巴细胞无影响。结论 该多糖选择性地抑制了人胃癌细胞,用于肿瘤的防治可能较为安全。

关键词:红毛五加多糖;胃癌
中图法分类号:R73-361;R979.1 文献标识码:A

# The inhibitory effects of polysaccharide from Acanthopanax giraldii Harms var. hispidus Hoo on human gastric cancer cell line *in vitro*

LU Xiao-ying, ZENG Ling-fu, LI You, WANG Wei-xiang, WANG Shuang-ying (Institute of Military Medical Science, Chengdu Military Command, Kunming 650032, China)

**Abstract**: Objective To study the selective inhibition of a polysaccharide from Acanthopanax giraldii Harms var. hispidus Hoo (AGP) on human gastric cancer cells, human embryonic tendocytes and human lymphocytes of the peripheral blood of healthy subjects. Methods The morphology of the cells was observed with optical microscopy and MTT was used to examine their activity and functions. Results AGP exerted selective inhibition on the activity and function of human gastric cancer cells, slight inhibition on human embryonic tendocytes and no inhibition on human healthy lymphocytes. Conclusion AGP may be used safely to prevent or treat gastric cancer due its selective inhibition on the activity and functions of human gastric cancer cells.

**Key words**: polysaccharide; Acanthopanax giraldii Harma var. hispidus Hoo; gastric cancer

癌症严重威胁着人类的健康,胃癌是最常见的恶性肿瘤之一[1]。近年来,已研制出许多高效的抗癌药物,但毒副作用较强。所以研究和开发天然植物中的某些成分作为药品、保健食品来防癌、抗癌就显得尤为重要。红毛五加属五加科植物,红毛五加多糖(Acanthopanax giraldii Harms var. hispidus Hoo polysaccharides, AGP)是红毛五加植物的茎皮水溶性提取物。研究表明红毛五加多糖对S180实体瘤具有显著抑制作用[2],对体外培养人白血病粒细胞K562具有严重破坏作用[3]。本研究采用人胃低分化腺癌细胞株SGC-7901,并以正常人外周血淋巴细胞和人胚腱细胞作对照,研究红毛五加多糖体外抑癌作用及其特点。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验样品

AGP是红毛五加茎皮的水提液经分离纯化得到的多糖成分,由华西医科大学药学院杨培全教授惠赠。AGPⅠ:分子量为8 900,由D-半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖及未知单糖组成。AGPⅡ:分子量为83 000,由D-半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖及未知单糖组成。AGPⅢ:分子量为42 000,由半乳糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖及未知单糖组成。AGPⅣ:为一混合多糖样品,按上述3种多糖成分在天然红毛五加茎皮中的比

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39070111)
作者简介:吕晓英(1973-),女,内蒙古伊克昭盟人,硕士,实习研究员,主要从事营养与食品卫生方面的研究,发表论文10篇。电话:(028)5502097
收稿日期:1999-09-18;修回日期:2000-03-07

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

例配制。

### 1.2 细胞株

人胃低分化腺癌细胞株SGC-7901，由华西医科大学肿瘤研究所提供；人胚腱细胞[4]，由华西医科大学分子生物学教研室提供；正常人外周血淋巴细胞，取自健康成年人。

### 1.3 主要试剂和仪器

四甲基偶氮唑盐[3-(4,5-二甲基噻唑-)-,5-苯基四氮唑溴盐，商品名噻唑蓝，简称MTT]：SIGMA公司产品；酶联免疫检测仪：华东电子管厂产品。

### 1.4 实验分组

空白对照组：不加任何处理的培养液；VitC对照组：VitC加入培养液中，使其终浓度为$1.0\times10^{-4}$ mol/L；顺铂(Cisplatin)对照组：将顺铂用生理盐水溶解，以1.0%(v/v)加入培养液中，使其终浓度为$3.3\times10^{-5}$ mol/L；通过预实验得知AGPⅣ使胃癌细胞在$10^{-3}$ mol/L出现细胞毒性，在$10^{-4}$ mol/L出现明显抑制作用，在$10^{-5}$ mol/L出现一定抑制作用，在$10^{-6}$ mol/L不出现抑制作用，故将$10^{-6}$～$10^{-4}$ mol/L AGPⅣ进一步细分，得$6.4\times10^{-6}$、$1.6\times10^{-5}$、$4.0\times10^{-5}$、$1.0\times10^{-4}$ mol/L 4个实验组。分别观察对胃癌细胞人胚腱细胞，人淋巴细胞的影响。

### 1.5 细胞形态

观察7组细胞形态，选培养4 d的空白对照组、$4.0\times10^{-5}$ mol/L AGPⅣ剂量组、顺铂对照组的细胞经10% Giemsa染色后进行显微摄像。

### 1.6 MTT实验

取SGC-7901细胞、人胚腱细胞和正常人外周血淋巴细胞分别接种于96孔培养板，每板100 μl。SGC-7901细胞和正常人外周血淋巴细胞，每孔$5.0\times10^{3}$个细胞；人胚肌腱细胞孔$1.0\times10^{4}$个细胞。接种细胞24 h后再加入上述7个组的试验样品(100 μl/孔)，每组设4个平行孔。加入试剂后培养24 h，离心(1 000 r/min，5 min)，每孔弃上清液110 μl，加入MTT(浓度5 mg/ml，10 μl/孔)，继续培养4 h后，离心(1 000 r/min，5 min)，弃上清液，每孔加入150 μl DMSO，振荡10 min，使结晶物甲[illegible]充分溶解。选择490 nm波长，在酶联免疫检测仪上测定各孔光密度($D_{490}$)值。计算平均$D_{490}$值，抑制率。

$$\text{抑制率}=\frac{\text{空白对照组}\ D_{490}\text{值}-\text{实验组}\ D_{490}\text{值}}{\text{空白对照组}\ D_{490}\text{值}}\times100\%$$

### 1.7 统计学分析

在计算机上用SPSS软件进行结果的方差分析。

## 2 实验结果

### 2.1 细胞形态

空白对照组细胞生长良好，呈多角形、重叠相嵌排列的典型癌细胞生长状态，见图1；AGPⅣ处理4 d后，最高剂量组和次高剂量组的细胞均生长不良，出现部分梭形细胞，与顺铂组形态相似，见图2、3；最低剂量组和次低剂量组细胞形态改变不明显。

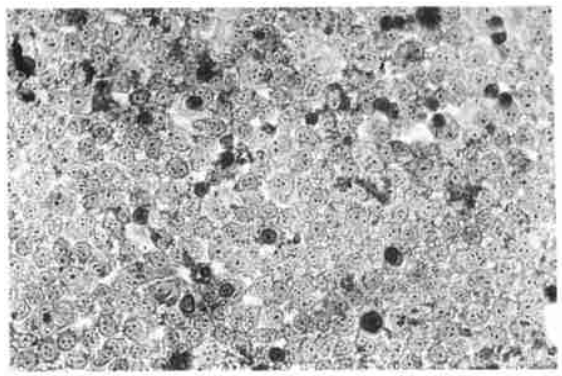


图1 培养4 d后空白对照组细胞形态 (吉氏染色×400)

**Fig 1 Morphology of the cells of blank control group after cultured for 4 days** (Giemsa stain×400)

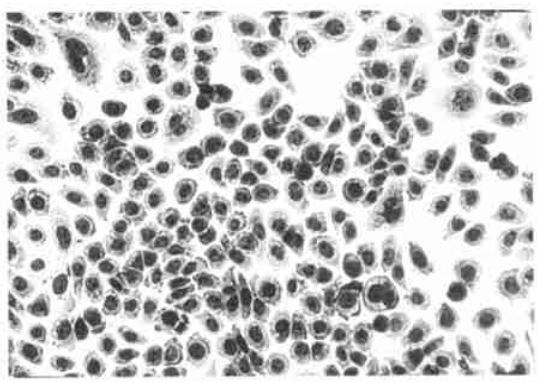


图2 培养4 d后$4.0\times10^{-5}$ mol/L AGPⅣ组细胞形态 (吉氏染色×400)

**Fig 2 Morphology of the cells of $4.0\times10^{-5}$ mol/L AGPⅣ group after cultured for 4 days** (Giemsa stain×400)

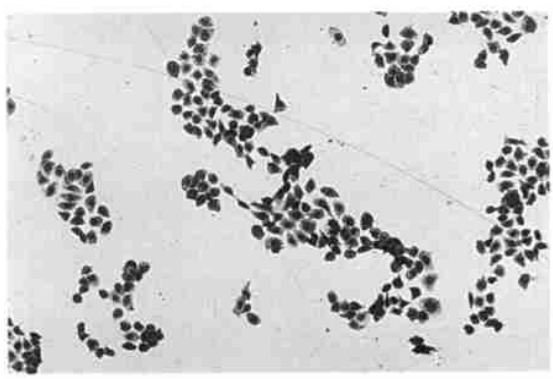


图3 培养4 d后$3.3\times10^{-5}$ mol/L顺铂组细胞形态 (吉氏染色×100)

**Fig 3 Morphology of the cells of $3.3\times10^{-5}$ mol/L cisplatin group after cultured for 4 days** (Giemsa stain×100)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2　红毛五加多糖对胃癌细胞正常人外周血淋巴细胞及人胚腱细胞活性和功能状态影响的比较, 见表 1

表 1　AGPⅣ对 SGC-7901 细胞、正常人外周血淋巴细胞和人胚腱细胞活性和功能状态的影响

**Tab 1　Effect of AGP Ⅳ on the activity and function of the SGC-7901 cell, the lymphocyte of peripheral blood in healthy people and the human embryonic tenocyte**

| Cell type | Groups | Concentration( $C_B$/ mol·L$^{-1}$) | $D_{490}$ value | Suppressing rate(%) |
|---|---|---|---|---|
| SGC-7901 | Blank | — | 0.97±0.04 | — |
| | VitC | $1.0\times10^{-4}$ | 0.86±0.02$^{ac}$ | 11.86 |
| | Cisplatin | $3.3\times10^{-5}$ | 0.66±0.03$^{ab}$ | 31.96 |
| | AGPⅣ | $6.4\times10^{-6}$ | 0.92±0.06$^{bc}$ | 5.15 |
| | AGPⅣ | $1.6\times10^{-5}$ | 0.85±0.04$^{ac}$ | 12.37 |
| | AGPⅣ | $4.0\times10^{-5}$ | 0.78±0.01$^{abc}$ | 19.07 |
| | AGPⅣ | $1.0\times10^{-4}$ | 0.76±0.01$^{abc}$ | 21.39 |
| Lymphocyte | Blank | — | 0.73±0.01 | — |
| | Vitc | $1.0\times10^{-4}$ | 0.75±0.01$^{c}$ | — |
| | Cisplatin | $3.3\times10^{-5}$ | 0.67±0.02$^{ab}$ | 8.25 |
| | AGPⅣ | $6.4\times10^{-6}$ | 0.72±0.01$^{c}$ | — |
| | AGPⅣ | $1.6\times10^{-5}$ | 0.70±0.03$^{b}$ | — |
| | AGPⅣ | $4.0\times10^{-5}$ | 0.70±0.03$^{b}$ | — |
| | AGPⅣ | $1.0\times10^{-4}$ | 0.69±0.01$^{b}$ | — |
| Human embryonic tenocyte | Bland | — | 1.09±0.01 | — |
| | VitC | $1.0\times10^{-4}$ | 1.12±0.03$^{c}$ | — |
| | Cisplatin | $3.3\times10^{-5}$ | 1.04±0.02$^{a}$ | 4.11 |
| | AGPⅣ | $6.4\times10^{-6}$ | 1.11±0.03$^{c}$ | — |
| | AGPⅣ | $1.6\times10^{-5}$ | 1.09±0.02$^{c}$ | — |
| | AGPⅣ | $4.0\times10^{-5}$ | 1.10±0.03$^{c}$ | — |
| | AGPⅣ | $1.0\times10^{-4}$ | 1.08±0.01$^{c}$ | — |

a: $P<0.05$ *vs* blank group; b: $P<0.05$ *vs* VitC group; c: $P<0.01$ *vs* cisplatin group

## 3　讨论

MTT 法通过比色测定光密度值反映活细胞数和功能状态, 已广泛用于一些生物活性因子的活性检测。MTT 法的特点是灵敏度高, 重复性好, 操作简便、经济快速、易自动化, 无放射性污染, 与其它检测细胞活力的方法(如细胞计数法、软琼脂克隆形成试验和$^{3}$H-TdR 掺入试验等)有良好的相关性[5~7]。本研究通过 MTT 实验发现, 红毛五加多糖能选择性地抑制胃癌细胞活性和功能状态, 而对人胚腱实验发现, 红毛五加多糖能选择性地抑制胃癌细胞活性和功能状态, 而对人胚腱细胞影响甚微, 对正常外周血淋巴细胞的活性和功能状态无影响。且 AGP Ⅳ最高剂量组对胃癌细胞的抑制率远远高于其对人胚腱细胞的抑制率, 表明该多糖用于防治癌症可能较为安全。AGP Ⅳ抗癌效果虽没有抗癌药物顺铂的作用强烈, 但因其毒性极小、来源广泛、提取简便及经济而应受到重视, 提示 AGP 具有防治癌症的开发价值, 但尚须进一步进行体内实验加以确证。

参考文献:

[1] Yanai H, Noguchi T, Mizumachi S. Adenovirus mediated p53 tumor suppressor gene therapy for human gastric cancer cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Gut, 1999, 44(3): 366—371.

[2] 陈　萍, 张莅峡, 刘　泓, 等. 红毛五加抗肿瘤作用及免疫作用[J]. 中国药学杂志, 1993, 28(6): 351—353.

[3] 王满霞, 张莅峡, 刘　泓. 红毛五加茎皮多糖对体外培养人白血病粒细胞超微结构影响的观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 1995, 1(3): 29—31.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[4] 蔚 [illegible] 杨志明, 彭文珍. 人胚腱细胞体外培养及生物学特征研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 1995, 9(3): 161—164.
[5] Carmichael J, DeGraff W G, Gazdar A F, *et al*. Evaluation of a tetrazolium—based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing[J]. Cancer Res, 1987, 47(4): 936—942.
[6] Pieters R, Huismans D R, Leyva A, *et al*. Adaptation of the rapid automated tetrazolium dye based(MTT) assay for chemosensitivity testing in childhood leukaemia[J]. Cancer Lett, 1988, 41(3): 323—332.
[7] Sargent J M, Taylor C G. Appraisal of the MTT assay a rapid test of chemosensitivity in acute myeloid leukaemia[J]. Br J Cancer, 1989, 60(2): 206—210.

(编辑 陈聪连)

# 经验与短篇

文章编号: 1000-5404(2000)07-0630-01

## 胃结核致上消化道大出血1例

## A case report of massive upper gastrointesinal hemorrhage caused by gastric tuberculosis

冉 鸿 (解放军324医院内二科, 重庆 400020)

患者, 男, 24岁, 因反复腹痛1年, 加重伴呕血、黑便4 h入院。1年来, 患者无明显诱因出现腹痛, 以下腹为主, 偶有低热、盗汗。近半年患者逐渐感腹痛集中于上腹, 胃镜检查示"慢性浅表性胃炎"。入院前4 h, 无明显诱因呕吐咖啡色有内容物200 ml。入科后查体: 脉搏106次/min, 血压13/6 kPa, 贫血貌, 心肺未见异常, 腹平软, 肝脾肋下未扪及, 中上腹压痛, 无反跳痛及肌卫, 腹部移动性浊音阴性, 肠鸣音稍活跃。胃镜示"胃窦靠胃体大弯侧见1.5 cm×1.4 cm隆起型肿物, 表面充血、水肿, 其肿物上可见0.7 cm×0.6 cm凹陷性溃疡, 上附污秽苔状物及血痂, 考虑为出血, 初步诊断为: ①胃溃疡; ②胃窦肿瘤待排(胃镜病理活检示胃窦部急性炎出血并亚急性炎)"。在内科经8%去甲肾上腺素口服液、甲氰咪胍、洛赛克、706代血浆、输血等治疗, 患者仍反复呕血、黑便共计2 620 ml, Hb从84 g/L降至36g/L。选择性腹腔动脉造影示: 胃网膜右动脉中段出血。因内科治疗无效, 行急诊手术。

术中所见: 腹腔内有清亮渗液, 肝脏与膈肌粘连, 脾脏与膈肌粘连, 胃窦部大弯侧可触及4 cm×4 cm大小结节, 充血水肿瓶结肠肝曲与十二指肠及胆囊、肝门部有粘连, 胃大、小弯侧均有肿大淋巴结, 大网膜与腹前壁粘连, 广泛散在粟粒样病灶, 盆腔腹膜粟粒性结节, 术中冰冻切片报告示"腹腔结核", 手术证实胃窦部大弯侧淋巴结核灶侵犯胃网膜右动脉胃壁分支造成上消化道出血。术后病理报告: 胃窦部干酪样结核。术后抗痨治疗5个月痊愈出院。

### 讨论

由于胃壁淋巴样滤泡少, 胃酸杀菌能力强, 结核菌在胃内滞留时间短, 胃结核在临床上罕见[1], 绝大多数胃结核是从其它途径感染而来, 如血液播散, 淋巴循环, 邻近脏器的结核病灶浸润和蔓延。本例有1年腹痛史, 腹痛从下腹逐渐集中于上腹, 半年前胃镜示"慢性浅表性胃炎", 入院后胃镜示"胃窦靠胃体大弯侧1.5 cm×1.4 cm隆起型肿物, 肿物上可见0.7 cm×0.6 cm凹陷性溃疡, 0.5 cm×0.4 cm浅表溃疡"。从病史及2次胃镜的结果, 可推测患者胃部结核病灶可能系腹腔其它结核病灶感染而来, 手术证实胃窦部大弯侧淋巴结核灶犯胃网膜右动脉胃壁分支造成上消化道大出血。胃结核临床可分为溃疡型、肿块型、粟粒型、弥漫型[2]、结核瘤、结核性脓肿[3], 以前两种多见, 溃疡型多与胃溃疡, 肿块型多与胃癌相混淆。病理检查是最有效的鉴别诊断方法, 但即使是胃镜活检仍不排除因活检标本数量和体积所限而致的漏诊, 本例就是一个例证。因此, 临床考虑上消化道出血原因时, 除溃疡、肿瘤外, 亦应考虑胃结核等少见病。

关键词: 胃结核; 上消化道出血
中图法分类号: R573.2 文献标识码: B

### 参考文献:

[1] 蒋雪珍. 胃结核出血误诊为胃癌1例[J]. 中国乡村医生, 1989, 4(5): 13.
[2] 王厚泽, 高彩娥. 胃结核病4例报告[J]. 中国实用外科杂志, 1996, 13(2): 78—79.
[3] 孙戈新, 姚树成. 胃结核的X线诊断: 附7例报告[J]. 白求恩医科大学学报, 1997, 23(5): 567—568.

(编辑 潘式文)

作者简介: 冉 鸿(1972—), 女, 重庆市忠县人, 医师。电话: (023) 67752954

收稿日期: 1999-11-20; 修回日期: 2000-05-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net