DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.05.015

脂质过氧化物与大鼠实验性胃癌的相关性研究

孙贵银 (第三军医大学西南医院消化内科) 630038
晏才杰 周洪伟 (第三军医大学新桥医院普外科) 630037

提 要 文内报道了在甲基硝基亚硝基胍诱导实验性胃癌过程中的不同时期对大鼠血液与胃粘膜组织脂质过氧化物(LPO)的含量进行了测定,并检测了大鼠正常胃粘膜、肠上皮化生、非典型增生和胃癌等组织中LPO水平。发现给药4周后,血液与胃粘膜组织中LPO含量显著大于给药前($P<0.05$),第28周末血液LPO水平显著高于第20周以前($P<0.05$),第28周末胃粘膜组织LPO含量显著大于第12周以前;发癌鼠血液中LPO含量大于癌前病变鼠与正常鼠($P<0.05$);癌组织LPO水平大于癌前病变组织和正常胃粘膜组织($P<0.05$)。表明LPO参与了甲基硝基亚硝基胍诱发大鼠实验性胃癌的全过程。

关键词 过氧化脂质类;胃肿瘤;肿瘤,实验性;甲基硝基亚硝基胍
中图法分类号 R735

近年来,脂质过氧化物(Lipid peroxide,LPO)对组织细胞的损害作用研究活跃,已证明该物质对线粒体、微粒体和溶酶体等膜系统有损害作用,且其代谢产物有致癌作用[1]。为动态观察LPO在致癌剂N-甲基-N′-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)诱发大鼠实验性胃癌过程中的作用,本实验在MNNG诱癌过程的不同时期对大鼠血液及胃粘膜组织中LPO的含量进行了测定,并对正常胃粘膜、肠上皮化生(Intestinal metaplasia,IM)、非典型增生与胃癌(Gastric carcinoma,GC)等组织中LPO的含量作了比较。

1 实验动物与方法

1.1 动物与给药方法

选健康Wistar大鼠180只,雄性,体重150~250 g。用饮水法持续给大鼠喂食MNNG 28周。每7天一次将MNNG用双蒸水配成浓度为1 g/L的储备液,盛于避光容器内,低温存放。使用时再以自来水稀释成150 mg/L溶液给大鼠自由饮用,每24 h换水一次。饮水瓶用避光纸包裹。

1.2 样品的采集

选5个时相点:给药前、给药后第4周末、给药后第12周末、给药后第20周末与第28周末。于前4个时相点,分别取30只大鼠鼠尾血各0.1 ml,行血液LPO测定,并处死相应大鼠,取胃粘膜组织(固定部位),检测组织LPO,作病理检查。在最后一个时相点,取剩余的58只大鼠鼠尾血,各0.1 ml,并处死该58只鼠、取材:对正常鼠取腺胃胃窦大小弯侧粘膜组织各一块,肉眼可见的病变常规取材,行LPO的测定及病理检查。

1.3 LPO的检测

1.3.1 血液LPO的测定:取全血0.1 ml加2 ml蒸馏水,剧烈振荡后加2 ml 10%三氯醋酸,1%硫代巴比土酸1 ml,95℃水浴30 min。冷却至室温后,4 000 r/min离心5~10 min,小心吸取上清液4 ml,加正丁醇3 ml,置震荡器上剧烈震荡3~4 min,4000 r/min离心5 min后,吸取上层正丁醇相,以进口MPF-4型荧光分光光度仪测定LPO含量。

1.3.2 组织LPO的检测:取0.15 ml/L氯化钾0.5 ml,加pH7.4 Tris马来酸缓冲液1 ml,组织匀浆(浓度固定)0.5 ml,放37℃水浴30 min,然后加10%三氯醋酸2 ml,1%硫代巴比妥酸1 ml,95~100℃水浴15 min。冷却至室温后,加3 ml正丁醇,以下操作同血液LPO的检测。

1.4 统计数据处理

实验数据均数($\bar{x}$)±标准差(s)表示。用Welch-T检验、FLSD检验与统计程序PDA-2进行差异显著性检验,以$P<0.05$为差异显著。

2 结果

2.1 5个时相点大鼠血液和组织中LPO的含量(见图1,2)

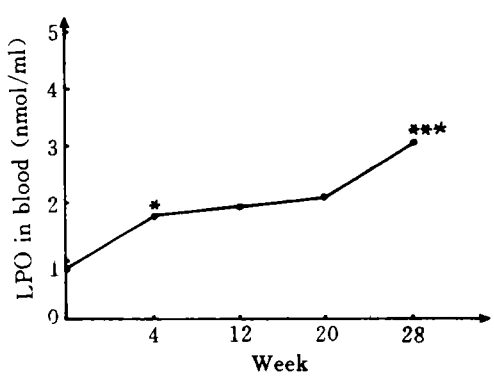


图1 MNNG诱发大鼠实验性胃癌的不同时期大鼠血液LPO含量

Fig 1 LPO contents in blood of rats at defferent periods in the development of experimental gastric carcinoma induced by MNNG

*: compared with the value before giving MNNG, $P<0.05$; **: compared with the value before the twentieth week, $P<0.05$; ***: compared with the content before the 14th week, $P<0.05$.

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

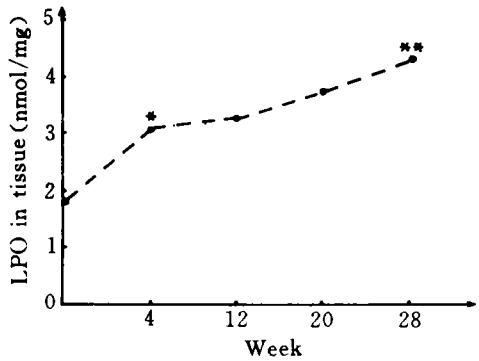


图 2　MNNG 诱发大鼠实验性胃癌的不同时期大鼠胃粘膜组织 LPO 含量

Fig 2　LPO contents in tissues of rats at deferent periods in the derelopment of experimental gastric carcinoma irduced by MNNG

* : compared with the value before giving MNNG, $P<0.05$; ** : compared with the value before the 14th week, $P<0.05$.

给致癌剂 4 周后，血液与组织中 LPO 的含量显著大于给药前（$P<0.05$）；第 28 周末血液 LPO 水平显著高于第 20 周以前（$P<0.05$）；第 28 周末胃粘膜组织 LPO 含量显著大于第 12 周以前。

2.2　发癌鼠、患癌前病变鼠（大鼠的胃粘膜有 IM 或非典型增生）与正常鼠血液 LPO 含量（见表 1）

表 1　发癌鼠、患癌前病变鼠与正常鼠血液 LPO 含量

Tab 1　Contents of LPO in blood of rats with GC or precancerous lesion and normal rats (nmol/ml)

Groups	n	$\bar{x}\pm s$	P
1(GCR)	13	3.488±0.834	<0.05△
2(PLR)	45	2.554±0.724	>0.05▲
3(NR)	39	2.293±0.350	

△: compared with group 2 or group 3; ▲: compared with group 3; GCR: rats with GC; PLR: rats with precancerous lesion; NR: normal rats.

发癌鼠血液 LPO 含量显著大于癌前病变鼠与正常鼠，癌前病变鼠血液 LPO 含量大于正常鼠，但差异无显著性。

2.3　癌组织、非典型增生组织、IM 组织与正常胃粘膜组中 LPO 含量（见表 2）

表 2　癌组织、非典型增生、肠上皮化生和正常胃粘膜 LPO 含量

Tab 2　LPO contents in tissues of GC, dysplasia, IM and normal gastric mucosa (nmol/mg)

Groups	n	$\bar{x}\pm s$	P
GT	13	7.063±2.424	<0.05△
DT	21	3.530±1.945	>0.05▲
IT	24	3.328±1.944	>0.05●
NT	39	2.391±1.965	

△: compared with group DT, group IT and group NT; ▲: compared with gorup IT or group NT; ●: compared with group NT; GT: tissues of GC; DT: tissues of dysplasia; IT: tissues of IM; NT: tissues of normal gastric mucosa.

癌组织 LPO 含量显著大于非典型增生组织、IM 组织与正常胃粘膜组织；非典型增生组织>IM 组织>正常胃粘膜组织，但差异不显著。

3　讨论

LPO 是由单线态分子氧（$^1O_2$）使不饱和脂肪酸过氧化生成。已证明该物质对生物膜系统有损害作用，对癌肿的发生有重要影响。在 DMBA/巴豆油诱发的两阶段小鼠皮肤肿瘤实验中，发现 DMBA/巴豆油处理的小鼠皮肤脂质过氧化明显增加[2]。表明脂质过氧化与肿瘤形成有一定关系。为探讨 LPO 与实验性胃癌的关系及胃癌的发生机理，本实验连续动态观察了 MNNG 所诱发的胃癌发生过程中不同时期血液和胃粘膜组织 LPO 含量变化情况。研究结果发现大鼠血液和胃粘膜组织 LPO 含量在给予 MNNG 4 周后显著大于给药前；第 28 周末血液 LPO 水平显著高于第 20 周以前；第 28 周末胃粘膜组织 LPO 含量显著大于第 12 周以前。表明 LPO 参与了 MNNG 诱发大鼠实验性胃癌的全过程；脂质过氧化物与胃癌发生密切相关，脂质过氧化可能是活性氧诱发肿瘤的中间机制之一。我们还发现癌组织 LPO 含量显著大于非典型增生组织、肠上皮化生组织及正常胃粘膜组织，后三者 LPO 含量依次递减。说明 LPO 在正常胃粘膜→肠上皮化生→非典型增生→胃癌这一病理演变过程中扮演一定角色。但胃癌发生中 LPO 的作用机制尚不十分清楚。本实验中，

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

早期LPO的含量增大可能和MNNG致胃粘膜损害有关，因胃粘膜损害与自由基有密切关系[3]；后期LPO含量增高可能和胃粘膜组织癌变有关。癌组织中LPO的增多与组织内氧自由基清除剂超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase，SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及过氧化氢酶等含量降低有关。正常情况下，组织内的SOD通过歧化反应及时清除掉代谢产生的超氧自由基(O_2^-)，过氧化氢酶和GSH-Px分解H_2O_2，从而保持体内活性氧与LPO浓度处于正常状态。而肿瘤组织这些酶均降低，且维生素E含量减少，因此，LPO在肿瘤宿主血液中浓度增大是必然结果[4]。活性氧通过引起脂质过氧化、DNA氧化损伤，而影响癌基因表达，导致肿瘤发生。所以，目前人们认为活性氧自由基学说是肿瘤发生促癌阶段的主要机理之一[5]。

综上所述，本文结果表明脂质过氧化物参与了实验性胃癌发生的全过程，是胃癌发病机理中的一个重要方面；说明了在生物化学上肠上皮化生与非典型增生的癌前病变性质；启示我们设法减少活性氧的产生，保持机体氧化与抗氧化平衡，可能是预防肿瘤发生的重要途径之一，对胃癌的防治有积极意义；另外，在用致癌剂MNNG建立实验性胃癌模型以研究某些问题时，须考虑到影响LPO增多或减少的因素，及可能的LPO对实验结果的影响。

参考文献

1 Shamberger RJ, Andreone TL, Wills CE. Antioxidants and cancer. IV. Initiating Activity of Malonaldehyde as a Carcinogen. JNCI, 1974, 53(6): 1771

2 Shamberger RJ. Increase of peroxidation in carcinogenesis. JNCI, 1972, 48: 1491

3 Nakamura K. The role of oxygen radicals in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced in mice by feeding restriction stress. Scand J Gastroenterol, 1989, 24(suppl): 47

4 于树玉，赵清正，诸亚君. 肿瘤宿主血清中脂质过氧化物水平、动态变化及抗氧化剂对其影响. 中华肿瘤杂志，1984，6(1)：5

5 Fischer SM. Biological approaches for mechanistic studies and assay systems. In: Langenbach R. Tumor Promonters. New York: Raven Press, 1988: 11～15

(收稿：1993-10-23；修回：1994-09-20)

Studies of the role of lipid peroxides in the development of gastric cancer induced by N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine in rats

Sun Guiyun, Yan Caijie, Zhou Hongwei (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The content of lipid peroxides (LPO) of the blood, normal gastric mucosa and that of intestinal metaplasia (IM), dysplasia and gastric cancer (GC) was determined in male Wistar rats in different intervals after the animals were subjected to develop gastric cancer with the administration of N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). It was found that in the 4th week after the administration of MNNG, LPO in the blood and gastric mucosa was significantly higher than that of the control ($P<0.05$) and the level was increased progressively afterward until the end of the observation in the 28th week. In addition, the LPO content in the blood of the rats with GC was significantly higher than that of the rats with precancerous lesions and normal rats ($P<0.05$) and that in the cancerous tissue was higher than that in the precancerous lesions and normal gastric mucosa ($P<0.05$).

These findings suggest that LPO may participate in the whole process of the development of gastric cancer induced by MNNG in rats.

Key words lipid peroxides; stomach neoplasms; neoplasms, experimental

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