

The Inhibitory Effect of Fungi Plant Extract AMH on the Benzo(a)pyrene-Induced Tumors in Mice

真菌植物提取物 AMH 抑制苯并[a]芘诱发小鼠肿瘤作用

HE Xiao-qiong¹, PU Ping², DENG Yan¹, DUAN Sheng-chao¹
(1. Nutrition and Food Science Institute, School of Public Health, Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan China; 2. Department, of Pathology the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan China)

贺小琼¹/普苹²/邓艳¹/段生朝¹
(1. 昆明医学院公共卫生学院营养与食品研究所, 云南 昆明, 650031。 2. 昆明医学院第一附属医院病理室, 云南 昆明 650031)

【摘要】背景与目的: 研究具有抗突变作用的真菌植物提取物 AMH 是否具有抑制化学致癌物苯并[a]芘(B[a]P)的致癌作用。材料与方法: 采用 B[a]P 诱发小鼠肿瘤试验。ICR 小鼠随机分为 AMH(Antimutagenic Herb)预防组、B[a]P 对照组和阴性对照组, 共三组, 预防组经水饮用 AMH, 1 周后腹腔注射 B[a]P 100 mg/kg, 对照同时等量腹腔注射 B(a)P, 阴性对照组腹腔注射等体积玉米油, 其后观察小鼠肿瘤发生情况。结果: 腹腔注射 B[a]P 能诱发小鼠产生肝癌、胃癌、膀胱癌、腹壁肌肉瘤、肺腺瘤等各种实体瘤。真菌植物提取物 AMH (Antimutagenic Herb) 能显著性抑制苯并[a]芘对小鼠的诱发肿瘤作用。实验期间, AMH 预防组 14 只雄性小鼠未发现肿瘤; 而苯并[a]芘对照组 14 只雄性小鼠中 11 只出现实体瘤、3 只出现血性腹水; AMH 对苯并[a]芘诱发雄性小鼠肿瘤发生的抑制率达 100%。AMH 预防组雌性小鼠肺腺瘤发生率为 71.43%, 平均每只小鼠的荷瘤数为 2.14 个; 苯并[a]芘对照组肺腺瘤发生率为 92.86%, 平均每只小鼠的荷瘤数为 7.43 个; 两组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 真菌植物提取物 AMH 能有效抑制强致癌物苯并[a]芘诱发小鼠肿瘤作用。

【关键词】癌症化学预防; 肿瘤; 苯并[a]芘; 抗突变;

中图分类号: 文献标识码: A 文章编号: 1000-616X(2006)03-0205-03

【ABSTRACT】 BACKGROUND & AIM: To investigate if the antimutagenic fungi extract AMH could inhibit the occurrence of tumors induced by chemical carcinogen Benzo(a)pyrene (B[a]P). MATERIAL AND METHODS: Tumor-inducing test in mice was carried out with B[a]P. RESULTS: B[a]P could induce liver cancer, stomach cancer, bowel cancer, abdomen muscular cancer and lung adenoma, etc in mice. AMH could significantly inhibit the occurrence of cancers induced by B[a]P. The highest inhibitory ratio was 100% in the male mice. The incidence of lung adenoma and the average tumor number in AMH prevention group in female mice were significantly lower than those in the B[a]P control group ($P < 0.05$). CONCLUSION: AMH could significantly inhibit the incidence of cancers induced by B[a]P.

【KEY WORDS】 cancer chemoprevention; tumor; benzo[a]pyrene; antimutagenicity, cancer

苯并[a]芘是目前已确认的强化学致癌物, 广泛存在于人类的生活环境中。人群流行病学研究表明^[1], 苯并[a]芘与人类的多种癌症如胃癌、肺癌等的发生有关, 严重危害人体健康和生命安全。我们在已发现真菌植物提取物 AMH (Antimutagenic Herb) 能很好抑制包括苯

并[a]芘在内的许多致癌物的致突变作用的研究基础上^[2-4], 采用整体动物试验, 进一步研究了 AMH 对苯并[a]芘诱发小鼠肿瘤作用的抑制作用, 旨在探讨抗始发突变剂 AMH 对癌症的化学预防作用, 为开发利用抗突变生物资源防治肿瘤提供科学依据。

收稿日期: 2005-06-28; 修订日期: 2005-11-12

通讯作者: 贺小琼(1964-), 男, 湖南衡阳人, 副教授, 主要从事食品毒理安全性评价和肿瘤的化学预防研究。Tel: 86-871-5339524, E-mail: hexqcn@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 天然植物制剂 AMH 由云南的一种特色真菌植物(一种野生蘑菇)中提取而成。AMH 为水溶性液体,澄清透亮,无异味;每 1 ml 原液相当于 0.3 g 干真菌植物。我们的前期抗突变实验中,AMH 在 30%浓度时即能显著性抑制苯并[a]芘的致突变作用,因此本次试验用 AMH 浓度为原液的 1/3 浓度,临用时以自来水稀释。

1.1.2 苯并[a]芘 Benzo[a]pyrene [B[a]P]。美国 Sigma 公司产品,以消毒后的玉米油临用时无菌配制^[5],使用浓度为 5 mg/ml,小鼠腹腔注射剂量为 100 mg/kg。

1.2 试验方法

1.2.1 动物及分组 ICR 小鼠 84 只,由云南白药股份集团有限公司研究院提供(滇实动证 2002106,编号 0000057),体重 18~20 g,雌雄各半。试验中将小鼠按体重先分层后再按随机数字表随机分为 AMH 预防组、B[a]P 对照组和阴性对照组 3 组进行试验,每组 28 只,雌雄各半。AMH 预防组动物经饮水给予 AMH 自由饮用, B[a]P 对照组和阴性对照组饮用自来水;1 周后, AMH 预防组和 B[a]P 对照组同时经腹腔无菌注射同等剂量 B[a]P,阴性对照组经腹腔注射同等体积玉米油。注射后, AMH 预防组经饮水继续给予 AMH 2 周,之后换自来水喂养。3 组喂养条件相同。

在注射 B[a]P 后的第 6 个月末,全部处死雌性小鼠,检查肺腺瘤的发生情况。雄性小鼠则喂养观察 10 个月,在小鼠死亡时进行解剖,肉眼检查小鼠各脏器肿瘤发生情况,并对肿瘤进行病理切片观察。

1.2.2 统计学方法 对实验结果,采用 t' 检验进行统计分析处理。

2 结果

2.1 雄性小鼠肿瘤发生情况

雄性小鼠在注射 B[a]P 后的第 4 个月末, B[a]P 对照组即开始有 2 只小鼠在注射部位出现腹壁肌肉肿瘤,到注射后的第 10 个月, B[a]P 对照组 14 只雄性小鼠全部患各种腹部实体瘤或血性腹水而死亡,而 AMH 预防组小鼠喂养 10 个月,除一只小鼠因不明原因消瘦死亡外(解剖未见任何实体瘤和血性腹水),其余小鼠仍然健康生存;在第 12 个月末试验结束时,将剩余动物全部处死,解剖未发现任何腹部实体瘤。试验中,我们对每只死亡小鼠均进行解剖、肉眼检查并对肿瘤进行拍照、称重和病理组织切片检查。注射 B[a]P 后 10 个月,雄性小鼠各组肿瘤发生情况见表 1。

表 1 雄性小鼠肿瘤发生及存活情况(只)

Table 1 The occurrence of tumors and the survival in the male mice

Groups	Mice	Tumor	Abdomen water	Death	Survival
AMH prevention group	14	0	0	1	13
B[a]P control group	14	11	3	14	0
Negative control group	14	0	0	0	14

B[a]P 对照组的 14 只小鼠在注射 B[a]P 后的 10 个月内全部死亡,其中有 11 只小鼠出现腹部实体瘤死亡;有 3 只小鼠腹部肿大死亡,解剖肉眼检查未发现腹部脏器实体瘤,但整个腹腔都充满腹水(2 只为血性腹水,1 只为米汤样腹水)。在 B[a]P 对照组出现的 11 个腹部实体瘤中,有 4 个为注射部位的腹壁肌肉瘤,5 个胃部肿瘤,1 个肠道肿瘤和 1 个肝脏肿瘤;4 个腹壁肌瘤出现较早,出现于注射 B[a]P 后的第 4~6 月,而其它部位肿瘤出现在注射 B[a]P 的 5 个月末;小鼠腹壁肌瘤重 6.9~17.8 g,胃部肿瘤重 8.3~13.2 g,肠道肿瘤较小,肝脏肿瘤则为肝脏上布满白色肿瘤结节。经肿瘤病理切片分析,小鼠肿瘤主要为平滑肌肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、胃腺癌、肝细胞性肝癌等,均为恶性肿瘤。B[a]P 对照组有 3 只小鼠因血性腹水而死亡,解剖见腹腔内充满大量血性腹水(因技术原因未做腹水细胞学检查),各脏器虽未见肉眼可见肿瘤,但其血性腹水很可能是肿瘤作用所致。B[a]P 对照组结果显示, B[a]P 对试验小鼠具有强致癌作用,能诱发小鼠出现多部位肿瘤。

AMH 预防组的 14 只小鼠,有一只小鼠在试验的第 9 个月因消瘦衰竭死亡,解剖未见任何肉眼可见肿瘤及血性腹水,其余 13 只小鼠在注射 B[a]P 后第 10 个月末仍健康存活。阴性对照组小鼠未出现任何实体瘤、血性腹水或死亡。

从表 1 的结果可见,在腹部实体瘤、血性腹水和死亡指标方面, AMH 预防组与 B[a]P 对照组之间差异均有统计学意义($P < 0.01$)。本次结果显示,以真菌植物为原料提取的天然抗突变植物制剂 AMH 能有效预防 B[a]P 对雄性小鼠的诱发肿瘤作用。B[a]P 诱发的部分小鼠肿瘤见图 1、图 2。

2.2 雌性小鼠试验结果

根据资料^[5],我们在注射 B[a]P 后的第 6 个月末,将雌性小鼠全部脱臼处死,将肺完整取下,放入 Bouin's 液中浸泡 48 h。结果发现,小鼠肺的表面有一些白色突出的小结节,组织病理学检查为肺腺瘤。取出肺以放大镜仔细观察肺表面结节情况,计数每只小鼠肺腺瘤发生个数,统计分析每组小鼠肺腺瘤发生率、平均每只小鼠荷瘤个数。结果发现, B[a]P 对照组和 AMH 预防组动物的肺表面均出现白色的肺腺瘤结节,但两组之间的平均

荷瘤数存在显著性差异。雌性动物试验结果见表 2。

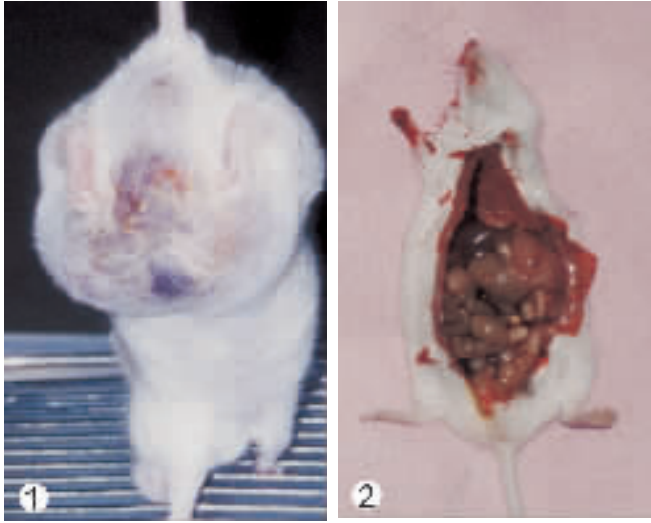


图 1 腹壁肿瘤 图 2 胃部肿瘤

Figure 1 Abdomen muscular cancer Figure 2 Stomach cancer

表 2 各组小鼠肺腺瘤发生情况

Table 2 The occurrence of lung adenoma in the female mice

Groups	Mice	Mice with lung adenoma	Total adenoma number	Average (tumor/mouse)	Incidence of adenoma ($\times 10^{-2}$)
AMH prevention group	14	10	30	2.14	71.43
B[a]p control group	14	13	104	7.43	92.86
Negative control group	14	0	0	0	0

从表 2 结果可见, B[a]P 能诱发雌性小鼠出现肺腺瘤, AMH 预防组和 B[a]P 对照组小鼠肺腺瘤肿瘤发生率分别为 71.43% 和 92.86%, 平均每只小鼠荷瘤数分别为 2.14 个和 7.43 个, 两组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。试验结果表明, 天然抗突变真菌植物制剂 AMH 能有效抑制 B[a]P 诱发雌性小鼠肺腺瘤作用。

3 讨论

科学界认为, 肿瘤的治疗离不开药物, 预防也离不开药物, 而且预防是肿瘤防治的最有希望的手段之一^[5]。从生物资源中寻找肿瘤的化学预防药物, 而对于保护人类健康具有积极意义。

化学物质的致突变作用是肿瘤发生的一个重要环节^[6]。B[a]P 是强致突变物, 同时具有移码突变和碱基置换作用, 真菌植物提取物 AMH 能有效抑制 B[a]P 的

致突变作用^[4]。我们多次试验已证实^[2-4,7-10], 真菌植物提取物 AMH 对生产和生活中多种强致癌物、致突变物的致突变作用具有很强的抑制作用, 是一种很好的天然广谱抗突变剂。资料表明^[11], B[a]P 对多种动物具有肯定的致癌性, 可诱发实验动物出现多种肿瘤。本次整体动物试验研究进一步证实, B[a]P 能明显诱发小鼠出现多种肿瘤, AMH 能有效抑制 B[a]P 对小鼠的诱发肿瘤作用, AMH 在防治肿瘤方面具有研究前景。AMH 抑制 B[a]P 诱发小鼠肿瘤作用的具体机制及功效成分尚不清楚; 本次实验设计中, 雌性和雄性小鼠的观察时间及指标不同, 苯并[a]芘诱发小鼠肿瘤是否存在性别差异, 这些都有待在今后进一步研究。

参考文献

- [1] 陈炳卿. 营养与食品卫生学[M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 223 - 228.
- [2] 贺小琼. 天然植物制剂 AMH 体外抑制多种强致癌物的致突变作用[J]. 肿瘤, 2003, 23(6): 494 - 496.
- [3] Xiaoqiong He. The inhibitory effect of the natural plant extract AMH on the mutagenicity of several carcinogens in vitro. U.S. Chinese Journal of Lymphology and Oncology[J]. June, 2004, 3(2): 105 - 107.
- [4] 贺小琼, 邓 艳, 段生朝. 真菌植物松茸提取物体外抑制苯并[a]芘致突变作用[J]. 中成药, 2004, 26(8): 649 - 651.
- [5] 张均田. 现代药理学实验方法[M]. 第 1 版. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1998. 871.
- [6] 张 铤, 刘毓谷. 毒理学[M]. 第 1 版. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997. 267 - 331.
- [7] 贺小琼, 陈彦红, 熊祥玲. 真菌植物松茸提取物体外抑制卷烟焦油致突变作用[J]. 癌变·畸变·突变, 2004, 16(1): 46 - 49.
- [8] 贺小琼, 段生朝, 邓 艳. 真菌植物松茸提取物体外抑制染发剂致突变作用[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(6): 710 - 711.
- [9] 贺小琼, 陈彦红, 段生朝. 真菌植物松茸提取物抑制环磷酰胺致突变作用[J]. 中医学报, 2004, 32(4): 55 - 56.
- [10] 贺小琼, 邓 艳, 段生朝. 真菌植物松茸提取物体外抑制 2-氨基芴致突变作用[J]. 云南中医中药杂志, 2004, 25(3): 33 - 34.
- [11] 申葆诚. 化学物的致癌危险性(上册)[M]. 第 1 版. 北京: 科学出版社, 1984: 256 - 257.