

AFB₁ 建立大鼠肝癌模型以及云芝多糖对 肝癌发生阻断作用的研究

启东肝癌防治研究所 陆培新 王能进 张松平
南京医学院 徐秉栋 沈儒龙

【摘要】模拟人类误食毒素的方法,用 AFB₁ 喂饲大鼠,二年内肝癌发生率为 61.19% (19/31)。肝组织定期活检结果表明,癌变过程分为早期 (1~30周)、中期 (31~54周)、晚期 (55~104周) 三个阶段。喂饲云芝多糖的大鼠不仅生存时间延长,体重增加,白细胞总数提高,肝组织 r-GT 灶面积缩小,而且肝癌发生率亦明显减少 (34.38%, 11/32, $P < 0.05$), 实验结果表明,用 AFB₁ 可以建立稳定的大鼠肝癌模型,云芝多糖对肝癌发生有明显的阻断作用。

关键词: AFB₁; 肝癌模型; 云芝多糖; 阻断

近年来的研究表明,黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 是原发性肝癌 (肝癌) 发生的重要病因。有关资料指出^[1,2],真菌类药物云芝多糖,除用于治疗肝炎外,还能有效的干预肝癌高危人群—AFP 低持阳患者肝癌的发生。本研究在以往工作的基础上^[3],采用人类误食毒素的途径,给大鼠喂饲 AFB₁,建立大鼠肝癌模型,并定期进行肝脏活检,观察癌变过程。与此同时,用云芝多糖喂饲实验不同阶段的大鼠,观察其对肝癌发生的阻断作用。实验为时 2 年。现将结果报告如下。

材料与方法

实验动物为 1 月龄 wistar 大白鼠,由上海实验动物饲养中心提供,共 282 只,按雌雄对等的原则随机分为如下四组。

模型组 65 只,仅饲 AFB₁; 阻断组 60 只,同时喂饲 AFB₁ 和云芝多糖; 活检 I 组 81 只,II 组 76 只,均于饲毒后 4 个月起,每月对其中的 4 只大鼠在乙醚麻醉下行肝脏活检,其中活检 II 组在饲毒后 8 个月,肝组织出现明显的癌前期病变时,加饲云芝多糖。

AFB₁ 量为 20 μg/只/天,100 天后改为 10 μg/只/天,个体累积量达 3mg 时停毒。云芝多糖为 100 mg/只/天,饲至实验结束。AFB₁ 由启东肝研所提供,云芝多糖由江苏省清江制药厂供给。

主要观察指标:体重、生存时间、血白细胞总数及光镜、电镜、免疫组化 (r-GT、DNA、RNA、PAS) 组织学检查。

结 果

大鼠第一例肝癌发生时间为饲毒后 382 天,饲毒后 95 周为肝癌发生高峰期。模型组肝癌发生率为 61.29%,阻断组为 34.36% (表 1)。

表 1. 喂饲 AFB₁ 大鼠二年内肝癌发生率

组别	有效动物数*	发 例	生 %	肝 癌 P
模型组	31	19	61.29	< 0.05
阻断组	32	11	34.36	

* 出现第一例肝癌时生存的动物数

定期行肝脏活查的大鼠,喂饲云芝多糖组大鼠肝癌发生率明显为低 (表 2)。

表 2. 肝脏定期活检的大鼠二年内肝癌发生率

组别	有效动物数	发 例	生 %	肝 癌 P
活检模型组	42	23	54.17	< 0.05
活检阻断组	50	17	34.00	

大鼠肝癌的癌变过程可以分为三个阶段,各阶段光镜、电镜及免疫组化的检验结果亦不相同 (表 3)。

表 3. 大鼠肝癌癌变过程

阶段	时间 (周)	肝细胞变化
早 期	1~30	损伤、反应性增生
中 期	31~54	异形增生灶出现
晚 期	55~104	肝癌发生

是否喂饲云芝多糖,大鼠的平均生存时间、体重增加、外周血白细胞总数、r-GT 灶数量与面积,以及第一例肝癌出现的时间均有较明显差异 (表 4)。

表 4.

云芝多糖对诱癌大鼠的影响

组 别	平均生存时间 (天)	平均体重 增加(19周时)	血 WBC 数 ($\bar{X} \pm SD$)	癌变中期 r-GT 灶 ($\bar{X} \pm SD$) 个/cm ² mm ² /个	出现第一例肝 癌时间(天)
云芝组	398.5	128.1g	11.2 $\pm$ 3.2千/mm ³	7.9 $\pm$ 8.3 0.021 $\pm$ 0.018	401
对照组	384.4	122.3g	7.6 $\pm$ 3.0千/mm ³	9.0 $\pm$ 8.8 0.072 $\pm$ 0.012	382

讨 论

一、用小剂量 AFB₁ 喂饲大鼠,可以建立稳定的大鼠肝癌模型。以往的实验研究结果表明,用小剂量 AFB₁ 喂饲大鼠,二年内肝癌诱发率为 54.2%~66.7%^[1]。本文以 10~20 μ g/天 AFB₁ 喂饲大鼠,个体累积量达 3 mg 时停毒,二年内肝癌发生率为 61.29% (表 1),饲毒后 382 天出现第一例肝癌,嗣后逐渐增多,95 周时达高峰。这一现象也与我们以往的实验结果相类似^[1,2],提示用小剂量 AFB₁ 喂饲大鼠,可以建立稳定的肝癌模型。

二、大鼠癌变过程中肝组织的动态变化具有一定的规律性。AFB₁ 诱发大鼠肝癌的癌变过程可以分为三个阶段,光镜、电镜及免疫组化的检查结果亦不尽相同。30 周以前的早期,光镜下可见肝细胞轻度变性、坏死及少量增生,电镜下见肝细胞内质网明显增生,组化发现散在的 r-GT 阳性细胞及灶,DNA、RNA 及糖原在变性坏死区明显减少。癌变中期(31~54 周)光镜可见不同的再生灶或结节,其中 60% 为嗜碱性结节,30% 为嗜酸性结节,透明结节较少也较晚出现。电镜下肝细胞呈反应性增生,尤以光面内质网为著。组化测定见 r-GT 灶加剧,形成结节,DNA、RNA 显著加强,PAS 在增生结节内深染。55 周后肝癌陆续出现,光镜及电镜见上述病变进一步加重外,可见癌结节。组化见高度嗜碱及嗜酸结节,DNA、RNA 染色减弱,PAS

减少。实验过程表明,出芽状生长的 r-GT 阳性灶或结节是真正的“癌前期病变”,常在饲毒 8 个月后出现。

三、云芝多糖对肝癌的发生具有一定的阻断作用。表 1 表明,喂饲云芝多糖的大鼠肝癌发生率,明显较对照组低 ($P < 0.05$),即使在大鼠肝脏已经出现明显的“癌前期病变”时再饲以云芝多糖,也能有效地阻断肝癌的发生(表 2, $P < 0.05$)。表 4 指出,云芝组较对照组生存时间延长 7 周以上,体重多 6g,白细胞总数明显增多,癌变中期 r-GT 灶数量及面积均有显著差异 ($P < 0.01$),且第一例肝癌发生的时间推迟了 19 天,这些结果与我们临床应用云芝多糖治疗 AFP 低持阳病人的效果相一致^[3,4],提示云芝多糖可以广泛地应用于临床,尤其对于肝癌高危人群的应用,具有重要的预防意义。

参 考 文 献

1. 邵龙琪,等。黄曲霉毒素 B₁ 致肝癌形成过程中肝脏组织学改变。临床与实验病理学杂志,1985, 2:30
2. 程宝庚,等。黄曲霉毒素 B₁ 诱发大鼠肝癌癌变机理的实验研究,临床与实验病理学杂志,1985, 3:39
3. 陆培新,等。云芝多糖对 AFP 低持阳的疗效。肿瘤防治研究,1984, 11(3):163
4. 陆培新、张启南。不同人群的淋巴细胞亚群测定一活性花节和酯酶双标记。肿瘤防治研究,1985, 12(3):139