

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.03.01

❖ 论著 ❖

姬松茸多糖结合硒对胰腺癌恶病质小鼠代谢作用的影响

冯义伶¹, 郭仁德², 曲雅静¹, 瞿峰³

(1. 中国人民武装警察部队特色医学中心肿瘤科, 天津 300162; 2. 天津市第一中心医院普通外科, 天津 300192; 3. 河北医科大学第四医院肿瘤研究所, 河北 石家庄 050000)

【摘要】目的: 分析胰腺癌小鼠恶病质状态下姬松茸多糖结合硒对代谢的作用, 为临床上将姬松茸多糖结合硒应用于改善胰腺癌恶病质状态提供参考。**方法:** 选取 40 只成功建立小鼠胰腺癌细胞株 SW1990 皮下移植瘤模型的 6~7 周龄 BALB/c-nu/nu SPF 级小鼠, 分为 A 组(模型组)、B 组(低剂量组)、C 组(中剂量组)、D 组(高剂量组), 另选取 10 只未做任何处理的健康小鼠作为 E 组。各组给药后设置 4 个观察点, T1(造模后 7 d)、T2(造模后 14 d)、T3(造模后 21 d)、T4(造模后 28 d), 比较各组小鼠的体重变化、摄食量、饮水量、各血清因子水平、各生化指标水平、肿瘤体积。**结果:** T1~T2 随着肿瘤的增长, 各组小鼠的体重逐渐增长, T2 结束后次日开始给药, 各组小鼠间体重在 T3、T4 时比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); T2、T3、T4 时, A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的摄食量、饮水量较 T1 明显降低, 且均低于 E 组; T4 时检测各组小鼠的各血清因子水平, A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的血清 IL-1、IL-6、TNF- α 、TG、CHOL 水平均高于 E 组, 且 A 组高于 B 组、C 组、D 组, 并呈现出剂量-反应关系。T4 时检测各组小鼠的各生化指标水平, A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的血清总蛋白、白蛋白、前白蛋白、血红蛋白水平均低于 E 组, 且 B 组、C 组、D 组均高于 A 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。T1~T4 时, 各组小鼠的肿瘤体积均逐渐增大, 且各时刻 B 组、C 组、D 组均高于 A 组, (均 $P < 0.05$), 呈现出剂量-反应关系。**结论:** 姬松茸多糖结合硒可以有效改善胰腺癌小鼠恶病质状态, 调节代谢紊乱状态, 改善营养状况, 提高免疫力。

【关键词】 姬松茸多糖; 亚硒酸钠; 胰腺癌; 恶病质

【中图分类号】 R734.2 **【文献标志码】** A

Effects of Polysaccharide from Agaricus blazei and selenium on metabolism in mice with pancreatic cancer cachexia

FENG Yi-ling¹, GUO Ren-de², Qu Ya-jing¹, QU Feng³

(1. Department of Oncology, Characteristic Medical Center of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162; 2. Departments of General surgery, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192; 3. Cancer Institute, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China)

【Abstract】Objective: To analyze the effect of polysaccharides combined with selenium on metabolism in mice with cachexia of pancreatic cancer, so as to provide reference for clinical application of polysaccharides combined with selenium in improving cachexia of pancreatic cancer. **Methods:** 40 BALB/c-nu/nu SPF mice of 6~7 weeks old with successful establishment of a mouse pancreatic cancer cell line SW1990 subcutaneously transplanted tumor model, which were divided into group A (model group), group B (low dose group), group C (middle dose group) and group D (high dose group), and 10 healthy mice without any treatment were selected as group E. 4 observation points were set in each group after administration, T1 (7d after modeling), T2 (14d after modeling), T3 (21d after modeling), T4 (28d after modeling), and the body weight, food intake, water intake, serum factor levels, biochemical index levels, and tumor volume of each group of mice was compared. **Results:** With the growth of tumors in T1~T2, the body weight of mice in each group gradually increased. The administration began the day after the end of T2. The weight of mice in each group was different between T3 and T4 ($P < 0.05$). At T2, T3 and T4, the food intake and water consumption of the mice in groups A, B, C, and D were significantly lower than those in T1, and both were lower than those in group E. The levels of serum factors in each group of mice were detected at T4, the serum levels of IL-1, IL-6, TNF- α , TG, and CHOL in group A, group B, group C, and group D were higher than those in group E, and group A was higher than groups B, C, and D, and showed Dose-response relationship. At T4, the levels of various biochemical indicators of the mice in each group were detected. The serum total protein, albumin, prealbumin, and hemoglobin levels of mice in groups A, B, C, and D were lower than those in group E, and group B, Group C and D were higher than group A, and the above differences were

基金项目: 国家自然科学基金(81172103)

作者简介: 冯义伶(1974-), 女, 硕士, 主治医师, E-mail: 971434725@qq.com

通讯作者: 瞿峰。E-mail: qufeng327968@126.com

statistically significant ($P < 0.05$). From T1 to T4, the tumor volume of mice in each group gradually increased, and at each time, groups B, C, and D were higher than group A, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), showing a dose-response relationship. **Conclusion:** The combination of agaricus matsutake polysaccharide and selenium can effectively improve the cachexia state of pancreatic cancer mice, regulate metabolic disorders, improve nutritional status and improve immunity.

[Key words] Agaricus blazei Murrill polysaccharide; Sodium selenite; Pancreatic cancer; Cachexia

胰腺癌是位于胰腺导管上皮、腺泡细胞的恶性肿瘤,相对于其他肿瘤来说,胰腺癌的恶性程度非常高,且发病隐匿,临床中早期诊断的难度较大。患者发病后疾病进展迅速,死亡率极高,每年在全世界中有 20 000 例以上的患者因胰腺癌死亡^[1]。胰腺癌患者在晚期多数会表现出恶病质,恶病质作为癌症晚期患者的常见综合征,会因肿瘤细胞释放的大量细胞因子而发生全身代谢紊乱,是导致癌症患者死亡的重要原因^[2]。癌性恶病质患者多表现出虚弱、体重降低、食欲减退、衰竭等症状,但临床中还未发现其出现的具体分子机制^[3]。癌性恶病质患者已无法使用常规抗肿瘤方案治疗。因此,治疗方案主要是提高免疫力,增强抗病能力,通过药物激发食欲,为机体提供充足的营养等;同时也需要给予患者逆转异常代谢的调节剂^[4]。姬松茸多糖从姬松茸子中提取而来,可抑制肿瘤细胞增长,促进吸收和排泄致癌物质,降糖、降脂,增强免疫力^[5]。本研究使用姬松茸多糖与硒进行联合治疗,是因为硒是生物体中重要的组分,能够提高免疫力、预防癌变,近年来多用于抗癌治疗中^[6]。既往研究^[7]发现,将姬松茸多糖对肝癌细胞生长有一定的抑制作用,其作用机制不是直接的细胞毒性作用,而是通过增强小鼠的细胞免疫功能诱导肿瘤细胞凋亡实现的。有研究^[8]指出,硒化合物的抗氧化作用有利于肿瘤细胞的凋亡,且不同的硒化合物对肿瘤血管形成和肿瘤细胞凋亡的作用不同,不同剂量的含硒化合物也对肿瘤细胞具有不同的作用,高剂量的硒化合物一般会引起细胞毒性和机体的毒性作用。基于上述研究结果,本实验在临床研究的基础上进行动物实验。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 50 只 6~7 周龄 BALB/c-nu/nu SPF 级小鼠,平均体重 (21.89 ± 3.21) g,购于昆明医学大学实验动物室,合格证号:SCXK(滇)2019-1121。小鼠分笼饲养在 21℃~25℃ 的室温下,湿度为 40%~60%,自由饮水、摄食,进食常规小鼠饲料。

1.2 模型的制备

在细胞培养箱(上海杰涵实验设备有限公司)

内使用含 10% 小牛血清的 PRMI1640 培养液(苏州艾莱萨生物科技有限公司)对小鼠胰腺癌 SW1990 细胞株(上海信裕生物科技有限公司)^[9]进行培养,维持 5% CO₂、37℃,取对数生长的 6×10^7 /mL 细胞制备得到单细胞悬液,裸鼠于右腋下接种 0.1 mL 悬液,瘤结节长为 1 cm³ 后取出,去包膜,研磨制成 6×10^7 /mL 的单细胞悬液,同上右腋下接种 0.1 mL 悬液,制备皮下移植瘤模型,40 只小鼠全部成功。造模成功标准^[10]:造模 14 d 后小鼠明显消瘦,表现出衰竭、虚弱、活动迟缓、颈背部毛色暗淡等恶病质特征。

1.3 分组及方法

选取 60 只 6~7 周龄 BALB/c-nu/nu SPF 级小鼠,随机选取 50 只建立小鼠胰腺癌细胞株 SW1990 皮下移植瘤模型,成功率 96.00%。从中选取建模成功的 40 只小鼠,并采用随机数字表法分为 4 组,每组 10 只。A 组为模型组, B 组为低剂量组, C 组为中剂量组, D 组为高剂量组, 剩余 10 只未做任何处理的健康小鼠作为 E 组。B 组、C 组、D 组小鼠 T2 结束后次日开始每日给予 20 mL/kg BW 灌胃; B 组药液中姬松茸多糖、亚硒酸钠分别为 2 mg、1 μg, C 组为 4 mg、1 μg; D 组为 8 mg、1 μg; A 组和 E 组小鼠同时时间内给予等量生理盐水,共给药 14 d。

1.4 观察指标

(1) 体重变化:每天在固定时间称取小鼠体重,精确至 0.01 g。开始给药后每日计算去瘤体重,依据公式计算肿瘤体积: $V(\text{cm}^3) = H(\text{cm}) \times M(\text{cm}) \times L(\text{cm}) \times \pi/6$ 。(2) 摄食量、饮水量:每组小鼠均在同一个笼子里进行标准饲养,每日上午 9:00~11:00 对每组小鼠的总摄食量和总摄水量进行记录。(3) 血清因子和生化指标:末次给药完成 24 h 后摘眼球取血,离心并取上层血清,采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(赛默飞酶联免疫检测试剂盒)检测 IL-1、IL-6、TNF-α、TG、CHOL 水平,采用全自动生化分析仪(山东博科 BK-500 全自动生化分析仪)分析总蛋白、白蛋白、前白蛋白、血红蛋白水平。

1.5 统计学分析

使用 SPSS 24.0 统计学软件进行处理,计量资料多组内数据比较进行方差检验,以 $P < 0.05$ 为差异统计学有意义。

2 结果

2.1 各组小鼠的体重变化比较

T1 ~ T2 随着肿瘤的增长,各组小鼠的体重逐渐增长,T2 结束后次日开始给药,各组小鼠间体重在 T3、T4 时比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),表现为 A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的去瘤体重均明显低于 E 组。且随着给药时间的推移,A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的去瘤体重均呈现增加趋势,高剂量组小鼠增加明显,但四组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组小鼠的体重变化比较($\bar{x} \pm s, g$)

组别	T1	T2	T3(去瘤体重)	T4(去瘤体重)
A 组($n=10$)	19.82 ± 1.67	23.24 ± 1.75	19.45 ± 1.78	20.20 ± 1.67
B 组($n=10$)	19.34 ± 1.67	24.03 ± 1.98	18.87 ± 1.61	19.94 ± 1.55
C 组($n=10$)	18.92 ± 1.85	23.56 ± 2.55	19.30 ± 1.68	21.16 ± 1.45
D 组($n=10$)	19.10 ± 1.56	23.41 ± 1.92	18.93 ± 1.64	20.96 ± 1.45
E 组($n=10$)	22.17 ± 1.98	24.15 ± 1.96	25.43 ± 1.87	27.10 ± 2.03
F 值	1.935	1.669	12.352	12.767
P 值	0.060	0.095	0.034	0.008

2.2 各组小鼠的摄食量变化比较

各组小鼠 T1 的摄食量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$); T2、T3、T4 时, A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的摄食量较 T1 明显降低,且均低于 E 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。T4 较 T3 各组小鼠饮水量无明显变化($P > 0.05$),但 A 组小鼠摄食量低于 B 组、C 组、D 组($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组小鼠的摄食量变化比较($\bar{x} \pm s, g$)

组别	T1	T2	T3	T4
A 组($n=10$)	2.86 ± 0.15	2.54 ± 0.30	2.06 ± 0.14	1.91 ± 0.08
B 组($n=10$)	3.12 ± 0.81	2.57 ± 0.10	2.28 ± 0.19	2.29 ± 0.14
C 组($n=10$)	3.08 ± 0.67	2.55 ± 0.17	2.31 ± 0.20	2.34 ± 0.17
D 组($n=10$)	3.00 ± 0.37	2.56 ± 0.21	2.34 ± 0.18	2.39 ± 0.19
E 组($n=10$)	3.02 ± 0.19	3.09 ± 0.21	3.05 ± 0.07	3.04 ± 0.15
A 组($n=10$)	1.597	11.983	13.098	12.537
P 值	0.202	0.048	0.002	0.017

2.3 各组小鼠的饮水量变化比较

各组小鼠 T1 的饮水量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$); T2、T3、T4 时 A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的饮水量较 T1 明显降低,且均低于 E 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。T4 较 T3 各组小鼠饮水量无明显变化($P > 0.05$),但 A 组小鼠饮水量低于 B 组、C 组、D 组($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 各组小鼠的各血清因子水平比较

T4 时检测各组小鼠的各血清因子水平, A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的血清 IL-1、IL-6、TNF- α 、TG、CHOL 水平均高于 E 组,且 A 组高于 B 组、C 组、D 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。B 组、C 组、D 组小鼠的各血清因子水平比较,差异有统计学意义, B 组高于 C 组和 D 组, C 组高于 D 组,呈现出剂量-反应关系。见表 4。

表 3 各组小鼠的饮水量变化比较($\bar{x} \pm s, mL$)

组别	T1	T2	T3	T4
A 组($n=10$)	4.83 ± 0.38	3.89 ± 0.10	2.10 ± 0.12	1.70 ± 0.23
B 组($n=10$)	4.87 ± 0.33	4.15 ± 0.21	3.17 ± 0.08	3.12 ± 0.30
C 组($n=10$)	4.93 ± 0.48	4.08 ± 0.19	3.15 ± 0.14	3.22 ± 0.31
D 组($n=10$)	4.96 ± 0.67	4.02 ± 0.15	3.16 ± 0.24	3.34 ± 0.28
E 组($n=10$)	4.85 ± 0.043	4.87 ± 1.08	4.97 ± 1.10	4.73 ± 0.56
F 值	1.693	12.377	12.559	13.376
P 值	0.087	0.033	0.014	0.001

表 4 各组小鼠的各血清因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1(ng/mL)	IL-6(ng/mL)	TNF- α (ng/mL)	TG(mmol/L)	CHOL(mmol/L)
A 组($n=10$)	0.34 ± 0.03	1.15 ± 0.03	0.87 ± 0.04	4.44 ± 0.34	3.21 ± 0.27
B 组($n=10$)	0.33 ± 0.07	0.90 ± 0.05	0.79 ± 0.05	3.77 ± 0.31	3.11 ± 0.36
C 组($n=10$)	0.23 ± 0.04	0.81 ± 0.05	0.75 ± 0.04	3.14 ± 0.32	2.98 ± 0.39
D 组($n=10$)	0.19 ± 0.03	0.73 ± 0.04	0.70 ± 0.10	2.32 ± 0.32	2.84 ± 0.33
E 组($n=10$)	0.15 ± 0.02	0.65 ± 0.03	0.62 ± 0.02	1.29 ± 0.49	2.56 ± 0.20
F 值	16.035	17.586	14.612	18.676	15.182
P 值	0.007	0.005	0.043	0.003	0.039

2.5 各组小鼠的各生化指标水平比较

T4 时检测各组小鼠的各生化指标水平, A 组、B 组、C 组、D 组小鼠的血清总蛋白、白蛋白、前白蛋白、血红蛋白水平均低于 E 组,且 B 组、C 组、D 组均高于 A 组,差异统计学有意义($P < 0.05$)。B 组、C 组、D 组小鼠的各生化指标水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 各组小鼠的各生化指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	总蛋白(g/L)	白蛋白(g/L)	前白蛋白(g/L)	血红蛋白(g/dL)
A 组($n=10$)	42.81 ± 4.49	27.73 ± 1.42	0.15 ± 0.05	10.75 ± 1.47
B 组($n=10$)	54.75 ± 2.44	34.13 ± 0.86	0.23 ± 0.02	12.48 ± 0.83
C 组($n=10$)	55.10 ± 3.30	34.63 ± 1.21	0.24 ± 0.02	13.16 ± 0.54
D 组($n=10$)	55.63 ± 1.33	34.56 ± 0.41	0.26 ± 0.01	12.87 ± 0.62
E 组($n=10$)	63.78 ± 5.52	40.09 ± 4.31	0.30 ± 0.04	14.15 ± 0.77
F 值	18.915	14.978	15.997	13.378
P 值	0.003	0.040	0.035	0.048

2.6 各组小鼠肿瘤体积比较

T1 ~ T4 时,各组小鼠的肿瘤体积均逐渐增大,且各时刻 B 组、C 组、D 组均高于 A 组,差异统计学

有意义 ($P < 0.05$)。B 组高于 C 组和 D 组, C 组高于 D 组, 呈现出剂量-反应关系。见图 1。

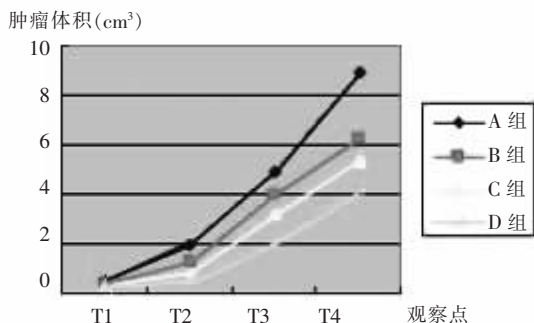


图 1 各组小鼠肿瘤体积比较

3 讨论

癌性恶病质是在肿瘤晚期出现的进行性营养消耗多器官综合征, 患者经常表现出体重降低、脂肪组织消耗、肌肉萎缩、贫血、厌食、胰岛素抵抗等症状, 是一种十分复杂的代谢障碍^[11]。胰腺癌患者的恶病质是消化系统肿瘤常见的综合征, 患者主要的症状为食欲降低和体重下降, 多数胰腺癌患者的死亡并不是源于肿瘤本身, 而是因体重降低导致的机体各项功能降低^[12]。由于胰腺癌的早期诊断难度较大, 临床手术切除率较低, 晚期胰腺癌患者的治疗方式主要为化学治疗, 但接受化学治疗后常出现恶心呕吐、体重降低、食欲下降、疲倦乏力、血液系统毒性反应等副作用, 这些副作用加速了患者进入恶病质状态^[13]。胰腺癌恶病质不仅会对临床中的肿瘤治疗效果产生影响, 也会给患者带来各类并发症, 降低其生活质量, 缩短生存期^[14]。因此, 目前临床中对于胰腺癌恶病质患者的治疗也成为了肿瘤多学科综合治疗的关键。

对于胰腺癌恶病质患者的治疗目标主要是维持体重, 给予患者代谢调节剂以逆转异常代谢状态, 增加食欲。目前, 肿瘤营养治疗专家多给予患者二十二碳六烯酸、鱼油不饱和脂肪酸、非甾体类抗炎药物沙利度胺等治疗, 具有一定的临床效果, 但尚未令人满意^[15]。因此, 本研究将姬松茸多糖结合硒联合使用, 用于改善胰腺癌小鼠恶病质状态, 以期能为今后临床治疗提供参考。本研究显示, T1 ~ T2 随着肿瘤的增长, 各组小鼠的体重逐渐增长, T2 结束后次日开始给药, 为去除肿瘤生长对小鼠体重数据的影响, 以去瘤体重表示小鼠体重变化趋势, 发现在姬松茸多糖结合硒的作用下小鼠去瘤体重升高, 缓解了肿

瘤所造成的小鼠体重降低。同时 T3 ~ T4 期间小鼠的摄食量、饮水量较未给药时有所提升。T1 ~ T4 时刻各组小鼠的肿瘤体积均逐渐增大, 且各时刻 B 组、C 组、D 组均高于 A 组, 并呈现出剂量-反应关系。考虑到 IL-1、IL-6、TNF- α 、TG、CHOL 等因子在癌性恶病质发生、发展中的重要作用, 结合各组小鼠的体重、摄食量、饮水量、肿瘤体积的变化情况, 本研究结果说明浓度不同的姬松茸多糖和硒可以通过改善炎症反应和脂代谢情况, 改善进食和饮水情况, 抑制肿瘤的生长, 对胰腺癌恶病质状态均具有缓解作用, 且随着剂量的升高缓解能力越强, 但所呈现的剂量-反应关系今后仍需进一步探究和验证。分析姬松茸多糖和硒联合治疗所产生的作用, 结合已有实验数据发现, 考虑是由于姬松茸子实体多糖与 5-FU 等化疗药物具有相似作用^[16]。分析姬松茸子实体多糖的作用机制, 发现其能够恢复甚至提高机体免疫系统的活性, 增强机体的抗肿瘤能力, 并通过生化代谢, 诱导多种细胞因子及其受体基因的表达^[17]。由于癌细胞膜具有较大的流动性, 多糖能够降低这种流动性, 进而抑制癌细胞周期, 影响其分裂^[18]。恶性肿瘤细胞内超氧化自由基中含有较少的特异性清除酶, 活性较低, 多糖能够使酶含量增大, 活性升高^[19]。Clark 等^[20]首次证实了硒酵母对皮肤癌存在疗效, 高硒食物可预防肺癌、前列腺癌、结肠癌等癌症。分析硒的抗肿瘤机制, 发现硒具备抗氧化作用, 因此能够将患者体内的脂质过氧化物清除, 且其他硒化合物能够将脂质过氧化自由基等清除, 保护生物大分子; 同时, 硒能够介入某些致癌物质的代谢, 调节机体的免疫能力, 进而稳定机体的代谢机制, 增强抗癌能力; 硒还能够抗血管形成^[21]。同时, 亚硒酸钠含有与硒协同作用的维生素 E, 能促进机体对硒的摄入, 进而在姬松茸多糖结合硒改善胰腺癌恶病质状态中发挥促进作用, 但其本身对于改善恶病质状态并无作用。本研究通过 T4 时检测各组小鼠的各生化指标水平, 发现姬松茸多糖结合硒的作用下小鼠的营养状况改善, 进而提高了免疫力, 当然这一作用机制在今后的研究中仍需要进一步的探究和验证。

综上所述, 姬松茸多糖结合硒可以有效改善胰腺癌小鼠恶病质状态, 调节代谢紊乱状态, 改善营养状况, 提高免疫力。本研究所得的结论可为今后治疗胰腺癌恶病质提供新方向。

(下转第 383 页)