

# N-Water $\pi$ 對 Sarcoma-180 癌細胞之抑制作用

高信義 \*張大邦 曾金章

## 摘 要

N-Water  $\pi$  是一種應用於保健營養食品之添加物。以 ICR 小白鼠對 S-180 癌細胞之抑制效果加以觀察。以 0.01% N-Water  $\pi$  予先投與 14 日小白鼠對 S-180 腹水細胞具較佳之抑制效果，若與 S-180 癌細胞同時移植則以 1.0% N-Water  $\pi$  之抑制效果較為明顯。但所有抑制效果受移植時間之延長而遞減。對 S-180 癌細胞皮下移植之抑制效果則以 0.1% N-Water  $\pi$  予先投與組之結果最好。若兩者同時進行則無任何抑制作用被發現。

故 N-Water  $\pi$  在適當之條件下，對 S-180 癌細胞具抑制作用，但 N-Water  $\pi$  較適宜早期投與及作為輔助性的角色。

目前很多化學治療藥物及治療方法應用於微生物之感染及腫瘤之治療，雖然有很好的結果被呈現出來，但仍時時威脅著患者之生命。最近對促進宿主產生非特異性耐性漸被重視<sup>(1)</sup>。此等物質包括微生物來源如卡介苗 (BCG)<sup>(2)</sup>, *Corynebacterium parvum*<sup>(3)</sup>, *Listeria monocytogenes* 及 *Candida albicans* 等<sup>(4)</sup>，及獲自微生物之衍生物如細菌內毒素，muramyl peptides, glucan 及 protodyne 等<sup>(5-7)</sup>，或如 PKS 及靈芝等<sup>(7-10)</sup>，曾經被用來增強宿主對來自革蘭式陽性及陰性細菌，某些病毒，黴菌及原虫類感染時的存活率，或應用於腫瘤之抑制等<sup>(11-14)</sup>。

N-Water  $\pi$  是種清徹無色透明液體，係日本日陶科學公司出品。以營養食品飲料等出現於日本市場。根據來自日本食品分析中心及日本生物化學中心，岐阜研究所(1991年6月20日)等檢驗結果認為對實驗動物無致死毒性。根據製造商之說明書之陳述該品是經超紅外線處

理之處理水，由於超紅外線處理而導致水分子的結合體變小，因而增加水之活性，容易和多種分子快速而且高度的自由結合。故若添加於飲用水則可獲適口高品質的飲用水，保持食品的新鮮度，促進植物生育，及人類身體健康之促進等。

由於 N-Water  $\pi$  具對人類身體健康之促進，此種生理機能之促進對宿主之抑制腫瘤細胞是否亦具某種程度之效果。故本文擬先就 N-Water  $\pi$  處理前後對移植 Sarcoma-180 癌細胞於 ICR 小白鼠腹腔或皮下之抑制作用加以探討，提供應用者之參考。

## 材料及方法

(1)被檢物質：係由日陶科學(株)提供透明液體之 N-Water  $\pi$ ，被檢物平時保存於室溫。

(2)試驗動物及飼育條件：試驗動物係購自台灣大學醫學院動物中心所繁殖之 ICR 小白

鼠(20~25gm)。置於溫、濕度控制之動物飼養室。溫度保持在 24~28°C 及相對濕度 60~80%，照明時間 12 小時/日。飼料係購自市販之小白鼠飼料。飲水係經 Millipore 過濾之純水。飼料及飲水(包括含各種不同濃度 N-Water  $\pi$  者)採自由給與方法。

(3) Sarcoma-180 係保存於 ICR 小白鼠腹腔者。S-180 癌細胞係以用無菌操作法採自腹水癌細胞小白鼠，由腹部取出後置於滅菌試驗管，經滅菌生理食鹽水清洗 3 次後，計算其細胞數置於 4°C 備用。

(4) 實驗方法：

(一) N-Water  $\pi$  之投與濃度包括 0.01%，0.1%，1.0% 及 5.0%(V/V)。

(二) S-180 癌細胞( $1 \times 10^6$  cells/mouse)之移植方法分為腹腔及皮下(背)移植。

(三) 予處理實驗組：係分別予先自由飲用含 0.01%，0.1% 及 1.0% 之 N-Water  $\pi$  14 日後，(A) 移植 S-180 癌細胞於小白鼠腹腔是謂腹水細胞，經時觀察其抑制作用，移植後每間隔 2 日以滅菌生理食鹽水清洗小白鼠腹腔，並計算其腹水細胞數，每組使用 5-8 隻 ICR 小白鼠，結果是以實驗組腹水細胞數和對照組(純水飲用)比較其相對值，其抑制結果以百分比表示之。

及(B)S-180 癌細胞移植於 ICR 小白鼠背部皮下，移植後第 21 日剝檢稱重觀察腫瘤大小，每組使用隻數約 6~26 隻/每組，結果以每隻平均腫瘤細胞重量表示之。

(四) 實驗治療組：各種不同濃度(0.1%，1.0% 及 5.0%)之 N-Water  $\pi$  經口投與之同時移植 S-180 癌細胞於 ICR 小白鼠之腹腔及背部皮下。其操作方法及結果之觀察如(三)予處理實驗組所示。

## 結果

N-Water  $\pi$  之濃度及 S-180 癌細胞皮下移植對小白鼠飲水量之影響其結果如表 1 所示。S-180 癌細胞移植前小白鼠對各種濃度(0.01%~1.0%)N-Water  $\pi$  之飲水量並無太大的差別。平均每隻每天飲水量 7.4ml(飲水量範圍 7.2~7.6 ml)和對照組之 7.3ml 類似。14 天內各群平均每隻攝取 N-Water  $\pi$  量分別是 0.01 ml, 0.11 ml 及 1.0 ml。當 S-180 癌細胞皮下移植後不管是予先處理組或治療組小白鼠之飲水量隨時間之遞增而減少。S-180 癌細胞移植物之予先處理組每隻平均飲水量由 6.0 ml 減少到 5.1ml, 和 N-Water  $\pi$  之量較無關聯。而和

Table 1. The Volume of Drinking Water in Mice after S-180 cells Subcutaneous Transplantation

Treatment Group(%)		S-180 Transplantation			
		Before(14 days)		After (21 days)	
		Total of N-Water $\pi$ (ml/mouse)	Vol.of drinking water (ml/day/mouse)	Total of N-Water $\pi$ (ml/mouse)	Vol.of drinking water (ml/day/mouse)
Pre	0.01	0.01	7.4	0.01	6.0(3.0~7.8) *
	0.1	0.11	7.6	0.01	5.8(3.2~7.5)
	1.0	1.00	7.2	1.05	5.1(2.8~7.1)
	0.0	-	7.3	-	6.3(2.8~7.8)
Post	0.01			0.01	6.2(2.8~7.6)
	0.1			0.10	4.9(3.1~6.1)
	1.0			1.20	5.7(3.5~8.0)
	5.0			3.36	3.2(2.1~4.3)
	0.0			-	5.1(3.2~6.3)

\* : Ranges of drinkinwater volume.

癌細胞之生長較具明顯關係。但過高含量之 N-Water  $\pi$  則有明顯的關係。如治療組中之 5% 實驗組其飲水量明顯減少。每日平均每隻 3.2ml (範圍 2.1~4.3ml)。故高量 N-Water  $\pi$  之飲水會影響實驗動物之飲水意願。

經 N-Water  $\pi$  予先投與 14 日後，對 S-180 癌細胞腹腔移植，其經時腹水細胞數之變化如表 2 所示。實驗組之結果和對照組加以比較，其抑制百分比都呈現正面的抑制結果，尤

其 0.01% 實驗組較 0.1% 及 1.0% 兩組明顯。但各實驗組移植後第 10 日抑制效果都有下降的趨勢。以抑制效果觀之，移植後第 4 日到第 6 日或第 8 日之結果最佳，然後再下降。

N-Water  $\pi$  及 S-180 癌細胞同時經口投與腹腔移植後，其腹水細胞經時變化如表 3 所示。0.1% 實驗組早期(第 2 及 4 日)，及高濃度 N-Water  $\pi$  (1.0% 及 5.0%) 兩實驗組都呈現良好的抑制作用，其中尤其是 1.0% 投與組。但仍

Table 2. Inhibition Rate of N-Water  $\pi$  Pretreated ICR Mice against Peritoneally Transplanted S-180 Cells

Time after administration(day)	Conc.of administration (%)*	Inhibition Rate#		
		0.01%	0.1%	1.0%
2nd		28.3	11.5	16.4
4th		12.3	15.6	16.1
6th		69.5	12.1	17.5
8th		56.0	10.4	7.9
10th		26.0	6.5	4.3

Each group consisted of 5-8 ICR mice.

\* : See "Materials and Methods" for both N-Water  $\pi$  administration and measurement.

# : Inhibition rate =  $(1 - \frac{\text{mean ascites cell number of tested mice}}{\text{mean ascites cell number of control mice}}) \times 100$

Table 3. Inhibition Rate against S-180 tumor cells in ICR mice Administrated N-Water  $\pi$  and Peritoneally Transplanted Tumor Cells Simultaneously

Time after administration(day) *	Conc.of administration (%)*	Inhibition Rate#		
		0.1 %	1.0%	5.0%
2nd		28.9	44.0	15.4
4th		9.7	54.0	27.5
6th		-62.5	36.0	27.6
8th		-38.7	15.8	19.3
10th		ND	18.5	14.2

Each group consisted of 5-8 ICR mice.

\* : See "Materials and Methods" for both N-Water  $\pi$  administration and measurement.

# : Inhibition rate =  $(1 - \frac{\text{mean ascites cell number of tested mice}}{\text{mean ascites cell number of control mice}}) \times 100$

Table 4. Inhibition Rate against Subcutaneously Transplanted S-180 cells in N-Water  $\pi$  Treated ICR Mice

Treatment * administration*	conc.of (%)	Mean tumor wt. (Gm)		Inhibition rate(%) *
		control (n)	Tested (n)	
Pre	0.01	3.0 ± 2.0(10)	1.6 ± 1.0(11)	46.7
	0.1	3.2 ± 1.8(25)	2.5 ± 1.4(26)	21.9
	1.0	3.3 ± 2.6(6)	3.8 ± 3.4(17)	-15.6
Post	0.01	3.0 ± 2.0(10)	3.4 ± 2.5(10)	-13.3
	0.1	3.3 ± 2.5(10)	4.5 ± 2.4(15)	-36.4
	1.0	3.3 ± 2.8(8)	5.6 ± 2.0(9)	-69.7
	5.0	3.2 ± 2.3(16)	3.7 ± 1.7(14)	-13.3

\* : See "Materials and Methods" for both N-Water  $\pi$  administration.

$$\# : \text{Inhibition rate} = \left(1 - \frac{\text{mean tumor weight of tested mice}}{\text{mean tumor weight of control mice}}\right) \times 100$$

然和予先處理組類似。腹水細胞之抑制效果，其百分比隨時間之延長而減少。

N-Water  $\pi$  對 S-180 癌細胞皮下移植抑制結果如表 4 所示。N-Water  $\pi$  予先投與 14 日之予先處理小白鼠，對 S-180 癌細胞移植 21 日後之抑制結果，呈現很大的差異性，故呈現較高之標準偏差值。但以每隻小白鼠腫瘤之平均重量加以觀察。0.01% 及 0.1% N-Water  $\pi$  予先處理組具相當優越的抑制效果，其抑制百分比分別是 46.7% 及 21.9%，但 1.0% 實驗組則呈負結果，其抑制百分比是 -15.6%。N-Water  $\pi$  及 S-180 癌細胞同時分別經口投與皮下移植後，經 21 日後腫瘤平均重量如表 4 所示。和予先處理組呈現截然不同的結果。無論是 0.01%，0.1%，1.0% 及 5.0% N-Water  $\pi$  組，對腫瘤細胞不但無抑制作用；相反的，全部呈現負面結果，似乎有促進 S-180 腫瘤細胞增殖。

### 討論

由本實驗之結果加以觀察，N-Water  $\pi$  予處理對腹腔移植之 S-180 癌細胞具抑制作用，其最適濃度是 0.01%。但 N-Water  $\pi$  及 S-180 癌細胞同時投與及移植時則應提高其投與濃度，其最適濃度是 1.0% 及 5.0%，尤其是 1.0%

實驗組更為優越。此種結果之呈現表示 N-Water  $\pi$  之投與濃度不宜過高。若須長期間之投與則以低濃度(如 0.01% 以下)較為適宜。反之，若是短期間之投與則稍為提高其投與濃度(如 1.0% 左右)其結果較佳。

以 S-180 癌細胞之皮下移植之結果加以評估，以 N-Water  $\pi$  予處理時，則仍然以低濃度如 0.01%~0.1% (即每隻小白鼠平均攝取 N-Water  $\pi$  0.02 ml 及 0.11 ml) 投與組具較優越之腫瘤抑制效果，其抑制百分比分別高達 46.7% 及 21.9%。若再提高 N-Water  $\pi$  用量(如 1.0%；每隻攝取 2.05 ml) 對腫瘤細胞不具抑制效果(抑制百分比是 -15.6%)。故其最佳抑制濃度是 0.01% 及 0.1% 之間，但任何濃度之 N-Water  $\pi$  對同時皮下移植之 S-180 癌細胞都不具抑制作用，雖然每隻小白鼠對 N-Water  $\pi$  之攝取量平均達 0.01 ml 或 3.36 ml。

故適當濃度之 N-Water  $\pi$  在特定條件下，對 S-180 癌細胞之增殖具一定的抑制作用。而 N-Water  $\pi$  較宜於早期投與，且宜做為輔助性角色加以應用。

### 參考文獻

1. Vogels MTE, Meer JWM: Use of immune

- modulators in nonspecific therapy of bacterial infections. *Agents Chemother.* 36;1-5, 1992.
2. Dubos RJ, Schaedler RW: Effects of cellular constituents of mycobacteria on the resistance of mice to heterologous infection. *J. Exp. Med.* 106:703-717, 1957.
  3. Adlam C., Broughton ES., Scott MT : Enhanced resistance of mice to infection with bacteria following pretreatment with *Corynebacterium Parvum*. *Nature (Landon) New Biol.* 235;219-222, 1972.
  4. Vecchiarelli A, Cenci E, Puliti M, et al. Protective immunity induced by low-virulence *Candida albicans* cytokine production in the development of the anti-infectious state. *Cell Immunol.* 124;334-344, 1989.
  5. Berger FM, Fukui GM, Gustafson RH, et al.: Studies on the mechanism of protodyne-induced Protection against microbial infections. *Proc Soc Exp Biol Med* 130;391-395, 1971.
  6. Cuff LE: Effects of endotoxins on susceptibility to infections. *J Infect Dis* 122;250, 1970.
  7. Williams DL, Browder IW, Diluzio NR: Immunotherapeutic modification of *Escherichia*-induced experimental peritonitis and bacteremia by glucan. *Surgery* 93: 448-454. 1983.
  8. 中野陽典, 田口鐵男: 抗腫瘤蛋白多糖體 PS-K を使用した癌の免疫化學療法。癌と化學療法; 2(1):13-20, 1976.
  9. 碓井貞仁, 浦野宗保, 小池幸子, 等: C3H マウス扁平上皮癌の轉移におよぼす Blaomycin と PS-K の影響。癌と化學療法. 3(5): 1047-1050, 1977.
  10. 安藤隆雄, 塚越茂: かわうたけ多糖體製劑, PS-K の Ehrlich 腹水癌細胞に對する suppression 活性。基礎と臨床. 9:1754-1755, 1975.
  11. 曾金章, 陳雪芬, 曾憲一: 靈芝熱水抽出物予先處理小白鼠對大腸桿菌感染之防禦能力。台灣藥學雜誌. 33;16-21, 1981.
  12. Tseng CC, Wang LF, Shang HF, et al.: Studies on physiopharmacological effect of long-term administration of *Ganoderma applanadum* to rats. *J Taiwan Pharm Assoc* 35(2):162-170, 1983.
  13. Shang HY, Tseng CC, Wu HC, et al.: Studies on the protective effects of *Ganoderma applanadum* long-term administrated rats against *Escherichia coli* exotoxin. *Bulletin of Taipei Medical College.* 14; 7-16, 1985.
  14. Tseng CC, Tseng MY, Shang HF, et al.: The Study of the effective components in *Ganoderma applanadum*. *J Taiwan Pharm Assoc* 36:96-107, 1984.

## Inhibition against Sarcoma-180 Tumor Cells in N-Water $\pi$ Treated ICR Mice

Hsin-Yi Kao, Ta-Pang Chang \* and Cheng-Chaung Tseng

### ABSTRACT

N-Water  $\pi$  is an additive of healthy food. In order to observe its antitumor activity, we investigated its anti-Sarcoma-180 ability in ICR mice. The inhibition against ascitic tumor cells were significant in the mice pretreated with 0.01% N-Water for 14 days, as well as in the mice feed with 1.0% N-Water and transplanted with Sarcoma-180 at the same time. All of the inhibition was decreased with time. However, if we transplanted the tumor cells subcutaneously, we could observe the strongest inhibition rate on the mice pretreated with 0.1% N-Water. We could not find any inhibition in the mice transplanted with tumor cells and feed N-Water at the same time.

So N-Water had some inhibition against Sarcoma-180 tumor cells at proper conditions. It will be better to feed the N-Water before tumor transplantation.