

三角帆蚌多糖抑瘤作用的实验研究

胡健饶^{1,2},曹明富²(¹.浙江大学生命科学学院,浙江 杭州 310027;².杭州师范学院生命科学学院,浙江 杭州 310036)

摘要:目的 研究三角帆蚌多糖的抗肿瘤活性。方法 给荷 HepA 腹水瘤小鼠胃饲三角帆蚌多糖(每日剂量 50,250 和 500 mg/kg) 8d,检测抑瘤率、胸腺指数和脾指数;采用³H-TdR 掺入法,检测三角帆蚌多糖对 HepA 腹水瘤细胞 DNA 合成的影响。结果 在上述三种试验剂量,三角帆蚌多糖对小鼠 HepA 腹水瘤的抑制率分别为 34.9%、48.6%和 51.0%;与对照组比较,试验组的胸腺指数分别提高 55.6%、61.1%和 77.8%,脾指数分别提高 8.2%、12.3%和 16.3%;在离体细胞培养试验中仅高浓度组(1 000 μg/mL)三角帆蚌多糖对 HepA 瘤细胞 DNA 合成和细胞增殖有显著的抑制作用($P < 0.05$)。结论 三角帆蚌多糖有一定的抗肿瘤活性,其作用机制可能与增强胸腺免疫功能有关。

关键词:三角帆蚌;多糖;HepA 腹水;抑瘤作用;免疫功能

中图分类号:R931.77 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2003)01-0011-03

Inhibitive effects of polysacchride from *Hyriopsis cumingii* on tumor proliferation:An experimental study

HU Jian-ran^{1,2}, CAO Ming-fu²(*School of Life Sciences, Hangzhou Teachers College, Hangzhou 310036, China*)

ABSTRACT:OBJECTIVE To study the inhibitive effects of polysaccharide from *Hyriopsis cumingii*(HCP) on HepA(Hepa tuma) tumor proliferation. **METHOD** Three groups of mice bearing HepA were treated with the HCP(at dose of 50,250,500 mg/kg per day, respectively) by ig for 8 days, and the tumor growth rate, the thymus gland index and the spleen index were measured. In another experiment, the HepA cells cultured in medium containing the HCP(250,500 and 1000 μg/mL) and ³H-TdR to test the inhibitive effect of HCP on DNA synthesis of HepA cells were detected. **RESULTS** In the mice treated with HCP of the doses mentioned above, the tumor growth was inhibited by 34.9%,48.6%,51.1%, with the thymus gland index enhanced by was 55.6%, 61.1%and 77.8%,and the spleen index increased by 8.2%,12.3% and 16.3%, compared with respective control. In the in vitro experiment, at a dose of 1 000 μg/mL, the HCP significantly suppressed the DNA synthesis in cultured HepA cells. **CONCLUSION** The HCP inhibited the proliferation of HepA tumor. The mechanism for the anticarcinogenic effect was related to the up regulating the immunologic function of thymus gland.

KEY WORDS:Hyriopsis cumingii; polysaccharides; Hepa tuma(HepA); antitumor effect; immunologic function

从天然产物中寻找新的防癌抗癌剂,控制和减少肿瘤的发生,是当今国际上关注和研究的新动向。从 20 世纪 60 年代以来,美国国立癌症研究所已经对 4 万余种动植物进行了

大规模的筛选,确认这比单纯从化学合成途径寻找新抗癌药更为经济 and 有效。目前,国外对从生物中寻找新的抗肿瘤药物仍表现出极高的热情;在已知的具有抗肿瘤的活性成分

作者简介:胡健饶,1995 年毕业于杭州大学生命科学学院,现为杭州师范学院生命科学学院讲师,浙江大学生命科学学院在职博士生。

中,多糖是很重要的一类,它的多方面的功能正在被人们逐渐发现,多糖的研究已给近代肿瘤治疗开辟了新方向,世界各国,尤其是日本、美国在这方面进行了大量的研究,国内对花刺参多糖、灵芝多糖和虫草多糖等的研究也取得了较大进展^[1-3]。

三角帆蚌多糖(Polysacchride of *Hyriopsis cumingii*,简称HCP)是贝类中的主要活性成分之一,而目前国内外有关HCP的实验研究笔者尚未见报道。为探讨HCP的抗肿瘤及调节机体功能等作用,本研究采用由实验室从三角帆蚌中提取的多糖,进行体内外抗肿瘤试验及免疫功能测定。

1 材料

HCP:实验室自行提取,灰白色粉末,总糖含量88%。

实验动物:ICR小鼠,由浙江省医学科学院动物中心提供,体重20±1g,雄性,鼠龄7~8wk。

肿瘤模型:Hepa tuma(HepA),由浙江省中医药研究院肿瘤研究所提供,按移植性实验肿瘤研究常规方法给供试小鼠接种。

³H-TdR:中科院上海原子核研究所出品,比放射比度为43.3居里/毫克分子,实验时,用RPMI1640液稀释成1微居里/毫升。

2 抑瘤活性试验

2.1 在体抑瘤试验

取HepA细胞悬液调整浓度为1×10⁶个细胞/mL,接种于小鼠腹腔内,每鼠0.2mL。24h后随机分组,每组10只;分设1个对照组和3个HCP给药组(I、II和III),给药组I、II和III组分别ig50、250和500mg/(kg·d)剂量的HCP,对照组ig等体积(0.2mL)生理盐水,连续给药8d。停药24h后用颈椎脱臼法处死小鼠,称体重,剖腹,测出腹水瘤重量和瘤细胞总数。并称胸腺和脾的湿重,计算胸腺指数和脾指数。

2.2 体外抑瘤试验

瘤细胞用培养液制成1×10⁶细胞/mL的悬液,接种在96孔培养板上,每孔接200μL细胞液,实验设1个对照组,3个给药组,每组重复10孔,给药组分别加入终浓度为1000、500和250μg/mL的HCP,对照组加同体积的RPMI1640液,各孔再加37kBq/mL的³H-TdR液20ul后,置37℃5%CO₂细胞培养箱培养4h,将细胞收集于醋酸纤维滤纸上,自然干燥后,把滤纸置于5%PPO的甲苯溶液中,LKBRI4液体闪烁计数器测定细胞内的³H-TdR掺入量,以每分钟脉冲数(cpm)表示。

3 结果与分析

3.1 HCP对小鼠腹水瘤增殖的抑制作用

HepA小鼠igHCP,对腹水型肿瘤HepA的增殖具明显的抑制作用,并表现出明显的剂量效应。以高剂量组[500mg/(kg·d)]对HepA的抑制率最明显。与HepA鼠对照组比较,均表现极显著性差异(P<0.01)。见表1。

表1 HCP对小鼠HepA型腹水瘤生长的抑制作用(n=8)

Tab 1 Inhibitive effect of HCP on the growth of mice bearing HepA tumor (n=8)

组别	HCP 剂量 (mg/kg)	腹水重量 (g)	抑制率 (%)
对照组	0	6.25±0.70	-
I	50	4.07±0.76 ²⁾	34.9
II	250	3.21±0.76 ²⁾	48.6
III	500	3.06±0.77 ²⁾	51.0

注:与对照组相比,²⁾P<0.01

Note: Compared with control group, ²⁾P<0.01

对HepA细胞数测定结果(表2)也表明:3个剂量的HCP试验组对HepA瘤细胞增殖均具有明显的抑制作用,其中,250和500mg/(kg·d)二个剂量HCP给药组与HepA鼠对照组比较均差异显著。见表2。

表2 HCP对HepA型腹水瘤细胞增殖的抑制作用(n=8)

Tab 2 Inhibitive effect of HCP on the proliferation of HepA tumor cells (n=8)

组别	HCP 剂量 mg/(kg·d)	瘤细胞总数 (×10 ⁸ cells)	抑制率 (%)
对照组	0	12.65±4.22	-
I	50	12.27±3.78	3.0
II	250	7.85±1.43 ¹⁾	37.9
III	500	6.86±1.82 ²⁾	45.8

注:与对照组相比,¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01

Note: Compared with control group, ¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01

3.2 HCP对荷瘤小鼠免疫器官重量的影响

小鼠荷瘤后,免疫器官逐渐萎缩,淋巴细胞减少。当HepA小鼠igHCP后,可使免疫器官萎缩迟缓或减轻。HepA鼠ig50、250和500mg/(kg·d)HCP8d后,其胸腺指数与对照组比较分别提高55.6%、61.6%和77.8%;脾指数也分别提高8.2%、12.3%和16.3%,这表明HCP具有促进免疫细胞增殖的作用。见表3。

表3 HCP对荷HepA型腹水瘤小鼠免疫器官重量的影响(n=8)

Tab 3 Effect of HCP on the weight of thymus and spleen of bearing HepA tumor mice (n=8)

组别	HCP 剂量 mg/(kg·d)	相对重量(mg/10g体重) 胸腺指数 脾指数
对照组	0	7.09±1.95 49.61±6.47
I	50	13.97±2.30 ²⁾ 52.87±4.83
II	250	14.47±1.38 ²⁾ 55.18±3.70
III	500	20.09±4.10 ²⁾ 57.17±5.34 ¹⁾

注:与对照组相比,¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01

Note: Compared with control group, ¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01

3.3 HCP对HepA瘤细胞DNA合成的抑制作用

细胞在分裂过程中,随着DNA复制量的增加,DNA合成的前提物-胸腺嘧啶核苷(TdR)在细胞内的掺入量就增高。用同位素³H标记的TdR掺入细胞内的数量,可以反映DNA

的合成速率和数量,也间接反映了细胞的增殖能力和增殖量。离体培养的 HepA 瘤细胞各实验组的³H-TdR 掺入量可反映肿瘤细胞 DNA 生物合成被 HCP 抑制的程度。见表 4。

表 4 HCP 对培养 HepA 瘤细胞的³H-TdR 掺入量的影响(*n* = 10)

Tab 4 Effect of HCP on ³H-TdR dosage in the cultured HepA tumor cells (*n* = 10)

组 别	HCP 浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	cpm	抑制率 (%)
对照组	0	10088 $\pm$ 1564	-
I	250	10181 $\pm$ 1872	- 0.9
II	500	8778 $\pm$ 1911	13.0
III	1000	3581 $\pm$ 389 ²⁾	64.5

注:与对照组相比,²⁾ *P* < 0.01

Note: Compared with control group, ²⁾ *P* < 0.01

结果显示:中、低剂量组对小鼠 HepA 腹水瘤细胞增殖的抑制作用与对照组比较无显著性差异,甚至低剂量的 HCP 对瘤细胞的增殖有一定程度的促进作用。仅高剂量的 HCP (1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)对 HepA 细胞的增殖有明显的抑制作用,说明 HCP 对肿瘤细胞几乎无直接的杀伤能力。

4 讨论

从三角帆蚌中提取的贝类多糖——HCP 进行小鼠体内外抑制试验。结果显示:HCP 对 HepA 癌细胞的增殖具有明显的抑制作用,HCP 也能延缓 HepA 鼠胸腺、脾脏的萎缩。用³H-TdR 掺入法体外培养 HepA 细胞测定 HCP 细胞毒作用的结果也显示 HCP 对 HepA 瘤细胞 DNA 合成具有抑制作用,但仅高剂量组(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与对照组比较才有显著性差异。从实验结果可以看出 HCP 的抑瘤作用主要是通过调节或增强宿主的免疫功能来发挥作用的。正如顾净等^[4]所报道的蘑菇多糖一样,HCP 可能具有免疫激活作用,可抑制癌转移;同时又可能是一种免疫佐剂,随着担负免疫机能的协助 T 细胞与杀伤 T 细胞的活化,将会诱导出干扰素、白细胞干涉素等免疫信息传递蛋白。T 淋巴细胞是具有免疫潜能的细胞,它主要参与机体的细胞免疫反应。辅助的 T 淋巴细

胞主要有协助 B 淋巴细胞产生抗体作用,也可协同 T 杀伤细胞和巨噬细胞发挥免疫功能。陈力真等^[5]在用地黄多糖(RPS-b)进行抑瘤实验时发现,RPS-b 能较快地使荷瘤小鼠脾脏的 T 淋巴细胞增殖能力提高且较长时间维持在较高水平,并在第 9d 看到瘤块生长受到明显抑制,反映了 RPS-b 发挥抑瘤作用是与其调动和增强 T 淋巴细胞的功能密切相关。因为其 T_H 或 CTL 亚群的增殖可提高对肿瘤的杀伤效益,T_S 亚群的增殖则可抑制肿瘤免疫反应^[6]。尽管,关于动物多糖抗肿瘤机制的实验研究尚未见报道,可以推测其发挥药用的主要途径是增强机体免疫功能,这是目前公认的多糖抗肿瘤作用的主要机制之一^[7,8]。

当然,HCP 发挥其抑 HepA 瘤作用还可能通过其他途径,这尚待作进一步的深入研究。

参考文献

[1] 陈菊娣,樊绘曾,邢蕊凝,等.花刺参酸性多糖的分离研究[J].中国海洋药物杂志,1994,49(1):24.

[2] 张群豪,林志彬.灵芝多糖(GL-B)对肿瘤坏死因子 α 和 γ 干扰素产生及其 mRAN 表达的影响[J].中国医科大学学报,1999,31(2):179.

[3] 龚晓健,季晖,卢顺高,等.人工虫草多糖对小鼠免疫功能的影响[J].中国药科大学学报,2000,31(1):53.

[4] 顾净,窦肇华,张红,等.蘑菇水提液对小鼠外周淋巴细胞的影响[J].食用菌,1993,6:43.

[5] 陈力真,冯杏婉,周金黄,等.地黄多糖 b 的免疫抑瘤作用及其机理[J].中国药理学与毒理学杂志,1993,7(2):153.

[6] 彭俊平,冯燮林,刘光中,等.香菇多糖对肿瘤患者围手术期外周血 T 细胞亚群的影响[J].中国实验临床免疫学杂志,1997,9(1):28.

[7] 曹锦花,李华.多糖免疫调节作用的研究进展[J].中国生化药物杂志,1999,20(2):104.

[8] 周永.多糖类抗肿瘤作用的研究进展[J].国外医学卫生学分册,2001,28(3):129.