

# 马氏珠母贝糖胺聚糖体外抑制 HL-60 肿瘤细胞作用的初步观察

凌霄<sup>1</sup>, 陈传<sup>2</sup>, 艾春媚<sup>3</sup> (1. 广东医学院第二附属医院药剂科, 广东 湛江 524003; 2. 广东医学院病原生物学实验室, 广东 湛江 524023; 3. 广东天然药物研究与开发实验室, 广东 湛江 524023)

**摘要:**目的 探讨马氏珠母贝全脏器为原料提取的糖胺聚糖抗肿瘤的活性。方法 用台盼蓝染色作活细胞计数, 计算出药物对细胞的生长抑制率, 观察马氏珠母贝糖胺聚糖对人白血病细胞株 HL-60 细胞的影响。结果 马氏珠母贝糖胺聚糖在  $0.031 \sim 2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的不同浓度时, 对 HL-60 细胞都有不同的抑制作用。且与 5-氟脲嘧啶 (5-Fu) 合用, 具有协同作用。结论 马氏珠母贝全脏器提取物糖胺聚糖对 HL-60 细胞具有明显的抑制作用。

**关键词:** 马氏珠母贝; 糖胺聚糖; 抗肿瘤作用

中图分类号: R973.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2006)08-0737-02

## Antitumor effect of glycosaminoglycan extract from *princtade martensi* in vitro

LING Xiao, et al (Department of Medicament, The Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524003, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study antitumor activity of the glycosaminoglycan extract from *princtade martensi* in vitro. **METHODS** We tested the inhibitive of the glycosaminoglycan on HL-60 cell line by using trypan blue cell counting. **RESULTS** The glycosaminoglycan had inhibition on the proliferation of HL-60 cell line from 0.031 to 2.01g/L and increased the antitumor effect of 5-Fu. **CONCLUSION** The glycosaminoglycan extract from *princtade martensi* markedly inhibits on HL-60 proliferating.

**KEY WORDS:** *Pinctada martensii*; Glycosaminoglycan extract; antitumor

珠母贝糖胺聚糖是从马氏珠母贝取珠后的全脏器中提取出的具有药理活性的成分。有文献报道具有抗凝血抗衰老等作用<sup>[1,2]</sup>。本实验主要观察珠母贝糖胺聚糖对体外培养的 HL-60 细胞的影响, 以探讨马氏珠母贝糖胺聚糖抗肿瘤的活性, 为合理开发应用珠母贝提供依据。

### 1 材料、试剂及仪器

#### 1.1 实验材料

珠母贝糖胺聚糖由湛江海洋大学水产深加工系提供。以马氏珠母贝全脏器为原料, 经丙酮脱脂、双酶水解(胃酶和枯草杆菌中性蛋白水解酶)、脱色醇沉, 干燥后按参考文献<sup>[3]</sup>纯化所得, 其结构和纯度参见文献<sup>[1]</sup>。实验时用三蒸水溶解。实验设珠母贝糖胺聚糖  $0.031, 0.062, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  7 个浓度组; 5-Fu  $0.005, 0.025 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  两个浓度组; 5-Fu  $0.005 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 珠母贝糖胺聚糖  $0.125, 0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  两个浓度组及空白对照组, 共 12 组。

#### 1.2 试剂及仪器

1640 培养基(Gibco 公司); 小牛血清(杭州四季清公司); 台盼蓝(上海化学试剂厂);  $\text{CO}_2$  培养基(美国 NAP-CO); 倒置显微镜(四川成都仪器厂); 5-Fu(Sigma 公司)。

#### 1.3 细胞系及培养条件

HL-60 细胞由中山大学医学院肿瘤研究所提供, 本实验室传代培养。培养条件为含 10% 小牛血清的 1640 培养基(含  $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$  青霉素、 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  链霉素)置  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养。每 2 天换液一次。

### 2 实验方法

将对数生长期的 HL-60 细胞调整细胞悬液的浓度为  $5 \times 10^4$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ , 以每孔  $450 \mu\text{L}$  接种到 24 孔培养板中, 同时加入各浓度的实验药物  $50 \mu\text{L}$ , 对照组加入等量的三蒸水, 每组设 4 个平行孔, 置  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养。24h 后, 每孔加台盼蓝染液  $200 \mu\text{L}$ , 吹打均匀后取  $100 \mu\text{L}$  滴于计数板上, 计数活细胞, 用下列公式计算抑瘤率。

$$\text{肿瘤抑瘤率} = \frac{\text{对照组活细胞数} - \text{实验组活细胞数}}{\text{对照组活细胞数}} \times 100\%$$

3 结果

实验结果表明,珠母贝糖胺聚糖各浓度组作用 HL-60 细胞 24h 都有不同程度的抑制作用。且与 5-Fu 合用具有明显的增效作用。见表 1。

表1 珠母贝糖胺聚糖对 HL-60 细胞的抑制作用(  $n=4, \bar{x} \pm s$  )

| 组别( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 24h( $\times 10^4$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 抑瘤率(%)) |      |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------|------|
| 对照组                                  | 17.0 $\pm$ 4.5                                      |      |
| 糖胺聚糖 0.031                           | 13.4 $\pm$ 3.4                                      | 21.0 |
| 糖胺聚糖 0.062                           | 12.7 $\pm$ 2.6                                      | 25.5 |
| 糖胺聚糖 0.125                           | 11.1 $\pm$ 4.0                                      | 34.8 |
| 糖胺聚糖 0.25                            | 10.9 $\pm$ 2.9                                      | 35.8 |
| 糖胺聚糖 0.5                             | 9.3 $\pm$ 1.9                                       | 45.0 |
| 糖胺聚糖 1.0                             | 8.7 $\pm$ 2.5                                       | 49.0 |
| 糖胺聚糖 2.0                             | 5.8 $\pm$ 2.1                                       | 65.7 |
| 5-Fu 0.005                           | 12.7 $\pm$ 3.5                                      | 25.5 |
| 5-Fu 0.025                           | 7.8 $\pm$ 2.3                                       | 54.0 |
| 5-Fu 0.005 + 糖胺聚糖 0.125              | 7.8 $\pm$ 2.9                                       | 54.0 |
| 5-Fu 0.005 + 糖胺聚糖 0.5                | 6.6 $\pm$ 3.4                                       | 61.3 |

4 结论

本实验表明,珠母贝糖胺聚糖在 0.031 ~ 2.0g  $\cdot \text{L}^{-1}$  剂量

范围内对体外培养的 HL-60 细胞的生长都有一定的抑制作用,并有一定的量效关系。且与 5-Fu 合用时具有协同作用(见表 1),当 5-Fu 0.005g  $\cdot \text{L}^{-1}$ 、珠母贝糖胺聚糖 0.125g  $\cdot \text{L}^{-1}$ 、0.5g  $\cdot \text{L}^{-1}$  单用时抑瘤率分别为 25.5%、34.8% 和 45.0%,而 5-Fu 0.005g  $\cdot \text{L}^{-1}$  与珠母贝糖胺聚糖 0.125g  $\cdot \text{L}^{-1}$ 、0.5g  $\cdot \text{L}^{-1}$  合用时分别提高到 54.0% 和 61.3%。近年来,由于分子生物学的发展,人们逐渐认识到糖及其复合物分子具有极其重要的生物功能,它与免疫功能的调节、细胞与细胞的识别、细胞间物质的运输、癌症的诊断与治疗都有着密切的关系。相信随着进一步的研究,马氏珠母贝全脏器提取物糖胺聚糖有可能被开发成防治肿瘤的新药。

参考文献

[1] 吴红棉,雷晓清,洪鹏志,等.珠母贝糖胺聚糖的结构初探及其生理活性[J].水产学报,2001,25(2):66-170.

[2] 李永华,吴馥梅.珍珠贝提取液抗衰作用的动物实验[J].广西科学院学报,2002,18(1):22-25.

[3] 王长云,管华诗.扇贝边中酸性粘多糖的提取和纯化方法研究[J].青岛海洋大学学报,1995:209.

收稿日期:2005-10-14