

半叶马尾藻多糖体内抗肿瘤作用及其机制探讨

刘秋英,孟庆勇(广东医学院分析中心, 广东 湛江 524023)

摘要:目的 研究半叶马尾藻(SC)多糖体内抗肿瘤作用及其机制。方法 观察 SC 多糖对 S180 小鼠瘤质(重)量、胸腺等免疫器官的影响及分别测定小鼠血清中超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX),丙二醛(MDA)的活性。结果 SP 可明显抑制 S180 小鼠瘤体的生长,腹腔注射 SC150 mg/kg·b.w.,连续注射 10 d,可使肿瘤抑制率达 63.52%;小鼠血清中 SOD、GSH-PX 的活性分别由(350.76±31.34)NU/ml,(299.36±43.63)U 增加到(487.76±16.67)NU/ml($P<0.01$),(370.90±16.49)U($P<0.01$);MDA 由(9.46±1.77)nmol/ml 降至(7.26±1.18) nmol/ml($P<0.05$)。结论 SC 多糖可通过提高机体免疫功能和抗氧化能力从而抑制肿瘤的生长。

关键词:半叶马尾藻多糖;抗肿瘤作用;抗氧化作用;超氧化物歧化酶;谷胱甘肽过氧化物酶;丙二醛

中图分类号:R282.77 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-2588(2004)04-0434-03

In vivo anti-tumor effect of polysaccharide from *Sargassum confusum* and the mechanisms

LIU Qiu-ying, MENG Qing-yong

Analytical Center, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China

Abstract: Objective To study the anti-tumor effects of polysaccharide from *Sargassum confusum* in mice and explore the possible mechanisms. **Methods** Forty-five mice bearing transplanted tumor S180 were used to study the effects of polysaccharide on the tumor weight, thymus gland and spleen. The changes in serum contents of SOD, glutathione peroxidase (GSH-PX) activity and malondialdehyde (MDA) content were assayed. **Results** The polysaccharide from *Sargassum confusum* significantly inhibited the growth of S180 tumor in mice and enhanced the functions of the immune organs. SOD content and GSH-PX activity were significantly increased from 350.76±31.34 NU/ml, 299.36±43.63 U to 487.76±16.67 NU/ml,370.90±16.49 U($P<0.01$), MDA content decreased from 9.46±1.77 nmol/ml to 7.26±1.18 nmol/ml in the serum after polysaccharide treatment. **Conclusion** The anti-tumor effect of the polysaccharide from *Sargassum confusum* can be attributed to improve functions of the immune organs and enhance anti-oxidative capacity in tumor-bearing mice.

Key words: polysaccharide, *Sargassum confusum*; anti-tumor; anti-oxidation; SOD; glutathione peroxidase; malondialdehyde

目前,肿瘤的发生尚未从根本上得到控制,仍是一种令人最为困惑和危害人类最多的疾病。临床上采用放疗、化疗毒副作用大,严重影响病人的身心健康。而天然药物中的多糖成分作为一种免疫增强剂,具有抗肿瘤作用,且毒副作用小,受到研究者的青睐。海藻多糖属于植物多糖中的一种,具有抗病毒、抗肿瘤、抗凝血等多种功效^[1-3]。因其毒副作用小、来源广、产量高,在生命科学领域中,海藻多糖的重要性和药用潜力正展现出巨大的诱人前景。本研究主要对采自湛江硇洲岛的半叶马尾藻 (*Sargassum confusum*, SC) 多糖,在体外抑瘤作用筛选的基础上,采用体内方法对其抗肿瘤作用和机制进行研究。

1 实验材料

1.1 药物 SC

收稿日期:2003-11-25

基金项目:广东省湛江市科技攻关项目(Y200106)

This study is a Key Science Research Project of Zhanjiang, Guangdong Province of China(Y200106)

作者简介:刘秋英(1973-),女,广东医学院分析中心在读硕士研究生,电话:0759-2388591;E-mail:liuqy2001@sohu.com

SC 多糖热水提取物经乙醇、乙醚、丙酮、氯仿分级沉淀干燥获得,红外光谱分析为含 β-糖苷键型的硫酸酯化多糖,气相色谱初步鉴定为以 D-木糖和 D-半乳糖为主的混合性多糖;5-氟尿嘧啶(5-FU)为上海旭东海普药业有限公司提供,批号:013013;超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX),丙二醛(malondialdehyde, MDA)测试盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 动物

清洁级昆明小鼠,雌雄各半,质量 20±2 g,广东医学院实验动物中心提供。

1.3 瘤株

S180 为本院药理教研室传代接种。

2 实验方法

2.1 小鼠肿瘤模型的建立

将接种后 7 d 肿瘤生长良好的动物,颈椎脱臼处死,置 75%的酒精浸泡 5 min 消毒,一次性注射针头穿过腹部肌肉,抽吸乳白色的浓稠腹水,1:4 的无菌生理盐水稀释,锥虫蓝染色并计数,活细胞数为 98%以

上可用,冰上保存。超净工作台接种于小鼠右腋窝皮下,0.2 ml/只,30 min 内接种完成。

2.2 小鼠分组及给药

次日按质量随机分成 5 组,每组 9 只。对照组给等量生理盐水;5-FU 组 (25 mg/kg·b.w.);SC 高浓度组 (150 mg/kg·b.w.);SC 低浓度组 (75 mg/kg·b.w.);5-FU(25 mg/kg·b.w.)+SC 低浓度组 (75 mg/kg·b.w.) 组,均为腹腔注射,严格消毒。每天固定时间段给药一次并记录小鼠的活动情况,连续 10 d,末次给药后 24 h 称质量,眼球摘除放血法处死小鼠。

2.3 疗效总体评价

分别称取各组小鼠瘤质量及胸腺、脾脏、肝脏等免疫器官的质量,并计算其抑瘤率和胸腺、脾脏指数。

2.4 SC 多糖的抗氧化酶活性测定

眼球采血,留取血清,均采用南京建成提供的试剂盒,用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD、二硫代二硝基苯甲酸法测定 GSH-PX、硫代巴比妥酸法测定 MDA。按

每 ml 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位 (NU),计算血清 SOD 活力;规定每 0.1 ml 血清在 37 °C 反应 5 min,扣除非酶促反应作用,使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μmol/L 为一个酶活力单位,计算血清 GSH-PX 酶活力。

2.5 数据统计

以上数据均采用 SPSS10.0 for Windows 统计软件包完成,Bonferroni 或 Tamhane T_2 检验。

3 实验结果

3.1 小鼠活动情况观察记录

5-FU 组小鼠进食量较模型组小鼠明显减少,毛发干枯、蓬松,且伴有一定程度的腹泻,体质消瘦,活动迟缓。5-FU+ 低浓度 SC 组小鼠症状有所缓解。半 SC 高、低浓度组小鼠除进食量稍有减少外,其它均无异常(表 1)。

表 1 半叶马尾藻多糖对小鼠移植性肉瘤 S180 的抑制作用 (n=9, $\bar{x}\pm s$)

Tab.1 Inhibitory effects of polysaccharide from *Sargassum confusum* on transplanted sarcoma 180 on mice (n=9, Mean±SD)

Group	Change of body weight (g)	Tumor weight (g)	IR (%)	Index of the thymus (mg/10 g)	Index of the spleen (mg/10 g)	Weight of liver (g)
Control	10.10±0.98 [#]	1.793±0.229 [#]	-	37.24±9.43 [#]	63.68±5.26 [#]	2.05±0.29 [#]
5-FU	3.90±0.25 ^{**}	0.560±0.161 ^{**}	68.77	15.37±3.13 [*]	36.57±2.44 ^{**}	1.49±0.27 [*]
SC(150 mg/kg)	5.8 ±0.46 ^{**#}	0.654±0.171 ^{**}	63.52	55.95±12.04 ^{**#}	102.69±5.65 ^{**#}	1.92±0.31 [#]
SC(75 mg/kg)	8.90±0.87 ^{**#}	1.245±0.369 ^{**}	30.56	42.16±9.17 [#]	91.22±7.16 ^{**#}	2.32±0.26 [#]
5-FU+SC(75 mg/kg)	4.20±0.44 ^{**#}	0.271±0.105 ^{**#}	84.89	19.37±2.87 [*]	118.01±6.32 ^{**#}	2.03±0.37 [#]

*P<0.05, **P<0.01 vs control group; [#]P<0.05, [#]#P<0.01 vs 5-FU group. IR: Tumor inhibition rate

3.2 疗效总体评价

SC 多糖能明显抑制 S180 小鼠瘤体的生长,高浓度组抑瘤率达 63.25%,与 5-FU 组相当。SC 低浓度组与 5-FU 配伍组不仅能提高 5-FU 抑瘤率,而且大大减轻 5-FU 的毒副作用。与此同时,SC 各处理组小鼠其肝、脾、胸腺指数均有不同程度的提高,与模型组和 5-FU 组比较差异非常显著。

3.3 SC 的抗氧化酶活性测定

实验结果显示,SC 高浓度组小鼠血清 SOD、GSH-PX 明显增加,MDA 值明显减少,较之模型组和 5-FU 组有差异非常显著。SC 低浓度组及其与 5-FU 配伍组也有不同程度的升高 SOD、GSH-PX,降低 MDA,分别与模型组和 5-FU 组比较差异显著(表 2)。

表 2 半叶马尾藻多糖对小鼠移植性肉瘤 S180 氧自由基的影响 (n=9, $\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Anti-oxidative effects of polysaccharide from *Sargassum confusum* on mice bearing sarcoma 180 (n=9, Mean±SD)

Group	SOD(NU/ml)	GSH-PX(NU/ml)	MDA(nmol/ml)
Control	350.76±31.34 [#]	299.36±43.63	9.46±1.77
5-FU	405.48±37.13 ^{**}	303.87±65.29	9.33±1.37 [*]
SC(150 mg/kg·b.w.)	487.76±16.67 ^{**#}	370.90±16.49 ^{**}	7.26±1.18 ^{**}
SC(75 mg/kg·b.w.)	371.72±23.14	368.55±32.81 [*]	7.48±1.34 [*]
5-FU+SC(75 mg/kg·b.w.)	363.97±45.56	376.09±44.70 [*]	7.28±1.14 ^{**}

*P<0.05, **P<0.01 vs control group; [#]P<0.05, [#]#P<0.01 vs 5-FU group. IR: Tumor inhibition rate

GSH-PX:Glutathione peroxidase; MDA: Malondialdehyde

4 讨论

海藻多糖作为免疫调节剂已被国内外大多数学者所认可^[4,5],其抗肿瘤作用主要是通过激活免疫细胞、提高机体免疫力,从而达到有效控制癌细胞的增殖。我们从实验中发现,SC 高、低浓度组及配伍组均可不同程度的升高胸腺、脾脏指数,同时肝脏的解毒功能也得到进一步的加强。而与之对照的阳性组 5-FU 对机体的免疫器官抑制作用却很大,且动物的一般状况如进食量、毛发的光泽度、动物的行为状态等明显差于 SC 组。这种实验结果的差异尚需进一步探讨。

自由基的研究属于新兴的亚分子生物学范畴,机体内自由基的含量与肿瘤的关系非常密切^[6,7]。SOD 和 GSH-PX 是体内重要的抗氧化酶,可使超氧阴离子 O_2^- 、 H_2O_2 及脂质过氧化物等毒性自由基变成低毒性物质,这对保护机体免受自由基的伤害很重要。SOD 和 GSH-PX 同时升高,将更有助于细胞清除活性氧损伤的能力^[8]。MDA 是细胞膜脂质过氧化物的终产物,且本身也可交联蛋白质、磷脂上的氨基,使细胞脆性增加、变形性降低,导致细胞膜损伤。最近几年的研究表明海藻多糖具有较高的抗氧化能力,鼠尾藻多糖能有效的清除活性氧自由基^[9],浒苔多糖能提高 SOD 活力及降低 LPO 的含量^[10]。本实验所研究的 SC 多糖表现出较高的自由基清除活性,明显增加小鼠血清中 SOD、GSH-PX 的活性,降低小鼠血清中 MDA 的含量,其效果强于 5-FU,且有一定的剂量关系。

由此可见,SC 不仅具有抗肿瘤作用,而且还可以大大提高 5-FU 的抑瘤率,减轻其毒副作用。其作用机制可能是通过提高机体免疫力和抗氧化、抗自由基功能两条途径,但其确切机制与抗肿瘤作用之间更深层的关系,尤其是与 5-FU 的协同配伍作用尚有进一步研究。

参考文献:

- [1] Pujol CA, Coto CE, Damonte EB. Determination of the antiviral activity of a naturally occurring sulfated xylomannan under various experimental conditions[J]. Rev Argent Microbiol, 1995, 27(2): 91-8.
- [2] Yamamoto I, Takahashi M, Suzuki T, et al. Antitumor effect of seaweeds. IV. Enhancement of antitumor activity by sulfation of a crude fucoidan fraction from *Sargassum kjellmanianum* [J]. Jpn J Exp Med, 1984, 54(4): 143-51.
- [3] Nishino T, Fukuda A, Nagumo T, et al. Inhibition of the generation of thrombin and factor Xa by a fucoidan from the brown seaweed *Ecklonia kurome* [J]. Thromb Res, 1999, 96(1): 37-49.
- [4] Itoh H, Noda H, Amano H, et al. Antitumor activity and immunological properties of marine algal polysaccharides, especially fucoidan, prepared from *Sargassum thunbergii* of Phaeophyceae [J]. Anticancer Res, 1993, 13(6A): 2045-52.
- [5] Shan BE, Yoshida Y, Kuroda E, et al. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes *in vitro* [J]. Int J Immunopharmacol, 1999, 21(1): 59-70.
- [6] Begin ME, Eells G, Horrobin DF. Polyunsaturated fatty acid-induced cytotoxicity against tumor cells and its relationship to lipid peroxidation[J]. J Natl Cancer Inst, 1988, 80(5): 188-202.
- [7] Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanisms in carcinogenesis [J]. Br Med Bull, 1993, 49(3): 523-45.
- [8] 庞战军,周 玫,陈 瓌.云芝多糖对小鼠腹腔巨噬细胞 NO 释放及抗氧化酶活性的影响[J].第一军医大学学报,1997,17(2): 115-7.
- [9] Pang ZJ, Zhou M, Chen Y. Effect of polysaccharide krestin on no production and antioxidative enzyme activity in mouse peritoneal macrophages [J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 1997, 17(2): 115-7.
- [10] Zhang EX, Yu LJ. Studies on polysaccharide from *Sargassum thunbergii* for its ability to scavenge active oxygen radicals [J]. Chin J Mar Drugs, 1997, 17(3): 1-4.
- [11] 周慧萍,蒋巡天,王淑如,等.浒苔多糖的降血脂及其对 SOD 活力和 LPO 含量的影响[J].生物化学杂志,1995,11(2): 161-5.
- [12] Zhou HP, Jiang XT, Wang SR, et al. Effect of polysaccharide from *Enteromorpha prolifera* on lipemia, SOD activity and LPO content [J]. Chin Biochem J, 1995, 11(2): 161-5.
- [13] Volders PG, Kulcsar A, Vos MA. Similarities between early and delayed afterdepolarizations induced by isoproterenol in canine ventricular myocytes[J]. Cardiovasc Res, 1997, 34(2):1136-47.
- [14] Sipido KR. Local Ca^{2+} release in heart failure: timing is important [J]. Circ Res, 2000, 87(11): 966-8.
- [15] Pieske B, Maier LS, Bers DM, et al. Ca^{2+} handling and SR Ca^{2+} content in isolated failing and nonfailing human myocardium[J]. Circ Res, 1999, 85(1): 38-46.
- [16] Schillinger W, Janssen PM, Emami S, et al. Impaired contractile performance of cultured rabbit ventricular myocytes after adenoviral gene transfer of Na^+/Ca^{2+} exchanger[J]. Circ Res, 2000, 87(7): 581-7.

(上接 433 页)

- [10] Pogwizd SM, Mckenzie JP, Cain ME. Mechanisms underlying spontaneous and induced ventricular arrhythmias in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. Circulation, 1999, 98(22): 2404-14.
- [11] Zygmunt AC, Goodrow RJ, Antzelevitch C. INaCa contributes to electrical heterogeneity within the canine ventricle[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 278: H11671-8.
- [12] Zygmunt AC, Goodrow RJ, Weigel CM. INaCa and IC1 contribute isoproterenol-induced delayed afterdepolarizations in midmyocardial cells[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 1998, 275 (6 pt 2): H1979-92.