

# 螺旋藻多糖对小鼠 S-180 肉瘤的免疫抑制作用

于红<sup>1,2</sup> 张学成<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 青岛海洋大学生命学院 青岛 266003)

(<sup>2</sup> 青岛大学医学院 青岛 266012)

**提要** 研究了螺旋藻多糖对小鼠 S-180 肉瘤的抑制作用。结果显示:螺旋藻多糖在 50~200  $\mu\text{g/g}$  的剂量范围对小鼠 S-180 肉瘤均有一定的抑制作用,具有明显升高小鼠外周血白细胞的功能,促进荷瘤小鼠脾淋巴细胞转化作用,并有较好的剂量-效应关系,促进荷瘤小鼠脾 NK 细胞对靶细胞的细胞毒作用。提示螺旋藻多糖可通过全面调节机体的免疫功能,刺激 T 细胞、NK 细胞等功能来达到控制和杀灭肿瘤细胞的目的。

**关键词** 螺旋藻多糖,抗肿瘤作用,免疫作用

**中图分类号** R979.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3096(2003)05-0058-03

螺旋藻是一种微藻类古老生物,属于蓝藻类、颤藻科。螺旋藻不仅具有很高的营养价值,而且含有大量的对人体有益的生物活性物质,其中最引人注目的是螺旋藻中的多糖。实验证明螺旋藻多糖(polysaccharide from *Spirulina platensis*, PSP)及其多糖复合物具有抗衰老、降血脂、促进蛋白质合成、提高免疫功能、抗辐射等<sup>[1-3]</sup>多种生理功能。因此螺旋藻多糖已成为目前国内外海洋药物研究开发的热点之一。本文研究了钝顶螺旋藻多糖对小鼠移植性肿瘤 S-180 肉瘤的抑制作用及可能作用机理。

## 1 材料

### 1.1 螺旋藻多糖

螺旋藻藻粉由青岛海洋大学生命学院藻类遗传室提供,参照文献[4, 5],采用改良的三氯乙酸去蛋白法提取螺旋藻粗多糖,白色粉末状,纯度达 92% 以上。

### 1.2 动物

昆明种小鼠,体质量 18~22 g,雌雄各半,由青岛市药物鉴定所实验动物中心提供。

### 1.3 药品和试剂

RFMI-1640 干粉培养基为美国 GIBCO 公司产品;新生牛血清为杭州四季青产品;四甲基偶氮唑盐(MIT)Sigma 公司产品;96 孔培养板 Coster 公司产品;环磷酰胺上海第 12 制药厂产品。

### 1.4 肿瘤细胞株

小鼠 S-180 肉瘤瘤株及肿瘤细胞 HeLa 细胞株均购自山东省医学科学院药物研究所。

## 1.5 仪器和设备

酶联免疫检测仪(BIORAD 公司),CO<sub>2</sub> 孵箱(美国 SHELLAB 公司),倒置显微镜(OLYMPUS),电子分析天平(Sartorius),低温高速离心机(德国 Heracus 公司)。

## 2 方法

### 2.1 PSP 对小鼠 S-180 肉瘤的抑制作用

无菌取传代后 6 d 的 S-180 肉瘤细胞悬液,经生理盐水稀释计数后调整细胞至  $2 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$  个/L,每鼠右前腋窝部皮下接种 0.2 mL。次日随机分组,每组 10 只,雌雄各半,于接种后 24 h 给药。分别为 PSP 高剂量组(200  $\mu\text{g/g}$ ),中剂量组(100  $\mu\text{g/g}$ ),低剂量组(50  $\mu\text{g/g}$ ),正常对照组,环磷酰胺阳性对照组(20  $\mu\text{g/g}$ )及生理盐水空白对照组,均以 0.02 mL/g 灌胃给药,每日 1 次,连续 10 d。末次给药后 24 h,小鼠称重,处死小鼠剥取瘤块,分离、摘取脾脏和胸腺,

第一作者:于红,出生于 1965 年,硕士,副教授,通信地址:青岛市登州路 38 号青岛大学医学院, E-mail: yuhong@cn-qd.net

收稿日期:2002-07-01;修回日期:2003-02-16

电子天平称湿重,计算抑瘤率,脾指数和胸腺指数。

## 2.2 PSP 促进荷瘤小鼠脾淋巴细胞转化实验

昆明小鼠按上述方法接种 S-180 瘤细胞并分组给药 10 d。无菌取脾,置于盛有适量无菌 Hanks 液的小平皿中,用镊子轻轻将脾撕碎、制成单个细胞悬液,经 200 目筛网过滤, Hanks 液洗 3 次,将细胞悬液溶于 2 mL 的完全培养液中,台盼蓝染色计数活细胞数(95%以上),调整细胞浓度为  $2 \times 10^9$  个/L。将细胞悬液分两孔加入 24 孔培养板中,每孔 1 mL。一孔加 50  $\mu$ L ConA 液(相当于 5 mg/L),另一孔作为对照。置 5% CO<sub>2</sub> 孵箱 37  $^{\circ}$ C 培养 72 h。培养结束前 4 h 加入 MTT,培养结束后,每孔加入 1 mL 酸性异丙醇,吹打混匀,使紫色结晶完全溶解,于酶标仪 570 nm 处测 A 值。用加 ConA 孔的光密度减去不加 ConA 孔的光密度值表示淋巴细胞的增殖能力,采用方差分析进行数据统计。

## 2.3 PSP 促进荷瘤小鼠 NK 细胞活性实验

同 2.2 处理动物和制备脾细胞。取不同药物浓度处理的脾细胞作效应细胞,用完全 1640 培养液调整细胞浓度至  $1 \times 10^6$  个/L,每孔 0.1 mL,加入 96 孔培养板中,即每孔  $1 \times 10^6$ ,另取 HeLa 细胞作为靶细胞,每孔加入  $2 \times 10^8$  个/L,效应细胞:靶细胞 = 50:1,每份标本设 3 个复孔,同时设靶细胞自然释放对照组和最大释放对照组,置 5% CO<sub>2</sub> 孵箱 37  $^{\circ}$ C 混合培养 2 h。取

出培养物,吸取各孔上清液 0.1 mL 加入另一培养板孔中,置 37  $^{\circ}$ C 预温 10 min,每孔加入新配制的底物溶液 0.1 mL,室温避光 10~15 min,加入 1 mol/L 柠檬酸终止反应。于酶标仪 570 nm 处测 A 值。计算 NK 细胞的活性。NK 细胞杀伤率 = (实验组 A 值 - 自然释放组 A 值) / (最大释放对照组 A 值 - 自然释放组 A 值)。

## 2.4 PSP 对荷瘤小鼠外周血白细胞的影响

同 2.1 处理动物,灌胃给药 10 d 后,取尾静脉血作白细胞计数。

## 3 结果

### 3.1 PSP 对小鼠 S-180 肉瘤的抑制作用及外周血白细胞的作用

PSP 在 50~200  $\mu$ g/g 的剂量范围对小鼠 S-180 肉瘤,均有一定的抑制作用,实验结果平均抑瘤率在 31.7%~53.6% 之间,其中高剂量抑制作用较强。同时对荷瘤小鼠具有明显增加脾指数和胸腺指数的作用,不伴有降低体重或其他毒副作用, PSP 具有明显升高小鼠外周血白细胞的功能,而对正常小鼠白细胞水平无明显影响(见表 1)。

### 3.2 PSP 促进荷瘤小鼠脾淋巴细胞转化实验

PSP 具有明显促进荷瘤小鼠脾淋巴细胞转化作

表 1 PSP 对各组小鼠肿瘤抑制作用结果及外周血白细胞的作用

Tab.1 Inhibitory effects of PSP on the Sarcinoma 180 and the number of WBC in mice

| 组别   | 抑瘤率(%) | 胸腺指数                 | 脾指数                  | 白细胞数( $\times 10^9$ /L) |
|------|--------|----------------------|----------------------|-------------------------|
| 正常对照 |        | $2.66 \pm 0.09^{**}$ | $4.10 \pm 0.06^{**}$ | $9.65 \pm 0.08^{**}$    |
| 肿瘤对照 | 0      | $2.08 \pm 0.08$      | $4.25 \pm 0.08$      | $8.16 \pm 0.12$         |
| 低剂量  | 31.7   | $2.83 \pm 0.09^{**}$ | $4.54 \pm 0.09^{**}$ | $8.17 \pm 0.11^{*}$     |
| 中剂量  | 47.5   | $3.07 \pm 0.06^{**}$ | $4.98 \pm 0.06^{**}$ | $8.97 \pm 0.08^{**}$    |
| 高剂量  | 53.6   | $3.22 \pm 0.07^{**}$ | $5.20 \pm 0.06^{**}$ | $9.71 \pm 0.09^{**}$    |
| 环磷酸胺 | 52.8   | $2.07 \pm 0.10^{**}$ | $3.73 \pm 0.06^{**}$ | $6.89 \pm 0.13^{**}$    |

\*  $P > 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ 。

用。结果显示:低、中、高剂量 PSP 组的荷瘤小鼠脾淋巴细胞转化率(A 值)分别为  $0.18 \pm 0.02$ ,  $0.28 \pm 0.01$ ,  $0.36 \pm 0.01$ 。与肿瘤对照组相比,均有显著差异( $P < 0.01$ )。

### 3.3 PSP 促进荷瘤小鼠 NK 细胞活性实验

PSP 能促进荷瘤小鼠脾 NK 细胞对靶细胞的细胞毒作用(图 1), S-180 荷瘤对照组小鼠脾 NK 细胞活性明显低于正常对照组。

## 4 讨论

机体的免疫功能与肿瘤的发生发展有密切关

系,而机体的抗肿瘤免疫效应机制包括细胞免疫和体液免疫两方面,其中由 T 细胞介导的细胞免疫起着更重要的作用, T 细胞的激活是发挥细胞免疫效应的重要条件;NK 细胞是细胞免疫中的非特异性成分,不需预先活化即可直接杀伤肿瘤细胞,是一类在早期肿瘤免疫机制中起重要作用的效应细胞,处于机体抗肿瘤的第一道防线<sup>[6,7]</sup>。

本研究在证实 PSP 具有良好抗肿瘤效果的基础上,探讨了 PSP 对小鼠 S-180 肉瘤的免疫调节作用及可能机理。首先观察了 PSP 对两个主要免疫学器官脾脏和胸腺的增重作用,以 PSP 50mg 时即有较明显的

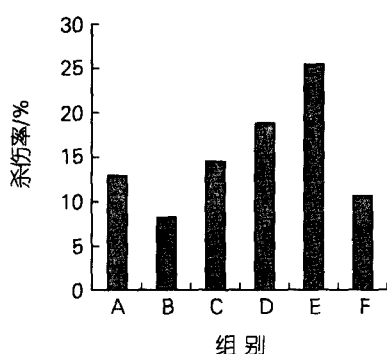


图1 PSP对荷瘤小鼠NK细胞活性的影响

Fig. 1 Effects of PSP on the activity of NK cells

A 正常对照组; B 肿瘤对照组; C 低剂量组; D 中剂量组; E 高剂量组; F 环磷酰胺组

A Normal group; B Sarcinoma 180 control group; C Low dosage group; D Middle dosage group; E High dosage group; F Cyclophosphamide group

抑瘤作用,并显示呈剂量依赖性关系,说明与抑瘤作用有关。各剂量组PSP均可促进CoA诱导的体外小鼠淋巴细胞转化,对荷瘤小鼠体内NK细胞活性亦有明显促进作用。提示PSP可通过全面调节机体的免疫力,刺激T细胞、NK细胞等功能来达到控制和杀灭肿瘤细胞的目的。

目前临床上肿瘤的放射治疗和化学治疗都存在抑制机体免疫功能等严重的毒副作用,而多糖作为

抗肿瘤药物,不伴有明显的毒副作用,还能治疗或预防CY对机体免疫系统的抑制作用。有报道PSP具有治疗放射线对正常细胞的毒性作用<sup>[8,9]</sup>,显然,这种独特的双重作用有利于肿瘤病人的综合治疗和康复,适合于联合用药。PSP在肿瘤治疗方面具有广阔的应用前景,值得进一步深入研究。

#### 参考文献

- 1 Itoch H, Noda H, Amano H, et al. Antitumor activity and immunological properties of marine algae polysaccharides, especially fuoidan, prepared from *Sargassum thunbergii* of Phaeophyceae. *Anticancer Res*, 1993, 13(6A): 2 045-2 052
- 2 Belay A, Ota Y, Miyakawa K, et al. Current knowledge on the potential health benefits of *Spirulina*. *J of Applied Phycology*, 1993, 5: 235-241
- 3 刘茜,焦庆才,刘志礼. 螺旋藻多糖及药理作用的研究进展. *中国海洋药物*, 1998(1): 48-53
- 4 章银良,李红旗,高峻,等. 螺旋藻多糖提取新工艺的研究. *食品与发酵工业*, 1999, 25(2): 13-18
- 5 钱志刚. 螺旋藻多糖提取新工艺研究. *淮海工学院学报*, 2000, 9(2): 50-52
- 6 曾益新主编. *肿瘤学*. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 204-205
- 7 陈慰峰主编. *医学免疫学*. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 230-233
- 8 张成武. 钝顶螺旋藻多糖和藻蓝蛋白对小鼠急性放射病的防护作用. *营养学报*, 1996, 18(3): 327
- 9 范平. 螺旋藻多糖的抗辐射及抗化学突变作用. *中国药业*, 1997, 4: 15

## IMMUNE EFFECTS OF POLYSACCHARIDE FROM *Spirulina platensis* (PSP) ON THE TRANSPLANTED TUMOR CELLS OF SARCINIMA 180 IN MICE

YU Hong<sup>1,2</sup> ZHANG Xue-Cheng<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Marine Life Sciences, Ocean University of Qingdao, Qingdao, 266003)

(<sup>2</sup>College of Medicine, Qingdao University, Qingdao, 266012)

Received: Jul., 1, 2002

Key Words: PSP, Antitumor effect, Immune effect

### Abstract

The inhibitory effects of polysaccharide from *Spirulina platensis* (PSP) on the transplanted tumor cells of Sarcinoma 180 in mice were investigated. The results showed that with the dosage of 50~200  $\mu\text{g/g}$  PSP could inhibit the Sarcinoma 180; it also enhanced or recovered the number of WBC, promoted the proliferation of spleen lymphocyte and increased the activity of NK cells. It is suggested that PSP had the ability to inhibit tumor and the mechanism was partly to regulate the immunological function in mice.

(本文编辑:刘珊珊)