

# 昆布多糖硫酸酯对荷瘤小鼠前列腺癌的抑瘤作用

邹明畅\*, 盛玉青, 崔飞伦

(镇江市第一人民医院, 江苏 镇江 212002)

**[摘要]** 目的:研究昆布多糖硫酸酯(LAMS)对移植前列腺癌细胞 RM-1 荷瘤小鼠的抑瘤作用。方法:C57 小鼠接种前列腺癌 RM-1 细胞 7 d 后,按瘤体大小将 40 只小鼠均分为 4 组,分别为模型组(NS),环磷酰胺(CY)组( $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),LAMS 低、高剂量组( $50, 100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),ig,1 次/d,连续 14 d,停药次日称体质量并处死动物,剥取瘤块,摘取脾脏和胸腺,称质量,计算抑瘤率、脾指数和胸腺指数。结果:CY  $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  抑瘤率为 40.3%,LAMS 低、高剂量组抑瘤率分别为 25.0% 和 33.8%,与模型组比较均有显著差异;CY 在抑瘤的同时能显著抑制荷瘤小鼠的胸腺指数和脾指数,与模型组比较有显著性差异,LAMS 对荷瘤小鼠的胸腺指数和脾指数无明显影响。结论:LAMS 对移植前列腺癌 RM-1 的荷瘤小鼠有一定的抑瘤作用,LAMS 在抑制肿瘤的同时不影响荷瘤鼠的免疫功能,无 CY 等化疗药物的常见副作用。

**[关键词]** 前列腺癌;昆布多糖硫酸酯;RM-1 细胞;抑瘤率;胸腺指数;脾指数

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0223-03

**[收稿日期]** 2011-03-23

**[基金项目]** 镇江市科学技术局项目(SH2007027)

**[通讯作者]** \* 邹明畅,副主任中药师,硕士,从事中药学专业,Tel:13505284148,E-mail:zou\_mc@126.com

药理研究表明,酸枣仁、合欢皮有镇静、催眠、镇痛、抗惊厥等作用;五味子有适应原样作用,能增强机体防御能力;郁金有轻度镇痛作用;淫羊藿所含的淫羊藿苷等黄酮苷具有多种与抗抑郁有关的生物活性,如改善失眠、舒缓压力和疲劳等<sup>[8]</sup>。实验结果表明,模型组大鼠杏仁核 NE, DA, 5-HT 的含量均明显低于正常组,表明抑郁状态下存在中枢单胺类神经递质的代谢异常。而开心解郁汤可明显升高慢性应激性抑郁模型大鼠杏仁核 NE, DA, 5-HT 的含量,提示本方对杏仁核内单胺类神经递质具有调节作用,其抗抑郁作用机制可能与其提高杏仁核 NE, DA, 5-HT 的含量有关。

## [参考文献]

[1] 许天红. 抑郁障碍[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2004:1.  
[2] Willner P. Validity, reliability and activity of the chronic mild stress model of depression; a 10-year review and evaluation[J]. Psychopharmacology, 1997, 134 (4): 319.

[3] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. Psychopharmacology, 1987, 93 (3): 358.  
[4] Butterweck V, Wall A, Lieflander Wulfu, et al. Effects of the total extract and fractions of hypericum perforate in animal assays for antidepressant activity [J]. Pharmacopsychiatry, 1997, 30(S2): 117.  
[5] Brunswick D J, Amsterdam J D, Mozley P D, et al. Greater availability of brain dopamine transporters in major depression shown by [<sup>99m</sup>Tc] TRODAT21 SPECT imaging[J]. Am J Psychiatry, 2003, 160(10): 1836.  
[6] D'Aquila P S, Collu M, Gessa G L, et al. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs[J]. Eur Pharmacol, 2000, 405: 365.  
[7] 关新民. 医学神经生物学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002: 374.  
[8] 陶忠增. 中药方剂学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005: 146, 182, 184, 212.

[责任编辑 何伟]

# Inhibitory Effect of LAMS Against Prostatic Cancer in Tumor-bearing Mice

ZOU Ming-chang\*, SHENG Yu-qing, CUI Fei-lun

(The First People's Hospital of Zhenjiang, Zhenjiang 212002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the inhibitory effect of LAMS on prostatic cancer growth in tumor-bearing mice. **Method:** Forty C57 mice inoculated with RM-1 prostate cancer cells for 7 days were divided into 4 groups according to the tumor size: the model group (NS), cyclophosphamide (CY) group ( $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), LAMS low and high dose groups ( $50, 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), ig, once daily. After 14 days of treatment, the animals were killed. The subcutaneous sarcoma, thymus and spleen were separated and weighted. Inhibition rate, spleen index and thymus index were then calculated. **Result:** CY  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  significantly inhibited the growth of tumor, the inhibition rate was 40.3%; LAMS (low and high dose) also showed significant inhibitory effect compared with the model group, the inhibition rates were 25.0% and 33.8%. CY could significantly inhibited the thymus index and spleen index in tumor-bearing mice, however, the effects of LAMS were not significant. **Conclusion:** LAMS have inhibitory effects on RM-1 in tumor-bearing mice, but do not affect the immune function. Furthermore, LAMS has no side effects on chemotherapy drugs such as CY.

**[Key words]** prostatic cancer; LAMS; RM-1 cells; inhibition rate; thymus index; spleen index

前列腺癌是常见的男性肿瘤,前列腺癌的发生主要与年龄、种族、家族遗传背景、地理位置和饮食等因素有关<sup>[1]</sup>。对于晚期前列腺癌,特别是转变为雄激素非依赖性前列腺癌后,治疗往往束手无策。

昆布多糖硫酸酯(LAMS)具有多种生物活性,文献报道,LAMS能有效抑制肿瘤细胞增殖<sup>[2]</sup>。还有研究发现 LAMS 为良好的免疫激活剂,能抑制碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的附着及其依赖性细胞的增殖<sup>[3]</sup>。本研究利用氯磺酸-吡啶法对昆布多糖进行硫酸酯化修饰,得到 LAMS<sup>[4]</sup>,观察 LAMS 的抑瘤作用,以探讨其抗前列腺癌的作用机制。

## 1 材料

**1.1 细胞株** 小鼠前列腺癌细胞株 RM-1 购自上海麦莎生物科技有限公司。

**1.2 动物** 5 周龄 C57BL/6 小鼠,雄性,体重 18 ~ 20 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,许可证号 SCXX(沪)2007-0005,标准条件饲养。

**1.3 药物** 昆布多糖硫酸酯(LAMS)为本实验室自制,纯度为 96%,LAMS 的相对分子质量为 16 315,临用前用无菌生理盐水配制所需浓度。环磷酰胺(CY),上海华联制药有限公司,批号 081213。

**1.4 试剂和仪器** RPMI 1640 培养基,美国 Gibco 公司;新生小牛血清(FCS),杭州四季青生物工程有限公司,使用前经 56 °C 水浴灭活 30 min;胰蛋白酶

(Trypsin 1:250),Amresco 公司;CO<sub>2</sub> 孵箱,Thermo 公司;超净工作台,苏州净化设备厂;倒置显微镜,重庆光学仪器厂;80-2 离心沉淀器,上海手术器械厂。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 小鼠前列腺癌细胞 RM-1 采用含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液,在 37 °C 恒温,5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的培养箱中培养,2 ~ 3 d 换液 1 次,0.25% 胰酶消化传代,取对数生长期的细胞进行实验。

**2.2 急性毒性试验** 雄性 C57BL/6 小鼠 8 只,体重 20 ~ 22 g,禁食 8 h 后单次 ig LAMS  $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $40 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),给药后连续观察 14 d,记录动物毒性反应及死亡情况。

**2.3 小鼠前列腺癌模型的建立** 取对数生长期的 RM-1 细胞,胰酶消化,0.01% PBS 溶液洗涤,并调整细胞密度至  $2.0 \times 10^7/\text{mL}$ ,取 0.1 mL sc 于小鼠右前肢腋下,观察到瘤体生长表示模型复制成功。

**2.4 LAMS 对荷瘤小鼠的抑瘤作用** 接种 RM-1 细胞 7 d 后,根据瘤体的大小将 40 只小鼠随机分为 4 组,分别为模型组(NS),CY 组( $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),LAMS 低、高剂量组( $50, 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每组 10 只,均以  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  ig,1 次/d,连续 14 d,停药次日称质量并处死动物,剥取瘤块,摘取脾脏和胸腺,称质量,计算抑瘤率、脾指数和胸腺指数。

### 3 结果

**3.1 急性毒性试验** 连续观察 14 d,全部动物存活,小鼠 ig LAMS 的最大耐受剂量 $\geq 4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

**3.2 对荷瘤小鼠的抑瘤作用** 模型组在给药期最后 4 d 部分小鼠的肿瘤出现溃破出血,并在第 12 天和第 14 天各死亡 1 只,死亡当天剥取瘤块,摘取脾脏和胸腺,并称质量。其余各组荷瘤小鼠未发现肿瘤溃破出血,并存活到实验结束。结果显示,CY 20  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  能显著抑制肿瘤生长,抑瘤率为 40.3%,LAMS 2 个剂量组也表现出一定的抑瘤作用,抑瘤率分别为 25.0% 和 33.8%,与模型组比较均有显著性差异( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 LAMS 对荷瘤小鼠的抑瘤率( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	瘤质量/g	抑制率/%
模型	-	2.16 $\pm$ 0.47	-
CY	20	1.29 $\pm$ 0.21 <sup>2)</sup>	40.3
LAMS	50	1.62 $\pm$ 0.34 <sup>1)</sup>	25.0
	100	1.43 $\pm$ 0.31 <sup>1)</sup>	33.8

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (表 2 同)。

**3.3 对荷瘤小鼠胸腺指数和脾指数的影响** 随着给药时间的延长,CY 组小鼠出现体质增加缓慢,精神萎靡、活动减少、毛色黯淡等现象,LAMS 给药组未发现此种现象。CY 显著降低荷瘤小鼠的胸腺指数和脾指数,与模型组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ),LAMS 对荷瘤小鼠的胸腺指数和脾指数无明显影响。见表 2。

表 2 LAMS 对荷瘤小鼠胸腺指数、脾指数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	胸腺指数	脾指数
模型	-	1.95 $\pm$ 0.46	5.68 $\pm$ 1.13
CY	20	1.38 $\pm$ 0.28 <sup>1)</sup>	3.92 $\pm$ 0.78 <sup>1)</sup>
LAMS	50	1.87 $\pm$ 0.36	5.72 $\pm$ 1.05
	100	2.12 $\pm$ 0.49	5.84 $\pm$ 1.27

### 4 讨论

急性毒性试验结果显示,小鼠对 LAMS 的最大耐受量 $\geq 4 \text{ g}\cdot\text{kg}$ ,表明 LAMS 为低毒药物。CY 20  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  和 LAMS 50,100  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  对荷瘤小鼠均有一定的抑瘤作用,其中 CY 的抑瘤率最高。CY 在抑

瘤的同时对荷瘤小鼠的胸腺指数、脾指数均有显著的抑制作用,对小鼠的体质量和一般状况也有一定的影响,而 LAMS 各剂量组对荷瘤小鼠的一般状况和胸腺指数、脾指数均无明显影响,表明 LAMS 在抑制肿瘤的同时不影响荷瘤鼠的免疫功能,无 CY 等化疗药物的常见副作用。

我们前期的实验发现<sup>[5]</sup>,LAMS 对人前列腺癌 PC-3 细胞的增殖有明显的抑制作用,可诱导 PC-3 细胞凋亡,对 PC-3 细胞存在 S + G<sub>2</sub> 期阻滞,进一步研究还发现 LAMS 对肿瘤细胞增殖、凋亡相关的多种基因表现有一定的作用<sup>[6-7]</sup>,其中对基因 Bcl-2 mRNA 和蛋白表达呈剂量依赖性减弱,对基因 PTEN,P27kip1,Caspase-3 mRNA 和蛋白表达呈剂量依赖性增强。本次实验发现 LAMS 对移植小鼠前列腺癌 RM-1 荷瘤小鼠也有一定的抑瘤作用,其作用机制是否与诱导肿瘤细胞凋亡及作用于增殖、凋亡相关的基因有关还有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] Bratt O. Hereditary prostate cancer[J]. BJU Int,2000,85(5):588.
- [2] 董浦江,姚榛祥,涂刚. LAMS 对肝癌细胞株的 Bcl-2、Bax 基因蛋白影响[J]. 重庆医科大学学报,2002,27(1):26.
- [3] Hoffman R, Paper D H, Donaldson J, et al. Characterisation of a laminarin sulphate which inhibits basic fibroblast growth factor binding and endothelial cell proliferation[J]. J Cell Sci,1995,108(11):3591.
- [4] 邹明畅,何立巍,蔡宝昌,等. 昆布多糖硫酸酯化及其结构研究[J]. 河南中医学报,2009,24(2):26.
- [5] 邹明畅,崔飞伦,盛玉清,等. 昆布多糖硫酸酯对非激素依赖型人前列腺癌细胞 PC-3 的作用研究[J]. 现代中药研究与实践,2010,24(1):33.
- [6] 邹明畅,崔飞伦,盛玉清,等. 昆布多糖硫酸酯对非激素依赖型人前列腺癌 PC-3 细胞及 bcl-2、caspase-3 基因表达的影响[J]. 中草药,2010,41(1):99.
- [7] 邹明畅,崔飞伦,盛玉清,等. 昆布多糖硫酸酯对 PC-3 细胞 PTEN 和 P27kip1 基因表达的影响[J]. 中华男科学杂志,2010,16(6):498.

[责任编辑 何伟]