

云芝多糖对腹水肝癌小鼠生存期和 腹水中癌细胞动态的影响*

邵伟 郝泗城 孙建华

(天津师范大学生物系)

近十多年来,相继报道云芝菌丝多糖(Ps-K)或云芝菌丝滤液多糖(Coriolan)对小鼠S-180等实体瘤的生长有强烈抑制作用^[4,5,12,13],并且

证明以任何方式给药都能显示出抗癌活性^[6]。

* 参加部分实验工作的还有朱慧芳、倪瑞、李尚卫、孙晓华同志。

体外试验表明,云芝多糖同瘤细胞混合培养时,对癌细胞有弱的损伤作用^[7]。利用野生云芝子实体制备的多糖腹腔注射给带S-180实体瘤小鼠,或者口服给带艾氏实体瘤小鼠,对实体瘤生长都有明显的抑制作用^[1]。然而,云芝多糖对腹水型肿瘤是否有抗肿瘤作用,至今竟无资料可查,需要通过实验研究做出明确的结论。

本文报告的是关于给腹水肝癌小鼠口服云芝子实体多糖后,观察对治疗小鼠生存期和腹水中癌细胞动态变化的研究结果。

材料和方法

实验动物 用体重19—23克的津白III号纯系雌性小白鼠,共40只,由天津医学院实验动物研究室提供。

实验用瘤株 是天津药物研究所惠赠的小鼠腹水肝癌(Hca)。

多糖的制备 见参考文献[1]。

小鼠生存期的观察 对照组和实验组各用10只小鼠,实验组先给药5天,每天1次,每次口服多糖剂量为300毫克/千克体重,至第6天腹腔接种 2×10^6 个小鼠腹水肝癌细胞,然后再继续给药9天,共计14天。对照组每次口服等量蒸馏水。小鼠随着腹水增加,于接种后第10—17天期间全部死亡。

癌细胞动态的检查 对照组和实验组各用鼠10只,处理方法同上。停止给药后的4—8天期间,每天计数每个鼠腹水中癌细胞数、变性坏死细胞数以及有丝分裂指数。处理方法如下:

用血球计算盘计量每毫升中的癌细胞数并求出抑制率(%)。

抑制率

$$= \frac{\text{对照组每毫升细胞数} - \text{实验组每毫升细胞数}}{\text{对照组每毫升中的细胞数}}$$

$\times 100$

癌细胞变性坏死数求法,先取0.5毫升腹水,再加入用生理盐水配制成的0.5%台盼兰(Trypan blue) 0.5毫升,混匀后滴入血球计算盘,在15分钟内置镜下计数完被染成蓝色的变性坏死

细胞^[8]。

癌细胞分裂指数的求法,先用腹水制成涂片,干燥后用甲醇再固定一次。自然干燥后,用Giemsa或苏木素伊红(H. E)染色,在油浸镜下按公式 $MI = M/C \times 100$ 算出不同组别在不同时期的有丝分裂指数。

实验结果

(一) 云芝多糖对腹水肝癌小鼠生存期的影响 接种 1×10^6 个癌细胞的腹水肝癌小鼠平均寿命是22.3天。给小鼠接种 2×10^6 个癌细胞,在17天期间全部死亡。对照组于接种至第10天已开始出现死亡。用云芝多糖治疗的实验组小鼠,于接种后至第13天才出现死亡。也就是说,实验组小鼠生存期与对照组比较,多数鼠是延长了生存期,平均延长1.5天(见表1)。

另外,从图1的曲线变化情形说明,经多糖治疗的腹水肝癌小鼠,生存期比对照组延长3天。尽管观察的小鼠数量不多,但云芝多糖能延长腹水肝癌小鼠生存期的趋势还是较明显的。

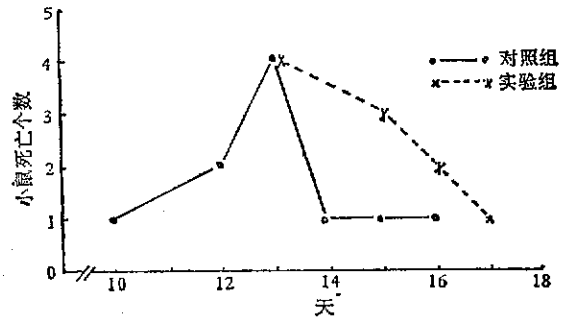


图1 云芝多糖对腹水肝癌小鼠生存期影响的变化曲线

(二) 云芝多糖对腹水中癌细胞的损伤作用 接种前或接种后经云芝多糖14次治疗的腹水肝癌小鼠,至接种第11—15天期间检查腹水中癌细胞数表明,与对照组比较明显减少(见表2),以第12—15天期间减少情况来看,减少幅度为12.7—45.5%(图2),平均减少29.4%。用抑制率表示,以第13天检查的癌细胞数为例,抑制率达42.3%(见表2)。

从检查腹水中癌细胞变性坏死情况亦表明,在接种至11—15天期间,实验组小鼠的癌

表 1 云芝多糖对腹水肝癌小鼠生存期的影响

组别	鼠数	平均体重(克)	多糖剂量(毫克/千克体重×天)	存活时间(天)														平均寿命(天)				
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		15	16	17	
对照组	10	21.95	—											1		2	4	1	1	1		13.1
实验组	10	21.78	12×14													4			3	2	1	14.6

表 2 云芝多糖对腹水肝癌小鼠接种至 11—15 天的腹水中细胞数的影响

组别	鼠数	癌细胞均数 × 10 ³ /毫升 ± 标准误(S.E)									
		第 11 天	抑制率(%)	第 12 天	抑制率(%)	第 13 天	抑制率(%)	第 14 天	抑制率(%)	第 15 天	抑制率(%)
对照组	10	295 ± 21.48		306 ± 37.85		347 ± 21.19		226 ± 56.22		246 ± 26.14	
实验组	10	288 ± 32.42	1.4	267 ± 25.74	12.8	199 ± 26.94	42.3	191 ± 22.10	15.5	149 ± 37.95	39.4

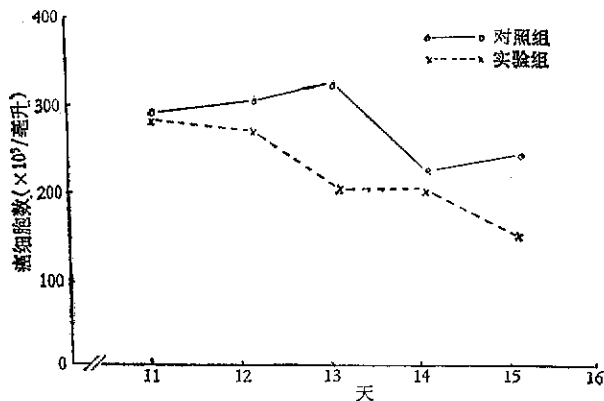


图 2 云芝多糖对腹水肝癌小鼠接种至 11—15 天时腹水中癌细胞数影响的变化曲线

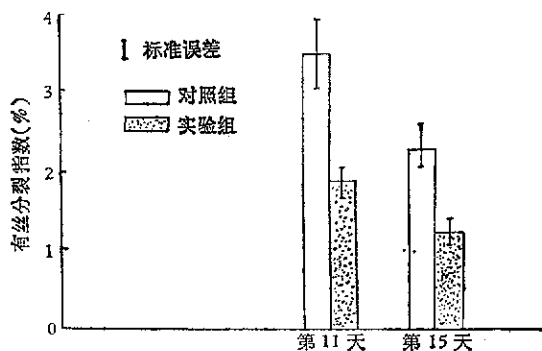


图 4 云芝多糖对接种至 11 和 15 天小鼠腹水肝癌细胞有丝分裂频率影响的情况

影响 经云芝多糖治疗的腹水肝癌小鼠，腹水中癌细胞有丝分裂指数明显低于对照组（见表 3 和图 4）。接种至第 11 天的实验组，有丝分裂指数下降 1.64%，至第 15 天时则下降 1.05%，经统计学处理是非常显著的。这就是说，云芝多糖对腹水肝癌小鼠所呈现的抗癌活性，除多糖直接或间接地损伤癌细胞外，抑制癌细胞增殖也是原因之一。

讨 论

目前认为，云芝多糖的抗肿瘤作用是激活免疫细胞，通过宿主介导作用 (Host mediated effect) 破坏肿瘤细胞^[9-10]。用出生 2 天后摘除

(下转第 43 页)

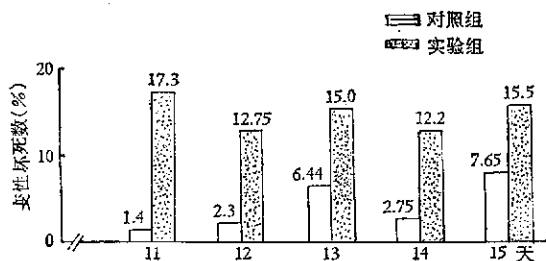


图 3 云芝多糖对接种至 11—15 天的小鼠腹水肝癌细胞变性坏死情形

细胞变性坏死数显著高出对照组（见图 3），平均高出 8.33%。

(三) 云芝多糖对腹水中癌细胞增殖率的

表 3 云芝多糖对接种至 11 和 15 天的小鼠腹水肝癌细胞 MI 的影响*

组 别	接 种 后 的 日 期 (天)	
	第 11 天的 MI \pm 标准误 (S. E)	第 15 天的 MI \pm 标准误 (S. E)
对 照 组	3.44 \pm 0.439	2.30 \pm 0.400
实 验 组	1.80 \pm 0.418	1.25 \pm 0.360
$\frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$ 与对照组比较	$t = 3.965 \quad p < 0.001$	$t = 6.215 \quad p > 0.001$

* MI 为有丝分裂指数

胸腺的小鼠移植肉瘤 180, 再经云芝多糖治疗不显抗肿瘤作用; 载瘤鼠给予抗淋巴血清 (ALS) 后再用云芝多糖治疗, 其抗肿瘤作用显著减弱^[2]。事实表明, 云芝多糖具有激活宿主 T 细胞的作用, 另据载瘤鼠经抗原作用生成对应抗体, 再经云芝多糖治疗可促进增加抗体的情况, 说明云芝多糖与活化宿主辅助性 T 细胞 (Helper T Lymphocyte) 有关。

到目前为止, 有关云芝多糖抗癌活性主要是通过通过对动物实体瘤生长抑制得出的结果, 至于对腹水癌是否有抗癌活性则很少研究。虽然大鼠在移植腹水肝癌 AH-13 之前腹腔注射云芝多糖 (Ps-K) 能提高治愈率^[12], 以及体外试验时云芝多糖同大鼠腹水肝癌 AH-13 细胞或吉田肉瘤细胞混合培养见有细胞增殖率下降和细胞形态的改变^[7], 但在体内以口服云芝多糖治疗载腹水癌小鼠, 观察对小鼠生存期和腹水中癌细胞动态的影响, 至今未见类似的研究报道。我们的实验结果表明, 口服云芝多糖能延长腹水肝癌小鼠生存期和引起腹水中癌细胞减少、死亡、有丝分裂频率下降等情况, 证实云芝多糖对腹水癌同样有抗癌活性, 但不如对实体瘤那样明显。

关于口服云芝多糖呈现的抗癌机理, 可能与活化 T 细胞和巨噬细胞有关; 因为体外试验已证明云芝多糖 (Ps-K) 能引起淋巴细胞母细胞化^[11], 另一方面它也能激活宿主的巨噬细胞

并增强其吞噬活性^[4,3]。问题是云芝多糖是如何接触到免疫细胞的? 可能是通过激活游走穿过肠粘膜的免疫细胞, 它再对癌细胞进行杀伤作用。因为云芝多糖是分子量近百万的大分子, 消化道是不可能吸收的。总之, 对此问题至今尚无充分证据, 有待深入研究。

参 考 文 献

- [1] 邵 伟 1983 云芝多糖对增强巨噬细胞抗肿瘤作用的实验研究。动物学杂志, (3): 1—4。
- [2] 邵 伟 1980 真菌多糖的抗肿瘤活性。自然杂志 3 (6): 675—677。
- [3] 邵 伟 1983 云芝子实体多糖对肝损伤修复的药理作用。医药工业, (8): 24—27。
- [4] 千原吴郎 1968 第 27 回日本癌学会总会记事。东京日本癌学会, 259。
- [5] 伊藤 均等 1974 担子菌類の抗腫瘍作用について: 担子菌カワラタケの産生する多糖体の抗腫瘍作用。日薬理誌, 70, 571—577。
- [6] 塚越茂 1975 がん免疫療法が現状と将来。化学と生物, 11(9): 578—582。
- [7] 塚越茂 1978 多糖類と抗腫瘍免疫。発酵と工業, 36(3): 184—192。
- [8] 堀田进 大山昭夫 1976 组织培养(基本と实际)。东京永井, 115—172。
- [9] 前田幸子等 1976 抗腫瘍多糖と癌に對する宿主の抵抗。蛋白質、核酸、酵素, 21(6): 1—11。
- [10] 原田笃也等 1976 总合多糖科学(下)。讲谈社。584—593。
- [11] 古江尚等 1977 癌化学療法的基础と臨床, 癌化学療法社。162—164。
- [12] Hirase, et al 1970 Proc Japan Cancer Assoc 29th Annu meet, 227。
- [13] Pafent U. S. 1977 Polysaccharides and method for producing same, example 23。