

的减肥作用,能改善或不影响器官的功能。
(4)由于减肥药物需长期服用,故对减肥药的长期毒性及不良反应应有足够的重视。实验证明多种常用的减肥、调血脂中药,如半夏、泽泻、大黄、银杏、虎杖、甘草、白术等^[28]和苦丁茶^[29],在长期毒性试验中,均显示出全身不同脏器或系统的病理损害,尤其是因服减肥中药而导致数十例病人肾功能衰竭的比利时中药减肥事件^[30],更应以此为鉴。我们应很好地继承和运用中医药关于减肥的传统理论,并借助现代科学理论、技术和方法,多途径、多学科地进行系统研究,从而开发出高效、低毒的减肥中药方剂。

参考文献

1 钱伯初. 中国药理学通报,1993,9(1):75
2 宋菊敏,等. 中草药,1992,23(11):590
3 宋菊敏,等. 中成药,1993,15(4):25
4 雷 涛,等. 中国动脉硬化杂志,1994,2(2-3):92
5 汪晓立,等. 中草药,1995,26(9):473
6 徐 颖. 中成药,1997,19(10):38
7 吕江陵,等. 中药材,1997,20(5):251
8 王 巍,等. 中药新药与临床药理,1994,5(4):15

9 王 巍,等. 中国中西医结合杂志,1997,17(12):739
10 吴小南,等. 中国中医药信息杂志,1998,5(7):20
11 何 明,等. 江西医学院学报,1995,35(3):23
12 龚康敏,等. 中国中医药科技,1998,5(5):294
13 喻 荣,等. 中医杂志,1997,38(2):104
14 钱伯初,等. 中国病理生理杂志,1993,9(3):430
15 刘雪莉,等. 中国中西医结合杂志,1997,17(基础理论研究特集):39
16 钱彦方,等. 实用中西医结合杂志,1994,7(6):592
17 王 巍,等. 中国中西医结合杂志,1995,15(基础理论研究特集):343
18 杨 军,等. 安徽医学,1994,15(1):56
19 坂根直树,等. 国外医学-中医中药分册,1995,17(3):33
20 高从容,等. 中国中西医结合杂志,1997,17(3):162
21 熊曼琪,等. 中国中西医结合杂志,1997,17(3):165
22 Storlien L H, *et al.* Diabetes,1993,42:457
23 Khoursheed M, *et al.* Metabolism,1995,44:1489
24 Caro J F, *et al.* Lancet,1996,348:159
25 Zhang Y, *et al.* Nature,1994,372:425
26 Pellemounter M A, *et al.* Science,1995,269:540
27 Umekawa T, *et al.* Eur J Endocrinol,1997,136:429
28 王北婴 主编. 中药新药研制与申报. 北京:中国中医药出版社,1995:238
29 汪 敏,等. 中草药,1997,28(5):282
30 吴伯平. 中国中医药科技,1994,1(3):38

(1999-01-18 收稿)

昆布多糖硫酸酯的抑制血管生成和抗肿瘤作用

山东大学生命科学院(济南 250100) 徐中平* 李福川 王海仁

摘 要 昆布多糖硫酸酯是碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)附着和 bFGF 依赖性细胞增殖的抑制剂,能够抑制内皮细胞形成管状结构,抑制鸡绒毛膜尿囊膜的形成,并具有抗鼠 RIF-1 肿瘤生长活性。

关键词 昆布多糖硫酸酯 制备 血管生成抑制 抗肿瘤

昆布多糖(laminarin) 又称褐藻淀粉,是一种广泛存在于褐藻中的中性葡聚糖,尤其在昆布属、海带属等植物体中含量丰富。据范曼芳^[1]报道,从海带 *Laminaria japonica* Aresch. 制取昆布多糖,得率可达 1%(相对于海带干重)。昆布多糖在人工条件下可硫酸

化为昆布多糖硫酸酯(laminarin sulphate, LAMS),它具有多方面的生物活性,笔者主要综述 LAMS 在抗血管生成和抗肿瘤两个方面的研究进展。

1 LAMS 的制备

纯净的昆布多糖用溶于 *N,N*-二甲基甲

* Address: Xu Zhongping, College of Life Sciences, Shandong University, Jinan
徐中平 男,1968 年 4 月出生,硕士学位,讲师。细胞生物学专业,多糖研究方向。主要科研成果:天然植物抗癌物质的筛选,获山东大学科技一等奖。柞树根提取物抗癌活性的研究,通过山东省省级鉴定。作者现承担国家“九·五”攻关项目——海带的综合开发和利用课题,主要从事海带多糖的分离纯化、结构分析及其生理活性的研究。

酰胺的 SO_3^- 吡啶复合物作为硫酸化试剂, 80°C 作用数小时, 可得到一系列不同硫酸化程度(每单糖残基上的硫酸基团数 ds) 的 LAMS^[2]。昆布多糖是葡萄糖残基以 β -1,3 糖苷键构成的长链为主链, 在主链上约有 10% 的以 β -1,6 糖苷键与主链构成的分支, 分支聚合度平均为 35^[3]。昆布多糖硫酸化后, 其主链的基本结构几乎没有发生降解, 只是不同程度的在葡萄糖残基的 2,4,6 位碳原子上增添了硫酸基团, 6 位碳被硫酸化的机率可能较高, 2,4 位碳依次降低^[2]。

2 LAMS 的抗血管生成作用

2.1 对 bFGF 及其依赖性细胞增殖的影响: LAMS 是碱性成纤维细胞生长因子(bFGF) 附着的拮抗剂和 bFGF 依赖性细胞增殖的抑制剂。Hoffman^[4]发现 LAMS 的硫酸化程度越高, 对 bFGF 的抑制作用越强, ds 为 2.31 的 LAMS 可使 bFGF 依赖性胎牛心内皮(FBHE)细胞对 bFGF 的空载率达 67%。同样, 随着硫酸化程度的升高, LAMS 对 bFGF 所诱导的 FBHE 细胞的 DNA 合成的抑制作用增强, 细胞增殖也受到抑制。但培养基中如果同时加入 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的 bFGF, 这一抑制作用却消失, 提示 bFGF 的拮抗机制参与了这一复合物的抗增殖作用。LAMS 可能可与 bFGF 依赖性细胞增殖有关的疾病有疗效。

幼龄仓鼠肾成纤维(BHK)细胞表面具有对 bFGF 亲和力不同的两种位点, LAMS 均能抑制 bFGF 与这两种位点结合, 但更强烈的作用于低亲和位点。LAMS 可以将 bFGF 从低亲和位点上解离下来, 对高亲和位点上的 bFGF 却不能。将 bFGF 进行电泳, 加入 LAMS, bFGF 的电泳迁移率增加, 这说明 LAMS 可以直接与 bFGF 结合^[4]。

LAMS 与肝素均为多硫酸化复合物, LAMS 能够模拟肝素的一些生物活性。肝素及肝素类似物除了具有抗凝血作用外, 还对细胞增殖和小血管生成(neovascularization) 具有调节作用。LAMS 也具有一定的抗凝作用, 并对脑血管系统疾病有预防和治疗效果。

Miao^[5]等发现 LAMS 以与肝素相似的作用方式抑制 bFGF 与皮下的细胞外基质(ECM)和血管平滑肌细胞表面受体的结合, 在 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的低浓度下, LAMS 可以有效地将与 ECM 和细胞表面受体结合的 bFGF 解离下来, 并有效地抑制血管平滑肌细胞的增殖。

由此可见, LAMS 抑制 bFGF 依赖性细胞增殖的机制在于使 bFGF 不能与其亲和位点结合, 干扰其信号刺激作用。

2.2 抗血管生成作用: LAMS 能抑制培养于基质膜材料-Matrigel 上的内皮细胞形成管状结构。人微血管内皮 HMEC-1 细胞培养于 Matrigel 上 $1\sim 2\text{ h}$, 细胞进行迁移; $8\sim 12\text{ h}$, 可以形成管状网络结构。LAMS 可以抑制这一管状结构的形成, 并且具有剂量依赖关系。培养基中加入 $3\text{ }\mu\text{g/mL}$ LAMS, 可以阻止 HMEC-1 细胞形成具有完整网络的管状结构, 加入 $30\text{ }\mu\text{g/mL}$ LAMS, HMEC-1 细胞则不能形成管状结构, 尽管细胞能够迁移, 形成细胞团, 用 FBHE 细胞作为细胞模型也获得了同样的结果^[3]。

用鸡绒毛膜尿囊膜(CAM)测定法来研究由肿瘤诱导的血管生成是 Folkman^[6]于 1975 年最先建立的, 现在已广泛应用于血管抑制剂的研究。将含 $10\text{ }\mu\text{g}$ LAMS 的小丸(pellet)植入鸡胚, 可以抑制 80% 的鸡胚的 CAM 形成, 将含 $50\text{ }\mu\text{g}$ LAMS 的小丸植入鸡胚, 几乎所有的鸡胚不能形成 CAM, 但这个剂量却造成 40% 的鸡胚死亡。苏拉明是一种血管抑制剂^[7], 用苏拉明作阳性对照($50\text{ }\mu\text{g/pellet}$), CAM 的形成抑制率为 35%, 12% 的鸡胚死亡。显然 LAMS 的血管抑制活性明显高于苏拉明, 但毒副作用更大。

3 LAMS 的体内、外抗肿瘤作用

体内、外实验证实, LAMS 具有抗肿瘤作用^[3]。由于 LAMS 在结构上与肝素相似, 小鼠腹腔给药易引起出血性死亡, 而静脉给药具有良好的耐受性。对于 ds 为 2.31 的 LAMS 最大血浆耐受浓度为 $9.5\text{ }\mu\text{g/mL}$, 体

内最大给药剂量为 13 mg/kg。

小鼠皮下接种 RIF-1 肿瘤细胞, LAMS 单独给药, 使肿瘤生长延迟 2.6 d ($P < 0.01$)。Folkman^[8]发现肝素与皮质类固醇物质四氢皮质醇(THC)联用, 具有抗血管生成和抗肿瘤活性, 后来 Tanaka^[9]证实类肝素的一些抗血管生成物质的抗肿瘤活性可被皮质醇类物质所加强。LAMS 与 THC 联用, 使 RIF-1 肿瘤生长延迟 4.8 d ($P < 0.01$), 而且处理组小鼠均未表现出任何的体重下降和其它的毒副作用。

Teicher^[10]发现血管抑制剂可以加强一些细胞毒物质的抗肿瘤活性。苯丙氨酸氮芥(iv 5 mg/kg)与 LAMS 联用, 可使 RIF-1 肿瘤生长延迟 6.1 d ($P < 0.01$), 而单独使用苯丙氨酸氮芥, 仅能使 PIF-1 肿瘤生长延迟 2.2 d。

体外, LAMS 也具有抑制培养的 RIF-1 肿瘤细胞增殖作用, IC_{50} 为 30 μ g/mL。

4 小结与展望

现已发现, 当肿瘤组织大于 2 mm 时, 需要新生血管为其生长继续提供充足的氧和营养物质, 新血管生成是肿瘤组织迅速生长和转移的重要条件之一^[11], 因此抑制肿瘤组织的血管生成是肿瘤治疗的新战略和新途径^[12]。由于本文所提及的关于 LAMS 抗血管生成作用都是以非转化的细胞为模型来进行研究的, 还不能认为肿瘤组织中的血管生成抑制如同体外模型一样, 但从这些模型所得的认识, 可以使获得关于肿瘤的血管生成抑制的某些启示。bFGF 是一种强力的血管生成刺激因子, 并且高水平的存在于肿瘤患者的尿液中^[13]。现已证实戊聚糖多硫酸酯(PPS)^[14]、壳聚糖衍生物^[15]、Bacteria-derived DS-4152^[16]等这些具有抗肿瘤活性的多硫酸化的多糖物质对与肝素结合的由肿瘤组织产生的 bFGF 具有抑制作用。因此有理由推测 LAMS 能够干扰肿瘤组织中的 bFGF 的血管生成信号刺激作用, 使肿瘤组织的血管生成受阻, 肿瘤生长受到抑制。另

外, LAMS 还是一种免疫激活剂, 能够对抗化疗药物环磷酰胺引起的白细胞减少, 具有升高白细胞作用^[1]。由此看来, LAMS 及其类似物极有希望成为一类新的效果良好而无明显毒副作用的抗癌药物。

根据 O'Reilly 提出的新的癌灶转移假说^[17], 原发性癌灶可产生刺激和抑制血管生成相互拮抗的两种因子, 在原发灶, 刺激因子的量大于抑制因子, 原发灶生长迅速, 但抑制因子的半衰期比刺激因子长, 以致于抑制因子到达转移灶的量大于刺激因子, 从而抑制转移灶的生长。当原发灶被切除时, 由于转移灶血管生成的抑制因子来源消失, 所以转移灶生长加快。后来, 从移植 Lewis 肺癌的小鼠血清和尿液中分离到了 38 kD 的血管生成抑制素(angiotatin)有力地支持了这一假说。临床上也经常发现肿瘤术后易复发、病情进一步恶化现象, 这一假说如成立, 不难推测, LAMS 由于是一种血管生成抑制剂, 有可能使肿瘤组织中的血管生成刺激因素减少或者使抑制血管生成的因素增加, 从而改变肿瘤组织中原有的刺激和抑制血管生成因素对比, 使之向抑制血管生成的趋势转化, 使肿瘤的血管生成和肿瘤生长都受到抑制。如果这种推测成立的话, LAMS 不失为一种配合手术治疗肿瘤的有效药物。

参考文献

- 1 范曼芳, 等. 中国药科大学学报, 1988, 10(1): 30
- 2 Alban S, et al. *Arzneim-Forsch*, 1992, 42(8): 1005
- 3 Holffman R, et al. *B J Cancer*, 1996, 73(10): 1183
- 4 Holffman R, et al. *J Cell Sci*, 1995, 108(pt II): 3591
- 5 Miao H Q, et al. *J Cell Physiol*, 1995, 164(3): 482
- 6 Folkman J, et al. *Adv Cancer Res*, 1975, 43: 175
- 7 Peseti E, et al. *Brit J Cangcer*, 1992, 66: 367
- 8 Folkman J, et al. *Science*, 1983, 221: 719
- 9 Tanaka Ng, et al. *Cancer Res*, 1989, 49: 6727
- 10 Teicher Ba, et al. *Cancer Res*, 1992, 52: 6702
- 11 Folfman J, et al. *Natl Cancer Inst*, 1994, 82: 4
- 12 Scott Pae, et al. *Cancer Treat Res*, 1994, 20: 393
- 13 Nguyen M, et al. *J Natl Cancer Inst*, 1994, 82: 356
- 14 Zugmaier G, et al. *J Natl Cancer Inst*, 1992, 84: 1716
- 15 Murata J, et al. *Cancer Res*, 1991, 51: 22
- 16 Nakayama Y, et al. *J Cell Physiol*, 1993, 154: 1
- 17 盛 节, 等. 生命的化学, 1998, 18(4): 3

(1999-02-01 收稿)