

鲨鱼软骨粉对小鼠移植性肉瘤 - 180 抑制作用的研究

李业鹏 韩春卉 李燕俊 李玉伟 江 涛 张 靖 计 融

(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘 要:为了观察鲨鱼软骨制品对小鼠移植性肉瘤 - 180 (S-180) 的抑制作用,分别经口灌胃给予昆明种小鼠 0.02 ~ 4.5 g/kg BW 的 11 个品牌的鲨鱼软骨制品,每组单一性别 13 ~ 15 只,连续给予 18 d 后,每只小鼠左腋下接种 0.2 mL 浓度为 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ /mL 的 S-180 细胞,继续给予受试物至接种 12 d 后剖杀小鼠,取出瘤块,称体重、瘤重。同时分别经口灌胃给予 Balb/C 小鼠 0.02 ~ 4.5 g/kg BW 的 11 个品牌的鲨鱼软骨制品,每组单一性别 13 ~ 15 只,连续 30 d 后,测定小鼠免疫指标(腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验与 NK 细胞活性测定)。结果显示:(1)本实验中对对照组小鼠的瘤重为 2.60 ± 0.17 g ($n = 247$ 只),受试物组的瘤重为 2.39 ± 0.15 g ($n = 875$ 只),抑瘤率仅为 8%,经成组 t 检验统计, $P = 0.382 > 0.05$ 。即所使用的 11 个品牌的鲨鱼软骨制品均没有抑制小鼠移植性肉瘤 - 180 的作用;(2)NK 活性实验结果表明:鲨鱼软骨粉的剂量组与对照组相比,差异具有显著性 ($P \leq 0.05$) 并具有增强作用的占 36.4 % (4/11);(3)巨噬细胞吞噬实验结果表明,鲨鱼软骨粉剂量组与对照组吞噬率相比差异具有显著性 ($P \leq 0.05$) 并具有增强作用的占 18.2 % (2/11);(4)2 项免疫实验中至少 1 项阳性的占 45.4 % (5/11)。(5)鲨鱼软骨制品对小鼠免疫系统的影响比移植性肿瘤作用更敏感。

关键词:鲨鱼;软骨;肉瘤 180;免疫,细胞

Study on the inhibition of shark cartilage products on transplanted sarcoma-180 in mice

Li Yepeng, et al.

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021)

Abstract: The inhibition of shark cartilage on the transplanted sarcoma-180 (S-180) was assessed for 11 brands of shark cartilage products by testing the growth of S-180, activity of NK cell and the phagocytosis in mice. The products were given orally to Kunming mice at the dosage (0.02 ~ 4.5 g/kg BW) recommended by the manufacturers. The result showed that: (1) The average weight of sarcoma in mice was 2.39 ± 0.15 ($n = 875$) in testing groups, and that was 2.60 ± 0.17 ($n = 247$) in the control group ($P = 0.382, > 0.05$), and the inhibition rate of 8% indicated that the products had no resistant effect on the growth of sarcoma-180 in mice; (2) The activity of NK cells was enhanced in only 4 products (36.4 %); (3) The phagocytosis was enhanced in only 2 products (18.2 %); (4) Only 45.4 % of products could enhance more than one of these two immunoreactions; (5) The immunoreaction is more sensitive than the tumour inhibitive activity for shark cartilage.

Key Words: Sharks; Cartilage; Sarcoma 180; Immunity, Cellular

鲨鱼软骨粉来源于鲨鱼软骨。1993 年美国 FDA 同意鲨鱼软骨粉按药品程序提出申请, 1995 年美国 FDA 批准 × × × 牌鲨鱼软骨粉进行肿瘤治疗的第二阶段临床试验。蓝恩博士^[3]在美洲一些国家开展了鲨鱼软骨制剂的临床实验, 结果有效率 90 % 以上, 甚至有些癌症晚期病人得到了痊愈, 同时还发

现鲨鱼软骨制剂能有效地抵制因癌肿引起的剧痛。1996 年底, 鲨鱼软骨粉作为保健食品开始涌入中国市场。根据鲨鱼软骨粉抑制新生血管网络形成及鲨鱼软骨粉对实体瘤作用的机理, 按照卫生部《保健食品功能学评价程序和检验方法》, 我们选择 S-180 实体瘤作为鲨鱼软骨粉抑瘤作用的动物模型, 进行了小鼠 S-180 移植性实验和与肿瘤相关的免疫实验。

作者简介: 李业鹏 女 副研究员

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 肉瘤 S-180 瘤株由军事医学科学院提供。

传种方法 每毫升数量为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 的 S-180 细胞,每只鼠 0.2 mL,每七至十天,一代腹水一代实体瘤交替传种,实体瘤种植于左腋下,腹水瘤种植于腹腔。移植性试验使用腹水瘤细胞。S-180 模型鼠接种方法:于小鼠左腋下接种 S-180 细胞悬液(每毫升 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个),每只鼠 0.2 mL。

1.1.2 样品 11 个不同品牌的鲨鱼软骨粉产品,由 11 个生产厂家提供。

1.1.3 电子天平 1/100 岛津电子天平。

1.1.4 实验动物

中国医学科学院肿瘤研究所实验动物中心提供的二级昆明种健康小鼠,体重 18 ~ 22 g,批准号:京动字 8910M050,用于 S-180 移植实验。

中国医学科学院肿瘤研究所实验动物中心提供的二级 BalB/c 种健康小鼠,体重 18 ~ 22 g,批准号:京动字 8910M047,用于腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验和 NK 细胞活性实验。

动物分组方法 单一性别,随机分组,每组 13 ~ 15 只。设水对照组和 3 个剂量组,分别为 30 倍、10 倍、1 倍人体推荐剂量。灌胃量为 20 mL/kg BW。根据生产厂家提供的 1 倍推荐剂量范围为 0.02 ~ 0.15 g/kg BW,10 倍推荐剂量范围为 0.25 ~ 1.5 g/kg BW,30 倍推荐剂量为 0.75 ~ 4.5 g/kg BW。

1.2 方法

1.2.1 按“保健食品功能学评价程序和检验方法——1996”进行抑制肿瘤作用实验。^[1]

1.2.2 经口给予鲨鱼软骨产品 18 d 后,每只小鼠左腋下接种 S-180 细胞,继续给予受试物至接种 12 d 后剖杀,取出瘤块,称体重、瘤重,进行统计处理。每个样品重复实验 1 次。如两次中有一次阳性,则进行第三次实验。

1.2.3 实验结果用 stata 统计软件 anova 分析方法进行统计处理。

1.2.4 结果判定 一次实验中,任一剂量组瘤重低于对照组,并差异具有显著性 ($P \leq 0.05$),判定该实验(肿瘤抑制实验)阳性。两次实验均为阳性,同时免疫试验不抑制者判定为有肿瘤抑制作用,如其中仅有 1 次为阳性,则再重复实验 1 次,3 次实验有 2 次为阳性,同时免疫试验不抑制者亦判定有肿瘤抑制作用。

2 结果

2.1 鲨鱼软骨粉对移植性小鼠 S-180 肿瘤实验结果

由表 1 和表 2 可以看出,在第一次实验中,有 2 个品牌的鲨鱼软骨粉产品实验剂量组与对照组瘤重相比差异有显著性 ($P \leq 0.05$),第二次和第三次重复实验,剂量组与对照组瘤重相比差异无显著性 ($P > 0.05$)。在第一次实验中,有 9 个品牌的鲨鱼软骨粉产品,实验剂量组与对照组瘤重相比差异无显著性 ($P > 0.05$),重复实验结果相同。

从上述实验数据可以看出,所有对照组的瘤重为 2.60 ± 0.17 g ($n = 247$ 只),所有受试物组的瘤重为 2.39 ± 0.15 g ($n = 875$ 只),经成组 t 检验统计, $P = 0.382 > 0.05$ 。

2.2 鲨鱼软骨粉免疫调节实验的结果

从表 3 可以看出,在 NK 活性实验中,鲨鱼软骨粉的剂量组与对照组相比,差异具有显著性 ($P \leq 0.05$)并具有增强作用的占 36.4 % (4/11)。在巨噬细胞吞噬实验中,鲨鱼软骨粉剂量组与对照组吞噬率相比,差异具有显著性 ($P \leq 0.05$)并具有增强作用的占 18.2 % (2/11)。其中两项免疫实验中至少一项阳性的占 45.4 % (5/11)。

3 结果讨论

鲨鱼软骨抑癌理论认为,鲨鱼软骨制品中的硫酸软骨素分解出的特殊蛋白质可以抑制癌细胞赖以增生的周围新生血管网络的形成,肿瘤因不能获得生长繁殖所需的营养而萎缩。同时又因肿瘤产生的细胞代谢毒素无法通过足够的血管吸收排除反而将其自身毒死。并提出鲨鱼软骨制剂对脑瘤、乳房癌、前列腺癌、子宫和子宫颈癌以及肝癌的预防和治疗效果最为明显。对血癌和淋巴癌之类的非固体形肿瘤的疗效不佳。^[3] 由于各国均无产品动物模型功能学评价的要求,关于鲨鱼软骨粉对实验动物的肿瘤抑制作用可参考的资料很少。

在本实验中,受试物组与对照组相比,平均瘤重统计学差异不显著,但从结果可以看出,受试物组瘤重与对照组相比有下降趋势,抑瘤率为 8 %。按照《保健食品功能学评价程序和检验方法》评判原则,这 11 个品牌的鲨鱼软骨粉产品均无辅助性抑瘤功能。本实验 11 个品牌的鲨鱼软骨粉制品对小鼠移植性 S-180 肿瘤实验的影响,与 Lane 报道的鲨鱼软骨粉临床实验效果显著大相径庭。^[3] 基于鲨鱼软骨粉对人体临床试验的影响,其制品对其它瘤株的抑制作用有待进一步研究。

鲨鱼软骨制品中的粘性多糖体能增强人体免疫力,具有刺激小鼠脾脏和胸腺的作用。^[2] 本实验中有 45.4 % 鲨鱼软骨粉产品至少有增强 NK 活性和巨噬细胞吞噬率中的 1 项功能。本实验表明,鲨鱼软骨

粉制品对小鼠免疫系统的影响较小鼠移植性 S-180 抑制实验敏感。免疫调节作用的结果与韩春卉等报

道的大约 55 %鲨鱼软骨粉制剂对小鼠免疫系统具有调节作用相一致。^[6]

表 1 9 个品牌鲨鱼软骨粉对小鼠移植性 S-180 肿瘤实验的结果

编号	剂量 g/kg BW	第一次		第二次	
		动物数 只	瘤重 g	动物数 只	瘤重 g
97002002	0.00	13	3.49 ±1.04	10	1.71 ±1.00
	0.11	10	2.98 ±0.49	13	1.47 ±0.89
	1.12	12	2.54 ±0.89	13	1.60 ±0.61
	3.38	11	3.61 ±1.48	13	1.37 ±0.48
97003025	0.00	12	2.04 ±1.30	12	1.34 ±0.49
	0.08	11	2.22 ±1.50	12	1.72 ±0.71
	0.75	12	1.60 ±1.42	12	1.24 ±0.53
	2.25	13	2.32 ±1.68	11	1.56 ±0.79
97003004	0.00	12	2.48 ±0.52	13	2.31 ±0.93
	0.08	12	1.93 ±0.49	11	3.53 ±0.99
	0.75	11	1.92 ±0.60	13	2.76 ±0.81
	2.25	10	2.07 ±0.64	13	2.76 ±1.53
97001002	0.00	13	2.56 ±0.61	13	3.02 ±1.03
	0.10	13	2.89 ±1.16	13	2.67 ±1.15
	1.00	12	2.75 ±0.93	10	3.93 ±0.69
	3.00	11	2.76 ±0.86	13	3.24 ±1.01
97004009	0.00	13	4.51 ±1.93	13	3.88 ±1.10
	0.11	14	3.20 ±1.35	12	4.40 ±1.94
	1.13	11	3.64 ±1.26	13	3.57 ±1.46
	3.40	12	3.93 ±1.28	11	2.97 ±0.88
97006003	0.00	13	2.49 ±1.71	11	2.83 ±1.23
	0.08	12	2.56 ±1.82	13	2.09 ±0.81
	0.83	11	1.96 ±1.05	13	1.78 ±1.45
	2.50	11	2.07 ±1.25	11	2.17 ±1.28
97006007	0.00	11	2.83 ±1.23	13	2.49 ±1.71
	0.07	13	2.92 ±1.22	13	2.62 ±1.67
	0.73	13	2.34 ±1.07	13	2.42 ±0.99
	2.20	12	2.43 ±0.84	13	2.89 ±1.74
97003005	0.00	12	3.08 ±1.79	11	1.16 ±0.85
	0.02	10	2.14 ±1.30	12	1.84 ±0.63
	0.25	11	1.63 ±1.62	12	1.12 ±0.94
	0.75	13	2.09 ±1.68	12	1.23 ±0.92
97008007	0.00	26	2.59 ±0.57	26	2.69 ±0.96
	0.15	13	2.56 ±0.80	13	2.71 ±0.77
	1.50	13	2.64 ±1.09	13	2.52 ±0.74
	4.50	15	2.49 ±0.71	13	2.69 ±1.12

表 2 鲨鱼软骨粉对小鼠移植性 S-180 肿瘤实验结果

编号	剂量 g/kg BW	第一次		第二次		第三次	
		动物数 只	平均瘤重 g	动物数 只	平均瘤重 g	动物数 只	平均瘤重 g
96012023	0.00	12	3.08 ±1.79	11	1.16 ±0.85	13	2.31 ±0.93
	0.11	11	1.38 ±1.40 ⁽¹⁾	12	0.60 ±0.51	13	2.21 ±0.87
	1.11	11	1.17 ±1.25 ⁽¹⁾	11	1.41 ±0.92	12	2.07 ±0.55
	3.33	11	1.29 ±1.11 ⁽¹⁾	11	1.31 ±1.13	12	3.14 ±1.64
97002012	0.00	13	3.54 ±0.99	10	1.71 ±1.00	12	2.04 ±1.30
	0.04	13	3.73 ±1.02	13	1.99 ±0.80	13	1.99 ±1.74
	0.37	13	2.92 ±0.86	13	1.33 ±0.56	13	2.66 ±1.62
	1.12	11	2.47 ±0.75 ⁽¹⁾	13	1.41 ±0.49	13	1.54 ±1.10

注:(1) 与对照组相比 P ≤0.05

表3 鲨鱼软骨粉对免疫调节实验的结果

编号	剂量 g/kg BW	NK活性实验		吞噬试验		
		动物数 只	活性 %	动物数 只	吞噬率 %	吞噬指数
97002002	0.00	11	8.2 ±2.7	12	52.3 ±10.3	0.98 ±0.20
	0.11	12	12.7 ±4.3 ⁽¹⁾	13	51.9 ±16.5	1.03 ±0.31
	1.12	13	6.1 ±3.3	12	53.4 ±20.2	1.08 ±0.25
	3.38	12	4.4 ±2.9	13	50.1 ±14.4	0.99 ±0.19
97003025	0.00	10	12.9 ±10.7	12	79.7 ±10.0	2.33 ±0.81
	0.08	13	18.4 ±10.3	10	79.9 ±22.1	2.45 ±0.90
	0.75	12	26.5 ±8.5 ⁽¹⁾	10	83.9 ±8.0	2.56 ±0.58
	2.25	12	26.0 ±13.9 ⁽¹⁾	12	78.2 ±11.1	2.23 ±1.08
97003004	0.00	11	44.6 ±9.7	11	37.4 ±12.8	0.58 ±0.15
	0.08	11	47.1 ±21.8	10	47.5 ±9.8	0.77 ±0.15
	0.75	11	53.2 ±10.3	10	33.2 ±6.7	0.61 ±0.15
	2.25	11	55.8 ±18.9	12	54.8 ±9.4 ⁽²⁾	0.97 ±0.19 ⁽²⁾
97001002	0.00	13	21.8 ±10.2	13	65.9 ±12.1	1.02 ±0.27
	0.10	12	24.7 ±11.3	12	58.8 ±11.4	1.10 ±0.33
	1.00	12	18.8 ±6.1	12	58.2 ±9.9	1.01 ±0.35
	3.00	12	17.9 ±8.5	12	56.6 ±10.0	1.14 ±0.20
97004009	0.00	11	34.7 ±13.2	12	29.9 ±11.3	0.34 ±0.15
	0.11	11	47.2 ±9.5	12	25.5 ±11.8	0.30 ±0.17
	1.13	10	55.0 ±10.5 ⁽²⁾	12	28.7 ±14.3	0.34 ±0.20
	3.40	11	57.1 ±17.4 ⁽²⁾	12	20.4 ±6.3	0.23 ±0.07
97006003	0.00	11	54.8 ±13.0	13	56.5 ±10.4	0.70 ±0.18
	0.08	11	55.9 ±11.9	11	47.6 ±9.6	0.58 ±0.16
	0.83	11	60.6 ±9.6	12	58.2 ±9.9	0.80 ±0.21
	2.50	11	67.4 ±18.0	13	56.6 ±10.0	0.72 ±0.14
97006007	0.00	11	23.1 ±12.7	11	48.0 ±10.9	0.67 ±0.20
	0.07	11	32.3 ±16.3	12	50.7 ±11.6	0.68 ±0.22
	0.73	10	26.7 ±15.7	10	48.2 ±4.8	0.61 ±0.10
	2.20	12	21.9 ±13.2	12	50.1 ±7.3	0.62 ±0.12
97003005	0.00	13	20.1 ±12.7	14	57.0 ±21.4	1.04 ±0.58
	0.02	12	18.7 ±8.6	11	68.6 ±17.1	0.92 ±0.23
	0.25	12	24.8 ±14.9	12	62.1 ±17.6	1.63 ±0.58 ⁽¹⁾
	0.75	12	28.3 ±15.6 ⁽²⁾	13	51.0 ±17.0	1.20 ±0.36
97008007	0.00	12	14.7 ±4.19	11	64.7 ±13.2	1.33 ±0.39
	0.15	11	20.7 ±12.5	12	61.0 ±29.8	1.48 ±0.84
	1.50	11	18.3 ±4.4	10	62.1 ±17.6	1.52 ±0.64
	4.50	12	15.8 ±5.6	13	59.2 ±14.6	1.34 ±0.49
96012023	0.00	13	3.95 ±1.47	10	11.3 ±5.3	0.16 ±0.08
	0.11	12	3.95 ±1.94	12	12.5 ±9.3	0.19 ±0.15
	1.11	12	2.80 ±2.27	12	17.2 ±14.8	0.20 ±0.17
	3.33	10	2.03 ±1.56	10	8.7 ±5.8	0.11 ±0.07
97002012	0.00	12	27.2 ±6.7	11	22.6 ±10.2	0.25 ±0.10
	0.04	13	25.1 ±15.2	11	24.4 ±6.1	0.29 ±0.07
	0.37	13	29.1 ±9.2	12	27.7 ±10.7	0.33 ±0.13
	1.12	13	25.8 ±5.0	10	22.4 ±8.4	0.26 ±0.09

注:(1) 与对照组相比 P ≤0.05 ,(2) 与对照组相比 P ≤0.01。

参考文献：

[1] 保健食品功能学评价程序和检验方法[Z]. 1996 - 07 - 18.

[2] 沈先荣,贾福星,王玲,等. 鲨鱼软骨抗肿瘤制剂的效应及其作用机制[J]. 中国生化药物杂志,1997,18(3): 123—126.

[3] Lane I W,Contreras J E. High rate of bioactivity (reduction in gross tumor size) observed in advanced cancer patients treated with shark cartilage material[J]. The Journal of Naturopathic

Medicine ,1992 ,3(1) :85—88.

[4] 李东霞,张双全. 鲨鱼软骨活性物质研究进展[J]. 中国海洋药物, 2000 ,19(4) :48—51.

[5] 易美华,张立实. 鲨鱼软骨胶囊的抑制肿瘤实验研究[J]. 中国海洋药物, 2000 ,19(1) :36—37.

[6] 韩春卉,刘红蕾,李玉伟,等. 鲨鱼软骨对小鼠免疫系统影响的探讨[A]. 全国保健食品理论研讨会论文汇编[C]. 2000 ,179—181.

[收稿日期 :2002 - 02 - 23]

中图分类号 :R15 ;TS218 文献标识码 :A 文章编号 :1004 - 8456(2003)05 - 0402 - 04