

近江牡蛎糖胺聚糖体内外抗肿瘤作用研究

吴红棉, 范秀萍, 胡雪琼, 刘倩, 蒋杨

(广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

摘要: 研究近江牡蛎糖胺聚糖体内外抗肿瘤活性。采用MTT法测定近江牡蛎糖胺聚糖(CG)对K562、CNE-2Z、Hela细胞增殖的影响;采用动物体内移植性肿瘤模型,观察CG对S₁₈₀实体瘤和艾氏癌腹水型(EAC)、白血病L₁₂₁₀腹水瘤的影响。实验显示近江牡蛎糖胺聚糖级分CG、CGIa和CGIIa均可以抑制K562、CNE-2Z、Hela细胞的生长($p < 0.05$),其中CGIa对肿瘤细胞增殖的抑制作用最强,72h时对K562、CNE-2Z细胞增殖抑制作用的IC₅₀分别为1.95、7.36 mg/L;且对抗肿瘤药物5-Fu具有增敏作用。CG对移植性S₁₈₀肉瘤抑瘤率可达到44.66%,与CTX合用后可提高至67.96%,且对CTX损伤的小鼠免疫功能有一定的修复作用;CG与CTX合用后能延长L1210腹水瘤小鼠和荷EAC小鼠的生命,其生命延长率分别高达50.27%和55.27%。表明近江牡蛎糖胺聚糖具有体内外抗肿瘤活性,其作用可能与直接细胞毒作用及增强机体免疫功能有关。

关键词: 近江牡蛎糖胺聚糖;抗肿瘤活性;抑制率;生命延长率

文章编号: 1673-9078(2014)6-18-23

Antitumor Activity of Glycosaminoglycan from *Crassostrea rivularis*

WU Hong-mian, FAN Xiu-ping, HU Xue-qiong, LIU Qian, JIANG Yang

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety, Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, National Research and Development Branch Center for Shellfish Processing (Zhanjiang), College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: The anti-tumor activity of glycosaminoglycan from *Crassostrea rivularis* (CG) *in vivo* and *in vitro* was studied in this paper. MTT method was used to detect the effect of CG on the growth of K562, CNE-2Z and Hela cells *in vitro*. Through the method of animal transplant tumor screening *in vivo*, the effects of CG on the growth of S₁₈₀, EAC and L₁₂₁₀ tumors in mice were observed. The results showed that the fractions of CG, CGIa and CGIa could inhibit the growth of K562, CNE-2Z and Hela cells ($p < 0.05$), and when combined with 5-Fu the efficiency of anti-tumor increased. IC₅₀ of CGIa on K562 and CNE-2Z cells in 72h were 1.95 mg/L and 7.36 mg/L respectively. *In vivo*, CG had remarkable inhibitory effect on growth of S₁₈₀ tumor. The inhibitory ratio increased from 44.66% to 67.96% when combination with CTX. The immune injury by CTX could be repaired by CG. The life prolonging rate of mice transplanted with EAC and L₁₂₁₀ tumor while treated by CG combination with CTX were 50.27% and 55.27%. The results showed that glycosaminoglycan from *Crassostrea rivularis* had anti-tumor activity.

Key words: *Crassostrea rivularis* glycosaminoglycan; anti-tumor activity; inhibition ratio; life prolonging rate

近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*), 牡蛎科或燕蛤科双壳类软体动物, 分布于温带和热带各大洋沿岸水域^[1], 其肉质鲜美、营养丰富, 历来备受世人推崇。《神农本草经》始载牡蛎具有敛阴、潜阳、清热、除湿、软坚等功用, 主治惊厥、眩晕等。现代医学研究表明, 牡蛎提取物具有抗肿瘤、增加机体免疫功能、降血脂及抗病毒等多种作用^[2~3]。

糖胺聚糖, 又称酸性粘多糖或氨基多糖, 是动物

体内存在的特征性多糖类化合物, 是体内蛋白聚糖的糖链组成部分, 在生物学、病理学和生理学过程中起着重要作用, 已引起世界医药界和生物化学界的广泛关注, 人们已经在利用由外源物质提取得到的糖胺聚糖研制出了在防治某些疾病具有显著效果的药物, 并取得了很大的研究进展。研究表明糖胺聚糖具有抗肿瘤活性^[4~5], 其抗肿瘤机理主要为诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成, 提高机体免疫等。随着人们对海洋资源不断的研究与探索, 海洋软体动物中多糖类物质的生物活性与功能研究也引起了人们的关注。江长优等对牡蛎多糖的活性研究表明其对小鼠的非特异性

收稿日期: 2013-11-08

项目来源: 广东省海洋渔业科技推广专项(A201008102)

作者简介: 吴红棉(1953-), 男, 教授, 研究方向为海洋生物活性物质

免疫与细胞免疫功能有较显著的增强作用^[6]。

本课题组对近江牡蛎全脏器中的糖胺聚糖进行了酶法分离,得到的粗提物体外对人宫颈癌细胞(Hela细胞)的生长有一定的抑制作用^[7],为了进一步探讨其作用,本文对粗提物进行了纯化,并将粗提物与纯化成分进行了体内、外抗肿瘤作用的比较研究,拟为牡蛎糖胺聚糖的进一步研究利用奠定基础,同时也为深入开发海洋药物资源提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

近江牡蛎糖胺聚糖粗制品CG、纯化级分CGIa、CGIIa由本实验室制备。近江牡蛎全脏器经双酶酶解^[8]、醇沉、脱色和等电点除蛋白和超滤脱盐浓缩,得到精制品CG,经DEAE-52纤维素柱层析纯化得CGI和CGII。再经Sephadex G-200凝胶柱层析进一步纯化得CGIa、CGIIa,相对分子质量分别为 5.17×10^5 Da和 2.64×10^5 Da,硫酸基含量为20.62%和18.49%。

CNE-2Z、K562、Hela细胞株、小鼠肉瘤细胞S180,广东海洋大学海洋药物研究所提供;小鼠艾氏腹水癌细胞EAC、小鼠白血病细胞L1210,购于中国医学科学院肿瘤细胞库;SPF级KM小鼠(合格证号:SCXK(湘)2009-0012),湖南省长沙市天勤生物技术有限公司提供。

五氟尿嘧啶5-Fu,国药集团化学试剂有限公司;0.5%胰蛋白酶溶液、RPMI1640培养液,吉诺生物医学技术有限公司;PBS,北京鼎国生物技术发展中心;噻唑蓝MTT、二甲基亚砷(DMSO),Sigma公司;注射环磷酰胺CTX,江苏恒瑞医药股份有限公司;台盼蓝,上海缘聚生物科技有限公司;小牛血清,杭州四季青生物工程材料有限公司;注射用青霉素钠,哈药集团制药总厂;注射用硫代硫酸钠,上海新亚药业有限公司。

1.2 仪器与设备

ELx800型全波段酶标仪,美国伯爵仪器有限公司;TC2323型二氧化碳培养箱,美国Forma Scientific公司;OLYMPUS CH30型生物显微镜,日本OLYMPUS公司;LDZ5-2型低速台式自动平衡离心机,北京瑞邦兴业科技有限公司;GZX-9140MBE数显不锈钢鼓风干燥箱,上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

1.3 方法

1.3.1 近江牡蛎糖胺聚糖抗肿瘤活性的检测

1.3.1.1 体外对肿瘤细胞增殖作用的检测

采用MTT法^[7]。取对数期生长细胞,用培养基(RPMI1640培养液+10%小牛血清+1%抗生素)配置成 $1 \sim 3 \times 10^4$ 个/mL的单细胞悬液,接种于96孔板中,每孔100 μ L,在37 $^{\circ}$ C,5%CO₂的培养箱中培养12h后加入样品20 μ L,使样品的终浓度达到10、25、50、100、200 μ g/mL,阴性对照组为不加样品的细胞悬液,阳性对照组为5-Fu。每组设4个复孔。分别于培养24h、48h、72h后加入MTT溶液,20 μ L/孔,4h后加入SDS-异丁醇-盐酸溶液100 μ L/孔。在570nm处测定各个孔的OD值,计算细胞增殖抑制率。

$$\text{抑制率} = (1 - \text{OD}_{\text{样品组}} / \text{OD}_{\text{阴性对照组}}) \times 100\% \quad (1)$$

利用金氏公式计算Q值来判断CG与阳性药物之间的相互作用。

$$Q = \frac{Ea + b}{(Ea + Eb - Ea \times Eb)} \quad (2)$$

注: Ea+b为样品与对照组药物合用的抑制率, Ea、Eb分别为样品和对照药物的抑制率; a: Q值在0.85~1.15说明是单纯相加作用,用“+”表示; b: Q值大于1.15是增强或者协同作用,用“++”表示; c: Q值小于0.85是拮抗作用,用“-”表示。

1.3.1.2 体内抗肿瘤活性检测

昆明小鼠建立移植性S180肉瘤实体型、Ehrlich癌即艾氏腹水型(EAC)、移植性L1210白血病模型,分别经腹腔注射实验药物,最后检测脾指数、胸腺指数、瘤重抑制率,生命延长率及其死亡期腹围并记录^[9]。

计算公式:

$$\text{瘤重抑制率} = (1 - T/C) \times 100\% \quad (3)$$

注: T为实验组平均瘤重, C为生理盐水对照组平均瘤重。

$$\text{脾指数} = \frac{\text{脾脏重} \times 1000}{\text{体重}} \quad (4)$$

$$\text{胸腺指数} = \frac{\text{胸腺重} \times 1000}{\text{体重}} \quad (5)$$

$$\text{生命延长率} \% = (T/C - 1) \times 100\% \quad (6)$$

注: T为治疗组平均生存天数, C为对照组平均生存天数。

1.4 统计分析

采用JMP 7.0统计软件进行统计分析,组间差异采用单因素方差分析判断均数差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 体外抗肿瘤活性试验

2.1.1 牡蛎糖胺聚糖对三种肿瘤细胞增殖的抑制作用

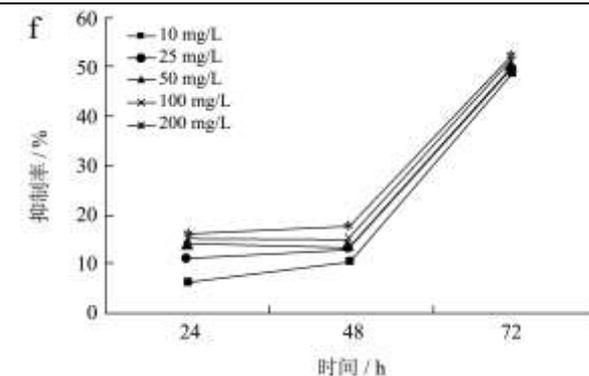
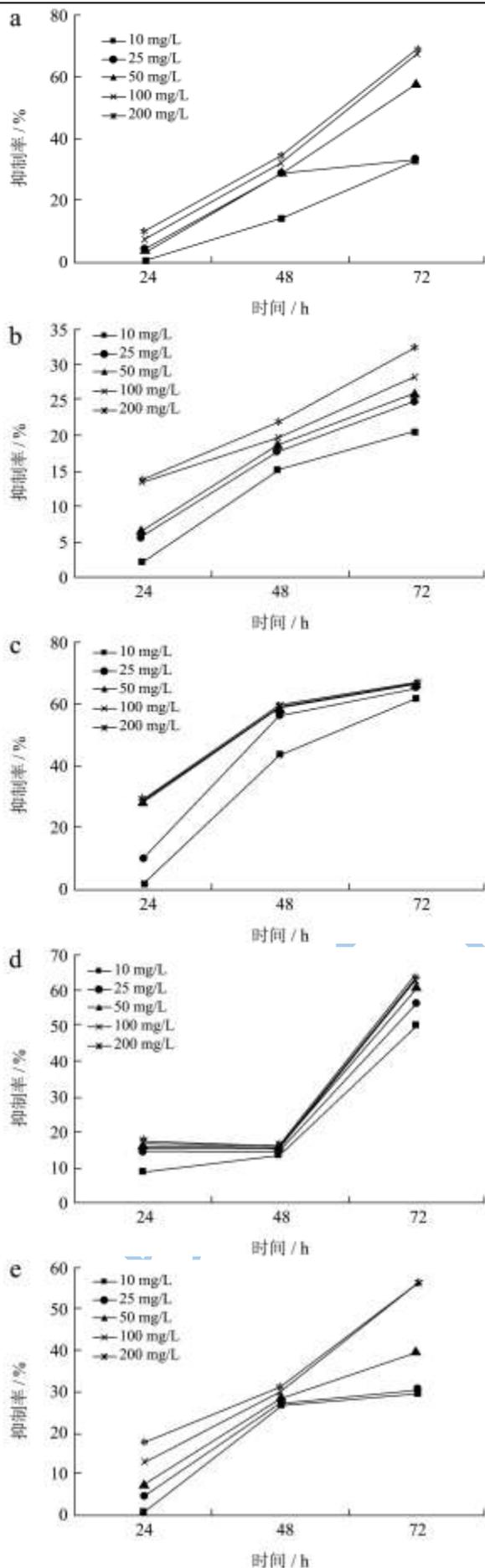


图1 CG、CGIa、CGIa对K562、CNE-2Z细胞增殖抑制作用的时效关系曲线

Fig.1 Time-inhibitory rate of CG, CGIa and CGIa to K562 and CNE-2Z cells

注：a、c、e为CG、CGIa、CGIa对K562细胞增殖抑制作用的时效关系；b、d、f为CG、CGIa、CGIa对CNE-2Z细胞增殖抑制作用的时效关系。

表1 CG、CGIa、CGIa对三种肿瘤细胞增殖的抑制作用(48h) ($\bar{x} \pm s$, n=4)

Table 1 Inhibitory effects of CG, CGIa and CGIa on K562, CNE-2Z and Hela cells (48 h)

组别	剂量 /($\mu\text{g/mL}$)	肿瘤细胞		
		K562	CNE-2Z	Hela
CG	10	14.37 \pm 0.025**	15.18 \pm 0.028**	0.27 \pm 0.037
	25	29.13 \pm 0.010**	17.62 \pm 0.023**	1.71 \pm 0.016**
	50	29.18 \pm 0.035**	18.85 \pm 0.003**	3.98 \pm 0.026**
	100	32.40 \pm 0.004**	20.00 \pm 0.021**	8.52 \pm 0.011**
	200	34.75 \pm 0.045**	21.81 \pm 0.014**	15.34 \pm 0.011**
CGIa	10	43.69 \pm 0.016**	13.43 \pm 0.007**	7.41 \pm 0.085**
	25	57.04 \pm 0.040**	14.83 \pm 0.005**	13.75 \pm 0.074**
	50	58.80 \pm 0.013**	15.88 \pm 0.002**	24.87 \pm 0.069**
	100	59.53 \pm 0.022**	16.06 \pm 0.003**	24.86 \pm 0.026**
	200	59.94 \pm 0.023**	16.23 \pm 0.003**	25.39 \pm 0.053**
CGIIa	10	26.83 \pm 0.048**	10.82 \pm 0.019**	5.82 \pm 0.016**
	25	27.27 \pm 0.040**	13.79 \pm 0.045**	8.99 \pm 0.011**
	50	28.59 \pm 0.038**	13.96 \pm 0.031**	12.69 \pm 0.021**
	100	30.21 \pm 0.025**	15.53 \pm 0.047**	16.93 \pm 0.011**
	200	30.94 \pm 0.018**	18.15 \pm 0.024**	19.58 \pm 0.005**

注：*P<0.05, **P<0.01 vs 空白对照组。

CG、CGIa、CGIIa对K562、CNE-2Z和Hela细胞增殖的抑制作用试验结果见表1。由表1中可以看出，牡蛎糖胺聚糖对三种肿瘤细胞增殖均表现出一定的抑制作用(P<0.01)，其中对K562细胞作用最为敏感，抑制作用最强，且三个级分中CGIa的抑制作用高于CGIIa和CG。CG对Hela细胞增殖抑制作用较弱，而纯化级分CGIa对Hela细胞增殖的抑制作用要

优于CGIIa。CG、CGIa、CGIIa对K562、CNE-2Z两种肿瘤细胞增殖的抑制作用表现出较好的量效关系(表1)和时效关系(图1),但对Hela细胞增殖的抑制作用有一定量效关系,但无时效关系,这表明牡蛎糖胺聚糖对Hela细胞增殖的抑制作用不敏感。

三个级分对肿瘤细胞的作用有较大差异,72 h时CG、CGIa、CGIIa对K562细胞增殖的抑制作用的IC₅₀分别为40.59、1.95、99.02 mg/L,CGIa、CGIIa对CNE-2Z细胞增殖的抑制作用的IC₅₀分别为7.36、15.59 mg/L。这显示多糖的结构、组成以及与蛋白质

的连接与其肿瘤细胞增殖抑制作用有较大关系。

相对分子质量大于100 kDa主要由半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖和甘露糖组成的多糖或蛋白多糖一般具有较高的生物活性^[9-10]。在本实验中牡蛎多糖高分子组分CGIa表现出较强的体外肿瘤抑制作用,且CGIa和CGIIa的相对分子质量均大于100 kDa,与已有的相关研究结果一致^[11]。其具体的构效关系有待进一步的研究。

2.1.2 糖胺聚糖与5-Fu合用对肿瘤细胞的体外抗增殖作用

表2 CG、CGIa、CGIIa与5-Fu合用对K562、CNE-2Z和Hela细胞的体外抗增殖作用(24h) ($\bar{x} \pm s$, n=4)

Table 2 Inhibitory effects of CG, CGIa and CGIIa with 5-Fu on K562, CNE-2Z and Hela cells (24h)

组别	剂量/(mg/L)	K562		CNE-2Z		Hela	
		抑制率/%	相互作用	抑制率/%	相互作用	抑制率/%	相互作用
5-Fu	10	6.33±0.041	-	9.06±0.055	-	25.00±0.017	-
CG+5Fu	10+10	11.31±0.027 ^{△△}	+	9.38±0.023	+	28.41±0.011 ^{△△}	+
	25+10	13.62±0.018 ^{△△}	++	18.77±0.019 ^{△△}	++	30.68±0.006 ^{△△}	++
	50+10	8.14±0.054 [△]	-	18.12±0.065 ^{△△}	++	38.63±0.011 ^{△△}	++
	100+10	12.24±0.027 [△]	+	18.12±0.055 ^{△△}	+	42.61±0.063 ^{△△}	++
	200+10	17.23±0.036 [△]	+	27.83±0.036 ^{△△}	++	46.02±0.045 ^{△△}	++
CGIa+5Fu	10+10	47.51±0.014 ^{△△}	++	23.30±0.019 ^{△△}	++	33.52±0.040 ^{△△}	++
	25+10	54.30±0.005 ^{△△}	++	25.89±0.026 ^{△△}	++	39.77±0.017 ^{△△}	++
	50+10	61.09±0.005 ^{△△}	++	30.74±0.006 ^{△△}	++	42.61±0.034 ^{△△}	++
	100+10	65.61±0.009 ^{△△}	++	39.81±0.003 ^{△△}	++	51.71±0.040 ^{△△}	++
	200+10	68.79±0.005 ^{△△}	++	42.72±0.010 ^{△△}	++	53.98±0.045 ^{△△}	++
CGIIa+5Fu	10+10	18.10±0.023 ^{△△}	++	20.71±0.036 ^{△△}	++	29.54±0.063 ^{△△}	+
	25+10	20.36±0.050 ^{△△}	++	22.33±0.032 ^{△△}	+	33.52±0.057 ^{△△}	+
	50+10	31.72±0.059 ^{△△}	++	25.89±0.013 ^{△△}	+	34.65±0.023 ^{△△}	+
	100+10	35.75±0.027 ^{△△}	++	29.13±0.016 ^{△△}	++	49.18±0.011 ^{△△}	++
	200+10	39.82±0.036 ^{△△}	++	35.28±0.032 ^{△△}	++	50.56±0.006 ^{△△}	++

注: [△] P<0.05, ^{△△} P<0.01 vs 5-Fu。

牡蛎糖胺聚糖与抗肿瘤药物5-Fu合用对三种肿瘤细胞的体外抗增殖作用结果见表2。与抗肿瘤药物(10 mg/L 5-Fu)单独使用相比,CG、CGIa和CGIIa与抗肿瘤药物合用后对K562、CNE-2Z和Hela细胞体外增殖作用的抑制率均显著提高(P<0.05)。其中只有CGIa与5-Fu合用后对三种肿瘤细胞增殖的抑制效果均具有增强作用(++),与CGIa单独使用相比具有量效关系(见图2)。

2.2 体内抗肿瘤活性试验

2.2.1 牡蛎糖胺聚糖对小鼠体内S₁₈₀肉瘤实体瘤的抑制作用

表3 CG对S₁₈₀肉瘤实体瘤小鼠脾指数、胸腺指数、抑瘤率的影响($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 3 Effects of CG on spleen index, thymus index and tumor inhibition rate of S₁₈₀/mice

组别	剂量/(mg/kg)	瘤重/g	脾指数/(mg/g)	胸腺指数/(mg/g)	抑瘤率/%
Control		1.03±0.44	5.19±0.87	4.46±2.50	
CG	50	0.78±0.29	5.40±1.94	4.73±1.18	24.27
CG	100	0.57±0.11**	5.74±1.26	4.44±1.14	44.66
CG	200	0.60±0.28*	5.77±2.09	5.16±0.58	41.75
CTX	20	0.41±0.23**	4.11±1.22*	2.43±1.53**	60.19
CTX+CG	20+100	0.33±0.20**	4.91±1.71	3.00±1.55*	67.96

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Control group。

牡蛎糖胺聚糖对 S₁₈₀ 肉瘤的抑制作用, 试验结果见表 3。

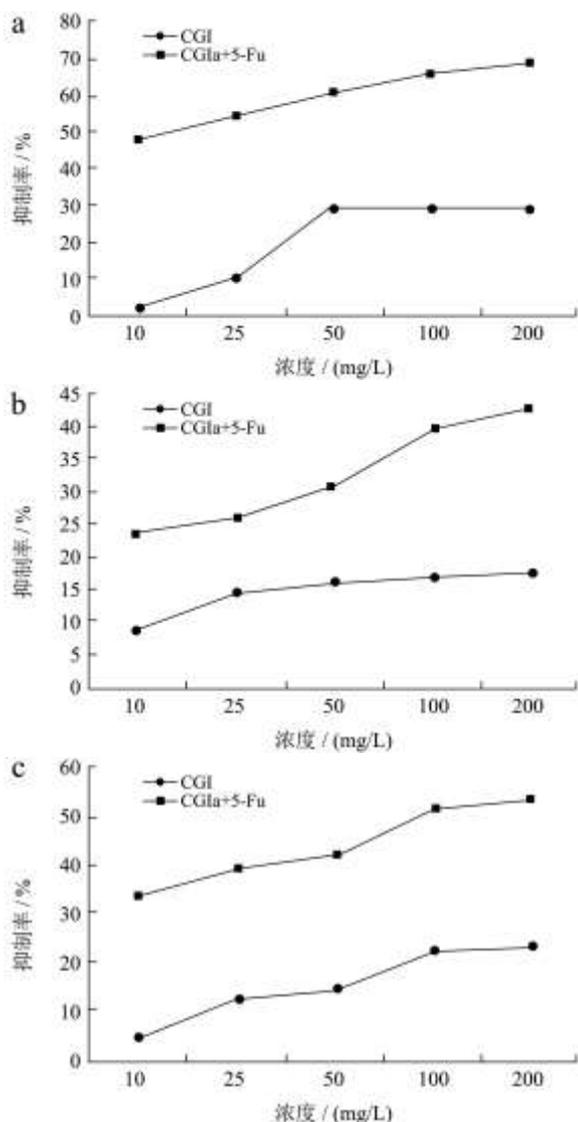


图 2 CGIa 单用及与 5-Fu 合用对肿瘤细胞增殖抑制作用的量效关系曲线

Fig.2 Concentration-inhibitory rate of CGIa combination with 5-Fu to K562, CNE-2Z and Hela cells

注: a、b、c 分别为 CGIa 单用及与 5-Fu 合用对 K562、CNE-2Z 和 Hela 细胞增殖抑制作用的量效关系。

由表 3 可以看出, 与阴性对照组相比, CG 中、高剂量能显著抑制 S₁₈₀ 实体瘤的生长 ($P<0.05$), 且随着剂量的增加, 抑瘤率增加, 表明 CG 对 S₁₈₀ 实体瘤的抑瘤效果有剂量效应关系。抗肿瘤药物 CTX 能显著抑制 S₁₈₀ 肿瘤生长的同时使得小鼠的胸腺与脾脏缩小 ($P<0.05$); 与 CG 合用后抑瘤率提高到 67.96%, 同时, 小鼠的脾指数与胸腺指数也有所增加, 这表明牡蛎糖胺聚糖对 CTX 损伤的小鼠免疫功能有一定的修复作用, 提示牡蛎糖胺聚糖可能通过增强小鼠的免

疫功能而起到抑制肿瘤生长作用。

2.2.2 牡蛎糖胺聚糖对小鼠体内白血病 L₁₂₁₀ 腹水瘤和 EAC 腹水瘤的抑制作用

牡蛎糖胺聚糖对 L₁₂₁₀ 腹水瘤和艾氏腹水癌 EAC 的抑制作用, 试验结果见表 4、5。

表 4 CG 对荷 L₁₂₁₀ 小鼠生命延长率的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=8)

Table 4 Survival effect of CG on L₁₂₁₀/mice

组别	剂量/(mg/kg)	平均生命期/(Mean±S,d)	生命延长率/%	腹围大小/cm
Control		14.86±2.19	0	13.29±0.57
CG	50	15.57±1.51	4.78	12.57±0.84 [‡]
CG	100	16.71±1.60	12.45	1.71±0.64*
CG	200	16.00±1.63	7.67	2.14±0.80*
CTX	20	19.43±0.98**	30.75	1.50±0.41*
CTX+CG	20+100	22.33±2.88**	50.27	1.33±0.41*

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Control group。

由表 4 可以看出, 牡蛎糖胺聚糖能使荷 L₁₂₁₀ 小鼠生命延长, 延长率最高可达 12.75%, 但无量效关系。与 CTX 组相比, 合用组显示出一定的增敏作用, 将小鼠的生命延长率从 30.75% 提高到 50.27%; 各用药组小鼠腹围均小于生理盐水对照组, 表明牡蛎糖胺聚糖具有抑制 L₁₂₁₀ 腹水瘤生长的作用。

表 5 CG 对荷 EAC 小鼠生命延长率的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=8)

Table 5 Survival effect of CG on EAC/mice

组别	剂量/(mg/kg)	平均生命期/(Mean±S,d)	生命延长率/%	腹围大小/cm
Control		15.38±1.77	0	12.75±1.04
CG	50	16.63±2.20	8.13	12.56±0.90
CG	100	17.75±2.49*	15.41	12.38±1.06
CG	200	18.25±1.83*	18.66	12.31±0.70
CTX	20	22.75±2.19**	47.92	11.19±0.96**
CTX+CG	20+100	23.88±2.30**	55.27	11.94±0.73

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Control group。

由表 5 可以看出, CG 各剂量组平均存活天数均比对照组生理盐水长, 且有量效关系, 其中剂量为 200 mg/kg 的 CG, 其生命延长率达到 18.66%; 与 CTX 组相比, 合用组显示出一定的增敏作用, 将小鼠的生命延长率从 47.92% 提高到 55.27%; 各用药组小鼠腹围均小于生理盐水对照组, 表明牡蛎糖胺聚糖具有抑制 EAC 腹水瘤生长的作用。

3 结论

3.1 体外抗肿瘤试验表明: CG、CGIa、CGIIa 对 K562、CNE-2Z、Hela 细胞增殖均有一定的抑制作用, 72 h 时 CG、CGIa、CGIIa 对 K562 细胞增殖的抑制作用的

IC₅₀ 分别为 40.59、1.95、99.02 mg/L, CGIa、CGIIa 对 CNE-2Z 细胞增殖的抑制作用的 IC₅₀ 分别为 7.36、15.59 mg/L。与阳性药物 5-Fu 合用可以增强抑制肿瘤细胞生长的效果, CGIa 对抗肿瘤药物 5-Fu 具有增敏作用。

3.2 体内抗肿瘤试验表明: CG 各剂量组对 S₁₈₀ 肉瘤、L₁₂₁₀ 腹水瘤和 EAC 腹水瘤均具有一定抑制作用, 其中对 S₁₈₀ 肉瘤的抑制效果明显, 抑瘤率可达到 44.66%, 且对 CTX 损伤的小鼠免疫功能有一定的修复作用。与 CTX 合用能起到协同增强抗肿瘤作用的效果。其中, 合用组对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠的抑瘤率高达 67.96%; 合用组均能延长 L₁₂₁₀ 腹水瘤小鼠和荷 EAC 小鼠的生命, 其生命延长率分别高达 50.27% 和 55.27%。

3.3 结合体内外肿瘤实验结果, 可初步推测出牡蛎糖胺聚糖具有抗肿瘤活性, 其机制可能有两个方面: 一是直接的细胞毒作用, 体外可直接杀伤肿瘤细胞, 体内可抑制肿瘤细胞生长; 二是通过提高机体免疫功能起到抑制肿瘤生长作用。其深入的机制需要进一步的研究。

参考文献

- [1] 王海艳, 郭希明, 刘晓, 等. 中国近海“近江牡蛎”的分类和订名[J]. 海洋科学, 2007, 31(9): 84-86
WANG Hai-yan, GUO Xi-ming, LIU Xiao, et al. Classification of “Jin jiang” oysters in China [J]. Marine Science, 2007, 31(9): 84-86
- [2] Achour A, Lachgar A, Astgen A, et al. Potentialization of IL-2 effects on immune cells by oyster extract in normal and HIV-infected individuals [J]. Biomed Pharmacother, 1997, 51(10): 427-429
- [3] 范巧云, 王建, 刘群红. 牡蛎多糖体外对 HepG2.2.15 细胞分泌 HBsA、HBeAg 的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(7): 594-596
FAN Qiao-yun, WANG Jiang, LIU Qun-hong. The anti-hepatitis B virus activities of concha ostreae polysaccharide in vitro [J]. Chinese Journal of Microecology, 2012, 24(7): 594-596
- [4] Lee Y S, Yang H O, Shin K H, et al. Suppression of tumor growth by a new glycosaminoglycan isolated from the African giant snail *Achatina fulica* [J]. Eur J Pharma, 2003, 465: 191-198
- [5] Chen S G, Wang D F, Xue C H, et al. Sulfation of a squid ink polysaccharide and its inhibitory effect on tumor cell metastasis [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 81: 560-566
- [6] 江长优, 张健, 赵江贺. 牡蛎多糖增强小鼠免疫功能作用研究[J]. 中成药, 2013, 35(5): 1062-1065
JIANG Chang-you, ZHANG Jian, ZHAO Jiang-he. Regulatory effects of polysaccharide from *crassostrea rivularis* on immunological function in mice [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2013, 35(5): 1062-1065
- [7] 胡雪琼, 吴红棉, 刘芷筠, 等. 近江牡蛎糖胺聚糖的酶解提取及其抗肿瘤活性研究[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(7): 3-6
HU Xue-qiong, WU Hong-mian, LIU Zhi-jun, et al. Study of enzymatic preparation of glycosaminoglycan with anti-tumor activity from *crassostrea rivularis* crould [J]. Food Research and Development, 2009, 30(7): 3-6
- [8] 徐叔云, 卞如濂. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002
XU Shu-yun, BIAN Ru-lian. Methodology of pharmacological experiment [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002
- [9] Kralovec J A, Metera K L, Kumar J R, et al. Immunostimulatory principles from *Chlorella pyrenoidosa*-part 1: Isolation and biological assessment in vitro [J]. Phytomedicine, 2007, 14(1): 57-64
- [10] Lo T C, Jiang Y H, Chao A L, et al. Use of statistical methods to find the polysaccharide structural characteristics and the relationships between monosaccharide composition ratio and macrophage stimulatory activity of regionally different strains of *Lentinula edodes* [J]. Anal. Chim. Acta., 2007, 584(1): 50-56
- [11] ZHANG Li, LIU Wan-shun, HAN Bao-qin, et al. Isolation and characterization of antitumor polysaccharides from the marine mollusk *ruditaps philippinarum* [J]. Eur. Food Res. Technol., 2008, 227: 103-110