

鲨鱼中的抗肿瘤活性物质及其作用机制

Anti-tumor substances of shark and their action mechanisms

贺丽虹¹, 黄建华², 沈颂东¹, 孙少勇³

(1. 苏州大学, 江苏 苏州 215006; 2. 中国科学院 南海水产研究所, 广东 广州 510301; 3. 河北省水产技术推广站, 河北 石家庄 050011)

中图分类号: R96

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2005)11-0063-04

鲨鱼属于软骨鱼纲(Chondrichthyes)、鲨鱼总目(Selachomorpha), 约 250 多种。在自然界中鲨鱼是极少患恶性肿瘤的动物之一, 其发病率为百万分之一。美国科学家曾做过这样的研究, 将高剂量的强致癌物质黄曲霉素 B1 注射到鲨鱼体内, 不能诱发癌症。将黄曲霉素混入食物中长期给鲨鱼喂食, 在近 8 年的研究中没有发现鲨鱼长出肿瘤。给鲨鱼接种癌细胞也不能诱发癌症。这提示鲨鱼体内具有独特的抗肿瘤机制。

1 鲨鱼软骨中的抗肿瘤活性物质及作用机制

鲨鱼的骨骼系统为缺少血管的软骨, 占其体重的 6%~8%。鲨鱼软骨是一种酸性粘多糖复合物, 含蛋白质、氨基葡聚糖、硫酸软骨素等成分。其抗肿瘤成分主要是多糖和一些活性蛋白因子。根据作用机制的不同, 鲨鱼软骨中的抗肿瘤活性物质可分为 5 类。

1.1 肿瘤新生血管生成抑制因子

原发肿瘤的生长和转移是依赖于新生血管生成的。通过新生血管肿瘤可以从宿主获取氧气和营养, 排除自身的代谢废物, 并通过新生血管源源不断地向宿主输送和转移细胞, 在机体的其它部位继续生长和诱导血管形成, 导致肿瘤转移。若能破坏或抑制新生血管形成, 就能有效阻止肿瘤的生长和转移。

1983 年 Langer 和 Lee^[1]发现鲨鱼软骨中含有肿瘤新生血管生成抑制因子, 每 0.5 kg 的鲨鱼软骨中可提取 1 mg 的血管生成抑制因子, 且其抑制效率很高。在家兔一侧眼前房内同时植入鲨鱼软骨粉和癌细胞,

在另一侧只植入癌细胞。19 d 后在没有植入鲨鱼粉的一侧癌细胞迅速生长, 形成肿瘤并坏死, 而另一侧既无癌细胞增生也无血管增生。鲨鱼软骨还能很好地抑制鸡蛋胚胎微血管的生成, 其效果比肝素和可的松强 3 倍。

蔡峥嵘等^[2]研究证实, 口服一定剂量 (54mg/d) 的鲨鱼软骨粉可抑制小鼠移植性淋巴瘤 SRS (Shanghai Reticular Sarcoma) 的生长, 使微血管密度减少, 同时肿瘤组织中微血管内皮细胞上血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达和 VEGF 受体 Flk-1 的表达均受抑制, 肿瘤组织中 VEGF 含量比对照降低 60% 左右, 而且 VEGF 含量与肿瘤质量、微血管密度间呈显著的正相关 ($r=0.886$, $r=0.91$, $P<0.05$)。血管内皮生长因子 VEGF 在动物和成人的正常组织中合成水平很低, 但在有血管新生的组织 (如肿瘤中) 则明显升高。VEGF 能够促进毛细血管内皮细胞的增殖和迁移, 增加毛细血管腔化, 从而促进血管新生, 其作用信号必须通过受体转导。上述研究证实鲨鱼软骨粉的抗肿瘤效应可能与肿瘤组织产生 VEGF 减少和肿瘤新生血管生成抑制有关。

鲨鱼软骨中的血管生成抑制因子是一种大分子蛋白质, 能够抑制哺乳动物胶原酶、蛋白激酶、胰蛋白酶等的活性, 抑制毛细血管上皮细胞的增生和迁移, 从而有效地阻止已着床的瘤细胞建立新生血管网

收稿日期: 2003-09-23; 修回日期: 2004-05-30

作者简介: 贺丽虹 (1972-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为海洋生物学, E-mail: helhsd@hotmail.com

络。Oikawa^[3]报道鲨鱼软骨血管生成抑制因子的相对分子质量在 1 000~10 000 之间。王路等^[4]从姥鲨软骨中提取分离到了一种碱性的亲水性糖蛋白(含糖量 8%),对胶原酶、内皮细胞 DNA 合成和血管生成均有明显抑制作用,但对肿瘤细胞无直接的杀伤和抑制作用。由于其抑制胶原酶的活性属竞争性抑制,因此推测其结构可能与胶原酶相似。陈建鹤等^[5]用盐酸胍抽提中国姥鲨软骨组织,得到一种相对分子质量约为 8300 的蛋白质,具有抑制体外培养的血管内皮细胞增殖和体内新生血管生长抑制活性,并能显著抑制小鼠移植 S₁₈₀ 肉瘤的生长。1998 年 Sheu 等^[6]从蓝鲨软骨中分离纯化了由两条多肽组成的新血管生成抑制因子 U-995,可显著抑制人脐静脉内皮细胞的增殖与迁移,并会引起新血管的中断和破裂,阻止破坏由肿瘤坏死因子 TNF- α 诱导的鸡胚绒毛尿囊膜血管生成,防止由胶原酶诱导的胶原溶解。2000 年美国加州大学的 Liang 和 Wong^[7]从鲨鱼软骨中分离纯化得到血管生成抑制因子 SCF₂, SCF₂ 是一种含有硫酸角质素和多肽的热稳定性蛋白多糖,对培养的内皮细胞具有特异的血管生成抑制活性。鲨鱼软骨制剂 SCAE 对 C₅₇BL/6J 小鼠 B₁₆ 黑色素瘤肺转移具有显著的抑制作用,且无环磷酰胺致胸腺萎缩的毒副作用^[8]。沈先荣等^[9-10]从东海鲸鲨软骨中纯化得到 2 种血管生成抑制因子 SCAIF-1 和 SCAIF80,分子质量分别为 18ku 和 80ku。SCAIF80 在体外能够显著抑制血管内皮细胞的增殖与迁移,体内能够抑制血管生成及肿瘤生长。鸡胚绒毛尿囊膜分析显示 SCAIF80 能显著抑制新生血管生成。在鼠 Lewis 肺癌抑瘤实验中 SCAIF80 能显著抑制原位肿瘤的生长,抑瘤率高达 93.83%。

综上所述,鲨鱼软骨中的血管生成抑制因子可能是大分子的蛋白多糖类。由于不同的研究者采用不同的分离提取方法,使蛋白多糖大分子的降解程度不同,进而得到了分子质量各异的具有血管生成抑制活性的降解物^[11]。如 Luer^[12]发现鲨鱼软骨的蛋白质提取物中有 6~7 种蛋白质能抑制肿瘤血管生长,而 Folkman 认为鲨鱼软骨中有 13 种活性蛋白质能抑制肿瘤血管生长。鲨鱼软骨中的血管生成抑制因子通过抑制胶原酶、蛋白酶、胰蛋白酶等的活性,阻止血管内皮细胞的增殖和迁移,从而有效阻止已着床的瘤细胞建立新生血管网络,使之保持在无血管静止状态。

1.2 免疫调节因子

鲨鱼软骨中含有丰富的胺基糖、粘多糖和溶菌

酶。胺基糖和粘多糖可以激活免疫系统,活化 T、B 细胞和巨噬细胞攻击癌细胞的能力,提高机体免疫能力,弥补化疗、放疗后因机体的免疫力低下而造成的抵抗力不足。

以含蛋白质 0.2%的鲨鱼软骨多糖提取物给小鼠行腹腔注射,7d 后活杀小鼠,完整取出胸腺和脾脏称重,发现鲨鱼软骨多糖提取物能明显促进胸腺和脾脏生长,当剂量为 5g/L 时,胸腺和脾脏指数非常显著地增大。而环磷酰胺对照组的胸腺和脾脏指数则分别为下降和显著下降。同时扫描电镜发现小鼠腹水巨噬细胞表面伸出粗大的伪足,呈活化状态。这表明鲨鱼软骨多糖提取物能激活免疫系统,提高机体免疫功能^[13-14]。

王劲等^[15]将姥鲨、鲸鲨、噬人鲨等大型鲨鱼的内骨骼经冷冻、粉碎、干燥、⁶⁰Co 灭菌后制成鲨骨粉,对 30 例中晚期癌症病人的临床观察显示,口服鲨骨粉能够提高全身状况,改善生活质量,部分病例 NK 细胞活性增高,与化、放疗合用能够减轻毒、副反应,增效作用明显。对 S₁₈₀ 肉瘤、Lewis 肺癌的抗肿瘤及免疫调节试验结果也显示,鲨骨粉能够明显提高荷瘤小鼠的 NK 细胞活性和 M ϕ 细胞的吞噬功能,具有较好的扶正作用。鲨骨粉与化疗药物(CTX、5-Fu、ADM)合用可增强抗肿瘤作用,其增效率可达 22.78%~47.9%,与放疗(⁶⁰Co 照射)合用可增强抗 S₁₈₀ 肉瘤的作用,增效率为 15.20%~26.50%。

溶菌酶用于恶性肿瘤和癌症晚期的治疗已有 40 多年的历史了,其抗肿瘤活性是通过提高机体免疫功能来实现的。在体内溶菌酶可以象单核因子和淋巴因子那样调节淋巴细胞和巨噬细胞介导的细胞毒作用。哺乳动物中溶菌酶分布广泛,但含量微且难于分离纯化。而鸡蛋清源溶菌酶含量丰富且来源广泛,因此以往的溶菌酶研究都局限于鸡蛋清源溶菌酶。研究显示,溶菌酶是通过与细胞膜上特异的受体结合而发挥各种作用的,不同种类的溶菌酶一级结构和高级结构的不同导致其作用效果的强弱不等。如人源溶菌酶与鸡蛋清源溶菌酶在一级结构上有 30%的差别,在促进淋巴细胞增殖方面人源溶菌酶的活性要比鸡蛋清源溶菌酶强得多。陈建鹤等^[16]报道,中国姥鲨软骨组织中含有丰富的溶菌酶样分子 Sp15,相对分子质量为 15 200,是鲨鱼软骨抽提蛋白小分子质量(<30 000)

组分中最主要的成分,易于分离纯化,对其 N-端 22 个氨基酸序列的分析显示与哺乳动物的溶菌酶有很高的相关性,比活性高达 223 000 U/mg。Sp15 对小鼠移植的 S₁₈₀ 肉瘤具有显著的抑瘤效应,体内实验结果显示 8 μg/g 剂量的 Sp15 的抑瘤率为 33.3%,强于 20 μg/g 鸡蛋清源溶菌酶治疗剂量的抑瘤效应(10% 抑瘤率)。Sp15 还具有极强的抑制体外培养的血管内皮细胞增殖活性,在 10μg/mL 的浓度下抑制率达 75%,而鸡蛋清源溶菌酶在 1g/L 的浓度下也未显示血管内皮细胞增殖抑制活性。但在体内新生血管生长抑制模型上 Sp15 没有抑制新生血管生长的作用,这表明其抗肿瘤作用不是通过抑制新生血管生长这一途径来实现的。鲨鱼软骨的抗肿瘤活性部分是由其中的溶菌酶样分子(Sp15)所介导的。

1.3 抗入侵因子和肿瘤细胞抑制因子

日本一些学者认为鲨鱼软骨中还含有抗入侵因子(anti-invasion factor)和肿瘤细胞抑制因子(cartilage derived anti-tumor factor)。抗入侵因子通过抑制肿瘤细胞微管微丝的形成,使之失去运动和迁移能力,从而使癌细胞的浸润受阻。细胞骨架是细胞分裂增殖和运动迁移的基础。沈先荣等^[17]用鲨鱼软骨制剂作用于 Hela 细胞和内皮细胞后进行扫描电镜观察,发现细胞骨架发生凝聚和固缩,其结构的完整性受到破坏。这提示鲨鱼软骨制剂抗肿瘤的机制之一可能是通过抑制肿瘤细胞微管微丝的形成,破坏其结构的完整性,使其失去运动或迁移能力,进而使癌细胞的浸润受阻。

肿瘤细胞抑制因子能直接抑制肿瘤细胞的生长。陈莉等^[18-20]在研究中发现鲨鱼软骨制剂能够抑制肿瘤细胞株的增殖作用,作用于人胃癌细胞株 MGC80-3、人肝癌细胞株 SMMC7721 可导致典型的核固缩、破裂等凋亡细胞的形态学改变,透射电镜下可见细胞核染色质凝集呈帽状分布于核膜下,凋亡细胞附近可见多个高电子密度的凋亡小体,琼脂糖凝胶电泳呈现典型的“梯状”带。上述结果提示鲨鱼软骨制剂能够以诱导细胞凋亡的形式清除癌细胞,从而直接抑制肿瘤细胞的生长。

1.4 调节前列腺素和血栓素水平

前列腺素与肿瘤的生长、浸润、转移和预后有密切关系。在一些乳腺癌和宫颈癌患者体内,前列腺素

和血栓素水平明显提高,且比值发生变化,从而引起血小板凝聚、肿瘤扩散和转移。而前列腺素合成抑制剂能明显抑制试验动物肿瘤的生长和转移。鲨鱼软骨粗提物能一定程度地降低荷瘤小鼠血浆中 6-酮前列腺素(6-keto-PGF_{1α})和血栓素 TXB₂ 水平,且降低程度越大,抑瘤效果越好,同时不影响二者之间的比值^[17, 21]。

1.5 抗氧化作用

Felzenszwa^[22]发现鲨鱼软骨制剂能保护质粒 DNA 免受 SnCl₂ 引起的单链断裂。Gomes^[23]发现鲨鱼软骨制剂能保护大肠杆菌细胞免受 H₂O₂ 引起的致死作用,保护 DNA 免受自由基损伤,有抗氧化、抗诱变功能。

总之,鲨鱼软骨的抗肿瘤机制是多样的,其抗肿瘤效果也非常好。5g/mL 的鲨鱼软骨提取物对骨髓瘤的杀癌率为 100%,大肠癌为 94.8%,乳腺癌为 88.5%。鲨鱼软骨的抗肿瘤机制是非特异性的,一般只对丰富血管网的实体瘤,如肺癌、肝癌、乳腺癌、消化道肿瘤、子宫颈癌、骨癌等有治疗作用^[24]。国内外对多种鲨鱼软骨制剂的临床试验也显示出较好的疗效。对以鲨鱼软骨制剂治疗的肿瘤病人进行肿瘤切片观察,发现肿瘤血管明显减少或消失,肿瘤组织坏死,体内 T、B 细胞和吞噬细胞的免疫活性大大增强,并促进良性纤维组织包围肿瘤,最终“里应外合”抗击肿瘤。

2 鲨鱼肝脏中的抗肿瘤活性物质及机制

2.1 角鲨烯

姥鲨科(Cetorhinidae)鲨鱼肝脏中含有丰富的角鲨烯。角鲨烯是一种抗肿瘤与治疗心血管病的生物活性物质。在体内可由醋酸酯形成,参与胆固醇的生物合成,促进生物氧化及机体的新陈代谢,同时还是萜类和其它甾类化合物的重要前体。

角鲨烯有类似红细胞的携氧功能,生成氧化鲨烯,可随血液被运输到机体末端的细胞中,释放出氧,增强机体组织对氧的利用能力。因此对缺氧性疾病有防治作用。角鲨烯能参与体内的氧化还原反应,加速新陈代谢,促进肝脏功能和胆汁分泌,增加食欲。服用角鲨烯后,体内铜蓝蛋白、转铁蛋白和乳酸脱氢酶都有显著提高,能提高人的耐力。角鲨烯还可增强机体的应激能力,提高免疫力^[25-26]。

角鲨烯能抑制小鼠 S₁₈₀ 肿瘤细胞的生长, 提高生存率, 增强网状内皮系统的功能, 提高免疫球蛋白 IgM 细胞数, 增强宿主免疫功能。以角鲨烯、环氧角鲨烯和角鲨烯 2,3-乙二醇作为抗癌剂, 作用强, 毒性低, 且能防止癌细胞向肺部转移。

目前以角鲨烯及其衍生物为主要成分制成的软胶囊, 主要用作抗癌剂, 对高血压、心脏病、糖尿病、肝炎及各种缺氧性疾病也有一定的防治作用。

2.2 鲨鱼肝油

鲨鱼体质量的 20%~25% 是肝脏, 而鲨肝含油量更可达 70% 以上。近年来, 国内外对鲨鱼肝油的研究均显示其具有较强的抗癌、强壮作用。鲨鱼肝油的活性成分主要有萜烯类、脂肪酸和甘油醚等三类。萜烯类包括角鲨烯及其衍生物, 无论口服或采用其它给药方式, 单用或与其他抗癌药配伍使用均有较好的效果。油酸、棕榈酸等为细胞毒脂肪酸类, 其甲酯能够抑制艾氏腹水瘤生长, 抑制小鼠 P388 淋巴白血病细胞。某些不饱和脂肪酸能促进细胞代谢和修复, 阻止肿瘤细胞的异常增生, 调节和增强免疫功能。而鱼肝油酸钠(肝油中高度不饱和脂肪酸钠)已应用于晚期宫颈癌, 有止血作用, 并能明显增强 B-淋巴细胞的功能。甲氧基甘油醚类能够抑制小鼠实验性癌的生成和扩散作用, 鲨肝醇甘油醚类有增加白细胞和抗放射线作用, 有助于癌症的辅助治疗^[27]。

鲨鱼油对消化道肿瘤、肺癌有一定疗效, 尤其适用于那些失去手术和化疗机会的患者。将姥鲨中提取的鲨鱼油加适当的乳化剂制成油/水型口服乳剂, 对小鼠的转移性肿瘤 S₁₈₀、Hela、Lewis 等 3 种实体瘤都有明显的抑制作用。病理组织学研究结果显示, 鲨鱼油乳剂能趋向性进入癌细胞内, 使癌细胞退化和坏死, 并使正常组织中的吞噬细胞活性提高, 增强机体的免疫力和抗癌能力^[28]。

参考文献:

- [1] Lee A, Langer R. Shark cartilage contains inhibitors of tumor angiogenesis[J]. *Science*, 1983, 221(4 616): 1 185-1 187.
- [2] 蔡峥嵘, 张国平, 金惠铭, 等. 鲨鱼软骨粉对小鼠移植性淋巴瘤 VEGF 含量的影响及其与微血管的关系[J]. 中国微循环, 2002, 6(3): 136-138.
- [3] Oikawa T, Ashino-Fuse H, Shimamura M, et al. A novel angiogenic inhibitor derived from Japanese shark cartilage (I). Extraction and estimation of inhibitory activities toward tumor and embryonic angiogenesis[J]. *Cancer Lett*, 1990, 51(3): 181-186.
- [4] 王路, 焦炳华. 鲨鱼软骨中新生血管抑制因子的分离纯化及活性的初步研究[J]. 第二军医大学学报, 1996, 17(2): 176-180.
- [5] 陈建鹤, 焦炳华, 缪为民, 等. 中国姥鲨软骨源新生血管抑制因子(Sp8)的分离纯化及生物学活性[J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(2): 107-110.
- [6] Sheu J R, Fu C C, Tsai M L, et al. Effect of U-995, a potent shark cartilage-derived angiogenesis inhibitor, on anti-angiogenesis and anti-tumor activities[J]. *Anticancer Res*, 1998, 18(6A): 4 435-4 441.
- [7] Liang J H, Wong K P. The characterization of angiogenesis inhibitor from shark cartilage[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2000, 476: 209-223.
- [8] 吕家本, 蒋定文, 于志洁, 等. 鲨鱼软骨提取物对 C₅₇BL/6J 小鼠 B₁₆ 黑色素瘤肺转移的影响[J]. 中国生化药物杂志, 1998, 19(6): 378-380.
- [9] 沈先荣, 吉冬梅, 贾福星, 等. 鲨鱼软骨血管生成抑制因子的纯化和功能[J]. 生物化学和生物物理学报, 2000, 32(1): 43-48.
- [10] 沈先荣, 吉冬梅, 胡幼卿, 等. 血管生成抑制因子 SCAIF80 及其抗肿瘤效应[J]. 生物化学与生物物理学报, 2001, 33(1): 99-104.
- [11] 贾福星, 沈先荣. 鲨鱼软骨血管生成抑制因子的研究进展[J]. 解放军药科学, 2002, 18(1): 34-37.
- [12] 吴汉斌, 史叶龙, 瞿发林. 鲨鱼软骨的抗癌研究进展. 河北中西医结合杂志, 1998, 7(11): 1694-1696.
- [13] 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.
- [14] 李东霞, 李德良, 张双全. 鲨鱼软骨多糖的理化性质及其与 DNA 分子相互作用的研究[J]. 海洋科学, 2000, 24(5): 40-43.
- [15] 王劲, 杨锋, 张建雄, 等. 鲨鱼粉抗癌增效及调节免疫功能的研究[J]. 中国海洋药物, 2000, 19(2): 14-17.

(下转第 91 页)

(上接第 66 页)

- [16] 陈建鹤, 焦炳华, 缪为民, 等. 中国姥鲨软骨源溶菌酶样分子的分离纯化、部分氨基酸序列测定及体内抗肿瘤活性研究[J]. 药物生物技术, 2000, 7(2): 77-81.
- [17] 沈先荣, 贾福星, 王玲, 等. 鲨鱼软骨抗肿瘤制剂的反应及其作用机制[J]. 中国生化药物杂志, 1997, 18(3): 123-127.
- [18] 陈莉, 陈小义, 徐瑞成, 等. 鲨鱼软骨制剂抑癌作用与诱发胃癌细胞凋亡[J]. 肿瘤防治研究, 2001, 28(1): 50-51.
- [19] 陈莉, 陈小义, 徐瑞成, 等. 鲨鱼软骨制剂对三种细胞系的抑制效应[J]. 武警医学院学报, 2000, 9(1): 13-16.
- [20] 陈莉, 张敏, 买霞, 等. 鲨鱼软骨制剂对人不同细胞生长抑制作用及其机制的探讨[J]. 解剖科学进展, 2002, 8(3): 211-214.
- [21] 韩玲, 沈先荣, 贾福星, 等. 鲨鱼软骨抗肿瘤制剂对荷瘤小鼠血浆前列腺素及血栓素的影响[J]. 第二军医大学学报, 1997, 18(5): 487-488.
- [22] Felzenszwalb I, De Mattos J C P, Bernardo-Filho M, *et al.* Shark cartilage containing preparation: protection against reactive oxygen species[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 1998, 36: 1 079-1 084.
- [23] Gomes E M, Souto P RF, Felzenszwalb I. Shark cartilage containing preparation protects cells against hydrogen peroxide induced damage and mutagenesis[J]. **Mutation Research**, 1996, 367: 203-208.
- [24] 蔡平, 于志洁. 鲨鱼软骨血管形成抑制因子研究与开发现状[J]. 中国海洋药物, 1996, 15(3): 37-39.
- [25] 施志云, 鞠福祥. 抗肿瘤的海洋药物研究进展[J]. 中国药事, 1997, 11(1): 61-62.
- [26] 颜海燕, 陈新蕾, 王一农. 几种海洋动物的药用及其在临床上的应用[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 1999, 18(1): 67-70.
- [27] 张豁中, 宋修俭, 李玉山. 鲨鱼肝油的研究概况[J]. 中国海洋药物, 1991, 10(1): 30-31.
- [28] 李冠群, 王惠忠, 苏守元, 等. 鲨鱼油乳剂治疗恶性肿瘤的病理组织学观察[J]. 中国海洋药物, 1992, 11(3): 6-9.

(本文编辑: 张培新)