

螺旋藻多糖对 CD₃AK 细胞增殖能力的影响

王友顺¹ 黎露刚¹ 吴侃¹ 谢宗华¹ 唐庆¹

李新岗¹ 祁铁流¹ 李长亮¹ 汪洋¹ 汪庭² 方光如²

(¹ 海军医学高等专科学校基础部 南京 210099)

(² 江苏省农科院 南京 210014)

提要 研究了螺旋藻多糖(PS)对 CD₃McAb 激活的杀伤细胞(CD₃McAb Activated Killer Cells, CD₃AK Cells)增殖能力的影响。结果表明,当 PS 浓度为 $2.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 培养体系条件下,对 CD₃AK 细胞具有明显的刺激细胞增殖作用($P < 0.02$);对培养长达 23 d 的 CD₃AK 细胞杀伤肿瘤细胞(K₅₆₂细胞)的活性仍维持在较高的水平(46.5% ~ 50%)。提示 PS 对辐射损伤和化疗引起的造血功能损伤及在肿瘤的生物治疗领域有较好的应用前景。

关键词 螺旋藻多糖, CD₃AK 细胞

螺旋藻多糖(Polysaccharide of Spirulina, PS)是从钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)中提取的具有多种生物活性的天然糖蛋白类物质。日本^[1]用聚丙烯酰胺凝胶电泳确认为纯品时,测得 PS 的主要成分及含量为鼠李糖 14.0%、核酸 20.3%、木糖 6.2%、甘露糖 17.6%、葡萄糖 25.5%、半乳糖 16.4%。由于藻种及分析方法的不同,其组分略有不同。作者研究了 PS 对

CD₃AK 细胞的增殖作用及杀伤瘤细胞的活性表明 PS 对辐射损伤及对化学剂损伤(另文报道)所引起的造血功能损伤确有明显的保护作用。

收稿日期: 1997-04-07

1 材料与方法

1.1 材料

PS 为江苏省农科院提供^①。主要为鼠李糖、葡萄糖、环状糖醇、葡萄糖胺、胞壁酸及核酸等。用生理盐水将 PS 配制浓度为 1 % 的溶液,经温度 121 ℃,30 min 灭菌。

培养液 含 10 % AB 血清的完全 RPMI 1640 日本产培养液。

K₅₆₂细胞引自南京医科大学。

人血细胞悬液 南京中心血站提供,当日供血。

CO₂ 培养箱 日本产 CO₂ 培养箱(NBSCO-24)。

CD₃AK 细胞 CD₃McAb 引自军事医学科学院; CD₃AK 细胞参照有关文献^[2](另见 Curti BD. 等, *Clin Oncol.* 1993)。结合作者单位 100 级净化室条件建立的培养体系。

1.2 方法

首先研究 PS 最佳浓度,采用最佳的 PS 浓度 (2.5 μg/ml) 对 CD₃AK 细胞增殖水平及其杀伤肿瘤细胞活性进行了研究。取新鲜全血采用 Ficoll 液分离淋巴细胞,将细胞浓度调整至 100 000/ml,每份容量为 4 ml,加 CD₃McAb 80 ng/ml,IL-2 500 U,在温度 37 ℃,5 % CO₂ 条件下培养。

2 结果

2.1 不同 PS 浓度对外周血淋巴细胞增殖能力的影响

选择 6 种 PS 梯度,细胞数为 100 000/ml,进行细胞培养 5 d,发现 PS 最佳浓度为 2.5 μg/ml。结果见表 1。

表 1 不同 PS 浓度对外周血淋巴细胞增殖能力的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of various concentration of PS on the proliferation of lymphocytes *in vitro*

PS 浓度 (μg/ml)	样本数(n)	细胞浓度($\bar{x} \pm s$) ($1 \times 10^5/\text{ml}$)
0.0	4	0.8 ± 0.050
1.0	4	2.5 ± 0.140
2.5	4	3.7 ± 0.053
25	4	2.8 ± 0.032
50	4	2.2 ± 0.015
100	4	2.0 ± 0.100
200	4	1.7 ± 0.010

2.2 PS 对 CD₃AK 细胞增殖能力的影响

采用 CD₃McAb 激活外周血淋巴细胞的方法,待其培养至第 4 天,将 CD₃AK 细胞取出计数再分瓶培养,同时每瓶加浓度为 2.5 μg/ml 的 PS,调整细胞浓度及 pH 值,继续培养 3 d,收获细胞,计数。结果见表 2。PS 与 NS(对照组)比较具有非常显著性差异($P < 0.02$),PS 与 PG(银杏多糖),比较亦具有显著性差异($P < 0.05$)(另文报道),但 PG 与 NS 比较未见显著性差异。

表 2 PS 对 CD₃AK 细胞增殖能力的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Influence of PS on the proliferation of CD₃AK cells *in vitro* ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数(n)	CD ₃ AK 细胞数($\bar{x} \pm s$) ($1 \times 10^5/\text{ml}$)	P 值
NS	5	3.052 ± 0.359 1	
PS	5	4.260 ± 0.710 9	< 0.02
PG	5	3.166 ± 0.912 0	< 0.05

PS 与 NS 比较 $P < 0.02$, PS 与 PG 比较 $P < 0.05$ 。

2.3 PS 对培养第 23 天 CD₃AK 细胞的增殖能力的影响

为了观察 PS 对培养不同阶段 CD₃AK 细胞增殖能力的影响,按先前的方法计数。分瓶加 PS,PS 浓度仍然为 2.5 μg/ml,培养 3 d 后,计数 CD₃AK 细胞数,结果见表 3。实验结果显示即便是培养第 23 天的 CD₃AK 细胞,PS 对 CD₃AK 细胞仍有较强的刺激细胞增殖作用,PS 与 NS 比较具有显著性差异($P < 0.002$),说明在同等条件下 PS 对 CD₃AK 细胞的增殖作用要比 PG 显著增强。结果见表 3。

表 3 PS 对培养第 23 天的 CD₃AK 细胞增殖能力的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Influence of PS on the proliferation of CD₃AK cells cultured until 23 days *in vitro*

组别	样本数(n)	CD ₃ AK 细胞数($\bar{x} \pm s$) ($1 \times 10^5/\text{ml}$)	P 值
NS	5	1.74 ± 0.371 5	/
PS	5	2.60 ± 0.234 5	< 0.002
PG	5	1.86 ± 0.151 7	< 0.05

NS 与 PS 比较 $P < 0.002$, NS 与 PG 比较 $P < 0.05$ 。

① 江苏省农科院微生物生化制品厂,螺旋藻多糖企业标准 Q/320000 WC931018,1993

2.4 PS对CD3AK细胞活性的影响

实验证明PS不但对不同培养阶段的CD3AK细胞具有刺激细胞增殖作用,而且对不同阶段的CD3AK细胞杀伤肿瘤细胞(K₅₆₂细胞)的活性有一定影响,结果见表4。实验结果表明,在培养第23天,CD3AK细胞仍维持较高的杀瘤细胞(K₅₆₂)活性,提示PS在肿瘤的生物治疗领域具有较好的应用前景。

表4 PS对CD3AK细胞活性的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Influence of PS on the activity of CD3AK cells *in vitro* ($\bar{x} \pm s$)

效靶比	测定次数(n)	CD3AK 细胞活性(%)
100: 1	2	46.5
200: 1	2	57.0

3 讨论

本研究揭示了螺旋藻多糖具有海藻类凝集素作用及促细胞分裂剂的活性^[3]。发现PS对培养不同阶

段的CD3AK细胞都具有较强的刺激细胞增殖作用。特别是要提及的是,本CD3AK细胞体系中CD3McAb浓度(80 ng/ml)及IL-2浓度(500 U/ml)都比较低,且在长时间培养体系中CD3AK细胞仍具有较高的杀伤肿瘤细胞的活性,有较高的应用价值。目前临床上已采用螺旋藻多糖来作为放疗、化疗的一种重要的辅助治疗剂^[4]。在本项研究中发现银杏多糖有类似作用,但作用较PS明显减弱。其刺激细胞增殖作用机理尚有待进一步研究。

参考文献

1 日本国特许厅(JP)公报(A)特开昭 61-69728,1986. 1~ 4
2 Thigcc, Hargrove ME, Liang SM, *et al.*. *Cell Immunol*, 1994, 142: 40
3 刘长发. 中国海洋药物, 1996, 1: 52~ 54
4 王友顺、汪庭等, 海军医学高等专科学校学报, 1994, 16 (4): 306~ 309

THE INFLUENCE OF SPIRULINA POLYSACCHARIDE ON THE CD3AK CELLS PROLIFERATION IN VITRO

WANG You-shun¹, LI Lu-gang¹, WU Kan¹, Xie Zong-hua¹, TANG Qing¹, LI Xin-gang¹, QI Tie-liu¹, LI Chang-liang¹, WANG Yang¹, WANG Ting², FANG Guang-ru²

(¹Department of Foundation, Naval Medical College, Nanjing 210099)
(²Centre of spirulina breeding, Jiangsu Academy of Agricultural sciences, Nanjing 210014)

Received: Apr. 7, 1997
Key Words: Spirulina polysaccharide; CD3AK cells

Abstract

We studied that the influence of spirulina polysacchride (PS) on the proliferation of CD3AK celles were activated by CD3McAb. The results showed that the obvious effects of celles proliferating were activated by CD3McAb when PS was in 2.5 $\mu\text{g} \cdot \text{m l}^{-1}$. The higher level of vitality of killing tum or celles (K₅₆₂) was kept in vitro on 23 rd day (46.5 %-50 %). These results suggest that application foreground is very well on PS against hem opoietic function injury was induced by radiotherapy and chem otherapy and in the therapy of tum ors.