

文章编号:1000-1336(2001)05-0371-02

香菇多糖的生物活性

黄益丽 廖鑫凯 李清彪 邓旭 孙道华

(厦门大学化工系,厦门 361005)

关键词:香菇多糖;免疫调节活性;抗感染;抗肿瘤;构效关系

中图分类号:Q539

香菇多糖(lentinan, LNT)是从伞菌科真菌香菇(*lentinus edodes*)的子实体中分离到的一种 β -1,3-葡聚糖,20世纪60年代日本科学家首先证明其具有显著的免疫调节活性和抗肿瘤活性,经临床验证,已在国际市场上推广应用。

1. 香菇多糖免疫调节活性

香菇多糖的免疫调节活性是其生物活性的重要基础。香菇多糖是典型的T细胞激活剂,体内外均能促进细胞毒T淋巴细胞(CTL)的产生,提高CTL的杀伤活力,增强正常或免疫功能低下小鼠的迟发型超敏反应(DTH),提高抗体依赖性细胞毒细胞(ADCC)活性。香菇多糖在体内首先诱导巨噬细胞产生急相蛋白诱导因子(APPIF),随后血清中出现血管膨胀出血诱导因子(VDHIF)、白细胞介素1诱导因子(IL-1PF)、IL-3(CSF)等。这些因子再作用于淋巴细胞、肝细胞、血管内皮细胞等,导致与免疫和炎症有关的许多免疫应答的产生。香菇多糖的抗肿瘤

瘤活性能被巨噬细胞拮抗剂所阻抑,因此认为,香菇多糖是一种胸腺依赖型T细胞导向,并有巨噬细胞参与的免疫调节剂。

香菇多糖在体内能激活NK细胞,而体外不能;其激活NK细胞与促进干扰素(IFN)的分泌有关。香菇多糖受体内给药12小时后IFN分泌量可达到高峰。另外,香菇多糖还能激活补体系统,促进抗体生成,使巨噬细胞溶酶体酶和IL-1分泌量增加,而抑制巨噬细胞释放PGE、PGF。PGs是免疫系统抑制剂,这是香菇多糖提高机体免疫功能的重要原因。

免疫系统是由各种免疫细胞和免疫因子互相促进或抑制组成的复杂网络系统。为研究香菇多糖免疫调节活性的触发机制,Oka等^[1]设想香菇多糖必须首先结合到宿主细胞上,通过体外香菇多糖与宿主细胞共培养,流式细胞仪免疫荧光检测,发现多数香菇多糖能结合到人单核细胞上,这种结合作用受anti- CR_3 -mAb抑制,能被anti- CR_1 -mAb强烈抑制,而被anti- CR_1 -mAb + anti- CR_3 -mAb完全抑制。体内注射香菇多糖3~4小时,外周血中结合香菇多糖的单核细胞数明显上升,5小时后又降低到水平。这过程中未发现结合香菇多糖的中性粒细胞和淋巴细胞。因此认为香菇多糖结合到人单核细胞上可能是其影响免疫系统的首要因素。

收稿日期:2001-05-29

因的活性,使基因表达具有时空特点。目前,对DNA甲基化的调节,及其在发育过程中的组织特异性DNA甲基化谱建立的机制还不清楚。问题主要在于对催化重新甲基化和去甲基化反应的酶了解甚少。基因组中各个序列特异的CpG位点的甲基化,如何通过有限种类的DNA甲基转移酶建立复杂多样的甲基化谱尚需要大量深入的探讨。

参 考 文 献

- [1] Li E *et al.* *Nature*, 1993, 366:362—365
 [2] Monk M. *Dev Genet*, 1995, 17:188—197

- [3] Bestor TH *et al.* *J Mol Biol*, 1998, 203:971—983
 [4] Vertino PM *et al.* *Mol Cell Biol*, 1996, 16:4555—4565
 [5] Dong A *et al.* *Nucleic Acids Research*, 2001, 29:2439—2448
 [6] Okano M *et al.* *Nat Genet*, 1998, 19:219—220
 [7] Okano M *et al.* *Cell*, 1999, 99(3):247—257
 [8] Nan X *et al.* *Nature*, 1998, 386
 [9] Fremont M *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1997, 25:2375
 [10] Radtke F *et al.* *Biol Chem Hoppe Seyler*, 1996, 377:47
 [11] Pascale RM *et al.* *Cancer Res*, 1992, 52:4979—4986
 [12] Lewis J *et al.* *FEBS Lett*, 1991, 285:155—159
 [13] Nan X *et al.* *Cell*, 1997, 88:471
 [14] Walsh CP *et al.* *Nat Genet*, 1998, 20:116—117
 [15] Kafri T *et al.* *Genes & Dev*, 1992, 6:705—714

2. 香菇多糖抗感染作用

据报道香菇多糖可用于治疗结核杆菌感染,能使耐药性结核病人痰菌转阴,病人外周血嗜中性粒细胞吞噬活性增加。香菇多糖还能延长李司忒氏菌感染小鼠的生存时间,这与其提高巨噬细胞功能有关。香菇多糖对泡状口炎病毒感染引起的小鼠脑炎有显著的治疗和预防作用,治疗组100%存活而对照组全部死亡。香菇多糖对 Abelson 病毒、A2(H2N2)病毒、12型腺病毒及流感病毒感染均有抑制作用,是治疗各种肝炎特别是慢性迁移型肝炎的良好药物。香菇多糖抗病毒感染与其诱生 IFN 和提高 NK 细胞活性有关。

香菇多糖抗感染的机制与多糖本身的特性有关。病原体表面的糖蛋白识别正常细胞表面的糖分子并发生黏附作用,是引起感染的必要前提。体液中游离的糖分子可以与病毒结合起到屏蔽作用,因此糖分子的干扰也是其抗感染的机制之一。

HIV 是目前最难对付的病毒之一。硫酸化香菇多糖具有显著抗 HIV 作用,体外 10 mg/L 就完全抑制 HIV 抗原的表达,干扰 HIV 对 MT4 细胞的侵袭,抑制合体形成;临床使用能协同叠氮胸苷(AZT)更好地抑制 HIV 抗原的表达^[2,3]。

3. 香菇多糖的抗肿瘤作用

香菇多糖能有效预防化学性或病毒性肿瘤的发生,对小鼠 S-180 实体瘤的抑制率可达 70%~100%,其中 90% 小鼠的肿瘤完全消退;还能抑制化学致癌剂 3-甲葱酮的致癌作用,防止小鼠肠溃疡恶化导致的结肠癌的发生^[4]。香菇多糖是通过 CTL、M、NK、ADDC、LAK 等细胞发挥抗肿瘤作用的^[5,6]。这与免疫监视学说观点一致,后者认为,机体免疫系统可以通过细胞免疫机制杀灭肿瘤,其中 CTL、M、NK、ADDC、LAK 等细胞组成防治肿瘤的强大细胞免疫体系。

香菇多糖在治疗胃癌、结肠癌、肺癌等方面具有良好疗效。作为免疫辅助药物,香菇多糖主要用来抑制肿瘤的发生、发展与转移,提高肿瘤对化疗药物的敏感性,改善患者的身体状况,延长其寿命。

香菇多糖与化疗剂联合使用有减毒增效的作用,它能通过免疫调节作用或影响一些关键酶的活性,来提高肿瘤对化疗药的敏感性。如谷胱甘肽转移酶(GST)是帮助肿瘤产生耐药性的关键酶,在顺铂(CDDP)抑制小鼠结肠 26 肿瘤的实验中,LNT + CDDP 组的抑瘤率显著高于单独用 CDDP 组或对照组,而 GST 酶活显著低于对照组,说明香菇多糖能提高肿瘤对 CDDP 的敏感性,与影响 GST 活性有

关^[7]。嘧啶核苷酸酶能催化 5-DFUR 生成 5-FU,该酶可被肿瘤细胞中多种细胞因子诱导。香菇多糖与 5-DFUR 联合用药能显著提高后者对 AH66 肿瘤的抑制率;香菇多糖组的该酶活性显著高于对照组;联合用药组肿瘤产生的肿瘤坏死因子(TNF)和肿瘤生长因子(TGF)显著少于对照组。表明香菇多糖能特异性诱导肿瘤中嘧啶核苷酸酶活性,提高肿瘤对 5-DFUR 的敏感性^[8]。

香菇多糖能改善癌症病人的恶病体质。一般化疗放疗均导致血细胞的功能损伤和机体造血功能障碍,香菇多糖能改善造血功能^[9]。小鼠体内注射香菇多糖能显著降低骨髓干细胞抑制因子的活性,提高 CFU-S 水平,同时能恢复化疗剂如 5-FU 引起的 BFU-E 下降,香菇多糖与促红细胞生成素(EPO)联合使用能放大 EPO 的红细胞生成作用,保护红细胞免受化疗剂的毒性作用^[10]。另外,TNF 被认为是引起恶病体质的原因之一。静脉注射 0.2 mg/kg TNF 能引起小鼠摄食行为不正常,若同时静脉注射 10 mg/kg 香菇多糖,则能显著纠正小鼠因 TNF 引起的恶病体质^[11]。Masih 等^[12]也报道体内用药能显著抑制小鼠外周血 TNF 的产生,表明香菇多糖可应用于下调 TNF 的治疗方案。

香菇多糖与化疗药物 UFT 联合用于治疗胃癌,经三期临床跟踪统计,50% 患者的生命得以延长,10.4% 延长 2 年以上。患者存活 1、2、3、4 年的百分率分别为 24.3%、13.0%、9.5%、3.8%,而单服 UFT 仅为 3.8%、3.8%、0%、0%。LNT + UFT 能使结肠癌患者 50% 存活天数从 94 天(单服 UFT)增加到 200 天^[13]。体内注射香菇多糖后,IL-6、G-CSF、PGE₂ 的水平有所下降,T 细胞亚群比例趋向更合理,预示病人的免疫潜能上升,这是香菇多糖延长患者生命的原因之一^[14]。

4. 香菇多糖生物活性机制研究前沿

随着分子生物学的发展和香菇多糖研究的不断深入,科学家们已经开始在基因水平探讨香菇多糖生物活性的机制。

香菇多糖在不同品系小鼠中的抗肿瘤活性有较大差异,在 DBA/2、SWM/MS 和 A/J 等小鼠中抗肿瘤活性明显,而在 BalB/C、C57BL/6 和 C3H/HE 等小鼠中则不明显。研究香菇多糖对不同品系小鼠的巨噬细胞分泌细胞毒素及 TNF 的影响,也发现香菇多糖的生物活性与基因型有密切关系,巨噬细胞毒素的产生受 H2 基因和背景基因的影响,而 TNF 的产生则只受 H2 基因的影响^[15]。

交联分析表明,香菇多糖引起显著的 VDH 是由

文章编号:1000-1336(2001)05-0373-04

胱天蛋白酶(caspase)的前结构域

梁赤周 马志章

(浙江大学生命科学院,杭州 310012)

关键词:Caspase:细胞凋亡:前结构域

中图分类号:Q556+.9

胱天蛋白酶(caspase)是白细胞介素-1 转化酶

收稿日期:2001-06-04

浙江省自然科学基金资助项目 398080

作者简介:梁赤周(1976—),男,硕士生;马志章,女,教授。

(interleukin-1 enzyme, ICE)家族的总称, Caspase (cysteine aspartate-specific proteases)的含义是该蛋白酶的活性部位为极为保守的半胱氨酸(cysteine)残基(取第一个字母“c”),又特异性切割底物的天冬氨酸,用“aspase”表示,简称 caspase,该酶在细胞凋亡过程中起关键作用,是目前研究的热点。现已发现的 caspase 有 14 种,它们均以无活性的酶原的形式存在,包括一个 N 末端前结构域(prodomain)及大、小两个亚单位。根据前结构域的长短,caspase

多基因调控的,其中优势基因 *Ltnr3*、次要基因 *Ltnr4*、*Ltnr5*、*Ltnr6* 分别定位于第 6、9、15、16 号染色体上,而 DT-APP 反应则是由两个隐型基因调控的, *Ltnr1*、*Ltnr2* 分别位于第 3、11 号染色体上^[16]。香菇多糖免疫调节的基因定位无疑为沟通多糖、蛋白质、核酸间的活性调节关系架起一座新桥梁。

多糖生物活性与结构间的关系的研究还落后于核酸与蛋白质的研究。有关香菇多糖的成分和结构的报道甚多,但明确和免疫活性有关的只有 -1,3-葡聚糖物质,该多糖的一级结构具有 -D-1,3-吡喃葡聚糖主链,C₆ 上带有分支侧链,-1,3 和 -1,6 结合的侧链共存是抗肿瘤活性所必不可少的。此外,二、三级结构比一级结构更具免疫活性,X-衍射和粘度分析发现,香菇多糖的三维螺旋一旦破坏,免疫活性随之消失。

有关多糖受体的发现对阐明其作用机制有重要意义。多糖具有抗原性,可以推测其分子中也存在活性决定簇。对兔进行亚急性免疫可得到 anti-LNT-Ab,该抗体具有识别 LNT 的特异性,不识别其他多糖如淀粉、葡聚糖等^[17],以此可以方便地用 ELISA 方法来检测样品中 LNT^[18]。Anti-LNT-Ab 的研究可为探测香菇多糖受体及其活性决定簇的分子结构基础提供根据。

参 考 文 献

- [1] Oka M *et al.* *Int J Immunopharmacol*, 1996, 18 (3): 211—216
- [2] Kaneko Y *et al.* *Int J Immunotherapy*, 1989, 11(5): 203
- [3] Gordon M *et al.* *Journal of Medicine Westbury*, 1995, 26 (5): 193—207
- [4] Mitamura T *et al.* *Oncology Report*, 2000, 7(3): 599—601
- [5] Jeannin J *et al.* *Int J Immunopharmacol*, 1989, 11 (5): 167—170
- [6] Yamasaki K *et al.* *Cancer Immunol Immunother*, 1989, 29: 87—89
- [7] Jone SG *et al.* *Adv Appl Microbiology*, 1993, 39: 157
- [8] Murata T *et al.* *Japanese Journal of Cancer Research*, 1996, 87(11): 1171—1178
- [9] Ogawa T *et al.* *Anticancer Research*, 1999, 19 (1A): 375—380
- [10] Takatsuki F *et al.* *Experimental Hematology Charlottesville*, 1996, 24(3): 416—422
- [11] Tamura R *et al.* *Physiology and Behavior*, 1997, 61(3): 399—410
- [12] Mashi KN *et al.* *Int J Immunopharmacol*, 1997, 19 (9-10): 463—468
- [13] Tsubura E *Rational of Biological Response Modifiers in Cancer Treatment*, Amsterdam: Excerpta Medica, 1985, 151
- [14] Matsuoka H *et al.* *Anticancer Research*, 1997, 17 (4A): 2751—2755
- [15] Kerekgyarto C *et al.* *Int J Immunopharmacol*, 1996, 18 (6-7): 347—353
- [16] Made Y *et al.* *Int J Immunopharmacol*, 1997, 19 (9-10): 469—472
- [17] Miono M *et al.* *Biochemistry and Molecular Biology International*, 1996, 39(4): 679—685
- [18] Minato K *et al.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(4): 1530—1532