

综 述

葡聚糖生物活性与结构的关系

王 淼 贾 霖

(无锡轻工大学食品学院, 无锡, 214036)

0 引 言

糖类是生物体的重要组成成分之一。多糖作为生物体的重要结构物质早已被人们所熟知, 在较长一段时间内人们对它们的认识仅停留在这一水平。近30年来, 多糖多种生物功能的发现引起人们的普遍关注, 特别是随着生物高分子研究新技术、新方法在多糖研究上的应用, 使国内外对多糖及复合物的研究迅速发展。目前多糖已成为分子生物学、医学、食品科学等领域的研究热点之一。 β -(1-3) 葡聚糖作为活性多糖不仅具有免疫促进作用, 而且具有抗肿瘤活性, 是一类研究最多的活性多糖, 现将其结构与功能的关系综述如下。

1 葡聚糖作为免疫活性物质研究的历史背景

早在1957年, Benacerraf 和 Sebestyn 就发现了静脉注射来自酵母细胞壁的酵母聚糖 (Zymosan) 对吞噬细胞活性有影响。该物质是吞噬细胞的刺激剂, 它能增加吞噬细胞的吞噬活性, 在肝、肺和脾脏中诱导吞噬细胞的增殖。随后人们对酵母聚糖进行了分离和纯化, 1961年 Rigg 确定了酵母聚糖中的这种活性成分是葡聚糖。酵母葡聚糖是第一个被发现具有免疫活性的葡聚糖, 该发现开创了葡聚糖作为免疫活性物质研究的新纪元^[1]。

1969年 Chihard 等人又从香菇中分离得到了香菇多糖, 并证明了它的抑瘤作用^[2]。从那时起, 人们陆续从单细胞和多细胞真菌, 以及植物中制备了各种葡聚糖, 并评价了它们的免疫活性和抗肿瘤能力。国内学者在这方面也做了大量的工作, 他们结合传统的中医药学, 对诸多中草药中的多糖进行了分离、纯化, 并在化学组成、生物活性以及临床应用的研究中取得了成果^[3]。表1是目前正在临床试验和应用的葡聚糖。

表1 临床试验和应用的葡聚糖

化 合 物	来 源	结 构
葡聚糖	<i>S. cerevisiae</i>	
颗粒葡聚糖(WGP)		
可溶性葡聚糖(SG)		β -1-3, 螺旋(三股)
云芝多糖(PSK)	<i>C. versicolor</i>	β -1-4; β -1-3; β -1-6, 蛋白复合物
香菇多糖(L)	<i>L. edodes</i>	β -1-3; β -1-6, 螺旋
裂殖菌多糖(SPG)	<i>S. commune</i>	β -1-3; β -1-6, 螺旋(三股)

2 具有生物活性的葡聚糖的结构

来自植物、真菌及微生物的许多多糖具有增强免疫功能的生物活性,可作为免疫调节剂。在药物学上,它们属于生物应答效应物(biological response modifiers,简称 BRMs)。活性最强的多糖是具有分支的 $\beta(1-3)$ 葡聚糖。所有的活性多糖具有一个共同的结构:主链由 $\beta(1-3)$ 连接的葡萄糖基组成,沿主链随机分布着由 $\beta(1-6)$ 连接的葡萄糖基,呈梳状结构。生物活性的大小随多糖的精细结构和构象不同而变化^[4]。这些多糖的抗肿瘤活性是因为其活化了属主的免疫系统的结果,而不是直接的细胞毒性作用。活性最强的多糖来自于真菌的菌丝、子实体和发酵液。表2是一些具有抗肿瘤活性的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖和它们的分支度。

表2 一些抗肿瘤活性的 $\beta(1-3)$ -葡聚糖和它们的分支度

葡聚糖	来 源	分支度(DB)
茯苓聚糖	<i>Poria cocos</i>	0.015 ~ 0.02
酵母聚糖的葡聚糖组分	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.03 ~ 0.2
猪苓多糖(GU)	<i>Grifola umbellata</i>	0.2
香菇多糖	<i>Lentinus edodes</i>	0.23 ~ 0.33
Glomerellan	<i>Glomerella cingulate</i>	0.25
Scleroglucan	<i>Sclerotium glucanicum</i>	0.3
Grifolan	<i>Grifola frondosa</i>	0.31 ~ 0.36
裂殖菌多糖	<i>Schizophyllum commune</i>	0.33
SSG	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0.5
PGG	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.5
Pestalotan	<i>Pestalotia sp.</i> 815	0.67
黑木耳 β -葡聚糖 I	<i>Auricularia auricula-judae</i>	0.75

$\beta(1-3)$ -D-葡聚糖对异源的、同源的、甚至是遗传性的肿瘤都有效。此外,多糖还具有抗菌、抗病毒和抗凝集作用。有些多糖还有促进伤口愈合的活性。给药的结果使网状内皮系统的器官和组织肥大,吞噬细胞的作用增强。多糖的抗肿瘤活性常用对 CD-1 小鼠的肉瘤 180 的抑制来评价。该瘤对免疫调节化合物很敏感。在具有免疫调节能力的多糖中,只有那些具有 $\beta(1-6)$ 分支的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖,才能对肿瘤生长抑制。来自真菌的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖通常具有 99% ~ 100% 的肿瘤抑制率,而其他来源的多糖仅存在 10% ~ 40% 的肿瘤抑制率。 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖随着分子量、分支度、构象以及分子内的相互联系的不同,其抗肿瘤活性和作为 BRMs 的作用机理差异很大,甚至具有相反的结果^[4]。

许多具有 BRMs 活性的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖已经从担子菌类中分离出来。在子囊菌类和卵菌类中,也有几种具有显著抗肿瘤活性的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖。香菇多糖来自香菇 (*Lentinus edodes*),裂殖菌多糖来自裂殖菌(*Schizophyllum commune*),两者均属于担子菌类,是被研究最多的具有免疫调节活性的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖,两者均被用作免疫药理制剂。它们都是具有 $\beta(1-6)$ -葡萄糖苷分支的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖,平均分支度为 0.33,平均分子量分别为 5×10^5 和 4.5×10^5 。在裂殖菌多糖中,每 3 个主链葡萄糖单位就有一个 $\beta(1-6)$ -葡萄糖分支^[5]。

1988 年 Bruneteau 等人从一种致植物病的真菌 *Phytophthora parasitica* (属卵菌类) 中分离得到了几种 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖^[6],分子量分别为 10^4 , 2×10^4 和 2×10^5 。这些葡聚糖有的有二糖(β Glc(1-3) β Glc)作分支。在高分子量的组分中也有三糖侧链。该糖在对 CD-1 小鼠进行异源性肉瘤 180 抑制试验中,表现出较强的抗肿瘤活性。

3 结构与活性的关系

3.1 分支度和分子大小对活性的影响

裂殖菌多糖和香菇多糖仅在 C6 上有分支, 分支度为 0.33。另一些具有生物活性葡聚糖的分支度从 0.75 ~ 0.04, 变化较大。对于分支度 (DB) 在 0.2 ~ 0.33 的那些 β -(1-3)-D-葡聚糖, 生物活性更强。来自担子菌类 *Cryptoporus volvatus*, 具有 DB 0.25 的葡聚糖, 对肉瘤 180 的抑制率是裂殖菌多糖的 94%。来自于 *Auricularia auricula-judae* (DB 0.75) 和 *Pestalotia* sp. 815 (DB 0.67), 具有更高分支度的葡聚糖的抗肿瘤活性是有限的。具有很低分支度, 来自 *Ganoderma lucidum* (DB 0.06) 的葡聚糖, 不加热溶解于碱液中, 仅具有微弱的活性^[5, 7, 8]。

研究结果还表明多糖的活性取决于它的分子大小。具有 $10^5 \sim 2 \times 10^5$ 的高分子组分呈现较强的活性。一个 β -(1-3) 连接的七聚葡聚糖是竞争嗜中性粒细胞的葡聚糖受体的最小分子。具有不同化学结构的单糖组成的多糖, 也具有免疫调节活性, 这表明免疫应答对单糖的化学结构是非特异性的, 它主要由分子大小决定而不是单糖的化学结构^[9~12]。

β -(1-3)-D-葡聚糖具有独特的分子结构。研究结果表明, 高分子量的 β -(1-3)-D-葡聚糖的高度有序结构(三股螺旋), 对于免疫调节活性至关重要。也有一些数据表明, 在主链上侧链的分布赋予它生物活性。只有分子量大于 9×10^4 的分子才能形成三股螺旋。三股螺旋结构靠 β -葡萄糖苷的分支来稳定^[5, 10, 13~16]。

1986 年 Kojima 等人的研究结果表明, 只有三股螺旋的裂殖菌多糖(分子量大于 10^5) 是有活性的^[10, 16]。低分子量 ($< 5 \times 10^4$) 的裂殖菌多糖既无三股螺旋也无抗肿瘤活性。一些研究数据表明, 香菇多糖和裂殖菌多糖只有当它们存在单股螺旋结构时, 才有活性。

1992 年 Blaschek 等人报道, 平均分子量小于 2×10^4 , 且没有有序结构的 β -(1-3)-D-葡聚糖, 如果 DB < 0.25, 也显示出很强的抗肿瘤活性^[9]。1992 年 Gomaa 等人从 *Glomerella cingulata* 的培养液中分离出分子量约为 6.7×10^5 的高分子的 β -(1-3)-D-葡聚糖 (glomerellan), 其抗肿瘤活性与有序结构无关^[4]。因为聚集的三股螺旋、无三股螺旋以及单股螺旋的 glomerellan 都对肉瘤 180 具有抑制活性。来自 *Pythium aphanidermatum* 的葡聚糖是一个分子量为 10^4 和 2×10^4 , DB 为 0.2 ~ 0.08 的混合多糖, 它们有抗肿瘤活性, 但无螺旋结构^[4, 9]。

基因工程菌 *S. cerevisiae* 的 β -(1-3)-D-葡聚糖被称为 PGG 葡聚糖, 它具有 0.5 的分支度, 在 PGG 上增加分支度(野生型酵母葡聚糖的 DB = 0.2) 导致链内的相互作用减弱, 结构中产生大量的单股螺旋。这种结构的差别使 PGG 葡聚糖对人体单核细胞和嗜中性粒细胞的亲和力比野生型酵母葡聚糖高 35 倍, 故使生物活性大大提高^[17]。1992 年 Kraus 等人报道了来自各种 *Phytophthora* sp. 的葡聚糖, 分子量只有 2×10^4 , 无螺旋结构, 但对肉瘤 180 具有抑制活性, 活性大小与分支度有关^[18]。

3.2 主链的连接方式对生物活性的影响

1986 年 Matsuzaki 等人研究了 β -(1-3) 连接的葡聚糖主链对其抗肿瘤活性的重要性以及连接到 C6 上的糖基的作用^[19]。胶凝多糖是一个不分支的 β -(1-3)-D-葡聚糖。地衣多糖是一个线性的 β -(1-3) 和 β -(1-4) 混合的葡聚糖, 其中 (1-3) 连接占 33%, (1-4) 连接占 66%。当 C6 上改性连接 β -D-葡萄糖基、 α -L-阿拉伯糖基、 α -L-鼠李糖基和 β -龙胆二糖基, 取代程度较低时, 改性的胶凝多糖具有很强的抗肿瘤活性。而对地衣多糖来讲, 只有用 D-葡萄糖基取代的地衣多糖显示很强的抗肿瘤活性。另一些地衣多糖的衍生物很少或无抗肿瘤活性, 在某些情况下还会刺激肿瘤的生长。由此可见, β -(1-3)-D-葡聚糖的主链结构的重要性。含有 D-阿拉伯糖基和 D-甘露糖基分支的改性 β -(1-3)-D-葡聚糖具有较强的抗肿瘤活性, 而类似改性

的 $\beta(1-4)$ 葡聚糖则无抗肿瘤活性。这些结果表明, $\beta(1-3)$ 连接的骨架结构对于抗肿瘤活性是必需的。对于无分支的、缺乏抗肿瘤活性的葡聚糖, 可通过糖基分支改性来诱导。在取代的胶凝多糖中, 糖基取代剂的种类对抗肿瘤活性影响不大, 因为所有的衍生物都显示较强的抗肿瘤活性。

为了增加 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖的溶解性, 在增加或维持其抗肿瘤活性的基础上, 对 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖进行了磺酰化^[20]、硫酸化^[21]、磷酸化^[22] 和羧甲基化^[23]。羧甲基化的 SSG, 取代度在 0.14 以下能维持或增加其潜在的抗肿瘤活性, 但高取代度的产品活性下降, 其原因尚不清楚, 可能是与受体或配体的静电结合加强有关, 也可能有了更加活化的构象, 也可能是增加了溶解度。

用丙磺酸和丁磺酸酯化的胶凝多糖对异源性肉瘤 180 有很强的抑制作用^[18]。磺酸脂肪族衍生物分子量大于 3×10^5 , 糖基分支的衍生物分子量约为 2.5×10^4 。除了用 β -D-葡萄糖基改性的地衣多糖, 其它没有一种地衣多糖的衍生物具有抗肿瘤活性^[20]。这又一次证明 $\beta(1-3)$ 主链的重要性。

3.3 侧链基团的性质对活性的影响

几种 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖适当地过氧化(只有分支被氧化), 然后还原生成葡聚糖多元醇, 使得抗肿瘤活性增加^[8]。葡聚糖多元醇的抗肿瘤活性与它们的多元醇的含量有直接的关系, 多元醇侧链的完全去除会导致抗肿瘤活性的丧失。Kishida 和 Misaki 等人通过将侧链转化成 3,6-脱氢衍生物的葡聚糖, 研究了 D-吡喃葡萄糖基侧链的形状对抗肿瘤活性的影响^[5, 24]。3,6-脱氢- β -D-葡萄糖基的存在不仅导致原始抗肿瘤活性的丧失, 而且在某些情况下, 还会刺激肉瘤 180 的生长。因此, D-葡萄糖基侧链的去除或改性可能会导致抗肿瘤活性的丧失。将分支转化成多元醇使得抗肿瘤活性的升高可能是因为增加了葡聚糖的水溶性。此外, 在螺旋结构的外周许多多羟基化基团的存在可能增加葡聚糖的潜在免疫活性。

胶凝多糖是一种无侧链的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖, 将它用 3-氧-1,2-环丙烷处理产生一个环氧化的葡聚糖(假定无交联), 它无抗肿瘤活性, 如果再用氢氧化钠处理生成亲水性的、含甘油的葡聚糖, 使得潜在的免疫活性增加^[5, 24]。

葡聚糖结构与生物活性关系的研究报道, 均表明 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖的抗肿瘤活性产生于葡聚糖骨架的螺旋构象, 或许是三股螺旋结构。但更重要的是在螺旋结构的外表面存在亲水基团(多羟基化基团)。研究结果还表明, 增加水溶性有利于抗肿瘤活性的发挥。但用于产生溶解性的分支度和取代度是有限的。取代基的位置也是重要的, 但未见报道。

4 生物活性和临床应用

广泛而深入的体内外研究结果^[1, 4] 表明:

1) $\beta(1-3)$ -葡聚糖具有抗肿瘤活性。致癌基因可能以休眠状态存在于个体的所有细胞中, 当癌细胞第一次出现时, 如果免疫系统不能活化来除去它, 就可能产生癌症。 $\beta(1-3)$ -葡聚糖的促有丝分裂活性可导致几种免疫应答。它们包括增加天然杀伤细胞的活性和 T 细胞介导的细胞毒性, 增强外周单核细胞的增殖应答产生分裂素, 刺激释放白细胞介素(如干扰素 IFN 和内白细胞介素 IL) 以及诱导嗜中性粒细胞的吞噬作用。 β -葡聚糖的抗肿瘤活性与吞噬细胞的功能有很大关系。吞噬细胞功能增强时, 抑瘤活性高; 吞噬细胞功能降低时, 抑瘤活性低。因此认为 $\beta(1-3)$ -葡聚糖的抑瘤活性是通过免疫系统实现的。 $\beta(1-3)$ -葡聚糖的

抗肿瘤活性不仅与结构有关。而且与给药时间和途径有关系。

2) $\beta(1-3)$ -葡聚糖具有抗放作用。葡聚糖的抗放作用是促进造血机能的结果。体内实验已经证明颗粒葡聚糖给药能增强血细胞的生成活性,包括粒细胞的生成、单核白细胞的生成和红细胞的生成,从而导致从近致命剂量的辐射中得到更好的恢复。研究结果还证明,葡聚糖的抗肿瘤活性与其对造血系统的影响是平行的。

3) $\beta(1-3)$ -葡聚糖具有抗炎作用。许多研究已经表明,颗粒葡聚糖除了影响网状内皮系统和免疫应答外,体内给药能增强属主对各种由细菌、真菌病毒和寄生虫引起的感染性疾病的抵抗能力。

日本自1986年以来,裂殖菌多糖和香菇多糖已作为癌症的免疫治疗剂被用于临床。它们结合放疗和化疗使用。临床效果表明,裂殖菌多糖同抗肿瘤药物一起使用可延长肺癌和胃癌患者的生命。裂殖菌多糖结合放疗用于宫颈癌晚期的免疫治疗,香菇多糖用于消化系统肿瘤的中晚期治疗,均可延长患者生命^[4]。

综上所述,活性多糖在提高人体免疫功能和抗肿瘤方面具有广阔的前景。

参 考 文 献

- 1 Nicholas R. Di Luzio. Springer Seminars in Immunopathology. 1985, 8: 387 ~ 400
- 2 Chihara G, et al. Nature. 1969, 222: 687
- 3 顾学裘等. 抗衰老、抗癌中药的研究及展望. 中国医药科技出版社, 1989
- 4 John A, Bohn, et al. Carbohydrat Polymers, 1995, 28: 3 ~ 14
- 5 Misaki A, et al. Carbohydrats and Carbohydrat Polymers, 1993, 116 ~ 129
- 6 Bruneteau M, et al. Carbohydr. Res., 1988, 175: 137 ~ 143
- 7 Kitamura S, et al. Carbohydr. Res., 1994, 263: 111 ~ 121
- 8 Kasaki A, et al. Carbohydr. Res., 1981, 92: 115 ~ 129
- 9 Blaschek W, et al. Carbohydr. Res., 1992, 231: 293 ~ 307
- 10 Kojima E, et al. Agric. Biol. Chem., 1986, 50: 231 ~ 232
- 11 Janusz M J, et al. J. Immunol., 1989, 142: 959 ~ 965
- 12 Whistler R L, et al. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 1976, 32: 235 ~ 275
- 13 Ohno N, et al. Chem. Pharm. Bull., 1988, 36: 1016 ~ 1025
- 14 Hamuro J, et al. Chem. Biol. Interact., 1971, 3: 69 ~ 71
- 15 Ohno N, et al. Chem. Pharm. Bull., 1987, 35: 2108 ~ 2113
- 16 Saito H, et al. Carbohydr. Res., 1991, 217: 181 ~ 190
- 17 Jamas S, et al. ACS Symp. Ser., 1991, 469: 44 ~ 51
- 18 Kraus J, et al. Adv. Exp. Med. Biol., 1992, 319: 299 ~ 308
- 19 Matsuzaki K, et al. Carbohydr. Res., 1986, 157: 171 ~ 182
- 20 Demleitner S, et al. Carbohydr. Res., 1992, 226: 239 ~ 252
- 21 Williams D L, et al. Carbohydr. Res., 1992, 235: 247 ~ 257
- 22 Di Luzio, et al. Int. J. Cancer, 1979, 24: 773 ~ 779
- 23 Ohno N, et al. Chem. Pharm. Bull., 1988, 36: 1016 ~ 1025
- 24 Kishida E, et al. Carbohydr. polym., 1992, 17: 89 ~ 95

(责任编辑: 秦和平)