

beta葡聚糖的药理作用研究进展

周瑞瑞, 刘爱军, 刘建国, 苏定冯 (第二军医大学药学院药理教研室, 上海 200433)

摘要 葡聚糖广泛分布于高等植物、地衣、海藻、动物和微生物中。微生物来源的葡聚糖是至今研究得比较详细的一类多糖, 其中关注最多的是 beta葡聚糖, 其广泛的生物活性使得其成为微生物药物的一类重要组成部分, 在新药研发中受到越来越多的重视。本文对迄今为止国内外所发现的葡聚糖的药用生物活性及其临床应用进行了综述。

关键词 beta葡聚糖; 药理作用; 综述

中图分类号: R96 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2009)06-0401-04

葡聚糖是一种天然的多糖类化合物, 它的分子量大约在数千至数万之间, 为水溶性或不溶性的颗粒, 存在于特殊种类的细菌、酵母菌、蘑菇类的细胞壁中, 也可于高等植物种子的包被中找到。在真菌界以 beta葡聚糖的形式大量存在, 是一种无法人工合成的天然物质, 许多药理实验及临床报告显示 beta葡聚糖在人体健康的维护、疾病的治疗上, 扮演非常重要的角色。本文对近年来 Beta葡聚糖的药理作用研究进展以及在临床上的应用做一综述。

1 抗肿瘤

大部分多糖均有抗肿瘤作用, 目前认为以 beta (1, 3)葡聚糖和以 beta (1, 4)葡聚糖占优势的多糖具有明显的抗肿瘤活性。beta葡聚糖的抗肿瘤作用与免疫作用密切相关, 多糖体可促进细胞激素 IL-1 及 IL-2 的分泌, 而达到 T 细胞数目与功能增进的作用, 也可增强自然杀伤细胞的分化, 借此增强身体内的自然杀伤细胞和巨噬细胞直接攻击不正常肿瘤细胞的能力, 达到防癌抗癌的功效。近年来对其抗肿瘤机制做了以下几个方面的研究: ①beta葡聚糖作用于补体 3 受体 (complement receptor 3 CR3) 介导的抗肿瘤效应: 巨噬细胞、NK 细胞、中性粒细胞上 CR3 该受体含有两个功能结构域 (domain), 其一与补体 3 裂解片段 iC3b 结合, 称作 C3b 结合位点; 另一结构域与 beta葡聚糖结合, 称作凝集素 (lectin) 结合位点。针对肿瘤特异性抗原或相关抗原的抗体与肿瘤细胞结合后, 暴露补体结合部位, 从而激活补体经典活化途径, 补体 3 (complement C3) 被

裂解为 C3a 和 C3b, 后者进一步转变为 iC3b, 此时, C3b 便附着在肿瘤细胞上, 称作 iC3b 调理的肿瘤细胞。巨噬细胞、NK 细胞、中性粒细胞通过 CR3 的 C3b 结合位点与 iC3b 调理的肿瘤细胞结合, 但此时并不能杀伤肿瘤细胞, 只有 CR3 的凝集素结合位点与 beta葡聚糖结合后, 再通过 iC3b 结合位点与 C3b 调理的肿瘤细胞结合才能杀伤肿瘤细胞, 因此认为 beta葡聚糖与 CR3 的凝集素结合位点结合后使巨噬细胞、NK 细胞、中性粒细胞处于预激活化状态 (primed state), 然后通过 iC3b 作为纽带, 使效应细胞和靶细胞结合在一起, 从而杀伤靶细胞^[1]。②beta葡聚糖作用于树突状细胞相关 C 型凝集素-1 (dendritic cell-associated C-type lectin-1, Dectin-1) 介导的免疫效应: beta葡聚糖的主要受体是 Dectin-1^[2], 能够介导巨噬细胞的生物功能, 包括产生肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)^[3]。Dectin-1 是由 Ariizumi 等人利用消减克隆策略 (subtractive cloning strategy) 从小鼠树突状细胞系 XS52 的总 mRNA 中克隆到的一个新基因, 其蛋白质产物主要表达在细胞膜上^[4]。按照基因核苷酸推算, 该蛋白含有 244 个氨基酸, 由三部分组成, 胞浆区 (氨基酸编号 1-44)、推定的跨膜区 (氨基酸编号 45-68)、胞外区 (氨基酸编号 69-244), 并推测在胞外区含有一个碳水化合物识别结构域基序 (carbohydrate recognition domain motif 氨基酸编号 119-244)。当初认为 Dectin-1 主要表达在树突状细胞上, 后来研究发现在多种细胞上均有表达, 尤其是在单核巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞上表达密度高, 在一些 T 细胞亚类也有低水平的表达。人类 dectin-1 基因位于第 12 号染色体 p12.3 至 p13.2 之间, 与自然杀伤细胞基因复合体 (NK gene complex 12p13.1 to p13.2) 相邻, 与小鼠 Dectin-1 的区别在

基金项目: 国家科技部重大专项基金平台建设 (2009ZX09303-002)。
作者简介: 周瑞瑞 (1985-), 女, 硕士研究生。Tel 13482636605
E-mail ys_402@hotmail.com。
通讯作者: 苏定冯。Tel (021) 65493951, E-mail dfsu2008@gmail.com。

于前者有两个剪接变异体 (splice variant), 而且主要在白细胞群体上表达^[5-7]。

2 免疫调节作用

从酵母和真菌中纯化得到的 beta (1, 3)葡聚糖是一类免疫调节剂^[8], 沿着 beta (1, 3)葡聚糖主链随机分布着 beta (1, 6)葡聚糖基支链, 其免疫调节的机制有很多种。beta (1, 3)葡聚糖能显著升高动物体内嗜中性粒细胞水平并增加骨髓细胞的增殖。PGG 是经过高度纯化已获专利的一种 beta (1, 3)葡聚糖。PGG 给药后, 嗜中性和嗜酸性粒细胞的比例增加, 从给药小鼠体内得到的嗜中性粒细胞, 在体外对大肠埃希菌的吞噬作用增加^[9], 同时巨噬细胞的形态也发生相应的改变, 表现出磷酸酶活性增加和脂多糖 (lipopolysaccharide LPS)刺激的 NO 生成的特征。研究表明, beta (1, 3)葡聚糖能调节淋巴细胞和单核细胞中促免疫细胞因子的产生^[10], 并且对核因子 kappa B (Nuclear Factor kappa B, NFkB)样和核因子白介素 6 (Nuclear Factor interleukin-6 NFIL6)样转录因子的调节作用具有时间和浓度依赖性。其所涉及的信号转导通路与超抗原 LPS 不同。尽管 beta (1, 3)葡聚糖的免疫调节生物活性基于它们对巨噬细胞和多形核中性粒细胞的直接作用, beta (1, 3)葡聚糖的免疫调节还涉及到补体途径。这一途径与抗肿瘤的机制有相似之处^[11,12]。将酵母菌株煮沸并且酶处理得到可溶和不可溶的葡聚糖粗品。不可溶的葡聚糖可通过磷酸化、硫酸化和氨基化等方式进行衍生化修饰以提高其溶解性。可溶性葡聚糖在水溶液中主要以线形的三螺旋结构存在^[13]。研究表明, 糖链的螺旋结构构象是其生物活性存在的必要条件, 而糖链中的亲水性基团 (多羟基)应位于螺旋体的表面。微粒酵母葡聚糖的免疫调节活性还受其分子量和 beta (1, 6)糖苷键数目的影响。同样的情况也发生在其他的一些 beta (1, 3)葡聚糖上, 如真菌多糖。另外, 支链长度也会影响多糖的活性。从某些真菌中分离得到的活性 beta (1, 3)葡聚糖, 具有葡聚三糖支链的组份, 活性远远高于具有葡聚二糖支链的组分^[14]。

3 对心肌的保护作用

机体自身免疫系统介导的免疫和炎性信号通路, 参与了心肌缺血再灌注 (myocardial ischemia/reperfusion, I/R) 损伤以及充血性心力衰竭的发生发展过程^[15]。病原相关的分子模式 (Pathogen-associated molecular pattern, PAMP) 主要是指广泛存在于病原体细胞表面的分子标志, 如酵母细胞壁上的甘露糖,

以及脂多糖、多肽糖、胞壁酸等各种细菌的细胞壁成分, 它们在进化中趋于保守。免疫细胞的模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 通过识别 PAMP 启动一系列信号转导途径诱导保护性细胞因子及前炎症细胞因子的表达。Toll 蛋白样受体 TLRs 是一类 PRR, 一组与自身免疫密切相关的受体家族, 该家族与果蝇的 Toll 蛋白家族在结构上有高度同源性。TLR 介导的 MyD88-dependent NFkB 通路在自身免疫性的诱导中起到了重要作用^[16,17], 也就是说 TLR 介导的炎性通路是心肌缺血再灌注损伤 (I/R) 的主要因素^[18]。磷酸肌醇激酶 3 (phosphoinositol kinase 3, PI3K) 是一种存在于细胞质内的酶, 该酶包括了一个催化亚基 P110 一个调节亚基 P85^[19]。丝氨酸苏氨酸激酶 Akt (protein kinase B) 是 PI3K 的固定靶向分子。PI3K/Akt 通路的激活能够阻止心肌细胞程序性的凋亡, 并且保护心肌层免受 I/R 的损伤^[20]。人们已经广泛的研究了 beta 葡聚糖在提高宿主自身免疫方面的能力^[21], 曾有文献报道在活体内 beta 葡聚糖的磷酸盐 (glucan phosphate, GP) 能迅速抑制炎症反应来抵制局部心肌缺血再灌注引起的损伤^[22]。Williams 等人用以下方法来证明了这一结论: SD 大鼠用 GP (40 mg/kg ip) 预处理, 1 h 后做左冠状动脉前降支的结扎, 结扎时间为 45 min, 然后分别再灌注 4 h 和 24 h 不等, 梗死面积用氯化四唑 (tetrazolium chloride, TTC) 染色法观察^[23]。结果在灌注时间为 4 h 的组别中, GP 显著地减轻缺血再灌注损伤, 心肌梗死面积减少 47%, 而在灌注时间为 24 h 的组别中, 心肌梗死面积减少了 50%。另外, 在局部缺血开始后给予 GP 治疗, 也能起到同样的保护效应。GP 介导的心肌保护效应的机理包括减少 TLR4 和 MyD88 的联合作用, I/R 介导的 RAK 和 IKK β 活性的抑制以及 NFkB 活性的抑制。另外, GP 增加 TLR4 磷酸络氨酸, 使得心肌 PI3K/Akt 的活性增强, 这与 I/R 之后心肌细胞程序性细胞死亡的减少有关。由此得出这样一个结论: TLR 介导的 MyD88-dependent NFkB 信号转导通路的激活在心肌的 I/R 损伤中起到重要作用, 而 PI3K/Akt 信号通路的刺激能起保护作用^[24,25]。I/R 中 GP 的治疗能使 TLR 介导的信号激活从 NFkB 占主导的通路转向 PI3K/Akt 占主导的通路。

4 促进创伤愈合

创伤的修复是一个相当复杂的生理过程, 本质是内环境稳态的修复。正常创伤的修复需要不同表型细胞的相互作用 (巨噬细胞, 成纤维细胞, 角质化细胞) 及创伤生长因子, 基质蛋白, 基质修复酶等的

编排作用^[26-27]。有文献报道局部或是全身给予 beta葡聚糖能够加速伤口的愈合,机制是增加巨噬细胞在创伤区域的渗入,促进肉芽生长,胶原沉积,以及增强伤口的抗拉强度^[28]。最近的资料显示在人的成纤维细胞表面有一种特殊的葡聚糖受体,它与相应的葡聚糖配体结合后,能够调节成纤维细胞的功能^[29]。转录因子活化剂蛋白-1 (transcription factors activator protein-1, AP-1)、特异性蛋白 1 (specificity protein-1, SP1)是参与细胞因子和酸溶胶原蛋白基因的调节的两种蛋白。相关人员通过检测在正常人体成纤维细胞中, beta葡聚糖对 AP-1, SP1的激活作用,以及对创伤生长因子以及血管内皮生长因子 mRNA 在人体成纤维细胞原代培养中的表达所起的作用,发现 beta葡聚糖能够以一种时间依赖性的方式刺激成纤维细胞 AP-1和 SP1的活化,尽管时间动力学方面不同。除了这些, beta葡聚糖还能够刺激神经生长因子 3 (neurotrophic factor 3, NTF-3), 血小板衍生的生长因子 A (platelet-derived growth factor-A, PDGF-A), 血小板衍生的生长因子 B (platelet-derived growth factor-B, PDGF-B), 成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF), 转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)以及血管内皮生长因子 (blood vessel endothelium growth factor, VEGF) mRNA 在成纤维细胞中的表达^[30]。

5 抗凝血

为了寻找肝素的替代品,人们合成了多种结构确定的多糖的硫酸盐,经过测试 beta葡聚糖的硫酸盐表现出了显著的抗凝血活性^[31]。在对其构效关系,分子量 (molecular weight, MW)以及硫酸盐化作用的程度 (degree of sulfation, DS)等方面做了研究之后,发现硫酸盐化的模式以及多糖的基本结构是葡聚糖抗凝效果的决定因素^[32]。beta葡聚糖的作用方式不同于肝素,他们依靠于自身独特的结构,特定的干扰凝血过程的不同阶段。从葡聚糖硫酸盐的研究中,我们可以得出 C2, C4硫酸化,或者是 DS> 1.0 MW 在 18 和 50KDa之间的线性 beta葡聚糖是最合适的肝素替代品^[33-34]。上述的研究显示了葡聚糖的各种结构参数对抗凝血过程的影响,然而葡聚糖硫酸盐的生物学效应并不局限于此,还表现在其他很多方面,因此运用高尖端的方法进行多糖类的药物设计,会是一种获得特殊作用新药的好方法。

6 前景和展望

beta葡聚糖因其特有的生物学功能,已广泛的受到广大科学工作者的关注和研究,现已成功的应

用于制药工业和保健品业。一些欧美国家甚至已经实现了 beta葡聚糖的产业化。人们对其历史来源,生理学功能及其结构以至提取,检验方法等做了大量细致的研究。多种葡聚糖药物已经上市并运用到临床来治疗疾病,如治疗小儿的烧伤,肿瘤,心肌梗死后的再灌注损伤等等。然而,我们在关注疗效的同时,也不应忽略了治疗过程中可能带来的副作用,有文献报道葡聚糖可能与花粉症候群有关。研究人员在研究葡聚糖的抗肿瘤活性机制的时候,偶然发现消炎痛与葡聚糖同时使用的时候会导致小鼠死亡。可溶性的葡聚糖静脉注射可以起到免疫调节的作用,而不溶的或者是溶解度不高的葡聚糖注射入人体后,可能会出现排斥反应如:发炎,疼痛等。现在市场上虽然出现了多种葡聚糖的药品以及营养品,但我们对于他们的作用机制以及理化特性的认识还很有限,如何制备出更容易被人体吸收甚至副作用更小的此类药物也是一个棘手问题,所有这些都还有待于科学工作者进一步的探索和研究。

参考文献:

- [1] Yan J, Vetvicka V, Xia Y *et al*. Betaglycan: a "specific" biological response modifier that uses antibodies to target tumors for cytotoxic recognition by leukocyte complement receptor type 3 (CD11b/CD18) [J]. *J Immunol* 1999; 163(6): 3045.
- [2] Kato Y, Adachi Y, Ohno N. Characterization of rat betaglycan receptor dectin-1 [J]. *Micobiol Immunol* 2008; 52(8): 418.
- [3] Brown GD, Herre J, Williams DL, *et al*. Dectin-1 mediates the biological effects of betaglycans [J]. *J Exp Med* 2003; 197(9): 1119.
- [4] Ariizumi K, Shen GL, Shikano S, *et al*. Identification of a novel dendritic cell associated molecule, dectin-1, by subtractive cDNA cloning [J]. *J Biol Chem* 2000; 275(26): 20157.
- [5] Reid DM, Gow NA, Brown GD. Pattern recognition: recent insights from Dectin-1 [J]. *Curr Opin Immunol* 2009; 21(1): 30.
- [6] Skrzypek E, Cenci E, Pietrella D, *et al*. Dectin-1 is required for human dendritic cells to initiate immune response to *Candida albicans* through Syk activation [J]. *Micobes Infect* 2009; 11(6-7): 661.
- [7] Hernandez-Falcon P, Arce I, Roda-Navarro P, *et al*. Cloning of human DECTIN-1, a novel C-type lectin-like receptor gene expressed on dendritic cells [J]. *Immunogenetics* 2001; 53(4): 288.
- [8] Novak M, Vetvicka V. Betaglycans: history, and the present immunomodulatory aspects and mechanisms of action [J]. *J Immunotoxicol* 2008; 5(1): 47.
- [9] Williams DL, Sherwood ER, Browder W, *et al*. Effect of glycan on neutrophil dynamics and immune function in *Escherichia coli* peritonitis [J]. *J Surg Res* 1988; 44(1): 54.

(下转第 425页)

[4] Milioni D, Sado PE, Stacey NJ *et al*. Early gene expression associated with the commitment and differentiation of a plant tracheary element is revealed by cDNA-amplified fragment length polymorphism analysis [J]. *Plant Cell* 2002, 14: 2813

[5] Luisa MC, Luis C, Cristina O, *et al*. Assessment of genetic relationships among *Pinus* species and cultivars using AFLP and RAPD markers [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2000, 47: 257.

[6] Gouko L, Caobrita L, Oliveira CM, *et al*. Comparing RAPD and AFLP(TM) analysis in discrimination and estimation of genetic similarities among apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars- RAPD and AFLP analysis of apples [J]. *Euphytica* 2001, 119 (3): 259

[7] Gotry Anamoto N. Phenetic clustering of grapes (*Vitis* spp.) by AFLP analysis [J]. *Breeding Science* 2000, 50: 53

[8] Jun G, Rays HY J, Lars G, *et al*. A cDNA-AFLP based strategy to identify transcripts associated with avirulence in *Phytophthora infestans* [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2006, 43: 111.

[9] Perera L, Russell R, Provan J *et al*. Evaluating genetic relationships between indigenous coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions from Sri Lanka by means of AFLP profiling [J]. *Theor Appl Genet* 1998, 96: 545

[10] 石锐, 郭长虹. 聚丙烯酰胺凝胶中 DNA 的银染方法 [J]. *生物技术*, 1998, 5: 41.

[11] Chalhouh BA, Thibault S, Laucou V, *et al*. Silver staining and recovery of AFLP (TM) amplification products on large denaturing polyacrylamide gels [J]. *Biotechniques* 1997, 22: 216.

收稿日期: 2009-06-18

(上接第 403 页)

[10] Solys J, Quinn MT. Modulation of endotoxin and enterotoxin-induced cytokine release by *in vivo* treatment with beta-(1-6)-branched beta-(1-3)-glucan [J]. *Infect Immun*, 1999, 67(1): 244

[11] Tzianabos AO. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents- structural aspects and biologic function [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2000, 13(4): 523

[12] Wassit SP. Medical mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol* 2002, 60(3): 258.

[13] Muralikrishna G, Rao MV. Cereal noncellulosic polysaccharides structure and function relationship- an overview [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007, 47(6): 599

[14] Sletmoen M, Stokke BT. Higher order structure of (1-3)-beta-D-glucans and its influence on their biological activities and complexation abilities [J]. *Biopolymers* 2008, 89(4): 310.

[15] Valerius HS, Valen G. Innate immunity and myocardial adaptation to ischemia [J]. *Basic Res Cardio* 2009, 104(1): 22

[16] Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response [J]. *Nature* 2000, 406(6797): 782

[17] Chang W, Wang Z, Ao L, *et al*. Cytokines link Toll-like receptor 4 signaling to cardiac dysfunction after global myocardial ischemia [J]. *Ann Thorac Surg* 2008, 85(5): 1678

[18] Fischer UM, Radhakrishnan RS, Uray KS. Myocardial function after gut ischemia/reperfusion does NF-kappaB play a role? [J]. *J Surg Res* 2009, 152(2): 264

[19] Fujio Y, Nguyen T, Wencker D, *et al*. Akt promotes survival of cardiomyocytes *in vitro* and protects against ischemia/reperfusion injury in mouse heart [J]. *Circulation*, 2000, 101(6): 660.

[20] Matsui T, Tao J, delMonte F, *et al*. Akt activation preserves cardiac function and prevents injury after transient cardiac ischemia *in vivo* [J]. *Circulation* 2001, 104(3): 330

[21] Williams DL, Ha T, Li C, *et al*. Inhibition of LPS-induced NF-kappaB activation by a glucan ligand involves downregulation of IKKbeta kinase activity and altered phosphorylation and degradation of I-kappaBalpha [J]. *Shock* 2000, 13(6): 446.

[22] Li C, Ha T, Kelley J *et al*. Modulating Toll-like receptor-mediated signaling by (1->3)-beta-D-glucan rapidly induces cardioprotection [J]. *Cardiovasc Res* 2004, 60(3): 538

[23] Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ *et al*. Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats [J]. *Am J Pathol* 1985, 121(3): 522.

[24] Katar RG, Kakinuma Y, Arikawa M, *et al*. Chronic intermittent fasting improves the survival following large myocardial ischemia by activation of BDNF/VEGF/PI3K signaling pathway [J]. *J Mol Cell Cardio* 2009, 46(3): 405

[25] Matsui T, Tao J, delMonte F, *et al*. Akt activation preserves cardiac function and prevents injury after transient cardiac ischemia *in vivo* [J]. *Circulation* 2001, 104(3): 330

[26] Borel JP, Maquart FX. Molecular mechanisms of wound scarring [J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 1998, 56(1): 11.

[27] Stappenbeck TS, Miyoshi H. The role of stromal stem cells in tissue regeneration and wound repair [J]. *Science* 2009, 324 (5935): 1666

[28] Huang MH, Yang MC. Evaluation of glucan/poly(vinyl alcohol) blend wound dressing using rat models [J]. *Int J Pharm*, 2008, 346(1-2): 38

[29] Kougias P, Wei D, Rice PJ *et al*. Normal human fibroblasts express pattern recognition receptors for fungal (1->3)-beta-D-glucan [J]. *Infect Immun* 2001, 69(6): 3933

[30] Wei D, Williams D, Browder W. Activation of AP-1 and SP1 correlates with wound growth factor gene expression in glucan treated human fibroblasts [J]. *Int Immunopharmacol* 2002, 2(8): 1163

[31] Wang ZM, Li L, Li B, *et al*. Anticoagulant property of a semi-synthesized sodium beta-1,4-glucan sulfate [J]. *Yao Xue Xue Bao* 2006, 41(4): 323

[32] Chahiledgumjorn A, Toyoda H, Woo ER. Effect of (1->3)- and (1->4)-linkages of fully sulfated polysaccharides on their anticoagulant activity [J]. *Carbohydr Res* 2002, 337(10): 925

[33] Aiban S, Franz G, Aiban S *et al*. Partial synthetic glucan sulfates as potential new antithrombotics- a review [J]. *Biomacromolecules* 2001, 2(2): 354

[34] Smelcerovic A, Knezevic Jugovic Z, Petronijevic Z. Microbial polysaccharides and their derivatives as current and prospective pharmaceuticals [J]. *Curr Pharm Des* 2008, 14(29): 3168

收稿日期: 2009-07-29