

## · 专论与综述 ·

## 苦瓜蛋白的药用价值

李 璟, 温博贵\*, 王 云\*

(汕头大学医学院 肿瘤分子生物学研究室, 广东 汕头 515041)

**摘 要:** 苦瓜为葫芦科苦瓜属植物, 从中提取的蛋白质成分包括: 蛋白酶抑制剂、核糖核酸酶、核糖体失活蛋白等, 具有比较广泛的药理学作用。MAP30 等可以通过使核糖体失活, 抑制肿瘤细胞蛋白质的合成, 抑制肿瘤细胞的生长; 通过抑制 T 细胞的增殖, 抑制 HIV 病毒的复制, 达到治疗艾滋病的目的。笔者着重对其抗肿瘤作用及抗艾滋病作用进行了综述, 认为苦瓜蛋白成分的开发和应用给恶性肿瘤和艾滋病的治疗提供了新的思路, 具有潜在的开发应用前景。

**关键词:** 苦瓜蛋白; 抗肿瘤; 艾滋病

**中图分类号:** R9      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0253 2670(2004)09 1068 03

## Pharmacological activities of momorcharin

L I Jing, W EN Bo-gui, W AN G Yun

(Laboratory for Molecular Biology of Tumor, Medical College of Shantou University, Shantou 515041, China)

**Key words:** momorcharin; antitumor; AIDS

苦瓜 *Momordica charantia* L. 为葫芦科苦瓜属植物, 始载于明代《滇南本草》, 在中国、东南亚、土耳其等地均有广泛的栽种和药用历史。《本草纲目》中记载, 苦瓜具有“除邪热, 解劳乏, 清心明目”等功效。清代张璐在《本经逢原》中也称苦瓜“为除热解烦、清心明目之品”。土耳其人自古以来应用苦瓜疗伤和治疗消化性溃疡<sup>[1]</sup>, 印第安人也有应用苦瓜治疗疟疾等传染性疾病的历史。近年来的研究发现, 苦瓜具有降血糖<sup>[2]</sup>、抗菌<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4-6]</sup>、抗艾滋病<sup>[7,8]</sup>及抗生育<sup>[9]</sup>的功效。苦瓜因其潜在的药用价值引起国内外学者的关注, 迄今为止, 人们已成功地从苦瓜中提取了数种蛋白质, 经研究证实具有抗肿瘤和抗艾滋病等生物学活性。

## 1 苦瓜中分离的活性蛋白组份

20 世纪 50 年代以来, 人们陆续从苦瓜叶、种子和果实中分离纯化了多种具有生物活性的蛋白质。1989 年 Hara 等从苦瓜种子中分离纯化了 2 种胰蛋白酶抑制剂 MCTF-I 和 MCTF-II, 并测定了它们的氨基酸序列。MCTF-I 和 MCTF-II 分别由 30 和 28 个氨基酸残基组成, 相对分子质量分别为 3 413 和 3 230。1993 年 Huang 等应用 X 射线衍射技术分析 MCTF-II 的晶体结构。1999 年 Huang<sup>[10]</sup> 等从苦瓜种子中分离纯化了另一种胰蛋白酶抑制剂 MCCTF-I, 并测定了 N 端 13 个氨基酸序列, 证实其与 MCTF-I 有 85% 的同源性。1995 年 Hamato 等从苦瓜种子中分离到了一种胰蛋白酶抑制剂 MCTF-III 和 3 种弹性蛋白酶抑制剂 MCEF-II, MCEF-III 和 MCEF-IV。此外, 从苦瓜中还分离出核糖核酸酶 (RNase

MC1), 1991 年 Ide 等测定了它的氨基酸序列, RNase MC1 由 191 个氨基酸残基连接而成, 相对分子质量为 21 259, 属于 RNase T2 家庭。Numata 等<sup>[11]</sup> 应用点突变技术证实 His34, His83, Glu84, Lys87 和 His88 与 RNase MC1 的催化活性密切相关。Nakagawa 等<sup>[12]</sup> 应用 X 射线衍射技术研究 RNase MC1 的晶体结构, 证实其具有 10 个螺旋结构 (6 个  $\alpha$  螺旋, 4 个  $\beta$  股螺旋) 和 8 个  $\beta$  片层结构。

从苦瓜中分离的生物活性物质中最引人注目的是一组核糖体失活蛋白, 包括 MAP30 (momordica anti-HIV protein of 30 kDa),  $\alpha$ momorcharin,  $\beta$ momorcharin, momordin-I, monordin-II 和  $\gamma$ momorcharin。除  $\gamma$ momorcharin 外, 其余蛋白质均为糖蛋白。这几种蛋白质均为 I 型核糖体失活蛋白, 含有一条多肽链, 具有 N-糖苷酶活性, 可以在特定位点 (A 4324 或 G4323) 水解核糖体 rRNA 腺苷上的糖苷键, 从而使核糖体失活, 抑制细胞蛋白质合成, 进而导致细胞死亡。1990 年 Lee-Huang 等首次从苦瓜种子和果实中分离纯化了一种 HIV 病毒抑制剂, 命名为 MAP30, 并测定了 N 末端 40 个氨基酸序列。随后他们测定了 MAP30 的全部氨基酸序列, MAP30 含有 286 个氨基酸残基, 相对分子质量为 32 018。 $\alpha$ momorcharin 和  $\beta$ momorcharin 分别为 momordin-I 和 momordin-II 的前体, 均含有 286 个氨基酸残基, 相对分子质量分别为 31 532 和 32 031, 含糖量分别为 1.6% 和 1.3%。MAP30,  $\alpha$ momorcharin 和  $\beta$ momorcharin 均含有 23 个氨基酸的信号肽, MAP30 和  $\alpha$ momorcharin 有 48% 的氨基酸序列相同<sup>[13]</sup>。

\* 收稿日期: 2003-11-22

基金项目: 广东省教育厅自然科学研究项目 (Z02041)

作者简介: 李 璟 (1972—), 山西人, 博士, 讲师, 主要从事肿瘤分子生物学研究。

\* 通讯作者 Email: bgwen@stu.edu.cn

Wang 等<sup>[14]</sup>比较了  $\alpha$ momorcharin 和  $\beta$ momorcharin N 端 70 个氨基酸序列, 结果显示它们有 33 个(47%) 氨基酸残基是相同的。  $\beta$ momorcharin 为一种小分子的核糖体失活蛋白, 相对分子质量为 11 500, 等电点 9.5, 与其他核糖体失活蛋白不同的是  $\beta$ momorcharin 不具有 RNase 活性。部分苦瓜蛋白氨基酸序列见图 1。

ERRCPR LKQ CKRSDCPGE CKMAHGFCG				
<b>MCTI-I(30 AA, 3 413MW)</b>				
RICPR WMEC KRSDCMAQC ICVDGHCG				
<b>MCTI-II(28 AA, 3 230MW)</b>				
MV KCLLSL SFL	IA IF IGV PT	A KGDVN FDL S	TATA KTYTKF	IEDFRA TL PF
SHKV YD IPLL	YST ISD SRRF	LLNL TSYA Y	ET ISVA DVT	NV YVVA YR TR
DV SYFFKESP	PEAYN LFKG	TRK IIL PYTG	NYENLQ TAAH	K REN DL GL
PALSSA IITL	FYYNAQ SA PS	ALLVL Q TTA	EAARFKYTER	HVA KYVA TNF
KPNLA IISLE	NQW SALSKQ I	FLAQNQGKGF	RNPVDL IKPT	GERFQV TNVD
SDVV KGN IKL	LLNSRASTAD	ENFITM TLL	GESVVN	
<b>MAP30(28 AA, 32 018MW)</b>				
M SRFSVL SFL	LA IFLGSI	V KGDV SFRL S	GADPRSYGM F	IKDLRNAL PF
REKVN Y IPLL	LPSV SGA GR Y	LLMHL FN YDG	KT IIVAVDV T	NV YM GYLAD
TTSYFFNEPA	A ELASQ YV FR	DARRK IILPY	SGN YERLQ IA	AGKPREK IPI
GLPALDSA IS	TLLHYDSTAA	A GALLVL QT	TAEARFKYI	EQQ QERA YR
DEVPSLA T IS	LENSW SGLSK Q	QLAQNGNG	IFRTPMLVD	N KGNRVQ IIN
VTSKV V TSN I	QLLNLTRN IA	EGDNGDVSTT	HGFSSY	
<b><math>\alpha</math>-momorcharin (286 AA, 31 532MW)</b>				
MV KCLLSL SFL	IA IF IGV PT	A KGDVN FDL S	TATA KTYTKF	IEDFRA TL PF
SHKV YD IPLL	YST ISD SRRF	LLDL TSYA Y	ET ISVA DVT	NV YVVA YR TR
DV SYFFKESP	PEAYN LFKG	TRK IIL PYTG	NYENLQ TAAH	K REN DL GL
RALSSA IITL	FYYNAQ SA PS	ALLVL Q TTA	EAARFKYIER	HVA KYVA TNF
KPNLA IISLE	NQW SALSKQ I	FLAQNQGKGF	RNPVDL IKPT	GERFQV TNVD
SDVV KGN IKL	LLNSRASTAD	ENFITM TLL	GESVVN	
<b><math>\beta</math>-momorcharin (286 AA, 32 031MW)</b>				

图 1 部分苦瓜蛋白的氨基酸序列

Fig. 1 Sequences of amino acids of some momorcharins

## 2 苦瓜蛋白的药理作用

2.1 抗肿瘤作用: 从苦瓜中提取的具有抗肿瘤作用的成分主要是 MAP30,  $\alpha$ momorcharin 和 momordin 等核糖体失活蛋白, 它们作用于 28S rRNA, 导致核糖体失活, 抑制肿瘤细胞蛋白质合成, 从而抑制肿瘤生长。 Battelli 等<sup>[10]</sup>发现 momordin 可以明显抑制绒毛膜细胞癌 BeWo, JAR 和卵巢癌 TG 细胞株的蛋白质合成, 但对 HeLa 细胞则无效。 Battelli 等分析了 BeWo 细胞和 HeLa 细胞对 momordin 的摄入与细胞毒之间的关系, 发现二者并无相关性, 因此认为肿瘤细胞对 momordin 敏感性的不同并非由于细胞对 momordin 内吞过程的不同所致。 Ng 等报道  $\alpha$ momorcharin 可以抑制 <sup>3</sup>H 胸腺嘧啶, <sup>3</sup>H 亮氨酸掺入 P<sub>388</sub>, JAR 和肉瘤 S<sub>180</sub> 细胞。 Lee-Huang 等<sup>[13]</sup>亦证实天然 MAP30 和基因重组 MAP30 对脑胶质细胞瘤、乳腺癌、肝癌、黑色素瘤、骨髓瘤和神经母细胞瘤均有明显抑制作用, EC<sub>50</sub> 为 0.21~ 0.38 mol/L。 Lee-Huang 等<sup>[4]</sup>应用 <sup>3</sup>H 胸腺嘧啶掺入法及 MTS 法观察 MAP30 对高转移性雌激素非依赖性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的抑制作用, 结果发现 MAP30 明显抑制肿瘤细胞增殖, EC<sub>50</sub> 0.3~ 0.4 mol/L。 它们进而将 MDA-MD-231 iv 接种 SCID 小鼠, 接种第 2 天 ip MAP30(10  $\mu$ g/EOD), 连续

10 d, 对照组 SCID 小鼠中位生存时间为 43 d, 而治疗组 SCID 小鼠中位生存时间明显延长, 达 64 d, 20%~ 25% 的 SCID 小鼠生存期超过 96 d 而无肿瘤生长。 Lee-Huang 等应用 northern blot 及 RT-PCR 法测定了 MDA-MD-231 细胞的 HER2 基因的表达情况, 发现加入 10  $\mu$ g/mL MAP30 72 h 后, HER2 基因表达显著下调, 仅及对照组的 5%~ 8%。

I 型核糖体失活蛋白为单链蛋白, 与 II 型核糖体失活蛋白不同, 不含能与细胞膜上受体结合的植物凝集素, 与 II 型核糖体失活蛋白比较, I 型核糖体失活蛋白较难透过细胞膜, 所以毒性较小。 为了提高 I 型核糖体失活蛋白的膜通透性, 并增强其对肿瘤细胞杀伤的选择性, 人们将 I 型核糖体失活蛋白与肿瘤特异性抗体通过共价键偶联在一起, 制备免疫毒素 (immunotoxins), 可选择性杀伤特定的肿瘤细胞。 Bologensi 等<sup>[15]</sup>将 momordin 与 Ber-H2 单克隆抗体偶联, 作用于 CD30<sup>+</sup> 淋巴细胞 L540, 证实此免疫毒素明显抑制 L540 细胞蛋白质合成 (IC<sub>50</sub> 为  $1.7 \times 10^{-12}$  mol/L), 比单独应用 momordin (IC<sub>50</sub> >  $5.0 \times 10^{-8}$  mol/L) 效应增强近  $10^4$  倍。 他们还发现 momordin 或 Ber-H2/momordin 免疫毒素均可导致 L540 细胞凋亡, AC<sub>50</sub> (引起 50% 细胞凋亡的药物浓度) 分别为  $1.0 \times 10^{-7}$  和  $8.7 \times 10^{-11}$  mol/L。 Bologensi 等认为两种免疫毒素具有抑制核糖体活性, 从而抑制了细胞蛋白质合成, 进而引起细胞凋亡, 但具体机制尚待进一步研究。 Bologensi 等<sup>[16]</sup>将 momordin 与抗淋巴瘤细胞膜抗原 CD22 单克隆抗体 OM 124 偶联制备免疫毒素 OM 124/momordin。 OM 124/momordin 抑制 CD22<sup>+</sup> 细胞株 Daudi, EHM, BJAB, Raji 和 EM 21 蛋白质合成, IC<sub>50</sub> 为  $10^{-15}$ ~  $7.6 \times 10^{-11}$  mol/L, 但对 CD22<sup>-</sup> 细胞株 HL-60 则无抑制作用; 他们还发现 OM 124/momordin 可引起 CD22<sup>+</sup> 淋巴瘤细胞凋亡。 Bologensi 等进而将  $5 \times 10^6$  个 Daudi 细胞接种于 SCID 小鼠, 然后 1.75 mg/kg OM 124/momordin 免疫毒性治疗 (50% LD<sub>50</sub>)。 结果 SCID 小鼠生存期延长, 并且无明显不良反应; CD22 抗原仅出现在成熟 B 细胞表面, 因此 OM 124/momordin 对成熟 B 细胞起源的非霍杰金淋巴瘤具有选择性杀伤作用。 Battelli 等应用单克隆抗体 48 127 (识别人膀胱癌细胞表面抗原 gp<sup>54</sup>) 与 momordin 相连制备免疫毒素, 然后将此免疫毒素加入表达 gp<sup>54</sup> 的膀胱癌细胞株 T24 培养液中培养 2 h, 然后再换无免疫毒素的新鲜培养液继续培养 3 d, T24 细胞蛋白质合成明显受抑制, IC<sub>50</sub> 为  $2.84 \times 10^{-10}$  mol/L, 加入  $10^{-8}$  mol/L 免疫毒素培养 3 d, T24 细胞蛋白质合成抑制率可达 97%。 而若仅加入 momordin 或无关抗体, 或靶细胞不表达 gp<sup>54</sup> 则无此作用。 Leamon 等研究表明将 momordin 与叶酸共价偶联后, 复合物经细胞吞饮作用进入内质网, 但由于 momordin 缺乏引导移位序列, 因此复合物在内质网-高尔基复合体内聚集, 释入胞浆缓慢, 故 momordin-叶酸复合物对叶酸受体高表达的肿瘤细胞作用较具有引导移位序列的 CysPE35-叶酸复合物慢 6 倍, 效应低 10 倍。

2.2 抗艾滋病作用: Lee-Huang 等于 1990 年从苦瓜种子和果实中分离纯化了苦瓜蛋白 MAP30, 并证实其可以抑制

HMV-1 核心蛋白 p24 表达及抑制 HMV-1 反转录酶活性, 其  $IC_{50}$  分别为 0.22 和 0.33 mmol/L, 认为 MAP30 可能对 HMV-1 感染有一定的治疗作用。Zheng 等<sup>[7]</sup>发现  $\alpha$ -momorcharin 可以抑制 HMV-1 在急性感染的 T 淋巴细胞中的复制, 但对 HMV-1 慢性感染无效。

MAP30 可以抑制 HMV-1 感染 T 淋巴细胞, 并抑制 HMV-1 在已感染的 T 淋巴细胞中复制。由于 MAP30 不能进入正常细胞, 故对正常细胞无毒性作用。MAP30 抗艾滋病的机制主要有以下两个方面: 1) MAP30 可以使病毒 LTRs 超螺旋结构不可逆失活, 干扰病毒 DNA 功能, 抑制 HMV-1 病毒复制<sup>[13]</sup>; 2) 抑制 HMV-1 整合酶。HMV-1 整合酶催化病毒 DNA 整合入宿主基因组中, 形成前病毒, 然后作为病毒基因转录的模板。整合过程需要两种病毒成分: 整合酶和病毒长末端重复序列 (LTRs)。整合酶与 LTRs 结合催化 HMV-1 整合入宿主基因组中, 此过程由 3 个步骤完成: (1) 3 端修饰: 从病毒 LTRs 切去 2 个核苷酸 GT, 使 HMV-1 病毒 3 端以 CA 结尾以利于精确整合。(2) 整合: 病毒 DNA 3 端与宿主 DNA 5 端结合。(3) 分解: 移去病毒 DNA 5' 2 个未配对的核苷酸, 修复病毒 DNA 与宿主 DNA 之间的缺口。若此反应在体外进行, 以目的 DNA 模拟病毒整合过程, 则整合酶催化病毒 DNA 释放和目的 DNA 修复, 此过程称之为分解。Lee-Huang 等<sup>[12]</sup>在体外以目的 DNA 模拟 HMV-1 病毒整合过程, 发现 MAP30 可以抑制 HMV-1 病毒整合酶催化的全部 3 个步骤, 即 3 端修饰、整合和分解, 从而抑制 HMV-1 病毒的整合过程。

### 3 结语

苦瓜不仅是中国人日常食用的蔬菜, 从苦瓜中提取的蛋白质成分更是具有抗肿瘤和抗艾滋病的功效。苦瓜来源丰富, 价格低廉, 使用安全, 因此, 苦瓜蛋白成分的开发和应用给恶性肿瘤和艾滋病的治疗提供了一个新的思路, 具有广阔的开发应用前景。

### References

- [1] Gurbuz I, Akyuz C, Yesilada E, et al. Antiulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2000, 71: 77-82.
- [2] Raza H, Ahmed I, John A, et al. Modulation of xenobiotic metabolism and oxidative stress in chronic streptozotocin-induced diabetic fed with *Momordica charantia* fruit extract [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2000, 14: 131-139.
- [3] Munoz V, Sauvain M, Bourdy G, et al. The search for natural bioactive compounds through a multidisciplinary approach in Bolivia. Part II. Antimalarial activity of some plants used by Mosetene Indians [J]. *J Ethnopharmacol*, 2000, 69: 139-155.
- [4] Lee-Huang S, Huang P L, Sun Y, et al. Inhibition of MDA-MB-231 human breast tumor xenografts and HER2 expression by antitumor agents GAP30 and MAP30 [J]. *Anticancer Res*, 2000, 20: 653-659.
- [5] Singh A, Singh S P, Banezai R. *Momordica charantia* (Bitter Gourd) peel, pulp, seed, and whole fruit extract inhibits mouse skin papillomagenesis [J]. *Toxicol Lett*, 1998, 94: 37-46.
- [6] Lee D K, Kim B, Lee S G, et al. Momordins inhibits both AP-1 function and cell proliferation [J]. *Anticancer Res*, 1998, 18: 119-124.
- [7] Zheng Y T, Ben K L, Jin S W.  $\alpha$ -momorcharin inhibits HMV-1 replication in acutely but not chronically infected T-lymphocytes [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1999, 20: 239-243.
- [8] Lee-Huang S, Huang P L, Huang P L, et al. Inhibition of the integrase of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 by anti-HIV plant proteins MAP30 and GAP30 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 8818-8822.
- [9] Naseem M Z, Patil S R, Patil S R, et al. Antispematogenic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albino rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 1998, 61: 9-16.
- [10] Huang B, Ng T B, Fong W P, et al. Isolation of a trypsin inhibitor with deletion of N-terminal pentapeptide from the seeds of *Momordica cochinchinensis*, the Chinese drug mubiezi [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 1999, 31: 707-715.
- [11] Numata T, Kashiba T, Hino M, et al. Expression and mutational analysis of amino acid residues involved in catalytic activity in a ribonuclease MC1 from the seeds of bitter gourd [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2000, 64: 603-605.
- [12] Nakagawa A, Tanaka I, Sakai R, et al. Crystal structure of a ribonuclease from the seeds of bitter gourd (*Momordica charantia*) at 1.75 Å resolution [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 17: 253-260.
- [13] Lee-Huang S, Huang P L, Chen H C, et al. Anti-HIV and antitumor activities of recombinant MAP30 from bitter melon [J]. *Gene*, 1995, 161: 151-156.
- [14] Wang H, Ng T B. Ribosome inactivating protein and lectin from bitter melon (*Momordica charantia*) seeds: sequence comparison with related proteins [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 253: 143-146.
- [15] Bolognesi A, Tazzari P L, Olivieri F, et al. Induction apoptosis by ribosome-inactivating proteins and related immunotoxins [J]. *Int J Cancer*, 1996, 68: 349-355.
- [16] Bolognesi A, Tazzari P L, Olivieri F, et al. Evaluation of immunotoxins containing single-chain ribosome-inactivating proteins and an anti-CD22 monoclonal antibody (OM 124): *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Br J Haematol*, 1998, 101: 179-188.