

# 多糖类药物作用的受体及信号转导机制的研究进展

张 群, 雷林生, 吴曙光

(第一军医大学药物研究所, 广东 广州 510515)

**摘要:**  $\beta$ -葡聚糖通过补体3型受体(CR<sub>3</sub>)增强巨噬细胞、NK细胞、中性粒细胞的杀伤作用;多数多糖可通过Toll样受体4(TLR4)或TLR2激活和增强巨噬细胞的吞噬功能,或诱导巨噬细胞合成包括肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )在内的多种细胞因子;也有报道 $\beta$ -葡聚糖的主要受体是树突状细胞相关C型凝集素-1(dectin-1),而且介导了巨噬细胞的生物功能。

**关键词:** 多糖;受体;信号转导

**中图分类号:** R979.1;R979.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2005)04-0614-03

## Receptor and signal transduction mechanism involved in biological effects of polysaccharides

ZHANG Qun, LEI Lin-sheng, WU Shu-guang

(Institute of Pharmaceutical Science, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Key words:** polysaccharide; receptor; signal transduction

多糖是多聚糖(polysaccharides)的简称,由10个以上的单糖基通过糖苷键连接而成。2~9个单糖基通过糖苷键连接而成的聚糖称作低聚糖或寡糖(oligosaccharides)。由一种单糖组成的多糖称作均多糖(homosaccharide),由2种以上单糖组成的多糖称作杂多糖(heterosaccharide)。多糖广泛存在于生物体内,或以其本身或以糖蛋白或糖脂的形式存在。其主要功能是形成生物的支持组织(如纤维素、甲壳素等)、贮存养料(如淀粉、糖原等)、信息储存和信号识别(如组织生长的调控、免疫调控)等。

20世纪50年代末发现真菌多糖具有抗肿瘤活性以后,人们对各种多糖成分展开了广泛的研究。20世纪60年代以来日本学者对许多不同来源的多糖类物质进行了抗肿瘤筛选与结构研究,成功的例子有香菇多糖、裂褶菌多糖,它们被开发为临床治疗肿瘤的辅助药物。20世纪80年代以后国内学者也对多糖类成分展开了广泛的研究。灵芝多糖、云芝多糖也广泛用作保健药品和辅助治疗药物。

免疫调节作用是多糖类物质最基本的作用,该调节方式主要通过以下几个途径实现:直接或间接激活巨噬细胞(M $\Phi$ )、NK细胞和T、B淋巴细胞;促进细胞因子的生成与分泌;激活补体系统;促进抗体产生等。大部分多糖均有抗肿瘤作用,目前认为以(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-葡聚糖和以(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-葡聚糖占优势的多糖具有明显的抗肿瘤活性。至于多糖的抗肿瘤机制一直认为是通过增强免疫功能而介导的,但其具体过程并不清楚。除甘露聚糖作用于甘露糖受体以外,大多数多糖作用的受体是什么也没有明确的答案。直至20世纪末期,

多糖的抗肿瘤机制及作用的受体才逐渐被揭示出来。

### 1 多糖作用的主要受体

1.1  $\beta$ -葡聚糖作用于补体3型受体介导抗肿瘤效应:1999年Yan等<sup>[1]</sup>从受体水平揭开了酵母 $\beta$ -葡聚糖抗肿瘤作用的部分面纱。其作用机制简述如下:巨噬细胞、NK细胞、中性粒细胞上存在补体3型受体(CR<sub>3</sub>),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iC3b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(C3)被裂解为C3a和C3b,后者进一步转变为iC3b。此时,iC3b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CR<sub>3</sub>的iC3b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CR<sub>3</sub>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iC3b调理的肿瘤细胞结合才能杀伤肿瘤细胞(图1)。因此,认为 $\beta$ -葡聚糖与CR<sub>3</sub>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。其证据是: $\beta$ -葡聚糖介导的细胞毒性可被抗CR<sub>3</sub>抗体抑制,而对缺乏CR<sub>3</sub>受体的淋巴细胞不起作用,在加入多糖前,用抗CR<sub>3</sub>抗体处理淋巴细胞,可阻止受体的激活;加入多糖后再加入抗CR<sub>3</sub>抗体,则能阻止激活的CR<sub>3</sub>与iC3b靶细胞的结合。根据这一原理,Cheung等<sup>[2]</sup>在裸鼠身上接种人神经母细胞瘤,然后用

收稿日期:2004-07-15

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(032825)

作者简介:张 群(1979—)女,上海人,2003年毕业于牡丹江医学院临床医学专业,现为第一军医大学药理学硕士研究生,主要从事免疫药理学研究。 Tel:(020)61648167 E-mail:zq1979@fimmu.com

抗神经节苷脂的抗体(iv)和大麦 $\beta$ -葡聚糖(ig)进行联合治疗。结果发现,抗神经节苷脂的抗体能明显增强大麦 $\beta$ -葡聚糖的抗肿瘤作用。进一步研究发现<sup>[3]</sup>,不管抗体针对何种抗原(如神经节苷脂抗原GD<sub>2</sub>、GD<sub>3</sub>,分化抗原CD20,表皮生长因子受体,HER2),不管接种何种肿瘤(如神经母细胞瘤、黑色素瘤、淋巴瘤、表皮样癌、乳腺癌),也不管接种在何处(皮下、全身), $\beta$ -葡聚糖与抗体的协同抗肿瘤作用均存在,而且(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-葡聚糖的作用要优于(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡聚糖。如果小鼠白细胞上缺乏C3R[CD11b(-/-)],或者小鼠缺乏C3成分,这种协同作用消失。值得注意的是,在去除粒细胞的小鼠身上观察不到这种协同作用<sup>[4]</sup>。可见CR<sub>3</sub>是 $\beta$ -葡聚糖抗肿瘤的受体基础之一,而粒细胞是其效应细胞之一。这些结果充分证明这一假说的普遍意义。

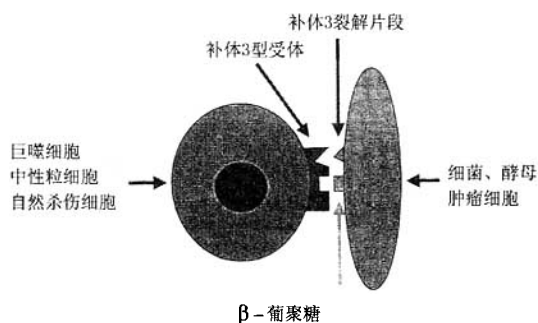


图1  $\beta$ -葡聚糖抗肿瘤作用机制示意图

Fig. 1 Illustration of antitumor mechanism for  $\beta$ -glucan

1.2 多糖作用于Toll样受体介导免疫效应:虽然以上提到的 $\beta$ -葡聚糖的抗肿瘤机制是通过CR<sub>3</sub>介导的,但并不能认为是唯一的机制,也不能排除免疫调节作用的参与。近年来,有很多研究发现多糖的免疫调节作用与Toll样受体有关。如桔梗根多糖通过Toll样受体4激活巨噬细胞<sup>[5]</sup>;刺五加多糖通过Toll样受体激活B细胞和巨噬细胞<sup>[6]</sup>;红花多糖通过Toll样受体4激活转录因子NF- $\kappa$ B诱导巨噬细胞合成细胞因子<sup>[7]</sup>。

Toll受体是在研究果蝇胚胎发育过程中发现的,与果蝇的背腹侧分化有关。后来又发现Toll受体在果蝇抗真菌、细菌等病原感染中亦发挥重要作用。以Toll受体的基因序列为探针在高等动物及人类中也发现同源基因,命名为Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)。近年对TLRs的研究十分广泛和深入,到目前为止TLRs家族至少有10名成员被发现<sup>[8]</sup>。其中TLR2和TLR4与炎症及免疫调节关系密切。TLR4的配体主要是细菌内毒素(LPS)中的类脂A和脂壁酸(lipoteichoic acid)<sup>[9]</sup>。TLR2的配体较广泛,包括肽聚糖、脂蛋白、脂多肽、阿糖苷聚糖脂、酵母多糖等<sup>[10]</sup>。

人们之所以把多糖的抗肿瘤作用归结为其免疫调节作用,其中的理由之一是多数多糖可以诱导和促进巨噬细胞分泌肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )。虽然发现多糖促进TNF- $\alpha$ 的产生与Toll样受体有关,但结论并不一致,如:酵母多糖通过TLR2激活转录因子NF- $\kappa$ B,进而启动TNF- $\alpha$ 基因转录,促

进TNF- $\alpha$ 的产生;而红花多糖被证明是通过TLR4激活NF- $\kappa$ B,最后促进TNF- $\alpha$ 的产生;也有报道刺五加多糖既可通过TLR2又可通过TLR4激活NF- $\kappa$ B。造成这些结果不一致的原因之一可能是由于多糖本身结构的复杂性所致,不同来源的多糖其单糖组成、糖苷键的连接均有细微的区别。

1.3  $\beta$ -葡聚糖作用于dectin-1介导免疫效应:最新报道 $\beta$ -葡聚糖的主要受体是树突状细胞相关C型凝集素-1(dendritic cell-associated C-type lectin-1, dectin-1)<sup>[11]</sup>,而且介导了巨噬细胞的生物功能,包括产生TNF- $\alpha$ <sup>[12]</sup>。Dectin-1是由Ariizumi等<sup>[13]</sup>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。按照基因核苷酸推算,该蛋白含有244个氨基酸,由3部分组成,即胞浆区(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~p13.2,与自然杀伤细胞基因复合体(NK gene complex: 12 p13.1 to p13.2)相邻,与小鼠dectin-1的区别在于前者有2个剪接变异体(splice variant),而且主要在白细胞群体上表达<sup>[14~16]</sup>。

## 2 多糖作用的信号转导机制

除了多糖作用的受体是近年研究的热点外,多糖作用的细胞后信号转导机制亦是众多学者关注的问题。一般只是粗略地观察多糖作用后哪些信号分子发生了改变,如:香菇多糖升高脾细胞内的Ca<sup>2+</sup>浓度、cAMP、cGMP<sup>[17]</sup>,灵芝多糖诱导巨噬细胞内蛋白激酶A的活性<sup>[18]</sup>等,而系统研究多糖受体相关的或功能相关的信号转导机制的报道较少。最近,台湾学者报道了灵芝多糖促进中性粒细胞吞噬和趋化作用的信号转导机制<sup>[19]</sup>,证明与肌醇磷脂3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase)、Src家族酪氨酸激酶(Src-family tyrosine kinase)、蛋白激酶C(PKC)、p38丝裂原激活的蛋白激酶(p38 MAPK)等有关,但并没阐明是通过何种受体介导的。

以细菌脂多糖(LPS)作为配体研究Toll样受体的信号转导机制比较深入,已有多篇综述文章进行了详细介绍<sup>[10,20]</sup>。LPS通过TLR4介导的TNF- $\alpha$ 的合成主要通过以下机制实现:LPS-LBP-CD14复合物与人单核吞噬细胞TLR4结合触发胞内级联信号转导反应,首先TLR4胞浆区段与一个叫做衔接子(adapter)的蛋白MyD88相互作用,依次激活IL-1受体相关激酶(IRAK)、肿瘤坏死因子受体相关因子-6(TRAF-6)、NF- $\kappa$ B诱导激酶(NIK)和 $\alpha$  $\beta$ -I $\kappa$ B激酶,最终使I $\kappa$ B磷酸化而降解,激活的NF- $\kappa$ B移位入核内,启动免疫反应基因转录激活,其中包括TNF- $\alpha$ 基因。

## 3 结语

虽然从目前研究的报道看,有关多糖作用的受体主要有

CR<sub>3</sub>、TLR2、TLR4、Dectin-1、甘露糖受体,但是由于多糖结构的多样性和复杂性,可以想象,多糖受体也是多样的,今后还会有更多的多糖受体被揭示。

多糖作用的信号转导机制也是今后研究的重要课题,其研究策略将是以前作用的受体为信号传入的起始点,以某种细胞效应(如吞噬、趋化、合成或分泌细胞因子)为终点观测指标,确定其中的信号转导通路。通过研究有望发现新的药物作用靶点,为建立新的药物筛选模型提供信息。

#### References:

- [1] Yan J, Vervicka V, Xia Y, *et al.* Beta-glucan, a "specific" biologic 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): 3045-3052.
- [2] Cheung N K, Modak S. Oral (1→3), (1→4)-beta-D-glucan synergizes with antiganglioside GD2 monoclonal antibody 3F8 in the therapy of neuroblastoma [J]. *Chin Cancer Res*, 2002, 8(5): 1217-1223.
- [3] Cheung N K, Modak S, Vickers A, *et al.* Orally administered beta-glucans enhance anti-tumor effects of monoclonal antibodies [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2002, 51(10): 557-564.
- [4] Hong F, Hansen R D, Yan J, *et al.* Beta-glucan functions as an adjuvant for monoclonal antibody immunotherapy by recruiting tumoricidal granulocytes as killer cells [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(24): 9023-9031.
- [5] Yoon Y D, Han S B, Kang J S, *et al.* Toll-like receptor 4-dependent activation of macrophages by polysaccharide isolated from the radix of *Platycodon grandiflorum* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2003, 3(13-14): 1873-1882.
- [6] Han S B, Yoon Y D, Ahn H J, *et al.* Toll-like receptor-mediated activation of B cells and macrophages by polysaccharide isolated from cell culture of *Acanthopanax senticosus* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2003, 3(9): 1301-1312.
- [7] Ando I, Tsukumo Y, Wakabayashi T, *et al.* Safflower polysaccharides activate the transcription factor NF-kappa B via Toll-like receptor 4 and induce cytokine production by macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2002, 2(8): 1155-1162.
- [8] Aderem A, Ulevitch R J. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response [J]. *Nature*, 2000, 406(6797): 782-787.
- [9] Lien E, Means T K, Heine H, *et al.* Toll-like receptor 4 imparts ligand-specific recognition of bacterial lipopolysaccharide [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(4): 497-504.
- [10] Zhang D M, Mao B L. Recent advances on researches of Toll-like receptors [J]. *Life Sci Res* (生命科学研究), 2002, 6(1): 36-39.
- [11] Brown G D, Taylor P R, Reid D M, *et al.* Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages [J]. *J Exp Med*, 2002, 196(3): 407-412.
- [12] Brown G D, Herre J, Williams D L, *et al.* Dectin-1 mediates the biological effects of beta-glucans [J]. *J Exp Med*, 2003, 197(9): 1119-1124.
- [13] Ariizumi K, Shen G L, 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): 20157-20167.
- [14] Grunebach F, Weck M M, Reichert J, *et al.* Molecular and functional characterization of human dectin-1 [J]. *Exp Hemato*, 2002, 30(11): 1309-1315.
- [15] Yokota K, Takashima A, Bergstresser P R, *et al.* Identification of a human homologue of the dendritic cell-associated C-type lectin-1, dectin-1 [J]. *Gene*, 2001, 272(1-2): 51-60.
- [16] Hermanz-FRalcon 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): 288-295.
- [17] Chen H L, Li D F, Chang B Y, *et al.* Effects of lentinan on broiler splenocyte proliferation, interleukin-2 production, and signal transduction [J]. *Poult Sci*, 2003, 82(5): 760-766.
- [18] Li M C, Liang D S, Xu Z M, *et al.* Effects of *Ganoderma* (*Ganoderma lucidum*) polysaccharide on PKA activity of murine peritoneal macrophages [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(5): 353-355.
- [19] Hsu M J, Lee S S, Lee S T, *et al.* Signaling mechanisms of enhanced neutrophil phagocytosis and chemotaxis by the polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* [J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 139(2): 289-298.
- [20] Li Y W, Ma L. TLR4-MD2 Signaling pathway induced by endotoxin [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2002, 18(2): 121-125.

## 人参属药用植物组织和细胞培养的研究进展

陈巍<sup>1</sup>, 高文远<sup>1\*</sup>, 贾伟<sup>2</sup>, 段宏泉<sup>1</sup>, 肖培根<sup>3</sup>

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 上海交通大学药学院, 上海 200030;

3. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094)

**摘要:**从愈伤组织的诱导及培养、试管苗再生、悬浮培养、反应器培养及转基因器官培养等5个方面介绍了人参属药用植物组织与细胞培养的研究进展。日本和韩国已经分别实现了人参悬浮细胞和不定根培养的工业化;我国尽管已经开发了人参愈伤组织的一些产品,但在人参属药用植物组织和细胞培养的工业化方面还有一段路要走。

**关键词:**人参属;组织培养;细胞培养;生物反应器

**中图分类号:** R282.21

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2005)04-0616-05

## Advances in studies on tissue and cell culture in medicinal plants of *Panax* L.

CHEN Wei<sup>1</sup>, GAO Wen-yuan<sup>1</sup>, JIA Wei<sup>2</sup>, DUAN Hong-quan<sup>1</sup>, XIAO Pei-gen<sup>3</sup>

(1. College of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. School of Pharmacy,