

- [30] Yin D S, Ge Z Q, Liu X C, *et al.* Paclitaxel lyophilized preparation with hyaluronic acid as a carrier and its pharmacokinetics [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(2): 192-195.
- [31] Yuan Q Y, Liu H Y, Zhou K, *et al.* Pharmacokinetics of glycyrrhizin liposome and glycyrrhizin [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2005, 14(7): 903-905.
- [32] Yang M. Study on Gansu release capsule [A]. *Dissertation of Doctor Degree of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine* (成都中医药大学博士学位论文) [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2001.

## 天然多糖类活性物质抗乙肝病毒的研究进展

黄皓, 干信\*

(华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430068)

**摘要:**天然多糖类活性物质对人体的免疫机能具有明显的促进作用,已有多种多糖类活性物质用于抗乙肝病毒和治疗慢性肝炎的研究。目前,国内在多糖防治乙型肝炎病毒方面积累了一定的经验,在临床上也取得了一定的疗效。现综述国内近几年对天然多糖活性物质在抗乙肝病毒、临床治疗及免疫机制方面的研究进展,并认为多糖类活性物质作为安全、有效的抗乙肝病毒天然药物,其应用前景十分广阔,值得进行更深入的作用机制研究。

**关键词:**中药;多糖;乙肝病毒

**中图分类号:**R284.18;286.87

**文献标识码:**A

**文章编号:**0253-2670(2006)10-1594-03

### Advances in studies on anti-hepatitis B virus of natural active polysaccharides

HUANG Hao, GAN Xin

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430068, China)

**Key words:** Chinese materia medica; polysaccharide; hepatitis B virus

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是一种具有独特结构的嗜肝 DNA 病毒,是导致急慢性肝炎、肝硬化及肝癌的主要原因。我国是乙型肝炎病毒感染的高发区,乙肝表面抗原 HBsAg 携带率达 9.75%,约 1 亿 2 千万人,占世界 HBV 感染人数的 1/3,其中慢性乙型肝炎病人约为 3 000 万,约 10%~20%发展为肝硬化,1%~5%演变为肝癌,不仅严重影响人们的健康,也成为日益严峻的社会问题<sup>[1]</sup>。为寻找更有效、更安全的抗乙肝病毒药物,近年来对由中药提取的多糖类活性物质抗乙肝病毒的作用及机制进行了一系列研究,在临床治疗上也取得了一定的成果,本文从抗乙肝病毒的作用方式、机制及应用等方面将国内多糖类活性物质抗乙肝病毒的研究进展综述如下。

#### 1 多糖活性物质抗乙肝病毒作用方式

1.1 抑制 HBsAg、乙肝 e 抗原(HBeAg)的分泌:在感染 HBV 后,绝大多数感染者外周血清中出现 HBsAg,因此 HBsAg 成为 HBV 感染的标志,而 HBeAg 与病毒 Dane 颗粒、HBV-DNA 具有伴随关系,是 HBV 复制活跃的血清学指标。对于 HBsAg、HBeAg 分泌的抑制也成为药物抗乙肝病毒的重要途径之一。

张凤翎等<sup>[2]</sup>用黄芪多糖治疗病毒性乙型肝炎 25 例,实

验结果表明,治疗组的 HBeAg 转阴率为 49%,其抑制 HBeAg 分泌的效果明显优于对照组,但 HBsAg 转阴率仅 19%,效果不理想。

猪苓多糖是中药猪苓的提取物,其主要成分为葡聚糖。严述常等用其治疗慢性病毒性肝炎并进行 5 年的随访观察,发现 HBsAg 的转阴率达 12.8%,HBeAg 的转阴率达 34.17%。张以华等在用猪苓多糖治疗小儿慢性肝炎时发现,该药能使 HBeAg 的转阴率达 75%,抗-HBe 的转阴率达 43%。彭远武等<sup>[3]</sup>将猪苓多糖与乙肝疫苗联合使用进行抗乙肝病毒治疗,治疗组 HBeAg 转阴率近期达 39.58%,5 年内达 41.67%,而对照组 HBeAg 转阴率近期为 16.67%,5 年内为 22.22%。研究结果显示,猪苓多糖在抗乙肝病毒的治疗上,对于 HBeAg 的抑制,无论近远期都是有效的。

汪廷等<sup>[4]</sup>以乙肝病毒转染的人肝癌细胞 2215 为研究对象,探讨了螺旋藻多糖对 HBeAg 和 HBsAg 分泌的影响。实验结果显示,螺旋藻多糖在最大无毒浓度范围内,在 2215 细胞中对 HBsAg 的抑制率可达 31.8%,HBeAg 抑制率可达 39%,且抑制作用有明显的剂量效应关系,剂量高,则抑制效果较好。

此外,魏文清等观察了海藻硫酸多糖对 HBsAg 和 HBeAg

收稿日期:2006-03-02

作者简介:黄皓(1978—),男,湖北恩施人,华中农业大学食品科学技术学院食药分子生物工程 2004 级博士研究生,2004 年获湖北工业大学生物工程学院发酵工程硕士学位,研究方向为多糖类物质抗病毒和抗肿瘤的药理学研究。

\* 通讯作者 干信 Tel:(027)88032319 E-mail:ganxin9999@yahoo.com.cn

分泌的抑制作用,并选用灵芝多糖作为对照药物。实验结果表明,海藻硫酸多糖对 HBsAg 和 HBeAg 的分泌有较强的抑制效果,均优于灵芝多糖。冬虫夏草为传统名贵中药,具有滋补强身作用。邓惠英等<sup>[5]</sup>采用冬虫夏草多糖进行治疗慢性乙肝的研究。研究发现,治疗组 HBeAg 的转阴率与对照组有显著差异。鲍芸等<sup>[6]</sup>从非致病性草分枝杆菌培养物中提取多糖(mycobacteria phelio substance, MPS),并进行了抗乙肝病毒研究,发现其对 HBeAg 的抑制有效,转阴率达 47%。

1.2 抑制 HBV-DNA 的复制:乙肝病毒最终是通过在宿主体内的 DNA 复制来达到感染和繁殖的目的。因此,对于 HBV-DNA 复制的抑制,是药物发挥抗乙肝病毒作用的关键途径,也得以从分子水平上阐明其抗病毒的作用方式。

据报道,黄芪多糖能够抑制 HBV-DNA 的复制,与对照组相比,抑制率达 56%;螺旋藻多糖对 HBV-DNA 的抑制率为 40.05%。在海藻硫酸多糖抑制 HBV-DNA 的研究中,选用鸭肝炎动物模型,观察其对感染鸭血清 HBV-DNA 水平的抑制作用,在治疗后 5 d,抑制率为 49%,停药后 3 d,抑制率仍达到 31%;进一步研究发现其能够抑制 HBV-DNA 多聚酶的活性,干扰 HBsAg 与抗-HBs 结合,从而以多位点抑制 HBV 的复制,高剂量组不出现 HBV-DNA 反弹的现象<sup>[7]</sup>。

顾伟等选择脂质体包被冬虫夏草多糖抗乙肝病毒,结果显示,在用上述药物治疗后,HBV-DNA 复制水平下降了 37%,效果明显。张超等<sup>[8]</sup>从江西巴蜗牛中发现并首次提取、分离天螺霜,初步证实此物为一类多糖活性物质,通过 HBV-PCR 抑制试验,实验组均未出现阳性条带,显示天螺霜可以抑制 HBV-DNA 的复制。MPS 对 HBV-DNA 的抑制率也达到了 47%,证实其具有体外抑制乙肝病毒的作用。

## 2 多糖活性物质抗乙肝病毒作用机制

### 2.1 免疫调节

2.1.1 非特异性免疫增强作用:大多数多糖活性物质均通过非特异性免疫增强作用发挥抗病毒作用。在抗乙肝病毒的过程中,诱导干扰素(IFN)产生的非特异性免疫增强作用是通过 T 细胞介导的,能使细胞生理代谢作用增强,明显提高人体白细胞诱导 IFN 的功能,并使血浆 cAMP 的水平提高,从而达到清除乙肝病毒的作用<sup>[9]</sup>。

黄芪多糖作为非特异性免疫增强剂,适用于细胞免疫功能低下的慢性乙肝患者,并能增加食欲,改善症状。乙型肝炎患者体内诱导 IFN 的相关实验结果表明,用 NDV(鸡温病毒)诱导法加入黄芪多糖可使体内 IFN 的效价增加 3 个滴度(人细胞)以上。乙肝患者在获得疗效的同时,SK-SD 皮试转阳和增强<sup>[9]</sup>,也进一步证实黄芪多糖通过增强机体免疫,促使抗体生成,并对肝脏起到保护作用,无直接的细胞毒作用。

有研究证实,当归多糖可促进机体免疫细胞产生  $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-12(IL-12),而这两种细胞因子是机体抗病毒免疫的重要因子,它能诱导 Th0 向 Th1 细胞分化,产生有效的 Th1 反应,在抗乙肝病毒非特异性免疫中发挥作用。猪苓多糖抗乙肝病毒的作用机制也在于调整机体的免疫功能。梅力等用猪苓多糖治疗免疫功能低下的体弱儿童

时,发现猪苓多糖能显著提高 T 细胞免疫功能,对体液免疫也有一定调节作用。

香菇多糖是常用的免疫增强剂,能增强机体细胞免疫功能,活化 T 淋巴细胞,包括辅助性 T 细胞(Th 细胞)和细胞毒性 T 细胞(Tc 细胞)诱导白细胞介素-2(IL-2)产生;促进巨噬细胞活化,具有较强的抑制病毒复制的作用。动物实验表明,螺旋藻多糖能提高机体非特异的细胞免疫功能及体液免疫功能<sup>[10]</sup>,揭示了其抗乙肝病毒的非特异性免疫机制。

经现代科学研究,冬虫夏草多糖对机体有多方面的免疫调节作用,并有抗病毒和改善肝功能作用,可激活单核巨噬细胞,T、B 淋巴细胞和 NK 细胞,增强枯氏细胞的吞噬能力。而由江西巴蜗牛中提取的天螺霜,能改善细胞免疫功能,并通过调整机体免疫系统的功能来提高 Th 细胞数量,改善 OKT4/8 比值。

2.1.2 对树突状细胞(DC)的影响:近年来,在抗病毒的免疫机制方面,研究者已将重点转移到多糖对树突状细胞(DC)的影响上来。树突状细胞是体内功能最强大的专一抗原递呈细胞,而慢性乙肝持续感染与 DC 的功能缺陷——其表型不成熟及刺激 T 淋巴细胞增殖能力降低有关<sup>[11]</sup>,改变其功能状态有望打破慢性 HBV 感染形成的免疫耐受。

桂希恩等研究证实,经当归多糖作用后,HBV 转基因小鼠的 DC 形态渐趋成熟,同时其表面协同刺激分子 CD86 的表达也明显上调,T 淋巴细胞活化所需的第二信使增强,这对于激活抗原特异性 T 淋巴细胞是必不可少的。试验结果提示当归多糖在体内可能会促进 DC 的成熟,提高 DC 的抗原递呈能力<sup>[12]</sup>。同时,处理组小鼠 DC 刺激 T 淋巴细胞增殖的能力也明显增强,且随 DC 比例的提高其刺激能力增强,这可能与 DC 向 T 淋巴细胞递呈抗原能力增强有关,它增强了 T 细胞激活所需第二信使的产生,更多地激活 T 淋巴细胞增殖分化,启动特异性免疫应答,从而可能增强机体的抗乙肝病毒免疫能力。

2.2 抗氧化:抗氧化也是多糖活性物质发挥抗病毒作用的机制之一。姜宝发等<sup>[13]</sup>研究认为,海藻硫酸多糖抗乙肝病毒除了在体内有直接抗 HBV 的作用,另一方面还可以抑制肝脏线粒体膜的氧化损伤,防止和延缓肝纤维化,保护肝脏,间接起到抗 HBV 的作用。王淑琴<sup>[14]</sup>研究证实,香菇多糖要通过降低肝脏损伤引起的天冬氨酸氨基转移酶(AST)升高和提高肝损伤引起的肝糖元降低,起到抗乙肝病毒的作用。

### 3 多糖活性物质抗乙肝病毒的临床应用

3.1 重组(CHO 细胞)乙肝疫苗佐剂:免疫系统受到外来抗原刺激后,是产生体液免疫还是细胞免疫反应,取决于 Th 细胞的分化程度。分子免疫学研究表明,Th1 细胞主要诱导产生细胞免疫,而 Th2 细胞与体液免疫有关。无机铝盐主要激活 Th2 免疫细胞,因而产生体液免疫应答。随着分子免疫学的研究进展,佐剂的功用不再局限于增强免疫应答,新型的疫苗佐剂着重作用于特定的免疫细胞,选择性地诱导机体形成针对特异性抗体的有益的免疫应答及减少免疫不良反应<sup>[15]</sup>。

乙肝疫苗的接种对象主要是婴幼儿,铝佐剂含铝离子,

且只能刺激机体产生体液免疫而不能产生细胞免疫<sup>[16]</sup>。而黄芪多糖能够诱导产生 IFN, 因此, 临床上已将黄芪多糖作为佐剂, 与重组 CHO 细胞表达的 HBsAg 制备成含中药佐剂的乙肝疫苗。研究表明, 黄芪多糖对正常机体的抗体形成有明显的促进作用, 使自然杀伤细胞(NK 细胞)功能增强, 对免疫抑制剂如环磷酰胺(CTX)对免疫器官和免疫功能的影响有明显的反转作用<sup>[17]</sup>。姚伟等<sup>[18]</sup>实验结果证明, 黄芪多糖无刺激性, 无过敏反应, 且毒性轻微, 与重组 HBsAg 合用能明显提高小鼠的抗-HBs 阳转率并能减少抗原用量, 其效果优于 Al(OH)<sub>3</sub> 佐剂。细胞免疫试验结果则表明, 黄芪多糖佐剂疫苗能增强小鼠的细胞免疫功能。

3.2 多糖与其他药物联合治疗: 由于香菇多糖能活化 T 淋巴细胞, 有利于低水平复制的 HBV 完全清除。治疗乙肝的常用药拉米夫定对 HBV-DNA 的阴转效果较好, 能迅速抑制 HBV, 使体内 HBV 复制迅速处于低水平。因此, 临床上利用拉米夫定和香菇多糖抗乙肝病毒的互补性, 将二者联合治疗乙肝, 并取得了一定效果。研究结果显示<sup>[19]</sup>, 拉米夫定联合香菇多糖治疗 HBeAg 阴性慢性乙肝较单一使用拉米夫定近期 HBV-DNA 的阴转率无显著性差异。但 HBeAg 的阴转率和抗 HBe 的阳转率明显高于对照组, 出现反跳性肝炎的发生率明显低于对照组, 且无明显不良应, 值得临床进一步推广。

3.3 多糖脂质体复合物: 脂质体是由类脂双分子组成的封闭体, 其结构类似生物膜, 具有免疫佐剂作用。脂质体的靶细胞是吞噬细胞, 被其包裹的药物 80% 集中到肝脏等单核吞噬细胞系统, 定向识别感染病毒的细胞。刘玉凤等<sup>[20]</sup>利用脂质体包裹的冬虫夏草多糖进行治疗慢性乙肝的研究, 同时用未包裹的脂质体的冬虫夏草多糖作为对照。研究发现, 治疗组对乙肝病毒标志物 HBV-DNA 转阴率优于对照组, HBeAg 的转阴率与对照组也有显著差异。这可能是由于脂质体包裹的冬虫夏草多糖增强了机体免疫功能, 提高了吞噬细胞的活性, 从而加强了乙肝病毒的清除。现已将其开发为商品(可博利口服液), 并应用于临床治疗乙肝。

#### 4 结语

乙型肝炎的发病主要与免疫力低下、病毒持续感染和进行性肝细胞损伤有关, 而多糖活性物质可三方面并重, 对乙型肝炎起到治疗作用。国内在多糖防治乙型肝炎病毒方面积累了大量的经验, 加上不良反应较小, 因而从传统中药中寻找有效的抗乙肝病毒的多糖类药物仍是医药科研工作者的迫切任务。大量的基础及临床研究表明, 多糖药物治疗乙肝病毒有一定疗效, 但其作用机制、临床应用尚存在许多值得探讨和研究的问题, 而且剂型多以传统的汤剂、胶囊、冲剂等为主, 纯度较低, 不利于药效的发挥, 因而, 要使中药多糖成为治疗乙肝的有效药物, 将其与脂质体、微粒、纳米粒等药物新剂型结合开发以及深层次的作用机制等都还有待进一步研究。

#### References:

- [1] He D Z. Studies on anti-hepatitis B virus activity of medicine [J]. *Guangxi Med J* (广西医学), 2003, 25(8): 1439-1443.
- [2] Zhang F L, Sun D X, Li M X. Preparation of *Astragalus polysaccharide* and its therapeutic effect on hepatitis [J]. *Pharm Biotechnol* (药物生物技术), 1995, 2(2): 26-28.
- [3] Peng Y W, Zheng H F. Effect of anti-hepatitis B virus by Agaric polysaccharide and HB Vaccine [J]. *Modern J Integr Tradit Chin West Med* (现代中西医结合杂志), 2000, 20(9): 1992-1993.
- [4] Wang T. Inhibition of spirulian polysaccharide to HBeAg, HBsAg and HBV-DNA cultured in 2215 cell line. [J]. *Jiangsu J Agric Sci* (江苏农业学报), 2000, 16(1): 41-45.
- [5] Deng H Y, Liu Y F. Effect of Chinese caterpillar fungus polysaccharide liposome treatment in patients with Chronic Hepatitis B. [J]. *J Shanxi Med Univ* (山西医科大学学报), 1998, 29(1): 38-39.
- [6] Bao Y, Pu X Z, Li C R, et al. Analysis of m. p. s to treatment in patients with Hepatitis B. [J]. *J Postgr Med* (医师进修杂志), 1992, 10: 12-13.
- [7] Wei W Q. Anti-HBV effect of sulfated polysaccharides from seaweed both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chin J Hepatol* (中华肝病杂志), 2002, 4(10), 2: 112.
- [8] Zhang C, Liu Q H. Studies on the active constituents and anti-Hepatitis B virus of *Bradyhaena* of Jiangxinensis [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2002, 8(3): 29-30.
- [9] Chen X Q. *Novel Methodology Medicine* (新编药理学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [10] Liu L S, Guo B J, Ruan J H. Research of promotion to People's immune function of spirulina polysaccharide and its metabolism [J]. *Marine Sci* (海洋科学), 1991, 11(6): 25-31.
- [11] Huang J H, Lin X, Lin R Z, et al. Compare the relationship between hepatitis B virus DNA detected by fluorescence quantitative PCR and hepatitis B virus markers [J]. *J Pract Diagn Ther* (实用诊断与治疗杂志), 2005, 19(1): 4.
- [12] Li S F, Wang X, Gui X E, et al. Effects of angelica polysaccharide on the functional status of dendritic cells in HBC transgenic mice [J]. *J Pract Diagn Ther* (实用诊断与治疗杂志), 2005, 19(5): 313-315.
- [13] Jiang B F, Xu X F, Li L, et al. Study on "911" Anti-HBV Effect in Hep G2 2215 cells culture [J]. *Modern Prev Med* (现代预防医学), 2003, 30(4): 517.
- [14] Zhang H G. Effect of lentinan treatment in patients with Hepatitis B. [J]. *Tianjin Med J* (天津医药), 1990, 18(12): 667-669.
- [15] Tang Y W. Advances in studies on adjuvant of vaccine [J]. *Foreign Med J*, 1996, 19(3): 107-110.
- [16] James L G, Paul H M. Different T helper cell subsets elicited in mice utilizing two different adjuvant vehicles: the role of endogenous interleukin 1 in proliferative responses [J]. *Cell Immunol*, 1989, 9(12): 134-145.
- [17] Liu Z X. Novel immunoadjuvant. [J]. *China J Microbiol Immunol* (中国微生物和免疫学杂志), 1997, 17(5): 337-341.
- [18] Yao W, Li Y, Ren K, et al. Safety and immune effect of APS as an adjuvant of recombinant HB vaccine prepared with CHO Cells [J]. *Chin J Biol* (中国生物制品学杂志), 2002, 15(4): 211-213.
- [19] Wang S Q. Effect of lamivudine and lentinan combination treatment in patients with chronic hepatitis B. [J]. *J Qiqihar Med Coll* (齐齐哈尔医学院学报), 2004, 25(12): 1347-1348.
- [20] Gu W. Chronic hepatitis B treated by cordyceps and *Radix Astragal* polysaccharides liposome [J]. *Chin J Clin Med Pract* (中华临床医学实践杂志), 2003, 2(1): 41.