

甲壳质、壳聚糖及其衍生物的免疫与抗癌活性

IMMUNOLOGY AND ANTITUMOR ACTIVITIES OF CHITIN/CHITOSAN AND ITS DERIVATIVES

肖 航

(青岛海洋大学药物与食品研究所 266003)

自 1811 年 Bracomno 发现甲壳质以来,人们对它进行了广泛深入的研究及开发利用。其研究和利用已涉及到工业、农业、医学、环境保护、国防、食品、日用化工等众多领域,尤其是在医药方面的应用,引起极大关注。据报道,甲壳质、壳聚糖及其衍生物具有辅助免疫、抑制癌细胞及肿瘤生长等作用,因此,这类物质不仅可以作为健康人防癌、提高免疫力的保健品,还可以在临床上治疗早期癌症,并对中晚期癌症病人的放疗起到保护作用,从而有效提高疗效、减少痛苦、延长病人的生命。

1 甲壳质、壳聚糖及其衍生物的免疫活性及机理

1.1 免疫活性

甲壳质、壳聚糖及其衍生物的免疫功能已被国际所公认^[2~4]。Nishimura 等^[5]往小鼠腹腔内注射经醋酸处理的脱乙酰基几丁质多孔珠,结果发现该物质可刺激小鼠产生白介素 1 及增强体内巨噬细胞的活性。几丁聚糖的分解产物氨基葡萄糖(Glucosamin)也能活化 NK, LAK 细胞。

东市朗和户仓清一^[1]利用甲壳质及其各种衍生物进行巨噬细胞活化实验。结果表明脱去 30% 乙酰基的甲壳质(DAC-30)、脱去 70% 乙酰基的甲壳质(DAC-70)以及羧甲基(CM)甲壳质(取代率 80%)等均有极强的巨噬细胞活化能力,其中以 DAC-70 作用最强。与羧甲基甲壳质相比, DAC-70 剂量低,活化能力较为持久。DAC-70 的 C₂ 位上的氨基(pka 6.4~6.8)进行三甲基化,以增强碱性,或是 C₂ 位氨基与多肽键结合,引入一分子氨基酸所得的衍生物,其活化巨噬细胞的能力与 DAC-70 大致相同。但若将 DAC-70 的 C₂ 位羧甲基化,丁二酰化或三甲基化,则巨噬细胞的活化能力明显减弱。由此可知 DAC-70 对

巨噬细胞的活化能力与碱性关系密切。DAC-70 分子量约为 200 000, 相对粘度 10.0, 用溶菌酶消化分解 9 d, 分解后寡糖残基 90% 在 8 以下, 74% 在 5 以下。DAC-70 除了能活化小鼠腹腔巨噬细胞外, 还具有使小鼠血中产生抗体, 诱导延迟性过敏症, 活化 NK 细胞和 Helper-T 细胞以及增强同种细胞损害型 T 细胞(CTL)免疫活性的功能。

我国对甲壳质的研究和应用也取得了巨大进展。1996 年 9 月北京联合大学应用文理学院保健食品功能检测中心关于壳多糖(Chitosan)免疫调节功能研究报告表明其具有增强单核巨噬细胞和 NK 细胞活性的功能, 对细胞免疫和体液免疫功能均有增强作用。张澄波等指出壳多糖能诱导局部巨噬细胞增生, 并使其活性增强, 而且提高机体免疫力的作用也不是暂时的。

1.2 免疫活性机理

关于甲壳质、壳聚糖及其衍生物的免疫活性机理存在多方面的说法。有的学者认为壳聚糖使巨噬细胞增多的机理是:(1)壳多糖为阳性趋化剂, 吸引单核细胞从血管中游出聚集在组织中形成巨噬细胞。(2)壳聚糖直接刺激局部组织, 促使细胞增生, 继而演变为巨噬细胞。

还有的学者认为, pH 7.4 的体液中, 淋巴细胞最为活跃, 能直接杀死癌细胞。但在癌细胞内及偏酸性的体液中, 淋巴细胞不活跃, 作用迟钝。壳聚糖能吸附 H⁺, 可提高 HCO₃⁻ 浓度, 能使体液 pH 倾向碱性, 创造淋巴细胞攻击癌细胞的环境, 对改善内环境非常有效。壳聚糖在吸附 H⁺ 之后, 由于带有大量的 -NH₃⁺, 使亲和性增强, 可以活化巨噬细胞, 使其吞噬能力增强, 直接增加胞内生物和杀伤癌细胞的能力; 它还可以活化 T 淋巴细胞, 促使其释放出各种淋巴

收稿日期:1998-11-19; 修回日期:1999-02-11

因子(IF, CHF, MIF, LF, TF, MF), 从而起到杀伤胞内微生物(结核菌, 真菌和病毒等)和癌细胞的作用; 当壳聚糖活化 T 细胞后, 就可以向 B 细胞发出生产抗体群的指令, 起到间接活化 B 细胞的作用, 从而产生各种免疫球蛋白(IgG, IgM, IgA, IgE, IgD), 进一步增强巨噬细胞的吞噬功能, 也就是说在增强体液免疫的同时, 又增强非特异性免疫功能。

2 甲壳质、壳聚糖及其衍生物的肿瘤抑制作用

2.1 甲壳质、壳聚糖及其衍生物可抑制癌细胞的转移

癌症对人体的危害主要是局部癌肿和脏器转移失控。癌肿的成功转移要经过一系列复杂的步骤。其中, 毛细管中流动着的癌细胞的“接著”和“溢出”是关键。“接著”始于癌细胞与上皮细胞的接触, 这种接触被与癌细胞相关的血小板血栓稳定化后, 癌细胞穿过内皮及其基质, 然后再穿过一系列由粘性分子构成的组织屏障以完成转移。

甲壳质、壳聚糖及其衍生物的抑癌作用已被许多学者所证明。1993 年 Komazawa 等制成 Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) 肽与硫酸化甲壳质的共轭产物(SCM-Chitin-RGDS), 并把该复合物注射于小鼠静脉中, 然后分三组分别静注经孵化的来自 L5178Y-ML25 白血病肝转移的肿瘤细胞、来自 26M3.1 结肠癌肺转移的肿瘤细胞以及来自 B16-BL6 黑色素瘤肺转移的肿瘤细胞, 结果发现该复合物对上述肿瘤细胞均有明显的抑制作用。尽管该复合物的抑癌血药浓度较高, 但仍是抗肿瘤转移的一种有效治疗方法。Murata 等将硫酸化甲壳质作用于 B16-BL6 黑色素瘤小鼠模型, 结果发现硫酸化甲壳质并不直接杀伤肿瘤细胞, 而是明显抑制肿瘤的血管生成。Saiki 等应用 Albinil 的方法, 在滤纸的表面被覆一层可与滤纸纤维联接的基质, 使之形成血管内皮样结构, 然后计算单纯肿瘤细胞及合并硫酸化甲壳质的肿瘤细胞穿透该基质的数量, 结果发现合并有硫酸化甲壳质的肿瘤细胞的穿透率极显著地低于单纯肿瘤细胞的穿透率。表明甲壳质硫酸化衍生物可抑制肿瘤在血管内皮下基质的粘附。1994 年 10 月, 富士软片公司、北海道大学、富山药科大学共同研究发现, 壳聚糖衍生物连接细胞接著性 RCTDS 能阻止癌细胞的转移。著名肺科专家廖美琳强调抗血管生成药物可以抑制毛细血管内壁内皮细胞的生成, 使肺癌无法生长, 其抗血管生成药物首先为壳聚糖, 其次为干扰素, 最后是肝

素。欧美国家也正在研究一类以壳聚糖为基本结构的抑制癌细胞毛细血管内皮细胞生成药物, 用以抑制癌症转移。

Murata 和 Saiki 等以各种磺化甲壳质衍生物(Chitin heparinoid derivative)对癌细胞的肺转移进行了研究。以小鼠为肿瘤系与肺部转移的实验模型, 结果显示, S-甲壳质与 SCM-甲壳质与肝素相同, 均有明显抑制癌细胞肺部转移效果, 而此效果也随着磺化度而增强。但是脱乙酰化的衍生物, 如 S-壳聚糖或 SCM-壳聚糖等, 即使磺化的程度很高也没有抑制活性。从这些结果可知氨基葡萄糖的残基中 C6 位的磺化以及 C2 位的 N-乙酰化在癌症的转移中起重要作用。实验所用的甲壳质衍生物当中, 磺化度高的 SCM-甲壳质(7.66, S%)几乎没有抗凝血作用, 另外, 癌转移抑制效果与用量有关。但如前所述, 没有磺化的 CM-甲壳质完全没有效果。

小鼠足踝以 B16-BL6 黑色素瘤移植后, 将磺化甲壳质衍生物施用在移植肿瘤局部地区, 肿瘤移植后 21 d 将原始癌细胞以外科手术切除, 经过 4 d 观察肺转移结节数, SCM-甲壳质(7.66, S%)每隔 3 d 使用一回, 共计三回后, 发现具有良好的癌细胞转移抑制效果, CM-甲壳质则完全没有抑制效果。而且无论施以何种衍生物, 在切除癌细胞时, 原始肿瘤的大小都没有差异。由试管实验可知磺化甲壳质衍生物对癌细胞的增殖及生存率完全没有影响, 依此推测其抑制癌细胞转移并非直接作用。

关于甲壳质及其衍生物抑制癌细胞转移的机理, 虽然没有完全清楚, 但也有一些结论。据推测, 甲壳质及其衍生物的癌细胞转移抑制机制并非基于免疫细胞的活化或是诱导出杀肿瘤活性, 而是甲壳质及其衍生物能和血管内皮表面粘附分子相结合, 封锁癌细胞对血管内皮的粘附和运动。例如, SCM-几丁质 3 和肝素可以与基底膜的主要成分昆布氨酸(Laminine)不可逆地结合, 使癌细胞与昆布氨酸的接著与运动就会被强烈抑制。癌细胞与基底膜接触时, 会产生 4 型胶原蛋白分解酶, 如 metallo-蛋白酶和肝素分解酶等。利用酶分解破坏组织, 癌细胞向组织深处移动渗透。SCM-几丁质 3 对基底膜中的 4 型胶原蛋白的分解酶活性有明显的抑制, 从而抑制癌细胞的转移。另外, 癌瘤的毛细血管分为无毛细血管内皮细胞和有毛细血管内皮细胞两类, 只有具有毛细血管内皮细胞的毛细血管才能延伸加长, 癌细胞沿着毛细血管向四周浸润, 肿瘤体积不断加大。甲壳质及其衍生物等抗毛细血管内皮细胞生成药物抑制毛细

血管的生长,切断其营养和转移的介质,将癌控制在局部。总之,甲壳质、壳聚糖及其衍生物能够阻碍癌症转移过程中各阶段转移性癌细胞与宿主间的相互关系,也就是说抑制接著性,移动性与渗透性等癌细胞机能,使得癌细胞无法顺利转移。

2.2 甲壳质、壳聚糖及其衍生物与普通抗癌疗法的协同作用^[6,7]

一般癌症病人在手术过程中会大量失液,出现电解质代谢紊乱,伤口感染,愈合慢,局部炎症和非炎症渗出,疼痛等症状,这些因素都影响康复,使手术期延长,影响后期治疗。此时使用甲壳质、或其衍生物,能诱导局部巨噬细胞增生,并使其活性增强,产生抗炎、抗感染的作用。还能促使肌纤维母细胞的生长、收缩,从而使伤口收缩,仅需少量新生组织就可以修复创伤面,同时,创面缩小也可以减少感染机会。辅以甲壳质、壳聚糖及其衍生物还能减轻疼痛,其本身就有良好的抑菌,杀菌作用^[8]。

癌症病人在接受放射治疗时,会相应产生放射性的炎症、局部酸性产物堆积,产生剧烈疼痛,骨髓抑制,消化呼吸等功能障碍,人体变得衰竭,导致放射治疗中断,放疗不能按计划完成而使疗效降低。多年来放射治疗专家一直在寻求解决放射线毒副作用的方法,经过临床观察,放射治疗同时辅以甲壳质取得较满意的结果。甲壳质这一多糖带正电荷的阳离子团,由于是人体构成的重要物质透明质酸的基本单位,与体细胞有极好的亲和性,溶解吸收后具有较强的吸附能力,捕捉自由基并与其结合,消除或减弱其毒性,保证放疗正常进行。

此外,目前使用的抗癌药物大多是细胞毒物质,有杀灭癌细胞控制癌症的正面效应,也有杀伤正常人体细胞造成损伤的不良作用。使用当中病人常因恶心、呕吐、骨髓抑制或粒细胞减少、药物型肝肾损害而中断治疗。实践证明给与足量的甲壳质,与抗癌药物的降解产物形成络合或复合物,经过肝、肾、肠道排出体外。甲壳质在联合化疗中能够增加疗效,减缓毒副作用,显示出良好的协同效果。

许多晚期癌症应用甲壳质的经验表明,使用适

量的甲壳质能抑制癌毒素,延迟营养不良,减缓恶液质的发生,提高T淋巴细胞和B淋巴细胞的活力,减少并发症的发生,在一定程度上能够减轻痛苦,提高生存质量,延长生存期限。但是甲壳质、壳聚糖及其衍生物对癌细胞本身并没有直接杀伤作用,在研究开发时应予以注意,不要过高估计。不能过高评价,以免贻误疗效。

3 结语

综上所述,甲壳质、壳聚糖及其衍生物对人体的免疫功能具有较好的调节作用,对体液免疫和细胞免疫均有促进作用,其显著的抑制癌细胞转移作用及与普通抗癌疗法的协同辅助作用为癌症治疗开辟了新的领域,此方面的研究方兴未艾前途光明。目前,甲壳质、壳聚糖及其衍生物在肝癌、白血病、肺肝转移癌以及某些实体瘤的治疗上已有了一些较深入的研究,但对其他具体癌的治疗却有待进一步探索。相信在不久的将来,甲壳质、壳聚糖及其衍生物在提高免疫力、防癌、抑癌方面必将发挥更大的作用。

参考文献

- 1 东市郎等,化学工业,1991,10:49~54
- 2 Shibata, Y *et al.*. *Infection & Immunity* 1997, **65**(5):1 734~41
- 3 Rementeria, A. *et al.*. *Fems Immunology & Medical Microbiology* 1997, **19**(3):223~30
- 4 Kosaka, T. *et al.*. *Journal of Veterinary Medical Science* 1996, **58**(10):963~967
- 5 Nishimura, K. *et al.*. *J. Biomol. Res.*, 1986, **20**(9):1 359
- 6 Sato M. *et al.*. *Bio. Pharm. Bull.*, 1996, **19**(9):1 170~7
- 7 Gorbach, VI. *et al.*. *Carbohydr. Res.*, 1994. **4**:260(1):73~82
- 8 Yu Guang, Wang Yuan-hong *et al.*. *J. Oceanol. Limnol.*, 1996, **14**(2):189~192

