

富硒螺旋藻的抑癌及抗辐射作用

Cancer inhibition and radioprotection of selenium enriched *Spirulina*

黄 峙

(暨南大学 生物工程学系, 广东 广州 510632)

中图分类号: R730.231 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2006)07-0082-04

螺旋藻(*Spirulina*)作为人类天然食品和药品资源具有较大的开发利用价值^[1]。微量元素硒(Se)在体内的功能形式主要为 30 余种硒蛋白(selenoprotein), 特别是十几种硒酶(selenoenzyme)^[2,3], 如谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GPx)家族、脱碘酶(Iodothyronine deiodinases, ID)家族、硫氧还蛋白还原酶家族(Thioredoxin reductases, TDR)等, 它们参与机体重要的生命代谢活动。富硒螺旋藻中有机硒含量高, 并从中分离纯化到多种含硒活性物质如含藻蓝蛋白、硒多糖等^[4]。进一步研究发现, 硒的掺入可增强藻蓝蛋白及多糖等天然活性物质的功能^[5]。作者对富硒螺旋藻抗癌和抗辐射研究进行综述。

1 富硒螺旋藻中的含硒活性物质

天然有机硒化合物的生物活性比无机硒显著, 利用动植物转化途径来获取有机硒已成功的实践有富硒酵母、富硒食用菌、富硒茶等^[6]。富硒螺旋藻主要含有机硒^[4], 主要含硒活性物质有含硒蛋白、含硒多糖、含硒脂类、含硒核酸及其它含硒小分子化合物。

1.1 含硒藻蓝蛋白

含硒蛋白是良好的有机硒源。螺旋藻营养价值的突出特点是蛋白质的质量分数高达 50%~71%^[1], 藻蓝蛋白是螺旋藻的一种主要蛋白质, 在藻胆蛋白中所占比例很高, 具有较好的生物活性。李乐农等^[7]从富硒螺旋藻中分离纯化的藻蓝蛋白含有硒, 初步晶体学研究得到 2 种新的晶型, X-线衍射数据尚未阐明其中硒的结合位点和结合方式。黄峙等^[4]分离纯化的含硒藻蓝蛋白有较高的含硒量(267 $\mu\text{g/g}$), 硒的结合未改变藻蓝蛋白的分子量及其亚基组成, 不同的纯化步骤显著影响藻蓝蛋白中的硒含量, 含硒藻蓝蛋白不同亚基中相对硒含量也不相同, α 与 β 亚基含硒量之比

为 1.65。进一步分析发现, 蛋白含硒量与亚基相对分子量按摩尔量推算远低于 1, 即每个亚基分子中平均远不到 1 个硒原子, 说明硒与蛋白质的结合可能是随机的和不稳定的。

1.2 含硒多糖

硒多糖的研究多着眼于寻找补硒营养剂和天然药物, 由于多糖分子的结构特点, 有可能与硒结合。含硒多糖在自然界, 尤其是在植物中的存在已经得到证实, 如大蒜硒多糖的生物活性明显优于多糖或亚硒酸钠, 它不仅能抑制 SiO_2 对细胞的毒害作用, 并且还能抑制人胚肺巨细胞病毒。陈春英等^[8]从高硒地区生长的箬竹中提取到硒多糖, 它能有效地提高血液中的硒含量和 GPx 活性, 降低脂质过氧化产物丙二醛的含量, 增强红细胞抗 H_2O_2 氧化损伤的能力, 并具有明显的免疫增强效应。研究者^[9]从植物中提取出硒多糖, 并对其结构和功能进行了研究, 其中硒以 2 种可能形式存在: 硒氢基和硒酸酯。周志刚等^[10]从添加硒培养的极大、钝顶、盐泽 3 种螺旋藻中分离得到胞内多糖和胞外多糖, 经测定, 多糖分子中结合硒, 推测可能是硒与藻体表面多糖分子形成硒酸酯, 但胞外多糖中的含硒量较大, 而胞内多糖结合硒的能力很弱。最近, 胡群宝等^[11]从富硒螺旋藻中提取到一种硒多糖, 近似相对分子质量为 19500, 硒质量分数为 80×10^{-6} , 检测到其单糖构成含有 D-葡萄糖、D-甘露糖和 D-半乳糖, 对于螺旋藻多糖结合硒及其意义将会有更

收稿日期: 2004-09-28; 修回日期: 2005-03-26

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目(05103295)

作者简介: 黄峙(1968-), 河南信阳人, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 天然活性物质, E-mail: thsh@jnu.edu.cn

加深入的研究。

1.3 其它含硒活性物质

富硒螺旋藻中的硒除与蛋白质、多糖结合外,还存在其它形式。黄峙等^[4]检测到透析液中存在小分子含硒有机化合物,可能是含硒氨基酸、硒谷胱甘肽等,并检测到核酸中也含有少量的硒。周志刚^[10]认为螺旋藻中蛋白质含量很高,其中结合硒只不过占细胞含硒量的 34.47%,加上脂类结合的硒,两者结合的硒只占细胞含硒量的一半,因此,细胞中的硒可能还有其它的结合方式,例如与核酸结合或者与小分子化合物结合形成有机硒化合物。左银虎^[12]也论述了植物中除硒蛋白外,一部分有机硒是以 RNA 结合态存在的,植物中已发现的 Se-RNA 确切形式都是转移核糖核酸,结构为 5-甲胺基-2-硒代尿嘧啶。这些结果说明了核酸中存在硒,但硒核酸的结合形式除较清楚的 sec-tRNA^{[ser]sec} 外,还没有发现 DNA 或 RNA 直接键合硒。含硒核酸有许多要探索的问题,如硒的结合形式、含量、生物学意义等。

2 富硒螺旋藻的抑癌及抗辐射作用

研究显示^[13, 14],螺旋藻及其活性物质具有抗癌、抗辐射、抗病毒感染及增强免疫等多种功效作用。研究也证明^[15-17],多种硒化合物具有抑癌、防辐射功能。理论上,富硒螺旋藻兼具硒及螺旋藻活性物质双重功效,现有的研究结果逐步证明这一推论。唐玫等^[18]证实,富硒螺旋藻提取液可显著提高实验小鼠免疫力,黄峙等^[5]报道含硒藻蓝蛋白对小鼠实验性肝损伤的拮抗作用明显强于硒或藻蓝蛋白。近几年来,富硒螺旋藻的抑癌及抗辐射研究也取得可喜进展。

2.1 富硒螺旋藻的抑癌作用

据报道^[19],螺旋藻藻蓝蛋白和多糖可显著抑制肝癌、肺癌、大肠癌、胃癌、小鼠肉瘤 S180 等肿瘤细胞的生长;另有报道^[20],螺旋藻多糖(PS)对 CD3 McAb 激活的杀伤细胞(CD3 McAb Activated Killer Cells, CD3AK Cells)有明显的刺激细胞增殖作用,可提高 NK 细胞活性,诱导 TNF- α 及白细胞介素-2(IL-2)分泌;螺旋藻多糖还具有抗辐射和显著减轻小鼠骨髓细胞及蚕豆根尖细胞的辐射损伤,大大降低电离辐射引起的突变频率的作用^[21]。提示螺旋藻及所含活性物质在抗肿瘤及抗辐射治疗上有较好的应用前景。

关燕清等^[22]利用从富硒螺旋藻中纯化的含硒藻蓝蛋白,制备光固定生物材料,发现这种材料对体外培养肝癌、胃癌细胞生长具有显著抑制作用。胡群宝等^[11]研究发现,用质量浓度为 100 mg/L 的螺旋藻硒多糖处理肿瘤细胞可诱导肿瘤细胞凋亡,随着剂量增

大,凋亡细胞所占百分比增加,对胃癌细胞 9701 和小鼠 S180 肉瘤细胞的抑制率分别达 49.4%和 45.0%,对小鼠动物肿瘤生长模型的抑制作用与细胞培养相一致,相同剂量处理发现,硒多糖抑癌作用明显强于分离的藻体多糖和糖蛋白类似物。

2.2 富硒螺旋藻的抗辐射作用

富硒螺旋藻可显著提高致死剂量 ⁶⁰Co γ 射线照射后小鼠 30 d 成活率,含硒藻蓝蛋白使患有急性放射病的 NIH 小鼠的存活率提高到 68%^[23]。杨陟华等^[24]研究发现,富硒螺旋藻对大鼠胸部 γ 射线照射所致早期肺肝纤维增生具有防治效果。放射性肺炎是胸部肿瘤放疗和骨髓移植预处理中一个并发症。尤其当病变发展到纤维化期时,将难以逆转,辐射致肺癌也与其诱发的慢性放射性肺炎的发生、发展有关。实验观察到富硒螺旋藻能明显抑制照射引起的早期肺水肿,这可能与富硒螺旋藻中含有丰富的蛋白质及维生素有关,尤其是与富硒螺旋藻中的有机硒相互协同能有效地清除炎症因子。实验结果还证明富硒螺旋藻能明显地抑制放射性肺炎所引起的肺组织和肝组织中的羟脯氨酸含量的增加,提示富硒螺旋藻在防治放射所引起肺部和肝部的纤维化有一定的防治作用。

3 富硒螺旋藻抑癌及抗辐射作用机制

癌症的发生与辐射损伤存在密切关系,富硒螺旋藻及其含硒活性物质具有较好的抗癌及抗辐射作用,其作用机制是多方面的,既有广谱效应机制如抗氧化保护,又有特异性作用如调节特定硒蛋白功能。从硒及螺旋藻活性物质的综合功效来看,主要体现在以下几方面。

3.1 抗氧化保护机制

普遍认为,自由基过多是癌症发生发展的主要原因之一,辐射损伤也主要是由射线诱导产生超氧阴离子自由基(O₂·)和 OH·等自由基所致。脂质过氧化中,以 OH·自由基引发脂质过氧化的连锁反应为主,并造成 DNA、蛋白质和细胞膜的损伤。采用联二亚硫酸钠自氧化产生 O₂·阴离子的体系,发现富硒螺旋藻提取液及硒藻蓝蛋白对 O₂·阴离子有显著清除作用,且与浓度成正比。采用抗坏血酸-Cu-H₂O₂ 化学体系产生 OH·自由基,并以酵母增强化学发光的方法研究结果表明^[24],富硒螺旋藻提取液与硒藻蓝蛋白对 OH·自由基都有清除作用,Se-PC 比 PC 有更高的清除作用,清除率可达 66%。因此,富硒螺旋藻及其活性物质具有较强的抗氧化活性,从而对癌症的发生及急性放射损伤起直接化学防护作用。

3.2 硒蛋白功能

至今对硒化合物的抗癌机制还未完全阐明, 硒蛋白功能可能起主导作用。已发现哺乳动物含有 25 种硒蛋白编码基因, 其中许多为机体重要的硒酶^[17]。硒酶 GPx 是机体内最强的抗氧化酶, 可防止生物大分子发生氧化应激反应^[25]。近年来又证实硒酶 TDR 对维持细胞内还原状态非常重要^[26], 在 NADPH 存在时, TDR-Trx 构成的二硫化物还原系统具有广泛的生理功能, 调节细胞的增殖、分化及其功能。已有报道^[5], 富硒螺旋藻及含硒藻蓝蛋白对实验小鼠的 GPx 活性有显著增强作用, 并提高 TDR 及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性。说明其对自由基清除的增强效应, 是通过增强硒酶活性、固有抗氧化活性及非含硒抗氧化酶(如过氧化氢酶和 SOD 等)活性来实现的。因此富硒螺旋藻及其活性成分可以通过硒蛋白功能机制, 抑制癌细胞增殖。抗氧化硒酶活性的增强对拮抗辐射损伤, 促进 DNA 修复也是有益的。

3.3 免疫调节机制

螺旋藻及其活性物质可增强吞噬细胞吞噬功能、促进抗体分泌并提高 CTL 和 NK 细胞杀伤能力。大量研究^[27]支持缺硒可引起免疫功能低下, 硒参与细胞免疫和 B 细胞功能的调节, 补硒可提高淋巴细胞的抗原反应性, 促进 CTL、LAK 和 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤力。硒调节免疫功能的机制可能是通过调高亲和白介素 2 受体(IL-2R)在活化的 T 细胞和 NK 细胞上的表达, 进而增强 IL-2 的调节作用来实现的, 这一作用是 T 细胞克隆增生和分化为 CTL 的关键环节。虽然富硒螺旋藻对免疫调节的确切机制还缺乏系统研究, 但可以肯定, 由于免疫活性因子硒的参与, 富硒螺旋藻及其活性物质的免疫调节作用会更好, 特别是其对局部肿瘤免疫的调节, 增强 CTL、NK、LAK 杀伤力可能是其抗肿瘤的主要免疫调节机制。富硒螺旋藻通过促进免疫活性细胞增殖, 对辐射诱导的免疫功能低下也产生积极效果。

3.4 调节细胞分化和端粒酶活性

胡群宝^[28]对螺旋藻硒多糖的抗肿瘤机制进行研究, 发现硒多糖明显抑制体外培养的胃腺癌 9701 细胞的分裂, 可使 9701 细胞周期停滞于 G1 期, 阻止 G1 期细胞进入 S 期, 并分析认为硒多糖可能通过抑制细胞周期素依赖性蛋白激酶(cyclin dependent kinases, CDKs), 诱发肿瘤细胞凋亡, 发挥抗肿瘤作用。同时检测到经硒多糖 48 h 处理的 9701 细胞端粒酶活性受到明显抑制, 表明硒多糖抗肿瘤的机理可能与影响端粒酶活性有关。由于端粒酶的活性受到抑

制, 细胞分裂丢失的端粒无法补充, 最终导致细胞死亡, 因此肿瘤细胞生长受到抑制。张成武等^[29]和王友顺等^[30]研究证实, 螺旋藻多糖 SPP 对化疗及放射损伤有一定的保护和促进恢复作用, 其作用机制可能是通过加强造血干细胞(CFU-S)的更新和向祖细胞(CFU-GM)分化而实现的。SPP 能促进造血细胞的增殖与分化, 参与调控造血干细胞和祖细胞的直接或间接造血活动。刘晓梅^[31]研究了螺旋藻多糖(PSP)对肿瘤化疗后造血细胞增殖、凋亡及 Bcl 2 表达的影响, 结果 PSP 明显改善 CTX 引起的 CFU GM 减少、造血细胞凋亡, 并促进了 IL-1, IL-3 和 GM-CSF 分泌及造血细胞 Bcl 2 表达, PSP 促进内源性细胞因子的分泌间接上调抗凋亡蛋白 Bcl 2 表达可能是其促进肿瘤化疗后造血细胞增殖并抑制其凋亡的分子机制之一。另有研究发现^[32], 硒可促进肿瘤细胞或癌前细胞凋亡, 抑制佛波酯(12-O-tetradecanoyl phorbol-13 acetate TPA)激发的 PKC 活性, 因此, 具有生物活性的硒化合物可能阻碍肿瘤促发剂诱导的信号转导的起始步骤。从这些研究可知, 富硒螺旋藻及其活性物质可能通过调节细胞分裂周期、影响细胞分化信号传递及抑制端粒酶活性等机制发挥抗肿瘤作用。

4 总结与展望

大量研究充分肯定了螺旋藻的营养价值、药物价值及开发前景, 利用生物转化技术生产富硒螺旋藻也已取得实验成功。富硒螺旋藻具有明显抗肿瘤及抗辐射诱变作用, 对其抗氧化、免疫调节、影响细胞增殖、调节细胞周期及端粒酶活性等作用机制的研究, 正逐步揭示硒与螺旋藻活性分子功能上的内在联系。但总体而言, 生物转化含硒活性物质这一领域的研究还处于起始阶段, 在以下几方面有待深入阐明以适应产业化需要: (1)微藻生物转化活性硒形态的进一步确证, 现有的研究指标主要还停留在总富硒量、有机硒和无机硒浓度的测量水平, 部分研究个别含硒蛋白或硒多糖的表征, 缺乏硒与生物大分子结合形式的系统研究; (2)富硒螺旋藻抗癌抗辐射作用机理还不十分清楚, 研究采用的细胞培养、动物模型及选择的测量指标比较表浅, 有待深入研究其作用的主要途径和确切靶点; (3)含硒藻蓝蛋白及硒多糖是分离纯化的主要活性成分, 但结构与功能是生物大分子密不可分的两个方面, 目前的研究主要观察了它们的效用, 结构的阐明, 特别是活性结构域的研究可以提供更多的生物功能信息。同时也应谨慎地考虑硒的毒性及大量食用可能导致的硒蓄积。

参考文献:

- [1] 陈峰, 姜悦. 微藻生物技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社,

1999. 103-138.
- [2] 郑文杰, 欧阳政. 植物有机硒的化学及其医学应用[M]. 广州: 暨南大学出版社, 2001. 253-262, 293-305.
- [3] 黄峙, 向军俭, 郭宝江. 硒蛋白分子生物学研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2001, **28**(5): 642-645.
- [4] 黄峙, 向军俭, 郑文杰, 等. 钝顶螺旋藻富集转化硒及硒在藻体中的分布[J]. 植物生理学通讯, 2001, **37**(1): 12-14.
- [5] 黄峙, 郑文杰, 郭宝江. 含硒藻蓝蛋白抗小鼠实验性肝损伤的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2002, **18**(7): 819-822.
- [6] 黄峙. 食品硒源生物学研究进展[J]. 食品科学, 2001, **22**(5): 90-94.
- [7] 李乐农, 张季平, 常文瑞, 等. 富硒螺旋藻中含硒藻蓝蛋白的纯化、结晶及初步晶体学研究[J]. 中国科学(C辑), 2000, **30**(5): 449-455.
- [8] 陈春英, 罗湘, 周井炎, 等. 箬叶多糖及其化学修饰物、亚硒酸钠和 GSH 对 Cu²⁺诱导的 LDL 氧化修饰的保护作用[J]. 生物化学与分子生物学报, 1998, **14**(4): 427-431.
- [9] 黄峙, 郑文杰, 郭宝江. 含硒生物大分子化合物研究进展[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2001, **19**(2): 169-175.
- [10] 周志刚, 李朋富, 刘志礼, 等. 3 种螺旋藻及其蛋白质、多糖和脂类结合硒的研究[J]. 海洋与湖沼, 1997, **28**(4): 363-369.
- [11] 胡群宝, 郭宝江. 螺旋藻硒多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国海洋药物, 2001, **20**(5): 18-20.
- [12] 左银虎. 环境与植物中硒形态研究进展[J]. 植物学通报, 1999, **16**(4): 378-380.
- [13] Pang Q S, Guo B, Kolman A. Radioprotective effect of extract from *Spirulina platensis* in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test [J]. **Toxicology**, 1989, **48**: 165-169.
- [14] Dasgupta T, Banejee S, Yadav P K, *et al.* Chemomodulation of carcinogen metabolising enzymes, antioxidant profiles and skin and forestomach papillomagenesis by *Spirulina platensis* [J]. **Mol Cell Biochem**, 2001, **226**(1-2): 27-38.
- [15] Weiss J F, Srinivasan V, Kumar K S, *et al.* Radioprotection by metals: selenium [J]. **Adv Space Res**, 1992, **12**(2-3): 223-231.
- [16] Weiss J F, Landauer M R. Protection against ionizing radiation by antioxidant nutrients and phytochemicals[J]. **Toxicology**, 2003, **189**(1-2): 1-20.
- [17] Diwadkar-Navsariwala V, Diamond A M. The link between selenium and chemoprevention: a case for selenoproteins[J]. **J Nutr**, 2004, **134**(11): 2 899 - 2 902.
- [18] 唐玫, 郭宝江. 富硒藻蓝蛋白对小鼠免疫及抗氧化功能影响[J]. 营养学报, 2001, **23**(3): 275-278.
- [19] 王侑先, 孟正木, 亢寿海, 等. 钝顶螺旋藻的抗癌作用及对免疫功能的影响[J]. 癌症, 1996, **15**(6): 423-425.
- [20] 王友顺, 黎露刚, 吴侃, 等. 螺旋藻多糖对 CD3 AK 细胞增殖能力的影响[J]. 海洋科学, 1998, **3**: 37-39.
- [21] 郭朝华, 张成武, 施炎, 等. 钝顶螺旋藻多糖对正常小鼠骨髓造血干细胞和粒-单核细胞系祖细胞的影响[J]. 中华血液学杂志, 1996, **17**(1): 32-33.
- [22] 关燕清, 郭宝江. 螺旋藻蛋白质光固定材料的抑癌研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2002, **19**(1): 1-3.
- [23] 郭宝江. 富硒藻蓝蛋白对 DNA 损伤的修复效应[J]. 云南大学学报(自然科学版), 1999, **21**(遗传学专辑): 19-22.
- [24] 杨陟华, 朱茂祥, 龚诒芬. 富硒螺旋藻对大鼠胸部 γ 射线照射所致早期肺纤维增生的防治效果观察[J]. 中华放射医学与防护杂志, 1997, **17**(2): 80-83.
- [25] Ursini F, Heim S, Kiess M, *et al.* Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation [J]. **Science**, 1999, **285**(5 432): 1 393 - 1 396.
- [26] Lewin M H, Hume R, Howie A F, *et al.* Thioredoxin reductase and cytoplasmic glutathione peroxidase activity in human foetal and neonatal liver [J]. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2001, **1526**: 237 - 241.
- [27] Margaret P R. The importance of selenium to human health (review) [J]. **The Lancet**, 2000, **356**(9 225): 233 - 241.
- [28] 胡群宝. 富硒螺旋藻多糖的抗癌活性及其机理的研究[D]. 广州: 华南师范大学, 2001, 56-97.
- [29] 张成武, 刘宇峰, 王习霞, 等. 螺旋藻藻蓝蛋白对入癌细胞株 HL-60, K-562 和 U-937 的生长影响[J]. 海洋科学, 2000, **24**(1): 45 - 48.
- [30] 王友顺, 黎露刚, 吴侃. 螺旋藻多糖对给予环磷酰胺 BALB/C 小鼠的保护作用研究[J]. 海洋科学, 1997, **21**(6): 36 - 39.
- [31] 刘晓梅, 张洪泉. 螺旋藻多糖对荷瘤小鼠化疗后造血细胞增殖、凋亡及 Bcl 2 表达的影响[J]. 药学学报, 2002, **37**(8): 616-620.
- [32] Gopalakrishna R, Chen Z H, Gundimeda U. Selenocompounds induce a redox modulation of protein kinase C in the cell, compartmentally independent from cytosolic glutathione: its role in inhibition of tumor promotion [J]. **Arch Biochem Biophys**, 1997, **384**(1): 37-48.

(本文编辑 : 张培新)