维普资讯 http://www.cqvip.com

99-103 药物.多糖药物.多糖

第24卷 第1期 重庆医科大学学报 Vol.24 No.1
1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1999

37

多糖与多糖药物研究的方向

R977.6 Q539

第二临床学院肝炎研究所 陈国民* 综述

中图分类号 R977.6

近年来由于分子生物学研究的飞速发展，各种分子生物学研究技术与理论日趋成熟，引导着整个生命科学研究的方向。由核酸与蛋白质开始的关于生物大分子结构与功能的研究已扩展到生物膜的蛋白质，并向多糖类与脂类的结构与功能延伸，故多糖的研究已成为新的热点之一，80年代末形成新型学科'糖生物学'(Glycobiology)和'糖工程学'(Glycotechnology)，发展极其迅速，并将成为二十一世纪的重大前沿学科之一[1]。

作为生命物质构成的主要成分之一，生物体内多糖的研究由来已久，其基本可分成两大部分：一部分是作为信息分子，种类多，每种含量少，结构复杂，信息量大。二是作为细胞和细胞外间质的主要构成成分，这类多糖种类少，但每种含量多，结构规则庞大，有宏观(颗粒大小)不均一性。

1 作为信息分子的多糖

在机体的受精，发生、发育、分化、神经系统、免疫系统恒态的维持方面起着重要作用，糖链的共同特点是介导专一地识别和调控生物过程。这类多糖主要以糖蛋白的结构存在，根据其生物活性可包括:免疫球蛋白、酶蛋白、血型物质、胶原蛋白、激素类糖蛋白、微生物糖蛋白、病毒糖蛋白、血清糖蛋白、唾液粘蛋白和其它哺乳动物体液糖蛋白等。糖蛋白的糖链多为杂寡糖链。糖蛋白中的肽链是生理功能的主要承担者，糖链则对蛋白质肽链的功能起修饰作用。对于糖蛋白来说，虽然其生物活性的基础在于蛋白结构，但其生物功能的强弱甚至有无与其多糖侧链有着密切的关系。这在当前许多基因工程细胞因子的研究中得到证实。如红细胞生成素(EPO)就是一种高度糖化的细胞因子，由肾脏产生刺激骨髓红细胞成熟和增殖的，含165个氨基酸残基，在Asn24、Asn38和Asn83位点各有1条N.糖链，在Ser126有1条O－GalNAc糖链，糖链的含量约占hEPO分子量的40%。EPO对再生障碍性贫血具有其他药物无法取代的显著疗效，目前都用基因工程法来生产EPO。而EPO必须在高等真核细胞中表达获得糖链才有活性。进一步发现hEPO的体内活力与四天线和二天线N—糖链的比值成正比，即四天线糖链越多，体内活性越高。去除糖链的EPO几无活性，糖链对EPO的生物学活性有关键的作用[2]。

1.1 糖蛋白的基本结构

蛋白链与糖链通过共价键相连，蛋白链上连接糖链的位点称为糖基化位点。由于糖链的生物合成没有模板可以遵循，因此在同一个糖基化位点上，会连有不同的糖链，造成所谓的微观不均一性。因此，一种糖蛋白实际是一类由不同性质分子组成的群体，其共同特征是有一条相同的多肽链，其差异在于寡糖链的结构，即所谓糖型不同。这种特点造成研究糖链结构与功能关系的复杂性，而生物体内糖链又具有组织特异性、种间特异性和发育特异性，因而糖链结构的繁杂性难以想像，比核酸的信息量大几个数量级，且又是重要的生物活性物质，成为各国分子生物学家研究热点。随着糖生物学和糖基化工程的发展，糖链的分析发展极快，以每年测定成千新糖链序列的速度增长。

1.2 糖蛋白上糖链的功能

1.2.1 以其糖链序列特征作为生物识别的标志

如细胞表面受体(作为激素、凝集素、生长因子、细

* 男，1945－10出生，副教授

维普资讯 http://www.cqvip.com

胞因子、细胞外基质分子、毒素、细菌、病毒、原生动物等的受体)，细胞表面抗原决定簇(血型抗原、分化抗原、肿瘤抗原等)，同种及异种细胞间的识别及粘合，介导非免疫性吞噬(lectin)，细胞内运输向导等。人类ABO血型的抗原系统ABH抗原是个很典型的例子，虽然ABH抗原主要是鞘糖脂(GSL)，但其是以糖链结构为生物识别标志的，现已知道，在糖链非还原性末端为N－乙酰氨基半乳糖α1－3(岩藻糖α1－2)半乳糖残基结构的具有A血型抗原性，非还原性末端为半乳糖α1－3(岩藻糖α1－2)半乳糖残基结构的具有B血型抗原性，而为岩藻糖α1－2半乳糖残基结构的具有H抗原性。其区别在于末端一个糖结构之差;在体外用1外切糖苷酶将A或B型糖链末端一个糖基除去，可转化成H抗原，即O血型标记。病原菌对宿主细胞的侵袭也存在糖链的识别作用，如嗜腐球菌能识别细胞表面的N－乙酰氨基半乳糖，这些单糖或含有此单糖的寡糖在体外能抑制上述细菌对组织的粘着。具有A或AB血型的人占嗜腐球菌尿路感染的94.6%，而B或O血型的人很少受嗜腐球菌感染，就是因为A或AB血型者细胞表面糖链的末端带有N－乙酰氨基半乳糖。

1.2.2 维持和保护蛋白质的结构及构象，抗蛋白酶水解，参于溶解度等[4]

如整合蛋白属糖蛋白，是细胞膜上重要的粘附分子，可与纤粘蛋白结合。其有$\alpha\beta$两个亚基组成，α和β亚基需要某些特定部位上的N—糖链来维持一定的蛋白构象，从而使两个亚基能适当地聚合并有效地结合纤粘蛋白。若用内切或外切糖苷酶处理嵌合至脂质体上的整合蛋白，整合蛋白完全丧失与纤粘蛋白的粘附能力。

1.2.3 在免疫系统中参与活化补体，淋巴因子(细胞因子)间及与免疫细胞间的相互作用，免疫细胞对肿瘤细胞及病毒细菌的杀伤[5]

如IgGFc端的糖链与单核细胞或巨噬细胞上的Fc受体、对补体C1q的结合和激活以及诱导细胞毒等过程有关。Fc段的糖链被切除末端Gal的IgG，虽仍能与抗原和葡萄球菌蛋白A结合，但丧失和Fc受体或C1q结合等主要功能。其免疫活性严重受限，并也提示C1q或Fc受体可能识别IgG中的糖链结构。

1.2.4 参与细胞分化与生长

2 作为细胞和细胞外间质主要成分的多糖

这类多糖主要以蛋白多糖的结构存在，广义来说蛋白多糖也属于糖蛋白，但因其特殊的功能与结构，组成的单糖上大多带有氨基，为糖胺多糖，故将糖胺多糖与蛋白质形成的复合物单独划为一类，称蛋白多糖，其结构、分布与功能已大致明确。主要存在于细胞间质，细胞膜表面、软骨组织、角膜基质，主动脉和一些滑囊粘液结构中。现有结果表明，蛋白多糖绝非以往认为仅仅作为细胞外间质的填充物，被动地协助细胞完成各种生理过程，而具有重要的生物活性，可以主动参与和影响细胞的各种行为，与组织的形成、细胞的分化、移动，细胞间信息的交流、功能的发挥有着密切的关系[6]。

2.1 蛋白多糖的基本结构

这类糖链与糖蛋白的糖链比较，结构比较简单，单糖的排列也比较恒定，有规律，已发现的种类不多，如人体内有七种糖胺多糖:透明质酸、4－硫酸软骨素、6－硫酸软骨素、硫酸皮质素、硫酸角质素、肝素、和硫酸肝素。其多以聚合体存在，分子十分巨大，同一类分子因其聚合程度差异很大，故分子量可有几万至几百万之变化。

2.2 蛋白多糖的结构与功能的关系

蛋白多糖中糖胺多糖是一种多聚阴离子，分子内含丰富的己糖醛酸和硫酸基团，呈酸性。其毛刷样结构占据着相对广阔的水合空间，能结合大量水份，控制细胞外的含水量，如每克透明质酸可结合500ml水。人体随年龄增长皮肤中糖胺多糖逐渐解聚，分子量减小，所以老年人皮肤中水分含量减少。考的松可促使糖胺多糖分子降低，造成脱水现象;雌激素可增加皮肤中糖胺多糖聚合程度，因此有保留水的作用。糖胺多糖的胶体样状态是结缔组织的刚性和体液的润滑作用的基础，软骨中蛋白多糖浓度很高，因而富于弹性，具备巨大的缓冲容量;老年人或严重磨损裂伤的软骨中，软骨细胞不能有效合成蛋白多糖，产生糖链短且少的异

维普资讯 http://www.cqvip.com

常蛋白多糖，最终导致运动障碍和关节损伤。细胞间质和细胞膜上的透明质酸可造成致病因子穿透细胞的阻力，形成屏障。在肾脏髓质中有透明质酸和透明质酸酶系统，其动态变化促进尿的浓缩。糖胺多糖和生物体内的胺类化合物结合，起着储存和释放神经介质及激素的作用。糖胺多糖的羧基与硫酸基，作为生物体内的离子交换剂，可与阳离子结合，调节组织中的电解质。如透明质酸与钙离子结合，参于调节神经肌肉的兴奋性、细胞的粘附以及细胞表面的一些理化反应。硫酸肝素几乎存在于所有细胞表面，通过与细胞骨架系统的相互作用，控制细胞的形状和运动，影响胚胎组织的形成。肝素能与脂蛋白结合后，将脂蛋白带到细胞表面，以利于脂蛋白脂酶将其分解，调节血脂的含量。因机体蛋白多糖含量大，分布广，随糖生物学研究的深入，与其有关的生理与病理现象将会不断展现。

3 多糖的合成、分解与分布

多糖在体内很少以游离形式独立存在，其合成的第一步是核心蛋白链的生成，然后糖链再依次接到核心蛋白链上。核心蛋白链由mRNA提供模板合成。单糖不能直接首尾相接形成糖链，必须先转化成各种单糖的核苷酸衍生物，再由各种特异的糖基转移酶(包括糖醛酸转移酶)将糖基按序转移到肽链或糖链的末段。各种单糖核苷酸衍生物，在体内均可由葡萄糖转化而来，也可直接利用各种单糖形成相应的核苷酸衍生物。糖链的合成没有模板，其结构完全由相应的糖基转移酶决定，糖基转移酶有高度的特异性，保证糖链的精确生成过程。各种糖基转移酶的存在是糖链形成的关键，用基因工程手段研制各类糖基转移酶是当前糖生物学与糖工程学研究的热点。目前已有几十种基因工程糖基转移酶的报导，并已商品化。

核心蛋白链的合成位于粗面内质网的核糖体上，合成过程一开始、N－连接寡糖就开始在肽链上发生，为'翻译同步糖基化';蛋白核心脱离核糖体后，进入内质网腔，向高尔基体移行;O－连接寡糖在脱离核糖体后，由内质网腔向高尔基体移行过程中进行、称'翻译后糖基化';糖基在高尔基体延长和完成，被收集于分泌泡，通过胞吐分泌至胞外，糖链为某些糖蛋白外分泌所必需;某些肽链保持在膜中，成为膜糖蛋白。糖蛋白分泌至胞外后会很快从细胞外周分散进入循环;蛋白多糖分泌出细胞后会很快聚集形成庞大的聚合体，为细胞提供具有良好通透性的水合空间。

多糖的分解主要在溶酶体内进行，由糖苷酶水解糖苷键，也有特异性。糖苷酶分几类;(1)外切糖苷酶，每次可由糖链非还原端水解一个单糖;(2)—内切糖苷酶，可特异地作用于糖链某一位置，释放寡糖;(3)－N－糖苷酶，N－糖肽酶，水解N连接糖苷键或糖肽键，释放完整的糖链;(4)O－糖苷，水解O－连接糖苷键，释放完整的糖链。糖蛋白在体内处于相对稳定的动态平衡中，每天代谢量约250mg。

多糖的分布十分广泛，在体内多与丝氨酸、苏氨酸、天冬氨酸的残基连接到蛋白质上。细胞膜的研究表明，糖蛋白及糖脂的多糖部分总是位于细胞膜的外表面。多糖链可以协助糖蛋白在膜上的适合定位。这些膜表面上的多糖链在细胞识别上起着极重要的作用，如细胞形成组织、精子与卵细胞的结合、免疫反应中各种信息的传递、微生物病原对宿主的侵染等体内重要机制都是由细胞识别所决定的。绝大部分细胞因子均有糖链结构，作为信息分子，游离于整个机体[7]。作为基质的蛋白多糖以其支持与保护功能，分布于整个机体的细胞外间质，细胞膜表面，和一些滑囊粘液结构中。其可主动参与和影响细胞的各种行为，与组织的形成、细胞的分化、移动，细胞间信息的交流、功能的发挥有着密切的关系，并对机体的多种生理和病理过程发生作用。糖病理学的研究将成为临床病理学的热点。

4 多糖类药物的研究

当机体自身免疫系统或细胞脱轨出现自身免疫疾病或癌症时，细胞表面的糖分子会改变结构和组成，出现异常糖基化与异常细胞代谢。在机体衰老过程中，糖链合成受累，糖链减短，密度变稀，可见多糖与许多疾病病理过程以及衰老过程密切相关。寻找治疗上的多糖先导药物加以改造和合

维普资讯 http://www.cqvip.com

成已成为当今医药界热点，进展甚快。但尚有大量的基础性与开创性工作需做。如已发现的有活性功能的寡糖，是先在蛋白质基础上合成的，而后蛋白降解；单独寡糖是否可作为药物正在研究之中。能改造糖链的各类糖基转移酶和糖苷酶的临床应用前景有待进一步观察。

由于目前糖链的结构和形成并不象核酸与蛋白质工程技术那样，完全可人为的加以控制，其结构与功能的关系及其调控机制尚在研究中，我国96年将其列为国家重点课题。糖药理学发展的基础是糖生理学和糖病理学，均为发展中的新型学科。

目前多糖链可从以下几方面获得：(1)糖工程学(Glycotechnology)，进行糖链的人工合成。(2)糖基化工程学(Glycosylation Engineering)，进行基因工程和蛋白质工程产物的糖基化；选择特异性的细胞株或真核细胞表达体系，也可在重组糖蛋白时，改变糖基化位点，或用糖基化抑制及糖基化位点突变获得所需多糖链。(3)天然多糖的纯化；从菌类到所有动植物均存在多糖成份，提取纯化或加以化学修饰改造是目前较普遍的途经。

多糖与相关药物的研究分两个大方向，一是作为信息分子进入机体发挥补充调节或抑制的作用，这种特异性治疗随着糖功能基团的发现将不断涌现，目前报导较少；另一是作为基质成分作为非特异治疗调节各种生理功能，或纠正病理过程。目前国内外大量的多糖类药物应归纳为后者。

从目前临床应用的多糖药物分析，有以下几点值得注意：

① 作为信息分子，糖链是具有组织特异性、种间特异性、发育特异性的，有对应其配体的映象，其结构与功能有密切的关联。而目前国内上市的多糖类药物均无明确特异分子构象，属于非特异治疗，进入机体后可能作用于相类似的对应分子，因药理机理不甚明确，随机性大，疗效并不十分稳定。

② 糖链与肽链的结合仅能在细胞内进行，故进入机体的多糖不能成为完整的信息分子，有识别与激活或抑制相关因子的作用，而无肽链所具备的生物活性链效应。

③ 人体不能从消化道直接吸受多糖，部分可由肠道细菌分解成单双糖而吸收。口服的多糖药物有其独立的药理作用和药代动力学。不能与消化道外进入机体的多糖药物混为一谈。

近二十年来，国内外各类多糖药物不断进入临床，用于多种疾病治疗，主要集中在抗感染、抗肿瘤、抗风湿、抗消化道溃疡和增进免疫功能等方面[9]，近来在抗血脂、抗衰老方面也有发展，目前有香菇多糖、灵芝多糖、猪苓多糖、虫草多糖、木瓜多糖、几丁多糖等，其报道的临床药理和适应征各有异同，多糖的基本结构也各有异同，但大多数研究基于体内外病理模型的药效学实验，而其糖链的基本结构与以其结构在体内代谢，以及与体内相应配体作用的机理研究资料欠缺，故每种多糖药物的多方向药效作用过于笼统，药理机理与结构基础的研究尚在发展。

归纳目前多糖药物的进展可分为两方面；一是根据多糖本身在消化道药理与药代动力学原理，发展新型的抗血脂、抗脂肪肝、抗高血糖、促进免疫功能等的治疗研究。以及利用多糖(主要指β糖苷键的纤维多糖)在消化道的稳定、悬浮、成膜、纳水、凝聚、润滑和延效等剂的作用，所发展的新型多糖复合药物，用于消化道多种疾病的防治。上述国内市场上的口服多糖药大多数属于此类。

二是依据多糖分子结构为基础而阐明的生物学现象，合成与模拟体内多糖分子或相应配体，或比自然多糖分子更有效的衍生物或类似物作体内治疗，国外基于先进的基础研究大力发展此类药物，在抗炎症、抗肿瘤与抗病毒感染等方面有较瞩目的进展；如近几年最先认定的一个含唾液酸与岩藻糖的四糖，结构为唾液酸－α2.3－半乳糖－β1.4－乙酰氨基葡萄糖－α1.3－岩藻糖(slex)，是白细胞表面选择蛋白的配体的决定簇，能使白细胞大量地粘着在炎症部位的内皮细胞表面，促使炎症反应。游离的slex及其衍生物与选择蛋白结合阻挠此种粘着，呈现抗炎症的活性。Cytel公司已向美国食品和药物管理局(FDA)提出slex新药申请。中药甘草中具有岩藻糖的甘草酸也有类似结构而具有很强的抗炎症活性。

slex还与与某些肿瘤病灶的转移有关，因为某

维普资讯 http://www.cqvip.com

些肿瘤细胞的表面也表达slex抗原，只要其它的组织表面有异常的选择蛋白的表达，两者的粘着就导致肿瘤的转移。用slex及有关的衍生物封闭选择蛋白可防治肿瘤的转移。

微生物对敏感细胞的入侵也与糖链识别有关，如AIDS病毒的外壳中糖蛋白gp120表现有糖结合活性，可识别CD4淋巴细胞表面的糖链而粘合，而AIDS病毒表面的高甘露糖也可与CD4细胞膜相应受体结合，从而感染并破坏淋巴系统。此类粘合感染都能被对应糖类所抑制，故目前试用于AIDS病的药物大多为合成的4.8糖的寡糖。随着糖生物学的发展，多糖药物将在许多疑难病的治疗上发挥其不可替代的作用。

(本文经苗德林教授指正，特此致谢)

参 考 文 献

1.Takeuchi M, et al. Glycobiology 1991;1:337
2.Kanauchi, et al. Biosci Biotechnol Biochem 1996;59:786
3.Ishii H, et al. Int J BiolMacromol 1995;17:21
4.Zielinski B et al. Biomaterial 1994;15:1049
5.Mardassi H, et al. Virology 1996;221:98
6.Mertens G, et al. J Cell Biol 1996;132:487
7.Song Y, et al. Biol Pharm Bull 1993;16:48
8.Rao.B.N.N, et al. J. Biol. Chem. 1994;269

(收稿日期 1998－06－16)

103-107

细胞凋亡在心血管疾病中的研究现状

38

R540.2

临床学院内科 李法琦* 综述 陈运贞 审校

心血管病、细胞凋亡
冠心病、高血压、心力衰竭

中图分类号 R543.3

细胞凋亡(Apoptosis)是一种与细胞坏死(Necrosis)截然不同的在某些生理或病理情况下发生的有序的主动性非炎症性的细胞死亡形式，具有独特的形态学特征(细胞变小和皱缩、胞膜鼓泡或出芽、胞浆浓集、胞核固缩、染色质致密或断裂及凋亡小体形成)和生物化学特征(核小体间脱氧核糖核酸—DNA的断裂)，并受特定的基因调控。近年来，细胞凋亡与心血管疾病发生发展的关系越来越受到人们的关注。最近的研究显示，细胞凋亡存在于冠心病、高血压、心力衰竭、心肌炎、心肌病、心律失常等心血管疾病[1,2]，这些发现为人类从全新的角度来研究和探索心血管疾病的发病机制及防治措施提供了重要的理论和实验依据。本文就细胞凋亡在心血管疾病中的研究现状进行综述和评价。

1 细胞调亡与冠心病

细胞凋亡发生于冠状动脉内皮细胞和平滑肌细胞(SMC)则与冠状动脉病变及由此所引起的冠心病密切相关。Bennett等[3]采用录像电镜观察及分子生物学方法对正常的和有动脉粥样硬化(AS)斑块的冠状动脉的血管SMC进行比较研究发现：①正常的和AS的血管SMC均有凋亡发生。培养的正常冠状动脉的SMC仅在去除血清生长因子后发生凋亡，而AS斑块中的SMC即使在高血清生长因子存在的情况下仍发生凋亡，去除血清生长因子后

*男，1956－06出生、副教授