

食药真菌天然组分的抗肿瘤研究

刘振东¹, 杨海芮^{2,3}, 贾 薇², 薛 蓓¹, 李 梁¹, 汪雯翰²

(1. 西藏农牧学院食品科学学院, 西藏 林芝 860000)

(2. 上海市农业科学院食用菌研究所, 农业部南方食用菌资源利用重点实验室, 国家食用菌工程技术研究中心, 国家食用菌加工技术研发分中心, 上海市农业遗传育种重点开放实验室, 上海 201403)

(3. 上海药明康德新药开发有限公司, 上海 200131)

[摘要] 肿瘤是严重威胁人类健康和生命的疾病, 其预防、诊治、机理等方面的研究已成为生物医学界关注的焦点。食药真菌在东方有着独特的经济和医药价值, 其天然组分的活性研究更是深得广大研究者的青睐, 尤其是较好的抗肿瘤活性。传统的化疗药物, 普遍存在着毒副作用大、易耐药、复发率高等缺点, 因此, 从食药真菌中提取高效、低毒、经济的天然活性抗肿瘤成分, 探索其诱导细胞凋亡及细胞自噬的机制, 用以研发新药将是生物医学工作者面临的挑战。

[关键词] 食药真菌, 抗肿瘤, 细胞凋亡, 细胞自噬

[中图分类号] S646 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2018)01-0108-04

The Antitumor Activity of Natural Components of Edible and Medicinal Fungi

Liu Zhendong¹, Yang Hairui^{2,3}, Jia Wei², Xue Bei¹, Li Liang¹, Wang Wenhan²

(1. Xi Zang Agriculture and Animal Husbandry College, Linzhi 860000, China)

(2. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Edible Fungi Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture, National Engineering Research Center of Edible Fungi, National R & D Center for Edible Fungi Processing, Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding of Shanghai, Shanghai 201403, China)

(3. Shanghai AppTec Co., Ltd., Shanghai 200131, China)

Abstract: Cancer is a serious threat to human health and life. Researches on the mechanisms of prevention, diagnosis and treatment of cancer have become a focus in biomedical field. In the East, edible and medicinal fungi have unique economic and medicinal values, and their active components, especially the components with excellent anti-tumor activity, have attracted great attention of many researchers. Traditional chemotherapy drugs have many toxic side effects, such as easy to drug resistance, high recurrence rate and so on. Therefore, finding natural components with high efficiency and low toxicity from edible and medicinal fungi, and exploring the mechanisms of inducing apoptosis and autophagy, will become a challenge to biomedical researchers.

Key words: edible and medicinal fungi, antitumor, apoptosis, autophagy

真菌是一类古老的生物, 种属繁多。具有食药功能的大型真菌是高等真菌的一大类群, 与人类生活关系密切。迄今为止, 人们从食药真菌中发现的化合物不但结构类型多样, 而且具有多种生物学活性^[1]。我国古代的《本草纲目》中就记载了灵芝, 甘温无毒、主治耳聋、利关节、保神益精气、坚筋骨、好颜色, 久服轻身不老延年。现代医学研究证明其具有调养糖尿病、高血压、冠心病、失眠等症, 长期服用能抗肿瘤、保肝护肝、延缓衰老、扶正固本, 对人体有益无害。食药真菌因其独特的价值, 尤其是它的抗肿瘤活性, 得到了越来越多生物和医学研究者的关注。2002 年, 全球大型真菌总产值大约是 200 亿美元, 相当于当年的咖啡产值^[2]。

肿瘤是威胁人类健康的重大疾病之一, 2012 年, WHO 指出, 全球每年有 700 多万生命被癌症夺去, 而

收稿日期: 2017-03-09.

基金项目: 上海市自然科学基金(16ZR1431000)、上海市农业科学院青年人才成长计划(沪农青字(2016)第 1-14 号)、西藏自治区自然科学基金(2016ZR-NZ-03)、林芝市校地合作项目(lz-xd-04)。

通讯联系人: 汪雯翰, 博士, 副研究员, 研究方向: 天然产物分离提取及活性研究. E-mail: wangwenhan@seas.sh.cn

这个数字还在快速上升.然而,迄今还未发现治疗肿瘤行之有效的方法,传统的三大疗法—手术、放疗及化疗,普遍存在着毒副作用.因此,寻找高效、低毒、结构新型的抗肿瘤药物仍是一项极为紧迫而重要的课题.随着现代科学技术飞跃发展,越来越多的食药真菌组分的功效被发掘出来,很多动物和临床实验都验证了其具有免疫调节功能,可以直接或间接表现抗肿瘤活性,而且具有对人体无毒这一巨大优势.因此,研究食药真菌中的天然抗肿瘤组分并进一步探索其抗肿瘤机制,无疑为肿瘤治疗提供了一种新思路.

1 食药真菌中的抗肿瘤组分

1.1 多糖

真菌多糖是由 10 个以上的单糖以糖苷键连接而成的高分子聚合物,可从真菌的子实体、菌丝体或发酵液中分离提取,它能够控制细胞的分裂分化,是调节细胞生长与衰老的一类活性物质.

在 $10\text{ }\mu\text{g/mL}\sim 1\text{ }000\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内,桦褐孔菌多糖对 HeLa 乳腺癌细胞、SP2/0 小鼠骨髓瘤细胞表现出良好的抗肿瘤活性^[3]. Lewis 肺癌小鼠的体外实验表明,来源于灵芝孢子粉的 GSG 灵芝多糖可以增加脾细胞对肿瘤细胞增殖的抑制作用,并提高其抗肿瘤活性^[4]. 给荷瘤小鼠桑黄菌丝体多糖具有免疫调节活性和抗肿瘤活性,与对照组相比,能够显著增加荷瘤小鼠的胸腺指数和脾脏指数,3 个剂量的桑黄菌丝体多糖对 S180 实体瘤的抑瘤率分别为 31.88%、46.25%、53.13%;并且可以显著延长腹水型荷瘤小鼠的存活时间^[5].

传统的观点认为,多糖是药用真菌中主要的抗肿瘤组分.相比于其他生物大分子,多糖由于具有极大的结构多样性,从而包含更丰富的生物学信息,且其对机体毒副作用小,属于天然药用活性成分,因此具有重要的经济价值和医药价值.然而这种结构的多样性决定了它的功能多样性,它能够引发不同的细胞反应,尤其是在不同肿瘤细胞系或模型中细胞因子的表达活性不同,这也使多糖抗肿瘤作用机制的研究变得十分困难.

1.2 蛋白质

作为三大营养物质之一的蛋白质,其含量约占食药真菌干重的 10%~40%. 研究报道表明,食药真菌蛋白质及多肽大约有数百种,这些活性蛋白主要包括凝集素、核糖体失活蛋白、核糖核酸酶、抗真菌蛋白、类泛素蛋白、蛋白酶、木聚糖酶以及漆酶等^[6].

有研究报道,一种从 *Hypsizygus marmoreus* 中分离出来的核糖体失活蛋白 Marmorin,可以抑制 HepG2 细胞和 MCF-7 细胞的增值率,其 IC₅₀ 值分别为 $0.15\text{ }\mu\text{mol/L}$ 和 $5\text{ }\mu\text{mol/L}$ ^[7].

相对于多糖,药用真菌的抗肿瘤活性蛋白研究较少,且大多集中在蛋白的理化性质方面,对相关作用机理并没有深入的研究.其原因可能是由于药用真菌基因组信息缺乏,不易克隆蛋白基因序列.然而,随着高通量测序技术的发展,越来越多的学者开始致力于药用真菌基因组的测序工作.这将对今后食药真菌中蛋白质组分的抗肿瘤活性研究有极大的帮助.

1.3 核酸

在食药真菌中,具有抗肿瘤活性的核酸组分的报道较少. Sun 等^[8] 研究报道了叠氮胸苷 (Zidovudine, AZT) 和一种来自 Liang 等蘑菇中的 RNA-蛋白质复合物的抗肿瘤组分 FA-2-b- β ,它们可以显著抑制 MKN45 细胞的增殖并诱导细胞凋亡,抑制率与时间和剂量相关.而且 AZT 和 FA-2-b- β 两者结合对细胞的抑制率明显大于 AZT 单独使用的效率.

1.4 小分子化合物

真菌为适应外界环境,在长期的生物进化过程中形成了大量的次级代谢产物,包括萜类、生物碱类、醌类、有机酸酯类、小分子多肽等.

Lee^[9] 等人用正己烷萃取樟芝固态发酵粉末,得到一个泛醌类化合物 Antroquinonol,并通过实验表明其对乳腺癌、肝癌和前列腺癌等多种癌细胞具有良好的增殖抑制效果.

萜类化合物普遍存在于植物以及高等真菌中,是由碳氢化合物或脂质代谢而产生的.刘华^[9] 对樟芝深层发酵活性物质进行了研究,发现不同提取方法得到的樟芝三萜对小鼠淋巴白血细胞 L1210 及结肠癌细胞 SW620 均有不同程度的抑制作用,有些抑制效果超过了阳性对照 5-FU 的作用. Ji 等^[10] 研究发现

从灵芝中获得的富含三萜提取物可诱导 SW620 大肠癌细胞凋亡上升。

王婷^[11]对小分子三肽化合物 LYRM03 的抗肿瘤活性进行了研究,发现 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 LYRM03 和 Bestatin 对 HL60 细胞的增殖抑制率均达到 100%,LYRM03 的 IC₅₀ 为 9.8 $\mu\text{mol/L}$,Bestatin 为 31.1 $\mu\text{mol/L}$; LYRM03 对 MCF-7 和 K562 的增殖抑制活性明显高于 Bestatin,浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$ 时对两种细胞抑制率达到 52.7%和 53.6%。LYRM03 对 HeLa、PANC-1、ASPC-1 和 MCF-7 的迁移抑制活性高于 Bestatin。

2 食药真菌组分诱导的细胞凋亡与细胞自噬

2.1 细胞凋亡

食药真菌中的天然组分也是目前抗肿瘤药物的主要来源之一,灵芝中的多糖是其发挥免疫调节功能和抗肿瘤活性的主要组分,体外实验表明,灵芝多糖可以增强肿瘤坏死因子的表达,从而表达其抗肿瘤活性^[12]。黑灵芝多糖 PSG-1 对肉瘤细胞 S-180 的凋亡作用主要由 Bcl-2 蛋白表达的降低、线粒体膜电位的下降和 caspase-3 以及 caspase-9 的活化这几个因素构成^[13]。Miao 等^[14]研究了多糖 LSPc1 能够促使细胞周期停留在 G2/M 期,并且提高了 Bax/Bcl-2 表达比值和 caspase-3 及 caspase-9 的活性。

2.2 细胞自噬

安卓健(Antroquinonol),一种从樟芝中分离得到的具有抗肿瘤活性的新物质,已经由美国 FDA 核准进入第二阶段临床实验。有研究报道它可以明显抑制胰腺癌细胞 PANC-1 和 AsPC-1 的增殖,并且上调 p21 Waf1/Cip1 和 K-ras 的表达,从而诱导细胞凋亡和细胞自噬^[15]。然而通过诱导细胞自噬而展现抗肿瘤活性的食药真菌组分的相关研究鲜有报道,目前研究大多集中于植物类天然组分。Slingh 等人^[16]的研究发现从十字花科的异硫氰酸酯(Isothiocyanates)可以引起恶性肿瘤细胞中 LC3-II 和 Beclin 1 表达升高,并促进自噬体的出现。从绿茶中分离得到的 Polyphenols 能通过 PI3KC 1/Akt 信号通路增强自噬作用,并抑制细胞凋亡,当其与 Ras 特异性抑制剂手霉素 A 合用时,自噬现象会明显增强,两者联用可下调 PI3KC I 磷酸化 Akt^[17]。Oliveira 的研究表明灵芝甲醇提取物引起细胞自噬信号蛋白 Beclin-1 和 LC3 表达增加^[18]。Suresh Kumar^[19]发现一种海洋生物碱可以同时通过诱导 HL-60 细胞发生细胞凋亡和自噬,这种生物碱不仅可以激活促凋亡事件的发生,如 PARP-1 的剪切、caspase 的激活,并且可以通过增强 LC3-II 的表达来激发凋亡信号的产生。Zhou 等^[20]研究发现白花丹素(Plumbagin, PLB)可通过 PI3K/Akt/mTOR 途径诱导细胞凋亡,PLB 通过下调 Sirt1 基因来增强细胞凋亡,细胞内活性氧水平的降低会减弱 PC-3 和 DU145 细胞发生自噬和凋亡的几率。

食药真菌组分多种多样,不同的组分均表现出独特的抗肿瘤活性。关于食药真菌天然组分的抗肿瘤机制已成为各国学者研究的热点,细胞凋亡自发现开始,研究不断,表明细胞凋亡在肿瘤发生中起着至关重要的作用。细胞自噬与肿瘤发生较为复杂的关系,使得细胞自噬成为了近年来肿瘤发生机制的研究热点。近年来,关于食药真菌组分诱导细胞自噬的相关基因与通路的研究不断取得进展,这将进一步有助于研究自噬与凋亡之间奇妙的相互作用关系,为抗肿瘤的治疗及新药的开发提供广阔的应用前景。

3 结语

我国幅员辽阔,真菌资源丰富,悠久的历史记载和文化沉淀给人们提供了丰富的生物资源筛选宝库。从天然资源中分离天然抗肿瘤活性药物,是研究和开发新药的可行之路。如今,随着人们对食药真菌营养价值认识和生活水平的提高,从食药真菌中分离、提取有效成分并研究开发新产品受到广泛关注。但是相关的药用菌抗肿瘤作用机制研究报道较少,细胞凋亡和自噬在肿瘤发生中起着不可忽略的作用,进一步探索食药真菌组分通过诱导细胞发生自噬发挥抗肿瘤活性的研究,有望为开发新药提供一条新的思路,并且有利于天然药用产业迅速崛起。

[参考文献]

- [1] LINDEQUIST U, NIEDERMEYER T H J, JÜLICH W D. The pharmacological potential of mushrooms[J]. Evid-based Compl Alt, 2005, 2: 285-299.

- [2] 梁一. 药用真菌杨树菇 *Agrocybe aegerita* 非多糖水溶性抗肿瘤组分研究[D]. 武汉:武汉大学,2010.
- [3] 李青. 桦褐孔菌多糖的提取、纯化及其抗肿瘤活性研究[D]. 青岛:青岛科技大学,2014.
- [4] GUO L, XIE J, RUAN Y, et al. Characterization and immunostimulatory activity of a polysaccharide from the spores of *Ganoderma lucidum*[J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(10): 175–182.
- [5] 杨全, 胡旭光, 王琦, 等. 药用真菌桑黄菌丝体多糖抗肿瘤作用的研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 20: 713–715.
- [6] NG T B. Peptides and proteins from fungi[J]. *Peptides*, 2004, 25: 1055–1073.
- [7] WONG J H, WANG H X, NG T B. Marmorin, a new ribosome inactivating protein with antiproliferative and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from the mushroom *Hypsizygus marmoreus*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 81(4): 669–674.
- [8] SUN Y Q, GUO T K, XI Y M, et al. Effects of AZT and RNA-protein complex (FA-2-b-beta) extracted from *Liang Jin* mushroom on apoptosis of gastric cancer cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(31): 4185–4191.
- [9] LEE T H, LEE C K, TSOU W L, et al. A new cytotoxic agent from solid-state fermented mycelium of *antrodia camphorata*[J]. *Planta Med*, 2007, 73(13): 412–415.
- [10] JI Z, TANG Q J, HAO R X, et al. Induction of apoptosis in the SW620 colon carcinoma cell line by triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* through activation of caspase-3[J]. *Oncol Lett*, 2011, 2(3): 565–570.
- [11] 王婷. 小分子三肽化合物 LYRM03 的抗肿瘤活性研究[D]. 上海:上海交通大学,2013.
- [12] MENG L Z, XIE J, Lü G P, et al. A comparative study on immunomodulatory activity of polysaccharides from two official species of *ganoderma* (Lingzhi)[J]. *Nutr Cancer*, 2014, 66(7): 1124–1131.
- [13] LI W J, CHEN Y, NIE S P, et al. *Ganoderma atrum* polysaccharide induces antitumor activity via the mitochondrial apoptotic pathway related to activation of host immune response[J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112: 860–871.
- [14] MIAO S, MAO X, PEI R, et al. *Lepista sordida* polysaccharide induces apoptosis of Hep-2 cancer cells via mitochondrial pathway[J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 61: 97–101.
- [15] YU C C, CHIANG P C, LU P H, et al. Anthraquinone, a natural ubiquinone derivative, induces a cross talk between apoptosis, autophagy and senescence in human pancreatic carcinoma cells[J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23(8): 900–907.
- [16] SINGH S V, SINGH K. Cancer chemoprevention with dietary isothiocyanates mature for clinical translational research[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(10): 1833–1842.
- [17] JOHNSON J J, BAILEY H H, MUKHTAR H. Green tea polyphenols for prostate cancer chemoprevention; a translational perspective[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(1): 3–13.
- [18] OLIVEIRA M, REIS F S, SOUSA D, et al. A methanolic extract of *Ganoderma lucidum* fruiting body inhibits the growth of a gastric cancer cell line and affects cellular autophagy and cell cycle[J]. *Food Funct*, 2014, 5(7): 1389–1394.
- [19] KUMAR S, GURU S K, PATHANIA A S, et al. Farnesyltransferase inhibitor induces caspase mediated crosstalk between apoptosis and autophagy through the inhibition of PI3K/AKT/mTOR signaling cascade in Human Leukemia HL-60 Cells[J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(6): 985–997.
- [20] ZHOU Z W, LI X X, HE Z X, et al. Induction of apoptosis and autophagy via sirtuin1- and PI3K/Akt/mTOR-mediated pathways by plumbagin in human prostate cancer cells[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 12(9): 1511–1554.

[责任编辑:黄 敏]