

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.02.012

· 基础研究 ·

松生拟层孔菌提取物对肝癌细胞 H22 和肉瘤细胞 S180 的抑制作用

肖细林¹, 陈卫国^{1△}, 高劲松¹, 游浩², 李桂珍³, 蒋继宏⁴, 扈凤平¹(1. 长沙医学院 基础医学系, 湖南 长沙, 410219; 2. 江汉大学 附属第二医院 外科, 湖北 武汉 430050; 3. 武汉市第一医院 消化内科, 湖北 武汉 430022; 4. 徐州师范大学 江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116)

[摘要] 目的: 观察松生拟层孔菌(*Fomitopsis pinicola*, FP)乙醇提取物 I 号(简称 FP-I)的体内外抗肿瘤活性及其可能的机制。方法: 以乙醇提取 FP, 获取乙酸乙酯相即为 FP-I。MTT 法检测 FP-I 体外对小鼠肝癌细胞株 H22 及小鼠肉瘤细胞株 S180 增殖的抑制作用; 建立 S180 细胞小鼠移植瘤模型, 检测各组小鼠瘤质量、抑瘤率、胸腺指数、脾脏指数、外周血白细胞数及淋巴细胞比例、肿瘤红细胞花环形成率, H-E 染色观察 FP-I 对各组 S180 移植瘤细胞凋亡的影响及心、肝、肾、胸腺和脾脏的组织学变化。结果: 50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ FP-I 对 S180 细胞增殖的抑制率分别为 22.35%、32.49%、40.01% 和 74.01%, 对 H22 细胞的抑制率分别为 45.19%、51.10%、66.37% 和 82.40%。25、50、100 mg/kg FP-I 对小鼠 S180 移植瘤生长的抑瘤率分别为 79.92%、66.18% 和 78.45%, CTX 阳性对照(30 mg/kg)的抑瘤率为 84.10%; 中、高剂量 FP-I 组 S180 荷瘤小鼠的淋巴细胞比例、胸腺指数及红细胞花环率均有一定程度的提高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 各剂量组的 S180 移植瘤细胞均出现细胞凋亡的典型形态变化。结论: 松生拟层孔菌提取物具有较强的抗肿瘤活性, 其机制与其增强小鼠免疫功能和诱导肿瘤细胞凋亡有关。

[关键词] 松生拟层孔菌; 提取物; 肿瘤; S180 细胞; H22 细胞

[中图分类号] R735.7; R738.7; R730.59 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2011)02-0181-05

Inhibitory effect of *Fomitopsis pinicola* extract on hepatocellular carcinoma H22 cells and sarcoma S180 cells

XIAO Xi-lin¹, CHEN Wei-guo^{1*}, GAO Jin-song¹, YOU Hao², LI Gui-zhen³, JIANG Ji-hong⁴, HU Feng-ping¹(1. Basic Medicine Department, Changsha Medical College, Changsha 410219, Hunan, China; 2. Department of Surgery, Second Hospital Affiliated to Jiangnan University, Wuhan 430050, Hubei, China; 3. Department of Gastroenterology, First Hospital of Wuhan, Wuhan 430022, Hubei, China; 4. Xuzhou Normal University, Key Laboratory of Biotechnology on Medical Plants of Jiangsu Province, Xuzhou 221116, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To study the *in vitro* and *in vivo* anti-tumor activities of *Fomitopsis pinicola* extract and their possible mechanisms. **Methods:** *Fomitopsis pinicola* was extracted by alcohol and the resulting acid ethyl esters extract was named FP-I. The inhibitory effects of FP-I on proliferation of mouse hepatocellular carcinoma H22 cells and mouse sarcoma S180 cells were detected by MTT assay *in vitro*. S180-implanted mouse model was established, and the tumor weight, tumor inhibitory rate, thymus index, spleen index, peripheral leukocyte number, peripheral lymphocyte rate, and associate tumor erythrocyte rosette rate (ATER) were examined in different group. Effect of FP-I on apoptosis of S180-implanted tumor cells and the histological changes of the heart, liver, kidney, thymus and spleen were observed by H-E staining. **Results:** The inhibitory rates of FP-I (50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$) on proliferation of S180 cells were 22.35%, 32.49%, 40.01%, and 74.01%, respectively; and those on H22 cells were 45.19%, 51.10%, 66.37%, and 82.40%, respectively. The inhibitory rates of FP-I (25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) on growth of S180-implanted tumors were

[基金项目] 湖南省教育厅科研基金资助项目(No. 08C142, No. 2009-320-372)。Project supported by the Research Foundation of Education Bureau of Hunan Province (No. 08C142, No. 2009-320-372)

[作者简介] 肖细林(1984-),男,湖南省郴州市人,本科,主要从事中药提取物抗肿瘤方面的研究。E-mail: 734027163@qq.com。陈卫国(1984-),男,湖南省衡阳市人,本科,主要从事抗肿瘤免疫方面的研究。E-mail: 510039093@qq.com。△并列第一作者

[通信作者] 高劲松(GAO Jin-song, corresponding author), E-mail: gjs1968@126.com

79.92%, 66.18% and 78.45%, respectively, and that of CTX (30 mg/kg) positive control was 84.10%. Proportion of lymphocyte in peripheral blood, thymus index and ATER of S180-bearing mice were significantly increased in both the high-and medium-dose FP-I groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). S180-implanted tumor cells in all FP-I treatment groups showed typical apoptotic morphology. **Conclusion:** *Fomitopsis pinicola* extract has anti-tumor activity, which might relate to its ability to improve the immune function of mice and to induce apoptosis of tumor cells.

[**Key words**] *Fomitopsis pinicola*; extract; tumor; S180 cell; H22 cell

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(2): 181-185]

松生拟层孔菌(*Fomitopsis pinicola*, FP)别名为红缘孔菌,属多孔类真菌中的一种,是我国已知的60多种药用多孔菌之一,具有祛风除湿之功效,主要用于风寒湿痹、关节疼痛等症的治疗。近年来国内已有其乙醇提取物体外对人肺癌细胞NCI-H460增殖有抑制作用的报道^[1]。本实验通过建立小鼠肉瘤细胞S180移植瘤模型,研究松生拟层孔菌乙醇提取物的体内抗肿瘤活性及其抑瘤机制,为该菌的抗肿瘤临床应用提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 主要实验材料和仪器

小鼠肝癌H22细胞株及小鼠肉瘤S180细胞株由中南大学湘雅医学院细胞典藏中心提供。普通级昆明种小白鼠40只,雌雄兼用,体质量(17.9 ± 0.89)g,购于中南大学湘雅医学院动物学部[实验动物合格证号:SCXK(湘)2006-0002]。

RPMI 1640培养基购自Gibico公司,胎牛血清购自天津灏洋生物制品公司,DMSO购自厦门星隆达(Sanland)公司,环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)(批号20090301)购自山西普德药业有限公司,噻唑蓝(MTT)购自Sigma公司。WJ-2型CO₂细胞培养箱购自上海跃进医疗器械有限公司,ST-360型酶标仪购自上海智华医学精密仪器有限公司。

1.2 松生拟层孔菌乙醇提取物的制备

松生拟层孔菌由江苏省药用植物生物技术重点实验室提供,采自中国东北长白山林区。按文献[2]的方法将其干燥子实体2.9 kg粉碎,用95%乙醇加热回流提取3次,每次2 h;提取液经减压旋蒸,除去溶剂,浓缩后得棕褐色浸膏0.4 kg。将浸膏与100~200目硅胶按1:2拌匀后,分别用石油醚、乙酸乙酯和甲醇淋洗,得石油醚相约95 g、乙酸乙酯相约270 g、甲醇相约16 g,其中乙酸乙酯相部分即为松生拟层孔菌乙醇提取物I号(简称FP-I)。细胞培养给药临用前配制:取FP-I充分研磨,用1%的DMSO溶解,然后用0.9%的生理盐水稀释成各所需浓度,并使DMSO的终体积分数小于0.1%。动物

给药配制:取FP-I充分研磨后,用少量DMSO溶解,再用0.9%的生理盐水稀释成各所需体积分数。

1.3 MTT法检测FP-I对S180和H22细胞的抑制作用

取对数生长期的S180细胞或H22细胞,以锥虫蓝染色计数,要求活细胞数大于95%才能用于实验。用含10%小牛血清的RPMI 1640培养液配制成单细胞悬液,以 2×10^4 /ml的活细胞接种于96孔细胞培养板(100 μ l/孔)中,在饱和湿度、5% CO₂、37 $^{\circ}$ C孵箱中预培养24 h,加入100 μ l培养液配制的不同质量浓度的FP-I,使各实验组最终质量浓度分别为50、100、200和400 μ g/ml;设加细胞不加药的孔为对照组,加不含细胞的培养液的孔作空白组;每组均设5复孔。培养48 h,加入5 mg/ml MTT 20 μ l/孔,继续培养4 h后,弃上清液,加DMSO 150 μ l/孔,轻度振荡10 min,充分溶解甲臜,用酶标仪在570 nm波长下测定光密度(D)值,以空白组平均值调零,计算细胞生长的抑制率^[3,4]。细胞生长抑制率(%)=(1-给药组D/对照组D) \times 100%。

1.4 小鼠移植瘤治疗实验观察FP-I的抑瘤作用

待S180细胞腹腔传代7~8 d,处死传代小鼠,取腹水,灭菌生理盐水稀释,计数,用RPMI 1640将S180移植瘤细胞制成 1×10^7 /ml的细胞悬液。每只小白鼠左腋皮下接种0.2 ml,然后随机分成荷瘤对照组,CTX(30 mg/kg)阳性对照组,FP-I低剂量组(25 mg/kg)、中剂量组(50 mg/kg)、高剂量组(100 mg/kg)。每组8只小鼠。24 h后,分别用生理盐水、CTX和不同剂量的FP-I 0.2 ml瘤内与瘤周注射治疗,每天1次,共12次。第13天每只小鼠分别称体质量,眼眶取血,处死小鼠,分离瘤块及各主要器官(包括心脏、肝脏、脾脏、胸腺、肾脏等),并分别称器官质量,计算各组小鼠的胸腺指数、脾脏指数,进行外周血白细胞及淋巴细胞计数^[5-7]。肿瘤抑制率(%)=(1-给药组平均瘤质量/荷瘤对照组平均瘤质量) \times 100%;脾脏指数(%)=脾脏质量/小鼠体质量 \times 100%,胸腺指数(%)=胸腺质量/小鼠体质量 \times 100%

各组小鼠的心脏、肝脏、肾脏、胸腺、脾脏及 S180 移植瘤块分别用 10% 中性甲醛液固定,石蜡包埋,组织切片,H-E 染色,观察其组织及肿瘤细胞的形态学特征,并在高倍镜下观察肿瘤细胞的凋亡形态改变^[8-10]。

1.5 红细胞花环实验观察 FP-I 对红细胞免疫功能的影响

每组分别取小鼠血清和 S180 细胞悬液($1 \times 10^6/\text{ml}$)各 100 μl ,混匀,放 37 $^\circ\text{C}$ 水浴中 30 min,生理盐水洗涤 1 次,再加同一标本的待测红细胞悬液($1.25 \times 10^7/\text{ml}$)50 μl 混匀,37 $^\circ\text{C}$ 水浴 30 min;加 100 μl 生理盐水后混匀,再加 0.25% 戊二醛 50 μl 后混匀,涂片,瑞氏染色后观察。肿瘤细胞呈蓝色,红细胞呈红色;肿瘤细胞黏附上 3 个或 3 个以上红细胞者为肿瘤-红细胞花环。计数 100 个癌细胞,算出红细胞花环率^[3,6]。

1.6 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 或百分率表示,采用 SPSS12 软件,以方差分析、*t* 检验及 χ^2 检验进行统计分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FP-I 体外抑制 S180 和 H22 细胞的增殖

FP-I 作用 S180 和 H22 细胞后,细胞皱缩、变圆,随着时间延长逐渐发展为细胞破裂、溶解。FP-I 的 4 个剂量组(50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{ml}$)对 S180 细胞增殖的抑制率分别为 22.35%、32.49%、44.01% 和 74.01%,与对照组相比差异具有统计学意义($P < 0.05$);对 H22 细胞增殖的抑制率分别为

45.19%、51.10%、66.37% 和 82.40%,与对照组相比差异具有统计学意义($P < 0.05$)(图 1)。由此可见,FP-I 质量浓度越高,其对 S180 和 H22 细胞增殖的抑制作用越强。

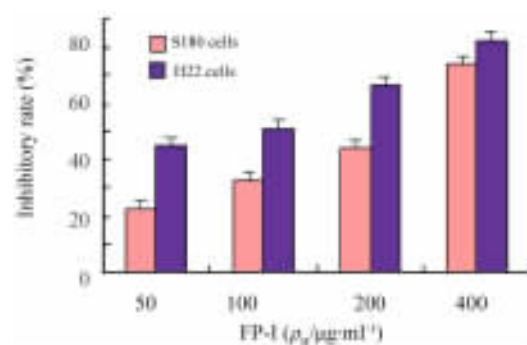


图 1 FP-I 抑制 S180 和 H22 细胞的增殖

Fig. 1 FP-I inhibited proliferation of S180 and H22 cells

2.2 FP-I 抑制小鼠 S180 细胞移植瘤的生长

移植瘤治疗实验结果显示,FP-I 高、中、低剂量组(100、50、25 mg/kg)及 CTX 组(30 mg/kg)对小鼠 S180 移植瘤的抑瘤率分别为 78.45%、66.18%、79.92% 和 84.10%,低、高剂量组 FP-I 的抑瘤率与 CTX 组相近。

2.3 FP-I 对荷 S180 瘤小鼠免疫功能的影响

实验结果(表 1)显示,荷瘤小鼠经 FP-I 治疗后,其高剂量组的淋巴细胞比例、胸腺指数及红细胞花环率均显著高于对照组和 CTX 组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中低量组的胸腺指数和红细胞花环率也高于对照组或 CTX 组。由此可见,FP-I 在一定程度上提高了荷瘤小鼠的免疫功能指标。

表 1 FP-I 对荷 S180 瘤小鼠免疫功能的影响($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of FP-I on immune function of S180-bearing mice($n=8, \bar{x} \pm s$)

Group	Leukocyte ($\times 10^9/\text{L}$)	Lymphocyte rate (%)	Thymus index ($\times 10^{-3}$)	Spleen index ($\times 10^{-3}$)	ATER ^① (%)
Control	7.8 \pm 4.4	49.2 \pm 5.6	2.0 \pm 0.8	5.3 \pm 2.9	17.4 \pm 2.1
FP-I($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)					
25	7.2 \pm 0.8	51.3 \pm 4.7	2.4 \pm 0.4 [△]	5.2 \pm 2.3	29.7 \pm 31.6 ^{**}
50	8.5 \pm 4.0	53.7 \pm 3.2	2.6 \pm 0.9 [△]	6.0 \pm 1.2	43.9 \pm 21.5 ^{**△△}
100	8.1 \pm 1.4	76.5 \pm 2.7 ^{*△}	5.5 \pm 0.6 ^{**△△}	6.5 \pm 2.2	83.0 \pm 8.6 ^{**△△}
CTX($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)					
30	5.8 \pm 3.0	45.3 \pm 6.8	1.2 \pm 0.7	4.8 \pm 3.2	18.1 \pm 5.7

① ATER: Associate tumor erythrocyte rosette; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs CTX group

光镜下(图2)可见,随着 FP-I 治疗剂量增加,脾脏及胸腺的组织变化显著,高剂量 FP-I 治疗组脾脏可见骨髓增生、淋巴细胞增多,胸腺实质呈反应性增生。CTX 阳性对照组脾脏边缘区组织坏死、炎性细胞浸润、多核巨细胞反应性增生,胸腺间质增生、淋巴细胞变性。从免疫器官组织变化可以看出,FP-I 能在一定程度上促进免疫器官的组织增生。

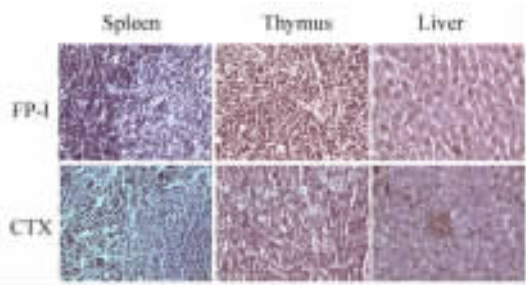


图2 FP-I 对小鼠脾脏、胸腺及肝脏的组织形态的影响(H-E, ×400)

Fig. 2 Effects of FP-I on morphological images of spleen, thymus and liver tissues in mice (H-E, ×400)

2.4 FP-I 对小鼠 S180 移植瘤细胞凋亡的影响

光镜下观察 S180 移植瘤细胞形态学(图3)的改变,可见荷瘤对照组的 S180 瘤细胞生长良好,细胞核体积较大、染色深。FP-I 各剂量组治疗的 S180 移植瘤组织,可见肿瘤细胞成片坏死,亦可见到核染色质浓缩,细胞核固缩、碎裂,细胞膜起泡,有核碎片的凋亡小体形成。由此可见,FP-I 对 S180 移植瘤细胞具有明显诱导凋亡的作用。

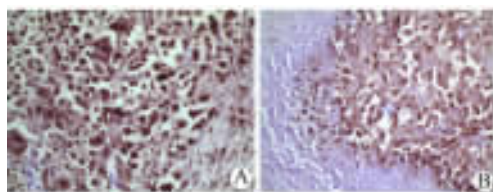


图3 FP-I 诱导 S180 移植瘤细胞凋亡(H-E, ×400)

Fig. 3 FP-I induced apoptosis of S180-implanted tumor cells (H-E, ×400)

A: Control; B: FP-I (100 mg/kg)

3 讨论

恶性肿瘤是一种原因未明的严重疾病,目前治疗以手术、放疗、化疗为主。手术多适用于早期癌症患者,放、化疗只对敏感肿瘤有效,但同时又会出现严重的毒性反应。中草药因其毒性作用小,其目前

受到越来越多的重视^[6]。

自然界存在的真菌种类繁多,从真菌中寻找抗肿瘤成分,是研发抗肿瘤新药的重要工作。松生拟层孔菌属多孔菌目中的一种,据报道^[1],其子实体热水提取物对小鼠肉瘤细胞 S180 的抑制率为 51.2%,其乙醇提取物对人宫颈上皮癌细胞 HeLa 及人肝癌细胞 SMMC-7721 的增殖均有一定的抑制作用;孙勇等^[10]亦发现 FP 菌丝乙醇提取物对人肺癌细胞 NCI-H460 的抑制率可高达 86.37%。本实验结果显示,FP-I 各剂量组体外对 S180、H22 细胞均有明显的增殖抑制作用,并呈量效关系。

本研究对 FP-I 进行抗小鼠移植瘤的观察,发现 FP-I 对小鼠 S180 移植瘤具有显著的抗肿瘤活性:其低、中、高剂量组的肿瘤抑制率分别高达 79.92%、66.18%、78.45%,但低剂量组抑瘤率最高,可能为样本量较少所致。结合本实验其他检测结果,可初步认为 100 mg/kg 为 FP-I 最适的体内抑瘤剂量。

红细胞免疫是机体免疫系统的重要组成部分,在抗肿瘤免疫反应中发挥着重要作用。研究发现,红细胞可以黏附多种肿瘤细胞,红细胞黏附肿瘤细胞的能力大小与肿瘤患者的病程、转归、疗效密切相关。其机制可能为肿瘤细胞一旦进入血液循环,首先从旁路激活补体系统,从而被血细胞特别是红细胞黏附受体-补体所识别,使红细胞黏附和包绕肿瘤细胞,出现快速自然免疫反应。红细胞还能产生自然杀伤细胞增强因子,可以提高自然杀伤细胞对肿瘤细胞的杀伤作用;可以提高人单核细胞和小鼠脾细胞的增殖能力,促进白细胞介素、集落刺激因子、 γ -干扰素、肿瘤坏死因子的形成和分泌,从而提高机体的抗肿瘤活性^[11-14]。本实验结果显示,协同肿瘤红细胞花环形成率,荷瘤对照组和 CTX 阳性对照组显著低于 FP-I 高、中剂量组,表明在一定剂量下,FP-I 可能通过调节机体的红细胞免疫功能达到抑瘤作用。

本实验发现,FP-I 低、中、高剂量组均可在体内明显诱导小鼠 S180 移植瘤细胞的凋亡;还发现高剂量组脾脏骨髓增生、淋巴细胞增多,胸腺实质呈反应性增生。高剂量组淋巴细胞比例显著高于其他各组,胸腺指数显著高于荷瘤对照组及 CTX 阳性对照组。由此可见,FP-I 在一定剂量时尤其是高剂量时能显著增强机体的细胞免疫和体液免疫,从而通过调节机体的整体免疫功能,发挥诱导肿瘤细胞凋亡的作用^[15-17]。另外,本实验各剂量治疗组小鼠的心、肝、肾等器官组织无明显病理变化,而 CTX 阳性对照组肝小叶内可见肝细胞点状坏死,部分肝细胞

炎性增生,肾小管上皮细胞中度水肿,说明 FP-I 毒性作用明显低于 CTX 阳性对照组。

综上所述,FP-I 体内外都显示出明显的抗肿瘤活性,且与一般的抗肿瘤药物不同,该药在一定剂量下能提高外周血淋巴细胞比例、胸腺指数及红细胞的免疫功能。本实验为研发 FP-I 进入抗肿瘤临床试验奠定了一定的实验基础。

[参 考 文 献]

- [1] Ren G, Liu XY, Zhu HK, et al. Evaluation of cytotoxic activities of some medicinal polypore fungi from China [J]. *Fitoterapia*, 2006, 77(5): 408-410.
- [2] 黄晓桃, 黄光英, 薛存宽, 等. 千金子I号体内外抗肿瘤药理作用的实验研究 [J]. *中国药理学通报*, 2004, 20(1): 79-82.
- [3] Zhao Y, Zhang L, Cui ZY, et al. Studies on the immunomodulatory action of icariin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 1996, 27(3): 669-672.
- [4] Portera-Cailliau C, Sung C, Nathans J, et al. Apoptotic photoreceptor cell death in mouse models of retinitis pigmentosa [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(3): 974-978.
- [5] 黄晓桃, 黄光英, 薛存宽, 等. 千金子甲醇提取物抗肿瘤作用的实验研究 [J]. *肿瘤防治研究杂志*, 2004, 31(9): 556-558.
- [6] He W, Sun H, Yang B, et al. Immunoregulatory effects of the herba epimediia glycoside icariin [J]. *Drug Res*, 1995, 45(8): 910-913.
- [7] Liu L, Zhou SB, Zheng WF. Inhibition of Tumor cells by ethanol extract of fomes fomentarius [J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis and Mutagenesis* 2004, 17(2): 104-106.
- [8] 谈新提, 王艺峰, 张俐娜, 等. 化学修饰的茯苓多糖抗肿瘤效应的组织学观察 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2004, 25(6): 652-683.
- [9] 刘丽华, 刘登湘, 马鸣, 等. 五味子提取物对辐射所致小鼠淋巴细胞减少的预防效果及其机制 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2010, 17(3): 313-317.
- [10] 孙勇, 蒋继宏, 陈玉芹, 等. 10 种多孔类真菌体外抗肿瘤活性的筛选 [J]. *微生物学通报*, 2007, 34(1): 112-115.
- [11] 刘西英, 吕锐. 肿瘤病人红细胞免疫功能与自然杀伤细胞活性的关系 [J]. *青岛大学医学院学报*, 2003, 39(1): 35-38.
- [12] De Jong GM, Aarts F, Hendriks T, et al. Animal models for liver metastases of colorectal cancer: Reserch review of preclinical studies in rodents [J]. *J Surg Res*, 2009, 154(1): 167-176.
- [13] Lou H, Zhang X, Gao L, et al. In vitro and in vivo antitumor activity of oridonin nanosuspension [J]. *Int J Pharm*, 2009, 379(1): 181-186.
- [14] Guo QY, Yuan M, Peng J, et al. Antitumor activity of mixed heat shock protein/peptide vaccine and cyclophosphamide plus interleukin-12 in mice sarcoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1): 24.
- [15] 李伟忠, 王小燕, 丁彦青. 塞来昔布对 Tca8113 细胞环氧合酶-2 表达及诱导凋亡的作用 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2009, 27(4): 374-377.
- [16] 李伟忠, 王晓燕, 李祖国, 等. 塞来昔布增强博来霉素对人舌鳞状细胞癌 Tca8113 杀伤作用的研究 [J]. *华西医学口腔杂志*, 2009, 27(3): 140-143.
- [17] 高劲松, 陈宪辉, 蒋继宏, 等. 松生拟层孔菌乙醇提取物抗肿瘤作用及其机制的实验研究 [J]. *现代生物医学进展杂志*, 2010, 10(21): 4055-4061.
- [收稿日期] 2010 - 12 - 25 [修回日期] 2011 - 03 - 22
- [本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

免疫蛋白酶体在 IFN- γ 诱导的氧化应激中维持蛋白质的稳定

IFN- γ 等促炎因子诱导的免疫蛋白酶体在 MHC I 型抗原提呈途径中的作用已被证实。相对于普通的蛋白酶体,免疫蛋白酶体可以更有效地通过 MHC I 类途径将抗原提呈给细胞毒性 T 细胞。Seifert 等在最近的研究中发现,除了在抗原提呈中的重要作用,免疫蛋白酶体还可以通过对泛素化异常新生蛋白的降解及其聚集,维持细胞在 IFN- γ 诱导的氧化应激中蛋白质的稳态及细胞的存活。在 IFNs 的作用下,细胞多聚泛素化蛋白的量一过性增加,多聚泛素化链之间依赖泛素分子 48 位赖氨酸残基相连,被泛素化的蛋白质主要为 INF- γ 刺激后的新生蛋白。通过对 INF- γ 作用后泛素酶表达谱的检测,发现 INF- γ 可以明显上调泛素酶 UBE2L6 的表达。在多聚泛素化蛋白增加的同时,蛋白酶体的量相应发生下降,其后免疫蛋白酶体的量出现上调。在免疫蛋白酶体缺陷的小鼠中(LMP7^{-/-}),泛素化蛋白的量在 IFN 刺激后上调并能维持相对较长的时间。EAE 小鼠或 LPS 刺激的小鼠中,免疫蛋白酶体缺陷同样会发生泛素化蛋白的长时间高表达,说明了免疫蛋白酶体在泛素化蛋白的清除中可能发生了关键的作用。大量出现的泛素化蛋白易于形成聚合物,LMP7^{-/-} 小鼠中有大量聚合物的存在,而野生型小鼠在 IFN 刺激后形成的聚合物可以被快速清除。IFN 是诱导氧化应激的一种始动因素,IFN- γ 刺激后细胞内活性氧的含量上升,氧化型蛋白质大量聚集,会导致细胞的凋亡,这些氧化型蛋白可以在泛素化修饰后被免疫蛋白酶体清除,维持细胞的存活。同时,IFN- γ 刺激后会产生很多缺陷的新生蛋白,这些蛋白质同样可以在泛素化修饰后被免疫蛋白酶体清除。综上所述,细胞在接受 IFN- γ 刺激后会有大量新生异常蛋白以及氧化应激蛋白产生,这些对细胞具有毒性作用的蛋白质可以在泛素化之后被免疫蛋白酶体降解,从而促进了细胞的存活。

[吴聪 摘译,陈国友 审阅. Seifert U, Bialy LP, Ebstein F, et al. *Cell*, 2010, 142(4): 613-624.]