

## 醣類免疫功能之研究

陳水田 生物化學研究所

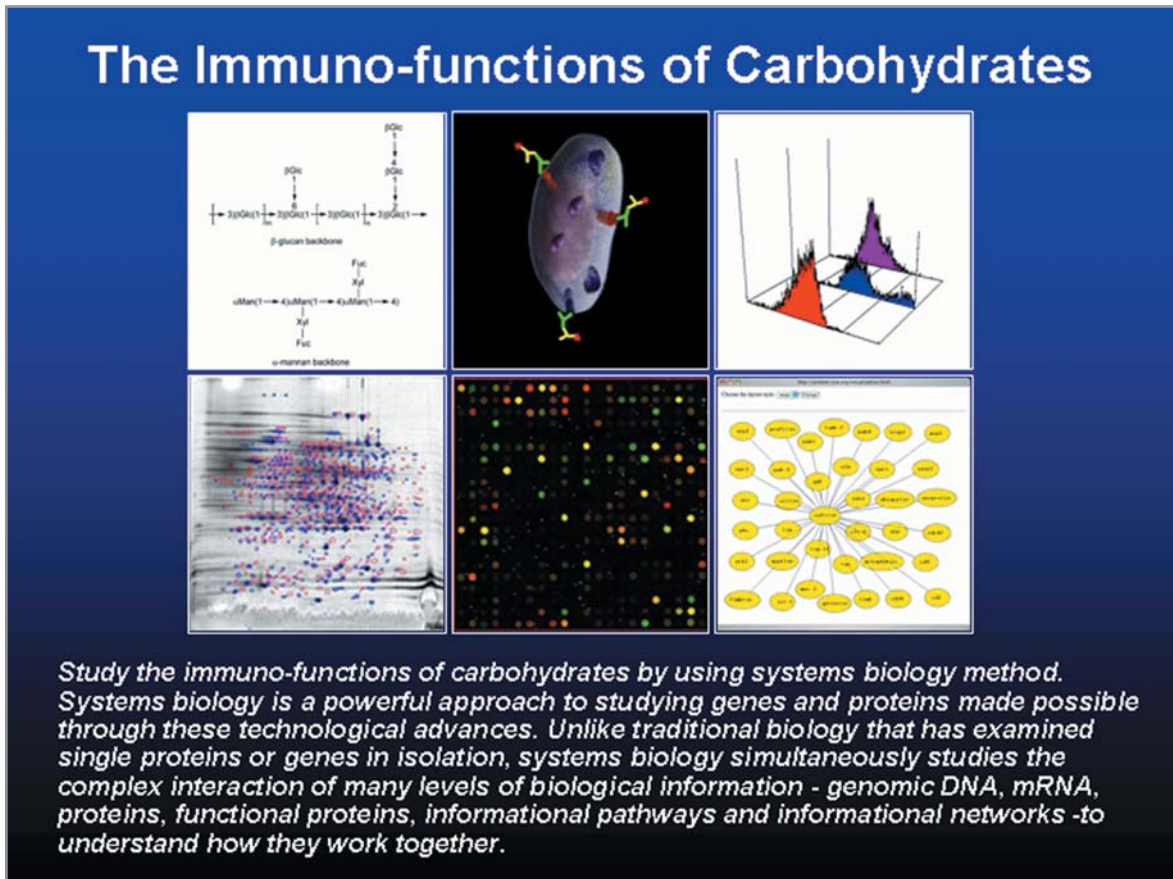
**醣類生物學的領域相當廣泛，包含對癌症、疫苗、新藥開發及免疫調節均有直接的貢獻，尤其對於免疫功能學的研究，已是許多先進國家所列为重點的研究項目。**

靈芝自古以來就被認為是吉祥、長壽的象徵，在傳統醫學上長期以來被視為滋補強壯、固本扶正的珍貴中草藥。現代科學研究報告指出靈芝含有多種生理活性物質，對增強人體免疫力、抑制腫瘤等有良好的協同治療作用，臨床上也有服用靈芝，可增長病患存活期之報告。其中靈芝多醣體被認為具有調節免疫的功能，靈芝所含的特殊多醣體成分，可以藉由誘導干擾素及促進免疫細胞產生抗體，以強化人體免疫系統。

免疫細胞由骨髓及幹細胞逐步成熟而來，用型態來初步分類可分為：B細胞、嗜中性細胞、巨噬細胞、天然殺手細胞及輔助T細胞，在細胞成熟過程中有各種不同的調控，細胞成熟也因受不同的外來刺激而有不同程度的增生或分化。細胞間也會分泌出細胞激素或補體，來相互調控細胞活性，辨認外界物質或活化細胞等。免疫系統運作調

節，目前尚未完全明瞭清楚，但隨各種不同的細胞膜表面標記膜蛋白的發現及標記蛋白抗體的獲得，細胞分類更可以用標記抗體來進一步區分，同時可以用標記抗體來分離這些具有膜蛋白細胞。

醣類免疫功能之研究將針對具有免疫調節生物活性的靈芝多醣體進行探討，內容包括：多醣體上具有生物活性醣基的結構、各種免疫細胞上作用的受體、免疫細胞間分泌的細胞激素、新的細胞膜蛋白標記、活性醣基及受體相互作用的機制和受體與醣基結合後細胞的下游生化作用。由於本計畫將結合生物有機化學、合成化學、酵素學、質譜學、蛋白質化學、細胞生物學及生物資訊學等專業領域學者共同研究，這些整合許多研究領域的方法我們稱之為系統生物學(Systems Biology)，這是一個近年來新興的研究方法(圖一)，這種研究方法將有助於瞭解醣類之免疫功能。



圖一：以系統生物學研究醴類之免疫功能。

為了想進一步的瞭解醴類之免疫功能，本計畫中我們將分別以五個相關連的子計畫來進行研究，其簡介如下：

### (一)利用化學和酵素法研究具免疫活性多醴體之最小結構

我們將發展新的方法來降解並分離靈芝多醴體，利用各種不同的化學方法降解靈芝多醴體，包括酸性水解、鹼性水解方式及醴水解酵素做部分分解，使之成為較小的片段，再利用管柱層析來純化靈芝多醴體，純化出多醴體中之活性物質，並進行結構鑑定及免疫活性測試。

### (二)碳水化合物微陣列晶片及合成醴類分子庫

我們將合成碳水化合物分子庫及製造碳水化合物微陣列晶片。藉由單醴上各羥基之反應活性不同，可以非常少的步驟合成出具有非常多樣之碳水化合物分子庫。這些分子庫透過其連接之疊氮官能基可以與晶片上之炔基進行極化反應，將碳水化合物分子資料庫以共價鍵方式載於晶片上，此晶片可用來找尋碳水化合物鍵結蛋白質及使用在高通量篩選，有利於發現新的生物途徑及新藥標的物。

### (三)以定量次蛋白質體學研究靈芝所引發之免疫反應

蛋白質體學是研究生物反應中受調控蛋白質的一種有效策略，可用以探討靈芝中具有生物活性之部分。初步研究發現靈芝中含有黑藻糖(Fucose)之生物活性成分，具有改變小鼠脾臟細胞中蛋白質體的能力。我們發現，它可以增加一些與細胞骨架相關的蛋白質表達，然而大部分受調控的蛋白質，仍須以更敏感的方式偵測，以作進一步免疫反應的探討。我們亦將建立醣基與蛋白質間交互作用的親和力質譜技術，利用具有活性的靈芝成分或合成的活性醣基當作魚餌，以捕捉目標蛋白及相關分子。

### (四)靈芝多醣體及相關接受體所引發的訊息傳遞在調控免疫功能的分子機制

我們多年來研究巨噬細胞所表現的內毒素接受體、巨噬細胞清除接受體與腫瘤壞死因子接受體在敗血症、粥狀動脈硬化及不正常的發炎中所扮演的角色及特性。針對這些接受體所引發與上述人類疾病致病機轉相關的訊息傳遞分別進行研究。初步的研究結果顯示出靈芝多醣體的接受體其中之一可能是內毒素接受體，且靈芝多醣體能引發內毒素接受體相關的訊息傳遞，進一步引發與免疫調節發炎相關的細胞激素基因的表現。目前主要目的是利用基因體學與蛋白質體學的方式，對內毒素接受體所引發與增強人類免疫反應相關的訊息傳遞進行研究，探討靈芝多醣體與內毒素接受體結合所引發的免疫功能和鑑定

與分析靈芝多醣體中具有免疫活性之碳水化合物部份。

### (五)以 Aptamer 進行醣類免疫功能的研究

Aptamer 屬於核酸聚合物，以隨機序列合成的大量寡核酸種類裡，篩選出少數幾種與標的分子有高親合度的寡核酸，它可以取代抗體來鑑別並開發出新的治療及診斷試劑。免疫細胞被外來物質刺激而產生抗體或細胞增殖、分化以及成熟化，會產生不同的細胞激素，選取與免疫細胞膜上各種不同受體結合的 Aptamer，與不同反應下的細胞或不同種類的免疫細胞比較，配合蛋白質體學的分析，可找出不同的受體，以研究其生物機制及在免疫系統中的免疫功能。

經由五個子計畫的執行，對靈芝多醣體上具有生物活性醣基的結構、免疫細胞上作用的受體、免疫細胞分泌的細胞激素、活性醣基及受體相互作用的機制能有進一步的瞭解與認知。另外，亦可完成靈芝多醣體免疫反應及特異性之評估，包括促進巨噬細胞活性、自然殺手細胞活化、免疫細胞增生、抗體形成和調節 T 細胞功能，這些研究結果將更有助於瞭解醣類之免疫功能。