

# 水母毒素的研究现状\*

## THE RESEACH STATUS OF JELLYFISH TOXIN

于华华<sup>1,2</sup> 刘希光<sup>1,2</sup> 刘松<sup>1,2</sup> 邢荣娥<sup>1,2</sup> 李鹏程<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院研究生院 北京 100039)

(<sup>2</sup>中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

中图分类号 Q586 文献标识码 A 文章编号 1000-3096(2003)11-0027-03

水母 (Jellyfish) 属于腔肠动物门, 广泛分布于温带、亚热带及热带海域, 是海洋杂食性生物。我国除北海分布偏少以外, 大部分海域都广泛存在。自古以来, 水母既能供人食用, 又可入药为人治病, 早在《本草纲目》中就有记载, 如气味咸温, 无毒, 主治妇人劳损, 积血带下, 小儿风疾, 丹毒, 汤火伤等<sup>[1]</sup>。水母的刺丝囊中含有毒素物质。当水母大量存在时, 人们在海上的活动如捕捞、游泳、养殖等将受到干扰, 当水母刺到人时, 轻则皮肤红肿, 疼痛, 重则死亡, 因此它成为沿海地区伤人动物中的一个重要类群。日本一核电站曾因大量水母而被迫停机。另一方面, 正因为水母毒性大, 活性高, 人们试图开发利用水母毒素。国外已开展了这方面的研究, 希望像蛇毒、河豚毒素那样, 为人类的健康造福。但水母毒素的热不稳定性, 蛋白之间的相互聚集, 以及与介质的结合等, 使毒素的化学性质、生物活性以及结构鉴定等方面的研究受到影响。本文就水母毒素的理化性质, 提纯与生物活性的研究方面作了综述。

### 1 水母毒素的理化性质

尽管国外从六七十年代就对水母毒素进行研究, 但对水母毒素的结构、性质还没有系统深入的了解。研究表明, 水母毒素是结构新颖独特的肽类毒素, 分子量最低的为 10 ku, 最高的超过 600 ku。Hiroshi Nagai 等首次报道的水母毒素的部分肽链结构为 450 个氨基酸序列, 但 N 末端的结构未阐明<sup>[2]</sup>。水母毒素具有热不稳定, 所以一般保存于低温下。近期研究表明, 毒素越纯, 稳定性越好, 但即使是很纯的毒素, 仍不能在常温下稳定存在。在毒素的缓冲溶液中, 加入 NaCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, EDTA, 牛血清白蛋白 BSA 等, 可提高毒素的稳定性<sup>[3]</sup>。水母毒素的毒性大, 对小鼠静脉注射的

最小致死量按 20 μg/kg 算, 水母毒素的毒性是海蛇毒素的 250 倍, 河豚毒素的 450 倍。

### 2 水母毒素的分离提取

毒素主要分布于刺丝囊中, 制备纯净、完整的刺丝囊有利于分离提纯毒素。主要用自动降解法来制备刺丝囊, 因为此法得到的刺丝囊细胞最干净, 且具有最佳的特定活性和最小的酶污染。

水母毒素主要为肽类毒素, 常用的分离提纯方法有高效液相色谱, 离子交换层析, 凝胶过滤层析, 凝胶电泳等。最有效的方法是高效液相色谱, 可根据实验需要, 用不同类型的分离柱, 从而达到最好的分离效果。Hiroshi Nagai 等利用离子交换型高效液相分离柱 TSK-GEL CM-650S 和 TSK-GEL CM-5PW 对 *Carybdea mstoni* 进行分离, 然后再用凝胶渗透高效液相柱 Superdex75 分离, 得到两种具有溶血活性的毒素, CrTx-A 和 CrTx-B 分子量分别为 43 ku, 45 ku。此方法还成功的从 *Carybdea alta* 和 *Chiropsalmus quadratus* 中分离出溶血毒素。但还未见报道得到纯净的水母毒素, 最好的分离结果是得到的水母毒素在 SDS-PAGE 电泳中得到单一带<sup>[2,4]</sup>。

此外, 免疫吸附层析, 制备等电聚焦电泳等都可以用于分离水母毒素。由于水母毒素是多种肽类的混

\* 中国科学院知识创新工程项目 L56022806 号。

\*\* 通讯作者, 电话: 0532-2898707

第一作者: 于华华, 出生于 1977 年, 博士研究生, 研究方向: 海洋生物活性物质。E-mail: yuhua@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2002-12-27; 修回日期: 2003-03-18



合物,组分较复杂,在实验中要得到理想的分离效果,还需要将多种方法适当、充分地结合起来。

### 3 水母毒素的生物活性

由于水母种类繁多和水母毒素成分的复杂性,使得水母毒性具有多种生物活性,主要包括溶血性,酶活性,神经毒性,皮肤坏死,肌肉毒性,肝脏毒性以及心脏毒性等。

**溶血性:**几乎所有种类的水母毒素都具有溶血性。溶血活性不稳定,对温度非常敏感,温度升高,活性降低,在 45 °C 时,活性急剧下降,煮沸后活性完全被破坏<sup>[5]</sup>。pH 值、碳水化合物、蛋白酶也会影响溶血活性。有的水母毒素的溶血性还具有靶标性,如水母 *Carybdea marsupialis* 毒素,对山羊的红细胞很敏感,对人的红细胞有活性,但不是很敏感,而对兔子的红细胞无作用。由于溶血性能引起溶血性贫血等疾病,所以对溶血性的研究可为安全用药提供依据。

**酶活性:**从水母 *Rhopilema nomadica* 的毒素中分离出具有  $\alpha$ -糜蛋白酶水解酶活性和磷脂酶活性的组分。 $\alpha$ -糜蛋白酶水解酶的活性受到胰肽酶和丝氨酸蛋白酶的抑制,并与  $\text{Ca}^{2+}$  有关,活性还与 pH 和温度有关,在酸性或温度低于 30 °C 时,活性受到强烈抑制。磷脂酶活性与温度有关,4 °C 时,活性最大,随温度的升高,活性降低,磷脂酶不稳定,在 -36 ~ 4 °C 之间,3 周后,活性完全消失<sup>[6]</sup>。口冠水母 (*Stomolophus melanocephalus*) 的刺丝囊毒液具有酶催化活性,已鉴定出的酶类有 5-核苷酸酶、透明质酸酶、酸性及碱性磷酸酶、磷酸二酯酶、亮氨酸氨肽酶等<sup>[7]</sup>。水母 *Carybdea alata* 毒素具有蛋白水解活性<sup>[8]</sup>。

**神经毒性:**从细斑指水母 (*Chiropsyx fleckeri*) 不含刺丝囊细胞的触手粗毒中用 Sephadex 柱层析得到分子量为 150 ku 的组分具有神经毒性,对分离的蟾蜍的坐骨神经传导具有阻断作用,并能通过横膈膜神经,对刺激大鼠的膈肌反应引起渐次性丢失。从五触角金黄水母 (*Chrysaora quinquecirrha*) 中提纯的毒素能使膜去极化,膜电位降低,微终板电位 (MEPP) 频率升高。用生理盐水冲洗横膈肌,毒素的去极化作用不能被逆转,膜电位继续下降。将青蛙的坐骨神经放入五触角金黄水母 (*Chrysaora quinquecirrha*) 毒素中动作电位的强度降低,通过用不含毒素的溶液长时间冲洗,这种作用几乎被完全逆转。毒素能使 *Aplysia* 的神经细胞的突触电位活性频率和膜电位升高,还能使突触前,突触后口腔神经细胞去极化并能提高自然突触后电位活性基线<sup>[2]</sup>。

**皮肤坏死、肌肉毒性:**从立方水母 (*Carybdea mastoi*) 的刺丝囊中分离得到的 CrTX-A (43 ku),在组织病理学研究中,能使小鼠的真皮和上皮腐烂<sup>[2]</sup>。长须

霞水母 (*Cyanea capillata*) 的刺丝囊毒液中具有可以使皮肤坏死的物质,使大鼠或豚鼠注射部位的皮肤坏死,这种作用不能被新安替根的预处理所阻断<sup>[7]</sup>。细斑指水母 (*Chiropsyx fleckeri*) 刺丝囊毒液具有肌肉毒性,能对横膈膜肌和血管内平滑肌产生持续收缩。立方水母 (*Carybdea mastoi*) 的毒素组分 PCrTX 对分离的兔子胸动脉平滑肌具有收缩作用,用酚妥拉明或消炎痛预处理组织,这种收缩受到抑制。五触角金黄水母 (*Chrysaora quinquecirrha*) 毒素使心肌纤维和缝匠肌纤维去极化,并缩短心室动作电位的忍耐性。从五触角金黄水母 (*Chrysaora quinquecirrha*) 中提纯的毒素,对分离的小鼠动脉环产生不可逆转的收缩<sup>[9]</sup>。

**肝脏毒性:**五触角金黄水母 (*Chrysaora quinquecirrha*) 毒素 SNTX 含有几种肽,对人类的肝脏细胞具有很高的毒性。肝脏细胞置于 SNTX 蛋白浓度  $>1 \mu\text{g}/\text{mL}$  的介质中,新陈代谢活动瞬间升高,随后突然降低,在几分钟内细胞死亡。预先将肝脏组织置于有机磷抗胆碱酯酶 VX 和对氧磷或化学治疗的烷基化试剂环磷酰胺及二氯甲基二乙胺中,能降低 SNTX 对细胞的毒性,这表明细胞蛋白质中的磷酸化或烷基化参与 SNTX 的毒性<sup>[10]</sup>。

**心脏毒性:**细斑指水母 (*Chiropsyx fleckeri*) 和五触角金黄水母 (*Chrysaora quinquecirrha*) 中提取的毒素 SNLF 对鸡的心脏细胞具有毒性,使跳动的频率降低,长时间的作用还会使心脏细胞停止跳动,剂量高,使这种变化加快。从僧帽水母 (*Physalia physalis*) 中提取的毒素可以引起体内和体外由前列腺素介导的血管舒张,同时,使培养的纤维细胞和离体的血管平滑肌的前列腺素合成增加。在哺乳动物心脏中,僧帽水母毒素可产生心律不齐和影响传导作用。从长须霞水母 (*Cyanea capillata*) 中提取的毒素具有心脏毒性。静脉注射毒素给小鼠、大鼠和豚鼠,可使胃、肝脏、肺和右心室的静脉收缩。毒素可使离体心脏产生心律不齐,收缩力消失,最后心跳停止<sup>[7]</sup>。

此外,水母毒素还具有细胞毒性,影响粒子运转等活性。而且水母毒素的这些活性具有相关性,多数毒素具有几种不同的作用,且毒素的作用还与浓度、纯度、提取条件等因素有关,这些因素仅影响毒素作用的强弱,并不影响生物活性的种类。研究毒素的生物学活性,为充分利用毒素,开发新型的海洋生物药物奠定基础。

### 4 结束语

由于水母毒素的不稳定性,在分离提纯的过程中,有些活性已经失去,所以有必要对现有的分离提纯方法进行改进,尽可能减少分离提纯的步骤,缩短操作时间,并在毒素介质中添加一些不影响活性,又能使毒素稳定的试剂。毒素的稳定性一般通过测定某些活性,如,溶血性,心脏毒性,肌肉毒性等来测定。而这些活性的测定,一般所需的时间比较长,费用比较高,所以有必要



建立一种测定毒素稳定性的简便方法,如,通过测定毒素溶液一个或几个参数的变化,来确定毒素的稳定性。在生命化学研究中,生物毒素是研究酶、受体、离子通道等生物大分子的最有效工具。生物毒素常以某种高特异性的作用方式作用于特定的靶分子,因此,利用生物毒素不仅可以鉴定和分离这些物质,而且可以探索起作用方式与生理机制。所以有必要对水母毒素生物活性机理进行详细、透彻的研究,为开发新型海洋药物打下基础。

#### 参考文献

- 1 郭文场,张凯,王重阳.海蜇.特种经济动植物,2000,3(2):13-14,16
- 2 Hiroshi N, Kyoko T, Masahiro N. Toxin from the Hawaiian box jellyfish (sea wasp) *Carybdea alata*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 275:589-594
- 3 Giandomenico R, Laura G, Elisabetta P, et al. Purification and properties of a cytolytic toxin in venom of the jellyfish *Carybdea nuxialis*. Toxicon, 1995, 33, 315-326
- 4 Hiroshi N, Kyoko T, Masahiro N. Novel proteinaceous toxins from the box jellyfish (sea wasp) *Carybdea mastoni*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 275:582-

588

- 5 David A B, Joseph W B, Philip A. Partial purification of box jellyfish (*Chirops fleckeni*) nematocyst venom isolated at the beachside. Toxicon, 1998, 36:1075-1085
- 6 Laura G, Massimo A, Bella G. Biologically active polypeptides in the venom of the jellyfish *Rhopilema nomadica*. Toxicon, 1997, 35:637-648
- 7 张弈强,许实波.水母的化学和药理学研究概况.中国海洋药物,1999,18(1):43-48
- 8 John J C, Lal A R, Ian M C, et al. Partial purification and characterization of a hemolysin (CAHI) from Hawaiian box jellyfish (*Carybdea alata*) venom. Toxicon, 2001, 39:981-990
- 9 Wanwan Lin, Lee C Y, Joseph W B. Effect on sea nettle (*Chrysaora quinquecirrha*) venom on isolated rat aorta. Toxicon, 1998, 26:1209-1212
- 10 Cao C J, Eldefrawi M E, Eldefrawi A T, et al. Toxicity of sea nettle toxin to human he - patocytes and the protective effects of phosphorylating and alkylating agents. Toxicon, 1998, 36:269-281

(本文编辑:张培新)