

# 雷丸蛋白酶的研究

邱秀宝

(中国科学院微生物研究所, 北京)

姚永华 马惠芳

(宁夏医学院附属医院肿瘤组)

雷丸是寄生在竹根下的一种伞菌, 属担子菌纲, 白蘑科, 脐伞属, 学名为 *Omphalia lapidescens* Schroeter, 常见的为菌核体, 呈不规则的坚硬块状<sup>[1]</sup>。1938年稗田宪太郎<sup>[2]</sup>对雷丸进行了研究, 可治疗小儿疳积、虫积、绦虫、钩虫等<sup>[3-7]</sup>, 寺田文次郎、梁宰报道<sup>[8]</sup>雷丸的有效成份是一种蛋白酶, 在碱性溶液中活性最高, 在酸性溶液中很快失活。以前多采用生药为研究材料, 我们在1973年对雷丸蛋白酶进行提取, 这种酶能破坏绦虫头部细胞, 是否能用来破坏肿瘤细胞呢? 我们用 Walker-256 作为治疗模型进行初步试验, 结果如下:

## 材料与方 法

1. 材料: (1) 干雷丸粉: 北京同仁堂中药店购买。(2) 鲜雷丸: 宜昌购买。(3) Walker-256 模型大白鼠由医学科学院药物研究所提供。

2. 方法: (1) 称干雷丸1份加0.1M pH 8.0 硼酸缓冲液8份, 搅匀后于冰箱抽提48小时, 过滤, 滤液加硫酸铵达80%饱和度, 冷冻离心, 沉淀加水溶解, 流水透析48小时, 加三倍体积乙醇(95%), 放数小时, 离心得到的沉淀加水溶解备用。

(2) 新鲜雷丸磨碎加二倍体积0.1M pH 8.5 硼酸缓冲液抽提, 过滤, 滤液加硫酸铵达80%饱和度, 于冰箱过夜冷冻离心, 沉淀加水溶解, 透析, 透析液加3倍体积乙醇(95%)沉淀, 离心, 沉淀加水溶解备用。

## 结 果

### 1. 雷丸蛋白酶的提取:

按方法(1)和(2)分别提取两种雷丸的蛋白酶, 新鲜雷丸中含量高于干雷丸10倍(表1), 酶活力的测定采用 Folin 显色法。从表1结果表明, 天然雷丸中蛋白酶含量不高, 但是蛋白酶的存在是无疑的。

2. pH对酶活力的影响(表2): 从表2可见雷丸蛋白酶属碱性蛋白酶, 在pH8.2中活力最高, 与寺田文次郎报道的结果一致。

表1 雷丸蛋白酶的提取结果

样品(100g)	提取步骤	活力单位(u/ml)	总活力(u)	收率(%)
干粉	抽提液	1.17	5508	100
	80%硫酸铵沉淀	3.15	1538.3	27.9
鲜品	抽提液	5.25	54615.6	100
	80%硫酸铵沉淀	17.04	25511.3	46.71

表2 pH对酶活力的影响

No.	pH	活力(u/ml)	蛋白浓度(mg/ml)	总活力(u)	总蛋白量(mg)	比活力(u/mg)
1	4.4	18.33	6.3	91.65	31.5	2.9
2	7.2	20.0	6.5	100.0	32.5	3.08
3	8.2	25.0	6.0	125.0	20.0	4.17

注: pH 4.4—0.02M 醋酸缓冲液  
pH 7.2—0.02M 磷酸缓冲液  
pH 8.2—0.02M 硼砂-NaOH 缓冲液

3. 对 Walker-256 的抑制作用: 以 Walker-256 为实验动物按不同途径, 不同量蛋白酶给药观察, 雷丸蛋白酶对癌细胞的抑制作用结果见表3。

从表 3 初步结果看,雷丸蛋白酶对 Walker-256 有一定的抑制作用,但给药途径与疗效有较大影响,从表 3 结果证明以腹腔注射效果最差,肌肉注射效果最好,但对动物有一定毒性,腹腔内出现积水,口服给药比较安全,疗效随着给药量增加而加大,每 10 克体重给药 33 活力单位,抑制率可达 30.8%,动物无死亡,体重均有增加。

表 3 雷丸蛋白酶对 Walker-256 的抑制作用

样品	组别	方法	剂量*	次数	体重增长 (g)	平均瘤重 (g)	抑制率 (%)
干品 提取酶	1	腹腔	0	0	45.1	7.01	0
	2		2.5	7	28.4	5.13	26.8
	3	肌肉	0	0	25.2	7.77	0
	4		5.0	7	8.45	3.44	55.7
	5		3.5	7	1.8	3.63	53.3
鲜品 提取酶	6	口服	0	0	42.0	8.72	0
			6.6	13	29.9	8.10	7.0
	0		0	33.5	12.35	0	
	13.2		9	31.6	11.30	8.0	
	8		0	0	29.9	8.61	0
			33	8	12.0	5.96	30.8

\* 剂量为每 10g 动物体重每次给药量(活力单位 u)

## 讨 论

1. 根据试验结果证明雷丸菌细胞中确有蛋白酶存在,这种酶最适作用 pH 为碱性。

2. 雷丸菌生长在竹根下,不易收集,新鲜品则更难,这对雷丸蛋白酶的研究带来很大困难,要想得到新鲜的大量材料最理想的途径是用发酵方法培养雷丸菌,我所刘锡进先生从我们采取的新鲜雷丸中分离培育出纯种,它在综合土

豆固体培养基上生长很好,呈白色菌丝,并能长出菌核。我们在实验室条件下培养的纯种,可以看到菌核体(图 1)。

3. 从动物实验观察到雷丸蛋白酶对 Walker-256 确有抑制作用,而且随着酶量加大疗效增加,这里也不排除酶以外成份所起的作用,是否综合作用的结果有待进一步研究。

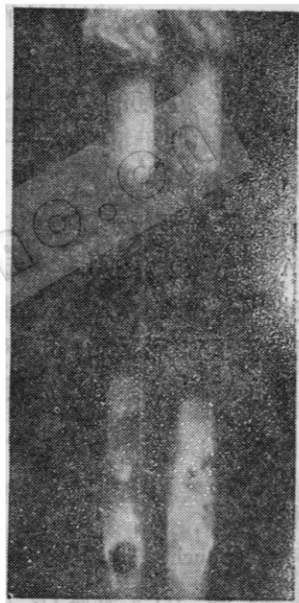


图 1 雷丸菌

## 参 考 文 献

- [1] 中国医学科学院药物研究所等编著: 中药志 (III), 人民出版社, 北京, 604 页, 1960。
- [2] 神田宪太郎: 满洲医学杂志, 28(4): 597—613, 1938。
- [3] 景厚德: 中华新医学报, 2(4): 753—755, 1951。
- [4] 吴书宽: 中华新医学报, 2(7): 563, 1952。
- [5] 徐政闻: 中华医学杂志, 6: 556—557, 1956。
- [6] 刘国声: 中医杂志, 3: 28—30, 1955。
- [7] 梁宰: 满洲医学杂志, 26(4): 799—845, 1937。
- [8] 寺田文次郎, 梁宰: 满洲医学杂志, 23(6): 1181, 1938。