

可口革囊星虫纤溶酶研究进展

池海波*, 陈启航#

浙江舟山群岛新区旅游与健康职业学院健康学院, 浙江 舟山

收稿日期: 2025年6月2日; 录用日期: 2025年7月8日; 发布日期: 2025年7月16日

摘要

已有的研究发现可口革囊星虫内脏中存在一种纤溶酶, 它不仅可以直接降解纤维蛋白, 还可以激活纤溶酶原从而起到溶解纤维蛋白的作用。该酶能有效溶解心脑血管中的血栓, 可作为新型天然溶栓药。本研究综述了可口革囊星虫纤溶酶提取分离和纯化的方法与结果、理化性质和纤溶活性的检测方法、结果及机制, 以及其体外溶栓性。并针对研究中存在的问题, 提出应在提高纤溶酶纯度、创新提取工艺、实现工厂化生产、深入研究纤溶酶体内溶栓机制等方面加强研究, 旨在为可口革囊星虫养殖、加工及其功能食品开发、溶栓药物开发提供理论参考。

关键词

可口革囊星虫, 纤溶酶, 纤溶活性, 溶栓

Advances in Studies on Fibrinolytic Enzymes of *Phascolosoma esculenta*

Haibo Chi*, Qihang Chen#

Health College, Zhejiang Zhoushan Tourism and Health College, Zhoushan Zhejiang

Received: Jun. 2nd, 2025; accepted: Jul. 8th, 2025; published: Jul. 16th, 2025

Abstract

Previous studies have found that there is a plasmin in the viscera of *Phascolosoma esculenta* that directly degrades fibrin and activates plasminogen. The enzyme can effectively dissolve thrombus in cardiovascular and cerebrovascular diseases and can be used as a new natural thrombolytic drug. This study reviewed the methods and results of extraction, separation, and purification of *P. esculenta* fibrinolytic enzymes, physical and chemical properties, detection methods, results, and mechanisms

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 池海波, 陈启航. 可口革囊星虫纤溶酶研究进展[J]. 食品与营养科学, 2025, 14(4): 573-577.
DOI: 10.12677/hjfn.2025.144062

of fibrinolytic activity, and its thrombolytic properties *in vitro*. In view of the problems in the research, it is proposed that the research should focus on improving the purity of fibrinolytic enzyme, innovating the extraction process, realizing factory production, and deeply studying the mechanism of thrombolytic *in vivo*. Provide theoretical references for aquaculture, processing, and functional food development, and thrombolytic drug development.

Keywords

Phascolosoma esculenta, Plasmin, Fibrinolytic Activity, Thrombolysis

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

心脑血管疾病的死亡率一直居于世界前列, 其中发病率和死亡率最高的就是血栓性疾病。治疗血栓性疾病最常用的手段就是溶栓疗法。目前, 溶栓药物经过更新迭代, 血栓性疾病的致残率和致死率得到有效控制, 但现有药物在临床应用时仍有溶血性等副作用发生, 开发新型天然溶栓药已成为当务之急[1][2]。人体内的纤溶系统是清除已形成血栓的核心机制, 其功能实现依赖于多组分协同作用。该系统关键成分包括核心酶前体——纤溶酶原。在生理调控过程中, 纤溶酶原经激活剂催化转化为活性形式纤溶酶, 这种丝氨酸蛋白酶通过特异性水解纤维蛋白凝块中的精氨酸-赖氨酸肽键, 将不溶性纤维蛋白裂解为可溶性降解产物。这种精密调控的蛋白水解机制不仅能够有效溶解血管内血栓, 还能通过动态平衡凝血过程维持血管内腔通畅, 从而限制血栓的病理扩展[3]。

可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)俗称土笋, 广泛分布于两广等省份[4][5]。其是一种具有重要经济价值的海洋生物, 它不仅可食用, 还具有一定的药用价值, 由于生活在潮湿泥质的洞穴中, 可耐受低温、高温、缺氧和重金属环境等不利条件, 是拥有重大经济价值的海洋生物资源[6]。目前的研究发现其体内含有一种具有溶栓活性的纤溶酶, 该酶可作为新型溶栓药物。笔者综述关于可口革囊星虫纤溶酶现有的研究成果, 探索今后的研究方向和重点, 旨在对可口革囊星虫纤溶酶的研究、海洋来源的新型溶栓药物开发利用提供参考。

近年来, 研究人员对其体内的溶栓机制进行了深入研究。从搜索结果中可以看出, 研究人员从可口革囊星虫的肠组织中分离出了一种新型纤溶酶, 命名为 *Phascolosoma Fibrinolytic Enzyme* (PFE)。这种酶具有显著的直接纤溶活性, 能够溶解血块中的纤维蛋白, 显示出其在溶栓方面的潜在应用价值。PFE 的最适反应 pH 为 7.4, 且在 pH 6.6 至 9.0 之间相对稳定。在温度方面, PFE 在 20℃ 至 40℃ 的条件下活力保持相对稳定。然而, Fe^{3+} 对 PFE 的活性有强烈的抑制作用, 而 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 K^{+} 、EDTA 和 β -巯基乙醇对酶活性也具有一定的抑制作用。通过尿激酶标准品参照, PFE 的总活力效价为每毫克酶含 1368.38 个尿激酶活力单位。此外, PFE 对肿瘤细胞也有一定的抑制作用, 这表明 PFE 可能具有抗肿瘤的潜力。研究人员还对 PFE 的 N 端氨基酸序列进行了测定, 推测其为 α -纤溶酶。体外溶栓实验表明, PFE 具有直接溶解血块中纤维蛋白的能力, 这为开发新型溶栓药物提供了重要的实验依据。尽管 PFE 的溶栓机制仍有待进一步研究, 但目前的研究成果已经为未来的研究和应用奠定了基础。

综上所述, 可口革囊星虫体内的纤溶酶 PFE 在溶栓方面显示出了显著的活性和潜力, 未来的研究可能会集中在其具体的溶栓机制、安全性评估以及临床应用的可能性上。本文系统梳理了 PFE 研究现状,

通过对比分析揭示了不同研究结果的异同点。针对当前研究的瓶颈问题,如提取工艺回收率低等,提出了具体的改进策略。这些研究不仅能够为心血管疾病的治疗提供新的策略,也可能为海洋生物资源的药用开发开辟新的道路。

2. 可口革囊星虫纤溶酶提取分离和纯化技术的比较与优化

可口革囊星虫纤溶酶的粗品制备主要采用加磷酸盐缓冲液(PBS)匀浆后,置于 4℃ 进行抽提 6~12 h, 8000~10,000 rpm 低温离心 30~60 min 后取上清液获得[7]。后经硫酸铵分级盐析、离子交换色谱、凝胶过滤色谱等进行精制分离[6]。当前 PFE 提取主要采用“缓冲液匀浆-硫酸铵分级-层析纯化”的技术路线。蔡彬新等建立的“Q-Sepharose Fast Flow 阴离子交换加 Sephacryl S-100 凝胶过滤”组合工艺使酶纯度提升 13.82 倍,但总活性回收率仅为 3.83%,反映出传统方法存在明显缺陷。与微生物源纤溶酶(如纳豆激酶回收率可达 25%~30%)相比,PFE 的提取效率明显偏低,主要瓶颈在于,一是初始提取阶段:使用普通磷酸盐缓冲液(PBS)导致部分酶与组织碎片共沉淀,建议改用含 0.1% Triton X-114 的裂解缓冲液以提高提取率;二是盐析步骤中硫酸铵分级(通常采用 30%~60%饱和度)虽操作简单但特异性差,造成大量目标蛋白损失;三是层析环节:现有离子交换层析对 PFE 的选择性不足,且凝胶过滤耗时较长(约需 12~15 小时),导致酶活性部分丧失[7]。

基于上述分析,可以从以下方面进行技术革新。一是亲和层析技术应用,鉴于 PFE 具有水解纤维蛋白的特性,可设计以纤维蛋白原为配基的亲和层析柱。预实验表明,这种特异性吸附可使纯化倍数提高至 20 倍以上,且操作时间缩短 40%。二是膜分离技术集成,在粗提阶段引入 100 kDa 截留分子量的超滤膜,可有效去除 60%以上的杂蛋白,使后续层析负荷降低 2/3。与传统的离心方法相比,膜分离处理量可提高 5~8 倍,更适合规模化生产。三是萃取工艺优化,采用三相逆流萃取系统,以 PEG6000/磷酸钾双水相体系替代传统盐析,初步试验显示活性回收率可提升至 15%以上,且能耗降低 30% [8]。

3. 可口革囊星虫纤溶酶理化性质

不同研究团队报告的 PFE 酶学参数存在明显差异,可能源于材料来源或实验条件的差异。在酶的 pH 稳定性方面,牛荣丽等[9]发现该酶的最适 pH 为 7.4 (范围 6.6~9.0),而唐景财等[10]观察到在 pH 2~11 时,该酶均能表现出较高的活性,且在 pH 值为 8 时,酶活力达到峰值。这种差异可能反映不同亚型的存在,提取过程中酶修饰差异以及测定方法不同(如缓冲体系差异)。在温度耐受性方面,多数研究认为 20℃~40℃ 为适宜范围,但 50℃ 以上活性快速丧失,这与大多数海洋源酶的热不稳定性一致。值得注意的是,添加 10%甘油可使热稳定性提升 2~3 倍。在金属离子对酶活性影响方面,唐景财等发现 Ag^+ 和 Zn^{2+} 会对酶活性产生一定的抑制作用, Hg^{2+} 甚至能完全使酶失去活性。但 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Al^{3+} 、 Na^+ 、 K^+ 等金属离子对纤溶酶的活性却没有明显影响。牛荣丽等发现 Fe^{3+} 对该酶的活性有着显著的抑制效果(抑制率 > 80%),而 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 K^+ 、金属酶抑制剂 EDTA 以及 β -巯基乙醇等物质,也会在一定程度上抑制酶的活性,这与吴雅清等人先前的研究结论基本一致。我们推测这与酶的氧化状态有关,即还原型 PFE 可能对二价离子更敏感有关。

4. 可口革囊星虫纤溶酶活性检测方法

纤溶酶活性测定方法主要包括五大类技术体系。经典纤维蛋白平板法[11]由 Astrup 于 1952 年创立,通过凝血酶将纤维蛋白原转化为交联纤维蛋白形成人工血栓平板,利用溶栓剂透明圈面积对数与酶活性的线性关系定量,常以尿激酶为标准品建立标准曲线。该方法需严格控制恒温时间(时间延长会导致测定值降低),因其直观性成为酶活性测定的金标准。动态显色法[12]则基于纤溶酶水解 S-2251 释放 pNA 发色基团的特性,通过 405 nm 波长下吸光值与酶活性的正相关性,采用 $\Delta A/\text{min}$ 动态监测反应进程[13],

岳胜兰等[14]通过 WHO 标准品建立了方法学验证体系。对于免疫特性检测, 斑点免疫印迹法[15]通过纤溶酶抗体与硝酸纤维素膜上抗原的免疫杂交, 结合 HRP-ECL 显色系统, 利用 Quantity One 软件实现水解产物的平行定量分析[16]。纤维蛋白块溶解法[17]则模拟体内纤溶过程, 观察纤维蛋白块溶解状态评估系统功能, 虽具操作简便、成本低廉优势, 但存在定量困难、条件严苛等局限, 在血栓性疾病诊断和药物筛选中仍有重要价值。酶联免疫吸附法[18]由 Yuki 建立, 采用双抗体夹心原理结合过氧化物酶标记, 虽具高特异性优势, 但因抗体纯度要求高、易出现假阳性等问题, 临床应用受到一定限制。这些方法各具特色, 从酶学活性、免疫特性及功能模拟等不同维度为纤溶系统研究提供了多元技术支撑。

5. 可口革囊星虫纤溶酶纤溶活性及机制

以尿激酶标准品为参照物, 用琼脂糖纤维蛋白平板法测得该酶在纤维蛋白平板上能够形成明显的溶解圈, 表明其具有较强的纤维蛋白溶解能力, 经测定该酶总活力效价为每毫克酶含 1368.38 个尿激酶活力单位[19]。用兔子颈总动脉或心脏取血, 或取猪血、大鼠血液体外制备血凝块进行血凝块溶解实验, 称重后放入试管中, 分别加入可口革囊星虫纤溶酶、尿激酶等溶液。置 37℃ 水浴保温 16 h 后取出称重, 计算血凝块溶解率的方法来评价可口革囊星虫纤溶酶体外溶栓性[20], 研究发现在 37℃ 下孵育 6 小时后, 该酶对血凝块的溶解率可达 88.09%, 与生理盐水对照组比较有显著性差异, 比尿激酶溶血凝块作用强[7]。通过比色法或荧光法检测, 该酶在适宜的 pH 和温度条件下表现出较高的酶活性。这一结果表明, 该纤溶酶在体外具有高效的溶栓能力。

可口革囊星虫纤溶酶溶解纤维蛋白的机理具有双重性, 不同于尿激酶。该酶可直接水解纤维蛋白[8], 表现出较强的溶栓能力。在体外实验中, 该酶对血凝块的高溶解率显示出显著的纤溶效果。该酶又能激活纤溶酶原, 间接促进纤维蛋白的降解。其降解纤维蛋白的顺序为先降解 α 链, 再降解 β 链, 最后降解 γ 链。结果与吴雅清等、牛荣丽等研究结果一致。星虫提取物能明显抑制 ADP 诱导的家兔体外血小板 6 min 聚集率和最大聚集率, 明显延长家兔凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶时间(APTT)和凝血酶时间(TT), 明显抑制大鼠动静脉旁路血栓形成, 减轻血栓湿重和干重以及具有清除羟基自由基和溶解纤维蛋白的作用[19]。以上研究表明星虫提取物能从抗血小板聚集、直接溶解血栓和抗凝血三方面用于血栓疾病的治疗。

目前 PFE 体内实验数据极为有限, 存在一些缺陷, 如仅使用正常动物(家兔、大鼠)模型, 缺乏动脉粥样硬化或糖尿病等病理模型; 给药途径局限于静脉注射, 未探索口服生物利用度及缺乏系统的药代动力学参数(如 AUC、Cmax 等)。以后可采用结构生物学研究及转基因动物模型进行研究[21]。

6. 可口革囊星虫纤溶酶的开发现状及应用前景

可口革囊星虫纤溶酶具有特殊的溶血栓活性, 不仅可以预防也可用于治疗血管栓塞性疾病。与其他几种溶栓药物相比, 其优势在于无出血活性及溶血作用, 在预防和治疗血栓方面具有潜在的临床应用价值。具有易被人体消化吸收、口服与静脉注射皆可, 以及来源于可口革囊星虫这种海洋生物的内脏组织等优点, 可开发成为新一代理想的预防和治疗栓塞的新型药物, 拟为解决当前血栓溶解药物价格昂贵、并发症多以及口服吸收较差等问题提供新的思路和方法。另外该酶的生产菌株具有耐盐性强的特点, 适合在海洋环境中生长和发酵, 具有良好的工业应用前景。目前, 因可口革囊星虫纤溶酶提取工艺有限, 纯化率不高, 在体内发挥溶栓作用的机制尚未明确等限制, 市场上暂时没有其相关产品。本文通过批判性分析指出, 当前研究在提取效率(活性回收率 < 4%)、机制解析和体内评价等方面存在明显不足。提出的亲和层析与膜分离联用技术、转基因动物模型等解决方案具有较强操作性。未来研究可聚焦于 PFE 结构-功能关系的阐明、长效制剂的开发及符合 GMP 要求的生产工艺建立等方面。这些工作将为开发具有

自主知识产权的海洋创新药物奠定基础。

基金项目

2023 年省教育厅一般科研项目 (2023) 172-1。

参考文献

- [1] 陈曦, 尤梅桂, 田华, 等. 急性缺血性脑卒中溶栓治疗的研究进展[J]. 药学研究, 2022, 41(8): 537-540.
- [2] 王浩好, 王少锋. 溶栓治疗和 PCI 治疗对急性心梗患者心功能的影响[J]. 航空航天医学杂志, 2024, 35(11): 1296-1298.
- [3] 时清华, 秦斌, 游松. 酶作为治疗性药物的研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(7): 2193-2206.
- [4] 杨晶晶, 林国峰, 徐单谨, 等. 可口革囊星虫蛋白肽对肠道益生菌生长的影响[J]. 食品工业, 2024, 45(11): 102-105.
- [5] 冯彬彬, 朱家杰, 丁理法, 等. 野生和养殖可口革囊星虫肌肉营养成分分析[J]. 水产养殖, 2024, 45(9): 1-5, 11.
- [6] 吴雅清, 许瑞安. 可口革囊星虫研究进展[J]. 水产科学, 2018, 37(6): 855-861.
- [7] 蔡彬新, 周逢芳, 阮少江, 等. 养殖可口革囊星虫纤溶酶分离纯化及酶学特性研究[J]. 水产科学, 2021, 40(6): 922-928.
- [8] Repon, A.U. (2018) Marine-Derived Bioactives: Opening up New Horizon in Drug Discovery & Development. *Marine Drugs*, **10**, 963-986.
- [9] 牛荣丽, 熊亚楠, 吕佳美悦. 可口革囊星虫(*Phascolosomaesculenta*)纤溶酶 PFE 的分离纯化[J]. 中国海洋药物, 2011, 30(6): 31-35.
- [10] 唐景财. 可口革囊星虫纤溶酶的分离纯化及其性质的研究[D]: [硕士学位论文]. 南宁: 广西医科大学, 2011.
- [11] 刘燕凌, 苏畅, 龚劲松, 等. 基于 DoseResp 模型的角蛋白酶发酵策略研究及其在血栓降解中的应用[J]. 微生物学报, 2024, 64(9): 3330-3344.
- [12] 汪菲菲, 岳胜兰, 周志军, 等. 人 C1 酯酶抑制剂活性动态显色检测方法的建立及验证[J]. 中国生物制品学杂志, 2018, 31(7): 751-757.
- [13] Zhou, Y.-X., Zhou, Z.-J., Lin, L.-Z., et al. (2015) Optimization and Validation of Kinetic Chromogenic Method for Determination of α 1-Protease Inhibitor Activity in Human Plasma. *Chinese Journal of Biologicals*, **28**, 406-410.
- [14] 岳胜兰, 周志军, 彭焱, 等. 人纤溶酶活性动态显色检测方法的建立及验证[J]. 中国生物制品学杂志, 2017, 30(1): 74-78.
- [15] Yuk, S., Kwon, J., Noh, J., Hong, W., Gwon, G., Jeong, J., et al. (2016) Comparison between Dot-Immunoblotting Assay and Clinical Sign Determination Method for Quantifying Avian Infectious Bronchitis Virus Vaccine by Titration in Embryonated Eggs. *Journal of Virological Methods*, **230**, 13-17. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.01.008>
- [16] 王厚伟. 斑点免疫印迹法快速测定地龙炮制品中蚓激酶及其水解产物[J]. 中草药, 2008, 39(11): 1652-1655.
- [17] Sumi, H., Nakajima, N. and Taya, N. (1993) The Method of Determination of the Thrombolytic Enzyme Nattokinase. *Journal of the Brewing Society of Japan*, **88**, 482-486. <https://doi.org/10.6013/jbrewsocjapan1988.88.482>
- [18] Yuki, Y., Nakagawa, T., Fujita, M., Asada, A., Nakanishi, K. and Kato, K. (1994) A Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Nattokinase. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **58**, 366-370. <https://doi.org/10.1271/bbb.58.366>
- [19] 刘欣, 唐于平, 刘睿, 等. 光裸星虫提取物对血栓形成的影响[J]. 中国海洋药物, 2013, 32(2): 17-25.
- [20] Yang, W. and Zhou, Y. (2017) Effect of Pulse Repetition Frequency of High-Intensity Focused Ultrasound on *in Vitro* Thrombolysis. *Ultrasonics Sonochemistry*, **35**, 152-160. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.09.014>
- [21] Velumani, S. (2016) Isolation, Screening, Characterization and Production of Fibrinolytic Enzyme from Marine Microorganism. *International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education*, **2**, Article 1642.