

• 综 述 •

以瘦素为靶点中药单体成分防治肝纤维化研究策略及进展

倪春艳, 郑仕中*, 陆茵, 张雪娇, 马进, 王爱云

南京中医药大学药学院 临床药学教研室, 江苏 南京 210029

摘 要: 近年来大量研究表明瘦素在肝纤维化发生发展中发挥着重要作用。瘦素能够通过血小板衍生生长因子(PDGF)、血管生成因子(VEGF)、转化生长因子- β (TGF- β)等相关细胞因子和JAK/STAT3、MAPK/ERK1/2、PI3K/AKT等信号通路激活肝星状细胞。中药单体成分通过抑制细胞因子的释放和阻断信号通路来防治肝纤维化的机制研究已越来越深入。通过对与瘦素相关的肝星状细胞激活通路和细胞因子进行概括总结,并对中药单体成分通过瘦素靶点抗肝纤维化作用进行展望。

关键词: 瘦素; 肝星状细胞; 肝纤维化; 姜黄素; 丹酚酸 B; 白藜芦醇; 川芎嗪

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)09-1837-05

Strategy and progress on monomer components of Chinese materia medica for prevention and treatment of hepatic fibrosis with leptin as target

NI Chun-yan, ZHENG Shi-zhong, LU Yin, ZHANG Xue-jiao, MA Jin, WANG Ai-yun

Department of Clinical Pharmacy, College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Key words: leptin; hepatic stellate cells (HSC); hepatic fibrosis; curcumin; salvianolic acid B; resveratrol; ligustrazine

肝脏是腹腔内最大的实质性器官,具有多种代谢、解毒和免疫等重要的生理功能。多种物理因素、化学因素、生物因素等均可引发肝损伤。肝损伤的结果往往会导致肝坏死、脂肪肝、胆汁淤积、肝纤维化、肝硬化及肝癌等,其中在肝纤维化的过程中,肝星状细胞的增殖与凋亡等信号通路以及肝脏内细胞与细胞、细胞与基质、基质与介质间发生十分复杂的相互作用,细胞内许多基因的表达模式发生异常改变,出现肝细胞的变性、坏死,炎症细胞浸润,细胞因子作用紊乱,从而导致肝组织中细胞外基质(ECM)的过度产生和沉积等复杂病理病变并最终形成肝纤维化。

瘦素(leptin)是由ob基因编码,在脂肪组织分泌的蛋白质类激素,其相对分子质量为 1.6×10^4 ,主要由白脂肪产生并分泌。瘦素具有细胞因子特性,必须与细胞表面的瘦素受体结合,从而发挥生物学作用。瘦素对一系列代谢过程产生影响,如

胰岛素的释放、脂肪的合成和分解等,其还参与免疫炎症反应、损伤修复、肿瘤生长等病理生理过程。因此,近年来瘦素的研究引起了国际上的广泛关注。一些研究表明瘦素与肝纤维化具有密切的关系,瘦素在肝纤维化进程中具有促纤维化作用^[1-4]。作为新的肝纤维化形成因子,瘦素的作用机制研究已越来越引起人们的关注。由于中药具有多成分、多环节、多靶点的作用特点,已有研究证明中药具有抗纤维化作用^[5-6],为阐明中药对肝纤维化的作用机制,本文以中药单体成分的研究为基础,就其通过作用瘦素靶点抗肝纤维化进行综述。

1 瘦素在肝纤维化进程中的作用

近年来,体内外实验均表明瘦素在肝纤维化的发生发展中发挥着重要作用。研究发现肝纤维化患者血清瘦素明显上升,且其水平与肝纤维化各指标透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、III型前胶原(PCIII)等之间呈正相关,进一步证实了瘦素在肝

收稿日期: 2011-03-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30873424); 江苏省自然科学基金资助项目(BK200856); 江苏省针灸学重点实验室开放课题(KJA200801); 江苏省六大人才高峰课题(2009-B-010); 教育部博士点博导基金资助项目(20103237110010); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(yssk-2010)

作者简介: 倪春艳(1987—),女,硕士研究生,主要从事中医药防治肝纤维化和肿瘤研究。

***通讯作者** 郑仕中 Tel: (025)86798154 E-mail: nytws@163.com

纤维化过程中具有重要作用^[7]。体外实验表明, 激活的肝星状细胞 (HSC) 在瘦素的作用下, I 型胶原 (Collagen-I)、金属蛋白酶组织抑制因子-1 (TIMP-1)、转化生长因子- β (TGF- β)、结缔组织生长因子 (CTGF/CCN2) 的 mRNA 和 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 的表达都明显增加^[8-9]。另外, 瘦素还能通过激活 JAK/STAT3、MAPK/ERK1/2、PI3K/AKT 等信号通路和转录因子 NF- κ B、AP-1 等来诱发肝纤维化。

2 中药单体成分防治肝纤维化作用

Friedman^[10]认为 HSC 的激活可以分为: (1) HSC 的增殖和活化, 即血小板衍生生长因子

(PDGF)、血管生成因子 (VEGF)、成纤维细胞生长因子 (FGF) 等细胞因子表达后激活相应的信号转导通路; (2) TGF- β 和 CTGF/CCN2 在肝纤维化过程中直接促进了其纤维的生成; (3) 细胞外基质 ECM 的沉淀表现为基质金属蛋白酶 (MMP) 和 TIMP 两者平衡的失调、Collagen-I 的合成等; (4) HSC 激活后易引起机体免疫应答反应。肝内免疫应答细胞 (T 细胞、B 细胞、NK 细胞、NKT 细胞) 释放的炎性因子促进了 HSC 的激活。这些细胞因子和蛋白在瘦素的作用后都能明显地激活 HSC 促进肝纤维化的作用^[7] (图 1), 现将单体药物抑制 HSC 激活的过程做一概括和展望。

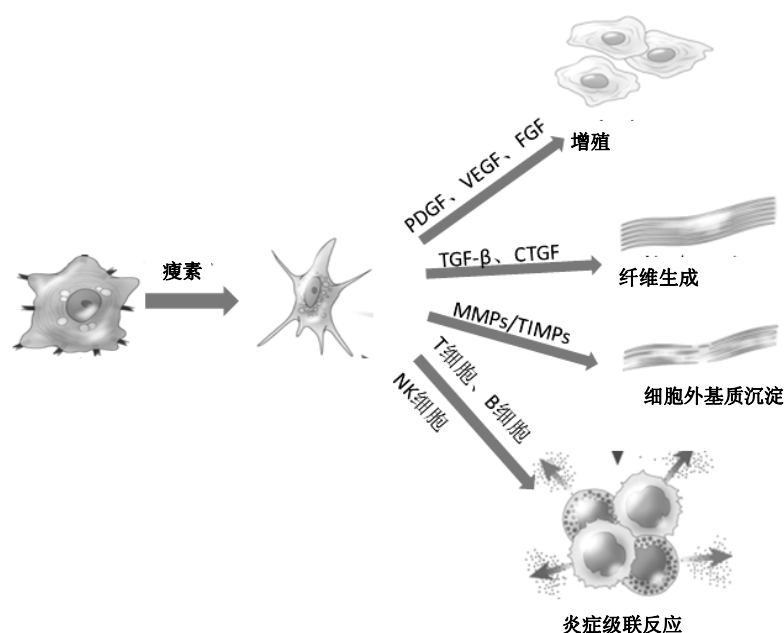


图 1 瘦素促进 HSC 的增殖过程

Fig. 1 Proliferation of leptin-induced HSC

2.1 抑制 HSC 的增殖和活化

PDGF-BB 和 VEGF 是与肝纤维化有关的具有特异性、敏感性、稳定性的指标。研究表明, 肝纤维化过程中, PDGF-BB 和 VEGF 在鼠 CCl₄ 肝纤维化模型中高表达, 且两者的表达随肝纤维化严重程度而增加^[11-12]。实验证明, 在瘦素作用后 PDGF-BB 和 VEGF 两者的表达明显高于模型组^[13]。姜黄素 (curcumin) 是从姜科姜黄属植物姜黄中提取的一种黄色酸性酚类物质, 是姜黄发挥药理作用的主要活性成分。研究表明, 姜黄素抑制 HSC 增殖和活化的机制是通过调节与肝纤维化相关的细胞因子^[14], 如 PDGF、VEGF 和 TGF- β 等, 作用于其下游的信号

通路而发挥作用, 且姜黄素能够通过作用于瘦素而抑制 PDGF、VEGF 等因子的表达^[15]。与 PDGF 相关的下游通路有 JAK/STAT3、MAPK/ERK1/2 和 P38, 瘦素作为细胞因子能够激活 JAK/STAT3、MAPK/ERK1/2 通路, 从而激活 HSC 而导致肝纤维化^[16-17]。中药单体成分对下游通路是否有阻断作用成为细化研究瘦素与肝纤维化的重点。

2.2 阻断纤维生成的过程

肝纤维化过程中, 汇管区扩大、纤维增多, 小的纤维间隔形成, 大部分汇管-汇管、汇管-中央静脉区纤维间隔延伸以至连接, 正常肝小叶结构部分毁损的过程定义为纤维生成的过程。实验证明纤维

生成过程中 TGF- β 和 CTGF/CCN2 表达异常, 瘦素能作用于 TGF- β 和 CTGF/CCN2 等细胞因子进而加剧肝纤维化的过程^[13,18]。肝脏中 TGF- β 1 的量最高且具有生物活性。正常状态下 HSC 表达 TGF- β 1 极少, 损伤后表达显著增加。TGF- β 1 能够直接反映瘦素对肝纤维化的作用。以 TGF- β 1 为作用靶点的信号通路 TGF- β 1/Smads 在肝纤维的生成中发挥了重要作用。丹参有较好的抗肝纤维化作用, 丹酚酸 B (salvianolic acid B) 是丹参的水溶性成分。研究发现丹酚酸 B 能够对细胞因子 TGF- β 1 刺激诱导的 HSC 增殖和活化产生抑制作用, 这主要是通过抑制 Smad 2、3 蛋白表达、磷酸化和核转录实现的^[19]。另外, 已有研究表明丹酚酸 B 对瘦素有一定的抑制作用^[20]。丹参其他水溶性成分 IH764-3 和丹参素能够影响细胞内 cAMP、钙调蛋白及作用于 TGF- β 1/T β R/Smads 信号传导通路^[21]。研究丹参通过作用于瘦素介导 TGF- β 1/Smads 信号通路的抗纤维化的作用机制将明确瘦素在肝纤维化中的作用, 也为更多中药抗肝纤维化的作用研究打下基础。

2.3 调节 ECM 的沉淀

肝纤维化以肝脏 ECM 大量增生沉积为特征, HSC 在各种损伤因子的作用下活化、增殖, 转变为肌纤维母细胞 (myofibroblasts, MFB), 是 ECM 的主要来源细胞。ECM 的大量产生也是肝硬化早期特征。合成的 ECM 主要包括 I、II、III、IV 型胶原、透明质酸、层粘连蛋白等, 主要成分是胶原。瘦素能够促进 Collagen-I 的高表达来诱导肝纤维化。MMPs 及 TIMPs 是肝纤维化发生中维持 ECM 降解和合成平衡的主要因子, 瘦素作用于 MMPs/TIMPs 诱导肝纤维化的作用也受到了广泛认可^[22-23]。白藜芦醇 (resveratrol) 能够诱导肝成纤维细胞表型的改变, 显著减少成纤维细胞增生; 减少 Collagen-I 的表达和 MMP-9 的分泌, 对 HF 和肝癌的治疗有重要的意义^[24]。陈艳军等^[25]研究高山红景天对 TIMP-1 表达的影响证实了红景天的抗肝纤维化作用; 川芎嗪 (ligustrazine) 是由川芎的根茎提取的有效成分, 研究显示川芎嗪对 HSC 的增殖有明显抑制作用, 随着川芎嗪的浓度增加, HSC 的瘦素分泌也相应减少, 并抑制 Collagen-I 的分泌, 川芎嗪可通过影响 HSC 中瘦素等细胞因子的分泌和胶原的合成而发挥抗肝纤维化作用^[26]。除以上药物外, 大黄素、三七总皂苷、苦味素等抗肝纤维化作用也已得到证实。

2.4 抑制炎症反应

慢性肝病的发生、发展中伴随着炎症反应, 但近几年国内外研究发现, 炎症介质及免疫细胞均参与了肝纤维化的形成与发展。机体的免疫应答细胞包括 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、NKT 细胞和枯否细胞。在肝纤维化中, 免疫细胞受损直接形成变态反应作用于机体, 还能通过释放炎症因子 (IL-6、IL-4、IL-10、TNF- α 、INF- γ) 等间接作用于 HSC。炎症因子的释放能够激活 HSC 中的相关通路, 如 IL-6 能够激活 STAT 蛋白 (包括 STAT3 和 STAT1), 也能够激活 Ras/MAPK 信号通路^[27]; 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 能够结合其受体 TNF-Rp55 与 TNF-Rp75 介导 NF- κ B 的表达, NF- κ B 在 HSC 的激活中发挥了重要作用^[28-29]。研究表明机体免疫细胞和枯否细胞存在瘦素受体, 瘦素能够结合瘦素受体介导炎症因子释放, 从而激活 HSC^[13]。丹酚酸 B 抑制肝组织炎症与肝纤维化的机制与下调 TNF- α 水平及抑制免疫细胞和枯否细胞分泌 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 有关^[30]; 姜黄素对瘦素及瘦素受体也有很强的抑制作用, 可通过抑制 NF- κ B 依赖性 TNF- α 、单核细胞趋化蛋白-1、COX-2 等基因表达, 阻止炎症因子诱导的肝脏炎症性损伤, 从而阻止肝纤维化的发生与发展^[15,31]; 葛根素可通过抑制 NF- κ B 的活性, 下调 TNF- α mRNA 的表达, 抑制炎症反应^[32]。

3 展望

HSC 的激活在肝纤维化的发生与发展过程中发挥着举足轻重的作用。瘦素通过 HSC 的自分泌和肝内其他细胞 (包括肝细胞、肝窦内皮细胞和枯否细胞等) 的旁分泌作用直接或间接地作用于 HSC 的激活通路。目前研究主要集中在瘦素与信号通路、药物与信号通路上, 将药物通过作用于瘦素这一靶点遏制其信号通路, 从而抑制 HSC 激活发挥抗肝纤维化作用。

近年来, 中药单体成分作用于肝纤维化的细胞因子和信号通路的研究越来越深入, 并取得一定成绩。这为今后研究中药抗肝纤维化的机制提供了依据。以作用于瘦素这一靶点从而激活细胞因子和信号通路作用于肝纤维化的中药单体成分进行总结和展望, 不仅是对纤维化机制的一个概括总结, 更是对中药单体成分乃至中药和中药复方抗肝纤维化的一个展望。

参考文献

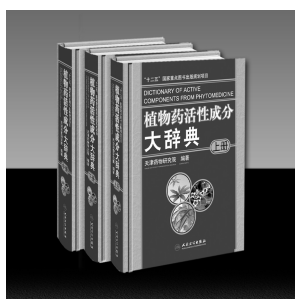
- [1] Leclercq I A, Farrell G C, Schriemer R, et al. Leptin is

- essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury [J]. *J Hepatol*, 2002, 37(2): 206-213.
- [2] Saxena N K, Ikeda K, Rokey D C, *et al.* Leptin in hepatic fibrosis: evidence for increased collagen production in stellate cells and lean littermates of ob/ob mice [J]. *Hepatology*, 2002, 35(4): 762-771.
- [3] Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, *et al.* Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver induced by hepatotoxic chemicals [J]. *Hepatology*, 2001, 34(2): 288-297.
- [4] Nobili V, Manco M, Ciampalini P, *et al.* Leptin, free leptin index, insulin resistance and liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Eur J Endocrinol*, 2006, 155(5): 735-778.
- [5] 周程艳, 艾凌艳, 王 美, 等. 杜仲多糖抗肝纤维化作用的实验研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 324-329.
- [6] 杨凤蕊, 姜建石, 方步武. 蒿鳖养阴软坚方抗 CCl₄ 复合因素所致大鼠肝纤维化的作用 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 530-534.
- [7] 王曙强, 洪泽华, 林铁汉. 瘦素和转化生长因子 $\beta 1$ 对非酒精性脂肪性肝病患者论著肝纤维化的促进作用研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(11): 814-817.
- [8] Cortez D M, Feldman M D, Mummidi S, *et al.* Interleukin-17 stimulates MMP1 expression in primary human cardiac fibroblasts via p38 MAPK and ERK1/2-dependent C/EBP β , NF- κ B, and AP-1 activation [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(6): 3356-3365.
- [9] Lee K Y, Ito K, Hayashi R, *et al.* NF- κ B and activator protein 1 response elements and the role of histone modifications in IL-1 β induced TGF- $\beta 1$ gene transcription [J]. *J Immunol*, 2006, 176(4): 603-615.
- [10] Friedman S L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(6): 1655-1669.
- [11] Vanheule E, Geerts A M, VanHuyse J, *et al.* An intravitalmicroscopic study of the hepaticmicrocirculation in cirrhoticmicemodels: relationship between fibrosis and angiogenesis [J]. *Int J Exp Pathol*, 2008, 89(6): 419-432.
- [12] Borkham-Kamphorst E, Meurer S K, Gressner A M, *et al.* Disruption of intermolecular disulfide bonds in PDGF-BB dimers by N-acetyl-L-cysteine does not prevent PDGF signaling in cultured hepatic stellate cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338(5): 1711-1718.
- [13] Wang J H, Leclercq I, Brymora J M, *et al.* Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(2): 713-723.
- [14] Park S D, Jung J H, Lee H W, *et al.* Zedoariae Rhizoma and curcumin inhibits platelet-derived growth factor induced proliferation of human hepatic myofibroblasts [J]. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5(14): 555-569.
- [15] Tang Y, Chen A. Curcumin protects hepatic stellate cells against leptin-induced activation *in vitro* by accumulating intracellular lipids [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(9): 4168-4245.
- [16] Chen K, Li F, Li J, *et al.* Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin [J]. *Nat Med*, 2006, 12(3): 425-432.
- [17] Frankenberry K A, Skinner H, Somasundar P, *et al.* Leptin receptor expression and cell signaling in breast cancer [J]. *Int J Oncol*, 2006, 28(4): 985-993.
- [18] Ikejima K, Takei Y, Honda H, *et al.* Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat [J]. *Gastroenterology*, 2002, 122(5): 1399-1410.
- [19] 王海南, 胡义杨, 红嘉禾, 等. 丹参酚酸-B 对肝星状细胞增殖与 TGF- $\beta 1$ 信号转导的影响 [J]. 中华医学杂志, 2002, 82(18): 1267-1272.
- [20] He H, Shi M, Zeng X, *et al.* Cardioprotective effect of salvianolic acid B on large myocardial infarction mediated by reversing upregulation of leptin, endothelin pathways, and abnormal expression of SERCA2a, phospholamban in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 118(1): 35-45.
- [21] 陈岳祥, 李 石, 张兴荣, 等. IH764-3 对大鼠肝星状细胞增殖及 cAMP 的影响 [J]. 中华肝脏病杂志, 2002, 10(3): 223.
- [22] Schram K, De Girolamo S, Madani S, *et al.* Leptin regulates MMP-2, TIMP-1 and collagen synthesis via p38 MAPK in HL-1 murine cardiomyocytes [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2010, 15(4): 551-563.
- [23] Li J, Si H F, Lu X, *et al.* Suppressive effects of leflunomide on leptin-induced TIMP-1 production involves on hepatic stellate cell proliferation and apoptosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 580(1/2): 63-72.
- [24] 王在岩, 张 平. 白藜芦醇在纤维增生性疾病中的作用机制研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2010, 5(39): 112-116.
- [25] 陈艳军, 高旭珍, 张运忠, 等. 高山红景天对肝纤维化大鼠 TIMP-1 mRNA 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 4(25): 588-590.
- [26] Tang Y, Zheng S, Chen A. Curcumin eliminates leptin's effects on hepatic stellate cell activation via interrupting leptin signaling [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(7): 3011-3031.
- [27] Kroy D C, Beraza N, Tschaharganeh D F, *et al.* Lack of interleukin-6/glycoprotein 130/signal transducers and activators of transcription-3 signaling in hepatocytes

- predisposes to liver steatosis and injury in mice [J]. *Hepatology*, 2010, 2(51): 463-473.
- [28] Liu H, Lo C R, Czaja M J. NF-kappaB inhibition sensitizes hepatocytes to TNF-induced apoptosis through a sustained activation of JNK and c-Jun [J]. *Hepatology*, 2002, 35(4): 772.
- [29] Tang X, Yang J, Li J. Sensitization of human hepatic stellate cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by leflunomide [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(6): 963-967.
- [30] Lin Y L, Wu C H. *In vitro* protective effects of salvianolic acid B on primary hepatocytes and hepatic stellate cells [J]. *Ethnopharmacology*, 2006, 105(1/2): 215-237.
- [31] Nanji A A, Jokelainen K, Tipoe G L, *et al.* Curcumin prevents alcohol-induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF-kappa B dependent genes [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 284: 321-327.
- [32] 陈燕启, 刘德江, 杨光田. 鼠脑缺血再灌注时葛根素对核因子 κ B 表达的影响 [J]. *中国临床康复*, 2005, 9(37): 187-189.

“十二五”国家重点图书出版规划项目

《植物药活性成分大辞典》(上、中、下册)



植物中的活性成分是植物药发挥疗效的物质基础,植物活性成分研究是阐释植物药的生物活性、临床疗效和毒性的必要手段,也是新药发现和创制的可行途径,更是中药药效物质基础研究、质量控制以及配伍合理性及作用规律研究的前提和基础。近些年来,随着国际上植物化学以及天然药物化学学科的迅速发展,大量的植物活性成分被研究和报道,形成大量、丰富的植物活性成分研究的信息源。但是,这些资料作为原始文献散在于成千上万的中外学

术期刊上,不能满足读者对植物活性成分的系统了解、方便查阅和迅速掌握的需要。

天津药物研究院在国家科技部和原国家药监局新药管理办公室支持下,在建立“植物活性成分数据库”的基础上,组织科研人员经过几年的艰苦努力编纂了大型工具书《植物药活性成分大辞典》。本套书分上、中、下共三册,共收载植物活性成分 8 719 个,共约 700 万字。正文中每个活性成分包含英文正名、中文正名、异名(异名之间用分号隔开)、化学名、结构式、分子式和分子量、理化性状(晶型、熔点、溶解性、旋光、紫外、红外、质谱、氢谱和碳谱)、植物来源、生物活性等内容。并于下册正文后附有三种索引——植物药活性成分中文名、植物药活性成分英文名和植物拉丁名索引。全书涵盖大量国内外专业期刊的翔实数据,内容丰富、信息量大,具有反映和体现信息趋时、简便实用的特色;作者在注重数据科学性、系统性的同时,着眼于全球药物研发前沿需求与我国市场实际应用的结合,为新药研究人员选题、立项、准确评价成果提供快速、简便、有效的检索途径,为植物药的开发生、利用提供疗效优异、结构独特的活性分子或先导化合物。

本套书的出版必将为我国“十二五”医药事业发展和天然药物产业发展提供翔实而可靠的科学数据和技术支撑,为促进植物药资源的利用,重大创新药物的研究以及促进特色产业的可持续发展提供趋时的数据资源和检索途径。

该书已批准列入“‘十二五’国家重点图书出版规划项目”,将于 2011 年 8 月由人民卫生出版社出版发行,大 16 开精装本,预计每套定价 650 元。