

黄酮类中药单体成分治疗类风湿性关节炎作用机制研究进展

刘 维¹, 孙 淳², 吴沅臻¹

1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193

2. 天津中医药大学, 天津 300193

摘 要: 类风湿性关节炎属于中医“痹证”范畴, 中药治疗类风湿关节炎历史悠久, 并且在临床中取得了确切的疗效。相关中药单体成分治疗类风湿性关节炎的药理学研究取得了较大进展, 其中黄酮类单体成分具有一定的代表性。因此, 对黄酮类中药单体成分治疗类风湿性关节炎的作用机制进行综述。

关键词: 黄酮类单体成分; 中药; 类风湿性关节炎; 细胞因子; 作用靶点

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)19-2878-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.19.027

Research progress on mechanism of flavonoid monomers isolated from Chinese materia medica for rheumatoid arthritis treatment

LIU Wei¹, SUN Chun², WU Yuan-hao¹

1. The First Hospital Affiliated to Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Rheumatoid arthritis (RA) belongs to “arthralgia syndrome” in the field of traditional Chinese medicine (TCM). Chinese materia medica has been confirmed to be an effective therapy in long-term TCM clinical practice to treat RA. Progress in the pharmacology research of Chinese medicinal monomers has been made in recent years. This paper reviews the mechanism of flavonoid monomers isolated from Chinese materia medica for RA treatment.

Key words: flavonoid monomer; Chinese materia medica; rheumatoid arthritis; cell factor; target

类风湿性关节炎(RA)是一种以侵蚀性关节炎为主要表现的全身性自身免疫疾病, 本病表现为以双手和腕关节等小关节受累为主的对称性、持续性多关节炎, 病理表现为关节滑膜的慢性炎症、血管翳形成, 并出现关节的软骨和骨破坏, 最终可导致关节畸形和功能丧失。目前尚未完全清楚类风湿性关节炎的发病机制, 如何有效地防治类风湿性关节炎已经引起临床的普遍关注。中药治疗类风湿性关节炎不仅历史悠久、来源广泛、种类丰富, 而且药理作用复杂多样, 在临床上取得了一定疗效, 具有独特的优势。因此, 从天然药物中寻找抗类风湿药已成为研究热点, 其中黄酮类单体成分具有一定的代表性。本文根据近年来文献报道, 归纳总结了黄酮类单体成分治疗类风湿性关节炎的作用机制, 为从天然药物中筛选治疗类风湿性关节炎药物提供一定的依据。

黄酮类成分木犀草素(luteolin)存在于菊花、金银花等多种中药中, 槲皮素(queracetin)存在于槐米、桑叶、银杏叶、三七等中药中, 川陈皮素(nobiletin)主要存在于芸香科植物川橘果皮中, 金雀异黄素(genistein)主要存在于豆科植物中, 表没食子儿茶素酸酯(EGCG)来源于茶叶, 橙皮素(hesperetin)和橙皮苷(hesperidin)是芸香科柑橘属药用植物果实的主要有效成分, 葛根素(puerarin)由豆科植物野葛的干燥根中提取分离得到, 芦丁(rutin)在自然界分布广泛, 主要来源于连翘、槐米、夏枯草、益母草等多种中药。黄酮类单体成分作用机制复杂, 黄酮类中药单体成分治疗类风湿性关节炎的作用靶点见表1。

1 作用于T细胞和细胞因子

木犀草素通过抑制小鼠白细胞介素-2(IL-2)

收稿日期: 2014-05-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81273709); 天津市高等学校科技发展基金计划(20120220)

作者简介: 刘 维(1962—), 女, 天津人, 教授, 博士, 博士生导师, 研究方向为中医内风湿病学。Tel: (022)27432720 E-mail: fengshiliuwei@163.com

表 1 黄酮类中药单体成分治疗类风湿性关节炎的作用靶点

Table 1 Targets of flavonoids monomer isolated from Chinese materia medica for RA treatment

靶点	木犀草素	槲皮素	川陈皮素	金雀异黄素	EGCG	橙皮素/苷	葛根素	芦丁
IL-2	↓	↓				↓		
IFN- γ	↓	↓		↓				
NF- κ B	↓	↓		↓	↓		↓	
I κ B	↓	↓						
PGE ₂	↓	↓	↓					
COX-2	↓	↓	↓	↓				
IL-4				↑				
ERK		↓		↓			↓	
JNK	↓	↓					↓	
p38	↓	↓						
AP-1	↓							
MMP-1	↓	↓	↓	↓				
MMP-2				↓				
MMP-3	↓	↓	↓			↓		
MMP-9				↓				
TIMP-1			↓					
TGF- α	↓							
IL-6	↓		↓			↓		↓
ADAMTS-4			↓					
ADAMTS-5			↓					
IL-8	↓							
IL-15	↓							
TGF- β	↓							
p53		↑						
caspase-3		↑				↑		
caspase-9		↑						
Mcl-1					↓			
AKT				↓				
Stat3						↓		
Jak2						↓		
Bax						↑		
Bcl-2						↓		
TNF- α		↓	↓	↓		↓		↓
IL-10						↑		
VEGF				↓				
IL-1			↓	↓		↓		↓
细胞增殖	↓	↓		↓	↓	↓		
细胞凋亡	↑	↑		↑	↑			
NO 释放								↓

“↑”表示增加或上调，“↓”表示减少或下调

“↑” increase or rise, “↓” reduce or fall

mRNA、 γ 干扰素 (IFN- γ) mRNA 的表达来抑制 T 细胞的增殖和活化^[1], 抑制小鼠核转录因子- κ B (NF- κ B)、p65 蛋白入核和 NF- κ B 抑制蛋白 α (I κ B α) 的磷酸化, 通过 NF- κ B 信号通路抑制 T 细胞的功能, 从而产生抑制免疫的作用^[2]; 还可显著地抑制脂多糖 (LPS) 诱导的前列腺素 E₂ (PGE₂) 的生成, 降低 NF- κ B 的 DNA 结合活性, 下调 LPS 诱导的环氧酶-2 (COX-2) mRNA、NF- κ B 和 COX-2 蛋白的表达, 产生抗炎作用^[3]。槲皮素能通过非依赖机制抑制 IFN- γ 和 IL-2 细胞因子产生, 抑制 T-bet 依赖的 IFN- γ 产生和减少 IL-2R α 依赖的 IL-2 表达^[4]。金雀异黄素显著抑制 IFN- γ 的分泌, 促进 IL-4 产生, 调节辅助型 T 细胞 1 型 (Th1) 优势免疫应答, 保持 Th1/Th2 平衡, 减轻胶原诱导型关节炎 (CIA) 大鼠的炎症反应^[5]。金雀异黄素还可以抑制 COX-2 阳性细胞生长, 抑制 NF- κ B 的表达来诱导细胞凋亡^[6]。乙酰化的葛根素衍生物脂溶性和生物利用度增强, 能显著抑制 LPS 激活的 RAW264.7 细胞中 NF- κ B 的表达, 并下调磷酸化细胞外信号调节激酶 (p-ERK) 和磷酸化氨基末端蛋白激酶 (p-JNK) 的水平^[7]。EGCG 通过显著抑制鼠 RAW264.7 细胞中 NF- κ B 的转录活性和核转位, 抑制破骨细胞生成^[8]。

2 作用于软骨细胞

基质金属蛋白酶 (MMP) 是导致类风湿关节炎滑膜基质降解的重要因素, 研究发现木犀草素能抑制丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路中的 JNK 与 p38 蛋白及激活蛋白-1 (AP-1) 与 NF- κ B, 减少 MMP-1、MMP-3 的分泌和转化生长因子- α (TGF- α) 与 IL-6 的表达^[9]。研究表明, 槲皮素能抑制未经刺激的及 IL-1 β 诱导的类风湿关节炎滑膜成纤维细胞 (RASf) 增殖和 MMP-1、MMP-3、COX-2 mRNA 和蛋白的表达, 降低 IL-1 β 诱导的 PGE₂ 产物量, 还能下调细胞外调节蛋白激酶 (ERK)-1/2、p38、JNK 磷酸化水平和 IL-1 诱导的 NF- κ B 的活化, 提示槲皮素能改善类风湿性关节炎骨破坏^[10]。含血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶-4 (ADAMTS-4) 和 ADAMTS-5 已被证明在类风湿性关节炎软骨破坏中发挥重要作用, 川陈皮素干扰体外培养类风湿关节炎滑膜成纤维细胞 (RASf) 中 IL-1 β 介导的 ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 的 mRNA 表达, 还能抑制 CIA 小鼠关节组织中 ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 的 mRNA 表达, 抑制软骨中聚蛋白多糖酶介导的蛋白聚糖降解, 从而抑制 CIA 小鼠的软

骨破坏^[11]。研究发现, sc 橙皮苷大鼠关节弹性蛋白酶、NO、脂质过氧化稳定增加, 而还原型谷胱甘肽、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性则明显降低^[12]。CIA 关节软骨的侵蚀破坏是由自由基引起的, 自由基被激活的中性粒细胞释放出来或由其他生化途径产生, 结果表明橙皮苷对治疗类风湿性关节炎有一定效果。采用橙皮素处理 SW982 细胞, 可以显著抑制 IL-1 β 诱导的 JNK 磷酸化和 MMP-3 的产生^[13]。

3 作用于成纤维细胞

木犀草素能够减少 CIA 小鼠 MMP-1、MMP-3 的分泌和 IL-6、IL-8、IL-15、TGF- β 的表达, 从而抑制 RASf 增殖, 并部分阻碍其致病作用^[14]。研究表明, 槲皮素剂量依赖性地促进 RASf 的凋亡, 同时提高半胱氨酸蛋白酶-3 (caspase-3) 和 caspase-9 酶切效率, 引起线粒体膜电位浓度依赖性下降和细胞色素 C 向胞浆释放, 降低 Bcl-2/Bax 值, p53 在槲皮素诱导的 RASf 的凋亡过程中发挥着重要的作用, 槲皮素能提高 p53 蛋白在丝氨酸 15 位点磷酸化水平^[15]。金雀异黄素可以下调 MAPK 信号转导通路的酪氨酸激酶水平, 抑制 ERK 的磷酸化, 抑制 CIA 大鼠 RASf 的增殖^[16]; 还能够下调 PI3K/AKT 信号转导通路的酪氨酸激酶水平, 抑制蛋白激酶 B (AKT) 的磷酸化, 调节 CIA 大鼠 RASf 增殖与凋亡的平衡^[17]。骨保护素 (OPG) 具有拮抗 NF- κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 的生物功能, 可减少 RANKL 与 NF- κ B 受体活化因子 (RANK) 的结合及骨质吸收, 金雀异黄素通过与雌激素受体结合, 转入核内发挥免疫调节作用, 上调 RASf 中 OPG 及 RANKL 水平, 提高 OPG/RANKL 值, 发挥抑制骨破坏的作用^[18]。EGCG 可诱导细胞凋亡, 通过特异性阻断 Mcl-1 蛋白的表达增加 RASf 对肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 诱导细胞凋亡的敏感性^[19]。5, 7, 3'-三乙酰橙皮素 (TAHP) 可抑制信号转导与转录激活因子 3 (Stat3) 的激活, 减少活化的 Janus 激酶 2 (Jak2) 的表达, 促进 Bax 及 caspase-3 表达, 抑制 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 的表达, 从而抑制 RASf 增殖^[20]。

4 作用于抗原呈递细胞

槲皮素以剂量依赖性方式显著抑制 TNF- α 的产生和基因表达, 通过调节 NF- κ B1 和 I κ B, 抑制促炎细胞因子 TNF- α 介导的外周血单个核细胞 (PBMC) 产生抗炎作用^[21]。佐剂诱导型关节炎 (AA) 模型小鼠实验表明槲皮素具有抗炎作用, 且预防靶点在

巨噬细胞的炎症反应^[22]。芦丁能够抑制活化的人巨噬细胞炎症相关的基因表达,减少 NO、TNF- α 、IL-1、IL-6 的释放^[23]。7, 3'-二甲氧基橙皮素能明显纠正 AA 大鼠低下的脾淋巴细胞增殖反应和抑制脾细胞 IL-2 的产生,从基因和蛋白水平降低腹腔巨噬细胞产生过高的 IL-1、TNF- α 水平,同时上调过低的 IL-10 水平^[24]。

5 作用于滑膜细胞

川陈皮素以剂量依赖性方式抑制人滑膜细胞中 IL-1 诱导的 PGE₂ 生成,选择性下调 COX-2 mRNA 表达,能够干扰鼠巨噬细胞中 LPS 诱导的 PGE₂ 生成和 IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 等促炎细胞因子的基因表达,还能下调 RASF 中 IL-1 诱导的基因表达和 MMP-1 前体及 MMP-3 前体的生成,同时增加内源性 MMP 抑制剂 TIMP-1 的产生^[25]。动物模型实验表明:金雀异黄素剂量依赖性抑制 RASF 分泌 TNF- α 和 IL-1 β ,产生抗 CIA 大鼠滑膜炎作用^[26];下调血管内皮生长因子(VEGF)和 MMP-1、2、9 的表达发挥抗滑膜血管新生作用^[27]。TAHP 能下调 AA 大鼠血清及滑膜组织中 IL-6 水平^[28]。

6 总结与展望

中药作用广泛,疗效可靠,具有广阔的开发前景。如何应用好这些药物,在发挥最大疗效的同时,尽可能地减少毒副作用是临床关注的重点。中药单体成分治疗类风湿性关节炎具有多靶点、多环节的特点,从天然产物特别是中药活性成分中筛选抗风湿作用单体成分,探讨其作用机制,寻找新的治疗靶点,是目前开发天然药物防治类风湿性关节炎研究的热点,意义重大且可行性强。但对大部分天然药物的研究还处于起步阶段,有些活性成分尚未明确,应进一步加强对其活性成分和作用机制的研究。本文对黄酮类中药单体有效成分抗类风湿性关节炎的作用机制进行了归纳和总结,以期从天然药物中筛选治疗类风湿性关节炎的活性成分、寻找新的治疗靶点提供参考。借助现代中药研究方法,深入探索其机制,将对中医药的发展产生深远的影响。

参考文献

- [1] 吴汉军,梁清华,曾光,等.木犀草素对 T 细胞 IL-2 mRNA、IFN- γ mRNA 表达的影响[J].现代生物医学进展,2009(8):1413-1415.
- [2] 吴汉军.木犀草素对活化 T 细胞 NF- κ B 及 I κ B- α 的调节作用[D].长沙:中南大学,2009.
- [3] 张毅,王旭光.木犀草素的体外抗炎机制研究[J].

广州中医药大学学报,2007(3):231-234.

- [4] Yu E S, Min H J, An S Y, *et al.* Regulatory mechanisms of IL-2 and IFN γ suppression by quercetin in T helper cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76(1): 70-78.
- [5] Wang J, Zhang Q, Jin S, *et al.* Genistein modulate immune responses in collagen-induced rheumatoid arthritis model [J]. *Maturitas*, 2008, 59(4): 405-412.
- [6] Lee Y K, Park O J. Soybean isoflavone genistein regulates apoptosis through NF- κ B dependent and independent pathways [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2013, 65(1): 1-6.
- [7] Xiao C, Li J, Dong X, *et al.* Anti-oxidative and TNF- α suppressive activities of puerarin derivative(4AC)in RAW264. 7 cells and collagen-induced arthritic rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 666(1): 242-250.
- [8] Lin R W, Chen C H, Wang Y H, *et al.* (-)-Epigallocatechin gallate inhibition of osteoclastic differentiation via NF- κ B [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(4): 1033-1037.
- [9] Choi E M, Lee Y S. Luteolin suppresses IL-1 β -induced cytokines and MMPs production via p38 MAPK, JNK, NF- κ B and AP-1 activation in human synovial sarcoma cell line, SW982 [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(10): 2607-2611.
- [10] Sung M S, Lee E G, Jeon H S, *et al.* Quercetin inhibits IL-1 β -induced proliferation and production of MMPs, COX-2, and PGE₂ by rheumatoid synovial fibroblast [J]. *Inflammation*, 2012, 35(4): 1585-1594.
- [11] Imada K, Lin N, Liu C, *et al.* Nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, suppresses gene expression and production of aggrecanases-1 and-2 in collagen-induced arthritic mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(2): 181-185.
- [12] Umar S, Kumar A, Sajad M, *et al.* Hesperidin inhibits collagen-induced arthritis possibly through suppression of free radical load and reduction in neutrophil activation and infiltration [J]. *Rheumatol Int*, 2013, 33(3): 657-663.
- [13] Choi E M, Lee Y S. Effects of hesperetin on the production of inflammatory mediators in IL-1 β treated human synovial cells [J]. *Cell Immunol*, 2010, 264(1): 1-3.
- [14] Hou Y, Wu J, Huang Q, *et al.* Luteolin inhibits proliferation and affects the function of stimulated rat synovial fibroblasts [J]. *Cell Biol Int*, 2009, 33(2): 135-147.
- [15] Xiao P, Hao Y, Zhu X, *et al.* p53 Contributes to quercetin-induced apoptosis in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. *Inflammation*,

- 2013, 36(2): 272-278.
- [16] Zhang X Z, Zhang Y, Shen W G. Effect of genistein on MAPK signal pathway in the collagen-induced arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. *Chin J Integr Tradit Western Med*, 2011, 31(10): 1405-1408.
- [17] 张育, 张学增, 沈维干, 等. 金雀异黄素对 CIA 大鼠成纤维样滑膜细胞增殖, 凋亡及其机制的研究 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(8): 1161-1165.
- [18] 王燕茹, 张育, 沈维干, 等. 金雀异黄素对类风湿关节炎患者成纤维样滑膜细胞骨保护素/细胞核因子 κ B 受体活化因子/细胞核因子 κ B 受体活化因子配体通路的影响 [J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2013(4): 326-329.
- [19] Ahmed S, Silverman M D, Marotte H, *et al.* Down-regulation of myeloid cell leukemia 1 by epigallocatechin-3-gallate sensitizes rheumatoid arthritis synovial fibroblasts to tumor necrosis factor α -induced apoptosis [J]. *Arthritis Rheumatism*, 2009, 60(5): 1282-1293.
- [20] 任丹阳, 徐涛, 黄成, 等. 5, 7, 3'-三乙酰橙皮素对 AA 大鼠成纤维样滑膜细胞 Jak2/Stat3 信号通路及凋亡相关蛋白的影响 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(8): 1063-1068.
- [21] Nair M P, Mahajan S, Reynolds J L, *et al.* The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (tumor necrosis factor α) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF- κ B system [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2006, 13(3): 319-328.
- [22] Mamani-Matsuda M, Kauss T, Al-Kharat A, *et al.* Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decreased macrophage inflammatory mediators [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(10): 1304-1310.
- [23] Kauss T, Moynet D, Rambert J, *et al.* Rutin decreases human macrophage-derived inflammatory mediators and improves clinical signs in adjuvant-induced arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(1): R19.
- [24] Li R, Cai L, Xie X, *et al.* 7, 3'-dimethoxy hesperetin inhibits inflammation by inducing synovial apoptosis in rats with adjuvant-induced arthritis [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2013, 35(1): 139-146.
- [25] Lin N, Sato T, Takayama Y, *et al.* Novel anti-inflammatory actions of nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, on human synovial fibroblasts and mouse macrophages [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 65(12): 2065-2071.
- [26] Gao B, Zhang Y, Ma L, *et al.* Effects of genistein on interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α secreted by fibroblast-like synoviocytes isolated from type II collagen-induced arthritis rats [J]. *J Chin Integr Med*, 2009, 7(7): 636-641.
- [27] Xu J X, Zhang Y, Zhang X Z, *et al.* Anti-angiogenic effects of genistein on synovium in a rat model of type II collagen-induced arthritis [J]. *J Chin Integr Med*, 2011, 9(2): 186-193.
- [28] Ren D Y, Xu T, Li R, *et al.* 5, 7, 3'-Triacetyl hesperetin suppresses adjuvant-induced arthritis in rats through modulating JAK2/STAT3 pathway [J]. *Am J Chin Med*, 2013, 41(3): 601-614.