

雷公藤甲素对生殖系统毒性的研究进展

黄郑隽, 阙慧卿, 朱 惠, 钱丽萍, 林 绥*

福建省医学科学研究院 福建省医学测试重点实验室, 福建 福州 350001

摘 要: 雷公藤甲素为雷公藤的主要活性成分之一, 也是雷公藤片、雷公藤多苷片等制剂的主要有效成分。它具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节等药理作用, 是热点研究的天然活性化合物。但是, 雷公藤甲素的副作用在很大程度上影响了其在临床上的应用, 其中对生殖系统的毒性及抗生育作用尤为明显, 特别是对雄性生殖系统的影响。综述了雷公藤甲素对男性睾丸、附睾和精子等, 以及对女性生殖系统的损害及作用机制, 并建议系统开展配伍减毒增效的研究, 实现对配伍雷公藤甲素安全窗口的拓宽优化, 为安全有效地应用于临床提供有力依据。

关键词: 雷公藤; 雷公藤甲素; 生殖; 毒性

中图分类号: R994.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2013)03-0224-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.03.017

Research progress in toxicity of triptolide on reproductive system

HUANG Zheng-jun, QUE Hui-qing, ZHU Hui, QIAN Li-ping, LIN Sui

Fujian Provincial Key Laboratory of Analysis, Institute of Medical Sciences of Fujian Province, Fuzhou, 350001, China

Abstract: Triptolide is one of the main active constituents in *Tripterygium wilfordii*. It is the main effective component of *T. wilfordii* preparations. Triptolide has the anti-inflammatory, antitumor, and immunomodulatory effects, which is a natural active drug attracting research focus. However, to a large extent, the side effects of triptolide limited the clinical applications. The toxicities on the reproductive system and the antifertility effect are particularly obvious, especially the male reproductive system. In this paper, the information was collected and analyzed to summarize the damage mechanisms of triptolide on male testes, epididymis, sperm, and female reproductive system as well. Besides, the further studies should be carried out on the detoxification and enhancement action, so as to broaden and optimize the security window of triptolide, and to provide a powerful basis for its safety and effect on the clinical application.

Key words: *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; triptolide; reproduction; toxicity

雷公藤甲素 (triptolide) 亦称雷公藤内酯醇, 是从卫矛科雷公藤属植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 中提取得到的环氧二萜内酯类化合物, 为雷公藤的主要活性成分之一^[1]。雷公藤甲素是雷公藤片、雷公藤多苷片等制剂的主要有效成分, 近年来的药理和临床研究表明其有抗炎^[2-3]、抗肿瘤^[4-8]、免疫调节^[9-11]等药理作用, 是热点研究的活性天然产物之一^[12]。但是, 雷公藤甲素的副作用在很大程度上影响了其在临床上的应用, 其中对生殖系统的毒性及抗生育作用尤为明显, 特别是对雄性生殖系统的影响^[13-14]。从临床上出现的不良反应以及临床前动物实验显示: 雷公藤甲素会造成患者

精液中精子活性和浓度下降; 实验大鼠曲细精管管腔内生精细胞数量减少, 排列不齐、脱落, 或融合成多核巨细胞, 精子发生受阻或发育停滞等^[15-17]。本文就近年来国内外对雷公藤甲素生殖系统毒性和抗生育作用的研究情况进行了综述。

1 对雄性生殖系统的影响

1.1 对睾丸的影响

睾丸是男性的主要生殖器官, 具有精子发生和雄性激素合成两大生理功能^[18]。雷公藤甲素对睾丸的生精功能、睾丸组织标志酶均有影响。

1.1.1 对睾丸生精功能的影响 睾丸内的各级生精细胞在正常情况下是有规律、按周期以及同步发育

收稿日期: 2013-02-01

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2013J01367); 福建省科技重大专项 (2009YZ0001-1-3); 福建省省属公益类科研院所基本科研专项 (2011R1034-3); 福建省卫生厅青年科研基金项目 (2012-1-14)

*通信作者 林 绥 Tel: 13605948318 E-mail: linsui_syy@sina.com.cn

的。精子在产生过程中不仅在结构形态上发生改变,而且核酸、蛋白质、脂类代谢和糖类代谢也发生了变化。因此,各级生精细胞在睾丸中具有不同的生理、生化功能,所以雷公藤甲素的生殖毒性所引起的各类细胞受损程度也存在差异。

刘良等^[19]在研究雷公藤甲素亚慢性中毒对昆明种小鼠肾脏及睾丸的影响时观察到,实验组小鼠在给雷公藤甲素 60 d 后,小鼠睾丸脏器系数降低明显,且间质水肿,在近白膜侧生精小管内细胞数量减少。其中,低剂量(25 $\mu\text{g}/\text{kg}$)组主要使精子和晚期生精细胞(即精子细胞和次级精母细胞)受损;而在高剂量(100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)组中,出现各级生精细胞均显著减少,残存的精原细胞发生水肿,精母细胞核内的染色质聚集成不规则的团块状,且胞浆内出现线粒体肿胀、高尔基体减少及内质网扩张等现象。说明雷公藤甲素的生殖毒性作用是一种蓄积毒性过程。吴建元等^[18]给小鼠 ig 雷公藤片 105 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ (含雷公藤甲素 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$),连续 4 周给药后小鼠睾丸生精小管内的初级精母细胞和精子显著减少,精原细胞和支持细胞的数量也有所降低。且管腔内可以看到退变脱落的生精细胞,其中尤以圆形精子细胞较多见,少数管腔内还可以看到多核巨细胞,并且生精上皮细胞排列出现严重紊乱。

1.1.2 对睾丸组织标志酶的影响 运动获能和顶体反应是衡量受精能力的两个重要指标。酸性磷酸酶(ACP)在受精过程中起至关重要的作用,当精子获能和发生顶体反应时,顶体释放 ACP,且 ACP 贯穿于顶体的不同发育期。透明质酸酶(HAse)具有溶解含透明质酸的卵丘的作用,进而使精子更易穿过卵细胞的放射冠,并冲破卵黄囊进入到卵子内,直至与卵子融合生长发育^[20]。林元藻等^[21]选用 Wistar 大鼠 ig 雷公藤甲素 30 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,于 12 d 后对睾丸组织匀浆中的生化指标进行检测,结果显示睾丸中 ACP、HAse 的活性显著降低,提示雷公藤甲素可影响精子获能和受精过程。

一氧化氮合酶(NOS)是内源性 NO 合成的限速酶,在组织中有两种类型,即原型一氧化氮合酶(eNOS)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)^[22]。其中 eNOS 的正常表达能够抑制血小板聚集、调节血流、防止白细胞黏附和血管痉挛,维持器官血流量,从而保护组织细胞^[23];而 iNOS 在正常情况下不表达,然而若其表达过度,则 NO 与 O_2 之间的动态平衡可能受到破坏^[24-25]。吴建元等^[18]研究了雷公藤片对小

鼠睾丸组织产生毒性的分子机制,结果显示雷公藤甲素可抑制睾丸组织原型 eNOS 的表达,提示其生殖系统毒性和其阻碍睾丸组织微循环有关。

1.1.3 对睾丸相关激素的影响 雷公藤甲素对雄性大鼠下丘脑-垂体-性腺轴没有明显的作用。丁菊红等^[26]将雷公藤甲素在抗生育剂量 50 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 下给予雄性大鼠,结果血清中的卵泡刺激素、黄体生成素和睾酮均无明显影响,提示抗生育剂量的雷公藤甲素对血中生殖激素水平无影响,且垂体细胞正常贮存和释放黄体生成素^[27]。但对雌性大鼠的研究中,血清中卵泡刺激素、黄体生成素和催乳素升高,卵巢雌二醇下降^[28]。在离体研究中,高剂量的雷公藤甲素对垂体细胞分泌黄体生成素抑制明显,提示垂体细胞可能还受体内其他因素的影响。

1.2 对附睾的影响

附睾是精子的运行通道和贮存场所,也是其成熟的重要器官。精子在附睾内的成熟过程主要包括其获得运动和自然受精的能力,涉及精子所发生的一系列生化、生理及形态改变^[29]。其中附睾上皮通过分泌和吸收来实现对内环境的恒定,雷公藤甲素就是通过对附睾上皮的作用来干扰其分泌和吸收功能,从而改变内环境,阻碍精子成熟。同时雷公藤甲素也对精子有直接作用,影响其正常的成熟过程。

1.2.1 对附睾形态和分泌功能的影响 雷公藤甲素对于附睾的影响甚为明显,比如它可使附睾的质量下降,并改变其分泌行为。雷公藤甲素能够显著降低附睾液中的 α -糖苷酶和肉毒碱的含量,然而不影响附睾头部匀浆中的碱性磷酸酶和 α -糖苷酶的活性,提示雷公藤甲素对神经细胞的功能环节并无作用,而是通过抑制附睾上皮的分泌行为导致附睾内环境改变进而阻碍精子成熟,并促使附睾精子停止运动,阻碍受精能力,最终导致不育^[30]。

1.2.2 对附睾精子的影响 雷公藤甲素对附睾精子的影响比较显著^[31],它并不促使精子头部的畸形,而是造成精子颈体的弯曲,后弯曲到一定程度会形成精子头尾分离的现象,叶惟三等^[32]研究提示这可能跟雷公藤甲素直接作用在精子骨架导致线粒体鞘的结构和功能发生改变所致。

1.3 对精子核蛋白组型的影响

精子细胞在睾丸中成熟分化,在此过程中,精核蛋白能够取代组蛋白,后逐步成为成熟精子中和 DNA 结合的主要核蛋白,继而形成有别于体细胞的精子核内染色质的特殊结构。将抗生育剂量的雷公

藤甲素对大鼠 ig 7 周, 可以检测到精子核中的总碱性蛋白含量有所下降, 精核蛋白含量也下降, 但总组蛋白/精核蛋白的比值有所升高, 故阻碍精子核蛋白组型的转换, 使精子不能成熟是雷公藤甲素导致大鼠不育的重要原因之一^[33-34]。

1.4 对雄性生殖系统毒性的可逆性

我国学者已发现口服雷公藤可致男性精子计数下降, 停药后可恢复正常。动物实验表明雷公藤可使雄性大鼠产生可逆性不育^[35]。连续服用雷公藤制剂 2 个月, 可使男性患者精子数明显减少、精子活率下降达不育水平, 停药 2 个月后可恢复。林光等^[36]观察了雷公藤对雄性猕猴的抗生育作用的可逆性, 停药后 10、8、4 周其射出精子密度和活率恢复到药前水平, 交配实验亦证实各受试猴已恢复使雌猴受孕的能力。

2 对雌性生殖系统的影响

雷公藤甲素对女性生殖系统的损害主要表现为闭经、月经减少、卵巢早衰等。女性患者在服用雷公藤制剂后, 出现月经紊乱或闭经的概率可以达到 65.1%^[35-37]。卜凡靖等^[38]报道女性服用雷公藤制剂 30~70 d, 即可引起月经减少或增多、紊乱乃至闭经。史建辉等^[39]报道雷公藤制剂所致的闭经患者, 停药雷公藤并经中西医治疗数年, 仍无月经, 提示雷公藤可能导致不可逆的闭经。

雷公藤甲素对女性生殖系统损伤的可逆性研究尚存在争议。根据临床案例提示, 雷公藤甲素对女性生殖系统损害是否可逆与用药的疗程和剂量呈正相关, 且可能还与女性患者的年龄有关, 年轻患者停药后恢复的可能性较年长患者大^[40]。郝丽等^[41]对曾经服用雷公藤制剂后停药的女性患者观察了 3 个月, 发现闭经不能恢复的患者多是此前用药疗程较长和剂量较大者。

对雌性大鼠的实验研究提示雷公藤能够抑制雌鼠的卵巢和子宫内膜功能。王桂玲等^[42]报道长期大剂量使用雷公藤, 可致大鼠动情周期紊乱; 卵巢指数和子宫指数下降; 卵巢萎缩明显, 始基卵泡数、总卵泡数、生长卵泡数、卵泡颗粒细胞层和黄体减少, 窦前卵泡闭锁增多, 间质增生; 在电镜下可以看到卵巢组织细胞核固缩, 核周隙加宽, 核膜部分消失, 粗面内质网扩张, 线粒体结构受损或消失, 胞质与线粒体空泡样变, 子宫内膜变薄。

3 对策与展望

雷公藤甲素为雷公藤的主要活性成分和毒性成

分, 其毒性又可诱发多种毒性, 且安全窗口窄, 建议应系统开展雷公藤甲素的减毒增效研究, 拓宽安全窗口, 以提高雷公藤甲素制剂的安全性和有效性。首先, 应以医药相关理论为基础, 结合临床用药配伍的实际情况, 同时应用现代常用的药物筛选法, 对雷公藤甲素配伍减毒增效的药物进行筛选研究, 筛选出一些能够使雷公藤甲素减毒增效的药物。其次, 在找到与雷公藤甲素配伍减毒增效的药物之后, 还应进行“量-时-效”关系的研究, 弄清量效和时效关系。最后, 基于各种医药和分析理论, 结合科学的实验设计的方法, 实现对配伍雷公藤甲素安全窗口的拓宽优化, 为其安全有效地应用于临床提供有力的证据。

通过对雷公藤甲素研究的不断深入, 可以发现其在体内的化学性质稳定、生理活性强, 但是伴随着高生物活性, 还显示出较大的毒性, 这在很大程度上影响了雷公藤甲素的实际应用。因此, 如何在保持生物活性的同时, 又能减毒增效, 成为了当下迫切需要解决的问题。这就要求合理利用现代先进的研究方法, 开发出高效低毒的雷公藤甲素新剂型和配伍用药方法。且雷公藤甲素对雄性和雌性生殖系统的影响又可能存在一定的可逆性, 虽然目前这种可逆性的研究仍停留在临床观察和动物实验阶段, 机制还未明确, 这也提示可以利用雷公藤甲素的毒副作用, 使其在抗生育作用方面发挥作用。接下来有必要对雷公藤甲素抗生育作用的有效性和安全性方面作更深入的研究, 或可研制出安全可靠的避孕药。

参考文献

- [1] 吕燮余, 马鹏程, 张崇璞, 等. 雷公藤中雷公藤内酯醇 (T4) 的分离与结构测定 [J]. 中国医学科学院学报, 1990, 12(3): 157-161.
- [2] 舒达夫, 宋跃进, 李瑞林, 等. 雷公藤甲素和雷公藤醋酸乙酯提取物治疗类风湿性关节炎临床对照观察 [J]. 中西医结合杂志, 1990, 10(3): 144-146.
- [3] 夏志林, 郑幼兰. 雷公藤内酯醇的药理和临床研究 [J]. 中国药理学报, 1992, 8(6): 427-431.
- [4] Kupchan S M, Cout W A, Dailey R, et al. Triptolide and triptdiolide, novel antileukemic diterpenoid triepoxides from *Tripterygium wilfordii* [J]. *J Am Chem Soc*, 1972, 94(20): 7194-7195.
- [5] Zhang T M, Chen Z Y, Liu C. Antineoplastic action of triptolide and its effect on the immunologic functions in mice [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1981, 2(2): 128-131.
- [6] Shamon L A, Pezzuto J M, Graves J M, et al. Evaluation

- of the mutagenic, cytotoxic, and antitumor potential of triptolide, a highly oxygenated diterpene isolated from *Tripterygium wilfordii* [J]. *Cancer Lett*, 1997, 112(1): 113-117.
- [7] Tengchaisri T, Chawengkirtikul R, Rachaphaew N, *et al*. Antitumor activity of triptolide against cholangiocarcinoma growth *in vitro* and in hamsters [J]. *Cancer Lett*, 1998, 133(2): 169-175.
- [8] 肖婧薇, 江振洲, 刘 晶, 等. 雷公藤甲素对人胃癌细胞株 SGC-7901 增殖的抑制作用及其机制 [J]. 中草药, 2011, 42(6): 1174-1176.
- [9] 李志奎, 王长征, 钱桂生, 等. 雷公藤甲素对哮喘豚鼠肺内嗜酸性粒细胞 IL-5 等受体表达的影响 [J]. 免疫学杂志, 2002, 18(2): 102-106.
- [10] 林科雄, 王长征, 钱桂生. 雷公藤甲素对诱导 CD4⁺, CD8⁺T 细胞凋亡的作用 [J]. 免疫学杂志, 2000, 16(1): 24-26.
- [11] 李 玫, 吴宗贵, 秦永文, 等. 雷公藤甲素对体内外诱导 TNF 和 IL-6 的影响 [J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(3): 254-256.
- [12] 梅之南, 杨祥良, 徐辉碧. 雷公藤内酯醇的药理研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(9): 557-558.
- [13] 刘明星, 董 静, 杨亚江, 等. 雷公藤甲素的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(3): 170-174.
- [14] 郭艳红, 谭 昱. 雷公藤的毒性及其研究概况 [J]. 中药材, 2007, 30(1): 112-117.
- [15] 郭 燕, 张志荣. 雷公藤多甙对精子发生的影响 [J]. 基础医学与临床, 1998, 18(1): 69-69.
- [16] 卢清显, 沈晓明, 程 凯, 等. 雷公藤总甙对大鼠生精作用及主要脏器的影响 [J]. 中国医学科学院学报, 1990, 12(3): 203-206.
- [17] 钱叶勇, 石炳毅, 梁春泉, 等. 雷公藤多苷对肾移植受体生殖器官的影响作用 [J]. 中华泌尿外科杂志, 2002, 23(4): 209-211.
- [18] 吴建元, 肖玉玲, 丁 虹, 等. 雷公藤片对小鼠睾丸组织的毒性作用及其分子机制研究 [J]. 中药材, 2005, 28(3): 207-210.
- [19] 刘 良, 王战勇, 黄光照, 等. 雷公藤甲素亚慢性中毒对昆明种小鼠肾脏及睾丸的影响 [J]. 同济医科大学学报, 2001, 30(3): 214-217.
- [20] 季宇彬, 蒋 晖, 郎 朗, 等. 甲苯二异氰酸酯致小鼠睾丸脂质过氧化损伤及标志酶活力的变化 [J]. 毒理学杂志, 2005, 19(3): 225-226.
- [21] 林元藻, 彭少君, 陈世红, 等. 雷公藤甲素对大鼠睾丸组织代谢的影响 [J]. 武汉大学学报, 1999, 45(2): 200-202.
- [22] Zini A, Scublsinger D. Localiation of inducible nitric oxide synthaes in the normal postischemic rat testis [J]. *Fertil Seril*, 1996, 66: 205-209.
- [23] 孙小蓉, 方彦华, 黄光照. 雷公藤总生物碱对雄性大鼠睾丸影响的实验病理研究 [J]. 生殖与避孕, 1989, 9(2): 20-24.
- [24] Van't H R J, Armour K J, Smith L M, *et al*. Requirement of the inducible nitric oxide synthase pathway for IL-1-induced osteoclastic bone resorption [J]. *Proc Acad Sci USA*, 2000, 97(14): 7993-7998.
- [25] Gaillard T. Regulation by prostaglandin E2 of cytokine-elicited nitric oxide synthesis in rat liver macrophages [J]. *Biol Chem Hoppe Seyler*, 1992, 373(9): 897-902.
- [26] 丁菊红, 陶静藏, 张 琢. 雷公藤中有效化合物 T4 对大鼠生殖内分泌的影响 [J]. 男性学杂志, 1991, 5(3): 135-137.
- [27] 童建孙, 陶静藏, 丁菊红, 等. 雷公藤内酯醇(T4)对垂体分泌 LH 的影响 [J]. 男性学杂志, 1994, 8(1): 30-31.
- [28] 顾江红, 王永均, 孙丽珍, 等. 雷公藤治疗子宫内膜异位症的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 2001, 8(4): 244-245.
- [29] 周宗瑶, 王一飞. 附睾精子成熟功能研究进展 [J]. 生殖与避孕, 2003, 23(4): 238-243.
- [30] 丁菊红, 季 力, 钱绍祯. 雷公藤对人附睾功能的影响 [J]. 中国药学杂志, 1989, 24(1): 29-30.
- [31] Hikim A P S, Lue Y H, Wang C, *et al*. Posttesticular antifertility action of triptolide in the male rat: evidence for severe impairment of cauda epididymal sperm ultrastructure [J]. *J Androl*, 2000, 21(3): 431-437.
- [32] 叶惟三, 黄玉苓, 邓燕春, 等. 雷公藤多甙及单体 T4 对大鼠精子发生影响的初步观察 [J]. 中国医学科学院学报, 1991, 13(4): 235-240.
- [33] 费仁仁, 陈 晖, 戴文平, 等. 雷公藤单体 T4 对大鼠变态精子细胞核蛋白转换的影响 [J]. 生殖和避孕, 1996, 16(1): 46-48.
- [34] 戴文平, 刘 平, 韩玉华, 等. 雷公藤单体 T4、T7、T15 及雷公藤内酯醇对大鼠精子核蛋白组型的影响 [J]. 中国医学科学院学报, 1994, 16(1): 20-22.
- [35] 许 桦. 雷公藤多甙抗生育作用可逆性的研究 [J]. 药学报, 1988, 1: 22-24.
- [36] 林 光, 车 敏, 郑云忠, 等. 雷公藤内酯醇对雄性猕猴的抗生育药效及可复性观察 [J]. 上海实验动物科学, 2000, 20(1): 26-30.
- [37] 舒沪英, 张传芳, 黄光英. 雷公藤对月经的影响 (附 83 例临床分析) [J]. 华中科技大学学报: 医学版, 1987, 16(5): 352-353.
- [38] 卜凡靖, 于新果. 雷公藤多甙致育龄妇女闭经 11 例分析 [J]. 实用医技杂志, 2004, 11(2): 188.
- [39] 史建辉, 王敏捷, 刘秀典. 雷公藤致高促性腺激素闭经 2 例 [J]. 中国新药与临床杂志, 2003, 22(10): 635-636.
- [40] 周玲贞. 雷公藤对女性生殖系统的毒副作用及解毒方法研究进展 [J]. 甘肃中医, 2011, 24(2): 75-77.
- [41] 郝 丽, 卢 文, 林 辉, 等. 雌孕激素替代治疗雷公藤所致卵巢早衰的疗效观察 [J]. 中华肾脏病杂志, 2005, 21(3): 143-145.
- [42] 王桂玲, 任春娥, 王 丽. 雷公藤多甙对雌性大鼠不良反应的实验研究 [J]. 河北医药, 2009, 31(4): 416-418.