

氧化苦参碱抗慢性肝损伤的药理作用及其机制研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201204

摘要: 氧化苦参碱具有抗高脂饮食性、CCl₄性、CCl₄/酒精性、二甲基亚硝胺性、半乳糖胺性、免疫性慢性肝损伤作用。氧化苦参碱是通过抗氧化、抗炎作用, 减轻肝脏的氧化应激和炎症反应以及抑制成纤维细胞和肝星状细胞的活化以及细胞外基质生成, 产生抗肝纤维化作用。氧化苦参碱还可通过促进胰岛素信号转导, 改善胰岛素抵抗, 抑制肝细胞吸收长链脂肪酸和脂肪酸合成并加速游离脂肪酸的 β -氧化, 产生抗脂肪肝作用。

关键词: 氧化苦参碱; 慢性肝损伤; 肝脂肪变; 肝纤维化

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 07-1466-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.07.039

Research advances on effects of oxymatrine against chronic liver injuries

ZHANG Mingfa, SHEN Yaqin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co. Ltd., Shanghai 201204, China

Abstract: Oxymatrine has the effects to antagonize chronic liver injuries induced by high-fat diet, CCl₄, CCl₄ / alcohol, dimethylnitrosamine, galactosamine, and immunity. Oxymatrine alleviates oxidative stress and inflammation of liver by anti-oxidation and anti-inflammation, decreases hepatic fibrosis by inhibiting activation of HSC and fibroblast, and inhibits synthesis of extracellular matrix. Oxymatrine has the effect against fatty liver by promoting insulin signal transduction to alleviate insulin resistance, inhibiting hepatocyte to absorb the long chain fatty acid, decreasing synthesis of fatty acid, and accelerating β -oxidation of free fatty acid.

Key words: oxymatrine; chronic liver injury; steatosis; hepatic fibrosis

氧化苦参碱是苦参碱类生物碱中最具有代表性的药物之一。苦参碱类生物碱的生物活性广泛, 包括抗菌, 抗病毒, 抗炎, 免疫调节, 抗肿瘤, 保护心、肝、肺、肾、脑、血管, 对心脏有正性肌力、负性频率、抗心律失常作用, 还有升高白细胞, 平喘, 抗溃疡, 抗肝纤维化以及镇静、催眠、镇痛等中枢神经药理作用^[1-15]。在临床上苦参碱和氧化苦参碱已被用于治疗各种肝病、肿瘤和白细胞减少等疾病^[1,10-14]。

上海华山医院感染科主任张文宏教授^[17]指出“中国现在有大量慢性乙肝患者没有被有效发现, 其中活动性肝炎患者约2 800万, 真正得到治疗的患者仅在200万例到400万例。大多数未得到有效治疗的患者将来可能会进展到肝硬化和肝癌。在有较长乙肝病史的中老年人中40%~60%的病人都有肝纤维化、肝硬化的进展”。因此寻找能长期

治疗慢性肝损伤有效、低毒、廉价的药物是目前临床研究的一大课题。氧化苦参碱和苦参碱抗急性肝损伤的药理已被综述^[15-16]。本文综述氧化苦参碱抗各种慢性肝损伤作用及其可能的作用机制, 为临床开发苦参碱治疗慢性肝病提供参考。

1 抗高糖高脂饲料性脂肪肝

任路平等^[18-19]报道给高果糖喂养的小鼠连续8周ig氧化苦参碱40 mg/kg, 能显著对抗高果糖诱导的小鼠空腹血糖、空腹血胰岛素、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、葡萄糖耐量试验曲线下面积及肝脏三酰甘油(TG)水平升高, 并能显著升高胰岛素注射后肝内磷酸化蛋白激酶B/总蛋白激酶B表达的比值、磷酸化糖原合酶激酶-3 β /总糖原合酶激酶-3 β 表达的比值; 也能对抗高果糖诱导的大鼠空腹血糖、空腹血胰岛素、空腹血清胰岛素抵抗指数、ALT、门冬氨

酸氨基转移酶(AST)及肝脏TG水平升高,使肝组织内脂质沉积显著减轻,并认为氧化苦参碱是通过对抗高果糖上调内质网应激标志物葡萄糖调节蛋白78、增强子结合蛋白同源蛋白、磷酸化蛋白激酶R样内质网激酶、磷酸化肌醇必需酶-1和活化转录因子-6的基因和蛋白表达,改善肝脏内质网应激和胰岛素抵抗,产生抗脂肪肝作用。

王杏等^[20-22]采用高脂饲料诱导载脂蛋白E基因敲除(Apo^{-/-})小鼠胰岛素抵抗模型研究氧化苦参碱抗脂肪肝作用,发现连续8周给模型小鼠ig氧化苦参碱25、50、100 mg/kg,能剂量相关地降低模型小鼠体质量、空腹血糖、血清总胆固醇(TC)、TG、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、脂肪酸、空腹血糖胰岛素、空腹血清胰岛素抵抗指数水平,提高葡萄糖输注率,改善胰岛素抵抗。同时降低模型小鼠肝组织TC水平、脂蛋白脂酶、脂肪酸转位酶(FAT/CD36)、解偶联蛋白-2、固醇调节元件结合蛋白-1c、固醇调节元件结合蛋白裂解激活蛋白、胰岛素诱导基因-2、脂肪酸合酶、乙酰辅酶A羧化酶的基因和蛋白表达,上调肉毒碱棕榈酰基转移酶-1、固醇调节元件结合蛋白-2、羟甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMGCR)和低密度脂蛋白受体的基因和蛋白表达,并认为氧化苦参碱是通过下调模型小鼠肝脏成纤维细胞生长因子-21、 β -klotho、成纤维细胞生长因子-21受体-1的基因和蛋白表达,改善胰岛素抵抗,从脂质转运、氧化、合成3个环节全面调节脂质代谢,产生抗脂肪肝作用。

费雯婕等^[23-24]采用棕榈酸高脂诱导HepG₂肝细胞脂质沉积的体外细胞胰岛素抵抗模型研究氧化苦参碱抗脂肪肝作用:氧化苦参碱浓度为40、80、160 mg/L时,均能对抗棕榈酸诱导HepG₂肝细胞内TG水平升高、FAT/CD36基因和蛋白表达的上调、肉毒碱棕榈酰转移酶-1基因表达的下调、胰岛素信号通路相关指标胰岛素受体、胰岛素受体底物-1、蛋白激酶B、葡萄糖转运蛋白-4基因表达的下调,使磷酸化胰岛素受体底物-1/胰岛素受体底物-1的比值显著降低以及磷酸化蛋白激酶B/蛋白激酶B比值和葡萄糖转运蛋白-4水平显著升高;均能对抗棕榈酸诱导HepG₂肝细胞内活性氧、丙二醛水平升高、抗氧化酶总超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活性下降和棕榈酸对肝细胞增殖的抑制。体外细胞实验也证实氧化苦参碱可通过促进胰岛素信号转导,减轻高脂诱导的肝细胞胰岛素抵抗;通过抑制肝细胞对长链脂肪酸的吸收及增加游离脂肪酸的 β

氧化,减轻高脂所致的肝细胞内脂质沉积;通过抑制高脂诱导的氧化应激反应,减少活性氧生成,降低丙二醛含量,恢复抗氧化酶活性,进一步改善肝细胞的糖脂代谢,产生抗脂肪肝作用。

2 抗四氯化碳(CCl₄)性肝纤维化

甘乐文等报道^[25]在用CCl₄给大鼠制作肝纤维化模型的同时,每天ip氧化苦参碱30、60 mg/kg,连续12周,氧化苦参碱在造模4、9、12周均能降低模型大鼠血清ALT、IV型胶原、透明质酸、肿瘤坏死因子- α (TNF α)升高及肝脏染色图像分析所见纤维组织面积所占百分比升高,并减轻肝组织内炎症、纤维组织增生等病理变化。60 mg/kg剂量组的上述作用强于30 mg/kg组。

曾维政等^[26-28]报道在用CCl₄给大鼠制作肝纤维化模型的同时,每周2次ip氧化苦参碱10 mg/kg,连续8周,也能对抗CCl₄升高大鼠血清透明质酸、IV胶原、III前胶原、转化生长因子- β 1(TGF β 1)、N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶和N-乙酰- β -D-吡喃葡萄糖苷酶水平;对抗模型大鼠肝组织信号转导蛋白Smad3、Smad4的基因和蛋白表达的上调、Smad7的基因和蛋白表达的下调,使肝纤维化组织积分由3.6 $\pm$ 0.8降为1.9 $\pm$ 0.3、肝脏平均胶原面积由691 μ m²降为94 μ m²,肝组织病理学可见氧化苦参碱减轻模型大鼠脂肪变性、坏死、炎性细胞浸润及纤维组织增生,认为氧化苦参碱是通过抑制TGF β 1/Smad信号转导通路和上调抑制性Smad7表达,阻滞胶原纤维合成与沉积,产生抗肝纤维化作用。

周爱玲等^[29-31]采用给大鼠每周2次连续10周sc CCl₄制作肝纤维化模型,研究ip或足三里穴位注射氧化苦参碱80 mg/kg的抗肝纤维化作用,发现无论在第1次注射CCl₄当天开始连续10周ip或足三里穴位注射氧化苦参碱的预防组,还是CCl₄造模4周后连续6周ip或足三里穴位注射氧化苦参碱的治疗组,均能显著对抗CCl₄致大鼠血清ALT、AST、总胆汁酸、谷氨酰转氨酶、透明质酸和羟脯氨酸水平的升高,肝脏质量指数和肝丙二醛水平的升高,以及肝组织中基质金属蛋白酶-2的基因和蛋白表达以及基质金属蛋白酶组织抑制因子-2的基因表达的上调。光镜和电镜都能观察到氧化苦参碱明显减少模型大鼠胶原纤维沉积、假小叶结构,使肝细胞结构接近正常,Disse间隙、肝细胞内胶原纤维明显减少。ip和足三里穴位注射的4组氧化苦参碱预防和治疗组的上述作用强度无明显差异,提示氧化苦参碱是通过下调基质金属蛋白酶组织抑制因子-2

表达,促进细胞外基质降解,抑制细胞外基质沉积,以及下调基质金属蛋白酶-2表达,减轻基质金属蛋白酶-2对肝脏正常基底膜的破坏,间接抑制肝星状细胞的激活,阻滞肝纤维化进一步发展,从而减轻或逆转肝纤维化。宋健等^[32]也进行氧化苦参碱治疗和预防CCl₄性大鼠肝纤维化,sc氧化苦参碱100 mg/kg,结果氧化苦参碱预防组降低肝纤维化大鼠血清透明质酸、层黏蛋白、III型前胶原、ALT、总胆固醇水平和肝组织纤维化分期以及升高血清白蛋白水平方面都明显优于治疗组。

余小虎等^[33]报道CCl₄性大鼠肝纤维化于停用CCl₄后可出现缓慢的自然恢复过程,在9周的自然恢复期里仍可见到明显肝组织纤维条索和空泡变性,但纤维隔内成纤维细胞减少,多数大鼠肝纤维化仍处在II~IV期。如果在9周恢复期ip氧化苦参碱100 mg/kg,恢复过程大大加快:肝组织内炎性细胞浸润、肝细胞坏死和纤维组织增生均较自然恢复组明显减轻,多数为肝纤维化I~II期,肝组织I、III、IV型胶原表达阳性面积密度、TGF- β 1表达及血清肝功能ALT、AST、碱性磷酸酶水平也明显低于自然恢复组,血清白蛋白水平明显高于自然恢复组。

沈镭等^[34]给CCl₄性肝纤维化大鼠im氧化苦参碱20、40、80 mg/kg,进行8周治疗,均能降低肝纤维化大鼠血清透明质酸、层黏蛋白、III型胶原N端肽、IV型胶原的水平,使肝脏脂肪变和纤维化程度显著减轻,原先存在的假小叶由于肝细胞增殖而变大,但纤维隔变细,3个剂量组的上述作用无明显差异。白静丽等^[35]报道im氧化苦参碱60 mg/kg也能使CCl₄性肝纤维化大鼠血清透明质酸、层黏蛋白、III型前胶原、TGF- β 1水平显著下降,使血清低下的基质金属蛋白酶-2水平显著上升,认为氧化苦参碱通过下调肝纤维化大鼠血清TGF- β 1表达,升高基质金属蛋白酶-2水平,减少细胞外基质沉积,产生抗肝纤维化作用。唐东等报道^[36]每周2次iv氧化苦参碱2 mg/kg连续4周,无抗CCl₄性大鼠肝纤维化作用,但如将其制成纳米脂质体或精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)环肽修饰纳米脂质体、同样给药频次和剂量均能改善CCl₄性肝纤维化大鼠血清肝功能和肝纤维化指标(ALT、AST、透明质酸、层黏蛋白、IV型胶原),降低I型胶原 α 2链基因表达和 α -平滑肌肌动蛋白表达,使肝脏内胶原纤维面积占比由对照组的25.64%分别降为16.87%和9.09%,而单纯2 mg/kg氧化苦参碱组仅为25.10%。RGD环肽修饰的氧化苦参碱纳米脂质体的上述抗肝纤维化作用较未

修饰的氧化苦参碱纳米脂质体更为强大。而柴宁莉等^[37]采用每周3次im氧化苦参碱脂质体和RGD修饰的氧化苦参碱脂质体50 mg/kg,治疗CCl₄性大鼠肝纤维化,结果氧化苦参碱的2种制剂均能显著降低模型大鼠血清碱性磷酸酶水平和肝组织纤维化相关基因(基质金属蛋白酶组织抑制因子-1、基质金属蛋白酶-2)表达,减少肝组织细胞外基质沉积面积和减轻肝组织学损伤,并且也是RGD修饰的氧化苦参碱脂质体的治疗效果优于氧化苦参碱脂质体。

肝纤维化属于慢性病,需要长时间给药,因此口服给药更为便捷。陆伦根等^[38-39]在用CCl₄造模同时每天给大鼠ig氧化苦参碱30、60、120 mg/kg,进行12周的预防,3个剂量组均能对抗模型大鼠体重下降,肝脏质量指数升高,肝组织纤维化分期呈剂量相关地下降;免疫组织化学检查可见氧化苦参碱显著下调模型大鼠肝组织内的I、III、IV型胶原表达;电镜检查可见氧化苦参碱减轻模型大鼠肝细胞胞质疏松、胶原纤维形成、肝血窦纤维化、血窦壁下基底膜样物质生成等损伤;对抗CCl₄致肝纤维化大鼠血清透明质酸、层黏蛋白、IV型胶原N端肽和ALT水平升高,血清白蛋白水平下降。

邓子煜^[40]和陈小亮^[41]报道从CCl₄制作大鼠肝纤维化模型第5周开始,连续8周给大鼠ig氧化苦参碱30、60、120 mg/kg,均能对抗CCl₄升高大鼠血清ALT、AST、透明质酸、层黏蛋白、IV型胶原、III前胶原、I型胶原、TGF- β 1水平,肝组织羟脯氨酸、丙二醛水平;下调肝组织 α -平滑肌肌动蛋白、TGF- β 1、Smad2、Smad3表达和p38、c-jun氨基末端蛋白激酶、细胞外信号转导激酶1/2的磷酸化,上调肝组织Smad7表达和超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活性;肝组织病理学观察显示氧化苦参碱明显降低肝纤维化程度,改善肝组织结构,减轻胶原沉积。提示氧化苦参碱可通过抑制TGF- β 1/Smad通路的表达,阻滞p38丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路的激活,产生抗肝纤维化作用。

高志星等^[42-43]在用CCl₄给大鼠制作肝纤维化模型同时,连续10周ig氧化苦参碱60 mg/kg,可显著减轻模型大鼠肝纤维化程度分期和降低肝组织中I型胶原表达的平均密度值、核因子- κ B表达和血清TGF- β 1表达,并进一步上调肝组织I κ B α 表达和血清白介素(IL)-10表达,也表明氧化苦参碱抗肝纤维化与下调TGF- β 1表达有关。

李谦等^[44-45]在用CCl₄制作大鼠肝纤维化模型同时,给予ip氧化苦参碱60 mg/kg(1次/d,共10周)或

ip 氧化苦参碱 60 mg/kg(1次/d,共10周)联合 ip 维生素 E 15 mg/kg(2次/周,共10周),都能减轻肝组织学检查所见的假小叶肝细胞结节、肝细胞肿胀、变性、脂肪空泡和炎性细胞浸润,使纤维隔变细,氧化苦参碱联合维生素 E 组对肝组织的改善作用优于氧化苦参碱组;2个给药组均能降低模型大鼠肝组织中升高的网状胶原和基质金属蛋白酶组织抑制因子-1表达的阳性面积比,但2个给药组之间抑制表达的作用无差异;2个给药组对模型大鼠肝组织中升高的 α -平滑肌肌动蛋白表达的阳性面积比均无明显抑制作用,提示维生素 E 对氧化苦参碱抗肝纤维化作用无明显的相加作用。柴宁莉等^[46]报道,在用 CCl₄ 制作成大鼠肝纤维化模型后,给模型大鼠每周3次 im 氧化苦参碱 50 mg/kg 或每周3次 im 氧化苦参碱 50 mg/kg 联合每周1次 iv 骨髓间充质干细胞 5×10^6 个/只或每周1次 iv 骨髓间充质干细胞 5×10^6 个/只,均连续用药8周,结果与模型对照组比较,3个给药组均能降低血清 ALT、AST 水平,升高血清 IL-10、IL-4 水平,其中单用氧化苦参碱组升高 IL-4 作用不明显,以上作用都是氧化苦参碱联合骨髓间充质干细胞模型组强于单用氧化苦参碱组和单用骨髓间充质干细胞组。由于双光子显微镜显示骨髓间充质干细胞注射后没有定植在肝脏,而氧化苦参碱也不增加骨髓间充质干细胞定植在肝脏,推测氧化苦参碱联合骨髓间充质干细胞抗 CCl₄ 肝纤维化的协同作用与提高血清 IL-4、IL-10 水平有关。

3 抗其他类型的慢性肝损伤

余小虎等^[47-48]采用 sc CCl₄ 加饮用 10% 酒精的方法制作成大鼠肝纤维化后,给模型大鼠连续9周 ip 氧化苦参碱 100 mg/kg,与模型大鼠自然恢复组比较,肝组织纤维化和炎性细胞浸润的减轻程度显著优于自然恢复组,接近正常大鼠组;肝组织胶原面积密度由原先的(13.5±3.2)%显著降为(7.5±2.2)%,也显著低于自然恢复组的(10.4±3.0)%;降低肝组织 I、III、IV 型胶原、TGF- β 1 和 TNF- α 以及升高肝组织 IL-2、干扰素- γ 水平的作用也明显强于自然恢复组;降低血清 ALT、AST 作用也显著强于自然恢复组。

杨文卓等^[49]给大鼠每周连续3次 ip 二甲基亚硝胺 10 mg/kg,共3周,制作肝纤维化模型,如果在造模的同时连续4周 im 氧化苦参碱 30、90 mg/kg 进行预防或在造模1周后连续4周 im 氧化苦参碱 30、90 mg/kg 进行治疗,发现氧化苦参碱对二甲基亚硝胺诱导的肝纤维化都有明显的预防和治疗作用:都能降低模型大鼠血清 ALT、 γ -谷氨酰转肽酶、碱性磷酸

酶、总胆红素、直接胆红素水平,升高白蛋白/球蛋白比;降低模型大鼠肝组织中 TGF- β 1 的基因表达以及羟脯氨酸和丙二醛含量,升高超氧化物歧化酶活性;降低肝组织纤维化分期,减轻病理组织学改变并且显著降低脾脏质量指数。无论是预防还是治疗给药,30、90 mg/kg 氧化苦参碱的2个剂量组之间的作用都无明显差异。刘凌云等^[50]在用二甲基亚硝胺造模的同时给大鼠 ig 氧化苦参碱 100 mg/kg,共用药3周,能显著预防二甲基亚硝胺升高大鼠血清 ALT、碱性磷酸酶、透明质酸、层黏蛋白水平,下调白蛋白/球蛋白比的作用;预防肝组织丙二醛、羟脯氨酸含量升高和超氧化物歧化酶活性下降,肝组织纤维化和肝细胞坏死。小剂量阿米洛利能增强氧化苦参碱的上述预防肝纤维化作用。郑智武^[51]报道磁性聚乳酸羟基乙酸氧化苦参碱纳米粒可提高氧化苦参碱在小鼠肝脏中的浓度,在外加磁场时浓度进一步提高,抗二甲基亚硝胺性肝纤维化作用显著提高。

杨文卓等^[52]采用隔日1次 ip 半乳糖胺共12周的肝纤维化大鼠研究氧化苦参碱的抗肝纤维化作用,发现预防组(造模同时连续12周 im 氧化苦参碱 90 mg/kg)和治疗组(造模12周结束后连续4周 im 氧化苦参碱 90 mg/kg),都有抗肝纤维化作用:氧化苦参碱预防组能阻滞半乳糖胺升高血清 ALT、AST、总胆红素、直接胆红素水平。由于模型大鼠在4周自然恢复期使 AST 和总胆红素水平恢复正常,氧化苦参碱治疗组除保持 AST 和总胆红素水平在正常范围外,也使自然恢复组虽降低但仍处在高位的 AST、直接胆红素恢复到正常水平;能阻滞半乳糖胺诱导大鼠肝组织羟脯氨酸和丙二醛含量升高及 TGF- β 1 基因过表达,超氧化物歧化酶活性下降,与自然恢复组比较,氧化苦参碱能加速上述指标恢复正常;肝病理组织学检查可见,与模型组或自然恢复组比较,氧化苦参碱使 I、III 型胶原沉积减少,纤维间隔纤细、数量减少,肝纤维化分期显著降低,提示氧化苦参碱可能是通过抗脂质过氧化而保护肝细胞,抑制纤维增生,对半乳糖胺性肝纤维化产生预防和治疗作用。

成扬等^[53]采用每周1次连续20周 iv 刀豆蛋白 A 制作小鼠免疫性肝纤维化模型,并在造模同时每天 ip 氧化苦参碱 30、60 mg/kg,模型对照组小鼠在造模的 5、12、20 周时血清 ALT 及肝组织 TGF- β 1 基因表达水平由5周时的最高逐渐下降,而肝脏纤维组织面积占比升高随着造模时间的延伸进一步升高,肝

组织学检查也可见肝纤维化程度随着造模时间延伸不断加重。氧化苦参碱能对抗刀豆蛋白A所致的上述作用:降低血清ALT、肝脏TGF- β 1基因表达和肝组织胶原纤维含量,减轻肝组织内炎症活动度和胶原纤维增生,其中氧化苦参碱60 mg/kg剂量组的各项对抗作用均强于30 mg/kg剂量组。

康文臻等^[54]在给大鼠iv人血白蛋白制作大鼠免疫性肝纤维化模型同时ip氧化苦参碱50 mg/kg或造模结束后ip氧化苦参碱50 mg/kg,进行3个月的预防或治疗,研究发现氧化苦参碱无论是预防还是治疗,都能使模型大鼠肝脏在色泽、质地、大小及表面光滑度方面较模型对照组有明显改善;光镜检查可见肝组织内炎性细胞浸润、肝细胞坏死和纤维组织增生等方面均较模型对照组大鼠为轻,纤维隔较薄;明显抑制肝组织I、III型胶原基因表达和I、III型胶原含量。氧化苦参碱预防组的作用稍优于治疗组。赵宏伟等^[55]采用猪血清制作大鼠免疫性肝纤维化模型,在造模4周后开始ig氧化苦参碱30、60、120 mg/kg,进行8周的防治,发现氧化苦参碱呈剂量相关地降低模型大鼠肝脏胶原沉积和羟脯氨酸含量,血清ALT、TGF- β 1水平和升高血清IL-10水平。

4 抑制肝星状细胞增殖、活化和细胞外基质形成

肝星状细胞(HSC)又称储脂细胞,激活时呈类成纤维细胞特征,能合成胶原等细胞外基质,是肝纤维化细胞外基质的主要来源细胞,过度合成的细胞外基质发生异常沉积时可致肝纤维化,因此调控HSC在肝纤维化的治疗中具有非常重要的意义。

李继强等^[56]报道氧化苦参碱在0.25~16 mg/L时浓度相关地抑制大鼠HSC细胞增殖。陈从新等^[57]报道氧化苦参碱在5~500 mg/L不影响大鼠HSC细胞形态学,但能浓度相关地抑制HSC增殖、合成和分泌胶原,氧化苦参碱浓度在1 000 mg/L以上培养48 h,使HSC形态学发生变化(脂滴减少、透明度降低)。林明华等^[58-59]也报道氧化苦参碱抑制大鼠HSC细胞增殖和胶原合成,质量浓度在500 mg/L作用48 h可使HSC细胞胞体变小、胞突减少,多呈梭型、胞核变小等形态改变。卢清等^[60]报道氧化苦参碱能抑制大鼠HSC增殖和TGF- β 1自分泌,并发现只有CCl₄损伤肝脏后的枯否细胞(即被活化)对静止的HSC增殖有激活作用,而氧化苦参碱10⁻⁴ mol/L能对抗活化的枯否细胞分泌TGF- β 1和激活HSC增殖,因此认为氧化苦参碱除通过抑制HSC自分泌,也能通过抑制旁分泌(抑制枯否细胞分泌

TGF- β 1)的机制阻滞HSC活化。

曹芝君等^[61]采用大鼠的HSC-IG12细胞进行体外实验,发现氧化苦参碱200、400 mg/L作用48 h时均能抑制HSC-IG12细胞增殖(以抑制酸性磷酸酶活力为指标),氧化苦参碱在400 mg/L作用24、48、72 h均能抑制HSC-IG12细胞合成细胞外基质中的PIIIP及透明质酸,在48、72 h抑制PIP、IV型胶原、层黏蛋白合成,但200 mg/L氧化苦参碱抑制细胞外基质合成的作用弱于400 mg/L组。

平键等^[62]报道1 000 mg/L氧化苦参碱能抑制大鼠肝星状细胞HSC-T6的 α -平滑肌肌动蛋白的基因和蛋白表达以及I型胶原合成。韩海啸等^[63]报道氧化苦参碱100、200、400、800 mg/L均能抑制HSC-T6细胞生长,抑制率分别为35.44%、35.29%、41.37%、51.31%,使细胞周期滞留在G₀/G₁期,S期细胞减少、凋亡期细胞增多,即氧化苦参碱抑制HSC细胞增殖并诱导其凋亡。邓子煜^[40]和陈小亮^[41]报道氧化苦参碱0.01、0.1、1、10、100 mg/L可浓度相关地抑制TGF- β 1刺激HSC-T6细胞增殖,p38MAPK磷酸化、转化生长因子- β 1受体-I、Smad2、Smad3的蛋白表达,对抗TGF- β 1下调抑制型Smad7蛋白表达,提示氧化苦参碱是通过抑制TGF- β 1/Smad信号通路阻滞TGF- β 1激活HSC-T6细胞。

5 结语

氧化苦参碱不只是抑制HSC细胞增殖、活化和胶原形成,也抑制其他成纤维细胞增殖、活化以及胶原形成。伍严安等^[64]采用人皮肤成纤维细胞(幼儿皮肤瘢痕组织)进行实验,发现氧化苦参碱在浓度为1.77、3.54、8.85、17.70 mmol/L时,浓度相关地抑制成纤维细胞增殖,MMT法测得的增殖抑制率分别为27.7%、48.1%、76.9%、89.8%,当浓度低于8.85 mmol/L时,抑制作用是可逆的。氧化苦参碱对抗血小板源性生长因子刺激人成纤维细胞增殖的作用更强,在0.89、1.77、3.54 mmol/L的低浓度,MMT法测得的增殖抑制率分别为40.3%、90.3%、100%。朱樑等^[65]报道氧化苦参碱可浓度(62.5~1 000 mg/L)相关地抑制小鼠皮肤成纤维细胞NIH3T3增殖,使NIH3T3细胞形态呈梭型或圆型、胞体变小、胞突变少、核分裂期细胞减少,并抑制成纤维细胞表达TGF- β 1和III型前胶原。宋健等^[66]和熊伍军等^[67]报道氧化苦参碱质量浓度在50~1 600 mg/L时对NIH3T3细胞无细胞毒作用;在50~400 mg/L时浓度相关地抑制NIH3T3细胞增殖,使细胞周期滞留在G₁/G₀期、S期细胞减少、细胞增殖指数

降低,并抑制 NIH3T3 细胞合成细胞外基质透明质酸和Ⅳ型胶原。说明氧化苦参碱是通过阻止皮肤成纤维细胞活化和增殖,抑制细胞外基质合成,产生抗纤维化作用。提示氧化苦参碱对成纤维化有关的细胞都有抑制作用,对包括肝在内的其他脏器的纤维化也有对抗作用。

陈玉库等^[68]报道氧化苦参碱质量浓度在 62.5~2 000 mg/L 时抑制单层鸡胚成纤维细胞增殖,在 15.63~31.25 mg/L 时不影响增殖,在 3.91~7.81 mg/L 时反而促进增殖。因此需要有足够的剂量才能维持对成纤维细胞增殖的抑制。因此为临床应用氧化苦参碱寻找最合适的剂量和给药方式提供参考,是今后需要做的应用性基础研究工作。

氧化苦参碱具有抗高脂饮食性、CCl₄性、CCl₄/酒精性、二甲基亚硝胺性、半乳糖胺性、免疫性慢性肝损伤作用。氧化苦参碱是通过抗氧化、抗炎作用,减轻肝脏的氧化应激和炎症反应^[13]以及抑制成纤维细胞和 HSC 的活化以及细胞外基质生成,产生抗肝纤维化作用;氧化苦参碱还可通过促进胰岛素信号转导,改善胰岛素抵抗,抑制肝细胞吸收长链脂肪酸和脂肪酸合成并增加游离脂肪酸的 β -氧化,产生抗脂肪肝作用。可见其对肝脏的保护作用是多靶点的,因此其在开发保肝新药方面的应用,前景广阔。

参考文献

- [1] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗乙型肝炎病毒的临床药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(1): 1-6.
- [2] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗病毒的临床药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(2): 185-191.
- [3] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗菌药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(3): 369-374.
- [4] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗真菌和抗寄生虫药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(4): 553-556.
- [5] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱的镇痛作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(5): 904-911.
- [6] 张明发,沈雅琴. 苦参碱抗炎和免疫抑制药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(5): 737-742.
- [7] 张明发,沈雅琴. 还原型苦参碱类生物碱的中枢抑制和神经保护作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(8): 1541-1547.
- [8] 张明发,沈雅琴. 氧化苦参碱的中枢抑制和神经保护作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(10): 1916-1923.
- [9] 张明发,沈雅琴. 氧化苦参碱抗炎及其作用机制的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(8): 1289-1295.
- [10] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗肉瘤药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(11): 2117-2122.
- [11] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗红白血病 K562 细胞药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(1): 223-229.
- [12] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗淋巴细胞性白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(4): 799-804.
- [13] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱免疫促进作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(3): 579-585.
- [14] 张明发,沈雅琴. 苦参碱对病毒性肝炎临床疗效评价的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2019, 16(1): 5-9.
- [15] 张明发,沈雅琴. 苦参碱抗急性肝损伤的药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(10): 1657-1662.
- [16] 张明发,沈雅琴. 氧化苦参碱抗急性肝损伤的药理研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(11): 1841-1844.
- [17] 张文宏. 注重慢性乙肝的个体化治疗,实现临床治愈 [N]. 劳动报, 2019-02-01(健康 02 版).
- [18] 任路平,胡志娟,宋光耀,等. 氧化苦参碱对高果糖饮食诱导小鼠脂肪肝和肝胰岛素抵抗的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(16): 3876-3878.
- [19] 任路平,宋光耀,刘娜,等. 氧化苦参碱对高果糖喂养诱导大鼠脂肪肝和肝脏内质网应激的干预作用 [J]. 中国医科大学学报, 2012, 41(10): 892-895, 899.
- [20] 王杏,王超,宋光耀,等. 氧化苦参碱对高脂诱导胰岛素抵抗 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂代谢相关基因的影响 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(12): 1688-1692.
- [21] 王杏,王超,宋光耀,等. 氧化苦参碱对高脂饮食诱导胰岛素抵抗载脂蛋白 E 基因敲除小鼠肝脏胆固醇代谢调控基因的影响 [J]. 中国全科医学, 2016, 19(33): 4067-4072.
- [22] 王超,张会欣,王杏,等. 氧化苦参碱对高脂诱导胰岛素抵抗 ApoE^{-/-}小鼠肝脏成纤维细胞因子-21/ β -klotho/FGF-21 受体 1 通路的作用 [J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 24(11): 1003-1006.
- [23] 费雯婕,张琳,宋光耀,等. 氧化苦参碱改善棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积及氧化应激的研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2016, 41(11): 1125-1130.
- [24] 费雯婕. 氧化苦参碱对高脂诱导的 HepG₂ 细胞胰岛素抵抗和脂代谢影响的研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [25] 甘乐文,王国俊,李玉莉. 氧化苦参碱对大鼠肝纤维化的影响 [J]. 第二军医大学学报, 1999, 20(7): 445-448.
- [26] 陈樵,曾维政. 苦参素抗大鼠肝纤维化作用的实验研究 [J]. 西南军医, 2006, 7(1): 7-9.
- [27] 曾维政,吴晓玲,蒋明德. 氧化苦参碱对肝纤维化大鼠 Smad 基因表达的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(8): 984-987.

- [28] 曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 等. 肝纤维化大鼠血清糖苷酶的变化及苦参素对其影响 [J]. 西部医学, 2009, 21(7): 1079-1081.
- [29] 周爱玲, 罗琳, 茅家慧, 等. 苦参素对实验性肝纤维化的防治作用及对MMP-2表达的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(10): 1096-1100.
- [30] 周爱玲, 罗琳, 茅家慧, 等. 苦参素穴位注射防治大鼠肝纤维化研究 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2005, 13(1): 11-15.
- [31] 周爱玲, 罗琳, 周春辉, 等. 苦参素穴位注射对肝纤维化防治及对肝组织金属蛋白酶组织抑制因子2表达的影响 [J]. 南通大学学报: 医学版, 2005, 25(5): 313-315, 318.
- [32] 宋健, 钟惠闽, 姚平. 苦参素对实验性大鼠肝纤维化的防治作用 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2002, 10(5): 282-283, 286.
- [33] 余小虎, 朱金水, 朱励. 肝纤维化大鼠肝内I、III、IV型胶原表达和氧化苦参碱治疗作用的研究 [J]. 胃肠病学, 2006, 11(5): 306-308.
- [34] 沈镭, 陆伦根, 曾民德, 等. 氧化苦参碱注射液对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化治疗作用 [J]. 肝脏, 2003, 8(1): 35-36.
- [35] 白静丽, 杨世忠. 氧化苦参碱对肝纤维化大鼠血清中MMP-2、MMP-9和TGF- β 1的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2006, 26(4): 510-511.
- [36] 唐东, 吴建新, 陆伟跃, 等. RGD环肽修饰纳米脂质体显著降低氧化苦参碱抗大鼠四氯化碳肝纤维化有效剂量与用药频次 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2011, 20(8): 696-702.
- [37] 柴宁莉, 徐世平, 万军, 等. 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸对氧化苦参碱脂质体减轻肝纤维化的增强作用研究 [J]. 环球中医药, 2012, 5(9): 645-650.
- [38] 陆伦根, 曾民德, 茅益民, 等. 口服氧化苦参碱对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化血清生化和纤维化指标的影响 [J]. 肝脏, 2003, 8(3): 26-28.
- [39] 陆伦根, 曾民德, 茅益民, 等. 氧化苦参碱对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化I、III、IV型胶原表达的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(10): 1488-1491.
- [40] 邓子煜. 苦参素抗大鼠肝纤维化作用及其分子机制 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2009.
- [41] 陈小亮. 转化生长因子 β 1介导的信号通路在大鼠肝纤维化和肝星状细胞增殖过程中的调节机制及苦参素的作用 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2009.
- [42] 高志星, 尤龙, 李蕾, 等. 氧化苦参碱对肝纤维化大鼠保护机制的研究 [J]. 中国医学创新, 2009, 6(26): 20-22.
- [43] 高志星, 尤龙, 季万胜, 等. 苦参素防治肝纤维化的实验研究 [J]. 中华全科医学, 2009, 7(11): 1146-1147.
- [44] 李谦, 陈澍, 施光峰. 苦参素及联合维生素E抗大鼠肝纤维化作用的研究 [J]. 世界感染杂志, 2003, 3(5): 383-385.
- [45] 李谦, 施光峰, 陈澍, 等. 苦参素及联合维生素E的抗肝纤维化作用及机制 [J]. 中华传染病杂志, 2003, 21(4): 278-280.
- [46] 柴宁莉, 徐世平, 万军, 等. 氧化苦参碱协同骨髓间充质干细胞治疗大鼠肝纤维化的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(6): 840-844.
- [47] 余小虎, 朱金水, 俞华芳, 等. 氧化苦参碱抗大鼠肝纤维化及其免疫调控作用 [J]. 中国临床医学, 2004, 11(2): 163-165.
- [48] 余小虎, 朱金水, 俞华芳, 等. 氧化苦参碱抗肝纤维化作用的病理学研究 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2004, 13(5): 485-487.
- [49] 杨文卓, 曾民德, 陆伦根, 等. 氧化苦参碱防治二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化的实验研究 [J]. 中华消化杂志, 2003, 23(3): 165-168.
- [50] 刘凌云, 左和宁, 杨伟峰. 联用阿米洛利与氧化苦参碱预防大鼠肝纤维化的实验研究 [J]. 中药材, 2006, 29(2): 166-169.
- [51] 郑智武. 磁性纳米粒靶向增强氧化苦参碱抗肝纤维化作用初步研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2008.
- [52] 杨文卓, 曾民德, 范竹萍, 等. 氧化苦参碱防治半乳糖胺诱导大鼠肝纤维化的实验研究 [J]. 中华肝脏病杂志, 2002, 10(3): 193-196.
- [53] 成扬, 张旻, 刘茶珍, 等. 氧化苦参碱对免疫性肝纤维化的胶原纤维合成和TGF- β 1mRNA的影响 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2001, 11(4): 210-212.
- [54] 康文臻, 谢玉梅, 聂青和, 等. 苦参素对实验性大鼠肝纤维化防治作用的研究 [J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(2): 195-198.
- [55] 赵宏伟, 柏兆方, 张振芳, 等. 氧化苦参碱抗猪血清诱导的免疫性大鼠肝纤维化作用研究 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2015, 34(4): 319-321.
- [56] 李继强, 陆伦根, 曾民德, 等. 氧化苦参碱对大鼠肝星状细胞增殖的影响 [J]. 上海医学, 1999, 22(10): 598-599.
- [57] 陈从新, 刘波, 顾月华, 等. 氧化苦参碱与国产 α 1b-和 α 2b-干扰素对大鼠肝星状细胞增殖和胶原合成的抑制作用 [J]. 胃肠病学和肝病学, 2002, 11(1): 32-35.
- [58] 林明华, 马迎军. 苦参素对肝星状细胞增殖及I型胶原合成的影响 [J]. 黑龙江医药科学, 2003, 26(1): 27-28.
- [59] 林明华, 高艳华, 姚海涛, 等. 苦参素对大鼠肝星状细胞形态的影响 [J]. 黑龙江医药科学, 2003, 26(5): 22-23.
- [60] 卢清, 张清波, 张继明, 等. 氧化苦参碱对大鼠肝星状细胞旁分泌活化途径的抑制作用 [J]. 肝脏, 2004, 9(1): 31-33.
- [61] 曹芝君, 邱德凯, 沈敏, 等. 重组肝再生增强因子、苦参素和丹参对肝星状细胞株IG12的作用 [J]. 上海第二医科大学学报, 2002, 22(6): 501-504.
- [62] 平键, 成扬, 许怀栋, 等. 氧化苦参碱黄芩苷组合抗乙

- 型肝炎病毒和抗肝纤维化的体外实验 [J]. 实用肝脏病杂志, 2007, 10(3): 148-151.
- [63] 韩海啸, 李军祥, 江义墩. 氧化苦参碱对肝星状细胞增殖抑制和促凋亡作用的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2009, 17(1): 41-43.
- [64] 伍严安, 高春芳, 王伟东, 等. 氧化苦参碱抑制血小板源性生长因子诱导的人成纤维细胞增殖 [J]. 中国免疫学杂志, 2001, 17(4): 207.
- [65] 朱 樑, 宋 健, 张兴荣, 等. 苦参素对成纤维细胞增殖、形态学及转化生长因子 β 1的影响 [J]. 中国新药与临床杂志, 2000, 19(6): 461-463.
- [66] 宋 健, 张兴荣, 朱 樑, 等. 苦参素对成纤维细胞增殖及III型胶原 mRNA 表达的影响 [J]. 第二军医大学学报, 1999, 20(6): 356-358.
- [67] 熊伍军, 邱德凯. 苦参素对 NIH/3T3 成纤维细胞增殖及细胞外基质合成的影响 [J]. 上海医学, 2005, 28(1): 46-48.
- [68] 陈玉库, 邢玉娟, 王 健, 等. 氧化苦参碱等七种中药成分对单层鸡胚成纤维细胞增殖的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2009(15): 103-105.