

中药复方和有效成分对血管新生促进或抑制作用的研究进展

陈荣荣^{1,2}, 郭浩^{1,2}, 徐砚通^{1,2}, 贺爽^{1,2}, 朱彦^{1,2*}

1. 天津中医药大学 天津市现代中药国家重点实验室, 天津 300193

2. 天津国际生物医药联合研究院 中药新药研发中心, 天津 300457

摘要: 血管新生 (angiogenesis) 在机体的多种生理、病理过程中发挥着重要作用, 促进和抑制血管新生已分别成为治疗缺血性血管损伤疾病和抗肿瘤的新策略。中医药在血管相关疾病的治疗中积累了丰富经验, 研究发现临床实践中常用的一些中药复方是通过影响血管新生来发挥药效的, 其作用机制主要体现在对血管新生调控因子、内皮细胞增殖和迁移的正/反双向调节。总结归纳近年来中药对血管新生的作用机制, 以期为今后相关中药的研究提供借鉴。

关键词: 中药; 血管新生; 调控因子; 缺血性心血管疾病; 肿瘤

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)23-3413-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.23.027

Research progress on pro- or anti-angiogenic effects of Chinese materia medica formulas and their active components

CHEN Rong-rong^{1,2}, GUO Hao^{1,2}, XU Yan-tong^{1,2}, HE Shuang^{1,2}, ZHU Yan^{1,2}

1. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Research and Development Center of TCM, Tianjin International Joint Academy of Biotechnology and Medicine, Tianjin 300457, China

Key words: Chinese materia medica; angiogenesis; regulatory factors; ischemic cardiovascular diseases; tumor

血管新生 (angiogenesis) 在机体的多种生理、病理 (如创伤愈合、缺血性心肌病、恶性肿瘤、动脉粥样硬化) 过程中发挥着重要作用。中医药在血管相关疾病的治疗中积累了丰富经验, 研究发现临床实践中常用的一些中药复方是通过影响血管新生来发挥药效的, 其作用机制主要体现在对血管新生调控因子、内皮细胞增殖和迁移的正/反双向调节^[1]。现以传统中医药理论为指导, 并与现代医学理论和研究成果相结合, 从血管新生机制以及中医药在这方面所取得的研究进展进行概述。

1 血管新生

血管新生是指在原有的毛细血管基础上通过血管舒张、血管通透性增加, 释放多种生长因子和蛋白酶, 动员骨髓中的内皮祖细胞 (EPC), 诱导其分化成内皮细胞 (EC), 促进 EC 增殖, 解除 EC 之间以及与平滑肌等周围组织的黏附, 降解细胞外基质

(ECM), EC 穿过血管壁发生迁移, 形成血管芽, 单个血管芽生长变长形成管腔, 并与邻近的血管芽相互融合成血管环或血管网, 形成三维网状结构。周细胞迁移包绕血管进一步构建血管结构, 并促使细胞外基质沉积, 血管周围基底膜形成^[2]。

2 血管新生调控因子及其调控机制

血管新生过程需要一系列调控因子统一协调地参与其中, 如果机体内这些因子表达不足或者过度表达将导致血管新生异常。因此, 寻找以血管新生调节因子为靶标的药物有着很高的临床实用价值。调控血管新生的调节因子及其调控机制见表 1。

血管新生过程受血管新生诱导因子和抑制因子的调节, 涉及基底膜的降解、EC 和 EPC 的趋化迁移以及增殖等过程。例如 VEGF、FGF、EGF 等生长因子及其受体参与 EC 的增殖、血管新生; SDF-1、CXCR4、Integrin $\alpha_v\beta_3$ 等黏附分子促进 EC 的游走和

收稿日期: 2013-08-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274128); 国家科技支撑计划项目 (2008BAI51B01)

作者简介: 陈荣荣 (1987—), 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。E-mail: widersky@163.com

*通信作者 朱彦 E-mail: yanzhu.harvard@gmail.com

表1 血管新生调控因子分类及其调控机制

Table 1 Classification and action mechanisms of angiogenesis regulating factors

分类	调节机制
生长因子及其受体	
血管内皮生长因子 (VEGFA、VEGFB) 及其受体 Flt-1 (VEGFR1)、KDR/Flk-1 (VEGFR2)	促进血管 EC 有丝分裂, 增加 EC 通透性, 促进毛细血管融合以及大血管生成 ^[3]
酸性及碱性成纤维细胞生长因子 (aFGF、bFGF) 及其受体 FGFR	与肝素有很强的亲和力, 对 EC 有趋化性, 直接刺激 EC 释放基底膜降解酶, 并刺激 EC 的增殖和迁移, 形成新血管
血管生成素 (Ang) 及其受体 Tie-2	Ang-1 促进血管新生, 诱导 EC 出芽形成正常的血管树样结构, 维护血管结构的稳定和完整; Ang-2 抑制血管新生, 是 Tie-2 的抑制性配体 ^[4]
表皮生长因子 (EGF) 及其受体 EGFR	可上调血管新生因子的表达, 也能促进肿瘤细胞合成和释放促血管新生因子, 提高肿瘤细胞存活率
血小板源生长因子 (PDGF) 及其受体 PDGFR	促进成纤维细胞、平滑肌细胞 (SMC) 等结缔组织细胞的分裂、增殖、迁移, 合成并分泌细胞外基质、增加细胞黏附力 ^[5]
胎盘生长因子 (PGF) 及其受体 Flt-1	诱导单核细胞产生组织因子, 促进其趋化性聚集和活化, 能够增强低浓度 VEGF 的生物活性 ^[6]
黏附分子	
整合素 $\alpha_v\beta_3$	介导 EC 之间、细胞与细胞间质之间的黏附, 参与血管生成和肿瘤转移 ^[7]
白细胞介素-8 (IL-8) 及其受体 CXCR2	对粥样斑块的形成和破裂有重要作用, 诱导单核细胞趋化, 活化 T 细胞, 增强中性粒细胞黏附、移行, 阻止中性粒细胞的游走并黏附于 EC, 并能诱导血管平滑肌细胞 (VSMC) 的增殖和迁移 ^[8]
间质细胞衍生因子-1 (SDF-1) 及其受体 CXCR4	能够导致肌动蛋白聚合和细胞伪足形成, 使癌细胞突破基底膜发生侵袭, 同时促使癌细胞的运动和远处转移, 从而产生趋化运动和侵袭反应 ^[9]
单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 及其受体 CCR2	介导单核细胞和巨噬细胞通过微血管的内皮层, 进而活化内皮细胞层, 可引起内膜细胞增生
钙黏素 E (cadherin E)	介导同型上皮细胞间的黏附, 参与细胞分化、形态发生等过程
结缔组织生长因子 (CTGF)	提高生长因子诱导的细胞增殖, 参与整合素 $\alpha_v\beta_3$ 介导的 EC 黏附、促进游走、诱导体内血管新生 ^[10]
纤连蛋白 (FN) 及其受体整合素 Integrin $\alpha_v\beta_3$	分布于血浆、多种细胞表面及 ECM 中, FN 的缺失均可作为肿瘤组织分化程度低、侵袭性强、易于复发的判断指标 ^[11]
转化生长因子-1 (TGF-1)	诱导肿瘤细胞中基质金属蛋白酶 (MMP)-2 和 MMP-9 的表达, 引起 ECM 和基底膜降解, 从而促进肿瘤细胞的迁徙和转移 ^[12]
蛋白酶及其抑制剂	
MMP-2、9、14	新生血管形成中涉及原位毛细血管内皮层下基底膜降解和新的 ECM 形成, EC 与肿瘤均能分泌 MMP 降解 ECM ^[13]
金属蛋白酶组织抑制剂 (TIMP-1、2)	是 MMP 的天然抑制物, 阻碍 MMP 介导的 EC 移动、抑制基质中促血管生成因子的释放、防止 ECM 降解
纤溶酶原激活剂 (uPA)	为基底膜和 ECM 发生降解的始动和调节因子, 能将纤溶酶原活化为纤溶酶
纤维蛋白溶酶原 (PLG)	被 uPA 激活后, 可转化为纤溶酶, 进而激活 MMP, 溶解纤维蛋白, 介导细胞间浸润, 包括蛋白水解作用和组织重塑
细胞因子	
肿瘤坏死因子 (TNF)	可诱导 EC 分泌多种趋化因子和生长因子, 诱导单核细胞、巨噬细胞聚集, 损伤 EC, 造成动脉粥样硬化 ^[14]
干扰素 (IFN- α 、 β)	可抑制 VEGF、bFGF、MMP 等的表达, 直接抑制 EC 生长, 造成 EC 凋亡 ^[15]
趋化因子-1 (CXCL1) 及其受体 CXCR2	能够促进细胞增殖、侵袭、转移、血管生成等过程, 在癌症转移中发挥重要作用 ^[16]
CXCL10 及其受体 CXCR3	血管生成抑制剂, 减少肿瘤血液供应, 抑制肿瘤生长; 能趋化自然杀伤细胞、单核细胞以及 T 细胞, 具有一定的抗肿瘤免疫作用 ^[17]
其他因子	
低氧诱导因子 (HIF-1 α)	诱导 EC 或者肿瘤细胞表达和分泌血管新生相关因子, 上调 CXCR4 表达和增强 CXCR4 mRNA 的稳定性 ^[18]
一氧化氮合酶 (eNOS)	催化生成的 NO 能抑制血小板聚集及白细胞黏附在血管壁, 抑制 VSMC 增生, 抑制单核巨噬细胞浸润 ^[19]
干细胞的核心通路信号 (Notch)	具有调节细胞增殖、分化和凋亡的功能, 在不同肿瘤发生、发展中发挥着促癌或抑癌双重作用 ^[20]

迁移; 蛋白酶 MMP、TIMP、uPA 等参与调控 ECM 和基底膜的降解, 促进细胞侵袭和浸润。还有一些细胞因子是间接调控其他血管新生因子的表达和释放而发挥作用。对血管新生起重要作用的另一个因素为炎症, 多种炎症介质诱导的巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞的定向聚集也具有直接或间接调节血管新生的作用。缺血性心血管疾病或者癌症, 在分子水平体现在相关因子表达和分泌的紊乱失衡。本文将分别总结归纳中药复方和有效成分在缺血性心血管疾病和抗肿瘤治疗中调控血管新生相关因子的作用机制。

3 促进与血管新生相关的缺血损伤修复的中药

冠心病、心肌梗死等心血管疾病的病变区血管管腔狭窄或堵塞, 引起局部缺血, 可在一定程度上诱发多种生长因子协同促进病变区短暂的血管新生^[21], 从而使机体适应和抵御局部的缺血缺氧变化。但是这种自身生理代偿性新生的血管数量有限, 过程缓慢。通过药物治疗可增加血管新生相关因子的基因表达, 促进治疗性血管新生和缺血区侧支循环的建立, 以达到改善血供的目的^[22]。动脉粥样硬化的不稳定斑块脱落可引起严重的心脑血管损伤, 研究发现斑块内新生的病理性血管可影响

斑块的稳定, 通过药物干预斑块区的血管新生甚至对逆转动脉粥样硬化具有重要意义^[23]。

3.1 中药复方

中药在缺血性心血管疾病的临床疗效肯定, 研究表明大量中药复方具有促进血管新生作用(表2), 并且在血管新生的研究领域具有潜在的特色和优势。

大鼠急性心肌梗死模型(rAMI)是研究中药复方促血管新生作用体内实验的经典模型, 通过结扎左冠状动脉前降支建立模型, 给药治疗一段时间后, 运用免疫组化染色法检测缺血心肌梗死边缘区微血管密度, 通过 Western blotting、Real-time PCR 或酶联免疫法检测血管新生调控因子的蛋白和 mRNA 表达水平。其中 VEGF 在胚胎发育、伤口愈合和月经周期等正常生理情况下的血管新生中发挥着关键作用, 同时也在血管新生依赖性疾病中发挥着极其重要的作用^[36], 因此 VEGF 成为人们研究血管新生的重点和热点。在血管新生过程中, VEGF 能促进内皮细胞存活, 诱导内皮细胞增殖并增强其迁移和侵袭能力^[36]。从表2中可以看出, 几乎所有的中药复方都能提高缺血区域微血管密度, 在基因或蛋白水平提高 VEGF 及其受体 VEGFR2 的表达, 进而发挥促血管新生的作用。由表2列出的复方组成能够

表2 促进与血管新生相关的缺血损伤修复的中药复方及其作用机制

Table 2 CMM fomulas promoting restoration of angiogenesis-related ischemia injury and their mechanisms

复方名称	复方组成	实验模型	作用机制
血府逐瘀汤	桃仁、红花、川芎、当归、赤芍、牛膝、生地黄、柴胡、枳壳、桔梗、甘草	血管内皮细胞 ECV304、大鼠急性心肌缺血模型 (rAMI)	VEGF↑, VEGFR2↑ ^[24] ; bFGF↑, Ang-1↑ ^[25]
当归补血汤	黄芪、当归	兔动脉粥样硬化模型、兔外周血 EPC, 衰老 rAMI	VEGF↑ ^[26-27] , SDF-1↑ ^[26]
双龙丸	地龙、全蝎、蜈蚣		VEGF↑, bFGF↑ ^[28]
补阳还五汤	黄芪、当归尾、赤芍、川芎、桃仁、红花、地龙	兔外周血 EPC、大鼠局灶性脑缺血模型	EPC 增殖、黏附、迁移和分泌 NO 能力↑ ^[29] , VEGF↑, Flk-1 (VEGFR-2) ↑ ^[30]
麝香保心丸	麝香、冰片、苏合香脂、人参、蟾酥、人工牛黄	兔动脉粥样硬化和 AMI 双模型	梗死边缘区 VEGF↑, VEGFR-2↑; 动脉血管壁 VEGF↓, VEGFR-2↓ ^[31]
芪参益气方	黄芪、丹参、三七、降香	rAMI	VEGF↑, bFGF↑, PDGF-B↑ ^[32]
舒脉胶囊	生黄芪、丹参、三七、水蛭、土鳖虫、瓜蒌皮、麝香	rAMI	VEGF↑, PDGF-BB↑; 激活 PI3K/Akt 信号转导通路 ^[33]
芪丹通脉片	黄芪、丹参、当归、红花、桂枝	rAMI	HIF-1α↑, VEGF↑ ^[34]
康脑液 2 号	黄芪、丹参、川芎、葛根、钩藤、三七	大鼠局灶性脑缺血再灌注模型	VEGF↑, Ang-1↑ ^[35]

↑-表达上调 ↓-表达下调, 下同

↑-up-regulated expression ↓-down-regulated expression, same as below

看出参与治疗缺血性心血管疾病的中药多是一些补气固表(黄芪)、活血化瘀止痛(丹参、红花、桃仁)、活血行气(川芎)、补血止血(当归、三七)之药。在中医理论中, 气血相关理论、活血化瘀理论与治疗血管生成相关, 此类中药具有促血管新生作用, 促进新

的血管生成和侧支循环的建立, 减轻心肌缺血、缺氧。

3.2 有效成分

随着对中药有效成分促血管新生研究的不断深入, 其机制的研究也日趋广泛, 已深入到细胞及分子水平, 其可通过一种或多种机制促进血管新生(表 3)。

表 3 治疗与血管新生有关的缺血损伤疾病的中药有效成分及其作用机制

Table 3 Active components in CMM used for treating angiogenesis-related ischemia injury and their mechanisms

有效成分	实验模型	作用机制
皂苷类		
黄芪甲苷	缺氧损伤人脐静脉内皮细胞 (HUVEC)	激活 PI3K/AKT 信号转导通路, HIF-1 α ↑, VEGF↑ ^[32]
西洋参茎叶总皂苷	rAMI	VEGF↑, bFGF↑ ^[37]
人参皂苷 Rg ₁	rAMI、新生鼠缺氧缺血性脑损伤	VEGF↑, VEGFR↑, p-AKT↑, NO↑ ^[38] ; HIF-1 α ↑, VEGF↑ ^[39]
三七总皂苷	骨髓基质干细胞 (rBMSCs)、HUVEC	VEGFA↑, KDR (VEGFR2) ↑, 可诱导大鼠 rBMSCs 分化为 EC, 并促进 rBMSCs 在体内外的血管新生能力 ^[40] ; HIF-1 α ↑, VEGF↑, 激活 PI3K/Akt 和 Raf/MEK/ERK 信号通路 ^[41]
黄酮苷类		
羟基红花黄色素 A	大鼠大脑中动脉阻塞模型	aFGF↑, bFGF↑, Flt-1↑, HIF-1 α ↑, VEGF↑ ^[42]
酚酸类		
阿魏酸	HUVEC	VEGF↑, PDGF↑, HIF-1 α ↑, 激活 MAPK/MRK1/2 和 PI3K 信号转导通路 ^[43]
丹酚酸 B	SVR 内皮细胞	VEGF↑, VEGFR2↑, MMP-2↑ ^[44]
丹酚酸 A	鸡胚绒毛尿囊膜 (CAM); EPC; rAMI	SDF-1↑, MMP-9↑, NO↑, VEGF↑, VEGFR-2↑ ^[45]
黄酮类		
毛蕊异黄酮	斑马鱼模型	VEGF ↑, FGF↑ ^[46]
葛根素	rAMI	VEGF↑, bFGF↑, PDGF-B↑ ^[47]
生物碱类		
川芎嗪	rAMI	VEGF↑, bFGF↑, PDGF-B↑ ^[47]

中药有效成分促血管新生的研究模型除了 rAMI, 还有大鼠脑缺血、斑马鱼等体内模型。此外, 细胞模型也应用较多, 主要是 HUVEC 和 EPC 这 2 种与血管新生密切相关的功能细胞, 分别采用 MTT 法、Transwell 小室、Matrigel 胶和鸡胚绒毛尿囊膜 (CAM) 等方法^[48]研究有效成分对 EC 的增殖、迁移和体外形成血管的能力。有关中药有效成分调控的血管新生因子除了 VEGF, 还着重研究缺氧诱导因子(HIF-1 α)。当受到低氧缺血信号刺激时, HIF-1 α 脱离降解, 进入核内结合 VEGF 启动子, 增加 VEGF mRNA 的表达和下游生长因子的分泌, 进而调控血管新生。通过阅读文献, 可以发现 Ras/Raf-1/MEK/ERK 和 PI3K/Akt 这 2 条信号通路控制着血管新生

过程中许多至关重要的细胞生物学过程, 包括调控细胞周期、存活、凋亡、迁移、基底膜降解, 以及 EC 的分化和形成^[49]。很多血管新生调控因子如 VEGF、PDGF、FGF 等, 都可介导这 2 条信号通路依赖性的血管新生过程。另外, PI3K/Akt/eNOS/NO 信号通路在血管新生中也起了非常重要的作用^[50]。

4 抗肿瘤血管新生的中药

1971 年, Folkman 提出肿瘤的生长和转移依赖于血管新生过程。其主要步骤包括: 原发癌的生长, 肿瘤血管生成, 肿瘤细胞脱落并侵入基底膜, 进入脉管系统, 癌栓形成, 继发癌的生长, 肿瘤血管生成, 转移瘤的继续扩散^[51]。通过抑制肿瘤血管形成, 可以减缓肿瘤生长的速度, 以及降低肿瘤浸润转移

的发生率，是目前抗肿瘤研究的重要方向^[52]。

4.1 中药复方

中药在肿瘤治疗中有独特功效，无论是抑制癌

细胞增殖，还是减轻放、化疗不良反应，逆转肿瘤的多药耐药性，提高生活质量，延长生存周期等方面都发挥了重要作用（表4）。

表4 抗肿瘤血管新生的中药复方及其作用机制
Table 4 CMM fomulas used for anti-angiogenesis and their mechanisms

复方名称	复方组成	实验模型	作用机制
鳖甲煎丸	由鳖甲胶、阿胶、蜂房（炒）、鼠妇虫、蜣螂、柴胡、黄芩、半夏（制）、党参、干姜、白芍等	H ₂₂ 荷瘤小鼠、肝癌荷瘤小鼠	VEGF↓, 增殖细胞核抗原(PCNA)↓ ^[53] , VEGF↓, Flt-1↓ ^[54]
参麦注射液	红参、麦冬提取物	人胃癌细胞 SGC-7901、晚期非小细胞肺癌患者	MMP-2↓, TIMP-1↑ ^[55] , VEGF↓, bFGF↓ ^[56]
西黄丸	牛黄、麝香、乳香、没药	人原发性肝癌细胞 SMMC7721	VEGF↓, MMP-2↓, MMP-9↓ ^[57]
复方苦参注射液	苦参、白土茯苓	SGC-7901、人胃癌裸鼠移植瘤	VEGF↓, CXCR4↓ ^[58-59] ; SDF-1↓ ^[60]
肺岩宁方	黄芪、白术、七叶一枝花等	小鼠 Lewis 肺癌移植瘤	VEGF↓, bFGF↓ ^[60]
补肾健脾方	党参、熟地黄、黄芪、白术、山药、山茱萸、茯苓、牡丹皮、泽泻、杜仲、补骨脂、甘草	原发性肝癌患者	VEGF↓, MMP-9↓ ^[61]
六神丸	麝香、牛黄、冰片、珍珠、制蟾酥、明雄黄	人肺癌 S108 荷瘤小鼠、人乳腺癌细胞 MCF-7	b-FGF↓ ^[62] ; VEGF↓, MMP-9↓ ^[63]
肺一丸	黄芪、西洋参、冬虫夏草、姜黄、郁金、莪术、大黄、儿茶、川贝、桔梗、百部、白花蛇舌草	LA795 肺腺癌荷瘤小鼠	VEGF↓ ^[64]
解毒消症饮	白花蛇舌草、半边莲、夏枯草、山慈姑	HUVEC、CAM、HepG2、肝癌荷瘤小鼠	VEGF-A↓, VEGFR-2↓ ^[65]

荷瘤小鼠是研究药物抗癌作用主要的体内实验模型，给药后剥取瘤块，称质量，通过免疫组化法检测相关蛋白表达和微血管密度，PCR 检测相关调控因子 mRNA 表达，可得出药物的抑瘤率以及抑制肿瘤血管新生的能力。癌细胞是抗癌研究的主要体外模型，检测药物对癌细胞增殖和凋亡的影响，也可以给药后收集细胞或者采用血清药理学，检测药物对癌细胞分泌血管新生相关因子的调控能力。对肿瘤血管新生调控因子的研究除关注 VEGF、bFGF 及其受体外，还将 MMP 及其抑制剂 TIMP、CXCR4 等涉及调控 EC 迁移和侵袭能力的因子作为研究重点，反映药物对肿瘤侵袭和转移的抑制能力。

肿瘤的微血管形成过程，即中医“久病入络”而形成络脉病变的过程。其病机始动因素为正气本虚，癌毒内蕴，日久则正不胜邪，引起脏腑、阴阳、气血功能失调，机体内稳态结构破坏^[66]，所以中医药防治肿瘤原则涉及扶正培本、解毒散结及活血化瘀等方面。由表4中的中药复方组成可以看出参与

抗肿瘤血管新生的中药也多是一些补中益气、滋补、清热解毒、通脉散结、活血化瘀之品。

4.2 有效成分

中药复方在抑制肿瘤血管新生，防治恶性肿瘤发生、减少复发转移、减轻患者痛苦、降低毒副作用等方面有较好的效果。中药有效成分是中药复方发挥临床治疗作用的物质基础，随着中药活性成分提取技术的不断提高，研究其有效成分抗肿瘤血管新生的作用机制有利于中药现代化的发展。抗肿瘤血管新生的中药有效成分及其作用机制见表5。

我国具有丰富的药用植物资源，从其中已发现大量的黄酮类、生物碱类等天然抗癌成分，具有抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞分化和凋亡的作用。通过进一步研究发现，这些成分兼有抑制肿瘤血管新生的作用，使肿瘤失去营养供给和迁移的条件，从而有效抑制肿瘤生长、侵袭和转移。研究中中药有效成分抗肿瘤血管新生除应用荷瘤动物模型、肿瘤细胞模型外，HUVEC 和 EPC 也是常规实验模

表 5 抗肿瘤血管新生有效成分及其作用机制

Table 5 Anti-angiogenic active components used for antitumor and their mechanisms

有效成分	实验模型	作用机制
酚性芳香酸类		
丹参素	B16F10 黑色素瘤细胞、HUVEC	MMP-2↓, MMP-9↓, VEGF↓ ^[67]
二萜醌类		
丹参酮 II _A	人肝癌 SMMC-7721 细胞	EGF↓, EGFR↓ ^[68] ; Ang-2↓, Tie-2↓ ^[69]
皂苷类		
人参皂苷 Rh ₂	Lewis 肺癌实体瘤小鼠、口腔鳞癌细胞	VEGF↓ ^[70-71] , MMP-2↓ ^[71]
人参皂苷 Rg ₃	B16 黑色素瘤细胞、B16 黑色素瘤荷瘤小鼠、HUVEC、人肺鳞癌细胞 SK-MES-1	VEGF↓ ^[72] ; VEGF↓, KDR↓ ^[73]
熊果酸	B16F10 黑色素瘤荷瘤小鼠、B16F10 黑色素瘤细胞、HUVEC	VEGF↓, eNOS↓, NO↓, TIMP-1↑, IL-2↑, MMP-2↓, MMP-9↓ ^[74]
酚类		
白藜芦醇	胶质瘤 U87 移植瘤裸鼠, HUVEC、人恶性黑色素瘤 A375	VEGF ^[75-76] , 环氧合酶 COX2↓ ^[76]
表没食子儿茶素没食子酸酯	白血病细胞 K562	VEGF↓ ^[77]
黄酮类		
槲皮素	人胃癌 BGC-823	MMP-2↓ ^[78]
汉黄芩素	人乳腺癌细胞 MCF-7	HIF-1α↓, VEGF↓ ^[79]
生物碱类		
羟基喜树碱	HepaG2 肝癌细胞	HIF-1α↓, VEGF↓ ^[80]
汉防己甲素	RT-2 神经胶质瘤细胞、ECV304 HUVEC、神经胶质瘤皮下或脑内荷瘤大鼠	VEGF↓ ^[81]
苦参碱	肺腺癌 A549、HUVEC	抑制 MAPK/ERK 信号转导通路 ^[82]
其他类		
姜黄素	人肺癌细胞 A549	VEGF↓, MMP-2↓, MMP-9↓ ^[83]
雷公藤红素	骨髓来源 EPC	VEGF↓, VEGFR2↓, 减弱 Akt/eNOS 信号转导通路 ^[84]
乌骨藤提取物	HUVEC、HepG2、CAM	VEGF-A↓, VEGFR-2↓ ^[85]
去甲斑蝥素	HUVEC、人结肠癌细胞	VEGF↓, 阻断 VEGFR2/MEK/ERK 信号转导通路 ^[86]

型。可将中药有效成分直接作用于 EC，或者先将有效成分作用肿瘤细胞后，取上层培养基间接刺激 EC，检测有效成分对 EC 的迁移和体外形成血管地能力，进而探究有效成分抑制肿瘤血管新生的能力。另一个需要探究的是中药有效成分抑制肿瘤细胞迁移和侵袭能力，可使用 Tanswell 小室实验来进行检测。

5 讨论与展望

研究发现当归、丹参、人参、黄芪、红景天、三七、赤芍、葛根等益气活血化瘀传统中药不仅广泛应用于缺血损伤性疾病的治疗，也被应用于肿瘤治疗中，且均有良好的疗效。中药影响血管新生机

制非常复杂，并非单一通过某一因素起作用，为多环节、多靶点、多因素共同作用的结果，同一药物在不同疾病中可能发挥截然相反的作用，不同剂量也可能通过不同机制产生不同的效果，因此，明确其作用机制尤为重要。中药这种双向调节作用与中药的多成分、药物剂量、炮制方法、剂型、配伍以及机体的机能状态等有关。

目前对中药复方或其有效成分作用于血管新生的调控因子和信号通路研究，多是选择几个代表性的、研究相对成熟的调控因子和通路进行实验，阐明药物对所选靶标的作用机制。但是中药（复方）具有多成分、多靶点、多途径的特点，要想全面系统

地研究中药作用靶点,可以在实验室条件允许的情况下,在研究初期借助基因芯片技术,一次性大量筛选与血管新生功能相关的基因,检测出转录水平发生显著变化的基因,然后进一步验证这些差异基因是否在分子和蛋白水平发生相应变化,这样在一定程度上保证了后续研究的目的性和高效性。同样也可应用基因芯片技术从中药库里筛选出具有促进缺血性血管新生和抑制肿瘤血管新生、阻断肿瘤转移作用的新的有效部位或新药,这在阐明传统中医基础理论及中药现代化研究中具有重要的意义。

参考文献

- [1] Zhuang P W, Jiang Y B, Zhang Y J, *et al.* Induction of angiogenesis and neurogenesis by serum from rats treated with Shunaoxin Dropping Pills [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(1): 41-46.
- [2] Ferrara N, Kerbel R S. Angiogenesis as a therapeutic target [J]. *Nature*, 2005, 438(7070): 967-74.
- [3] 金惠铭, 李先涛. 血管新生的调控 [J]. 中国微循环, 2001, 5(2): 85-88.
- [4] 杜彬, 周序珑. 血管生成素的特点及其对血管生成的调节作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19(2): 275-278.
- [5] 周剑虹. 血小板源生长因子及其受体信号转导通路研究进展 [J]. 中国现代医生, 2007, 45(10): 160-162.
- [6] 沈红玲, 陈汉平. 胎盘生长因子及其受体的分子特性的研究进展 [J]. 国外医学: 妇幼保健分册, 2004, 15(5): 298-300.
- [7] 黄云鹏, 林建华, 林志雄. 整合素 $\alpha v\beta 3$ 在肿瘤血管生成中的作用 [J]. 中国肿瘤, 2007, 16(1): 35-38.
- [8] 黄尧垚, 汤成春. 趋化因子及其受体与冠心病关系研究进展 [J]. 现代医学, 2010, 38(3): 312-316.
- [9] Miller A, Homey B, Soto H, *et al.* Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [J]. *Nature*, 2001, 410(6824): 50-56.
- [10] 云云, 张红锋. 结缔组织生长因子对血管生成和细胞功能的调节 [J]. 细胞生物学杂志, 2006, 28(5): 689-93.
- [11] 郭玉霞, 徐西华. 纤连蛋白在血液系统的研究进展 [J]. 国外医学: 输血及血液学分册, 2005, 28(5): 413-416.
- [12] 万珍玲, 胡忠良, 刘保安. TGF- $\beta 1$ 可通过 ERK 信号通路调节胃癌细胞 MMP-2 和 MMP-9 的表达 [J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(2): 91-94.
- [13] 陈华江, 王杰军. 基质金属蛋白酶及其抑制物与肿瘤侵袭转移的关系 [J]. 国外医学: 肿瘤学分册, 2001, 28(1): 23-26.
- [14] 张云香, 王家富. 血管内皮细胞损伤与肿瘤坏死因子 α 的因果效应 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(27): 123-125.
- [15] 潘待焯, 郑起. 干扰素在肿瘤治疗中应用的研究进展 [J]. 国外医学: 外科学分册, 2005, 32(1): 10-13.
- [16] 陈伟, 何裕隆. 趋化因子 CXCL1 对肿瘤的作用及其在胃癌中的研究进展 [J]. 消化肿瘤杂志: 电子版, 2012, 4(1): 55-58.
- [17] 李守杰, 高冠起. 趋化因子 CXCL10 临床研究现状 [J]. 医学综述, 2010, 16(12): 1770-1772.
- [18] 任勇, 陈寿松, 齐曼丽, 等. 趋化因子及其受体与肿瘤研究进展 [J]. 临床军医杂志, 2009, 37(3): 485-487.
- [19] 邓次妮, 沈潞华. 一氧化氮合酶/一氧化氮系统与心血管病 [J]. 心血管病学进展, 2007, 28(4): 603-606.
- [20] 姜昕, 周建华. Notch 信号通路及其在肺癌发生中的作用 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2006, 27(3): 231-234.
- [21] 李大勇, 谷峰, 陈文娜, 等. 肢体缺血后代偿性血管新生及相关基因表达的动态变化和意义 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17(12): 961-965.
- [22] 杨晨, 张志华, 韩忠朝. 缺血性血管疾病的治疗性血管重建 [J]. 国外医学: 生理, 病理科学与临床分册, 2003, 23(6): 624-627.
- [23] 曾细阳, 陈金水, 吴天敏. 动脉粥样硬化斑块内血管新生与中医药干预现状 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011, 9(12): 1499-1500.
- [24] 高冬, 陈文元, 林薇, 等. 血府逐瘀汤促血管新生中 VEGF 通路的作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(17): 2622-2625.
- [25] 张秋雁, 苏剑峰, 王权礼, 等. 超微血府逐瘀汤对急性心肌梗死大鼠缺血心肌血管新生及 bFGF、ANG-1 表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2011(4): 773-775.
- [26] 秦臻, 黄水清. 当归补血汤对动脉粥样硬化兔内皮祖细胞及血清 VEGF、SDF-1 的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(2): 211-215.
- [27] 雷燕, 王培利, 林燕林, 等. 当归补血汤煎剂对实验性心肌梗死衰老大鼠缺血心肌的促血管生成作用 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 11(12): 892-894.
- [28] 杨祖福, 胡婉英, 秦志强, 等. 双龙丸对大鼠实验性心肌梗死血管新生的影响与分子学机制 [J]. 中国康复理论与实践, 2003, 9(5): 293-295.
- [29] 刘锬, 李坤, 董国华, 等. 补阳还五汤对外周血内皮祖细胞数量和功能的影响 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(6): 1044-1049.
- [30] 刘柏炎, 蔡光先, 刘维, 等. 补阳还五汤对大鼠局灶性脑缺血后血管内皮生长因子及其受体 Flk1 的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 394-397.
- [31] 沈伟, 范维琥, 施海明, 等. 麝香保心丸对动脉粥样硬化斑块和缺血心肌中血管新生影响的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(12): 1284-1287.

- [32] 张玲. 芪参益气方促血管新生机制及抗心肌缺血作用研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [33] 尹慧秋, 张继东, 林海青, 等. 舒脉胶囊对大鼠缺血心肌促血管新生的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(11): 1020-1022.
- [34] 衣慧, 王俊超, 司静文, 等. 芪丹通脉片对心肌梗死大鼠缺血心肌血管新生及 HIF-1 α , VEGF 表达的影响 [J]. 中国中医急症, 2013, 22(5): 689-692.
- [35] 梁起保, 邹玉安, 张晓丽, 等. 康脑液 2 号对脑缺血再灌注大鼠 VEGF, Ang-1 与微血管密度的影响 [J]. 中国药房, 2011, 22(19): 1740-1743.
- [36] Byrne A M, Bouchier - Hayes D, Harmey J. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF) [J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(4): 777-794.
- [37] 王承龙, 史大卓, 殷惠军, 等. 西洋参茎叶总皂苷对急性心肌梗死大鼠心肌 VEGF, bFGF 表达及血管新生的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(4): 331-334.
- [38] 张庆勇, 陈燕萍, 刘芬, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对大鼠急性缺血心肌血管再生的促进作用 [J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(1): 42-45.
- [39] 王德健, 李巧云, 徐世军, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对新生鼠 HIBD 后血管再生的影响 [J]. 四川大学学报: 医学版, 2011, 4(14): 503-504.
- [40] Zheng H, Liu C, Ou Y, *et al.* Total saponins of Panax notoginseng enhance VEGF and relative receptors signals and promote angiogenesis derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(3): 595-602.
- [41] Shen K, Ji L, Gong C, *et al.* Notoginsenoside Ft1 promotes angiogenesis via HIF-1 α mediated VEGF secretion and the regulation of PI3K/AKT and Raf/MEK/ERK signaling pathways [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(6): 784-792.
- [42] 曹水娟. 羟基红花黄色素 A 促大鼠局灶性脑缺血后血管新生作用的分子基础初探 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2007.
- [43] Lin C M, Chiu J H, Wu I, *et al.* Ferulic acid augments angiogenesis via VEGF, PDGF and HIF-1 α [J]. *J Nutr Biochem*, 2010, 21(7): 627-633.
- [44] Lay S, Chiu J H, Shiao M S, *et al.* Crude extract of *Salvia miltiorrhiza* and salvianolic acid B enhance in vitro angiogenesis in murine SVR endothelial cell line [J]. *Planta Med*, 2003, 69(1): 26-32.
- [45] 李玉娟. 双参通冠方促血管新生作用的物质基础及机制研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2010.
- [46] 黎响, 胡光, 李振华, 等. 毛蕊异黄酮的促血管新生研究 [A] // 第十三届中国科协年会生物医药博士论坛 [C]. 天津: 中国科学技术协会, 2011.
- [47] 王振涛, 韩丽华, 朱明军, 等. 黄酮, 皂苷类中药对促心肌梗死后大鼠缺血心肌血管新生作用及相关生长因子表达的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2006, 4(4): 305-307.
- [48] Auerbach R, Lewis R, Shinnars B, *et al.* Angiogenesis assays: a critical overview [J]. *Clin Chem*, 2003, 49(1): 32-40.
- [49] Munoz-Chapuli R, Quesada A R, Angel M M. Angiogenesis and signal transduction in endothelial cells [J]. *Cell Mol Life Sci: CMLS*, 2004, 61(17): 2224-2243.
- [50] Duda D G, Fukumura D, Jain R K. Role of eNOS in neovascularization: NO for endothelial progenitor cells [J]. *Trends Mol Med*, 2004, 10(4): 143-145.
- [51] 钱晓萍, 刘宝瑞. 中药抗肿瘤血管生成分子机理研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2007, 15(6): 878-882.
- [52] 陶旭辉, 唐德才. 肿瘤血管生成及中药抗肿瘤血管生成研究进展 [J]. 中药材, 2003, 26(5): 379-381.
- [53] 张绪慧, 梁磊, 蔡长青, 等. 鳖甲煎丸对荷瘤小鼠 VEGF, PCNA 表达的影响 [J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(3): 48-49.
- [54] 罗庆东, 王月飞, 赵红晔, 等. 鳖甲煎丸对肝癌荷瘤小鼠肿瘤组织生长及转移的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 230-232.
- [55] 徐莉, 丁志山, 魏颖慧. 参麦液对肿瘤细胞基质金属蛋白酶-2 及其抑制剂表达的影响 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 7-9.
- [56] 尚官敏, 陈亚男, 李海金, 等. 参麦注射液对晚期非小细胞肺癌患者血清 VEGF 和 bFGF 水平的影响 [J]. 浙江中医杂志, 2012, 47(8): 620-621.
- [57] 金沈锐, 张新胜, 祝彼得, 等. 西黄丸对肝癌细胞 SMMC7721 分泌的血管内皮生长因子及基质金属蛋白酶 2, 9 的影响 [J]. 中成药, 2008, 30(7): 1079-1081.
- [58] 杨勤, 张亚声. 复方苦参注射液对胃癌 SGC-7901 细胞 VEGF, CXCR4 表达的影响 [J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(8): 1481-1484.
- [59] 杨勤, 张亚声. 复方苦参注射液联合 5-氟尿嘧啶节律化疗对人胃癌裸鼠移植瘤 VEGF, CXCR4 和 SDF-1 表达的影响 [J]. 胃肠病学, 2011, 16(2): 72-76.
- [60] 邓海滨, 徐振晔, 王中奇. 肺岩宁方干预 Lewis 肺癌小鼠移植瘤 VEGF 及其受体 Flt-1, KDR 蛋白表达的实验研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2009, 23(1): 42-45.
- [61] 张怡, 周荣耀, 王文海, 等. 补肾健脾方调控原发性肝癌患者细胞免疫功能及血管生成相关因子临床研究 [J]. 上海中医药杂志, 2013, (6): 27-29.
- [62] 李炜, 赵旭涛, 孙莉, 等. 六神丸抗肿瘤血管生成的实验研究 [J]. 中医药学报, 2006, 34(4): 25-29.
- [63] 孙莉. 六神丸抗肿瘤血管生成的实验研究 [J]. 中国现代药物应用, 2010, (15): 141-142.

- [64] 田菲, 贾英杰, 陈军, 等. 肺一丸对小鼠移植瘤 VEGF 的表达及肺转移相关性研究 [J]. 肿瘤防治杂志, 2004, 11(11): 1141-1143.
- [65] Cao Z, Lin W, Huang Z, *et al.* Jiedu Xiaozheng Yin, a Chinese herbal formula, inhibits tumor angiogenesis via downregulation of VEGF-A and VEGFR-2 expression *in vivo* and *in vitro* [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(3): 1080-1086.
- [66] 李焕荣, 李秀荣. 中医药抑制肿瘤血管生成抗肿瘤转移的可行性探讨 [J]. 中西医结合学报, 2007, 5(4): 378-381.
- [67] Zhang L-J, Chen L, Lu Y, *et al.* Danshensu has anti-tumor activity in B16F10 melanoma by inhibiting angiogenesis and tumor cell invasion [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 643(2): 195-201.
- [68] 翟学敏, 和水祥, 任牡丹, 等. 丹参酮 II_A 对人肝癌 SMMC-7721 细胞 EGF 及其受体表达的影响 [J]. 浙江大学学报: 医学版, 2009, 38(2): 163-169.
- [69] 任牡丹, 胡雅楠, 和水祥, 等. 丹参酮 II_A 对人肝癌细胞 Ang-2 及其受体 Tie-2 表达的影响 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2012(2): 203-206.
- [70] 崔艳茹, 屈飞. 人参皂苷 Rh₂ 对荷 Lewis 肺癌小鼠抗肿瘤作用 [J]. 肿瘤药学, 2011, 1(5): 422-425.
- [71] 宁静. 人参皂苷 Rh-2 抑制口腔鳞癌细胞增殖, 侵袭及转移的研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2012.
- [72] 辛颖, 姜新, 崔俊生, 等. 人参皂苷 Rg₃ 抑制 B16 黑色素瘤新生血管生成及其机制的探讨 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2010, 17(8): 590-593.
- [73] 王鑫, 郑玉玲, 李克, 等. 人参皂苷 Rg₃ 对人肺鳞癌细胞 VEGF 及 KDR 表达的影响 [J]. 中药材, 2009, 32(11): 1708-1710.
- [74] Kanjoormana M, Kuttan G. Antiangiogenic activity of ursolic acid [J]. *Integr Cancer Therap*, 2010, 9(2): 224-235.
- [75] 常洪波, 章翔, 费舟, 等. 白藜芦醇对裸鼠 U87 细胞移植瘤生长及血管生成的影响 [J]. 中华神经医学杂志, 2009, 8(10): 986-989.
- [76] 李东升, 李家文. 白藜芦醇抗恶性黑色素瘤血管新生的体外研究 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2011, 27(9): 613-616.
- [77] 庞爱明, 阮长耿. 绿茶的主要成分表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 抗血液肿瘤血管新生机制的研究 [J]. 中国血液流变学杂志, 2008, 18(4): 471-473.
- [78] 王晓燕, 张尤历, 张恒, 等. 槲皮素对人胃癌细胞侵袭和 MMP-2 表达的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(3): 215-218.
- [79] Song X, Yao J, Wang F, *et al.* Wogonin inhibits tumor angiogenesis via degradation of HIF-1 α protein [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 271(2): 144-155.
- [80] 梁斌, 郑传胜, 冯敢生, 等. 羟喜树碱对缺氧诱导的人 HepG2 肝癌细胞缺氧诱导因子 1 α 及血管内皮生成因子表达的影响 [A] // 湖北省肿瘤介入治疗学术大会论文汇编 [C]. 湖北: 中国抗癌协会, 2010.
- [81] Chen Y, Chen J C, Tseng S H. Tetrandrine suppresses tumor growth and angiogenesis of gliomas in rats [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(10): 2260-2269.
- [82] 卢进昌, 罗强, 程萍, 等. 苦参碱和 MAPK/ERK 信号通路在抑制肺癌细胞诱导人脐静脉内皮细胞增殖和迁移中的作用 [J]. 中国肺癌杂志, 2009, 12(7): 747-752.
- [83] Lin S S, Lai K C, Hsu S C, *et al.* Curcumin inhibits the migration and invasion of human A549 lung cancer cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2 and-9 and vascular endothelial growth factor (VEGF) [J]. *Cancer Lett*, 2009, 285(2): 127-133.
- [84] Huang S, Tang Y, Cai X, *et al.* Celastrol inhibits vasculogenesis by suppressing the VEGF-induced functional activity of bone marrow-derived endothelial progenitor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 423(3): 467-472.
- [85] HUANG Z, LIN H, WANG Y, *et al.* Studies on the anti-angiogenic effect of *Marsdenia tenacissima* extract *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(3): 917-922.
- [86] Zhang L, Ji Q, Liu X, *et al.* Norcantharidin inhibits tumor angiogenesis via blocking VEGFR2/MEK/ERK signaling pathways [J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(5): 604-610.

利用细胞和基因工程技术提高植物三萜皂苷合成策略的研究进展

孙凤阳, 胡 盈, 赵 越, 由香玲*

东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘 要: 三萜皂苷是一类很重要的植物次生代谢产物, 是很多药用植物的主要活性成分, 其在抗癌、抗炎、抗过敏、防治心脑血管疾病等方面有很好的功效。由于三萜皂苷自然产量低, 限制了其商业应用。从植物细胞工程和基因工程技术角度, 分析了影响三萜皂苷合成的主要因素: 组织材料的筛选、培养条件的优化、规模化生产以及与三萜皂苷合成相关酶基因的诱导和过表达等, 概述了提高三萜皂苷合成的相关研究成果。

关键词: 三萜皂苷; 关键酶基因; 细胞工程技术; 基因工程技术; 诱导子

中图分类号: R282.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)23-3422-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.23.028

Advances in studies on strategies of enhancing plant triterpene saponin synthesis by cell and gene engineering technology

SUN Feng-yang, HU Ying, ZHAO Yue, YOU Xiang-ling

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Key words: triterpene saponins; key enzyme genes; cell engineering technology; gene engineering technology; elicitor

三萜皂苷是植物中广泛存在的次生代谢产物, 由三萜皂苷元和糖、糖醛酸和其他有机酸组成, 已发现达 30 余种类型^[1], 主要为四环三萜和五环三萜两大类^[2]。三萜皂苷是很多药用植物如人参^[3]、柴胡^[4]、西洋参^[5]、三七^[6-7]等的主要活性成分, 具有抗癌、抗炎、抗过敏、降血糖、防治心脑血管疾病等作用^[1], 有广阔的应用前景和可观的经济效益。2008 年, 全球传统医学产品市场大约为 830 亿美元, 并将以每年 5%~18% 的增长率增长, 全球草药贸易金额有可能在 2050 年达到 7 万亿美元^[8]。

目前, 三萜皂苷主要从栽培植物中提取, 但植物生长周期长, 皂苷量较低且受到各种环境因素的影响, 限制了其广泛应用。通过组织培养技术可以解决植物在自然环境中生长周期长等问题, 生物反应器的应用可以在短时间内获得大量植物材料。此外, 在培养基中添加诱导子可增加三萜皂苷的质量分数^[9-12]。

随着在分子水平上对三萜皂苷生物合成途径研究的不断深入, 很多上游关键酶基因如法尼基焦磷

酸合酶(FPS)、鲨烯合成酶(SS)、鲨烯环氧酶(SE)等在不同植物中得以克隆^[13-15], 下游的关键酶基因如细胞色素 P450 酶(CYP450)等的研究近年来也取得了较大的进展^[16-20]。这使得通过植物次生代谢工程的方法调控三萜皂苷生物合成途径中的关键酶基因表达, 进而提高植物中三萜皂苷的含量成为可能。本文从大量获得植物材料及提高植物中三萜皂苷质量分数两个方面对目前提高三萜皂苷产量的研究进展进行了综述, 以期对三萜皂苷的商业化生产有所帮助。

1 利用细胞工程技术促进三萜皂苷合成

三萜皂苷结构复杂, 目前皂苷主要从栽培植物中提取。这种途径存在许多问题, 栽培植物易受到周围环境如栽种区域、季节变化、光、潮湿度、温度、土壤肥沃度等以及栽培技术的影响, 从而导致三萜皂苷的量发生变化^[21]。另外, 一些栽培植物生长周期长, 产量低。例如三七分布范围狭窄, 仅限于北纬 23°30' 附近的中高海拔地区^[22], 而且种子有

收稿日期: 2013-07-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(J1210053)

作者简介: 孙凤阳(1989—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为植物细胞工程。Tel: (0451)82191752 E-mail: daisynefu@163.com

*通信作者 由香玲 Tel: (0451)82191752 E-mail: yxiangling@yahoo.com