

中药对慢性肾病肾组织炎性损伤的干预机制

梁文杰^{1,2}, 马国平³, 梁丽娟^{1,2}, 许庆友^{1,2*}

1. 河北医科大学, 河北 石家庄 050017

2. 河北中医学院, 河北 石家庄 050200

3. 河北医科大学第一医院, 河北 石家庄 050031

摘要: 慢性肾病与炎症密切相关。中药或其提取物可干预核因子- κ B (NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 及 Toll 样受体 4 (TLR4) 等信号转导通路, 并通过调节细胞因子、黏附分子、转录因子、受体分子及酶分子等多层次、多靶点拮抗慢性肾病肾组织炎性损伤。由于炎性损伤因素的交互性、网络性及放大性, 使中药的干预作用有多点性、多效性和重叠性等特点。探索中药对慢性肾病肾组织炎性损伤的作用靶点及其分子机制对于慢性肾病的临床防治及新药研发具有重要意义。

关键词: 中药; 慢性肾病; 炎性损伤; 作用机制; 信号转导通路

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)19-2946-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.19.022

Intervention mechanisms of Chinese materia medica on inflammatory injury of renal tissue with chronic nephropathy

LIANG Wen-jie^{1,2}, MA Guo-ping³, LIANG Li-juan^{1,2}, XU Qing-you^{1,2}

1. Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

2. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

3. The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China

Abstract: Chronic kidney disease is closely related to inflammation. Chinese materia medica (CMM) or their extracts can intervene in some signal transduction paths such as nuclear factor-kappa B (NF- κ B) path, mitogen activated protein kinase (MAPK) path, Toll-like receptor 4 (TLR4) path, and regulate cytokines, adhesion molecules, transcription factors, acceptor molecules, and enzyme molecules to resist inflammatory injury of renal tissue from multiple target points. Because of the interaction, network, and magnification of inflammatory injury factors, the action of CMM shows the characteristics, such as multi-point, pleiotropy, overlap, and so on. The target points of CMM on inflammatory injury are explored and their molecular mechanism plays an important role in the prevention and control of chronic kidney disease and study on new drug.

Key words: Chinese materia medica; chronic nephropathy; inflammatory injury; mechanisms; signal transduction paths

慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 及其引起的终末期肾病发病率逐年提高, 成为危害公众健康的重大公共卫生问题^[1]。CKD 预后差、花费高, 目前现代医学尚无逆转或阻断 CKD 进展的特效药物和满意方法, 糖皮质激素、免疫抑制药物及对症处理治疗尚存在棘手的并发症和副作用, 而中医药在辨证论治的基础上, 整体微调治疗该病取得了较

为明显的疗效。

CKD 与炎症密切相关。各种 CKD 共同的病理基础是肾小球硬化、肾间质纤维化和肾动脉硬化, 而在 CKD 发展过程中, 肾组织的炎症反应及其相关的组织损伤是导致其进展至终末期肾病的重要因素。肾组织炎症反应的病理特征主要是巨噬细胞、中性粒细胞及 T 细胞等炎症细胞在肾小球和肾间质

收稿日期: 2014-11-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473652, 81273684)

作者简介: 梁文杰 (1971—), 男, 副教授。E-mail: LWJ712004@126.com

*通信作者 许庆友, 教授, 主任医师, 博士, 博士生导师。

的活化和浸润, 并过度产生炎性因子和炎症介质, 启动核因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 及丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 等炎症相关信号通路, 信号通路的活化转而诱导更多炎性因子产生, 导致肾组织炎性损伤, 终致肾小球硬化和肾间质纤维化^[2]。CKD 被认为是炎症性疾病, 有效抑制炎性损伤成为新药开发的共同靶点^[3-5]。

中药通过调控炎性细胞、炎性因子及其信号通路而干预 CKD 的发生发展, 产生明显效果, 本文依次从细胞因子、黏附分子、转录因子、受体分子及酶分子等出发, 探讨中药拮抗慢性肾病肾组织炎性损伤的分子机制及其作用靶点, 对于 CKD 的临床防治及新药研发具有重要意义。

1 中药调节细胞因子表达

细胞因子包括肿瘤坏死因子超家族 (TNF)、白细胞介素 (IL)、干扰素家族、趋化因子家族、集落刺激因子及生长因子 6 类。其中 TNF- α 、IL-6 以及趋化因子家族的单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 等是重要的致炎因子, 与 CKD 肾组织炎性损伤密切相关^[6-7], 而 IL-10 是重要的抗炎因子。许多中药可抑制炎性因子表达或促进抗炎因子以及细胞因子信号抑制物的表达, 从而发挥抗炎作用。

1.1 中药抑制 TNF- α 表达

TNF- α 主要由巨噬细胞、NK 细胞和 T 细胞产生, 肾小球系膜细胞和肾小管上皮细胞也可合成和分泌^[8]。TNF- α 参与局部炎症和内皮细胞活化, 是机体受到致病因素作用后产生最早和最重要的炎性细胞因子。其上调黏附分子, 促进白细胞聚集与黏附; 使微血管扩张, 通透性增加, 形成水肿; 调节血液凝固, 促进氧化应激; 参与肾小球组织损伤, 促进炎症发生发展^[9-10]。

中药有效成分、有效部位及复方制剂均可抑制 TNF- α 而减轻 CKD 肾组织炎性损伤。三七的有效成分人参皂苷 Rg₁ 能显著下调糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 大鼠血 TNF- α 水平, 拮抗炎症反应, 并降低转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 水平, 改善肾脏的病理损伤^[11]。大豆提取物大豆皂苷亦有类似作用^[12]。复方降浊颗粒 (半夏、生姜、人参、茯苓、白术、大黄等组成) 具有健脾和胃、降浊止呕、活血化瘀功效, 可降低慢性肾衰大鼠血 TNF- α 等炎性因子水平, 延缓慢性肾衰进展^[13]。灯盏花素为灯盏花中的一类黄酮类化合物, 主要包括灯盏乙素和灯盏甲素。灯盏花素注射液能有效降低早期

DN 患者血清 TNF- α 等炎性因子水平, 抑制炎症反应, 从而明显减少尿蛋白, 延缓 DN 的发生和发展, 可作为治疗 DN 的辅助治疗药物^[14]。黄蜀葵花提取物制剂黄葵胶囊亦有类似作用^[15]。

1.2 中药调节 IL 表达

1.2.1 抑制 IL-6 表达 IL-6 主要由单核细胞、巨噬细胞、Th2 细胞及内皮细胞等产生, 可促进淋巴细胞功能, 诱导急性时相反应蛋白, 促进炎症标志物 C 反应蛋白 (CRP) 的合成。IL-6 更稳定地反映微炎症状态的存在。DN 已成为终末期肾病的主导因素, 而炎性损伤在疾病进展中起到关键作用, IL-6 及 TNF- α 等炎性因子持续升高导致 DN 患者微炎症状态^[16-18], 而抗炎、抗自由基的植物提取物可以改善 DN^[19]。发酵冬虫夏草菌丝体干粉制剂百令胶囊辅助治疗 DN, 能明显降低 DN 患者血清 IL-6 及 TNF- α 水平, 保护肾功能, 延缓疾病进展^[20]。肾康注射液 (大黄、丹参等提取物) 亦有类似作用^[21]。三七的有效部位三七总皂苷可下调慢性肾衰患者血清 IL-6 及 TNF- α 水平, 控制微炎症状态, 发挥肾保护作用^[22]; 而肾衰方 (陈皮、竹茹、制大黄、甘草等组成) 具有清热化湿、和胃止呕功效, 可以显著降低慢性肾衰湿热证合并营养不良患者的血清 IL-6 及 TNF- α 水平, 是治疗微炎症状态的有效方剂^[23]。

1.2.2 抑制 IL-1 表达 IL-1 主要由巨噬细胞、单核细胞、树突细胞及上皮细胞等产生, 可参与淋巴细胞与巨噬细胞活化, 诱导急性时相反应蛋白。IL-1 可刺激肾小球系膜细胞分泌 IL-6、TNF- α 及 IL-1 自身等炎性因子, 促成炎性损伤。伍小波等^[24]报道昆明山海棠显著降低慢性肾炎大鼠血清 IL-1、IL-6 及 TNF- α 水平, 拮抗肾组织炎性损伤。而复方土茯苓颗粒 (土茯苓、萆薢、王不留行、牛膝等组成) 能泄浊祛邪、化湿清热、活血化瘀, 可有效抑制高尿酸血症肾病小鼠肾组织 IL-1 及 IL-6 等炎性因子的表达, 减轻肾组织炎性损伤^[25]。

1.2.3 抑制 IL-17 表达 IL-17 主要由 Th17 产生, 可诱导多种炎性细胞因子产生, 促进肾脏上皮细胞产生 IL-6、IL-8 及 MCP-1 等细胞因子参与肾脏炎症反应。Griffin 等^[26]研究发现, IL-17 与 TNF- α 协同作用, 诱导内皮细胞活化, 促进中性粒细胞汇集至炎症部位。养阴清热方是由黄连解毒汤和六味地黄汤组成的复方, 沈岚等^[27]报道该方可明显降低 DN 大鼠血清 IL-17 及 TNF- α 等炎性因子水平, 减轻肾脏病理损害从而改善肾功能。

1.2.4 上调 IL-10 表达 IL-10 主要由 Th2 细胞及单核细胞等产生,可抑制活化的单核细胞及 Th1 细胞产生细胞因子。IL-10 又名细胞因子合成抑制因子,是重要的抗炎因子^[28],一方面抑制炎性细胞黏附浸润,另一方面可抑制单核巨噬细胞抗原递呈并抑制炎性因子释放,多途径发挥抗炎作用。致炎因子与促炎因子的动态平衡在维持机体内环境的稳态中具有重要意义。郭景珍等^[29]研究了糖肾方(熟地黄、山茱萸、枸杞子、菟丝子、泽泻、黄芪、金樱子、三七粉、水蛭等组成)对自发性 2 型糖尿病模型大鼠炎性因子的调控作用,发现该方可上调血 IL-10 水平而下调 TNF- α 水平,从而拮抗肾脏炎性损伤。

1.3 中药抑制趋化因子表达

1.3.1 抑制 MCP-1 表达 MCP-1 属趋化因子家族的 CC 亚家族,又名 CCL2,主要由单核细胞、上皮细胞等产生,对单核细胞、T 细胞、嗜碱粒细胞和树突细胞有趋化和激活作用。MCP-1 在正常人肾组织可有少量表达,但在高血糖、血管紧张素 II、氧化应激及肾小球血流动力学改变等因素刺激下,其表达明显上调^[30]。浸润的炎症细胞和肾脏固有细胞在缺血、缺氧或炎症介质刺激下均可分泌 MCP-1,其进一步激活巨噬细胞,后者再分泌炎性因子,久之导致炎性损伤。

实验显示,某些中药复方或其提取物可直接抑制肾组织 MCP-1 表达,阻断炎症反应,从而起到保护肾脏的作用。芪蛭降糖胶囊(黄芪、水蛭、地黄、黄精等组成)^[31]可下调 DN 大鼠肾组织中 MCP-1 及其 mRNA 表达,改善肾血管结构的病理损害;解毒活血方(黄芩、金银花、丹参、地龙、僵蚕、大黄)^[32]可下调单侧输尿管梗阻(UUO)大鼠肾组织 MCP-1 的高表达,从而减缓肾小管间质纤维化的进程;而芪藜肾康颗粒总多糖^[33]可抑制 IgA 肾病模型大鼠肾组织 MCP-1 的表达,并减少尿蛋白。

某些中药可间接抑制 MCP-1 表达。姜黄素是从姜黄中提取的一种植物多酚,由于致炎因子 TNF- α 可诱导 MCP-1 表达,故姜黄素可通过抑制 DN 大鼠血清 TNF- α 水平,进而抑制 MCP-1 分泌,减轻肾组织炎性损伤,改善肾功能^[34]。

1.3.2 抑制 IL-8 表达 IL-8 属趋化因子家族的 CXC 亚家族,又名 CXCL8,主要由成纤维细胞、单核细胞、内皮细胞及上皮细胞等产生,对中性粒细胞、T 细胞及嗜碱粒细胞有趋化和激活作用。一系列炎性因子如 IL-1、脂多糖(LPS)、TNF- α 及白

蛋白均能够上调肾小管上皮细胞 IL-8 的表达。姜黄素可抑制 LPS 诱导的肾小管上皮细胞 IL-8 和 MCP-1 蛋白及 mRNA 的表达^[35],且呈浓度和时间依赖性;而益肾化湿颗粒(人参、黄芪、白术、茯苓、泽泻、半夏等 17 味组成)^[36]可降低早期 DN 患者血清超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)和 IL-8 的表达。这些中药通过抑制 IL-8 表达,降低炎细胞的趋化运动,拮抗炎性损伤。

1.3.3 抑制白细胞趋素 1(Lkn-1)表达 Lkn-1 属趋化因子家族的 CC 亚家族的新成员,对中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞有趋化作用,主要通过受体 CCR1 或 CCR3 结合后,经过 NF- κ B 等传递趋化信号发挥趋化作用,在动脉粥样硬化的血管壁局部炎症反应中起重要作用。刘中柱等^[37]研究发现黄葵胶囊可下调慢性肾小球肾炎患者血清 Lkn-1 及 TNF- α 水平,达到保护肾功能的治疗目的,提示黄葵可通过抑制 Lkn-1 等的表达而抑制慢性肾小球肾炎体内免疫性炎症反应,而血清 Lkn-1 和 TNF- α 水平正可反映患者体内的炎症反应及病变程度。

1.4 中药抑制其他细胞因子表达

γ 干扰素(IFN- γ)主要由活化 T 细胞及 NK 细胞产生,可激活巨噬细胞,诱导 Th1 细胞分化。雷公藤多苷是雷公藤提取物,万毅刚等^[38]发现雷公藤多苷可抑制抗 Thy1.1 抗体肾炎模型大鼠肾组织内 IL-2 和 IFN- γ 核酸的表达,抑制肾小球内巨噬细胞总数及其活性,具有明确的抗炎作用。

血管内皮生长因子(VEGF)由多种细胞分泌,可促进血管和淋巴管生成。VEGF 的过度表达可增加肾小球滤过膜的通透性,使多种炎性因子渗出和分泌,从而加剧炎症反应。复肾降纤宁^[39]和养阴清热方^[40]可降低 DN 大鼠血清 VEGF 及 TNF- α 水平,明显减轻肾组织病理损伤。

1.5 中药上调细胞因子信号抑制物表达

上调细胞因子信号抑制物(suppressor of cytokine signaling, SOCS)家族是一类对细胞因子信号通路具有负反馈调节作用的蛋白分子,参与多种细胞因子和激素的信号调节,维持内环境稳定。它可以通过抑制 JAK/STAT 信号途径来减少肾小球系膜细胞增殖,抑制细胞因子产生,延缓肾纤维化。SOCS1 在肾组织中弱表达,在 DN 大鼠模型,SOCS1 能够减轻由于 MCP-1 等炎性因子的过表达而造成的肾脏损害^[41]。SOCS2 可降低 DN 大鼠肾组织 IL-6、MCP-1、TNF- α 及 TGF- β 1 等细胞因子的表达,减

弱肾小球肥大、肾小球高滤过、异常炎症反应及纤维化等肾损害^[42]。张娟等^[43]采用免疫组化法检测 DN 大鼠肾组织中 SOCS1、TGF- β 1、IL-6 的表达水平,检测黄芪对 SOCS1 表达的影响,发现黄芪治疗组的 SOCS1 的表达水平高于 DN 组,而 TGF- β 1 及 IL-6 的表达水平降低。推测黄芪通过上调 SOCS1 的表达水平而间接抑制了 TGF- β 1 及 IL-6 的表达,减轻肾组织炎性损伤。

2 中药调节黏附分子表达

黏附分子包括免疫球蛋白超家族、整合素家族、选择素家族、黏蛋白样血管地址素及钙黏蛋白家族 5 类。黏附分子不仅参与免疫细胞之间的相互作用和活化,而且参与炎症过程中白细胞与血管内皮细胞及基质的黏附。白细胞与血管内皮细胞的相互作用是炎性细胞浸润的重要分子基础。中药可抑制相关黏附分子表达,以阻断 CKD 肾组织炎症反应,其中以免疫球蛋白超家族黏附分子研究较多。

2.1 抑制细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 表达

ICAM-1 即 CD54,属免疫球蛋白超家族,与淋巴细胞功能相关抗原-1 (LFA-1)、巨噬细胞-1 (Mac-1) 和 CD43 结合,介导细胞间黏附。ICAM-1 可以促使单核巨噬细胞在肾脏组织中浸润,释放各种炎性因子,进一步促使炎性细胞浸润。在 DN,晚期糖基化终末产物 (AGEs) 可触发氧化应激反应,上调炎症介质分泌,诱发炎症反应^[44]。而山茱萸提取物环烯醚萜总苷可显著抑制 AGEs 诱导的大鼠肾系膜细胞 HBZY-1 的炎性因子分泌水平,显著下调 ICAM-1 蛋白表达,剂量依赖性地减轻炎症反应,对 DN 发生发展具有一定的保护作用^[45]。黄岩杰等^[46]观察了当归对 UUO 大鼠肾小管间质纤维化过程中黏附分子 P-选择素及 ICAM-1 等表达的影响,发现当归可显著抑制肾小管间质内 ICAM-1 的表达,而对 P-选择素无明显影响,从而抑制了单核/巨噬细胞在肾小管间质的浸润,减轻炎症反应,延缓纤维化进展。

2.2 抑制血小板内皮细胞黏附分子-1 (PECAM-1) 表达

PECAM-1 即 CD31,属免疫球蛋白超家族,主要在血小板、内皮细胞、单核细胞、粒细胞、B 细胞、NK 细胞及 T 细胞亚群内表达,与 CD38 互为受体,介导细胞黏附,参与炎症反应。免疫组化检查显示芪蛭降糖胶囊能减少肾组织中炎性因子表达并下调肾小动脉 PECAM-1 表达,阻断炎症反应^[31]。

3 中药调节 NF- κ B 相关信号分子表达

NF- κ B 是序列特异性的 DNA 结合蛋白,主要由 p50 和 p65 亚基组成的异源二聚体,有 2 种存在形式:①与抑制性蛋白质 κ B 抑制蛋白 (inhibitor of NF- κ B, I κ B) 结合,无活性存在于胞浆中;②与 I κ B 解离,以活性形式存在于胞核中。激活过程中 NF- κ B 由胞浆移位至胞核。NF- κ B 是具有多向性调节作用的核转录因子,可诱导多种炎症基因的表达,在 C 肾组织炎症反应中起重要作用^[47-49]。NF- κ B 的上游分子包括 TNF- α 、IL-1 等, TNF- α 刺激细胞,激活转化生长因子活化激酶 1 (TGF-activated kinase 1, TAK1), 导致 κ B 抑制蛋白激酶 (inhibitor of NF- κ B kinase, IKK) 磷酸化,活化的 IKK 导致 I κ B 磷酸化并降解,使 NF- κ B 释放入核,调控 TNF- α 、MCP-1 等炎性因子基因表达。

3.1 抑制 NF- κ B 表达

慢性肾衰患者体内存在持续低水平的炎症反应而无感染症状,血清 CRP 和 IL-6 水平与肾脏 NF- κ B-p65 表达呈正相关。肾康片 (黄芪、党参、柴胡、猪苓、黄连、苏叶、白术、丹参、益母草、大黄等组成) 可降低慢性肾衰患者血清炎性因子 IL-6 及 NF- κ B 水平,改善微炎症状态^[50]。而虫草菌丝可抑制慢性肾衰大鼠肾脏 NF- κ B-p65 蛋白和 mRNA 表达,对微炎症反应具有一定的治疗作用^[51]。此外,活血化瘀中药红花对 UUO 大鼠肾组织 NF- κ B 及 TGF- β 1 的表达有明显抑制作用,减缓肾纤维化进程^[52]。而黄芩提取物中的黄芩苷具有抗炎、调血脂、抗氧化等广泛的生物活性,可抑制高脂血症大鼠肾小球 NF- κ B 活化,减少 MCP-1 分泌,减弱氧化应激和炎症反应,从而减轻肾小球动脉硬化^[53]。

3.2 抑制 IKK 表达

槐定碱系苦豆子中提取的生物碱,黄菱等^[54]报道其可抑制内毒素血症小鼠肾组织中 IKK β mRNA 和 pIKK β 蛋白表达,并降低 NF- κ B P65 蛋白表达总量及入核率,且肾组织中 TNF- α mRNA 表达和血清中分泌性 TNF- α 均显著降低。故槐定碱可抑制肾组织中 IKK β /NF- κ B/TNF 通路活化,拮抗炎症反应。

3.3 减少 I κ B- α mRNA 降解并上调 Smad 7 表达

I κ B 是 NF- κ B 主要抑制因子,其与 NF- κ B 结合而使之无活性, NF- κ B 解离 I κ B 后方有活性。I κ B- α 是 I κ B 家族最主要成员,受外界信号刺激后, I κ B- α 降解对于 NF- κ B 活化至关重要。青蒿琥脂为青蒿素的衍生物,马行一等^[55]采用 RT-PCR 检测 UUO 大鼠

肾组织 Smad 7 和 I κ B- α 的 mRNA 表达,发现青蒿琥酯治疗组 Smad 7 mRNA 表达较假手术组上升,I κ B- α mRNA 表达亦相对较高。故青蒿琥酯可上调 Smad 7 表达并减少 I κ B- α mRNA 降解,以减轻肾间质炎症损伤。麦冬多糖为麦冬有效组分,Lu 等^[56]研究发现麦冬多糖可上调糖尿病大鼠肾组织的 I κ B- α 表达,明显抑制 NF- κ B p65 及其下游炎症因子 TGF- β 1、TNF- α 和 IL-6 表达,从而拮抗 NF- κ B 介导的炎症反应。

4 中药阻止 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)的磷酸化

p38MAPK 是一种酪氨酸磷酸化蛋白激酶,广泛存在于细胞质与细胞核中,通过细胞内信号传递参与细胞对外界刺激的调节反应。p38MAPK 通过非磷酸化转化为磷酸化状态来促进下游底物的磷酸化,快速实现信号传递,磷酸化 p38MAPK (phosphorylated p38MAPK, p-p38MAPK) 是肾组织炎症损伤的关键分子。炎症因子及应激因素刺激细胞,MAPK 激酶激酶 (MAPK kinase kinase, MAPKKK) 被磷酸化而激活,活化的 MAPKKK 磷酸化 MAPK 激酶 (MAPK kinase, MAPKK) 而使之激活,活化的 MAPKK 进一步磷酸化 p38MAPK 形成 p-p38MAPK, p-p38MAPK 转位胞核,调控多种核转录因子,影响 TNF- α 、TGF- β 1 及 IL 等炎症因子表达^[57]。

中药可通过抑制 CKD 肾组织 p38MAPK 表达而拮抗炎症反应。健脾清化方(党参、黄芪、黄连、大黄、苍术、草果仁等组成)能明显抑制慢性肾衰肾纤维化大鼠肾组织 p-p38MAPK 蛋白及炎症因子表达,有效阻止肾组织 p38MAPK 信号通路的活化,继而动态调控致炎因子 TNF- α 与抑炎因子 IL-10 的表达,改善慢性肾衰炎症状态,延缓肾衰进程^[58]。Lu 等^[56]报道麦冬多糖可抑制糖尿病大鼠肾组织的 p38MAPK 及 p-p38MAPK 表达,调整信号转导,减弱炎症反应,减少肾病理改变,降低发展为 DN 的风险。

5 中药抑制 Toll 样受体 4 (TLR4) 表达

TLR4 属 Toll 样受体家族,是一种膜型模式识别受体,几乎分布于所有细胞系,单核细胞尤多。TLR4 的主要配体是 LPS 和热休克蛋白等病原相关模式分子,故 TLR4 介导 LPS 诱导的炎症反应。TLR4 是肾纤维化的重要介质,TLR4 活化后激活 NF- κ B, NF- κ B 转入胞核诱导 IL-6、IL-8 等炎症因子基因表达^[59]。TLR4 活化也可激活 MAPK 途径,

p38 MAPK 转位胞核,诱导多种炎症因子基因表达。

中药可直接或间接抑制 TLR4 表达而拮抗 CKD 肾组织炎症反应。槲皮素^[60]、大黄素^[61]和姜黄素^[62-63]可直接抑制 TLR4 表达。杨亚珍等^[61]采用 RT-PCR 检测小鼠肾小管上皮细胞 TLR4 mRNA 的表达,发现大黄素可抑制 LPS 诱导的 TLR4 mRNA 表达,并减少下游炎症因子 IL-6、TNF- α 生成,减轻 TLR4 所激发的肾脏炎症损伤。益肾胶囊(黄芪、当归、芡实、泽泻、红景天等组成)可上调 SOCS-3 而抑制 TLR4 表达。SOCS-3 在 TLR 信号转导中起负调节作用,对于维持机体免疫平衡至关重要,郭晓燕等^[64]报道益肾胶囊治疗组大鼠肾组织中 SOCS-3 表达明显升高,而 TLR4 与 IL-6 表达明显降低,提示益肾胶囊可能通过上调 SOCS-3 而抑制 TLR4 及 IL-6 表达,从而降低 DN 炎症反应。

6 中药抑制类肝素酶表达

类肝素酶 (heparanase, Hpa) 是一种裂解糖氨基聚糖中硫酸乙酰肝素侧链的内切糖苷酶,而糖氨基聚糖是细胞外基质和基底膜的主要成分,故 Hpa 促进细胞侵袭和炎细胞浸润。炎症细胞浸润在各种 CKD 肾小管间质损伤的特征性表现,而炎症细胞趋向炎症反应区必须首先穿越由细胞外基质和基底膜组成的屏障。显然肾组织 Hpa 表达与炎症细胞浸润密切相关。海带多糖主要由葡萄糖的多聚物组成,余荣杰等^[65]检测了阿霉素肾病大鼠外周血淋巴细胞 Hpa mRNA 表达,并检测了肾组织 Hpa、IL-6 及 IL-8 表达,发现海带多糖可降低阿霉素肾病大鼠 Hpa 表达,也可降低 IL-6 及 IL-8 的表达,故海带多糖通过抑制 Hpa 表达而减轻炎症细胞浸润。

7 思考和展望

CKD 与炎症密切相关已成共识。中药或其提取物可干预 NF- κ B、MAPK 及 TLR4 等信号转导通路,并调节细胞因子、黏附分子、转录因子、受体分子及酶分子等多层次多靶点拮抗慢性肾病肾组织炎症损伤。

中药干预慢性肾病肾组织炎症损伤具有多点性、多效性和重叠性等作用特点。多点性即不同中药可作用于炎症损伤因素的不同靶点,如细胞因子、黏附分子、转录因子、酶分子及受体分子等;多效性即一种中药可作用于炎症损伤因素的多个靶点,如黄葵胶囊不仅可抑制 CKD 患者 TNF- α 表达,而且还可上调血清 Lkn-1 表达,下调肾组织 p-p38MAPK 表达,以拮抗炎症损伤;重叠性即多种中药可作用于炎症损伤因素的同靶点,如人参皂

昔、灯盏花素及黄葵胶囊等均可抑制 TNF- α 表达。这些特点决定于炎性损伤因素的交互性、网络性及放大性。网络性指众多细胞因子相互作用, 构成复杂细胞因子网络; 交互性指不同信号通路之间存在广泛复杂的信息交流, 如 TLR4 活化后不仅激活 NF- κ B 途径, 而且激活 MAPK 途径, 而 MAPK 途径活化又可激活 NF- κ B 途径; 放大性指信号信息的正反馈放大, 如 TNF- α 可启动 NF- κ B 信号途径, 而 NF- κ B 入核可增强 TNF- α 基因转录。

而笔者认为中药干预 CKD 炎性损伤的机制研究尚缺乏深入性和系统性。深入性指作用靶点的深入性, 如芪蓟肾康颗粒总多糖可抑制 IgA 肾病模型大鼠肾组织 MCP-1 的表达而阻断炎症反应对肾脏的损害, 但尚不知如何抑制 MCP-1 的表达, 即其确切机制尚需深入研究。系统性指各细胞因子、黏附分子、转录因子及受体分子之间交互作用及其复杂尚需系统研究。即使如此, 探索炎性损伤的分子机制对于发挥中医药多层次、多靶点、多途径拮抗炎性损伤的整体治疗优势不可或缺。相信随着分子生物学等研究的不断发展, 中医药对炎性损伤的调控机制将愈来愈明晰, 科学完整的药物筛选平台和安全有效的抗炎症中药制剂必将应运而生。

参考文献

- [1] Zhang L, Wang F, Wang L, *et al.* Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey [J]. *Lancet*, 2012, 379(9818): 815-822.
- [2] Filiopoulos V, Vlassopoulos D. Inflammatory syndrome in chronic kidney disease: pathogenesis and influence on outcomes [J]. *Inf Allergy Drug Targets*, 2009, 8(5): 369-382.
- [3] Ahad A, Ganai A A, Mujeeb M, *et al.* Ellagic acid, an NF- κ B inhibitor, ameliorates renal function in experimental diabetic nephropathy [J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 219: 64-75.
- [4] Taslipinar A, Yaman H, Yilmaz M I, *et al.* The relationship between inflammation endothelial dysfunction and proteinuria in patients with diabetic nephropathy [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2011, 71(7): 606-612.
- [5] Impellizzeri D, Esposito E, Attley J, *et al.* Targeting inflammation: new therapeutic approaches in chronic kidney disease (CKD) [J]. *Pharmacol Res*, 2014, 81: 91-102.
- [6] Navarro-González J F, Mora-Fernández C, Muros de Fuentes M, *et al.* Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2011, 7(6): 327-340.
- [7] Vianna H R, Soares C M, Tavares M S, *et al.* Inflammation in chronic kidney disease: the role of cytokines [J]. *J Bras Nefrol*, 2011, 33(3): 351-364.
- [8] 曹雪涛. 医学免疫学 [M]. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [9] Zelová H, Hošek J. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances [J]. *Inf Res*, 2013, 62(7): 641-651.
- [10] Navarro-Gonzalez J F, Mora-Fernandez C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy [J]. *Am Soc Nephrol*, 2008, 19(3): 433-442.
- [11] 马小芬, 谢席胜, 左川. 人参皂甙 Rg₁ 对糖尿病肾病大鼠肾脏保护作用的机制研究 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2010, 27(2): 342-347.
- [12] 汪伟, 李冬梅, 李锐. 大豆皂甙对大鼠糖尿病肾病保护作用的实验研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2013, 29(12): 1272-1275.
- [13] 吉勤, 张春艳. 降浊颗粒对慢性肾衰竭模型微炎症状态的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2011, 12(2): 148-149.
- [14] 李军, 吴立友, 王朝阳. 灯盏花素注射液对2型糖尿病早期肾病患者相关炎症因子的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2011, 27(3): 110-112.
- [15] 王锋, 范亚平, 俞燕, 等. 黄葵胶囊对慢性肾脏病3期患者微炎症状态的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(10): 1709-1710.
- [16] Zheng J M, Yao G H, Cheng Z, *et al.* Pathogenic role of mast cells in the development of diabetic nephropathy: a study of patients at different stages of the disease [J]. *Diabetologia*, 2012, 55(3): 801-811.
- [17] Moresco R N, Sangoi M B, De Carvalho J A, *et al.* Diabetic nephropathy: traditional to proteomic markers [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 421: 17-30.
- [18] Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Clin Sci*, 2013, 124(3): 139-152.
- [19] Fallahzadeh M K, Dormanesh B, Sagheb M M, *et al.* Effect of addition of silymarin to renin-angiotensin system inhibitors on proteinuria in type 2 diabetic patients with overt nephropathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Am J Kidney Dis*, 2012, 60(6): 896-903.
- [20] 张建伟, 顿利杰. 百令胶囊辅助治疗对糖尿病肾病患者血清炎症因子的影响 [J]. *中国药师*, 2013, 16(10): 1557-1558.
- [21] 张辉, 杨爱成, 李忠琳. 肾康注射液对肾功能中度异常的糖尿病肾病患者炎症因子的影响 [J]. *湖北医药学*

- 院学报, 2013, 32(4): 295-298.
- [22] 陈立, 库宝庆. 三七超微饮片对慢性肾衰竭患者微炎症状态的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(11): 986-987.
- [23] 吴立友, 李顺民, 孙惠力, 等. 肾衰方对维持性血液透析湿热证营养不良患者微炎症状态的影响 [J]. 新中医, 2012, 44(1): 48-50.
- [24] 伍小波, 徐嘉红, 罗先钦. 昆明山海棠对慢性肾炎大鼠血清中 IL-1, IL-6 及 TNF- α 的影响 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(24): 3354-3356.
- [25] 王天, 孙维峰. 复方土茯苓颗粒对高尿酸血症肾病模型小鼠肾功能及 IL-1, IL-6 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 191-194.
- [26] Griffin G K, Newton G, Tarrío M L, *et al.* IL-17 and TNF- α sustain neutrophil recruitment during inflammation through synergistic effects on endothelial activation [J]. *J Immunol*, 2012, 188(12): 6287-6299.
- [27] 沈岚, 俞立强, 熊佩华. 六味地黄汤合黄连解毒汤对糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用及相关机制 [J]. 南京中医药大学学报, 2013, 29(6): 553-557.
- [28] MacKenzie K F, Pattison M J, Arthur J S. Transcriptional regulation of IL-10 and its cell-specific role *in vivo* [J]. *Crit Rev Immunol*, 2014, 34(4): 315-345.
- [29] 郭景珍, 李平, 万方, 等. 糖肾方对 2 型糖尿病肾病模型 OLETF 大鼠 IL-10、TNF- α 、DA 调控作用观察 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 12(12): 1044-1047.
- [30] Brosius F C, Khoury C C, Buller C L, *et al.* Abnormalities in signaling pathways in diabetic nephropathy [J]. *Expert Rev Endocrinol Metab*, 2010, 5(1): 51-64.
- [31] 李悦, 于春江, 郭兆安, 等. 芪蛭降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠肾实质小动脉内膜/中膜厚度比与炎症因子的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2013, 14(10): 585-586.
- [32] 魏民, 杨京京, 杨红. 解毒活血法对 UUO 大鼠 MCP-1 的影响 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 623-624.
- [33] 吕静, 杨冠琦, 张君. 芪蓟肾康颗粒总多糖对 IgA 肾病模型大鼠的治疗及作用机制研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 19(11): 1295-1300.
- [34] 潘国伟, 陈琨, 马拥军. 姜黄素对糖尿病肾病大鼠肾功能及肿瘤坏死因子- α 及单核细胞趋化蛋白-1 的作用 [J]. 中国中医急症, 2011, 20(1): 98-99.
- [35] 仲芳, 陈慧, 韩琳, 等. 姜黄素对脂多糖刺激的肾小管近端上皮细胞分泌的相关炎症因子的影响 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2009, 18(3): 236-241.
- [36] 刘孝琴, 李悦, 李雅楠. 益肾化湿颗粒对早期糖尿病肾病患者 CRP 及 IL-8 的影响 [J]. 中国中西医结合肾
- 病杂志, 2013, 14(6): 538-539.
- [37] 刘中柱, 孔祥静, 刘艳姝. 黄葵胶囊对慢性肾小球肾炎患者血清 Lkn-1 和 TNF- α 水平影响的研究 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 12(1): 78-79.
- [38] 万毅刚, 孙伟, 陈晓艳, 等. 雷公藤多苷对抗 Thy1. 1 抗体肾炎肾小球内炎症细胞浸润的抑制作用 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(1): 72-77.
- [39] 陈益山, 曹文富, 焦颖华. 复肾降纤宁对糖尿病肾病大鼠的影响及机制研究 [J]. 中草药, 2008, 39(12): 1844-1848.
- [40] 沈岚, 俞立强, 熊佩华. 六味地黄汤合黄连解毒汤对糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用及相关机制 [J]. 南京中医药大学学报, 2013, 29(6): 553-557.
- [41] Shi Y, Du C, Zhang Y, *et al.* Suppression of cytokine signaling ameliorates expression of MCP-1 in diabetic nephropathy [J]. *Am J Nephrol*, 2010, 31(5): 380-388.
- [42] Zhou Y, Lv C, Wu C, *et al.* Suppressor of cytokine signaling (SOCS) 2 attenuates renal lesions in rats with diabetic nephropathy [J]. *Acta Histochem*, 2014, 116(5): 981-988.
- [43] 张娟, 方敬爱. 黄芪对糖尿病肾病大鼠肾组织中 SOCS1 表达的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 12(4): 331-333.
- [44] Ramasamy R, Yan S F, Schmidt A M. Receptor for AGE (RAGE): Signaling mechanisms in the pathogenesis of diabetes and its complications [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2011, 1243: 88-102.
- [45] 郭洁, 张晓双, 刘继平, 等. 山茱萸环烯醚萜总苷对晚期糖基化终末产物诱导的肾系膜炎症反应的调节 [J]. 中成药, 2013, 35(10): 2067-2072.
- [46] 黄岩杰, 马宁宁, 杨晓青, 等. 当归对单侧输尿管梗阻大鼠肾组织中黏附分子 ICAM-1 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(1): 167-169.
- [47] Rangan G, Wang Y, Harris D. NF-kappa B signalling in chronic kidney disease [J]. *Front Biosci*, 2009, 14: 3496-3522.
- [48] Ka S M, Yeh Y C, Huang X R, *et al.* Kidney-targeting Smad7 gene transfer inhibits renal TGF- β /MAD homologue (SMAD) and nuclear factor κ B (NF- κ B) signalling pathways, and improves diabetic nephropathy in mice [J]. *Diabetologia*, 2012, 55(2): 509-519.
- [49] Sanz A B, Sanchez-Nino M D, Ramos A M, *et al.* NF- κ B in renal inflammation [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(8): 1254-1262.
- [50] 李小会, 雷根平, 潘冬辉, 等. 肾康片对慢性肾衰竭微炎症状态及水通道蛋白 2 影响的临床研究 [J]. 中成药, 2012, 34(8): 1462-1464.
- [51] 李小波, 边壮, 兰萍. 红花对单侧输尿管梗阻大鼠

- 肾脏 NAG、NF- κ B、TGF- β 1 表达的影响 [J]. 河南中医, 2011, 31(6): 604-606.
- [52] 吴涛, 高蕾, 李学刚, 等. 虫草菌丝对慢性肾功能衰竭大鼠微炎症反应的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2010, 24(4): 274-279.
- [53] 李绚, 阎蓉华, 彭谨. 黄芩苷通过降低高脂血症大鼠肾小球核因子 κ B 及可溶性单核细胞趋化蛋白表达抑制肾脏炎症反应 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(8): 611-613.
- [54] 黄菱, 谢建宁, 梁锦屏, 等. 槐定碱抑制内毒素血症小鼠肾组织 NF- κ B 通路活化的研究 [J]. 药学学报, 2011, 46(9): 1072-1077.
- [55] 马行一, 吴蔚桦, 曾燕, 等. 青蒿琥酯对 UUO 模型大鼠肾脏的抗炎作用及其机制研究 [J]. 重庆医学, 2010, 39(12): 1514-1516.
- [56] Lu H J, Tzeng T F, Liou S S, *et al.* Polysaccharides from *Liriope Radix* ameliorate streptozotocin-induced type I diabetic nephropathy via regulating NF- κ B and p38 MAPK signaling pathways [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14: 156.
- [57] Yamada T, Egashira N, Bando A, *et al.* Activation of p38 MAPK by oxidative stress underlying epirubicin-induced vascular endothelial cell injury [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(8): 1285-1293.
- [58] 邹赞, 朱祎, 王东, 等. 健脾清化方对肾衰大鼠磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶介导的炎症因子的调控作用 [J]. 上海中医药大学学报, 2013, 27(3): 73-76.
- [59] Campbell M T, Hile K L, Zhang H, *et al.* Toll-like receptor 4: a novel signaling pathway during renal fibrogenesis [J]. *J Surg Res*, 2011, 168(1): e61-9.
- [60] 胡庆华, 缪明星, 卢国, 等. 槲皮素对尿酸性肾病大鼠肾脏 NLRP3 和 TLRs 表达的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3496-3502.
- [61] 杨亚珍, 朱晓玲, 王永钧, 等. 大黄素对脂多糖所致肾脏炎症的抑制作用 [J]. 中国医药导报, 2013, 10(36): 8-11.
- [62] Moon D O, Kim M O, Choi Y H, *et al.* Curcumin attenuates inflammatory response in IL-1 beta-induced human synovial fibroblasts and collagen-induced arthritis in mouse model [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(5): 605-610.
- [63] 吴迪英, 郭闻渊, 张豪杰, 等. 姜黄素对小鼠肾小管上皮细胞体外再灌注损伤的保护作用及机制 [J]. 第二军医大学学报, 2011, 32(8): 874-878.
- [64] 郭晓燕, 方敬爱. 益肾胶囊对糖尿病肾病大鼠肾组织 SOCS-3、TLR4、IL-6 表达的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 12(5): 390-392.
- [65] 余荣杰, 赵洪雯, 李敛, 等. 海带多糖对大鼠阿霉素肾病的抗炎症性损伤治疗作用 [J]. 重庆医学, 2008, 37(8): 800-802.

三七总皂苷生物合成的关键酶及其调控研究进展

赵 灿, 郭丽娜, 彭玉帅, 刘 辰, 王如峰*

北京中医药大学中药学院, 北京 100102

摘要: 三七总皂苷 (*Panax notoginseng* saponins, PNS) 属于达玛烷型三萜皂苷, 是中国传统珍贵药材三七的主要活性成分。三七总皂苷对中枢神经系统、心脑血管系统和免疫系统具有较好的保护作用, 并被广泛地用于衰老、肿瘤等疾病的治疗。对三七总皂苷生物合成中的关键酶如法呢基焦磷酸合酶 (FPS)、鲨烯合成酶 (SS)、鲨烯氧化酶 (SE)、达玛烯二醇合成酶 (DS)、环阿屯醇合成酶 (CAS)、P450 单加氧酶 (CYP450) 和糖基转移酶 (GT) 等在催化机制、基因克隆、转录水平的表达调控及其表达模式和表达组织和器官的特异性方面的研究进展进行综述, 并首次总结了多态性和环境胁迫等在三七皂苷生物合成的基因表达调控中的作用, 为应用代谢工程人工合成 PNS 提供依据。

关键词: 三七总皂苷; 三萜皂苷; 生物合成; 关键酶; 表达调控

中图分类号: R282.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)19-2954-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.19.023

Research progress in key enzymes involved in biosynthesis of *Panax notoginseng* saponins and their regulation

ZHAO Can, GUO Li-na, PENG Yu-shuai, LIU Chen, WANG Ru-feng

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: *Panax notoginseng* saponins (PNS), which belong to dammarane-type triterpenoid saponins, are the main active components of a precious Chinese materia medica (CMM) named *Notoginseng Radix*. PNS have better protective effects on the central nervous system, cardiovascular system, and immune system, and have been widely used in the treatment of diseases including fibrosis, aging, and neoplasm. This review summarized the research progress in the key enzymes involved in the biosynthesis of PNS, such as farnesyl pyrophosphate synthase (FPS), squalene synthase (SS), squalene oxidase (SE), dammarenyldiol-II synthase (DS), cycloartenol synthase (CAS), cytochrome P450 monooxygenases (CYP450), and glycosyltransferase (GT) in terms of catalytic mechanism, gene cloning, and expression regulation on the transcriptional level, as well as the specificity in expression patterns and expression tissues and organs. Meanwhile, the effects of polymorphism and environmental stress on the regulation of gene expression have been first summarized. This review provides a basis for artificial synthesis of PNS using metabolic engineering.

Key words: *Panax notoginseng* saponins; triterpenoid saponins; biosynthesis; key enzymes; expression regulation

三七 *Notoginseng Radix* 为五加科 (Araliaceae) 人参属 *Panax* L. 植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根, 主产于我国云南、广西及四川等地^[1-2]。三七中含有皂苷、糖类、氨基酸、黄酮、油脂、微量元素等活性成分, 具有散瘀止血、消肿止痛的功效^[2]。其中, 三七总皂苷 (*Panax notoginseng* saponins, PNS) 是三七的主要活性成分, 其量高达 12%^[3]。研究表明, PNS 和部分单体皂苷在心脑血管系统、神经系统、物质代谢以及抗炎、抗肿瘤等方

面均有较好的生理活性, 且对某些疾病的药用价值远高于人参 *Panax ginseng* C. A. Mey.^[2-5]。

随着 PNS 和部分单体皂苷生物活性研究的深入, 市场需求也越来越大。但是, 三七对生长环境要求苛刻, 适宜栽种地域狭小, 传统栽培方法的产量难以满足市场需求, 导致三七市场价格不断上升, 并出现假三七扰乱市场的问题, 不利于中药市场的繁荣。近年来, 药用植物次生代谢产物合成的基因调控已成为分子生物学十分活跃的前沿研究领域,

收稿日期: 2015-03-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274044)

作者简介: 赵 灿 (1992—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为药物代谢。E-mail: zhaocan330755698@qq.com

*通信作者 王如峰 Tel: (010)84738646 E-mail: wangrufeng@tsinghua.org.cn