

组织蛋白酶与中药

刘 杨, 陈凤彩, 杨长福*, 林 昶

贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002

摘 要: 组织蛋白酶来源于细胞内溶酶体, 种类和功能多样, 其在维持人体新陈代谢和疾病发生发展过程中表现出双重作用, 其适度表达可促进组织或细胞的活化、增殖与代谢, 对人体起到积极的作用, 而过度表达又成为某些疾病发生发展的诱因, 成为某种消极因素。中药作为传统医学重要的组成部分, 来源广泛且副作用低, 对组织蛋白酶的影响起着不可忽视的积极作用。目前, 中药对于组织蛋白酶的相关研究起步较晚, 并且发展缓慢。综述近年来国外关于组织蛋白酶的部分研究理论和国内关于中药在组织蛋白酶方面的研究内容, 为中药干预治疗对组织蛋白酶诱发相关疾病研究提供部分参考。

关键词: 组织蛋白酶; 溶酶体; 中药; 肿瘤; 糖尿病

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)22-3427-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.22.024

Cathepsin and Chinese materia medica

LIU Yang, CHEN Feng-cai, YANG Chang-fu, LIN Chang

Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China

Abstract: Cathepsin, with various species and functions, derives from cell endolysosome. It has great impact on both sustaining eubolism and preventing diseases. Cathepsin has positive effect on human beings through its moderate expression to enhance the cells in their activation, multiplication, and metabolism. While its excessive expression might have a negative effect of inducing other diseases. Traditional Chinese herbs have been a crucial part of traditional Chinese medicine and they are various in species with less side effect, which has been paid close attention to. So far, researches about cathepsin become abundant among researchers home and abroad, while Chinese materia medica just takes up its gradual research not long before. This paper aims at briefly summarizing the latest academic researches on cathepsin home and abroad in terms of dependency structure, features of pathology and physiology as well as the intervention of traditional Chinese herbs to cathepsin in order to give a clear picture on its development.

Key words: cathepsin; endolysosome; Chinese materia medica; tumor; diabetes mellitus

组织蛋白酶是细胞内蛋白酶, 在细胞中具有消化功能的囊泡内被发现, 这些具有消化功能的囊泡也被称为溶酶体。溶酶体包含大量水解酶与消化酶, 参与降解在细胞生长发育衰老过程中产生的多余多糖和核酸以及破破坏死的细胞器结构。组织蛋白酶对于正常的细胞生长周期和完整的组织功能都有重要的影响, 并具有双重调节作用。在正常生理环境中, 组织蛋白酶适度表达可促进组织或细胞的活化、增殖与代谢, 对人体起到积极的作用。而在病理环境下, 组织蛋白酶过度表达又成为某些疾病发生发展的诱因, 成为某种消极因素。中药作为传统医学研究内容的重要组成部分, 其毒副作用低, 疗效确

切, 受到医学界越来越多的重视, 现阶段关于国外对于组织蛋白酶的相关基础理论研究已很丰富, 而国内传统医学领域有关中药对于组织蛋白酶的研究起步较晚, 并且发展缓慢, 成果较少。本文从部分组织蛋白酶的相关结构、病理生理学特性以及中药对组织蛋白酶的影响等几方面综述近年来国外关于组织蛋白酶的部分研究理论和中药在组织蛋白酶方面的研究进展, 为中药对组织蛋白酶相关疾病研究提供一定的参考。

1 国外关于组织蛋白酶部分研究进展

组织蛋白酶(cathepsin)一词来源于希腊语, 意为“消化”。最初是指酸性蛋白酶, 它们被用大写字

收稿日期: 2015-05-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81260587)

作者简介: 刘 杨, 研究生在读, 从事中医基础理论研究。Tel: (0851)5606145 E-mail: www.liuyang2009@aliyun.com

*通信作者 杨长福, 博士, 副教授, 从事中医基础理论研究。Tel: (0851)5606145 E-mail: yangchangfu@126.com

母标注命名了每个酶。组织蛋白酶是具有不同群体的蛋白酶,它是由各种催化酶类组成,包含丝氨酸蛋白酶类(组织蛋白酶 A、G)、天冬氨酸组织蛋白酶类(组织蛋白酶 D、E)、半胱氨酸组织蛋白酶类(组织蛋白酶 B、C、F、H、K、L、O、S、V、X、W)^[1]。

1.1 组织蛋白酶部分分子组成和结构功能特点

组织蛋白酶的三维空间结构由1个隐含着半胱氨酸残基的 α -螺旋构成的L型结构和一个含有组氨酸残基构成的R型结构组成^[2]。人组织蛋白酶的催化活性中心是具有214~260个氨基酸的长肽链,它包含着1个由半胱氨酸、组氨酸和天冬酰胺残基组成的高度保守活性区域。组织蛋白酶以无活性的酶原的形式存在于吞噬体中,在酸性环境下通过自我催化激活或者被其他蛋白酶激活,而酶原的主要构成分为 α 螺旋结构的前体肽,它有防止活化中心被激活,强化与分化成熟部分结合的能力。这个 α 螺旋结构与成熟区域的酶结构N端残基方向相反,它跨越活性中心与底物进行结合。在胞质中的高尔基运输体网状结构内,糖基化的组织蛋白酶前体都带有甘露糖-6-磷酸标记,在细胞自噬溶酶体内能够自我分类排序,同时前体蛋白的功能结构域被激活水解,组织蛋白酶被自我催化激活或被其他蛋白酶酶激活。

丝氨酸蛋白酶类组织蛋白酶 A 相对分子质量约为 5×10^4 ^[3],属 α/β 折叠水解酶类,存在于溶酶体中,它还是一种丝氨酸类羧基肽酶,其羧基肽酶活性最佳pH值为4.5~5.5;组织蛋白酶 G 相对分子质量为 2.6×10^4 ^[4],其是从激活的中性粒细胞释放的一种丝氨酸蛋白酶,抑制前列腺素产生,诱导纤溶酶原激活抑制剂-1释放,可导致血小板活化、血管栓塞,诱发心脑血管病。天冬氨酸组织蛋白酶类组织蛋白酶 D 相对分子质量约为 5×10^4 ,由无活性的蛋白前体、蛋白中间体和成熟体3种形式存在于细胞内,最佳pH值为3~5;组织蛋白酶 E 以同源二聚体形式存在于细胞内^[5],相对分子质量为 4.2×10^4 ,其高表达于与免疫相关的巨噬细胞、树突状细胞、B细胞及红细胞、胃黏膜和皮肤等。溶酶体内半胱氨酸组织蛋白酶占据了大部分,其属于木瓜蛋白酶类家族中的半胱氨酸蛋白酶 CA 族,它们都是些单体蛋白,除了组织蛋白酶 C 相对分子质量在 2×10^5 左右外,其余的相对分子质量在 $2 \times 10^4 \sim 3.5 \times 10^4$ 。半胱氨酸蛋白酶组织蛋白酶 B、H、

F、K、L、O、S、V、W 具有肽链内切酶活性,组织蛋白酶 C 和 X 还具有肽链外切酶活性,不仅可以降解蛋白质,还可以在不同组织特异性表达,参与某些细胞功能的调节。组织蛋白酶 B 既有肽链外切酶活性又具有肽链内切酶活性,在免疫复合物降解和神经细胞凋亡当中组织蛋白酶 B 表现为肽链内切酶活性^[6]。肽链外切酶组织蛋白酶 C 和 X 不能被自我催化成熟,必须要1个肽链内切酶来激活。

在一些疾病中,正常的细胞内环境被改变就会引起溶酶体组织蛋白酶的分泌,组织蛋白酶的空间结构中有磷酸甘露糖残基,这个结构与甘露糖-6-磷酸受体结合,导致溶酶体组织蛋白酶的释放。伴随着组织蛋白酶的释放,溶酶体的膜结构的通透性会发生改变,继而又可影响细胞凋亡^[7]。组织蛋白酶被证实由溶酶体释放入胞浆,与 Bcl-2 家族蛋白共同诱导细胞凋亡^[8]。组织蛋白酶发挥活性作用的微环境是酸性或中性,其在酸性条件下的水解活性要强于中性,但也不是绝对的,还要看其催化的底物和自身结构是否稳定^[9]。黏多糖是组织细胞中较为重要的调节蛋白,组织蛋白酶与之黏附直接影响蛋白酶的催化活性、稳定性和催化速率。例如,硫酸乙酰肝素是一种普遍存在于细胞中的黏多糖,在细胞表面和细胞外基质以蛋白多糖的形式存在,大多数细胞的硫酸乙酰肝素起源于多配体蛋白聚糖类和磷脂酰肌醇蛋白聚糖类,它们通过一些基本跨膜蛋白与细胞膜相联系,同时细胞膜也会分泌串珠素和集聚蛋白,它们共同参与各种复杂的生理过程,包括细胞外基质的降解、新生血管生成、细胞分子黏附聚集,同时又参与调节多种丝氨酸类蛋白水解酶和半胱氨酸蛋白水解酶,在组织结构修复、炎症反应、免疫应答及肿瘤迁移过程中起重要作用。硫酸乙酰肝素被证实可以绑定到组织蛋白酶 B 上,从而极大地提高了酶在中性环境中的稳定性^[10]。

1.2 组织蛋白酶病理生理学特性

1.2.1 生理特性 组织蛋白酶 A 参与裂解内皮素-1、P 物质、缓激肽、血管紧张素 I 及催产素^[11];正常表达水平的组织蛋白酶 B 和 L 对于脑组织的正常功能运行和神经元细胞的生长发育有着重要的作用^[12];组织蛋白酶 C 高表达于上皮组织和细胞间的免疫应答,其缺乏会导致掌趾角化牙周病综合征^[13];组织蛋白酶 G 既是一种弹性蛋白酶也是一种胶原蛋白水解酶,其可降解 I、III 型胶原蛋白,激活肾素-血管紧张素酶系统,诱导血管紧张素原产

生, 诱导血管紧张素 I 向血管紧张素 II 转化, 影响血管内皮细胞功能, 降解血管壁中的胶原成分、纤维连结蛋白和钙黏着蛋白, 诱导血管平滑肌细胞生长迁移。它能够活化巨噬细胞, 促进血小板凝集, 增强白细胞凝集和黏附力量; 组织蛋白酶 K、L 和 S 都与体质量的调节有关, 抑制它们可以减少脂肪生成; 组织蛋白酶 S 被发现存在于皮肤角质细胞、噬菌体、抗原呈递细胞(巨噬细胞、B 淋巴细胞、树突状细胞)。组织蛋白酶 S 蛋白基因可在肥胖者脂肪组织中过表达, 调节体质量减少后的血糖水平^[15], 但如果体内缺乏组织蛋白酶 S, 将会降低肝糖原的产生, 并且这种降低与胰岛素敏感性没有相互联系, 与糖异生途径相关蛋白基因表达的下调和肝细胞代谢水平低有关系; 组织蛋白酶 V 与 L 有较多的相似性^[16], 没有广泛地细胞组织表达, 更多表达于胸腺和睾丸, 并且在激活的巨噬细胞里面表达, 同时在血管内皮细胞的粥样斑块常有表达^[17]。虽然组织蛋白酶 V 和 L 在 37 °C 或 pH 5.5 时具有相似的酶活性, 在某些情况下, 组织蛋白酶 V 的激活可大量降解弹性蛋白酶, 与组织蛋白酶 K、S 和 L 相比活性更强。

1.2.2 病理特性 组织蛋白酶 B 与增加恶性肿瘤的转移能力相关, 其 mRNA 在人和鼠的细胞组织中都有表达, 它自身存在的羧基残端被水解, 通过与肿瘤细胞的膜结构结合产生生物学效应^[18-19]。肿瘤细胞转移过程中需要通过细胞外基质的阻隔, 而细胞外基质中含有大量胶原蛋白、糖蛋白和蛋白多糖, 有组织蛋白酶 B 的参与可以促进细胞外基质的局灶性降解^[20], 从而加速肿瘤细胞的迁移; 组织蛋白酶 D 的缺乏会引起脑神经元内蜡样脂褐素的大量堆积^[21], 组织蛋白酶 B、D 和 L 在肌萎缩性侧索硬化症转基因小鼠的脊髓中过度表达, 影响脊髓运动神经元的功能; 放疗副作用造成的血管壁与结缔组织损伤是由组织蛋白酶 D 诱导的自噬-溶酶体途径对内皮细胞与成纤维细胞影响所造成的^[22]。在细胞凋亡过程中, 不同的溶酶体蛋白水解酶在介导细胞凋亡过程中的作用会因为其在不同物种中量的不同而存在差异^[23], 线粒体中细胞色素 C 的释放是细胞凋亡过程中重要的一步, 在肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 处理过的肝细胞中, 组织蛋白酶 B 的释放诱导 caspase 8 的激活, 同时又导致细胞色素 C 的释放, 细胞色素 C 与凋亡蛋白激活因子-1 (Apaf-1) 结合, 在 ATP 存在的情况下继而激活

caspase 9; 组织蛋白酶 D 能够诱导表皮成纤维细胞凋亡, 采用组织蛋白酶 D 反义 RNA 或者抑胃肽 A, 可以抑制由 γ 干扰素 (IFN- γ) 或 Fas-1 诱发的细胞凋亡过程, 阻止细胞色素 C 的释放和 caspase 酶活性。组织蛋白酶 G 可促进血栓形成, 诱发炎症反应, 造成细胞外基质降解和加剧动脉粥样硬化斑块的形成, 同时与纤维结合蛋白片段 (Fn) 结合^[24], 可增加人体皮肤成纤维细胞中基质金属蛋白酶 (MMP) 的表达, 激活 MMP-1、MMP-2、MMP-9。抑制组织蛋白酶 S 可以减弱肿瘤细胞的分裂和血管生成, 它可以激活弹性蛋白和胶原蛋白在动脉粥样硬化中发挥作用^[25]。组织蛋白酶 L 和 S 的活动能够被黏多糖抑制; 在动脉粥样硬化中, 组织蛋白酶 V、K、S 都参与血管壁弹性蛋白基质的降解, 弹性蛋白和胶原构成细胞外基质的主体结构, 直接影响血管壁的弹性和张力, 一旦遭到破坏就会导致血管壁脆性增加, 容易血管破裂。组织蛋白酶 V 所表现的降解活性比组织蛋白酶 K、S 要高, 并且在硫酸软骨素干预下, 组织蛋白酶 V、K 的活性能够被抑制, 但组织蛋白酶 S 除外; 在组织或细胞中, 基底膜结构连续覆盖于细胞外基质 (ECM) 表面, 它的主要构成成分是层黏连蛋白、IV 型胶原和巢蛋白 (nidogen), 它们之间以非共价键相连^[26], 巢蛋白在哺乳动物基底膜中广泛表达, 分为 nid-1 和 nid-2, 在皮肤、肌肉、肺、神经等结构的基底膜中大量表达, 而组织蛋白酶 S 能够在酸性和中性环境下降解 nid-1, 同时 nid-1 还可被丝氨酸蛋白酶和基质金属蛋白酶降解; 在炎症反应中, 磷脂酶 A2 (PLA2) 参与介导细胞凋亡诱发的细胞死亡、免疫抗原呈递以及组织器官缺血/再灌注引发的损伤, 它免疫应答激活后引起花生四烯酸 (AA) 的释放从而引起线粒体功能改变, 激活组织蛋白酶 B^[27]。

2 中药对组织蛋白酶的影响

2.1 对组织蛋白酶 B 的影响

2.1.1 积肺散 积肺散可干预组织蛋白酶 B 的表达, 具有一定的抑癌作用。齐路霞等^[28]观察中药复方积肺散对肺癌小鼠组织蛋白酶 B 表达的影响。肺癌细胞经接种、传代后制成单细胞混悬液种植于小鼠体内, 将感染肺癌细胞的小鼠随机分为模型组、化疗组、中药组和联合用药组, 给药后每组 HE 染色和免疫组化法观察组织蛋白酶 B 表达。实验显示, 肺积散与顺铂合用能明显降低组织蛋白酶 B 的表达, 与顺铂合用明显加强其抗癌作用。

2.1.2 白藜芦醇 白藜芦醇能够刺激组织蛋白酶 B 的表达,诱导癌细胞凋亡。马曜辉等^[29]观察白藜芦醇对膀胱癌 T24 细胞凋亡及组织蛋白酶 B 的表达情况,白藜芦醇处理 T24 细胞后继续培养 24、48、72 h,流式细胞仪检测各时间点细胞凋亡情况,采用 RT-PCR 和 Western blotting 法检测组织蛋白酶 B 的表达。实验发现,白藜芦醇能够诱导 T24 细胞凋亡,并且随着时间延长组织蛋白酶 B 的 mRNA 和蛋白量均升高。

2.1.3 冬虫夏草菌丝 冬虫夏草菌丝可通过调节组织蛋白酶 B 和内源性抑制剂胱抑素 C 二者动态平衡起到对糖尿病肾病的治疗作用。方华伟等^[30]应用冬虫夏草菌丝干预糖尿病肾病大鼠,观察其可能的作用机制。随机将大鼠分为正常组、模型组和虫草组,后 2 组进行链脲佐菌素体内注射造模,同时虫草组 ig 给药,之后分别在 4、8、16 周处死一定数量动物,取 24 h 尿量检测尿白蛋白和尿肌酐,肾脏标本免疫组化法和 PCR 检测组织蛋白酶 B、内源性抑制剂胱抑素、IV 型胶原和纤维连接蛋白水平。结果显示,经虫草菌丝干预治疗 16 周后,组织蛋白酶 B 的表达量明显升高,而抑制剂胱抑素 C、IV 型胶原和纤维连接蛋白的表达量却明显下降。

2.1.4 褐藻 褐藻多糖硫酸酯可能抑制组织蛋白酶 B 活性起到了抗氧化损伤的作用。张甘霖等^[31]观察褐藻提取物褐藻多糖硫酸酯对组织蛋白酶 B 活性的影响。实验将神经生长因子分化的大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤 PC12 细胞分为正常组、模型组和给药组,模型组和给药组用 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞氧化损伤,给药组给予褐藻多糖硫酸酯处理。酶标仪检测细胞内超氧化物歧化酶和活性氧水平,荧光底物法检测组织蛋白酶 B 表达。结果表明, H₂O₂ 诱导 PC12 细胞中活性氧量升高,褐藻多糖硫酸酯能够降低活性氧的水平,对人肝脏细胞组织蛋白酶 B 的表达有抑制作用。

2.1.5 α -亚麻酸 α -亚麻酸能够降低组织蛋白酶 B 在心肌细胞中的过表达,具有抑制炎症的作用。谭仕凯等^[32]研究了 α -亚麻酸对病毒性心肌炎小鼠中组织蛋白酶 B 表达的影响。实验小鼠随机分为对照组、心肌炎组、高剂量干预组和低剂量干预组。除对照组外,其余各组腹腔接种柯萨奇病毒诱发性病毒性心肌炎,同时高、低剂量干预组 ig α -亚麻酸,15 d 后处死动物并取心脏和血清,PCR 和 ELISA 法检测组织蛋白酶 B 量的变化。实验显示, α -亚麻酸高

剂量组能够明显降低心肌炎小鼠的死亡率,组织蛋白酶 B 的 mRNA 表达量与心肌炎组相比明显下降,病理切片中心肌形态得到较好改善。

2.2 对组织蛋白酶 L 的影响

2.2.1 黄芪甲苷 在病毒性心肌炎中黄芪甲苷对组织蛋白酶 L 的表达表现出明显的抑制作用。于小华等^[33]观察黄芪甲苷干预病毒性心肌炎小鼠心肌细胞中组织蛋白酶 L 的表达。小鼠 ip 柯萨奇病毒制备病毒性心肌炎模型,随机分为模型组和不同浓度黄芪甲苷组。各药物组给药后采用病理切片、RT-PCR 及免疫组化法观察组织蛋白酶 L 的表达量。观察发现,随着黄芪甲苷浓度的提高,给药组比模型组小鼠死亡率下降,病理切片中给药组心肌细胞病变程度明显减轻,RT-PCR 显示组织蛋白酶 L 的 mRNA 表达水平下调,免疫组化显示高剂量黄芪甲苷组组织蛋白酶 L 表达量下降。

2.2.2 补肾调经方和逍遥丸 补肾调经方和逍遥丸可以增强组织蛋白酶 L 的表达,达到促进排卵作用。段彦苍等^[34]应用复方制剂补肾调经方和逍遥丸对促性腺激素处理过的小鼠卵巢中组织蛋白酶 L 表达量的影响进行实验观察,采用幼龄小鼠随机分为正常组、对照组、逍遥丸组和补肾调经方组。小鼠体内注射人绒毛膜促性腺激素造模,在药物组给药后 0、4、8、12 h RT-PCR 检测各组组织蛋白酶 L mRNA 的表达量。实验显示,2 种复方制剂都可以促使小鼠卵巢中组织蛋白酶 L mRNA 的表达量增强,并促进排卵。

2.3 对组织蛋白酶 K 的影响

2.3.1 淫羊藿总黄酮 淫羊藿总黄酮抑制组织蛋白酶 K 对 I 型胶原的降解,起到一定的抗骨质疏松的作用。朱志刚等^[35]研究淫羊藿总黄酮对去卵巢大鼠骨组织 I 型胶原代谢及组织蛋白酶 K 表达的影响。随机分设假手术组,模型组,淫羊藿总黄酮高、中、低剂量组和雌二醇(E₂)阳性对照组。除假手术组,其余各组摘除大鼠双侧卵巢建立骨质疏松症模型,各组 ig 给药后 ELISA 检测尿 I 型胶原氨基末端交联肽、X 线检测骨密度、免疫组化法和 Western blotting 检测大鼠骨组织 I 型胶原和组织蛋白酶 K 的表达。结果显示,不同浓度淫羊藿总黄酮都可促进去卵巢大鼠骨组织中成骨细胞 I 型胶原的表达,下调破骨细胞中组织蛋白酶 K 的表达,HE 染色显示淫羊藿总黄酮各给药组和 E₂ 组骨小梁数量明显增加,骨髓腔变小,骨密度加大。

2.3.2 补肾通络方 补肾通络方可抑制组织蛋白酶 K 在骨质疏松患者骨细胞中的过表达。林一峰等^[36]通过自制补肾通络方干预治疗,观察去卵巢大鼠破骨细胞中组织蛋白酶 K 的表达。实验采用雌性大鼠随机分设假手术组、模型组和补肾通络方组,后 2 组摘除雌性大鼠卵巢建立骨质疏松模型,饲养 4 周后给药,6 周和 12 周后各组采用 Western blotting 和 RT-PCR 法测定骨组织破骨细胞中组织蛋白酶 K 的表达量,并 X 线检测骨密度。实验显示,随时间延长,给药组与模型组相比,破骨细胞组织蛋白酶 K 表达量显著下调,给药组大鼠骨密度有明显增加的趋势。

2.3.3 骨碎补总黄酮 骨碎补总黄酮能够降低组织蛋白酶 K 的表达量,增加骨质疏松大鼠骨密度。倪力刚等^[37]用不同浓度骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠进行药物干预,观察其对大鼠股骨骨密度和股骨干骺端组织蛋白酶 K 基因表达的影响。实验选用雌鼠 72 只,随机分为正常组,假手术组,骨碎补总黄酮高、中、低剂量组和雌激素组。除正常组、假手术组,其余各组大鼠摘除卵巢造模,ig 给药后不同时间点取骨组织进行骨密度测定和 PCR 测定组织蛋白酶 K mRNA 的表达量。实验显示,骨碎补总黄酮各给药组大鼠骨密度增加,组织蛋白酶 K mRNA 的表达量下降。

2.3.4 甘草附子汤 甘草附子汤能够抑制组织蛋白酶 K 的表达,减少胶原蛋白的分解,治疗骨质疏松。李明慧等^[38]观察甘草附子汤对去卵巢大鼠骨组织中 I 型胶原和组织蛋白酶 K 表达的影响,将雌性大鼠随机分设假手术组,模型组,甘草附子汤高、中、低组和雌激素组。摘除卵巢造模,成功后各药物组给药,3 月后 HE 染色和免疫组化法检测 I 型胶原和组织蛋白酶 K 表达量。实验显示,甘草附子汤药物组和雌激素组都能明显降低组织蛋白酶 K 的量,HE 染色显示实验动物骨小梁的数目增加,并且 2 组在治疗效果上无差异。

2.3.5 三七总皂苷 三七总皂苷可上调组织蛋白酶 K 在肺纤维化疾患中的表达。孙晓芳等^[39]观察三七总皂苷其对肺纤维化小鼠组织蛋白酶 K 表达的影响。实验将小鼠分为假手术组、模型组和三七总皂苷组,假手术组气管内滴注生理盐水,其余各组气管内滴注博来霉素制备肺纤维化模型,造模后 2 d 开始给药,于 7、14、28 d 随机取一定数量动物处死,取血清检测层黏连蛋白和透明质酸量的变化,

肺组织 HE 染色、免疫组化法和免疫蛋白印记法检测组织蛋白酶 K 的表达。实验结果显示,三七总皂苷组血清中层黏连蛋白和透明质酸量较模型组显著减少,组织蛋白酶 K 的量明显增高,而小鼠肺纤维化程度与模型组相比有所减轻。

2.4 对其他组织蛋白酶的影响

2.4.1 葛根素 葛根素能够抑制组织蛋白酶 S 在狭窄血管中表达,减少血管内胶原的聚集。王群等^[40]观察葛根素对动脉内球囊术损伤后再狭窄形成过程中组织蛋白酶 S 和其内源性抑制剂胰抑素 C 的影响。实验动物先进行高脂饲料喂养,随机将其分为对照组、高脂组、球囊术后损伤组和葛根素组,药物组给药后除对照组外,其余各组行髂动脉内球囊扩张术致动脉内膜损伤,每组不同时间点取动脉一段,进行 HE 染色和免疫组化切片。通过免疫组化法发现,葛根素组动脉血管再狭窄面积减少,损伤部位的组织蛋白酶 S 表达量下降。

2.4.2 姜黄素 姜黄素可抑制组织蛋白酶 D 在肿瘤细胞中的表达,诱导细胞凋亡。杨家荣等^[41]体外观察姜黄素对膀胱肿瘤细胞组织蛋白酶 D 的影响。实验分设对照组和姜黄素高、中、低剂量组,给药后各组 MTT 检测细胞生长抑制率, TUNEL 染色并计算细胞凋亡率, RT-PCR 和 Western blotting 检测组织蛋白酶 D 的表达量。结果发现,随着给药组姜黄素浓度的升高,细胞抑制率提高,肿瘤细胞的细胞凋亡数目明显增加,组织蛋白酶 D 的表达水平受到明显的干扰,表达总量受到明显抑制。实验显示,姜黄素降低了组织蛋白酶 D 在肿瘤细胞中的表达,抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡。

3 结语

中药可以影响某些组织蛋白酶的表达。从国内相关研究中看到,中药可以干预并治疗由某些组织蛋白酶所诱发的相关疾病。目前国外对于组织蛋白酶研究较为广泛,其研究内容丰富,并且功能多样。而国内关于组织蛋白酶的相关研究起步较晚,但传统医学在药物应用与临床诊疗方面内容繁杂,可以研究并利用的资源非常丰富,故组织蛋白酶的相关研究可以应用到其中,做进一步的挖掘和探讨。通过总结中药对组织蛋白酶的影响方面的研究进展,可以看出中药研究主要的 2 种方向:一种是单体成分研究,另一种是复方制剂的研究。单体成分的研究有助于丰富单味中药的机制研究,复方制剂的研究有利于向临床成果转化,服务于临床。二者相辅

相成,对中医药事业的发展有着重要的促进作用。

同时,中药与组织蛋白酶的相关研究目前也存在诸多问题,在短时间内无法解决,如药材来源不固定且品种质量无法控制,原药材种植过程中存在农药残留的问题,中药材中起作用成分复杂、多样,单一的筛选方法难以确定全部的有效成分,单体有效成分纯化标准不够统一,在体实验中复方制剂研究的质量标准不稳定,离体实验中有效成分转移到体内会受到药物代谢和个体差异影响等,这些问题可能会在组织蛋白酶相关重复实验时造成部分影响。

今后,中药与组织蛋白酶的相关研究如何发展,可以通过研究中药对组织蛋白酶的专一性以及特定疾病发展过程中上下游细胞信号传导通路特定靶点的干预和治疗作用方面来研究药物单体成分的某些作用;还可根据单体研究的成果,结合现有临床试验来进行药物间组方配伍,将新的复方制剂应用到疾病的治疗中,让科研成果向临床方向转化。

参考文献

- [1] Marko F, Boris T. Cysteine cathepsins and extracellular matrix degradation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(8): 2560-2570.
- [2] Bromme D. Cysteine cathepsins and the skeleton [J]. *Clin Rev Bone Mineral Metab*, 2011, 9(2): 83-93.
- [3] Schreuder H A, Liesum A, Kroll K, et al. Crystal structure of cathepsin A, a novel target for the treatment of cardiovascular diseases [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 445(2): 451-456.
- [4] Stefan-Martin H, Heiko F K, Klaus S P, et al. Characterization of polymorphic structure of cathepsin G gene: role in cardiovascular and cerebrovascular diseases [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(9): 1537-1538.
- [5] Tsukuba T, Okamoto K, Yamamoto K. Cathepsin E is critical for proper trafficking of cell surface proteins [J]. *J Oral Biosci*, 2012, 54(1): 48-53.
- [6] Mohamed M M, Sloane B F. Cysteine cathepsins: multifunctional enzymes in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(10): 764-775.
- [7] Klaudia B, Anna D, Kristina M, et al. Cysteine cathepsins: cellular roadmap to different functions [J]. *Biochimie*, 2008, 90(2): 194-207.
- [8] Gabriela D M, Lea B, Ana P, et al. Cysteine cathepsins trigger caspase-dependent cell death through cleavage of bid and antiapoptotic bcl-2 homologues [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(27): 19140-19150.
- [9] Rossi A, Deveraux Q, Turk B, et al. Comprehensive search for cysteine cathepsins in the human genome [J]. *Biol Chem*, 2004, 385(5): 363-372.
- [10] Nascimento F D, Rizzi C C A, Nantes I L, et al. Cathepsin X binds to cell surface heparan sulfate proteoglycans [J]. *Archiv Biochem Biophys*, 2005, 436(2): 323-332.
- [11] Hiraiwa M. Cathepsin A/protective protein: an unusual lysosomal multifunctional protein [J]. *Cell Mol Life Sci*, 1999, 56(11): 894-907.
- [12] Hook V, Funkelstein L, Wegrzyn J, et al. Cysteine cathepsins in the secretory vesicle produce active peptides: cathepsin L generates peptide neurotransmitters and cathepsin B produces beta-amyloid of Alzheimer's disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1824(1): 89-104.
- [13] Toomes C, Wood A J, Wu C L, et al. Loss of function mutations in the cathepsin C gene result in periodontal disease and palmoplantar keratosis [J]. *Nat Genet*, 1999, 23(4): 421-424.
- [14] Wang J, Sjöberg S, Tang T T, et al. Cathepsin G activity lowers plasma LDL and reduces atherosclerosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(11): 2174-2183.
- [15] Lafarge J C, Pini M, Pelloux V, et al. Cathepsin S inhibition lowers blood glucose levels in mice [J]. *Diabetologia*, 2014, 57(8): 1674-1683.
- [16] Yasuda Y, Li Z Q, Greenbaum D, et al. Cathepsin V, a novel and potent elastolytic activity expressed in activated macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(35): 36761-36770.
- [17] Du X, Chen L H, Wong A, et al. Elastin degradation by cathepsin V requires two exosites [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(48): 34871-34881.
- [18] Sloane B F, Rozhin J, Johnson K, et al. Cathepsin B: association with plasma membrane in metastatic tumors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83(3): 2483-2487.
- [19] Wootz H, Weber E, Korhonen L, et al. Altered distribution and levels of cathepsin D and cystatins in amyotrophic lateral sclerosis transgenic mice: possible roles in motor neuron survival [J]. *Neuroscience*, 2006, 143(2): 419-430.
- [20] Buck M R, Karustis D G, Day N A, et al. Degradation of extracellular-matrix proteins by human cathepsin B from normal and tumour tissues [J]. *Biochem J*, 1992, 282(1): 273-278.
- [21] Rozman P J, Dejan C, Mohammed S, et al. Autocatalytic processing of procathepsin B is triggered by proenzyme

- activity [J]. *Febs J*, 2009, 276(3): 660-668.
- [22] Koukourakis M I, Kalamida D, Karagounis I, et al. Autophago-lysosomal flux following exposure of endothelial cells and fibroblasts to ionizing radiation [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014, 90(1): 771-772.
- [23] Johansson A C, Steen H, Ollinger K, et al. Cathepsin D mediates cytochrome c release and caspase activation in human fibroblast apoptosis induced by staurosporine [J]. *Cell Death Differ*, 2003, 10(11): 1253-1259.
- [24] Son E D, Kim H, Choi H, et al. Cathepsin G increases MMP expression in normal human fibroblasts through fibronectin fragmentation, and induces the conversion of proMMP-1 to active MMP-1 [J]. *J Dermatol Sci*, 2009, 53(2): 150-152.
- [25] Veillard F, Saidi A, Burden R E, et al. Cysteine cathepsins S and L modulate anti-angiogenic activities of human endostatin [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(43): 37158-37167.
- [26] Sage J, Leblanc-Noblesse E, Nizard C, et al. Cleavage of nidogen-1 by cathepsin S impairs its binding to basement membrane partners [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): 43494.
- [27] Foghsgaard L, Lademann U, Wissing D, et al. Cathepsin B mediates tumor necrosis factor-induced arachidonic acid release in tumor cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(42): 39499-39506.
- [28] 齐路霞, 郝静, 姜家康. 中药复方肺积散对肺癌小鼠组织蛋白酶 B 表达影响的实验研究 [J]. 中医药信息, 2009, 26(3): 90-91.
- [29] 马曜辉, 单中杰. 白藜芦醇对膀胱移行细胞癌 T24 细胞凋亡及组织蛋白酶 B 表达的影响 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2014, 49(4): 498-501.
- [30] 方华伟, 傅余芹, 韩亚莉, 等. 冬虫夏草对糖尿病大鼠组织蛋白酶 B 及其抑制剂 C 表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(7): 782-785.
- [31] 张甘霖, 朱晓新, 李萍. 褐藻多糖硫酸酯对组织蛋白酶 B 活性影响的实验研究 [J]. 首都医科大学学报, 2011, 32(3): 371-374.
- [32] 谭仕凯, 杨云华, 李双杰. 纳米 α -亚麻酸对病毒性心肌炎小鼠组织蛋白酶 B 表达的影响 [J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 25(10): 722-724.
- [33] 于小华, 李双杰, 王时俊, 等. 黄芪甲甙对病毒性心肌炎小鼠心肌组织蛋白酶 L 表达的作用 [J]. 临床儿科杂志, 2006, 24(1): 57-59.
- [34] 段彦苍, 杜惠兰, 贺明, 等. 补肾调经方、逍遥丸对促性腺激素预处理小鼠组织蛋白酶 L mRNA 的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(1): 80-84.
- [35] 朱志刚, 宋利格, 张秀珍. 淫羊藿总黄酮对去卵巢大鼠骨组织 I 型胶原代谢及组织蛋白酶 K 表达的影响 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22(3): 213-217.
- [36] 林一峰, 梁祖建, 何铭涛. 补肾通络方对去卵巢大鼠破骨细胞组织蛋白酶 K 表达的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(4): 371-374.
- [37] 倪力刚, 刘康, 史晓林. 不同浓度骨碎补总黄酮对模型大鼠的组织蛋白酶 K 及骨矿含量的影响 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2013, 21(3): 8-10.
- [38] 李明慧, 王桂敏. 甘草附子汤对去卵巢大鼠骨组织中 I 型胶原代谢及组织蛋白酶 G 表达的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(5): 356-359.
- [39] 孙晓芳, 杨会慈, 段斐. 三七总皂苷对肺纤维化小鼠肺组织蛋白酶 K 表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(1): 53-55.
- [40] 王群, 鹿庆华, 蒋卫东, 等. 葛根素对球囊损伤后再狭窄过程中组织蛋白酶 S 及胱蛋白 C 表达的影响 [J]. 山东大学学报, 2007, 45(11): 1122-1126.
- [41] 杨家荣, 杨慧, 潘铁军. 姜黄素对膀胱肿瘤细胞组织蛋白酶 D 表达的影响 [J]. 重庆医学, 2008, 37(14): 1540-1542.