

人参皂苷抗肝纤维化作用机制研究进展

孙媛媛¹, 赵玉洁³, 赵金畅³, 周官红³, 海 龙³, 姜 娜³, 苏光悦¹, 赵余庆^{1,2*}

1. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

2. 沈阳药科大学 基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室, 辽宁 沈阳 110016

3. 沈阳药科大学功能食品与葡萄酒学院, 辽宁 沈阳 110016

摘 要: 人参皂苷是一类重要的天然产物, 在自然界中分布广泛, 是多种药用植物中的主要活性成分, 具有多种生理活性。研究发现, 人参皂苷在肿瘤疾病治疗中取得很大进展, 同时在抗肝纤维化方面也有显著的作用。因此人参皂苷对肝纤维化的治疗具有重要的应用价值。对人参皂苷的抗肝纤维化作用机制进行综述, 以便为今后进一步的研究提供理论依据。

关键词: 人参皂苷; 天然产物; 抗肝纤维化; 作用机制; 基质金属蛋白酶抑制剂-1; 抗氧化; 免疫调节

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)09-1912-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.09.031

Research progress on anti-liver fibrosis effect of ginsenoside

SUN Yuan-yuan¹, ZHAO Yu-jie³, ZHAO Jin-chang³, ZHOU Guan-hong³, HAI Long³, JIANG Na³, SU Guang-yue¹, ZHAO Yu-qing^{1,2}

1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. Key Laboratory of Structure-based Drug Design and Discovery, Ministry of Education, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

3. School of Functional Food and Wine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Ginsenoside is a kind of important natural product widely planted in nature. It is not only distributed widely in nature with a variety of physiological activities, but also important bioactive constituent in the various medicinal plants. The results of recent research have demonstrated that ginsenosides made great progress in antitumor treatment, while also have an outstanding effect in liver fibrosis. Therefore ginsenosides have great value in treatment of liver fibrosis. This paper reviewed ginsenoside on the mechanism of liver fibrosis in order to provide a theoretical basis for further research.

Key words: ginsenoside; natural product; anti-liver fibrosis; mechanism; matrix metalloproteinases inhibitor-1; anti-oxidant; immunoregulation

人参在我国早有种植, 被多数人熟悉, 既是传统中药又是一种保健食品, 可以算是一种药食同源的植物。人参的根茎、叶、果实中都可以分离出大量的达玛烷型皂苷, 目前已分离得到超过 30 种的达玛烷型皂苷^[1], 其中主要的成分就是人参皂苷, 如人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc 和 Rd^[2-3]。

肝纤维化是由慢性肝疾病引发的一种常见的疾病。肝硬化与肝衰竭会危及生命, 此外, 肝硬化

是肝癌的前期征兆, 随之发展下去有很大几率引起肝癌。肝纤维化发生的机制与其他慢性疾病损伤的机制相似。纤维化的发生是一个动态的可逆过程。肝脏中肌成纤维细胞的集聚和增生导致了肝脏纤维化的发生。肝脏纤维化是在急性或慢性肝损伤时, 静止的肝星状细胞(HSC)分化转移, 导致平滑肌肌动蛋白的表达以及类维生素 A、脂肪因子的减少, 同时纤维化受体表达增加。HSC 被认为是判

收稿日期: 2016-10-17

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2015020740); 辽宁省教育厅一般项目(L2015522); 沈阳药科大学科研专项基金(QNJ2014504); 辽宁省大学生创新创业训练计划项目(201610163080)

作者简介: 孙媛媛(1992—), 女, 在读硕士研究生。Tel: 15127338182 E-mail: Sunyuanyuan921104@163.com

***通信作者** 赵余庆(1957—), 男, 辽宁东港人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然药物、药食同源品的活性成分研究。

Tel: (024)23986522 E-mail: zyq4885@126.com

定肝纤维化程度的主要细胞群,含有丰富的维生素 A,位于内皮细胞和肝细胞之间。有研究认为静止的 HSC 在哺乳动物中属于不分裂的细胞,存在于健康肝脏中,其最初的作用是存储维生素 A。当发生急性或者慢性的肝损伤,静止 HSC 被激活,失去存储维生素 A 的功能,接着就会快速进入细胞周期进行增殖^[4-9]。激活的 HSC 会发生聚集,促进细胞外基质的累积,同时会过量的合成 I 型胶原来抵抗凋亡作用,同时激活基质金属蛋白酶抑制剂-1 (TIMP-1),进而抑制基质金属蛋白酶(MMPS)^[10]。

肝脏具有超凡的能力,即可以在切除或者损伤之后再再生。再生反应是由成熟肝细胞或肝祖细胞分化成肝细胞,这种能力取决于肝脏损伤的程度及其自身的性质。激活的 HSC 会对肝细胞的增殖产生抗性,同时会抑制肝细胞再生以及促进肝纤维化的发生^[11]。薄壁组织损伤会诱发炎症反应,进一步引发纤维化的发生^[5]。同时,肝细胞与内皮细胞以及免疫细胞相互作用也会引起纤维化产生^[12-16]。研究表明,成纤维细胞表型的转化需要改变 HSC 的代谢,以抑制脂肪生成和糖质新生,同时激活有氧糖酵解,由此产生的乳酸积累会提高 HSC 的基因表达,导致成纤维细胞表型纤维化的增加^[16]。

目前已经有研究表明,人参皂苷具有抗肝纤维化的作用。大鼠注射四氯化碳诱导肝纤维化模型,采用人参皂苷 R_{g1} 治疗后,与生理盐水组相比,人参皂苷 R_{g1} 组肝脏纤维化程度表现出降低趋势^[17-22];选用人参皂苷 R_{g3} 治疗后,通过对比肝脏胶原面积、肝纤维化程度以及观察治疗后鼠肝脏组织超微结构变化发现,治疗组均可以有效地降低肝脏纤维化的程度^[23-25],同时人参皂苷 $czh-A-69$ 可以诱导活化的 HSC 产生凋亡,从而改善肝纤维化程度^[26]。本文对人参皂苷抗肝纤维化的作用机制研究进行概述。

1 下调 TIMP-1 mRNA 的表达

通过观察四氯化碳处理 8 周后的小鼠发现,其纤维化程度的恢复伴随着 TIMP-1 的降低以及激活的 HSC 密度的降低^[27]。实验证明, TIMP-1 能够促进 HSC 的存活^[28]。马岚青等^[17]研究表明,给予肝纤维化大鼠 sc 人参皂苷 R_{g1} 后,可显著降低肝纤维化大鼠肝组织 TIMP-1 和 I 型胶原 mRNA 的表达。董向前等^[21]研究表明,将造模成功的肝纤维化大鼠给予不同剂量的人参皂苷 R_{g1} ,高剂量人参皂苷 R_{g1} 组可以明显降低肝纤维化大鼠肝组织中 TIMP-1

mRNA 以及 I 型胶原 mRNA 的表达,可以减少肝星形细胞周围的胶原纤维沉积,从而减轻肝纤维化程度。Hou 等^[19]研究发现,人参皂苷 R_{b1} 能够降低 TIMP-1 以及前列腺素 E_2 的表达,从而改善肝纤维化的程度。

2 促进 HSC 凋亡

Oakley 等^[29]研究表明,核转录因子- κB (NF- κB) 是一种重要的转录因子,能上调激活 HSC 的抗凋亡基因,抑制 NF- κB 信号传导能够诱导激活的 HSC 凋亡,使纤维化程度得到恢复。

肝脏中主要的肝脏淋巴细胞群为自然杀伤细胞(NK 细胞),它在防御病毒性感染和肿瘤转移中起到重要的作用。同时最近有研究证明, NK 细胞也可以通过选择性杀伤早期被激活的 HSC 以及产生抗纤维化细胞因子,如 γ 干扰素(IFN- γ)来抑制肝纤维化^[30-32]。

Wu 等^[33]研究表明, 25-OCH₃-PPD 是一种从人参中分离出的达玛烷型三萜皂苷,不仅具有良好的抗癌活性,同时能够促进激活的 HSC 凋亡,并且对人体正常的肝细胞没有毒性。研究发现, 25-OCH₃-PPD 能够降低 α 平滑肌动蛋白、转化生长因子以及 TIMP-1 表达,并且能够激活 NF- κB 进而促进 HSC 凋亡。

3 清除氧自由基和抗脂质过氧化

过多氧自由基的产生会促进肝纤维化的发生,丙二醛(MDA)以及超氧化物歧化酶(SOD)是与氧化反应相关的物质。何苗^[34]通过研究人参皂苷对肝纤维化大鼠肝脏匀浆中 MDA 和 SOD 量的变化,研究其对肝纤维化的作用机制。实验结果显示,与模型组比较,给予人参皂苷治疗的大鼠,MDA 的量明显降低,同时 SOD 的量有所上升。因此,抗脂质过氧化可能是人参皂苷发挥抗肝纤维化作用的机制之一^[34-36]。Geng 等^[20]研究发现,人参皂苷 R_{g1} 作用于肝纤维化大鼠后,大鼠体内活性氧的量明显降低。

4 调节炎症和免疫反应

树突细胞可以通过效应因子如 NK 细胞、中性粒细胞调节免疫反应,因此,树突细胞在炎症反应中起到关键的作用^[37-38]。Hou 等^[19]用人参皂苷 R_{b1} 治疗四氯化碳诱导肝纤维化的大鼠,实验结果显示,人参皂苷 R_{b1} 治疗组与模型组比较,大鼠体内的肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平有所降低,白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的量明显降低,是通过抑制 NF- κB

信号通路来完成对炎症反应的应答。同时 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞均与 HSC 有一定联系。这些结果显示出人参皂苷对肝纤维化的作用机制有可能是调节炎症反应。

5 促进激活的 HSC 衰老和抑制激活的 HSC

衰老的肌成纤维细胞可能对纤维化的退行起到了一定的作用,并且基质降解酶的表达会上调,同时下调细胞外基质的表达。在 Krizhanovsky^[39]的研究中发现,如果小鼠缺少衰老相关的调节,HSC 就会持续增殖,最终导致肝纤维化。进一步研究证明,激活的 HSC 衰老后,细胞外基质的分泌就会减少,同时细胞外基质降解酶水平会升高。宋顺宗^[26]研究表明,从人参中提取得到的人参皂苷 czh-A-69,作用于 HSC 后,能够抑制激活的 HSC。

一些临床研究已证明,在肝纤维化患者中,有一大部分患者的肝纤维化是可以发生逆转的,早期肝窦内皮细胞(LSEC)的激活与肝纤维化的发生有一定的联系,会引起先天性肝纤维化。最近有研究证明,LSEC 的恢复可能会通过促进 HSC 静止来加速纤维化的逆转^[40-41]。因此可以推断肝脏的损伤是可以被控制的。

6 展望

虽然近年来对肝病的治疗取得了一定的进展,但是大量的患者都仍保持着持续的慢性肝损伤,因此需要抗肝纤维化药物的研发。在人参皂苷抗肝纤维化的实验中,显示出人参皂苷具有减轻纤维化程度的作用,尽管其作用机制仍不完全明确,但人参皂苷对肝纤维化的抑制作用可能与下调机体 TIMP-1 mRNA 的表达、促进 HSC 凋亡以及衰老、抑制 HSC 活化、调节炎症反应等方面有关。因此,深入研究人参皂苷抗肝纤维化的实验与临床间的联系,探索人参皂苷抗肝纤维化的作用机制,为研制新型的防治肝纤维化的高效药物提供科学依据,将具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] Han Y, Sun B, Hu X, *et al.* Transformation of bioactive compounds by *Fusarium sacchari* fungus isolated from the soil-cultivated ginseng [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(23): 9373-9379.
- [2] Attele A S, Wu J A, Yuan C S. Ginseng pharmacology [J]. *Biochem Pharmacol*, 1999, 58(11): 1685-1693.
- [3] Shibata S. Chemistry and cancer preventing activities of Ginseng saponins and some related triterpenoid compounds [J]. *J Korean Med Sci*, 2001, 16(6): S28-S37.

- [4] Cassiman D, Libbrecht L, Desmet V, *et al.* Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers [J]. *J Hepatol*, 2002, 36(2): 200-209.
- [5] Kinnman N, Francoz C, Barbu V, *et al.* The myofibroblastic conversion of peribiliary fibrogenic cells distinct from hepatic stellate cells is stimulated by platelet-derived growth factor during liver fibrogenesis [J]. *Lab Invest*, 2003, 83(2): 163-173.
- [6] Reinehr R M, Kubitz R, Peters-Regehr T, *et al.* Activation of rat hepatic stellate cells in culture is associated with increased sensitivity to endothelin-1 [J]. *Hepatology*, 1998, 28(6): 1566-1577.
- [7] Dranoff J A, Wells R G. Portal fibroblasts: Underappreciated mediators of biliary fibrosis [J]. *Hepatology*, 2010, 51(4): 1438-1444.
- [8] Nie Q H, Zhang Y F, Xie Y M, *et al.* Correlation between TIMP-1 expression and liver fibrosis in two rat liver fibrosis models [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(12): 3044-3049.
- [9] Lee L T, Liu S H, Lin M N, *et al.* Effects of mangosteen on α -SMA expression in HSC-T6 cells and liver fibrosis in rats [J]. *Chin Med*, 2013, 24(2): 211-222.
- [10] Nie Q H, Zhu C L, Zhang Y F, *et al.* Inhibitory effect of antisense oligonucleotide targeting TIMP-2 on immune-induced liver fibrosis [J]. *Digest Dis Sci*, 2009, 55(5): 1286-1295.
- [11] Ebrahimkhani M R, Oakley F, Murphy L B, *et al.* Stimulating healthy tissue regeneration by targeting the 5-HT2B receptor in chronic liver disease [J]. *Nat Med*, 2011, 17(12): 1668-1673.
- [12] Duffield J S, Forbes S J, Constandinou C M, *et al.* Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(1): 56-65.
- [13] Imamura M, Ogawa T, Sasaguri Y, *et al.* Suppression of macrophage infiltration inhibits activation of hepatic stellate cells and liver fibrogenesis in rats [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(1): 138-146.
- [14] Pradere J P, Kluwe J, De Minicis S, *et al.* Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice [J]. *Hepatology*, 2013, 58(4): 1461-1473.
- [15] Fischer R, Cariers A, Reinehr R, *et al.* Caspase 9-dependent killing of hepatic stellate cells by activated kupffer cells [J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(3): 845-861.
- [16] Chen Y, Choi S S, Michelotti G A, *et al.* Hedgehog

- controls hepatic stellate cell fate by regulating metabolism [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(5): 1-11.
- [17] 马岚青, 董向前, 梁 兵, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对纤维化肝脏肝细胞超微结构及其表达基质金属蛋白酶组织抑制剂-1 的影响 [J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(4): 304-306.
- [18] 董向前, 段丽平, 梁 兵, 等. 人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 抗肝纤维化的体视学研究 [J]. 山东大学学报, 2012, 50(1): 85-88.
- [19] Hou Y L, Tsai Y H, Lin Y H, *et al.* Ginseng extract and ginsenoside Rb₁ attenuate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats [J]. *BMC Complementary Alternative Med*, 2013, 14(1): 1-11.
- [20] Geng J W, Peng W, Huang Y G, *et al.* Ginsenoside-Rg₁ from *Panax notoginseng* prevents hepatic fibrosis induced by thioacetamide in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 634(1/3): 162-169.
- [21] 董向前, 段丽平, 缪应雷, 等. 人参皂苷 Rg₁ 抗肝纤维化的体视学分析 [J]. 重庆医学, 2014, 43(27): 3599-3616.
- [22] 吴 涛, 王乐民. 人参皂苷 Rg₁ 与氧化苦参碱协同保肝作用及其机制研究 [J]. 国际中医中药杂志, 2014, 36(10): 894-898.
- [23] 曾 瑾, 王 红, 贾雪梅, 等. 人参皂苷 Rg₃ 抗血吸虫病肝纤维化作用的实验研究 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2011, 29(2): 107-110.
- [24] 曾 瑾, 李 飞, 贾雪梅, 等. 人参皂苷 Rg₃/干扰素 α 联合与单一用药治疗血吸虫病肝纤维化疗效对比 [J]. 昆明医科大学学报, 2012, 33(5): 107-110.
- [25] 曾 瑾, 李 飞, 王 红, 等. 人参皂苷 Rg₃、INF- α 治疗血吸虫病肝纤维化的肝脏电镜观察 [J]. 昆明医科大学学报, 2013, 34(3): 35-40.
- [26] 宋顺宗. 山茱萸新苷和人参皂苷保护及抗肝纤维化作用的研究 [D]. 延吉: 延边大学, 2011.
- [27] Iredale J P, Benyon R C, Pickering J, *et al.* Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors [J]. *J Clin Investig*, 1998, 102(3): 538-549.
- [28] Iredale J P, Thompson A, Henderson N C. Extracellular matrix degradation in liver fibrosis: biochemistry and regulation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(7): 876-883.
- [29] Oakley F, Teoh V, Ching-A-Sue G, *et al.* Angiotensin II activates I β kinase phosphorylation of RelA at Ser536 to promote myofibroblast survival and liver fibrosis [J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(7): 2334-2344.
- [30] Radaeva S, Sun R, Jaruga B, *et al.* Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(2): 435-452.
- [31] Krizhanovsky V, Yon M, Dickins R A, *et al.* Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis [J]. *Cell*, 2008, 134(4): 657-667.
- [32] Lee Y S, Jeong W I. Retinoic acids and hepatic stellate cells in liver disease [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 27(2): 75-79.
- [33] Wu Y L, Wan Y, Jin X J, *et al.* 25-OCH₃-PPD induces the apoptosis of activated t-HSC/Cl-6 cells via c-FLIP-mediated NF- κ B activation [J]. *Chemico-Biol Interact*, 2011, 194(2/3): 106-112.
- [34] 何 苗. 人参总皂苷对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维的保护作用 [J]. 安徽医药, 2011, 15(4): 423-425.
- [35] 马岚青, 段丽平, 张 林, 等. 人参皂苷 Rb₁ 对肝纤维化血清学指标及病理学改变的相关性分析 [J]. 云南中医学院学报, 2007, 3(2): 28-32.
- [36] 李晓宇, 李 晶, 王一博, 等. 人参皂苷对酒精性肝损伤的保护作用研究 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(5): 512-515.
- [37] Connolly M K, Bedrosian A S, Mallen-St C J, *et al.* In liver fibrosis, dendritic cells govern hepatic inflammation in mice via TNF- α [J]. *J Clin Investig*, 2009, 119(11): 3213-3225.
- [38] Henning J R, Graffeo C S, Rehman A, *et al.* Dendritic cells limit fibro-inflammatory injury in NASH [J]. *Hepatology*, 2013, 58(2): 589-602.
- [39] Krizhanovsky V, Yon M, Dickins R A, *et al.* Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis [J]. *Cell*, 2008, 134(4): 657-667.
- [40] Chang T T, Liaw Y F, Wu S S, *et al.* Long-term entecavir therapy results in the reversal of fibrosis/cirrhosis and continued histological improvement in patients with chronic hepatitis B [J]. *Hepatology*, 2010, 52(3): 886-893.
- [41] Marcellin P, Gane E, Buti M, *et al.* Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: A 5-year open-label follow-up study [J]. *Lancet*, 2013, 381(9865): 468-475.