

丹参有效成分抗肝纤维化作用机制的研究进展

徐晨光 闫洁 陈蓝羽 李娟梅 吕文良

【摘要】 肝纤维化是多种病因引起肝损害后经一系列连锁反应最终可进展为肝硬化的病理过程。通过大量研究现已证实肝纤维化可被逆转,而中药以其多途径的治疗特点在抗肝纤维化治疗上具有极大优势。丹参是临床常用的抗肝纤维化的中药,具有很好的疗效,主要成分有丹参酮、丹酚酸和丹参单体 IH764-3。已有大量研究阐明了丹参抗肝纤维化的分子机制,其对肝纤维化形成的各个环节均有影响,如抗炎反应、抑制炎症因子释放、抗氧自由基损伤、抑制星状细胞活化、抑制胶原过度沉积、改善微循环障碍等。本文即对丹参有效成分在肝纤维化治疗中的多种作用及机制做一综述。

【关键词】 丹参; 肝纤维化; 作用机制

【中图分类号】 R285;R575.2 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2013.04.024

Research progress in anti-hepatic fibrosis mechanism of *Salvia Miltiorrhiza* XU Chen-guang, YAN Jie, CHEN Lan-yu, et al. Infectious Diseases Branch of Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Corresponding author: LYU Wen-liang, E-mail: lvwenliang@sohu.com

【Abstract】 Hepatic fibrosis is a pathological change which is caused by a variety of stimuli and after a series of chain reaction will progression to cirrhosis of the liver. A large number of studies have confirmed that the Liver fibrosis is reversible. Traditional chinese medicine (TCM) has the advantage in the treatment of liver fibrosis with the aid of multiple targets. *Salvia miltiorrhiza* is a TCM in the clinic which is commonly used to treatment of liver fibrosis and has the very good curative effect. The main active constituents of *Salvia miltiorrhiza* including tanshinone, salvianolic acid and *Salvia miltiorrhiza* monomer IH764-3, a great deal of research has been performed to understand the molecular mechanisms responsible for the anti-hepatic fibrosis effect of *Salvia miltiorrhiza*, it have the effect for each link of the process that lead to hepatic fibrosis, such as anti inflammatory response, depressing release of inflammatory factors, resisting peroxidative damage of free radical, depressing the activation of HBC, depressing excess deposition of collagen, improve the microcirculation and so on. This paper is a review about *salvia miltiorrhiza* resistance mechanism of liver fibrosis.

【Key words】 *Salvia miltiorrhiza*; Hepatic fibrosis; Mechanism

肝纤维化(Hepatic fibrosis)是指肝细胞发生坏

死及炎症刺激时,肝内纤维结缔组织增生的病理过程,是各种致病因素导致肝损伤后,肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)被激活成为具有很强的生成细胞外基质(extracellular matrix, ECM)能力的肌成纤维样细胞,继而胶原酶抑制物生成增多,胶原酶活性也下降,使肝脏ECM的生成与降解间比例失衡,最终导致肝脏胶原的过度沉积成为肝纤维化甚至肝硬化。中医认为肝主疏泄、主藏血,肝纤维化属“胁痛”、“黄疸”等范畴,其基本病机气阴亏虚、瘀血阻络等为常见。而中药丹参所具有的良好抗

基金项目:中国肝炎基金会王宝恩肝纤维化研究基金(20120147)

作者单位:100053 北京,中国中医科学院广安门医院感染疾病科[徐晨光(硕士研究生)、闫洁、陈蓝羽、吕文良];中国中医科学院[李娟梅(硕士研究生)]

作者简介:徐晨光(1986-),女,2010级在读硕士研究生。研究方向:中医肝病治疗。E-mail:xuchenguang2011@sina.com

通讯作者:吕文良(1966-),博士,教授,硕士生导师,主任医师。研究方向:中医肝病治疗。E-mail:lvwenliang@sohu.com

肝纤维化疗效也早已被大量研究和临床实践所证实。

丹参为唇形科植物丹参 (*Salvia miltiorrhiza*) 的根,始载于《神农本草经》,味苦,微寒,归心、肝经,可活血祛瘀、养心除烦、调经止痛,大量现代研究亦表明其具有抗炎、抗氧化、抑制细胞凋亡并促进细胞再生等功效。丹参有效成分按水溶性和脂溶性分为两大类,脂溶类包括丹参酮、隐丹参酮等;水溶类则以丹参素、原儿茶醛、丹酚酸等为主。现即通过对以往文献的回顾对丹参有效成分在抗肝纤维化方面的作用及机制做一总结。

1 消除炎症、抑制细胞因子释放、促进受损细胞修复

各种病因导致肝细胞受损后,会引起炎性细胞活化并释放多种活性因子,而炎症反应会引起 HSC 的活化这一肝纤维化的中心环节。目前研究已较为清楚的证实白细胞介素-10 (Interleukin-10, IL-10) 是一种抗炎因子,郭伟强等^[1]研究发现丹参酮 II A (tanshinone II A, Tsn) 能在炎性状态下刺激 IL-10 含量的增加,从而发挥抗炎效应。CD₁₄ 是一种重要的内毒素信号传导分子,其广泛表达在单核-巨噬细胞系统中,通过介导内毒素信号转导及作为激活单核巨噬细胞的重要受体参与细胞炎症介质的释放。丹酚酸 B (Salvianolic acid-B, SA-B) 可能即通过下调肝组织 CD₁₄ 的表达、阻滞内毒素信号转导通路这种机制发挥拮抗 CD₁₄ 诱导的大鼠肝纤维化的作用^[2]。细胞损伤引起的炎症反应是激活 HSC 的重要条件,因此在肝纤维化这一病理过程的源头阶段采取治疗,可以尽早阻止疾病向恶性程度发展,可以说是防微杜渐胜于亡羊补牢。

2 清除氧自由基,抗脂质过氧化损伤

氧自由基是有毒物质经肝细胞代谢后的产物,是导致肝细胞损伤的直接原因,如在 CCL₄ 和酒精引起的肝纤维化中,过氧化反应造成的肝细胞坏死就是关键因素。丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 是间接反映机体受氧自由基损伤程度的指标,丹参酮 II A 能明显降低肝纤维化大鼠异常升高的 MDA 含量,其机制可能与清除氧自由基,抗脂质过氧化有关^[3]。胡义杨等^[4]研究发现丹酚酸 B 可显著降低四氯化碳 CCL₄ 和二甲基亚硝胺 (Dimethylnitrosamine, DMN) 诱导的肝纤维化大鼠肝组织羟脯氨

酸 (Hydroxyproline, Hyp) 和 MDA 含量并明显改善肝组织损伤及纤维化程度,其作用机制即与抗脂质过氧化损伤有关。

CCl₄ 诱导的肝纤维化模型大鼠其 ALT、AST 活性及总胆红素含量会显著增高,而丹参酸 B 能较大幅度降低这种升高趋势并可提高间接反映机体清除自由基能力的超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 的活性^[5]。谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 是细胞内最重要的抗氧化剂,它与谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px) 是一对互相影响的指标。陈连剑等^[6]研究发现丹参能明显降低 HSC 培养液中异常升高的 MDA 和 GSH 的含量并同时提高 SOD 和 GSH-Px 的活力。丹参还可抑制线粒体脂质过氧化反应,而且这种作用存在着一定的量—效与时—效关系^[7]。丹参作为天然的抗氧化剂,能通过清除氧自由基保护肝细胞膜和线粒体膜的完整性和通透性,继而防止 HSC 因肝细胞的损伤、坏死而被活化。

3 调控 HSC 的活化、增殖与凋亡

激活的 HSC 是合成胶原等 ECM 的主要细胞,其过度增殖和凋亡不足是肝纤维化进程中的核心环节,HSC 的活化在某种意义上说是一种扳机效应,即一旦被启动可引发一系列连锁反应,因此通过抑制 HSC 活化和增殖是近年临床上抗肝纤维化治疗的重要手段之一。

血小板衍生生长因子 (Platelet derived growth factor-BB, PDGF-BB) 可通过激活 HSC 内的细胞外信号调节激酶 1/2 (Extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2) 通路发挥出很强的促 HSC 增殖的能力。李智等^[8]研究发现丹参素可抑制 PDGF-BB 诱导的 HSC 内 P-ERK1/2 的表达,且抑制作用随丹参素浓度的增加而增强。核转录因子- κ B (Nuclear transcription factor-kappaB, NF- κ B) 能促进各种细胞因子释放,其通常与人核因子 κ B 抑制蛋白 (Human I κ B, I κ B) 结合,以无活性的复合物状态存在于胞浆中,当某种刺激导致 I κ B 降解时,NF- κ B 即被活化进入细胞核从而对炎症反应、HSC 的活化等产生促进作用,因此在肝纤维化的发生和发展中具有重要意义^[9-10]。王蓉等^[11]研究发现丹参多酚酸盐能提高给药组大鼠胞质中 NF- κ B 和 I κ B α 蛋白的表达,降低胞核中 NF- κ B 蛋白的表达,即通过抑制 NF- κ B 的活化发挥抗肝纤维化的作用。c-Jun 氨基

末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)是与细胞增殖、分化以及凋亡有密切联系的一种丝裂原激活的蛋白激酶,目前研究表明 JNK 通路参与了 HSC 的增殖与活化过程。丹参素可下调活化的 HSC 内 P-JNK 的表达,但对 JNK 的表达没有明显影响,由此分析其抗肝纤维化机制可能与抑制 HSC 内 JNK 信号转导通路有关^[12]。

丹参单体 IH764-3 在大鼠体内、体外均能发挥抑制 HSC 增殖并诱导其凋亡的作用,且具有剂量和时间依赖性,其机制与抑制细胞内黏着斑激酶(Focal adhesion kinase, FAK)和细胞外信号调节蛋白激酶(Extracellular signal-regulated protein kinase, ERK)FAK、ERK 蛋白磷酸化相关^[13]。HSC 是否发生凋亡受抗凋亡因子 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)的影响很大,李方春等^[14]研究发现丹参组显著降低了 CCL₄ 诱导的肝纤维化大鼠肝组织中 Bcl-2 基因的表达,从调控细胞凋亡角度发挥抗肝纤维化作用。凋亡相关因子(factor associated suicide, Fas)与其受体 FasL (Fas ligand)组成的 Fas-FasL 途径的启动与否关系着 HSC 的活化与凋亡,丹参可以增加 Fas、Bax 并降低 Bcl-2L,从而促使 HSC 凋亡^[15]。正常情况下 HSC 处于静止状态,在各种肝损伤因素影响下, HSC 表型改变被活化为具有很强的增殖和成纤维能力的肌成纤维样细胞,作为肝纤维化的中心环节, HSC 是被研究的最多的,其机制已被阐明的较为清楚,针对 HSC 采取的抗纤维化手段不外乎抑制增殖和诱导其凋亡这正反两方面。

4 抑制 ECM 的生成促进病理沉积胶原的降解

ECM 的主要成分是胶原,尤其以 I、III、IV 型胶原为主。ECM 合成过多和降解的减少所导致的胶原沉积是形成肝纤维化的最终原因。转化生长因子 β (Transforming growth factor β , TGF β)是最重要的促肝纤维化因子,其促进肝纤维化进程的方式是通过促进 HSC 活化,增加 ECM 的合成和分泌并抑制其降解等途径实现的。武鹏宇等^[16]研究表明丹参素可以减少 TGF β 受体表达从而对肝纤维化进程进行负性调控,机制为影响 TGF β -Smad 信号通路中的 Smad 分子表达和磷酸化过程。羟脯氨酸(Hydroxyproline, Hyp)是一种特有的构成胶原蛋白分子的氨基酸成分,常通过测定其含量来反映肝纤维化中胶原纤维增生的程度,丹参酮 IIA 可以显著

下调肝纤维化大鼠肝组织中 Hyp 含量,通过减轻肝纤维化过程中胶原的增生实现抗肝纤维化作用^[17]。

除了抑制胶原的增生,丹参还能减少肝脏胶原蛋白含量并使尿 Hyp 排出增多,提示其有促进已合成胶原纤维再吸收及降解的作用^[18]。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinase, MMPs)是一类活性依赖于锌离子和钙离子的蛋白水解酶,主要的生理作用是降解细胞外基质, Wasser 等^[19]发现丹参可提高肝纤维化大鼠肝组织 MMP mRNA 表达,抑制金属蛋白酶组织抑制因子 21(Tissue inhibitor of metalloproteinase 21, TIMP21) mRNA 表达。纤维化肝脏的胶原含量常高出正常肝脏数倍,胶原纤维的大量异常增生将造成肝细胞索排列的紊乱及肝小叶结构的破坏,最终导致肝硬化,使肝脏的硬度、内部压力、血液循环、物质代谢等均产生变化,是造成肝纤维化患者肝区疼痛、恶心呕吐、门脉高压、腹水、上消化道出血等临床症状和并发症的直接原因,因此抑制胶原纤维的异常增生并促进降解对提高患者的生活质量及降低恶性并发症的发生均有极大益处。

5 改善肝脏血液循环

肝纤维化时因为大量 ECM 的沉积,使肝脏微循环产生病理改变,这些改变将导致肝细胞坏死、肝脏压力增高、代谢减低等,反过来又会继续加重肝纤维化程度,成为一个恶性循环。改善肝脏微循环障碍是逆转肝纤维化的一条有力途径,也是近年来研究的新热点。

内皮素-1(Endothelin-1, ET-1)是目前已知的缩血管活性最强的多肽物质,具有强烈而持久的缩血管效应,门静脉高压的形成和持续即与 ET-1 有着密切的关系。田甜等^[20]研究发现预先给予丹参和 SA-B 能使 ET-1 所引起的小鼠在肝脏灌注量和微循环流速两个方面的降幅明显减小,其作用与内皮素受体阻断剂 BQ-123 相近。SA-B 也能显著降低 ET-1 使血管收缩引起的门静脉压力的升高幅度^[21]。广泛的研究表明血清透明质酸(Hyaluronic acid, HA)、III型前胶原(Procollagen type III, PcIII)、层粘连蛋白(Laminin, LN)能反映肝纤维化的程度,雷任国等^[22]在对 62 例肝炎后肝硬化患者的随机对照实验中发现复方丹参注射液可显著降低患者血清中 HA、PcIII、LN 的量,并缩小门静脉内径,从改善肝脏微循环角度抗肝纤维化。丹参可通过作用靶点改

善实验动物的血液流变性,改变高黏滞血症动物血液的黏、浓、聚、滞状态,保护血管内皮细胞功能,从而改善微循环^[23]。肝纤维化中医多辨证为气滞血瘀,临床运用活血化瘀中药治疗也都收到非常好的疗效,以上现代研究也可以说是为中医理论提供了支持依据。

6 结语

综上所述,丹参及其各种有效成分可通过多种细胞因子及细胞内信号分子网络,从肝纤维化进程中的各个环节及途径发挥其抗肝纤维化的作用,但长期以来这些证据多是通过组织病理观察或对比一些治疗前后生化指标的差异而推测出来的。人体是一个复杂体,而疾病也多是机制复杂、环环相扣的,因此在越来越重视个体化治疗的今天,中药以其多靶点、多途径的作用特点更是发挥出极大优势,但作为现今主流的分子水平的研究方法在阐明了药物疗效的分子机制外似乎还留有一个更大的空间。生物在微纳尺度下是一具备基本生理功能和结构的介观层面,相比于分子水平,微纳层面也许将是更适合中医的现代科学研究的切入点。通过医学与其它多种学科、技术的交叉合作,某天将亲眼看到丹参抗纤维化的“活血化瘀”效果,这将会为中药抗肝纤维化的治疗甚至整个中医药研究拓展出一片新的领域,也是课题组进一步探索的方向。

参 考 文 献

- [1] 郭伟强,陈曦,曹婷婷,等. 丹参酮 II-A 对抗炎症因子 IL-10 的调节作用时效关系[J]. 中国药理学通报, 2009, 25 (5): 697-698.
- [2] 刘建国,丁艳蕊,杨胜兰,等. 丹酚酸 B 对实验性肝纤维化大鼠肝组织 CD14 表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31 (4): 547-551.
- [3] 刘永刚,陈厚昌,蒋毅萍. 丹参酮 II A 对小鼠肝损伤的保护作用[J]. 中药材, 2001, 24 (8): 588-589.
- [4] 胡义扬,刘平,刘成. 丹参提取物对 CCl₄ 和 DMN 诱导的大鼠肝纤维化的影响[J]. 上海中医药杂志, 1999, (10): 7-10.
- [5] 刘平,朱大元,胡义扬,等. 丹参酸乙抗慢性乙型肝炎肝纤维化的研究[J]. 医学研究杂志, 2003, 6 (2): 16-17.
- [6] 陈连剑,李婷,李成. 丹参酮 II A 抗大鼠肝星状细胞氧应激脂质过氧化作用的研究[J]. 中药材, 2003, 26 (7): 504-507.
- [7] 蒋树林,姚希贤. 丹参抑制大鼠肝纤维化线粒体脂质过氧化[J]. 世界华人消化杂志, 2002, 10 (11): 1253-1256.
- [8] 李智,戴立里. 丹参素对肝星状细胞 ERK1/2 信号转导通路的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34 (12): 1679-1682.
- [9] 宋维芳,徐军全,许瑞玲,等. 核转录因子-κB 在实验性肝纤维化中的表达、分布及意义[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26 (1): 12-16.
- [10] 陈科全,周宇. 核因子-KB 与肝纤维化的关系研究现状[J]. 国际消化病杂志. 2007, 27 (1): 9-12.
- [11] 王蓉,潘沛,王或杰,等. 丹参多酚酸盐对纤维化大鼠 NF-κB 和 IkBα 表达的影响[J]. 中国新药与临床杂志, 2011, 30 (1): 51-52.
- [12] 余斌斌,戴立里. 丹参素对 IL-1β 刺激的大鼠肝星状细胞 JNK 信号转导的影响[D]. 重庆医科大学硕士学位论文, 2009: 5.
- [13] 张晓岚,魏娟,霍晓霞,等. 丹参单体 IH764-3 抑制肝星状细胞增殖与诱导凋亡的体内外研究//第十九次全国消化病学术会议[C]. 石家庄, 2007: 260.
- [14] 李方春,席微娜,席文娜,等. 丹参对大鼠肝组织 Bcl-2 表达的影响及意义[J]. 南昌大学学报, 2010, 50 (5): 16-19.
- [15] Chor S Y, Hui A Y, K F To, et al. Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of herbal medicine on hepatic stellate cell[J]. Journal of ethnopharmacology, 2005, 100 (1-2): 180-186.
- [16] 武鹏宇,戴立里,唐静,等. 丹参素对肝星状细胞增殖、活化及 TGFβ/BMP 受体表达的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35 (9): 1344-1347.
- [17] 覃筱燕,严莉,唐丽,等. 丹参酮 II A 对肝纤维化大鼠肝组织胶原表达的影响[J]. 国珍国医国药, 2010, 21 (4): 782-784.
- [18] 侯长利. 复方甘草酸甘联合丹参抗肝纤维化疗效观察[J]. 中国药房, 2005, 16 (1): 53-54.
- [19] Wasser S, Ho JM, Ang HK, et al. Salvia miltiorrhiza reduces experimental 2 induced hepatic fibrosis in rats[J]. J Hepatol, 1998, 29 (5): 760-771.
- [20] 田甜,徐列明. 活血化瘀中药对肝脏微循环影响的实验研究//全国第 2 届中西医结合传染病学术会议论文汇编[C]. 北京, 2008: 47-49.
- [21] 周杨,顾杰,徐列明. 丹参酚酸 B 盐抑制内皮素-1 所致大鼠门静脉压力升高的药效及其作用机制[J]. 中西医结合学报, 2007, 5 (1): 61-64.
- [22] 雷任国,吴念宁. 丹参对肝硬变肝纤维化指标及门静脉血管内径影响[J]. 广西医学, 2001, 23 (4): 746-747.
- [23] 陈丽娜,朱晓新. 丹参改善血液流变性的实验研究进展[J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (8): 630-640.

(收稿日期:2013-01-24)

(本文编辑:黄凡)