

淫羊藿苷神经保护作用机制研究进展

宋宜祥 黎巍威 王学美

【摘要】 淫羊藿苷是中药淫羊藿的主要活性成分,具有抗肿瘤、增强免疫、改善心脑血管、调节内分泌等多重药理学作用。近年来关于淫羊藿苷对中枢神经系统保护作用的研究日益增多,为了进一步推进淫羊藿苷对于防治中枢神经系统疾病的研究,本文结合近十年国内外对其保护神经元细胞的研究报道,系统地总结和陈述了淫羊藿苷发挥保护神经作用的几个途径,主要包括抗氧化应激、抑制炎症反应、影响单胺类递质及氨基酸类神经递质的释放、增加神经营养作用等几个方面,以及探讨了淫羊藿苷发挥神经保护作用的信号转导机制,为进一步推进淫羊藿苷的研究作出理论支持。

【关键词】 淫羊藿苷; 神经保护作用; 抗氧化; 炎症因子

【中图分类号】 R285 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.04.018

Advances in neuroprotective effects mechanisms of Icaritin SONG Yi-xiang, LI Wei-wei, WANG Xue-mei. East-west Integrative Medicine Research Center, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Corresponding author: WANG Xue-mei, E-mail: wangxuemeibjmu@163.com

【Abstract】 Icaritin is one of the most dynamic composition of Epimedium, which has pharmacological functions of inhibiting tumor, enhancing immunity, improving heart and cerebral vessels, and regulating endocrine function. In recent years, researches on neuroprotective effects of icaritin in central nervous system have been increased. To further promote the researches on prevention and cure on central nervous system diseases, this review systematically summarizes the neuroprotective effects of icaritin on neurons including the mechanism combined with research reports of Icaritin at home and abroad, which include the following, antioxidigenic stress, inhibiting the inflammatory response, adjusting the release of neurotransmitter of monoamines and amino acids, and increasing neurotrophic effect. The signal transduction mechanism of icaritin's neuroprotective effect is also discussed, which may provide useful theoretical support to the research of icaritin.

【Key words】 Icaritin; Neuroprotective effects; Antioxidant; Cytokine

淫羊藿(Epimedium), 又称仙灵脾, 为小檗科植

物淫羊藿 *Epimedium brevicornum* Maxim. 的全草, 味辛、甘, 性温, 归肝、肾经, 是中国传统医学中的一种补益中药, 《本草纲目》中记载其有“益精气、坚筋骨、补腰膝、强心力”之功效。具有温阳补肾、强筋健骨、祛风除湿等功效。淫羊藿中含有多种黄酮类化合物, 淫羊藿苷(Icaritin, ICA) 是其主要的活性成分, 分子式为 $C_{33}H_{40}O_{15}$, 相对分子质量为 676.67, 结构上属于 8-异戊烯基黄酮醇苷类化合物^[1]。现代药理学研究证明, 淫羊藿苷具有抗肿瘤、增强免疫、改善心脑血管、调节内分泌等多重药理学作用^[2-4], 是近年来国内外学者研究的热点中药单体之一。近年来, 淫羊藿苷对神经保护作用的机制研究日益

基金项目: 国家自然科学基金(81102683, 81173369); 教育部博士点基金(20120001110105, 20110001120055); 北京市自然科学基金(7132210)

作者单位: 100034 北京大学第一医院中西医结合教研室[宋宜祥(硕士研究生)、黎巍威、王学美]

作者简介: 宋宜祥(1987-), 2011 级在读硕士研究生。研究方向: 中西医结合防治老年病。E-mail: syx12319@126.com

通讯作者: 王学美(1964-), 女, 博士, 主任医师, 博士生导师。中国中西医结合学会常务理事, 中国中西医结合学会糖尿病专业委员会副主任委员, 世界中医药学会联合会心血管专业委员会理事。研究方向: 中西医结合防治老年病。E-mail: wangxuemeibjmu@163.com

增多,为了进一步推进淫羊藿苷用于防治中枢神经系统疾病的研究,深入探讨其保护神经元细胞的具体机制,本文结合国内外对淫羊藿苷的研究报道,从其发挥神经元保护作用的每个方面及信号转导通路作一概述。

目前国内外研究表明,淫羊藿苷发挥对神经系统的保护作用,主要从以下几个方面实现的:(1)抗氧化应激,促进胆碱能递质系统;(2)抑制胶质细胞增生活化、减轻炎症反应;(3)对单胺类递质及氨基酸类神经递质的影响;(4)增加神经营养作用。这几个方面是相辅相成,并不是独立的。

1 抗氧化应激,促进胆碱能递质系统

NIE 等^[5-6]通过右侧海马内注射 $A\beta_{25-35}$ 诱导的大鼠阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 模型,观察到淫羊藿苷明显改善了大鼠的学习记忆减退,同时他们测得大鼠海马组织中的超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 的活性明显升高,一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 活性降低,并增加了海马内乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 及胆碱乙酰转移酶 (cholineacetyltransferase, CHAT) 的表达,该研究表明淫羊藿苷能改善 $A\beta_{25-35}$ 所致 AD 模型大鼠学习记忆能力可能与抗氧化、促进胆碱能递质系统功能的恢复有关。NIE 进一步通过这一模型分析了淫羊藿苷对海马淀粉样蛋白前体 (amyloid protein precursor, APP) 及 $A\beta_{1-40}$ 产生的影响,发现淫羊藿苷没有影响 APP 的表达,但是减少了 $A\beta_{1-40}$ 的含量,并抑制了 β -分泌酶 (β -secretase, BACE1) mRNA 的表达,这提示了淫羊藿苷保护神经元的机制与干预 APP 剪切加工为 $A\beta_{1-40}$ 相关。

HE 等^[7]观察了淫羊藿苷对快速老化小鼠 (senescence-accelerated mouse prone 8, SAMP8) 模型的影响,发现淫羊藿苷可以部分逆转该模型小鼠海马及皮质的单胺类递质改变,降低 SOD、GSH-Px 活性,抑制海马及皮质的 AChE 活性,从而证实了淫羊藿苷改善该模型小鼠的认知功能的机制与其抗氧化作用和抑制胆碱酯酶相关。

2 抑制胶质细胞增生活化、减轻炎症反应

GUO J 等^[8]以甾体类抗炎药布洛芬为阳性对照,通过单侧脑室注射脂多糖 (lipopolysaccharide,

LPS) 诱导的大鼠学习记忆减退模型,发现淫羊藿苷也可以改善其记忆减退,于是通过 real-time RT-PCR 分析了大鼠海马肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 及环氧化酶 (cyclooxygenase, COX)-2 的 mRNA 表达,并用免疫组化检测了以上基因在海马的蛋白表达,发现淫羊藿苷明显抑制了 LPS 诱导的大鼠海马 TNF- α 、IL-1 β 及 COX-2 的 mRNA 及蛋白表达,提示淫羊藿苷保护神经元细胞与降低海马炎症介质的产生相关。

ZENG 等^[9]通过离体培养的小胶质细胞发现,淫羊藿苷能明显抑制 NO、前列腺素 (prostaglandin E, PGE)-2、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的释放及促炎细胞因子如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 表达,并且还剂量依赖性地抑制 LPS 所致的诱导型 NOS、COX-2 蛋白的表达;机制研究发现,淫羊藿苷阻滞了 TAK1/IKK/NF- κ B 及 JNK/p38MARK 通路,明显抑制了 LPS 诱导的神经元退化。

甄瑾等^[10]通过观察淫羊藿苷对脂多糖诱导的 AD 大鼠炎症模型记忆力的影响,发现高剂量组大鼠海马内胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP)、TNF- α 、IL-6 的表达明显降低,淫羊藿苷可以显著减轻脂多糖造成的 GFAP 大量增加及胞体增大、突起增粗的星形胶质细胞,从而推测淫羊藿苷的保护机制为抑制星形胶质细胞的过度增生,从而发挥抗炎作用。另外,众多文献报道,无论是通过夹闭大鼠双侧颈总动脉再灌注 (MCAO),或者对胎鼠皮质原代培养的神经元进行缺氧缺血 (oxygen and glucose deprivation, OGD) 和复糖复氧制作缺血再灌注模型,足量的淫羊藿苷总能降低再灌注诱导的学习记忆减退、提高神经元细胞的存活率。淫羊藿苷可以使脑内 SOD 活性明显增强、降低 MDA 含量,而且各剂量淫羊藿苷组细胞外液 LDH 及细胞的 ROS 水平均低于模型组,从而推断其保护神经元与降低氧化损伤有一定联系^[11-12]。ZHU 等^[13]也通过 MCAO 和 OGD 两种方法证实了淫羊藿苷的确有保护缺氧性神经元的作用,并且进一步探讨了其保护机制;他们主要从能量代谢入手,因为线粒体是脑缺血缺氧损伤的亚细胞目标,而过氧化物酶体增殖物受体 γ 共激活因子 1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α , PGC-1 α) 被认为是控制线粒体生物合成的调节分子,沉默信息调节因子 1 (silent information regula-

tor1, Sirt1) 是一种高度保守的编码 NAD^+ 依赖的去乙酰化酶基因家族中的一员^[14], 因此他们采用 Western blot、小分子干扰 RNA (siRNA) 与质粒转染等技术进一步研究, 发现淫羊藿苷能够上调 MCAO 模型小鼠缺血皮层和 OGD 神经元中的 PGC-1 α 和 Sirt1 蛋白表达, Sirt1 抑制剂 III 几乎完全阻断淫羊藿苷上调 PGC-1 α 蛋白的表达, 因此可以推断, 淫羊藿苷对缺血性损伤的保护作用可能通过 Sirt1 介导的 PGC-1 α 信号通路。在缺血脑损伤模型中, Wang 等^[15]也发现, 淫羊藿苷通过激活 p38, 进而上调 Sirt1 的表达, 发挥抗缺血损伤、保护神经元细胞的作用。

3 对单胺类递质及氨基酸类神经递质的影响

高琳娜等^[16]通过高效液相—电化学法检测快速老化小鼠 SAMP10 大脑皮层的单胺类神经递质以及氨基酸类神经递质的含量, 发现淫羊藿苷可显著降低 SAMP10 大脑皮层内谷氨酸 (Glu)、谷氨酰胺 (Gln)、 γ -氨基丁酸 (GABA) 的含量, 升高去甲肾上腺素 (NE)、5-羟色胺 (5-HT)、多巴胺 (DA) 及其代谢产物 3, 4-二羟苯乙酸 (DOPAC) 和高香草酸 (HVA)、天冬氨酸 (Asp) 的含量, 因此作出推论, 淫羊藿苷可能是通过升高脑内单胺类神经递质的含量、调节兴奋性氨基酸类递质的代谢平衡以及调节抑制性氨基酸的代谢平衡来保护 SAMP10 的神经元细胞, 从而改善其学习记忆。

4 增加神经营养作用

AD 病人常伴有脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 及其受体酪氨酸蛋白激酶 B (tyrosine receptor kinase B, TrkB) 缺乏^[17], 而 BDNF 可以改善痴呆动物模型的学习和记忆功能, 所以有人认为促进内源性 BDNF 的产生或释放或许可以作为治疗 AD 的一个手段^[18-19]。Li 等^[20]发现可以通过长期大量注射 D-半乳糖 (D-gal) 诱导的大鼠学习记忆减退模型中 BDNF 和 TrkB mRNA 及蛋白表达减少, 而淫羊藿苷可以明显减轻 D-gal 诱导的大鼠学习记忆减退, 其机制可能与淫羊藿苷抗氧化应激、阻遏 BDNF 和 TrkB mRNA 及蛋白表达减少有关。外源性补充 BDNF 对 AF 有效, 但是分子量较大, 口服容易被胃酸破坏, 因此淫羊藿苷可以作为一条促进内源性 BDNF 产生释放的行之有效的途径。

5 对神经元损伤保护作用的信号转导机制

MAPK 信号通路和 PI3K/Akt 信号转导通路是神经元凋亡发生的两条重要途径。LIU 等^[21]的研究发现, 用皮质酮诱导损伤的神经元下拨在淫羊藿苷干预处理 2 小时后, 明显抑制了 p38MAPK 的激活, 并且其抑制作用随时间延长而增强。胞外信号激活 PI3K 后激活下游激酶 Akt, 进一步激活多种蛋白激酶, 从而抑制 Fas 通路介导的细胞凋亡; 同样, 经过淫羊藿苷预处理的海马神经元对皮质酮造成的损伤有显著的保护作用, 因此他们推断淫羊藿苷对神经元损伤保护作用的信号转导机制与 MAPK 和 PI3K/Akt 有关。

近年研究发现, Wnt/ β -catenin 信号通路对神经细胞的生长、分化、凋亡有重要的调控作用^[22]。目前认为, β -catenin 是 Wnt 信号通路的正向调节因子, 而 GSK-3 β 是负向调节因子。ZENG 等^[23]通过实验发现, 淫羊藿苷能够明显抑制 A β 25-35 所诱导的神经毒性, 下调细胞凋亡相关蛋白 caspase-3 和 PARP 的激活, 进一步研究发现淫羊藿苷主要通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路中 GSK-3 β 的活性, 抑制 β -catenin 的磷酸化降解, 促使其向细胞内转移, 从而达到神经保护的作用。另外, 还有报道^[24]称淫羊藿苷可以通过调节 GSK-3 β 蛋白的两个磷酸化位点 (Ser9 和 Tyr216), 从而降低神经细胞中围观相关蛋白 tau 的高度磷酸化来实现神经保护作用。

电压依赖性钙通道 (voltage gated calcium channels, VGCCs) 是 Ca^{2+} 进入细胞的主要途径, 而进入细胞内的过量的 Ca^{2+} 是 A β 片段造成 AD 病人神经损伤机制之一^[25]。Li 等^[26]通过全细胞膜片钳技术测得 A β 25-35 可以通过影响 VGCCs 来增加 Ba^{2+} 和 Ca^{2+} 的内向电流, 包括海马 CA1 区椎体神经元细胞的 L 型和 T 型 Ca^{2+} 通道; 而淫羊藿苷可以明显抑制海马椎体神经元 A β 25-35 引起的大量 Ca^{2+} 内流, 通过维持细胞内外 Ca^{2+} 的平衡, 发挥保护神经元细胞的作用。

还有一些研究表明, 淫羊藿苷对神经元的保护机制之间存在一些交叉。如淫羊藿苷可以通过部分激活 p38 信号通路, 上调 Sirt1 表达, 发挥抗氧化作用^[15, 27], 又可以通过抑制 p38 信号通路来抑制 NF- κ B 和激活蛋白 1 的激活和转位, 达到抗炎的作用^[28]。

6 结语

综上所述,淫羊藿苷作为中国传统补益中药淫羊藿的主要活性成分,在神经营养保护方面具有天然的优势,因此可以认为淫羊藿苷对中枢神经系统疾病如 AD、抑郁症、中风等具有良好的防治作用,值得进一步深入研究。加味五子衍宗方是为本实验室根据多年临床经验和中医理论在古方五子衍宗基础上加淫羊藿形成的,根据之前的临床疗效和实验观察,对于改善轻度认知障碍患者的记忆功能和防治海马萎缩都有确切疗效,淫羊藿苷作为该复方的一类主要的单体成分,在抗衰老药物的研究开发中占有更大的优势,有利于从作用深处探寻其作用靶点,同时也有利于在临床上的开发运用。但是由于淫羊藿苷分子作用机制的复杂性,而且体内外情况也有所不同,这无疑增加了准确探索描述淫羊藿苷分子机制的复杂性,在今后的研究和探索中,更应该注重在体内的直接观察和靶分子定位;要注重动物实验中该药作用的效果和具体靶器官,以及该药在宏观上对于机体的作用的效果,同时检测其在体内代谢途径和周期等,更深一步的研究其发挥疗效的机制。对于信号通路的作用,需要进一步深入探讨其上下游的变化,寻找更多的新作用通路与新靶点。

参 考 文 献

- [1] Makarova MN, Pozharitskaya ON, Shikov AN, et al. Effect of lipid-based suspension of *Epimedium koreanum* Nakai extract on sexual behavior in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 114(3): 412-416.
- [2] 李煜,王学美. 淫羊藿苷药理作用研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(23): 2727-2732.
- [3] 刘雪琴,何燕. 淫羊藿苷药理作用研究进展[J]. *中国中医药科技*, 2012, 19(4): 379-380,382.
- [4] 贾亮亮,袁丁,王洪武,等. 淫羊藿苷药理作用的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(20): 3976-3979.
- [5] Luo Y, Nie J, Gong QH, et al. Protective effects of icariin against learning and memory deficits induced by aluminium in rats[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34(8): 792-795.
- [6] 聂晶,罗勇,黄燮南,等. 淫羊藿苷对淀粉样 β 蛋白片段 25-35 所致大鼠学习记忆障碍的改善作用[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2008, 22(1): 31-37.
- [7] He XL, Zhou WQ, Bi MG, et al. Neuroprotective effects of icariin on memory impairment and neurochemical deficits in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice[J]. *Brain Res* 2010, (1334): 73-83.
- [8] Guo J, Li F, Wu Q, et al. Protective effects of icariin on brain dysfunction induced by lipopolysaccharide in rats[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(12): 950-955.
- [9] Zeng KW, Fu H, Liu GX, et al. Icarin attenuates lipopolysaccharide-induced microglial activation and resultant death of neurons by inhibiting TAK1/IKK/NF-kappaB and JNK/p38 MAPK pathways[J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(6): 668-678.
- [10] 甄瑾,李润今,王梅玲. 淫羊藿苷对阿尔茨海默病模型大鼠记忆能力及其海马内 GFAP、TNF- α 、IL-6 表达的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(2): 192-194.
- [11] Li L, Zhou QX, Shi JS. Protective effects of icariin on neurons injured by cerebral ischemia/reperfusion[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2005, 118(19): 1637-1643.
- [12] 王晓云,王翀,黄嵘. 淫羊藿苷对神经细胞缺血再灌注损害的保护作用及其机制研究[J]. *临床神经病学杂志*, 2012, 25(5): 365-367.
- [13] Zhu HR, Wang ZY, Zhu XL, et al. Icarin protects against brain injury by enhancing SIRT1-dependent PGC-1alpha expression in experimental stroke[J]. *Neuropharmacology*, 2010, 59(1-2): 70-76.
- [14] Rodgers JT, Lerin C, Haas W, et al. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1[J]. *Nature*, 2005, 434(7029): 113-118.
- [15] Wang L, Zhang L, Chen ZB, et al. Icarin enhances neuronal survival after oxygen and glucose deprivation by increasing SIRT1[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 609(1-3): 40-44.
- [16] 高琳娜,贺晓丽,唐千淇,等. 淫羊藿苷对快速老化小鼠 SAMP10 脑组织单胺类及氨基酸类神经递质的影响[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2012, 17(10): 1081-1086.
- [17] Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor[J]. *Growth factors (Chur, Switzerland)*, 2004, 22(3): 123-131.
- [18] 龚其海,李菲,黄彬,等. 脑源性神经营养因子:治疗阿尔采末病的新策略[J]. *中国新药与临床杂志*, 2011, (4): 245-250.
- [19] Ando S, Kobayashi S, Waki H, et al. Animal model of dementia induced by entorhinal synaptic damage and partial restoration of cognitive deficits by BDNF and carnitine[J]. *J Neurosci Res*, 2002, 70(3): 519-527.
- [20] Li F, Gong QH, Wu Q, et al. Icarin isolated from *Epimedium brevicornum* Maxim attenuates learning and memory deficits induced by d-galactose in rats[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2010, 96(3): 301-305.
- [21] Liu B, Zhang H, Xu C, et al. Neuroprotective effects of icariin on corticosterone-induced apoptosis in primary cultured rat hippocampal neurons[J]. *Brain Res*, 2011, 1375: 59-67.
- [22] Cerpa W, Toledo EM, Varela-Nallar L, et al. The role of Wnt signaling in neuroprotection[J]. *Drug News Perspect*, 2009, 22(10): 579-591.
- [23] 曾克武,王学美,富宏,等. 淫羊藿苷通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制淀粉样蛋白 A $\beta_{(25-35)}$ 所诱导的神经毒性[J]. *中国药学杂志*, 2011, 46(22): 1719-1722.
- [24] Zeng KW, Ko H, Yang HO, et al. Icarin attenuates beta-amy-