

大黄素治疗肾脏疾病的分子细胞机制研究进展

齐振强 胡洪贞 王祥生 李伟

【摘要】 大黄素是中药大黄的有效单体成分之一,具有多种功效。在治疗肾脏疾病方面,大黄素具有抗增殖,减少细胞外基质集聚,抗肾间质纤维化,抗炎及免疫抑制等多种作用,其作用主要是通过调节肾脏细胞、细胞因子、生长因子、细胞外基质等多方面发挥效能而实现的。最新的分子细胞机制研究主要围绕细胞及细胞因子展开,目前已发现大黄素可通过作用于转化生长因子- β 、结缔组织生长因子、单核细胞趋化蛋白-1、血小板反应蛋白-1 等发挥其抗增殖、抗纤维化的作用,从而达到治疗肾脏疾病的目的。

【关键词】 大黄素; 肾脏疾病; 分子细胞; 机制

【中图分类号】 R285 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.09.033

Review on molecular and cellular mechanism researches of emodin for treating kidney disease QI

Zhen-qiang, HU Hong-zhen, WANG Xiang-sheng, et al. First school of clinical medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250000, China

Corresponding author: LI Wei, E-mail: lweidw@163.com

【Abstract】 Emodin is an important monomer from traditional Chinese medicine radix et rhizoma rhei, which has many functions. In the treatment of kidney disease, emodin has anti-proliferation, inhibition of excessive deposition of glomeruli extracellular matrix, anti-renal interstitial fibrosis, anti-inflammatory and immune suppressive functions, which are realized through regulating kidney cells, cytokines, growth factors, and extracellular matrix, etc. Latest studies on molecular and cellular mechanisms of emodin mainly involve cells and cytokines, like TGF- β , CTGF, MCP-1, and TSP-1 to achieve the purpose of treating kidney diseases.

【Key words】 Emodin; Kidney disease; Molecular and cellular; Mechanism

大黄素是从蓼科植物虎杖、大黄的干燥根茎和根中提取的一种蒽醌类衍生物,具有抗微生物生长、免疫抑制、抗氧化、清除自由基、抗肿瘤活性等多种作用,在医学上具有广泛的临床应用。近期研究发现,大黄素是大黄、虎杖等中药发挥肾脏保护作用的主要活性成分^[1],有关大黄素治疗肾脏疾病的研究也已深入分子细胞水平,特别是对细胞因

子、生长因子、肾脏固有细胞、炎症及免疫的干预作用方面的研究取得了丰硕成果。现将近年来有关大黄素治疗肾脏疾病的细胞生物学机制研究进展进行综述,以期为新药研发提供依据。

1 大黄素对细胞因子及生长因子的调节作用

1.1 对转化生长因子- β 的影响

转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 属于 TGF- β 超家族成员,肾脏内所有固有细胞均可分泌和表达,是细胞生长的双向调节因子,具有生长促进和生长抑制双重属性,可精细调节细胞的生长,是调节肾脏炎症及硬化最重要的生长因子^[2]。杨君等^[3] 研究发现大黄酸和大黄素能够抑制人肾小管上皮细胞增殖,当浓度为 50 ug/mL 时对

基金项目:山东省中医药科技发展计划(2011-034)

作者单位:250000 济南,山东中医药大学第一临床学院[齐振强(硕士研究生)];山东省中医院肾病科(胡洪贞、李伟);济宁市中医院(王祥生)

作者简介:齐振强(1990-),2013 级在读硕士研究生。研究方向:中西医结合治疗肾脏疾病。E-mail:mrqizhenqiang@163.com

通讯作者:李伟(1962-),女,博士,主任医师。研究方向:中西医结合治疗肾脏疾病。E-mail:lweidw@163.com

人 TGF- β 1 基因启动子活性具有一定的抑制作用。朱凌波^[4]研究发现氟伐他汀和大黄素均能通过抑制早期糖尿病肾病患者 TGF- β 1 的表达,从而降低蛋白尿,发挥肾脏保护作用。魏建波等^[5]研究发现大黄素可以抑制大鼠肾组织 TGF- β mRNA 表达,从而发挥抗纤维化的作用。

1.2 对结缔组织生长因子的影响

结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)是即刻早期基因 CCN(CTGF, Cyr61, nov)家族成员之一,广泛存在于人类多种组织器官,尤其在肾脏中含量最高,其生物学效应主要是促进间充质来源细胞(如成纤维细胞)增殖、细胞外基质合成分泌^[6],与肾间质纤维化密切相关。研究发现,CTGF 是转化生长因子- β (TGF- β)的下游调节因子之一,生物学效应相对单一,可能仅介导 TGF- β 的促肾脏纤维化效应,通过抑制 CTGF 的表达可以更有效、更特异地防治肾脏纤维化。陶松青等^[7]研究发现,糖尿病大鼠 24 小时尿蛋白定量及肾组织 CTGF 的表达均出现显著增加,应用大黄素治疗后,糖尿病大鼠的 24 小时尿蛋白定量和 CTGF 表达明显减少,这提示大黄素可能通过下调糖尿病大鼠肾脏 CTGF 表达而达到肾脏保护作用。

1.3 对单核细胞趋化蛋白-1 的影响

单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)在肾脏中主要分布于肾小球系膜细胞、内皮细胞及肾小管上皮细胞,是特异性的单核巨噬细胞趋化因子,其主要作用是募集并激活单核—巨噬细胞在肾组织浸润。研究发现 MCP-1 在多种肾小球和肾间质疾病表达增高,且与肾功能的持续进展相关^[8-10]。何劲松等^[11]研究发现,糖尿病大鼠 24 小时尿蛋白定量及肾组织 MCP-1 表达明显增加,应用大黄素治疗后,糖尿病大鼠肾组织 MCP-1 表达及尿蛋白排泄出现明显减少,这表明大黄素可能通过抑制 MCP-1 的表达而减轻糖尿病大鼠的肾脏病变。

1.4 对血小板反应蛋白-1 的影响

血小板反应蛋白-1(thrombospondin-1, TSP-1)是血小板反应蛋白家族重要成员之一,对调节血管生成、增殖、细胞凋亡和蛋白激酶活化有重要作用^[12]。在对多种肾脏疾病动物模型的研究中发现, TSP-1 广泛参与肾脏疾病的病理生理变化过程,干预 TSP-1 的产生对防治肾小管间质纤维化有重要意

义。赵小萍等^[13]研究发现大黄素能抑制大鼠肾小管上皮细胞 TSP-1、TGF- β 1 的 mRNA 和蛋白表达,并下调总的和活性 TGF- β 1,从而达到防治糖尿病肾间质纤维化。

2 大黄素对肾脏细胞的影响

2.1 调节系膜细胞生长

多种慢性肾脏疾病的发展过程中都会出现肾小球系膜细胞增殖,增殖的系膜细胞通过产生多种炎症因子,促进细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过度合成,从而使肾小球炎症和硬化过程进一步加剧。刘友霞等^[14]发现,大黄素能通过激活过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 来抑制高糖所诱导的 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)过度活化进而改善系膜细胞的收缩功能,延缓糖尿病肾病的发生发展。另有研究发现,高糖能够诱导大鼠系膜细胞增殖、上调纤维连接蛋白的表达以及促进 p38 MAPK 活化,大黄素可以通过抑制 p38MAPK 信号通路的活化,从而抑制高糖培养的系膜细胞增殖与纤维连接蛋白高表达,发挥抗糖尿病肾脏纤维化的作用^[15]。大黄素对系膜细胞生长调控的干预效应,为抗肾脏纤维化、抗细胞增殖治疗等提供了实验依据及理论基础。

2.2 抑制肾小管上皮细胞转分化

肾小管间质纤维化是肾脏疾病发展到终末期肾脏疾病的共有病理改变。肌成纤维细胞形成是肾脏疾病发展到肾间质纤维化的重要标志。在肾脏损伤病理过程中,肾小管上皮细胞发生肾小管上皮细胞-肌成纤维细胞(间充质细胞)转分化这一过程(tubular epithelial myofibroblast transdifferentiation, TEMT),是肾间质纤维化形成的重要机制^[16]。金国华等^[17-18]发现大黄素不仅可抑制 TGF- β 1 的表达,还可以通过对 TGF- β 1/Smad 信号通路发挥作用,抑制人白蛋白诱导的肾小管上皮细胞(HK-2)转分化,从而减轻肾间质纤维化。陈廷芳等^[19]发现转化生长因子 β 1/整合素连接激酶(TGF- β 1/ILK)信号通路直接参与肾间质纤维化的发生,IL-1 β 通过激活 TGF- β 1/ILK 信号通路蛋白而诱导 TEMT,大黄素可以通过抑制 TGF- β 1/ILK 信号通路的激活,从而减轻 IL-1 β 诱导的 TEMT。综上所述,大黄素可以通过多种机制,抑制 TEMT,从而发挥其抗纤维化的作用。

3 大黄素的抗炎及免疫抑制作用

炎症与免疫可以通过多种途径导致肾脏病变,在肾脏疾病的发生发展中起重要作用。杨亚珍等^[20-22]研究发现,肾小管上皮细胞能够表达 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4)、髓样分化因子 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)、核转录因子- κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 和细胞因子 (interleukin, IL)-6、肿瘤生长因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 存在着与其他炎症细胞相同的信号转导途径;脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 能够上调 TLR4 基因和蛋白的表达,并且通过 MyD88, NF- κ B 途径,促使 IL-6、TNF- α 过度产生,大黄素能够抑制 LPS 诱导的 TLR4 上调所致的肾小管上皮细胞 NF- κ B 过度活化,以及细胞因子 IL-6、TNF- α 过度产生,减轻了局部的免疫炎症反应,具有保护肾功能、延缓病程进展的作用。Liu 等^[23]研究发现,大黄素可以通过拮抗 P2X7 受体抑制 ATP 诱导的巨噬细胞的死亡,从而减轻炎症反应,发挥保护肾脏的作用。朱晓玲等^[24]研究发现,大黄素可以通过下调 TNF- α 诱导的肾小管上皮细胞 C3 mRNA 及蛋白表达水平,抑制肾小管上皮细胞 C3 的过度产生,减轻肾脏局部的免疫反应,从而保护肾功能、延缓病程的进展。乔振奎等^[25]探讨大黄素对犬自体肾移植缺血再灌注损伤的影响及机制,发现大黄素通过抑制丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 与炎性因子 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平以及提高内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、IL-10 水平来减轻肾移植术后再灌注损伤,以起到保护作用。大黄素通过抑制炎症介质及免疫因子的释放,减轻肾脏局部反应失衡,有效的延缓肾脏病变进展。

4 大黄素对细胞外基质的影响

细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 可以维持组织器官的正常结构,其组成与构成的变化还直接影响细胞的功能,并参与疾病的病变过程。肾脏细胞外基质合成与降解失衡及其组织重塑导致的 ECM 积聚,是各种肾脏疾病发展至肾间质纤维化与肾小球硬化乃至终末期肾病的共同病理表现。李

冬梅等^[26]研究发现,大黄素可以通过提高基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 的表达,促进 ECM 的降解来发挥其延缓肾间质纤维化进程的作用。进一步研究发现大黄素还可以通过抑制金属蛋白酶组织抑制剂 (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)-1 的表达来发挥其延缓肾间质纤维化进程的作用^[27]。Yang 等^[28]研究发现,大黄素通过抑制系膜细胞纤维连接蛋白表达 NF- κ B 信号通路的激活来抑制 TGF- β 1 和纤维连接蛋白的过度表达,减轻细胞外基质的积聚,从而治疗和预防糖尿病肾病。大黄素通过不同作用途径,或加速 ECM 降解,或抑制 ECM 的积聚,能有效地延缓肾间质纤维化及肾小球硬化。

5 大黄素的肾毒性

大黄素在治疗肾脏疾病的同时,还具有一定的肾毒性,美国“国家毒理学规划处 (NTP)”研究发现长期应用大黄素可促进大鼠肾小管透明小滴生成,诱发肾病和肾小管色素沉积等^[29]。体外实验证实,大黄素可以诱导肾小球系膜细胞凋亡,且与药物浓度及时间成正相关^[30]。李奇等^[31]发现,大黄素会引起肾小管上皮细胞水肿颗粒样变性,肾小球体积增大,系膜细胞及基质增生,从而引起肾损伤。雷荣辉等^[32]证实,大黄素能够引起细胞内空泡状变性,通过引起脂肪和能量代谢紊乱的途径,参与大黄素致肾毒性的机制。亦有研究发现大黄素能诱导人肾上皮细胞 (HK-2 细胞) 的凋亡,关翠雯等^[33]对大黄素诱导 HK-2 细胞凋亡的作用及其机制进行了进一步研究,发现大黄素能诱导 HK-2 细胞凋亡,其作用机制与内质网应激有关。长期大剂量应用大黄素致肾毒性的报道逐渐增多,这为临床工作中合理应用大黄素带来警示,在获得治疗作用的同时要有效规避不良反应的发生。

6 结语

大黄素治疗肾脏疾病的分子细胞机制包括“作用于相关细胞因子 (TGF- β 、CTGF、MCP-1、TSP-1 等) 调节肾脏固有细胞生长,减轻肾脏炎症与免疫反应,调节细胞外基质的合成降解”。目前,有关大黄素治疗肾脏疾病的研究已深入至分子水平,特别是在对细胞因子、生长因子、肾脏固有细胞、炎症及免疫的干预作用方面收获颇丰,但鲜有揭示大黄素对肾脏血流动力学、肾脏凝血与纤溶异常方面影响

的研究。另外,在关注大黄素治疗肾脏疾病方面的积极作用的同时,还应该看到其在肾毒性方面的不良反应,以期更合理、有效地发挥其肾保护作用。

参 考 文 献

- [1] Liu H, Gao Y. Research progression in molecular mechanism of the pharmacological actions of emodin [J]. Chin Pharmacol Bull, 2009, 25(12): 1552-1555.
- [2] Wang W, Koka V, Lan HY. Transforming growth factor-beta and Smad signalling in Kidney disease [J]. Nephrology (Carlton), 2005, 10(1): 48-56.
- [3] 杨君, 秦斐, 赵斐, 等. 大黄酸及大黄素对人肾小管上皮细胞增殖及 TGF- β 1 启动子活性的调控作用 [J]. 上海中医药大学学报, 2013, 27(5): 70-72.
- [4] 朱凌波. 氟伐他汀和大黄素对早期糖尿病肾病患者 TGF- β 1 水平的影响 [J]. 黑龙江中医药, 2009, (9): 52-53.
- [5] 魏建波, 刘琴, 钟瑜, 等. 大黄素对大鼠肾间质纤维化干预作用的实验研究 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2013, (5): 337-341.
- [6] Gupta S, Clarkson MR, Duggan J, et al. Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis [J]. Kidney Int, 2000, (58): 1389-1399.
- [7] 陶松青, 何劲松. 大黄素对糖尿病大鼠肾脏结缔组织生长因子表达的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(24): 3023-3027.
- [8] Klahr S, Purkerson ML. The pathophysiology of obstructive nephropathy: The role of vasoactive compounds in the hemodynamic and abnormalities of the obstructed kidney [J]. Am J Kidney Dis, 1994, (23): 219.
- [9] I-hm CG, Park JK, Hong SP, et al. Circulating factors in sera or peripheral blood mononuclear cells in patients with membranous nephropathy or diabetic nephropathy [J]. J Korean Med Sci, 1997, (12): 539-544.
- [10] Akahoshi T, Kobayashi N, Hosaka S, et al. In-vivo induction of monocyte chemoattractant and activating factor in patients with chronic renal failure [J]. Nephrol Dial Transplant, 1995, 10(12): 2244-2249.
- [11] 何劲松, 曹东维. 大黄素对糖尿病大鼠肾组织单核细胞趋化蛋白-1 表达的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2012, 33(6): 795-797.
- [12] Hugo C, Daniel C. Thrombospondin in renal disease [J]. Nephron Exp Nephrol, 2009, 111(3): 61-66.
- [13] 赵小萍, 曾嵘, 王俭勤, 等. 大黄素对高糖介导的大鼠 NRK52E TSP1 和 TGF- β 1 表达的影响 [J]. 中国民族民间医药, 2009, 18(14): 1-3.
- [14] 刘友霞, 刘毅, 曹铭锋, 等. 大黄素对高糖环境下系膜细胞收缩功能的影响 [J]. 山东大学学报 (医学版), 2010, 48(9): 14-18.
- [15] 李学娟, 陈泽彬, 魏红, 等. 大黄素对高糖培养的 GMC 增殖、FN 表达及 p38MAPK 的影响 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(2): 233-237.
- [16] Kida Y, Asahina K, Teraoka H, et al. Twist relates to tubular epithelial-mesenchymal transition and interstitial fibrogenesis in the obstructed kidney [J]. J Histochem Cytochem, 2007, 55(7): 661-673.
- [17] 金国华, 秦晓华, 秦艳东, 等. TGF- β 1/Smad 信号通路在大黄素干预人肾小管上皮细胞转分化中的作用 [J]. 实用医学杂志, 2012, 28(1): 36-38.
- [18] 金国华, 秦晓华, 秦艳东, 等. 大黄素对人白蛋白诱导人肾小管上皮细胞转分化的影响 [J]. 天津医药, 2013, 41(1): 26-28.
- [19] 陈廷芳, 陈明, 秦建华. 转化生长因子 β 1/整合素连接激酶信号通路在大鼠肾小管上皮细胞转分化中的作用及大黄素对其的干预效应 [J]. 中西医结合学报, 2009, 7(1): 59-64.
- [20] 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.
- [21] Zhu XL, Wang YJ, Yang YZ, et al. O'Byrne KT. Suppression of lipopolysaccharide-induced upregulation of toll-like receptor 4 by emodin in mouse proximal tubular epithelial cells [J]. Mol Med Rep, 2012, 6(3): 493-500.
- [22] 朱晓玲, 王永钧, 杨亚珍. 大黄素对 TLR4 基因介导的肾小管上皮细胞 LPS 信号转导的机理研究 [C]//第十一届全国中西医结合肾脏病学术会议论文汇编, 重庆, 2010.
- [23] Liu L, Zou J, Liu X, et al. Inhibition of ATP-induced macrophage death by emodin via antagonizing P2X7 receptor [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 640(1-3): 15-19.
- [24] 朱晓玲, 王永钧, 张华琴, 等. 积雪草甙合人黄素对 TNF- α 诱导肾小管上皮细胞 C3 上调的干预作用 [J]. 中国中医药科技, 2010, 17(1): 32-23.
- [25] 乔振奎, 张卓然, 田立志, 等. 大黄素对犬自体肾移植缺血再灌注损伤的保护作用研究 [J]. 现代药物与临床, 2014, 2(29): 131-134.
- [26] 李冬梅, 刘巍. 大黄素对肾纤维化大鼠肾组织 MMP-9 表达的影响 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2014, 12(10): 160-161.
- [27] 李冬梅, 孙禄, 刘巍, 等. 大黄素对肾纤维化大鼠肾组织中基质金属蛋白酶组织抑制物-1 表达的影响 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2010, (17): 1689-1690.
- [28] Yang J, Zeng Z, Wu T, et al. Emodin attenuates high glucose-induced TGF- β 1 and fibronectin expression in mesangial cells through inhibition of NF- κ B pathway [J]. Exp Cell Res, 2013, 319(20): 3182-3189.
- [29] National Toxicology Program. NTP toxicology and carcinogenesis studies of emodin (CAS NO. 518-82-1) feed studies in F344/N rats and B6C3F1 mice [J]. Natl Toxicol Program Tech Rep Ser, 2001, 493: 1-278.
- [30] 魏群利, 郭禹, 印晓星, 等. 大黄素干预高糖培养大鼠肾小球系膜细胞的凋亡 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(31): 5817-5822.
- [31] 李奇, 王伽伯, 方芳, 等. 大剂量何首乌醇提物引发大鼠多脏器损害 [J]. 环球中医药, 2013, 6(1): 1-7.
- [32] 雷荣辉, 王青秀, 颜贤忠, 等. 利用 $^1\text{H-NMR}$ 技术研究大黄素染毒后大鼠内源性代谢物的改变 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(1): 29-35.
- [33] 关翠雯, 金晶, 朱少华, 等. 大黄素诱导人肾上皮 HK-2 细胞凋亡及内质网应激的介导作用 [J]. 中草药, 2013, 6(12): 1621-1627.

(收稿日期: 2015-03-31)

(本文编辑: 蒲晓田)