

- [4] 王强, 刘新月, 李乃强. 临床常用胰岛素制剂的分类及特点[J]. 临床医学杂志, 2005, 3(6): 47.
- [5] 王传宏, 刘艳晓. 诺和灵 30R 及诺和灵 50R 在糖尿病临床应用中的有效性及安全性对比分析[J]. 中国煤业工业医学杂志, 2003, 7(16): 654~655.
- [6] 黄胜贵. 胰岛素制剂研究进展[J]. 上海医药, 2005, 26(14): 166~170.
- [7] Bindras, cefalu WT. Inhaled therapeutic systems[J]. *curr opin investing Drugs*, 2002, 3(5): 758~762.
- [8] Plank J, Petersen AH, Bock G, et al. Onset of action of inhaled human insulin via the AERX IDMS compared to subcutaneous human insulin and subcutaneous insulin aspart[J]. *Diabetologia*, 2005, 48(s1): A31.
- [9] 王祥香, 孙子林. 糖尿病药物治疗新进展[J]. 中国药科大学学报, 2006, 37(2): 105~110.
- [10] 母义明, 杨丽娟. 糖尿病药物及胰岛素治疗新进展[J]. 中国实用内科杂志, 2007, 27(1): 29~32.
- [11] 张石革, 梁建华. 胰岛素及胰岛素类似物的进展及应用[J]. 中国药业, 2005, 14(11): 21~23.
- [12] 张石萍, 陈瑞红. 胰岛素类似物的进展与优势[J]. 中国医药导刊, 2005, 7(4): 289~292.
- [13] Edelman SV, morelb CM. Strategies for insulin therapy in type 2 diabetes [J]. *south Med J*, 2005, 98(3): 363~371.
- [14] Jemendy G. Evidence based therapy with insulin in diabetic patients [J]. *orv Hetil*, 2005, 146(8): 341~352.
- [15] Von Mach M, Brinkman C, Hansen T, et al. Differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics of insulin lispro and aspart in healthy volunteers [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2002, 110: 416~419.
- [16] Rakatzi I, seipke G, Eckel J. Insulin analogues with enhanced beta-cell protective action [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310(3): 852~859.
- [17] 崔志敏, 丁全福. 胰岛素类似物: 糖尿病治疗的新药物[J]. 武警医学院学报, 2005, 14(5): 416~418.
- [18] Kirstine Brown Frandsen. Long acting insulin Analogues [J]. *Section Endocrinol Foreign Medsci*, 2004, 24(7): 15~16.
- [19] 曹凤林, 郑少雄. 胰岛素类似物: 糖尿病治疗的新选择[J]. 医学综述, 2007, 13(1): 32~34.
- [20] Roach P, Woodworth J, Gudat U, et al. A75% insulin Lispro/25% NPL mixture provides a longer duration of insulin activity compared With insulin Lispro alone in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Diabet Med*, 2003, 20: 946.

收稿日期: 2007-10-31

[研究进展]

姜黄素抗肝纤维化机制的研究进展*

Mechanism of anti-fibrosis of curcumin in liver. LI Kai-jie, HU Xi-min. (Hainan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Haikou 570203, Hainan, P. R. China)

李凯杰, 胡锡敏

关键词: 姜黄素; 纤维化; 肝脏

中图分类号: R978.6 文献标识码: B 文章编号: 1009-9727(2008)2-314-03

姜黄素(Curcumin)是从姜科姜黄属(*Curcuma L.*)植物姜黄、莪术、郁金等的根茎中提取的一种天然有效成分,可溶于甲醇、乙醇、碱、醋酸、丙酮和氯仿等有机溶剂,在水中溶解度低,多数水溶液中的实验是在小于 50mol/L 的浓度进行。近年来,对于姜黄素这一中药提取物的研究近期也开始成为热点。国内外有关学者运用姜黄素进行了大量抗肝纤维化的研究,效果较为满意。本文就姜黄素抗肝纤维化方面的研究进展作一综述。

1 肝纤维化形成机制

纤维化是七十年代提出的一个概念,是临床上常见的病理生理改变,是创伤、感染、炎症、血液循环障碍及免疫反应等多种机体内外致病因素作用下,以细胞外基质(Extra cellular matrix, ECM)异常沉积为特征的各种疾病的不良结局,是机体对损伤的一种反应,其目的在于进行损伤和保护机体免受进一步的损伤。在纤维化时大多数 ECM 的数量和他们的局部构成都发生

了显著的变化。认为组织胶原表达达到正常的 5 倍以上时,即为组织纤维化。虽然不同的组织和器官纤维化的具体发生机制有些差别,但是仍有许多共性。纤维化的形成是个缓慢的过程,涉及到细胞、细胞因子和 ECM 等多种因素,多个环节相互作用和相互调节的复杂过程。最终结局是细胞外基质大量沉积在组织内。肝脏是研究纤维化的最佳器官,因此肝纤维化形成和机制的研究实际上是为防治器官(肺、肾、大脑、皮肤、肠等)纤维化打基础。肝纤维化的发生是在各种致病因子的作用下(包括免疫、毒物、病毒及寄生虫等)引起实质细胞损伤为起点,接着肝实质细胞的炎症变性、坏死、激活相应的巨噬细胞释放多种细胞因子和生长因子等活性因子,继之激活静息状态的细胞外基质产生细胞,使之转化成肌成纤维细胞,肌成纤维细胞产生大量 ECM 成分,同时细胞外基质降解减少,从而导致肝脏纤维化的发生。肝纤维化是各种慢性肝病向肝硬化发展的必经阶段,大量研究表明肝纤维化是可逆性病变,肝硬化则不

* 作者单位: 海南省疾病预防控制中心, 海南海口 570203

可逆转。

2 姜黄素抗肝纤维化的机制

2.1 姜黄素的抗氧化作用 氧自由基和其他基因产生的增多与很多种类的肝损伤和肝纤维化有关,其中最重要的是超氧化物。在肝纤维化中,线粒体呼吸链的破坏导致电子泄露增加和超氧化物的增多,通过瀑布式反应,超氧基团又可使过氧化氢、羟自由基、单线氧等活性氧类产物增加。尽管超氧化物的作用相对较弱,但羟自由基却极度活跃,能够攻击包括脂类、蛋白质、核酸和糖类在内的许多细胞成分。同时肝内原有的细胞保护机制(抗氧化系统、修复系统)遭到破坏,氧化物的产生与消除之间不平衡,因而诱发肝纤维化的形成与发展。姜黄素的化学结构表明,姜黄素分子中的酚羟基使其具有较强的抗氧化作用。可以抑制脂质的过氧化反应。在体外试验 Fenton 反应中,姜黄素具有极强的清除氧自由基作用,清除率达 60%。Reddy 等^[1]体内实验发现姜黄素能抑制 Fe^{2+} 诱导的 Wester 大鼠肝细胞损害作用,表现为姜黄素降低了 Fe^{2+} 诱导的肝匀浆及血清过氧化脂质。因此,姜黄素可认为是通过清除氧自由基,抑制脂质过氧化反应,阻断或者减缓肝损伤时的炎症刺激,达到抗肝纤维化的作用。Sreejayan 等^[2]体外实验也发现姜黄素能抑制 Fe^{2+} 诱导的肝线粒体脂质过氧化反应。国外也有研究表明^[3],姜黄素具有抗炎症、抗氧化作用。

2.2 调节 MMPs/TIMPs 的平衡 从二十世纪九十年代开始,人们意识到,基质金属蛋白酶(MMPs)作为一种锌或钙依赖的肽链内切酶,可降解多种 ECM 的成分,如在胚胎发生,创伤愈合,结缔组织重建,炎症反应,关节炎和癌症等病理过程中^[4]。于是人们也开始把研究的热点转移到 MMPs 及其特异性抑制剂—金属蛋白酶组织抑制因子(TIMPs)上。目前研究表明,正常情况下,肝脏 ECM 的合成和降解维持着动态平衡,MMPs/TIMPs 在调节这种平衡中起重要的作用。参与肝纤维化形成的主要胶原是 I、III 型胶原,诸多学者的研究显示,参与降解 I、III 型胶原的基质金属蛋白酶主要是 MMP-1,它的抑制因子为 TIMP-1。当 MMP-1 和 TIMP-1 比例失调时,I、III 型胶原降解减少而沉淀。MMPs 激活受到一系列细胞因子,生长因子,激素和细胞的转化影响^[5]。近期,一些试验表明姜黄素在体内和体外实验中对 CCL₄ 造成的肝纤维化具有明显的保护作用。

2.3 诱导 HSC 的凋亡,调节 ECM 的降解 在各种因素引起的肝脏损伤中,多种内源性细胞因子参与肝细胞的凋亡,从而导致肝脏功能的异常,抗肝纤维化治疗中诱导细胞的凋亡是目前研究的热点。目前,姜黄素通过调节肝细胞凋亡发挥抗纤维化的机制主要有以下几个研究方向。

2.3.1 调节 p53 基因的表达 肝星状细胞(HSC)是产生各种 ECM 的主要来源。HSC 增殖与凋亡的失衡是肝纤维化发生的细胞生物学基础,活化 HSC 产生大量 ECM,抑制其降解,使 ECM 大量沉淀,肝纤维化发生。姜黄素诱导 HSC 凋亡的分子机制目前研究较少,现有的研究结果多是在姜黄素诱导肿瘤细胞凋亡的试验研究中得出的,在乳腺癌细胞株 MCF-7,姜黄素

诱导细胞凋亡的同时伴有 p53 蛋白的表达增加,而在不表达 p53 的 MDAH041 细胞株中,姜黄素不诱导细胞凋亡,因此,提示其诱导凋亡的作用是 p53 依赖性的^[6]。有研究表明^[7],姜黄素也可以通过非 p53 依赖性的途径诱导凋亡,如在人恶性黑色素瘤细胞株,姜黄素促使 Fas 受体聚集活化,激活 caspase-8 和 caspase-3 通过膜介导机制诱导细胞凋亡。

2.3.2 刺激 PPAR γ 的活性发挥抗纤维化作用 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (Peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ) 是核受体超家族的成员之一,主要表达于脂肪组织,参与脂肪代谢,促进脂肪合成^[8]。近年来的研究发现 PPAR γ 在多种肿瘤中均有表达,当它被其特异性配体激活后可抑制这些肿瘤细胞的生长,但具体机制尚不十分明确,有研究认为可能与诱导凋亡、细胞周期阻滞有关^[9-10]。

进一步研究证实^[11-12],在体外激活的 HSC 中,姜黄素能诱导 PPAR γ 基因的表达,能刺激其活性,而抑制 HSC 增殖,这一研究证明了 PPAR γ 的激活在姜黄素诱导的凋亡和其抑制 ECM 基因表达过程中发挥了作用,阻断 PPAR γ 的激活可以消除姜黄素对诱导细胞凋亡和抑制 ECM 基因表达的作用,姜黄素还可抑制强致纤维因子 TGF- β (Transforming growth factor- β) 受体基因的表达和干扰 PPAR γ 激活介导的 TGF- β 信号系统而发挥抗纤维化的作用。由此,我们得出姜黄素可以刺激 PPAR γ 的活性,抑制 HSC 的增殖,减少 ECM 合成。所有这些结果对姜黄素抑制 HSC 的激活,发挥抗纤维化的机制提出了新的观点。

2.4 调节细胞周期发挥抗肝纤维化作用 Moragoda 等^[13]的研究发现姜黄素可以通过抑制细胞周期素 cyclinD 和 cyclinE 的活性,将细胞进程阻滞于 G₂/M 期,又可以通过刺激 caspase-1 和 caspase-8 的活性,降低 Bcl-xL 的水平诱导细胞凋亡。最近的报道还证实^[14],姜黄素可以通过干扰正常的纺锤体的形成使肿瘤细胞不能正常的有丝分裂,从而发生 G₂/M 期的阻滞。国外学者的研究也表明^[15],姜黄素可以缩短细胞 S 期,使 S 期细胞减少,G₂/M 期细胞增多,通过抑制细胞周期的蛋白磷酸化,调控 G₂/M 期位点,使细胞周期进程减缓,细胞停滞于 G₂/M 期,进而诱导细胞凋亡,这种作用随着姜黄素浓度的增加而愈发明显。因此,姜黄素有可能调节细胞周期素的生成来影响细胞的生长发育,从而影响肝纤维化有关的细胞而发挥抗增殖和抗纤维化作用。

2.5 另外可能的抗肝纤维化机制

2.5.1 调节 CFTR- Δ 508 (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) 的活性发挥抗纤维化作用 囊性纤维化是一种常染色体隐性遗传病,是由编码 CFTR 基因的七号染色体上的单个基因变异引起的。这些变异促使了上皮内的 CFTR 的功能丧失。有研究表明,姜黄素能影响 CFTR- Δ 508 的过程,增大其在小鼠肝纤维化中的功能,但机制尚不明确^[16]。Berger 等^[17]假设并验证了姜黄素影响到了该通道的功能,证明它是靠减少通道关闭的时间(实际是靠减少通道关闭的次数)和延长通道保持开放的时间来增加 CFTR 通道的

内外膜的活性的。他们的试验还发现,姜黄素既可以增加野生型,也可增加 DeltaF508 通道的活性。因此,姜黄素的这一作用引起了广泛的兴趣。有报告称^[18]姜黄素可以恢复纤维化小鼠 DeltaF508 的功能。经过对小鼠的研究,这些结果表明姜黄素高剂量在人体是安全的,因此可能是纤维化有效的治疗途径。这一作用对姜黄素抗肝纤维化的机制研究有提示意义。

2.5.2 作为激活蛋白(AP-1)的抑制剂发挥抗纤维化作用

AP-1 是星状细胞内的关键靶基因之一,可以被多种细胞因子,如肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素-1(IL-1)的激活来促使纤维化的发生^[19]。有实验证明^[20],姜黄素是 AP-1 的抑制剂,可以减少胶原积聚。在实验性肝纤维化中,观察到了姜黄素在体外调节 AP-1 的生成而影响纤维化的过程。

3 结语

姜黄素是一种天然来源的药物,除具有抗纤维化功能外,还具有抗炎、抗癌、抗氧化作用,也具有保护肾脏、帮助肌肉损伤修复、治疗白内障、抗寄生虫等多种药理作用。而且毒副作用小,使用安全。因此,姜黄素具有良好的临床应用潜力,受到国内外广泛的关注。目前常作为调味品、化妆品来使用。近年来,国外有关姜黄素的报道较多,有关其抗纤维化的报道也开始增多,但其作用机制仍然处于研究探索阶段。而国内对姜黄素的研究较少,研究其抗肝纤维化的作用机制就更少了,不过近四五年有增多的趋势。所以,针对姜黄素越来越受到医药工作者的重视的今天,研究其作用机制,尤其是抗纤维化的作用机制就显得尤为重要了。

参考文献:

[1] Reddy AC, Lokesh BR Effect of Curcumin and eugenol on iron-induced hepatic toxicity in rats [J]. Toxicology, 1996, 107(1): 39.

[2] Sreejayan, Rao MN. Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation [J]. J Pharm Pharmacol, 1994, 46(12): 1013.

[3] Punithavathi D., Venkatesan N. & Babu M. Curcumin inhibition of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats [J]. Br. J. Pharmacol, 2000, 131: 169~172

[4] Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinases [J]. J Biol Chem, 1999, 274: 21491~21494

[5] Parsons SL, Watson SA, Brown PD, Collins HM, Steele RJ. Matrix metalloproteinases [J]. BR J Surgery, 1997, 84: 160~167. [6] Choudhuri T, Pal S, Aggarwal ML, Das T, Sa G. Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction [J]. FEBS Lett, 2002, 512(1-3): 34~340

[7] Bush JA, Cheung KJ Jr, Li G. Curcumin induces apoptosis in human

melanoma cells through a Fas receptor/caspase-8 pathway independent of p53 [J]. Exp Cell Res, 2001, 271(2): 305~314.

- [8] Koeffl ER H P. Peroxisome proliferator-activated receptor γ and cancers [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9: 129
- [9] Motomura W T, Okumura T, Takahashi N, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by Troglitazone inhibits cell growth through the increases of p27kip1 in human pancreatic carcinoma cells [J]. Cancer Res, 2000, 60: 5558~5564
- [10] Nishida K, Furumatsu T, Takada I, et al. Inhibition of human chondrosarcoma cell growth via apoptosis by peroxisome proliferator-activated receptor- γ [J]. Br J Cancer, 2002, 86: 1303~1309
- [11] Zheng S & Chen A. Activation of ppar γ is required for curcumin to induce apoptosis and to inhibit the expression of extracellular matrix genes in hepatic stellate cells in vitro [J]. J Biol Chem, 2004, 279: 149~157.
- [12] Xu J, Fu Y & Chen A. Activation of peroxisome-activated receptor- γ contributes to the inhibitory effects of curcumin in rat hepatic stellate cell growth [J]. Am. J. Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2003, 285: 20~30.
- [13] Moragoda L, Jaszewski R, Majumdar AP. Curcumin induced modulation of cell cycle and apoptosis in gastric and colon cancer cells [J]. Anticancer Res, 2001, 21(2A): 873~878
- [14] Holy JM. Curcumin disrupts mitotic spindle structure and induces micronucleation in MCF27 breast cancer cells [J]. Mutat Res, 2002, 518(1): 71~84.
- [15] Park S D et al. Zedoaria rhizoma and curcumin inhibits platelet-derived growth factor-induced proliferation of human hepatic myofibroblasts [J]. Int Immunopharmacol, 2005, 5: 555~569.
- [16] Wang W, Li G, Clancy JP et al. Activating cystic fibrosis transmembrane conductance regulator channels with pore blocker analogs [J]. J Biol Chem, 2005, 280: 23622~23630
- [17] Berger, A. L. et al. Curcumin stimulates cystic fibrosis transmembrane conductance regulator Cl⁻ channel activity [J]. J Biol Chem, 2005, 280: 5221~5226.
- [18] Schub, T. Spicy treatment for cystic fibrosis [J]. Lab Anim (NY), 2004, 33: 8~9
- [19] Tharaux P. L, Chatziantoniou, C, Fakhouri, F. & Dussaulte J. C. Angiotensin II activates collagen I gene through a mechanism involving the MAP/ER kinase pathway [J]. Hypertension, 2000, 36: 330~336.
- [20] Gaedeke J, Noble N. A. & Border, W. A. Curcumin blocks multiple sites of the TGF- β signaling cascade in renal cells [J]. Kidney Int, 2004, 66: 112~120.

收稿日期: 2007-10-26