

## 综 述

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.09.021

## 鬼针草及其有效成分治疗高血压肾损害机制研究概况

方媛<sup>1</sup>, 方祝元<sup>2\*</sup>

(1. 南京中医药大学第三附属医院, 江苏省南京市秦淮区金陵路 1 号, 210001; 2. 江苏省中医院)

**摘要** 高血压肾损害是高血压病常见并发症, 其主要表现为肾间质纤维化, 而上皮-间充质转化在肾纤维化过程中起重要作用。基于实验研究文献梳理, 从 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路、Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路、MAPK/ERK1/2 信号通路三个方面对鬼针草及其有效成分治疗高血压肾损害的机制进行总结, 提出鬼针草及其有效成分可以通过上调上皮表型, 减少细胞外基质成分的表达, 防止细胞外基质成分在肾间质的过度沉积, 维持细胞外基质合成/降解平衡, 遏制高血压肾损害肾上皮-间充质转化过程, 从而达到逆转肾纤维化的目的。这可能为高血压肾损害靶向治疗提供思路。

**关键词** 高血压病; 肾损害; 上皮-间充质转化; 鬼针草; 黄酮醇苷; 槲皮素

高血压病是我国最常见的心血管病之一, 具有死亡风险高、卫生经济负担重等特点<sup>[1]</sup>。高血压可引起心、脑、肾、眼、血管等诸多靶器官的并发症, 尤其在肾损害方面, 高血压是终末期肾病最主要的发生发展因素<sup>[2]</sup>, 同时还是导致终末期肾脏病的常见原因之一<sup>[3]</sup>, 在我国老年患者中高血压甚至已取代肾小球疾病成为导致终末期肾病的第二位病因<sup>[4]</sup>。高血压病患者体内肾素血管紧张素醛固酮系统(RAAS)激活, 血液中血管紧张素 II(Ang II)水平升高, Ang II 的促肾脏纤维化作用已经得到广泛证实和认同<sup>[5]</sup>。高血压肾损害最主要的表现是肾间质纤维化, 而上皮-间充质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)在纤维化过程中起重要作用<sup>[6]</sup>。鬼针草是常用中药, 现代临床证实其对血压具有良好的双向调节作用, 目前多用于降血压。本文通过中医治疗高血压肾损害的理论基础及临床实践, 结合鬼针草及其有效成分改善 EMT 的转换机制, 对本病研究现状及未来研究目标进行综述。

### 1 鬼针草治疗高血压肾损害的中医理论基础

中医学多将高血压肾损害归属于“眩晕”“水肿”“尿浊”“关格”“癃闭”等范畴。高血压肾

损害是终末期肾病的重要发生因素之一。《临证指南医案》中提出“久病入络”, 并有“初为气结在经, 久则血伤入络”之说。由于肝肾气血阴阳失调, 肝阳上亢, 肝体失柔; 肝气郁结, 久而气滞血瘀, 阻塞脉络; 而肝郁日久化火, 乙癸同源, 则易灼伤肾络, 造成肾络损伤; 肝火多易伤阴动血, 从而造成肾络气血受损, 肾络失养。以上多个病理环节相互作用, 最终导致肾中络脉瘀阻损伤, 肾脏气化失司, 溺毒留滞, 百病丛生<sup>[7]</sup>。肾络完全性闭塞则出现尿闭等诸多症状, 最终导致肾主水、肾关开阖后闭等重要功能失常甚至完全丧失。因此, 高血压肾损害治疗首重益气, 气为血之帅, 气行则血行, 同时予以活血通络之法。而临床实践已证实, 运用以鬼针草和何首乌为君药的潜阳育阴方治疗高血压早期肾损害之肝阳上亢证, 尤以兼有肝肾阴虚、痹阻肾络者临床疗效显著。方中清热平肝、散瘀的鬼针草既可降压, 又可逆转肾损害, 可达标本兼治之效<sup>[8-9]</sup>。

鬼针草, 性温、味苦, 无毒, 其功效为清热、解毒、散瘀、消肿<sup>[10]</sup>。鬼针草归肝、肺、大肠经, 重于清泻, 清肝肾之火, 对于素体阳盛、肝阳上亢者有效, 同时高血压病单一证型不多, 常见病机为上实下虚, 上实则肝阳上亢, 肝风上扰, 气血并走于上, 下虚为肾阴虚损, 肝失所养, 肝阴不足, 阴不潜阳, 而肝阳偏盛, 肝阳亢宜泻肝火, 肾水充

基金项目: 国家自然科学基金(81573909)

\* 通讯作者: jsfy@jssmail.com.cn

则肝阴得滋,故在补肝肾之阴的同时要配鬼针草,以泻肝火。若兼有血瘀则易致严重的靶器官损害,临床出现相关症状包括头痛如裹、头晕、胸闷、乏力,舌质则暗红有瘀点,此时可用鬼针草祛瘀通络、疏肝解郁,使得气血调畅,瘀浊自解。鲜鬼针草大剂量给药时有降血压、保护心肌的作用,能改善高血压模型大鼠心肌肥厚状况,而药物的急性毒性实验亦说明其药物应用安全<sup>[1]</sup>。

## 2 鬼针草有效成分治疗高血压肾损害机制研究

采用现代色谱分离技术和波谱鉴定方法,从鬼针草醇提物中分离得到 18 个化合物,显示鬼针草主要化学成分以黄酮类、酚酸类等为主<sup>[2]</sup>。其中鬼针草总黄酮类成分中金丝桃苷为黄酮醇苷类成分,其苷元为槲皮素,芦丁是黄酮苷类化合物,是槲皮素的芸香糖苷,这三者对心脑血管系统具有很好的保护作用,具有降压、降脂及调节血糖的功效<sup>[3-14]</sup>,为鬼针草治疗高血压肾损害的主要有效成分。

EMT 是指上皮细胞在特定的生理和病理情况下失去其上皮表型向间充质细胞转化的现象。生理状态下,炎症反应缓解后该转化过程即自行停止;而在炎症反应持续活化的情况下,EMT 过程将持续存在,并最终造成器官纤维化。发生 EMT 的上皮细胞通过以下过程加速肾间质纤维化的进程。第一,转变后的细胞具有十分活跃的增殖和分泌细胞外基质 (ECM) 的功能,直接参与到肾间质纤维化的损伤过程;第二,转变后的细胞可以释放多种细胞因子或生长因子,诱导更多的小管上皮细胞发生 EMT 而进一步放大病变;第三,转变后的细胞对各种致死性刺激更为敏感,细胞死亡后留下来的空间被胞外基质所沉积代替。小管基底膜的完整性是 EMT 的决定性因素之一,肾间质纤维化的重要特征就是细胞外基质成分在肾间质的过度沉积。正常情况下 ECM 处于动态平衡状态,而发生 EMT 的 ECM 合成/降解平衡被打破,大量 ECM 沉积,表现为纤维化,因此,特异性调控 EMT 可以减轻甚至逆转肾间质纤维化。转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) /Smad 信号通路、Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路及 MAPK/ERK1/2 信号通路是三条与 EMT 密切相关的通路,现从鬼针草及其有效成分与这三条通路之间的关系出发,对本病研究概述如下。

### 2.1 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路

TGF- $\beta$  是介导各种细胞类型的增殖、分化、凋亡、黏附和迁移并诱导 ECM 产生的多功能调节剂,

Smads 是 TGF- $\beta$  的下游信号分子,TGF- $\beta$ /Smad 信号转导通路在高血压肾损害大鼠肾间质纤维化中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。高血压肾损害其病理生理过程与 TGF- $\beta$  关系密切,第一阶段细胞活化和损伤,肾小管、血管周围和单核细胞被激活并开始填充间质,同时释放促炎和损伤分子;第二阶段纤维化信号转导,产生纤维化促进因子;第三阶段 ECM 数量增加,基质降解降低;第四阶段为破坏阶段,完整的肾单位数量逐渐下降,肾功能持续降低。EMT 是间质性纤维化的早期阶段,表现为产生管状萎缩和上皮细胞消失。而相关研究发现,鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠具有防治作用,其机制可能通过 TGF- $\beta_1$ /Smad 通路,调节胶原生成,减少 ECM 沉积<sup>[16]</sup>;鬼针草总黄酮还能明显降低肝纤维化大鼠血清中Ⅲ型前胶原酶、Ⅳ型胶原酶,抑制肝组织中Ⅰ型胶原、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA)、TGF- $\beta_1$  mRNA 及 Smad2 蛋白的表达,其机制可能与降低 TGF- $\beta_1$  表达进而抑制肝星状细胞活化相关,肝星状细胞为各种致纤维化因素的靶细胞,鬼针草总黄酮可以抑制其向纤维细胞样细胞转变,减少胶原及层连蛋白的表达<sup>[17]</sup>。另有研究证实,槲皮素可以通过下调肾组织 TGF- $\beta$  的表达,延缓肾小管间质纤维化进程从而对慢性环孢素肾病模型大鼠发挥保护作用<sup>[18]</sup>;槲皮素能够抑制 EMT 标志物波形蛋白、 $\alpha$ -SMA 的蛋白及 mRNA 表达,通过维持足细胞生理结构的完整性保护肾小球滤过屏障,从而抑制 TGF- $\beta_1$  诱导的足细胞 EMT 发生,且预先干预效果更好<sup>[19]</sup>;同时槲皮素可以通过调控转录因子锌指蛋白等抑制 TGF- $\beta_1$  诱导的人脐静脉内皮细胞发生内皮-间质转化,从而发挥抗纤维化的作用<sup>[20]</sup>。总结以上研究可认为,鬼针草及其有效成分可以通过维持肾小管基底膜的完整性,防止 ECM 成分在肾间质的过度沉积,达到逆转内皮-间质转化而发挥抗纤维化的作用。

### 2.2 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路

Wnt 信号通路是一个复杂的调控网络,目前认为它包括四个分支,即经典 Wnt 信号通路、Wnt/PCP 通路、Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  通路、激活磷脂酶 C 和蛋白激酶 C。通常 Wnt 信号通路主要指的是由  $\beta$ -catenin 介导的经典 Wnt 信号通路。发生 EMT 时,细胞表型发生改变,例如,E-钙黏蛋白等上皮标志物丢失,同时波形蛋白、 $\alpha$ -SMA 等间质细胞标志物表达上调<sup>[21]</sup>,以及黏附蛋白的辅助分子  $\beta$ -catenin 入核。高血压病患者血液中 Ang II 水平增高,而 Ang

II 作为一种局部激素可以激活肾脏局部的肾素-血管紧张素 (RAS) 系统, 调节机体的血压和肾脏血流动力, 参与肾间质纤维化的过程; 在肾集合管细胞中, Ang II 作用可增加  $\beta$ -catenin、 $\alpha$ -SMA 的表达, 同时使纤维连接蛋白和 I 型胶原的合成增加<sup>[2]</sup>。目前已有实验研究表明, 鬼针草有效成分槲皮素可以减轻单侧输尿管梗阻模型大鼠肾间质纤维化病理改变, 降低模型大鼠梗阻侧肾脏组织匀浆羟脯氨酸含量以及肾脏组织中  $\alpha$ -SMA 的表达, 从而减轻模型大鼠肾间质纤维化, 其作用机制与抑制肾小管上皮细胞转化成肌成纤维细胞有关<sup>[3]</sup>; 另一有效成分芦丁可以使单侧输尿管梗阻大鼠肾脏 I 型胶原、III 型胶原、纤连蛋白、 $\alpha$ -SMA 等蛋白表达明显下降, 而 E-cadherin 蛋白表达相对增加<sup>[4]</sup>; 槲皮素和金丝桃苷可以通过抑制白细胞介素-1 $\beta$  减少肾小球系膜细胞的  $\alpha$ -SMA 和纤连蛋白表达, 从而预防单侧输尿管梗阻所致的肾纤维化<sup>[5]</sup>。综上, 鬼针草及其有效成分通过降低间质表型表达水平, 增加上皮表型的表达水平, 减少胶原、层连蛋白等 ECM 成分的表达, 从而逆转 EMT 的过程而起到抗肾纤维化的作用。

### 2.3 MAPK/ERK1/2 信号通路

MAPK 信号转导通路是广泛存在于各种细胞内的信号转导途径, 由一组丝/苏氨酸蛋白激酶组成, 以 MAPKKK-MAPKK-MAPK 级联反应的方式相继磷酸化激活, 将细胞外信号转导至细胞内以及细胞核中, 调控着细胞多种生理过程。ERK 是 MAPK 家族中的一员, 它的信号传递途径涉及调节细胞生长、发育及分裂的信号网络的核心, 其基本的信号传递步骤遵循 MAPKs 的三级酶促级联反应。研究发现, EMT 的诱导需要 ERK/MAPK 信号通路的协同<sup>[6]</sup>。TGF- $\beta_1$  通过激活 ERK1/2 途径, 级联活化 p38MAPK, 活化的 p38MAPK 调控 EMT 相关蛋白表达, 导致肾小管细胞胶原沉积和肾纤维化<sup>[7]</sup>; 而 TGF- $\beta_1$  诱导人近端肾小管上皮细胞所致 EMT 后, 应用不同浓度肾酶与 TGF- $\beta_1$  共孵育细胞, 结果细胞内磷酸化 Smad 2/3 和磷酸化 p38 表达无明显变化, 但磷酸化 ERK 1/2 表达明显下调, 说明 TGF- $\beta_1$  诱导的肾小管上皮细胞间充质转分化和纤维化其机制可能与 ERK 1/2 信号通路的激活相关<sup>[8]</sup>。实验研究已证实, 鬼针草有效成分槲皮素能抑制人胚肺成纤维细胞增殖, 并且能降低血小板衍生因子、磷酸化 ERK1/2 的表达导致 ERK1/2 的激活<sup>[9]</sup>; 同时槲皮素能部分通过 ERK/eNOS 信号转导通路, 提高大鼠骨髓来源内皮祖细胞活力及迁

移能力, 促进内皮祖细胞的生成而发挥心血管保护作用<sup>[10]</sup>。因此可以说, 鬼针草及其有效成分可通过抑制细胞增殖、降低纤维化相关蛋白的表达, 起到抗纤维化作用。

### 3 讨论

鬼针草具有悠久的历史, 目前在治疗高血压病、高脂血症、抗炎、抗纤维化等诸多方面效果显著。中医理论认为, 正虚血瘀是肝、肾纤维化的共同病机基础, 根据中医异病同治理论, 采用补虚化瘀可有效防治肝、肾纤维化。现代医学研究表明, 纤维化在许多脏器中的病变机制相似, 传统医学和现代医学在纤维化疾病治疗方面有着高度相似性和相关性。基于此发现, 中药单药之间的配伍治疗、中药与西药之间的组合治疗, 可能为高血压肾纤维化提出新的治疗策略。

随着高血压病人群的日益扩大, 高血压病引起的靶器官并发症日益受到关注, 而防止肾小管纤维化已成为改善高血压病患者不良肾脏结局的关键环节。目前我们对于高血压肾损害机制尚未完全明确, 既往研究中发现, 鬼针草及其有效成分在肺纤维化、肝纤维化等疾病的治疗中均能发挥作用。对鬼针草有效部位的筛选结果显示, 鬼针草总黄酮为其有效部位, 且鬼针草黄酮类活性成分的提取、制剂等系列研究也显示了其良好的临床应用前景<sup>[11]</sup>。而上述多项研究结果已证实, 鬼针草及其有效成分通过维持小管基底膜的完整性, 减少胶原、层连蛋白等 ECM 成分的表达, 防止其在肾间质的过度沉积, 下调间质细胞表型表达水平, 增加上皮细胞表型的表达水平, 抑制细胞增殖, 降低纤维化相关蛋白的表达, 逆转 EMT 的过程, 发挥抗纤维化作用。TGF- $\beta$  在肾小管 EMT 的发生中起关键作用, Ang II 可以通过诱导这种纤维化因子来促进高血压肾损害 EMT 的发生。基于这一结果我们认为, 在高血压肾纤维化中, 鬼针草及其有效成分可以通过上调上皮表型, 减少胶原、层连蛋白等 ECM 成分的表达, 维持 ECM 合成/降解平衡, 遏制高血压肾损害 EMT 过程, 从而达到逆转肾纤维化的目的。以上结论可能为后期开发与高血压肾损害相关的 EMT 靶向治疗药物提供机会。

中药的早期预防对已经存在高血压病但尚未发生肾损伤等靶器官损害的患者来说更为重要, 目前中药单体、中药复方越来越多的成为研究热点。鬼针草化学成分复杂, 而依托中药多组分、多靶点的特点, 形成全面的研究体系, 对研究鬼针草有效成

分的体内过程有着重要的指导意义。今后我们需要开展体内外实验加以验证,以期更好地开发和利用鬼针草。

## 参考文献

- [1] 隋辉,陈伟伟,王文.《中国心血管病报告 2015》要点解读 [J]. 中国心血管杂志, 2016, 21(4): 259-261.
- [2] ONGK L, TSO AWK, LAMK SL, et al. Gender difference in blood pressure control and cardiovascular risk factors in Americans with diagnosed hypertension [J]. Hypertension, 2008, 51(4): 1142-1148.
- [3] LIU ZH. Nephrology in China [J]. Nat Rev Nephrol, 2013, 9(9): 523-528.
- [4] CAO Y, LI W, YANG G, et al. Diabetes and hypertension have become leading causes of CKD in Chinese elderly patients: a comparison between 1990-1991 and 2009-2010 [J]. Int Urol Nephrol, 2012, 44(4): 1269-1276.
- [5] PACURARI M, KAFOURY R, TCHOUNWOU PB, et al. The Renin-Angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling [J]. Int J Inflam, 2014, 2014: 689360. doi: 10.1155/2014/689360.
- [6] LI M, LUAN F, ZHAO Y, et al. Epithelial-mesenchymal transition: An emerging target in tissue fibrosis [J]. Exp Biol Med, 2016, 241(1): 1-13.
- [7] 秦建国,郭一,韩琳,等.从“肾络瘀损”探讨高血压肾损害的中医病机与治疗 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015, 16(9): 834-835.
- [8] 丁康,赵菁,马诺莎,等.潜阳育阴颗粒治疗高血压病(阴虚阳亢证)的临床研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(5): 1149-1150.
- [9] 邹冲.潜阳育阴颗粒通过抑制炎症反应改善高血压早期肾损害的基础与临床研究 [D]. 南京:南京中医药大学, 2017.
- [10] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2005: 1694-1695.
- [11] 郑梅生,朱琳,郑云菊,等.鲜鬼针草降压作用的实验研究 [J]. 中医临床研究, 2016, 8(24): 16-19.
- [12] 曹园,瞿慧,姚毅,等.鬼针草化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3435-3439.
- [13] 李敏.槲皮素及其糖苷衍生物芦丁对心肌纤维化的抑制作用及机制研究 [D]. 长春:吉林大学, 2014.
- [14] 沈宇.关于黄酮类物质的心血管保护作用及其机制的研究 [D]. 南京:南京大学, 2012.
- [15] 张思奇,方祝元,蒋卫民,等.转化生长因子- $\beta_1$ 与高血压肾损害及其中西防治研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(8): 1950-1953.
- [16] 程新燕.鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠肝组织 TGF- $\beta_1$ /smad 通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 253-257.
- [17] 吴繁荣,陈飞虎,胡伟.鬼针草总黄酮对免疫性肝纤维化大鼠胶原代谢的影响及机制 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(4): 504-507.
- [18] 谭州科,唐智,罗茜,等.槲皮素对大鼠慢性环孢素肾病的保护作用 [J]. 遵义医学院学报, 2012, 35(5): 396-399.
- [19] 张兆洲.基于“毒损肾络”理论研究槲皮素对 TGF- $\beta_1$ 诱导的肾小球足细胞向间充质细胞转分化的抑制作用 [D]. 兰州:甘肃中医药大学, 2016.
- [20] 吴微,杨柳,徐翊.槲皮素对转化生长因子诱导人脐静脉内皮细胞内皮-间质转化的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(2): 65-69.
- [21] HABIB SL. Alterations in tubular epithelial cells in diabetic nephropathy [J]. J Nephrol, 2013, 26(5): 865-869.
- [22] CUEVAS CA, GONZALEZ AA, INESTROSA NC, et al. Angiotensin II increases fibronectin and collagen I through the beta-catenin-dependent signaling in mouse collecting duct cells [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2015, 308(4): F358-F365.
- [23] 张晓暄,那宇,苗里宁,等.槲皮素对单侧输尿管梗阻大鼠肾脏  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白表达的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2006, 7(10): 567-569.
- [24] 王斌.芦丁对 UUO 大鼠肾间质纤维化的影响及作用机制的研究 [D]. 广州:南方医科大学, 2016.
- [25] YAN Y, FENG Y, LI W, et al. Protective effects of quercetin and hyperoside on renal fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction [J]. Exp Ther Med, 2014, 8(3): 727-730.
- [26] JAVLE MM, GIBBS JF, IWATA KK, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) and activated extracellular signal-regulated kinase (p-Erk) in surgically resected pancreatic cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(12): 3527-3533.
- [27] XIAO HB, LIU RH, LING GH, et al. HSP47 regulates ECM accumulation in renal proximal tubular cells induced by TGF-beta1 through ERK1/2 and JNK MAPK pathways [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2012, 303(5): F757-F765.
- [28] 吴逸如,王丽妍,邓岱,等.Renalase 对肾小管上皮细胞-间充质转分化影响的研究 [J]. 医学研究杂志, 2017, 46(7): 20-25.
- [29] 彭海兵,张娜,刘晓光,等.槲皮素抑制人胚肺成纤维细胞 ERK1/2 的激活和 PDGF 的表达 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(1): 42-44.
- [30] 蒋璐璐,杨娜娜,陈巧睿,等.槲皮素改善大鼠骨髓来源内皮祖细胞生物学功能及其机制研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(5): 843-850.
- [31] 许慧,陈飞虎,邵旭,等.鬼针草总黄酮提取工艺中试研究 [J]. 安徽医药, 2012, 16(6): 738-740.

(收稿日期: 2017-08-22; 修回日期: 2018-01-20)

编辑:崔京艳