

· 综 述 ·

中药复方抗肝纤维化作用机制研究概况

李 季 叶 军* 薛冬英

(上海中医药大学附属普陀医院感染科, 上海市兰溪路 164 号, 200062)

* 通讯作者: PZXWK@163.com, (021) 52662972

[摘 要] 对中药复方抗肝纤维化作用机制研究的相关文献作了分析总结与展望, 为指导临床用药提供了药理学依据, 显现出中药复方抗肝纤维化具有广阔前景, 并指出了存在问题及今后研究方向。

[关键词] 中药复方; 肝纤维化; 机作用制

肝纤维化 (Hepatic fibrosis, HF) 是肝细胞发生变性、坏死及炎症刺激时, 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 合成、分泌增多, 降解减少, ECM 大量沉积而形成, 是慢性肝损伤向肝硬化发展的动态过程。肝纤维化是可逆的, 但目前临床尚缺乏高效、无明显毒副作用的西药, 中药复方抗肝纤维化的有效性已获不少可靠证据, 体现出优势。与此同时, 中药复方抗肝纤维化作用的机理研究正逐渐深入, 现将中药复方抗肝纤维化作用机制研究方面取得的进展综述如下。

1 保护和阻止肝损伤, 减轻肝脏炎症

肝细胞损伤与肝脏炎症是肝纤维化的启动因素, 肝细胞损伤后可通过局部各种递质的释放引起炎症反应, 而炎症反应又可通过自分泌和旁分泌途径刺激肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs), 导致 ECM 的重建和纤维瘢痕的形成。因此, 寻找有效防止肝细胞的变性、坏死, 恢复变性细胞的结构, 恢复肝细胞的功能及抑制炎症反应的药物, 是阻断肝纤维化发生、发展的重要环节。朱跃科等^[1]研究结果显示, 芪参益气滴丸干预组与治疗组的大鼠血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 与天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 水平均较模型组与模型对照组明显降低, 表明芪参益气滴丸具有较好的保护肝细胞功能、促进损伤肝细胞修复的作用。

2 抑制肝星状细胞增殖、活化

目前仍认为, HSCs 在肝纤维化发生发展中起主导作用。HSCs 的活化是肝纤维化的细胞学基础, 是肝纤维化发生、发展的中心环节。在各种致病因素作用下, 静止期 HSCs 被激活并增殖、转化为肌成纤维样母细胞, 合成和分泌 ECM, 同时合成和释放大

量金属蛋白酶组织抑制因子 (tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs), 使基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 等蛋白酶活性降低, ECM 降解减少, 最终导致 ECM 积聚而发生肝纤维化乃至肝硬化。胡爱荣等^[2]实验结果表明, 结蛋白 (desmin) 和 α 平滑肌肌动蛋白 (α smooth muscle-actin, α SMA) (HSCs 活化最重要的标志) 阳性细胞在猪血清诱导的肝纤维化大鼠中明显增多, 丹芍化纤胶囊低、中、高剂量组阳性细胞数较模型组显著减少, 提示丹芍化纤胶囊能显著抑制 HSCs 的增殖, 减少 HSCs 的活化。郑旭锐等^[3]的免疫组化实验研究结果显示, 加味四逆散治疗组大鼠肝组织 I、III、IV 型胶原沉积较模型组明显减少和降低 ($P < 0.05$), 推测其机制可能为抑制 HSCs 活化与增殖, 减少 I、III、IV 型胶原在细胞内的沉积从而发挥其抗肝纤维化的作用。

3 拮抗细胞因子

在正常状态下, 细胞因子处于一种平衡状态, 一旦失衡, 正向调节肝纤维化的细胞因子就会发挥其瀑布式效应, 导致 ECM 过度沉积而形成肝纤维化。

转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 是研究的最深入的细胞因子。TGF- β 是肝纤维化形成过程中一个重要的调控因子, 其在肝纤维化中的主要作用是激活 HSCs, 促使 ECM 产生增加, 抑制胶 MMPs 降解胶原减少, 间接促 HSCs 增殖作用, 使肝纤维化逐渐加重。李瑞池等^[4]研究结果显示, 丹金舒肝胶囊可能通过抑制肝纤维化组织 TGF- β 的表达, 进而抑制静止的 HSCs 的活化, 从而抑制 ECM 的合成, 最终阻断肝纤维化的进程。林寿宁等^[5]研究表明, 壮肝逐瘀煎可通过下调血清

TGF- β 的表达抑制肝纤维化的发生和发展,提示这可能是其抗肝纤维化作用的重要机制。王卫华等^[6]运用高、低浓度中药甲乙煎治疗大鼠肝纤维化的实验结果表明,甲乙煎高、低浓度组的大鼠肝细胞浆内TGF- β 的阳性表达与肝纤维化模型组比较降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中甲乙煎高浓度组优于低浓度组($P < 0.05$)。这证明中药甲乙煎是通过下调TGF- β 的表达来抑制肝纤维化的。

结缔组织生长因子(connective tissue grower factor, CTGF)是一种富含半胱氨酸的蛋白质,具有广泛的细胞生物学作用,是一种新发现的促成纤维细胞分裂和胶原沉积的生长因子,与TGF- β 有密切联系,在许多组织器官纤维化时表达明显增高,其在肝纤维化的作用逐渐受到关注。贺松其等^[7]实验研究初步表明,鳖甲煎丸可使模型大鼠胶原纤维沉积明显减轻,假小叶结构明显减少,同时有效抑制肝纤维化组织CTGF的表达。其作用机理可能是通过抑制肝纤维化组织CTGF的表达来阻断TGF- β 促胶原合成作用,进而抑制ECM的合成,最终延缓肝纤维化的进程。张斌等^[8]研究补肾柔肝方对大鼠肝纤维化后CTGF mRNA表达的基因半定量的影响,结果表明,该方可以显著减少肝组织CTGF mRNA的基因表达水平。其抗肝纤维的分子机制可能与下调CTGF有关,可以使HSCs的活化得到抑制,从而减少肝纤维化的发生和发展。

4 抑制胶原合成

肝内有5种胶原成分,即Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ型胶原。肝纤维化时Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ型胶原大量沉积,其中主要是Ⅰ、Ⅲ型胶原增加。肝纤维化早期Ⅲ型胶原增多,后期以Ⅰ型增多为主。Ⅳ型胶原分布在窦内皮细胞下,Ⅳ型胶原过度沉积使肝窦毛细血管化,使肝内血流阻力增加,加重肝脏损伤。朱跃科等^[1]应用RT-PCR与免疫组织化学分别从mRNA与蛋白水平验证了芪参益气滴丸在防治实验性肝纤维化过程中抑制了Ⅰ、Ⅲ型胶原的表达,表明该方可减少纤维化肝组织胶原的产生与沉积。郭来等^[10]研究显示,肝心宁胶囊有一定的保肝和软肝缩脾作用,其机制可能是通过降低血清透明质酸(Hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)、Ⅲ型前胶原(Ⅲ procollagen, PCⅢ)、Ⅳ型胶原(Collagen Type Ⅳ, Ⅳ-C)含量,减少胶原纤维增生而具有抗HF作用。

5 促进胶原降解

TIMPs是激活状态的MMPs主要的抑制因子,

现已发现4种,每种TIMPs都可与所有种类MMPs的催化部位直接结合而抑制其活性。国内外越来越多的学者把TIMPs看作是肝纤维化发生过程中的一个非常重要的因素,可促进肝纤维化的进展。其中,TIMP-1与ECM的降解有着密切的关系。王海燕等^[10]研究证实,TIMP-1表达增加是肝纤维化过程中胶原降解减少的主要原因。帅峰^[11]认为小柴胡汤防治大鼠肝纤维化的其分子机制可能是通过抑制TIMP-1mRNA的表达而发挥作用。赵治友等^[12]免疫组化法研究结果显示,模型组大鼠TIMP-1的蛋白表达增加,而加味桃核承气汤能够明显降低实验性肝纤维化大鼠肝组织TIMP-1的蛋白表达水平,使其对MMPs的抑制作用减弱,因而对胶原的降解作用增强,表明加味桃核承气汤可使基质合成和降解向平衡方向发展,从而起到抗肝纤维化的作用。刘东璞等^[13]应用半定量逆转录聚合酶链反应法(RT-PCR)与免疫组织化学的方法,分别从mRNA与蛋白表达水平观察复方红景天对纤维化肝组织中TIMP-1表达的影响,结果显示,复方红景天可以较好防治CCl₄损伤性肝纤维化,随着复方红景天量的增加,大鼠肝组织TIMP-1的表达逐渐减少,明显低于模型组,高于正常对照组。表明复方红景天具有通过抑制TIMP-1的表达发挥抗肝纤维化作用的。

6 促使肝星状细胞的凋亡

肝纤维化的自发性恢复主要依靠HSC的凋亡,通过凋亡HSCs数量减少,ECM分泌减少,TIMPs合成下降,MMPs恢复活性,ECM降解增加,肝组织结构逐渐复原,从而促进肝纤维化的恢复。目前对中药复方诱导HSC凋亡的研究实验已逐渐展开。王振常等^[14]采用凋亡- α 肌动蛋白(TUNEL- α SMA)双标记检测结果显示,与模型组相比,壮肝逐瘀煎各剂量组治疗后,HSC凋亡数量增加,且壮肝逐瘀煎大剂量组作用明显,提示壮肝逐瘀煎能加速活化HSC的凋亡,从而抑制了肝纤维化的形成。耿晓霞等^[15]报道丹芍化纤胶囊(汉防己碱、丹参、赤芍、黄芪、银杏叶等)药物血清能较正常大鼠血清及小牛血清明显增加培养活化的HSCs内Fas蛋白表达,且呈剂量依赖性。其机制是通过上调活化HSCs内Fas蛋白的表达量,促进Fas与Fas配体(Fasligand, Fas-L)结合,从而增加凋亡酶体的形成,导致活化的HSCs大量凋亡。刘林等^[16]观察抗纤软肝颗粒药物血清与HSC-T6共同培养48h后,应用原位标记法及流式细胞仪测定细胞凋亡、免疫组化检测Bcl-2/

Bax,显示含药血清可诱导HSCs凋亡;并能下调凋亡抑制分子Bcl-2,上调促凋亡分子Bax,促进HSCs凋亡。

7 基因调控

随着细胞生物学和分子生物学研究的进展,中药复方抗肝纤维化基因治疗的机理研究已显示了其广阔的空间。吕建军等^[17]研究表明,枳椇胶囊能降低肝纤维化大鼠肝组织羟脯氨酸(hydroxyproline,Hyp)含量,或抑制其合成,或促进其降解,其机制是抑制胶原基因的表达。

8 抗脂质过氧化

脂质过氧化可导致肝细胞损伤,同时也参与HSCs的激活,在肝纤维化过程中起重要作用。陈文慧等^[18]对健脾软肝方进行的实验研究中也发现,该方能抗炎与抑制胶原过度增生沉积,能提高大鼠肝组织超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性,降低丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量,其机制可能是通过抗脂质过氧化来实现抗肝纤维化的作用。张超贤等^[19]三甲益肝冲剂组能显著增强大鼠模型血清SOD的活性、降低MDA的含量,表明抗脂质过氧化可能是该方抗肝纤维化的重要作用机理。

9 复合性作用

肝纤维化是多种因素共同作用的结果,而许多中药复方的作用也并不单一,往往是通过多个环节达到抗肝纤维化的效果。研究表明,中药抗肝纤维化的作用机制有时是多方面、多层次、复合性的。黄古叶等^[20]观察健肝散抗肝纤维化的疗效。结果表明,健肝散可降低患者血清ALT、AST水平,减轻肝细胞的变性、坏死;显著降低患者血清MDA含量,提高SOD活性;降低HA、LN、C-Ⅳ、PCⅢ及肝组织胶原纤维增生程度,提示作用机制是通过保护肝细胞,减轻肝细胞损伤,抗脂质过氧化,抑制胶原纤维合成并加速其降解而起到抗肝纤维化作用。廖昭铭等^[21]应用免疫组化法研究结果显示,抗纤抑癌方能够改善肝纤维化大鼠肝组织的病理变化,其作用机制可能与增加MMP-1表达、降低TIMP-1表达、调节MMP-1/TIMP1比例失衡,从而促进ECM降解有关。王海燕等^[10]应用半定量RT-PCR与免疫组化的方法,分别从mRNA与蛋白表达水平观察861对纤维化肝组织中MMP-2表达的影响,结果显示,861可以显著抑制MMP-2的表达。表明861具有通过抑制MMP-2的表达,保护纤维化肝组织内包括HSCs在内的细胞周围正常的基底膜样细胞间质,不被过

量表达的MMP-2所降解,从而可利于维持HSCs处于静止状态所需要的基质环境。李蓉等^[22]实验结果发现,经黄芪鸡血藤汤治疗的肝纤维化大鼠,胶原纤维增生较少,纤维间隔中的TGF-β和CTGF的表达明显被抑制,提示该方剂预防和治疗肝纤维化可能与降低TGF-β及CTGF的表达,抑制HSCs活化增殖,阻止细胞活化的持续放大效应,并通过CTGF生成的减少,从而选择性的封闭TGF-β致纤维化的负面效应。李瑞池等^[4]研究结果显示,丹金舒肝胶囊能明显下调TGF-βmRNA水平,表明丹金舒肝胶囊通过下调肝纤维化组织TGF-βmRNA的水平,进而抑制静止的HSCs活化,减少ECM的合成,最终阻断肝纤维化的进程。肖丽玲等^[23]利用传统中药四逆散加丹参,在试管中观察了药物对HSCs凋亡的影响,用MTT法测定HSCs增殖、电子显微镜对HSCs的超微结构观察、流式仪分析HSCs凋亡,从细胞水平证明了四逆散加丹参抗肝纤维化的内在机制可能与抑制HSC增殖,促进HSCs凋亡有关。

10 小结

综上所述,中药在抗肝纤维化作用机制研究方面取得了可喜的成绩,推动了中医肝病学术的发展。但还存在一些问题,主要有实验动物与人类复杂的肝纤维化损伤机制存在很大区别,需在造模方式上有所突破,使实验结果更具可参考性,使研究更加深入,具有说服力。中药复方的临床及实验研究大多数停留在药效学层次上,作用机理的研究仍然不多,应加强中药复方作用机制方面的研究,在研究中应用细胞信号转导、代谢组学、基因组学、蛋白质组学等前沿指标来阐明治疗肝纤维化的机理。机理研究较局限于一个环节,不够全面,应通过多环节、多靶点对其抗肝纤维化机制加以研究。通过广大科研人员的不懈努力,中药复方抗肝纤维化发病机理的研究更加深入,为临床治疗肝纤维化提供有效可靠的中药复方。

参考文献

[1]朱跃科,段钟平,王宝恩,等.芪参益气滴丸对肝纤维化大鼠肝脏胶原表达的影响[J].中西医结合肝病杂志,2006,16(5):280-282.
[2]胡爱荣,丁一生,程明亮,等.丹芍化纤胶囊对大鼠肝纤维化的预防作用及对HSCs增殖和活化的影响[J].中医药学刊,2006,24(11):2112-2115.
[3]郑旭锐,孙守才,李长泰,等.加味四逆散对肝纤维化大鼠肝组织Ⅰ,Ⅲ,Ⅳ型胶原影响的实验研究[J].时珍国医国药,2009,20(1):177-178.

- [4]李瑞池,刘树贤,佟立新,等.丹金舒肝胶囊对肝纤维化模型大鼠转化生长因子 β mRNA的影响[J].辽宁中医杂志,2008,35(9):1417-1422.
- [5]林寿宁,刘强,郑身宏,等.壮肝逐瘀煎对肝纤维化大鼠TGF- β 的影响[J].广西中医药,2007,30(1):53-55.
- [6]王卫华,张丽莉,齐桂华,等.甲乙煎对肝纤维化大鼠肝组织MMP2及TGF- β 表达的影响[J].陕西中医,2009,30(1):111-112.
- [7]贺松其,文彬,陈育尧,等.鳖甲煎丸对肝纤维化模型大鼠结缔组织生长因子的影响[J].辽宁中医杂志,2005,32(12):1334-1335.
- [8]张斌,王灵台.补肾柔肝方对二甲亚硝胺诱导大鼠肝纤维化后CTGF mRNA表达的影响[J].世界华人消化杂志,2008,16(20):2224-2228.
- [9]郭来,王再谟.肝心宁胶囊对肝纤维化HA, LN, PC-IV的影响及机理研究[J].中华中医药学刊,2008,26(5):1049-1051.
- [10]王海燕,朱跃科,申凤俊,等.复方861对DMN损伤性大鼠肝纤维化肝脏中MMP-2表达的影响[J].中国现代医药杂志,2007,9(4):31-34.
- [11]帅峰.中药小柴胡汤对肝纤维化大鼠MMPs与TIMPs mRNA的影响[J].安徽医药,2009,13(2):139-140.
- [12]赵治友,郭亚军,林庚庭,等.加味桃核承气汤对四氯化碳所致肝纤维化模型大鼠TIMP-1蛋白表达的影响[J].中西医结合肝病杂志,2007,17(1):32-34.
- [13]刘东璞,卢凤美,张春斌,等.复方红景天对大鼠肝纤维化肝脏中TIMP-1表达的影响[J].世界华人消化杂志,2008,16(31):3543-3546.
- [14]王振常,王丽,毛德文,等.壮肝逐瘀煎对肝纤维化大鼠肝星状细胞凋亡的影响[J].中华中医药学刊,2008,26(10):2204-2205.
- [15]耿晓霞,吴亚云,程明亮,等.丹芍化纤胶囊对体外活化HSCs增殖、凋亡及Fas/FasL途径的影响[J].中华中医药杂志,2005,20(7):404-408.
- [16]刘林,杨玲,严红梅,等.抗纤软肝颗粒药物血清对肝星状细胞整合素信号及凋亡的影响[J].中医药学刊,2006,24(12):2269-2271.
- [17]吕建军,郝瑞春,李东良,等.枳鳖胶囊对大鼠肝纤维化影响的实验研究[J].山西医药杂志,2005,34(7):531-533.
- [18]陈文慧,唐阁,马洁,等.健脾软肝方及拆方对CCl₄肝纤维化大鼠脂质过氧化的影响[J].云南中医学院学报,2007,30(4):34-37.
- [19]张超贤,乔汉臣,杨道坤,等.三甲益肝冲剂对实验性肝纤维化大鼠脂质过氧化的影响[J].西安交通大学学报(医学版),2008,29(6):710-713.
- [20]黄古叶,胡振斌,毛德文,等.健肝散抗慢性乙型肝炎肝纤维化的作用及其机制研究[J].现代中医药,2007,27(6):11-14.
- [21]廖昭铭,江锋,叶永安,等.抗纤抑癌方对肝纤维化大鼠肝组织基质金属蛋白酶表达的影响[J].中医药临床杂志,2009,21(1):63-65.
- [22]李蓉,赵梦云.黄芩鸡血藤汤对实验性肝纤维化大鼠TGF- β 、CTGF及PDGF-BB表达影响[J].临床医药实践杂志,2006,15(9):659-661.
- [23]肖丽玲,伍参荣,何永康,等.四逆散加丹参对肝星状细胞增殖与凋亡的影响[J].中医药导报,2005,11(3):1-2,21.

(收稿日期:2010-01-26)

[编辑:李 巍]

《三名丛书——名医、名药、名家》征稿通知

该书是各类中医继承创新人才发表名方、验方、院长、著名企业家等弘扬名医名药的学术专著。本书以服务全国医药卫生及相关行业的管理科技人员为本,促进国内外中医药学术交流和医药学的科学发展,开展学术争鸣为理念。同时本着提高全民健康水平为宗旨,全面反映我国中医药的科研前沿,中西医结合的研究成果,积极推广先进医疗技术及药物研发。我们将组织有关专家、教授、企业家等共同编写《三名丛书——名医、名药、名家》,现向社会各专家征集稿文,欢迎广大专家、学者、药企赐稿。

书籍简介:(1)《三名丛书——名医、名药、名家》共分三大部分:分别是名医、名药、名家。在同一科中选取具有不同经验特色和优势的医家,分别介绍有中医药学术建树的著名企业家和其学术特色、辨证特点、验方等,主要内容有:名医风采、名药宣传、医药个人企业形象的宣传。要求题材新颖,特色鲜明,突出临床及诊治,全面、科学、系统、客观地介绍疾病理论知识、诊疗原则和治疗方法,内容丰富,资料详实,可作为广大临床医务工作人员以及医学爱好者学习的重要参考用书。(2)征集内容:临床、教育、科研的中医、西医、中西医结合的管理、民营医疗机构、临床各科论著、临床经验、学术探讨、专题访谈、老中医经验、临床研究、医院管理、药物与临床等。(3)文稿要突出个人的学术思想、临证经验的特点;且附作者简介、照片(配发标准像、工作照各1张)。1.名医:组稿主旨:名老中医学术经验的继承和弘扬是中医药发展之必需,丛书中医部分将充分展示名老中医学术经验及其学术继承人之心得与体会,分为名医介绍、学术思想、经验特色等章节,体现其在医学临床上的实践经验。名医介绍对各位老中医的生平、荣誉、临证经验精华进行了简要介绍;学术思想部分概括总结名医的主要学术理论。组稿对象主要是:名老中医、院长、研究课题负责人或主研人员,配发研究工作照。2.名药:组稿主旨:重点选载通过SFDA认证的中药制剂(名方、验方),各级科研项目(含实验研究)及学术探讨,旨在展现中医药最新科研成果和新理论、新方法。组稿对象主要是:各级各类名老专家、中医药科研(含文献理论研究)人员及临床中医药工作者。3.名家:组稿主旨:宣讲、传授中医药名家的学术思想、临证经验、独家方术。介绍对各位专家、院长、企业家的生平、荣誉进行介绍、总结。组稿对象主要是:国医大师、名医、名师、院长、博导等有中医药学术建树的著名企业家等。来稿须知:投稿时请注明作者姓名、年龄、性别、工作单位、职称或职务、研究方向、相片、通讯地址、邮政编码、联系电话、E-mail等。投稿者另附500字左右的作者简介。稿件中如摘编或引用了他人资料,应在文末给出参考文献。稿件所述内容最好能有新意;主题明确,语言流畅,层次清楚,叙述准确。来稿文责自负。根据《著作权法》相关规定,本刊对来稿有修改、删节权,不同意者请提前声明。如有剽窃或抄袭的稿件,一切后果由作者本人负责。请勿一稿多投,来稿不退,请自留备份。

欢迎来电垂询: 汇编单位:广州和华中药研究开发有限公司, 投稿地址:中国广州市沿江中路298号江湾商业中心1307室, 邮编:510110, 联系人:何老师(13798118960), 电话:020-88283661, 传真:020-88283666, 投稿邮箱:hehuatun@163.com, 网址: <http://www.cnki.net>