

五味子对肝损伤的保护作用及其分子机制研究进展[△]

付冉^{1,2*},李日³,王小楠^{1,2},崔艳军^{1,2},范理菊^{1,2},董占军^{2#}(1.河北医科大学研究生学院,河北石家庄050017;2.河北省人民医院药学部河北石家庄050051;3.华北理工大学研究生学院,河北唐山063000)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)06-0761-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.06.028

摘要 五味子是传统的保肝药物,其不仅可降低氨基转移酶水平,还具有抗氧化、抗炎和抑制细胞凋亡等多种药理作用,被广泛应用于各种类型的肝损伤,其分子机制主要与 Nrf2 信号通路、孕烷 X 受体、p53/p21 信号通路、核因子 κB 信号通路及丝裂原活化蛋白激酶信号通路有关。本文通过查阅文献,对五味子保肝作用的分子机制进行总结,以期五味子的合理应用提供参考。

关键词 五味子;肝损伤;作用机制;研究进展

Research Progress of Protect Effect of Schisandra Chinensis on Liver Injury and Its Molecular Mechanism[△]

FU Ran^{1,2}, LI Ri³, WANG Xiaonan^{1,2}, CUI Yanjun^{1,2}, FAN Liju^{1,2}, DONG Zhanjun² (1. Graduate School, Hebei Medical University, Hebei Shijiazhuang 050017, China; 2. Dept. of Pharmacy, Hebei General Hospital, Hebei Shijiazhuang 050051, China; 3. Graduate School, North China University of Science and Technology, Hebei Tangshan 063000, China)

ABSTRACT Schisandra chinensis is a traditional hepatoprotective drug, which can not only reduce aminotransferase levels, but also has various pharmacological effects such as antioxidant, anti-inflammatory and apoptosis inhibition, and is widely used in treatment of various types of liver injury, its molecular mechanisms are mainly related to the Nrf2 signaling pathway, pregnane X receptor, p53/p21 signaling pathway, nuclear factor κB signaling pathway and mitogen-activated protein kinase signaling pathway. This paper has reviewed related literature to summarize the molecular mechanisms of hepatoprotective effects of schisandra chinensis, so as to provide references for the rational application of schisandra chinensis.

KEYWORDS Schisandra chinensis; Liver injury; Mechanism of action; Research progress

肝脏是药物代谢和解毒的重要器官,也是人体腹腔内最大的器官,负责调控人体多种重要生理功能,而药物、环境等多种因素均容易造成肝损伤,导致肝细胞坏死以及生化指标的异常。五味子是木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实,近年来多项研究结果发现,五味子的活性成分如五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和五味子醇甲等不仅可降低氨基转移酶,还具有抗炎、抗氧化和抑制肿瘤细胞等多种生理功能^[1]。五味子制剂及其衍生物如五酯胶囊、联苯双酯和双环醇等常用于各种肝损伤的治疗,在临床上应用广泛。现对五味子的肝损伤保护作用及其分子机制进行总结,以期五味子的临床合理应用及相关产品的开发提供参考。

1 五味子对肝损伤的保护作用

药物性肝损伤在各种肝损伤类型中占有相当大的比例,多种药物均可能造成药物性肝损伤。免疫抑制剂如环孢素、他克莫司等常用于肝肾移植术后的患者,但较严重的肝毒性

可能会限制其应用。Shang 等^[2]研究了双环醇预防性用于肾移植术后早期药物性肝损伤的临床效果,发现五味子衍生物双环醇预防性给药可显著降低肾移植术后免疫抑制剂所致药物性肝损伤,认为其可作为药物性肝损伤的保护因素。Cai 等^[3]以 SD 大鼠为实验对象,发现复方五仁醇胶囊与他克莫司联合应用可明显降低大鼠丙氨酸转氨酶(ALT)水平,对他克莫司引起的肝损伤有保护作用。药物性肝损伤也是抗结核药治疗过程中常见的并发症,尽管异烟肼可能会导致肝衰竭,但其仍是治疗结核病的主要药物。近年来,多项临床试验评估了五味子制剂在抗结核药所致药物性肝损伤方面的治疗效果。一项对每组 100 例结核病患者非随机临床研究结果表明,使用五酯胶囊治疗 4 周后,结核病患者抗结核药的药性肝损伤发生率(47%)较对照组(77%)显著降低,且五酯胶囊治疗组患者的 ALT、天冬氨酸转氨酶、总胆红素和 γ-谷氨酰转肽酶水平明显低于对照组^[4]。Chen 等^[5]和 Xu 等^[6]的研究结果发现,五味子颗粒联合抗结核药不仅可降低患者药物性肝损伤的发生率,还可以显著降低患者的死亡率、抗结核治疗终止率以及肝硬化、肝衰竭的发生率。

此外,多项研究构建了多种肝损伤模型,发现五味子对药物性肝损伤外的多种肝损伤均具有保护作用。Li 等^[7]通过靶向代谢组学分析证明了五酯片可增强胆汁酸从血清和肝脏的

△ 基金项目:河北省 2016 年度医学科学研究重点课题计划(No. 20160064)

* 硕士研究生。研究方向:临床药学。E-mail:602741837@qq.com

通信作者:主任药师,硕士生导师。研究方向:医院药学。E-mail:13313213656@126.com

排泄,从而可防治石胆酸造成胆汁淤积性肝损伤;Xu等^[8]和Zhang等^[9]的研究结果表明,五味子可用于酒精和CCl₄所致化学性肝损伤,不仅可减轻肝细胞的病理改变,还可抑制肝细胞凋亡,减轻肝脏纤维化的形成;Zheng等^[10]的研究结果显示,五味子酯甲的预处理可明显改善小鼠的肝缺血再灌注损伤。越来越多的研究结果证实了五味子对多种类型肝损伤的保护作用,同时也发现五味子的保肝作用与其上调抗氧化酶的表达、清除自由基、抑制炎症因子释放、减少炎症细胞浸润以及降低促凋亡基因的表达、促进肝细胞再生等作用密切相关。

2 五味子对肝损伤保护作用的分子机制

2.1 Nrf2 信号通路

Nrf2 起初克隆自人类白血病细胞株,为碱性亮氨酸拉链转录因子家族的成员,是一种关键转录因子,其包含 6 个高度保守的环氧丙氨酸相关蛋白同源结构域,可与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 以及抗氧化反应原件 (antioxidant response elements, ARE) 结合。正常情况下,Keap-1 通过泛素化和蛋白酶体降解而抑制 Nrf2 的转录活性^[11]。在发生应激时,Nrf2 与 Keap1 解离并转移入核,在核内与 ARE 结合并启动下游基因的表达,Nrf2 不仅可在细胞防御氧化应激过程中调控多种抗氧化基因的表达,如血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、醌氧化还原酶-1 (quinone oxidoreductase-1, NQO1)、 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 和超氧化物歧化酶,还可以影响炎症因子如白细胞介素 (interleukin) 1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 等的表达^[12-13]。此外,Nrf2 对肝细胞的凋亡也有一定影响,有研究表明,活化的 Nrf2 不仅可上调抗凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 的表达,还可以降低 Bcl-2 相关 X 蛋白、Puma 等促凋亡基因的表达^[14]。总之,Nrf2 通路在肝损伤中发挥着重要的保护作用,近年来越来越多研究结果证实五味子及其活性成分的保肝作用与 Nrf2 通路密切相关。

Chen 等^[15]研究了五味子乙素对长期给予 CCl₄ 所致肝损伤的保护作用,结果显示,五味子乙素可显著降低 CCl₄ 造成的脂质过氧化物的增多,增强抗氧化能力,同时使丙二醛含量降低,使谷胱甘肽、GSH-Px 活性增加,还可减少炎症细胞浸润,对其机制进行探究发现,五味子乙素可显著提高核 Nrf2 的表达水平,同时 Nrf2 的下游靶基因 HO-1、NQO1 以及谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基的表达增加,炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 表达增加,证实五味子乙素可通过激活 Nrf2 通路来抑制氧化应激及炎症反应介导的肝细胞损伤。Jiang 等^[16]研究了五味子醇乙对对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP) 所致肝损伤的保护作用,发现五味子醇乙也可通过激活 Nrf2/ARE 通路及调控 Nrf2 的靶基因来增强肝脏的解毒和抗氧化能力,从而起到肝脏保护作用。另外,南五味子的醇提取物五酯片也可通过激活 Nrf2/ARE 通路来减轻酒精性肝损伤和 APAP 所致的药物性肝损伤^[17-18]。

2.2 孕烷 X 受体 (pregnane X receptor, PXR)

PXR 为核受体家族的重要成员,主要表达于肝脏,是参与内外源性化合物代谢和排泄的关键转录调控因子,由于 PXR 的结构除包含高度保守的 DNA 结合区外,在羧基端还存在可

与广泛配体结合的配体结合区 (ligand binding domain, LBD), 使得多种内外源性化合物均可与 PXR 结合,当 PXR 与配体结合后,其构象发生改变,之后通过形成异二聚体,招募转录因子并与特异性反应元件结合,从而调控靶基因的转录和表达^[19]。作为一种关键的转录调控因子,PXR 可调节肝脏内多种药物代谢酶和转运体的表达,不仅可影响药物在肝内的处置过程,防止药物及其代谢物在肝脏的蓄积,还可调控胆固醇和胆汁酸的代谢及转运,调控血红素和炎症反应相关基因的表达,在肝损伤的发生和防治中发挥着重要作用^[20]。

胆汁淤积是指正常的胆汁流动发生改变,导致过多的胆汁在肝脏或全身蓄积,目前临床上约有 30% 的药物性肝损伤由胆汁淤积引起。近年来,越来越多的研究结果证实了 PXR 在胆汁淤积中发挥的重要作用。Zeng 等^[21]通过腹腔注射石胆酸构建了大鼠胆汁淤积性肝损伤模型,发现五味子醇乙可预防并治疗石胆酸引起的胆汁淤积和肝损伤;通过聚合酶链反应及蛋白质印迹法证实,五味子醇乙有与 PXR 激动剂相似的对 CYP3A11、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1 (uridine diphosphate glucuronosyl-transferase 1 gene, UGT1A1)、有机阴离子转运多肽 2 和多药耐药相关蛋白 3 的诱导作用;且计算机分子对接证实了五味子醇乙可与人孕烷 X 受体 (human pregnane X receptor, HPXR) 的 LBD 结合,即可潜在激活 HPXR;同时,研究发现,在 Pxr 基因敲除小鼠中,五味子醇乙并不能发挥对胆汁淤积性肝损伤的防治作用,从而从多方面证实了 PXR 在五味子醇乙治疗胆汁淤积性肝损伤中的作用。Zeng 等^[22]研究了五酯片对胆汁淤积性肝损伤的保护作用,发现五酯片及其 6 种生物活性的木脂素均可激活 HPXR,进而显著增加 PXR 靶基因如 CYP3A11、UGT1A1 的肝表达,从而加快胆汁的消除,对肝脏起到保护作用。

2.3 p53/p21 信号通路

肝再生是肝脏受损后的代偿性再生,是决定肝损伤严重程度的关键因素,目前已经确定了许多基因和信号传导途径,如细胞因子和生长因子等可以启动或促进肝脏再生的这一过程,p53 基因是人体重要的一种抑癌基因,其编码的 p53 蛋白是一种转录因子,在调节细胞生长、DNA 修复和凋亡等方面发挥着重要作用。p53 可以在 DNA 损伤和其他细胞压力下被激活,并诱导许多靶基因的表达,其中 p21 基因是位于 p53 基因下游的细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 抑制因子,是 p53 的主要效应因子之一。p21 最典型的功能是对细胞 CDK 的有效抑制,当 DNA 端粒损伤时,通过抑制 CDK 周期蛋白复合物和增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 的活性,诱导细胞周期阻滞和细胞衰老。研究结果发现,当药物在肝脏的暴露增加后,可通过激活 p53 而使 p21 核表达上调,进而导致肝细胞的衰老并抑制肝细胞的生成^[23-24]。

Jiang 等^[24]在研究五味子醇乙对 APAP 肝损伤的保护作用中发现,在过量 APAP 严重破坏 DNA 的情况下,p53 被激活以抑制细胞增殖或触发细胞凋亡;除对代谢酶的抑制作用外,五味子醇乙还可显著降低 APAP 造成的 p53 和 p21 的升高;此外,该研究还测定了 p53/p21 信号通路下游靶标与肝细胞增殖有关的蛋白表达水平,如 PCNA、细胞周期蛋白 D1 (cyclin

D1, CCND1)、CDK4 和抗凋亡蛋白 Bcl-2, 结果表明, 五味子醇乙进一步提高了 CCND1、CDK4、PCNA 和 Bcl-2 水平, 通过对 p53/p21 信号通路的调节以及上调通路下游肝细胞增殖相关蛋白的表达, 五味子醇乙促进了代偿性肝细胞再生, 减轻了 APAP 所致药物性肝损伤。Fan 等^[17]验证了五酯片对 APAP 所致肝损伤的保护作用, 其研究发现, 五酯片可抑制 p53/p21 信号通路介导的细胞周期阻滞, 同时上调 CCND1、PCNA 以促进肝细胞再生, 而且在 APAP 给药前进行五酯片预处理会提高人类信息沉默因子 1 水平, 从而促进 p53 降解。

2.4 核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 信号通路

NF- κ B 蛋白是一种重要的转录因子, 其家族包含 5 个成员, 分别为 p50 (NF- κ B1)、p52 (NF- κ B2)、p65 (REL-A)、c-REL 和 REL-B; 细胞因子、病毒及辐射等多种外界刺激均可激活 NF- κ B, 当细胞受到外界刺激后, NF- κ B 抑制蛋白 (inhibitor of NF- κ B, I κ B) 激酶激活, 进而使得 I κ B 蛋白降解, NF- κ B 二聚体释放, 转移入核后可与许多基因启动子区域的固定核苷酸序列结合, 介导多种细胞因子和炎症介质激活转录, 在免疫反应及炎症反应中起着重要的作用^[25-26]。一旦 NF- κ B 信号通路被激活, 便会促进其下游 TNF- α 、IL-1 β 、IL-2、IL-6 及 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 等炎症因子释放, 从而促进炎症细胞浸润, 诱导肝细胞坏死和凋亡, 加重肝损伤^[25]。

伴刀豆球蛋白 A (concanavalin A, Con A) 是一种血凝素, 具有强力的促进有丝分裂作用, 可用于免疫性肝损伤模型的构建。Shan 等^[27]向小鼠体内注射 ConA, 发现 ConA 可刺激过量的淋巴细胞增殖, 产生大量 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 等促炎因子, 并激活 NF- κ B 信号通路, 进而促进下游炎症因子 TNF- α 的释放, 造成肝细胞的损伤; 而五味子多糖可下调 NF- κ B 蛋白的表达, 抑制 NF- κ B 信号通路, 从而抑制 IL-6、TNF- α 、IFN- γ 及 IL-1 β 的表达, 发挥较强的抗炎作用, 减少肝损伤。在 CCl₄ 诱导的肝损伤小鼠模型中, 五味子提取物的预处理可显著降低磷酸化 NF- κ B 蛋白表达水平, 并抑制促炎因子如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 水平, 通过抑制 NF- κ B 信号通路而减轻肝损伤^[28]。Chen 等^[1]发现, 五酯胶囊可通过抑制 NF- κ B 信号通路, 减轻非酒精性脂肪性肝病的肝脏脂肪变性和炎症。

2.5 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)

MAPK 信号通路是真核生物信号传递的重要途径, 在多种不同信号传导途径及细胞周期的调控中发挥着重要作用, 生长因子、细胞因子、细胞毒性物质和激素等多种因素都可通过逐级磷酸化激活 MAPK 信号转导通路, 进而介导细胞增殖、分化、癌变、转移和凋亡; MAPK 通路主要包括 4 个亚族, 即 c-Jun 氨基端蛋白激酶 (c-Jun N-terminal protein kinase, JNK)、细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、p38 丝裂酶原蛋白激酶以及大丝裂原活化蛋白激酶 1/ERK5^[10, 29]。ERK 广泛存在于各种组织, 主要参与细胞的生长和分化, 多种生长因子受体、营养相关因子受体等都需要 ERK 的活化来完成信号转导过程。JNK 和 p38 可被缺氧、氧化应激和炎症因子激活, 在炎症与细胞凋亡等应激反应中发挥重要作用; JNK 信号通路是导致肝细胞坏死和凋亡的最主要途径^[29-30]。

Wang 等^[31]发现, 五味子可通过保护线粒体和溶酶体, 抑制磷酸化-JNK 信号通路, 减轻 APAP 诱导的肝毒性。后来, MAPK 通路对肝的保护作用逐渐受到重视。Zheng 等^[10]构建了小鼠肝缺血再灌注性肝损伤模型, 并验证了五味子酯甲对该模型的肝保护作用, 该研究发现, 肝脏缺血再灌注损伤可导致 JNK、p38 和 ERK 的磷酸化显著增加, 而五味子酯甲的预处理可降低上述 3 种分子的磷酸化水平, 即五味子酯甲可通过抑制 MAPK 信号通路的激活, 减轻氧化/硝化应激、炎症应激以及减少肝细胞的凋亡, 发挥对肝缺血再灌注损伤的保护作用。一项关于五味子提取物减轻 APAP 所致肝损伤的研究结果也显示, 经 APAP 处理后, ERK、JNK 和 p38 的磷酸化表达明显增加, 而五味子提取物预处理可显著抑制其表达, 通过抑制 MAPK 信号通路, 显著减轻 APAP 诱导的氧化应激、炎症和凋亡^[32]。Chen 等^[15]证实了五味子乙素通过抑制 JNK、p38 和 ERK 的磷酸化, 对 CCl₄ 所致肝纤维化具有保护作用。

3 小结与展望

五味子是我国传统中药, 其活性成分、提取物以及相关制剂对肝损伤的保护作用受到了广泛关注。通过查阅文献, 本文总结了五味子发挥保肝作用的分子机制, 如可通过激活 Nrf2 信号通路减少肝细胞的氧化应激、激活 PXR 加速胆汁酸的代谢与排泄、抑制 p53/p21 信号通路介导的细胞周期阻滞或细胞凋亡、抑制 NF- κ B 信号通路减少炎症因子的释放以及抑制 MAPK 信号通路介导的细胞凋亡等。尽管五味子对各种肝损伤均表现出了较好的治疗效果, 但对五味子保肝作用分子机制的研究仍需完善。因此, 未来不仅要寻求更高质量的证据支持五味子在临床应用的有效性和安全性, 而且需结合先进技术对五味子的作用机制及其临床应用进行更加深入的研究, 使其能够更安全、有效地应用于各种类型肝损伤患者。

参考文献

- [1] Chen Z, Liu F, Zheng N, et al. Wuzhi capsule (*Schisandra Sphenanthera* extract) attenuates liver steatosis and inflammation during non-alcoholic fatty liver disease development [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 285-293.
- [2] Shang W, Feng Y, Li J, et al. Effect of bicyclol tablets on drug induced liver injuries after kidney transplantation [J]. *Open Med (Wars)*, 2017, 12: 62-69.
- [3] 蔡卫华, 张琳, 张劭, 等. 复方五仁醇胶囊、五酯胶囊对他克莫司血药浓度影响及肝损伤保护作用的比较 [J]. *中成药*, 2019, 41 (6): 1431-1433.
- [4] 杨志强, 许少平, 张先达. 五味子在预防抗结核药物性肝损伤中的作用观察 [J]. *云南中医中药杂志*, 2017, 38 (1): 54-55.
- [5] 陈曼, 吴文渊. 北五味子单方提取物在抗结核治疗中对肝功能的保护作用 [J]. *今日药学*, 2016, 26 (12): 853-856.
- [6] 徐俊彦, 王建华, 薛卫. 五味子对抗结核药物致肝损伤疗效的临床分析 [J]. *宜春学院学报*, 2014, 36 (6): 65-67.
- [7] Li DS, Huang QF, Guan LH, et al. Targeted bile acids and gut microbiome profiles reveal the hepato-protective effect of WZ tablet (*Schisandra sphenanthera* extract) against LCA-induced cholestasis [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18 (3): 211-218.

(下转第 768 页)