

· 综 述 ·

中药对中枢神经细胞基因表达影响的研究进展

袁海峰 李 玺

随着生命科学的发展,尤其是分子生物学在各学科的渗入,使中医药实验研究深入到分子、基因水平。近年来,国内许多科研单位及学者已着手中药对神经细胞基因表达调控的研究,而且,现代药理研究表明,中药作用原理与其生物活性成分调控基因表达有关^[1],本文就中药对中枢神经细胞基因表达的影响进行综述。

1 对即刻早期基因(immediate early genes, IEGs)的影响 IEGs 其表达产物是细胞核内第三信使,在细胞间信号传导过程中发挥重要的生理作用,共有 c-fos、c-jun、c-myc、egr 4 个家族,目前研究最多的是 c-fos、c-jun。在体外实验发现,c-fos、c-jun 基因能被一系列刺激:包括创伤、缺血、抽搐和感觉刺激诱导表达。c-jun 基因表达转录生成 mRNA,核糖体以 mRNA 为模板翻译成 c-jun 蛋白,c-jun 蛋白与同时表达的 c-fos 蛋白通过亮氨酸拉链区结合构成异构二聚体 AP-1。AP-1 通过与靶基因 promoter 区 TGAC/GTCA 序列结合,刺激靶基因表达^[2]。由于 c-fos、c-jun 反应快,灵敏度、分辨率高,试验操作简便、安全,目前研究中药对中枢神经细胞基因表达,也主要集中于 c-fos、c-jun 的影响。

1.1 中药复方对 c-fos、c-jun 基因表达的影响 研究发现,复方中药通过影响神经细胞 c-fos、c-jun 的表达水平而发挥作用。任永欣等^[3]在国内首次复制了硝酸甘油型实验性偏头痛动物模型,并用免疫组化方法观察 IEGs c-fos、c-jun 的表达,显示:硝酸甘油实验性偏头痛大鼠脑干、下丘脑 c-fos、c-jun 的基因表达明显增强,复方中药头风饮能显著抑制偏头痛大鼠脑干、下丘脑 c-fos、c-jun 基因的增强表达,与对照组比较差异有显著性。张丽萍等^[4]应用分子原位杂交技术观察草果知母汤对 PTZ 点燃癫痫大鼠脑内 c-fos、c-jun 的基因表达的影响,结果草果知母汤明显阻断 c-fos、c-jun 的表达,提示该药抗痫作用机制可能与其降低细胞内 c-fos、c-jun 的基因表达水平有关。张博生等^[5]证实中药复方(桂枝茯苓丸加川芎、泽泻)能有效抑制脑缺

血再灌注后脑组织的 c-fos 基因表达。Sugaya E 等^[6]对日本中草药复方(SK、TJ-960)的研究发现,该药可明显抑制由应激产生的脑内 c-fos 增强表达。Guo Q 等^[7]对 Qing Yangsher(II)的研究显示,该药能有效抑制由海人藻酸(KA)诱发的抽搐模型大鼠海马神经元的 c-fos 过度表达,起到调节 c-fos 表达的作用。另外,岳少杰等^[8]采用免疫组化法发现,清开灵可对抗由谷氨酸所致的大鼠组织中 c-fos 的过度表达,降低脑组织中 c-fos 阳性细胞率,因而推测,该药抗谷氨酸神经毒性作用,可能与其抑制谷氨酸所致的 c-fos 基因表达增强有关。

1.2 单味中药对 c-fos、c-jun 基因表达的影响 单味中药对 c-fos、c-jun 基因表达的影响的研究目前文献不多,吴卫平等^[9]利用免疫组化方法在探讨丹参改善颞叶缺血大鼠空间记忆障碍的研究中发现,模型大鼠经丹参注射液腹腔注射治疗后,缺血灶内 c-fos 表达明显减少,提示丹参改善模型鼠空间记忆障碍与下调 c-fos 表达有关。

1.3 中药单体对 c-fos、c-jun 基因表达的影响 刘等^[10]探讨人参皂甙 Rg1 对神经系统的作用机制时,发现老年鼠 c-fos 基因和蛋白的表达明显降低,但给 Rg1 后出现明显增强效应,说明 Rg1 是通过促进 c-fos 基因和蛋白的表达而起到促智和抗衰老的作用。陈磊等^[11]研究植物药生物碱 94-95-10L 对大鼠皮层传播性抑制(cortical spreading depressing, CSD)模型的治疗时发现,该药能明显抑制模型鼠额顶区内扣带回、新皮质及梨状区 c-fos 的表达,说明该药对大鼠 CSD 模型引起的偏头痛先兆有抑制作用。

2 对神经肽相关基因表达的影响 神经肽(Neuropeptides)是体内传递信息的多肽,主要分布在神经组织,也分布于非神经组织,与经典递质相似,具有神经递质及神经调质的功能。神经肽与细胞膜受体结合后,通过 G 蛋白偶联反应,来调节受体对递质的敏感性,或通过调节非门控离子通道通透性,决定通道的开关而发挥递质的效应。神经肽与非突触的受体结合,通过启动第二信使来调节细胞内的 mRNA、递质、神经肽或有关蛋白质的合成,或通过改变轴突末梢上对离子的通透性,调节递质或其他神经肽的释放而发

挥调质效应^[2]。中药发挥作用同样也影响神经肽基因的表达。

2.1 生长抑素(somatostatin, SS) 胡镜清等^[12]采用免疫组化及 cRNA 探针原位杂交方法,研究补肾益智方对 AD 模型大鼠脑内 SS 及 SSmRNA 的影响时发现,补肾益智方组大鼠脑顶叶、海马 CA1、齿状回门区 SS 及 SSmRNA 表达阳性神经元点数及其积分光密度较模型组有增加趋势,组间比较差异有显著性,推测该药可能通过促进 SSmRNA 的表达,增加 SS 的合成来维持脑内 SS 的浓度而发挥作用,而早些时候蔡琰等^[13]也观察到了同样效应。

2.2 肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin-releasing factor, CRF) 钟历勇等^[14]的研究表明,肾阳虚大鼠下丘脑 CRFmRNA 显著抑制,补肾中药能够提高下丘脑 CRFmRNA 的表达量,使抑制的 CRFmRNA 水平在一定程度上得到恢复。Dai Y 等^[15]研究中药黄连解毒汤抗周围水肿的作用时发现,该药通过下调脊髓与海马神经元 CRFmRNA 水平而发挥作用。

2.3 糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)与盐皮质激素受体(mineralocorticoid, MR) 魏小龙^[16]在研究六味地黄汤益智作用与基因表达关系时发现,SAMP8 鼠在学习记忆功能明显衰退的同时,海马 GR、MR 的表达也明显降低,两者具有明显的平衡关系,其他多种检测基因也表达异常。口服六味地黄汤亦使海马 GR、MR 的表达低下得到明显改善,同时,海马其他检测基因表达异常亦得到明显纠正。

2.4 P 物质(substance P, SP) P 物质是速激肽家族成员之一,其作用极其广泛。步世忠等^[17]应用免疫组化方法研究更年健的作用时发现,该药可通过提高雌激素受体及雌激素受体 mRNA 水平使老年大鼠海马内的 SP 水平降低。

2.5 神经肽 Y(neuropeptidal Y, NPY) 孙斐^[18]等采用 NPY 寡核苷酸探针原位杂交、放射自显影技术结合图像分析技术,在研究中药天葵方对雄激素致不孕大鼠下丘脑 leptin 受体及 NPY mRNA 的影响时发现,用中药天葵方治疗后,NPY 基因表达下降,中药可调节 NPY 表达而发挥减肥及促排卵作用。

3 对神经营养因子(nerutrophic factor, NTF)相关基因的影响

3.1 白介素-1 β (IL-1 β) 贺双腾等^[19]采用 Northern 杂交与 ELISA 方法在研究脑益安对大鼠脑出血的作用时发现,大鼠脑出血损伤后,白介素-1 β (IL-1 β)表达水平增加,脑益安对 IL-1 β 表达有抑制作用。万方数据

3.2 神经生长因子(nerve growth factor, NGF) 蒋士生等^[20]采用 Northern 杂交与 ELISA 方法,在研究补肾醒脑解毒方对大鼠单纯疱疹病毒脑炎脑内 NGF、BDNF 表达的影响时发现,补肾醒脑解毒方对单纯疱疹病毒脑炎后大鼠脑内 NGF 表达有促进作用,提示补肾醒脑解毒方对单纯疱疹病毒脑炎后遗症潜在着良好治疗作用。

4 对凋亡相关基因的影响 细胞凋亡作为细胞的一种基本生命现象,具有极其重要的生物学意义,因此,细胞凋亡同样是中医药研究的重要课题。已发现许多基因与细胞凋亡有关,这些基因按其作用机制可分为凋亡诱导基因和凋亡抑制基因两大类,凋亡诱导基因包括 p53、c-myc、APO-1/fas、c-fos、c-jun、ced-3/ICE 家族等,凋亡抑制基因有 bcl-2 及相关基因、bcl-x1、reaper 和 hid 等。中药与细胞凋亡的研究发现,某些中药可明显下调凋亡诱导基因的表达、上调凋亡抑制基因表达,起到调节凋亡进程的作用^[21-24],从而保护神经细胞免受损伤。如张金涛等^[23]采用 RT-PCR 结合免疫组化方法研究丹参对鼠脑缺血再灌注后 IL-1 β 转化酶(ICE)表达时发现,丹参可明显抑制皮层及海马内的 ICE 表达,表明丹参可能通过调节 ICE,抑制神经元的凋亡,进而发挥治疗脑缺血的作用。

5 对其他信使物质在脑内基因表达的影响

5.1 钙调素(calmodulin, CaM) 宋春风等^[25]采用 RT-PCR 法研究右归饮对肾阳虚大鼠的治疗作用时发现,肾阳虚大鼠下丘脑 CaMmRNA 水平升高,右归饮能够降低下丘脑组织中 CaMmRNA 表达水平,提示下丘脑 CaMmRNA 水平的降低,是补肾中药右归饮改善肾阳虚症状的作用机理之一。

5.2 Tau 蛋白 Watanabe CM 等^[26]在研究银杏叶提取物治疗与老年相关的神经损伤时发现,该药可增强皮层中 Tau 蛋白的 mRNA 及络氨酸磷酸酶 1 的表达,证明了银杏叶提取物在体内具有神经调质的作用。

5.3 促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH) 方肇勤等^[27]研究发现,老年大鼠下丘脑 GnRH 基因转录与表达水平下降,二仙汤及其拆方有提高老年大鼠下丘脑 GnRH 基因转录水平的作用,提示二仙汤治疗更年期综合征取效的部分机制与该方延缓下丘脑衰老,提高其 GnRH 基因的转录与表达水平有关。

5.4 雌激素受体(estrogen receptor, ER) 步世忠等^[17]采用 Northern 杂交方法研究发现,老年雌性大鼠海马内 ER 及 ERmRNA 水平下降,复方中药更年健

可有效地上调 ERmRNA 表达,推测,该药治疗更年期不适的机理可能与其影响 ERmRNA 的表达有关。

6 对某些神经系统疾病相关基因表达的影响

6.1 对 AD 相关的 β 淀粉样前体蛋白(β -APP) 基因的影响 韩恩奎等^[28]采用 Northern 印迹杂交方法发现海风藤能选择性地抑制人类神经母细胞瘤细胞系 β -APP 基因表达,而且实验浓度未见细胞毒性作用,为 AD 的治疗提供了依据。钱亦华^[29]等在研究川续断对 Alzheimer 病模型大鼠海马内淀粉样前体蛋白 β -APP 表达时发现,川续断对淀粉样前体蛋白 β -APP 在神经元内的过度表达有明显的抑制作用,并且可以改善大鼠的学习记忆力。

6.2 PTZ-17(seizure-related genes) PTZ-17 基因的表达产物可引起癫痫的发作,故认为 PTZ-17 是癫痫发作相关基因。Sugaya E 等^[6]发现日本草药(SK.TJ-960)可以纠正表达异常的 PTZ-17,使其正常表达,其随后的研究^[30]同样再次证明了上述观点。

7 问题与展望 综上所述,中药治疗神经系统疾病的作用机理确与其调节相关基因的表达有关,而且不同的中药分别影响众多基因,这与中药有效成分复杂而导致的作用多靶点有关。目前,绝大多数的研究,只揭示了中药对个别相关基因的影响,而对某一疾病多基因的表达调控以及相关性的研究报道甚少,对解决由多基因改变而引发的神经系统疾病还存在认识和研究方法的不足。人类基因组计划(HGP)为这方面的研究带来了机会,通过 HGP 筛选和分离出每种疾病相关的致病基因,再以其作为药物作用的靶标研究中药作用的分子机制,这可能是未来中药药理研究的主要方向之一。另外,基因芯片技术,以其检测迅速、分辨率高、检出基因多而成为研究的先进方法之一,利用基因芯片及 mRNA 差异显示技术从分子水平探讨中药对疾病多基因治疗作用的机理,应成为今后研究的主要方向。

参 考 文 献

- 1 陈苏红,王小红,王生启. 中药影响细胞基因表达的研究. 中国中药杂志 2000 25(9):515—517.
- 2 许少芬主编. 神经生物学. 第 2 版. 上海:上海医科大学出版社,1999:248.
- 3 任永欣,彭成,姚平等. 头风饮对实验性偏头痛动物模型 c-jun 基因表达的影响. 成都中医药大学学报 2000 ;23(3):34—36.
- 4 张丽萍,贺娟,翟双庆,等. 草果知母汤在阻断 PTZ 点燃癫痫模型中对大鼠脑内 c-fos、c-jun mRNA 表达的影响. 中国中西医结合杂志 2000 20(8):606—608.

- 5 张博生,徐运. 桂枝茯苓丸对脑缺血再灌注后脑组织 c-fos 基因的影响. 中国中医基础医学杂志 1998 ;4(1):23—27.
- 6 Sugaya E, Sugaya A, Kajawarak, et al. Neurous disease and Kampo(Japanese herbal) medicine: a new paradigm of therapy against intractable neurous disease. Brain Dev 1997 ;19(2):93—103.
- 7 Guo Q, Kuang P. Studies of Qing Yangshen(II):modulatory effect of co-treatment with Qing Yangshen and diphenylhydantoin sodium on rat hippocampal c-fos expression during seizure. J Tradit Chin Med 1996 ;16(1):48—50.
- 8 岳少杰,曾庆善,周建华,等. 清开灵抗大鼠谷氨酸神经毒性脑损伤的实验研究. 中国中西医结合杂志 2000 ;20(11):842—845.
- 9 吴卫平,姜树军,张小澍,等. c-jun, bFGF, HsP70 在丹参改善颞叶缺血大鼠空间记忆障碍中的表达变化. 卒中与神经疾病 1999 ;4(4):357—359.
- 10 刘 张均田. 人参皂甙 Rg1 对大鼠海马 c-fos 基因表达和 cAMP 含量的影响. 中国药理学报 1996 ;17(2):171—174.
- 11 陈 磊,王怀良,邢 军,等. 植物药生物碱 94-95-10L 对大鼠 CSD 模型脑内 c-fos 基因表达的影响. 中国医科大学学报 2000 29(3):172—174.
- 12 胡镜清,王 奇,梁伟雄,等. 补肾益智方对 Alzheimer 病模型大鼠脑内生长抑素及其 mRNA 表达阳性神经元的影响. 中国中西医结合杂志 2000 20(7):533—535.
- 13 蔡 琰,杜增源,谢建刚,等. 中药治疗 Alzheimer 型老年痴呆的基础及临床研究. 中国老年医学杂志 1994 ;14(4):219—222.
- 14 钟历勇,沈自尹,蔡定芳,等. 补肾健脾活血三类复方对下丘脑-垂体-肾上腺-胸腺轴及 CRF 基因表达的影响. 中国中西医结合杂志 1997 ;17(1):39—41.
- 15 Dai Y, Miki K, Fukuoka T, et al. Suppression of neuropeptides mRNA expression by herbal medicines in a rat model of peripheral inflammation. Life Sci 2000 ;66(1):19—29.
- 16 魏小龙. 海马学习记忆功能有关基因及六味地黄汤益智作用与基因表达关系的研究. 生理科学进展 2000 ;31(3):227—330.
- 17 步世忠,孙 梅,张 沅,等. 更年期上调老年雌性大鼠下丘脑雌激素受体 mRNA 表达对 P 物质和 β -内啡肽的影响. 中国中西医结合杂志 1998 ;18(1):28—31.
- 18 孙 斐,俞 瑾,张利能,等. 中药天葵方对雌激素致不孕大鼠下丘脑 Leptin 受体及神经肽 YmRNA 的影响. 中国中西医结合杂志 2000 20(5):362—364.
- 19 贺双腾,黎杏群,何泽云,等. 脑益安对大鼠脑出血后神经生长因子和白细胞介素-1 β 转化酶表达的影响. 湖南中医学院学报 2000 20(3):22—25.

中药生物学。

总之,目前对半夏蛋白抗早孕的研究还是初步的,尚需在作用机制和结构分析等方面进一步深入,这不仅对于计划生育工作是有益的,尤为重要,该研究的深入将为单味中药开发及新药开发提供途径。

参 考 文 献

- 1 刘嘉森主编. 中药研究文献摘要. 北京:中国中医药科技出版社,1993:229.
- 2 周凤梧主编. 实用中药学. 济南:山东科学技术出版社,1981:445.
- 3 陶宗晋,徐琴钰,吴克佐等. 半夏蛋白的分离、结晶、生物活性和一些化学性质. 生物化学与生物物理学报 1981;13(1):78—82.
- 4 孙光星,丁声颂,钱瑶君. 掌叶半夏总蛋白的提取、化学分析和对小鼠 S-180 瘤株的抑制作用. 上海医科大学学报 1992;19(1):17—19.
- 5 Tao ZJ, Shen ZM, Yang JT. Conformation of the abortifacient protein: a circular dichroic study. J Protein Chem 1993;12(4):387—391.
- 6 陶宗晋,陈惠玲,孙册等. 半夏蛋白在小鼠早期妊娠子宫结合部位的检测. 生理学报 1983;35(1):107—111.
- 7 孙册,徐建华,翟世康等. 半夏蛋白的若干生物学性质. 生物化学与生物物理学报 1983;15(4):333—342.
- 8 陈惠玲,宋锦芳,陶宗晋. 半夏蛋白的抗兔胚泡着床作用. 生理学报 1984;36(4):388—391.
- 9 夏林纳,李超荆. 半夏蛋白对小鼠的抗生育作用及抗早孕的机理探讨. 上海医科大学学报 1985;12:193—198.
- 10 孙光星,丁声颂,钱瑶君. 掌叶半夏总蛋白的提取、化学分析

和对小鼠 S-180 瘤株的抑制作用. 上海医科大学学报 1992;19(1):17—19.

- 11 Shen-ZW. Membrane glycoproteins and plant and animal proteins with lectin or lectin-like properties. Adv Exp Biol 1988;228:187—203.
- 12 王克夷,许强. 凝集素和毒素. 生物化学与生物物理学报 2000;32(3):201—205.
- 13 汪猷主编. 天花粉蛋白. 北京:科学出版社,1990:142—145.
- 14 汪尔康主编. 21 世纪的分析化学. 北京:科学出版社,1999:156.
- 15 周家驹,王亭. 药物设计中的分子模型化方法. 北京:科学出版社,2001:46—47.
- 16 刘淳,刘晓晓,金毓翠. 宫颈注射天花粉蛋白治疗输卵管妊娠. 上海第二医科大学学报 2000;20(5):447—449.
- 17 王静,金毓翠. 三种药物终止中孕的比较研究. 上海第二医科大学学报 2001;21(3):264—266.
- 18 Maki T, Takahashi K, Shibata S. An anti-emetic principle of *Pinellia ternata* tuber. Planta Med 1987;53(5):410—414.
- 19 Kim SH, Jeong H, Kim YK, et al. IgE-mediated occupational asthma induced by herbal medicine, Banha (*Pinellia ternata*). Clin Exp Allergy 2001;31(5):779—781.
- 20 黄璐琦. 分子生药学. 北京:北京医科大学出版社,2000:12—14.
- 21 李永明,赵玉琪,李电东等. 实用分子生物学方法手册. 北京:科学出版社,1998:387—388.
- 22 徐文方主编. 新药设计原理与方法. 北京:中国医药科技出版社,2000:87—88.

(收稿 2002-06-07 修回 2003-03-10)

(上接第 474 页)

- 20 蒋士生,贺双腾,蔡光先等. 补肾醒脑解毒方对大鼠单纯疱疹病毒脑炎脑内 NGF、BDNF 表达的影响. 中国中医基础医学杂志 2000;6(6):40—43.
- 21 朱健,蔡文伟,陈朝婷等. 丹参对衰老鼠海马神经细胞凋亡作用的研究. 中国老年学杂志 2001;21(1):46—48.
- 22 蔡庆,刘红中,王哲等. 碱性成纤维细胞生长因子和丹参对反复高 + Gz 暴露大鼠脑组织 bcl-2 和 p53mRNA 表达的影响. 空军总医院学报 2000;16(3):130—133.
- 23 张金涛,吴卫平,刘洁晓等. 丹参对脑缺血再灌注后白细胞介素-1 β 转化酶表达的影响. 中华老年心脑血管病杂志 2000;7(2):123—125.
- 24 张金涛,李义召,赵书平等. 脑缺血再灌注后 ICE、bcl-2 的表达及丹参的神经保护作用. 卒中与神经疾病 2000;8(1):26—28.
- 25 宋春风,尹桂山,孙素菊等. 右归饮对肾虚大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴钙调素 mRNA 表达的影响. 中国中医基础

医学杂志 2001;7(3):180—182.

- 26 Watanabe CM, Walffram S, Ader P, et al. The in vivo neuromodulatory effects of the herbal medicine ginkgobiloba. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98(12):6577—6580.
- 27 方肇勤,司富春,张伯讷等. 二仙汤及其拆方对老龄大鼠下丘脑 GnRH 基因转录与表达的调节作用. 中国中医基础医学杂志 1998;4(1):27—29.
- 28 韩恩奎. 海风藤以淀粉样前体蛋白基因表达的研究. 中国中药杂志 1998;11(11):691—693.
- 29 钱亦华,胡海涛,杨杰等. 川续断对 Alzheimer 病模型大鼠海马内淀粉样前体蛋白表达的研究. Chin J Neurosci 1999;15(2):134—138.
- 30 Sugaya A. Cellular mechanism of seizure discharge and its normalization by a herbal mixture prescription“ Saikokeishite-Ka-Shakayaka” (SK). Yakugoku Zasshi 2001;121(5):295—317.

(收稿 2002-08-16 修回 2002-10-25)