

姜黄素抗肝纤维化机制研究进展

吴惠春¹ 张 斌^{1,2}

肝纤维化是肝脏对各种慢性损伤的一种修复反应,以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成增多,降解不足且过度沉积为主要特征。肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是产生 ECM 的主要细胞,它的活化被认为是肝纤维化的核心环节^[1]。肝纤维化是可逆的,阻断和逆转其进展意义重大。姜黄素是从姜黄根茎中提取的一种有效成分,许多研究表明它具有良好的抗纤维化作用。本文现就姜黄素的抗肝纤维化作用及其机制作如下综述。

1 影响 ECM 生成与代谢

ECM 生成与降解平衡受到破坏而形成的 ECM 重塑是肝纤维化阶段的一大重要特点。正常的 ECM 是一些低密度的、易被降解的成分,受基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)及基质蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)调节。肝纤维化时, MMP 及 TIMP 比例发生失调,正常的 ECM 降解,代之以高密度的、不易降解的病理性基质。这些基质不但破坏了肝脏的内环境,干扰肝细胞、内皮细胞的正常功能,同时进一步激活 HSC,形成恶性循环。为此不少抗纤维化研究致力于扭转 MMP 与 TIMP 的失衡比例。Vizzutti F 等^[2]进行体内外实验发现,姜黄素能明显降低肝组织中 TIMP-1 及 I 型前胶原的表达量,还可下调平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)表达,抑制 HSC 活化。Pinlaor S^[3]等用含 1% 姜黄素的饲料喂食感染肝吸虫的仓鼠,与对照组相比,姜黄素能上调 MMP13 水平,还可抑制 I、III 型胶原及 TIMP1、TIMP2 表达,效果于喂食 3 个月后更为明显。

ECM 过度沉积与尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, u-PA)及 1-型纤溶酶原激活抑制物(plas-minogen activator inhibitor-1, PAI-1)两者的比例失衡也有着密切的关系。u-PA 可使纤溶酶原转变为纤溶酶,参与 ECM 降解,

同时参与细胞迁移、组织重建、肿瘤浸润等过程。PAI-1 是 PA 的高效抑制因子,能显著抑制纤维蛋白水解和 ECM 降解,促进肝纤维化。段雪辉等^[4]报道,经 CCl₄ 处理的大鼠,其肝组织中的 u-PA 及 PAI-1 水平随时间延长均不同程度增加。姜黄素处理后, u-PA 蛋白表达上调,同时 PAI-1 蛋白水平降低,提示姜黄素可通过加速 ECM 降解而延缓肝纤维化进程。

2 影响脂质生成和转运

正常情况下, HSC 胞质内含有丰富的维生素 A 脂滴,其具体成分包括维生素 A 酸、甘油三酯、磷脂、胆固醇及游离脂肪酸。当 HSC 活化时,胞内脂滴含量显著下降。这些脂滴的丢失对于 HSC 的活化是否必须,目前尚未完全明了。Tang Y 等研究发现,姜黄素可以通过上调 HSC 胞内脂肪酸和甘油三酯水平而抑制由瘦素诱导的 HSC 活化。具体机制为:一、姜黄素通过下调磷酸化的瘦素受体水平而干扰瘦素信号途径^[5];二、姜黄素通过增强 5'-AMP 激活性蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)活性上调核转录因子固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding protein-1c, SREBP-1c)、过氧化物酶体增生生物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR γ)和 CCAAT 增强子结合蛋白(CCAAT/enhancer-binding protein- α , C/EBP α)进而促进脂肪酸和甘油三酯的合成,此效应可被 AMPK 特异性阻断剂 Compd C 所阻断^[6]。氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)是非酒精性脂肪性肝炎等代谢应激性肝损疾病中一个重要的促纤维化因子,可经其受体 LOX-1 转运入胞而致胞内脂质、活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)堆积,进而引起炎症、细胞损伤等反应^[7]。Kang Q 等^[8]报道,用 ox-LDL 刺激体外培养的 HSC, α -SMA 表达明显上调,而姜黄素可以抑制此反应。进一步研究证实^[9],姜黄素能以一种剂量依赖形式在基因和蛋白水平下调 LOX-1,减弱其对 ox-LDL 转运入胞作用,进而抑制由 ox-LDL 诱导的纤维生成基因和促有丝分裂基因的表达,最终抑制 HSC 活化。

3 对抗氧化应激反应

肝脏炎症时,由 Kuffer 细胞、中性粒细胞等释放的 ROS 及自由基,一方面可以引起脂质过氧化反应,

作者单位:1. 上海中医药大学附属曙光医院肝病科(上海 201203); 2. 上海中医药大学附属曙光医院肝肾疾病病症教育部重点实验室(上海 201203)

通讯作者:张 斌, Tel: 021-20256507, E-mail: zhangbsg@yahoo.cn

导致肝细胞膜破坏及肝细胞坏死,进一步加重炎症反应;另一方面,还可直接活化 HSC,促进 ECM 合成。研究表明,抗氧化剂能够对抗氧化应激反应,抑制 HSC 的活化,减少胶原的生成,还能保护肝实质细胞,抑制 Kupffer 细胞活化等。Vizzutti F 等^[2]用甲萘醌等物质诱导 HSC 产生 ROS,并用一种对 ROS 高度敏感的荧光染料(DCF-DA)检测其水平。结果发现,姜黄素预处理组 HSC 所产生的 ROS 明显少于对照组,提示姜黄素具有抗氧化应激效应。Fu Y 等^[10]报道,姜黄素可抑制某些炎症因子,如干扰素 γ (INF- γ)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 及白介素 6 (IL-6) 等,通过减少炎症反应而发挥抗氧化作用,进而保护肝细胞,阻止肝纤维化发展。另外,还有文献报道姜黄素可以通过上调氧化物歧化酶、谷胱甘肽水平^[11,12],或者通过下调诱生型一氧化氮合酶水平^[13]而对抗氧化应激,减少 HSC 活化等。

4 干扰信号传导途径

4.1 干扰转化生长因子 β 途径 转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 是刺激 I 型胶原产生最强的细胞因子,通过 TGF- β /SMAD 蛋白途径促进 HSC 表型转化、调节 HSC 合成和分泌 ECM 及其他多种细胞因子。活化的 HSC 不仅自分泌 TGF- β ,且显著上调其细胞表面的 TGF- β I 型和 II 型受体表达。TGF- β II 型受体胞外域部分是信号识别和传导的必需部分。TGF- β 首先识别并结合其 II 型受体,使 II 型受体自身磷酸化,再与 I 型受体结合形成 TGF- β 与受体复合物,进一步将信号下传。研究表明,下调 TGF- β 表达,可以抑制 HSC 活化、减少胶原合成和分泌^[14,15]。Reyes-Gordillo K 等^[16]报道,胆道结扎或 CCL₄ 所诱导的肝纤维化模型大鼠经喂食姜黄素 2 个月后,其血清酶学指标及肝脏组织学得到了明显改善。进一步研究发现,姜黄素可以抑制肝组织中 TGF- β mRNA 及蛋白的表达,阻断其信号下传而改善肝纤维化程度。

4.2 干扰血小板源生长因子 (platelet-derived growth factor)/表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 途径 PDGF 和 EGF 是强有力的促 HSC 增殖因子,阻断其生物学效应可以抑制 HSC 增殖,延缓肝纤维化进展。Ogawa S 等^[17]用 PDGF β 单克隆抗体 (AbyD3263) 与 PDGF β 相作用,阻止血小板源生长因子 β 受体 (platelet-derived growth factor β receptor, PDGF β R) 磷酸化及信号下传,可减少 HSC 的活化与增殖,提示抑制 PDGF β 轻链活性可能将成为治疗肝纤维化的重要措施之一。Lin J 等^[18]

进行 HSC 体外实验研究,发现姜黄素可以抑制由 PDGF 和 EGF 所诱导的 HSC 增殖,姜黄素预处理抑制率高于姜黄素与 PDGF/EGF 同时干预组。姜黄素还可抑制活化的 HSC 过度表达 PDGF β R 和表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR),并能进一步减少 PDGF β R、EGFR 及其下游介质细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、jun 氨基末端激酶 JNK 的磷酸化,这些效应被认为与姜黄素上调 PPAR γ 水平有关。

4.3 其他 此外,尚有文献报道,姜黄素可干扰胰岛素信号途径而减弱胰岛素对 HSC 的活化作用^[19]。姜黄素还可通过抑制核转录因子 (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 和 ERK 途径,下调结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 表达,减少 HSC 的活化和 ECM 的产生^[20]。

5 促进 HSC 凋亡

活化的 HSC 一般有两个去向:由活化状态转回静止状态或是通过发生凋亡而被清除,后者是主要途径。诱导 HSC 凋亡则自然成了抗肝纤维化研究的另一切入点。HSC 内包含多个介导凋亡发生的分子家族,包括 Bcl/Bax、Fas/Fas-L、肿瘤坏死因子受体 (tumor necrosis factor receptor, TNFR)、神经生长因子受体 (nerve growth factor receptor, NGFR) 等,这些靶点很可能被进一步开发而应用于抗肝纤维化的治疗。平键等^[21]发现,在荧光显微镜下,姜黄素处理的 HSC 细胞核皱缩,荧光染色苍白。对细胞凋亡调节因子 Bcl-2 和 Bax 的检测显示,姜黄素抑制了抗凋亡因子 Bcl-2 的表达,促进了促凋亡因子 Bax 表达;进一步研究指出,姜黄素在转录和翻译水平,增强 HSC 胞核 PPAR γ 表达,促进其核转位和 (或) 重分布,诱导 HSC 凋亡。Priya S 等^[22]报道,姜黄素可通过增强细胞凋亡蛋白酶 -3 (Caspase-3) 活性而诱导活化的 HSC 凋亡,并特别指出对于静止的 HSC 无此效应。

6 总结与展望

肝纤维化是多种疾病的共同中间环节,倘若未能得到有效控制,将进一步发展至肝硬化,严重影响患者的健康与生活质量。如上文所述,姜黄素可以通过影响 ECM 的合成与代谢、对抗氧化应激、抑制 HSC 活化和诱导 HSC 凋亡等多个环节发挥抗肝纤维化作用,因而具有良好的临床应用前景。然而,目前对于肝纤维化的发病机制尚未完全明了,对于抗肝纤维化的研究也多局限于实验阶段,鲜有关于机制研究的临床报道,故今后应进一步扩大对本病发病机制的研究,另外,鉴于人和实验动物间客观存在的差异性,应当增加临床研究,将

二者相结合,以期得到临床与实验相一致的结果。相信随着研究的进一步深入,对肝纤维化的发病、发展和逆转机制以及药物对肝纤维化的作用机制的进一步阐明,定能制定出切实有效的抗肝纤维化方案。

参 考 文 献

- [1] Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(6): 1655–1669.
- [2] Vizzutti F, Provenzano A, Galastri S, et al. Curcumin limits the fibrogenic evolution of experimental steatohepatitis [J]. *Lab Invest*, 2010, 90(1): 104–115.
- [3] Pinlaor S, Prakobwong S, Hiraku Y, et al. Reduction of periductal fibrosis in liver fluke-infected hamsters after long-term curcumin treatment [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 638(1–3): 134–141.
- [4] 段雪辉, 汤绍辉, 杨冬华, 等. 姜黄素对 CCl₄ 处理的大鼠 PAI-1 与 u-PA 蛋白表达的影响 [J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(30): 3181–3186.
- [5] Tang Y, Zheng S, Chen A. Curcumin eliminates leptin's effects on hepatic stellate cell activation via interrupting leptin signaling [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(7): 3011–3020.
- [6] Tang Y, Chen A. Curcumin protects hepatic stellate cells against leptin-induced activation *in vitro* by accumulating intracellular lipids [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(9): 4168–4177.
- [7] Dunn S, Vohra RS, Murphy JE, et al. The lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor: a pro-inflammatory factor in vascular disease [J]. *Biochem J*, 2008, 409(2): 349–355.
- [8] Kang Q, Chen A. Curcumin eliminates oxidized LDL roles in activating hepatic stellate cells by suppressing gene expression of lectin-like oxidized LDL receptor-1 [J]. *Lab Invest*, 2009, 89(11): 1275–1290.
- [9] Kang Q, Chen A. Curcumin suppresses expression of low-density lipoprotein (LDL) receptor, leading to the inhibition of LDL-induced activation of hepatic stellate cells [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 157(8): 1354–1367.
- [10] Fu Y, Zheng S, Lin J, et al. Curcumin protects the rat liver from CCl₄-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation [J]. *Mol Pharmacol*, 2008, 73(2): 396–399.
- [11] Wu SJ, Lin YH, Chu CC, et al. Curcumin or Saikosaponin a improves hepatic antioxidant capacity and protects against CCl₄-induced liver injury in rats [J]. *J Med Food*, 2008, 11(2): 224–229.
- [12] Singh R, Sharma P. Hepatoprotective effect of curcumin on lindane-induced oxidative stress in male Wistar rats [J]. *Toxicol Int*, 2011, 18(2): 124–129.
- [13] Manikandan R, Thiagarajan R, Beulaja S, et al. Curcumin protects against hepatic and renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase during selenium-induced toxicity in Wistar rats [J]. *Microsc Res Tech*, 2010, 73(6): 631–637.
- [14] Park K, Hong SW, Hur W, et al. Target specific systemic delivery of TGF- β siRNA/(PEI-SS)-g-HA complex for the treatment of liver cirrhosis [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(21): 4951–4958.
- [15] Lang Q, Liu Q, Xu N, et al. The antifibrotic effects of TGF- β 1 siRNA on hepatic fibrosis in rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 409(3): 448–453.
- [16] Reyes-Gordillo K, Segovia J, Shibayama M, et al. Curcumin prevents and reverses cirrhosis induced by bile duct obstruction or CCl₄ in rats: role of TGF- β modulation and oxidative stress [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2008, 22(4): 417–427.
- [17] Ogawa S, Ogawa T, Shimada H, et al. Anti-PDGF-B monoclonal antibody reduces liver fibrosis development [J]. *Heptol Res*, 2010, 40(11): 1128–1141.
- [18] Lin J, Chen A. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by curcumin blocks the signaling pathways for PDGF and EGF in hepatic stellate cells [J]. *Lab Invest*, 2008, 88(5): 529–540.
- [19] Chen A, Zheng S. Curcumin inhibits connective tissue growth factor gene expression in activated hepatic stellate cells *in vitro* by blocking NF- κ B and ERK signaling [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 153(3): 557–567.
- [20] Lin J, Zheng S, Chen A. Curcumin attenuates the effects of insulin on stimulating hepatic stellate cell activation by interrupting insulin signaling and attenuating oxidative stress [J]. *Lab Invest*, 2009, 89(12): 1397–1409.
- [21] 平键, 成扬, 徐列明. 姜黄素通过激活过氧化物酶体增殖子活化受体 γ 诱导肝星状细胞凋亡 [J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(10): 1295–1299.
- [22] Priya S, Sudhakaran PR. Curcumin-induced recovery from hepatic injury involves induction of apoptosis of activated hepatic stellate cells [J]. *Ind J Biochem Biophys*, 2008, 45(5): 317–325.

(收稿: 2011–11–08 修回: 2012–09–14)