

白芍总苷治疗糖尿病肾病的药理作用研究进展

刘冬恋 马松涛

白芍为我国传统中药毛茛科植物芍药的干燥根。白芍总苷(total glucosides of paeony, TGP)为白芍中提取的有效成分,主要含有芍药苷、芍药内酯苷、羟基芍药苷、苯甲酰芍药苷等单萜苷类化合物。TGP 的药理作用主要有止痛、抗炎、保肝以及多途径抑制自身免疫反应等。目前,TGP 用于抗炎镇痛,治疗类风湿关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫疾病方面的相关研究较多。

近年来,在世界范围内,糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的发病率逐年增加,已替代慢性肾小球肾炎成为慢性肾衰竭的首要致病因素。大约 30% 的糖尿病患者最终将发展成为 DN。TGP 用于治疗 DN 方面的作用受到了许多学者的关注。实验表明,TGP 能从提高胰岛素敏感性、改善脂质代谢、降低尿蛋白排泄、抗炎、抗氧化和免疫调节几个方面保护实验性糖尿病模型的肾脏。笔者对 TGP 用于治疗 DN 的药理作用研究进行综述如下。

1 提高胰岛素敏感性和改善脂质代谢作用 胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是胰岛素在促进葡萄糖摄取利用等方面受损,机体为了维持血糖正常水平,代偿性过多地分泌胰岛素导致高胰岛素血症^[1]。IR 是 2 型糖尿病的主要病理生理基础,导致体内葡萄糖和脂质代谢的紊乱。糖尿病患者体内游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)升高,是 IR 形成的重要病理因素。TGP 能明显降低 IR 模型大鼠的甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,增加高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量,降低大鼠血清胰岛素含量和胰岛素抵抗指数,提高胰岛素敏感指数。说明 TGP 能显著提高 2 型糖尿病大鼠的胰岛素敏感性,同时明显改善糖尿病大鼠的糖、脂代谢的紊乱^[2],但 TGP 并不能直接降低糖尿病大鼠的血糖水平^[3]。

2 降低尿蛋白作用 DN 的主要临床特点是发生尿蛋白排泄率(urinary albumin excretion rate,

UAER)和肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)的改变。微量蛋白尿(UAER > 20 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{min}$)是最早期的表现,经过几年之后将发展成为大量蛋白尿(UAER > 200 $\mu\text{g}/\text{min}$),并伴随着肾功能降低^[4]。TGP 降低 UAER 和 GFR 主要通过以下几个通路实现。

2.1 对 nephrin 蛋白的影响 足细胞是终末分化的肾小球上皮细胞,位于肾小球滤过屏障的最外层。对 2 型糖尿病伴结节性肾小球硬化模型 Zucker fa/fa 大鼠进行研究发现,足细胞的破坏,包括足突的消失和脂滴在细胞质中的集聚,是肾脏病变的最先发生的现象^[5]。两相邻足突之间的裂隙直径约 40 nm,其上附着的一层拉链样的结构,称为裂孔隔膜(slit diaphragm, SD),对蛋白质的滤过起关键的孔径屏障的作用。nephrin 是目前研究得最为明确的 SD 分子,已有大量的研究探讨 nephrin 表达与 DN 的关系。当 nephrin 的蛋白和基因表达下调时,会导致 SD 滤过屏障结构的破坏、足突减少和蛋白尿的出现^[6]。张培等^[7]的研究表明,TGP 可部分恢复 nephrin 在糖尿病大鼠肾脏中的表达,并且 nephrin 的分布异常也有改善。Wu Y 等^[8]对链脲菌素(streptozocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠模型给予 TGP 治疗 8 周,发现治疗组的 nephrin 蛋白表达较模型组显著下降。这些研究提示 TGP 通过改善 nephrin 的表达,改善糖尿病模型足细胞的损伤,从而避免糖尿病肾脏病变早期蛋白尿的出现。

2.2 对 p38 MAPK 信号通路的影响 p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)是目前研究得较为确切的调控足细胞凋亡的信号通路之一。MAPK 是胞内信号的主要传导分子,主要调节胞外的刺激信号传递到细胞核的过程。当高浓度氧自由基刺激时,高级氧化蛋白产物(advanced oxidation protein products, AOPPs)会使 nephrin 表达降低,下游的 p38 MAPK 被氧自由基活化,活化后的 p38 MAPK 会导致下游靶点磷酸化和核转录因子- κB (NF- κB)活化,作出凋亡应答反应从而导致蛋白尿的发生^[9]。Su J 等^[10]用 Western blot 检测后发现,TGP 给药 8 周后,糖尿病大鼠肾组织的 p38 MAPK 磷酸化表达下降, NF- κB p65 表达

作者单位:成都医学院药学院(成都 610083)

通讯作者:刘冬恋, Tel: 13438354302, E-mail: wushixian1992@gmail.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2013. 08. 1143

也下降,提示 TGP 对糖尿病肾脏的保护作用可能是通过抑制 p38 MAPK 信号通路和 NF- κ B 的激活作用实现。

2.3 对转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)/Smad 信号通路的影响 Smad-3 基因是 TGF- β_1 信号通路下游的信号分子,磷酸化的 Smad 蛋白与 Smad4 一起形成蛋白复合体,转移至细胞核,活化 TGF- β_1 的转录。在 Smad-3 基因敲除小鼠模型上注射 STZ,当持续性的蛋白尿出现时,肾小球膜基质增生没有发生,说明 TGF- β_1 信号通路上的 Smad-3 基因与 DN 的发生相关^[11]。也有研究表明,在过度表达 TGF- β_1 的转基因大鼠体内,通过 Smad7 的介导会放大 TGF- β_1 信号而导致足细胞凋亡^[12]。TGP 可剂量依赖性地抑制糖尿病大鼠肾组织 TGF- β_1 表达,提示 TGP 可能是通过 TGF- β_1 /Smad 信号途径发挥其肾脏保护作用^[3]。

2.4 对 JAK/STAT 信号通路的影响 JAK 家族属于非受体型酪氨酸蛋白激酶,STATs 家族是 JAKs 激酶的底物,STATs 家族可与 DNA 结合,并可与 JAK 等酪氨酸磷酸化信号通路偶联,从而把细胞外信号与细胞基因表达调控直接联系起来发挥转录调控作用。在 STZ 诱导的糖尿病大鼠肾内发现,磷酸化 JAK2 (p-JAK2) 和磷酸化 STAT3 (p-STAT3) 的表达较正常对照组均显著增加^[13]。使用 JAK2 特异性抑制剂 AG-490 干预 4~8 周,可明显降低糖尿病大鼠的蛋白尿水平^[14]。高糖可激活肾小球系膜细胞内的信号途径包括多元醇途径和活性氧簇的生成,并进一步激活 JAK/STAT 信号途径,并活化 TGF- β_1 基因启动子,导致 TGF- β_1 的产生增加。Wang K 等^[15]用 Western blot 检测后发现,TGP 可显著降低糖尿病肾组织 p-JAK2 和 p-STAT3 过高表达,提示 TGP 对糖尿病肾脏的保护作用可能是通过抑制 JAK/STAT 信号通路的作用实现。

3 抗炎作用

3.1 抑制巨噬细胞浸润 巨噬细胞是一种具有强大分泌与杀伤功能的炎症细胞。已有大量研究发现,DN 的病理特征之一便是巨噬细胞浸润介导的肾内炎症,无论是 DN 动物模型还是 DN 患者肾组织活检均发现其肾内存在大量巨噬细胞浸润,且浸润程度与肾脏病理损害和肾功能衰退严重程度相关^[16]。沈阳等^[17]的研究表明,糖尿病大鼠肾小球及肾小管-间质增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 巨噬细胞数量显著高于对照组,同样提示糖尿病模型肾脏内存在着巨噬细胞的增殖,而 TGP 干预 8 周后能明显降低糖尿病大鼠肾组织内巨噬细胞

的浸润及增殖程度,提示 TGP 可通过抑制肾内巨噬细胞的浸润,调节巨噬细胞的增殖,以发挥抗炎作用,从而保护肾脏。

3.2 抑制细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达 ICAM-1 是一种细胞表面糖蛋白,主要由激活的内皮细胞合成后释放入血,是白细胞所表达的整合素 CD11a/CD18 和 CD11b/CD18 的配体。因此,ICAM-1 能造成白细胞和血管内皮细胞的牢固黏附。多种肾组织细胞包括系膜细胞、血管内皮细胞、肾小管-间质细胞表达 ICAM-1。糖尿病大鼠肾小球 ICAM-1 的表达增高^[18]。在 STZ 诱导的 ICAM-1 基因敲除小鼠糖尿病模型中,小鼠出现 UAER 上升、肾小球肥大、系膜基质扩增、肾脏巨噬细胞浸润等现象^[19]。而 TGP 可通过抑制糖尿病大鼠肾组织 ICAM-1 表达,从而抑制肾脏巨噬细胞浸润,发挥抗炎作用^[3]。

3.3 抑制白介素(IL)与 TNF- α 的高表达 IL 主要由内皮细胞、活化的小胶质细胞、星形细胞和神经元产生,可激活巨噬细胞和星形细胞,促使内皮细胞激活血液中的凝血酶原进入炎症状态。秦贵军等^[18]采用免疫组化的方法观察了糖尿病大鼠肾小球 IL-18 的表达,结果显示其表达水平糖尿病组高于正常对照组,并与肾功能指标尿素氮 (BUN)、肌酐 (SCr) 及 24 h 尿蛋白 (UPro/24 h) 呈正相关,推测 IL-18 过度表达可能在肾组织损伤中起促进作用。肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 是公认的致纤维化因子,在 DN 的发生、发展中起重要作用。TNF- α 可通过 NF- κ B 途径快速而持续地诱导 IL-18 和 ICAM-1 表达^[20]。TGP 呈剂量依赖性地降低糖尿病肾组织 IL-1 和 TNF- α 过高表达^[21]。Jiang B 等^[22]的研究发现,TGP 可剂量依赖性地抑制 TNF- α 刺激的脂肪细胞的脂解作用,并且抑制 FFA 诱导的巨噬细胞中 TNF- α 的过高表达。这些实验提示 TGP 对糖尿病肾脏保护作用可能是通过抑制炎症相关因子 IL 和 TNF- α , 从而发挥抗炎作用实现。

4 抗氧化作用 氧自由基对胰岛 β 细胞膜的攻击,可造成细胞膜产生脂质过氧化作用,并可使胰岛素受体破坏或减少,从而造成糖尿病的发生。糖尿病时不断升高的血糖促进活性氧 (ROS) 的产生,加重酶活性基团的糖基化,抑制抗氧化酶的活性,而抗氧化酶的活性下降又加重了 ROS 的生成,形成恶性循环^[23]。牛红心等^[24]的研究显示,DN 模型组大鼠肾组织中脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 含量显著增加,抗氧化酶超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过

氧化氢酶(catalase, CAT)活性显著降低,表明 DN 大鼠体内 ROS 增多,机体清除 ROS 的能力下降。SOD 是以超氧阴离子为唯一底物的酶类清除剂,构成抗 ROS 的第一道防线;CAT 分解羟自由基保护机体细胞稳定的内环境及细胞的正常生活。大剂量 TGP 给药 8 周后可升高糖尿病大鼠模型肾组织 SOD 和 CAT 活性,降低 MDA 水平。表明 TGP 可以增加糖尿病大鼠肾组织的抗氧化活性^[3,25]。

5 免疫调节作用 现阶段的研究显示,2 型糖尿病存在着明显的细胞免疫和体液免疫异常^[26]。Th1/Th2 细胞与糖尿病的关系受到越来越多的关注。Th 细胞是 T 细胞的一个重要的细胞亚群,其中 Th1 细胞分泌干扰素- γ (IFN- γ)、TNF- α 、IL-2 等细胞因子,主要介导细胞免疫应答;Th2 细胞可分泌 IL-4、IL-10、IL-5、IL-13 等细胞因子,有抑制 Th1 细胞的功能,主要介导体液免疫。Th1 与 Th2 细胞互为调节细胞,在维持免疫应答平衡中起重要作用^[27]。吴晓燕等^[28]研究发现 2 型糖尿病无肾病患者和伴大量白蛋白尿患者的 Th1 和 Th1/Th2 比值低于正常对照组,而 2 型糖尿病伴微量白蛋白尿患者的 Th1 数和 Th1/Th2 比值高于正常对照组。说明在糖尿病发生、发展中出现了 Th1/Th2 型细胞因子表达失衡。李春蕾等^[29]发现,随着年龄增长,各组小鼠血清 IFN- γ 质量浓度均呈增高趋势,20 周龄时,TGP 给药组小鼠血清 IFN- γ 质量浓度显著低于糖尿病模型组,故认为 TGP 可以改善 Th1/Th2 型细胞因子表达失调,从而改善 DN 患者细胞和体液免疫的异常。

6 展望 DN 是糖尿病最常见的慢性并发症之一。目前,移植和透析是治疗 DN 的根本方法,但是移植和透析花费极高,加重了患者的负担。因此,进一步明确 DN 的病理机制,研究其治疗药物及预防措施,以减少 DN 的发生,是当前 DN 研究工作的目标。我国对白芍的临床应用历史悠久,TGP 作为其主要成分发挥药效,毒副反应相对较小,可用于 DN 的防治,具有广阔的开发前景。

总结近年来 TGP 在治疗 DN 方面的研究,尚存在着一些不足,主要为:(1)目前的药理学研究主要以动物实验为主,所用模型单一,局限于手术或化学药物诱导的 1 型 DN 模型,对于 2 型 DN 模型、自发性 DN 模型和转基因 DN 模型尚未见相关研究;(2)对白芍治疗 DN 机制的研究多局限于 TGP,对其单体成分如芍药苷、芍药内酯苷、羟基芍药苷的相关研究较少,它们很可能以不同的途径在治疗 DN 方面发挥作用。

目前,关于 TGP 治疗 DN 作用机制的研究还相对肤浅,有必要进行深入研究。同时,应开展临床相关验

证的研究,为 TGP 临床治疗 DN 的应用提供更加确凿的证据。

参 考 文 献

- [1] Olatunji LA, Soladoye AO. Increased magnesium intake prevents hyperlipidemia and insulin resistance and reduces lipid peroxidation in fructose-fed rats[J]. *Pathophysiology*, 2007, 14(1): 11-15.
- [2] 郑琳颖,潘竞锵,吕俊华. 白芍总苷增强高脂血症-胰岛素抵抗大鼠胰岛素敏感性和降血脂作用研究[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(2): 349-351.
- [3] 袁亮,吴永贵,郝丽,等. 白芍总苷对糖尿病大鼠肾脏保护作用及部分机制[J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(6): 821-826.
- [4] Kramer HJ, Nguyen QD, Curhan G, et al. Renal insufficiency in the absence of albuminuria and retinopathy among adults with type 2 diabetes mellitus[J]. *JAMA*, 2003, 289(24): 3273-3277.
- [5] Gassler N, Elger M, Kränzlin B, et al. Podocyte injury underlies the progression of focal segmental glomerulosclerosis in the fa/fa Zucker rat[J]. *Kidney Int*, 2001, 60(1): 106-116.
- [6] Kato T, Mizuno S, Kamimoto M. The decreases of nephrin and nuclear WT1 in podocytes may cause albuminuria during the experimental sepsis in mice[J]. *Biomed Res*, 2010, 31(6): 363-369.
- [7] 张培,张晶晶,苏静,等. 白芍总苷对糖尿病大鼠肾脏足细胞相关蛋白 Nephrin 表达的影响及机制[J]. *中国药理学通报*, 2009, 25(3): 366-370.
- [8] Wu Y, Ren K, Liang C, et al. Renoprotective effect of total glucosides of paeony (TGP) and its mechanism in experimental diabetes[J]. *J Pharmacol Sci*, 2009, 109(1): 78-87.
- [9] Yang L, Liang M, Zhou Q, et al. Advanced oxidation protein products decrease expressions of nephrin and podocin in podocytes via ROS-dependent activation of p38 MAPK[J]. *Sci China Life Sci*, 2010, 53(1): 68-77.
- [10] Su J, Zhang P, Zhang JJ, et al. Effects of total glucosides of paeony on oxidative stress in the kidney from diabetic rats[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(3-4): 254-260.
- [11] Ziyadeh FN, Hoffman BB, Han DC, et al. Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal anti-transforming growth factor beta antibody in db/db diabetic mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(14): 8015-8020.
- [12] Schiffer M, Bitzer M, Roberts IS, et al. Apoptosis in

- podocytes induced by TGF-beta and Smad7 [J]. J Clin Invest, 2001, 108(6): 807-816.
- [13] Baner AK, Shaw S, Jenkins J, et al. Angiotensin II blockade prevents hyperglycemia-induced activation of JAK and STAT proteins in diabetic rat kidney glomeruli [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2004, 286(4): F653-F659.
 - [14] Shi YH, Zhao S, Wang C, et al. Fluvastatin inhibits activation of JAK and STAT proteins in diabetic rat glomeruli and mesangial cells under high glucose conditions [J]. Acta Pharmacol Sin, 2007, 28(12): 1938-1946.
 - [15] Wang K, Wu YG, Su J, et al. Total glucosides of paeony regulates JAK2/STAT3 activation and macrophage proliferation in diabetic rat kidneys [J]. Am J Chin Med, 2012, 40(3): 521-536.
 - [16] Nguyen D, Ping F, Mu W, et al. Macrophage accumulation in human progressive diabetic nephropathy [J]. Nephrology (Carlton), 2006, 11(3): 226-231.
 - [17] 沈阳, 王坤, 齐向明, 等. 白芍总苷对糖尿病大鼠肾脏巨噬细胞浸润及增殖的影响 [J]. 安徽医学, 2011, 32(6): 709-712.
 - [18] 秦贵军, 岳欣阁, 张贺, 等. 糖尿病大鼠肾小球 IL-18、ICAM-1 和 TNF- α 表达的实验研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2008, 16(9): 541-543.
 - [19] Okada S, Shikata K, Matsuda M, et al. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are resistant against renal injury after induction of diabetes [J]. Diabetes, 2003, 52(10): 2586-2593.
 - [20] Chandrasekar B, Colston JT, de la Rosa SD, et al. TNF-alpha and H₂O₂ induce IL-18 and IL-18R beta expressions in cardiomyocytes via NF-kappa B activation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 303(4): 1152-1158.
 - [21] 任克军, 吴永贵, 方芳, 等. 白芍总苷对糖尿病大鼠肾组织白介素 1 与肿瘤坏死因子 α 表达的影响 [J]. 中华肾脏病杂志, 2007, 23(11): 747-748.
 - [22] Jiang B, Qiao J, Yang Y, et al. Inhibitory effect of paeoniflorin on the inflammatory vicious cycle between adipocytes and macrophages [J]. J Cell Biochem, 2012, 113(8): 2560-2566.
 - [23] 李晓博, 牟忠卿, 陈丽, 等. 糖尿病大鼠肾脏组织氧化应激及其在糖尿病肾病发病中的意义 [J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(4): 806-809.
 - [24] 牛红心, 李小云, 龙海波, 等. 肾康丸对糖尿病肾病大鼠氧自由基代谢的影响 [J]. 中药材, 2011, 34(6): 942-946.
 - [25] 方芳, 吴永贵, 董婧, 等. 白芍总苷对糖尿病大鼠肾组织氧化应激的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2008, 22(3): 199-204.
 - [26] 邱明才. 糖尿病的多器官免疫损伤 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2006, 26(3): 215-216.
 - [27] 乔玉峰, 张志利. Th1/Th2 亚群失衡与自身免疫性糖尿病 [J]. 山西医科大学学报, 2003, 34(5): 470-474.
 - [28] 吴晓燕, 汤旭磊, 高林, 等. 外周血 Th1/Th2 淋巴细胞失衡与 2 型糖尿病肾病的关系 [J]. 兰州大学学报(医学版), 2007, 33(1): 30-33.
 - [29] 李春蕾, 何菁, 华红. 中药白芍总苷预防非肥胖型糖尿病小鼠自发性涎腺炎的研究 [J]. 华西口腔医学杂志, 2011, 29(2): 187-190.

(收稿: 2012-12-19 修回: 2013-04-27)

《中国中西医结合杂志》获 2012 年度中国科协精品科技期刊工程 期刊学术质量提升项目资助

为进一步促进中国科协科技期刊创新发展, 增强科技期刊核心竞争力, 大力培育精品科技期刊, 中国科协 2012 年继续实施精品科技期刊工程, 主要项目有精品科技期刊培育计划、科技期刊国际推广计划和科技期刊能力发展建设平台项目。

截止到 2012 年 8 月 10 日, 2012 年度中国科协精品科技期刊工程项目评审工作已经结束, 共评出精品科技期刊培育计划 77 项, 科技期刊国际推广计划 7 项, 科技期刊发展能力建设平台 3 项。

《中国中西医结合杂志》获精品科技期刊培育计划资助, 资助亚类为期刊学术质量提升项目。以此次资助为契机, 本刊将进一步提高学术质量, 扩大影响。欢迎广大中医及中西医结合工作者积极给本刊赐稿或组稿, 积极参加本刊的审稿工作, 共同推进杂志影响力和竞争力的提升, 为打造精品科技期刊而继续努力!