

headache society. The international classification of headache disorders[J]. Cephalalgia, 2004, 24(Suppl 1): 9-160.

- [19] Manzoni GC, Torelli P. Proposal for a new classification of chronic headache[J]. Neurol Sci, 2010, 31(Suppl 1): S9-S13.

· 综 述 ·

## 姜黄素防治肝纤维化作用机制的研究进展

李志强<sup>1</sup>综述, 曹文富<sup>2</sup>审校

(1. 黔东南民族职业技术学院, 贵州凯里 556000; 2. 重庆医科大学附属第一医院中西医结合科 400016)

**关键词:** 姜黄素; 肝硬化; 作用机制

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.10.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)10-1024-03

姜黄是姜科姜黄属多年生草本植物, 姜黄属活血药, 始载于《新修本草》, 主心腹结积, 下气, 破血, 消痈肿, 中医认为具有活血化瘀、行气止痛的作用。姜黄素是姜黄发挥药理作用的主要有效成分, 现代药理研究证明, 姜黄素具有抗炎、抗纤维化、抗氧化、抗凝、降脂、抗肿瘤等多种作用。近年来姜黄素的保肝研究日益深入, 受到国内外学者的广泛关注。本文综述了姜黄素对肝纤维化的多途径防治作用。

### 1 姜黄素与致肝纤维化生长因子

**1.1 转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )** TGF- $\beta$  能促进肝星状细胞(HSC)激活, 增加细胞外基质(ECM)合成, 同时又可抑制ECM的降解, 是肝纤维化重要的始动因子之一<sup>[1]</sup>, TGF- $\beta_1$  还可通过抑制肝细胞再生、诱导肝细胞凋亡等途径调节肝纤维化的进程, 与肝纤维化密切相关。舒建昌等<sup>[2]</sup>采用四氯化碳(CCL<sub>4</sub>)诱导建立大鼠肝纤维化模型, 用姜黄素进行干预, 结果显示姜黄素组肝组织中 TGF- $\beta_1$  表达明显低于模型组, 从而表明姜黄素可通过抑制 TGF- $\beta_1$  的过度表达预防肝纤维化。郑旭锐等<sup>[3]</sup>对二甲亚硝胺(DMN)诱导的肝纤维化大鼠模型研究发现姜黄素能够降低肝组织中 TGF- $\beta_1$  mRNA 的表达, 减少 TGF- $\beta_1$  的生成而发挥抗肝纤维化作用。Wu 等<sup>[4]</sup>研究也表明姜黄素可以抑制 CCL<sub>4</sub> 诱导的高水平 TGF- $\beta_1$  的表达及核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的活性, 减少肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)的表达, 并增加白细胞介素-10(IL-10)的含量而防治肝纤维化。临床研究还发现慢性乙型肝炎患者血清 TGF- $\beta_1$  随病情发展逐渐升高, TGF- $\beta_1$  与透明质酸(HA)Ⅲ型前胶原蛋白(PC-Ⅲ)水平呈正相关, 而 HA 及 PC-Ⅲ 是判断肝纤维化程度的重要参考指标, 提示血清 TGF- $\beta_1$  水平与肝纤维化有密切相关性<sup>[5]</sup>。

**1.2 结缔组织生长因子(CTGF)** CTGF 是 TGF- $\beta$  的下游效应介质, 能促进 HSC 的迁移、增殖与活化, 从而促进成纤维细胞的增殖和 ECM 的产生, 诱导纤维化的产生<sup>[6]</sup>。CTGF 具有执行致纤维化作用, 在纤维化发生的过程起关键性作用, 是肝脏疾病中扳动纤维化产生的“总开关”<sup>[7]</sup>。动物实验表明姜黄素可以有效地减轻肝纤维化大鼠的损伤及纤维化程度, 其机制可能与抑制肝组织内 CTGF 表达有关<sup>[8]</sup>。姜黄素还可减弱 NF- $\kappa$ B 诱导的 HSC 的活化<sup>[9]</sup>, 在体外能抑制肝星状细胞株的生长及细胞 CTGF 的表达<sup>[10]</sup>, 从而发挥预防肝纤维化的作用。

**1.3 血小板源生长因子-B(PDGF-B)** PDGF 主要由血小板、淋巴细胞、单核巨噬细胞等产生, 为现知最强烈的促 HSC 增殖

- [20] Garza I, Schwedt TJ. Diagnosis and management of chronic daily headache[J]. Semin Neurol, 2010, 30(2): 154-166.

(收稿日期: 2011-11-02 修回日期: 2011-12-09)

因子, 在肝纤维化的发生过程中发挥重要作用。HSC 表面有 PDGF-BB 受体, 与 PDGF-BB 有较强的亲和力, 肝损伤时, 受刺激分泌的 PDGF-BB 可促进 HSC 的增殖, 从而促进肝纤维化的发生发展。研究发现姜黄素可以抑制肝纤维化模型大鼠肝组织中 PDGF-B 的表达而抗肝纤维化<sup>[11]</sup>; 体外实验亦证实不同浓度的姜黄素干预 HSC 细胞后 PDGF-BB、PDGFR $\beta$  表达降低, 且有一定的剂量依赖性<sup>[12]</sup>。

**1.4 血管内皮生长因子(VEGF)** VEGF 由枯否细胞和 HSC 受炎性细胞因子激活后而产生, 可促进肝窦内皮细胞和毛细血管内皮细胞的增殖, 从而导致肝窦基底膜的形成, 内皮细胞筛孔消失, 造成肝组织微循环障碍, 肝组织缺血缺氧, 进而引起过度氧化应激, 最终促进肝纤维化的形成与发展。骆忠华和徐标<sup>[13]</sup>研究发现, 姜黄素可呈剂量依赖性的抑制肝组织中 VEGF 的表达, 降低肝组织氧化应激水平而发挥抗肝纤维化作用。Corpechot 等<sup>[14]</sup>研究显示, 二乙基亚硝胺(DEN)诱导的鼠肝纤维化模型中肝纤维化严重程度与肝组织缺氧和血管生成呈高度相关, VEGF 的表达随肝脏微血管密度和肝纤维化严重程度的增加而增加, 提示 VEGF 在促进肝纤维化的形成过程中发挥重要作用。

### 2 姜黄素与 HSC

HSC 是位于肝窦 Disse 间隙的一种间质细胞, 肝损伤后可发生表型转变, 同时大量增殖并产生各种细胞外基质, 因此目前普遍认为 HSC 在肝纤维化发生发展中起重要作用。体外研究发现, 姜黄素可以呈剂量依赖性的抑制 HSC 的增殖并促进其凋亡<sup>[15]</sup>; 在基因水平上, 姜黄素可能通过上调促凋亡相关基因 Fas、P53 表达, 下调抑凋亡基因 bcl-2 表达而发挥诱导 HSC 凋亡的作用; 杨伟峰等<sup>[16]</sup>以 HSC 为靶细胞, 探讨联用姜黄素和阿米洛利对 HSC 增殖及分泌细胞外基质的影响, 结果表明在 12.5~20  $\mu$ mol/L 浓度范围内, 姜黄素和阿米洛利剂量依赖的抑制 HSC 的增殖, 并程度不等的抑制 HSC 分泌型胶原、HA 和层粘连蛋白(LN), 且合用组的抑制作用优于单用组, 提示姜黄素具有抗肝纤维化作用, 且在细胞水平上和阿米洛利有协同效应。成杨等<sup>[17]</sup>观察姜黄提取物(姜黄素)对大鼠 HSC 增殖与活化的影响, 结果也发现姜黄素可以剂量依赖性的抑制大鼠 T6 HSC 株的增殖, 并降低细胞表达  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白的水平。国外研究表明姜黄素还可通过阻断葡萄糖转运蛋白-4 的移位<sup>[18]</sup>, 增加葡萄糖激酶活性, 从而抑制瘦素诱导的高血糖对 HSC 的促增殖作用。

### 3 姜黄素与 ECM 降解酶及其抑制物

肝纤维化是 ECM 生成和降解调节机制失衡,最终导致 ECM 在肝内过度沉积的结果。其中基质金属蛋白酶(MMPS)、金属蛋白酶组织抑制物-1(TIMP-1)、纤溶酶原激活物抑制物-1(PAI-1)在这一调节机制中发挥重要作用。MMPS 可以促进 ECM 成分的降解,而 TIMP-1、PAI-1 则通过抑制 MMPS 的促降解作用而引起降解 ECM 减少。在肝脏中 HSC 是 MMPS 和 TIMP 的主要来源,在肝纤维化过程中起关键作用,伴随肝细胞损伤,HSC 被激活。在活化早期 HSC 释放 MMPS 促进 ECM 降解,当 HSC 完全活化后又通过释放 TIMP 下调此降解作用,使 ECM 合成超过降解而过度沉积,促进肝纤维化的发生。PAI 是高效的抑制因子,其水平的升高及活性的增强能有效地抑制纤溶酶原激活物(PA)的活化,从而显著抑制纤维蛋白水解及 ECM 降解而促进肝纤维化。王华等<sup>[19]</sup>发现,姜黄素治疗组 TIMP-mRNA 表达水平降低,病理学显示变性坏死肝细胞减少,肝纤维化程度明显减轻,与模型组相比差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),提示姜黄素可以通过减少 TIMP-1 的表达从而增加胶原纤维的降解而发挥抗肝纤维化作用;李凯杰等<sup>[20]</sup>的研究也较一致的表明姜黄素可以呈剂量依赖性的上调 MMP-1 mRNA 的表达,降低 TIMP-1 mRNA 的表达,减少肝组织内羟脯氨酸(Hyp)及胶原含量,防治肝纤维化作用确实;段雪辉等<sup>[21]</sup>探讨姜黄素对 CCL<sub>4</sub> 处理的大鼠 PAI-1 表达的影响,结果发现不同剂量的姜黄素均有抗肝纤维化作用,其机制与不同程度的降低肝组织 PAI-1 蛋白表达,使 PAI-1 抑制尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA)作用减弱,阻抑 ECM 增生与沉积有关;黄建贤等<sup>[22]</sup>研究发现,姜黄素可以治疗四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠模型血清肝纤维化指标及肝纤维化程度,其抑制肝纤维化主要通过恢复 MMP-2 和 TIMP-1 的动态平衡而实现。成杨等<sup>[23]</sup>实验证实,姜黄素可以在体外激活过氧化物酶体增值因子活化受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ) 信号途径显著升高 HSC 分泌的 MMP2、MMP9 活性,促进胶原分解。

### 4 姜黄素对 ECM 的作用

细胞外基质成分主要有胶原、非胶原糖蛋白、蛋白聚糖和弹性纤维等,以胶原为主的细胞外基质的沉积是肝纤维化的重要病理特征。发生肝纤维化时,ECM 的沉积并非是简单的空间占据,ECM 的量和组成成分均可发生改变,减少 ECM 的沉积可以有效地防治肝纤维化。实验研究表明,姜黄素可以使肝纤维化大鼠血清异常增高的 HA、LN、PC-III 明显降低,并减少肝组织中 I、III 型胶原含量,且作用随姜黄素剂量的增大而增强<sup>[24]</sup>;刘永刚等<sup>[25]</sup>探讨了姜黄素对大鼠肝纤维化形成的影响,结果发现肝纤维化模型组血清 HA、LN 含量明显升高,病理学观察肝组织胶原纤维沉积明显,姜黄素给药组肝纤维化指标明显减轻,病理变化显著改善,可抑制 DMN 诱导的肝纤维化;郑旭锐等<sup>[26]</sup>研究发现姜黄素具有抗肝纤维化作用,其主要通过抑制模型大鼠肝组织中 IV 型胶原和 TGF- $\beta_1$  mRNA 表达而实现,宋健等<sup>[27]</sup>证实了姜黄素能够显著降低 CCL<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化模型大鼠肝组织中 I、III、IV 型胶原的降解,减轻肝纤维化程度;王海婴等<sup>[28]</sup>实验提示抑制肝组织中 I 型胶原  $\alpha_1$  mRNA 表达,减少 I 型胶原形成是姜黄素抗肝纤维化的机制之一。

### 5 其他途径

肝细胞损伤是肝纤维化发生的重要始动因素,微循环紊乱

是肝实质损伤之前的一个重要环节,而 NO 和内皮素(ET)在肝脏缺血再灌注损伤中具有重要作用。研究证实,姜黄素固体分散体能有效的降低急性肝损伤小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活力,增加肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)活力,降低肝组织戊二醛(MDA)含量,改善肝细胞损伤程度,具有显著的保肝作用<sup>[29]</sup>;姜黄素通过减轻肝组织中由一氧化氮合酶(iNOS)产生的 NO 生成,降低内皮素 1(ET-1)的表达来改善肝缺血再灌注早期损伤中微循环的紊乱,降低血清 ALT 水平,从而减少对肝缺血再灌注肝实质细胞的损伤<sup>[30]</sup>;此外,姜黄素还可通过抑制 iNOS 的表达减轻硒引起的肝肾毒性,预防肝损伤进一步向肝纤维化方向发展<sup>[31]</sup>。

综上所述,导致肝纤维化发生的因素多且机制十分复杂,单个靶点的治疗可能是目前抗肝纤维药物疗效欠佳的重要原因之一,因此开发安全有效的理想的抗肝纤维化药物成为国内外研究的热点。众多研究证实,中药提取物姜黄素具有多途径、多靶点的防治肝纤维化作用,且优势独特,具有广阔的应用前景,值得深入研究。

### 参考文献:

- [1] Pohlers D, Brenmoehl J, Lffler I, et al. TGF-beta and fibrosis in different organs-molecular pathway imprints[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1792(8):746-756.
- [2] 舒建昌, 吴海恩, 皮新军, 等. 姜黄素抑制肝纤维化大鼠脂质过氧化物的生成及肝脏 TGF- $\beta_1$  和 PDGF 的表达[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(12):2405-2409.
- [3] 郑旭锐, 张选国, 宋健, 等. 姜黄素对肝纤维化模型肝组织 IV 型胶原和转化生长因子  $\beta_1$  mRNA 表达的影响[J]. *陕西中医*, 2009, 30(6):749-750.
- [4] Wu SJ, Tam KW, Tsai YH, et al. Curcumin and saikosaponin a inhibit chemical-induced liver inflammation and fibrosis in rats[J]. *Am J Chin Med*, 2010, 38(1):99-111.
- [5] 张小亚, 杨岩, 盛慧萍, 等. 慢性乙型肝炎患者血清 TGF- $\beta_1$  水平与肝纤维化的关系[J]. *山东医药*, 2010, 50(45):4-6.
- [6] Higashiyama H, Yoshimoto D, Kaise T, et al. Inhibition of activin receptor-like kinase 5 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Exp Mol Pathol*, 2007, 83(1):39-46.
- [7] Gressner OA, Gressner AM. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master Switch in fibrotic liver diseases[J]. *Liver Int*, 2008, 28(8):1065-1079.
- [8] 刘中禄, 孙仁山, 冉新泽. 姜黄素对实验性肝纤维化大鼠结缔组织生长因子表达的影响[J]. *实用医技杂志*, 2009, 16(2):85-86.
- [9] 胡泰洪, 黄利华, 徐敏, 等. 姜黄素对肝纤维化大鼠肝组织中核转录因子-kB 及细胞外信号调节激酶-1 mRNA 表达的影响[J]. *药品评价*, 2009, 6(2):45-47.
- [10] 谢明, 廖晓宏, 杨元胜, 等. 姜黄素对肝星状细胞株 CTGF 表达的影响[J]. *实用医学杂志*, 2006, 22(15):1724-1726.
- [11] 黄思敏, 汤绍辉, 杨冬华, 等. 姜黄素对肝纤维化大鼠肝组织中  $\alpha$ -SMA, PDGF-BB 和 TGF- $\beta_1$  表达的影响[J]. *广东医学*, 2008, 29(6):929-931.

- [12] 赵珍东, 黄兆胜. 姜黄素对 HSC PDGF-BB, PDGFR $\beta$  及 ERK1 表达的影响[J]. 中药材, 2009, 32(5): 732-735.
- [13] 骆忠华, 徐标. 姜黄素与吡嗪酮对小鼠日本血吸虫肝纤维化组织血管内皮生长因子表达的影响[J]. 医药导报, 2008, 27(10): 1164-1168.
- [14] Corpechot C, Barbu V, Wendum D, et al. Hypoxia-induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis[J]. Hepatology, 2002, 35(5): 1010-1021.
- [15] 纪辉, 任立群, 张一宁, 等. 姜黄素对肝星状细胞增殖能力影响[J]. 中国公共卫生, 2009, 25(4): 426-427.
- [16] 杨伟峰, 卢放根, 刘凌云. 姜黄素与阿米洛利联用对肝星状细胞增殖及分泌细胞外基质的影响[J]. 中华消化杂志, 2006, 26(4): 259-260.
- [17] 成杨, 平键, 谭英姿. 姜黄素提取物对大鼠肝星状细胞增殖与活化的影响[J]. 世界感染杂志, 2006, 6(1): 19-21.
- [18] Tang Y, Chen A. Curcumin prevents leptin raising glucose levels in hepatic stellate cells by blocking translocation of glucose transporter-4 and increasing glucokinase [J]. Br J Pharmacol, 2010, 161(5): 1137-1149.
- [19] 王华, 曾令兰, 陈莎燕, 等. 姜黄素和  $\gamma$  干扰素对肝纤维化大鼠肝组织病理变化及 TIMP-1 表达的作用[J]. 微循环学杂志, 2009, 19(3): 28-30.
- [20] 李凯杰, 张玲敏, 范志刚, 等. 姜黄素抗血吸虫病肝纤维化作用机制的研究[J]. 中国地方病学杂志, 2007, 26(6): 643-645.
- [21] 段雪辉, 汤绍辉, 杨冬华, 等. 姜黄素对 CCL<sub>4</sub> 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.
- [22] 黄建贤, 朱宝和, 黄林, 等. 实验性肝纤维化大鼠基质金属蛋白酶-2 和组织型金属蛋白酶抑制剂-1mRNA 表达及姜黄素的作用[J]. 中国实用医刊, 2009, 36(10): 10-12.
- [23] 成杨, 平键, 刘成, 等. 姜黄素激活过氧化物酶体增殖因子活化受体  $\gamma$  信号对肝星状细胞基质金属蛋白酶-2, 9 活性的和包核核因子-kBp65 表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(5): 439-443.
- [24] 舒建昌, 邓亮, 叶国荣, 等. 姜黄素治疗大鼠肝纤维化及其对肝组织 I、III 型胶原的影响[J]. 国际内科学杂志, 2008, 35(7): 379-382.
- [25] 刘永刚, 谢少玲, 李芳君. 姜黄素对 DMN 诱导的大鼠肝纤维化形成的影响[J]. 中药材, 2005, 28(12): 1094-1096.
- [26] 郑旭锐, 张选国, 宋健, 等. 姜黄素治疗大鼠肝纤维化及其对肝组织 I、III 型胶原的影响[J]. 陕西中医, 2009, 30(6): 749-750.
- [27] 宋健, 刘莉君, 孙守才, 等. 姜黄素对肝纤维化大鼠肝组织 I、III、IV 型胶原的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(4): 933-935.
- [28] 华海晏, 何航, 叶启霞, 等. 姜黄素对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化及肝组织 Collagen I 表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(6): 37-39.
- [29] 韩刚, 万红, 翟冠钰, 等. 姜黄素固体分散体对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6): 1321-1322.
- [30] 向进见, 田夫, 李文岗, 等. 姜黄素对大鼠肝缺血再灌注早期肝组织一氧化氮表达的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(10): 987-992.
- [31] 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.

(收稿日期: 2011-11-12 修回日期: 2011-12-16)

## · 综 述 ·

# 不同靶向基因 siRNA 对肝癌细胞作用机制的研究进展

王金涛<sup>1</sup>, 郑 军<sup>1△</sup>, 刘 伟<sup>1</sup>综述, 夏联山<sup>2</sup>审校

(1. 三峡大学第一临床医学院普外科, 湖北宜昌 443003; 2. 三峡大学第三临床医学院普外科, 湖北宜昌 443002)

**关键词:** SiRNA; 肝癌细胞; 靶向基因; 基因沉默

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.10.038

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1671-8348(2012)10-1026-04

RNA 干扰(RNA interfering, RNAi)是最近发展起来的一种抑制特定基因表达的新方法,是指双链 RNA(double-strand RNA, dsRNA)诱导与同源 mRNA 降解,阻断相应基因表达,从而导致特异的转录后基因沉默(post-transcriptional gene silencing, PTGS)现象<sup>[1]</sup>。在哺乳动物细胞介导 RNAi 效应的主要是小干扰 RNA(siRNA)分子,其大小约 21~23 bp。其应用是 RNAi 技术的最新发展。

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌的主要类型,也是全世界最高发的恶性肿瘤之一。我国是肝癌的高发区,据国际癌症研究机构(IARC)估计全球每年肝癌发

病患者数为 56.4 万,死亡 54.9 万人。我国肝癌发病患者数约 30.6 万,死亡 30.0 万人,分别占全世界的 54.26% 和 54.64%<sup>[2]</sup>。致病因素较多,主要为肝炎病毒(HBV 和 HCV)慢性感染和黄曲霉素长期暴露,其他一些次要因素如肝硬化、脂肪肝、糖尿病、遗传性血色病、毒物代谢酶和 DNA 修复基因遗传多态性、吸烟、饮酒、饮用水污染、砷暴露等<sup>[3]</sup>。肝癌的确切发病机制到目前尚未清楚,但可以肯定其形成是一个多因素、多步骤、多阶段、多系统、多基因参与的复杂过程。它可能涉及到一些信号转导通路的异常,进而引起一系列原癌基因异常的激活以及抑癌基因突变导致的失活。siRNA 可以特异性

△ 通讯作者, Tel: 15871598533; E-mail: zhengjun1995@163.com.