

黄芩甲苷抗实验性非酒精性脂肪肝病的研究进展

丁棋柯¹, 戴 玮¹, 吴媛媛², 王 东^{3*}

(1. 浙江中医药大学第二临床医学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学第三临床医学院, 浙江 杭州 310053; 3. 浙江绿城心血管病医院内分泌科, 浙江 杭州 310012)

摘要: 非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 是一种现今在中国乃至全世界都较为常见的慢性损伤性肝脏疾病, 是代谢综合征的肝脏临床表现, 患者常伴有肥胖、2 型糖尿病、代谢综合征等机体代偿能力失调的损伤性表现, 严重影响人类的生命健康。随着 NAFLD 患病人数的日益增长, 其防治工作成为一个难题, 且相关药物的治疗效果不甚理想。黄芩甲苷作为中国传统中药黄芩的主要有效活性物质, 可以通过抑制脂质合成相关基因的异常表达、提高抗氧化应激能力、减轻内质网应激程度、缓解胰岛素抵抗、减轻炎症反应和抑制细胞凋亡等方面作用来治疗 NAFLD, 但其具体的作用机制尚不明确。因此, 作者通过查阅大量相关文献来总结黄芩甲苷治疗 NAFLD 相关作用机制的研究进展, 以期接下来深入研究黄芩甲苷治疗 NAFLD 的机制提供相关方向。

关键词: 黄芩甲苷; 非酒精性脂肪肝病; 脂质代谢

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2021)08-2135-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.08.029

非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 是目前中国乃至全世界都较为常见的慢性肝损伤性疾病, 缺少相关干预措施的患者可以从一开始不易被自身察觉的非酒精性脂肪肝进行性发展为情况较为复杂的非酒精性脂肪肝炎 (NASH), NASH 可以造成随后的肝脏纤维化, 严重的可能会导致肝癌, 有着相当大的临床和经济负担^[1-2]。NAFLD 的发病机制目前仍不是非常明确, 促进 NAFLD 发生和发展的因素包括肝组织当中与脂质合成有关基因的异常表达、过度堆积的活性氧所致的线粒体功能损伤、内质网发生应激相关反应、机体有关组织发生胰岛素抵抗 (IR)、肝脏发生炎症反应、肝细胞发生凋亡等^[1]。然而, 目前除了控制热量的摄入和保持一定量的运动, 并没有治疗 NAFLD 的特效药物。

黄芩是目前最常用的中药之一, 被广泛应用于咖啡、茶替代品以及食品当中, 中国的黄芩大枣枸杞茶作为著名的抗癌茶, 饮用后能够增强机体免疫力^[3]。黄芩甲苷作为中国传统中药黄芩的主要有效活性物质, 其分子式已被证实为 C₄₁H₆₈O₁₄, 具有抑制脂质合成相关基因的异常表达、提高抗氧化应激能力、减轻内质网应激程度、缓解 IR、减轻炎症反应和抑制细胞凋亡等方面的作用^[4-7]。非酒精性脂肪肝病是代谢综合征的慢性肝脏表现, 主要特征是肝脏发生脂肪沉积, 经 HE 染色后在光学显微镜下可表现为巨大的脂肪空泡^[1]。许多研究表明黄芩甲苷可以改善脂质代谢紊乱, 减少肝脏脂质的过度积累, 具有保护肝脏的作

用^[8], 但是, 黄芩甲苷治疗 NAFLD 的具体机制仍然存在相关的空缺。课题组就近年来黄芩甲苷通过抗脂质合成相关基因异常表达、抗氧化应激、减轻内质网应激的程度、缓解 IR、抑制炎症相关因子的表达、防止细胞发生凋亡等方面的机制研究进行整理归纳, 以期黄芩甲苷治疗 NAFLD 的实际应用提供科学且可靠的依据。

1 黄芩甲苷能够减少肝脏脂肪合成, 防止发生脂肪变性

1.1 黄芩甲苷激活 AMPK 从而抑制 SREBP-1c 及其靶基因的表达 固醇调节元件结合蛋白 1c (SREBP-1c) 被认为是与脂质相关分子表达有关的核内转录调节因子, 在肝脏脂质相关分子的合成代谢中发挥着关键作用, 有研究表明 SREBP-1c 在细胞内的含量增加能够促进脂质有关分子的合成^[9]。腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 是一种目前较为常见的蛋白激酶, 可以使下游相关分子的丝氨酸或苏氨酸发生磷酸化改变, 从而改变其活性, 当 AMPK 被激活时, 细胞内分解代谢往往会显著增强, 因此被认为是细胞中的“能量感受器”^[10]。AMPK 已被证明是 SREBP-1c 的上游激酶, 当 AMPK 被激活时, SREBP-1c 在细胞内的含量显著减少, 从而降低其发生脂肪变性的可能^[11]。相关研究发现, 黄芩甲苷能够通过激活 AMPK 通路来抑制 SREBP-1c 及其下游靶基因硬脂酰辅酶 A 去饱和酶、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC)、脂肪酸合成酶 (FAS) 的表达, 从而能够显著缓解肝细胞由于脂肪变性造成细胞不断膨胀甚至破裂的危险情况^[6]。此外, 黄芩甲苷通过激活 AMPK 使 SREBP-1c 在

收稿日期: 2020-10-30
基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82074541); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202010344011)
作者简介: 丁棋柯 (2000—), 男, 研究方向为糖尿病的中医药干预机制。Tel: 19858117399, E-mail: 486447292@qq.com
* 通信作者: 王 东 (1979—), 男, 博士, 副主任中医师, 研究方向为糖尿病的中医药干预机制。Tel: 13958150366, E-mail: garywd007@163.com

Ser372 上发生磷酸化,抑制 SREBP-1c 的蛋白水解和核异位,从而下调细胞核当中 SREBP-1c 的含量,有效减少了原本过度积累在肝组织细胞中的脂肪^[12-13]。这些研究结果表明,黄芪甲苷通过激活 AMPK 抑制 SREBP-1c 及其靶基因的表达,从而改善肝脏脂肪变性的情况。

1.2 黄芪甲苷激活 AMPK 从而抑制 FoxO1 及其靶基因的表达 叉头框蛋白 O1 (FoxO1) 参与脂质代谢,当其表达增强时可以促进肝脏脂肪的积累,在 NAFLD 的病情进展中起到关键的作用^[14]。相关研究发现,在 FoxO1 表达增强的肝组织细胞当中,SREBP-1c、ACC、FAS 等与脂质合成相关的分子水平有着明显的升高^[15]。此外,激活 AMPK 可抑制 FoxO1 的表达,缓解肝脏脂肪变性^[16-17]。黄芪甲苷通过调控 AMPK/FoxO1 信号通路,减少 SREBP-1c、FAS、ACC 等与脂肪合成有关因子的表达,缓解肝脏脂肪变性的程度^[6,16]。这些研究结果表明,黄芪甲苷可能通过激活 AMPK 抑制 FoxO1 及其靶基因的表达,减少肝脏脂肪积累。

2 黄芪甲苷可以提高肝脏抗氧化应激能力

在长期的高糖高脂饮食习惯下,肝脏会增加摄取过多存在于循环血液中的可发生异位沉积的游离脂肪酸 (FFA),从而导致肝脏氧化与抗氧化作用失衡,线粒体活性氧 (ROS) 大量堆积,因此引起肝脏剧烈的氧化应激反应,过量的 ROS 可以使肝脏的线粒体功能发生障碍,使其遭受严重损伤,肝脏脂质相关分子沉积的情况进一步加剧^[18]。

核因子 E2 相关因子-2 (Nrf2) 是一种能够体现机体应对氧化损伤能力的标志性物质,在正常情况下,Nrf2 与胞质蛋白伴侣分子 (Keap1) 结合,以复合物的状态存在于细胞核外,处于一种相对稳定的状态;当细胞感受到来自外界的危害危险信号时,原本存在于细胞质当中的 Nrf2 即与 Keap1 发生解离,进而转移进入细胞核,促进其调控的抗氧化相关蛋白酶的表达,而其中就包括超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶 (CAT) 等重要的抗氧化物质,从而提高细胞内谷胱甘肽 (GSH) 的水平^[19]。

AMPK 作为一种内源性的中枢代谢传感器,起着调控细胞能量代谢的作用,能够降低代谢性相关疾病发生的风险,并且在抗氧化应激方面也意义重大^[20-21]。相关研究表明,激活 AMPK 通路可以促进 Nrf2 及其调控的靶基因的表达,从而能够提高细胞当中 GSH 的水平,增强机体抵抗氧化损伤的能力^[22]。此外,发生氧化应激的细胞中会积累过量的 ROS,然而过量的 ROS 会抑制 AMPK 的活性,GSH 可以清除过量的 ROS,也可以使 AMPK 发生 S-谷胱甘肽化从而进一步增强 AMPK 的活性,缓解氧化应激^[23]。

研究表明,黄芪甲苷通过激活 AMPK/Nrf2 信号通路,使得肝脏 GSH、SOD 增多,缓解了肝脏氧化应激的程度,改善脂质有关分子过度沉积的情况^[6,24]。这些研究结果证明,黄芪甲苷可以通过激活 AMPK/Nrf2 相关分子途径,抑制 ROS 在细胞内过量堆积的情况,减轻氧化应激带来的不

可逆损害和增强机体抵御氧化损伤的能力,从而缓解肝脏脂肪变性的程度。上述相关机制见图 1。

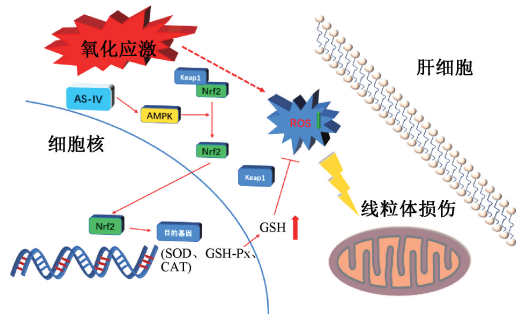


图 1 黄芪甲苷提高肝脏抗氧化应激能力的作用机制

3 黄芪甲苷可以减轻肝脏内质网应激的程度

当肝脏中脂质相关分子发生过度积累时,其内质网原本稳定的状态遭到损害,从而发生内质网应激 (ERS) 相关代偿反应,造成葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、C/EBP 同源蛋白 (CHOP) 和磷酸化的促肽激酶样 ER 激酶 (p-PERK) 等与 ERS 相关的特征性蛋白表达增强,使得肝脏脂质相关分子过度积累的不良情况又进一步地加剧^[25-26]。ERS 和肝脏脂肪变性两者之间相互影响,二者在某种意义上来说形成了一种恶性循环的关系,加快了疾病的发展^[27]。有相关研究发现,当 GRP78 过表达以后,SREBP-1c 的活性增强,其下游相关分子 ACC、FAS、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶的基因表达也显著增强,促使肝细胞发生脂肪变性^[28]。此外,黄芪甲苷通过激活 AMPK 通路抑制 ERS 特征性蛋白分子 GRP78、CHOP 和 p-PERK 的基因表达,从而减轻肝脏 ERS 的程度,防止肝脏脂质有关分子进一步的异常积累^[6]。这些研究结果表明,黄芪甲苷通过激活 AMPK 信号通路来减轻内质网应激的程度,进而缓解肝脏脂肪变性的情况。

4 黄芪甲苷可以改善胰岛素抵抗

4.1 黄芪甲苷减轻脂肪组织的 IR, 减少 FFA 的释放 目前,IR 被普遍认为是 NAFLD 的“首次打击”,几乎贯穿 NAFLD 的整个过程,其可以诱发血脂代谢紊乱,促使 NAFLD 的发生和发展^[18]。NAFLD 患者通常伴有肥胖,肥胖人群又常伴有 IR,最重要的是,胰岛素抵抗往往先发生于脂肪组织,此时的脂肪组织由于持续的增生、肥大,其代谢活性降低并且倾向于促炎状态,减少相关有益脂肪因子的释放^[29-30]。因此,脂肪组织的 IR 在一定程度上可以说是 NAFLD 发病的根本原因。

胰岛素作为人体中最主要的抗脂解作用因子,能够通过激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号途径的有关分子,进而激活位于细胞质中的磷酸二酯酶 3B (PDE3B),处于活性状态下的 PDE3B 可以促使环腺苷酸 (cAMP) 转化为 AMP,使 cAMP/cAMP 依赖的蛋白激酶 (PKA) 信号通路受到抑制^[31]。然而,cAMP/PKA 信号通路对脂肪组织的脂解作用起着至关重要的作用,该通路的激活可以促使激素敏感脂肪酶 (HSL) 磷酸化,p-HSL

能够从胞质中转移到胞内脂滴的周围,使脂质发生分解^[32]。脂肪组织发生 IR 时,胰岛素对 HSL 的抑制作用减弱,脂解作用增强,当其释放的大量游离脂肪酸在肝脏发生异位沉积时,肝脏即发生脂肪变性^[33]。

黄芪甲苷通过激活 Akt/PDE3B 途径相关分子,从而减少脂肪组织当中 cAMP 的积累,抑制 cAMP/PKA 途径的激活,进而能够有效减轻胞质内脂滴分解的情况^[34]。因此,黄芪甲苷可能通过激活 Akt/PDE3B 信号途径有关分子来缓解脂肪组织的 IR,降低因脂解活动加剧而产生的大量 FFA 异位沉积于肝脏的可能。上述相关机制见图 2。

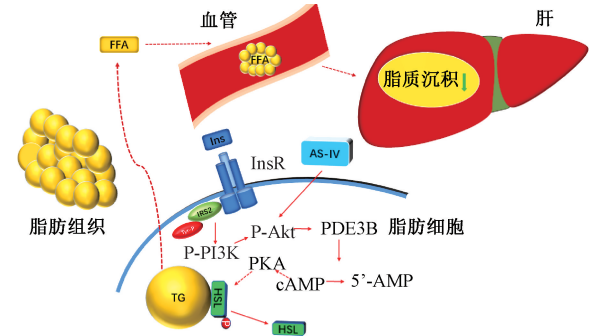


图 2 黄芪甲苷减少游离脂肪酸异位沉积的作用机制

4.2 黄芪甲苷减轻肝脏的 IR,减少糖输出 当人体发生血脂代谢紊乱时,血液中的 FFA 会异位沉积于肝脏,容易引起肝脏发生 IR^[35]。此时,肝脏糖异生相关基因表达增强,引起肝脏对外输出过多的糖,血糖水平升高,对人的身体健康尤为不利。

胰岛素受体底物 2 (IRS-2)/PI3K/Akt/FoxO1 是一条已经被广泛认同的经典胰岛素作用途径,当该信号途径的相关分子被激活时可减轻 IR 的情况。IRS-2 作为 PI3K 的上游信号分子,被认为能够通过磷酸化的方式激活 PI3K,处于活性状态下的 p-PI3K 则以同样的方式激活 Akt; p-Akt 可以使 FoxO1 发生磷酸化, p-FoxO1 会从核内转移至胞质,此时 FoxO1 处于非活性状态,减少了受其调控的糖异生相关酶的表达^[36-37]。

SREBP-1c 在肝脏中含量较为丰富,是调控脂质相关蛋白合成的核内转录因子,被证明能够抑制肝脏中 IRS-2 的表达情况,而且在肝组织细胞当中,胰岛素信号主要由 IRS-2 传递而不是通过 IRS-1^[38]。AMPK 可以通过抑制 SREBP-1c 从而使 IRS-2 的表达增加,改善肝脏的 IR^[12]。此外,炎症反应可以激活非受体型蛋白酪氨酸激酶 2 (JAK2)/信号传导与转录激活因子 3 (STAT3) 信号通路,使下游分子细胞因子信号抑制因子 (SOCS) 的活性增加; SOCS 在肝细胞中抑制 IRS-2 的活性,而且可以通过激活 SREBP-1c 达到间接抑制 IRS-2 的活性,造成肝脏发生胰岛素抵抗^[1]。

研究发现,黄芪甲苷可以通过调控肝脏中 AMPK、SREBP-1c/IRS-2 和 JAK2/STAT3 等分子的表达,从而缓解了肝组织 IR 的情况^[6,39-40]。此外,黄芪甲苷通过恢复 PI3K/Akt 经典胰岛素作用途径相关分子的水平来缓解 IR

的程度,并且抑制受 Akt 负调控的 FoxO1 的表达,从而降低细胞内糖异生相关酶的分子含量,减少肝脏对外糖输出,防止血液中葡萄糖水平的非正常抬高^[16]。这些研究结果表明,黄芪甲苷可能通过调控 AMPK-SREBP-1c-IRS-2/PI3K/Akt/FoxO1 和 JAK2/STAT3 信号通路来改善肝脏 IR,从而减少肝脏对外糖输出,防止 NAFLD 患者血液中葡萄糖水平的非正常升高。上述相关机制见图 3。

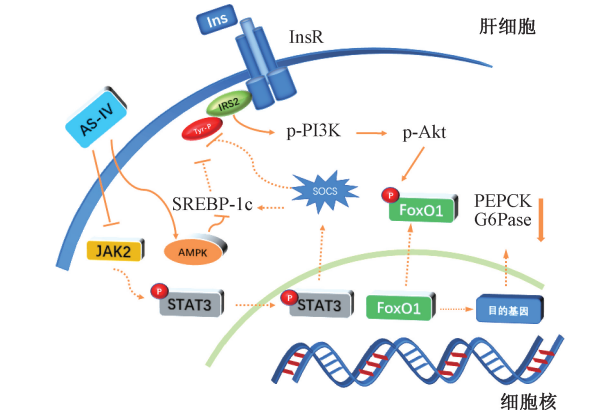


图 3 黄芪甲苷减轻肝脏胰岛素抵抗,减少糖输出的作用机制

5 黄芪甲苷可以防止肝脏炎症的发生和发展

目前,人们认为炎症因子在肝脏发生纤维化这方面有一定的作用,并且炎症因子已经被证明可以激活肝脏中的肝星状细胞,使其分泌细胞外基质,导致肝脏纤维化的发生,严重且不加干预措施控制的患者甚至会发展成对人体有高度危害作用的肝硬化^[41]。因此,缓解肝脏炎症反应在治疗 NAFLD 中特别重要。

长期高糖高脂饮食容易使肝脏发生脂肪变性,此时会引发应对脂肪过度沉积的代偿机制,线粒体脂肪酸氧化增强,但是脂肪酸氧化增强而产生的大量活性氧 ROS 可以促进白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 等有害炎症因子的基因表达,继而导致肝脏发生炎症反应^[42]。糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β) 被认为与 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等促炎因子在机体组织中表达的含量有关,但是 GSK-3 β 的活性受到 p-Akt 的抑制, p-Akt 通过磷酸化 GSK-3 β 上的 Ser9 来抑制其活性^[43]。研究发现,在 AMPK 信号通路被激活后, p-Akt 的含量增加,使 GSK-3 β 活性受到抑制, IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎因子的表达受到抑制^[44]。黄芪甲苷可以调控 AMPK/Akt/GSK-3 β 信号通路^[6,16,45],从而减少 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等有害促炎相关物质在肝脏组织中的表达,减轻肝脏炎症反应的程度^[24,46]。

Toll 样受体-4 (TLR4)/髓样分化因子 (MyD88)/核因子 κ B (NF- κ B) 作为介导炎症反应的经典通路,当 NAFLD 患者发展为 NASH 时,该通路被发现在肝组织中显著激活^[47]。TLR4 在所有肝组织细胞中均有表达,尤其是对于单核-巨噬细胞系统来源的肝库普弗细胞来说, TLR4 是其识别危险信号的主要管道^[48]。当机体处在非炎症反应

状态的情况下，NF- κ B 与核转录因子 κ B 抑制因子（IkB）结合形成复合物，以非活性稳定状态位于细胞质中^[49]。当机体由于不健康的饮食造成肠道菌群的紊乱，循环系统血液中的肠源性内毒素脂多糖和游离脂肪酸可以激活 TLR4，并与 MyD88 结合形成相关的复合物，然后激活下游分子 IkB 激酶，从而使 NF- κ B 能够转移进入核内，促进其下游炎症相关因子 TNF- α 、IL-6 的基因表达，诱导肝脏发生炎症反应^[49-50]。相关研究表明，黄芪甲苷能够通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号途径相关分子的基因表达，从而降低血液中 TNF- α 、IL-6 等有害炎症性物质的含量，缓解机体的炎症反应状态^[51]。

这些研究结果表明，黄芪甲苷能够通过调控 AMPK/Akt/GSK-3 β 和 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号途径中相关分子的水平来抑制炎症因子的基因表达，从而抑制肝脏炎症反应的发生和发展。

6 黄芪甲苷可以防止肝细胞发生凋亡

NAFLD 患者通常伴有粒体稳态失衡和内质网应激的情况，而这两方面原因常常是导致肝脏细胞发生凋亡的重要因素。

脂肪变性的肝细胞内存在大量未能及时清除的 ROS，ROS 通过攻击线粒体 DNA（mtDNA）来抑制呼吸链相关蛋白的基因表达，导致呼吸传递链受损，并随之产生更多的 ROS；ROS 靶向攻击线粒体膜通透性转运通道（MPTP）复合物上的相关蛋白，造成线粒体膜电位丢失^[52]。随后，细胞色素 c（Cyt c）由线粒体膜间隙转至胞质中，和凋亡蛋白酶活化因子 1（Apaf-1）以及 pro-caspase-9 结合，形成“凋亡小体”，进一步激活下游的 caspase-3 蛋白，引发细胞凋亡^[52-53]。B 淋巴细胞瘤-2（Bcl-2）蛋白多存在于线粒体外膜和内质网膜上，而且能与促凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白（Bax）形成异源二聚体，避免 Bax 自身形成同源二聚

体，从而稳定线粒体膜通透性，抑制 Cyt c 的释放^[52,54]。内质网发生稳态失调时，会通过 1，4，5 三磷酸肌醇受体（InsP3R）释放其储存的 Ca²⁺，导致细胞内 Ca²⁺ 超载，随后激活位于内质网膜的 caspase-12，被激活的 caspase-12 进入胞质中，然后作用于 caspase-9，进而激活 caspase-3，致使细胞发生凋亡^[55-57]。研究发现，Bcl-2 通过抑制内质网膜上的 InsP3R 来减少内质网的钙离子过量释放，从而减轻内质网途径引发细胞凋亡的情况^[58]。

研究发现，黄芪甲苷通过提高受损肝细胞 Bcl-2 水平，降低促凋亡蛋白 Bax 的水平，达到减轻细胞发生凋亡的情况^[59]。此外，黄芪甲苷还可以通过抑制受损肝组织 caspase-9、caspase-3 等凋亡因子的基因表达来缓解凋亡发生和发展的情况^[60]。这些研究结果表明，Bcl-2/Bax 信号因子调控 NAFLD 患者肝细胞发生凋亡的过程，可能是防治单纯性非酒精性脂肪肝向 NASH 转变的重要靶点，但相关深入的研究还不是很多，仍需要进一步探索。

7 总结与展望

NAFLD 的发病机制复杂多样，目前尚无疗效显著的治疗药物，中药具有多系统、多靶点的作用特点，针对病理机制复杂的疾病可发挥其综合优势。从目前的研究来看，黄芪甲苷主要通过抑制脂质合成相关基因的异常表达、提高抗氧化应激能力、减轻内质网应激程度、缓解 IR、减轻炎症反应和抑制细胞发生凋亡等方面作用抑制 NAFLD 的发生和发展，在相关研究也可以发现黄芪甲苷比 AMPK 激活剂 5-氨基咪唑-4-甲酰胺核糖核苷（AICAR）、二甲双胍、盐酸罗格列酮等药品或有更好的抗肝损伤效果^[12,34,39]。因此，黄芪甲苷具有不错的应用前景，有望将其开发成为具有良好疗效的临床治疗 NAFLD 的药物。黄芪甲苷抗实验性 NAFLD 的相关作用见表 1。

表 1 黄芪甲苷抗实验性 NAFLD 的作用总结

实验模型		给药剂量	给药途径	作用效果	文献
模型类型	造模方式				
HepG2 细胞	FFAs	100 μ g/mL	—	显著降低 HepG2 细胞内的脂质的量	[6]
C57BL/6 小鼠	高脂高糖	每天 60 mg/kg	灌胃	显著减少小鼠肝脏的脂质的量	[8]
HepG2 细胞	葡萄糖+胰岛素	10 μ g/mL	—	减轻 HepG2 细胞的胰岛素抵抗程度,显著减少细胞中的脂质的量	[12]
雄性 SD 大鼠	STZ+高脂高糖	每天 80 mg/kg	灌胃	显著减少大鼠肝脏的脂质的量,抑制肝糖异生	[16]
雄性 ICR 小鼠	高脂	每天 100 mg/kg	灌胃	减轻脂肪组织的脂解效应,显著减少小鼠肝脏脂质的量	[34]
雄性 SD 大鼠	STZ	每天 80 mg/kg	灌胃	显著减轻大鼠肝脏的病理损伤程度、胰岛素抵抗和氧化应激损伤情况	[39]
雄性 SD 大鼠	顺铂	每天 80 mg/kg	灌胃	显著减少大鼠肝脏中的脂质的量,缓解肝脏病理损伤程度,抑制肝脏炎症的发生和发展	[46]

然而，目前对于黄芪甲苷的实验研究仍存在一些不足之处（1）目前关于黄芪甲苷的药理作用研究多局限于动物和细胞实验，临床实验未见相关报道，因此距其开发为成熟的临床药物仍有很长的距离；（2）部分实验研究缺少阳性药物的参照，因此无法有力说明黄芪甲苷比现有临床药物更有优势，今后有关研究应重视增加阳性药物组这个问题；（3）许多临床疾病采用药物联合治疗的方案，且大

多表现出不错的效果，但是黄芪甲苷联合现有临床药物治疗 NAFLD 的实验研究匮乏，今后可从这方面开展相关研究；（4）关于黄芪甲苷在体内具体的代谢过程及其代谢产物的研究还存在相关空白，需要陆续开展；（5）目前针对黄芪甲苷的毒理学研究报道较少，虽然黄芪在临床用药中并未发现有明显的毒性作用，但黄芪甲苷作为黄芪的主要活性物质，不能保证其具有绝对的安全性，因此开展对黄

芪甲苷的毒理学研究非常有必要。

黄芪甲苷虽有多从方面途径治疗 NAFLD 的作用，但总结现有的研究报道可以了解其可能通过激活 AMPK 这个重要靶点来发挥相关作用，但黄芪甲苷在相关研究报道中与 AMPK 激活剂 AICAR 进行比较，发现黄芪甲苷或比 AICAR 的效果更好，因此是否存在其他更为关键的作用靶点值得深思。基于 AMPK 进行黄芪甲苷治疗 NAFLD 的分子机制研究可以作为今后研究的一个切入点，期待发现黄芪甲苷治疗 NAFLD 是通过激活更为重要的靶点，这对黄芪甲苷的临床应用或是其他新型药品的开发都具有重大意义。

参考文献:

- [1] Bessone F, Razori M V, Roma M G. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(1): 99-128.
- [2] Papatheodoridi M, Cholongitas E. Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): current concepts [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(38): 4574-4586.
- [3] Wu H, Gao Y, Shi H L, *et al.* Astragaloside IV improves lipid metabolism in obese mice by alleviation of leptin resistance and regulation of thermogenic network [J]. *Sci Rep*, 2016, 6 (1): 30190.
- [4] Chen T, Wang R N, Jiang W J, *et al.* Protective effect of astragaloside IV against paraquat-induced lung injury in mice by suppressing rho signaling[J]. *Inflammation*, 2016, 39(1): 483-492.
- [5] Ren S, Zhang H, Mu Y P, *et al.* Pharmacological effects of astragaloside IV: a literature review[J]. *J Tradit Chin Med*, 2013, 33(3): 413-416.
- [6] Zhou B, Zhou D L, Wei X H, *et al.* Astragaloside IV attenuates free fatty acid-induced ER stress and lipid accumulation in hepatocytes *via* AMPK activation[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(7): 998-1008.
- [7] Li X M, Wang X L, Han C Y, *et al.* Astragaloside IV suppresses collagen production of activated hepatic stellate cells *via* oxidative stress-mediated p38 MAPK pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 60: 168-176.
- [8] 杨小颖, 胡 芳, 韦晓虹, 等. 黄芪甲苷IV对非酒精性脂肪肝小鼠肝脏脂质代谢的作用[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(24): 4064-4067; 4071.
- [9] Hu J, Hong W, Yao K N, *et al.* Ursodeoxycholic acid ameliorates hepatic lipid metabolism in LO2 cells by regulating the AKT/mTOR/SREBP-1 signaling pathway [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(12): 1492-1501.
- [10] Carling D. AMPK signalling in health and disease[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, 45: 31-37.
- [11] Quan H Y, Kim D Y, Kim S J, *et al.* Betulinic acid alleviates non-alcoholic fatty liver by inhibiting SREBP1 activity *via* the AMPK-mTOR-SREBP signaling pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(9): 1330-1340.
- [12] Wang C Y, Li Y, Hao M J, *et al.* Astragaloside IV inhibits

triglyceride accumulation in insulin-resistant HepG2 Cells *via* AMPK-Induced SREBP-1c phosphorylation [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 345.

- [13] Li Y, Xu S Q, Mihaylova M M, *et al.* AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice[J]. *Cell Metab*, 2011, 13(4): 376-388.
- [14] Xie X, Yan D, Li H B, *et al.* Enhancement of adiponectin ameliorates nonalcoholic fatty liver disease *via* inhibition of FoxO1 in Type I diabetic rats [J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018: 6254340.
- [15] Qu S, Altomonte J, Perdomo G, *et al.* Aberrant forkhead box O1 function is associated with impaired hepatic metabolism[J]. *Endocrinology*, 2006, 147(12): 5641-5652.
- [16] 季天娇, 王中元, 朱云峰, 等. 黄芪甲苷调节 PI3K/Akt/FoxO1 通路抑制糖尿病大鼠肝糖异生[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(1): 78-86.
- [17] Ren H W, Shao Y, Wu C, *et al.* Metformin alleviates oxidative stress and enhances autophagy in diabetic kidney disease *via* AMPK/SIRT1-FoxO1 pathway[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020, 500: 110628.
- [18] Rains J L, Jain S K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50(5): 567-575.
- [19] Vomund S, Schäfer A, Parnham M J, *et al.* Nrf2, the master regulator of anti-oxidative responses[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): 2772.
- [20] Herzig S, Shaw R J. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(2): 121-135.
- [21] Yun H, Park S, Kim M J, *et al.* AMP-activated protein kinase mediates the antioxidant effects of resveratrol through regulation of the transcription factor FoxO1 [J]. *FEBS J*, 2014, 281 (19): 4421-4438.
- [22] Li X, Wu D, Ye T. Fibroblast growth factor 19 protects the heart from oxidative stress-induced diabetic cardiomyopathy *via* activation of AMPK/Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(1): 62-68.
- [23] Zhou X H, He L Q, Zuo S N, *et al.* Serine prevented high-fat diet-induced oxidative stress by activating AMPK and epigenetically modulating the expression of glutathione synthesis-related genes[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(2): 488-498.
- [24] Li L, Huang W X, Wang S K, *et al.* Astragaloside IV attenuates acetaminophen-induced liver injuries in mice by activating the Nrf2 signaling pathway[J]. *Molecules*, 2018, 23 (8): 2032.
- [25] González-Rodríguez A, Mayoral R, Agra N, *et al.* Impaired autophagic flux is associated with increased endoplasmic reticulum stress during the development of NAFLD [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(4): e1179.
- [26] Basseri S, Austin R C. ER stress and lipogenesis: a slippery slope toward hepatic steatosis[J]. *Dev Cell*, 2008, 15(6):

795-796.

[27] Henkel A, Green R M. The unfolded protein response in fatty liver disease[J]. *Semin Liver Dis*, 2013, 33(4): 321-329.

[28] Tian S C, Li B L, Lei P, *et al.* Sulforaphane improves abnormal lipid metabolism *via* both ers-dependent XBP1/ACC &SCD1 and ERS-Independent SREBP/FAS pathways[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62(6): e1700737.

[29] Prakash S, Rai U, Kosuru R, *et al.* Amelioration of diet-induced metabolic syndrome and fatty liver with sitagliptin *via* regulation of adipose tissue inflammation and hepatic Adiponectin/AMPK levels in mice [J]. *Biochimie*, 2020, 168: 198-209.

[30] Mottillo E P, Desjardins E M, Crane J D, *et al.* Lack of adipocyte AMPK exacerbates insulin resistance and hepatic steatosis through brown and beige adipose tissue function[J]. *Cell Metab*, 2016, 24(1): 118-129.

[31] Morigny P, Houssier M, Mouisel E, *et al.* Adipocyte lipolysis and insulin resistance[J]. *Biochimie*, 2016, 125: 259-266.

[32] Ding L, Zhang F, Zhao M X, *et al.* Reduced lipolysis response to adipose afferent reflex involved in impaired activation of adrenoceptor-cAMP-PKA-hormone sensitive lipase pathway in obesity[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34374.

[33] Smith B K, Marcinko K, Desjardins E M, *et al.* Treatment of nonalcoholic fatty liver disease; role of AMPK[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 311(4): E730-E740.

[34] Du Q, Zhang S H, Li A Y, *et al.* Astragaloside IV inhibits adipose lipolysis and reduces hepatic glucose production *via* Akt dependent PDE3B expression in HFD-Fed mice [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 15.

[35] Greenberg A S, Coleman R A, Kraemer F B, *et al.* The role of lipid droplets in metabolic disease in rodents and humans[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6): 2102-2110.

[36] Hou N, Mai Y P, Qiu X X, *et al.* Carvacrol attenuates diabetic cardiomyopathy by modulating the PI3K/AKT/GLUT4 pathway in diabetic mice[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 998.

[37] Zhang H, Ge Z J, Tang S Y Y, *et al.* Erythropoietin ameliorates PA-induced insulin resistance through the IRS/AKT/FOXO1 and GSK-3 β signaling pathway, and inhibits the inflammatory response in HepG2 cells[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2): 2295-2301.

[38] Ide T, Shimano H, Yahagi N, *et al.* SREBPs suppress IRS-2-mediated insulin signalling in the liver [J]. *Nat Cell Biol*, 2004, 6(4): 351-357.

[39] 徐 源, 黄存东, 李竹青, 等. 黄芪甲苷对糖尿病大鼠肝损伤保护作用及其机制研究[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(12): 1823-1829.

[40] 张海云, 常香荣. 黄芪甲苷通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路减轻重症急性胰腺炎大鼠肝损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(6): 984-989.

[41] Pradere J P, Troeger J S, Dapito D H, *et al.* Toll-like receptor 4 and hepatic fibrogenesis [J]. *Semin Liver Dis*, 2010, 30(3): 232-244.

[42] Cheng N, Chen S N, Liu X Y, *et al.* Impact of *Schisandra chinensis* bee pollen on nonalcoholic fatty liver disease and gut microbiota in highfat diet induced obese mice[J]. *Nutrients*, 2019, 11(2): 346.

[43] Martin M, Rehani K, Jope R S, *et al.* Toll-like receptor-mediated cytokine production is differentially regulated by glycogen synthase kinase 3[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(8): 777-784.

[44] Sag D, Carling D, Stout R D, *et al.* Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase promotes macrophage polarization to an anti-inflammatory functional phenotype[J]. *J Immunol*, 2008, 181(12): 8633-8641.

[45] Qin C D, Ma D N, Ren Z G, *et al.* Astragaloside IV inhibits metastasis in hepatoma cells through the suppression of epithelial-mesenchymal transition *via* the Akt/GSK-3 β / β -catenin pathway[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(3): 1725-1735.

[46] Qu X Y, Gao H, Tao L N, *et al.* Astragaloside IV protects against cisplatin-induced liver and kidney injury *via* autophagy-mediated inhibition of NLRP3 in rats[J]. *J Toxicol Sci*, 2019, 44(3): 167-175.

[47] Ham J R, Lee H I, Choi R Y, *et al.* Anti-steatotic and anti-inflammatory roles of syringic acid in high-fat diet-induced obese mice[J]. *Food Funct*, 2016, 7(2): 689-697.

[48] Baffy G. Kupffer cells in non-alcoholic fatty liver disease; the emerging view[J]. *J Hepatol*, 2009, 51(1): 212-223.

[49] Saravanan S, Islam V I, Babu N P, *et al.* Swertiamarin attenuates inflammation mediators *via* modulating NF- κ B/I κ B and JAK2/STAT3 transcription factors in adjuvant induced arthritis[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, 56: 70-86.

[50] Bian Z L, Peng Y S, You Z R, *et al.* CCN1 expression in hepatocytes contributes to macrophage infiltration in nonalcoholic fatty liver disease in mice[J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(1): 44-54.

[51] 张秋瓚. 黄芪甲苷基于 TLR4/NF- κ B 信号通路对非酒精性脂肪性肝病作用机制研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2019.

[52] Radi E, Formichi P, Battisti C, *et al.* Apoptosis and oxidative stress in neurodegenerative diseases [J]. *J Alzheimers Dis*, 2014, 42(Suppl 3): S125-S152.

[53] Campbell K J, Tait S W G. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer[J]. *Open Biol*, 2018, 8(5): 180002.

[54] Kawatani M, Imoto M. Deletion of the BH1 domain of Bcl-2 accelerates apoptosis by acting in a dominant negative fashion [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(22): 19732-19742.

[55] Cárdenas C, Miller R A, Smith I, *et al.* Essential regulation of cell bioenergetics by constitutive InsP3 receptor Ca²⁺ transfer to mitochondria[J]. *Cell*, 2010, 142(2): 270-283.

[56] Martinez J A, Zhang Z, Svetlov S I, *et al.* Calpain and caspase processing of caspase-12 contribute to the ER stress-induced cell death pathway in differentiated PC12 cells [J]. *Apoptosis*, 2010, 15(12): 1480-1493.

[57] 谢 羽, 孙警辉, 伍春莲. 内质网应激中 caspase-12 的核心作用 [J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(9):

3748-3753.

[58] Hanson C J, Bootman M D, Distelhorst C W, *et al.* Bcl-2 suppresses Ca²⁺ release through inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors and inhibits Ca²⁺ uptake by mitochondria without affecting ER calcium store content[J]. *Cell Calcium*, 2008, 44(3): 324-338.

[59] Xie D Y, Zhou P, Liu L, *et al.* Protective effect of astragaloside IV on hepatic injury induced by iron overload[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 3103946.

[60] 顾 明, 徐玉彬, 薛 峰, 等. 黄芪甲苷对大鼠肝脏缺血再灌注损伤和 Caspase 途径的影响[J]. 中华普通外科学文献(电子版), 2016, 10(3): 168-173.

基于皮肤微生态环境中药挥发油作用特点分析

应鹏云, 黄诗雨, 陈丽华*, 肖发林, 吕志豪, 朱卫丰, 管咏梅
(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

摘要: 正常皮肤能够起到保护机体、感知外界环境、分泌与排泄、调节体温等功能。皮肤微生态环境与皮肤功能密切相关, 一旦被破坏, 人体健康将受到威胁。本文基于中药挥发油对皮肤微生态环境作用特点, 分析探讨中药挥发油在皮肤微生态环境中的发展现状, 以为中药挥发油在皮肤疾病中的治疗提供背景支撑。

关键词: 中药挥发油; 皮肤微生态环境; 皮肤促透剂

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2021)08-2141-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.08.030

皮肤疾病是病原体入侵人体后产生的不良反应, 其发病原因不仅取决于病原体的入侵, 更取决于皮肤表面的微生态环境的平衡。皮肤表面的菌群量比例及皮肤炎症等微环境的异常既是内部病变在体表的反映, 也是局部病变的诱因^[1]。传统中医认为, 中药挥发油具有祛寒温里、解暑祛秽、驱风除湿、活血化瘀、止咳平喘、发散解表、理气止痛、清热解毒等功效^[2]; 现代研究表明中药挥发油具有抗菌^[3]、抗炎^[4]、抗肿瘤^[5]、抗病毒^[6]、药物透皮吸收促透^[7]等药理作用, 并可通过调节局部皮肤微生态环境使皮肤组织中的生物因子及生理结构发生改变, 从而对皮肤组织产生影响, 以达到相应的治疗效果。基于中药挥发油对皮肤微生态环境作用特点, 分析探讨中药挥发油在皮肤微生态环境中的发展现状并提出展望, 以为后续研究提供参考。

1 皮肤微生态环境概述

皮肤微生态环境是指由皮肤表面各种微生物、组织细胞及其各种分泌物、外部环境等共同组成的生态系统^[8]。在正常的外部环境下, 皮肤定植在皮肤表面的微生物能与宿主细胞交流产生各类分泌物, 形成稳定的微生态环境, 保护机体的健康。如表皮葡萄球菌能够分泌抗菌肽, 防止病原体入侵; 某些细菌产生抑制炎症的化学物质, 并有助于加强紧密的细胞接触, 使皮肤细胞排列紧密, 提高对机

体的保护能力; 还有一些细菌与称为树突细胞的免疫细胞相互作用, 激活细胞毒性 T 细胞, 加速伤口愈合^[9]。相对稳定的皮肤微生态环境可以保护机体健康, 形成一道生物屏障。如果皮肤微生态环境的平衡被打破, 将使得皮肤生物屏障损伤, 可引起表皮 pH 升高, 皮肤表面病原微生物定植、表皮细胞脱落异常、角质层完整性的破坏等一系列现象^[10], 对皮肤健康产生影响。目前在皮肤方面中药挥发油已经广泛应用于医疗、美容行业, 研究中药挥发油对皮肤微生态环境的作用机制及发展问题, 对于开发护肤产品、治疗皮肤疾病及药物制剂方面都有着重要意义。

2 中药挥发油对皮肤微生态环境作用特点分析

2.1 抗皮肤氧化 在机体的抗氧化系统中, 一系列的抗氧化物质, 统称抗氧化剂或者抗氧化酶。机体内小分子非酶抗氧化剂与活性氧自由基的产生, 在正常情况下是平衡的^[11]。但当体内产生的自由基过量后, 会将体内的不饱和脂肪酸氧化成超氧化物, 从而形成脂褐素, 引起人体损伤, 导致皮肤衰老^[12]。中药挥发油具较多数量的酚羟基, 具有很强的还原性, 对皮肤有良好的抗氧化作用, 其机制为通过提高抗氧化酶清除体内自由基的能力并且激活单酶, 从而降低脂质过氧化产物丙二醛的含量阻断自由基的反应链, 清除自由基, 延缓皮肤衰老。再者与过渡金属离子相互作用, 抑制金属离子催化氧化, 终止高活性自由基和烷基的

收稿日期: 2020-12-13

基金项目: 江西省主要学科学术和技术带头人培养计划-领军人才项目(20204BCJL22048); 江西省重大科技研发专项(S2019ZDYFB0027); 江西省自然科学基金项目(20181BAB205078); 含生物碱类中药复方配伍生物药剂学评价(5251800251)

作者简介: 应鹏云(1996—)男, 硕士生, 研究方向为中药新制剂与新技术。Tel: 18679227779, E-mail: 157199521@qq.com

* 通信作者: 陈丽华, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药新剂型与新技术。Tel: 13970989729, E-mail: Chlly98@163.com