

中药致药源性肝损伤的氧化应激机制研究进展

王君明, 崔瑛*, 申玲玲, 刘文娟, 张廷
(河南中医学院药学院, 郑州 450008)

[摘要] 由于各种新药的广泛应用以及联合用药的增多, 药源性肝损伤(DILI)已成为医疗卫生工作者、制药工业和药品管理部门共同面对的重要问题。大量研究表明, 氧化应激对中药致 DILI 的产生起重要作用, 而具有抗氧化作用的中药通过对抗氧化应激而对 DILI 有一定的拮抗作用。作者主要对中药致 DILI 的氧化应激机制以及常见抗氧化中药对 DILI 的拮抗的研究进展进行综述和分析。

[关键词] 中药; 药源性肝损伤; 氧化应激

[中图分类号] R285 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)05-0247-03

Research Progress in Mechanism Based on Oxidative Stress of Liver Injury Induced by Chinese Medicine

WANG Jun-ming, CUI Ying*, SHEN Ling-ling, LIU Wen-juan, ZHANG Ting
(School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] Due to wide applications of various new drugs and more and more combination therapies, drug-induced liver injury(DILI) has become a major and common problem for workers engaged in health care, pharmaceutical industries and drug administration departments. Many studies reported that oxidative stress(OS) could play an important role in the liver injury induced by Chinese medicine. In recent years, researchers have found that Chinese medicines which have antioxidant action can inhibit DILI by preventing against OS. The present study mainly reviewed on the OS-based mechanism of DILI and the protection against it by the common antioxidant Chinese medicine.

[Key words] Chinese medicine; drug-induced liver injury; oxidative stress

一般认为, 中草药为天然的物质, 比较安全, 不良反应少, 且对某些西药无效的疾患有有一定的疗效, 因此无论在东方和西方国家中应用日趋广泛, 从而, 不可避免的发现有中药诱发药源性肝损伤(DILI)的不断报道^[1-3]。深入研究中药诱发 DILI 的机制, 对 DILI 的预防和治疗有很大的帮助。大量研究表明, 氧化应激对 DILI 的产生起重要作用^[4-6], 且近年来研究发现具有抗氧化作用的中药通过对抗氧化应激

而对 DILI 有一定的拮抗作用^[7-9]。因此, 本文对中药致 DILI 的氧化应激机制、以及常见抗氧化中药对 DILI 的拮抗的研究进行综述和探讨, 以期对 DILI 疾病的研究和治疗提供文献依据和思路启发。

1 中药致 DILI 的氧化应激机制

在机体的各个器官和细胞内都有抗氧化机制, 但相比之下, 肝细胞比其他细胞有更高的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、还原型谷胱甘肽(GSH)等抗氧化剂水平, 从而具有更强的抗氧化功能。因此肝细胞内一旦有活性氧(reactive oxygen species, ROS)的过量产生和抗氧化机制低下, 就容易导致氧化应激状态, 发生细胞膜脂质过氧化、细胞器功能异常、炎症反应, 出现核的氧化损伤等^[10]。

1.1 脂质过氧化水平过高^[11-12] 系指氧化应激增强使 ROS 产生增多, 导致 ROS 氧化生物膜, 即 ROS 与膜磷脂的多不饱和脂肪酸发生氧化反应形成脂质过氧化物(lipoperoxides,

[收稿日期] 20101015(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30772794); 河南中医学院博士科研基金(BSJJ2010-22)

[第一作者] 王君明, 博士学位, 讲师, 从事中药药效物质基础作用机制研究, Tel: 13592604581, E-mail: mjw98_2010@163.com

[通讯作者] * 崔瑛, 博士, 教授, 从事中药学教学及科研工作, Tel: 13783641613

LPO)。脂质过氧化的增加来自持久、大量 ROS 的产生。LPO 不仅使 ROS 增加, 毒性增强, 而且可抑制抗氧化系统, 削弱细胞防御机制, 增加其对外源性过氧化物毒害的敏感性。一般认为机体中过量的自由基导致脂肪酸链和细胞膜完整性的破坏, 是中药致 DILI 的主要作用机制之一。

1.2 GSH 水平异常^[13-15] GSH 是含巯基的非蛋白质化合物, 可以保护含巯基的重要蛋白质或酶免受氧化剂尤其是过氧化物的损害; 是低分子清除剂, 可以清除超氧阴离子 O_2^- 、过氧化氢 H_2O_2 等自由基; 也可作为谷胱甘肽过氧化酶和谷胱甘肽转化酶的底物, 减少或抑制氧自由基的产生。缺乏或耗竭 GSH 会加重许多药物产生的毒性作用, 增加氧化损伤, 是中药致 DILI 的作用机制之一。

1.3 GSH 相关酶水平异常 在 GSH 发挥作用的过程中, 谷胱甘肽相关酶对其作用的发挥起到至关重要的作用。谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶^[16]。硒是 GPx 酶系的组成成分, 它能催化 GSH 变为 GSSG, 使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物, 同时促进 H_2O_2 的分解, 从而保护细胞膜的结构及功能免受过氧化物的干扰及损害。谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 是一种多功能酶, GST 的生物学作用主要是催化 GSH 的巯基攻击亲电子性物质的亲电中心, 产生硫醚连接的谷胱甘肽结合物, 在 GSH 存在下使 ROOH 转变为 ROH, 抑制脂质过氧化。谷胱甘肽还原酶 (GR) 是一种黄素酶, 每分子酶蛋白含有一分子的 FAD, 由辅酶 NADPH 供氢, 催化氧化型谷胱甘肽 (GSSG), 还原成 GSH^[16]。体内谷胱甘肽半胱氨酸连接酶 (GCL) 是合成谷胱甘肽的限速酶^[17]。以上 GSH 相关酶水平异常, 依然会加重药物对机体的毒性, 亦是中药致 DILI 发生的机制之一。

1.4 抗氧化相关酶水平低下 机体内除了含有谷胱甘肽相关酶系统, 还有其他的比较重要的抗氧化酶, 如 SOD, CAT 等。SOD 属于抗氧化酶类, 存在于有氧代谢的细胞内, 构成体内第一道抗氧化酶防御体系。目前已知的哺乳动物体内 SOD 有 3 种异构体^[18], 分别是 CuZn-SOD, Mn-SOD 和细胞外超氧化物歧化酶 (EC-SOD 或 SOD3)。CuZn-SOD 主要存在于哺乳动物细胞的胞浆、胞核及溶酶体、过氧化物酶体内。Mn-SOD 主要存在于需氧细胞的线粒体中。EC-SOD 是 1982 年 Marklund 等首先在动物血浆中发现的, 在人体中主要分布在组织外基质和细胞表面上, 是细胞外液如血浆、淋巴液、关节液及脑脊液中最主要的 SOD 同工酶, 其本质也是 CuZn-SOD, 是清除细胞外 O_2^- 的主要酶。98% 以上的 EC-SOD 结合在细胞表面和结缔组织基质中的硫酸乙酰肝素上。因为 O_2^- 难以穿过细胞膜, 3 种 SOD 主要在它们各自的部位发挥保护功能。SOD 是以氧自由基连锁反应前体物 O_2^- 为唯一底物的清除剂, 加入 SOD 后消耗 O_2^- , 使邻菲罗啉 (Phen) : Cu· 产量减少, 而 DNA 或脱氧核糖的损伤程度与 (Phen) : Cu· 的产量呈正相关, 因此, 活性 SOD 可降低 DNA 或脱氧核糖的损伤程度。CAT 存在于细胞的过氧化体内, 催化 H_2O_2 生成水

和氧气, 某些细胞器如线粒体产生的 H_2O_2 可透过细胞器膜进入胞浆, 再到达过氧化体而被过氧化氢酶清除。机体抗氧化酶 SOD 或 CAT 水平低下时, 过多的自由基得不到清除, 肝脏对药物的敏感性过强, 从而使中药诱导 DILI 的发生。

2 常见致 DILI 的中药及氧化应激的参与

目前已经发现的可诱发 DILI 的药物主要有黄药子^[11]、千里光^[19]、穿心莲^[20]、苦楝皮^[21]、雷公藤^[22]、苍耳子^[23]、川楝子^[24]、大黄^[25]、全蝎^[25]、白花蛇^[25]、乌梢蛇^[25]、僵蚕^[25] 等中药。笔者主要以黄药子和千里光为例, 来阐释氧化应激参与中药致 DILI 的情况。

就中药黄药子^[11] 而言, 小鼠被连续 ig 给予黄药子的 80% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物 (EF) 14 d 可诱发 DILI; 进一步分析发现, 小鼠肝组织脂质过氧化 (LPO) 水平极显著升高, 肝抗氧化物质谷胱甘肽 (glutathione) 含量、抗氧化酶超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽相关酶谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx)、谷胱甘肽-S-转移酶 (GST)、谷胱甘肽还原酶 (GR)、谷胱甘肽半胱氨酸连接酶 (GCL) 的活性均显著降低, 抗氧化酶过氧化氢酶 (CAT) 活性亦有降低趋势。以上结果表明, 氧化应激在黄药子诱发的肝损伤中起到了重要作用。

笔者曾所在的课题组研究^[19] 结果显示, 小鼠单次 ig 给予从中药千里光中提取纯化而获取的吡咯里西 类生物碱 isolate (100 mg·kg⁻¹) 36 h 后, 可诱发 DILI; 进一步对小鼠肝组织分析后发现, 肝总抗氧化能力明显降低, LPO 水平显著升高, GPx 活力明显降低, 表明氧化应激参与了 isolate 诱导的 DILI。

总之, 氧化应激在这些药物诱发的 DILI 中有不同程度的参与和影响。

3 常见具有抗氧化作用的中药对氧化应激致 DILI 的拮抗

从天然资源中寻找有效的抗氧化物质用于防治 DILI 疾病和维持机体健康已成为人们关注的话题。抗应激及抗氧化作用的中药或其活性成分可以通过缓解氧化应激状态及提高机体的内源性抗氧化能力来改善与预防应激性 DILI 疾病的发生。

目前对于这方面的研究取得了一定的进展。刘树民等^[26] 考察了黄芪对苍耳子诱导的 DILI 的拮抗作用, 结果显示苍耳子诱导了 DILI, 黄芪可明显拮抗由苍耳子诱导的 DILI; 进一步肝组织分析后发现, 苍耳子诱导了肝 LPO 水平的显著升高、GST 和 GPx 活力均明显降低, 而联合给予黄芪后, 肝 LPO 水平明显逆转, 被降低的肝 GST 和 GPx 活力均明显升高, 表明黄芪对由苍耳子诱导的氧化应激性 DILI 具有明显的保护作用。另有研究报道^[27], 当归可显著升高被黄药子诱导的过低的肝 SOD 和 GST 活力, 提示当归对黄药子诱导的氧化应激性 DILI 有明显的保护作用。另有单体的实验研究^[28] 显示, 中药茶叶中的化学成分茶多酚对雷公藤中的活性成分雷公藤甲素 (雷公藤内酯醇) 诱导的 DILI 亦有明显的保护作用; 进一步肝组织分析后发现, 茶多酚可通过逆转由雷公藤甲素诱导的肝 LPO 水平, SOD, GST 活力的异常, 而起

到保肝作用。

4 结语

总之,氧化应激在中药致 DILI 的发生过程中起着重要的作用,在中药拮抗 DILI 的过程中也发挥了不可忽视的作用。已知的抗氧化剂众多,而中药抗氧化剂更是一个巨大的天然宝库。如何从中药中快速筛选到针对 DILI 活性强的抗氧化剂,服务于患者,则是摆在广大研究工作者面前亟待解决的问题。本文试图阐述中药致 DILI 的氧化应激机制研究进展,对研发有效的抗氧化剂,以及对探索治疗中药致 DILI 的新途径具有重要的理论价值和临床意义。

[参考文献]

- [1] Wang J, Ji L, Liu H, et al. Study of the hepatotoxicity induced by *Dioscorea bulbifera* L. rhizome in mice [J] . Biosci Trends, 2010, 4(2) : 79.
- [2] Chau T N. Drug-induced liver injury: an update [J] . Hong Kong Med Diary, 2008, 13(3) : 23.
- [3] 梁爱华, 叶祖光. 千里光属植物的毒性研究进展 [J] . 中国中药杂志, 2006, 31(2) : 93.
- [4] Holt M P, Ju C. Mechanisms of drug-induced liver injury [J] . AAPS J, 2006, 8(1) : E48.
- [5] Han D, Shinohara M, Ybanez M D, et al. Signal transduction pathways involved in drug-induced liver injury [J] . Handb Exp Pharmacol, 2010(196) : 267.
- [6] Santos N A, Medina W S, Martins N M, et al. Involvement of oxidative stress in the hepatotoxicity induced by aromatic antiepileptic drugs [J] . Toxicol In Vitro, 2008, 22(8) : 1820.
- [7] Ip S P, Yiu H Y, Ko K M. Schisandrin B protects against menadione-induced hepatotoxicity by enhancing DT-diphosphorase activity [J] . Mol Cell Biochem, 2000, 208(1/ 2) : 151.
- [8] Pan S Y, Han Y F, Carlier P R, et al. Schisandrin B protects against tacrine- and bis(7) -tacrine-induced hepatotoxicity and enhances cognitive function in mice [J] . Planta Med, 2002, 68(3) : 217.
- [9] Yamada S, Murawaki Y, Kawasaki H. Preventive effect of gomisin A, a lignan component of *shizandra* fruits, on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats [J] . Biochem Pharmacol, 1993, 46(6) : 1081.
- [10] 光吉博则, 谷仁焯. 氧化应激的病理生理作用 [J] . 日本医学介绍, 2007, 28: 150.
- [11] Kavita G, Ayanabha C, Arunabha R. Modulation of stress-induced neuro behavioral changes and brain oxidative injury by nitric oxide(NO) mimetics in rats [J] . Behav Brain Res, 2007, 182: 226.
- [12] Mayne S T. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research [J] . J Nutr, 2003, 13: 933.
- [13] Han D, Hanawa N, Saberi B, et al. Mechanisms of liver injury. III. Role of glutathione redox status in liver injury [J] . Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2006, 291: G1.
- [14] Pari L, Prasath A. Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats [J] . Chem Biol Interact, 2008, 173: 77.
- [15] Zhou L, Rui J A, Zhou R L, et al. Liver injury after intermittent or continuous hepatic pedicle clamping and its protection by reduced glutathione [J] . Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2004, 3: 209.
- [16] Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase [J] . Methods Enzymol, 1985, 113: 484.
- [17] Zheng S Z, Fu Y M, Chen A P. De novo synthesis of glutathione is a prerequisite for curcumin to inhibit hepatic stellate cell(HSC) activation [J] . Free Radic Biol Med, 2007, 43(3) : 444.
- [18] Zelko I N, Mariani T J, Folz R J. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD(SOD1) , Mn-SOD(SOD2) , and EC-SOD(SOD3) gene structures, evolution, and expression [J] . Free Radic Biol Med, 2002, 33(3) : 337.
- [19] Liu T Y, Chen Y, Wang Z Y, et al. Pyrrolizidine alkaloid isoline-induced oxidative injury in various mouse tissues [J] . Exp Toxicol Pathol, 2010, 62(3) : 251.
- [20] Ji L L, Shen K K, Liu J, et al. Intracellular glutathione regulates Andrographolide-induced cytotoxicity on hepatoma Hep3B cells [J] . Redox Rep, 2009, 14: 176.
- [21] Zhang Y, Qi X, Gong L, et al. Roles of reactive oxygen species and MAP kinases in the primary rat hepatocytes death induced by toosendanin [J] . Toxicology, 2008, 249(1) : 62.
- [22] Su Y, Yang S, Xiao Z, et al. Triptolide alters mitochondrial functions [J] . Adv Exp Med Biol, 2007, 599: 139.
- [23] 刘树民, 姚珠星, 白庆云, 等. 苍耳子对小鼠血清氨基转移酶及肝脏丙二醛含量的影响 [J] . 药物不良反应杂志, 2006, 8(1) : 17.
- [24] Yuen M F, Tam S, Fung J, et al. Traditional Chinese Medicine causing hepatotoxicity in patients with chronic hepatitis B infection: a 1-year prospective study [J] . Aliment Pharmacol Ther, 2006, 24(8) : 1179.
- [25] 刘树民, 姚珠星, 张丽霞. 黄芪对苍耳子肝毒性影响的实验研究 [J] . 药物不良反应杂志, 2007, 9(1) : 17.
- [26] Liu S M, Li Y J, Luo M M, et al. The detoxification action of Chinese angelica root to *Dioscorea bulbifera* L [J] . Chin J Integr Tradit West Med, 2004, 14(4) : 216.
- [27] 李钦民, 韩真. 茶多酚对雷公藤内酯醇致小鼠肝损害的保护作用 [J] . 世界华人消化杂志, 2006, 14(9) : 908.

[责任编辑 邹晓翠]