

丹参化学成分抗纤维化药理作用及机制研究进展

孙宁远, 朱雪林, 陈君*

(中国药科大学 中药学院, 南京 211198)

[摘要] 纤维化是以成纤维细胞活化与细胞外基质异常增多和过度沉积为特征的病理过程,可发生于多种器官,持续进展可致器官结构破坏和功能减退乃至衰竭,严重威胁人类健康和生命。由于纤维化病理机制的复杂性,目前临床上仍缺乏有效的治疗药物。中药丹参为唇形科植物丹参的干燥根及根茎,是常用的活血化瘀药。现代药理学研究表明,丹参中的丹参酮类和丹酚酸类成分具有抗氧化、抗炎、抑制胶原纤维产生和促进纤维蛋白降解、抑制细胞增殖等多方面作用,在防治组织器官纤维化方面具有良好的应用前景。该文结合最新研究进展,对丹参中主要成分的抗纤维化药效和作用机制进行综述,以期对丹参的进一步研究和应用提供参考。

[关键词] 丹参; 化学成分; 抗纤维化

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)22-0201-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201870

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200724.1825.022.html>

[网络出版日期] 2020-7-25 09:35

Research Progress of Anti-fibrosis Pharmacological Effect and Mechanisms of Chemical Components in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

SUN Ning-yuan, ZHU Xue-lin, CHEN Jun*

(School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] Fibrosis is a pathological feature of most chronic inflammatory diseases, which is pathologically characterized by activation of fibroblasts and deposition of extracellular matrix components. Fibrosis affects nearly every tissue in the body. If highly progressive, the fibrotic process eventually leads to organ malfunction and even death. Due to the complexity of the pathological mechanism of fibrosis, there is still a lack of effective therapeutic drugs. *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, dry roots and rhizomes of *Salvia miltiorrhiza*, is a kind of traditional Chinese medicines for activating blood and removing stasis. Modern pharmacological studies have shown that the tanshinones and salvianolic acids in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* have a wide range of anti-fibrosis effects, such as inhibiting the production of collagen fibers, promoting the degradation of fibrin, and inhibiting cell proliferation. In this review, pharmacological actions and mechanisms of active ingredients of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* were summarized to provide references for the further development and utilization of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*.

[Key words] *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; chemical components; anti-fibrosis

纤维化主要的病理改变为器官组织内纤维结缔组织增多和实质细胞减少,可见于肺、肝、肾、心脏、皮肤等多种器官,持续进展可致器官结构破坏

和功能减退,乃至衰竭^[1]。尽管不同组织和器官纤维化的致病机制复杂且不尽相同,但其基本共性过程都是在炎症、免疫反应等各种刺激诱导下,实质

[收稿日期] 20200318(025)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2019YFC1711000)

[第一作者] 孙宁远,硕士,从事中药活性成分的药理学评价与作用机制研究,E-mail:oncesnowm@163.com

[通信作者] *陈君,教授,从事中药活性成分发现、作用机制与质量评价研究,E-mail:chenj2002cpu@126.com

细胞损伤进而坏死,刺激相应的巨噬细胞释放多种生长因子和促炎性细胞因子等,导致肌成纤维细胞激活和大量增殖,并分泌细胞因子,通过旁分泌方式再作用于巨噬细胞,肌成纤维细胞合成大量胶原等细胞外基质(ECM)成分,导致ECM过度沉积,进而发展为纤维化^[2-6]。重要脏器的纤维化严重影响人类健康,目前仍是世界医学的研究热点和难题。

纤维化的现代医学诊治存在着难以早期诊断,缺乏针对纤维化的治疗药物及预后不良的问题。而中药具有多成分、多环节、多靶点的作用特点,对复杂性疾病发挥协同整合、综合调节的作用^[7],在治疗纤维化方面显示出独特的优势。

中药丹参来源于唇形科植物丹参的干燥根和根茎,具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦的传统功效^[8]。现代研究发现,丹参能有效抵抗多种组织器官纤维化疾病,可通过抑制肌成纤维细胞激活和ECM沉积等,在一定程度上可恢复纤维化的病理生理学改变,同时丹参对纤维化发病过程中的氧化应激、炎症损伤、微循环障碍等环节可发挥保护作用,在防治纤维化方面具有良好的应用前景。丹参中主要的活性成分为脂溶性的丹参酮类成分和水溶性的丹酚酸类成分。脂溶性成分属于二萜醌型结构,主要包括丹参酮Ⅱ_A(TanⅡ_A),丹参酮Ⅱ_B(TanⅡ_B),隐丹参酮(CTS),丹参酮Ⅰ(TanⅠ),二氢丹参酮Ⅰ(DHTS)等。水溶性成分主要有丹酚酸A(Sal A),丹酚酸B(Sal B),丹参素(tanshinol),迷迭香酸,紫草酸,咖啡酸等酚酸类成分^[9]。本文针对丹参这两类活性成分在抗纤维化作用及其可能的作用机制方面进行总结分析,以期对丹参治疗纤维化疾病提供研究思路 and 参考。

1 防治肝纤维化

肝纤维化是指由各种致病因子所致肝内结缔组织异常增生,肝内弥漫性ECM过度沉淀的病理过程^[1]。炎症是肝纤维化的重要诱因之一,在肝损伤初期,会引发炎症反应作为机体防御机制。而随着损伤的持续,炎症反应持续加重,各种炎性介质和细胞因子分泌增多,导致肝ECM异常增多和过度沉积,最终导致纤维化^[10]。现有研究表明,在四氯化碳致大鼠肝纤维化模型中,分别给与TanⅡ_A(10, 20 mg·kg⁻¹), tanshinol(20 mg·kg⁻¹)进行干预治疗后,相比模型组,肝功能指标(天门冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶)、肝组织病理改变、血浆肝纤维化指标(包括透明质酸,Ⅳ型胶原蛋白,层粘连蛋白和Ⅲ型胶原前肽)均有明显改善,表明TanⅡ_A,

tanshinol具有抗肝纤维化活性。进一步研究发现,其机制与抑制核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,减少炎症因子生成有关^[11-12]。此外, TanⅡ_A和tanshinol还可以通过增强超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等自由基清除酶的活性^[12-15],减轻肝脏病理损伤,发挥间接防治纤维化的作用。

肝纤维化过程中合成的ECM主要包括Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ,Ⅳ型胶原;转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)能促进胶原与基质的合成,同时抑制其降解;基质金属蛋白酶(MMP)及其抑制剂(TIMP)是影响ECM降解的最主要的一组酶系^[16]。研究表明DHTS(25 mg·kg⁻¹)能够降低胆管结扎致肝纤维化大鼠肝组织中天门冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶、谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶的水平及血清肝纤维化标志物如透明质酸,Ⅲ型胶原前肽的含量,具有改善肝损伤,降低纤维化程度的作用。其可剂量依赖性和时间依赖性地抑制原代肝星状细胞中Ⅰ型胶原, TGF- β_1 及 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)mRNA和蛋白水平及下游纤维化相关基因的表达,加速肝脏胶原的降解^[17]。Tanshinol(20, 40 mg·kg⁻¹)可增加肝纤维化大鼠肝组织中MMP-13, MMP-1 mRNA水平,下调TIMP-1和Ⅰ/Ⅲ型胶原蛋白的mRNA水平,致使MMP-13/TIMP-1升高,促进胶原降解,并通过干预磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路恢复MMP-13和TIMP-1之间的平衡,延缓肝纤维化进程^[14]。

目前普遍认为,肝星状细胞在肝纤维化过程中起重要作用。致病因素激活肝星状细胞增殖活化为肌成纤维细胞,表现出明显的细胞增殖、收缩性增加、大量表达 α -SMA^[18],加速肝脏的进一步损伤。研究发现,经Sal A, B处理后,肝纤维化小鼠肝组织中 α -SMA和Ⅰ型胶原水平明显降低,说明Sal A, Sal B可延缓肝纤维化进程。体外研究证实,PI3K/Akt信号通路参与调节肝星状细胞活化的很多过程,包括胶原的合成和细胞增殖^[19]。Sal A(5, 15 mg·kg⁻¹)可抑制该信号通路,进而达到抗肝纤维化的作用^[20]。多种肌细胞增强因子2(MEF2)亚型已被证明参与了肝星状细胞的活化过程,MEF2A, C, D蛋白含量在体外诱导的人肝星状细胞活化过程中升高,而Sal B(1 μ mol·L⁻¹)能够减少MEF2A, MEF2C的mRNA和蛋白含量的增加,抑制肝星状细胞活化^[21]。此外, Hedgehog信号通路被发现是肝

细胞损伤与肝星状细胞活化的关键枢纽,在肝纤维化的病理过程中发挥着重要作用^[22]。有研究证实作为 Hedgehog 信号通路负向调控因子的 Patched1 蛋白,其启动子在肝纤维化进展时会高度甲基化。Sal B ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)可降低 DNA 甲基转移酶 1 的活性,增强 Patched1 的表达及去甲基化水平,抑制 Hedgehog 信号通路活化,从而发挥抗肝纤维化的作用^[23]。

血管新生是纤维化形成的一个重要病理过程。肝纤维化区域的新生血管本身未成熟,无法改善局部的组织缺氧,血管新生与组织缺氧之间形成恶性循环,继而导致肝纤维化进行性加重^[24]。血管内皮细胞生长因子(VEGF)是重要的促血管内皮细胞再生的细胞因子,缺血或缺氧是诱导其异常表达的主要因素,受缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)调控。Tan II_A ($7.1\sim 21.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)能够降低四氯化碳致肝纤维化大鼠肝组织中 VEGF 和 HIF-1 α 的表达水平,改善肝脏微循环,有效缓解缺血、缺氧状态,治疗肝纤维化^[25]。

各种病理因素刺激可导致肝细胞凋亡,肝细胞凋亡后形成的凋亡小体或其他碎片可活化肝星状细胞,诱导肝纤维化。CTS ($20, 40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对 D-氨基半乳糖/内毒素联合诱导的爆发性肝衰竭小鼠模型中肝细胞损伤、凋亡均有一定的保护作用,具有抗肝纤维化的作用,其作用机制可能与抑制凋亡蛋白含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(Caspase)-3, 8 和 9 活化,降低细胞色素 C 的释放有关^[26]。研究发现 Sal A ($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)可通过调节沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1)介导的热休克转录因子 1(HSF1)脱乙酰作用,减轻胆管结扎诱导所致的内质网应激,减少肝细胞凋亡,治疗肝纤维化^[27-28]。此外,Sal A ($0.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)可缓解由高脂饮食喂养和链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠的肝纤维化进程,其机制可能与减少肝细胞的凋亡、改善糖尿病大鼠的肝线粒体呼吸功能有关^[29]。

2 防治肺纤维化

肺纤维化是以炎症和 ECM 沉积为特征,呈进展性和致死性的弥漫性肺间质疾病。研究发现,CTS ($20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)能够改善辐射诱导导致肺损伤大鼠的体重降低及肺功能指标(潮气量、最大通气量、呼吸率),恢复肺纤维化大鼠的肺系数,治疗肺纤维化,其可能机制与调节炎症因子的产生和释放,减少肺损伤大鼠早期肺部的炎症浸润有关^[30]。博来霉素(BLM)诱导所致肺纤维化大鼠经 Tan II_A

($25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)治疗后,肺部组织病理损伤(间质增厚、炎性细胞过度浸润)减轻,肺组织中纤维化标志物 I 型胶原和羟脯氨酸的含量降低,显示出 Tan II_A 良好的抗肺纤维化活性。机制研究表明,其通过激活核因子 E₂ 相关因子 2(Nrf2),抑制 TGF- β_1 /Smad 信号通路介导的上皮间质转换(EMT),调控 Smads 蛋白磷酸化,从而减轻肺部 ECM 沉积^[31-33]。

研究显示,肺纤维化患者的成纤维细胞内活性氧簇(ROS)水平明显升高,肺组织中脂质过氧化物明显增多,表明肺纤维化程度与氧化应激水平呈正相关^[34]。细胞内 ROS 的产生主要来自膜结合的 NAPDH 氧化酶(NOX)的催化作用。NOX-4 是 NOX 中与纤维化关系最为密切的一个,在活化的肌成纤维细胞和 BLM 诱导的啮齿类动物肺纤维化模型中,都能发现 NOX-4 表达水平升高^[35]。FENG 等^[36]研究发现, Tan II_A ($25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)能够抑制 NOX-4 的表达,激活 Nrf2/抗氧化反应元件(ARE)信号通路,降低氧化应激标志物的水平,减轻肺组织结构的氧化损伤,对二氧化硅诱导的肺损伤具有良好的保护作用。LIU 等^[37]研究表明,经 Sal B ($200, 400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理后,百草枯所致小鼠肺泡失去正常结构、肺泡壁变厚、大量炎性细胞浸润等肺损伤程度有所改善,肺组织中胶原蛋白, α -SMA 和羟脯氨酸的含量降低,血清中丙二醛(MDA)含量减少,以高剂量组作用更为明显。其作用机制与上调小鼠肺组织中 Nrf2 mRNA 和蛋白水平,并在体外诱导 Nrf2 蛋白核易位,降低 NOX-4 的表达,调控氧化还原平衡有关。

丹参活性成分还可以通过抑制成纤维细胞增殖活化来发挥抗肺纤维化作用。纤维性病灶是肺纤维化的基础病理改变,其主要组成细胞是增殖的肌成纤维细胞和成纤维细胞。活化的成纤维细胞表达多种间质性标志物和胶原产物,在纤维化的病理进程中扮演着重要角色^[38]。通过 TGF- β_1 调节机制诱导肌成纤维细胞的活化,加剧薄壁组织损伤是肺纤维化重要的上游驱动机制^[39]。TGF- β_1 能直接诱导成纤维细胞分化成肌成纤维细胞,且在纤维细胞的募集和肌成纤维分化中起重要作用^[40]。Tan II_A 能够在 TGF- β_1 诱导的成纤维细胞激活模型中抑制成纤维细胞向肌成纤维细胞的异常分化,并降低成纤维细胞的增殖敏感性^[41]。体外研究显示 Sal A 通过抑制细胞周期蛋白 D₁(cyclin D₁), cyclin E₁ 和 cyclin B₁ 的表达,可诱导细胞周期阻滞和凋亡,对成纤维细胞的增殖、黏附和迁移有明显抑制作用^[42]。

Sal B能够降低内源性TGF- β_1 的生成以及I型胶原蛋白, α -SMA的表达,抑制成纤维细胞增殖和迁移^[43]。此外,Sal B(10 mg·kg⁻¹)对BLM诱导的肺纤维化小鼠肺损伤有治疗作用,其机制可能与抑制内皮细胞凋亡,上调生存素蛋白的表达有关^[44]。

3 防治肾间质纤维化

肾间质纤维化以过量ECM在肾间质聚积、肾间质成纤维细胞增生、肾脏组织结构破坏及功能丧失为特征,是多种慢性肾脏疾病最终导致肾功能衰竭的主要病理改变和共同通路。大量研究证实,TGF- β_1 是诱导肾成纤维细胞向肌成纤维细胞转化、促进肾脏疾病纤维化的关键细胞因子^[45]。研究证实,CTS(50 mg·kg⁻¹)能够改善单侧输尿管梗阻小鼠模型中肾小管扩张、上皮萎缩和炎性细胞浸润,降低间质胶原沉积程度和血清肌酐水平,对单侧输尿管梗阻小鼠术后肾脏损伤和纤维形成具有保护作用。并且,在TGF- β_1 刺激诱导的正常肾小管上皮细胞模型中,CTS(10~20 μ mol·L⁻¹)治疗后纤连蛋白, α -SMA和I型胶原蛋白的表达受到抑制。进一步研究发现,CTS缓解肾纤维化的作用机制可能与其抑制TGF- β_1 /Smad3/integrin β_1 信号通路及抑制EMT有关^[46]。研究还发现,CTS能调节Nrf2/血红素加氧酶-1(HO-1)信号通路,剂量依赖性地增加肾脏组织中SOD,谷胱甘肽和过氧化氢酶(CAT)的含量,减少脂质过氧化产物MDA的产生,治疗肾间质纤维化^[47]。

体内实验发现,Sal A(2.5~10 mg·kg⁻¹)可降低5/6肾切除大鼠肾组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 β (IL-1 β),单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的含量,呈剂量依赖性地降低纤维化大鼠中尿蛋白、尿素氮、血清肌酐及血浆总胆固醇含量,改善肾包膜腔扩张和肾小管扩张等组织病变,显示出良好的抗肾纤维化活性^[48]。一方面,Sal A的肾损伤保护活性与其抑制NF- κ B和p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路的抗炎活性相关,该发现在脂多糖诱导的体外HK-2细胞(公认的体外炎症模型)上也得到了验证。另一方面,Sal A可在细胞和动物水平显著提高SOD,GSH-Px,CAT等抗氧化物活性,并剂量依赖性地降低MDA,ROS以及NOX-4的水平,有效缓解细胞和肾脏损伤^[49],证实Sal A抗肾纤维化作用与其抗氧化作用相关。

肾小管上皮细胞具有较强的再生能力,能通过凋亡机制清除衰老、变异的细胞。持久的疾病状态可以导致肾小管上皮细胞的不可逆凋亡,是引起肾

小管萎缩及肾间质纤维化的机制之一^[50-51]。Tan II_A(25 mg·kg⁻¹)可降低缺血再灌注诱导的肾损伤大鼠中尿素氮、血清肌酐水平,对肾间质纤维化中肾功能损伤具有保护作用。其作用是通过降低肾损伤大鼠中髓过氧化物酶、巨噬细胞移动抑制因子活性,下调Caspase-3和磷酸化p38 MAPK蛋白表达,抑制肾小管上皮细胞凋亡^[52],并且通过线粒体凋亡通路,上调凋亡抑制蛋白B淋巴瘤-2(Bcl-2)的表达,下调促凋亡蛋白Bcl-2相关X蛋白(Bax),cleaved Caspase-3蛋白表达,保护细胞增殖活性来发挥的^[53]。此外,Sal A可有效减轻肾小管间质细胞凋亡,其作用机制与下调cleaved Caspase-3,cleaved Caspase-9,凋亡诱导因子的表达及Bax/Bcl-2有关^[54]。

4 防治心肌纤维化

心肌纤维化是多种损伤因素造成的心脏病理性修复过程,主要包括心肌成纤维细胞增生和心肌间质中胶原沉积增多,各型胶原比例失调(以I型和III型胶原为主)^[16]。研究表明,CTS(10 mg·kg⁻¹)可改善纤维化心肌组织中心肌细胞排列不规则、肥大、扭曲及细胞间间隙变宽等病理变化,具有缓解心肌纤维化的作用,主要是通过激活MMP-2,MMP-9的表达加速胶原蛋白降解^[55-56],并且通过抑制NOX-2及NOX-4的表达降低过量ROS产生来改善心功能^[57]。从血管紧张素II诱导的心肌纤维化小鼠模型中提取原代心肌成纤维细胞,经Sal B(12.5~50 μ mol·L⁻¹)干预后,原代心肌成纤维细胞增殖与迁移受到抑制,显示Sal B可能具有改善心肌纤维化的作用。纤维化组织中结缔组织生长因子的上调与纤维化的严重程度呈正相关,被认为是心肌纤维化的重要标志。I型胶原和纤连蛋白是两个关键的ECM蛋白,对于细胞的附着和迁移起着至关重要的作用。研究发现Sal B能够通过抑制NF- κ B信号通路的激活,降低I型胶原,纤连蛋白, α -SMA以及结缔组织生长因子的表达,减少ECM沉积^[58]。心肌纤维化能降低心室功能,诱发室性心律失常。HE等^[59]研究发现Sal B能够有效抑制心肌梗死大鼠心脏肥大、左心室扩张,并可通过增加VEGF表达和促进血管生成来改善心肌微循环,抑制心肌纤维化。此外,Tan II_A(35,70 mg·kg⁻¹)能够改善大鼠心肌纤维化组织形态(心肌纤维明显增粗且排列紊乱,部分胞核固缩,局灶性、片状坏死灶和炎性细胞浸润,血管周围及间质胶原纤维沉积),降低左心室舒张末压及胶原蛋白体积分数^[60]。作用机制研究

显示, $Tan II_A$ 不仅可以调节 MMPs/TIMP 平衡^[61], 还能有效地抑制大鼠心肌间质成纤维细胞向肌成纤维细胞分化^[61], 并且通过 HIF-1 和 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 (Keap1)/Nrf2 信号通路减少 VEGF 表达, 对心脏再生修复和纤维化发挥调节作用^[41]。

5 防治其他纤维化疾病

口腔黏膜下纤维性变是一种慢性隐匿性、具有癌变可能的疾病。DAI 等^[62] 研究发现, 在槟榔提取物诱导的口腔纤维化小鼠模型中分别给予 $Tan II_A$ ($6.25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Sal A ($3.125 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 Sal B ($12.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 后, 口腔黏膜成纤维细胞异常增殖及胶原积累得到抑制, 表明 3 种化合物具有良好的抗纤维化活性。作用机制研究显示, 这 3 个化合物通过抑制 TIMP-1/TIMP-2 的表达, 增加 MMP-2/MMP-9 的活性, 激活 PI3K/Akt, 细胞外调节蛋白激酶 (ERK)/c-Jun 氨基末端激酶 (JNK)/p38 MAPK 及 TGF- β /Smads 信号通路, 抑制细胞因子释放, 从而发挥抗纤维化作用。

系统性硬皮病是一种以局限性或弥漫性皮肤增厚和纤维化为特征的全身性自身免疫病。病变特点为皮肤纤维增生及血管洋葱皮样改变, 最终导

致皮肤硬化、血管缺血。LIU 等^[63] 研究发现, 在 BLM 诱导的小鼠系统性硬化病模型中, 与模型组相比, Sal B ($10 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 治疗组皮肤厚度及胶原蛋白的含量明显降低; 在 TGF- β_1 刺激诱导的皮肤成纤维细胞中, Sal B ($50\sim 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 治疗后, 成纤维细胞增殖被抑制, 显示 Sal B 能够减轻皮肤纤维化。其作用机制与抑制 TGF- β /Smad 通路激活, 减少胶原沉积相关。此外, $Tan II_A$ ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 通过调节 Akt/mTOR/p70 核糖体蛋白 S6 激酶 (p70S6K) 信号通路, 可部分逆转 BLM 诱导的内皮间质转化, 缓解皮肤纤维化^[64]。

6 小结与展望

近年来, 中药丹参药材中活性成分的抗纤维化作用和治疗潜力不断引起研究者的关注。其中, 丹参中的脂溶性活性成分以 $Tan II_A$ 的研究较多, CTS 等其他丹参酮类成分研究还相对较少。丹参中的水溶性活性成分以 Sal A, Sal B 为代表。对其作用机制研究显示, 这些活性成分通过调控多条信号通路参与了抗氧化应激、抗炎和抑制 ECM 沉积等多个环节作用, 并且这些信号通路之间相互交织形成复杂网络, 共同有效地缓解和改善了纤维化的发展进程 (图 1)。

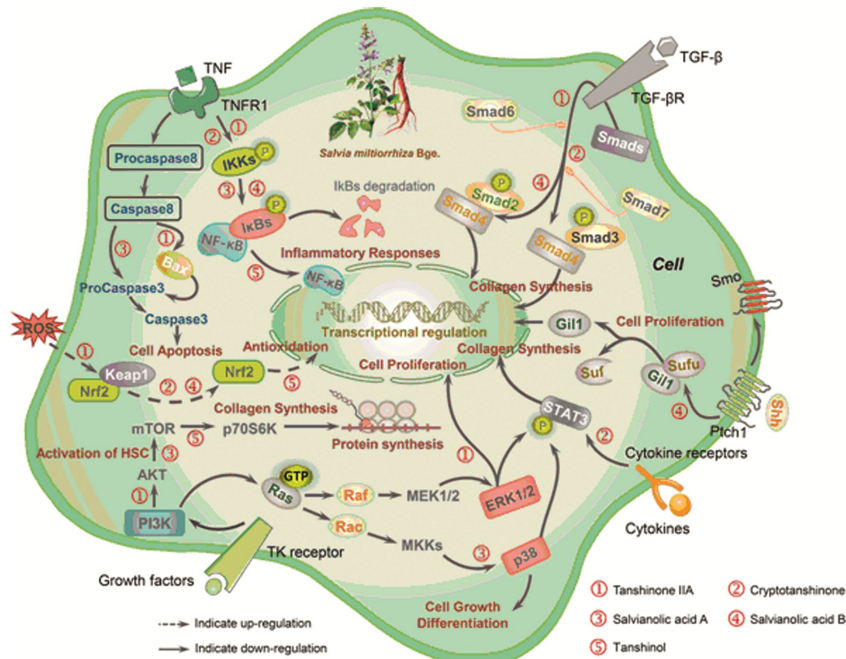


图 1 丹参活性成分在纤维化疾病研究中的主要作用机制

Fig. 1 Main mechanisms of active constituents in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* in fibrosis

虽然丹参及其化学成分的抗纤维化作用及其机制研究取得了一定进展, 但仍有许多工作有待深入。丹参活性成分抗纤维化的研究显示, 丹参中的丹参酮类成分和丹酚酸类成分结构多样, 作用机制

也有所不同, 不同成分能够通过多种途径和环节发挥作用, 呈现多靶点的特点, 提示多水平、多角度、深层次地探讨丹参抗纤维化活性成分及其构效关系, 揭示其抗纤维化的作用机制, 可为抗纤维化研

究提供实验依据和有价值的发现。同时,MEF2, SIRT1等病理蛋白的发现为纤维化的机制研究带来了新的思路,关注纤维化发展过程中的关键蛋白或能为研究工作提供方向。此外,作为活血化瘀类的代表药物,若能通过相关研究深入阐明丹参及其有效成分在改善微循环过程中所涉及的确切的细胞信号通路,将可能为防治纤维化提供更广阔的前景。

丹参是一种常用的中药,只有对其化学成分和药理作用进行系统、深入的研究,才能使其效用得到科学的修正。对于确有疗效的中药,质量控制是关系到药物疗效和实际应用的关键因素。由于丹参中活性成分存在稳定性较差和保留率低等问题,使得在整个制备过程中都可能有成分的损失与破坏,因而纯度较高的单体成分仍然非常缺乏,且价格昂贵,限制了其研发利用。并且,丹参活性成分水溶性差、生物利用度低,作为药物的发展受到很大的限制。研究丹参活性成分在水溶液中的降解反应以及在体内外的代谢过程,分析各种成分之间的相互影响,并且借助生物技术提高其溶解性、稳定性及生物利用度,可为丹参在抗纤维化的研究工作中提供助力。

[参考文献]

[1] 刘欣梦,刘伟丽,钱令嘉. 重要脏器纤维化病变治疗药物的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014,(4):587-593.

[2] KENDALL R T, FEGHALI-BOSTWICK C A. Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators[J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: 123.

[3] WANG L, LU W, GAO Y H, et al. Anluohuaxianwan Alleviates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats through upregulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and downregulation of nuclear factor-kappa B/IκBα signaling pathway[J]. *World J Tradit Chin Med*, 2019, 5(2):95-103.

[4] ROCKEY D C, BELL P D, HILL J A, et al. Fibrosis-a common pathway to organ injury and failure [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(12):1138-1149.

[5] 程苗苗,赵雅楠,刘雪艳,等. 转化生长因子β(TGF-β)对CD4⁺T细胞的调节作用及与免疫相关疾病的关系[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(9): 1288-1291.

[6] SHI M, ZHU J, WANG R, et al. Latent TGF-β structure and activation[J]. *Nature*, 2011, 474(7351): 343-349.

[7] 杜冠华,王月华,张冉,等. 多成分多靶点是对中药作用机制的表面认识[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2009, 11(4):480-484.

[8] 张美军,杨胜辉. 中医药治疗肝纤维化研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2019, 35(10):173-176.

[9] 郑琦,樊慧婷,张英,等. 丹参化学成分分析及其抗肿瘤药理作用的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(4):112-116.

[10] HIGASHI T, FRIEDMAN S L, HOSHIDA Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 121:27-42.

[11] SHU M, HU X R, HUNG Z A, et al. Effects of tanshinone II_A on fibrosis in a rat model of cirrhosis through heme oxygenase-1, inflammation, oxidative stress and apoptosis[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(4): 3036-3042.

[12] WANG R, WANG J, SONG F, et al. Tanshinol ameliorates ccl₄-induced liver fibrosis in rats through the regulation of Nrf2/HO-1 and NF-κB/IκBα signaling pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 1281-1292.

[13] ZHANG X, MA Z, LIANG Q, et al. Tanshinone II_A exerts protective effects in a LCA-induced cholestatic liver model associated with participation of pregnane X receptor[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 164:357-367.

[14] PENG R, WANG S, WANG R, et al. Antifibrotic effects of tanshinol in experimental hepatic fibrosis by targeting PI3K/Akt/mTOR/p70S6K1 signaling pathways[J]. *Discov Med*, 2017, 23(125):81-94.

[15] 刘永刚,陈厚昌,蒋毅萍. 丹参酮II_A对四氯化碳致大鼠肝纤维化的实验研究[J]. 中药材, 2002, (1): 31-33.

[16] 张卫平. 中医药抗脏器纤维化实验研究进展[J]. 中国中医急症, 2011, 20(6):946-948.

[17] GE M, LIU H, ZHANG Y, et al. The anti-hepatic fibrosis effects of dihydrotanshinone I are mediated by disrupting the yes-associated protein and transcriptional enhancer factor D2 complex and stimulating autophagy[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(10):1147-1160.

[18] HIGASHI T, FRIEDMAN S L, HOSHIDA Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 121:27-42.

[19] SON G, HINES L N, LINDQUIST J, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase signaling in hepatic stellate cells blocks the progression of hepatic fibrosis [J]. *Hepatology*, 2009, 50(5):1512-1523.

[20] WANG R, SONG F, LI S, et al. Salvianolic acid A

- attenuates CCl₄-induced liver fibrosis by regulating the PI3K/AKT/mTOR, Bcl-2/Bax and caspase-3/cleaved caspase-3 signaling pathways [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:1889-1900.
- [21] ZHANG W, PING J, ZHOU Y, et al. Salvianolic acid B inhibits activation of human primary hepatic stellate cells through downregulation of the myocyte enhancer factor 2 signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:322.
- [22] CHOI S S, SYN W K, KARACA G F, et al. Leptin promotes the myofibroblastic phenotype in hepatic stellate cells by activating the hedgehog pathway [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(47):36551-36560.
- [23] YU F, LU Z, CHEN B, et al. Salvianolic acid B-induced microRNA-152 inhibits liver fibrosis by attenuating DNMT1-mediated Patched1 methylation [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(11):2617-2632.
- [24] 张笑菲,高卓维,吕志平,等. 丹参酮 II_A抑制肝纤维化作用机制的研究进展 [J]. *山东医药*, 2018, 58(28):86-89.
- [25] 张翼宙,卢冬冬,董颖,等. 丹参酮 II_A对大鼠肝纤维化的干预作用及其调控 Ang II 的分子机制 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2017, 41(1):1-10.
- [26] JIN Q, JIANG S, WU Y L, et al. Hepatoprotective effect of cryptotanshinone from *Salvia miltiorrhiza* in D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(2):141-147.
- [27] 张旭,王煜,马娟,等. 内质网应激介导的细胞凋亡在肝纤维化发生发展中的作用 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(9):1537-1539.
- [28] ZHU J, WANG R, XU T, et al. Salvianolic acid A attenuates endoplasmic reticulum stress and protects against cholestasis-induced liver fibrosis via the SIRT1/HSF1 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:1277.
- [29] QIANG G F, YANG X Y, XUAN Q, et al. Salvianolic acid A prevents the pathological progression of hepatic fibrosis in high-fat diet-fed and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(5):1183-1198.
- [30] JIANG Y, YOU F, ZHU J, et al. Cryptotanshinone ameliorates radiation-induced lung injury in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 5:1-14.
- [31] TANG H Y, HE H Y, JI H, et al. Tanshinone II_A ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis and inhibits transforming growth factor-beta-dependent epithelial to mesenchymal transition [J]. *J Surg Res*, 2015, 197(1):167-175.
- [32] FENG F, LI N, CHENG P, et al. Tanshinone II_A attenuates silica-induced pulmonary fibrosis via inhibition of TGF- β_1 -Smad signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121:109586.
- [33] FENG F F, CHENG P, XU S H, et al. Tanshinone II_A attenuates silica-induced pulmonary fibrosis via Nrf2-mediated inhibition of EMT and TGF- β_1 /Smad signaling [J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 319:109024.
- [34] BOCCHINO M, AGNESE S, FAGONE E, et al. Reactive oxygen species are required for maintenance and differentiation of primary lung fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *PLoS One*, 2010, 5(11):e14003.
- [35] 陈道南,田锐. 氧化应激与肺纤维化 [J]. *国际呼吸杂志*, 2019, 39(24):1898-1906.
- [36] FENG F F, CHENG P, ZHANG H, et al. The protective role of tanshinone IIA in silicosis rat model via TGF- β_1 /Smad signaling suppression, NOX4 inhibition and Nrf2/ARE signaling activation [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:4275-4290.
- [37] LIU B, CAO B, ZHANG D, et al. Salvianolic acid B protects against paraquat-induced pulmonary injury by mediating Nrf2/Nox4 redox balance and TGF- β_1 /Smad3 signaling [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016, 309:111-120.
- [38] 杨雪梅,王兴胜,崔社怀. 肌成纤维细胞在肺纤维化中的来源和作用 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2008, 28(1):54-58.
- [39] 王保兰. EMT、TGF- β_1 、Ang II 与器官纤维化发生机制的研究进展 [J]. *医学综述*, 2015, 21(22):4072-4074.
- [40] HOYLES R K, DERRETT-SMITH E C, KHAN K, et al. An essential role for resident fibroblasts in experimental lung fibrosis is defined by lineage-specific deletion of high-affinity type II transforming growth factor β receptor [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(2):249-261.
- [41] AN L, PENG L Y, SUN N Y, et al. Tanshinone II_A activates nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 to restrain pulmonary fibrosis via regulation of redox homeostasis and glutaminolysis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 30(15):1831-1848.
- [42] PAN Y, FU H, KONG Q, et al. Prevention of pulmonary fibrosis with salvianolic acid A by inducing fibroblast cell cycle arrest and promoting apoptosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(3):1589-1596.
- [43] ZHANG M, CAO S R, ZHANG R, et al. The inhibitory effect of salvianolic acid B on TGF- β_1 -

- induced proliferation and differentiation in lung fibroblasts[J]. *Exp Lung Res*, 2014, 40(4): 172-185.
- [44] LIU Q M, SHI X G, TANG L Y, et al. Salvianolic acid B attenuates experimental pulmonary inflammation by protecting endothelial cells against oxidative stress injury[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 840: 9-19.
- [45] 范沐霞, 赵塔娜, 王丽敏, 等. 姜黄素抗纤维化研究进展[J]. *中医学报*, 2019, 34(11): 2343-2348.
- [46] WANG W, ZHOU P H, HU W, et al. Cryptotanshinone hinders renal fibrosis and epithelial transdifferentiation in obstructive nephropathy by inhibiting TGF- β_1 /Smad3/integrin β_1 signal[J]. *Oncotarget*, 2017, 9(42): 26625-26637.
- [47] WANG W, WANG X, ZHANG X S, et al. Cryptotanshinone attenuates oxidative stress and inflammation through the regulation of Nrf-2 and NF- κ B in mice with unilateral ureteral obstruction [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2018, 123(6): 714-720.
- [48] ZHANG H F, WANG Y L, GAO C, et al. Salvianolic acid A attenuates kidney injury and inflammation by inhibiting NF- κ B and p38 MAPK signaling pathways in 5/6 nephrectomized rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(12): 1855-1864.
- [49] ZHANG H F, WANG J H, WANG Y L, et al. Salvianolic acid A protects the kidney against oxidative stress by activating the Akt/GSK-3 β /Nrf2 signaling pathway and inhibiting the NF- κ B signaling pathway in 5/6 nephrectomized rats [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, doi: 10. 1155/2019/2853534.
- [50] HO J. The regulation of apoptosis in kidney development: implications for nephron number and pattern? [J]. *Front Pediatr*, 2014, 2: 128.
- [51] 陈莎莎, 李均. 丹参酮 II_A 抗肾间质纤维化作用机制的研究进展 [J]. *山东医药*, 2019, 59(14): 109-111.
- [52] XU Y M, DING G H, HUANG J, et al. Tanshinone II_A pretreatment attenuates ischemia/reperfusion-induced renal injury [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(4): 2741-2746.
- [53] 杨紫依, 陈刚, 朱芸霄, 等. 丹参酮 II_A 对缺氧/复氧损伤肾小管上皮细胞的作用及机制研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2018, 43(11): 1427-1432.
- [54] YAN X J, JIANG Z Q, BI L, et al. Salvianolic acid A attenuates TNF- α - and D-GalN-induced ER stress-mediated and mitochondrial-dependent apoptosis by modulating Bax/Bcl-2 ratio and calcium release in hepatocyte L02 cells [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2015, 388(8): 817-830.
- [55] LO S H, HSU C T, NIU H S, et al. Cryptotanshinone inhibits STAT3 signaling to alleviate cardiac fibrosis in type 1-like diabetic rats [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(4): 638-646.
- [56] MA S T, YANG D C, WANG K Y, et al. Cryptotanshinone attenuates isoprenaline-induced cardiac fibrosis in mice associated with upregulation and activation of matrix metalloproteinase-2 [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(1): 145-150.
- [57] MA Y Z, LI H, YUE Z B, et al. Cryptotanshinone attenuates cardiac fibrosis via downregulation of COX-2, NOX-2, and NOX-4 [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2014, 64(1): 28-37.
- [58] WANG C H, LUO H, XU Y, et al. Salvianolic acid B-alleviated angiotensin II induces cardiac fibrosis by suppressing NF- κ B pathway *in vitro* [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 7654-7664.
- [59] HE H B, YANG X Z, SHI M Q, et al. Comparison of cardioprotective effects of salvianolic acid B and benazepril on large myocardial infarction in rats [J]. *Pharmacol Rep*, 2008, 60(3): 369-381.
- [60] FANG J, XU S W, WANG P, et al. Tanshinone II_A attenuates cardiac fibrosis and modulates collagen metabolism in rats with renovascular hypertension [J]. *Phytomedicine*, 2010, 18(1): 58-64.
- [61] 冯俊, 陈华文, 李树生. 丹参酮 II_A 对慢性心力衰竭心肌重构的影响及其机制研究 [J]. *中国中医急症*, 2015, 24(12): 2069-2071.
- [62] DAI J P, ZHU D X, SHENG J T, et al. Inhibition of tanshinone II_A, salvianolic acid A and salvianolic acid B on areca nut extract-induced oral submucous fibrosis *in vitro* [J]. *Molecules*, 2015, 20(4): 6794-6807.
- [63] LIU Q, LU J, LIN J, et al. Salvianolic acid B attenuates experimental skin fibrosis of systemic sclerosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 546-553.
- [64] JIANG Y, HU F F, LI Q, et al. Tanshinone II_A ameliorates the bleomycin-induced endothelial-to-mesenchymal transition via the Akt/mTOR/p70S6K pathway in a murine model of systemic sclerosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 77: 105968.

[责任编辑 周冰冰]