

· 综述 ·

三七皂苷改善实验性脑异常微环境及机制研究进展

王时云, 罗海芸, 吴兰鸥*

(昆明医科大学基础医学院药理学系, 昆明 650500)

[摘要] 三七皂苷(PNS) 是五加科人参属植物三七的主要有效活性成分, 含有多种单体皂苷。近年来, 随着三七在临床的广泛应用, 其改善缺血微环境的作用, 引起了研究者的关注。该文概述了 PNS 调节血管、保护血管内皮细胞、消除水肿、抑制氧化应激、抑制凋亡、影响血液流变学、调节免疫等作用机制, 为 PNS 改善实验性脑异常微环境及机制研究提供依据和新的思路, 为相关研究提供参考。

[关键词] 三七皂苷; 实验性脑异常微环境; 改善作用; 作用机制

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)01-0328-05

Possible Mechanism of Panax Notoginseng Improve Abnormalities Microenvironment of Experiment Brain

WANG Shi-yun, LUO Hai-yun, WU Lan-ou*

(Department of Pharmacology, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

[收稿日期] 20111222(014)

[基金项目] 云南省教育厅科学研究基金项目(2011J035)

[第一作者] 王时云, 硕士研究生, 从事三七皂苷 Rb₁ 对大鼠海马异常微环境的影响及机制探讨, Tel: 15288486735, E-mail: wangshiyun6@126.com

[通讯作者] * 吴兰鸥, 硕士, 教授, 硕士研究生导师, 从事心脑血管药物方面的研究, Tel: 15087059968, E-mail: lanouwu@126.com

南》中均得到了推广应用。

[参考文献]

- [1] 覃耀真, 王力宁, 张玉姣. 中医药治疗小儿手足口病临床研究综述[J]. 广西中医学院学报, 2009, 12(3): 70.
- [2] 任立中. 从湿温论述手足口病[J]. 河南中医, 2009, 29(7): 719.
- [3] 陈安, 陈宁, 周龙襄, 等. 数据挖掘技术及应用[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 50.
- [4] 高学敏. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002.
- [5] 夏伯候, 王智民, 林丽美, 等. 银翘药对的药效学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(3): 80.
- [6] 高春梅, 杜跃中, 潘小鹏, 等. 金银花药理作用的研究进展及应用[J]. 人参研究, 2007, 4(1): 16.
- [7] 史艳平, 李丹, 李小青. 柴黄颗粒联合康复新液治疗

手足口病 65 例[J]. 陕西中医, 2011, 32(3): 283.

- [8] 吕崇江, 黄丽. 痰热清联合利巴韦林治疗普通型儿童手足口病的临床疗效分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 229.
- [9] 詹雯, 王孟清. 小儿手足口病辨证论治方案专家问卷调查分析[J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(3): 66.
- [10] 彭胜权. 温病学. 上海: 上海科学技术出版社, 1996: 103.
- [11] 李琳霞, 赵琳. 谢怀平. 热毒宁注射液治疗儿童手足口病 30 例疗效观察[J]. 中国基层医药, 2009, 16(9): 1690.
- [12] 易世红, 王敏, 王丽萍, 等. 双黄连粉针剂体外抗病毒药效学研究[J]. 白求恩医科大学学报, 2001, 27(5): 490.

[责任编辑 邹晓翠]

[Abstract] Saponins of panax notoginseng is a mainly effective ingredient in the plant *sanqi*, which contains different kinds of monomer saponins. *Sanqi* belongs to the *ginseng* family. With the general application of *sanqi* in clinical, its function that improves the ischemia microenvironment has drew the attentions of researchers in recent years. This article summarizes the notoginsenoside efficacy in regulating blood vessels, protecting the vascular endothelial cells, eliminating edema, inhibiting oxidative stress, inhibiting apoptosis, affecting blood rheology and regulating immune function, etc, provides bases and new ideas for the researches of notoginsenoside improves abnormal microenvironment under experiment.

[Key words] panax notoginseng; abnormalities microenvironment of experiment brain; improvement; mechanism

脑血管疾病已成发病率、致死率、致残率最高的疾病,且脑血管疾病的发生伴随脑异常微环境的产生。脑微环境是脑细胞间质及其中的体液成分参与构成的脑细胞生存的微环境,脑微环境的稳定是保持细胞正常增殖、分化、代谢和功能活动的重要条件,微环境成分的异常变化可使脑细胞发生病变。脑神经元微环境的探讨是近年来神经科学研究的热点之一。研究发现微环境由神经发生部位的细胞和血管组成,起到维持新生神经细胞存活并整合入已有神经网络的作用^[1]。脑微环境的变化是1个互动的过程,在脑缺血或血脑屏障被破坏时,出现能量代谢障碍,随着时间的延长,相关因素参与脑缺血发展环节中^[2],且构成神经元微环境各因素间相互作用,导致微环境损坏的放大,促成异常微环境的形成。缺血或血脑屏障破坏会导致异常微环境,近年来有关三七皂苷(PNS)改善实验性脑异常微环境的研究报道很少,所以明确PNS改善实验性脑异常微环境具体的作用机制,为探索异常微环境的治疗方法提供了新方向。

1 PNS改善实验性脑异常微环境的机制

PNS含有人参皂苷Rb₁, Rb₂, R_c, Rd, Rf, Rg₁, Rg₂, Rh₁和三七皂苷R₁, R₂, R₃, R₄, R₆等20余种皂苷成分,均属于达玛烷型(Dam-marane type)四环三萜皂苷。人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁是PNS中含量最高的两个成分,且三七皂苷R₁则是PNS的特征化合物^[3]。大量实验研究发现PNS有舒张脑血管平滑肌作用,对血管内皮损伤和神经细胞有保护作用,消除水肿,保护血脑屏障,减轻氧化应激损伤,清除氧自由基,减轻钙超载,抑制细胞凋亡,对血液流变学有影响,调节免疫、抗炎等作用改善实验性脑异常微环境,维持正常神经元微环境。

1.1 通过舒张血管和平滑肌作用、抑制血管平滑肌细胞增生 PNS可抑制血管内膜损伤后引起的血管内膜增生,可能的机制是通过抑制血小板衍生生长

因子(PDGF)诱导的血管平滑肌细胞(VSMC)增殖而实现^[4]。PNS对血管的影响,主要是扩血管,抑制血管平滑肌细胞增生,降低颅内压,增加脑血流,保护缺血脑组织,从而改善实验性脑微环境。

1.2 对血管内皮细胞和神经细胞保护作用 PNS对缺血脑组织中的神经细胞膜及微血管膜的稳定性有保护作用,从而增加、延长大脑组织对急性缺血再灌注的耐受性和保护性,改善脑血管血液的流变状态,防止脑血栓的形成。研究发现大鼠大脑中动脉闭塞后小胶质细胞和其他神经胶质细胞被激活聚集在边缘区域,形成内皮素主要的细胞源,可能机制是通过调节血管的收缩和神经胶质细胞的炎症趋化因子或细胞因子的表达^[5]。三七皂苷Rg₁, Rb₁及有效单体配伍组合可能通过下调内皮细胞黏附分子(ICAM-1)的表达抑制单核-内皮细胞黏附,从而发挥血管内皮细胞的保护作用。因而我们可以发现PNS通过对内皮细胞和神经元细胞有保护作用,提高细胞存活,维持微环境的稳定,改善异常微环境。

1.3 消除脑水肿,保护血脑屏障 PNS具有降低脑血管中血流阻力,增加局部脑血流量(rCBF),促进侧支循环开放,降低颅内压,减轻脑水肿,改善脑缺血区的微循环。对脑缺血再灌注损伤的研究发现PNS有显著的脑保护作用,其作用机制与降低脑缺血再灌注损伤中脑部细胞因子的表达和降低血脑屏障通透性有关^[6],从而保护血脑屏障,改善异常微环境。

1.4 清除氧自由基,抑制氧化应激,减轻细胞内钙超载 氧化应激是心脑血管疾病病理过程中导致细胞凋亡的重要因素。氧化应激是指部分还原形态的氧离子及活性氧自由基(ROS)的生成超过了细胞内源性解毒和使用能力的非稳态状态。PNS具有抑制细胞脂质过氧化反应,清除自由基,增加过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性,还可不同程度的减少梗塞面积,减少氧化损伤,其中三七皂苷R₂作用明

显^[7]。脑缺血时,神经元缺血缺氧,神经元内钙明显增高,细胞内钙超载被认为是细胞死亡共同的最后通路。目前普遍认为 PNS 是 1 种钙通道阻滞剂,可能是 PNS 具有阻断去甲肾上腺素所致的 Ca^{2+} 内流作用,减轻细胞内钙超载。PNS 对氧化应激诱导的损伤和凋亡有保护效应,通过清除活性氧和调节 Bcl-2/Bax 通路^[8]。PNS 扩张脑血管作用的研究发现,其扩血管机制是 PNS 具有阻断去甲肾上腺素所致的 Ca^{2+} 内流,降低脑血管阻力,增加脑血流量,改善异常微环境造成的神经元损伤。PNS 在心梗方面研究发现 PNS 可通过促进病鼠血管紧张素转换酶 2(ACE2)的释放,抑制脂质过氧化反应及 TNF- α 的释放,减轻心肌细胞损伤,保护心肌,改善心室重构^[9],由此推广 PNS 在改善实验性脑异常微环境方面相关的研究。PNS 通过清除氧自由基,减轻氧化应激损伤,减轻细胞内钙超载保证神经元的存活等作用改善实验性脑异常微环境。

1.5 抑制细胞凋亡及相关基因的表达 PNS 可抑制脑缺血再灌注后神经元凋亡,其机制可能与其抑制 JNK 信号转导蛋白激活、抑制线粒体凋亡途径有关^[10]。其中三七皂苷 Rb_1 , Rg_1 药理性保护机制可能是综合的,如自由基清除效应,分泌型磷脂酶 A_2 , 降低细胞内钙等有关,明显减轻细胞凋亡,保持细胞结构完整,对缺血缺氧损伤有保护作用^[11]。相关的实验研究发现 PNS 可抑制大鼠皮质和海马神经元凋亡,对大鼠脑缺血再灌注损伤有一定保护作用,其机制可能与 Bcl-2 表达增高, Bax 表达降低有关^[12]。进一步的研究证实 PNS 能调控多种细胞凋亡,并且对正常组织细胞的毒性较低,其调控细胞凋亡的机制是多环节、多途径的,如上调 Bcl-2 表达、下调 Bax 表达,阻止半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)连锁链的活化,调控 Fas/FasL 的表达^[13]。对相关酶研究发现, PNS 其主要抑制 caspase-1 和 caspase-3 的表达,而对 caspase-8 的表达无显著影响,能调节 caspase 的表达能抑制凋亡途径,从而发挥神经保护作用^[14]。PNS 可能通过减少 Bax 表达及 caspase-3 的活性发挥其抑制凋亡的作用,进而减少神经元的死亡^[15]。对相关基因的研究发现 PNS 可能通过提高 syp mRNA 的表达,从而增加脑内多种神经递质的合成、释放,最终能够改善学习记忆能力^[16]。其中三七皂苷 Rb_3 在缺血动物模型中能提高细胞的存活率,阻断乳酸脱氢酶(LDH)的释放,还可明显阻断缺血损伤诱导的凋亡和钙离子水平,减少基质金属蛋白酶(MMP)的含量,同时可明

显诱导 Bcl-2 蛋白的表达和减少细胞色素 C 的释放,阻断 caspase-3 和 Bax 蛋白的表达,以及 caspase-8, -9 的表达^[17]。在三七皂苷 R_1 治疗肾缺血再灌注损伤的研究中也有类似的发现,三七皂苷 R_1 阻断炎症反应和减少细胞凋亡,阻断 p38 和 NF- κ B 的作用^[18], PNS 对 p38 和 NF- κ B 的作用也可以推广到实验性脑异常微环境方面的研究。PNS 能减轻细胞凋亡和坏死,通过多环节、多途径的调控作用,提高细胞的存活率,阻断相关凋亡基因的表达,维持微环境稳定。

1.6 对血液流变学的影响 PNS 能使体内血流有重新分布的趋势,提高血小板内的 cAMP 含量从而抑制血小板聚集,增加血小板膜流动,降低血黏度,延长凝血酶原的时间,重新分布体内血液,改善高凝和高黏状态的血液流变学,保证组织血流量,减少组织缺氧,从而改善异常微环境。PNS 对机体的凝血机制和促纤溶机制有双向调节作用,抑制相关因子的表达,最终抑制血栓的形成,有利于血肿的溶解吸收,防止再出血,从而改善异常微环境^[19]。脑出血的病人早期应用 PNS 类药物有改善血液循环的效应,降低神经功能缺损程度,提高治疗效果。脑出血存在血管占位效应影响异常微环境,使用 PNS 后可以消除血肿^[20]。PNS 在动脉粥样硬化中的应用,发现其潜在的机制可能血液流变学的改变调节作用^[21],该研究有力的证实了 PNS 对血液流变学的调节作用。PNS 对血液流变学的影响机制在一定程度上对认识 PNS 改善实验性脑异常微环境有重要的意义。

1.7 调节免疫,影响炎症因子表达发挥抗炎作用 PNS 能明显抵制多种致炎剂所致炎症,该研究提示其具有较强的抗炎活性,并能对抗缓激肽、组胺、5-HT 等所致毛细血管通透性增强及炎症组织前列腺素(PG)的释放,说明 PNS 对这些炎症介质有一定的对抗作用^[22]。研究发现神经调节蛋白 1β (NRG- 1β)阻断 MMP-9 的活性,阻断炎症反应的发生,增强神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)的活性,提高异常微环境中神经元的存活率,推迟不可逆性神经元的坏死, NRG- 1β 发挥着神经元保护作用^[23]。PNS 与黄芪总苷合用具有协同抗脑缺血再灌注损伤的作用,其机制可能与调节缺血脑组织 MMP-9, 组织基质金属蛋白酶抑制物-1(TIMP-1)的蛋白表达有关。可能是两药协同对抗脑缺血再灌注后炎症因子的释放和自由基的产生,使 MMP-9 生成减少,而 TIMP-1 表达增强,从而调

节两者的动态平衡对抗 MMP-9 对细胞外基质的破坏,减轻神经元损伤^[24]。PNS 安全性好,能促进细胞和体液免疫,研究发现 PNS 通过抗炎和调节血脂还能减弱动脉粥样硬化的影响^[25]。这些研究证实 PNS 具有调节免疫作用,并有很强的抗炎作用,通过减少炎症因子对神经元的损伤,从而改善实验性脑异常微环境。

1.8 PNS 对小胶质细胞的影响 微环境中,星形胶质细胞是其框架结构的主要组成部分,而小胶质细胞、内皮细胞和室管膜细胞与促进神经发生有关而被视为该微环境的组成部分神经元,同时它们还能表达神经发生所需的一些信号分子,这些信号分子可诱导神经元前体细胞向脑缺血灶定向迁移反映异常微环境的情况。小胶质细胞有特殊功能,它能警觉的监控和反应突触的功能情况,在缺血区有些突触会消失延长小胶质细胞间的联系,增加更新的突触间的连接,表明小胶质细胞在重塑因缺血阻断的神经元回路中发挥重要作用^[26]。研究证实小胶质细胞和神经胶质细胞在实验性脑异常微环境下可以调节内皮素系统,从而达到改善异常微环境作用。在缺血性脑梗死大鼠发现 PNS 通过阻断 iNOS 的释放和激活 NF- κ B 从而提高 COX-2 的水平,阻断小胶质细胞的活性的作用,从而发挥其神经保护作用^[27]。PNS 通过阻断小胶质细胞的活性,达到改善实验性脑异常微环境。

2 PNS 与其他药物合用以及应用前景和展望

综上所述,从细胞水平、分子水平或基因水平来揭示 PNS 改善异常微环境药理作用机制,为 PNS 作为医疗用品的进一步开发利用提供重要科学依据。结合 PNS 在其他方面的研究推动其在改善异常微环境的研究进展,为探讨 PNS 改善实验性脑异常微环境的机制研究提供更多的线索和思路。针对实验性脑损伤的研究,虎杖提取物对实验性脑缺血再灌注炎症损伤有保护作用^[28],还有黄杞总黄酮对大鼠实验性脑缺血有一定的保护作用^[29]。但是对 PNS 改善实验性脑异常微环境的研究很少,而且脑缺血损伤是由多种病理生理机制共同作用的结果,而各种脑保护的药一般只是针对脑缺血损伤的部分机制^[30]。因而,药物的联合应用可能是解决脑缺血损伤治疗的 1 条重要的途径,随着新的技术的应用,如微透析技术(MD)是脑缺血研究的重要工具。PNS 联合应用在目前的研究中备受青睐,而且取得了比单独应用 PNS 更令人满意的结果,今后的研究方向可能更关注于联合用药改善异常微环境。目前

已有 PNS 联合应用的研究,如 PNS 与黄芪总苷合用治疗实验性脑缺血再灌注脑水肿,以及 PNS 与淫羊藿联合治疗脑血管疾病等,还有更多 PNS 的复方制剂研究以及 PNS 的中成药,同时 PNS 的应用前景和应用范围也相应的得到扩展。PNS 联合用药改善异常微环境的方案有待我们努力研究和开发。随着目前联合应用的深入研究,为 PNS 的研究开拓了更加广阔的领域,有助于找寻更好治疗异常微环境的方案,有利于防治相关疾病的发生,对 PNS 的发展以及未来在临床上更科学、合理、有效的使用,具有重要的指导意义。相信随着药理研究的不断深入和现代药学技术的不断发展,PNS 在临床上的应用也将越来越广。

[参考文献]

- [1] 刘晓冬,邓丽,张拥波,等. 脑缺血后神经发生[J]. 国际脑血管病杂志, 2010,18(7):537.
- [2] 刘明,孙建宁,董世芬,等. 大鼠脑缺血不同时间脑能量代谢的变化研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(5):216.
- [3] 郑仁东,韩康生. PNS 对纤溶与凝血功能的影响[J]. 安徽医药, 2011,15(2):133.
- [4] 王建玲,吴露,张伟,等. 三七总皂苷对大鼠主动脉球囊损伤后血管内膜增生及 PCNA 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2009,34(6):735.
- [5] Li J J, Wu L H, Cao Q, et al. Endothelins-1/3 and endothelin-A/B receptors expressing glial cells with special reference to activated microglia in experimentally induced cerebral ischemia in the adult rats [J]. Neuroscience, 2010,167(3):665.
- [6] 唐婧姝,裴清华. 三七总皂苷对大鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(15):210.
- [7] 周家明,叶祖光,崔秀明,等. 三七皂苷 R₁、R₂ 和人参皂苷 Rb₁ 药效学研究[J]. 中成药, 2010,32(9):1494.
- [8] Hui Q, Chen Z, Zhi-bin S, et al. Protective effects and mechanism of Panax Notoginseng saponins on oxidative stress-induced damage and apoptosis of rabbit bone marrow stromal cells[J]. Journal of Chinese Integrative Medicine. 2010,16(6):525.
- [9] ie-wen G J, i-ming L I, Guang-qing Q, et al. Effects of panax notoginseng saponions on ACE2 and TNF-alpha in rats with post-myocardial infarction-ventricular remodeling[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2009,33(1):89.
- [10] 唐映红,黄小平,谭华,等. 三七总皂苷对脑缺血再

- 灌注后神经元凋亡及凋亡线粒体途径和 c-Jun 氨基末端激酶表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16):129.
- [11] 包金凤, 张晓文, 卢新政, 等. 参三七皂甙 Rb₁、Rg₁ 预应对肥厚心肌细胞缺氧复氧损伤细胞凋亡的影响[J]. 甘肃医药, 2010, 29(2):121.
- [12] 周小宝. 三七皂苷对大鼠脑缺血再灌注损伤细胞凋亡及相关基因表达的影响[J]. 浙江中西医结合杂志, 2009, 19(1):15.
- [13] 刘大君, 刘汝专, 刘佳, 等. 三七对细胞凋亡的研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2009, 30(6):62.
- [14] Li H, Deng C, Chen B, et al. Total saponins of panax Notoginseng modulate the expression of caspases and attenuate apoptosis in rats following focal cerebral ischemia-reperfusion[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 121(3):412.
- [15] 强辉, 王坤正, 张晨, 等. 三七总皂苷对过氧化氢诱导的骨髓基质细胞凋亡的保护作用[J]. 中西医结合学报, 2010, 8(2):131.
- [16] 吕良, 钟振国, 吴登攀, 等. 三七总皂苷对快速老化模型小鼠脑内 syp, tau 基因表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(10):1261.
- [17] Zhu J-r, Tao Y-f, Lou S, et al. Protective effects of ginsenoside Rb₃ on oxygen and glucose deprivation-induced ischemic injury in PC12 cells [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2010, 31(3):273.
- [18] Liu W J, Tang H T, Jia Y T, et al. Notoginsenoside R1 attenuates renal ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Shock, 2010, 34(3):314.
- [19] 王巧灵. 三七皂苷注射液联合西医治疗高血压性脑出血的疗效观察[J]. 中国社区医师, 2010, 12(20):137.
- [20] 袁奎珍, 张芳, 何慧君. 血塞通治疗脑出血早期的临床疗效分析[J]. 中国社区医师, 2010, 12(20):136.
- [21] LIU Y, ZHANG H G, JIA Y, et al. Saponin accumulation in the seedling root of Panax notoginseng [J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(8):1324.
- [22] 高明菊, 崔秀明, 曾江, 等. 三七花的研究进展[J]. 人参研究. 2009, 1(2):5.
- [23] Li Q, Zhang R, Ge Y L, et al. Effects of neuregulin on expression of MMP-9 and NSE in brain of oschemia/reperfusion rat[J]. Journal of Molecular Neuroscience, 2009, 38(2):207.
- [24] 黄小平, 谭华, 陈北阳, 等. 黄芪总苷和三七总皂苷配伍对脑缺血再灌注后 MMP-9 和 TIMP-1 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16):2187.
- [25] LIU Y, ZHANG H-G, JIA Y, et al. Panax notoginseng saponins attenuate atherogenesis accelerated by zymosan in rabbits[J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(8):1324.
- [26] Wake H, Moorhouse A J, Jinno S, et al. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses *in vivo* and determine the fate of ischemic terminals[J]. Journal of Neuroscience, 2009, 29(13):3974.
- [27] Son H Y, Han H S, Jung H W, et al. Panax notoginseng attenuates the infarct volume in rat ischemic brain and the inflammatory response of microglia [J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2009, 109(3):368.
- [28] 李晓莉, 卢志刚, 陈梅, 等. 虎杖提取物对实验性脑梗死大鼠脑组织炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18):226.
- [29] 潘照斌, 李柴朝, 廖月娥, 等. 黄杞叶总黄酮对大鼠实验性脑缺血保护作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):223.
- [30] 吉恋英, 杨志宏, 孙晓波. 微透析技术在脑内药物代谢动力学及脑缺血研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12):288.

[责任编辑 李玉洁]