

人参皂苷 Rg1 的多靶点作用和机制分析

楚世峰 张均田

多靶点治疗的意义多年前在国内外医学界尚属有争议的问题,现已达成共识,成为竞相研究并不断取得进展的热点研究课题。近几十年来,新药研究几乎都集中于设计和发现作用于单靶点的药物分子,以求达到高亲和性、高选择性和减少不良反应的目的。医药界一直接受这一观点,即靶点越少越专,特异性越高,不良反应越少。实际情况是,成千上万新药上市,都很难达到上述目的,不但治疗效果不满意,不良反应也不少。大量研究业已证明,许多疾病的发生、发展往往涉及多病因、多基因、多发病机制,也涉及多个组织或细胞。多基因疾病如肿瘤,多病因多发病机制如老年痴呆,多组织多细胞疾病如糖尿病等等。

中药治疗疾病多用复方或单味药,复方由不同的中药组成,单味药由不同的化学成分组成,有的甚至多达几百种成分,不同的药物或不同的化学成分可能作用于不同靶点,所以往往产生多靶点作用。近年来研究发现,中药中的某些化学成分甚至单一成分也有多靶点作用。由于中药是有多靶点作用并产生很好的治疗效果,对现代医学有很大的启示,即如果药物仅作用于单一靶点,在复杂的疾病治疗中有局限性,而多靶点治疗可同时作用于疾病网络中的多个靶点,对各靶点的作用产生协同效应,使总效应大于各单个效应之和,多个成分放在一起,由于理化性质发生变化或者相互拮抗,往往不良反应也比较少。

多靶点治疗药物大致可分为两类:一类是合并用药,以多个成分分别作用于不同的靶点产生多靶点作用;再一类是单个药物,可同时作用于不同的靶点,发挥多靶点治疗作用,显然后者更为理想。总之,当今世界对多靶点治疗已趋之若鹜。

人参(*panax ginseng* CA Mey)是五加科植物的根茎,(*Panax* 一词来源于希腊语 *Panacea*,意为长寿,包

治百病)。《神农本草经》对人参药用的精髓的描述为“人参,味甘微寒。主补五脏,安精神,定魂魄,止惊悸,除邪气,明目,开心益智”。久服,轻身延年,被冠以百草之王的美誉。现代医学证明,人参具有神奇的作用,特别突出的是在延缓衰老和治疗老年性疾病引起的认知功能障碍和性功能障碍方面有很好的疗效。综观人参药理学有两个显著特点:一是人参具有多靶点作用;二是其作用机制主要是通过动员机体内源性保护机制而发挥作用^[1,2]。显然,这些特点不同于西药,而是符合我国传统医学的观点和理论。本研究以人参中的主要有效成分人参皂苷 Rg1 为例,对其多靶点作用及其作用机制进行阐述。

一、Rg1 对认知功能障碍改善作用及其机制研究

为评价 Rg1 的促智作用,我们建立了 10 种记忆障碍模型包括老年鼠、卵巢切除鼠、应激鼠、局灶性和全脑缺血-再灌注以及东莨菪碱及 β 淀粉样肽等所致的认知障碍。研究发现 Rg1 (5~10mg/kg) 即可显著改善上述记忆损伤模型学习能力,并且其结果已在国内外几十个实验室得到了重复验证。Rg1 在正常小鼠和大鼠慢性给药也能提高学习能力,见表 1。

长时程增强(LTP)作为突触可塑性的基本表现形式,是研究学习记忆的重要的细胞模型。研究发现,人参皂苷 Rg1 可显著增强正常大鼠的基础突触传递水平,并且在高频刺激条件下,仍可继续增强其传递水平^[3],与行为学结果一致。见图 1。

从以上结果可以发现,人参皂苷 Rg1 改善认知功能障碍具有自己的显著特点:(1)行为学试验和电生理学试验结果完全一致。(2)改善记忆全过程——记忆的获得、巩固和再现。(3)在 10 种记忆障碍模型和正常动物(小鼠和大鼠)身上均能提高认知功能。那么,是什么机制使其具有以上的特点呢?我们的研究发现人参皂苷 Rg1 可以提高神经可塑性,激活学习记忆信号转导途径,促进海马神经元发生,这与目前临床上广泛应用的胆碱酯酶抑制剂以及 NMDA 受体拮抗剂相比,具有显著的多靶点优势。

基金项目:国家自然科学基金(C03020703,30672501);国家食品药品监督管理局“八五”攻关计划(85-922-01-02)

作者单位:100050 北京,中国医学科学院药物研究所

表 1 Rg1 对认知功能障碍的改善作用

记忆损伤模型	行为学方法	Rg1 的改善作用
樟柳碱、环己亚胺和乙醇造成的学习记忆损伤小鼠模型(3种)	跳台和避暗反应	Rg1 (25~50mg/kg)降低潜伏期和错误次数
Aβ ₂₅₋₃₅ 导致的大鼠空间辨别能力障碍	Morris 水迷宫	Rg1 (10mg/kg) 给药 10 天降低潜伏期和到达平台的游泳距离,改善搜索策略
卵巢切除导致大鼠雌激素缺乏并诱导记忆损伤模型	Morris 水迷宫	人参皂苷和 Rg1 (10mg/kg 和 100mg/kg) 缩小潜伏期和初始角度,改善搜索策略
短暂性脑缺血再灌注导致的小鼠、大鼠、沙土鼠学习记忆损伤模型(3种)	跳台和避暗反应	Rg1 (10mg/kg) 能够保护脑缺血的记忆功能
慢性反复应激导致的学习记忆损伤模型	跳台和避暗反应	延长潜伏期,减少错误次数
自然衰老导致的记忆缺失	跳台和避暗反应	Rg1 (10mg/kg) 改善学习能力,缓解记忆障碍。

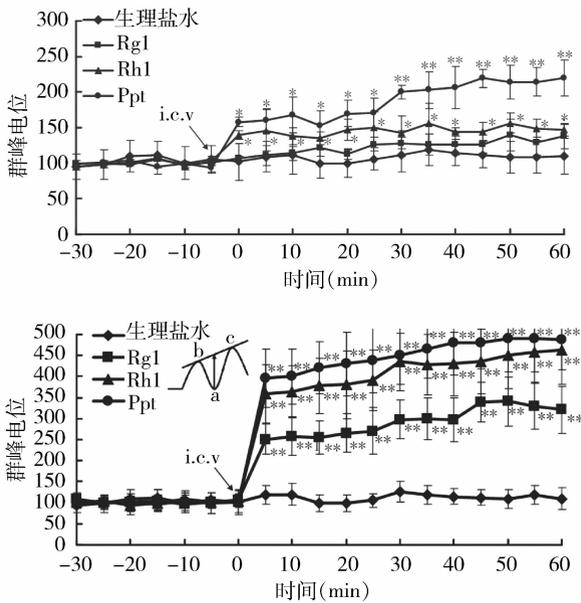


图 1 人参皂苷 Rg1 及其代谢产物对 LTP 的影响

* $P < 0.05$ vs 生理盐水组; ** $P < 0.01$ vs 生理盐水组; 群峰电位 = 检测电位/基础电位 $\times 100\%$

1. 人参皂苷 Rg1 可提高神经可塑性: 神经系统具有神经可塑性的特性, 对过高过低的功能或组织结构的异常可进行修饰, 使之恢复正常, 如不能调整到正常水平, 并持之以久, 便会发展成疾病或造成认知功能障碍, 可见, 认知功能的基础是神经可塑性, 治疗认知障碍自然是提高神经可塑性。研究证明 Rg1 可在多方面提高神经可塑性, 表现为以下几方面: (1) 通过生化检测和高效液相串联电化学检测器都验证了 Rg1 可上调脑内乙酰胆碱 (ACh) 含量, 进一步的研究发现 Rg1 可增加胆碱乙酰转移酶 (ACh 合成关键酶) 的活力^[4]。体外脑片研究发现, 即便在无细胞内钙参与的情况下, Rg1 也可增加 ACh 的释放^[5]。Rg1 可同时增加 ACh 的合成和释放, 可用来解释其提高学习记忆能力的机制之一。(2) 采用放射配基结

合实验证明 Rg1 可增加 M-胆碱受体密度。我们曾进行过 Rg1 与 7 种神经递质受体的结合试验, 但无特异性结合。然而, 在给予 Rg1 7 天后, 与空白组相比, M-胆碱受体密度显著增高, 其数值分别为 $354.27 \pm 56.05 \text{ fmol/mg protein}$ (空白组), $491.85 \pm 45.37 \text{ fmol/mg protein}$ (Rg1 组)。(3) Rg1 对突触可塑性的调节作用。突触是中枢神经系统不可或缺的基本结构。突触功能的可塑性被认为是学习记忆过程中最重要的机制之一。Rg1 可提高基础突触传递, 诱导 LTP 的产生, 同时可促进神经发育, 如断乳小鼠给予 4 周 Rg1, 大脑皮质厚度和海马 CA3 区的突触密度显著增多。在成年大鼠研究中, 发现 Rg1 可以诱导苔藓纤维神经出芽, 并且剂量依赖性的增加生长相关蛋白 (GAP-43) 的表达^[6]。(4) Rg1 增加 FOS (早蛋白的一种) 和脑源性神经生长因子 (BDNF) 的蛋白表达。Rg1 可影响即早基因的表达^[7], c-fos 作为即早基因的原型, 它的表达被视作神经活动的标志。BDNF 是支撑和维持神经元存活、生长和分化、调节神经功能和神经可塑性的重要因子。Rg1 可增加即早基因 c-fos 以及 FOS 蛋白的表达 (青年鼠和老年鼠), 也可增加大鼠海马和皮质处 BDNF 的表达。

2. 人参皂苷 Rg1 可激活学习记忆信号转导途径。为阐明促智作用机制, 我们研究了促智信号转导途径, 明确了 Rg1 促智的靶受体是 M-胆碱受体, 第一信使是乙酰胆碱。我们找到了信号转导途径上游存在两种信号级联反应, 即蛋白激酶 (PKA) 介导的和钙调蛋白激酶 II (CaMK II) 介导的信号转导, 但最终两者均作用于核转录因子环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (CREB) 使之磷酸化, 证明了磷酸化 CREB 的基因和蛋白产物是 FOS 蛋白和 BDNF, 它们是形成长期记忆的关键因素^[7,8], 信号转导途径研究中我们找到乙酰胆碱合成和释放的原因, 即 PKA、蛋白激酶 C (PKC)、CaMK II 蛋白激酶激活了胆碱乙酰转移酶, 从

而提高了乙酰胆碱的合成。Rg1 引起细胞内钙离子浓度增高,有利于促进囊泡内乙酰胆碱的释放,同时也促进多巴胺和去甲肾上腺素等的释放,这些都是易化记忆的神经递质。我们这一研究工作的特点是:(1) Rg1 提高神经可塑性包括了效能和结构可塑性两个方面,是促智药物的新型机制,对发展新型促智药做出一定贡献。(2) Rg1 不但改善认知功能障碍,也能提高正常幼年 and 成年鼠的学习能力和神经可塑性,称得上是真正的促智药。Rg1 的促智信号转导通路总结见图 2。

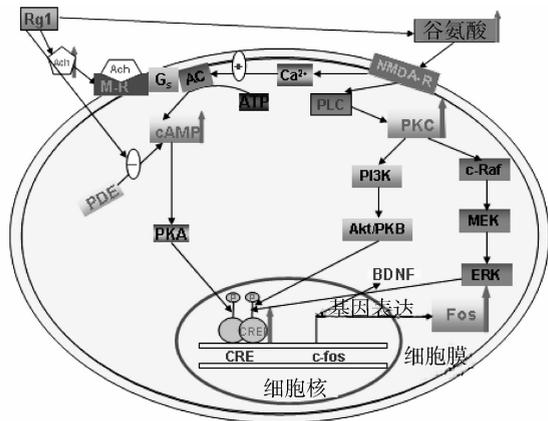


图 2 人参皂苷 Rg1 促智信号转导通路

3. Rg1 可促进海马神经发生。已知脑缺血损伤可引起海马神经发生,这是脑的一种自我修复的能力。我们采用蒙古沙鼠全脑缺血模型研究了 Rg1 对神经干细胞的增生、存活及其分化的影响。Rg1 注射给药可进一步增加前体细胞的增生,对照组经缺血后第 11 天的细胞增生数为 $85.8 \pm 20.6/\text{mm}^2$, Rg1 给药组高达 $412.1 \pm 49/\text{mm}^2$,约增加 5 倍,见图 3^[9]。此外,Rg1 能增加前体细胞的存活率^[10],同时观察到 Rg1 组的动物学习和记忆能力均增加(避暗和 Morris 水迷宫试验),Rg1 也可促进前体细胞分化为神经元,主要是颗粒细胞。MK801(NMDA 受体拮抗剂)可完全阻断 Rg1 促进神经发生的作用。Rg1 还可显著增加脑皮质及海马的诱导性一氧化氮合酶(iNOS)活性,提示 NMDA 受体的激活和 iNOS 可能是 Rg1 增加海马神经发生的机制。

国际上神经干细胞的研究有两种策略,一是从胚胎或成年脑分离神经干细胞,先在体外培养使之增生然后移至受损的脑组织,使之继续增生和转化为神经元。这一研究受到来源供应的限制,也受到伦理学的制约。另一种途径是运用各种手段刺激内源性神经

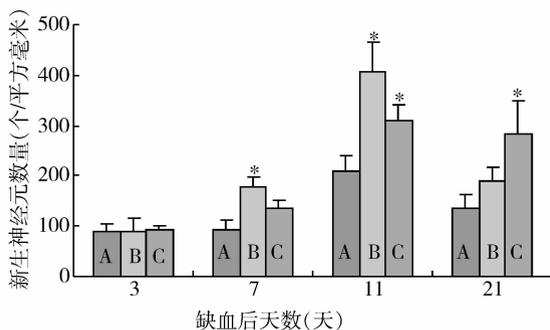


图 3 Rg1 对全脑缺血沙土鼠室下区神经干细胞增生的影响

A. 空白组; B. Rg1 5.0mg/kg; C. Rg1 10.0mg/kg; * P < 0.05 vs 同期空白组

干细胞增生和分化成神经元以达到自我修复的目的。国际上为寻找到一个分子物质能通过血脑屏障进入脑内刺激内源性神经干细胞增生和分化,经几十年奋斗而未果,是我们首次证明 Rg1 这一小分子物质有刺激海马神经干细胞增生并分化为神经元的能力。无疑这一发现具有理论和实际意义。这属于开拓性工作,为神经退行性疾病的治疗带来了新思路、新希望,也说明中药中蕴藏着神奇有效的物质。

二、Rg1 增强雄性性功能及其作用机制研究

人参在中医认为是一壮阳药,但现代研究比较少,我们研究发现 Rg1 能提高雄性小鼠的性功能。观察的主要指标是跨骑次数和交配次数以及性欲,研究表明 5 ~ 10mg/kg 口服 Rg1 能显著提高跨骑和交配次数(图 4),也能提高性欲(跨骑和交配行为的潜伏期缩短),性行为特别是阴茎勃起的生化学改变已确定有两条途径,即 NOS 释放的 NO 和抑制 PDE5 积累的 cGMP 能导致阴茎海绵体充血,阴茎勃起。我们证明 Rg1 在增加性功能的同时,阴茎海绵体内的 NO 和 cGMP 也显著增加。进一步的研究表明 Rg1 抑制 PDE5 的半数抑制率(IC₅₀)与西地那非的 IC₅₀相近(图 5)^[11]。

三、Rg1 的生精作用及其机制研究

我们在 3 种生精障碍模型上观察了 Rg1 的生精作用。例如在由棉酚造成的生精障碍模型中, Rg1 具有良好的保护作用,既能增加精子数量,又能提高精子活力。在中年大鼠和老年小鼠以及冷应激小鼠模型中, Rg1 亦表现出提高精子质量的作用,说明 Rg1 对于衰老造成的精子发生障碍具有一定的改善作用。大量的研究已经证明,生精信号转导途径主要涉及 PKA - CREM, Rg1 可增加 PKA 和 CREM,说明

Rgl 激活了此信号途径以此来解释它的生精作用。如在人体试验证明效果好,将产生国际影响和取得很好的经济效益。

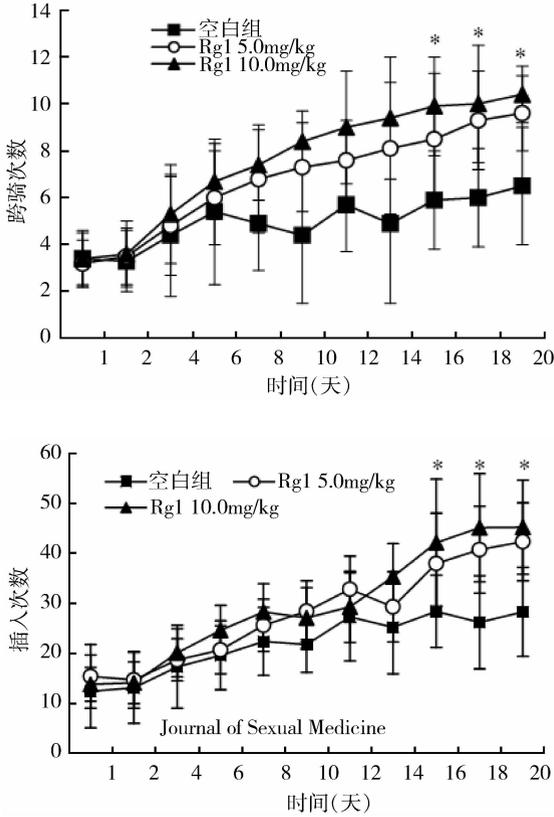


图 4 Rgl 对雄性小鼠性功能的影响

* $P < 0.05$ vs 同期空白组

表 2 Rgl 对小鼠阴茎海绵体内 NO 和 cGMP 含量的影响

剂量	NO ($\mu\text{mol/g}$)	CGMP (pmol/g)
空白组	21.67 \pm 4.69	73.08 \pm 19.32
Rgl 5.0mg/kg	28.43 \pm 6.04 *	98.10 \pm 27.70
Rgl 10.0mg/kg	30.35 \pm 6.70 *	102.73 \pm 22.09 *

$n = 8 \sim 10$, * 与空白组比较, $P < 0.05$

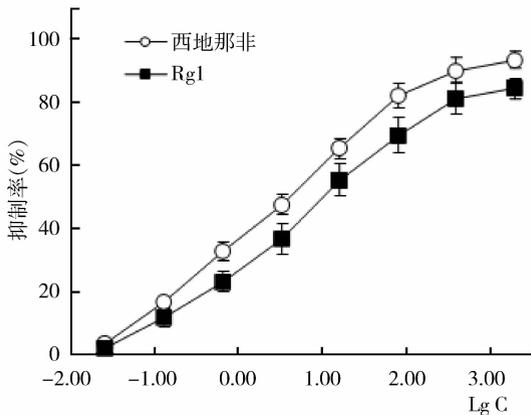


图 5 Rgl 与西地那非对 PDE5 抑制率之间的比较

四、讨 论

认知功能是指大脑对外界事物的全面感知,除学习记忆外,也包括一系列的心理活动以及早已储存在脑内的知识和经验,几乎所有的中枢神经系统疾病均有认知功能障碍,其中以神经退行性疾病如老年痴呆等病最为明显,认知障碍是其主要的临床表现,且呈进行性发展。国内外研究业已证明,轻度认知障碍(MCI)是老年痴呆患者最终发展成为痴呆的一个过渡阶段,如能加以控制则能大大减少发展成痴呆的危险性和减少病死率,控制和治疗 MCI 已成为治疗老年痴呆的一种重要策略。

从已有的科学知识来考虑,什么样的治疗方法才是改善认知障碍的最理想途径呢?其一,上面已谈及认知障碍的基础是神经可塑性,只有提高神经可塑性,才能对多种原因造成的认知障碍产生效果;其二,中枢神经系统疾病之所以产生认知障碍,主要归咎于神经元的丢失。促进海马神经发生,也即刺激神经干细胞增生和分化成神经元,利用新生成的神经元取代已死或者已损伤的神经元,使之恢复认知功能。Rgl 既能提高神经可塑性,包括效能和结构可塑性,又能提高海马神经发生,这种新型作用机制是所有已知药物所不具备的。

如果认知功能是人类适应环境、适应生存、维持正常生活和正常工作、改造社会、改造自然所必需,那么性功能则是人类生育繁衍后代所必需。美国辉瑞公司发明了国际上第一个壮阳药——西地那非(国内也称伟哥),Rgl 与之相比,具有更多的优点:①伟哥只抑制 PDE5 产生 cGMP 引起阴茎勃起,Rgl 具有引起阴茎勃起的多重机制包括 cGMP、NO 和 睾丸酮 的增加,且 Rgl 与伟哥抑制 PDE5 的 IC_{50} 基本相似;②伟哥在无性欲的情况下不能发挥作用,Rgl 既可增加性欲,又增加阴茎勃起;③伟哥毒性大,时有死亡,人参相当安全,可长期服用。小鼠口服 Rgl 20g/kg,观察 10 天,无一死亡。Rgl 增加性功能的有效剂量仅 5~10mg/kg;④伟哥破坏顶体反应引起不育,人参无此不良反应。通过比较可以看出,Rgl 在增强性功能和安全性方面具有很大的优势,人体试验如能得到验证,将会是对性医学领域的一大贡献。

Rgl 具有促进精子发生的功效,为人类面临的精子危机的解决带来一线曙光。随着现代化进程的发展,环境污染、生活方式以及药物使用不当越来越明显地影响着人们的生活质量。自 1992 年尼尔森首次报道精子数量在以每年 1% 的速率下降以后,不同国

家和地区通过回顾性研究,均得出相似的结论。我们的研究发现,Rg1在多种生精障碍模型上均表现出良好的改善作用,其作用机制涉及cAMP-CREM精子发生信号转导途径。Rg1可增加睾丸组织内两者的含量,增加血浆中睾丸酮的水平,从而维护精子发生微环境的稳定,为精子发生提供保障。

综上所述,人参与多靶点作用,其主要靶点是中枢神经系统,人参作用于中枢神经系统通过激活神经保护机制和神经细胞存活机制,通过下丘脑-垂体-肾上腺轴及下丘脑-垂体-性腺轴,提高神经可塑性包括神经发生,促进神经发育,调控神经递质、调质、激素和酶的生成释放,改善行为,提高对环境的适应力及有害因子的抵抗力,提高智能和性功能,直至延年益寿。我们应加强理论研究,彻底阐明细胞、分子机制和信号转导途径,以解开人参神奇之谜。

参考文献

- 1 Zhang JT. Noontropic mechanism of ginsenoside Rg1 influence on neuronal plasticity and neurogenesis. *Acta Pharmaceutica sin*,2005,40(5):385-388
- 2 Yang L, Liu Y, Liu CX. Pharmacokinetic properties of ginseng. The chemistry, metabolism and biological activities of ginseng. Chemical industry press. 2006:59-86
- 3 Wang YZ, Chen J, Chu SF, *et al.* Improvement of memory in mice and increase of hippocampal excitability in rats by ginsenoside Rg1's metabolites ginsenoside Rh1 and protopanaxatriol. *J Pharmacol Sci*,

- 2009,109(4):504-510
- 4 Liu M, Zhang JT. Effects of ginsenoside Rg1 on c-fos gene expression and cAMP level in rat hippocampus. *Acta Pharmmacological Sinica*,1996,17(2):171-174
- 5 Wang YZ, Wang YS, Chu SF. Noontropic signal transduction of ginsenoside Rg1. *Chinese Pharmacological Bulletin*,2008,24(6):740-743
- 6 Hu JF, Xue W, Ning N, *et al.* Ginsenoside Rg1 activated CaMKII alpha mediated extracellular signal-regulated kinase/mitogen activated protein kinase signaling pathway. *Acta Pharmacol Sin*,2008,29(9):1119-1126
- 7 Shen L, Zhang J. Ginsenoside Rg1 increases ischemia-induced cell proliferation and survival in the dentate gyrus of adult gerbils. *Neurosci Lett*,2003,344:1-4
- 8 Shen L, Zhang J. NMDA receptor and iNOS are involved in the effects of ginsenoside Rg1 on hippocampal neurogenesis in ischemic gerbils. *Neurol Res*,2007,29(3):270-273
- 9 Shen LH, Zhang JT. Ginsenoside Rg1 promotes proliferation of hippocampal progenitor cells. *Neurol Res*,2004,26:422-428
- 10 Shen LH, Zhang JT. Culture of neural stem cells from cerebral cortex of rat embryo and effects of drugs on the proliferation ability of stem cells. *Yao Xue Xue Bao*,2003,38:735-738
- 11 Wang X, Chu S, Qian T, *et al.* Ginsenoside Rg1 Improves Male Copulatory Behavior Via Nitric Oxide/Cyclic Guanosine Monophosphate Pathway. *J Sex Med*,2010,7(2):743-750

(收稿:2010-01-11)

(修回:2010-03-12)

吲哚胺 2,3-二氧化酶抑制剂与肿瘤免疫治疗

孙 婷 蔡 炯

肿瘤的发生由正常细胞基因突变引起,产生异常抗原的表达,而免疫系统可以有效地识别、清除这些抗原,产生针对这些抗原的致敏T细胞,从而清除恶变的细胞,抑制肿瘤的发生^[1]。但是恶变细胞通过多种途径逃避免疫监视,使宿主免疫系统不能识别肿瘤抗原,不引起机体免疫应答,产生免疫耐受,使机体不能清除肿瘤细胞,导致肿瘤的发生发展^[1-3]。近年来与色氨酸代谢有关的吲哚胺 2,3-二氧化酶(IDO)和肿瘤免疫耐受的关系开始备受关注。IDO是色氨

酸犬尿氨酸代谢途径的限速酶,参与许多疾病的免疫调节,如自身免疫反应性疾病、抗病毒免疫、肿瘤的免疫逃逸以及移植免疫等^[2]。大量的研究表明IDO在肿瘤细胞逃避免疫监视、肿瘤发生过程中起着重要作用^[3]。随着对IDO肿瘤免疫调控机制的研究,对IDO表达及其活性的调控将有可能成为肿瘤免疫治疗的一个靶点。本文着重阐述IDO诱导肿瘤免疫耐受的机制和应用IDO抑制剂治疗肿瘤的前景。

一、IDO与肿瘤免疫耐受

色氨酸是T细胞活化增生过程中所必需的氨基酸,IDO催化色氨酸降解,通过耗竭T细胞微环境中的色氨酸,抑制T细胞的增生,参与免疫调节过程。IDO广泛分布于人和其他哺乳动物(如小鼠、大鼠、

作者单位:100730 北京协和医学院/中国医学科学院北京协和医院核医学科

通讯作者:蔡炯,电子信箱: jiongcai@sina.com