

文章编号: 1004-0374(2009)01-0131-04

# 葛根素对中枢神经系统神经细胞保护作用的研究进展

刘本娟, 曹宝萍, 吴民耀\*

(陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062)

**摘要:** 葛根素(puerarin)是从中药葛根中提取的主要有效成分之一, 为一种异黄酮化合物。它具有抑制脑细胞凋亡, 保护神经细胞的能力, 还能够提高神经元抵抗损伤的能力, 可用于治疗脑损伤以及神经退行性疾病。本文就葛根素对中枢神经系统神经细胞的保护作用及机制方面的研究进展做一综述。

**关键词:** 葛根素; 神经细胞; 保护作用

**中图分类号:** R285 **文献标识码:** A

## Progress in the research on neuroprotective effects of puerarin in the central nervous system

LIU Ben-juan, CAO Bao-ping, WU Min-yao\*

(College of Life Science, Shanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract:** Puerarin is one of the major isoflavonoid compounds isolated from *Radix Puerariae*, which has been used in traditional Chinese medicine for centuries. The compound was found to inhibit neuronal apoptosis, protect nerve cells against hypoxic/ischemic injuries. Thus, puerarin may be used to treat brain traumas and neurodegenerative diseases. This article reviews the recent progress in research on neuroprotective effects of puerarin and the related mechanisms.

**Key words:** puerarin; neural cells; protective effect

葛根素(puerarin, Pue)是从中药葛根提取的主要有效成分之一, 为一种异黄酮化合物<sup>[1]</sup>。其化学名为8-β-D-葡萄糖吡喃糖-4', 7-二羟基异黄酮, 相对分子质量为416.38, 化学结构式(图1)<sup>[2]</sup>。Pue主要有扩张血管、改善微循环、修复内皮细胞损伤以及抑制脑细胞凋亡等药理作用<sup>[3]</sup>。近年来的研究表明, Pue对缺血性脑卒中、缺血再灌注损伤、老年性痴呆等中枢神经系统疾病均有神经保护作用<sup>[4]</sup>。

关于葛根素对中枢神经系统神经细胞保护作用的研究, 现阶段主要集中在以下几个方面: 对缺血再灌注后脑神经细胞的保护作用, 对脑损伤神经细胞的影响、抑制缺氧等损伤引起的细胞凋亡以及神经保护和抗痴呆作用等。本文就葛根素的这些作用进行综述和探讨。

### 1 葛根素对缺血再灌注后神经细胞的保护作用

葛根素对缺血再灌注后损伤的保护作用由多种

机制介导。研究表明, 葛根素能抑制缺血再灌注诱导的鼠成神经瘤细胞株N2a细胞的凋亡, 可显著降

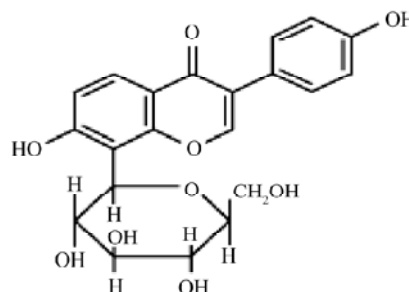


图1 葛根素的化学结构式

收稿日期: 2008-07-04; 修回日期: 2008-09-01

基金项目: 陕西师范大学留学回国人员科研启动基金(999195)

\* 通讯作者: minyao\_wu@yahoo.com

低缺血再灌注诱导的Caspase-3的活性,从而对神经元产生保护作用<sup>[5]</sup>。吴海琴等<sup>[6]</sup>对大鼠全脑缺血再灌注模型进行HE和免疫组化染色检测发现,注后72h、5d及7d葛根素组海马CA1区神经元存活数目显著高于再灌注组,且神经元存活数目及Bcl-2的表达明显增多。葛根素对缺血再灌注大鼠脑的保护作用机制是增强Bcl-2蛋白表达水平,同时降低Caspase-3蛋白的表达水平<sup>[7]</sup>。葛根素能提高脑缺血后内源性促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)的表达<sup>[8]</sup>,也可以通过上调脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的表达,减少锥体细胞的丢失,对脑缺血再灌注损伤起到保护作用<sup>[9]</sup>。羟乙葛根素可明显改善大鼠海马CA1区损伤程度,增加锥体神经元存活的数目,减少TNF- $\alpha$ 蛋白及mRNA表达,抑制NF- $\kappa$ B DNA结合活性。羟乙葛根素可减轻大鼠脑缺血再灌注损伤后炎症反应,这可能是其发挥脑保护作用的机制之一<sup>[10]</sup>。

## 2 葛根素对新生儿缺氧缺血性脑病的治疗作用

新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)是指围产期因缺氧窒息等各种因素导致的缺血缺氧性脑损伤,是导致新生儿死亡和儿童神经系统伤残的主要原因之一,目前尚缺乏特效治疗方法。

葛根素对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤具有保护作用。姜泓等<sup>[11]</sup>通过建立新生大鼠缺氧缺血性脑损伤模型,观察新生鼠缺氧缺血后腹腔内注射葛根素对脑组织一氧化氮(NO)和NO合成酶(NOS)的变化及葛根素对缺氧缺血性脑损伤的作用。结果表明,葛根素可以抑制NOS的表达,减少NO的过量生成,从而减轻脑组织神经元凋亡,对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤起到神经保护作用。葛根素通过抑制神经细胞凋亡对缺氧缺血性脑损伤后的脑组织起到保护作用<sup>[12]</sup>,也可能通过诱导细胞表达热休克蛋白(HSP70)而实现。潘洪平等<sup>[13]</sup>发现葛根素可以上调HSP70蛋白的表达,减轻缺血性大鼠脑细胞的损伤。上述结果证实葛根素能保护脑细胞,可能用于新生鼠缺氧缺血性脑损伤的治疗,为临床治疗新生儿HIE提供理论依据。

## 3 葛根素在其他类型脑损伤中的神经保护作用

葛根素具有抑制D-半乳糖诱导的蛋白糖基化反应,并对糖基化状态并发的脑神经细胞损害具有保护作用<sup>[14]</sup>。在脑损伤大鼠的研究中,葛根素明显降低模型组大鼠红细胞醛糖还原酶活性,抑制糖化产

物的形成,降低脑组织中晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-products, AGEs)及脑细胞内钙的含量,保护海马神经细胞线粒体结构的完整性<sup>[15]</sup>。葛根素对海马神经细胞线粒体的保护作用,可能是用于防治糖尿病糖基化状态时诱致的脑神经细胞损害性并发症的药理作用基础。葛根素使谷氨酸损伤的原代神经细胞荧光偏振度和微黏度降低,原代神经细胞释放的乳酸脱氢酶(LDH)减少,吸光度增加,细胞存活能力提高。葛根素对谷氨酸所致的大鼠原代神经细胞损伤的保护作用可能与葛根素改善神经细胞膜脂流动性有关<sup>[16]</sup>。

葛根素对创伤性脑损伤具有神经保护作用,其机制与葛根素抗细胞凋亡,增加Bcl-2的表达有关。张相彤等<sup>[17]</sup>利用葛根素作用脑损伤神经细胞7d后,以浓度效应关系改善创伤性脑损伤神经细胞的病理改变,减轻细胞凋亡程度,增加Bcl-2的表达,降低Bax/Bcl-2比率,且呈一定剂量依赖性,提示葛根素对创伤性脑损伤神经细胞具有神经保护作用。BDNF在脑缺血后神经元损伤和修复过程中发挥着重要作用。Semaphorin3A(Sema3A)是一种神经生长抑制因子,可以特异性的引起轴突生长锥萎缩<sup>[18]</sup>,与神经元死亡和再生有关<sup>[19]</sup>。脑缺血后BDNF和Sema3A的表达均有短暂上调,葛根素治疗后BDNF的表达增加,Sema3A的表达下降<sup>[20]</sup>。葛根素不仅通过上调BDNF,还可以通过下调Sema3A来促进缺血后神经元损伤修复及再生。因此,应用葛根素治疗脑缺血神经损伤具有广阔的前景。

## 4 葛根素对神经细胞保护作用的分子机制

大量动物实验和临床研究证实,脑损伤后存在多种凋亡相关基因的表达,如Bcl-2家族、Fas系统、p53基因、Caspase蛋白酶家族等。葛根素通过上调bcl-2蛋白水平和下调c-fos蛋白水平抑制凋亡,也可能直接通过下调Caspase-3蛋白,从而抑制凋亡,减轻脑组织的损伤。

Bcl-2基因编码的膜相关蛋白是一种强有力的细胞凋亡抑制因子,在调节神经元凋亡过程中发挥着关键作用。缺血再灌注前后,Bcl-2蛋白的表达量发生改变,是机体对抗凋亡的一种反应。有研究证实葛根素治疗组大鼠脑组织中Bcl-2蛋白的表达明显高于模型组,且细胞凋亡数目减少<sup>[21]</sup>。葛根素通过上调Bcl-2蛋白和下调Bax蛋白的表达来抑制缺血再灌注损伤后的神经细胞凋亡<sup>[22]</sup>,对其造成的损伤起一定的保护作用。

p53 作为转录因子与细胞凋亡有密切关系, 能促进缺血后的神经元死亡<sup>[23,24]</sup>。抑制 *p53* 基因表达可抑制神经细胞凋亡的发生<sup>[25]</sup>。葛根素能够下调缺血再灌注损伤后 p53 蛋白的表达<sup>[26]</sup>, 具有抗凋亡和保护脑细胞的作用。Fas 作为一种重要的促进凋亡的调控基因, 其表达产物具有传递凋亡信号的作用, 作为死亡受体的 Fas 与 Fas 配体结合可诱导细胞凋亡<sup>[27]</sup>。葛根素通过下调 Fas 表达, 阻断凋亡信号传导通路, 从而抑制细胞凋亡<sup>[28]</sup>。

Caspase-3 是介导细胞凋亡或坏死的重要因素<sup>[29]</sup>。凋亡发生时, Caspases 以级联方式被激活, 使细胞结构瓦解, 最终导致细胞死亡。葛根素能下调 Caspase-3 的表达, 抑制神经元的凋亡, 对缺血再灌注损伤的脑组织有保护作用<sup>[30]</sup>。X-染色体连锁的 IAP (X-chromosome-linked IAP, XIAP) 是 IAPs 家族中最具有抑制活性的因子, 可抑制 Caspase-3, -7, -9 的活性<sup>[31]</sup>。XIAP 是 Caspase 的强抑制剂, 而 Caspase 则在缺血和其他损伤引起的神经元死亡中起重要作用。研究发现, XIAP mRNA 表达与 Caspase-3 活性呈负相关变化<sup>[32]</sup>。葛根素抑制缺血诱导的 XIAP 表达下调的同时, Caspase-3 活性明显减弱。推测葛根素是通过调节神经细胞 XIAP mRNA 表达, 抑制 Caspase-3 活性, 阻止细胞凋亡, 从而保护缺血性脑损伤。

## 5 葛根素的抗痴呆作用

早发性痴呆又称阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD), 在中老年人群中发病率逐渐增高, AD 对老年人的生活质量影响很大, 同时也给社会和家庭带来很大压力。因此, 对 AD 患者进行有效的药物治疗极为重要。研究报道, 葛根素能保护神经细胞, 具有改善痴呆动物学习记忆的疗效<sup>[33,34]</sup>。

AD 患者脑内胞外沉积的凝聚态  $\beta$  淀粉样蛋白 ( $A\beta$ ) 具有神经毒性<sup>[35]</sup>,  $A\beta$  通过诱导细胞凋亡引发 AD。葛根素可拮抗  $\beta$  淀粉样蛋白 25-35 ( $A\beta_{25-35}$ ) 诱导的大鼠嗜铬细胞瘤细胞 (PC12 细胞) 凋亡, 具有神经细胞保护功能。PC12 细胞经过  $A\beta_{25-35}$  处理后, 细胞生存率下降, 且呈现时间依赖性; 但经葛根素干预后, 培养细胞的凋亡率明显下降, 提示葛根素具有抗凋亡作用<sup>[36]</sup>。选用  $10 \mu\text{mol/L}$  的  $A\beta_{25-35}$  诱导 PC12 细胞损伤建立 AD 细胞模型, MTT 法检测细胞存活率发现葛根素保护组较模型组明显升高, TUNEL 法检测凋亡发现葛根素保护组阳性细胞明显少于模型组<sup>[37]</sup>。上述结果证明, 葛根素对 AD 具有保护作用。

细胞内  $A\beta$  干扰神经元保护性的信号通路和细胞的应激性<sup>[38]</sup>,  $A\beta$  的神经毒性导致神经元损伤和认知功能减退<sup>[39]</sup>。葛根素可以显著改善 AD 模型大鼠的学习记忆障碍, 减轻  $A\beta_{25-35}$  所造成的神经元损伤, 其机制与葛根素抑制  $A\beta_{25-35}$  引起的细胞凋亡有关<sup>[40]</sup>。葛根素预处理能上调  $A\beta_{25-35}$  诱导的 Bcl-2 表达, 下调 Bax 的表达, 减小 Bax/Bcl-2 的比率<sup>[41]</sup>。葛根素通过下调脑组织  $A\beta_{1-40}$  和 Bax 表达, 抑制  $A\beta$  的神经毒性, 减轻脑皮层和海马神经元凋亡<sup>[42]</sup>, 起神经保护及抗痴呆的作用。

## 6 展望

目前, 葛根素对中枢神经系统保护作用的研究越来越受到重视, 其保护作用机制还不十分清楚, 有待于进一步的实验研究。但是, 葛根素在脑损伤疾病的治疗中已显示出巨大的潜力, 有望成为治疗中枢神经系统损伤性疾病的重要手段。葛根素对神经细胞的保护作用, 可能为开发治疗脑损伤的理想药物提供新的思路。

## [参 考 文 献]

- [1] Dong LP, Wang TY. Effects of puerarin against glutamate excitotoxicity on cultured mouse cerebral cortical neurons. *Acta Pharmacol Sin*, 1998, 19(4):339-42
- [2] Wu L, Qiao H, Li Y, et al. Protective roles of puerarin and Danshensu on acute ischemic myocardial injury in rats. *Phytomedicine*, 2007, 14(10):652-8
- [3] 岳红文, 胡小琴. 葛根素对心血管系统的药用价值. *中国中西医结合杂志*, 1996, 16(6):382-4
- [4] 俞娟, 徐运, 倪秀石. 植物雌激素与脑保护作用. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(8):851-4
- [5] 陈娟, 陈庆, 肖卫东, 等. 葛根素在体外模拟脑缺血再灌注诱导的神经元损伤中的保护作用. *中华实验外科杂志*, 2005, 22(10):1254-6
- [6] 吴海琴, 张蓓, 张桂莲, 等. 葛根素对脑缺血再灌注损伤的保护作用. *卒中与神经疾病*, 2005, 12(4):209-11
- [7] 何丽娅, 朱蕾. 葛根素对缺血再灌注脑保护作用的可能分子机制. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(6):1238-9
- [8] 罗玉敏, 高利, 吉训明, 等. 葛根素对大鼠缺血脑组织 EPO 表达的影响. *中国老年学杂志*, 2008, 12(28):1057-9
- [9] 张冰清, 王玉良. 葛根素对血管性痴呆大鼠海马锥体细胞和 BDNF 表达的影响. *神经解剖学杂志*, 2007, 23(6):615-20
- [10] Lou HY, Wei XB, Zhang B, et al. Hydroxyethylpuerarin attenuates focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by decreasing TNF- $\alpha$  expression and NF- $\kappa$ B activity. *Acta Pharm Sin*, 2007, 42(7):710-5
- [11] 姜泓, 王玲, 张义和, 等. 葛根素在新生鼠缺氧缺血性脑损伤中的神经保护作用. *第四军医大学学报*, 2008, 29(3):245-7
- [12] 姜泓, 王玲. 葛根素对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠神经

- 元凋亡的影响. 陕西中医, 2007, 28(9):1261-2
- [13] 潘洪平, 莫祥兰, 杨嘉珍, 等. 葛根素对大鼠急性脑缺血损伤Hsp70表达的影响. 中国中药杂志, 2005, 30(7):538-40
- [14] Fiordaliso F, Li B, Latini R, et al. Myocyte death in streptozotocin-induced diabetes in rats in angiotensin II-dependent. Lab Invest, 2000, 80(4):513-27
- [15] 吕俊华, 张世平, 沈飞海, 等. 葛根素对D-半乳糖诱导糖基化大鼠脑损害的干预作用. 中国中药杂志, 2006, 31(14):1184-7
- [16] 陈立敏, 吕秋军, 温利青, 等. 葛根素对谷氨酸所致大鼠原代神经细胞损伤的保护作用. 中国药理学通报, 2006, 22(5):607-11
- [17] 张相彤, 尚振德, 谢春成, 等. 葛根素对成年大鼠创伤性脑损伤神经细胞的保护作用. 2007, 9(3):241-4
- [18] Dontchev VD, Letourneau PC. Pathways interact in regulating sensory neuronal growth cone motility. J Neurosci, 2002, 22(15):659-69
- [19] Shirvan A, Ziv I, Fleminger G, et al. Semaphorins as mediators of neuronal apoptosis. J Neurochem, 1999, 73(3):961-71
- [20] 李贯绯, 刘群, 齐中华. 脑源性神经营养因子和Semaphorin3A在大鼠局灶性脑缺血中的表达及葛根素的保护作用. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(10):872-4
- [21] 朱蕾, 何丽娅. 葛根素对大鼠脑缺血再灌注后凋亡相关蛋白的影响. 中华实用中西医杂志, 2004, 4(17):1120-1
- [22] 曹健忠, 刘书山, 杨光田. 鼠急性全脑缺血再灌注后葛根素对海马CA1区Bcl-2、Bax表达的影响. 中国药理学通报, 2003, 19(11):1281-3
- [23] Leker RR, Aharonowiz M, Greig NH, et al. The role of p53-induced apoptosis in cerebral ischemia: effects of the p53 inhibitor pifithrin $\alpha$ . Exp Neurol, 2004, 187(2):478-86
- [24] Morrison RS, Kinoshita Y, Johnson MD, et al. p53-dependent cell death signaling in neurons. Neurochem Res, 2003, 28(1):15-27
- [25] Panahian N, Yoshiura M, Niaines MD, et al. Overexpression of heme oxygenase-1 neuroprotective in a model of permanent middle cerebral artery occlusion transgenic mice. J Neurochem, 1999, 72(3):1187-203
- [26] 潘登, 谭军, 赵秀娟, 等. 葛根素对脑缺血-再灌注损伤细胞凋亡和p53表达的影响. 中国热带医学, 2007, 7(7):1100-1
- [27] Martin-Villaba A, Herr I, Jeremias I, et al. CD95 ligand (FasL/AP0-1L) and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand mediate ischemia-induced apoptosis in neurons. J Neurosci, 1999, 19(10):3809-17
- [28] 李华, 柳忠兰. 葛根素对烟熏大鼠脑细胞凋亡及Fas蛋白表达的影响. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2004, 11(1):57-8
- [29] Faubel S, Edelstein CL. Caspases as drug targets in ischemic organ injury. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord, 2005, 5(3):269-87
- [30] 高俊凤, 李娟, 戴瑛, 等. 葛根素对大鼠脑缺血再灌注后Caspase-3表达的影响. 中国处方药, 2006, 6(51):32-4
- [31] LeBlanc A. Natural cellular inhibitors of caspases. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2003, 27(2):215-29
- [32] 徐晓虹, 陈瑜, 郑筱祥. 葛根素对脑缺血诱导神经细胞凋亡的保护作用. 中国药理学杂志, 2006, 41(21):1628-31
- [33] Jiang B, Liu JH, Bao YM, et al. Hydrogen peroxide-induced apoptosis in p12 cells and the protective effect of puerarin. Cell Biol Int, 2003, 27(12):1025-31
- [34] 杨东旭, 唐玉, 胡小敏, 等. 葛根素对 $\beta$ -淀粉样肽所致痴呆小鼠学习记忆的影响. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(6):650-2
- [35] St-George-Hyslop PH, Westaway DA. Alzheimer's disease antibody clears senile plaques. Nature, 1999, 400(6):116-7
- [36] 张海英, 胡海涛, 刘亦恒, 等. 葛根素对 $A\beta_{25-35}$ 诱导PC12细胞凋亡的影响. 中药材, 2008, 31(4):543-6
- [37] 聂靖炜, 李颖, 王瑞涛. 葛根素对 $A\beta_{25-35}$ 诱导的PC-12细胞损伤的保护作用. 中国老年学杂志, 2007, 27(23):2283-5
- [38] Magrane J, Christensen RA, Rosen KM, et al. Dissociation of ERK and Akt signaling in endothelial cell angiogenic responses to  $\beta$ -amyloid. Exp Cell Res, 2006, 312(7):996-1010
- [39] Zeng HY, Chen Q, Zhao BL. Genistein ameliorates  $\beta$ -amyloid peptide (25-35)-induced hippocampal neuronal apoptosis. Free Radic Biol Med, 2004, 36(2):180-8.
- [40] 鲁国, 闫福岭. 葛根素对 $A\beta_{25-35}$ 所致阿尔茨海默病模型大鼠脑内神经元凋亡的影响. 江苏中医药, 2005, 26(4):53-5
- [41] Zhang HY, Liu YH, Wang HQ, et al. Puerarin protects PC12 cells against  $\beta$ -amyloid-induced cell injury. Cell Biol Int, 2008, 32(10):1230-7
- [42] 闫福岭, 鲁国, 王雅琼, 等. 葛根素对AD大鼠脑内 $A\beta_{1-40}$ 和Bax表达的影响. 中华神经医学杂志, 2006, 5(2):158-61