

## 综述

## 人参皂苷 Rg1 对缺血再灌注损伤的保护机制研究进展\*

刘燃综述, 孙林、张戈审校

**摘要** 人参皂苷 Rg1 是人参有效成分的提取物之一。研究表明人参皂苷 Rg1 具有心血管方面的保护性作用。人参皂苷 Rg1 有对抗缺血再灌注损伤的作用, 但其保护作用机制并未完全了解。同时, 缺血再灌注损伤可触发内质网应激, 适度的内质网应激对心肌是种保护性机制, 但持久或严重的内质网应激可引起细胞死亡。缺血缺氧时可表达多种基因, 其中缺氧诱导因子-1 和内质网应激相关因子作为依赖局部缺血缺氧表达的的程序性基因之间有潜在的联系和影响。因此, 内质网应激相关因子可能是人参皂苷 Rg1 对心肌细胞的潜在治疗靶点。本文是人参皂苷 Rg1 对缺血再灌注损伤的心肌保护机制的最新研究报道, 以及人参皂苷 Rg1 对与此相关因子表达及其信号通路的调控的关系进行综述, 并对相关研究提出假设。

**关键词** 再灌注损伤; 缺氧诱导因子 1; 内质网应激; 人参皂苷 Rg1

人参皂苷 Rg1 (Ginsenoside-Rg1, G-Rg1) 为四环三萜类衍生物, 是人参、三七等人参属药材的主要活性成分之一。具有促进海马神经发生和生存、提高神经可塑性、增强学习记忆力<sup>[1]</sup>等作用。同时许多研究也证明 G-Rg1 对心血管的保护作用。

### 1 人参皂苷 Rg1 对再灌注损伤心肌的保护作用

冠心病在我国发病率和死亡率逐年上升, 是构成死因中上升最快的疾病。冠状动脉病变致管腔狭窄, 也可致血流完全中断, 发生急性心肌梗死, 甚至猝死。因此尽早恢复血液灌流是治疗心肌梗死的首选措施<sup>[2]</sup>。然而, 冠状动脉再通后伴随着灌注损伤。再灌注损伤成为患者缺血后复流获益的最大障碍。缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI) 是病理生理现象, 可导致细胞损伤致死亡, 也和自由基生成增多、钙超载及白细胞增多有直接联系<sup>[3, 4]</sup>。心肌缺血再灌注时, 其功能、代谢和结构均发生明显变化。缺血时产生损伤反应, 再灌注时加强了损伤反应。因此, 抗再灌注损伤的药物研究在世界各国日益受到重视。

Zhu 等<sup>[5]</sup>研究表明, 在缺氧/复氧刺激的大鼠心肌细胞, G-Rg1 通过增加超氧化物歧化酶, 减少活性氧及抑制细胞内  $Ca^{2+}$  超载, 起到抗氧化和维持细胞内  $Ca^{2+}$  稳态作用。Wei 等<sup>[6]</sup>研究显示, G-Rg1 可稳定大鼠心室微血管生成, 恢复更多灌注后梗死区域的心肌功能。张庆勇等<sup>[7]</sup>研究证明, G-Rg1 通过减小大鼠心肌梗死面积、增加梗死区边缘的微血管密度及心肌组织内一氧化氮水平达到治疗效果。Wang 等<sup>[8]</sup>研究显示, G-Rg1 使心肌梗死家兔局部心肌组

织中的粒细胞集落刺激因子诱导骨髓外周血单个核细胞迁移至心肌组织, 并使血管内皮细胞进一步分化, 血管内皮细胞的再生促进梗死心肌组织毛细血管再生以恢复血液供应。Zhang 等<sup>[9]</sup>研究表明, 缺氧/复氧刺激大鼠心肌细胞, G-Rg1 抑制了心肌细胞的自噬和凋亡, 增强心肌生存能力。

### 2 人参皂苷 Rg1 对再灌注损伤后表达的相关抗损伤因子的调节机制

缺血缺氧时表达多种基因, 其中缺氧诱导因子 1 (Hypoxia Inducible Factor-1, HIF-1) 对这些基因的诱导性表达调控起到重要作用。HIF-1 在哺乳动物中广泛表达, 对氧气的稳态调节起重要作用, 是具有转录活性的核蛋白。

HIF-1 是异源二聚体, 由  $\alpha$  和  $\beta$  两个亚基组成。常氧条件下, HIF-1 $\beta$  稳定表达, 缺氧时几乎不被诱导。受缺氧调控的 HIF-1 $\alpha$  是活性亚基, HIF-1 $\alpha$  在常氧时合成和降解同时发生, 经脯氨酸羟化酶 (prolyl hydroxylase, PHD) 羟化修饰后降解, 维持在低水平。缺氧等刺激下, 线粒体呼吸链电子传递障碍, ATP 形成减少, 造成胞内环境刺激如活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 抑制 PHD 活性, 使 HIF-1 $\alpha$  蛋白迅速增加, HIF-1 $\alpha$  与 HIF-1 $\beta$  聚合形成异二聚体, 发挥转录因子的作用, 调节靶基因的表达。杨晓刚等<sup>[10]</sup>研究发现 HIF-1 $\alpha$  活性增强可减轻氧自由基损伤和炎症反应, 对抗缺血再灌注损伤。

HIF-1 与心血管系统有关的靶基因主要有<sup>[11]</sup>: 促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 能促进干细胞分化为原

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助(编号:81260061), 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项基金资助(项目编号:2011FB193 及 2012FB046)  
作者单位: 650101 云南省昆明市, 昆明医科大学第二附属医院 心内科  
作者简介: 刘燃 硕士研究生 主要从事冠心病, 高血压方面研究 Email: 179143498@qq.com 通讯作者: 张戈 Email: zhanggema@126.com  
中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2014) 01-0077-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2014.01.021

红细胞,使其分化、增殖和成熟,加速血红蛋白合成,使骨髓中的网织红细胞和红细胞释放入血;血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是很强的内皮特异性丝裂原,与内皮细胞表达的特异性受体结合后使内皮细胞增殖,增加血管的数量和密度;葡萄糖载体蛋白 1 (glucose transporter-1, GLUT-1)在缺氧时可增加糖酵解,满足机体对能量代谢的需要;血红素氧合酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1)可催化降解血红素产生铁离子、胆红素和一氧化碳,能抑制动脉斑块和粥样硬化的形成及发展。且胆红素含量与冠心病发病率呈负相关。一氧化碳可激活鸟苷酸环化酶,提高鸟嘌呤核糖苷-3',5'-环磷酸酯水平,使血管平滑肌松弛,抑制血小板凝聚,增加血流量和血管通透性,缺氧组织得到氧气供应;促内皮素 1 (endothelins, ET-1)是血管活性肽,其表达增加,可使心肌适应机体的缺氧环境的耐受性增强;诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNos)可产生血管舒张因子一氧化氮,以舒张血管,增加心肌组织血流量。

研究表明 HIF-1 $\alpha$  可通过 MAPK 信号通路和 PI3K/Akt 信号通路<sup>[12]</sup>表达调控其下游因子, Leung 等<sup>[13]</sup>研究表明, G-Rg1 可以通过 PI3K/Akt 信号通路上调 HIF-1 $\alpha$  及其下游基因 VEGF 在人脐静脉内皮细胞中的表达以促进血管生成。Yin 等<sup>[14]</sup>研究表明, G-Rg1 可以通过激活 PI3K/Akt 信号通路和抑制 p38 MAPK 信号通路,上调 VEGF 在大鼠心肌内的表达以促进血管生成。Wang 等<sup>[15]</sup>研究表明, G-Rg1 可通过 Akt 信号通路上调 HIF-1 $\alpha$  和血小板-内皮细胞粘附分子 CD31 的表达以减小大鼠心肌梗死面积。在心肌缺血再灌注损伤过程中,关于 G-Rg1 调控 HIF-1 表达的机制未完全了解,这是值得研究的热点方向。

### 3 内质网应激与再灌注损伤的联系

内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是重要的信号通路,ERS 与心血管疾病如动脉粥样硬化、缺血性心脏病、心肌肥大及心力衰竭等有关。再灌注损伤可致酸中毒、ATP 耗竭、钙超载及氧化应激等。同时缺血缺氧后造成葡萄糖等营养物质匮乏,大量自由基的产生及 Ca<sup>2+</sup> 稳态破坏均可引起内质网功能障碍,触发 ERS。适度的 ERS 是种细胞保护机制,可促进内质网处理未折叠及错误折叠蛋白等降低损伤,持久或严重的 ERS 可引起细胞死亡。在不同的诱导条件下,ERS 通过不同的信号通路发挥正性/负性调节,随之产生相应保护/损伤细胞的效应。根据诱发 ERS 的原因不同,ERS 可分为 3 种类型:未折叠/误折叠蛋白在内质网内蓄积激发的未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR);过多表达的蛋白质经内质网膜转运激发的内质网过负荷反应(ER overload response, EOR);以及 ER 膜上固醇剥夺激活的固醇级联反应。

UPR 是诱导 ERS 的最重要的信号机制。蛋白质的正确折叠需要内质网蛋白质分子伴侣与折叠酶的参与,主要有以下几类:葡萄糖调节蛋白类如 GRP78 (glucose regulatory protein 78kD)、GRP94 等;钙结合伴侣如分子钙网蛋白(cal reticulon, CRT)等;蛋白质折叠酶类如内质

网氧化还原素 1 (endoplasmic reticulum oxidoreductin-1, ERO-1)等;其他如 HO-1 等。正常情况下,GRP78 与 3 种内质网跨膜蛋白,即蛋白激酶 R 样内质网激酶(protein kinase R-like ER kinase, PERK)、活化转录因子 6 (the activating transcription factor 6, ATF6)和跨膜蛋白激酶 1 (inositol requiring enzyme 1, IRE1)相结合。ERS 时,内质网内大量的未折叠蛋白与 GRP78 蛋白结合,导致 3 种跨膜蛋白与 GRP78 蛋白解离,从而激活跨膜蛋白,触发 UPR。

一些 ERS 反应基因如血红素氧合酶 1、斯钙素 2、GRP94 均可由 ATF6 和 HIF-1 诱导表达<sup>[16, 17]</sup>。其中内质网氧化还原素 1 有两个亚型,  $\alpha$  亚基由 HIF-1 诱导表达<sup>[18]</sup>,  $\beta$  亚基由 ERS 诱导表达<sup>[19]</sup>。马骥等<sup>[20]</sup>研究发现,大鼠心肌梗死后,即刻进行 EPO 的注射治疗,可缓解缺血激发的过度 ERS,抑制 CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CCAAT/enhancer-binding protein-homologous protein, CHOP)过表达及其介导的凋亡信号通路,保护缺血心肌,改善心功能。而 HIF-1 与 EPO 具有上下游基因激活关系。故 HIF-1 和 ERS 相关因子作为依赖局部缺氧缺血表达的程序性基因之间有了潜在的联系和影响。已有研究证明 G-Rg1 能上调 HIF-1 $\alpha$  的表达,使其发挥对心肌的保护作用。但 G-Rg1 与心肌内 ERS 相关因子有何联系和影响,目前少见报道。

Luo 等<sup>[21]</sup>研究发现, G-Rg1 可抑制甲醛诱导的大鼠嗜咯细胞瘤细胞系(PC12)产生的神经毒性及内质网应激介导的细胞凋亡,增强细胞生存能力。杨海燕等<sup>[22]</sup>研究表明,再灌注前,短暂用低 pH 液复灌家兔心肌,通过调节 ERS 反应程度,抑制 I/R 导致的过度 ERS,减轻内质网相关凋亡而产生心肌保护效果。Yeh 等<sup>[23]</sup>研究发现,霍奇金淋巴瘤 1 (HL-1)细胞系模拟的心房肌细胞在心脏停搏液诱导再灌注损伤时,通过 AMPK 信号通路的活化可抑制 ERS 和其下游的未折叠蛋白反应 UPR 使拟心肌细胞增强抗凋亡能力和减少凋亡反应。Miyazaki 等<sup>[24]</sup>研究表明,相较于野生普通型小鼠,CHOP 基因缺陷小鼠可避免再灌注诱导的通过 ERS 介导的 CHOP 凋亡通路引起的心肌细胞炎症及凋亡。Chen 等<sup>[25]</sup>研究发现缺血后处理(Ischemic postconditioning, I-postC)是通过抑制 ERS 介导的 CHOP 凋亡通路达到对大鼠心肌的保护作用。Doroudgar 等<sup>[26]</sup>研究发现拟缺血再灌注诱导大鼠心室肌损伤和死亡,通过增强 ATF6 的活性,使其诱导 GRP78 的表达上调,激活 ERS,增强心室肌生存能力。值得注意的是,首次报道由缺血诱导激活的 ATF6,当再灌注时又灭活。这预示着,适当的灌注前预处理,可能使 ATF6 在再灌注期间仍能激活发挥对心肌的保护作用。Isodono 等<sup>[27]</sup>研究发现,内质网跨膜分子前列腺雄激素抑制信使 1 (prostatic androgen repressed message-1, PARM-1)可抑制高血压性心脏病导致的大鼠心脏重构。是通过增加 PERK 和 ATF6 的表达,抑制 CHOP 表达起到保护心肌细胞的作用。以上研究提示,关于 G-Rg1 与心肌内 ERS 有何联系和影响,可从上述潜在靶点进行研究。

## 4 结语与展望

G-Rg1 对心血管的保护作用得到广泛认可, 对再灌注损伤的保护机制也得到部分阐明, 但其对 HIF-1 及其下游基因的调节机制并未完全了解。同时 G-Rg1 对 ERS 相关因子的调节和影响值得探明。随着越来越多的深入研究, G-Rg1 对再灌注损伤的保护机制会得到充分了解, 为临床治疗提供完善的理论依据。

## 参考文献

- [1] 石瑛, 姬锋养, 赵艳. 人参皂苷 Rg1 联合吡拉西坦治疗血管性痴呆临床观察. 实用中医药杂志, 2011, 27:682-683.
- [2] Salters CR Jr, Bailey AL, Whayne TF Jr. Current treatment of heart failure in the USA. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2010, 8:279-290.
- [3] Roberta AG. Cell Death Pathways in Acute I/R Injury. *Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2011, 16:233-238.
- [4] 赵亚玲, 敖虎山. 心肌缺血再灌注损伤的研究进展. 中国循环杂志, 2011, 26:396-398.
- [5] Zhu D, Wu L, Li CR, et al. Ginsenoside Rg1 protects rat cardiomyocyte from hypoxia/reoxygenation oxidative injury via antioxidant and intracellular calcium homeostasis. *J Cell Biochem*, 2009, 108:117-124.
- [6] Wei HJ, Yang HH, Chen CH, et al. Gelatin microspheres encapsulated with a nonpeptide angiogenic agent, ginsenoside Rg1, for intramyocardial injection in a rat model with infarcted myocardium. *J Control Release*, 2007, 120:27-34.
- [7] 张庆勇, 陈燕萍, 刘芬, 等. 人参皂苷 Rg1 对大鼠急性缺血性心肌管再生的促进作用. 第三军医大学学报, 2013, 35:42-45.
- [8] Wang NY, Lu CJ, Chen XH. Study on effect of ginsenoside Rg1 in promoting myocardial vascular endothelial cell regeneration through induction on bone marrow stem cell's migration and differentiation in rabbits of myocardial infarction. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 2005, 25:916-919.
- [9] Zhang ZL, Fan Y, Liu ML. Ginsenoside Rg1 inhibits autophagy in H9c2 cardiomyocytes exposed to hypoxia/reoxygenation. *Mol Cell Biochem*, 2012, 365:243-250.
- [10] 杨晓刚, 朱庆华, 常谨, 等. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$  在鼠肺缺血再灌注损伤中的表达与意义. 中国循环杂志, 2012, 27:466-469.
- [11] Lee JW, Bae SH, Jeong JW, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF-1)  $\alpha$ : its protein stability and biological functions. *Exp Mol Med*, 2004, 36:1-12.
- [12] 卢琼, 谭睿, 崔文婷, 等. 细胞信号通路与动脉粥样硬化. 中国医药生物技术, 2012, 7:211-215.
- [13] Leung KW, Ng HM, Tang MK, et al. Ginsenoside-Rg1 mediates a hypoxia-independent upregulation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  to promote angiogenesis. *Angiogenesis*, 2011, 14:515-522.
- [14] Yin H, Liu Z, Li F, et al. Ginsenoside-Rg1 enhances angiogenesis and ameliorates ventricular remodeling in a rat model of myocardial infarction. *Mol Med (Berl)*, 2011, 89:363-375.
- [15] Wang XD, Gu TX, Shi EY, et al. Effect and mechanism of panaxoside Rg1 on neovascularization in myocardial infarction rats. *Chin J Integr Med*, 2010, 16:162-166.
- [16] Law AY, Lai KP, Ip CK, et al. Epigenetic and HIF-1 regulation of stanniocalcin-2 expression in human cancer cells. *Exp Cell Res*, 2008, 314:1823-1830.
- [17] Paris S, Denis H, Delaive E, et al. Up-regulation of 94-kDa glucose-regulated protein by hypoxia-inducible factor-1 in human endothelial cells in response to hypoxia. *FEBS Lett*, 2005, 579:105-114.
- [18] Gess B, Hofbauer KH, Wenger RH, et al. The cellular oxygen tension regulates expression of the endoplasmic oxidoreductase ERO1-L $\alpha$ . *Eur J Biochem*, 2003, 270:2228-2235.
- [19] Pagani M, Fabbri M, Benedetti C, et al. Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1- $\beta$  (ERO1-L $\beta$ ), a human gene induced in the course of the unfolded protein response. *J Biol Chem*, 2000, 275:23685-23692.
- [20] 马骥, 郑鸣之, 俞月萍. 促红细胞生成素抑制心肌梗死大鼠心肌核转录因子 CHOP 表达的研究. 中国药理学杂志, 2011, 46:25-27.
- [21] Luo FC, Zhou J, Lv T, et al. Induction of endoplasmic reticulum stress and the modulation of thioredoxin-1 in formaldehyde-induced neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 2012, 33:290-298.
- [22] 杨海燕, 刘新伟, 马亚飞, 等. 低 pH 液复灌对兔缺血再灌注心肌内质网应激与细胞凋亡的影响研究. 解放军医学杂志, 2011, 36:31-34.
- [23] Yeh CH, Chen TP, Wang YC, et al. AMP-activated protein kinase activation during cardioplegia-induced hypoxia/reoxygenation injury attenuates cardiomyocyte apoptosis via reduction of endoplasmic reticulum stress. *Mediators Inflamm*, 2010, 2010:130636.
- [24] Miyazaki Y, Kaikita K, Endo M, et al. C/EBP homologous protein deficiency attenuates myocardial reperfusion injury by inhibiting myocardial apoptosis and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31:1124-1132.
- [25] Chen YH, Wu XD, Yao ST, et al. Calcineurin is involved in cardioprotection induced by ischemic postconditioning through attenuating endoplasmic reticulum stress. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124:3334-3340.
- [26] Doroudgar S, Thuerauf DJ, Marcinko MC, et al. Ischemia activates the ATF6 branch of the endoplasmic reticulum stress response. *J Biol Chem*, 2009, 284:29735-29745.
- [27] Isodono K, Takahashi T, Imoto H, et al. PARM-1 is an endoplasmic reticulum molecule involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in rat cardiac myocytes. *PLoS One*, 2010, 5:e9746.

(收稿日期:2013-08-27)

(编辑:汪碧蓉)