



宁夏枸杞子治疗肝脏疾病的作用机制

车招娣¹, 周正群², 肖佳^{1*}

1. 暨南大学附属第一医院临床研究院, 广州 510632;

2. 暨南大学药学院中药及天然药物研究所, 广州 510632

* 联系人, E-mail: edwinsi@connect.hku.hk

2020-11-02 收稿, 2020-12-04 修回, 2020-12-07 接受, 2020-12-08 网络版发表

国家自然科学基金(81970515)资助

摘要 枸杞子作为药食同源的植物, 具有滋补肝肾、益精明目等诸多药理作用, 是中国传统的中草药和食品补品, 但直到近年来其分子机制研究才被重视。枸杞子含有丰富的生物活性成分, 如枸杞多糖、枸杞色素和枸杞亚精胺等组分, 能够改善多种疾病的病症。研究表明, 枸杞子具有显著的抗炎、抗氧化、抗凋亡、抗纤维化和抗肿瘤等作用。枸杞子性平味甘, 对于大部分肝脏疾病具有显著的修复功能, 并且在防治相关并发症等方面取得良好效果。但由于枸杞子的活性物质复杂多样, 研究人员难以厘清发挥这些有益功效的主要单体和具体的分子机制, 从而限制其在保健食品和药物方面的应用。本文总结了枸杞子提取物在肝病治疗中的作用和机制, 梳理了现有枸杞子护肝研究的优势和不足, 以期对肝脏疾病的研究提供新的给药方案, 对促进枸杞子活性成分的药物开发进程提供参考和借鉴。

关键词 枸杞子, 活性成分, 肝脏疾病, 护肝

宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)是茄科枸杞属植物。在自然界中, 有70多种不同的枸杞, 主要分布于温带和亚热带地区, 但是来自中国宁夏地区的枸杞被认为是品质最高的浆果。宁夏枸杞主要分布于我国西北部, 属于道地药材, 其主要特征为粒大、色红、肉厚、质柔软、籽少、味甜。枸杞子是宁夏枸杞或中华枸杞的果实, 其外形多是梭形或长方形, 长度在6~20 mm之间, 直径约为3~10 mm^[1]。中医认为, 枸杞子性平味甘, 有滋补肝肾、益精明目等作用。目前, 枸杞子已被列入我国“药食同源”物质名单, 即同时具有食物和药物的功效, 并且可以长期服用, 药效明显, 副作用很低^[2]。

枸杞子是一味传统的中草药, 含有多糖、类胡萝卜素和类黄酮等多种功能性成分^[3], 其药效首载于秦汉时期的《神农本草经》^[4]。明代《本草纲目》中记载^[5]: 枸杞子“甘平而润, 性滋而补, 能补肾、润肺、生

精、益气、此乃平补之药”。其他中医文献资料也证明, 枸杞子能滋养肝脏和肾脏, 有助于体内“阴”和“阳”的重新平衡, 而阴阳二气平衡有助于滋养眼睛、肝脏和肾脏的健康^[6]。一贯煎是自清朝记载并流传下来的一剂含有枸杞子的中医方剂, 具有滋阴疏肝的效果。现代临床上也将其应用于治疗慢性肝炎、肝硬化、脂肪肝等肝脏疾病^[7]。《中华人民共和国药典》2015版记载: 枸杞子具有滋补肝肾、益精明目的功效^[8]。如今, 随着欧美等国家对枸杞的不断了解和认可, 枸杞子在西方世界越来越受到欢迎, 甚至被称为“超级水果”^[9]。自21世纪初以来, 传统的中国药典枸杞(宁夏枸杞)已作为可靠的保健食品和膳食补充剂在北美、欧洲、大洋洲和东南亚等许多国家热销。

尽管枸杞子的食用和药用历史已经有很长的历史, 在“清肝、明目、补气”上有着广泛的应用, 但是关于

引用格式: 车招娣, 周正群, 肖佳. 宁夏枸杞子治疗肝脏疾病的作用机制. 科学通报, 2022, 67: 351–363

Che Z D, Zhou Z Q, Xiao J. Mechanisms of wolfberry in the treatment of liver diseases (in Chinese). Chin Sci Bull, 2022, 67: 351–363, doi: [10.1360/TB-2020-1419](https://doi.org/10.1360/TB-2020-1419)

其有效成分的分离鉴定、疾病治疗的分子机制、临床治疗效果和安全性的研究直到近20年才开始慢慢受到重视. 现代研究证明, 枸杞子中的枸杞多糖(*Lycium barbarum* polysaccharides, LBP)具有保肝特性. 在过去的10年中, 我们和其他研究小组通过多种动物模型和临床研究证明了枸杞子及其主要成分对急性肝损伤、代谢性肝病、肝衰竭和肝癌的保护作用. 考虑到这些疾病的高发病率和造成的沉重社会和经济负担, 有必要探索确切的分子保护机制和可能的副作用, 并在其临床应用中制定可靠的治疗策略. 因此, 本文旨在总结枸杞子化学成分研究现状以及利用现有数据分析枸杞子护肝的生化分子机制, 为枸杞子的进一步研究利用提供科学依据.

1 枸杞子的主要活性成分

枸杞子中次级代谢产物比较丰富, 除枸杞多糖等大分子成分外, 目前从枸杞子中分离鉴定了180余种小分子化学成分, 主要包括糖脂类、苯丙素类、香豆素类、木脂素类、绿原酸类、黄酮类、含氮类以及有机酸等其他类成分^[10], 枸杞子不同化合物的比例如图1所示. 值得一提的是, 枸杞多糖、以苯丙素类和黄酮类等成分为代表的多酚类、以枸杞亚精胺类成分为代表的含氮类、以枸杞红素为代表的萜类成分是枸杞子中的主要化学成分^[11].

枸杞多糖在枸杞子中所占比例最大, 约为枸杞干果总重的5%~8%, 目前已从枸杞子中分离鉴定了29种多糖^[12]. 枸杞多糖是迄今研究最深入的枸杞子主要成分, 在多种疾病模型中被发现具有较强的抗炎、抗氧化应激、抗衰老和抗肿瘤等功效. 多酚类成分也是枸杞子中的一类主要成分, 目前从枸杞子中分离鉴定了70种多酚类成分, 包括43种苯丙素类化合物、6种香豆素类化合物、8种木脂素类化合物、2种绿原酸类化合物和11种黄酮类化合物^[10,12]. 初步推测, 这些成分可能具有抗炎症和抗衰老的作用. 目前从枸杞子中分离鉴定了66种含氮类化合物, 包括34种枸杞亚精胺类成分、21种酰胺类化合物和11种生物碱类化合物^[10,12]. 其中, 枸杞亚精胺类成分是我们团队^[11]在对抗阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)中药枸杞子进行物质基础研究过程中发现的一类主要成分、结构全新、特征的亚精胺源天然产物. 该类成分在果蝇动物模型中显示出确切的抗AD药效. 目前从枸杞子中分离鉴定了13种萜类化合物, 其中以枸杞红素(zeaxanthin dipalmitate,

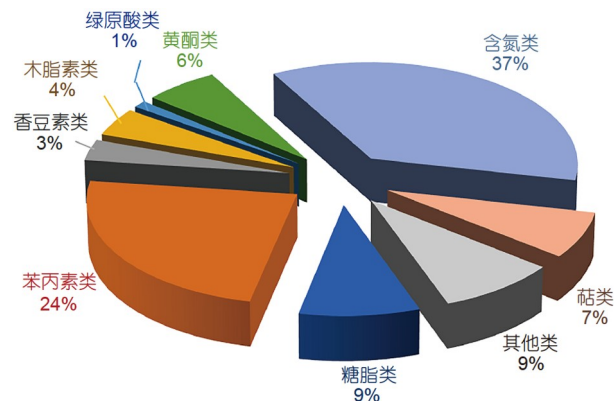


图1 (网络版彩色)枸杞子中小分子化合物分类及所占比例. 含氮类、苯丙素类、糖脂类和萜类化合物是枸杞子所含主要的小分子化合物类型

Figure 1 (Color online) Classification and proportion of small molecule compounds in wolfberry. Nitrogen, phenylpropanoids, glycolipids, and terpenoids are the main types of small molecular compounds contained in wolfberry

或称玉米黄素二棕榈酸酯)为代表的类胡萝卜素是枸杞子中主含、特征、活性成分, 同时也是枸杞子显红橙色的物质基础^[13].

2 宁夏枸杞护肝的作用机制

2.1 病毒性肝炎

病毒性肝炎是一种由肝炎病毒造成的肝脏炎症, 目前已发现5种肝炎病毒: 甲、乙、丙、丁和戊型. 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染后可能会发展成慢性肝炎, 进而导致肝硬化和肝癌. 病毒性肝炎是全球范围内最严重的公共卫生问题之一. 2015年世界卫生组织发布的一份全球肝炎报告指出, 病毒性肝炎导致的估计死亡人数为134万, 与结核病死亡人数(137万)相当, 并且高于艾滋病毒感染死亡人数(106万)和疟疾的死亡人数(44万). 其中96%的死亡是由于慢性肝炎并发症引起的, 大多数(66%)是由HBV引起的^[14]. 2016年, 全球范围内估计慢性HBV感染患病率为3.5%, 约2.57亿人患有慢性感染^[15]. 世界卫生组织西太平洋区域(包括37个国家)的疾病负担最高(6.2%), 其次是非洲区域(6.1%)^[14]. 约有10%~15%的慢性HBV感染者会同时感染HCV(大多数是通过注射药物感染), 而5%的则是D型肝炎病毒(hepatitis D virus, HDV). HDV需要存在HBV感染, 并且慢性HBV携带者中HDV感染的流行程度随地理区域的不同而有很大差异^[16]. 近年来, 尽管开发了新的抗病

毒和免疫疗法,慢性肝炎仍难以临床治愈^[17]。因此,找到一种安全有效的食物补充剂或者药物来改善病毒性肝炎造成的肝损伤,有着重要的临床和社会意义。

天然药物抗肝炎病毒的研究一直以来受到很多学者的关注。本研究组在慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)小鼠模型中发现,肝脏代谢紊乱能重新激活HBV复制。当小鼠口服枸杞红素后,肝脏乙肝病毒拷贝数和血清乙肝表面抗原水平都明显下降,肝脏脂肪代谢紊乱和肝炎症状也得到了改善。此外,我们发现,枸杞红素可以上调过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶1(super-oxide dismutase1, SOD1)等抗氧化酶的表达,降低氧化应激生物标记物3-硝基酪氨酸(3-nitrotyrosine, 3-NTR)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)的活性,下调肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等促炎细胞因子和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的表达,并且抑制caspase 3/7和8的活性。更重要的是,小鼠长期服用枸杞红素后未观察到明显的副作用。这些结果说明,枸杞红素具有抗氧化、抗炎、抗凋亡等特性,可能是治疗病毒性肝炎的潜在治疗剂^[18]。此外,邢铭友等人^[19]通过临床观察枸杞糖肽联合拉米夫定治疗慢性乙型肝炎疗效,发现联合组(应用枸杞糖肽胶囊联合拉米夫定片)比对照组(单用拉米夫定片)治疗慢性乙型肝炎的疗效更显著。枸杞糖肽胶囊可以促进肝功能恢复、增加HBeAg/抗-HBe(乙肝e抗原/乙肝e抗体)血清转换率,降低HBV-DNA(乙型肝炎病毒DNA)水平。由此可见,枸杞糖肽具备作为慢性乙型肝炎治疗辅助药物的潜力。

2.2 非酒精性脂肪性肝病

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种非酒精滥用引起的慢性代谢性肝病,其特征是肝脏中大量的脂肪堆积,与胰岛素抵抗和遗传易感性密切相关^[20]。NAFLD常常伴有肥胖、糖尿病和血脂异常等合并症,是代谢综合征的重要表型之一^[21]。近年来,我国城镇成年居民NAFLD的发病率急速上升,达到了约25%的水平,主要与长期摄入高脂肪高热量的食物以及久坐少动的生活习惯有关^[22]。NAFLD可进一步分为非酒精性单纯性脂肪变性(non-alcoholic steatosis, NAS)和非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)。NAS是良性和非进行

性的,其特征在于肝细胞中存在简单的脂肪变性或脂肪浸润,肝细胞损伤不明显;相反,NASH的特征是存在脂肪变性和炎症,伴有或不伴有纤维化的肝细胞损伤,并且有一定几率发展成肝硬化^[23]。NAFLD的基本发病机制是脂质代谢异常和胰岛素抵抗造成肝细胞中脂质滴过多积聚^[24]。这种脂质滴积累使得肝细胞容易受到内部和外部刺激,从而导致脂质过氧化,促进炎症细胞因子过度产生,诱发更严重的内质网应激和氧化应激,进一步加重已经存在的肝损伤。另外,肝脏中巨噬细胞-Kupffer细胞也可被脂滴激活,进而诱发肝脏炎症^[25]。通过改善饮食、增加体育锻炼或减脂手术以减少内脏肥胖一直是NAFLD的基础疗法,但尚未确定一种针对其病理机制有效的治疗药物^[26]。大量研究表明,枸杞子提取物对非酒精性脂肪肝具有一定的治疗效果。

Lin等人^[27]喂食6周大雄性AMPK(AMP-activated protein kinase)- α 2基因敲除小鼠高脂饮食和枸杞子18周,发现枸杞子可减轻线粒体的氧化应激,激活AMPK- α 2,增强线粒体生物活性,从而缓解小鼠的脂肪变性。Li等人^[28]给雄性C57BL/6J小鼠分别喂养低脂饮食、高脂饮食或100 mg/kg LBP添加饮食24周。结果显示,LBP可改善高脂饮食诱导的NAFLD模型小鼠的脂肪分布和脂质代谢情况,其机制可能是LBP通过激活AMPK磷酸化,抑制胆固醇调节元件结合蛋白1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)的核表达,并降低脂肪合成基因的mRNA和蛋白表达。总之,LBP通过AMPK依赖性途径参与SREBP-1c介导的抗脂质作用,从而达到预防和改善脂肪肝的目的。另外,已知sirtuin 1(SIRT1)在肝细胞脂质代谢的调节中发挥重要作用^[29]。Jia等人^[30]发现,LBP可以通过SIRT1依赖性信号(增强NAD⁺/NADH比值来上调SIRT1脱乙酰酶的活性)促进LKB1去乙酰化和AMPK磷酸化,从而增强脂肪酸的氧化作用以及减少脂质的合成,进而发挥强大的降脂作用。

本研究组^[31]前期工作发现,在高脂饮食诱导的NASH大鼠模型中,LBP能够明显改善肝脏炎症、纤维化、肝内脂质的积累和氧化应激损伤。高脂饮食可导致NASH大鼠肝脏中胶原蛋白的形成增加,TGF- β 1和 α -SMA的表达水平上调,SMAD2和SMAD4磷酸化水平升高,肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)持续激活。当LBP治疗处理后,TGF- β /SMAD通路蛋白的磷酸化水平明显降低,活化HSCs数量减少,说明LBP可以通过影响该通路来缓解肝纤维化。此外,LBP可以通过

降低肝脏SREBP-1c和过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ 2 (peroxisome proliferators-activated receptors γ 2, PPAR γ 2)的mRNA表达, 下调促炎标志物(TNF- α 、IL-1 β)和趋化因子标志物(MCP-1)的表达水平, 部分抑制核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)通路的激活, 进而减少肝脏脂肪变性. 最后, 我们发现, NASH大鼠服用LBP后, 自噬标志物(如Atg5和LC3II)水平显著上调, 而其他自噬负调节因子(如磷酸化mTOR和p62)水平出现下调. 综上, 枸杞多糖可能通过不同的机制改善NAFLD/NASH, 包括调节转录因子NF- κ B、MAPK(mitogen-activated protein kinase)和自噬途径等^[31]. 我们发现, LBP可以通过细胞色素P450 2E1(cytochrome P450 2E1, CYP2E1)依赖性途径改善氧化应激, 减少肝脏促炎介质和趋化因子的产生, 以及通过p53依赖性的内源和外源途径减少NASH大鼠中肝细胞的凋亡^[32]. 除此之外, LBP还可以通过调节PI3K/Akt/FoxO1、JNK/c-Jun和MEK/ERK等激酶和转录因子相关途径改善NASH引起的肝损伤^[32]. 此外, 在蛋氨酸-胆碱缺乏鼠粮(MCD)诱导的NASH小鼠模型中, 喂食LBP能明显缓解NASH造成的肝脏损伤, 包括血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)表达水平升高、脂肪变性、炎症反应、纤维化和细胞凋亡. LBP可以通过抑制NF- κ B-p50的表达活性以及NLRP3/6炎症小体通路的激活, 进而发挥肝脏保护作用^[33].

2.3 酒精性肝病

饮酒是继高血压和吸烟之后导致全球疾病负担的第三大风险因素^[34]. 酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是指因为酒精滥用而引起的肝脏损伤和一系列病变. 在临床上, ALD包括酒精性单纯脂肪病变(alcoholic steatosis)、酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver disease, AFLD)、酒精性肝炎(alcoholic steatohepatitis)和酒精性肝硬化(alcoholic cirrhosis)等. 截至目前, 虽然有几种新型的靶向药物(如肿瘤坏死因子靶向药物)正在进行临床测试, 戒酒仍是治疗各种类型酒精性肝病最有效的治疗方法. 但戒酒疗法因存在病人难以控制酒瘾和戒断反应等弊端而不能很好地达到治疗目的^[35]. 除了饮酒量之外, ALD的进展和预后还与性别、遗传因素、并发病毒感染等因素有关^[36].

ALD的发病机制较为复杂且尚不明确, 与NAFLD有相似之处, 亦有其独特的病理机制. 其中, 乙醇和其

氧化代谢产物, 如乙醛和活性氧(reactive oxygen species, ROS), 造成的直接细胞毒性是ALD区别于其他代谢性肝病的主要和独特原因. 乙醇进入人体后, 首先被乙醇脱氢酶和肝细胞中的细胞色素P450家族酶代谢为乙醛, 然后乙醛脱氢酶将乙醛氧化为乙酸盐^[37]. 乙醛作为酒精代谢的中间产物, 可以使谷胱甘肽(glutathione, GSH)等抗氧化剂的消耗增加^[38], ROS水平升高, 引起肝脏氧化应激损伤^[37]. 与此同时, 乙醛还可以诱导脂肪酸 β -氧化减少和脂肪生成增加, 从而导致肝脏内脂肪的堆积^[37]. 肝脏中堆积的脂肪和高水平的酒精源性ROS可能直接接触全身性炎症反应, 激活NF- κ B, 促进炎症细胞因子(如TNF- α 、IL-6)的释放^[38], 造成更严重的氧化应激和内质网应激, 导致肝细胞发生脂肪变性、炎症、坏死和纤维化^[37]. 此外, 乙醇诱导的反应性物质还会改变线粒体的形态和功能, 进而导致肝细胞的凋亡^[39]. 目前, 乙醛已被国际癌症研究机构列入I类致癌物, 长期摄入容易增加癌症的患病风险^[40]. 近年来, 关于枸杞子改善酒精性肝损伤作用机制已开展了广泛研究. 研究表明, 枸杞子提取物可以通过抑制氧化应激和炎症反应的相关信号通路的表达, 进而保护肝脏免受乙醇摄入诱导的损伤^[38,41].

Yan等人^[42]通过含56%酒精的鼠粮诱导大鼠慢性酒精性肝损伤发现, LBP和锌化合物联合可用于酒精性肝病的治疗. Cheng等人^[43]在乙醇诱导大鼠肝损伤的实验中发现, LBP给药后显著抑制乙醇摄入引起的血清ALT和AST水平升高, 提高GSH、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、SOD和CAT等抗氧化蛋白的表达水平, 降低脂质过氧化产物MDA水平, 从而减轻肝损伤, 阻止酒精诱导的脂肪肝的进展. 此外, 我们发现, 在大鼠正常肝细胞系BRL-3A模型中, LBP预处理可显著减轻因乙醇暴露引起的硫氧还蛋白相互作用蛋白(thioredoxin-interacting protein, TXNIP)的过表达, 抑制下游NLRP3炎症小体激活^[41]. TXNIP是氧化应激的关键启动子之一, 可以分别在细胞质和线粒体中抑制硫氧还蛋白活性^[44]. 研究表明, TXNIP在氧化应激后可以直接激活NLRP3炎症小体^[45]. 活化的NLRP3诱导caspase-1过度活跃, 从而切割IL-1 β 和IL-18的前体形式, 进而增加肝脏的炎症反应^[46]. 这些结果表明, LBP可以通过抑制肝脏TXNIP-NLRP3炎症小体轴缓解乙醇引起的肝损伤, 这可为ALD治疗提供新型治疗靶标. 我们在研究中也初步解析了LBP对ALD治疗的性别差异机制^[47]. 使用慢性酒精性脂肪肝小鼠模型研究LBP

对雄性和雌性小鼠的影响。结果显示,乙醇对雌性小鼠的肝脏损伤比雄性小鼠更严重,与此同时,LBP对雌性小鼠ALD诱发的肝损伤的改善作用也更显著。研究已证明,硬脂酰辅酶A去饱和酶1(stearyl coenzyme A dehydrogenase-1, SCD1)在脂肪肝进展过程中主要参与肝脏脂质代谢。我们发现,肝脏SCD1的表达与肝脏损伤的严重程度呈正相关,SCD1是LBP介导肝脏保护作用的主要介质,并且AMPK-CPT1(肉碱棕榈酰转移酶-1, carnitine palmitoyl transferase 1)通路也被LBP激活。在体外细胞模型中,通过在AML-12细胞系中同时使用棕榈酸钠和乙醇诱导细胞损伤。结果发现,LBP通过直接与肝细胞上雌激素受体 α 相互作用,以激活下游SCD1-AMPK-CPT1通路,进而重新平衡ALD发展过程中的脂质代谢失调^[47]。此外,除了枸杞多糖,枸杞红素也可以减轻慢性酒精性脂肪肝小鼠模型中的肝纤维化并改善肝脏组织学损伤,降低ALT和AST血清水平^[48]。在慢性酒精性脂肪肝大鼠模型中,我们发现第5~10周每日灌胃25 mg/kg枸杞红素后,枸杞红素能够通过调控MAPK通路显著改善肝脏损伤^[48]。进一步深入研究发现,枸杞红素在肝细胞膜上的“第一受体”包括P2X7受体和脂联素受体1(adiponectin receptor 1, adipoR1)。枸杞红素与这些受体结合后,通过抑制PI3K/Akt信号通路,激活AMPK/FoxO3a途径,以恢复乙醇中毒抑制的线粒体自噬功能。此外,枸杞红素还可以通过抑制下游的NLRP3炎症小体通路减轻肝脏的炎症反应,进而缓解肝细胞内氧化应激、炎症和细胞凋亡等损伤^[49]。

2.4 肝功能衰竭

肝功能衰竭(liver failure, LF)是导致肝功能丧失的致命性疾病,一般分为急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)、慢加急性肝衰竭(acute-on-chronic liver failure, ACLF)和代偿性肝硬化。ALF是指由于肝细胞大量坏死或功能丧失导致急性严重肝功能不全的临床综合征,其主要特征是肝性脑病和凝血功能障碍。ACLF是指已存在的慢性肝病的急性肝恶化。欧洲肝病学会慢性肝衰竭协作组将ACLF定义为在肝硬化患者中发展的一种综合征,其特征是急性失代偿、器官衰竭和短期死亡率高。所有的肝衰竭均伴有不良预后,并发症可能包括脑病、脑水肿、败血症、肾衰竭、胃肠道出血和呼吸衰竭等。细菌感染、酒精中毒和病毒性肝炎的再激活是LF中最常见的促发因素。临床上治疗LF的最有效方案是进行肝移植,但由于肝源的短缺以及术后排斥

等缺点,使得大多数患者很难享受到肝移植带来的生存时间的延长和生活质量的改善^[50]。

LF的一种潜在治疗方法是干细胞移植治疗,即将原始干细胞或者分化的肝细胞样细胞移植到衰竭的肝脏中,使得肝脏恢复基本功能。然而,移植后干细胞难以抵抗肝内严重的氧化应激和炎性应激,导致移植后细胞存活率较低^[51]。为解决这一问题,通过研究发现,移植前在人源脂肪间充质干细胞(human adipose-derived mesenchymal stem cells, hADMSCs)培养基中加入枸杞红素预处理,可提高hADMSCs移植后存活率并改善移植治疗效果^[52]。其主要分子机制是通过调节PKC/Raf-1/MAPK/NF- κ B通路抑制炎症反应和ROS生成,从而上调microRNA-210的表达水平并维持细胞稳态。与此同时,枸杞红素还能增加hADMSCs中IL-10的分泌水平,上调肝细胞生长因子和吡啶胺2,3-双加氧酶的表达,抑制TNF- α 和IL-6的表达分泌以及细胞凋亡通路活性,并促进hADMSCs向肝细胞的分化^[52]。此外,我们研究发现,LBP能改善四氯化碳诱导的急性肝损伤^[53]。高剂量的四氯化碳通常会迅速引起细胞坏死、氧化应激和炎症,从而导致急性肝损伤和肝衰竭^[54]。实验结果表明,LBP预处理后可有效降低四氯化碳诱导的一氧化氮代谢和脂质过氧化水平,显著抑制CYP2E1表达并提高抗氧化酶的表达水平。LBP可能通过下调NF- κ B活性来发挥对肝毒性的保护作用^[53]。Gan等人^[55]发现,LBP补充后可以缓解四氯化碳诱导的肝脏损伤,包括氧化应激,促炎介质(TNF- α 、IL-1 β)的mRNA水平升高,Toll样受体(toll-like receptor, TLR)4(TLR4)、TLR2、髓样分化因子88(myeloid differentiation protein-88, MyD88)、NF- κ B和p-p65表达上调。此外,Ahn等人^[56]研究发现,枸杞子提取物及其甜菜碱成分也能改善四氯化碳诱导的大鼠肝损伤。主要机制是两者可有效恢复抗氧化酶(如SOD、CAT和GPx)表达水平,同时抑制四氯化碳诱导的一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶(COXs)等炎症介质的表达,从而改善肝损伤。

2.5 肝细胞癌

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球最常见的癌症之一,并且是导致癌症死亡的第二大主要原因^[57]。HCC与慢性肝病有关,其中HBV感染是最常见的危险因素。其他危险因素包括HCV感染、肝硬化和长期酗酒等。不同地区的HCC发生率与当地的病毒性肝炎流行趋势具有相关性。在过去的几十年中,世界

肝癌的发生率和死亡率一直在增加^[58]。然而,临床上晚期肝癌的治疗选择仍然十分有限。肝癌可以通过手术切除、肝移植、肝定向疗法和全身疗法进行治疗。在这些选择中,仅手术切除和肝移植被认为是最有效的治愈方法。遗憾的是,只有约15%的患者有资格接受潜在的治愈性治疗^[59]。近年来,许多研究集中于从天然产物中寻找具有较高活性和较低毒性的抗癌药物。中草药的抗癌活性部分归因于它们诱导癌细胞凋亡的能力^[60]。细胞凋亡是维持生物体生理平衡的基本细胞功能,它是一种细胞的免疫防御机制,通过消除各种受损或者异常的细胞,在预防癌变中起着必要作用。

越来越多的证据表明,LBP具有显著的抗肿瘤活性。Zhang等人^[61]发现,人肝细胞癌QGY7703细胞经LBP处理后可导致细胞生长受到抑制。主要机制是通过诱导细胞周期进程停滞在S期,同时提高细胞内钙离子水平,进而抑制细胞增殖。此外,Chao等人^[62]在大鼠(H-4-II-E)或人类肝细胞癌细胞(HA22T/VGH)培养基中加入枸杞子提取物共孵育发现,枸杞子提取物能抑制肝癌细胞增殖,并刺激p53介导的细胞凋亡。其作用机制可能是通过抑制NF- κ B活性,从而改变细胞周期调控蛋白(如cyclin B和p21WAF1/Cip1)的表达。Zhang等人^[63]采用超滤膜方法提取LBP后将其分为5个不同组分发现,LBP-a8、LBP-a3、LBP-a1和LBP-a4对人肝细胞癌SMMC-7721细胞增殖的抑制作用呈浓度和时间依赖性。进一步研究后发现,LBP-a4能将SMMC-7721细胞阻滞在G₀/G₁期,并且显著提高细胞内钙离子浓度,从而抑制细胞增殖。有研究报道,通过分离纯化枸杞多糖的两个组分(LBP-d, LBP-e),观察它们对SMMC-7721细胞的凋亡诱导活性。结果显示,LBP-d主要在G₀/G₁期阻断SMMC-7721细胞增殖,而LBP-e主要在S期阻断,并且这两种LBP组分均通过增强细胞质中钙离子浓度来诱导细胞凋亡^[64]。除了LBP外,枸杞红素同样具有抑制肿瘤活性的能力。Kozuki等人^[65]在体外将大鼠腹水肝癌AH109 A细胞与小鼠间皮细胞共培养,在培养基中加入枸杞红素后发现,枸杞红素在0~5 μ mol/L的浓度下以剂量依赖性的方式抑制AH109A细胞的侵袭性。

目前,利用枸杞子进行抗肿瘤的研究还主要集中在体外实验,体内实验和临床研究相对较少。Cui等人^[66]对6周大的Sprague Dawley大鼠在喂食正常饮食基础上分别灌胃200、400、600 mg/kg枸杞多糖持续4周,然后通过一次腹腔注射200 mg/kg二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DENA)诱导大鼠肝癌发生。DEN毒

性主要与肝脏中自由基的过度产生相关,使得体内抗氧化防御系统超负荷,导致氧化应激,进而对肝脏造成损伤。此外,DEN可以引起肝脏炎症反应,大量炎性细胞因子刺激DEN诱导突变的肝细胞进行代偿性增殖,最终导致肝脏肿瘤的形成^[67]。实验结果表明,采用枸杞多糖治疗的动物血液中MDA水平显著降低,但GSH、SOD、CAT和GSH-Px水平明显增加。由此表明,枸杞多糖可以通过增强抗氧化酶活性对DEN诱导的肝癌大鼠氧化性肝脏损伤具有显著保护作用^[66]。此外,在一项临床试验中,79例晚期癌症患者接受了淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine-activated killer cell, LAK)/IL-2与LBP联合治疗。初步治疗结果表明,恶性黑色素瘤、肾细胞癌、结直肠癌、肺癌、鼻咽癌和恶性胸腔积液患者症状均有所缓解,但肝癌患者的症状缓解程度较低。结果发现,使用LAK/IL-2加LBP治疗的患者的缓解率高于单用LAK/IL-2治疗的患者;与单用LAK/IL-2相比,LAK/IL-2加LBP的治疗使得自然杀伤细胞和LAK细胞活性的增加更为显著^[68]。因此,LBP可以作为癌症生物疗法的潜在辅助剂。

综上所述,枸杞子提取物(枸杞多糖、枸杞红素、甜菜碱)可以通过多种信号转导途径调节氧化应激、炎症反应、脂质代谢、肝纤维化生成、肿瘤发生发展等病理生理过程,进而有效改善各类肝脏疾病的症状。近年来,随着枸杞作为功能食品的日益普及和商业化,枸杞子活性成分护肝的功效可能会引起科学界更多的关注,进而为肝脏疾病的治疗提供一个合理的新思路。有关枸杞子主要活性成分治疗各类肝脏疾病的分子机制如图2和表1所总结。

3 总结与展望

枸杞子作为药食同源的植物,含有丰富的生物活性成分,具有提高免疫力、降血脂、降血糖、神经保护、护眼、保肝、免疫调节、抗AD和抗氧化等作用。这些结果提示枸杞子在治疗代谢性肝病、病毒性肝炎、肝细胞癌和肝功能衰竭等方面可能具有良好的保护效果。小鼠模型研究证明食用LBP: (1) 可改善肝功能; (2) 重新平衡脂质代谢; (3) 通过调节激酶和转录因子相关途径来减轻炎症、氧化应激和细胞凋亡; (4) 通过抑制HSCs活性和TGF- β /SAMD途径减少纤维化; (5) 通过提高细胞内钙离子水平来抑制肿瘤细胞增殖。

枸杞子在传统中药中占据重要地位,在西方国家也越来越受欢迎,但是在以往研究中,关于枸杞子护肝

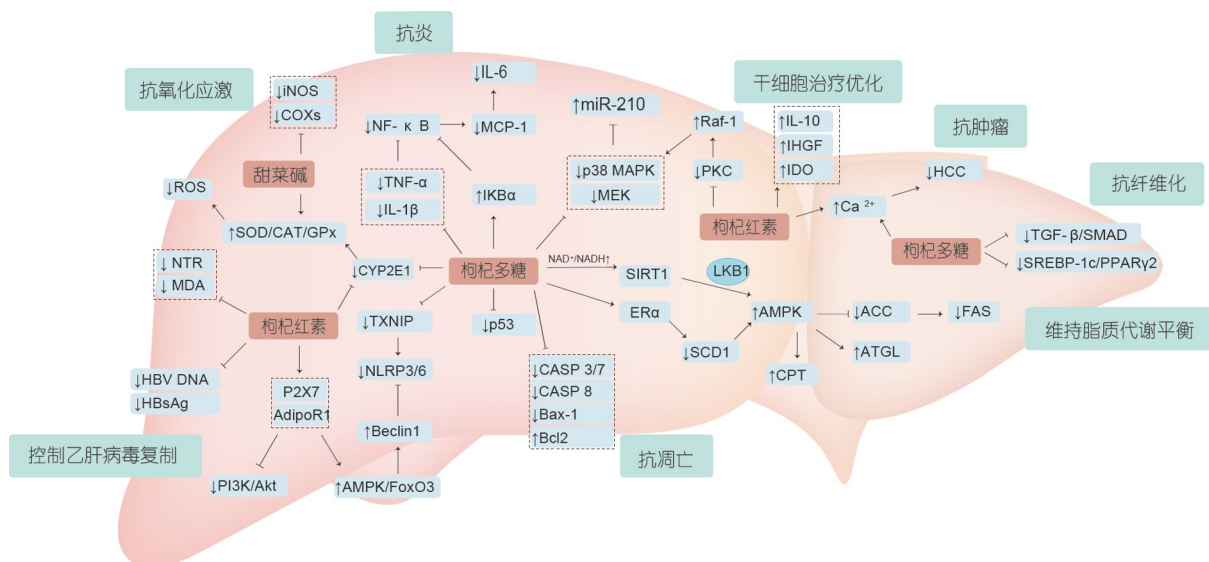


图2 (网络版彩色) 枸杞子主要活性成分(枸杞多糖、枸杞红素和甜菜碱)治疗各类肝脏疾病的分子机制总结图。这些化合物能够调控肝脏内炎症反应、氧化应激反应、脂肪代谢平衡和纤维化进程相关分子通路, 控制乙肝病毒的复制, 改善代谢性肝病的进展以及延缓肝硬化和肝癌的发展。此外, 预处理枸杞红素能够提高间充质干细胞自身抵抗炎症反应和氧化应激反应的能力, 增加其移植治疗肝脏疾病的效率

Figure 2 (Color online) A summary diagram of the molecular mechanisms of the main active ingredients of wolfberry (*Lycium barbarum*) polysaccharide, zeaxanthin dipalmitate and betaine in the treatment of liver diseases. These compounds can regulate the molecular pathways related to inflammation, oxidative stress, fat metabolism balance, and fibrosis process in the liver, control the replication of hepatitis B virus, improve the progress of metabolic liver disease and delay the development of liver cirrhosis and liver cancer. In addition, pretreatment of zeaxanthin dipalmitate can improve the ability of mesenchymal stem cells to resist inflammation and oxidative stress, and increase the efficacy of their transplantation to treat liver diseases

的研究多集中于动物模型或者体外模型。目前关于枸杞子的临床试验主要关注在心脑血管疾病和眼科疾病等, 针对肝脏疾病的临床研究相对较少。此外, 关于枸杞子及其活性成分的临床安全性数据相对较少。枸杞多糖等中草药的安全和优化使用需要进一步充分了解其药代动力学、副作用和作用机制, 进而在动物和人体研究中建立枸杞多糖的剂量-反应和剂量-毒性关系。有研究报道, 枸杞子水溶性提取物在小鼠皮下注射的LD₅₀为8.32 g/kg, 甜菜碱为18.74 g/kg, 由此表明枸杞子毒性很小^[69]。枸杞子作为食物和中草药的使用历史已经非常悠久, 但几乎没有关于枸杞的不良反应的报道, 只有少数过敏反应的病例^[70,71]。但是, 腹泻、感冒发烧、脾胃虚寒的患者应避免食用枸杞子^[71]。虽然枸杞子似乎没有任何急性毒性, 但也可能存在潜在的药物相互作用, 有两篇病例报告记录了枸杞子可能与华法林存在相互作用。一位长期稳定服用华法林的61岁中国妇女在饮用4 d的枸杞子制成的中草药茶后出现国际标准化比值(international normalized ratio, INR)升高。停用该茶后, 该值恢复正常。基于同时使用引起INR值增加, 枸杞子和华法林之间可能存在草药-药物相互作用^[72]。因此, 应避免将枸杞子和华法林混合使用。在最

近报道的另一个病例中, 一位长期稳定服用华法林的80岁中国妇女在饮用含有枸杞的花草茶后, 出现两次INR升高的情况^[73]。但该报告没有说明该患者是服用枸杞子还是枸杞根茎, 并且未公布关于茶叶成分的数据说明。对此案例无法明确评估与枸杞相关的药物相互作用的风险, 但正在服用治疗指数较窄的药物的患者需要谨慎对待。因此, 在将枸杞子运用到肝病治疗中时, 需考虑枸杞子与其他药物之间有无拮抗作用或者促进作用等, 以确保与枸杞多糖相关的保健品具有最大的疗效和效力, 并将副作用降到最低。此外, 由于枸杞子对肝脏的有益特性可能取决于不同单体的内部反应或协同作用, 涉及许多信号分子和途径, 需要更好地了解枸杞各活性成分如何作用于这些信号通路和分子, 使用系统药理学方法(如蛋白质组和代谢组分析)进行进一步研究, 以揭示枸杞子的分子靶点网络。鉴于肝脏疾病的临床表现复杂多变, 将枸杞子应用于肝病的治疗还有很多问题需要进一步地研究明确。综上所述, 枸杞子具有强大肝脏保护作用, 是预防肝损伤的有效药物。关于枸杞子的分子机制和安全性研究可以为将来开发疗效明确、机制清晰、副作用少的肝病药物提供科学的理论依据。

表 1 枸杞提取物护肝的分子机制总结^{a)}

疾病类型	实验药物	实验模型	造模方法	服用方法	试验持续时间	剂量	主要发现和可能机制	文献
病毒性肝炎	枸杞红素	慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型	MCD饮食	口服	每周3次(8周)	2 mg/kg	改善乙肝病毒复制、肝脏脂肪代谢紊乱和肝炎症状	[18]
	枸杞糖肽联合拉米夫定	慢性乙型肝炎临床观察		口服	6个月	枸杞糖肽胶囊30 mg, 拉米夫定片100 mg	促进肝功能恢复、增加HBeAg/抗-HBe血清转化率,降低HBV-DNA水平	[19]
	枸杞子	AMPK- α 2基因敲除C57BL/6小鼠	高脂饮食	口服	18周	含5%干卡枸杞子的鼠粮	激活AMPK- α 2,减轻线粒体的氧化应激,缓解肝脂肪变性	[27]
非酒精性脂肪性肝病	枸杞多糖	非酒精性脂肪性肝炎C57BL/6小鼠模型	高脂饮食	口服	24周	100 mg/kg	激活AMPK的磷酸化,抑制SREBP-1c的核表达,降低脂肪合成基因的表达,预防脂肪肝	[28]
	枸杞多糖	非酒精性脂肪性肝炎C57BL/6小鼠模型	高脂饮食	口服	12周	100或200 mg/kg	通过在体外和体内激活SIRT1/LKB1/AMPK通路来增加ACC磷酸化和ATGL蛋白的表达,并降低FAS活性	[30]
	枸杞多糖	非酒精性脂肪性肝炎大鼠模型	高脂饮食	口服	4周	1 mg/kg	通过TGF- β /SMAD信号通路缓解肝纤维化;降低肝脂SREBP-1c和PPAR- γ 2的核表达;减轻炎症反应、细胞凋亡和自噬	[31]
	枸杞多糖	非酒精性脂肪性肝炎大鼠模型	高脂饮食	口服	8周	1 mg/kg	通过CYP2E1依赖性途径改善氧化应激,减少肝脂促炎介质和趋化因子的产生,并通过p53依赖性的内源和外源途径改善肝细胞凋亡	[32]
	枸杞多糖	非酒精性脂肪性肝炎C57BL/6小鼠模型	MCD饮食	口服	3周	1 mg/kg	抑制NLRP3/6炎症小体激活和NF- κ B的活化,从而减轻NASH进展过程中的肝损伤	[33]
	枸杞多糖	酒精性肝损伤SD大鼠模型	含56%酒精鼠粮	口服	8周	0.5 mL/100 g	上调SOD、CAT、GSH-PX、GSH、ADH的活性,并通过促进脂质代谢,抑制氧化应激,控制炎症反应以及调节酒精代谢酶的表达和活性来减轻大鼠慢性酒精性肝损伤	[42]
酒精性肝病	枸杞多糖	酒精性肝损伤大鼠模型	含56%酒精鼠粮	口服	30 d	300 mg/kg	提高GSH、SOD、CAT和GPx的表达水平,降低MDA的水平,阻止酒精诱导的脂肪肝的进展	[43]
	枸杞多糖	大鼠肝细胞BRL-3A细胞系	培养基中加入250 mmol/L乙醇	体外孵育	24 h	50 μ g/mL	抑制肝TXNIP,减少细胞凋亡,氧化应激和NLRP3炎症小体介导的炎症	[41]
	枸杞多糖	SCD1敲除合并酒精性肝损伤小鼠模型	NIAAA模型饲料	口服	4周	5 mg/kg	直接与ER α 相互作用以激活下游SCD1-AMPK-CPT1途径,进而在ALD进程中重新平衡脂代谢失调	[47]
	枸杞红素	酒精性肝损伤大鼠模型	56%酒精诱发肝损伤	口服	5周	25 mg/kg	通过调控MAPK通路显著改善肝损伤	[48]
	枸杞红素	大鼠正常肝细胞BRL-3A细胞系	培养基中加入250 mmol/L乙醇	体外孵育	24 h	1 μ mol/L	ZD与P2X7、adipoR1受体结合,抑制p13K-Akt,激活后细胞内AMPK-FoxO3通路,恢复线粒体自我吞噬通路的表达,降低了由线粒体吞噬引起的肝细胞损伤	[49]
	枸杞红素	SD大鼠	Lieber-DeCarli酒精液体鼠粮	口服	2周	10 mg/kg		

(续表1)

疾病类型	实验药物	实验模型	造模方法	服用方法	试验持续时间	剂量	主要发现和可能机制	文献
肝衰竭	枸杞红素	非肥胖型糖尿病/重症联合免疫缺陷(NOD/SCID)小鼠	腹腔注射Gal/LPS	干细胞移植前培养基中加入ZD孵育	1周	0.5 $\mu\text{mol/L}$	在动物模型中优化干细胞疗法,通过调节PKC/Raf-1/MAPK/NF- κ B通路抑制炎症反应和ROS生成,从而上调microRNA-210的表达水平,降低caspases 3/7、8活性,并恢复CAT/SOD1水平	[52]
	枸杞多糖	C57BL/6小鼠	腹腔注射四氯化碳	口服	10 h	1或10 mg/kg	通过下调NF- κ B活性减少四氯化碳诱导的坏死性炎症和氧化应激	[53]
	枸杞多糖	Wistar大鼠	灌胃接受40%(体积比)CCl ₄ 的橄榄油	口服	8周	400、800或1600 mg/kg	通过抑制TLRs/NF- κ B信号通路的表达,减少TNF- α 和IL-1 β 的mRNA水平,并降低TLR4、TLR2、MyD88、NF- κ B和p-p65的蛋白表达	[55]
	甜菜碱	SD大鼠	腹腔注射四氯化碳	口服	14 d	10或100 mg/mL	有效恢复抗氧化酶表达水平,抑制一氧化氮合酶和环氧化酶等炎症介质的表达,改善四氯化碳诱导的肝损伤	[56]
肝细胞癌	枸杞多糖	人肝癌QGY7703细胞	含有LBP的培养基培养细胞	体外孵育	4 d	100 mg/L	提高细胞内钙离子水平,诱导细胞周期阻滞,进而抑制肝癌细胞的增殖	[61]
	枸杞多糖	大鼠肝癌H-4-II-E细胞 人肝癌HA22T/VGH细胞	含有LBP的培养基培养细胞	体外孵育	6~24 h	2~5 g/L	抑制肝癌细胞的增殖,并刺激p53介导的细胞凋亡	[62]
	LBP-a4	人肝癌SMMC-7721细胞	含有LBP的培养基培养细胞	体外孵育	4 d	400 mg/L	将SMMC-7721细胞停留在G ₀ /G ₁ 期,提高细胞内钙离子的浓度,从而抑制细胞增殖	[63]
	LBP-d / LBP-e	人肝癌SMMC-7721细胞	含有LBP的培养基培养细胞	体外孵育	4 d	400 mg/L	通过增强SMMC-7721细胞的细胞质中的钙离子浓度来诱导凋亡	[64]
	枸杞红素	大鼠肝癌AHI109 A细胞 大鼠间皮细胞	含有枸杞红素的培养基培养细胞	体外孵育	4 h	5 $\mu\text{mol/L}$	通过其抗氧化特性抑制HCC的侵袭	[65]
	枸杞多糖	SD大鼠	腹腔注射DENA	口服	22周	200、400或600 mg/kg	降低血液中MDA水平,提高GSH、SOD、CAT和GSH-Px表达水平,通过增强抗氧化酶活性缓解DEN诱导的肝癌大鼠氧化性肝损伤	[66]

a) MCD: 蛋氨酸胆碱缺乏; HBeAg: 乙型肝炎E抗原; AMPK: 单磷酸腺苷活化蛋白激酶; SERBP-1c: 胆固醇调节元件结合蛋白1c; TGF- β : 转化生长因子- β ; PPAR- γ : 过氧化物酶体增殖剂激活受体- γ ; CYP2E1: 细胞色素P450 2E1; ACC: 乙酰-CoA羧化酶; ATGL: 脂肪甘油三酯脂酶; FAS: 脂肪合成酶; NF- κ B: 核因子- κ B; SOD: 超氧化物歧化酶; CAT: 过氧化氢酶; GPx: 谷胱甘肽过氧化物酶; GSH: 还原型谷胱甘肽; ADH: 乙醇脱氢酶; MDA: 丙二醛; TXNIP: 硫氧还蛋白互作蛋白; ER α : 雌激素受体 α ; SCD1: 硬脂酰辅酶A去饱和酶1; CPT1: 肉碱棕榈酰转移酶1; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; adiponR1: 脂联素受体1; TLR: Toll样受体; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-1 β : 白细胞介素-1 β ; MyD88: 髓样分化因子88; Gal/LPS: D-半乳糖/脂多糖; DENA: 二乙基亚硝胺; LBP: 枸杞多糖

参考文献

- 1 Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China (in Chinese). Beijing: Science Press, 1978. 67, 15 [中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 1978. 67, 15]
- 2 Zhang H L. Barbary wolfberry fruit efficacy and comprehensive utilization (in Chinese). Food Res Dev, 2012, 33: 223–227 [张惠玲. 枸杞的综合开发与利用. 食品研究与开发, 2012, 33: 223–227]
- 3 Zeng P, Li J, Chen Y, et al. The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs. Prog Mol Biol Transl Sci, 2019, 163: 423–444
- 4 Li J, Yu Y, Zhang X B, et al. Research on Medicinal *Fructus lycii* (in Chinese). World Chin Med, 2019, 14: 2593–2597 [李静, 余意, 张小波, 等. 药用枸杞本草考证. 世界中医药, 2019, 14: 2593–2597]
- 5 Li S Z. Compendium of Materia Medica (in Chinese). 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982. 2111–2118 [李时珍. 本草纲目. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 2111–2118]
- 6 Chang R C C, So K F. Use of anti-aging herbal medicine, *Lycium barbarum*, against aging-associated diseases. What do we know so far? Cell Mol Neurobiol, 2008, 28: 643–652
- 7 Ning B B, Bian Y Q, Zhang W M, et al. Study on the hepatoprotective effects of stoned decoction (in Chinese). J Changchun Univ Tradit Chin Med, 2012, 28: 546–548 [宁冰冰, 边艳琴, 张文萌, 等. 一贯煎保肝作用研究. 长春中医药大学学报, 2012, 28: 546–548]
- 8 National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (in Chinese). Beijing: China Medical Science Press, 2015. 249 [国家药典委员会. 中国药典. 北京: 中国医药科技出版社, 2015. 249]
- 9 Povoio C, Foschini A, Ribaudo G. Optimization of the extraction of bioactive molecules from *Lycium barbarum* fruits and evaluation of the antioxidant activity: A combined study. Nat Prod Res, 2019, 33: 2694–2698
- 10 Qian D, Zhao Y X, Yang G, et al. Systematic review of chemical constituents in the genus *Lycium* (Solanaceae). Molecules, 2017, 22: 911
- 11 Zhou Z Q. Studies on bioactive constituents of *Lycium barbarum* for the treatment of Alzheimer's disease (in Chinese). Doctoral Dissertation. Guangzhou: Jinan University, 2016 [周正群. 枸杞子抗阿尔茨海默病活性成分研究. 博士学位论文. 广州: 暨南大学, 2016]
- 12 Li Q W. Studies on Lycibarbarspermidines constituents of *Lycium barbarum* (in Chinese). Master Thesis. Guangzhou: Jinan University, 2019 [李簪雯. 枸杞子中枸杞亚精胺类成分研究. 硕士学位论文. 广州: 暨南大学, 2019]
- 13 Xiao J, Gao H, Zhou Z Q, et al. Recent progress in the study of zeaxanthin dipalmitate (in Chinese). Chin Sci Bull, 2017, 62: 1691–1698 [肖佳, 高昊, 周正群, 等. 枸杞属中枸杞红素类成分研究进展. 科学通报, 2017, 62: 1691–1698]
- 14 World Health Organization. Global Hepatitis Report 2017. World Health Organization, 2017
- 15 Hutin Y, Nasrullah M, Easterbrook P, et al. Access to treatment for hepatitis B virus infection—Worldwide, 2016. MMWR-Morb Mortal Wkly Rep, 2018, 67: 773–777
- 16 Seto W K, Lo Y R, Pawlotsky J M, et al. Chronic hepatitis B virus infection. Lancet, 2018, 392: 2313–2324
- 17 Lok A S, Zoulim F, Dusheiko G, et al. Hepatitis B cure: From discovery to regulatory approval. J Hepatol, 2017, 67: 847–861
- 18 Li J J, Gao H, Lv Y, et al. Zeaxanthin dipalmitate alleviates hepatic injury induced by superimposed chronic hepatitis B and non-alcoholic steatohepatitis in non-obese mice. J Asian Nat Prod Res, 2017, 19: 910–923
- 19 Xing M Y, Liu L, Fang J G, et al. Short-term effect of fructus lycii glucopeptide combined with lamivudine on patients with chronic hepatitis B (in Chinese). Chin J Pharmacopidemiol, 2008, 17: 135–137 [邢铭友, 刘璐, 方建国, 等. 枸杞糖肽联合拉米夫定治疗慢性乙型肝炎近期疗效. 药物流行病学杂志, 2008, 17: 135–137]
- 20 Dyson J K, Anstee Q M, McPherson S. Non-alcoholic fatty liver disease: A practical approach to diagnosis and staging. Frontl Gastroenterol, 2014, 5: 211–218
- 21 Bhatt H B, Smith R J. Fatty liver disease in diabetes mellitus. Hepatobil Surg Nutr, 2015, 4: 101
- 22 Zhou F, Zhou J, Wang W, et al. Unexpected rapid increase in the burden of NAFLD in China from 2008 to 2018: A systematic review and meta-analysis. Hepatology, 2019, 70: 1119–1133
- 23 Hashimoto E, Tokushige K, Ludwig J. Diagnosis and classification of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: Current concepts and remaining challenges. Hepatol Res, 2015, 45: 20–28
- 24 Berk P D, Verna E C. Nonalcoholic fatty liver disease: Lipids and insulin resistance. Clin Liver Dis, 2016, 20: 245–262
- 25 Sharma M, Mitnala S, Vishnubhotla R K, et al. The riddle of nonalcoholic fatty liver disease: Progression from nonalcoholic fatty liver to nonalcoholic steatohepatitis. J Clin Exp Hepatol, 2015, 5: 147–158
- 26 Mazzella N, Ricciardi L M, Mazzotti A, et al. The role of medications for the management of patients with NAFLD. Clin Liver Dis, 2014, 18: 73–89
- 27 Lin D, He H, Ji H, et al. Wolfberries potentiate mitophagy and enhance mitochondrial biogenesis leading to prevention of hepatic steatosis in obese mice: The role of AMP-activated protein kinase $\alpha 2$ subunit. Mol Nutr Food Res, 2014, 58: 1005–1015

- 28 Li W, Li Y, Wang Q, et al. Crude extracts from *Lycium barbarum* suppress SREBP-1c expression and prevent diet-induced fatty liver through AMPK activation. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 196–198
- 29 Kim H S, Xiao C, Wang R H, et al. Hepatic-specific disruption of SIRT6 in mice results in fatty liver formation due to enhanced glycolysis and triglyceride synthesis. *Cell Metab*, 2010, 12: 224–236
- 30 Jia L, Li W, Li J, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide attenuates high-fat diet-induced hepatic steatosis by up-regulating SIRT1 expression and deacetylase activity. *Sci Rep*, 2016, 6: 1–11
- 31 Xiao J, Xing F, Huo J, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides therapeutically improve hepatic functions in non-alcoholic steatohepatitis rats and cellular steatosis model. *Sci Rep*, 2014, 4: 5587
- 32 Xiao J, Liong E C, Ching Y P, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides protect rat liver from non-alcoholic steatohepatitis-induced injury. *Nutr Diabetes*, 2013, 3: e81
- 33 Xiao J, Wang F, Liong E C, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides improve hepatic injury through NF κ B and NLRP3/6 pathways in a methionine choline deficient diet steatohepatitis mouse model. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120: 1480–1489
- 34 World Health Organization. Global Status Report on Alcohol and Health 2018. World Health Organization, 2019
- 35 Louvet A, Mathurin P. Alcoholic liver disease: Mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015, 12: 231–242
- 36 Seitz H K, Bataller R, Cortez-Pinto H, et al. Alcoholic liver disease. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 16
- 37 Cubero F J, Urtasun R, Nieto N. Alcohol and liver fibrosis. *Semin Liver Dis*, 2009, 29: 211–221
- 38 Cheng D, Kong H. The effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on alcohol-induced oxidative stress in rats. *Molecules*, 2011, 16: 2542–2550
- 39 Gao B, Ahmad M F, Nagy L E, et al. Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 2019, 70: 249–259
- 40 Rehm J, Gmel Sr G E, Gmel G, et al. The relationship between different dimensions of alcohol use and the burden of disease—An update. *Addiction*, 2017, 112: 968–1001
- 41 Xiao J, Zhu Y, Liu Y, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide attenuates alcoholic cellular injury through TXNIP-NLRP3 inflammasome pathway. *Int J Biol Macromol*, 2014, 69: 73–78
- 42 Yan Y, Wu W, Lu L, et al. Study on the synergistic protective effect of *Lycium barbarum* L. polysaccharides and zinc sulfate on chronic alcoholic liver injury in rats. *Food Sci Nutr*, 2019, 7: 3435–3442
- 43 Cheng D, Kong H. The effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on alcohol-induced oxidative stress in rats. *Molecules*, 2011, 16: 2542–2550
- 44 Patwari P, Higgins L J, Chutkow W A, et al. The interaction of thioredoxin with Txnip. *J Biol Chem*, 2006, 281: 21884–21891
- 45 Zhou R, Tardivel A, Thorens B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nat Immunol*, 2010, 11: 136–140
- 46 Tschopp J, Schroder K. NLRP3 inflammasome activation: The convergence of multiple signalling pathways on ROS production? *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 210–215
- 47 Wang F, Tipoe G L, Yang C, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide supplementation improves alcoholic liver injury in female mice by inhibiting stearyl-CoA desaturase 1. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62: 1800144
- 48 Xiao J, Wang J, Xing F, et al. Zeaxanthin dipalmitate therapeutically improves hepatic functions in an alcoholic fatty liver disease model through modulating MAPK pathway. *PLoS One*, 2014, 9: e95214
- 49 Gao H, Lv Y, Liu Y, et al. Wolfberry-derived zeaxanthin dipalmitate attenuates ethanol-induced hepatic damage. *Mol Nutr Food Res*, 2019, 63: 1801339
- 50 Clavien P A, Lesurtel M, Bossuyt P M, et al. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: An international consensus conference report. *Lancet Oncol*, 2012, 13: e11–e22
- 51 Zeng W, Xiao J, Zheng G, et al. Antioxidant treatment enhances human mesenchymal stem cell anti-stress ability and therapeutic efficacy in an acute liver failure model. *Sci Rep*, 2015, 5: 11100
- 52 Liu Y, Xiong Y, Xing F, et al. Precise regulation of miR-210 is critical for the cellular homeostasis maintenance and transplantation efficacy enhancement of mesenchymal stem cells in acute liver failure therapy. *Cell Transpl*, 2017, 26: 805–820
- 53 Xiao J, Liong E C, Ching Y P, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides protect mice liver from carbon tetrachloride-induced oxidative stress and necroinflammation. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139: 462–470
- 54 Weber L W D, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: Carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol*, 2003, 33: 105–136
- 55 Gan F, Liu Q, Liu Y, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides improve CCl₄-induced liver fibrosis, inflammatory response and TLRs/NF- κ B signaling pathway expression in wistar rats. *Life Sci*, 2018, 192: 205–212
- 56 Ahn M, Park J S, Chae S, et al. Hepatoprotective effects of *Lycium chinense* Miller fruit and its constituent betaine in CCl₄-induced hepatic damage in rats. *Acta Histochem*, 2014, 116: 1104–1112
- 57 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012.

- Int J Cancer, 2015, 136: e359–e386
- 58 Xiao J, Wang F, Wong N K, et al. Global liver disease burdens and research trends: Analysis from a Chinese perspective. *J Hepatol*, 2019, 71: 212–221
- 59 Roxburgh P, Evans T R. Systemic therapy of hepatocellular carcinoma: Are we making progress? *Adv Ther*, 2008, 25: 1089–1104
- 60 Surh Y J. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 768–780
- 61 Zhang M, Chen H, Huang J, et al. Effect of lycium barbarum polysaccharide on human hepatoma QGY7703 cells: Inhibition of proliferation and induction of apoptosis. *Life Sci*, 2005, 76: 2115–2124
- 62 Chao J C J, Chiang S W, Wang C C, et al. Hot water-extracted *Lycium barbarum* and *Rehmannia glutinosa* inhibit proliferation and induce apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol*, 2006, 12: 4478–4484
- 63 Zhang M, Tang X, Wang F, et al. Characterization of *Lycium barbarum* polysaccharide and its effect on human hepatoma cells. *Int J Biol Macromol*, 2013, 61: 270–275
- 64 Zhang Q, Lv X, Wu T, et al. Composition of *Lycium barbarum* polysaccharides and their apoptosis-inducing effect on human hepatoma SMMC-7721 cells. *Food Nutr Res*, 2015, 59: 28696
- 65 Kozuki Y, Miura Y, Yagasaki K. Inhibitory effects of carotenoids on the invasion of rat ascites hepatoma cells in culture. *Cancer Lett*, 2000, 151: 111–115
- 66 Cui B K, Chen Y F, Liu S, et al. Antitumour activity of *Lycium chinensis* polysaccharides in liver cancer rats. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51: 314–318
- 67 Kang J S, Wanibuchi H, Morimura K, et al. Role of CYP2E1 in diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis *in vivo*. *Cancer Res*, 2007, 67: 11141–11146
- 68 Cao G W, Yang W G, Du P, et al. Observation of the effects of LAK/IL-2 therapy combining with *Lycium barbarum* polysaccharides in the treatment of patients with advanced cancer (a report of 75 cases). *Chin J Cancer Res*, 1995, 7: 293–297
- 69 Wang Y S. Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica (in Chinese). 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998. 762–768 [王浴生. 中药药理与应用. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 762–768]
- 70 Larramendi C H, García-Abujeta J L, Vicario S, et al. 4 Goji Berries (*Lycium barbarum*): Risk of Allergic Reactions in Individuals With Food Allergy. *J Invest Allerg Clin*, 2012, 22: 345
- 71 Mietzner A. Portrait of Chinese drugs for eye disease: *Chrysanthemum* and *Lycium barbarum*. *Deutsche Zeitschrift für Akupunktur*, 2015, 58: 46–47
- 72 Lam A Y, Elmer G W, Mohutsky M A. Possible interaction between warfarin and *Lycium barbarum* L. *Ann Pharmacother*, 2001, 35: 1199–1201
- 73 Leung H, Hung A, Hui A C F, et al. Warfarin overdose due to the possible effects of *Lycium barbarum* L. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46: 1860–1862

Summary for “宁夏枸杞子治疗肝脏疾病的作用机制”

Mechanisms of wolfberry in the treatment of liver diseases

Zhaodi Che¹, Zhengqun Zhou² & Jia Xiao^{1*}

¹ Clinical Medicine Research Institute, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, China;

² Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China

* Corresponding author, E-mail: edwinsiu@connect.hku.hk

The fruit of *Lycium barbarum* (the wolfberry or Goji berry) has been widely used as a drug and functional food in many traditional Chinese medicine literature. However, only in recent years has its specific health-promoting mechanism been investigated. Modern technology of pharmacology has identified a variety of bioactive ingredients from the Goji berry, such as polysaccharide, pigments, and lycibarbarspermidines, with properties of anti-inflammation, antioxidant, anti-apoptosis, anti-fibrosis, and anti-tumor. Acute and chronic liver diseases represent a major world public health problem. The clinical curative rate for some liver diseases, such as chronic hepatitis B, cirrhosis, and liver cancer remains unsatisfactorily low. In the current review, we summarized the updated mechanisms of bioactive ingredients derived from the Goji berry in liver diseases, which may pave the way for their future clinical application. The hepatoprotective properties of *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP) have been characterized in several liver disease models, including acute liver injury, liver failure, non-alcoholic liver disease, alcoholic liver disease, liver fibrosis, and liver cancer. However, delineating the active ingredient(s) from LBP in different types of liver diseases is a challenge. Wolfberry also contains the highest concentration of the antioxidant xanthophyll carotenoid zeaxanthin dipalmitate (ZD). ZD is a zeaxanthin diester formed from zeaxanthin (ZE) and palmitic acid. Inducing non-alcoholic in the transgenic HBV mice model reactivated HBV replication, while ZD administration reduced HBV DNA replication and serum HBsAg levels. The immediate hepatocyte membrane receptors of ZD during alcoholic liver injury have also been identified. Treating human adipose-derived mesenchymal stem cells (hADMSC) with ZD before transplantation increased stem cell survival and improved the therapeutic outcome in acute liver disease/failure models. Betaine is a natural amino acid and one of the major constituents of *Lycium barbarum*. It is shown to play antioxidant and anti-inflammatory roles in toxin-induced liver injury and fatty liver disease model. Recently, we identified fifteen new dicaffeoylspermidine derivatives, lycibarbarspermidines A-O, from wolfberry. The oxygen radical absorbance capacity assay revealed that A-O all displayed antioxidant capacity and are related to the effects of wolfberry. Our pilot study results also revealed their potential hepatoprotective properties in alcoholic and non-alcoholic liver diseases. Of note, all published papers reported no side effects from LBP, ZD, betaine, or lycibarbarspermidines. Nonetheless, since the investigation of the properties of herbal active compounds is on the rise and with wolfberry's increasing popularity and commercialization as a food supplement, those major ingredients will likely get more attention from the scientific community, and its effect on liver disease might be studied further.

wolfberry, active ingredient, liver disease, hepatoprotection

doi: [10.1360/TB-2020-1419](https://doi.org/10.1360/TB-2020-1419)