

· 学术探讨 ·

## 基于“三阴并调”探析黑逍遥散调控肠道菌群 TMA/FMO3/TMAO代谢通路防治AD的思路与策略

王虎平\*, 米彩云

(甘肃中医药大学 甘肃省方药挖掘与创新转化重点实验室, 兰州 730000)

**[摘要]** 阿尔兹海默病(AD)作为一种神经系统退行性疾病,随着老龄化进程的加快,罹患人数逐年增长,不仅威胁患者健康甚至生命,且给患者、家庭和社会造成沉重的经济负担和精神压力。中医学将其归属于“痴呆”等范畴,传统以补肾为其治要,而基于中医基本理论并结合AD的临床表现可见,AD与肝脾密切相关,因此,肝脾肾“三阴并调”将是防治AD的重要思路,黑逍遥散作为“三阴并调”的代表名方,具有防治AD的理论、实验及临床基础。现代研究表明,Tau蛋白过度磷酸化形成的神经原纤维缠结是其主要病理特征之一,氧化三甲胺(TMAO)与Tau蛋白过磷酸化关系密切,因此,调节TMAO代谢以抑制Tau蛋白过磷酸化是防治AD的新靶点。本文基于以上理论及研究基础,提出了“黑逍遥散通过‘三阴并调’调控肠道菌群三甲胺(TMA)/肝黄素单加氧酶3(FMO3)/TMAO代谢通路进而抑制大脑海马区Tau蛋白过磷酸化,从而达到保护神经细胞,改善学习记忆,防治AD”的研究假说,将从调控肠道菌群TMA/FMO3/TMAO代谢通路进而抑制Tau蛋白过磷酸化角度探析黑逍遥散防治AD的作用及其机制,为黑逍遥散防治AD的深入研究提出新的思路与策略。

**[关键词]** 阿尔兹海默病; 三阴并调; 黑逍遥散; 肠道菌群; Tau蛋白过度磷酸化

**[中图分类号]** R2-0;R33;G353.11;R745.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)08-0248-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220837

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220218.1410.002.html>

**[网络出版日期]** 2022-02-18 16:24

### Ideas and Strategies of Hei Xiaoyaosan Regulating TMA/FMO3/TMAO Metabolic Pathway of Intestinal Flora in Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease (AD) Based on "Simultaneous Regulation of Three Yin" of Liver, Spleen and Kidney

WANG Hu-ping\*, MI Cai-yun

(Key Laboratory of Chinese Herbs and Prescription Mining and Innovation and Transformation in Gansu Province, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease. With the acceleration of aging process, the number of AD patients increases year by year. This threatens the health and even life of patients, and causes heavy economic burden and mental pressure to patients, families and society. In traditional Chinese medicine (TCM), AD belongs to the category of dementia, and tonifying kidney is the main treatment. Based on the basic theory of TCM and combined with clinical manifestations of AD, AD is closely correlated with liver and spleen. Therefore, "simultaneous regulation of three Yin" of liver, spleen and kidney will be an important way for the prevention and treatment of AD. Hei Xiaoyaosan, a representative prescription of "simultaneous regulation of three Yin" of liver, spleen and kidney, has theoretical, experimental and clinical basis in preventing and treating AD. Modern studies have shown that neurofibrillary tangle formed by tau

**[收稿日期]** 2021-10-10

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82160862,81960828);甘肃省自然科学基金项目(20JR10RA319)

**[通信作者]** \*王虎平,博士,副教授,从事中医方药防治老年病研究,E-mail:whp@gszy.edu.cn

hyperphosphorylation is a main pathological feature of AD, and trimethylamine oxide (TMAO) is closely related to tau hyperphosphorylation. Therefore, regulating TMAO metabolism to inhibit tau hyperphosphorylation is a new target for the prevention and treatment of AD. On the basis of the above theory and previous studies, this paper put forward the hypothesis that Hei Xiaoyaosan regulates the trimethylamine (TMA)/heparin monooxygenase 3 (FMO3)/TMAO metabolic pathway of intestinal flora through "simultaneous regulation of three Yin" of liver, spleen and kidney, and then inhibits tau hyperphosphorylation in brain hippocampus, thereby protecting nerve cells, improving learning and memory, and preventing AD. This paper explored the role and mechanism of Hei Xiaoyaosan in the prevention and treatment of AD from the perspective of inhibiting tau hyperphosphorylation by regulating the TMA/FMO3/TMAO metabolic pathway of intestinal flora, which provided new ideas and strategies for in-depth study of Hei Xiaoyaosan in the prevention and treatment of AD.

**[Keywords]** Alzheimer's disease (AD); "simultaneous regulation of three Yin" of liver, spleen and kidney; Hei Xiaoyaosan; intestinal flora; Tau hyperphosphorylation

阿尔兹海默病(AD)是神经系统常见的一种退行性疾病,以Tau蛋白过度磷酸化形成的神经原纤维缠结(NFTs)、 $\beta$ 淀粉样蛋白(A $\beta$ )沉积形成的老年斑(SPs)及大脑神经元丢失为主要病理特征,临床表现为渐进性认知障碍、记忆力损害、人格改变、语言障碍等神经精神症状<sup>[1]</sup>。据《2019年全球卫生估计报告》统计,以AD为主的痴呆症已跃居全球十大死因之列。随着老龄化进程加快,罹患AD的人数也在逐年增长。2019年,国际AD协会估计全球有超过5 000万人患有AD,到2050年,这一数字将飙升至1.52亿。不仅威胁患者健康甚至生命,而且给患者、家庭和社会造成沉重的经济负担和精神压力。

AD发病机制复杂,有A $\beta$ 异常沉积、Tau蛋白过磷酸化、氧化应激、炎症反应、胰岛素信号传导通路障碍等病机假说<sup>[2]</sup>。其目前临床治疗药物也局限于改善胆碱能神经功能等对症治疗,无法从根本上阻止或逆转疾病的进程,且临床依存性较差。因此,积极探寻预防及延缓AD进展或改善AD症状的药物成为当今世界医学面临的紧迫任务之一。虽然在祖国医学中尚无AD病名,但其临床症状和基本表现在中医“呆病门”“痴呆”等疾病中皆有所述,且现代研究表明中医药治疗AD具有明显的疗效和安全性。因此,应充分发挥中医药的优势,中西医结合、多技术联合,多角度研究AD的发病机制和治疗方法,为AD的防治另辟蹊径。

A $\beta$ 的大量沉积能够增加神经毒性,加重AD的病理进程,几十年来,减少A $\beta$ 的沉积一直是AD发病机制研究和药物开发的焦点,但基于A $\beta$ 靶向药物的临床试验并不十分成功<sup>[3]</sup>。而与A $\beta$ 斑块相比,越来越多的研究表明高磷酸化的Tau蛋白与AD患

者的认知功能减退具有更好的相关性<sup>[4]</sup>。在AD中,过度磷酸化的Tau蛋白受到各种病理因素(如激酶的异常激活、基因表达异常和慢性应激或疾病)的影响,引起Tau蛋白过度聚集,形成NFTs<sup>[5]</sup>。其中氧化三甲胺(TMAO)作为肠道菌群的重要代谢产物之一,新近研究发现其与AD患者脑脊液中磷酸化(p)-Tau和p-Tau/A $\beta$ <sub>42</sub>高度相关,表明其与Tau蛋白过磷酸化关系密切<sup>[6]</sup>,而TMAO的产生依赖于菌群代谢产物三甲胺(TMA)及肝黄素单加氧酶3(FMO3),当人体摄入过多肉碱和磷脂酰胆碱时,肠道微生物区系会将其转化为TMA,TMA被肝脏中FMO3氧化后形成TMAO<sup>[7]</sup>。因此,通过靶向调节肠道菌群代谢通路TMA/FMO3/TMAO进而抑制Tau蛋白过磷酸化是防治AD的新靶点。本文将在中医基本理论的指导下,结合现代药理研究和临床实践,从调控肠道菌群TMA/FMO3/TMAO代谢通路进而抑制Tau蛋白过磷酸化角度探析黑逍遥散防治AD的思路与策略。

### 1 肝脾肾“三阴并调”是防治AD的重要思路

AD属于中医“痴呆”范畴,病位在脑,其本在肾,传统认为肾虚是其核心病机,以补肾为其治要,正所谓“肾不生,则髓不能满”(《素问·逆调论》)“不去填肾中之精……而不能冀长年之不忘也”(《辨证录·健忘门》)。而基于中医基本理论并结合AD的临床表现来看,AD作为一种由于大脑皮层退化引起的包括记忆力、判断力、抽象思维力及空间关系等正常活动功能丧失的神经退化性疾病,主要表现为精神与行为失常两方面,这恰恰与中医对肝、脾的功能认识密切相关。经云:“肝者,将军之官,谋虑出焉”(《素问·灵兰秘典论》)“肝者,罢极之本,魂

之居也”(《素问·六节藏象论》),可见肝木作为将军之脏,性喜调达而恶抑郁,主疏泄而藏血,体阴而用阳,舍于魂,华于筋,为神魂之居、行为之根,乃精神、行为之大主,故所谓“痴呆证……或以郁结,或以不遂,或以思虑,或以惊恐而渐至痴呆,言辞颠倒,举动不经”(《景岳全书》);亦有云:“脾为谏议之官,知周出焉”(《素问·刺法论》)“四肢皆禀气于胃,而不得至经,必因于脾,乃得禀也”(《素问·太阴阳明论》),可见脾土作为仓廩之官,既为后天之本、气血生化之源,更为意智之舍、四肢之禀,乃精神、行为之枢要,故有“脾藏二神意与智,意不安,思无虑,神夺愚也”(《医方类聚》)之谓。可见,AD与肝脾、尤其是肝郁脾弱密切相关。据此提出了“从肝脾论治AD”的科研思路<sup>[8]</sup>,进而优选了疏肝健脾,调和肝脾的经典名方逍遥散(《太平惠民和剂局方》)开展了系列研究并取得了一定的进展<sup>[9-15]</sup>,进一步证实了从肝脾论治AD的可行性。

国内同仁的相关报道也为“从肝脾论治AD”提供了一些实验及临床支撑。如蔡大勇等<sup>[16]</sup>指出AD证型传变的枢纽为肝,吴正治等<sup>[17]</sup>也提出老年性痴呆病位在于脑,而其病因病理与中医肝脏密切相关,郑英宇<sup>[18]</sup>研究发现健脾祛痰化痰方通过助运健脾能下调AD患者早期脑部 $\alpha\beta$ 表达,减少老年斑生成,达到防治AD目的。当归芍药散作为肝脾同调的常用方,研究证实其对AD具有防治作用<sup>[19]</sup>,药理学研究显示,当归芍药散可通过抑制神经炎症、清除自由基、抗氧化、增强海马神经突触可塑性、抑制 $\alpha\beta$ 引起细胞周期失调和细胞凋亡、调节二十二碳六烯酸代谢等方面实现改善AD认知障碍及病理反应的作用<sup>[20-24]</sup>,当归芍药散中主要活性成分,如芍药内酯苷可以减轻 $\alpha\beta$ 沉积,改善AD小鼠学习记忆损伤,且具有抗炎、抑制神经细胞凋亡、改善线粒体功能的作用。丁烯基苯酞是当归芍药散中当归和川芎的主要化学成分,在神经退行性疾病中具有抗凋亡、抑制神经毒性、抗炎等作用<sup>[25]</sup>。以上研究一致表明其肝脾同治之法防治AD的有效性。尤其吴磊彬<sup>[26]</sup>用逍遥散治疗肝郁脾虚型AD患者的实践病例为“从肝脾论治AD”提供了临床支撑。

然而毕竟AD病位在“髓海”之脑,其本在肾,补肾填精为其治要。故在“从肝脾论治AD”的立意中结合“以肾为本”的传统认识,进一步提出了肝脾肾“三阴并调”是防治AD的重要思路。

## 2 黑逍遥散是肝脾肾“三阴并调”的代表名方

黑逍遥散出自《医略六书·女科指要》,是在道

遥散疏肝健脾的基础上,加入一味补肾填精,益髓充窍的熟地而成。方中重用熟地黄“味甘苦,性温,入心肝肾三经。活血气,封填骨髓,滋肾水,补益真阴”(《雷公炮制药性解》),甘温肥厚,补肾填精,益髓充脑;柴胡辛散行走,既可行气以解郁,又可疏肝以理脾;芍药滋补酸涩,益阴敛营,既合熟地、当归精、津、血三阴并补以养脑,又配柴胡散收结合、体用并治以调肝;当归甘温而辛,养血和血,既携芍药补血以宁神,又伍熟地精血以并补;白术益气燥湿,投脾之所好;茯苓淡渗利湿,去脾之所恶,术、苓相合,既可益气健脾以促脾运,又可直入中焦以资化源,更和柴、芍培土以抑肝木;薄荷清香轻透,既助柴胡疏肝以理气,又可芳香上行以醒神,还可引药上行达病所;姜、草同用,直入中焦,促脾土运化以资气血生化之源,甘草又可调和诸方,兼为佐使之用。诸药和合,全方相伍,补肾填精,疏肝畅情,健脾祛浊,精血并补,气血同治,补泻兼施,是典型的肝脾肾“三阴并调”之方,正合AD肝脾肾“三阴并调”之防治思路,具有防治AD的理论基础。

现代研究表明,黑逍遥散中,熟地黄具有免疫调节作用,可抑制脂多糖刺激大鼠巨噬细胞引起的炎症反应,保护神经活性,延缓机体学习记忆功能的退化。此外,熟地黄有效成分梓醇能够缓解氧化损伤所导致的红细胞溶血从而发挥抗氧化作用<sup>[27]</sup>。柴胡具有增强免疫的效果,其有效成分柴胡皂苷具有显著抗炎作用,且能够通过抑制大脑海马组织区胆碱乙酰转移酶(ChAT)和乙酰胆碱酯酶(AchE)活性从而减少大脑海马区神经细胞凋亡<sup>[28]</sup>。当归具有抗炎镇痛、抗氧化、抗衰老等作用<sup>[29-30]</sup>。白芍提取物通过促进白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-10(IL-10)的合成与释放,抑制白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的表达,发挥抗炎、镇痛效果,白芍总苷能减少神经细胞凋亡,调节神经因子及提高脑耐缺氧缺血能力起到治疗神经精神疾病的作用<sup>[31]</sup>。薄荷、甘草、生姜均可发挥抗炎、抗氧化作用<sup>[32-34]</sup>。以上研究皆为黑逍遥散防治AD奠定了现代药理基础。

黑逍遥散自古广泛应用于妇科、神经精神系统等疾病的防治,近年在AD的临床防治也有了相关报道。娄勃等<sup>[35]</sup>观察了60例痴呆患者,其中治疗组30例患者采用了黑逍遥散加减治疗。结果显示治疗组患者简易智能精神状态检查量表(MMSE)、长谷川痴呆量表(HDS)评分改善均优于对照组,治疗组疗效明显优于对照组,初显了黑逍遥散防治AD

的临床疗效。

基于此,课题组前期广泛开展了黑逍遥散防治AD的实验研究。研究表明,黑逍遥散可提高AD小鼠脑内ChAT、单胺类氧化酶(MAO)和超氧化物歧化酶(SOD)活性,降低丙二醛(MDA)含量及AChE活性从而提高小鼠抗氧化能力,改善学习记忆能力,达到治疗AD的作用<sup>[36-38]</sup>;提高AD大鼠海马中微管相关蛋白2(Map2)、 $\beta$ 淀粉样前体蛋白结合蛋白1抗体(X11 $\alpha$ )(APBA1)的表达水平,显著降低分泌性聚集素(sCLU)蛋白的表达水平,从而减少A $\beta$ 沉积<sup>[39]</sup>,下调小鼠海马区糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )和A $\beta_{1-42}$ 的相对表达水平,增强脑啡肽酶(NEP)、胰岛素抵抗酶(IDE)因子而促A $\beta$ 降解,增加海马CA1、CA3、DG区环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)、p-CREB1蛋白的相对表达量,表明其可通过降低A $\beta$ 沉积及促进A $\beta$ 清除减缓AD小鼠认知能力的损伤<sup>[40-41]</sup>;降低AD小鼠海马神经元Ca<sup>2+</sup>浓度,抑制海马区钙调蛋白(CaM)活性,增加钙调素依赖蛋白激酶II $\alpha$ (CaMK II $\alpha$ )表达量,从而恢复大脑内钙稳态,达到防治AD的作用<sup>[42]</sup>。此外,黑逍遥散药物血清可以抑制小胶质细胞活化,减少TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、白细胞介素-6(IL-6)的释放,减轻炎症反应,亦能够增加AD细胞模型活力,减少乳酸脱氢酶(LDH)释放量,降低细胞凋亡率,以剂量依赖的方式对PCI2细胞损伤产生神经保护作用<sup>[43-44]</sup>。以上研究结果为进一步开展黑逍遥散防治AD研究奠定了前期研究基础,尤其课题组研究发现黑逍遥散具有抑制AD脑内Tau蛋白过磷酸化的作用<sup>[45]</sup>,验证表明,经黑逍遥散治疗后胰岛素生长因子-1(IGF-1)的受体胰岛素样生长因子结合蛋白1(Igfbp-1)表达上调,而IGF-1能够通过抑制磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/GSK-3 $\beta$ 通路增加Tau蛋白与微管结合,减少磷酸化Tau蛋白,该发现为本立题的可行性更加提振了信心。

### 3 抑制Tau蛋白异常磷酸化是AD疗效机制的新视觉

Tau蛋白是一种微管相关蛋白,主要存在于神经元的轴突中,参与维持细胞形态、物质运转、细胞分裂、细胞运动及细胞内外信息传递等功能<sup>[46]</sup>。在AD中,Tau蛋白发生过度磷酸化导致Tau与微管蛋白的结合能力下降,丧失了促进微管组装的功能,从微管分离的Tau相互聚集形成具有神经毒性的寡聚体,在退变神经元的胞体内聚集成双螺旋纤维(PHF),进而形成NFTs,导致神经元功能障碍和退

化<sup>[47]</sup>。研究证明<sup>[48]</sup>,AD大脑中过度磷酸化的Tau蛋白比健康大脑高2~3倍。质谱分析显示,在PHF形式的Tau蛋白中,至少有40个丝氨酸(Ser)/苏氨酸(Thr)和2个酪氨酸(Tyr)位点用于磷酸化。不同位点的磷酸化对Tau蛋白功能的影响不同,其中,Thr181、Thr231、Ser262/356和Ser396/404这4个位点的磷酸化在AD的研究有着重要的意义,他们的磷酸化可能是形成AD病理改变的重要物质基础<sup>[49-50]</sup>。最新研究证实<sup>[51]</sup>,在Thr181位点上磷酸化的Tau是AD的高度特异性病理标志,AD患者血液及脑脊液中p-Thr181明显增加,且与神经元纤维缠结密切相关。Thr231位点的Tau蛋白磷酸化已被证明是AD患者脑组织的重要特征,p-Thr231存在于早期纤维缠结中,先于Tau寡聚化和人脑中成对的螺旋丝组装,这表明该位点的磷酸化可能是Tau病理学中的早期事件<sup>[52]</sup>,且在调节Tau与微管的相互作用中也起着重要作用,经历构象变化,降低了蛋白质对微管的亲和力,并促进了其他Tau残基Ser199、Ser396、Ser400和Ser404的磷酸化,导致Tau过度磷酸化和功能丧失<sup>[53]</sup>。Ser262位点的Tau蛋白磷酸化在AD病变组织中的水平改变具有突出性,作为理想的治疗靶点而备受关注。p-Ser262在A $\beta_{42}$ 诱导的Tau毒性中亦起关键作用,A $\beta_{42}$ 的共表达增加了AD相关位点包括Ser262的Tau磷酸化,并增强了Tau诱导的神经变性<sup>[54]</sup>。此外,Ser396也是Tau磷酸化的重要位点,其磷酸化亦会增加AD的发病率,且在疾病后期更为突出<sup>[55]</sup>。因此,抑制Tau蛋白异常磷酸化尤其是各重要位点的磷酸化水平进而阻止或延缓病理改变是AD疗效机制研究的新视角。

### 4 调节TMAO代谢以抑制Tau蛋白过磷酸化是防治AD的新靶点

脑-肠轴是大脑与肠道之间的关键调控通路,而肠道菌群是这条通路的重要参与者。现代研究证实,肠道细菌可通过免疫调节、内分泌调节及迷走神经途径参与脑-肠轴双向调节过程,影响大脑的行为和功能<sup>[56-57]</sup>。因此,研究人员提出,人类肠道菌群甚至可充当“第二大脑”,并可能导致AD等神经退行性疾病的发生发展<sup>[58-60]</sup>,其中TMAO作为肠道细菌的重要代谢产物之一而备受关注。TMAO是一种小分子化合物,在稳定蛋白质结构、调节渗透压、保持离子稳定等方面起着重要作用。饮食中的红肉和蛋类等富含胆碱,人体的肠道菌群可以利用富含胆碱的物质,产生TMAO<sup>[61]</sup>。通常小肠是食物中胆碱转运吸收的场所,但若饮食中的胆碱超过了

小肠吸收的上限,胆碱就会到达大肠,并被肠道菌群分解为TMA<sup>[62]</sup>。菌群代谢产物TMA被吸收入血后,在FMO3氧化作用下转变为TMAO<sup>[63]</sup>。在人体内,TMAO通过改变脂质和激素稳态、促进血小板高反应性、调节胆固醇和甾醇代谢、减少胆固醇反向转运以及通过激活NLRP3炎症体诱导内皮功能障碍等多种机制参与疾病的发生<sup>[64]</sup>。在大脑中,TMAO已被证明可以通过诱导神经元衰老、增加氧化应激、损害线粒体功能、抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号<sup>[65]</sup>等机制导致大脑老化和认知障碍。有研究发现<sup>[66]</sup>,肠道中植物乳杆菌的减少与认知障碍有关,对APP/PS1小鼠给予植物乳杆菌能够抑制肠道微生物TMA的分泌,从而降低TMAO水平,进而改善小鼠认知能力,降低海马区A $\beta$ 水平,保护神经元的完整性和可塑性。最近的一项研究发现,AD患者脑脊液中TMAO含量升高,并且年龄越大,脑脊液中TMAO含量越高。同时发现TMAO的升高与脑脊液中p-Tau和p-Tau/A $\beta_{42}$ 有关,而与A $\beta_{42}$ /A $\beta_{40}$ 无关,这可能表明TMAO与Tau病理的关系比淀粉样蛋白的单独沉积更密切<sup>[6]</sup>。因此,通过靶向调控肠道菌群TMA/FMO3/TMAO代谢通路以降低TMAO水平,进而抑制Tau蛋白过磷酸化将是防治AD的新靶点。

## 5 总结与展望

综上所述,肝脾肾“三阴并调”是防治AD的重要思路,黑逍遥散是“三阴并调”的经典名方,Tau蛋白过磷酸化是AD发病的热点机制,肠道菌群代谢产物TMAO的大量堆砌促进了Tau蛋白过磷酸化进而加重了AD的病理进展。据此课题组结合前期研究基础提出了“黑逍遥散通过‘三阴并调’调控肠道菌群TMA/FMO3/TMAO代谢通路进而抑制大脑海马区Tau蛋白过磷酸化,从而达到保护神经细胞,改善学习记忆,防治AD”的研究假说。该研究假说为推进黑逍遥散防治AD研究提供了新的思路与策略:①通过补肾填精,充养脑神,脑肠互动,促进AD患者脑内异常磷酸化Tau蛋白从肾水而解;②通过疏肝理气,舒畅气机,调达肝木FMO3的异常代谢,维持肠道微生物稳态;③通过健脾和中,升清降浊,抑制脾土TMA的生成,恢复肠道菌群生态结构与功能;④通过补肾疏肝健脾,三阴并调,脑肠同治,共同调节脑脊液及血液TMAO含量,进而减少Tau蛋白过磷酸化以改善AD。

在后期研究中,本课题组将以该策略为指导,进一步揭示黑逍遥散的整体调节效用通过干预

TMA/FMO3/TMAO代谢通路抑制Tau蛋白磷酸化的表达进而保护神经细胞的分子机制,为临床从肠道菌群及Tau蛋白途径拓展中医经典效方的广泛运用提供实验依据,并为中医药从肝脾肾“三阴并调”途径干预AD提供新的视角和靶标,开发通过调节肠道菌群以抑制Tau蛋白磷酸化进而防治AD的优势中成药提供实验支撑。

## [参考文献]

- [1] LI K, WEI Q, LIU F F, et al. Synaptic dysfunction in Alzheimer's disease: A $\beta$ , Tau, and epigenetic alterations [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(4): 3021-3032.
- [2] 张静爽,王蓉. 阿尔茨海默病发生机制的研究进展 [J]. *首都医科大学学报*, 2014(6): 721-724.
- [3] SPIRES-JONES T L, HYMAN B T. The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease [J]. *Neuron*, 2014, 82(4): 756-771.
- [4] VAZ M, SILVESTRE S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 887: 173554.
- [5] GAO Y, TAN L, YU J T, et al. Tau in Alzheimer's disease: Mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2018, 15(3): 283-300.
- [6] VOGT N M, ROMANO K A, DARST B F, et al. The gut microbiota-derived metabolite trimethylamine N-oxide is elevated in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2018, 10(1): 124.
- [7] PETRIELLO M C, HOFFMAN J B, SUNKARA M, et al. Dioxin-like pollutants increase hepatic flavin containing monooxygenase (FMO3) expression to promote synthesis of the pro-atherogenic nutrient biomarker trimethylamine N-oxide from dietary precursors [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 33: 145-153.
- [8] 吴红彦,王虎平. 以肝脾论治老年性痴呆及逍遥散对老年痴呆模型小鼠学习记忆能力、中枢胆碱能神经元活性的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(5): 190-192.
- [9] 王虎平,吴红彦. 逍遥散防治阿尔茨海默病的作用及配伍机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(15): 3632-3634.
- [10] 王虎平,邢喜平,吴红彦. 逍遥散对D-半乳糖致阿尔茨海默病模型小鼠记忆功能及血清SOD、MDA、ChAT、AChE的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(10): 4191-4193.
- [11] 王虎平,吴红彦. 拆方研究逍遥散对阿尔茨海默病模型小鼠记忆功能及血清SOD、MDA、ChAT、AChE活性的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(3): 538-540.
- [12] 王虎平,邢喜平,张雯娟,等. 逍遥散对阿尔茨海默病

- 模型小鼠学习记忆及神经递质的影响[J]. 中国老年学杂志, 2014(9): 2468-2470.
- [13] 王虎平, 吴红彦. 逍遥散对AD模型小鼠行为学、形态学及神经递质活性的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(4): 471-474.
- [14] 王虎平, 吴红彦. 逍遥散及其配伍组方对阿尔茨海默病小鼠学习记忆的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(18): 4459-4461.
- [15] 王虎平, 张莉云, 邢喜平, 等. 逍遥散对阿尔茨海默病模型小鼠血清及脑组织匀浆中SOD, GSH-PX活性及MDA水平的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2013, 30(6): 1-3.
- [16] 蔡大勇, 黄启福, 贾旭. 丹栀逍遥散对D-半乳糖拟老年性痴呆大鼠脑病理学变化的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2006(2): 114-117, 147.
- [17] 吴正治, 戎志斌. 阿尔茨海默病“肝气郁滞-内质网应激关联”病理新假说[J]. 中国中医药科技, 2013, 20(1): 49-50.
- [18] 郑英宇. 健脾祛痰化痰法干预冠状动脉粥样硬化小型猪脑 $\beta$ 的实验研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2016.
- [19] KIM Y, CHO S H. Danggui-Shaoyao-San for dementia: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(4): e18507.
- [20] 宋祯彦, 夏小芳, 王玉珂, 等. 当归芍药散通过调控NLRP3/Caspase-1信号通路抑制AD大鼠神经炎症的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(19): 1-8.
- [21] 贺春香, 宋祯彦, 李泽, 等. 基于环状RNA测序探讨当归芍药散对APP<sup>swe</sup>/PS1 $\Delta$ E9转基因小鼠的神经保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(5): 16-24.
- [22] 余婧萍, 贺春香, 成绍武, 等. 当归芍药散通过调控NF- $\kappa$ B炎性通路改善H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的SH-SY5Y细胞氧化损伤的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(10): 1-7.
- [23] FU X, WANG Q, WANG Z, et al. Danggui-Shaoyao-San: New hope for Alzheimer's disease[J]. *Aging Dis*, 2016, 7(4): 502-513.
- [24] HUANG J, WANG X, XIE L, et al. Extract of Danggui-Shaoyao-San ameliorates cognition deficits by regulating DHA metabolism in APP/PS1 mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 253: 112673.
- [25] 姚丽伟. 当归芍药散活性成分通过调节小胶质细胞M1/M2稳态抗血管性痴呆的机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- [26] 吴磊彬. 逍遥散治疗肝郁脾虚型阿尔茨海默病的临床观察和实验研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2015.
- [27] 杜珂, 高晓霞, 王锋, 等. 基于药效物质基础的熟地黄质-效评价研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(6): 1477-1484.
- [28] 吕晓慧, 孙宗喜, 苏瑞强, 等. 柴胡及其活性成分药理研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2012(12): 107-109.
- [29] 汪兰, 张梦思, 王顺和, 等. 当归多糖拮抗D-半乳糖致大鼠脑衰老的作用[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(19): 1839-1845.
- [30] 李曦, 张丽宏, 王晓晓, 等. 当归化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-1028.
- [31] 叶先文, 夏澜婷, 任洪民, 等. 白芍炮制的历史沿革及化学成分、药理作用研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(7): 1951-1969.
- [32] 高榆嘉, 张文静, 刘萌, 等. 薄荷药理作用的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2020, 41(3): 215-217.
- [33] 伍宇娟, 张刘强, 李医明. 甘草属植物中异戊烯基黄酮类成分及其药理活性研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(6): 1358-1365.
- [34] 何平平, 钟凌云. 干姜、生姜及其炮制辅料姜汁的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(6): 219-223.
- [35] 娄勃, 余乐端, 叶丹晓. 黑逍遥散加减治疗痴呆60例疗效观察[J]. 中医临床研究, 2019, 11(8): 90-91.
- [36] 吴红彦, 王虎平, 王彩霞. 黑逍遥散对老年性痴呆的防治作用及其机制研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(4): 912-913.
- [37] 吴红彦, 李海龙, 张云, 等. 黑逍遥散对东莨菪碱致痴呆小鼠模型的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2013(10): 35-37.
- [38] 马春林, 吴红彦, 段永强, 等. 黑逍遥散对APP/PS1双转基因小鼠海马和脑皮层CaMK II  $\alpha$ 蛋白及其磷酸化表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 25-31.
- [39] 马春林, 吴红彦, 兰美华, 等. 黑逍遥散干预APP/PS1双转基因小鼠海马区 $\beta$ 降解相关基因和蛋白表达效应的研究[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(3): 115-118.
- [40] 杨植媛. 黑逍遥散对阿尔兹海默病模型大鼠海马组织 $\beta$ 代谢相关靶点影响[D]. 兰州: 甘肃中医学院, 2014.
- [41] 吴红彦, 马春林, 崔淑梅, 等. 黑逍遥散对AD模型小鼠海马区 $\beta$ <sub>1-42</sub>, GSK-3 $\beta$ , NEP, IDE表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(5): 36-42.
- [42] 马春林, 吴红彦, 兰美华, 等. 黑逍遥散对阿尔茨海默病模型小鼠Ca<sup>2+</sup>-CaM/CaMK II  $\alpha$ 信号通路关键因子表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(10): 50-54.
- [43] 杨长生, 吴红彦, 李海龙, 等. 黑逍遥散对阿尔茨海默

- 病模型大鼠行为学及血清肿瘤坏死因子 $\alpha$ 及白细胞介素-6和-1 $\beta$ 的影响[J]. 西部中医药, 2015, 28(2): 10-12.
- [44] 吴红彦, 李海龙, 张芸, 等. 黑逍遥散含药血清对A $\beta_{25-35}$ 诱导阿尔茨海默病细胞模型的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(1): 137-139.
- [45] 吴红彦, 李海龙, 顾静, 等. 黑逍遥散对阿尔茨海默病大鼠海马基因表达谱的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(11): 1345-1351.
- [46] HOUBEN S, HOMA M, YILMAZ Z, et al. Tau pathology and adult hippocampal neurogenesis: What Tau mouse models tell us?[J]. Front Neurol, 2021, 12: 610330.
- [47] TIERNAN C T, MUFSON E J, KANAAN N M, et al. Tau oligomer pathology in nucleus basalis neurons during the progression of Alzheimer disease [J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2018, 77(3): 246-259.
- [48] KAUR S, DASGUPTA G, SINGH S. Altered neurochemistry in Alzheimer's disease: Targeting neurotransmitter receptor mechanisms and therapeutic strategy[J]. Neurophysiology, 2019, 51(2): 283-300.
- [49] REIMER L, BETZER C, KOFOED R H, et al. PKR kinase directly regulates tau expression and Alzheimer's disease-related tau phosphorylation [J]. Brain Pathol, 2021, 31(1): 103-119.
- [50] DAI C L, TUNG Y C, LIU F, et al. Tau passive immunization inhibits not only tau but also A $\beta$  pathology[J]. Alzheimers Res Ther, 2017, 9(1): 1.
- [51] KARIKARI T K, PASCOAL T A, ASHTON N J, et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: A diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts[J]. Lancet Neurol, 2020, 19(5): 422-433.
- [52] DÁVILA-BOUZIGUET E, TARGA-FABRA G, ÁVILA J, et al. Differential accumulation of Tau phosphorylated at residues Thr231, Ser262 and Thr205 in hippocampal interneurons and its modulation by Tau mutations (VLW) and amyloid- $\beta$  peptide [J]. Neurobiol Dis, 2019, 125: 232-244.
- [53] SANTOS J, BAUER C, SCHUCHHARDT J, et al. Validation of a prototype tau Thr231 phosphorylation CSF ELISA as a potential biomarker for Alzheimer's disease[J]. J Neural Transm (Vienna), 2019, 126(3): 339-348.
- [54] SAITO T, OBA T, SHIMIZU S, et al. CDK5 increases MARK4 activity and augments pathological tau accumulation and toxicity through tau phosphorylation at Ser262 [J]. Hum Mol Genet, 2019, 28(18): 3062-3071.
- [55] QUNTANILLA R A, TAPIA-MONSALVES C. The Role of mitochondrial impairment in Alzheimer's disease neurodegeneration: The Tau connection [J]. Curr Neuropharmacol, 2020, 18(11): 1076-1091.
- [56] MA W, WU M, ZHOU S, et al. Reduced smoothed level rescues A $\beta$ -induced memory deficits and neuronal inflammation in animal models of Alzheimer's disease [J]. J Genet Genomics, 2018, 45(5): 237-246.
- [57] SHARON G, SAMPSON T R, GESCHWIND D H, et al. The central nervous system and the gut microbiome [J]. Cell, 2016, 167(4): 915-932.
- [58] 吴孝军, 朱路文, 叶涛, 等. 肠道菌群对中枢神经系统疾病影响的研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2018, 24(5): 539-543.
- [59] 李虹霖, 齐慧敏, 李书霖, 等. 从代谢产物论述肠道菌群与阿尔茨海默病[J]. 微生物学杂志, 2020, 40(5): 104-108.
- [60] KESIKA P, SUGANTHY N, SIVAMARUTHI B S, et al. Role of gut-brain axis, gut microbial composition, and probiotic intervention in Alzheimer's disease [J]. Life Sci, 2021, 264: 118627.
- [61] WANG Z, KLIPFELL E, BENNETT B J, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. Nature, 2011, 472(7341): 57-63.
- [62] CRACIUN S, BALSUS E P. Microbial conversion of choline to trimethylamine requires a glycyl radical enzyme [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(52): 21307-21312.
- [63] CHHIBBER-GOEL J, GAUR A, SINGHAL V, et al. The complex metabolism of trimethylamine in humans: Endogenous and exogenous sources [J]. Expert Rev Mol Med, 2016, 18: e8.
- [64] ZHU W, GREGORY J C, ORG E, et al. Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk [J]. Cell, 2016, 165(1): 111-124.
- [65] LI D, KE Y, ZHAN R, et al. Trimethylamine-N-oxide promotes brain aging and cognitive impairment in mice [J]. Aging Cell, 2018, 17(4): e12768.
- [66] WANG Q J, SHEN Y E, WANG X, et al. Concomitant memantine and Lactobacillus plantarum treatment attenuates cognitive impairments in APP/PS1 mice [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(1): 628-649.

[责任编辑 孙丛丛]