

· 当归芍药散治疗阿尔茨海默病作用机制研究专题 ·

[编者按] 阿尔茨海默病(AD)是一种起病隐匿并呈进行性发展的神经退行性疾病,已成为当今世界面临的全球性重大健康和社会问题,积极探索防治药物并阐明作用机制已成为国内外研究关注的热点和焦点。目前,“一药一靶”的药物研究思路受到挑战,开展和加强中医药治疗本病的研究,以及阐明作用机制,意义重大。当归芍药散出自东汉·张仲景所著《金匮要略·妊娠病脉证并治第二十篇》:“妇人怀妊,腹中疝痛,当归芍药散主之”和《金匮要略·妇人杂病脉证并治第二十二篇》:“妇人腹中诸疾痛,当归芍药散主之。”原本为治疗妇人之疾而设,但自1980年代末以来已逐渐被广泛用于治疗AD,疗效确切,其生物学机制具有多途径、多环节、多靶点的特点。本专题基于阐明当归芍药散治疗AD的现代生物学机制、丰富其理论科学内涵,为临床治疗AD提供科学依据,同时也为开展中医药治疗AD的研究提供新思路。

当归芍药散治疗阿尔茨海默病的作用机制实验研究进展

陈云慧^{1,2,3}, 夏军¹, 刘丹², 刘兴隆¹, 张天娥¹, DAVID BAXTER George³,
LIU Lizhou³, 游宇¹, 谢永美², 龚圆渊^{1*}, 彭伟^{1*}

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 四川大学, 成都 610041; 3. 奥塔哥大学, 新西兰 达尼丁 9054)

[摘要] 阿尔茨海默病(AD)是一种起病隐匿并呈进行性发展的神经系统退行性疾病,已成为全球重大健康和社会经济问题。AD发病机制十分复杂,存在 β 淀粉样蛋白过度沉积、Tau蛋白过度磷酸化、氧化应激、炎症等多种假说,因此迫切需要多途径、多环节、多靶点的整体综合调治措施的干预。这正是中医药的特色与优势。开展和加强中医药治疗本病的研究,具有重大意义。当归芍药散出自《金匮要略》,该方肝脾同调、血水并治,原为疗妇人之疾而设,自20世纪80年代末首次被日本学者用于治疗AD获效后,逐渐被广泛用于临床,疗效确切。阐明此方作用机理有助于其治疗优势的发挥。该文综述近年来相关实验研究进展,就其减少 β -淀粉样蛋白过度沉积、抑制Tau蛋白异常磷酸化、改善氧化应激损伤、抑制炎症反应、调节乙酰胆碱相关酶类、增加 $\alpha 7$ 烟碱样乙酰胆碱受体、调节脂质代谢、改善肠道菌群、拮抗神经细胞凋亡、降低胞内 Ca^{2+} 超载并提高雌二醇激素水平等机制进行论述,以期阐明此方治疗AD的科学内涵提供文献支持,并为进一步研究奠定基础。

[关键词] 当归芍药散; 阿尔茨海默病; 作用机制; 实验研究; 综述

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284;R33 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2022)24-0001-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211102

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210407.1601.004.html>

[网络出版日期] 2021-04-07 16:33

Mechanism of Danggui Shanyaosan in Alzheimer's Disease: A Review

CHEN Yunhui^{1,2,3}, XIA Jun¹, LIU Dan², LIU Xinglong¹, ZHANG Tiane¹, GEORGE DAVID Baxter³,
LIU Lizhou³, YOU Yu¹, XIE Yongmei², GONG Yuanyuan^{1*}, PENG Wei¹

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;
2. Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. University of Otago, Dunedin 9054, New Zealand)

[收稿日期] 2021-01-15

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81603537);四川省科技厅国际合作与交流项目(2017HH0004);国家留学基金委项目(201908510279);四川省教育厅重点项目(17ZA0163);成都中医药大学青年学者人才项目(QNXZ2019043);成都中医药大学国医大师段亚亭薪火相传项目(XHXC008);The 2019 Internationalization Incentive Fund of University of Otago (IIFUO2019)

[第一作者] 陈云慧,博士,副教授,从事经方配伍规律与作用机制研究工作、中医药数据挖掘研究工作、中医经典国际传播与传承研究工作, Tel:028-61800000, E-mail:chenyunhui@cdutcm.edu.cn

[通信作者] * 龚圆渊,在读博士,讲师,从事中医药防治神经系统疾病研究工作, E-mail:gongyuanyuan@cdutcm.edu.cn;

* 彭伟,博士,副教授,从事中药物质基础及其机制研究工作, E-mail:pengwei@cdutcm.edu.cn

[Abstract] Alzheimer's disease (AD) is a deleterious neurodegenerative disorder, which has become a significant public health concern and economic burden. The pathogenesis of AD is complex and involves several hypotheses such as amyloid β -protein ($A\beta$) deposition, Tau protein hyperphosphorylation, oxidative stress, and inflammation. There is an urgent need for a holism-based comprehensive intervention with multi-pathway, multi-level, and multi-target characteristics, which demonstrates the unique advantage of traditional Chinese medicine (TCM). Therefore, it is of great significance to conduct and promote research on TCM treatment of AD. Danggui Shaoyaoan (DSS) from the *Synopsis of Golden Chamber* (《金匱要略》) by ZHANG Zhongjing (150 AD-219 AD) was originally designed for relieving gynecological ailments. It is a classic TCM formula that modulates liver and spleen and dispels blood stasis and water retention. Since the late 1980s when Japanese researchers reported its therapeutic effect on AD, it has been widely used in the clinic with clear effects. The elucidation of the mechanism of this formula helps exert its effects. Hereby, this paper reviewed relative research progress and made an analysis in terms of attenuating aberrant accumulation of $A\beta$ and hyperphosphorylated Tau protein, anti-inflammatory and antioxidant activities, mediating neurotransmitters, ameliorating lipid metabolism, modulating gut microbiota, reduced neuron apoptosis, decreasing intracellular Ca^{2+} overloading, and increasing the expression of estradiol. This paper is expected to provide references for understanding the scientific connotation of DDS in the treatment of AD and lay a solid foundation for further investigation.

[Keywords] Danggui Shanyaosan; Alzheimer's disease; mechanism; experimental study; review

阿尔茨海默病(AD)是一种起病隐匿并呈进行性发展的神经系统退行性疾病,其临床表现为患者认知和记忆功能不断恶化,日常生活能力进行性减退,以及各种神经精神症状和行为障碍。随着人口老龄化不断加剧,预计2050年美国AD患者人数将增加至1380万^[1]。目前,西医主要使用乙酰胆碱酯酶抑制剂和谷氨酸受体阻滞剂进行对症治疗,但效果欠佳、不良反应较多^[2]。AD属于中医“好忘、喜忘、呆、健忘”等病范畴,既往相关研究多集中在虚、痰、瘀致神机失用,立论多以肾虚精亏、气血不足、心肾两虚为本,痰蒙清窍、瘀血阻络、浊毒痹阻为标^[3]。而采用因子分析的AD中医辨证规律研究提示,肝郁、脾虚、痰浊、瘀血是其发生发展的关键证素^[4]。经方当归芍药散源自《金匱要略·妊娠病脉证并治第二十篇》:“妇人怀妊,腹中疝痛,当归芍药散主之”和《金匱要略·妇人杂病脉证并治第二十二篇》:“妇人腹中诸疾痛,当归芍药散主之。”该方原为疗妇人之疾而设,集中体现了医圣张仲景“肝脾同调、血水并治”的学术思想。自20世纪80年代末,当归芍药散首次被日本学者用于治疗AD获效后,逐渐被广泛用于临床,疗效确切^[5]。基于临床病案的数据挖掘研究表明该方为临床治疗AD的常用有效方剂^[6]。Meta分析结果亦证实其能有效提高AD患者的智力及生活能力,明显改善认知功能^[7]。

《药鉴》云:“病无常形,医无常方,药无常品,惟在人之善学善用耳”。当归芍药散药用当归、芍药、

川芎、茯苓、白术和泽泻,方中当归、白芍柔养肝血;当归、川芎活血化瘀,以通其瘀滞;三药合用,既可养血柔肝,又可活血化瘀以条达肝之气机,祛瘀生新。白术益气健脾燥湿,以复脾运;茯苓、泽泻利湿,以泻水邪;三药合用,益气健脾、燥湿化痰,脾健则水谷精微正常运化,水湿痰浊生成乏源。六药同用,泻中寓补,柔肝、调血、健脾除湿,使肝用得舒、肝体得柔,脾气得养、脾运得健,痰瘀得通,切中AD发生发展进程中肝郁、脾虚、痰瘀互结等关键证素,临床疗效确切。但目前有关当归芍药散治疗AD的作用机制研究总结较少,故现整理、分析近年来相关实验研究报道,综述当归芍药散治疗AD的作用机制,以期阐释经方科学内涵、深入开展相关研究奠定基础。

1 减少 β 淀粉样蛋白($A\beta$)异常沉积

$A\beta$ 相对分子质量约4 kDa,是由39~43个氨基酸组成的肽段,由淀粉样前体蛋白经 γ -和 β -分泌酶水解产生。正常情况下,脑内的 $A\beta$ 生成与降解保持动态平衡。但对于AD患者而言,细胞外 $A\beta$ 异常堆积形成的老年斑(SP)是其主要病理特征之一^[8-9]。 $A\beta$ 异常沉积可诱发神经慢性炎症、Tau蛋白磷酸化、细胞凋亡、氧化应激反应等,这些病理过程进一步加重 $A\beta$ 沉积,形成级联式放大效应。因此, $A\beta$ 异常沉积被认为是AD病理改变的核心。研究表明,当归芍药散有效改善 $A\beta_{25-35}$ 海马注射AD模型小鼠空间学习和记忆障碍的功能与其减少脑内 $A\beta_{25-35}$ 聚

合物含量有关^[10-11]。杨从^[12]发现该方能改善 APP/PS1 模型小鼠的认知功能,明显降低脑内 $A\beta_{1-42}$ 表达水平,上调 $A\beta$ 转运出脑蛋白 LRP1,下调 $A\beta$ 转运入脑蛋白 RAGE 水平。郝徐艺等^[13]研究证实,当归芍药散能显著改善铜离子介导的 $A\beta_{1-42}$ 聚集导致的人神经母细胞瘤 (SH-SY5Y) AD 模型的细胞损伤,使 $A\beta$ 内吞,减少胞外 $A\beta$ 聚集,提高细胞生存率。因此,抑制 $A\beta$ 聚集、减轻 $A\beta$ 毒性作用是当归芍药散改善 AD 患者认知功能、延缓疾病进程的重要途径。 $A\beta$ 最常见亚型为 $A\beta_{1-40}$ 和 $A\beta_{1-42}$,后者是 SP 的主要组成部分,疏水性较强、易沉积,易形成纤维和寡聚体而聚集,神经细胞毒性很强^[14]。该方如何调节 $A\beta_{1-42}$ 聚集和清除,恢复其生理动态平衡,或将成为该方作用机制的重点研究方向。

2 抑制 Tau 蛋白异常磷酸化

Tau 蛋白是一种相对分子质量在 50~75 kDa 之间的微管相关蛋白,主要分布于神经元轴突,可促进微管蛋白聚合形成微管,并维持其稳定性。Tau 蛋白为磷酸基蛋白,正常情况下,Tau 蛋白分子含 2~3 个磷酸基,具有可溶性,并与微管蛋白结合,以促进微管聚合与稳定。但在 AD 患者脑中,Tau 蛋白过度磷酸化,每分子可含 5~9 个磷酸基,使其由可溶变为不可溶,出现病理性聚集,形成神经纤维缠结 (NFTs)。神经元胞内 Tau 蛋白异常磷酸化形成的 NFTs 被认为是 AD 的另一重要病理学特征^[15],抑制 Tau 蛋白过度磷酸化也成为有效治疗 AD 的关键。刘孟渊等^[16]研究表明,当归芍药散加味能有效拮抗 SD 大鼠大脑海马定位注射纤维状 $A\beta_{1-42}$ 复制的 AD 模型,抑制 Tau 蛋白过度磷酸化可能是其主要作用机制;闫小峰^[17]亦发现该方可减少 $A\beta_{1-42}$ 所致磷酸化 Tau (p-Tau) 蛋白的过度表达,抑制 NFTs 形成,从而改善大脑海马定位注射聚集态 $A\beta_{1-42}$ 诱导 AD 模型大鼠的脑内病理变化。有假说指出 Tau 蛋白聚集主要是因该蛋白质降解不足而不是因其表达增加所致,通过泛素-蛋白酶体系统和自噬-溶酶体系统等两种途径可增加 Tau 蛋白降解,这为进一步深入研究当归芍药散对过度磷酸化 Tau 蛋白的抑制作用指明了方向^[18]。

3 改善氧化应激损伤

AD 患者清除体内自由基的能力减低,体内氧化和抗氧化系统失衡,超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 等抗氧化活性降低。自由基与生物膜多聚不饱和脂肪酸发生脂质过氧化,生成毒性极强的丙二醛 (MDA),进而引起蛋白质变性和交联,影响细胞代

谢和正常功能,最终导致神经元凋亡,促使 AD 的发生发展。AD 患者脑组织中一氧化氮 (NO) 显著增高,导致氧化应激,造成神经损伤^[19]。LAN 等^[20]研究表明,当归芍药散能显著提高 D-半乳糖衰老模型小鼠的认知功能,抑制 NO 过量形成,抑制氧化应激诱导的神经元凋亡;曾宇等^[21]研究证实,该方能有效改善 D-半乳糖结合 $AlCl_3$ 导致的认知障碍模型小鼠学习记忆功能,明显降低小鼠血清 MDA 含量和脑中脂褐素含量,升高血清 SOD 和 GSH-Px 活性,提示其可增加抗氧化酶活性及减少脂质过氧化,具有较显著抗氧化作用。余婧萍等^[22]发现该方含药血清能明显提高 H_2O_2 诱导的 SH-SY5Y AD 细胞模型的细胞存活率且呈剂量依赖性上升,明显下调 MDA,上调 CAT、SOD 和 GSH,提示其可改善抗氧化状态显著降低 H_2O_2 诱导的 SH-SY5Y 细胞损伤。

4 抑制炎症反应

AD 患者脑内有强烈局灶性炎症反应,在 SP 周围有大量激活的神经胶质细胞和明显炎症标志物。调节神经炎症反应的主要细胞因子包括,p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、白细胞介素 (IL)-6、IL-1、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、核转录因子- κ B (NF- κ B) 等。上述细胞因子水平升高会导致大脑神经炎症的发生,过度激活星形胶质细胞和小胶质细胞并产生有毒物质,导致神经元变性、凋亡^[23]。诸多研究表明,当归芍药散能减轻由 $A\beta_{1-42}$ 双侧海马内注射诱导的 AD 模型大鼠脑内炎症反应,抑制神经胶质细胞活化,减少 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 等炎症因子表达,减少海马细胞凋亡,显著改善该模型大鼠的学习和记忆功能^[16-17,24]。黄德弘等^[25]研究证实该方亦能抑制纤维状 $A\beta_{1-42}$ 诱导的 AD 大鼠海马炎症反应和炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6 及 p-p38 MAPK、p-c-Jun 氨基末端酶 (p-JNK)、p-细胞外信号调节激酶 3/6 (p-MEK3/6) 等磷酸化丝裂原活化蛋白激酶信号分子的表达,从而减轻 AD 模型脑内炎症。余婧萍等^[22]发现当归芍药散含药血清呈剂量依赖性抑制 NF- κ B p65 的入核,降低 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 炎症介质水平,具有较强抗炎作用。

Toll 样受体 4 (TLR4) 在 AD 的神经炎症性机制中发挥核心作用。TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 及 IL-10 等因子的上调均依赖 TLR4。NF- κ B 是重要炎症和应激反应信号分子,广泛参与多种炎症和机体防御反应相关分子基因的表达。NF- κ B 在生理状态下与其抑制物 NF- κ B 抑制蛋白 (I κ B) 相结合,呈现低表达状态,而 TLR4 可通过一系列信号转导激活

NF- κ B^[26]。因此,抑制TLR4/NF- κ B信号通路的过度激活,是治疗AD的有效途径。陈旺^[27]研究表明,当归芍药散能下调脑定位注射 $A\beta_{1-42}$ 诱导的C57BL/10JNju小鼠AD模型脑组织中TLR4 mRNA和TLR4、p-p65蛋白表达,上调I κ B蛋白和mRNA表达,减低p65蛋白磷酸化水平,提示当归芍药散作用机制与抑制TLR4/NF- κ B信号转导途径下调炎症因子的表达、减轻中枢炎症反应密切相关。

5 调节神经递质

胆碱能神经系统参与调节人体学习和记忆等高级功能。AD患者脑中胆碱乙酰转移酶(ChAT)活性明显减低,乙酰胆碱活性下降;乙酰胆碱酯酶(AChE)活性显著增强,并与生长的 $A\beta$ 纤维结合且相互作用,促进淀粉样斑块和淀粉原纤维的形成^[28]。因此,改善胆碱能神经系统功能可有效防治AD。王依璠^[29]研究表明,当归芍药散能显著降低东莨菪碱损伤AD模型小鼠脑内AChE活性、提高ChAT含量,明显改善其学习记忆功能障碍,具有调节中枢胆碱能系统的作用。 α 7烟碱样乙酰胆碱受体(α 7nAChR)对突触形成、生长和可塑性有重要作用,是配体门控离子通道受体,广泛分布于人脑中。 α 7nAChR作为学习记忆能力的结构基础之一,对于高级认知功能至关重要,其蛋白改变可导致 $A\beta$ 沉积,与AD发生发展密切相关^[30]。田建英等^[31]研究表明,当归芍药散脑脊液能明显抑制 $A\beta_{1-40}$ 诱导的嗜铬细胞瘤细胞株PC12细胞损伤,增加 α 7nAChR阳性细胞表达数量和密度,且此作用随药物浓度升高而增强,提示上调 α 7nAChR为该方重要神经保护机制之一,与学习记忆功能改善相关。

6 改善脂质代谢

多元不饱和脂肪酸是人体重要的生理活性物质,主要包括 ω -3和 ω -6多元不饱和脂肪酸。二十二碳六烯酸(DHA)属 ω -3不饱和脂肪酸,是长链多元不饱和脂肪酸中重要成员。AD动物模型显示DHA代谢紊乱,AD患者大脑中DHA含量减少。花生四烯酸(AA)是最重要的 ω -6脂肪酸,能激活炎症通路和刺激黏液分泌,其代谢通路是炎症的核心网络^[32]。环氧合酶(COX)和脂氧合酶(LOX)是AA代谢途径中的关键酶,会引起一系列炎症因子的产生,在AD发病机制中发挥重要作用。AD患者前额叶皮层胞浆磷脂酶A2(PLA2)、分泌型PLA2、COX-1和COX-2、12/15-LOX、PG合成酶-1的蛋白和mRNA水平较正常人明显增加,同时IL-1 β 、TNF- α 、GFAP和CD11b表达上调^[33]。因此,改善

DHA和AA代谢网络可作为治疗AD药物研发的新策略。王翔宇等^[34]研究表明,当归芍药散能改善APP/PS1双转基因AD模型小鼠的血脂水平,提高AD模型小鼠海马、皮质内未酯化DHA含量,上调DHA经酶代谢产生的15-LOX和iPLA2蛋白表达,下调与神经介质生成相关的cPLA2、5-LOX、12-LOX、COX-1和COX-2蛋白表达,同时改善小鼠脑内氧化应激状态及其学习记忆障碍。随着对脂质代谢途径研究的深入,COXs、LOXs及其代谢产物与AD的关系及相关药物研究也取得了进展,当归芍药散是否可作为COX和LOX抑制剂防治AD,值得进一步深入研究。

7 改善肠道菌群

人体胃肠道定植着1 000多种细菌,厚壁菌、拟杆菌、变形菌、梭杆菌和疣微菌为其主要门类。正常情况下,人体内菌群种类、数量和比例相对稳定,并与宿主保持动态平衡。肠道微生物可通过微生物-肠-脑轴调节宿主大脑功能和行为,影响宿主认知行为。研究表明AD患者肠道菌群多样性明显下降、厚壁菌门与杆菌丰度降低、拟杆菌丰度升高、幽门螺杆菌丰度明显增加。AD患者肠道菌群紊乱特别是乳酸杆菌和双歧杆菌减少时,肠道和中枢神经系统中的抑制性神经递质 γ -氨基丁酸(GABA)水平也会降低^[35-36]。因此,调整肠道菌群已成为治疗AD的有效途径。杨玉芳^[37]研究发现,当归芍药散能显著增加APP/PSN双转基因AD模型小鼠乳酸杆菌丰度、降低幽门螺杆菌属及黏液性细菌相对丰度,升高血清GABA浓度,明显改善该模型小鼠空间学习能力,并呈剂量依耐性下调小鼠海马 $A\beta_{1-42}$ 蛋白表达量。近年研究表明,中医药能促进肠道菌群自我恢复,维持肠道正常微生态平衡。因此,探索肠道菌群失衡与中医病证结合的关系,阐明不同中医证候肠道菌群改变以及中医药对肠道菌群调节的作用机制将成为防治AD的一个新思路。当归芍药散干预肠道菌群防治AD的相关基础研究方兴未艾,而采用各类鸟枪法的宏组学可使肠道菌群的研究快速向功能解析前进。

8 拮抗神经细胞凋亡

神经元凋亡通路激活及其导致的神经元凋亡是AD的重要发病机制。AD神经元凋亡机制与 $A\beta$ 过度表达、氧化应激、胱天蛋白酶激活、细胞周期中诸多因素调节异常及能量代谢障碍密切相关。神经元数目减少是脑老化过程的标志,其中海马是最易受衰老影响的脑区^[38]。曾宇等^[39]研究表明,当归

芍药散能明显改善D-半乳糖联合AlCl₃所致认知障碍模型小鼠海马区神经胶质细胞、神经元细胞的损伤;王依琛^[29]研究证实,该方能抑制APP/PS1小鼠海马及皮质区域星形胶质细胞的激活,明显改善模型小鼠皮质和海马CA1、CA3及DG区神经元受损状况,发挥神经保护作用。

9 其他

早老素蛋白基因突变是家族性AD最主要病因之一,此种突变使Ca²⁺内流过多和细胞内Ca²⁺释放通道活性增加,引起细胞内Ca²⁺超载,导致线粒体功能紊乱、突触缺失、细胞凋亡等AD典型病变的发生^[40]。马丽君等^[41]研究表明,含20%当归芍药散筒方脑脊液能明显增加FeSO₄和H₂O₂诱导建立的PC12细胞氧化损伤模型的细胞活性,有效降低细胞内Ca²⁺水平降低,提示其可通过降低胞内Ca²⁺超载对FeSO₄和H₂O₂诱导建立的PC12细胞氧化损伤模型发挥保护作用。雌激素是一种类固醇类性激素,能促进神经细胞存活、轴突生长及保护神经。流性病学研究表明AD患者中,女性的发病率明显高于男性,提示可能与女性进入绝经期后卵巢开始萎

缩、其合成分泌功能不全,体内雌激素水平逐渐降低有关。调节雌激素水平可能有效阻止和延缓AD患者认知功能减退^[42]。HUANG等^[43]研究表明当归芍药散能提高雌二醇激素水平,改善AD模型SAMP8雌性小鼠认知功能障碍。

10 小结与展望

综上所述,AD发病机制十分复杂,主要有细胞外A β 沉积、Tau蛋白过度磷酸化、胆碱能损伤、氧化应激、炎症、脂代谢紊乱、APP基因突变、自由基损伤、钙超载学说等多种假说^[44]。经典方剂当归芍药散以当归、白芍、川芎、白术、茯苓、泽泻六药同用,柔肝健脾、行血利水,切中AD发生发展进程中肝郁、脾虚、痰瘀等关键证素,疗效确切。近年来,基于其临床有效性,围绕当归芍药散治疗AD的作用机制,从减少A β 过度沉积、抑制Tau蛋白过度磷酸化、改善氧化应激损伤、抑制炎症反应、调节乙酰胆碱相关酶类、增加 α 7烟碱样乙酰胆碱受体、提高DHA含量、改善脂质代谢途径、调整肠道菌群、拮抗神经元凋亡、降低胞内Ca²⁺超载及调节雌二醇激素水平等方面开展了一系列研究,见表1。

表1 当归芍药散治疗AD的药理作用机制研究

Table 1 Research on mechanism of Danggui Shaoyaoan's pharmacologic actions on AD

药理作用	机制研究	参考文献
减少A β 异常沉积	降低A β ₂₅₋₃₅ 海马注射AD模型小鼠脑内A β ₂₅₋₃₅ 聚合物含量	[10-11]
	降低APP/PS1模型小鼠脑内A β ₁₋₄₂ ,上调A β 转运出脑蛋白LRP1,下调A β 转运入脑蛋白RAGE	[12]
	使铜离子介导的A β ₁₋₄₂ 致SH-SY5Y细胞损伤模型的A β 内吞,减少胞外A β 聚集	[13]
抑制异常磷酸化Tau	抑制A β ₁₋₄₂ 致AD模型大鼠脑内Tau蛋白过度磷酸化	[16-17]
改善氧化应激损伤	抑制D-半乳糖衰老模型小鼠NO过量形成	[20]
	降低D-半乳糖结合AlCl ₃ 致认知障碍模型小鼠血清MDA含量和脑中脂褐素含量,升高血清SOD和GSH-Px活性	[21]
	下调H ₂ O ₂ 致SH-SY5Y细胞损伤模型MDA,上调CAT、SOD和GSH	[22]
抑制炎症反应	抑制A β ₁₋₄₂ 致AD模型大鼠脑内神经胶质细胞活化,减少炎症因子IL-1 β 、TNF- α 和IL-6	[16-17,24]
	抑制A β ₁₋₄₂ 致AD大鼠海马IL-1 β 、IL-6、p-p38 MAPK、p-JNK、p-MEK3/6表达	[25]
	抑制H ₂ O ₂ 致SH-SY5Y细胞损伤模型NF- κ B p65入核,降低IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平	[22]
	下调A β ₁₋₄₂ 致C57BL/10JNju小鼠AD模型脑组织TLR4 mRNA和TLR4、p-NF- κ B p65蛋白表达,上调I κ B蛋白和mRNA表达,减低p65蛋白磷酸化水平	[27]
调节神经递质	降低东莨菪碱致AD模型小鼠脑组织AChE活性、提高ChAT含量	[29]
	增加A β ₁₋₄₀ 致PC ₁₂ 细胞损伤模型 α 7nAChR阳性细胞表达数量和密度	[31]
改善脂质代谢	提高APP/PS1双转基因小鼠海马、皮质内未酯化DHA含量,上调15-LOX和iPLA2蛋白表达,下调cPLA2、5-LOX、12-LOX、COX-1和COX-2蛋白表达	[34]
改善肠道菌群	增加APP/PSN双转基因小鼠乳酸杆菌丰度,降低幽门螺杆菌属及粘液性细菌相对丰度	[37]
拮抗神经细胞凋亡	改善D-半乳糖联合AlCl ₃ 致海马区神经胶质细胞、神经元损伤,抑制脑内星形胶质细胞过度激活	[39,20]
	减少A β ₁₋₄₂ 致AD模型大鼠海马细胞元凋亡	[16-17,24]
降低胞内Ca ²⁺ 超载	降低FeSO ₄ 和H ₂ O ₂ 致PC12细胞氧化损伤模型细胞内Ca ²⁺ 水平	[41]
调节雌二醇激素	提高SAMP8雌性AD模型小鼠雌二醇激素水平	[43]

但目前针对当归芍药散干预AD的作用机制的相关实验研究多侧重探讨其对错误折叠蛋白质的毒性及后续效应的影响,未涉及其对降解代谢途径的干预。同时,该方“肝脾同调、血水并治”干预AD的科学内涵和其芍药苷、芍药内酯苷、阿魏酸、泽泻醇B23-乙酯和京尼平苷等^[45-48]等主要入血成分之间构成的复杂网络关系,也有待进一步深入研究。本课题组拟围绕其对错误折叠蛋白质的降解代谢途径进一步开展相关机制探讨,为阐述经方的科学内涵、为临床防治AD提供实验依据。此外,鉴于以当归芍药散为代表的中医经典方剂对该病的确切疗效,通过进一步的研究和探讨,也可为推动经典方剂的开发与应用提供新思路。

[参考文献]

- [1] Alzheimer's Association. 2019 Alzheimer's disease facts and figures [J]. *Alzheimer's Dement*, 2019, 15: 321-87.
- [2] WELLER J, BUDSON A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment [J]. *F1000Res*, 2018, 7.
- [3] 陈付艳,于建春,韩景献. 中医药治疗老年期痴呆进展[J]. *山西中医*, 2015, 13(5):56-58.
- [4] 刘兆崇. 基于因子分析的老年性痴呆的中医辨证规律研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2011.
- [5] 水岛宣昭. 当归芍药散对老年痴呆的作用[J]. *和汉医药学会志*, 1989, 6(3):456-458.
- [6] 周剑杰,谭子虎. 运用数据挖掘探讨老年性痴呆的中药用药规律[J]. *世界中医药*, 2021, 16(12):1866-1870.
- [7] 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.
- [8] NELSON P T, ALAFUZOFF I, BIGIO E H, et al. Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: A review of the literature [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2012, 71(5):362-381.
- [9] LAMBERT M P, BARLOW A K, CHROMY B A, et al. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(11):6448-6453.
- [10] HU Z Y, LIU G, YUAN H, et al. Danggui-Shaoyao-San and its active fraction JD-30 improve Abeta-induced spatial recognition deficits in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128(2):365-372.
- [11] 魏仁荣. 当归芍药散及其拆方对A β_{25-35} 海马注射小鼠行为学的影响[D]. 广州:广州中医药大学,2015.
- [12] 杨从. 当归芍药散及拆方对痴呆小鼠学习记忆的影响及机制研究[D]. 广州:广州中医药大学,2017.
- [13] 郝徐艺,罗思,程淑意,等. 当归芍药散对AD细胞模型铜离子介导的A β 聚集的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(6):45-51.
- [14] TAMAGNO E, GUGLIELMOTTO M, MONTELEONE D, et al. The Unexpected Role of A β_{1-42} Monomers in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 62(3):1241-1245.
- [15] WANG Y, MANDELKOW E. Tau in physiology and pathology [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17(1):5-21.
- [16] 刘孟渊,黄德弘,闫小峰. 加味当归芍药散对淀粉样蛋白42诱导脑内炎症因子及CD45、磷酸化Tau蛋白表达的影响[J]. *广州中医药大学学报*, 2013, 30(3):357-362,440-442.
- [17] 闫小峰. 加味当归芍药散对AD模型脑内炎症因子表达的影响[D]. 广州:广州中医药大学,2009.
- [18] YOUNG Z T, MOK S A, GESTWICKI J E. Therapeutic strategies for restoring Tau homeostasis [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(1):a024612.
- [19] LIGUORI I, RUSSO G, CURCIO F, et al. Oxidative stress, aging, and diseases [J]. *Clin Interv Aging*, 2018, 13:757-772.
- [20] LAN Z, LIU J, CHEN L, et al. Danggui-Shaoyao-San ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative stress-related neuronal apoptosis in d-galactose-induced senescent mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(1):386-395.
- [21] 曾宇,邢增智,梅寒芳,等. 当归芍药散及其有效部位对认知障碍模型小鼠学习记忆功能的影响[J]. *广东药科大学学报*, 2017, 33(5):629-634.
- [22] 余婧萍,贺春香,成绍武,等. 当归芍药散通过调控NF- κ B炎症通路改善H₂O₂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] DOMINGUES C, DA CRUZ E SILVA O, HENRIQUES A G. Impact of cytokines and chemokines on Alzheimer's disease neuropathological hallmarks [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2017, 14(8):870-882.
- [24] 钟树志,马世平,洪宗元,等. 基于抗炎作用的当归芍药散抗阿尔茨海默氏症的实验研究[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(22):3155-3160.
- [25] 黄德弘,刘孟渊,闫小峰. 加味当归芍药散对纤维状

- $A\beta_{42}$ 诱导脑内炎症因子及磷酸化MAPK信号分子表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 143-148.
- [26] PAUDEL Y N, ANGELOPOULOU E, PIPER I C, et al. Impact of HMGB1, RAGE, and TLR4 in Alzheimer's disease (AD): From risk factors to therapeutic targeting[J]. *Cells*, 2020, 9(2): E383.
- [27] 陈旺. 基于Toll样受体4研究当归芍药散对老年痴呆小鼠的作用机制[D]. 广州: 广东药科大学, 2018.
- [28] FERREIRA-VIEIRA T H, GUIMARAES I M, SILVA F R, et al. Alzheimer's disease: Targeting the cholinergic system[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14(1): 101-115.
- [29] 王依琛. 当归芍药散对东莨菪碱损伤的KM小鼠的神经保护作用及机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [30] MA K G, QIAN Y H. Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor and its effects on Alzheimer's disease [J]. *Neuropeptides*, 2019, 73: 96-106.
- [31] 田建英, 马锋, 马伟, 等. 当归芍药散神经保护作用的实验研究[J]. *山东医药*, 2008, 48(23): 1-3.
- [32] MIWA K, HASHIMOTO M, HOSSAIN S, et al. Evaluation of the inhibitory effect of docosahexaenoic acid and arachidonic acid on the initial stage of amyloid β_{1-42} polymerization by fluorescence correlation spectroscopy [J]. *Advances in Alzheimer's Disease*, 2013, 2(2): 66-72.
- [33] 沈娇宁, 徐刘昕, 王蕊. 环氧合酶、脂氧酶及其靶向药物与阿尔茨海默病的防治[J]. *药学学报*, 2013, 48(12): 1743-1754.
- [34] 王翔宇, 黄嘉雯, 谢丽媛, 等. 从DHA代谢角度探讨当归芍药散治疗APP/PS1阿尔茨海默病模型小鼠的作用及机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019(6): 451-452.
- [35] LI Z, ZHU H, ZHANG L, et al. The intestinal microbiome and Alzheimer's disease: A review [J]. *Animal Model Exp Med*, 2018, 1(3): 180-188.
- [36] 刘荣强, 张天娥, 王艳秋, 等. 肠道菌群与阿尔茨海默病的研究进展[J]. *中国微生态学杂志*, 2019, 31(1): 112-115.
- [37] 杨玉芳. 当归芍药散对APP/PSN阿尔茨海默病模型小鼠肠道菌群的影响及分子机制[D]. 芜湖: 皖南医学院, 2019.
- [38] MOHANDAS E, RAJMOHAN V, RAGHUNATH B. Neurobiology of Alzheimer's disease [J]. *Indian J Psychiatry*, 2009, 51(1): 55-61.
- [39] 曾宇, 邢增智, 梅寒芳, 等. 当归芍药散及其有效部位对认知障碍模型小鼠学习记忆功能的影响[J]. *广东药科大学学报*, 2017, 33(5): 629-634.
- [40] POPUGAEVA E, PCHITSKAYA E, BEZPROZVANNY I. Dysregulation of neuronal calcium homeostasis in Alzheimer's disease - A therapeutic opportunity? [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483(4): 998-1004.
- [41] 马丽君, 马科, 李霞, 等. 含当归芍药散筒方脑脊液对神经细胞的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(9): 165-168.
- [42] RATNAKUMAR A, ZIMMERMAN S E, JORDAN B A, et al. Estrogen activates Alzheimer's disease genes [J]. *Alzheimers Dement (N Y)*, 2019, 5: 906-917.
- [43] HUANG Y, HU Z Y, YUAN H, et al. Danggui-Shaoyao-San improves learning and memory in female SAMP8 via modulation of estradiol [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 327294.
- [44] DU X, WANG X, GENG M. Alzheimer's disease hypothesis and related therapies [J]. *Transl Neurodegener*, 2018, 7: 2.
- [45] 宋祯彦, 何攀, 李富周, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定当归芍药散提取物和含药血清中3种活性成分含量[J]. *中国中医药信息杂志*, 2021, 28(1): 92-99.
- [46] WANG Y, LI G, ZHOU Y, et al. The difference between blood-associated and water-associated herbs of Danggui-Shaoyao San in theory of TCM, based on serum pharmacology [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(4): 579-587.
- [47] LIU J, WANG J S, KONG L Y. Comparative pharmacokinetics of paeoniflorin in plasma of vascular dementia and normal rats orally administrated with Danggui-Shaoyao-San or pure paeoniflorin [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(3): 466-473.
- [48] ZHU H Y, GUAN J, ZHANG H, et al. Simultaneous determination of ferulic acid, paeoniflorin, and albiflorin in rat plasma by ultra - high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry: Application to a pharmacokinetic study of Danggui-Shaoyao-San [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(11): 2053-2060.

[责任编辑 周冰冰]