

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.17.009

苓桂术甘汤调节脑淋巴引流清除 β 淀粉样蛋白研究思路刍议

陈君媚, 周春祥^{*}, 凌云, 张静远, 濮文渊, 孙松娴

(南京中医药大学, 江苏省南京市栖霞区仙林大道 138 号, 210023)

摘要 脾虚饮停是阿尔兹海默病 (AD) 的重要病机, 温脾化饮法的代表方苓桂术甘汤已被证明可通过抗炎和调节血脑屏障转运蛋白水平干预 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 沉积。 $A\beta$ 清除机制还存在脑淋巴引流这一重要途径, 大量实验证据表明, 苓桂术甘汤可能影响脑淋巴引流途径的关键结构和功能。在分析苓桂术甘汤药理作用与脑淋巴引流清除 $A\beta$ 机制关系的基础上, 探讨温脾化饮法清除 $A\beta$ 的科学内涵, 以期开拓中医治疗 AD 的思路。

关键词 脑淋巴引流; 温脾化饮; β 淀粉样蛋白; 苓桂术甘汤; 脾虚饮停; 阿尔兹海默病

β -淀粉样蛋白 (β -amyloid, $A\beta$) 是阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的核心病理物质, 其神经毒性主要表现为炎症级联反应。最新研究证实, 脑淋巴引流是 $A\beta$ 的重要清除途径^[1]。脑淋巴引流途径结构和功能异常, 可引起 $A\beta$ 沉积继而诱发炎症反应, 而 $A\beta$ 沉积亦可扰乱脑淋巴流动^[2], 最终形成“脑淋巴引流障碍- $A\beta$ 沉积-炎症”的恶性循环。“ $A\beta$ 沉积-炎症-脾虚饮停-温脾化饮”之间具有明确的逻辑关系^[3]; 温脾化饮代表方苓桂术甘汤已被证明可显著抑制由 $A\beta$ 沉积引起的神经炎症^[4], 并且还可通过调节血脑屏障 $A\beta$ 转运蛋白促进 $A\beta$ 清除^[5]。基于上述研究推测, 苓桂术甘汤可能通过调控炎症以及 $A\beta$ 转运影响脑淋巴引流途径, 改善脑部微环境。故本文尝试对苓桂术甘汤药理作用与脑淋巴引流清除 $A\beta$ 机制的相关性进行论述, 以丰富“AD- $A\beta$ 沉积-脾虚饮停-温脾化饮”的中医内涵, 阐明温脾化饮法的生物学机制, 拓展中医药防治 AD 研究新思路。

1 苓桂术甘汤治疗 AD 的中医内涵与现代研究认识

1.1 脾虚饮停是 AD 的重要病机

《素问·示从容论篇》云“年长则求之于府”, 提示脾胃功能障碍导致痰饮滋生是老年疾病

的主要病理机转。阳虚是 AD 的主要证候要素^[6], 老年人本易生痰饮, AD 患者若是脾胃阳气虚弱, 则温煦失司, 气化不行, 津液不布, 痰饮更甚。痰饮作祟, 易生他变, 流滞于脑, 可派生多种病症, 如伴发不同程度的运动、认知以及精神障碍等。从中医取象比类的角度看, 饮邪清稀与病理状态下富含 $A\beta$ 的脑淋巴液性质相似。AD 患者的脾阳虚体质是脾虚饮停证产生的基础, 脾虚饮停是 AD 的重要病机。

1.2 炎症是脾虚饮停的病理反应

脾虚证候与炎症之间的关系已逐渐明确, 如糖尿病脾虚证患者的白细胞介素 6 (IL-6)、超敏 C 反应蛋白和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 含量均高于糖尿病非脾虚证患者^[7]; 溃疡性结肠炎不同证型患者中脾胃气虚组的外周血清 IL-6 和白细胞介素 23 (IL-23) 表达水平最高^[8]。饮邪与炎症的关系也越来越清晰, 目前已有研究证实, 多种化饮法均可通过减轻炎症祛除饮邪, 如温阳消饮法可减少 λ -角叉菜胶所致胸腔积液 (悬饮) 模型大鼠 TNF- α 含量, 减少胸腔积液形成^[9-10]。

1.3 苓桂术甘汤可通过抗炎干预 $A\beta$ 沉积

《素问·通评虚实论篇》云“头痛耳鸣, 九窍不利, 肠胃之所生也”, 脾失运化, 水饮流窜于脑, 脑疾由生。“病痰饮者, 当以温药和之”, 温脾化饮法治疗脑病多有验案^[11-13]。温脾化饮法与抗炎亦密切相关。现代研究表明, 温法在与痰饮相

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81774021); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX19_1220)

* 通讯作者: chunxiangzhou@hotmail.com

关的慢性炎症疾病中应用广泛且疗效确切^[14], 温性药也具有抗炎和调控免疫功能的基本药理作用^[15], 其中苓桂术甘汤可降低大鼠血清 IL-6、TNF- α 和白细胞介素 1 β (IL-1 β) 的过度表达^[14], 含药血清还可调控心肌细胞核转录因子 κ B (NF- κ B) 抑制蛋白激酶/NF- κ B 抑制蛋白/NF- κ B 信号通路及其下游靶分子, 抑制炎症因子过度激活^[17]。在干预 A β 沉积方面, 苓桂术甘汤同样显示出良好的抗炎效果。有研究^[2,18] 发现苓桂术甘汤能明显增强 A β 诱导的神经母细胞瘤细胞活力, 并降低活化后 BV-2 神经小胶质细胞释放的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和一氧化氮水平。进一步研究表明, 苓桂术甘汤可通过促分裂素原活化蛋白激酶信号通路和 NF- κ B 信号通路降低脑组织 IL-1 β 、IL-6 与 TNF- α 水平, 缓解 AD 大鼠认知功能障碍^[9]。由此推测, 抗炎是温脾化饮法干预 A β 沉积的重要生物学机制之一。

2 脑淋巴引流途径引流清除 A β 的机制概述

脑淋巴引流途径以类淋巴系统和脑膜淋巴管为核心, 是引流和清除 A β 的重要机制^[19]。随着脑脊液和组织间液的流动, A β 可经由类淋巴系统的动脉周围间隙流入组织间隙, 然后在整体对流的作用下流入静脉周围间隙, 经过脑膜淋巴管最后流入周围淋巴结^[20]。整体对流可能是高压力的动脉脉搏、低压力的静脉周围间隙以及水蛋白通道 4 (AQP-4) 在静脉周围间隙高表达共同作用的结果。脑膜淋巴管排列在硬脑膜窦内, 主要功能是引流脑脊液、A β 等大分子物质和免疫细胞^[21-22]。

3 苓桂术甘汤影响脑淋巴引流清除 A β 的基础探析

3.1 苓桂术甘汤与类淋巴系统

AQP-4 大量表达于星形胶质细胞足突上, 是类淋巴系统的主要组成部分。实验证明, 与野生型小鼠相比, AQP-4 敲除小鼠脑纹状体内放射性同位素标记的¹²⁵I-A β 1-40 增加 55%^[23]; 与淀粉样前体 1 蛋白/早老素 1 (APP/PS1) 小鼠相比, AQP-4 敲除的 APP/PS1 小鼠脑内可溶性和不可溶的 A β 增加 25%~50%^[23]。AQP-4 可诱发炎症反应, AQP-4 基因敲除可通过鞘氨醇激酶 1/丝裂原活化蛋白激酶/丝氨酸蛋白激酶信号通路减轻脂多糖诱导的星形胶质细胞炎症反应^[24], 还可通过上调过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 和抑制促炎细胞因子表达保护血脑屏障的完整性^[23]。苓桂术甘汤通过作用于 AQP-4 治疗饮病已得到中医理论和实验研究支持, 如脾主运化水液与介导水跨膜转输的 AQP-4

存在内在性关联^[25]; 苓桂术甘汤及其合方可调节胸腔积液 (悬饮) 模型大鼠小肠上段 AQP-4 和其他消化道水通道蛋白表达^[26-27]。除此以外, 苓桂术甘汤也显示出良好的抗炎以及保护血脑屏障作用^[9]。

3.2 苓桂术甘汤与脑膜淋巴管

脑膜淋巴管可协助免疫细胞以依赖趋化因子受体 7 (CCR7) 的方式引流至附近淋巴结^[28]。CCR7/趋化因子配体 21 (CCL21) 通路是 T 细胞和树突状细胞在淋巴系统中循环的主要通路, 可以介导病理生理状态下淋巴细胞在淋巴管的迁移。苓桂术甘汤的组成药物中多种主要成分可发挥免疫调节作用。如羧甲基茯苓多糖可明显提高小鼠肠系膜淋巴结中淋巴细胞整合素 α 4 β 7 及 CCR7 的表达水平, 促进淋巴细胞归巢^[29]; 也可以通过磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸蛋白激酶信号通路上调 CCR7 的表达并抑制成熟树突状细胞凋亡^[30]; 还能较好调节 Th1/Th2 细胞分泌细胞因子^[31]。此外, 甘草酸苷可明显上调小鼠骨髓来源巨噬细胞中 M1 型巨噬细胞特征分子 CCR7、白细胞介素 12 (IL-12)、TNF- α 和 IL-6 的表达或分泌^[32]。

4 小结

基于上述对脑淋巴引流清除 A β 的认识, 结合苓桂术甘汤抑制炎症反应、调节免疫细胞以及清除 A β 等药理作用, 我们提出如下假说: 除了血脑屏障这一前期已经证实的药物靶点外^[2-3], 苓桂术甘汤治疗 AD 还可能存在对 AD 患者 (模型) 脑淋巴引流途径这一动态的作用环节, 最终加快 A β 的引流和清除, 阻断 “A β 沉积-炎症损伤” 的恶性循环, 进而保护神经元细胞。深入挖掘苓桂术甘汤和脑淋巴引流途径清除 A β 之间的关联, 有助于阐释温脾化饮法治疗 AD 的生物学机制, 也可在一定程度上揭示 AD 脾虚饮停证候实质, 对开展饮邪的微观物质基础研究也有启示作用。

参考文献

- [1] 陈君媚, 凌云, 孙松娴, 等. 中枢神经系统淋巴引流对 β 淀粉样蛋白清除的影响研究 [J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(3): 302-305.
- [2] PENG W, ACHARIYAR TM, LI B, et al. Suppression of glymphatic fluid transport in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. Neurobiol Dis, 2016, 93: 215-225. doi: 10.1016/j.nbd.2016.05.015.
- [3] YU B, ZHOU C, ZHANG J, et al. Latest study on the relationship between pathological process of inflammatory in-

- jury and the syndrome of spleen deficiency and fluid retention in Alzheimer's disease [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 2014: 743541. doi: 10. 1155/2014/743541.
- [4] XI F, SANG F, ZHOU C, et al. Protective effects of Lingguizhugan decoction on amyloid-beta peptide (25-35) - induced cell injury Anti-inflammatory effects [J]. Neural Regen Res, 2012, 7(36) : 2867-2873.
- [5] HU Q, YU B, CHEN Q, et al. Effect of Lingguizhugan decoction on neuroinflammation and expression disorder of the amyloid betarelated transporters RAGE and LRP1 in a rat model of Alzheimer's disease [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(1) : 827-834.
- [6] 龙子弋, 时晶, 田金洲, 等. 痴呆的证候分型研究 [J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2012, 4(10) : 28-35.
- [7] 徐红星, 朱海龙, 许彬, 等. 脾虚加重 2 型糖尿病的氧化应激及炎症 [J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(4) : 648-652.
- [8] 曹蛟, 刘文奇, 李舒, 等. 不同中医证型中溃疡性结肠炎患者外周血清 IL-6 和 IL-23 表达研究 [J]. 吉林中医药, 2018, 38(2) : 170-173.
- [9] 李林鲜, 张琦, 徐建虎, 等. 温阳消饮法对胸腔积液模型大鼠纤维蛋白原含量的影响 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(4) : 771-773.
- [10] 李凯, 张琦, 任小彤, 等. 温阳消饮法对胸腔积液模型大鼠血管内皮生长因子、肿瘤坏死因子- α 的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(1) : 159-162.
- [11] 蒋颖, 韩景波, 麦丽莎, 等. 加味苓桂术甘汤联合盐酸多奈哌齐治疗血管性痴呆的临床效果观察 [J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(23) : 5-6.
- [12] 才迎春. 癫痫治验 1 例 [J]. 中国中医急症, 2013, 22(6) : 1082.
- [13] 高雅, 吴海芳, 何庆勇. 何庆勇运用苓桂术甘汤的经验 [J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(7) : 915-917, 932.
- [14] 陈炜, 张念志, 韩明向. 温法辨治慢性气道炎症性疾病的研究进展 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(3) : 457-460.
- [15] 李瑞奇, 苗明三. 药性温的现代研究及相互关系 [J]. 中医学报, 2012, 27(11) : 1456-1459.
- [16] 施慧, 许闪, 王靓, 等. 苓桂术甘汤调节心室重构模型大鼠心肌组织 NF- κ B 信号通路的分子机制研究 [J]. 中药材, 2017, 40(3) : 680-683.
- [17] 施慧, 王靓, 黄金玲, 等. 苓桂术甘汤含药血清对脂多糖诱导大鼠心肌细胞 IKK/I κ B/NF- κ B 信号通路蛋白表达的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(10) : 1215-1219.
- [18] 桑锋, 周春祥. 苓桂术甘汤对阿尔茨海默病(AD) 发病机制的实验研究 [J]. 中医学报, 2011, 26(6) : 686-688.
- [19] BOLAND B, YU WH, CORTI O, et al. Promoting the clearance of neurotoxic proteins in neurodegenerative disorders of ageing [J]. Nat Rev Drug Discov, 2018, 17(9) : 660-688.
- [20] ILIFF JJ, WANG M, LIAO Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta [J]. Sci Transl Med, 2012, 4(147) : 147ra111.
- [21] DA MESQUITA S, LOUVEAU A, VACCARI A, et al. Functional aspects of meningeal lymphatics in ageing and Alzheimer's disease [J]. Nature, 2018, 560(7717) : 185-191.
- [22] CAO X, XU H, FENG W, et al. Deletion of aquaporin-4 aggravates brain pathology after blocking of the meningeal lymphatic drainage [J]. Brain Res Bull, 2018, 143: 83-96. doi: 10. 1016/j. brainresbull. 2018. 10. 007.
- [23] XU Z, XIAO N, CHEN Y, et al. Deletion of aquaporin-4 in APP/PS1 mice exacerbates brain Abeta accumulation and memory deficits [J]. Mol Neurodegener, 2015, 10: 58. doi: 10. 1186/s. 13024-015-0056-1.
- [24] DAI W, YAN J, CHEN G, et al. AQP4-knockout alleviates the lipopolysaccharide- induced inflammatory response in astrocytes via SPHK1/MAPK/AKT signaling [J]. Int J Mol Med, 2018, 42(3) : 1716-1722.
- [25] 宁晚玲, 刘李玫, 唐汉庆, 等. 从 AQP4 角度探讨脾主运化与水液代谢 [J]. 云南中医学院学报, 2016, 39(5) : 94-98.
- [26] 杨子庆, 张琦, 徐路, 等. 温阳消饮法对胸腔积液大鼠小肠 AQP4 及 cAMP-PKA 信号通路表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(7) : 2765-2767.
- [27] 梁星. 温阳化饮和温阳利水对肾病综合征水通道蛋白影响的研究 [J]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [28] LOUVEAU A, HERZ J, ALME MN, et al. CNS lymphatic drainage and neuroinflammation are regulated by meningeal lymphatic vasculature [J]. Nat Neurosci, 2018, 21(10) : 1380-1391.
- [29] 李相玲, 余浚龙, 温如燕, 等. 不同中药水提物对小鼠肠系膜淋巴结细胞 α 4 β 7 及 CCR7 的影响 [J]. 广东医学, 2016, 37(S1) : 16-18.
- [30] 钱高潮, 丁志祥, 潘薇, 等. 羧甲基茯苓多糖抑制人外周血源性树突状细胞凋亡的体外研究 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2015, 35(2) : 164-168.
- [31] 刘媛媛, 陈友香, 侯安继. 羧甲基茯苓多糖对小鼠 T 淋巴细胞分泌细胞因子的影响 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22(Z1) : 71-73.
- [32] 毛予龙. 甘草酸苷对小鼠免疫功能的调节作用及其抗沙门氏菌感染的机理研究 [J]. 杭州: 浙江大学, 2016.

(下转第 1492 页)

Clinical Observation on *Huafeng Dan* (化风丹) Combined with Mecobalamin and Acupuncture in Treating 36 Cases of Idiopathic Facial Paralysis of Wind-Phlegm Obstructing Collaterals Type

WANG Jialin, TANG Yuan, WANG Chunye, XING Jia, DONG Fei, ZHANG Pei, ZHANG Dong, LV Hui-miao, ZHAI Yanbing, WANG Rui, ZHANG Ying, QIN Yuju, CUI Hongzhi, LI Qiuxiang, FU Sihui, FU Hai-yan, ZHANG Hua, CHEN Yan, ZHANG Wen, JIANG Siyuan

(Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078)

ABSTRACT **Objective** To observe the clinical effects of *Huafeng Dan* (化风丹) combined with mecobalamin and acupuncture on idiopathic facial paralysis of wind-phlegm obstructing collaterals syndrome. **Methods** A total of 72 patients with idiopathic facial paralysis of wind-phlegm obstructing collateral syndrome were randomly divided into a treatment group (36 cases) and a control group (36 cases). Both groups were treated with routine treatment of mecobalamin and acupuncture. The treatment group was added with *Huafeng Dan* on the basis of routine treatment, 10 pills each time, 3 times a day. The treatment course of both group was 20 days. The House-Brackmann facial nerve functional grading (H-B grading), the total score of facial paralysis symptoms and signs, and adverse reactions of both groups were compared to evaluate the clinical efficacy. **Results** After treatment, the H-B grading of the treatment group was mainly grade I (55.56%) and grade II (30.56%), while that of the control group was mainly grade I (25.00%), grade II (47.22%) and grade III (16.67%). There were significant differences in the composition ratio of H-B grading between groups ($P < 0.05$); the score of symptoms and signs of facial paralysis of the treatment group was lower than that of the control group ($P < 0.05$); there was no significant difference in the incidence of adverse reactions ($P > 0.05$); the total effective rate of the treatment group was 94.45%, which was better than that of the control group (88.89%) ($P < 0.05$). **Conclusion** On the basis of conventional mecobalamin and acupuncture treatment, combined use of oral administration of *Huafeng Dan* can improve the clinical effects of idiopathic facial paralysis of wind-phlegm obstructing collaterals syndrome.

Keywords idiopathic facial paralysis; wind-phlegm obstructing collaterals syndrome; *Huafeng Dan* (化风丹); mecobalamin; acupuncture; facial nerve function

(收稿日期: 2018-11-21; 修回日期: 2019-05-30)

编辑: 叶 晨

(上接第 1475 页)

Study Ideas on *Lingguì Zhugan Decoction* (苓桂术甘汤) in the Regulation of Cerebral Lymphatic Drainage to Clear β Amyloid Protein

CHEN Junmei, ZHOU Chunxiang, LING Yun, ZHANG Jingyuan, PU Wenyuan, SUN Songxian

(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023)

ABSTRACT Spleen deficiency and water retention is an important pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). The representative formula of warming the spleen and resolving water retention method, *Lingguì Zhugan Decoction* (苓桂术甘汤), has been proven to interfere with amyloid β -protein ($A\beta$) deposition by anti-inflammatory and regulating blood-brain barrier transporter levels. The $A\beta$ clearance mechanism also has an important pathway of brain lymphatic drainage. A large number of experimental evidences indicate that *Lingguì Zhugan Decoction* may affect the key structure and function of the lymphatic drainage pathway. On the basis of analyzing the relationship between the pharmacological action of *Lingguì Zhugan Decoction* and the mechanism of clearing $A\beta$ by brain lymphatic drainage, the scientific connotation of clearing $A\beta$ by warming spleen and resolving water retention was discussed, in order to explore the idea of treating AD with traditional Chinese medicine.

Keywords brain lymphatic drainage; warming the spleen and resolving water retention; amyloid β -protein; *Lingguì Zhugan Decoction* (苓桂术甘汤); spleen deficiency and water retention; Alzheimer's disease

(收稿日期: 2019-04-29; 修回日期: 2019-06-10)

编辑: 贾维娜