

中药治疗快速老化小鼠 P8研究进展

王占奎* 张玉莲* 郭家奎*

快速老化小鼠 P8 (SAMP/8) 由日本京都大学竹田俊男教授经 20 年近代延交培育而成, 其显著特征是中枢学习记忆功能随增龄快速衰退, 且中枢神经系统如皮层、海马等部位存在与老年性痴呆类似的病理变化。SAMP/8 自建立以来, 一直被用于研究衰老与学习记忆功能及学习记忆功能障碍发生机制, 评价抗衰老和益智药物等。近年来国内的中医药工作者对 SAMP/8 的研究也越来越深入, 现将近几年中药方面研究进展概述如下。

1 中药方面的研究

中药益智健脑颗粒是由淫羊藿、锁阳、续断、刺五加、柏子仁、水蛭、田七等药物组成的复方, 针对痴呆的主要病因, 能起到有效防治 AD 的作用^[1]。杨聘等^[2]运用 Morris 水迷宫方法测试快速老化小鼠 SAMP/8 的定位航行和空间探索能力, 其结果表明益智健脑颗粒能显著提高 SAMP/8 的学习记忆能力。王慧玲等^[3]应用 RT-PCR 的方法, 研究益智健脑颗粒对快速老化小鼠 SAMP/8 海马肌基脯氨酰顺反异构酶 (Pin1) 和高迁移率蛋白 B1 (HMGB1) mRNA 表达的影响。结果表明 SAMP/8 小鼠脑内 Pin1 mRNA 较 SAMR1 正常老化鼠表达下调, HMGB1 mRNA 表达上调, 而中药益智健脑颗粒则能通过上调 SAMP/8 小鼠 Pin1 mRNA 表达, 下调 HMGB1 mRNA 表达, 从而起到保护神经元、减少淀粉样斑块及神经元纤维缠结形成等作用, 实现其对 AD 的治疗, 亦提示该药具有多靶点治疗 AD 的作用。蒋美艳^[4]通过蛋白质组学技术鉴定益智健脑颗粒干预 SAMP/8 海马组织的差异表达蛋白质。结果鉴定出治疗组 13 个差异表达大于 2 倍的蛋白质, 其中有 8 个上调, 5 个下调。表明益智健脑颗粒可调节 SAMP/8 小鼠海马组织的多种蛋白质表达, 提示中药益智健脑颗粒通过改善能量代谢、抑制细胞凋亡、构成细胞骨架、增加激素等多途径、多靶点治疗 AD。

黄连解毒汤 (HL) 源于唐代王焘的《外台秘要》, 由黄连、黄芩、黄柏和栀子组成, 为清热解毒代表方, 在临床上被用于认知功能障碍的辅助治疗。近年来学者对 HL 及其提取物用于脑血管病的基础研究与临床报道较多, 如保护大鼠皮层神经元、减轻脑组织脂质过氧化损伤及能量代谢障碍等作用^[5-6], 但其促智作用的机制尚不明确。根据中药复方多靶点、多途径、多机制的特点, 郑越^[7-8]等应用快速老化小鼠亚系 SAMP/8 和 SAMR1 皮层、海马差异表达 cDNA 芯片, 比较了以石杉碱甲或 HL 处理的 SAMP/8 皮层、海马基因表达谱, 以及 HL 的药物反应基, 同时采用实时荧光定量 PCR 技术对芯片结果进行了验证。结果显示, HL 可能是通过调节信号转导、突触传递、蛋白质和能量代谢、细胞增殖分化等途径发挥认知功能改善作用的, 研究中发现 HL 的药物反应基因可能是改善学习记忆的潜在靶标。

“肾主骨生髓, 通于脑”是传统中医对“肾”功能的描述, 据此认为“肾”可能与中枢认识功能存在密切关系。六味地黄汤 (LW) 在临床上广泛地用于肾阴虚相关疾病的预防和治疗。大量的实验药理学研究表明, LW 对包括老化小鼠在内的多种免疫低下小鼠的免疫功能具有明显的促进或改善作用, 其机制是通过增强免疫功能而达到抗老化作用^[9-10]。周建政^[11]报道了长期给予 LW 可提高 SAMP/8 记忆获得和记忆保持能力, 改善

其空间记忆能力并部分改善其条件性回避反应能力, 说明 LW 可能通过“滋补肾阴”改善 SAMP/8 的学习记忆能力, 提示“滋补肾阴”药物确有益智作用。同时发现 LW 对 SAMP/8 小鼠 HPA 轴功能有明显的调节作用, 可部分纠正其 HPA 轴功能的紊乱, 提示通过滋补肾阴可调节动物 HPA 轴功能, 纠正 HPA 轴功能的紊乱。这一作用可能与 LW 的益智作用具有密切关系。对不同月龄 SAMP/8 的 HPO (hypothalamus-pituitary-ovary) 轴研究发现, 5 个月龄 SAMP/8 的动情周期和动情间期明显延长。与同龄 SAMR1 相比, 3 个月 SAMP/8 血清雌激素水平明显升高, 5 个月时急剧下降, 此后 5-11 个月基本保持不变。SAMP/8 自 7 个月时垂体黄体生成素急剧升高。口服 LW 可以缩短 9 个月 SAMP/8 动情期, 增加子宫重量, 并能明显减少垂体黄体生成素的含量。表明 SAMP/8 在老化过程中 5 个月即出现 HPO 轴失调, 并且通过药物治疗可以得到改善^[12]。

调心方由党参、远志、石菖蒲、茯苓等中药组成, 具有益气、振心阳、化痰湿、通心窍等作用。实验药理学研究发现, 该方对电解损毁、化学损毁及 β 淀粉样蛋白沉积所致大鼠学习记忆功能障碍具有明显的改善作用, 对自然衰老小鼠学习记忆能力减退亦具有明显改善作用^[13-14]。周文霞等^[15]发现连续口服调心方对 5 月龄 SAMP/8 被动性回避反应能力低下具有明显改善作用, 说明调心方对衰老相关的神经退行性病变所导致的学习记忆功能衰退具有改善作用。研究者进一步应用 RT-PCR 的方法, 检测 SAMP/8 海马盐皮质激素受体 (MR)、早老蛋白 1 (PS-1)、早老蛋白 2 (PS-2)、tau、APP、ApoE 及 bcl-2 等学习记忆有关基因表达水平的变化及调心方对其影响。结果表明连续口服调心方对 5 月龄 SAMP/8 海马 MR、tau、ApoE 基因的异常表达具有纠正作用, 对 12 月龄 SAMP/8 海马 MR、bcl-2 基因的表达异常亦具有纠正作用。调心方改善 SAMP/8 学习记忆功能的作用可能是通过影响海马学习记忆功能有关基因的表达, 进而影响中枢学习记忆功能的有关环节而发挥的^[16]。

当归芍药散 (DSS) 原为治疗血瘀虚证的活血化瘀方药, 主要用于治疗“妇人腹中诸疾痛”。日本学者首先用当归芍药散防治老年期痴呆, 发现其可通过改善脑的微循环, 降低血液黏稠度, 提高脑内的超氧化物歧化酶的活性, 降低丙二醛的含量增强抗氧化能力, 调节酶的活性改善脑内的自由基代谢等多种生物学效应有效改善老年痴呆认知功能^[17]。耿淼^[18]采用蛋白质组学技术观察 DSS 对 SAMP/8 小鼠海马蛋白表达的影响, 结果表明, DSS 可上调海马蛋白的表达, 提示 DSS 可能通过对海马蛋白表达的调节而影响了 SAMP/8 的免疫功能和神经系统的分化和发育, 从而对其学习记忆功能有所改善。DSS 防治脑老化是通过改善物质能量代谢、恢复线粒体功能, 促进突触形成等多环节、多层次、多途径的综合作用。

脑还丹可以改善 SAM-P/8 小鼠学习记忆功能、能够增加 SAM-P/8 小鼠血清 SOD、GSH-Px 含量, 降低 MDA 含量^[19]。魏昌秀等^[20]在以往的基础上, 采用透射电镜技术观察脑还丹对 SAM-P/8 小鼠海马 CA1 区神经元的影响, 结果表明, 脑还丹能够防止和减轻 SAM-P/8 小鼠相关脑区神经元退行性变化, 脑还丹对学习记忆相关脑区结构的保护作用也许是脑还丹防治老年性痴呆的神经生物学机制之一。

补肾益脑片^[21]可使 SAMP/8小鼠一些基因如脂肪细胞特异蛋白-5(Fsp-5)表达降低,低密度脂蛋白受体关联蛋白-1(LRP-1)、细胞色素 C、半胱氨酸、组氨酸和锌结合蛋白-1表达升高,可能为补肾益脑片抗衰老的作用机制。

三七主要有效成分为三七总皂苷(PNS)。传统中医理论认为其性味甘、微苦、温,归肝胃经,具有化瘀、止血活血定痛之效。现代药理研究表明,三七对心血管系统、血液系统、免疫系统、神经系统等均有不同程度的药理作用,而对神经系统损害的保护作用尤为引人注目^[22]。还有研究表明,丹参的甲醇提取物或丹参的主要成分 lithospermate B能有效防止老化所引起的 SAMP/8空间学习障碍^[23],它通过海马的谷氨酸盐 PKC系统而非胆碱能系统发挥作用。

2 问题与展望

中医药对老年性痴呆的治疗有较大潜力,它能提高临床疗效,且毒、副作用小,但尚需如下问题需完善:①大多数研究还局限于中药复方及中药有效成分药效评价,缺乏对单味中药的筛选寻找中药作用的靶点研究,以及对中药的有效成分的分析、体内药动药效学的客观数据,药物之间的协同作用或拮抗作用等研究方面的欠缺。②中医药成分多样,能作用于多种环节,但许多中医药治疗只从某一系统、某一角度研究,整体观察不够,且缺乏整体的辨证分型或辨证分型杂乱,或者中医药复方的研究过于繁杂,研究者自立方剂,组方各异,疗效各不利于中药疗效的总结及临床的推广。③探明 AD发病因素、相互关系及中心环节等确切疗效机制,加强中医病因、病理和中药作用机制的现代研究,提取中药作用的有效途径及有效部位,加强中药新药的开发研制。④AD的发病过程是一个多环节、多因素、多途径损伤的反应,而中药以其整体观念、辨证论治的用药理念,多环节、多靶点、多途径的整合效应在防治 AD方面深具潜力。故广泛开展中医药治疗多系统、多角度的研究有重要的意义,有利于揭示中医药的整体调节作用。

参考文献

- [1]董克礼,曾望远.益智健脑颗粒治疗阿尔茨海默病 20例总结[J].湖南中医杂志,2006,22(2):3-4.
- [2]杨聘,董克礼,曾望远.益智健脑颗粒对快速老化鼠 SAMP/8学习记忆的改善作用[J].中国行为医学科学,2005,14(7):601-602.
- [3]王慧玲,董克礼,李广诚,等.益智健脑颗粒对快速老化小鼠 SAMP/8海马 Pin1和 HMGB1 mRNA表达的影响[J].中南大学学报(医学版),2009,34(1):63-66.
- [4]蒋美艳,董克礼,肖岚,等.益智健脑颗粒对 SAMP/8小鼠海马蛋白质表达的影响[J].中国老年学杂志,2009,29(1):33-35.
- [5]Hwang YS, Shin CY, Huh Y, et al. Hwangryun-Hae-Dok-tang (Huang-Lian-Jie-Du-Tang) extract and its constituents reduce ischemia reperfusion brain injury and neutrophil infiltration in rats[J]. Life Sci, 2002, 71(18):2105-2117.
- [6]Xu J, Murakami Y, Matsumoto K, et al. Protective effect of Orenge-doku-to (Huang-Lian-Jie-Du-Tang) against impairment of learning and memory induced by transient cerebral ischemia in mice[J]. J Ethnopharmacol, 2000, 73(3):405-413.
- [7]郑越,冯端浩,程肖蕊,等.黄连解毒汤对快速老化小鼠皮层基因表达的影响[J].中国药物研究,2008,17(7):6-9.
- [8]郑越,冯端浩,周文霞,等.黄连解毒汤对快速老化小鼠海

- 马基因表达的影响[J].生物技术通讯,2008,19(1):34-38.
- [9]齐春会,张永祥,乔善义.六味地黄多糖体外对正常及衰老小鼠脾细胞免疫功能的影响[J].中国药理学通报,1999,15(2):157-160.
- [10]杨胜,张永祥,吕晓东.六味地黄汤活性部位 3A的免疫调节作用机理研究[J].中国中西医结合杂志,2001,21(2):119-122.
- [11]周建政,张永祥,周金黄.六味地黄汤对快速老化模型小鼠(SAM)学习记忆能力的改善作用[J].中国实验方剂学杂志,1999,5(4):29-33.
- [12]Zhang YX, Ma Y, Zhou WX, et al. Effect of Liuwei Dihuang decoction on the function of hypothalamus-pituitary-ovary axis in senescence accelerated mouse[J]. Int Congr Ser, 2004, 1260:421-426.
- [13]戴向东,赵伟康,陈长勋.调心方对化学损毁及自然衰老小鼠记忆功能的影响[J].中成药,1994,16(12):27-29.
- [14]周晖,赵伟康.调心方对 β A 大鼠痴呆模型空间学习记忆障碍和胆碱能系统的影响[J].中药药理与临床,1998,14(3):29-31.
- [15]周文霞,张永祥.调心方对快速老化模型小鼠学习记忆功能的改善作用[J].中药药理与临床,2002,18(2):24-27.
- [16]周文霞,张永祥.调心方对快速老化模型小鼠海马学习记忆有关基因表达的影响[J].中国中西医结合杂志,2002,22(8):603-606.
- [17]水岛宜昭.当归芍药散治疗老年痴呆有效[J].和汉医学杂志(日),1989,6(3):456-460.
- [18]耿森,蒋宁,周文霞,等.当归芍药散对快速老化模型小鼠海马蛋白表达的影响[J].第三军医大学学报,2008,30(6):477-480.
- [19]魏昌秀,聂红,李庆明,等.脑还丹对快速老化鼠学习记忆及 SOD, MDA, GSH-Px的影响[J].新中医,2004,36(6):77-78.
- [20]魏昌秀,李庆明,蒙荣森.中药复方脑还丹对快速老化鼠 SAM-P/8海马 CA1区超微结构的影响[J].贵州医药,2005,29(9):790-791.
- [21]Zhang C, Wang JG, Liu GS, et al. Effect of the Chinese Traditional Medicine "Bushen Yiniao Pian" on the cerebral gene expression of the senescence accelerated mouse prone 8/Ta[J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2005, 33(4):639-650.
- [22]屈泽强,王乃平,钟振国.三七总皂苷对神经系统的药理作用[J].中华临床医学研究杂志,2003,(1):132.
- [23]Nomura Y, Arima T, Namba T, et al. Ameliorating effects of dan-shen and its major ingredient calcium/magnesium lithospermate B on cognitive deficiencies in senescence-accelerated mouse[J]. Nippon Yakurigaku Zasshi, 1997, 110(Suppl 1):142-147.

基金项目:国家重点基础研究发展计划("973"计划)(2010CB530405)

*天津中医药大学第二附属医院脑病中心(300150)