

· 学术探讨 ·

肝主疏泄调畅情志功能的中枢神经生物学机制探讨

严 灿 徐志伟

摘要 结合中医整体观和平衡观以及现代心理应激理论,以心理应激反应为切入点,提出研究假说:中医学肝主疏泄调畅情志的功能存在着一定的具体的中枢神经生物学机制;采用“方—证—效—脏腑功能本质”的研究思路,通过建立慢性心理应激反应模型模拟“肝失疏泄、情志异常”的综合病理变化过程。就已取得的研究结果进行分析认为:肝主疏泄之所谓“疏泄”,其中枢神经生物学机制在整体上与调节下丘脑—垂体—肾上腺轴有关,具体而言,可能与调节慢性心理应激反应(情志活动异常)过程中中枢多种神经递质及其合成酶、神经肽、激素、环核苷酸系统以及 Fos 蛋白表达的变化有关,表现出多层次、多靶点以及多环节的作用特点,作用的脑区涉及到下丘脑(包括不同核团)海马、杏仁核等。

关键词 肝主疏泄;心理应激;神经生物学

Exploration on Central Neurobiological Mechanisms of Gan in Taking Charge of Dispersion and Regulating Emotion YAN Can, XU Zhi-wei *Department of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, Basic Medicine College, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510405)*

Abstract Methods and thoughts of the further research on central neurobiological mechanisms of Gan in taking charge of dispersion and regulating emotion are discussed. By applying the holistic approach and homeostasis theory, combined with modern psychological stress theory, the authors put forward their hypothesis of study. They offered that the TCM theory of “Gan takes charge of dispersion and could regulate emotion” is affirmatively to have certain mechanisms of central neurobiology. So, cut-in from the point of psychological stress reaction, adopting the research thoughts of “prescription—syndrome—therapeutic effectiveness—essence of Zang-Fu function”, a model of chronic psychological stress reaction (CPSR) for imitating the process of comprehensive pathologic change due to Gan fails to take charge of dispersion and leads to emotional disorder was established. It is considered based on analysis of materials obtained from previous studies, that the central neurobiologic mechanism of so called dispersion, which Gan in charge of, is related to the regulation of hypothalamus-pituitary-adrenal gland axis. Concretely, the function of Gan in TCM may be, in the gross, related with the changes of multiple neurotransmitters and their synthetase produced in the process of CPSR (emotional disorder) regulation, such as neuropeptides, hormones, cyclic nucleotide system and Fos protein expression, showing the characteristics of multiple links, multiple levels and multiple targets, with the effects involve several brain regions including various clusters of nuclei in hypothalamus, hippocampus and amygdala, etc.

Key words Gan in charge of dispersion; psychological stress; neurobiology

近十余年来对中医肝藏象研究所得出的主要一致性结论是:肝的实证和虚证都表现出不同程度的神经内分泌功能紊乱,这主要是因为肝主疏泄与情志关系

密切,情志变化引起大脑皮层功能改变所致^[1]。但中医肝调节情志变化的中枢神经生物学物质基础及作用方式是什么,目前仍在探索之中。我们就上述问题进行了一系列研究,对肝主疏泄调畅情志功能的中枢神经生物学机制进行了初步的研究。

1 研究的切入点和方法 心理应激(psychological stress)是机体通过认识、评价而察觉到应激原的威胁时引起的心理、生理机能改变的过程。生理性应激

基金项目:国家自然科学基金项目(No. 30000217、No. 30271649、No. 30472256);广东省自然科学基金项目(No. 000359、No. 04010021)

作者单位:广州中医药大学基础医学院中医基础理论教研室(广州 510405)

通讯作者:严灿 Tel: 020-36585510, E-mail: yancan999@yahoo.com.cn

(eustress) 反应对机体有利, 易于机体快速适应内外环境因素的变化。但强度过大、时间过长的病理性应激 (distress) 反应则对机体有害。由于机体的心理应激机制与诸多疾病的发生发展和转归有着密切的关系, 因此, 心理应激以一种融合生物—心理—社会模式的概念在生物医学领域中得到了广泛的应用。尽管中医学中没有“心理应激”这一概念, 但中医藏象及七情学说很早就认识到不良的环境或精神刺激与疾病的发生发展密切相关。病理性的心理应激反应属于中医学所述情志异常的范畴, 肝主疏泄通过调节气机、血和津液而调畅情志, 而肝失疏泄所致生理病理改变的发生发展在一定程度上也是一种病理性的心理应激反应, 因此, 心理应激反应成为研究肝主疏泄调畅情志功能的中枢神经生物学机制的一个很好的切入点。

中医学所论之脏腑虽与西医解剖学器官的名称相同, 但却不单纯是一个解剖学概念, 更重要的是一个生理及病理学方面的概念, 是功能单位或系统。从中医藏象学说形成的方法论来看, 中医对机体脏腑功能的认识主要是采用“从病理和药效推导生理”的模式, 这种研究模式也决定了中医脏腑、证候和方药的研究是密切相关的, 脏腑功能的本质往往是通过证候病理和方药效应来进行反证。

心理应激反应可以理解为一体内适应性反应和应激原之间相互作用的一种状态, 但任何应激反应都有一个过程。而中医所谓的“证 (证候)”也反映了与疾病有关的各种因素作用于不同个体所引起的反应状态, 这种状态是现代医学有关生理及病理 (包括功能性和器质性) 的综合反应, 并随着各种影响因素的变化而改变。在临床上, 对机体这种反应状态的分析归纳过程即是中医的辨证。由于应激反应与证候形成都具有过程性和阶段性, 心理应激反应与中医证候在本质上具有高度的相关性, 特别是应激的慢性或反复过程, 与多数疾病过程或中医“证”的形成过程接近, 因此, 我们通过建立慢性心理应激反应模型模拟了“肝失疏泄、情志异常”的综合病理变化过程, 也比较符合临床实际的病理变化^[2,3]。我们既然模拟了“肝失疏泄、情志异常”的综合病理变化过程, 因此, 在组方用药上也根据实际病理变化体现出疏肝、柔肝、平肝以及清肝的综合调治的思想, 并通过调肝方药 (加味四逆散) 的治疗效应来进一步反证和揭示肝主疏泄, 调畅情志功能的有关中枢神经生物学机制。

2 肝主疏泄调畅情志功能的中枢神经生物学机制初步探讨

2.1 研究假说的提出 心理应激反应的物质基

础是神经内分泌免疫调节 (neuroendocrine-immuno modulation, NIM) 网络, 而中医肝的疏泄功能也存在着一定的 NIM 网络调节机制, 这已经为本课题组及其他学者的大量研究所证实。但从心理应激角度而言, 应激的发生——从察觉威胁到出现反应是通过脑机制的中介来实现的。目前有关心理应激中枢神经机制的研究越来越受到重视, 但有关肝主疏泄调畅情志的具体中枢神经机制的研究几乎未见报道, 这也就成为我们研究的重点之所在。在以往一系列研究的基础上, 结合中医整体观和平衡观以及心理应激理论, 我们提出了研究假说: 中医肝主疏泄调畅情志的功能在实现对交感—肾上腺髓质以及下丘脑—垂体—肾上腺皮质系统的整体性调节上, 还可能存在着一定的具体的中枢神经机制 (包括相关不同脑区的定位、定量以及神经生理生化及病理改变等); 在作用机理上体现出局部 (中枢神经机制) 与整体 (NIM 网络) 的有机统一。

虽然目前对“观念的”心理社会因素如何转变为“物质的”生理反应的关键部位及详细机制尚未完全明了, 但是借助于神经机能定位的形态学方法 (如 c-fos 原癌基因表达) 以及对相关不同脑区神经生理生化的改变和不同方药治疗效应的观察分析, 可以帮助我们在细胞及分子水平上初步寻找和阐明介导肝失疏泄 (慢性精神心理应激损伤) 的中枢部位及其病理机制, 从而得以在中枢神经生物学方面初步揭示中医肝主疏泄调畅情志的物质基础及其作用方式。

2.2 一些初步的发现

2.2.1 调节下丘脑—垂体—肾上腺皮质 (hypothalamus-pituitary-adrenal gland, HPA) 轴 我们研究发现^[2,4], 慢性心理应激反应大鼠血浆皮质酮 (CORT) 下丘脑、血浆促肾上腺皮质激素 (ACTH) 及促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 含量均明显升高; 而调肝方药可显著降低下丘脑和血浆中上述物质的含量, 说明调肝方药可抑制慢性心理应激所致的 HPA 轴的亢进。在形态学方面, 应激大鼠低倍镜下可见肾上腺髓质层明显缩小, 皮质层与髓质层之比增加, 皮质束状带细胞数量增多, 排列紊乱, 高倍镜下细胞体积略有增大, 核有所缩小, 胞浆相对增加 (核/质比缩小), 空泡减少, 血窦明显扩张充血, 提示 HPA 轴处于亢进状态。而运用调肝方药的大鼠, 高、低倍镜下观察可见其髓质层厚度增加, 皮质束状带细胞数量减少, 核染色有所加深, 核/质比增加, 血窦扩张明显减轻, 空泡增加。说明调肝方药可明显调整应激所致 HPA 轴的亢进状态。

2.2.2 对中枢单胺类神经递质的影响 我们研究发现^[5], 应激大鼠下丘脑多巴胺 (DA) 5-羟色胺 (5-HT)

含量明显降低,血浆去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)含量明显升高,血浆 5-HT/NE、5-HT/E 及下丘脑 5-HT/NE 均明显降低。调肝方药可以升高应激大鼠下丘脑和血浆中 DA、5-HT 含量,并能降低血浆中 NE、E 含量,升高下丘脑和血浆 5-HT/NE 以及血浆 5-HT/E。说明调肝方药可以有效地调节慢性心理应激所致的中枢单胺类神经递质的紊乱。与补肾、健脾方药的对比研究发现,补肾、健脾方药对中枢和外周的单胺类神经递质的调节无规律性,也基本无统计学意义。

2.2.3 对中枢氨基酸水平的影响 我们研究发现^[6],应激大鼠海马谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)含量明显升高, γ -氨基丁酸(GABA)和牛磺氨酸(Tau)含量明显降低;下丘脑各氨基酸含量变化不显著。调肝方药可以降低海马 Glu、Asp 含量,对 GABA 和 Tau 则无显著影响。说明调肝方药可以调节慢性心理应激反应海马部分氨基酸水平,防止兴奋性氨基酸的神经毒性作用。补肾、健脾方药可以上调海马 Glu 和 Asp 与 GABA 和 Tau 的比值(EA/IA),而调肝方药则表现出下调趋势。此外,调肝、补肾方药有上调下丘脑 EA/IA 的趋势,而健脾方药则无影响。

2.2.4 对一些神经肽和神经递质合成酶的影响 我们研究发现^[7-9](1)慢性心理应激大鼠下丘脑、垂体内 β -内啡肽(β -EP)水平明显降低,血浆含量明显升高。调肝方药可以明显升高下丘脑、垂体内 β -EP 水平,降低血浆 β -EP 含量。说明调肝方药调控慢性心理应激反应的中枢机制与其调控中枢阿片促黑皮质激素原(proopiomelanocortin, POMC)细胞分泌产物有关。(2)RT-PCR 法检测结果发现,慢性心理应激大鼠下丘脑 CRHmRNA 的表达明显升高,调肝和补肾方药可以明显地降低下丘脑 CRHmRNA 表达,而健脾方药对此则无调节作用。(3)免疫组化结果显示,慢性心理应激大鼠下丘脑弓状核和腹内侧核酪氨酸羟化酶(tyroxine hydroxylase, TH)阳性细胞明显增多;调肝和健脾方药可使两核 TH 阳性细胞数量明显增加,说明调肝和健脾方药能增强应激大鼠中枢 TH 功能,进而增强机体应对应激的能力。

2.2.5 对中枢环核苷酸系统的影响 放射免疫法检测发现^[10],慢性心理应激大鼠下丘脑 cAMP 和 cGMP 含量均显著升高,调肝方药可显著降低下丘脑 cAMP 含量,对 cGMP 无显著影响。

2.2.6 对下丘脑不同脑区核团 c-fos 蛋白表达的影响 免疫组化检测发现^[11],慢性心理应激可诱导 c-fos 在大鼠海马、大脑皮质、杏仁核、下丘脑室旁核(Pa)室周核(Per)以及弓状核(Arc)内广泛持续表达,

其中以大脑皮质、杏仁核最为密集。调肝方药可明显降低上述脑区核团 fos 样免疫阳性神经元的数目,减少 fos 蛋白的表达。

3 一些初步的结论

探讨肝主疏泄调畅情志功能的中枢神经生物学机制,我们采用了“方—证—效—脏腑功能本质”的研究思路。所开展的一些研究工作和所取得的结果初步形成以下一些结论。

3.1 肝主疏泄调畅情志功能存在着中枢神经生物学机制,所提出的研究假说得到初步的验证。肝主疏泄之所谓“疏泄”,其中枢神经生物学机制在整体上与调节下丘脑—垂体—肾上腺轴有关,具体而言,可能与调节慢性心理应激反应(情志活动异常)过程中中枢多种神经递质及其合成酶、神经肽、激素、环核苷酸系统以及即刻早期基因 fos 蛋白表达等的变化有关,表现出多层次、多靶点以及多环节的作用特点,作用的脑区涉及到下丘脑(包括不同核团)海马、杏仁核等。

3.2 通过对调肝、补肾、健脾方药的对比研究,也初步发现,尽管已有的许多研究表明健脾、补肾方药对 NIM 网络亦有一定的调节作用,但我们认为,从心理应激反应角度而言,健脾、补肾以及调肝方药对 NIM 网络的调节机制及其调控中心可能还存在着一些不同。我们目前的研究结果初步提示,补肾、健脾方药的作用部位也涉及到下丘脑和海马,但主要影响中枢氨基酸的生成与代谢,总体上不如调肝方药作用的范围广,这可能是中医学所谓“疏泄”与“调补”的不同之处。

4 今后研究的思路与方法

4.1 以心理应激作为研究的切入点,要考虑不同的应激反应(应激原、应激强度、应激方式等)会有不同的神经内分泌的改变。一些神经递质(如 5-HT、DA、NE、E、氨基酸等)、神经肽(如 CRH、ACTH、 β -EP 等)、激素(如 CORT 等)在中枢与外周的变化不同;行为学及情绪变化的不同;免疫功能变化的程度不同;中药治疗效应的不同等。因此,今后应进一步加强对应激反应模型本身的有关生理、病理改变的研究;同时,还应对动态观察整个应激反应过程中不同时间段会有哪些不同的病理变化,在明确所采用的应激模型的基本病理生理变化的基础上进行中医药的研究,结果会更加客观科学。

4.2 在其他脏腑功能研究方面,一些研究虽然没有明确是从心理应激的角度进行研究,但实际上所采用的方法仍然是心理应激的方法,如采用猫吓鼠方法模拟“恐伤肾”以研究肾的功能^[11]、采用睡眠剥夺方法模拟“心气虚”以研究心的功能等^[12]。采用不同的治

法方药(如补肾、养心类方药等)进行调节干预,亦有一定的效果。因此还应当与诸如养心安神类、健脾类以及补肾类方药等作进一步的对比性研究,探讨不同方药的抗心理应激损伤的作用机理,从而为反证不同脏腑机能提供科学依据。

4.3 应当采用循证医学的理论和临床流行病学的研究方法,对处于心理应激状态的人群或具有情感性障碍或神经症的患者进行属于中医肝病证候的调查,寻找中医肝病证候在此类病症中的分布规律,并借助于中医体质理论,在细胞、分子等不同层次上揭示证候形成的物质基础,从而为进一步揭示肝主疏泄,调畅情志功能的神经生物学机制提供科学的依据。

参 考 文 献

- 1 陈家旭. 中医肝本质现代研究进展. 中国中医基础医学杂志 1998 ;7(7):58—61.
Chen JX. Progress in study on essence of Gan of TCM. Chin J Basic TCM 1998 ;7(7):58—61.
- 2 徐志伟,严 灿,李 艳,等. 加味四逆散对慢性心理应激大鼠的神经内分泌和行为学的调整作用. 广州中医药大学学报 2002 ;19(2):127—129.
Xu ZW, Yan C, Li Y, et al. Regulatory effect of modified Jia-wei-sini decoction on neuroendocrine and behavior of rats with chronic psychological stress. J Guangzhou Univ TCM 2002 ;19(2):127—129.
- 3 严 灿,吴丽丽,徐志伟. 应用心理应激理论和方法开展中医药实验研究的思路. 广州中医药大学学报 2004 ;21(4):325—328.
Yan C, Wu LL, Xu ZW, et al. Thinking of experimental research of TCM by theory and method of psychological stress. J Guangzhou Univ TCM 2004 ;21(4):325—328.
- 4 严 灿,邓中炎,王 剑,等. 调肝方药对慢性心理应激大鼠神经内分泌免疫功能的影响. 中国病理生理杂志 2000 ;16(6):560—562.
Yan C, Deng ZY, Wang J, et al. Regulation of "Tiao Gan Fang Yao" on neuroendocrine-immuno-function of bandage-stressed rats. Chin J Pathophysiol 2000 ;16(6):560—562.
- 5 严 灿,徐志伟,李 艳,等. 调肝、补肾、健脾方药对慢性心理应激大鼠单胺类神经递质影响的比较研究. 中国中西医结合杂志 2002 ;22(12):925—927.
Yan C, Xu ZW, Li Y, et al. Comparative study on effects of liver-regulating, kidney-tonifying and spleen-invigorating recipes on monoamine neurotransmitter in plasma and hypothalamus of rats with chronic psychological stress. Chin J Integr Tradit West Med 2002 ;22(12):925—927.
- 6 李 艳,严 灿,徐志伟,等. 补肾、健脾调肝治法及人参总皂甙对反复心理应激大鼠下丘脑及海马氨基酸含量的影响. 中药药理与临床 2003 ;19(2):1—3.
Li Y, Yan C, Xu ZW, et al. The effect of Gan-regulating, Shen-supplementing, Pi-invigorating and ginsenoside on amino acids in hypothalamus and hippocampus of rats with repeated psychological stress. Pharmacol Clin Chin Materia Medica 2003 ;19(2):1—3.
- 7 徐志伟,严 灿,李 艳,等. 慢性心理应激大鼠血浆及中枢 β -EP、ACTH 含量的变化及调肝方药的影响. 中药药理与临床 2002 ;18(5):37—39.
Xu ZW, Yan C, Li Y, et al. The changes of β -endorphine and adrenocorticotrophin in brain and plasma of rats with chronic psychological stress and the effect of therapy of liver-regulating prescription. Pharmacol Clin Chin Materia Medica 2002 ;18(5):37—39.
- 8 严 灿,吴丽丽,徐志伟,等. 不同治法方药对慢性心理应激大鼠下丘脑 CRHmRNA 表达的影响. 中国药理学通报 2004 ;20(10):1164—1166.
Yan C, Wu LL, Xu ZW, et al. The effects of different therapy and formula on CRHmRNA expression in hypothalamus of rats with chronic psychological stress. Chin Pharm Bull 2004 ;20(10):1164—1166.
- 9 严 灿,徐志伟,李 艳,等. 调肝健脾补肾方药对反复心理应激大鼠的中枢调整作用. 广州中医药大学学报 2003 ;30(2):1431—1433.
Yan C, Xu ZW, Li Y, et al. Regulatory effect of liver-regulating, kidney-supplementing, spleen-invigorating herbs on nerve center of rats with repeated psychological stress. J Guangzhou Univ TCM 2003 ;30(2):143—146.
- 10 严 灿,徐志伟,吴丽丽,等. 加味四逆散对慢性心理应激损伤的机理研究—对下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素及环核苷酸系统的影响. 广州中医药大学学报 2004 ;21(6):466—469.
Yan C, Xu ZW, Wu LL, et al. Mechanism studies on Jia-wei Sini San for damage induced by chronic psychological stress in rats: effect on corticotropin-releasing hormone and cyclic nucleotide system in hypothalamus. J Guangzhou Univ TCM 2004 ;21(6):466—469.
- 11 王米渠. 试论“恐伤肾”的亲代应激行为. 河北中医药学报 1997 ;12(4):8—9.
Wang MQ. Discussion on behavior of parental generation with "fear damage Shen" stress. Hebei J Tradit Chin Med 1997 ;12(4):8—9.
- 12 李绍芝,朱文锋. 心气虚证动物模型的研究. 中国中医药信息杂志 1998 ;5(12):21—22.
Li SZ, Zhu WF. Research on animal model of syndrome insufficiently of Heart-Qi. Chin J Informa TCM 1998 ;5(12):21—22.