

· 临床论著 ·

加减薯蓣丸对轻、中度阿尔茨海默病的临床疗效及外周血 IL-1 β 、NF- κ B、miR-146a 表达的影响

谢文婷¹ 谭子虎^{2,3} 陈 延⁴ 李贤炜^{2,3} 柳弘汉^{2,3}

摘要 目的 探讨加减薯蓣丸治疗轻、中度阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的临床疗效及对外周血白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)、血清微小核糖核酸-146a(microRNA-146a, miR-146a)表达的影响。**方法** 52 例轻、中度 AD 患者随机分为治疗组(加减薯蓣丸浓缩汤剂, 15 mL/次, 1 日 2 次)和对照组(盐酸多奈哌齐片, 5 mg/次, 睡前 1 次), 每组 26 例, 两组疗程均为 12 周。于治疗前后对患者进行简易精神状态量表(Mini-mental State Examination, MMSE)、阿尔茨海默病评定量表-认知(Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Subscale, ADAS-Cog)及日常生活能力量表(Activity of Daily Living Scale, ADL)评分; 评定阿尔茨海默病证候要素量表(Pattern and Element of Syndrome of Alzheimer's Disease, AD-PES-11)积分; 评定中医证候临床疗效; 采用 Spearman 相关系数分析法对 AD-PES-11 积分与神经心理测验量表评分之间进行相关性分析; 采用 ELISA 法检测血清 IL-1 β 、NF- κ B 水平; 采用荧光定量 PCR 法检测 miR-146a 表达; 观察治疗过程中的不良反应。**结果** 与本组治疗前比较, 两组治疗后 MMSE 评分明显升高($P < 0.01$), ADAS-Cog 及 ADL 评分明显降低($P < 0.01$); 与治疗前比较, 治疗组治疗后 AD-PES-11 量表总积分、肾虚、脾虚、髓减、痰浊、血瘀积分明显降低($P < 0.05, P < 0.01$), 对照组治疗后脾虚积分明显升高($P < 0.05$); 与对照组比较, 治疗组治疗后量表总积分、肾虚、脾虚、痰浊、血瘀积分明显降低($P < 0.01$); 治疗组总有效率 69.23% (18/26), 对照组总有效率 7.69% (2/26), 两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$); 相关性分析显示, MMSE 评分与脾虚积分及总积分呈负相关($P < 0.05, P < 0.01$), ADAS-Cog、ADL 评分与脾虚、髓减积分及总积分呈正相关($P < 0.05, P < 0.01$); 与治疗前比较, 两组治疗后 IL-1 β 及 NF- κ B 含量均降低($P < 0.05, P < 0.01$), 以治疗组降低更为明显($P < 0.05$); 与治疗前比较, 两组治疗后 miR-146a 水平均降低($P < 0.05, P < 0.01$); 两组患者治疗期间均未出现明显不良反应。**结论** 加减薯蓣丸能有效改善轻、中度 AD 患者认知功能和日常生活能力, 改善中医症状及体征, 其机制可能与抑制外周血 IL-1 β 、NF- κ B、miR-146a 的表达, 阻断炎症反应相关。

关键词 阿尔茨海默病; 白细胞介素-1 β ; 核因子- κ B; 微小核糖核酸-146a

Clinical Efficacy of Modified Shuyu Pill for Mild and Moderate Alzheimer's Disease and Its Effects on Expressions of IL-1 β /NF- κ B/miR-146a in Peripheral Blood XIE Wen-ting¹, TAN Zi-hu^{2,3}, CHEN Yan⁴, LI Xian-wei^{2,3}, and LIU Hong-han^{2,3} 1 Clinical College of Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan (430065); 2 Department of Geriatrics, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan (430061); 3 Hubei Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Wuhan (430074); 4 Department of Neurology, Hubei Provincial Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Wuhan (430015)

ABSTRACT Objective To explore the clinical efficacy of Modified Shuyu Pill (MSP) for treatment of mild and moderate Alzheimer's disease (AD) and its effect on the expressions of interleukin-1 β (IL-

基金项目: 湖北省自然科学基金重点资助项目(No. 2015CFA089)

作者单位: 1. 湖北中医药大学中医临床学院(武汉 430065); 2. 湖北省中医院老年病科(武汉 430061); 3. 湖北省中医药研究院(武汉 430074); 4. 湖北省中西医结合医院神经内科(武汉 430015)

通讯作者: 谭子虎, Tel: 027-88929217, E-mail: tanzihu2008@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20181018.307

1 β)/nuclear factor-kappa B (NF- κ B)/microRNA-146a (miR-146a) in peripheral blood. **Methods** Totally 52 patients with mild and moderate AD were randomly assigned to the treatment group and the control group, 26 in each group. Patients in the treatment group took MSP, 15 mL each time, twice a day, while those in the control group took Donepezil, 5 mg each time, once before bedtime. The therapeutic course for all was 12 weeks. Mini-mental State Examination (MMSE) scale, Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Subscale (ADAS-Cog), and Activity of Daily Living (ADL) scale were evaluated before and after treatment. Pattern and Element of Syndrome of Alzheimer's Disease (AD-PES-11) scale and clinical efficacy of TCM syndromes were assessed. *Spearman* correlation analysis was used to analyze the correlation between the score of AD-PES-11 scale and neuropsychological test scales. Serum levels of IL-1 β and NF- κ B were detected using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The level of miR-146a was detected by fluorescence quantitative PCR. Besides, adverse reactions were observed during the treatment. **Results** Compared with before treatment in the same group, the score of MMSE significantly increased after treatment ($P < 0.01$), and the scores of ADAS-Cog and ADL significantly decreased in the two groups after treatment ($P < 0.01$). Compared with before treatment, the scores of AD-PES-11 scale, scores of Shen deficiency, Pi deficiency, medullary decrease, phlegm turbidity, and blood stasis significantly decreased after treatment in the treatment group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). In the control group, the score of Pi deficiency increased significantly after treatment ($P < 0.05$). Compared with the control group, the scores of AD-PES-11 scale, Shen deficiency, Pi deficiency, phlegm turbidity, and blood stasis decreased significantly in the treatment group after treatment ($P < 0.01$). The total effective rate was 69.23% (18/26 cases) in the treatment group, with statistical difference as compared with that of the control group [7.69% (2/26 cases)]. Statistical difference existed in clinical efficacy between the two groups ($P < 0.01$). Correlation analysis showed that there was a negative correlation between MMSE score and Pi deficiency score/total scores ($P < 0.05$, $P < 0.01$). There was a positive correlation between ADAS-Cog score/ADL score and Pi deficiency/medullary decrease/total scores ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with before treatment, the levels of IL-1 β and NF- κ B decreased in both groups after treatment ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The treatment group was superior to the control group in reducing IL-1 β and NF- κ B content ($P < 0.05$). Compared with before treatment, the level of miR-146a decreased after treatment in the two groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). No obvious adverse reactions were observed during the treatment. **Conclusion** MYP could effectively improve the cognitive function and ADL of mild and moderate AD patients, improve their TCM symptoms and signs, and its mechanism might be related to inhibiting the expressions of IL-1 β /NF- κ B/miR-146a in peripheral blood and blocking inflammatory reactions.

KEYWORDS Alzheimer's disease; IL-1 β ; nuclear factor κ B; miR-146a

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是发生于老年和老年前期、以进行性认知功能障碍和行为损害为特征的中枢神经系统退行性病变^[1]。目前 AD 确切的病因和发病机制尚未阐明,越来越多的证据表明,神经炎症在其发病过程中起着关键作用^[2,3]。白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 的过度表达为炎性损伤的始动环节,在 AD 的早期,IL-1 β 的过表达能通过核因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 转录途径诱导微小核糖核酸-146a (microRNA-146a, miR-146a) 的表达,继而放大炎性反应引起神经元变性^[4-6]。中医学认为 AD 的基本病机为“髓减脑消,神机失用”^[7]。“髓减脑消”可由肾、脾亏虚致髓

海失充、脑失所养,亦可由痰瘀实邪痹阻脑络、清窍失养所致。肾藏精、生髓通于脑,故应重视补肾益精,以充脑髓。年老者五脏俱衰,气血亏虚,本虚已成必然,肾精不能独生,须赖脾胃化生气血的滋养方能继续维持精气的充盛,故健运后天脾胃功能同样重要^[8]。肾虚及五脏虚衰可导致痰浊、瘀血的产生,而痰瘀可影响气血津液的化生和运行,使五脏虚损,从而形成“虚—痰瘀—虚”的恶性循环,使病情缠绵难愈。基于上述病机认识,我们临证以健脾补肾、化痰祛瘀为大法,拟方加减薯蓣丸治疗 AD。本研究通过观察加减薯蓣丸治疗轻、中度 AD 患者前后认知功能、日常生活能力及外周血 IL-1 β 、NF- κ B、miR-146a 表达的变化,探讨加

减薯蕷丸治疗轻、中度 AD 的临床疗效及可能机制。

资料与方法

1 诊断标准 西医诊断标准:参照美国精神病学学会《精神疾病诊断和统计手册》第 4 版(DSM-IV)及美国神经语言障碍与卒中研究所-阿尔茨海默病与相关疾病学会(NINCDS-ADRDA)的诊断标准^[9],诊断为很可能 AD。中医证候诊断标准:参照国家中医重点专科呆病(阿尔茨海默病)协作组制定的“呆病(阿尔茨海默病)中医诊疗方案”中的证候诊断^[10],纳入阿尔茨海默病证候要素量表(AD-PES-11)中与证候诊断密切相关的 5 个证候要素(分别为肾虚、脾虚、髓减、痰浊和血瘀)进行证候评价,每个证候要素包括 7 个评分条目,得分 >7 分则该证候诊断成立^[10,11]。

2 纳入标准 (1)年龄 65~85 岁;(2)进展性记忆或其他认知功能下降 ≥ 6 月;(3)符合 AD 西医诊断标准;(4)简易精神状态量表(MMSE)评分为 10~26 分,为轻、中度 AD;(5)肾虚、脾虚、髓减、痰浊、血瘀这 5 个证候要素中至少 2 个得分 >7 分;(6)Hachinski 缺血量表 ≤ 4 分;(7)Hamilton 抑郁量表 ≤ 7 分;(8)受教育年限 ≥ 6 年;(9)患者及家属知情同意并签署知情同意书。

3 排除标准 (1)无可靠照护者;(2)合并心血管、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病、精神病患者;(3)长期服用治疗 AD 的药物或其他药物而影响疗效评价者;(4)过敏体质或对试验药物过敏者;(5)合并严重胃、十二指肠疾病影响药物吸收者。

4 一般资料 收集 2017 年 1—11 月湖北省中医院脑病科、老年病科门诊及住院部轻、中度 AD 患者 52 例,其中男 23 例,女 29 例,年龄 65~85 岁,平均(74.42 \pm 5.82)岁,病程 8 个月~6 年,平均(2.74 \pm 1.51)年,受教育年限 6~16 年,平均(10.31 \pm 2.87)年。按随机数字表法分为治疗组 26 例、对照组 26 例。治疗组男 11 例,女 15 例,年龄 65~83 岁,平均(74.92 \pm 5.57)岁,病程 8 个月~6 年,平均(2.44 \pm 1.50)年,受教育年限 6~16 年,平均(10.23 \pm 2.86)年;对照组男 12 例,女 14 例,年龄 66~85 岁,平均(73.92 \pm 6.12)岁,病程 10 个月~6 年,平均(3.00 \pm 1.49)年,受教育年限 6~16 年,平均(10.39 \pm 2.94)年。另收集同期认知功能正常的老年健康体检者 15 名为正常组,其中男 6 名,女 9 名,年龄 65~82 岁,平均(73.73 \pm 5.30)岁,受教育年限 6~16 年,平均(10.20 \pm 2.62)年。3 组在性别、年龄、受教育年限方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本

研究通过湖北省中医院伦理委员会审查批准(No. HBZY2015-C30-01)。

5 治疗方法 治疗组给予加减薯蕷丸浓缩汤剂(又名薯蕷健脾益智合剂,为湖北省中医院院内制剂,批号:20160512,20160913;药物组成:山药 30 g 熟地 24 g 制首乌 24 g 党参 20 g 白芍 20 g 当归 20 g 炒白术 18 g 茯苓 18 g 枸杞 18 g 石菖蒲 14 g 远志 12 g 杜仲 12 g 川芎 10 g 五味子 10 g,由湖北省中医院药材制剂科煎煮浓缩提纯制备为口服液 250 mL,真空包装,每 1 mL 相当于原药材 1 g)口服,1 次 15 mL,1 日 2 次。对照组给予盐酸多奈哌齐片(5 mg/片,卫材药业有限公司生产,批号:1701069)口服,1 次 1 片,晚上睡前服用。两组均连续服药 12 周,在治疗期间避免服用其他益智类药物及影响血清炎症介质的药物。

6 观察指标及检测方法

6.1 神经心理测验量表

6.1.1 简易精神状态量表(Mini-mental State Examination, MMSE) 该量表包括 6 个方面,分别为时间定向力(5 分)、地点定向力(5 分)、即刻记忆(3 分)、注意力及计算力(5 分)、回忆(3 分)和语言(9 分),评分范围为 0~30 分,分数在 27~30 分为正常,21~26 分为轻度痴呆,10~20 分为中度痴呆,<10 分为重度痴呆(根据受教育年限调整)。

6.1.2 阿尔茨海默病评定量表-认知(Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Subscale, ADAS-Cog) 该量表包括 12 项条目,分别为词语回忆(10 分)、命名(5 分)、执行指令(5 分)、结构性练习(5 分)、意向动作(5 分)、定向力(8 分)、词语辨认(12 分)、回忆指令(5 分)、语言表达(5 分)、找词(5 分)、语言理解(5 分)和注意力(5 分),评分范围为 0~75 分,分数越高认知受损越重。AD 与健康对照组的最佳划界值为 15.5 分^[12]。

6.1.3 日常生活能力量表(Activity of Daily Living Scale, ADL) 该量表共 14 项,包括躯体性自理能力(PSMS)6 项和工具性日常生活能力(IADLs)8 项,评分范围为 14~56 分,总分 <16 分为完全正常,>16 分有不同程度的功能下降,凡有 2 项或 2 项以上 ≥ 3 分,或总分 ≥ 22 分为功能有明显障碍^[13,14]。

6.2 阿尔茨海默病证候要素量表(Pattern and Element of Syndrome of Alzheimer's Disease, AD-PES-11) 评定量表中肾虚、脾虚、髓减、痰浊、血瘀要素积分及总积分。

6.3 中医证候临床疗效评定 参照老年呆病的诊断、辨证分型及疗效评定标准(讨论稿)^[15]及《中药新药临床研究指导原则》中老年期痴呆的临床研究指导原则^[16]。临床痊愈:症状、体征消失或基本消失,AD-PES-11 积分减少 $\geq 95\%$;显效:症状、体征明显改善,AD-PES-11 积分减少 $\geq 70\%$;有效:症状、体征均有好转,AD-PES-11 积分减少 $\geq 30\%$;无效:症状、体征无明显改善,甚或加重,AD-PES-11 积分减少不足 30%。疗效指数计算公式(尼莫地平法)=[(治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分] $\times 100\%$ 。

6.4 相关性分析 Spearman 相关系数分析法对 AD-PES-11 积分与神经心理测验量表评分之间进行相关性分析。

6.5 血清炎症因子检测 采用酶联免疫吸附剂测定(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)法检测血清 IL-1 β 、NF- κ B 水平。采取正常组及患者治疗前后清晨空腹静脉血 5 mL,静置自然凝固后 3500 r/min 离心 20 min,分离血清。严格按照 ELISA 试剂盒操作说明书操作,试剂盒购于武汉伊莱瑞特生物科技有限公司。

6.6 血清 miR-146a 检测 采用荧光定量 PCR 法检测。检测步骤:按照天根生化科技(北京)有限公司提供的血清/血浆 miRNA 提取分离试剂盒(DP503)说明书提取血清中总 miRNA;总 miRNA 按照海基生物科技有限公司提供的一步法 miRNA 反转录试剂盒说明书进行反转录,得到 cDNA。按海基生物科技有限公司提供的 miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒配制反应体系(引物设计于该公司,序列:miR-146a F:5'-GCAGT-GAGAACTGAATTCCA-3', miR-146a R:5'-GGTC-CAGT TTTTTTTTTTTTTTTAACC-3');2 \times Hi SYBR Green qPCR Mix 10 μ L,50 \times ROX Reference Dye 0.4 μ L,miRNA Primer F(10 μ mol/L) 0.6 μ L,miRNA Primer R (10 μ mol/L) 0.6 μ L,cDNA 模板 2.5 μ L,ddH₂O Up to 20 μ L;反应条件:95 $^{\circ}$ C 15 min,95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,40 cycles,得到 Ct 值,以 U6 作为内参基因进行校准,以 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 进行分析。

6.7 安全性评价 治疗前后检测血、尿、粪常规及肝、肾功能,记录治疗过程中的不良反应。

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态分布数据,两组间比较采用两独立样本 *t* 检验,治疗前后比较采用配对样本 *t* 检验;三组间比较若方差齐,采用 One-way ANOVA 分析;非正态分布及方差不齐数据采用秩和检验;定性资料比较用 χ^2 检验;相关性分析采用 Spearman 相关性分析;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组治疗前后神经心理测验量表评分比较

1.1 两组治疗前后 MMSE 评分比较(表 1) 与本组治疗前比较,两组治疗后 MMSE 总分、时间定向、注意计算、语言评分明显升高(*P* < 0.05,*P* < 0.01),且治疗组治疗后地点定向、回忆评分明显升高(*P* < 0.01);与对照组比较,治疗组治疗后地点定向、注意计算评分明显升高(*P* < 0.05),而治疗后 MMSE 总分两组差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

1.2 两组治疗前后 ADAS-Cog 评分比较(表 2) 与本组治疗前比较,两组治疗后 ADAS-Cog 总分、词语回忆、命名、定向力、词语辨认评分明显降低(*P* < 0.05,*P* < 0.01),且治疗组治疗后执行指令、意向动作、回忆指令、注意力评分明显降低(*P* < 0.05);两组治疗后 ADAS-Cog 总分差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

1.3 两组治疗前后 ADL 评分比较(表 3) 与本组治疗前比较,两组治疗后 ADL 总分、IADLs 评分明显降低(*P* < 0.01);两组治疗后 ADL 总分差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

2 两组治疗前后 AD-PES-11 量表评分比较(表 4) 与治疗前比较,治疗组治疗后量表总积分、肾虚、脾虚、髓减、痰浊、血瘀积分明显降低(*P* < 0.05,*P* < 0.01),对照组治疗后脾虚积分明显升高(*P* < 0.05);与对照组比较,治疗组治疗后量表总积分、肾虚、脾虚、痰浊、血瘀积分明显降低(*P* < 0.01)。

表 1 两组治疗前后 MMSE 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	MMSE 总分	时间定向	地点定向	即刻记忆	注意计算	回忆	语言
治疗	26	治疗前	19.96 \pm 4.06	2.69 \pm 1.46	4.23 \pm 1.11	2.85 \pm 0.61	2.31 \pm 1.41	0.69 \pm 0.68	7.19 \pm 0.90
		治疗后	22.50 \pm 3.59**	3.19 \pm 1.23**	4.62 \pm 0.70** Δ	2.96 \pm 0.20	3.04 \pm 0.96** Δ	1.08 \pm 0.85**	7.62 \pm 0.64**
对照	26	治疗前	19.89 \pm 4.18	2.65 \pm 1.62	4.12 \pm 0.91	2.69 \pm 0.88	2.08 \pm 1.09	0.88 \pm 0.82	7.42 \pm 0.86
		治疗后	20.96 \pm 4.04**	3.04 \pm 1.28**	4.15 \pm 0.88	2.73 \pm 0.78	2.38 \pm 0.90**	0.88 \pm 0.82	7.73 \pm 0.72*

注:与本组治疗前比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01;与对照组同期比较, Δ *P* < 0.05

表 2 两组治疗前后 ADAS-Cog 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

项目	治疗(26例)		对照(26例)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
ADAS-Cog 总分	32.23 ± 11.84	28.73 ± 11.02 **	32.31 ± 12.96	30.65 ± 11.99 **
词语回忆	7.73 ± 1.40	6.77 ± 1.31 **	7.54 ± 1.24	6.92 ± 1.09 **
命名	0.50 ± 0.65	0.35 ± 0.49 *	0.65 ± 0.85	0.46 ± 0.58 *
执行指令	1.31 ± 0.79	1.12 ± 0.71 *	1.27 ± 0.78	1.19 ± 0.75
结构性练习	1.27 ± 0.72	1.27 ± 0.72	1.19 ± 0.98	1.12 ± 0.91
意向动作	1.38 ± 0.64	1.15 ± 0.61 *	1.35 ± 0.63	1.31 ± 0.62
定向力	2.54 ± 1.63	1.96 ± 1.43 **	2.69 ± 2.02	2.42 ± 1.77 *
词语辨认	7.35 ± 1.83	6.62 ± 1.70 **	7.38 ± 1.77	7.08 ± 1.62 **
回忆指令	2.54 ± 1.14	2.31 ± 0.97 *	2.46 ± 1.42	2.38 ± 1.36
语言表达	2.12 ± 1.34	2.00 ± 1.30	2.23 ± 1.34	2.23 ± 1.34
找词	2.00 ± 1.23	1.92 ± 1.16	1.96 ± 1.18	1.96 ± 1.18
语言理解	1.77 ± 0.99	1.73 ± 0.96	1.73 ± 1.04	1.73 ± 1.04
注意力	1.73 ± 1.28	1.54 ± 1.24 *	1.85 ± 1.46	1.81 ± 1.42

注:与本组治疗前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 表 3 两组治疗前后 ADL 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	ADL 总分	PSMS	IADLs
治疗	26	治疗前	29.04 ± 6.53	7.15 ± 1.38	21.89 ± 5.79
		治疗后	26.96 ± 5.41 *	6.89 ± 0.86	20.08 ± 4.81 *
对照	26	治疗前	28.42 ± 6.35	7.04 ± 1.43	21.39 ± 5.44
		治疗后	27.15 ± 5.44 *	6.92 ± 1.09	20.23 ± 4.67 *

注:与本组治疗前比较, * $P < 0.01$

3 两组中医临床疗效比较(表 5) 治疗组总有效率 69.23%, 对照组总有效率 7.69%, 两组总有效率比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

4 AD-PES-11 积分与神经心理测验量表评分相关性分析结果比较(表 6) MMSE 评分与脾虚积分及总积分呈负相关($P < 0.05, P < 0.01$), ADAS-Cog 评分与脾虚、髓减积分及总积分呈正相关($P < 0.05, P < 0.01$), ADL 评分与脾虚、髓减积分及总积分呈正相关($P < 0.05, P < 0.01$)。

5 三组血清炎性因子比较(表 7) 与正常组比较, 两组治疗前 IL-1 β 及 NF- κ B 含量均升高($P < 0.01$); 与治疗前比较, 两组治疗后 IL-1 β 及 NF- κ B 含量均降低($P < 0.05, P < 0.01$), 以治疗组降低更为明显($P < 0.05$)。

表 5 两组中医临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效
治疗	26	0	1(3.85)	17(65.38)	8(30.77)	18(69.23) *
对照	26	0	0	2(7.69)	24(92.31)	2(7.69)

注:与对照组比较, * $P < 0.01$ 表 6 AD-PES-11 积分与神经心理测验量表评分相关性分析 (r)

指标	MMSE	ADAS-Cog	ADL
肾虚	-0.261	0.191	0.154
脾虚	-0.344 *	0.419 **	0.361 **
髓减	-0.234	0.305 *	0.291 *
痰浊	-0.172	0.081	0.118
血瘀	-0.042	0.043	0.139
总积分	-0.393 **	0.363 **	0.386 **

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

6 三组血清 miR-146a 水平比较(表 7) 与正常组比较, 两组治疗前 miR-146a 水平均升高($P < 0.01$); 与治疗前比较, 两组治疗后 miR-146a 水平均降低($P < 0.05, P < 0.01$); 两组治疗后 miR-146a 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

7 安全性评价 两组患者治疗期间均未出现明显不良反应。

表 4 两组治疗前后 AD-PES-11 量表评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	肾虚	脾虚	髓减	痰浊	血瘀	总积分
治疗	26	治疗前	10.31 ± 4.47	1.31 ± 1.62	10.10 ± 4.35	6.81 ± 3.56	6.42 ± 2.70	34.94 ± 8.72
		治疗后	4.73 ± 1.99 ** Δ	0.69 ± 1.29 * Δ	9.14 ± 3.62 *	2.62 ± 1.75 ** Δ	4.42 ± 1.55 ** Δ	21.60 ± 4.59 ** Δ
对照	26	治疗前	9.77 ± 2.79	1.56 ± 2.06	10.02 ± 4.58	6.81 ± 3.49	6.56 ± 2.88	34.71 ± 8.76
		治疗后	9.35 ± 2.42	2.52 ± 2.46 *	9.64 ± 3.96	6.42 ± 2.98	6.04 ± 2.32	33.96 ± 6.58

注:与本组治疗前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与对照组同期比较, $\Delta P < 0.01$

表 7 三组血清 IL-1 β 、NF- κ B 及 miR-146a 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	IL-1 β (pg/mL)	NF- κ B (pg/mL)	miR-146a
治疗	26	治疗前	40.83 \pm 9.18 *	195.80 \pm 14.46 *	3.04 \pm 1.25 *
		治疗后	26.29 \pm 6.69 $\Delta\Delta\blacktriangle$	151.82 \pm 8.70 $\Delta\blacktriangle$	2.50 \pm 1.09 $\Delta\Delta$
对照	26	治疗前	40.94 \pm 8.17 *	196.01 \pm 19.97 *	3.00 \pm 1.00 *
		治疗后	37.91 \pm 8.56 $\Delta\Delta$	166.42 \pm 8.53 Δ	2.71 \pm 0.90 Δ
正常	15	—	16.52 \pm 4.76	104.23 \pm 16.02	1.33 \pm 0.51

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与本组治疗前比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与对照组同期比较, $\blacktriangle P < 0.05$

讨 论

本研究发现,加减薯蓣丸能有效升高 AD 患者 MMSE 评分,降低 ADAS-Cog 和 ADL 评分,对定向力、语言、命名、词语辨认、词语回忆、执行指令、意向动作、回忆指令、注意力及计算力、IADLs 等认知功能和日常生活能力改善均有明显作用。同时,加减薯蓣丸还能有效降低 AD-PES-11 量表积分,改善 AD 患者肾虚、脾虚、髓减、痰浊、血瘀状态,具有良好的中医临床疗效。进一步进行疗效相关性分析发现,AD-PES-11 积分与神经心理测验量表评分相关,证候的程度越严重(以脾虚、髓减明显),认知及生活能力的障碍就越严重;这也提示,中药配伍运用改善 AD 患者脾虚、髓减状态,改善中医证候,能够起到改善患者认知功能及日常生活能力的作用。

迄今 AD 确切的病因和发病机制尚未阐明,越来越多的证据表明,神经炎症在其发病过程中起着关键作用,伴随 AD 整个病理生理过程^[2,3]。研究表明,炎性损伤的始动环节就是 IL-1 β 的过度表达,它通过 NF- κ B 途径上调小胶质细胞的活性,使后者分泌更多的前炎性细胞因子,进而诱导产生多个瀑布级联放大效应,在脑内形成一个不断增强的自身毒性环路,造成炎性损伤和神经元死亡^[17,18]。

NF- κ B 是由 Rel/NF- κ B 家族多个亚单位构成的一组转录因子,在促成 AD 脑内慢性炎症反应的形成和炎性产物水平持续升高过程中起重要作用。细胞在静息状态下,NF- κ B 位于胞浆中,与特定抑制蛋白 I κ B 结合呈无活性状态;当受到炎性细胞因子、氧自由基、Ca²⁺ 超载等外界信号刺激时,通过特定蛋白激酶作用,I κ B 磷酸化并得到降解,使 NF- κ B 激活并由胞浆快速移位进入胞核,与靶基因的 κ B 基序结合启动基因转录,释放 IL-1 β 、IL-6 等促炎因子^[19]。

miR-146a 被称为免疫系统的调节因子,与 AD 的发生发展紧密相关。研究表明,在 AD 疾病早期,

IL-1 的过表达能通过 NF- κ B 转录途径诱导 miR-146a 的表达^[4-6]。而 miR-146a 能够下调补体因子 H (CFH) 的表达,继而放大炎症反应引起神经元变性^[5]。研究也发现,miR-146a 能够抑制 IL-1 受体相关激酶 1 (IRAK1) 的表达,进而抑制 NF- κ B 信号通路^[20]。但 IRAK1-NF- κ B 信号的抑制,最终导致了 IRAK2-NF- κ B 信号的强烈激活,这可能有助于 NF- κ B 的进一步活化和持续的炎症反应^[21]。因此,miR-146a 的差异表达既是炎症反应的结果,也是炎症反应的原因,抑制 miR-146a 的表达有可能作为 AD 的潜在治疗手段^[22]。本研究表明,加减薯蓣丸能够抑制 AD 患者外周血 IL-1 β 、NF- κ B、miR-146a 的表达,阻断炎症反应的发生发展,从而改善认知功能。

加减薯蓣丸由汉代张仲景《金匱要略·血痹虚劳病脉证并治第六》中薯蓣丸化裁而来。已故名老中医吕继端教授在总结临床经验的基础上,针对痴呆病机特点,继承经方薯蓣丸的组方特点而成加减薯蓣丸。全方共 14 味中药组成,其中山药、党参、炒白术、茯苓、石菖蒲、炙远志健脾益气,化痰开窍;熟地黄、制何首乌、山药、杜仲、枸杞子、五味子补肾填精,生髓益智;白芍、当归、川芎养血活血,祛瘀通络;诸药并用,共奏健脾益肾、化痰祛瘀、开窍益智之效。

现代研究表明,加减薯蓣丸组方中多味中药及其有效成分能够改善 AD 病理及学习记忆能力。如山药多糖能显著增强痴呆模型小鼠脑组织 ATP 酶活性,提高抗氧化能力,从而防治痴呆^[23];何首乌提取物,特别是其主要成分二苯乙烯苷能通过改善神经细胞线粒体膜的流动性、提高神经突触的可塑性改善模型动物的学习记忆能力^[24]。在改善 AD 炎症反应方面,五味子酮能影响 NF- κ B 信号通路,抑制 A β 诱导的氧化应激和炎症反应^[23];白芍总苷能抑制小胶质细胞激活及炎症细胞因子的过表达,从而抑制脑内炎症及 tau 蛋白的过度磷酸化^[25];石菖蒲有效成分 β -细辛醚能直接抑制 NF- κ B 的转录^[26];远志具有抗炎作用,远志皂苷能显著减少炎症因子 IL-1 β 、IL-6 水平^[27,28]。由此可见,加减薯蓣丸的抗炎作用存在一定的物质基础。

综上所述,加减薯蓣丸能有效改善轻、中度 AD 患者认知功能和日常生活能力,改善中医症状及体征,其机制可能与抑制外周血 IL-1 β /NF- κ B/miR-146a 的表达,阻断炎症反应相关。

利益冲突:无。

参 考 文 献

[1] 贾建平,陈生弟主编.神经病学[M].第7版.北京:人

- 民卫生出版社, 2014: 217-218.
- [2] Salminen A, Ojala J, Kauppinen A, et al. Inflammation in Alzheimer's disease: amyloid- β oligomers trigger innate immunity defense via pattern recognition receptors [J]. *Prog Neurobiol*, 2009, 87(3): 181-194.
- [3] Takada LT. Innate immunity and inflammation in Alzheimer's disease pathogenesis [J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2017, 75(9): 607-608.
- [4] Li YY, Cui JG, Hill JM, et al. Increased expression of miRNA-146a in Alzheimer's disease transgenic mouse models [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 487(1): 94-98.
- [5] Lukiw W, Zhao Y, Cui JG. An NF- κ B-sensitive microRNA-146a-mediated inflammatory circuit in Alzheimer's disease and in stressed human brain cells [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(46): 31315-31322.
- [6] Lukiw WJ. NF- κ B-regulated, proinflammatory miRNAs in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimer's Res Ther*, 2012, 4(6): 47.
- [7] 吴勉华, 王新月主编. 中医内科学[M]. 第9版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 156-158.
- [8] 李瑞, 胡玉萍, 袁德培, 等. 从脾胃论治老年性痴呆 [J]. *中医杂志*, 2017, 58(5): 384-386+393.
- [9] 田金洲主编. 中国痴呆诊疗指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 328-333.
- [10] 国家中医药管理局医政司. 24个专业104个病种中医诊疗方案[M]. 北京: 国家中医药管理局医政司, 2012: 540-548.
- [11] 倪敬年, 时晶, 魏明清, 等. 中药临床试验中的痴呆分期及辨证标准 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(2): 452-454.
- [12] 李霞, 肖泽萍, 肖世富, 等. ADAS-Cog 中文版信效度分析 [J]. *中国临床心理学杂志*, 2009, 17(5): 538-540.
- [13] 简文佳, 时晶, 倪敬年, 等. 日常生活能力量表鉴别痴呆与轻度认知损害 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(4): 865-868.
- [14] 冯锋, 韩学青, 陈建, 等. 日常生活活动能力量表在痴呆筛查中的应用 [J]. *临床精神医学杂志*, 2004, 14(4): 193-194.
- [15] 傅仁杰. 老年呆病的诊断、辨证分型及疗效评定标准 (讨论稿) [J]. *中医杂志*, 1991, 120(2): 56.
- [16] 郑筱萸主编. 中药新药临床研究指导原则 (试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 91-99.
- [17] Yamazaki K, Gohda J, Kanayama A, et al. Two mechanistically and temporally distinct NF- κ B activation pathways in IL-1 signaling [J]. *Sci Signal*, 2009, 2(93): ra66.
- [18] 彭玲梅, 黄泳. 小胶质细胞在阿尔茨海默病炎性反应中的双重作用 [J]. *医学综述*, 2009, 15(19): 2889-2892.
- [19] Shih RH, Wang CY, Yang CM. NF- κ B signaling pathways in neurological inflammation: a mini-review [J]. *Front Mol Neurosci*, 2015, 8: 77.
- [20] Wang LL, Huang Y, Wang G, et al. The potential role of microRNA-146 in Alzheimer's disease: biomarker or therapeutic target? [J]. *Med Hypotheses*, 2012, 78(3): 398-401.
- [21] Keating SE, Maloney GM, Moran EM, et al. IRAK-2 participates in multiple Toll-like receptor signaling pathways to NF κ B via activation of TRAF6 ubiquitination [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(46): 33435-33443.
- [22] Gupta P, Bhattacharjee S, Sharma AR, et al. miRNAs in Alzheimer's disease—A therapeutic perspective [J]. *Curr Alzheimer's Res*, 2017, 14(11): 1198-1206.
- [23] 宋琳, 敖丽梅, 朴钟源, 等. 中药对阿尔茨海默病抗氧化作用的实验研究进展 [J]. *上海中医药杂志*, 2016, 50(4): 97-101.
- [24] 黄斌, 刘仍海, 刘薇, 等. 单味中药抗衰老研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(12): 2874-2877.
- [25] 黄德弘, 刘孟渊, 闫小峰. 白芍总苷对 A β 42 沉积诱导脑内炎症因子及 CD45、磷酸化 tau 蛋白表达的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2011, 27(4): 36-39.
- [26] 卢成淑, 冯宁, 南国, 等. 石菖蒲及其活性成分防治阿尔茨海默病的研究进展 [J]. *中草药*, 2016, 47(7): 1236-1242.
- [27] 赵敬堃, 王德生. 中药与中药有效成分治疗阿尔茨海默病的研究进展 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2008, 28(2): 177-181.
- [28] 耿志辉, 宣兆宇, 张丽娇, 等. 中药远志改善 D-半乳糖模型鼠学习记忆能力及其机制研究 [J]. *神经解剖学杂志*, 2010, 26(2): 189-191.

(收稿: 2018-04-12 在线: 2018-11-17)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶