

基于网络药理学、转录组学和动物实验探讨导痰洗心汤干预阿尔茨海默病的作用机制

李晓瑾¹， 卢建政²， 文晓东²， 周欣梅²， 蒋媛静²， 罗宁^{2*}

(1. 广西中医药大学研究生院, 广西南宁530001; 2. 广西中医药大学附属瑞康医院神经内科, 广西南宁530011)

摘要: 目的 通过网络药理学、转录组学和动物实验探讨导痰洗心汤干预阿尔茨海默病(AD)的作用机制。

方法 通过TCMSP、HERB、SwissTargetPrediction数据库获取导痰洗心汤成分和靶点, 利用GeneCards、OMIM、PharmGKB数据库获取AD相关靶点并取得与药物交集靶点。通过Cytoscape软件构建“药物-活性成分-交集靶点”网络并筛选主要活性成分, STRING数据库建立交集靶点PPI网络并筛选核心靶点, DAVID数据库对交集靶点进行KEGG通路富集分析。5月龄雄性APP/PS1转基因小鼠随机分为模型组和导痰洗心汤低、中、高剂量组(14.16、17.7、21.24 g/kg), 以C57BL/6J小鼠作为空白对照, 干预4周。通过Morris水迷宫评估学习记忆能力, HE和尼氏染色分析海马神经细胞形态和神经元数量, 免疫组化法检测海马A β ₁₋₄₂沉积, 转录组测序筛选差异表达基因并进行功能分析, Western blot法检测海马组织p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-STAT3、STAT3蛋白表达。结果 网络药理学分析筛选得到导痰洗心汤活性成分71种, AD治疗潜在靶点154个, 核心靶点包括STAT3、EGFR、JUN。富集KEGG通路119条, 涉及细胞凋亡、MAPK信号通路等。动物实验显示, 导痰洗心汤能改善AD小鼠认知功能($P<0.01$), 减少神经元丢失数量和A β ₁₋₄₂沉积($P<0.01$), 降低p-p38 MAPK、p-STAT3蛋白表达($P<0.05$, $P<0.01$)。转录组测序发现1708个差异基因, 主要富集于MAPK、cAMP信号通路等。结论 导痰洗心汤可通过多成分、多靶点、多通路干预AD, 其机制可能与抑制p38 MAPK/STAT3信号通路有关。

关键词: 导痰洗心汤; 阿尔茨海默病(AD); 网络药理学; 转录组学; p38 MAPK/STAT3信号通路

中图分类号: R285.5; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)11-3803-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.042

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是以认知障碍和记忆减退为特征的神经退行性疾病, 预计2050年全球患者将超1亿例, 构成重大公共卫生挑战^[1]。现有西药存在靶点单一、不良反应多等局限, 亟需开发多途径干预方案。研究表明, 中药复方凭借多靶点协同调控优势, 在AD治疗中展现出独特潜力^[2]。

AD的核心病理特征包括 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)沉积形成的老年斑和高度磷酸化Tau蛋白导致的神经原纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFT)^[3-4]。NFT介导的神经炎症反应与神经元凋亡是疾病进展的关键环节, 其中小胶质细胞和星形胶质细胞的异常活化可释放过量炎症因子, 引发神经元损伤^[5-7]。研究发现, 抑制p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)/信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription, STAT3)信号通路不仅能降低

胶质细胞促炎因子水平, 还可改善认知障碍并抑制神经元凋亡, 成为AD治疗新靶点^[8-10]。

中医“痰浊阻窍”理论与AD记忆衰退病机相契合, 《石室秘录》提出的“治痰即治呆”理论具有重要临床价值^[11-12]。其创制的洗心汤可通过调节海马突触可塑性和免疫炎症反应发挥治疗作用^[13-14]。在其基础上优化形成的导痰洗心汤在临床中取得疗效并发现可抑制AD少突胶质细胞凋亡^[15]。本研究综合运用网络药理学与转录组学技术系统解析其物质基础及作用机制, 以期为临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 5月龄SPF级雄性APP/PS1模型小鼠, 同系C57BL/6J小鼠, 体质量(30±5)g, 购自江苏艾菱菲生物科技有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(苏)2023-0020]。所有小鼠于SPF级动物房[实验动物使用许可证

收稿日期: 2025-07-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(82560870); 广西自然科学基金面上项目(2022JJA140430); 广西自然科学基金(2021GXNSFAA196031)

作者简介: 李晓瑾(1997—), 女, 硕士生, 从事中西医结合防治内科疾病的临床及理论研究。E-mail: jin11152022@163.com

*通信作者: 罗宁(1976—), 男, 博士, 教授, 主任医师, 从事中西医结合防治神经退行性病变的临床及理论研究。Tel: (0771) 2183193, E-mail: ln760320@163.com

号 SYXK (桂) 2024-0004], 自由摄食饮水, 温度 (22±2)℃, 相对湿度 (60±5)%, 12 h 昼夜节律光照, 适应性饲养 7 d。本实验经广西中医药大学动物伦理委员会批准 (伦理号 DW20230830-182)。

1.2 药物 导痰洗心汤由人参 30 g (批号 20230301)、化橘红 15 g (批号 2303003)、法半夏 15 g (批号 20220806)、石菖蒲 3 g (批号 20230130)、远志 15 g (批号 20230101)、茯神 30 g (批号 20230301)、苍术 10 g (批号 20230105)、附子 3 g (批号 210802)、炙甘草 3 g (批号 20221201) 组成, 均由广西中医药大学附属瑞康医院中药房提供, 经广西中医药大学附属瑞康医院唐秀能主任药师鉴定为正品, 符合 2020 年版《中国药典》项下有关规定, 并根据《医疗机构中药煎药室管理规范》由制剂中心按处方比例制成终浓度为含生药 2 g/mL 的混悬液。

1.3 试剂 HE 染色试剂盒、尼氏染色液 (北京索莱宝科技有限公司, 批号 G1120、G1436); 免疫组化抗原修复缓冲液、免疫组化二抗试剂盒、DAB 染色液 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号 ZLI-9066、PV-9000、PV-6000D); p38 MAPK、p-STAT3 抗体 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号 AF7668、AF1276); p-p38 MAPK、STAT3 抗体、β-肌动蛋白 (β-actin) (武汉三鹰生物技术有限公司, 批号 28796-1-AP、10253-2-AP、66009-1)。

1.4 仪器 BW-MWM101 水迷宫 (上海软隆科技发展有限公司); RM2235 转轮切片机、Arcadia 组织包埋机 (德国徕卡公司); E6159 Mini Pro Gel 蛋白电泳系统 (上海碧云天生物技术有限公司); DP260 全自动智能染色机 (深圳达科为生物技术股份有限公司); VELOCITY 高速离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); HH-6 恒温水浴锅 (常州国华科技发展有限公司); ChemiScope 6100 化学发光成像仪 (上海勤翔科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 网络药理学分析

2.1.1 导痰洗心汤活性成分及作用靶点的收集及筛选 通过 TCMSP 数据库收集导痰洗心汤中 9 味中药的成分, 考虑抗 AD 药物需穿透血脑屏障发挥疗效的特性, 以口服利用度≥30%、类药性≥0.18、血脑屏障值≥0.23 为标准筛选靶点^[16-17]。TCMSP 数据库未收录的中药及成分通过 HERB^[18]、CNKI 数据库进行补充预测。利用 PubChem 数据库提取各活性成分的 SMILES 结构式, 导入 SwissTargetPrediction 数据库以 Probability>0 为条件筛选作用靶点。整合各来源数据去重后构建药物靶点集。

2.1.2 AD 疾病靶点与交集靶点获取 以“Alzheimer's disease”为关键词, 检索 GeneCards、OMIM、PharmGKB 数据库中 AD 相关靶点并整合去重。对导痰洗心汤的预测靶点和 AD 疾病靶点取交集, 利用微生信平台构建韦恩图, 得到药物对疾病的潜在核心作用靶点。

2.1.3 导痰洗心汤主要活性成分筛选 将活性成分及其与疾病相关的交集靶点导入 Cytoscape 3.10.1 软件, 构建

“药物-活性成分-交集靶点”网络, 并运用 Analyze Network 功能对导痰洗心汤进行网络拓扑学分析, 筛选主要活性成分。

2.1.4 交集靶点蛋白-蛋白互作 (PPI) 网络构建与核心靶点筛选 将交集靶点导入 STRING 数据库, 物种设定为 *Homo sapiens*, 设置置信度阈值>0.7 构建 PPI 网络。将数据载入 Cytoscape 3.10.1 软件进行可视化, 并运用 CytoNCA 插件进行网络拓扑分析, 以度值筛选核心靶点。

2.1.5 KEGG 信号通路富集分析 使用 DAVID 数据库对导痰洗心汤治疗 AD 的交集靶点进行 KEGG 信号通路富集分析, 根据 $P<0.05$ 筛选并进行可视化。

2.2 动物实验

2.2.1 分组及给药 将 APP/PS1 模型小鼠随机分为模型组和导痰洗心汤低、中、高剂量组, 同时设立 C57BL/6J 小鼠作为空白组, 每组 5 只。参照《中药药理研究方法学》^[19]的剂量换算原则, 以成人标准体质量 (70 kg) 对应的临床剂量 1.77 g/kg 为基础, 分别设定低、中、高剂量组为临床剂量的 8 倍 (14.16 g/kg)、10 倍 (17.7 g/kg)、12 倍 (21.24 g/kg), 灌胃体积为 10 mL/kg。空白组和模型组灌胃给予等体积生理盐水, 每天 1 次, 连续 4 周。

2.2.2 Morris 水迷宫实验 末次给药 24 h 后, 采用 Morris 水迷宫实验检测小鼠学习记忆能力。往直径 1.2 m 的水池中注入清水, 平均分为 4 个象限, 平台固定于第三象限, 加入奶粉消除视觉线索。实验前 5 d 进行定位训练, 每天从各象限入水点依次释放小鼠, 记录逃避潜伏期 (入水至登上平台≥3 s 的时间), 超 60 s 未找到则人工引导至平台; 第 6 天撤除平台, 于第一象限入水点自由探索 60 s, 记录原平台区域停留时间、穿越次数及运动轨迹。

2.2.3 取材 水迷宫结束后 24 h 内, 麻醉处死小鼠, 冰上分离海马组织, 一半用 4% 多聚甲醛固定, 另一半放入冻存管后投入液氮罐中急速冷冻, 后转移至-80 ℃冰箱。

2.2.4 HE、尼氏染色观察海马 CA1 区病理形态及神经元 海马组织于 4% 多聚甲醛中固定 24 h 后, 乙醇梯度脱水, 石蜡包埋, 切 4 μm 片, 脱蜡、浸水后染色, 将进行 HE 染色的切片分别放入苏木精和伊红染色中染色; 进行尼氏染色的切片放入 1% 甲苯胺蓝溶液中染色。二甲苯透明, 中性树胶封片, 于显微镜下观察海马组织病理情况。

2.2.5 免疫组化法检测海马 CA1 区 $\text{A}\beta_{1-42}$ 蛋白表达 取各组小鼠海马组织石蜡切片, 使用二甲苯及乙醇常规梯度脱蜡水化, 柠檬酸钠抗原修复液进行抗原修复, 3% 双氧水溶液抑制内源性过氧化物酶活性, PBS 洗涤 3 次, 10% BSA 室温封闭 1~2 h, 滴加 $\text{A}\beta_{1-42}$ 兔抗小鼠一抗 (1:100), 4 ℃摇床孵育过夜; 次日加入山羊抗兔二抗 (1:200), 室温孵育 1 h, 滴加 DAB 显色液显色, 苏木素复染, 常规梯度乙醇脱水, 中性树胶封片, 将切片置于数字病理切片扫描仪下扫描观察并采集图像, 使用 Image J 软件计算阳性表达。

2.2.6 转录组测序及数据分析 基于行为学及病理学评估

结果,取模型组与导痰洗心汤高剂量组小鼠冷冻保存的海马组织各3例,由武汉康测科技有限公司完成RNA提取及转录组测序。对测序数据实施质量控制后,以 $P<0.05$ 且 $|log_2FC|>0.8$ 为标准筛选差异表达基因,并通过火山图展示筛选结果。进一步利用DAVID数据库对差异基因进行KEGG通路富集分析,以 $P<0.05$ 为显著性阈值筛选关键通路并进行可视化展示。

2.2.7 Western blot法检测各组小鼠海马组织p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-STAT3、STAT3蛋白表达 取各组小鼠海马组织,加入预冷的含蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液裂解,4℃下12 000 r/min离心10 min,取上清,BCA法测定蛋白浓度,沸水浴加热变性10 min。采用8%和5%SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白,转膜,5%脱脂奶粉封闭1 h,加入p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-STAT3、STAT3一抗(1:1 000)4℃摇床孵育过夜,次日加入二抗(1:10 000)室温孵育1 h。ECL化学发光显影,以 β -actin为内参,通过Image J软件分析条带灰度值。

2.2.8 统计学分析 通过SPSS 26.0软件进行处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,Shapiro-Wilk检验评估正态性,正态分布数据采用单因素方差分析,非正态数据采用Kruskal-Wallis H检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学分析结果

3.1.1 导痰洗心汤活性成分、靶点及AD靶点筛选 共筛选得到导痰洗心汤活性成分75种,包括人参16种、半夏8种、甘草26种、附子3种、化橘红1种、石菖蒲2种、远志17种、茯神2种。去除重复成分后,共得到71种活性成分,对应靶点308个。同时,分别在GeneCards、OMIM和PharmGkb数据库中检索到与AD相关靶点10 992、126、59个,合并去重后得到11 045个AD相关靶点。将导痰洗心汤的活性成分靶点与AD相关靶点进行交集分析,最终得到154个共同靶点,见图1。

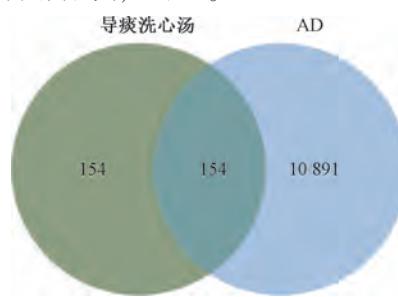


图1 导痰洗心汤-AD交集靶点韦恩图

3.1.2 导痰洗心汤主要活性成分筛选 构建“药物-活性成分-交集靶点”网络,并进行网络拓扑结构分析,以度值、介度、接近中心性筛选得到排名前10的主要活性成分,见表1。

3.1.3 交集靶点PPI网络构建和核心靶点筛选 PPI网络图见图2,共包括153个节点,298条边。面积越大,靶点越重要,根据度值进行筛选,排名前10位的核心靶点分别

为STAT3、EGFR、JUN、BCL2、NFKB1、MAPK8、GSK3B、ERBB2、FYN、SIRT1。

表1 导痰洗心汤主要活性成分网络拓扑学分析

成分名称	度值	介度	接近中心性
7-甲氧基-2-甲基异黄酮	70	0.051	0.403
licoagrocarpin	70	0.040	0.403
菜豆异黄素	68	0.094	0.405
光甘草定	62	0.033	0.399
3-羟基-4'-甲氧基黄酮	60	0.030	0.397
卡维丁	58	0.053	0.392
kanzonol F	48	0.032	0.393
山柰酚	44	0.060	0.391
花生四烯酸	42	0.045	0.390
黄芩素	42	0.045	0.392

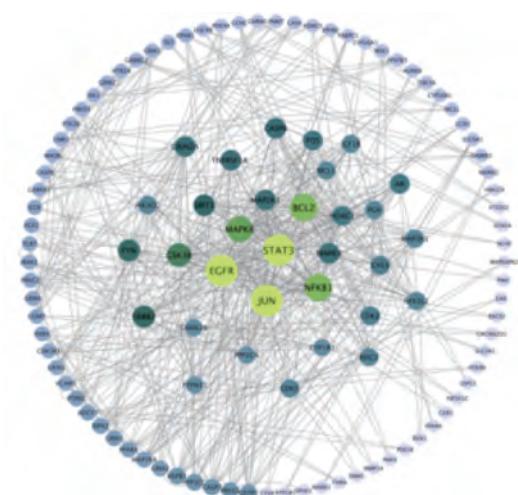


图2 导痰洗心汤干预AD的交集靶点PPI网络

3.1.4 KEGG通路富集分析 共得到119条信号通路,排名前20的信号通路见图3,主要涉及调控脂质代谢与动脉粥样硬化、细胞凋亡、MAPK信号通路、TNF信号通路、cAMP信号通路等。

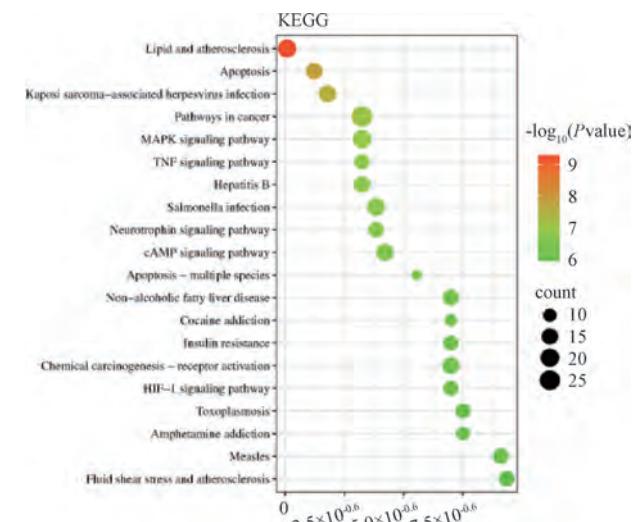


图3 导痰洗心汤干预AD的KEGG通路富集分析

3.2 动物实验结果

3.2.1 导痰洗心汤对AD小鼠学习记忆功能的影响 与空白组比较,模型组小鼠逃逸潜伏期延长($P<0.05$),穿越平台次数、平台停留时间减少($P<0.01$);与模型组比较,

导痰洗心汤高剂量组小鼠逃逸潜伏期缩短($P<0.01$),穿越平台次数、平台停留时间增加($P<0.01$),见表2、图4。

表2 各组小鼠学习记忆功能比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	逃逸潜伏期/s	平台穿越次数/次	平台停留时间/s
空白组	14.7±14.02	4.00±1.73	1.42±0.97
模型组	45.38±16.80*	0.40±0.55**	0.05±0.07**
导痰洗心汤低剂量组	22.86±21.58	1.60±0.89	0.54±0.33
导痰洗心汤中剂量组	31.20±22.44	1.40±0.89	0.54±0.33
导痰洗心汤高剂量组	11.96±3.04##	2.60±0.55##	1.02±0.31##

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

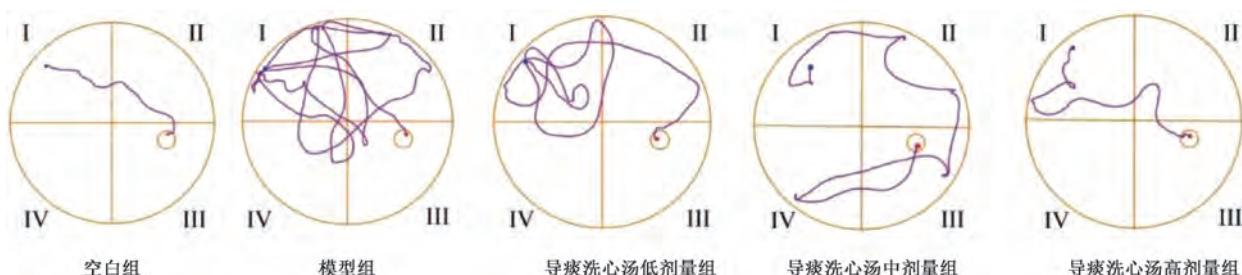
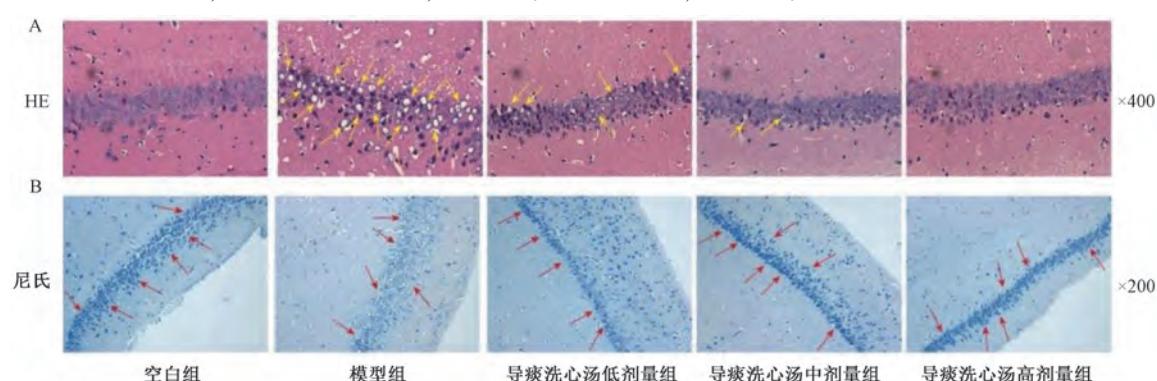


图4 各组小鼠定位航行实验游泳轨迹图

3.2.2 导痰洗心汤对AD小鼠海马CA1区病理形态及神经元的影响 HE染色显示,空白组小鼠海马CA1区神经细胞结构、规则排列的细胞层以及核质染色均匀;模型组小鼠神经细胞密度降低、组织结构疏松,并伴有空泡变性及核固缩等典型AD病理特征。与模型组比较,导痰洗心汤各剂量组小鼠神经细胞密度提升,细胞排列规整度恢复,且空泡变性和核固缩改善,以高剂量组最明显,见图5A。

尼氏染色显示,空白组海马组织神经元密度较高,呈现紧密有序的排列模式,同时尼氏小体呈现深染特征且分布密集;模型组小鼠表现出神经元丢失现象,尼氏小体呈现浅染且数量降低的特征。导痰洗心汤低剂量组显示出神经元密度回升趋势,尼氏小体数量增长;中、高剂量组神经元数量接近正常水平,尼氏小体数量及染色深度均优于模型组,见图5B。



注:黄色箭头所指为细胞空泡变性及核固缩典型区域,红色箭头所指为神经元丢失或增加典型区域。

图5 各组小鼠CA1区病理形态及神经元比较

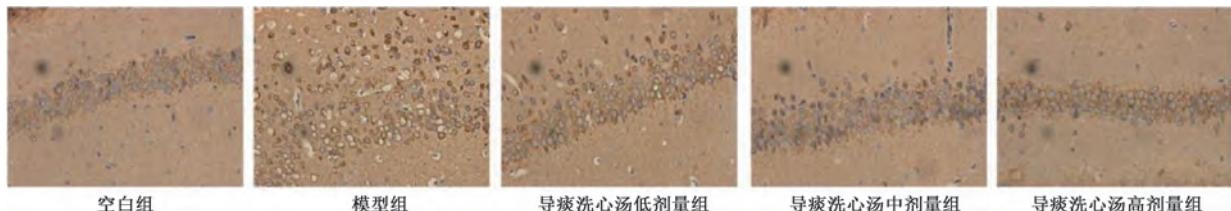
3.2.3 导痰洗心汤对AD小鼠海马CA1区A β ₁₋₄₂蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组小鼠海马CA1区A β ₁₋₄₂蛋白表达升高($P<0.01$);与模型组比较,导痰洗心汤中、高剂量组小鼠海马CA1区A β ₁₋₄₂蛋白表达降低($P<0.01$),见表3、图6。

3.2.4 转录组测序差异基因表达及GO功能及KEGG富集通路分析 模型组与导痰洗心汤高剂量组组间共鉴定得到

表3 各组小鼠海马CA1区A β ₁₋₄₂蛋白表达比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	A β ₁₋₄₂
空白组	3.38±0.81
模型组	7.10±0.77**
导痰洗心汤低剂量组	6.02±0.44
导痰洗心汤中剂量组	4.89±0.98##
导痰洗心汤高剂量组	4.18±0.73##

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图6 各组小鼠海马CA1区A_β₁₋₄₂蛋白免疫组化染色图 (×400)

1 708个差异表达基因,其中上调基因1 244个,下调基因464个。炎症核心靶点STAT3出现在下调基因集,同时MAPK信号通路相关基因表达改变,见图7A。KEGG通路富集分析共获得22条信号通路,见图7B,其中MAPK、

cAMP信号通路与前期网络药理学预测结果相印证。鉴于MAPK/STAT3信号通路相关基因在转录组测序中的差异表达及其潜在调控作用,本研究将其列为关键通路进行验证。

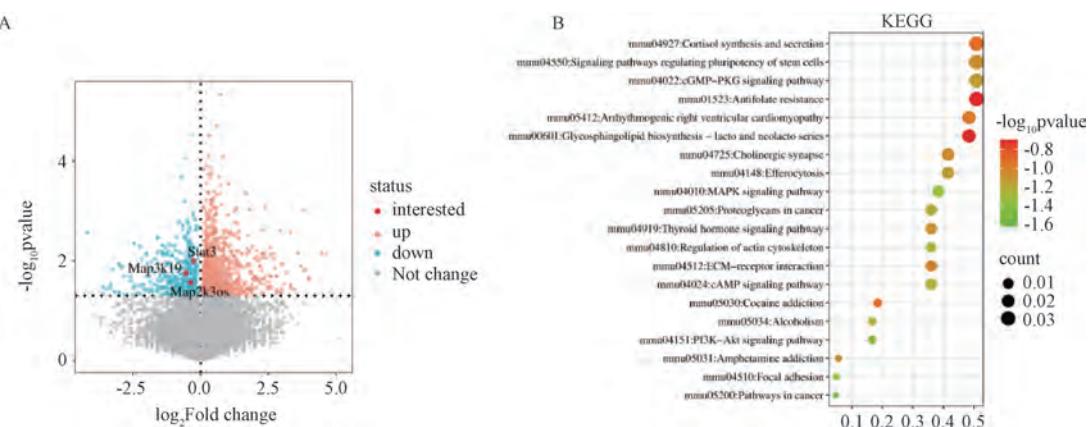


图7 转录组测序火山图 (A) 和 KEGG 富集分析图 (B)

3.2.5 导痰洗心汤对AD小鼠海马组织p-p38MAPK、p38MAPK、p-STAT3、STAT3蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组小鼠海马组织p-p38MAPK、p-STAT3蛋白表达升高($P<0.01$);与模型组比较,导痰洗心汤中、高剂量组小鼠海马组织p-p38MAPK、p-STAT3蛋白表达降低

($P<0.01$),低剂量组小鼠海马组织p-STAT3蛋白表达降低($P<0.05$),表明导痰洗心汤通过特异性抑制p38MAPK和STAT3蛋白的磷酸化修饰,阻断p38MAPK/STAT3信号通路的激活,见表4、图8。

表4 各组小鼠海马组织p38 MAPK/STAT3信号通路相关蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	p-p38 MAPK	p38 MAPK	p-STAT3	STAT3
空白组	0.60±0.02	0.95±0.10	0.52±0.04	0.92±0.06
模型组	1.13±0.02 **	1.10±0.03	1.09±0.03 **	1.06±0.09
导痰洗心汤低剂量组	1.01±0.03	1.06±0.03	0.90±0.08 #	0.99±0.06
导痰洗心汤中剂量组	0.86±0.08 ##	1.04±0.06	0.78±0.04 ##	0.97±0.03
导痰洗心汤高剂量组	0.72±0.07 ##	0.97±0.03	0.61±0.01 ##	0.96±0.01

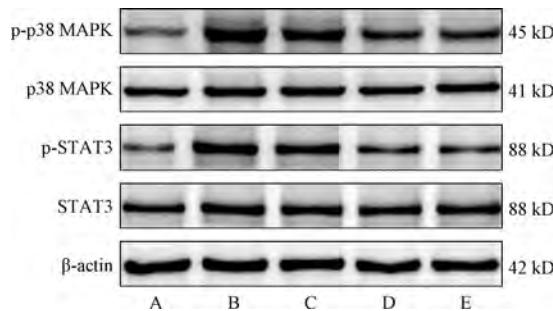
注:与空白组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

4 讨论

中医学将AD归为“痴呆”范畴,其发病与年老体衰、正气亏虚密切相关,尤以脾虚致痰浊上蒙清窍为关键病机。清代陈士铎在《辨证录》中指出“痰积于胸中,盘踞于心外,使神明不清,而成呆病矣”,强调“祛痰”与“扶正”相辅相成的诊疗原则^[20]。导痰洗心汤作为益气化痰开窍法的代表方剂,融扶正培本与化痰开窍于一体,体现中医标本兼治特色。

本研究首先通过网络药理学系统解析导痰洗心汤的作用机制。构建“药物-活性成分-靶点”网络发现,其核心

活性成分包括7-甲氧基-2-甲基异黄酮、菜豆异黄素、光甘草定、3-羟基-4'-甲氧基黄酮、山柰酚、花生四烯酸、黄芩素等。其中黄酮类化合物,如光甘草定、山柰酚、黄芩素具有抗炎、抗氧化、神经保护作用^[21]。研究发现,光甘草定可减轻A_β沉积^[22];山柰酚通过抑制MAPK信号通路缓解氧化应激、炎症及A_β神经毒性^[23-24];黄芩素抑制神经炎症并改善学习记忆障碍^[25]。PPI网络分析揭示STAT3、EGFR、JUN等核心靶点,其中STAT3作为关键转录因子可调节神经炎症^[26-27]。KEGG富集分析表明,导痰洗心汤通过凋亡、MAPK、TNF、cAMP等多通路协同干预AD。



注: A 为空白组, B 为模型组, C~E 分别为导痰洗心汤低、中、高剂量组。

图 8 各组小鼠海马组织 p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-STAT3、STAT3 蛋白条带图

动物实验证实, 导痰洗心汤可以改善 AD 小鼠认知功能障碍, 减轻神经元病理损伤, 维持尼氏小体正常水平并减少 A β 沉积。转录组测序鉴定得到 1 708 个差异表达基因其中上调基因 1 244 个, 下调基因 464 个。在下调基因集中发现了网络药理学预测的炎症信号核心靶点 STAT3, 同时检测到 MAPK 信号通路基因的表达变化。文献表明 p38MAPK 信号通路在 AD 炎症、应激及凋亡中起关键作用^[28]。通过 KEGG 富集分析发现, MAPK、cAMP 信号通路的调控作用与前期网络药理学预测结果吻合。结合预测、实验结果及文献调研, 本研究聚焦 p38 MAPK/STAT3 通路进行验证。结果显示, 导痰洗心汤特异性抑制 p38 MAPK、STAT3 蛋白磷酸化, 阻断该通路的异常激活, 表明该方可能通过抑制 p38 MAPK/STAT3 信号通路的过度激活发挥神经保护作用。

p38 MAPK 是 A β 神经毒性的关键调控因子, 其持续激活与 AD 病理进程直接相关^[29-31]。过度活化可促进炎性因子分泌并诱导神经元变性, 导致突触损伤及认知衰退^[32]。研究表明 p38 MAPK 抑制剂能抑制炎症、改善突触可塑性和记忆功能^[28,30,32-33]。STAT3 在 AD 神经炎症中同样核心, 其磷酸化水平升高驱动胶质细胞活化, 形成促炎微环境^[34-35]。抑制 STAT3 可减轻胶质细胞反应性及神经元损伤^[36-37]。本研究证实导痰洗心汤通过协同抑制 p38 MAPK/STAT3 信号轴发挥神经保护作用。

综上所述, 导痰洗心汤发挥治疗作用具有多成分协同、多靶点作用和多通路调控的特点。该复方制剂不仅能提升 AD 小鼠的认知能力, 缓解 AD 症状, 还可减轻神经元病理损伤, 并减少 A β 的病理性沉积, 其作用机制可能与抑制 p38 MAPK/STAT3 信号通路有关。然而, 本研究存在一定局限性, 例如未对药物干预后的炎症指标、胶质细胞的神经炎症反应及细胞凋亡情况进行检测。未来研究将进一步探讨导痰洗心汤的作用机制, 为其在 AD 治疗中的临床应用提供更多理论支持和研究方向。

参考文献:

- [1] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease[J]. *Lancet*, 2021, 397(10284): 1577-1590.
- [2] 孙 悅, 马 进. 中医药调节信号通路治疗阿尔茨海默病的研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2023, 39(10): 199-203.
- [3] Graff-Radford J, Yong K X X, Apostolova L G, et al. New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers[J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(3): 222-234.
- [4] Schirle G S K, Michel C H, Gasparini L. Advanced imaging of tau pathology in Alzheimer disease: new perspectives from super resolution microscopy and label-free nanoscopy[J]. *Microsc Res Techniq*, 2016, 79(8): 677-683.
- [5] Long J M, Holtzman D M. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies[J]. *Cell*, 2019, 179(2): 312-339.
- [6] Ashraf T, Kis O, Banerjee N, et al. Drug transporters at brain barriers: expression and regulation by neurological disorders[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 763: 20-69.
- [7] Leng K, Rose I V L, Kim H, et al. CRISPRi screens in human iPSC-derived astrocytes elucidate regulators of distinct inflammatory reactive states[J]. *Nat Neurosci*, 2022, 25(11): 1528-1542.
- [8] Kim J, Lee H J, Park J H, et al. Nilotinib modulates LPS-induced cognitive impairment and neuroinflammatory responses by regulating P38/STAT3 signaling[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 187.
- [9] Liu Q B, Zhou R H, Liu C M. TLR9/FCRL3 regulates B cell viability, apoptosis, and antibody and IL-10 production through ERK1/2, p38, and STAT3 signaling pathways[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2022, 58(8): 702-711.
- [10] Xiao X, Jiang K M, Xu Y X, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces cell apoptosis in chronic myeloid leukaemia by regulating Bcr/Abl-mediated p38-MAPK/JNK and JAK2/STAT3/AKT signalling pathways[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2019, 46(2): 126-136.
- [11] 田金洲, 时 晶. 阿尔茨海默病的中医诊疗共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(5): 523-529.
- [12] 陈士铎. 石室秘录[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2019: 306.
- [13] 高彦斌, 第五永长, 唐学成, 等. 洗心汤对 APP/PS1 双转基因小鼠突触功能相关蛋白及受体表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(6): 699-706.
- [14] 赵恩龙, 第五永长, 张 虎, 等. 洗心汤通过增强神经保护作用和抑制神经炎症改善 SAMP8 学习记忆能力[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(18): 5032-5040.
- [15] 汤子钦, 卢建政, 文晓东, 等. 导痰洗心汤调控 AMPK/SIRT1/NF- κ B 信号通路蛋白表达抑制阿尔茨海默病少突胶质细胞凋亡[J]. 中国中西医结合杂志, 2024, 44(8): 966-973.
- [16] 田梦杰, 龙清华, 曾楚华, 等. 基于网络药理学研究大补元煎防治 AD 的作用机制及 AMPK/SIRT1 信号通路验证[J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(8): 1692-1700.
- [17] 史 敏, 冯振宇, 孟 霜, 等. 基于网络药理学温阳解郁颗粒治疗抑郁症的作用机制研究[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(20): 1557-1565.

- [18] Fang S S, Dong L, Liu L, *et al*. HERB: a high-throughput experiment- and reference-guided database of traditional Chinese medicine[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49 (D1) : D1197-D1206.
- [19] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1204.
- [20] 陈士铎. 辨证录[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011: 317.
- [21] Calis Z, Mogulkoc R, Baltaci A K. The roles of flavonols/ flavonoids in neurodegeneration and neuroinflammation[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2020, 20(15) : 1475-1488.
- [22] Mansi V, Mohd U M, Niraj Kumar S. Neuroactive phytoconstituents of *Glycyrrhiza glabra* for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Curr Top Med Chem*, 2025, 25(10) : 1251-1265.
- [23] Devi K P, Malar D S, Nabavi S F, *et al*. Kaempferol and inflammation: from chemistry to medicine[J]. *Pharmacol Res*, 2015, 99: 1-10.
- [24] Nejabati H R, Roshangar L. Kaempferol as a potential neuroprotector in Alzheimer's disease[J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(12) : e14375.
- [25] Sowndhararajan K, Deepa P, Kim M, *et al*. Baicalein as a potent neuroprotective agent: a review [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 1021-1032.
- [26] Ihle J N. The Stat family in cytokine signaling[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13(2) : 211-217.
- [27] Hristova M, Rocha-Ferreira E, Fontana X, *et al*. Inhibition of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) reduces neonatal hypoxic-ischaemic brain damage[J]. *J Neurochem*, 2016, 136(5) : 981-994.
- [28] Falcicchia C, Tozzi F, Arancio O, *et al*. Involvement of p38 MAPK in synaptic function and dysfunction[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16) : 5624.
- [29] Pei J J, Braak E, Braak H, *et al*. Localization of active forms of C-jun kinase (JNK) and p38 kinase in Alzheimer's disease brains at different stages of neurofibrillary degeneration[J]. *J Alzheimers Dis*, 2001, 3(1) : 41-48.
- [30] Lee J K, Kim N J. Recent advances in the inhibition of p38 MAPK as a potential strategy for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Molecules*, 2017, 22(8) : 1287.
- [31] Johnson G V, Bailey C D. The p38 MAP kinase signaling pathway in Alzheimer's disease[J]. *Exp Neurol*, 2003, 183(2) : 263-268.
- [32] Holmes C, Cunningham C, Zotova E, *et al*. Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease[J]. *Neurology*, 2009, 73(10) : 768-774.
- [33] Kheiri G, Dolatshahi M, Rahmani F, *et al*. Role of p38/MAPKs in Alzheimer's disease: implications for amyloid beta toxicity targeted therapy[J]. *Rev Neurosci*, 2018, 30(1) : 9-30.
- [34] Mehla J, Singh I, Diwan D, *et al*. STAT3 inhibitor mitigates cerebral amyloid angiopathy and parenchymal amyloid plaques while improving cognitive functions and brain networks[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2021, 9(1) : 193.
- [35] Reichenbach N, Delekate A, Plescher M, *et al*. Inhibition of Stat3-mediated astrogliosis ameliorates pathology in an Alzheimer's disease model[J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(2) : e9665.
- [36] Ben Haim L, Ceyzériat K, Carrillo-De Sauvage M A, *et al*. The JAK/STAT3 pathway is a common inducer of astrocyte reactivity in Alzheimer's and Huntington's diseases[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(6) : 2817-2829.
- [37] Chen E, Xu D, Lan X, *et al*. A novel role of the STAT3 pathway in brain inflammation-induced human neural progenitor cell differentiation[J]. *Curr Mol Med*, 2013, 13(9) : 1474-1484.