

· 综述 ·

补阳还五汤抗脑缺血的作用机制研究进展

刘婉沂, 张英丰, 周欣, 曾珂琪 (广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要: 脑缺血具有高发生率、高死亡率、高致残率、高复发率等特征, 严重危害人体健康, 给患者家庭带来沉重的负担, 属中医学的“中风”。补阳还五汤是中医治疗中风气虚血瘀证的经典名方, 具有补气活血通络的功效。近年来, 补阳还五汤治疗脑缺血的药理作用成为研究热点。大量研究证明, 其抗脑缺血的作用机制与抗脑水肿、减少神经功能损伤、促进神经再生、抗氧化应激、抗炎、促进血管新生、改善血液流变学指标、调节自噬和铁死亡、调控 miRNA 和外泌体的表达等密切相关。该文对近年来补阳还五汤抗脑缺血的相关机制研究进行综述, 对后续深入研究具有一定的参考意义。

关键词: 补阳还五汤; 脑缺血; 中风; 作用机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2022)03-0411-08

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2022.03.020

Research Progress on the Mechanism of Buyang Huanwu Decoction Against Cerebral Ischemia

LIU Wanyi, ZHANG Yingfeng, ZHOU Xin, ZENG Keqi (School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Cerebral ischemia has the characteristics of high incidence, high mortality, and high disability rate, high recurrence rate, etc., which seriously threatens human health and brings heavy burden to the patient's family. It belongs to the stroke category of Chinese medicine. Buyang Huanwu decoction is a classic prescription for treating stroke with *qi deficiency* and *blood stasis* syndrome. In recent years, its pharmacological effects in the treatment of cerebral ischemia have become a research hotspot. A large number of studies have proved that its mechanism of anti-cerebral ischemia is closely related to its function of anti-cerebral edema, reducing nerve function damage, promoting nerve regeneration, anti-oxidative stress, anti-inflammatory, promoting angiogenesis, improving blood rheology indicators, regulating autophagy and iron death, regulating the expression of miRNA and exosomes, etc. This article reviews the research on the relevant mechanisms of Buyang Huanwu decoction against cerebral ischemia in recent years, and has certain reference significance for subsequent in-depth research.

Keywords: Buyang Huanwu decoction; cerebral ischemia; stroke; action mechanism

近年来, 心脑血管疾病发病人数持续增加, 其中发病率最高的为缺血性脑血管病。其可分为短暂性脑缺血发作、急性缺血性卒中、脑动脉盗血综合征和慢性脑缺血等^[1]。本病属于中医学中的“中风”, 症见猝然昏仆、口舌歪斜、半身不遂等^[2]。目前对其

治疗主要是在有效时间窗内进行血管再通来挽救缺血半暗带组织, 然而脑缺血一定时间恢复血液供应后, 亦会造成脑缺血再灌注损伤(CIRI), 抢救半暗带神经细胞, 减少凋亡发生能减轻 CIRI 的程度和范围^[3]。

收稿日期: 2021-10-14

作者简介: 刘婉沂, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药复方作用机制研究。Email: liuwuy213@163.com。通信作者: 张英丰, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 中药复方作用机制研究。Email: zyfeng-2006@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81873227)。

补阳还五汤出自清代王清任《医林改错》，是治疗中风气虚血瘀证的常用方剂。处方组成为黄芪、当归尾、赤芍、川芎、红花、地龙、桃仁。方中重用黄芪大补元气，意在气旺则血行，瘀去而络通，为君药；当归尾活血通络而不伤血，用作臣药；赤芍、川芎、桃仁、红花协同归尾以活血祛瘀，为佐药；地龙通经活络，配合诸药以消除络脉中的瘀血，为佐使药。处方具有补气不壅滞，活血不伤正的配伍特点。分子、细胞、组织、器官、整体层面研究证实补阳还五汤能广泛应用于各科疾病的治疗，其对脑缺血的治疗作用更是目前的研究热点。本文对近年来补阳还五汤抗脑缺血的相关机制研究作一综述，对后续深入研究具有一定的参考意义。

1 抗脑水肿

脑缺血后脑水肿的主要原因是瀑布效应引起的血脑屏障(BBB)通透性病理性改变，通常分为细胞毒性脑水肿和血管源性脑水肿。前者主要表现为水分在细胞内滞留导致肿胀，但 BBB 仍保持完整，常发生在脑缺血后的 24 h；后者则主要由于 BBB 受损，通透性增加，水分渗出积存于血管周围及细胞间质所致，多见于脑缺血的后期^[4-5]。近年的研究表明脑水肿的发生与水通道蛋白 4(AQP4)、紧密连接蛋白等密切相关^[6]。AQP4 在细胞毒性水肿时期能诱导细胞外过量的液体进入细胞内，而在血管源性水肿时期能将脑实质中聚集的液体消除^[7]。张运克等^[4]研究发现补阳还五汤能够通过修复 BBB 紧密连接蛋白来降低其通透性，降低缺血脑组织中 AQP4 的表达水平和脑组织含水量，减轻脑组织的损伤，起到脑保护的作用。

2 减少神经凋亡，促进神经再生

2.1 调节 Bcl-2/Bax 基因 脑缺血后血液供应显著减少，阻碍了脑营养物质和氧的供应，导致神经元功能障碍。神经元功能障碍与氧化应激、神经细胞周期异常、细胞周期蛋白过度表达等密切相关^[8]。干预线粒体途径的细胞凋亡是治疗脑缺血的有效途径之一^[9]。Bcl-2、Bag-1、Bax 基因均可通过调节线粒体的功能来调节凋亡，Bcl-2/Bax 的比值越高，细胞存活率越高，反之亦然^[10-12]。研究表明补阳还五汤干预后能促进局灶性脑缺血模型大鼠神经功能恢复，其机制可能与上调脑缺血损伤后抗凋亡蛋白 Bag-1、Bcl-2 的表达，拮抗促凋亡蛋白 Bax 表达有关^[10-11,13]。

2.2 激活神经干细胞 脑缺血后，神经元大量凋亡导

致脑功能缺失，处于静止状态的神经干细胞(NSCs)受到脑内缺氧、炎症等信号改变而被激活，发生增殖、迁移并分化为神经元整合入神经环路。定向诱导促进 NSCs 向神经元分化，是治疗神经系统退行性病变的有效途径之一^[11]。吴增等^[14]研究发现补阳还五汤联合 NSCs 移植能减轻 CIRI 大鼠的神经功能缺损程度，减小脑梗死体积，增加尼氏体累积光密度值和 Bcl-2/Bax 比值，抑制神经元凋亡，促进移植后 NSCs 增殖、分化及迁移，发挥神经保护作用。

2.3 维持钙离子平衡 细胞内外 Ca^{2+} 代谢失衡会引起脑缺血后神经细胞的损伤^[6]。钙超载可诱发 CIRI，而细胞内 Ca^{2+} 的浓度与钙调神经磷酸酶活性密切相关，能通过激活线粒体分裂相关蛋白(Drp1)在线粒体外膜与重组人线粒体分裂蛋白 1(Fis1)相结合诱发线粒体分裂。韦辰等^[15]研究发现补阳还五汤可降低 CIRI 大鼠 Drp1、Fis1 及线粒体内膜的细胞色素 C(cyt-c)表达水平，降低钙调神经磷酸酶活性、 Ca^{2+} 浓度及海马神经元细胞凋亡率，发挥脑保护作用。钙超载后，钙蛋白酶被激活，周期素依赖性蛋白激酶 5(Cdk5)的调节蛋白 p35 被裂解为 p25，导致许多凋亡相关底物(如 Tau、Bcl-2)过度磷酸化，进而导致神经元凋亡和不同的神经系统症状^[16]。刘芳等^[17-18]研究发现补阳还五汤精简方可下调 Cdk5 的异常表达，而补阳还五汤类方能有效抑制氧化应激 PC12 模型细胞内 Cdk5 和 Tau 蛋白的过表达，下调凋亡因子半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)，升高 Bcl-2/Bax 比值，证实补阳还五汤类方可能通过 Cdk5 信号通路有效抑制神经细胞凋亡，保护脑缺血后神经细胞。

2.4 调节小凹蛋白及其关联信号通路 脑缺血期间，脑内参与保护神经血管单元的小凹蛋白-1(Cav-1)表达被下调，由此产生了大量的一氧化氮(NO)，BBB 通透性和脑组织含水量升高，导致细胞死亡。高水平的 Cav-1 可抑制 NO 信号传导，降低 Caspase-3 等凋亡生物标志物的表达，减少神经元凋亡^[19-20]。周胜强等^[21]研究发现补阳还五汤能够促进野生型(WT)和 Cav-1 基因敲除(Cav1KO)小鼠缺血侧海马 NSCs 增殖，并促进 Notch 信号通路重要分子 Notch1 蛋白、Hes1 mRNA 表达以及 NICD 的释放，但 Cav1KO 小鼠 NSCs 增殖细胞数和 Notch 信号通路重要分子表达减少，表明补阳还五汤可能通过调控 Cav-1/Notch1/Hes1 信号通路促进脑缺血后神经再生。陈博威等^[22]研究发现补阳还五汤干预后，WT 小鼠脑组织磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)、

PTEN 蛋白和 mRNA 的表达及神经功能恢复程度均优于 Cav1KO 小鼠,抑制 Cav-1 与减弱 Akt 的活化程度可呈量效关系,说明补阳还五汤可能通过 Cav-1 调控 PI3K/Akt 信号通路活性,减少神经功能缺损,发挥抗脑缺血损伤的作用。

2.5 其他 补阳还五汤还可发挥类雌激素作用,激活细胞外信号调节激酶(ERK)/cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)信号通路,增加大鼠缺血侧海马 DG 区 BrdU/Nestin 双标阳性细胞及 pERK1/2、pCREB1 阳性细胞表达,促进内源性神经再生^[23]。补阳还五汤还可提高轴突标志物 NF-200 表达,减少轴突回缩球和轴突水肿以增加轴突的数量和长度,促进脑缺血后神经功能的恢复^[24]。

3 抗氧化应激

生理状态下,线粒体产生的活性氧自由基(ROS)可被体内超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等清除。脑缺血发生后,由于能量耗竭导致细胞内乳酸堆积,引起神经元酸中毒,多余的自由基对细胞产生毒性作用^[25],膜结构中的磷脂不饱和脂肪酸发生系列反应,最终产生脂质过氧化物丙二醛(MDA)^[4],乳酸脱氢酶(LDH)通过受损的 BBB 进入血液,导致血清中的 LDH 活性增高^[26]。丁彩娟等^[25]发现补阳还五汤有效部位可明显降低全脑缺血大鼠血清中 LDH 活性,升高 GSH-Px 活力,降低 MDA 的含量,表明补阳还五汤有效部位可通过抗氧化途径,保护脑细胞,改善大鼠全脑缺血损伤。王圣鑫等^[27]研究发现补阳还五汤中的入脑成分毛蕊异黄酮苷和芍药苷联用后,氧糖剥夺/复氧诱导的 HT22 细胞中 LDH 活性和 MDA 含量显著降低,SOD 含量显著增高,并且 PI3K、Akt 蛋白的表达有所上调,认为补阳还五汤可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路发挥抗氧化应激损伤作用。巫芳华等^[28]研究内源性甲酰胺受体 2(FPR2)对 CIRI 大鼠氧化应激反应的抑制作用,发现补阳还五汤可以减少 CIRI 大鼠 NO、MDA、还原型辅酶 II 氧化酶 2(NOX2)等表达,增加谷胱甘肽(GSH)、SOD 等的表达,给予 Boc-2(FPR2 抑制剂)后,补阳还五汤的部分作用被抑制,说明其减轻 CIRI 大鼠氧化应激损伤的作用机制可能与 FPR2 调控 NOX2 等表达有关。

4 抗炎

脑缺血和再灌注损伤会导致炎症级联反应,包括氧化应激、兴奋性毒性、炎症细胞浸润以及有毒炎

症介质的再释放等,导致神经组织损伤和细胞死亡^[29]。

4.1 调控小胶质细胞 小胶质细胞可在脑缺血后迅速被激活,聚集到损伤部位,释放炎症介质并募集其他炎症细胞^[30]。大量研究表明,小胶质细胞/巨噬细胞的激活与脑缺血后神经再生和功能恢复密切相关^[31]。甘海燕等^[30]研究发现,大鼠脑缺血后第 14 天,与模型组比较,补阳还五汤干预能减少小胶质细胞/巨噬细胞的 M1 型标记物 CD16/32 表达,抑制 CD86、诱生型一氧化氮合酶以及其分泌的促炎因子肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)和白细胞介素 6(IL-6)的 mRNA 表达,并且增加 M2 型标记物 CD206 表达,促进 M2 型小胶质细胞/巨噬细胞表面标记物 CD206、精氨酸酶 1(Arg-1)及相关抗炎因子白细胞介素 10(IL-10)和转化生长因子 β (TGF- β) mRNA 表达,说明补阳还五汤可促进脑缺血后小胶质细胞/巨噬细胞从 M1 型向 M2 型转化,抑制炎症反应。

脑缺血后胶质细胞和内皮细胞会产生趋化因子 CXCL10,吸引表达其受体 CXCR3 的自然杀伤(NK)细胞迁移至缺血脑内^[32]。Dou 等^[33]研究表明补阳还五汤可以预防 NK 细胞的脑浸润,保持 BBB 的完整性,改善脑缺血损伤。补阳还五汤对 NK 细胞脑侵袭的抑制作用与抑制 NF- κ B 相关的 CXCL10-CXCR3 介导的趋化性的能力有关。

4.2 调控 Toll 样受体 Toll 样受体(TLRs)可将细胞外抗原信息传递到细胞内引发炎症反应。TLR3 可直接识别 Toll/IL-1 受体结构域接头分子(TRIF)激活肿瘤坏死因子受体相关因子 3(TRAF3),促进抗炎因子如干扰素(IFN)- α 、IFN- β 、IL-10 和 TGF- β 等的释放^[34-35]。潘琳等^[36-37]研究发现,补阳还五汤可促进氧糖剥夺的气虚血瘀小鼠离体脑片及气虚血瘀型 CIRI 小鼠脑组织中抗炎因子 IL-10、IFN- β 的分泌及 TRIF 蛋白的表达,同时减少致炎因子 IL-6、TNF- α 分泌,由于 IFN- β 主要由 TLR3 介导 TRIF 通路后分泌,因此补阳还五汤的抗炎保护机制可能与激动 TLR3 下游 TRIF-IFN- β 信号通路,进而增加抗炎因子分泌、减少致炎因子产生有关。

TLR4 可通过 TRIF 识别和募集髓样分化因子 88(MyD88),磷酸化 IL-1 受体相关激酶,识别下游的 TRAF6,激活与细胞增殖、凋亡密切相关的 NF- κ B 信号通路^[34]。董志强等^[38]研究发现,补阳还五汤干预脑缺血模型大鼠后,海马神经病变明显较轻,海马组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达降低,致炎因子

TNF- α 、IL-1 β 、NF- κ B 表达下调,提示补阳还五汤抗脑缺血损伤机制可能与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 炎性信号通路的激活而发挥抗炎作用有关。

4.3 调控细胞焦亡 细胞焦亡是一种细胞程序性死亡方式,表现为细胞膜破裂,细胞内容物释放引起强烈的炎症反应。经典的细胞焦亡途径由半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1(Caspase-1)介导^[39]。核苷酸结合寡聚化结构域 NOD 样受体(NLRPs)包括 NLRP1~NLRP14^[40],可检测细胞微环境中的有害物质或不规则物质并形成炎性小体,导致炎症反应。NLRP3 炎性小体与脑缺血最为相关^[41],脑缺血后其介导经典的细胞焦亡通路,引发神经系统的无菌性炎症,通过与 ASC 连接蛋白复合激活 Caspase-1,进而诱导神经元性细胞焦亡,加重缺血性脑细胞损伤^[39]。She 等^[39]研究发现补阳还五汤苷类成分干预后,脑缺血大鼠海马 NLRP3、ASC、Caspase-1 前体蛋白、Caspase-1 蛋白和 IL-1 蛋白的表达明显降低。提示补阳还五汤苷类成分可能抑制了大脑缺血再灌注后神经性细胞焦亡的发生。

5 促进血管新生

脑缺血后局部组织供血不足,损伤部位微血管的重新生成能够改善缺血半暗带组织微循环灌流量,促进血管网络系统的重新建立,减少缺血损伤^[42-43]。血管新生早期阶段,整合素作为细胞黏附分子家族一员发挥着关键作用,其以黏着斑激酶(FAK)作为信号传导的中枢,调节细胞黏附、运动、增殖和生存^[44]。张运克等^[45]研究显示补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞(MSCs)能够显著升高血清整合素 α V β 3 水平及与血管相关因素密切的 CD34 含量,并且显著增强 MSCs 促 FAK 蛋白表达和磷酸化作用,发挥促血管新生的作用。

缝隙连接可介导细胞之间的生物信号功能的传输,连接蛋白 43(Cx43)对脑损伤的扩散和修复具有双向调节的作用^[46]。脑缺血后组织中 Cx43 的含量明显增加,补阳还五汤在脑缺血损伤期可抑制炎症因子如 IL-1 β 、TNF- α 等表达抑制 Cx43,减轻缺血损伤,修复期可通过碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)增强 Cx43 表达,促进神经功能修复,Cx43 参与介导补阳还五汤在海马的 CA1、CA3 与 DG 这 3 个区域促血管新生的作用^[47-49]。此外,补阳还五汤可通过上调血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达,促进脑缺血后血管生成,其联合 NSCs 移植可以通过调控血管性血友病因子(vWF)的表达,增强对血管内皮细胞的刺激

与趋化作用,促进新生血管的形成^[50-51]。

6 改善血液流变学指标

脑动脉粥样硬化可引起脑缺血,治疗原则之一为降低血黏度和血小板聚集性以改善血液高凝状态及脑血液循环^[52]。脑缺血时,血栓素(TXA₂)和前列腺素(PGI₂)间的动态平衡对血管和血液正常功能的维持具有重要意义,TXA₂收缩血管、促血小板聚集,PGI₂舒张血管、抑制血小板聚集,二者的代谢产物 TXB₂和 6-keto-PGF_{1 α} 性质稳定,可代表 TXA₂和 PGI₂水平^[52]。研究表明补阳还五汤可降低 CIRI 大鼠血清 TXB₂、升高 6-keto-PGF_{1 α} 水平以抑制血小板聚集,减缓血栓的形成,延长凝血时间,从而减轻脑缺血损伤^[53]。

血管内皮受损后 NO 分泌减少,容易导致血管痉挛,引起脑缺血。罗银河等^[54]研究显示补阳还五汤治疗脑缺血模型大鼠后,血管内皮细胞合成和释放 NO、6-keto-PGF_{1 α} 明显增加,vWF 水平逐渐降低,抑制了血小板聚集,减缓了血栓的形成,从而发挥脑保护作用。胡夏逢等^[55]研究发现补阳还五汤还可降低脑缺血模型大鼠血小板 α 颗粒中异常升高的血小板因子 4(PF4)、 β 血栓球蛋白(β -TG)含量和 TNF- α 、IL-6 的水平,改善血液流变学相关指标,减缓血栓形成。

脑缺血后血小板活化因子(PAF)释放增加,致密颗粒、 α 颗粒和溶酶体等颗粒脱落导致血小板 α 颗粒膜糖蛋白 140(CD62P)和溶酶体颗粒糖蛋白 63(CD63)在血小板表面表达增加,刺激炎症因子的大量释放,并反过来刺激 PAF 的合成,促进 CD62P 和 CD63 表达的进一步升高,形成恶性循环^[56]。王日生等^[58]研究发现补阳还五汤能明显改善脑缺血再灌注大鼠海马 CA1 区神经细胞损伤,降低模型大鼠 PAF、CD62P、CD63 表达,从而发挥脑保护作用。

7 调节自噬

调控自噬已成为防治脑缺血损伤的潜在作用新靶点^[58]。脑缺血再灌注后会发生自噬现象,自噬水平的提高对维持神经元功能发挥着重要作用,但若自噬过度激活,则可能会造成神经元的凋亡^[59]。秦彬喻等^[60]研究发现补阳还五汤可诱导氧糖剥夺/复氧 NSCs 细胞的产生自噬小体,上调自噬相关蛋白 beclin 1 和 LC3-II 表达,下调 P62 蛋白表达等,增强自噬活性,减轻 NSCs 损伤,促进其增殖和分化。Li 等^[61]研究发现补阳还五汤干预脑缺血再灌注大鼠 5 d 后,巢

蛋白、脑源性神经营养因子等蛋白表达增加,脑梗死面积有所减少,自噬相关蛋白 beclin 1 和 LC3-II 的表达增加、P62 蛋白表达减少,并且增强了促自噬的重要调节因子 Sirtuin 1(SIRT1)的表达。说明补阳还五汤可能是通过 SIRT1/自噬途径减少脑缺血诱导的神经元损伤并促进神经生长。周胜强等^[62]研究发现补阳还五汤能够降低小鼠脑缺血 7 d 后半暗带组织自噬标志蛋白 LC3-II/LC3-I 水平、抑制自噬流标志蛋白 P62 蛋白的降解、减少脑梗死体积,而加用雷帕霉素则能部分抵消该作用,表明该方能够通过抑制脑缺血后半暗带内细胞过度自噬发挥脑保护作用。

8 调节铁死亡

铁死亡是一种新型的细胞程序性死亡方式,由铁、脂质过氧化物及其代谢物在细胞质中的积累加上质膜中多元不饱和脂肪酸的过氧化作用引起,是神经退行性疾病中细胞死亡的主要驱动因素^[63]。赵冯岩等^[64]基于网络药理学方法,筛选相关靶点,检测 PC12 细胞氧化应激模型相关蛋白表达进行靶点验证,发现补阳还五汤可能通过 HSP90AA1、EGFR、GRB2 等靶点及 MAPK、PI3K/Akt、Ras 等信号通路经由铁死亡途径发挥脑保护作用。

9 调控 miRNA

脑缺血过程通常伴随微小 RNA(miRNA)表达谱异常。miRNA 是一种内源性的非编码 RNA,可通过对靶 mRNA 的切割或翻译抑制来沉默靶基因的表达,其调控作用在脑缺血的所有病理损伤形式如炎症反应、BBB 受损等几乎都有所体现^[65-66]。刘微等^[67]采用芯片方法观察脑缺血大鼠脑皮层组织 miRNA 的表达差异,并用 RT-PCR 法进行验证,发现与模型组相比,补阳还五汤组在第 3 天有 2 个 miRNA 上调,1 个下调,第 15 天有 5 个上调,4 个下调,提示补阳还五汤可能通过调控 miRNA 在脑缺血急性期和修复期发挥作用。

10 调控外泌体表达

外泌体是 30~150 nm 大小的细胞外囊泡,包裹着 miRNAs、长链非编码 RNA(lncRNA)和蛋白质等生物活性物质,调节神经系统的发育和再生、促进神经血管单元的重塑、抑制神经炎症等,发挥通讯作用,改善脑缺血^[68-69]。脑缺血后含 bFGF 等与血管生成、细胞增殖和细胞炎症密切相关蛋白质的外泌体数量显著增加^[70]。Yang 等^[71]研究表明补阳还五汤可

增加脑缺血大鼠 MSCs 分泌的外泌体中与血管生成相关的 miRNA 的表达以促进脑血管生成。陈博威等^[72]从外泌体和转录组学的角度探讨了补阳还五汤对急性脑梗死患者血清外泌体 lncRNA 表达谱的影响。结果表明,两组间共有 20 个差异表达的 lncRNA,其中 19 个下调,1 个上调,说明补阳还五汤可能通过改变急性脑梗死患者的血清外泌体 lncRNA 表达谱,发挥抗脑缺血损伤作用。

11 讨论

补阳还五汤作为治疗中风之气虚血瘀证的经典名方,一直是中医药界研究的热点,随着分析技术的进步和分子生物学手段的发展,新技术、新方法和新理念亦不断被引入到补阳还五汤抗脑缺血的研究中,学者从不同层次、不同视角开展了深入研究,加深了对抗脑缺血的作用机制和特点的认识,取得了丰硕的研究成果。不管其研究方法和手段如何演变和改进,始终没有脱离“化学和药理相结合,基本讲清药效成分和作用机理,药材、有效部位或组分、有效成分三个层次研究,整体动物、器官组织、细胞亚细胞、分子生物学等四个水平”的中药复方研究一般模式^[73]。

近年来补阳还五汤抗脑缺血的作用机制研究多集中在细胞、分子水平,研究指标较为微观。其中单一靶点与机体的纵向关联研究较多,不同靶点之间的横向联系及其与脑缺血的病理特征联动机制研究较少。同时,从微观分子作用网络对补阳还五汤方证关系的实质研究以及大样本临床研究不多,后续研究应强化多层次、多指标评价。关于补阳还五汤抗脑缺血损伤的文献信息较为繁杂,不同研究之间指标的联系较为缺乏,应加强对已有文献信息的整合、凝练、总结、升华,由点到线再到面,实现文献资料价值的最大化,构建补阳还五汤抗脑缺血的作用信息网络。已有研究从药代动力学的角度,验证补阳还五汤在益气活血中重用黄芪“益气活血”的合理性^[74]。药动学与指纹图谱关联构成的谱动力学联合谱效学、谱效动力学等可共同建立起多成分、多靶点作用的动态可行的网络谱效动力学研究方法,有利于揭示补阳还五汤的配伍机制^[75]。

随着现代医学的发展,人们逐渐发现,在疾病的诊断、治疗过程中整体观念的重要性,系统生物学、多组学研究等概念的提出为中药现代化的研究与发展提供了崭新的思路和方法^[76]。机体生命活动为

精准运行、密切配合的精细调控网络,生命活动各个层次物质变化均能体现药物-机体的复杂相互作用。具有整体观特性的组学技术与中药复方整体作用的本质特征高度契合,综合采用基因组学、蛋白组学、转录组学、翻译组学、代谢组学、微生物组学、本草物质组学等手段深入揭示补阳还五汤在微观层次对疾病的调控作用,在此基础上进而采用生物信息学技术进行多组学研究整合,揭示补阳还五汤对疾病物质基础表达轴的调控作用,建立系统-系统层面的多组学研究模型。

基于网络药理学与分子对接技术,使用系统生物学的方法,构建相关数据库,筛选出补阳还五汤抗脑缺血活性成分和潜在作用靶点并验证,有利于揭示补阳还五汤多成分与多靶点之间的网络关系。整合各组学技术,从DNA、RNA、蛋白和代谢物等不同层次多个变量的研究结果中发现规律和联系,有望为脑缺血疾病的治疗找出更具代表性的生物标志物,以便制定预防、诊断、治疗与修复策略,真正地从整体水平来阐释补阳还五汤的作用机制^[77-78],此符合中医药整体性理念。同时,引入中药超分子化学、药物代谢网络动力学等,有望进一步揭示其中成分与成分、靶点与靶点间的相互作用^[79-80],揭示中药复方整体效应的科学本质,使其更好地应用于临床。

参考文献:

- [1] 陈艳,胡发云,吴波.《中国脑血管疾病分类2015》解读[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2017, 17(12): 865-868.
- [2] 高长玉,吴成翰,赵建国,等. 中国脑梗死中西医结合诊治指南(2017)[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(2): 136-144.
- [3] 钟芳芳,吴承龙,孙新芳,等. 补阳还五汤联合依达拉奉对小鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(21): 5251-5253.
- [4] 张运克,车志英,李可. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞对脑缺血大鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(7): 1548-1553.
- [5] GALVÃO R I, DIÓGENES J P, MAIA G C, et al. Tenoxicam exerts a neuroprotective action after cerebral ischemia in rats[J]. Neurochemical research, 2005, 30(1): 39-46.
- [6] 严智,赵天全,王恩任. 钙离子在创伤性脑损伤中的致病机制研究[J]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2019, 5(6): 373-376.
- [7] 焦方舟,龚作炯. 水通道蛋白4与脑水肿相关研究进展[J]. 疑难病杂志, 2017, 16(2): 199-202, 206.
- [8] AHAD M A, KUMARAN K R, NING T, et al. Insights into the neuropathology of cerebral ischemia and its mechanisms[J]. Reviews in the neurosciences, 2020, 31(5): 521-538.
- [9] 钟芳芳,吴承龙,孙新芳,等. 补阳还五汤联合依达拉奉对脑缺血再灌注损伤小鼠神经细胞线粒体凋亡途径的影响[J]. 中华全科医学, 2016, 14(11): 1844-1847.
- [10] 廖亮英,蔡光先,周赛男. 补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠神经干细胞移植后凋亡相关基因表达的影响[J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(4): 132-135.
- [11] 廖亮英,蔡光先,周赛男. 补阳还五汤超微饮片对局灶性脑缺血大鼠神经干细胞移植后Bcl-2、Bax表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(3): 257-260.
- [12] 钟芳芳,吴承龙,孙新芳,等. 补阳还五汤联合依达拉奉对小鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(21): 5251-5253.
- [13] 廖亮英,蔡光先,周赛男. 补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠神经干细胞移植后Bag-1表达的影响[J]. 中医药信息, 2018, 35(1): 38-42.
- [14] 吴增,董贤慧,周晓红,等. 补阳还五汤对脑缺血/再灌注大鼠神经干细胞移植后神经功能的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(9): 1289-1295.
- [15] 韦辰,王士雷,孔宪刚,等. 补阳还五汤对脑缺血再灌注损伤大鼠线粒体分裂蛋白Drp1、Fis1及细胞色素C表达的影响[J]. 陕西中医, 2017, 38(10): 1481-1483.
- [16] ZHANG R, LIU C, JI Y, et al. Neuregulin-1 β plays a neuroprotective role by inhibiting the Cdk5 signaling pathway after cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Mol Neurosci, 2018, 66(2): 261-272.
- [17] 刘芳,陈乃宏,胡耀梅,等. 补阳还五汤类方对氧化应激PC12模型细胞CDK5及凋亡因子的影响[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(12): 1758-1764.
- [18] 刘芳,王宇红,邵乐,等. 补阳还五汤精简方对大鼠动脉阻塞模型大鼠海马组织Cdk5的调控[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(8): 1176-1181.
- [19] 谢倩,马荣,王建,等. 小窝蛋白-1调节脑缺血损伤神经血管单元的保护机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(14): 1124-1130.
- [20] SAAD M, FAHMY M, AL-SHORBAGY M, et al. Nateglinide exerts neuroprotective effects via downregulation of HIF-1 α /TIM-3 inflammatory pathway and promotion of Caveolin-1 expression in the rat's hippocampus subjected to focal cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. Inflammation, 2020, 43(2): 401-416.
- [21] 周胜强,易健,刘柏炎. 补阳还五汤对Cav1/Notch1/Hes1通路在小鼠脑缺血后海马NSCs增殖中的作用[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(6): 804-810.
- [22] 陈博威,周胜强,易健,等. 补阳还五汤对Cav-1(-/-)小鼠脑缺血模型PI3K、Akt、PTEN表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(4): 35-40.
- [23] 黄昕,周胜强,刘胜贤,等. 补阳还五汤对去势脑缺血雌性大鼠海马神经干细胞增殖及ERK/CREB信号通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36(12): 1-6.
- [24] 余爱明,闫向丽,郑昊圳,等. 补阳还五汤对大鼠缺血性脑中风损伤后轴突再生的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(21): 15-20.

- [25] JIAO Y, CAO Y, LU X, et al. Xanthohumol protects neuron from cerebral ischemia injury in experimental stroke[J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(4): 2417-2425.
- [26] 丁彩娟, 江勤, 王鑫, 等. 补阳还五汤有效部位对动物全脑缺血损伤的保护作用及抗氧化与凋亡机制[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(4): 2-7.
- [27] 王圣鑫, 闫向丽, 郑昊圳, 等. 毛蕊异黄酮苷和芍药苷联用对氧糖剥夺再灌注 HT22 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(2): 138-142.
- [28] 巫芳华, 刘玉莲, 高宇容, 等. 补阳还五汤通过甲酰受体 2 减轻大鼠脑缺血再灌注后氧化应激损伤[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(18): 9-15.
- [29] SAKAI S, SHICHITA T. Inflammation and neural repair after ischemic brain injury[J]. *Neurochemistry International*, 2019, 130, 104316.
- [30] 甘海燕, 李琳, 杨琰, 等. 补阳还五汤调控小胶质细胞/巨噬细胞极化抑制大鼠脑缺血后炎症反应研究[J]. *浙江中医药大学学报*, 2019, 43(1): 1-6.
- [31] 朱婷, 孙桂波, 孟祥宝, 等. 小胶质细胞/巨噬细胞的极化及在脑卒中修复中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2019, 35(8): 1046-1050.
- [32] 李世春, 王志菲. NK 细胞在神经系统疾病中的作用[J]. *生命的化学*, 2019, 39(2): 316-322.
- [33] DOU B, ZHOU W, LI S, et al. *Buyang Huanwu* decoction attenuates infiltration of natural killer cells and protects against ischemic brain injury[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 50(4): 1286-1300.
- [34] ZHAO H, CHEN Z, XIE L J, et al. Suppression of TLR4/NF- κ B signaling pathway improves cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Molecular Neurobiology*, 2018, 55(5): 4311-4319.
- [35] 邱燕英, 赵勃, 方伟蓉, 等. Toll 样受体与脑缺血的关系及相关药物研究进展[J]. *医学研究与教育*, 2019, 36(1): 6-12.
- [36] 潘琳娜, 樊萍, 杨旸, 等. 补阳还五汤对气虚血瘀证小鼠脑片氧糖剥夺损伤的保护作用及作用机制[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(11): 2601-2604.
- [37] 潘琳娜, 杨旸, 樊萍, 等. 基于 TRIF-IFN β 信号通路补阳还五汤抗气虚血瘀证脑缺血损伤作用[J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(9): 2119-2121.
- [38] 董志强, 向庆伟, 陈延. 补阳还五汤对 TLR4 介导脑缺血大鼠海马炎症损伤的作用[J]. *现代中西医结合杂志*, 2019, 28(34): 3777-3781, 3876.
- [39] SHE Y, SHAO L, ZHANG Y, et al. Neuroprotective effect of glycosides in *Buyang Huanwu* decoction on pyroptosis following cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, 242, 112051.
- [40] ZHANG L, GAO Z, YU L, et al. Nucleotide-binding and oligomerization domain (NOD) - like receptors in teleost fish: Current knowledge and future perspectives[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2018, 41(9): 1317-1330.
- [41] MA C, WANG X, XU T, et al. *Qingkailing* injection ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury and modulates the AMPK/NLRP3 inflammasome signalling pathway[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 19(1): 320.
- [42] HATAKEYAMA M, NINOMIYA I, KANAZAWA M. Angiogenesis and neuronal remodeling after ischemic stroke[J]. *Neural Regeneration Research*, 2020, 15(1): 16-19.
- [43] 范婧婧, 王丽娜, 王键, 等. 脑缺血血管再生及中医药干预研究[J]. *中医药临床杂志*, 2018, 30(5): 799-803.
- [44] 于成龙, 左金华. 整合素/黏着斑激酶信号通路介导外分泌腺组织萎缩及再生的研究进展[J]. *中国医药生物技术*, 2020, 15(2): 206-208.
- [45] 张运克, 杨俊红, 高峰, 等. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞移植对大鼠脑缺血模型整合素相关因子的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(5): 724-729.
- [46] 甘钰, 曾丽梅, 李良东. Connexin43 在神经退行性疾病中的研究进展[J]. *赣南医学院学报*, 2019, 39(2): 178-182.
- [47] 周颖, 杨开令, 周乐全, 等. 补阳还五汤通过 Cx43 促进脑缺血后修复[J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(10): 2431-2434, 2570-2571.
- [48] 张宽. 补阳还五汤药效物质研究[J]. *海峡药学*, 2017, 29(5): 75-77.
- [49] 郭建超, 苏宁, 刘微, 等. 补阳还五汤对脑缺血再灌注后星形胶质细胞 connexin43 影响机制的研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(11): 2418-2420, 2466.
- [50] 俞天虹, 潘华阳. 补阳还五汤及其拆方对脑缺血大鼠神经功能及血管生成的影响[J]. *中国脑血管病杂志*, 2017, 14(2): 87-93.
- [51] 田兆华, 熊万胜, 易健, 等. 补阳还五汤联合神经干细胞移植对脑缺血大鼠血管新生影响[J]. *中医临床研究*, 2016, 8(22): 22-24.
- [52] 王铁峰, 费雅蓉, 潘杭, 等. 补阳还五汤对 MCAO 模型大鼠血清 TXB₂、6-keto-PGF1 α 的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2016, 36(10): 818-821.
- [53] 李振华. 补阳还五汤对脑缺血再灌注模型大鼠血小板聚集及血栓形成的影响[J]. *中医学报*, 2018, 33(3): 422-425.
- [54] 罗银河, 葛金文, 刘林. 补阳还五汤对 MCAO 大鼠不同时间点脑组织病理形态及 NO、vWF、6-keto-PGF1 α 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(12): 4987-4991.
- [55] 胡夏逢, 胡锐宁, 朱承科, 等. 补阳还五汤复方颗粒对脑缺血大鼠的治疗作用研究[J]. *中药材*, 2016, 39(4): 891-894.
- [56] 黄志恩, 李茹冰, 姚晖, 等. 补阳还五汤对急性脑缺血大鼠血清 CD63 和 CD62P 因子表达的影响[J]. *中成药*, 2016, 38(4): 735-740.
- [57] 王日生, 蔡俊, 张继平. 补阳还五汤对大鼠急性脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(5): 725-727.
- [58] 齐景馨, 毛冬雪, 俞睿, 等. 自噬与缺血性脑损伤的关系及中医药干预的研究概述[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(3): 672-674.
- [59] 王德秀, 蔡欣, 金成文, 等. 神经元自噬在脑缺血再灌注损伤中的作用机制研究进展[J]. *生理科学进展*, 2018, 49(6): 471-474.
- [60] 秦彬喻, 彭冬, 王逸雪, 等. 补阳还五汤通过调节自噬促进 OGD/R 损伤大鼠 NSCs 增殖、分化能力[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(11): 9-18.
- [61] LI H, PENG D, ZHANG S J, et al. *Buyang Huanwu* decoction

- promotes neurogenesis via sirtuin 1/autophagy pathway in a cerebral ischemia model[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(5): 791.
- [62] 周胜强, 易健, 周赛男, 等. 补阳还五汤对局灶性脑缺血小鼠半暗带细胞自噬水平的影响[J]. *湖南中医杂志*, 2017, 33(2): 119-123.
- [63] MORRIS G, BERK M, CARVALHO A F, et al. Why should neuroscientists worry about iron? The emerging role of ferroptosis in the pathophysiology of neuroprogressive diseases[J]. *Behav Brain Res*, 2018, 341: 154-175.
- [64] 赵冯岩, 杨浩澜, 朱炎贞, 等. 基于网络药理学从铁死亡途径研究补阳还五汤调控缺血性脑卒中的作用机制[J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(7): 1065-1072.
- [65] ARVOLA O, KADONIS G, XU L, et al. Hippocampal sub-regional differences in the microRNA response to forebrain ischemia [J]. *Molecular and cellular neurosciences*, 2019, 98: 164-178.
- [66] 范晓迪, 李然, 李澎. microRNA对缺血性脑卒中血脑屏障影响的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(7): 892-896.
- [67] 刘微, 丁文婷, 郭建超, 等. 补阳还五汤对脑缺血后3天和15天miRNA表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(1): 10-12.
- [68] 高家乐, 姚明江, 徐立, 等. 脑缺血后神经发生与修复及中药对其作用研究的进展[J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(3): 313-317.
- [69] LI J Y, LI Q Q, SHENG R. The role and therapeutic potential of exosomes in ischemic stroke[J]. *Neurochem Int*, 2021, 151: 105194.
- [70] YANG D, LI Z, GAO G, et al. Combined analysis of surface protein profile and microRNA expression profile of exosomes derived from brain microvascular endothelial cells in early cerebral ischemia [J]. *ACS Omega*, 2021, 6(34): 22410-22421.
- [71] YANG J, GAO F, ZHANG Y, et al. *Buyang Huanwu* decoction (BYHWD) enhances angiogenic effect of mesenchymal stem cell by upregulating VEGF expression after focal cerebral ischemia[J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 56(4): 898-906.
- [72] 陈博威, 刘柏炎, 黄昕, 等. 补阳还五汤对急性脑梗死患者血清外泌体lncRNA表达谱的研究[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(6): 1988-1996.
- [73] 罗国安, 王义明. 生命分析化学初探[J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2003, 21, 3-6.
- [74] WANG S G, YAN X L, ZHENG H H, et al. Pharmacokinetics of different dosage of astragalus membranaceus of *Buyang Huanwu* decoction in rats with cerebral ischemic injury by microdialysis combined with LC/MS[J]. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2020, 29(2): 90-101.
- [75] 贺福元, 邓凯文, 邹欢, 等. 中药复方谱动力学与谱效动力学差异性的研究[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(2): 136-141.
- [76] 乐亮, 姜保平, 徐江, 等. 中药蛋白质组学研究策略[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(22): 4096-4102.
- [77] MONTANER J, RAMIRO L, SIMATS A, et al. Multilevel omics for the discovery of biomarkers and therapeutic targets for stroke[J]. *Nature Reviews Neurology*, 2020, 16(5): 247-264.
- [78] 杨彬, 高文远, 张艳军. 基于转录组学-蛋白质组学-多肽组学整合关联分析策略的动物药蛋白多肽类成分研究思路及方法[J]. *中草药*, 2019, 50(5): 1033-1038.
- [79] GAO Q, TIAN D, HAN Z, et al. Network pharmacology and molecular docking analysis on molecular targets and mechanisms of *Buyang Huanwu* decoction in the treatment of ischemic stroke[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 2021: 8815447.
- [80] 樊启猛, 杨岩涛, 肖美凤, 等. 基于分子对接技术的补阳还五汤成分与缺血性脑卒中靶点的相互作用研究[J]. *中草药*, 2019, 50(17): 4200-4208.

(编辑: 梁进权)