

蛋白质组学在阿尔茨海默病早期诊断及中医药防治中的研究进展

王洋¹, 赵福红¹, 宫铭海¹, 杨波², 郑时嘉³, 周忠光^{4*}

(1. 黑龙江中医药大学 研究生学院, 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学 药学院, 哈尔滨 150040;
3. 天问山农业综合开发股份有限公司, 哈尔滨 150040; 4. 黑龙江中医药大学 基础医学院, 哈尔滨 150040)

[摘要] 阿尔茨海默病是目前最常见的神经退行性痴呆症,起病隐匿,进展缓慢,严重危害着老龄人口的身心健康,因此疾病早期诊断、积极预防、治疗就显得具有极其重要。生物标志物是疾病诊断的重要依据,寻找有价值的理想生物标志物有助于疾病早期识别。中医药防治阿尔茨海默病一直是科学研究的热点,以安全性高、不良反应小等优势受到广泛关注。蛋白质组学是一种识别蛋白质和研究蛋白质特征的先进组学技术,具有高通量、动态性、全面性特点,这与中医药诊疗的整体观念较为一致,为识别具有诊断潜力的生物标志物及中医辨证论治客观化、开发中药方剂精准靶向治疗提供了新的技术平台。尽管蛋白质组学技术日趋成熟,但在阿尔茨海默病诊疗领域应用中仍面临着挑战,存在蛋白质组学结果具有异质性、可复制性差,需要联合其他先进组学技术应用,通量测序成本较高等不足,未来需要不断更新、优化蛋白质组学技术,从而推进精准医疗、促进疾病防治和药物研发。该文通过对中国知网(CNKI),Pubmed数据库检索,就近年来蛋白质组学在阿尔茨海默病早期诊断及中医、中药防治方面的应用展开综述,以期对阿尔茨海默病诊断深入研究提供参考依据,为拓展中医药防治阿尔茨海默病研究提供重要思路。

[关键词] 蛋白质组学; 阿尔茨海默病(AD); 生物标志物; 中药单体; 中药复方; 研究进展

[中图分类号] R22;R242;R74;R277.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)16-0227-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211696

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210624.1011.001.html>

[网络出版日期] 2021-06-24 11:07

Proteomics for Early Diagnosis of Alzheimer's Disease and Prevention and Treatment with Traditional Chinese Medicine: A Review

WANG Yang¹, ZHAO Fu-hong¹, GONG Ming-hai¹, YANG Bo², ZEHNG Shi-jia³, ZHOU Zhong-guang^{4*}

(1. Graduate School of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

3. Tianwenshan Agricultural Comprehensive Development Co. Ltd., Harbin 150040, China;

4. Basic Medical School of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] Alzheimer's disease (AD) is currently the most common neurodegenerative disorder characterized by insidious onset and slow progression, which has seriously endangered the physical and mental health of the elderly. It is therefore very important to carry out the early diagnosis and active prevention and treatment. Biomarkers are essential for its diagnosis. Looking for ideal biomarkers is helpful for early identification of this disease. The prevention and treatment of AD with traditional Chinese medicine (TCM) has always been a hot spot in scientific research due to good safety and small side effects. Proteomics is an advanced

[收稿日期] 20210415(007)

[基金项目] 黑龙江省应用技术与开发计划项目(GA20C017)

[第一作者] 王洋,在读博士,讲师,主治医师,从事中医药防治神经退行性疾病科研和临床工作,E-mail:779882074@qq.com

[通信作者] *周忠光,教授,博士生导师,从事中医药防治神经退行性疾病科研工作,E-mail:zhouzhongguang1111@sina.com

omics technology that enables the identification and characterization of proteins. Its high-throughput, dynamic, and comprehensive characteristics coincide with the concept of holism emphasized in TCM diagnosis and treatment, which makes proteomics suitable for identifying biomarkers with diagnostic potential, objectifying TCM syndrome differentiation and treatment, and developing new Chinese medicinal prescriptions for precise and targeted treatment. Although the proteomics technology is becoming increasingly mature, it still faces challenges in the diagnosis and treatment of AD. There exist such shortcomings as high heterogeneity and poor reproducibility of protein omics results, requirement for the combination with other advanced omics technologies, and high sequencing cost. In the future, the protein omics technology should be constantly updated and optimized to boost precision medicine, disease prevention, and drug research and development. This paper retrieved related articles from Pubmed, China National Knowledge Infrastructure (CNKI) and reviewed the application of proteomics in the early diagnosis of AD and its prevention and treatment with TCM in recent years, in order to provide reference for the in-depth study of AD diagnosis as well as its prevention and treatment with TCM.

[Keywords] proteomics; Alzheimer's disease (AD); biomarkers; Chinese medicinal monomers; Chinese medicinal compounds; research progress

阿尔茨海默病(AD)以进行性认知功能障碍为主要临床表现,严重影响着老龄人口的身心健康,加重了我国社会医疗系统的负担^[1]。全世界约有3 600万痴呆症患者,到2050年,预计全世界痴呆病人的人数将达到1.15亿,其中AD患者占2/3^[2]。目前,深入探究如何尽早诊断、防治AD成为全球生命科学研究的焦点。在我国传统医学诊疗体系中,中医中药发挥着独特的优势,越来越多的目光投向了中医药防治AD等老年性疾病。蛋白质组学是后基因组时代迅速崛起的先进组学技术,具有高通量、动态性、全面性的特点,将蛋白质组学与AD诊疗研究结合起来,为疾病诊治的客观化、标准化、精准量化提供了新的技术支撑^[3]。本文将近年来蛋白质组学研究AD生物标志物、中医证候辨证论治、中药单体及中药复方防治疾病方面做以综述,以期为后续研究提供参考。

1 蛋白质组学概述

蛋白质是一切生命活动的直接承担者和表现者,也是药物治疗的作用靶点。蛋白质组(proteome)是一个细胞或组织内整体基因组表达的全部蛋白质。蛋白质组学(proteomics)是鉴定和定量细胞、组织或有机体中全部蛋白质的一种技术,包括对蛋白质的表达、蛋白质的结构和功能、蛋白质与蛋白质的相互作用和翻译后修饰的研究。蛋白质组学可应用于不同的研究环境,如检测各种诊断标志物、了解疾病发生机制、药物治疗靶点及解释不同疾病中的功能蛋白途径等^[4]。尤其在人类蛋白质组计划的推动下,蛋白质组学技术的应用加快

了生命科学的研究步伐。

传统的蛋白质分离技术包括十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),双向凝胶电泳技术(2-DE)和双向荧光差异凝胶电泳技术(2D-DIGE)等,选择性蛋白质鉴定分析方法包括酶联免疫吸附测定法(ELISA)和蛋白免疫印迹法(Western blot)。但是这些技术仅限于分析单个、少数蛋白质,效率低,耗时长,且对蛋白质样品纯度要求较高,无法短时间内大范围筛选和验证组织、细胞样本中差异表达蛋白质。目前基于质谱(MS)的蛋白质组学技术被广泛应用于科学研究中,具有高效率、高灵敏度、高通量的特点,可以快速检测和量化生物样本中存在的数千种蛋白质的种类和丰度。常用的质谱技术包括两大类,一是以单一质谱为基础的分析系统,以基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)为代表;另一类是以串联质谱为基础的分析系统,以电喷雾电离质谱(ESI-MS MS)为代表^[5]。MALDI-TOF-MS技术精度高、分析时间短,可同时处理许多样品,是高通量鉴定的首选方法。ESI-MS MS法可分析多肽混合物、鉴定蛋白质,对每一肽段进行序列分析,综合质谱数据鉴定蛋白质,大大提高了鉴定的准确度。同时根据有无同位素标签,分为同位素标记法和非同位素标记法。同位素标记法是采用稳定同位素特异性标记蛋白质酶解肽段的氨基基团,通过质谱分析对蛋白质进行准确鉴定和精确定量^[6]。如同位素编码亲和标签技术(ICAT),同位素标记相对和绝对定量技术(iTRAQ),串联质谱标签(TMT)标记技术

等。而非同位素标记法,无标签半定量化学蛋白质组学方法(label-free semi-quantitative chemical proteomics approach),不使用昂贵的同位素标签标记,通过比较不同样品间肽段信号强度或质谱图,对蛋白质进行鉴定和相对定量^[7]。

2 蛋白质组学在AD早期诊断中的应用

AD是一种不可治愈的、进行性的、神经退行性疾病,早在临床症状出现前20~30年就已开始产生脑的病理性改变。所以,积极寻找早期诊断的有效生物标志物,成为预防疾病和尽早干预治疗的关键。尽管 β -淀粉样蛋白₄₂($A\beta_{42}$),磷酸化Tau蛋白水平可在一定程度反映AD疾病的发生,但是其灵敏性、可靠性不足以满足临床诊断需要,还有待寻找更高敏感性、特异性的新型标志物,提高疾病识别效能^[8]。蛋白质组学分析技术在识别潜在候选生物标志物方面为研究者提供了新的手段。

2.1 脑脊液样本的蛋白质组学研究 脑脊液是AD生物标志物的最佳来源,能够直接地反映中枢神经系统生理病理变化。KHOONSARI等^[9]使用无标记定量蛋白组学方法分析AD患者和非痴呆患者的脑脊液,成功寻找到疾病中8种蛋白质[富含亮氨酸 α -2-糖蛋白(A2GL),载脂蛋白M(ApoM),补体C1q亚组分亚基C(C1QB),补体C1q亚组分亚基C(C1QC),补体C1s(C1S),含表皮生长因子的纤维蛋白样细胞外基质蛋白1(FBLN3),蛋白酪氨酸磷酸酶受体Z型(PTPRZ)和癫痫蛋白6同源物(SEZ6)]变化,这些蛋白可以做为AD的潜在生物标志物。SATHE等^[10]收集了由约翰霍普金斯医院提供的AD痴呆患者和认知正常个体的脑脊液标本,利用TMT方法标记,通过液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)分析后鉴定出2 327种蛋白,其中139种蛋白在AD患者脑脊液中有明显改变。后续通过靶向蛋白质组学验证了许多已知的AD标志物,如微管相关蛋白Tau(MAPT),神经元正五聚蛋白II(NPTX2),血管生长因子(VGF),胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和神经细胞黏附分子1(NCAM1)等,并探索发现了新的生物标志物,如M型丙酮酸激酶(PKM)和YWHAG。PARK等^[11]也进一步对AD患者脑脊液进行了蛋白质组学的分析,研究显示42例AD患者的VGF,嗜铬粒蛋白A(CgA),分泌型球蛋白-1(Sg1)和阿片样物质结合蛋白/细胞黏附分子(OPCML)显著低于39例对照组,而14-3-3 ζ 蛋白显著升高,这些候选的AD脑脊液生物标志物具有较高的临床诊断价值,并且与认知损害严重程度

相关联。

2.2 血液样本的蛋白质组学研究 血液是人体重要的体液生物标志物来源,相对于脑脊液样本的侵入性强、不易获取的缺点,血液样本更具有创伤性小、容易收集、成本廉价、安全性高的优势。血液标志物也是目前AD研究领域理想的生物标志物。WHELAN等^[12]在对认知正常个体、轻度认知障碍(MCI)和AD的1 022例患者观察中,以 $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 值 ≤ 0.1 作为淀粉样蛋白阳性的标准,在 $A\beta$ 阳性的AD与MCI患者血浆中发现NAD依赖性蛋白脱乙酰酶 sirtuin-2(SIR2),羟酰谷氨酸水解酶(HAGH),半胱氨酸天冬氨酸水解酶-8(Caspase-8),真核翻译起始因子4E结合蛋白1(EIF4EBP1)等蛋白发生改变,这些血浆蛋白可以作为早期检测AD痴呆、前驱AD与认知正常个体的区分标准。KITAMURA等^[13]对轻度AD患者的血液进行蛋白质分析,发现3种下调蛋白载脂蛋白A-1(ApoA-1), α -2-HS-糖蛋白(AHSG)和afamin,2种上调蛋白ApoA-4和纤维蛋白原 γ 链(FGG)。值得关注的是,这些血浆蛋白可以作为早发型AD的生物标志物。KUMAR等^[14]通过对MCI患者与正常人群血浆蛋白质组学的比较,发现MCI组患者血浆白蛋白下调和角蛋白2型蛋白上调,为MCI组中AD高危人群的早期识别提供了特异性标志物。

2.3 唾液、尿液样本的蛋白质组学研究 开发唾液和尿液标志物也将成为诊断AD的候选方法。尽管尿液与唾液在远离大脑的器官中产生,但有研究报告提示,来自中枢神经系统的蛋白质会分泌到唾液中去,甚至大部分的血液生物标志物也可以在唾液中找到^[15],以及尿液中大部分尿蛋白也来自于血浆。唾液、尿液取样也具有早期、廉价、无创的优势,未来可能会成为脑脊液或血液的有效替代物。但与AD相关的唾液蛋白质组学在疾病早期预测方面鲜有报道,研究多集中在AD相关的单个靶向蛋白,如唾液中 $A\beta_{42}$,Tau蛋白,乳铁蛋白,乙酰胆碱酯酶活性等。因此开发诊断AD的唾液生物标志物仍是未来研究的热点。对于尿液蛋白质组变化与AD发病的相关性,WATANABE等^[16]对AD患者进行了实验观察,发现AD患者与认知正常人群之间有109种蛋白质水平存在显著差异,其中溶酶体、补体激活和糖异生相关蛋白丰度显著改变。已有研究证实在AD早期阶段,患者大脑中就存在溶酶体活性受损、溶酶体功能障碍^[17]。这说明尿液蛋白质组学发现的生物标志物具有一定临床诊断价值。

故从唾液、尿液中鉴定AD的预测性生物标志物将有利于疾病的筛查^[18]。

3 蛋白质组学技术在AD辨证论治体系中的应用

证候是中医辨证论治的主要依据,是疾病的本质和属性,也是中医独特的诊疗手段。辨证论治是中医诊治疾病的核心要义,就是从整体和动态去分析疾病的各种复杂的征象,综合归纳出疾病发生发展的原因、病变的机理,从而决定治法方药。AD在中医学中属于“老年性痴呆”的范畴。蛋白质组学从微观角度出发,通过对蛋白质的研究揭示了疾病发生、发展的本质,其研究结果将为疾病不同证候之间的差异提供参考依据。

从肝论治,肝与脑衰老病理生理密切相关,尤其是肝主疏泄与肝藏血对延缓脑的衰老具有很大帮助,疏肝解郁是对治疗脑病具有很好的借鉴作用。戎志斌^[19]对从肝论治脑病进行了初步探索,利用MALDI-TOF/MS对柴胡疏肝散含药血清检测,发现7个特有血清蛋白表达峰,M2440,M2455,M2602,M5781,M11544,M14285,M14983;进一步对 $A\beta_{1-40}$ 诱导的NG108-15神经细胞干预,发现柴胡疏肝散增强泛素化蛋白降解活性,说明其可以通过泛素化蛋白酶体通路来抑制AD细胞凋亡;同时对肝郁模型的AD大鼠干预治疗,观察到其很好地调节了动物模型中海马组织单胺类神经递质。这为肝郁证候的痴呆症治疗奠定了理论基础。

从脾论治脑病,脾虚则气血生化无源,无以化生,若老年人精血耗伤而不充,则脑失所养,神机失用,渐至痴呆。刘莉^[20]认为滋阴培补后天脾胃,则精血旺盛,脑髓得容,可改善痴呆。建立脾阴虚病证结合的痴呆模型大鼠,利用2-DE结合MALDI-TOF-MS技术,鉴定脾阴虚痴呆组及滋补脾阴方干预组大鼠海马的差异蛋白,发现脾阴虚痴呆组6个上调蛋白质点,3个下调蛋白质点,药物治疗组1个上调蛋白质点,1个表达下调。可鉴定出的差异蛋白质分别是膜联蛋白Ⅲ(annexin Ⅲ),tubulin beta chain 15,肌营养不良相关蛋白-2(DRP-2),鸟苷酸结合蛋白 β -1亚单位(guanine nucleotide-binding protein β -1 subunit),提示细胞骨架蛋白、能量代谢相关蛋白、信号转导蛋白的表达在脾阴虚痴呆大鼠模型疾病进程中发挥着关键作用,蛋白质组学实验结果为脾阴虚痴呆模型的证候机制提供了客观依据。

从肾论治痴呆,髓海与肾关系密切,肾虚是老年性痴呆的基本证候,补肾是贯穿始终的治疗大

法。马福云^[21]利用Label-free技术对AD患者的血浆进行检测,筛选出的目标蛋白分别为超氧化物歧化酶1(SOD1),转化生长因子- β_1 (TGF- β_1),CRTAC1。结合补肾方中10位中药活性成分作用靶标的系统药理学预测结果,推测血浆TGF- β_1 蛋白可作为特异性血清蛋白标志物,TGF- β_1 信号通路受损可促进AD神经退行性变的发生。故从肾论治脑病,以TGF- β_1 为药物作用靶标能够达到抗痴呆治疗的目的。蒋美艳^[22]亦认为老年性痴呆主要病机责之于肾虚髓减,从而导致瘀血阻滞,即肾虚血瘀是其发病的中医病理基础,益智健脑颗粒以补肾活血为治则,适用于治疗肾虚血瘀型老年性痴呆。采用2-DE及MALDI-TOF-MS技术,筛选药物干预后SAMP8痴呆模型小鼠的海马组织差异蛋白,发现13个与益智健脑颗粒作用相关的蛋白质点,这些差异蛋白主要功能涉及改善能量代谢、构成细胞骨架、调节激素,为补肾活血法防治痴呆症提供了作用途径。

4 蛋白质组学在中药防治AD中的应用

中药在体内是以可吸收性小分子形式作用于相应蛋白质靶点而发挥药物疗效的,故以蛋白质组为切入点,探索中药活性成分或者有效部位的作用靶点,全面理解中药药效机制,对中药预防、治疗AD更具有现实意义。

4.1 中药单体 黄芩素是从中药黄芩中提取出来的一种黄酮类化合物,具有抗菌、抗炎、抗氧化应激、抗痴呆等多种功效^[23]。王文潇^[24]采用无标记比较蛋白质组学方法探究了黄芩素的抗痴呆活性。通过建立黄芩素干预的AD大鼠脑组织蛋白表达谱,质谱鉴定寻找差异蛋白,构建差异蛋白质互作网络。发现鉴定出的8个蛋白质点中翻译控制肿瘤蛋白,Rab GDP解离抑制因子 α ,复合素-1蛋白与其他蛋白存在紧密的拓扑网络关系。提示黄芩素可以通过作用这些靶点,调节神经传导、改善氧化应激、调节细胞凋亡来改善认知障碍达到防治AD的目的。

灯盏乙素是从传统中药灯盏花中提取出来的一种黄酮类物质,具有抗氧化、抗炎、抗纤维化、抗肿瘤、改善心脑血管缺血和神经保护的药理作用^[25]。郭莉莉等^[26]以转基因痴呆小鼠为动物模型,采用定量蛋白质组学方法筛选灯盏乙素减轻 $A\beta$ 毒性相关的蛋白质分子和信号通路。实验发现药物调控的9条生物学通路和12个基因转录翻译的靶蛋白,其作用疗效主要集中在到钙稳态平衡调节及组蛋白修饰方

面(乙酰化修饰、甲基化修饰)的表观遗传信息改变。这表明灯盏乙素通过介入组蛋白修饰、调控钙通道而降低A β 毒性,改善认知损害,具备缓解痴呆类疾病的潜力。

葛根素是葛根的有效活性成分,属于异黄酮类化合物,具有保护心脑血管系统、修复神经损伤、降糖降脂、抗肿瘤、抗氧化等生物活性^[27]。张林等^[28]通过非标记定量蛋白质组学技术,观察葛根素对A β ₁₋₄₂诱导神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y细胞)损伤的逆转机制。实验结果发现葛根素改善AD的调控过程,主要与细胞凋亡、自噬调节、腺苷酸环化酶相关蛋白1(CAP1)与细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)通路关系密切,同时发现CAP1蛋白是关键差异蛋白。蛋白质组学结果提示CAP1可以作为葛根素逆转A β 诱导神经细胞损害的药物治疗靶点。

β -细辛醚是从中药石菖蒲中提取出来的挥发油类活性成分,具有抑制神经炎症因子、降低神经兴奋性毒性、保护血脑屏障的药理作用,对神经系统疾病治疗具有潜在优势^[29]。郭莉莉等^[30]从蛋白质组学角度进一步探究了 β -细辛醚抗AD的作用机制。以iTRAQ技术处理转基因AD模型小鼠脑组织,比较了 β -细辛醚治疗组与模型组差异的蛋白质,结果提示治疗组107种蛋白质表达下调,37种蛋白质表达上调。经过进一步鉴定,发现 β -细辛醚主要调节H2A1-H型,H2B1-F/J/L型和H2B2-E型组蛋白的表观遗传修饰,从而降低AD模型小鼠脑组织内A β 毒性作用,发挥抗痴呆、脑保护的疗效。

淫羊藿苷(ICA)是中药淫羊藿的主要活性成分,属于天然的黄酮类化合物,具有抗衰老、促进血液循环和调节免疫的功能^[31]。三七总皂苷(PNS)是中药三七的有效成分,包括三七皂苷R₁,人参皂苷Rg₁,人参皂苷Rb₁等多种单体皂苷,具有抗氧化、抗衰老、增强免疫力的作用^[32]。ZHANG等^[33]认为老年性痴呆治疗法则包括两个方面,一是用活血、化瘀、抗衰老的中药来改善症状;二是使用滋补调理的中药来增强机体免疫力和保护心脑血管系统。ZHANG等^[33]在实验中将ICA与PNS联合应用,观察到APP/PS1转基因小鼠经治疗后学习、记忆能力得到改善,并通过标记定量蛋白质组学方法发现AD组MIPT3表达增加,Oasl1和trichoplein角质细丝结合蛋白(TCHP)表达降低,这些异常表达蛋白在中剂量ICA与PNS治疗后趋于正常。这提示上述3种靶蛋白是ICA与PNS改善AD模型小鼠的记

忆损伤、提高认知功能的物质基础。

连翘酯苷B(FTSB)是从中药连翘中分离的一种苯乙醇苷物质,具有较强的抗炎、抗菌、抗氧化作用^[34]。研究表明AD发生与神经炎症密切相关。孔繁格^[35]实验发现FTSB能够改善痴呆小鼠的AD样行为,防止海马组织病理学改变,改善生化指标,并抑制炎症反应。经过蛋白质组学筛选出FTSB影响AD小鼠脑组织神经炎症的关键通路,分别是WDFY1/Toll样受体3(TLR3),c-Jun氨基末端酶相互作用蛋白3(JIP3)/c-Jun氨基末端酶(JNK),ELKS/核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,富集在这些通路上的关键蛋白是JIP3,WDFY1,ELKS。FTSB调控的相关通路协同作用降低了脑内神经炎症的发生、减少了A β 蛋白的聚集,达到了提高学习记忆、改善认知功能的治疗目的。

毛蕊花糖苷(VB)是从玄参科、车前草科等双子叶植物中提取的一种苯基乙醇类苷物质,具有很好的抗炎、抗氧化损伤、抗凋亡生物活性^[36]。蔡雪莹^[37]利用蛋白质组学技术分析了VB治疗的APP/PS1双转基因小鼠脑组织蛋白变化,发现19种蛋白水平明显上调,7种蛋白质水平明显下调,其中与AD关联性最强的蛋白是中脑星形胶质细胞来源的神经营养因子(MANF)和细胞色素C氧化酶7c(Cox7c)。VB治疗很好地降低了MANF表达,起到清除AD小鼠脑内斑块和抗氧化的作用;增加了Cox7c表达,抑制了AD小鼠脑内线粒体凋亡相关因子。蛋白质组学结果为VB防治AD提供了有效的治疗靶点。

蝙蝠葛碱(DAU)是从中药蝙蝠葛根茎中提取的双苄基异喹啉类生物碱,易于透过血脑屏障,具有保护脑神经元的功效^[38]。LIU等^[39]采用比较蛋白质组学深入解析了DAU对AD样细胞N2a/APP的影响作用。结果显示在DAU存在的情况下,N2a/APP细胞相对于正常N2a/WT细胞的裂解产物中有85种差异表达蛋白。通过DAU对差异蛋白质的调控,抑制N2a/APP细胞中APP蛋白加工、减少A β 蛋白积累,降低Tau蛋白过度磷酸化,减少细胞中的分子缺陷,如与氧化应激、内质网应激、信号蛋白和分子伴侣蛋白相关的缺陷。提示DAU通过靶向多分子途径改善阿尔茨海默样病变,对延缓AD进程具有一定影响。

4.2 中药有效部位 覆盆子是临床常用的补益肝肾之品,具有改善记忆、抗氧化、抗衰老等功效^[40]。研究显示覆盆子乙酸乙酯萃取部位为有效部位,能

够明显改善 AD 大鼠学习记忆能力。侯敏等^[41]从蛋白质组学的角度进一步观察覆盆子有效部位对去卵巢的 AD 模型小鼠的治疗作用,发现覆盆子可以通过调控脑内的微管蛋白、囊泡运输相关蛋白、热休克蛋白、脑保护蛋白、能量代谢相关蛋白、肌动蛋白,参与动物体内囊泡运输、糖代谢、脑保护、能量代谢生物学途径而发挥药效。推测覆盆子可能是通过作用于这些靶点蛋白来实现治疗 AD 的目的,这也为中医药防治 AD 提供了理论依据。

宽筋藤取自防己科植物中华青牛胆的藤茎,具有抗衰老的功效,其 80% 乙醇提取部位为有效部位^[42]。孙梦盛等^[43]在宽筋藤有效部位治疗 AD 大鼠的海马蛋白质组学研究中,获取了宽筋藤治疗 AD 的直接证据。宽筋藤可以通过与 AD 作用密切相

关的 66 种差异蛋白,21 条信号通路干预 AD 病理进程。主要通过上调网格蛋白等与囊泡生成、转运及神经递质释放相关蛋白,促进神经递质的合成与释放,改善脑内胆碱能功能来达到干预 AD 的目的。

抗老年痴呆的中药单体、药用成分种类很多,从检索的文献中发现大多数研究多采用传统的蛋白质检测方法进行作用靶点鉴定,如阿里红多糖组分(FOPS-a, FOPS-b)^[44],金钗石斛生物碱^[45],肉苁蓉多糖^[46],天麻素^[47],黄芪甲苷^[48],小檗碱^[49],青蒿琥酯^[50],文冠果玉蕊型三萜皂苷^[51]等,这些中药成分未来都可以作为防治 AD 的候选药物。蛋白质组学在中药单体及中药有效成分治疗 AD 中的研究应用见表 1。

表 1 蛋白质组学在中药单体及中药有效成分治疗 AD 中的研究应用

Table 1 Application of proteomics in the treatment of AD with monomers and active components of traditional Chinese medicine

中药	动物模型或细胞	蛋白质组学技术	作用靶点或生物学通路	参考文献
黄芩素	Aβ ₁₋₄₂ 诱导 AD 大鼠	2-DE, MALDI-TOF-MS	翻译控制肿瘤蛋白, Rab GDP 解离抑制因子 α, 复合素-1, 钙结合蛋白, β-突触核蛋白, 钙网蛋白, 硫氧还蛋白-1, 磷酸吡哆醛磷酸酶	[24]
灯盏乙素	APP/PS1 转基因 AD 小鼠	iTRAQ, 2D-LC-MS	组蛋白, ATPase(β-2 型, α-2 型), Ip3R, NBC1, ATP 敏感内流型钾通道 2(Jx), MPT(ADP/ATP 转位 2), 电压力依赖 R 型钙通道 α-1E 型和 I 胶原蛋白(α-1 链与 α-2 链)	[26]
葛根素	Aβ ₁₋₄₂ 诱导 SH-SY5Y 细胞	Lable-free, LC-MS/MS	细胞凋亡、自噬调节、腺苷酸环化酶相关蛋白 1 与细胞外信号调节激酶 1/2 通路	[28]
β-细辛醚	APP/PS1 转基因 AD 小鼠	iTRAQ, 2D-LC-MS	组蛋白 H2A1-H 型, H2B1-F/J/L 型, H2B2-E 型	[30]
ICA+PNS	APP/PS1 转基因 AD 小鼠	TMT, LC-MS/MS	肿瘤坏死因子受体相关 3-相互作用蛋白 1, 2'-5'-寡腺苷酸合成酶泛素样 1 和毛蛋白角蛋白丝结合蛋白	[33]
FTS-B	APP/PS1 转基因 AD 小鼠	Lable-free, LC-MS/MS	WDFY1/TLR3, JIP3/JNK, ELKS/NF-κB 通路	[35]
VB	APP/PS1 转基因 AD 小鼠	Lable-free, LC-MS/MS	中脑星形胶质细胞源性神经营养因子、细胞色素 C 氧化酶亚基 7C 蛋白	[37]
蝙蝠葛碱	N2a/APP 细胞	2-DE, MALDI-TOF-MS	内质网应激相关蛋白、氧化应激相关蛋白、细胞骨架蛋白、分子伴侣、线粒体呼吸代谢相关蛋白和信号蛋白	[39]
覆盆子有效部位	去卵巢 AD 小鼠	Lable-free, LC-MS/MS	微管蛋白、囊泡运输相关蛋白、热休克蛋白、脑保护蛋白、能量代谢相关蛋白、肌动蛋白	[41]
宽筋藤有效部位	D-半乳糖联合 Aβ ₂₅₋₃₅ 所致 AD 大鼠	Lable-free, LC-MS/MS	Rho-GTPase 对细胞骨架调控通路, 趋化因子和细胞因子信号通路介导的炎症通路, 亨廷顿病通路, AD 通路, 烟碱乙酰胆碱受体信号通路等	[43]

5 蛋白质组学在中药复方防治 AD 中的应用

中药复方是中医治疗临床疾病的重要手段,是在辨证、立法的基础上选药配伍而成的,调节机体阴阳、寒热、虚实平衡,促使机体恢复健康状态。通过蛋白质组学深入探究中药复方药效机制,挖掘中药复方多成分、多靶点、多途径的分子机制,对临床防治 AD 具有重大意义。

参芪益智颗粒是由人参皂苷 Rg₁, 黄芪甲苷和

黄芩苷 3 种天然成分组成的中药复方^[52]。这 3 种成分具有抗炎、抗氧化、促进神经发生、神经保护等活性,这些也都是 AD 治疗的关键点。在我国,该药已被广泛应用于痴呆症的临床治疗,其在防治 AD 方面发挥了重要作用。AN 等^[53]从蛋白质层面探索了参芪益智颗粒抗痴呆的潜在机制。实验发现经参芪益智颗粒治疗后的 AD 小鼠脑内 Aβ 负荷和炎症反应明显减弱,蛋白组学分析结果提示参芪益智颗

粒调控了脑内27个蛋白的表达,根据生物学功能分为8类,涉及能量代谢,应激反应,去磷酸化,细胞骨架,DNA修复和转录,胞吞作用,轴突导向和细胞信号传导功能。蛋白质组学结果提示参芪益智颗粒改善认知障碍和改善神经病变的能力,是通过调节参与AD发病相关的多种过程实现的。

二精丸是出自于《圣济总录》中的经典方剂,由黄精、枸杞子2位味中药组成,具有滋阴养肾益智之功效。现代药理学认为二精丸及其构成的单味药黄精、枸杞子均具有显著的改善学习记忆、防治AD的作用^[54]。黄丽萍等^[55]采用蛋白质组学研究了二精丸对肾阴虚AD大鼠病理学基础的影响。结果发现二精丸治疗肾阴虚型AD的相关蛋白主要集中在磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路、雌激素信号通路、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路及胰岛素信号通路等。提示二精丸可能是通过上调AD大鼠雌激素水平、促进能量代谢、抑制神经细胞的凋亡从而达到治疗AD的作用。蛋白质组学结果为二精丸在分子水平上防治老年性痴呆提供了线索。

天芪益智颗粒是由红景天和红芪两位中药构成,许多研究表明,二者均具有较强的抗氧化和神经保护作用^[56]。刘美琪等^[57]首次采用蛋白质组学

分析了天芪益智颗粒改善AD的作用机制,成功鉴定了天芪益智颗粒调控AD大鼠大脑皮层和海马组织的33个差异表达蛋白,这些蛋白与神经细胞的氧化应激、能量代谢、信号转导及细胞骨架构成密切相关。蛋白质组学结果进一步证实了通过提高抗氧化能力、抑制神经细胞凋亡、加强神经传递是天芪益智颗粒逆转AD大鼠认知障碍的重要途径。

二至丸是临床补肾经方,由女贞子和墨旱莲两味药组成,其多种活性成分如槲皮素^[58]、红景天苷^[59]、齐墩果酸^[60]等均能改善AD大鼠学习记忆、延缓AD发展。梁梅亭等^[61]等尝试运用蛋白质组学技术解析二至丸治疗AD可能的作用机制。实验将筛选出的最佳有效剂量组即中浓度二至丸组与正常组组间比较,发现并鉴定出AD模型SAPM8小鼠海马组织中20个差异蛋白,其中10个蛋白上调,10个蛋白下调,结合珠蛋白(Hp)和电压依赖性阴离子选择通道蛋白2(Vdac2)是与AD发生联系紧密的关键蛋白。利用生物信息学对差异蛋白进行分析,其参与的生物学途径共69条,主要涉及代谢、程序性坏死、糖酵解/糖异生通路等。蛋白质组学结果为二至丸防治AD提供了科学依据。

蛋白质组学在中药方剂治疗AD中的研究应用见表2。

表2 蛋白质组学在中药方剂治疗AD中的研究应用

Table 2 Application of proteomics in treatment of AD with traditional Chinese medicine

中药方剂	动物模型或细胞	蛋白质组学技术	作用靶点或生物学通路	参考文献
参芪益智颗粒	APP/PS1转基因AD小鼠	2-DE, MALDI-TOF MS/MS	肌动蛋白-1,嗅觉标记蛋白,耳结合被膜相关蛋白1, DmX样蛋白1,鸟苷二磷酸解离抑制剂1蛋白等27个蛋白	[53]
二精丸	去卵巢+D-半乳糖联合Aβ ₁₋₄₂ 所致肾阴虚AD大鼠	Lable-free, LC-MS/MS	代谢通路、环鸟苷酸(cGMP)依赖性蛋白激酶信号通路、肾上腺素能信号通路、细胞增殖、多巴胺能通路等	[55]
天芪益智颗粒	Aβ ₁₋₄₂ 诱导AD大鼠	TMT, LC-MS/MS	苹果酸脱氢酶, ADP/ATP转位酶2, 神经束蛋白, 视神经萎缩相关蛋白1, 细胞凋亡诱导因子1及AD相关蛋白	[57]
二至丸	SABP8小鼠	iTRAQ, LC-MS/MS	结合珠蛋白、电压依赖性阴离子选择通道蛋白2	[61]

6 总结与展望

人体不同器官、组织、不同的生理病理状态,差异变化的主体都是蛋白质。研究机体器官、组织、生理病理状态下蛋白质的构成、表达差异、相互作用关系、生物学效应是把握疾病发病机制、指导临床诊疗的关键。蛋白质组学技术使蛋白质分析更具准确性、特异性、高效性,也使疾病诊断更加客观化、药物靶向治疗更加精准化。因此,蛋白质组学对AD期诊断、疾病发展、预后以及药物治疗效果的监测至关重要。对于蛋白质组学在AD防治方面的

应用,还有如下问题需要思考和探究,第一,完善、优化蛋白质组技术。尽管近年来蛋白质组学的研究取得了很大的进展,但仍具有局限性,存在如相同等电点的蛋白质难以分离,疏水性蛋白、不溶性膜蛋白和大分子量低丰度蛋白在检测过程中可能被忽略等问题。此外,笔者从实验动物组织和临床患者样本获得了大量蛋白质组数据,但是高质量数据较少,不同数据之间存在异质性,可重复性差,且检测成本相对较高。蛋白质组学技术需要不断地成熟与发展,优化检测手段,降低测序费用,以期推

进精准医学,促进药物研发。第二,多组学联合应用是AD疾病诊疗技术发展的必然趋势。基因组学是疾病发病机制研究的基础,对基因进行表征和定量的研究,从DNA水平发现与疾病相关的基因表型。转录组学是从RNA层面探寻基因的表达、转录调控的规律,是遗传信息和蛋白质组之间的分子联系纽带。代谢组学是以机体代谢物为研究对象,观察疾病发展过程、药物治疗过程中机体代谢的动态变化。促进蛋白质组学与这些先进组学技术的整合,加强联合组学在基础研究和临床实践中的应用,对从系统生物学角度全面展开对疾病本质的探索和对新型药物的开发更具有现实意义。

综上所述,蛋白质组学在AD的前期诊断和中医药防治研究方面发挥了重要作用,是中医药现代化不可缺少的技术手段,也为课题组下一阶段实验的开展提供研究平台。

[参考文献]

- [1] 许安萍,王鑫,韩丽,等. 电针对APP/PS1双转基因老年性痴呆模型小鼠认知能力及海马NMDARs表达的影响[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(8):2652-2657.
- [2] BERNARDINI S, ZIMA T. Alzheimer's disease: making the point[J]. Clin Biochem, 2019, 72: 1-2.
- [3] 梁华,王浩博,王燕,等. 蛋白质组学及其在中医精准医学与证候客观化研究中的应用[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(5): 8-11
- [4] 袁枝花,于潇,段雅迪,等. 蛋白质组学在中药作用靶点研究中的方法和应用[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(5):1034-1038.
- [5] 林虹君,张爱红,李高伟,等. 蛋白质组学在疾病研究中的应用[J]. 生物技术通讯, 2014, 25(3):425-428.
- [6] MEGGER D A, BRACHT T, MEYER H E, et al. Label-free quantification in clinical proteomics [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1834(8): 1581-1590.
- [7] ASLAM B, BASIT M, NISAR M A, et al. Proteomics: technologies and their applications [J]. J Chromatogr Sci, 2017, 55(2):182-196.
- [8] ZOU K, ABDULLAH M, MICHIKAWA M. Current biomarkers for Alzheimer's disease: from CSF to blood [J]. J Pers Med, 2020, 10(3): 85.
- [9] KHOONSARI P E, HÄGGMARK A, LÖNNBERG M, et al. Analysis of the cerebrospinal fluid proteome in Alzheimer's disease [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150672.
- [10] SATHE G, NA CH, RENUSE S, et al. Quantitative proteomic profiling of cerebrospinal fluid to identify

candidate biomarkers for Alzheimer's disease [J]. Proteomics Clin Appl, 2019, doi: 10.1002/prca. 201800105.

- [11] PARK S A, JUNG J M, PARK J S, et al. SWATH-MS analysis of cerebrospinal fluid to generate a robust battery of biomarkers for Alzheimer's disease [J]. Sci Rep, 2020, 10(1):7423.
- [12] WHELAN C D, MATTSSON N, NAGLE M W, et al. Multiplex proteomics identifies novel CSF and plasma biomarkers of early Alzheimer's disease [J]. Acta Neuropathol Commun, 2019, 7(1):169.
- [13] KITAMURA Y, USAMI R, ICHIHARA S, et al. Plasma protein profiling for potential biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer's disease [J]. Neurol Res, 2017, 39(3):231-238.
- [14] KUMAR A, SINGH S, VERMA A, et al. Proteomics based identification of differential plasma proteins and changes in white matter integrity as markers in early detection of mild cognitive impaired subjects at high risk of Alzheimer's disease [J]. Neurosci Lett, 2018, 676:71-77.
- [15] GLEERUP H S, HASSELBALCH S G, SIMONSEN A H. Biomarkers for Alzheimer's disease in saliva: a systematic review [J]. Dis Markers, 2019, 2019: 4761054.
- [16] WATANABE Y, HIRAO Y, KASUGA K, et al. Molecular network analysis of the urinary proteome of Alzheimer's disease patients [J]. Dement Geriatr Cogn Dis Extra, 2019, 9(1):53-65.
- [17] GOWRISHANKAR S, YUAN P, WU Y, et al. Massive accumulation of luminal protease-deficient axonal lysosomes at Alzheimer's disease amyloid plaques [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(28): E3699-E3708.
- [18] ASHTON N J, IDE M, ZETTERBERG H, et al. Salivary biomarkers for Alzheimer's disease and related disorders [J]. Neurol Ther, 2019, 8(Suppl 2): 83-94
- [19] 戎志斌. 基于“肝郁气滞—内质网应激关联”新假说新靶点的老年性痴呆中药干预研究[D]. 武汉:湖北中医药大学, 2013.
- [20] 刘莉. 脾阴虚痴呆大鼠海马蛋白质组学及滋补脾阴方干预的实验研究[D]. 大连:大连医科大学, 2007.
- [21] 马福云. 补肾方治疗阿尔茨海默病的机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2018.
- [22] 蒋美艳. 益智健脑颗粒干预SAMP8小鼠海马的差异蛋白质表达的研究[D]. 长沙:中南大学, 2007.
- [23] 余诗强,蒋林树,熊本海. 黄芩素结构与生物学功能

- 关系研究进展[J]. 动物营养报, 2021, doi: 11. 5461. S. 20210219. 1124. 005.
- [24] 王文潇. 黄芩素对AD大鼠早期干预作用的差异蛋白质研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2016.
- [25] 葛文秀, 罗云, 谢学恒, 等. 灯盏花乙素药理作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(22): 193-200.
- [26] 郭莉莉, 敖俊文, 于燕妮. 灯盏乙素调节APP^{swc}/PS^{ΔE9}双转基因小鼠模型脑组织中差异蛋白的作用研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(11): 2618-2621.
- [27] 杨碧穗, 黄秋连, 谢璐欣, 等. 葛根分子生物学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(9): 2149-2157.
- [28] 张林, 方德宇, 柳春, 等. 基于蛋白质组学研究葛根素逆转A β_{1-42} 损伤SH-SY5Y细胞的机制[J]. 中国中药杂志, 2021, doi: 10. 19540/j. cnki. cjcm. 20210201. 403.
- [29] 徐飞飞, 李钦青, 楚世峰, 等. 石菖蒲挥发油中主要成分 α -和 β -细辛醚的神经药理学作用及机制研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(11): 1969-1979.
- [30] 郭莉莉, 王豫君, 敖俊文, 等. β -细辛醚对APP^{swc}/PS1^{dE9}双转基因小鼠脑组织中差异蛋白表达的影响[J]. 第二军医大学学报, 2017, 38(10): 1286-1292.
- [31] 杨洋, 尹程程, 陈昊媛, 等. 不同品种淫羊藿黄酮类有效成分的主成分分析及对肾阳虚大鼠保护作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(2): 179-187.
- [32] 贺旭, 汤艳, 陈小语, 等. 三七总皂苷对卒中后抑郁模型大鼠学习记忆的影响及其作用机制[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2020, 29(8): 719-724.
- [33] ZHANG T, DONG K, XIAO L, et al. Effects of co-administration of icariin and *Panax notoginseng* saponins on intestinal microbiota and hippocampal protein expression in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2020, 16: 2169-2179.
- [34] KONG F, JIANG X, WANG R, et al. Forsythoside B attenuates memory impairment and neuroinflammation via inhibition on NF- κ B signaling in Alzheimer's disease[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 305.
- [35] 孔繁格. 连翘酯苷B对阿尔兹海默症的保护作用及其相关机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2020.
- [36] XIA D, ZHANG Z, ZHAO Y. Acteoside attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis in rats with focal cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Biol Pharm Bull, 2018, 41(11): 1645-1651.
- [37] 蔡雪莹. 毛蕊花糖苷对阿尔兹海默症保护作用的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2020.
- [38] 张英博, 费洪新, 郭家, 等. 蝙蝠葛碱对阿尔兹海默病小鼠海马晚期糖基化终产物受体和核转录因子- κ Bp65的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(19): 4697-4700.
- [39] LIU P, CHEN X, ZHOU H, et al. The Isoquinoline alkaloid dauricine targets multiple molecular pathways to ameliorate Alzheimer-like pathological changes *in vitro* [J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, doi: 10. 1155/2018/2025914.
- [40] 夏轩轩, 李昆, 丁研华, 等. 覆盆子及有效部位对老年大鼠学习记忆能力的影响及机制初探[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(3): 110-113.
- [41] 侯敏, 傅应军, 刘超, 等. 覆盆子有效部位对去卵巢AD小鼠海马蛋白组学影响研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(15): 2895-2900.
- [42] 邓姣, 韦益飞, 何堃, 等. 宽筋藤有效部位对D-半乳糖+A β_{25-35} 所致AD大鼠药效学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(5): 553-559.
- [43] 孙梦盛, 韦益飞, 何堃, 等. 宽筋藤有效部位对D-半乳糖联合A β_{25-35} 所致AD大鼠海马蛋白组学的影响[J]. 中国药理学杂志, 2020, 55(1): 19-25.
- [44] 李珍. 阿里红多糖组分对APP/PS1双转基因小鼠行为学的影响与机制研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2020.
- [45] 贺希. 金钗石斛生物碱对APP/PS1小鼠大脑皮层内表观修饰的影响[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2020.
- [46] 苗鑫, 张晓菲, 邢海燕, 等. 肉苁蓉多糖的BDNF乙酰化修饰对AD损伤模型的保护作用研究[J]. 神经药理学报, 2018, 8(6): 41-42.
- [47] 林志川, 文国强, 吕艳, 等. 天麻素对阿尔茨海默症大鼠神经保护作用的研究[J]. 广西医科大学学报, 2020, 37(8): 1435-1441.
- [48] 赵启跃, 姚遥, 郑萍, 等. 黄芪甲苷对阿尔茨海默症小鼠脑内氧化应激和NADPH氧化酶蛋白表达的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2018, 40(11): 1241-1244, 1249.
- [49] 龚琼, 欧阳雅帆, 黄艳露, 等. 小檗碱体外对三转基因阿尔茨海默症小鼠海马神经元内质网应激及凋亡的影响[J]. 山东医药, 2018, 58(36): 54-57.
- [50] 陈曦, 江楠, 王美美, 等. 青蒿琥酯对阿尔茨海默症模型大鼠学习记忆的改善作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23(10): 1097-1102.
- [51] 张雅欣, 路肖, 肖碧灵, 等. 文冠果抗阿尔茨海默症的研究进展及应用前景[J]. 药物评价研究, 2018, 41(5): 912-917.
- [52] 秦莉霞, 魏江平, 高丽娟, 等. 参芪益智颗粒对APP/PS1转基因小鼠LRP1和RAGE蛋白表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(5): 96-101.
- [53] AN H, WEI D, QIAN Y, et al. SQYZ granules, a traditional Chinese herbal, attenuate cognitive deficits

- in AD transgenic mice by modulating on multiple pathogenesis processes[J]. Am J Transl Res, 2018, 10(11):3857-3875.
- [54] 燕波. 二精丸防治阿尔茨海默病的物质基础与作用机制研究[D]. 南昌:江西中医药大学, 2019.
- [55] 黄丽萍, 杨喜洋, 燕波, 等. 二精丸对去卵巢+D-半乳糖联合 $A\beta_{1-40}$ 所致肾阴虚 AD 大鼠海马蛋白质组学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(9):15-22.
- [56] 张佳佳, 孟繁兴, 马涛, 等. 天芪益智颗粒对阿尔茨海默病模型大鼠炎症反应的保护作用[J]. 环球中医药, 2017, 10(7):788-791.
- [57] 刘美琪, 卫东锋, 马涛, 等. 天芪益智颗粒对 $A\beta_{1-42}$ 诱导的阿尔茨海默病大鼠学习记忆能力及蛋白质组的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(6):42-50.
- [58] 李阳杰, 姜亚玲, 刘秋伟, 等. 槲皮素衍生物的生物活性研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(3):175-180.
- [59] 胡月, 张庆镐, 曾常茜. 红景天苷对神经退行性疾病保护作用的实验研究进展[J]. 中国中医药科技, 2021, 28(3):518-519.
- [60] 宋宛珊, 张玉莲, 孙伟明, 等. 齐墩果酸唤醒阿尔兹海默病大鼠海马沉默突触作用及机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(9):3471-3474.
- [61] 梁梅亭, 朱宏, 任丹, 等. 二至丸对 SAMP8 小鼠行为学及海马蛋白质组表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(12):1469-1476.

[责任编辑 王鑫]

·书讯·

探讨中医正骨手法治疗尺桡骨双骨折患者的临床疗效 ——评《平乐正骨手法学》

尺桡骨骨折是临床上常见骨折,多发生于青少年,由于功能解剖关系复杂,尺桡骨骨干骨折后常发生明显移位,给临床工作带来困难。若治疗不当,常出现骨折的畸形愈合或不愈合,遗留前臂旋转功能障碍,导致残疾。中医正骨手法中根据受伤机制以骨折远端或近端为轴心进行回旋手法,疗效显著,在《平乐正骨手法学》中有较详细的介绍。

《平乐正骨手法学》由高泉阳,鲍铁周,郭珈宜编写,中国中医药出版社2018年出版。全书上、中、下三篇共十五章。上篇总论共六章,重点阐述洛阳平乐正骨手法发展概况、学术思想、诊疗原则等内容。中篇平乐正骨诊治手法共五章,重点介绍了平乐正骨检查手法、复位手法、治筋手法等内容,附以应用举例等对手法进行了详尽介绍。下篇骨科常见病手法治疗共四章,对常见骨折、关节脱位、关节错缝及骨伤杂病的手法治疗进行了详细阐述。

书中第十二章第一节主要介绍了中医正骨手法治疗尺桡骨双骨折患者情况,在治疗方法中着重介绍了中医正骨手法。具体治疗如下:上段双骨折多为横断形骨折,若远折端移位的方向一致,采用牵拉提按推挤复位法或折顶复位法,患者仰卧,肩外展 50° ,肘关节屈曲 100° ,前臂中立位。一助手固定上臂下段,另一助手牵拉前臂下端。术者立于患侧,先摸清骨折断端,在上、下助手用力牵拉的同时,按压远折端,使之接近折端复位。复位后,术者持两骨折端,令牵前臂的助手,沿前臂纵轴推顶,使远折端向上,远、近两折端相嵌插,以达到复位牢固的目的。同一水平的桡尺骨中段双骨折:多为斜形骨折,移位方向一致。两骨折端不在同一水平,多为桡骨骨折线在上,为横断形或锯齿形骨折;尺骨骨折线在下,为斜形骨折。桡尺骨两骨折移位方向多不一致,呈桡骨远端向前,尺骨远折端向后移位或桡骨远折端向后,尺骨远折端向前移位,或桡骨远折端向内尺骨远折端向外移位,或桡骨远端向外,尺骨远折端向内移位对此种类型的骨折,桡骨为横断形,尺骨为斜形的骨折,采用牵拉推挤提按复位法,患者体位及助手同上,肘关节屈曲 90° ,前臂中立位,术者立于患侧,在上、下用力牵拉的同时,先推按桡骨远折端而复位,然后以提按法捏对尺骨;若桡骨骨折端为锯齿形,用上法不能复位时,采用旋转驳搓法配合牵拉推挤提按复位法或折顶复位法,在臂丛麻醉下进行,患者体位同上,一助手固定上臂下段,另一助手扶持患腕,术者一手持桡骨骨折近折端,另一手持远折段,在肌肉松弛的情况下,使远折端与近折端紧密靠拢,然后使远折端围绕近折端由外前向后,或由内前向后旋转,当旋至外后侧或内后侧时,再进行牵拉推挤或提按复位。此型骨折复位后,折端即非常稳定,一般摇摆也不会再移位,然后再捏对尺骨合榫复位。中医在处理骨伤时,正骨通常为重要手段,为医师基本功,在对新鲜的移位骨折处理时,需对移位机制明确后,确定复位方法。只有对骨折移位机制明确,才可合理、巧妙地制订复位方法。对骨折移位的整复手法包括分骨、拔伸、折顶、旋转、纵压、挤按,合称基本手法分析小儿前臂双骨折临床特点,以间接暴力引发居多,儿童跌倒时,通常手部着地,暴力首先传至桡骨,身体侧旋转至尺骨和肱骨,诱导尺骨骨折。于尺桡骨起止的有旋前方肌、肱二头肌、旋后肌、旋前圆肌,因尺桡骨骨折,在一定程度上影响了上述肌肉、骨膜平衡固定及手法复位时,需对上述因素予以考虑。对小儿前臂双骨折实施整复操作,需由术者在牵引下行分骨处理,使骨间膜的间距得以恢复和保持,在此前提下,完成复位操作。引发骨折移位的力具体为肢体重力、肌肉牵拉力、外力,外伤的作用在损伤过程结束时也消失,但肢体重力和肌肉牵拉力仍发挥作用,需对有害影响加以克服,将有害且消极的因素向积极的促骨折整复相关因素转变。

《平乐正骨手法学》具有较强的系统性、创新性、实用性和科学性,丰富和完善了中医骨伤疾病诊疗体系,体现了平乐正骨中西并重、兼收并蓄、与时俱进的时代性和先进性。

(作者王锐利,袁琴优,周子延,金玲华,金铨,张巧利,顾仁鹏*,台州骨伤医院,浙江 台州 317500)