

· 综述 ·

经典名方及其有效成分调节免疫衰老的作用机制研究进展

涂玥^{1,2}, 倪光夏¹, 万毅刚^{2*}, 黄煌^{3*}, 刘不悔⁴, 房其军⁵, 王美子⁵, 陈佳鑫⁵,
岳靛¹, 李姿霖¹, CHONG Fee-lan⁶

(1. 南京中医药大学 针灸推拿学院, 养生康复学院, 南京 210023;
2. 南京大学医学院 附属鼓楼医院, 南京 210008; 3. 南京中医药大学 国际经方学院, 南京 210023;
4. 南京中医药大学 附属医院, 南京 210029; 5. 南京中医药大学 鼓楼临床医学院, 南京 210008;
6. School of Pharmacy, Management and Science University, Shah Alam 40100, Malaysia)

[摘要] 伴随着机体衰老,免疫系统会发生一系列变化。这一类衰老相关性免疫系统改变被称为“免疫衰老”,其病变主要表现在细胞免疫上。研究表明,参与调节免疫衰老的免疫细胞包括固有免疫细胞和适应免疫细胞,前者包括“中性粒细胞、单核/巨噬细胞、髓样抑制细胞、树突状细胞及自然杀伤细胞”等,其作用机制涉及细胞数量、吞噬能力、趋化性、黏附力及Toll样受体(TLR)功能、抗原提呈能力、巨噬细胞极化、细胞毒性、迁移能力等;后者包括“T淋巴细胞和B淋巴细胞”等,其作用机制涉及细胞发育、增殖、分化能力、细胞数量、端粒酶活性、自身反应性抗体等。免疫衰老不仅是机体衰老的体现,更是中、西药物延缓衰老的重要靶标。近年来,国内外中医药学者相继发现一些经典名方(简称“经方”)及其有效成分,如独参汤及其有效成分人参总皂苷、生脉饮及其有效成分安五脂素、人参茎叶总皂苷等,能够靶向免疫细胞,干预其分子调控机制,进而发挥调节免疫衰老的作用。此外,经方调节免疫衰老还与自噬密切相关。“祛瘀生新法”代表性经方——大黄廑虫丸能延缓D-半乳糖诱导的小鼠肾脏衰老,其作用机制不仅在于调节胸腺免疫细胞数量和活性,还能改善肾脏中自噬标志性蛋白和炎症性细胞因子的表达。因此,“基于免疫衰老的作用机制探究经方及其有效成分的干预效果”将会成为抗衰老药物研究和开发的新方向。

[关键词] 免疫衰老; 经典名方; 免疫细胞; 作用机制

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)18-0190-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211705

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210719.1808.008.html>

[网络出版日期] 2021-07-20 11:20

Mechanisms of Classical Prescriptions and Their Active Components in Immunosenescence Regulation: A Review

TU Yue^{1,2}, NI Guang-xia¹, WAN Yi-gang^{2*}, HUANG Huang^{3*}, LIU Bu-hui⁴, FANG Qi-jun⁵,
WANG Mei-zi⁵, CHEN Jia-xin⁵, YUE Liang¹, LI Zi-lin¹, CHONG Fee-lan⁶

(1. School of Acupuncture and Tuina, School of Health and Rehabilitation, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Nanjing Drum Tower Hospital, The Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China; 3. School of International Classical Prescription, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 4. Affiliated Hospital of

[收稿日期] 20210430(010)

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81603675);国家自然科学基金面上项目(81573903);江苏省自然科学基金青年科学基金项目(BK20161046);中央高校基本科研业务费专项项目(021414380518);江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD);南京中医药大学中医学优势学科三期项目开放课题(ZYX03KF016);江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX20_1546);南京市名中医专家工作室建设项目

[第一作者] 涂玥,博士,助理研究员,从事中药及其有效成分延缓脏器衰老的基础研究,E-mail:tuyue@njucm.edu.cn

[通信作者] * 万毅刚,博士,教授,博士生导师,从事中医药诊治慢性肾脏病的临床和基础研究,Tel:025-83106666-20806,E-mail:wyg68918@sina.com;* 黄煌,博士,教授,博士生导师,从事中医经方研究,E-mail:hhuang54@163.com

Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 5. Nanjing Drum Tower Hospital
Clinical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210008, China;
6. School of Pharmacy, Management and Science University, Shah Alam 40100, Malaysia)

[Abstract] As the body ages, the immune system will undergo a series of changes, which are termed "immunosenescence" and are embodied in immune cells. Previous studies have shown that the immune cells involved in the regulation of immunosenescence include intrinsic immune cells and adaptive immune cells. Intrinsic immune cells are neutrophils, monocytes/macrophages, myeloid-derived suppressor cells, dendritic cells, natural killer cells, etc., and the underlying mechanisms involve the regulation of cell number, phagocytosis, chemotaxis, adhesion, the function of toll-like receptor (TLR), antigen presentation, macrophage polarization, cytotoxicity, migration, etc. The adaptive immune cells include T-lymphocytes and B-lymphocytes, and the underlying mechanisms involve the regulation of cell development, proliferation, differentiation, cell number, telomerase activity, self-reactive antibodies, etc. Immunosenescence is the manifestation of aging in the human body and is also an important target for delaying aging by Chinese medicine and western medicine. In recent years, scholars have found some classical prescriptions and their active components (such as Dushentang and total saponins in *Panax ginseng* leaves, and Shengmai Yin and anwuligan and total saponins in *P. ginseng* stems and leaves) can regulate immunosenescence by targeting the immune cells and interfering with their molecular regulatory mechanisms. In addition, the mechanisms of the classical prescriptions in regulating immunosenescence are closely related to autophagy. The representative prescription embodying the therapeutic principles of resolving blood stasis and promoting regeneration, Dahuang Zhechongwan, can delay D-galactose-induced renal aging in mice, and its underlying mechanisms are related to the regulation of the number and activity of thymic immune cells and improvement of the protein expression of autophagy-related markers and inflammatory cytokines in the kidney. Therefore, exploring the effects of the classical prescriptions and their active components by targeting the mechanisms of immunosenescence will become a new direction for investigating and developing anti-aging drugs.

[Keywords] immunosenescence; classical prescriptions; immune cells; mechanisms

随着年龄的增长,免疫细胞的数量和活性都会逐渐降低,进而导致组织、器官出现功能衰退,机体表现出衰老状态。因此,免疫细胞和干细胞一样在机体衰老过程中发挥着关键性作用;靶向免疫细胞探究延缓衰老的方法也成为国内外抗衰老领域研究的热点^[1-2]。研究表明,衰老机体的免疫系统所发生的一系列变化包括“退化、代偿或重建”,进而诱导机体出现感染、自身免疫性疾病或癌症等多种疾病。近年来,这一类衰老相关性免疫系统改变被称为“免疫衰老”^[2],其病变主要表现在细胞免疫上。国内外学者认为,调节免疫衰老是靶向免疫细胞,一方面促进活性免疫细胞生成,替换衰老和受损的细胞;另一方面,激活内源性免疫细胞,增强细胞活性,修复受损细胞,使其发挥抗衰老的潜在作用。因此,针对免疫衰老及其细胞免疫的改变进行干预有可能建立抗衰老的新策略^[3]。免疫细胞可分为固有免疫细胞和适应免疫细胞。固有免疫细胞包括

“中性粒细胞、单核/巨噬细胞、髓样抑制细胞、树突状细胞及自然杀伤细胞”等。这类免疫细胞参与固有免疫系统,是机体抵御病原微生物侵袭的第一道防线,提供快速、大范围、非特异性的保护。适应免疫细胞包括“T淋巴细胞和B淋巴细胞”等。这类免疫细胞参与适应免疫系统,是机体在与抗原物质接触后而获得的特异、可记忆、可传递、自限性的保护^[4]。最新的研究显示,衰老的免疫细胞是最危险的衰老细胞类型,不但会诱导免疫系统以外的其他器官的衰老,而且能促进全身性衰老^[5]。因此,免疫衰老是中、西药物延缓衰老的重要靶标。

URSINI等^[6]报道,二甲双胍能够通过调节辅助性T淋巴细胞17与调节性T淋巴细胞的平衡,促进巨噬细胞极化,合成细胞因子,释放中性粒细胞胞外杀菌网络,减少细胞外基质,进而发挥调节免疫衰老的作用;ROSTAMZADEH等^[7]报道,雷帕霉素能够刺激免疫细胞,诱导病毒特异性记忆CD8⁺T淋

巴细胞分化,维持体内稳态,促进自然杀伤细胞增殖、成熟,进而延缓免疫衰老。YOUSEFZADEH等^[5]报道,对于选择性删除小鼠造血细胞切除修复交叉互补基因1(Ercc1)而建立的内源性DNA损伤诱导的免疫细胞衰老模型,雷帕霉素不仅能清除衰老的免疫细胞,而且能提高模型鼠免疫功能。研究者认为,靶向干预衰老的免疫细胞是延缓全身性衰老的重要方法。此外,国内中医药学者相继发现,一些经典名方(简称“经方”)及其有效成分能够靶向免疫细胞,干预其分子调控机制,进而发挥调节免疫衰老的作用^[8-9]。笔者团队的前期研究发现,大黄廬虫丸能延缓D-半乳糖诱导的小鼠肾脏衰老,其机制可能涉及免疫衰老和自噬的相互作用。因此,笔者基于免疫衰老的作用机制而综述经方及其有效成分的干预效果,为经方抗衰老的药物研究和开发提供新思路。

1 中性粒细胞与免疫衰老及中药的干预效果

血液中的白细胞——中性粒细胞是针对细菌、酵母和真菌感染的主要免疫细胞,在机体非特异性免疫系统中发挥重要作用。研究表明,与年轻人相比,中性粒细胞前体在老年人骨髓中的增殖数量明显减少,因此,中性粒细胞的减少被认为是老年人感染性事件增加的主要原因^[10]。在衰老过程中,循环血中的中性粒细胞数目基本保持稳定,但是,由于细胞信号失调、细胞半衰期缩短,中性粒细胞会出现吞噬率降低、趋化性能下降,黏附力和凋亡增加以及中性粒细胞胞外杀菌网络(NETs)释放异常,Toll样受体(TLR)功能紊乱等一系列免疫衰老表现^[11-13]。

“独参汤”出自《十药神书》^[14-15]。由单味人参组成,功效为“大补元气、回阳固脱、养血补血”,其有效成分是人参叶总皂甙(GS)^[16]。张克坚等^[17]观察了GS对老龄大鼠中性粒细胞吞噬和抗衰老功能的影响。结果显示,与2月龄的低龄大鼠相比,20月龄老龄大鼠的中性粒细胞吞噬率、产生超氧阴离子和一氧化氮的能力均明显降低;给予不同剂量的GS干预后,其中性粒细胞吞噬率和抗氧化指标均得到改善,其中,高剂量GS能明显增加超氧阴离子和一氧化氮的含量。因此,研究者推测,GS通过改善老龄大鼠中性粒细胞吞噬率和抗氧化能力而发挥抗衰老作用。

“地黄饮子”出自《黄帝内经·素问·宣明论方》^[14-15]。“加味地黄饮子”由地黄饮子化裁而来,由熟地黄、山茱萸、麦冬、石菖蒲、远志、肉苁蓉、肉桂、五味子、石斛、巴戟天、薄荷等组成,功效为“开窍、

化痰、补肾、活血”^[18]。高山等^[19]观察了加味地黄饮子对自然衰老大鼠免疫功能的影响。结果显示,经加味地黄饮子干预的大鼠在Morris水迷宫实验前5 d的逃避潜伏期较老年组大鼠明显缩短;胸腺、脾脏的器官指数明显提高;免疫器官的萎缩得到缓解;外周血中性粒细胞比例上升。因此,研究者推测,加味地黄饮子通过干预老龄的免疫器官和中性粒细胞数量而发挥延缓免疫衰老作用。

2 单核/巨噬细胞与免疫衰老及中药的干预效果

游离于血液中的单核细胞和存在于组织内的巨噬细胞均来源于骨髓干细胞,单核/巨噬细胞是机体抗感染免疫的主要效应细胞。在机体受到感染后,单核/巨噬细胞能识别并吞噬、杀伤、清除病毒和细菌等病原体,也能通过分泌炎症性细胞因子而介导和促进炎症反应,发挥免疫杀伤、加工和提呈抗原等作用^[20]。巨噬细胞分为经典活化的巨噬细胞(M1型)和选择性活化的巨噬细胞(M2型)。M1型巨噬细胞极化具有促进炎症和清除病原体等作用;M2型巨噬细胞极化具有抑制炎症、修复组织损伤、促进血管再生等作用^[21]。研究显示,在衰老过程中,巨噬细胞的比例、趋化性、抗原提呈能力和吞噬作用均会下降,而M2型巨噬细胞极化现象增多,同时,TLR信号通路及其效应功能受损,可能诱导机体炎症应答能力降低,抗原提呈能力下降。基于这些衰老相关的单核/巨噬细胞改变,老年人对疾病的易感性明显增加^[9]。

“生脉饮”出自《医学启源》^[14-15]。由人参、麦冬、五味子等组成,功效为“益气养阴,复脉定悸”^[22]。五味子是生脉饮的主要组成之一,其有效成分为五味子木脂素。LI等^[23]观察了五味子木脂素的单体化合物安五脂素调节衰老模型鼠免疫功能的作用。结果显示,不同剂量的安五脂素均能增加衰老模型鼠血清白细胞介素(IL)-2,IL-4, γ 干扰素(IFN- γ)以及免疫球蛋白G(IgG),IgM,IgA的含量,降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和IL-6的含量,并增加外周血巨噬细胞的吞噬活性;此外,安五脂素还能增加脾脏超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性,降低丙二醛(MDA)和8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的含量,上调B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)的表达,下调半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)和Bcl-2相关X蛋白(Bax)的表达。因此,研究者推测,安五脂素能通过干预免疫相关的炎症因子、氧化应激和细胞凋亡而发挥调节免疫衰老的作用。

人参也是生脉饮的主要组成之一。刘佳等^[24]研究了人参有效成分人参茎叶总皂苷对衰老小鼠免疫功能的影响。结果表明,不同剂量的人参茎叶总皂苷干预D-半乳糖诱导的衰老模型鼠后,其胸腺指数上升;在中等剂量组中,其巨噬细胞吞噬率明显升高;在中、低剂量组中,其巨噬细胞吞噬指数显著上升。因此,研究者推测,人参茎叶总皂苷通过增加胸腺重量,提高巨噬细胞吞噬能力,改善免疫功能,进而发挥延缓免疫衰老的作用。

“人参鹿茸丸”出自《圣济总录纂要》^[14-15]。以人参鹿茸丸为基础方而组成的抗衰老复方“Vigconic VI-28”由人参、鹿茸、冬虫夏草、丹参、枸杞子、韭菜子、蛇床子和吴茱萸等组成,功效为“滋肾生精,益气补血”^[25]。LEE等^[26]研究了Vigconic VI-28调节免疫衰老的作用。体外研究表明,Vigconic VI-28呈剂量依赖性地抑制经脂多糖诱导的人外周血单核细胞(PBMC)增殖,其作用因药物浓度而异;当质量浓度 $<1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时会增强植物血凝素诱导的PBMC增殖;当质量浓度 $\geq 0.4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时能促进免疫相关细胞因子IL-8,IL-10,IL-12及IL-1 β 的释放,并呈剂量依赖性地增强巨噬细胞的吞噬作用和单核细胞源性过氧化氢的释放。因此,研究者推测,Vigconic VI-28是一种潜在的免疫调节剂,能通过干预免疫细胞及其免疫相关细胞因子而发挥调节免疫衰老的作用。

3 树突状细胞与免疫衰老及中药的干预效果

树突状细胞(DCs)是体内功能最强的抗原提呈细胞(APC),参与诱导、建立和调节抗原特异性免疫反应。DCs的主要功能是摄取、加工、处理和提呈抗原,刺激初始T淋巴细胞活化、增殖,启动适应性免疫应答。因此,DCs是沟通固有免疫和适应免疫的主要桥梁^[27]。成熟DCs可分为浆细胞样树突状细胞(pDC)和髓样树突状细胞(mDC)等2个亚群。研究显示,在老年人群中,其循环血pDC的数量下降,提呈抗原能力降低,对抗感染的免疫防御受损^[28]。此外,循环血中CD1c⁺mDC亚群作为CD4细胞应答的主要诱导因子,在衰老过程中,其基因转录谱发生了特征性变化,与健康年轻人相比,健康老年人CD1c⁺mDC亚群中的大多数基因随着年龄的增长而上调,尤其是葡萄糖转运蛋白,G蛋白偶联受体和钾通道相关基因的高表达。这些变化表明健康老年人DCs的激活明显增强^[29]。

“玉屏风散”出自《丹溪心法》^[14-15]。由黄芪、白术、防风等组成,功效为“补肺益气,益卫固表”^[30]。WANG等^[31]观察玉屏风散对特应性皮炎模型鼠

DCs免疫功能的影响。结果显示,对于异硫氰酸荧光素(FITC)诱导的特应性皮炎(AD)模型鼠,其体内活性DCs明显减少,而玉屏风散煎液能提高CD11c⁺/CD40⁺/CD86⁺阳性细胞数(活性DCs)及其比例。傅晓燕等^[32]观察玉屏风散主要组分黄芪抗脑细胞衰老的作用。结果表明,对于20月龄的自然衰老大鼠模型,黄芪配方颗粒灌胃能改善模型鼠脑组织氧化应激状态,减少脑神经损害,提高自然衰老大鼠的大脑认知功能。LI等^[33]发现,黄芪有效成分异甘草素和甘草素对脂多糖(LPS)诱导的骨髓源性树突状细胞(BMDC)及其免疫相关细胞因子IL-6和IL-12 p40具有明显的抑制作用;异甘草素对LPS诱导的TNF- α 也有一定的抑制作用。因此,研究者推测,玉屏风散能通过干预DCs而延缓免疫衰老。

4 自然杀伤细胞与免疫衰老及中药的干预效果

自然杀伤(NK)细胞是由CD3⁻,CD16⁺,CD56⁺表型所定义的毒性淋巴细胞群,主要通过产生各种效应细胞因子和直接的细胞毒性作用而发挥免疫保护功能。研究显示,在健康老年人群中,NK细胞数量从青年到老年总体呈增加趋势,中年略有降低,单个细胞功能或有降低,但总体功能保持稳定水平,其中,CD56^{bright} NK细胞数目减少,而CD56^{dim} NK细胞数目增加。这里,NK细胞表型改变导致激活性受体减少,因此,老年人体内NK细胞的毒性作用降低^[34]。此外,在老年人群中,其NK细胞数目的变化与体质指数呈正相关,而CD56^{bright} NK细胞数目与C反应蛋白水平呈负相关,说明慢性炎症参与了老年机体的免疫过程^[35]。IL-2主要是T淋巴细胞分泌的炎症细胞因子,可以促进T淋巴细胞增殖,增强NK细胞的毒性作用。然而,随着年龄增长,NK细胞对IL-2的增殖反应性减低,受刺激后所产生的炎症细胞因子减少,而抗炎细胞因子增加^[36]。研究显示,减弱的NK细胞毒性作用和迁移能力易导致感染、心脑血管疾病和死亡^[37-38]。

“肉苁蓉丸”出自《丹溪心法》^[14-15]。由肉苁蓉、山茱萸等组成,功效为“壮元气,养精神”^[39]。肉苁蓉是肉苁蓉丸的主要组成之一。ZHANG等^[40]研究了肉苁蓉提取物(ECD)对8月龄雄性快速老化小鼠(SAM-P8)寿命和免疫功能的影响,并与快速老化抵抗小鼠1(SAM-R1)相对照。研究者发现,不同剂量的ECD能呈剂量依赖性延长小鼠寿命,还能显著增加其外周血NK细胞数量,降低促炎细胞因子IL-6含量。因此,研究者认为,ECD通过抑制免疫衰老而延长寿命。张涛等^[41]研究了肉苁蓉总苷抗

衰老作用的免疫学机制。结果显示,*D*-半乳糖诱导的衰老模型小鼠的免疫功能明显下降,表现为NK细胞活性降低;肉苁蓉总苷能在体内改善其活性。因此,研究者推测,肉苁蓉总苷通过增强衰老小鼠的NK细胞活性而发挥调节免疫衰老作用。

5 T淋巴细胞与免疫衰老及中药的干预效果

T淋巴细胞产生于胸腺,通过识别特异性抗原而发生活化、增殖、分化,并通过不同的细胞亚群产生不同的免疫学效应,从而在清除细胞内病原体感染,排斥同种异体移植物以及抗肿瘤免疫反应中发挥重要作用^[42]。研究表明,随着机体衰老,胸腺逐渐退化,T淋巴细胞的发育、分化、成熟出现障碍,胸腺向外周输出幼稚T淋巴(naïve T)细胞数目减少,CD27和CD28的表达量降低,CD57,杀伤细胞凝集素样受体G(KLRG)-1,T细胞免疫球蛋白黏蛋白(Tim)-3和CD45RA等的表达量升高,细胞增殖能力减退,进而出现端粒缩短、端粒酶活性下降等衰老特征^[43-44];此外,还出现记忆性T淋巴细胞增多,IL-2产生减少,对抗新抗原的免疫应答水平降低等变化^[45-46]。T淋巴细胞可分为CD4⁺和CD8⁺等2种亚型。伴随着衰老,CD8⁺细胞数量增加,而CD4⁺/CD8⁺降低。此外,衰老的T淋巴细胞还会出现CD28(共刺激分子)表达减少^[47]。此外,伴随着衰老,调节性T细胞(Treg)和辅助T细胞(Th)数量增加。在老年人循环血CD4⁺T淋巴细胞亚群中,记忆性T细胞的数量与老年人的疫苗接种后的体液免疫应答呈负相关^[48]。CD4⁺T淋巴细胞有分化为不同Th细胞亚群的能力,衰老个体中幼稚CD4⁺T淋巴细胞分化为Th9细胞增多,炎症性细胞因子分泌增加,加速机体衰老的进程;同时Th1, Th2细胞分泌的细胞因子减少,CD8⁺T淋巴细胞的增殖能力和细胞毒性均下降,使机体抵御外界病原体的能力下降^[49-50]。

“六味地黄汤”出自《小儿药证直诀》^[14-15]。由山药、山茱萸、茯苓、牡丹皮、泽泻、熟地黄等组成,功效为“滋阴补肾”^[51]。ZENG等^[52]研究了六味地黄汤调节神经-内分泌-免疫系统而延缓衰老小鼠认知功能减退的作用。结果显示,在认知功能方面,六味地黄汤干预后小鼠的存活时间延长,焦虑行为和主动回避反应改善,空间记忆能力增强;在免疫功能方面,六味地黄汤能增加模型鼠外周血CD4⁺细胞数量和CD4⁺/CD28⁺值,降低血浆中TNF- α , IL-1 β 和粒细胞集落刺激因子(G-CSF)含量,调节脾脏Th2细胞活性,促进抗炎因子IL-4, IL-5和IL-10的分泌。研究者认为,六味地黄汤能改善衰老小鼠的认知功

能衰退,其机制与调节T淋巴细胞和抗炎因子活性有关。WANG等^[53]研究了六味地黄汤提取物(LW-AFC)对快速老化抵抗小鼠免疫功能的影响。研究者发现,LW-AFC能改善12月龄和24月龄老化小鼠的衰老分级评分,增加体质量,延长平均寿命,改善空间记忆障碍,增强刀豆蛋白A和LPS诱导的老化小鼠脾细胞增殖。此外,LW-AFC不仅能逆转老化小鼠外周血Th细胞、抑制性T淋巴细胞的下降以及Treg细胞比例的增多,而且,能调节IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, IL-23, IFN- γ , TNF- α , TNF- β 和G-CSF等炎症性细胞因子的异常分泌。因此,研究者推测,LW-AFC通过恢复免疫缺陷和减轻慢性炎症来逆转免疫衰老。

6 B淋巴细胞与免疫衰老及中药的干预效果

B淋巴细胞产生于骨髓,成熟于脾脏,而后迁移到外周体液中。在遇到抗原后活化、增殖,最终分化为浆细胞,产生特异性抗体,在体液中发挥重要的免疫效应。研究显示,伴随着衰老,B淋巴细胞的百分比和绝对数量下降,增殖和分化能力降低,克隆多样性降低,自身反应性抗体的产生增加,机体对感染和疫苗接种的反应性降低^[54]。此外,原始B淋巴细胞向记忆B淋巴细胞转变增加,进而诱导记忆B细胞产生IL-1, IL-6和TNF- α 等炎症因子,最终,加速老年性慢性炎症性疾病的发生、发展^[55-56]。

“首乌延寿丹”出自《世补斋医书》,原名延寿丹^[14-15]。由何首乌、豨莶草、杜仲、菟丝子、女贞子、牛膝等组成,功效为“补肾填精,活血化痰”^[57]。何首乌是首乌延寿丹的君药。石桂英等^[58]研究了长期食用何首乌对小鼠造血系统的影响,结果显示,经何首乌饲料干预的小鼠脾脏B细胞明显增多,骨髓造血干细胞显著减少;在外周血中,静止期细胞增多,增殖分裂期细胞减少。因此,研究者推测,何首乌有助于增加B细胞数量,减缓造血系统衰老。经方及其有效成分调节免疫衰老的作用机制见图1。

7 小结

综上所述,参与调节衰老的免疫细胞包括固有免疫细胞和适应免疫细胞,前者包括“中性粒细胞、单核/巨噬细胞、髓样抑制细胞、树突状细胞以及自然杀伤细胞”等,其分子调控机制涉及细胞数量,吞噬能力,趋化性,黏附力,TLR功能,抗原提呈能力,巨噬细胞极化,细胞毒性,迁移能力等;后者包括“T淋巴细胞和B淋巴细胞”等,其作用机制涉及细胞发育、增殖、分化能力、细胞数量、端粒酶活性、自身反应性抗体等。免疫衰老不仅是机体衰老的体

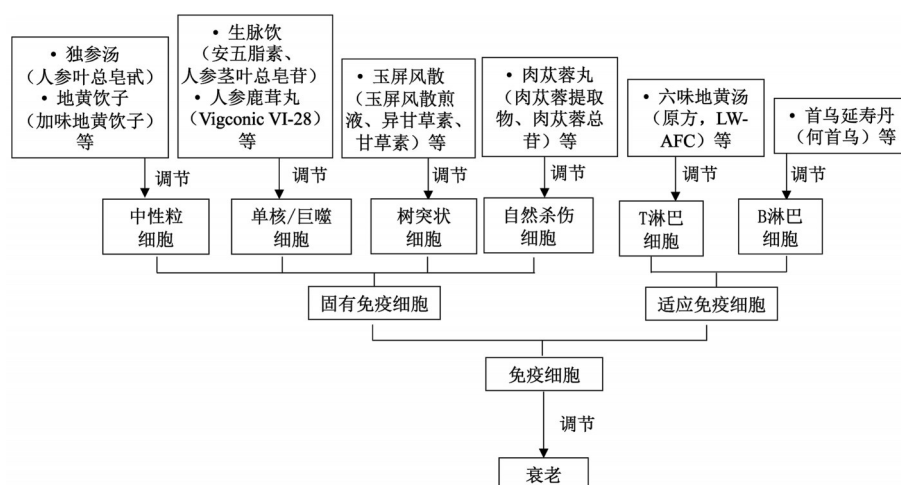


图1 经方及其有效成分调节免疫衰老的作用机制

Fig. 1 Mechanisms of classical prescriptions and their active components in regulating immunosenescence

现,更是中、西药物延缓衰老的重要靶标。研究表明,免疫细胞发生老化并不单纯是个体年龄增长导致的,当机体患有某种疾病,出现感染(巨细胞病毒、艾滋病毒或疟疾)或慢性炎症时,就会诱发和加速免疫衰老和免疫细胞老化^[59]。因此,机体衰老与免疫细胞衰老之间是相互影响的。近年来,国内外中医药学者相继发现一些经方及其有效成分,如“独参汤及其有效成分GS”“生脉饮及其有效成分安五脂素GS”“玉屏风散及其有效成分异甘草素、甘草素”“肉苁蓉丸及其有效成分肉苁蓉总苷”等能够靶向免疫细胞,干预其分子调控机制,进而发挥抗衰老的作用。笔者认为,衰老有虚实两端,虚多指脏腑亏虚,实多指肝郁、痰浊、血瘀等。除“补虚”外,“泻实”是中医药抗衰老的另一个重要治则。目前,以“瘀血”为病理因素的“由瘀致衰”学说受到中医养生学者的高度重视^[60]。基于此,借助D-半乳糖诱导的小鼠衰老模型,笔者着重研究了“祛瘀生新法”代表性经方——大黄廑虫丸在体内对肾脏衰老和脾脏免疫细胞调节功能的影响;在肾脏衰老方面,笔者观察了肾组织相关指标的变化,包括Klotho, p53, p21蛋白表达水平,衰老相关 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)染色程度,自噬蛋白Beclin1,微管相关蛋白1轻链3(LC3) I/II表达水平以及炎症性细胞因子TNF- α , IL-1 β 蛋白表达水平的变化;在免疫细胞调节功能方面,笔者观察了脾脏CD4⁺/CD25⁺/Foxp3⁺/Treg细胞数量和活性的变化;笔者发现,与安慰剂组相比,大黄廑虫丸能增加衰老模型鼠肾组织Klotho, LC3 II蛋白表达水平,减少p53, p21, Beclin1, TNF- α , IL-1 β 蛋白表达水平以及SA- β -gal染色阳性面积;此外,大黄廑虫丸还能减少并抑制

脾脏CD4⁺/CD25⁺/Foxp3⁺/Treg细胞数量和活性。因此,笔者推测,大黄廑虫丸能延缓D-半乳糖诱导的小鼠肾脏衰老,其机制可能涉及免疫衰老和自噬的相互作用;具体而言,在肾脏改善了自噬标志性蛋白和炎症性细胞因子的表达;在脾脏调节了胸腺免疫细胞数量和活性^[61]。因此,有理由相信,“基于免疫衰老的作用机制探究经方及其有效成分的干预效果”将会成为抗衰老药物研究和开发的新方向。

[参考文献]

- [1] XU W, WONG G, HWANG Y Y, et al. The untwining of immunosenescence and aging [J]. Semin Immunopathol, 2020, 42(5): 559-572.
- [2] GOODELL M A, RANDO T A. Stem cells and healthy aging [J]. Science, 2015, 350(6265): 1199-1204.
- [3] BARBÉ-TUANA F, FUNCHAL G, SCHMITZ C R R, et al. The interplay between immunosenescence and age-related diseases [J]. Semin Immunopathol, 2020, 42(5): 545-557.
- [4] MULDER W J M, OCHANDO J, JOOSTEN L A B, et al. Therapeutic targeting of trained immunity [J]. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18(7): 553-566.
- [5] YOUSEFZADEH M J, FLORES R R, ZHU Y, et al. An aged immune system drives senescence and ageing of solid organs [J]. Nature, 2021, 594(7861): 100-105.
- [6] URSINI F, RUSSO E, PELLINO G, et al. Metformin and autoimmunity: a "new deal" of an old drug [J]. Front Immunol, 2018, 9: 1236.
- [7] ROSTAMZADEH D, YOUSEFI M, HAGHSHEENAS M R, et al. mTOR Signaling pathway as a master regulator of memory CD8⁺ T-cells, Th17, and NK cells development and their functional properties [J]. J Cell

- Physiol, 2019, 234(8): 12353-12368.
- [8] LIU Z B, YANG J P, XU L R. Effectiveness and safety of traditional Chinese medicine in treating acquired immune deficiency syndrome: 2004-2014 [J]. Infect Dis Poverty, 2015, 4: 59.
- [9] MA H D, DENG Y R, TIAN Z, et al. Traditional Chinese medicine and immune regulation[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2013, 44(3): 229-241.
- [10] JACKAMAN C, TOMAY F, DUONG L, et al. Aging and cancer: the role of macrophages and neutrophils [J]. Ageing Res Rev, 2017, 36: 105-116.
- [11] DREW W, WILSON D V, SAPEY E. Inflammation and neutrophil immunosenescence in health and disease: targeted treatments to improve clinical outcomes in the elderly[J]. Exp Gerontol, 2018, 105: 70-77.
- [12] TSENG C W, LIU G Y. Expanding roles of neutrophils in aging hosts [J]. Curr Opin Immunol, 2014, 29: 43-48.
- [13] JUTHANI-MEHTA M, GUO X, SHAW A C, et al. Innate immune responses in the neutrophils of community dwelling and nursing home elders [J]. J Aging Sci, 2014, 2: 1000115.
- [14] 黄煌. 黄煌经方使用手册[M]. 4版. 北京: 中国中医药出版社, 2020.
- [15] 黄煌. 黄煌经方基层医生读本[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2020.
- [16] WEI G, DONG L, YANG J, et al. Integrated metabolomic and transcriptomic analyses revealed the distribution of saponins in *Panax notoginseng* [J]. Acta Pharm Sin B, 2018, 8(3): 458-465.
- [17] 张克坚, 刘耕陶. 人参叶总皂甙对老龄大鼠白细胞介素的防御功能的影响[J]. 中药药理与临床, 1998, 14(6): 18-20.
- [18] 张秀芬, 王思梦, 白建英, 等. 经典名方地黄饮子的古代文献考究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(14): 59-64.
- [19] 高山, 谢宁, 刘钊, 等. 加味地黄饮子干预自然衰老大鼠免疫功能的实验研究[J]. 环球中医药, 2018, 11(4): 492-497.
- [20] WYNN T A, CHAWLA A, POLLARD J W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease[J]. Nature, 2013, 496(7446): 445-455.
- [21] SHAPOURI-MOGHADDAM A, MOHAMMADIAN S, VAZINI H, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(9): 6425-6440.
- [22] 李仁述. 生脉饮出处小考[J]. 成都中医学院学报, 1988, 3: 45-46.
- [23] LI X, GAO J, YU Z, et al. Regulatory effect of anwulignan on the immune function through its antioxidation and anti-apoptosis in *D*-galactose-induced aging mice [J]. Clin Interv Aging, 2020, 15: 97-110.
- [24] 刘佳, 张敬敬, 李明阳, 等. 人参茎叶总皂苷对 *D*-半乳糖致衰老小鼠免疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(18): 5087-5089.
- [25] 张景祖. 人参鹿茸丸治疗少精症 36 例 [J]. 新中医, 1994(51): 52.
- [26] LEE S K, WONG C K, POON P M, et al. *In vitro* immunomodulatory activities of a newly concocted traditional Chinese medicine formula: VI -28 [J]. Phytother Res, 2006, 20(10): 883-888.
- [27] BANCHEREAU J, STEINMAN R M. Dendritic cells and the control of immunity [J]. Nature, 1998, 392(6673): 245-252.
- [28] JING Y, SHAHEEN E, DRAKE R R, et al. Aging is associated with a numerical and functional decline in plasmacytoid dendritic cells, whereas myeloid dendritic cells are relatively unaltered in human peripheral blood [J]. Hum Immunol, 2009, 70(10): 777-784.
- [29] RAHMATPANAH F, AGRAWAL S, SCARFONE V M, et al. Transcriptional profiling of age-associated gene expression changes in human circulatory CD1c⁺ myeloid dendritic cell subset [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2019, 74(1): 9-15.
- [30] 王东坡, 李卫红, 丁雷, 等. 玉屏风散释名、类方及其出处考证 [J]. 安徽中医药大学学报, 2015, 34(3): 6-8.
- [31] WANG X T, LIU H L, YU X, et al. Chinese medicine Yu-Ping-Feng-San attenuates allergic inflammation by regulating epithelial derived pro-allergic cytokines [J]. Chin J Nat Med, 2019, 17(7): 525-534.
- [32] 傅晓燕, 雷珊珊, 李雄英. 黄芪配方颗粒对衰老大鼠认知功能的影响及机制初探 [J]. 中药材, 2017, 40(5): 1184-1189.
- [33] LI W, SUN Y N, YAN X T, et al. Flavonoids from *Astragalus membranaceus* and their inhibitory effects on LPS-stimulated pro-inflammatory cytokine production in bone marrow-derived dendritic cells [J]. Arch Pharm Res, 2014, 37(2): 186-192.
- [34] CAMPOS C, PERA A, SANCHEZ-CORREA B, et al. Effect of age and CMV on NK cell subpopulations [J]. Exp Gerontol, 2014, 54: 130-137.
- [35] CAMPOS C, PERA A, LOPEZ-FERNANDEZ I, et al. Proinflammatory status influences NK cells subsets in the elderly [J]. Immunol Lett, 2014, 162(1 Pt B):

- 298-302.
- [36] MARTÍN S, PÉREZ A, ALDECOA C. Sepsis and immunosenescence in the elderly patient: a review[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2017, 4:20.
- [37] MÜLLER L, DI BENEDETTO S, PAWELEC G. The immune system and its dysregulation with aging[J]. *Subcell Biochem*, 2019, 91:21-43.
- [38] HAZELDINE J, LORD J M. The impact of ageing on natural killer cell function and potential consequences for health in older adults[J]. *Ageing Res Rev*, 2013, 12(4):1069-1078.
- [39] 宋亚南, 邓艳芳, 屈乐, 等. 《丹溪心法》用药规律数据挖掘分析[J]. *中医杂志*, 2015, 56(9):796-800.
- [40] ZHANG K, MA X, HE W, et al. Extracts of *cistanche deserticola* can antagonize immunosenescence and extend life span in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAM-P8) mice[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014:601383.
- [41] 张涛, 柳朝阳, 王建杰, 等. 肉苁蓉总苷对D-半乳糖所致衰老模型小鼠免疫功能的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2004, 24(5):441-442.
- [42] GORONZY J J, WEYAND C M. Mechanisms underlying T cell ageing[J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(9):573-583.
- [43] ZHAO Y, SHAO Q, PENG G. Exhaustion and senescence: two crucial dysfunctional states of T cells in the tumor microenvironment[J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(1):27-35.
- [44] WEYAND C M, YANG Z, GORONZY J J. T-cell aging in rheumatoid arthritis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2014, 26(1):93-100.
- [45] TURNER V M, MABBOTT N A. Structural and functional changes to lymph nodes in ageing mice[J]. *Immunology*, 2017, 151(2):239-247.
- [46] COHEN S, JANICKI-DEVERTS D, TURNER R B, et al. Association between telomere length and experimentally induced upper respiratory viral infection in healthy adults[J]. *JAMA*, 2013, 309(7):699-705.
- [47] VENTURA M T, CASCIARO M, GANGEMI S, et al. Immunosenescence in aging: between immune cells depletion and cytokines up-regulation [J]. *Clin Mol Allergy*, 2017, 15:21.
- [48] ELYAHU Y, HEKSELMAN I, EIZENBERG-MAGAR I, et al. Aging promotes reorganization of the CD4 T cell landscape toward extreme regulatory and effector phenotypes[J]. *Sci Adv*, 2019, 5(8):eaaw8330.
- [49] LI J, CHEN S, XIAO X, et al. IL-9 and Th9 cells in health and diseases-from tolerance to immunopathology [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 37:47-55.
- [50] GASPARONI A, CIARDELLI L, AVANZINI A, et al. Age-related changes in intracellular TH1/TH2 cytokine production, immunoproliferative T lymphocyte response and natural killer cell activity in newborns, children and adults [J]. *Biol Neonate*, 2003, 84(4):297-303.
- [51] 李慧平, 年莉. 六味地黄丸方剂的来源与方名释义 [J]. *天津中医药*, 2013, 30(3):157-158.
- [52] ZENG J, ZHANG X, WANG J, et al. Comparison of donepezil, memantine, melatonin, and liuwei dihuang decoction on behavioral and immune endocrine responses of aged senescence-accelerated mouse resistant 1 mice[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:350.
- [53] WANG J, CHENG X, ZHANG X, et al. The anti-aging effects of LW-AFC via correcting immune dysfunctions in senescence accelerated mouse resistant 1 (SAMR1) strain [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19):26949-26965.
- [54] SALMINEN A, KAARNIRANTA K, KAUPPINEN A. Immunosenescence: the potential role of myeloid-derived suppressor cells (MDSC) in age-related immune deficiency [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(10):1901-1918.
- [55] BUFFA S, BULATI M, PELLICANÒ M, et al. B cell immunosenescence: different features of naïve and memory B cells in elderly [J]. *Biogerontology*, 2011, 12(5):473-483.
- [56] BULATI M, BUFFA S, CANDORE G, et al. B cells and immunosenescence: a focus on IgG⁺IgD⁺CD27⁻ (DN) B cells in aged humans [J]. *Ageing Res Rev*, 2011, 10(2):274284.
- [57] 廖洪峰, 王桂敏, 李明慧, 等. 首乌延寿丹对去势后大鼠骨质疏松的防治作用 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2012, 18(1):61-62.
- [58] 石桂英, 白琳. 长期食用何首乌对小鼠造血系统的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(12):10-13.
- [59] 柏原直樹. 加齢と腎臓 [J]. *日本内科学会雑誌*, 2018, 107(Suppl 号):125b.
- [60] 成海燕, 于建春, 李国民, 等. 衰老-血瘀相关研究概况 [J]. *辽宁中医杂志*, 2010, 37(9):1660-1663.
- [61] TU Y, LIU B, WAN Y. Dahuang Zhechong Pill attenuates D-galactose induced renal aging by targeting autophagy via regulation of T-cells in kidney and spleen [C]//Washington, DC (USA): The American Society of Nephrology, ASN "Kidney Week® 2019: 52th Annual Meeting", 2019.