

· 学术论坛 ·

逍遥散与慢性应激焦虑海马 JNK 通路的关系

赵宏波 陈家旭 李静

【摘要】 慢性应激所致焦虑症越来越受到广泛关注,然而,慢性应激焦虑的病因、发病机制尚不完全清楚。中医对于情志致病早有记载,逍遥散作为经典方剂,在临床上屡试不爽,多有学者对其进行实验研究和理论探讨。本文结合 JNK 信号转导通路对神经元凋亡的调控,提出三者之间可能存在的关系,为进一步的研究提供理论支持。

【关键词】 逍遥散; 慢性应激焦虑; 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶; 相互关系

【中图分类号】 R241 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2013.08.011

人长期处于慢性应激环境,容易发展为焦虑,目前,焦虑症已成为人类最常见的疾病之一。流行病学研究显示:在美国,焦虑症的终生患病率为 5%,现患病率在 2%~3%^[1]。而在中国,有学者研究发现,该病的终生患病率也达到 1.2%^[2]。慢性应激焦虑属中医七情致病的范畴,历代医家创立了很多治疗情志病的方药,其中,逍遥散在临床应用最为广泛,临床治疗焦虑症多采用逍遥散原方及化裁方,疗效显著。然而,慢性应激焦虑的研究仍较少,发病机理尚不清楚,逍遥散作用于慢性应激焦虑是如何起作用,这些问题都有待进一步深入。

1 逍遥散治疗慢性应激疾病

中医古籍关于应激、情志方面的记载不胜枚举,相关的处方、单味药物层出不穷。其中,逍遥散作为这方面的代表一直备受学界关注,近年来,多有学者进行逍遥散治疗焦虑症的临床和实验研究,结果证实其疗效确切。

逍遥散最早出自宋代《太平惠民和剂局方》,全方有 8 味药组成,分别为:柴胡、当归、芍药、炒白术、茯苓各 30 g,炙甘草 15 g,干姜、薄荷各 10 g,主治“血虚劳倦,五心烦热,肢体疼痛,头目昏重,心忪颊赤,口燥咽干,发热盗汗,减食嗜卧,及血热相搏,月水不调,脐腹胀痛,寒热如疟”。明清名医陈士铎以“郁”为主要病证,认为“逍遥散善治五郁”,并且通过灵活的配伍,不但可用于内伤杂病,也可治疗外感诸病。逍遥散早期较多的应用于妇科疾病的治疗,但随着

时代变迁,情志因素与临床疾病的关系越来越密切,有利的情绪可以促进疾病的恢复。因此,逍遥散所使用的疾病范围也随之增大,几乎涵盖了人体的所有系统。然而,不管逍遥散如何进行加减变化,其共同病机为:肝郁气滞,脾虚血弱。这种广泛性体现了中医“治病求本”的原则和“异病同治”的灵活性。

1.1 逍遥散的临床观察研究

近年来,很多学者对应激、焦虑使用逍遥散治疗进行了大量临床观察。结果发现:使用醒脑解郁胶囊合丹栀逍遥散加减治疗肝郁脾虚、痰瘀交阻型失眠伴焦虑明显优于对照组^[3]。使用丹栀逍遥散联合黛力新对照黛力新治疗焦虑症,治疗 3 个月后发现丹栀逍遥散联合黛力新的疗效明显优于单纯使用黛力新,且副作用小,使用安全^[4]。采用益艾康胶囊合逍遥散加减治疗艾滋病伴发焦虑抑郁,发现逍遥散对患者的焦虑抑郁程度有不同程度改善^[5]。疏肝清热健脾法治疗广泛性焦虑症具有较好的疗效,丹栀逍遥散疗效明显优于劳拉西泮^[6]。丹栀逍遥散加减治疗原发性高血压合并焦虑症,对照药为盐酸丁螺环酮片,2 组疗效对比,丹栀逍遥散加减治疗高血压合并焦虑症可以协助降压,改善焦虑症状^[7]。加味逍遥散合桃红四物汤治疗脑卒中后焦虑症,与氟西汀对照,通过治疗后比较汉密尔顿抑郁量表(Hamilton Depression on Scale, HAMD)、日常生活能力量表(activity of daily living scale, ADL)、斯堪的那维亚卒中量表(Scandinavian stroke scale, SSS)评分,加味逍遥散合桃红四物汤改善焦虑症状方面明显优于对照组^[8]。

可以发现,逍遥散以及丹栀逍遥散治疗焦虑症已经在临床工作中广泛应用,并且与右佐匹克隆、盐酸丁螺环酮、劳拉西泮、氟西汀等经典抗焦虑药物比较,在临床症状缓解方面具有明显优势。而且,逍遥散作为基础方,临床使用可以根据不同的患者体质、辨证情况进行加减配伍,使之更具有针对性,疗效更好。逍遥散还可以与西药相互配合,加强疗效,适用于各种原、伴发焦虑症。因此,研究逍遥散与焦虑症的关系具有较好的临床基础,具有进一步研究的价值。

基金项目:国家自然科学基金(81072756);北京中医药大学创新团队项目(2011CXTD-07)

作者单位:100029 北京中医药大学基础医学院[赵宏波(博士研究生)、陈家旭、李静(博士研究生)];北京市石景山区中医医院肾病科(赵宏波)

作者简介:赵宏波(1981-),2011 级在读博士研究生。研究方向:中医证候生物学基础。E-mail: zhaohongbo812007@sina.com

通讯作者:陈家旭(1966-),博士,教授,博士生导师。研究方向:中医证候生物学基础。E-mail: chenjiayu@hotmail.com

1.2 逍遥散治疗焦虑症的作用机制

逍遥散作为中医名方,为诸多医家所认可。然而,关于逍遥散的作用机制一直是众说纷纭,各医家均有不同见解。有人认为与降低血浆精氨酸加压素有关,有人认为通过调整单胺类神经递质缓解不适,也有人认为与 AMPA 受体表达、GRmRNA 表达相关^[9-11]。唯一可以肯定的是,大多医家都认为逍遥散对于神经元具有保护作用,与本次要研究的 JNK/MAPK 抑制神经元凋亡思路相吻合。

逍遥散不但可以缓解患者焦虑、抑郁状态,而且还可以改善睡眠、提高患者生活质量,并且副作用小,使用安全。逍遥散可以用于广泛性焦虑症,还可以用于糖尿病、脑卒中、肿瘤并发焦虑症。

2 JNK 通路的认识

近两年,随着 JNK 信号通路在细胞凋亡中受到广泛关注,国内外已经开始有学者将其引入到慢性应激的研究当中,并且发现丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(C-Jun N-terminal kinase, JNK)信号转导通路与慢性应激具有密切关系^[12]。

2.1 JNK/MAPK 通路生物学特性

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)存在于真核生物的大多数细胞浆中,具有丝氨酸和酪氨酸双重磷酸化能力,MAPK 信号传导途径是细胞外信号引起细胞核内反应的重要通道之一,参与细胞的形成、运动、凋亡、分化、生长、增殖等多种生理、病理过程。

丝裂原活化蛋白激酶是重要的跨膜信号转导通路,其主要有 4 个家族成员:细胞外信号调节的蛋白激酶(ERK)、应激活化的蛋白激酶(JNK)、P38MAPK 和 ERK5 通路。其中 JNK/MAPK 可以被多种刺激因素所激活,而且多项研究已经证实,JNK/MAPK 激活后可以导致多种器官的细胞凋亡,从而加重损伤^[13-15]。

2.2 JNK/MAPK 通路相关调节因子

JNK 是位于细胞质,分子量为 54KD 的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可被细胞应激反应激活,因此,也被称为应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK)。

JNK 有 JNK1、JNK2、JNK3 共 3 种同工酶,底物有 3 种转录因子:c-Jun、Elk-1、活化转录因子-2(ATF-2)。c-Jun 是即早基因中较具代表性的成员,参与信号传递系统各效应酶的转录过程,调控其他多种基因的表达和靶蛋白合成,JNK 可使 c-Jun 过度表达和磷酸化,从而增加激活基因转录的活性,因此,c-Jun 持续过度表达可导致神经元的凋亡。JNK/MAPK 信号通路极为复杂,与 ERK、P38MAPK 关系密切。但是,总的来说,JNK 信号通路可大致归纳为:应激-生发中心激酶-MEKK-JNK-生长阻滞、凋亡。

然而,JNK/MAPK 信号通路转录水平对相关凋亡基因的调控尚不明确。有学者研究发现 JNK 介导的线粒体途径调控凋亡,JNK 通过磷酸化 B-淋巴细胞/白血病 2 基因(B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)和 Bax,促进线粒体释放细胞色素 C,从而激活 Caspase 级联反应,导致细胞凋亡^[16]。

B-淋巴细胞/白血病 2 基因(Bcl-2)基因家族与细胞凋亡密切相关。Yun 等^[17]研究发现,束缚应激大鼠的海马神经元细胞 Bax 表达上调,而 Bcl-2 表达下调。表明 Bax 和 Bcl-2 参与了慢性应激所致海马神经元细胞凋亡。

Caspase 即含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶,是一组存在于细胞质中具有类似结构的蛋白酶。它能够特异性的切割靶蛋白天冬氨酸残基上的肽键,造成细胞凋亡,与真核细胞的凋亡密切相关。Caspase 在细胞质中以不活化的前体形式存在,通过蛋白裂解得以活化,活化途径并不完全是线性通路,而是细胞凋亡中信号分子相互影响,从而构成细胞凋亡的环形通路-死亡环,细胞色素 C 能激活 Caspase 酶原,而有活性的 Caspase 也能刺激线粒体释放细胞色素 C,呈现放大效应。

近两年来,有学者研究表明^[18]:抑郁证模型大鼠实验中,在模型组,海马区 PCREB 和 PJNK 显著明显降低,PCREB/CREB 和 PJNK/JNK 明显降低。结论:JNK-CREB 途径在 21 天慢性应激模型病理生理改变中占有重要地位。在模型组海马区齿状回,PCREB 明显减少。

JNK 包含双磷酸化功能区 Thr-Pro-Tyr, JNK 与 c-Jun N 端的活化区结合并使其第 63、73 位丝氨酸残基磷酸化。线粒体途径是影响细胞凋亡的重要途径,多种细胞因子可以影响此途径。其中,Bcl-2 和 Bax 是一对重要的平衡因子,其作用相反,Bcl-2 能抑制 mPTP 的开放,从而阻止了线粒体膜间隙的前凋亡因子进入胞浆,但 Bax 作用恰恰相反,可以促进 mPTP 的开放。近年来有学者研究发现:逍遥散能够通过降低 Bax 的表达来改善慢性束缚应激致肝郁脾虚证模型大鼠杏仁核神经细胞的凋亡^[19]。

3 结语

海马是边缘系统的重要组成部分,是与应激密切相关的高位中枢,主要与情绪的控制和高级神经活动如学习记忆等有关。慢性应激如长期的不良情绪可引起焦虑、抑郁,造成海马的损伤,最终导致情感障碍性疾病的发生,目前公认的机制是下丘脑-垂体-肾上腺皮质(hypothalamic-pituitary-adrenal,HPA)轴功能持续亢进,体内糖皮质激素水平过度升高,从而导致相应部位的病理损伤^[20]。促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin-releasing factor, CRF)及其受体的激活与应激、焦虑样行为密切相关^[21]。CRF 受体激活引起胞内相关细胞因子活化,如:MEKK1,MEK4/7,最终激活 JNK,从而引起一系列反应,诱导细胞凋亡。团队前期研究表明,逍遥散作用于慢性束缚应激大鼠,可以降低大鼠外周血浆促肾上腺皮质激素(adreno-cortico-tropic-hormone, ACTH)、皮质酮(corticosterone, CORT)的含量,与 HPA 轴的负反馈调节有关^[22]。

目前对于 JNK 信号转导通路的研究多局限在急性应激方面,慢性应激引起细胞凋亡是否与 JNK 通路的关系已经越来越引起学界重视。已经有学者发现慢性应激可以诱导海马 JNK 通路的改变,从而激活 JNK 通路。

逍遥散对于情志疾病具有良好的调节作用,临床已经有大量研究表明,逍遥散不光可以改善抑郁状态,而且对于焦虑也具有明显疗效。然而,逍遥散究竟是通过什么机制发挥作用,仍不是完全清楚。

结合目前相关的研究进展及团队前期工作基础,认为逍遥散、JNK 通路及慢性应激焦虑三者之间存在相互关系。但是,要进一步印证,还需要合理的动物及分子生物实验,比如:采用经典抗抑郁焦虑药物盐酸氟西汀、盐酸丁螺环酮等作为对照药物,评价中药逍遥散的抗焦虑疗效;采用 JNK 通路阻滞剂 SP600125 对照,给予大鼠侧脑室局部注射,选取 JNK 通路上相关指标,以及行为学来揭示逍遥散可能存在的作用机制。

进一步研究慢性应激焦虑症与 JNK 通路的关系,有利于揭示疾病机制,而且也能为逍遥散治疗慢性应激焦虑的作用机制提供了科学依据。

参 考 文 献

- [1] Weisberg, RB. Overview of generalized anxiety disorder epidemiology, presentation, and course[J]. Journal of clinical psychiatry, 2009, 70: 9.
- [2] Ma X, Xiang YT, Cai ZJ, et al. Generalized anxiety disorder in China: prevalence, sociodemographic correlates, comorbidity, and suicide attempts [J]. Perspectives in psychiatric care, 2009, 45 (2): 119-127.
- [3] 边娜, 闫咏梅, 闫蕊, 等. 醒脑解郁胶囊合丹栀逍遥散治疗焦虑性失眠临床观察[J]. 中医药临床杂志, 2012, 24 (10): 940-941.
- [4] 韩永界, 张丽, 祁慧. 丹栀逍遥散联合黛力新治疗焦虑性神经症的临床研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13 (2): 54-55.
- [5] 闫炳远. 益艾康胶囊合逍遥散加减治疗艾滋病伴发焦虑抑郁临床观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30 (5): 553-555.
- [6] 许静, 唐启盛. 疏肝清热健脾法治疗广泛性焦虑症的临床研究[D]. 北京中医药大学硕士学位论文, 2012.
- [7] 王争胜, 董丽. 丹栀逍遥散加减治疗原发性高血压合并焦虑症 30 例[J]. 中医研究, 2012, 25 (5): 22-24.
- [8] 唐汉平, 蒋上润, 方之勇. 疏肝活血法治疗脑卒中焦虑症临床观察[J]. 湖北中医杂志, 2012, 34 (7): 3-4.
- [9] 李艳, 徐碧云, 欧碧阳, 等. 加味逍遥散对心理应激性失眠患者 AVP 的影响[J]. 中国康复, 2008, 23 (5): 325-327.
- [10] 徐碧云, 李艳, 肖芳, 等. 加味逍遥散对心理应激性失眠患者单胺类神经递质的影响[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24 (6):

720-723.

- [11] 岳广欣, 王竹风, 张巧丽, 等. AMPA 受体和相关蛋白在束缚应激大鼠相关脑区的表达变化及逍遥散对其影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2008, 24 (2): 129-132.
- [12] Dragana Filipovic, Jelena Zlatkovic, Ivan Pavicevic, et al. Chronic isolation stress compromises JNK/c-Jun signaling in rat brain [J]. Journal of Neural Transmission, 2012, 119 (11): 1275-1284.
- [13] Ferrandi C, Bbllerio R, Gaillard P, et al. Inhibition of c-Jun N-terminal kinase decreases cardiomyocyte apoptosis and infarct size after myocardial ischemia and reperfusion in anaesthetized rats [J]. British Journal of Pharmacology, 2004, 142 (6): 953-960.
- [14] Liu X H, Zhang Z Y, Sun S, et al. Ischemic postconditioning protects myocardium from ischemia/reperfusion injury through attenuating endoplasmic reticulum stress[J]. Shock Augusta Ga, 2008, 30 (4): 422-427.
- [15] Sun H Y, Wang N P, Halkos M, et al. Postconditioning attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38mitogen-activated protein kinase signaling pathways[J]. Apoptosis, 2006, 11 (9): 1583-1593.
- [16] Varghese J, Chattopadhyaya S, Sarin A. Inhibition of P38 kinase reveals a TNF-a-mediated, caspase dependent, apoptotic death pathway in a human myelomonocyte cell line [J]. J Immunol, 2001, 166 (11): 6570-6577.
- [17] Yun SJ, Lee DJ. Reduction but not cleavage of poly(ADP2ribose) polymerase during stress-mediated cell death in the rat hippocampus[J]. Neuroreport, 2003, 14 (7): 935-939.
- [18] Li H, Zhang L, Huang Q. Differential expression of mitogen-activated protein kinase signaling pathway in the hippocampus of rats exposed to chronic unpredictable stress[J]. Behavioural brain research, 2009, 205 (1): 32-37.
- [19] 姜幼明, 张汉霆, 陈家旭. 逍遥散对慢性束缚应激肝郁脾虚证模型大鼠杏仁核 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27 (4): 882-885.
- [20] Rachel Yehuda. Stress and glucocorticoid[J]. Science, 1997, 275 (5306): 1662-1663.
- [21] 陈菲, 韦传宝. CRF 及其受体与焦虑样行为的关系[J]. 浙江大学学报(工学版), 2004, 38 (3): 373-376.
- [22] 丁杰, 陈家旭, 梁媛, 等. 逍遥散对肝郁脾虚证模型大鼠外周促肾上腺皮质激素、皮质酮的调节作用[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24 (11): 1436-1439.

(收稿日期:2013-05-16)

(本文编辑:黄凡)