

“三焦”针法治疗阿尔茨海默病的临床疗效及机制研究*

王煜, 韩景献[△]

(天津中医药大学第一附属医院针灸科 300193)

[摘要] **目的** 观察“三焦”针法治疗阿尔茨海默病(AD)的疗效并探讨其作用机制。**方法** 将 AD 患者分为对照组和治疗组。两组均口服盐酸多奈哌齐片和吡拉西坦片。治疗组在对照组基础上采取“三焦”针法, 两组连续治疗 12 周。比较两组简易智力状况检查量表(MMSE)和蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分、髓海不足证症状评分及临床疗效。检测两组血清中白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)、IL-8 水平及血浆 β -淀粉样蛋白(A β) mRNA 表达。**结果** 治疗后, 治疗组患者的 MMSE 和 MoCA 评分明显高于对照组, 髓海不足证症状(智能减退、腰酸腿软、头晕、耳鸣、懈惰思卧)评分显著低于对照组($P < 0.01$)。治疗组的总有效率为 92.73%, 明显高于对照组的 74.07%($P < 0.05$)。与对照组比较, 治疗组治疗后患者血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平和 A β mRNA 表达下降更明显($P < 0.01$)。治疗后, 治疗组血清 MCP-1、MIP-1 α 、IL-8 水平显著低于对照组($P < 0.01$)。**结论** 常规西医联合“三焦”针法治疗 AD 疗效确切, 且优于单纯西医干预, 抑制 A β mRNA 表达及其相关细胞因子水平可能是“三焦”针法发挥疗效的途径之一。

[关键词] “三焦”针法; 阿尔茨海默病; 脑(中医); 淀粉样 β 蛋白

[中图分类号] R246.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)30-3874-04

Clinical efficacy and mechanism of "sanjiao" acupuncture in the treatment of Alzheimer's disease*

WANG Yu, HAN Jingxian[△]

(Department of TCM, the First Affiliated Hospital of Tianjin University, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective** To observe the efficacy of Sanjiao acupuncture in the treatment of Alzheimer's disease(AD) and investigate its mechanism. **Methods** One hundred and nine cases of AD were randomly divided into control group and treatment group. Both groups were given with donepezidine hydrochloride tablets and piracetam tablets. On the basis of control group, treatment group was treated with Sanjiao acupuncture. Two groups were treated continuously for 12 weeks. Scores of mini-mental state examination (MMSE) and Montreal cognitive assessment (MoCA), symptoms scores of marrow sea insufficiency and its efficacy syndrome were compared between two groups. Serum levels of interleukin (IL)-1 β , IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α), IL-8 and expression of beta-amyloid protein (A β) mRNA in the plasma were detected in both groups. **Results** After treatment, MMSE and MoCA scores of the treatment group were obviously higher, while symptom scores of marrow sea insufficiency were remarkably lower than that of the control group ($P < 0.01$). The total effective rate of treatment group was 92.73%, which was evidently higher than that of the control group (74.07%, $P < 0.05$). Compared to control group, serum levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α and A β mRNA of the treatment group were decreased obviously after treatment ($P < 0.01$). Serum levels of MCP-1, MIP-1 α , IL-8 of the treatment group were remarkably lower than that of the control group ($P < 0.01$). **Conclusion** The effective of Sanjiao acupuncture combined with western medicine intervention on treatment of AD is effective and superior to western medicine intervention only, and inhibition of the expression of A β mRNA and its related cytokines may be one of its effective way.

[Key words] Sanjiao acupuncture; Alzheimer's disease; brain (TCM); amyloid beta-protein

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种累及老年人为主的神经系统退行性疾病, 以进行性认知

* 基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81704148); 天津市教育委员会科研计划项目(2017KJ149)。 作者简介: 王煜(1984-), 主治医师, 博士, 主要从事针刺治疗痴呆等认知障碍疾病、针刺治疗脑血管病研究。 [△] 通信作者, E-mail: hanjingxian6@hotmail.com。

功能障碍为其典型症状,其中近记忆力的缺失是该病最常见首发症状,给患者的生活质量和家庭造成严重影响^[1]。流行病学调查显示,目前全世界约有 2 400 万人罹患 AD,到 2050 年该病患者预计接近 1 亿^[2]。据报道当前我国 AD 患者约 1 000 万,该病已成为继心血管疾病、肿瘤、中风后最重要的致死病因^[3]。“三焦”针法是国家名老中医韩景献教授依据 AD 本虚标实的病机特征及对三焦气化功能认识基础上创立,通过调理三焦以通利元气和培补后天以充养先天,对 AD 发挥治疗作用^[4]。文献报道三焦针法可明显改善 AD 患者的日常生活能力、认知障碍、神经精神症状及免疫功能,且安全性良好^[4-5]。

β -淀粉样蛋白(A β)形成的斑块沉积是 AD 的特征性病理改变之一,其量的多少与痴呆的严重程度呈显著正相关^[6]。AD 病程中炎症反应因子如白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)可促进 A β 的前体蛋白(APP)代谢为 A β ,并促进 A β 的沉积,形成恶性循环^[7]。同时 A β 沉积物通过刺激神经胶质细胞释放细胞因子如单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)、IL-8 等,直接或间接参与了神经免疫炎症过程^[8]。然而,“三焦”针法对 AD 发挥治疗作用中是否对上述因子产生疗效鲜见报道。因此,本研究在观察“三焦”针法治疗 AD 疗效基础上,探讨其对 A β mRNA 表达及相关细胞因子水平的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 3 月至 2017 年 3 月本院住院部收治 AD 患者 120 例。分成对照组和治疗组,除去脱落、失访,对照组完成 54 例,其中男 33 例,女 21 例;年龄 65~72 岁,平均(70.12 \pm 8.90)岁;病程 1.5~3.0 年,平均(2.05 \pm 0.25)年;痴呆程度:轻度 34 例,中度 22 例;受教育年限 5~15 年,平均(8.26 \pm 0.95)年。治疗组完成 55 例,其中男 35 例,女 20 例;年龄 63~73 岁,平均(70.88 \pm 8.95)岁;病程 1.5~4.0 年,平均(2.16 \pm 0.26)年;痴呆程度:轻度 35 例,中度 20 例;受教育年限 6~13 年,平均(8.51 \pm 0.99)年。两组性别、年龄、病程、痴呆程度^[10]及受教育年限比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究方案和受试者知情同意书通过本院伦理委员会批准(伦理批号 2014YK12016),所有受试者均签署知情同意书。AD 诊断标准:根据《神经病学》^[11] AD 诊断标准,(1)神经心理学检查显示情节记忆受损;(2)简易智力状况检查量表(MMSE)评分小于 20 分;(3)神经影像学检查显示海马体积缩小;(4)认知功能受损,且持续时间在 6 个月以上;(5)日常生活能力(ADL)评分小于 60 分。病例纳入标准:符合 AD 及病情程度为轻、中度;符合中医髓海不足证诊断;年龄 60~75 岁;进展性记忆或认知功能降低超过 1 年;血脂、血糖、肝肾功能正常及营养状况良好;取得患者家

属同意,且签署知情书。排除标准:合并其他类型脑病,如颅内肿瘤、癫痫等;甲状腺功能减退、维生素 B₁₂ 和叶酸缺乏等所致痴呆;发生晕针者;既往脑损伤或脑部手术者;近期使用对本研究有干扰作用药物者;不配合治疗者。退出标准:误诊、误纳入者和纳入后未曾进行干预者,入组后不配合治疗者。依从性差,中途退出者,作失访脱落处理;因发生严重不良事件或个人意愿主动退出作中止处理;试验过程中出现严重并发症者作终止处理。

1.2 治疗方法

基础治疗:睡前口服盐酸多奈哌齐片(天津力生制药股份有限公司,国药准字 H20040745),初始用量每次 5 mg,1 次/d;1 个月后按疗效增加剂量至每次 10 mg,1 次/d。口服吡拉西坦片(山西太原药业有限公司,国药准字 H14021801),0.8 g/次,3 次/d。治疗组:在对照组基础上采取“三焦”针法治疗。穴位选取膻中、中脘、气海、血海(双)、足三里(双),两组连续治疗 12 周。

1.3 观察指标

1.3.1 主要指标

主要指标为 MMSE 和蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分,MMSE 评分^[12]包括注意力和计算力、定向力、记忆力、回忆能力及语言能力;分值范围 0~30 分,MMSE 评分小于 25 分被认定为认知障碍。MoCA 评分^[13]包括注意力、执行与视空间功能、命名、语言表达、延迟回忆、抽象思维、定向力;分值范围 0~30 分,MoCA 评分小于 26 分被认定为认知障碍;以上评分由同一位有相关经验的主治医师给予评定。

1.3.2 次要指标

(1)髓海不足证:主要症状有智能减退,头晕,耳鸣,腰酸腿软,懈惰思卧。症状评分:按症状分级对治疗前后患者的以上症状进行评定。相应评分为正常 0 分、轻度 1 分、中度 2 分,重度 4 分。(2)血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、MCP-1、MIP-1 α 、IL-8 水平:按试剂盒说明书采取双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定。(3)血浆 A β mRNA 水平:应用实时荧光定量 PCR 法检测。晨起空腹下经肘静脉采血,于肝素抗凝管中混匀,离心取血浆,Trizol 试剂盒提取总 RNA,按说明书反转录合成 cDNA,转录产物 1:5 稀释后行 PCR 扩增,以 β -actin 作内参;其中 β -actin 引物:上游 5'-TCC GCC ATG TAG GTC GCT AT-3',下游 5'-CTG ACA CGC CAT CAC CAG-3';A β 引物:上游 5'-GAC TCC GAT GTC TGG TGG GG-3',下游 5'-TGT CAG CTT TGG GCA AAT TCT F-3'。PCR 反应体系为 25 μ L:上下游引物各 1.00 μ L、荧光染料 0.55 μ L、cDNA 1.50 μ L、Taq 酶 0.35 μ L、dNTPs 1.50 μ L;扩增条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min;95 $^{\circ}$ C 变性 40 s,60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共 30 个循环;A β mRNA=目的基因 mRNA/内参照基因 mRNA。

1.4 疗效标准

根据《血管性痴呆诊断、辨证及疗效评定标准》^[14]。显效:MMSE 评分改善率大于或等于

20%。有效:MMSE 评分改善率 12%~<20%。无效:MMSE 评分改善率小于 12%。MMSE 评分改善率=(治疗后评分-治疗前评分)/治疗前评分×100%。总有效率=(显效例数+有效例数)/总例数×100%。

1.5 统计学处理 采取 SPSS19.0 软件分析数据,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行两独立样本 t 检验;计数资料符合正态分布采用 χ^2 检验,不符合正态分布采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 MMSE 和 MoCA 评分 治疗后,两组患者的 MMSE 和 MoCA 评分明显升高($P < 0.01$)。与对照组比较,治疗组治疗后 MMSE 和 MoCA 评分升高

更明显($P < 0.01$),见表 1。

表 1 两组 MMSE 和 MoCA 评分比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	n	时间	MMSE	MoCA
对照组	54	治疗前	19.44±2.89	18.86±2.31
	54	治疗后	22.17±2.41 ^a	21.05±2.55 ^a
治疗组	55	治疗前	19.58±2.80	18.99±2.46
	55	治疗后	24.67±2.59 ^{ab}	23.91±2.65 ^{ab}

^a: $P < 0.01$,与治疗前比较;^b: $P < 0.01$,与对照组治疗后比较

2.2 两组髓海不足证症状评分比较 治疗后,两组患者髓海不足证症状(智能减退、腰酸腿软、头晕、耳鸣、懈惰思卧)评分显著降低($P < 0.01$)。与对照组比较,治疗组治疗后以上症状评分下降更明显($P < 0.01$),见表 2。

表 2 两组髓海不足证症状评分比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	n	时间	智能减退	腰酸腿软	头晕	耳鸣	懈惰思卧
对照组	54	治疗前	3.25±0.38	3.22±0.36	3.06±0.33	3.09±0.35	3.14±0.36
	54	治疗后	2.31±0.26 ^a	2.27±0.28 ^a	2.11±0.25 ^a	2.15±0.22 ^a	2.19±0.24 ^a
治疗组	55	治疗前	3.20±0.36	3.15±0.38	3.09±0.34	3.13±0.36	3.17±0.35
	55	治疗后	1.55±0.17 ^{ab}	1.59±0.18 ^{ab}	1.53±0.18 ^b	1.55±0.19 ^{ab}	1.50±0.18 ^b

^a: $P < 0.01$,与治疗前比较;^b: $P < 0.01$,与对照组治疗后比较

2.3 两组疗效比较 治疗组的总有效率为 92.73%,对照组为 74.07%,两组总有效率差异有统计学意义($\chi^2 = 4.260, P = 0.039$),见表 3。

表 3 两组疗效比较

组别	n	显效(n)	有效(n)	无效(n)	总有效率(%)
对照组	54	20	20	14	74.07
治疗组	55	29	21	5	92.73 ^a

^a: $P < 0.05$,与对照组比较

2.4 两组血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平和 A β mRNA

表达比较 治疗后,两组血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平和 A β mRNA 表达显著降低($P < 0.01$)。与对照组比较,治疗组患者血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平和 A β mRNA 表达下降更明显($P < 0.01$),见表 4。

2.5 两组血清 MCP-1、MIP-1 α 、IL-8 水平比较 治疗后,两组血清 MCP-1、MIP-1 α 、IL-8 水平显著减少($P < 0.01$)。与对照组比较,治疗组治疗后血清 MCP-1、MIP-1 α 、IL-8 水平降低更明显($P < 0.01$),见表 5。

表 4 两组血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平和 A β mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	IL-1 β (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	A β mRNA
对照组	54	治疗前	0.62±0.08	217.25±23.52	192.62±20.95	4.41±0.49
	54	治疗后	0.50±0.07 ^a	190.31±21.49 ^a	180.12±19.78 ^a	3.13±0.35 ^a
治疗组	55	治疗前	0.64±0.07	216.90±23.86	192.43±20.87	4.48±0.52
	55	治疗后	0.36±0.05 ^{ab}	171.35±18.59 ^{ab}	162.45±17.82 ^{ab}	2.04±0.22 ^{ab}

^a: $P < 0.01$,与治疗前比较;^b: $P < 0.01$,与对照组治疗后比较

表 5 两组血清中 MCP-1、MIP-1 α 、IL-8 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	MCP-1(ng/mL)	MIP-1 α (ng/L)	IL-8(pg/mL)
对照组	54	治疗前	213.49±23.17	222.30±24.76	131.04±15.05
	54	治疗后	202.15±22.57	209.05±22.48 ^a	122.10±13.68 ^a
治疗组	55	治疗前	213.67±23.41	221.97±24.51	130.96±15.12
	55	治疗后	172.75±19.65	176.80±19.93 ^{ab}	103.52±11.75 ^{ab}

^a: $P < 0.01$,与治疗前比较;^b: $P < 0.01$,与对照组治疗后比较

3 讨 论

AD 属中医学“痴呆”“善忘”等病范畴,肾主骨生髓,故 AD 的形成、发展多责之于心、脑、肾功能失调,导致气血不足,肾精失充,脑髓失养,或者痰浊瘀毒互结,脑髓失用,最终导致 AD^[14]。故髓海不足是 AD 的根本病机。三焦是机体体液运行之通道,执行了腐熟水谷、宣通气血津液及通调水道的作用。在人体衰老过程中,日趋下降的三焦气化功能及各种致病因素的相互作用,易导致气机升降出入失常,痰浊、瘀毒等随之聚集,这些病理产物又可促成或加重忘、呆、傻、愚等^[15]。故治应以益气行血、调神益智及调理三焦气化功能为宜。

“三焦针法”由韩景献教授根据“三焦气化失司”导致 AD 提出,诸穴合用,使得三焦气机条畅,同时通过益气调血来培补人体的肾精元气,扶助人之根本^[16],与 AD 髓海不足证病机相对应。

研究数据显示,加用“三焦”针法可提高 AD 患者的认知功能,加用“三焦”针法利于改善 AD 患者的中医临床症状,可进一步提高 AD 的治疗效果,上述结果与既往文献报道基本一致^[4]。

斑块沉积是 AD 特征性病理学改变,其主要成分为 A β ,在早发型、散发型 AD 患者脑组织中会出现 A β 的清除障碍^[6]。IL-1 β 、IL-6、TNF- α 是 AD 病程中由胶质细胞产生的炎性介质,三者可增加血脑屏障的通透性,损害小神经胶质细胞清除 A β 的能力,以及促进 APP 代谢为 A β ,导致 A β 在大脑中沉积增加^[6,17]。文献报道炎症细胞因子 IL-1、IL-6 和 TNF- α 在 AD 患者体内明显升高,可能参与了 AD 的发病^[18]。本组数据提示了“三焦”针法可能通过下调炎性介质 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平,减少 A β 在脑内沉积,起到治疗效果。

A β 沉淀诱发的慢性神经炎症是 AD 的一种重要病理特征。A β 沉淀物会刺激胶质细胞分泌 MCP-1、MIP-1 α 、IL-8 等趋化子,这些细胞因子会促进炎症细胞进入脑内,参与神经免疫炎症过程,也可诱发白细胞分泌整合素、促炎因子和黏附分子,加重炎症反应及影响趋化因子、其他炎性因子分泌^[8,19],研究数据显示加用“三焦”针法可能通过减少 AD 患者体内 A β mRNA 表达,从而下调 MCP-1、MIP-1 α 、IL-8 水平,达到治疗效果。

参考文献

[1] REITZ C, MAYEUX R. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers[J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 88(4): 640-651.

[2] 杜蘅,袁晓东. 阿尔茨海默病病因及发病机制研究进展[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2017, 55(10): 1-7.

[3] 邱海鹏,张晓璇,申兴斌,等. 补肾益智方联合丁苯酞对阿尔茨海默病患者 A β 、GSH-Px、SOD 及 MDA 水平的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(14): 187-191.

[4] 贾玉洁,孟丹,孙梦鹿,等. 三焦针法治疗轻中度阿尔茨海默病的随机对照临床研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(9): 1911-1914.

[5] 赵岚,周春雷,刘云鹤,等. 三焦针法对阿尔茨海默病免疫功能影响的研究[J]. *天津中医药*, 2017, 34(1): 32-36.

[6] 杨卉. 阿尔茨海默病中 β -淀粉样蛋白清除机制的研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2017, 44(2): 184-187.

[7] 胡小军,余长江,李俊,等. 补肾通络汤治疗阿尔茨海默病 40 例的临床分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(11): 182-185.

[8] 罗飘,楚世峰,朱天碧,等. 趋化因子参与阿尔茨海默病的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(8): 1051-1055.

[9] 刘建平. 临床试验样本含量的计算[J]. *中国中西医结合杂志*, 2003, 23(7): 536-538.

[10] 田金洲. 中国痴呆诊疗指南[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012: 321-325.

[11] 吴江,贾建平,崔丽英. 神经病学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2010: 331-336.

[12] MARIONI R E, CHATFIELD M, BRAYNE C, et al. The reliability of assigning individuals to cognitive states using the Mini Mental-State Examination: a population-based prospective cohort study[J]. *BMC Med Res Methodol*, 2011, 11: 127.

[13] NASREDDINE Z S, PHILLIPS N A, BÉDIRIAN V, et al. The Montreal cognitive assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2005, 53(4): 695-699.

[14] 田金洲,韩明向,涂晋文,等. 血管性痴呆诊断、辨证及疗效评定标准(研究用)[J]. *中国老年学杂志*, 2002, 22(5): 329-331.

[15] 陈付艳,周鑫,于建春,等. “三焦针法”对快速老化痴呆鼠 SAMP10 血脂代谢的影响[J]. *国医论坛*, 2015, 30(4): 63-65.

[16] 张鑫,罗本华,蔡攀,等. “三焦”针法与“益气调血,扶本培元”[J]. *天津中医药*, 2013, 30(6): 325-327.

[17] 李达,杜艳军,孙国杰,等. 炎症介质与阿尔茨海默病脑内免疫激活机制研究进展[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(4): 874-877.

[18] TAN Z S, BEISER A S, VASAN R S, et al. Inflammatory markers and the risk of Alzheimer disease: the Framingham Study[J]. *Neurology*, 2007, 68(22): 1902-1908.

[19] 刘畅,国海东,康湘萍,等. 星形胶质细胞产生的趋化因子在阿尔茨海默病发生发展中的作用[J]. *生理科学进展*, 2014, 45(2): 125-128.