【基础研究】

通窍活血汤调控小胶质细胞表型对阿尔茨海默病的保护及作用机制

何 川，陈 延，贾复敏，晏小琼，郭珍立*
（湖北省中西医结合医院神经功能科，湖北武汉 430000）

摘要：目的 探讨通窍活血汤通过调控小胶质细胞改善阿尔茨海默病（AD）的分子机制。**方法** 采用脂多糖（LPS）刺激 BV2 细胞建立 AD 细胞模型，通过以下实验评估通窍活血汤的作用：① CCK-8 法和流式细胞术检测细胞活力及凋亡率；② ELISA 法测定炎症因子（IL-6、TNF-α 和 IL-1β）及氧化应激指标（ROS、MDA 及 SOD）；③蛋白质印迹法检测 NLRP3 炎症小体表达；④商用试剂盒测定线粒体功能（ATP 产量、膜电位及超氧化物生成量）。**结果** 通窍活血汤显著抑制 LPS 诱导的 BV2 细胞活力升高（$t = 5.289 \sim 14.406$，$P < 0.05$）和凋亡率下降（$t = 14.518$，$P < 0.05$），并下调炎症因子表达、逆转氧化应激（ROS 和 MDA 上调，SOD 下调），差异具有统计学意义（$P < 0.05$）。通窍活血汤能改善 LPS 导致的线粒体功能障碍：恢复 ATP 产量、稳定膜电位及减少超氧化物生成（$P < 0.05$）。机制研究表明，通窍活血汤通过下调 NLRP3 炎症小体表达发挥保护作用，而 NLRP3 过表达可逆转其效应（$P < 0.05$）。**结论** 通窍活血汤通过抑制 NLRP3 炎症小体激活，改善小胶质细胞炎症反应和氧化应激状态，并纠正线粒体功能障碍，从而发挥神经保护作用。

关键词：通窍活血汤；小胶质细胞；阿尔茨海默病；NOD 样受体蛋白 3 炎症小体；氧化应激；线粒体功能障碍
中图分类号：R277.7；R749.1 + 6　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188(2025)10-1013-008
引用：何川, 陈延, 贾复敏, 等. 通窍活血汤调控小胶质细胞表型对阿尔茨海默病的保护及作用机制[J]. 世界临床药物, 2025, 46(10): 1013-1020. DOI：10.13683/j.wph.2025.10.004

Protective effect and mechanism of Tongqiao Huoxue decoction in regulating microglial phenotype for Alzheimer's disease

HE Chuan, CHEN Yan, JIA Fumin, YAN Xiaoqiong, GUO Zhenli*
(*Department of Neurological Function, Hubei Hospital of Integrated Chinese & Western Medicine, Wuhan 430000, Hubei Province, China*)

Abstract: ***Objective*** To explore the molecular mechanism of Tongqiao Huoxue decoction in regulating microglia for Alzheimer's disease(AD). ***Methods*** The AD cell model was established by stimulating BV2 cells with lipopolysaccharide(LPS), and the effect of Tongqiao Huoxue decoction was evaluated through the following experiments: ①Cell viability and apoptosis rate were detected by CCK-8 method and flow cytometry. ② Inflammatory factors(IL-6, TNF-α and IL-1β) and oxidative stress indicators(ROS, MDA, SOD) were determined by ELISA. ③Western blot was used to detect the expression of NLRP3 inflammasome. ④Mitochondrial functions(ATP production, membrane potential, and superoxide generation) were determined using commercial kits. ***Results*** Tongqiao Huoxue decoction significantly inhibited the increase in BV2 cell viability induced by LPS(t=5.289—14.406, P<0.05) and the decrease in apoptosis rate(t=14.518, P<0.05), and down-regulated the expression of inflammatory factors, reversed oxidative stress(up-regulated ROS and MDA, down-regulated SOD), with statistically significant differences(P<0.05). Tongqiao Huoxue

收稿日期：2025-01-20
作者简介：何川，主治医师，硕士研究生，研究方向：神经内科。
通信作者：郭珍立，主任医师，研究方向：神经内科。
基金项目：湖北省自然科学基金计划青年项目(2022CFB612)

decoction can improve mitochondrial dysfunction caused by LPS: restore ATP production, stabilize membrane potential, and reduce superoxide generation ($P<0.05$). Mechanism studies have shown that Tongqiao Huoxue decoction exerts a protective effect by down-regulating the expression of NLRP3 inflammasome, and overexpression of NLRP3 can reverse this effect ($P<0.05$). ***Conclusion*** Tongqiao Huoxue decoction exerts neuroprotective effects by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome, improving the inflammatory response and oxidative stress state of microglia, and correcting mitochondrial dysfunction.

Key words: Tongqiao Huoxue decoction; microglia; Alzheimer's disease; NOD-like receptor protein 3 inflammasome; oxidative stress; mitochondrial dysfunction

阿尔茨海默病（Alzheimer's disease，AD）是一种中枢神经系统退行性病变，主要累及老年人群，是痴呆症最常见的临床亚型[1]。其发病机制尚未完全阐明，现有研究表明涉及多因素交互作用，其中炎症反应、氧化应激和线粒体功能障碍等已被证实与疾病发生发展密切相关[2]。目前，AD 尚无彻底根治的方法，现有药物主要集中于缓解症状和延缓疾病进程，但存在明显局限性[3]。此外，随着疾病的进展，部分患者还会对药物产生耐药性，导致治疗效果逐渐衰减[4]。因此，寻找新的治疗方法对于 AD 患者是很有必要的。

通窍活血汤是由赤芍、川芎、桃仁、红花、红枣（去核）和麝香等中药组成的经典方剂，具有活血化瘀、通络开窍之功效[5]。中医认为，AD 患者多有血瘀证，表现为面色晦暗、舌质紫暗或有瘀斑等。通窍活血汤中的麝香等成分可调控血脑屏障通透性，抑制炎症反应，增强抗氧化、抗细胞凋亡以及调节中枢神经递质表达等多种功能[6]。临床试验[7]证实，通窍活血汤可显著改善 AD 患者脑干诱发电位异常波形及神经递质平衡，从而提高患者的认知功能、改善精神状态。但目前研究对通窍活血汤治疗 AD 的作用机制仍缺乏深入探讨。本研究采用脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）刺激 BV2 小胶质细胞，成功构建 AD 体外炎症模型，系统探究通窍活血汤对神经炎症的调控作用及其分子机制，为 AD 的临床治疗提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系

BV2 小胶质细胞（武汉大学中国典型培养物保藏中心，1101MOU-PUMC000063）。

1.1.2 试剂与制剂

通窍活血汤按以下配方（均购自北京同仁堂药业有限公司）制备：麝香 0.15 g（后下）、川芎 3 g（与黄酒共煎）、赤芍 3 g、桃仁 9 g、红花 9 g、生姜 9 g、大枣 6 g（去核）、葱白 6 g、黄酒 250 mL（作为煎煮溶剂）。将川芎等七味药材与黄酒共煎至 150 mL，加入麝香继续浓缩至 100 mL，过滤后于 4 ℃保存（生药浓度 2 g/mL）。

DMEM 培养基（11995）和 PBS 缓冲液（P1020）购自北京 Solarbio 有限公司；10% 胎牛血清（美国 Procell 公司，批号 164210）；NLRP3 过表达 / 空载质粒（上海吉玛制药技术有限公司）；ECL 化学发光试剂盒（Vazyme，批号 E411-04/05）；AnnexinV-FITC 细胞凋亡检测试剂盒（C1062S）、RIPA 裂解液（P10013E）、BCA 蛋白浓度测定试剂盒（P10012S）、脱脂奶粉（P0216-300g）、SDS-PAGE 凝胶超快速配制试剂盒（P0012AC）、ATP 检测试剂盒（S0026）、线粒体膜电位测定试剂盒（C1073S）和超氧化物检测试剂盒（S0060）购自上海碧云天生物技术有限公司；NOD 样受体蛋白（NOD-like receptor protein，NLRP）3 抗体（ab263899）、GAPDH 抗体（ab9485）、

山羊抗兔 -IgG 抗体（ab150077）和山羊抗鼠 -IgG 抗体（ab150113）购自美国 Abcam 公司；ELISA 试剂盒（E-EL-H6156、E-EL-H0109、E-EL-H0149、E-EL-0060 和 E-EL-H6188）和活性氧（reactive oxygen species，ROS）荧光法测试盒（E-BC-K138-F）购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.1.3 仪器

恒温二氧化碳培养箱（上海博讯医疗生物仪器有限公司）；Mini-PROTEAN Tetra 型蛋白电泳装置和 ChemiDoc XRS 型化学发光凝胶成像仪（美国 Bio-Rad 公司）、EPoch 型全波长酶标仪（美国 BioTek 公司）；FACS Calibur 型流式细胞仪（美国 BD 公司）；SW-CJ-1FD 型超净工作台（中国苏州净化有限公司）。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与处理

在 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱中，将 BV2 小胶质细胞用含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素 - 链霉素双抗的 DMEM 培养基培养 24 h 达到对数生长期。细胞分组：对照组（未作任何处理），LPS 组（0.5 μg/mL LPS 处理），药物干预组（LPS 刺激后继续用 6 mg/mL 通窍活血汤浸膏处理），ov-NLRP3 组（转染 NLRP3 过表达载体至 BV2 细胞），药物干预＋ ov-NLRP3 组（药物干预后转染 NLRP3 过表达载体）。所有操作均严格遵循无菌规范，每组设置 3 个重复孔以确保实验可重复性。

1.2.2 细胞转染

将处于对数生长期的 BV2 细胞（4×10^5 cell/mL）接种于 6 孔培养板中，培养至 70% 融合度时进行转染操作。采用 Lipofectamine 2000 转染试剂，按照说明书配制转染试剂复合物，室温孵育 15 ～ 20 min 后加入细胞培养体系。转染 24 h 后采用 PBS 缓冲液洗涤，使用胰酶消化收集细胞，离心（300×*g*）5 min 后重悬于预冷的裂解缓冲液中，立即进行后续检测。

1.2.3 CCK-8 检测

收集处于对数生长期的 BV2 小胶质细胞，以 4×10^5 cell/mL 的密度制备单细胞悬液，接种于 96 孔培养板（每孔 100 μL），设置空白对照组（仅含培养基）以消除背景干扰。细胞培养 24 h 后用 PBS 缓冲液洗涤，每孔加入含 10% CCK-8 试剂的培养基 100 μL，于 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱中孵育 4 h。最后采用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔光密度（optical density，OD），通过标准曲线法计算细胞增殖活性。

1.2.4 细胞凋亡

将 BV2 细胞以 5×10^4 cell/mL 的密度接种于 6 孔培养板，置 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱中培养至细胞贴壁率达 85% 时，收集细胞，制成细胞悬液，转移至离心管中，离心（300×*g*）5 min 后弃去上清液。用 4 ℃预冷的 PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次，加入适量 PBS 缓冲液重悬细胞至终浓度 1×10^6 cells/mL，依次加入 Annexin V-FITC 和碘化丙啶染色液。混匀，室温避光孵育 15 min。染色完成后立即上机检测，激发波长 488 nm，检测细胞的凋亡率。

1.2.5 蛋白质印迹法检测

将 BV2 细胞以 5×10^4 cell/mL 的密度接种于 96 孔培养板。使用预冷的胰蛋白酶在冰上裂解 30 min，4 ℃条件下离心（12 000×*g*）15 min，收集上清液。采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度，标准曲线法计算样本蛋白含量。随后进行 10% SDS-PAGE 电泳，完成后采用半干转膜法将蛋白转移至 PVDF 膜（孔径 0.45 μm）60 min。转膜后立即用含 0.1% Tween 20 的 Tris 缓冲盐水（TBST）冲洗，置于含 5% 脱脂牛奶的 TBST 封闭液中，室温封闭 2 h。将膜转入稀释好的一抗（兔抗目标蛋白抗体）溶液中，4 ℃孵育过夜。次日用 TBST 洗涤（10 min×3），放入稀释好的 HRP 标记二抗（山羊抗兔 IgG），室温孵育 2 h。最后使用 ECL 化学发光试剂均匀覆盖膜表面，在暗室中进行显影，检测目标蛋白表达水平。

1.2.6 ELISA 检测

根据说明书使用 ELISA 试剂盒检测心肌细胞培养基中的炎症因子水平和神经元内氧化应激相关指标水平。

1.2.7 线粒体 ATP 水平、线粒体膜电位和线粒体超氧化物的测定

根据说明书使用 ATP 检测试剂盒、线粒体膜电位测定试剂盒和超氧化物检测试剂盒测定细胞线粒体 ATP 水平、线粒体膜电位和线粒体超氧化物的产生量。

1.3 统计学分析

本研究采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行数据统计分析及可视化处理。实验数据经检验满足方差齐性和正态分布，以（均值 ± 标准差）表示。两组间比较采用独立样本 t 检验；多组比较使用单因素方差分析（one-way ANOVA）。每组实验均设置 3 次独立重复。以 $P < 0.05$ 视为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 BV2 细胞活力及凋亡

本研究采用 LPS 处理 BV2 细胞成功构建 AD 体外细胞模型，评估通窍活血汤对该模型的神经保护作用。试验结果显示（表 1）：与对照组相比，LPS 组 OD 值显著升高（$t = 14.920$、6.316、6.661，$P < 0.05$）；药物干预组 OD 值较 LPS 组明显降低（$t = 14.406$、5.811、5.289，$P < 0.05$）。流式细胞术分析表明，与对照组相比，LPS 组 BV2 细胞凋亡率明显降低（$t = 3.018$，$P < 0.05$）；药物干预组细胞凋亡率较 LPS 组升高（$t = 14.518$，$P < 0.05$）。

2.2 BV2 细胞的炎症和氧化应激

结果见表 2，与对照组相比，LPS 组 BV2 细胞炎症因子（IL-6，TNF-α 和 IL-1β）分泌水平显著上调（$t = 49.779$、58.428、60.447，$P < 0.05$），药物干预组炎症因子分泌水平抑制（$t = 30.425$、41.438、38.908，$P < 0.05$）。在氧化应激指标方面，与对照组相比，LPS 组 BV2 细胞活性氧（reactive oxygen species，ROS）和丙二醛（malondialdehyde，MDA）水平显著升高，超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）水平显著下调（$t = 50.201$、52.203、53.860，$P < 0.05$）。药物干预组氧化应激改变均得到显著逆转（$t = 32.294$、37.557、29.976，$P < 0.05$）。

2.3 BV2 细胞的线粒体功能障碍

结果见表 3，与对照组相比，LPS 组 ATP 水平及线粒体膜电位明显降低，线粒体超氧化物含量明显升高（$t = 51.824$、56.472、44.941，$P < 0.05$）；与 LPS 组相比，药物干预组 ATP 生成量及线粒体膜电位明显提高，线粒体超氧化物含量明显降低（$t = 33.500$、32.532、27.004，$P < 0.05$）。

2.4 NLRP3 炎症小体调节 BV2 细胞的生物学功能

如图 1 所示，与对照组（1.00±0.02）相比，LPS 组（3.25±0.41）BV2 细胞中 NLRP3 蛋白表达水平显著上调（$t = 8.955$，$P < 0.05$），药物干预

表 1 BV2 细胞活力及细胞凋亡的影响

Table 1 Effects on BV2 cell viability and apoptosis

项目	时间	对照组	LPS组	药物干预组	F值	P值
OD值	0 d	0.49±0.02	0.51±0.03	0.50±0.02	0.529	0.614
	1 d	0.71±0.04	1.29±0.06*	0.73±0.04#	143.471	<0.001
	2 d	1.46±0.08	1.96±0.13*	1.50±0.07#	24.638	0.001
	3 d	1.73±0.10	2.41±0.15*	1.87±0.12#	24.742	0.001
细胞凋亡率/%		7.23±0.47	3.86±0.30*	20.07±2.31#	117.378	<0.001

注：与对照组比较，*$P < 0.05$；与 LPS 组比较，#$P < 0.05$。

Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the LPS group, #$P<0.05$.

组（2.51±0.34）NLRP3 蛋白表达水平较 LPS 组出现部分逆转（$t = 2.945$，$P < 0.05$）。为深入探究通窍活血汤是否通过 NLRP3 炎症小体通路参与调控 AD 病理进程，本研究构建 NLRP3 过表达载体并成功转染至 BV2 细胞。功能试验表明：NLRP3 过表达明显升高细胞活力（$t = 14.029$、6.466、6.762，$P < 0.05$），降低细胞凋亡率（$t = 2.986$，$P < 0.05$）；与药物干预组相比，ov-NLRP3 ＋药物干预预显著改善细胞活性（$t = 6.680$、6.360、2.758，$P < 0.05$），降低细胞凋亡率（$t = 4.571$，$P < 0.05$），见表 4。

3 讨论

通窍活血汤作为清代《医林改错》中的经典活血通窍方剂，其多靶点神经保护作用近年来备受关注。该方以赤芍清热凉血、川芎行气活血为君药，配伍桃仁、红花增强化瘀之力，佐以麝香开窍醒神，形成“活血 - 通络 - 醒脑”的协同机制[8]。研究[9—10]表明，通窍活血汤通过调控中风大鼠肠道菌群、抑制炎症通路，以及调节钙信号传导等多重途径，对大鼠的

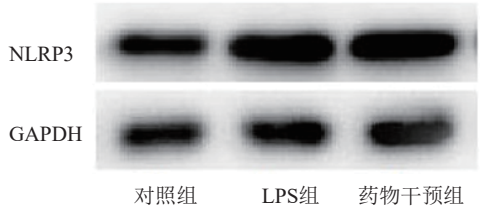


图 1 蛋白质印迹法检测 BV2 细胞中 NLRP3 蛋白表达
Figure 1 Western blot detection of NLRP3 protein expression in BV2 cells

中风后遗症、血管性痴呆均显示出良好疗效。通窍活血汤联合针刺督脉治疗能改善 AD 患者认知功能、缓解患者临床症状、降低炎症因子水平[11]，但其分子机制尚未完全阐明。

星形胶质细胞是中枢神经系统特有的细胞亚群，在 AD 的发病机制及病理进程中发挥关键作用。AD 病理状态下，星形胶质细胞可参与 Aβ 代谢影响老年斑的形成，分泌多种炎症因子和趋化因子参与 AD 的病理进程，并且还能通过影响突触谷氨酸循

表 2 BV2 细胞炎症和氧化应激的影响（$\bar{x}\pm s$，单位：%）
Table 2 Effects of inflammation and oxidative stress on BV2 cell（$\bar{x}\pm s$, unit: %）

项目	对照组	LPS组	药物干预组	*F*值	*P*值
IL-6	100.00±0.02	263.45±6.15*	163.55±3.27#	1 259.420	＜0.001
TNF-α	100.02±0.03	291.23±6.27*	155.62±2.98#	1 806.525	＜0.001
IL-1β	100.01±0.02	297.41±6.22*	170.35±3.05#	1 877.175	＜0.001
ROS	100.00±0.03	253.26±5.94*	154.67±2.58#	1 294.587	＜0.001
SOD	100.02±0.05	51.44±1.36*	86.39±1.43#	140.075	＜0.001
MDA	100.02±0.02	302.14±7.15*	189.65±3.50#	1 456.617	＜0.001

注：与对照组比较，*$P < 0.05$；与 LPS 组比较，#$P < 0.05$。
Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the LPS group, #$P<0.05$.

表 3 BV2 细胞线粒体功能的影响
Table 3 Effects of mitochondrial function on BV2 cell

项目	对照组	LPS组	药物干预组	*F*值	*P*值
ATP	100.02±0.04	49.48±1.22*	82.15±1.67#	1 381.241	＜0.001
膜电位	100.00±0.05	44.66±1.35*	76.54±1.58#	1 606.848	＜0.001
超氧化物	100.01±0.03	234.76±5.35*	153.79±3.44#	1 023.531	＜0.001

注：与对照组比较，*$P < 0.05$；与 LPS 组比较，#$P < 0.05$。
Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the LPS group, #$P<0.05$.

表 4 通窍活血汤调控 NLRP3 炎症小体对 BV2 细胞活力及凋亡的影响

Table 4 Effects of Tongqiao Huoxue decoction on the regulation of NLRP3 inflammasome on the viability and apoptosis of BV2 cell

项目	时间	对照组	药物干预组	ov-NLRP3组	药物干预＋ov-NLRP3组	*F*值	*P*值
OD值	0 d	0.49±0.02	0.50±0.04	0.48±0.04	0.51±0.03	0.444	0.728
	1 d	0.71±0.04	0.73±0.05	1.34±0.08*	1.03±0.04#	87.430	＜0.001
	2 d	1.46±0.08	1.50±0.07	2.07±0.14*	1.72±0.11#	27.511	＜0.001
	3 d	1.73±0.10	1.87±0.12	2.49±0.17*	2.18±0.15#	18.157	＜0.001
细胞凋亡率/%		7.23±0.47	20.07±2.31*	4.51±0.39*	14.63±1.67#	70.740	＜0.001

注：与对照组比较，*$P < 0.05$；与药物干预组比较，#$P < 0.05$。

Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the drug intervention group, #$P<0.05$.

环来调节神经元的活性，在 AD 病理生理机制中的作用受到广泛关注[12]。同时，激活 NLRP3 炎性小体通路会促进炎性因子释放，持续神经炎症反应是 AD 病理进展的重要驱动因素[13]。BV2 细胞作为中枢神经系统中的常驻免疫细胞，在病原体清除、受损细胞监测及神经炎症调控中发挥关键作用，同时为神经元提供支持性功能。值得注意的是，BV2 细胞作为一种永生化小鼠小胶质细胞系，不仅保留了原代细胞的形态特征和功能特性，还具有易于培养和遗传背景稳定的优势，因此成为神经退行性疾病研究的常用工具。在 AD 研究中，BV2 细胞系被广泛用于神经炎症模型的构建（如 LPS 刺激模拟炎症微环境）以及 β- 淀粉样蛋白代谢通路等病理机制的探讨[14—15]。本研究拟通过 LPS 诱导的 BV2 细胞模型，系统探究通窍活血汤对 AD 的保护效应及其分子机制。

线粒体作为细胞核心能量代谢枢纽，对维持 BV2 细胞的生理活性至关重要。线粒体功能障碍会导致 BV2 细胞出现能量代谢紊乱，表现为吞噬效能降低及炎性因子分泌失衡，这种病理改变可能加剧神经炎症反应，促进神经元损伤进程[16]。AD 发病机制复杂，涉及脑内的淀粉样蛋白沉积、Tau 蛋白磷酸化、神经元损伤和凋亡及神经炎症等多个病理生理过程，BV2 细胞线粒体功能受损会降低其清除 β- 淀粉样蛋白和 Tau 病理性聚集物的能力，加剧炎症反应，从而加速 AD 病理进展[17]。相关研究[18]报道，通窍活血汤能抑制 20S 蛋白酶体对星形胶质细胞内谷氨酰胺合成酶的降解，提高 GS 表达，促进谷氨酸代谢，发挥脑保护作用。现代药理学研究[19]表明，通窍活血汤通过抑制血管因子 ET-1、促进血管内皮生长因子的生成和促进海马神经细胞的修复，改善血管性痴呆大鼠认知功能。此外，通窍活血汤通过调控星形胶质细胞谷氨酸 - 谷氨酰胺循环，可降低谷氨酸兴奋性毒性，改善脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能[20]。通窍活血汤还能抑制缺血性脑损伤大鼠神经损伤及脑组织炎症反应，同时抑制血管氧化应激损伤，发挥脑组织及血管的保护作用[21—22]。本研究探究证实，与对照组相比，LPS 诱导的 BV2 细胞模型表现出明显的炎症因子分泌增加和线粒体功能障碍，给予通窍活血汤干预后上述病理改变显著被抑制，提示通窍活血汤通过抑制炎症反应及改善线粒体功能发挥作用。

在 AD 的发展中，线粒体功能障碍、氧化应激及炎症反应可协同激活 NLRP3 炎症小体[23—24]。该炎性复合体由炎症识别受体 NLRP3、接头蛋白（凋亡相关斑点样蛋白）及效应蛋白酶 Caspase-1 组成[25]，其异常激活在 AD 发展中具有关键作用。研究[26]表明，NLRP3 炎症小体活化不仅促进 IL-1β 等炎性因子释放，加剧神经炎症反应，还可能通过促进淀粉样斑块形成和神经元损伤加速疾病进展。

NLRP3 异常激活还会抑制小胶质细胞吞噬功能，导致 β- 淀粉样蛋白等有害物质清除障碍，进一步恶化 AD 病理进程[27]。中药成分通过调控 NLRP3 炎症小体可防治痴呆及脑损伤的发生，例如痴呆健脑方通过抑制 NEK7/NLRP3 炎症小体通路相关蛋白水平，降低神经元凋亡后下游炎症因子表达水平，改善血管性痴呆大鼠认知功能[28—29]；红花提取物通过抑制 NLRP3 炎症小体能减轻创伤性脑损伤小鼠模型的神经炎症[30]。LPS 诱导后 BV2 细胞中 NLRP3 蛋白表达显著升高，通窍活血汤干预可部分逆转该变化，进一步通过功能试验证实，NLRP3 的异常表达能逆转 LPS 对 BV2 细胞活力和凋亡的抑制作用，提示通窍活血汤可能通过调控 NLRP3 炎症小体及炎症反应参与细胞功能调节。本研究为通窍活血汤通过调控 NLRP3 炎症小体影响 BV2 细胞功能提供直接证据，阐明通窍活血汤的神经保护作用与精准抑制 NLRP3 炎症小体激活直接关联，并揭示了“抗炎 - 抗氧化 - 改善线粒体功能”的协同作用，为通窍活血汤治疗 AD 的临床应用提供新的药理学依据。值得注意的是，本研究为揭示 AD 分子机制、优化给药方案提供一定理论依据和价值。但体内疗效及临床转化价值，仍需结合体内研究进行互补与验证，对药物的药动学、血脑屏障穿透性、整体疗效及潜在毒副作用等进行分析评估，才能为后续的临床转化提供可靠的依据。

综上，通窍活血汤可通过调控 NLRP3 炎症小体通路，显著抑制 LPS 诱导的 BV2 细胞活力异常升高并促进凋亡进程，同时能有效缓解 LPS 触发的炎症反应和氧化应激损伤，改善线粒体功能障碍，在 AD 神经炎症调控中发挥重要作用。目前通窍活血汤对 AD 的临床疗效尚待系统验证，这将成为后续研究的重点方向。

参考文献：

[1] HUA KY, ZHAO WJ. Current study on diagnosis and treatment of Alzheimer's disease by targeting amyloid b-protein[J]. Folia Neuropathol, 2023, 61(1): 8-15.

[2] LEE JY, NAM JH, NAM Y, *et al*. The small molecule CA140 inhibits the neuroinflammatory response in wild-type mice and a mouse model of AD[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15(1): 286.

[3] 刘淑青, 顾丰华. 阿尔茨海默病的药物治疗及研发进展[J]. 世界临床药物, 2022, 43(4): 470-475.

[4] BHANUKIRAN K, PRIYA V. Exploring multitarget potential of Piper nigrum fruit constituents for Alzheimer's disease: An AI-driven strategy[J]. Phytomedicine, 2024, 135: 156108.

[5] 倪嘉挺, 王蕊娇, 董培良, 等. 基于熵权法结合Box-Behnken响应面法优化通窍活血汤提取工艺[J]. 中药材, 2024, (9): 2302-2306.

[6] 刘伟, 李娜, 姚晶, 等. 麝香对中枢神经系统疾病药理作用的实验研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(7): 214-218.

[7] 李永宝, 王菲, 习淑静, 等. 通窍活血汤联合艾地苯醌治疗阿尔茨海默病的疗效及对脑干诱发电位的影响[J]. 医学理论与实践, 2024, 37(21): 3642-3644.

[8] WU J, LI XY, LIANG J, *et al*. Network pharmacological analysis of active components of Tongqiao Huoxue decoction in the treatment of intracerebral hemorrhage[J]. Ann Transl Med, 2022, 10(10): 567.

[9] ZHANG F, ZHAI M, WU Q, *et al*. Protective effect of Tong-Qiao-Huo-Xue decoction on inflammatory injury caused by intestinal microbial disorders in stroke rats[J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(5): 788-800.

[10] GE CL, WANG XM, HUANG ZG, *et al*. Tongqiao Huoxue decoction ameliorates learning and memory defects in rats with vascular dementia by up-regulating the Ca^{2+}-CaMKII-CREB pathway [J]. Chin J Nat Med, 2015, 13(11): 823-830.

[11] 刘辉, 李佩芳, 孙培养. 针刺督脉联合通窍活血汤治疗阿尔茨海默病的效果观察[J]. 实用中医内科杂志, 2023, 37(1): 32-35.

[12] 章玲, 张衡, 孙秉贵. 星形胶质细胞在阿尔茨海默病中的作用及其分子机制[J]. 生命科学, 2017, 29(5): 501-506.

[13] JUNG ES, SUH K, HAN J, *et al*. Amyloid-β activates NLRP3 inflammasomes by affecting microglial immunometabolism through the Syk-AMPK pathway[J]. Aging Cell, 2022, 21(5): e13623.

[14] JIA Y, ZHANG D, YIN H, *et al*. Ganoderic acid A attenuates LPS-induced neuroinflammation in BV2 microglia by activating farnesoid X receptor[J]. Neurochem Res, 2021,

46(7): 1725-1736.

[15] FAN J, MA Z, ZHENG Y, *et al*. Folate deficiency increased microglial amyloid-β phagocytosis via the RAGE receptor in chronic unpredictable mild-stress rat and BV2 cells[J]. Nutrients, 2023, 15(16): 3501.

[16] SHARIKOVA AV, QUAYE E, PARK JY, *et al*. Methamphetamine induces apoptosis of microglia via the intrinsic mitochondrial-dependent pathwayJ]. J Neuroimmune Pharmacol, 2018, 13(3): 396-411.

[17] FAIRLEY LH, WONG JH, BARRON AM. Mitochondrial regulation of microglial immunometabolism in Alzheimer's disease[J]. Front Immunol, 2021, 12: 624538.

[18] 姜雅楠, 张文毅, 娄原, 等. 通窍活血汤含药血清对星形胶质细胞谷氨酸代谢的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2025, 49(1): 77-86.

[19] 刘江华, 李胤, 姜磊, 等. 加减通窍活血汤对血管性痴呆大鼠认知功能及ET-1、VEGF血管新生因子的影响[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(4): 857-860.

[20] 张立娟, 张蔷, 娄原, 等. 通窍活血汤通过调节星形胶质细胞Glu-Gln循环降低Glu兴奋性毒性改善CIRI大鼠的神经功能[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(22): 31-40.

[21] OU Z, DENG Y, WU Y, *et al.* Tongqiao Huoxue decoction inhibits ferroptosis by facilitating ACSL4 ubiquitination degradation for neuroprotection against cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Phytomedicine, 2024, 130: 155701.

[22] 康花民, 李淑红, 边玉玺, 等. 通窍活血汤调节Nrf2通路对新生大鼠缺血缺氧性脑损伤血管保护及神经功能改善作用研究[J]. 天津中医药, 2024, 41(1): 80-86.

[23] MISHRA SR, MAHAPATRA KK, BEHERA BP, *et al*. Mitochondrial dysfunction as a driver of NLRP3 inflammasome activation and its modulation through mitophagy for potential therapeutics[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2021, 136: 106013.

[24] LI Q, WU L, CHENG B, *et al*. Penfluroidol attenuates the imbalance of the inflammatory response by repressing the activation of the NLRP3 inflammasome and reduces oxidative stress via the Nrf2/HO-1 signaling pathway in LPS-induced macrophages[J]. Mediators Inflamm, 2023, 2023: 9940858.

[25] KIM JK, JIN HS, SUH HW, *et al*. Negative regulators and their mechanisms in NLRP3 inflammasome activation and signaling[J]. Immunol Cell Biol, 2017, 95(7): 584-592.

[26] CAI Y, CHAI Y, FU Y, *et al*. Salidroside ameliorates Alzheimer's disease by targeting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis[J]. Front Aging Neurosci, 2021, 13: 809433.

[27] MADHU LN, KODALI M, UPADHYA R, *et al*. Extracellular vesicles from human-induced pluripotent stem cell-derived neural stem cells alleviate proinflammatory cascades within disease-associated microglia in Alzheimer's disease[J]. J Extracell Vesicles, 2024, 13(11): e12519.

[28] 李伟峰, 秦合伟, 姬令山, 等. 痴呆健脑方调控NEK7/NLRP3炎症小体通路防治血管性痴呆[J]. 安徽中医药大学学报, 2024, 43(1): 94-100.

[29] 颜池, 费洪新, 马新博, 等. 血管性痴呆与核苷酸结合寡聚结构域样受体家族3炎症小体关系的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(10): 2555-2559.

[30] SHAHEEN MJ, BEKDASH AM, ITANI HA, *et al*. Saffron extract attenuates neuroinflammation in rmTBI mouse model by suppressing NLRP3 inflammasome activation via SIRT1[J]. PLoS One, 2021, 16(9): e0257211.

（编辑：沈佳婕）