

基于线粒体动力学失衡调控研究锁阳醋酸乙酯提取物对阿尔茨海默症小鼠行为学的改善作用

李鑫洁, 程丹, 李玲玲, 苏磊, 鲁艺

北京中医药大学 中医学院, 北京 100029

摘要: **目的** 探究锁阳醋酸乙酯提取物(ECS)对阿尔茨海默症(AD)模型小鼠行为学、线粒体组织形态学及线粒体动力学相关蛋白表达的影响和作用机制。**方法** 采用8周龄AD模型5xFAD转基因小鼠为模型组,8周龄野生型C57BL/6小鼠为对照组,ECS组为模型鼠ig ECS 47 mg/kg,每天1次,连续14 d。给药6和12周分别进行跳台、水迷宫、旷场行为学检测;给药12周后取海马部位进行电镜观察;Western blotting检测线粒体融合相关蛋白MFN1、OPA1和线粒体分裂相关蛋白DRP1的表达。**结果** 水迷宫结果显示,给药6周,3组间均无显著性差异;给药12周后,与对照组比较,模型组小鼠潜伏期时间延长($P < 0.05$),穿越平台次数显著减少($P < 0.05$);与模型组比较,ECS组小鼠潜伏期时间显著缩短($P < 0.05$),穿越平台次数显著增加($P < 0.05$);跳台结果显示,与对照组比较,给药6周及12周,模型组小鼠跳台潜伏期时间显著缩短($P < 0.05$),跳台次数显著增多($P < 0.05$);与模型组比较,给药6周,ECS组无显著性差异;给药12周,ECS组跳台潜伏期时间显著延长($P < 0.05$),跳台次数显著减少($P < 0.05$)。旷场结果显示,给药12周,三组均无显著性差异。电镜结果显示,对照组线粒体结构清晰膜完整,嵴排列整齐;模型组线粒体膜破裂、直径变小、嵴扭曲模糊;ECS组线粒体嵴不完全变形,部分基质出现空泡。Western blotting结果显示,与对照组比较,模型组OPA1及MFN1蛋白表达水平显著下调,DRP1蛋白表达水平显著上调($P < 0.05$);与模型组比较,ECS组MFN1、OPA1蛋白表达水平显著上调($P < 0.05$ 、0.01),DRP1蛋白表达水平显著下调($P < 0.05$)。**结论** ECS显著改善AD模型小鼠的行为学,机制可能与调节线粒体动力学失衡相关。

关键词: 锁阳; 醋酸乙酯提取物; 阿尔茨海默症; 线粒体; 动力学失衡; MFN1; OPA1; DRP1

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2020)03-0451-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.03.014

Study on mechanism of action of *Cynomorium* on Alzheimer's disease based on mitochondrial dynamics imbalance regulation

LI Xinjie, CHENG Dan, LI Lingling, SU Lei, LU Yi

School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine Beijing 100029, China

Abstract: objective To investigate the effect and mechanism of the effective fraction of *Cynomorium songaricum* Ethyl Acetate Extract (ECS) on behavior, mitochondrial histomorphology and expression of mitochondrial kinetic-related proteins in Alzheimer's disease model mice. **Methods** 8-week-old AD model 5xFAD transgenic mice were used as the model group, 8-week-old wild-type C57BL/6 mice as the control group, and ECS as the administration group. After 6 weeks and 12 weeks of administration, the behaviors of platform jumping, water maze and so on were detected. After 12 weeks of administration, the hippocampus was taken and observed by electron microscope. Western blotting was used to detect the expression of MFN1, OPA1 and DRP1. **Results** The results of water maze showed that there was no significant difference among the three groups after 6 weeks of administration, but after 12 weeks of administration, the incubation period of the model group was longer than that of the control group ($P < 0.05$), and the number of crossing the platform was decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the latency time and the number of crossing the platform in ECS group were shorter ($P < 0.05$) and higher than those in model group ($P < 0.05$). The results of platform jumping showed that compared with the control group, the latency time of platform jump in the model group was shortened ($P <$

收稿日期: 2019-06-18

基金项目: 北京市自然科学基金(面上项目)(18G40092)

第一作者: 李鑫洁, 硕士在读。E-mail: lixinjie@bucm.edu.cn

*通信作者: 鲁艺 E-mail: luyi@bucm.edu.cn

0.05) and the number of platform jumping was increased ($P < 0.05$), which was similar to that in the model group. After 6 weeks of administration, there was no significant difference in ECS group, but at 12 weeks of administration, the latency time of platform jump in ECS group was prolonged and the number of platform jumping was decreased ($P < 0.05$). The results of open field showed that there was no significant difference among the three groups at 12 weeks. The results of electron microscope showed that the structure of mitochondria in the control group was clear and the crest was arranged neatly, while in the model group, the mitochondrial membrane ruptured, the diameter became smaller and the cristae were distorted and blurred. Western blotting results showed that compared with the control group, the expression level of OPA1 and mfn1 protein in the model group was significantly down regulated, and the expression level of drp1 protein was significantly up regulated ($P < 0.05$); compared with the model group, the expression level of mfn1 and OPA1 protein in the ECS group was significantly up regulated ($P < 0.05, 0.01$), and the expression level of drp1 protein was significantly down regulated ($P < 0.05$). **Conclusion** ECS can significantly improve the behavior of AD mice, and the mechanism may be related to the regulation of mitochondrial dynamics imbalance.

Key words: *Cynomorium*; Ethyl acetate extract; Alzheimer's disease; mitochondria; kinetic imbalance; MFN1; OPA1; DRP1

锁阳为锁阳科植物锁阳 *Cynomorium songaricum* Rupr. 的干燥肉质茎,呈扁圆柱形,表面粗糙,体重,质硬,难折断,较好辨认。锁阳具有补肾益精,润肠通便的功效。临床主要用于肾阳不足,精血亏虚,腰膝痿软,阳痿滑精,肠燥便秘等^[1],素有“沙漠人参”及“不老药”之称^[2]。作为珍稀濒危药用植物,锁阳被国内外各领域研究者所重视。现代研究表明^[3],锁阳中含有多种活性成分,并与其临床药理作用息息相关,网络药理学研究显示,锁阳保护神经是多成分、多靶点的作用机制。研究发现,锁阳醋酸乙酯提取物(Ethyl acetate extract of *Cynomorium songaricum*, ECS)能促进细胞再生和分化,促进突触增长并改善学习和记忆能力,具有体外神经元保护作用^[4]。

研究表明^[5],阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)患者体内有大量 β 淀粉样蛋白沉积及神经原纤维缠结,同时伴有炎症、线粒体结构损伤和神经元缺失等现象。随着更为深入的研究,有学者发现,早期AD,即认知障碍出现时已经存在线粒体功能异常,而 $A\beta$ 的沉积也会造成线粒体融合和分裂障碍^[6],说明线粒体动力学维持平衡在AD病理形成过程中扮演重要角色,早期调控干预线粒体动力学可能会对AD病情发展有所控制。同时,神经元丢失等现象与《医林改错》记载“小儿无记性者,脑髓未满,高年无记性者,脑髓渐空”中“脑髓渐空”的形态学表现一致。AD患者伴有的情志及认知功能障碍,也与“肾藏精,精舍志”的中医理论相似。在临床上,陈士铎用“补肾益精”的理论基础改善记忆力,他解释道:“如只益精血而不填肾中之精,则血虽骤生,而精乃长涸,则只能改善一时之善忘,而不能冀长年之不忘也”。因此,本课题选用补肾要药锁阳及带有5个家族性基因突变的AD模型

5xFAD小鼠,基于线粒体动力学失衡调控,探究锁阳醋酸乙酯提取物作用于机体治疗AD的机制,为进一步临床治疗提供选择。

1 材料

1.1 动物

5xFAD转基因小鼠(雄鼠),来自上海虔碧生物科技有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(苏)2018-0006;C57BL/6小鼠,来自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(沪)2017-0011,体质量20~30g,完全按照动物中心饲养标准饲养转基因鼠,SPF级环境,温度18~25℃,自由摄食和饮水,定期观察小鼠生长状况,及时更换垫料,并定时给药。

1.2 药品

ECS:根据前期实验^[6],锁阳饮片(购于北京国医堂,批号701002539)与70%乙醇以1:10的比例浸泡过夜后,超声提取3次,回收溶剂,加热回流浓缩直无醇味。加水溶解,用石油醚萃取后取上层水溶液,再用醋酸乙酯萃取水溶液取下层有机层,分别萃取5次,合并萃取液后用旋转蒸发仪减压浓缩,测得提取率为2.36%。获得ECS为黄棕色粉末,杂质<2%,总灰分<12%。运用超高压液相色谱/线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱法,鉴别出ECS有效成分21个,多以黄酮类化合物为主^[7]。

1.3 主要试剂

乙醇、醋酸乙酯,均购于北京高华伟业食品添加剂有限公司;25%戊二醛、4%多聚甲醛,均购于北京百诺威生物科技有限公司;线粒体蛋白提取试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、5X蛋白上样缓冲液(含DTT)、预染蛋白Marker、4XSDS-PAGE浓缩胶缓冲液、4XSDS-PAGE分离胶缓冲液、30%蛋白凝胶溶液(29:1)、过硫酸铵、PBS缓冲液,均购于北京拜尔

迪生物科技有限公司; Actin Antibody、DRP1 Rabbit Antibody、MFN1 Rabbit Antibody、OPA1 Rabbit Antibody、超敏ECL化学发光液,均购于Proteintech公司;膜再生液、辣根酶标记山羊抗兔IgG、辣根酶标记山羊抗鼠IgG,均购于北京百诺威生物科技有限公司。

1.4 主要仪器

101FAB-2型电热鼓风干燥箱(上海树立仪器表有限公司);Sigma1-15PK小型高速冷冻离心机(德国Sigma公司);Morris水迷宫(中国医学科学院药物研究所);小鼠跳台记录系统(北京中医药大学);透射电子显微镜TEM-1400plus(日本电子株式会社);电泳仪及电转仪(Bio-Rad PowerPac Basic);酶标仪(THERMO FISHER Multiskan);凝胶成像系统(Azure Biosystems);分析天平(Sartorius BP110S)。

2 方法

2.1 分组及给药

对照组为野生型C57小鼠,采用随机分组法将5xFAD小鼠分为模型组和ECS组,均为8周龄,每组8只。适应性饲养1周后,ECS组ig给药ECS 47 mg/kg,剂量设置参照文献^[8],对照组和模型组分别ig等量生理盐水。给药6周和12周分别进行Morris水迷宫、小鼠跳台实验及旷场实验等行为学测试。

2.2 Morris水迷宫

平台位于西南象限,前4 d为定位航行实验,第5天为空间探索实验。定位航行实验中分别以东南、东北和西北3个象限为入水点,随机放入小鼠,每天进行3次,记录搜索平台时间即逃避潜伏期时间。但若小鼠在60 s内未找到平台,则由实验者将其引向平台,其潜伏期记录为60 s。空间探索实验在第5天撤去平台,入水点为东北象限,记录60 s内小鼠穿越原平台次数。

2.3 小鼠跳台实验

黑色长方形跳台箱内被黑色隔板划分为5个空间,中心为白色绝缘体高站台,底部为可通电流的铜栅。将小鼠置于高站台,正常情况下被电击的小鼠会跳回平台并有一定的电击记忆储存时间而不继续下跳。此测试为期2 d,第1天为学习阶段,第2天为测试阶段。记录首次跳下高站台的时间即跳台潜伏期时间,300 s内受到电击的次数即错误次数,以此反映其记忆储存时间情况。

2.4 旷场实验

将小鼠放置在旷场箱中央格,由摄像系统记录

其5 min内的活动,记录穿行总格子数即水平得分(三爪及以上跨入),前肢抬起次数即垂直得分(两前肢离地面1 cm以上),以此观察小鼠焦虑情况。

2.5 制备切片与电镜观察

行为学试验结束后,小鼠ip 1%戊巴比妥0.04 mL/10 g麻醉后,使用心脏灌注法固定脑组织,快速取出小鼠脑分离海马于4%戊二醛中固定。1%锇酸后固定,梯度酒精脱水,Epon812环氧树脂包埋,制备半薄切片定位CA1区后,超薄切片,用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染,在TEM-1400plus透射电镜下观察并拍片。

2.6 Western blotting检测DRP1、OPA1、MFN1蛋白表达

提取小鼠海马组织进行线粒体蛋白提取(与线粒体提取试剂盒说明书同步),并用BCA法进行蛋白定量,配制10%分离胶及浓缩胶,上样后进行SDS-PAGE电泳(75 V 30 min, 120 V 60 min),湿转法转膜(180 mA 90 min, 0.45 μm孔径PVDF膜),5%脱脂牛奶封闭120 min后孵一抗4 °C过夜,所用抗体为β-actin(1:30 000)、DRP1(1:1 500)、OPA1(1:1 100)、MFN1(1:650)。次日37 °C孵二抗60 min, TBST清洗3次用ECL化学发光液显色并进行凝胶成像系统曝光。

2.7 数据统计分析

检测结果均采用SPSS 20软件进行统计学分析处理,实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,分别进行ANOVA单因素方差分析,继以LSD进行多重比较。

3 结果

3.1 Morris水迷宫实验

给药6周时,定位航行实验和空间探索实验结果均显示,模型组和ECS组与对照组无明显差异,但模型组与对照组比较,逃避潜伏期时间有延长趋势;给药12周后,与对照组比较,模型组小鼠潜伏期时间显著延长($P < 0.05$),且穿越平台次数明显减少($P < 0.05$);与模型组比较,ECS组小鼠潜伏期时间显著缩短($P < 0.05$),且穿越平台次数明显增加($P < 0.05$);对照组与ECS组结果无显著差异。提示ECS可能对AD有良好的预防作用。见表1。

3.2 跳台实验结果

结果显示,给药6周时,与对照组比较,模型组跳台潜伏期时间显著缩短($P < 0.05$),且错误次数显著增加($P < 0.05$);模型组与ECS组无显著性差异;

表1 Morris水迷宫结果比较($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 1 Comparison of morris water labyrinth($\bar{x} \pm s, n=8$)

给药时间/ d	组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	平台潜伏期/s				穿越平台次数
			第1天	第2天	第3天	第4天	
42	对照	—	54.4±12.6	45.8±7.9	37.4±6.2	13.8±4.3	10.6±2.0
	模型	—	56.7±14.7	47.4±10.2	36.5±12.2	15.6±6.4	9.2±1.9
	ECS	47	55.9±14.4	47.1±8.7	39.0±6.4	15.3±5.9	10.9±1.6
84	对照	—	50.4±8.6	38.1±5.8	19.8±3.9	10.1±3.7	12.8±2.6
	模型	—	52.0±7.9	42.5±4.5	30.4±6.3	27.4±4.1*	4.8±1.8*
	ECS	47	52.1±4.3	40.3±8.3	22.3±5.1	13.4±2.3 [#]	10.1±1.8 [#]

与同时期对照组比较: * $P < 0.05$; 与同时期模型组比较: [#] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group in the same period; [#] $P < 0.05$ vs model group in the same period

给药12周后,与对照组比较,模型组跳台潜伏期时间缩短($P < 0.05$),错误次数显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,ECS组跳台潜伏期时间显著延长($P < 0.05$),错误次数明显减少($P < 0.05$);而对照组与ECS组各水平均无明显差异。见表2。

3.3 旷场实验结果

结果显示,给药12周,对照组、模型组和ECS组在垂直得分和水平得分上均无显著性差异,提示ECS对动物焦虑程度和自主活动性没有影响。见表3。

3.4 电镜结果

电镜观察小鼠海马神经元中线粒体形态,对照组线粒体结构清晰、膜完整,体积较大,嵴排列整

齐,分布不均;模型组线粒体膜破裂、直径变小、嵴扭曲模糊,线粒体形态几乎辨别不清;ECS组线粒体嵴不完全变形,部分基质出现空泡,有的线粒体之间有融合趋势。见图1。

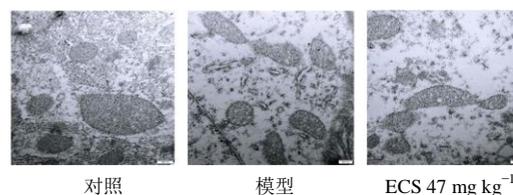


图1 小鼠线粒体电镜观察结果

Fig.1 Electron microscopic observation of mitochondria in mice

表2 跳台结果比较($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 2 Comparison of platform($\bar{x} \pm s, n=8$)

给药时 间/d	组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	跳台潜伏期/s	错误次数
42	对照	—	262.0±32.4	0.6±0.8
	模型	—	126.0±42.6*	9.8±3.3*
	ECS	47	155.2±18.2	8.7±2.8*
84	对照	—	274.0±34.4	0.5±0.8
	模型	—	121.9±23.8*	10.2±2.3*
	ECS	47	214.7±32.7 [#]	2.5±1.4 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group

表3 旷场实验结果比较($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 3 Comparison of crossing and rearing($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	水平得分	垂直得分
对照	58.5±4.6	28.5±4.6
模型	54.8±6.0	24.7±6.1
ECS	55.8±3.7	25.8±3.7

3.5 Western blotting结果

结果显示,与对照组比较,模型组线粒体融合相关蛋白MFN1、OPA1表达水平显著下调($P < 0.05$ 、 0.01);线粒体分裂相关蛋白DRP1表达水平显著上调($P < 0.05$)。与模型组比较,ECS组MFN1、OPA1蛋白表达水平显著上调($P < 0.05$ 、 0.01),DRP1蛋白表达水平显著下调($P < 0.05$)。见图2。

4 讨论

AD是一种神经退行性疾病,尽管过去几十年对AD神经生物学的研究取得了显著进展,但迄今仍缺乏有效治愈或者控制病情进展的方法。现代研究,AD的特征性病理改变为 β 淀粉样蛋白沉积形成的细胞外老年斑和tau蛋白过度磷酸化形成的神经细胞内神经原纤维缠结,但是对于AD发病的分子机制说法不一。目前几种假说主要围绕AD发生发展事件进行研究,有学者发现,在 β 淀粉样蛋白沉积过多及神经元纤维缠结形成之前,神经细胞已经出现能量代谢障碍、ROS生成增加等现象,说明线粒体结构和功能障碍及氧化应激可能是AD的早期事件^[9]。

线粒体作为细胞内主要供能的动态细胞器,时

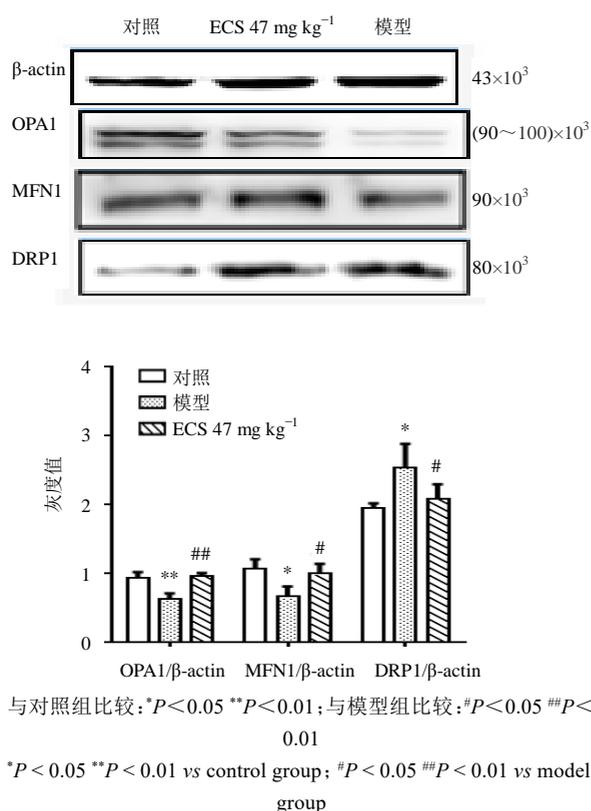


图2 MFN1、OPA1、DRP1 蛋白表达结果

Fig. 2 Proteins expression of MFN1, OPA1 and DRP1

刻维持着生物体基础生命代谢和各项生命活动。正常情况下,当细胞环境改变,线粒体会通过一系列生理过程使其数量、形态及其内酶总量等保持平衡,以维持其结构和功能正常,这一过程称之为“线粒体的稳态”(mitochondrial homeostasis)^[10]。同时,线粒体可以调节自身融合和分裂、细胞器内相关的蛋白和酶等,以保证线粒体正常进行各项生理功能,这称之为“线粒体的质量控制”(mitochondrial quality control, MQC)。线粒体不断的融合和分裂,控制着线粒体质量,当线粒体这种调节能力水平失衡,会引起线粒体形态、数量及相关酶和功能异常,从而引发AD、糖尿病等疾病^[11-12]。同时,线粒体的融合和分裂水平失衡会影响线粒体嵴的重建、堆叠或降解,进而影响线粒体内膜的形态和结构^[13]。

一般认为,哺乳动物线粒体的融合主要由分布于线粒体外膜上的MFN1和MFN2,以及分布于线粒体内膜上的OPA1共同调控,其分裂主要由DRP1调控,融合和分裂蛋白的活性和动态平衡共同决定线粒体的整体表现^[14]。

线粒体融合初期,靠近的线粒体双分子磷脂层改变,外膜上的MFN1/MFN2环状拉近其距离,在ATP被水解产生能量后完成外膜融合;随后,PARL、

Mgm1p、Higd-1a等融合相关的作用因子使OPA1降解为长短两种异构体,启动融合,完成线粒体内膜的融合^[15]。融合之后的线粒体可以发生物质能量交换。线粒体分裂一般发生在融合之后,表现较为突出的Fis1等多种分裂作用因子诱导细胞质中Drp1聚集于线粒体膜上,使其围绕于线粒体形成环状结构,环状结构收缩,双层膜断裂完成分裂。然而,下调Fis1的表达,Drp1表达水平并未发生明显的改变^[16]。线粒体动力学平衡与维持线粒体形态,保持能量供应息息相关。研究表明,OPA1及MFN1/2蛋白表达量增加,线粒体融合作用增强,氧化磷酸化水平显著提高,ATP含量增加^[17]。ATP供应不足时^[18-19],会导致OPA1表达量减少,氧化磷酸化水平与电子传递速率下降,加重ATP紧缺状态,从而引起一系列细胞损失问题^[20]。

前期的实验研究表明,锁阳神经保护的有效部位为黄酮类化合物,并对现有黄酮部位的提取方法进行改进,创立了以70%乙醇水溶液作为溶剂,超声1.5 h提取的模式,使锁阳总黄酮得出率较传统方法显著提高。动物行为学检测的研究表明,ESC在47 mg/kg剂量下,可以产生明显的提高学习记忆能力,而这种改善学习记忆能力,在另外的两种实验动物模型(去卵巢OVX大鼠/侧脑室注射A β_{1-42})上,得到的进一步的证实^[8, 21-23]。

目前没有针对AD模型较好且优化的造模方法,因此本实验选取携带5个家族性突变基因的APP/PS1模型小鼠,旨在探讨模型小鼠脑损伤与认知功能障碍及空间记忆的关系。采用水迷宫检测视觉线索空间定位能力,测试结果易受视觉、运动能力及光线的影响^[24]。结果显示,给药6周时,各组无明显差异;给药12周后,模型组小鼠学习能力和空间记忆能力均与对照组、ECS组有显著性差异,而对照组与给药组间无差异,提示5xFAD模型小鼠在近4月龄之后才会出现空间记忆障碍等表型,同时提示ECS对AD具有良好的预防作用。跳台实验结果显示,给药12周后,与模型组比较,ECS组记忆储存时间才显著延长,提示ECS发挥其治疗效果需要足够的时间,短期服用可能影响不显著。此外,为了证明药物对小鼠自主活动性的影响,本课题组还做了旷场实验,结果显示,ECS对小鼠自主活动性无明显影响,提示其可能无副作用或副作用较小。采用透射电镜观察小鼠海马CA1区神经元细胞中线粒体形态,发现与对照组比较,模型组小鼠的线粒体形态已经出现损伤,膜和脊已被破坏,而

ECS组线粒体形态稍有改善,同时出现少数融合现象。Western blotting结果也证明,与对照组比较,模型组线粒体融合相关蛋白OPA1和MFN1表达量显著下降,线粒体分裂相关蛋白DRP1表达量显著上升;与模型组比较,ECS组线粒体融合相关蛋白OPA1和MFN1表达量显著上升,线粒体分裂相关蛋白DRP1表达量显著下降,与电镜结果相符。

ECS显著改善AD模型小鼠的行为学,机制可能与调节线粒体动力学失衡相关。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015.
- [2] 罗燕燕,马毅,张勋,等.锁阳的研究进展[J].中医研究,2017,30(5):77-80.
- [3] 薛海燕,焦婵媛,姚军.锁阳药理作用的研究进展[J].现代药物与临床,2018,33(3):709-712.
- [4] 鲁艺,程发锋,王雪茜,等.锁阳不同提取物抗氧化活性及对次黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶诱导细胞损伤保护作用的比较研究[J].安徽中医学院学报,2012,31(4):57-60.
- [5] Selfridge J E, E L, Lu J, et al. Role of mitochondrial homeostasis and dynamics in Alzheimer's disease [J]. Neurobiol Dis, 2013, 51: 3-12.
- [6] Lu Y, Wang Q, Melzig M F, et al. Extracts of *Cynomorium songaricum* protect human neuroblastoma cells from β -amyloid 25-35 and superoxide anion induced injury [J]. Pharmazie, 2009, 64(9):609-612.
- [7] 程丹,畅洪昇,王旭,等.超高压液相色谱/线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱法鉴定锁阳有效部位的化学成分[J].世界中医药,2019,14(2):306-310.
- [8] 田方泽,畅洪昇,周静洋,等.锁阳乙酸乙酯部位对去卵巢痴呆大鼠学习记忆功能和海马神经元形态的影响[J].北京中医药大学学报,2014,37(11):763-766,2.
- [9] Reddy P H. Amyloid beta, mitochondrial structural and functional dynamics in Alzheimer's disease [J]. Exp Neurol, 2009, 218: 286-292.
- [10] Van Blerkom J. Mitochondria in early mammalian development [J]. Cell Dev Biol, 2009, 20(3): 354-364.
- [11] McBride H M, Neuspiel M, Wasiak S. Mitochondria: more than just a powerhouse [J]. Curr Biol, 2006, 16(14): 551-560.
- [12] Johnson K A, Fox N C, Sperling R A, et al. Brain imaging in Alzheimer disease [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2: a006213.
- [13] Ban-Ishihara R, Ishihara T, Sasaki N, et al. Dynamics of nucleoid structure regulated by mitochondrial fission contributes to cristae reformation and release of cytochrome [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(29): 11863-11868.
- [14] Hsiuchen C, David C C. Emerging functions of mammalian mitochondrial fusion and fission [J]. Hum Mol Genet, 2005, 14(2): 283-289.
- [15] Twig G, Hyde B, Shirihai O S. Mitochondrial fusion, fission and autophagy as a quality control axis: The bioenergetic view [J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1777(9): 1092-1097.
- [16] Lee Y J, Jeong S Y, Karbowski M, et al. Roles of the mammalian mitochondrial fission and fusion mediators Fis1, Drp1, and Opa1 in apoptosis [J]. Mol Biol Cell, 2004, 15(11): 5001-5011.
- [17] Iqbal S, Ostojic O, Singh K, et al. Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse [J]. Muscle Nerve, 2013, 48(6): 963-970.
- [18] Westermann B. Bioenergetic role of mitochondrial fusion and fission [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1817(10): 1833-1838.
- [19] Wang X, Wang W, Li L, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, (8): 1240-1247.
- [20] Takashi T, Thomas L. Quality control of mitochondria: protection against neurodegeneration and ageing [J]. EMBO J, 2008, 27(2): 306-314.
- [21] 马素亚,郑俊超,畅洪昇,等.锁阳乙酸乙酯提取物改善慢性应激小鼠认知功能障碍的神经保护机制[J].天然产物研究与开发,2017,29(8):1302-1306.
- [22] 郑俊超,马素亚,于雪,等.锁阳乙酸乙酯提取物的雌激素样作用研究[J].天然产物研究与开发,2016,28(11):1687-1690.
- [23] 田方泽,畅洪昇,周静洋,等.锁阳乙酸乙酯提取物对去势所致老年痴呆大鼠p38、p-环磷酸腺苷反应元件结合蛋白的影响[J].中国药理学杂志,2015,50(10):868-871.
- [24] 马素亚,郑俊超,程丹,等.慢性应激所致学习记忆障碍及中药干预研究进展[J].中华中医药杂志,2017,32(11):5032-5035.