

基于秀丽隐杆线虫模型的中药及其有效成分抗阿尔茨海默病的药理研究进展

师雄飞, 杨丽萍, 陈 普, 段小花*

云南中医药大学, 云南省傣医药与彝医药重点实验室, 云南 昆明 650500

摘要: 近年来, 运用秀丽隐杆线虫模型对治疗阿尔茨海默病(AD)药物进行的研究与日俱增, 通过线虫的直观表型及其深入的作用机制来探讨中药抗AD活性, 从而实现药物的初步筛选。在此基础上深入研究, 发现中药复方六味地黄丸、提取部位银杏叶提取物及有效成分石杉碱甲等均取得较好的临床疗效, 秀丽隐杆线虫模型对中药资源研发具有一定的优势。综述利用线虫模型筛选的中药复方、提取部位、有效成分及其抗AD的作用机制, 为抗AD中药新药研发提供思路和参考。

关键词: 阿尔茨海默病; 秀丽隐杆线虫模型; 六味地黄丸; 银杏叶; 黄藤素; 石杉碱甲

中图分类号: R285.5; R964 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2022)10-2138-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.10.027

Research progress on anti-Alzheimer's disease pharmacology of traditional Chinese medicine and its active components based on *Caenorhabditis elegans* model

SHI Xiongfei, YANG Liping, CHEN Pu, DUAN Xiaohua

Yunnan Key Laboratory of Dai and Yi Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Abstract: In recent years, the advantages of *Caenorhabditis elegans* and transgenic models have been used to study drugs for the treatment of Alzheimer's disease (AD). Through the intuitive phenotype and in-depth mechanism of *Caenorhabditis elegans*, the anti-AD activity of traditional Chinese medicine was discussed to realize the preliminary screening of effective drugs, the traditional Chinese medicine compound Liuwei Dihuang Pill, the extract of *Ginkgo biloba* leaves and the effective component huperzine A have achieved effective clinical efficacy, and the model of *Caenorhabditis elegans* has certain advantages in the research and development of traditional Chinese medicine resources. This paper reviews the traditional Chinese medicine compounds, extracts, active ingredients and their anti-AD mechanisms screened by the *Caenorhabditis elegans* model, providing ideas and references for the research and development of new anti-AD traditional Chinese medicine drugs.

Key words: Alzheimer's disease; model of *Caenorhabditis elegans*; Liuwei Dihuang Pills; *Ginkgo biloba* leave; palmatine; huperzine A

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是以进行性认知功能障碍和行为损害为特征的神经退行性疾病, 典型病理特征为脑内 β -淀粉样蛋白(A β)形成的老年斑及微管相关蛋白(Tau)高度磷酸化而形成神经原纤维结^[1]。随着人口老龄化进程加快, 预计2050年中国的AD患病人数将超过3 000万^[2], 目前尚无疗效确切的治疗药品, 探索及筛选治疗AD的有效药物迫在眉睫。在众多体内和体外的研究AD模型中, 由于疾病模型差异、实验周期等因素产生的限制, 结果不令人满意^[3]。近年来, 秀丽隐杆线

虫(*Caenorhabditis elegans* Émile Maupas^[4], 简称“线虫”) 在药物筛选中展现出明显优势, 其繁殖速度快^[5]、生命周期短^[6]、基因同源性高^[7-8]、易于培养, 并且具有与人类相似的神经递质^[9], 在抗衰老^[10]、AD^[11]、帕金森病等神经退行性疾病^[12]研究中应用得比较广泛。

常用的AD模型线虫包括CL2006^[13]、CL4176^[14]等线虫, 是采用人源A β 基因在线虫肌肉中异源表达, 诱导淀粉样蛋白沉淀形成, 从而模拟生物体内A β 沉积等病理机制。此外, 还有Tau转基

收稿日期: 2022-05-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81960733); 云南省科技厅基础研究面上项目(2019FB120)

第一作者: 师雄飞(1997—), 男, 硕士, 研究方向为民族药经典名方与单验方的筛选与评价。E-mail: 603552062@qq.com

*通信作者: 段小花(1982—), 女, 副教授, 研究方向为民族药药理及安全性评价研究。E-mail: 1047896527@qq.com

因线虫模型 P301L 和 V337M^[15] 及 UM001 双转基因线虫模型^[16]。利用上述线虫模型评估银杏提取物对 AD 治疗潜力,可以改善线虫体内活性氧的积累,增强自由基清除和抗氧化能力,从而发挥抗 AD 作用^[17]。

临床研究发现,银杏提取物联合多奈哌齐治疗 3 个月后能改善 AD 患者认知能力及精神状况,有效率达 93.3%^[18]。中医经典方剂六味地黄丸能明显改善线虫体内 A β 斑块沉积,提高线虫的抗逆性及抗氧化能力来发挥抗 AD 的作用^[19],在临床上辅助治疗半年后,可提高 AD 患者认知功能和自我生活能力^[20]。天麻钩藤饮^[21]、三七总皂苷^[22]、石杉碱甲^[23] 等中药复方或有效成分在治疗 AD 中发挥独特的优势。线虫作为模式生物在研究 AD 的病理机制及候选药物筛选中也表现出一定优势^[24-25]。本文对线虫模型筛选抗 AD 的中药复方、中药提取部位及有效成分的药理作用研究进行综述,并对线虫模型抗 AD 的药理机制进行总结,以期对抗 AD 新药物筛选提供参考与依据。

1 基于线虫模型的中药及其有效成分抗 AD

AD 的病理机制复杂,中药可以多种成分共同发挥药效作用,越来越多的中药复方、中药提取部位及中药有效成分在 AD 转基因线虫模型研究中表现出良好的效果。

1.1 中药复方抗 AD

中药复方使用历史悠久,以君臣佐使配伍而发挥协同作用,从而达到标本兼治的目的。中医认为 AD 属于“痴呆”范畴,是由肾精不足、髓海失养、神机失用、痰浊、瘀血所致^[26],临床上多从滋补、正虚、瘀血、痰浊方面进行防治,因而治疗 AD 方药多具补肾填精益髓、豁痰开窍、宁心安神的功效。

六味地黄丸是滋阴补肾的代表方剂,由熟地黄、山药、山茱萸、泽泻、茯苓、牡丹皮 6 味药组方,将六味地黄丸醇提物 0.5 mg·mL⁻¹ 与琼脂混合制成给药板,在给药 66 h 后,可降低 CL4176 线虫体内活性氧(ROS)水平,并提高 N2 线虫氧化应激后的存活率^[19]。给药 7 d 后,能明显减少 CL2006 线虫体内 A β 斑块沉积,进一步研究发现,在绿色荧光蛋白(GFP)标记的转基因 TJ375 线虫体内热休克蛋白-16.2(HSP-16.2)基因 *hsp-16.2::GFP* 荧光量表达增强,表明其作用机制是通过上调 HSP-16.2 蛋白表达来提高抗氧化能力,进而发挥抗 A β 毒性的作用,并且联合三七水提液疗效更佳^[27]。

生脉方具有益气复脉、养阴生津的功效,由人

参、麦冬、五味子配伍而成,使用 CL2355 及 CL2122 线虫筛选生脉方中各药材组方的最佳比例为 9:9:6,发现生脉方 4.8 mg·mL⁻¹ 通过下调线虫体内与胁迫相关基因和乙酰胆碱酯酶基因的表达,改善线虫趋化性紊乱,给药 4 d 后 CL2006 线虫体内 A β 沉积斑块减少,A β 毒性降低^[28]。

酸枣仁汤具有养血安神、清热除烦的功效,由酸枣仁、知母、茯苓、川芎、甘草组方,4 mg·mL⁻¹ 酸枣仁汤与大肠杆菌混合后涂布至培养基表面,给药 3 d 后能提高 CL4176 线虫体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶活性,降低丙二醛(MDA)含量,进而减少 ROS 积累,延长瘫痪时间,其主要是通过上调线虫体内超氧化物歧化酶-3(SOD-3)、HSP-16.2、叉头框 O(FOXO)家族蛋白的转录因子 abnormal dauer formation-16(DAF-16)等胰岛素通路相关基因表达,提高机体抗氧化能力,从而发挥抗 A β 毒性的作用^[29]。

癫痫宁具有豁痰开窍、息风安神的功效,组方包括蜘蛛香、石菖蒲、钩藤、牵牛子、千金子、缬草、甘松、薄荷脑。15 mg·mL⁻¹ 癫痫宁水煎液给药 2 d 后能显著抑制 CL2006 线虫 5-羟色胺(5-HT)敏感性,降低 CL4176 线虫体内 A β 低聚物的生成,从而抑制线虫麻痹表型,其作用机制是通过调控 HSP-16.2、DAF-16 及其下游 SOD-3 转录因子来实现抗 A β 毒性的作用^[30]。

天丝饮具有补肾益智的功效,由巴戟天、菟丝子组成,8 mg·mL⁻¹ 天丝饮含药培养液能提高 N2 线虫抗胁迫能力,增加百草枯诱导急性氧化胁迫下的生存率,3.2 mg·mL⁻¹ 处理 CL4176 线虫 3 d 后,能显著改善瘫痪表型,延长 N2 线虫寿命,其作用机制与调节热休克蛋白表达有关^[31]。此外,生慧汤^[32]、更年春片^[33]、参杞片^[34]、解毒益智方^[35] 等传统中药复方或中成药在 AD 线虫模型研究中也体现了较好的防治效果。

1.2 中药提取部位抗 AD

中药提取物通过多种成分之间的相互协同作用来发挥疗效。银杏叶提取物开启了植物提取物研究的热潮,多数中药提取部位以醇提物形式用于 AD 转基因线虫模型,主要集中于调节胰岛素通路中热休克因子-1(HSF-1)、DAF-16、人类核因子 E2 相关因子 1/2(Nrf1/Nrf2)同源物 Skinhead-1(SKN-1)因子来发挥抗 AD 的作用,为临床上防治 AD 的药物研发提供方便。

将药物与大肠杆菌混合后涂布至培养基表面,

1 mg·mL⁻¹石菖蒲挥发油处理 CL4176 线虫 2.5 d 后,有效抑制线虫体内 A β 聚集及聚谷氨酰胺(polyQ)聚集,显著延缓线虫瘫痪,较未给药组半数瘫痪时间(PT₅₀)延长率达 75.39%,并使细胞内 ROS 浓度降低 13.55%;此外,石菖蒲挥发油还能改善 CL2355 线虫趋化性能紊乱,有效抑制 A β 在神经中的聚集,表现出较好的神经保护作用,其作用机制是依赖于 hsf-1 和组蛋白去乙酰基转移酶(sir-2.1)基因调控的自噬通路^[36]。

红芽木提取物 100 μ g·mL⁻¹ 给药 4 d 后通过 DAF-16 和 HSF-1 介导的胰岛素通路来提高机体抗氧化能力,有效清除体内自由基生成,提高线虫在胡桃醌诱导的氧化应激下的抗逆性,进而改善 CL2006 线虫瘫痪表型,延缓 A β 毒性,使 PT₅₀ 延长 50%^[37]。

桦木药用部位为树皮,桦木提取物 50 μ g·mL⁻¹ 通过 DAF-16 和 SKN-1 介导的胰岛素通路使线虫寿命增加 35.99%,给药 3 d 后能有效清除 N2 线虫体内 ROS,使应激条件下的线虫寿命增加 52.28%,提高了线虫的抗逆性,使体内衰老色素脂褐素降低了 32.3%,延缓 CL4176 线虫瘫痪,其抗 A β 毒性与抗氧化作用与有关^[38]。

Guo 等^[39]制备蔓越莓提取物,以 2 mg·mL⁻¹ 给药 10 d 后可减少 CL2006 线虫 A β 单体、低聚物等 A β 蛋白总水平,延缓线虫瘫痪,使 CL2006 及 N2 线虫寿命延长,增强 CL2006 线虫 6 d 后的咽泵速率,其作用机制是通过调控 HSF-1 因子来调节蛋白质合成、折叠和降解,进而维持蛋白酶稳态,发挥抗 A β 毒性作用。

李元通等^[40]以连翘花提取物 200 μ g·mL⁻¹ 干预 CL4176 线虫 3 d 后,发现其通过下调 A β 基因表达,减轻线虫体内 A β 聚集,增强 DAF-16、SKN-1、HSF-1 转录因子活性,来提高 CL4176 线虫体内 SOD 和 CAT 抗氧化酶活性,降低 ROS、MDA 含量,改善线虫运动能力,延长生存时间,从而发挥抗 A β 毒性作用。进一步成分分析发现连翘花提取物中,可能由连翘酯苷 A、芦丁、连翘苷、连翘脂素等活性成分发挥作用。

除此之外,还有红茶^[41]、酸枣仁^[42]、金银花^[43]、紫娟普洱茶^[44]、丹参^[45]、三七^[10]、马鹿角^[46]等中药提取物在 CL4176、CL2006、CMC101 多种转基因线虫模型中主要通过调控胰岛素通路来抑制 A β 聚集、提高氧化水平来发挥抗 A β 毒性作用,具有一定的治疗 AD 的潜力。

1.3 中药有效成分抗 AD

随着对中药抗 AD 的研究深入,多种中药有效成分被阐明,抗 AD 活性成分包括黄酮类、多酚类、皂苷类、生物碱类、多糖类等,在 CL4176、CL2006 转基因线虫模型中能有效清除自由基、增强抗氧化能力来抑制 A β 聚集毒性,从而发挥抗 AD 作用。例如,石杉碱甲为石杉科植物千层塔中提取的生物碱,目前在临床上用于 AD 的防治,已取得一定疗效^[23]。

Astrid 等^[47]在大豆 3 种黄酮化合物的筛选研究中发现,仅大豆黄素具有潜在抗 AD 活性,100 μ g·mL⁻¹ 大豆黄素给药 CL4176 线虫 48 h 后,有效清除线虫体内自由基,能改善线虫瘫痪表型,延长 PT₅₀,减少 CL2006 线虫体内的 A β 纤维的沉积,其作用机制是通过提高抗氧化能力来抑制 A β 毒性。黄藤素为黄藤中的黄酮类化合物,苏齐娜^[48]研究发现 0.2 mmol·L⁻¹ 黄藤素处理 3 d 后提高了 SOD 和 CAT 抗氧化酶活性,降低线虫体内 ROS 水平,进而抑制 CL2006 线虫体内 A β 沉积,延缓 CL4176 线虫瘫痪,调控脂质代谢,从而发挥抗 A β 毒性的作用,其机制与上调 *sod-3*、*hsp-16.2* 和 *hsf-1* 等抗性相关基因的表达有关。知母皂苷 B-II 为知母中的主要有效成分,40 μ g·mL⁻¹ 知母皂苷 B-II 给药 CL4176 线虫 3 d 后能有效清除体内 ROS 的积累,提高热应激及胡桃醌诱导的氧化应激条件下的生存率,增加线虫抗逆性,提高过氧化氢酶活力,增加抗氧化能力,从而改善体内 A β 的聚集和沉积,增强线虫抗瘫痪作用,其作用机制与调控胰岛素通路有关^[49]。

100 mg·L⁻¹ 黄连多糖能延长 CL4176 线虫寿命 37.75%,药物作用 2 d 后能减少体内 A β 纤维的沉积,改善线虫瘫痪表型,其作用机制与提高热休克蛋白 HSP16.2 和 HSP16.41 的表达有关^[50]。热休克蛋白(HSP)属于应激反应性蛋白,大多数生物体中在热应激和氧化应激条件下表达,该蛋白的产生有助于线虫的寿命延长和抗逆性。荞麦谷氧还蛋白(rbGrx)是荞麦种子中小分子活性物质,李芳等^[51]研究发现 4 μ mol·L⁻¹ 的 rbGrx 给药 4 d 后增加线虫体内 SOD 活性和谷胱甘肽(GSH)含量,使 ROS 降低 30.2%,处理 10 d 后的线虫运动能力增加 43.6%,并使 CL4176 线虫寿命延长了增加 20%,表现出明显的抗衰老与抗氧化作用,使并降低 A β 转录水平 44.1%,从而抑制 A β 表达,改善线虫瘫痪表型,其作用机制与 HSF-1 介导的胰岛素通路有关。

此外,黄酮类成分(如根皮素^[52]、水飞蓟素^[53]),

多酚类成分(如松果菊苷^[54]、橄榄苦苷^[55]),糖苷类成分(如芍药苷^[56])等多种中药有效成分在CL4176、CL2006转基因线虫模型中表现出对A β 毒性的抑制作用。因此,中药有效成分在AD治疗新药研发方面具有极大的开发价值。

2 基于线虫模型的中药抗AD药理作用机制

2.1 抗衰老、抗氧化

AD与衰老关系密切,由于体内氧化与抗氧化水平失衡,使自由基产生过多导致机体处于氧化应激状态,促使细胞功能受损,加重神经退行性疾病的发展。中药及其有效成分具有较好的抗氧化活性,张晓寒等^[52]发现75 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 根皮素通过调控胰岛素信号通路及sir-2.1信号通路使延长线虫寿命21.52%,给药7 d后能改善ROS积累,提高线虫体内SOD和CAT抗氧化酶活力,并降低氧化产物MDA生成,通过提高抗氧化水平来增强抗衰老能力。

王雪等^[54]使用300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 松果菊苷给药2 d后,能够提高线虫高温热应激及急性氧化应激下的生存率,延长线虫寿命,其抗氧化机制与促进DAF-16核转位作用有关。何露等^[57]研究发现,姜黄素类化合物100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 干预3 d后,能改善线虫体内ROS水平,提高了N2线虫抵抗胡桃醌诱导的氧化应激能力,上调CL2166线虫体内谷胱甘肽S-转移酶-4(GST-4)基因的表达,从而提高抗氧化应激能力,其机制与抗氧化基因表达有关。由此可见,提高机体抗氧化能力有助于AD的防治。

2.2 抑制A β 聚集

A β 作为AD典型病理特征之一,可以在转基因线虫肌肉或神经元中表达来模拟该疾的发生。Zhu等^[58]研究发现20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 玫瑰精油给药6 d后可减少A β 纤维沉积,改善CL2355线虫的趋化性紊乱,延长CL4176线虫瘫痪时间,有效抑制A β 在神经元及肌肉中的表达,其机制与SKN-1信号通路有关。

孙伟举等^[59]将虾青素与大肠杆菌混合后给药,发现经250 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 虾青素干预1 d后能显著抑制A β 诱导CL4176线虫的麻痹率,改善A β 引起的氧化应激水平,降低线虫体内A β 沉积现象,从而发挥抗AD的作用。因此,抑制A β 聚集能有效降低A β 斑块沉积对神经产生的毒性,进而发挥保护神经的作用。

2.3 维持蛋白质稳态

泛素-蛋白酶体系统和自噬-溶酶体系统是蛋白质降解的2种主要途径^[60-61],对调节正常和异常蛋白的水解作用来维持蛋白质稳态具有重要作用。

徐帅帅等^[34]研究发现21.8 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 参杞方提取物给药干预3 d后,GR2183转基因线虫能通过上调蛋白酶体亚基-3(RPT-3)的表达来抑制A β 蛋白沉积。马晓丽等^[62]发现12.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 芝麻粕多肽干预2 d后,显著降低线虫体内A β 沉积,改善A β 在神经和肌肉中的毒性,其作用机制与蛋白酶体途径有关,而与自噬溶酶体途径无关,是通过核因子E2相关因子2(Nrf2)/SKN-1来发挥作用的。因此,通过清除变性或错误折叠的蛋白质,维持细胞稳态效应,是细胞发挥正常功能的基础。

2.4 调节金属离子稳态

研究发现,AD患者脑内Cu、Zn等金属离子含量升高,金属稳态的失调与AD密切相关^[63]。罗云峰等^[64]发现Cu在CL2006线虫体内可与A β 相互作用,并改变其他元素(如Fe、Zn、Mn等)的稳态平衡,通过改变hsp-60、skn-1、hsp-16.2等基因表达来调控ROS的水平,从而加重线虫瘫痪表型。Metaxas^[65]研究表明,Zn或Cu浓度的增加时,都导致CL2006线虫的麻痹率增加,表明金属离子浓度的增加会提高A β 聚集水平,此外Zn或Cu在线虫体内存在的负反馈调节机制,Cu的增加触发Zn的增加,Zn的增加最终导致Cu的减少,最后回到平衡状态,说明金属离子之间存在一定调控关系。

有研究发现500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丹酚酸A干预3 d后可减少A β 来改善CL4176线虫的麻痹表型,其机制与通过螯合金属离子的作用来抑制A β 的聚集,进而降低A β 的聚集诱发的氧化应激水平有关^[66]。因此,维持机体金属离子的平衡稳定对AD的防治具有重要意义。

3 结语

中药作为我国传统医学的瑰宝,在AD防治方面也扮演重要角色,许多抗AD的中药复方多具补肾填精益髓、豁痰开窍、宁心安神的功效。而中药提取部位多局限于药物醇提物方面的药效评价,研究者可以拓宽对药物提取物的研究范畴,对水提物等多种不同提取溶剂的提取物进行比较,以确定疗效最佳的提取方式。中药有效成分多以黄酮类、多酚类等化合物为主,该类物质本身具备的抗氧化性在AD的防治中具有积极意义。

在AD线虫模型方面,GMC101、CL2006属于渐进性瘫痪线虫,因而实验周期长,还会增加污染的风险;CL4176属于温度诱导型瘫痪线虫,实验周期短,研究多以CL4176株系的瘫痪实验进行药效及药物剂量的筛选。线虫作为模式动物使用悠久,但

在抗AD治疗药物的筛选中,许多中药及其有效成分的研究尚停留在线虫层面,需进一步结合高等生物来对其进行更全面的评价,为临床前研究提供更有力的参考依据。其次,AD作为发病机制复杂的疾病,目前的药物活性评价多局限于线虫体内A β 沉积的机制,对Tau蛋白、炎症级联反应等致病因素还有待更深入的探讨,亟待开发更全面的转基因线虫模型来模拟AD的病理过程。

针对机体多靶点的调控是治疗AD的有效手段,该措施与中药多成分、多靶点、多途径的优势不谋而合,而中药成分复杂,明确中药及其复方发挥作用的药效物质基础,是中药现代化的重中之重。因此,借助秀丽隐杆线虫模型对中药活性评价的优势,可以更多地结合现代科技手段(如网络药理学、化学物质组学、蛋白质组学等学科)来阐明中药药效物质基础与作用机制,不仅可以简化在药物发现和药物靶点识别研究内容中的复杂性与周期性,更有助于未来AD治疗药物的探索以及针对特定药物的分子途径进行深入的生化和遗传研究,才能更好地推动中药事业发展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李 梵, 罗剑鸣, 刘少莉, 等. 转基因线虫在阿尔茨海默症研究中的应用 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 361-367.
Li F, Luo J M, Liu S L, et al. Application of transgenic *Caenorhabditis elegans* in Alzheimer's disease [J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(7): 361-367
- [2] 王英全, 梁景宏, 贾瑞霞, 等. 2020—2050年中国阿尔茨海默病患者情况预测研究 [J]. 阿尔茨海默病及相关病, 2019, 2(1): 289-298.
Wang Y Q, Liang J H, Jia R X, et al. Alzheimer disease in China (2015—2050) estimated using the 1% population sampling survey in 2015 [J]. Alzheimer's Dis Rel Dis, 2019, 2(1): 289-298.
- [3] Lublin A L, Link C D. Alzheimer's disease drug discovery: *in vivo* screening using *Caenorhabditis elegans* as a model for beta-amyloid peptide-induced toxicity [J]. Drug Discov Today Technol, 2013, 10(1): e115-e119.
- [4] Maupas E. Modes et formes de reproduction des nematodes [J]. Archiv Zool Exp Gén, 1900, 8: 463-624.
- [5] Lublin A L, Link C D. Alzheimer's disease drug discovery: *In vivo* screening using *Caenorhabditis elegans* as a model for beta-amyloid peptide-induced toxicity [J]. Drug Discov Today Technol, 2013, 10(1): e115-e119.
- [6] Corsi A K, Wightman B, Chalfie M. A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans* [J]. Worm Book, 2015, doi: 10.1895/wormbook.1.177.1.
- [7] Morcos M, Hutter H. The model *Caenorhabditis elegans* in diabetes mellitus and Alzheimer's disease [J]. J Alzheimers Dis, 2009, 16(4): 897-908.
- [8] Harris T W, Chen N, Cunningham F, et al. WormBase: A multi-species resource for nematode biology and genomics [J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32(Database issue): D411-D417.
- [9] Iliff A J, Xu X. *C. elegans*: A sensible model for sensory biology [J]. J Neurogenet, 2020, 34(3/4): 347-350.
- [10] 金司仪. 三七粉延缓秀丽隐杆线虫衰老的作用机制及其稳定性研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.
Jin S Y. Mechanism of *Panax notoginseng* on delaying senescence of *Caenorhabditis elegans* and its stability [D]. Wuhan: Hubei University of Traditional Chinese Medicine, 2019.
- [11] Paul D, Chipurupalli S, Justin A, et al. *Caenorhabditis elegans* as a possible model to screen anti-Alzheimer's therapeutics [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2020, 106: 106932.
- [12] Caldwell K A, Willicott C W, Caldwell G A. Modeling neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans* [J]. Dis Model Mech, 2020, doi: 10.1242/dmm.046110.
- [13] Link C D. Expression of human beta-amyloid peptide in transgenic *Caenorhabditis elegans* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(20): 9368-9372.
- [14] Fay D S, Fluet A, Johnson C J, et al. *In vivo* aggregation of beta-amyloid peptide variants [J]. J Neurochem, 1998, 71(4): 1616-1625.
- [15] Brian C K, Bin Z, James B L, et al. Neurodegeneration and defective neurotransmission in a *Caenorhabditis elegans* model of tauopathy [J]. Proc Nat Acad Sci, 2003, 100(17): 9980-9985.
- [16] Wang C, Saar V, Leung K L, et al. Human amyloid beta peptide and tau co-expression impairs behavior and causes specific gene expression changes in *Caenorhabditis elegans* [J]. Neurobiol Dis, 2018, 109(Pt A): 88-101.
- [17] Smith J V, Luo Y. Elevation of oxidative free radicals in Alzheimer's disease models can be attenuated by *Ginkgo biloba* extract EGb 761 [J]. J Alzheimers Dis, 2003, 5(4): 287-300.
- [18] 程青格, 杨玉峰, 李建波. 银杏叶提取物片联合多奈哌齐治疗阿尔茨海默病的临床疗效 [J]. 中国现代药物应

- 用, 2016, 10(20): 199-200.
- Cheng Q G, Yang Y F, Li J B. Clinical efficacy of *Ginkgo biloba* extract combined with donepezil in treatment of Alzheimer's disease [J]. Chin J Mod Drug Appl, 2016, 10 (20): 199-200.
- [19] Sangha J S, Sun X, Wally O S, et al. Liuwei Dihuang (LWDH), a traditional Chinese medicinal formula, protects against beta-amyloid toxicity in transgenic *Caenorhabditis elegans* [J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43990.
- [20] 李君玲, 周恒, 林丽娜. 六味地黄丸辅佐治疗延缓老年痴呆症 40 例观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(1): 117-118.
- Li J L, Zhou H, Lin L N. Treatment of senile dementia with Liuwei Dihuang Pill: Observation of 40 cases [J]. Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis, 2014, 12(1): 117-118.
- [21] 陈春峰, 关运祥. 天麻钩藤颗粒治疗阿尔茨海默病 40 例临床观察 [J]. 河南中医, 2018, 38(8): 1182-1184.
- Chen C F, Guan Y X. Clinical observation of forty cases of Alzheimer's disease treated with *Gastrodia* and *Uncaria* Granules [J]. Henan Tradit Chin Med, 2018, 38 (8): 1182-1184.
- [22] 李爱东, 陈建良, 夏 军, 等. 三七总皂苷治疗阿尔茨海默病的多中心随机对照临床研究 [J]. 老年医学与保健, 2019, 25(4): 501-505.
- Li A D, Chen J L, Xia J, et al. Multicenter randomized controlled clinical study of *Panax notoginseng* saponins in the treatment of Alzheimer's disease [J]. J Gerontol, 2019, 25(4): 501-505.
- [23] 李 锦, 龙志新, 李 青. 石杉碱甲治疗阿尔茨海默病认知功能的疗效观察 [J]. 当代医学, 2018, 24(27): 93-95.
- Li J, Long Z X, Li Q. Effect of huperzine A on cognitive function of Alzheimer's disease [J]. Chin J Med, 2018, 24 (27): 93-95.
- [24] Wang Q, Yang F, Guo W, et al. *Caenorhabditis elegans* in Chinese medicinal studies: Making the case for aging and neurodegeneration [J]. Rejuvenation Res, 2014, 17(2): 205-208.
- [25] Sharma N, Khurana N, Muthuraman A. Lower vertebrate and invertebrate models of Alzheimer's disease — A review [J]. Eur J Pharmacol, 2017, 815: 312-323.
- [26] 聂志玲, 周小莉. 阿尔茨海默病的中医病因病机探析 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(6): 1443-1444.
- Nie Z L, Zhou X L. Analysis of the etiology and pathogenesis of Alzheimer's disease in traditional Chinese medicine [J]. Lishizhen Med Mater Med, 2020, 31(6): 1443-1444.
- [27] 周 玲, 王长江, 黄 敏, 等. 六味地黄丸加三七水提液对秀丽线虫抗氧化、缓解 A β 毒性及健康寿命的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(5): 1903-1909.
- Zhou L, Wang C J, Huang M, et al. Effects of Liuwei Dihuang Pill plus *Panax notoginseng* aqueous extract on anti-oxidation and anti-A β toxicity of *C. elegans* [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2017, 32(5): 1903-1909.
- [28] Zhang W, Zhi D, Ren H, et al. Shengmai Formula ameliorates pathological characteristics in AD *C. elegans* [J]. Cell Mol Neurobiol, 2016, 36(8): 1291-1302.
- [29] 蔡 铭. 安神益智法抗氧化及缓解秀丽线虫 A β 毒性作用研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- Cai M. Study on antioxidation and alleviating A β toxicity of *Caenorhabditis elegans* by the method of soothing the mind and yizhi [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2020.
- [30] 王 栋. 癫痫宁片对阿尔茨海默病模型秀丽隐杆线虫的治疗作用及机制研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2016.
- Wang D. The therapeutic effects of Dianxianning tablet on Alzheimer's disease model in *Caenorhabditis elegans* and its pharmacological mechanisms [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2016.
- [31] 胡安娜. 基于系统生物学关键技术的天丝饮补肾益智药效物质与机理研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- Hu A A. Study on the material foundation and mechanism of efficacy of Tiansiyin Decoction for the treatment of senile dementia based on key technologies of system biology [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2020.
- [32] 周天姣. 生慧颗粒的制备工艺与益智延寿药效物质基础研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- Zhou T J. Study on the preparation procedure of Shenghui Granule and the material foundation for the intelligence improving and lifetime extension efficacy [D]. Wuhan: Hubei University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [33] Meng F, Li J, Rao Y, et al. A Chinese herbal formula, Gengnianchun, Ameliorates beta-amyloid peptide toxicity in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease [J]. Evid Based Compl Alter Med, 2017, 2017: 7480980.
- [34] 徐帅帅. 基于秀丽隐杆线虫模式生物探讨参杞中药复方抗 AD 活性及机制研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
- Xu S S. Therapeutic effect of Shenqi formula and its mechanism in AD *C. elegans* [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2021.
- [35] 李云强. 解毒益智方中多糖混合物对 AD 转基因线虫氧化应激基因影响的研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2020.
- Li Y Q. The effect of polysaccharide mixture in Jieduyizhifang on oxidative stress gene of AD transgenic nematodes [D]. Changchun: Changchun University of

- Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [36] Chen X Y, Liao D C, Sun M L, et al. Essential oil of *Acorus tatarinowii* Schott ameliorates abeta-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans* through an autophagy pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 3515609.
- [37] Keowkase R, Weerapreeyakul N. *Cratoxylum formosum* extract protects against amyloid-beta toxicity in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease [J]. *Planta Med*, 2016, 82(6): 516-523.
- [38] Pandey S, Phulara S C, Mishra S K, et al. *Betula utilis* extract prolongs life expectancy, protects against amyloid-beta toxicity and reduces alpha synuclien in *Caenorhabditis elegans* via DAF-16 and SKN-1 [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2020, 228: 108647.
- [39] Guo H, Cao M, Zou S, et al. Cranberry extract standardized for proanthocyanidins alleviates beta-amyloid peptide toxicity by improving proteostasis through HSF-1 in *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2016, 71(12): 1564-1573.
- [40] 李元通. 连翘花提取物减轻AD模型线虫A β 诱导毒性及其机制研究 [D]. 太原: 山西大学, 2021.
- Li Y T. Effects of *Forsythia suspensa* flowers extract on A β -induced toxicity of AD model nematodes and its mechanism [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2021.
- [41] 熊哲. 茶黄素提取物延缓AD转基因秀丽隐杆线虫中 β 淀粉样蛋白毒性研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- Xiong Z. Theaflavins extraction delays the toxicity induced by A β in AD transgenic *C. elegans* [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2015.
- [42] 杨婷婷. 酸枣仁黄酮的超声辅助提取及抗A β ₍₁₋₄₂₎损伤的机制研究 [D]. 天津: 天津商业大学, 2019.
- Yang T T. Ultrasound-assisted extraction of flavonoids from *Ziziphi Spinosae Semen* and its mechanisms of anti-A β ₍₁₋₄₂₎ damage [D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce, 2019.
- [43] Yang Z Z, Yu Y T, Lin H R, et al. *Lonicera japonica* extends lifespan and healthspan in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 310-322.
- [44] Du F, Zhou L, Jiao Y, et al. Ingredients in Zijuan Pu'er Tea extract alleviate beta-amyloid peptide toxicity in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease likely through DAF-16 [J]. *Molecules*, 2019, doi: 10.3390/molecules24040729.
- [45] Yuen C W, Murugaiyah V, Najimudin N, et al. Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) water extract shows potential neuroprotective effects in *Caenorhabditis elegans* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266: 113418.
- [46] 李振旺, 李云飞, 关红霞, 等. 马鹿角对秀丽隐杆线虫衰老的影响及抗氧化机制研究 [J]. *中药药理与临床*, 2020, 36(4): 136-140.
- Li Z W, Li Y F, Guan H X, et al. Anti aging effect and anti-oxidant property on *C. elegans* of red deer (*Cervus elaphus*) antler [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2020, 36(4): 136-140.
- [47] Gutierrez-Zepeda A, Santell R, Wu Z, et al. Soy isoflavone glycitein protects against beta amyloid-induced toxicity and oxidative stress in transgenic *Caenorhabditis elegans* [J]. *BMC Neurosci*, 2005, 6: 54.
- [48] 苏齐娜. 黄藤素对秀丽线虫A β 蛋白聚集毒性的影响 [D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- Su Q N. Effects of palmatine on aggregation toxicity of A β in *Caenorhabditis elegans* [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2021.
- [49] 宗茹敏, 王雅丽, 黄琪, 等. 知母皂苷B-II抑制秀丽隐杆线虫A β 蛋白毒性作用及机制研究 [J]. *中成药*, 2021, 43(7): 1740-1745.
- Zong R M, Wang Y L, Huang Q et al. Inhibitory effect and mechanism of timosaponin B-II on A β protein toxicity in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chin Patent Med*, 201, 43(7): 1740-1745.
- [50] Li Y, Guan S, Liu C, et al. Neuroprotective effects of *Coptis chinensis* Franch polysaccharide on amyloid-beta (A β)-induced toxicity in a transgenic *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease (AD) [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 113: 991-995.
- [51] 李芳, 崔晓东, 马晓丽, 等. 谷氨还原蛋白rbGrx可延缓CL4176秀丽隐杆线虫中 β 淀粉样蛋白诱导的毒性 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34(8): 844-853.
- Li F, Cui X D, Ma X D, et al. Glutaredoxin delays the toxicity induced by β -amyloid in AD transgenic *C. elegans* [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2018, 34(8): 844-853.
- [52] 张晓寒, 赵江, 韩英, 等. 根皮素对秀丽隐杆线虫寿命的影响 [J]. *食品科学*, 2021, 42(1): 187-196.
- Zhang X H, Zhao J, Han Y, et al. Effect of phloretin on lifespan of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Food Science*, 2021, 42(1): 187-196.
- [53] Kumar J, Park K C, Awasthi A, et al. Silymarin extends lifespan and reduces proteotoxicity in *C. elegans* Alzheimer's model [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2015, 14(2): 295-302.
- [54] 王雪. 松果菊苷对秀丽隐杆线虫寿命的影响及分子机理研究 [D]. 天津: 天津大学, 2015.
- Wang X. The effect of echinacoside on *Caenorhabditis elegans* lifespan and its molecular mechanism [D].

- Tianjin: Tianjin University, 2015
- [55] Diomedea L, Rigacci S, Romeo M, et al. Oleuropein aglycone protects transgenic *C. elegans* strains expressing A β 42 by reducing plaque load and motor deficit [J]. PLoS One, 2013, 8(3): e58893.
- [56] 杨帆. 芍药苷缓解秀丽线虫A β 蛋白毒性的作用机理研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2014.
- Yang F. Protective mechanism of paeoniflorin against A β proteotoxicity in *Caenorhabditis elegans* [D]. Wuhan: Wuhan University, 2014.
- [57] 何露, 李中, 韦睿, 等. 姜黄素类化合物提高线虫的抗氧化应激能力 [J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(1): 154-158.
- He L, Li Z, Wei R, et al. Effect of curcuminoids on oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* [J]. China J Pathophysiol, 2014, 30(1): 154-158.
- [58] Zhu S, Li H, Dong J, et al. Rose essential oil delayed Alzheimer's disease-like symptoms by SKN-1 pathway in *C. elegans* [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(40): 8855-8865.
- [59] 孙伟举. 利用AD线虫模型研究虾青素对A β 毒性的抑制作用及其机制 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.
- Sun W J. Inhibitory effects of astaxanthin on beta-amyloid induced toxicity in *C. elegans* and the underlined mechanisms [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015.
- [60] Klaips C L, Jayaraj G G, Hartl F U. Pathways of cellular proteostasis in aging and disease [J]. J Cell Biol, 2018, 217(1): 51-63.
- [61] Labbadia J, Morimoto R I. The biology of proteostasis in aging and disease [J]. Annu Rev Biochem, 2015, 84: 435-464.
- [62] 马晓丽. 芝麻粕多肽延长秀丽隐杆线虫健康寿命的分子机制研究 [D]. 太原: 山西大学, 2020.
- Ma X L. Molecular mechanisms underlying extending healthspan of *Caenorhabditis elegans* by peptides from sesame cake [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2020.
- [63] Martinez-Finley E J, Avila D S, Chakraborty S, et al. Insights from *Caenorhabditis elegans* on the role of metals in neurodegenerative diseases [J]. Metallomics, 2011, 3(3): 271-279.
- [64] 罗云峰, 张杰, 刘年庆, 等. 在阿尔茨海默病转基因线虫模型中离子以浓度依赖的方式影响贝塔淀粉多肽的毒性 [J]. 中国科学: 生命科学, 2011, 41(5): 369-376.
- Luo Y F, Zhang J, Liu N Q, et al. Effects of ions on toxicity of beta starch polypeptides in transgenic nematode models of Alzheimer's disease in a dose-dependent manner [J]. Sci Sin: Vitae, 2011, 41(5): 369-376.
- [65] Metaxas A. Imbalances in copper or zinc concentrations trigger further trace metal dyshomeostasis in amyloid-beta producing *Caenorhabditis elegans* [J]. Front Neurosci, 2021, 15: 755475.
- [66] Cao Y Y, Wang L, Ge H, et al. Salvianolic acid A, a polyphenolic derivative from *Salvia miltiorrhiza* Bunge, as a multifunctional agent for the treatment of Alzheimer's disease [J]. Mol Divers, 2013, 17(3): 515-524.

[责任编辑 李红珠]