

高良姜素调节 Shh/Ptch1 信号通路改善阿尔茨海默病大鼠认知障碍

孟王桃¹, 陈超¹, 姚楠楠², 崔冬玲¹, 吴冬景¹, 叶桦^{1*}

1. 信阳职业技术学院, 河南 信阳 464000

2. 洛阳市中心医院, 河南 洛阳 471000

摘要: **目的** 探讨高良姜素对阿尔茨海默病(AD)大鼠认知障碍及音猬因子/跨膜蛋白受体 1(Shh/Ptch1)信号通路的影响。**方法** 通过在大脑海马 CA1 区注射 A β 1~42 构建 AD 模型,将造模成功大鼠随机分为模型组,高良姜素低、高剂量(25、50 mg·kg⁻¹)组,高良姜素(50 mg·kg⁻¹) + 环巴胺(Shh 抑制剂, 10 mg·kg⁻¹)组,每组 12 只,另取 12 只健康大鼠作为对照组;高良姜素 ig 给药,环巴胺 ip 给药;对照组与模型组 ig 等量 0.9%氯化钠溶液,连续给药 28 d。给药结束进行 Morris 水迷宫检测;ELISA 法检测血清炎症指标白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 及氧化应激指标丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平;HE 染色检测海马组织病理形态;TUNEL 染色检测神经元细胞凋亡情况;免疫组化检测海马组织病理损伤相关蛋白 β 淀粉样蛋白(A β)、磷酸化的 Tau 蛋白(p-Tau)表达;Western blotting 法检测海马组织 Shh、Ptch1、GLI 家族锌指蛋白 1(GLI1)及凋亡相关蛋白 B 细胞淋巴瘤 2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(BAX)表达。**结果** 模型组较对照组海马组织破坏严重,神经元形态不规则,排列紊乱,神经元细胞核缩小,数量减少;逃避潜伏期显著延长、穿越平台次数及在平台停留的时间显著减少,血清 IL-6、IL-1 β 、MDA 水平及神经元凋亡率、海马 Bax、A β 、p-Tau 蛋白表达显著升高,血清 SOD 水平及海马组织 Bcl-2、Shh、Ptch1、Gli1 蛋白表达显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。高良姜素低、高剂量组较模型组海马组织破坏减轻,神经元形态异常程度减轻,排列相对整齐,核固缩减轻,神经元丢失减少;逃避潜伏期显著缩短、穿越平台次数及在平台停留的时间显著增多,IL-6、IL-1 β 、MDA 水平及神经元凋亡率、Bax、A β 、p-Tau 表达显著降低, SOD 水平及 Bcl-2、Shh、Ptch1、Gli1 表达显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);高良姜素 + 环巴胺组较高良姜素高剂量组海马组织破坏加重,逃避潜伏期显著延长、穿越平台次数及在平台停留的时间显著减少,IL-6、IL-1 β 、MDA 水平及神经元凋亡率、Bax、A β 、p-Tau 表达显著升高, SOD 水平及 Bcl-2、Shh、Ptch1、Gli1 表达显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 高良姜素可改善 AD 大鼠认知障碍,其作用机制与激活 Shh/Ptch1 信号通路相关。

关键词: 高良姜素; 音猬因子/跨膜蛋白受体 1 信号通路; 阿尔茨海默病; 认知障碍; 氧化应激

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 6376(2025)04 - 0866 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.04.008

Effect of galangin on cognitive impairment in Alzheimer's disease rats by regulating Shh/Ptch1 signaling pathway

MENG Wangtao¹, CHEN Chao¹, YAO Nannan², CUI Dongling¹, WU Dongjing¹, YE Hua¹

1. Xinyang Vocational and Technical College, Xinyang 464000, China

2. Luoyang Central Hospital, Luoyang 471000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of galangin on cognitive impairment and the sonic hedgehog/transmembrane protein receptor 1(Shh/Ptch1) signaling pathway in Alzheimer's disease (AD) rats. **Methods** An AD model was established by injecting A β 1~42 into the CA1 region of the hippocampus. The successfully modeled rats were randomly divided into the model group, low-dose (25 mg·kg⁻¹) and high-dose (50 mg·kg⁻¹) groups of galangin, and the galangin (50 mg·kg⁻¹) + cyclopamine (Shh inhibitor, 10 mg·kg⁻¹) group, with 12 rats in each group. Another 12 healthy rats were used as the control group. Galangin was ig administrated and cyclopamine was ip administrated. The control and model groups were ig given the same volume of 0.9% sodium chloride solution.

收稿日期: 2024-09-04

基金项目: 河南省医学教育研究项目(WJLX2023244); 2024 年度河南省高等教育(高等职业教育类)教学改革研究与实践项目(74); 河南省高等学校重点科研项目(23B320017)

作者简介: 孟王桃(1990—),女,硕士,讲师,研究方向为慢性病管理。E-mail: ocgwe6@163.com

*通信作者: 叶桦(1974—),女,本科,教授,研究方向为慢性病管理。E-mail: xuzzz65@163.com

The treatment lasted for 28 days. After the treatment, Morris water maze test was conducted; ELISA was used to detect serum inflammatory markers IL-6 and IL-1 β and oxidative stress markers MDA and SOD levels; HE staining was performed to examine the pathological morphology of the hippocampus; TUNEL staining was used to detect neuronal apoptosis; and immunohistochemistry was conducted to detect the expression of A β and p-Tau, which are related to pathological damage in the hippocampus. Western blotting was used to detect the expression of Shh, Ptch1, Gli1, and apoptosis-related proteins Bcl-2 and BAX in the hippocampus. **Results** The AD group had more severe damage to hippocampal tissue compared to the control group, the morphology of neurons was irregular, the arrangement was disordered, the nuclei of neurons shrank, and the number decreased, the escape latency was prolonged, the number of platform crossings and the duration of stay on the platform decreased, the swimming trajectory is complex, the levels of IL-6, IL-1 β , MDA, neuronal apoptosis rate, the expression of Bax, A β , and p-Tau elevated, the level of SOD and the expression of Bcl-2, Shh, Ptch1, and Gli1 decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with model group, galangin high and low dose group had less destruction of hippocampal tissue, less abnormal morphological degree of neurons, relatively neat arrangement, less nuclear shrinkage, and less loss of neurons, the escape latency was shortened, the number of platform crossings and the duration of stay on the platform increased, the swimming track is simple, the levels of IL-6, IL-1 β , MDA, neuronal apoptosis rate, the expression of Bax, A β , and p-Tau reduced, the level of SOD and the expression of Bcl-2, Shh, Ptch1, and Gli1 increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The damage to hippocampal tissue was more severe in the galangin + cyclopamine group compared to the galangin high dose group, the escape latency was prolonged, the number of platform crossings and the duration of stay on the platform decreased, the swimming trajectory is complex, the levels of IL-6, IL-1 β , MDA, neuronal apoptosis rate, the expression of Bax, A β , and p-Tau increased, the level of SOD and the expression of Bcl-2, Shh, Ptch1, and Gli1 decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Galangin can improve cognitive impairment in AD rats, and its mechanism of action is related to the activation of the Shh/Ptch1 signaling pathway.

Key words: galangin; sonic hedgehog/transmembrane protein receptor 1 signaling pathway; Alzheimer's disease; cognitive impairment; oxidative stress

阿尔茨海默病(AD)是一种与遗传、环境、免疫等多种因素相关的常见的退行性疾病,主要是促使 65 岁及以上的老年人群的脑功能衰退,临床主要表现为语言障碍、判断力与记忆力退化、日常生活能力丧失等^[1-2]。随着全球老龄化的加剧,AD 的患病率逐年上升,给家庭及社会带来沉重负担^[3]。目前主要通过服用吡拉西坦、胆碱酯酶抑制剂等进行治疗,AD 症状虽然有所改善,但效果甚微,了解 AD 的发病机制、寻找特效治疗药物以改善脑功能是目前的研究重点。高良姜素是提取自高良姜中的一种具有抗炎、抗氧化、神经保护等多种药理活性的天然黄酮类化合物,其可保护海马神经元,改善认知及行为功能^[4]。音猬因子/跨膜蛋白受体 1 (Shh/Ptch1) 通路参与神经相关疾病发展,激活 Shh/Ptch1 通路可改善多发性梗死痴呆大鼠记忆障碍和海马神经元损伤^[5]。本研究拟通过探索高良姜素对 AD 大鼠认知障碍及 Shh/Ptch1 通路的影响,为 AD 治疗寻求新策略。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠,7 周龄,购自郑州大学(河南省实验动物中心),实验动物生产许可证号 SCXK

(豫)2022-0001,实验在商丘美兰生物工程有限公司进行,本研究已获得商丘美兰生物工程有限公司动物实验中心伦理委员会审批(编号 2022-110538)。

1.2 主要试剂

高良姜素(质量分数 $\geq 98\%$,批号 A130430)、环巴胺(质量分数 $\geq 98\%$,批号 A130547)购自上海抚生实业有限公司;丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)ELISA 试剂盒(批号 SBJ-R0007、SBJ-R0008)购自南京森贝伽生物科技有限公司;白细胞介素(IL)-6、IL-1 β ELISA 试剂盒(批号 JLC-R12815、JLC-R12697)购自江西江蓝纯生物试剂有限公司; β 淀粉样蛋白 1~42(A β 1~42,原液,CAS 号 107761-42-2)、A β 抗体(批号 NDC-EKX-AKJXY2-96)购自艾美捷科技有限公司;磷酸化的 Tau 蛋白(p-Tau)抗体(批号 IC164891)购自上海信裕生物科技有限公司;Shh、Gli 家族锌指蛋白 1 (Gli1)、Bcl-2 相关 X 蛋白(BAX)、B 细胞淋巴瘤 2 (Bcl-2)抗体(批号 FNab07847、FNab10657、FNab00809、FNab00842)购自武汉菲恩生物科技有限公司;Ptch1 抗体(批号 abs115174)购自爱必信(上海)生物科技有限公司。

1.3 实验仪器

SpectraMax iD3 型多功能酶标仪购自美谷分子仪器(上海)有限公司; BX51 显微镜购自日本 Olympus 公司; DM IL LED 型荧光显微镜购自德国 Leica 公司; 4200SF 型凝胶成像分析系统购自上海天能公司。

2 方法

2.1 AD 大鼠模型构建

30 mg·kg⁻¹ 戊巴比妥钠 ip 麻醉实验大鼠后, 剔除头顶毛发并清洁消毒, 头顶部做 2 cm 纵向伤口, 分离骨膜充分暴露颅骨, 定位海马 CA1 区, 打开颅骨, 在前囟后 3.3 mm、中线 1.5 mm 处, 在硬脑膜下 3.0 mm 处, 使用微量注射器每侧注射 2 μL Aβ1~42, 注射完留针 5 min, 随后缝合切口消毒^[6]。对照组切开硬脑膜后注射等量 0.9% 氯化钠溶液, 其他操作与上述一致。与对照组相比, 模型组大鼠出现食欲不振、反应迟缓、精神萎靡等症状, 说明造模成功。

2.2 分组与处理

将造模成功大鼠随机分为模型组, 高良姜素低、高剂量 (25、50 mg·kg⁻¹)^[4] 组, 高良姜素 (50 mg·kg⁻¹) + 环巴胺 (Shh 抑制剂, 10 mg·kg⁻¹)^[7] 组, 每组 12 只, 另取 12 只健康大鼠作为对照组; 高良姜素 ig 给药, 环巴胺 ip 给药; 对照组与模型组 ig 等量 0.9% 氯化钠溶液, 连续给药 28 d。

2.3 Morris 水迷宫实验

给药结束后先进行 Morris 水迷宫实验, 将水箱分为 4 个象限并在其中 1 个象限中间放置平台, 随后将大鼠面向池壁随机放入水中, 记录其找到平台时间, 即逃避潜伏期, 90 s 内未找到平台需将其引至平台, 持续训练 5 d, 在第 6 天平台撤去后将大鼠从特定位置放入水中, 记录其 90 s 内在原平台停留时间、跨平台次数及游泳轨迹。

2.4 炎症及氧化应激水平检测

Morris 水迷宫实验结束, 30 mg·kg⁻¹ 戊巴比妥钠 ip 麻醉各组大鼠, 腹主动脉取血, 静置后 3 000 r·min⁻¹

离心 10 min 取血清, ELISA 试剂盒检测血清 IL-6、IL-1β、MDA、SOD 水平。

2.5 海马组织病理学检测

取血结束将各组大鼠断颈处死, 取海马组织, 各组任选 6 个, 甲醛固定后, 浸蜡包埋切片, 随后常规处理后进行 HE 染色, 透明封片, 显微镜下观察海马组织病理形态。

2.6 神经元凋亡检测

取“2.5”项海马组织石蜡切片, 常规处理后依次进行 TUNEL、DAPI 避光染色, 具体操作参照 TUNEL 染色试剂盒说明书, 最后干燥密封, 在荧光显微镜下观察阳性细胞并计算神经元凋亡率。

2.7 海马组织病理损伤相关蛋白检测

取“2.5”项海马组织石蜡切片, 常规处理后抗原修复, 再与 H₂O₂ 反应, 然后血清封闭, 将封闭膜与 Aβ、p-Tau 一抗 4 °C 过夜孵育, 第 2 天再与 HRP 标记二抗室温孵育 1 h, 随后进行 DAB 显色, 苏木素复染, 干燥密封后在显微镜下观察切片。Image 软件分析 Aβ、p-Tau 吸光度值。

2.8 Shh/Ptch1 信号通路及凋亡相关蛋白检测

用蛋白裂解液将各组剩余 6 个海马组织在冰上充分裂解后, 提取总蛋白, 定量后, 根据蛋白样大小进行变性、电泳分离、转膜后封闭, 将封闭膜与 Shh、Ptch1、Gli1、Bax、Bcl-2 一抗 4 °C 过夜反应, 第 2 天再与 HRP 标记二抗室温反应, 再进行 ECL 可视化处理, 凝胶成像系统采集图像并进行灰度分析。

2.9 统计学方法

采用 SPSS 25.0 进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。

3 结果

3.1 Morris 水迷宫实验

如图 1、表 1 所示, 模型组较对照组逃避潜伏期显著延长、穿越平台次数及在平台停留的时间显

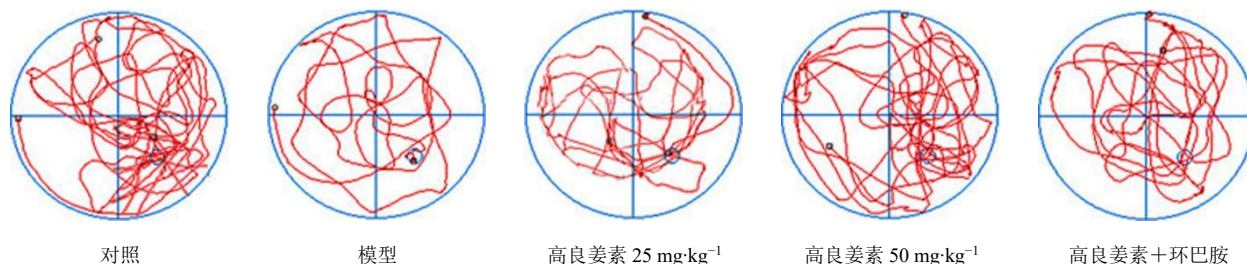


图 1 各组大鼠游泳轨迹

Fig. 1 Swimming tracks of rats in each group

表 1 各组大鼠学习记忆能力比较 (x̄±s, n=12)

Table 1 Comparison of learning and memory ability of rats in each group (x̄±s, n=12)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	逃避潜伏期/s	穿越平台次数	平台停留时间/s
对照	—	6.22±0.65	23.46±2.44	35.89±3.64
模型	—	31.59±3.26*	3.15±0.36*	5.11±0.55*
高良姜素	25	20.36±2.14 [#]	11.73±1.23 [#]	19.26±2.05 [#]
	50	8.75±0.91 [#]	22.54±2.35 [#]	34.17±3.52 [#]
高良姜素+环巴胺	50+10	19.41±2.03 ^{#△}	12.35±1.28 ^{#△}	20.34±2.13 ^{#△}

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: [#]P<0.05; 与高良姜素高剂量组比较: [△]P<0.05。
*P<0.01 vs control group; [#]P<0.05 vs model group; [△]P<0.01 vs galangin high dose group.

著减少 (P<0.05), 游泳轨迹复杂; 高良姜素低、高剂量组较模型组逃避潜伏期显著缩短、穿越平台次数及在平台停留的时间显著增加 (P<0.05), 游泳轨迹简单; 高良姜素+环巴胺组较高良姜素高剂量组逃避潜伏期延长、穿越平台次数及在平台停留的时间减少 (P<0.05), 游泳轨迹复杂。

3.2 高良姜素对 AD 大鼠炎症及氧化应激的影响

如表 2 所示, 模型组较对照组 IL-6、IL-1β、MDA 水平显著升高, SOD 水平显著降低 (P<0.05); 高良姜素低、高剂量组较模型组 IL-6、IL-1β、MDA 水平显著降低, SOD 水平显著升高 (P<

0.05); 高良姜素+环巴胺组较高良姜素高剂量组 IL-6、IL-1β、MDA 水平显著升高, SOD 水平显著降低 (P<0.05)。

3.3 高良姜素对 AD 大鼠海马组织病理形态的影响

对照组海马组织与神经元结构完整正常, 神经元形态饱满、排列规律整齐; 模型组海马组织破坏严重, 神经元形态不规则, 排列紊乱, 神经元细胞核缩小, 数量减少; 高良姜素低、高剂量组海马组织轻度破坏, 神经元形态异常程度较轻, 排列相对整齐, 轻度核固缩, 神经元少量减少; 高良姜素+环巴胺组海马组织破坏加重。结果见图 2。

表 2 各组大鼠炎症及氧化应激指标水平比较 (x̄±s, n=12)

Table 2 Comparison of inflammation and oxidative stress levels of rats in each group (x̄±s, n=12)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	MDA/(umol·g ⁻¹)	SOD/(kU·g ⁻¹)
对照	—	4.21±0.47	15.24±1.61	3.45±0.35	36.74±3.79
模型	—	19.26±1.95*	56.83±5.73*	20.79±2.17*	14.23±1.51*
高良姜素	25	12.14±1.28 [#]	38.25±3.89 [#]	12.36±1.34 [#]	24.69±2.53 [#]
	50	4.71±4.93 [#]	19.14±2.01 [#]	3.94±4.06 [#]	35.84±3.62 [#]
高良姜素+环巴胺	50+10	11.87±1.36 ^{#△}	37.45±3.79 ^{#△}	11.73±1.26 ^{#△}	25.36±2.57 ^{#△}

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: [#]P<0.05; 与高良姜素高剂量组比较: [△]P<0.05。
*P<0.01 vs control group; [#]P<0.05 vs model group; [△]P<0.01 vs galangin high dose group.

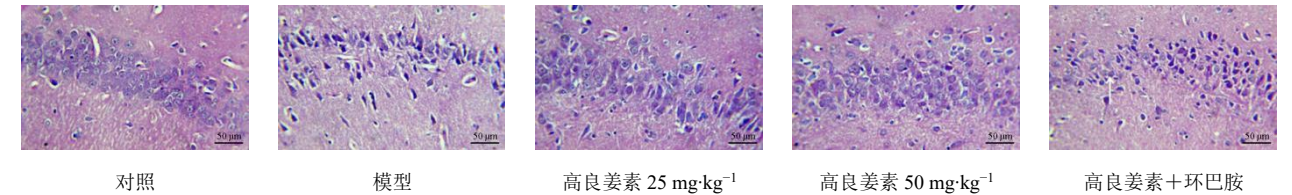


图 2 HE 染色观察海马组织病理形态 (×200)

Fig. 2 Pathological morphology of hippocampus observed by HE staining (×200)

3.4 高良姜素对 AD 大鼠神经元凋亡的影响

模型组较对照组神经元凋亡率、Bax 表达显著升高, Bcl-2 表达显著降低 (P<0.05); 高良姜素低、高剂量组较模型组神经元凋亡率、Bax 表达显著降低, Bcl-2 表达显著升高 (P<0.05); 高良姜素+环巴胺组较高良姜素高剂量组神经元凋亡率、Bax 表达显著升高, Bcl-2 表达显著降低 (P<0.05);

见图 3、4 和表 3。

3.5 高良姜素对海马组织病理损伤相关蛋白表达的影响

模型组较对照组 Aβ、p-Tau 表达显著升高 (P<0.05); 高良姜素低、高剂量组较模型组 Aβ、p-Tau 表达显著降低 (P<0.05); 高良姜素+环巴胺组较高良姜素高剂量组 Aβ、p-Tau 表达显著升高 (P<

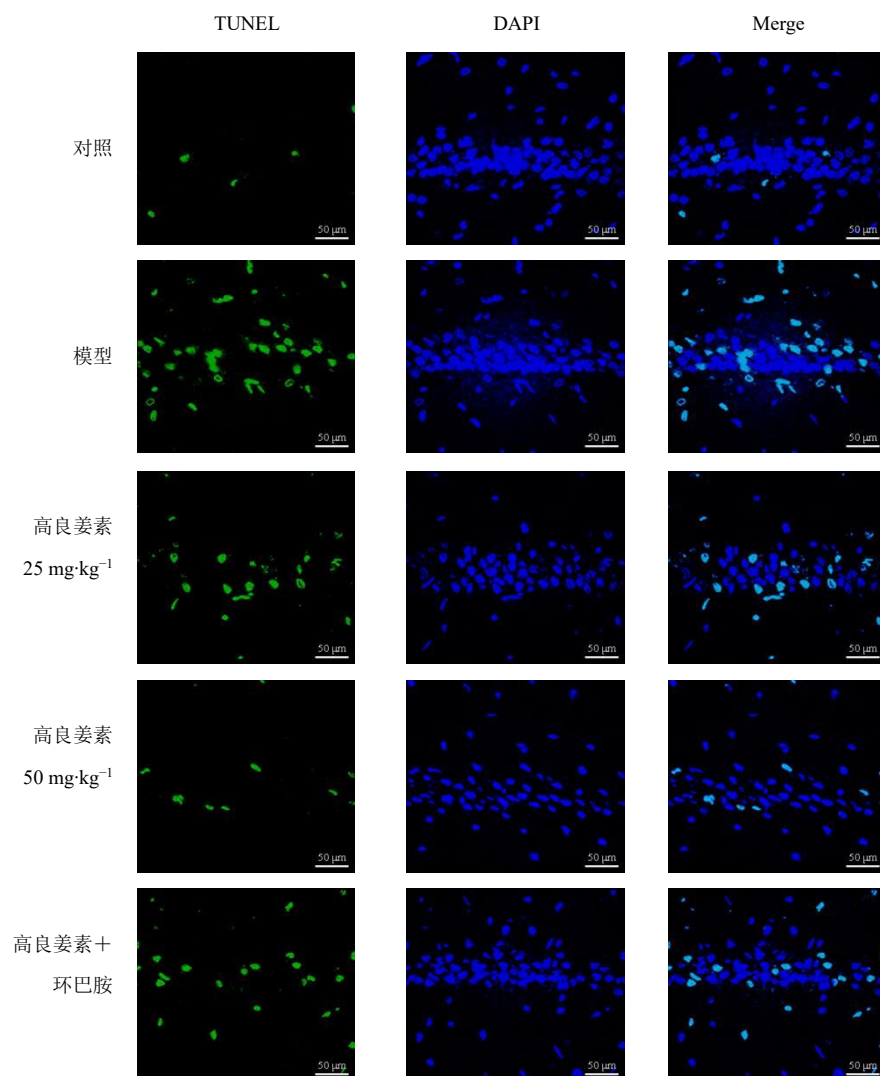


图 3 TUNEL 染色观察神经元凋亡情况 (×200)

Fig. 3 Apoptosis observed by TUNEL staining (×200)

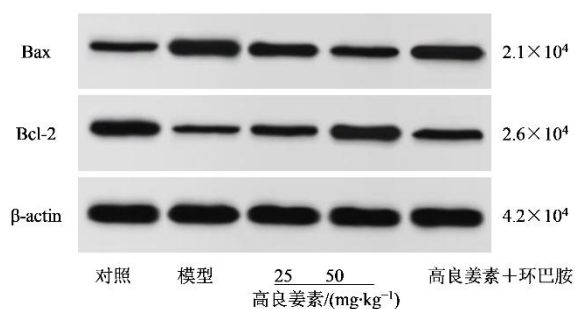


图 4 Western blotting 检测 Bax、Bcl-2 表达

Fig. 4 Western blotting analysis of Bax and Bcl-2 expression

0.05)。结果见图 5、表 4。

3.6 高良姜素对 Shh/Ptch1 信号通路的影响

模型组较对照组 Shh、Ptch1、Gli1 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$)；高良姜素低、高剂量组较模型

组 Shh、Ptch1、Gli1 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$)；高良姜素 + 环巴胺组较高良姜素高剂量组 Shh、Ptch1、Gli1 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$)；见图 6、表 5。

4 讨论

AD 是一种发展中退行性神经系统疾病，其发病隐匿、病程缓慢不易察觉，发病往往令人措手不及并且会缩短寿命，其主要表现为认知、学习、记忆、精神等多方面发生障碍，严重影响患者日常生活^[8]。其发病机制可能与家族遗传史、衰老、头部损伤、炎症、氧化应激等因素有关，其中主要是由于淀粉样前体蛋白 (APP) 水解生成 Aβ 碎片，在脑部大量沉积引发神经毒性，促使 Tau 蛋白过度磷酸化，神经细胞出现纤维缠结，激活小胶质细胞介导的神经炎症反应，同时氧自由基分泌增多，清除能

表 3 各组大鼠神经元凋亡及相关蛋白表达比较 (x̄ ± s, n=6)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	神经元凋亡率/%	Bax/β-actin	Bcl-2/β-actin
对照	—	5.22 ± 0.56	0.42 ± 0.05	0.87 ± 0.09
模型	—	30.67 ± 3.12*	0.96 ± 0.10*	0.33 ± 0.04*
高良姜素	25	19.85 ± 2.03 [#]	0.77 ± 0.08 [#]	0.52 ± 0.06 [#]
	50	7.38 ± 0.76 [#]	0.54 ± 0.06 [#]	0.81 ± 0.09 [#]
高良姜素+环巴胺	50+10	18.94 ± 1.91 [△]	0.73 ± 0.08 [△]	0.56 ± 0.06 [△]

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: [#]P<0.05; 与高良姜素高剂量组比较: [△]P<0.05。
*P<0.01 vs control group; [#]P<0.05 vs model group; [△]P<0.01 vs galangin high dose group.

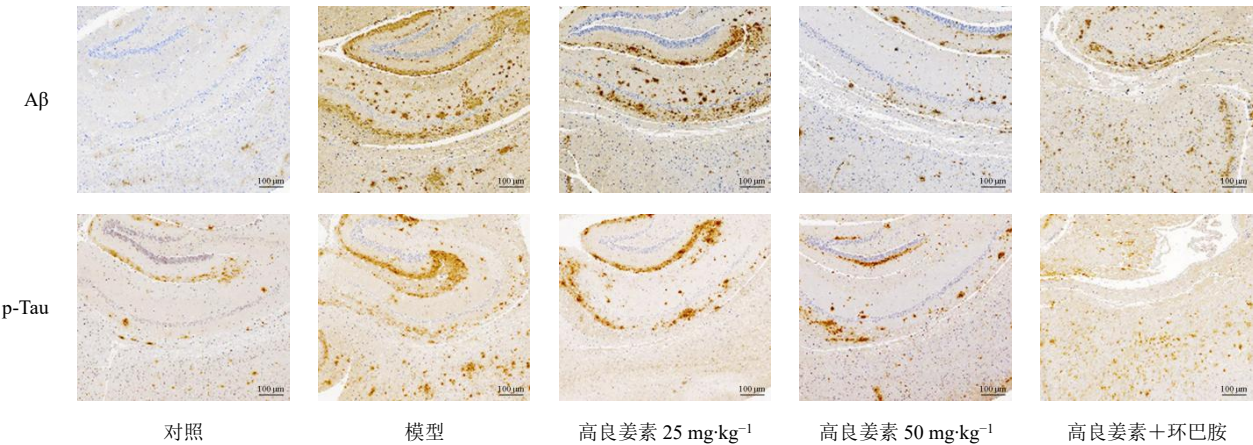


图 5 免疫组化检测 Aβ、p-Tau 表达 (×40)

Fig. 5 Expression of Aβ and p-Tau detected by immunohistochemistry (×40)

表 4 各组大鼠海马组织病理损伤相关蛋白表达比较 (x̄ ± s, n=6)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Aβ吸光度值	p-Tau吸光度值
对照	—	0.27 ± 0.03	0.35 ± 0.04
模型	—	0.75 ± 0.08*	0.81 ± 0.09*
高良姜素	25	0.56 ± 0.06 [#]	0.62 ± 0.07 [#]
	50	0.31 ± 0.04 [#]	0.39 ± 0.04 [#]
高良姜素+环巴胺	50+10	0.53 ± 0.06 ^{#△}	0.60 ± 0.06 ^{#△}

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: [#]P<0.05; 与高良姜素高剂量组比较: [△]P<0.05。
*P<0.01 vs control group; [#]P<0.05 vs model group; [△]P<0.01 vs galangin high dose group.

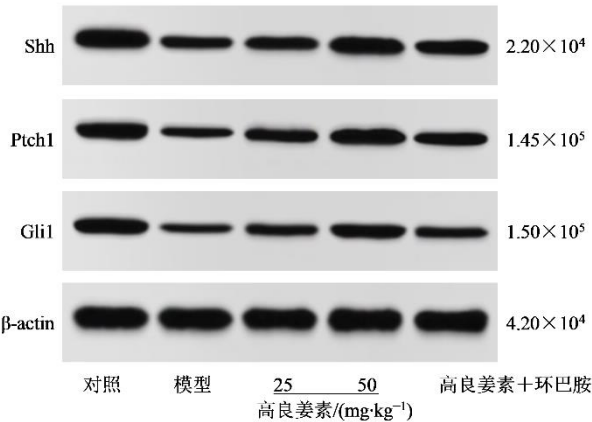


图 6 Western blotting 检测 Shh、Ptch1、Gli1 表达

Fig. 6 Western blotting analysis of Shh, Ptch1 and Gli1 expression

力下降, 伴随炎症病理情况, 导致神经元数量减少, 患者出现痴呆症状^[9-10]。高良姜素是存在于蜂蜜和生姜植物中的一种低毒、天然的膳食类黄酮化合物, 具有抗炎、抗癌、修护皮肤、神经保护等多种药理作用^[11-12]。研究显示, 高良姜素可减轻 APP/早老素 1 (APP/PS1) 双转基因小鼠海马神经元受损, 改善学习记忆障碍^[13]。高良姜素可降低缺血再灌注沙鼠大脑中的氧化应激水平, 减少神经元死亡数量, 显著改善学习和记忆功能^[14]。另外研究发现高良姜可促进线粒体自噬改善 Aβ 诱导的病理改变, 减轻脑类器官生长损伤, 对 AD 发挥保护作用^[15]。本研究结果显示, 高良姜素可缩短逃避潜伏期、增多穿越平台次数及在平台停留的时间, 减轻海马组织破坏程度, 说明其可通过减轻海马组织损伤改善 AD 大

表 5 各组大鼠 Shh/Ptch1 信号通路相关蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 5 Comparison of Shh/Ptch1 signaling pathway-related protein expression in rats of all groups ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Shh/ β -actin	Ptch1/ β -actin	Gli1/ β -actin
对照	—	0.93 $\pm$ 0.10	0.86 $\pm$ 0.09	0.79 $\pm$ 0.08
模型	—	0.44 $\pm$ 0.05*	0.39 $\pm$ 0.04*	0.31 $\pm$ 0.04*
高良姜素	25	0.63 $\pm$ 0.07 [#]	0.58 $\pm$ 0.06 [#]	0.50 $\pm$ 0.06 [#]
	50	0.85 $\pm$ 0.09 [#]	0.81 $\pm$ 0.09 [#]	0.72 $\pm$ 0.08 [#]
高良姜素+环巴胺	50+10	0.67 $\pm$ 0.07 ^{#Δ}	0.60 $\pm$ 0.07 ^{#Δ}	0.53 $\pm$ 0.06 ^{#Δ}

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与高良姜素高剂量组比较: ^Δ $P<0.05$ 。

* $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group; ^Δ $P<0.01$ vs galangin high dose group.

鼠学习、记忆能力。炎症反应及氧化应激、细胞凋亡是参与 AD 发生的关键因素。IL-6、IL-1 β 等促炎因子是引发神经炎症的主要因子,可增强组织损伤和神经毒性。降低 IL-1 β 、IL-6 水平可改善 AD 大鼠的认知能力和记忆力^[16]。而氧化应激往往伴随着神经炎症的发生,其中 MDA 是脂质过氧化产物, SOD 是具有清除氧自由基能力的抗氧化酶,抑制 MDA 水平,提高 SOD 活性可抑制氧化应激反应,改善 AD 小鼠的空间学习记忆能力、步态和肢体间协调障碍^[17]。神经元凋亡是引发 AD 的最终因素,其中 Bax、Bcl-2 是经典细胞线粒体凋亡通路中的主要蛋白,两者相互拮抗,抑制 Bax 表达,促进 Bcl-2 表达可抑制神经元凋亡,改善 AD 大鼠的记忆障碍^[18]。本研究结果显示,高良姜素可抑制 IL-6、IL-1 β 、MDA 水平及 Bax 表达,提高 SOD 活性及 Bcl-2 表达,说明其可通过抑制炎症、氧化应激反应,减少神经元凋亡,改善 AD 大鼠认知障碍。

A β 过度沉积及 Tau 蛋白过度磷酸化是引发 AD 的主要病理机制,减少 A β 沉积及抑制 Tau 磷酸化可减少神经元细胞损伤、凋亡,改善认知功能障碍^[19]。在应激条件下,A β 过度沉积会促使 Tau 蛋白过度磷酸化发生纤维缠结,激活小胶质细胞释放大量炎症因子,进而促进小胶质细胞及星形胶质细胞活化引发神经炎症,进而促使神经元发生凋亡,引发认知功能障碍^[20-21]。研究显示,降低海马组织 A β 42 及 p-Tau 含量,可增加海马神经元树突棘数目,促进突触重塑,改善 AD 小鼠学习记忆功能^[22]。抑制 AD 小鼠海马神经元 Tau 蛋白过磷酸化,可恢复 Tau 蛋白功能,保护海马神经,进而发挥抗 AD 作用^[23]。本研究结果显示,高良姜素可抑制 A β 过度沉积及 Tau 蛋白过度磷酸化,说明其可改善 AD 大鼠认知障碍。

Shh/Ptch1 信号通路参与神经存活、再生和分化

等多个生物进程,尤其在脑神经相关疾病发展中发挥重要作用。在应激条件下,自分泌或旁分泌大量 Shh,使其与 Ptch-Smo 受体复合物结合,解除 Ptch1 对 Smo 的抑制,激活 Gli 转录因子并使 Gli1 进入细胞核,激活下游靶基因转录,调控细胞存活、生长与分化,发挥神经保护作用^[24-25]。研究显示,激活 Shh 信号通路,抑制 Bax 表达,促进 Bcl-2 表达,可抑制神经元凋亡并促进神经元突触重塑,改善卒中后 AD 大鼠认知障碍^[26]。激活 Shh/Ptch1 信号通路,可促进海马神经元的存活,促进突触的形成并调节其可塑性,进而改善血管性痴呆大鼠认知功能,起到神经保护作用^[27]。本研究结果显示,高良姜素可上调 Shh、Ptch1、Gli1 表达,推测其可能通过激活 Shh/Ptch1 信号通路,改善 AD 大鼠认知障碍。对高良姜素高剂量处理的 AD 大鼠进行环巴胺处理,发现其可部分逆转高良姜素对 AD 大鼠认知障碍的改善作用,说明高良姜素可通过激活 Shh/Ptch1 信号通路,改善 AD 大鼠认知障碍。

高良姜素可改善 AD 大鼠认知障碍,其作用机制与激活 Shh/Ptch1 信号通路相关。本研究仍存在局限性,高良姜素对 AD 大鼠的作用机制尚不清晰,其可能通过调控其他通路影响 AD 的发展进程,另外本研究样本量较小,实验不全面,后续仍需全面深入探究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 赵祥,魏翠兰,张业廷.神经发生和炎性环境在运动条件下的改变与调节[J].中国组织工程研究,2021,25(5): 813-820.
Zhao X, Wei C L, Zhang Y T. Neurogenesis and neuroinflammation under exercise: Alteration and regulation [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2021, 25(5): 813-820.

- [2] 彭超, 张艳, 米彩云, 等. 中医方药对阿尔茨海默病 NF- κ B 信号通路调控的研究进展 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(10): 1675-1679.
- Peng C, Zhang Y, Mi C Y, et al. Research progress on the regulation of NF- κ B signal pathway in Alzheimer's disease by Chinese medicine [J]. J Basic Chin Med, 2021, 27(10): 1675-1679.
- [3] Jia L F, Du Y F, Chu L, et al. Prevalence, risk factors, and management of dementia and mild cognitive impairment in adults aged 60 years or older in China: A cross-sectional study [J]. Lancet Public Health, 2020, 5(12): e661-e671.
- [4] Abd El-Aal S A, AbdElrahman M, Reda A M, et al. Galangin mitigates DOX-induced cognitive impairment in rats: Implication of NOX-1/Nrf-2/HMGB1/TLR4 and TNF- α /MAPKs/RIPK/MLKL/BDNF [J]. Neurotoxicology, 2022, 92: 77-90.
- [5] Li X Q, Wen W, Li P, et al. Mitochondrial protection and against glutamate neurotoxicity via shh/Ptch1 signaling pathway to ameliorate cognitive dysfunction by Kaixin San in multi-infarct dementia rats [J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 5590745.
- [6] 柯莉, 方登富, 潘飞豹, 等. 益母草碱对 A β 1~42 所致老年痴呆大鼠大脑保护作用及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(19): 4797-4801.
- Ke L, Fang D F, Pan F B, et al. Protective effect of leonurus on the brain of rats with Alzheimer's disease induced by A β 1-42 [J]. Chin J Geront, 2022, 42(19): 4777-4801.
- [7] 彭莉, 林晓峰, 王胜, 等. Shh/Gli1 信号通路在异氟醚后处理减轻大鼠脑缺血-再灌注损伤中的作用 [J]. 临床麻醉学杂志, 2020, 36(4): 381-386.
- Peng L, Lin X F, Wang S, et al. Role of Shh/Gli1 signaling pathway in the treatment of cerebral ischemia-reperfusion injury after isoflurane post-conditioning in rats [J]. J Clin Anesthesiol, 2020, 36(4): 381-386.
- [8] 姜凯慧, 张建薇, 孟丽君, 等. 认知刺激疗法结合重塑吞咽功能训练对阿尔兹海默症患者认知能力以及吞咽障碍的影响 [J]. 海军医学杂志, 2023, 44(1): 69-73.
- Jiang K H, Zhang J W, Meng L J, et al. Effects of cognitive stimulation therapy combined with reshaping swallowing function training on cognitive ability and swallowing disorder in patients with Alzheimer's disease [J]. J Navy Med, 2023, 44(1): 69-73.
- [9] Ferrari C, Sorbi S. The complexity of Alzheimer's disease: An evolving puzzle [J]. Physiol Rev, 2021, 101(3): 1047-1081.
- [10] 李兆珍, 李炜, 张丹参. 老年痴呆症发病机制及药物治
- 疗 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(6): 474.
- Li Z Z, Li W, Zhang D C /C /S. Pathogenesis and drug treatment of Alzheimer's disease [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2019, 33(6): 474.
- [11] 王晓晴, 孙允红, 赵方舒, 等. 高良姜素的药理作用及机制研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2023, 39(8): 115-120.
- Wang X Q, Sun Y H, Zhao F S, et al. Research progress on mechanism and pharmacological activities of galangin [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2023, 39(8): 115-120.
- [12] 谢小丽, 胡璇, 陈振夏, 等. 高良姜精油提取工艺优化、成分分析及其生物活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(18): 5904-5915.
- Xie X L, Hu X, Chen Z X, et al. Extraction technology, component analysis and biological activity of *Alpiniae Officinarum Rhizoma* essential oil [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(18): 5904-5915.
- [13] 黄丽平, 钟晓琴, 周鑫钰, 等. 高良姜素通过调节 Akt/MEF2D/Beclin-1 信号通路改善 APP/PS1 双转基因小鼠学习记忆障碍的作用 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(10): 2729-2737.
- Huang L P, Zhong X Q, Zhou X Y, et al. Galangin alleviates learning and memory impairments in APP/PS1 double-transgenic mice by regulating Akt/MEF2D/Beclin-1 signaling pathway [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(10): 2729-2737.
- [14] Guan X, Li Z H, Zhu S, et al. Galangin attenuated cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibition of ferroptosis through activating the SLC7A11/GPX4 axis in gerbils [J]. Life Sci, 2021, 264: 118660.
- [15] Zhang R, Lu J, Pei G, et al. Galangin rescues Alzheimer's amyloid- β induced mitophagy and brain organoid growth impairment [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(4): 3398.
- [16] Xie L S, Liu Y, Zhang N, et al. Electroacupuncture improves M2 microglia polarization and Glia anti-inflammation of hippocampus in Alzheimer's disease [J]. Front Neurosci, 2021, 15: 689629.
- [17] Guan L S, Mao Z, Yang S, et al. Dioscin alleviates Alzheimer's disease through regulating RAGE/NOX4 mediated oxidative stress and inflammation [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 152: 113248.
- [18] Du Q, Zhu X Y, Si J R. Angelica polysaccharide ameliorates memory impairment in Alzheimer's disease rat through activating BDNF/TrkB/CREB pathway [J]. Exp Biol Med, 2020, 245(1): 1-10.
- [19] Ashrafian H, Zadeh E H, Khan R H. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau

- tangle formation [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 167: 382-394.
- [20] Xie L S, Zhang N, Zhang Q, et al. Inflammatory factors and amyloid β -induced microglial polarization promote inflammatory crosstalk with astrocytes [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(22): 22538-22549.
- [21] Busche M A, Hyman B T. Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease [J]. Nat Neurosci, 2020, 23(10): 1183-1193.
- [22] 王煜, 赵岚, 史慧妍, 等. 基于 RhoA/ROCK 通路探讨三焦针法对老年痴呆小鼠学习记忆及突触可塑性的影响 [J]. 针刺研究, 2021, 46(8): 635-641.
- Wang Y, Zhao L, Shi H Y, et al. RhoA/ROCK pathway involved in effects of Sanjiao acupuncture on learning and memory and synaptic plasticity in Alzheimer's disease mice [J]. Acupunct Res, 2021, 46(8): 635-641.
- [23] 钱红月, 肖移生, 侯吉华, 等. 黄精丸抑制 *D*-半乳糖和冈田酸所致学习记忆障碍小鼠海马神经元 tau 蛋白过磷酸化的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(1): 72-80.
- Qian H Y, Xiao Y S, Hou J H, et al. Mechanism of Huangjingwan in inhibiting tau hyperphosphorylation in hippocampal neurons of mice with Alzheimer's disease induced by *D*-galactose and okadaic acid resulting in learning and memory disorders [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2021, 27(1): 72-80.
- [24] Parashar A, Jha D, Mehta V, et al. Sonic hedgehog signalling pathway contributes in age-related disorders and Alzheimer's disease [J]. Ageing Res Rev, 2024, 96: 102271.
- [25] Yang C, Qi Y, Sun Z T. The role of sonic hedgehog pathway in the development of the central nervous system and aging-related neurodegenerative diseases [J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 711710.
- [26] Wang G, Tang X E, Zhao F Y, et al. Total saponins from *Trillium tschonoskii* Maxim promote neurological recovery in model rats with post-stroke cognitive impairment [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1255560.
- [27] 牛小莉, 楚宝, 刘志娟, 等. 丁苯酞对血管性痴呆大鼠 Shh/Ptch1 通路的影响 [J]. 中国新药杂志, 2020, 29(18): 2141-2147.
- Niu X L, Chu B, Liu Z J, et al. The effect of NBP on Shh/Ptch1 pathway in rats with vascular dementia [J]. Chin J New Drugs, 2020, 29(18): 2141-2147.

[责任编辑 兰新新]