

人参皂苷 R_{g1} 对阿尔茨海默病转基因小鼠的神经保护作用

刘 琳, 张 凯, 何 勤, 刘 威

郑州大学附属郑州中心医院, 河南 郑州 450001

摘 要: **目的** 探究人参皂苷 R_{g1} 对 APP/PS1 双转基因模型小鼠认知障碍、氧化应激损伤、炎症反应、A β 堆积和神经细胞凋亡的改善作用。**方法** 采用 Morris 水迷宫实验, 对 APP/PS1 模型小鼠的认知功能进行评价; 采用试剂盒和 ELISA 法对各组小鼠氧化损伤和炎症相关指标进行测定; 采用 HE 染色和 Western blotting 法对各组小鼠海马组织神经元凋亡及凋亡相关蛋白进行定量分析。**结果** 人参皂苷 R_{g1} 能够显著改善 APP/PS1 双转基因模型小鼠的认知功能, 降低 A β 堆积及丙二醛(MDA)水平, 提高超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)活性。此外, 人参皂苷 R_{g1} 还可通过显著性降低 APP/PS1 小鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和 IL-6 水平, 增加 IL-2 水平, 从而抑制神经炎症反应。HE 染色显示人参皂苷 R_{g1} 能降低海马细胞的凋亡状态。人参皂苷 R_{g1} 还可以显著升高海马中 Bcl-2/Bax 的值, 并显著降低 Caspase-3、Caspase-9 和 Cyt-c 蛋白的表达水平。**结论** 人参皂苷 R_{g1} 能够显著改善 APP/PS1 模型小鼠的氧化应激状态, 减轻炎症反应, 抑制神经元凋亡和改善认知功能。

关键词: 人参皂苷 R_{g1}; 阿尔茨海默病; 认知障碍; 氧化应激; 炎症; 神经元凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)05-1264-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.024

Neuroprotective effect of ginsenoside R_{g1} in transgenic mice brain with Alzheimer's disease

LIU Lin, ZHANG Kai, HE Meng, LIU Wei

Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of ginsenoside R_{g1} on cognitive impairment, oxidative stress injury, inflammation, accumulation of A beta and neuronal apoptosis in APP/PS1 mice. **Methods** Morris water maze test was used to evaluate the cognitive function of APP/PS1 mice. The oxidative damage and inflammation related indexes of APP/PS1 mice in each group were measured by kit and Elisa. The apoptotic and apoptotic proteins of hippocampal neurons in each group were quantified by HE staining and Western blot. **Results** The results showed that R_{g1} could significantly improve the cognitive function of mice, reduce the accumulation of A β and the content of malondialdehyde (MDA), and increase the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), catalase (CAT). In addition, R_{g1} could significantly reduce the serum levels of TNF- α , INF- γ , IL-1 β and IL-6 in APP/PS1 mice, and increase the level of IL-2, thereby inhibiting the neuroinflammatory response. HE staining showed that R_{g1} could reduce the apoptotic state of hippocampal cells. R_{g1} also significantly increased the expression of Bcl-2/Bax protein ratio, and reduced the expression of Caspase-3, Caspase-9 and Cyt-c protein in hippocampus. **Conclusion** R_{g1} can significantly improve oxidative stress, reduce inflammatory response, inhibit neuronal apoptosis and improve cognitive function in APP/PS1 mice.

Key words: ginsenoside R_{g1}; Alzheimer's disease; cognitive impairment; oxidative stress; inflammation; neuronal apoptosis

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种多发于老年人且严重威胁老年人生命健康的中枢神经退行性疾病^[1-3]。其主要的临床病理特征是 β 样淀粉蛋白堆积 (β -amyloid plaques, A β 斑块)、tau 蛋白过度磷酸化后形成神经纤维缠绕以及氧化应

激、炎症和大量的神经元丢失。其主要的临床表现为渐进性认知功能障碍以及人格改变、语言障碍等神经精神症状, 严重影响患者的社交与生活功能。随着世界老龄化人口的不断加剧, AD 也越来越受到人们的关注与重视; 虽然近来的研究在 AD 的机

收稿日期: 2019-07-17

基金项目: 河南省重点科技攻关项目 (092102310028)

作者简介: 刘 琳 (1979—), 女, 河南周口人, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向为医院药学。Tel: 15890686546 E-mail: hyhblue88@163.com

制探索与疾病治疗过程中取得了较大进步,但是关于 AD 的病因及其发病机制仍未阐释清楚;目前仍缺乏高效、确切的治疗手段^[4-7]。

研究发现氧化应激是 AD 病理过程中最早的应激事件,同时也是引起细胞凋亡的一个主要因素。有研究表明 AD 患者和 AD 模型小鼠脑组织中的活性氧(ROS)、丙二醛(MDA)等氧化应激标志物含量明显增多;过多的自由基堆积能够引起生物大分子损伤,使得蛋白质、DNA 和脂质等发生过氧化,进而加速神经细胞凋亡,诱发或加重 AD 病程。这些研究表明氧化应激和细胞凋亡在 AD 的发生及发展中发挥着重要作用;因此抗氧化和抗凋亡研究成为 AD 药物研发的热点^[8-10]。炎症是 A β 沉积引起的继发性反应,也是导致神经元退行性改变的主要因素。有研究表明 AD 患者脑内存在强烈的局灶性炎症反应,淀粉样斑块附近激活的小胶质细胞可表达白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等多种炎症因子。小胶质细胞属于单核巨噬细胞,正常情况下处于静息状态,A β 形成后可激活神经系统中小胶质细胞,释放大炎症因子,诱发脑内炎症反应或者直接损伤神经元;同时炎症因子介导的炎症反应又可以促进 A β 的前体蛋白(APP)代谢为 A β ,从而加重炎症反应,形成恶性循环^[11-12]。

人参皂苷 Rg₁ 是人参的主要活性成分,能够通过血脑屏障进而发挥脑保护作用。文献表明,人参皂苷 Rg₁ 对脑缺血和血管性痴呆大鼠的认知功能障碍具有明显改善作用;并且能够改善慢性束缚应激导致的小鼠学习记忆功能障碍,抑制海马 CA1 区细胞凋亡。人参皂苷 Rg₁ 还可抑制 D-半乳糖诱导的衰老模型大鼠机体氧化应激损伤;对于 A β ₁₋₄₂ 诱导的原代皮层神经元线粒体功能损伤也具有显著性保护作用,并能够抑制 A β ₂₅₋₃₅ 诱导的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、一氧化氮(NO)和 ROS 的生成和表达,最终防止神经元凋亡。人参皂苷 Rg₁ 还可改善老年大鼠的免疫功能,进而调节自身免疫系统功能^[13-17]。然而,人参皂苷 Rg₁ 对于异常的认知障碍和病理学变化的潜在保护作用机制仍不十分清楚。

因此,本研究采用 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠,利用人参皂苷 Rg₁ 进行干预,观察人参皂苷 Rg₁ 对 AD 小鼠的学习记忆能力的影响和血清氧化应激和炎症相关指标的改善作用,及其对于 AD 小鼠的脑组织凋亡相关蛋白的表达和神经病理形态变化的调控作用,探讨人参皂苷 Rg₁ 对于 AD 的治疗

作用及其潜在的作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂

人参皂苷 Rg₁ (质量分数 $\geq$ 98%,批号 B10762)购自上海生物化学研究所;MDA、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-P_x)、过氧化氢酶(CAT)、TNF- α 、 γ 干扰素(IFN- γ)、IL-1 β 、IL-6、IL-2 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;Bcl-2、Bax、Caspase-3、Caspase-9、Cyt-C 抗体购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.2 动物

6 月龄的 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠 40 只,同月龄的 C57 野生型小鼠 10 只,体质量 27~32 g,购自河南省实验动物中心,许可证号 SCXK(豫)2016—0002。实验动物分笼饲养,自由饮食饮水,所有动物均饲养在室温(25℃)环境下,恒定湿度(45%~55%),12 h 的昼夜循环。

1.3 仪器

Allegra X-30R 低温离心机(美国 Beckman 公司);iMark 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);MT-200 Morris 水迷宫(成都泰盟科技公司)。

2 方法

2.1 分组与给药

将 10 只 C57 野生型小鼠设为对照组,40 只 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠随机分为 4 组($n=10$),分别为模型组及人参皂苷 Rg₁ 低、中、高剂量(5、10、15 mg/kg)组。实验小鼠在适应 1 周后进行实验。人参皂苷 Rg₁ 各剂量组通过 ip 给药方式连续给药 20 d,给药体积 10 mL/kg;对照组和模型组则同时给予相应剂量的生理盐水。

2.2 行为学实验

连续给药 20 d 后进行 Morris 水迷宫实验。每只小鼠连续训练 4 d,每天训练 2 次,间隔 30 min,每次训练 60 s。训练过程中,若小鼠找到并爬到站台则让其停留 15 s,若入水后 1 min 内未能找到或爬上站台,则将其引导至站台上站立 15 s,之后将小鼠从站台上取下休息;实验过程中记录其在 1 min 内初次到达平台的时间。实验第 5 天则进行空间探索实验,去掉水中平台,记录小鼠在 1 min 内穿越平台的次数、目标象限停留时间。

2.3 氧化应激相关指标测定

行为学实验结束后,各组小鼠断头处死,快速取出脑组织,用 4℃ 无菌生理盐水制成 10%的组织

匀浆, 离心 (3 000 r/min, 10 min, 4 °C), 取上清, 然后测定脑组织匀浆中的 SOD、GSH-Px、CAT 活性与 MDA 水平, 所有操作均按照试剂盒说明书进行。

2.4 细胞因子相关指标测定

行为学实验结束后, 各组小鼠眼眶取血, 离心取血清后保存, 采用 ELISA 法测定血清中细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-2、IL-6 水平, 具体操作严格按照说明书进行。

2.5 海马组织 HE 染色观察和免疫荧光染色

行为学实验结束后, 断头处死各组小鼠, 快速取出脑组织。用 10% 福尔马林对脑组织进行固定; HE 染色则是固定后经逐级乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 制成厚 3 μ m 的切片, 进行常规的 HE 染色; 免疫荧光染色则是采用 A β 抗体 4 °C 孵育过夜, PBST 洗涤 3 次后羊抗小鼠 Alexa Fluor 555 孵育 2 h, 采用 PBST 洗涤 3 次后封片; 然后对每组小鼠脑组织切片进行显微镜观察、拍照。

2.6 凋亡相关蛋白的测定

称取适量的海马组织, 采用液氮研磨, 然后按照 10 : 1 加入组织蛋白裂解液, 再加入广谱的磷酸酶抑制剂 (1 : 100) 和 PMSF (1 : 100), 在冰浴上放置 2 h, 期间不断振荡, 然后离心 (4 °C, 3 500 r/min, 10 min), 取上清进行分装, 并采用 BCA 法测定蛋白质量浓度。计算出相应的上样量, 加入相应的缓冲盐, 加热变性 10 min, 进行 SDS-PAGE 电泳, 电泳完毕后将蛋白转移至 PVDF 膜上, 用 5% 的胎牛血清 (BSA) 封闭 2 h 后加入一抗, 4 °C 过夜, 用 TBST 洗膜 5 min $\times$ 3 次。加入荧光二抗进行曝光, 采用 Image Studio 软件分析目的蛋白的相对灰度值。

2.7 数据统计与分析

Western blotting 实验结果采用 Image Studio 软件对目的蛋白条带进行灰度分析。采用 Graph Pad Prism 5.0 软件进行数据统计分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 行为学数据采用双因素方差分析, Tukey 检验; 其余数据采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 水迷宫实验结果

人参皂苷 Rg₁ 对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠 Morris 水迷宫潜伏期、穿越平台次数和目标象限停留时间的影响结果如图 1 所示, 在 Morris 水迷宫定向航行实验中, 各组小鼠的平均逃避潜伏期均呈日渐缩短的趋势。与对照组比较, 模型组小鼠的潜伏期显著延长 ($P < 0.05$), 穿越平台次数和目标象限停留时间显著减少 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组比较, 人参皂苷 Rg₁ 中、高剂量组小鼠潜伏期、穿越平台次数和目标象限停留时间均显著性回调 ($P < 0.05$); 表明人参皂苷 Rg₁ 对于 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠的认知功能损伤具有显著的改善作用。

3.2 海马组织 SOD、GSH-Px、CAT 活性与 MDA 水平测定结果

与对照组比较, 模型组中小鼠海马组织的 SOD、GSH-Px、CAT 活性显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且 MDA 水平显著升高 ($P < 0.05$); 当给予人参皂苷 Rg₁ 后, 人参皂苷 Rg₁ 中、高剂量组小鼠 SOD、GSH-Px、CAT 活性与 MDA 水平均显著性回调 ($P < 0.05$ 、 0.01); 结果表明人参皂苷 Rg₁ 具有抗氧化作用, 结果见图 2。

3.3 血清细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-2 和 IL-6 水平测定结果

图 3 结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠血

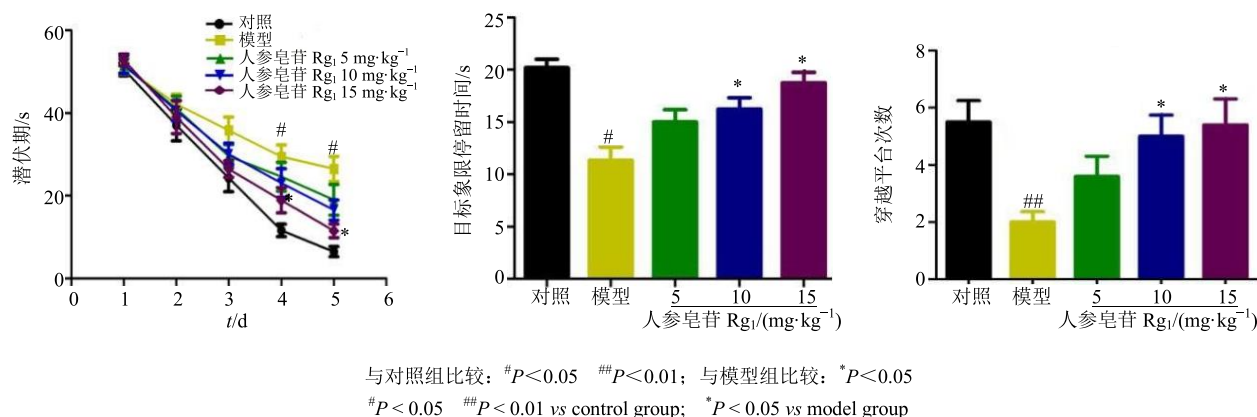
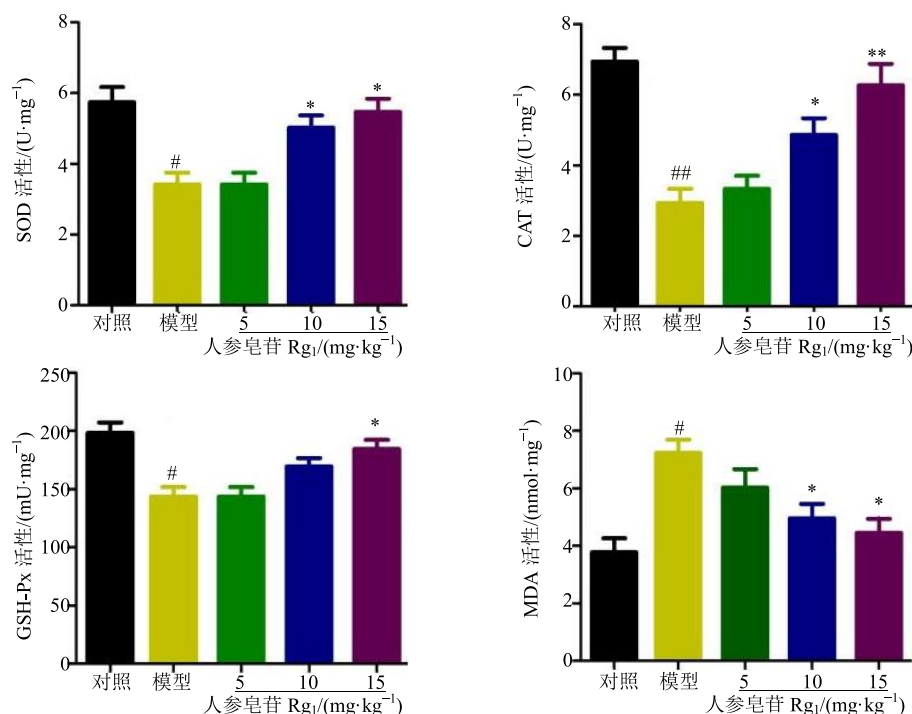


图 1 人参皂苷 Rg₁ 对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠认知功能的改善作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 1 Effect of ginsenoside Rg₁ on cognitive function of APP/PS1 double transgenic AD model mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)



与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下图同
^{*} $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below fig.

图 2 人参皂苷 Rg_1 对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠海马组织 SOD、GSH-Px、CAT 活性与 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)
 Fig. 2 Effect of ginsenoside Rg_1 on SOD, GSH-Px, CAT activity and MDA level in hippocampus of APP/PS1 double transgenic AD mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

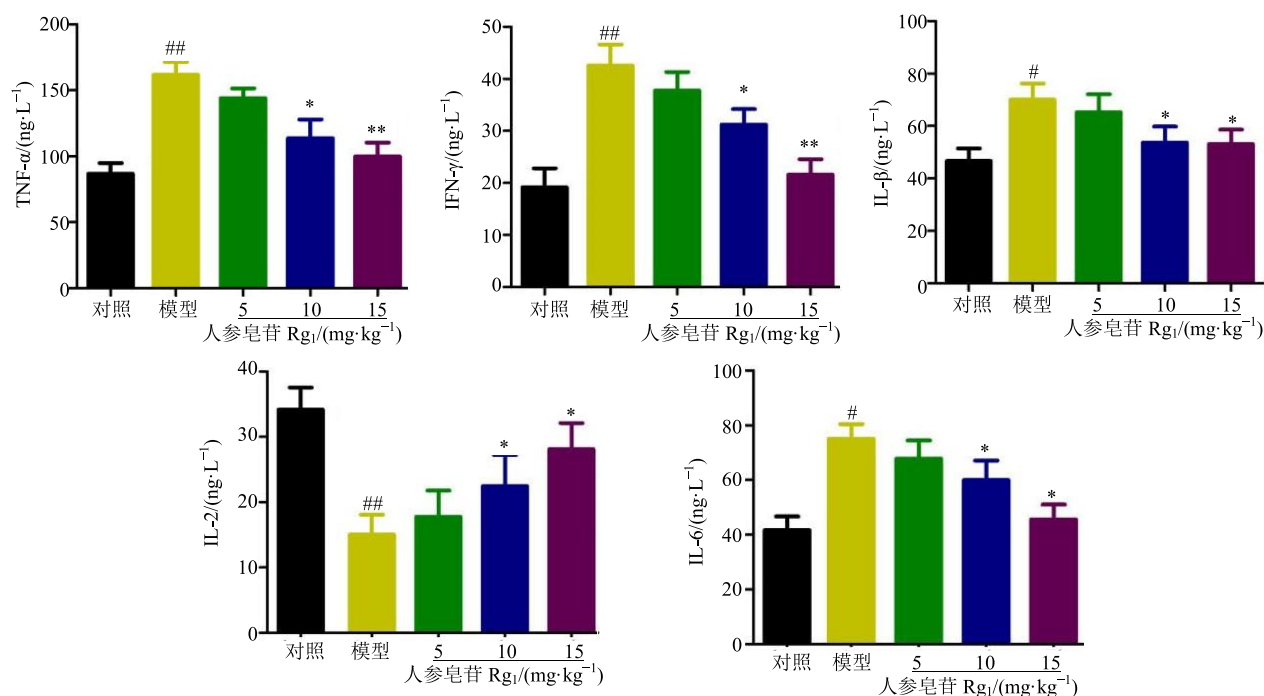


图 3 人参皂苷 Rg_1 对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠血清 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-2 和 IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)
 Fig. 3 Effect of ginsenoside Rg_1 on TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-2, and IL-6 levels in hippocampus of APP/PS1 double transgenic AD mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

清 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01); 当给予人参皂苷 Rg₁ 后, 人参皂苷 Rg₁ 中、高剂量组小鼠血清中的 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著性回调 ($P < 0.05$ 、0.01)。此外, 与对照组比较, 模型组小鼠血清 IL-2 水平显著降低 ($P < 0.01$), 当给予人参皂苷 Rg₁ 后, 人参皂苷 Rg₁ 中、高剂量组小鼠血清 IL-2 水平显著升高 ($P < 0.05$)。

3.4 海马组织 HE 染色观察结果

与对照组比较, 模型组小鼠海马神经元排列紊乱, 海马 CA1、CA3 和 DG 区出现大面积的神经元

坏死, 胞质嗜酸性增强, 细胞核固缩、溶解、消失。当给予人参皂苷 Rg₁ 后, 各给药组小鼠海马神经元的病理特征均有不同程度的改善, 中、高剂量组最接近对照组。结果见图 4。

3.5 脑组织中淀粉样蛋白斑块检测结果

用免疫荧光染色观察海马 DG 区 A β 蛋白的沉积水平, 具体结果见图 5, APP/PS1 转基因小鼠脑内海马 DG 区出现大量的 A β 阳性神经元胞体和阳性斑块, 当给予人参皂苷 Rg₁ 后, APP/PS1 转基因小鼠脑内 A β 斑块明显减少, 其中高剂量组恢复到接近对照组水平。

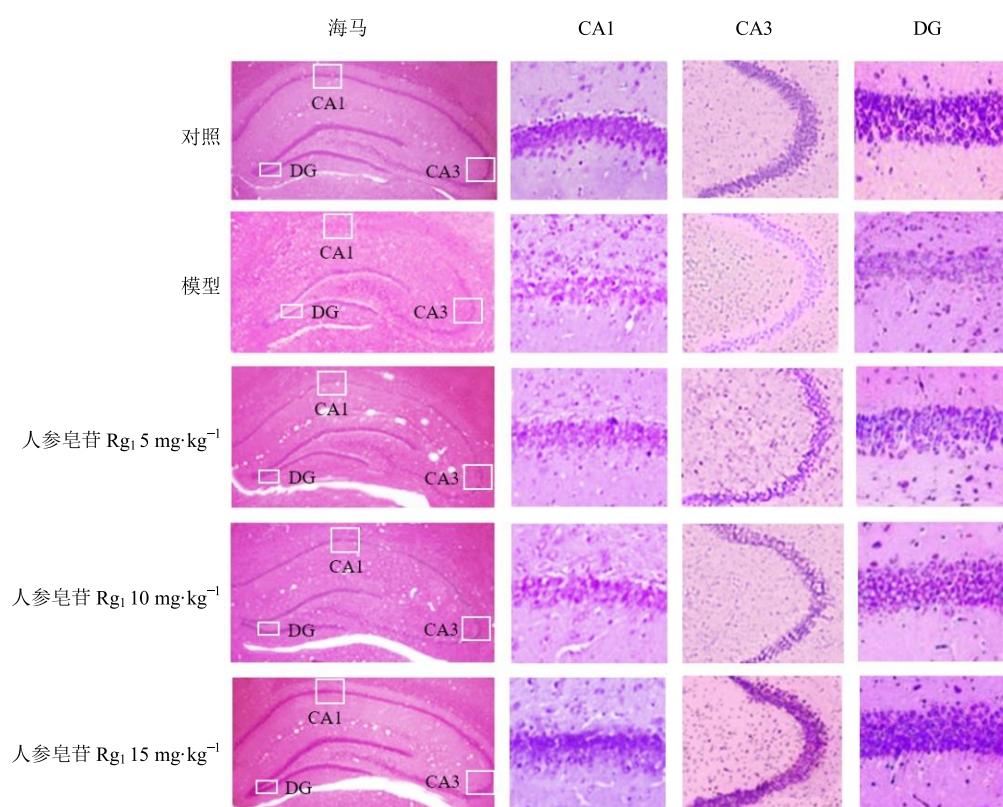


图 4 人参皂苷 Rg₁ 对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠海马组织病理改变的影响 ($\times 200$)

Fig. 4 Effect of ginsenoside Rg₁ on pathological changes of hippocampus in APP/PS1 double transgenic AD mice ($\times 200$)

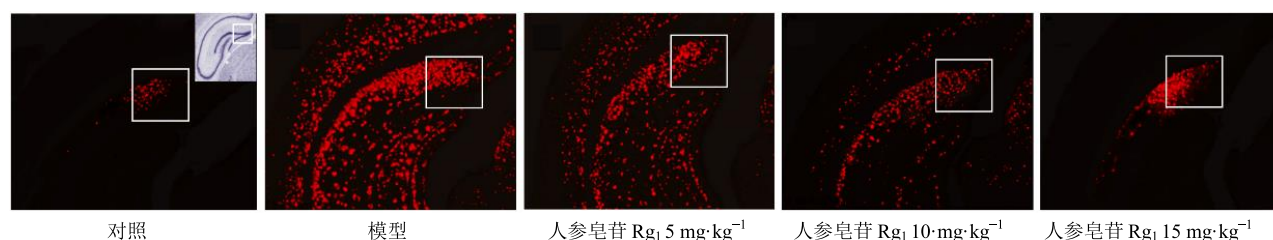


图 5 人参皂苷 Rg₁ 对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠海马 DG 区 A β 蛋白沉积水平的影响 ($\times 200$)

Fig. 5 Effect of ginsenoside Rg₁ on A β protein deposition in DG region of hippocampus in APP/PS1 double transgenic AD mice ($\times 200$)

3.6 海马组织 Bcl-2、Bax、Cyt-c、Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达水平检测结果

与对照组比较,模型组小鼠海马组织的 Bcl-2 与 Bax 相对表达量比值 (Bcl-2/Bax) 显著降低, Cyt-c、Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达量显著升高,表明 AD 模型小鼠海马组织促凋亡

相关蛋白表达量显著增加;当给予人参皂苷 Rg_1 后,人参皂苷 Rg_1 中、高剂量组小鼠海马组织的 Bcl-2/Bax 以及 Cyt-c、Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达量均显著回调 ($P < 0.05$ 、 0.01),表明人参皂苷 Rg_1 具有抗凋亡、保护神经元的作用。结果见图 6。

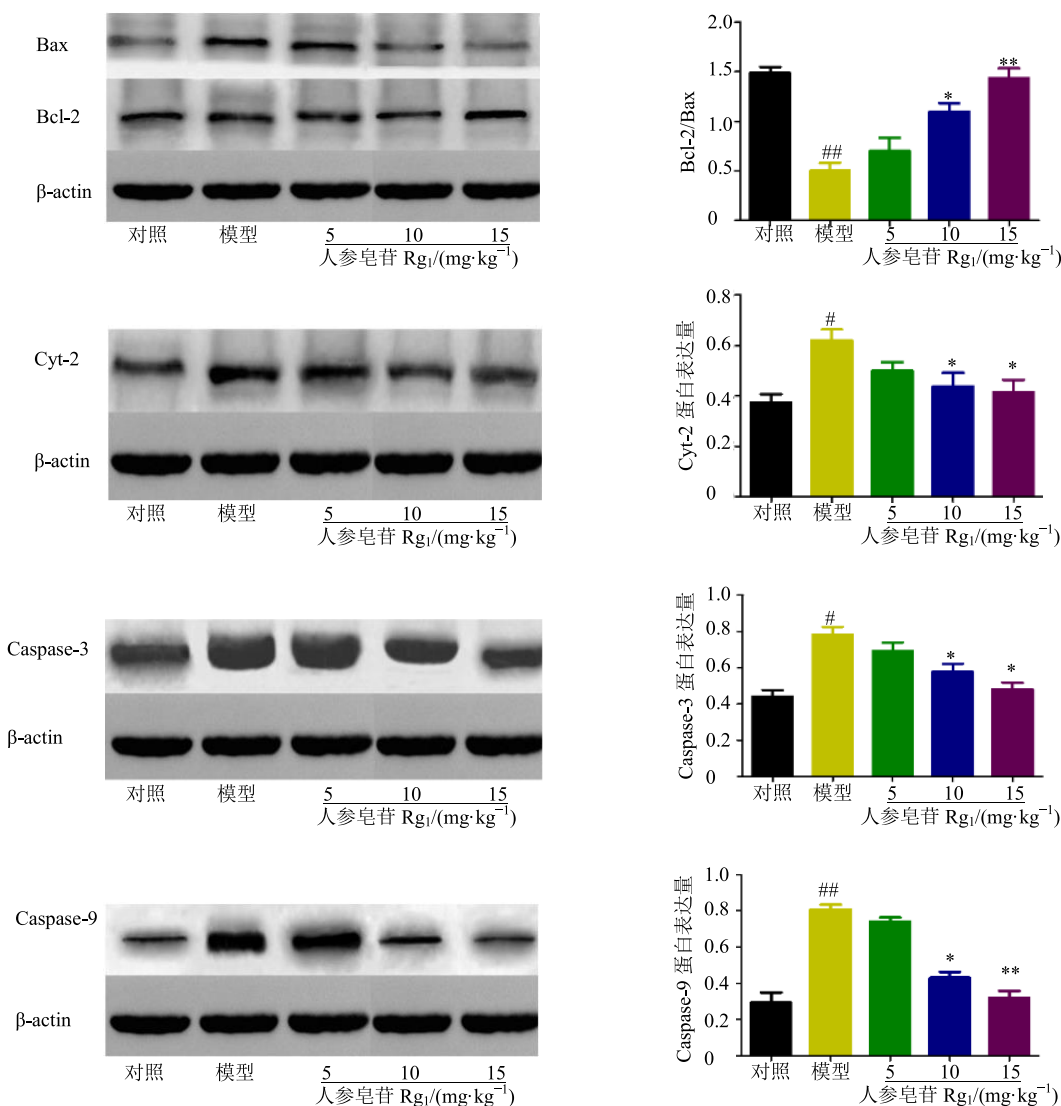


图 6 人参皂苷 Rg_1 对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠海马组织 Bcl-2、Bax、Cyt-c、Caspase-3、Caspase-9 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 6 Effect of ginsenoside Rg_1 on Bcl-2, Bax, Cyt-c, Caspase-3 and Caspase-9 protein expression in hippocampus of APP/PS1 double transgenic AD mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

4 讨论

中枢突触是神经系统中细胞间信息传递和加工的基础环节,其功能活动和形态结构上的改变长期以来被认为是学习和记忆活动的神经生物学基础;而海马结构是最早被认为在学习记忆中起着关键作

用的中枢结构^[18-19]。现代研究表明 $A\beta$ 斑块是 AD 患者脑病理学的主要特征之一, $A\beta$ 在一定条件下具有神经毒性,聚集状态的 $A\beta$ 则具有更强的神经毒性,能够诱导神经元凋亡,导致认知功能障碍。水迷宫实验是检测小鼠认知功能的常用实验^[20-22];在

本研究中,模型组小鼠的潜伏期显著延长,穿越平台次数和目标象限停留时间则显著降低,表明 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠确实发生了认知功能障碍,这与文献报道一致^[23];当长时间给予人参皂苷 Rg₁ (15、20 mg/kg) 后,小鼠水迷宫实验中潜伏期则显著缩短,穿越平台次数和目标象限停留时间显著增加,表明人参皂苷 Rg₁ 具有改善 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠认知功能的作用。

众多研究表明,氧化应激参与 AD 的病理过程,能够导致神经元凋亡并加速 AD 的产生^[24-26]。神经元凋亡和缺失也是导致认知功能障碍的主要因素。此外,MDA 是机体氧化应激状态的重要指标,而 SOD、CAT 和 GSH-P_x 则是机体清除自由基的关键酶,可以保护机体免受自由基的损伤。本研究发现模型组小鼠海马组织中的 SOD、CAT 和 GSH-P_x 活性显著降低,MDA 含量显著升高,表明机体处于氧化应激状态;当给予一定量的人参皂苷 Rg₁ 后,小鼠海马组织中 SOD、CAT 和 GSH-P_x 活性和 MDA 水平则显著回调,表明人参皂苷 Rg₁ 具有显著的抗氧化活性。

此外,脑内 A β 沉积可激活先天免疫系统,导致小胶质细胞和星形胶质细胞激活,从而释放炎症细胞因子,进而加重神经退行性疾病^[27-28];有研究发现长时间服用非甾体抗炎药对于早期的 AD 病程发展具有一定的改善作用,但是对于重度 AD 患者则无效果^[29-30]。TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的升高是诱发神经炎症、使得白细胞聚集到中枢神经系统的重要因素之一。这些反应可促进脑内 A β 沉积和星形胶质细胞与小胶质细胞的激活;而当 A β 与小胶质细胞表面结合时,又可加速促炎因子的表达,使得 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平升高,从而导致 tau 蛋白过度磷酸化和神经元死亡^[31-34]。IL-2 存在于海马神经元中,随着神经元细胞凋亡的加速可导致 IL-2 水平降低,机体免疫力下降;INI- γ 则主要由淋巴细胞产生,INI- γ 能够刺激星形胶质细胞活化,增加促炎因子 TNF- α 的释放,进而诱发或加重神经细胞的损伤。本研究发现 AD 模型小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 INI- γ 水平显著升高,IL-2 水平显著降低;当给予人参皂苷 Rg₁ 后,TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、INI- γ 和 IL-2 水平均显著回调,表明人参皂苷 Rg₁ 具有抗炎和神经保护作用。

神经细胞凋亡也是 AD 发生的一个重要机制;海马组织的 HE 染色和 Nissl 染色结果显示 APP/PS1

双转基因 AD 模型小鼠神经元细胞大面积凋亡、坏死^[35-36];当给予人参皂苷 Rg₁ 后,其海马组织神经元凋亡明显减少,其中高剂量组并有恢复到对照组水平的趋势,表明人参皂苷 Rg₁ 具有神经保护作用。为了进一步评价 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠神经元凋亡与人参皂苷 Rg₁ 的神经保护作用,本研究测定了凋亡相关蛋白。Bcl-2 是一种抗凋亡蛋白,Bax 则是一种促凋亡蛋白。Bcl-2/Bax 决定了细胞是否发生凋亡。APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠海马组织 Bcl-2/Bax 明显降低,Cyt-c、Caspase-3 和 Caspase-9 水平则显著升高,表明 AD 疾病的发作能够促进小鼠海马神经元凋亡。当给予人参皂苷 Rg₁ 后,其 Bcl-2/Bax, Cyt-c、Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达水平均显著回调,表明人参皂苷 Rg₁ 主要是通过调节凋亡相关蛋白来发挥神经保护作用。

综上所述,人参皂苷 Rg₁ 能够改善 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠的 AD 模型小鼠的认知功能障碍,其主要的机制可能是通过改善氧化应激,减轻炎症反应,抑制凋亡相关蛋白表达而抑制神经元凋亡来发挥改善认知的作用。

参考文献

- [1] Kimura N. Diabetes mellitus induces Alzheimer's disease pathology: Histopathological evidence from animal models [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 503.
- [2] Shi Z, Sun X, Liu X, *et al.* Evaluation of an A β (1-40)-induced cognitive deficit in rat using a reward-directed instrumental learning task [J]. *Behav Brain Res*, 2012, 234(2): 323-333.
- [3] Sheng C, Su N, Gong W, *et al.* Impact of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside on cognitive deficits in animal models of Alzheimer's disease: A systematic review [J]. *BMC Compl Altern Med*, 2016, 16(1): 320.
- [4] Yarnall A J, Rochester L, Burn D J. Mild cognitive impairment in Parkinson's disease [J]. *Age Ageing*, 2013, 42: 567-576.
- [5] Zaia A, Maponi P, Di Stefano G, *et al.* Biocomplexity and fractality in the search of biomarkers of aging and pathology: Focus on mitochondrial DNA and Alzheimer's disease [J]. *Aging Disease*, 2017, 8(1): 44-56.
- [6] Zhong L, Xu Y, Zhuo R, *et al.* Soluble TREM2 ameliorates pathological phenotypes by modulating microglial functions in an Alzheimer's disease model [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1365.
- [7] Obulesu M, Lakshmi M J. Apoptosis in Alzheimer's

- disease: An understanding of the physiology, pathology and therapeutic avenues [J]. *Neurochem Res*, 2014, 39(12): 2301-2312.
- [8] Pappolla M, Chyan Y, Omar T R, *et al.* Evidence of oxidative stress and *in vivo* neurotoxicity of beta-amyloid in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: A chronic oxidative paradigm for testing antioxidant therapies *in vivo* [J]. *Am J Pathol*, 1998, 152(4): 871-877.
- [9] Sharma S, Verma S, Kapoor M, *et al.* Alzheimer's disease like pathology induced six weeks after aggregated amyloid-beta injection in rats: Increased oxidative stress and impaired long-term memory with anxiety-like behavior [J]. *Neurol Res*, 2016, 38(9): 838-850.
- [10] 李永金, 顾振纶, 陈月芳, 等. 槲皮素对阿尔茨海默病大鼠学习记忆影响及与海马细胞凋亡关系的研究 [J]. 中草药, 2003, 34(7): 632-635.
- [11] Gao J, Zhou R, You X, *et al.* Salidroside suppresses inflammation in a D-galactose-induced rat model of Alzheimer's disease via SIRT1/NF- κ B pathway [J]. *Metabolic Brain Disease*, 2016, 31(4): 771-778.
- [12] Meng Q H, Lou F L, Hou W X. Acetylpuerarin reduces inflammation and improves memory function in a rat model of Alzheimer's disease induced by Abeta1-42 [J]. *Pharmazie*, 2013, 68(11): 904-908.
- [13] Wang Q, Li H, Wang F X, *et al.* Huannao Yicong Decoction extract reduces inflammation and cell apoptosis in A β_{1-42} -induced Alzheimer's disease model of rats [J]. *Chin J Integr Med*, 2016, 23(9): 672-680.
- [14] Mook-Jung I, Hong H S, Boo J H, *et al.* Ginsenoside Rb₁ and Rg₁ improve spatial learning and increase hippocampal synaptophysin level in mice [J]. *J Neurosci Res*, 2001, 63(6): 509-515.
- [15] Zhang G, Liu A, Zhou Y, *et al.* Panax ginseng ginsenoside-Rg₂ protects memory impairment via anti-apoptosis in a rat model with vascular dementia [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 115(3): 441-448.
- [16] González-Burgos E, Fernandez-Moriano C, Lozano R, *et al.* Ginsenosides Rd and Re co-treatments improve rotenone-induced oxidative stress and mitochondrial impairment in SH-SY5Y neuroblastoma cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 109(Pt1): 38-47.
- [17] Zhang Y, Zhang Z, Wang H, *et al.* Neuroprotective effect of ginsenoside Rg₁ prevents cognitive impairment induced by isoflurane anesthesia in aged rats via antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects mediated by the PI3K/AKT/GSK-3 β pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(3): 2778-2784.
- [18] Wu M, He Y, Zhang J, *et al.* Co-injection of A β_{1-40} and ApoE4 impaired spatial memory and hippocampal long-term potentiation in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 648: 47-52.
- [19] Thorajak P, Pannangrong W, Welbat J U, *et al.* Effects of aged garlic extract on cholinergic, glutamatergic and GABAergic systems with regard to cognitive impairment in A β -induced rats [J]. *Nutrients*, 2017, 9(7): E686.
- [20] 周 鸿, 霍利琴, 张静泽, 等. 舒脑欣滴丸对 D-半乳糖致阿尔茨海默病早期模型大鼠的神经保护作用及机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 3074-3078.
- [21] Nillert N, Pannangrong W, Welbat J U, *et al.* Neuroprotective effects of aged garlic extract on cognitive dysfunction and neuroinflammation induced by β -amyloid in rats [J]. *Nutrients*, 2017, 9(1): E24.
- [22] Jia J, Lin K, Sha L, *et al.* Amelioratory effects of testosterone treatment on cognitive performance deficits induced by soluble A β_{1-42} oligomers injected into the hippocampus [J]. *Horm Behav*, 2013, 64(3): 477-486.
- [23] Niew L, Xiab J, Lic H, *et al.* Ginsenosides Rg₁ Activation of Nrf2/ARE pathway alleviates the cognitive deficits in PS1V97L-Tg mouse model of Alzheimer's disease through modulation of oxidative stress [J]. *J Neurosci Res*, 2019, 97(4): 492-505.
- [24] Prendecki M, Florczak-Wyspianska J, Kowalska M, *et al.* Biothiols and oxidative stress markers and polymorphisms of TOMM40 and APOC1 genes in Alzheimer's disease patients [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(81): 35207-35225.
- [25] Gibson G E, Huang H M. Oxidative stress in Alzheimer's disease [J]. *Neurosci Bull*, 2005, 30(2): 271-281.
- [26] Czubowicz K, Wójtowicz S, Wencel P L, *et al.* The role of ceramide and SEW 2871 in the transcription of enzymes involved in amyloid b precursor protein metabolism in an experimental model of Alzheimer's disease [J]. *Folia Neuropathol*, 2018, 56(3): 196-205.
- [27] Lin N, Xiong L L, Zhang R P, *et al.* Erratum to: Injection of A β_{1-40} into hippocampus induced cognitive lesion associated with neuronal apoptosis and multiple gene expressions in the tree shrew [J]. *Apoptosis*, 2016, 21(5): 641.
- [28] Wagner L K, Gilling K E, Schormann E, *et al.* Immunoproteasome deficiency alters microglial cytokine response and improves cognitive deficits in Alzheimer's disease-like APPPS1 mice [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2017, 5(1): 52.
- [29] Klegeris A, Mcgeer P L. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and other anti-inflammatory agents in the treatment of neurodegenerative disease [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2005, 2(3): 355-365.

- [30] Muthen B O, Breitner J C S, Lyketsos C G. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drug treatments on cognitive decline vary by phase of pre-clinical Alzheimer disease: Findings from the randomized controlled Alzheimer's disease anti-inflammatory prevention trial-leoutsakos-2011-internatio [J]. *Int J Geriatr Psych*, 2012, 27(4): 364-374.
- [31] Liu R, Wang J Z, Zhang B, *et al.* Assessment of novel azaanthraquinone derivatives as potent multi-target inhibitors of methanolic extract of *Tamarix gallica* attenuates hyperhomocysteinemia induced AD-like pathology and cognitive impairments in rats [J]. *Aging*, 2018, 10(11): 3229-3248.
- [32] Malynn S, Campos-Torres A, Moynagh P, *et al.* The pro-inflammatory cytokine TNF- α regulates the activity and expression of the serotonin transporter (SERT) in astrocytes [J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(4): 694-704.
- [33] Russo R, Barsanti L, Evangelista V, *et al.* *Euglena gracilis* paramylon activates human lymphocytes by upregulating pro-inflammatory factors [J]. *Food Sci Nutr*, 2016, 5(2): 205-214.
- [34] Ford C T, Richardson S, Mcardle F, *et al.* Identification of (poly) phenol treatments that modulate the release of pro-inflammatory cytokines by human lymphocytes [J]. *Br J Nutr*, 2016, 115(10): 1699-1710.
- [35] Fang F, Chen X, Huang T, *et al.* Multi-faced neuroprotective effects of ginsenoside Rg₁ in an Alzheimer mouse model [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822(2): 286-292.
- [36] Pedraza C E, Podlesniy P, Vidal N, *et al.* Pro-NGF isolated from the human brain affected by Alzheimer's disease induces neuronal apoptosis mediated by p75NTR [J]. *Am J Pathol*, 2005, 166(2): 533-543.