

灵芝多糖防治中枢神经系统疾病的研究进展

肖玉焕, 韩 丽, 李浩然, 杜 静, 保红坤*

云南大学医学院, 云南 昆明 650091

摘 要: 灵芝是民间常用的传统名贵中药材, 对维持人体健康发挥着重要作用。其中, 灵芝多糖是灵芝的主要生物活性组分之一, 具有抗癌、免疫调节、抗菌、抗氧化、清除自由基等多种药理作用。中枢神经系统疾病病因、病机复杂, 临床表现多样, 对治疗的反应性个体差异较大, 给临床治疗带来了极大的挑战。从阿尔茨海默病、抗癫痫、调节小胶质细胞炎症反应的作用等方面对灵芝多糖中枢神经保护作用的特点及机制进行了综述, 为其临床应用提供相关依据。

关键词: 灵芝; 灵芝多糖; 中枢神经; 神经保护; 阿尔茨海默病; 抗癫痫作用

中图分类号: R284.18 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)24-6391-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.24.030

Research progress on *Ganoderma lucidum* polysaccharide in prevention and treatment of central nervous system diseases

XIAO Yu-huan, HAN Li, LI Hao-ran, DU Jing, BAO Hong-kun

School of Medicine, Yunnan University, Kunming 650091, China

Abstract: *Ganoderma lucidum* is a traditional folk common rare medicinal herb, which plays an important role in maintaining human health. Among them, *G. lucidum* polysaccharide is one of the main bioactive components of *G. lucidum*, which has various pharmacological effects such as anti-cancer, immunomodulatory, antibacterial, antioxidant, and scavenging free radicals. Due to the complex etiology and pathogenesis of central nervous system diseases, the clinical manifestations are diverse, and the individual response to treatment varies widely, which brings great challenges to clinical treatment. The characteristics and mechanism of the central neuroprotective effect of *G. lucidum* polysaccharide are reviewed in this paper from the aspects of Alzheimer's disease, anti-epileptic, modulating microglia inflammatory response, etc., in order to provide relevant evidence for its clinical application.

Key words: *Ganoderma lucidum*; *Ganoderma lucidum* polysaccharide; central nervous system; neuroprotection; Alzheimer's disease; anti-epileptic effects

灵芝属于一种担子菌科的蘑菇, 是一种功能性药食同源的多用途真菌。在我国传统中医中, 灵芝已有 3 000 多年的药用历史。灵芝长期以来被认为具有广泛的生物学效应, 包括预防慢性疾病、免疫调节、抗肿瘤活性等作用^[1]。近年来, 灵芝提取物已被分离, 它的子实体、培养菌丝和孢子中含有多种生物活性物质, 如多糖、三萜和蛋白质等, 其中多糖是主要的药理活性成分^[2]。灵芝多糖具有抗癌、免疫调节等多种药理作用, 具有独特的药用和保健价值, 也是国内外学者研究的热点之一^[3-4]。目前,

与中枢神经系统相关的疾病呈现多样性、复杂性、难治性, 如阿尔茨海默病、帕金森病等神经退行性疾病, 还有抑郁症、自闭症等精神类疾病, 这些疾病的发病机制不详, 现在只能通过有效药物来进行控制或减缓发病进程, 临床上缺乏完全治愈的有效药物。20 世纪 90 年代末以来, 许多学者开始关注研究灵芝多糖防治中枢神经系统疾病的作用及其可能机制。本文对近年来关于灵芝多糖治疗中枢神经系统相关疾病的研究进行综述, 在总结其研究进展的基础上对未来研究方向提出展望。

收稿日期: 2020-03-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31860267)

作者简介: 肖玉焕 (1994—), 女, 云南会泽人, 在读硕士, 研究方向为精神疾病分子病理及药理学。Tel: 19948646429 E-mail: 1453428155@qq.com

*通信作者 保红坤 Tel: 15287137980 E-mail: 625172145@qq.com

1 灵芝多糖的神经保护作用

1.1 对脑出血的神经保护作用

中风脑出血是工业化国家的第 2 大死亡原因,也是成人残疾等疾病的最重要原因^[5]。溶栓治疗是目前唯一有效的治疗方法,但其存在诸多局限性,仅限约 5% 的脑卒中患者使用^[6]。临床因缺乏有效的治疗药物,引发了研究者们寻找具有天然神经保护免受缺血和预防、治疗神经损伤的有效药物。Zhou 等^[7]采用 SD 大鼠大脑中动脉闭塞模型和原代培养大鼠皮层神经元氧气葡萄糖丧失 (oxygen and glucose deprivation, OGD) 2 种模型,分别在体内和体外模拟缺血再灌注损伤。在 SD 大鼠大脑动脉闭塞模型中, *po* 灵芝多糖 100、200、400 mg/kg 可明显减少脑梗死面积,减轻神经功能缺损情况,减少缺血皮质神经元的凋亡,其中以 400 mg/kg 灵芝多糖治疗组效果最为显著。在 OGD 模型中观察到细胞体明显肿胀,神经元网络被破坏,在用 0.1、1、10 g/mL 灵芝多糖处理的 OGD 培养中,神经元结构明显保留。在 OGD 模型中,使用流式细胞术来研究神经元凋亡的情况,发现 0.1、1、10 μ g/mL 灵芝多糖能有效减少神经元细胞的死亡,减轻细胞的损伤;此外,灵芝多糖可降低凋亡神经元的百分比,减轻神经元形态损伤;以及 Western blotting 结果显示,在 OGD 模型中活化的细胞凋亡蛋白酶 caspase-3、caspase-8 和 caspase-9 水平大幅上调,细胞凋亡促进基因 (Bcl-2-associated X, Bax) 蛋白水平明显升高,而 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B-cell lymphoma/ leukemia-2, Bcl-2) 水平下降。在不同浓度的灵芝多糖治疗后,可抑制 caspase-3、caspase-8、caspase-9 过表达,抑制 Bcl-2 的下调和 Bax 的上调。总的来说,灵芝多糖对脑出血的神经保护作用机制为灵芝多糖通过下调 caspase-3 的活性,调节 Bcl-2/Bax 比值,使细胞凋亡受到抑制,从而起到抗缺血性脑损伤的作用。

1.2 对脊髓损伤的神经保护作用

脊髓损伤是导致神经功能障碍最严重的健康问题之一。对脊髓的初始损伤,被称为原发性损伤,引起机械性损伤导致信号传输中断,同时感觉、自主运动和自主神经功能丧失,各种反射功能失调,这一过程引发了继发性损伤。继发性损伤可引起大量的细胞和生化级联,并在原发性损伤后导致脊髓进一步损伤^[8]。

Gokce 等^[9]将大鼠随机分为 5 组,对照组、假

手术组、创伤组、灵芝多糖组和甲泼尼龙组。对照组未进行手术干预,假手术组仅进行椎板切除术。脊髓损伤模型是用动脉瘤夹阻断脊髓的方法进行造模。结果显示在创伤性脊髓损伤后,检测到 caspase-3 活性、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 水平、脊髓过氧化物酶活性等升高,然而,在给予灵芝多糖后,组织中的 caspase-3 活性、TNF- α 水平、脊髓过氧化物酶活性、丙二醛和一氧化氮水平均下降。此外,为了获得更详细的数据并与生化结果比较,进行了组织病理学检查。在神经退行性变化、细胞水肿、出血/瘀血、炎症方面进行组织病理学评分,统计脊髓前角正常运动神经元数目。通过观察来自不同治疗组的脊髓组织切片的显微镜照片,发现创伤组显示灰质弥漫性水肿及出血,损伤的部分被多形核白细胞和淋巴细胞浸润,运动神经元明显坏死和变性。而灵芝多糖组显示,退化神经元较少,正常神经元较多,脊髓组织受到很好的保护,有较少的充血和出血。根据这些组织病理学参数确定的评分显示,创伤组的评分高于对照组和假手术组。与创伤组相比,灵芝多糖组和甲泼尼龙组的评分均显著降低,且灵芝多糖组较甲泼尼龙组具有更好的组织形态学特征;此外,灵芝多糖组和甲泼尼龙组正常运动神经元数量也明显增加。采用透射电镜来研究脊髓中神经元的髓鞘轴突结构,观察到在创伤性脊髓损伤后所有的小型、中型、大型髓鞘轴突均明显受到干扰,在灵芝多糖和甲泼尼龙治疗组均保留了脊髓中神经元所有的髓鞘轴突结构;但是,对治疗组中髓鞘轴突的评分显示,灵芝多糖在保留小型、中型、大型髓鞘轴突方面明显优于甲泼尼龙。甲泼尼龙是一种甾体抗氧化剂和抗炎药,目前临床治疗中仍然坚持使用高剂量的甲泼尼龙作为治疗急性脊髓损伤的治疗选择,但甲泼尼龙的使用一直是人们争论的焦点。该研究表明灵芝多糖和甲泼尼龙均能抑制脂质过氧化,并具有抗炎活性,可防止脊髓损伤后的氧化应激和细胞凋亡,但是,灵芝多糖治疗组的组织病理学和超微结构结果是优于甲泼尼龙组。所有分组的大鼠通过运动能力 BBB 评分来评估治疗效果,结果显示,灵芝多糖和甲泼尼龙处理组均较创伤组 BBB 评分有明显改善,脊髓损伤后经过灵芝多糖和甲泼尼龙治疗均可保护脊髓并改善神经功能。以上研究结果揭示了灵芝多糖通过抑制细胞凋亡、减轻炎症和氧化应激引起的细胞损伤,维持了脊髓神经元髓鞘轴

突结构的正常形态,减轻神经元超微结构的损伤并改善了神经功能。

1.3 对氧化应激诱导的神经元凋亡的保护作用

氧化应激引起的脑损伤与许多神经退行性疾病有关,如帕金森病、阿尔茨海默病、亨廷顿病和中风等,且越来越多的证据表明,氧化应激与活性氧的过度产生有关,与神经退行性疾病的发病机制有重要的关系^[10]。活性氧簇可引起脂质过氧化、蛋白质变性和 DNA/RNA 损伤^[11-12]。活性氧诱导多种信号转导途径,包括内源性和外源性 caspase 激活,可能导致细胞过度凋亡和炎症基因的表达^[13]。

Sun 等^[14]使用过氧化氢(H_2O_2)诱导小脑颗粒细胞制作细胞凋亡模型,首先,用 H_2O_2 处理培养的神经元 4、8、12 h,然后用 Hoechst 33258 染色观察凋亡细胞。 H_2O_2 处理 4 h 后即开始凋亡,12 h 后凋亡率接近 70%,表明 H_2O_2 明显诱导了神经元凋亡。研究结果显示, H_2O_2 激活了线粒体凋亡通路, H_2O_2 导致细胞裂解增加,激活 caspase-3,细胞色素 c 释放,从而上调促凋亡蛋白 Bax 和 Bim,下调抗凋亡蛋白 Bcl-2,最终导致小脑颗粒细胞凋亡。然而,在灵芝多糖以剂量相关性的方式给药之后,结果发现灵芝多糖能显著抑制 H_2O_2 诱导的细胞凋亡过程,降低 caspase-3、Bax 和 Bim 的表达,增加 Bcl-2 的表达。Bcl-2 可以通过形成异质二聚体来抵消 Bax/Bim 的促凋亡作用。研究结果表明,灵芝多糖可以抑制 caspase-3 的活化,抑制促凋亡蛋白 Bax/Bim 的上调,阻止抗凋亡蛋白 Bcl-2 的下调,从而阻止 H_2O_2 诱导的小脑颗粒细胞的凋亡,表明灵芝多糖对神经元的凋亡有明显的保护作用。

帕金森病是一种复杂的神经退行性疾病,其主要特征是黑质致密部多巴胺能神经元的选择性缺失,从而导致运动异常,如强直、静止性震颤和平衡障碍,它是第 2 常见的神经退行性疾病,全球有 650 多万人患有此病而导致运动功能异常^[15-17]。虽然帕金森病确切的病因和发病机制仍不清楚,但是氧化应激在帕金森病神经退行性病变中起关键作用,被认为是黑质致密部多巴胺能神经元选择性变性的关键因素^[18-20]。Guo 等^[21]利用小鼠胚胎中脑制备的原代多巴胺能细胞培养物,研究灵芝多糖对神经毒素甲基-4-苯基吡啶(MPP+)和鱼藤酮诱导的多巴胺能神经元变性的神经保护作用及其机制。研究发现,在经过灵芝多糖处理后,可提高酪氨酸羟化酶免疫神经元的存活率,并延长多巴胺能神经

元的突起长度,以及使 MPP+和鱼藤酮诱导的凋亡细胞数量显著下降,其结果表明灵芝多糖可以保护多巴胺神经元。此外,灵芝多糖显著提高了在中脑原代多巴胺能细胞中被 MPP+或鱼藤酮抑制的线粒体复合物 I 的水平,灵芝多糖的这种作用可能与其抗氧化活性有关。总之,这些研究表明灵芝多糖在中脑原代多巴胺能细胞培养中能够抗 MPP+和鱼藤酮诱导的神经毒性而起到神经保护的作用。

2 灵芝多糖对阿尔茨海默病的防治作用

阿尔茨海默病是一种进行性、不可逆的神经退行性疾病,给社会带来沉重负担。成年哺乳动物大脑的神经再生对于维持诸如认知和情绪调节等功能至关重要,寻找促进神经再生的药物乃是神经科学、中医药学中的一个研究热点^[22]。Huang 等^[23]研究发现灵芝多糖可以促进神经祖细胞的增殖,从而增强神经再生,并且减轻转基因阿尔茨海默病小鼠的认知缺陷;此外,灵芝多糖在细胞培养中也能促进神经祖细胞的自我更新,对此进一步研究表明灵芝多糖增强了成纤维细胞生长因子受体 1 和下游细胞外信号调节激酶和 AKT 级联的激活,从而增强神经祖细胞的增殖。同时,成纤维细胞生长因子受体 1 的抑制剂有效地阻止了灵芝多糖促进神经祖细胞的增殖和下游级联的激活。这些研究结果表明,灵芝多糖对阿尔茨海默病模型小鼠的认知功能和神经祖细胞增殖有促进作用,具有很强的神经保护作用,表明灵芝多糖可作为一种再生治疗剂,用于治疗与神经退行性疾病相关的认知功能减退。当前促进神经再生是治疗阿尔茨海默病相关认知障碍的一种有巨大潜力的策略。此外,李宜培等^[24]发现灵芝多糖可使持续光照导致的阿尔茨海默病大鼠海马中 A β 水平降低,抑制 tau 蛋白过度磷酸化,减轻超微结构的损伤,进而提高大鼠空间记忆能力,此研究也表明了灵芝多糖的多靶点效应可能在治疗阿尔茨海默病等多因素控制的神经退行性疾病方面具有理想的优势。

3 灵芝多糖的抗癫痫作用

全球约有 6 000 万癫痫患者,其中近 80%在发展中国家^[25]。癫痫的特征是在中枢神经系统中自发的、反复的、无端的癫痫放电和神经元群的高频放电,这是一种严重影响生活质量的疾病。癫痫可以通过药物控制,临床数据表明 75%患者对苯巴比妥治疗反应良好。然而,大多数药物对大脑功能有不良反应,如改变情绪或神经认知功能,神经元兴奋

减少, 正常活动受到抑制等^[26], 因此找到一种不良反应少同时更有效的药物具有重要的意义。Wang 等^[27]将原代海马神经元采用常规方法建立癫痫细胞模型, 将原代海马神经元分为对照组(用神经基础培养液培养 3 h)、模型 I 组(用无 Mg^{2+} 培养液孵育神经元 3 h)、模型 II 组(用无 Mg^{2+} 培养液孵育 3 h, 再与正常培养液孵育 3 h)、灵芝多糖 I 组(用含 0.375 mg/mL 灵芝多糖的无 Mg^{2+} 培养液孵育神经元 3 h)和灵芝多糖 II 组(将神经元用无 Mg^{2+} 培养液培养 3 h, 然后用含灵芝多糖的正常培养液培养 3 h)。无 Mg^{2+} 离子培养液作用 3 h 后神经元会开始出现稳定的、自发的、反复的惊厥样电活动。研究发现在无 Mg^{2+} 诱发癫痫样放电的海马神经元培养模型中, 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II α (calmodulin-dependent protein kinase II α , CaMKII α) 活性下降, 模型组 CaMKII α 表达低于对照组; 而灵芝多糖处理组, CaMKII α 表达高于模型组。此外, 30 s 后, 灵芝多糖 I 组 Ca^{2+} 荧光强度明显低于模型 I 组, 5 min 后, 灵芝多糖 II 组 Ca^{2+} 荧光强度明显低于模型 II 组。在 Ca^{2+} 超载时, 过量的 Ca^{2+} 内流进入细胞, 激活了 Ca^{2+} /CaM, 其结果是显著增加了 CaM 的表达, 抑制了 CaMKII α 的活性。CaMKII α 活性降低可导致癫痫发作, 然而灵芝多糖可以抑制神经元内 Ca^{2+} 的异常积累, 进而促进 CaMKII α 的表达, 保护癫痫神经元。这表明灵芝多糖在预防或治疗癫痫中发挥了有益的作用。

4 灵芝多糖调节小胶质细胞炎症反应的作用

长期以来, 大脑一直被认为是免疫上享有特权的器官, 因为外界的免疫细胞无法透过血脑屏障。小胶质细胞是神经免疫系统的主要组成部分之一, 目前为止, 其与周围免疫系统的相互作用知之甚少。小胶质细胞具有促炎和抗炎功能, 并在疾病条件下参与各种功能, 包括吞噬、类固醇释放、自由基减少和细胞修复。神经免疫细胞的促炎和抗炎修复功能失衡会导致中枢神经系统损伤。研究发现慢性神经炎症与阿尔茨海默病、帕金森病、多发性硬化等神经退行性疾病的发生有关, 小胶质细胞是大脑中枢神经系统固有的免疫细胞, 主要介导与神经退化有关的病理性神经炎症^[28]。在神经炎症期间, 激活的小胶质细胞释放促炎细胞因子和神经毒性介质, 改变细胞的某些行为, 如小胶质细胞的形态、迁移和吞噬。小胶质细胞正反馈吞噬作用是清除坏死的神经元和神经元碎片, 这反过来有助于消炎作用。

然而, 长期通过 toll 样受体激动剂激活, 如脂多糖和脂磷壁酸, 可能导致异常的吞噬作用。在这种情况下, 小胶质细胞以神经元祖细胞和胶质瘤细胞为靶点, 进而导致中枢神经系统神经元的丢失^[29]。

Cai 等^[30]通过使用脂多糖和 β -淀粉样蛋白 42 (A β 42) 低聚物对小胶质 BV2 细胞和小鼠原代小胶质细胞进行刺激。分别通过定量测定小胶质细胞促炎、抗炎细胞因子的表达以及对斑马鱼脑内的小胶质细胞形态和吞噬情况进行了分析。结果发现灵芝多糖处理后能下调脂多糖或 A β 诱导的 BV2 和原代小胶质细胞中促炎细胞因子的表达, 促进抗炎细胞因子释放。此外, 灵芝多糖还能调节炎症相关的小胶质细胞的迁移和形态表型。结果显示, 经灵芝多糖处理后, 明显抑制了脂多糖刺激的 BV2 细胞向划痕开放区的迁移活动。未处理的 BV2 细胞以圆形为主, 脂多糖激活后, 长细胞数量明显增多。然而, 经灵芝多糖处理后, 其形态恢复为圆形。随后, 分析了灵芝多糖处理后对活化的小胶质细胞的尺寸大小、尖端数量和吞噬特性的影响, 结果显示, 灵芝多糖降低了激活的小胶质细胞的尺寸大小和吞噬率, 但灵芝多糖不显著影响激活的小胶质细胞的尖端数量和吞噬时间长短。上述研究表明灵芝多糖可能是通过调节小胶质细胞的形态变化、迁移活动和吞噬行为反应来起到神经保护的作用。

5 结语

灵芝多糖作为灵芝主要的药理活性成分, 研究者对其药理活性进行了广泛深入的研究, 但之前大多数研究聚焦在灵芝多糖对癌症和糖尿病等疾病中展开研究, 近年来许多研究者将目光转移到灵芝多糖对中枢神经系统疾病方面的相关研究, 惊喜的发现灵芝多糖能够有效作用于脑组织, 其对于阿尔茨海默病、帕金森病、脑和脊髓损伤以及对氧化应激诱导的神经元凋亡等具有良好的神经保护作用, 还具有抗癫痫和减轻小胶质细胞介导的神经炎症, 以及调节小胶质细胞的形态变化、迁移活动和吞噬行为等方面的作用。

今后还可进一步研究其对神经系统的其他疾病如抑郁症、自闭症、精神分裂症、重症肌无力、周围神经病等的影响, 应该集中在评价灵芝多糖在上述疾病动物实验模型中的神经保护作用, 以及发现并进一步深入探讨其抗氧化、抗凋亡、神经保护等作用相关的信号通路。此外, 应该多进行临床与基础研究有机结合, 将有助于开发临床安全高效的神

经保护药物。本文通过广泛查找国内外相关文献,对灵芝多糖在中枢神经系统疾病方面的作用及机制进行了较全面的总结,希望能为灵芝的开发利用提供科学依据。

参考文献

- [1] 叶鹏飞, 张美萍, 王康宇, 等. 灵芝主要成分及其药理作用的研究进展综述 [J]. 食药用菌, 2013, 21(3): 158-161.
- [2] 才晓玲, 何伟, 杨国琴. 灵芝多糖生物活性研究进展 [J]. 食用菌, 2018, 40(3): 1-4.
- [3] Ferreira I C F R, Vaz J A, Vasconcelos M H, et al. Compounds from wild mushrooms with antitumor potential [J]. *Anti Cancer Agents Med Chem*, 2010, 10(5): 424-436.
- [4] 刘佳, 王勇. 灵芝多糖的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 629-634.
- [5] Lees K R, Zivin J A, Ashwood T, et al. NXY-059 for acute ischemic stroke [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(6): 588-600.
- [6] Wardlaw J M, Warlow C P, Counsell C. Systematic review of evidence on thrombolytic therapy for acute ischaemic stroke [J]. *Lancet*, 1997, 350(9078): 607-614.
- [7] Zhou Z Y, Tang Y P, Xiang J, et al. Neuroprotective effects of water-soluble *Ganoderma lucidum* polysaccharides on cerebral ischemic injury in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(1): 154-164.
- [8] Terayama R, Bando Y, Murakami K, et al. Neuropsin promotes oligodendrocyte death, demyelination and axonal degeneration after spinal cord injury [J]. *Neuroscience*, 2007, 148(1): 175-187.
- [9] Gokce E C, Kahveci R, Atanur O M, et al. Neuroprotective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides against traumatic spinal cord injury in rats [J]. *Injury*, 2015, 46(11): 2146-2155.
- [10] Newland B, Wolff P, Zhou D Z, et al. Synthesis of ROS scavenging microspheres from a dopamine containing poly (β -amino ester) for applications for neurodegenerative disorders [J]. *Biomater Sci*, 2016, 4(3): 400-404.
- [11] Collado R, Oliver I, Tormos C, et al. Early ROS-mediated DNA damage and oxidative stress biomarkers in monoclonal B lymphocytosis [J]. *Cancer Lett*, 2012, 317(2): 144-149.
- [12] 邹昱, 李彦君, 杨爽, 等. 铜锌超氧化物歧化酶知识基础及前沿热点分析 [J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(42): 6861-6867.
- [13] Allen C L, Bayraktutan U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke [J]. *Int J Stroke*, 2009, 4(6): 461-470.
- [14] Sun X Z, Liao Y, Li W, et al. Neuroprotective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides against oxidative stress-induced neuronal apoptosis [J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12(6): 953-958.
- [15] Camilleri A, Vassallo N. The centrality of mitochondria in the pathogenesis and treatment of Parkinson's disease [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20(7): 591-602.
- [16] Antony P M, Diederich N J, et al. The hallmarks of Parkinson's disease [J]. *FEBS J*, 2013, 280: 5981-5993.
- [17] da Conceição F S, Ngo-Abdalla S, Houzel J C, et al. Murine model for Parkinson's disease: From 6-OH dopamine lesion to behavioral test [J]. *J Vis Exp*, 2010(35): 1376.
- [18] Choi D H, Cristóvão A C, Guhathakurta S, et al. NADPH oxidase 1-mediated oxidative stress leads to dopamine neuron death in Parkinson's disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 16(10): 1033-1045.
- [19] Asaithambi A, Ay M, Jin H J, et al. Protein kinase D1 (PKD1) phosphorylation promotes dopaminergic neuronal survival during 6-OHDA-induced oxidative stress [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96947.
- [20] Qin L Y, Liu Y X, Hong J S, et al. NADPH oxidase and aging drive microglial activation, oxidative stress, and dopaminergic neurodegeneration following systemic LPS administration [J]. *Glia*, 2013, 61(6): 855-868.
- [21] Guo S S, Cui X L, Rausch W D. *Ganoderma lucidum* polysaccharides protect against MPP(+) and rotenone-induced apoptosis in primary dopaminergic cell cultures through inhibiting oxidative stress [J]. *Am J Neurodegener Dis*, 2016, 5(2): 131-144.
- [22] Zhao C M, Deng W, Gage F H. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis [J]. *Cell*, 2008, 132(4): 645-660.
- [23] Huang S C, Mao J X, Ding K, et al. Polysaccharides from *Ganoderma lucidum* promote cognitive function and neural progenitor proliferation in mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Stem Cell Rep*, 2017, 8(1): 84-94.
- [24] 李宜培, 王雪银, 陈洁, 等. 灵芝多糖肽对阿尔茨海默病大鼠 β 淀粉样蛋白含量和 tau 蛋白过度磷酸化的影响 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(9): 862-865.
- [25] Ilangaratne N B, Mannakkara N N, Bell G S, et al. Phenobarbital: missing in action [J]. *Bull World Health Organ*, 2012, 90(12): 871-871A.
- [26] Kwan P, Wang W Z, Wu J Z, et al. Long-term outcome of phenobarbital treatment for epilepsy in rural China: A prospective cohort study [J]. *Epilepsia*, 2013, 54(3): 537-542.
- [27] Wang S Q, Li X J, Qiu H B, et al. Anti-epileptic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides by inhibition of intracellular calcium accumulation and stimulation of expression of CaMKII α in epileptic hippocampal neurons [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102161.
- [28] Schain M, Kreisl W C. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders—a review [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2017, 17(3): 25.
- [29] Brown G C, Neher J J. Microglial phagocytosis of live neurons [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2014, 15(4): 209-216.
- [30] Cai Q, Li Y Y, Pei G. Polysaccharides from *Ganoderma lucidum* attenuate microglia-mediated neuroinflammation and modulate microglial phagocytosis and behavioural response [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 63.