

石菖蒲-远志药对不同组分对 AD 模型大鼠学习记忆和海马突触蛋白表达的影响

张智华, 王秀莲, 吴建红, 吕银娟, 柳琳
(湖北中医药大学基础医学院, 武汉 430065)

[摘要] **目的:**探讨石菖蒲-远志药对不同组分(挥发油、水提物)对阿尔兹海默病(AD)模型大鼠学习记忆和海马突触蛋白表达的影响。**方法:**选用 SPF 级 SD 大鼠,随机分为 8 组,分别为正常组、痴呆模型组、石菖蒲-远志挥发油低、中、高剂量组和石菖蒲-远志水提物低、中、高剂量组。用 D-半乳糖(D-gal)制成亚急性衰老模型,造模成功后治疗组大鼠分别给予石菖蒲-远志不同组分 0.6, 1.2, 1.8 g·kg⁻¹(生药用量)体重 ig,正常组和模型组分别给相应生理盐水 ig,给药 28 d 后,用 Morris 水迷宫实验测试大鼠的空间学习记忆能力,蛋白质免疫印迹(Western blot)检测各组大鼠海马突触蛋白含量。**结果:**与正常组比较,模型组潜伏期延长($P < 0.01$),药物治疗组与模型组比较,潜伏期缩短($P < 0.01$),石菖蒲-远志药对水提物高剂量组潜伏期短于其低剂量组和挥发油中、低剂量组($P < 0.05$);空间探索实验中水提物高剂量组目标象限时间明显优于其低剂量组($P < 0.01$),且优于挥发油各治疗组($P < 0.05$);石菖蒲-远志药对两种组分均可使 AD 模型大鼠海马内突触蛋白突触素(Synaptophysin),突触蛋白 1(Synapsin1),突触后致密物-95(PSD-95), PSD-93 蛋白表达高于 D-gal 模型组($P < 0.05$),并呈一定的剂量依赖性,但挥发油组分的 Synapsin1 表达却随着剂量的增加而递减。**结论:**石菖蒲-远志药对能促进 AD 模型大鼠海马内突触蛋白的表达,尤以水提物组分效果明显。

[关键词] 石菖蒲; 远志; 挥发油; 水提物; 学习记忆; 海马; 突触蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)07-0120-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016070120

Effect of Different Components of *Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix* on Learning and Memory Capacity and Hippocampal Synaptic Proteins Expression in AD Model Rats

ZHANG Zhi-hua, WANG Xiu-lian, WU Jian-hong, LYU Yin-juan, LIU Lin
(College of Basic Medical, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of different components of *Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix* (volatile oil, aqueous extract) on learning and memory capacity as well as hippocampal synaptic proteins expression in Alzheimer's disease (AD) model rats. **Method:** Sprague Dawley rats (Grade: SPF) were randomly divided into 8 groups: normal group, dementia model group, *Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix* volatile oil low, middle, high dosage groups. and *Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix* aqueous extract low, middle, high dosage groups. Subacute aging models were established by D-galactose (D-gal). After successful modeling, the rats in treatment groups were given with different components of *Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix* 0.6, 1.2, 1.8 g·kg⁻¹ (crude drug dosage) by gastric lavage; while the rats in normal group and model group were given with corresponding dose of normal saline. The 28 days later, their ability of spatial learning and memory was tested by Morris water maze in rats, and hippocampal synaptic protein levels in rats of various groups were detected by Western blot. **Result:** Compared with normal group, the latency period

[收稿日期] 20150121(018)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81202734)

[第一作者] 张智华,博士,副教授,硕士生导师,主要从事方剂配伍规律及临床应用研究, Tel:027-68890141, E-mail: zzhor@163.com

was prolonged in model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the latency period was shortened in drug treatment groups ($P < 0.01$). The latency period in *Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix* aqueous extract high dose group was shorter than that in low dose group and all volatile oil groups ($P < 0.05$). In spatial probe test, aqueous extract high dose group was significantly superior to its low dose group ($P < 0.01$) and all volatile oil groups ($P < 0.05$). Both components of *Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix* can make the expressions of Synaptophysin, Synapsin1, PSD-95, and PSD-93 in AD model rats higher than those of *D-gal* model rats ($P < 0.05$), with a dose-dependent relationship, but the Synapsin1 expression of volatile oil was decreased with the increase of dose. **Conclusion:** *Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix* can promote synaptic proteins expression in the hippocampus of AD model rats, especially the aqueous extract component has the greatest effect.

[**Key words**] *Acori Tatarinowii Radix*; *Polygalae Radix*; volatile oil; aqueous extract; learning and memory capacity; hippocampus; synaptic proteins

阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是由多种原因引起的中枢神经系统退行性疾病,是痴呆的主要类型之一^[1],主要表现为认知功能障碍、日常生活能力丧失及精神行为异常等。研究表明,突触前后蛋白的表达与包括 AD 在内的许多神经退行性疾病相关。

石菖蒲-远志 (*Acori Tatarinowii Rhizoma-Polygalae Radix*, AP) 是临床常用益智药对,这 2 味药均首见于《神农本草经》,有一定的安神益智、化痰开窍的作用,相须为用,作用更强,自古以来常用于“善忘”等疾患的治疗。前期研究发现,“石菖蒲-远志”是中医治疗老年性痴呆方剂中出现频次最高的药对^[2]。实验证实石菖蒲、远志均能增强 AD 大鼠的学习记忆能力,但深入的作用机制尚不明确。有研究者发现石菖蒲的去油煎剂、总挥发油等成分均能改善模型动物的学习记忆能力^[3],但与远志配伍后两种组分的作用效果又如何?两者是否存在差异?为此,笔者设计本实验,旨在通过观察石菖蒲-远志药对不同组分(挥发油、水提物)干预后 AD 模型大鼠学习记忆能力和海马内突触前后蛋白水平的表达来探索此药对不同组分可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠 80 只,SPF 级,体重(200 ± 20) g,雄性,由武汉大学动物实验中心提供,合格证号 SCXK(鄂)2013-0004。

1.2 药物及试剂 石菖蒲、远志均购于湖北顺天医药有限公司(批号分别为 130501, 130601),丙烯酸胺和甲叉丙烯酰胺(美国 Amresco 公司,批号分别为 0341, 0712),突触素(Synaptophysin,英国 Abcam 公司,批号 ab8049);突触蛋白 1(Synapsin1),突触后致密物-95(PSD-95)和 PSD-93(美国 Santa Cruz 公

司,批号分别为 sc-9116, sc-6926, sc-12233);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(杭州贤至生物有限公司,批号 AB-P-R001),HRP 标记羊抗兔二抗(武汉博士德生物工程有限公司,批号 BA1054),增强型化学发光试剂(ECL)底物液(美国 Thermo 公司,批号 XBT-1),其他试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器 Morris 水迷宫系统(中国医学科学院),RE-52AA 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-D(III)型循环水真空泵(天津华鑫仪器厂),KB-800 型水平摇床(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司),DYCZ-40B 型电泳仪和 DYCZ-40B 型垂直电泳槽(北京六一仪器厂)。

2 方法

2.1 石菖蒲-远志药对不同组分(挥发油、水提物)的制备 按药典挥发油乙法测定,称取经粉碎过二号筛(20 目)的石菖蒲与远志药材共 300 g 以 1:1 比例,置于 5 L 圆底烧瓶内,加水 2 400 mL,振摇混合后,连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止。置电热套中缓缓加热至沸,保持微沸 5 h,至测定器中油量不再增加,停止加热。放置 1 h,冷却,油层上端与刻度 0 线齐平,读取体积,计算含量,收集保存,即得拓菖蒲-远志药对挥发油。ig 前取挥发油适量,用 1% 聚山梨酯-80 稀释 100 倍备用。将以上收集挥发油后的水提液和药渣用纱布过滤,收集药液备用。药渣中再加入 4 倍量(1 200 mL)水,从开始滴下液滴计时,保持微沸,提取完毕后,取出烧瓶,放置,冷却,过滤,第 2 次加 2 倍量水,同法操作,合并以上几次的药液。将药液转移至旋转蒸发仪,于 75 °C 减压回收水,浓缩成生药量 1 g · mL⁻¹ 的药液,即得其水提取物。上述提取物按比例

制备足够数量,保存在 -20 °C 冰箱中,临用时取出。为确保实验结果的可比性,同一样品的所有实验都用同一批药材。

2.2 动物分组、造模及给药 将购得 SD 大鼠适应性喂养 1 周,腹腔连续注射 *D*-半乳糖 6 周造模,给药剂量 $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。造模后 3 d 用 Morris 水迷宫训练 5 d,第 6 天选取空间学习记忆功能低下者为痴呆大鼠,然后进行如下分组,分别为正常组(生理盐水 *ip* 6 周后用生理盐水 *ig*);痴呆模型组(*D*-半乳糖 *ip* 6 周确定痴呆后用生理盐水 *ig*);痴呆/模型动物石菖蒲-远志药对治疗低、中、高组(*D*-半乳糖 *ip* 6 周确定痴呆后用 1:1 配伍比例的石菖蒲-远志药对挥发油低、中、高剂量 *ig*);痴呆/模型动物石菖蒲-远志药对治疗低、中、高剂量组(*D*-半乳糖 *ip* 6 周确定痴呆后用 1:1 配伍比例的石菖蒲-远志药对水提物低、中、高剂量 *ig*),各组分别 *ig* 给药 4 周。低、中、高剂量分别为 0.6, 1.2, 1.8 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (生药用量),以 200 g 大鼠为例,挥发油得率为 1% 即 $10 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ 生药,用量 1.2 μL ,挥发油用 1% 聚山梨酯-80 稀释 100 倍 *ig*,即 120 μL ;水提物质量浓度为 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 生药量,*ig* 量为 120 μL 。

2.3 行为学检测 参照文献[4]操作,进行大鼠 Morris 水迷宫实验。

2.3.1 定位航行实验 水温控制在 25 °C 左右,于造模结束后第 2 天即开始进行定位航行实验,每天 4 次,历时 5 d。将大鼠面向池壁分别从 4 个人水点放入水中,记录其在 90 s 内寻找到平台的时间(逃避潜伏期),如果大鼠在 90 s 内未找到平台,则用手牵引大鼠至平台上,让其停留 10 s,再放回笼中,潜伏期算作 90 s,分别记录每只大鼠每天、每次找到平台的时间。由于大鼠的定位航行试验基本在第 3 天未达到稳定状态,第 4,5 天则属强化过程,故定位航行实验的前 3 d 以学习和认知为主要特点,第 4,5 天则以记忆和巩固记忆为主^[5],因此笔者对比了 5 d 平均潜伏期和后 3 d 平均潜伏期。

2.3.2 空间探索实验 第 6 天撤除平台,将大鼠从任意的非平台象限入水点面向池壁放入水中,记录其 90 s 内跨越原平台位置的次数和在目标象限中的停留时间。

2.4 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测海马区突触蛋白表达 末次给药 3 h 后将大鼠深度麻醉,断头取海马组织,冰上匀浆,超声粉碎后 4 °C, 12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 高速离心 15 min,取上清液,BCA 法测蛋白浓度,GAPDH 为内参,用 8% SDS-PAGE 进行电泳,

将蛋白转至 PVDF 膜(转膜条件为 Synaptophysin, Synapsin1, 200 mA, 80 min; PSD-95, PSD-93, 先 200 mA, 80 min,再 300 mA, 40 min),将 PVDF 膜置于 5% 脱脂奶粉的 TBST(封闭液)封闭 2 h。用封闭液稀释相应的一抗,使 PVDF 膜浸泡于一抗孵育液中(兔抗 Synaptophysin, 1:400, Synapsin1, PSD-95, PSD-93, 1:300),4 °C 孵育过夜。TBST 充分洗膜 5~6 次,每次 5 min。用封闭液稀释相应的 HRP 标记二抗(1:50 000),室温摇床孵育 2 h。洗膜后适量 ECL 底物液孵育数分钟。待荧光带明显后,用滤纸吸去多余的底物液,覆上保鲜膜,X 射线胶片压片后依次放入显影液显影、定影液定影。BandScan 分析胶片灰度值,每组 3 个重复。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

3 结果

3.1 对 AD 模型大鼠定位航行实验平均潜伏期的影响 模型组与正常组比较,潜伏期延长($P < 0.01$),药物治疗组与模型组比较,潜伏期缩短($P < 0.01$),石菖蒲-远志药对水提物高剂量组潜伏期短于其低剂量组和挥发油中、低剂量组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 石菖蒲-远志药对不同组分对 AD 模型大鼠定位航行试 5 d 平均潜伏期和后 3 d 平均潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of different components of AP on navigation try after 5 d average incubation period and 3 d average incubation period in AD rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	5 d 潜伏期/ <i>s</i>	后 3 d 潜伏期/ <i>s</i>
正常	8	-	19.57 ± 3.17	13.66 ± 1.93
模型	8	-	59.79 ± 15.61 ¹⁾	49.05 ± 14.81 ¹⁾
挥发油	8	0.6	43.03 ± 8.23 ^{2,3)}	31.07 ± 3.67 ^{2,4,5)}
	8	1.2	41.12 ± 11.45 ^{2,3)}	29.64 ± 5.18 ^{2,5)}
	9	1.8	37.48 ± 8.12 ^{2,3)}	27.69 ± 2.74 ²⁾
水提物	8	0.6	39.86 ± 10.87 ^{2,3)}	29.18 ± 5.15 ^{2,5)}
	8	1.2	35.58 ± 9.36 ²⁾	26.83 ± 8.72 ²⁾
	9	1.8	28.90 ± 6.94 ²⁾	22.07 ± 6.37 ^{2,4)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$;5 d 潜伏期内,与水提物高剂量组比较³⁾ $P < 0.05$;后 3 d 潜伏期内,与挥发油高剂量组比较⁴⁾ $P < 0.05$;与水提物高剂量组比较⁵⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 对 AD 模型大鼠空间探索实验学习记忆的影响 空间探索实验中水提物高剂量组目标象限时间明显优于其低剂量组($P < 0.01$),且优于挥发油各剂量组($P < 0.05$),而挥发油各治疗组间比较无统

计学差异, 穿越原平台位置数较模型组各治疗组均明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 2 石菖蒲-远志药对不同组分对 AD 模型大鼠空间探索试验学习记忆的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of different components of AP on space exploration test learning and memory in AD rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	穿越原平台位置 数/次	目标象限时间 /s
正常	8	-	5.20 ± 1.13	37.77 ± 5.90
模型	8	-	1.11 ± 0.97 ¹⁾	20.93 ± 6.38 ¹⁾
挥发油	8	0.6	1.70 ± 0.15	22.50 ± 4.66 ⁶⁾
	8	1.2	2.10 ± 0.78 ²⁾	23.63 ± 3.57 ⁶⁾
	9	1.8	2.60 ± 0.43 ^{3,4)}	24.75 ± 2.61 ⁶⁾
水提取物	8	0.6	1.90 ± 1.05	21.07 ± 4.82 ⁷⁾
	8	1.2	2.40 ± 0.28 ³⁾	23.99 ± 7.05
	9	1.8	2.80 ± 0.58 ^{3,5)}	29.44 ± 5.69

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$;穿越原平台位置次数,与挥发油低剂量组比较⁴⁾ $P < 0.01$;与水提取物低剂量组比较⁵⁾ $P < 0.05$;目标象限时间,与水提取物高剂量组比较⁶⁾ $P < 0.05$,⁷⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 对不同组分对 AD 模型大鼠海马内突触前后蛋白表达的影响

模型组与正常组比较,突触前

表 3 石菖蒲-远志药对不同组分对 AD 模型大鼠海马内突触前后蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effects of different components of AP on hippocampal synaptic protein expression before and after in AD rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Synaptophysin/GAPDH	Synapsin 1/GAPDH	PSD-95/GAPDH	PSD-93/GAPDH
正常	-	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型	-	0.39 ± 0.00 ¹⁾	0.47 ± 0.00 ¹⁾	0.56 ± 0.00 ¹⁾	0.47 ± 0.00 ¹⁾
挥发油	0.6	0.43 ± 0.00 ²⁾	0.59 ± 0.00 ²⁾	0.62 ± 0.01 ²⁾	0.54 ± 0.01 ²⁾
	1.2	0.49 ± 0.00 ²⁾	0.55 ± 0.01 ²⁾	0.68 ± 0.01 ²⁾	0.62 ± 0.00 ²⁾
	1.8	0.62 ± 0.00 ²⁾	0.49 ± 0.00 ²⁾	0.73 ± 0.01 ²⁾	0.67 ± 0.01 ²⁾
水提取物	0.6	0.50 ± 0.00 ²⁾	0.61 ± 0.00 ²⁾	0.68 ± 0.01 ²⁾	0.62 ± 0.01 ²⁾
	1.2	0.66 ± 0.01 ²⁾	0.65 ± 0.01 ²⁾	0.77 ± 0.00 ²⁾	0.71 ± 0.01 ²⁾
	1.8	0.70 ± 0.01 ²⁾	0.70 ± 0.00 ²⁾	0.82 ± 0.00 ²⁾	0.77 ± 0.01 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$,与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

学习记忆障碍是老年性痴呆患者一个重要的临床症状和特征,改善学习记忆能力是证实药物治疗是否有效的一个重要指标。笔者所采用的 Morris 水迷宫系统测定动物立体空间学习记忆能力是目前常用方法之一。实验中,模型组大鼠由于以视觉为基础的的空间定位记忆的减退,对平台位置不能产生记忆,故需找平台的潜伏期较正常组延长,其空间定位记忆能力受到损害,表现为严重的记忆减退,可证

蛋白 Synaptophysin, Synapsin1 和突触后蛋白 PSD-95, PSD-93 的灰度值明显下降,说明 D-gal 致衰后,海马内突触前后蛋白含量明显减少 ($P < 0.01$)。石菖蒲-远志药对不同组分低、中、高剂量组与模型组比较,突触前蛋白 Synaptophysin, Synapsin1 和突触后蛋白 PSD-95, PSD-93 蛋白有不同程度增加,说明石菖蒲-远志药对不同组分均可提高 AD 模型大鼠海马内突触前后蛋白含量 ($P < 0.05$),且水提取物组优于挥发油组。见图 1, 表 3。

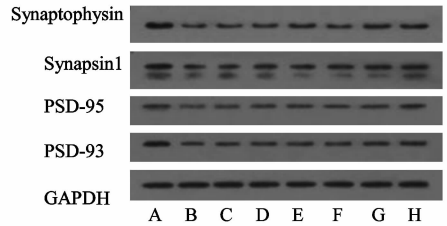


图 1 石菖蒲-远志药对不同组分对 AD 模型大鼠海马内突触前后蛋白表达的影响

A. 正常组; B. 模型组; C. 挥发油 0.6 g·kg⁻¹ 组; D. 挥发油 1.2 g·kg⁻¹ 组; E. 挥发油 1.8 g·kg⁻¹ 组; F. 水提取物 0.6 g·kg⁻¹ 组; G. 水提取物 1.2 g·kg⁻¹ 组; H. 水提取物 1.8 g·kg⁻¹ 组

Fig. 1 Effects of different components of AP on hippocampal synaptic protein expression before and after in AD rats

明本实验模型制造成功。药物治疗组无论从反映空间学习记忆获取能力的定位航行实验,还是反映信息存储能力的空间探索实验来看,正常组、药物治疗组均表现出更好的能力,而治疗组中尤以水提取物高剂量组效果明显。

突触是相邻神经元间特化的连接区域,起信息传递作用。突触可塑性与学习和记忆密切相关,决定突触效能作用的影响因素不仅来源于突触前,也可来自于突触后。研究较多的突触前蛋白有

Synaptophysin, Synapsin1, 突触后致密物有 PSD-95, PSD-93。

Synaptophysin 是突触囊泡膜上的一种糖蛋白, 又被称为 p38, 分布于大多数神经元及神经内分泌细胞, 常可作为突触前终末特异性标记物, 用来检测突触的密度和分布^[6], 与神经递质的释放及突触可塑性等都有密切关系^[7-8]。有研究表明, 在 AD 病例中, SYP 表达减少可使突触可塑性降低、与学习记忆障碍相关^[9]。Synapsin1 是一种神经元特异的磷蛋白, 该蛋白的表达在海马结构形成及功能可塑中发挥一定作用, 在突触发生、突触囊泡运输及神经递质释放过程中也有重要的调节作用^[10-11]。

PSD 是指分布于突触后膜胞质面的一层均匀且致密的物质, 常见于中枢神经系统轴-树突棘突触的突触后膜上, 在突触可塑性中起关键性作用。PSD-95 在 PSD 中含量丰富, 参与了突触可塑性的调节。PSD-93 同样位于突触后膜, 能通过调节神经递质的释放, 在突触可塑性尤其是短时程突触可塑性的发生过程中具有不可忽视的作用。

现代研究证实石菖蒲挥发油和水提物均可有效提高痴呆模型动物的学习记忆能力^[12-15], 而石菖蒲-远志药对是中医临床常用的益智配伍, 笔者试图探讨该药对不同组分对学习记忆的影响及其可能机制。行为学实验结果表明, AD 模型大鼠的学习记忆能力与正常组相比明显下降, 同时海马区突触前后蛋白的表达也显著下降, 进一步证实了老年学习记忆能力的下降与海马区突触前后蛋白含量减少的密切关系。而石菖蒲-远志药对不同组分给药组与 AD 模型组大鼠相比, 学习记忆能力均有增强, 本实验显示药物干预组, 无论是挥发油组还是水提物组的大鼠海马区 Synaptophysin, PSD-95, PSD-93 表达均有所增加, 这进一步为石菖蒲-远志药对抗衰益智作用提供了实验依据。以往有研究认为石菖蒲挥发油与水提物成分的益智作用无明显差异^[9], 而笔者研究发现其水提物组作用效果优于挥发油组, 从侧面也证实石菖蒲与远志配伍后作用有所增强, 而较之挥发油, 临床上此药对水煎液的使用更简便, 实验室证实也更有效。

比较水提物和挥发油组分可以看出, 前者 Synapsin1 表达增加呈剂量依赖性, 而后者却随着剂量的增加而递减, 是否能说明两种成分发挥治疗作用的机制略有不同还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 金永三, 李美兰, 金香, 等. 石菖蒲远志散对阿尔茨海

默病模型小鼠学习记忆的影响[J]. 延边大学医学学报, 2014, 37(2): 108-111.

[2] 闫敬来, 陈燕清. 历代文献中医药治疗老年痴呆常用药对研究[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(7): 1495-1496.

[3] 吴宏斌, 方永奇, 李锐. 石菖蒲对 CNS 的药理作用与毒理研究述略[J]. 中医药学刊, 2004, 22(1): 127-128.

[4] Morris R. Development of a water maze procedure for studying spatial learning in the rat[J]. Neurosci Meth, 1984, 11(1): 47-60.

[5] 孔明望, 王平. 温胆汤改良方对阿尔兹海默病模型大鼠学习记忆功能的影响[J]. 湖北中医杂志, 2011, 33(4): 3-4.

[6] Vanlookeren Campagne M, Oestreicher A B, Van Bergen Enbenegouwen P M, et al. Ultrastructural double localization of B-50 GAP43 and synaptophysin (P38) in the neonatal and adult rat hippocampus [J]. J Neurocytol, 1990, 19(6): 948-961.

[7] Jang D J, Park S W, Kang B K. The role of lipid binding for the targeting of Synaptic proteins into synaptic vesicles[J]. BMB Rep, 2009, 42(1): 1-5.

[8] Kwon S E, Chapman E R. Glycosylation is dispensable for sorting of Synaptotagmin I but is critical for targeting of SV2 and Synaptophysin to recycling synaptic vesicles [J]. J Biol Chem, 2012, 287(42): 35658-35668.

[9] Mitew S, Kirkcaldie M T, Dickson T C, et al. Altered synapses and gliotransmission in Alzheimer's disease and AD model mice [J]. Neurobiol Aging, 2013, 34(10): 2341-2351.

[10] 刘芬, 闫荣. β 1-40 对 PC12 细胞突触素表达的影响 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2010, 27(9): 49-52.

[11] 桂韦, 余传勇, 汪凯, 等. 转化生长因子 β_1 对神经元树突生长以及突触素表达的影响 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2011, 28(10): 25-28.

[12] 吴宾, 方永奇. 石菖蒲益智作用的物质基础及其机理研究 [J]. 中华中医药学刊, 2004, 22(9): 1635-1636.

[13] 温中京, 陈海委. 中药石菖蒲提取物对记忆障碍小鼠模型的改善作用研究 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(10): 2203-2205.

[14] 吴启端, 方永奇, 李翎, 等. 不同剂量石菖蒲对中枢神经系统影响的实验研究 [J]. 中国药房, 2005, 16(9): 656-658.

[15] 林慧光, 杜建, 张亮亮, 等. 石菖蒲挥发油香薰辅助治疗老年性痴呆大鼠的实验研究 [J]. 福建中医学院学报, 2007, 17(4): 25-27.

[责任编辑 周冰冰]