

桂枝汤苯丙烯类化合物对 APP 转基因 AD 小鼠学习记忆障碍的影响

李晓东, 李沧海, 李兰芳, 郭淑英, 姜廷良*

(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:**探讨桂枝汤苯丙烯类化合物(PCGZT)对 APP 转基因阿尔茨海默病(AD)小鼠模型记忆障碍影响及其部分作用机制。**方法:**按体重随机将 3 月龄 APP695V717 转基因小鼠随机分为模型组,阿司匹林组(20 mg·kg⁻¹·d⁻¹),脑复康组(600 mg·kg⁻¹·d⁻¹),石杉碱甲组(0.3 mg·kg⁻¹·d⁻¹)和 PCGZT 大、中、小剂量(64.4, 32.2, 16.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组,每组 10 只;另取 C57BL/6J 小鼠 10 只作为空白组。各组小鼠每天给药 1 次,约 10 月龄时,进行 Morris 水迷宫实验和跳台实验,测定小鼠脑组织丙二醛(MDA)含量,血清中基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和 MMP-9 含量。**结果:**与模型组比较,PCGZT 可以减少 APP 转基因 AD 小鼠跳台反应时间,降低错误期总时间和错误次数,提高安全期总时间($P < 0.05$);PCGZT 小剂量组提高 APP 转基因 AD 小鼠在 Morris 迷宫实验中站台象限路程比率($P < 0.01$)和站台象限时间比率($P < 0.05$)。同时,PCGZT 可以降低 AD 小鼠脑 MDA 含量($P < 0.05$)和血清中 MMP-9 含量($P < 0.05$),对 MMP-2 含量无影响。**结论:**PCGZT 能够明显改善 APP 转基因 AD 小鼠学习记忆障碍,其作用机制可能涉及多个药物靶点。

[关键词] 桂枝汤苯丙烯类化合物; APP 转基因小鼠; 水迷宫实验; 跳台实验; 学习记忆能力

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)13-0092-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016130092

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160512.1618.024.html>

[网络出版时间] 2016-05-12 16:18

Effects of Phenylallyl Compounds from Guizhi Tang on Learning and Memory Impairment in APP Transgenic AD Mice

LI Xiao-dong, LI Cang-hai, LI Lan-fang, GUO Shu-ying, JIANG Ting-liang*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects and possible mechanisms of phenylallyl compounds from Guizhi Tang (PCGZT) on learning and memory impairment in APP transgenic Alzheimer's disease (AD) mice. **Method:** Three-month-old APP transgenic AD mice were randomly divided into model group, aspirin group, piracetam group, huperzine-A group, PCGZT groups (high, medium and low doses), and normal control group (C57BL/6J mice) according to their weight, with 10 in each group. These mice were intragastrically administered with aspirin (20 mg·kg⁻¹·d⁻¹), piracetam (600 mg·kg⁻¹·d⁻¹), huperzine-A (0.3 mg·kg⁻¹·d⁻¹) and different doses of PCGZT (64.4, 32.2, 16.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹) respectively for consecutively 5 months. Model groups and normal control group were treated with 0.5% carboxymethyl cellulose sodium (CMC-Na). The abilities of learning and memory of mice were detected by step down test and morris water maze test. The contents of matrix metalloprotein-2 (MMP-2) and matrix metalloprotein-9 (MMP-9) in the blood serum and malondialdehyde (MDA) activity in brain tissues were measured. **Result:** Compared with model group, PCGZT can reduce latent reaction time ($P < 0.05$), error frequency ($P < 0.01$) and total time of error period ($P < 0.01$), improve total

[收稿日期] 20160305(001)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09103-435);国家自然科学基金面上项目(81573838)

[第一作者] 李晓东,在读博士,助理研究员,从事中药药理学研究,Tel: 010-64041008, E-mail: li_xd2005@126.com

[通讯作者] *姜廷良,研究员,博士生导师,从事中药和民族药的物质药效基础及作用机制研究,Tel: 010-64041008, E-mail: jiangt2005@sohu.com

time of safety period ($P < 0.05$) of APP transgenic AD mice in step down test, low dose group of PCGZT can improve percentage of the platform quadrant distance ($P < 0.01$) and the platform quadrant time ($P < 0.05$) in morris water maze test. At the same time, PCGZT can decrease MDA and MMP-2 contents in the serum ($P < 0.05$). **Conclusion:** PCGZT can dramatically alleviate the learning and memory impairment of APP transgenic AD mice, and its mechanism may involve multiple drug targets.

[**Key words**] phenylallyl compounds from Guizhi Tang; APP transgenic mice; morris water maze test; step down test; learning and memory abilities; Alzheimer's disease

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 又称老年性痴呆, 是一种进行性记忆和认知功能障碍为主要临床表现中枢神经系统退行性疾病^[1]。AD 的病因复杂, 其发病机制仍不十分清楚, 尚无特效的治疗方法和药物, 现用于临床的治疗药物主要以胆碱酯酶抑制剂 (盐酸多奈哌齐、重酒石酸卡巴拉丁、石杉碱甲、加兰他敏), 谷氨酸受体拮抗剂 (盐酸美金刚), 神经营养因子, 脑代谢激活剂 (海得琴、吡拉西坦) 和神经细胞保护剂等为主, 这些药物均属于症状性治疗药物, 仅能改善临床症状, 并不能改变疾病进程^[2-3]。因此, 寻找有效预防、改善和治疗 AD 的药物迫在眉睫。

我国运用中医药治疗 AD 历史悠久, 中医学认为其属于“呆病”, “文痴”, “善忘”, “郁证”, “癫证”, “狂证”等范畴^[4], 病机多本虚标实 (脾肾亏虚, 痰浊血瘀), 治当补益脾肾, 活血化瘀, 化痰开窍^[5-6]。因此, 从中草药等天然产物中筛选和研发疗效确切、安全无毒的防治 AD 的单味药、药用有效成分及复方制剂等具有独特优势和广阔前景。桂枝汤苯丙烯类化合物 (phenylallyl compounds from Guizhi Tang, PCGZT) 是本实验室从桂枝汤解热有效部位 A (Fr. A) 中分离得到是 6 种具有同一苯丙烯类母环的单体化合物 (桂皮醇、邻甲氧基桂皮醇、桂皮醛、邻甲氧基桂皮醛、桂皮酸、邻甲氧基桂皮酸) 按原方得率比例组合而成一种新的化学药物实体, 是对方剂配伍及适应证确定的探索性尝试, 课题组前期研究已发现其能够靶向抑制脑微血管中前列腺素 E₂ (PGE₂) 分泌而发挥很好的抗炎解热作用^[7-8]。本研究采用 APP 转基因拟痴呆小鼠模型, 以当前 AD 几类常用治疗药物为阳性药, 通过 Morris 水迷宫实验和跳台实验测试空间学习及记忆能力, 观察 PCGZT 对记忆障碍改善影响, 并对部分相关作用机制进行探讨。

1 材料

1.1 动物 APP695V717 转基因小鼠, SPF 级, 3~4 月龄, 雌雄各半, 体重 (20 ± 2) g, 购自中国人民解放

军军事医学科学院实验动物中心, 合格证号 SCXK-(军)2002-001。

1.2 药品与试剂 PCGZT (由桂皮醛、邻甲氧基桂皮醇、桂皮醇、邻甲氧基桂皮醇、桂皮酸、邻甲氧基桂皮酸 6 种按单体化合物原提取得率比例组合制备) 由北京大学药学院提供, 纯度均在 98% 以上; 阿斯匹林肠溶片 (北京曙光药业有限责任公司, 批号 080430); 石杉碱甲片 (河南太龙药业股份有限公司豫中制药厂, 批号 100304); 脑复康 (吡拉西坦片, 天津金世制药有限公司, 批号 20100507); BCA 蛋白测试盒 (北京天来生物医学科技有限公司, 批号 MTB084-1); 基质金属蛋白酶-2 (MMP-2), MMP-9, 丙二醛 (MDA) 酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒 (美国 Rapid Bio Lab. California, 批号分别为 03301105, 03301103, 10112401)。实验溶媒用 0.5% 羟甲基纤维素钠 (CMC-Na) 作为混悬剂。

1.3 主要仪器 TT-2 型小鼠跳台程序自动控制仪 (中国医学科学院药物研究所), Morris 水迷宫分析系统 (上海欣软信息科技有限公司), 5417C/R 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司), RT-6000 型酶标仪 (美国 Rayto 公司)。

2 方法

2.1 分组与给药 3~4 月龄 APP695V717 转基因小鼠 80 只, 雌雄各半, 随机分为模型组、阿司匹林组 (20 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 脑复康组 (600 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 石杉碱甲组 (0.3 mg·kg⁻¹·d⁻¹) 和 PCGZT 大、中、小剂量 (64.4, 32.2, 16.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹) 组, 每组 10 只, 按照 PCGZT 提取得率折合《伤寒论》原方临床生药量, 根据“实验动物与人体表面积等效量换算比率”换算小鼠给药剂量; 另取 10 只同月龄相同遗传背景 C57BL/6J 小鼠为空白组。各组小鼠每天灌胃给药 1 次, 连续 5 月。

2.2 跳台实验 末次给药后 24 h, 将小鼠置于跳台记录仪中适应 3 min, 设定电压 (36 V) 和连续通电时间 (5 min), 开启电源使底面铜栅通电, 记录每只小鼠首次跳上塑胶台所需的时间 (反应时间) 及 5

min 内动物跳下塑胶台的次数(错误次数),作为学习成绩;24 h 后,底部铜栅通电,重复前操作,此时记录小鼠第一次跳下平台的时间即潜伏期和 5 min 内的跳下塑胶台的次数即测试期错误次数,作为记忆保持成绩;学习训练结束 24 h 后开始正式测试,测试仪记录小鼠第 1 次跳下平台的时间(反应时间),5 min 内跳下台的次数(测试期错误次数),小鼠在站台上的总时间(安全期总时间)和站台下的总时间(错误期总时间)。

2.3 Morris 水迷宫实验 分别在给药 1,3,5 月末次给药后,获得性训练 4 次,即将水池分为 4 个象限,平台置于其中 1 个象限区的中央,取小鼠头朝池壁放入水中,放入位置随机取东、西、南、北 4 个起始位置之一,记录动物 60 s 内寻找到平台所需的时间(逃避潜伏期),未能寻找到平台,则将其引上平台并记录其逃避潜伏期为 60 s,并让动物在平台上停留 10 s。获得性训练隔天后,即撤去水平台,然后任选 1 个人水点将小鼠而向池壁放入水中,测其在 60 s 内在原象限的游泳时间占及游泳距离,计算站台象限时间比率和占总距离的比率。

2.4 小鼠血清中基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 和 MMP-9 及脑组织中丙二醛 (MDA) 含量测定 行为学实验结束后,小鼠摘眼球取血,离心分离血清,保存于 -20 ℃ 冰箱备存。用 ELISA 试剂盒测小鼠血清中 MMP-2 和 MMP-9 含量。小鼠取血后立即断头处死,在冰上迅速剥离脑组织,用 4 ℃ 预冷的生理盐

水漂洗,除去血渍,滤纸拭干,称重后,预冷 0.9% 生理盐水研磨制成 10% 脑组织匀浆,以 3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清备用,保存于 -20 ℃ 冰箱中。用 BCA 蛋白测试盒测脑组织上清蛋白含量,用试剂盒测定小鼠脑组织 MDA 含量。

2.5 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 APP 转基因痴呆小鼠跳台实验的影响 与空白组比较,除 PCGZT 中剂量组外,各给药组 APP 转基因小鼠反应时间均延长 ($P < 0.05$),模型组增高最显著 ($P < 0.01$);错误次数除石杉碱甲组外,阿司匹林和脑复康组增加 ($P < 0.05$),PCGZT 各剂量组下降 ($P < 0.05$),模型组则显著增加 ($P < 0.01$);错误期总时间 PCGZT 各剂量组下降 ($P < 0.05$),而各阳性药组和模型组增加 ($P < 0.05$);安全期总时间除 PCGZT 各剂量组外,各阳性药和模型组显著下降 ($P < 0.01$)。与模型组比较,APP 转基因小鼠反应时间各给药组均缩短 ($P < 0.05$),PCGZT 中剂量组下降最显著 ($P < 0.01$);错误次数各阳性药组均有降低 ($P < 0.05$),PCGZT 各剂量组显著降低 ($P < 0.01$);错误期总时间各阳性药组除阿司匹林组外均降低 ($P < 0.05$),PCGZT 各剂量组显著降低 ($P < 0.01$);安全期总时间各阳性药组无差异,PCGZT 各剂量组均升高,以高剂量最为显著 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 PCGZT 对 APP 转基因痴呆小鼠跳台实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Results of PCGZT on APP transgenic AD mice in step down test ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	反应时间/s	错误次数/n	错误期总时间/s	安全期总时间/s
空白	-	23.04 ± 6.89	0.86 ± 0.26	7.14 ± 3.29	269.64 ± 17.53
模型	-	89.20 ± 15.30 ²⁾	2.13 ± 0.59 ²⁾	20.54 ± 4.27 ²⁾	208.25 ± 23.93 ²⁾
阿司匹林	20.0	51.25 ± 9.12 ^{1,3)}	1.38 ± 0.45 ^{1,3)}	20.38 ± 6.23 ²⁾	212.06 ± 73.16 ¹⁾
脑复康	600.0	69.81 ± 9.52 ^{1,3)}	1.31 ± 0.30 ^{1,3)}	11.63 ± 4.53 ^{1,3)}	218.56 ± 98.98 ¹⁾
石杉碱甲	0.3	58.36 ± 9.19 ^{1,3)}	0.82 ± 0.27 ³⁾	13.73 ± 5.76 ^{1,3)}	177.91 ± 51.01 ^{2,3)}
PCGZT	16.1	50.16 ± 8.39 ^{1,3)}	0.44 ± 0.23 ^{1,4)}	5.38 ± 4.03 ^{1,4)}	244.50 ± 74.44 ³⁾
	32.2	28.26 ± 6.62 ⁴⁾	0.26 ± 0.16 ^{2,4)}	3.95 ± 2.08 ^{1,4)}	245.89 ± 59.74 ³⁾
	64.4	54.14 ± 9.55 ^{1,3)}	0.63 ± 0.23 ⁴⁾	4.00 ± 2.05 ^{1,4)}	267.74 ± 30.52 ⁴⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2,3 同)。

3.2 对 APP 转基因痴呆小鼠 Morris 水迷宫实验的影响 在给药 1 月时,与空白组和模型组比较,各药物组差异均无统计学意义。在给药 3 月时,与空白组比较,潜伏期脑复康组增加 ($P < 0.05$),PCGZT 大、小剂量组缩短 ($P < 0.05$),其他各组无差异;站台象限时间比率和站台象限路程比率,模型组和阳性药组均降低 ($P < 0.05$),PCGZT 各剂量组均无差异;与模型组比较,潜伏期脑复康组增加 ($P <$

0.05),PCGZT 大、小剂量组缩短 ($P < 0.05$),其他各组无差异;站台象限时间比率和站台象限路程比率,阳性药物组均无差异,PCGZT 各剂量组均升高 ($P < 0.05$)。在给药 5 月时,与空白组比较,潜伏期模型组显著增加 ($P < 0.01$),阳性药组除阿司匹林外均显著增加 ($P < 0.01$),PCGZT 中、大剂量组亦增加 ($P < 0.05$);站台象限时间比率和站台象限路程比率,模型组显著增加 ($P < 0.01$),阳性药组和 PCGZT

中、大剂量组均降低 ($P < 0.05$), PCGZT 小剂量组无差异。与模型组比较, 潜伏期阿司匹林组和 PCGZT 小剂量组显著降低 ($P < 0.01$), 其他各组均无差异; 站台象限路程比率阿司匹林组降低 ($P < 0.05$), PCGZT 小剂量组显著升高 ($P < 0.01$); 站台象限时间比率石杉碱甲片组降低 ($P < 0.05$), PCGZT 小剂量组显著升高 ($P < 0.01$)。见表 2~4。

表 2 PCGZT 对 AD 小鼠给药 1 月 Morris 水迷宫实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Results of PCGZT on AD mice in Morris water maze test after administration for 1 month ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	潜伏期 /s	站台象限 路程比率/%	站台象限 时间比率/%
空白	-	44.33 ± 20.37	26.74 ± 15.57	26.47 ± 13.37
模型	-	49.22 ± 14.97	29.51 ± 11.59	29.85 ± 9.78
阿司匹林	20.0	46.71 ± 19.13	28.26 ± 9.65	28.73 ± 8.60
脑复康	600.0	54.67 ± 12.48	28.97 ± 13.62	30.77 ± 12.10
石杉碱甲	0.3	53.29 ± 14.54	24.76 ± 12.90	26.13 ± 12.90
PCGZT	16.1	54.20 ± 8.84	28.13 ± 13.70	25.95 ± 11.87
	32.2	50.53 ± 17.39	29.03 ± 9.73	29.37 ± 7.95
	64.4	49.65 ± 14.45	28.48 ± 11.60	30.99 ± 10.17

表 3 PCGZT 对 AD 小鼠给药 3 月 Morris 水迷宫实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Results of PCGZT on AD mice in Morris water maze test after administration for 3 months ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	潜伏期 /s	站台象限 路程比率/%	站台象限 时间比率/%
空白	-	47.47 ± 16.56	16.91 ± 4.94	21.97 ± 5.62
模型	-	49.17 ± 16.13	11.70 ± 6.09 ¹⁾	15.27 ± 7.99 ¹⁾
阿司匹林	20.0	49.92 ± 14.70	10.30 ± 7.04 ¹⁾	14.52 ± 8.24 ¹⁾
脑复康	600.0	56.04 ± 11.49 ^{1,3)}	10.24 ± 4.21 ¹⁾	17.64 ± 8.17 ¹⁾
石杉碱甲	0.3	45.83 ± 18.20	11.43 ± 3.15 ¹⁾	14.29 ± 3.63 ¹⁾
PCGZT	16.1	40.04 ± 20.34 ^{1,3)}	15.46 ± 5.25 ²⁾	19.96 ± 6.76 ²⁾
	32.2	50.67 ± 17.04	18.26 ± 7.41 ²⁾	23.36 ± 14.87 ⁴⁾
	64.4	37.19 ± 19.02 ^{2,4)}	14.67 ± 4.77 ²⁾	19.80 ± 5.93 ²⁾

表 4 PCGZT 对 AD 小鼠给药 5 月 Morris 水迷宫实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Results of PCGZT on AD mice in Morris water maze test after administration for 5 months ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	潜伏期 /s	站台象限 路程比率/%	站台象限 时间比率/%
空白	-	43.71 ± 19.31	25.65 ± 6.34	31.50 ± 7.50
模型	-	52.05 ± 12.39 ²⁾	20.56 ± 5.29 ²⁾	22.36 ± 5.77 ²⁾
阿司匹林	20.0	43.22 ± 22.61 ⁴⁾	16.32 ± 4.79 ^{1,3)}	18.71 ± 5.48 ¹⁾
脑复康	600.0	52.60 ± 15.07 ²⁾	19.83 ± 11.44 ¹⁾	21.51 ± 10.09 ¹⁾
石杉碱甲	0.3	51.80 ± 16.63 ²⁾	20.10 ± 5.47 ¹⁾	13.73 ± 10.99 ^{1,3)}
PCGZT	16.1	44.49 ± 18.17 ⁴⁾	26.70 ± 6.26 ⁴⁾	28.76 ± 7.75 ⁴⁾
	32.2	49.84 ± 16.65 ¹⁾	20.03 ± 5.64 ¹⁾	22.77 ± 6.30 ¹⁾
	64.4	50.47 ± 16.62 ¹⁾	22.47 ± 5.49	23.78 ± 6.14 ¹⁾

3.3 小鼠血清中 MMP-2 和 MMP-9 及脑组织中 MDA 含量测定 与空白组比较, 模型组小鼠血清中 MMP-2 无影响, 血清中 MMP-9 和脑组织 MDA 含量显著升高 ($P < 0.01$); 各阳性药物组对小鼠血清中 MMP-2 含量无影响, 脑复康和石杉碱甲组升高血清中 MMP-9 含量 ($P < 0.05$), 脑复康组降低脑组织中 MDA 含量 ($P < 0.05$); PCGZT 各剂量组对小鼠血清中 MMP-2 含量无影响, 降低其 MMP-9 含量 ($P < 0.05$), 显著降低脑组织中 MDA 含量 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各阳性药物组对小鼠血清中 MMP-2 无影响, 阿司匹林组显著降低小鼠血清中 MMP-9 含量 ($P < 0.01$), 石杉碱甲组能降低脑组织 MDA 的含量 ($P < 0.05$), 阿司匹林和脑复康组则显著降低其含量 ($P < 0.01$); PCGZT 各剂量组对小鼠血清中 MMP-2 含量无影响, 大、小剂量组降低血清中 MMP-2 含量 ($P < 0.05$), 中剂量组可显著降低其含量 ($P < 0.01$), 各剂量组显著降低脑组织中 MDA 含量 ($P < 0.01$)。见表 5。

表 5 PCGZT 对 AD 小鼠血清中 MMP-2 和 MMP-9 及脑组织中 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effects of PCGZT on MDA content in MMP-2, MMP-9 and brain tissues in AD mice serum ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	MMP-2 /mg·L ⁻¹	MMP-9 /mg·L ⁻¹	MDA /U·mg ⁻¹
空白	-	3.79 ± 1.13	889.54 ± 221.91	110.05 ± 31.48
模型	-	4.06 ± 1.22	1 213.04 ± 238.29 ²⁾	137.87 ± 21.40 ²⁾
阿司匹林	20.0	3.66 ± 0.79	699.59 ± 154.80 ⁴⁾	109.49 ± 37.81 ⁴⁾
脑复康	600.0	4.32 ± 0.87	1 482.68 ± 294.25 ²⁾	99.40 ± 26.34 ^{1,4)}
石杉碱甲	0.3	4.14 ± 0.45	1 152.16 ± 230.77 ¹⁾	124.67 ± 38.99 ^{1,3)}
PCGZT	16.1	3.89 ± 1.50	838.11 ± 202.58 ³⁾	90.09 ± 14.87 ^{2,4)}
	32.2	3.92 ± 0.94	624.84 ± 119.70 ^{1,4)}	96.52 ± 16.13 ^{2,4)}
	64.4	3.94 ± 2.04	993.38 ± 141.44 ³⁾	92.84 ± 21.65 ^{2,4)}

4 讨论

AD 的病因复杂, $\alpha\beta$ 被认为是 AD 的核心致病物质, 在疾病病理的发展过程中, 与 tau 蛋白过度磷酸化、炎症反应、氧化应激等其他多个继发病理过程相互促进, 并恶性循环, 由此产生多种病机学说, 如 Tau 蛋白过度磷酸化学说、氧化应激学说、神经炎症学说、金属离子代谢紊乱学说、神经递质耗竭学说和能量代谢障碍学说等^[1,9-10]。

目前治疗阿尔茨海默病的药物寥寥数种, 且这些药物主要是通过增强中枢神经系统的调节活动、减轻各种症状、延缓痴呆等途径发挥治疗作用^[11]。除了胆碱酯酶抑制剂外, 肠溶阿司匹林通过抑制小胶质炎症反应的作用, 干预 AD 血管性危险因素而延缓 AD 的病情发展^[12]; 脑复康促进大脑对氨基酸

和磷脂的充分利用,增强大脑的合成蛋白,修复脑组织缺氧造成的脑受损,改善记忆功能退化和记忆思维障碍^[13]。石杉碱甲通过对神经递质(Ach, NA, DA等)水平的调节和对神经细胞保护而发挥抗凋亡、抗氧化、减轻谷氨酸介导的兴奋性细胞毒性和缺氧性脑损伤等作用^[14]。

Morris 水迷宫实验是检测动物行为学改变的经典方法之一,主要反映空间辨别性学习记忆能力,定位航行实验反映的是学习和记忆能力,空间探索实验反映的是记忆保持能力^[15]。跳台实验测定动物被动回避危险的能力,可反映动物的学习记忆能力^[16]。MDA 是反映机体脂质过氧化的主要标志物,其大量生产易致神经细胞的死亡和缺失,促使脑学习和记忆障碍发生发展。MMP-2 和 MMP-9 是 MMPs 家族中 2 个与 AD 病情进展、严重程度可能相关的 2 个主要成员,受到组织蛋白酶、弹性蛋白酶、超氧阴离子等活化后易造成细胞外基质、髓鞘碱性蛋白降解,导致血脑屏障的破坏及功能的缺失,加重中枢神经系统的神经元凋亡,引起白质损伤,其外周血 MMP-2 和 MMP-9 水平增高可能与脑组织 MMP-2 及 MMP-9 水平增高有关^[17]。

本研究采用国际最为认可的 APP 转基因小鼠 AD 动物模型^[18],观察 PCGZT 组对 AD 小鼠学习记忆能力的改变,选用多个阳性药物对其可能相关的作用机制进行探讨,实验数据表明,PCGZT 对 APP 转基因 AD 小鼠的描述性学习记忆能力具有明显改善,其治疗效应优于各阳性药(石杉碱甲、脑复康和阿司匹林),也可增强痴呆小鼠空间记忆及空间辨别能力,但无剂量依赖性;同时,PCGZT 可以降低 AD 小鼠脑 MDA 含量和血清中 MMP-9 含量,对 MMP-2 含量无影响。寻找 AD 新的治疗靶点和行之有效的药物至关重要,并基于其病因复杂性疾和病理现象的多元化,“一药多靶”的抗 AD 药物设计理念也越来越受到医药学家的关注^[19],而 PCGZT 对 APP 转基因 AD 小鼠学习记忆障碍的改善以及与不同作用机制的阳性药物(阿司匹林、脑复康和石杉碱甲)比较体现出来的综合效应,符合“一药多靶”的抗 AD 药物设计理念,可以作为一种新的药物实体,其具体作用机制有待进一步实验研究阐明。

【参考文献】

[1] 王延江,卜先乐. 阿尔茨海默病的防治研究进展[J]. 第三军医大学学报,2014,36(21):2153-2157.
[2] 段磊,司继刚,刘萍. 阿尔茨海默病药物治疗研究进展[J]. 河北医药,2015,37(7):1077-1079.

[3] 李梦秋,张文武,陈涛,等. 阿尔茨海默病药物治疗临床证据评价[J]. 中国现代神经疾病杂志,2014,14(3):192-197.
[4] 纪勇. 阿尔茨海默病 200 年[J]. 中国现代神经疾病杂志,2014,14(3):156-160.
[5] 李林,张兰. 中药治疗阿尔茨海默病的作用特点[J]. 生物化学与生物物理进展,2012,39(8):816-828.
[6] 宗鑫,季旭明,魏风琴,等. 基于中医传承辅助系统的治疗老年痴呆组方规律分析[J]. 中国中药杂志,2014,39(4):640-643.
[7] 张畅斌,李沧海,隋峰,等. 桂枝汤苯丙烯类化合物对环氧合酶-2 及前列腺素抑制的作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):158-161.
[8] 姜廷良. 桂枝汤现代研究与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:136,149,179.
[9] 董贤慧,柴锡庆. 阿尔茨海默病发病机制研究进展[J]. 中国老年学杂志,2014,34(20):5906-5911.
[10] 刘红彬,武海霞. 阿尔茨海默病发病机制和动物模型研究进展[J]. 神经药理学,2013,3(4):14-22.
[11] 何颖,王超,王德才. 阿尔茨海默病的非治疗药物及新靶点研究进展[J]. 中国医药导报,2014,11(6):162-166.
[12] 周伯荣,许治强,匡永峰,等. 肠溶阿司匹林可能延缓阿尔茨海默病进展的疗效研究[J]. 中国临床康复,2004,8(16):3020-3021.
[13] 贾小寒. 奥氮平联合吡拉西坦片治疗老年阿尔茨海默病的疗效及其对记忆力的影响[J]. 医学综述,2016,22(1):205-208.
[14] 郭微,麦俊华,孙文强,等. 中药有效成分石杉碱甲的多靶点作用研究进展[J]. 中国医药生物技术,2008,3(5):385-388.
[15] 周妍妍,董春雪,刘艳丽,等. 地黄饮子对双转基因痴呆小鼠学习记忆及抗氧化能力的影响[J]. 上海中医药杂志,2014,48(2):80-84.
[16] 许湘,石和元,孔明望,等. 补肾化痰益智法对 APP/PS 1 双转基因小鼠学习记忆及抗氧化能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(8):102-105.
[17] 郭晓红,卢宏,牛瑞娜,等. 阿尔茨海默病患者血清金属蛋白酶 2 和 9 水平的测定[J]. 郑州大学学报:医学版,2014,49(1):137-139.
[18] 杨翠翠,李林,张兰. 常用阿尔茨海默病动物模型制备方法及其评价[J]. 成都医学院学报,2013,8(4):374-379.
[19] 杨文超,孙琦,喻宁熙. 治疗阿尔茨海默病的乙酰胆碱酯酶抑制剂的分子设计:从多位点抑制剂到一药多靶[J]. 药学学报,2012,47(3):313-321.

【责任编辑 邹晓翠】