

固本健脑方调节健忘大鼠海马组织中 AGEs/RAGE 信号通路的探讨

姜瑞雪, 黄密, 马作峰*, 李庆琳, 孙晓利
(湖北中医药大学基础医学院, 武汉 430065)

[摘要] **目的:** 基于晚期糖基化终末产物 (AGEs)/高级糖基化终产物受体 (RAGE) 信号通路, 探讨固本健脑方对老年健忘大鼠海马脑区神经炎症反应的调控作用。**方法:** 腹腔注射 *D*-半乳糖 ($120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 及 NaNO_2 ($90 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 建立老年健忘大鼠模型, 分别 *ig* 固本健脑方 ($16.7 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 归脾丸 ($16.3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 六味地黄丸 ($12.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和石杉碱甲 ($100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 并设正常组和模型组, *ig* 等体积生理盐水。给药共 20 d 后, 取海马组织, 采用免疫组化法检测 AGEs 蛋白的表达, 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 检测 RAGE 及核转录因子- κB p65 (NF- κB p65) 蛋白的表达, 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测白细胞介素-1 β (IL-1 β), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的含量。**结果:** 与正常组比较, 模型组大鼠海马组织 AGEs 蛋白, RAGE 及 NF- κB p65 蛋白的表达, IL-1 β 及 TNF- α 含量均明显上调 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组明显下调大鼠海马组织 AGEs 蛋白, RAGE 及 NF- κB p65 蛋白的表达, IL-1 β 及 TNF- α 含量 ($P < 0.01$); 与固本健脑方组比较, 其余给药组上述指标的表达上调 ($P < 0.05$); 归脾丸组、六味地黄丸组、石杉碱甲组组间比较, 差异无统计学意义。**结论:** 上述方药均能在一定程度上改善老年健忘大鼠的记忆功能, 但固本健脑方作用最佳, 其分子机制与 AGEs/RAGE 信号通路密切相关。

[关键词] 固本健脑方; 健忘大鼠; 海马组织; 糖基化终末产物/高级糖化终产物受体信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)01-0153-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017010153

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161027.1511.046.html>

[网络出版时间] 2016-10-27 15:11

Guben Jiannao Prescription Regulates AGEs/RAGE Signaling Pathway in Hippocampus of Forgetful Aged Rats

JIANG Rui-xue, HUANG Mi, MA Zuo-feng*, LI Qing-lin, SUN Xiao-li
(College of Basic Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the regulating effect of Guben Jiannao prescription on neuro-inflammatory reaction in hippocampus of the forgetful aged rats based on advanced glycosylation and products (AGEs) /advanced glycosylation end products receptor (RAGE) signal pathway. **Method:** Intra-peritoneal injection of *D*-galactose and NaNO_2 was used to establish the forgetful models in aged rats. Then they were treated with Guben Jiannao prescription ($16.7 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), Guipiwan ($16.3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), Liuwei Dihuangwan ($12.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and huperzine A ($100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) respectively by *ig* administration. The rats in normal group and model group received the same volume of normal saline. After treatment for 20 days, hippocampus tissues were taken from all groups. The protein expression of AGEs was detected by immunohistochemistry. RAGE and nuclear factor- κB p65 (NF- κB p65) protein expression levels were detected by Western blot. The contents of interleukin-1 β (IL-1 β) and

[收稿日期] 20151128(001)

[基金项目] 湖北省卫生厅 2012 年度中医药中西医结合科研重点项目 (2012Z-Z02); 湖北省自然科学基金项目 (2013CFC109, 2014CFB454); 湖北中医药大学大学生创新基金项目 (2015)

[第一作者] 姜瑞雪, 博士, 副教授, 从事中医病证规范化及老年病防治研究, Tel:18827653258, E-mail:349313205@qq.com

[通讯作者] * 马作峰, 博士, 教授, 从事藏象学说、中医病因病机理论及其应用研究, Tel:18986168751, E-mail: 845032365@qq.com

tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by ELISA. **Result:** As compared with the normal group, the levels of all above indices were enhanced significantly in model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). As compared with the model group, the levels of all above indices were significantly decreased in various treatment groups ($P < 0.01$). As compared with Guben Jiannao prescription, the levels of all above indices were up-regulated in other treatment groups ($P < 0.05$); there was no statistical significance in the levels of all above indices between Guipi Wan group, Liuwei Dihuang Wan group and huperzine A group. **Conclusion:** All of the above Chinese herbal compound prescriptions can improve memory function of forgetful aged rats to a certain degree, but the effect of Guben Jiannao Prescription is best. Its molecular mechanism is closely related to AGEs/RAGE signaling pathway.

[Key words] Guben Jiannao prescription; forgetful model in aged rats; hippocampus; AGEs/RAGE signaling pathway

老年健忘是一个病变涉及多个脏腑,又与气血痰浊密切相关的复杂病症,其中心环节是脾肾二脏的亏损。纠正了脾肾亏虚,就解决了老年健忘病变的关键,据此课题组提出了固本健脑治法,并用孙思邈五补丸加减形成了固本健脑方。临床运用该方药健脑益智已有近 20 年的历史,证实其确有良好的功效,其分子机制与调节动物脑内单胺类神经递质及乙酰胆碱酯酶的代谢^[1],影响海马脑区 c-fos 基因, NR2A 基因表达等有关^[2-3],但其具体作用途径,作用环节、作用靶点尚未完全明确。为了深入研究固本健脑方改善记忆的具体分子机制,为固本健脑方的成药开发奠定实验基础。本实验拟将固本健忘方(固本健脑)、归脾丸(补脾健脑)、六味地黄丸(补肾健脑)等置同一观察系统,研究上述方药对老年健忘大鼠海马组织中晚期糖基化终末产物(AGEs)/高级糖基化终产物受体(RAGE)信号通路介导的神经炎症反应的影响。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,3 月龄,体重 160 ~ 180 g,湖北省实验动物研究中心提供,合格证号 SCXK(鄂)2015-0018。饲养于 SPF 级动物房,屏蔽环境内空气高效过滤,温度 22 ~ 24 °C,湿度 60% ~ 80%,光照 12 h/12 h 明暗交替,动物饲料、垫料使用紫外线照射消毒,饮用水为三蒸水。

1.2 药物及试剂 固本健脑方(党参、茯苓、枸杞子、何首乌、山楂、川芎、石菖蒲、远志等),归脾丸(党参、白术、黄芪、炙甘草、茯苓、远志、酸枣仁、龙眼肉、当归、木香、大枣),六味地黄丸(熟地黄、山茱萸、山药、泽泻、牡丹皮、茯苓)所需饮片均购自湖北中医药大学国医堂,由湖北中医药大学附属医院制剂室加工浓缩为含生药质量浓度分别为 1.67, 1.63, 1.25 g·mL⁻¹的水煎液。石杉碱甲(上海复旦复华药业,国药准字 H10960133)使用生理盐水配成

10 mg·L⁻¹的混悬液。4 种药液均 0 ~ 4 °C 保存,备用。*D*-半乳糖(美国 Sigma 公司,批号 20150109), NaNO₂(湖北百奥斯生物科技有限公司,批号 20141201),小鼠 β -肌动蛋白(β -actin)抗体、山羊抗兔及山羊抗小鼠 IgG/HRP(天津三箭,批号分别为 KM9001, LK2001, LK2003);反应增强液,酶标羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物(中杉金桥公司,批号分别为 PV-9000, PV-9000);兔 p65, RAGE 抗体(美国 PTC 公司,批号分别为 10745, 16346);兔抗山羊 IgG/HRP(美国 Earthox 公司,批号 E030130),大鼠 AGEs 检测试剂盒(北京博奥森公司,批号 bs-1158R);白细胞介素-1 β (IL-1 β),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(武汉博士德,批号分别为 EK0393, EK0526)。

1.3 仪器 大鼠跳台仪(淮北正华生物仪器设备有限公司),Morris 水迷宫(中国医学科学院药物研究所),DYZC-24DN 型迷你电泳槽(北京六一仪器),TGL18M 型离心机(湖南凯达科学仪器有限公司),RT-6100 型酶标仪(深圳雷杜公司),BMJ-A 型生物组织石蜡包埋机(常州中威公司),HD-325 型组织切片机(湖北慧达仪器有限公司),BA310 型显微镜及病理图像成像系统(德国 Motic 公司)。

2 方法

2.1 老年健忘大鼠模型的建立及药物干预 大鼠适应性饲养 7 d 后,用跳台法筛选学习记忆能力相似者,随机分为正常组 15 只、造模组 75 只。参考文献[2]稍加改进建立老年健忘大鼠模型,造模组大鼠 *ip* *D*-半乳糖 120 mg·kg⁻¹(生理盐水配制),NaNO₂ 90 mg·kg⁻¹(三蒸水配制),正常组注射等体积的生理盐水,每天 1 次。连续 40 d 后,用跳台法、水迷宫检测二者的学习记忆能力,结果正常组学习记忆成绩明显优于造模组,提示造模成功。将模型大鼠 70 只随机分为固本健脑方组(16.7 g·kg⁻¹),

归脾丸组 ($16.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 六味地黄丸组 ($12.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 石杉碱甲组 ($100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 模型组 (等体积生理盐水), 每组 14 只。每组每天 *ig* 1 次, 共 20 d。用药结束后, 使用跳台法及 Morris 水迷宫检测其学习记忆能力, 结果表明, 各给药组大鼠的学习记忆能力都在一定程度上得到了改善, 但固本健脑方组疗效最佳, 归脾丸组、六味地黄丸组、石杉碱甲组次之 (相关结果已另文发表)。

2.2 取材方法 行为学检测结束后, 禁食不禁水 12 h, 每组 1~9 号动物断头处死后迅速于冰块上打开颅腔, 取出全脑放在垫有冰盘的滤纸上, 用生理盐水将脑上的血液冲洗干净。用刀片沿大脑半球后端与小脑之间的横裂切掉小脑, 沿大脑纵裂切开, 使大脑 2 个半球分开, 小心剥取大脑皮层, 暴露出海马, 将海马剥离后, 用生理盐水冲洗干净, 放入准备好的 5 mL 塑料离心管中, $-85 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 用于蛋白质免疫印迹 (Western blot), 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 的检测。正常组 10~15 号及其余各组的 10~14 号动物给予 10% 水合氯醛腹腔麻醉, 经心脏灌注处死, 迅速取海马组织, 放入 4% 多聚甲醛 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜后换成 30% 蔗糖溶液置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱 3 d, 石蜡包埋切片, 用于免疫组化检测。

2.3 免疫组化法检测 AGEs 的相对表达量 石蜡切片常规脱蜡至水, 3% 双氧水阻断内源性过氧化物酶室温 20 min, PBS 冲洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次。修复 2 min (高温高压), PBS 冲洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次。10% 山羊血清孵育 20 min。滴加一抗工作液 (浓度为 1:100), $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜。次日复温 15 min, PBS 冲洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次。滴加 50 μL 反应增强液, 室温孵育 20 min, PBS 冲洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次。甩去 PBS, 滴加 50 μL 酶标羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物, 室温孵育 30 min, PBS 冲洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次。滴加 50 μL 新鲜配置的 DAB 镜下观察。自来水冲洗, 苏木素复染 2 min, 自来水冲洗。盐酸酒精分化 1~2 s, 自来水冲洗, 温水返蓝。放置梯度乙醇脱水干燥, 二甲苯透明, 中性树胶封片镜检。半定量分析技术检测 AGEs 的相对含量, 将程序系统的灰度单位转换成吸光度 *A* 单位, 图像中呈黄褐色的区域为 AOI 进行 *A* 测定分析。测量面积、平均 *A* 和积分吸光度 *IA* 参考值。

2.4 Western blot 检测 RAGE, NF- κ B p65 的表达 剪取海马组织 50 mg, 置于组织匀浆器中, 加入总蛋白提取液, 匀浆 15 min 至组织充分破碎, 置冰上 10~15 min, 再次匀浆 15 min。 $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $9\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存, BCA 法测定蛋

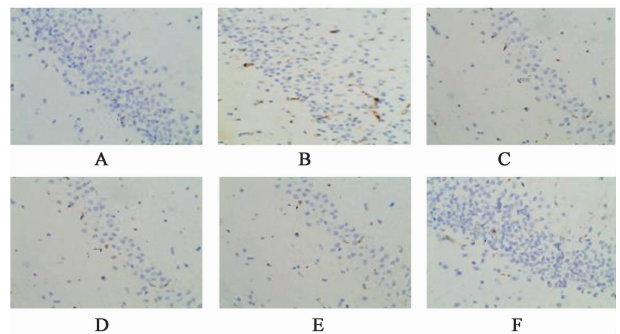
白浓度。经 10% SDS-PAGE 电泳后, 湿法转移电泳产物 (恒流 280 mA 转移 90 min)。在 5% 的脱脂奶粉 (TBST 配制) 中 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 封闭 1 h 后, TBST 漂洗 2 次。孵育一抗 ($4 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜), 弃一抗, 2~3 mL TBST 摇床洗涤 $5 \text{ min} \times 4$ 次。加二抗, 孵育 1 h, 弃二抗, 同法洗涤 4 次。ECL 发光液孵育 1 min 后曝光。用 Quantity One 4.62 版凝胶光密度分析软件分析阳性条带, 目标条带的灰度值与 β -actin 灰度值的比值为样本蛋白的相对表达水平。

2.5 ELISA 检测 IL-1 β , TNF- α 的含量 取海马组织 100 mg, 加入预冷的 1 mL PBS 中, 用匀浆器充分匀浆, $2\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清即组织匀浆液, 参考试剂盒说明书检测 $\text{A}\beta_{1-42}$, IL-1 β 的含量。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析, 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 先用 Shapiro-Wilk 法对各组实验数据行正态性检验, 再用 Levene 法行方差齐性检验。若符合正态分布和方差齐性, 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 对海马组织中 AGEs 表达的影响 与正常组比较, 模型组 AGEs 的表达明显上调 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 各给药组 AGEs 的表达显著下调 ($P < 0.01$); 与固本健脑方组比较, 其余给药组 AGEs 的表达明显上调 ($P < 0.05$); 石杉碱甲组、归脾丸组、六味地黄丸组组间比较, 差异无统计学意义。见图 1, 表 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 石杉碱甲组; D. 归脾丸组; E. 六味地黄丸组; F. 固本健脑方组 (图 2 同)

图 1 各组大鼠海马组织中 AGEs 的表达 (免疫组化, $\times 200$)

Fig. 1 Expression of AGEs in rats' hippocampus of each group (IHC, $\times 200$)

3.2 对大鼠海马组织中 RAGE, NF- κ Bp65 蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组 RAGE, NF- κ Bp65 的表达上调 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 各给药组 RAGE, NF- κ Bp65 的表达下调 ($P < 0.01$); 与固本健脑方组比较, 其余给药组 RAGE, NF- κ Bp65 的表达

表 1 固本健脑方对大鼠海马组织中 AGEs 蛋白 IA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Guben Jiannao prescription on expression of AGEs protein IA in rats' hippocampus ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	AGEs
空白	6	-	137.91 ± 36.91
模型	5	-	1 177.07 ± 97.66 ¹⁾
石杉碱甲	5	0.000 01	605.64 ± 90.80 ^{2,3)}
归脾丸	5	16.3	556.43 ± 82.10 ^{2,3)}
六味地黄丸	5	12.5	612.52 ± 94.47 ^{2,3)}
固本健脑方	5	16.7	297.02 ± 75.44 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$;与固本健脑方组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

上调 ($P < 0.05$);石杉碱甲组、归脾丸组、六味地黄丸组组间比较,差异无统计学意义。见图 2,表 2。

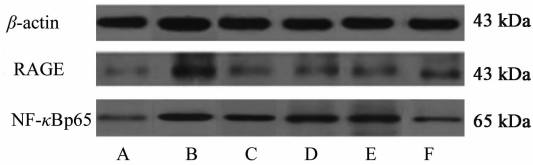


图 2 固本健脑方对大鼠海马组织中 RAGE, NF-κBp65 表达的影响
Fig. 2 Effect of Guben Jiannao prescription on expression of RAGE and NF-κBp65 in rats' hippocampus

表 2 固本健脑方对大鼠海马组织中 RAGE, NF-κBp65 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Guben Jiannao prescription on expression of RAGE and NF-κBp65 in rats' hippocampus ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	RAGE	NF-κB p65
		/β-actin	/β-actin
空白	-	0.121 ± 0.008	0.325 ± 0.019
模型	-	0.794 ± 0.033 ¹⁾	0.840 ± 0.032 ¹⁾
石杉碱甲	0.000 01	0.249 ± 0.015 ^{2,3)}	0.644 ± 0.018 ^{2,3)}
归脾丸	16.3	0.238 ± 0.015 ^{2,3)}	0.669 ± 0.016 ^{2,3)}
六味地黄丸	12.5	0.222 ± 0.017 ^{2,3)}	0.664 ± 0.019 ^{2,3)}
固本健脑方	16.7	0.171 ± 0.027 ²⁾	0.458 ± 0.015 ²⁾

3.3 对大鼠海马组织中 IL-1β, TNF-α 含量的影响

与正常组比较,模型组 IL-1β, TNF-α 的表达上调 ($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,各给药组 IL-1β, TNF-α 的表达下调 ($P < 0.01$),与固本组比较,其余给药组 IL-1β, TNF-α 的表达上调 ($P < 0.05$),石杉碱甲组、归脾丸组、六味地黄丸组组间比较,差异无统计学意义。见表 3。

4 讨论

老年性记忆功能障碍的发生与淀粉样蛋白沉积、微管相关蛋白 tau 异常、基因突变、兴奋性氨基酸神经毒性、胆碱能神经元损伤、神经炎症反应、自由基损伤等有关^[4]。Aβ 淀粉样蛋白假说和 tau 蛋白假说作为轻度认知功能障碍 (mild cognitive

表 3 固本健脑方对大鼠海马组织中 IL-1β, TNF-α 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Guben Jiannao prescription on contents of IL-1β and TNF-α in rats' hippocampus ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	μg·L ⁻¹	
		IL-1β	TNF-α
空白	-	2.059 ± 0.433	0.639 ± 0.104
模型	-	4.823 ± 0.675 ¹⁾	1.716 ± 0.210 ²⁾
石杉碱甲	0.000 01	3.668 ± 0.552 ^{3,4)}	1.274 ± 0.190 ^{3,4)}
归脾丸	16.3	3.923 ± 0.681 ^{3,4)}	1.190 ± 0.210 ^{3,4)}
六味地黄丸	12.5	3.489 ± 0.385 ^{3,4)}	1.117 ± 0.102 ^{3,4)}
固本健脑方	16.7	2.880 ± 0.523 ³⁾	0.939 ± 0.201 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.01$;与固本组比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

impairment, MCI), 老年性痴呆 (Alzheimer disease, AD) 等老年性记忆功能障碍发生发展机制已被广大学者多次验证,但这 2 种假说并不能完全解释其所有病症^[5]。如应用免疫疗法降低 AD 患者大脑中的 Aβ 水平,并不能显著改善其认知及记忆能力^[6];在 Aβ 和 tau 蛋白高表达的 AD 动物模型脑组织中,也未发现明显的神经退行性改变^[7]。在 AD 病人脑中观察到炎症可作为一种病理因子引起小胶质细胞 (MG) 的高度活化,还可以作为反馈因子引起白介素高表达^[8];AD 早期阶段的脑组织中也有高表达的炎症因子^[9]。因此,炎症作为损伤因子在老年健忘的发病机制中所发挥的作用不容小视,探索老年健忘病理过程中机体调控细胞信号转导产生高水平炎症因子的具体过程,可为深入研究老年健忘的病理机制及其防治靶点提供新思路。

RAGE 是细胞表面分子的免疫球蛋白超家族成员之一^[10],RAGE 在炎症反应中起促炎性介质的作用^[11]。AGEs 是 RAGE 的重要配体,AGEs 可直接或通过作用其受体 RAGE 激活 MG,诱导其释放 IL-1β 和 TNF-α,介导免疫炎症反应^[12]。IL-1β, TNF-α 在神经损伤中起重要作用^[13]。IL-1β 既可上调 MG 或星形胶质细胞表达其他细胞因子,还可使一氧化氮、补体、前列腺素、β-淀粉样前体蛋白、氧自由基等的生成增加^[14-15],引起局部或广泛的中枢神经系统损伤,最终导致 MCI,AD 等老年性记忆功能障碍疾病的发生^[16]。正常人体大脑内仅神经元产生低水平的 TNF-α,AD 患者外周血中 TNF-α 明显升高,提示高水平的 TNF-α 可能与老年健忘有关^[17]。AGEs 还可活化 RAGE 受体,激活 ROS 相关的转录因子 NF-κB 等,进而引发氧化应激和炎症反应,导致 IL-1β, TNF-α 等炎症因子高表达,损害大脑皮质神经元和海马的结构及功能^[18-20],导致动物的学习记忆功能减退。

本研究中,与正常组比较,模型组大鼠海马组织中 AGEs, RAGE, NF- κ Bp65, IL-1 β , TNF- α 等的含量均增加,说明腹腔注射 D-半乳糖及 NaNO₂ 可以上调老年大鼠海马组织中与 AGEs/RAGE 信号通路相关的炎症因子的表达,促使海马脑区形成慢性炎症反应,破坏其结构和功能,损坏其学习记忆能力。与模型组比较,各给药组海马组织中上述指标的表达都下调,提示 4 种疗法都可以在一定程度上抑制老年健忘大鼠海马组织中炎症因子的释放,从而减轻海马脑区的炎症反应,改善其学习记忆功能。与固本健脑方组比较,其余给药组海马组织中上述指标的含量均较高,石衫碱甲组、归脾丸组、六味地黄丸组间两两比较,差异无统计学意义,表明固本健脑方疗效最佳,石衫碱甲、归脾丸、六味地黄丸次之。

综上所述,老年健忘与 AGEs/RAGE 信号通路上调炎症信号转导过程(激活 NF- κ Bp65),释放大炎症因子(IL-1 β , TNF- α 等),导致海马脑区炎症反应有关。固本健脑方、归脾丸、六味地黄丸都可以在一定程度上改善老年健忘大鼠的学习记忆功能,但不能完全逆转,且固本健脑方疗效最佳。固本健脑方改善老年健忘大鼠学习记忆功能的分子机制与在某些环节上切断 AGEs/RAGE 信号通路,阻滞海马脑区炎症反应的进程,减轻海马神经元损伤有关。但其具体作用环节,作用靶点有待笔者进一步研究。

[参考文献]

[1] 马作峰,王平,姜瑞雪,等. 固本健脑方对记忆障碍动物模型脑内神经递质的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(9): 1200-1201.

[2] 马作峰,张六通,姜瑞雪,等. 固本健脑方对老年健忘模型动物海马脑区 c-fos 基因表达的影响[J]. 中医药学报, 2009, 37(6): 18-20.

[3] 马作峰,张六通,姜瑞雪,等. 固本健脑方对老年健忘模型动物海马脑区 NR2A 基因表达的影响[J]. 光明中医, 2011, 37(1): 28-30.

[4] 周良佳,马菲. 老年轻度认知功能障碍影响因素的研究进展[J]. 现代预防医学, 2013, 4(2): 306-311.

[5] 赵东岳,陈金锋,陈骥. 阿尔茨海默病与炎症调控[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2015, 31(7): 689-693.

[7] Aizenstein H J, Nebes R D, Saxton J A, et al. Frequent amyloid deposition without significant cognitive impairment among the elderly[J]. Arch Neurol, 2008, 65(11): 1509-1517.

[6] Johnston H, Boutin H, Allan S. Assessing the contribution of inflammation in models of Alzheimer's disease [J]. Biochem Soc Trans, 2011, 39(4):

886-890.

[8] Thomas T, Nadackal T G, Thomas K. Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs inhibit amyloid- β aggregation[J]. Neuroreport, 2001, 12(15): 3263-3267.

[9] Sudduth T L, Schmitt F A, Nelson P T, et al. Neuroinflammatory phenotype in early Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging, 2013, 34(4): 1051-1059.

[10] 李丰衣,李福荣,张继国,等. 活络育阴方对糖尿病性脑梗死大鼠脑组织高级糖基化终产物受体表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 50-53.

[11] Win M T, Yamamoto Y, Munesue S, et al. Regulation of RAGE for attenuating progression of diabetic vascular complications [J]. Exp Diabetes Res, 2012, 2012(1): 894605.

[12] 王美霞,刘雪平,徐松,等. 糖基化终产物对小胶质细胞分泌 IL-1 β 和 TNF- α 的影响[J]. 山东大学学报: 医学版, 2011, 49(2): 34-38.

[13] 李晓莉,卢志刚,陈梅,等. 虎杖提取物对实验性脑梗死大鼠脑组织炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 226-228.

[14] Akiyama H. Inflammatory response in Alzheimer's disease [J]. Tokoku J Exp Med, 1994, 174(3): 295-303.

[15] Prasad K N, La Rosa F G, Prasad J E. Prostaglandins act as neurotoxin for differentiated Neuroblastoma cells in culture and increase levels of ubiquitin and beta-amyloid [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 1998, 34(3): 265-274.

[16] 王茜,程雪娇,李娜,等. 白藜芦醇对阿尔茨海默病大鼠海马组织中 小胶质细胞及白细胞介素-1 β 表达抑制作用的实验研究[J]. 中国预防医学杂志, 2015, 16(8): 581-585.

[17] Mhatre M, Floyd R A, Hensley K. Oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis: common links and potential therapeutic targets[J]. J Alzheimer's Dis, 2004, 6(2): 147-157.

[18] Timaru-Kast R, Luh C, Gotthardt P, et al. Influence of age on brain edema formation, secondary brain damage and inflammatory response after brain trauma in mice [J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43829.

[19] Coker L H, Wagenknecht L E. Advanced glycation end products, diabetes, and the brain[J]. Neurology, 2011, 77(14): 1326-1327.

[20] Salminen A, Ojala J, Kauppinen A, et al. Inflammation in Alzheimer's disease: amyloid-beta oligomers trigger innate immunity defence via pattern recognition receptors [J]. Prog Neurobiol, 2009, 87(3): 181-194.

[责任编辑 周冰冰]