

范军朝,宋俊杰,陈勇. 酸枣仁皂苷缓解阿尔茨海默病模型小鼠的机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(9): 32-37.
Fan JC, Song JJ, Chen Y. *Polygonum perfoliatum* L. extract mechanisms in relieving an Alzheimer's disease model in mice [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(9): 32-37.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.09.006

酸枣仁皂苷缓解阿尔茨海默病模型小鼠的机制研究

范军朝,宋俊杰*,陈勇

(河南大学第一附属医院麻醉科,河南 开封 475001)

【摘要】 目的 探讨酸枣仁皂苷(ZSS)缓解七氟烷麻醉9月龄APP/PS1/tau三转基因阿尔茨海默病模型小鼠的机制研究。**方法** 选取9月龄雄性APPSwe/PS1M146 V/tauP301 L 3xTg-AD 3xTg-AD小鼠和其背景C57BL/6J小鼠,按照随机分配原则,分为四组,每组12只,分别为:野生对照组Con(生理盐水)、三转模型对照组Model Con(生理盐水)、三转模型麻醉组Group 1(生理盐水+七氟烷)、三转模型给药组Group 2(生理盐水+七氟烷+ZSS)。所有小鼠,经侧脑室分别注射等容生理盐水或0.1 μg/4 μL的酸枣仁皂苷,连续10 d。对照组小鼠吸入2 h氧,麻醉组和给药组吸入2 h七氟烷。麻醉结束后24 h,每组取6只小鼠应用Morris水迷宫检测小鼠的空间学习及其记忆能力。其它小鼠通过断头方式取新鲜的海马组织,制备成匀浆,通过蛋白印迹法(Western blot)检测b淀粉样肽(Aβ)聚集(Aβ、Aβ1-40、Aβ1-42)情况,同时还检测了Tau蛋白磷酸化及其位点(丝氨酸396、丝氨酸262、苏氨酸231)的磷酸化水平变化情况,并通过Real-time PCR技术检测了线粒体凋亡信号通路基因,包括B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、Bcl-2相关的X蛋白(Bax)和胱天蛋白酶(Caspase-3)表达的变化情况。**结果** Morris水迷宫实验显示,七氟烷对小鼠学习记忆能力没有影响,但是对小鼠会产生潜在的神经毒性;酸枣仁皂苷能降低三转模型小鼠中Aβ聚集和Tau蛋白磷酸化;与三转模型麻醉组相比,三转模型给药组中Bcl-2表达减少,Bax和Caspase-3表达增强。**结论** 酸枣仁皂苷能缓解七氟烷麻醉活化线粒体相关的凋亡信号通路,减少Aβ聚集,降低Tau蛋白磷酸化,抑制小鼠海马神经元的凋亡。

【关键词】 酸枣仁皂苷;七氟烷;阿尔茨海默病;神经元;信号通路

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】**1671-7856(2020) 09-0032-06

Polygonum perfoliatum L. extract mechanisms in relieving an Alzheimer's disease model in mice

FAN Junchao, SONG Junjie*, CHEN Yong

(the First Affiliated Hospital of Henan University, Kaifeng 475001, China)

【Abstract】 Objective We investigated mechanisms associated with *Polygonum perfoliatum* L. extract in relieving a 9-month-old APP/PS1/tau three-transgenic Alzheimer's disease model in mice. **Methods** Male APPSwe/PS1M146 V/tauP301 L 3xTg-AD 3xTg-AD mice and their background C57BL/6J mice were randomly divided into four groups, with 12 mice in eachper group, respectively: a control group (normal saline), a three-turn model control group (normal saline), a three-turn model anesthesia group (normal saline + sevoflurane), and a three-turn model administration group (normal saline + sevoflurane + *Polygonum perfoliatum* L. extract). All mice were injected with isovolumic saline or 0.1 μg/4 μL of *Polygonum perfoliatum* L. extract through the lateral ventricle for 10 consecutive days. The control group inhaled two hours of

[基金项目] 河南省教育厅科学技术研究重点项目(16B320002);河南省教育厅科学技术研究重点项目(19A320021)。
[作者简介] 范军朝(1980—),男,汉族,硕士,副主任医师,研究方向:麻醉与脏器保护。E-mail:JUNCFAN@126.com
[通信作者] 宋俊杰(1986—),女,汉族,硕士,主治医师,研究方向:麻醉与器官功能保护,围术期疼痛。E-mail:songj506@163.com

oxygen, and the anesthetized group and the administration group inhaled two hours of sevoflurane. At 24 hours after the end of anesthesia, six mice in each group were tested for spatial learning and memory in a Morris water maze. Fresh hippocampal tissue was obtained by decapitation from the remaining mice, prepared into a homogenate, and $\text{A}\beta$ aggregation ($\text{A}\beta$, $\text{A}\beta$ 1-40, $\text{A}\beta$ 1-42) was detected by Western blot and by tau protein phosphorylation. The phosphorylation levels of all associated loci (Serine 396, Serine 262 and Threonine 231) were checked as well. The expression of mitochondrial apoptosis signaling pathway genes, including B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax) and Cysteine-requiring Aspartate Protease (Caspase-3) was detected by Real-time PCR. **Results** Morris water maze experiments show that sevoflurane has no effect on learning and memory ability in mice, but it does have potential neurotoxicity in mice. Extracts of *Polygonum perfoliatum* L. can reduce $\text{A}\beta$ aggregation and tau protein phosphorylation states in three-transformation mice. Compared with the three-turn model anesthesia group, Bcl-2 expression was decreased and Bax and Caspase-3 expression was enhanced in the three-turn model administration group. **Conclusions** *Polygonum perfoliatum* L. extract can alleviate mitochondria-associated apoptotic signaling pathways induced by sevoflurane anesthesia, as well as reduce $\text{A}\beta$ aggregation, decrease tau protein phosphorylation, and inhibit the apoptosis of mouse hippocampal neurons.

【**Keywords**】 *Polygonum perfoliatum* L. extract (ZSS); sevoflurane; Alzheimer's disease; neuron; signaling pathway

酸枣仁是鼠李科枣属植物酸枣的干燥成熟种子^[1]。根据古方记载,酸枣仁具有“治烦心不得眠,虚汗,补中益气之功效”^[2]。目前人们从酸枣仁中分离得到的化合物已经有超过 130 多种,包括皂苷、生物碱、脂肪酸等。现代药理学研究发现,酸枣仁皂苷具有镇静安神的功效,并且在神经系统、免疫系统及心脑血管方面也有很好的药理活性^[3]。

Wang 等^[4]研究证明 JuA 作为酸枣仁中含量最高的一种皂苷类成分,它能够增加海马神经元中的 GABA 受体亚型中 mRNA 的表达,下调肠黏膜系统中相关血清素细胞因子水平,改善睡眠。Jiang 等^[5]通过实验方法比较了酸枣仁中总皂苷、总黄酮及总多糖的镇静安神作用,结果发现酸枣仁中总皂苷能够显著延长 PS 模型小鼠的睡眠时间。赵启铎等^[6]研究发现酸枣仁中总皂苷能够明显增强小鼠的抗抑郁作用,减少小鼠绝望不动时间。荣春蕾等^[7]研究发现酸枣仁提取物能够明显增强小鼠的抗焦虑作用,其作用机制可能是通过提高小鼠脑内 GABA 含量,进而增强 GABAAR1 的表达。Zhang 等^[8]证明酸枣仁总皂苷提取物中主要活性成分是 JuA 和 JuB,并且它能够在一定程度上改善由于酒精引起的有记忆障碍小鼠的学习能力。

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种非常常见的老年性神经性病变疾病,也是造成人类痴呆的最主要原因,目前来说还没有有效的治疗措施^[9]。根据调查显示,65 岁以上的老年人中 AD 的发病率约为 12% 左右,而 85 岁以上的老年人中 AD 的发病率竟然高达 50%,目前来说,AD 已经成为老年医学研究领域中最重要课题之一。如此同时,随着临床医学的发展,麻醉理念及麻醉技

术也在不断更新,老年人在全麻情况下进行临床手术更是越发广泛,如何减轻手术过程中全麻手术对老年人 AD 等神经性病变的影响是目前来说研究的热点课题之一^[10]。

目前来说,AD 病的发病原因还不是很清楚,可能与患者的遗传及生活环境有很大的关系,近年来,研究发现全麻药物也是造成 AD 发病的一个因素,但是对于其作用机理研究的非常少^[11]。本研究中,我们发现酸枣仁皂苷能够缓解七氟烷麻醉对阿尔茨海默病模型小鼠的影响,并且是通过活化线粒体相关的凋亡信号通路,减少 $\text{A}\beta$ 聚集,降低 Tau 蛋白磷酸化,抑制小鼠海马神经元的凋亡。本研究的进行为将来开发更安全更有效的联合麻醉剂提供了新思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60 只,雄性 3xTg-AD 小鼠和其背景 C57BL/6J 雄性小鼠,清洁级,2~3 月龄,28~35 g,购买于中国医学科学院医学实验动物研究所北京协和医学院比较医学中心 [SCXK (京) 2018-0001],饲养标准严格遵循动物实验室 SPF 级动物饲养规范。于河南大学第一附属医院老鼠房 [SYXK (京) 2018-0002] 饲养半年左右,9 月龄时,用于后续实验研究。本研究得到了北京检验检疫技术中心实验动物伦理委员会批准 (SHCIQAFTC-M015),同时在实验过程中,我们遵照动物实验 3R 原则,对大鼠给予了恰当的人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

分子实验相关试剂盒购买于美国 MPbio;分子

实验相关酶购买于日本 TaKaRa; 有机试剂购买于中国国药; 相关抗体购买于美国 Abcam; 其它试剂及耗材均购买于北京鼎国。

低温高速离心机购买于美国 Thermo Scientific; 振荡器购买于美国 SCILOGEX; 电热恒温干燥箱购买于中国精宏; 超声振荡器购买于美国 Fisher Scientific; Morris Water Maze 实验装置购买于 Ethovision XT; 加热磁力搅拌器购买于德国 IKA RCT basic; 动物麻醉机购买于美国 Harvard; 手术器械等购买于美国 Fine Science Tools。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及处理方法

9 月龄雄性 3xTg-AD 小鼠和其背景 C57BL/6J 小鼠, 按照随机分配原则, 分为四组, 每组 12 只, 分别为: 野生对照组(生理盐水)、三转模型对照组(生理盐水)、三转模型麻醉组(生理盐水+七氟烷)、三转模型给药组(生理盐水+七氟烷+ZSS)。所有小鼠, 经侧脑室分别注射等容生理盐水或 0.1 μg/4 μL 的酸枣仁皂苷, 连续 10 d, 每天一次。对照组小鼠吸入 2 h 氧, 麻醉组和给药组吸入 2 h 1.4% 七氟烷。

1.3.2 水迷宫实验

(1)水迷宫实验测量实验小鼠空间学习记忆能力。水迷宫实验中所用装置购买于 Ethovision XT, 整个装置是一个圆形水池, 直径为 100 cm, 水池深 50 cm, 水深 30 cm, 水池壁东、南、西、北四个方位有 4 个等距离点的象限, 在西南象限处有一直径为 10 cm 的平台, 平台位于水平面下 1 cm 处。本装置中池壁是黑色, 为了更好的识别黑色小鼠, 我们在池中加入牛奶, 水池中水温保持在 (25±1)℃, 并且整个实验过程中, 要保持房间内光照及物品摆放等室内环境一致性。

(2)不可视平台实验。小鼠在吸入七氟烷或氧气后的 24 h, 开始进行不可视平台实验。整个实验进行 5 d, 每天在同一时间段训练 4 次。实验开始时, 将小鼠从东南西北任一方向向池壁放入水中, 记录池壁中小鼠入水点, 池周围设置一个固定的参照物, 确保小鼠能够定位平台。水迷宫实验装置设有追踪小鼠游泳轨迹的自动监视装置, 能够准确的记录小鼠找到平台的时间, 也称为逃避潜伏期 (escape latency)。

(3)Probe 实验。水迷宫实验进行的第 6 天, 将水下平台撤除, 以东北角象限的池壁为小鼠入水

点, 记录小鼠在原平台现象所停留的时间及穿越原平台所在位置的次数。

(4)可视平台实验。水迷宫第 7 天进行可视平台测定, 即将平台超出水面 1 cm, 并且用一红旗做为标记, 以东北角现象的池壁为小鼠入水点, 将小鼠面对池壁放入水中, 记录小鼠找到平台的时间。

1.3.3 Western blot 检测

从-80℃冰箱中取出海马组织, 称取 0.2 g, 放入 1.5 mL EP 管中, 加入 500 μL RIPA 裂解液, 超声匀浆 3 次, 每次 10 s, 于冰上静止 30 min, 4℃, 8000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移到新的 EP 管中, 用于后续检测。

Western blot 试剂盒购买于上海碧云天生物技术, 具体方法参见其说明书。

1.3.4 Real-time PCR 技术检测基因表达情况

从-80℃冰箱中取出海马组织, 液氮中磨碎成粉末, 称取 0.1 g 粉末于 1.5 mL EP 管中, 加 1 mL TRIzol 溶液, 萃取 RNA, 具体步骤参见 TaKaRa TRIzol RNA 提取试剂盒。

RNA 反转录成 cDNA, 具体步骤参见 TaKaRa cDNA 反转录试剂盒。

针对小鼠中线粒体凋亡信号通路基因 Bcl-2、Bax、Caspase-3 cDNA 全长序列设计引物, 具体引物序列参见表 1。荧光定量 PCR 方法按照 TaKaRa Real-time PCR 试剂盒的具体步骤与方法, 通过定量分析这些基因的表达情况。

1.4 统计学方法

本研究中, 数据的呈现方式为平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$)。当 $P < 0.05$ 时, 用“*”表示, 说明实验组与对照组之间存在显著性差异, 具有统计学意义; 当 $P < 0.01$ 时, 用“**”表示, 说明实验组与对照组之间存在极显著差异, 具有统计学意义。

表 1 Real-time PCR 相关引物序列	
Table 1 Real-time PCR related primer sequences	
目的基因 Target gene	引物序列(3'-5') Primer sequence
b-actin-F	CGTTGACATCCGTAAAGACC
b-actin-R	TAGAGCCACCAATCCACACA
Bcl-2-F	GCCATATGGCGCACGCTGGGAG
Bcl-2-R	GCGCTCGAGTCACTTGTGGC
Bax-F	GGATCCATGGACGGGTCCGGG
Bax-R	CGCCTCGAGTCAGCCCATCTTTC
Caspase-3-F	AGATACCGGTGGAGGCTGACT
Caspase-3-R	TCTTTTCGTGAGCATGGACACA

2 结果

2.1 酸枣仁皂苷缓解七氟烷麻醉阿尔茨海默病模型小鼠的学习能力研究

Morris 水迷宫实验主要是用来测定啮齿类动物空间学习记忆能力的一种重要方法,对动物脑部海马组织中与学习记忆相关脑区的结构功能损害非常敏感,经常用来作为评价动物药效。

本研究中,Morris 水迷宫实验结果如表 2 和表 3 所示,四组小鼠的逃避潜伏期,寻找平台的滞留时间和穿梭平台进行比较,三转模型对照组小鼠的学习记忆能力明显比对照组差,而三转模型麻醉组与三转模型对照组相比,差异不显著($P>0.05$),无统计学意义。这个结果说明,七氟烷麻醉对小鼠学习记忆能力没有损伤。但是三转模型给药组与三转模型对照组相比,小鼠的学习记忆能力得到了提高,这个结果说明,酸枣仁能够改善阿尔茨海默病模型小鼠的学习记忆能力。

2.2 小鼠海马组织中 Aβ 聚集情况

Aβ 是 AD 发病机理中的核心成分,主要有 Aβ1-40 和 Aβ1-42 两种多肽形式,其中 Aβ1-42 肽链长,疏水性好,也是 AD 中的核心蛋白。Western blot 检测结果如图 1 所示,与对照组相比,三转模型对照组小鼠中总 Aβ、Aβ1-40、Aβ1-42 含量显著增加,与三转模型对照组相比,三转模型麻醉组含量差异不明显,表明七氟烷麻醉不影响海马组织中总 Aβ、Aβ1-40、Aβ1-42 的含量,与三转模型对照组相比,三转模型给药组小鼠中总 Aβ、Aβ1-40、Aβ1-42 含量显著下降,差异显著,具有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 四组小鼠 Morris 水迷宫逃避潜伏期比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Comparison of Morris water maze escape latency of four groups of mice					
组别 Groups	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
对照组 Con	57.2±4.4	54.9±3.7	50.5±3.2	47.5±2.9	45.6±3.0
模型对照组 Model Con	60.8±3.8*	58.3±4.8*	54.8±3.7**	50.5±3.3*	47.1±3.7*
实验组 1 Group 1	61.0±3.5	58.8±3.4*	55.0±3.1*	50.7±2.6*	47.3±3.2
实验组 2 Group 2	58.1±4.2#	55.3±4.0##	51.0±2.5#	48.2±3.1#	45.7±2.9#

注:与三转模型对照组相比, # $P<0.05$, ## $P<0.01$; 与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.05$ 。下表同。

Note. Compared with the three-transfer model control group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$. Compared with the control group, * $P<0.05$, ** $P<0.05$. The same as below.

表 3 四组小鼠 Morris 水迷宫空间探索实验结果比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Comparison of the results of Morris water maze space exploration experiment in four groups of mice

组别 Groups	探索时间(s) Explore time	穿越平台次数(次) Number of crossing platforms (times)
对照组 Con	41.8±2.2	4.5±1.7
模型对照组 Model Con	43.4±2.6*	3.2±0.9**
实验组 1 Group 1	43.5±3.4*	3.3±1.3*
实验组 2 Group 2	42.0±2.8#	4.0±1.5##

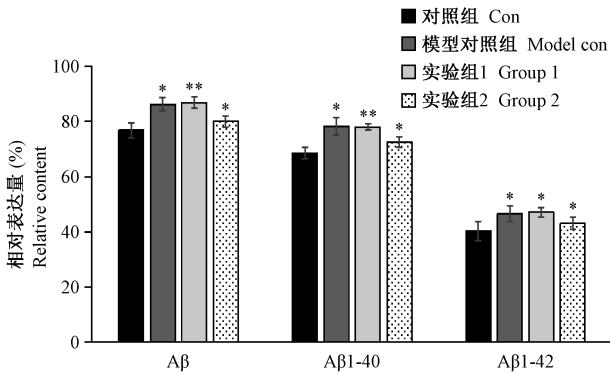


图 1 小鼠海马组织中 Aβ 聚集情况
Figure 1 Aβ aggregation in mouse hippocampus

2.3 小鼠海马组织中 Tau 蛋白磷酸化情况

Tau 蛋白是细胞内高度磷酸化的微管蛋白,当 Tau 蛋白异常聚集形成神经纤维缠结(NFT)的时候会起微管解体、断裂,研究发现 Tau 蛋白与 AD 的发病机制密切相关。Tau 蛋白磷酸化位点包括丝氨酸 396 和 262,苏氨酸 231,这些磷酸化位点在 AD 发病中有着非常重要的作用。实验结果如图 2,与对照组相比,三转模型对照组小鼠中 Tau 蛋白磷酸化含量显著增加,与三转模型对照组相比,三转模型麻醉组含量差异不明显,表明七氟烷麻醉不影响海马组织中 Tau 蛋白磷酸化的含量,与三转模型对照组相比,三转模型给药组小鼠中 Tau 蛋白磷酸化含量显著下降,差异显著,具有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 Real-time PCR 检测小鼠海马线粒体相关凋亡信号通路基因表达

线粒体是细胞能量的主要来源,其活性决定了细胞的生死存亡。AD 发病早期一个重要的特征就是线粒体功能障碍。当 AD 发生时 Aβ 和 Tau 蛋白聚集会直接损伤线粒体,引起线粒体破裂,导致细胞内细胞色素 C 的释放,细胞凋亡因子 Caspase-3

的释放。Bax 是促凋亡基因,BcL-2 是非常重要的抗凋亡基因,能够抑制 Bax 的活性。本研究通过 Real-time PCR 对线粒体通路相关凋亡基因进行检测,结果如图 3 所示,与对照组相比,三转模型对照组中 BcL-2 表达减少,Bax 和 Caspase-3 表达增强;与三转模型对照组相比,三转麻醉组中 BcL-2 表达减少,Bax 和 Caspase-3 表达增强,这个结果说明,七氟烷麻醉会影响小鼠海马线粒体活性;与三转模型麻醉组相比,三转给药组中,BcL-2 表达增强,Bax 和 Caspase-3 表达减少,这个结果说明,酸枣仁皂苷会缓解七氟烷麻醉影响小鼠海马线粒体活性。

3 讨论

酸枣是我国特有的药用植物,蕴藏量巨大,酸枣仁是其种子,在神经系统疾病方面的研究已有几千年的历史。目前,国内外学者对酸枣仁皂苷进行分离鉴定,发现其成分多达 50 多种。酸枣仁皂苷在镇静安神、抗抑郁、抗焦虑以及改善记忆等方面都

有显著的活性^[12]。

AD 是致使人类痴呆的主要原因,目前来说,没有有效的治疗措施。对于其发病原因及形成机制,仍然不是很清楚。研究表明,全麻药物能够增加 AD 发病的风险,加重 AD 神经病理的改变。研究发现,病人手术过程中进行全麻能够加重病人认知功能障碍^[13]。研究表明,全麻药物加重 AD 患者的症状和神经病理过程^[14]。

Morris 水迷宫实验是检测智齿类动物学习记忆能力的一个重要手段,经常用来作为药物作用效果的评价方法^[15]。根据研究,异氟醚最低肺泡浓度为 1.1%~1.2%,临床手术时常用浓度为 1.0%~2.0%,本研究根据这个选择了本研究中异氟醚麻醉的浓度 1.4%。研究结果发现,Morris 水迷宫实验发现 1.4%七氟烷 2 h 对大鼠的学习记忆能力影响不明显,临床上患者进行手术时所用麻醉量是 1%~2%之间,这个结果说明,手术时,全麻在一定程度上是安全的,对机体副作用小。

AD 病的发病机理复杂,但是随着医学的发展,越来越多与 AD 病相关的一些蛋白,调控因子作用被发现^[16]。 $A\beta$ 是 AD 发病机理中的核心成分,主要有 $A\beta$ 1-40 和 $A\beta$ 1-42 两种多肽形式,其中 $A\beta$ 1-42 肽链长,疏水性好,是 AD 中的核心蛋白。本研究发现 1.4%七氟烷 2 h 对 $A\beta$ 聚集含量影响不大,但酸枣仁皂苷能降低 AD 病中 $A\beta$ 聚集的含量。

Tau 蛋白是细胞内高度磷酸化的微管蛋白,当 Tau 蛋白异常聚集形成神经纤维缠结(NFT)的时候会引起微管解体、断裂,研究发现 Tau 蛋白与 AD 的发病机制密切相关。Tau 蛋白磷酸化位点包括丝氨酸 396 和 262,苏氨酸 231,这些磷酸化位点在 AD 发病中有着非常重要的作用。本研究发现 1.4%七氟烷 2 h 对 Tau 蛋白磷酸化影响不大,但是酸枣仁皂苷能降低 AD 病中 Tau 蛋白磷酸化的影响。

AD 病神经元发生病变的过程中,一个主要的病理特征就是细胞凋亡的发生。研究表明,体外细胞培养时,七氟烷处理体外培养细胞时,会诱导细胞凋亡,促进细胞色素 C 的释放,诱导细胞凋亡因子 Caspase-3 的释放^[17-18]。本研究发现 1.4%七氟烷 2 h 确实引起抗凋亡基因 BcL-2 的下调表达,促凋亡基因 Bax 和细胞凋亡基因 Caspase 上调表达,当用一定浓度的酸枣仁皂苷处理后,抗凋亡基因 BcL-2 上调表达,促凋亡基因 Bax 和细胞凋亡基因 Caspase 发生下调表达。

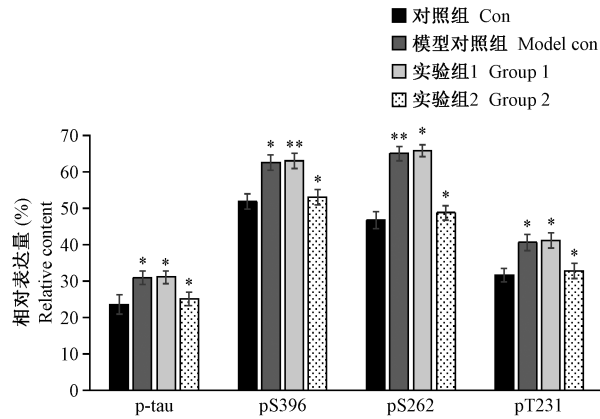


图 2 小鼠海马组织中 Tau 蛋白磷酸化情况
Figure 2 Phosphorylation of Tau protein in mouse hippocampus

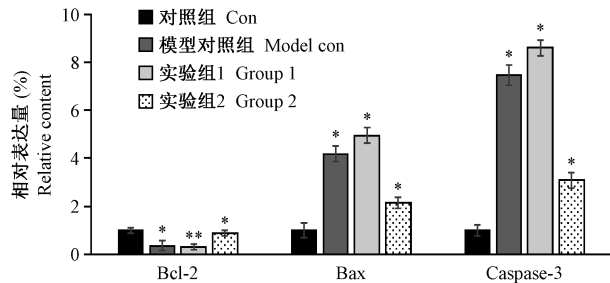


图 3 小鼠海马线粒体相关凋亡信号通路基因表达
Figure 3 Mouse hippocampal mitochondrial related apoptosis signaling pathway gene expression

参考文献:

- [1] Cao XL, Wang SB, Zhong BL, et al. The prevalence of insomnia in the general population in China: A meta-analysis [J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0170772.
- [2] 杨宝峰, 陈建国. 药理学 第 3 版 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [3] Kim HJ, Kim P, Shin CY. A comprehensive review of the therapeutic and pharmacological effects of ginseng and ginsenosides in central nervous system [J]. J Ginseng Res, 2013, 37(1): 8–29.
- [4] Wang Y, Liu J, Zhang Z, et al. Anti-neuroinflammation effect of ginsenoside Rb1 in a rat model of Alzheimer disease [J]. Neurosci Lett, 2011, 487(1): 70–72.
- [5] Jiang JG, Huang XJ, Chen J, et al. Comparison of the sedative and hypnotic effects of flavonoids, saponins, and polysaccharides extracted from Semen Ziziphus Jujube [J]. Nat Prod Res, 2007, 21(4): 310–320.
- [6] 赵启铎, 舒乐新, 王颖, 等. 酸枣仁总皂苷抗抑郁作用的实验研究 [J]. 中南药学, 2011, 9(7): 489–491.
- [7] 荣春蕾, 代永霞, 崔 瑛. 酸枣仁对阴虚小鼠焦虑行为的影响 [J]. 中药材, 2008, 31(11): 1703–1705.
- [8] Zhang YQ, Qiao LD, Song MY, et al. HPLCESI-MS/MS analysis of the water-soluble extract from Ziziphi spinosae semen and its ameliorating effect of learning and memory performance in mice [J]. Pharmacogn Mag, 2014, 10(40): 509–516.
- [9] Pini L, Pievani M, Bocchetta M, et al. Brain atrophy in Alzheimer’s disease and aging [J]. Ageing Res Rev, 2016, 30: 25–48.
- [10] Cruchaga C, Chakraverty S, Mayo K, et al. Rare variants in APP, PSEN1 and PSEN2 increase risk for AD in late-onset Alzheimer’s disease families [J]. PLoS One, 2012, 7(2): e31039.
- [11] Oh H, Madison C, Baker S, et al. Dynamic relationships between age, amyloid- β deposition, and glucose metabolism link to the regional vulnerability to Alzheimer’s disease [J]. Brain, 2016, 139(Pt 8): 2275–2289.
- [12] Song P, Zhang Y, Ma G, et al. Gastrointestinal absorption and metabolic dynamics of Jujuboside A, a saponin derived from the seed of Ziziphus jujuba [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(38): 8331–8339.
- [13] Mrak RE, Griffinb WS. The role of activated astrocytes and of the neurotrophic cytokine S100B in the pathogenesis of Alzheimer’s disease [J]. Neurobiol Aging, 2001, 22(6): 915–922.
- [14] Yip AG, Green RC, Huyck M, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and Alzheimer’s disease risk: the MIRAGE study [J]. BMC Geriatrics, 2005, 5: 2.
- [15] 陈罗西, 郭玲玲, 李亮. Morris 圆形水迷宫的应用及其相关检测指标分析 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(8): 55–57
- [16] Harach T, Marungruang N, Duthilleul N, et al. Reduction of Abeta amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota [J]. Sci Rep, 2017, 7: 41802.
- [17] Hu X, Wang T, Jin F. Alzheimer’s disease and gut microbiota [J]. Sci China Life Sci, 2016, 59(10): 1006–1023.
- [18] Kumar DKV, Choi SH, Washicosky KJ, et al. Amyloid- β peptide protects against microbial infection in mouse and worm models of Alzheimer’s disease [J]. Sci Transl Med, 2016, 8(340): 340ra72.

[收稿日期] 2020-01-02