

丛超, 顾祖曦, 吴盼晴, 等. 卵巢切除对 APP/PS1 小鼠认知功能和海马雌激素受体表达的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(10): 1-9.

Cong C, Gu ZX, Wu PQ, et al. Effect of ovariectomy on cognitive function and hippocampal estrogen receptor expression in APP/PS1 mice [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(10): 1-9.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.10.001

卵巢切除对 APP/PS1 小鼠认知功能和海马雌激素受体表达的影响

丛超, 顾祖曦, 吴盼晴, 陈思儒, 林光耀, 徐莲薇*

(上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032)

【摘要】 目的 本研究旨在观察阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 动物模型 APP/PS1 雌性小鼠卵巢切除 (ovariectomized, ovx) 术后海马组织中 A β 沉积和雌激素受体水平在不同月龄的变化规律。**方法** 将 3 月龄 APP/PS1 雌性小鼠分 3 组, 每组 20 只, 10 只采用经腹手术切除双侧卵巢作为模型 (ovx) 组, 10 只摘除相应部位的等体积脂肪作为对照 (sham) 组。分别饲养 3 个月、4 个月、5 个月作为 6 月龄组、7 月龄组、8 月龄组, 通过 Morris 水迷宫评价不同月龄 APP/PS1 小鼠认知功能, 透射电镜观察两组小鼠海马 CA1 区细胞内细胞器形态变化, 免疫荧光染色检测两组小鼠海马 CA1 区 A β 沉积, ELISA 检测两组小鼠血清雌激素、ROS、SOD、MDA 水平和含量, Western blot 测定 ER α 和 ER β 表达水平。**结果** 随着月龄的不断增加, 水迷宫测试中 ovx 组小鼠逃避潜伏期逐渐延长, 海马 CA1 区 A β 沉积增加、海马神经元线粒体肿胀增加, 胞浆内见大量脂褐素及淀粉样沉积; 血清雌二醇水平、SOD 活力下降, ROS 水平、MDA 含量增加, 海马组织 ER α 和 ER β 表达降低。**结论** 小鼠卵巢切除术后可能会加剧海马 A β 沉积, 其认知功能降低呈现年龄依赖性。

【关键词】 雌激素受体; 认知障碍; APP/PS1 小鼠; 海马; 阿尔茨海默病

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 07-0001-09

Effect of ovariectomy on cognitive function and hippocampal estrogen receptor expression in APP/PS1 mice

CONG Chao, GU Zuxi, WU Panqing, CHEN Siru, LIN Guangyao, XU Lianwei*

(Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Objective The present study aimed to observe the changes in A β deposition and estrogen receptor levels in the hippocampal tissue of female APP/PS1 mice with Alzheimer's disease (AD) after receiving an ovariectomy at different ages. **Methods** 3-month-old APP/PS1 female mice were divided into three groups, with 20 mice in each group. Ten mice were treated with bilateral ovarian resection via abdominal surgery as the model (ovx) group. The 10 mice in the control (sham) group underwent surgery in which an equivalent volume fat was removed from the corresponding area. After 3, 4, and 5 months, APP/PS1 mice were assigned to 6-, 7-, and 8-month age groups. The cognitive function of the APP/PS1 mice of different ages was evaluated using the Morris water maze. Morphological changes to intracellular organelles in

【基金项目】 国家自然科学基金 (82174427)。

【作者简介】 丛超 (1992—), 女, 博士, 医师, 研究方向: 中医药诊治女性生殖内分泌疾病研究工作。E-mail: congchaosunny@163.com

【通信作者】 徐莲薇 (1969—), 女, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 中医药诊治女性生殖内分泌及不孕病。

E-mail: doctorsherryxw@163.com

the CA1 area of the hippocampus of the two groups of mice were observed using transmission electron microscopy. Immunofluorescence staining was used to detect the deposition of A β in the CA1 area of the hippocampus of the two groups of mice. ELISA was used to detect the levels and contents of serum estrogen, ROS, SOD, and MDA, and Western blot was used to determine the expression levels of ER α and ER β . **Results** As the ovx group mice increased in age, their escape latency in the water maze test gradually lengthened, the deposition of A β in the hippocampal CA1 area increased, the mitochondrial swelling of hippocampal neurons increased, and larger amounts of lipofuscin and amyloid deposition were observed in the cytoplasm. Their serum E₂ levels and SOD activity decreased, while their ROS levels and MDA contents increased, and the expression of ER α and ER β in the hippocampal tissue decreased. **Conclusions** Ovariectomy in mice with low estrogen status may exacerbate hippocampal A β deposition and age-dependent cognitive decline.

[Keywords] estrogen receptor; cognitive impairment; APP/PS1 mice; hippocampus; Alzheimer's disease

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种老龄人口的神经退行性疾病,在女性绝经后发病率较高^[1]。有研究显示,女性约占 AD 患者的 70%,她们一生中患 AD 的风险比男性大,疾病进展率约为男性的 3 倍,认知障碍的范围也更广泛^[2-3]。这种性别差异的原因尚不清楚。有研究认为绝经后雌激素治疗,能改善认知功能^[4]。AD 主要病理特征为脑内神经细胞之间由 β -淀粉样蛋白 (amyloid β -protein, A β) 沉积形成的老年斑及神经细胞内 Tau 蛋白过度磷酸化,造成神经元纤维缠结^[5-6],其中由 A β 蛋白异常聚集引起的构象变化及神经毒性在 AD 发生发展过程中起核心作用^[7-8]。为了探究卵巢切除 (ovariectomized, ovx) 后雌激素降低是否会对认知功能产生影响并促进 A β 的沉积,我们选择 APP/PS1 双转基因小鼠作为 AD 的动物模型,该模型可以较好地模拟细胞外 A β 沉积等 AD 的神经病理学特征^[9],是一种较理想的 AD 动物模型,与普通小鼠相比,这种小鼠脑内 6~8 月龄就出现学习记忆能力减退,12 月龄更加明显^[10]。

女性 AD 的发生与雌激素信号转导减少相关,雌激素与雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 结合并激活下游转录机制^[11]。雌激素受体表达水平与行为学功能的关系,以及随着模型动物月龄的增加呈现出的变化规律,目前还未定论。本研究通过对 3 月龄 APP/PS1 雌性小鼠切除卵巢来模拟绝经后雌激素减退状态,通过比较不同时间节点的行为学差异,海马 CA1 区 A β 沉积及雌激素受体表达的水平,探究卵巢切除术对 APP/PS1 小鼠认知功能的影响,阐明 ER 在 AD 中的潜在作用,一方面为绝经后认知障碍的动物模型月龄选择提供依据,另一方面有助于更好地理解 AD 中观察到的性别差异,并为性别差异提供治疗策略参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

3 月龄 SPF 级 APP/PS1 雌性小鼠 60 只,体重 (20 $\pm$ 2)g,购买于北京华阜康生物科技股份有限公司 [SCXK (京) 2019-0008], APP/PS1 小鼠均饲养于上海中医药大学实验动物中心 SPF 级屏障设施 [SYXK (沪) 2020-0009],洁净度为 5 级,环境温度 (23 $\pm$ 3)℃,相对湿度 (50 $\pm$ 10)%,换气次数每小时不低于 20 次,12 h/12 h 光暗循环。每笼动物 4 只,动物自由摄食饮水,每天定时清理鼠笼。本实验方案按照“3R”原则并获得上海中医药大学实验伦理委员会批准 (PZSHUTCM2302280003)。

1.2 主要试剂与仪器

一抗 ER α (Abcam, ab32063); 一抗 ER β (Invitrogen, PA1-311); GAPDH (美国 Cell Signaling Technology 公司); 过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (上海羿圣生物技术有限公司, 33101ES60); 小鼠雌二醇 ELISA 试剂盒 (HY03302E)、SOD ELISA 试剂盒 (HY03125E)、MDA ELISA 试剂盒 (HY03124E) 均购自上海恒远生物; ROS ELISA 试剂盒 (南京森贝伽生物科技有限公司, SBJ-R0799); 3% 硫黄素染液 (GDP1027)、山羊抗兔荧光二抗 (GB25303) 均购自武汉赛维爾生物科技有限公司; 多聚甲醛 (中国 Biosharp 生物科技有限公司, BL539A)。

荧光倒置显微镜 (Nikon, Ts2-FL); 透射电镜 (Thermo Scientific, Talos L120C); Western blot 电泳仪 (Mini Protein V3, Bio-Rad); Western blot 转模仪 (Mini Trans Blot, Bio-Rad); 凝胶成像系统 (Chemscope 6300, 中国上海); Morris 水迷宫 (中国上海市欣软信息科技有限公司, XR-XM101)。

1.3 实验方法

1.3.1 小鼠分组

60 只 APP/PS1 雌性小鼠分 3 组, 每组 20 只, 适应饲养 1 周后, 每组中 10 只采用经腹手术切除双侧卵巢作为模型组 (ovx 组), 另 10 只仅摘除相应部位的等体积脂肪作为对照组 (sham 组), 分别饲养 3 个月、4 个月、5 个月作为 6 月龄组、7 月龄组、8 月龄组。模型制备的时间流程图见图 1。

1.3.2 Morris 水迷宫实验

Morris 水迷宫分别通过前 5 d 的定位航行实验和第 6 天的空间探索实验检测 2 组小鼠以空间为参考的学习记忆功能^[12]。第 1 天将小鼠从水迷宫第 1 象限内侧壁放入水中, 测试 60 s, 其找到逃生平台的时间即为此次逃避潜伏期, 若 60 s 内仍未找到, 则逃避潜伏期记为 60 s, 并引导其找到逃生平台, 休息、适应学习平台所在位置 15 s, 然后从第 3 象限放入, 步骤同前。第 2~5 天步骤同第 1 天, 共进行 5 d。第 6 天进行空间探索实验测试, 实验开始前, 去掉第 3 象限的逃生平台。每只小鼠均从第 1 象限放入, 测试 60 s, 通过记录比较其穿越平台的次数、平台象限运动路程百分比、平台象限运动时间百分比, 检测其空间学习记忆的提取能力。

1.3.3 免疫荧光检测 ovx 对 APP/PS1 小鼠海马 CA1 区 Aβ 沉积的影响

将小鼠海马组织切片浸泡于多聚甲醛 10 min, 然后置于磷酸盐缓冲液中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5 min。用 50% 乙醇配制 0.3% 硫磺素 T 溶液, 用滤纸过滤, 室温孵育 8 min。将玻片置于磷酸盐缓冲液中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5 min。切片甩干后滴加 DAPI 染液, 室温避光孵育 10 min。最后, 用抗荧光淬灭封片剂封片。将制备好的

硫磺素 T 染色切片置于荧光显微镜下用 200 倍视野观察并采集图像^[13]。应用 Image J 软件分析每个视野中 Aβ 沉积量和沉积面积占比 (阳性总面积/统计总场总面积)。

1.3.4 海马组织 E₂ 水平、ROS 水平、MDA 含量、SOD 活力检测

取小鼠海马组织匀浆, 采用双抗体夹心 ELISA 法检测小鼠血清 E₂ 水平^[14]、采用硫代巴比妥酸法检测海马组织 MDA 含量, 黄嘌呤氧化法检测海马组织 SOD 活力^[15]。制备海马组织单细胞悬液, 使用二氯荧光素双乙酸盐 (DCFH-DA) 探针法检测细胞内活性氧水平^[16]。按照试剂盒说明书分别进行操作, 结束反应后, 酶标仪检测。

1.3.5 透射电镜观察海马神经元细胞形态

分离海马组织后, 立即将海马组织置于冰冷的 2.5% 戊二醛溶液中 2 h。将海马组织在 0.2 mol/L 二甲酰二甲酸缓冲液中洗涤 4 次, 并在 1% OsO₄ 中固定 2 h, 然后在分级丙酮步骤中脱水, 并嵌入树脂中。超薄切片用 2% 乙酸铀酰和柠檬酸铅双重染色, 并通过透射电镜进行观察拍照。

1.3.6 Western blot 检测海马组织 ERα、ERβ 表达

从海马组织中提取的蛋白质, 经电泳转膜后, 用 5% BSA 在室温下封闭 1 h, 与 ERα (1 : 1000) 和 ERβ (1 : 1000) 在 4 ℃ 的温度下孵育过夜, 与辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的二抗 (山羊抗兔 IgG (1 : 10 000)) 孵育 1 h。用凝胶成像系统显影, 用 Image J 检测条带灰度值。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 21.0 统计软件分析。计量资料采用平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。水迷宫各组小鼠的逃

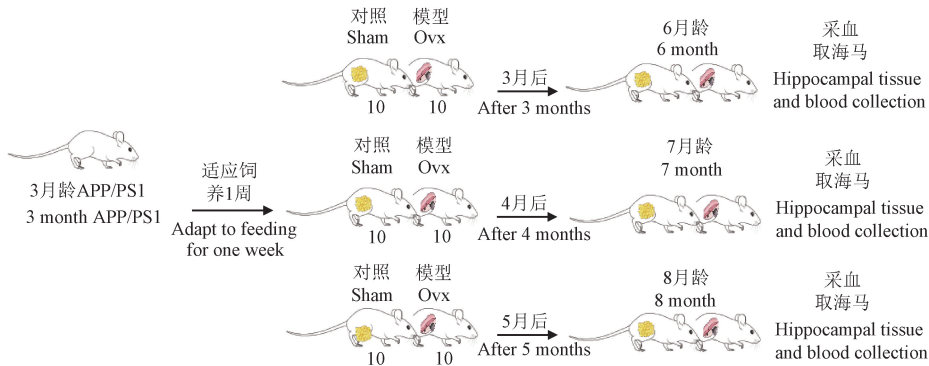


图 1 APP/PS1 小鼠模型制备的时间流程图

Figure 1 Time flow chart for the preparation of APP/PS1 mouse model

避潜伏期符合正态分布且方差齐采用重复测量方差分析;各组小鼠穿越平台次数、平台运动路程百分比、平台运动时间百分比、A β 沉积面积组间对比采用双因素方差分析;雌激素水平、氧化应激指标、Western blot 数据符合正态性分布且方差齐采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 法。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

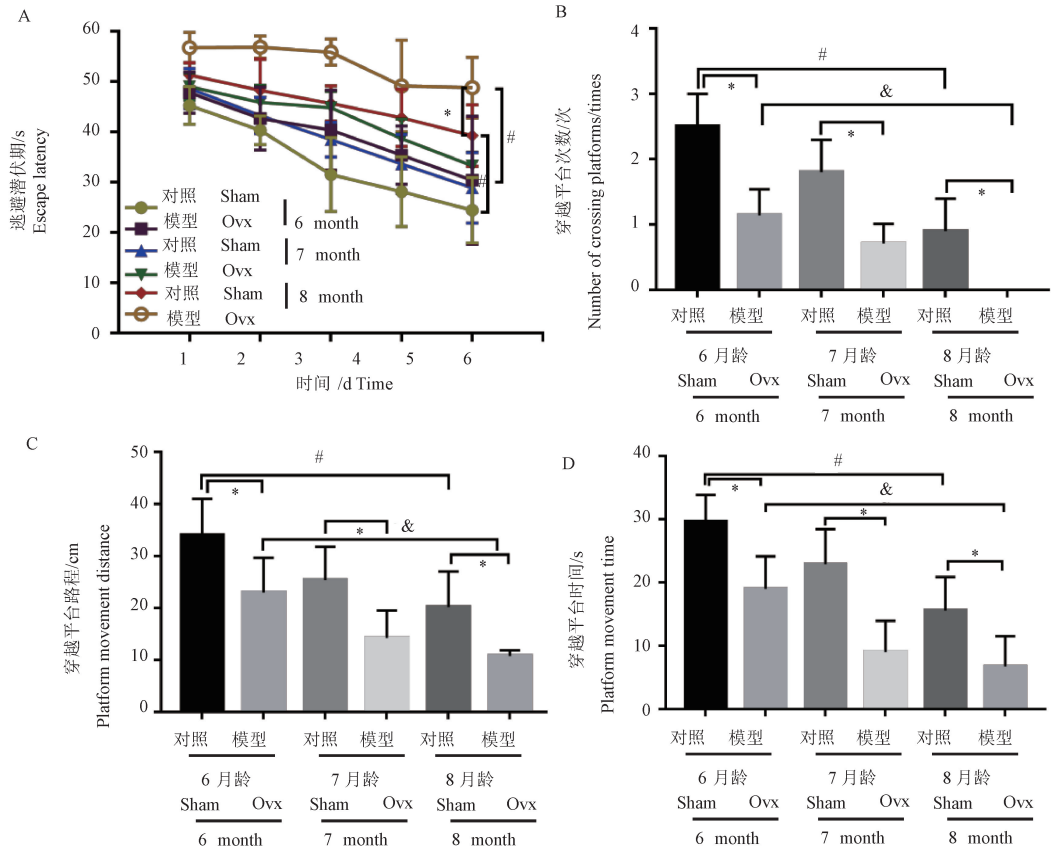
2.1 水迷宫实验

水迷宫测试用于评估学习和记忆功能,如图 2A 所示,随着月龄的增加,小鼠逃避潜伏期不断延长,同一月龄小鼠,与 sham 组比较,ovx 组逃避潜伏期仅有延长趋势,无统计学意义($P>0.05$)。sham 组或 ovx 组中,与 6 月龄小鼠对比,8 月龄小鼠逃避潜伏期显著延长,差异有统计学意义($P<0.05$);同一

月龄小鼠中,与 sham 组比较,6、7 月龄 ovx 组逃避潜伏期虽延长但无显著性差异($P>0.05$),在 8 月龄时,与 sham 组相比,ovx 组逃避潜伏期延长,差异有统计学意义($P<0.05$);在空间探索试验中(图 2B~2D),小鼠穿越平台次数、平台象限运动路程、平台象限运动时间比较上,同一月龄小鼠中,与 sham 组比较,ovx 组穿越平台次数、时间、路程均显著减少($P<0.05$);sham 组和 ovx 组中,与 6 月龄小鼠对比,8 月龄小鼠穿越平台次数、平台象限运动路程、平台象限运动时间显著降低($P<0.05$)。水迷宫实验证实,ovx 可加重小鼠空间记忆和记忆提取能力,小鼠认知功能在 6 月龄时已出现,随着月龄的增加,ovx 对小鼠空间记忆和提取能力的影响愈发显著。

2.2 免疫荧光法检测 ovx 对 APP/PS1 小鼠海马 CA1 区 A β 沉积的影响

如图 3 所示,通过硫磺素免疫荧光染色我们观



注:与 sham 组相比,* $P<0.05$;8 月龄与 sham 组 6 月龄相比,# $P<0.05$;8 月龄与 ovx 组 6 月龄相比,& $P<0.05$ 。

图 2 卵巢切除对不同月龄 APP/PS1 小鼠空间学习及空间记忆能力的影响

Note. Compared with the sham group, * $P<0.05$. 8 months of age compared with the sham group at 6 months, # $P<0.05$. 8 months of age compared with ovx group at 6 months, & $P<0.05$.

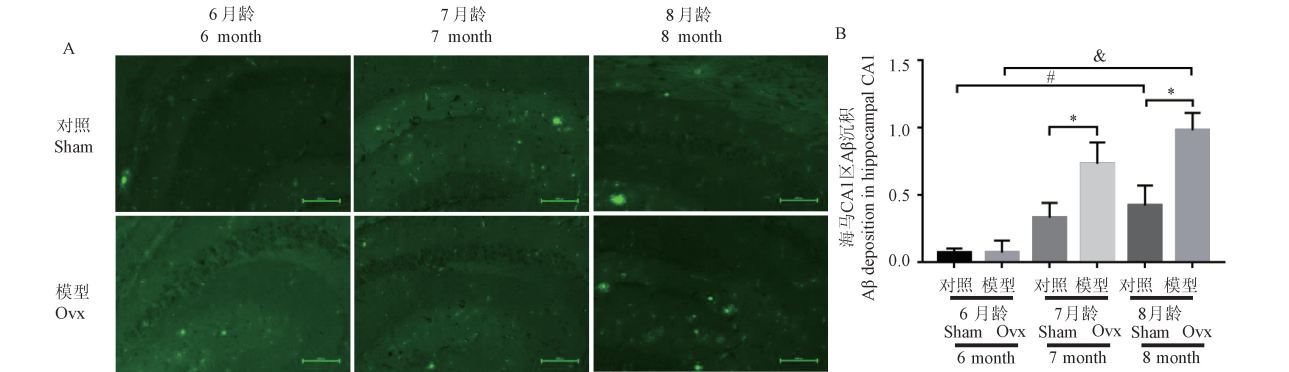
Figure 2 Effects of ovariectomy on spatial learning and memory in different months of APP/PS1 mice

察 ovx 手术对 APP/PS1 小鼠海马 CA1 区 Aβ 斑块沉积的影响,随着月龄的增大,无论 sham 组还是 ovx 组,APP/PS1 小鼠海马 CA1 区 Aβ 斑块沉积数量均呈现增加趋势;sham 组中,与 6 月龄相比,7、8 月龄小鼠海马 CA1 区 Aβ 斑块沉积数量差异无统计学意义($P>0.05$);ovx 组中,与 6 月龄相比,7 月龄

小鼠海马 CA1 区 Aβ 斑块沉积数量差异无统计学意义($P>0.05$),8 月龄小鼠海马 CA1 区 Aβ 斑块沉积数量增加($P<0.05$)。

2.3 透射电镜观察 ovx 对 APP/PS1 小鼠海马神经元细胞内细胞器形态

如图 4 所示,在 6 月龄 sham 组小鼠海马神经元

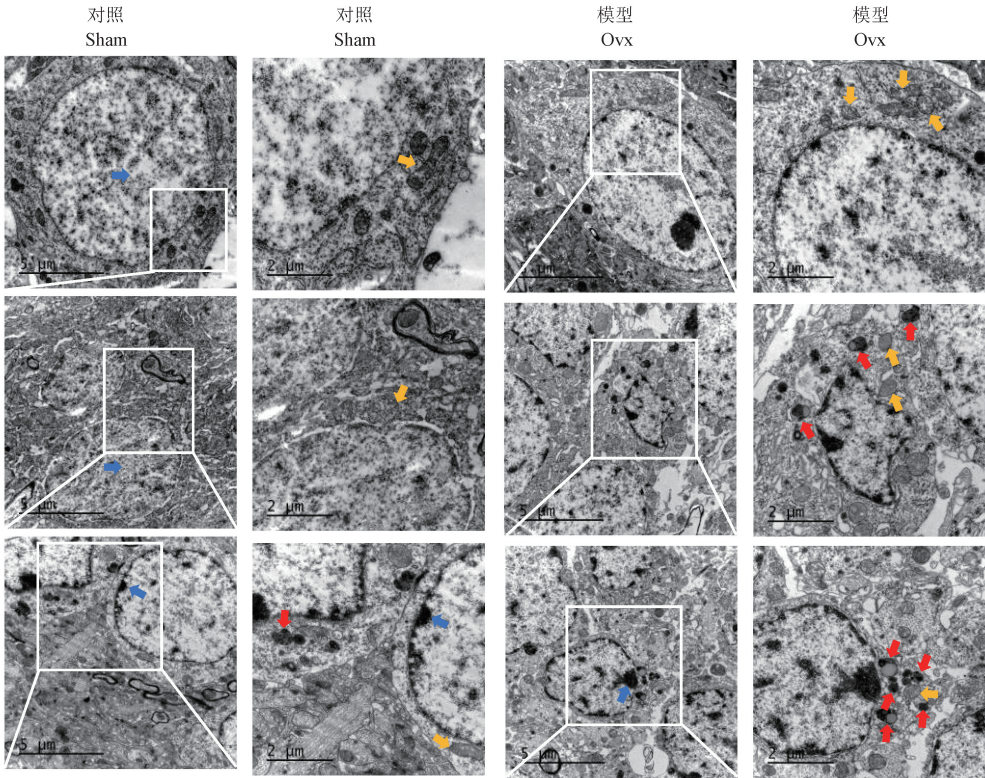


注:绿色荧光代表 Aβ 斑块沉积。同一月龄的 Aβ 沉积数量,与 sham 组相比, $*P<0.05$;8 月龄与 6 月龄 ovx 组相比, $\#P<0.05$ 。

图 3 切除卵巢对不同月龄 APP/PS1 小鼠海马 CA1 区 Aβ 表达的影响

Note. Green fluorescence represents Aβ deposition. The number of Aβ deposition at the same month of age, compared with the sham group, $*P<0.05$. 8 months of age compared with the ovx group at 6 months, $\#P<0.05$.

Figure 3 Effect of ovariectomy on the expression of Aβ in different ages APP/PS1 mice hippocampal CA1 region



注:蓝色箭头:染色质;黄色箭头:线粒体;红色箭头:斑块。

图 4 透射电镜观察 ovx 对不同月龄 APP/PS1 小鼠海马神经元细胞形态的影响

Note. Blue arrow, Chromatin. Yellow arrow, Mitochondria. Red arrow, Plaque.

Figure 4 Transmission electron microscopy observation of the effect of different month old ovx on the morphology of hippocampal neurons in APP/PS1 mice

细胞染色质分布均匀,线粒体膜、嵴完整,未见异常斑块沉积;在 6 月龄 ovx 组小鼠发现染色质分布尚均匀,线粒体膜、嵴完整,胞浆内见少量脂褐素颗粒;在 7 月龄 sham 组小鼠海马神经元细胞见染色质分布均匀,线粒体轻微肿胀;在 7 月龄 ovx 小鼠组,染色质分布欠均匀,线粒体略微肿胀变形,胞浆内见脂褐素及淀粉样斑块沉积;在 8 月龄 sham 组小鼠海马神经元细胞中,染色质分布呈边集化,线粒体嵴模糊不清,胞浆内见少量淀粉样斑块沉积;在 8 月龄 ovx 小鼠中,染色质边集较多,线粒体肿胀,嵴消失,胞浆内见大量脂褐素及淀粉样沉积。

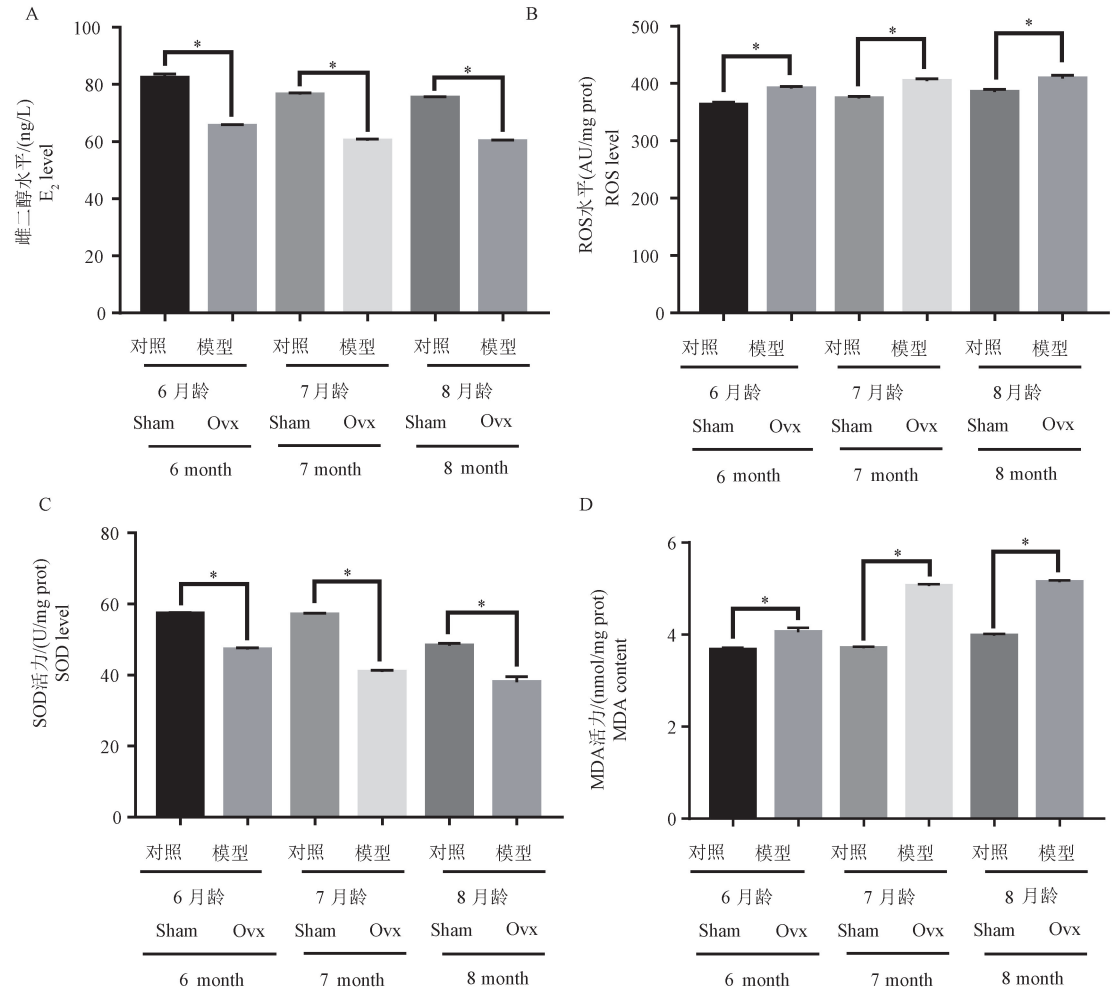
2.4 ovx 对不同月龄 APP/PS1 小鼠血清中 E₂ 水平、ROS 水平、SOD 活力、MDA 含量的影响

如图 5 所示,ELISA 法检测不同月龄血清中 E₂ (动情期)含量。统计结果显示 6、7、8 月龄 ovx 后与

sham 组比较 E₂ 水平显著降低($P<0.05$),月龄与小鼠血清中 E₂ 水平成反比。海马组织 ROS 水平、MDA 含量是反应机体氧化应激状态的指标,SOD 活力是反应抗氧化能力的指标,对不同月龄小鼠的 sham 组与 ovx 组进行 MDA、ROS、SOD 对比分析,发现与 sham 组相比,ovx 组的 MDA 含量、ROS 水平显著增加($P<0.05$),SOD 活力较 sham 组显著下降($P<0.05$),表明 ovx 后 APP/PS1 小鼠血清雌激素减退,抗氧化能力降低。

2.5 Western blot 检测 ovx 对不同月龄 APP/PS1 小鼠海马组织 ER α 、ER β 表达水平的影响

如图 6 所示通过 Western blot 检测了 APP/PS1 小鼠海马组织中 ER α 、ER β 水平,从图中可以看出,6、7、8 月龄小鼠 ovx 后,海马组织中 ER α 、ER β 水平均有不同程度的下降,在 7、8 月龄 APP、PS1 小鼠海

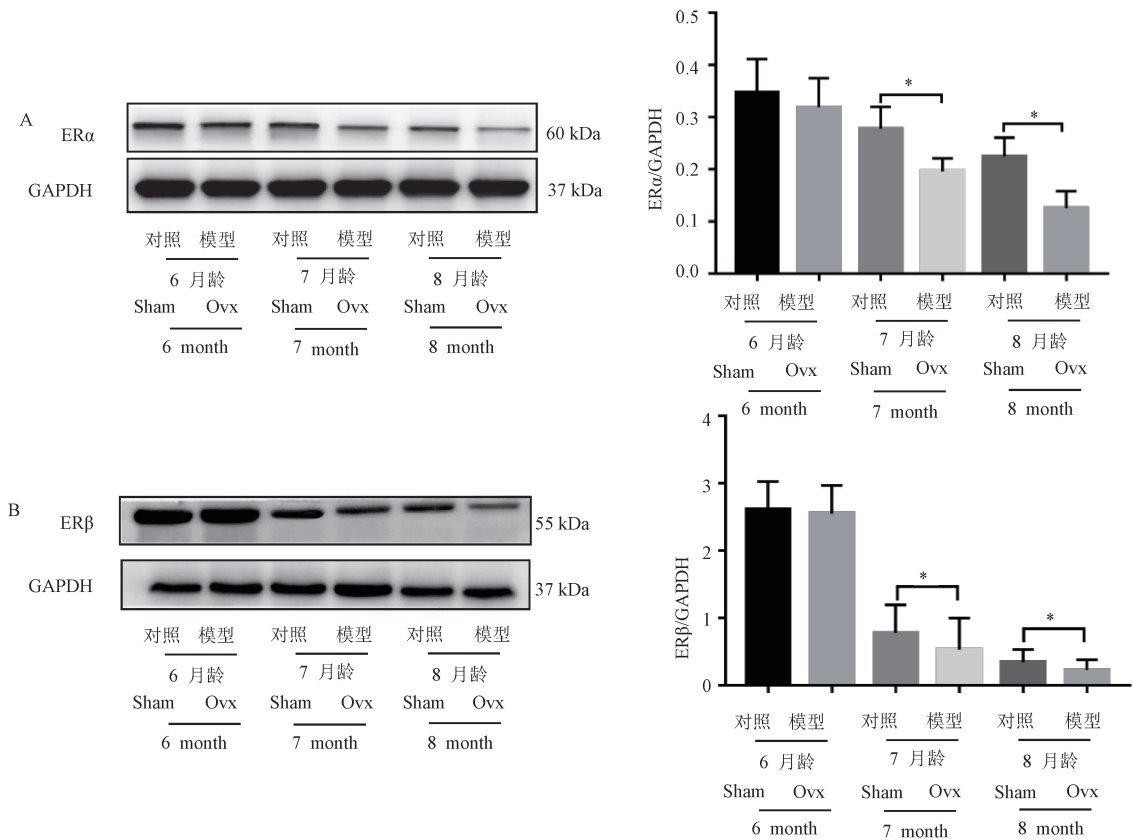


注:与 sham 组相比,* $P<0.05$ 。

图 5 ovx 对不同月龄 APP/PS1 小鼠雌二醇水平、ROS 水平、SOD 活力、MDA 含量的影响

Note. Compared with the sham group, * $P<0.05$.

Figure 5 Effects of ovx on E₂ levels, ROS levels, SOD activity, and MDA content in different age of APP/PS1 mice



注:与 sham 组对比, * $P<0.05$ 。

图 6 ovx 对不同月龄 APP/PS1 小鼠海马组织 ERα 和 ERβ 水平的影响

Note. Compared with the sham group, * $P<0.05$.

Figure 6 Effect of ovx on ERα and ERβ in hippocampal tissue of different ages APP/PS1 mice

马组织中,ERα、ERβ 水平显著降低($P<0.05$)。

3 讨论

绝经状态一直被认为是影响认知功能的重要因素,围绝经期前后女性发生认知功能障碍的病因尚不清楚,雌激素水平生理性降低通常与 AD 风险增加有关,大样本研究指出,在围绝经期使用激素替代治疗的女性可能会降低 AD 风险^[17]。在男性中,雌激素水平与 AD 风险无关^[18],因此,女性绝经过渡期与 AD 高风险密切相关^[19],这种性别差异除与女性平均寿命较长外,还与女性围绝经期雌激素水平降低有关,绝经后女性雌激素迅速降低增加了 AD 的易感性^[20]。事实上,对 40~60 岁女性人群的脑成像研究表明,与绝经前女性或年龄匹配的男性相比,围绝经期和绝经后女性的 AD 病理表现,特别是脑淀粉样蛋白 Aβ 沉积显著增加^[21]。

Aβ 的异常沉积是 AD 发病机制的关键环节^[22-24]。Aβ 级联假说首次提出,以 Aβ 为主要成

分的老年斑块细胞外沉积可能是 AD 发病机制的主要启动因素^[25]。研究表明,海马组织作为中枢神经系统最重要的组成部分之一,参与大脑信息存储和记忆等重要功能,在学习、记忆和情绪应激过程中发挥着不可替代的作用^[26]。在本研究中,为了证实卵巢切除对认知功能的影响,以及探索后续实验研究药物干预的时间,节约实验动物成本,故选择 3 月龄开始开始饲养,以期在 6~8 月龄中选取出现 Aβ 沉积和认知功能减退的最佳月龄和开始药物干预的时间。本研究水迷宫实验、硫磺素染色和透射电镜结果证实,随着小鼠年龄的增加,APP/PS1 小鼠的认知功能逐渐下降,Aβ 沉积增加。

有研究表明,雌激素可以改善认知功能和记忆力,降低 AD 的发病程度,并降低患 AD 的风险^[27-29]。有研究显示,雌激素可能通过降解 Aβ、下调神经源性炎症来改善记忆力^[30]。雌激素受体与雌激素结合后,调节基因转录,从而在动物繁殖、生长发育、脑神经保护中发挥重要作用^[31-32]。ERs 有

ER α 和 ER β 两种亚型,ER α 主要在脑中胆碱样神经元中表达,少量在海马组织中表达,而 ER β 主要在大脑皮层和海马区表达^[33]。先前的研究发现,APP/PS1 小鼠的 ER α mRNA 和蛋白质以年龄依赖性的方式减少,HEK/APP 细胞中 ER α 过表达可减少 A β 的产生^[34]。然而,在海马中发现了高水平的 ER β mRNA 表达,这表明 ER β 可能是学习记忆的功能性受体^[35]。这与本研究结果一致。在本研究中,APP/PS1 小鼠通过切除卵巢模拟绝经后女性低雌激素环境状态,随着月龄的增加,海马中 ER α 和 ER β 逐渐减少。与 sham 组相比,ovx 加速了这些变化。本研究结果表明,雌激素受体的表达与学习记忆密切相关,并可能对 A β 的沉积产生影响。

随着海马区 A β 的不断沉积,能够刺激神经细胞产生大量的 ROS^[36],过量的 ROS 不能被及时清除,进一步攻击生物膜脂质双分子层结构,破坏细胞膜的结构和功能,生成有害的 MDA^[37],MDA 是脂质氧化损伤的生物标志物,而 SOD 是抗氧化物,可清除过量的 ROS,一旦活性降低,抗氧化能力减弱,不利于机体清除血液及脑组织中氧自由基,加重血脑屏障损伤和神经退化,最终导致神经元凋亡和坏死,促进 AD 病情加重^[38]。本研究结果显示,APP/PS1 小鼠的 ROS 水平和 MDA 含量随着月龄的增加而增加,SOD 活力降低,抗氧化损伤能力减弱,ovx 加重了这种变化。

本研究发现 APP/PS1 小鼠在 6 月龄时出现认知功能障碍,8 月龄认知功能障碍和 A β 沉积更为明显,卵巢切除加重了认知障碍的发生,在 8 月龄时尤为显著,因此,本研究可指导在绝经后认知功能障碍研究中 APP/PS1 小鼠月龄的选择;同时,小鼠卵巢切除后的低雌激素状态可能会加剧海马 A β 沉积并导致 AD 的快速发展,APP/PS1 小鼠海马组织中雌激素受体表达降低与抗氧化能力水平降低、A β 水平升高,其认知功能降低均呈现月龄依赖性。但是,在 APP/PS1 转基因小鼠模型海马中,雌激素受体水平的下调是否通过信号通路转导调控 AD 的发生发展,仍需进一步的研究。

参考文献:

[1] MCCARTHY M, RAVAL A P. The peri-menopause in a woman's life: a systemic inflammatory phase that enables later neurodegenerative disease [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17 (1): 317.

[2] XIONG J, KANG S S, WANG Z, et al. FSH blockade improves

cognition in mice with Alzheimer's disease [J]. Nature, 2022, 603(7901): 470-476.

[3] MARONGIU R. Accelerated ovarian failure as a unique model to study peri-menopause influence on Alzheimer's disease [J]. Front Aging Neurosci, 2019, 11: 242.

[4] SATO K, TAKAYAMA K I, INOUE S. Expression and function of estrogen receptors and estrogen-related receptors in the brain and their association with Alzheimer's disease [J]. Front Endocrinol, 2023, 14: 1220150.

[5] OSSENKOPPELE R, VAN DER KANT R, HANSSON O. Tau biomarkers in Alzheimer's disease: towards implementation in clinical practice and trials [J]. Lancet Neurol, 2022, 21(8): 726-734.

[6] LIN T, TJERNBERG L O, SCHEDIN-WEISS S. Neuronal trafficking of the amyloid precursor protein-what do we really know? [J]. Biomedicines, 2021, 9(7): 801.

[7] JUCKER M, WALKER L C. Alzheimer's disease: From immunotherapy to immunoprevention [J]. Cell, 2023, 186 (20): 4260-4270.

[8] SÖDERBERG L, JOHANNESSON M, NYGREN P, et al. Lecanemab, aducanumab, and gantenerumab—binding profiles to different forms of amyloid-beta might explain efficacy and side effects in clinical trials for Alzheimer's disease [J]. Neurotherapeutics, 2023, 20(1): 195-206.

[9] SHEPHERD A, LIM J K H, WONG V H Y, et al. Progressive impairments in executive function in the APP/PS1 model of Alzheimer's disease as measured by translatable touchscreen testing [J]. Neurobiol Aging, 2021, 108: 58-71.

[10] WEBSTER S J, BACHSTETTER A D, NELSON P T, et al. Using mice to model Alzheimer's dementia: an overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models [J]. Front Genet, 2014, 5: 88.

[11] UDDIN M S, RAHMAN M M, JAKARIA M, et al. Estrogen signaling in Alzheimer's disease: molecular insights and therapeutic targets for Alzheimer's dementia [J]. Mol Neurobiol, 2020, 57(6): 2654-2670.

[12] MIFFLIN M A, WINSLOW W, SURENDRA L, et al. Sex differences in the IntelliCage and the Morris water maze in the APP/PS1 mouse model of amyloidosis [J]. Neurobiol Aging, 2021, 101: 130-140.

[13] TAO R, WANG N, SHEN T, et al. High-fidelity imaging of amyloid-beta deposits with an ultrasensitive fluorescent probe facilitates the early diagnosis and treatment of Alzheimer's disease [J]. Theranostics, 2022, 12(6): 2549-2559.

[14] WALL E G, DESAI R, KHANT AUNG Z, et al. Unexpected plasma gonadal steroid and prolactin levels across the mouse estrous cycle [J]. Endocrinology, 2023, 164(6): bqad070.

[15] CHEN J, CHEN Y H, LV H Y, et al. Effect of hyperbaric oxygen on lipid peroxidation and visual development in neonatal rats with hypoxia-ischemia brain damage [J]. Biomed Rep, 2016, 5(1): 136-140.

[16] LAL R, DHARAVATH R N, CHOPRA K. Alpha-lipoic acid

- ameliorates doxorubicin-induced cognitive impairments by modulating neuroinflammation and oxidative stress via NRF-2/HO-1 signaling pathway in the rat hippocampus [J]. *Neurochem Res*, 2023, 48(8): 2476–2489.
- [17] MISHRA P, DAVIES D A, ALBENSI B C. The interaction between NF- κ B and estrogen in Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60(3): 1515–1526.
- [18] PIKE C J. Sex and the development of Alzheimer's disease [J]. *J Neurosci Res*, 2017, 95(1/2): 671–680.
- [19] MISHRA A, WANG Y, YIN F, et al. A tale of two systems: Lessons learned from female mid-life aging with implications for Alzheimer's prevention & treatment [J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 74: 101542.
- [20] SOCHOCKA M, KARSKA J, PSZCZOŁOWSKA M, et al. Cognitive decline in early and premature menopause [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6566.
- [21] SCHEYER O, RAHMAN A, HRISTOV H, et al. Female sex and Alzheimer's risk: the menopause connection [J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2018, 5(4): 225–230.
- [22] ASHRAFIAN H, ZADEH E H, KHAN R H. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 167: 382–394.
- [23] ZHANG Y, CHEN H, LI R, et al. Amyloid β -based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 248.
- [24] SALLOWAY S, CHALKIAS S, BARKHOF F, et al. Amyloid-related imaging abnormalities in 2 phase 3 studies evaluating aducanumab in patients with early alzheimer disease [J]. *JAMA Neurol*, 2022, 79(1): 13–21.
- [25] HUANG S Y, ZHANG Y R, GUO Y, et al. Glymphatic system dysfunction predicts amyloid deposition, neurodegeneration, and clinical progression in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement*, 2024, 20(5): 3251–3269.
- [26] KIM T A, SYTY M D, WU K, et al. Adult hippocampal neurogenesis and its impairment in Alzheimer's disease [J]. *Zool Res*, 2022, 43(3): 481–496.
- [27] ZHAO W, HOU Y, SONG X, et al. Estrogen deficiency induces mitochondrial damage prior to emergence of cognitive deficits in a postmenopausal mouse model [J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 713819.
- [28] TECALCO-CRUZ A C, LÓPEZ-CANOVAS L, AZUARA-LICEAGA E. Estrogen signaling via estrogen receptor alpha and its implications for neurodegeneration associated with Alzheimer's disease in aging women [J]. *Metab Brain Dis*, 2023, 38(3): 783–793.
- [29] MARBOUTI L, ZAHMATKESH M, RIAHI E, et al. GnRH protective effects against amyloid β -induced cognitive decline; a potential role of the 17 β -estradiol [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020, 518: 110985.
- [30] LAI Y J, ZHU B L, SUN F, et al. Estrogen receptor α promotes Cav1.2 ubiquitination and degradation in neuronal cells and in APP/PS1 mice [J]. *Aging Cell*, 2019, 18(4): e12961.
- [31] MOORS T E, LI S, MCCAFFERY T D, et al. Increased palmitoylation improves estrogen receptor alpha-dependent hippocampal synaptic deficits in a mouse model of synucleinopathy [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(46): ead1454.
- [32] MAIOLI S, LEANDER K, NILSSON P, et al. Estrogen receptors and the aging brain [J]. *Essays Biochem*, 2021, 65(6): 913–925.
- [33] BORA S H, LIU Z, KECOJEVIC A, et al. Direct, complex effects of estrogens on basal forebrain cholinergic neurons [J]. *Exp Neurol*, 2005, 194(2): 506–522.
- [34] TANG Y, MIN Z, XIANG X J, et al. Estrogen-related receptor alpha is involved in Alzheimer's disease-like pathology [J]. *Exp Neurol*, 2018, 305: 89–96.
- [35] GU Y, ZHANG N, ZHU S, et al. Estradiol reduced 5-HT reuptake by downregulating the gene expression of Plasma Membrane Monoamine Transporter (PMAT, Slc29a4) through estrogen receptor β and the MAPK/ERK signaling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 924: 174939.
- [36] ZHANG H, SU Y, SUN Z, et al. Ginsenoside Rg1 alleviates A β deposition by inhibiting NADPH oxidase 2 activation in APP/PS1 mice [J]. *J Ginseng Res*, 2021, 45(6): 665–675.
- [37] JOMOVA K, VALKO M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease [J]. *Toxicology*, 2011, 283(2/3): 65–87.
- [38] BALENDRA V, SINGH S K. Therapeutic potential of astaxanthin and superoxide dismutase in Alzheimer's disease [J]. *Open Biol*, 2021, 11(6): 210013.

[收稿日期]2024-04-16