

基于 PI3K/AKT/GSK-3 β 通路探讨远志散 调控阿尔兹海默病大鼠 tau 蛋白磷酸化的研究

谢沛俊¹ 郝彦伟² 郭静² 喻俊榕² 李斌¹

(1.成都中医药大学附属医院,四川 成都 610000; 2.成都中医药大学,四川 成都 610000)

摘要:目的 观察远志散对 A β 1-40 所致阿尔兹海默病(Alzheimer's Disease, AD)模型大鼠海马 CA1 区 tau 蛋白磷酸化的影响及其作用机制研究。方法 SPF 级 SD 大鼠 60 只,随机分为 6 组,每组 10 只,雌雄各半。除假手术组外,其余各组大鼠双侧海马各注射 A β 1-40 5 μ L 造模,假手术组给予同等剂量生理盐水。多奈哌齐组、远志散组分别给予盐酸多奈哌齐(1.02 mg/kg)、远志散不同剂量(低、中、高剂量组分别为 3、6、12 g/kg)灌胃。给药 8 周后,每组各取 6 只,雌雄各半,免疫组化法检测海马 CA1 区 tau 蛋白磷酸化位点表达,及 PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路相关蛋白表达。结果 与假手术组相比,模型组大鼠海马 CA1 区 P-Tau(Ser199)/tau5、P-Tau(Thr231)/tau5 比值升高($P < 0.001$),P-AKT/AKT、P-GSK-3 β /GSK-3 β 比值降低($P < 0.001$);与模型组相比,远志散各组大鼠海马 CA1 区 P-Tau(Ser199)/tau5、P-Tau(Thr231)/tau5 比值降低($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$),P-AKT/AKT、P-GSK-3 β /GSK-3 β 比值升高($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。结论 远志散可抑制 A β 1-40 致 AD 模型大鼠海马 CA1 区 tau 蛋白磷酸化表达,其作用机制与调节 PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路有关。

关键词: 远志散; 阿尔兹海默病; tau 蛋白; PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-7717(2020)11-0167-11

Yuanzhi Powder Regulates Phosphorylation of Tau Protein through PI3K/AKT/GSK-3 β Pathway in Alzheimer's Disease Model Rats

XIE Peijun¹ HAO Yanwei² GUO Jing² YU Junrong² LI Bin¹

(1.Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610000, Sichuan, China;

2.Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610000, Sichuan, China)

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of Yuanzhi Powder on tau protein phosphorylation in hippocampal CA1 region of Alzheimer's disease(AD) model rats induced by A β 1-40. Methods A total of 60 SPF SD rats were randomly divided into six groups, 10 in each group, half male and half female. The bilateral hippocampus of rats were injected with A β 1-40 5 μ L except the sham-operation group rats. Rats of sham-operation group were injected with 5 μ L saline. Rats in other groups except sham-operation group and model group, were administrated Yuanzhi Powder(3 g/kg, 6 g/kg, 12 g/kg) or donepezil(1.02 mg/kg). After 8 weeks of administration, 6 rats in each group, half male and half female, were chose to detect the expressions of tau protein phosphorylation and related protein expression of PI3K/AKT/GSK-3 β signaling pathway in hippocampal CA1 region by IHC. Results Compared with rats in sham-operated group, P-Tau(Ser199)/tau5 and P-Tau(Thr231)/tau5 of rats were increased($P < 0.001$), and P-AKT/AKT and P-GSK-3 β /GSK-3 β of rats were decreased($P < 0.001$) in hippocampal CA1 areas of the model group. Compared with rats in model group, P-Tau(Ser199)/tau5 and P-Tau(Thr231)/tau5 of rats were decreased($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), and P-AKT/AKT and P-GSK-3 β /GSK-3 β of rats were increased($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$) in Yuanzhi Powder groups. Conclusion Yuanzhi Powder can inhibit the phosphorylation of tau protein in hippocampal CA1 region of AD rats induced by A β 1-40, which may be related to the regulation of PI3K/AKT/GSK-3 β signaling pathway.

Keywords: Yuanzhi Powder; Alzheimer's disease; tau protein; PI3K/AKT/GSK-3 β signaling pathway

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(81704024); 成都中医药大学附属医院科技发展基金(2016-D-YY-36)

作者简介: 谢沛俊(1989-),女,山西运城人,博士研究生,研究方向: 中医药防治老年疾病。

通讯作者: 李斌(1987-),男,山西晋城人,副教授,博士,研究方向: 中医药防治老年疾病。E-mail: libin@cdutcm.edu.cn。

阿尔兹海默病(Alzheimer's Disease, AD)是以认知功能损害(包括记忆障碍、感知障碍、语言障碍等)、精神行为症状(焦虑、抑郁、幻觉等)和社会生活功能障碍等为主要临床特征的老年性精神障碍性疾病之一,目前对于AD发病基本机制的研究,主要集中在细胞内tau蛋白过度磷酸化和细胞外 β 淀粉样蛋白沉积两大方面^[1]。尽管早已证实了AD患者神经系统存在 β -淀粉样蛋白($A\beta$)沉积的病理改变,但是否其发病机制还尚有争议^[2]。有临床研究表明,tau蛋白磷酸化与AD患者早期认知功能下降的关系更为密切^[3]。因此,近年来,tau蛋白磷酸化成为AD临床及实验研究的关键靶点^[4-6]。Tau蛋白磷酸化受多种激酶及相关信号通路的调节,其中磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)/糖原合成酶激酶3 β (GSK-3 β)信号通路是调节tau蛋白磷酸化的最重要通路之一^[7-8]。PI3K/AKT通过该通路的下游信号分子GSK-3 β 发挥作用,GSK-3 β 激活后会促进tau蛋白的磷酸化^[9-10]。本课题组前期实验研究表明,远志散能够提高东莨菪碱所致记忆获得性障碍性小鼠和D-半乳糖所致衰老模型小鼠的学习记忆能力^[11-12],但具体作用机制尚不明确,因此本实验在前期研究的基础上采用双侧海马区注射 $A\beta$ 1-40进行AD大鼠造模,通过观察远志散对于模型大鼠海马CA1区tau蛋白磷酸化相关位点(Ser199、Thr231)及P-AKT、AKT、P-GSK-3 β 、GSK-3 β 蛋白表达的影响,探讨远志散对AD模型大鼠海马CA1区tau蛋白磷酸化的影响及作用机制,为进一步的临床研究,提供实验研究依据。

1 材料

1.1 实验药物 远志散出自《政和圣济总录》,按原书记载的药物剂量比例进行配伍:远志12g,石菖蒲18g,白茯苓15g,人参9g,黄连12g,上述中药饮片一次性购于四川康美药业生产有限公司。多奈哌齐片(5mg/片)购于陕西方舟制药有限公司(批号:18062706)。 $A\beta$ 1-40(1mg/支)购于sigma公司(批号:077m4883v), -20°C 冰箱保存。

1.2 实验动物 SPF级Sprague Dawley大鼠,60只,8周龄,雌雄各半,体质量约200~220g/只,由成都达硕动物公司(许可证号:SYXK(川)2015-030)提供,饲养于成都中医药大学中医脏腑病实验室动物房,室温在21~23 $^{\circ}\text{C}$,自然光照,明暗交替各12h。自由摄食水。本实验研究符合实验动物福利的基本要求,由成都中医药大学动物实验伦理中心审查。

1.3 主要试剂 一抗:鼠抗Tau5单克隆抗体购于Millipore(批号#MAB361),兔抗AKT、P-GSK-3 β (Ser9)、GSK-3 β 单克隆抗体均购于CST(批号分别为:#4685、#9323s、#9315),兔抗P-Tau(Thr231)多克隆抗体购于SAB(批号:#11110-2),兔抗P-Tau(Ser199)、P-AKT(Thr308)多克隆抗体分别购于Invitrogen、abcam(批号分别为:44734G、ab8933)。二抗:山羊抗兔、山羊抗小鼠均购于Servicebio(批号:G1211)。

1.4 主要仪器 脑立体定位仪(成都泰盟科技有限公司)、包埋机(武汉俊杰电子公司,JB-P5)、病理切片机(上海徕

卡仪器公司, RM2016)、显微镜(Olympus)等。

2 方法

2.1 药物制备 中药饮片按照原方的剂量配比,分3次熬制,再将3次熬制的粗滤液浓缩为1.2g/mL浓度,并存放于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。多奈哌齐片研磨成粉末后,加入生理盐水,配制成0.102mg/mL浓度。 $A\beta$ 1-40凝聚态制备:将 $A\beta$ 1-40完全溶解于无菌生理盐水后,放入37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温箱中,孵育1周后备用。

2.2 Morris水迷宫实验 水迷宫实验分别在分组前3天(造模前)及造模后第5天开始。每次共3天,前2天为学习训练期,第3天为定位航行期。测试前,向水迷宫圆桶中第IV象限放置平台,并加入温水及适量的白色素,隐藏平台,依次从3个象限入水点将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠爬上平台的时间,即为逃避潜伏期,若120s内未找到则记录为120s。学习训练期时,每个象限结束后均将大鼠留滞或放置平台10s后,进行下一象限训练。定位航行期,记录每个象限大鼠的逃避潜伏期,取其平均值。

2.3 分组、造模及给药 首先利用Morris水迷宫测试,剔除天生愚钝型大鼠。选出雌雄各半60只大鼠,用SPSS 23.0产生随机数字,将其随机分为6组,每组10只,雌雄各半,假手术组、模型组、盐酸多奈哌齐组(1.02mg/kg)、远志散干预组(低、中、高剂量组分别给予远志散生药3、6、12g/kg)。

适应性饲养1周后进行。10%水合氯醛,以400mg/kg的剂量腹腔注射麻醉大鼠,麻醉后剔除头顶毛发备皮。造模^[13]:将大鼠固定于脑立体定位仪上,常规碘伏消毒及酒精脱碘后,沿头顶正中中线切开皮肤约1.5cm,充分暴露前囟,钝性分离皮下组织,定位前囟向后3.0mm、大脑正中线上旁开2.0mm,左右各一在硬膜上进行标注。标注点使用微孔牙科钻钻孔,有落空感后迅速拔出牙科钻。5 μL 玻璃微量注射器,垂直进针4.0mm,将5 μL 凝聚态 $A\beta$ 1-40以1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的速度分别缓慢注入大鼠左右海马区(除假手术组外),注射完毕后留针5min。缓慢拔出针头后缝合消毒,并在伤口处予阿米卡星喷雾剂,预防伤口感染。假手术组以同样方式注射5 μL 的生理盐水。造模完毕后将大鼠移至电暖旁单笼放置,直至清醒。

造模7d后灌胃给药。各组均按照0.1mL/10g给药,每天上午1次。远志散(低、中、高剂量)组分别给予浓度为0.3、0.6、1.2g/mL的远志散水煎剂。多奈哌齐组给予浓度为0.102mg/mL的多奈哌齐。假手术组、模型组给予无菌水。

2.4 脑组织取材固定 末次灌胃结束1周后,每组雌雄各3只,大鼠心脏灌注取材。禁食不禁水8h后麻醉(方法同上),开胸,充分暴露心尖部,插入针头,迅速剪开右心耳,观察到暗红色血液流出后,快速推注预冷的0.9%无菌生理盐水,置换出体内部分血液,待肝脏发白后换用4%多聚甲醛灌注,先快后慢,直至尾部出现阳性反应。断头,取出固定的脑组织,放入4%多聚甲醛室温下再次固定。

2.5 免疫组化法检测大鼠海马 CA1 区相关蛋白表达 固定 24 h 后 将大脑组织脱水-浸蜡-包埋-切片后 依次浸入二甲苯、无水乙醇、酒精进行脱蜡 放入微波炉内抗原修复 20 min 双氧水孵育 25 min 以灭活内源性过氧化物酶 封闭 30 min 先后分别加入一抗、二抗孵育 DAB 显色 苏木素复染脱水封片后 光学显微镜下观察海马 CA1 区 神经元中棕黄色颗粒即为阳性表达。每张切片随机选取 3 个 400 倍视野 采用 IPP 6.0 进行 IHC 图像分析 计算出每个视野的平均光密度值 (MOD) = IOD/Area 取 3 个视野的平均值 用以半定量分析 Tau5、P-Tau (Ser199)、P-Tau (Thr231)、P-AKT (Thr308)、AKT、GSK-3 β 、P-GSK-3 β (Ser9) 蛋白的表达 以 P-Tau (Ser199)/tau5、P-Tau (Thr231)/tau5 表示 tau 蛋白磷酸化水平 以 P-AKT (Thr308)/AKT、P-GSK-3 β (Ser9)/GSK-3 β 分别表示 AKT、GSK-3 β 磷酸化水平。

2.6 统计分析方法 利用 SPSS 23.0 软件进行数据统计 各组实验数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。先对各组数据进行正态性检验 再进行方差齐性检验。不符合正态分布的进行非参数检验 符合正态分布 方差齐行 LSD 检验 方差不齐行 T3 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 Morris 水迷宫检测大鼠造模前后逃避潜伏期 见表 1。定位航行期结果显示:造模前 两组大鼠逃避潜伏期无明显差异;造模后 与假手术组相比 A β 1-40 造模组大鼠逃避潜伏期明显延长($P<0.05$) 说明模型组大鼠学习记忆能力受到损伤 证实造模成功^[14]。

表 1 造模前后假手术组、A β 1-40 造模组大鼠潜伏期比较($\bar{x}\pm s$)

组别	造模药物	剂量 ($\mu\text{L}\cdot\text{只}$)	造模前(s)	造模后(s)
假手术组	生理盐水	5	24.56 \pm 3.22	25.62 \pm 2.94
A β 1-40 造模组	A β 1-40(凝聚态)	5	23.38 \pm 1.87	39.35 \pm 3.74 [#]

注:与假手术组相比 $\#P<0.05$

3.2 远志散对海马 CA1 区 tau 蛋白磷酸化位点 (Ser199、Thr231) 的影响 见插页 XXII~XXIV 图 1~图 3、表 2。与假手术组相比 模型组大鼠 P-Tau (Ser199)/tau5、P-Tau (Thr231)/tau5 比值显著升高($P<0.001$) 说明其 CA1 区 tau 蛋白磷酸化水平显著增加;与模型组相比 远志散各组大鼠 P-Tau (Ser199)/tau5、P-Tau (Thr231)/tau5 比值降低($P<0.05$ $P<0.01$ $P<0.001$) 说明其 tau 蛋白磷酸化水平降低。

3.3 远志散对海马 CA1 区 AKT、GSK-3 β 蛋白磷酸化水平的影响 插页 XXV~XXVIII 图 4~图 7、表 3。与假手术组相比 模型组大鼠 P-AKT/AKT、P-GSK-3 β /GSK-3 β 比值降低($P<0.001$) 说明其 CA1 区 AKT、GSK-3 β 蛋白磷酸化水平降低;与模型组相比 远志散各组大鼠 P-AKT/AKT、P-GSK-3 β /GSK-3 β 比值升高($P<0.05$ $P<0.01$ $P<0.001$) 说明其 CA1 区 AKT、GSK-3 β 蛋白磷酸化水平增加。

表 2 远志散对海马 CA1 区 P-Tau (Ser199)、P-Tau (Thr231) 蛋白表达水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量	P-Tau (Ser199) /tau5	P-Tau (Thr231) /tau5
假手术组	6	-	0.31 \pm 0.06	0.72 \pm 0.14
模型组	6	-	1.29 \pm 0.06 ^{###}	1.84 \pm 0.24 ^{###}
阳性对照组	6	1.02 mg/kg	0.98 \pm 0.17 [*]	1.51 \pm 0.12 [*]
远志散组	6	3 g/kg	1.00 \pm 0.23 [*]	1.61 \pm 0.05 [*]
远志散组	6	6 g/kg	0.76 \pm 0.15 ^{**}	0.94 \pm 0.08 ^{***}
远志散组	6	12 g/kg	0.74 \pm 0.06 ^{**}	1.26 \pm 0.10 ^{***}

注:与假手术组相比 $###P<0.001$;与模型组相比 $^*P<0.05$ $^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$

表 3 远志散对 AD 模型大鼠海马 CA1 区 GSK-3 β 、AKT 磷酸化水平表达的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量	P-AKT/AKT	P-GSK-3 β / GSK-3 β
假手术组	6	-	1.84 \pm 0.23	2.49 \pm 0.43
模型组	6	-	0.75 \pm 0.18 ^{###}	0.53 \pm 0.10 ^{###}
阳性对照组	6	1.02 mg/kg	1.30 \pm 0.24 ^{**}	1.29 \pm 0.22 ^{**}
远志散组	6	3 g/kg	1.04 \pm 0.08 [*]	0.92 \pm 0.08 [*]
远志散组	6	6 g/kg	1.20 \pm 0.12 ^{**}	1.43 \pm 0.31 ^{***}
远志散组	6	12 g/kg	1.05 \pm 0.12 [*]	1.47 \pm 0.17 ^{***}

注:与假手术组相比 $###P<0.001$;与模型组相比 $^*P<0.05$ $^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$

4 讨论

阿尔兹海默病早期患者病情较轻 可见健忘、心情烦躁 反应迟钝 神情淡漠等症状^[15] 中晚期病情较重 可见言辞颠倒、喜怒无常、寡言少语或喃喃自语、行为无常等症状。随着全球老龄化社会的发展 老年痴呆的发病率逐年增高 预估 2050 年老年痴呆患者将增至 1.31 亿^[16] 其中 50%~70% 为阿尔兹海默病患者。AD 不仅是一个医学难题 还将逐渐成为一个社会和经济难题 是老年病学亟待解决的临床难治性疾病之一^[17]。

根据其临床表现 多将其归属于祖国医学“痴呆”范畴 本病见于年老患者 是衰老的常见伴随症之一。痰浊与衰老关系密切 是年老患者常见的病理产物。年老者脏腑功能衰退 正气渐亏 则痰浊内生 易蒙蔽神窍导致痴呆的发生。如陈士铎所言“痰积于脑中……使神明不清而成呆病”(《临证录·呆病》) 痰浊凝滞日久则易郁而化热 痰因火动 火热扰动心神 进一步加重痴呆的病情进展 如程钟龄所言“亦有痰因火动 痰客心胞者 此乃神志昏愤”(《医学心悟·健忘》)。因此针对痴呆 气虚为本痰火为标的病机 应标本兼治 以化痰开窍 益气清心为治疗大法 选用远志散。远志散出自《政和圣济总录》 由远志、石菖蒲、茯苓、人参、黄连组成 组方精炼 以化痰开窍为主 辅以益气清心 切合痴呆病因病机 原文记载此方可“治健忘 补心气 强力益智”。远志散及其组成药物是临床常用治疗 AD 的方药 多项研究表明^[18-19] 具有良好的改善 AD 患者记忆及认知能力的作用 但其作用机制尚不明确。

PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路对细胞生长、存活、凋亡、增殖起着至关重要的作用^[20] 也是导致 tau 蛋白磷酸化

进而引起AD发生的重要通路之一。PI3K活化后会促进AKT的Thr308位点磷酸化,使AKT活化,故通常可通过AKT磷酸化水平反应PI3K的活性。活化后的AKT会对信号通路下游GSK-3 β 产生负性调节作用。神经元胞质中的GSK-3 β 即是活化状态,AKT会引起GSK-3 β 的Ser9位点的磷酸化,此位点磷酸化会抑制GSK-3 β 的活性。GSK-3 β 是人体内重要的苏氨酸/丝氨酸蛋白激酶,可促进tau蛋白多个位点磷酸化,过度磷酸化的tau蛋白一方面降低了微管的稳定性,导致微管结构的崩解,促进神经纤维退化;另一方面磷酸化的tau蛋白相互聚集,形成双股螺旋细丝,导致神经纤维缠结,促进AD的发生发展。综上所述,通过调控PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路,减轻tau蛋白磷酸化是治疗AD药物实验研究的重点之一^[21-22]。

为进一步探索远志散改善AD的作用机制,本治疗组采用A β 1-40注射造模,免疫组化法半定量相关蛋白的表达。结果表明,模型组大鼠海马CA1区tau蛋白磷酸化位点(Ser199, Thr231)蛋白水平显著增高,AKT、GSK-3 β 磷酸化水平显著降低,说明A β 1-40可通过降低PI3K的活性,降低AKT、GSK-3 β 磷酸化水平,从而促进tau蛋白磷酸化;结果还表明远志散剂量组大鼠海马CA1区tau蛋白磷酸化水平降低,AKT、GSK-3 β 磷酸化水平升高,说明远志散可通过提高PI3K的活性,促进AKT、GSK-3 β 磷酸化水平,从而降低tau蛋白的磷酸化水平。

综上所述,远志散可通过调节PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路,减轻tau蛋白的异常磷酸化,从而改善AD模型的学习记忆能力。但远志散对其他相关靶点的作用及机制需进一步的深入研究。

参考文献

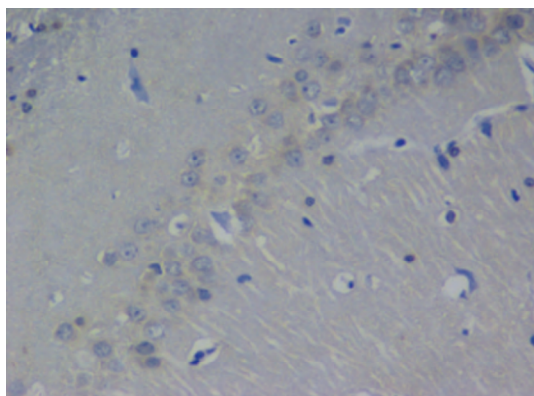
- [1] JILL JIN. Alzheimer disease JAMA Patient Page [J]. JAMA, 2001, 286(17): 2194.
- [2] MATTHEW J, EDWARD B, EVELINE SUN, et al. Intraneuronal APP, Not Free A β Peptides in 3xTg-AD Mice: Implications for Tau versus A β -Mediated Alzheimer Neurodegeneration [J]. The Journal of Neuroscience, 2011, 31(21): 7691-7699.
- [3] OSSENKOPPELE R, SMITH R, OHLSSON T, et al. Associations between tau, A β , and cortical thickness with cognition in Alzheimer disease [J]. Neurology, 2019, 92(6): e601-e612.
- [4] GORDON B, BLAZEY T, CHRISTENSEN J, et al. Tau PET in autosomal dominant Alzheimer's disease: relationship with cognition, dementia and other biomarkers [J]. Brain, 2019, 142(4): 1063-1076.
- [5] KUWABARA H, COMLEY R, BORRONI E, et al. Preclinical Evaluation of F-R06958948, C-R06931643, and C-R06924963 as Novel PET Radiotracers for Imaging Tau Aggregates in Alzheimer Disease [J]. Journal of Nuclear Medicine, 2018, 59(12): 675-681.
- [6] MATSUNAGA S, KISHI T, ANNAS P, et al. Lithium as a Treatment for Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. Journal of Alzheimers Disease, 2015, 41(7): 467.
- [7] ALI T, KIM MO. Melatonin ameliorates amyloid beta-induced

memory deficits, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration via PI3/Akt/GSK-3 β pathway in the mouse hippocampus [J]. Journal of Pineal Research, 2015, 59(1): 47-59.

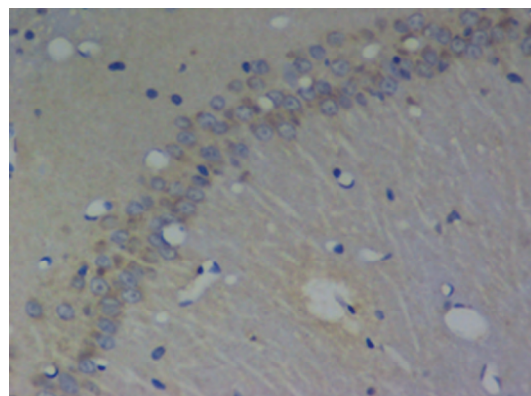
- [8] KITAGISHI Y, NAKANISHI A, OGURA Y, et al. Dietary regulation of PI3K/AKT/GSK-3 β pathway in Alzheimer's disease [J]. Alzheimers Research & Therapy, 2014, 6(3): 35.
- [9] HERNANDEZ F, LUCAS J, AVILA J. GSK3 and Tau: Two Convergence Points in Alzheimers Disease [J]. Journal of Alzheimers Disease, 2013, 33(S1): 141-144.
- [10] 齐越, 姜鸿, 李纪彤, 等. 益智聪明汤对A β 1-40致阿尔茨海默病小鼠tau蛋白磷酸化的影响 [J]. 中成药, 2017, 39(10): 1999-2003.
- [11] 郭静, 李斌, 王智超, 等. 远志散对D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆及氧化应激水平的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(9): 2144-2147, 2314.
- [12] 李斌, 孙中莉, 陈冠儒, 等. 远志散对东莨菪碱致记忆获得性障碍模型小鼠行为学及脑内AChE活性的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2017, 34(5): 733-736.
- [13] 安红梅, 张占鹏, 史云峰, 等. 补肾填精方对A β 1-40所致老年性痴呆模型大鼠行为学及病理学的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(1): 23-26.
- [14] 张晓平, 马大龙, 刘帆, 等. 醒脑益智组方中药对AD模型大鼠学习记忆障碍的实验研究 [J]. 中药药理与临床, 2018, 34(4): 144-148.
- [15] 张帅, 韦云, 李浩. 基于治未病理论探讨阿尔茨海默病防治思路 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(4): 453-456.
- [16] Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2015. The global impact of dementia. An analysis of prevalence, incidence, cost & trends [R]. London: 2015. Available online: https://www.alz.co.uk/research/World_Alzheimer_Report_2015.pdf
- [17] HAMPEL H, TOSCHI N, BABILONI C, et al. Revolution of Alzheimer Precision Neurology: Passageway of Systems Biology and Neurophysiology [J]. Journal of Alzheimer's Disease, 2018, 64(S1): 47-105.
- [18] WEI-JIE Q, YING C, FU-YUAN H, et al. Molecular Biological Mechanisms of Yuan Zhi Powder in the Treatment of Alzheimer's Disease: an Analysis Based on Network Pharmacology Digital Chinese Medicine [J]. Digital Chinese Medicine, 2018, 1(1): 90-101.
- [19] 臧彩霞, 鲍秀琦, 孙华, 等. 中药复方治疗阿尔茨海默症的研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(4): 157-161.
- [20] 朱金华, 徐义勇, 万红娇, 等. 温胆汤对精神分裂症模型大鼠海马组织PI3K, Akt和GSK3 β 的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(1): 101-106.
- [21] CHENG W, CHEN W, WANG P, et al. Asiatic acid protects differentiated PC12 cells from A β 25-35-induced apoptosis and tau hyperphosphorylation via regulating PI3K/Akt/GSK-3 β signaling [J]. Life Sciences, 2018, 208(7): 96-101.
- [22] YAO Y, WANG Y, KONG L, et al. Osthole decreases tau protein phosphorylation via PI3K/AKT/GSK-3 β signaling pathway in Alzheimer's disease [J]. Life Sciences, 2019, 217(1): 16-24.

基于 PI3K/AKT/GSK-3 β 通路探讨远志散调控 AD 大鼠 tau 蛋白磷酸化的研究

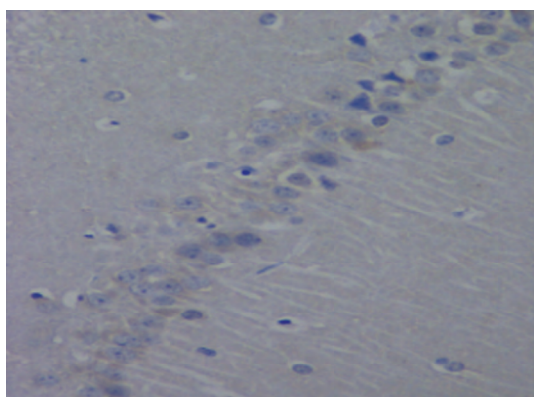
(正文见 167-170 页)



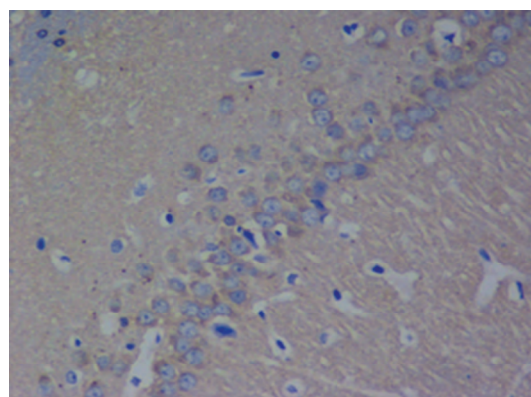
假手术组



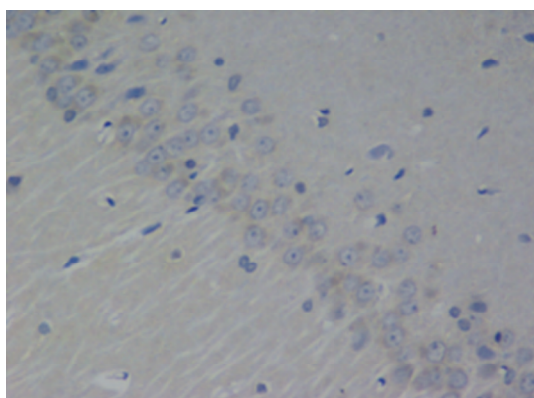
A β 1-40 模型组



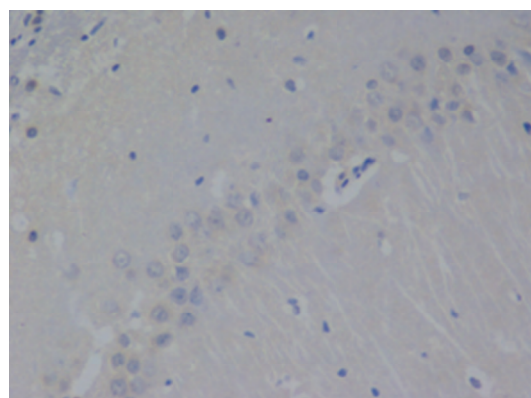
多奈哌齐组



远志散低剂量组

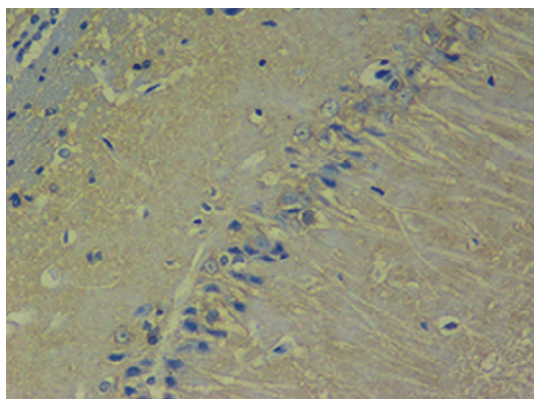


远志散中剂量组

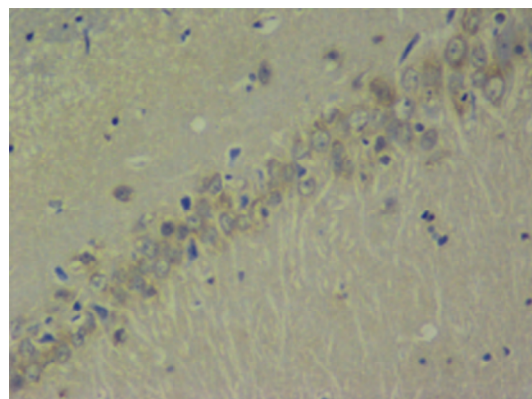


远志散高剂量组

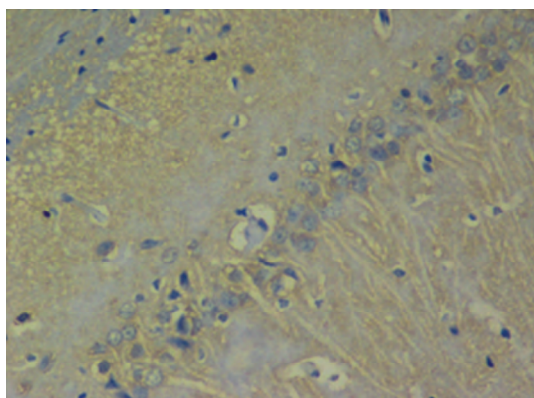
图1 各组大鼠海马 CA1 区 tau5 蛋白表达水平(IHC, $\times 400$)



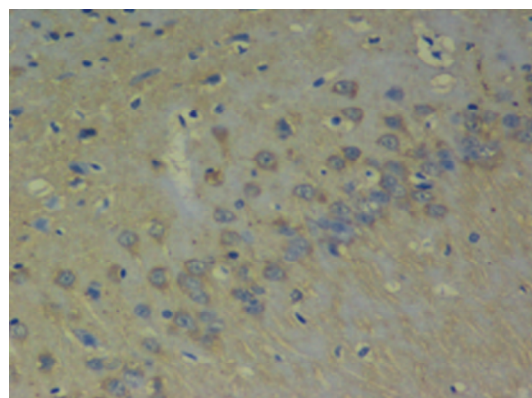
假手术组



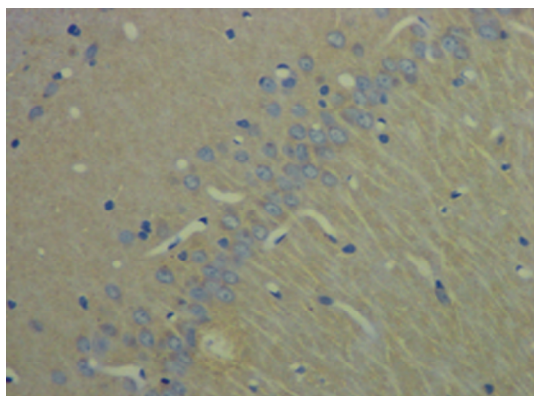
Aβ1-40 模型组



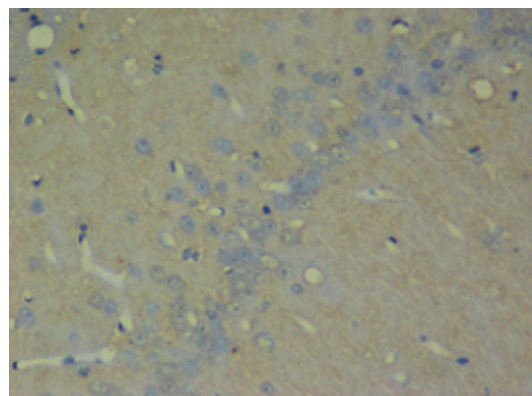
多奈哌齐组



远志散低剂量组

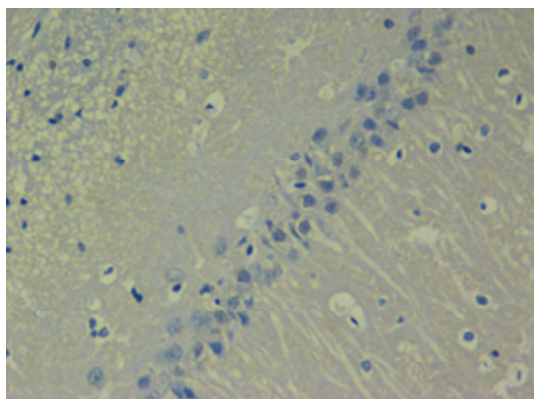


远志散中剂量组

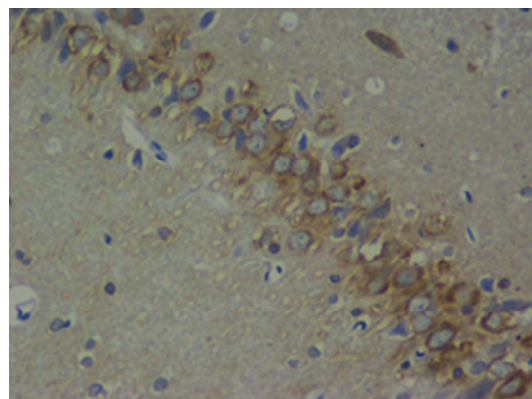


远志散高剂量组

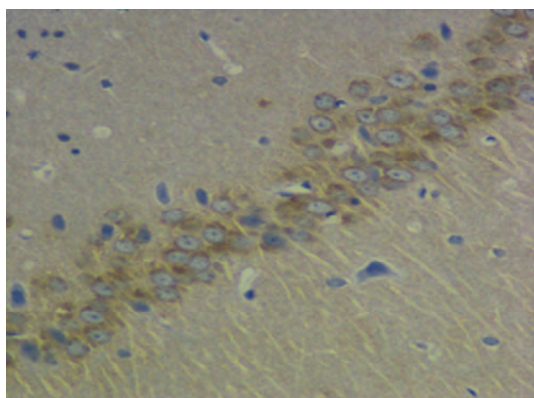
图2 各组海马CA1区P-Tau(Ser199)蛋白表达水平(IHC, ×400)



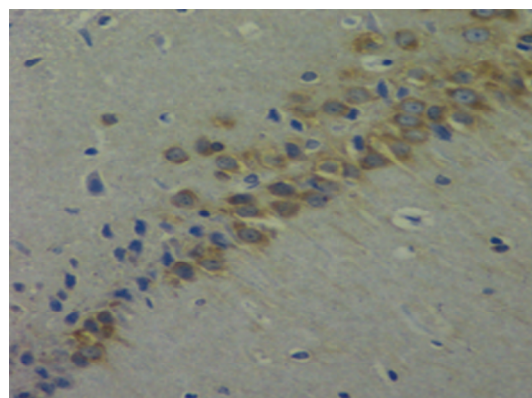
假手术组



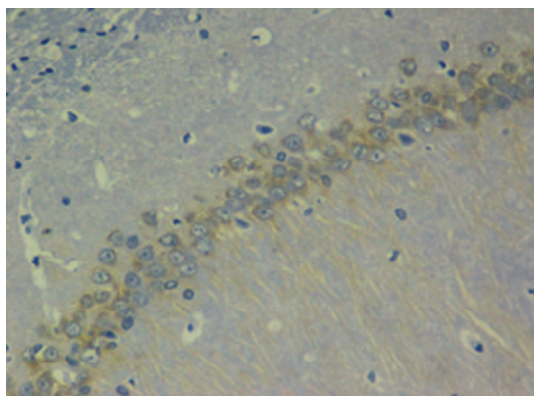
Aβ1-40 模型组



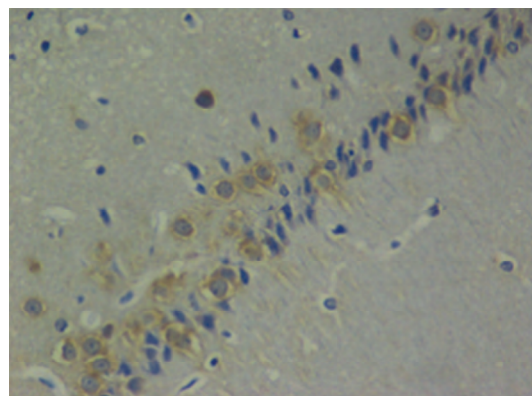
多奈哌齐组



远志散低剂量组

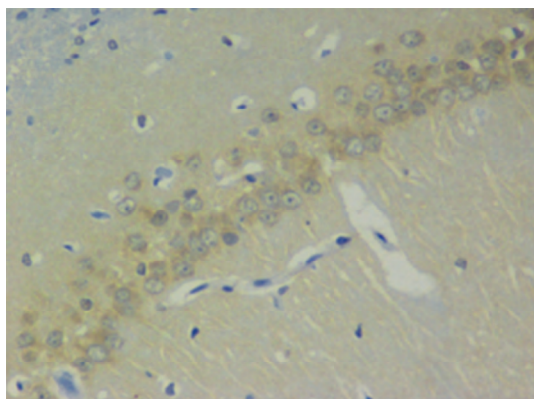


远志散中剂量组

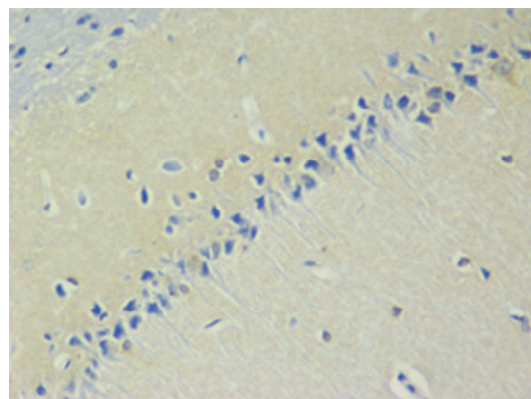


远志散高剂量组

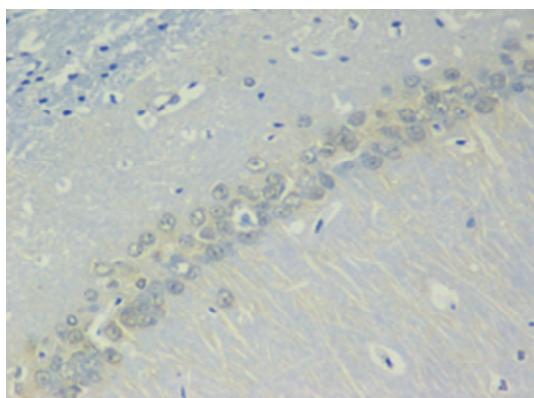
图3 各组海马CA1区P-Tau(Thr231)蛋白表达水平(IHC, ×400)



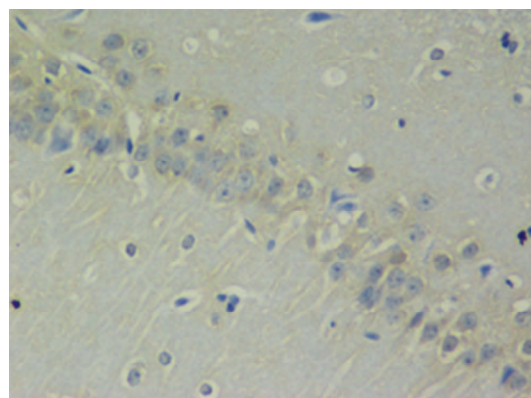
假手术组



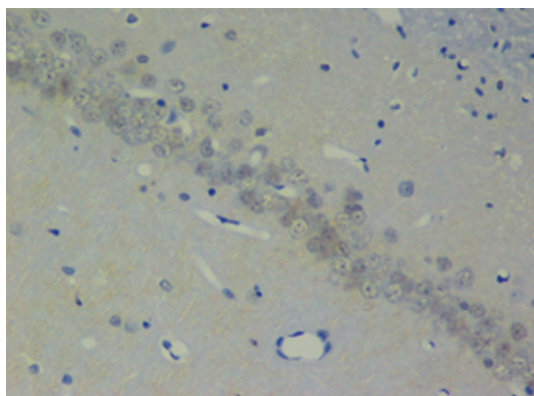
Aβ1-40 模型组



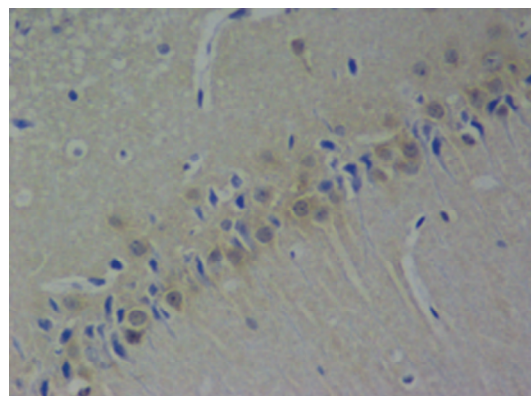
多奈哌齐组



远志散低剂量组

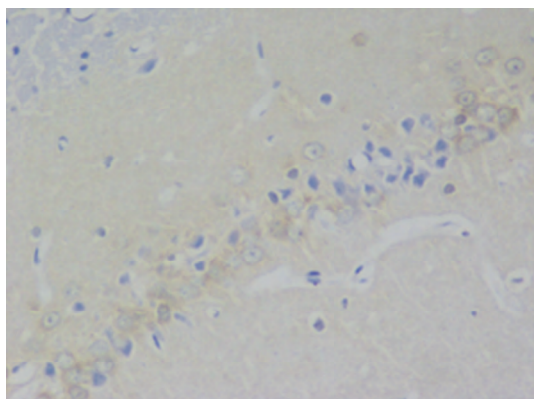


远志散中剂量组

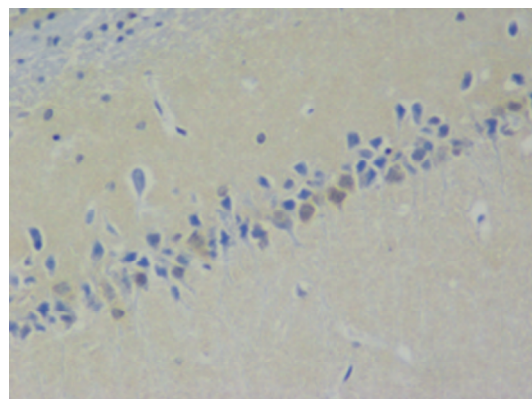


远志散高剂量组

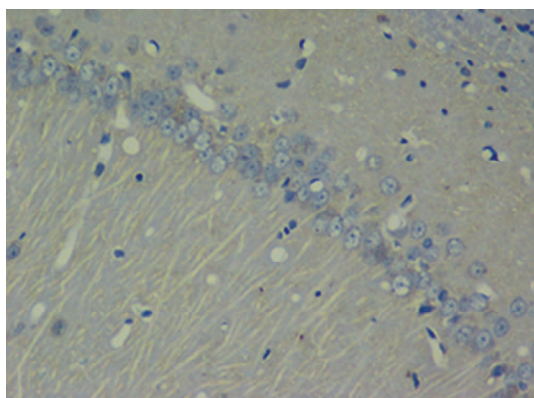
图4 各组海马CA1区P-AKT(Thr308)蛋白表达水平(IHC, ×400)



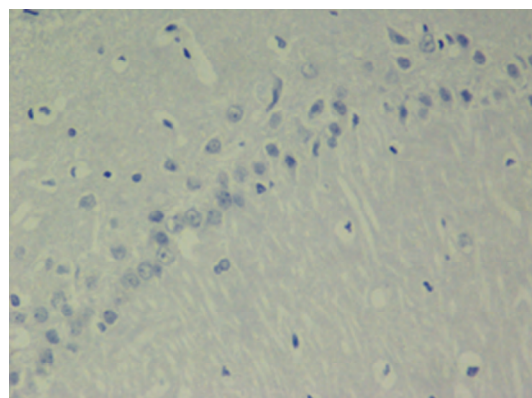
假手术组



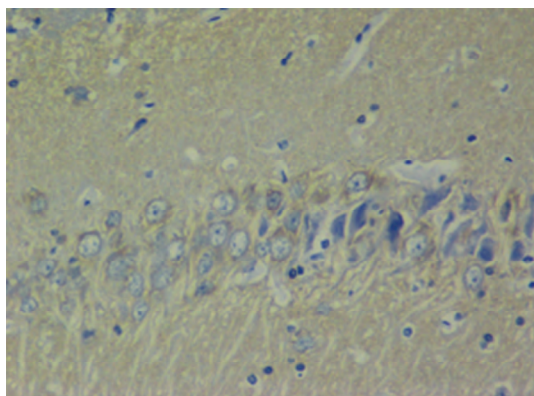
Aβ1-40 模型组



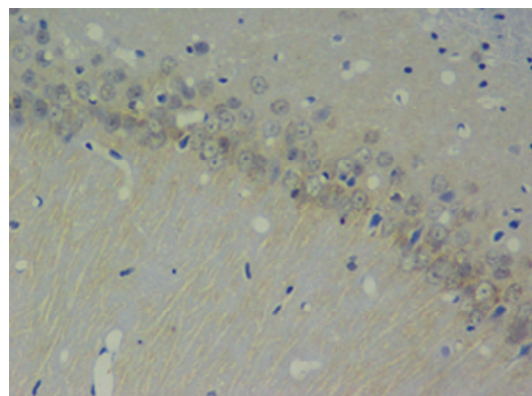
多奈哌齐组



远志散低剂量组

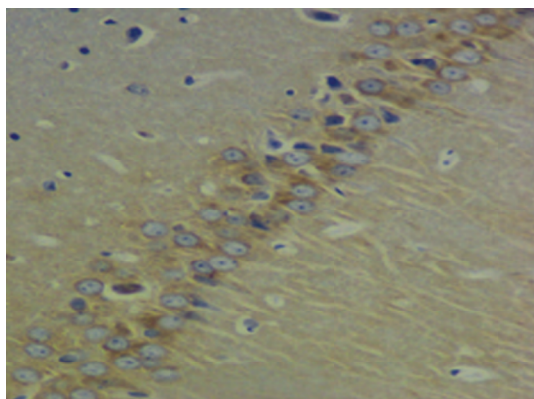


远志散中剂量组

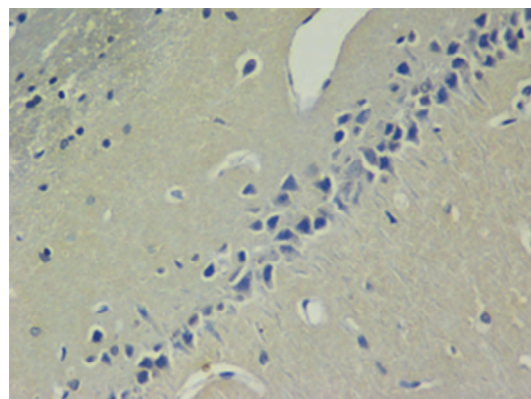


远志散高剂量组

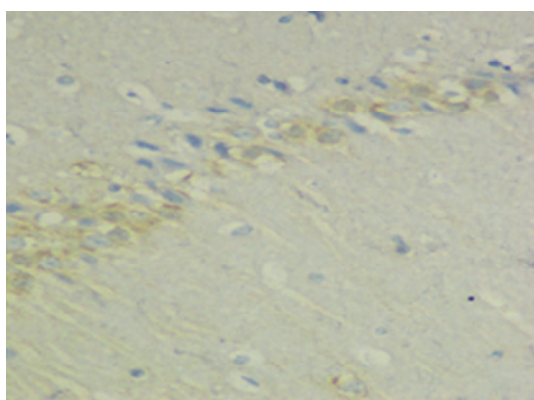
图5 各组海马 CA1 区 AKT 蛋白表达水平(IHC ,×400)



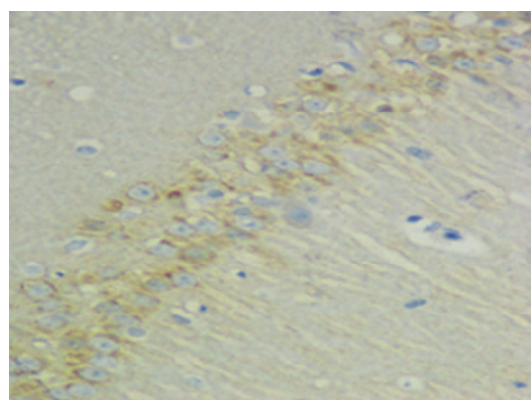
假手术组



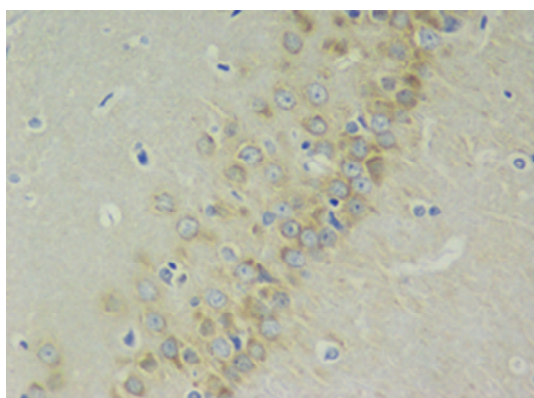
Aβ1-40 模型组



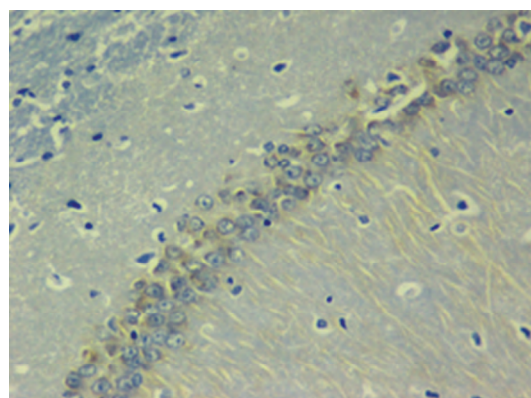
多奈哌齐组



远志散低剂量组

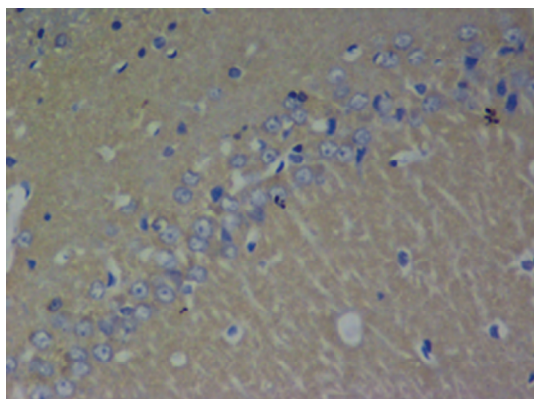


远志散中剂量组

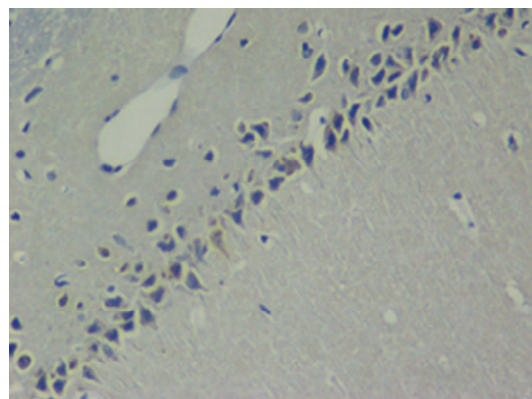


远志散高剂量组

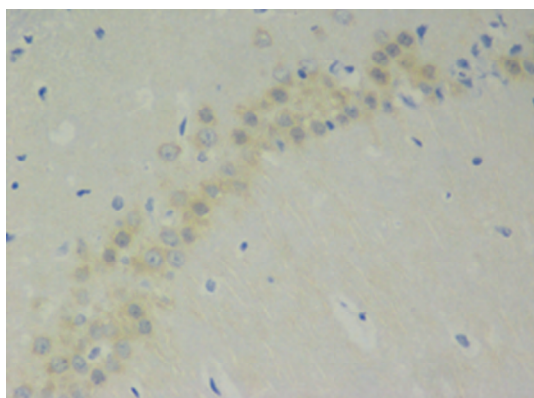
图6 各组海马CA1区P-GSK-3β(Ser9)蛋白表达水平(IHC, ×400)



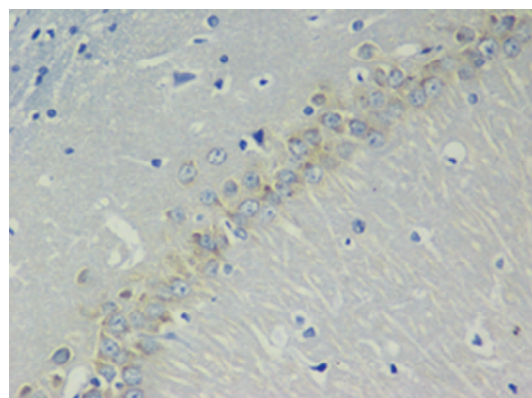
假手术组



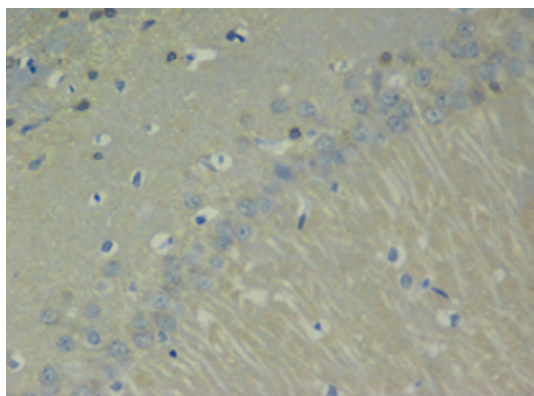
Aβ1-40 模型组



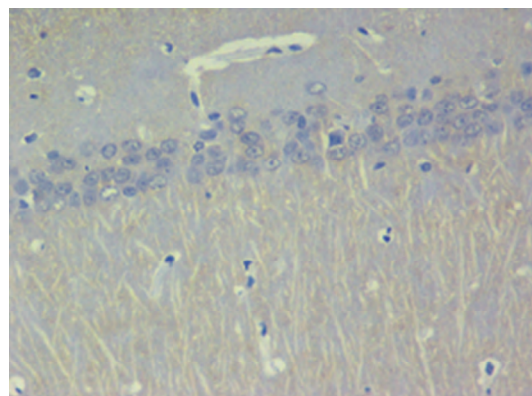
多奈哌齐组



远志散低剂量组



远志散中剂量组



远志散高剂量组

图7 各组海马CA1区GSK-3β蛋白表达水平(IHC, ×400)