

人参皂苷 Rg1 对阿尔茨海默症大鼠 BDNF-TrkB 信号通路的影响

陈晓光¹, 潘晓峰¹, 王帆², 潘宋斌^{1*}

1.武汉市第一医院(武汉市中西医结合医院)神经内科,武汉 430022;

2.武汉市第一医院(武汉市中西医结合医院)老年病科,武汉 430022

摘要:为了探究人参皂苷 Rg1 对阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)大鼠模型脑源性神经营养因子/酪氨酸激酶受体 B(BDNF-TrkB)信号通路的影响,选取 75 只 SD 大鼠随机分为空白对照组、模型组、低剂量 Rg1 组、中剂量 Rg1 组及高剂量 Rg1 组,每组 15 只。取各组大鼠脑组织制备脑片,除空白对照组外,其他组加入 Aβ1-42 试剂制备 AD 模型,低剂量 Rg1 组、中剂量 Rg1 组和高剂量 Rg1 组分别使用 60、120、240 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg1 处理。采用 HE 染色观察脑组织病理损伤,TUNEL 染色检测脑组织细胞凋亡,比色法测定脑片中乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)水平和乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, TChE)活力,蛋白质印迹法检测各组脑片中切割后半胱氨酸蛋白酶-3(Cleaved Caspase-3)、B 淋巴细胞性淋巴瘤-2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关蛋白 X(Bcl-2 associated X protein, Bax)及 BDNF-TrkB 信号通路相关蛋白表达情况。与空白对照组相比,模型组脑组织细胞凋亡数、Cleaved Caspase-3、Bax/Bcl-2 及 TChE 水平显著增加,5-HT、Ach、BDNF 及 TrkB 蛋白表达量显著降低($P<0.05$);与模型组相比,低剂量 Rg1 组、中剂量 Rg1 组和高剂量 Rg1 组脑组织细胞凋亡数、Cleaved Caspase-3、Bax/Bcl-2 及 TChE 水平显著降低,5-HT、Ach、BDNF 及 TrkB 蛋白表达量显著增加($P<0.05$),且具有剂量依赖性。人参皂苷 Rg1 可有效保护阿尔茨海默症模型大鼠脑组织,抑制神经细胞凋亡,其作用机制可能与激活 BDNF-TrkB 信号通路相关。通过分析人参皂苷 Rg1 对 AD 大鼠模型的保护机制,以期为人参皂苷 Rg1 用于治疗 AD 奠定理论基础。

关键词:阿尔茨海默症;人参皂苷 Rg1;细胞凋亡;BDNF-TrkB 信号通路

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2021.0183

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

Effects of Ginsenoside Rg1 on BDNF-TrkB Signaling Pathways in Rats with Alzheimer's Disease

CHEN Xiaoguang¹, PAN Xiaofeng¹, WANG Fan², PAN Songbin^{1*}

1. Department of Neurology, Wuhan No. 1 Hospital (Wuhan Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine), Wuhan 430022, China;

2. Department of Geriatric, Wuhan No. 1 Hospital (Wuhan Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine), Wuhan 430022, China

Abstract: The aim of the study is to explore the effects of ginsenoside Rg1 on brain-derived neurotrophic factor/tyrosine kinase receptor B (BDNF-TrkB) signaling pathways in rats with Alzheimer's disease (AD). A total of 75 SD rats were enrolled and randomly divided into blank control group, model group, low-dose Rg1 group, medium-dose Rg1 group and high-dose Rg1 group, with 15 rats in each group. The brain tissues in each group were collected to prepare brain slices. Except blank control group, Aβ 1-42 reagent was added into each group to prepare AD models. The low-dose Rg1 group, medium-dose Rg1 group and high-dose Rg1 group were treated with 60, 120 and 240 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg1, respectively. The pathological damage of brain tissues was observed by HE staining. The apoptosis of brain tissues was detected by TUNEL staining. The levels of acetylcholine (Ach) and 5-hydroxytryptamine (5-HT), and activity of acetylcholinesterase (TChE) in brain slices were detected by colorimetry. The expressions of

收稿日期:2021-11-15; 接受日期:2021-12-16

基金项目:湖北省自然科学基金项目(2011CDB299);湖北省卫生和计划生育委员会项目(201742)。

联系方式:陈晓光 E-mail:a1980we12@163.com; *通信作者 潘宋斌 E-mail:qza2018g@163.com

cleaved cysteine proteinase-3 (Cleaved Caspase-3), B cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax) and BDNF-TrkB signaling pathway related proteins in brain slices were detected by Western blot. Compared with blank control group, the number of brain tissues apoptosis, levels of Cleaved Caspase-3, Bax/Bcl-2 and TChE were significantly increased in model group, and 5-HT, Ach, BDNF and TrkB were significantly decreased in model group ($P<0.05$). Compared with model group, the number of brain tissues apoptosis, levels of Cleaved Caspase-3, Bax/Bcl-2 and TChE were significantly decreased in low-dose group, medium-dose group and high-dose Rg1 group, and 5-HT, Ach, BDNF and TrkB were significantly increased in low-dose group, medium-dose group and high-dose Rg1 group ($P<0.05$), which showing concentration-dependence. Ginsenoside Rg1 can effectively protect the brain tissue of AD rats and inhibit neuron apoptosis, which the mechanism of action may be related to activating BDNF-TrkB signaling pathways. By analyzing the protective mechanism of ginsenoside Rg1 on AD rat model, the paper was expected to lay a theoretical foundation for the use of ginsenoside Rg1 in the treatment of AD in this study.

Key words: Alzheimer's disease; ginsenoside Rg1; apoptosis; BDNF-TrkB signaling pathway

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)是老年人群中的常见疾病,又称老年痴呆,临床表现为记忆能力减退并伴随反应迟钝、理解能力下降等^[1]。目前,AD的发病机制尚未完全明确,临床仍缺乏疗效确切的治疗方法及药物。人参皂苷Rg1是人参的有效成分,具有保护神经功能、抗衰老等作用,其也是AD领域研究最多、最具代表性的成分之一^[2-3]。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)是中枢神经系统中的神经营养因子,可与酪氨酸激酶受体B(tyrosine kinase receptor B, TrkB)结合,调控神经元的生长、分化及突触的形成等过程^[4]。近年来,多项研究表明,激活BDNF-TrkB信号通路将有助于改善AD^[5-6]。但目前关于Rg1改善AD的分子机制尚未统一,本研究旨在从BDNF-TrkB信号通路的角度,分析人参皂苷Rg1对AD大鼠模型的保护机制,以期为人参皂苷Rg1用于治疗AD奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 选取75只雄性SPF级6周龄SD大鼠作为研究对象,平均体质量为 250 ± 30 g,均购自西安交通大学医学部动物实验中心,许可证号:SYXK(陕)2018-001。本试验经动物伦理委员会审核批准且严格遵循动物试验减少(reduction)、优化(refinement)和替代(replacement)-3R原则。

1.1.2 药物与试剂 Aβ1-42试剂购自美国SIGMA公司;人参皂苷Rg1(货号:GD-GSJ125-585;纯度>98%)购自逊希公司;乙酰胆碱(acetylcholine,

Ach)试剂盒、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)试剂盒、乙酰胆碱酯酶(total cholinesterase, TChE)试剂盒均购自江莱生物有限公司;TUNEL染色试剂盒购自瑞士Roche公司;切割后半胱氨酸蛋白酶-3(Cleaved Caspase-3)抗体(货号:sc-9661)、B淋巴细胞瘤-2抗体(B lymphocytoma-2, Bcl-2, 货号:sc-15071)、Bcl-2相关蛋白X抗体(Bcl-2 associated protein X, Bax, 货号:sc-5023),脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF, 抗体货号:sc-65514)、酪氨酸激酶B抗体(tyrosine kinase receptor B, TrkB, 货号:sc-8058)购自美国Santa Cruz公司;HRP羊抗兔IgG、HRP羊抗鼠IgG等二抗购自美国Thermo公司。

1.1.3 仪器 SMZ800光学显微镜购自日本Nikon公司;离心机购自德国Eppendorf公司;垂直电泳槽、电泳仪及相关配件均购自美国Bio-Rad公司。

1.2 方法

1.2.1 分组 75只雄性SD大鼠采用随机数字表法分为空白对照组、模型组、低剂量Rg1组、中剂量Rg1组及高剂量Rg1组,每组15只。

1.2.2 脑片制作、模型建立^[7]及给药处理 使用 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl₂, $1.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgSO₄, $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KH₂PO₄配制人工脑脊液,另配制加入 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Aβ1-42试剂作为人工脑脊液诱导AD模型,0℃保存备用。活体大鼠处死后立即取大脑切成厚度为400 μm的切片,挑选形态较好(含有海马和皮层组织)的脑片放入人工脑脊液中,培养温度32℃左右,氧气含量为95%,二氧化碳含量为5%。除空白对照组外各组加入含有Aβ1-42试剂的人工脑脊液制备AD模型,作用2 h

后,低剂量Rg1组、中剂量Rg1组及高剂量Rg1组分别加入 $60, 120, 240 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg1处理3 h,空白对照组和模型组加入等量0.9% NaCl溶液,上述过程均在32 °C、95%氧气、5%二氧化氮培养条件下进行。

1.2.3 HE染色 干预结束后取各组脑片,转移至4%多聚甲醛溶液中固定3 h,再放至30%蔗糖溶液中浸糖至沉底,制备组织冰冻切片,常规HE染色,光镜下观察大鼠脑组织病理形态变化。

1.2.4 TUNEL染色 干预结束后取各组脑片,参照上述方法制备组织冰冻切片,滴加3%过氧化氢溶液灭活内源性辣根过氧化物酶10 min,再加入蛋白酶K 37 °C下消化15 min,加20 μL标记缓冲液,再分别加入末端脱氧核苷酰转移酶(terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT)和荧光素标记的三磷酸脱氧尿苷(2'-deoxyuridine 5'-triphosphated, UTP)溶液各1 μL,37 °C下反应2 h,然后加50 μL封闭液,室温下静置30 min,滴加50 μL抗光抗体,室温下孵育40 min,再加入抗体稀释液1:100倍稀释的链霉亲和素-生物复合物(streptavidin-biotin complex, SABC),37 °C下反应1 h,二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)显色后,苏木素复染,光镜下观察大鼠脑组织细胞凋亡情况,黄褐色为凋亡细胞阳性染色。

1.2.5 Ach、5-HT含量和TChE活力检测 取上述脑片,采用相关试剂盒检测大鼠脑组织Ach、5-HT含量和TChE活力,检测方法严格按照试剂盒说

明书进行。

1.2.6 蛋白质印迹检测蛋白表达水平 取上述脑片,提取总蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,并将蛋白转移至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluorids, PVDF)上,加入脱脂奶粉,在37 °C的条件下封闭2 h,后加入稀释后的 Cleaved Caspase-3、Bcl-2、Bax、BDNF及TrkB蛋白抗体(稀释比例为1:1 500),内参蛋白为GAPDH(稀释比例1:1 000),4 °C下孵育过夜,次日洗膜后加入HRP羊抗兔IgG、HRP羊抗鼠IgG二抗(稀释比例1:5 000),采用显色液显色后进行灰度值检测。蛋白相对表达量计算公式见式(1)。

$$\text{蛋白相对表达量} = \frac{\text{目的蛋白灰度值}}{\text{GADPH灰度值}} \quad (1)$$

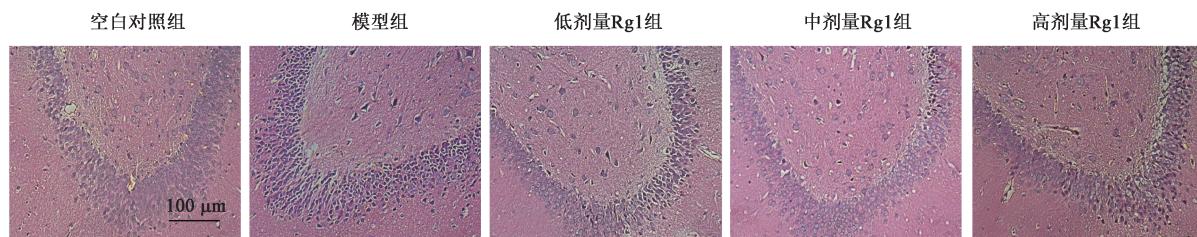
1.3 统计分析

采用SPSS 22.0软件进行数据分析,采用GraphPad Prism5进行绘图,多组间比较使用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD法,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 大鼠脑片HE染色结果

如图1所示,HE染色观察大鼠脑组织病理形态变化,空白对照组未见异常,海马神经元细胞结构完整;模型组海马CA1区细胞排列松散,损伤明显;低剂量Rg1组、中剂量Rg1组及高剂量Rg1组脑组织病理损伤较模型组症状明显减轻。



注:放大倍数为200倍。

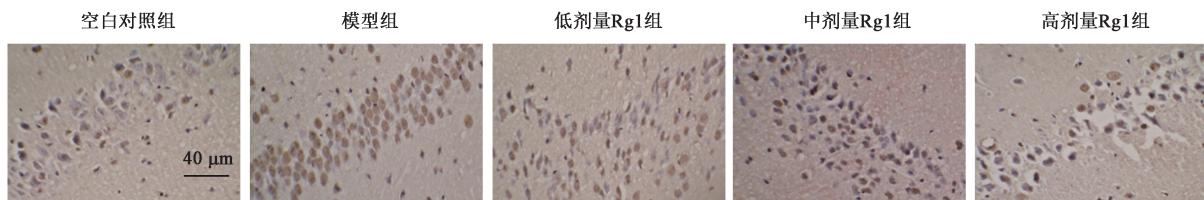
图1 大鼠脑片HE染色结果

Fig.1 HE staining results of brain slices in rats

2.2 大鼠脑片TUNEL染色结果

如图2所示,TUNEL染色观察大鼠海马CA1区细胞凋亡情况,空白对照组、模型组、低剂量Rg1组、中剂量Rg1组及高剂量Rg1组脑组织细

胞凋亡数分别为(7.21 ± 2.15)、(58.27 ± 11.24)、(42.31 ± 8.56)、(29.64 ± 6.34)、(15.68 ± 3.32)个。与空白对照组比较,模型组脑组织细胞凋亡数显著增加($P<0.05$);与模型组比较,低剂量Rg1组、中



注:放大倍数为400倍。

图2 大鼠脑片TUNEL染色结果

Fig.2 TUNEL staining results of brain slices in rats

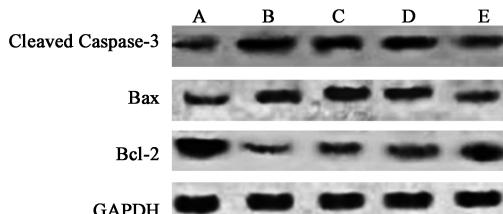
剂量Rg1组及高剂量Rg1组脑组织细胞凋亡数显著减少($P<0.05$),且具有剂量依赖性。

2.3 大鼠脑片中凋亡相关蛋白检测结果

检测大鼠脑片中凋亡相关蛋白发现,与空白对照组相比,模型组大鼠Cleaved Caspase-3/GAPDH和Bax/Bcl-2水平显著升高($P<0.05$);与模型组相比,低剂量Rg1组、中剂量Rg1组及高剂量Rg1组Cleaved Caspase-3/GAPDH和Bax/Bcl-2水平显著降低($P<0.05$),且具有剂量依赖性(图3、表1)。

2.4 大鼠脑片中5-HT、Ach含量和TChE活力检测结果

检测大鼠脑片中5-HT、Ach含量和TChE水平



A:空白对照组;B:模型组;C:低剂量Rg1组;D:中剂量Rg1组;E:高剂量Rg1组

图3 大鼠脑片中凋亡相关蛋白检测结果

Fig.3 Detection results of apoptosis related proteins in rat brain slices

表1 大鼠脑片中凋亡相关蛋白检测结果

Table 1 Detection results of apoptosis-related proteins in brain slices of rats

组别	Cleaved Caspase-3/ GAPDH	Bax/Bcl-2
空白对照组($n=15$)	0.35±0.09	0.19±0.06
模型组($n=15$)	1.14±0.21 [*]	1.87±0.23 [*]
低剂量Rg1组($n=15$)	0.95±0.13 [#]	1.42±0.17 [#]
中剂量Rg1组($n=15$)	0.76±0.10 ^{##}	1.15±0.19 ^{##}
高剂量Rg1组($n=15$)	0.56±0.12 ^{###}	0.47±0.13 ^{###}
F值	25.955	85.387
P值	<0.001	<0.001

注:^{*}表示模型组与空白对照组相比,差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义;[#]表示与模型组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义;^{##}表示与低剂量人参皂苷Rg1组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义;^{###}表示与中剂量人参皂苷Rg1组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义。

发现,与空白对照组相比,模型组大鼠5-HT和Ach水平显著降低,TChE水平显著升高($P<0.05$);与模型组相比,低剂量Rg1组、中剂量Rg1组及高剂量Rg1组5-HT和Ach水平均显著升高,TChE水平平均显著降低($P<0.05$),且具有剂量依赖性(表2)。

表2 大鼠脑片中5-HT、Ach含量和TChE活力检测结果($\bar{x}\pm s$)

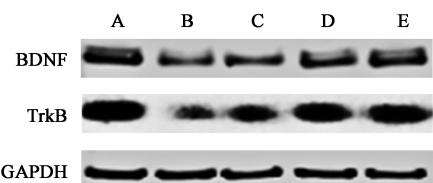
Table 2 Detection results of 5-HT, Ach levels and TChE activity in brain slices of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	5-HT/(pg·g ⁻¹)	Ach/(g·g ⁻¹)	TChE/(U·mg ⁻¹)
空白对照组($n=15$)	158.35±19.25	2 254.10±180.28	0.31±0.04
模型组($n=15$)	107.39±14.69 [*]	1 604.56±144.50 [*]	0.69±0.09 [*]
低剂量Rg1组($n=15$)	119.51±15.07 [#]	1 803.68±150.14 [#]	0.51±0.07 [#]
中剂量Rg1组($n=15$)	130.73±16.17 ^{##}	1 997.89±141.87 ^{##}	0.43±0.06 ^{##}
高剂量Rg1组($n=15$)	142.39±18.11 ^{###}	2 098.90±150.58 ^{###}	0.36±0.05 ^{###}
F值	19.160	36.697	73.807
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注:^{*}表示模型组与空白对照组相比,差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义;[#]表示与模型组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义;^{##}表示与低剂量人参皂苷Rg1组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义;^{###}表示与中剂量人参皂苷Rg1组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义。

2.5 大鼠脑片中 BDNF-TrkB 信号通路相关蛋白检测结果

检测大鼠脑片中 BDNF-TrkB 信号通路相关蛋白发现,与空白对照组相比,模型组 BDNF 和 TrkB 蛋白表达量均显著降低($P<0.05$);与模型组相比,低剂量 Rg1 组、中剂量 Rg1 组及高剂量 Rg1 组 BDNF 和 TrkB 蛋白表达量均显著升高($P<0.05$),且具有剂量依赖性(图 4、表 3)。



A:空白对照组;B:模型组;C:低剂量 Rg1 组;D:中剂量 Rg1 组;E:高剂量 Rg1 组

图 4 大鼠脑片中 BDNF-TrkB 信号通路相关蛋白检测结果

Fig. 4 Detection results of BDNF-TrkB signal pathway related proteins in rat brain slices

表 3 大鼠脑片中 BDNF-TrkB 信号通路相关蛋白检测结果($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Detection results of BDNF-TrkB signaling pathways related proteins in brain slices of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	BDNF/GAP-DH 值	TrkB/GAPDH 值
空白对照组($n=15$)	1.23 ± 0.13	1.53 ± 0.18
模型组($n=15$)	$0.49\pm0.09^*$	$0.39\pm0.10^*$
低剂量 Rg1 组($n=15$)	$0.64\pm0.10^{\#}$	$0.75\pm0.16^{\#}$
中剂量 Rg1 组($n=15$)	$0.78\pm0.08^{*\#}$	$1.11\pm0.12^{*\#}$
高剂量 Rg1 组($n=15$)	$0.93\pm0.11^{*\#^{\#}}$	$1.33\pm0.15^{*\#^{\#}}$
F 值	37.724	49.695
P 值	<0.001	<0.001

注: *表示模型组与空白对照组相比, 差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义; #表示与模型组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义; #'表示与低剂量人参皂苷 Rg1 组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义; ##表示与中剂量人参皂苷 Rg1 组相比差异在 $P<0.05$ 水平具有统计学意义。

3 讨论

AD 的主要病理特征为多种因素诱导神经细胞凋亡^[8]。细胞凋亡可引起 AD 脑内皮质皱缩, 基底前脑胆碱能神经元的减少及海马胆碱能纤维和突触的丢失, 会导致记忆认知障碍^[9]。本研究病

理观察显示,采用 A β 1-42 培育后, 大鼠脑组织损伤明显, 且存在大量的凋亡细胞, 促凋亡蛋白 Cleaved Caspase-3 表达明显升高, Bax/Bcl-2 平衡也偏向促凋亡(Bax)水平, 经不同剂量人参皂苷 Rg1 处理后, 脑组织损伤表现出不同程度的减轻, 凋亡细胞也明显减少, Cleaved Caspase-3 和 Bax/Bcl-2 水平明显降低, 表明人参皂苷 Rg1 可抑制脑组织细胞凋亡, 从而发挥保护 AD 的作用。许彤等^[10]研究也显示, 人参皂苷 Rg1 可抑制过氧化氢诱导的海马神经元凋亡。

Ach 是与学习和记忆密切相关的神经递质, 主要由突触前膜释放, 与突触后膜上乙酰胆碱受体结合开放离子通道, 引起神经元兴奋的传递^[11]。胆碱被激活后可以易化由齿状回成熟神经元形成的长时程增强效应^[12]。5-HT 也是中枢神经系统的重要神经递质, 主要参与学习与记忆^[13]。TChE 是生物神经传导中的一种关键性酶, 其可以降解乙酰胆碱终止神经递质对突触后膜的兴奋, 保持神经间信号正常传递^[14]。本研究发现, 与模型组相比, 使用人参皂苷 Rg1 各组 5-HT、Ach 水平显著升高, TChE 水平显著降低。表明人参皂苷 Rg1 可以有效改善神经元功能。Liu 等^[15]研究表明, 人参皂苷 Rg1 可以有效改善神经元 Ach、5-HT 的表达情况, 与本研究结果一致。

目前关于 Rg1 改善 AD 的分子机制研究较多, 据报道, Rg1 可通过 MAPK/ERK、PI3K/Akt 和 PKA/CREB 等信号通路改善 AD 症状^[16], 说明 Rg1 对人体的作用可能是多途径、多方式和多靶点的。BDNF 是一种神经营养因子, 主要在中枢神经系统中表达, 具有神经保护功能^[17]。据报道, 提高海马体内的 BDNF 水平, 可以有效促进新突触形成并显著提高学习和记忆能力^[18]。TrkB 是 BDNF 的特异性受体, BDNF 可以与细胞膜上的 TrkB 结合, 激活细胞内 BDNF-TrkB 信号通路, 通过调节钙离子对神经的生长和发育发挥促进作用, 同时 TrkB 可以参与调节谷氨酸和 γ -氨基丁酸突触后神经递质受体的数量和分布, 从而调节突触可塑性, 显著改善学习和记忆能力^[19-20]。本研究发现, 人参皂苷 Rg1 处理后可有效逆转 AD 导致的 BDNF 和 TrkB 蛋白表达降低。说明人参皂苷 Rg1 可以通过激活 BDNF-TrkB 信号通路, 调节神经递质受体的数量和分布, 改善神经受损后突触可塑性, 加快大鼠神经功能的恢复。

综上所述,人参皂苷Rg1可有效保护AD模型大鼠脑组织损伤,抑制神经细胞凋亡,其作用机制可能与激活BDNF-TrkB信号通路相关。

参 考 文 献

- [1] SENGOKU R. Aging and Alzheimer's disease pathology[J]. *Neuropathology*, 2020, 40(1): 22-29.
- [2] QUAN Q, LI X, FENG J, et al.. Ginsenoside Rg1 reduces β -amyloid levels by inhibiting CDK5-induced PPAR γ phosphorylation in a neuron model of Alzheimer's disease[J]. *Mol. Med. Rep.*, 2020, 22(4): 3277-3288.
- [3] LIANG H Y, ZHANG P P, ZHANG X L, et al.. Preclinical systematic review of ginsenoside Rg1 for cognitive impairment in Alzheimer's disease[J]. *Aging*, 2021, 13(5): 7549-7569.
- [4] DU Q, ZHU X, SI J. Angelica polysaccharide ameliorates memory impairment in Alzheimer's disease rat through activating BDNF/TrkB/CREB pathway[J]. *Exp. Biol. Med.*, 2020, 245(1):1-10.
- [5] 王登坤,第五永长,苟于瑞,等.洗心汤对阿尔茨海默病模型大鼠海马BDNF,TrkB蛋白表达及肠道菌群多样性的影响[J].中医杂志,2021,62(15):1362-1369.
- [6] LU Q, ZHU H, LIU X, et al.. Icariin sustains the proliferation and differentiation of A β 25-35 -treated hippocampal neural stem cells via the BDNF-TrkB-ERK/Akt signaling pathway[J]. *Neurol. Res.*, 2020, 42(11): 936-945.
- [7] 周丽,周军,刘艳平.丹参酮ⅡA对A β _(1-42)处理的体外培养海马脑片组织神经元与胶质细胞的影响[J].细胞与分子免疫学杂志,2013,29(11):1150-1154.
- [8] KWON Y, SHIN J, NAM K, et al.. Rhizolutin, a novel 7/10/6-tricyclic dilactone, dissociates misfolded protein aggregates and reduces apoptosis/inflammation associated with Alzheimer's disease[J]. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2020, 59(51): 22994-22998.
- [9] 何莹莹,靳辉,计胜峰,等.丹参酮ⅡA抑制内质网应激及细胞凋亡改善AD小鼠的认知障碍[J].西安交通大学学报(医学版),2020,41(2):287-293.
- [10] 许彤,付丽娜,魏永健.人参皂苷Rg1对H₂O₂诱导的大鼠海马神经元损伤的影响及其机制[J].海峡药学,2019,31(1): 19-22.
- [11] WEIGAND A J, BONDI M W, THOMAS K R, et al.. Association of anticholinergic medication and AD biomarkers with incidence of MCI among cognitively normal older adults[J/OL]. *Neurology*, 2020, 95(16): e2295-e2304[2022-03-01]. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.327>.
- [12] 吴永鑫,周春妮,范金花,等.氟西汀对8月龄APP/PS1小鼠海马齿状回内胆碱能神经元作用的体视学研究[J].第三军医大学学报,2019,41(8):786-793.
- [13] BOSTANCIKLIOLU M. Optogenetic stimulation of serotonin nuclei retrieve the lost memory in Alzheimer's disease[J]. *J. Cell Physiol.*, 2020, 235(2): 836-847.
- [14] 庞广福,李海,解继胜,等.葛根素联合乌圆补血口服液对阿尔茨海默病大鼠模型的治疗效果[J].时珍国医国药,2019,30(5):1064-1066.
- [15] LIU Y, GAO Y, LI K X, et al.. Pharmacokinetics and acetylcholine releasing effects of ginsenoside Rg1 in hippocampus of beta-amyloid model rats[J]. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2019, 21(8):772-781.
- [16] 卞俊,陈海飞,鲍蕾蕾.人参皂苷Rg_1预防阿尔茨海默病药理机制研究进展[J].海军医学杂志,2015,36(1):91-93.
- [17] CAFFINO L, MOTTARLINI F, FUMAGALLI F. Born to protect: leveraging BDNF against cognitive deficit in Alzheimer's disease[J]. *CNS Drugs*, 2020, 34(3): 281-297.
- [18] 尹传红,闫宇辉.高压氧通过激活CREB/BDNF信号通路减轻阿尔茨海默病小鼠海马神经元突触损伤[J].中国病理生理杂志,2020,36(6):1063-1070.
- [19] ELAHI F M, CASALETTO K B, JOIE R L A, et al.. Plasma biomarkers of astrocytic and neuronal dysfunction in early- and late-onset Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement.*, 2020, 16(4): 681-695.
- [20] WANG Z, WANG J, YE K. Deficiency in BDNF/TrkB neurotrophic activity stimulates delta-secretase by upregulating C/EBP β in Alzheimer's disease[J]. *Cell Rep.*, 2019, 28(3): 655-669.