

四氢紫堇萨明对 AD 细胞模型 Tau 蛋白磷酸化的影响及其可能机制研究

姚兵, 侯斌, 李文燕, 王志鑫, 郭志方, 康宁, 冯炜, 梁俊清*

河北省中西医结合医药研究院, 石家庄 050035

摘要: 研究四氢紫堇萨明对 $A\beta_{25-35}$ 诱导的阿尔茨海默病细胞模型 Tau 蛋白磷酸化的影响及其可能作用机理。以神经细胞 PC-12 为载体, $A\beta_{25-35}$ 诱导 48 h 建立 AD 细胞模型, MTS 试剂盒检测细胞活力, 激光共聚焦显微镜观察细胞核和细胞微管变化情况, Western blot 法检测蛋白表达水平。结果显示, 四氢紫堇萨明可显著增强模型细胞活力, 改善微管形态, 降低 p-Tau(Ser396) 和 p-GSK-3 β (Tyr216) 表达水平, 升高 p-GSK-3 β (Ser9) 和 p-AKT 表达水平 ($P < 0.05$); PI3K 抑制剂 LY294002 可部分阻断四氢紫堇萨明对模型细胞的上述改善作用。以上结果表明四氢紫堇萨明可显著改善 AD 细胞模型 Tau 蛋白过度磷酸化, 从而改善细胞骨架微管形态, 增强细胞活力, 其机理可能与激活 PI3K/Akt 信号通路, 降低 GSK-3 β 活性, 改善蛋白激酶/蛋白磷酸酯酶系统失衡相关。

关键词: 四氢紫堇萨明; $A\beta_{25-35}$; PC-12; Tau

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)7-1246-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.7.018

Effects and possible mechanisms of Tetrahydrocorysamine on phosphorylation of Tau in AD cell model

YAO Bing, HOU Bin, LI Wen-yan, WANG Zhi-xin, GUO Zhi-fang, KANG Ning, FENG Wei, LIANG Jun-qing*

Hebei Pharmaceutical Research Institute of Integrated Chinese and Western Medicine, Shijiazhuang 050035, China

Abstract: To investigate the effect of tetrahydropyrimin (SQZJSM) on the phosphorylation of Tau protein in Alzheimer's disease (AD) cell model and its possible mechanisms. AD cell model was established using PC-12 cell induced by $A\beta_{25-35}$ for 48 h. Cell viability was detected by MTS, the changes of nuclei and microtubules were observed by laser confocal microscopy, the expression of protein was detected by Western blot. The results showed that SQZJSM can improve the cell viability and microtubule morphology of model cells, reduce the expression of p-Tau(Ser396) and p-GSK-3 β (Tyr216) and up-regulate the expression of p-GSK-3 β (Ser9) and p-AKT significantly ($P < 0.05$). PI3K inhibitor LY294002 can partial block the improvement of SQZJSM on model cells. The above results indicate that tetrahydrocorysamine can significantly reduce the hyperphosphorylation of Tau protein in AD cell model, thereby improving the morphology of cytoskeletal microtubules and enhancing cell viability. The mechanism may be related to activating PI3K/Akt signaling pathway, decreasing GSK-3 β activity and improving the imbalance of protein kinase/protein phosphatase system.

Key words: Tetrahydrocorysamine; $A\beta_{25-35}$; PC-12; Tau

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种慢性神经退行性或脑血管损伤等引起脑功能损害或缺失的老年疾病^[1]。据估计当前全世界有超过 4 000 万 AD 患者, 预计到 2050 年, 全世界受 AD 影响

的人群可达 1 亿; 流行病学调查显示中国 AD 的患病率随年龄增长也呈不断上升趋势, 在 65 岁以上人群中为 5% 左右, 在 85 岁以上人群中患病率则高达 20%, AD 已经带来了巨大的经济压力和严重的社会问题。然而, AD 的确切发病原因至今尚未明确, 也没有可以有效延缓疾病进程的药物。因此, 抗 AD 的药物研发已经成为当前的研究热点^[2]。

目前认为阿尔茨海默病有 3 个经典神经病理学

收稿日期: 2019-04-25 接受日期: 2019-06-25

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (81503231)

* 通信作者 Tel: 86-311-66703048; E-mail: liangjunqing@yiling.cn

特征: $A\beta$ 蛋白沉积为核心的老年斑、微管相关 Tau 蛋白异常磷酸化形成的神经纤维缠结和中枢神经元的丧失与退化^[3]。在临床上,阿尔茨海默病的主要症状为记忆认知功能下降以及运动障碍等,并伴有精神系统症状^[4];当前临床上用于 AD 治疗的主要是 AchE 抑制剂和 NMDA 受体拮抗剂,但是这些药物并不能阻止疾病发展,只能部分缓解 AD 患者的症状^[5]。随着中医药现代化研究的不断深入,传统中药及天然产物对 AD 的改善作用也被大家认可^[6]。四氢紫堇萨明(SQZJSM)是来源于传统中药延胡索的生物碱,相关研究显示其对胃溃疡、心脑血管疾病等有较好的临床效果^[8];我们之前的研究发现,SQZJSM 可改善 $A\beta_{25-35}$ 诱导的神经细胞 PC-12 损伤,降低模型细胞的凋亡率和 AchE 活性,改善 AD 模型小鼠的认知记忆障碍^[8,9]。但是 SQZJSM 对阿尔茨海默病 Tau 蛋白磷酸化水平是否有影响未见相关报道,本研究拟探讨 SQZJSM 对阿尔茨海默病细胞模型 Tau 蛋白磷酸化水平的影响并阐述其可能的作用机理。

1 主要材料

1.1 细胞株

PC-12 细胞,目录号 TCR9,购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

1.2 药物与试剂

MTS 检测试剂盒(Promega,美国;货号 G3581);DMEM 高糖细胞培养基(Invitrogen,美国;批号 1927599)、胎牛血清(Gibco,美国;批号 91110008);四氢紫堇萨明(北京以岭医药研究院); $A\beta_{25-35}$ (批号 095M4775V)、RIPA 细胞裂解液(货号 RC03746A)、DAPI(货号 249-186-7)均购自于 Sigma 公司(美国);LY294002(Selleck,美国;货号 S1105);抗体 p-Tau(Ser396)(货号 ab109390)、抗体总 Tau(货号 ab80579)、抗体 Akt(货号 ab32505)、抗体 GSK-3 β (D5C5Z)(货号 ab131356)、抗体 p-GSK-3 β (Y216)(货号 ab75745)、抗体 GAPDH(货号 ab8245)均购自于 abcam 公司(美国);抗体 p-GSK-3 β (Ser9)(货号 9322)、抗体 p-Akt(货号 9271)、抗体 PP2A(货号 2038)均购自于 CST 公司(美国);抗体 p-PP2A(Tyr307)(货号 PA5-36874)购自于 Invitrogen 公司(美国);绿色荧光二抗(LiCor,美国;货号 C10324-01);Tubulin-Tracker Red(微管红色荧光探针,碧云天;产品编号:C1050)。

1.3 主要仪器

二氧化碳细胞培养箱 Forma371(Thermo,美国);高速离心机(Eppendorf 5804R,德国);酶标仪 Synergy4(Biotek,美国);半干蛋白转膜系统(Bio-Rad,美国);双色红外激光蛋白成像分析系统 Odyssey9120(Li-COR,美国);自动细胞计数仪 C10281(Invitrogen,美国);激光共聚焦显微镜 LSM710(蔡司,德国)。

2 主要方法

2.1 四氢紫堇萨明配制

称取四氢紫堇萨明,加入 DMSO 配制成 10^{-2} mol/L 的母液,分装并于 -20°C 冻存。使用前先用 DMSO 稀释成 10^{-3} mol/L 的母液,实验中用无血清 DMEM 培养基稀释成相应浓度的工作液。

2.2 $A\beta_{25-35}$ 的老化处理

$A\beta_{25-35}$ 的配制和老化处理采用参考文献^[8]的方法。

2.3 分组与处理方法

处于对数生长期的细胞以 1.0×10^5 个/mL 的密度接种于培养皿中,待细胞融合至 80% 时将细胞分为正常对照组、模型组、SQZJSM 组、SQZJSM + LY294002 组、LY294002 组。模型组中加入终浓度为 $30 \mu\text{mol/L}$ 的 $A\beta_{25-35}$;SQZJSM 组中加入终浓度为 $30 \mu\text{mol/L}$ 的 $A\beta_{25-35}$ 和终浓度为 10^{-6} mol/L 的 SQZJSM;SQZJSM + LY294002 组中加入 LY294002 孵育 30 min,然后加入终浓度为 $30 \mu\text{mol/L}$ 的 $A\beta_{25-35}$ 和终浓度为 10^{-6} mol/L 的 SQZJSM;LY294002 组中加入 LY294002 孵育 30 min,然后加入终浓度为 $30 \mu\text{mol/L}$ 的 $A\beta_{25-35}$ 。

2.4 检测方法

2.4.1 MTS 试剂盒测定各组细胞活力

加药孵育 48 h 后,弃去旧培养基,各孔加入 $100 \mu\text{L}$ 含有 MTS 检测试剂的培养基, 37°C 孵育 1 h,酶标仪 490 nm 处检测吸光度,以 OD630 值作为参考。实验操作严格按照 MTS 试剂检测说明书进行。每组 6 个重复。

2.4.2 激光共聚焦显微镜观察细胞核、细胞微管形态

加药孵育 48 h 后,PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,加丙酮固定 15 min,PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,加 0.1% 的 Triton 通透 5 min,PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,加入微管红色荧光探针 Tubulin-Tracker Red,孵育 30 min,PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,DAPI 甘油封

片,激光共聚焦显微镜观察并摄片。每组随机选择3个视野。

2.4.3 Western blot 检测目的蛋白的表达

加药孵育 48 h 后,利用 RIPA 细胞裂解液提取细胞蛋白;蛋白电泳采用参考文献 8 的方法;通过红外双色激光成像分析系统检测蛋白含量;GAPDH 为内参蛋白,以各目的蛋白荧光强度与内参蛋白荧光强度的比值进行统计分析。每组 3 个重复。

2.5 统计学方法

采用 SPSS23 软件进行单因素方差分析,方差齐性采用 F 检验,组间两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 有统计学意义。结果以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

3 实验结果

3.1 四氢紫堇萨明对细胞活力的影响

结果显示,与正常对照组相比,模型组细胞活力降低 13.69% ($P < 0.01$),与模型组相比,SQZJSM 组细胞活力显著增强 ($P < 0.01$);与 SQZJSM 组相比,SQZJSM + LY294002 组细胞活力显著下降 ($P < 0.01$) (见表 1)。

3.2 四氢紫堇萨明对细胞核和微管形态的影响

结果显示,(1)正常对照组细胞核染色均匀,边

表 1 各组细胞活力比较 ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Cell Viability in each group ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	细胞活力 Cell Viability (%)
正常对照组 Control	100.00 \pm 3.28
模型组 Model	86.31 \pm 1.78 ^{**}
SQZJSM 组 SQZJSM	97.94 \pm 2.69 ^{##}
SQZJSM + LY294002 组 SQZJSM + LY294002	83.90 \pm 2.56 ^{△△}
LY294002 组 LY294002	87.29 \pm 2.45

注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组相比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与 SQZJSM 组相比,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Compare with Model, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; Compare with SQZJSM, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$.

缘清晰;细胞微管形态清晰,成束状排列,亮度均匀;(2)与正常对照组相比,模型组细胞核核皱缩、染色致密并有破碎状改变;细胞微管排列紊乱,或凝聚成团块状,亮度不均;(3)与模型组相比,SQZJSM 组细胞核染色均匀,边缘清晰;细胞微管排列整齐,亮度均匀;(4)与 SQZJSM 组相比,SQZJSM + LY294002 组细胞核皱缩、染色致密并有破碎状改变;细胞微管排列紊乱,断断续续,亮度不均(见图 1)。

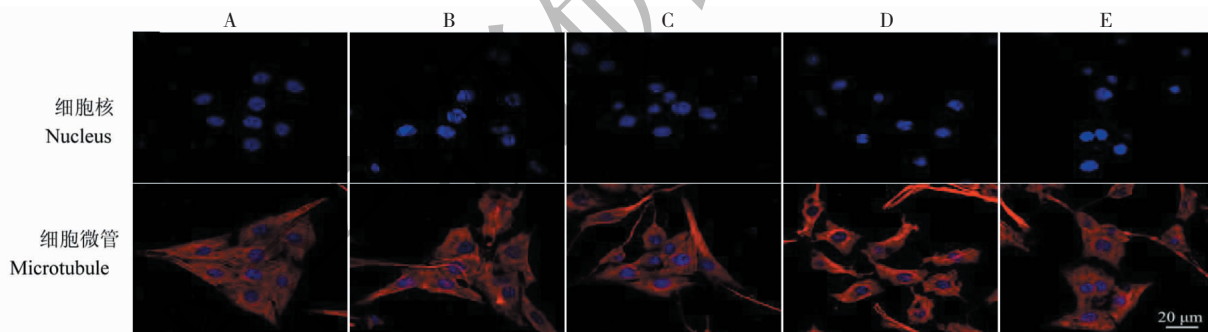


图 1 各组细胞核和微管形态的变化 (400 ×)

Fig. 1 Changes of nuclear and microtubule morphology in each group (400 ×)

注:A. 正常对照组;B. 模型组;C. SQZJSM 组;D. SQZJSM + LY294002 组;E. LY294002 组。

Note: A. Control; B. Model; C. SQZJSM; D. SQZJSM + LY294002; E. LY294002.

3.3 四氢紫堇萨明对细胞 Tau 蛋白磷酸化水平的影响

结果显示,与正常对照组相比,模型组磷酸化 Tau 蛋白 p-Tau(Ser396)水平显著升高 ($P < 0.05$);与模型组相比,SQZJSM 组 p-Tau(Ser396)水平显著减弱 ($P < 0.05$);与 SQZJSM 相比,SQZJSM + LY294002 组细胞 p-Tau(Ser396)水平显著升高 ($P < 0.05$);各组总 Tau 蛋白的表达水平均无显著差异(见图 2、表 2)。

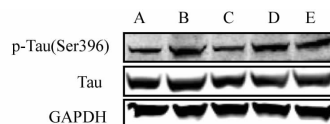


图 2 各组细胞 Tau 蛋白磷酸化水平的变化

Fig. 2 Changes of phosphorylation of Tau protein in each group

注:A. 正常对照组;B. 模型组;C. SQZJSM 组;

D. SQZJSM + LY294002 组;E. LY294002 组。

Note: A. Control; B. Model; C. SQZJSM;

D. SQZJSM + LY294002; E. LY294002.

表 2 各组细胞 Tau 蛋白磷酸化水平的变化 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)Table 2 Changes of phosphorylation of Tau protein in each group ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	p-Tau (Ser396)	Tau
正常对照组 Control	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
模型组 Model	1.316 ± 0.135*	0.995 ± 0.082
SQZJSM 组 SQZJSM	1.034 ± 0.075 [#]	1.018 ± 0.144
SQZJSM + LY294002 组 SQZJSM + LY294002	1.269 ± 0.146 [△]	0.992 ± 0.217
LY294002 组 LY294002	1.347 ± 0.134	1.097 ± 0.194

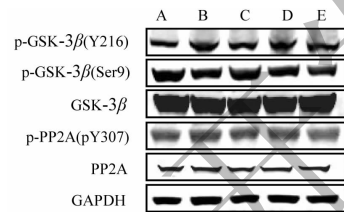
注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组相比,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与 SQZJSM 组相比,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

Note:Compare with control,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;Compare with Model,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;Compare with SQZJSM,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

3.4 四氢紫堇萨明对细胞 GSK-3 β 和 PP2A 蛋白磷酸化水平的影响

结果显示,与正常对照组相比,模型组 p-GSK-3 β (Y216) 水平显著升高,p-GSK-3 β (Ser9) 水平显著降低($P < 0.01$);与模型组相比,SQZJSM 组 p-GSK-

3 β (Y216) 水平显著减弱,p-GSK-3 β (Ser9) 水平显著增强($P < 0.01$);与 SQZJSM 组相比,SQZJSM + LY294002 组 p-GSK-3 β (Y216) 水平显著升高,p-GSK-3 β (Ser9) 水平显著降低($P < 0.05$);各组 p-PP2A (pY307)、总 PP2A 和总 GSK-3 β 的表达水平均无显著差异(见图 3、表 3)。

图 3 各组细胞 GSK-3 β 和 PP2A 磷酸化水平的变化Fig. 3 Changes of phosphorylation of GSK-3 β and PP2A in each group

注:A. 正常对照组;B. 模型组;C. SQZJSM 组;D. SQZJSM + LY294002 组;E. LY294002 组。

Note: A. Control; B. Model; C. SQZJSM; D. SQZJSM + LY294002; E. LY294002.

表 3 各组细胞 GSK-3 β 和 PP2A 磷酸化水平的变化 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)Table 3 Changes of phosphorylation of GSK-3 β and PP2A in each group ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	p-GSK-3 β (Y216)	p-GSK-3 β (Ser9)	GSK-3 β	p-PP2A (pY307)	PP2A
正常对照组 Control	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
模型组 Model	1.239 ± 0.060**	0.729 ± 0.051**	1.05 ± 0.026	0.995 ± 0.104	1.039 ± 0.197
SQZJSM 组 SQZJSM	1.028 ± 0.069 ^{##}	0.873 ± 0.034 ^{##}	1.026 ± 0.273	0.985 ± 0.065	0.999 ± 0.162
SQZJSM + LY294002 组 SQZJSM + LY294002	1.107 ± 0.050 [△]	0.776 ± 0.05 [△]	0.897 ± 0.031	0.998 ± 0.081	1.053 ± 0.231
LY294002 组 LY294002	1.106 ± 0.143	0.788 ± 0.069	0.958 ± 0.206	1.031 ± 0.108	1.13 ± 0.267

注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组相比,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与 SQZJSM 组相比,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

Note:Compare with control,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;Compare with Model,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;Compare with SQZJSM,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

3.5 四氢紫堇萨明对细胞 Akt 磷酸化水平的影响

结果显示,与正常对照组相比,模型组 p-Akt 水平显著下降($P < 0.05$);与模型组相比,SQZJSM 组 p-Akt 水平显著上升($P < 0.05$);与 SQZJSM 组相比,SQZJSM + LY294002 组 p-Akt 水平显著减弱($P < 0.05$);各组总 Akt 的表达水平均无显著差异(见图 4、表 4)。

4 结论

Tau 蛋白是大脑中含量最高的微管结合相关蛋白,在维持神经元的完整性和轴突运输方面发挥重要作用^[10]。AD 患者脑内的 Tau 蛋白则变得高度磷酸化,在神经元中缠结成双螺旋细丝,不再与微管结

合从而导致细胞骨架的破坏和神经纤维缠结形成,并最终导致认知功能障碍^[11]。大量研究证实 $A\beta_{25-35}$ 可诱导 Tau 蛋白多个位点的异常磷酸化,如 Ser396、Thr231 等,并最终诱导 AD 的发生^[12,13]。本研究显示, $A\beta_{25-35}$ 干预 PC12 细胞可导致 Tau 蛋白 Ser396 位点磷酸化水平显著增高,同时细胞微管排列紊乱,细胞活力显著下降,提示 $A\beta_{25-35}$ 干预使 PC12 细胞出现了 AD 样病理异常改变。进一步研究发现,SQZJSM 可显著增强模型细胞的活力,改善细胞骨架的微管形态,同时显著降低模型细胞的 Tau 蛋白 Ser396 磷酸化水平,提示 SQZJSM 可能通过降低 Tau 蛋白的异常磷酸化水平从而改善细胞骨架的

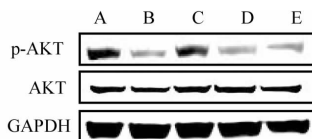


图4 各组细胞 Akt 磷酸化水平的变化

Fig. 4 Changes of phosphorylation of Akt in each group

注:A. 正常对照组;B. 模型组;C. SQZJSM 组;

D. SQZJSM + LY294002 组;E. LY294002 组。

Note: A. Control; B. Model; C. SQZJSM;

D. SQZJSM + LY294002; E. LY294002.

表4 各组细胞 Akt 磷酸化水平的变化 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Changes of phosphorylation of Akt in each group ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	p-Akt	Akt
正常对照组 Control	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
模型组 Model	0.573 ± 0.185 *	0.800 ± 0.120
SQZJSM 组 SQZJSM	0.837 ± 0.264 [#]	0.98 ± 0.322
SQZJSM + LY294002 组 SQZJSM + LY294002	0.599 ± 0.199 [△]	0.921 ± 0.334
LY294002 组 LY294002	0.578 ± 0.243	0.803 ± 0.362

注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组相比,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与 SQZJSM 组相比,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Compare with Model, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; Compare with SQZJSM, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$.

微管形态,提高细胞活力。

Tau 蛋白磷酸化受蛋白激酶的磷酸化作用以及蛋白磷酸酯酶的脱磷酸化作用共同调节,受损神经细胞内蛋白激酶/蛋白磷酸酯酶调节的动态平衡失调是导致 Tau 蛋白过度磷酸化的直接原因^[14,15],蛋白激酶 GSK-3 β 和蛋白磷酸酯酶 PP2A 在 Tau 蛋白过度磷酸化中发挥关键性作用。GSK-3 β 活性主要受自身抑制位点 Ser9 的磷酸化和激活位点 Tyr216 的磷酸化共同调控^[16]。有研究表明 AD 中异常过度磷酸化 Tau 蛋白增加是因为 PP2A 蛋白活性降低;从而诱发 Tau 蛋白过度磷酸化及神经纤维病变^[17-19],PP2A 抑制位点 Tyr307 的磷酸化水平上调可降低 PP2A 的活性。本研究发现 SQZJSM 可增强 p-GSK-3 β (Ser9) 水平,抑制 p-GSK-3 β (Y216) 水平,从而抑制 GSK-3 β 的活性,发挥神经细胞保护作用;同时我们发现 SQZJSM 对 p-PP2A (pY307) 和总 PP2A 的表达水平均无显著影响;提示在 AD 模型中,SQZJSM 可降低 GSK-3 β 活性,而对 PP2A 活性无显著影响,从而改善模型细胞的蛋白激酶/蛋白磷酸

酯酶系统失衡。

PI3K/Akt 通路可以调节细胞生长、增殖、凋亡、骨架重排等多种生理过程,是维持细胞正常生存功能的重要信号通路。PI3K/Akt 活性下降诱导 GSK-3 β 由非活化型转变为活化型,从而引起 Tau 蛋白过度磷酸化进而导致记忆障碍^[20];研究显示 PI3K/Akt 通路的激活可以改善 A β 诱导的细胞损伤,发挥神经保护作用^[21]。本研究结果表明,SQZJSM 可显著提高 AD 模型细胞 p-Akt 水平,PI3K/Akt 抑制剂可部分阻断 SQZJSM 对模型的改善作用,提示 SQZJSM 可能通过激活 AD 模型细胞的 PI3K/Akt 通路发挥抗 AD 作用。

结合本课题组的前期研究结果,我们推测 SQZJSM 可能通过以下途径发挥抗 AD 作用:(1) SQZJSM 激活 PI3K/Akt,改善蛋白激酶/蛋白磷酸酯酶系统失衡,抑制 Tau 蛋白过度磷酸化,改善细胞微管形态从而提高细胞活力;(2) SQZJSM 激活 PI3K/Akt,降低线粒体 Cyt C 释放,提高抗凋亡蛋白水平,降低促凋亡蛋白的表达,进而发挥抗凋亡作用^[8];见图 5。SQZJSM 作为来源于天然产物的生物碱,目前相关研究较少,后续我们将进一步研究 SQZJSM 在体内的抗 AD 效果,同时在安全性和体内代谢途径等方向进行继续研究,为 SQZJSM 治疗 AD 的潜在临床应用提供数据支撑。

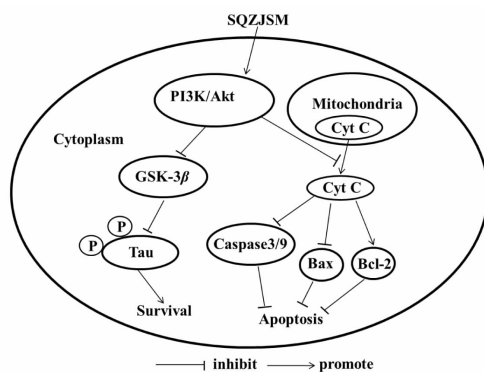


图5 SQZJSM 抗 AD 作用机理示意图

Fig. 5 Schematic of SQZJSM anti-AD mechanism

参考文献

- 1 Calderon-Garcidueñas AL, Duyckaerts C. Alzheimer disease [J]. Handb Clin Neurol, 2017, 145: 325-337.
- 2 Wang SS, Zhang Z, Zhang X, et al. Advances in immunotherapy of Alzheimer's disease with traditional Chinese medicine [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2018, 53: 1023-1029.
- 3 Maccioni RB, Munoz JP, Barbeito L, et al. The molecular ba-

- ses of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders[J]. Arch Med Res,2001,32:367-381.
- 4 Blennow K, De Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimers disease [J]. Lancet,2006,368:387-403.
 - 5 Khoury R, Patel K, Gold J, et al. Recent progress in the pharmacotherapy of Alzheimer's disease [J]. Drugs & Aging, 2017,34:811-820.
 - 6 Zhang HB, Sun Y. Effect of huperzine A on the expression of amyloid β -protein in transgenic mice brain of Alzheimer's disease[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017,29:290-293.
 - 7 Wang H, Bi FJ, Lin T, et al. RP-HPLC fingerprint of corydalis yanhusuo and content determination of nine alkaloids[J]. J Chin Med Materls (中药材), 2017,40:624-629.
 - 8 Yao B, Hou B, Li WY, et al. Effects and mechanism of tetrahydrocorysamine on apoptosis of AD cell model iduced by A β 25-35[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019,31(1):49-54.
 - 9 Liang JQ, Lyu ZM, Tian SY, et al. Application of tetrahydrocyanin in the preparation of drugs for the treatment of senile dementia(四氢紫堇萨明在制备治疗老年性痴呆药物中的应用):ZL201210098959.4[P]. 2012-04-06.
 - 10 Weissmann C, Reyher HJ, Gauthier A, et al. Microtubule binding and trapping at the tip of neurites regulate tau motion in living neurons[J]. Traffic,2009,10:1655-1668.
 - 11 Bakota L, Brandt R. Tau biology and Tau-directed therapies for Alzheimer's disease[J]. Drugs,2016,76:301-313.
 - 12 Barage SH, Sonawane KD. Amyloid cascade hypothesis: pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease [J]. Neuropeptides,2015,52:4-18.
 - 13 Wang J, Jing Y, Song L, et al. Neuroprotective effects of Wnt/ β -catenin signaling pathway against A β -induced tau protein over-phosphorylation in PC12 cells [J]. Biochem Biophys Res Commun,2016,471:628-632.
 - 14 Oliveira JM, Henriques AG, Martins F, et al. Amyloid- β modulates both A β PP and Tau phosphorylation[J]. J Alzheimers Dis,2015,45:495-507.
 - 15 Jayapalan S, Natarajan J. The role of CDK5 and GSK-3 β kinases in hyperphosphorylation of microtubule associated protein tau (MAPT) in Alzheimer's disease [J]. Bioinformatics,2013,9:1023-1030.
 - 16 Li XH, Lyu BL, Xie JZ, et al. AGEs induce Alzheimer-like tau pathology and memory deficit via RAGE-mediated GSK-3 activation[J]. 2012,7:1400-1410.
 - 17 Qin JQ, Shen XY. Functions of protein phosphatase 2A subunits[J]. Prog Phys Sci,2011,3:229-233.
 - 18 Liu GP, Wei W, Zhou X, et al. Silencing PP2A inhibitor by Lenti-shRNA interference ameliorates neuropathologies and memory deficits in tg2576 mice [J]. Mol Ther, 2013,12:2247-2257.
 - 19 Liu R, Zhou XW, Tanila H, et al. Phosphorylated PP2A (tyrosine 307) is associated with Alzheimer neurofibrillary pathology[J]. J Cell Mol Med,2008,1:241-257.
 - 20 Xu ZP. Role of glycogen synthase kinase-3 β in Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology (华中科技大学), 2015.
 - 21 Wang CH, Chen T, Li GX, et al. Simvastatin prevents β -amyloid 25-35-impaired neurogenesis in hippocampal dentate gyrus through α 7nAChR-dependent cascading PI3K-Akt and increasing BDNF via reduction of farnesyl pyrophosphate [J]. Neuropharmacology,2015,97:122-132.
- (上接第 1277 页)
- 10 Hong XF, Hui L, Fu ZZ, et al. Experiment on formulation and drug release behavior of porosity asymmetric membrane capsules *in vitro* [J]. Drug Dev Ind Pharm,2012,38:670-678.
 - 11 Jin G, Li YZ, Yu SP, et al. A novel gastro-Retentive osmotic pump capsule using Asymmetric membrane technology: *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. Pharma Res,2010,27:105-114.
 - 12 Philip AK, Pathak K, Shakya P. Asymmetric membrane in membrane capsules: a means for achieving delayed and osmotic flow of cefadroxil [J]. Eur J Pharm Biopharm,2008,69:658.
 - 13 Jiang Y, Wang HY, Pei TR, et al. Preparation, evaluation and *in vitro* release on chitosan alginate sustained release microcapsule of indirubin self microemulsion [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017,29:1171-1176.