

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.11.001

• 基础研究 •

人参皂苷 Rg1 与栀子苷配伍对 PS1 D385A 小鼠脑血管 A β 水平的影响研究*陈伟航¹ 华 茜² 张华伟³ 彭甜甜¹ 刘小鸽¹ 邓晨耕¹ 司展华¹ 常珂馨¹
王 旭³ 谭 琰^{2Δ}

(1 北京中医药大学针灸推拿学院 北京 100029; 2 北京中医药大学生命科学院 北京 100029;

3 北京中医药大学中医学院 北京 100029)

摘要 目的:基于 PS1 D385A 基因敲进模型小鼠,观察人参皂苷 Rg1(Ginsenoside Rg1)与栀子苷(Geniposide, GP)配伍对脑血管内淀粉样斑块清除和脑血管生成的影响,探讨其影响对阿尔兹海默症(Alzheimer's Disease, AD)治疗的意义。**方法:**以 PS1 D385A KI/+ 小鼠为模型,对 PS1 D385A KI/+ 小鼠进行 Rg1 和 GP 灌胃给药,并以同窝健康小鼠作为对照,采用免疫荧光技术和 Western blot 技术,检测各组小鼠大脑皮层及海马区血管内淀粉样斑块清除和血管生成水平。**结果:**Rg1+GP 组皮质区和海马区 CD31 的表达量显著降低;Rg1+GP 组皮质顶叶颞叶区和海马齿状回区 CD31 标记的血管网信号密度明显降低;与 KI/+ 组小鼠相比,Rg1+GP 组小鼠海马区血管内 A β 40 沉积水平显著降低。**结论:**Rg1 与 GP 配伍可以减少 PS1 D385A KI/+ 成年小鼠皮质顶叶颞叶区和海马齿状回区的血管生成异常的情况。

关键词:早老素基因;阿尔兹海默症;人参皂苷 Rg1;栀子苷;淀粉样斑块 β **中图分类号:**R-33;Q593.2;R243 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)11-2001-07Effect of Ginsenoside Rg1 and Gardenoside on Cerebral Vascular A β of PS1 D385A Mice Study on the Impact of Level*CHEN Wei-hang¹, HUA Qian², ZHANG Hua-wei³, PENG Tian-tian¹, LIU Xiao-ge¹, DENG Chen-geng¹, SI Zhan-hua¹,
CHANG Ke-xin¹, WANG Xu³, TAN Yan^{2Δ}

(1 School of Acupuncture and Massage; 2 School of Life Sciences; 3 School of Chinese Medicine, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100029, China)

ABSTRACT Objective: Based on the PS1 D385A gene knock-in model mice, to observe the effect of Rg1 and GP compatibility on the clearance of amyloid plaque in cerebral blood vessels and cerebral angiogenesis, and to explore the significance of its effect on the treatment of AD (Alzheimer's disease). **Methods:** Taking PS1 D385A KI/+mice as the model, the PS1 D385A KI/+mice were given Rg1 and GP by gavage, and the healthy mice in the same litter as the control. The levels of starch plaque clearance and angiogenesis in the cerebral cortex and hippocampus of mice in each group were measured by immunofluorescence and Western blot. **Results:** The expression of CD31 in cortex and hippocampus of Rg1+GP group was significantly decreased; In Rg1+GP group, the signal density of CD31 labeled vascular network in the temporal lobe of the parietal lobe and the dentate gyrus of the hippocampus decreased significantly; Compared with KI/+group mice, the level of A β 40 deposition in the hippocampus of Rg1+GP group mice was significantly decreased. **Conclusion:** The combination of Rg1 and GP can reduce the abnormal angiogenesis in the temporal lobe of the parietal cortex and the dentate gyrus of the hippocampus of PS1 D385A KI/+ adult mice.

Key words: Presenilin gene; Alzheimer's disease; Ginsenoside Rg1 (Rg1); Geniposide (GP); Amyloid plaque β (A β)**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; Q593.2; R243 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2023)11-2001-07

前言

早老素基因(Presenilin, PS, PSEN)的突变是家族性阿尔

兹海默症(FAD)的主要遗传因素。目前研究发现,已有超过300个来自 PSEN 基因的突变位点与 FAD 相关(<https://www.alzforum.org/mutations>),发病年龄通常在 21-62 岁,病程 4-10

* 基金项目:国家自然科学基金重点项目(U21A20414)

作者简介:陈伟航(1997-),女,硕士研究生,研究方向:针灸防治 AD 的基础, E-mail: chenweihang1525@163.com

Δ 通讯作者:谭琰,女,博士,讲师,主要研究方向:中西医结合防治脑病, E-mail: yantan@bucm.edu.cn

(收稿日期:2023-01-10 接受日期:2023-01-31)

年^[1]。其中达 90%左右的 FAD 是由 PSEN 基因突变所导致的^[2]，平均发病年龄明显早于 APP 突变^[3]。PS1 参与淀粉样蛋白- β (A β)的产生，而 A β 的沉积参与家族性阿尔茨海默病(FAD)的发生和发展^[4]。天冬氨酸是 PS1 蛋白上的第 385 位，是该蛋白的活性中心，PS1 D385A 突变敲除小鼠(PS1 D3852A KI)是在该活性中心将天冬酰胺突变为丙氨酸。KI/KI 小鼠出生时的表型表现为出生致死、骨骼发育障碍、神经元祖细胞大量丢失、严重脑出血等现象，与 PS1 基因敲除(PS1^{-/-})小鼠表型相似^[5]；KI/+ 小鼠表型与同窝野生型(WT)相似，无明显表型，但脑血管内皮细胞标记蛋白 CD31 表达量显著增加。由于 KI/KI 小鼠出生致死，我们培养了 KI/+ 小鼠至 10 月龄，检测后发现 KI/+ 小鼠脑部海马区有显明的脑血管淀粉样斑块，皮质区与海马区的脑血管网密度也表现出增加异常等。

本文旨在探索栀子与三七主要成分人参皂苷 Rg1 与栀子苷 GP 的配伍是否可以清除 PS1 D385A 基因敲进模型小鼠脑血管内的淀粉样斑块；在该基因型小鼠血管生成增加异常时，该配伍的作用效果是促进还是抑制？本文使用 PS1 D385A KI/+ 成年小鼠，9 月龄开始用药，连续用药 1 个月，试图初探栀子与三七配伍对脑血管内淀粉样斑块清除和脑血管生成的影响，为寻找 AD 药物的新靶点提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

PS1 D385A KI/+ 小鼠 21 只，由本实验室自行制备；同窝 WT 小鼠 12 只，购于斯贝福(北京)生物技术有限公司。三七主要有效成分 Rg1 购于 Sigma 公司，货号 00370580；栀子有效成分 Geniposide 购于 Sigma 公司，货号 SML0153；CD31 购于 Abcam 公司，货号 ab9498；A β 1-40 购于 Covance 公司，货号 SIG-39140；Alexa Fluor 488 购于 Thermo Fisher 公司，货号 A-11008；Alexa Fluor 594 购于 Thermo Fisher 公司，货号 A-11005；Actin 购于 Sigma 公司，货号 A5441；山羊抗兔 800CW 购于 LI-Cor 公司，货号 926-32211；山羊抗小鼠 680LT 购于 LI-Cor 公司，货号 926-68020，BCA 蛋白定量试剂盒购于碧云天生物技术公司，货号 P0010。电泳仪品牌为 Bio-Rad，型号为 PowerPAC Basic；扫膜仪品牌为 LI-COR，型号为 Odyssey；冰冻切片机品牌为 Leica，型号为 CM1950；荧光倒置显微镜品牌为 Olympus，型号为 IX71。

1.2 方法

1.2.1 实验动物给药策略 PS1 D385A KI/+ 小鼠和同窝 WT 小鼠养至 9 月龄时开始灌胃给药，给药时长 1 个月。采用三七主要有效成分人参皂苷 Rg1 和栀子有效成分栀子苷 GP (Geniposide)配伍，比例为 GP:Rg1=5:1。实际药量使用情况为 Rg1，0.003851567 mg/g/d；栀子苷 0.018680102 mg/g/d。分组情况为：WT 组(雄性鼠 n=12)，KI/+ 组(雄性鼠 n=10)，Rg1+GP 组(雄性鼠 n=13)。其中，WT 组和 KI/+ 组应用生理盐水进行灌胃，Rg1+GP 组对 KI/+ 鼠应用三七有效成分 Rg1 和栀子有效成分 GP 的配伍进行灌胃。给药周期结束后，将小鼠进行灌注取材，取材后的大脑平均分为左右两半，备用。

1.2.2 制备冰冻切片 完整取出小鼠脑组织后，置于 4%多聚甲醛中，4℃，24 h 后换液至 25%蔗糖中，4℃，24 h。提前预冷

冰冻切片机，设置温度为 -20℃。切片前调整冰冻切片机温度为箱体 -20℃，冷冻头 -15℃。用无尘纸将组织擦干，在待切组织上垂直滴加 OCT(optimal cutting temperature)包埋胶，均匀包埋好后置于冰冻切片机冷冻箱中，等待 20 min，组织完全冻好后开始切片。设置组织厚度为 10 μ m/片，切片后将片子置于 -20℃冰箱储存，备用。

1.2.3 免疫荧光 将制备好的片子进行封闭，室温，1 h；一抗，4℃，过夜；PBS 洗片，3 次，5 min/次；二抗，室温避光，1 h；PBS 洗片，3 次，5 min/次；DAPI 染色，室温，10 min；PBS 洗片，3 次，5 min/次。染色完成后进行封片，避光，室温晾干，进行拍照及分析。

1.2.4 Western blot 提取鼠脑总蛋白质。加入提前预冷的 1X RIPA 蛋白裂解液(含蛋白酶抑制剂)于鼠脑中，随后在冰上进行充分匀浆操作，冰上静置 5 min 后进行离心，4℃，14000 r/min，10 min，收集上清，备用。使用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质浓度后进行蛋白质变性，将样品与 4 $\times$ 上样缓冲液和 10X 浓缩缓冲液混合，70℃水浴，10 min。然后利用 SDS 电泳缓冲液，电压 100-150 V，2-3 h。并在电泳液中加入抗过氧化物溶液(Antioxidence)，用量为 1 mL/L。之后利用 1X Tris 转膜液，电流 350 mA，2 h，进行转膜。使用 5%脱脂牛奶进行封闭，室温，1 h。一抗孵育，PBST 清洗 3 次，60 r/min，5 min/次。二抗孵育，PBST 清洗 3 次，60 r/min，5 min/次。最后使用扫膜仪进行曝光；并进行数据分析。

1.2.5 数据统计 使用 Image J 软件对 Western blot 条带的灰度值进行分析，所有统计数据采用 Graphpad Prism 软件进行处理，以均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SEM)表示；多个样本的均数比较使用单因素方差分析(One-way ANOVA)，各组间数据使用 t 检验进行比较。* 代表 $P < 0.05$ ，为具有统计学差异。

2 结果

2.1 GP 与 Rg1 配伍可以抑制 PS1 D385A KI 成年小鼠异常增加的脑血管生成

使用 Western blot 和免疫荧光的方法对小鼠脑内 CD31 的表达及分布情况进行分析，来检测药物是否可对 PS1 D385A KI/+ 小鼠脑血管生成情况产生影响。

Western blot 分析时，在小鼠大脑的皮质区发现，Rg1+GP 组的 CD31 的表达量显著低于 KI/+ 模型组小鼠；在小鼠大脑的海马区发现，KI/+ 模型组小鼠 CD31 的表达量明显高于 WT 组，Rg1+GP 组的 CD31 表达量明显低于 KI/+ 模型组小鼠，但由于组间差异问题，并未统计出显著性差异(图 1)。

为进一步验证该基因型小鼠大脑中 CD31 的分布情况，使用免疫荧光方法，分别对各组小鼠大脑的皮质颞叶区和海马齿状回区的 CD31 表达情况进行了检测。为了使观察到的血管网密度更清晰的呈现，使用 ImageJ 软件增加了对 CD31(绿色)图像的处理，将背景处理为白色，CD31 阳性信号处理为黑色(图 2)。

免疫荧光结果显示，在小鼠大脑的皮质顶叶颞叶区，KI/+ 模型组小鼠 CD31 标记的血管网信号的密集程度比 WT 组明显；在 Rg1+GP 组中观察到 CD31 标记的血管网信号密度明显降低；同样，在海马齿状回区域观察到，KI/+ 模型组小鼠 CD31 标记的血管网信号密集程度比 WT 组明显；Rg1+GP 组 CD31

标记的血管网信号密度明显降低。以上结果表明,Rg1 与 GP 配伍可以减少 PS1 D385A KI/+ 成年小鼠皮质顶叶颞叶区和海马

齿状回区的血管生成异常的情况。

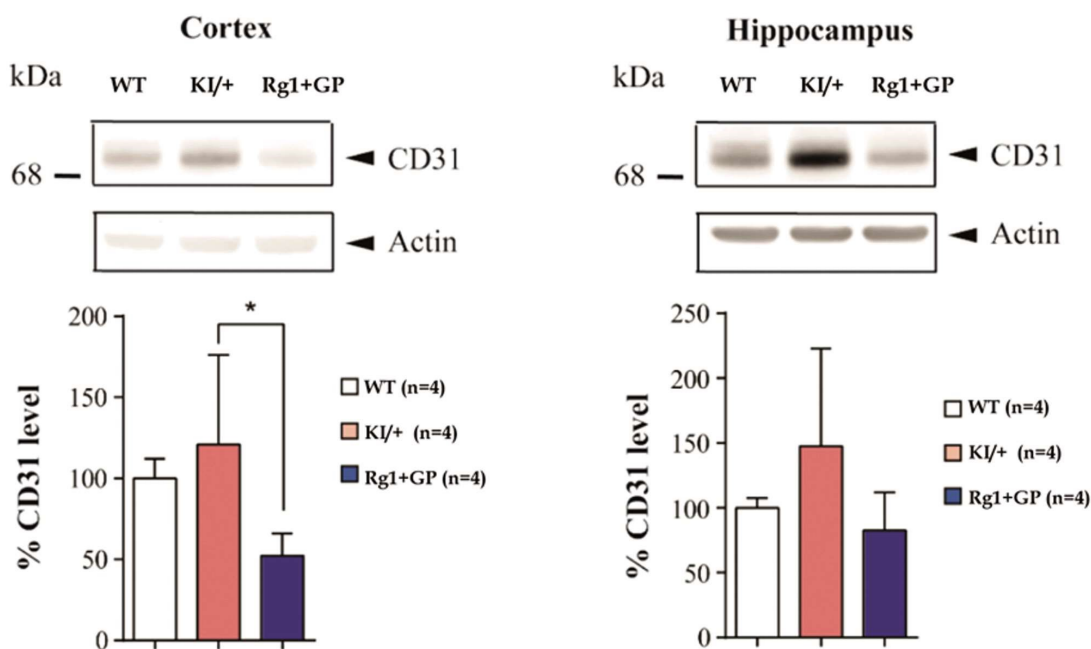


图1 Rg1 和 GP 的配伍显著降低了 PS1 D385A KI/+ 小鼠 10 月龄皮质中 CD31 蛋白的表达水平

Fig.1 The compatibility of Rg1 and GP significantly reduced the expression level of CD31 protein in the cortex of PS1 D385A KI/+mice at the age of 10 months

图注:与 KI/+ 组相比,Rg1+GP 组皮层区 CD31 的蛋白质水平显著降低(* $P<0.05$)。

与 WT 组相比,KI/+ 组海马区 CD31 蛋白水平更高;Rg1+GP 组 CD31 水平与 KI/+ 组相比有所降低。

2.2 Rg1 与 GP 配伍可以清除 PS1 D385A KI/+ 小鼠海马区脑血管内淀粉样蛋白沉积

随后,使用免疫荧光方法标记了脑血管内皮细胞标记物和血管内淀粉样斑块,即 CD31 标记血管内皮细胞、A β 40 标记淀粉样斑块,并使用二抗将 CD31 标记为绿色、将 A β 40 标记为红色。

结果如图 3 所示在 WT 型小鼠的海马区内未检测到血管内淀粉样斑块的沉积;但在 KI/+ 小鼠中,可以明显的观察到血管内淀粉样斑块沉积。为了进一步检验 KI/+ 成年小鼠血管内淀粉样斑块的成分,进一步使用了 A β 42 抗体染色,但未观察到阳性信号,该结果表明此基因型小鼠血管内淀粉样斑的成分为 A β 40。

灌胃干预 1 个月后,发现 Rg1 与 GP 配伍组海马区的血管内淀粉样斑块的沉积显著减少,斑块减少近 83%。这一结果表明,二者配伍可以有效改善 PS1 D385A KI/+ 小鼠海马区内的血管淀粉样斑块沉积状况。

3 讨论

AD 是一种以大脑内 β 淀粉样蛋白(β amyloid, A β)斑块沉积^[9]为典型表现并多发于老年人的中枢神经系统退行性疾病。该病起病隐匿且病因复杂^[7],持续时间长,在出现症状前数十年大脑内就已经可以检测到 A β 的存在。其病理特点为渐进性学习、认知、记忆等能力障碍,甚至出现失语、焦虑、情绪波动大、人格改变^[7]等表现。近些年研究表明,AD 的发生与免疫炎症反应^[8]、遗传因素^[9]、肠道微生物群等因素相关,但其确切的发病机

制目前尚不明确,因此基于 AD 特异性的预防和治理措施仍然缺乏^[10],而干预及治疗时间过晚也为药物治疗 AD 失败的一个重要的原因。由于 AD 的发病机制复杂,临床上使用的抗 AD 药物大多为单一靶点且功能单一,疗效不明显。因此,开发源自天然来源的多靶点和多功能抗 AD 药物至关重要。

Rg1 为三七的有效成分,可通过多途径发挥抗 AD 的疗效^[6],具有减轻 AD 所导致的神经元氧化损伤、改善学习记忆功能^[7]、减轻海马组织病理异常、降低 A β 水平以及抑制血管异常生成^[11]等作用。梔子的主要有效成分 GP 不但可改善 APP/PS1 小鼠认知缺陷,减少淀粉样蛋白斑块 β 的沉积,还可通过抗氧化应激和调节肠道菌群途径发挥抗 AD 的疗效^[12]。近年来,诸多研究团队对 Rg1、GP 的药理活性、生物利用度及药代动力学等方面进行了研究并产生了一些见解^[13-15]。尤其发现,Rg1 在改善 AD 模型的学习记忆功能方面的影响最大^[16],是通过多通道抗 AD 的潜在药物。

A β 沉积是导致 AD 患者发生神经退行性病变的主要因素,是 AD 患者的标志性病变之一^[17]。过量沉积的 A β 可导致神经细胞损伤^[18],诱发脂质过氧化和蛋白质等生物大分子的氧化^[19],低聚态的 A β 蛋白也可进入细胞的线粒体,导致线粒体呼吸链的 ATP(Adenosine Triphosphate)生成障碍,最终产生大量活性氧(reactiveoxygenspecies, ROS)^[20,21],使机体抗氧化系统清除 ROS 和过氧化物的能力受损,诱导氧化应激发生,最终导致神经元功能受损和 AD 病理变化产生。研究表明,Rg1 可使 ROS 的产生显著降低^[22],并具有缓解 AD 动物模型中的认知缺陷,减少神经变性,及降低海马区 A β 水平的作用^[23]。二者合用

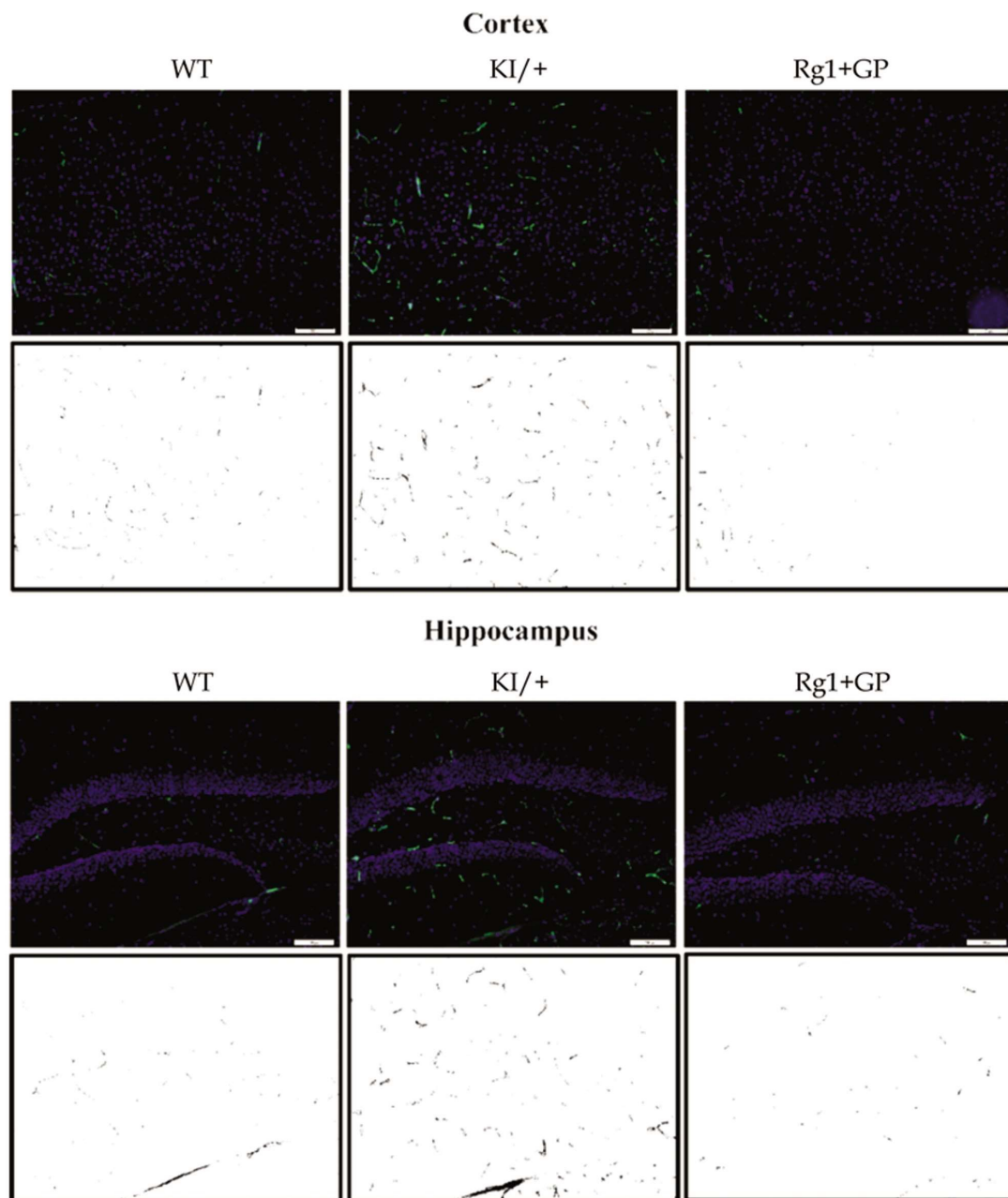


图2 Rg1 和 GP 的组合明显降低了海马颞叶区和齿状回区的血管密度

Fig.2 The combination of Rg1 and GP significantly reduced the density of vascular ganglia in the temporal lobe and dentate gyrus of the hippocampus
图注:与 WT 相比,KI/+ 组皮层区 CD31(血管)阳性信号更高;与 KI/+ 小鼠相比,Rg1+GP 组 CD31(血管)阳性信号降低。与 WT 相比,KI/+ 组海马齿状回区 CD31(血管)阳性信号更高;与 KI/+ 小鼠相比,Rg1+GP 组 CD31(血管)阳性信号降低。标尺 =50 μm。

也可有效促进受损神经元的存活率的增加,以及促进神经元突起的数目及长度的增加^[24]。本文结果提示, Rg1 与 GP 的配伍可以有效将 PS1 D385A KI/+ 小鼠海马区血管性淀粉样斑块清除,这与课题组前期在 APP/PS1 小鼠中观察到的结果相同^[25]。此外,令人惊喜的是 Rg1 与 GP 配伍可以清除的血管斑块高达 80 %。随后对这一有效结果进行分析,认为可能的原因是 10 月龄或为 PS1 D385A KI/+ 小鼠斑块形成的早期,因此使用药物进行干预后,获得的改善效果较明显。如需验证对这一结果的猜测,后续研究还需要对该基因型小鼠脑内形成血管性 Aβ 的时间做进一步的探索。

Aβ 是阿尔茨海默病前体蛋白 (Alzheimer Precursor Protein, APP) 上一段大小为 4kDa 的片段^[26],由 β-分泌酶和 γ-分

泌酶对 APP 进行两次蛋白裂解所产生^[27],再经由细胞膜分泌到细胞外。具有神经毒性的 Aβ40 和 Aβ42 都包含在内,且数量突出, Aβ40 含量可达 90 %^[28];由 Aβ42 聚集所形成的淀粉样斑块主要沉积在细胞外^[29],血管性淀粉样斑块主要由 Aβ40 的迁移和沉积而形成^[30,31]。淀粉样斑块的主要成分 Aβ42 聚集形成纤维蛋白的速度要比 Aβ40 快^[32],一般认为, Aβ42 在病理条件下更易于发生淀粉样病变。且虽然 Aβ40 占 Aβ 产量的 90 %,但次要的 Aβ42 产物更具有疏水性,被认为是 Aβ 聚集的核心物质,导致 AD 大脑中淀粉样斑块沉积^[33]。针对 APP 和早老素 -1 基因(PS1)在 AD 中过表达的问题,有研究团队建立了 APP 和 PS1 诱导的 AD 转基因模型,并对 Rg1 的作用进行探讨,发现 Rg1 明显降低了 Aβ 的表达,其途径是通过降低小鼠模型中

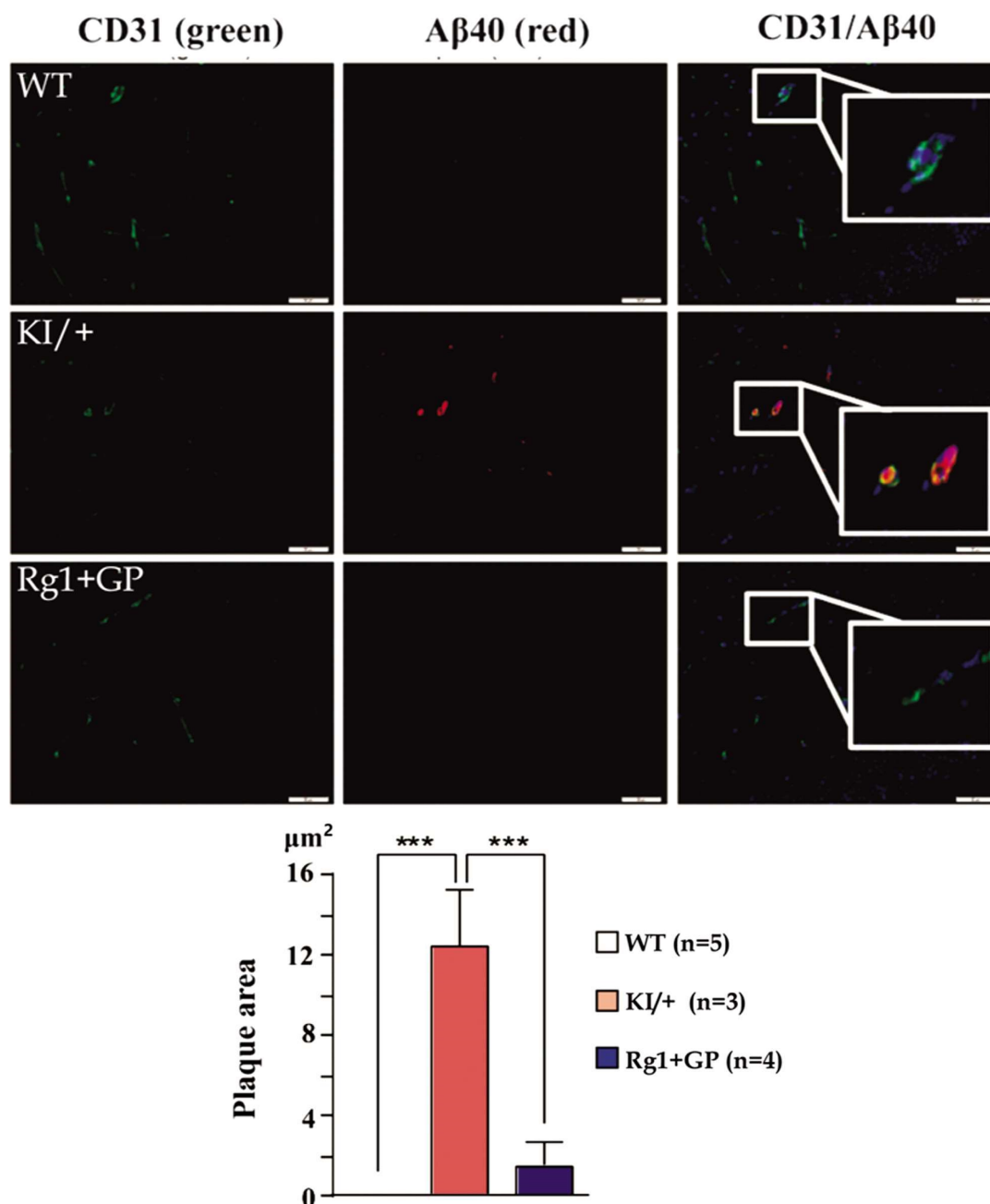


图3 Rg1 和 GP 的配伍显著减少了海马区的脑血管淀粉样斑块

Fig.3 The compatibility of Rg1 and GP significantly reduced the cerebral vascular amyloid plaques in the hippocampus

图注: WT 组, 海马区未检测到脑血管淀粉样斑块。KI/+ 组, 海马区明显可见脑血管淀粉样斑块。Rg1+GP 组与 KI/+ 小鼠相比, 脑血管淀粉样斑块急剧减少达 83.3%。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。* P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001。

APP 的表达所介导^[34]。然而, 虽然 Rg1 在治疗 AD 方面显示出巨大的治疗潜力, 但仍存在一些不容忽视的缺点。药代动力学研究表明, Rg1 的口服生物利用度不高, 只有低水平进入大脑。但我们发现 GP 也可用于恢复血脑屏障(BBB)的功能。有研究团队通过建立体外 BBB 模型, 以研究 GP 对 BBB 的影响, 结果表明 GP 可降低 BBB 的通透性, 有效改善血脑屏障功能^[35]。本文结果表明, 用药后 PS1 D385A KI/+ 小鼠大脑皮层和海马区的淀粉样斑块 β 有所减少, 其可能的原因是 Rg1 和 GP 配伍, 提高了原有的药物入脑量, 最终通过降低 APP 的表达, 从源头抑制 A β 的产生和积累, 从而对 AD 发挥保护作用。我们还使用 A β 40 和 A β 42 两种抗体染色对小鼠的脑组织来识别 PS1 D385A KI/+ 成年小鼠血管 A β 的主要成分。最终观察到

A β 40 信号呈阳性且明显, 而未在染 A β 42 的组织切片中检测到阳性信号。该结果表明 PS1 D385A KI/+ 小鼠的血管 A β 主要成分为 A β 40。

此外, 血管生成的失衡也是许多疾病的原因之一, 该现象也存在于 AD 患者的脑实质中^[36], 通过促进或抑制血管生成或许可以开辟一种新的疾病干预途径^[37]。通常情况下, 血管生成可使大脑代谢毒性病理产物的功能增强^[38], 从而降低 AD 患者脑内 A β 的沉积。但我们在 AD 中观察到的血管生成似乎导致了更为严重的后果。相关研究表明, PS1 是血管新生的一个主要调控因子; 与血管新生相关的蛋白如 VEGFR-1、Notch、ErbB-1、IGF1-R 等均是 γ -分泌酶的底物^[39], 在 PS1 -/- 细胞中, 血管内皮生长因子受体 1 (VEGFR-1) 的去磷酸化被抑制, 在

PS1 全长蛋白过表达的体中, VEGFR-1 的去磷酸化被激活, 表明 PS1 全长蛋白可能是 VEGFR-1 去磷酸化的一个主要调控因子, 参与调控血管新生^[40]。再者, 体内实验中, PS1^{-/-} 小鼠出现了严重的脑出血现象^[9]; PS1^{-/-} 小鼠脑部毛血管的分支减少、血管的直径扩增, 表明 PS1 基因与血管分支、塑造和血管新生相关^[41]。本文对 10 月龄的 PS1 D385A KI/+ 小鼠脑血管密度进行了检测, 在该基因型小鼠大脑的皮质区和海马区, 我们观察到了增加异常显著的脑血管网密度, 给与 Rg1 与 GP 配伍用药后, 这一现象明显减少。该结果证明 Rg1 与 GP 配伍可以有效抑制脑部血管异常生成。为进一步验证这一实验结果, 我们还需要在 APP/PS1 模型小鼠(血管生成抑制)中再次验证。此外, 以往也有研究表明, Rg1 具有促进了血管生成的作用^[42]。我们研究药物对 PS1 D385A 小鼠作用的过程中, 还发现该模型小鼠具有肿瘤高发情况。以上结果表明, 血管异常增生可能是 PS1 突变的一个病理变化, Rg1 与 GP 配伍可能对血管生成具有双向调节作用。因此, 调节血管功能或将是防治 AD 的新药物靶点。本文为临床上寻找新的针对 AD 防治的药物靶点提供了部分实验依据。

参考文献(References)

- [1] 张源, 孙梦凡, 贾紫嫣, 等. PSEN1 基因变异致早发性阿尔茨海默病两例报道并文献复习[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2021, 11(2021): 967-975
- [2] Qin Q, Yin Y, Wang Y, et al. Gene mutations associated with early onset familial Alzheimer's disease in China: an overview and current status[J]. Mol Genet Genomic Med, 2020, 8: e1443
- [3] Ryman DC, Acosta-Baena N, Aisen PS, et al. Symptom onset in autosomal dominant Alzheimer disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Neurology, 2014, 83(3): 253-260
- [4] Konstantinidis E, Molisak A, Perrin F, et al. CRISPR-Cas9 treatment partially restores amyloid- β 42/40 in human fibroblasts with the Alzheimer's disease PSEN1 M146L mutation [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2022, 28: 450-461
- [5] Shen J, Bronson RT, Chen DF, et al. Skeletal and CNS defects in Presenilin-1-deficient mice[J]. Cell, 1997, 89: 629-639
- [6] Wang H, Sui HJ, Zheng Y, et al. Curcumin-primed exosomes potentially ameliorate cognitive function in AD mice by inhibiting hyperphosphorylation of the Tau protein through the AKT/GSK-3 β pathway[J]. Nanoscale, 2019, 11(15): 7481-7496
- [7] MAQBOOL M, MOBASHIR M, HODA N. Pivotal role of glycogen synthase kinase-3: a therapeutic target for Alzheimer's disease[J]. Eur J Med Chem, 2016, (107): 63-81
- [8] BAULCH J E, ACHARYA M M, AGRAWAL S, et al. Immune and inflammatory determinants underlying Alzheimer's disease pathology [J]. Journal of Neuroimmune Pharmacology, 2020, 15(4): 852-862
- [9] PRENDECKI M, KOWALSKA M, ŁAGAN-JEDRZEJCZYK U, et al. Genetic factors related to the immune system in subjects at risk of developing Alzheimer's disease [J]. Journal of Integrative Neuroscience, 2020, 19(2): 359-371
- [10] 吕继辉. 阿尔茨海默病疾病修饰药物研发述评 [J]. 神经疾病与精神卫生, 2022, 22(11): 761-765
- [11] Lu H, Zhou X, Kwok H H, et al. Ginsenoside-Rb1-mediated anti-angiogenesis via regulating PEDF and miR-33a through the activation of PPAR- γ pathway[J]. Front Pharmacol, 2017, 13(8): 783
- [12] 田文国, 王春芳, 陈金鹏, 等. 中药抗阿尔茨海默病的作用及其机制研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(10): 3195-3208
- [13] Lu J, Wang, Wu A, et al. Ginsenosides in central nervous system diseases: pharmacological actions, mechanisms, and therapeutics Phytother[J]. Phytother Res, 2022, 36(4): 1523-1544
- [14] Gao Y, Li J, Wang J, et al. Ginsenoside Rg1 prevent and treat inflammatory diseases: A review[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 87: 106805
- [15] Fan W, Huang Y, Zheng H, et al. Ginsenosides for the treatment of metabolic syndrome and cardiovascular diseases: Pharmacology and mechanisms[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 132: 110915
- [16] Sheng C, Peng W, Xia ZA, et al. The impact of ginsenosides on cognitive deficits in experimental animal studies of Alzheimer's disease: a systematic review[J]. BMC Complement Altern Med, 2015, 15: 386
- [17] Quan Q K, Wang J, Li X, et al. Ginsenoside Rg1 decreases A β 1-42 level by upregulating PPAR γ and IDE expression in the hippocampus of a rat model of Alzheimer's disease [J]. PLoS One, 2013, 8 (3): e59155
- [18] Zhou N N, Tang Y, Keep R F, et al. Antioxidative effects of Panax notoginseng saponins in brain cells [J]. Phytomedicine, 2014, 21(10): 1189-1195
- [19] Zhang T, Dong K L, Xiao L, et al. Effects of coadministration of icariin and Panax notoginseng saponins on intestinal microbiota and hippocampal protein expression in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2020, 16: 2169-2179
- [20] Meredith Chabrier, Mathew Blurton Jones, Andy Agazaryan, et al. Soluble A β promotes wild-type tau pathology in vivo[J]. Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association, 2012, 32 (48): 17345-17350
- [21] Kosenko Elena A, Solomadin Iliya N, Tikhonova Lyudmila A, et al. Pathogenesis of Alzheimer Disease: Role of Oxidative Stress, Amyloid- β Peptides, Systemic Ammonia and Erythrocyte Energy Metabolism [J]. CNS & Neurological Disorders Drug Targets, 2014, 13(1): 112-119
- [22] Zhang Y, Ding S, Chen Y, et al. Ginsenoside Rg1 alleviates lipopolysaccharide-induced neuronal damage by inhibiting NLRP1 inflammasomes in HT22 cells[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(1): 782
- [23] Song XY, Hu JF, Chu SF, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates okadaic acid induced spatial memory impairment by the GSK3 β /tau signaling pathway and the A β formation prevention in rats[J]. Eur J Pharmacol, 2013, 710(1-3): 29-38
- [24] Li XJ, Hua Q, Li PT. Neuroprotective Effect of An Anti-ischemic Herb on β -amyloid1-42 Induced Neurotoxicity in Hippocampal Neurons[J]. Journal of Neurochemistry, 2009, 110: 65
- [25] Tan Y, Wang X, Zhang J, et al. NeuroProtect, a Candidate Formula From Traditional Chinese Medicine, Attenuates Amyloid- β and Restores Synaptic Structures in APP/PS1 Transgenic Mice [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 850175
- [26] Hampel H, Hardy J, Blennow K, et al. The Amyloid- β Pathway in Alzheimer's Disease[J]. Mol Psychiatry, 2021, 26(10): 5481-5503
- [27] Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease [J].

- Lancet, 2006, 368: 387-403
- [28] Selkoe, D.J. The molecular pathology of Alzheimer's disease [J]. Neuron, 1991, 6: 487-498
- [29] Mossmann D, Vogtle F N, Taskin A A, et al. Amyloid-beta peptide induces mitochondrial dysfunction by inhibition of preprotein maturation[J]. Cell Metabolism, 2014, 20(4): 662-669
- [30] Thinakaran G, Koo EH. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function[J]. J Biol Chem, 2008, 283(44): 29615-9
- [31] O'Brien RJ, Wong PC. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease[J]. Annu Rev Neurosci, 2011, 34: 185-204
- [32] Sun L, Zhou R, Yang G, et al. Analysis of 138 pathogenic mutations in presenilin-1 on the in vitro production of A β 42 and A β 40 peptides by γ -secretase[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114(4): E476-E485
- [33] Viswanathan A, Greenberg SM. Cerebral amyloid angiopathy in the elderly[J]. Ann Neurol, 2011, 70(6): 871-880
- [34] Li F, Wu X, Li J, et al. Ginsenoside Rg1 ameliorates hippocampal long-term potentiation and memory in an Alzheimer's disease model [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(6): 4904-4910
- [35] Li C, Wang X, Cheng F, et al. Geniposide protects against hypoxia/reperfusion-induced blood-brain barrier impairment by increasing tight junction protein expression and decreasing inflammation, oxidative stress, and apoptosis in an in vitro system[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 854: 224-231
- [36] Bennett RE, Robbins AB, Hu M, et al. Tau induces blood vessel abnormalities and angiogenesis-related gene expression in P301L transgenic mice and human Alzheimer's disease [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018, 115(6): E1289-E1298
- [37] Arima S, Nishiyama K, Ko T, et al. Angiogenic morphogenesis driven by dynamic and heterogeneous collective endothelial cell movement[J]. Development, 2011, 138(21): 4763-4776
- [38] Mackay CP, Kuys SS, Brauer SG. The Effect of Aerobic Exercise on Brain-Derived Neurotrophic Factor in People with Neurological Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. Neural Plast, 2017, 2017: 4716197
- [39] Boulton ME, Cai J, Grant MB. gamma-Secretase: a multifaceted regulator of angiogenesis[J]. J Cell Mol Med, 2008, 12(3):p.781-95
- [40] Cai J, Chen Z, Ruan Q, et al. gamma-Secretase and presenilin mediate cleavage and phosphorylation of vascular endothelial growth factor receptor-1[J]. J Biol Chem, 2011, 286(49): 42514-23
- [41] Nakajima M, Yuasa S, Ueno M, et al. Abnormal blood vessel development in mice lacking presenilin-1 [J]. Mechanisms of Development, 2003, 120(6): 657-667
- [42] Wang DJ, Li QY, Xu SJ, et al. Effect of ginsenoside Rg1 on angiogenesis after neonatal hypoxia ischemia brain damage in rats[J]. Journal of Sichuan University (Medical Sciences), 2011, 42 (4): 503-507

(上接第 2013 页)

- [22] Li J, Li H, Wang D, et al. Orexin activated emergence from isoflurane anaesthesia involves excitation of ventral tegmental area dopaminergic neurones in rats [J]. Br J Anaesth, 2019, 123 (4): 497-505
- [23] Perez-Bonilla P, Santiago-Colon K, Leininger G M. Lateral hypothalamic area neuropeptides modulate ventral tegmental area dopamine neurons and feeding[J]. Physiol Behav, 2020, 223: 112986
- [24] 张思敏, 李健楠, 王飒, 等. 小鼠下丘脑外侧区食欲素神经元向中脑腹侧被盖区的投射[J]. 神经解剖学杂志, 2022, 38(04): 374-380
- [25] Nguyen C, Mondoloni S, Le Borgne T, et al. Nicotine inhibits the VTA-to-amygdala dopamine pathway to promote anxiety[J]. Neuron, 2021, 109(16): 2604-2615
- [26] Quessy F, Bittar T, Blanchette L J, et al. Stress-induced alterations of mesocortical and mesolimbic dopaminergic pathways [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 11000
- [27] Ferenczi E A, Zalocusky K A, Liston C, et al. Prefrontal cortical regulation of brainwide circuit dynamics and reward-related behavior [J]. Science, 2016, 351(6268): c9698
- [28] Rapanelli M, Frick L R, Miguez F A, et al. Dopamine bioavailability in the mPFC modulates operant learning performance in rats: an experimental study with a computational interpretation[J]. Behav Brain Res, 2015, 280: 92-100
- [29] Taylor N E, Van Dort C J, Kenny J D, et al. Optogenetic activation of dopamine neurons in the ventral tegmental area induces reanimation from general anesthesia[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(45): 12826-12831
- [30] Song Y, Chu R, Cao F, et al. Dopaminergic Neurons in the Ventral Tegmental-Prelimbic Pathway Promote the Emergence of Rats from Sevoflurane Anesthesia[J]. Neurosci Bull, 2022, 38(4): 417-428