

黄芪甲苷改善阿尔茨海默病(AD)小鼠的认知功能

徐秉忠

江苏护理职业学院, 中国·江苏 淮安 223005

【摘要】目的: 研究黄芪甲苷是否能改善阿尔茨海默病(AD)小鼠的认知功能。方法: 将ICR小鼠随机分为空白组, 假手术组, 黄芪甲苷IV高, 中, 低剂量组和阳性对照组。除空白组和假手术组外, 每组小鼠脑室注射LPS(5.3 μL/小鼠)建立AD小鼠模型, 假手术组小鼠侧脑室注射等量生理盐水, 小鼠在空白组中未经任何处理。各组小鼠在造模后第二天开始用黄芪甲苷IV治疗, 高, 中, 低剂量分别为80, 40和20 mg/kg, 阳性对照组用5 mg/kg治疗。多奈哌齐每日一次, 连续灌胃21天。造模后第14~20天采用Morris水迷宫做定位航行试验和空间探索试验, 评价各组动物的认知能力, 造模后第21天处死小鼠, 测定各组小鼠海马TNF-α和IL-1β含量。ELISA法检测各组小鼠, Iba-1免疫组化染色观察各组小鼠海马小胶质细胞的数量和形态。结果: 侧脑室注射LPS能明显损伤AD小鼠的空间学习记忆能力和新物体识别能力, 使小鼠脑内海马区炎症因子TNF-α和IL-1β的含量显著升高, 并使小鼠脑内海马区小胶质细胞数量增多, 胞体增大, 突起增粗、变短, 呈现明显的活化状态。黄芪甲苷各剂量组给药可缓解LPS造成的认知功能损伤, 同时明显降低AD小鼠脑内海马区TNF-α和IL-1β的含量, 减少小鼠海马区小胶质细胞的数量, 抑制小胶质细胞活化。结论: 黄芪甲苷可通过抑制小胶质细胞活化介导的神经炎症反应来改善AD小鼠的学习记忆功能。

【关键词】黄芪甲苷; 阿尔茨海默病; 认知功能

阿尔茨海默病(AD)是中枢神经系统的退行性疾病, 其特征性在于慢性进行性认知功能障碍^[1-2]。AD的病因和发病机制复杂, 最近的研究已经确定小胶质细胞激活引起的慢性神经炎症反应是AD的主要原因之一, 黄芪的活性成分有多种多糖, 黄酮和皂苷, 其中黄芪甲苷IV, 受到研究人员的高度关注^[3]。研究表明, 黄芪甲苷IV对由多种原因引起的AD动物模型中的学习和记忆障碍以及神经元损伤具有显著的保护作用, 然而, 很少有报道黄芪甲苷IV对AD动物脑内神经炎症和小胶质细胞活化有抑制作用。因此, 本研究主要探讨黄芪甲苷改善阿尔茨海默病(AD)小鼠的认知功能。

1 材料

1.1 实验动物

雄性ICR小鼠84只, 体质量20~22 g, 由我院实验动物中心提供。

1.2 药品与试剂

黄芪甲苷(纯度>98%, 西安林河生物技术有限公司, 批号: 141009); 脂多糖(LPS); 盐酸多奈哌齐(卫材制药有限公司, 批号: 20140926); TNF-α, IL-1β试剂盒(武汉博斯特生物工程有限公司); Iba-1抗体(Santa Cruz)。其余常规试剂为分析级。

1.3 实验仪器

Morris水迷宫(成都泰盟科技有限公司); 新物体识别实验箱(上海软隆公司); 切片机(德国Leica公司); Power wave XS2酶标仪(美国Gene公司)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将84只ICR小鼠随机分为空白组, 假手术组, 模型组, 黄芪甲苷低, 中, 高剂量组和阳性对照组, 每组12只小鼠。空白组小鼠未接受任何治疗, 假手术组小鼠侧脑室注射生理盐水(3 μL/小鼠), 模型组和药物治疗组小鼠注射等量LPS溶液(5.3 μL/小鼠)参照小鼠脑立体定位图谱, 建立侧脑室模型, 侧脑室注射位置在前囟后0.3mm, 旁开1.0mm, 深2.5mm, 颅面皮肤消毒处理后, 造模后2mm将微量注射器垂直插入颅骨表面。第二天, 低, 中, 高剂量组黄芪甲苷每天灌胃20, 40和80 mg/kg黄芪甲苷, 阳性对照组小鼠灌胃多奈哌齐5 mg/kg, 空白小鼠, 假手术组和模型组用相同体积的生理盐水灌胃, 每日一次, 共21d。造模后的第14~20天采用Morris水迷宫做神经试验和新物体识别(nor)试验。

3 结果

随着训练时间的延长, 各组小鼠逃避潜伏期逐渐缩短, 空白组与假手术组小鼠逃避潜伏期无明显差异, 表明侧脑室的操作注射对小鼠没有明显影响; 与假手术组比较, 模型组小鼠第2~4天的逃避潜伏期明显延长($P<0.05\sim 0.01$); 黄芪甲苷中低剂量组在第3~4天的逃避潜伏期明显短于模型组($P<0.05$), 高剂量组黄芪甲苷的逃避潜伏期短于模型组从第2天开始($P<0.05$), 表明黄芪甲苷在20~80 mg/kg范围内可显著改善AD小鼠的空间学习记忆功能。

4 讨论

LPS是一种经典的神经炎症诱导药物, 可通过侧脑室注射LPS引起一系列炎症反应, 促进炎症因子如IL-1β, TNF-α, IL-6和NO的释放, 引起实验动物的认知障碍。据此, 我们通过侧脑室注射LPS建立了AD的神经炎症模型。行为实验结果表明, 与假手术组相比, 模型组小鼠逃避潜伏期显著增加, 新物体偏好指数显著降低; 与模型组比较, 黄芪甲苷各剂量组均可显著降低小鼠逃避潜伏期, 新物体偏好指数显著升高。上述行为实验结果表明, 黄芪甲苷能抑制LPS诱导的实验动物学习记忆功能损害。

本研究结果显示, 随着训练时间的延长, 各组小鼠逃避潜伏期逐渐缩短, 空白组与假手术组小鼠逃避潜伏期无明显差异, 表明侧脑室的操作注射对小鼠没有明显影响; 与假手术组比较, 模型组小鼠第2~4天的逃避潜伏期明显延长($P<0.05\sim 0.01$); 黄芪甲苷中低剂量组在第3~4天的逃避潜伏期明显短于模型组($P<0.05$), 高剂量组黄芪甲苷的逃避潜伏期短于模型组从第2天开始($P<0.05$), 表明黄芪甲苷在20~80 mg/kg范围内可显著改善AD小鼠的空间学习记忆功能。

综上所述, 黄芪甲苷可能通过抑制小胶质细胞活化介导的神经炎症反应来改善AD小鼠的学习记忆功能。

参考文献:

- [1] 李娟, 陈菲, 王伟. 黄芪甲苷对阿尔茨海默病小鼠筑巢行为的影响[J]. 健康大视野, 2019, 000(023): 41.
- [2] 王鼎. 黄芪甲苷通过Wnt/β-catenin信号通路对阿尔茨海默病转基因小鼠脑内Aβ沉积的影响[J]. 饮食保健, 2018, 5(21).
- [3] 郑坤木, 张静, 叶冰, 等. 姜黄素通过抑制BACE1表达, 减少Aβ的积聚从而改善5XFAD转基因小鼠认知功能[C]. 中华医学会全国神经病学学术会议, 2014.