

黄精提取物对 AD 小鼠认知功能及神经炎症反应的影响

吴昌安

(浙江中医药大学附属湖州中医院 浙江湖州 313000)

摘要:目的: 探讨黄精提取物 (PR) 对 AD 小鼠认知功能及神经炎症反应的影响。方法: 将 40 只 SPF 级小鼠随机分成 4 组, 分别为生理盐水灌胃小鼠组 (NS), 黄精提取物灌胃小鼠组 (PR), 生理盐水灌胃 AD 转基因小鼠组 (NS+AD), 黄精提取物灌胃 AD 转基因小鼠组 (PR+AD)。灌胃持续 6 周后检测小鼠认知记忆及海马小胶质细胞的极化水平。结果: 与 (NS) 组比较, (NS+AD) 组小鼠寻找平台时间延长 ($P<0.001$); 与 (NS+AD) 组比较, (PR+AD) 组小鼠寻找平台时间逐渐缩短 ($P<0.05$), 但仍长于 (NS) 组小鼠 ($P<0.05$)。与 (PR+AD) 组比较, (NS+AD) 组中小鼠海马 M1 表型小胶质细胞比例提高 ($P<0.05$); 与 (NS+AD) 组比较, (PR+AD) 组中小鼠海马 M2 表型小胶质细胞比例提高 ($P<0.001$)。结论: 黄精提取物可缓解 AD 小鼠认知功能障碍及减轻神经炎症。

关键词:黄精; 阿尔兹海默症; 认知功能; 神经炎症

阿尔茨海默病 (Alzheimer's Disease, AD) 一种进行性的神经退行性病变^[1]。近年来, 伴随老龄化人口增长, 本病发病率也不断升高, 已严重危害中老年人身心健康^[2]。据报道全球 AD 患者已经超 5000 万, 到 2050 年将超过 1.5 亿, 而我国 AD 患者已居全球首位^[3-4]。本病不仅影响个人的生活及工作, 而且会给家庭及社会造成严重负担。

现代医学主要从胆碱能神经递质传递、抗炎、抗淀粉样蛋白等方面治疗 AD, 短期效果良好, 但存在明显副作用, 依从性差等问题^[5]。因此, 寻找开发新药物治疗 AD 迫在眉睫。随着药物研究的深入, 发现中医药在治疗 AD 方面具有良好效果^[6]。研究发现中药黄精具有降血糖及血压、抗炎及抗病毒、改善冠脉血流、抗氧化等功效, 同时还具有抗衰老、提高记忆力等作用^[7-8]。故本研究主要黄精提取物 (PR) 对 AD 小鼠认知功能及神经炎症反应的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

小鼠: SPF 级小鼠 (♂), 6-9 个月龄, 体重 35~40g, AD 转基因小鼠: SPF 级小鼠 (♂), 6-9 个月龄, 体重 35~40g。

1.2 主要试剂

黄精由湖州市中医院中药房提供; ELISA 试剂盒购于南京建成公司; 高尔基试剂盒购于上海碧云天公司; BACE1 抗体购于英国 Abcam 公司; A β 抗体购于上海酶联有限公司; ADAM10 抗体购于北京中杉金桥公司; PS1 抗体购于上海酶联有限公司; GAPDH 抗体购于北京中杉金桥公司。

1.3 实验方法

1.3.1 黄精提取物提取

取 100g 黄精中药饮片粉碎后加入 2000 纯净水, 浸泡 30min 后煎煮 1h, 过滤后提液; 药渣继续加入 1000 纯净水, 煎煮 1h 后

过滤提液, 将 2 次滤液合并, 离心后取上清液, 蒸发、浓缩保留 100mL 滤液, 滤液浓度为 1g/mL。

1.3.2 动物模型与分组

将 40 只 SPF 级小鼠随机分成 4 组, 生理盐水灌胃小鼠组 (NS), 黄精提取物灌胃小鼠组 (PR), 生理盐水灌胃 AD 转基因小鼠组 (NS+AD), 黄精提取物灌胃 AD 转基因小鼠组 (PR+AD)。黄精提取物以 10g/kg 对小鼠进行灌胃, 对照组给予相同体积生理盐水灌胃。

1.3.3 水迷宫测试

6 周给药结束后进行水迷宫测试, 检测小鼠认知功能。记录小鼠游泳路径以及寻找平台所需时间, 连续 5d, 每天训练 2 次; 第 6d 拆除平台, 记录小鼠进入原平台象限所需时间。

1.3.4 小胶质细胞分离

麻醉处死后取海马组织, 放置于流式细胞仪缓冲液中, 将其剥离脑膜装入到 Tenbroeck homogenizer 中, 震荡 3 次破碎脑组织; 经 70 μ m 细胞过滤装置收集单细胞悬液, 离心细胞后弃上清液, 再加细胞流式细胞仪缓冲液, 液洗细胞后再转至细胞流式细胞仪管中。把细胞标记上带有抗 CD11b, CD45 的细胞外的小胶质标记物, 4 度避光反应 30min。洗涤细胞 2 次, 1% PFA PBS 溶液中重新悬浮细胞。依据不同细胞类型的相应标记来获得等效和准确的细胞计数。

1.3.4 统计方法

所有数据采用 SPSS 23.0 进行处理, 结果采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示。其中 $P<0.05$ 表示差异存在统计学意义, $P<0.001$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 4 组水迷宫测试时间比较

与 (NS) 组比较, (NS+AD) 组小鼠寻找平台时间延长

($P < 0.001$)；与 (NS+AD) 组比较, (PR+AD) 组小鼠寻找平台时间逐渐缩短 ($P < 0.05$), 但仍长于 (NS) 组小鼠 ($P < 0.05$), 见图 1。

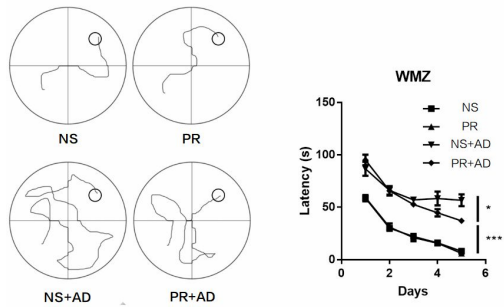


图 1 水迷宫测试结果图 *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$ 。

2.2 4 组海马小胶质细胞的极化水平结果

与 (PR+AD) 组比较, (NS+AD) 组中小鼠海马 M1 表型小胶质细胞比例提高 ($P < 0.05$)；与 (NS+AD) 组比较, (PR+AD) 组中小鼠海马 M2 表型小胶质细胞比例提高 ($P < 0.001$), 见图 2。

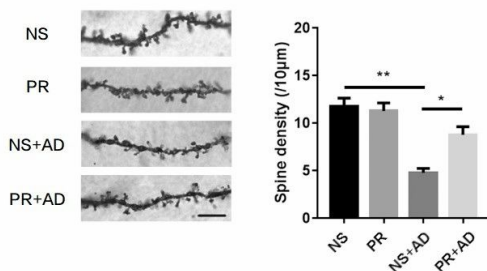


图 2 4 组海马小胶质细胞的极化水平结果。** $P < 0.001$, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

AD 的发病机制仍不明确, 目前认为与大脑 A β 蛋白沉积、氧化应激、神经炎症等方面相关。其中认为神经炎症是 AD 的病理基础, 小胶质细胞为神经炎症细胞, 被激活后可加重 M1 型细胞, 促进促炎性因子及介质的分泌, 导致神经损伤加重, 同时可促进 M2 型小胶质细胞产生相关因子保护及修复神经^[9-10]。因此, 通过调控小胶质细胞 M1 和 (或) M2 可能是治疗 AD 的潜在靶点。

药理发现中药黄精含有甾体皂苷、多糖、生物碱、粘液质、葱醒、强心苷、木脂素、氨基酸等多种成分, 具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗衰老、改善记忆等效果^[11-12]。本研究发现与 (NS) 组比较, (NS+AD) 组小鼠寻找平台时间延长 ($P < 0.001$)；与 (NS+AD) 组比较, (PR+AD) 组小鼠寻找平台时间逐渐缩短 ($P < 0.05$), 说明黄精提取物提高 AD 小鼠认知功能, 这与先前研究相近。这进一步了解其机制, 我们采用流式细胞学检测 AD 小鼠海马 M1 与 M2 小胶质细胞极化水平, 发现与 (PR+AD)

组比较, (NS+AD) 组中小鼠海马 M1 表型小胶质细胞比例提高 ($P < 0.05$)；与 (NS+AD) 组比较, (PR+AD) 组中小鼠海马 M2 表型小胶质细胞比例提高 ($P < 0.001$)。

综上所述, 本研究发现黄精提取物可调控 M1 与 M2 小胶质细胞极化水平来减轻 AD 小鼠神经炎症反应, 提高 AD 小鼠认知功能。

参考文献:

[1]李伟汉,侯北平,胡飞阳,等.阿尔茨海默症的多模态分类方法[J].应用科学学报,2023,41(6):1004-1018.

[2]赵克武,刘彦宏,武凤,等.补阳还五汤抑制炎症反应改善阿尔茨海默病的研究现状[J].中国临床药理学杂志,2023,39(22):3336-3340.

[3]天保,陈真.磁共振弥散张量成像在鉴别阿尔茨海默病与轻度认知障碍患者的脑白质损伤中的应用研究[J].贵州医药,2023,47(11):1797-1798.

[4]王悦,王德国.高血压与阿尔茨海默病发生发展的研究进展[J].国际老年医学杂志,2023,44(6):730-733.

[5]王党珍,王涛.阿尔茨海默病的治疗药物进展[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2023,30(6):439-445.

[6]王艳艳,汤威威,高琪,等.基于 GEO 数据库挖掘与网络药理学探讨刺五加治疗阿尔茨海默病的机制[J].中国现代应用药理学,2023,40(16):2192-2202.

[7]马唯,尹向东,张颖龄,等.基于网络药理学探讨黄精治疗阿尔茨海默病的作用机制[J].中国新药杂志,2023,32(4):372-378.

[8]朱徐东,黄丽萍,朱娜,等.基于网络药理学探究黄精防治阿尔茨海默病作用机制[J].药品评价,2022,19(18):1089-1095.

[9]仲丽丽,赵秦妍,路鑫,等.阿尔茨海默病作用机制研究进展与治疗[J].中医药学报,2023,51(11):116-123.

[10]胡承平,陶凤芝,王灿,等.星形胶质细胞在阿尔茨海默病中的研究进展[J].同济大学学报(医学版),2023,44(5):740-746.

[11]黄家鹏,赵健,赵璇,等.黄精防治阿尔茨海默病相关认知功能障碍的机制研究进展[J].医学综述,2022,28(8):1606-1612.

[12]陈毅飞,刘凯菲,吴世敏,等.黄精多糖对阿尔茨海默病模型斑马鱼 p38MAPK/N-cadherin 的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,2021,35(9):659-660.

基金: 湖州市公益性应用研究项目 (2022GYB51); 浙江中医药大学校级科研项目 (2021FSYYZY35)