

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cxb.003362

金钗石斛水提物通过调节 APP/PS1 小鼠突触可塑性及胶质细胞激活缓解学习记忆损伤

汪家文, 吴君, 王承飞, 朱安娥, 汪元河, 刘江金

(贵州医科大学法医学院/法医司法鉴定中心, 贵阳 550004)

【摘要】目的: 探讨金钗石斛水提物(*Dendrobium nobile* Lindl, DNL)是否能通过调节突触的可塑性缓解 APP/PS1 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)模型小鼠的学习记忆损伤。方法: 12只野生型 C57BL/6 雄性小鼠随机分成两组($n=6$): 对照组(WT), 单纯 DNL 处理组(WT+DNL): DNL(10 mg/kg, 灌胃, 每天 1 次, 持续 2 个月); 12只 APP/PS1 小鼠分为 2 组: APP/PS1 AD 模型组(APP/PS1)和 APP/PS1 AD 模型治疗组(APP/PS1+DNL): APP/PS1 小鼠 7 个月龄时给予 DNL(10 mg/kg, 灌胃, 每天 1 次, 持续 2 个月)。Morris 水迷宫检测小鼠记忆能力; 高尔基染色法检测小鼠脑海马区树突棘数量; 海马脑片电生理检测长时程增强(long term potentiation, LTP); 免疫组织化学技术检测海马区胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)及离子钙接头蛋白(Ionized calcium-binding adapter molecule 1, Iba1)的表达量以评估胶质细胞数量。Western blot 检测小鼠海马区 Synapsin I、Synaptophysin、IL-6、TNF- α 及 IL-1 β 蛋白的表达量。结果: 与 WT 组相比, APP/PS1 组小鼠在第 2~6 天时逃避潜伏期的时间明显增加, 表现出学习和记忆功能障碍。与 WT 组相比, APP/PS1 组小鼠脑组织的树突棘数量和突触相关蛋白 Synapsin I、Synaptophysin 的表达量减少, 星型胶质细胞和小胶质细胞的数量和炎症因子的表达量明显增加。DNL 治疗明显改善了小鼠的学习和记忆功能障碍, 抑制了 APP/PS1 小鼠树突棘的丢失及突触相关蛋白 Synapsin I、Synaptophysin 的减少, 缓解了海马 CA1 区神经元的 LTP 损伤, 增加了海马区星型胶质细胞及小胶质细胞的数量, 显著下调了炎症因子 IL-6、TNF- α 及 IL-1 β 蛋白的表达水平。结论: 金钗石斛水提物通过抑制 APP/PS1 小鼠突触长时程增强缓解学习和记忆功能障碍。

【关键词】金钗石斛水提物; 阿尔茨海默病; 记忆损伤; 树突棘

【中图分类号】R89

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-01-08

Water extract of *Dendrobium nobile* Lindl. alleviates learning and memory impairment through synaptic plasticity modulation and glial cell activation in APP/PS1 mice

Wang Jiawen, Wu Jun, Wang Chengfei, Zhu An'e, Wang Yuanhe, Liu Jiangjin¹

(1. School of Forensic Medicine/Forensic Judicial Appraisal Center, Guizhou Medical University)

【Abstract】**Objective:** To explore whether the water extract of *Dendrobium nobile* Lindl. (DNL) can alleviate learning and memory impairment through synaptic plasticity modulation in APP/PS1 Alzheimer's disease (AD) model in mice. **Methods:** Twelve wild-type (WT) C57BL/6 male mice were randomly divided into two groups ($n=6$): WT control group (WT) and DNL treatment alone group (WT+DNL, DNL was intragastrically administered at 10 mg/kg, once a day, for 2 months). Twelve APP/PS1 mice were divided into two groups: APP/PS1 AD model group (APP/PS1) and APP/PS1 AD model treatment group (APP/PS1+DNL, APP/PS1 mice aged seven months received DNL intragastrically administered at 10 mg/kg, once a day, for two months). Morris water maze was used to test the memory ability of the mice; Gorky staining was used to determine the number of dendritic spines in the hippocampus of the brain in the

mice; electroencephalography was used to measure the long-term potentiation (LTP) in the hippocampus of the brain; immunohistochemical techniques were used to measure the expression of glial fibrillary acidic protein and ionized calcium-binding adaptor molecule 1 in the hippocampus and evaluate the number of glial cells. The protein expression levels of Synapsin I, Synaptophysin, interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-

作者介绍: 汪家文, Email: wjwwfs@126.com,

研究方向: 颅脑损伤与心源性猝死。

通信作者: 刘江金, Email: 191760377@qq.com。

基金项目: 贵州省普通高等学校青年科技人才成长资助项目[编号:

KY 字(2021)157]。

优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20231102.0833.004>

(2023-11-02)

β (IL-1 β) in the hippocampus of the mice were measured by western blot. **Results:** Compared with the WT group, the APP/PS1 group had a significantly increased escape latency on days 2–6, showing learning and memory dysfunction. In addition, compared with the WT group, the APP/PS1 group showed reductions in the number of dendritic spines and the expression levels of synapse-related proteins Synapsin I and Synaptophysin but noticeable increases in the number of astrocytes and microglial cells and the expression levels of inflammatory factors in the brain tissue. However, DNL treatment improved learning and memory function, inhibited the loss of dendritic spines and the decreases in synapse-related proteins Synapsin I and Synaptophysin in the APP/PS1 mice, alleviated the LTP injury of neurons in the hippocampal CA1 area, increased the numbers of astrocytes and microglial cells, and significantly downregulated the protein expression levels of inflammatory factors IL-6, TNF- α , and IL-1 β . **Conclusion:** The water extract of DNL may alleviate learning and memory dysfunction by inhibiting synaptic LTP in APP/PS1 mice.

[Key words] *Dendrobium nobile* Lindl; Alzheimer's disease; memory impairment; dendritic spine

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是老年患者中最常见的痴呆类型^[1]。据推测,至2050年全世界AD患者数量将达1亿^[2]。伴随着人口老龄化的加剧,AD患者数量的增多对家庭及整个社会产生的经济负担也越来越重。AD的主要病理变化包括神经元胞外A β 淀粉样斑块沉积(A β Amyloid plaque deposition, A β)、胞内磷酸化微管相关蛋白Tau缠结、胶质细胞活化以及突触退行性病变^[3]。树突棘为突触后树突上的棘状突起,其在生理及病理状态下具有极强的可塑性^[4]。研究表明,在AD患者及动物模型大脑中,树突棘可脱落、萎缩甚至消失,从而引起突触功能受损,最终导致记忆及认知功能障碍^[5]。

许多证据表明,神经炎症参与了AD的病理生理学过程。小胶质细胞和星型胶质细胞的过度激活以及炎症因子的过量表达均参与了AD的发病机制^[6]。在AD患者大脑沉积的斑块附近聚集着大量激活的胶质细胞;并且,激活的胶质细胞能够释放各种炎症因子,如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素6(interleukin-6, IL-6),通过增加 β 淀粉样前体蛋白(β -amyloid precursor protein, β -APP)和核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)的活性从而导致A β 的生成增加^[7]。此前,1项针对88名年龄相关的记忆丧失人群的试验表明,给予非甾体抗炎药18个月后,患者的记忆功能得到显著改善^[8]。AD模型小鼠实验也表明,在服用非甾体抗炎药后,小鼠大脑内沉积的斑块密度明显下降^[9]。上述研究表明,神经炎症可能通过导致多种病理变化(如斑块沉积)来诱导AD的病理生理过程和症状的进展。

目前,针对A β 沉积的几种临床药物几乎不能缓解AD患者的学习记忆功能。因此,需要寻找一种能缓解AD患者学习及记忆能力的药物。研究表明,中药在改善AD患者学习记忆功能上显示出了较大的潜力。金钗石斛(*Dendrobium nobile* Lindl, DNL)为贵州特色药材,属兰科草本植物,其有效成分为生物碱及多糖,具有降血糖、抗肿瘤及抗菌等作用^[10-11]。最近的1项研究表明,DNL生物碱可能是通过激活Wnt/ β -catenin信号通路来保护突触完整性,从而有效改善AD大鼠的空间学习和记忆功能障碍^[12]。体外实验研究证实,DNL对氧化应激诱导的神经元损伤具有保护作用^[13]。而DNL是否能缓解AD动物模型的记忆能力及具体机制尚不清楚。因此,本研究利用7个月龄APP/PS1小鼠AD模型,给予DNL治疗后观察模型小鼠的学习记忆能力是否得到改善,并探究DNL对AD模型小鼠学习记忆功能改善的作用是否与树突棘的可塑性有关。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级C57BL/6雄性小鼠12只,购自陆军军医大学实验动物中心,许可证号SCXK(渝)2017-0016。12只7个月龄APP/PS1双转基因AD雄性小鼠购自上海南方模式生物科技股份有限公司,合格证号SCXK(沪)2018-0023。各组小鼠自由饮水进食,饲养在12 h光照/黑暗循环、温度(22±2)℃、湿度45%~55%的标准环境中。

1.2 试剂及药品

金钗石斛粉(北京同仁堂);TNF- α (货号:17590-1-AP,武汉三鹰技术有限公司);IL-1 β (货号:16806-a-AP,武汉三鹰技术有限公司);IL-6(货号:66146-a-lg,武汉三鹰技术有限公司);GFAP(货号:60190-1-lg,武汉三鹰技术有限公司)

司);Iba 1(货号:26177-a-AP,武汉三鹰技术有限公司); β -actin(货号:RM2001,武汉爱博泰克生物科技有限公司);Synaptophysin(ab32127,美国Abcam公司);Synapsin I(ab254349,美国Abcam公司);DAB显色试剂盒(货号:CW2069,北京康为世纪有限公司);FD快速高尔基染色试剂盒(美国FD神经科技公司)。

1.3 仪器

蔡司显微镜(德国蔡司公司);电泳仪(上海化科实验器材有限公司);Tannon-5200 ECL化学发光成像系统(上海天能有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 金钗石斛水提物的提取 首先以水:金钗石斛粉=10:1的比例水煎金钗石斛粉,待水量减半时再加入金钗石斛粉5倍体积的水,过滤得到金钗石斛水提物,最后滤液浓缩为相当于生药2 g/mL的浸膏。此种方法获得的金钗石斛水提物经气相色谱检测其主要成分为石斛碱、石斛多糖、黄酮类及酚类等成分,其中生物碱类成分占总量的86.2%^[6]。

1.4.2 实验分组 12只7个月龄野生型雄性小鼠随机分成两组($n=6$),即对照组(WT);单纯DNL处理组(WT+DNL):DNL(灌胃,10 mg/kg,每天1次,持续2个月)^[14];7月龄APP/PS1小鼠12只分为两组:APP/PS1 AD模型组(APP/PS1);APP/PS1 AD模型治疗组(APP/PS1+DNL);APP/PS1小鼠7月龄时给予DNL(灌胃,10 mg/kg,每天1次,持续2个月)。

1.4.3 行为学检测 在小鼠DNL灌胃最后一周时,进行Morris水迷宫检测。水迷宫直径约为110 cm,水温控制在19 °C~22 °C。将平台置于第4象限,实验前训练小鼠寻找平台位置,若小鼠1 min内未找到平台,则引导其至平台并停留30 s。实验时,将小鼠由第2象限置入水中,观察其寻找至平台的时间(逃避潜伏期)、1 min内穿越平台的次数,以及在平台象限的停留时间。

1.4.4 免疫组织化学检测 灌胃2月后次日,苯巴比妥麻醉小鼠后将其开胸解剖。剪开右心耳,蠕动泵针入左心室灌注生理盐水3 min后将脑组织取出,4%多聚甲醛内固定24 h,经脱水后制作石蜡包埋切片(3 μ m)。切片用3%过氧化氢孵育,去除内源性过氧化物酶,然后置于EDTA抗原修复液中进行高压修复。滴加山羊血清封闭液,在37 °C恒温培养箱中培养30 min,然后加入靶蛋白一抗,4 °C恒温过夜。一抗包括GFAP(稀释度1:200)、Iba1(稀释度1:200)。在PBS缓冲液中冲洗3次后,滴加山羊抗兔二抗,室温孵育1 h。使用DAB显色后,苏木素复染细胞核,自来水冲洗15 min。最终,经脱水和透明后,用中性树胶密封保存。

1.4.5 Western blot检测 脑组织获取方法同免疫组织化学,提取海马区域总蛋白,用紫外分光光度计测定各样品的蛋白浓度后,加入1/4体积的5×蛋白样品上样缓冲液,在100 °C恒温水浴中变性10 min。通过8%~12% SDS-PAGE凝胶电泳分离、转膜、封闭,分别与Synapsin I、Synaptophysin、

IL-6、TNF- α 、IL-1 β 及 β -actin抗体(1:1 000稀释比例)4 °C孵育过夜,选择合适种属二抗室温孵育1 h。充分洗膜后,使用ECL发光液显影,采用Image J软件测定灰度值。所有蛋白表达量以 β -actin灰度值进行归一化。

1.4.6 海马区域树突棘高尔基染色 按照FD高尔基快速染色试剂盒中的步骤,首先将新鲜小鼠脑组织置于6%糖水中振动切片(100 μ m),置于5%重铬酸钾中染色3 d,1.5%硝酸银溶液中避光浸泡1周,每日更换硝酸银染液,流水漂洗后梯度乙醇脱水,中性石蜡封片。

1.4.7 离体海马脑片电生理 小鼠苯巴比妥麻醉后解剖取脑,振动切片机制作300 μ m小鼠冠状位海马脑片,放入95% O₂+5% CO₂饱和的人工脑脊液中孵育2 h后放入记录槽中。将刺激电极放入海马CA1区辐射层(1个刺激/30 s),在海马CA1区域记录兴奋性突触后电位。基线记录10 min,长时程增强(long-term potentiation, LTP)应用100 Hz高频刺激诱导1 s,诱导成功后持续记录30 min,记录兴奋性突触后电位(excitatory postsynaptic potential, EPSP)幅度,将数据导入Clampfit软件进行分析。

1.5 统计学方法

所有数据利用SPSS 22.0(美国IBM公司)及Graphpad(Graphpad software Co.Ltd)进行统计分析。计数资料为均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用单因素方差分析结合Turkey事后检验进行两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 DNL对APP/PS1小鼠学习记忆的影响

DNL灌胃、行为学检测及取材时间表见图1A。Morris水迷宫结果显示,9个月龄APP/PS1小鼠在第2~6天时逃避潜伏期的时间较同龄野生型小鼠明显增加,而给予DNL后,APP/PS1+DNL组小鼠逃避潜伏期较APP/PS1组明显降低(见图1B、C)。此外,APP/PS1组小鼠穿越平台次数及在平台的停留时间较同龄野生型小鼠明显减少,APP/PS1+DNL组小鼠穿越平台次数及平台停留时间较APP/PS1小鼠明显增加(见图1D)。

2.2 DNL对APP/PS1小鼠海马区域突触可塑性的影响

通过高尔基染色,观察到9个月龄APP/PS1小鼠海马区域蘑菇型、短粗型及细长型树突棘数量较同龄野生型小鼠明显减少;而给予DNL处理后,APP/PS1+DNL组小鼠蘑菇型、短粗型及细长型树突棘数量较APP/PS1组小鼠明显增多(见图2A、B)。Western blot结果显示,9个月龄APP/PS1小鼠海马突触相关蛋白Synapsin I及Synaptophysin较同龄野生型小鼠明显降低,APP/PS1+DNL组小鼠Synapsin I及Synaptophysin表达水平较APP/PS1组小鼠明显升高(图2C)。电生理结果显示,APP/PS1小鼠海马高频刺激后EPSC幅度较对照组明显降低,而给予DNL处理后则可明显缓解APP/PS1小鼠EPSC幅度的降低(图2D、E、F)。

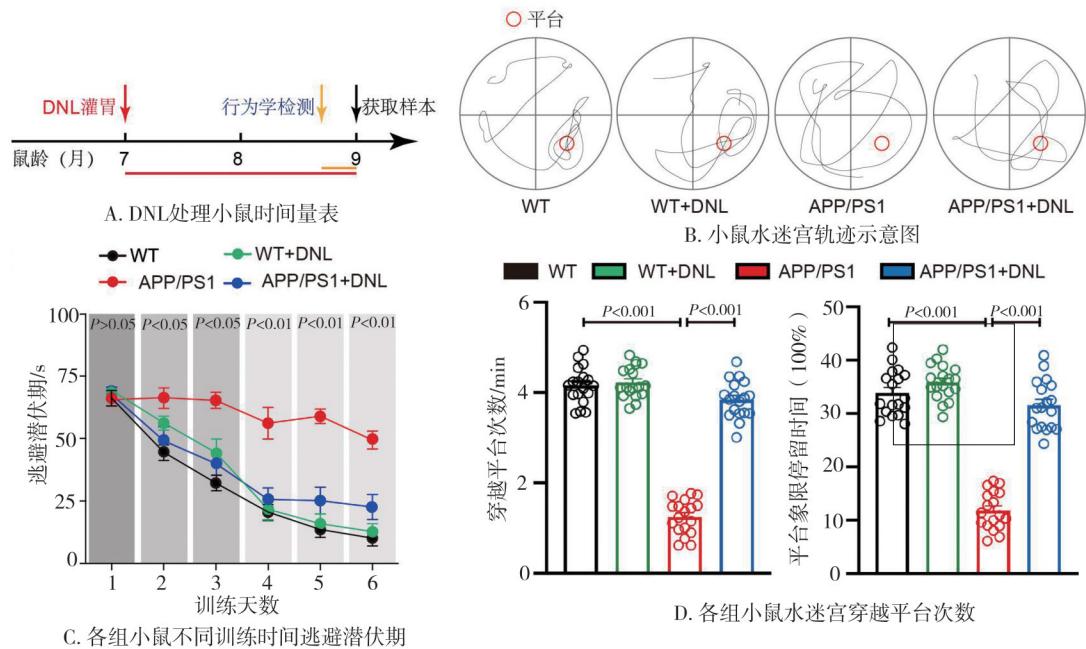


图1 DNL对APP/PS1小鼠学习记忆的影响

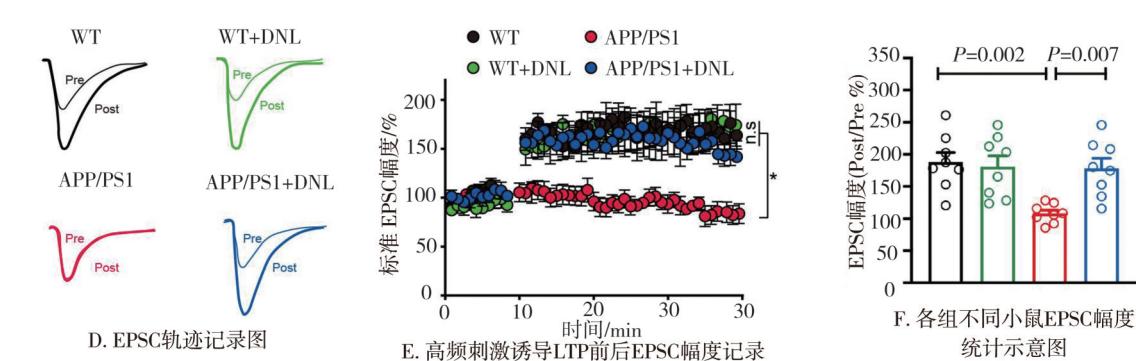
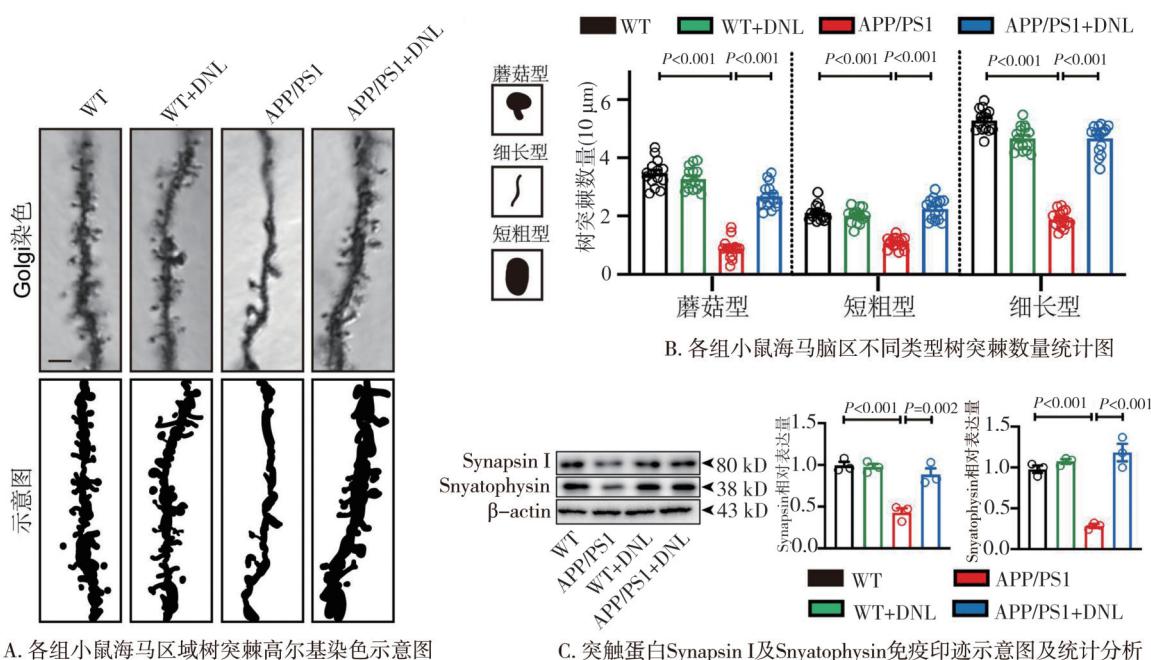


图2 DNL对APP/PS1小鼠海马区域突触可塑性的影响

2.3 DNL 对 APP/PS1 小鼠海马区域胶质细胞及炎症因子的影响

免疫组织化学结果显示,在海马 CA1 区域,APP/PS1 组小鼠星型胶质细胞标志物 GFAP 及小胶质细胞的标志物 Iba1 阳性细胞数目较野生型小鼠明显增高,给予 DNL 后,APP/PS1+DNL 组小鼠 GFAP 及 Iba1 阳性细胞数目较 APP/PS1 组明显降低(见图 3A、B)。Western blot 结果显示,APP/PS1 组小鼠 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 蛋白表达水平较野生型小鼠明显增高;给予 DNL 后,APP/PS1+DNL 组小鼠 IL-1 β 、IL-6 及

TNF- α 蛋白表达水平较 APP/PS1 组明显降低(见图 3C、D)。

3 讨 论

已有研究表明,DNL 可明显改善多种 AD 动物模型的认知能力^[15]。但对 AD 患者或动物模型学习记忆能力的影响及其具体机制仍有待深入研究。本研究利用 APP/PS1 双转基因小鼠作为 AD 模型,发现 9 月龄 APP/PS1 小鼠学习记忆能力较同月龄野

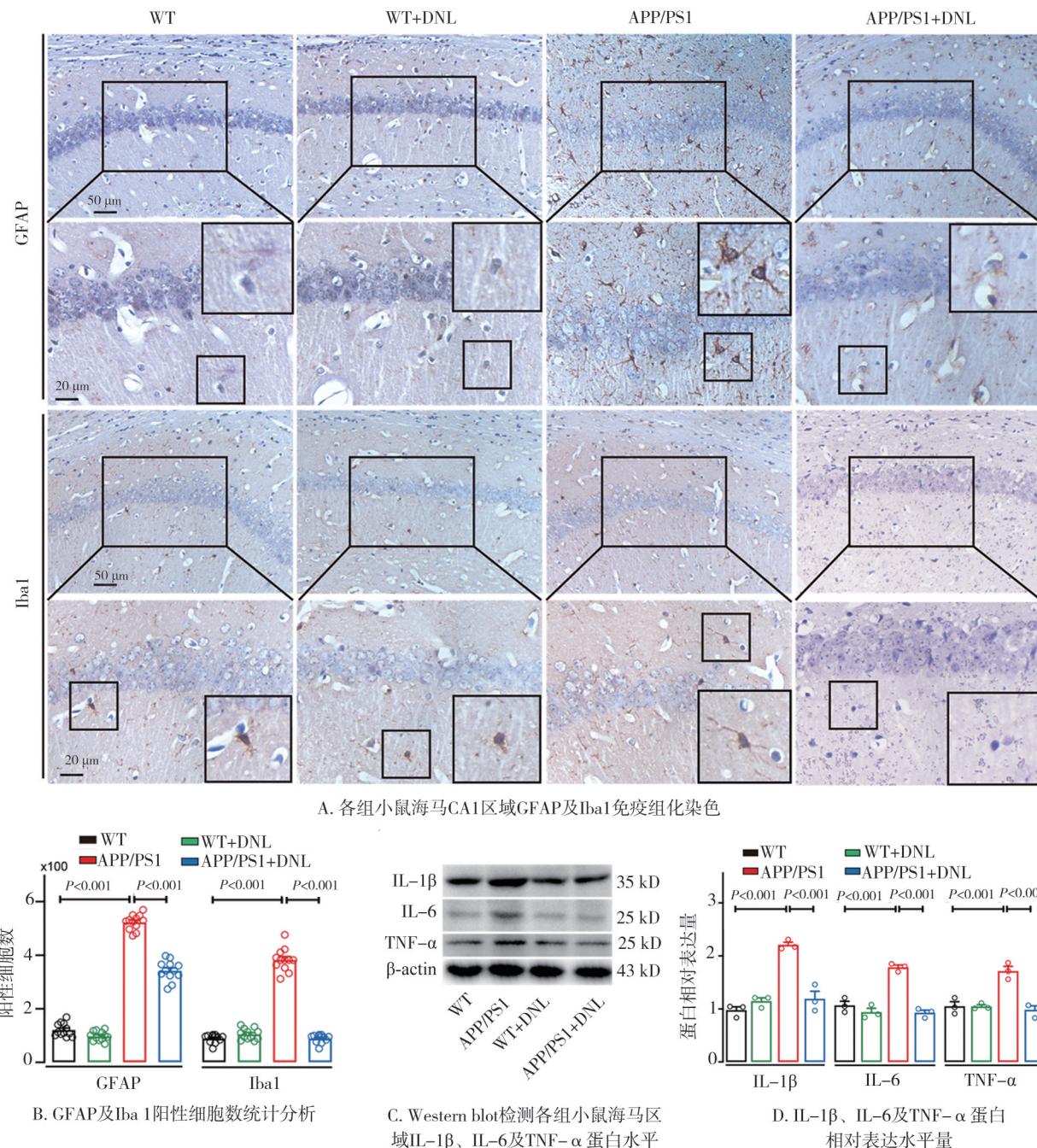


图 3 DNL 对 APP/PS1 小鼠海马区域胶质细胞及炎症因子的影响

生型小鼠明显降低。APP/PS1 小鼠大脑内胶质细胞激活数量增加, 同时炎症因子释放也增加。以 10 mg/kg 灌胃剂量给予小鼠 DNL 灌胃后^[13], 小鼠海马组织内小胶质细胞和星型胶质细胞数量减少, 炎症因子表达量降低, APP/PS1 小鼠学习记忆能力得到明显改善。上述发现证明了 DNL 改善 AD 症状与神经炎症相关, 为 DNL 治疗 AD 患者学习记忆功能障碍的研究和应用提供了药理实验基础。

在 AD 患者及小鼠脑组织病理改变过程中, 除 A β 沉积及微管相关蛋白 Tau 纤维缠结外, 还可观察到突触减少^[16]、突触传递障碍^[17]及突触可塑性的改变^[18]。树突棘作为突触的重要组成部分, 数量减少或成熟障碍与认知及学习记忆功能密切相关^[19], 且树突棘数量的减少是 AD 的主要病理特征之一^[20-21]。在本研究中, APP/PS1 小鼠海马区域成熟树突棘(短粗形及蘑菇型树突棘)数量较同龄野生型小鼠明显降低, 且细长型幼稚树突棘的数量也明显低于同龄野生型小鼠, 表明在 AD 模型小鼠的脑海马区有树突棘成熟障碍并伴有成熟树突棘的丢失。这可能是 APP/PS1 小鼠在 Morris 水迷宫实验中发生了学习记忆损害的原因。而给予 DNL 后, APP/PS1+DNL 组小鼠细长型树突棘、短粗型树突棘及蘑菇型树突棘的数量较 APP/PS1 组小鼠明显升高, 表明 DNL 可明显缓解 APP/PS1 小鼠树突棘数量的丢失, 且可促进树突棘成熟。同时, 本研究观察到 APP/PS1+DNL 组小鼠学习记忆能力较 APP/PS1 组小鼠明显改善, 推测其原因可能为树突棘数量的增加。同时, DNL 可明显改善 APP/PS1 小鼠 LTP 的损害, 这可能也是 DNL 缓解记忆损伤的机制之一。此外, 本研究还观察到 APP/PS1 小鼠突触相关蛋白 Synapsin I 及 Synaptophysin 表达水平较同龄野生型小鼠明显降低, 给予 DNL 处理后可逆转两种突触蛋白的表达水平。Nie 等在体内及体外实验中也发现 DNL 可缓解由 A β 导致的神经元突触相关蛋白的减少, 并可促进神经营养因子的表达^[22], 与本研究结果一致。

在 AD 中, 星型胶质细胞被激活, 并经历一系列构象、转录和功能变化, 统称为反应性星型胶质细胞, 其表现为胞体增大、GFAP 表达增加^[23]。在本研究中, 同样观察到 APP/PS1 小鼠海马区 GFAP 星型胶质细胞数量增多。研究表明, 星型胶质细胞通过吞噬局部变性的树突和突触在淀粉样斑块周围积聚, 以类似胶质瘢痕的方式包围 A β 斑块^[24]。因此,

在 AD 患者和啮齿动物模型中, GFAP 的表达增加主要集中在 A β 斑块周围。此外, 活化的星型胶质细胞能够产生各种促炎细胞因子 (IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α) 加剧神经炎症, 从而导致突触发生和轴突生长^[25-26]。发现 DNL 可下调 3 种炎症因子的表达量, 改善星型胶质细胞的活化。

正常的生理条件下, 小胶质细胞在免疫监测中发挥重要作用。然而, 在神经退行性疾病等病理条件下, 小胶质细胞被激活, 影响了其免疫检测功能。例如, A β 积累形成的斑块可持续刺激小胶质细胞激活^[27]。小胶质细胞的过度激活导致其表型和形态发生显著变化, 并伴随着促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 NO 的表达升高^[28]。也发现, IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 的表达水平在 APP/PS1 小鼠海马组织中明显升高。小胶质细胞活化释放炎症因子造成了慢性神经炎症环境, 加剧了神经元和突触的丧失^[29]。而 DNL 通过下调炎症因子的表达量, 抑制了小胶质细胞的活化, 缓解了 AD 模型小鼠学习记忆功能障碍。

目前, 许多中药已经成为预防和改善 AD 病理改变和症状的有效药物。研究已经证明, DNL 中的有效成分生物碱, 能够显著改善 AD 动物模型的认知功能障碍^[15, 30]。DNL 能够通过抑制 A β 斑和 Tau 蛋白高磷酸化或者通过抑制神经元凋亡、自噬等抑制神经元变性, 从而改善 AD 的各种病理过程和认知功能障碍^[31-32]。然而, DNL 通过抑制神经炎症改善突触变性的分子机制仍未完全阐明。本研究明确了 DNL 通过抑制神经胶质细胞激活, 减少炎症因子的释放, 起到神经保护作用, 进一步阐明了 DNL 在 AD 模型中的神经保护作用与神经炎症之间的关系。

综上所述, 在 APP/PS1 AD 小鼠模型中, DNL 通过抑制星型胶质细胞和小胶质细胞数量增加、降低炎症因子释放, 从而抑制突触长时程增强, 改善 APP/PS1 小鼠记忆能力。因此, DNL 可作为改善 AD 学习记忆能力的潜在药物。

参 考 文 献

- [1] Liu CC, Zhao N, Yamaguchi Y, et al. Neuronal heparan sulfates promote amyloid pathology by modulating brain amyloid- β clearance and aggregation in Alzheimer's disease[J]. Sci Transl Med, 2016, 8 (332):332ra44.
- [2] Association A. 2016 Alzheimer's disease facts and figures[J]. Al-

- zheimers Dement, 2016, 12(4):459–509.
- [3] Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics[J]. Science, 2002, 297(5580):353–356.
- [4] Mucke L, Selkoe DJ. Neurotoxicity of amyloid β -protein: synaptic and network dysfunction[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(7):a006338.
- [5] Seo J, Giusti-Rodríguez P, Zhou Y, et al. Activity-dependent p25 generation regulates synaptic plasticity and A β -induced cognitive impairment[J]. Cell, 2014, 157(2):486–498.
- [6] Deardorff WJ, Grossberg GT. Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease: evidence for NSAIDs and novel therapeutics[J]. Expert Rev Neurother, 2017, 17(1):17–32.
- [7] Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: current evidence and future directions[J]. Alzheimers Dement, 2016, 12(6):719–732.
- [8] Small GW, Siddarth P, Silverman DH, et al. Cognitive and cerebral metabolic effects of celecoxib versus placebo in people with age-related memory loss: randomized controlled study[J]. Am J Geriatr Psychiatry, 2008, 16(12):999–1009.
- [9] Lim GP, Yang F, Chu T, et al. Ibuprofen suppresses plaque pathology and inflammation in a mouse model for Alzheimers disease[J]. J Neurosci, 2000, 20(15):5709–5714.
- [10] Lv LL, Liu B, Liu J, et al. *Dendrobium nobile* lindl. alkaloids ameliorate cognitive dysfunction in senescence accelerated SAMP8 mice by decreasing amyloid- aggregation and enhancing autophagy activity[J]. J Alzheimers Dis, 2020, 76(2):657–669.
- [11] Li ZR, Xiang J, Hu DY, et al. Naturally potential antiviral agent polysaccharide from *Dendrobium nobile* Lindl[J]. Pestic Biochem Physiol, 2020, 167:104598.
- [12] Zhang W, Zhang MH, Wu Q, et al. *Dendrobium nobile* lindl. alkaloids ameliorate A β 25–35-induced synaptic deficits by targeting Wnt/ β -catenin pathway in Alzheimers disease models[J]. J Alzheimers Dis, 2022, 86(1):297–313.
- [13] Huang J, Huang NQ, Zhang MH, et al. *Dendrobium* alkaloids decrease A β by regulating α - and β -secretases in hippocampal neurons of SD rats[J]. Peer J, 2019, 7:e7627.
- [14] 魏胜焦. 金钗石斛生物碱对 APP/PS1 模式小鼠芳香化酶及雌激素/ERK 信号通路的影响[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2019.
- Wei SJ. Effect of *Dendrobium nobile* lindl alkaloids on aromatase and estrogen/ERK signaling pathway in APP/PS1 mice[D]. Zhunyi: Zunyi Medical University, 2019.
- [15] Liu B, Huang B, Liu J, et al. *Dendrobium nobile* Lindl alkaloid and metformin ameliorate cognitive dysfunction in senescence-accelerated mice via suppression of endoplasmic reticulum stress[J]. Brain Res, 2020, 1741:146871.
- [16] Shankar GM, Bloodgood BL, Townsend M, et al. Natural oligomers of the Alzheimer amyloid- β protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway[J]. J Neurosci, 2007, 27(11):2866–2875.
- [17] Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, et al. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation *in vivo*[J]. Nature, 2002, 416(6880):535–539.
- [18] Shankar GM, Li SM, Mehta TH, et al. Amyloid- β protein dimers isolated directly from Alzheimers brains impair synaptic plasticity and memory[J]. Nat Med, 2008, 14(8):837–842.
- [19] Bertan F, Wischhof L, Sosulina L, et al. Correction: loss of Ryanodine Receptor 2 impairs neuronal activity-dependent remodeling of dendritic spines and triggers compensatory neuronal hyperexcitability[J]. Cell Death Differ, 2021, 28(3):1134.
- [20] Knobloch M, Mansuy IM. Dendritic spine loss and synaptic alterations in Alzheimer's disease[J]. Mol Neurobiol, 2008, 37(1):73–82.
- [21] Long JM, Holtzman DM. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies[J]. Cell, 2019, 179(2):312–339.
- [22] Nie J, Tian Y, Zhang Y, et al. *Dendrobium* alkaloids prevent A β _{25–35}-induced neuronal and synaptic loss via promoting neurotrophic factors expression in mice[J]. PeerJ, 2016, 4:e2739.
- [23] 程青格, 徐平, 龚其海. 阿尔茨海默病的发病机制及治疗研究进展[J]. 遵义医学院学报, 2013, 36(6):586–589.
- Cheng QG, Xu P, Gong QH. Research progress on pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease[J]. Acta Acad Med Zunyi, 2013, 36(6):586–589.
- [24] Sajja VS, Hlavac N, VandeVord PJ. Role of *Glia* in memory deficits following traumatic brain injury: biomarkers of *Glia* dysfunction[J]. Front Integr Neurosci, 2016, 10:7.
- [25] Cregg JM, DePaul MA, Filous AR, et al. Functional regeneration beyond the glial scar[J]. Exp Neurol, 2014, 253:197–207.
- [26] Parpura V, Heneka MT, Montana V, et al. Glial cells in (patho)physiology[J]. J Neurochem, 2012, 121(1):4–27.
- [27] Zhang GM, Wang ZC, Hu HL, et al. Microglia in Alzheimers disease: a target for therapeutic intervention[J]. Front Cell Neurosci, 2021, 15:749587.
- [28] Hansen DV, Hanson JE, Sheng M. Microglia in Alzheimers disease[J]. J Cell Biol, 2018, 217(2):459–472.
- [29] Leng FD, Edison P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?[J]. Nat Rev Neurol, 2021, 17(3):157–172.
- [30] Nie J, Jiang LS, Zhang Y, et al. *Dendrobium nobile* lindl. alkaloids decreases the level of intracellular amyloid by improving impaired autolysosomal proteolysis in APP/PS1 mice[J]. Front Pharmacol, 2018, 9:1479.
- [31] Li LS, Lu YL, Nie J, et al. *Dendrobium nobile* Lindl alkaloid, a novel autophagy inducer, protects against axonal degeneration induced by A β _{25–35} in hippocampus neurons *in vitro*[J]. CNS Neurosci Ther, 2017, 23(4):329–340.
- [32] Li YF, Li F, Gong QH, et al. Inhibitory effects of *Dendrobium* alkaloids on memory impairment induced by lipopolysaccharide in rats[J]. Planta Med, 2011, 77(2):117–121.

(责任编辑:周一青)