

本文引文格式:李彦炳,夏小燕,康碧倩,等.二苯乙烯苷对阿尔茨海默病神经元细胞凋亡的抑制作用[J].右江民族医学院学报,2023,45(2):169-176.

【论著与临床报道】

二苯乙烯苷对阿尔茨海默病神经元细胞凋亡的抑制作用

李彦炳¹,夏小燕²,康碧倩¹,李悦¹,何晓璇²,李振中³,朱晓莹⁴,廖艳花⁴,黄忠仕¹

1. 右江民族医学院基础医学院,广西 百色 533000;
2. 广西中医药大学药学院,广西 南宁 530200;
3. 右江民族医学院药学院,广西 百色 533000;
4. 右江民族医学院临床医学院,广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨二苯乙烯苷(2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside, TSG)对阿尔茨海默病神经元细胞凋亡的抑制情况。方法 选取 24 月龄 SPF 级 SD 大鼠随机分为 7 组,分别为正常组、假手术组、模型组、阳性药组(0.150 mg/kg 石杉碱甲)、TSG 低剂量组(0.033 g/kg TSG)、TSG 中剂量组(0.100 g/kg TSG)、TSG 高剂量组(0.300 g/kg TSG)。模型组、阳性药组与 TSG 各剂量组通过大鼠脑立体定位仪选取海马区域注射 A β_{25-35} 溶液建立 AD 大鼠模型,假手术组注射等量生理盐水,正常组不做处理。经被动回避实验筛选造模成功的 SD 大鼠,每组每日灌胃给药 1 次,连续给药 4 周。通过 TUNEL 凋亡实验观察大鼠海马区和皮层区神经元细胞凋亡的情况;实时荧光定量聚合酶链式反应法(qRT-PCR)检测各组大鼠脑组织 Bax、Bcl-2 mRNA 的表达;免疫组织化学染色法(IHC)检测各组大鼠脑组织 Bax、Bcl-2 蛋白的表达。结果 与正常组比较,假手术和阳性药组脑组织中海马区和皮层区神经元细胞凋亡情况无明显变化,假手术组 Bax、Bcl-2 mRNA 相对表达量和 Bax、Bcl-2 蛋白表达无显著改变;模型组脑组织中海马区和皮层区神经元细胞凋亡情况出现增多,Bax mRNA 相对表达量和 Bax 蛋白表达出现增多($P < 0.01$),Bcl-2 mRNA 相对表达量和 Bcl-2 蛋白表达出现减少($P < 0.01$);与模型组比较,阳性药组和 TSG 各剂量组脑组织中海马区和皮层区神经元细胞凋亡情况出现不同程度的好转,Bax mRNA 相对表达量和 Bax 蛋白表达出现不同程度的减少($P < 0.05$),Bcl-2 mRNA 相对表达量和 Bcl-2 蛋白表达出现不同程度的增多($P < 0.05$)。结论 TSG 可以通过调节凋亡途径中 Bax、Bcl-2 因子来达到减少神经元细胞凋亡的情况,增加对神经系统的保护,达到缓解阿尔茨海默病症状的可能性。

关键词:阿尔茨海默病;二苯乙烯苷;B 淋巴细胞瘤因子相关 X 蛋白;B 淋巴细胞瘤-2

中图分类号:R745.7 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2023)02-0169-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.02.001

Inhibitory effect of TSG on apoptosis of neuronal cells in rats with Alzheimer's disease

Li Yanbing¹, Xia Xiaoyan², Kang Biqian¹, Li Yue¹, He Xiaoxuan²,
Li Zhenzhong³, Zhu Xiaoying⁴, Liao Yanhua⁴, Huang Zhongshi¹

1. School of Basic Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, Guangxi, China;
3. School of Pharmacy, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
4. School of Clinical Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

基金项目:国家自然科学基金项目(81860709);百色市区域多发联合专项计划课题(百科字[2022]41号-39);广西壮族自治区研究生教育创新计划项目(YCSW2022460)

第一作者简介:李彦炳(1996-),女,在读硕士研究生,研究方向:老年痴呆的基础研究,E-mail:1051074173@qq.com

通讯作者简介:黄忠仕(1970-),男,博士,教授,博士、硕士研究生导师,研究方向:老年痴呆的基础研究,E-mail:hzs1004@

Abstract: **Objective** To investigate the inhibitory effects of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside (TSG) on neuronal cell apoptosis in rats with Alzheimer's disease. **Methods** SPF-grade SD rats aged 24 months were randomly divided into 7 groups, including the normal group, sham operation group, model group, positive drug group (0.150 mg/kg huperzine A), low-dose TSG group (0.033 g/kg TSG), medium-dose TSG group (0.100 g/kg TSG), and high-dose TSG group (0.300 g/kg TSG). The model group, positive drug group, and TSG groups were injected with A β_{25-35} solution in the hippocampus region using a rat brain stereotaxic instrument to establish an Alzheimer's disease (AD) rat model, while the sham operation group was injected with an equal volume of physiological saline, and the normal group received no treatment. After passive avoidance test, the successfully modeled SD rats were orally administered with the respective drugs once daily for 4 weeks. TUNEL apoptosis assay was used to observe the apoptosis of neuronal cells in hippocampus and cortical areas of rats. Real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression of Bax and Bcl-2 mRNA in rat brain tissues of each group, and immunohistochemical staining (IHC) was used to detect the expression of Bax and Bcl-2 proteins in rat brain tissues of each group. **Results**

Compared with the normal group, there was no significant change in the apoptosis of neuronal cells in the hippocampus and cortical areas, as well as the relative expression levels of Bax and Bcl-2 mRNA and protein in the brain tissues of the sham operation group and positive drug group. In the model group, the apoptosis of neuronal cells in the hippocampus and cortical areas increased significantly, with increased relative expression levels of Bax mRNA and protein ($P < 0.01$), and decreased relative expression levels of Bcl-2 mRNA and protein ($P < 0.01$). Compared with the model group, the positive drug group and TSG groups had varying degrees of improvement in the apoptosis of neuronal cells in the hippocampus and cortical areas, and had decreased relative expression levels of Bax mRNA and protein ($P < 0.05$) and increased relative expression levels of Bcl-2 mRNA and protein ($P < 0.05$). **Conclusion** TSG may reduce neuronal cell apoptosis and increase protection of the nervous system by regulating the apoptotic pathway involving Bax and Bcl-2 factors, and may have the potential to alleviate the symptoms of Alzheimer's disease.

Key words: Alzheimer's disease; 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside; Bcl-2-associated X protein; B-cell lymphoma-2

阿尔茨海默病(alzheimer disease, AD)是一种以大脑皮质和海马突触功能障碍与神经元细胞丢失为特征的进行性神经退行改变疾病,在临床上,阿尔茨海默病常表现为渐进性的认知缺陷和记忆障碍^[1-2]。目前,对 AD 的发病机制尚未完全明确,其中 B 淋巴细胞瘤因子相关 X 蛋白(Bcl-2-associated X protein, Bax)、B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)作为凋亡因子,介导神经元细胞的凋亡,已被广泛证实^[3-4]。现如今临床针对 AD 研发的药物也不可阻止或逆转其疾病进展,只可以在一定程度缓解 AD 的临床症状,针对 AD 疾病的治疗,已经对多种中草药进行研究实验,且取得了可观的结果^[5-7],为此本实验就二苯乙烯苷(2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside, TSG)对阿尔茨海默病神经元细胞凋亡的抑制情况进行探讨,为 AD 疾病的治疗寻找更多的可能性^[8-10]。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验用动物 于长沙市天勤生物技术有限公司购买 SPF 级雄性大鼠,24 月龄,体质量 650~850 g,动物许可证号为 SCXK(湘)2019-0014,动物全程饲养于广西百色市右江民族医学院 SPF 级动物实验中心,所

有动物实验研究经右江民族医学院动物实验伦理委员会批准,批准号为 2021082001。

1.1.2 药物与试剂 山羊抗兔免疫球蛋白 G(IgG)二抗(美国 Proteintech Group 公司,批号:20000174); β 淀粉样蛋白 25-35(β -amyloid protein 25-35, A β_{25-35}) (美国 SIGMA 公司,批号:118M4893V);二苯乙烯苷(成都克洛玛生物科技有限公司,批号:CHB180810);石杉碱甲片购自辰欣药业股份有限公司(批号国药准字 H20093133,50 μ /g 片);三代逆转录预混液(武汉莫纳生物科技有限公司,批号:150613);抗体染料法 qPCR mix(武汉莫纳生物科技有限公司,批号:140606);TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号:20221129-1)。

1.1.3 实验用仪器 ZH-蓝星 B/S 型小鼠脑立体定位仪(安徽正华生物仪器设备有限公司);ZH-KES 型微量注射泵(安徽正华生物仪器设备有限公司);PAT-8R 被动逃避黑白箱(成都泰盟软件有限公司);Histo Core PEARL 型自动程控脱水机,EG1150C 型自动包埋机(德国徕卡);Neofuge15R 型高速冷冻离心机;LightCycler96 型实时荧光定量聚合酶链式反应系统(罗氏)。

1.2 方法

1.2.1 模型制备 适应性喂养 2 周后,将 SD 大鼠随机分为 7 组,每组 15 只,分别为正常组、假手术组、模型组、阳性药组、TSG 低剂量组、TSG 中剂量组、TSG 高剂量组。SD 大鼠称重,甲苯噻嗪(8 mg/kg)腹腔注射麻醉后,备皮,将其稳定固定于脑立体定位仪两滑道之间,保持前后同一水平,取 75%乙醇由内向外消毒大鼠顶部备皮区域。执笔式持手术刀垂直进刀,沿矢状缝做一长约 3 cm 的切口,用组织钳固定两侧皮层,充分暴露切口,剥离颅骨顶部的筋膜及组织,以大鼠前囟为原点,参考大鼠脑立体定位图谱选取海马区域(前囟后 3.5 mm,中线外侧 2.0 mm),取牙科钻分别在两侧海马区域钻出小孔,微量进样器垂直进入 2.7 mm。将于 37 °C 孵育 1 周的质量浓度为 5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的 $\text{A}\beta_{25-35}$ 溶液以 0.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的速度缓慢匀速注入两侧脑室,注入体积 1 μL ,注射时间约 5 min,注射完成后留针 5 min,有助于 $\text{A}\beta_{25-35}$ 充分弥散,缓慢出针。假手术组注射等量生理盐水,正常组不做处理。术后对头部皮层进行缝合,每日通过肌注给予青霉素 G10 万单位,连续 7 d,用于预防切口组织感染^[11-13]。

1.2.2 筛选动物模型 进行被动回避实验行为学测试,以此作为筛选动物模型造模成功与否的标准。第一阶段将实验大鼠从亮室入口放入实验箱体,打开亮室与暗室之间的门,不通电,进行 10 min 环境适应后,将实验对象放入暗室并关闭两室之间的门,放置 10 s 并进行通电,使大鼠形成记忆。第二阶段进行测试,实验对象由明室进入暗室的时间记为潜伏期,在暗室遭受电击次数记为错误次数,记录每个实验对象的潜伏期与 5 min 内的错误次数。每天进行 3 次实验,连续 7 d 实验,以正常组大鼠潜伏期时间为标准,对各组大鼠潜伏期进行分析,排除造模失败的动物模型,各组筛选 10 只大鼠作为后期实验对象。

1.2.3 给药 因手术造模具有无法避免的创造性,且实验用大鼠月龄较大,易死亡,所以经被动回避实验筛选出 10 只实验大鼠进入后期实验。对筛选出的实验动物进行灌胃给药,正常组、假手术组、模型组(生理盐水 30 mL/kg),阳性药组(石杉碱甲 0.150 mg/kg),TSG 低剂量组(TSG 0.033 g/kg),TSG 中剂量组(TSG 0.1 g/kg),TSG 高剂量组(TSG 0.3 g/kg),每组每日灌胃给药 1 次,连续给药 4 周。

1.2.4 取材 灌胃给药结束后,每组大鼠随机取 5 只,经腹腔注射甲苯噻嗪(8 mg/kg)进行麻醉,全程冰上操作迅速分离出海马组织-80 °C 保存备用,用于后期检测基因及蛋白表达。剩余 5 只大鼠进行心脏灌流取出完整大脑组织用于 TUNEL 凋亡实验病理检测和免疫组织化学实验检测。

1.2.5 TUNEL 凋亡实验病理形态观察 冰上操作取出完整脑组织后,用 4%多聚甲醛对含海马体的脑组织块进行固定 24 h,再进行酒精梯度脱水,石蜡包埋,切片厚度为 4 μm ,石蜡切片经常规脱蜡后,按照 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒步骤进行操作,中性树胶封片,光镜下观察脑组织海马区及皮层区的神经元细胞凋亡情况。

1.2.6 实时荧光定量聚合酶链式反应法(qRT-PCR)

按照 Trizol 试剂盒实验步骤进行操作,提取大鼠脑组织内 RNA,通过微量紫外分光光度计检测 RNA 浓度、纯度。OD260/OD280 比值在 1.8~2.1 范围内的 RNA 样本可继续进行逆转录实验。按 cDNA 逆转录试剂盒实验步骤进行操作,将 RNA 逆转录 cDNA。配制反应体系(共 20 μL):上/下引物各 1 μL 、模板 cDNA 2 μL 、通用型快速反应 SYBR 绿色荧光染料混合物 10 μL 、无酶水 6 μL 。反应条件:95 °C 预变性 600 s,95 °C 变性 10 s,60 °C 延伸 30 s,共 40 个循环,通过 qRT-PCR 仪两步法对其进行扩增。以 GAPDH 为内参,2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} 法计算各目的 mRNA 的相对表达量。引物序列合成由武汉金开瑞生物工程有限公司完成,引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

引物	序列
Bax	上游 5'-GAGGATGATTGCTGATGTG-3' 下游 5'-CAGTTGAAGTTGCCGTCT-3'
Bcl-2	上游 5'-CACAGAGGGGCTACGAGT-3' 下游 5'-GGCTGGAAGGAGAAGATG-3'
GAPDH	上游 5'-GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3' 下游 5'-AGCCCAGGATGCCCTTTAGT-3'

1.2.7 免疫组织化学染色法(IHC) 将预冻石蜡块进行切片,切片厚度 4 μm ,60 °C 烤片 2 h。石蜡切片经常规脱蜡后,至蒸馏水中待染。切片放入煮沸的柠檬酸抗原修复液中,进行抗原修复 2 min,每张切片加 50 μL 3%过氧化氢,室温下孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性;切片加 50 μL 的 Bax、Bcl-2 一抗溶液(按 1:100 稀释),在 4 °C 温度下孵育过夜;一抗孵育结束后每张切片加 50 μL 免疫组化通用试剂盒中的二抗,室温下孵育 15 min;经 DAB 试剂显色,显微镜下观察,适时终止反应,蒸馏水洗涤,苏木素轻度复染 30 s,自来水冲洗;梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,显微镜观察海马区和皮层区蛋白表达变化。

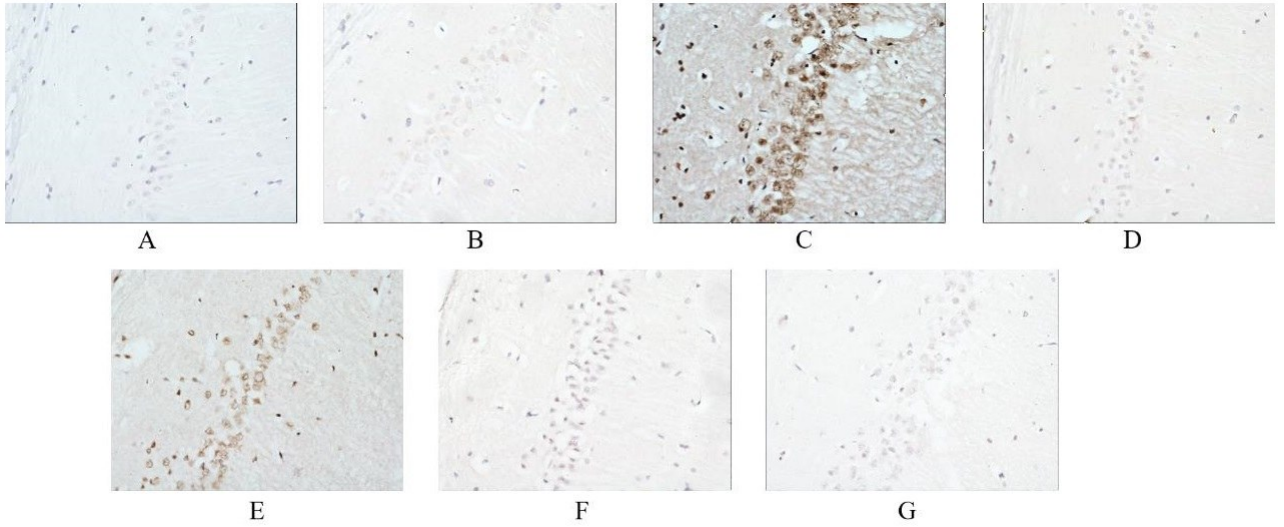
1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 对数据进行分析,用($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较使用单因素方差分析,方差

齐性时组间比较采用 LSD 检验;当方差不齐时比较采用 Tamhane's T2 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

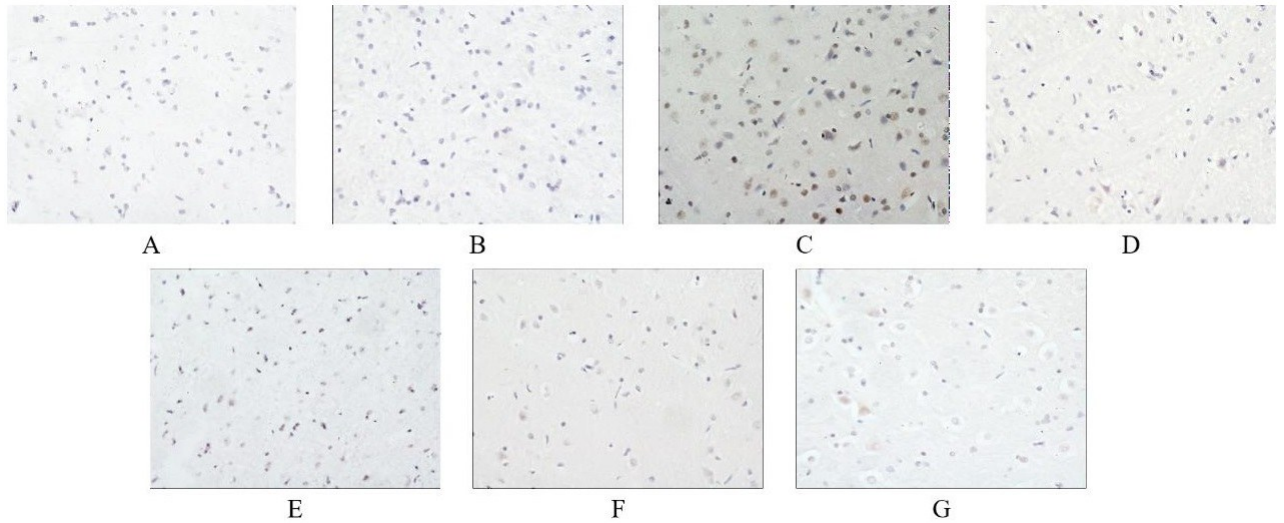
2.1 TSG 对各组大鼠神经元细胞凋亡的影响 正常组海马区神经元细胞排列有序,细胞完整性良好,少见棕色反应,皮层区神经元细胞数量丰富,棕色反应不显

著;与正常组海马区和皮层区比较,假手术组和阳性药组未见明显变化;模型组棕色反应加深且面积扩大,可见固缩深染现象,神经元细胞数量出现减少,细胞完整性被破坏。与模型组海马区和皮层区比较,阳性药组与 TSG 各剂量组出现不同程度的好转现象,棕色反应不同程度减弱,神经元细胞数量逐渐增加,细胞完整性逐渐恢复。见图 1、图 2。



注:A. 正常组;B. 假手术组;C. 模型组;D. 阳性药组;E. TSG 低剂量组;F. TSG 中剂量组;G. TSG 高剂量组。

图 1 各组大鼠脑组织内海马区神经元细胞凋亡情况(TUNEL 染色, $\times 400$)

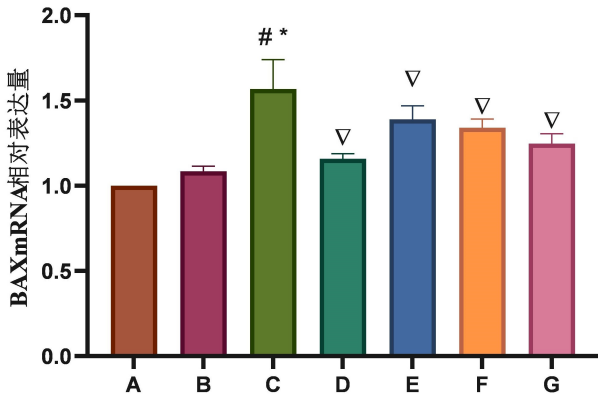


注:A. 正常组;B. 假手术组;C. 模型组;D. 阳性药组;E. TSG 低剂量组;F. TSG 中剂量组;G. TSG 高剂量组。

图 2 各组大鼠脑组织内皮层区神经元细胞凋亡情况(TUNEL 染色, $\times 400$)

2.2 TSG 对各组大鼠脑组织中 Bax、Bcl-2 mRNA 表达的影响 与正常组比较,假手术组 Bax mRNA 相对表达量无显著变化,阳性药组 Bax mRNA 相对表达量出现增加 ($P < 0.05$),模型组 Bax mRNA 相对表达量出现显著增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,阳性药组

和 TSG 各剂量组 Bax mRNA 相对表达量出现不同程度的减少 ($P < 0.05$);与阳性药组比较,TSG 低、中剂量组 Bax mRNA 相对表达量出现增加 ($P < 0.05$),TSG 高剂量组 Bax mRNA 相对表达量无明显变化。见图 3。



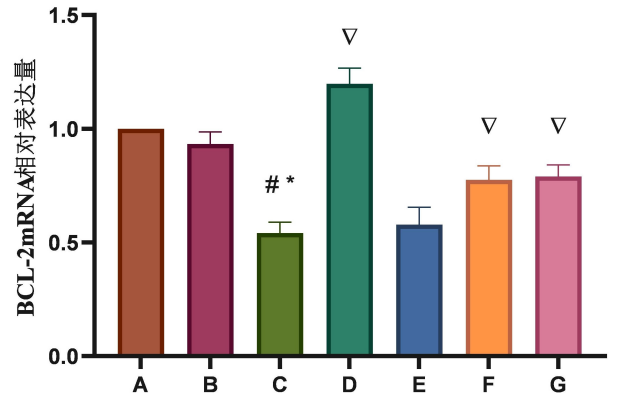
注: A. 正常组; B. 假手术组; C. 模型组; D. 阳性药组; E. TSG 低剂量组; F. TSG 中剂量组; G. TSG 高剂量组。与正常组比较, # $P < 0.01$; 与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, ∇ $P < 0.05$; 正常组各指标 mRNA 表达量均为 1。(n=5)。

图 3 各组大鼠脑组织 Bax mRNA 的表达情况

与正常组比较,假手术组 Bcl-2 mRNA 相对表达量无显著变化,阳性药组 Bcl-2 mRNA 相对表达量出现增加 ($P < 0.01$),模型组 Bcl-2 mRNA 相对表达量出现显著减少 ($P < 0.01$);与模型组比较,TSG 低剂量组 Bcl-2 mRNA 相对表达量出现小幅增加,但不具统计学意义,阳性药组和 TSG 中、高剂量组 Bcl-2 mRNA 相对表达量出现不同程度的增加 ($P < 0.01$);与阳性药组比较,TSG 各剂量组 Bcl-2 mRNA 相对表达量出现减少 ($P < 0.01$),见图 4。

2.3 TSG 对各组大鼠脑组织中 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响 与正常组海马区和皮层区比较,假手术组和阳性药组 Bax 蛋白表达量无显著改变,模型组 Bax 蛋白表达量出现明显增加 ($P < 0.01$);与模型组海马区和皮层区比较,阳性药组和 TSG 各剂量组 Bax 蛋白表达量出现不同程度的减少 ($P < 0.01$);与阳性药组海马区和皮层区比较,TSG 低剂量组 Bax 蛋白表达量出

现增加,TSG 中、高剂量组 Bax 蛋白表达量无明显改变。见表 2、图 5、图 6。



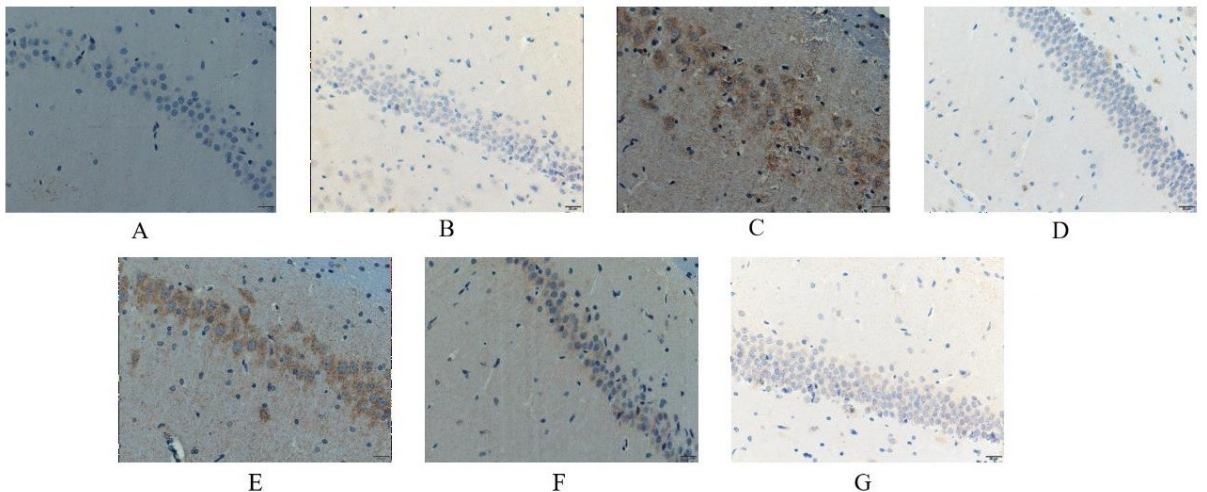
注: A. 正常组; B. 假手术组; C. 模型组; D. 阳性药组; E. TSG 低剂量组; F. TSG 中剂量组; G. TSG 高剂量组。与正常组比较, # $P < 0.01$; 与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, ∇ $P < 0.01$; 正常组各指标 mRNA 表达量均为 1。(n=5)。

图 4 各组大鼠脑组织中 Bcl-2 mRNA 的表达情况

表 2 TSG 对各组大鼠脑组织中 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响结果

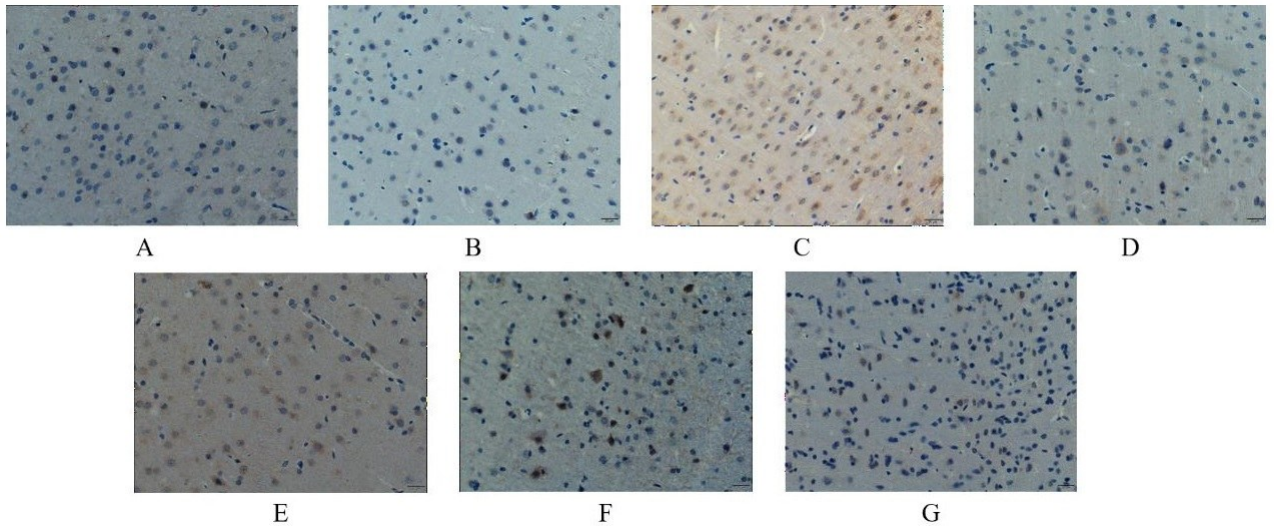
组别	n	海马区	皮层区
正常组	5	0.559±0.005	0.553±0.011
假手术组	5	0.569±0.008	0.562±0.004
模型组	5	0.631±0.013 ^{ab}	0.653±0.014 ^{ab}
阳性药组	5	0.578±0.005 ^c	0.574±0.009 ^c
TSG 低剂量组	5	0.603±0.009 ^c	0.622±0.008 ^c
TSG 中剂量组	5	0.592±0.010 ^c	0.598±0.015 ^c
TSG 高剂量组	5	0.590±0.006 ^c	0.589±0.016 ^c

注: ①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示; ②与正常组比较, a: $P < 0.01$; 与假手术组比较, b: $P < 0.01$; 与模型组比较, c: $P < 0.01$ 。



注: A. 正常组; B. 假手术组; C. 模型组; D. 阳性药组; E. TSG 低剂量组; F. TSG 中剂量组; G. TSG 高剂量组。

图 5 各组大鼠脑组织内海马区 Bax 蛋白的表达(免疫组化, ×400)



注:A. 正常组;B. 假手术组;C. 模型组;D. 阳性药组;E. TSG 低剂量组;F. TSG 中剂量组;G. TSG 高剂量组。

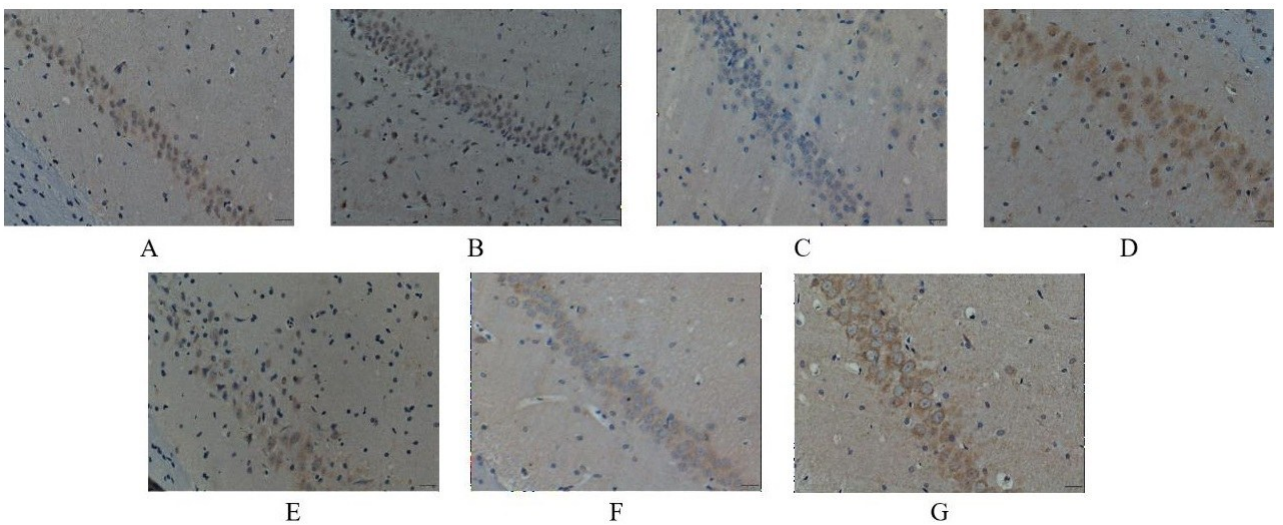
图 6 各组大鼠脑组织内皮层区 Bax 蛋白的表达(免疫组化,×400)

与正常组海马区和皮层区比较,假手术组和阳性药组 Bcl-2 蛋白表达量无显著改变,模型组 Bcl-2 蛋白表达量出现明显减少 ($P < 0.01$);与模型组皮层区比较,阳性药组和 TSG 各剂量组 Bcl-2 蛋白表达量出现不同程度的增加 ($P < 0.01$);与模型组海马区比较,阳性药组和 TSG 中、高剂量组 Bcl-2 蛋白表达量出现不同程度的增加 ($P < 0.01$);与阳性药组海马区和皮层区比较,TSG 中、高剂量组 Bax 蛋白表达量无明显改变。见表 3、图 7、图 8。

表 3 各组大鼠脑组织中 Bcl-2 蛋白的表达结果

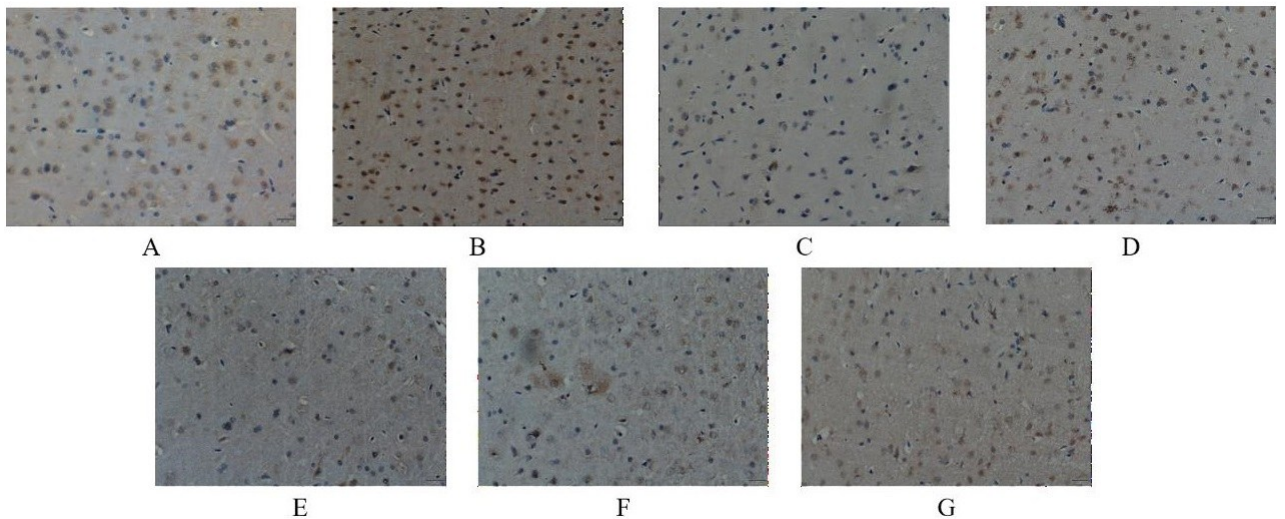
组别	n	海马区	皮层区
正常组	5	0.617±0.024	0.648±0.009
假手术组	5	0.612±0.010	0.635±0.008
模型组	5	0.549±0.009 ^{ab}	0.534±0.021 ^{ab}
阳性药组	5	0.589±0.008 ^c	0.611±0.006 ^c
TSG 低剂量组	5	0.564±0.012	0.563±0.007 ^c
TSG 中剂量组	5	0.586±0.008 ^c	0.592±0.011 ^c
TSG 高剂量组	5	0.596±0.009 ^c	0.602±0.012 ^c

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与正常组比较, a: $P < 0.01$;与假手术组比较, b: $P < 0.01$;与模型组比较, c: $P < 0.01$ 。



注:A. 正常组;B. 假手术组;C. 模型组;D. 阳性药组;E. TSG 低剂量组;F. TSG 中剂量组;G. TSG 高剂量组。

图 5 各组大鼠脑组织内海马区 Bcl-2 蛋白的表达(免疫组化,×400)



注:A. 正常组;B. 假手术组;C. 模型组;D. 阳性药组;E. TSG 低剂量组;F. TSG 中剂量组;G. TSG 高剂量组。

图 6 各组大鼠脑组织内皮层区 Bcl-2 蛋白的表达(免疫组化, $\times 400$)

3 讨论

AD 是一种多因素导致的疾病,其机制可能包含有 $A\beta$ 沉积、Tau 蛋白过度磷酸化、自由基损伤、胆碱缺乏和反应性突触丢失等,各种因素最终导致神经元细胞的减少或凋亡^[14]。AD 已成为老年人群体死亡的重要原因之一,随着我国人口老龄化的加重,预计到 2050 年,我国将有超过 1 507 万的痴呆症患者,这对个人和社会都是巨大的经济和医疗负担^[15-16],寻找 AD 的有效治疗药物已成为全球共同关注的话题之一。Bcl-2 蛋白家族是所有凋亡途径中的下游蛋白家族,包含有 Bcl-2 和 Bax,抗凋亡因子 Bcl-2 和促凋亡因子 Bax 是一组凋亡稳态因子,Bcl-2 是抑制细胞凋亡的关键因子,正常情况下它在脑组织中高度表达,保护神经元细胞,减少神经元细胞的凋亡^[17-19]。Bcl-2 基因在 1984 年首次被发现,来源于淋巴瘤中的一种癌基因,它在正常细胞的生长增殖中呈现高度表达状态,而在凋亡细胞中则几乎不表达^[3-4]。Bax 通过调节线粒体外膜的通透性,使细胞色素 C 由线粒体释放入胞质内,导致细胞内源性的凋亡。已有实验验证,中草药可以通过调节 Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达量改善 AD 疾病的症状^[20]。在本实验中,通过对 TUNEL 实验凋亡细胞的观察、实时荧光定量聚合酶链式反应法和免疫组织化学法的检测,与模型组比较,TSG 各剂量组的神经元凋亡情况呈现不同程度的好转,Bax mRNA 相对表达量和 Bax 蛋白的表达呈现不同程度降低,Bcl-2 mRNA 相对表达量和 Bcl-2 蛋白的表达呈现不同程度的升高,且表现出剂量依赖性,这些结果提示,TSG 可以在一定程度上通过调节 Bax 和 Bcl-2 mRNA 的表达,改善神经元细胞凋亡的情况。

综上所述,TSG 可以在一定程度上调节凋亡途径

中的因子,减缓脑组织神经元细胞的凋亡,达到缓解 AD 症状的可能性。

参考文献:

- [1] VAZ M, SILVESTRE S. Alzheimer's disease: recent treatment strategies [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 887: 173554.
- [2] BREIJYEH Z, KARAMAN R. Comprehensive review on alzheimer's disease; causes and treatment [J]. *Molecules*, 2020, 25(24): 5789.
- [3] RAGUNOW M, MACGIBBON G A, LAWLOR P, et al. Apoptosis, neurotrophic factors and neurodegeneration [J]. *Rev Neurosci*, 1997, 8(3-4): 223-265.
- [4] ZHU N, LIN J Z, WANG K W, et al. Huperzine A protects neural stem cells against $A\beta$ -induced apoptosis in a neural stem cells and microglia co-culture system [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6425-6433.
- [5] 孟焯, 张庆林. 防治阿尔茨海默病的中药活性成分研究进展 [J]. *生物技术通讯*, 2015, 26(4): 587-590.
- [6] 杜仕静, 王蕾, 苏萍, 等. 中药成分影响阿尔茨海默病 β -淀粉样蛋白靶点的研究进展 [J]. *中草药*, 2015, 46(13): 1989-1995.
- [7] 刘超宇, 蒙婉莹, 李彦炳, 等. 二苯乙烯苷通过调节 GSK-3 β /PP2A 活性干预 $A\beta_{25-35}$ 致拟痴呆大鼠模型 Tau 蛋白磷酸化进程 [J]. *右江民族医学院学报*, 2022, 44(2): 139-146.
- [8] JIAO C L, GAO F, OU L, et al. Tetrahydroxy stilbene glycoside (TSG) antagonizes $A\beta$ -induced hippocampal neuron injury by suppressing mitochondrial dysfunction via Nrf2-dependent HO-1 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 222-228.
- [9] NING Z C, LI Y H, LIU D Y, et al. Tetrahydroxystilbene glucoside delayed senile symptoms in old mice via regula-

- tion of the AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling cascade[J]. *Gerontology*, 2018, 64(5):457-465.
- [10] JIAO C L, GAO F, OU L, et al. Tetrahydroxystilbene glycoside antagonizes β -amyloid-induced inflammatory injury in microglia cells by regulating PU. 1 expression [J]. *Neuroreport*, 2018, 29(10):787-793.
- [11] LIU Y Y, WEI M Y, YUE K X, et al. Study on urine metabolic profile of A β 25-35-induced alzheimer's disease using UHPLC-Q-TOF-MS[J]. *Neuroscience*, 2018, 394:30-43.
- [12] 邓姣, 韦益飞, 何堃, 等. 宽筋藤有效部位对 D-半乳糖 + A β 25-35 所致 AD 大鼠药效学研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(5):553-559.
- [13] 赵娣, 李爽, 徐婧. 蒲公英总黄酮改善 A β 25-35 诱导的阿尔茨海默病大鼠记忆功能障碍的观察[J]. *中国药物评价*, 2019, 36(1):41-45.
- [14] 张琳琳, 宋宛珊, 王凯, 等. 阿尔茨海默病发病机制及药物治疗研究进展[J]. *世界中医药*, 2017, 12(5):1200-1203, 1208.
- [15] 汪睿彤, 刘珏. 阿尔茨海默病的流行病学研究进展[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2021, 29(9):707-711.
- [16] JIA L F, DU Y F, CHU L, et al. Prevalence, risk factors, and management of dementia and mild cognitive impairment in adults aged 60 years or older in China: a cross-sectional study[J]. *Lancet Public Health*, 2020, 5(12):e661-e671.
- [17] ASHKENAZI A, FAIRBROTHER W J, LEVERSON J D, et al. From basic apoptosis discoveries to advanced selective Bcl-2 family inhibitors[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(4):273-284.
- [18] KVANSAKUL M, CARIA S, HINDS M G. The Bcl-2 family in host-virus interactions [J]. *Viruses*, 2017, 9(10):290.
- [19] ROBERTS A W. Therapeutic development and current uses of BCL-2 inhibition[J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2020, 2020(1):1-9.
- [20] YANG M J, ZHANG X Y, QIAO O, et al. Rosmarinic acid potentiates and detoxifies tacrine in combination for alzheimer's disease [J]. *Phytomedicine*, 2023, 109:154600.

收稿日期:2023-03-04;修回日期:2023-03-09

【读者·作者·编者】

本刊对稿件图表格式的要求

本刊对来稿中的图表一律以其在正文中出现的先后次序连续编码。每幅图表应冠以中文图(表)题。说明性资料应以中文格式置于图(表)下方注释中。

1. 表格:采用三横线表(顶线、表头线、底线格式),应使表中每一列数据的单位相同,统计值结果(如 t 值、 P 值等)保留小数点后三位,百分率、均数、标准差等保留小数点后两位。

2. 图片:图片要求有良好的清晰度和对比度,并注明图号及图的上下方向,大体标本图片务必在图内有尺度标记,病理图请注明染色方法和放大倍数,以图形文件格式(.jpg)插入到正文中。

《右江民族医学院学报》编辑部