

- 状腺炎大鼠 Th1/Th2 细胞平衡及相关通路的影响 [J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(3): 244-251.
- [17] 俞灵莺, 傅晓丹, 章晓芳, 等. 夏枯草干预实验性自身免疫甲状腺炎 Th1/Th2 失衡的研究 [J]. 中华全科医学, 2018, 16(5): 725-728; 743.
- [18] 宣凌燕, 杨云欢, 赖晓阳. 自身免疫性甲状腺疾病患者血清 25-(OH) D<sub>3</sub> 与 sFas 水平的相关性 [J]. 山东医药, 2014, 54(38): 61-63.
- [19] 丁 钰, 黄忠奎, 胡秀玲. 自身免疫性甲状腺疾病患者血清 25-(OH) D 表达水平与白癜风的相关性分析 [J]. 中国美容医学, 2020, 29(10): 111-114.
- [20] Zenobia C, Hajishengallis G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation [J]. *Periodontol* 2000, 2015, 69(1): 142-159.
- [21] Beringer A, Noack M, Miossec P. IL-17 in chronic inflammation: From discovery to targeting [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(3): 230-241.
- [22] Olson B M, Sullivan J A, Burlingham W J. Interleukin 35: a key mediator of suppression and the propagation of infectious tolerance [J]. *Front Immunol*, 2013, 4: 315.
- [23] Esfahanian F, Ghelich R, Rashidian H, et al. Increased levels of serum interleukin-17 in patients with Hashimoto's thyroiditis [J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2017, 21(4): 551-554.
- [24] Nakano A, Watanabe M, Iida T, et al. Apoptosis-induced decrease of intrathyroidal CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in autoimmune thyroid diseases [J]. *Thyroid*, 2007, 17(1): 25-31.
- [25] Bossowski A, Moniuszko M, Dałbrowska M, et al. Lower proportions of CD4+CD25<sup>high</sup> and CD4+FoxP3, but not CD4+CD25 + CD127<sup>low</sup> FoxP3<sup>+</sup> T cell levels in children with autoimmune thyroid diseases [J]. *Autoimmunity*, 2013, 46(3): 222-230.
- [26] 俞灵莺, 马丽珍. 细胞因子与桥本甲状腺炎及其相关防治进展 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(3): 379-383.
- [27] Tsukahara S, Yamamoto S, Shwe T T W, et al. Inhalation of low-level formaldehyde increases the Bcl-2/Bax expression ratio in the hippocampus of immunologically sensitized mice [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2006, 13(2): 63-68.
- [28] Savitskaya M A, Onishchenko G E. Mechanisms of apoptosis [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2015, 80(11): 1393-1405.
- [29] Rao G, Verma R, Mukherjee A, et al. Melatonin alleviates hyperthyroidism induced oxidative stress and neuronal cell death in hippocampus of aged female golden hamster, *Mesocricetus auratus* [J]. *Exp Gerontol*, 2016, 82: 125-130.

## 人参养荣汤改善阿尔兹海默症小鼠学习记忆损伤的作用

吕 馨, 蒋蒙蒙, 朱梦姚, 袁海阳, 郭自贺, 王 祎, 贡岳松\*  
(南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023)

**摘要:** 目的 探究人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠学习记忆损伤的改善作用及其机制。方法 72 只小鼠随机分为空白组, 模型组, 多奈哌齐组 (0.1 mg/kg), 人参养荣汤低、中、高剂量组 (1.56、3.12、6.24 g/kg), 每组 12 只。除空白组外, 其余各组小鼠每天腹腔注射 100 mg/kg D-半乳糖, 灌胃 10 mg/kg AlCl<sub>3</sub>, 2 h 后灌胃给予治疗药物。造模后 90 d, 行为学实验检测小鼠学习记忆能力, 采用试剂盒检测小鼠血清、脑组织生化指标, HE 染色评估海马组织损伤情况, 蛋白免疫印迹法检测海马组织 PSD95/NR2B 通路蛋白的表达。结果 人参养荣汤及多奈哌齐均对小鼠空间学习记忆有明显改善作用, 可以缓解小鼠体内氧化应激, 升高脑组织乙酰胆碱 (Ach) 水平, 降低乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性, 减轻海马组织损伤, 同时上调 PSD95、NR2B 的蛋白表达。结论 人参养荣汤可明显改善阿尔兹海默症小鼠的学习记忆损伤, 缓解氧化应激, 恢复小鼠脑组织乙酰胆碱系统, 其机制可能与调节 PSD95/NR2B 信号通路有关。

**关键词:** 人参养荣汤; 阿尔兹海默症; 学习记忆; 乙酰胆碱; 氧化应激; 突触蛋白; PSD95/NR2B 信号通路

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2022)12-3823-07

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1528.2022.12.012

收稿日期: 2021-11-19

基金项目: 2016 年江苏省双创计划项目 (013033004004A); 南京中医药大学高级人才科研启动 (013074004016)

作者简介: 吕 馨 (1996—), 女, 硕士, 从事中医药防治阿尔兹海默症研究。Tel: 1885164326, E-mail: 1436127487@qq.com

\* 通信作者: 贡岳松 (1964—), 男, 教授, 从事神经退行性疾病新药研制研究。Tel: 15605170283, E-mail: gysnzy@126.com

## Effects of Renshen Yangrong Decoction on learning and memory impairment in Alzheimer's disease mouse model

LÜ Xin, JIANG Meng-meng, ZHU Meng-yao, YUAN Hai-yang, GUO Zi-he, WANG Yi, GONG Yue-song\*

(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To investigate the effects and mechanisms of Renshen Yangrong Decoction on learning and memory impairment in mice modeling Alzheimer's disease (AD). **METHODS** Seventy-two mice were randomly divided into blank group, model group, donepezil group (0.1 mg/kg), and Renshen Yangrong Decoction groups for low-dose, medium-dose and high-dose interventions (1.56, 3.12, 6.24 g/kg), respectively, with 12 mice in each group. All of the groups, except the blank group, were intragastrically given once a day the therapeutic drugs 2 hours after intraperitoneal injection of 100 mg/kg *D*-galactose and intragastric administration of 10 mg/kg AlCl<sub>3</sub>. 90 days after modeling, the mice had their learning and memory ability assessed by behavior test; their biochemical indices levels of serum and brain tissue detected by kit; their hippocampus damage evaluated by HE staining; and their hippocampus protein expressions of PSD95/NR2B pathway detected by Western blot. **RESULTS** To the mouse models, both Renshen Yangrong Decoction and donepezil significantly improved their spatial learning and memory, alleviated their oxidative stress, increased Ach level in brain tissue, decreased the activity of acetylcholinesterase (AChE), alleviated the hippocampus damage, and simultaneously up-regulated the protein expressions of PSD95/NR2B. **CONCLUSION** Renshen Yangrong Decoction can significantly improve the learning and memory impairment of mice modeling AD, relieve their oxidative stress, and restore the cerebral acetylcholine system. And the mechanism may be related to the regulation of PSD95/NR2B signaling pathway.

**KEY WORDS:** Renshen Yangrong Decoction; Alzheimer's disease; learning and memory; acetylcholine; oxidative stress; synaptic proteins; PSD95/NR2B signaling pathway

阿尔茨海默病是一种与年龄密切相关,以认知记忆障碍为特点的神经退行性疾病,其病理特征包括脑胆碱能神经元的丢失<sup>[1]</sup>、 $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )的沉积、微管蛋白(Tau)的异常磷酸化及神经纤维缠结,最终导致突触功能障碍。神经元突触的丢失是阿尔兹海默症记忆损伤的结构基础<sup>[2]</sup>。突触后膜致密区(PSD)由于形态、厚薄有相当大的可塑性,且其结构上的主要突触蛋白 PSD95 通过特异性结合 NMDA 受体(NR2B) C 端的 PDZ 结构域,调节神经突触结构和功能可塑性,是突触功效增强的物质基础<sup>[3]</sup>。老年和阿尔兹海默症小鼠表现为 PSD95 水平降低,突触功能障碍<sup>[4]</sup>。

人参养荣汤出自《太平惠民和剂局方》<sup>[5]</sup>,具有益气补血、养心安神作用,主治心悸健忘。曹利民等<sup>[6]</sup>研究发现,人参养荣汤可以显著改善阿尔兹海默症患者的认知功能,降低痴呆程度。本研究采用 *D*-半乳糖联合 AlCl<sub>3</sub> 构建阿尔兹海默症小鼠模型<sup>[7-8]</sup>,探究人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠认知功能的影响。

### 1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 ICR 小鼠,72 只,体质量 20~22 g,购自浙江维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(浙)2019-0001,动物质量合格证号 20200923Abzz0619000632,实验通过南京中医药大学伦理委员会批准,审查批号 202109A048。

1.2 试剂与药物 人参、黄芪、白术、茯苓、甘草、当归、熟地黄、白芍、陈皮、远志、肉桂、五味子购自南京同仁堂,药材均经南京中医药大学吴启南教授鉴定为正品。*D*-半乳糖、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase,HRP)标记的羊抗兔 IgG 二抗(批号 70080016、货号 BL003A,北京兰杰柯科技有限公司);三氯化铝(AlCl<sub>3</sub>,批号 20200515,国药集团化学试剂有限公司);盐酸多奈哌齐[批号 FK110167,萨恩化学技术(上海)有限公司];超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、乙酰胆碱(ACh)试剂盒(货号 A001-3、A007-1-1、A003-1、A105-

1-1, 南京建成生物工程研究所有限公司); 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 试剂盒 (货号 ZC-S0384, 上海茁彩生物科技有限公司); 兔抗小鼠 NMDA 受体亚单位 2B (NMDA receptor 2B subunit, NR2B) 多克隆抗体 (货号 21920-1-AP, 美国 Proteintech 公司); 兔抗小鼠 PSD95 单克隆抗体 (货号 3450S, 美国 Cell Signaling Technology 公司)。

1.3 仪器 Morris 水迷宫 (安徽正华生物仪器设备有限公司); 条件恐惧系统 (武汉普百康科技发展有限公司); HH-S 型恒温水浴锅 (巩义市予华仪器有限责任公司); BSA-124S 型分析天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); M200pro 型多功能酶标仪、Infinite F50 型酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); 5810R 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); Biosafer900-92 型超声波破碎仪 [赛飞 (中国) 有限公司]; 多功能水平电泳槽、电泳仪、转移电泳槽、垂直电泳槽和凝胶成像系统 (上海天能科技有限公司); mi-crofuge 20R 型微量冷冻高速离心机 (美国 Beckman Coulter 公司)。

## 2 方法

2.1 药物制备 人参养荣汤根据《太平惠民和剂局方》记载, 白芍 102 g, 人参、白术、甘草、当归、黄芪、陈皮、肉桂各 34 g, 茯苓、五味子各 28 g, 远志 17 g, 其中每 12 g 生药加入姜 3 片, 大枣 2 枚, 300 mL 水煎, 浓缩为生药量 830 g/L 的浓缩液备用。

2.2 分组、造模与给药 小鼠适应性饲养 7 d, 随机分为 6 组, 分别为空白组, 模型组, 多奈哌齐组, 人参养荣汤低、中、高剂量组, 每组 12 只。除空白组外, 其余组小鼠每天腹腔注射 100 mg/kg *D*-半乳糖, 同时灌胃 10 mg/kg  $\text{AlCl}_3$ <sup>[11]</sup>, 造模 90 d。从第 30 天开始, 多奈哌齐组灌胃 0.1 mg/kg 盐酸多奈哌齐; 人参养荣汤低、中、高剂量组分别灌胃 1.56、3.12、6.24 g/kg 生药量 (人临床用量的 2、4、8 倍) 的人参养荣汤, 每天 1 次, 给药容量为 0.1 mL/10 g; 空白组每天灌胃和腹腔注射等体积生理盐水, 且造模与给药时间间隔 2 h 以上。

### 2.3 行为学检测

2.3.1 Morris 水迷宫实验 给药结束后, 进行为期 5 d 的水迷宫实验, 第 1~4 天为训练期, 将小鼠面向池壁提示物方向分别从一、二、三、四象限轻轻放入水中, 记录 1 min 游泳轨迹, 没有在规定时间内找到平台的小鼠则需要引导至平台上, 每只小鼠每天每 1 个象限训练 1 次, 连续训练 4 d。第 5

天为实验期, 每只小鼠随机选取一个象限放入池中, 记录 60 s 内寻找平台所需时间, 即逃避潜伏期, 并以视频采集系统记录每只小鼠的游泳轨迹; 若小鼠入水后 60 s 内未能找到平台, 逃避潜伏期记录为 60 s。

2.3.2 条件恐惧实验 第 1 天为训练阶段, 声音条件设为 2.5 kHz、85 dB, 电流输出大小调整为 0.75 mA。将小鼠放入条件恐惧仪器箱中适应 3 min, 给予声音刺激 30 s 后电刺激 2 s, 间隔 2 min 后循环刺激, 共 6 次, 每只小鼠训练 1 次。第 2 天为环境提示阶段, 无声音刺激和电刺激, 单纯放入恐惧箱中 20 min, 检测小鼠对环境的恐惧记忆水平, 其它操作同第 1 天训练阶段。第 3 天为声音提示阶段, 检测小鼠对条件刺激提示赋予的恐惧记忆状况, 在实验箱的底部加一块板, 对角线加隔板, 将长方体实验箱分成 2 个三棱柱, 改变恐惧记忆箱内部的环境, 开启实验箱中的指示灯和操作箱中的日光灯, 将小鼠于板的一侧放入, 其它操作同第 1 天训练阶段, 记录小鼠受到声音刺激后的僵直时间, 计算小鼠僵直百分比, 以表示小鼠的恐惧记忆强度。

2.4 氧化应激、神经递质指标检测 行为学实验结束后, 腹腔注射 10% 水合氯醛进行麻醉, 摘眼球取血; 然后脱颈处死, 并立即置于冰上, 腹部朝上进行心脏灌注; 取脑, 将整个完整的脑组织置于冰盒上, 摘除前端嗅球、小脑、丘脑等结构, 沿颞齿缝隙剪开分为左右 2 个皮层, 翻转皮层轻轻剥离出里面的海马体结构, 置于离心管中做好标记, 于 -80 °C 冰箱中保存, 用于后续的实验检测。严格按照相应试剂盒说明书检测各组小鼠血清与脑组织中 SOD、CAT 活性, MDA 水平及脑组织中 ACh 水平、AChE 活性。

2.5 海马 HE 染色 将于 4% 多聚甲醛中固定过夜的小鼠脑组织放入包埋盒中, 自来水冲洗 6 h, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 浸蜡, 包埋, 冠状切片 (约 5  $\mu\text{m}$  厚), 脱蜡至水, 进行 HE 染色, 在光学显微镜下观察其形态与排列。

2.6 蛋白表达检测 取小鼠海马组织, 提取总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 煮沸 8 min 进行变性, 随后经 5%、8% SDS-PAGE 电泳, 转移至 PVDF 膜, 置于 5% 脱脂奶中常温封闭 1 h, 加入一抗 4 °C 孵育过夜, 洗膜后加入相应二抗, 常温摇床孵育 2 h, 洗膜后采用 ECL 试剂曝光、显色。通过 Image J 1.8.0 软件分析蛋白灰度值, 计算蛋白相

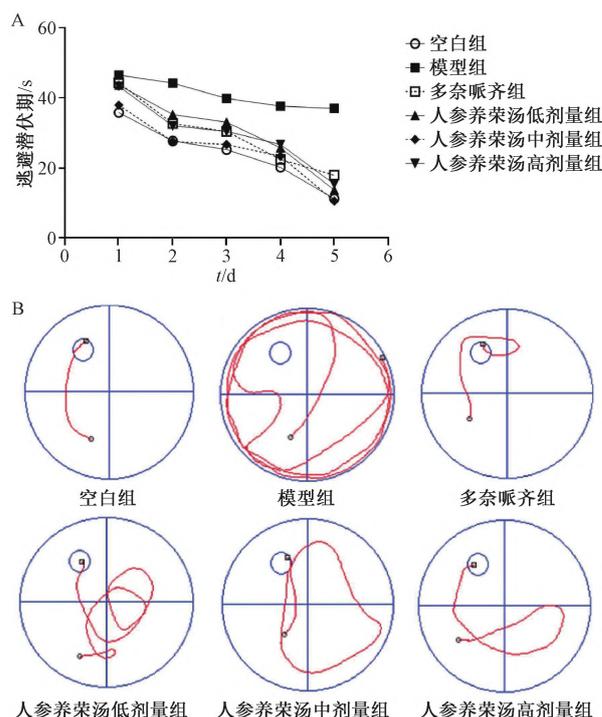
对表达量。

2.7 统计学分析 通过 Excel 和 Graphpad Prism 5 软件进行处理, 数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠学习记忆的影响 如图 1 所示, 各组小鼠经过连续 5 d 的 Morris 水迷宫训练后, 逃避潜伏期呈现递减趋势, 模型组小鼠逃避潜伏期变化不大, 其他各组逃避潜伏期缩短, 找到平台的路径也缩短。如表 1 所示, 与空白组比较, 模型组小鼠逃避潜伏期、条件恐惧僵直百分比增加 (P<0.05, P<0.01), 影响小鼠学习记忆功能; 与模型组比较, 人参养荣汤各剂量组及多奈哌齐组小鼠逃避潜伏期缩短 (P<0.05), 各给药组小鼠条件恐惧僵直百分比无明显变化 (P>0.05); 各组小鼠平均游泳速度比较无明显变化 (P>0.05)。

3.2 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠脑组织胆碱能系统的影响 如图 2 所示, 与空白组比较, 模型组小鼠脑组织 ACh 水平降低 (P<0.01), AChE 活



注: A 为各组小鼠逃避潜伏期变化, B 为各组小鼠游泳轨迹。

图 1 Morris 水迷宫实验结果

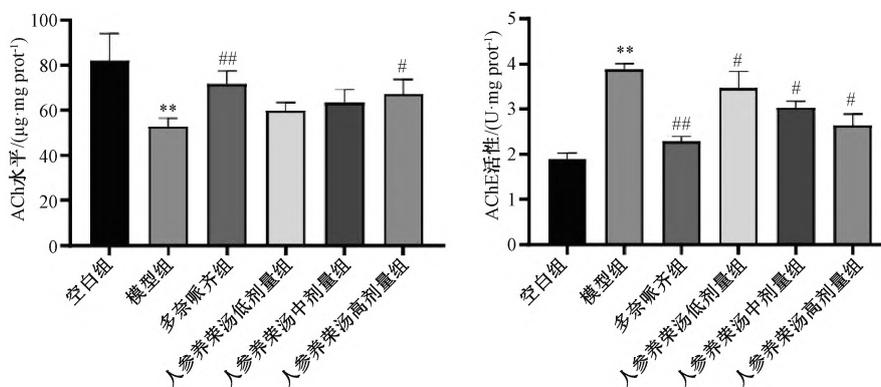
Fig. 1 Results of Morris water maze experiment

表 1 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠学习记忆的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=12)

Tab. 1 Effects of Renshen Yangrong Decoction on learning and memory in AD mouse models ( $\bar{x} \pm s$ , n=12)

组别	第 5 天潜伏期/s	运动总距离/mm	平均游泳速度/(cm·s <sup>-1</sup> )	条件恐惧僵直百分比/%
空白组	12.883±4.478	223.661±128.243	17.820±3.394	21.410±7.929
模型组	35.385±17.028**	753.969±400.018**	19.153±2.371	43.183±14.966*
多奈哌齐组	16.471±13.180##	433.190±386.687##	18.623±2.246	41.827±20.767
人参养荣汤低剂量组	18.557±9.138#	330.582±204.947#	19.214±3.581	41.200±16.249
人参养荣汤中剂量组	16.432±12.496##	228.868±139.050##	17.900±1.738	40.491±11.876
人参养荣汤高剂量组	17.184±6.444##	297.362±131.251##	18.570±2.948	40.300±20.230

注: 与空白组比较, \* P<0.05, \*\* P<0.01; 与模型组比较, # P<0.05, ## P<0.01。



注: 与空白组比较, \*\* P<0.01; 与模型组比较, # P<0.05, ## P<0.01。

图 2 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠脑组织 ACh 水平及 AChE 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=8)

Fig. 2 Effects of Renshen Yangrong Decoction on cerebral ACh level and AChE activity of AD mouse models ( $\bar{x} \pm s$ , n=8)

性升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 多奈哌齐组及人参养荣汤各剂量组小鼠脑组织 ACh 水平升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), AChE 活性降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

### 3.3 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠血清及海马组织 SOD、CAT 活性和 MDA 水平的影响 与空白

表 2 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠血清 SOD、CAT 活性及 MDA 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Tab. 2 Effects of Renshen Yangrong Decoction on serum SOD and CAT activity, and MDA level of AD mouse models ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	SOD/(U·mL <sup>-1</sup> )	CAT/(U·mL <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol·mL <sup>-1</sup> )
空白组	35.559±2.727	2.277±0.257	7.422±0.585
模型组	18.311±3.563**	1.239±0.381**	10.668±0.761**
多奈哌齐组	19.867±3.562	2.033±0.142##	9.935±0.497
人参养荣汤低剂量组	25.485±4.738#	2.201±0.564##	9.428±0.562##
人参养荣汤中剂量组	26.159±6.198#	2.066±0.216#	8.890±0.623##
人参养荣汤高剂量组	23.721±5.817	1.699±0.455	7.783±0.626##

注: 与空白组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ 。

表 3 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠海马组织 SOD、CAT 活性及 MDA 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Tab. 3 Effects of Renshen Yangrong Decoction on hippocampus SOD and CAT activity, and MDA level of AD mouse models ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	SOD/(U·mg prot <sup>-1</sup> )	CAT/(U·mg prot <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol·mg prot <sup>-1</sup> )
空白组	184.306±26.338	98.996±26.148	11.039±1.105
模型组	64.936±10.771**	39.301±7.733**	19.989±0.967**
多奈哌齐组	71.556±16.702	47.235±3.669	19.403±2.799
人参养荣汤低剂量组	105.757±35.726#	61.308±4.475	16.285±3.524#
人参养荣汤中剂量组	114.414±42.421##	80.633±17.981##	16.631±2.419#
人参养荣汤高剂量组	95.255±33.528	78.762±9.316##	12.819±2.281##

注: 与空白组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ 。

3.4 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠海马组织病理改变的影响 如图 3 所示, 空白组小鼠海马 CA1、CA3 区细胞排列整齐, 结构完整; 模型组小鼠海马细胞排列不规则, 细胞间出现间

隙, 其中很多细胞胞体缩小, 胞核固缩, 呈深染状态; 多奈哌齐组及人参养荣汤各剂量组小鼠海马内核固缩现象明显减轻, 细胞排列较模型组整齐。

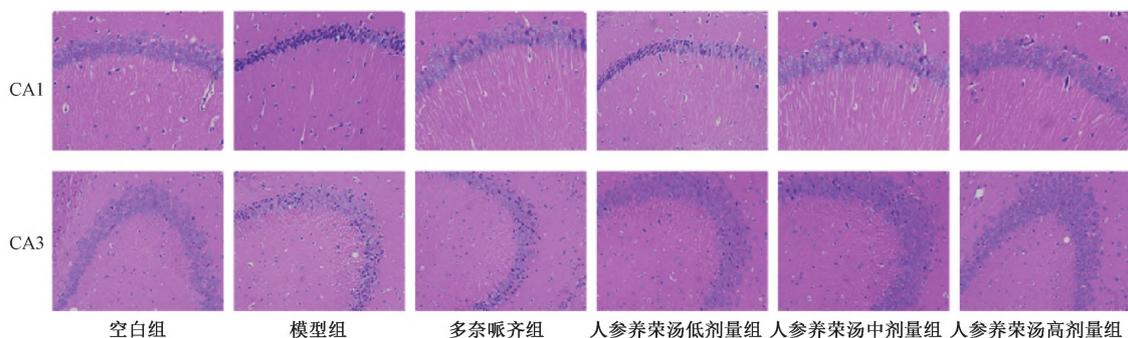
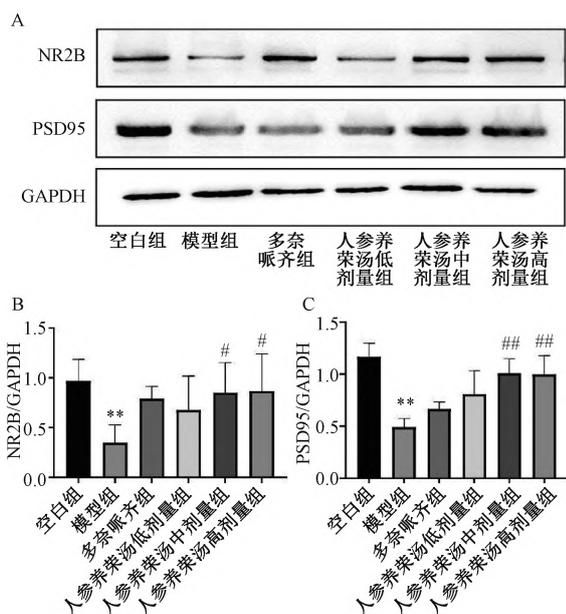


图 3 各组小鼠海马组织病理形态 (HE 染色, ×400)

Fig. 3 Pathological morphology of mouse hippocampus in each group (HE staining, ×400)

3.5 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠海马组织 PSD95、NR2B 蛋白表达的影响 如图 4 所示, 与空白组比较, 模型组小鼠海马组织突触蛋白 PSD95、

NR2B 表达降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 人参养荣汤中、高剂量组小鼠海马组织 PSD95、NR2B 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。



注：A 为小鼠海马组织 PSD95、NR2B 蛋白条带图，B 为各组 NR2B 蛋白表达比较，C 为各组 PSD95 蛋白表达比较。与空白组比较，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较，#  $P < 0.05$ ，##  $P < 0.01$ 。

图 4 人参养荣汤对阿尔兹海默症小鼠海马组织 PSD95、NR2B 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 4 Effects of Renshen Yangrong Decoction on the protein expressions of PSD95 and NR2B in hippocampus of AD mouse models ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

#### 4 讨论

阿尔兹海默症是痴呆最主要的形式，严重影响患者生活质量，目前的临床用药只能在一定程度上减慢其进程，无法治愈疾病<sup>[9]</sup>。阿尔兹海默症发病机制主要有 A $\beta$  沉积、Tau 蛋白异常磷酸化、胆碱能损伤、氧化应激及神经元突触功能障碍等<sup>[10-11]</sup>。

中医认为，阿尔兹海默症的病位在脑，与五脏功能失调有关，因此，治疗阿尔兹海默症通常以补肾健脾、化痰祛瘀、醒脑开窍等为主。人参养荣汤由 12 味中药组成，其中人参、黄芪、甘草补益脾肺元气；当归、熟地、芍药养荣补血；白术、茯苓、甘草可以加强补脾之功；五味、远志配茯苓、人参可以宁心安神，全方共奏补气健脾、养血益髓、滋养五脏、填精壮髓之效。现代药理学研究证实，人参养荣汤能明显抑制衰老小鼠大脑皮质神经元密度下降，对皮质神经元具有一定的保护作用<sup>[12]</sup>；并在一项以 37 名阿尔兹海默症患者为研究对象的临床实验中表现出对阿尔兹海默症的明显改善作用<sup>[13]</sup>。

研究表明，氧化应激和胆碱功能异常在阿尔兹

海默症中发挥关键作用，阿尔兹海默症患者体内 SOD 活性和 MDA 水平变化情况，可作为临床上诊断阿尔兹海默症的方法<sup>[14]</sup>。ACh 是脑内主要的神经递质，胆碱能系统对机体维持正常的认知功能尤其是空间记忆至关重要。ACh 在皮质和海马中的缺失将导致学习记忆和认知功能降低<sup>[15-16]</sup>。神经元突触作为神经信息传递的关键部位，其病理改变被认为是阿尔兹海默症学习认知功能障碍的神经生物学基础<sup>[17]</sup>；而突触后致密区 (PSD) 对维持神经突触结构和功能以及学习记忆至关重要，PSD95 作为 PSD 结构的标志性蛋白，其 PDZ1 结构域直接与 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体 (NMDARS) 的 NR2B 亚基结合，调节突触可塑性<sup>[18]</sup>。研究表明 *D*-半乳糖可引起神经系统出现变性、氧化应激、炎症反应等，促进神经衰老的发生和发展<sup>[19]</sup>。铝具有神经毒性，可以导致胆碱能神经元细胞变性<sup>[20]</sup>，*D*-半乳糖联合 AlCl<sub>3</sub> 可使小鼠产生阿尔兹海默症样病变，包括氧化应激、ACh 水平下降、老年斑块和神经纤维缠结形成增加，是可靠、廉价的阿尔兹海默症模型<sup>[21-22]</sup>。本实验验证了 *D*-半乳糖联合 AlCl<sub>3</sub> 的造模可使小鼠皮层和海马 AChE 活性增强，SOD、CAT 活性升高，脑皮质和海马 MDA 水平降低，与文献 [23] 报道一致。人参养荣汤用药可逆转上述指标，并且上调 PSD95、NR2B 蛋白表达。

综上所述，人参养荣汤可以通过对抗氧化应激和恢复胆碱功能改善阿尔兹海默症小鼠的学习记忆能力，其机制可能与调节 PSD95/NR2B 信号通路有关。

**致谢** 本研究得到江苏省鹏鹞药业中药创新工程的资助。

#### 参考文献：

- [1] Kuo C Y, Stachiv I, Nikolai T. Association of late life depression, (non-) modifiable risk and protective factors with dementia and Alzheimer's disease: literature review on current evidences, preventive interventions and possible future trends in prevention and treatment of dementia [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(20): 7475.
- [2] Henstridge C M, Pickett E, Spires-Jones T L. Synaptic pathology: A shared mechanism in neurological disease [J]. *Ageing Res Rev*, 2016, 28: 72-84.
- [3] Wang D D, Li B, Wu Y P, et al. The effects of maternal atrazine exposure and swimming training on spatial learning memory and hippocampal morphology in offspring male rats via PSD95/NR2B signaling pathway [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2019, 39(7): 1003-1015.

- [ 4 ] Migaud M, Charlesworth P, Dempster M, *et al.* Enhanced long-term potentiation and impaired learning in mice with mutant postsynaptic density-95 protein [ J ]. *Nature*, 1998, 396 ( 6710 ): 433-439.
- [ 5 ] Chen Y Z, Lin F, Zhuang G B, *et al.* Protective effect of Renshen Yangrong Decoction ( 人参养荣汤 ) on bone marrow against radiation injury in mouse [ J ]. *Chin J Integr Med*, 2011, 17 ( 6 ): 453-458.
- [ 6 ] 曹利民, 胡志诚. 人参养荣汤治疗老年性痴呆临床分析 [ J ]. *实用中医药杂志*, 2008, 24 ( 4 ): 207.
- [ 7 ] Zameer S, Hussain S, Vohora D, *et al.* Alendronate reduces the cognitive and neurological disturbances induced by combined doses of *D*-galactose and aluminum chloride in mice [ J ]. *J Appl Toxicol*, 2021, 41 ( 11 ): 1779-1793.
- [ 8 ] Yu X Y, Yu W H, Wu L H, *et al.* Chitotriosidase attenuates brain inflammation *via* HDAC3/NF- $\kappa$ B pathway in *D*-galactose and aluminum-induced rat model with cognitive impairments [ J ]. *Neurosci Res*, 2021, 172: 73-79.
- [ 9 ] Graff-Radford J, Yong K, Apostolova L G, *et al.* New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers [ J ]. *Lancet Neurol*, 2021, 20 ( 3 ): 222-234.
- [ 10 ] Yin F, Sancheti H, Patil I, *et al.* Energy metabolism and inflammation in brain aging and Alzheimer's disease [ J ]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 100: 108-122.
- [ 11 ] Soria Lopez J A, González H M, Léger G C. Alzheimer's disease [ J ]. *Handb Clin Neurol*, 2019, 167: 231-255.
- [ 12 ] 胡 瑞, 邓 红, 唐 方. 人参养荣汤对衰老小鼠脑神经元形态和密度的影响 [ J ]. *中医杂志*, 2006, 47 ( 11 ): 859-860.
- [ 13 ] 齐元富. 人参养荣汤的研究进展 [ J ]. *国外医学 ( 中医中药分册)*, 1999 ( 1 ): 18-19.
- [ 14 ] Cahill J F, Baxter M G. Cholinergic and noncholinergic septal neurons modulate strategy selection in spatial learning [ J ]. *Eur J Neurosci*, 2001, 14 ( 11 ): 1856-1864.
- [ 15 ] Hampel H, Mesulam M M, Cuello A C, *et al.* Revisiting the cholinergic hypothesis in Alzheimer's disease: Emerging evidence from translational and clinical research [ J ]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2019, 6 ( 1 ): 2-15.
- [ 16 ] Konishi K, Hori K, Tani M, *et al.* Hypothesis of endogenous anticholinergic activity in Alzheimer's disease [ J ]. *Neurodegener Dis*, 2015, 15 ( 3 ): 149-156.
- [ 17 ] Liu L, Orozco I J, Planel E, *et al.* A transgenic rat that develops Alzheimer's disease-like amyloid pathology, deficits in synaptic plasticity and cognitive impairment [ J ]. *Neurobiol Dis*, 2008, 31 ( 1 ): 46-57.
- [ 18 ] Coley A A, Gao W J. PSD95: A synaptic protein implicated in schizophrenia or autism? [ J ]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2018, 82: 187-194.
- [ 19 ] 刘建亚, 冯文静, 王仁萍, 等. *D*-半乳糖致衰老动物模型及其机制研究进展 [ J ]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2018, 17 ( 3 ): 224-227.
- [ 20 ] Ryu J S, Kang H Y, Lee J K. Effect of treadmill exercise and trans-cinnamaldehyde against *D*-galactose- and aluminum chloride-induced cognitive dysfunction in mice [ J ]. *Brain Sci*, 2020, 10 ( 11 ): 793.
- [ 21 ] Chiroma S M, Mohd M M, Mat T C, *et al.* *D*-galactose and aluminium chloride induced rat model with cognitive impairments [ J ]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 1602-1608.
- [ 22 ] Weng M H, Chen S Y, Li Z Y, *et al.* Camellia oil alleviates the progression of Alzheimer's disease in aluminum chloride-treated rats [ J ]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 152: 411-421.
- [ 23 ] Nam S M, Kim J W, Yoo D Y, *et al.* Effects of aluminum on the reduction of neural stem cells, proliferating cells, and differentiating neuroblasts in the dentate gyrus of *D*-galactose-treated mice *via* increasing oxidative stress [ J ]. *J Vet Sci*, 2016, 17 ( 2 ): 127-136.