

# 甘露特纳胶囊改善阿尔兹海默病认知障碍并降低神经炎症的机制研究

王玲玲, 杨娟, 王涛, 李锦师, 隋海晶, 赵晓晖\*

(上海市浦东新区人民医院神经内科, 上海 201200)

**[摘要]** 目的 探究口服甘露特纳(Sodium Oligomannate Capsules, GV-971)对阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)小鼠认知及神经炎症的影响机制。方法 购买雌性 ADAPP/PS1 小鼠,通过口服 GV-971 对 AD 小鼠进行治疗。采用 Morris 水迷宫实验及 Y 迷宫实验检测各组小鼠的认知功能,硫黄素 S 染色检测 A $\beta$ ( $\beta$ -淀粉样蛋白)沉积,酶联免疫吸附测定试剂盒(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测各组小鼠大脑中炎症细胞因子 1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ),肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和 IL-10 的水平。实时定量聚合酶链式反应(quantitative real time polymerase chain reaction, qRT-PCR)及 Western blot 分别检测各组小鼠脑组织中 BACE1 mRNA 及蛋白的表达水平。结果 健康组和对照组的逃避潜伏期随时间的推移均呈缩短趋势,健康组比对照组趋势更为明显,治疗组的逃避潜伏期随时间的推移呈现先缩短后延长后缩短的趋势,3 组组间、时点间以及组间·时点间交互作用差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),治疗组在目标象限停留的时间百分比少于健康组和对照组( $P < 0.05$ )。治疗组通过 Y 迷宫的准确率少于健康组和对照组( $P < 0.05$ )。与健康组相比,对照组大脑皮层和海马区 A $\beta$  斑块占比和斑块面积升高( $P < 0.05$ )。与对照组相比,治疗组小鼠大脑皮层和海马区 A $\beta$  斑块占比和 A $\beta$  斑块面积均降低( $P < 0.05$ )。ELISA 结果显示,与健康组相比,对照组小鼠脑组织炎症细胞因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平显著增高,而 IL-10 水平降低( $P < 0.05$ )。与对照组相比,治疗组 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平均降低,而 IL-10 水平上升( $P < 0.05$ )。与健康组相比,对照组小鼠脑组织中 BACE1 的 mRNA 和蛋白水平均升高( $P < 0.05$ )。与对照组相比,治疗组小鼠大脑中 BACE1 的 mRNA 和蛋白表达下降( $P < 0.05$ )。结论 GV-971 降低脑组织 BACE1 的表达,改善 AD 小鼠认知障碍并且降低其神经炎症。

**[关键词]** 阿尔兹海默病;甘露特纳;神经炎症 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2023.06.002

**[中图分类号]** R745.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2023)06-0629-07

## The mechanism of GV-971 improving cognitive impairment and reducing neuroinflammation in Alzheimer's disease

WANG Ling-ling, YANG Juan, WANG Tao, LI Jin-shi, SUI Hai-jing, ZHAO Xiao-hui\*

(Department of Neurology, People's Hospital of Pudong New Area, Shanghai 201200, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the mechanism of the effect of oral administration of sodium oligomannate capsules (GV-971) on cognition and neuroinflammation in Alzheimer's disease (AD) mice. **Methods** Female APP/PS1 mice with Alzheimer's disease were purchased and treated with oral GV-971. The cognitive function of mice was tested by Morris water maze test and Y-maze test. Amyloid  $\beta$ -protein (A $\beta$ ) deposition was detected by thioflavin S staining, and the levels of inflammatory cytokines interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and IL-10 in the brains of each group of mice were measured by enzyme-linked immunosorbent

**[收稿日期]** 2022-11-17

**[基金项目]** 上海市浦东新区科技发展基金民生科研专项资金项目(PKJ-2021-Y-20)

**[作者简介]** 王玲玲(1986-),女,安徽滁州人,上海市浦东新区人民医院主治医师,医学硕士,从事神经内科疾病诊治研究。

\* 通信作者。E-mail:13636618982@163.com

assay (ELISA) kits. Quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot were used to detect the expression levels of BACE1 mRNA and protein in the brain tissue of mice, respectively. **Results** The escape latency of the healthy group and the control group showed a decreasing trend over time, with the healthy group showing a more significant trend than the control group. The escape latency of the treatment group showed a trend of initially shortening, then prolonging, and then shortening over time. There was a significant difference in the interaction between groups, time points, and time points between groups ( $P < 0.05$ ). The percentage of time spent in the target quadrant in the treatment group was less than that in the healthy group and the control group ( $P < 0.05$ ). The accuracy of Y-maze passage in the treatment group was lower than that in the healthy group and control group ( $P < 0.05$ ). Compared with the healthy group, the percentage and area of A $\beta$  plaques in cerebral cortex and hippocampus the control group were increased ( $P < 0.05$ ), which, however, were decreased in the treatment group, as compared with the control group, ( $P < 0.05$ ). The ELISA results showed that compared with the healthy group, inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  levels in brain tissue of mice in the control group mice were increased, while the IL-10 levels were decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  levels in the treatment group were decreased, while the IL-10 levels were increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the healthy group, the mRNA and protein levels of BACE1 in the brain tissue of mice in the control group were increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the mRNA and protein expression of BACE1 in the brain of mice in the treatment group was decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** GV-971 decreased the expression of BACE1 in the brain tissue, improved cognitive impairment and reduced neuroinflammation in AD mice.

[Key words] Alzheimer's disease; sodium oligomannate; neuroinflammation

阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种损害记忆和认知功能的进行性神经退行性疾病,可能导致生命晚期的痴呆<sup>[1]</sup>。AD的主要病理结果是老年斑块、神经纤维缠结、突触结构稳定性的破坏和神经元死亡。甘露特纳胶囊(sodium oligomannate capsules, GV-971)是一种源自海藻的口服寡糖,由上海绿谷制药公司开发,用于治疗AD。甘露聚糖酸钠于2019年11月在中国首次获得批准,用于治疗轻中度AD,以改善认知功能<sup>[2]</sup>。GV-971是一种聚合度为2~10的低聚糖混合物<sup>[3]</sup>,可以直接与 $\beta$ -淀粉样蛋白(amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ )的多个亚区结合,抑制A $\beta$ 纤维的形成,并将预先形成的纤维稳定为无毒的单体<sup>[4]</sup>。口服后,大多数摄入的GV-971保留在肠道中,可以重建肠道微生物群,减少细菌代谢物驱动的免疫细胞向大脑的外周渗透,并抑制在动物模型中观察到的大脑中的神经炎症<sup>[4]</sup>。在一项为期36周的多中心、随机、双盲、安慰剂对照的3期临床试验<sup>[4]</sup>中,GV-971显示了对逆转AD患者认知障碍的治疗效果。本研究旨在探究GV-971改善认知功能及神经炎症的机制,报告如下。

## 1 材料与 方法

1.1 材料 AD淀粉样前体蛋白(Amyloid precursor protein, APP)/早衰蛋白1(presenilin 1, PS-1)小鼠(雌性,9月龄)和WT-C57(野生型C57小鼠,雌性,9月龄)购自中国医学科学院医学实验动物研究所[许可证号:SYXK(京)2021-0058,北京,中国]。所有小鼠均在我院动物实验中心饲养。每组小鼠为6只,共计18只。动物分组如下:健康组(野生型C57小鼠)自由喂食及饮用水;对照组(APP/PS1小鼠)每天口服1次GV-971(100 mg/kg),其余时间自由进食及饮用水;治疗组(GV971+APP/PS1小鼠)每天同一时段口服1次蒸馏水,其余时间自由进食及饮用水。持续3个月,在3个月结束时,对小鼠进行行为学测试评估其认知行为表现。

本研究中进行的所有小鼠饲养程序均经我院动物伦理委员会批准。

1.2 Morris水迷宫实验 Morris水迷宫实验<sup>[5]</sup>用于评估小鼠的学习和记忆。小鼠被放置在1个装满水的圆形水池里(直径1.2 m, 24~26 °C),视觉信号

放置在水池周围。水迷宫实验包括 1 个可见测试(即刻)、隐藏站台测试(第 1~5 天)和探针测试(第 6 天)。在可见测试和隐藏站台测试期间,小鼠释放到水池的频率是 4 次/d,记录逃避潜伏期(寻找隐藏站台的时间)和游泳速度。如果小鼠未在 60 s 内找到平台,则将其抓出并在站台上放置 15 s。在探针测试期间,释放小鼠,并允许其在无平台的水池内自由游泳 60 s。记录在每个象限中花费的时间百分比。

**1.3 Y 型迷宫实验** Y 型迷宫试验包括自发交替试验和新臂探索试验。Y 型迷宫由 3 个对称的手臂组成,呈 120°,不同颜色的图案被贴在每个手臂上以便区分<sup>[6]</sup>。在自发交替试验中,允许小鼠在 Y 型迷宫中自由移动 8 min。小鼠在重叠的三联组上连续进入 3 个手臂的行为被定义为自发交替。记录小鼠的总进入次数和自发交替的次数。交替的百分比用以下公式计算:[自发交替的数量/(总的手臂条目数-2)]×100%<sup>[7]</sup>。在新的手臂探索测试中,1 个手臂被挡板挡住,并被定义为新的手臂,允许小鼠探索其他 2 个手臂(家的手臂和熟悉的手臂),持续 5 min。间隔 2 h 后,移除挡板,允许小鼠自由探索所有 3 个手臂 5 min。用摄像机记录小鼠进入新臂的次数、行走的距离以及小鼠在新臂上花费的时间,Y 迷宫的准确性是正确交替和总交替之间的比率。每次试验后用 75%的乙醇清洗 Y 型迷宫。

**1.4 组织样本采集** 小鼠行为试验结束后,腹腔注射戊巴比妥钠(800 mg/kg)麻醉小鼠,然后立即用磷酸盐缓冲盐水(phosphate buffered saline, PBS)(含 4%多聚甲醛)进行心脏灌流。灌注后,冰上移取出大脑,快速分为左右半脑并取出每个半脑的皮层和海马组织。一部分分装入提前标记好的 EP 管,液氮速冻,后放入-80 °C 保存,等待后一步实验。另一部分 4 °C 固定过夜,4 °C、30%蔗糖孵育至平衡。用低温恒温器(CM1850, Leica, Wetzlar, German)制备冠状切片,4 °C 保存。

**1.5 硫黄素 S 染色** 自由漂浮切片(30 μm)在溶于 50%乙醇的 1%硫黄素 S(北京索莱宝公司,北京,中国)中孵育 10 min,用 50%乙醇洗涤 2 次,每次 5 min,然后再用蒸馏水洗涤 1 次,5 min;然后使用 Vectashield 荧光安装介质(H-1000,上海桑戈生物科技有限公司,上海,中国)安装切片。在荧光显微镜下(Olympus, Tokyo, Japan)老年斑显示为绿色斑点状,使用 Image J(vision 1.48, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)进行统计分析。

**1.6 酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)** 在每只小鼠中,大脑皮层或海马体的左半部分在含有 50 mmol/L Tris 和 5 mol/L 盐酸胍(pH 8.0)的缓冲液中均质化。将匀浆在室温下混合 4 h,并在含有 5%牛血清白蛋白、0.03%吐温 20 和蛋白酶抑制剂混合物的 PBS 中稀释<sup>[8]</sup>。采用 ELISA 试剂盒(上海茁彩生物科技有限公司,上海,中国)分析小鼠脑组织炎症细胞因子(interleukin-1β, IL-1β)、IL-10 和肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)的蛋白水平,通过比较样品与标准品的相对吸光度来测定各因子的浓度。

**1.7 实时定量聚合酶链式反应(quantitative real time polymerase chain reaction, qRT-PCR)** 收集小鼠脑组织,总采用 Trizol(Invitrogen)提取总 RNA。RNA 浓度用 Nanodrop ND-1000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific)测量。RNA 纯度根据 A260/A280(1.8~2.0)比值进行判断。cDNA 合成采用 Takara cDNA Synthesis Kit(Otsu, Japan), miRNAs 和 mRNAs 的 real-time PCR 检测使用 SYBR Green 试剂(Bio Fact, Daejeon, South Korea)。3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)用作内参,用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算定量表达。实验重复 3 次。引物如下表 1 所示,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1 引物序列

Table 1 Primers sequence

引物名称	引物序列(5'-3')
BACE1-F	ATGGCCCCGGCGCTGCGCTGGCTC
BACE1-R	TTATTTTCAGCAGGGAGATGTCAT
GAPDH-F	ATGGTGAAGGTCGGTGTGAACGGA
GAPDH-R	TTACTCCTTGGAGGCCATGTAGGC

**1.8 蛋白质印迹法(Western blot)** 述各组小鼠脑组织或细胞裂解液置于冰预冷的 RIPA 裂解缓冲液中(碧云天生物技术有限公司,上海,中国)30 min,然后 4 °C,12 000×g 离心 10 min。上清液用于分析。用 BCA 法(碧云天生物技术有限公司)检测蛋白浓度。10%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(碧云天生物技术有限公司)分离的蛋白转移到硝基纤维素膜(Whatman, Piscataway, New Jersey)上,室温下用封闭液(cat.no.P0023B,碧云天生物技术有限公司)封闭 1 h,再用相应的一抗和膜一起孵育,并 4 °C 过夜。洗膜并加入二抗室温孵育 2 h, ECL 工作液(Merck Millipore, Billerica, MA, USA)显影。最后用 Image J 软件(vision 1.48, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)进行数据

分析,β-actin 作为内参(一抗:BACE1, ab183612, 1:1 000;β-actin, ab8227, 1:1 000;二抗:山羊抗兔 IgG H&L (HRP), ab205718, 1:5 000, Abcam, Cambridge, UK)。

1.9 统计学方法 应用 SPSS 21.0 统计软件分析数据。计量资料比较采用独立样本 *t* 检验、单因素方差分析、SNK-*q* 检验和重复测量方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 GV-971 改善小鼠认知障碍 对阿尔兹海默症

表 1 水迷宫实验检测小鼠逃避潜伏期

Table 1 Morriswater maze test to detect the escape latency of mice

(*n* = 6,  $\bar{x} \pm s, s$ )

组别	逃避潜伏期				
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
健康组	51.45 ± 1.45	38.67 ± 4.56	23.45 ± 3.45	19.21 ± 4.52	17.89 ± 4.00
对照组	50.67 ± 4.56	48.99 ± 4.66	40.98 ± 1.56	52.74 ± 2.74	44.04 ± 4.04
治疗组	50.79 ± 2.79	40.12 ± 4.12	34.25 ± 3.56	36.54 ± 4.11	33.23 ± 3.23
组间	<i>F</i> 值 = 70.943		<i>P</i> 值 < 0.001		
时点间	<i>F</i> 值 = 84.024		<i>P</i> 值 < 0.001		
组间 · 时点间	<i>F</i> 值 = 15.259		<i>P</i> 值 < 0.001		

表 2 水迷宫实验检测小鼠处于不同象限的时间

Table 2 Morris water maze test to detect the time of mice spent in different target quadrants

(*n* = 6,  $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	处于目标象限时间的百分比
健康组	53.32 ± 3.32
对照组	23.45 ± 3.34*
治疗组	41.23 ± 1.23#
<i>F</i> 值	171.507
<i>P</i> 值	< 0.001

\**P* 值 < 0.05 与健康组比较 #*P* 值 < 0.05 与对照组比较 (SNK-*q* 检验)

表 3 Y 迷宫检测空间工作记忆的准确性

Table 3 Accuracy of the Y-maze in detecting spatial working memory

(*n* = 6,  $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	通过 Y 型迷宫的准确率
健康组	72.02 ± 5.01
对照组	51.50 ± 5.20*
治疗组	66.45 ± 5.50#
<i>F</i> 值	24.600
<i>P</i> 值	< 0.001

\**P* 值 < 0.05 与健康组比较 #*P* 值 < 0.05 与对照组比较 (SNK-*q* 检验)

模型小鼠进行为期 3 个月的 GV-971 口服治疗后,水迷宫实验结果显示,健康组和对照组的逃避潜伏期随着时间的推移均呈缩短趋势,健康组比对照组趋势更为明显,治疗组的逃避潜伏期随着时间的推移呈现先缩短后延长后缩短的趋势,3 组组间、时点间以及组间 · 时点间交互作用差异有统计学意义 (*P* < 0.05),治疗组在目标象限停留的时间百分比少于健康组和对照组,差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。治疗组通过 Y 迷宫的准确率少于健康组和对照组,差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 1~3。

检验)

2.2 GV-971 降低 AD 小鼠神经炎症 硫黄素 S 对脑组织染色结果显示,与健康组相比,对照组大脑皮层和海马区 Aβ 斑块占比和斑块面积显著升高,差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)。与对照组相比,治疗组小鼠大脑皮层和海马区 Aβ 斑块占比和 Aβ 斑块面积均显著降低,差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。ELISA 结果显示,与健康组相比,对照组小鼠脑组织炎症细胞因子 IL-1β 和 TNF-α 水平显著增高,而 IL-10 水平显著降低,差异均有统计学意义 (均 *P* < 0.05)。与对照组相比,治疗组 IL-1β 和 TNF-α 水平均显著降低,而 IL-10 水平显著上升,差异均有统计学意义 (均 *P* < 0.05)。见图 1、表 4~5。

2.3 GV-971 降低 AD 小鼠 BACE 水平 qRT-PCR 和 Western blot 对各组小鼠脑组织 BACE1 的表达检测结果显示,与健康组相比,对照组小鼠脑组织中 BACE1 的 mRNA 和蛋白水平均升高,差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)。与对照组相比,治疗组小鼠大脑中 BACE1 的 mRNA 和蛋白表达下降,差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 6、图 2。

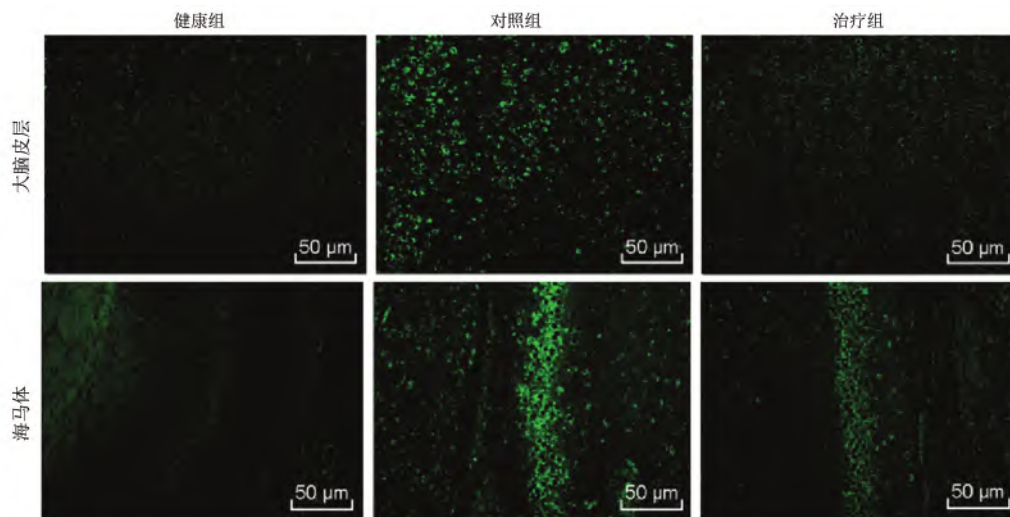


图1 硫黄素 S 染色各组小鼠大脑皮层和海马区的 Aβ 沉积

Figure 1 Thioflavin S staining of Aβ deposition in the cerebral cortex and hippocampus of each group

表4 硫黄素 S 染色各组小鼠大脑皮层和海马区的 Aβ 沉积

Table 4 Thioflavin S staining of Aβ deposition in the cerebral cortex and hippocampus of mice in each group

(n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	大脑皮层		海马体	
	斑块占比(%)	斑块面积(mm <sup>2</sup> )	斑块占比(%)	斑块面积(mm <sup>2</sup> )
健康组	0.99±0.22	170.45±7.45	1.12±0.12	100.31±4.41
对照组	1.92±0.23*	234.34±4.34*	2.45±0.45*	171.32±5.34*
治疗组	1.45±0.19#	200.32±2.32#	1.65±0.12#	130.21±3.31#
F 值	28.328	230.738	34.887	388.314
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

\* P 值<0.05 与健康组比较 # P 值<0.05 与对照组比较(SNK-q 检验)

表5 ELISA 检测小鼠脑组织炎症细胞因子

IL-1β、TNF-α 和 IL-10 的含量

Table 5 ELISA to detect the levels of inflammatory cytokines

IL-1β, TNF-α and IL-10 in brain tissues of mice

(n=6,  $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	IL-1β	TNF-α	IL-10
健康组	11.24±0.31	113.32±3.21	165.25±11.23
对照组	56.42±0.89*	230.45±3.45*	69.58±4.56*
治疗组	32.45±0.56#	172.31±2.31#	120.36±3.59#
F 值	7 652.665	2 241.558	258.078
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

\* P 值<0.05 与健康组比较 # P 值<0.05 与对照组比较(SNK-q 检验)

表6 qRT-PCR 及 Western blot 检测各组小鼠脑组织中 BACE1 表达水平

Table 6 qRT-PCR and Western blot to detect the expression level of BACE1 in the brain tissue of each group

(n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	BACE1 mRNA	BACE1 蛋白
健康组	1.00±0.04	0.29±0.04
对照组	2.01±0.05*	0.54±0.04*
治疗组	1.45±0.05#	0.41±0.01#
F 值	698.273	85.273
P 值	<0.001	<0.001

\* P 值<0.05 与健康组比较 # P 值<0.05 与对照组比较(SNK-q 检验)

检验)

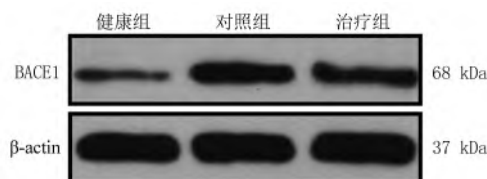


图2 Western blot 检测各组小鼠脑组织中 BACE1 的蛋白水平

Figure 2 Western blot to detect the protein level of BACE1 in the brain tissue of each group

### 3 讨 论

AD 是患者常见慢性神经退行性疾病之一,其特征是认知和记忆的进行性恶化<sup>[9-10]</sup>。AD 的组织病理学标志是含有 Aβ 的细胞外斑块和含有聚集的 tau 的细胞内缠结,以及选定脑区中的神经元和突触损失。区域差异性淀粉样 β 蛋白沉积已经在一些家族性 AD 导致 APP 和 PS-1 基因突变的转基因小鼠品系或同时表达突变 APP 和 PS-1 的双转基因小鼠中捕获<sup>[11]</sup>。

APP/PS1 小鼠品系是广泛用于模拟 AD 的动物模型,并且具有人类 AD 的许多特征,包括炎症和

突触可塑性<sup>[12]</sup>。在本研究中,9个月大的 APP/PS-1 转基因小鼠行为能力弱。APP 可以进行非淀粉样变或淀粉样变加工,这取决于切割蛋白质的分泌酶<sup>[13]</sup>,在淀粉样变形成过程中,APP 被 BACE-1 酶切割,产生细胞外可溶性 APP- $\beta$ (sAPP $\beta$ )<sup>[14]</sup>。GV-971 是一种被提出有新型作用机制的寡糖,在非临床研究中,GV-971 通过调节肠道微生物群和减少可能加重神经炎症的外周炎症,显示了大脑神经炎症的减少 GV-971 直接与 A $\beta$  结合,减少 A $\beta$  在大脑中的沉积<sup>[15-19]</sup>。在一项为期 36 周的临床实验中,GV-971 在改善认知方面表现出显著疗效,并在所有观察期内持续改善<sup>[20]</sup>。在本研究中 APP/PS1 小鼠经过 GV-971 治疗后,空间记忆及行动能力部分恢复,另外本研究显示 GV-971 能够抑制 AD 小鼠脑组织 BACE-1 的表达。BACE-1 是生成 A $\beta$  的关键酶。在转基因 AD 动物模型中,肿胀和芽生轴突末梢,失营养性神经突起高表达 BACE-1 可能是导致局部 A $\beta$  生成增多和淀粉斑发展的关键因素<sup>[21]</sup>。因此推测 GV-971 可能具有降低 sAPP $\beta$  水平的能力,由此能够下调 APP 加工从而减少 A $\beta$  的产生。

现已知,炎症在 AD 的病理学中起着重要作用<sup>[22]</sup>。神经炎症既可能是 AD 的发病原因,也可能是 AD 病理或与其相关的风险因素的结果,并通过加剧 A $\beta$  的沉积和 Tau 蛋白病变而增加疾病的严重性。本研究通过检测促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及抗炎因子 IL-10 的表达,探讨 GV-971 对 AD 小鼠神经炎症的影响。促炎细胞因子如 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  诱导空间记忆的损伤,根据淀粉样蛋白级联假说,A $\beta$  沉积在老年斑块中并引发促炎反应,导致氧化应激、神经元变性和神经炎症<sup>[23]</sup>。TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  作为常见的促炎因子,是评价机体炎症水平的常用指标。TNF- $\alpha$  是一种多功能炎症细胞因子,能够刺激 IL-6、IL-8 等因子的生成,从而使机体产生持续存在的炎症反应。IL-10 属于内源性抗炎介质,已被证实可以减轻 A $\beta$ 1-42 所致 AD 动物学习记忆功能减退。本研究结果显示,与野生型 C57 小鼠相比,APP/PS1 小鼠促炎因子水平显著上升,而抗炎因子水平显著下降,证实 AD 中的神经炎症反应。Mangalmurti 等<sup>[24]</sup> 研究表明,脑组织炎症反应与 AD 症状的发生密切相关,抑制炎症反应是治疗 AD 的关键。本研究显示,当 APP-PS1 小鼠经过 GV-971 治疗后,GV-971 炎症水平下调,提示 GV-971 对 AD 小鼠神经炎症的抑制作用。Tang 等<sup>[25]</sup> 研究显示,LPS 诱导的神经炎症可以上调 BACE-1、APP 和 A $\beta$  在脑内的表达,且过表达 BACE-1 可能对 AD

的发生具有促进作用。基于既往研究推测,GV-971 可能通过降低 BACE-1 表达从而抑制神经炎症。

综上所述,初步推测 GV-971 介导 BACE1 对 AD 小鼠神经炎症进行调控,但 BACE1 调控机制复杂,在今后的研究中,将进一步探究 BACE1 影响 AD 小鼠神经炎症相关机制。

#### [参考文献]

- [1] 杨羿.阿尔兹海默病的外科治疗进展[J].中华显微外科杂志,2022,45(4):472-475.
- [2] Syed YY. Sodium oligomannate: first approval[J]. *Drugs*, 2020,80(4):441-444.
- [3] Wang T. New drug research and development for Alzheimer's pathology: present and prospect [J]. *Shanghai Arch Psychiatry*,2017,29(4):237-239.
- [4] Wang X, Sun G, Feng T, et al. Sodium oligomannate therapeutically remodels gut microbiota and suppresses gut bacterial amino acids-shaped neuroinflammation to inhibit Alzheimer's disease progression[J]. *Cell Res*,2019,29(10):787-803.
- [5] Nakano M, Kubota K, Kobayashi E, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve cognitive impairment in an Alzheimer's disease model by increasing the expression of microRNA-146a in hippocampus[J]. *Sci Rep*, 2020,10(1):10772.
- [6] Lin K, Sze SC, Liu B, et al. 20(S)-protopanaxadiol and oleanolic acid ameliorate cognitive deficits in APP/PS1 transgenic mice by enhancing hippocampal neurogenesis[J]. *J Ginseng Res*,2021,45(2):325-333.
- [7] Ding B, Lin C, Liu Q, et al. Tanshinone IIA attenuates neuroinflammation via inhibiting RAGE/NF- $\kappa$ B signaling pathway in vivo and in vitro[J]. *J Neuroinflammation*,2020,17(1):302.
- [8] Do J, Kim N, Jeon SH, et al. Trans-cinnamaldehyde alleviates amyloid-beta pathogenesis via the SIRT1-PGC1 $\alpha$ -PPAR $\gamma$  pathway in 5XFAD transgenic mice[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(12):4492.
- [9] Cellai L, Carvalho K, Faivre E, et al. The adenosinergic signaling: a complex but promising therapeutic target for Alzheimer's disease[J]. *Front Neurosci*,2018,12:520.
- [10] Wu G, Li L, Li HM, et al. Electroacupuncture ameliorates spatial learning and memory impairment via attenuating NOX2-related oxidative stress in a rat model of Alzheimer's disease induced by A $\beta$ 1-42 [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*,2017,63(4):38-45.
- [11] Guan PP, Liang YY, Cao LL, et al. Cyclooxygenase-2 induced the  $\beta$ -amyloid protein deposition and neuronal apoptosis via upregulating the synthesis of prostaglandin E(2) and 15-deoxy- $\Delta$ (12,14)-prostaglandin J(2)[J]. *Neurotherapeutics*, 2019,16(4):1255-1268.

(下转第 639 页)

- 病,1997,4(2):3-4.
- [7] 孙冲,徐迪荣,李碧磊.改良 Rankin 量表在急性大面积脑梗死长期生存的预后价值[J].医学研究杂志,2012,41(12):179-182.
- [8] 徐荣薇.进展性缺血性脑卒中的相关因素分析[J].中国实用神经疾病杂志,2018,21(11):108-111.
- [9] 吴咏梅,陶茹莹,孟祥宝,等.缺血性脑卒中损伤机制研究进展[J].吉林中医药,2018,38(3):368-372.
- [10] Wang S, Shen B, Wei L, et al. Association between socioeconomic status and prognosis after ischemic stroke in South China[J]. *Neurol Res*,2019,41(10):916-922.
- [11] Wang X, Tian X, Pei LL, et al. The association between serum apelin-13 and the prognosis of acute ischemic stroke[J]. *Transl Stroke Res*,2020,11(4):700-707.
- [12] Ha Y, Kim D, Han S, et al. Sarcopenia predicts prognosis in patients with newly diagnosed hepatocellular carcinoma, independent of tumor stage and liver function[J]. *Cancer Res Treat*,2018,50(3):843-851.
- [13] Yeon KJ, Hyeoncheol H, Seon-Kyu K, et al. Prediction of sarcopenia using a combination of multiple serum biomarkers[J]. *Sci Rep*,2018,8(1):8574.
- [14] Mao W, Ma B, Wang K, et al. Sarcopenia predicts prognosis of bladder cancer patients after radical cystectomy: A study based on the Chinese population[J]. *Clin Transl Med*,2020,10(2):105-106.
- [15] 陈嘉敏,曾颖平,李秋慧,等.老年女性肌少症患者心肺耐力、日常生活活动能力与中医证型的关系分析[J].北京中医药,2018,37(3):215-218.
- [17] Hu X, Liao DW, Yang ZQ, et al. Sarcopenia predicts prognosis of patients with renal cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis[J]. *Int Braz J Urol*,2020,46(5):705-715.
- [18] Nagata M, Ito H, Yokose T, et al. Effect of progressive sarcopenia during postoperative 6 months on long-term prognosis of completely resected lung cancer[J]. *J Thorac Dis*,2019,11(8):3411-3420.
- [19] Deng HY, Zha P, Peng L, et al. Preoperative sarcopenia is a predictor of poor prognosis of esophageal cancer after esophagectomy: a comprehensive systematic review and meta-analysis[J]. *Dis Esophagus*,2018,32(3):115-116.
- [20] Minami S, Ihara S, Komuta K. Sarcopenia and visceral adiposity are not independent prognostic markers for extensive disease of small-cell lung cancer: a single-centered retrospective cohort study[J]. *World J Oncol*,2020,11(4):139-149.
- [21] Zengarini E, Giacconi R, Mancinelli L, et al. Prognosis and interplay of cognitive impairment and sarcopenia in older adults discharged from acute care hospitals[J]. *J Clin Med*,2019,8(10):1693-1694.

(本文编辑:何祯)

## (上接第 634 页)

- [12] Hou Y, Wei Y, Lautrup S, et al. NAD(+) supplementation reduces neuroinflammation and cell senescence in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via cGAS-STING[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2021,118(37):e2011226118.
- [13] Lee HN, Jeong MS, Jang SB. Molecular characteristics of amyloid precursor protein(APP) and its effects in cancer[J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(9):4999.
- [14] Gehlot P, Kumar S, Kumar VV, et al. Guanidine-based  $\beta$  amyloid precursor protein cleavage enzyme 1 (BACE-1) inhibitors for the Alzheimer's disease (AD): A review[J]. *Bioorg Med Chem*,2022,74:117047.
- [15] Wang X, Sun G, Feng T, et al. Sodium oligomannate therapeutically remodels gut microbiota and suppresses gut bacterial amino acids-shaped neuroinflammation to inhibit Alzheimer's disease progression[J]. *Cell Research*,2019,29(7):1-17.
- [16] 左萍萍.酸性寡糖对阿尔茨海默病模型小鼠脑内基因表达的影响[J].药学报,2005,40(12):1105-1109.
- [17] Fan Y, Hu J, Li J, et al. Effect of acidic oligosaccharide sugar chain on scopolamine-induced memory impairment in rats and its related mechanisms[J]. *Neuroence Letters*,2006,374(3):222-226.
- [18] Hu J, Geng M, Li J, et al. Acidic oligosaccharide sugar chain, a marine-derived acidic oligosaccharide, inhibits the cytotoxicity and aggregation of amyloid beta protein[J]. *J Pharmacol Sci*,2004,95(2):248-255.
- [19] Jiang RW, Du XG, Zhang X, et al. Synthesis and bioassay of [beta]-(1,4)-D-mannans as potential agents against Alzheimer's disease[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*,2013,34(12):1585-1591.
- [20] Xiao S, Chan P, Wang T, et al. A 36-week multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, phase 3 clinical trial of sodium oligomannate for mild-to-moderate Alzheimer's dementia[J]. *Alzheimers Res Ther*,2021,13(1):62.
- [21] Gehlot P, Kumar S, Kumar Vyas V, et al. Guanidine-based  $\beta$  amyloid precursor protein cleavage enzyme 1 (BACE-1) inhibitors for the Alzheimer's disease (AD): A review[J]. *Bioorg Med Chem*,2022,74:117047.
- [22] Ozben T, Ozben S. Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease[J]. *Clin Biochem*,2019,72:87-89.
- [23] Amani M, Zolghadrnasab M, Salari AA. NMDA receptor in the hippocampus alters neurobehavioral phenotypes through inflammatory cytokines in rats with sporadic Alzheimer-like disease[J]. *Physiol Behav*,2019,202:52-61.
- [24] Mangalmurti A, Lukens JR. How neurons die in Alzheimer's disease: Implications for neuroinflammation[J]. *Curr Opin Neurobiol*,2022,75:102575.
- [25] Tang JJ, Huang LF, Deng JL, et al. Cognitive enhancement and neuroprotective effects of OABL, a sesquiterpene lactone in 5xFAD Alzheimer's disease mice model [J]. *Redox Biol*,2022,50:102229.

(本文编辑:何祯)