

·基础研究·

# 电针刺激对 APP/PS1 双转基因阿尔兹海默病模型小鼠皮质老年斑形成的影响及机制研究\*

杨清华<sup>1</sup> 郭玲<sup>1</sup> 陈清<sup>1</sup> 邬开会<sup>1</sup> 伍艳君<sup>1</sup> 朱淑娟<sup>1</sup> 唐成林<sup>2</sup> 盛华均<sup>1,3</sup>

## 摘要

**目的:**研究电针刺激对 APP/PS1 双转基因阿尔兹海默病(AD)模型小鼠学习记忆和空间探索能力、皮质内老年斑(SP)的变化及形成机制的影响。

**方法:**将 3 月龄雄性小鼠随机分为 4 组:对照组、模型组、电针两疗程组和三疗程组,每组 6 只;对照组为野生型小鼠,其余三组为 APP/PS1 双转基因小鼠。通过电针刺激小鼠百会穴和肾俞穴,频率为 2Hz,电流 2mA,持续 15min,每天 1 次,7 天 1 疗程。应用水迷宫实验观察学习记忆和空间探索能力,Western Blot 分析各组皮质区的顶叶和颞叶 APP、IDE 和 BACE1 蛋白的表达水平,免疫组化检测皮质区 SP 的表达。

**结果:**行为学实验结果发现,与对照组相比,模型组小鼠的逃避潜伏期和搜索路径均明显增加( $P<0.05$ ),穿越平台的次数明显减少( $P<0.0001$ );而与模型组相比,治疗组小鼠的逃避潜伏期和搜索路径均明显缩短( $P<0.05$ ),穿越平台的次数明显增加( $P<0.01$ );与电针两疗程组相比,电针三疗程组的逃避潜伏期和搜索路径也明显缩短( $P<0.05$ ),穿越平台的次数明显增加( $P<0.05$ )。免疫组化结果显示:对照组小鼠皮质区的顶叶和颞叶没有 SP;与模型组相比,电针三疗程组的 SP 数目明显降低( $P<0.01$ )。Western Blot 检测结果显示,模型组小鼠皮质区的顶叶和颞叶 APP、BACE1 的水平明显高于对照组( $P<0.0001$ ),IDE 的水平明显低于对照组( $P<0.0001$ );而与模型组相比,两个治疗组 APP、BACE1 的表达明显下调( $P<0.05$ ;  $P<0.001$ ),IDE 的表达明显上调( $P<0.05$ ;  $P<0.01$ );电针三疗程组 APP、BACE1 的水平明显低于电针两疗程组( $P<0.01$ )。

**结论:**电针刺激能够改善 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠的学习记忆和空间探索能力;另外,电针刺激可能通过影响皮质区 APP、BACE1 以及 IDE 等蛋白表达来调节 A $\beta$  的浓度,从而减少 SP 的形成和沉积。

**关键词** 电针;阿尔兹海默病;老年斑;皮质

中图分类号:R245;R749.16 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2018)-07-0770-07

**Effects of electro-acupuncture on formation of senile plaques in cortex of APP/PS1 double transgenic Alzheimer's disease model mice and its mechanism/YANG Qinghua, GUO Ling, CHEN Qing, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2018, 33(7): 770—776**

## Abstract

**Objective:** To study effects of electro-acupuncture on the learning, memory and spatial abilities of the APP / PS1 double transgenic Alzheimer's disease (AD) model mice, the change of senile plaque (SP) in cortex and its formation mechanism.

**Method:** The male mice(3-month-old) were divided into four groups,the control group, the model group, the 2 periods of EA treatment group and the 3 periods of EA treatment group, six mice in each group, the control group consisted of the wild type mice, the other three groups consisted of APP / PS1 double transgenic mice. Acupuncture at "Baihui" and "Shenshu" acupoints of the treatment groups, then apply 2Hz, 2mA for 15 min-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2018.07.004

\*基金项目:国家自然科学基金项目(81273870);重庆市科委基础与前沿项目(cstc2014jcyjA10028);重庆市渝中区科技计划项目(20150122)

1 重庆医科大学神经科学研究中心,400016; 2 重庆医科大学中医药学院; 3 通讯作者

作者简介:杨清华,女,硕士研究生; 收稿日期:2017-10-10

utes, once a day, 7 days a period, a day break between two periods. Morris water maze test was conducted to observe the learning, memory and spatial exploration ability. The expressions of APP, IDE and BACE1 in Parietal lobe and temporal lobe of cortex were analyzed by Western Blot, and the expression of SP in cortex was detected by immunohistochemistry.

**Result:** Behavioral test showed that, the escape latency and the search path of the model group were significantly longer than that of the control group ( $P<0.05$ ). the number of crossing platforms was significantly lower ( $P<0.0001$ ). However, compared with model group, the escape latency and the search path of the treatment group were significantly shortened ( $P<0.05$ ), the number of crossing platforms were significantly increased ( $P<0.01$ ). Compared with the 2 periods of electro-acupuncture treatment group, the escape latency and the search path of the 3 periods of electro-acupuncture treatment group were also significantly shortened ( $P<0.05$ ), the number of crossing platforms was also significantly increased ( $P<0.05$ ). Immunohistochemical results showed that there was no SP in the Parietal lobe and temporal lobe of cortex of the control group, the number of SP in the 3 periods of electro-acupuncture treatment group was significantly decreased ( $P<0.01$ ) comparing with the model group. The results of Western and Blot showed that, comparing to the control group, the model group had more contents with APP, BACE1 in the Parietal lobe and temporal lobe of cortex ( $P<0.0001$ ), and less IDE ( $P<0.0001$ ). However, comparing to the model group, the two treatment groups had less contents with APP, BACE1 ( $P<0.05$ ,  $P<0.001$ ), and more contents with IDE ( $P<0.05$ ,  $PP<0.01$ ), the 3 periods of electro-acupuncture treatment group had less contents with APP and BACE1 ( $P<0.01$ ) than the 2 periods of electro-acupuncture treatment group.

**Conclusion:** Electro-acupuncture can improve the learning, memory and spatial exploration abilities of APP / PS1 double transgenic AD model mice. In addition, electro-acupuncture may regulate the content of A $\beta$  by affecting the expression of APP, BACE1 and IDE in cortex, thereby reducing the formation and deposition of SP.

**Author's address** Institute of Neuroscience, College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016

**Key word** electro-acupuncture; Alzheimer's disease; senile plaques; cortex

阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种进行性的中枢神经系统退行性疾病,AD患者临床表现为记忆力进行性丧失以及认知功能障碍,而脑内老年斑(senile plaque, SP)沉积是AD主要的病理特征。AD不仅严重影响着患者的生活质量,同时给社会带来巨大的经济负担。目前大多数治疗仅控制患者的行为症状,或减缓其发病进展,尚无有效的治疗方法<sup>[1]</sup>。

电针已被广泛应用于一系列神经系统疾病的治疗,已有的研究表明,电针疗法在提高AD模型小鼠的学习、记忆和认知能力方面是有效的<sup>[2-3]</sup>。研究发现皮质区与记忆、运动及语言功能联系密切,AD患者皮质区相较于正常人有明显萎缩,但电针疗法对皮质区SP形成的影响及其机制尚待完善。

鉴于此,本研究拟用电针法治疗APP/PS1双转基因AD模型小鼠,采用行为学检测小鼠的空间学习记忆能力,运用免疫组化方法检测皮质内SP的表

达,采用Western Blot技术检测SP相关蛋白淀粉样前体蛋白( $\beta$ -amyloid precursor protein, APP)、 $\beta$ -分泌酶( $\beta$ -site APP cleavage, BACE1)和胰岛素降解酶(insulin degrading enzyme, IDE)的表达,探索电针对AD模型小鼠皮质区SP形成的影响及相应的机制,为临床电针治疗阿尔兹海默病奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

雄性APP/PS1双转基因小鼠(AD模型小鼠,为携带人APP<sup>swe</sup>基因突变和PS1 $\Delta$ E9突变的C57小鼠)及野生型C57BL/6小鼠(WT对照小鼠)(北京华阜康生物科技股份有限公司,清洁级,动物质量合格)。动物饲养于重庆医科大学动物实验中心动物房,分笼喂养于光照/黑暗为12h/12h的恒温恒湿环境,自由摄食和饮水。所有操作均遵循重庆医科大学实验动物使用相关伦理要求。

动物分组:健康3月龄雄性野生型小鼠作为对照组;健康3月龄雄性AD转基因小鼠随机被分为模型组、电针两疗程组和电针三疗程组。以上每组动物6只,体质量24—28g。

## 1.2 主要试剂

Anti-4G8鼠单克隆抗体(Convance Inc,美国),Anti-APP兔单克隆抗体(Abcam,美国),Anti-BACE1兔多克隆抗体(Cell Signaling Technology,美国),Anti-IDE兔单克隆抗体(Abcam,美国),Anti- $\beta$ -actin鼠单克隆抗体(南京钟鼎生物技术有限公司)。

## 1.3 基因鉴定

实验动物适应性喂养1周左右,剪取长度约为3—5 mm的鼠尾,提取小鼠DNA,并进行DNA的PCR扩增。进行琼脂糖凝胶电泳,拍照分析结果。

## 1.4 电针治疗方法

小鼠用3.5%的水合氯醛(10ml/kg)腹腔注射麻醉,用一次性无菌针灸针,分别刺入小鼠的“百会穴”和“肾俞穴”,“百会穴”位于小鼠顶骨正中,两耳尖连线的中点,针刺方法为30°角向前斜刺2mm;“肾俞穴”位于第二腰椎体棘突旁1mm,针刺方法为向内斜刺4mm;同时两侧柄分别连接电针仪(6805-A II电针仪,汕头)的输出端,给予电针刺刺激,频率2Hz,电流2mA,每次15min。按照上述方法处理小鼠,每天治疗1次,7天1个疗程,疗程中间相隔1天<sup>[4-5]</sup>。

具体操作:第1—7天,取6只AD小鼠,每天按照上述方法进行电针治疗(该组为电针三疗程组);第9—15天,取另外6只AD小鼠,按照同样的方法进行电针治疗(该组为电针治疗两疗程组),同时电针三疗程组继续进行相同的治疗;第17—23天,电针治疗两疗程组和电针三疗程组均继续进行电针治疗。对照组和模型组小鼠不进行电针处理,且在实验期间,所有不进行电针治疗的小鼠都在相同时间进行模拟动物抓取和麻醉。第25天(即水迷宫实验的第一天),各组小鼠同时开始进行水迷宫实验,实验结束后立即处死。以上实验操作,每次均固定电针时间和操作人员。

## 1.5 Morris水迷宫实验

可视平台实验:水迷宫实验的第1天,平台露出水面约1cm,将各组小鼠按照分组编号依次从四个象限放入水中,每次寻找平台时间为1min,小鼠找到平台

停止实验,若没有找到则引导其找到平台并学习10s。期间观察小鼠找到平台时间(潜伏期)以及搜索路径。

隐蔽平台实验:水迷宫实验的第2—6天,平台置于水平面下约0.5cm处,其余同可视平台实验,如此重复5天。

空间探索实验:水迷宫实验的第7天,将平台撤出,将小鼠依次从四个象限放入,记录1min内穿越原有平台位置的次数。

## 1.6 取材与准备

水迷宫实验结束后,小鼠用3.5%的水合氯醛(10ml/kg)腹腔注射麻醉,开胸进行心尖快速灌注0.9%氯化钠溶液(约40ml/只),冰上取脑,右侧皮质组织用于提取蛋白,存于-80℃超低温冰箱储存待用;左侧组织放入4%多聚甲醛(4g/100ml)固定24—48h,用于石蜡包埋。

## 1.7 免疫组化

选取1.6中制作的石蜡切片,进行4G8的免疫组化染色(SABC三步法)观察脑内SP的变化。其中一抗4G8浓度为1:250,湿盒4℃冰箱过夜孵育;DAB显色(1:20),光学显微镜下观察颜色效果,苏木素染核15min;最后用中性树脂封片,常温晾干,在普通光学显微镜下采图。

## 1.8 蛋白水平的半定量检测(Western Blot)

将1.6中提取的蛋白样品从-80℃超低温冰箱取出;配胶,按照50 $\mu$ g的总蛋白上样,80V恒压电泳,250mA恒流电转;电转后封闭2h,放入4℃冰箱的一抗APP(1:1000)、BACE1(1:500)、IDE(1:1000)、 $\beta$ -actin(1:1000)盒子中分别孵育12—24h,洗一抗;37℃二抗(1:10000)孵育1h,洗二抗;ECL显色,凝胶成像系统观察。使用目的蛋白灰度值与相应 $\beta$ -actin灰度值的比值作为统计数据进行分析。

## 1.9 统计学分析

所有数值用均值 $\pm$ 标准差表示,采用SPSS统计软件17.0、Graph pad软件对数据进行分析;对照组和模型组之间对比采用独立样本 $t$ 检验,模型组、电针两疗程组和电针三疗程组的对比采用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验。

## 2 结果

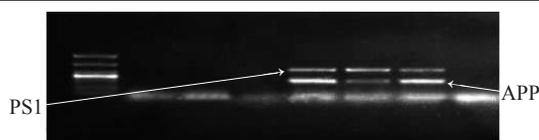
### 2.1 AD模型小鼠的基因鉴定

APP、PS1 条带双阳性表明该样本来源于 APP/PS1 双转基因小鼠,若两条带均为阴性则提示样本来源于野生型 WT 小鼠。结果证明,该实验采用的所有转基因小鼠均为 APP/PS1 双转基因小鼠,见图 1。

## 2.2 各组小鼠的行为学比较:Morris 水迷宫实验

**2.2.1 可视平台实验:**对照组与模型组、模型组与治疗组以及治疗组之间作对比,小鼠寻找到平台的平均逃避潜伏期与搜索路径均无显著性意义,表明各组小鼠的视力无明显差异,见表 1。

图 1 实验模型小鼠的基因分型鉴定结果



**2.2.2 隐蔽平台实验:**实验总共 5 天,用 d1—d5 表示,各组小鼠寻找平台的平均逃避潜伏期与搜索路径都随着小鼠游泳次数的增加呈现出下降的趋势。统计分析后发现:

**逃避潜伏期:**与对照组相比,模型组小鼠逃避潜伏期明显增加;与模型组相比,治疗组小鼠的潜伏期均显著缩短;且与电针两疗程组相比,电针三疗程组也明显缩短。见表 2。

**搜索路径:**与对照组相比,模型组小鼠搜索路径明显增加;与模型组相比,治疗组小鼠的搜索路径均明显缩短,且与电针两疗程组相比,电针三疗程组也显著缩短。见表 3。

**2.2.3 空间探索实验:**实验结果显示,与对照组相

表 1 各组小鼠的平均逃避潜伏期、搜索路径 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	逃避潜伏期(s)	搜索路径(cm)
对照组	45.47±8.23	658.34±115.23
模型组	49.00±13.86	683.14±69.65
电针两疗程组	46.08±9.52	670.80±88.31
电针三疗程组	45.71±8.53	676.55±86.98

比,模型组小鼠穿越平台次数明显减少;与模型组小鼠相比,治疗组小鼠穿越平台次数均显著增加;且与电针两疗程组相比,电针三疗程组小鼠穿越平台次数明显增加,见表 4。

以上水迷宫实验结果表明,模型组小鼠与对照组相比,其学习、记忆和空间探索能力显著降低;对于电针刺激处理后的 AD 模型鼠,其平均逃避潜伏期与搜索路径缩短了,穿越平台的次数增加了。

## 2.3 各组小鼠皮质区 SP 的表达比较

取每组小鼠的 6 张脑片进行 4G8 阳性斑块计数。结果显示:与模型组相比,电针三疗程组小鼠脑内皮质 SP 数量明显减少;见表 5、图 2。

## 2.4 SP 相关蛋白在每组小鼠皮质区的表达情况

**2.4.1 各组小鼠皮质区 APP 的表达情况:**模型组小鼠 APP 表达量明显高于对照组;与模型组相比,治疗组表达均明显下调;且与电针两疗程组相比,电针三疗程组表达明显下调。见图 3、表 6。

**2.4.2 各组小鼠皮质区 BACE1 的表达情况:**模型组小鼠 BACE1 表达量明显高于对照组;与模型组相比,治疗组表达均明显下调;且与电针两疗程组相比,电针三疗程组表达明显下调。见图 4、表 6。

表 2 各组小鼠寻找到的平均逃避潜伏期 ( $\bar{x}\pm s, s$ )

组别	动物数	d1	d2	d3	d4	d5
对照组	6	23.23±4.25	20.35±4.56	16.24±5.24	10.78±4.38	7.68±5.38
模型组	6	39.50±8.04 <sup>①</sup>	33.80±3.93 <sup>②</sup>	27.46±4.77 <sup>③</sup>	22.38±8.86 <sup>④</sup>	19.38±2.12 <sup>⑤</sup>
电针两疗程组	6	31.83±7.62	27.67±8.18	24.71±9.66	19.17±6.94	11.79±2.46 <sup>⑥</sup>
电针三疗程组	6	26.3±5.37 <sup>⑦</sup>	24.0±7.73	22.83±6.42	13.29±4.27 <sup>⑧</sup>	7.92±1.53 <sup>⑨⑩</sup>

与对照组相比:① $t=-3.997, P=0.003$ ;② $t=-2.440, P=0.035$ ;③ $t=-3.549, P=0.005$ ;④ $t=-2.619, P=0.026$ ;⑤ $t=-4.521, P=0.003$   
与模型组相比:⑥ $P=0.003$ ;⑦ $P=0.005$ ;⑧ $P=0.037$ ;⑨ $P<0.0001$ ;与电针两疗程组相比:⑩ $P=0.043$

表 3 各组小鼠寻找到的搜索路径 ( $\bar{x}\pm s, cm$ )

组别	动物数	d1	d2	d3	d4	d5
对照组	6	278.35±43.26	135.46±23.63	87.66±22.35	44.54±14.35	38.35±9.57
模型组	6	435.41±64.00 <sup>①</sup>	348.91±35.18 <sup>②</sup>	271.69±60.39 <sup>③</sup>	255.05±31.81 <sup>④</sup>	221.16±38.68 <sup>⑤</sup>
电针两疗程组	6	415.05±54.98	300.86±58.08	218.30±57.75	186.23±26.44 <sup>⑥</sup>	147.03±28.93 <sup>⑦</sup>
电针三疗程组	6	360.55±70.80	295.21±52.26	216.73±59.56	120.83±23.20 <sup>⑧⑨</sup>	88.06±15.93 <sup>⑩⑪</sup>

与对照组相比:① $t=-4.546, P=0.001$ ;② $t=-11.263, P<0.0001$ ;③ $t=-6.389, P=0.0006$ ;④ $t=-13.49, P<0.0001$ ;⑤ $t=-10.259, P<0.0001$   
与模型组相比:⑥ $P=0.0003$ ;⑦ $P<0.0001$ ;⑧ $P=0.042$ ;⑨ $P=0.001$ ;与电针两疗程组相比:⑩ $P=0.0005$ ;⑪ $P=0.025$

表4 各组小鼠穿越平台的次数 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	动物数	穿越平台次数
对照组	6	6.24±0.33
模型组	6	1.33±0.72 <sup>①</sup>
电针两疗程组	6	2.79±0.77 <sup>②</sup>
电针三疗程组	6	3.92±0.55 <sup>③④</sup>

注:与对照组相比:① $t=14.004, P<0.0001$ ;与模型组相比:② $P=0.001$ ;③ $P<0.0001$ ;与电针两疗程组相比:④ $P=0.009$

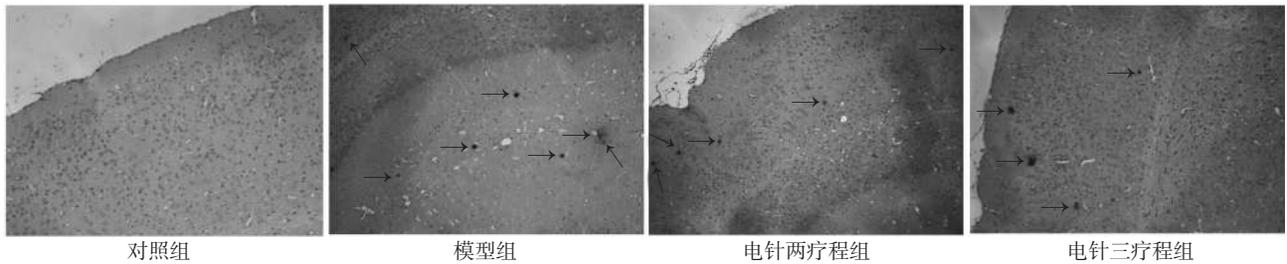
表5 各组小鼠皮质区老年斑的表达数目

组别	动物数	皮质区老年斑数目/个
对照组	6	0
模型组	6	7.50±1.80
电针两疗程组	6	5.83±1.21
电针三疗程组	6	4.67±0.75 <sup>①</sup>

注:①与模型组相比 $P=0.004$

图2 各组小鼠皮质区老年斑的表达情况

(4G8染色,×100)



2.4.3 各组小鼠大脑皮质区 IDE 的表达情况:模型组小鼠 IDE 表达量明显低于对照组;与模型组相比,治疗组表达均明显增加。见图5、表6。

### 3 讨论

AD是老年痴呆的主要类型,是以进行性认知障碍和行为损害为特征的中枢神经系统退行性病

图3 各组小鼠皮质区淀粉样前体蛋白的表达水平

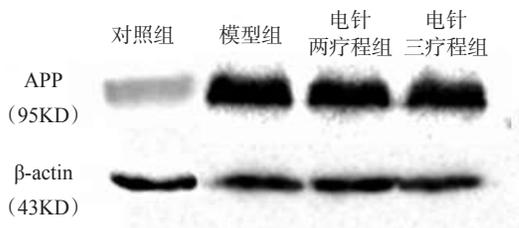


表6 各组小鼠皮质区 APP、BACE1 和 IDE 蛋白的表达水平

组别	动物数	APP	BACE1	IDE
对照组	6	0.24±0.03	0.21±0.02	8.05±0.18
模型组	6	1.63±0.03 <sup>①</sup>	3.35±0.19 <sup>①</sup>	2.37±0.18 <sup>①</sup>
电针两疗程组	6	1.26±0.08 <sup>②</sup>	2.56±0.37 <sup>②</sup>	4.35±1.03 <sup>②</sup>
电针三疗程组	6	0.93±0.15 <sup>③④</sup>	1.52±0.44 <sup>③④</sup>	5.37±1.03 <sup>③</sup>

APP:与对照组相比:① $t=47.307, P<0.0001$ ;与模型组相比:② $P=0.003$ ;③ $P<0.0001$ ;与电针两疗程组相比:④ $P=0.006$

BACE1:与对照组相比:① $t=23.065, P<0.0001$ ;与模型组相比:② $P=0.033$ ;③ $P=0.0003$ ;与电针两疗程组相比:④ $P=0.009$

IDE:与对照组相比:① $t=31.123, P<0.0001$ ;与模型组相比:② $P=0.029$ ;③ $P=0.004$

图4 各组小鼠皮质区 β-分泌酶的表达水平

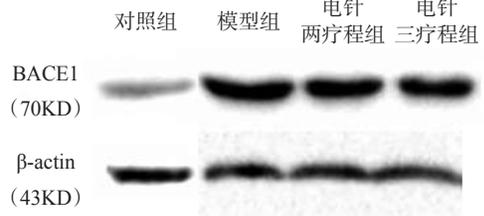
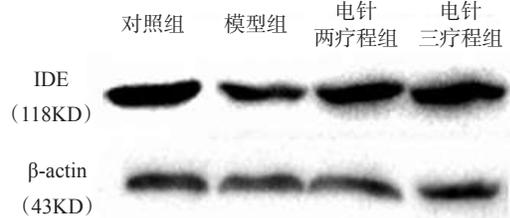


图5 各组小鼠皮质区胰岛素降解酶的表达水平



变,SP的形成是其主要病理特征之一。尽管对AD的研究已经有很多进展,但至今尚无有效的治疗方法<sup>[1]</sup>。目前,AD研究中使用的动物模型大多是通过脑内注射或腹腔注射 Aβ,模型动物在模拟AD病理学特征方面存在一定的缺陷,且在造模过程中存在很多不确定因素。因此,本实验将采用转入人类APP/PS1 突变基因的双转基因AD模型小鼠,是一种理想而可靠的AD动物模型。

AD患者的典型临床表现为学习、记忆及认知

等功能障碍;研究发现电针疗法能在一定程度上提高AD模型小鼠的学习、记忆和认知能力<sup>[2-3]</sup>,但对皮质区SP形成的影响以及相应的机制尚待完善。鉴于此,本研究拟用电针法治疗APP/PS1双转基因AD模型小鼠,通过行为学方法检测小鼠的空间学习记忆能力,免疫组化方法检测小鼠脑内SP的表达,Western Blot技术检测SP形成的相关蛋白——淀粉样前体蛋白APP、BACE1和IDE的表达,探索电针对AD模型小鼠学习及认知能力的影响,及皮质区SP的变化及形成机制,为临床电针治疗阿尔兹海默病积累实验资料。

传统的中医药理论以“整体观念”出发,采用“辨证论治”的理念,几千年来在防病治病方面有力的证明了其成效。近些年,研究者对经络治疗疾病有效性的机制进行了大量的实验,取得了长足进步,但其发病机制尚待研究。

AD作为慢性退行性疾病之一,因其随着年龄的增长而呈现发病率增高的趋势,以及病因和发病机制的不明了,使得治疗手段局限,效果不理想。而从中医的角度出发,应用辨证施治理念,我们认为老年性痴呆以肾虚髓空为本,其病变于脑;“益肾”则可使肾精充足,藏志生髓,“调督”可振奋人体阳气,通髓达脑,调节全身脏腑机能,从而改善人体的精神意识思维活动。而电针疗法是将针刺与电刺激结合而形成的一种中医治疗手段,可以通过调整脉冲频率控制治疗效果。故本实验采用电针刺刺激膀胱经上的相应俞穴——“肾俞”穴和督脉上的“百会”穴。另外,本实验所采纳的APP/PS1双转基因AD模型小鼠不仅脑内出现SP沉积,且随月龄增长SP的量呈进行性增多,能够在一定程度上模拟AD患者的病理表现<sup>[6]</sup>。

众所周知,SP是患者脑内细胞外A $\beta$ 42的过度沉积造成的。研究表明,A $\beta$ 是由APP加工处理产生,BACE1是这个过程的关键限速酶,可使其浓度升高,而体内A $\beta$ 的浓度不仅受其生成的调节,而且与其降解有关。IDE是催化A $\beta$ 降解的重要水解酶,可使其浓度降低<sup>[7-9]</sup>。因此,APP、BACE1和IDE共同调节A $\beta$ 生成的量,从而关系到SP的形成过程。

本实验结果表明:一方面通过电针处理可以明显改善模型鼠的学习记忆能力和空间探索能力;另

一方面,电针处理后模型鼠脑内SP的数量减少,并且能够使模型鼠皮质内APP和BACE1蛋白表达增加,IDE蛋白表达减少,从而调节A $\beta$ 的生成;并且电针处理两疗程时,模型鼠的各项指标即有变化,三疗程时变化更显著。因此,本研究结果从SP产生的角度阐释了电针“肾俞”和“百会”穴的机制,具有一定的价值和意义。

已往的研究还发现,针刺“四关”穴可以改变AD模型鼠海马区白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白介素-2(IL-2)及A $\beta$ 42的表达<sup>[10]</sup>,还可通过提高超氧化物歧化酶的活性,加速有毒物质的清除而改善模型鼠的学习记忆能力<sup>[11]</sup>。张月峰等<sup>[12]</sup>报道通过针刺“膻中”、“中脘”、“气海”、“足三里”和“血海”等穴位,使用三焦针法能够减少神经元的丢失、减少星形胶质细胞的活化,从而调整神经元与胶质细胞的关系来维持中枢神经系统的正常结构与功能。在行为学方面,周丽莎与佟欣等<sup>[13-14]</sup>发现电针针刺“百会”、“肾俞”和“足三里”等穴位可显著改善痴呆大鼠的空间学习记忆能力。关珊珊等<sup>[15]</sup>通过电针针刺“百会”、“大椎”、“肾俞”、“太溪”、“足三里”等穴位,发现AD模型大鼠海马CA1区神经元细胞治疗后比治疗前排列规则。望庐山等<sup>[16]</sup>从神经递质角度探究,结果提示电针针刺“百会”、“肾俞”、“足三里”,可以提高大鼠皮质乙酰胆碱转移酶(Acetylcholine Transferase, ChAT)的活性,抑制胆碱酯酶(Cholinesterase, AchE)的活性,促进乙酰胆碱(Acetylcholine, Ach)的合成,抑制Ach的分解,增加脑组织的Ach含量,从而逆转记忆力下降。纵观众多相关文献,可以发现:针刺一定的穴位均可在一定程度上改善AD模型鼠的学习记忆和认知功能,还可使许多病理路径发生变化而起到一定的效果。因此,针灸可能发挥了多方面的综合治疗作用,具有潜在的应用前景;但也存在着一些问题:①在AD动物模型身上针刺的穴位选择各式各样<sup>[10-11,17-18]</sup>,没有统一的标准,那究竟是哪些穴位在发挥主要的治疗作用不得而知;②治疗时间长短的选择;③在相关病理机制解释方面,亦不能清楚解释这些机制之间的因果关系等等。

综上所述,电针法能够有效改善AD模型鼠的学习记忆和空间探索能力,并且还可通过调节皮质内APP、BACE1和IDE蛋白的表达影响A $\beta$ 的生成,

从而减少AD模型鼠脑内SP的量。本研究为电针在阿尔兹海默病的临床治疗方面提供了实验依据。但依然存在许多问题尚待解决。

#### 4 结论

电针刺激能够减少APP/PS1双转基因AD模型小鼠脑内SP的形成和沉积,从而改善其学习记忆和空间探索能力。

#### 参考文献

[1] 宋昕,洪羽蓉,胡秋莹.阿尔兹海默病发病原因及机制的研究进展[J].临床和实验医学杂志,2015,14(10):871—873.  
[2] 王少锦,康锁彬,李爱英.针刺拟痴呆大鼠对脑内自由基系统与胆碱能系统功能影响相关性的分析[J].针刺研究,2004,29(2):102—107.  
[3] 张秀景.电针对拟血管性痴呆小鼠海马单胺类神经递质和氧自由基影响的研究[D].河北:河北医科大学,2014.  
[4] 李翀,韩燕燕,樊小农.电针足三里对AD小鼠大脑皮层APP和A $\beta$ 表达的影响[J].陕西中医,2015,36(5):626—628.  
[5] 韩向博,王鑫,李志刚,等.电针对SAMP8小鼠海马区PS1蛋白表达的影响[J].现代生物医学进展,2015,15(22):4225—4229.  
[6] 龙志敏,赵蕾,贺桂琼,等.丙戊酸钠对APP/PS1双重转基因AD模型小鼠脑内老年斑和神经元的影响[J].中国神经精神疾病杂志,2011,37(8):477—481.  
[7] 陈通,龙志敏,贺桂琼,等.丙戊酸钠对APP/PS1转基因小鼠自主活动及脑形态结构的影响[J].第三军医大学学报,2012,34(9):870—873.  
[8] Llovera RE, Detullio M, Alonso LG, et al. The catalytic do-

main of insulin-degrading enzyme forms a denaturant-resistant complex with amyloid b peptide: implications for Alzheimer's disease pathogenesis[J]. J Biol Chem, 2008, 283(25):17039—17048.  
[9] Haque R, Nazir A. Identification and functional characterization of a putative IDE, C28F5.4(ceIDE-1), in *Caenorhabditis elegans*: Implications for Alzheimer's disease[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1860(11Pt A):2454—2462.  
[10] 姜美驰,梁静,许建阳,等.针刺“四关”穴对阿尔兹海默病大鼠学习记忆及海马区 $\beta$ 淀粉样蛋白42、白介素-1 $\beta$ 和白介素-2的影响[J].针刺研究,2016,41(2):113—118.  
[11] 王定雪,司玲,许建阳,等.针刺对阿尔兹海默病大鼠学习记忆能力及SOD、MDA的影响[J].武警医学,2013,24(4):271—285.  
[12] 张月峰,于建春,韩景献,等.针刺对快速老化P8亚系小鼠海马神经元丢失与星形胶质细胞增生的干预作用[J].针刺研究,2013,38(5):358—364.  
[13] 周丽莎,望庐山.电针对AD大鼠学习记忆能力及神经元凋亡的影响[J].江汉大学学报(自然科学版),2009,37(2):78—81.  
[14] 佟欣,刘丹丹,卫彦,等.电针对阿尔兹海默病模型大鼠认知行为影响的实验研究[J].长春中医药大学学报,2012,28(1):20—21.  
[15] 关珊珊,张鹏,孙楠,等.电针对链脲霉素AD模型大鼠学习记忆及海马CA-1区神经元的影响[J].针灸临床杂志,2010,26(4):50—53.  
[16] 望庐山,周丽莎.电针治疗对阿尔兹海默病大鼠Ach、ChAT、AchE的影响[J].针灸临床杂志,2009,25(6):40—42,54.  
[17] 田贵华.长期电针刺激百会、足三里对SHR大鼠海马CA1区微血管和神经元损伤的改善作用[D].北京:北京中医药大学,2012.  
[18] 唐冀.“益肾调督”针灸法对AD模型大鼠导素Netrins和轴突生长抑制蛋白MAG的影响[D].长沙:湖北中医药大学,2014.

(上接第762页)

157: 247—272.  
[23] Voss EV, Skuljec J, Gudi V, et al. Characterisation of microglia during de- and remyelination: can they create a repair promoting environment?[J]. Neurobiol Dis, 2012, 45(1): 519—528.  
[24] Wang R, Li J, Duan Y, et al. Effects of erythropoietin on gliogenesis during cerebral ischemic/reperfusion recovery in adult mice[J]. Aging Dis, 2017, 8(4): 410—419.  
[25] Hamzei TS, Kho W, Riou A, et al. MiRNA-124 induces neuroprotection and functional improvement after focal cerebral ischemia[J]. Biomaterials, 2016, 91: 151—165.  
[26] Hillman CH, Erickson KI, Kramer AF. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition[J]. Nat Rev Neurosci, 2008, 9(1): 58—65.  
[27] Hotting K, Roder B. Beneficial effects of physical exercise

on neuroplasticity and cognition[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2013, 37(9 Pt B): 2243—2257.  
[28] Jensen SK, Yong VW. Microglial modulation as a mechanism behind the promotion of central nervous system well-being by physical exercise[J]. Clin Exp Neuroimmunol, 2014, 5(2):188—201.  
[29] Kohman RA, Deyoung EK, Bhattacharya TK, et al. Wheel running attenuates microglia proliferation and increases expression of a proneurogenic phenotype in the hippocampus of aged mice[J]. Brain Behav Immun, 2012, 26(5): 803—810.  
[30] Piao CS, Stoica BA, Wu J, et al. Late exercise reduces neuroinflammation and cognitive dysfunction after traumatic brain injury[J]. Neurobiol Dis, 2013, 54: 252—263.