

DOI: 10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-05-006

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

法舒地尔对 $A\beta_{1-42}$ 诱导的阿尔茨海默症 PC12 细胞的保护作用

高晔^{1abc}, 王坤^{1a,2}, 郑宇程^{1a}, 张楠^{1a}, 梁祖儿^{1a}, 闫海龙^{1abc}

(1.大同大学 a.医学院, b.脑科学研究所, C.老年慢性病智慧医康养重点实验室, 大同 037009; 2.三峡大学基础医学院, 宜昌 443002)

摘要 目的 探究法舒地尔对阿尔茨海默症(AD)体外模型中的 $A\beta_{1-42}$ 及 p-Tau 蛋白在氧化应激方面的影响。方法 不同浓度 $A\beta_{1-42}$ 作用于 PC12 细胞后,用 CCK8 法检测 $A\beta_{1-42}$ 对 PC12 细胞活力的影响,从而建立 AD 的体外细胞模型。经法舒地尔治疗后,用免疫荧光法检测 p-Tau 蛋白和 $A\beta_{1-42}$ 的表达水平,同时检测凋亡信号调节激酶 1(ASK1)表达情况。结果 1.0 $\mu\text{mol/L}$ $A\beta_{1-42}$ 对 PC12 细胞的增殖活性具有抑制作用,进一步验证 $A\beta_{1-42}$ 在神经细胞中的毒害作用。同时,法舒地尔的加入能够降低 p-Tau 蛋白和 $A\beta_{1-42}$ 的表达水平,表明法舒地尔能够减轻 $A\beta_{1-42}$ 对细胞的毒性作用。此外,法舒地尔通过调节细胞内信号转导通路,减少细胞凋亡和炎症反应,下调 p-ASK1 的表达水平,保护 PC12 细胞免受 $A\beta_{1-42}$ 的损害。结论 法舒地尔对 $A\beta_{1-42}$ 诱导的阿尔茨海默症 PC12 细胞具有保护作用,能够抑制疾病发展中的关键病理变化。

关键词: 阿尔茨海默症;法舒地尔; $A\beta_{1-42}$

中图分类号:R749.16

文献标志码:A

文章编号:1008-2409(2024)05-0036-07

Protective effects of fasudil's against Alzheimer's disease PC12 cells induced by $A\beta_{1-42}$

GAO Ye^{1abc}, WANG Kun^{1a,2}, ZHENG Yucheng^{1a}, ZHANG Nan^{1a}, LIANG Zu'er^{1a}, YAN Hailong^{1abc}

(1. a.College of Medical, b. Brain Science Institute, c. Key Laboratory of Molecular Cellular Immunology, Shanxi Dotong University, Datong 037009, China; 2. College of Basic Medical, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract Objective To investigate the effects of fasudil on p-Tau protein and $A\beta_{1-42}$ in oxidative stress in an *in vitro* model of Alzheimer's disease (AD). **Methods** Following exposure to varying concentrations of

基金项目:山西省科技厅项目(202203021221208,202103021224315,20210302124400);山西省医学重点科技计划项目(2023XM033);大同大学大学生创新创业训练计划项目(XDC2019249)。

第一作者:高晔,博士,副教授,研究方向为动物科学与病理生理学。

通信作者:闫海龙, ylhailong@126.com。

A β_{1-42} (1 $\mu\text{mol/L}$) on PC12 cells, the CCK8 assay was employed to investigate the impact of A β_{1-42} on PC12 cell viability, thereby creating a cellular model of AD. Immunofluorescence was used to measure the expression levels of the p-Tau and A β_{1-42} following fasudil treatment. The expression of apoptosis signal-regulated kinase 1 (ASK1) was also detected. Simultaneously, fasudil treatment was able to lower the levels of A β_{1-42} and p-Tau expression, indicating that fasudil was able to lessen the harmful effects of A β_{1-42} on cells. Furthermore, fasudil inhibited p-ASK1 expression and shielded PC12 cells from A β_{1-42} damage by controlling intracellular signaling pathways, lowering inflammatory reactions, and apoptosis. **Results** The detrimental impact of A β_{1-42} on neural cells was further confirmed by its inhibitory effect on PC12 cells' proliferative activity at a concentration of 1 $\mu\text{mol/L}$. Meanwhile, the addition of fasudil was able to reduce the expression levels of p-Tau protein and A β_{1-42} , indicating that fasudil was able to mitigate the toxic effects of A β_{1-42} on cells. Additionally, fasudil reduced p-ASK1 expression levels and protected PC12 cells by regulating intracellular signaling pathways, reducing apoptosis and inflammation. **Conclusion** Fasudil has a protective effect on A β_{1-42} -induced Alzheimer's disease PC12 cells, which can inhibit key pathological changes in disease development, reduce the expression of p-Tau and A β_{1-42} , improve the damage caused by oxidative stress and downregulate p-ASK1 expression levels, which has promising applications in the treatment of Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer's disease; fasudil; A β_{1-42}

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是一组以记忆、行为功能障碍为主, 伴有人格改变、智能减退以及精神行为异常等表现的中枢神经系统退行性疾病^[1]。AD 的发病机制主要包括 β 淀粉样蛋白假说、Tau 蛋白假说、炎症反应假说、氧化应激假说等机制^[2]。从病理学上讲, AD 的特征在于神经病理学标志, 如淀粉样蛋白 β (amyloid beta-protein, A β) 形成的细胞外老年斑块 (senile plaques, SP) 和由 Tau 蛋白过度磷酸化在细胞内形成神经元纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT)^[3]。A β 的沉积和过度磷酸化的 Tau 蛋白可造成神经元凋亡, 最终导致 AD^[4]。

众所周知, 氧化应激在 AD 的发病机制中起着至关重要的作用^[5]。氧化应激是衰老过程中的一个特征表现, 当氧化水平超过内源性抗氧化防御时, 氧化应激就会发生, 进而引起生物大分子的不可逆变化。此外, 比起其他器官组织, 大脑的耗氧量高, 抗氧化系统相对较弱, 是最易受氧化应激影响的区域^[6]。海马体作为一个重要的记忆中心, 在 AD 的发生发展中, 它可能是受氧化损伤影响而发生细胞死亡的第一个脑区^[7]。在与氧化应激相关的阿尔茨海默病中, 神经细胞凋亡受多种信号通路的调节, 其

中重要的是丝氨酸-苏氨酸相关蛋白激酶, 它参与调节各种细胞活动, 包括增殖、黏附、收缩、分泌和凋亡^[8]。Rho 激酶 (Rho-associated kinase, ROCK) 是参与细胞氧化应激反应的主要激酶之一, 完整的 ROCK 信号通路, 包括上游的 Rho 活性受体、下游的 ROCK 及其底物^[9]。ROCK 与三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP) 结合转化为有活性的 Rho-GTP 形式, 这一过程作为一个分子开关, 可介导包括氧化应激在内的各种炎症反应^[10]。相关研究^[11] 结果表明, ROCK 过表达有助于神经退行性疾病的发展和进展, 如多发性硬化、帕金森病和 AD。目前, 相关研究^[12] 结果表明, ROCK 抑制剂能显著改善淀粉样前体蛋白/早老素-1 小鼠的认知能力, 同时减少全脑的病理性产物, 如 A β 沉积、p-Tau 蛋白以及 β 位点淀粉样前体蛋白切割酶。因此, ROCK 抑制剂的应用将是未来治疗神经系统疾病的新方法。法舒地尔是一种选择性 ROCK 抑制剂, 已在临床实践中用于缓解脑血管痉挛^[13]。而且, 它已被证明可以增强记忆和改善阿尔茨海默病患者的病理变化^[13]。相关研究^[14] 结果表明, 法舒地尔在中枢神经系统具有多种功能, 包括激活内源性神经干细胞、促进神经营养因子释放、抑制细胞内钙释放、促进脑血管扩张、保护

神经细胞、改善神经功能、促进轴突再生。

法舒地尔是一种能够治疗包括AD在内的中枢神经系统疾病的潜在药物。然而,法舒地尔对AD是否有抗氧化作用及其确切的机制尚不清楚,关于法舒地尔在体内是如何调节氧化应激的分子机制研究也较少。鉴于此,本研究旨在探讨法舒地尔对AD体外模型中 $A\beta_{1-42}$ 蛋白及p-Tau蛋白在氧化应激方面的影响;同时,探讨不同浓度的 $A\beta_{1-42}$ 对PC12细胞存活率的影响,并根据该结果来确定本次试验所需 $A\beta_{1-42}$ 的最佳浓度。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

PC12细胞(购自武汉普诺赛生命科技有限公司)、 $A\beta_{1-42}$ (购自美国Sigma公司)、法舒地尔(购自天津红日药业股份有限公司)、Triton X-100(购自中国试剂有限公司)、PBS[购自中海威(北京)基因科技有限公司]、无血清DMEM培养液(购自武汉普诺赛生命科技有限公司)、牛血清白蛋白(购自美国Cell Biolabs公司)、p-Tau兔单抗和p-ASK1(购自美国cell signaling technology公司)、 $A\beta_{1-42}$ 兔单抗(购自美国Millipore公司)、FITC或Cy3标记的二抗(购自美国Invitgen公司)、硫代巴比妥钠(购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司)、多聚甲醛(购自美国杜邦公司)、酶标仪(购自美国Bio-Rad伯乐公司)、共焦显微镜(购自日本奥林巴斯FV1000公司)。

1.2 不同浓度 $A\beta_{1-42}$ 对PC12细胞存活率的影响

将PC12细胞以 3×10^4 个/孔的密度接种于96孔培养板上(每孔100 μL),分为对照组及0.5 $\mu\text{mol/L}$ 、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 、2.0 $\mu\text{mol/L}$ $A\beta_{1-42}$ 组,每组设4个复孔。细胞贴壁培养24 h后,将相应各组分别替换成含不同浓度的 $A\beta_{1-42}$ 无血清DMEM培养液,每孔干预体积为50 μL ,每组细胞在37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养24 h。孵育后,将CCK8添加到每个培养孔中,并将细胞在37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育4 h,测量450 nm的吸光度。计算细胞存活率=[(试验组光吸收值-空白组光吸收值)/(对照组吸光度-空白组吸光度) $\times 100\%$]。

1.3 体外AD细胞模型建立和免疫荧光染色

将1.0 $\mu\text{mol/L}$ $A\beta_{1-42}$ 添加到PC12细胞中,建立AD的体外细胞模型,处理24 h后,然后添加法舒地

尔,试验分为3组,分别为对照组、 $A\beta_{1-42}$ 组、法舒地尔+ $A\beta_{1-42}$ 组(15.0 $\mu\text{g/mL}$ 法舒地尔)。将细胞在37 $^{\circ}\text{C}$ 的环境下培育24 h后离心,再在24孔板的盖玻片上培养细胞,细胞贴壁后用硫代巴比妥钠洗涤3次,4%冷多聚甲醛室温固定30 min。洗涤后的细胞用0.1% Triton X-100渗透15 min,再用PBS冲洗,室温下用1%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)封闭30 min。然后,将细胞与p-Tau兔单抗(1:200)、 $A\beta_{1-42}$ (1:500)两种溶液混合后,在4 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下过夜。细胞用PBS洗涤3次,用FITC或Cy3标记的二抗在RT条件下孵育1 h,然后用PBS彻底洗涤3次。将修改后的盖片安装在玻璃片上,并用共焦显微镜观察。

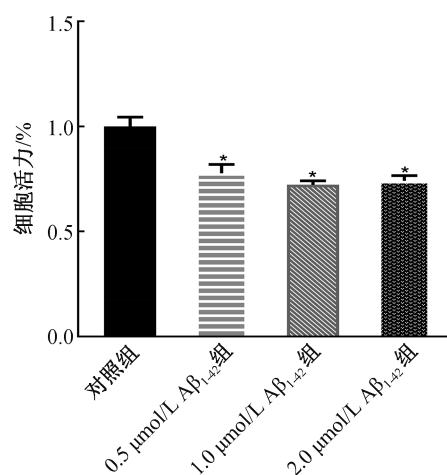
1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,进行t检验。* $P < 0.05$,** $P < 0.001$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 $A\beta_{1-42}$ 对PC12细胞活力的影响

将0.5 $\mu\text{mol/L}$ 、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 、2.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 $A\beta_{1-42}$ 处理PC12细胞后,采用CCK8法检测细胞活性,结果显示,三种不同浓度的 $A\beta_{1-42}$ 都可以显著抑制PC12细胞增殖,其中1.0 $\mu\text{mol/L}$ $A\beta_{1-42}$ 对PC12细胞增殖活性的抑制效果最明显($P < 0.05$),结果如图1所示。



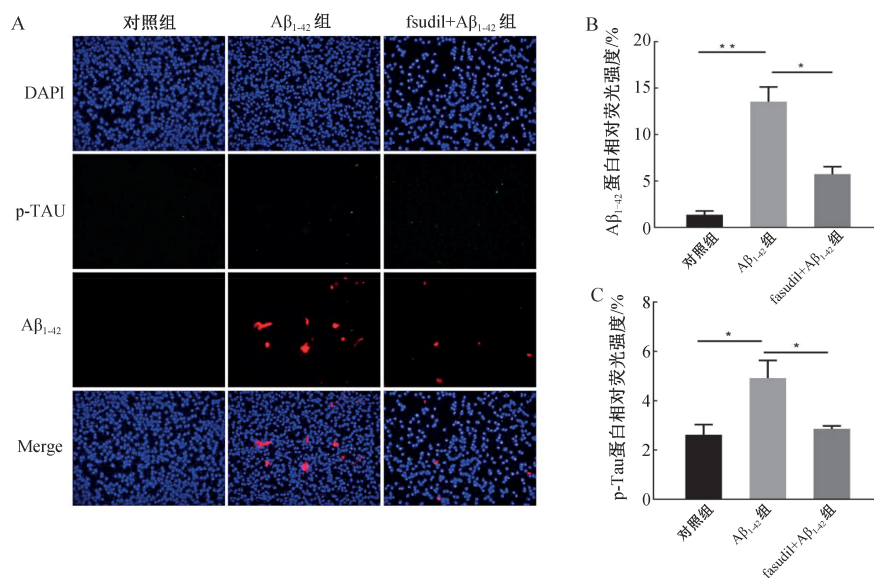
注:与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

图1 不同浓度 $A\beta_{1-42}$ 对PC12细胞增殖的影响

2.2 法舒地尔对体外 AD 模型中 p-Tau 蛋白和 Aβ₁₋₄₂ 蛋白表达的影响

通过免疫荧光法检测 p-Tau 蛋白和 Aβ₁₋₄₂ 蛋白的表达水平,结果显示,与对照组比较,Aβ₁₋₄₂ 组的 p-

Tau 蛋白和 Aβ₁₋₄₂ 蛋白表达增加,而与 Aβ₁₋₄₂ 组比较,法舒地尔+Aβ₁₋₄₂ 组的 p-Tau 蛋白和 Aβ₁₋₄₂ 蛋白表达下降($P<0.05$),结果如图 2 所示。

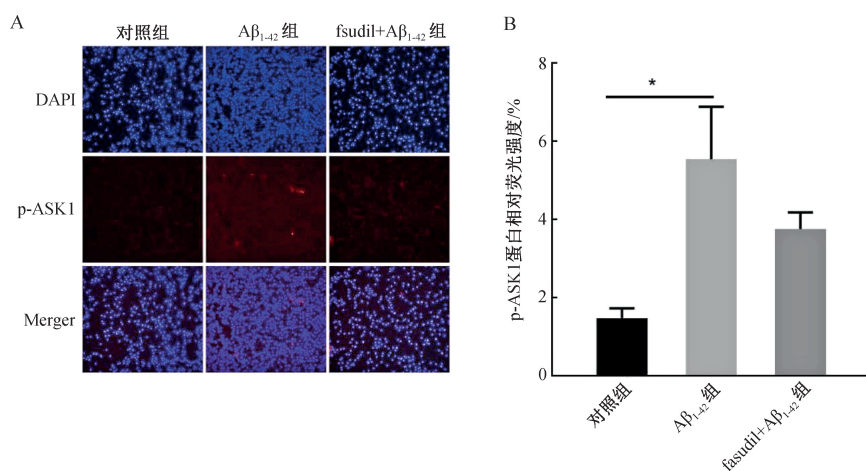


注:A.免疫荧光法分析 Aβ₁₋₄₂ 蛋白和 p-Tau 蛋白的表达水平,蓝色荧光为 DAPI 染核,绿色荧光为 p-Tau 蛋白,红色荧光为 Aβ₁₋₄₂ 蛋白; B.Aβ₁₋₄₂ 蛋白的平均免疫荧光强度柱状图;c. p-Tau 蛋白的平均免疫荧光强度柱状图。与 Aβ₁₋₄₂ 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.001$ 。

图 2 PC12 细胞中 Aβ₁₋₄₂ 蛋白和 p-Tau 蛋白的免疫荧光表达

2.3 法舒地尔对体外 AD 模型中凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1) 表达的影响

通过免疫荧光法检测 p-ASK1 的表达水平,结果显示,与 Aβ₁₋₄₂ 组相比,加入法舒地尔后,p-ASK1 蛋白的平均免疫荧光强度下降($P<0.05$)。



注:A.免疫荧光法分析 p-ASK1 蛋白表达水平,红色荧光为 p-ASK1 蛋白,蓝色荧光为 DAPI 染核; B. p-ASK1 蛋白的平均免疫荧光强度柱状图。与对照组比较,* $P<0.05$ 。

图 3 PC12 细胞中 p-ASK1 蛋白的免疫荧光表达

3 讨论

阿尔茨海默病(AD)是一种复杂的中枢神经系统的退行性疾病,其主要特征是进行性的认知功能障碍和行为损害。AD的确切发病机制仍不清楚,目前有多种假说试图解释其具体的发病机制以及病理变化,包括A β 瀑布学说、Tau蛋白学说、神经血管假说等。相关研究^[15]结果表明,AD的一个关键病理变化是海马体细胞外A β 的沉积,通过触发一系列淀粉样级联,形成老年斑块,最终导致痴呆。因此,抑制A β 的产生被认为是改善AD早期病理进展的重要策略^[16]。关于Tau蛋白学说的研究也相对较多,其主要内容为富含脯氨酸的微管结合域上游和其断端尾部区域的Tau蛋白磷酸化,会抑制微管的组装,促进其自聚集并破坏微管结构,形成细胞内神经纤维缠结NFT,最终导致神经元退行性变性^[17]。

根据A β 的氨基酸片段长度可将其分为A β ₂₅₋₃₅、A β ₁₋₄₀、A β ₁₋₄₂等。由于A β ₁₋₄₂更易形成寡聚体,且不易降解,细胞毒性强,可引发严重的神经元损伤^[18-19]。因此,本研究选用A β ₁₋₄₂来诱导PC12细胞产生病变,建立体外AD细胞模型。在后续试验中,将用建立好的AD细胞模型来检测法舒地尔的神经保护作用,并探究其细胞内机制。

3.1 不同浓度的A β ₁₋₄₂对PC12细胞增殖的影响

本研究结果显示,与对照组比较,三种不同浓度的A β ₁₋₄₂都可以抑制PC12细胞的增殖,但在三者当中,1.0 $\mu\text{mol/L}$ A β ₁₋₄₂对PC12细胞增殖活性的抑制最明显,所以本试验选择浓度为1.0 $\mu\text{mol/L}$ A β ₁₋₄₂建立AD细胞模型,这与邱小忠等^[20]以及薛迪等^[21]研究结果相似,而与陈瑞祺等^[22]研究结果有较大差异。分析原因可能是因为在陈瑞祺^[22]试验中需要高浓度的A β ₁₋₄₂来显著抑制PC12细胞的增殖并诱导其凋亡,而本次试验需要保证PC12细胞的活性,并观察后续试验中法舒地尔对A β ₁₋₄₂诱导的阿尔茨海默症PC12细胞的保护作用。此外,包玉婷等^[23]研究结果表明,A β ₁₋₄₂为3.3 $\mu\text{mol/L}$ 时,对PC12细胞的存活率无显著影响,而当A β ₁₋₄₂浓度超过10.0 $\mu\text{mol/L}$ 时,会明显抑制PC12细胞的存活率,导致细胞死亡。

因此,本次试验不适宜采用高浓度的A β ₁₋₄₂。

3.2 法舒地尔对AD体外模型的病理学改善与氧化应激

相关研究^[24]结果表明,氧化应激可能出现在AD早期的无症状阶段,对疾病的发展起着重要作用。在AD中,随着抗氧化系统崩解,脂质过氧化作用便会积累,进而导致氧化损伤。线粒体既是氧化产物的主要来源,也是被这些产物攻击的主要细胞器^[24]。在氧化应激中,ASK1是高度保守MAP3Ks家族成员之一^[25],它可被一系列炎症因子激活,如TNF、IL-1、活性氧自由基,进而损伤细胞核内微管结构和基因转录^[26]。在AD的发病机制中,神经元凋亡涉及活性氧失衡和细胞内钙超载,直接导致凋亡通路的启动^[27]。而反应性氧化化合物的氧化激活使硫氧还蛋白被氧化,并与ASK1分离,从而激活ASK1,造成细胞凋亡^[28]。法舒地尔能促进烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的合成,拮抗氧自由基,抑制氧化应激反应^[29],从而降低p-ASK1的表达。

本研究结果显示,A β ₁₋₄₂组p-ASK1的平均免疫荧光强度显著升高,法舒地尔治疗后有降低趋势。本研究选取15.0 $\mu\text{mol/L}$ 法舒地尔作为最适宜浓度,这与王丙乾等^[30]研究相似。但与对照组和A β ₁₋₄₂组比较,差异均不显著。因此,对PC12细胞给予Rho激酶抑制剂法舒地尔处理后,能使PC12细胞的活力明显升高。

Rho激酶抑制剂法舒地尔通过RhoA/ROCK通路对PC12细胞发挥明显保护作用。RhoA/ROCK信号通路是调节骨架微管蛋白重要的信号通路。ROCK也是细胞骨架中肌动蛋白的关键成分丝氨酸/苏氨酸激酶的抑制剂。激活ROCK导致神经细胞骨架的萎缩和轴突生长的抑制,而抑制ROCK可减轻多种原因导致的神经损伤,维持神经细胞的活性和轴突的延长。此外,法舒地尔同时具有水溶性基团和脂溶性基团的小分子化合物,是一种易溶于水且可自由通过血脑屏障的小分子化合物,它通过与ATP竞争ROCK催化区的结合位点而阻断ROCK的活性^[31]。因此,对RhoA/ROCK通路的抑

制和阻断能显著提高 PC12 细胞的增殖活力。

4 结论

法舒地尔是一种潜在的治疗 AD 的药物,它通过降低 AD 细胞模型中的 $A\beta_{1-42}$ 蛋白、p-Tau 蛋白、p-ASK1 蛋白的表达,以发挥抗凋亡和抗氧化作用来保护神经元,但其在体内的作用机制仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] MONTEIRO A R, BARBOSA D J, REMIÃO F, et al. Alzheimer' disease: Insights and new prospects in disease pathophysiology, biomarkers and disease-modifying drugs[J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 211: 115522.
- [2] TWAROWSKI B, HERBET M. Inflammatory processes in Alzheimer' s disease-pathomechanism, diagnosis and treatment: a review[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6518.
- [3] ZHANG Y, CHEN H Q, LI R, et al. Amyloid β -based therapy for Alzheimer' disease: challenges, successes and future[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 248.
- [4] XIA Z D, MA R X, WEN J F, et al. Pathogenesis, animal models, and drug discovery of Alzheimer' disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2023, 94(4): 1265-1301.
- [5] DAS T K, GANESH B P. Interlink between the gut microbiota and inflammation in the context of oxidative stress in Alzheimer' disease progression [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(1): 2206504.
- [6] COBLEY J N, FIORELLO M L, BAILEY D M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress [J]. *Redox Biol*, 2018, 15: 490-503.
- [7] PADURARIU M, CIOBICA A, MAVROUDIS I, et al. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer' disease patients[J]. *Psychiatr Danub*, 2012, 24(2): 152-158.
- [8] WEI W Y, WANG Y Y, ZHANG J, et al. Fasudil ameliorates cognitive deficits, oxidative stress and neuronal apoptosis via inhibiting ROCK/MAPK and activating Nrf2 signaling pathways in APP/PS1 mice [J]. *Folia Neuropathol*, 2021, 59(1): 32-49.
- [9] TAN D D, WEN J K, LI L X, et al. Inhibition of RhoA-subfamily GTPases suppresses schwann cell proliferation through regulating AKT pathway rather than ROCK pathway[J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 437.
- [10] BAI Y Y, XIANG X L, LIANG C M, et al. Regulating Rac in the nervous system: molecular function and disease implication of Rac GEFs and GAPs[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 632450.
- [11] CHEN M H, LIU A M, OUYANG Y, et al. Fasudil and its analogs: a new powerful weapon in the long war against central nervous system disorders? [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2013, 22(4): 537-550.
- [12] GU Q F, YU J Z, WU H, et al. Therapeutic effect of Rho kinase inhibitor FSD-C10 in a mouse model of Alzheimer' disease[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(5): 3929-3938.
- [13] KOCH J C, TATENHORST L, ROSER A E, et al. ROCK inhibition in models of neurodegeneration and its potential for clinical translation [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 189: 1-21.
- [14] GAO Y, YAN Y Q, FANG Q L, et al. The Rho kinase inhibitor fasudil attenuates $A\beta_{1-42}$ -induced apoptosis via the ASK1/JNK signal pathway in primary cultures of hippocampal neurons [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(6): 1787-1801.
- [15] GÖTZ J, SCHILD A, HOERNDLI F, et al. Amyloid-induced neurofibrillary tangle formation in Alzheimer' disease: insight from transgenic mouse and tissue-culture models[J]. *Int J Dev Neurosci*, 2004, 22(7): 453-465.
- [16] ZHONG L L, LIU H, ZHANG W J, et al. Ellagic acid ameliorates learning and memory impairment in APP/PS1 transgenic mice via inhibition of β -amyloid production and tau hyperphosphorylation [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4951-4958.
- [17] EIDENMÜLLER J, FATH T, MAAS T, et al. Phosphorylation-mimicking glutamate clusters in the proline-rich region are sufficient to simulate the functional deficiencies of hyperphosphorylated tau protein [J]. *Biochem J*, 2001, 357(Pt 3): 759-767.
- [18] KOKUBO H, KAYED R, GLABEC G, et al. Soluble A β oligomers ultrastructurally localize to cell processes and

- might be related to synaptic dysfunction in Alzheimer' disease brain[J]. *Brain Res*, 2005, 1031(2):222-228.
- [19] WALSHD M, KLYUBIN I, FADEEVA J V, et al. Amyloid-beta oligomers: their production, toxicity and therapeutic inhibition[J]. *Biochem Soc Trans*, 2002, 30(4): 552-557.
- [20] 邱小忠,余磊,秦建强,等. β -淀粉样蛋白(1-42)对 PC12 细胞的氧化损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(2): 391-392.
- [21] 薛迪,刘学伟,汪娜,等.芥子酸对 A β 42 诱导 PC12 细胞损伤的改善作用及机制[J]. *中国药房*, 2022, 33(5): 597-60.
- [22] 陈瑞祺.SERM_s 对阿尔兹海默症 A β 细胞模型神经保护作用的研究[D].泉州:华侨大学,2017.
- [23] 包玉婷,何滢,周小杰,等. β -细辛醚对 A β ₁₋₄₂ 诱导 PC12 细胞炎症因子表达的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(12):3019-3023.
- [24] ZHOU Y Y, XIE N, LI L B, et al. Puerarin alleviates cognitive impairment and oxidative stress in APP/PS1 transgenic mice [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2014, 17(4): 635-644.
- [25] 王晓燕,孙静,王沛.Ask1 基因过表达对卵巢癌细胞凋亡及其对紫杉醇顺铂化疗敏感性研究[J]. *中国药物与临床*, 2018, 18(6):887-889.
- [26] IMARISIO C, ALCHEA E, BANGALORE REVANNA C, et al. Oxidative and ER stress-dependent ASK1 activation in steatotic hepatocytes and Kupffer cells sensitizes mice fatty liver to ischemia/reperfusion injury [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 112: 141-148.
- [27] GUO X L, NAMEKATA K, KIMURA A, et al. ASK1 in neurodegeneration[J]. *Adv Biol Regul*, 2017, 66: 63-71.
- [28] 崔秀云,王红,赵宝昌.凋亡信号调节激酶 1 对细胞凋亡的调节作用[J]. *中国生物工程杂志*, 2002, 22(4): 22-28.
- [29] 丁奇,高永荣,刘熙鹏,等.地佐辛联合法舒地尔对自发性蛛网膜下腔出血患者术后炎性因子、氧化应激和认知功能的影响[J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2021, 30(10):104-106.
- [30] 王丙乾,王东,张建军,等.法舒地尔和 RhoA 沉默对神经干细胞增殖的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(10):1832-1836.
- [31] 尉杰忠,闫玉清,谷青芳,等.法舒地尔通过促进 APP/PS1 双转基因小鼠神经再生改善认知功能[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(7):1153-1161.

[收稿日期:2024-04-10]

[责任编辑:杨建香 英文编辑:张勇]