

医学康复

· 基础研究 ·

针灸对 SAMP8 小鼠学习记忆能力及主要病理特征的影响

邓晓妮¹, 杜艳军^{1,2}, 刘欣媛¹, 陶一鸣¹, 王丽¹, 吴文辉¹, 叶成¹

【摘要】 目的:观察针灸对 SAMP8 小鼠行为学及海马区 β 淀粉样蛋白 1-42(A β 1-42)、细胞内微管相关蛋白 Tau(Tau)以及神经元特异性核蛋白(NeuN)三大主要病理特征的影响。方法:6 月龄雄性 SAMP8 小鼠随机分为模型组($n=6$)和针灸治疗组($n=6$),以 SAMR1 雄性小鼠作为对照组($n=6$)。对针灸治疗组针刺百会和双侧神门,艾灸双侧肾俞共 28d。治疗后,采用 Morris 水迷宫评价动物的学习记忆能力,免疫组化法检测 A β 1-42 和 NeuN 蛋白表达水平,免疫蛋白印迹法检测 Tau 蛋白水平。结果:治疗结束 24 h 后,与模型组相比,从第 2 天开始,针灸治疗组逃避潜伏期明显缩短($P<0.01$),原平台象限停留时间增加($P<0.05$),穿越平台次数增加($P<0.05$),海马 A β 1-42 阳性表达减弱($P<0.01$),海马 NeuN 阳性表达增强($P<0.05$),海马 Tau 蛋白表达量降低($P<0.05$)。结论:针灸百会、神门、肾俞穴能明显提高 SAMP8 小鼠学习记忆能力,可能与减少 A β 1-42 沉积、降低 Tau 蛋白水平、抑制神经元数量减少有关。

【关键词】 阿尔茨海默病;针灸疗法;SAMP8;学习记忆能力

【中图分类号】 R49;R749.16 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2021.10.001

Effect of Acupuncture and Moxibustion on Learning and Memory Ability and Main Pathological Features of SAMP8 Mice Deng Xiaoni, Du Yanjun, Liu Xinyuan, et al. College of Acupuncture and Orthopedics, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China

【Abstract】 Objective: To explore the effects of acupuncture at GV20, HT7, and BL23 on the behavior, expression of β amyloid protein 1-42 (A β 1-42), Tau protein and neuronal nuclei (NeuN) in hippocampus of SAMP8 mice. **Methods:** Six-month-old male SAMP8 mice were randomly divided into model group ($n=6$) and acupuncture treatment group ($n=6$), and SAMR1 male mice served as control group ($n=6$). Acupuncture treatment group was acupunctured at GV20 and HT7, then subjected to moxibustion on both sides of BL23 for 28 days. Morris water maze was used to evaluate the learning and memory ability of animals. The expression of A β 1-42 and NeuN was detected by immunohistochemistry. Western blotting was used to detect the level of Tau protein in the hippocampus of mice. **Results:** As compared with the control group, escape latency was significantly prolonged ($P<0.01$), the residence time in the original platform quadrant was shortened ($P<0.01$), the number of crossing platforms was decreased ($P<0.01$), and the expression of A β 1-42 was up-regulated ($P<0.01$), the expression of NeuN down-regulated ($P<0.01$), and the relative expression of hippocampal Tau protein up-regulating ($P<0.01$) in the model group. As compared with the model group at the second day, escape latency was shortened ($P<0.01$), the original platform quadrant stay time prolonged ($P<0.05$), the number of crossing platforms increased ($P<0.05$), the expression of hippocampal A β 1-42 down-regulated ($P<0.01$), the expression of NeuN up-regulated ($P<0.05$) and the relative expression of hippocampal Tau protein down-regulated in the acupuncture treatment group. **Conclusion:** Acupuncture at GV20, HT7, and BL23 points can improve the learning and memory abilities of SAMP8 mice probably by reducing A β 1-42 deposition and Tau protein levels, and inhibiting the decrease in the number of neurons.

【Key words】 Alzheimer's disease; acupuncture and moxibustion; senescence-accelerated mouse-prone 8; learning and memory ability

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81873380;82074566)

收稿日期:2021-03-21

作者单位:1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院,武汉 430061;2. 针灸治未病湖北省协同创新中心,武汉 430061

作者简介:邓晓妮(1994-),女,硕士研究生,主要从事针灸调节神经-内分泌-免疫网络的机制方面的研究。

通讯作者:杜艳军,dyjhbtc2013@163.com

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种不可逆的神经退行性疾病,占痴呆的 50% ~

75%^[1-2]。AD 不仅给社会和家庭带来巨大的经济负担,也是老年群体残疾和死亡的主要原因之一,其确诊后生存年限仅为 3~11 年^[3]。据报道显示 AD 死亡的人数从 2000 年到 2013 年增加了 71%,而同一时期心脏病的死亡率降低了 14%^[4]。

AD 病理特征以 β 淀粉样蛋白(Amyloid- β , A β)异常沉积、神经原纤维缠结(Neurofibrillary tangles, NFTs)、神经元丢失过多为主,此三大病理特征相互影响,推动 AD 疾病的发生与发展。针灸是防治 AD 的有效手段,基于针灸治疗 AD 取穴规律及目前临床针灸医生的实际运用^[5-6],选取百会、神门、肾俞三穴,观察针灸对 SAMP8 小鼠学习记忆能力、海马区 β 淀粉样蛋白 1-42(β amyloid protein 1-42, A β 1-42)、细胞内微管相关蛋白(microtubule-associated protein Tau, Tau)水平以及神经元特异性核蛋白(Neuronal nuclei, NeuN)表达的影响,为临床针灸防治 AD 提供更多的实验支持。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料 ①实验动物:6 月龄 SPF 级雄性 SAMP8 小鼠 12 只, SAMR1 雄性小鼠 6 只,体质量 20~25g,小鼠购于北京大学医学部(实验动物科学部),动物生产许可证号 SCXK(京)2016-0010。②主要实验试剂与仪器:A β 1-42(25524-1-AP):武汉三鹰生物公司;Tau 抗体(AF6141):AFFINITY 公司;NeuN(ABN78):美国 Millipore 公司;一次性无菌针灸针(0.18mmx13mm):苏州针灸用品有限公司;艾条(直径 0.4cm):湖香艾生物科技有限公司;Morris 水迷宫系统:成都泰盟科技有限公司;RM2016 型病理切片机:上海徠卡仪器有限公司;DYY-6C 型电泳仪:北京市六一仪器厂。

1.2 方法 ①实验分组:SAMP8 小鼠按随机数字表法分为模型组和针灸治疗组, SAMR1 小鼠作为对照组,每组均为 6 只。②针灸干预:参照李忠仁《实验针灸学》^[7],针灸治疗组定取百会(顶骨正中)、神门(腕横纹尺侧处)、肾俞(第二腰椎下两旁)。一次性针灸针(直径 0.18mm、长 13mm)针刺小鼠百会(向前平刺 1~2mm)和神门(直刺 1~2mm),上述两穴皆行平补平泻捻转手法,360°/次,1 次/s,运针 30s 出针。出针后于双侧肾俞穴上方 2~3cm 处悬灸,使局部温度维持在(41±0.5)℃,持续 15min。上述干预方法每天 1 次,6d 为 1 个疗程,共计 4 个疗程,疗程间间隔 1d。对照组、模型组在相同时间以相同方法束缚而不用针灸治疗。

1.3 检测指标 ①Morris 水迷宫实验:治疗结束 24h

后进行 Morris 水迷宫测试。实验方法主要参照文献^[8],包括:a. 定位航行实验:测试时将小鼠分别从水池各个象限入水点面对池壁投入水中,记录其在规定时间内找到平台所需时间(潜伏期),如果小鼠在规定时间内未找到平台,引导上平台,停留 10s,时间记为 60s,连续测试 5d。b. 空间探索实验:第 6 天撤除平台,将小鼠从原平台所在象限的对位象限入水点面对池壁投入水中,记录 60 s 内原平台象限停留时间和跨越原平台位置的次数。②免疫组化染色:Morris 水迷宫实验结束 24h 后,小鼠用 4%水合氯醛腹腔注射麻醉后用 0.9%氯化钠溶液快速从心尖朝主动脉方向注入,同时剪开右心耳,肝脏发白后,将溶液换为 4%多聚甲醛进行固定,以脖子、尾巴僵硬为度,取全脑,放入 4%多聚甲醛 4℃固定备用。组织包埋,切片脱蜡后进行抗原修复,运用过氧化氢阻断内源性过氧化物酶,血清封闭后滴加 NeuN(1:500)、A β 1-42(1:100)一抗工作液,滴加二抗,洗片,滴加新鲜配制的 DAB 显色液、Harris 苏木素复染后,进行脱水、中性树胶封片,最后采集图像,分析其平均光密度(optical density, OD)。③免疫蛋白印迹:Morris 水迷宫实验结束 24h 后,小鼠用 4%水合氯醛腹腔注射麻醉后立刻断头处理,于冰袋上开颅取脑,分离出海马组织放入冻存管,再置入液氮,保存于-80℃冰箱备用。取出组织,滴加细胞裂解液,收集上清,提取海马蛋白,使用 BCA 法测定样品蛋白浓度,经过 SDS-PAGE 电泳、300mA 恒流转膜、滴加 Tau、 β -actin 抗体 4℃过夜,冲洗后滴加二抗,室温孵育 30min,滴加配制的 ECL 混合溶液然后曝光,最后将胶片进行扫描存档,运用 AlphaEaseFC 软件处理系统分析目标带的光密度值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据处理与分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,重复测量资料采用重复测量方差分析,多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Morris 水迷宫实验 干预结束 24h 后 Morris 水迷宫实验结果显示,自第 2 天始,与对照组比较,模型组的潜伏期延长($P < 0.01$);针灸治疗组与模型组相比,潜伏期缩短($P < 0.01$),见表 1。

与对照组比较,模型组原平台象限停留时间缩短($P < 0.01$),穿越平台次数较少($P < 0.01$);与模型组比较,针灸治疗组原平台象限停留时间延长($P < 0.05$),穿越平台次数较多($P < 0.05$),见表 2。

2.2 免疫组化染色 干预结束后,模型组海马 A β 1-42 阳性表达较对照组增强($P < 0.01$);针灸治疗组与

模型组相比海马 Aβ1-42 阳性表达减弱($P<0.01$)。见表 3、图 1。

模型组海马 NeuN 阳性表达较对照组降低($P<0.01$);针灸治疗组与模型组相比海马 NeuN 阳性表达增加($P<0.05$)。见表 3、图 2。

表 1 3 组水迷宫实验潜伏期比较 $\bar{x} \pm s$

组别	<i>n</i>	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
对照组	6	59.71±0.65	46.10±4.11	42.58±2.58	35.98±2.47	28.80±2.48
模型组	6	59.82±0.03	57.74±2.55 ^a	57.15±2.19 ^a	53.07±2.68 ^a	45.49±2.59 ^a
针灸治疗组	6	59.66±0.77	51.93±2.33 ^b	46.75±3.65 ^b	42.76±4.96 ^b	37.81±5.32 ^b

与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$

表 2 水迷宫实验中 3 组穿越平台次数与原平台象限停留时间比较 $\bar{x} \pm s$

组别	<i>n</i>	穿越平台次数(次)	原平台象限停留时间(s)
对照组	6	2.00±1.00	35.90±4.17
模型组	6	0.20±0.45 ^a	13.02±2.02 ^a
针灸治疗组	6	1.60±0.55 ^b	25.60±5.69 ^b

与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$

表 3 3 组海马 CA3 区 Aβ1-42、NeuN 平均光密度值比较 $OD, \bar{x} \pm s$

组别	<i>n</i>	Aβ1-42	NeuN
对照组	6	0.0080±0.0020	0.0617±0.0110
模型组	6	0.0500±0.0030 ^a	0.0010±0.0020 ^a
针灸治疗组	6	0.0090±0.0050 ^c	0.0160±0.0007 ^b

与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$

2.3 免疫蛋白印迹 干预 28d 后,与对照组比较,模型组海马 Tau 蛋白相对表达量升高($P<0.01$);与模型组比较,针灸治疗组海马 Tau 蛋白相对表达量相对

表达量降低($P<0.05$)。见表 4、图 3。

表 4 3 组海马 Tau 蛋白表达比较 $\bar{x} \pm s$

组别	<i>n</i>	Tau 蛋白灰度比值
对照组	6	0.12±0.07
模型组	6	0.48±0.03 ^a
针灸治疗组	6	0.27±0.04 ^b

与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$

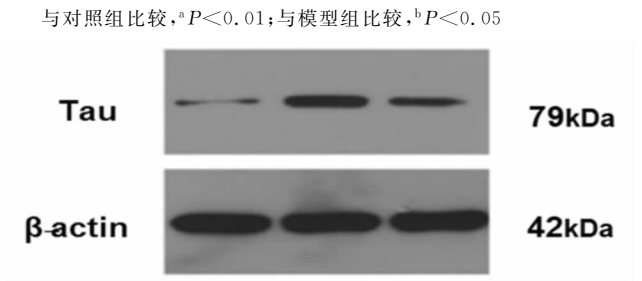


图 3 各组小鼠海马 Tau 蛋白表达

3 讨论

AD 是老年人群中最常见的痴呆类型^[9],分为家族性 AD 和迟发型 AD,其中家族性 AD 在 AD 患者中占比不到 5%,大多数 AD 患者则是与衰老密切相关,在遗传以及环境等因素相互作用下所引发的迟发型 AD^[10]。SAMP8 AD 模型小鼠是从 AKR/J 小鼠培养所得的自然变异小鼠,总共有 12 个自交系,包括 9 个快速衰老的 SAMP 系和 3 个抗快速衰老的 SAMR 系。P 系均表现出与老化相关特定疾病的表型,如表现出与老年淀粉样变性病相关特征的 SAMP1,与老

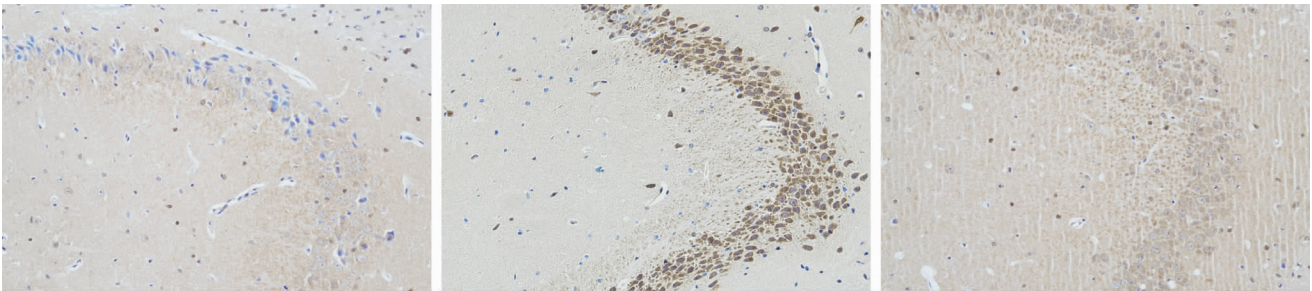


图 1 3 组小鼠海马 CA3 区 Aβ1-42 蛋白表达比较(免疫组化染色,x200)

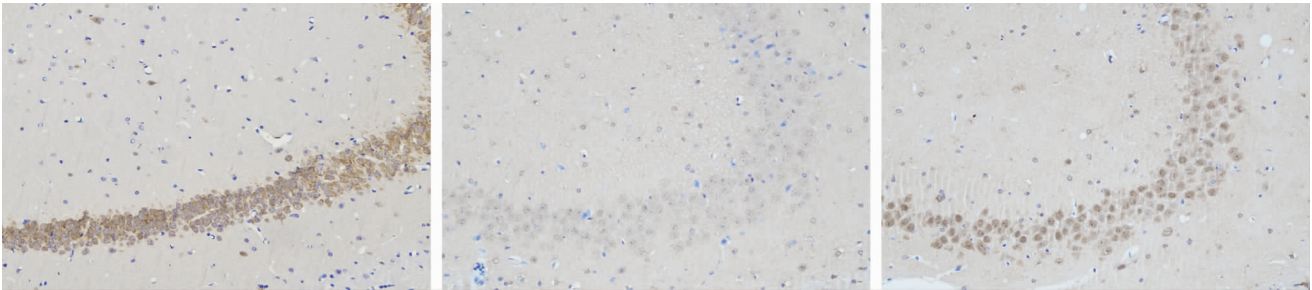


图 2 3 组小鼠海马 CA3 区 NeuN 蛋白表达(免疫组化染色,x200)

年性骨质疏松症表征相同的 SAMP6^[11], SAMP8 则表现出与年龄相关的进行性学习记忆功能障碍^[12], 其具有的疾病表征与迟发型 AD 类似的。也正因为 SAMP8 是加速衰老且与遗传以及环境等诸多因素相互作用所得的一种 AD 模型^[13-14], 而不是基因突变必然所致, 与其他 AD 模型相比较更符合临床实际, 故本实验选取 SAMP8 作为研究模型。百会穴、神门穴、肾俞穴是目前针灸临床治疗 AD 首选的三个要穴, 通过对古代文献及现代研究运用的相关数据挖掘与规律分析^[5-6], 也已证实此三穴对 AD 防治的重要性、有效性。故本研究选取百会、神门、肾俞三穴。

Morris 水迷宫是英国心理学家 Morris 首次设计并长期用于检测空间认知能力研究的首选经典实验^[15], 在中医针灸防治各类学习记忆障碍相关疾病研究中, 也常常被用以评价治疗效应。本研究结果表明与模型组相比, 针灸治疗组小鼠潜伏期缩短、原平台象限停留时间和穿越平台次数增加。证实针灸百会、神门、肾俞穴能够促进 SAMP8 小鼠空间学习记忆能力恢复。

目前 AD 发病机制学说众多, 但仍主要围绕 A β 异常沉积、NFTs、神经元丢失过多三大病理特征, 因它们是导致认知能力下降的直接原因。A β 有 A β 1-40 和 A β 1-42 两种亚型存在, A β 1-42 疏水性较 A β 1-40 强, 更容易沉积形成老年斑^[16]。老年斑分为弥散性斑块和核心斑块, 有研究表明在 tgAPP^{Swe} 基因小鼠大脑弥散性斑块中含有大量 A β 1-42, 而 A β 1-40 含量较少, 随着斑块的逐渐成熟, A β 1-40 含量增加, 可以推测在 AD 病理中 A β 1-42 的疏水性能促进 A β 1-40 的沉积, A β 1-42 较 A β 1-40 在 AD 疾病的发生与发展中起到了更重要的作用^[17]。A β 1-42 是一种小分子 (4 kDa) 神经毒性肽, 是机体正常代谢的产物, 是在 β -和 γ -分泌酶的作用下从 β -淀粉样前体蛋白 (β -amyloid precursor protein, APP) 水解而来^[18], 在正常情况下其处于动态平衡, 但当 APP 在某些因素下使得产生和清除失衡, 使得 A β 1-42 大量增多并异常沉积, 进而对神经元产生多种毒性作用^[19], 包括氧化应激和神经元离子稳态失衡^[20-21]。同时沉积的 A β 1-42 改变如糖原合成酶激酶-3 β (Glycogen synthase kinase-3 β , GSK3 β)、细胞周期素依赖蛋白激酶 5 (Cyclin-dependent Kinase 5, cdk5)、蛋白激酶 A (Protein kinase A, PKA) 等激酶的活性, 导致 Tau 蛋白的过度磷酸化, 并最终导致 NFTs 的形成^[22-24]。

微管是一种用于正向运动动力蛋白和负向运动动力蛋白输送的重要细胞结构, 在维持神经元轴突微结构及轴突运输中具有重要作用^[25]。Tau 蛋白作为一

种磷蛋白用以组成微管, 其生物活性受磷酸化状态调节, 异常磷酸化会使 Tau 蛋白失去其应有的生物活性, 从微管中脱落, 并以双股螺旋丝 (Paired helical filament, PHF) 形成 NFTs 在细胞内聚集, 导致神经元轴突运输障碍。此外有研究表明过度磷酸化的 Tau 蛋白对神经新生起抑制作用, Houben^[26] 等研究发现 Tau 转基因小鼠与野生型小鼠相比, 海马齿状回颗粒层体积以及颗粒细胞数量明显减少, 同时未成熟神经元标记物 DCX 和细胞增殖标记物 Ki-67 表达明显减少, 而 Tau 基因敲除小鼠未出现上述情况, 提示 Tau 蛋白过度磷酸化抑制海马神经新生。

神经元的丢失是 AD 主要病理特征之一^[27], 在 AD 患者脑内广泛存在, 其中以海马神经元丢失最为严重, 平均减少高达 47%^[28]。海马分为齿状回 (Dentate gyrus, DG)、CA1、CA2、CA3 以及 CA4 五个区域, 钟炳武^[29] 等研究发现在 AD 模型大鼠中, 海马 CA3 区 APP 阳性表达高于正常组, 此外有研究表明在 AD 小鼠海马 CA3 区神经元中 A β 1-42 阳性表达相对其他区域增加, 表明 A β 1-42 沉积在 CA3 区神经元中最为严重^[30]。成人神经干细胞仍有增殖分化的潜能, 弥补生理状态下的神经元丢失, 但 AD 患者神经新生的速度赶不上神经元丢失的速度, 致使神经元大量丢失。神经元是学习记忆的物质基础, 海马是大脑中与认知紧密相关的区域, 神经元大量丢失也是患者认知障碍的重要因素。由此可见, A β 1-42 引发的毒性直接或间接诱导神经元细胞死亡, 增强 Tau 蛋白的过度磷酸化抑制神经新生、导致突触功能障碍, 使得神经元大量丢失, 最终导致认知能力下降。本研究结果显示与模型组相比, 针灸治疗组海马 CA3 区 A β 1-42 沉积减少, 海马 CA3 区神经元数量增加, 海马 Tau 蛋白水平降低, 表明针灸百会、神门、肾俞三穴能够降低海马 A β 1-42 沉积, 降低神经元毒性作用, 减少神经元死亡, 同时 A β 1-42 沉积减少降低 Tau 蛋白水平, 减少其对海马神经元新生的抑制作用, 从而发挥针灸抑制 SAMP8 小鼠海马神经元数量减少的作用。

综上所述, 针灸百会、神门、肾俞三穴能明显改善 SAMP8 小鼠空间学习记忆能力, 其作用可能与减少 A β 1-42 聚集, 降低 Tau 蛋白水平, 抑制神经元数量减少有关, 但其具体机制有待进一步研究。

【参考文献】

- [1] Mejías-Trueba M, Pérez-Moreno M A, Fernández-Arche M á. Systematic review of the efficacy of statins for the treatment of Alzheimer's disease[J]. Clinical Medicine, 2018, 18(1): 54-61.
- [2] Lane C A, Hardy J, Schott J M. Alzheimer's disease[J]. Eur J Neurol, 2018, 25(1): 59-70.

- [3] Park CW, Ryu KY. Free ubiquitin: a novel therapeutic target for neurodegenerative diseases[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 16(9): 1781-1782.
- [4] Cass SP. Alzheimer's Disease and Exercise: A Literature Review [J]. *Curr Sports Med Rep*, 2017, 16(1): 19-22.
- [5] 白钰如. 针灸治疗老年性痴呆(AD)的网状 Meta 分析及取穴规律探讨[D], 广州中医药大学, 2019.
- [6] 李星, 王杰, 武峻艳. 基于数据挖掘分析针灸治疗阿尔兹海默病的临床选穴规律[J], *山西中医*, 2020, 36(12): 48-52.
- [7] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 253-257.
- [8] Weitzner D S, Engler-Chiurazzi E B, Kotilinek L A, et al. Morris Water Maze Test: Optimization for Mouse Strain and Testing Environment[J]. *J Vis Exp*, 2015, (100): e52706.
- [9] 刘春兴, 万瑛, 高永辉, 等. 阿尔茨海默病患者血浆微小 RNA-18a 表达及与白细胞介素 6 的关系[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2021, 23(3): 289-292.
- [10] Jonsson T, Stefansson H, Steinberg S, et al. Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(2): 107-16.
- [11] Akiguchi I, Pallàs M, Budka H, et al. SAMP8 mice as a neuropathological model of accelerated brain aging and dementia; Toshio Takeda's legacy and future directions[J]. *Neuropathology*, 2017, 37(4): 293-305.
- [12] Mori M, Higuchi K. The senescence-accelerated mouse as a model for geriatrics and aging biology[J]. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2019, 153(4): 179-185.
- [13] Liu B, Liu J, Shi JS. SAMP8 Mice as a Model of Age-Related Cognition Decline with Underlying Mechanisms in Alzheimer's Disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 75(2): 385-395.
- [14] Hong H, Mo Y, Li D, et al. Aberrant Expression Profiles of lncRNAs and Their Associated Nearby Coding Genes in the Hippocampus of the SAMP8 Mouse Model with AD[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 20: 140-154.
- [15] Morris R G, Garrud P, Rawlins J N, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions[J]. *Nature*, 1982, 297(5868): 681-683.
- [16] 罗磊, 杜艳军, 孙国杰. A β 1-40、A β 1-42 与 A β 25-35 在阿尔茨海默病模型复制中的评价[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(9): 2585-2587.
- [17] Michno W, Nyström S, Wehrli P, et al. Pyroglutamation of amyloid- β x-42 (A β x-42) followed by A β 1-40 deposition underlies plaque polymorphism in progressing Alzheimer's disease pathology [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(17): 6719-6732.
- [18] Vaillant-Beuchot L, Mary A, Pardossi-Piquard R, et al. Accumulation of amyloid precursor protein C-terminal fragments triggers mitochondrial structure, function, and mitophagy defects in Alzheimer's disease models and human brains[J]. *Acta Neuropathol*, 2021, 141(1): 39-65.
- [19] Zhang H, Chen W, Tan Z, et al. A Role of Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 4 (LRP4) in Astrocytic A β Clearance[J]. *J Neurosci*, 2020, 40(28): 5347-5361.
- [20] Fracassi A, Marcatti M, Zolochowska O, et al. Oxidative Damage and Antioxidant Response in Frontal Cortex of Demented and Nondemented Individuals with Alzheimer's Neuropathology[J]. *J Neurosci*, 2021, 41(3): 538-554.
- [21] Ishii M, Hiller AJ, Pham L, et al. Amyloid-Beta Modulates Low-Threshold Activated Voltage-Gated L-Type Calcium Channels of Arcuate Neuropeptide Y Neurons Leading to Calcium Dysregulation and Hypothalamic Dysfunction[J]. *J Neurosci*, 2019, 39(44): 8816-8825.
- [22] Zhang F, Gannon M, Chen Y, et al. β -amyloid redirects norepinephrine signaling to activate the pathogenic GSK3 β /tau cascade [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(526): eaay6931.
- [23] Lopes JP, Oliveira CR, Agostinho P. Neurodegeneration in an Abeta-induced model of Alzheimer's disease: the role of Cdk5[J]. *Aging Cell*, 2010, 9(1): 64-77.
- [24] Wu H, Wei S, Huang Y, et al. A β monomer induces phosphorylation of Tau at Ser-214 through β 2AR-PKA-JNK signaling pathway[J]. *FASEB J*, 2020, 34(4): 5092-5105.
- [25] Zeng Y, Yang J, Zhang B, et al. The structure and phase of tau: from monomer to amyloid filament[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(5): 1873-1886.
- [26] Houben S, Leroy K, Ando K, et al. Genetic ablation of tau in postnatal neurons rescues decreased adult hippocampal neurogenesis in a tauopathy model[J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 127: 131-141.
- [27] Koper MJ, Van Schoor E, Ospitalieri S, et al. Necrosome complex detected in granulovacuolar degeneration is associated with neuronal loss in Alzheimer's disease[J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 139(3): 463-484.
- [28] 王晓兰, 孙国杰, 杜艳军, 等. 艾灸预处理对阿尔茨海默病模型大鼠海马 CA1 区 NGF 和 BDNF 表达的影响[J]. *中国康复*, 2011, 26(5): 323-326.
- [29] 钟炳武, 王哲, 何明大. 脑灵汤对阿尔茨海默病模型大鼠行为学及海马 CA3 区域淀粉样前体蛋白表达的影响(英文)[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2010, 35(5): 431-437.
- [30] Liraz O, Boehm-Cagan A, Michaelson D M. ApoE4 induces A β 42, tau, and neuronal pathology in the hippocampus of young targeted replacement apoE4 mice[J]. *Molecular neurodegeneration*, 2013, 8(1): 1-17.