

莱菔硫烷对阿尔茨海默病样损伤小鼠的神经保护作用

周伏园¹, 陈楠², 詹志鹏¹, 李心蕊¹, 赵越¹, 安丽¹

1. 中国医科大学公共卫生学院营养与食品卫生学教研室, 辽宁 沈阳 110122; 2. 辽宁中医药大学附属第四医院

摘要: **目的** 探讨莱菔硫烷(SFN)对阿尔茨海默病(AD)样损伤小鼠的神经保护作用,为防治 AD 提供理论依据。 **方法** 健康成年 C57BL/6J 雄性小鼠按体重随机分为 3 组,每组 10 只。模型组和干预组小鼠饮用含铝水(浓度为 0.4 g/100 ml),并隔日皮下注射 200 mg/kg D-半乳糖,此外,干预组小鼠每日 1 次灌胃给予 25 mg/kg SFN,模型组小鼠每日 1 次灌胃等量蒸馏水,同时设立溶媒对照组。每日 1 次观察小鼠的一般状况,并每周称重 1 次,90 d 后采用 Morris 水迷宫方法检测小鼠的认知能力,刚果红染色法检测脑组织老年斑(SP)沉积情况,Real-time PCR 法检测大脑皮质 Gβ2 mRNA 水平,流式细胞术检测大脑皮质细胞内游离 Ca²⁺水平。 **结果** 在整个受试期间各组小鼠均未见异常表现及死亡,各组小鼠体重差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组相比,模型组小鼠认知能力下降($P<0.05$),大脑皮质及海马 SP 斑块数量均增多($P<0.01$),大脑皮质 Gβ2 mRNA 水平降低($P<0.05$),大脑皮质细胞内游离 Ca²⁺浓度升高($P<0.05$)。与模型组相比,SFN 能提高小鼠的认知能力($P<0.05$),减少大脑皮质和海马 SP 斑块数量($P<0.01$),提高大脑皮质 Gβ2 mRNA 水平($P<0.05$),降低大脑皮质细胞内游离 Ca²⁺浓度。 **结论** SFN 可明显减少 AD 模型小鼠脑组织 SP 沉积,改善认知能力,其作用机制可能与 SFN 调控 G 蛋白表达,防止细胞内钙超载有关。

关键词: 莱菔硫烷; 阿尔茨海默病; G 蛋白; 钙超载

中图分类号:R-332 文献标识码:A 文章编号:1006-3110(2016)12-1428-05 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2016.12.006

Neuroprotective effect of sulforaphane in mice with Alzheimer's disease-like lesions

ZHOU Fu-yuan*, CHEN Nan, ZHAN Zhi-peng, LI Xin-hui, ZHAO Yue, AN Li

* Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, China Medical University, Shenyang, Liaoning 110122, China

Corresponding author: An Li, E-mail: anli@mail.cmu.edu.cn

Abstract: **Objective** To explore the neuroprotective effect of sulforaphane in mice with Alzheimer's disease (AD)-like lesions so as to provide a theoretical basis for prevention and treatment of AD. **Methods** Thirty healthy male adult C57BL/6J mice were randomly divided into 3 groups based on their body weight, a control group, a model group and an intervention group, with 10 mice in each group. Mice in the model group and intervention group drank water containing aluminum (0.4 g/100 ml) ad libitum daily and were subcutaneously injected with D-galactose (200 mg/kg body weight) every other day, while the mice in the control group drank distilled water and received a subcutaneous injection of an equivalent amount of physiological saline instead. Besides, the mice in the intervention group were gavaged with 25 mg/kg SFN (prepared with distilled water) once a day, whereas the mice in the control group and the model group were gavaged with an equivalent amount of distilled water. The mice were observed daily for general condition and weighed each week. After 90 days, their spatial cognitive ability was evaluated by morris water maze test. Senile plaque (SP) deposits in the brain was detected by congo red staining. The expression of G protein β₂ subunit (Gβ2) mRNA and intracellular calcium level in the cerebral cortex were examined by real-time PCR assay and flow cytometry respectively. **Results** During the experiment, neither significant sign of toxicity nor death was observed in mice, and no statistically significant difference was found in the body weight of the mice among the three groups ($P>0.05$). Compared to the control group, the mice in the model group had a significantly decreased cognitive ability ($P<0.05$) and remarkably increased SP ($P<0.01$) in both hippocampus and cerebral cortex, as well as attenuated Gβ2 mRNA expression and elevated intracellular calcium in the cerebral cortex ($P<0.05$). Compared with the model group, SFN could remarkably improve the mice's cognitive impairment ($P<0.05$), significantly decrease the number of SP in both hippocampus and cortex of the brain ($P<0.01$), upregulate Gβ2 mRNA expression ($P<0.05$) and attenuate intracellular calcium in the cerebral cortex. **Conclusions** SFN can obviously protect

基金项目:辽宁省教育厅科学研究一般项目(L2014289);辽宁省自然科学基金资助项目(2014021034)

作者简介:周伏园(1989-),女,硕士在读,研究方向:营养与神经退行性疾病。

通讯作者:安丽,E-mail:anli@mail.xmu.edu.cn。

the brain from SP deposits and ameliorate cognitive deficits in mice with AD-like lesions, and its mechanism may be associated with SFN-induced up-regulation of G-protein level and protection against intracellular calcium overload.

Key words: Sulforaphane; Alzheimer's disease; G-protein; Calcium overload

阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)是一种与年龄相关的慢性进行性神经退行性疾病,其病因和发病机制尚未完全阐明,病理改变主要表现为大脑皮质弥漫性萎缩,沟回增宽,脑室扩大,并可见到 β -淀粉样蛋白(β -amyloid protein, A β)沉积形成的老年斑(senile plaques, SP),胆碱能神经元的大量丢失,以及细胞内高度磷酸化 Tau 蛋白所致的神经元纤维缠结。该病的特点是病程长,中晚期治疗效果不佳,患者逐渐失去自理能力,不仅给病人本身带来了痛苦,给家属带来生理及心理压力的同时也给家庭和社会增加了沉重的经济负担。因此,探讨发病机制以及寻找有效的早期防治措施已成为 AD 研究领域的热点。

多数学者认为 A β 在脑内异常沉积是各种因素诱发 AD 的共同途径,也是 AD 发病的始发因素和关键环节。研究发现 G 蛋白介导的信号转导异常参与 AD 的发病进程^[1],G 蛋白即 GTP 结合蛋白,是位于细胞膜胞浆面的一类重要的信号跨膜转导活性分子,由 α 、 β 、 γ 三种亚基构成。长久以来,人们一直认为 AD 中 G α 亚基发挥主导作用,对 G $\beta\gamma$ 亚基研究较少。但近年来的研究发现,G $\beta\gamma$ 亚基在多方面也发挥着重要作用,其中 G β 亚基通常在 G $\beta\gamma$ 复合物中起到特异性效应调控的决定性作用。目前已发现五种 β 亚基,即 G β 1-5,其中 G β 2 广泛分布于脑内,在哺乳动物细胞中参与细胞的增殖调控,且可能与一些神经退行性疾病的发生密切相关^[2-4]。研究发现,G β 亚基可以抑制电压依赖性 N 和 P/Q 型钙通道开放^[5],进而降低细胞内游离 Ca²⁺ 浓度,维持细胞内的钙稳态。同时,细胞内 Ca²⁺ 浓度失衡可影响淀粉样肽前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)的代谢,使有神经保护作用的 α -APP 生成减少,A β 的产生增多,加速 A β 聚集。因此,调控 G 蛋白水平,防止细胞内 Ca²⁺ 紊乱,可减少 AD 脑内 A β 的形成和斑块沉积,有效延缓 AD 的发生发展。

莱菔硫烷(sulforaphane, SFN)是以前体芥子油苷的形式广泛存在于十字花科蔬菜中的一种异硫氰酸盐。近年研究发现,SFN 可明显减轻脑室单次注射 A β 诱导的 AD 模型小鼠认知功能障碍^[6],然而 SFN 对 AD 神经保护的作用机制尚不清楚。本研究以 D-半乳糖(D-galactose, D-gal)与铝联合染毒制备 AD 模型小鼠,通过分析小鼠神经行为学的改变以及脑内 SP 沉积、G β 2 表达和细胞内游离 Ca²⁺ 水平的变化,探讨 SFN 对 AD 模型小鼠的神经保护作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

1.1.1 主要试剂 莱菔硫烷(加拿大 TRC 公司)、D-半乳糖(美国 Sigma 公司)、六水氯化铝(国药集团化学试剂有限公司)、总 RNA 提取试剂盒(美国 Promega 公司)、RQ PCR SYBR 试剂盒和逆转录试剂盒(Takara 大连分公司)、荧光探针 Fluo-3/AM(日本同仁化学研究所)等。

1.1.2 主要仪器 T10 组织匀浆机(德国 IKA)、UV310 紫外可见光分光光度计(英国 PYE-UNICAM)、MYCYCLER DNA 扩增仪(美国 BIO-RAD)、7500Real-Time PCR 仪(美国 ABI)、RM2155 石蜡切片机(德国 Leica)、光学显微镜(日本 Nikon)、Eclipse 80i 倒置式生物显微镜(日本 Nikon)、FACSCalibur 流式细胞仪(美国 Becton-Dickinson 公司)等。

1.2 动物分组、处理及样品采集 健康成年 C57BL/6J 雄性小鼠 30 只,体重范围 18~22 g,由中国医科大学实验动物中心提供。实验动物生产许可证号 SCXK(辽)2003-0009;实验动物使用许可证号为 SYXK(辽)2003-0013。饲养条件:温度 22℃~26℃,相对湿度 40%~70%,12 h 明暗交替。适应性喂养一周后,将小鼠按体重随机分为对照组、模型组及干预组,每组 10 只。给药途径及剂量如下:模型组和干预组小鼠饮用含铝水(0.4 g/100 ml)并隔日皮下注射 200 mg/kg D-gal,对照组小鼠饮用蒸馏水并隔日皮下注射等量生理盐水。此外,干预组小鼠每日一次灌胃给予 25 mg/kg SFN(SFN 的剂量选择依据课题组的前期研究^[17]),模型组、对照组小鼠每日一次灌胃等量蒸馏水。连续处理 90 d,实验期间小鼠自由摄食及饮水。实验末期进行神经行为学检测,隔夜禁食,乙醚麻醉后处死,冰上剥离脑组织。左侧大脑皮质用于细胞内游离 Ca²⁺ 和 G β 2 mRNA 水平的测定;右侧脑组织固定于 4%多聚甲醛液,常规石蜡包埋后行冠状位连续切片,片厚 5 μ m,用于脑组织 SP 沉积情况的检测。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 一般状况及体重 实验期间每日 1 次观察小鼠有无异常表现及死亡,并每周称重 1 次观察小鼠体重变化。

1.3.2 神经行为学测定 采用 Morris 水迷宫检测小鼠学习记忆能力的变化。Morris 水迷宫是由一直径为 100 cm、高为 50 cm 的圆形水池组成。将直径 15 cm

的圆形平台固定放置于第2象限中央处,平台浸没于水下1 cm,水温控制在22℃~24℃,将水池分成4个象限。测试指标包括:①定位航行实验:实验每天在相同时间进行,连续4 d,每天1次,分别从四个象限边缘1/2弧度处将小鼠头朝池壁置入水,小鼠找到平台的时间记为逃避潜伏期,自动摄像系统和计算机分析处理系统记录每只小鼠的找到平台的逃避潜伏期,如果小鼠入水后60 s内未能找到平台,则将其引置于平台上停留10 s,并引导其学习记忆,此时逃避潜伏期记录为60 s。②空间探索实验:在定位航行实验结束后的第2 d撤去平台,于第四象限1/2弧度处入水点将小鼠面向池壁放入水中,电脑记录60 s内小鼠跨越平台所在位置的次数。

1.3.3 脑组织 SP 检测 采用刚果红染色法检测脑组织 SP 沉积情况。将石蜡切片常规脱蜡,苏木素染色,1%盐酸乙醇分化,温水显蓝;甲醇刚果红染液(0.5 g 刚果红溶于80 ml 甲醇和20 ml 甘油中)染色,0.2%碱性乙醇再次分化,常规脱水后封片,镜下观察大脑皮质和海马的 SP 数量变化,并采用阳性斑块计数法,计数每张切片 SP 阳性数。

1.3.4 大脑皮质 Gβ2 mRNA 水平检测 提取脑皮质内总 RNA,检测并调整 RNA 浓度为1 μg/μl,再将 mRNA 逆转录为 cDNA,逆转录总反应体系:5×Prime-Script Buffer(for Real Time)-4 μl、PrimeScript RT Enzyme Mix I-1 μl、Oligo dT(50 μM)-1 μl、Random 6 mers(100 μM)-1 μl、样品 RNA-500 ng,补充无 RNA 酶水至20 μl。逆转录反应条件:37℃ 15 min,85℃ 5 s。采用 SYBR Green I 嵌合染料法对 Gβ2 目的基因进行扩增,Gβ2 上下游引物分别为5'-CCTTGGGGTCA-CAGATGATG-3'和5'-GTTGGGGAGGTTAGTTC-CAGAT-3',产物长度83 bp;β-actin 上下游引物分别为5'-CATCCGTAAAGACCTCTATGCCAAC-3'和5'-ATGGAGCCACCGATCCACA-3',产物长度171 bp。PCR 反应液体系:SYBR Premix Ex Taq II(2×)-10 μl;上游引物(10 μm)-0.8 μl;下游引物(10 μm)-0.8 μl;Rox Reference Dye II(50×)-0.4 μl;灭菌蒸馏水-6 μl。反应条件:95℃ 30 s 预变性;扩增40个循环:95℃ 5 s、60℃ 34 s;溶解曲线分析:95℃ 15 s、60℃ 1 min、95℃ 15 s。β-actin 作为内参基因,分析 Gβ2 mRNA 的相对表达水平。

1.3.5 大脑皮质细胞内游离 Ca²⁺ 水平检测 将大脑皮质以 PBS 液冲洗3次,剪碎,加入0.25%胰酶2 ml,在37℃水浴条件下轻轻吹打消化30 min,以冰冷的 DMEM 培养基(含10%的小牛血清)终止消化。用吸

管连续轻柔吹打几次,再用200目分子筛过滤。滤液以1 000 rpm 离心5 min,弃上清,再以 D-Hank's 液洗1次,制成10⁷/ml 单细胞悬液。D-Hank's 液稀释制成2×10⁶/ml 细胞悬液,经苔盼蓝排斥实验检测,细胞存活率在95%以上。室温条件下将待测细胞悬液与 Fluo-3/AM 混合,使 Fluo-3/AM 终浓度为5 μM,置于37℃恒温箱中避光孵育30 min,其间轻轻振荡几次,并设阴性对照(不加 Fluo-3/AM)。取出细胞,1 500 rpm 离心10 min,去除多余染料后,用 D-Hank's 液清洗细胞2~3次,1 000 rpm 离心5 min,弃上清,然后用 D-Hank's 液重悬细胞,并调整细胞浓度。最后利用流式细胞仪行流式细胞术检测单个细胞的荧光强度值,每份标本测定2万个细胞的平均荧光强度值,分析细胞内游离 Ca²⁺ 水平。

1.4 统计分析 实验结果均用($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析。数据均满足方差齐性,总体比较采用单因素方差分析(ANOVA),两两比较采用 LSD,检验水准为0.05。

2 结果

2.1 一般状况观察及体重变化 整个受试期间各组小鼠活动自如,状态良好,未见异常表现及死亡。各组小鼠体重在受试期间均有所增加(见图1),统计分析结果表明,各周各组小鼠体重比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

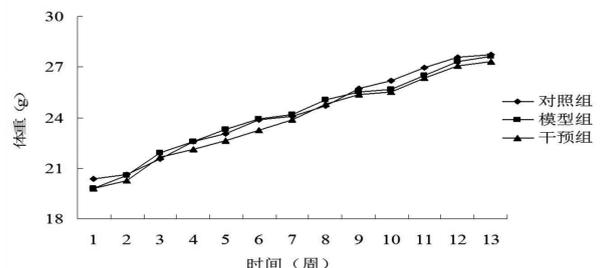
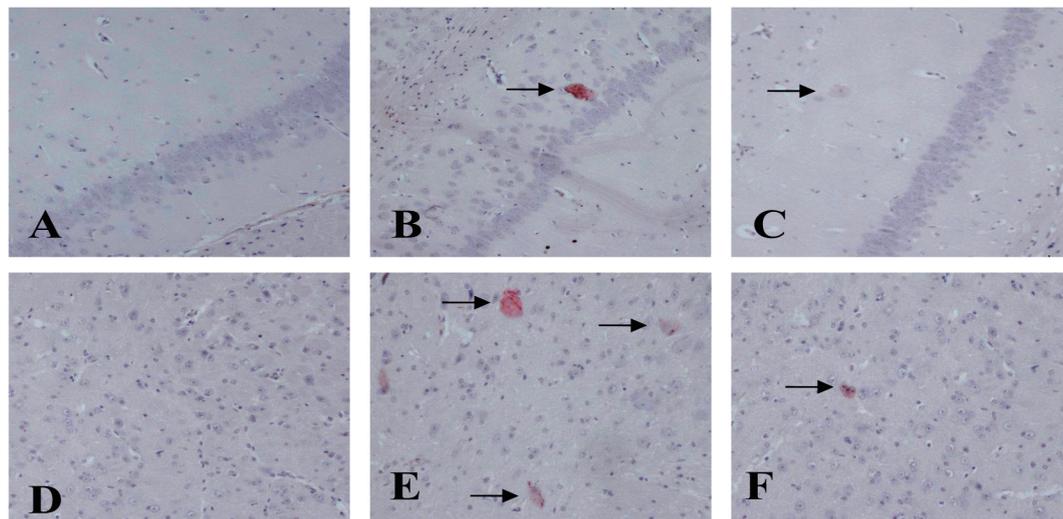


图1 各组小鼠体重增长曲线

2.2 神经行为学变化 水迷宫试验统计结果见表1。与对照组相比,模型组小鼠逃避潜伏期明显延长,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组小鼠相比,干预组小鼠逃避潜伏期显著缩短,差异有统计学意义($P<0.05$)。随着实验天数的增加,各组小鼠的逃避潜伏期逐渐缩短,说明各组小鼠均有一定的记忆能力。模型组小鼠穿越平台所在位置的次数少于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组小鼠相比,干预组小鼠穿越平台所在位置的次数明显增多,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 脑组织 SP 沉积情况 小鼠脑组织刚果红染色

镜下观察结果见图 2。淡红色沉积物即为 SP 阳性斑块。模型组小鼠大脑皮质和海马内 SP 沉积物数量较多,颜色深染。统计分析结果见表 2,与对照组相比,模型组小鼠大脑皮质及海马 SP 斑块数量均明显增多,差异有统计学意义($P < 0.01$)。干预组小鼠大脑皮质和海马 SP 斑块均少于模型组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。



A、B、C 分别为对照组、模型组、干预组海马刚果红染色, D、E、F 分别为对照组、模型组、干预组皮质刚果红染色

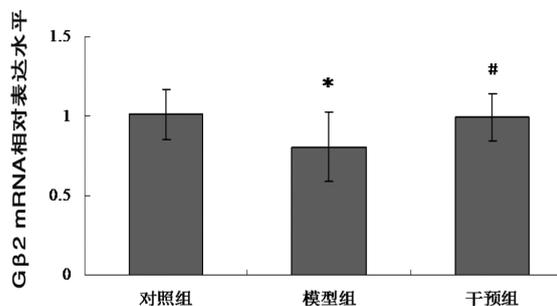
图 2 各组小鼠脑组织内 SP 镜下观察结果(100×)

表 2 各组小鼠脑组织 SP 沉积数量统计结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	皮质 SP 斑块(个/切片)	海马 SP 斑块(个/切片)
对照组	10	2.00±1.07	0.38±0.52
模型组	10	8.75±3.01**	1.75±0.71**
干预组	10	2.63±1.60##	0.75±0.71##

注:与对照组相比较,** $P < 0.01$;与模型组相比较,## $P < 0.01$ 。

2.4 大脑皮质 Gβ2 mRNA 水平变化 见图 3。与对照组比较,模型组小鼠大脑皮质 Gβ2 mRNA 水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。干预组小鼠大脑皮质 Gβ2 mRNA 水平明显高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注:与对照组相比较,* $P < 0.05$;与模型组相比较,# $P < 0.05$ 。n = 10。

图 3 各组小鼠大脑皮质 Gβ2 mRNA 相对表达水平

表 1 各组小鼠水迷宫试验结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	定位航行逃避潜伏期(s)				空间探索 (穿越平台次数)
		第1d	第2d	第3d	第4d	
对照组	10	32.70±13.21	29.98±9.43	23.00±11.79	19.05±12.41	2.82±1.89
模型组	10	46.59±11.56*	41.45±10.91*	35.00±9.64*	31.02±11.75*	1.27±0.90*
干预组	10	32.17±13.31#	30.33±9.01#	25.13±12.30#	20.42±11.48#	2.73±1.42#

注:与对照组相比较,* $P < 0.05$;与模型组相比较,# $P < 0.05$ 。

2.5 大脑皮质细胞内游离 Ca^{2+} 水平变化 见表 3。与对照组相比,模型组小鼠大脑皮质细胞内游离 Ca^{2+} 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组相比,干预组小鼠大脑皮质细胞内游离 Ca^{2+} 水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 各组小鼠大脑皮质细胞内游离 Ca^{2+} 水平($\bar{x} \pm s$)

组别	n	荧光强度值
对照组	10	2221.13±428.29
模型组	10	2848.75±792.69*
干预组	10	2332.63±458.51#

注:与对照组相比较,* $P < 0.05$;与模型组相比较,# $P < 0.05$ 。

3 讨论

随着世界人口老龄化的到来,AD 发病率逐年攀升,现已成为继心脏病、肿瘤和脑卒中之后的第四位死因。AD 是一种以进行性认知障碍和记忆力损害为主的中枢神经系统变性疾病,患者在疾病早期就出现智力和记忆力衰退,并可波及记忆的全过程。罗焕敏等^[7]研究发现,铝和 D-gal 联合用药建立的 AD 小鼠模型可出现学习记忆力减退和脑内 $A\beta$ 沉积、老年斑等类 AD 病变。本研究在 Morris 水迷宫的实验中发现,铝与 D-gal 联合染毒的 AD 模型小鼠的逃避潜伏期明显延长,穿越平台次数显著减少,而 SFN 可明显

缩短其逃避潜伏期,增加穿越平台次数,提示 SFN 对 AD 模型小鼠的学习记忆能力具有一定的改善作用,研究结果与文献报道一致^[16]。

海马和皮质是学习记忆、信号处理及信号传递的关键部位,也是最易受 A β 损害的区域。有文献报道,铝染毒小鼠脑皮质及海马处 A β 沉积明显增多^[8-9]。SP 本身并没有神经毒性,但 SP 的出现和大量存在提示 A β 的过量生成和持续增高,在 SP 形成以前,A β 聚集形成淀粉样沉积。刚果红是一种针对淀粉样物质的特殊染色,刚果红能附着在异常蛋白质上,清晰地显示出蛋白质块(淀粉样沉积)的聚集区。庄莹等^[10] 研究报道,铝联合 D-gal 染毒 AD 模型大鼠脑皮质和海马区域的 SP 数量明显增多。本研究对脑内 SP 的刚果红染色结果显示,模型组小鼠海马和皮质处出现较多量的散在橘红色 SP 沉积,大小不一,而经 SFN 干预后,皮质和海马内可见散在橘红色 SP 沉积物,且数量明显减少,染色较浅,提示 SFN 可有效防止和减少 AD 模型小鼠脑内 SP 的沉积。

近年来的研究显示,G 蛋白变化可通过多种途径促进 A β 生产,导致 SP 沉积,反之 A β 又可引起 G 蛋白变化及其下游信号通路异常,导致脑内神经元损伤,形成恶性循环。在静息状态下,G 蛋白的 α 亚基上结合 GDP,并与 β 、 γ 亚基形成紧密的三聚体;当受体被激活后,GDP 从 α 亚基解离, α 亚基与 GTP 结合,继而三聚体解离为 α -GTP 和 $\beta\gamma$ 二聚体,各自发挥激活下游效应蛋白如腺苷酸环化酶、磷脂酶 C 和离子通道等作用。长期以来,G $\beta\gamma$ 被认为是无功能性亚基,但近些年的研究发现,G $\beta\gamma$ 同 G α 一样均可引起效应蛋白的激活,在细胞信号转导中起同样重要的作用,共同参与介导一系列的生物学效应^[11-14]。正常情况下,当 G 蛋白受到药物、激素等影响后,其 α 亚基和 $\beta\gamma$ 亚基分离,后者与 G 蛋白的 $\alpha 1$ 亚基发生直接相互作用,产生对 N 型钙通道电流的抑制,阻止细胞外大量 Ca²⁺ 内流,防止细胞内钙超载现象的发生。同时,细胞内 Ca²⁺ 水平的升高可造成 A β 生成增多,且加速 A β 聚集。另有研究发现,在多种 G β 亚基中,G $\beta 2$ 对 N 型钙通道的抑制作用较为显著^[15]。本研究结果显示,AD 模型组小鼠脑皮质 G $\beta 2$ mRNA 水平显著降低,细胞内游离 Ca²⁺ 水平明显升高,提示可能存在钙超载现象,而 SFN 对该模型小鼠的上述改变具有明显的改善作用。

研究显示,G 蛋白偶联受体可能是金属铝的作用靶点^[16],当长期摄入金属铝时,可能抑制中枢神经系统中 G 蛋白类受体功能,进而影响 G 蛋白及其下游的信号通路转导通路。SFN 可以拮抗一些有害金属元

素,本文前期研究也证实 SFN 可明显降低铝和 D-gal 联合染毒的 AD 模型小鼠的脑铝含量^[17],由此可见,SFN 可能通过促进金属铝的排泄,减少其在脑内蓄积,进而调控 G 蛋白水平及其下游的信号转导通路。除此之外,SFN 还具有抗癌、抗炎、免疫调节等多种生物学作用,体内免疫调节异常和炎症反应的产生均与 G 蛋白信号通路异常有关,因此,SFN 对 G 蛋白的干预作用机制仍需深入研究。

参考文献

- [1] 阙伯红,于建春,韩景献. G 蛋白信号转导异常与阿尔茨海默病[J]. 中华神经医学杂志, 2011, 3(10):319-321.
- [2] Wu HC, Huang PH, Chiu CY, et al. G protein $\beta 2$ subunit antisense oligonucleotides inhibit cell proliferation and disorganize microtubule and mitotic spindle organization [J]. Cell Biochem, 2001, 83(1):136-146.
- [3] Zhang J, Liu WH, Liu JC, et al. G protein $\beta 2$ subunit interacts with mitofusin 1 to regulate mitochondrial fusion [J]. Nat Commun, 2010, 1(1):101-110.
- [4] 周晓雯,苏朝芬,罗焕敏. 线粒体与神经退行性疾病[J]. 神经病理学报, 2011, 3(1):41-46.
- [5] Delmas P, Brown DA, Dayrell M, et al. On the role of endogenous G-protein beta gamma subunits in N-type Ca²⁺ current inhibition by neurotransmitters in rat sympathetic neurons [J]. Physiol, 1998, 506(Pt 2):319-329.
- [6] Kim HV, Kim HY, Ehrlich HY, et al. Amelioration of Alzheimer's disease by neuroprotective effect of sulforaphane in animal model [J]. Amyloid, 2013, 20(1):7-12.
- [7] 罗焕敏,肖飞. D-半乳糖和三氯化铝诱导小鼠产生类阿尔茨海默病变[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2004, 18(1):22-26.
- [8] Pratico D, Uryu K, Sung S, et al. Aluminum modulates brain amyloidosis through oxidative stress in APP transgenic mice [J]. FASEB J, 2002, 16(9):1138-1140.
- [9] Campbell A, Kumar A, La Rose FG, et al. Aluminum increases levels of beta-amyloid and ubiquitin in neuroblastoma but not in glioma cells [J]. Proc Soc Exp Biol Med, 2000,223(4):397-402.
- [10] 庄莹,石博,田歆,等. 人参皂苷 Rg2 对 Alzheimer 病模型大鼠学习记忆能力和老年斑形成的影响[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(2):202-204.
- [11] Ferrari-DiLeo G, Mash DC, Flynn DD. Attenuation of muscarinic receptor-G-protein interaction in Alzheimer disease [J]. Mol Chem Neurophathol, 1995, 24(1):69-91.
- [12] Keever LB, Jones JE, Andresen BT. G protein-coupled receptor kinase 4 gamma interacts with inactive Galpha(s) and Galpha13 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008,367(3):649-655.
- [13] Jorgensen R, Holliday ND, Hansen JL, et al. Characterization of G-protein coupled receptor kinase interaction with the neurokinin-1 receptor using bioluminescence resonance energy transfer [J]. Mol Pharmacol, 2008, 73(2):349-358.
- [14] 李晓辉. G 蛋白亚单位基因家族等信号转导分子研究进展[J]. 解放军药学报, 2004, 20(3):205-208.
- [15] Garcia DE, Li B, Garcia-Ferreiro RE, et al. G-protein beta-subunit specificity in the fast membrane-delimited inhibition of Ca²⁺ channels [J]. Neurosci, 1998, 18(22):9163-9170.
- [16] Shafer TJ, Mundy WR, Tilson HA. Aluminum decrease muscarinic, adrenergic, and metabotropic receptor-stimulated phosphoinositide hydrolysis in hippocampal and cortical slices from rat brain [J]. Brain Res, 1993, 629(1):133-140.
- [17] 陈楠,左珺,缪钱炜,等. 莱菔硫烷对阿尔茨海默病模型小鼠学习记忆和胆碱能系统的影响[J]. 实用预防医学, 2014, 21(2):163-167.