

七叶皂苷钠对 SAMP8 小鼠认知功能的保护作用

陈 冲, 孙晓丽, 梁月光, 孙善斌*
(安徽中医药大学第二附属医院康复科, 安徽 合肥 230000)

摘要: **目的** 研究七叶皂苷钠对 SAMP8 小鼠认知功能的保护作用。**方法** 将 45 只 SAMP8 小鼠随机分为模型组、七叶皂苷钠组 (30 mg/kg)、安慰剂组 (生理盐水), 每组 15 只, 另以 SAMR1 小鼠作为对照组。给药 30 d 后, 通过 Morris 水迷宫实验评估小鼠学习记忆能力, 采用 TUNEL 染色检测背侧缝核 (DRN) 区域神经元凋亡情况, Western blot 法检测海马组织 NLRP3、Caspase-1、ASC 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 七叶皂苷钠组小鼠逃避潜伏期缩短 ($P<0.05$), 穿越平台次数增加 ($P<0.05$); DRN 区域神经元凋亡细胞数减少 ($P<0.05$); 海马组织 NLRP3、cleaved-Caspase-1、ASC 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。**结论** 七叶皂苷钠改善了 SAMP8 小鼠的认知功能, 其作用可能与减少神经元凋亡和抑制 NLRP3 炎性小体的激活有关。
关键词: 七叶皂苷钠; 阿尔茨海默病; SAMP8 小鼠; 认知功能; NLRP3 炎性小体; 神经元凋亡
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)03-1003-03
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.03.047

阿尔茨海默病是老年痴呆症最常见的类型^[1], 据统计全球有超过 5 000 万阿尔茨海默病患者^[2], 对患者和其家庭造成了极大的心理和经济负担^[3], 随着全球人口老龄化趋势的加剧, 该病的发病率将进一步上升^[4]。目前, 阿尔茨海默病的治疗方法主要包括药物治疗和非药物治疗^[5]。药物治疗方面, 常用的药物包括胆碱酯酶抑制剂和 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体拮抗剂^[6], 这些药物可以在一定程度上缓解症状, 但并不能根治疾病或延缓其进程^[7-8]; 非药物治疗旨在通过综合措施改善患者的生活质量^[9], 尽管这些方法有缓解作用, 但目前仍缺乏能够有效逆转或阻止阿尔茨海默病进展的治疗手段。

七叶皂苷钠是从七叶树提取的天然化合物^[10], 对阿尔茨海默病模型小鼠的认知功能具有保护作用^[11-12]。研究显示, 七叶皂苷钠可通过抑制背侧缝核 NLRP3 炎性小体激活, 改善创伤后应激障碍大鼠的行为表现^[13-14]。因此, 本研究探索了七叶皂苷钠对 SAMP8 小鼠认知功能的保护作用及其机制, 深入了解其在阿尔茨海默病治疗中的潜力, 以期开发新的治疗策略提供理论基础。

1 材料

1.1 动物 45 只 SAMP8 小鼠, 雄性, 7 月龄; 15 只 SAMR1 小鼠, 雄性, 7 月龄, 均购自北京大学医学部 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2022-0012], 饲养于安徽中医药大学普通小鼠房中, 温度 (24±1)℃, 12 h/12 h 明暗交替饲养, 自由摄食和饮水, 适应性喂养 1 周。本实验

已获得安徽中医药大学第二附属医院实验动物伦理委员会的审查与批准 (伦理号 2023-SXXM07)。

1.2 药物与试剂 注射用七叶皂苷钠购自湖南一格制药有限公司, 批号 220902-3, 将 20 mg 七叶皂苷钠粉末加入 500 mL 的 0.9% 氯化钠溶液中, 制备成质量浓度为 0.04 mg/mL 的七叶皂苷钠溶液。兔抗小鼠 SNLRP3 抗体 (英国沃特曼公司, 批号 202210008); cleaved-Caspase-1 抗体、pro-Caspase-1 抗体 (武汉艾美捷科技有限公司, 批号均为 20221003); GAPDH 抗体 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司, 批号 20221209]; TUNEL 法原位检测细胞凋亡试剂盒 (瑞士 Roche 公司, 批号 20221054)。

1.3 仪器 1663984 型垂直板电泳槽 (美国 Bio-Rad 公司); 2117 型电泳仪 (瑞典 Pharmacia LKB 公司); Blot2 型转膜槽 [钇隆腾 (山东) 生物科技有限公司]; TS-100 型脱色摇床 (常州德杜精密仪器有限公司); BOT-860 型蛋白凝胶成像分析系统 (北京中仪博腾科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 将 45 只 SAMP8 小鼠随机分为模型组、七叶皂苷钠组、安慰剂组, 每组 15 只。模型组不进行任何干预; 七叶皂苷钠组小鼠灌胃给予七叶皂苷钠 30 mg/kg^[15], 安慰剂组灌胃给予等量生理盐水, 并选取 15 只健康 SAMR1 小鼠作为对照组。

2.2 Morris 水迷宫实验评估小鼠的学习记忆能力 Morris 水迷宫实验持续 6 d, 前 5 d 进行定位航行实验, 每天 4 个

收稿日期: 2024-09-26

基金项目: 安徽省高等学校科学研究项目 (2023AH040110); 安徽省级名中医工作室和传承工作室项目 (皖中医药发展秘 [2023] 23 号)

作者简介: 陈 冲 (1984—), 男, 硕士, 副主任中医师, 从事针灸康复治疗神经系统疾病的研究。E-mail: chchong402@163.com

* **通信作者:** 孙善斌 (1966—), 男, 硕士, 主任医师, 从事针灸康复治疗脑血栓、脑出血、高血压、面瘫、颈椎病、腰椎病等临床疾病的研究。E-mail: zjssb@sina.com

象限各训练1次，每次1 min，间隔15 min，记录其逃避潜伏期；第6天移除水中的平台，进行空间探索实验，记录空间探索的游泳轨迹。

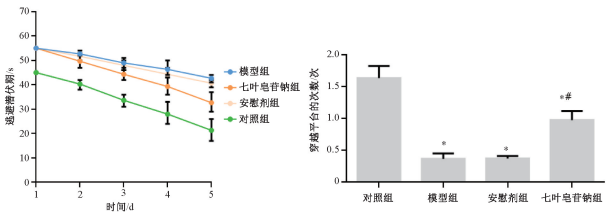
2.3 Western blot 法检测海马组织 NLRP3、Caspase-1、ASC 蛋白表达 给药结束后，5%异氟烷麻醉，断头取脑，分离海马组织，提取蛋白，BCA 法测定蛋白浓度，制备蛋白样本，电泳分离蛋白后转移至 PVDF 膜，室温封闭 80 min，加入 NLRP3、cleaved-Caspase-1、pro-Caspase-1、ASC 一抗，4 ℃摇床孵育过夜，加入二抗，室温孵育 2 h，ECL 显色。以 GAPDH 为内参，用 ImageJ 软件分析条带灰度值，计算目的蛋白的相对表达量。

2.4 TUNEL 染色检测背缝核 (DRN) 区域凋亡情况 取小鼠脑组织，固定在 4% 多聚甲醛溶液中，随后进行常规脱水、包埋和切片，按照 TUNEL 染色试剂盒说明书进行染色，脱色和拍照。于荧光显微镜下随机选择 5 个视野，计算每个视野中的凋亡细胞数。

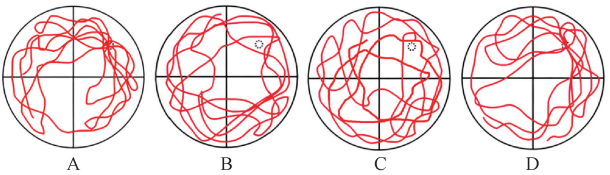
2.5 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 七叶皂苷钠对 SAMP8 小鼠学习记忆力的影响 与对照组比较，模型组逃避潜伏期延长 ($P < 0.05$)，穿越平台次数减少 ($P < 0.05$)；与模型组比较，七叶皂苷钠组第 4 天和第 5 天的逃避潜伏期缩短 ($P < 0.05$)，穿越平台次数增加 ($P < 0.05$)，见图 1~2。



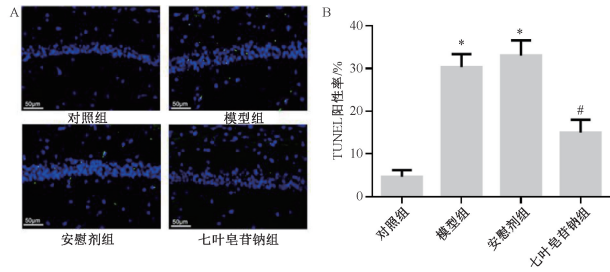
注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ 。
图 1 各组小鼠逃避潜伏期和穿越平台次数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为安慰剂组，D 为七叶皂苷钠组。
图 2 各组小鼠游泳轨迹

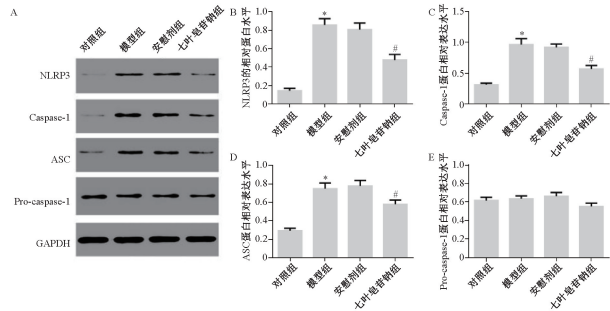
3.2 七叶皂苷钠对 SAMP8 小鼠 DRN 凋亡的影响 与对照组比较，模型组 DRN 区 TUNEL 染色阳性细胞数增加，即凋亡增加 ($P < 0.05$)；与模型组比较，七叶皂苷钠组 DRN 区神经元凋亡减少 ($P < 0.05$)，见图 3。

3.3 七叶皂苷钠抑制 SAMP8 小鼠 DRN 区 NLRP3 炎性小体的影响 与对照组比较，模型组小鼠 DRN 区 NLRP3、



注：绿色荧光为 TUNEL 阳性，蓝色荧光为 DAPI 染色细胞核。与对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ 。
图 3 各组小鼠 DRN 区凋亡比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

cleaved-Caspase-1、ASC 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，七叶皂苷钠组 NLRP3、cleaved-Caspase-1、ASC 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)；各组 pro-Caspase-1 蛋白未见显著差异 ($P > 0.05$)，见图 4。



注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ 。
图 4 各组小鼠 DRN 区域 NLRP3、Caspase-1、ASC 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

4 讨论

阿尔茨海默病患者表现出高水平炎症反应，这可能是疾病发生发展的重要风险因素^[16]。阿尔茨海默病模型小鼠的前额叶皮层的星形胶质细胞中观察到 NLRP3 炎性小体激活^[17]。有研究表明，阿尔茨海默病小鼠的 DRN 区域存在神经元凋亡^[18]，这可能是由 NLRP3 炎性小体的激活所致。Caspase-1 是炎性小体的重要组成部分，可将 pro-Caspase-1 切割为具有活性的 cleaved-Caspase-1，引起 IL-1 β 、NO 和 TNF- α 等促炎因子增多；这些促炎因子对阿尔茨海默病起重要作用，可促进淀粉样斑块的形成及神经退行性改变^[19]。ASC 是炎性小体的另一重要组成，在小胶质细胞中，ASC 蛋白可形成 ASC 斑点，与 β -淀粉样蛋白聚集物发生相互作用，促进斑块沉积。因此，ASC 蛋白在阿尔茨海默病的发病过程中也起重要作用^[20]。

七叶皂苷钠具有消炎、抗渗出、增加静脉张力、改善血液循环、纠正脑功能失常等作用，其可以清除机体内自由基，从而起到抗炎、抗渗出等作用^[21]。本研究发现，与模型组比较，七叶皂苷钠组第 4 天和第 5 天的逃避潜伏期缩短，穿越平台次数增加，表明七叶皂苷钠改善了小鼠的学习、记忆能力及空间记忆能力。

TUNEL 染色结果表明，对照组小鼠的 DRN 区域很少

出现神经元凋亡，而模型组、七叶皂苷钠组、安慰剂组小鼠的 DRN 区域神经元凋亡增加，但七叶皂苷钠组神经元凋亡低于模型组和安慰剂组，说明七叶皂苷钠处理可降低 DRN 区域的神经元凋亡水平。这可能是因为 DRN 区域是 5-羟色胺（5-HT）能神经元的主要分布区域，而 5-HT 在调节情绪、认知和行为等方面起着重要作用，七叶皂苷钠可能通过调节 DRN 区域 5-HT 能神经元的活性，改善神经递质的平衡，从而减少神经元的凋亡^[22]。Western blot 结果显示，七叶皂苷钠组小鼠 DRN 中 NLRP3、cleaved-Caspase-1 和 ASC 蛋白表达降低，表明七叶皂苷钠通过抑制 NLRP3 炎性小体的激活，从而发挥保护脑神经的功能。

综上所述，七叶皂苷钠可保护 SAMP8 小鼠的认知功能，改善学习记忆，减少 DRN 神经元凋亡，其作用可能与抑制 NLRP3 炎性小体激活而减轻炎症反应有关。

参考文献：

[1] Trejo-Lopez J A, Yachnis A T, Prokop S. Neuropathology of Alzheimer’ s disease[J]. *Neurotherapeutics*, 2022, 19 (1): 173-185.

[2] Tahami M A A, Byrnes M J, White L A, *et al.* Alzheimer’ s disease; epidemiology and clinical progression[J]. *Neurol Ther*, 2022, 11(2): 553-569.

[3] Tatulian S A. Challenges and hopes for Alzheimer’ s disease[J]. *Drug Discov Today*, 2022, 27(4): 1027-1043.

[4] 徐 群, J. Wesson Ashford, 陈 彪, 等. 阿尔茨海默病居家筛查专家共识[J]. 阿尔茨海默病及相关病, 2024, 7 (3): 176-183.

[5] Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer’ s disease: causes and treatment[J]. *Molecules*, 2020, 25 (24): 5789.

[6] Ju Y J, Tam K Y. Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer’ s disease[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2022, 17(3): 543-549.

[7] Pardo-Moreno T, González-Acedo A, Rivas-Domínguez A, *et al.* Therapeutic approach to Alzheimer’ s disease: current treatments and new perspectives[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14 (6): 1117.

[8] 郭晓娟, 刘 洁, 王 瑾, 等. 西安地区阿尔茨海默病病人药物依从性调查及影响因素分析[J]. 实用老年医学, 2023, 37(1): 47-50.

[9] 王 涛, 闫少珍, 卢 洁. 磁共振成像评估无创脑刺激治疗阿尔茨海默病的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂

志, 2023, 25(12): 1416-1418.

[10] Yang G, Li J J, Xu Q, *et al.* Sodium aescinate alleviates bone cancer pain in rats by suppressing microglial activation *via* p38 MAPK/c-Fos signaling[J]. *Mol Cell Toxicol*, 2022, 18(4): 605-614.

[11] 闫聚瀚, 李向东, 赵朋涛, 等. 七叶皂苷钠对小鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(20): 2961-2964.

[12] 文俊杰, 苏 展, 罗素新. 七叶皂苷钠通过 p38MAPK 通路减少大鼠心肌梗死面积和无复流面积的研究[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(3): 8-15.

[13] 庞启明, 张素丽. 七叶皂苷钠调控 p38 MAPK 通路改善癫痫大鼠认知功能的作用及机制[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(8): 1438-1442.

[14] 王宇浩, 张思敏, 李健楠, 等. 病毒示踪法研究小鼠中缝背核 5-羟色胺能神经元的传出投射差异[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2024, 45(1): 5-10.

[15] 余玲玲, 余立娟, 费 龙. β -七叶皂苷钠对急性创伤性脑损伤大鼠脑保护作用研究[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2020, 23(2): 131-137.

[16] 王远卓, 郑清月, 张翰林, 等. 小胶质细胞在阿尔茨海默病神经炎症反应中作用的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2022, 42(8): 1310-1313.

[17] 章晓富, 马蕾亚, 逯 瑞, 等. 阿尔茨海默病患者血清 NLRP3, HMGB1 的表达水平变化及其对患者不良预后的评估价值[J]. 卒中与神经疾病, 2022, 29 (3): 220-223; 229.

[18] 张鸿磊, 李 敬, 张林勇, 等. 中缝背核 5-HT 神经元在丙泊酚麻醉-觉醒过程中的作用[J]. 山东医药, 2019, 59 (9): 44-46.

[19] 程美佳, 袁常斌, 鞠业涛, 等. 开心散通过调控 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路抑制阿尔茨海默病小鼠神经炎症的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39 (3): 1203-1208.

[20] 朱晓鹏, 龙 艳, 黄 亮, 等. ASC 自身抗体及总胆固醇与阿尔茨海默病的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(5): 78-82.

[21] 闫 斌, 刘素梅, 朱明振, 等. 尤瑞克林联合七叶皂苷钠治疗糖尿病伴急性脑梗死的临床效果[J]. 中国民康医学, 2020, 32(2): 23-24.

[22] 郑 君. β -七叶皂苷钠联合甘油果糖治疗脑出血患者神经功能恢复影响分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22 (2): 211-214.