

电针对快速老化小鼠海马区髓鞘及 Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin 信号通路的影响

黄俊燕¹, 董卫国², 郭婉清³, 杨少敏¹, 黄晟涛¹, 黄芸¹, 詹思捷¹, 林岚², 王丰², 刘玲珑²
(¹福建中医药大学针灸推拿学院, 福州 350122; ²福建中医药大学中西医结合学院、中西医结合研究院, 福州 350122; ³福建中医药大学附属第三人民医院, 福州 350108)

【摘要】 目的:观察电针对快速老化 SAMP8 小鼠学习记忆能力、海马区髓鞘及 RAS 相关 C3 肉毒杆菌毒素底物 1(Rac1)/P21-活化激酶 1(PAK1)/LIM 激酶 1(LIMK1)/丝切蛋白(cofilin)信号通路的影响,从细胞骨架角度探讨电针改善阿尔茨海默病的作用机制。方法:将 8 月龄的 SAMP8 雄性小鼠随机分为模型组、电针组,每组 9 只;同龄的雄性 SAMR1 小鼠 9 只为对照组。电针组电针“大椎”“肾俞”,针刺“百会”,20 min/次,每日 1 次,8 d 为 1 个疗程,共 3 个疗程。采用 Morris 水迷宫检测小鼠学习记忆能力;LFB 染色法观察小鼠海马区髓鞘形态结构;鬼笔环肽染色法观察小鼠海马区细胞骨架;实时荧光定量 PCR 法检测小鼠海马组织 Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin 的 mRNA 表达水平;Western blot 法检测小鼠海马组织髓鞘碱性蛋白(MBP)、Rac1、PAK1、磷酸化 PAK1(p-PAK1)、LIMK1、磷酸化 LIMK1(p-LIMK1)、cofilin、磷酸化 cofilin(p-cofilin)的蛋白表达。结果:与对照组比较,模型组逃避潜伏期延长($P<0.01$),穿越原平台次数及原平台象限停留时间减少($P<0.01$);海马区 LFB 染色变浅,纤维排列疏松;海马区细胞骨架荧光强度减弱($P<0.01$);海马组织 Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin 的 mRNA 表达水平,海马组织 MBP、Rac1 蛋白相对表达量及 p-PAK1/PAK1、p-LIMK1/LIMK1、p-cofilin/cofilin 蛋白相对表达量比值均降低($P<0.01$)。与模型组比较,电针组逃避潜伏期缩短($P<0.01, P<0.05$),穿越原平台次数及原平台象限停留时间增加($P<0.01$);海马区 LFB 染色加深,髓鞘纤维排列规整;海马区细胞骨架荧光强度增强($P<0.01$);海马组织 Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin 的 mRNA 表达水平,海马组织 MBP、Rac1 蛋白相对表达量及 p-PAK1/PAK1、p-LIMK1/LIMK1、p-cofilin/cofilin 蛋白相对表达量比值均升高($P<0.01, P<0.05$)。结论:电针可以改善 SAMP8 小鼠学习记忆能力,其机制可能与激活 Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin 信号通路的表达,促进细胞骨架重组,影响髓鞘功能有关。

【关键词】 阿尔茨海默病;电针;髓鞘;细胞骨架;RAS 相关 C3 肉毒杆菌毒素底物 1/P21-活化激酶 1/LIM 激酶 1/丝切蛋白信号通路

Effect of electroacupuncture on hippocampal myelin and Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin signaling pathway in Alzheimer's disease mice

HUANG Jun-yan¹, DONG Wei-guo², GUO Wan-qing³, YANG Shao-min¹, HUANG Sheng-tao¹, HUANG Yun¹, ZHAN Si-jie¹, LIN Lan², WANG Feng², LIU Ling-long² (¹College of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; ²Institute of Integrative Chinese and Western Medicine, College of Integrated Chinese and Western Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122; ³The Third People's Hospital of Fujian Province, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108)

【ABSTRACT】 Objective To observe the effect of electroacupuncture (EA) on learning-memory ability, hippocampal myelin and RAS-associated C3 botulinum toxin substrate 1 (Rac1)/P21-activated kinase 1 (PAK1)/LIM kinase 1 (LIMK1)/cofilin signaling pathway in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice, so as to explore

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20250434

引用格式:黄俊燕,董卫国,郭婉清,等.电针对快速老化小鼠海马区髓鞘及 Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin 信号通路的影响[J].针刺研究,2026,51(5):614-621.

项目来源:国家自然科学基金项目(No.81973923);福建省自然科学基金项目(No.2022J01348)

通信作者:董卫国, E-mail: fjdwg601@163.com

its mechanisms underlying improvement of Alzheimer's disease (AD) from the perspective of the cytoskeleton.

Methods Male SAMP8 (AD) mice were randomly divided into model group and EA group, with 9 mice in each group, and 9 male SAMR1 mice of the same age were used as the control group. The mice in the EA group received EA at "Dazhui" (GV14) and "Shenshu" (BL23) and punctured at "Baihui" (GV20) for 20 min, once per day, for 24 d, rest for 2 d after every 8 d of treatment. The Morris water maze test was used to observe the learning-memory ability. The Luxol fast blue (LFB) staining was used to observe the myelin sheath, and the phalloidin staining was used to observe the cytoskeleton in the hippocampus tissue. The mRNA expression levels of Rac1, PAK1, LIMK1, and cofilin were detected using real-time fluorescence quantitative PCR, and the protein expression levels of myelin basic protein (MBP), Rac1, PAK1, phosphorylated (p)-PAK1, LIMK1, p-LIMK1, cofilin, and p-cofilin in the hippocampal tissue were detected using Western blot. **Results** Compared with the control group, the model group showed an obvious increase in the escape latency ($P<0.01$), and a significant decrease in the number of the original platform-crossing, the swimming time in the original platform quadrant, cytoskeleton fluorescence intensity, mRNA expression levels of Rac1, PAK1, LIMK1, and cofilin, and protein expression levels of MBP and Rac1, and the ratios of p-PAK1/PAK1, p-LIMK1/LIMK1, and p-cofilin/cofilin in the hippocampus tissue ($P<0.01$). Following EA intervention, the increased level of escape latency and the decreased levels of the number of the original platform-crossing, the swimming time in the original platform quadrant, cytoskeleton fluorescence intensity, and the expression levels of Rac1, PAK1, LIMK1, and cofilin mRNAs, and the expression levels of MBP and Rac1 proteins, and the ratios of p-PAK1/PAK1, p-LIMK1/LIMK1, and p-cofilin/cofilin were reversed ($P<0.01$, $P<0.05$). LFB staining showed disordered and loose arrangement of the fibers with vacuoles in the model group. Compared with the model group, the number of myelin fibers was increased with the fibers arranged in relatively regular order in the EA group, suggesting a reduction of the degree of demyelination. **Conclusion** EA can improve the learning-memory ability of SAMP8 mice, which may be related to its functions in up-regulating the activity of Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin signaling, and promoting the cytoskeletal reorganization to improve myelin function.

【KEYWORDS】 Alzheimer's disease; Electroacupuncture; Myelin; Cytoskeleton; Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin signaling pathway

阿尔茨海默病(AD)是一种神经退行性疾病,其典型表现为 β -淀粉样蛋白(A β)斑块沉积和Tau蛋白过度磷酸化形成神经原纤维缠结(NFTs)^[1]。研究表明,髓鞘功能下降是AD早期病理学变化之一^[2]。髓鞘形成初期,双极形状的少突胶质前体细胞(OPCs)逐渐分化为成熟的少突胶质细胞(OLs),并螺旋包裹神经元轴突^[3]。细胞骨架动力学是驱动髓鞘形成的主要决定因素^[4],Rho-GTPases家族成员被认为是细胞骨架动力学的主要调节因子^[5],其中RAS相关C3肉毒杆菌毒素底物1(Rac1)/P21-活化激酶1(PAK1)/LIM激酶1(LIMK1)/丝切蛋白(cofilin)信号通路是介导Rho-GTPases调节细胞骨架的主要通路之一。

电针结合传统针刺与现代电生理技术,可有效改善AD患者的认知能力^[6-8]。研究^[9]表明,针刺能够促进OPCs增殖分化形成OLs,进而驱动髓鞘再生,且电针能够调控细胞骨架稳定性,起到保护脑的作用^[10],但关于电针通过Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin信号通路和细胞骨架影响髓鞘功能却鲜有报道。本课题组前期研究^[11-13]表明,“益肾调督”电针法能

够改善AD模型SAMP8小鼠的学习记忆能力和髓鞘功能,本研究将进一步从髓鞘、细胞骨架及Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin信号通路的角度探讨电针改善AD学习记忆能力的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

8月龄雄性SAMP8小鼠18只、SAMR1小鼠9只,体质量(35 \pm 5)g,购于杭州子源实验动物科技有限公司,生产许可证号:SCXK(浙)2019-0004。动物饲养于福建中医药大学SPF级动物实验中心,室温(23 \pm 2) $^{\circ}$ C,湿度(55 \pm 5)%,12 h/12 h明暗交替,自由摄食饮水。适应性喂养1周后,按随机数字表法将SAMP8小鼠分为模型组(9只)、电针组(9只),SAMR1小鼠为对照组(9只)。实验过程中对动物的处置符合《关于善待实验动物的指导性意见》及相关规定^[14],且已通过福建中医药大学动物伦理委员会审核(审批号:2023143)。

1.2 主要仪器与试剂

华佗牌针灸针(0.25 mm \times 13 mm,苏州医疗用品厂),G6805-I型电针仪(青岛鑫升),电泳仪、化学

发光成像系统、荧光定量PCR仪(美国Bio-Rad),冰冻切片仪、PCR扩增仪(美国Thermo Fisher Scientific),光学显微镜(日本Olympus),荧光显微镜(德国Leica),Morris水迷宫检测系统(上海欣软)。

髓鞘碱性蛋白(MBP)抗体(美国Cell Signaling Technology),Rac1抗体、PAK1抗体、LIMK1抗体、cofilin抗体、 β -actin抗体、HRP标记的山羊抗兔二抗、HRP标记的山羊抗鼠二抗(武汉三鹰),磷酸化(p)-PAK1抗体、p-cofilin抗体(上海Abmart),p-LIMK1抗体(江苏Affinity),鬼笔环肽(美国Thermo Fisher Scientific),LFB髓鞘染色试剂盒(北京索莱宝),RNA提取试剂盒、反转录试剂盒、荧光定量PCR试剂盒(湖南艾科瑞)。

1.3 干预方法

电针组:小鼠于8月龄时进行干预,使用自制的网兜及固定装置,俯卧位固定,参照《实验针灸学》^[15]进行取穴,“百会”位于顶骨正中,“大椎”位于第7颈椎棘突下,“肾俞”位于第2腰椎棘突下。“百会”向前斜刺2 mm,“大椎”向下斜刺2~3 mm,“肾俞”向脊柱斜刺3~4 mm。其中“大椎”“肾俞”(两侧隔日交替)连接电针仪,连续波,频率2 Hz,刺激强度为1.5~2 mA,以小鼠肢体微颤不嘶叫为宜。每次20 min,每日1次,8 d为1个疗程,疗程之间间隔2 d,共治疗3个疗程。模型组、对照组:仅进行同等抓取、固定,但不予针刺。

1.4 观察指标及检测方法

Morris水迷宫实验检测小鼠学习记忆能力:干预结束后次日进行水迷宫检测,为期8 d。第1~2天对小鼠进行适应性训练;第3~7天进行定位巡航实验,记录各组小鼠从入水到找到逃生平台的逃避潜伏期;第8天进行空间探索实验,撤掉逃生平台,记录各组小鼠穿越原平台次数及原平台象限停留时间。

组织取材:行为学检测结束后,各组随机取3只小鼠,采用0.3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)进行腹腔注射麻醉,随后从心尖处注射0.9%氯化钠溶液至肝脏变白,4%多聚甲醛溶液灌注至小鼠四肢及躯体僵硬,快速取出全脑,将其置于4%多聚甲醛溶液中固定24 h后,进行蔗糖溶液梯度脱水,OCT包埋,冠状位切片,厚度为20 μ m,-80 $^{\circ}$ C保存,用于LFB染色及鬼笔环肽染色。每组剩余6只小鼠麻醉后断头取脑,剥离海马组织用于实时荧光定量PCR及Western blot检测。

LFB染色法观察小鼠海马区髓鞘改变:取出冰

冻切片复温20 min,依次放入PBS和纯水中浸洗5 min,随后将切片放入LFB染液,于60 $^{\circ}$ C烘箱浸染3 h,经95%乙醇、纯水洗涤5 min,在分化液和70%乙醇中反复浸泡切片进行背景分化,至背景颜色变浅,终止分化,中性树脂封片。光学显微镜下观察小鼠海马区髓鞘改变。

鬼笔环肽染色法观察小鼠海马区细胞骨架改变:冰冻切片复温后,PBS中洗涤7 min \times 3次。滴加1% TritonX-100,室温破膜20 min,PBS洗涤5 min \times 3次,5%牛血清白蛋白室温封闭30 min,滴加鬼笔环肽(1:500)置于4 $^{\circ}$ C摇床孵育过夜。次日复温15 min,PBS洗涤5 min \times 3次,封片。荧光显微镜下观察并拍照,使用Image J软件分析对应的绿色荧光强度。

实时荧光定量PCR法检测小鼠海马组织Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin的mRNA表达水平:每只小鼠取海马组织10 mg,充分研磨,使用试剂盒提取RNA,测定RNA浓度及纯度。按照试剂盒说明书配置反转录体系,将RNA反转录为cDNA。再配置PCR扩增体系,扩增程序为:95 $^{\circ}$ C预变性30 s;95 $^{\circ}$ C 5 s、60 $^{\circ}$ C 30 s,共40个循环。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因的相对表达量,并进行归一化处理。引物设计及合成由湖南艾科瑞生物有限公司提供,引物序列见表1。

Western blot法检测小鼠海马组织MBP、Rac1、p-PAK1、PAK1、p-LIMK1、LIMK1、p-cofilin、cofilin

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
Rac1	上游 ATGCAGGCCATCAAGTGTGT	174
	下游 TGTGTCCCATAGGCCAGAT	
PAK1	上游 ATAACACCACTCCGCCAGATG	111
	下游 CCACACTCACTATGCTCCGTAAT	
LIMK1	上游 GGCGAGGTGATGGTGTATGAA	132
	下游 CTTGTAGAGCACTCCGATGAACCTT	
cofilin	上游 GCTCAGGTCTTCAGTTGCTCTT	199
	下游 CCTCCAGGATGATGTTCTTCTTGT	
GAPDH	上游 TGTGTCCGTCGTGGATCTGA	150
	下游 TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG	

注:Rac1为RAS相关C3肉毒杆菌毒素底物1,PAK1为P21-活化激酶1,LIMK1为LIM激酶1,cofilin为丝切蛋白。

的蛋白表达水平:取每只小鼠海马组织 20 mg,加入裂解液匀浆处理后,冰上裂解 30 min,低温高速离心 10 min,取上清液,进行 BCA 蛋白定量,将样品稀释到同一浓度,加入 5×蛋白上样缓冲液,100 °C 加热 10 min 充分变性。经电泳、转膜、封闭后,4 °C 摇床加入一抗 β-actin (1:8 000)、MBP(1:1 000)、Rac1 (1:1 000)、p-PAK1 (1:1 000)、PAK1 (1:3 000)、p-LIMK1 (1:1 000)、LIMK1 (1:5 000)、p-cofilin (1:1 000)、cofilin (1:10 000) 孵育过夜。次日洗膜后,二抗 (1:10 000) 常温孵育 2 h。采用 ECL 显影液进行显影,Image J 软件分析条带,得出目的蛋白和内参 β-actin 的灰度值,以目的蛋白条带灰度值与内参条带灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量,并以对照组为标准进行归一化处理。

1.5 统计方法

运用 SPSS24.0 软件进行数据分析,GraphPad Prism 8 绘制统计图。计量资料以均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。水迷宫平均逃避潜伏期采用重复测量的方差分析,其余计量资料符合正态分布采用单因素方差分析,方差齐时组间两两比较选用 LSD 法,方差不齐选用 Games Howell 法。以 $P\leq 0.05$ 为差异具有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组小鼠 Morris 水迷宫实验结果比较

各组小鼠逃避潜伏期随训练天数增加而缩短。与对照组比较,模型组小鼠的逃避潜伏期延长 ($P<0.01$),穿越原平台次数及原平台象限停留时间减少 ($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠逃避潜伏期缩短 ($P<0.01, P<0.05$),穿越原平台次数及原平台象限停留时间增加 ($P<0.01$)。见图 1。

2.2 各组小鼠海马区髓鞘染色比较

LFB 染色显示正常髓鞘白质纤维呈深绿色,脱髓鞘表现为颜色缺失。对照组小鼠海马区 LFB 染色显示为深绿色,髓鞘纤维呈现致密有序分布。与对照组比较,模型组染色变浅,纤维排列呈现紊乱疏松,并伴有空泡出现;与模型组比较,电针组染色加深,髓鞘纤维数量增加且规整排列,提示髓鞘脱失程度减轻。见图 2。

2.3 各组小鼠海马区细胞骨架染色比较

与对照组比较,模型组小鼠海马区细胞骨架荧光强度减弱 ($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠海马区细胞骨架荧光强度增强 ($P<0.01$)。见图 3。

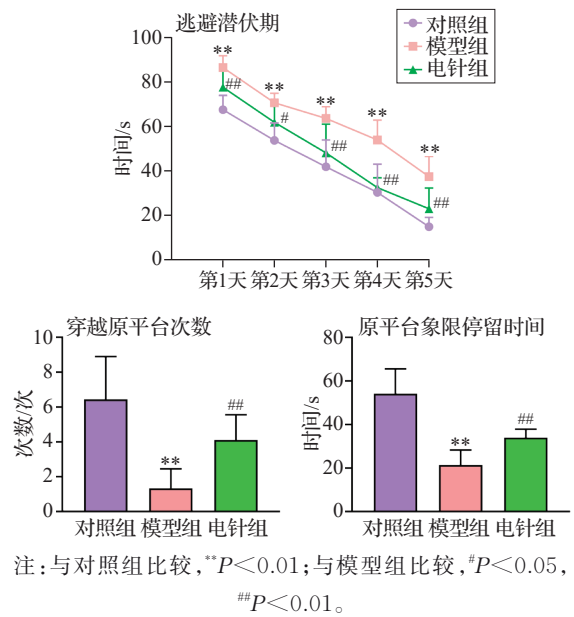
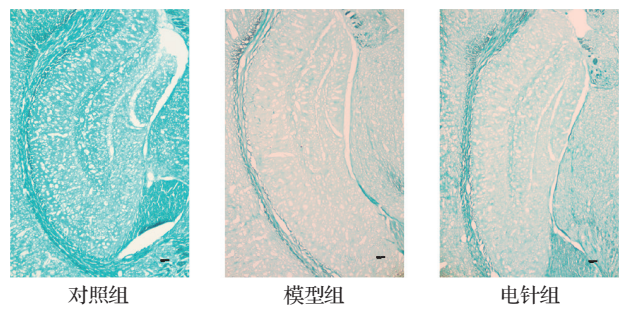


图 1 各组小鼠 Morris 水迷宫实验结果比较 ($\bar{x}\pm s, 9$ 只鼠/组)

Fig. 1 Comparison of Morris water maze test results of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s, 9$ mice/group)



注:图中深绿色为髓鞘,标尺=10 μm。

图 2 各组小鼠海马区髓鞘染色比较 (LFB 染色)

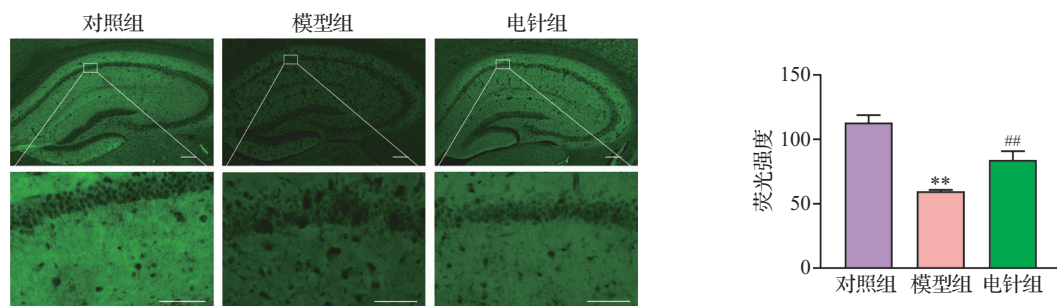
Fig. 2 Comparison of the neuronal demyelination in the hippocampus of mice in the 3 groups (LFB staining)

2.4 各组小鼠海马组织 Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin mRNA 表达比较

与对照组比较,模型组小鼠海马组织 Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin 的 mRNA 表达降低 ($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠海马组织 Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin 的 mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。见图 4。

2.5 各组小鼠海马组织 MBP、Rac1、p-PAK1、PAK1、p-LIMK1、LIMK1、p-cofilin、cofilin 蛋白表达比较

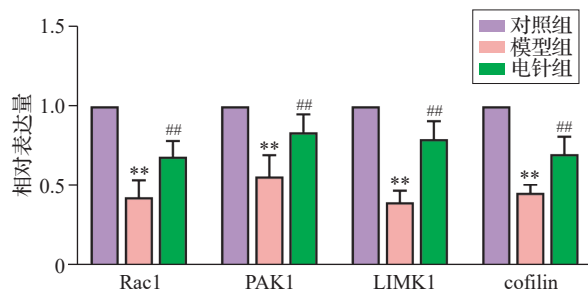
与对照组比较,模型组海马组织 MBP、Rac1 蛋白相对表达量及 p-PAK1/PAK1、p-LIMK1/LIMK1、p-cofilin/cofilin 蛋白相对表达量比值降低



注:图中绿色为细胞骨架,下排图片为上排图片框选处放大图,上排标尺=100 μm,下排标尺=100 μm。与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图3 各组小鼠海马区细胞骨架染色比较(鬼笔环肽染色, $\bar{x}\pm s$, 3只鼠/组)

Fig. 3 Comparison of cytoskeletal staining in the hippocampus of mice in the 3 groups (phalloidin staining, $\bar{x}\pm s$, 3 mice/group)



注:Rac1为RAS相关C3肉毒杆菌毒素底物1,PAK1为P21-活化激酶1,LIMK1为LIM激酶1,cofilin为丝切蛋白。与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图4 各组小鼠海马组织 Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s$, 3只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of mRNA expressions of Rac1, PAK1, LIMK1 and cofilin in the hippocampus of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 mice/group)

($P<0.01$);与模型组比较,电针组海马组织 MBP、Rac1 蛋白相对表达量及 p-PAK1/PAK1、p-LIMK1/LIMK1、p-cofilin/cofilin 蛋白相对表达量比值升高 ($P<0.05, P<0.01$)。见图5。

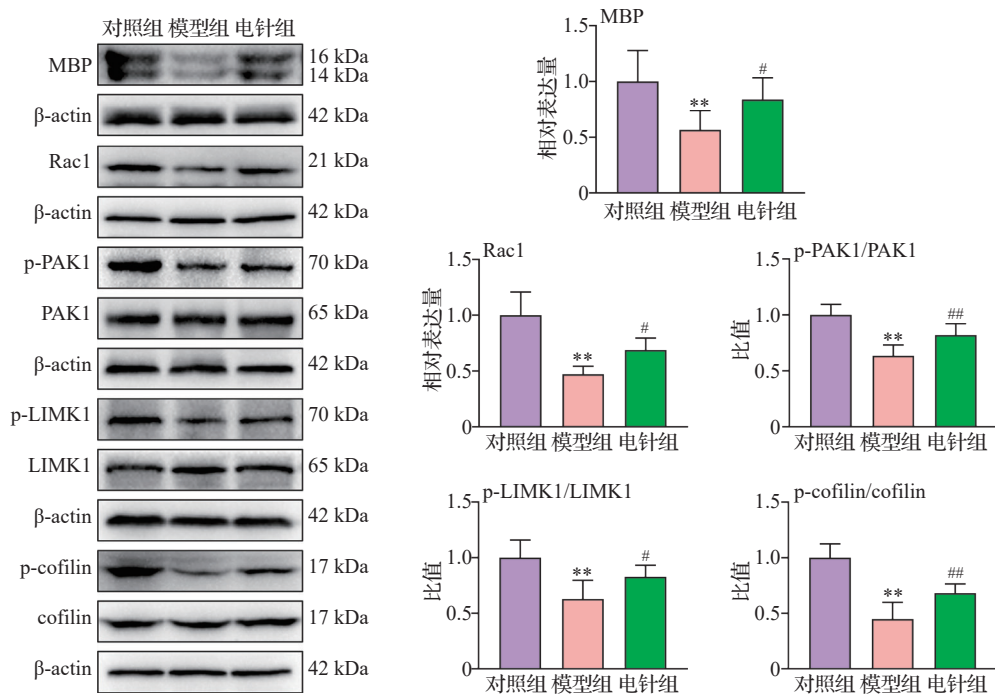
3 讨论

AD 归属于中医学的“呆病”“痴呆”范畴,病机为本虚标实。标实多因痰瘀互结,痹阻脑络;本虚盖由年老体衰或久病耗损,致肾精不足,脑髓失养^[16],进一步导致认知功能衰退^[17]。“益肾调督”法选用“百会”“大椎”“肾俞”可有效改善 SAMP8 小鼠的学习认知能力^[18]。百会位于巅顶,具有升提清阳、益肾填髓、醒脑开窍的作用。百会是临床治疗 AD 最常用的腧穴,且常与大椎配伍使用^[19]。大椎总督一身之阳气,是升阳开窍、健脑调神的效穴。肾俞可化生精髓通过足太阳膀胱经上输百会,入络脑中,发挥聪脑益智之功效。三穴相配共奏醒脑开窍、益

肾调督的作用。

研究^[20-21]表明,髓鞘与 AD 关系密切。髓鞘是由 OLs 形成并包裹轴突的多层膜结构,OLs 损伤进一步导致髓鞘损伤或脱髓鞘。A β 与 NFTs 均可影响髓鞘的稳定性,促使白质病变的发展。研究^[22-23]表明,AD 模型动物的视神经、胼胝体及海马组织中均可见髓鞘形态的缺失与改变。髓鞘的主要成分为脂质与蛋白质,MBP 约占髓鞘蛋白质总量的 30%,是 OLs 特异性表达的标记蛋白。研究^[24]表明,小鼠表现出学习和记忆受损时,其海马体积和 MBP 蛋白表达减少。髓磷脂丢失和 MBP 含量降低会促进 A β 42 沉积加速,增加淀粉样斑块形成^[25]。SAMP8 小鼠是研究 AD 和其他认知障碍最有价值的模型,其在 8~10 月龄时,海马和其他脑区会显示出与年龄相关的 AD 病理特征^[26-27]。本研究通过 Morris 水迷宫实验观察小鼠学习记忆能力,结果显示,模型组小鼠逃避潜伏期较对照组延长,原平台象限停留时间及穿越次数明显少于对照组,提示模型组的学习记忆能力减弱;经电针治疗后,小鼠学习记忆能力得到改善。LFB 染色和 Western blot 结果显示,模型组髓鞘白质纤维颜色变浅、纤维排列呈现紊乱疏松,并伴有空泡出现,且模型组 MBP 表达显著下降;电针治疗后,髓鞘染色明显加深,髓鞘纤维数量增加且排列规整,提示髓鞘脱失程度改善,且 MBP 蛋白表达有所上调。以上结果表明电针能够改善 SAMP8 小鼠学习记忆能力和海马区髓鞘结构与功能,这与本课题组前期研究结果一致^[14, 28-31]。

髓鞘形成的早期,细胞骨架可调控 OLs 的突起与轴突接触并包裹轴突。当细胞受到一定刺激后,细胞内游离的单体肌动蛋白(G-actin)彼此结合形成聚合态肌动蛋白(F-actin),并通过自身螺旋形成



注:MBP为髓鞘碱性蛋白,Rac1为RAS相关C3肉毒杆菌毒素底物1,p-PAK1为磷酸化P21-活化激酶1,PAK1为P21-活化激酶1,p-LIMK1为磷酸化LIM激酶1,LIMK1为LIM激酶1,p-cofilin为磷酸化丝切蛋白,cofilin为丝切蛋白。与对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图5 各组小鼠海马组织MBP、Rac1、p-PAK1、PAK1、p-LIMK1、LIMK1、p-cofilin、cofilin蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of MBP, Rac1, p-PAK1, PAK1, p-LIMK1, LIMK1, p-cofilin and cofilin protein expressions in the hippocampus of mice in the 3 groups($\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)

微丝,进一步驱动髓鞘形成。研究^[32]报道,通过调控细胞骨架,调节海马中MBP含量,可预防脱髓鞘疾病。Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin信号是调控细胞骨架的重要通路,其中Rac1是Rho-GTPases酶的一种,不仅参与学习和记忆的形成,且其激活或抑制状态可调控下游PAK1、LIMK1及cofilin活化,从而调控细胞骨架^[33]。PAK1及LIMK1属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员,可被上游Rac1激活并磷酸化,从而调节cofilin活性。cofilin是一种肌动蛋白结合蛋白,其活性在F-actin的解聚和聚合过程中起“开关”的作用^[34]。Rac1通过激活PAK1产生磷酸化PAK1,进一步激活磷酸化下游产物LIMK1/cofilin参与细胞骨架的调控^[35]。研究^[36]表明,激活Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin信号通路,可重塑细胞骨架,改善AD模型小鼠的学习记忆能力。本实验结果显示,模型组海马区细胞骨架损伤,电针治疗后,小鼠海马区细胞骨架损伤程度得到改善。电针治疗后,小鼠海马组织Rac1、PAK1、LIMK1、cofilin的mRNA表达显著上调,Rac1表达及p-PAK1/PAK1、p-LIMK1/LIMK1、p-cofilin/cofilin蛋白相对表达量比值较模型组明显上升,提示电针上调了SAMP8

小鼠海马组织Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin信号。

综上所述,电针可改善AD模型SAMP8小鼠的学习记忆能力,其机制可能与激活Rac1/PAK1/LIMK1/cofilin信号通路,促进细胞骨架重组,影响髓鞘功能有关。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] WELLER J, BUDSON A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment[J]. F1000Res, 2018, 7: F1000FacultyRev-1161.
- [2] RIVERA A, VANZULI I, ARELLANO J J R, et al. Decreased regenerative capacity of oligodendrocyte progenitor cells (NG2-Glia) in the ageing brain: a vicious cycle of synaptic dysfunction, myelin loss and neuronal disruption?[J]. Curr Alzheimer Res, 2016, 13(4): 413-418.
- [3] BAUER N G, RICHTER-LANDSBERG C, FFRENCH-CONSTANT C. Role of the oligodendroglial cytoskeleton in differentiation and myelination[J]. Glia, 2009, 57(16): 1691-1705.
- [4] ROSS J L, ALI M Y, WARSHAW D M. Cargo transport: molecular motors navigate a complex cytoskeleton [J]. Curr Opin Cell Biol, 2008, 20(1): 41-47.
- [5] MAROTO B, YE M B, VON LOHNEYSEN K, et al. P21-

- activated kinase is required for mitotic progression and regulates Plk1[J]. *Oncogene*, 2008, 27(36): 4900-4908.
- [6] 彭静, 罗亮, 徐丽, 等. 电针治疗 30 例阿尔茨海默病的疗效评定[J]. *针灸临床杂志*, 2015, 31(5): 39-41.
PENG J, LUO L, XU L, et al. Evaluation of the curative effect of electroacupuncture treatment on 30 cases with Alzheimer's disease (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion*, 2015, 31(5): 39-41.
- [7] 李小芬, 李晶晶, 常树勋. 阿尔兹海默症患者应用麻黄附子细辛汤与中医电针联合多奈哌齐的效果观察[J]. *临床研究*, 2023, 31(8): 119-121, 125.
LI X F, LI J J, CHANG S X. Observation on the effect of Mahuang Fuzi Xixin decoction and traditional Chinese medicine electroacupuncture combined with donepezil in patients with senile dementia (in Chinese) [J]. *Clinical Research*, 2023, 31(8): 119-121, 125.
- [8] 虞颖珩. 电针益肾填髓组穴治疗髓海不足型老年性痴呆的临床观察[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2022.
YU H H. Observation of electroacupuncture at yishen busui group points in the treatment of senile dementia with insufficient medullary sea (in Chinese) [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2022.
- [9] 胡蓉, 陈怡, 徐海鹏, 等. 电针“夹脊”穴对急性脊髓损伤大鼠少突胶质前体细胞增殖分化的影响[J]. *中国针灸*, 2020, 40(5): 519-525.
HU R, CHEN Y, XU H P, et al. Effect of electroacupuncture at “Jiaji” (EX-B2) points on the proliferation and differentiation of oligodendrocyte precursor cells in rats with acute spinal cord injury (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2020, 40(5): 519-525.
- [10] 程莹莹. 醒脑开窍针刺法对脑缺血再灌注大鼠海马细胞骨架相关蛋白的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
CHENG Y Y. Effects on cytoskeleton-associated protein in hippocampus of cerebral ischemia and reperfusion in rats by XNKQ acupuncture (in Chinese) [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2014.
- [11] 洪苗苗, 赵恩聪, 陈丽敏, 等. 电针对 SAMP8 小鼠海马区补体及小胶质细胞吞噬能力的作用机制[J]. *针刺研究*, 2022, 47(6): 479-484.
HONG M M, ZHAO E C, CHEN L M, et al. Effect of electroacupuncture on complement C1q and microglia phagocytosis in hippocampus of SAMP8 mice (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2022, 47(6): 479-484.
- [12] 杨文丹, 董卫国. 电针治疗阿尔茨海默病的 β -淀粉样蛋白沉积相关机制研究进展[J]. *针刺研究*, 2020, 45(5): 426-430.
YANG W D, DONG W G. Mechanisms of electroacupuncture for improving Alzheimer's disease from reducing β amyloid protein level (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2020, 45(5): 426-430.
- [13] 李金全, 董卫国, 温若兰, 等. 电针对阿尔茨海默病小鼠海马髓鞘相关蛋白表达的影响[J]. *针刺研究*, 2025, 50(1): 57-64.
LI J Q, DONG W G, WEN R L, et al. Effect of electroacupuncture on the expressions of myelin-related proteins in the hippocampus of mice with Alzheimer's disease (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(1): 57-64.
- [14] 《针刺研究》编辑部.《针刺研究》实验动物福利伦理审查清单[J]. *针刺研究*, 2024, 49(2): 220.
Editorial Board of *Acupuncture Research*. List of ethical reviews of laboratory animal welfare of *Acupuncture Research* (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(2): 220.
- [15] 余曙光, 徐斌. 实验针灸学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2021: 267-268.
YU S G, XU B. *Experimental acupuncture* (in Chinese) [M]. 3rd edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2021: 267-268.
- [16] 杨少敏, 黄俊燕, 李金全, 等. 基于数据挖掘的阿尔茨海默病病因病机研究[J]. *贵州中医药大学学报*, 2024, 46(4): 52-57.
YANG S M, HUANG J Y, LI J Q, et al. Research on the etiology and pathogenesis of Alzheimer's disease based on data mining (in Chinese) [J]. *Journal of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 46(4): 52-57.
- [17] 谢芳, 谢宁. 中医药治疗老年痴呆的临床研究进展[J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 47(6): 203-206.
XIE F, XIE N. Clinical research progress on traditional Chinese medicine treatment senile dementia (in Chinese) [J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 47(6): 203-206.
- [18] 杨清华, 郭玲, 陈清, 等. “益肾调督”电针对阿尔茨海默病小鼠大脑海马老年斑形成的影响[J]. *针刺研究*, 2018, 43(4): 215-220.
YANG Q H, GUO L, CHEN Q, et al. Kidney-reinforcing and Governor Vessel-regulating EA intervention may improve learning-memory possibly by suppressing formation of senile plaques in hippocampus in APP/PS 1 double transgenic Alzheimer's disease mice (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2018, 43(4): 215-220.
- [19] 黄俊燕, 杨少敏, 李金全, 等. 基于数据挖掘技术探讨针刺治疗阿尔茨海默病的选穴规律[J]. *实用中医内科杂志*, 2024, 38(9): 24-28, 151-152.
HUANG J Y, YANG S M, LI J Q, et al. Exploration on acupoint selection rule of acupuncture in treatment of Alzheimer's disease based on data mining (in Chinese) [J]. *Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine*, 2024, 38(9): 24-28, 151-152.
- [20] BRUEGGEN K, DYRBA M, CARDENAS-BLANCO A, et al. Structural integrity in subjective cognitive decline, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease based on multicenter diffusion tensor imaging[J]. *J Neurol*, 2019, 266(10): 2465-2474.
- [21] 董俊伊, 苗延巍. 阿尔茨海默病多模态 MRI 形态和功能研究进展[J]. *放射学实践*, 2019, 34(8): 930-934.
DONG J Y, MIAO Y W. Research progress on the morphology and function of multimodal MRI in Alzheimer's disease (in Chinese) [J]. *Radiologic Practice*, 2019, 34(8):

- 930-934.
- [22] YU H X, SHI J H, LIN Y Y, et al. Icaritin ameliorates Alzheimer's disease pathology by alleviating myelin injury in $3 \times \text{Tg-AD}$ mice[J]. *Neurochem Res*, 2022, 47(4): 1049-1059.
- [23] WU Y, MA Y L, LIU Z, et al. Alterations of myelin morphology and oligodendrocyte development in early stage of Alzheimer's disease mouse model[J]. *Neurosci Lett*, 2017, 642: 102-106.
- [24] 郭祎莎. 丰富环境促进大鼠髓鞘再生减轻脑卒中认知损害的机制研究[D]. 上海: 上海体育学院, 2022.
- GUO Y S. Study on the mechanism of enriched environment promoting myelin regeneration to reduce cognitive impairment in rats after stroke (in Chinese) [D]. Shanghai: Shanghai University of Sport, 2022.
- [25] TRÄGER J, WIDDER K, KERTH A, et al. Effect of cholesterol and myelin basic protein (MBP) content on lipid monolayers mimicking the cytoplasmic membrane of myelin [J]. *Cells*, 2020, 9(3): 529.
- [26] TAKEDA T, HOSOKAWA M, HIGUCHI K. Senescence-accelerated mouse (SAM): a novel murine model of senescence[J]. *Exp Gerontol*, 1997, 32(1/2): 105-109.
- [27] 苑振云, 顾平, 刘静, 等. 快速老化动物模型 SAMP₈ 小鼠及其相关研究进展[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(46): 9126-9129.
- YUAN Z Y, GU P, LIU J, et al. Progress in accelerated senescence animal models of SAMP₈ mice (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2008, 12(46): 9126-9129.
- [28] 洪苗苗, 赵恩聪, 陈丽敏, 等. 电针对 SAMP₈ 小鼠皮质及海马突触素和突触后致密物-95 表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2021, 28(1): 49-53.
- HONG M M, ZHAO E C, CHEN L M, et al. Effects of early electroacupuncture on expressions of synapsin and PSD-95 in cortex and hippocampus of SAMP₈ mice (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2021, 28(1): 49-53.
- [29] 骆雍阳, 蒋艺燕, 杨文丹, 等. 电针对 SAMP₈ 小鼠学习记忆与海马神经元 NMDA 受体表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2019, 26(3): 51-55.
- LUO Y Y, JIANG Y Y, YANG W D, et al. Effects of electroacupuncture on ability of learning and memory and expression of hippocampal neuronal NMDA receptor in SAMP₈ mice (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2019, 26(3): 51-55.
- [30] 杨文丹, 骆雍阳, 李斐斐, 等. 电针对不同阶段 SAMP₈ 小鼠学习记忆能力、神经元超微结构及 β -淀粉样蛋白、Tau 蛋白水平的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2019, 26(2): 57-61.
- YANG W D, LUO Y Y, LI F F, et al. Effects of electroacupuncture on learning memory ability, ultrastructure of neurons and expressions of $a\beta$ and Tau in different stages of SAMP₈ mice (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2019, 26(2): 57-61.
- [31] 赵恩聪, 郑家勇, 郭婉清, 等. 电针对不同阶段 SAMP₈ 小鼠学习记忆能力及海马区突触素和突触后致密物-95 表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2020, 27(3): 48-52.
- ZHAO E C, ZHENG J Y, GUO W Q, et al. Effects of electroacupuncture on learning and memory ability and expressions of hippocampal synaptophysin and PSD-95 in SAMP₈ mice at different stages (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2020, 27(3): 48-52.
- [32] WANG P, MA K, YANG L, et al. Predicting signaling pathways regulating demyelination in a rat model of lithium-pilocarpine-induced acute epilepsy: a proteomics study[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 193(Pt B): 1457-1470.
- [33] TIAN C, KAY Y, SADYBEKOV A, et al. An intellectual disability-related missense mutation in Rac1 prevents LTP induction[J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 223.
- [34] NIWA R, NAGATA-OHASHI K, TAKEICHI M, et al. Control of actin reorganization by Slingshot, a family of phosphatases that dephosphorylate ADF/cofilin [J]. *Cell*, 2002, 108(2): 233-246.
- [35] WEAR M A, SCHAFER D A, COOPER J A. Actin dynamics: assembly and disassembly of actin networks [J]. *Curr Biol*, 2000, 10(24): R891-R895.
- [36] 王小燕. 基于小胶质细胞极化、树突棘稳定探讨加减薯蓣丸改善 APP/PS1 小鼠学习记忆能力的作用机制[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- WANG X Y. Based on the microglia polarization and the stability of dendritic spine to explore the mechanism of modified Shuyu pills improving learning and memory function in APP/PS1 mice (in Chinese) [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2021.

收稿日期: 2025-04-27 修回日期: 2025-07-28
网络首发: 2026-01-30 编辑: 刘婉宁