

☆ XXXX ☆

电针督脉经穴改善阿尔茨海默病小鼠认知功能障碍及海马神经炎症反应的作用机制

李 玮¹, 李佩芳², 张道宗², 刘 辉¹, 刘 艳¹, 高 志¹, 刘晓朦¹(¹安徽中医药大学, 合肥 230038; ²安徽中医药大学第二附属医院, 合肥 230061)

【摘要】目的:探讨电针对阿尔茨海默病小鼠认知功能障碍的改善作用,并观察其是否通过调控泛素-蛋白酶体系统(UPS)相关的小胶质细胞炎症反应、信号转导及转录激活因子3(STAT3)/炎症小体/突触损伤轴发挥神经保护效应,并探讨其潜在作用机制。**方法:**设野生型为正常对照组,将Tau-P301S转基因小鼠随机分为模型组、电针组、假电针组、电针联合MG132组及MG132组,每组6只。电针组、电针联合MG132组在“大椎”“命门”“百会”和“神庭”处针刺,“百会”“神庭”接电针,疏密波,频率为2 Hz/100 Hz,留针20 min,每日1次,连续针刺6 d休息1 d为1个疗程,共治疗4个疗程;电针联合MG132组及MG132组于双侧海马CA1区注射2 μ L MG132(5 mmol/L)。采用Morris水迷宫、旷场实验评估认知功能和焦虑状态,HE染色观察海马组织病理改变,透射电镜观察海马神经元突触和线粒体超微结构损伤,免疫荧光检测海马小胶质细胞活化及跨膜蛋白16F(TMEMP16F)荧光阳性表达,Western blot检测UPS、STAT3/细胞因子信号转导抑制因子3(SOCS3)通路、炎症小体、炎症因子及突触相关蛋白的表达变化。**结果:**与正常对照组比较,模型组小鼠逃避潜伏期显著延长($P<0.05$, $P<0.01$),穿越原平台次数显著减少($P<0.05$),目标象限停留时间显著缩短($P<0.05$),旷场实验中总移动距离、穿越中心场次数、中心场停留时间及移动距离均显著减少($P<0.05$);海马CA1区神经元排列紊乱,胞体皱缩,核固缩明显,细胞间隙增宽,神经元数量减少,线粒体肿胀、嵴断裂或消失,胞质空泡样改变,突触间隙增宽、突触小泡减少;海马区离子钙结合衔接分子1(Iba1)荧光强度及阳性细胞数量、TMEMP16F/Iba1双阳性细胞数量、海马组织中磷酸化信号转导与转录激活因子3/信号转导与转录激活因子3(p-STAT3/STAT3比值)、NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)、半胱天冬酶-1(Caspase-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、环氧合酶2(COX-2)蛋白表达显著升高($P<0.01$),海马组织细胞因子信号转导抑制因子3(SOCS3)、泛素羧基末端水解酶L1(UCHL1)、白细胞介素-10(IL-10)、突触后致密蛋白95(PSD95)、突触素(SYP)蛋白表达均显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,电针组小鼠上述指标均改善($P<0.01$),海马CA1区神经元排列较规整,胞体结构相对完整,核固缩现象明显减少,细胞间隙缩小,线粒体肿胀减轻、嵴结构相对完整,胞质空泡减少,突触结构部分恢复。与电针组比较,假电针组(除SYP表达外)及电针+MG132组上述指标均有所回调($P<0.05$)。**结论:**电针可改善AD模型小鼠的认知功能障碍,其作用可能部分依赖于调控UPS功能障碍相关的小胶质炎症反应,且与调节UPS相关的STAT3/SOCS3信号异常、抑制炎症小体活化及减轻突触损伤有关。

【关键词】 电针;阿尔茨海默病;小胶质细胞;炎症小体;突触损伤;泛素-蛋白酶体系统

Mechanism of electroacupuncture at Governor Vessel acupoints in ameliorating cognitive dysfunction and hippocampal neuroinflammatory response in Alzheimer's disease mice

Li Wei¹, Li Peifang², Zhang Daozong², Liu Hui¹, Liu Yan¹, Gao Zhi¹, Liu Xiaomeng¹ (¹Anhui University of Chinese

[DOI] 10.13702/j.1000-0607.20260294

引用格式:李玮,李佩芳,张道宗,等.电针督脉经穴改善阿尔茨海默病小鼠认知功能障碍及海马神经炎症反应的作用机制[J].针刺研究,XXXX,XX(X):1-13.

项目来源:安徽省临床医学研究转化专项项目(No.202304295107020113);安徽省高等学校自然科学研究重大项目(No.2023AH040106);安徽省中医药传承创新科研项目(中医药科研课题)(No.2022CCZD05);安徽中医药大学校级探索性科研项目(No.RD171011952021);国医大师、全国名中医、岐黄学者安徽省种子选手培育项目(No.皖中医药秘[2025]9号)

通信作者:李佩芳, E-mail: lipf67@163.com

Medicine, Hefei 230038, China; ²The Second Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230061)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the ameliorative effect of electroacupuncture (EA) on cognitive dysfunction in Alzheimer's disease (AD) mice, and observe whether EA exerts neuroprotective effects by regulating ubiquitin-proteasome system (UPS)-mediated microglial inflammatory response and the signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)/inflammasome/synaptic damage axis, so as to explore its underlying mechanism.

Methods Wild-type mice were set as the normal control group. Tau-P301S transgenic mice were randomly divided into model group, EA group, sham EA group, EA combined with MG132 group and MG132 group, with 6 mice in each group. Mice in the EA group and EA+MG132 group received acupuncture at "Dazhui" (GV14), "Mingmen" (GV4), "Baihui" (GV20) and "Shenting" (GV24); electrodes were connected to GV20 and GV24 with dense-disperse waves at frequencies of 2 Hz/100 Hz for 20 min per session, once daily. A treatment course consisted of 6 consecutive days of acupuncture followed by 1 day of rest, with a total of 4 courses. Mice in the EA+MG132 group and MG132 group were injected with 2 μ L MG132 (5 mmol/L) into the bilateral hippocampal CA1 region. Morris water maze test and open field test were performed to evaluate cognitive function and anxiety-like behaviors. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe pathological changes in hippocampal tissues. Transmission electron microscopy (TEM) was adopted to detect ultrastructural damage of hippocampal neuronal synapses and mitochondria. Immunofluorescence staining was applied to examine microglial activation and the fluorescence positive expression of transmembrane protein 16F (TMEM16F) in the hippocampus. Western blot was utilized to detect the expression levels of UPS-related proteins, STAT3/suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) pathway proteins, inflammasome components, inflammatory factors and synaptic proteins. **Results** Compared with the normal control group, the model group exhibited significantly prolonged escape latency ($P<0.05$, $P<0.01$), markedly reduced times of crossing the original platform ($P<0.05$) and shortened residence time in the target quadrant ($P<0.05$). In the open field test, total movement distance, times of entering the central zone, residence time and movement distance in the central zone were all significantly decreased ($P<0.05$). In the hippocampal CA1 region of model mice, neurons were disorganized with shrunken somata, severe pyknosis, widened intercellular spaces and reduced neuronal number; mitochondria were swollen with fractured or disappeared cristae and cytoplasmic vacuolation; synaptic clefts were widened and synaptic vesicles were decreased. The fluorescence intensity and number of ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1)-positive cells, as well as the number of TMEM16F/Iba1 double-positive cells in the hippocampus were significantly elevated ($P<0.01$). The protein expression ratios of phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3 to total STAT3 (p-STAT3/STAT3), NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3), cysteinyl aspartate specific proteinase-1 (Caspase-1), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and cyclooxygenase 2 (COX-2) in hippocampal tissues were remarkably up-regulated ($P<0.01$). Meanwhile, the protein levels of SOCS3, ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 (UCHL1), interleukin-10 (IL-10), postsynaptic density protein 95 (PSD95) and synaptophysin (SYP) were markedly down-regulated ($P<0.01$). Compared with the model group, all above indicators were significantly improved in the EA group ($P<0.01$); hippocampal CA1 neurons were arranged more regularly with relatively intact somata, alleviated pyknosis and narrowed intercellular spaces; mitochondrial swelling was relieved with relatively complete cristae, cytoplasmic vacuolation was reduced, and partial recovery of synaptic structure was observed. In contrast with the EA group, almost all indicators were reversed in the sham EA group and EA+MG132 group, except for SYP expression in the sham EA group ($P<0.05$). **Conclusion** EA can alleviate cognitive dysfunction in AD model mice. Its therapeutic effect may partially depend on the regulation of UPS dysfunction-related microglial inflammation, which is associated with the normalization of UPS-mediated abnormal STAT3/SOCS3 signaling, suppression of inflammasome activation and alleviation of synaptic damage.

【KEYWORDS】 Electroacupuncture; Alzheimer's disease; Microglia; Inflammasome; Synaptic damage; Ubiquitin-proteasome system

阿尔茨海默病(AD)是最常见的神经退行性疾病,以进行性认知功能减退为核心临床表现,归属于中医“呆病”“健忘”范畴,其核心病机为脑髓空虚、神机失用。除淀粉样 β 蛋白(A β)沉积和 Tau 蛋

白异常磷酸化等经典病理改变外,越来越多研究表明,神经炎症反应在AD的发生发展中具有重要促进作用^[1]。

在与神经炎症反应相关的分子调控网络中,信

号转导及转录激活因子3(STAT3)是重要的炎症调控因子。研究显示,AD模型及患者脑组织中STAT3异常活化,且与小胶质细胞激活及炎症因子释放密切相关^[2-6]。此外,跨膜蛋白16F(TMEM16F)作为钙依赖性磷脂翻转酶,参与膜结构重塑,其表达变化可反映小胶质细胞炎性状态^[7]。近来研究显示,蛋白稳态失衡及泛素-蛋白酶体系统(UPS)异常可能参与AD病理过程^[8],但电针对相关调控机制的影响尚未明确。

电针作为中医特色外治法,在AD及轻度认知障碍的临床治疗中已积累了丰富的循证依据,多项临床研究证实电针可有效改善AD患者的认知功能、日常生活能力,且安全性良好^[9-10]。在改善认知障碍及调控中枢炎性反应方面已显示出明确研究基础,但其对AD中小胶质细胞炎性状态及相关分子通路的调控机制仍有待进一步明确。尤其是电针是否通过调节UPS相关蛋白稳态、影响STAT3信号活化,并进一步干预炎性小体相关反应及突触损伤,目前尚缺乏较为系统的实验依据。基于此,本研究基于“督脉通、脑髓充”的中医理论,观察电针督脉经穴对Tau-P301S小鼠认知功能、海马小胶质细胞活化、炎性小体相关蛋白及突触相关蛋白表达的影响,并结合MG132干预,初步探讨其与UPS/STAT3相关炎性调控机制的关系,从神经炎性反应和蛋白稳态调控角度探讨电针的作用机制,以期电针防治AD提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物和分组

30只6月龄雄性Tau-P301S转基因小鼠(C57BL/6J背景),由江苏华创信诺医药科技有限公司[生产许可证号:SCXK(苏)2020-0009]提供,SPF级饲养环境,饲养条件:干燥、通风、安静、清洁环境,室温(23 ± 2)℃,相对湿度(55 ± 3)%,12 h光/暗周期,自由摄食饮水。同期选用6只健康同品系、同周龄野生型C57BL/6J小鼠作为对照组,与转基因鼠同条件饲养。各组小鼠适应性饲养1周后开始实验。转基因AD小鼠按随机数字表法分为5组:模型组、电针组、假针刺组、电针+MG132抑制剂组、MG132抑制剂组,每组6只。所有实验方案经安徽中医药大学医学动物伦理委员会批准(批号:AHUCM-mouse-2025013),并遵循中华人民共和国科学技术部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》及相关实验动物伦理要求^[11]。

1.2 主要试剂与仪器

苏木精染液、醇溶性伊红染液、封闭用羊血清、Triton X-100(合肥Ebiogo),戊二醛、钨酸溶液(美国TED PELLA INC),兔抗离子钙结合衔接分子1(Iba1)、TMEM16F、STAT3、磷酸化(p)-STAT3、细胞因子信号转导抑制因子3(SOCS3)、泛素羧基末端水解酶L1(UCHL1)、NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)、裂解型半胱天冬酶-1(cleaved Caspase-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、环氧合酶2(COX-2)、白细胞介素-10(IL-10)、突触后致密物蛋白95(PSD-95)、突触素(SYP)一抗(英国Abcam),MG132试剂(美国MCE),二甲基亚砜(DMSO)、无菌PBS缓冲液(北京索莱宝),RIPA裂解液、蛋白酶抑制剂、BCA蛋白定量试剂盒(上海Beyotime),SDS-PAGE凝胶制备试剂盒、ECL超敏发光试剂盒(美国Thermo),山羊抗小鼠IgG、山羊抗兔IgG二抗(北京中杉金桥),荧光标记二抗、DAPI染液(美国Invitrogen),一抗二抗去除液(上海Beyotime)。

一次性半寸无菌针灸针(0.25 mm $\times$ 13 mm,苏州天协),SDZ-V电针治疗仪(苏州医疗用品厂),脑立体定位仪、医用牙科钻(深圳瑞沃德),Smart 3.0视频采集分析系统(西班牙Panlab),生物组织脱水机、包埋机、摊烤片机(湖北亚光),徕卡切片机(德国Leica),普通光学显微镜(日本Olympus),CKX53倒置荧光显微镜(日本奥林巴斯),透射电镜(日本电子),低速迷你离心机(海门其林贝尔),高速台式冷冻离心机(安徽嘉文),电泳仪、转膜仪(上海天能),酶标仪(深圳雷杜),数据切片扫描仪(匈牙利3DHISTECH),Morris水迷宫(上海欣软),旷场箱(邯郸鸿丽),Image J图像分析软件(美国NIH)。

1.3 干预方法

各组小鼠适应性饲养1周后开始干预。模型组和正常组常规抓取固定,不做针刺及药物干预;电针组给予电针干预;假电针组给予假电针干预;电针+MG132组在双侧海马CA1区注射MG132基础上给予电针干预;MG132组仅行双侧海马CA1区MG132注射,不给予电针干预。

1.3.1 双侧海马CA1区MG132立体定位注射

MG132先溶于100% DMSO配制成母液,再稀释为5 mmol/L工作液。电针+MG132组(于电针治疗前)和MG132组小鼠于异氟烷吸入麻醉后固定于脑立体定位仪,常规备皮消毒,切开头皮并暴露颅骨。参照小鼠脑立体定位图谱,确定双侧海马

CA1区注射坐标:前后径(AP)-2.0 mm,左右径(ML) $\pm$ 1.5 mm,背腹径(DV)-2.1 mm。采用微量注射器缓慢进针,每侧注射2 μ L,注射速度为1 μ L/min,注射结束后留针5 min,再缓慢退针以减少药液反流,随后缝合切口并保温,待小鼠苏醒后返回笼内饲养。

参考既往^[12]采用海马内MG132注射抑制蛋白酶体活性的研究设计,并结合本课题预实验结果,本研究于干预开始当日及第14天各行1次双侧海马CA1区注射,以覆盖整个4周干预期的关键时间窗口,以在电针干预的早期和中期阶段对UPS相关过程进行干预。由于本研究未动态检测脑内MG132浓度或蛋白酶体活性持续时间,故不将该方案解释为末次检测时仍存在全程持续性抑制。

1.3.2 电针干预

电针组及电针+MG132组采用电针督脉干预。采用小动物吸入麻醉机对小鼠异氟烷气体麻醉后,穴位选取“百会”“神庭”“大椎”“命门”^[13]。针刺插入3 mm得气后,于“百会”“神庭”连接电针仪,采用疏密波,频率2 Hz/100 Hz,电流强度1 mA,以小鼠头部轻微颤动为度。每次20 min,每日1次,每周6 d,连续治疗4个疗程。假电针组于督脉穴区旁开约2 mm非经非穴区行浅刺并接电针仪,针刺插入1 mm,电流强度0 mA,以控制固定、针刺等非特异性因素。模型组与对照组小鼠采取与电针组相同的麻醉与抓取条件,但无电针治疗。

1.4 观察指标及检测方法

Morris水迷宫实验评估小鼠空间学习和记忆能力:装置为圆形水池,放入适量清水后加入可食用钛白粉,搅匀,水温维持在(22 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C,设置隐蔽平台于固定象限,平台表面低于水面约1 cm,并使用不透光材料使平台在水中不可见。在干预结束后评估,学习训练阶段:连续5 d,每天自不同象限投入每只小鼠4次,当其找到平台或者60 s计满停止计时,记录小鼠的运动轨迹和逃避潜伏期。如果小鼠不能在限定时间60 s内找到平台,则人为引导小鼠登上平台并适应平台所在的位置15~30 s,记录逃避潜伏期为最大值。空间探测试验:训练结束24 h后移除平台,从与平台原所在象限相对的象限投入小鼠,记录在规定时间内小鼠在原平台(目标)象限停留时间、穿越原平台次数,综合评估空间记忆保持情况。

旷场实验评估小鼠自主活动能力及焦虑样行为:旷场实验的场地由一个白色PVC封闭箱组成

(50 cm $\times$ 50 cm $\times$ 40 cm)。将小鼠放于适应房间12 h后于旷场箱内面朝侧墙单独放置,自发活动,给予5 min的探索时间。实验开始前将灯光、摄像头调整至最佳状态,设置仪器参数,实验中使用Smart 3.0系统软件记录和跟踪每只小鼠的活动时间、速度和总移动距离,观察小鼠在5 min内中心场停留时间、中心场移动距离和穿越中心场的次数。每检测一只小鼠后对旷场箱进行清理,并喷洒75%的乙醇溶液,减少气味的影响。总移动距离反映自主活动水平,其他中心场活动参数反映焦虑样行为情况。

HE染色观察小鼠海马组织形态学变化:干预及行为学检测完成后,小鼠麻醉处死,每组随机选取3只小鼠心脏灌注0.9%氯化钠溶液后取脑,迅速剖取海马,用4%多聚甲醛固定脑组织后,进行脱水、石蜡包埋、切片(片厚5 μ m)。石蜡切片脱蜡处理后,先用苏木精染色10 min,蒸馏水返蓝后,再用1%伊红染色5 min,快速蒸馏水冲洗,进行梯度脱水、二甲苯透明后风干封片。显微镜观测海马神经元排列层次、胞体形态等组织病理结构,并进行拍照记录。

透射电镜观察海马神经元及突触的超微结构:另取部分海马组织置于戊二醛中固定,切3~5块1 mm $\times$ 1 mm $\times$ 1 mm大小组织块,置于电镜固定液、2.5%戊二醛溶液中固定6 h,将标本用0.1 mol/L磷酸缓冲液洗3次后,锇酸固定2 h,再次用上述缓冲液洗3次,逐级梯度乙醇、丙酮脱水,环氧丙烷过渡;环氧树脂包埋,60 $^{\circ}$ C烤箱聚合48 h;超薄切片机制备切片,厚度50~80 nm;3%醋酸铀、硝酸铅液染色,使用透射电子显微镜观察神经元及突触的超微结构。

免疫荧光检测Iba1与TMEM16F荧光阳性表达:取冰冻切片或石蜡切片,经脱蜡复水、抗原修复后,封闭非特异性位点,分别孵育TMEM16F一抗(1:150)及小胶质标志物Iba1一抗(1:200)、4 $^{\circ}$ C过夜孵育。次日用相应荧光标记二抗(1:500)孵育,DAPI复染细胞核,PBS洗涤后封片。免疫荧光图像于相同曝光参数下采集,每只小鼠选取海马CA1区连续3个非重叠视野进行分析。采用ImageJ软件进行定量:Iba1相对荧光强度以目标区域平均荧光强度表示;单位面积内Iba1阳性细胞数表示为每视野Iba1阳性细胞数量;双标结果采用Iba1与TMEM16F双阳性细胞数占Iba1阳性细胞总数的比例进行评价。

Western blot检测小鼠海马p-STAT3、

STAT3、SOCS3、UCHL1、NLRP3、Caspase-1、TNF- α 、COX-2、IL-10、PSD95、SYP蛋白表达:取海马组织于含蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液中匀浆,冰上裂解后离心,收集上清测定蛋白浓度。按等量蛋白加入SDS-PAGE胶中分离电泳,转膜至PVDF膜。使用5%脱脂奶粉或BSA封闭后,分别孵育p-STAT3(1:1 000),STAT3(1:1 000),SOCS3(1:1 000),UCHL1(1:1 000),NLRP3(1:1 000),cleaved Caspase-1(1:1 000),TNF- α (1:1 000),COX-2(1:1 000),IL-10(1:1 000),PSD95(1:1 000),SYP(1:1 000), β -actin(1:5 000),GAPDH(1:5 000)一抗,4℃过夜。次日孵育HRP标记二抗(1:5 000),经ECL化学发光显影并拍照,用ImageJ图像分析软件测定各目的条带灰度值,以 β -actin或GAPDH作为内参蛋白,以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值作为目的蛋白的相对表达量,并以对照组为标准进行归一化。

1.5 统计分析

使用SPSS 26.0和GraphPad Prism 10.0.0对数据进行分析并构建图表。实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较符合独立性、正态性和方差齐性采用单因素方差分析,方差不齐性则采用秩和检验,定位航行实验采用双因素重复测量方差分析。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

在Morris水迷宫定位航行实验中,与对照组相比,模型组小鼠逃避潜伏期延长($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组相比,干预后电针组逃避潜伏期缩短($P<0.05$, $P<0.01$),提示电针可改善AD小鼠的空间学习能力;假电针组和MG132组逃避潜伏期差异无统计学意义。与电针组相比,电针+MG132组逃避潜伏期延长($P<0.05$),表明MG132部分削弱了电针的改善作用;假电针组逃避潜伏期显著延长($P<0.05$)。

在空间探索实验中,与对照组相比,模型组穿越原平台次数明显减少,目标象限停留时间显著缩短($P<0.05$)。与模型组相比,干预后电针组穿越原平台次数和目标象限停留时间显著增加($P<0.05$);假电针组与模型组差异无统计学意义。与电针组相比,电针+MG132组和假电针组穿越原平台次数和目标象限停留时间均减少($P<0.05$)。见图1。

2.2 各组小鼠旷场实验结果比较

旷场实验结果显示,与对照组相比,模型组总运动距离、穿越中心场的次数、中心场停留时间及中心场移动距离均明显减少($P<0.01$),提示模型组小鼠自主活动能力下降并伴有焦虑样行为。与模型组比较,干预后电针组总运动距离、穿越中心场的次数、中心场停留时间及中心场移动距离均明显增加($P<0.01$);假电针组和电针+MG132组差异无统计学意义。与电针组相比,假电针组和电针+MG132组总运动距离、穿越中心场的次数、中心场停留时间及中心场移动距离均减少($P<0.05$)。见图2。

2.3 各组小鼠海马CA1区组织形态比较

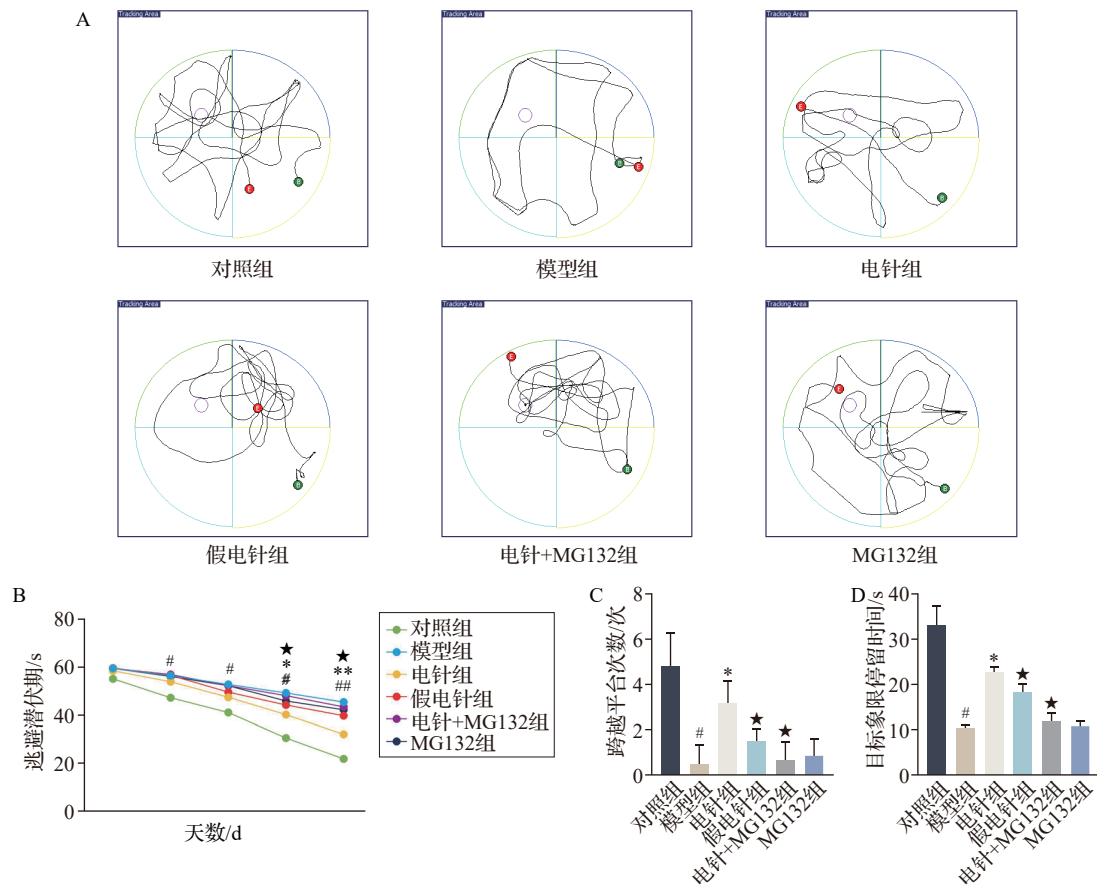
HE染色结果显示,对照组小鼠海马CA1区神经元排列整齐,胞体结构完整,核膜清晰,核仁明显。与对照组相比,模型组神经元排列紊乱,部分神经元胞体皱缩,核固缩明显,细胞间隙增宽,提示海马组织存在明显形态学损伤。电针干预后,电针组海马神经元排列较模型组更加规整,胞体结构相对完整,核固缩现象减少,细胞间隙缩小。假电针组与模型组相比未见明显改善。与电针组相比,电针+MG132组神经元形态改善程度减弱,而MG132组的形态改变与模型组相近。见图3。

2.4 各组小鼠海马神经元形态及超微结构比较

透射电镜观察进一步证实了上述结果。对照组神经元核膜完整,线粒体结构清晰,嵴排列规整,突触结构完整。模型组可见线粒体肿胀、嵴断裂或消失,胞质空泡样改变明显,突触间隙增宽,突触小泡减少。电针干预后,电针组线粒体肿胀减轻,嵴结构相对完整,胞质空泡减少,突触结构部分恢复。假电针组超微结构改变与模型组相近。与电针组相比,电针+MG132组上述改善作用减弱,而MG132组仍表现出明显的线粒体损伤及突触结构异常。见图4。上述结果表明,电针可在形态学和超微结构水平缓解模型小鼠海马神经元损伤,而蛋白酶体抑制可部分削弱这一作用。

2.5 各组小鼠海马小胶质活化及TMEM16F荧光阳性表达比较

与对照组比较,模型组小鼠海马区Iba1阳性小胶质细胞数量增多,荧光信号增强;与模型组比较,电针组干预后上述改变改善,而假电针组改善不明显。与电针组比较,电针+MG132组Iba1荧光信号增强。定量分析显示,模型组Iba1荧光强度和阳性细胞数量较对照组增加($P<0.01$),电针组Iba1荧



注:(A)Morris水迷宫空间探索实验代表性轨迹图。(B)定位航行实验逃避潜伏期。(C)空间探索实验中穿越原平台次数。(D)空间探索实验中目标象限停留时间。与对照组相比,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与模型组相比,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与电针组相比,^{*} $P<0.05$ 。

图1 各组小鼠Morris水迷宫实验学习记忆能力比较($\bar{x}\pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 1 Comparison of learning and memory abilities of mice in the 6 groups via the Morris water maze test ($\bar{x}\pm s$, 6 mice/group)

光强度和阳性细胞数量较模型组减少($P<0.01$),电针+MG132组和假电针组 Iba1 荧光强度和阳性细胞数量较电针组增加($P<0.05$)。

双标定量结果显示,模型组小鼠海马区 TMEM16F/Iba1 双阳性细胞比例较对照组增加($P<0.01$),电针组 TMEM16F/Iba1 双阳性细胞比例较模型组减少($P<0.01$),而电针+MG132组和假电针组 TMEM16F/Iba1 双阳性细胞比例较电针组增加($P<0.05$)。提示电针可抑制模型小鼠海马小胶质细胞活化, MG132 可部分逆转电针的干预作用。见图5。

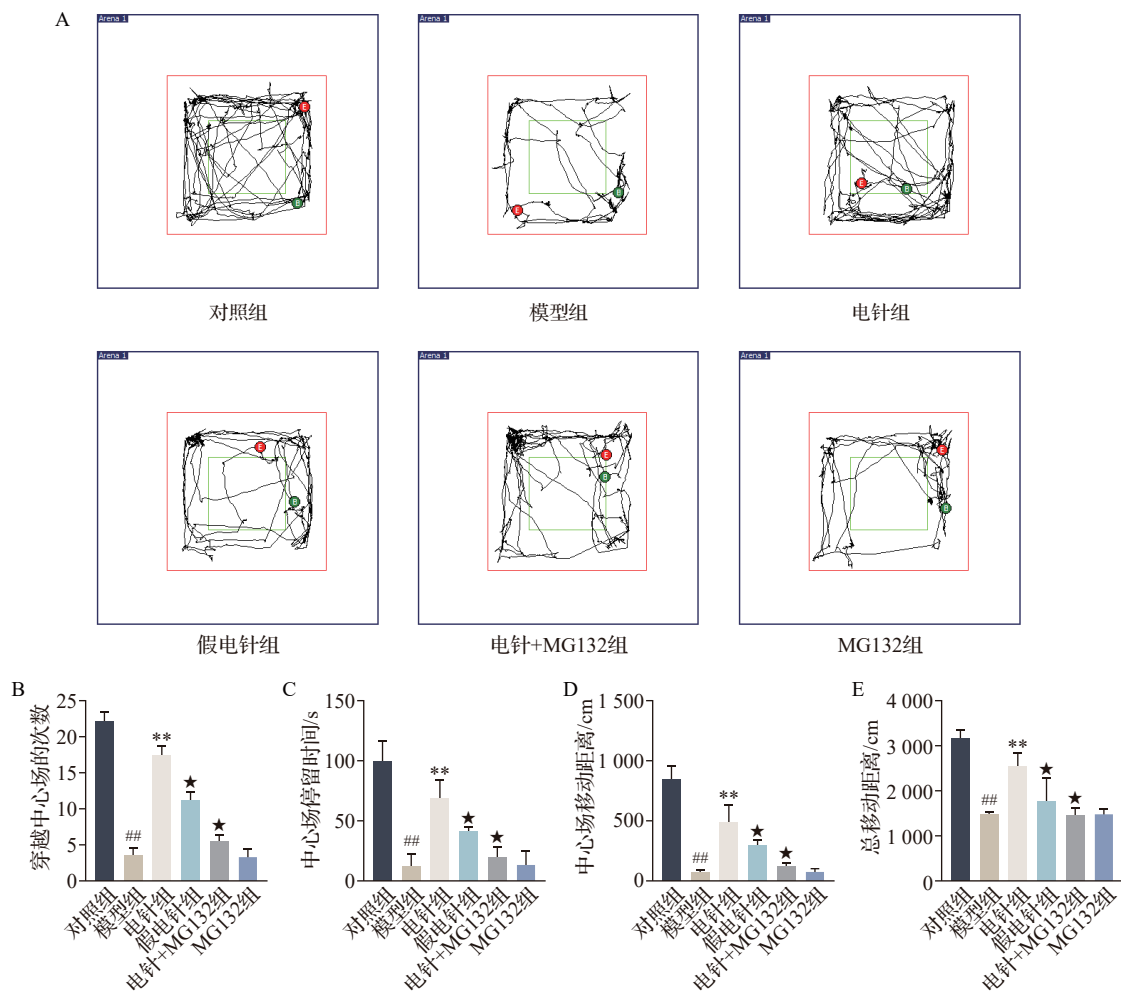
2.6 各组小鼠海马 UPS/STAT3/NLRP3 炎性小体相关蛋白表达的比较

与对照组相比,模型组海马组织中 p-STAT3/STAT3 比值显著升高($P<0.01$), SOCS3 和 UCHL1 表达明显降低($P<0.01$),提示 STAT3 信号异常激活并伴随 UPS 相关调控受损。同时,

NLRP3 及 Caspase-1 表达显著升高($P<0.01$),提示炎性小体相关信号被激活。与模型组相比,电针干预后电针组 p-STAT3/STAT3 比值明显下降($P<0.01$), SOCS3 和 UCHL1 表达显著升高($P<0.01$),同时 NLRP3 及 Caspase-1 表达明显降低($P<0.01$);假电针组差异无统计学意义。与电针组相比,假电针组和电针+MG132组 p-STAT3/STAT3 比值升高($P<0.05$), SOCS3 和 UCHL1 表达下降($P<0.05$), NLRP3 及 Caspase-1 表达升高($P<0.05$);MG132 组 p-STAT3/STAT3 比值、SOCS3 和 UCHL1 差异无统计学意义。表明电针可调节 STAT3 信号活性及 UPS 相关分子表达,并抑制炎性小体异常激活;蛋白酶体抑制剂可部分逆转电针的调节作用。见图6。

2.7 各组小鼠炎性因子和突触相关蛋白表达的比较

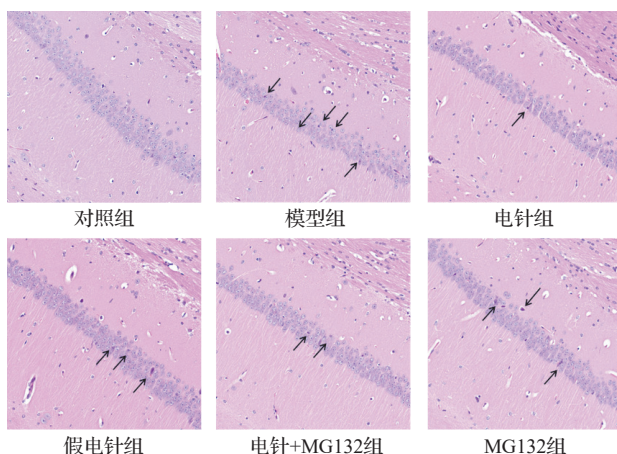
与对照组相比,模型组海马组织中 TNF- α 和



注:(A)旷场实验代表性轨迹图。(B)穿越中心场次数。(C)中心场停留时间。(D)中心场移动距离。(E)总移动距离。与正常组相比,## $P<0.01$;与模型组相比,** $P<0.01$;与电针组相比,* $P<0.05$ 。

图2 各组小鼠旷场实验焦虑样行为比较($\bar{x}\pm s$,6只鼠/组)

Fig. 2 Comparison of anxiety-like behaviors in the open field test of mice in the 6 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 mice/group)

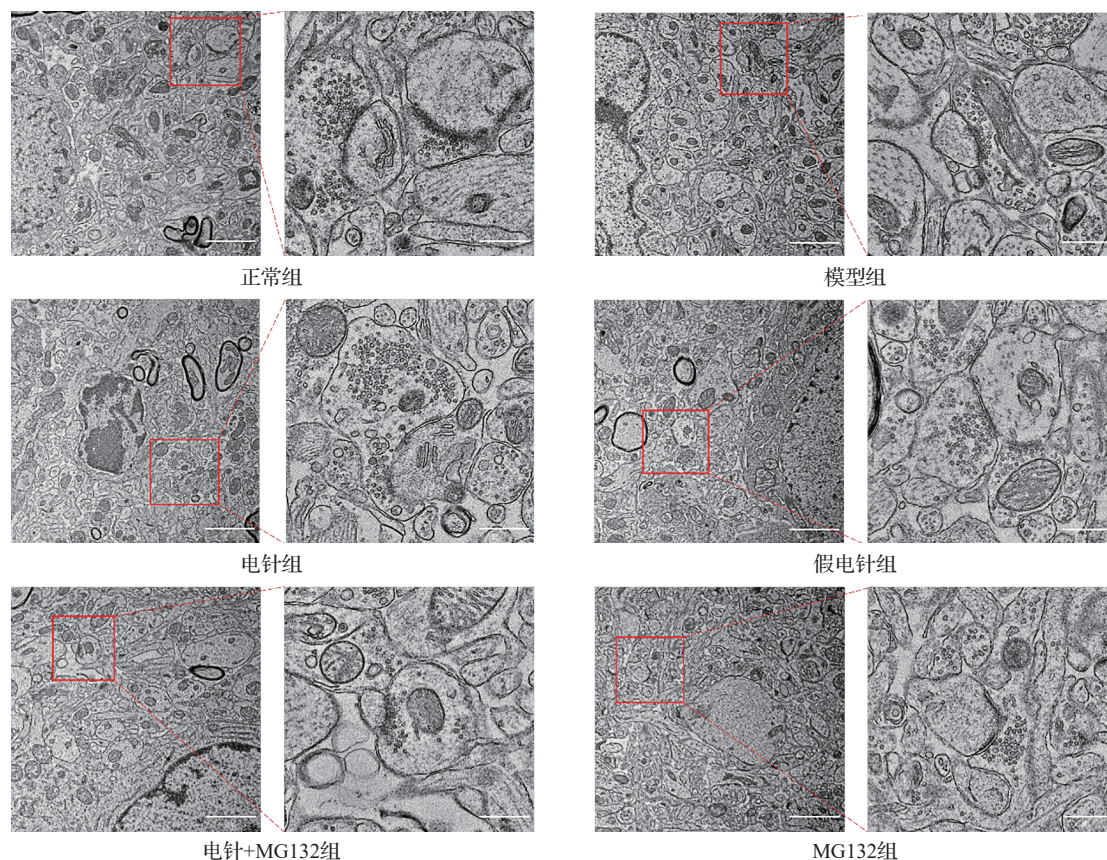


注:标尺=100 μm 。黑色箭头示核固缩及细胞间隙增宽。

图3 各组小鼠海马CA1区神经元病理形态比较(HE染色)

Fig. 3 Comparison of pathological morphology of neurons in hippocampal CA1 region of mice of the 6 groups (HE staining)

COX-2表达显著升高,IL-10表达明显降低($P<0.01$),提示炎性微环境失衡。与此同时,PSD95和SYP表达显著下降($P<0.01$),提示突触结构与功能受损。电针干预后,电针组TNF- α 和COX-2表达明显降低,IL-10表达升高($P<0.01$),表明电针可有效改善模型组小鼠海马炎性状态。同时,电针组PSD95和SYP表达显著升高($P<0.01$),提示电针对突触相关蛋白具有保护作用。与模型组相比,假电针组上述炎性因子及突触相关蛋白均未见明显改善。与电针组相比,电针+MG132组和假电针组TNF- α 和COX-2表达升高,IL-10、PSD95表达下降($P<0.05$),电针+MG132组SYP表达下降($P<0.05$),表明MG132可部分削弱电针对炎性微环境及突触蛋白的改善作用。MG132组较模型组差异无统计学意义。见图7。上述结果提示,电针对炎性输出和突触相关蛋白的调节作用可被蛋白酶体



注:左列标尺=2 μm,右列标尺=500 nm。右图为左图红色框部分的放大图。

图4 各组小鼠海马神经元超微结构比较(透射电子显微镜)

Fig. 4 Comparison of ultrastructure of hippocampal neurons of mice in the 6 groups (transmission electron microscope)

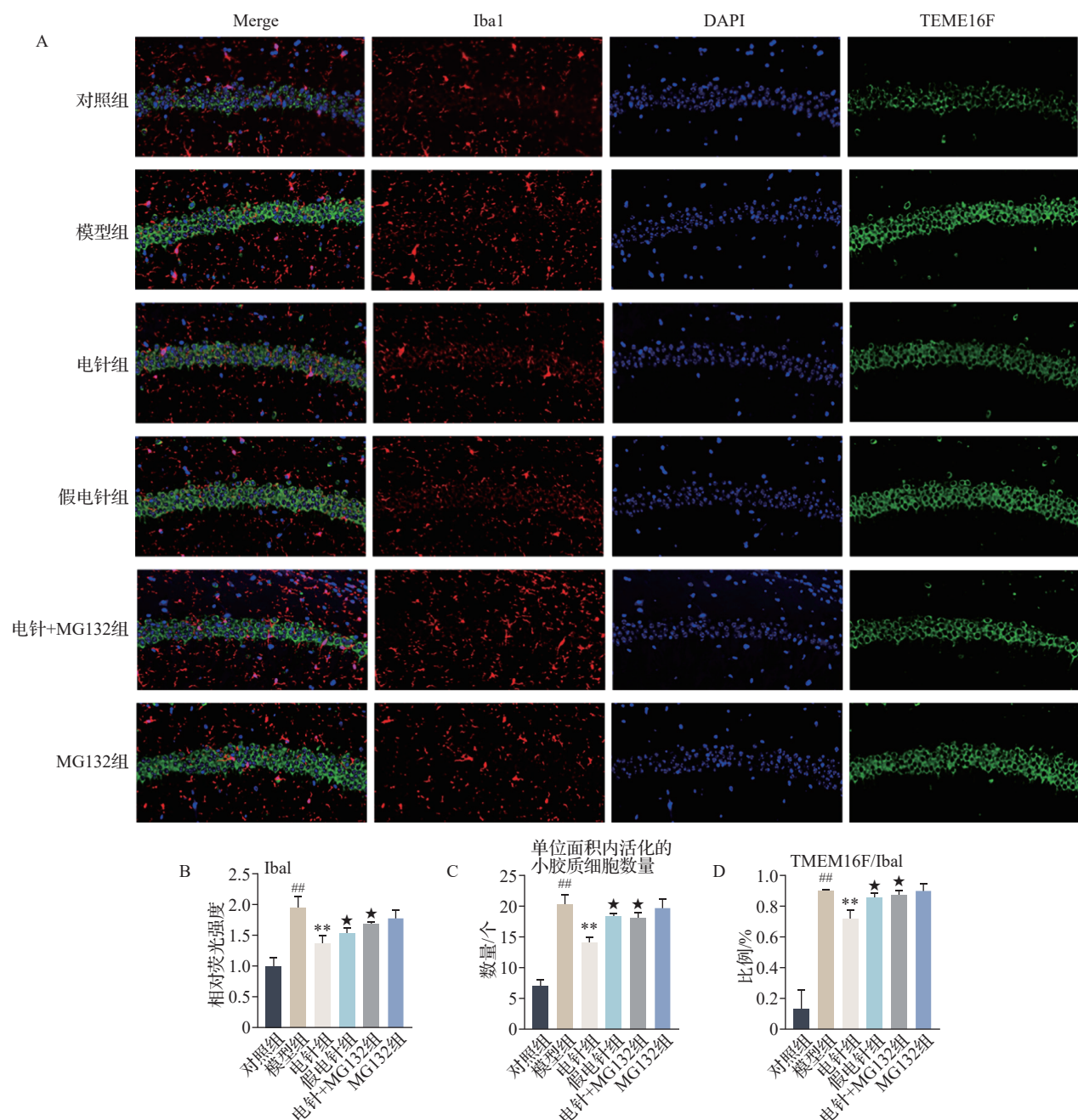
抑制部分逆转,说明其保护效应与UPS相关调控有关。

3 讨论

中医认为,脑为髓之海,而督脉为脑髓生成和充养的重要经脉,《难经·二十八难》明确其“入属于脑”的循行联系。《医林改错·脑髓说》载“脑髓中一时无气,不但无灵机,必死一时”,强调阳气充盛则脑窍清利。当督脉气机阻滞、精髓输布失常时,脑髓失养、痰瘀互结,进而引发神机失用,表现为记忆减退、认知障碍^[14-15],与AD的核心临床表现具有一定一致性。本研究基于督脉“督脉通、脑髓充、神机复”理论,选取督脉神庭、百会、大椎、命门核心经穴进行针刺,于神庭、百会加电干预,结果证实电针督脉可显著改善Tau-P301S小鼠的认知功能障碍,减轻海马神经元损伤及突触超微结构破坏,其作用与调控UPS/STAT3相关神经炎性反应密切相关。从中医病机来看,AD的核心病理改变为脑髓空虚、神经炎性反应介导的脑窍失养,而督脉作为精髓与阳气上输脑窍的重要通路,其气机通畅与否可能影

响脑髓充养状态^[16-17]。所选穴位中,百会、神庭通头部阳气、清利脑窍,大椎升阳通络抗炎,命门补肾填精充髓,诸穴合用共奏通督启神、填精益髓、抗炎护脑之效,与现代研究中督脉穴位电针可通过调控中枢炎性反应、改善突触可塑性发挥脑保护作用的结论一致^[18-21]。

神经炎性反应是AD发生发展的重要病理基础,小胶质细胞过度活化在其中发挥关键作用。生理状态下,小胶质细胞有助于维持中枢内环境稳态;而在病理刺激下,其持续活化可释放白细胞介素-1β(IL-1β)、TNF-α等多种促炎因子,进一步放大大局炎性反应,加重神经元损伤及突触功能障碍^[22-24]。本研究免疫荧光染色结果显示,模型组小鼠海马区Iba1阳性荧光信号明显增强,提示小胶质细胞处于活化状态;电针干预后Iba1荧光强度降低,同时IL-10表达升高、TNF-α表达下调,说明电针可在一定程度上抑制海马炎性反应。本研究采用TMEM16F与Iba1双重免疫荧光染色,以观察TMEM16F在小胶质细胞中的表达变化^[25]。结果显示,模型组海马区TMEM16F与Iba1共定位信号明



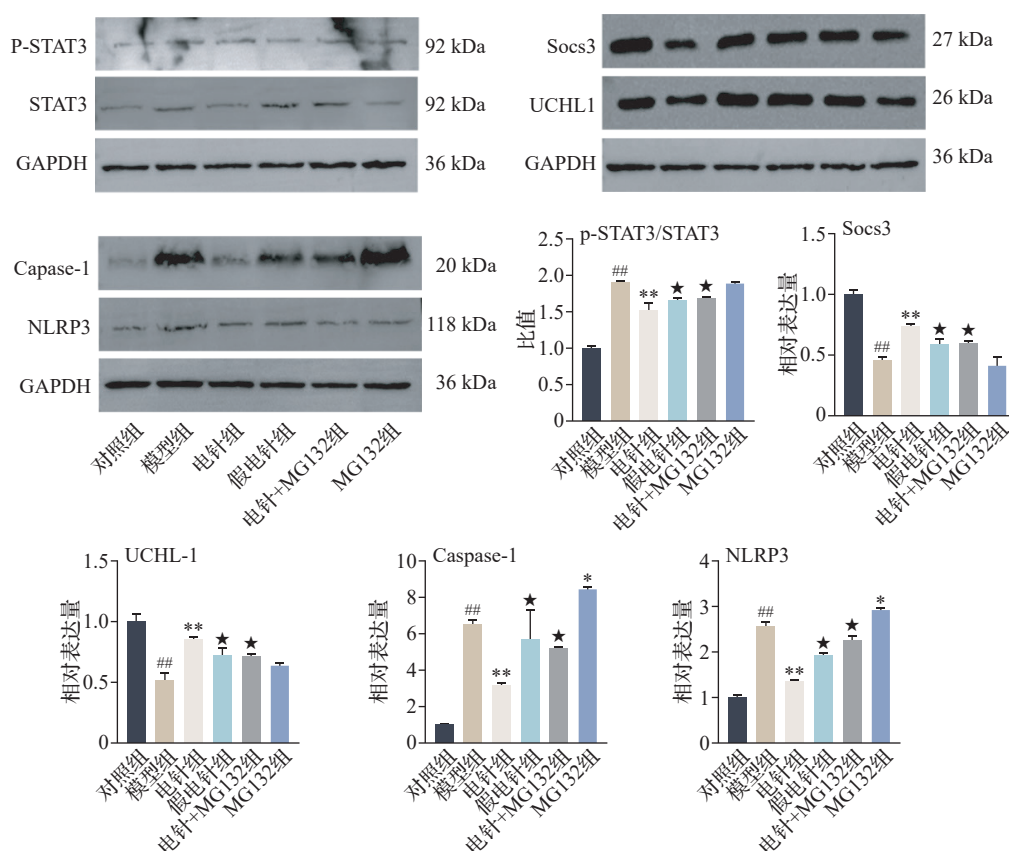
注: Iba1 为离子钙结合衔接分子 1, TMEM16F 为跨膜蛋白 16F。红色荧光为 Iba1, 蓝色荧光为 DAPI, 绿色荧光为 TMEM16F。标尺=20 μm 。与对照组相比, ^{##} $P<0.01$; 与模型组相比, ^{**} $P<0.01$; 与电针组相比, ^{*} $P<0.05$ 。

图 5 各组小鼠海马 Iba1 及 TMEM16F 免疫荧光表达比较 ($\bar{x}\pm s$, 3 只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of immunofluorescence expression of Iba1 and TMEM16F in the hippocampal region of mice in the 6 groups ($\bar{x}\pm s$, 3 mice/group)

显增强,提示 AD 状态下小胶质细胞中 TMEM16F 表达升高;电针干预后,共定位信号明显减弱,说明电针可降低活化小胶质细胞中 TMEM16F 的表达。结合 Iba1、TNF- α 及 IL-10 表达变化,提示 TMEM16F 可能参与小胶质细胞炎症反应调控,并可能是电针改善神经炎症发育的重要相关分子之一,但其具体作用机制仍有待进一步研究。

STAT3 信号通路是连接炎症刺激与转录调控的重要分子环节。研究表明,STAT3 异常活化可促进多种炎症相关基因表达,并参与小胶质细胞介导的神经炎症反应过程^[26-28]。同时,蛋白稳态失衡与神经退行性疾病密切相关,UPS 功能异常可影响多种关键信号蛋白的降解与周转,从而改变炎症反应的持续状态^[29-30]。本研究各指标变化提示,UPS



注:p-STAT3为磷酸化信号转导及转录激活因子3,STAT3为信号转导及转录激活因子3,SOCS3为细胞因子信号转导抑制因子3,UCHL1为泛素羧基末端水解酶L1,NLRP3为NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3,Caspase-1为半胱天冬酶-1。

与对照相比,## $P<0.01$;与模型组相比,** $P<0.01$;与电针组相比,* $P<0.05$ 。

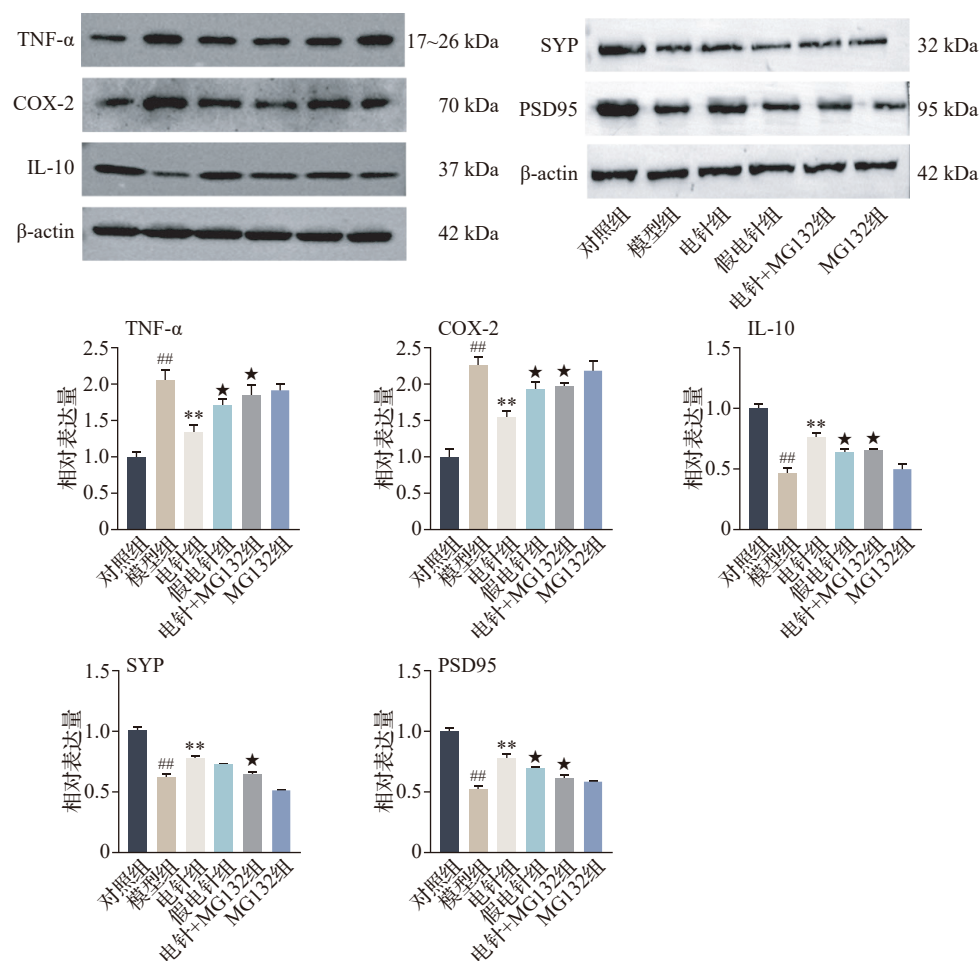
图6 各组小鼠STAT3/SOCS3/UPS/炎性小体信号轴蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$,3只鼠/组)

Fig. 6 Comparison of protein expression of STAT3/SOCS3/UPS/inflammasome signaling axis of mice in the 6 groups ($\bar{x}\pm s$, 3 mice/group)

功能受损可能削弱对STAT3信号的负向调控,导致STAT3异常活化并进一步放大神经炎症反应;电针则可能通过恢复这一调控环节而抑制炎症级联。此外,模型组小鼠海马区p-STAT3/STAT3比值升高,UCHL1和SOCS3表达下降,提示UPS相关蛋白稳态及STAT3负调控机制可能受损;电针干预后,p-STAT3/STAT3比值下降,UCHL1和SOCS3表达升高,而联合蛋白酶体抑制剂MG132后,上述改善作用被部分削弱,这表明电针可能通过调节UPS功能、恢复相关蛋白稳态,增强对STAT3信号的负向调控,进而抑制其异常活化。进一步研究显示,模型组NLRP3及Caspase-1表达升高,提示炎性小体相关反应被激活;电针可下调上述蛋白表达,而MG132可部分逆转其作用,说明电针可能通过调节UPS/STAT3相关炎症通路,抑制炎症级联反应^[31-33]。本研究显示UCHL1恢复幅度与p-STAT3/STAT3下调幅度趋势一致,提示电

针可能参与对STAT3异常活化的抑制,但其直接结合关系仍需免疫共沉淀实验验证。

结合NLRP3及Caspase-1的变化可见,STAT3异常活化不仅与炎症因子释放增加相关,还可能通过炎性小体激活进一步加重突触损伤,最终表现为SYP、PSD95下调及认知功能受损。突触损伤是AD认知障碍的重要发病结构基础,突触前蛋白SYP和突触后致密物蛋白PSD95是反映突触完整性与可塑性的重要指标^[34-35]。本研究电镜结果显示,模型组小鼠海马突触结构受损明显,表现为突触间隙模糊、突触后致密物变薄及线粒体肿胀,SYP和PSD95表达下降。电针干预后,突触超微结构损伤减轻,SYP和PSD95表达升高,而MG132可部分削弱这一改善作用,提示电针可能通过抑制UPS/STAT3相关神经炎症反应,发挥突触保护作用。因此,本研究所检测的行为学、信号通路、炎症因子及突触结构指标共同反映了“UPS失衡



注:TNF-α为肿瘤坏死因子-α,COX-2为环氧化酶2,IL-10为白细胞介素-10,PSD95为突触后致密物蛋白95,SYP为突触素。
与对照组相比,^{##} $P<0.01$;与模型组相比,^{**} $P<0.01$;与电针组相比,^{*} $P<0.05$ 。

图7 各组小鼠炎症因子和突触相关蛋白表达的比较($\bar{x}\pm s$,3只鼠/组)

Fig. 7 Comparison of the expression of inflammatory factors and synapse-related proteins of mice in the 6 groups ($\bar{x}\pm s$, 3 mice/group)

-STAT3异常活化-炎症小体激活-突触损伤-认知障碍”的连续病理过程。

综上,本研究证实电针督脉可改善 Tau-P301S 小鼠认知功能及海马损伤,其机制可能与调节 UPS 功能、抑制 STAT3 异常活化及下游神经炎症反应、保护突触结构完整性有关。本研究局限性在于未直接检测泛素化水平、缺乏单独溶剂对照,且未明确 TMEM16F 的具体作用,后续将通过免疫共沉淀、基因敲除等技术,进一步验证 UPS 与 STAT3/NLRP3 的直接分子联系,完善电针治疗 AD 的机制网络。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

[1] Thakur S, Dhapola R, Sarma P, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: current progress in molecular signaling and therapeutics[J]. Inflammation, 2023, 46(1): 1-17.

[2] Levy D E, Darnell J E. STATs: transcriptional control and biological impact[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2002, 3(9): 651-662.

[3] Liu M, Pan J R, Li X M, et al. Interleukin-6 deficiency reduces neuroinflammation by inhibiting the STAT3-cGAS-STING pathway in Alzheimer's disease mice [J]. J Neuroinflammation, 2024, 21(1): 282.

[4] Eufemi M, Cocchiola R, Romaniello D, et al. Acetylation and phosphorylation of STAT3 are involved in the responsiveness of microglia to beta amyloid [J]. Neurochem Int, 2015, 81: 48-56.

[5] 李渤,王强,刘隽阳,等.“嗅三针”调控小胶质细胞改善血管性痴呆大鼠髓鞘再生的机制研究[J].中国针灸,2025,45(4):473-481.

Li L, Wang Q, Liu J Y, et al. Mechanism of “olfactory three needles” in regulating microglia and promoting remyelination in vascular dementia rats (in Chinese) [J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2025, 45(4): 473-481.

[6] 郭婕,赵颖倩,李华,等.电针对帕金森病痴呆小鼠海马突

- 触可塑性和补体依赖性记忆障碍的影响[J]. 针刺研究, 2022, 47(12): 1041-1047.
- Guo J, Zhao Y Q, Li H, et al. Effect of electroacupuncture on hippocampal synaptic plasticity and complement dependent memory impairment in Parkinson's disease dementia mice (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2022, 47(12): 1041-1047.
- [7] Suzuki J, Umeda M, Sims P J, et al. Calcium-dependent phospholipid scrambling by TMEM16F [J]. *Nature*, 2010, 468(7325): 834-838.
- [8] Zhang J, Yan H, Wu Y P, et al. Activation of GluR6-containing kainate receptors induces ubiquitin-dependent Bcl-2 degradation *via* denitrosylation in the rat hippocampus after kainate treatment [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(9): 7669-7680.
- [9] Sun B L, Li W W, Zhu C, et al. Clinical research on Alzheimer's disease: progress and perspectives[J]. *Neurosci Bull*, 2018, 34(6): 1111-1118.
- [10] 张思琪, 马帅, 杨添淞, 等. 孙氏头针腹针联合盐酸多奈哌齐治疗阿尔茨海默病的临床观察[J]. 针刺研究, 2024, 49(5): 506-511.
- Zhang S Q, Ma S, Yang T S, et al. Clinical observation on the combined use of sun's scalp acupuncture and abdominal acupuncture with donepezil hydrochloride for the treatment of Alzheimer's Disease (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(5): 506-511.
- [11] 《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*. Review list of welfare ethics of experimental animals in *Acupuncture Research* (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(2): 220.
- [12] Niu X J, Zhao Y H, Yang N, et al. Proteasome activation by insulin-like growth factor-1/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 signaling promotes exercise-induced neurogenesis[J]. *Stem Cells*, 2020, 38(2): 246-260.
- [13] 郭义. 实验针灸学[M]. 5版. 北京: 中国中医药出版社, 2021.
- Guo Y. Experimental acupuncturology (in Chinese) [M]. 5th edition. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [14] 朱才丰, 张利达, 宋小鸽, 等. 艾灸督脉对阿尔茨海默病转基因小鼠自噬水平及学习记忆能力的影响[J]. 针刺研究, 2019, 44(4): 235-241.
- Zhu C F, Zhang L D, Song X G, et al. Moxibustion improves learning-memory ability by promoting cellular autophagy and regulating autophagy-related proteins in hippocampus and cerebral cortex in APP/PS1 transgenic Alzheimer's disease mice (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2019, 44(4): 235-241.
- [15] 谈倩, 杜艳军, 游敏. 基于“肾-督脉-脑”轴探讨针灸防治阿尔茨海默病的研究进展[J]. 中国针灸, 2025, 45(5): 601-608.
- Tan Q, Du Y J, You M. Research progress of acupuncture for the prevention and treatment of Alzheimer's disease based on the “kidney-governor vessel-brain” axis (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2025, 45(5): 601-608.
- [16] 周红海, 田聪, 陆延. 督脉与脊柱相关理论关系的辨析[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(9): 2237-2239.
- Zhou H H, Tian C, Lu Y. Analysis of the relationship between Du meridian and spine-related theory (in Chinese) [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2016, 27(9): 2237-2239.
- [17] 马帅, 杨添淞, 张思琪, 等. 电针督脉及情感区对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及炎症的改善作用[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(6): 192-195.
- Ma S, Yang T S, Zhang S Q, et al. Effect of electroacupuncture on learning and memory of vascular dementia rats and the improvement of inflammation (in Chinese) [J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 51(6): 192-195.
- [18] 蒲红春, 王志明, 李仪. 电针百会、神庭调控BDNF、TrkB介导的小胶质细胞极化改善大鼠失眠[J]. 广州中医药大学学报, 2025, 42(10): 2514-2520.
- Pu H C, Wang Z M, Li Y. Electroacupuncture at Baihui and Shenting regulates BDNF/TrkB-mediated microglial polarization to improve insomnia in rats (in Chinese) [J]. *Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine*, 2025, 42(10): 2514-2520.
- [19] 石蓉, 马铁明, 孙世婧, 等. “调神通络”电针经Nrf2/TREM2通路调控CIRI学习记忆障碍大鼠小胶质细胞极化的机制研究[J/OL]. 针刺研究, 1-14[2026-03-12]. <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.20251014>.
- Shi R, Ma T M, Sun S J, et al. Mechanism of Tiaoshen Tongluo electroacupuncture regulating microglial polarization via the Nrf2/TREM2 pathway in rats with learning-memory impairment after cerebral ischemia-reperfusion injury [J/OL]. *Acupuncture Research*, 1-14 [2026-03-12]. <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.20251014>.
- [20] Li K, Shi G Q, Zhao Y, et al. Electroacupuncture ameliorates neuroinflammation-mediated cognitive deficits through inhibition of NLRP3 in Presenilin1/2 conditional double knockout mice[J]. *Neural Plast*, 2021, 2021(1): 8814616.
- [21] Jiang J, Ding N, Wang K, et al. Electroacupuncture could influence the expression of IL-1 β and NLRP3 inflammasome in hippocampus of Alzheimer's disease animal model[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 8296824.
- [22] Wang C C, Zong S, Cui X L, et al. The effects of microglia-associated neuroinflammation on Alzheimer's disease [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1117172.
- [23] Zhou M O, Cornell J, Salinas S, et al. Microglia regulation of synaptic plasticity and learning and memory[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17(4): 705.
- [24] Yang X M, Wang J, Jia X T, et al. Microglial polarization in Alzheimer's disease: Mechanisms, implications, and therapeutic opportunities [J]. *J Alzheimers Dis*, 2025, 104

- (1): 3-13.
- [25] Batti L, Sundukova M, Murana E, et al. TMEM16F regulates spinal microglial function in neuropathic pain states [J]. *Cell Rep*, 2016, 15(12): 2608-2615.
- [26] Wen X Y, Hu J Y. Targeting STAT3 signaling pathway in the treatment of Alzheimer's disease with compounds from natural products [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 141: 112936.
- [27] Sun J, Zhang Y H, Kong Y, et al. Microbiota-derived metabolite Indoles induced aryl hydrocarbon receptor activation and inhibited neuroinflammation in APP/PS1 mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2022, 106: 76-88.
- [28] Al-kuraishy H M, Sulaiman G M, Mohammed H A, et al. Targeting the JAK/STAT3/SOCS signaling pathway in Alzheimer's disease [J]. *Inflammopharmacology*, 2025, 33 (6): 2951-2962.
- [29] Mi Z P, Graham S H. Role of UCHL1 in the pathogenesis of neurodegenerative diseases and brain injury [J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 86: 101856.
- [30] 郭静, 李斌, 谢沛俊, 等. 基于泛素-蛋白酶体途径探讨远志散“益气化痰开窍”治疗阿尔茨海默病的科学内涵[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(7): 2334-2339.
- Guo J, Li B, Xie P J, et al. Hypothesis on the mechanism of Yuanzhi Powder for treating Alzheimer's disease by “benefiting qi and dissolve phlegm to open brain orifices” *via* ubiquitin-proteasome system (in Chinese) [J]. *World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 23(7): 2334-2339.
- [31] Heneka M T, Kummer M P, Stutz A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice [J]. *Nature*, 2013, 493(7434): 674-678.
- [32] Van Zeller M, Dias D, Sebastião A M, et al. NLRP3 inflammasome: a starring role in amyloid- β - and tau-driven pathological events in Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2021, 83(3): 939-961.
- [33] Barczuk J, Siwecka N, Lusa W, et al. Targeting NLRP3-mediated neuroinflammation in Alzheimer's disease treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(16): 8979.
- [34] Liu J P, Chang L R, Roselli F, et al. Amyloid- β induces caspase-dependent loss of PSD-95 and synaptophysin through NMDA receptors [J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 22 (2) : 541-556.
- [35] Gylys K H, Fein J A, Yang F S, et al. Synaptic changes in Alzheimer's disease; increased amyloid-beta and gliosis in surviving terminals is accompanied by decreased PSD-95 fluorescence [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165(5): 1809-1817.

收稿日期:2026-03-15 修回日期:2026-04-26