

[文章编号] 1000-4718(2019)05-0858-07

# BDNF 在 *APP/PS1* 转基因小鼠皮层和海马内的表达及其对学习记忆能力的影响\*

郝继伟<sup>1</sup>, 李莺歌<sup>2▲</sup>, 王来<sup>2</sup>, 耿慧霞<sup>1△</sup>  
(河南大学<sup>1</sup>护理与健康学院, <sup>2</sup>生命科学学院, 河南 开封 475001)

**[摘要]** **目的:** 探究脑源性神经生长因子(BDNF)在野生型小鼠和 *APP/PS1* 双转基因小鼠大脑内的表达变化及其对学习记忆能力的影响。**方法:** 选择野生型小鼠和 *APP/PS1* 双转基因小鼠作为研究对象, 刚果红染色标记 A $\beta$  斑, TUNEL 法检测细胞凋亡, 采用免疫荧光和 Western blot 方法检测 BDNF 在野生型和 *APP/PS1* 双转基因小鼠皮层和海马内的表达, Morris 水迷宫检测小鼠的空间学习记忆能力。**结果:** *APP/PS1* 双转基因小鼠皮层和海马区都形成 A $\beta$  斑, 且 12 月龄小鼠 A $\beta$  斑的数量多于 6 月龄 ( $P < 0.05$ )。12 月龄 *APP/PS1* 双转基因小鼠皮层和海马区神经元凋亡的数量多于野生型小鼠 ( $P < 0.01$ )。野生型小鼠皮层和海马区 BDNF 的表达量高于 *APP/PS1* 双转基因小鼠 ( $P < 0.01$ )。水迷宫检测显示, *APP/PS1* 双转基因小鼠的逃逸潜伏期长于野生型小鼠, 而 60 s 内穿越平台所位象限的次数少于野生型小鼠, 且游泳轨迹杂乱无章。**结论:** *APP/PS1* 双转基因型小鼠皮层和海马区 BDNF 的表达量低于野生型小鼠, 并伴随着神经元凋亡的增加, 且空间学习记忆能力降低。这些结果提示 *APP/PS1* 双转基因小鼠学习记忆能力的降低可能与 BDNF 表达减少导致神经元凋亡增加有关, 这也许是阿尔茨海默病的病理机制之一。

**[关键词]** 脑源性神经营养因子; 阿尔茨海默病; 细胞凋亡; *APP/PS1* 转基因小鼠

**[中图分类号]** R749.1<sup>+</sup>6; R363.2 **[文献标志码]** A **doi:**10.3969/j.issn.1000-4718.2019.05.014

## Effect of BDNF expression in cerebral cortex and hippocampus on ability of learning and memory in *APP/PS1* transgenic mice

HAO Ji-wei<sup>1</sup>, LI Ying-ge<sup>2</sup>, WANG Lai<sup>2</sup>, GENG Hui-xia<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>School of Nursing and Health Sciences, <sup>2</sup>School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475001, China. E-mail: genghuixia@henu.edu.cn)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate the expression changes of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the cerebral cortex and hippocampus and their effects on the ability of learning and memory in the wild-type (WT) mice and *APP/PS1* transgenic mice. **METHODS:** WT mice and *APP/PS1* transgenic mice were selected as study subjects. A $\beta$  plaques, apoptosis rate and BDNF expression in the cerebral cortex and hippocampus of WT mice and *APP/PS1* transgenic mice were detected by the methods of Congo red staining, TUNEL, immunofluorescence and Western blot. The abilities of learning and memory were determined by Morris water maze test. **RESULTS:** The A $\beta$  plaques appeared in the cerebral cortex and hippocampus of *APP/PS1* transgenic mice, and the number of A $\beta$  plaques in 12-month-old mice was larger than that in 6-month-old mice ( $P < 0.05$ ). The number of apoptotic neurons in the cerebral cortex and hippocampus of 12-month-old *APP/PS1* transgenic mice was larger than that of WT mice ( $P < 0.01$ ). The expression level of BDNF in the cerebral cortex and hippocampus of WT mice was higher than that of *APP/PS1* transgenic mice ( $P < 0.01$ ). The Morris water maze test showed that the escape latency in *APP/PS1* transgenic mice was longer than that in WT mice, and the times across the platform quadrant in 60 s was less than that in WT mice ( $P < 0.01$ ). The swim-tracking path of *APP/PS1* transgenic mice was disordered and irregular. **CONCLUSION:** The expression of BDNF in the cerebral cortex and hippocampus

[收稿日期] 2018-06-22 [修回日期] 2018-11-16

\* [基金项目] 河南省科技攻关项目 (No. 172102310001); 河南省高等学校重点科研项目 (No. 16A330001); 河南省博士后科研资助项目 (No. 2015051)

△通讯作者 Tel: 0371-23880292; E-mail: genghuixia@henu.edu.cn

▲并列第 1 作者

pus of *APP/PS1* transgenic mice was lower than that of WT mice, accompanied by increased neuronal apoptosis and decreased spatial learning and memory ability. The decrease in learning and memory ability may be related to decreased BDNF expression in the cerebral cortex and hippocampus of *APP/PS1* transgenic mice, leading to increased neuronal apoptosis, which may be one of the pathological mechanisms of Alzheimer disease.

[KEY WORDS] Brain-derived neurotrophic factor; Alzheimer disease; Apoptosis; *APP/PS1* transgenic mice

阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD) 是一种中枢神经慢性退行性疾病, 其典型的神经病理学变化为大脑内出现  $\beta$ -淀粉样蛋白 (amyloid  $\beta$ -protein,  $A\beta$ ) 沉淀形成老年斑和神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs), 从而致使神经元大量凋亡, 导致患者记忆能力的降低和认知、情感的障碍<sup>[1]</sup>。*APP/PS1* 双转基因小鼠大脑神经元内转入突变的淀粉样前体蛋白 (*APP<sup>swe</sup>*) 和早老素 ( $\Delta E9$ ) 基因, 从而使该小鼠的大脑内在 3 月龄时即可检测出  $A\beta$  斑, 因此, 常作为研究 AD 的一种动物模型<sup>[2]</sup>。

脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 属于神经营养因子家族成员之一, 广泛表达在皮层、海马、杏仁核和小脑等脑区, 参与神经元的发育、生长、轴突出芽和树突棘形成等神经元的成熟过程, 影响着神经元与神经元之间突触的可塑性和学习记忆能力的形成等高级神经生物学过程<sup>[3]</sup>。AD 患者的临床检测显示大脑内 BDNF 的表达减少, 然而对多种 AD 动物模型的研究表明, 脑内 BDNF 表达水平的变化出现差异, 如 *APP<sup>swe</sup>* 和 *APP<sup>swe</sup>/PS1-P264L* 模型小鼠的 BDNF 在 mRNA 水平降低, 而 *APP<sup>swe</sup>/PS1-M146V* 模型小鼠没有发生该类改变; *APP<sup>swe</sup>/PS1/tau* 模型小鼠脑内 BDNF 在蛋白质水平表达降低, 而另外的研究显示该蛋白的表达水平升高<sup>[4]</sup>。为进一步明确 AD 动物模型 *APP/PS1* 双转基因小鼠脑内 BDNF 的表达变化以及对学习记忆能力的影响, 本研究以 *APP/PS1* 双转基因小鼠作为研究对象, 利用刚果红染色、TUNEL 试剂盒、免疫荧光、Western blot 技术和 Morris 水迷宫方法分别检测大脑皮层和海马区淀粉样蛋白  $A\beta$  斑的沉积, 神经元细胞凋亡, BDNF 的表达以及空间学习记忆能力, 从而深入探究 BDNF 在野生型小鼠和 *APP/PS1* 双转基因小鼠大脑皮层和海马内的表达变化以及对学习记忆能力的影响。

## 材 料 和 方 法

### 1 实验动物

C57BL/6 小鼠和 *APP/PS1* 双转基因小鼠购于南京大学模式动物研究所 [许可证号: SCXK (苏) 2001-0001], 并在本实验室饲养繁育。*APP/PS1* 双

转基因雄鼠与野生型雌鼠合笼繁殖, 幼鼠 2 周后, 做基因型鉴定, 选取 6 月龄和 12 月龄的雌雄 *APP/PS1* 转基因鼠和野生型小鼠作为研究对象。在保证供水、饲料充足的前提下, 按自然昼夜节律, 室温 22 ~ 25 °C、相对湿度 60% ~ 80% 的环境下饲养。

### 2 主要试剂

TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购自 Promega; DAPI 试剂和刚果红染色试剂盒购自索莱宝公司; 兔抗 BDNF 多克隆抗体 (ab108319) 和鼠抗  $\beta$ -actin 多克隆抗体 (ab8226) 购自 Abcam; 2 × PCR Mix 和 RIPA 裂解液购自康为世纪生物有限公司; 增强型 ECL 发光试剂盒购自 Millipore; Alexa Fluor 488 标记的荧光 II 抗和 BCA 蛋白定量试剂盒购自 Thermo Fisher; HRP 标记的 II 抗购自北京中杉金桥生物科技有限公司; 其它试剂均为国产分析纯。

### 3 实验方法

**3.1 石蜡切片** 选取适宜月龄的 *APP/PS1* 双转基因和 C57BL/6 野生型小鼠, 10% 水合氯醛腹腔麻醉, 预冷 PBS 经心脏灌流, 直至灌流液清亮为止, 随后用 4% 的多聚甲醛缓缓进行灌注固定。将固定后的小鼠用剪刀从颈部剪开取出完整大脑, 并置于 4% 多聚甲醛中室温浸泡固定 24 h, 然后用 PBS 漂洗 3 次。对固定后的大脑组织块进行修剪处理, 弃小脑, 分离左右半球。随后进行脱水处理, 依次在浓度为 50% 的乙醇浸泡 2 h、70% 的乙醇浸泡过夜、80% 的乙醇浸泡 1 h、90% 的乙醇浸泡 1 h、95% 的乙醇 I 浸泡 1 h、95% 的乙醇 II 浸泡 1 h、无水乙醇 I 浸泡 1 h、无水乙醇 II 浸泡 1 h、二甲苯 I 浸泡 1 h、二甲苯 II 浸泡 1 h, 放入冬青油中过夜。提前 1 ~ 2 h 打开生物组织包埋机, 脱水后的组织块分别用蜡 I、蜡 II 和蜡 III 各处理 1 h, 最后用硬蜡包埋即可得到蜡块。将蜡块置于莱卡轮式切片机 (Leica, RM2235) 上切为厚度为 4  $\mu$ m 的薄片。

**3.2  $A\beta$  斑标记** 将切好的组织切片铺于涂有多聚赖氨酸的载玻片上, 60 °C 烘箱烘干 1 h, 常规脱蜡至水 (二甲苯 I 浸泡 15 min, 二甲苯 II 浸泡 15 min、无水乙醇 I 浸泡 5 min、无水乙醇 II 浸泡 5 min、95% 的乙醇 I 浸泡 5 min、95% 的乙醇 II 浸泡 5 min、90% 的乙醇浸泡 5 min、80% 的乙醇浸泡 5 min、70% 的乙醇

浸泡 5 min, 50% 的乙醇浸泡 5 min)。入苏木素染色液浸染 5 ~ 15 min, 酸性乙醇分化 10 ~ 15 s, 然后立即入水终止分化, 自来水冲洗 2 min, 再用碱性 NaCl 溶液浸染切片, 然后将切片直接放入碱性刚果红染色液浸染(溶液均为现配现用), 无水乙醇冲洗, 逐级常规乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。显微镜(Olympus, BX61)观察海马和皮层区域并拍照。

**3.3 TUNEL 检测细胞凋亡** 选取小鼠大脑石蜡切片, 常规脱蜡至水, 根据试剂盒说明书进行实验操作。将载玻片依次浸入 0.85% 的 NaCl 溶液 5 min、PBS 5 min、4% 的甲醛溶液 20 min、PBS 洗涤 5 min × 3 次, 蛋白酶 K 覆盖孵育 7 ~ 12 min、PBS 5 min、4% 的甲醛溶液 5 min、PBS 5 min、100 μL 平衡缓冲液覆盖细胞 5 ~ 10 min(以上过程均在室温下进行)。与此同时提前避光配制 rTdT 孵育缓冲液(每 50 μL 反应体系含有平衡缓冲液 45 μL + 核苷混合物 5 μL + rTdT 酶 1 μL)。吸去平衡缓冲液, 然后在细胞上加上 rTdT 孵育缓冲液, 置于湿盒内, 在 37 °C 孵育 60 min 发生加尾反应, 避免光照, 后将载玻片浸入 2 × SSC 溶液, 室温放置 15 min 以终止反应, 后将载玻片浸入新鲜的 PBS 中洗涤 3 次, 每次 5 min。DAPI 甘油封片, 在荧光显微镜下观察皮层和海马区域并拍照。

**3.4 免疫荧光** 选取石蜡切片, 脱蜡至水, 0.1 mol/L 的 PBS 浸洗 3 次, 每次 10 min, 后将石蜡切片浸入柠檬酸盐缓冲液中微波加热到 92 ~ 100 °C 10 min(注意不能沸腾)以修复抗原, 待放置恢复常温后 PBS 洗 3 次, 每次 10 min, 擦干切片组织周围水分后用免疫组化笔圈起组织, 加稀释过的 I 抗(兔抗 BDNF 多克隆抗体, 稀释比例 1:100), 放置于湿盒内, 4 °C 冰箱过夜。次日早晨, 取出室温放置 30 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 10 min。擦干多余液体, 注意组织不能干透, 避光加稀释过的 II 抗(稀释比例 1:500), 室温孵育 3 h 或 38 °C 30 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 10 min, DAPI 甘油封片, 荧光显微镜(Olympus, BX61)观察皮层和海马区域并拍照。

**3.5 Western blot 实验** 10% 水合氯醛腹腔麻醉实验小鼠, 冰上灌流, 取脑, 剥离皮层和海马, 分别置于 800 mL 和 500 mL 的 RIPA 裂解液中, 匀浆器匀浆, 4 °C、12 000 × g 离心 10 min, 收集上清冻存 -80 °C 备用。BCA 法对蛋白定量。30 μg 样品经 12% SDS-PAGE 分离, 电流 200 mA, 湿法转膜 2 h, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 加入 I 抗, 4 °C 过夜。次日早上, 用 TBST 漂洗 3 次, 每次 5 min, 然后在含有 II 抗的孵育袋内室温孵育 2 h, TBST 漂洗 3 次, 每次 5 min, 添加 ECL 发光液暗室曝片。

**3.6 Morris 水迷宫实验** 分 2 个部分进行。第 1 部分为定位航行实验, 该实验用于训练和检测小鼠的空间学习和记忆能力。每天训练小鼠, 选定水迷宫的某一象限将小鼠放入, 摄像头记录并计算小鼠从放入点游到平台所需的时间, 即为逃避潜伏期; 倘若小鼠在 60 s 时间内没有游行到平台, 则引导其到平台并停留 10 s。每天如此训练, 共持续 6 d。第 7 天开始记录小鼠游到平台所需的时间即为逃避潜伏期。第 2 部分为空间搜索实验: 在第 8 天时, 将水下平台撤除, 将小鼠放置在训练时的同一象限, 记录 60 s 内小鼠寻找平台所耗费的时间和进入该平台所位象限的次数, 作为空间记忆的检测指标。

#### 4 统计学处理

采用 GraphPad Prism 6.0 软件对数据进行统计分析。数据结果以均数 ± 标准差(mean ± SD)的形式表示。组间均数比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)或独立样品 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1 Aβ 斑的形成

刚果红染色标记皮层和海马区 Aβ 斑变化的结果显示, 12 月龄的野生型小鼠皮层和海马 CA1 区都没有见到 Aβ 斑的出现, 而 6 月龄和 12 月龄的 APP/PSI 双转基因小鼠皮层和海马 CA1 区都出现 Aβ 斑, 且 12 月龄小鼠 Aβ 斑的数量多于 6 月龄小鼠( $P < 0.05$ )。对 Aβ 斑的形态结构和大小分析表明, 12 月龄小鼠皮层和海马 CA1 区 Aβ 斑的形态明显大于 6 月龄小鼠, 见图 1、2。这说明随着年岁的增加和发病时间的延长, 脑内形成的 Aβ 斑数量增加, 形态变大, 因此后续实验就采用 12 月龄的 APP/PSI 双转基因小鼠作为研究对象。

### 2 神经元凋亡

APP/PSI 双转基因小鼠和野生型小鼠皮层和海马区神经元细胞凋亡的检测结果显示, 12 月龄 APP/PSI 双转基因小鼠 TUNEL 阳性细胞数量明显多于野生型小鼠( $P < 0.01$ ), 见图 3、4。

### 3 BDNF 的表达

分别采用免疫荧光和 Western blot 的方法检测 APP/PSI 双转基因小鼠和野生型小鼠皮层和海马区 BDNF 的表达变化。免疫荧光的结果显示, 野生型小鼠 BDNF 表达阳性的细胞数量多于 APP/PSI 双转基因小鼠( $P < 0.01$ ), 见图 5。Western blot 结果显示, 野生型小鼠皮层和海马区成熟形式的 BDNF 表达量明显高于 APP/PSI 转基因小鼠( $P < 0.01$ ), 见图 6。

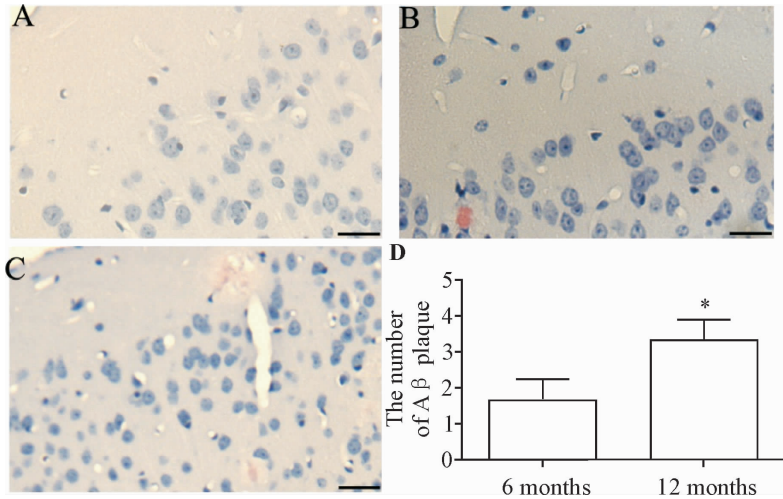


Figure 1. A $\beta$  plaques were stained with Congo red in the cerebral cortex of WT and *APP/PS1* transgenic mice. A: WT mice; B: 6-month-old *APP/PS1* mice; C: 12-month-old *APP/PS1* mice; D: the quantitative analysis of A $\beta$  plaques in *APP/PS1* mice. The scale bar = 20  $\mu$ m. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs 6 months.

图1 刚果红染色标记皮层的 A $\beta$  斑

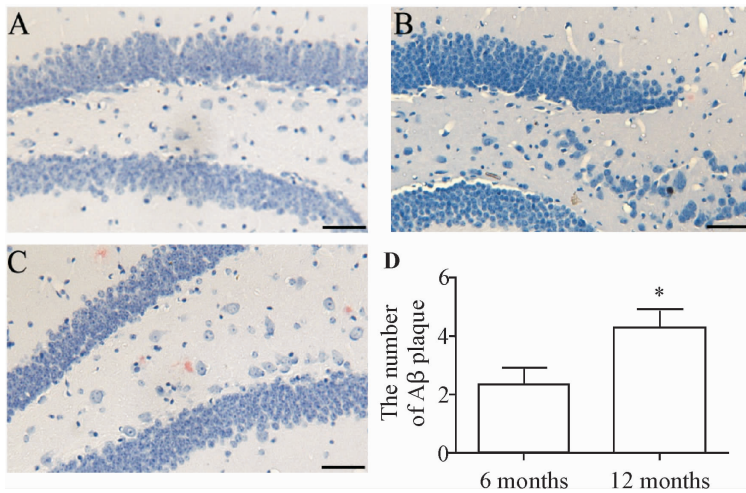


Figure 2. A $\beta$  plaques were stained with Congo red in the hippocampus of WT and *APP/PS1* transgenic mice. A: WT mice; B: 6-month-old *APP/PS1* mice; C: 12-month-old *APP/PS1* mice; D: the quantitative analysis of A $\beta$  plaques in *APP/PS1* mice. The scale bar = 20  $\mu$ m. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs 6 months.

图2 刚果红染色标记海马的 A $\beta$  斑

#### 4 空间学习记忆能力

Morris 水迷宫检测结果显示, *APP/PS1* 双转基因小鼠的逃逸潜伏期长于野生型小鼠, 且在空间搜索实验中, *APP/PS1* 双转基因小鼠在 60 s 内穿越平台所在象限的次数也少于野生型小鼠 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 见图 7A、B。轨迹图的结果表明 *APP/PS1* 双转基因小鼠的运行轨迹杂乱无章, 而野生型小鼠运行轨迹并不杂乱, 围绕平台寻找, 规律性比较明显, 见图 7C。

#### 讨 论

随着老龄化社会的到来, AD 严重威胁着中老年

人的身心健康。病理检测发现, 该病的典型病理学特点为大脑内出现 A $\beta$  斑聚集和神经元纤维缠结, 并观察到神经元的凋亡和轴突降解, 致使患者出现认知功能障碍、记忆能力降低等症状。有研究显示, *APP/PS1* 双转基因小鼠可以作为 AD 研究的动物模型, 最早在 3 月龄时即可观测到脑内 A $\beta$  斑的形成, 本研究证实, 该鼠在 6 个月时可观察到皮层和海马区出现 A $\beta$  斑, 并随病程的增长, 12 月龄时, A $\beta$  斑的数量和形态都呈进行性增加, 说明随着年岁的增加, 该小鼠 AD 的神经病理学变化更加明显, 符合临床上年龄越大该病发病率越高、症状越严重的特点。伴随 A $\beta$  斑形成, 出现的是神经元凋亡的数量发生相应

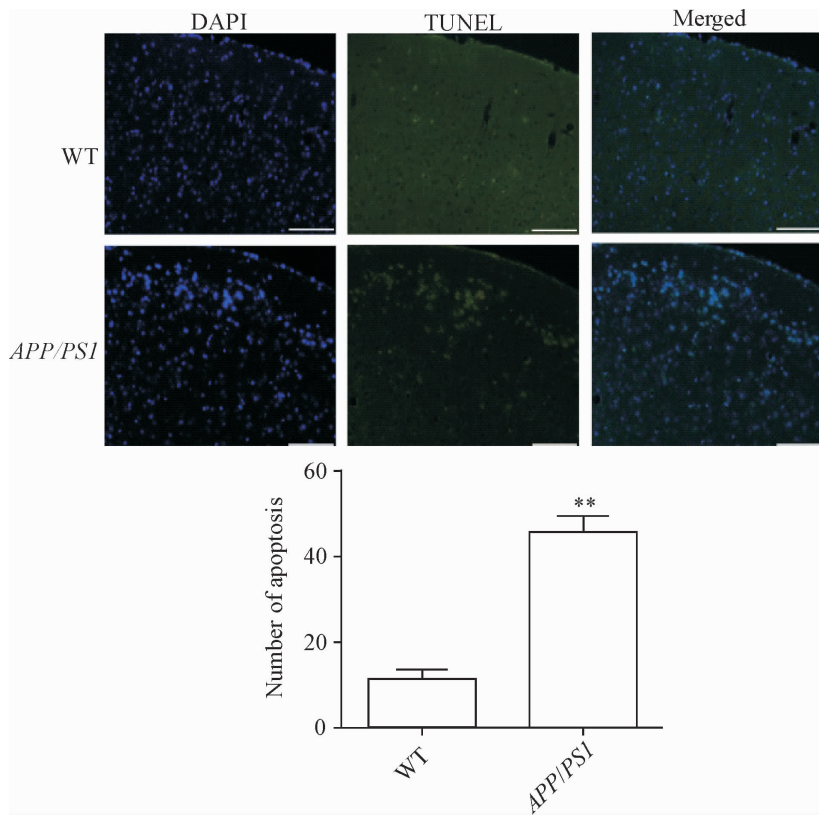


Figure 3. Apoptosis in the cerebral cortex of WT and *APP/PS1* transgenic mice was detected by TUNEL assay. The scale bar = 50  $\mu\text{m}$ . Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*\*  $P < 0.01$  vs WT group.

图3 野生型和 *APP/PS1* 转基因小鼠皮层细胞凋亡情况的比较

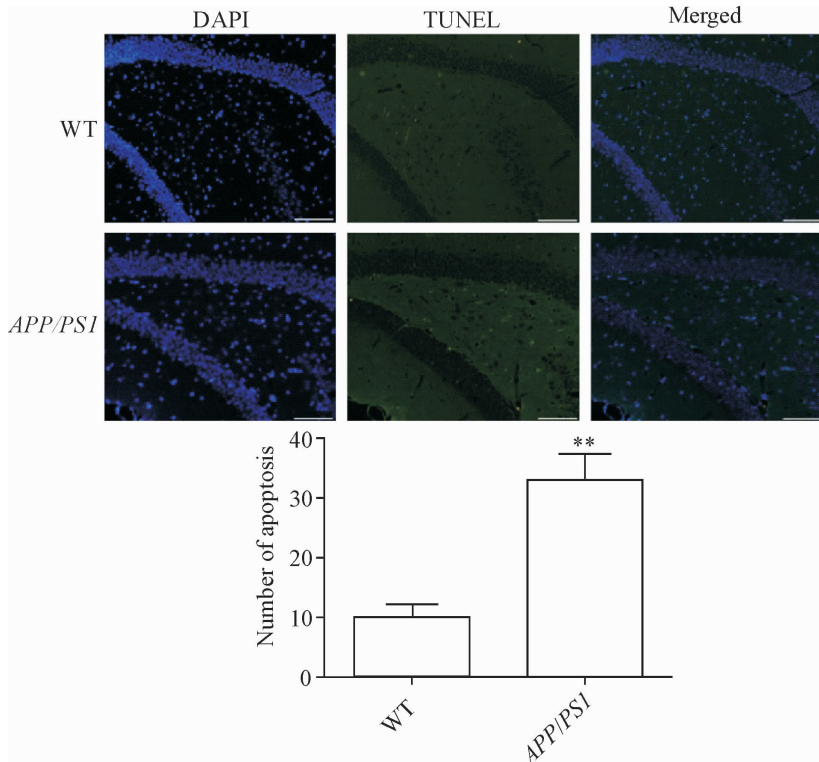


Figure 4. Apoptosis in the hippocampus of WT and *APP/PS1* transgenic mice was detected by TUNEL assay. The scale bar = 50  $\mu\text{m}$ . Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*\*  $P < 0.01$  vs WT group.

图4 野生型和 *APP/PS1* 转基因小鼠海马区细胞凋亡情况的比较

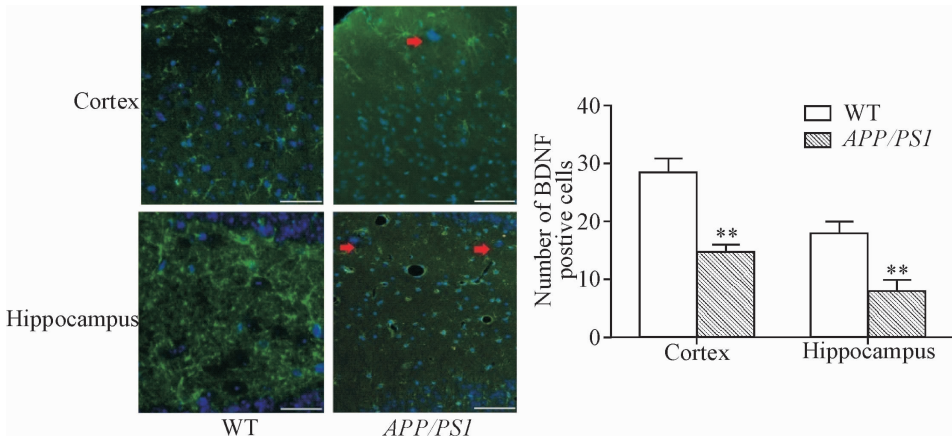


Figure 5. BDNF positive cells were detected by immunofluorescence staining in cerebral cortex and hippocampus of WT and *APP/PS1* transgenic mice. The scale bar = 20  $\mu$ m. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*\*  $P < 0.01$  vs WT group.

图 5 免疫荧光检测皮层和海马区 BDNF 表达阳性的细胞数

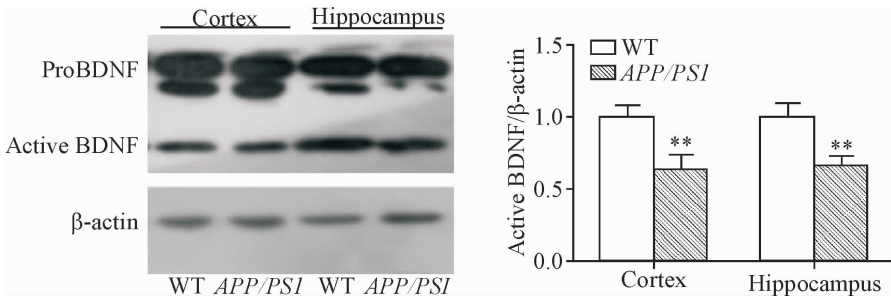


Figure 6. BDNF expression was detected by Western blot in the cerebral cortex and hippocampus of WT and *APP/PS1* transgenic mice. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*\*  $P < 0.01$  vs WT group.

图 6 Western blot 检测皮层和海马区 BDNF 的表达

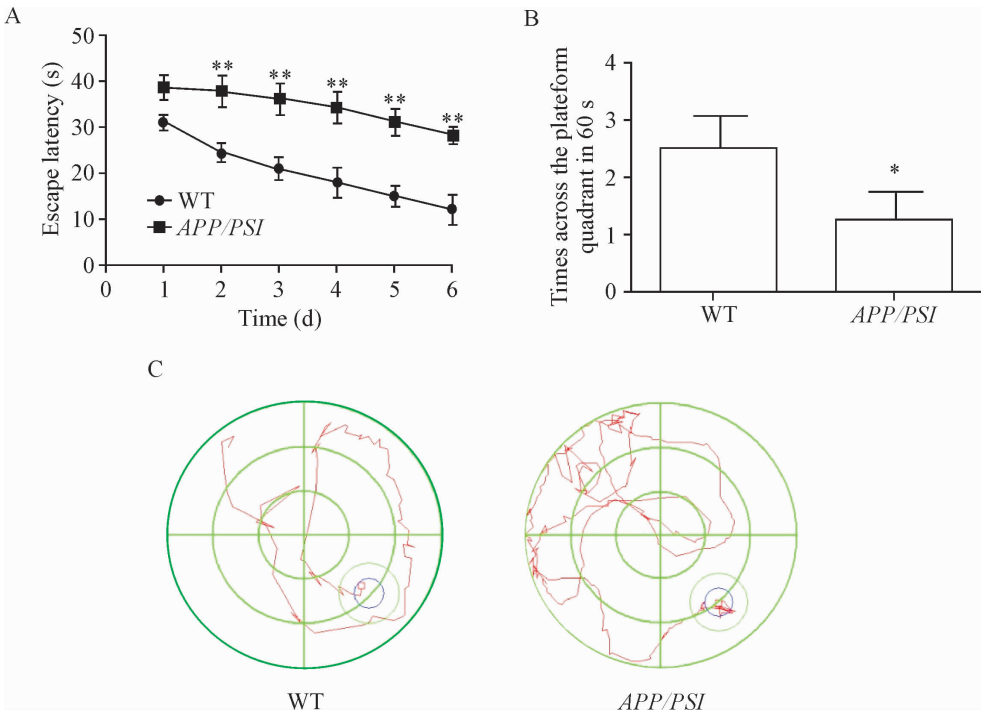


Figure 7. The changes of learning and memory abilities of WT and *APP/PS1* transgenic mice. A: the escape latency; B: the times across the platform quadrant in 60 s; C: the swim-tracking path. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs WT group.

图 7 野生型与 *APP/PS1* 转基因小鼠学习记忆能力的变化

的变化,如12月龄的 *APP/PS1* 双转基因小鼠皮层和海马区神经元细胞凋亡的数量与野生型相比急剧增加。对小鼠空间学习记忆能力的检测也表明,12月龄 *APP/PS1* 双转基因小鼠的空间学习记忆能力受到严重损伤,如逃逸潜伏期所耗时长远远大于野生型小鼠,在60 s内穿越平台所位象限的次数也少于野生型小鼠,且在 Morris 水迷宫实验中的游泳轨迹杂乱无章,没有规律可循。这些变化与 AD 患者出现 A $\beta$  斑聚集的病理变化和病程增加出现认知、记忆功能障碍的临床表现相一致,表明该转基因小鼠可以作为研究 AD 发病机制的一种理想动物模型。

BDNF 最早由德国神经化学家 Barde 从猪的大脑中分离并克隆<sup>[5]</sup>,其基因在人类定位于第11号染色体短臂1区3带(11p13),而在鼠类定位于第12号染色体上。*BDNF* 基因编码的多肽链为前体 BDNF (proBDNF),相对分子质量约为 32 kD,经过胞内的丝氨酸蛋白酶和基质金属蛋白酶切除 N 端的信号肽等翻译后修饰过程,从而形成相对分子量为 13 kD 的具有生物学活性的成熟形式 BDNF (active BDNF)<sup>[6-7]</sup>。成熟形式的 BDNF 与酪氨酸蛋白激酶受体 TrkB 结合发挥其促进神经元分化、发育、存活、轴突出芽、树突棘形成、突触可塑性以及学习记忆的形成和维持等神经生物学功能<sup>[8]</sup>。本研究证实,BDNF 阳性表达的细胞数量在12月龄的 *APP/PS1* 双转基因小鼠皮层和海马区与野生型相比明显减少,并且成熟形式的 BDNF 表达也随着减少,表明 BDNF 在大脑的表达量降低参与了 *APP/PS1* 转基因小鼠产生 AD 的病理变化及临床表现,如神经元细胞凋亡增加和学习记忆能力降低。

BDNF 在神经系统内的重要作用促使研究人员关注其参与中枢神经系统疾病的病理机制和治疗潜力,对 AD 患者的大脑标本检测表明,BDNF 在 mRNA 和蛋白质表达水平都出现降低,且这种减低在 AD 患者出现轻度认知障碍阶段就已发生,说明 BDNF 在大脑内表达水平的降低确实导致 AD 记忆能力降低等临床症状的出现<sup>[4]</sup>。*BDNF* 基因的单核苷酸多态性 (Val66Met,rs6265) 影响该蛋白在细胞内的转导和分泌,也参与 AD 的发病病理机制,尤其是 Met 携带者具有更严重的 A $\beta$  斑聚集和认知功能障碍<sup>[9-10]</sup>。其它研究证明,增强或促进脑内 BDNF 的表达可以改善其他中枢神经系统疾病的病理改变和临床症状,如脑内高的 BDNF 水平抑制抑郁症小鼠海马区神经元的凋亡,减轻抑郁症症状,从而发挥神经

保护作用<sup>[11-12]</sup>。本研究显示,12月龄的 *APP/PS1* 双转基因小鼠皮层和海马区成熟形式 BDNF 的表达下降,并出现神经元凋亡增加,导致小鼠空间学习记忆能力的降低。因此,调控脑内成熟 BDNF 的含量也许可以作为预防和治疗 AD 的一个有效手段。

#### [参 考 文 献]

- [1] 海露露,李莺歌,王 来,等. 线粒体表观遗传调控与阿尔茨海默病的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(10):1912-1916.
- [2] Yin K, Jin J, Zhu X, et al. CART modulates beta-amyloid metabolism-associated enzymes and attenuates memory deficits in APP/PS1 mice [J]. *Neurol Res*, 2017, 39 (10):885-894.
- [3] Zhang JC, Yao W, Hashimoto K. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-TrkB signaling in inflammation-related depression and potential therapeutic targets [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14(7):721-731.
- [4] Tanila H. The role of BDNF in Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2017, 97(Pt B):114-118.
- [5] Mizuno M, Yamada K, He J, et al. Involvement of BDNF receptor TrkB in spatial memory formation [J]. *Learn Mem*, 2003, 10(2):108-115.
- [6] Budni J, Bellettini-Santos T, Mina F, et al. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease [J]. *Aging Dis*, 2015, 6(5):331-341.
- [7] Bennett MR, Lagopoulos J. Stress and trauma: BDNF control of dendritic-spine formation and regression [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 112:80-99.
- [8] Song JH, Yu JT, Tan L. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease: risk, mechanisms, and therapy [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 52(3):1477-1493.
- [9] 楚方璇,刘 慧,王 来. 阿尔茨海默病性别差异机制的研究进展[J]. 生理科学进展, 2017, 48(4):264-268.
- [10] Lim YY, Villemagne VL, Laws SM, et al. BDNF Val66Met, A $\beta$  amyloid, and cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2013, 34 (11):2457-2464.
- [11] 雷 娜,张学平,王 创. miR-381-3p 通过 BDNF 减轻抑郁症大鼠海马区细胞损伤 [J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(4):699-704.
- [12] 蒋 曦,田福荣,赵应征. 小鼠慢性酒精中毒及戒断过程中抑郁样行为的改变及其共病机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(2):296-301.

(责任编辑:陈妙玲,罗 森)