

DOI: 10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-05-006

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

## 法舒地尔对 $A\beta_{1-42}$ 诱导的阿尔茨海默症 PC12 细胞的保护作用

高晔<sup>1abc</sup>, 王坤<sup>1a, 2</sup>, 郑宇程<sup>1a</sup>, 张楠<sup>1a</sup>, 梁祖儿<sup>1a</sup>, 闫海龙<sup>1abc</sup>

(1. 大同大学 a. 医学院, b. 脑科学研究所, c. 老年慢性病智慧医养重点实验室, 大同 037009; 2. 三峡大学基础医学院, 宜昌 443002)

**摘要** 目的 探究法舒地尔对阿尔茨海默症(AD)体外模型中的  $A\beta_{1-42}$  及 p-Tau 蛋白在氧化应激方面的影响。方法 不同浓度  $A\beta_{1-42}$  作用于 PC12 细胞后,用 CCK8 法检测  $A\beta_{1-42}$  对 PC12 细胞活力的影响,从而建立 AD 的体外细胞模型。经法舒地尔治疗后,用免疫荧光法检测 p-Tau 蛋白和  $A\beta_{1-42}$  的表达水平,同时检测凋亡信号调节激酶 1(ASK1)表达情况。结果 1.0  $\mu\text{mol/L}$   $A\beta_{1-42}$  对 PC12 细胞的增殖活性具有抑制作用,进一步验证  $A\beta_{1-42}$  在神经细胞中的毒害作用。同时,法舒地尔的加入能够降低 p-Tau 蛋白和  $A\beta_{1-42}$  的表达水平,表明法舒地尔能够减轻  $A\beta_{1-42}$  对细胞的毒性作用。此外,法舒地尔通过调节细胞内信号转导通路,减少细胞凋亡和炎症反应,下调 p-ASK1 的表达水平,保护 PC12 细胞免受  $A\beta_{1-42}$  的损害。结论 法舒地尔对  $A\beta_{1-42}$  诱导的阿尔茨海默症 PC12 细胞具有保护作用,能够抑制疾病发展中的关键病理变化。

**关键词:** 阿尔茨海默症; 法舒地尔;  $A\beta_{1-42}$

中图分类号: R749.16

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2024)05-0036-07

## Protective effects of fasudil's against Alzheimer's disease PC12 cells induced by $A\beta_{1-42}$

GAO Ye<sup>1abc</sup>, WANG Kun<sup>1a, 2</sup>, ZHENG Yucheng<sup>1a</sup>, ZHANG Nan<sup>1a</sup>, LIANG Zu'er<sup>1a</sup>, YAN Hailong<sup>1abc</sup>

(1. a. College of Medical, b. Brain Science Institute, c. Key Laboratory of Molecular Cellular Immunology, Shanxi Dotong University, Datong 037009, China; 2. College of Basic Medical, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

**Abstract Objective** To investigate the effects of fasudil on p-Tau protein and  $A\beta_{1-42}$  in oxidative stress in an *in vitro* model of Alzheimer's disease (AD). **Methods** Following exposure to varying concentrations of

基金项目: 山西省科技厅项目(202203021221208, 202103021224315, 20210302124400); 山西省医学重点科技计划项目(2023XM033); 大同大学大学生创新创业训练计划项目(XDC2019249)。

第一作者: 高晔, 博士, 副教授, 研究方向为动物科学与病理生理学。

通信作者: 闫海龙, ylhailong@126.com。

$A\beta_{1-42}$  (1  $\mu\text{mol/L}$ ) on PC12 cells, the CCK8 assay was employed to investigate the impact of  $A\beta_{1-42}$  on PC12 cell viability, thereby creating a cellular model of AD. Immunofluorescence was used to measure the expression levels of the p-Tau and  $A\beta_{1-42}$  following fasudil treatment. The expression of apoptosis signal-regulated kinase 1 (ASK1) was also detected. Simultaneously, fasudil treatment was able to lower the levels of  $A\beta_{1-42}$  and p-Tau expression, indicating that fasudil was able to lessen the harmful effects of  $A\beta_{1-42}$  on cells. Furthermore, fasudil inhibited p-ASK1 expression and shielded PC12 cells from  $A\beta_{1-42}$  damage by controlling intracellular signaling pathways, lowering inflammatory reactions, and apoptosis. **Results** The detrimental impact of  $A\beta_{1-42}$  on neural cells was further confirmed by its inhibitory effect on PC12 cells' proliferative activity at a concentration of 1  $\mu\text{mol/L}$ . Meanwhile, the addition of fasudil was able to reduce the expression levels of p-Tau protein and  $A\beta_{1-42}$ , indicating that fasudil was able to mitigate the toxic effects of  $A\beta_{1-42}$  on cells. Additionally, fasudil reduced p-ASK1 expression levels and protected PC12 cells by regulating intracellular signaling pathways, reducing apoptosis and inflammation. **Conclusion** Fasudil has a protective effect on  $A\beta_{1-42}$ -induced Alzheimer's disease PC12 cells, which can inhibit key pathological changes in disease development, reduce the expression of p-Tau and  $A\beta_{1-42}$ , improve the damage caused by oxidative stress and downregulate p-ASK1 expression levels, which has promising applications in the treatment of Alzheimer's disease.

**Keywords:** Alzheimer's disease; fasudil;  $A\beta_{1-42}$

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是一组以记忆、行为功能障碍为主, 伴有人格改变、智能减退以及精神行为异常等表现的中枢神经系统退行性疾病<sup>[1]</sup>。AD 的发病机制主要包括  $\beta$  淀粉样蛋白假说、Tau 蛋白假说、炎症反应假说、氧化应激假说等机制<sup>[2]</sup>。从病理学上讲, AD 的特征在于神经病理学标志如淀粉样蛋白  $\beta$  (amyloid beta-protein,  $A\beta$ ) 形成的细胞外老年斑块 (senile plaques, SP) 和由 Tau 蛋白过度磷酸化在细胞内形成神经元纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT)<sup>[3]</sup>。 $A\beta$  的沉积和过度磷酸化的 Tau 蛋白可造成神经元凋亡, 最终导致 AD<sup>[4]</sup>。

众所周知, 氧化应激在 AD 的发病机制中起着至关重要的作用<sup>[5]</sup>。氧化应激是衰老过程中的一个特征表现, 当氧化水平超过内源性抗氧化防御时, 氧化应激就会发生, 进而引起生物大分子的不可逆变化。此外, 比起其他器官组织, 大脑的耗氧量高, 抗氧化系统相对较弱, 是最易受氧化应激影响的区域<sup>[6]</sup>。海马体作为一个重要的记忆中心, 在 AD 的发生发展中, 它可能是受氧化损伤影响而发生细胞死亡的第一个脑区<sup>[7]</sup>。在与氧化应激相关的阿尔茨海默病中, 神经细胞凋亡受多种信号通路的调节, 其

中重要的是丝氨酸-苏氨酸相关蛋白激酶, 它参与调节各种细胞活动, 包括增殖、黏附、收缩、分泌和凋亡<sup>[8]</sup>。Rho 激酶 (Rho-associated kinase, ROCK) 是参与细胞氧化应激反应的主要激酶之一, 完整的 ROCK 信号通路, 包括上游的 Rho 活性受体、下游的 ROCK 及其底物<sup>[9]</sup>。ROCK 与三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP) 结合转化为有活性的 Rho-GTP 形式, 这一过程作为一个分子开关, 可介导包括氧化应激在内的各种炎症反应<sup>[10]</sup>。相关研究<sup>[11]</sup> 结果表明, ROCK 过表达有助于神经退行性疾病的发展和进展, 如多发性硬化、帕金森病和 AD。目前, 相关研究<sup>[12]</sup> 结果表明, ROCK 抑制剂能显著改善淀粉样前体蛋白/早老素-1 小鼠的认知能力, 同时减少全脑的病理产物, 如  $A\beta$  沉积、p-Tau 蛋白以及  $\beta$  位点淀粉样前体蛋白切割酶。因此, ROCK 抑制剂的应用将是未来治疗神经系统疾病的新方法。法舒地尔是一种选择性 ROCK 抑制剂, 已在临床实践中用于缓解脑血管痉挛<sup>[13]</sup>。而且, 它已被证明可以增强记忆和改善阿尔茨海默病患者的病理变化<sup>[13]</sup>。相关研究<sup>[14]</sup> 结果表明, 法舒地尔在中枢神经系统具有多种功能, 包括激活内源性神经干细胞、促进神经营养因子释放、抑制细胞内钙释放、促进脑血管扩张、保护

神经细胞、改善神经功能、促进轴突再生。

法舒地尔是一种能够治疗包括 AD 在内的中枢神经系统疾病的潜在药物。然而,法舒地尔对 AD 是否有抗氧化作用及其确切的机制尚不清楚,关于法舒地尔在体内是如何调节氧化应激的分子机制研究也较少。鉴于此,本研究旨在探讨法舒地尔对 AD 体外模型中  $A\beta_{1-42}$  蛋白及 p-Tau 蛋白在氧化应激方面的影响;同时,探讨不同浓度的  $A\beta_{1-42}$  对 PC12 细胞存活率的影响,并根据该结果来确定本次试验所需  $A\beta_{1-42}$  的最佳浓度。

## 1 材料和方法

### 1.1 仪器与试剂

PC12 细胞(购自武汉普诺赛生命科技有限公司)、 $A\beta_{1-42}$ (购自美国 Sigma 公司)、法舒地尔(购自天津红日药业股份有限公司)、Triton X-100(购自中国试剂有限公司)、PBS[购自华中海威(北京)基因科技有限公司]、无血清 DMEM 培养液(购自武汉普诺赛生命科技有限公司)、牛血清白蛋白(购自美国 Cell Biolabs 公司)、p-Tau 兔单抗和 p-ASK1(购自美国 cell signaling technology 公司)、 $A\beta_{1-42}$  兔单抗(购自美国 Millipore 公司)、FITC 或 Cy3 标记的二抗(购自美国 Invitgen 公司)、硫代巴比妥钠(购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司)、多聚甲醛(购自美国杜邦公司)、酶标仪(购自美国 Bio-Rad 伯乐公司)、共焦显微镜(购自日本奥林巴斯 FV1000 公司)。

### 1.2 不同浓度 $A\beta_{1-42}$ 对 PC12 细胞存活率的影响

将 PC12 细胞以  $3 \times 10^4$  个/孔的密度接种于 96 孔培养板上(每孔 100  $\mu\text{L}$ ),分为对照组及 0.5  $\mu\text{mol/L}$ 、1.0  $\mu\text{mol/L}$ 、2.0  $\mu\text{mol/L}$   $A\beta_{1-42}$  组,每组设 4 个复孔。细胞贴壁培养 24 h 后,将相应各组分别替换成含不同浓度的  $A\beta_{1-42}$  无血清 DMEM 培养液,每孔干预体积为 50  $\mu\text{L}$ ,每组细胞在 37  $^{\circ}\text{C}$  下培养 24 h。孵育后,将 CCK8 添加到每个培养孔中,并将细胞在 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 4 h,测量 450 nm 的吸光度。计算细胞存活率 = [(试验组光吸收值 - 空白组光吸收值) / (对照组吸光度 - 空白组吸光度)  $\times$  100%]。

### 1.3 体外 AD 细胞模型建立和免疫荧光染色

将 1.0  $\mu\text{mol/L}$   $A\beta_{1-42}$  添加到 PC12 细胞中,建立 AD 的体外细胞模型,处理 24 h 后,然后添加法舒地

尔,试验分为 3 组,分别为对照组、 $A\beta_{1-42}$  组、法舒地尔+ $A\beta_{1-42}$  组(15.0  $\mu\text{g/mL}$  法舒地尔)。将细胞在 37  $^{\circ}\text{C}$  的环境下培育 24 h 后离心,再在 24 孔板的盖玻片上培养细胞,细胞贴壁后用硫代巴比妥钠洗涤 3 次,4%冷多聚甲醛室温固定 30 min。洗涤后的细胞用 0.1% Triton X-100 渗透 15 min,再用 PBS 冲洗,室温下用 1%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)封闭 30 min。然后将细胞与 p-Tau 兔单抗(1:200)、 $A\beta_{1-42}$ (1:500)两种溶液混合后,在 4  $^{\circ}\text{C}$  的条件下过夜。细胞用 PBS 洗涤 3 次,用 FITC 或 Cy3 标记的二抗在 RT 条件下孵育 1 h,然后用 PBS 彻底洗涤 3 次。将修改后的盖片安装在玻璃片上,并用共焦显微镜观察。

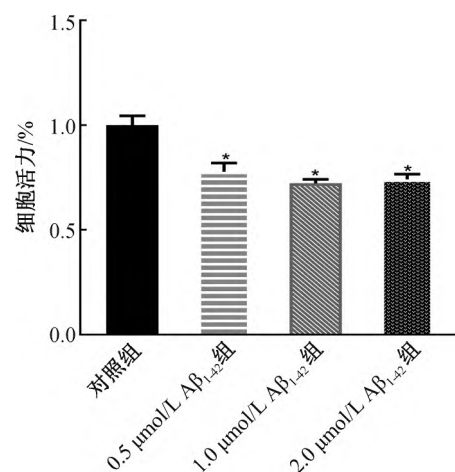
### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件处理数据,计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,进行  $t$  检验。 $^* P < 0.05$ ,  $^{**} P < 0.001$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同浓度 $A\beta_{1-42}$ 对 PC12 细胞活力的影响

将 0.5  $\mu\text{mol/L}$ 、1.0  $\mu\text{mol/L}$ 、2.0  $\mu\text{mol/L}$  的  $A\beta_{1-42}$  处理 PC12 细胞后,采用 CCK8 法检测细胞活力,结果显示,三种不同浓度的  $A\beta_{1-42}$  都可以显著抑制 PC12 细胞增殖,其中 1.0  $\mu\text{mol/L}$   $A\beta_{1-42}$  对 PC12 细胞增殖活性的抑制效果最明显( $P < 0.05$ ),结果如图 1 所示。



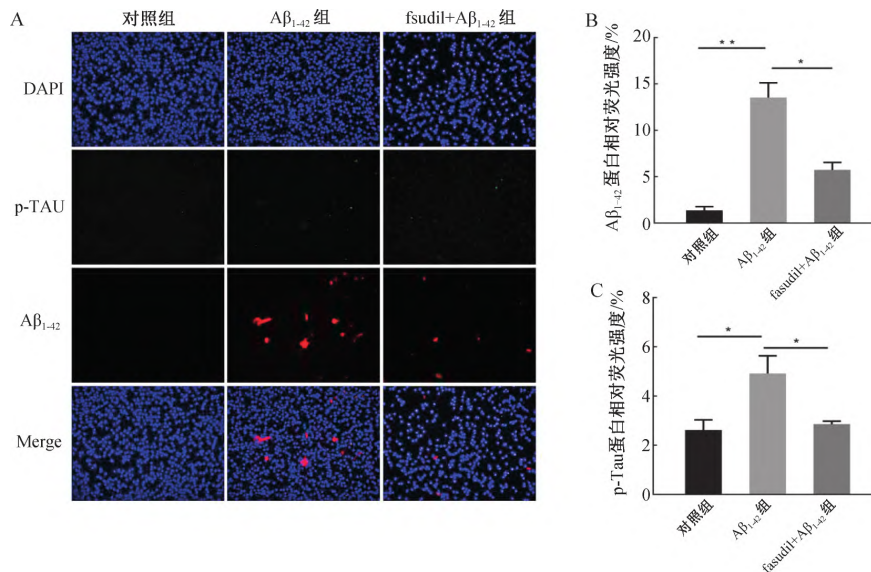
注:与对照组比较, $^* P < 0.05$ 。

图 1 不同浓度  $A\beta_{1-42}$  对 PC12 细胞增殖的影响

### 2.2 法舒地尔对体外 AD 模型中 p-Tau 蛋白和 $A\beta_{1-42}$ 蛋白表达的影响

通过免疫荧光法检测 p-Tau 蛋白和  $A\beta_{1-42}$  蛋白的表达水平 结果显示 与对照组比较 , $A\beta_{1-42}$  组的 p-

Tau 蛋白和  $A\beta_{1-42}$  蛋白表达增加 ,而与  $A\beta_{1-42}$  组比较 ,法舒地尔+ $A\beta_{1-42}$  组的 p-Tau 蛋白和  $A\beta_{1-42}$  蛋白表达下降 ( $P<0.05$ ) 结果如图 2 所示。

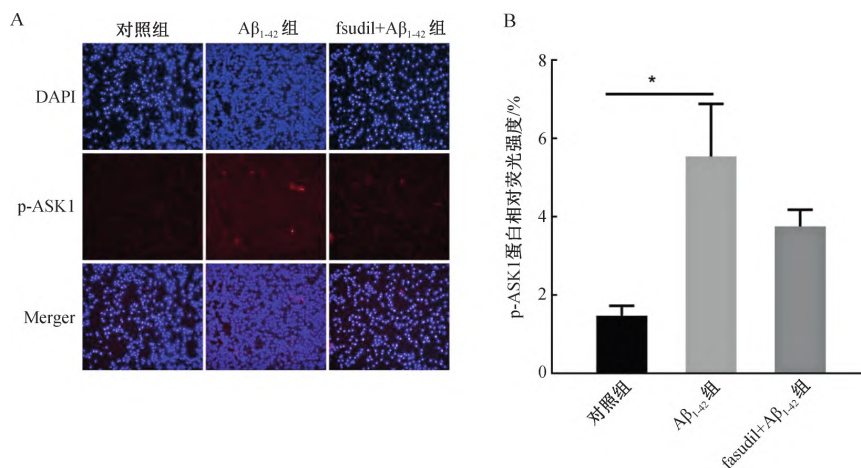


注: A. 免疫荧光法分析  $A\beta_{1-42}$  蛋白和 p-Tau 蛋白的表达水平 ,蓝色荧光为 DAPI 染核 绿色荧光为 p-Tau 蛋白 ,红色荧光为  $A\beta_{1-42}$  蛋白; B.  $A\beta_{1-42}$  蛋白的平均免疫荧光强度柱状图; c. p-Tau 蛋白的平均免疫荧光强度柱状图。与  $A\beta_{1-42}$  组比较 , \*  $P<0.05$  , \*\*  $P<0.001$ 。

图 2 PC12 细胞中  $A\beta_{1-42}$  蛋白和 p-Tau 蛋白的免疫荧光表达

### 2.3 法舒地尔对体外 AD 模型中凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal-regulating kinase 1 , ASK1) 表达的影响

通过免疫荧光法检测 p-ASK1 的表达水平 结果显示 与  $A\beta_{1-42}$  组相比 ,加入法舒地尔后 ,p-ASK1 蛋白的平均免疫荧光强度下降 ( $P<0.05$ ) 。



注: A. 免疫荧光法分析 p-ASK1 蛋白表达水平 红色荧光为 p-ASK1 蛋白 ,蓝色荧光为 DAPI 染核; B. p-ASK1 蛋白的平均免疫荧光强度柱状图。与对照组比较 , \*  $P<0.05$ 。

图 3 PC12 细胞中 p-ASK1 蛋白的免疫荧光表达

### 3 讨论

阿尔茨海默病(AD)是一种复杂的中枢神经系统的退行性疾病,其主要特征是进行性的认知功能障碍和行为损害。AD的确切发病机制仍不清楚,目前有多种假说试图解释其具体的发病机制以及病理变化,包括A $\beta$ 瀑布学说、Tau蛋白学说、神经血管假说等。相关研究<sup>[15]</sup>结果表明,AD的一个关键病理变化是海马体细胞外A $\beta$ 的沉积,通过触发一系列淀粉样级联,形成老年斑块,最终导致痴呆。因此,抑制A $\beta$ 的产生被认为是改善AD早期病理进展的重要策略<sup>[16]</sup>。关于Tau蛋白学说的研究也相对较多,其主要内容为富含脯氨酸的微管结合域上游和其断端尾部区域的Tau蛋白磷酸化,会抑制微管的组装,促进其自聚集并破坏微管结构,形成细胞内神经纤维缠结NFT,最终导致神经元退行性变性<sup>[17]</sup>。

根据A $\beta$ 的氨基酸片段长度可将其分为A $\beta_{25-35}$ 、A $\beta_{1-40}$ 、A $\beta_{1-42}$ 等。由于A $\beta_{1-42}$ 更易形成寡聚体,且不易降解,细胞毒性强,可引发严重的神经元损伤<sup>[18-19]</sup>。因此,本研究选用A $\beta_{1-42}$ 来诱导PC12细胞产生病变,建立体外AD细胞模型。在后续试验中,将用建立好的AD细胞模型来检测法舒地尔的神经保护作用,并探究其细胞内机制。

#### 3.1 不同浓度的A $\beta_{1-42}$ 对PC12细胞增殖的影响

本研究结果显示,与对照组比较,三种不同浓度的A $\beta_{1-42}$ 都可以抑制PC12细胞的增殖,但在三者当中,1.0  $\mu\text{mol/L}$  A $\beta_{1-42}$ 对PC12细胞增殖活性的抑制最明显,所以本试验选择浓度为1.0  $\mu\text{mol/L}$  A $\beta_{1-42}$ 建立AD细胞模型,这与邱小忠等<sup>[20]</sup>以及薛迪等<sup>[21]</sup>研究结果相似,而与陈瑞祺等<sup>[22]</sup>研究结果有较大差异。分析原因可能是因为在陈瑞祺<sup>[22]</sup>试验中需要高浓度的A $\beta_{1-42}$ 来显著抑制PC12细胞的增殖并诱导其凋亡,而本次试验需要保证PC12细胞的活性,并观察后续试验中法舒地尔对A $\beta_{1-42}$ 诱导的阿尔茨海默症PC12细胞的保护作用。此外,包玉婷等<sup>[23]</sup>研究结果表明,A $\beta_{1-42}$ 为3.3  $\mu\text{mol/L}$ 时,对PC12细胞的存活率无显著影响,而当A $\beta_{1-42}$ 浓度超过10.0  $\mu\text{mol/L}$ 时,会明显抑制PC12细胞的存活率,导致细胞死亡。

因此,本次试验不适宜采用高浓度的A $\beta_{1-42}$ 。

#### 3.2 法舒地尔对AD体外模型的病理学改善与氧化应激

相关研究<sup>[24]</sup>结果表明,氧化应激可能出现在AD早期的无症状阶段,对疾病的发展起着重要作用。在AD中,随着抗氧化系统崩解,脂质过氧化作用便会积累,进而导致氧化损伤。线粒体既是氧化产物的主要来源,也是被这些产物攻击的主要细胞器<sup>[24]</sup>。在氧化应激中,ASK1是高度保守MAP3Ks家族成员之一<sup>[25]</sup>,它可被一系列炎症因子激活,如TNF、IL-1、活性氧自由基,进而损伤细胞核内微管结构和基因转录<sup>[26]</sup>。在AD的发病机制中,神经元凋亡涉及活性氧失衡和细胞内钙超载,直接导致凋亡通路的启动<sup>[27]</sup>。而反应性氧化化合物的氧化激活使硫氧还蛋白被氧化,并与ASK1分离,从而激活ASK1,造成细胞凋亡<sup>[28]</sup>。法舒地尔能促进烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的合成,拮抗氧自由基,抑制氧化应激反应<sup>[29]</sup>,从而降低p-ASK1的表达。

本研究结果显示,A $\beta_{1-42}$ 组p-ASK1的平均免疫荧光强度显著升高,法舒地尔治疗后有降低趋势。本研究选取15.0  $\mu\text{mol/L}$ 法舒地尔作为最适宜浓度,这与王丙乾等<sup>[30]</sup>研究相似。但与对照组和A $\beta_{1-42}$ 组比较,差异均不显著。因此,对PC12细胞给予Rho激酶抑制剂法舒地尔处理后,能使PC12细胞的活力明显升高。

Rho激酶抑制剂法舒地尔通过RhoA/ROCK通路对PC12细胞发挥明显保护作用。RhoA/ROCK信号通路是调节骨架微管蛋白重要的信号通路。ROCK也是细胞骨架中肌动蛋白的关键成分丝氨酸/苏氨酸激酶的抑制剂。激活ROCK导致神经细胞骨架的萎缩和轴突生长的抑制,而抑制ROCK可减轻多种原因导致的神经损伤,维持神经细胞的活性和轴突的延长。此外,法舒地尔同时具有水溶性基团和脂溶性基团的小分子化合物,是一种易溶于水且可自由通过血脑屏障的小分子化合物,它通过与ATP竞争ROCK催化区的结合位点而阻断ROCK的活性<sup>[31]</sup>。因此,对RhoA/ROCK通路的抑

制和阻断能显著提高 PC12 细胞的增殖活力。

## 4 结论

法舒地尔是一种潜在的治疗 AD 的药物,它通过降低 AD 细胞模型中的  $A\beta_{1-42}$  蛋白、p-Tau 蛋白、p-ASK1 蛋白的表达,以发挥抗凋亡和抗氧化作用来保护神经元,但其在体内的作用机制仍有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] MONTEIRO A R, BARBOSA D J, REMIÃO F, et al. Alzheimer's disease: Insights and new prospects in disease pathophysiology, biomarkers and disease-modifying drugs [J]. *Biochem Pharmacol* 2023 211: 115522.
- [2] TWAROWSKI B, HERBET M. Inflammatory processes in Alzheimer's disease—pathomechanism, diagnosis and treatment: a review [J]. *Int J Mol Sci* 2023 24(7): 6518.
- [3] ZHANG Y, CHEN H Q, LI R, et al. Amyloid  $\beta$ -based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future [J]. *Signal Transduct Target Ther* 2023 8(1): 248.
- [4] XIA Z D, MA R X, WEN J F, et al. Pathogenesis, animal models, and drug discovery of Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis* 2023 94(4): 1265–1301.
- [5] DAS T K, GANESH B P. Interlink between the gut microbiota and inflammation in the context of oxidative stress in Alzheimer's disease progression [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(1): 2206504.
- [6] COBLEY J N, FIORELLO M L, BAILEY D M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress [J]. *Redox Biol* 2018 15: 490–503.
- [7] PADURARIU M, CIOBICA A, MAVROUDIS I, et al. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients [J]. *Psychiatr Danub*, 2012, 24(2): 152–158.
- [8] WEI W Y, WANG Y Y, ZHANG J, et al. Fasudil ameliorates cognitive deficits, oxidative stress and neuronal apoptosis via inhibiting ROCK/MAPK and activating Nrf2 signaling pathways in APP/PS1 mice [J]. *Folia Neuropathol*, 2021 59(1): 32–49.
- [9] TAN D D, WEN J K, LI L X, et al. Inhibition of RhoA-subfamily GTPases suppresses schwann cell proliferation through regulating AKT pathway rather than ROCK pathway [J]. *Front Cell Neurosci* 2018 12: 437.
- [10] BAI Y Y, XIANG X L, LIANG C M, et al. Regulating Rac in the nervous system: molecular function and disease implication of Rac GEFs and GAPs [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 632450.
- [11] CHEN M H, LIU A M, OUYANG Y, et al. Fasudil and its analogs: a new powerful weapon in the long war against central nervous system disorders? [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2013, 22(4): 537–550.
- [12] GU Q F, YU J Z, WU H, et al. Therapeutic effect of Rho kinase inhibitor FSD-C10 in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Exp Ther Med* 2018 16(5): 3929–3938.
- [13] KOCH J C, TATENHORST L, ROSER A E, et al. ROCK inhibition in models of neurodegeneration and its potential for clinical translation [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 189: 1–21.
- [14] GAO Y, YAN Y Q, FANG Q L, et al. The Rho kinase inhibitor fasudil attenuates  $A\beta_{1-42}$ -induced apoptosis via the ASK1/JNK signal pathway in primary cultures of hippocampal neurons [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(6): 1787–1801.
- [15] GÖTZ J, SCHILD A, HOERNDLI F, et al. Amyloid-induced neurofibrillary tangle formation in Alzheimer's disease: insight from transgenic mouse and tissue-culture models [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2004, 22(7): 453–465.
- [16] ZHONG L L, LIU H, ZHANG W J, et al. Ellagic acid ameliorates learning and memory impairment in APP/PS1 transgenic mice via inhibition of  $\beta$ -amyloid production and tau hyperphosphorylation [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4951–4958.
- [17] EIDENMÜLLER J, FATH T, MAAS T, et al. Phosphorylation-mimicking glutamate clusters in the proline-rich region are sufficient to simulate the functional deficiencies of hyperphosphorylated tau protein [J]. *Biochem J*, 2001, 357(Pt 3): 759–767.
- [18] KOKUBO H, KAYED R, GLABEC G, et al. Soluble A $\beta$ -oligomers ultrastructurally localize to cell processes and

- might be related to synaptic dysfunction in Alzheimer's disease brain [J]. *Brain Res*, 2005, 1031(2): 222-228.
- [19] WALSH D M, KLYUBIN I, FADEEVA J V, et al. Amyloid-beta oligomers: their production, toxicity and therapeutic inhibition [J]. *Biochem Soc Trans*, 2002, 30(4): 552-557.
- [20] 邱小忠, 余磊, 秦建强, 等.  $\beta$ -淀粉样蛋白(1-42)对 PC12 细胞的氧化损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(2): 391-392.
- [21] 薛迪, 刘学伟, 汪娜, 等. 芥子酸对  $A\beta_{42}$  诱导 PC12 细胞损伤的改善作用及机制 [J]. *中国药房*, 2022, 33(5): 597-60.
- [22] 陈瑞祺. SERMs 对阿尔兹海默症  $A\beta$  细胞模型神经保护作用的研究 [D]. 泉州: 华侨大学, 2017.
- [23] 包玉婷, 何滢, 周小杰, 等.  $\beta$ -细辛醚对  $A\beta_{1-42}$  诱导 PC12 细胞炎症因子表达的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(12): 3019-3023.
- [24] ZHOU Y Y, XIE N, LI L B, et al. Puerarin alleviates cognitive impairment and oxidative stress in APP/PS1 transgenic mice [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2014, 17(4): 635-644.
- [25] 王晓燕, 孙静, 王沛. Ask1 基因过表达对卵巢癌细胞凋亡及其对紫杉醇顺铂化疗敏感性研究 [J]. *中国药物与临床*, 2018, 18(6): 887-889.
- [26] IMARISIO C, ALCHERA E, BANGALORE REVANNA C, et al. Oxidative and ER stress-dependent ASK1 activation in steatotic hepatocytes and Kupffer cells sensitizes mice fatty liver to ischemia/reperfusion injury [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 112: 141-148.
- [27] GUO X L, NAMEKATA K, KIMURA A, et al. ASK1 in neurodegeneration [J]. *Adv Biol Regul*, 2017, 66: 63-71.
- [28] 崔秀云, 王红, 赵宝昌. 凋亡信号调节激酶 1 对细胞凋亡的调节作用 [J]. *中国生物工程杂志*, 2002, 22(4): 22-28.
- [29] 丁奇, 高永荣, 刘熙鹏, 等. 地佐辛联合法舒地尔对自发性蛛网膜下腔出血患者术后炎症因子、氧化应激和认知功能的影响 [J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2021, 30(10): 104-106.
- [30] 王丙乾, 王东, 张建军, 等. 法舒地尔和 RhoA 沉默对神经干细胞增殖的影响 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(10): 1832-1836.
- [31] 尉杰忠, 闫玉清, 谷青芳, 等. 法舒地尔通过促进 APP/PS1 双转基因小鼠神经再生改善认知功能 [J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(7): 1153-1161.

[收稿日期: 2024-04-10]

[责任编辑: 杨建香 英文编辑: 张勇]