

文章编号 1006-8147(2016)05-0391-05

论著

β 片层阻断肽对 AD 模型小鼠学习记忆及 PI3K/AKT 信号通路的影响

付雪斐,李靖,孙凤仙,袁小涌,王超,徐淑梅
(天津医科大学生理学教研室,天津 300070)

摘要 目的:观察 β 片层阻断肽 H102 对阿尔茨海默病(AD)模型小鼠学习记忆的影响,探讨其是否通过 PI3K/AKT 参与 A β 代谢。方法:(1)将 APP/PS1 双转基因小鼠随机分为模型组和 H102 给药组,设同月龄同背景的 C57BL/6J 为正常对照组。H102 给药组采用鼻腔给药,5 μ L/d。通过 Morris 水迷宫检测不同组小鼠的空间记忆能力的改变。(2)采用免疫组化、RT-PCR 及 Western blot 技术检测 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白 P85、pAKT 的表达。结果:(1)Morris 水迷宫检测显示 H102 给药组在定位航行实验以及空间探索实验均优于模型组,且具有统计学意义。(2)PI3K 的 mRNA 在模型组中显著降低,在 H102 给药组水平显著增高;ITGB5 的 mRNA 水平在模型组升高,在 H102 给药组中明显下调,在 H102 给药组和模型组之间有显著差异。(3)与模型组比较 H102 给药组 PI3K(P85)与 pAKT 的表达量有明显升高。(4)PI3K 和 AKT 免疫组化染色显示 H102 给药组的阳性细胞在大脑皮层和海马较模型组有显著增加。结论:H102 通过激活 PI3K/AKT 信号通路,使胰岛素降解酶表达增加,进而加强了 A β 的降解,达到治疗 AD 的作用。

关键词 β 片层阻断肽;APP/PS1 双转基因小鼠;Morris 水迷宫;PI3K/AKT 信号通路;阿尔茨海默病

中图分类号 R338

文献标志码 A

Effect of β -sheet breaker peptide on learning and memory and PI3K/AKT signaling pathway in AD model mice

FU Xue-fei, LI Jing, SUN Feng-xian, YUAN Xiao-yong, WANG Chao, XU Shu-mei

(Department of Physiology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract **Objective:** To observe the effects of H102 on the learning and memory ability in Alzheimer's disease mice and to explore the mechanism of H102 participating in A β metabolism. **Methods:** (1)The mice were randomly divided into normal group, model group and H102 group, and were treated with intranasal administrated, 5 μ L/d. Morris water maze test was used to record different changes in spatial memory of mice.(2)Immunohistochemistry was used to detect a specific protein, and RT-PCR and western blot to detect the expression of P85 and pAKT. **Results:** (1) Morris water maze test showed the H102 group in place navigation and spatial probe test was superior to the model group, with statistical significance. (2)The level of PI3K mRNA decreased significantly in the model group, with H102 group significantly higher; ITGB5 mRNA levels were significantly lower in H102 group, and there were significant differences between the model and the H102 group.(3)Expression of PI3K (P85) and pAKT in H102 group had significantly increased as compare to the model group.(4) PI3K and AKT immunohistochemistry showed that positive staining cells in the cerebral cortex and hippocampus of H102 group were significantly increased compared with the model group. **Conclusion:** H102 through the PI3K/AKT pathway of the insulin signaling pathway could increase the expression of IDE, which may further promote the endocytosis and degradation of A β in the brain, thus accelerating A β degradation, and enhancing therapeutic effect of AD treatment.

Key words β -sheet breaker peptide; APP/PS1 transgene mice; morris water maze; PI3K/AKT signaling pathway; Alzheimer's disease

阿尔茨海默病(AD)是一种引起痴呆的神经变性疾病。AD 发病机制尚未明确,目前主要有 3 种假说,胆碱能假说,Tau 蛋白假说和淀粉样蛋白假说。在这几种假说中淀粉样蛋白假说被越来越多的学者所认可^[1]。该假说认为淀粉样斑块的沉积和聚集形成的病理级联是 AD 重要致病因素^[2]。PI3K/AKT 通路广泛存在于细胞中,参与细胞生长、增殖、分

化,调节信号转导途径。磷酸肌醇 3-激酶(PI3K)是受 G 蛋白偶联受体调节的脂质激酶,参与炎症反应和过敏反应^[3]。PI3K 由催化亚基 P110 和调节亚基 p85 构成,p85 氨基末端包含 SH3 结构域和能够结合到所述 SH3 结构域果糖富集区。PI3K 的 P110 亚基有同源性的蛋白激酶,还具有磷脂激酶活性。胰岛素降解酶(IDE)是一个中性锌金属肽链内切酶,有研究证明,IDE 基因突变会影响 A β 降解,增加 AD 的患病风险^[4]。遗传连锁研究已发现,血浆中 A β 1-42

作者简介 付雪斐(1990-),女,硕士在读,研究方向:生理学;通信作者:徐淑梅;E-mail: xushu@tjmu.edu.cn。

的水平与染色体 10q 相关,而 IDE 基因正是位于这段区域^[5]。有研究表明 AD 患者中 IDE 的表达^[6]和催化活性^[7]均受到抑制,然而 IDE 的调节方式的研究相对鲜见报道。课题组前期的研究表明: β 片层阻断肽在细胞和小鼠模型中,对 Tau 蛋白磷酸化有明显的抑制作用^[8],同时还可提高 A β 的降解酶 IDE、NEP 的表达^[9]。本研究旨在观察 β 片层阻断肽 H102 鼻腔给药对 APP/PS1 双转基因小鼠脑内 PI3K/AKT 信号通路的影响,探讨 H102 提高 IDE 表达的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 APP/PS1 双转基因小鼠 40 只(25.5~30.5 g),同背景的 C57BL/6J 小鼠 20 只(23.2~28.61 g),所有小鼠均为 24 周龄,购于北京华阜康生物科技股份有限公司,饲养于天津医科大学动物中心 SPF 级动物房,温度为(24 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$,12:12 h 光/暗周期(6:00 Am)开始给予光照。

1.2 药物及材料 H102 采用 Fmoc 固相合成并用高效液相色谱纯化,质谱鉴定纯度达 95%(上海吉尔生化有限公司)。Anti-pAKT, Anti-AKT, Anti-PI3K 购自 Abcam 公司, USA; 即用型 SABC 免疫组化试剂盒, DAB 显色试剂盒购自武汉博士德生物公司;辣根酶标记山羊抗兔 IgG, 辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG 购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.3 动物分组与给药方法 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠随机分为 2 组:模型组和 H102 给药组, C57BL/6J 小鼠为正常对照组,每组 17~20 只。采用鼻腔给药方法, H102 给药组用自制给药器给予 33 mg/mL 药液 5 $\mu\text{L}/\text{d}$;正常对照组和模型组鼻腔给予等体积辅料溶液(取 0.5 g 壳聚糖及 0.1 g BSA 溶于 100 mL 双蒸水中,摇匀,即为辅料溶液),连续 5 周。

1.4 Morris 水迷宫测试 测试主要包括定位航行实验和空间探索实验 2 个部分。实验前 1 d 将小鼠置于水迷宫中预游泳 2 min, 使其适应水迷宫环境。正式实验时,置平台于水迷宫第三象限中环内,每日相同时段每只小鼠游泳 2 次(每次 90 s),历时 5 d。记录小鼠寻找并爬上平台所需时间即逃避潜伏期。如果小鼠在 90 s 内未找到平台,则将其引至平台停留 20 s,逃避潜伏期记为 90 s,此为定位航行实验。于实验第 6 日撤去平台进行空间探索实验,相同时间段,任选一个入水点将小鼠放入水中,每只小鼠游泳 1 次(每次 90 s),记录小鼠的游泳轨迹,考察对平台的记忆。选取定位航行实验的平均逃避潜伏期和空间探索实验的跨平台次数及入水朝向角作为衡量其空间学习记忆的主要指标。

1.5 脑组织处理 腹腔注射 10%水合氯醛(4 mL/kg)

麻醉小鼠,将麻醉的动物仰卧于冰盘上,伸展固定四肢,迅速剪开胸腹并充分暴露心脏和肝脏。从左侧心尖部迅速插管经左心室至升主动脉弓处并固定,同时剪开右心耳,快速灌注 0.01 mol/L PBS 60 mL 直至右心室流出澄清液体小鼠肝脏完全变白,冰盘上快速取脑,一侧脑组织分离海马和皮层投入液氮后迅速放于 -80°C 冻存备用。另一侧将脑组织放入 4%多聚甲醛溶液内固定 24 h 以上,待脑组织下沉后,行蜡块包埋,小鼠脑组织行矢状切面切片,待海马 CA1 区出现后连续切片,切片厚度 5 μm 。

1.6 Western blot 分析 从 -80°C 冰箱取出组织,根据组织质量加入 1:10(m:v)的蛋白裂解液匀浆。低温高速离心,12 000 r/min, 5 min,取上清,即为总蛋白提取液。BCA 法测定各组织蛋白浓度,并用裂解液将各组织的蛋白浓度调至等浓度,充分混匀后按 4:1 加入 5 \times 上样缓冲液,混匀,煮沸 5 min,即可直接上样。

1.7 免疫组化染色 石蜡切片常规脱蜡,蒸馏水冲洗;3% H_2O_2 室温避光孵育 10 min, 蒸馏水浸泡, 2 min \times 3 次;加入 0.01 mol/L 枸橼酸缓冲液中微波沸腾抗原修复,沸腾后间隔 10 min,再沸腾,取出冷却至室温, PBS 浸泡, 2 min \times 3 次;滴加 5% BSA 封闭,室温避光孵育 15 min,倾去,勿洗;滴加稀释好的一抗:PI3K(1:200)、AKT(1:100)4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, PBS 冲洗, 2 min \times 3 次;滴加生物素标记的羊抗鼠通用二抗,室温孵育 20 min, PBS 冲洗, 3 min \times 3 次;滴加 SABC 液, 避光室温孵育 20 min, PBS 冲洗, 5 min \times 3 次;DAB 显色剂显色:EP 管中加入 1 mL 双蒸水, A、B、C 液各滴 1 滴,混匀,镜下控制染色程度,去离子水终止显色反应后充分冲洗;苏木素复染,双蒸水充分冲洗,盐酸酒精分化,梯度酒精常规脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,于显微镜下观察。

1.8 Real-time PCR Trizol 一步法提取总 RNA,测定总 RNA 浓度,逆转录 cDNA。20 μL 的 RT-PCR 反应体系含:10 μL 的 2 \times SYBR Green PCR Master Mix、5 μL 的 RNase Free Water、上、下游引物(0.05 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)各 0.5 μL 和 4 μL 的 cDNA。反应条件:预热变性,95 $^{\circ}\text{C}$, 5 min;变性,95 $^{\circ}\text{C}$, 30 s;退火,59 $^{\circ}\text{C}$, 30 s;延伸,72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s;共进行 40 个循环的扩增,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 8 min。

1.9 统计学方法 所得数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS18.0 统计软件进行分析,利用单因素方差分析法进行统计学处理。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学测试结果

2.1.1 定位航行实验 与正常对照组相比较模型

组逃避潜伏期的时间明显延长,其差异具有显著性($P < 0.05$);H102 给药组与模型组相比较,从第

二天开始,时间明显缩短,具有统计学差异($P < 0.05$),见表 1。

表 1 小鼠逃避潜伏期($n=20, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of average escape latency in navigation test($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
正常对照组	58.991±10.80	50.443±6.370	42.215±0.940	31.201±0.433	22.186±1.618
模型组	87.494±5.570 [#]	88.514±4.642 [#]	89.872±0.044 [#]	89.860±0.066 [#]	89.833±0.921 [#]
H102 给药组	88.197±1.530	61.719±3.660*	43.201±0.941*	33.356±1.390*	26.163±0.543*

与正常对照组相比,[#] $P < 0.05$;与模型组相比,* $P < 0.05$

2.1.2 空间探索实验 与正常对照组小鼠比较,模型组跨越隐匿平台次数明显减少,具有显著性差异($P < 0.05$);H102 给药组与模型组比较跨越隐匿平台次数明显增多,差异有统计学意义($P < 0.05$)。模型组小鼠的朝向角,与正常对照组比较,明显偏大,具有显著性差异($P < 0.05$);与模型组比较,H102 给药组朝向角明显偏小,具有显著性差异($P < 0.05$),见表 2。

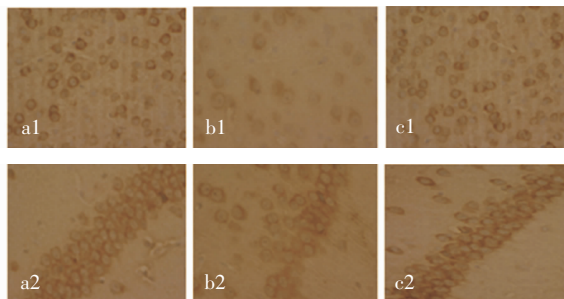
表 2 跨越隐匿平台次数及朝向角($n=20, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of frequency span hidden platform and the corner into water in space exploration experimen($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	跨越隐匿平台次数/次	朝向角/度
正常对照组	1.60±0.821	38.334±21.264
模型组	0.00±0.000 [#]	129.062±37.672 [#]
H102 给药组	1.20±0.867*	45.027±23.936*

与正常对照组相比,[#] $P < 0.05$;与模型组相比,* $P < 0.05$

2.2 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白免疫组化实验结果 (1)PI3K 存在于包浆中,染色呈棕色,H102 给药组包浆着色明显,蛋白表达较模型、正常对照组高(均 $P < 0.05$),见图 1 及表 3。(2)AKT 存在于胞浆中,经过免疫组化染色和细胞计数结果显示在海马的 CA1 区及大脑皮层,正常对照组阳性细胞率较模型组高,包浆着色明显深,AKT 表达增强;模型组较正常对照组阳性细胞率低,包浆着色浅($P < 0.05$),模型组较 H102 给药组阳性细胞率较低,包浆着色浅($P < 0.05$),见图 2 及表 4。



a: 正常对照组, b: 模型组, c: H102 给药组; 上: 大脑皮层, 下: 海马 CA1 区
图 1 H102 对 APP/PS1 双转基因小鼠大脑皮层及海马 CA1 区中 PI3K 表达的影响(IHC, ×400)

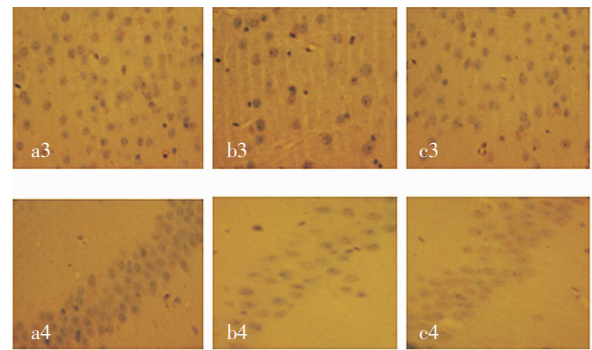
Fig 1 Expressions of PI3K protein in mouse brain detected by immunohistochemistry (IHC, ×400)

表 3 皮层及海马 CA1 区各组小鼠 PI3K 的比较($n=20, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 Expressions of PI3K detected by immunohistochemistry ($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	阳性细胞计数	
	皮层	海马 CA1 区
正常对照组	76.00±4.93	78.00±4.24
模型组	25.00±7.67 [#]	37.00±17.57 [#]
H102 给药组	61.00±7.66*	63.00±3.57*

与正常对照组相比,[#] $P < 0.05$;与模型组相比,* $P < 0.05$



a: 正常对照组, b: 模型组, c: H102 给药组; 上: 大脑皮层, 下: 海马 CA1 区

图 2 H102 对 APP/PS1 双转基因小鼠大脑皮层及海马 CA1 区 AKT 表达的影响(IHC, ×400)

Fig 2 Expressions of AKT protein in mouse brain detected by immunohistochemistry (IHC, ×400)

表 4 各组小鼠皮层及海马 CA1 区 AKT 的比较($n=20, \bar{x} \pm s$)

Tab 4 Expressions of AKT detected by immunohistochemistry ($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	阳性细胞计数	
	皮层	海马 CA1 区
正常对照组	58.00±0.084	70.00±0.005
模型组	25.00±0.008 [#]	43.00±0.001 [#]
H102 给药组	76.00±0.012*	64.00±0.002*

与正常对照组相比,[#] $P < 0.05$;与模型组相比,* $P < 0.05$

2.3 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白 Western blot 结果 (1)PI3K 模型组蛋白表达量低于对照组(均 $P < 0.05$)。与模型组比较 H102 给药组 PI3K 表达量显著增加。见图 3 及表 5。(2)AKT、p-AKT 模型组脑内 AKT 及 p-AKT 蛋白表达水平低于正常对照组,

而 H102 给药组高于模型组以及正常对照组($P<0.05$), 见图 4 及表 5。

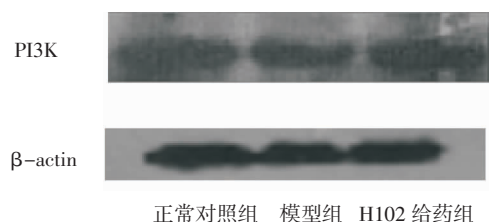


图 3 各组小鼠脑内 PI3K 蛋白的表达

Fig 3 PI3K protein expression in mouse brain by Western blot assay

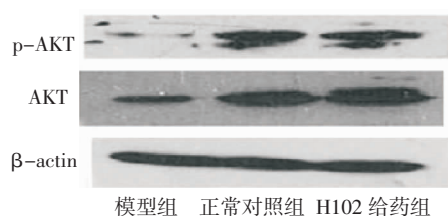


图 4 各组小鼠脑内 P-AKT 蛋白的表达

Fig 4 p-AKT protein expression in mouse brain by Western blot assay

表 5 各组小鼠脑组织中 PI3K, AKT 和 p-AKT 蛋白的比较
($n=20, \bar{x} \pm s$)

Tab 5 Expressions of purpose protein detected by Western blot assay
($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	灰度分析值		
	PI3K	AKT	p-AKT
正常对照组	0.91±0.084	0.39±0.006	0.37±0.071
模型组	0.39±0.006 [#]	0.09±0.001 [#]	0.03±0.004 [#]
H102 给药组	0.79±0.013 [*]	0.32±0.006 [*]	0.36±0.093 [*]

与正常对照组相比,[#] $P<0.05$;与模型组相比,^{*} $P<0.05$

2.4 ITGB5, PI3K 的 mRNA 表达影响 (1)模型组 ITGB5 的 mRNA 表达量明显高于正常组, H102 给药组与模型组相比 ITGB5 mRNA 表达量明显减少(均 $P<0.05$)。 (2)模型组 PI3K 的 mRNA 表达量明显低于正常组, H102 给药组与模型组相比 PI3K 的 mRNA 表达量明显升高(均 $P<0.05$), 见表 6。

表 6 H102 对 AD 小鼠脑中 ITGB5 和 PI3KmRNA 表达的影响
($n=20, \bar{x} \pm s$)

Tab 6 Expressions of mRNA detected by Real-time PCR
($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	$2^{-\Delta\Delta C_t}$	
	PI3K	ITGB5
正常对照组	1	1
模型组	0.46 [#]	2.12 [#]
H102 给药组	1.2 [*]	1.32 [*]

与正常对照组相比,[#] $P<0.05$;与模型组相比,^{*} $P<0.05$

3 讨论

Aβ 的积累和沉积引起的病理级联是引起 AD 的基本原因之一^[10]。淀粉样蛋白假说认为胞外不可溶的 Aβ 具有毒性, 然而最新的研究认为胞内可溶 Aβ 的形成才是引起病理级联的关键^[11]。以往的很多研究着眼点在 Aβ 的形成, 并且发现家族性 AD 患者相关基因(PS1, PS2 和 APP 等)的突变导致 Aβ 的累积或致病性 Aβ42 的积累导致了异常的聚集;关于 Aβ 的降解过程的研究相对较少。近几年的研究表明, 对于 90% 的散发型 AD 患者, Aβ 降解失衡可能是导致 Aβ 增多引发 AD 的基本原因, 因此本研究讨论 H102 对 Aβ 的降解和清除过程的影响, 探讨相关信号通路在 Aβ 降解过程中的重要作用。

PI3K/AKT 信号通路与细胞内多种调节相关, 是细胞周期调控和细胞凋亡的关键通路之一, 该通路通过激活 PI3K 下游的 AKT 来发挥作用。许多细胞的生存和繁殖受到 PI3K/AKT 信号通路的调控, 通过配体与受体之间的相互作用使下游信号级联介质激活^[12-13]。体外研究表明, erythropoietin 可以通过 PI3K/AKT 信号通路对 PC12 细胞进行保护作用, 防止 Aβ 诱导细胞凋亡^[14], PI3K/AKT 信号通路在 AD 的发生、发展乃至治疗中起着重要的作用。

IDE 基因位于染色体 10q, 对于 AD 的发生产生一定的影响^[15-16], 对 Aβ42 具有遗传相关性^[17]。研究表明 IDE 表达的增加^[6]以及催化活性的增加^[7]会导致遗传性 AD 的降低。还有研究表明, IDE 可能是胰岛素信号传导途径的下游目标的调节器。调节胰岛素信号通路, 可以对 IDE 产生调节作用, 增加 IDE 表达^[18]。在以往的实验中, 我们已经证明双转基因小鼠中 Aβ 的 mRNA 和蛋白水平明显高于正常; H102 实验组则有明显的降低, 然而 IDE 的表达量却有所升高^[9-19], 表明 H102 以某种方式负向调节 Aβ。

ITGB5 是整合素家族的成员, 有两条不同的链, 整合素对于信号通路的调节具有重要作用, 可以通过调节细胞信号的跨膜蛋白激酶如受体酪氨酸激酶(RTK)来发挥作用, 通过基因芯片技术, 我们发现: ITGB5 的表达在 AD 模型组明显高于对照组, 而 H102 组明显降低且与正常对照组无显著差异。而 PI3K 是细胞存活的一个启动子作用在 ITGB5 下游, ITGB5 可能负调节 PI3K。

本研究通过 Morris 水迷宫测试发现, APP/PS1 双转基因小鼠的学习记忆能力较 C57BL/6J 小鼠明显减弱, H102 给药组相较于模型组, 其学习记忆能力有明显提高, Real-time PCR 的结果显示模型组 PI3K 的 mRNA 水平均低于对照组和给药组, 模型

组ITGB5的mRNA水平均高于对照组和给药组;免疫组化的结果显示模型组脑内PI3K和AKT蛋白表达低于对照组和给药组;Western blot的结果显示模型组脑内的PI3K、p-AKT蛋白表达均低于对照组和给药组。实验结果表明APP/PS1小鼠的PI3K/AKT信号通路受到了抑制, β 片层阻断肽H102可以降低ITGB5的表达,增强PI3K、AKT、p-AKT的表达,可能经由ITGB5,影响PI3K/AKT信号传导途径,使IDE活性增加,促进A β 的降解清除,进而提高AD模型小鼠的学习记忆能力。

参考文献:

- [1] Hardy J, Selkoe D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics[J]. Science, 2002, 297(5580):353
- [2] Adlard P A, Tran B A, Finkelstein D I, et al. A review of beta-amyloid neuroimaging in Alzheimer's disease[J]. Front Neurosci, 2014, 8:327
- [3] Voigt P, Brock C, Nürnberg B, et al. Assigning functional domains within the p101 regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase gamma[J]. J Biol Chem, 2005, 280(6):5121
- [4] Hubin E, Cioffi F, Rozenski J, et al. Characterization of insulin-degrading enzyme-mediated cleavage of A β in distinct aggregation states[J]. Biochimica Biophysica Acta, 2016, 1860(6):1281
- [5] Bertram L, Blacker D, Mullin K, et al. Evidence for genetic linkage of Alzheimer's disease to chromosome 10q[J]. Science, 2000, 290(550): 2302
- [6] Cook D G, Leverenz J B, Mcmillan P J, et al. Reduced hippocampal insulin-degrading enzyme in late-onset Alzheimer's disease is associated with the apolipoprotein E-epsilon 4 allele[J]. J Pathol, 2003, 162(1):313
- [7] Kim M, Hersh L B, Leissring M A, et al. Decreased catalytic activity of the insulin-degrading enzyme in chromosome 10-linked Alzheimer disease families[J]. J Biol Chem, 2007, 282(11):7825
- [8] 徐艳玲,赵娟,马瑞珏,等. H102对APP转基因小鼠脑内淀粉样蛋白和淀粉样蛋白前体蛋白表达的影响[J].中国应用生理学杂志, 2010, 26(3):302
- [9] 宋明,李梅,林来祥,等. H102对APP转基因小鼠脑内IDE和NEP表达的影响[J].天津医科大学学报, 2010, 16(4):566
- [10] Adlard P A, Tran B A, Finkelstein D I, et al. A review of β -amyloid neuroimaging in Alzheimer's disease[J]. Front Neurosci, 2014, 8:327
- [11] Benek O, Aitken L, Hroch L, et al. A direct interaction between mitochondrial proteins and amyloid β -peptide and its significance for the progression and treatment of Alzheimer's disease [J]. Curr Med Chem, 2015, 22(9):1056
- [12] Yang S X, Polley E, Lipkowitz S. New insights on PI3K/AKT pathway alterations and clinical outcomes in breast cancer [J]. Cancer Treat Rev, 2016, 45:87
- [13] Heras-Sandoval D, Pérez-Rojas J M, Hernández-Damián J, et al. The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration[J]. Cell Signal, 2014, 26(12):2694
- [14] Barbacid M. Structural and functional properties of the TRK family of neurotrophin receptors[J]. Ann N Y Acad Sci, 1995, 766:442
- [15] Son S M, Cha M Y, Choi H, et al. Insulin-degrading enzyme secretion from astrocytes is mediated by an autophagy-based unconventional secretory pathway in Alzheimer disease[J]. Autophagy, 2016, 10:1
- [16] Tundo G, Ciaccio C, Sbardella D, et al. Somatostatin modulates Insulin-Degrading-Enzyme metabolism: implications for the regulation of microglia activity in AD[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e34376
- [17] Bertram L, Blacker D, Mullin K, et al. Evidence for genetic linkage of Alzheimer's disease to chromosome 10q[J]. Science, 2000, 290(550): 2302
- [18] Lixia Z, Bruce T, Takashi M. Insulin-Degrading enzyme as a downstream target of insulin receptor signaling cascade: implications for Alzheimer's disease intervention[J]. J Neur, 2004, 24(49):11120
- [19] Li M, Lin L X, Xu S M. Effects of H102 on cholinergic system and free radicals of APP transgenic mouse[J]. Chin J New Drugs Clin Rem, 2009, 28(2):106

(2016-03-03 收稿)