

# 红景天鞣质对阿尔茨海默病小鼠认知障碍的作用及机制研究



陈 鹏<sup>1,2</sup>, 李蕤翔<sup>3</sup>, 黎昌林<sup>3</sup>, 雷洁昕<sup>4</sup>, 王 玉<sup>5</sup>, 周本宏<sup>1,2</sup>

1. 武汉大学药学院 (武汉 430071)
2. 武汉大学人民医院药学部 (武汉 430060)
3. 武汉大学同仁医院药学部 (武汉 430060)
4. 武汉大学人民医院内分泌科 (武汉 430060)
5. 湖北省中医院药事部 (武汉 430061)

**【摘要】**目的 探讨中药红景天鞣质 (RHTs) 对 APP/PS1 转基因阿尔茨海默病 (AD) 小鼠认知障碍的保护作用及分子机制。方法 将 48 只 APP/PS1 小鼠随机分为模型组、RHTs 高 [150 mg/(kg·d)]、中 [100 mg/(kg·d)] 和低 [50 mg/(kg·d)] 剂量组, 另设 12 只同月龄野生型小鼠作为正常对照组; RHTs 各剂量组每天给予相应剂量的 RHTs 进行灌胃干预, 正常对照组与模型组则每天给予等量生理盐水, 持续干预 4 周。干预结束后, 通过 Morris 水迷宫实验评估 AD 小鼠的空间学习记忆能力, 采用 HE 染色观察海马组织病理变化, 利用免疫荧光染色检测海马区  $A\beta_{1-42}$  和 p-Tau416 蛋白的表达, 并运用 Western blot 技术检测磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)、p62、Beclin 1 及微管相关蛋白轻链 3 (LC3) 等蛋白的表达水平。结果 与正常对照组相比, 模型组小鼠的平台潜伏期和游泳路程显著增加 ( $P<0.05$ ), 穿越平台次数和目标象限停留时间显著减少 ( $P<0.05$ ); 海马 CA1 区神经细胞排列疏松, 胞核缩小且数量减少; 海马中  $A\beta_{1-42}$  和 p-Tau416 的荧光表达水平明显升高 ( $P<0.05$ ); 同时, 海马组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 及 p62 蛋白表达显著上调, 而 Beclin 1 和 LC3 的表达水平明显下降 ( $P<0.05$ )。经不同剂量 RHTs 干预后, 上述各项指标均出现显著回调。结论 RHTs 可改善 APP/PS1 转基因 AD 小鼠的认知障碍与神经元病理损伤, 其机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路、增强细胞自噬, 从而促进  $A\beta$  和磷酸化 Tau 蛋白清除有关。本研究为 AD 防治靶点筛选及中药 RHTs 的临床开发应用提供了实验依据与理论基础。

**【关键词】**红景天鞣质; 阿尔茨海默病; 认知障碍; 自噬; 磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白通路

**【中图分类号】** R285.5

**【文献标识码】** A

Experimental observation and mechanism study on the effect of *Rhodiola rosea* tannin on cognitive impairment in mice with Alzheimer's disease

CHEN Peng<sup>1,2</sup>, LI Ruixiang<sup>3</sup>, LI Changlin<sup>3</sup>, LEI Jiexin<sup>4</sup>, WANG Yu<sup>5</sup>, ZHOU Benhong<sup>1,2</sup>

1. School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, China

2. Department of Pharmacy, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202506076

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82505051); 湖北省自然科学基金项目 (2025AFB273); 湖北省中医药管理局中医药联合基金项目 (ZY2025L034); 湖北省卫生健康科技项目 (WJ2025M194)

通信作者: 陈鹏, 博士, 主管药师, Email: 2282968908@qq.com

3. Department of Pharmacy, Tongren Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

4. Department of Endocrinology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

5. Department of Pharmacy, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China

Corresponding author: CHEN Peng, Email: 2282968908@qq.com

**【Abstract】Objective** To explore the protective effect and molecular mechanism of Rhodiola rosea tannin (RHTs), a traditional Chinese medicine, on cognitive impairment in APP/PS1 transgenic Alzheimer's disease (AD) mice. **Methods** A total of 48 APP/PS1 mice were randomly divided into the model group, high RHTs [150 mg/(kg·d)], medium RHTs [100 mg/(kg·d)], and low RHTs [50 mg/(kg·d)] dose groups, with 12 wild-type mice of the same age as the normal control group. Each dose group of RHTs was given a corresponding dose of RHTs daily for gastric lavage intervention, while the normal control group and model group were given an equal amount of physiological saline daily for continuous intervention for 4 weeks. After the intervention, the spatial learning and memory abilities of AD mice were evaluated using the Morris water maze experiment. HE staining was used to observe pathological changes in hippocampal tissue, immunofluorescence staining was used to detect the expression of A $\beta$ 1-42 and p-Tau416 proteins in the hippocampus, and Western blot technology was used to detect the expression levels of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (Akt), mammalian rapamycin target protein (mTOR), p62, Beclin 1, and microtubule associated protein light chain 3 (LC3). **Results** Compared with the normal control group, the platform latency and swimming distance of the model group mice were significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the number of platform crossings and target quadrant dwell time were significantly reduced ( $P < 0.05$ ); the arrangement of nerve cells in the hippocampal CA1 region was loose, and the nuclei were reduced in size and quantity; the fluorescence expression levels of A $\beta$ 1-42 and p-Tau416 in the hippocampus were significantly increased ( $P < 0.05$ ); at the same time, the expression of p-PI3K, p-Akt, p-mTOR, and p62 proteins in hippocampal tissue was significantly upregulated, while the expression levels of Beclin 1 and LC3 were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). After intervention with different doses of RHTs, all of the above metrics showed significant regression. **Conclusion** RHTs can improve cognitive impairment and neuronal pathological damage in APP/PS1 transgenic AD mice. The underlying molecular process may be associated to the interference with the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and the enhancement of cellular autophagy, which promotes the clearance of A $\beta$  and phosphorylated Tau proteins. This study provides experimental ideas and theoretical basis for the screening of targets for the prevention and treatment of AD and promote the clinical development and application of the traditional Chinese medicine RHTs.

**【Keywords】** Rhodiola rosea tannin; Alzheimer's disease; Cognitive impairment; Autophagy; PI3K/Akt/mTOR pathway

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以记忆衰退和认知功能障碍为主要症状的神经退行性疾病<sup>[1]</sup>。目前针对 AD 发病机制存在多种学说, 主流观点认为是  $\beta$ -淀粉样蛋白 (amyloid- $\beta$ , A $\beta$ ) 的过度积聚和脑内 Tau 蛋白的异常磷酸化导致神经元纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs) 进而损伤神经细胞所致<sup>[2]</sup>。AD 在中医学属呆病和健忘等范畴, 中医学多认为其病位在脑, 肝肾亏虚, 髓虚脑空为主要病机, 故中医临床辨证论治一般以补肾填精为主<sup>[3]</sup>。然而, AD 发病机制十分复杂, 目前尚未见有效治疗药物问世, 因此, 继续开发和寻找安全有效的 AD 防治策略迫在眉睫。

磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) / 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) / 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一种主要参与细胞存活、生长和代谢调控的胞内信号传导经典通路<sup>[4]</sup>。研究表明, 该信号通路激活后可抑制细胞自噬, 在调控神经细胞自噬过程中扮演重要角色<sup>[5]</sup>。近年来, 自噬功能障碍与 AD 发病关系已被阐释确切, 众多研究证据显示, 在 AD 临床患者和疾病动物模型脑内均发现伴随自噬失调<sup>[6]</sup>。一般认为, 促进或激活自噬可抑制 A $\beta$  的聚集和阻遏 Tau 蛋白的磷酸化, 而自噬功能受损则会加剧 AD 发病。此外研究表明,

AD 发病进程中伴随 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的活化及其介导的自噬异常<sup>[5]</sup>，因此，从靶向 PI3K/Akt/mTOR 信号通路视角出发进而调控细胞自噬不失为一种临床 AD 防治重要策略。

中药红景天，又名“天赐草”，为景天科植物大花红景天 (*Rhodiola rosea* L.) 的干燥根和根茎，主产于西藏、四川、吉林等地<sup>[7]</sup>。红景天始载于藏医经典著作《四部医典》，为常用藏药，其气味芳香，味微苦涩后甜；入心、脾、肺、肝经，具有补脾益气、益精养血之效<sup>[8]</sup>。现代药理学研究表明，红景天具有强大的抗氧化特性，具有抗凋亡、改善认知等重要作用<sup>[9]</sup>。进一步研究表明，红景天主要的药理活性物质基础为苷类和鞣质类成分，且红景天鞣质 (*Rhodiola rosea* tannin, RHTs) 还可下调 PI3K/Akt/mTOR 信号通路<sup>[10]</sup>。然而，目前关于 RHTs 是否可以通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控自噬进而以缓解 AD 认知障碍，尚未见详细报道。因此，本研究拟以 APP/PS1 转基因小鼠为研究对象，探讨 RHTs 调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路改善 AD 小鼠认知障碍的分子机制，为 AD 防治提供更多新的思路与方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器

JE1002 电子天平 (上海浦春计量仪器有限公司)；SMV-3500 涡旋混匀仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司)；Neofuge 15R 高速冷冻离心机 (上海力申科学仪器有限公司)；SWE-C7 研磨仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司)；ZF-630 组织切片机 (上海嘉鹏科技有限公司)；嘉鹏 BETS-M1 脱色微型圆周摇床 (上海嘉鹏工业科技有限公司)；MEDVWM Morris 水迷宫 (上海赞德医疗器械有限公司)；BX53M 奥林巴斯荧光显微镜 (Olympus)；MV-10CBS 电泳及转膜装置 (江苏米立特科学仪器有限公司)；JS-6000 全自动凝胶成像分析系统 (上海培清科技有限公司)。

### 1.2 主要药物与试剂

红景天饮片 (浙江省中药材有限公司饮片厂，产地：浙江金华，批号：202412137) 经武汉大学药学院汤俊教授鉴定为景天科大花红景天 *Rhodiola* L. 的干燥根和根茎；苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色试剂盒 (武汉百仟度生物科技有限公司，批号：BH0001)；荧光

染料 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI, 批号：BB363ES50)、ECL 超敏发光液 AB 液 (批号：KR0003) 和蛋白裂解液 (批号：BB-2301) 购自武汉科瑞生物技术有限公司；SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒 (武汉赛维尔生物科技有限公司，批号：S0051)；A $\beta_{1-42}$  (批号：25312-1-AP) 和 p-Tau416 (批号：24954-1-AP) 购自武汉三鹰生物技术有限公司；PI3K (批号：A4453)、p-PI3K (批号：A15664)、Akt (批号：A2466)、p-Akt (批号：A15622)、mTOR (批号：A21242)、p-mTOR (批号：A5459)、p62、Beclin 1 (批号：A17622)、LC3 (批号：A11120) 和  $\beta$ -actin (批号：AP1452) 抗体均购自美国 Affinity 公司。

### 1.3 动物

48 只 SPF 级 6 月龄雄性 APP/PS1 双转基因小鼠 (体质量 25~28 g) 与 12 只同月龄、同性别 C57/6J 小鼠 (体质量 25~28 g) 均购自于武汉鼠来宝生物科技有限公司，生产许可证号：SCXK (京) 2021-0010。动物饲养于武汉大学同仁医院 SPF 级动物房，饲养过程中温度维持在 21~25℃ 之间，湿度控制在 50%~70%，期间所有小鼠均可自由饮水、进食。本实验经武汉大学同仁医院动物伦理委员会批准 (伦理批件号：SY2023-024)。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 RHTs 的制备

精密称取红景天饮片 10 g，粉碎，加入 20 L 70% 丙酮溶液作为溶剂，室温浸泡过夜；随后将药材转移至蒸馏烧瓶中，于 55℃ 下回流提取两次，每次 0.5 h，合并滤液并趁热过滤，减压浓缩除去丙酮后，过 HPD-400 大孔吸附树脂柱，先用水清洗柱子，再用 70% 乙醇洗脱，收集乙醇洗脱液并于 50℃ 下减压浓缩，最后经冷冻干燥制得 RHTs 精制提取物，冻干分装后于 4℃ 密闭保存备用<sup>[11]</sup>。

参照《中国药典 (2025 年版)》<sup>[12]</sup> 采用磷钼钨酸-干酪素比色法测定精制提取物中 RHTs 的含量，测得结果为 64.63%，所得样品保存于干燥密闭容器中备用。

#### 1.4.2 动物分组及给药

待各组小鼠经 1 周适应性饲养后，将 48 只 APP/PS1 转基因 AD 小鼠按数字随机法分为 4 组：模型组、RHTs 高剂量组 (H-RHTs)、中剂量组 (M-RHTs) 和低剂量组 (L-RHTs)，每组 12 只；

另设 12 只野生型小鼠作为正常对照组 (Ctrl)。实验期间, Ctrl 组与模型组每日灌胃适量生理盐水, H-RHTs、M-RHTs 和 L-RHTs 组则分别灌胃 150、100、50 mg/(kg·d) 的 RHTs 药物<sup>[7]</sup>。实验持续 4 周, 期间详细记录各组小鼠的毛发状况、活动行为、饮水及摄食情况。

#### 1.4.3 Morris 水迷宫实验

Morris 水迷宫实验包括定位航行和空间探索两个模块。实验装置采用直径 120 cm 的标准圆形水池 (水深约 40 cm), 池内第三象限水面下 1.5 cm 处设置一个直径 10 cm 的隐藏平台。①定位航行试验持续 5 d, 每天分为上午和下午两个时段进行。每次将小鼠随机从 4 个象限之一的起始点面朝池壁放入水中。系统自动记录其逃避潜伏期, 即从入水至首次登上隐藏平台 (位于水面下 1 cm 处) 所需时间。若小鼠在 120 s 内未能找到平台, 则由实验人员引导其至平台并让动物停留 30 s, 以强化空间记忆。②空间探索试验于第 6 天进行: 撤除平台后, 将小鼠随机从某一象限放入池中, 记录其在 60 s 内的游泳轨迹。通过分析小鼠在目标象限的停留时间、穿越原平台位置的次数以及运动轨迹特征, 评估其空间记忆保持能力。整个实验过程使用 EthoVision 软件进行视频跟踪与数据分析。

#### 1.4.4 海马组织 HE 染色

采用轮转式切片机制备 5 μm 连续切片, 经石蜡包埋后于 60℃ 恒温烘箱中烤片, 随后依次进行二甲苯脱蜡和梯度酒精水化处理, 并用蒸馏水洗净。接着使用苏木精染色细胞核 15 min, 自来水冲洗后以 1% 盐酸酒精镜检分化, 并迅速转入 1% 氨水酒精中返蓝判断染色效果。再以伊红染色 3 min, 70% 酒精冲洗后, 依次经梯度酒精和二甲苯脱水透明至切片呈无色透明状。最后将切片取出, 经梯度酒精脱水、二甲苯透明, 中性树脂胶封片, 并进行镜检。

#### 1.4.5 免疫荧光检测

取小鼠石蜡切片, 经二甲苯常规脱蜡、梯度酒精水化及抗原修复后, 置于 PBS 缓冲液中清洗 3 次 (每次 5 min), 弃去组织周围 PBS, 加入组织封闭液室温封闭 1~2 h。随后加入一抗 (稀释比例 1:500), 于 4℃ 冰箱中孵育过夜后回收一抗, 再用 PBS 缓冲液清洗 3 次 (每次 5 min)。接着加入二抗 (稀释比例 1:10 000), 室温孵育 1 h,

PBS 清洗 3 次后滴加 DAPI 染色稀释液对细胞核进行染色。以滤纸吸干切片残留液体, 滴加抗褪色剂封片, 最后通过荧光显微镜采集图像, 并采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对阳性信号进行分析。

#### 1.4.6 蛋白免疫印迹检测

将小鼠脑组织称重后, 按比例加入 RIPA 蛋白裂解液, 充分研磨并离心, 取上清液进行 BCA 法定量蛋白含量。取适量蛋白样品, 加入 5% 溴酚蓝, 煮沸 10 min, 分装后于 -80℃ 保存备用。将凝胶固定于电泳装置并浸入电泳缓冲液, 每孔加样 20 μL, 在 160 V、200 mA 条件下电泳 45 min。电泳结束后进行转膜, 参数设置为 190 V、400 mA, 持续 60 min。转膜完成后用 5% 脱脂牛奶在室温下慢摇封闭 1 h, TBST 漂洗 3 次。加入一抗 (稀释比例 1:500) 并于 4℃ 孵育过夜, 次日回收一抗, TBST 再次洗涤 3 次 (每次 15 min)。随后加入二抗 (稀释比例 1:5 000), 常温摇床孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次 (每次 15 min), 再与 HRP 标记二抗室温孵育 2 h。最后滴加 ECL 工作液进行曝光拍照, 使用 Image J 软件测定目标条带灰度值, 并计算指标灰度值与内参灰度值的比值。

### 1.5 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 成对比较使用 LSD 检验, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠生理状况比较

与 Ctrl 组相比, 模型组小鼠表现出性情暴躁、易怒和较强的攻击性, 毛发黯淡、干枯粗糙且易脱落; 而与模型组相比, 经 RHTs 干预后的小鼠狂躁和易怒状态有所改善, 攻击性呈减弱趋势, 毛发色泽更为光鲜。此外, 在整个饲养期间, 各组小鼠的饮水和进食均无显著变化, 且未出现死亡现象。

### 2.2 各组小鼠 Morris 水迷宫实验结果

在定位航行实验中, 与 Ctrl 组相比, 模型组小鼠寻找逃生平台的潜伏期显著延长 ( $P < 0.05$ ), 整体游泳路程也明显增加 ( $P < 0.05$ ); 而与模型组相比, RHTs 干预组小鼠的平台潜伏期和游泳总路程均显著缩短 ( $P < 0.05$ )。在空间探索试验中, 与 Ctrl 组相比, 模型组小鼠的穿越平台次数和在目标象限停留时间均显著减少 ( $P < 0.05$ );

而与模型组相比，各剂量 RHTs 给药组小鼠的穿越平台次数和目标象限停留时间均显著增加 ( $P < 0.05$ )。具体见表 1 和图 1。

### 2.3 各组小鼠海马组织CA1区HE染色结果

通过对小鼠脑组织HE染色结果的分析可见，Ctrl 组海马 CA1 区细胞结构完整、排列整齐且核染色清晰；而模型组小鼠海马 CA1 区神经元数量

显著减少，并伴有神经元排列紊乱及核固缩等病理改变，表明疾病模型小鼠海马神经元损伤严重。进一步观察发现，经连续 4 周 RHTs 干预后，各组小鼠海马 CA1 区病理损伤均有所改善，具体表现为细胞结构更清晰、排列趋于紧密，核固缩现象减少。以上结果提示，RHTs 能够减轻 APP/PS1 小鼠海马组织的病理损伤。具体见图 2。

表1 各组小鼠Morris水迷宫定位巡航和空间探索能力比较 ( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

Table 1. Comparison of the ability of place navigation and spatial exploration in the Morris water maze among mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

| 组别      | 逃避潜伏期 (s)                 | 游泳总距离 (cm)                  | 穿越平台次数 (次)              | 目标象限停留时间 (s)              |
|---------|---------------------------|-----------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Ctrl组   | 9.65 ± 3.09               | 171.33 ± 57.51              | 4.8 ± 0.98              | 26.23 ± 4.50              |
| 模型组     | 43.57 ± 5.82 <sup>a</sup> | 719.38 ± 96.10 <sup>a</sup> | 1.9 ± 0.54 <sup>a</sup> | 13.88 ± 2.15 <sup>a</sup> |
| H-RHTs组 | 11.85 ± 3.70 <sup>b</sup> | 201.25 ± 83.11 <sup>b</sup> | 4.2 ± 0.54 <sup>b</sup> | 24.77 ± 3.80 <sup>b</sup> |
| M-RHTs组 | 24.77 ± 5.61 <sup>b</sup> | 416.33 ± 98.83 <sup>b</sup> | 3.2 ± 0.75 <sup>b</sup> | 21.62 ± 4.04 <sup>b</sup> |
| L-RHTs组 | 30.63 ± 4.32 <sup>b</sup> | 532.68 ± 87.67 <sup>b</sup> | 2.5 ± 0.93 <sup>b</sup> | 18.96 ± 3.54 <sup>b</sup> |

注：与Ctrl组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与模型组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

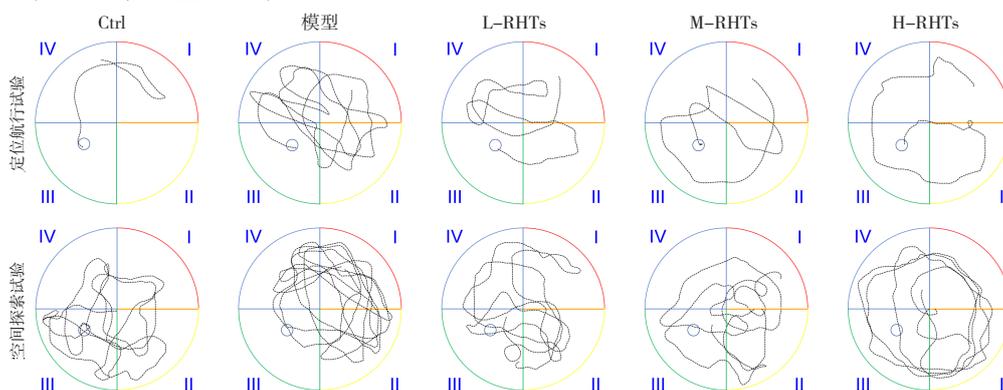


图1 各组小鼠Morris水迷宫定位航行、空间探索实验运动轨迹图

Figure 1. Movement trajectory diagrams of each group of mice in the Morris water maze place navigation and spatial exploration experiments

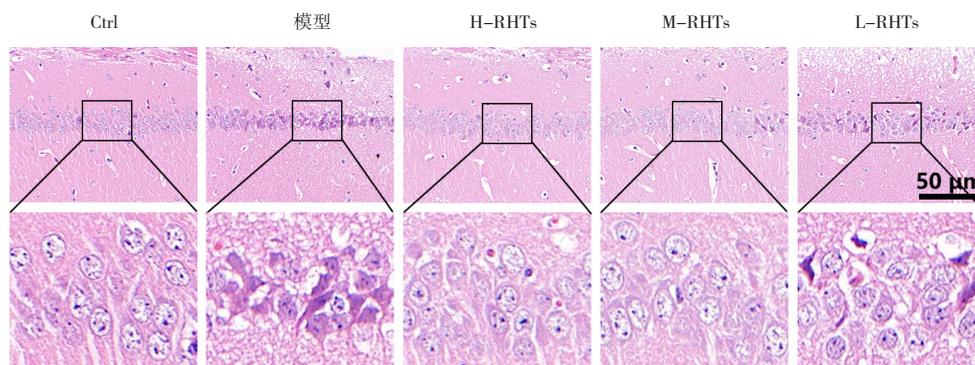


图2 各组小鼠海马组织HE染色结果 (100 ×)

Figure 2. HE staining results of hippocampal tissue in mice from each group (100 ×)

### 2.4 各组小鼠海马CA1区Aβ<sub>1-42</sub>、p-Tau416 表达结果

免疫荧光结果显示，Aβ<sub>1-42</sub> 与 p-Tau416 在正常小鼠脑内表达较低；与 Ctrl 组相比，Aβ<sub>1-42</sub>

和 p-Tau416 在模型组小鼠海马 CA1 区中表达明显增加 ( $P < 0.05$ )；而与模型组相比，RHTs 组中 Aβ<sub>1-42</sub>、p-Tau416 阳性表达细胞明显降低 ( $P < 0.05$ )。具体见图 3 和图 4。

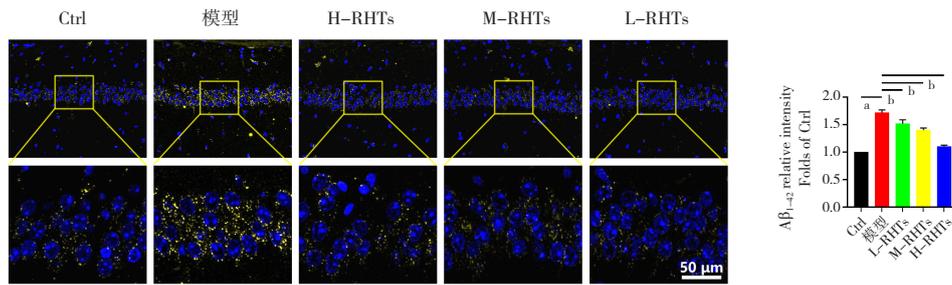


图3 各组小鼠海马组织Aβ<sub>1-42</sub>免疫荧光染色结果 (100 ×)

Figure 3. Immunofluorescence staining results of Aβ<sub>1-42</sub> in the hippocampus of mice in each group (100 ×)

注：与Ctrl组比较，<sup>a</sup>*P*<0.05；与模型组比较，<sup>b</sup>*P*<0.05。

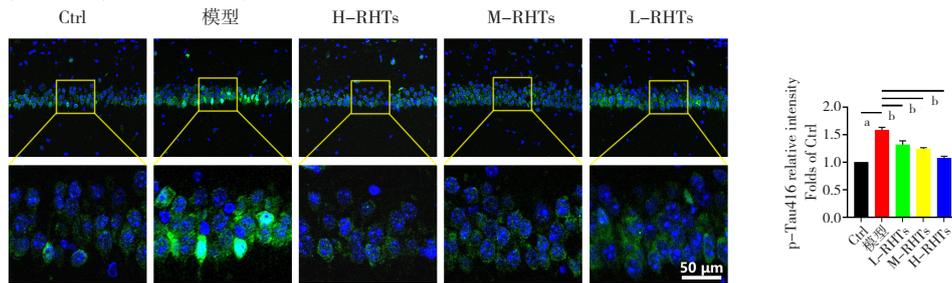


图4 各组小鼠海马组织p-Tau416免疫荧光染色结果 (100 ×)

Figure 4. Immunofluorescence staining results of p-Tau416 in the hippocampus of mice in each group (100 ×)

注：与Ctrl组比较，<sup>a</sup>*P*<0.01；与模型组比较，<sup>b</sup>*P*<0.01。

### 2.5 小鼠海马PI3K/Akt/mTOR及自噬相关通路蛋白表达水平结果

与Ctrl组相比，模型组小鼠海马区中 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 蛋白表达水平显著升高，而 Beclin 1 蛋白表达水平及 LC3-II/LC3-I 比值显著

降低 (*P*<0.05)；与模型组相比，RHTs 干预组 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 蛋白表达均出现不同程度下降，同时 Beclin 1 蛋白表达水平及 LC3-II/LC3-I 比值明显上调，差异均具有统计学意义 (*P*<0.05)。具体见图 5。

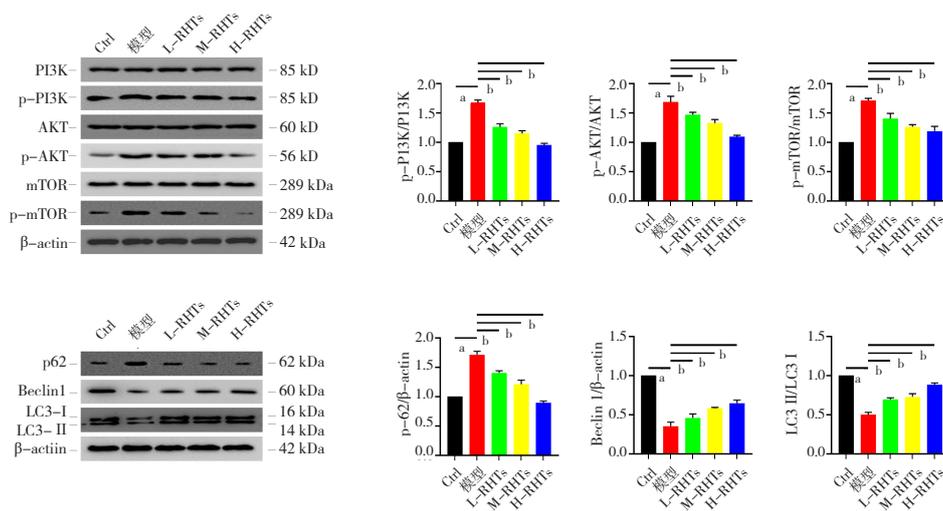


图5 各组小鼠海马组织PI3K、Akt、mTOR及自噬相关通路蛋白表达结果

Figure 5. Expression results of PI3K, Akt, mTOR, and autophagy-related pathway proteins in the hippocampus of mice in each group

注：与Ctrl对照组比较，<sup>a</sup>*P*<0.01；与模型组比较，<sup>b</sup>*P*<0.05。

### 3 讨论

随着老龄化和少子化进程的加剧，我国 AD 发病率正在不断上升。最新资料显示，我国 65

岁及以上人群中痴呆发病率已达 5.14%，其中 AD 发病率为 3.21%，是继心血管疾病、肿瘤和卒中之后引起老年人致死的第四大原因<sup>[2]</sup>。与此同时，尽管规范化的药物治疗如胆碱酯酶抑制剂、

N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂以及新近获批上市的抗淀粉样蛋白抗体阿杜那单抗等,可一定程度改善 AD 临床症状,但其作用仍显不足,且存在较多毒副作用,临床应用十分受限<sup>[5-6]</sup>。而中医药具有辨证施治之优势,针对 AD 其疗效确切持久,不良反应较少,已成为近年来 AD 防治研究热点。故本研究探讨了中药红景天鞣质对 AD 的防治作用和分子机制。

Morris 水迷宫是一种常用于评估啮齿类动物空间学习与记忆能力的经典行为学测试方法;本研究通过该实验对 AD 小鼠的学习记忆水平进行了考察<sup>[13]</sup>。结果显示,与正常小鼠相比,APP/PS1 模型小鼠经 RHTs 连续灌胃治疗 4 周后,其逃避潜伏期和运动总距离均显著缩短,而目标区域停留时间和穿越次数均明显增加,表明 RHTs 可能有助于改善 AD 小鼠的空间探索与记忆能力。

AD 的主要病理特征通常表现为 A $\beta$  沉积形成的老年斑和 Tau 蛋白过度磷酸化形成的 NFTs<sup>[4]</sup>。本研究采用 HE 染色评估 APP/PS1 小鼠海马组织神经退行性病变程度,结果显示 RHTs 处理组中海马锥体细胞排列更紧密,神经细胞形态趋于正常,核固缩现象明显减少。进一步的 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 和 p-Tau416 组织免疫荧光实验表明,经连续 4 周 RHTs 治疗后,AD 小鼠海马 CA1 区内 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 及 p-Tau416 蛋白表达均显著下降,说明 APP/PS1 小鼠脑内 A $\beta$  沉积和 Tau 蛋白过度磷酸化等病理变化得到有效改善。

PI3K/Akt 信号通路是细胞信号传导过程发挥重要作用的一种分子传递途径,广泛存在于以神经元为主的神经细胞之中,在细胞生存、转移、代谢及炎症因子募集等方面具有重要的调控功能<sup>[14]</sup>。在神经退行性疾病发病进程中,PI3K/Akt 主要参与神经细胞的增殖、分化、自噬及突触可塑性调节等生理活动<sup>[15]</sup>。研究表明,在 AD 脑内,PI3K/Akt 通路的活化可促进错误折叠蛋白质的生成以及减缓 Tau 蛋白磷酸化过度聚集<sup>[16]</sup>。现有证据表明,许多中药复方或中药单体均可通过干扰 PI3K/Akt 信号通路的组成与调控以修复神经细胞损伤,并改善 AD 学习记忆障碍<sup>[14-17]</sup>。mTOR 是 PI3K/Akt 通路下游关键效应分子,可直接参与调控细胞自噬。因此,本研究使用蛋白印迹方法检测了 RHTs 对小鼠 PI3K、Akt、mTOR 及其磷酸化形式的蛋白表达水平变化,结果表明经 RHTs 治疗后,p-PI3K、p-Akt、p-mTOR

的蛋白表达水平均显著下降,提示 RHTs 可以抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路。

激活细胞自噬可以加快受损神经细胞的功能恢复,为进一步探讨 RHTs 在自噬调控和保护 AD 过程中的具体作用,本研究运用蛋白印迹检测了自噬相关蛋白 p62、Beclin 1 和 LC3。研究结果显示,RHTs 可以明显降低 APP/PS1 小鼠脑内 p62 的表达水平,并显著提高 Beclin 1 蛋白表达水平和 LC3-II/LC3-I 的比值。文献<sup>[18-19]</sup>表明,p62 作为经典的细胞自噬底物,具有高度特异性,自身表达含量与自噬水平通常呈负相关;Beclin 1 是自噬正向核心调控因子之一,主要参与自噬活动的启动,其表达水平通常与自噬强度呈正相关<sup>[20]</sup>。而 LC3 则为公认的自噬发生关键标志物,当自噬启动和发生增强时,LC3-I 经酶解掉小段肽段被修饰成膜型自噬体 LC3-II,随着自噬小体的不断增多,LC3-II 的表达含量也会随之增加,一般以 LC3-II/LC3-I 比值评估自噬活动强弱。因此,上述结果表明,RHTs 可能通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路并介导自噬激活,进而发挥 AD 防治作用。

此外,本研究也存在一些不足之处,比如缺乏细胞药理实验验证,同时也尚未开展针对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的干预处理实验。因此,后续实验条件允许情况下,可通过转录组测序及结合 KEGG 富集分析等实验进一步对本研究中的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路与自噬等靶分子进行验证。

综上所述,RHTs 可以修复 AD 小鼠的认知受损,其作用机制可能与下调 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,诱导神经细胞自噬,进而延缓 A $\beta$  及磷酸化 Tau 的聚集有关。本研究有望明确 RHTs 抗 AD 的分子作用机制,为中药红景天的进一步开发利用提供更多新思路,具有临床指导意义。同时,为促进 RHTs 作为 AD 候选治疗药物的开发,还需加强对其药代动力学和安全性等更为全面的研究和探索。

## 参考文献

- Schott JM. Amyloid immunotherapy to prevent Alzheimer's disease: the wrong drug at the right time?[J]. *Lancet Neurol*, 2025, 24(4): 279-281. DOI: 10.1016/S1474-4422(25)00066-3.
- Mian M, Tahiri J, Eldin R, et al. Overlooked cases of mild cognitive impairment: implications to early Alzheimer's disease[J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 98: 102335. DOI: 10.1016/j.arr.2024.102335.

- 3 陈玮纯, 梁筱旖, 吴明安, 等. 从中医辨证分型探讨中药复方防治阿尔茨海默病[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(1): 135–141. [Chen WC, Liang YQ, Wu MA, et al. Discussion on the prevention and treatment of Alzheimer's disease by traditional Chinese medicine compound from the perspective of syndrome differentiation and typing in traditional Chinese medicine[J]. New Drugs of Traditional Chinese Medicine and Clinical Pharmacology, 2023, 34(1): 135–141.] DOI: [10.19378/j.issn.1003-9783.2023.01.019](https://doi.org/10.19378/j.issn.1003-9783.2023.01.019).
- 4 Chen P, Chen F, Lei J, et al. The gut microbiota metabolite urolithin B improves cognitive deficits by inhibiting Cyt C-mediated apoptosis and promoting the survival of neurons through the PI3K pathway in aging mice[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 768097. DOI: [10.3389/fphar.2021.768097](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.768097).
- 5 张婧凡, 龙清华, 曾楚华, 等. 基于 LKB1/AMPK/mTOR 通路调节自噬探讨固本健脑液对阿尔茨海默病的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(2): 293–300. [Zhang JF, Long QH, Zeng CH, et al. Mechanism of Guben Jiannao liquid on Alzheimer's disease by regulating autophagy based on LKB1/AMPK/mTOR pathway[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2025, 50(2): 293–300.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjcm.20240904.401](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20240904.401).
- 6 Adlimoghaddam A, Fayazbakhsh F, Mohammadi M, et al. Sex and region-specific disruption of autophagy and mitophagy in Alzheimer's disease: linking cellular dysfunction to cognitive decline[J]. Cell Death Discov, 2025, 11(1): 204. DOI: [10.1038/s41420-025-02490-0](https://doi.org/10.1038/s41420-025-02490-0).
- 7 司沛沛, 周晓辉, 贾丽景, 等. 红景天对癫痫小鼠认知功能障碍的改善作用研究[J]. 中药材, 2025, 25(4): 985–990. [Si PP, Zhou XH, Jia LJ, et al. Study on the improvement effect of *Rhodiola rosea* on cognitive dysfunction in epileptic mice[J]. Chinese Medicinal Materials, 2025, 25(4): 985–990.] DOI: [10.13863/j.issn1001-4454.2025.04.031](https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2025.04.031).
- 8 江晓春, 黄淑贞, 陈桂香. 基于网络药理学和分子对接探讨红景天对再生障碍性贫血抑制作用的潜在机制[J]. 中国民间疗法, 2025, 33(5): 86–90. [Jiang XC, Huang SZ, Chen GX. To explore the potential mechanism of *Rhodiola rosea*'s inhibitory effect on aplastic anemia based on network pharmacology and molecular docking[J]. China's Naturopathy, 2025, 33(5): 86–90.] DOI: [10.19621/j.cnki.11-3555/r.2025.0524](https://doi.org/10.19621/j.cnki.11-3555/r.2025.0524).
- 9 Wang CH, Safwan S, Cheng MC, et al. Protective evaluation of compounds extracted from root of *Rhodiola rosea* L. against methylglyoxal-induced toxicity in a neuronal cell line[J]. Molecules, 2020, 25(12): 2801. DOI: [10.3390/molecules25122801](https://doi.org/10.3390/molecules25122801).
- 10 龚钢明, 何晓静. 超声波提取红景天鞣质工艺的优化[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(6): 3267–3268, 3271. [Gong GM, He XJ. Optimization of the process for extracting tannins from *Rhodiola rosea* by ultrasonic waves[J]. Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(6): 3267–3268, 3271.] DOI: [10.13989/j.cnki.0517-6611.2011.06.158](https://doi.org/10.13989/j.cnki.0517-6611.2011.06.158).
- 11 陈鹏, 冯丽华, 杨柯, 等. 覆盆子鞣质改善 D-半乳糖致衰老小鼠抗氧化、抗炎作用的研究[J]. 中医药学报, 2025, 53(4): 11–
15. [Chen P, Feng LH, Yang K, et al. Effects of Raspberry tannin on antioxidant and anti-inflammatory activities in D-galactose-induced aging mice[J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2025, 53(4): 11–15.] DOI: [10.19664/j.cnki.1002-2392.250067](https://doi.org/10.19664/j.cnki.1002-2392.250067).
- 12 中国药典 2025 年版. 一部[S]. 2025: 399.
- 13 Chen P, Zhang Z, Lei J, et al. Ellagitannin component Punicalin ameliorates cognitive dysfunction, oxidative stress, and neuroinflammation via the inhibition of cGAS–STING signaling in the brain of an aging mouse model[J]. Phytother Res, 2022, 38(12): 5690–5712. DOI: [10.1002/ptr.8343](https://doi.org/10.1002/ptr.8343).
- 14 张旖旎, 鲁海菲, 王平, 等. 生慧颗粒通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路改善阿尔茨海默病小鼠学习记忆能力[J]. 中国中西医结合杂志, 2024, 44(3): 324–330. [Zhang QL, Lu HF, Wang P, et al. Shenghui granules improve learning memory in Alzheimer's disease mice by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2024, 44(3): 324–330.] DOI: [10.7661/j.cjim.20241202.155](https://doi.org/10.7661/j.cjim.20241202.155).
- 15 Albassam H, Almutairi O, Alnasser M, et al. Discovery of a selective PI3K $\alpha$  inhibitor via structure-based virtual screening for targeted colorectal cancer therapy[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2025, 40(1): 2468852. DOI: [10.1080/14756366.2025.2468852](https://doi.org/10.1080/14756366.2025.2468852).
- 16 Wu X, Su D, Xu J, et al. Tricetin, a dietary flavonoid, alleviates neuroinflammation and promotes autophagy in Alzheimer's disease by regulating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. J Agric Food Chem, 2025, 73(16): 9677–9689. DOI: [10.1021/acs.jafc.5c01158](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5c01158).
- 17 刘汇真, 张旖旎, 陈雨萌, 等. 安寐丹通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控细胞自噬改善睡眠剥夺小鼠学习记忆水平[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(14): 1–9. [Liu HZ, Zhang QL, Chen YM, et al. Anmeidant improves the learning and memory levels of sleep-deprived mice by regulating autophagy through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Chinese Journal of Experimental Formula Science, 2025, 31(14): 1–9.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.20250609](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20250609).
- 18 Ye J, Wu J, Ai L, et al. Geniposide effectively safeguards HT22 cells against A $\beta$ -induced damage by activating mitophagy via the PINK1/Parkin signaling pathway[J]. Biochem Pharmacol, 2024, 226: 116296. DOI: [10.1016/j.bcp.2024.116296](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116296).
- 19 Qi Y, Zhang J, Zhang Y, et al. Curcuma wenyujin extract alleviates cognitive deficits and restrains pyroptosis through PINK1/Parkin mediated autophagy in Alzheimer's disease[J]. Phytomedicine, 2025, 139: 156482. DOI: [10.1016/j.phymed.2025.156482](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2025.156482).
- 20 Tang Q, Tang K, Markby GR, et al. Autophagy regulates cellular senescence by mediating the degradation of CDKN1A/p21 and CDKN2A/p16 through SQSTM1/p62-mediated selective autophagy in myxomatous mitral valve degeneration[J]. Autophagy, 2025, 21(7): 1433–1455. DOI: [10.1080/15548627.2025.2469315](https://doi.org/10.1080/15548627.2025.2469315).

收稿日期: 2025 年 06 月 24 日 修回日期: 2025 年 07 月 21 日  
本文编辑: 马琳璐 钟巧妮