

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.15.001

文章编号: 1005-8982 (2019) 15-0001-06

基础研究 · 论著

阿尔茨海默病小鼠 Wnt 信号通路 相关蛋白表达水平及意义*

陈方方, 白杨, 王萍

(新疆医科大学第五附属医院 神经内科, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: **目的** 分析阿尔茨海默病 (AD) 小鼠 Wnt 信号通路相关蛋白表达水平及意义。**方法** 96 只 C57 小鼠随机分为实验组和对照组, 每组 48 只。实验组为 APP/PS1 双转基因小鼠, 分为 1、3、5 及 12 月龄 4 组 (对应月龄处死), 每组 12 只; 对照组为正常 C57 小鼠, 也分为 1、3、5 及 12 月龄 4 组, 每组 12 只。通过 Morris 水迷宫实验进行学习能力和记忆训练测试。处死小鼠获取脑组织海马标本, 观察海马区病理变化。Western blotting 检测 Wnt 信号通路相关蛋白 β -连环蛋白 (β -catenin)、糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β) 及海马区突触前蛋白 (Synapsin1)、海马区突触后蛋白 95 (PSD-95) 表达水平。**结果** 实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠逃避潜伏期、首次跨越原平台时间逐渐延长 ($P < 0.05$); 且实验组均较对照组同月龄延长 ($P < 0.05$)。实验组小鼠随着月龄增加, 其细胞数量减少、体积缩小、间隙扩大现象越明显, 颗粒细胞及锥体细胞破坏现象越严重, 锥体细胞树突均变短。实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠 β -catenin、GSK-3 β 蛋白表达水平依次降低, Synapsin1 及 PSD-95 表达水平亦依次降低 ($P < 0.05$)。实验组均较对照组同月龄小鼠 β -catenin、GSK-3 β 、Synapsin1 及 PSD-95 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$)。**结论** AD 小鼠 Wnt 信号通路 β -catenin、GSK-3 β 蛋白表达水平下降, 可能与其海马区病理变化及突触前后蛋白表达水平下降相关, Wnt 信号通路的失活可能加快 AD 病理过程。

关键词: 阿尔茨海默病; 小鼠; 信号通路; β -连环蛋白 / 蛋白质类; 糖原合成酶激酶类

中图分类号: R749.16

文献标识码: A

Expression and significance of Wnt signaling pathway in mice with Alzheimer's disease*

Fang-fang Chen, Yang Bai, Ping Wang

(Department of Neurology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

Abstract: Objective To analyze the molecular expression level and significance of Wnt signaling pathway in mice with Alzheimer's disease (AD). **Methods** C57 mice were randomly divided into the experimental group and the control group ($n = 48$). Animals in the experimental group were APP/PS1 double-transgenic mice and normal C57 mice in control group. Mice at the age of 1 month, 3 months, 5 months and 12 months ($n = 12$) were sacrificed. The learning ability and memory training tests were performed through the Morris water maze. The hippocampus samples were collected to observe the pathological changes in the hippocampus. Expression levels of Wnt signaling pathway associated proteins β -catenin, glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β), hippocampus synaptophysin and postsynaptic density protein 95 (PSD-95) were detected by Western blotting. **Results** The escape latency and the time for crossing the original platform of were increased along with aging ($P < 0.05$), which was more dramatic in

收稿日期: 2019-01-15

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (No: 2016DOC233)

experimental group when compared with those in control group. and they were longer than those of corresponding mice in the control group ($P < 0.05$). With the increase of age in the experimental group, decrease of cell amount and volume, the expand of gap, destruction of granular cells and pyramidal cells, and shorten of the dendrites of pyramidal cells were getting more obvious ($P < 0.05$). Expression levels of β -catenin, GSK-3 β protein, presynaptic protein Synapsin1 and postsynaptic protein PSD-95 in the hippocampus were decreased along with aging in the experimental group ($P < 0.05$), which was more obvious when compared with those in control group ($P < 0.05$).

Conclusions Lowered activation of Wnt signaling pathway in AD mice may promote the pathological progression of AD.

Keywords: alzheimer's disease; wnt signaling pathway; β -catenin/proteien; glycogen synthase kinase-3 β

既往研究^[1-2]显示, Wnt 信号通路涉及多种在胚胎发育过程中的分化事件, 其可调节中枢神经系统的多个方面。动物实验^[3]证明在 17 号染色体相关的家族性额颞痴呆兼有帕金森综合征小鼠病程早期即有 Wnt 通路分子表达升高, 而阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 患者脑组织中 Wnt 信号通路分子的表达及其在病理状态下对海马区突触是否产生影响还未明了。本研究通过动物实验探讨 Wnt 信号通路相关蛋白 β -连环蛋白 (β -catenin)、糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)、海马区突触前蛋白 (Synapsin1) 及海马区突触后蛋白 95 (PSD-95) 在 AD 病理状态下的表达。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级健康 C57 小鼠 48 只, 购自北京华阜康生物科技有限公司, 均在医院实验中心的 SPF 级条件下饲养, 设置光照周期, 相对湿度 (70 ± 5)%, 恒温 (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 。所有操作流程遵循医院动物实验伦理委员会的相关伦理规范。

1.2 试剂与仪器

试剂: 蛋白 Marker (美国 Thermo 公司), β -catenin、GSK-3 β 抗体 (英国 Abcam 公司), Synapsin1、PSD-95 抗体 (美国 Santa Cruz 公司), PVDF 膜 (美国 Millipore 公司), RIPA 裂解液、一抗稀释液 (中国碧云天生物技术研究所), ECL 发光试剂盒 (美国 Millipore 公司)。仪器: Morris 水迷宫仪器和分析软件 (中国医学科学院药物研究所研制), 超净工作台 (中国苏州苏净集团安泰公司), JEM-1200EX 电子显微镜 (日本电子株式会社), 电泳仪 (中国北京六一仪器厂)。

1.3 分组方法

96 只 C57 小鼠随机分为实验组和对照组, 每组 48 只。实验组为携带人淀粉样蛋白前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) Swedish 突变 (K595N/M596L) 和

PS1 deltaE9 突变的 C57 小鼠, 以鼠朊蛋白 (mouse prion protein, PrP) 基因为启动子, 即为 APP/PS1 双转基因小鼠。实验组在 3 月龄出现认知行为学变化, 5 月龄出现老年斑, 12 月龄有大量老年斑形成。将实验组小鼠分为 1、3、5 及 12 月龄 4 组 (对应月龄处死), 每组 12 只。对照组为正常 C57 小鼠, 也分为 1、3、5 及 12 月龄 4 组, 每组 12 只。小鼠 1、3、5 及 12 月龄分别相当于人类年龄的 20、30、50 及 60 岁。

1.4 Morris 水迷宫测试

Morris 水迷宫主要用于在相应时间点对实验组小鼠进行学习能力训练测试和记忆训练测试。各组小鼠处死前进行水迷宫学习训练 3 d。记录其寻找到隐藏在水平面下平台的时间, 即逃避潜伏期 (评定小鼠的学习能力)。找平台的最长时间为 60 s, 若 >60 s 小鼠仍未找到平台, 则将其引到平台上, 其潜伏期记为 60 s。小鼠学会寻找平台后, 训练其对平台空间位置记忆的保持能力, 撤去平台后将小鼠从同一个入水点放入水中, 测验小鼠对原平台的记忆, 记录其第 1 次到达原平台位置的时间。所有数据的采集和处理通过 Morris 水迷宫自动监视处理系统完成。

1.5 组织标本病理形态学观察

以 10% 水合氯醛麻醉小鼠后, 采用颈椎离断法处死小鼠, 3 min 内快速获取脑组织海马标本, 经冷冻切片 (厚度 $8 \mu\text{m}$) 后, 经常规 HE 染色, 在光学显微镜下观察海马区病理变化。

1.6 Western blotting 检测 Wnt 信号通路相关蛋白表达水平

按照蛋白提取试剂盒说明书提取脑组织蛋白, 参照说明书以 BCA 法检测各组蛋白浓度。以细胞裂解液将各组蛋白稀释至等浓度, 缓冲液混合后 98°C 变性 5 min; 每组取蛋白 $80 \mu\text{g}$, 12% SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜 (恒流 300 mA) 后, 转移 90 min 至 PVDF 膜; 5% 脱脂奶粉室温摇床上封闭 2 h, 孵一抗 (1 : 800)

4℃过夜, TBST 洗涤 3 次, 10 min/次, 封闭液稀释二抗 (1 : 2 000) 后, 常温下孵育 1 h。TBST 洗涤 3 次, 10 min/次, ECL 发光试剂盒在曝光仪中进行曝光, 以内参 β -actin 为对照, 结果采用 Image J 软件进行灰度分析。

1.7 Western blotting 检测海马区突触蛋白表达

同上操作提取脑组织蛋白, 以 BCA 法检测各组 β -catenin、GSK-3 β 蛋白含量。以细胞裂解液将各组蛋白稀释至等浓度, 缓冲液混合后 98℃变性 5 min; 每组取蛋白 80 μ g, 12% SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜至 PVDF 膜, 转膜条件为 Synaptophysin 200 mA, 80 min; PSD-95 先 200 mA, 80 min, 再 300 mA, 40 min; 5% 脱脂奶粉室温摇床上封闭 2 h, 用封闭液稀释相应的一抗, 兔抗 Synapsin 1 : 400, PSD-95 1 : 300 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 10 min/次, 封闭液稀释二抗 (1 : 5 000) 后, 常温下孵育 2 h。TBST 洗涤 3 次, 10 min/次, ECL 发光试剂盒在曝光仪中进行曝光, 以内参 β -actin 为对照, 结果采用 Image J 软件进行灰度分析。

1.8 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 先进行正态性分布检验, 各组小鼠 Morris 水迷宫测试结果、Wnt 信号通路相关蛋白及海马区突触蛋白表达水平采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Morris 水迷宫测试结果比较

实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠逃避潜伏期、首次跨越原平台时间比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 均逐渐延长; 实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠逃避潜伏期较对照组同月龄小鼠延长 ($t = 2.496$ 、 3.746 、 7.209 和 12.287 , $P = 0.021$ 、 0.001 、 0.000 和 0.000); 实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠首次跨越原平台时间较对照组同月龄

小鼠延长 ($t = 7.270$ 、 7.673 、 17.564 和 20.025 , 均 $P = 0.000$); 对照组 1、3、5 及 12 月龄小鼠逃避潜伏期、首次跨越原平台时间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

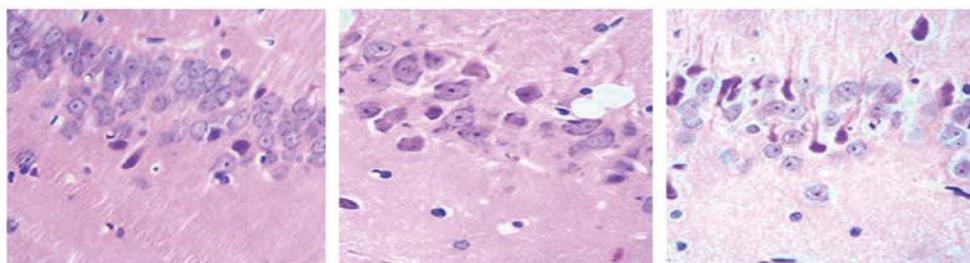
表 1 Morris 水迷宫测试结果比较 ($n = 12$, s , $\bar{x} \pm s$)

组别	逃避潜伏期	首次跨越原平台时间
实验组		
1 月龄	32.10 \pm 4.97 [†]	22.09 \pm 2.89 [†]
3 月龄	36.23 \pm 5.34 [†]	26.32 \pm 3.41 [†]
5 月龄	42.49 \pm 4.82 [†]	33.56 \pm 2.27 [†]
12 月龄	55.47 \pm 4.91 [†]	40.27 \pm 3.20 [†]
F 值	49.684	87.299
P 值	0.000	0.000
对照组		
1 月龄	27.36 \pm 4.31	13.01 \pm 3.22
3 月龄	28.23 \pm 5.12	13.31 \pm 3.02
5 月龄	27.52 \pm 5.34	12.79 \pm 3.41
12 月龄	28.08 \pm 5.96	14.11 \pm 3.20
F 值	0.079	0.387
P 值	0.971	0.763

注: [†] 与对照组同月龄比较, $P < 0.05$

2.2 小鼠病理形态学观察

实验组小鼠随着月龄增加, 细胞数量减少、体积缩小、间隙扩大越明显, 颗粒细胞及锥体细胞破坏越严重, 锥体细胞树突均变短。而对照组各月龄小鼠脑组织可见海马区颗粒细胞及锥体细胞呈整齐、紧密、多层规则排列; 神经元内胞浆丰富, 颗粒细胞核大而圆, 染色质较浅, 核膜清楚, 嗜碱性核仁清晰可见; 锥体细胞树突丰富, 且向海马伸展整齐。见图 1。



对照组 12 月龄小鼠

实验组 1 月龄小鼠

实验组 12 月龄小鼠

图 1 小鼠脑组织海马染色病理图 (HE 染色 $\times 400$)

2.3 Wnt 信号通路相关蛋白表达水平比较

实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠 β -catenin、GSK-3 β 蛋白表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 依次降低; 实验组小鼠 β -catenin 蛋白表达水平较对照组同月龄小鼠降低 ($t = 37.967$ 、51.882、68.136 和 124.881, 均 $P = 0.000$); 实验组小鼠 GSK-3 β 蛋白表达水平较对照组同月龄小鼠降低 ($t = 7.076$ 、0.772、12.847 和 22.578, 均 $P = 0.000$); 对照组 1、3、5 及 12 月龄小鼠 β -catenin、GSK-3 β 蛋白表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2 和图 2。

表 2 Wnt 信号通路相关蛋白表达水平比较
($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	β -catenin	GSK-3 β
实验组		
1 月龄	1.36 \pm 0.02 [†]	1.02 \pm 0.02 [†]
3 月龄	1.12 \pm 0.02 [†]	0.94 \pm 0.03 [†]
5 月龄	0.80 \pm 0.01 [†]	0.87 \pm 0.02 [†]
12 月龄	0.51 \pm 0.01 [†]	0.66 \pm 0.04 [†]
F 值	81.297	346.545
P 值	0.000	0.000
对照组		
1 月龄	1.67 \pm 0.02	1.13 \pm 0.05
3 月龄	1.66 \pm 0.03	1.15 \pm 0.07
5 月龄	1.68 \pm 0.04	1.14 \pm 0.07
12 月龄	1.65 \pm 0.03	1.13 \pm 0.06
F 值	2.105	0.277
P 值	0.113	0.842

注: [†] 与对照组同月龄比较, $P < 0.05$

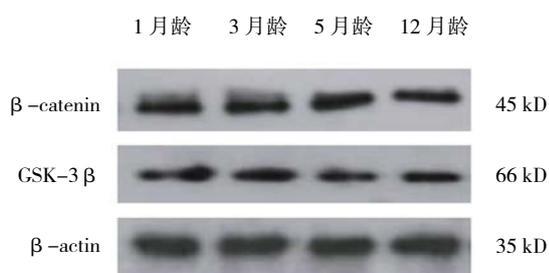


图 2 实验组小鼠 Wnt 信号通路 β -catenin、GSK-3 β 蛋白表达情况

2.4 海马区突触前后蛋白表达水平比较

实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠 Synapsin1 及 PSD-95 表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 均依次降低; 实验组 Synapsin1 蛋白表达水平较对照组同月龄小鼠降低 ($t = 12.862$ 、27.328、25.219 和 37.181, 均 $P = 0.000$); 实验组小鼠 PSD-95 蛋白表达水平较对照组同月龄小鼠降低 ($t = 9.1917$ 、18.371、31.870 和 34.170, 均 $P = 0.000$); 而对照组 1、3、5 及 12 月龄小鼠 Synapsin1、PSD-95 蛋白表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3 和图 3。

表 3 海马区突触前后蛋白表达水平比较
($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	Synapsin1	PSD-95
实验组		
1 月龄	0.80 \pm 0.05 [†]	0.84 \pm 0.04 [†]
3 月龄	0.65 \pm 0.03 [†]	0.70 \pm 0.04 [†]
5 月龄	0.53 \pm 0.02 [†]	0.57 \pm 0.03 [†]
12 月龄	0.35 \pm 0.03 [†]	0.32 \pm 0.04 [†]
F 值	369.957	411.719
P 值	0.000	0.000
对照组		
1 月龄	1.09 \pm 0.06	1.01 \pm 0.05
3 月龄	1.11 \pm 0.05	1.00 \pm 0.04
5 月龄	1.06 \pm 0.07	1.03 \pm 0.04
12 月龄	1.07 \pm 0.06	1.03 \pm 0.06
F 值	1.616	1.161
P 值	0.199	0.104

注: [†] 与对照组同月龄比较, $P < 0.05$

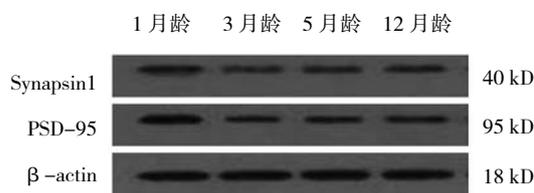


图 3 实验组小鼠海马区突触前后蛋白表达情况

3 讨论

AD 是一种中枢神经系统退行性疾病, 主要表现为进行性认知功能和记忆功能障碍, 是中老年人群最常见的痴呆类型。AD 的病因尚不十分清楚, 目前普遍认为与遗传因素相关^[4-5]。海马是 AD 患者脑部受

损最严重的部位, 海马神经元变性及丢失直接导致其出现认知功能障碍、记忆力障碍。因此, 若能够纠正 AD 患者海马神经元缺失将有望改善其临床表现^[6]。近年来临床对内源性海马神经前体细胞在 AD 中的作用进行了有益的探索。研究表明^[7], AD 早期海马神经元丢失的同时, 伴有内源性海马前体细胞分裂、增殖, 并分化为成熟的神经元, 迁移并参与修复受损的神经网络, 两者处于一个动态变化的过程。在疾病后期, 由于诱导海马前体细胞增殖分化的小生境的破坏, 新生的海马神经元数量不断减少, 逐渐不能够代偿由于疾病导致的丢失神经元的功能, 从而导致疾病进行性进展, 并最终出现 AD 的一系列表现^[8]。因此可以推测, AD 患者体内存在一种自我修复机制用以对抗疾病所导致的神经变性过程, 若能够通过某种治疗方法重建有利于海马前体细胞增殖分化的小生境, 诱导内源性海马神经元的不断产生和修复疾病导致的神经变性过程, 对 AD 的临床将产生重要意义。

正常生理状态下海马前体细胞增殖和分化受到精确的调控, 多种信号通路共同参与组成适合神经前体细胞增殖和分化的小生境。其中, Wnt 信号通路在海马神经发生过程中起关键作用。Wnt 基因是一组能够编码富含半胱氨酸的糖基化蛋白质的基因, Wnt 信号通路是生物进化中极为保守的通路, 包括经典通路 Wnt/ β -catenin 通路以及细胞极性通路和 Wnt/ Ca^{2+} 通路^[9]。在 Wnt/ β -catenin 经典通路中, 位于细胞外 Wnt 分子与细胞膜上 Wnt 蛋白特异性受体 Frizzled 蛋白和 LRP5/6 结合后, 激活细胞内的 Dvl 蛋白, 活化的 Dvl 蛋白能够抑制摧毁复合体中的 GSK-3 β 活性, 从而使细胞浆内游离的 β -catenin 避免被摧毁复合体磷酸化后降解, 促使 β -catenin 在胞浆中聚集, 并向细胞核内转移^[10]。入核后的 β -catenin 与 TCF/LEF 转录因子结合, 激活下游靶基因的转录, 继而可产生相应的生物学效应。哺乳动物胚胎发育及出生后成体海马神经调控过程中, 已有研究证实 Wnt 信号通路在调控海马的神经发生过程中起关键作用, 如早期 ZHAO 等^[11] 发现在小鼠胚胎时期海马区域特异性表达 Frizzled-9 (Wnt 分子受体) 主要分布在海马的 CA1 区锥体神经元和齿状回颗粒神经元的树突野和轴突中。INESTROSA 等^[12] 研究表明, Wnt 分子在成体海马齿状回颗粒细胞层表达, 在成体海马星型胶质细胞也有 Wnt 分子的表达, 而成体海马前体细胞则表达 Wnt 分子受体 Frizzled-1 等。此外, RÍOS 等^[13] 最新研究证实 Wnt3a 分子还参与出生前海马神经元突触的

重建。以上这些研究均提示, Wnt 信号通路在出生后海马神经前体细胞增殖和分化过程中起着非常重要的作用。而近年来, 国内逐渐有报道证实 Wnt 信号通路参与精神疾病的发生、发展, 如封文佳等^[14] 系统分析 Wnt 信号通路可通过胞质内的调控、核内的调控影响精神分裂症、AD 及焦虑抑郁症等的发生。王薇等^[15] 报道指出, Wnt 信号通路在干细胞的增殖、分化及迁移等方面发挥着重要的作用, 可通过干细胞的移植并激活其内在的 Wnt 信号通路来促进新生海马神经元的产生, 以弥补海马神经元的丢失来治疗 AD。霍江涛等^[16] 观点亦与之类似, 并认为 P53 和 Caspase-3 均参与并影响 Wnt 信号转导通路的转导。

本研究结果显示实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠逃避潜伏期、首次跨越原平台时间逐渐延长, 且均较对照组同月龄延长, 说明 APP/PS1 双转基因小鼠学习、记忆功能明显受损。同时, 实验组小鼠随着月龄增加, 其细胞数量减少、体积缩小、间隙扩大越明显, 颗粒细胞及锥体细胞破坏现象越严重, 锥体细胞树突均变短, 提示 APP/PS1 双转基因小鼠随着月龄增加, 病理变化越严重。进一步 Western blotting 检测发现, 实验组 1、3、5 及 12 月龄小鼠 β -catenin、GSK-3 β 蛋白表达水平依次降低, Synapsin1 及 PSD-95 表达水平亦依次降低, 且均较对照组同月龄小鼠相关蛋白表达水平降低, 提示 AD 小鼠 Wnt 信号通路 β -catenin、GSK-3 β 蛋白表达水平下降, 可能是导致上述结果中小鼠学习、记忆功能明显受损, 海马区病理变化的重要原因, 与姚宏波等^[17] 报道相符。该研究还认为可通过调节 Wnt 信号转导通路影响 AD 患者学习记忆相关酶及蛋白在海马区的表达^[17]。同时, 突触是相邻神经元间特化的连接区域, 突触可塑性与学习和记忆密切相关, 决定突触效能作用的影响因素不仅来源于突触前 (Synapsin1 为突触前蛋白), 也可来自于突触后 (PSD-95 为突触后蛋白)^[18]。本研究 Wnt 信号通路相关蛋白水平的下降可能与突触前后蛋白表达水平下降相关, 即 Wnt 信号通路的失活可能促进 AD 病理过程, 但 Wnt 信号通路对突触前后蛋白表达的具体影响机制仍有待进一步探讨。

参 考 文 献:

- [1] 李华垠, 陶静, 马依彤, 等. FrzA 基因转导干预对大鼠体外缺血缺氧心肌细胞 Wnt 信号通路相关分子表达及细胞凋亡的影响[J]. 山东医药, 2016, 56(33): 8-10.
- [2] 郭婉姝, 赵丽薇, 杜丽娟, 等. Taul95-213 肽段对阿尔茨海默病

- 小鼠的免疫治疗作用及对 Wnt/ β -catenin 通路相关因子表达的影响 [J]. 解剖学研究, 2017, 39(6): 432-436.
- [3] WIEDAU-PAZOS M, WONG E, SOLOMON E, et al. Wnt-pathway activation during the early stage of neurodegeneration in FTDP-17 mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2009, 30(1): 14-21.
- [4] 燕灏敏, 杜雪蓓, 章军建. 当归对慢性脑低灌注大鼠阿尔茨海默病样变与认知功能的影响 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2017, 19(7): 699-703.
- [5] 宋军营, 李春花, 袁永, 等. 中医药防治阿尔茨海默病与 Wnt/ β -catenin 信号通路作用研究述评 [J]. 中医学报, 2017, 32(9): 1761-1765.
- [6] YONG S S, ROE C M, BUCKLES V D, et al. Clinicopathologic study of Alzheimer's disease: Alzheimer mimics[J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 35(4): 799.
- [7] DEMARS M, HU Y S, GADADHAR A, et al. Impaired neurogenesis is an early event in the etiology of familial Alzheimer's disease in transgenic mice[J]. *J Neurosci Res*, 2010, 88(10): 2103-2117.
- [8] GAN K J, SILVERMAN M A. Dendritic and axonal mechanisms of Ca^{2+} elevation impair BDNF transport in A β oligomer-treated hippocampal neurons[J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(6): 1058-1071.
- [9] SEIB D R, CORSINI N S, ELLWANGER K, et al. Loss of Dickkopf-1 restores neurogenesis in old age and counteracts cognitive decline[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(2): 204-214.
- [10] 文彬, 孙海涛, 贺松其, 等. 鳖甲煎丸对肝星状细胞中 Wnt 信号通路信号分子 β -catenin, GSK-3 β 及下游蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(9): 3997-4000.
- [11] ZHAO C, PLEASURE S J. Frizzled-9 promoter drives expression of transgenes in the medial wall of the cortex and its chief derivative the hippocampus[J]. *Genesis*, 2004, 40(1): 32-39.
- [12] INESTROSA N C, VARELA-NALLAR L. Wnt signalling in neuronal differentiation and development[J]. *Cell Tissue Res*, 2015, 359(1): 215-223.
- [13] RÍOS J A, GODOY J A, INESTROSA N C. Wnt3a ligand facilitates autophagy in hippocampal neurons by modulating a novel GSK-3 β -AMPK axis[J]. *Cell Commun Signal*, 2018, 16(1): 15.
- [14] 封文佳, 万娟, 王珊, 等. Wnt 信号通路与精神疾病的研究进展 [J]. 生命的化学, 2016, 36(6): 891-896.
- [15] 王薇, 张海廷, 王淑辉, 等. 阿尔茨海默病与 Wnt 信号通路及神经干细胞的关系 [J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(19): 3566-3572.
- [16] 霍江涛, 张小乔, 严洁, 等. Wnt 信号传导通路在阿尔茨海默病防治中的作用 [J]. 中国临床研究, 2015, 28(6): 709-711.
- [17] 姚宏波, 廉洁, 郎尉雅, 等. Wnt/ β -Catenin 在骨髓基质干细胞治疗阿尔茨海默病大鼠脑中的表达 [J]. 中国医药科学, 2016, 6(7): 34-37.
- [18] 张智华, 王秀莲, 吴建红, 等. 石菖蒲 - 远志药对不同组分对 AD 模型大鼠学习记忆和海马突触蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 120-124.

(张西倩 编辑)