

• 专题研究:神经退行性疾病 •

基于秀丽线虫转基因株系探究牛蒡多糖对阿尔茨海默病的作用及机制

裴雨晴¹, 邵歆迪¹, 朱煜洁¹, 成飞¹, 周珈琿¹, 朱欣童¹, 麻瑞莹¹, 陈菲菲¹, 施莹¹, 李露娜¹, 李鑫颖¹, 徐纯钰¹, 张亦唐¹, 周思玥², 申丽^{1,3}, 李华玲^{1,3*}

¹扬州大学医学部, ²兽医学院, ³中西医结合老年病防治省高校重点实验室, 江苏 扬州 225001

[摘要] 目的: 基于阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)秀丽线虫病理模型, 探讨牛蒡多糖在AD中的作用。方法: 采用课题组自制的牛蒡多糖, 不同浓度(62.5、125.0、250.0 $\mu\text{g/mL}$)作用于AD线虫病理株系(CL4176、CL2355、CL2006), 研究其对线虫 β 淀粉样蛋白(amyloid beta, A β)沉积、趋化行为、5-羟色胺敏感性、瘫痪、生长发育、运动能力、摄食能力各项行为学指标的影响, 测定氧化应激与胆碱能神经元相关指标, 荧光定量PCR检测线虫体内相关基因的表达水平。结果: 牛蒡多糖具多重生物活性, 可以减少A β 蛋白的水平与沉积, 降低5-羟色胺敏感性, 强化线虫趋化行为和学习记忆能力, 延迟瘫痪发生时间, 促进发育, 增加摆动与咽部震动频率, 提高抗氧化酶活性, 降低乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)活性。同时, 其可降低*age-1*和*akt-1*基因的表达, 增强*daf-16*基因的表达, 促进*skn-1*、*gst-4*、*sod-1*和*sod-2*表达, 发挥抗氧化作用, 减轻AD症状。此外, 牛蒡多糖还抑制*ace-1*和*ace-2*基因表达, 降低AChE活性。结论: 牛蒡多糖可能通过调节*age-1/akt-1/daf-16*信号通路, 降低氧化应激水平, 同时抑制AChE活性, 从而缓解并改善AD相关病理过程。

[关键词] 阿尔茨海默病; 秀丽线虫转基因株系; 牛蒡多糖; 抗氧化性; 乙酰胆碱酯酶抑制剂

[中图分类号] R749.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2025)10-1395-09

doi: 10.7655/NYDXBNSN250508

The mechanisms of burdock polysaccharide on Alzheimer's disease based on *Caenorhabditis elegans*

PEI Yuqing¹, SHAO Xindi¹, ZHU Yujie¹, CHENG Fei¹, ZHOU Jiahui¹, ZHU Xintong¹, MA Ruiying¹, CHEN Feifei¹, SHI Xuan¹, LI Luna¹, LI Xinying¹, XU Chunyu¹, ZHANG Yitang¹, ZHOU Siyue², SHEN Li^{1,3}, LI Hualing^{1,3*}

¹Faculty of Medicine, ²College of Veterinary Medicine, ³Key Laboratory of the Jiangsu Higher Education Institutions for Integrated Traditional Chinese and Western Medicine in Senile Diseases Control, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China

[Abstract] **Objective:** This study aimed to investigate the therapeutic effect of burdock polysaccharide on Alzheimer's disease (AD) using *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) pathology model. **Methods:** Burdock polysaccharide made in our lab was used at varying concentrations (62.5, 125.0, and 250.0 $\mu\text{g/mL}$) on transgenic *C. elegans* AD models (CL4176, CL2355, and CL2006 strains) to study the effects on nematode amyloid beta (A β) deposition, chemotaxis, 5-hydroxytryptamine sensitivity, paralysis, growth and development, locomotor activity, feeding ability. Oxidative stress and cholinergic neuron-related indexes were measured, and the expression levels of related genes in nematodes were examined by RT-PCR. **Results:** Burdock polysaccharide exhibited multiple biological activities, thus reducing the level and deposition of A β protein, reducing 5-hydroxytryptamine sensitivity, strengthening nematode chemotaxis and learning memory, delaying paralysis, promoting development, increasing swing and pharyngeal vibration frequency, increasing antioxidant enzyme activity and reducing acetylcholinesterase (AChE) activity. Meanwhile, it reduced the expression of *age-1* and *akt-1* genes, enhanced the expression of *daf-16* gene, promoted the expression of *skn-1*, *gst-4*, *sod-1* and *sod-2*, exert antioxidant effects, and

[基金项目] 国家自然科学基金(81671056); 江苏省中医药科技发展计划项目(MS2023177); 扬州大学大学生科技创新基金(XCX20250859)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hlli@yzu.edu.cn (ORCID: 0000-0002-9416-7770)

alleviated AD symptoms. Concurrently, it attenuated AD pathology by inhibiting *ace-1/ace-2* expression, and reducing AChE activity.

Conclusion: Burdock polysaccharide may alleviate and improve AD-related pathological processes by regulating the *age-1/akt-1/daf-16* signaling pathway to reduce oxidative stress levels while inhibiting AChE activity.

[Key words] Alzheimer's disease; *Caenorhabditis elegans*; burdock polysaccharide; antioxidant properties; acetylcholinesterase inhibitor

[J Nanjing Med Univ, 2025, 45(10): 1395-1403]

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种起病隐匿的神经退行性疾病^[1],病理学特征是老年斑沉淀^[2]、神经纤维缠结并伴有神经元损伤^[3]。AD病因复杂,发病机制仍不明确,学界提出六大假说:β淀粉样蛋白(amyloid beta, Aβ)假说、神经炎症假说、Tau蛋白假说、线粒体功能障碍假说、氧化应激假说、胆碱能假说^[4]。目前临床治疗药物只能缓解不能治愈疾病,且患者需长期服药,同时还存在一些明显的不良反应。因此,开发治疗AD的新药迫在眉睫。牛蒡是传统的中药,其瘦果和根皆可入药^[5],《本草纲目》记载其“久服轻身耐老”。牛蒡多糖是牛蒡根中的主要多糖成分^[6],现已发现在抗氧化、抗衰老、抗炎、降血糖等方面均有一定功效^[7],结合AD发病机制的六大假说与牛蒡多糖已有研究,其可能具有缓解AD的潜力,但牛蒡多糖在神经退行性疾病中的研究较少。秀丽线虫是一种进化上高度保守、具有良好遗传和化学筛选适用性的模式生物,也被越来越多地应用于抗AD药物的研究和开发^[8]。本研究采用课题组自制的牛蒡多糖,通过作用于AD秀丽线虫病理模型(CL4176、CL2355、CL2006),发现牛蒡多糖对AD线虫模型具有显著疗效,明显改善AD症状,为AD的治疗提供了新思路并奠定了实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料

课题组自制的牛蒡多糖(纯度≥99%,单糖组成:半乳糖、鼠李糖、葡萄糖、果糖、阿拉伯糖);5-羟色胺(上海阿拉丁公司);左旋咪唑、丁二酮、NaCl、MgSO₄、KH₂PO₄、NaH₂PO₄、CaCl₂(上海国药公司);胰蛋白胨、胆固醇、甘油、NaClO(上海泰坦公司);硫黄素T(上海BBI公司);多聚甲醛(北京兰杰柯公司);超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒、乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)检测试剂盒(南京建成公司);活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒、PCR试剂盒(南京诺唯赞公司);TRIzol(北京天根公司);逆转录试剂盒(北京全式金公司)。

1.2 方法

1.2.1 菌株和线虫培养

实验所用秀丽线虫株系的名称、基因型、表型见表1。秀丽线虫的生命周期分为胚胎期、幼虫期、成虫期,其中幼虫期分为L1~L4期^[9]。秀丽线虫以大肠杆菌OP50为食物,所有线虫和大肠杆菌OP50均购于美国线虫遗传中心。

表1 秀丽线虫株系的名称、基因型和表型

Table 1 Names, genotypes, and phenotypes of *C. elegans* strains

Strain	Genotype	Phenotype
N2	Wild-type	Wild-type
CL4176	dvIs27[myo-3p::A-Beta(1-42)::let-851 3'UTR] + rol-6(su1006)	Expression of Aβ produces muscle toxicity
CL2355	dvIs50[pCL45(snb-1::Abeta 1-42::3'UTR(long) + mtl-2::GFP]	Expression of Aβ produces neural toxicity
CL2122	dvIs15[(pPD30.38) unc-54(vector) + (pCL26) mtl-2::GFP]	CL2355 control worms not expressing Aβ
CL2006	dvIs2[pCL12(unc-54/human Abeta peptide 1-42 minigene) + rol-6(su1006)]	Expression of Aβ produces muscle toxicity

1.2.2 药物配制及分组

将牛蒡多糖溶于超纯水,振荡,涡旋,使其充分溶解。线虫生长培养基(nematode growth medium, NGM)和含药NGM培养基、M9缓冲液、左旋咪唑溶

液、5-羟色胺溶液按常规方法配制。

1.2.3 线虫同期化

在显微镜下观察线虫状态,当看到大部分虫体内有卵时,即可进行同期化。用NaClO-NaOH裂

解液从线虫中获得同步的卵, 然后移入NGM培养基, 培养12~14 h^[10]。将同期至L1期的CL2006、CL4176、CL2122、CL2355、N2线虫分为对照组和加药组, 加药组的牛蒡多糖浓度分别为62.5、125.0、250.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。CL2006线虫在16 $^{\circ}\text{C}$ 下培养48 h, 然后在25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养36 h。CL4176线虫在16 $^{\circ}\text{C}$ 下培养24 h, 然后在25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养24 h。CL2122和CL2355线虫在16 $^{\circ}\text{C}$ 下培养48 h, 然后在25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养24 h。N2线虫在20 $^{\circ}\text{C}$ 下培养48 h。

1.2.4 A β 荧光定量实验

按1.2.3对CL2006线虫进行处理后, 每管加入150 μL 4%多聚甲醛固定液, 在4 $^{\circ}\text{C}$ 下固定24 h。然后加入150 μL 通透液, 封口, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育24 h。M9溶液清洗3次, 再用50%乙醇冲洗3次, 加入200 μL 硫磺素T染色剂^[11]。后续继续用M9溶液冲洗至透明, 加入1 000 μL M9溶液重悬线虫。制片后于荧光显微镜下拍照并记录A β 斑块数量。每组测定30条线虫的A β 斑块数量。整体实验重复3次。

1.2.5 趋化实验

按1.2.3对CL2122、CL2355线虫进行处理后, 在培养基中心滴加在M9溶液中浸泡2 h的线虫约100条。吹干后, 在一端滴加1 μL 趋化剂(1%丁二酮或0.1 mol/L NaCl)和1 μL 0.25 mol/L左旋咪唑, 在另一端滴加1 μL M9溶液和1 μL 0.25 mol/L左旋咪唑。将其置于25 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中1.5 h, 记录每个培养基上线虫总数以及趋化圈中线虫数量^[12]。整体实验重复3次。

趋化指数=(丁二酮或NaCl侧线虫数-对照侧线虫数)/培养基上线虫总数。

1.2.6 5-羟色胺敏感性测定

按1.2.3对CL2122、CL2355线虫进行处理后, 每个浓度挑取约100条线虫到NGM培养基上, 然后滴加5 mg/mL 5-羟色胺溶液。3 min后评估线虫状态(活跃或瘫痪), 并记录未瘫痪的线虫数。计算每个浓度未瘫痪的线虫数占总数的百分比^[13]。实验重复3次。

1.2.7 瘫痪实验

按1.2.3对CL4176线虫进行处理, 每4 h评分, 根据NGM培养基上的铂金环不活动或线虫腹部存在群集卵的情况, 评估线虫是否瘫痪^[14], 并记录未瘫痪的线虫数直至所有线虫均瘫痪。每组50条左右。实验重复3次。

1.2.8 体长和体宽测定

按1.2.3对N2线虫进行处理, 加入左旋咪唑溶液麻醉线虫, 待线虫不动时, 于荧光显微镜下拍照

并用Image J软件测量线虫体长和体宽^[15]。每组测量30条线虫体长和体宽。实验重复3次。

1.2.9 摆动次数的测定

按1.2.3对CL4176线虫进行处理, 然后在平板上滴加适量M9缓冲液, 待线虫恢复一段时间后开始计数, 观察20 s内线虫摆动的次数^[16]。线虫身体偏离中轴线摆向一侧后, 再次回到中线时记1次。每组记录30条线虫的摆动次数。实验重复3次。

1.2.10 咽部震动次数的测定

按1.2.3对CL4176线虫进行处理后, 于体视显微镜下观察20 s内线虫咽部震动次数, 每组记录30条线虫的咽部震动次数^[17]。实验重复3次。

1.2.11 线虫体内SOD活性、MDA和ROS含量以及AChE活性测定

按1.2.3对CL4176线虫进行处理后, 加入PBS并进行超声破碎, 制备10%线虫组织匀浆, 取0.1 mL组织匀浆, 按SOD、MDA试剂盒说明书操作, 随后将样品置于酶标仪中, 调定波长至550 nm测定吸光度。另取1 μL 组织匀浆, 按BCA试剂盒说明书操作, 进行蛋白定量。取0.05 mL组织匀浆, 按AChE试剂盒说明书操作, 随后将样品置于酶标仪中, 调定波长至412 nm测定吸光度。于荧光显微镜上拍照并用Image J软件对ROS进行定量^[18]。实验重复3次。

1.2.12 基因表达定量分析

按1.2.3对CL4176线虫进行处理后, 加入1 mL TRIzol试剂和200 μL 氯仿替代品, 涡旋振荡并静置10 min。加入400 μL 异丙醇, 并用70%乙醇溶液洗涤沉淀。获取纯化的RNA后, 使用FastKing一步法除基因组cDNA第一链合成预混试剂盒, 进行逆转录反应。最后, 采用荧光染料法开展实时荧光定量PCR实验。实验重复3次。实验中使用的引物序列详见表2。

1.3 统计学方法

实验结果用SPSS 25.0进行统计分析。数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组比较采用方差分析, 两两比较采用SNK- q 检验。采用log-rank检验对线虫的瘫痪时间进行组间差异分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 牛蒡多糖减轻线虫体内A β 的沉积, 改善线虫对挥发性物质趋化的记忆, 并改善A β 蛋白引起的线虫神经元功能障碍

与对照组相比, 加药组线虫体内A β 含量均显

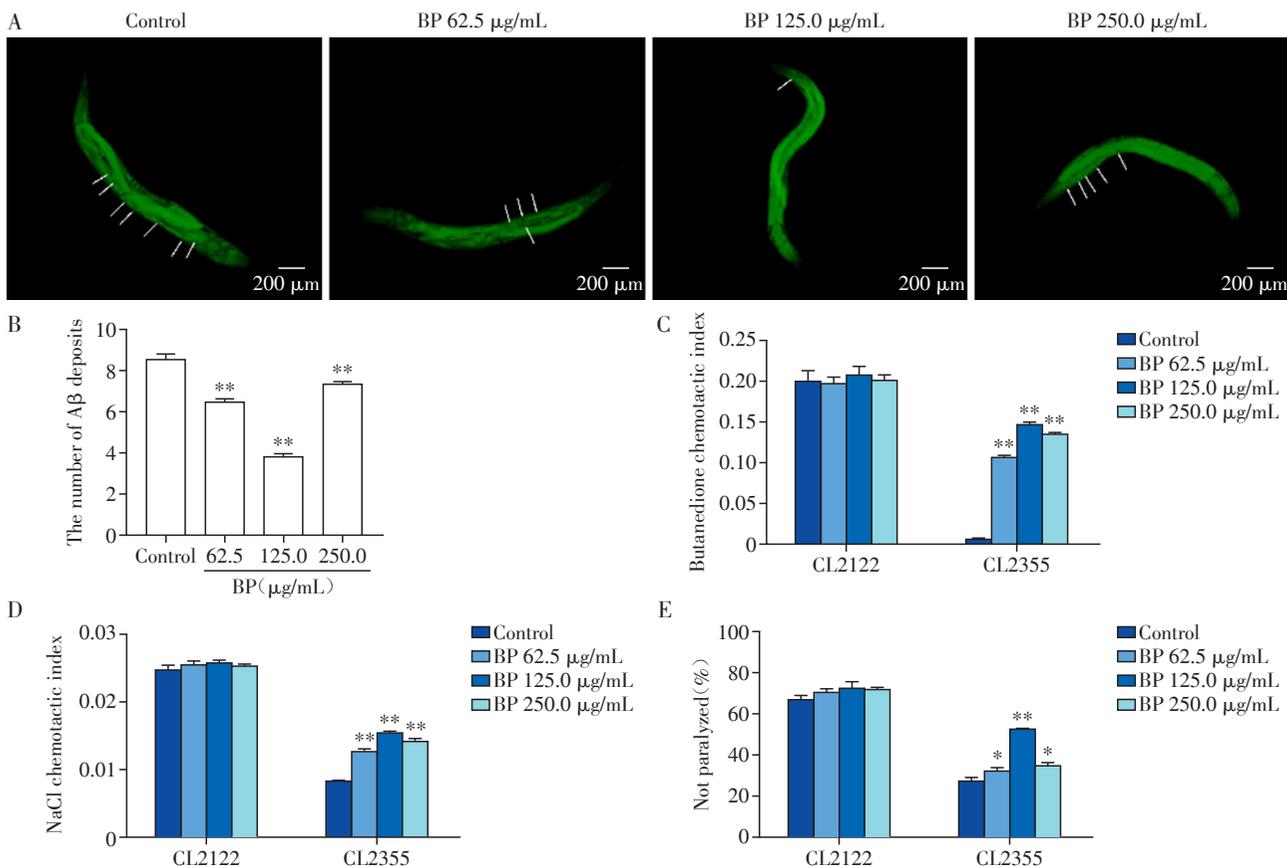
表2 PCR引物序列
Table 2 Primer sequences for PCR

Gene name	Forward primer(5'→3')	Reverse primer(5'→3')
<i>sod-1</i>	AAAATGTCGAACCGTGCTGT	TGCCTGGTCATTTTCGGACT
<i>sod-2</i>	ATTTGGAGCCTGTAATCAGT	GCGATAGCTTCTTTGACGTTT
<i>gst-4</i>	GCTATTGTATTTTGATGCTCGT	ATAATCCTCGTAAGGCACA
<i>skn-1</i>	TTCCAGTTATGCCAATACTCACC	CCATAGCACATCAATCAAGTCG
<i>daf-16</i>	ATTTCTTCAATCTCGACCTCC	GCTAGTTCTTCCGCTGTCA
<i>akt-1</i>	AGCCTFACTTGGATTTTCGAG	ATAACATTGTCGCTGCATC
<i>age-1</i>	ATTGATTGCTGTTTGAACCCGTA	ATCAATACTCCGAAGTCT
<i>ace-1</i>	ACGCAGATGCTTTACGGGAA	GGCCAGGAGTTGGGTCTTTT
<i>ace-2</i>	CACGATGGATCGGTGATGGT	GAATGGGCCCAGCCTGTAAT
<i>Aβ</i>	CCGACATGACTCAGGATATGAAGT	CACCATGAGTCCAATGATTGCA
<i>act-1</i>	GAGAAGATCTGGCATCACACCT	CATCTTTTCACGGTTAGCCTT

著减少。由此说明,牛蒡多糖可以减轻Aβ沉积(图1A、B)。

与对照组相比,加药组CL2355株系的线虫对丁二酮和NaCl的趋化性都得到了明显改善,而

CL2122株系的线虫趋化性未见明显改变(图1C、D)。由此说明,牛蒡多糖对Aβ蛋白诱导的神经毒性具有保护作用,并能缓解Aβ蛋白表达引起的趋化性缺陷,恢复由Aβ蛋白引起的学习和记忆障碍。



A: Representative fluorescent images of Aβ in the worm CL2006. B: Quantitative analysis of Aβ deposits in the worm CL2006. C: Butanediol chemotaxis index of the worms CL2122 and CL2355. D: NaCl chemotaxis index of the worms CL2122 and CL2355. E: Unparalyzed rate of the worms CL2122 and CL2355 after 5-hydroxytryptamine treatment. BP: burdock polysaccharide. Compared with the control group, *P < 0.05, **P < 0.01 (n=3).

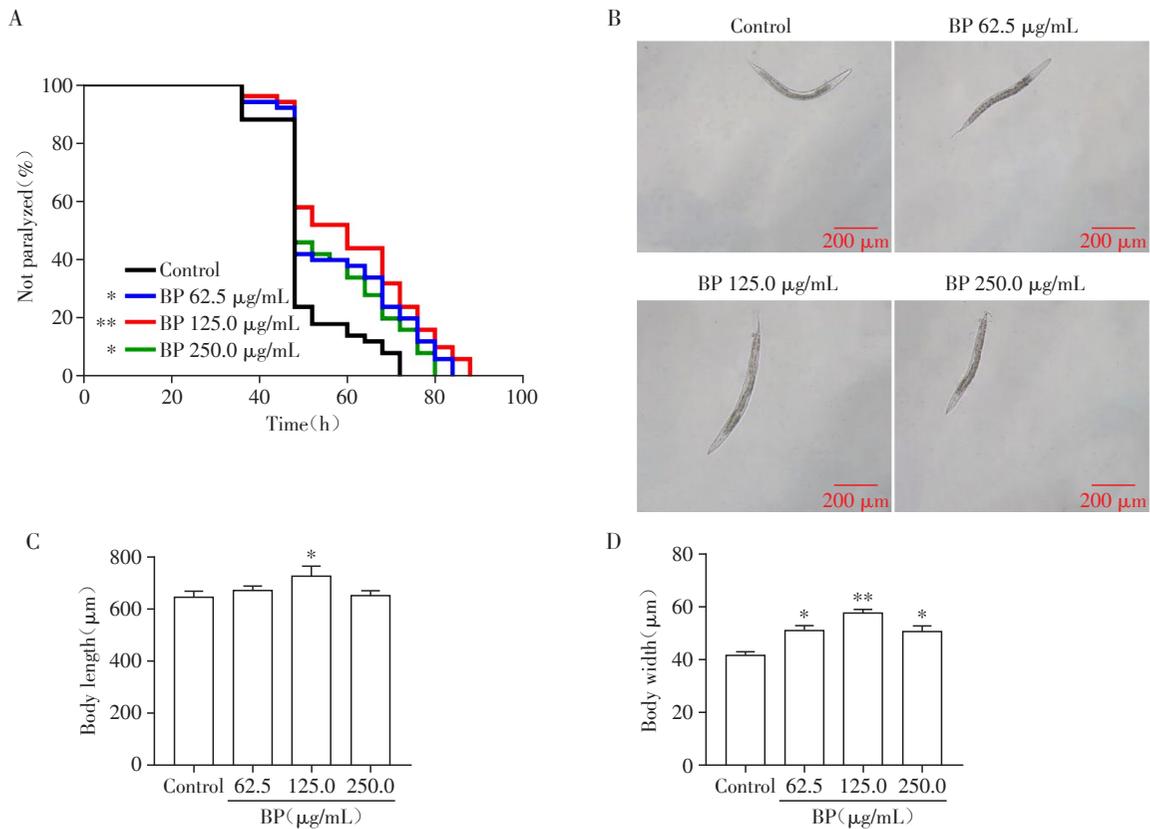
图1 牛蒡多糖对线虫体内Aβ沉积、趋化性和5-羟色胺敏感性的影响

Figure 1 Effects of burdock polysaccharide on Aβ deposition, chemotaxis, and 5-hydroxytryptamine sensitivity in *C.elegans*

不表达 A β 的对照线虫 CL2122 未瘫痪率为 67.1%，而对照组 CL2355 线虫未瘫痪率仅为 27.6%。与对照组相比，加药组的 CL2355 线虫未瘫痪率显著升高，而 CL2122 线虫未出现明显变化(图 1E)。由此说明，牛蒡多糖可有效减轻 A β 蛋白引起的 5-羟色胺敏感性，改善线虫的神经元功能障碍。

2.2 牛蒡多糖延缓线虫瘫痪进展并促进生长发育

与对照组相比，加药组线虫发生瘫痪的时间均显著后延(图 2A)。由此说明，牛蒡多糖可以延缓 A β 蛋白诱导的瘫痪进展。与对照组相比，加药组中 125.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 牛蒡多糖处理后线虫的体长显著增加，加药组线虫的体宽均有明显增加(图 2B~D)。由此说明，牛蒡多糖可促进线虫的生长发育。



A: Progress of paralysis in CL4176 worms. B: Representative images for the determination of body length and width in N2 worms. C: Determination of body length of N2 worms. D: Determination of body width of N2 worms. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图2 牛蒡多糖对线虫瘫痪进展和生长发育的影响

Figure 2 Effects of burdock polysaccharide on the progression of paralysis and growth of worms

2.3 牛蒡多糖提高线虫运动能力与摄食能力

与对照组相比，加药组线虫在 20 s 内的摆动次数显著增加(图 3A)，说明牛蒡多糖可显著提高线虫的运动能力。

与对照组相比，加药组中 125.0 和 250.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 牛蒡多糖处理的线虫在 20 s 内的咽部震动次数显著增加(图 3B)，说明其可显著提高线虫的摄食能力。

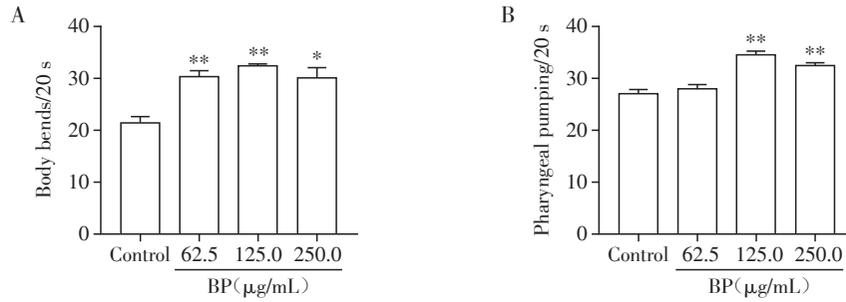
2.4 牛蒡多糖提高线虫体内 SOD 活性，降低 MDA、ROS 和 AChE 水平

SOD 对机体的氧化与抗氧化平衡具有至关重要

的作用，能清除超氧化阴离子自由基，保护细胞免受损失。与对照组相比，加药组线虫的 SOD 活性均有一定程度的增加(图 4A)，由此说明，牛蒡多糖可以通过促进抗氧化酶的表达，降低氧化应激水平。

氧化应激可增加 A β 聚集，加重 AD 病情。MDA 和 ROS 均为氧化应激的产物。与对照组相比，加药组线虫的 MDA 活性均有一定程度的降低(图 4B)，62.5、125.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 牛蒡多糖处理后线虫的 ROS 含量显著降低(图 4C、D)，由此说明，牛蒡多糖可以减轻氧化损伤，具有保护作用。

在大脑认知过程中，胆碱能系统发挥着至关重要



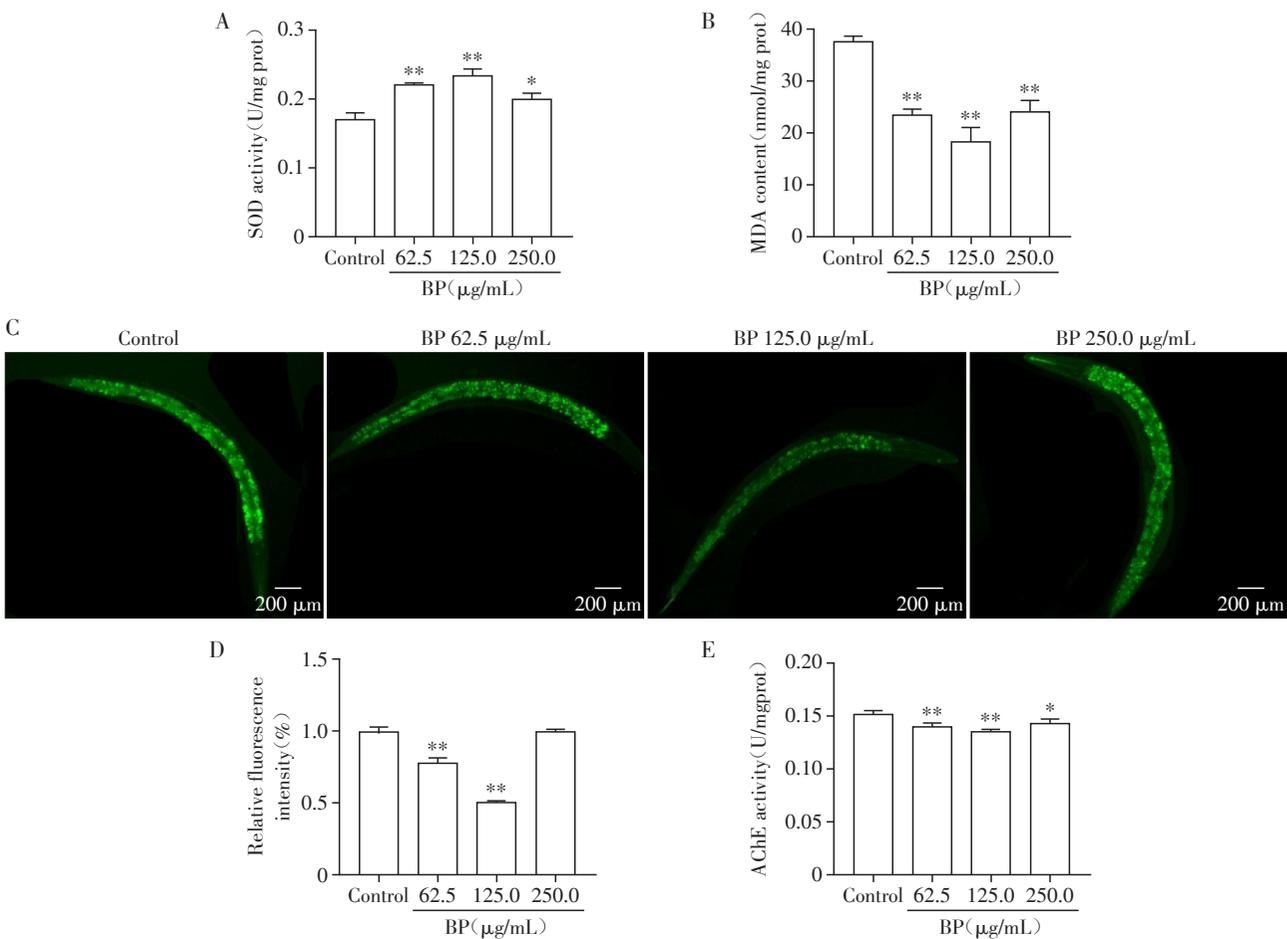
A: Determination of the number of oscillations of the worm CL4176 in 20 s. B: Determination of the number of vibrations in the pharynx of the worm CL4176 in 20 s. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图3 牛蒡多糖对CL4176线虫运动能力和摄食能力的影响

Figure 3 Effects of burdock polysaccharide on motility and feeding ability of CL4176 worms

要的作用,而AD患者主要受影响的神经递质是乙酰胆碱(acetyl choline, ACh)^[19]。据报道,ACh含量会随着年龄增长而降低,且AD患者下降幅度更大。进一步研究表明,AD患者体内AChE活性升高,当AChE过度水解ACh,导致ACh含量降低,与

之相关的学习、记忆等生理过程就会出现障碍^[20]。本研究测定了CL4176线虫体内AChE活性,与对照组相比,加药组线虫体内AChE活性显著降低(图4E)。由此说明,牛蒡多糖通过降低AChE活性,从而对AD相关病理过程具有缓解作用。



A: SOD activity in the worm CL4176. B: MDA content in the worm CL4176. C: Representative fluorescent images of ROS in the worm CL4176. D: ROS content in the worm CL4176. E: AChE activity in the worm CL4176. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

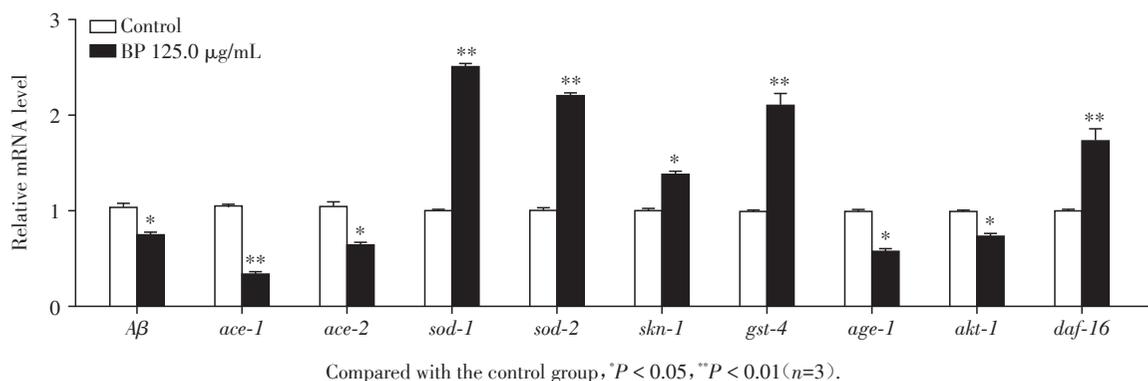
图4 牛蒡多糖对CL4176线虫体内SOD、MDA、ROS和AChE水平的影响

Figure 4 Effects of burdock polysaccharide on SOD, MDA, ROS, and AChE levels in CL4176 worms

2.5 牛蒡多糖对线虫体内 *daf-16* 等基因表达的影响

鉴于上述结果显示 125.0 $\mu\text{g/mL}$ 牛蒡多糖药效最好, 后续实验选用 125.0 $\mu\text{g/mL}$ 牛蒡多糖处理 CL4176 线虫后, 对影响氧化应激和 AChE 活性的相

关基因表达水平进行检测。结果表明, 与对照组相比, 125.0 $\mu\text{g/mL}$ 牛蒡多糖处理后 *A β* 、*ace-1*、*ace-2*、*akt-1*、*age-1* 表达量显著降低, *daf-16*、*skn-1*、*sod-1*、*sod-2* 和 *gst-4* 基因的表达量显著增加(图 5)。



Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图 5 牛蒡多糖对 CL4176 线虫体内基因表达的影响

Figure 5 Effects of burdock polysaccharide on gene expression in CL4176 worms

3 讨论

从天然中草药中开发抗 AD 的创新药物是治疗 AD 的有效策略之一。本研究以 AD 秀丽线虫病理模型为研究对象, 对牛蒡多糖的神经保护作用及其机制进行探究。首先对线虫体内的 $A\beta$ 沉积进行测定, 发现牛蒡多糖可以显著降低线虫体内的 $A\beta$ 含量。通过 5-羟色胺实验发现, 牛蒡多糖可以减轻 $A\beta$ 表达引起的 5-羟色胺敏感性。5-羟色胺是一种重要的神经递质, 在调节线虫的嗅觉学习、产卵、运动行为中起重要作用^[21]。外源 5-羟色胺可以抑制秀丽线虫的运动, 导致线虫瘫痪^[22]。神经元中 $A\beta$ 过表达可增强 CL2355 株系线虫对外源性 5-羟色胺的敏感性, 促进瘫痪的发生^[23]。通过趋化实验发现, 与不表达 $A\beta$ 蛋白的对照线虫 CL2122 株系相比, 表达 $A\beta$ 蛋白的线虫 CL2355 株系对丁二酮和 NaCl 的趋化性显著降低。而牛蒡多糖作用于 CL2355 线虫可以有效缓解 $A\beta$ 蛋白表达诱导的趋化行为缺陷, 恢复由 $A\beta$ 蛋白引起的学习和记忆障碍。通过瘫痪实验发现, 牛蒡多糖能够延迟线虫发生瘫痪的时间, 提示其具有治疗 AD 的潜力, 而靶向 $A\beta$ 的抗 AD 药物被认为是最有希望起到延缓 AD 病理进程的药物^[24]。

通过测定不同浓度牛蒡多糖处理后线虫的体长和体宽、摆动频率和咽部震动频率, 发现牛蒡多糖能够显著促进线虫的生长发育, 提高线虫的运动能力和摄食能力。对线虫体内 SOD 活性、MDA 和 ROS 含量进行测定, 发现牛蒡多糖可减少 $A\beta$ 转基因

线虫体内 ROS 的形成, 提高其抗氧化能力, 其保护作用可能通过促进抗氧化酶的表达, 降低氧化水平。

AD 患者受影响的神经递质主要为 ACh, 患者体内 AChE 活性升高, 导致 ACh 含量降低^[25]。测定 CL4176 线虫体内 AChE 活性, 结果表明牛蒡多糖能够降低线虫体内 AChE 的活性。

AD 具有多种典型的病理标志, 其中 $A\beta$ 沉积是重要标志之一; 而在 $A\beta$ 沉积过程中, AChE 发挥着关键作用。因此, 本研究对 $A\beta$ 基因和编码 AChE 的 *ace-1*、*ace-2* 基因^[26] 的表达情况进行了定量分析。PI3K-AKT 是 AD 发病过程中典型的信号通路。已有研究证实, 该通路能够通过干预细胞凋亡、自噬过程以及调节氧化应激水平, 来缓解 AD 的相关症状。其中, PI3K 属于丝氨酸/苏氨酸激酶, *age-1* 基因编码的是哺乳动物 PI3K 催化亚基的同源物。有研究指出, *age-1* 基因发生突变时, 会致使线虫出现 dauer 期滞留、脂肪储存增加以及寿命延长等现象。*age-1* 会募集 *akt-1* 并使其磷酸化, 从而激活 *akt-1*, 而活化后的 *akt-1* 会进一步对胰岛素信号通路的 DAF-16 转录因子进行磷酸化修饰, 抑制其向细胞核内转位, 最终抑制相关基因的表达^[27]。基于上述机制, 对线虫体内 *age-1*、*akt-1* 以及 *daf-16* 基因的表达情况进行测定。AD 患者的大脑中存在大量氧化应激反应, 该反应产生的 ROS 等有害物质会对神经细胞造成损伤。SKN-1 作为一种重要的转录因子, 在线虫中能够被氧化应激信号激活, 随后进入细胞核调控一系列抗氧化基因的表达^[28]。基于此, 测定了

线虫体内 *skn-1* 以及 *sod-1*、*sod-2*、*gst-4* 这3个抗氧化基因的表达^[29]。结果表明,牛蒡多糖处理与 *age-1/akt-1/daf-16* 信号通路相关基因的表达变化存在紧密关联性。具体而言,牛蒡多糖能够显著降低 *age-1* 和 *akt-1* 的表达量,并促进 *daf-16* 的表达。同时, *skn-1*、*gst-4*、*sod-1* 和 *sod-2* 的表达也显著增加,协同发挥抗氧化作用,有效降低 A β 蛋白水平,减轻 A β 沉积,缓解 AD 相关症状。此外,牛蒡多糖可以显著抑制 *ace-1* 和 *ace-2* 基因的表达,降低 AChE 活性,维持神经递质平衡。本研究首次将牛蒡多糖与 AD 联系在一起,并基于 AD 秀丽线虫病理模型开展实验,为牛蒡多糖在神经退行性疾病领域的研究进行了实验性的开拓,具有一定的应用价值。

利益冲突声明:

所有作者声明无利益冲突。

Conflict of Interests:

All the authors declared no conflict of interests.

作者贡献声明:

裴雨晴、邵歆迪、朱煜洁、成飞负责研究构思、实验方法设计、实验操作、论文初稿撰写及修订;周珈琿、麻瑞莹、陈菲菲、朱欣童、李鑫颖负责实验操作、协助数据分析、参与论文修订;施萱、李露娜、徐纯钰、张亦唐、周思玥负责采集和分析数据、统计分析;申丽、李华玲负责研究课题监管与指导、资金支持、论文审阅与修订。

Author's Contributions:

PEI Yuqing, SHAO Xindi, ZHU Yujie, and CHENG Fei were responsible for research conception, experimental method design, experimental operation, and writing and revising the first draft of the thesis; ZHOU Jiahui, MA Ruying, CHEN Feifei, ZHU Xintong, and LI Xinying were responsible for experimental operation, assisting in data analysis, and participating in the thesis revisions; SHI Xuan, LI Luna, XU Chunyu, ZHANG Yitang, and ZHOU Siyue were responsible for collecting and analyzing the data, and statistical analysis; SHEN Li and LI Hualing were responsible for supervising and guiding the research topic, financial support, and reviewing and revising the thesis.

[参考文献]

- [1] HOU S J, ZHANG S X, LI Y, et al. Rapamycin responds to Alzheimer's disease: a potential translational therapy[J]. Clin Interv Aging, 2023, 18: 1629-1639
- [2] KHAN S, BARVE K H, KUMAR M S. Recent advancements in pathogenesis, diagnostics and treatment of Alzheimer's disease[J]. Curr Neuropharmacol, 2020, 18(11): 1106-1125
- [3] ZHANG J F, ZHANG Y L, WANG J X, et al. Recent advances in Alzheimer's disease: mechanisms, clinical trials and new drug development strategies[J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 211
- [4] LUBLIN A L, LINK C D. Alzheimer's disease drug discovery: *in vivo* screening using *Caenorhabditis elegans* as a model for β -amyloid peptide-induced toxicity[J]. Drug Discov Today Technol, 2013, 10(1): e115-e119
- [5] CHAN Y S, CHENG L N, WU J H, et al. A review of the pharmacological effects of *Arctium lappa* (burdock)[J]. Inflammopharmacology, 2011, 19(5): 245-254
- [6] LIU W, WANG J J, ZHANG Z Z, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of a fructan from the roots of *Arctium lappa* L[J]. Int J Biol Macromol, 2014, 65: 446-453
- [7] SHAH P K. Inflammation, neointimal hyperplasia, and restenosis: as the leukocytes roll, the arteries thicken[J]. Circulation, 2003, 107(17): 2175-2177
- [8] RANI N, ALAM M M, JAMAL A, et al. *Caenorhabditis elegans*: a transgenic model for studying age-associated neurodegenerative diseases[J]. Ageing Res Rev, 2023, 91: 102036
- [9] ZHANG S W, LI F, ZHOU T, et al. *Caenorhabditis elegans* as a useful model for studying aging mutations[J]. Front Endocrinol(Lausanne), 2020, 11: 554994
- [10] WANG H Y, YUE Y D, ZHAO H F, et al. Neuroprotective effects of 2-substituted 1,3-selenazole amide derivatives on amyloid-beta-induced toxicity in a transgenic *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease[J]. Neurotox Res, 2021, 39(3): 841-850
- [11] ZHANG X G, WANG X, ZHOU T T, et al. Scorpion venom heat-resistant peptide protects transgenic *Caenorhabditis elegans* from β -amyloid toxicity[J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 227
- [12] JAFARI G, XIE Y S, KULLYEV A, et al. Regulation of extrasynaptic 5-HT by serotonin reuptake transporter function in 5-HT-absorbing neurons underscores adaptation behavior in *Caenorhabditis elegans*[J]. J Neurosci, 2011, 31(24): 8948-8957
- [13] ZHENG Z H, WU K L, RUAN Q L, et al. Suppression of selective voltage-gated calcium channels alleviates neuronal degeneration and dysfunction through glutathione S-transferase-mediated oxidative stress resistance in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 8287633
- [14] FU H J, ZHOU X Y, LI Y P, et al. The protective effects of *Reineckia carnea* ether fraction against Alzheimer's disease pathology: an exploration in *Caenorhabditis elegans* models[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(22): 16536
- [15] FEI T Y, FEI J, HUANG F, et al. The anti-aging and anti-oxidation effects of tea water extract in *Caenorhabditis*

- elegans*[J]. *Exp Gerontol*, 2017, 97: 89-96
- [16] SORRENTINO V, ROMANI M, MOUCHIROUD L, et al. Enhancing mitochondrial proteostasis reduces amyloid- β proteotoxicity[J]. *Nature*, 2017, 552(7684): 187-193
- [17] LONG T, CHEN X, QIN D L, et al. Ameliorative effect of *Luffa cylindrica* fruits on *Caenorhabditis elegans* and cellular models of Alzheimer's disease-related pathology via autophagy induction[J]. *Phytother Res*, 2023, 37(10): 4639-4654
- [18] LONG T, CHEN X, ZHANG Y, et al. Protective effects of *Radix Stellariae* extract against Alzheimer's disease via autophagy activation in *Caenorhabditis elegans* and cellular models [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115261
- [19] MANI V, MOHD AZAHAN N S, RAMASAMY K, et al. Mahanimbine improved aging-related memory deficits in mice through enhanced cholinergic transmission and suppressed oxidative stress, amyloid levels, and neuroinflammation[J]. *Brain Sci*, 2021, 12(1): 12
- [20] HAMPEL H, MESULAM M M, CLAUDIO CUELLO A, et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease [J]. *Brain*, 2018, 141(7): 1917-1933
- [21] SCHAFFER W R, KENYON C J. A calcium-channel homologue required for adaptation to dopamine and serotonin in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 1995, 375(6526): 73-78
- [22] GAUR A V, AGARWAL R. Risperidone induced alterations in feeding and locomotion behavior of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Curr Res Toxicol*, 2021, 2: 367-374
- [23] BRAVO F V, DA SILVA J, CHAN R B, et al. Phospholipase D functional ablation has a protective effect in an Alzheimer's disease *Caenorhabditis elegans* model [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 3540
- [24] UDDIN M S, KABIR M T, JEANDET P, et al. Novel anti-alzheimer's therapeutic molecules targeting amyloid precursor protein processing [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 7039138
- [25] DU Q, ZHU X Y, SI J R. *Angelica* polysaccharide ameliorates memory impairment in Alzheimer's disease rat through activating BDNF/TrkB/CREB pathway [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2020, 245(1): 1-10
- [26] XIN L J, YAMUJALA R, WANG Y H, et al. Acetylcholinesterase - inhibiting alkaloids from *Lycoris radiata* delay paralysis of amyloid beta-expressing transgenic *C. elegans* CL4176 [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63874
- [27] DU F Z, ZHOU L, JIAO Y, et al. Ingredients in zijuan Pu'er tea extract alleviate β -amyloid peptide toxicity in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease likely through DAF-16 [J]. *Molecules*, 2019, 24(4): 729
- [28] NAVARRO-HORTAL M D, ROMERO-MÁRQUEZ J M, ESTEBAN - MUÑOZ A, et al. Strawberry (*Fragaria × Ananassa* cv. Romina) methanolic extract attenuates Alzheimer's beta amyloid production and oxidative stress by SKN - 1/NRF and DAF - 16/FOXO mediated mechanisms in *C.elegans* [J]. *Food Chem*, 2022, 372: 131272
- [29] YU X Z, TAO J, XIAO T, et al. 4, 4'-methylene-diphenol reduces A β -induced toxicity in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease [J]. *Front Aging Neurosci*, 2024, 16: 1393721

[收稿日期] 2025-04-29

(本文编辑: 蒋 莉)



欢迎关注本刊微博、微信公众号!