

· 基础研究 ·

电针对阿尔茨海默病大鼠海马突触可塑性及自噬相关蛋白的影响

胡艳 刘若兰 肖佳欢 舒晴 邵雨薇 彭朝 田峻

武汉大学中南医院骨科康复科, 武汉 430000

通信作者: 刘若兰, Email: klsweet1985@126.com

【摘要】 目的 观察电针对阿尔茨海默病(AD)模型大鼠海马区突触可塑性及自噬的影响,探讨电针改善AD认知功能障碍的相关机制。**方法** 采用随机数字表法将30只健康雄性SD大鼠分为假手术组、模型组及电针组,通过向双侧海马CA1区注射A β 1-42将模型组及电针组大鼠制成AD动物模型,假手术组同部位注射等量生理盐水。于造模成功后次日,电针组选取百会、双侧肾俞穴进行电针治疗,每次治疗20 min,每天治疗1次,每周治疗6次,连续治疗2周。于治疗结束后采用Morris水迷宫检测各组大鼠学习记忆能力,采用MED64微电极阵列检测大鼠海马区长时程增强(LTP)变化,采用透射电镜观察海马区自噬小体形成情况,采用Western Blot法检测海马区自噬相关蛋白1(Beclin-1)及微管相关蛋白轻链3(LC3)含量。**结果** 与模型组比较,电针组大鼠逃避潜伏期明显缩短($P<0.05$),穿越平台次数显著增多($P<0.05$);电针组大鼠海马区神经元兴奋性突触后电位波幅百分比较模型组显著增高($P<0.05$);模型组大鼠海马神经元中有大量自噬体,而电针组明显减少;电针组大鼠海马组织LC3 II/LC3 I比值和Beclin-1蛋白表达量均较模型组显著降低($P<0.05$)。**结论** 电针百会、肾俞穴可改善AD模型大鼠学习记忆功能,促进海马LTP恢复,其治疗机制可能与调控海马神经细胞自噬水平有关。

【关键词】 电针; 阿尔茨海默病; 学习记忆; 长时程增强; 自噬

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81603696)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.11.001

The effect of electroacupuncture on synaptic plasticity and autophagy in a rat model of Alzheimer's disease

Hu Yan, Liu Ruolan, Xiao Jiahuan, Shu Qing, Shao Yuwei, Pen Zhao, Tian Jun

Department of Rehabilitation, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Corresponding author: Liu Ruolan, Email: klsweet1985@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of electroacupuncture (EA) on synaptic plasticity and the expression of autophagy-related proteins in the hippocampus in Alzheimer's disease (AD). To explore how EA might improve cognition in AD. **Methods** Healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham operation group, a model group and an EA group. The rat model of AD was established by injecting A β 1-42 into the bilateral CA1 area of the hippocampus. The sham operation group was injected with an equal amount of normal saline at the same site. Starting the day after the successful modelling, the EA group received 20 minutes of EA treatment at the Baihui (DU20) and bilateral Shenshu (BL23) acupoints once a day, 6 times a week for 2 weeks. The rats' learning and memory were then tested using a Morris water maze. The long-term potentiation (LEP) in the hippocampus was assessed using a MED64 microelectrode array and any ultrastructural changes of autophagosomes were detected using an electron microscope. The expression of the autophagy-related proteins Beclin-1 and microtubule associated protein light chain 3 (LC3) in the hippocampus were determined using western blotting. **Results** The escape latency was significantly shorter and the times crossing the platform increased significantly in the EA group compared with the model group. The average amplitude of the postsynaptic excitatory field potentials in the EA group was significantly higher than among the model group. There were many autophagosomes in the hippocampal neurons of the model group, significantly more than in the EA group. The LC3II/LC3I ratio and Beclin-1 protein expression decreased significantly in the EA group compared to the model group. **Conclusions** EA can improve learning and memory and restore LEP in the hippocampus of rats modeling AD. The mechanism may be related to its regulation of autophagy in hippocampal neurons.

【Key words】 Alzheimer's disease; Electroacupuncture; Learning and memory; Long-term potentiation; Autophagy

Funding: The National Natural Science Foundation (81603696)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.11.001

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 又称早老性痴呆, 是一种与年龄相关、以记忆和认知功能逐渐减退为临床表现的神经退行性疾病^[1]。相关流行病学调查显示, 预计到 2050 年全球 AD 患者人数高达 1 亿^[2], 因此阐明 AD 发病机制、寻找有效疗法具有重要临床意义。AD 主要病理特征是 β 淀粉样蛋白 (amyloid β -peptide, A β) 沉积形成老年斑和异常高度磷酸化 tau 蛋白导致神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs), 从而引起神经元及突触功能异常^[3]。自噬是由溶酶体介导清除异常蛋白及受损细胞器的过程, 对维持细胞稳态非常重要。近年来有越来越多研究证实, 自噬参与了 AD 病理改变, 自噬功能障碍可使神经元代谢紊乱, 导致 A β 沉淀及 NFTs, 引起神经元丢失, 进而使认知功能下降, 诱导 AD 发生^[4]。

针灸在治疗 AD 时具有操作简便、副作用少、疗效确切、费用低等优势。前期研究表明^[5], 电针可减少 AD 大鼠脑组织中 A β 沉积, 改善学习记忆功能。本研究拟建立 AD 模型大鼠, 并观察电针对 AD 大鼠海马区长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 及自噬水平的影响, 进一步探讨电针改善 AD 大鼠学习记忆障碍的可能机制, 为电针治疗 AD 提供理论依据。

材料及方法

一、实验材料

本研究主要试剂包括 A β ₁₋₄₂ (美国 Sigma 公司)、异氟烷 (深圳瑞沃德生命科技有限公司)、NaCl、KCl、NaHCO₃、MgCl₂ · 6H₂O、NaH₂PO₄ · 2H₂O、CaCl₂、葡萄糖 (武汉宏科化工有限公司)、海马区自噬相关蛋白 1 (Beclin-1) 兔抗鼠抗体 (Bioswamp, PBA35215)、微管相关蛋白轻链 3 (microtubule associated protein light chain 3, LC3) 兔抗鼠抗体 (三鹰, 14600-1-AP)、 β -actin 兔抗鼠抗体 (Bioswamp, PBA35216265) 等。本研究主要实验仪器包括脑立体定位仪 (西北光学仪器厂)、Y 型迷宫 (中国医学科学院药物所)、柔软型大鼠固定器 (温州原上草医疗科技有限公司, 专利号 ZL 2011 10016075.0)、MT-200 Morris 水迷宫视频跟踪系统 (成都泰盟)、30 号 1 寸华佗牌不锈钢毫针 (苏州医疗用品有限公司)、G6805-II 型电针治疗仪 (上海医疗器械厂)、振荡切片 (日本, DTK-1500)、MED64 平面微电极阵列记录分析仪 (日本 Alpha) 等。

本研究选取 40 只无特定病原体级 (specific pathogen free, SPF) 健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体重 250~280 g, 月龄 3~4 个月, 由斯贝福 (北京) 生物

技术有限公司提供 (动物许可证号 SCXK2016-0002), 经适应性喂养 1 周后进行 Y 型迷宫筛选^[6], 筛选出电击次数 ≤ 3 次时连续 2 次呈正确反应的大鼠供实验用, 淘汰反应过于迟钝或过于敏感的大鼠。采用随机数字表法将筛选通过的 30 只大鼠分为假手术组、模型组及电针组, 每组 10 只大鼠, 实验过程中因造模不成功被剔除或因麻醉及手术意外死亡大鼠 (电针组及模型组各有 2 只大鼠造模失败, 模型组及假手术组在手术过程中各有 1 只大鼠死亡) 在后续实验中遵循随机原则予以补齐。

二、实验方法

1. A β ₁₋₄₂ 寡聚体制备: 采用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 将 A β ₁₋₄₂ 稀释成 1 mg/ml 溶液, 37 °C 水浴箱孵育 1 周, 使其变成寡聚状态而具有神经毒性。

2. AD 模型制备: 模型组及电针组大鼠术前 24 h 禁食不禁水, 手术过程中使用 1.5% 异氟烷气体麻醉, 将大鼠固定于颅脑立体定位仪上, 头部备皮, 常规消毒剪开头皮, 暴露颅骨找到前囟, 保持前后囟在同一水平, 参照大鼠脑立体定位图谱^[7], 选取大鼠双侧海马 CA1 区 (前囟后 3.3 mm, 中线左、右旁开 1.5 mm) 为注射位点, 用牙科钻钻孔穿颅 (直径约 1 mm), 垂直插入微量注射器, 使针尖缓慢进针 3.0 mm 到达海马 CA1 区, 分别在两侧以 1.0 μ l/min 速度注入 A β ₁₋₄₂ 寡聚体 5 μ l, 注射完毕后留针 5 min 并缓慢拔针, 假手术组在相同部位注射等量生理盐水, 用牙托粉封固颅骨孔并缝合皮肤, 局部外敷青霉素 G 粉, 术后 3 d 内用碘伏消毒伤口, 肌注青霉素 G (10 万单位/ml) 1 ml 预防感染。造模结束后第 5 天再次对实验大鼠进行 Y 型迷宫筛选, 如 15 次测试中大鼠正确反应次数较造模前下降 1/3 以上为造模成功。

3. 电针治疗: 于造模成功后次日, 将大鼠固定于柔软型大鼠固定器上, 根据第 7 版《实验针灸学》教材提供的大鼠穴位定位方法, 选取电针组大鼠“百会” (顶骨正中, 两耳连线中点)、“肾俞” (第 2 腰椎棘突下两旁) 穴进行电针刺激, 选用 30 号 1 寸华佗牌毫针, 于大鼠百会穴向后斜刺 4 mm, 双侧肾俞穴直刺 5 mm; 针刺后接通 G6805-II 型电针治疗仪, 电刺激频率 2 Hz, 电流强度 1 mA, 连续波, 持续刺激 20 min, 每日刺激 1 次, 每周刺激 6 次, 共治疗 2 周。假手术组及模型组大鼠均同期在柔软型固定器上制动 20 min。

三、检测指标及方法

1. Morris 水迷宫检测: 于电针治疗结束后次日采用

Morris 水迷宫检测大鼠学习记忆能力,包括定位航行实验及空间探索实验。如大鼠在 120 s 内爬上平台并停留 5 s 以上,该时间记作逃避潜伏期;若大鼠在 120 s 内未爬上平台,则引导大鼠爬上平台并停留 10 s,此时逃避潜伏期记作 120 s,连续 5 d 同一时间段按上述方法训练并计算平均值。于最后一次定位航行实验后次日将平台撤除,将大鼠放入原先平台象限对侧水中,记录大鼠在 120 s 内进入目标象限次数,即“穿越平台次数”。整个实验在安静、较暗房间内进行。

2. 海马脑片 LTP 检测:于电针治疗结束后次日各组随机取 5 只大鼠,经异氟烷气体麻醉后断头取脑,脑片制作方法参考文献[8]。将大鼠脑片置于 MED 电极培养槽中,持续给予氧合人工脑脊液 (artificial cerebrospinal fluid, ACSF) 灌流,刺激电极位于 Schaeffer collateral 联合纤维上,记录电极位于 CA1 区,先行条件刺激,调节电流强度并测定输入/输出曲线。根据该曲线选择诱发出兴奋性突触后场电位 (field excitatory postsynaptic potentials, fEPSP) 最大波幅值对应刺激强度的 30% 作为刺激水平,于波幅稳定 30 min 后给予 θ 爆发式刺激 (theta burst stimulation, TBS),待 TBS 完成后改为条件刺激,并记录其在 60 min 内幅值变化情况。以 TBS 前 30 min 的 fEPSP 波幅平均值作为基础,分别计算 TBS 后 60 min 内各观察时间点 fEPSP 波幅与 TBS 前基础波幅平均值的百分比。

3. 海马区超微结构观察:各组剩余大鼠用异氟烷气体麻醉,经 0.9% 生理盐水心脏灌注后断头取脑并分离海马组织,左侧海马用于透射电镜检测,右侧海马用于 Western Blot 检测。将左侧海马组织切成 1 mm^3 小块,置于含 2% 多聚甲醛、2.5% 戊二醛的磷酸盐缓冲液 ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 7.4) 中固定 4 h,经乙醇、丙酮系列脱水、透射电镜包埋后行超薄切片 (片厚 60 nm)。每只大鼠切 5 张切片,经柠檬酸铅 (5 min)、醋酸铀 (20 min) 双重染色后,采用 JEM1230 型透射电镜观察摄片,每张切片随机选取 3~5 个视野;自噬体判断标准参考相关指南^[9]。

4. Beclin-1 及 LC3 蛋白检测 (Western Blot 法):将 100 mg 右侧海马组织加入蛋白裂解缓冲液 (radio immunoprecipitation assay lysis buffer, RIPA) 中,匀浆离心取上清,测定蛋白浓度;取 20 μg 标本上样后行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 凝胶电泳 [浓缩 (80 V) 40 min,分离 (120 V) 50 min],转膜 50 min 后转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上,经 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后,分别加入兔一抗 Beclin-1 (1:1000)、LC3 (1:1000) $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,经含 0.05% Tween-20 的 PBS 液洗涤 3 次,每次

5 min,加入辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记过的二抗 (1:10000),室温孵育 1 h, PBS 液洗涤 3 次,每次 5 min,行增强化学发光检测,采用 Image-J 软件分析目标蛋白及内参蛋白灰度值并计算比值。

四、统计学分析

本研究采用 SPSS 20.0 版统计学软件包进行数据分析,所得计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析 (one-way analysis of variance, ANOVA),组间两两比较采用最小显著差异法 (least significant difference, LSD), $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、电针对 AD 模型大鼠学习记忆功能的影响

与假手术组比较,模型组大鼠逃避潜伏期延长,穿越平台次数减少,组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);与模型组比较,电针组大鼠逃避潜伏期缩短,穿越平台次数增多,组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),具体数据见图 1。

二、电针对 AD 模型大鼠海马 LTP 的影响

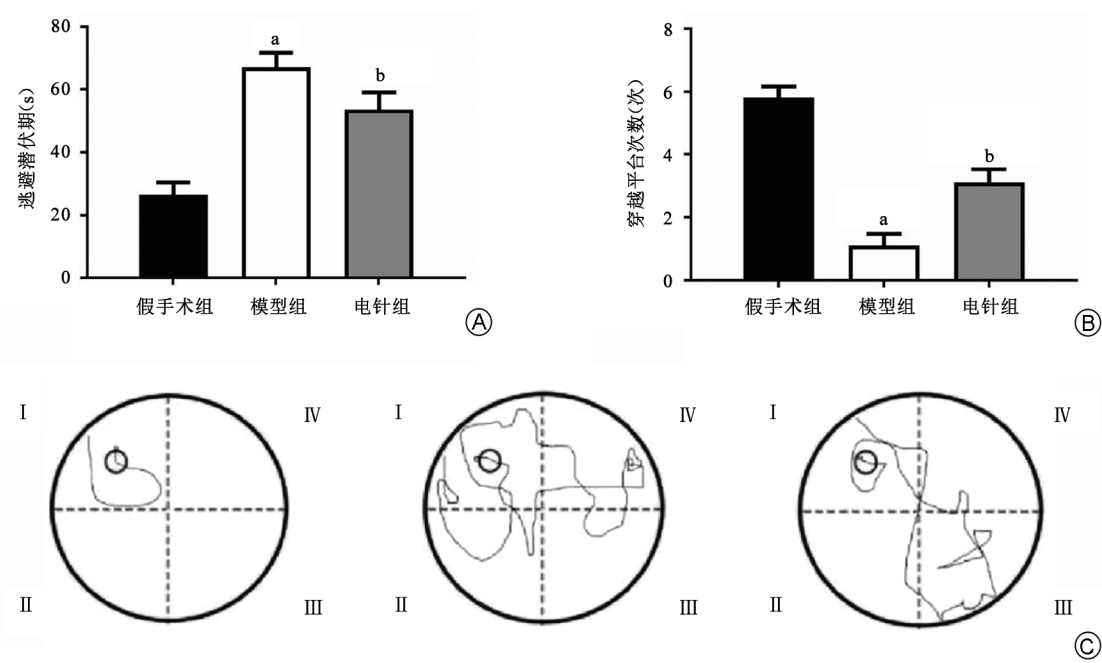
TBS 刺激前各组大鼠 fEPSP 波幅百分比组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。假手术组 TBS 后即刻 fEPSP 波幅显著增加,TBS 后 60 min 内 fEPSP 平均波幅百分比为 (159.856 ± 7.851)%;模型组 TBS 后即刻 fEPSP 波幅显著增加,随后逐渐衰减,模型组 TBS 后 60 min 内 fEPSP 平均波幅百分比为 (104.741 ± 2.726)%,较假手术组显著降低,组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);电针组 TBS 后即刻 fEPSP 波幅显著增加,随后降低,电针组 TBS 后 60 min 内 fEPSP 平均波幅百分比为 (121.987 ± 2.049)%,较模型组显著增高,组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),具体数据见图 2。

三、电针对 AD 模型大鼠海马区超微结构的影响

各组大鼠海马区电镜图片见图 3,可见假手术组 (图 3A) 神经细胞正常,核膜光滑完整,双层结构清晰,核内染色质均匀,线粒体结构形态正常,未见自噬体及溶酶体;模型组 (图 3B) 神经元出现变形或萎缩,核膜粗糙不完整,线粒体肿胀,自噬体数量增多;与模型组比较,电针组 (图 3C) 仍有部分神经元不规则变形、萎缩,胞质内可见少量自噬泡及溶酶体等。

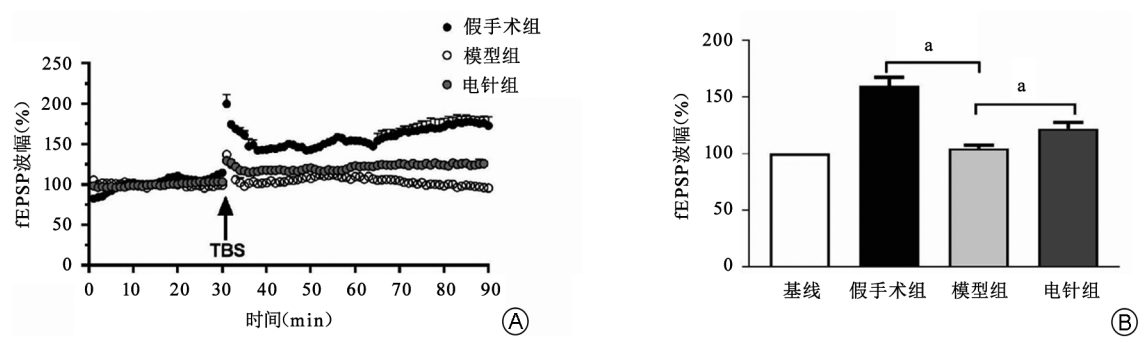
四、电针对 AD 模型大鼠 LC3 及 Beclin-1 的影响

与假手术组比较,模型组大鼠海马组织 LC3 II/LC3I 比值显著升高,Beclin-1 蛋白表达量显著增加,组间差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$);与模型组比较,电针组 LC3 II/LC3I 比值显著降低,Beclin-1 蛋白表达量明显减少,组间差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$),具体情况见图 4。



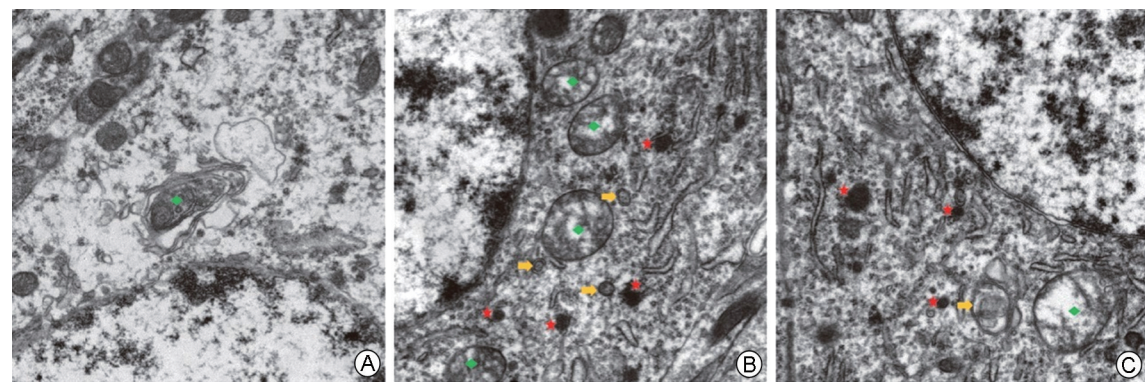
注:A 为各组大鼠逃避潜伏期比较;B 为各组大鼠穿越平台次数比较;C 为各组大鼠 Morris 水迷宫轨迹图比较;与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

图 1 电针对 AD 模型大鼠学习记忆功能的影响



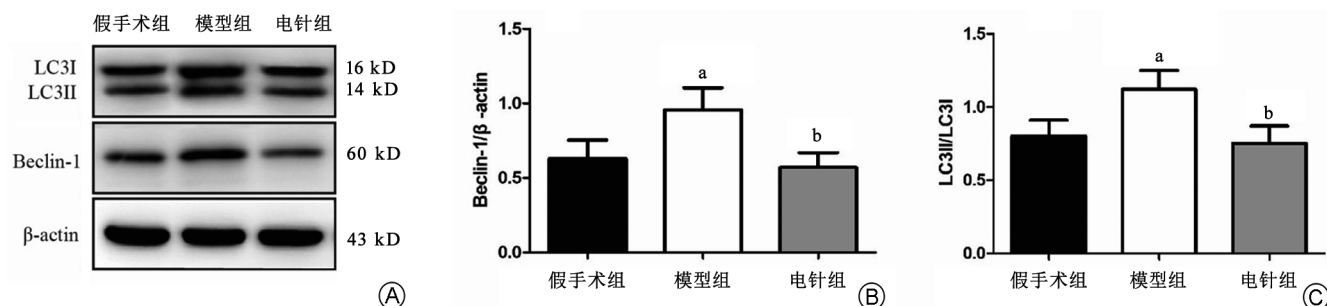
注:A 为各组大鼠海马脑片 fEPSP 波幅百分比随时间变化情况;B 为各组大鼠海马脑片 TBS 后 60 min 内 fEPSP 平均波幅百分比;组间两两比较,^a $P<0.05$

图 2 电针对 AD 模型大鼠海马 LTP 的影响



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为电针组;黄色箭头提示自噬体;红色五角星提示溶酶体;绿色菱形提示线粒体

图 3 各组大鼠海马区超微结构电镜观察 ($\times 6000$)



注:A为各组大鼠海马组织 LC3 及 Beclin-1 蛋白表达条带图;B为各组大鼠海马组织 Beclin-1 蛋白相对含量比较;C为各组大鼠海马组织 LC3 II/LC3I 比值比较;与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

图4 电针对 AD 模型大鼠海马组织自噬相关蛋白 LC3、Beclin-1 的影响

讨论

AD 在中医学中属“健忘”、“痴呆”范畴,其病因病机在于肾虚髓减、神机失用,通常以“补肾填髓、益智开窍”为治疗原则。中医理论认为,针灸可通过疏通经络、调理脏腑、平衡阴阳等作用达到防病治病目的,在防治某些疾病方面具有独特优势^[10];电针由其发展而来,通过毫针针感与脉冲电流共同刺激人体腧穴而发挥治疗作用。本研究结果显示,电针百会、肾俞穴后 AD 模型大鼠逃避潜伏期明显缩短,穿越平台次数增多,表明电针可改善 AD 模型大鼠学习记忆功能,与前期研究结果基本一致^[6],但电针组大鼠学习记忆并未恢复至正常水平,可能是观察时间不够,也可能是电针刺激只能减缓疾病进展而不能逆转疾病的缘故。

LTP 是一种活动依赖性突触增强现象,其本质是神经细胞生物电活动持续增强^[11]。MED64 微电极阵列可同步、多位点记录可兴奋细胞电信号,具有无损伤、电阻小等优点,被广泛应用于 LTP 研究^[12]。本研究应用 MED64 微电极阵列系统观察电针对 AD 模型大鼠海马区 LTP 的影响,结果显示模型组海马区神经元 fEPSP 波幅百分比显著降低,表明 $A\beta_{1-42}$ 对大鼠 LTP 的诱导及维持具有明显抑制作用,而电针组 fEPSP 波幅百分比比较模型组显著增高,提示电针刺激可在一定程度上逆转该抑制作用,这与电针能促进学习记忆的行为学实验结果相一致,从电生理水平证实电针对 AD 认知障碍具有改善作用。

自噬是细胞在机体内环境稳态发生改变或存在外界应激时,通过自噬-溶酶体途径维持细胞代谢平衡的一种方式,与学习记忆形成及突触可塑性有着密切联系^[13]。本研究通过电镜观察发现模型组海马区自噬小体数量增多,而电针组海马区神经细胞自噬体明显减少。LC3 是酵母 ATG8 的同源物,有两种表现形式,即胞浆型 LC3I 和膜结合型 LC3 II,在自噬形成过程中 LC3 从 LC3I 转变为 LC3 II,LC3 II/I 比值与自噬

泡形成数量密切相关^[14];Beclin-1 是酵母 ATG6 的同系物,可募集胞内 LC3 调节自噬水平,在自噬体早期形成中具有关键作用,其表达水平与自噬活性呈正相关性;在研究自噬时常联合检测 LC3 II/I 比值及 Beclin-1 表达含量来评价自噬水平^[14]。本研究结果显示,AD 模型大鼠海马区 LC3 II/I 比值升高,Beclin-1 含量增加,表明 $A\beta$ 激活自噬过程,与前期体外研究结果基本一致^[15];但自噬是一把双刃剑,如过度激活自噬可导致神经元细胞死亡^[16]。本研究 AD 模型大鼠给予电针干预后,发现其 LC3 II/I 比值及 Beclin-1 含量均明显降低,提示电针能抑制 $A\beta$ 诱导的自噬激活过程,与高杨等^[17]研究结果一致,但也有研究表明电针可上调自噬水平、减少神经细胞凋亡、增加 $A\beta$ 降解以提高学习记忆功能^[18],这可能与电针介入时机不同有关。目前学者普遍认为自噬在 AD 不同病程阶段其活性状态不同,在溶酶体功能正常时激活自噬有利于毒性蛋白清除,在溶酶体功能异常时,单纯激活自噬会加重异常蛋白聚集^[19],而电针治疗 AD 可能具有双向调节作用,即在 AD 不同病理阶段及不同自噬状态时均可能产生良性调节作用。

综上所述,本研究结果提示电针百会、肾俞穴可改善 AD 模型大鼠学习记忆功能,促进海马 LTP 恢复,其作用机制可能与电针调控海马细胞自噬水平有关。需要指出的是,自噬是一个复杂过程,涉及多个分子途径,电针百会、肾俞穴通过何种途径调控 AD 自噬水平仍需进一步探究,此外电针对 AD 不同病程阶段自噬的影响也有待深入探索。

参考文献

- [1] Tseng BP, Green KN, Chan JL, et al. Abeta inhibits the proteasome and enhances amyloid and tau accumulation [J]. *Neurobiol Aging*, 2008, 29 (11): 1607-1618. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2007.04.014.
- [2] Cai Y, Arikath J, Yang L, et al. Interplay of endoplasmic reticulum stress and autophagy in neurodegenerative disorders [J]. *Autophagy*, 2016, 12(2): 225-244. DOI: 10.1080/15548627.2015.1121360.

- [3] Holtzman DM, Morris JC, Goate AM. Alzheimer's disease: the challenge of the second century [J]. Sci Transl Med, 2011, 3 (77) : 71-77. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002369.
- [4] Li Q, Liu Y, Sun M. Autophagy and Alzheimer's disease [J]. Cell Mol Neurobiol, 2017, 37 (3) : 377-388. DOI: 10.1007/s10571-016-0386-8.
- [5] 白杨, 薛卫国, 高亮, 等. 电针对 APP/PS1 转基因 AD 鼠 Morris 水迷宫学习记忆及脑皮层 A β 水平的影响 [J]. 针灸临床杂志, 2014, 30 (8) : 74-77. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0779.2014.08.027.
- [6] 沈晓艳, 刘若兰, 沈沉, 等. 电针对阿尔茨海默病模型大鼠学习记忆能力及海马 NSF 表达的影响 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2016, 38 (5) : 340-343. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.05.005.
- [7] 诸葛启钊. 大鼠脑立体定位图谱 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 100-110.
- [8] Oka H, Shimono K, Ogawa R, et al. A new planar multielectrode array for extracellular recording: application to hippocampal acute slice [J]. J Neurosci Methods, 1999, 93 (1) : 61-67. DOI: 10.1016/S0165-0270 (99) 00113-2.
- [9] Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition) [J]. Autophagy, 2016, 12 (1) : 1-222. DOI: 10.1080/15548627.2015.1100356.
- [10] 周冰, 王琼, 马俊. 浅议针灸对老年期痴呆的调治 [J]. 针灸临床杂志, 2008, 24 (6) : 45-46. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0779.2008.06.025.
- [11] Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus [J]. Nature, 1993, 361 (6407) : 31-39. DOI: 10.1038/361031a0.
- [12] Liu M, Kang SJ, Shi T, et al. Long-term potentiation of synaptic transmission in the adult mouse insular cortex: multielectrode array recordings [J]. J Neurophysiol, 2013, 110 (2) : 505-521. DOI: 10.1152/jn.01104.2012.
- [13] Glatigny M, Moriceau S, Rivagorda M, et al. Autophagy is required for memory formation and reverses age-related memory decline [J]. Curr Biol, 2019, 29 (3) : 435-448. DOI: 10.1016/j.cub.2018.12.021.
- [14] 吕燕, 吴林, 陈炜, 等. 自噬在阿尔茨海默病中作用机制的研究进展 [J]. 广西医学, 2019, 41 (10) : 1286-1289. DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2019.10.20.
- [15] Hung SY, Huang WP, Liou HC, et al. Autophagy protects neuron from Abeta-induced cytotoxicity [J]. Autophagy, 2009, 5 (4) : 502-510. DOI: 10.4161/auto.5.4.8096.
- [16] Chen FJ, Liu B, Wu Q, et al. Icarin delays brain aging in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) model via inhibiting autophagy [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2019, 369 (1) : 121-128. DOI: 10.1124/jpet.118.253310.
- [17] 高杨, 李丽娜, 毛颖秋, 等. 电针对 APP/PS1 双转基因小鼠学习记忆能力及 LC3 II、P62 表达水平的影响 [J]. 长春中医药大学学报, 2017, 33 (4) : 523-526. DOI: 10.13463/j.cnki.cczyy.2017.04.003.
- [18] Guo HD, Zhu J, Tian JX, et al. Electroacupuncture improves memory and protects neurons by regulation of the autophagy pathway in a rat model of Alzheimer's disease [J]. Acupunct Med, 2016, 34 (6) : 449-456. DOI: 10.1136/acupmed-2015-010894.
- [19] 李春艳, 李学智, 邱开心, 等. 自噬在阿尔茨海默病发病机制中的作用 [J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41 (10) : 2039-2046. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0678.2008.02.023.

(修回日期: 2020-05-21)

(本文编辑: 易 浩)

• 读者 • 作者 • 编者 •

中华医学会杂志社对一稿两投问题处理的声明

为维护中华医学会系列杂志的声誉和广大读者的利益, 现将中华医学会系列杂志对一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下:

1. 本声明中所涉及的文稿均指原始研究的报告或尽管 2 篇文稿在文字的表达和讨论的叙述上可能存在某些不同之处, 但这些文稿的主要数据和图表是相同的。所指文稿不包括重要会议的纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿及在一种刊物发表过摘要或初步报道而将全文投向另一种期刊的文稿。上述各类文稿如作者要重复投稿, 应向有关期刊编辑部做出说明。

2. 如 1 篇文稿已以全文方式在某刊物发表, 除非文种不同, 否则不可再将该文投寄给他刊。

3. 请作者所在单位在来稿介绍信中注明文稿有无一稿两投问题。

4. 凡来稿在接到编辑部回执后满 3 个月未接到退稿, 则表明稿件仍在处理中, 作者欲投他刊, 应事先与该刊编辑部联系并申述理由。

5. 编辑部认为文稿有一稿两投嫌疑时, 应认真收集有关资料并仔细核实后再通知作者, 同时立即进行退稿处理, 在做出处理决定前请作者就此问题做出解释。期刊编辑部与作者双方意见发生分歧时, 应由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

6. 一稿两用一经证实, 期刊编辑部将择期在杂志中刊出其作者姓名和单位及撤销该论文的通告; 对该作者作为第一作者所撰写的一切文稿, 中华医学会系列杂志 2 年内将拒绝其发表; 并就此事件向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

中华医学会杂志社