

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.16.006

# 淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对阿尔茨海默病转基因模型小鼠大脑皮质 DMT1 表达的影响\*

董贤慧<sup>1</sup>,高维娟<sup>3</sup>,贺小平<sup>4</sup>,崔志超<sup>4</sup>,柴锡庆<sup>2△</sup>,赵家晴<sup>1</sup>

(1. 承德医学院解剖教研室,河北承德 067000;2. 河北化工医药职业技术学院制药工程系,石家庄 050000;  
3. 河北中医学院心脑血管病中医药防治重点实验室,石家庄 050000;4. 中国人民解放军第 266 医院骨科,河北承德 067000)

**[摘要]** 目的 探讨淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对阿尔茨海默症(AD)APP<sub>swc</sub>/PS1<sub>ΔE9</sub> 双转基因小鼠模型大脑皮质二价金属离子转运蛋白 1(DMT1)表达的影响。方法 将 APP<sub>swc</sub>/PS1<sub>ΔE9</sub> 双转基因小鼠 60 只,分为模型组、淫羊藿组、黄芪组、葛根组、复方组、去铁胺(DFO)组,C57BL/6J 小鼠作为健康对照组。用药结束后,取各组小鼠脑组织,分别采用免疫组织化学、实时荧光定量 PCR(RT-PCR)和蛋白免疫印迹法(Western blot)检测各组小鼠大脑皮质 DMT1 的表达情况。结果 免疫组织化学结果显示:阴性对照未见 DMT1 阳性细胞。与健康对照组相比,模型组 DMT1 的表达增高;与模型组相比,复方组和 DFO 组 DMT1 的表达降低( $P < 0.05$ );DFO 组与复方组 DMT1 的表达无明显差异。RT-PCR 结果、Western blot 结果与免疫组织化学结果相一致。结论 淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方可以下调 AD 模型小鼠大脑皮质 DMT1 的表达,从而抑制小鼠脑铁超载,缓解铁超载带来的中枢神经系统功能衰退。

**[关键词]** 阿尔茨海默病;转基因动物模型;小鼠;淫羊藿;黄芪;葛根;二价金属离子转运蛋白 1

**[中图分类号]** R322.8

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2016)16-2176-04

## Effects of effective fraction of Epimedium, Astragalus, Radix Puerariae on the expression of DMT1 in the cerebral cortex of transgenic mice model of Alzheimer's disease\*

Dong Xianhui<sup>1</sup>, Gao Weijuan<sup>3</sup>, He Xiaoping<sup>4</sup>, Cui Zhichao<sup>4</sup>, Chai Xiqing<sup>2△</sup>, Zhao Jiaqing<sup>1</sup>

(1. Department of Human Anatomy, Chengde Medical College, Chengde, Hebei 067000, China; 2. Department of Pharmaceutical Engineering, Hebei Chemical and Pharmaceutical College, Shijiazhuang, Hebei 050000, China; 3. Key Laboratory of Cardiocerebrovascular Disease Prevention and Control by Chinese Medicine, Hebei College of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei 050000, China; 4. Department of Orthopaedic, the 266st Hospital of PLA, Chengde, Hebei 067000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of Epimedium, Astragalus, Radix Puerariae on DMT1 expression in the cerebral cortex of APP<sub>swc</sub>/PS1<sub>ΔE9</sub> double transgenic mice model of AD. **Methods** A total of 60 specific-pathogen-free male APP<sub>swc</sub>/PS1<sub>ΔE9</sub> double transgenic mice aged 6 months were equally and randomly assigned to model, Epimedium, Astragalus, Radix puerariae, compound and DFO groups. An additional 10 6-month-old C57BL/6J mice served as negative control group. Using immunohistochemistry and molecular biology methods to investigate the effects of a compound combining the effective components of Epimedium, Astragalus, Radix puerariae on DMT1 expression in the cerebral cortex of APP<sub>swc</sub>/PS1<sub>ΔE9</sub> double transgenic mice model of AD. **Results** Immunohistochemical staining results revealed that DMT1 positive cell did not show in negative control group. DMT1 expression was higher in model group compared with the negative control group. DMT1 expression was lower in the compound and deferoxamine groups than in the model group. No significant difference was detected in DMT1 expression between deferoxamine and compound groups. RT-PCR, Western blot and immunohistochemical staining results showed no significant difference. **Conclusion** These compounds can downregulate DMT1 expression and inhibit iron overload in the cerebral cortex of mice with Alzheimer's disease, reduce iron overload induced impairment of the central nervous system.

**[Key words]** Alzheimer disease; transgenic animal model; mice; epimedium; Astragalus; Radix Puerariae; divalent metal transporter 1

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种与年龄相关的以进行性记忆和认知功能障碍为特征的神经变性疾病。近年来研究发现,AD 患者的脑铁水平异常升高,其机制可能与某些脑组织铁代谢相关蛋白表达失控相关<sup>[1]</sup>。细胞铁代谢主要过程是铁的摄取,二价金属离子转运蛋白 1(divalent metal transporter 1, DMT1)参与细胞 Fe<sup>2+</sup> 的摄取。根据 DMT1

mRNA 的 3'端非翻译区(3'-untranslational region, 3'-UTR)是否带有铁反应元件(iron-response element, IRE),可将 DMT1 分为 DMT1-IRE 和 DMT1-非 IRE 两种异构体,二者均定位于细胞膜和胞内循环的内吞小泡膜上,参与多种二价金属离子尤其是铁离子的摄取和转运,是维持细胞内二价金属离子稳态的重要金属转运蛋白之一<sup>[2]</sup>。

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81273983);河北省食品药品监督管理局资助项目(PT2014053);河北省教育厅青年基金项目(QN2015205);河北省中医药管理局资助项目(2015152);河北省卫生和计划生育委员会资助项目(20160008);河北省高校重点发展学科建设项目;承德市科技局资助项目(201601A022)。作者简介:董贤慧(1983—),博士,讲师,主要从事中药对阿尔茨海默病脑铁代谢的作用机制研究。

△ 通讯作者, Tel: (0311)85110002; E-mail: xqchai@163.com。

研究发现,应用去铁胺(deferoxamine,DFO)等铁螯合剂可以有效地缓解 AD 患者的病情发展<sup>[3]</sup>,但这些化学药物都有一定不良反应或口服困难等缺点,很难推广应用<sup>[4]</sup>。因此,本研究考虑采用中药来治疗 AD。中医认为 AD 发病以肾虚精亏,气血不足为本,痰瘀互结,浊毒内生为标的本虚标实之证。本研究将淫羊藿、黄芪、葛根有效组分进行组方,研究淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对 AD 模型小鼠大脑皮质 DMT1 表达的影响。

1 材料与方

1.1 材料 选取 SPF 级雄性的 APP<sub>swc</sub>/PS1<sup>ΔE9</sup> 双转基因小鼠 6 个月龄 60 只,分为模型组、淫羊藿组、黄芪组、葛根组、复方组和 DFO 组,每组 10 只。另选 6 个月龄 C57BL/6J 小鼠 10 只作为健康对照组。全部动物购自北京华阜康生物科技股份有限公司,许可证号:SCXK(京)2014-0004,购进后进行 2 周预饲养,分别单笼喂养于光照/黑暗为 12/12 的恒温环境,自由摄食和饮水。

1.2 方法

1.2.1 各组用药方法 淫羊藿组灌胃给予淫羊藿苷 120 mg/kg,黄芪组灌胃给予黄芪甲苷 80 mg/kg,葛根组灌胃给予葛根素 80 mg/kg,复方组灌胃给予淫羊藿、黄芪、葛根提取的有效组分复方,淫羊藿苷、黄芪甲苷、葛根素购自南京泽朗医药科技有限公司,按成分按照比例 3:2:2,以临床 3 倍用量给药,即淫羊藿苷 120 mg/kg、黄芪甲苷 80 mg/kg、葛根素 80 mg/kg 体重质量给予小鼠灌胃,DFO 组于小鼠大腿外侧肌内注射 DFO 30 mg/kg。各组小鼠用药处理 1 次/天,连续给药 3 个月。模型组和健康对照组给予实验组等量生理盐水灌胃。

1.2.2 取材 连续用药 3 个月后,每组小鼠各取 3 只,10%水合氯醛腹腔麻醉后迅速开胸,剪开右心耳和心尖部,灌注针准确经左心室插到升主动脉,固定灌注针,生理盐水(含 1%肝素)灌注,直至右心耳流出的液体清亮,动物四肢末端,肺脏,肝脏等均变白,更换 0.1 mol/L,4℃,4%的多聚甲醛溶液快速灌注,小鼠出现尾部及四肢痉挛抽搐,胃肠道胀气,灌注约 20 s 后,降低灌注速度,持续 20 min 后灌注完毕。在 4℃冰箱后固定 2 h 完整取出脑组织,4%多聚甲醛,体外固定 24 h,放入 30%蔗糖溶液,沉淀组织在冷冻切片机-25℃下,20 μm 连续切片,-20℃冰箱保存,留做免疫组织化学染色。各组其余 7 只小鼠不灌注,直接取大脑皮质,将大脑皮质沿正中分左右两部分,其中左侧大脑皮质用于实时荧光定量 PCR(RT-PCR);右侧大脑皮质用于蛋白免疫印迹法(Western blot)检测。

1.2.3 免疫组织化学检测小鼠大脑皮质中 DMT1 的表达 各组选取 10 张小鼠脑组织冰冻切片,46℃烤片 2 h,磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次,每次 5 min;体积分数 3%的过氧化氢处理,山羊血清封闭;滴加兔抗小鼠 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE (20 μg/mL;Alpha Diagnostics,Owings Mills,MD,美国),利用 PBS 替代一抗作为阴性对照,4℃孵育过夜。滴加抗兔生物素化二抗(Biotin-Streptavidin HRP Detection Systems,ZSGB-BIO,北京),37℃孵育 15 min;滴加辣根过氧化物酶(HRP)标记链亲和素,37℃孵育 15 min;DAB 显色;复染、脱水、透明、封固。显微镜下进行观察。以细胞质、细胞膜或细胞核棕黄色着色为阳性细胞,每张切片分别取 5 个视野(×400),分别计数每个视野的阳性细胞数量。

1.2.4 RT-PCR 检测小鼠大脑皮质中 DMT1 mRNA 的表达 取各组小鼠左侧大脑皮质,Trizol 法抽提总 RNA,紫外分光光度计(Beckman Coulter,Inc.250 S.Kraemer Boulevard Brea,CA 92821,美国)检测吸光度(A)<sub>260/280</sub>,并计算其纯度和浓度。

按照用于 RT-PCR 的 M-MLV 第一链合成系统(Invitrogen,Prom-Test LLC,Koghbatsi 28/69,0014,Yerevan,亚美尼亚),取 1 μg 总 RNA 样本,加入 Oligo(dT)20 1 μL,10 mmol/L dNTP 混合物 1 μL,5×缓冲液 2 μL,无 RNase 水至 10 μL。65℃变性 5 min,置于冰上冷却,短暂离心,加入 PrimeScript RT Enzyme 2 μL,0.1 mol/L DTT 1 mL,混匀,37℃孵育 2 min。加入 M-MLV 逆转录酶,吹打混匀,37℃孵育 5 min,37℃ 15 min,85℃ 5 s。反应产物置于-20℃冰箱长期保存。根据 DMT1 基因在 GenBank 的序列,经 Primer Express5.0 软件设计引物,并由 Invitrogen 公司合成,见表 1。

表 1 基因引物序列

基因	引物序列	退火温度 (°C)	长度 (bp)
β-actin	F:5'-ACAGCTTCTTTGCGAGCTCCTTC-3'	57	159
	R:5'-CCACGATGGAGGGGAATACAG-3'		
DMT1	F:5'-GTGCGGGAAGCCAATAAGTA-3'	57	179
	R:5'-TCACTGGGAAAGAGGTCAGC-3'		

应用带有 ROX 的 Platinum SYBR Green qPCR SuperMix-UDG(Invitrogen,Prom-Test LLC,Koghbatsi 28/69,0014,Yerevan,亚美尼亚)RT-PCR 试剂盒,以 5 倍稀释 5 个浓度梯度的 cDNA 样本,分别建立目的基因与 β-actin 基因扩增的标准曲线,确定它们的扩增效率。反应体系 25 μL 包括:SYBR Ex Taq 12.5 μL,上游引物(10 μmol/L)0.5 μL,下游引物(10 μmol/L)0.5 μL,cDNA (10 μmol/L)0.5 μL,ddH<sub>2</sub>O 11 μL。扩增条件:95℃预变性 3 min,95℃变性 30 s,退火 30 s,72℃延伸 30 s,40 个循环,每次循环结束后采集荧光。为确定扩增反应的特异性,循环结束后进行溶解曲线的分析,条件如下:65~95℃,每 5 s 上升 0.5℃。每组样品设定无 cDNA 模板反应孔为阴性对照,每个样本进行 3 次重复,重复间允许差异小于 0.5 Ct。用 BioRad Manager™ 软件(Bio-Rad Laboratories,Philadelphia,亚美尼亚)测定每个样本的相对拷贝数。相对表达量采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算,ΔCt=Ct 目的基因-Ct 内参基因,ΔΔCt=ΔCt 实验组样品-ΔCt 对照组样品,相对表达量=2<sup>-ΔΔCt</sup>。

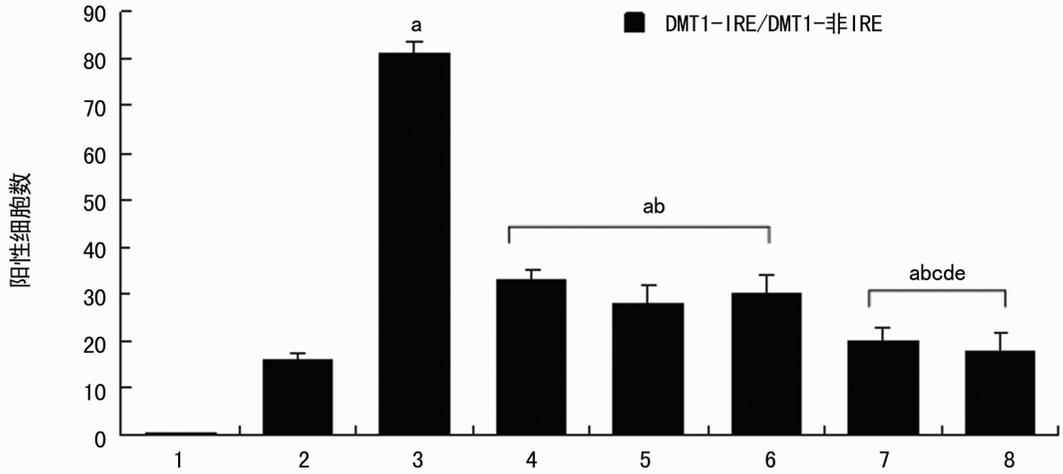
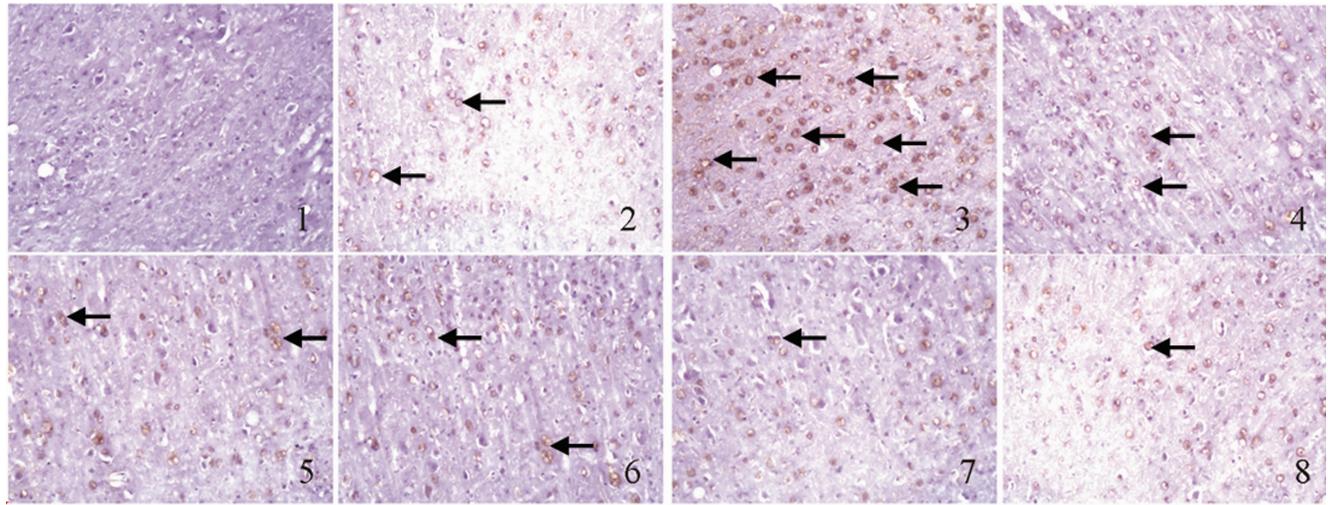
1.2.5 Western blot 检测小鼠大脑皮质 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 蛋白的表达 取小鼠右侧大脑皮质,提取总蛋白,按 BCA 蛋白定量法进行蛋白定量。将蛋白按照 50 μg 上样量加入凝胶,电泳 1.5 h,随后将凝胶蛋白转移到 0.45 μm 的 PVDF 膜上,恒流转膜 2 h,5%牛奶封闭 2 h,置于含有兔抗 β-Actin (1:5 000;杭州华安生物技术有限公司,杭州)、兔抗大鼠 DMT1-非 IRE (1:3 000;Alpha Diagnostics,Owings Mills,MD,美国)、兔抗大鼠 DMT1-without IRE (1:2 000;Alpha Diagnostics,Owings Mills,MD,美国)一抗的稀释液中 4℃孵育过夜,TBST 清洗 3 次,每次 15 min,滴加相应抗兔二抗 (1:10 000;KPL,Gaithersburg,Maryland,美国),室温孵育 2 h,继续 0.05% TBST 清洗 3 次,光化学显色法检测 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 蛋白的表达。以 β-Actin 为内参,采用 Quantity One 凝胶软件分析系统(Bio-Rad Laboratories,Philadelphia,亚美尼亚)分析蛋白条带的光密度(OD)值,以目的蛋白与 β-Actin 蛋白光密度的比值作为目的蛋白表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用多因素方差分析,方差齐者组间比较用 LSD 检验,方差不齐者用 Games-Howell 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

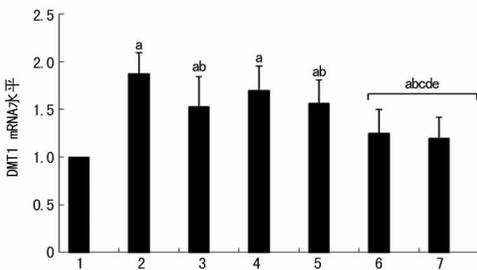
2.1 淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对 AD 转基因小鼠大脑皮质中 DMT1 表达的影响 免疫组织化学染色显示,与健康对照组比较,模型组 DMT1 的表达增高 ( $P < 0.05$ );与模型组比

较,淫羊藿组、黄芪组、葛根组、复方组和 DFO 组 DMT1 的表达降低 ( $P < 0.05$ );与 DFO 组比较,淫羊藿组、黄芪组、葛根组 DMT1 的表达增高 ( $P < 0.05$ );DFO 组与复方组 DMT1 的表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),箭头所指为阳性细胞,见图 1。



1: 阴性对照;2: 健康对照组;3: 模型组;4: 淫羊藿组;5: 黄芪组;6: 葛根组;7: 复方组;8: DFO 组。<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与健康对照组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与模型组比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与淫羊藿组比较;<sup>d</sup>:  $P < 0.05$ ,与黄芪组比较;<sup>e</sup>:  $P < 0.05$ ,与葛根组比较。

图 1 淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对各组小鼠大脑皮质 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 表达的影响 ( $\times 200$ )

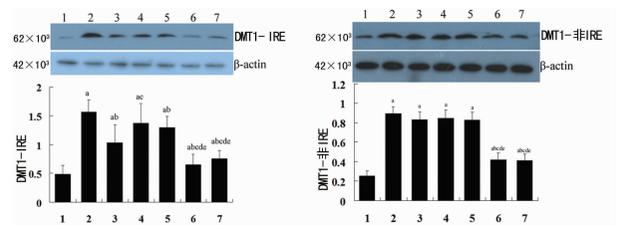


1: 健康对照组;2: 模型组;3: 淫羊藿组;4: 黄芪组;5: 葛根组;6: 复方组;7: DFO 组。<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与健康对照组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与模型组比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与淫羊藿组比较;<sup>d</sup>:  $P < 0.05$ ,与黄芪组比较;<sup>e</sup>:  $P < 0.05$ ,与葛根组比较。

图 2 淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对各组小鼠大脑皮质 DMT1 mRNA 表达的影响

2.2 淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对 AD 转基因小鼠大脑皮质中 DMT1 mRNA 表达的影响 RT-PCR 结果表明,与健康对照组比较,模型组小鼠大脑皮质中 DMT1 mRNA 表达增

加 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,淫羊藿组、黄芪组、葛根组、复方组和 DFO 组小鼠大脑皮质中 DMT1 mRNA 表达降低 ( $P < 0.05$ ),与 DFO 组比较,淫羊藿组、黄芪组、葛根组 DMT1 mRNA 的表达增高 ( $P < 0.05$ );DFO 组与复方组 DMT1 mRNA 的表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见图 2。



1: 健康对照组;2: 模型组;3: 淫羊藿组;4: 黄芪组;5: 葛根组;6: 复方组;7: DFO 组。<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与对照组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与模型组比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与淫羊藿组比较;<sup>d</sup>:  $P < 0.05$ ,与黄芪组比较;<sup>e</sup>:  $P < 0.05$ ,与葛根组比较。

图 3 淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对各组小鼠大脑皮质 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 蛋白表达的影响

**2.3 淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方对 AD 转基因小鼠大脑皮质中 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 表达的影响** Western blot 结果表明,与健康对照组比较,模型组小鼠大脑皮质中 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 的表达增加( $P < 0.05$ );与模型组比较,淫羊藿组、黄芪组、葛根组、复方组和 DFO 组小鼠大脑皮质中 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 的表达降低( $P < 0.05$ );与 DFO 组比较,淫羊藿组、黄芪组、葛根组小鼠大脑皮质中 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 的表达增加( $P < 0.05$ ),DFO 组与复方组小鼠大脑皮质中 DMT1-IRE/DMT1-非 IRE 的表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 3。Western blot 结果与 RT-PCR 结果相一致。

### 3 讨 论

AD 是常见的老年人慢性退行性神经系统疾病,目前其病因、发病机制还不是十分清楚,很大程度上制约了 AD 治疗药物的筛选。

建立动物模型的目的是在实验动物身上复制人类疾病的模型,用于研究人类疾病的病因、发病、病理变化以及疾病的预防和治疗。AD 的病因是多元性的,遗传因素是其中的一个重要因素<sup>[5]</sup>。AD 病转基因动物模型种类繁多,包括单转基因动物模型,像 PDAPP 小鼠<sup>[6]</sup>、Tg2576<sup>[7]</sup>、APP23<sup>[8]</sup>、PS 转基因小鼠等;双转基因动物模型,像 APP<sub>swe</sub>/PS1<sub>M146L</sub>、APP<sub>SL</sub>/PS1<sub>M146L</sub><sup>[9]</sup>、APP<sub>SL</sub>/PS1<sub>KI</sub>、APP KM670/671NL/APP V717F<sup>[10]</sup>、APP/apoE 等;还包括多重转基因动物模型,如 APP/PS1/tau<sup>[11]</sup>、Cdk5/P35/tau<sup>[12]</sup>等。而目前应用最为广泛的为 APP<sub>swe</sub>/PS1<sub>ΔE9</sub> 双转基因小鼠模型,该模型是野生型 C57BL/6J 小鼠 PS1 基因 E9 缺失,不是灭活作用,促使其功能加强,是国际公认的 AD 转基因动物模型。APP<sub>swe</sub>/PS1<sub>ΔE9</sub> 双转基因小鼠来源于 C57BL/6J 小鼠,所以本实验选择 C57BL/6J 小鼠为健康对照组<sup>[13]</sup>。

近年来研究发现,AD 患者的脑铁水平异常升高,异常增高的脑铁启动机体级联放大机制,最终导致神经元死亡,在 AD 的发生、发展中发挥重要作用。AD 患者脑组织铁含量增高可能与某些脑组织铁代谢相关蛋白表达失控相关。DMT1 是重要的脑组织摄铁相关蛋白,属于自然抵抗相关的巨噬细胞蛋白家族,其表达异常可能是导致神经退行性疾病的重要原因,DMT1 与 AD 的关系至今尚不完全清楚。有研究表明,老龄大鼠脑内 DMT1 表达呈年龄性增高趋势,多种炎症因子也能使 DMT1 在脑内表达上调,这两种情况均是诱发 AD 的重要危险因素。然而,有关 DMT1 与 AD 发病机制的研究尚未见报道。

研究表明,应用 DFO 等铁螯合剂均显著缓解了 AD 患者的病情发展,但这些化学药物都有一定不良反应或口服困难等缺点,因此本实验根据中医“标本兼治”的治疗原则,将淫羊藿、黄芪、葛根有效组分进行组方,其中淫羊藿归肝、肾经,具补肾填精、生精养髓之功效,为君药;黄芪归脾、脾经,为补气圣药,具补气健脾、行血化痰之功效,为臣药;葛根归脾、胃经,具清热、降火、排毒之功效,亦可升举清阳,引诸药上达于头目,为佐药。三药合用,共起滋补肝肾、补脾养血、活血化痰、清热解毒、健脑益智之功效,符合 AD 的中医治疗理论。临床研究发现,AD 患者在服用黄芪、淫羊藿、葛根等中药 3 个月后,其智力和记忆力得到有效提升,日常生活自理能力也有所增强,且治疗中未出现明显不良反应。

综上所述,本研究应用淫羊藿、黄芪、葛根有效组分复方可以有效下调 AD 小鼠大脑皮质 DMT1 的表达,从而抑制小鼠脑铁超载,缓解铁超载带来的中枢神经系统功能衰退,为开发治疗 AD 的新药提供新的思路和策略。

### 参考文献

- [1] Zhang LH, Wang X, Stoltenberg M, et al. Abundant expression of zinc transporters in the amyloid plaques of Alzheimer's disease brain[J]. Brain Res Bull, 2008, 77(1):55-60.
- [2] Shawki A, Mackenzie B. Interaction of calcium with the human divalent metal-ion transporter-1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 393(3):471-475.
- [3] Guo C, Wang T, Zheng W, et al. Intranasal deferoxamine reverses iron-induced memory deficits and inhibits amyloidogenic APP processing in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging, 2013, 34(2):562-575.
- [4] Onor ML, Trevisiol M, Aguglia E. Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update[J]. Clin Interv Aging, 2007, 2(1):17-32.
- [5] Masoodi TA, Al Shamari SA, Al-Muammar MN, et al. Exploration of deleterious single nucleotide polymorphisms in late-onset Alzheimer disease susceptibility genes[J]. Gene, 2013, 512(2):429-437.
- [6] Lee JE, Han PL. An update of animal models of Alzheimer disease with a reevaluation of plaque depositions[J]. Exp Neurol, 2013, 22(2):84-95.
- [7] Eketjäll S, Janson J, Jeppsson F, et al. AZ-4217: A high potency BACE inhibitor displaying acute central efficacy in different in vivo models and reduced amyloid deposition in Tg2576 mice[J]. J Neurosci, 2013, 33(24):10075-10084.
- [8] Nilsen LH, Melø TM, Saether O, et al. Altered neurochemical profile in the McGill-R-Thy1-APP rat model of Alzheimer's disease: a longitudinal in vivo 1H MRS study[J]. J Neurochem, 2012, 123(4):532-541.
- [9] Caballero C, Jimenez S, Moreno-Gonzalez I, et al. Inter-individual variability in the expression of the mutated form of hPS1M146L determined the production of Aβ peptides in the PS1xAPP transgenic mice[J]. J Neurosci Res, 2007, 85(4):787-797.
- [10] McLean D, Cooke MJ, Albay R 3rd, et al. Positron emission tomography imaging of fibrillar parenchymal and vascular amyloid-β in TgCRND8 mice[J]. ACS Chem Neurosci, 2013, 4(4):613-623.
- [11] Overk CR, Perez SE, Ma C, et al. Sex steroid levels and AD-like pathology in 3xTgAD mice[J]. J Neuroendocrinol, 2013, 25(2):131-144.
- [12] Tian FF, Guo TH, Dang J, et al. Involvement of Cdk5/p35 and tau protein in the hippocampal mossy fiber sprouting in the PTZ kindling model[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2011, 91(17):1197-1202.
- [13] Yang Y, Shiao C, Hemingway JF, et al. Suppressed retinal degeneration in aged wild type and APP<sub>swe</sub>/PS1<sub>ΔE9</sub> mice by bone marrow transplantation[J]. PLoS One, 2013, 8(6):e64246.