

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2023.0227

文章编号 1671-8852(2025)03-0307-07

# 黄体酮对阿尔茨海默病大鼠脑海马水通道蛋白 4 表达的调控及其在阿尔茨海默病治疗中的作用

陈小奇<sup>1</sup> 李进<sup>2</sup> 杨洪清<sup>3</sup>

<sup>1</sup>江汉大学附属医院/武汉市第六医院神经内科 湖北 武汉 430015;

<sup>2</sup>长江航运总医院/武汉脑科医院神经内科 湖北 武汉 430015;

<sup>3</sup>老河口市第一人民医院神经内科 湖北 襄阳 441899

**摘要** 目的:探讨黄体酮(PROG)对阿尔茨海默病(AD)鼠脑海马 AQP4 表达的调控效应,及其在 AD 治疗中的作用。方法:应用 A $\beta_{25-35}$  联合 D-半乳糖的方法诱导 AD 模型,并使用黄体酮(PROG+AD)进行治疗;使用 Morris 水迷宫检测各组大鼠的学习记忆能力,应用 HE 染色法检测各组鼠脑海马的形态结构,应用免疫荧光染色法检测各组鼠脑 AQP4 的表达定位,使用免疫印迹法检测各组鼠脑 AQP4 的表达量。结果:水迷宫结果显示,与 Sham 组比较,AD 组的逃避潜伏期和搜索路径均增加( $P<0.05$ ),穿越平台次数减少( $P<0.05$ );PROG+AD 组可逆转 AD 组的上述改变( $P<0.05$ );HE 染色显示,AD 组鼠脑海马锥体层细胞排列紊乱,细胞数量减少,空泡逐渐增多,PROG 处理可减轻 AD 组以上改变;免疫荧光结果显示,Sham 组海马位于血管周围,AD 组海马 AQP4 表达增加,主要位于细胞膜上;PROG+AD 组 AQP4 表达减少,在细胞膜及血管周围均有表达。免疫印迹结果显示,AD 组海马 AQP4 表达较 Sham 组增加( $P<0.05$ ),PROG+AD 组 AQP4 表达较 AD 组下降( $P<0.05$ )。结论:黄体酮可改善 AD 鼠的学习记忆能力,其机制与下调 AD 鼠脑 AQP4 的表达量及恢复其极性表达部位有关。

**关键词** 阿尔茨海默病; $\beta$ -淀粉样蛋白;黄体酮;海马;水通道蛋白 4

中图分类号 R741.03

文献标识码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Regulation of progesterone on hippocampus aquaporin 4 expression and its role in the treatment of Alzheimer's disease rats

CHEN Xiaoqi<sup>1</sup>, LI Jin<sup>2</sup>, YANG Hongqing<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Neurology, Affiliated Hospital of Jiangnan University & Wuhan Sixth People's Hospital, Wuhan 430015, Hubei, China;

<sup>2</sup>Dept. of Neurology, Genral Hospital of The Yangtze River Shipping & Wuhan Brain Hospital, Wuhan 430015, Hubei, China;

<sup>3</sup>Dept. of Neurology, Laohekou First People's Hospital, Xiangyang 441899, Hubei, China

### Abstract

**Objective:** To study the regulatory effect of progesterone (PROG) on the expression of Aquaporin-4 (AQP4) in the hippocampus of the Alzheimer's disease (AD) rat model and to investigate the therapeutic effect and mechanism of PROG on AD. **Methods:** AD rat models were induced by A $\beta_{25-35}$

**作者简介:** 陈小奇,男,1987—,医学硕士,副主任医师,主要从事脑卒中、头痛、眩晕等疾病的临床研究,E-mail: 838949111@qq.com;李进,1982—,医学硕士,副主任医师,主要从事神经变性病、脑血管病等的研究,E-mail: ljfallen@163.com。陈小奇和李进为本文共同第一作者

**通信作者:** 杨洪清,男,1975—,医学硕士,主任医师,主要从事脑血管介入、癫痫、睡眠障碍等疾病的研究,E-mail: 15871046830@huawei.com

combined with *D*-galactose and treated with progesterone (PROG+AD); Morris water maze was applied to show the learning and memory capacity of rats in each group; HE staining was used to detect the pathological changes of hippocampus; immunofluorescence staining was used to detect the expression location of hippocampus AQP4; Western Blot was used to detect the expression abundance of hippocampus AQP4. **Results:** The results of Morris water maze showed that compared with those in Sham group, the escape latency and search path of AD group increased ( $P<0.05$ ), and the times of crossing the quadrant where the platform was located decreased ( $P<0.05$ ); PROG could reverse the above changes in AD group ( $P<0.05$ ). HE staining results showed that the hippocampal pyramidal neurons in AD group were disordered, the number of cells decreased, and vacuoles gradually increased; PROG treatment could alleviate the pathological changes in AD group. Immunofluorescence staining showed that the hippocampus AQP4 of Sham group was located around the blood vessels, while the expression of hippocampus AQP4 in the AD group increased and located mainly on the cell membrane. The expression of AQP4 in the PROG+AD group decreased, and AQP4 was partly located in the cell membrane and around blood vessels. Western Blot results showed that the expression of hippocampus AQP4 in AD group was higher than that of Sham group ( $P<0.05$ ), while the expression of hippocampus AQP4 in PROG+AD group was lower than that of AD group. **Conclusion:** Progesterone can improve the learning and memory ability of AD rats, and its mechanism is related to the down-regulation of hippocampus AQP4 expression in the brain of AD rats and the restoration of its polar expression site.

**Key Words** Alzheimer's Disease;  $\beta$ -Amyloid Protein; Progesterone; Hippocampus; Aquaporin-4

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是中枢神经系统中常见的退行性疾病,其主要的病理学改变可为大脑皮层和海马区细胞外 $\beta$ 淀粉样蛋白(amyloid- $\beta$ , A $\beta$ )异常沉积形成的老年斑(senile plaque, SP)、Tau蛋白过度磷酸化导致的神经纤维缠结(neurofibrillary Tangles, NFT)和神经元丢失<sup>[1]</sup>。最新研究<sup>[2]</sup>表明,遗传、高龄、抑郁、心脑血管疾病(如肥胖、糖尿病、高血压等)均可增加AD发生的风险。在西方国家,AD已逐渐取代卒中,位居神经科疾病的第一位;我国第七次人口普查数据<sup>[3]</sup>显示,2020年65岁及以上人口近2亿人(占全国人口比例为13.5%),而该群体AD患病率达6.6%以上,并且超过65岁后老年人年龄每增加5岁,AD的患病率将提高一倍。随着我国深度老龄化社会的到来及AD患病人数的增加,不仅给患者家庭造成了严重的负担,也给社会造成了巨大的经济压力。由于AD的确切发病机制尚不清楚,导致其治疗缺乏特异性,影响了其疗效。因此,寻找AD特异性靶点并加以干预,成为AD治疗新的思路。

有研究<sup>[4-6]</sup>表明,水通道蛋白-4(aquaporin-4, AQP4)在A $\beta$ 异常集聚所致AD老年斑的形成中发挥着重要作用。AD患者脑脊液中AQP4水平升高,脑组织中AQP4表达上升,提示AQP4可改变血

脑屏障功能,导致血管周围引流不良,进一步导致AD的一系列病理改变。近年来,大量的基础及临床研究<sup>[7-8]</sup>证实,黄体酮(progesterone, PROG)对于脑损伤具有神经保护作用。黄体酮作为在神经系统合成并发挥营养神经和保护受损脑组织的神经活性甾体,其具有包括减轻脑水肿、减少炎症级联反应、延缓神经细胞的坏死凋亡、促进血-脑屏障重建等多方面作用<sup>[8-9]</sup>,有研究<sup>[10]</sup>表明,黄体酮可通过调控胆固醇代谢的水平,发挥对于AD的治疗作用。由于AQP4在AD病情进展中的关键作用,黄体酮是否通过对AQP4的表达调控以发挥对于AD脑的治疗作用目前尚未见报道,需要进一步地研究。

本文主要研究黄体酮对于AD模型大鼠的治疗作用,并从AQP4调控的角度来探讨黄体酮对AD的保护机制,以为黄体酮用于AD的治疗提供新的作用靶点。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** SD大鼠(SPF级)36只,不限雌雄,体质量230~250 g,鼠龄2.5个月,由武汉大学实验动物中心提供,实验流程与实验动物伦理规定相符合,并得到武汉市第六医院伦理委员会批准。

**1.2 药品、试剂与耗材**  $A\beta_{25-35}$ 购自美国Sigma公司;D-半乳糖购自上海生工。 $A\beta_{25-35}$ 溶于适量无菌生理盐水,使其浓度为 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,将其保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,使用前放于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育7 d,使其聚集成具有神经毒性的纤丝状寡聚体。黄体酮购自美国Sigma公司。小鼠来源的AQP4单克隆抗体(Western Blot, 1:1 000)及兔来源的AQP4多克隆抗体(荧光染色, 1:100)购自中国Proteintech公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔IgG和山羊抗小鼠IgG购自美国EarthOx公司。

仪器:CM1860型冰冻切片机和DMi8型荧光显微镜购自德国Leica公司。DW-2000D型脑立体定位仪购自成都泰盟公司。

**1.3 大鼠AD模型的复制** 将大鼠适应性喂养3 d,经Morris水迷宫检测,判定其学习记忆能力及空间辨别能力,淘汰反应过于迟钝或敏感的大鼠。使用通过筛选的大鼠共36只,将其随机分为以下3组:生理盐水组(Sham)、D-半乳糖+ $A\beta_{25-35}$ 组(AD)、黄体酮+D-半乳糖+ $A\beta_{25-35}$ 组(PROG+AD),每组12只。对照组每天腹腔注射生理盐水1 mL,连续6周,于第7周双侧海马内注射生理盐水 $5\text{ }\mu\text{L}$ 。模型组和治疗组腹腔注射D-半乳糖 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,于第7周双侧海马内注射 $A\beta_{25-35}$   $5\text{ }\mu\text{L}$ 。 $A\beta_{25-35}$ 注射过程如下:大鼠经 $35\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的戊巴比妥钠麻醉后,去掉颅顶毛发,划开皮肤,在颅顶对称开两个孔,其定位根据大鼠脑立体定位图谱所选择的两侧海马区域确定,即前囟后(AP)4 mm,中线(ML)左右各旁开2.9 mm, DV(距大脑皮层最高处深度)4.1 mm。每侧注射 $5\text{ }\mu\text{L}$ ( $10\text{ }\mu\text{g}$ ) $A\beta_{25-35}$ ,在5 min内注射完,并留针15 min。用牙托粉填补针孔,缝合皮肤并消毒。治疗组参照文献[11]的方法,在注射 $A\beta_{25-35}$ 前1 h腹腔注射 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的黄体酮(以1 mL 0.9%的生理盐水稀释)。术后单笼饲养至大鼠清醒,并在第8天进行水迷宫行为学检测,检测结束后进行后续实验。

**1.4 行为学检测** Morris水迷宫为一个圆形水池(直径150 cm,高50 cm),池壁周围悬挂有不同形状的标识物作为大鼠空间参照物。水池被均分为4个象限,选择一个象限,在其正中放置一个高25 cm,直径9 cm的平台,水深26 cm,水温( $26\pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 。实验共进行5 d,前2 d为训练,后3 d是正式实验。大鼠每天训练4次。将大鼠头朝池壁按东、西、南、北4个人水点轻轻放入水池中[水温( $24\pm 2$ ) $^{\circ}\text{C}$ ]。记录

大鼠自放入水中至找到平台并爬上平台的时间,作为逃避潜伏期。大鼠爬上平台后,让其停留10 s;若入水后60 s内未能找到平台,或未能爬上平台,将大鼠放置于平台上站立10 s,然后从平台上取下休息30~60 s,再进行下一次训练。测试环境及主试位置相对不变。第6天撤除平台,将大鼠选第2个人水点放入水中,记录2 min内大鼠于平台所在象限游泳的时间及穿过平台的次数,反映其对平台空间位置的记忆保持能力。

**1.5 形态学检查** 动物麻醉后开胸,经左心快速灌注生理盐水100 mL,待右心耳流出清亮液体后,继续灌注4%多聚甲醛350 mL后取脑,继续置于4%多聚甲醛中后固定12 h,经10%、20%、30%梯度蔗糖液脱水后包埋,用冰冻切片机制片,片厚 $8\text{ }\mu\text{m}$ 。切片置于室温风干后,选取部分切片进行常规HE和Nissl染色,剩余切片于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

**1.5.1 HE染色** 冰冻切片切片经过 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  PBS漂洗后,分别经过苏木素染液和伊红染液染色,再经纯水冲洗、依次经过70%乙醇、95%乙醇、无水乙醇梯度脱水,二甲苯透明后封片。

**1.5.2 免疫荧光染色** 切片经PBS漂洗后,加入含Triton X-100的封闭液于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min,加兔抗AQP4(1:100)一抗在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,第2天取出, PBS漂洗3次,每次10 min,加入Alexa Fluor 488标记的山羊抗兔荧光二抗于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育90 min, PBS漂洗3次,每次10 min,用含有DAPI的封片剂封片,荧光显微镜(Leica,德国)下观察结果。

**1.6 Western Blot** 各组取3只鼠经左心室灌注120 mL生理盐水置换出血液后取脑,用蛋白裂解液提取总蛋白质,使用BCA法检测蛋白浓度,蛋白样品加蛋白上样缓冲液 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 金属浴5 min。各组取 $30\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白经SDS-PAGE分离后转至PVDF膜,用5%脱脂牛奶封闭120 min,加小鼠抗AQP4(1:1 000)一抗置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱孵育过夜,用PBST漂洗3次,每次5 min,然后在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴箱中使用相应二抗孵育90 min,用PBST漂洗5次,每次10 min,通过ECL法显色并用凝胶成像系统(Thermo,美国)检测结果。

**1.7 统计学处理** 所有数据采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,数据符合正态分布及方差齐性,采用GraphPad Prism 8对数据进行分析,使用单因素方差分析(one-way ANOVA)方法对组间数据进行比较,以 $P<0.05$ 代表差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 黄体酮治疗可改善  $D$ -半乳糖+ $A\beta_{25-35}$  神经毒性所致的记忆障碍** Morris 水迷宫检测结果显示,与假手术对照组相比,AD 模型组( $D$ -半乳糖+ $A\beta_{25-35}$ )将增加大鼠逃避潜伏期( $P<0.05$ ),表明本课题中成功复制了大鼠 AD 模型,而 PROG+AD 组鼠在水迷宫实验 3~5 d 的逃避潜伏期都比 AD 模型组明显缩短( $P<0.05$ )。空间探索实验结果显示,AD 模型组在目标象限停留的时间明显短于正常组,提示  $A\beta_{25-35}$ + $D$ -半乳糖联合处理将损伤大鼠的学习记忆能力,而 PROG+AD 组鼠在目标象限内游泳时间明显延长,穿越平台位置次数增加( $P<0.05$ )(图 1)。

**2.2 黄体酮治疗可减轻  $D$ -半乳糖+ $A\beta_{25-35}$  神经毒性所致的脑损伤** HE 染色结果显示,假手术组脑海马锥体层细胞排列整齐,与假手术组比较,AD 组在  $D$ -半乳糖+ $A\beta_{25-35}$  神经毒性作用下,大鼠海马锥体层细胞数量减少,排列逐渐紊乱,部分神经元细胞核呈现核浓缩和边聚,空泡间隙逐渐增多,提示水肿逐渐加重(图 2);黄体酮治疗组海马锥体层神

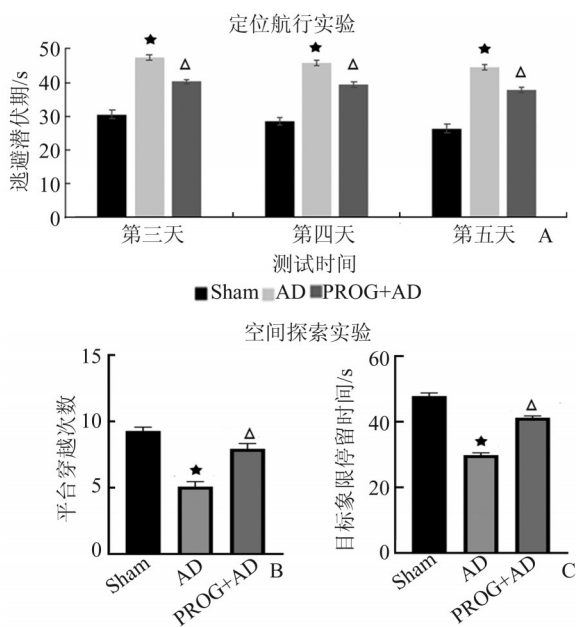


图 1 水迷宫定位航行实验

A. 空间探索实验结果;B. 平台穿越次数;C. 目标象限停留时间。与 Sham 组相比,\* $P<0.05$ ;与 AD 组相比, $\Delta P<0.05$ 。 $n=12$

经元的数量比 AD 组增加,神经元形态结构呈现正常,神经元排列趋于整齐。

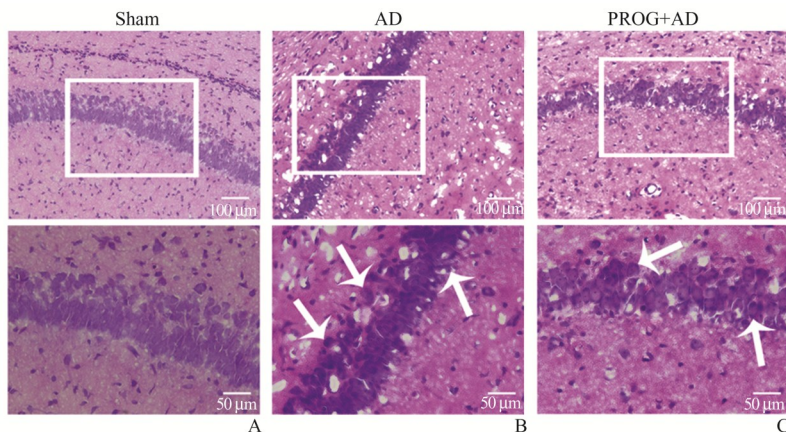


图 2 各组鼠脑海马 HE 染色结果 (HE 染色)

**2.3 黄体酮治疗可恢复  $D$ -半乳糖+ $A\beta_{25-35}$  神经毒性所致 AQP4 阳性细胞的异常** 免疫荧光染色结果显示,Sham 组脑海马中 AQP4 微弱表达于星形胶质细胞膜及血管周围;在 AD 组中, $D$ -半乳糖+ $A\beta_{25-35}$  的神经毒性将导致 AQP4 阳性细胞数量增加,并且细胞膜上 AQP4 的表达量也在增加;黄体酮治疗组中 AQP4 阳性细胞数量逐渐减少,部分 AQP4 位于血管周围(图 3)。

**2.4 黄体酮治疗可下调  $D$ -半乳糖+ $A\beta_{25-35}$  神经毒性所致 AQP4 的增加** Western Blot 结果表明,同 Sham 相比,AD 组鼠脑海马 AQP4 的表达增加

( $0.8410 \pm 0.0180$  vs  $0.6872 \pm 0.0265$ ,  $P<0.05$ ),而在 PROG+AD 组,脑海马 AQP4 的表达与 AD 组相比降低( $0.6978 \pm 0.0368$  vs  $0.8410 \pm 0.0180$ ,  $P<0.05$ )(图 4)。

## 3 讨论

随着老龄化社会的到来,AD 患者人数的增加,加重了家庭及社会的负担,并对患者生命健康造成了严重的威胁。因此,明确 AD 的发病机制,并针对其病因加以干预,成为亟待解决的问题。

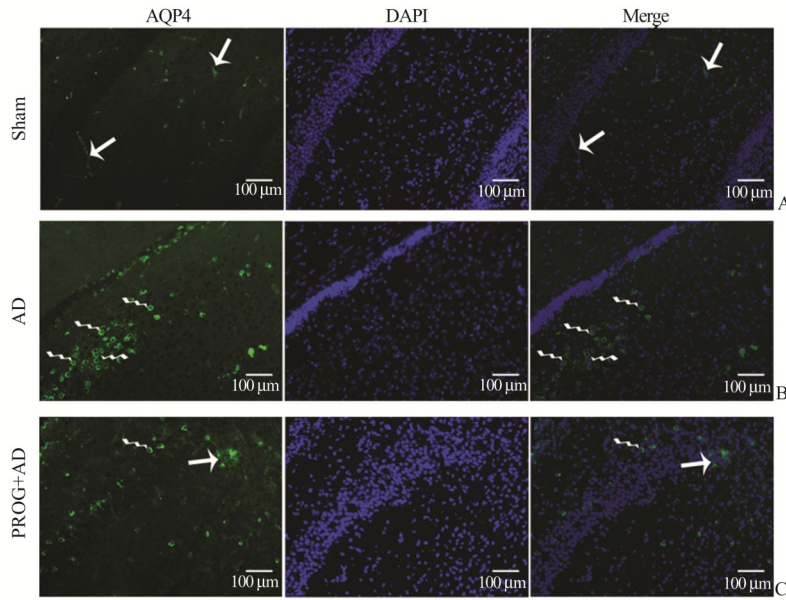


图 3 各组鼠脑海马 AQP4 蛋白免疫荧光染色图 (免疫荧光染色)

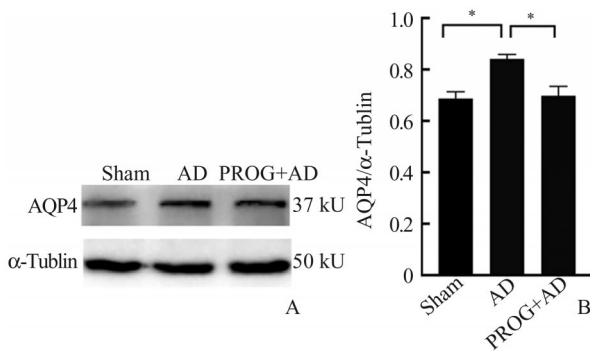


图 4 各组鼠脑海马 AQP4 蛋白免疫印迹结果

AD 组与 Sham 组相比及 PROG+AD 组与 AD 组相比, \* $P < 0.05$ 。n=3

为探究 AD 的发生发展,学者们提出了与 AD 发病机制相关的多种学说,如 tau 蛋白学说、胆碱能学说、线粒体功能紊乱学说、金属离子代谢紊乱学说等。其中,  $A\beta$  级联学说也为部分学者所重视。在正常情况下,淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 由  $\beta$  分泌酶裂解为可溶性  $A\beta$ , 而发挥神经营养作用; 基因突变或其他因素可以导致 APP 氨基酸序列或裂解部位的变化, 从而产生易于沉淀的  $A\beta$ , 并破坏神经元的细胞膜<sup>[12]</sup>; 由于细胞膜的破坏导致其通透性增加, 使得大量  $Ca^{2+}$  进入细胞内, 通过激活钙依赖性激酶、蛋白酶及脂肪酶等酶类, 使细胞内自由基生成增多<sup>[12]</sup>, 进而导致神经细胞损伤乃至死亡。目前部分学者<sup>[13]</sup>认为,  $A\beta$  的异常集聚是 AD 老年斑形成的重要组分, 部分研究采用  $A\beta$  片段 (如  $A\beta_{25-35}$ 、 $A\beta_{1-40}$  或  $A\beta_{1-42}$ ) 颅腔注射联合腹腔 D-半

乳糖注射的方法复制 AD 大鼠模型, 以模拟 AD 的发病。在本研究中, 通过  $A\beta_{25-35}$  联合 D-半乳糖制作的 AD 模型可导致大鼠学习记忆能力下降, 并可见海马锥体细胞层神经元受损及丢失, 表明 AD 模型复制成功。

水通道蛋白是一组与水通透性有关的细胞膜转运蛋白, 广泛分布于动物、植物及微生物与水代谢密切相关的器官中。其中, AQP4 是目前发现的脑内含量最多、分布最广泛的水通道蛋白, 呈极性分布于毛细血管周围的星形胶质细胞终足膜、软脑膜内表面形成的胶质界膜和室管膜细胞的基底部等部位<sup>[4]</sup>, AQP4 的极性表达模式在脑内水电解质稳态的维持、脑脊液及组织液代谢废物的交换中发挥着关键作用, 为脑功能的正常提供稳定的内环境。研究<sup>[5, 14]</sup>表明,  $A\beta$  的沉积及 AD 的发生发展与 AQP4 的表达变化密切相关, 但关于 AQP4 的表达变化与 AD 的关系存在不同的意见, 部分课题组<sup>[15-16]</sup>发现 AD 患者脑脊液周围的软脑膜下、室管膜下和毛细血管周围及额叶皮质 AQP4 表达明显增加, 而 ZEPPENFELD 等<sup>[17]</sup>发现血管周围 AQP4 的表达减少, 并增加脑组织对异常沉积  $A\beta$  神经毒性的敏感性; 在 AD 动物模型中则发现, 血管周围淀粉样物质沉积区中 AQP4 的表达量明显减少<sup>[18]</sup>, 而斑块周围 AQP4 的表达量则有所升高; 也有研究<sup>[16]</sup>提示, 敲除 AQP4 将加剧 APP/PS1 双转基因小鼠脑皮质及海马中  $A\beta$  的积聚及记忆障碍。本研究发现, 在 AD 大鼠海马中 AQP4 的表达增加, 并且 AQP4

的表达从血管周围转移至胶质细胞膜上。细胞膜上 AQP4 表达的增加,将导致海马组织中的水电解质代谢异常,可能促进老年斑的形成。分子影像技术研究<sup>[6]</sup>也证实,老年斑的形成过程伴随着脑组织中水与脑脊液循环障碍的发生。由此可见,AD 中 AQP4 表达的上调,在 AD 的进展中发挥着重要作用。

流行病学研究<sup>[19]</sup>显示,三分之二的 AD 患者是女性,绝经后性激素的下降被认为是 AD 的一个危险因素,激素对于 AD 具有良好的预防作用,其中黄体酮对 AD 具有治疗作用<sup>[20]</sup>。黄体酮又称孕酮,主要为卵巢分泌的具有生物活性的激素,在男性及女性体内均可以通过神经胶质细胞和神经元由胆固醇所合成,或者通过肾上腺和性腺在外周合成<sup>[21]</sup>,并且在脑内广泛分布着其特异性的受体。中枢神经系统内的黄体酮及其代谢产物通常被定义为神经甾体,对脑外伤等多种神经系统疾病具有保护作用<sup>[22]</sup>。目前研究<sup>[23]</sup>认为,黄体酮既可以通过中枢神经系统中丰富的经典细胞内受体调节基因转录和细胞活性来影响神经元功能,也可以通过非基因组机制如激活信号转导途径发挥其作用<sup>[24]</sup>;此外,黄体酮还可以通过影响脑内 AQP4 的表达而发挥神经保护作用<sup>[19,25-26]</sup>。

目前认为在 AD 中,黄体酮可通过以下三种信号途径发挥神经保护作用:即基因表达的控制,神经递质的调节和 MAPK/ERK 信号通路的激活<sup>[27]</sup>;但尚无从 AQP4 表达调控角度研究黄体酮对于 AD 治疗作用的相关报道。本研究结果发现,通过黄体酮治疗,可改善 AD 鼠脑海马中锥体细胞层的结构,下调其海马中 AQP4 的表达量,并恢复其在血管周围的表达,同时可改善 AD 鼠的学习记忆能力。

综上,黄体酮可在转录和翻译水平抑制脑损伤条件下 AQP4 的表达,也可抑制 AD 脑中 A $\beta$  蛋白的毒性作用;而 AQP4 的表达变化又对细胞外 A $\beta$  蛋白的沉积有影响,从而影响到 AD 的病理生理学发展。本研究从黄体酮对 AQP4/A $\beta$  调控的角度来研究黄体酮对 AD 的保护作用,为黄体酮用于 AD 的治疗提供新的作用靶点,并为黄体酮治疗 AD 提供更多实验基础及理论依据。

#### 参考文献

- [1] BEN HALIMA S, MISHRA S, RAJA K M P, et al. Specific Inhibition of  $\beta$ -secretase processing of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein [J]. *Cell Rep*, 2016, 14(9): 2127-2141.
- [2] 张现琴, 明艳. 第七次全国人口普查年龄数据准确性分析[J]. *人口研究*, 2022, 46(4): 27-39.  
ZHANG X L, MING Y. Assessing accuracy of age reporting in the 7th population census of China[J]. *Population Research*, 2022, 46(4): 27-39.
- [3] PATIL R V, HAN Z, WAX M B. Regulation of water channel activity of aquaporin 1 by arginine vasopressin and atrial natriuretic peptide[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 238(2): 392-396.
- [4] LAN Y L, ZHAO J, MA T, et al. The potential roles of aquaporin 4 in Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(8): 5300-5309.
- [5] YANG C, HUANG X, HUANG X, et al. Aquaporin-4 and Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 52(2): 391-402.
- [6] SILVA I, SILVA J, FERREIRA R, et al. Glymphatic system, AQP4, and their implications in Alzheimer's disease[J]. *Neurol Res Pract*, 2021, 3(1):5.
- [7] ZHENG C, GONG J, ZANG L, et al. Mechanism of progesterone in treatment of traumatic brain injury based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. *Med Sci Monit*, 2022, 28:e937564.
- [8] NASRE-NASSER R G, SEVERO M M R, PIRES G N, et al. Effects of progesterone on preclinical animal models of traumatic brain injury: Systematic review and meta-analysis[J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59 (10): 6341-6362.
- [9] STEIN D G. Is progesterone a worthy candidate as a novel therapy for traumatic brain injury?[J]. *Dialogues Clin Neurosci*, 2011, 13(3): 352-359.
- [10] SHI W, WU H, LIU S, et al. Progesterone suppresses cholesterol esterification in APP/PS1 mice and a cell model of Alzheimer's disease[J]. *Brain Res Bull*, 2021, 173: 162-173.
- [11] LIU S, WU H, XUE G, et al. Metabolic alteration of neuroactive steroids and protective effect of progesterone in Alzheimer's disease-like rats[J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(30):2800-2810.
- [12] REISBERG B, SHULMAN M B, TOROSSIAN C, et al. Outcome over seven years of healthy adults with and without subjective cognitive impairment[J]. *Alzheimers Dement*, 2010, 6(1):11-24.
- [13] YE T, LI X, ZHOU P, et al. Chrysophanol improves memory ability of d-galactose and A $\beta$ (25-35) treated rat correlating with inhibiting tau hyperphosphorylation and the CaM-CaMKIV signal pathway in hippocampus[J]. *3 Biotech*, 2020, 10(3): 111.
- [14] YANG J, ZHANG R, SHI C, et al. AQP4 association with amyloid deposition and astrocyte pathology in the Tg-arcsw mouse model of Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 57(1): 157-169.

- [15] MOFTAKHAR P, LYNCH M D, POMAKIAN J L, et al. Aquaporin expression in the brains of patients with or without cerebral amyloid angiopathy[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2010, 69(12): 1201-1209.
- [16] HOSHI A, TSUNODA A, YAMAMOTO T, et al. Altered expression of glutamate transporter-1 and water channel protein aquaporin-4 in human temporal cortex with Alzheimer's disease[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018, 44(6): 628-638.
- [17] ZEPPENFELD D M, SIMON M, HASWELL J D, et al. Association of perivascular localization of aquaporin-4 with cognition and Alzheimer's disease in aging brains[J]. *JAMA Neurol*, 2017, 74(1): 91-99.
- [18] CLARK A T, ABRAHAMSON E E, HARPER M M, et al. Chronic effects of blast injury on the microvasculature in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease related A $\beta$  amyloidosis[J]. *Fluids Barriers CNS*, 2022, 19(1): 5.
- [19] NERATTINI M, JETT S, ANDY C, et al. Systematic review and meta-analysis of the effects of menopause hormone therapy on risk of Alzheimer's disease and dementia[J]. *Front Aging Neurosci*, 2023, 15: 1260427.
- [20] HE X F, LIU D X, ZHANG Q, et al. Voluntary exercise promotes glymphatic clearance of amyloid beta and reduces the activation of astrocytes and microglia in aged mice[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 144.
- [21] SCHUMACHER M, MATTERN C, GHOUMARI A, et al. Revisiting the roles of progesterone and allopregnanolone in the nervous system: Resurgence of the progesterone receptors[J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 113: 6-39.
- [22] HU Z, LI Y, FANG M, et al. Exogenous progesterone: A potential therapeutic candidate in CNS injury and neurodegeneration[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(11): 1418-1125.
- [23] STEIN D G. Progesterone exerts neuroprotective effects after brain injury[J]. *Brain Res Rev*, 2008, 57(2): 386-397.
- [24] SINGH M. Ovarian hormones elicit phosphorylation of Akt and extracellular-signal regulated kinase in explants of the cerebral cortex[J]. *Endocrine*, 2001, 14(3): 407-415.
- [25] LI X, BAI R, ZHANG J, et al. Effect of progesterone intervention on the dynamic changes of AQP-4 in hypoxic-ischaemic brain damage[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(10): 18831-18836.
- [26] WANG X, ZHANG J, YANG Y, et al. Progesterone attenuates cerebral edema in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage by inhibiting the expression of matrix metalloproteinase-9 and aquaporin-4[J]. *Exp Ther Med*, 2013, 6(1): 263-267.
- [27] RADAGHDAM S, KARAMAD V, NOURAZARIAN A, et al. Molecular mechanisms of sex hormones in the development and progression of Alzheimer's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2021, 764:136221.

(2023-04-04 收稿)

编辑 孙孝云