

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2026.05.003

✦基础医学研究✦

慢病毒下调 Nrf2 通过 GCLC 介导神经突触损伤加重 AD 认知障碍

徐玉珠, 罗伟刚, 张桂松, 刘翠翠, 胡晓凯, 贾亚南, 王泽艺, 任慧玲

(河北医科大学第三医院神经内科, 河北 石家庄 050000)

【摘要】目的: 探究 Nrf2 通过抗氧化作用改善 AD 认知功能障碍的内在机制。**方法:** 以 APP/PS1 小鼠作为 AD 模型小鼠, 通过海马注射慢病毒建立 Nrf2 下调小鼠模型。采用 Morris 水迷宫测试评估小鼠学习记忆能力, 采用实时定量聚合酶链式反应(RT-PCR)检测 Nrf2 mRNA 水平, 采用 Western blot 检测 Nrf2、GCLC、A β 蛋白表达, 采用免疫组化法观察海马组织 A β 蛋白表达情况, 采用免疫荧光法观察海马组织 MAP2 表达情况, 采用透射电镜观察神经突触结构。**结果:** 与对照组小鼠相比, AD 模型小鼠的 Nrf2、GCLC 蛋白水平和 MAP2 水平降低, A β 蛋白沉积增加, 突触损伤和认知障碍加重($P < 0.05$)。慢病毒诱导的 Nrf2 下调使 GCLC 蛋白表达下调, MAP2 水平降低, 加重 A β 蛋白沉积、突触损伤和认知障碍($P < 0.05$)。**结论:** 慢病毒下调的 Nrf2 通过下调 GCLC, 加重氧化应激反应, 加重了 A β 蛋白的沉积和神经突触的损伤, 进而加重了 AD 的认知功能障碍。

【关键词】 Nrf2; 阿尔茨海默病; 突触损伤; 认知障碍; 氧化应激

【中图分类号】 R741.02

【文献标志码】 A

Lentivirus-downregulated Nrf2 aggravates synaptic damage and cognitive impairment in AD by downregulating GCLC

XU Yu-zhu, LUO Wei-gang, ZHANG Gui-song, LIU Cui-cui, HU Xiao-kai, JIA Ya-nan, WANG Ze-yi, REN Hui-ling

(Department of Neurology, Hebei Medical University Third Hospital, Shijiazhuang 050000, Hebei, China)

【Abstract】Objective: To explore the intrinsic mechanism of Nrf2 improving cognitive dysfunction in Alzheimer's disease (AD) through antioxidant effects. **Methods:** APP/PS1 mice were used as AD model mice, and the Nrf2 downregulated mouse model was established by injecting lentivirus into the hippocampus. Morris water maze test was used to evaluate the learning and memory ability of mice, and real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the levels of Nrf2 mRNA. Western blotting was used to detect the expression of Nrf2, GCLC, and A β protein. Immunohistochemistry was used to observe the expression of A β protein in hippocampal tissue. Immunofluorescence was used to observe the expression of MAP2 in hippocampal tissue. Transmission electron microscopy was used to observe the structure of neural synapses. **Results:** Compared with the control group mice, the levels of Nrf2, GCLC protein and MAP2 in AD model mice were decreased, A β protein deposition increased, synaptic damage and cognitive impairment were aggravated ($P < 0.05$). Lentivirus-induced Nrf2 downregulation downregulated GCLC protein expression, decreased MAP2 levels, and aggravates A β protein deposition, synaptic damage and cognitive impairment ($P < 0.05$). **Conclusion:** Lentivirus-downregulated Nrf2 aggravated the oxidative stress response by downregulating GCLC, aggravates A β protein deposition and synaptic damage, and further aggravated the cognitive dysfunction of AD.

【Key words】 Nrf2; Alzheimer's disease; Synaptic damage; Cognitive impairment; Oxidative stress

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种神经退行性疾病,是导致痴呆的主要原因,并正在迅速成为本世纪最昂贵、最致命和最繁重的疾病之一。由于我国老年人口多,增长速度快,AD极大地

增加我国的医疗负担^[1]。尽管关于 AD 的机制有很多假设,并且这些假设在 AD 的发生和发展中发挥了一定的作用^[2]。然而,目前尚无可以有效逆转该疾病的治疗方法,并且所有治疗方法对减缓疾病进

基金项目: 河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目(ZF2024090);河北省医学科学研究课题计划(20190607)

作者简介: 徐玉珠(1989-),女,博士,副主任医师。E-mail:38900596@hebm.u.edu.cn

通讯作者: 任慧玲,博士。E-mail:renhuiling@hebm.u.edu.cn

展的能力都非常有限^[3]。氧化应激是 AD 发生认知障碍过程中重要的一个病理生理机制。Nrf2 作为抗氧化应激的核心调控因子,在 AD 的认知功能障碍中具有重要的保护作用^[4]。Nrf2 通过调控一系列抗氧化基因的表达,来维持细胞内氧化还原平衡,其中 GCLC 就是 Nrf2 的下游产物,是谷胱甘肽合成的关键酶^[5]。研究^[6]表明,Nrf2 转录水平与衰老、神经退行性疾病尤其是阿尔茨海默病密切相关。AD 患者皮层和海马核内 Nrf2 表达水平显著降低,且 Nrf2 信号通路活性受到抑制^[7]。此外,诱导或激活 Nrf2 可改善 AD 模型小鼠的认知障碍^[8-9]。尽管在其他疾病模型中已经表明 Nrf2/GCLC 信号通路可以通过增加抗氧化应激保护细胞^[10-11],但在 AD 相关研究中,针对 Nrf2/GCLC 信号通路的报道仍相对有限,其具体作用机制尚有待进一步阐明。因此,本研究利用慢病毒下调 AD 小鼠模型中 Nrf2 水平,评估其对 AD 小鼠中 GCLC 的水平和认知障碍的影响,进一步探索其在抗氧化应激中的潜在机制,为未来治疗 AD 提供有效的靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物

所有动物实验均经河北医科大学第三医院实验动物伦理委员会批准(Z2022-004-2)。6 月龄雄性 C57BL/6J 小鼠及 APP/PS1 小鼠均由北京华阜康生物科技有限公司提供。自由采食、饮水。小鼠饲养于室温下,12 h 光照/黑暗循环下,温度为(25±2)℃,湿度为(50±5)%。

1.2 主要试剂和仪器

感染对照慢病毒和 Nrf2-RNAi-慢病毒(购于上海吉凯基因科技有限公司),立体定位架(51600, Stoelting, 美国),Morris 水迷宫(上海欣软信息科技有限公司),抗 MAP2 抗体(1:200, Cell Signaling, 8707T),透射电子显微镜(JEOL JEM-1230),荧光显微镜(Olympus FV1000),抗 A β (Cat No. 25524-1-AP, 武汉三鹰生物技术有限公司),抗 Nrf2 (Cat No. 16396-1-AP, 武汉三鹰生物技术有限公司),抗 GCLC 抗体(Cat No. 12601-1-AP, 武汉三鹰生物技术有限公司),抗 β -actin(Cat No. 66009-1-Ig, 武汉三鹰生物技术有限公司)。

1.3 实验分组

将小鼠随机分为 4 组,每组各 12 只:C57BL/6J 感染对照慢病毒(C57+GFP)、C57BL/6J 感染 Nrf2-RNAi-慢病毒(C57+Nrf2 shRNA)、APP/PS1 感染对照慢病毒(APP+GFP)、APP/PS1 感染 Nrf2-RNAi-慢病毒(APP+Nrf2 shRNA)。小鼠用戊巴比妥钠

(40 mg/kg,腹腔注射)麻醉,置于立体定位架(51600, Stoelting, 美国)中,在两耳之间进行头皮正中切口。在双侧头骨上钻孔,钻孔位置:相对于前囟点,后方 2.7 mm,侧面 3.1 mm,腹侧 2.4 mm。使用配备 27 号针头的注射泵(51600z, Stoelting, 美国)将 2 μ L Nrf2-RNAi 慢病毒(Genechem, 上海, 中国)或对照慢病毒以 0.5 μ L/min 的速度注入双侧海马 CA3 区。仅编码 GFP 的慢病毒载体作为 RNAi 对照。注射后将针头留在原位 10 min,缝合头皮切口,让小鼠在笼子中恢复。实验在小鼠饲养至 14 月龄并确认慢病毒表达后开始。实验后,通过荧光显微镜验证注射部位的 GFP 表达,并通过 RT-PCR 确认 Nrf2 特异性 shRNA 的功效。

1.4 观察指标

1.4.1 Morris 水迷宫(MWM)测试 使用 MWM 测试评估小鼠的空间学习和记忆能力^[12]。首先进行 5 d 的位置导航测试,每只小鼠被放置在四个象限的水中,面向侧壁。让小鼠在 60 s 内找到平台,或 60 s 后引导到平台上,然后在平台上停留 15 s。记录逃到平台上的潜伏期,所有测试每天大约在同一时间进行。位置导航测试 24 h 后,进行空间探索测试,即将平台从迷宫中移除。将每只小鼠以相同的随机起始位置放入水中,让其自由游泳 60 s。记录游泳轨迹、每只小鼠穿过被移除平台位置的次数以及在平台先前所在的目标象限中停留的时间,以评估空间记忆。

1.4.2 定量实时聚合酶链反应(RT-qPCR) 通过 RT-qPCR 定量 Nrf2 表达。使用 Trizol 试剂(Invitrogen)从海马组织中分离总 RNA。根据制造商的说明,将 mRNA 逆转录为 cDNA,并使用 ABI StepOnePlus 实时 PCR 系统(ABI VERITI96 PCR)和 q-PCR Master Mix (Qiagen)进行 RT-qPCR 分析。然后,执行 RT-qPCR 方案如下:1 个循环,95℃,30 s,40 个循环,95℃,5 s,60℃,34 s。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法确定各组样本中 Nrf2 的 mRNA 相对差异,并用 β -actin 管家基因进行标准化。

1.4.3 Western blot 将组织样本在含有蛋白酶抑制剂混合物的放射免疫沉淀分析缓冲液中均质化。用 BCA 蛋白质测定试剂盒(No. 23228, Thermo, Waltham, Massachusetts, USA)测量蛋白质浓度。通过 10% SDS-Page 电泳分离蛋白质并转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,然后用 5% 脱脂牛奶封闭 PVDF 膜 1 h,加入一抗并在 4℃ 冰箱中孵育过夜。所用一抗为:抗 A β (1:1 000)、抗 Nrf2 (1:4 000)、抗 GCLC(1:1 000)和抗 β -actin(1:1 000)。洗膜后,用羊抗兔抗体在 37℃ 下孵育 2 h。用化学

发光试剂(ECL, Amersham)对蛋白质进行可视化。使用 ImageJ 对蛋白质条带进行灰度分析,并使用 β -actin 作为定量对照。

1.4.4 免疫荧光染色(IF) 小鼠脑用4%多聚甲醛固定24 h,用蔗糖脱水,包埋并在 -80°C 下冷冻。切片用0.25% Triton X-100 在 37°C 下通透30 min,用10% BSA 封闭1 h。脑切片用抗 MAP2 抗体(1:200, Cell Signaling, 8707T) 在 4°C 下孵育过夜。然后将切片用荧光二抗在 37°C 下孵育2 h,然后用 DAPI 对细胞核进行染色。最后,使用荧光显微镜(Olympus FV1000) 观察切片。使用 Image J 软件测量免疫荧光强度。

1.4.5 免疫组织化学染色 多聚甲醛固定组织,切片,用二甲苯脱蜡,用乙醇水化。将脑组织切片置于抗 $\text{A}\beta$ 一抗(1:200)中, 4°C 过夜,用 PBS 清洗3次。将生物素标记的山羊抗兔免疫球蛋白 G(1:1000)二抗加入切片中,在 37°C 下孵育30 min。然后用 PBS 清洗切片,与亲和素-过氧化物酶复合物孵育30 min,然后使用发色团 3,3'-二氨基联苯胺显影免疫复合物。苏木精复染、脱水后,二甲苯透明切片,中性树胶覆盖,光学显微镜下拍摄右侧海马区域,利用 Image-J 软件检测海马 $\text{A}\beta$ 表达阳性面积。

1.4.6 透射电子显微镜 取海马组织 $1\text{ mm}\times 1\text{ mm}\times 1\text{ mm}$,用4%戊二醛溶液浸泡2~4 h 以上固定。再用1%四氧化锇固定2 h。组织样品用梯度丙酮脱水,包埋,放入烘箱聚合, 37°C 保存24 h, 60°C 保存48 h。然后用超薄切片机将样品切成厚度约50 nm 的超薄片,用醋酸铀酰和柠檬酸铅双染。最后在透射电子显微镜(JEOL JEM-1230) 下观察神经突触超微结构,并利用 ImageJ 软件对线粒体数量进行计数。

1.5 统计学分析

所有数据使用 SPSS 25.0 软件包(Chicago, IL, USA) 进行分析。计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较行单因素方差分析(One-way ANOVA),使用最小显著差异(LSD)法检验进行多重事后比较。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢病毒下调小鼠海马 Nrf2 水平

与 C57+GFP 组相比,APP+GFP 组海马 Nrf2 的 mRNA 水平和蛋白含量降低,提示 AD 模型小鼠 Nrf2 表达水平降低($P<0.05$) (图 1 及图 3A-B)。C57+Nrf2 shRNA 组海马 Nrf2 的 mRNA 水平和蛋白含量低于 C57+GFP 组($P<0.05$)。与 APP+GFP 组相比,APP+Nrf2 shRNA 组海马 Nrf2 的

mRNA 水平和蛋白含量降低($P<0.05$)。以上结果表明慢病毒注射成功降低了 C57BL/6J 和 APP/PS1 小鼠海马中 Nrf2 的表达水平。

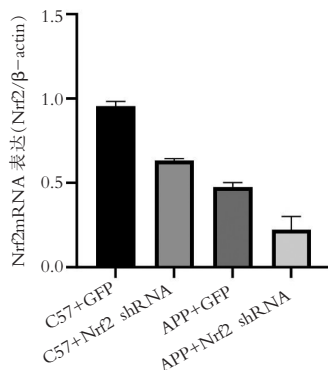


图 1 慢病毒下调小鼠海马中 Nrf2 的表达水平($n=3$)

① $P<0.05$,与 C57+GFP 组相比;② $P<0.05$,与 APP+GFP 组相比。

2.2 慢病毒诱导 Nrf2 下调加重小鼠认知障碍

与 C57+GFP 组相比,C57+Nrf2 shRNA 组和 APP+GFP 组穿越移除平台区域的次数较少($P<0.05$),APP+Nrf2 shRNA 组穿越移除平台区域的次数小于 APP+GFP 组($P<0.05$) (图 2A);与 C57+GFP 组相比,C57+Nrf2 shRNA 组和 APP+GFP 组在移除平台后停留在目标象限的时间较短($P<0.05$),APP+Nrf2 shRNA 组在目标象限停留的时间短于 APP+GFP 组($P<0.05$) (图 2B)。

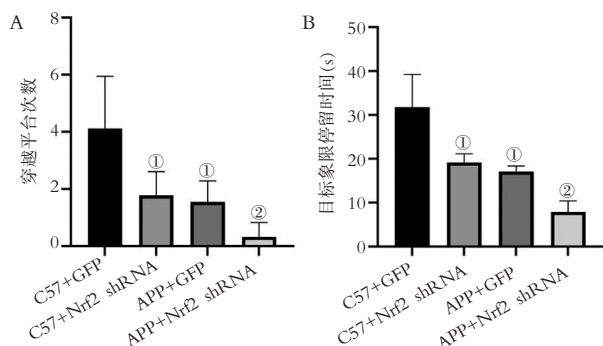


图 2 慢病毒诱导的 Nrf-2 下调加剧了小鼠的认知障碍($n=6$)

A. 穿越移除的平台区域的次数;B. 目标象限中花费的时间。① $P<0.05$,与 C57+GFP 组相比;② $P<0.05$,与 APP+GFP 组相比。

2.3 慢病毒诱导 Nrf2 下调对 GCLC 和 $\text{A}\beta$ 蛋白的影响

与 C57+GFP 组相比,C57+Nrf2 shRNA 组和 APP+GFP 组海马组织中 $\text{A}\beta$ 蛋白含量升高($P<0.05$),且 APP+Nrf2 shRNA 组海马组织中 $\text{A}\beta$ 蛋白含量高于 APP+GFP 组($P<0.05$) (图 3A,C)。免疫组化检测显示,与 C57+GFP 组比较,C57+Nrf2 shRNA 组和 APP+GFP 组海马 $\text{A}\beta$ 阳性面积增加($P<0.05$),且 APP+Nrf2 shRNA 组海马 $\text{A}\beta$

阳性面积大于 APP+GFP 组 ($P < 0.05$) (图 4A-B)。与 C57+GFP 组比较, C57+Nrf2 shRNA 组和 APP+GFP 组海马组织中 GCLC 蛋白含量降低 ($P < 0.05$), 且 APP+Nrf2 shRNA 组海马组织中 GCLC 蛋白含量低于 APP+GFP 组 ($P < 0.05$) (图 3A、D)。

2.4 慢病毒下调 Nrf2 加重突触损伤, 降低 MAP2 含量

免疫荧光结果显示, 与 C57+GFP 组相比, APP+GFP 组海马组织中 MAP2 免疫荧光强度较低 ($P < 0.05$), 提示衰老影响了细胞骨架功能 (图

5A-B)。C57+Nrf2 shRNA 组海马组织中 MAP2 免疫荧光强度低于 C57+GFP 组 ($P < 0.05$), APP+Nrf2 shRNA 组海马组织中 MAP2 免疫荧光强度低于 APP+GFP 组 ($P < 0.05$) (图 5A-B), 提示 Nrf2 下调时神经元的结构完整性明显降低。C57+GFP 组突触前膜、突触后膜及间隙结构清晰, 突触间连接部位明显, 突触小泡数量丰富。C57+Nrf2 shRNA 和 APP+GFP 组突触结构不清, 突触小泡稀疏。APP+Nrf2 shRNA 组突触前膜肿胀、破坏, 突触间隙消失, 提示突触功能较低 (图 6)。

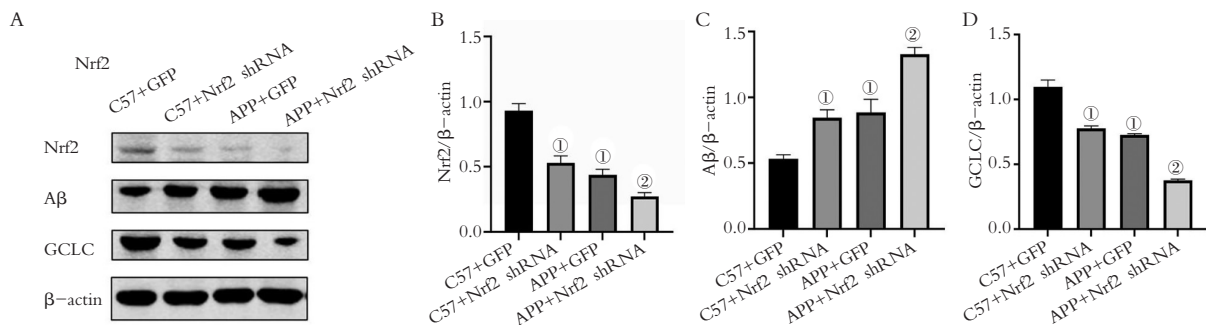


图 3 各组小鼠海马相关蛋白表达 ($n=3$)

A. 各组小鼠海马 Western blot 法检测蛋白条带; B-D. 各组蛋白条带的灰度分析图。

① $P < 0.05$, 与 C57+GFP 组相比; ② $P < 0.05$, 与 APP+GFP 组相比。

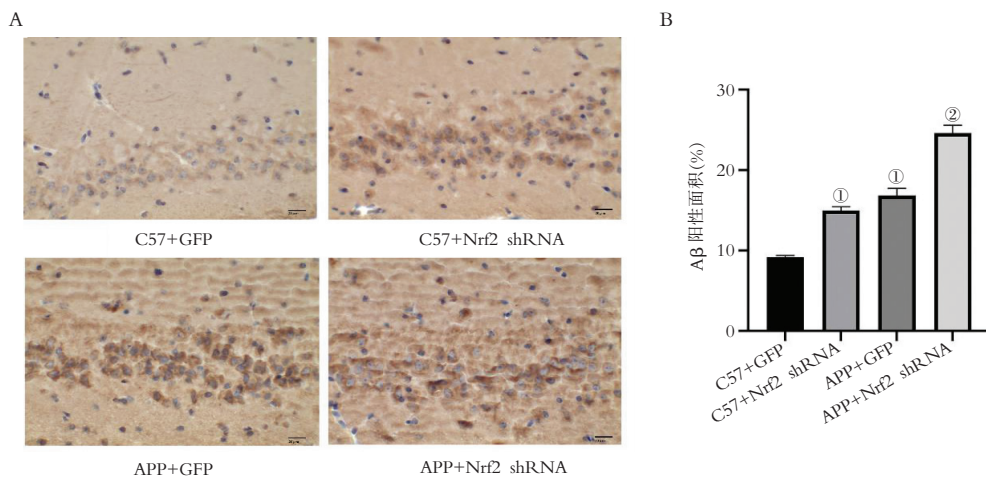


图 4 慢病毒诱导 Nrf2 下调加剧了小鼠海马 A β 蛋白的沉积 ($n=3$)

A. 各组小鼠海马 A β 免疫组化图像; B-D. 各组 A β 阳性面积。

① $P < 0.05$, 与 C57+GFP 组相比; ② $P < 0.05$, 与 APP+GFP 组相比。

3 讨论

AD 是一种常见的、与年龄相关的、不可逆的神经退行性疾病, 其特征是多种认知障碍和记忆丧失^[13]。除了众所周知的 A β 和过度磷酸化的 tau (p-tau) 积累之外, 疾病过程还涉及氧化应激反应、线粒体功能障碍和突触损伤^[14]。尽管分子生物学、遗传学和制药科学取得了许多进展, 但仍然没有有效的药物可以逆转、甚至减缓神经退行性过程。在神经元

中, 突触是信息传递的关键部位, 而氧化应激对突触结构和功能的损伤是多种神经系统疾病 (如阿尔茨海默病、帕金森病等) 的重要病理机制之一^[15]。研究^[16]表明, Nrf2 的激活可以改善 AD 小鼠的认知障碍, 但与其与 GCLC 在突触损伤中的作用机制仍有待研究。因此本研究通过海马注射慢病毒构建 Nrf2 下调的 AD 模型小鼠, 结果发现 Nrf2 下调通过下调 GCLC 蛋白, 加剧了氧化应激反应, 加重 A β 蛋白沉积和突触损伤, 进而加重 AD 小鼠的认知障碍。

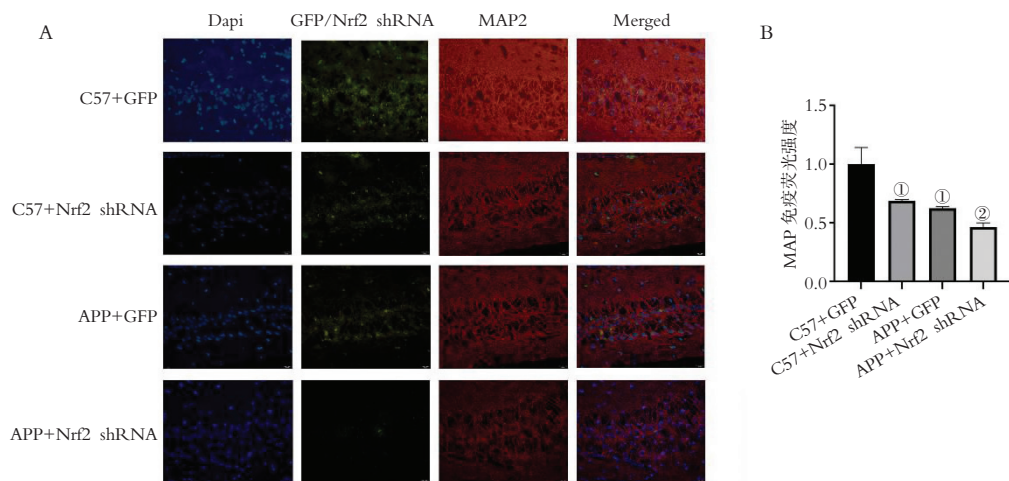


图5 慢病毒诱导的 Nrf2 下调降低了 MAP2 含量($n=3$)

A. 海马中 MAP2 的免疫荧光图像;B. 海马中 MAP2 荧光强度的定量分析。① $P<0.05$,与 C57+GFP 组相比;② $P<0.05$,与 APP+GFP 组相比。

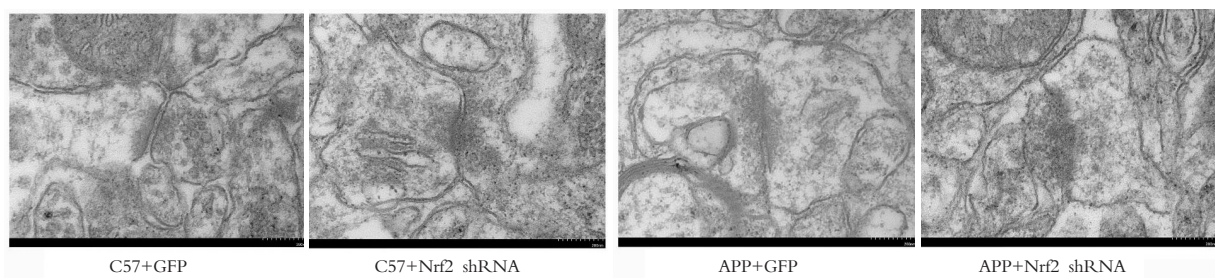


图6 慢病毒诱导的 Nrf2 下调加剧突触损伤($n=3$)

氧化应激是体内氧化与抗氧化系统失衡,导致活性氧(reactive oxygen species,ROS)过度积累,进而引起细胞损伤的过程。大量研究表明,氧化应激在 AD 的发病机制中起着至关重要的作用^[17]。有研究^[18]表明,与正常对照相比,AD 患者血浆中丙二醛(MDA)浓度显著升高,而超氧化物歧化酶(SOD)活性显著降低;此外,荟萃分析显示 AD 和轻度认知障碍患者的循环 MDA 水平均显著高于认知健康者^[19],进一步证实了氧化应激在 AD 发生发展中的作用。AD 患者脑内存在显著的氧化损伤标志物,如脂质过氧化、蛋白质氧化和 DNA 损伤等。这些氧化损伤不仅直接导致神经元死亡,还通过激活炎症反应、促进 β -淀粉样蛋白(A β)沉积和 tau 蛋白过度磷酸化等途径,进一步加剧 AD 的病理进程^[20]。因此,抗氧化应激被认为是预防和治疗 AD 的重要策略之一。

Nrf2 是细胞抗氧化反应的关键调节因子,通过调控抗氧化反应元件(Antioxidant Response Element, ARE)驱动的基因表达,维持细胞内氧化还原平衡^[21]。在 AD 中,氧化应激是导致神经元损伤和认知功能障碍的重要机制之一。GCLC 是谷胱甘肽(GSH)合成的限速酶,其活性直接影响细胞内 GSH 水平^[22]。GCLC 基因的启动子区域包含的 ARE 序

列,是 Nrf2 的特异性结合位点。Nrf2 通过直接调控 GCLC 基因的转录,增强其表达和酶活性,从而维持细胞内抗氧化能力^[23]。在静息状态下,Nrf2 被 KEAP1(Kelch 样 ECH 相关蛋白 1)结合并泛素化降解。当细胞暴露于 ROS 或亲电化合物时,KEAP1 的半胱氨酸残基被修饰,导致 Nrf2 释放并转移至细胞核,启动 GCLC 等靶基因的转录^[24]。本研究结果证明了 AD 脑组织发生氧化应激时中 Nrf2 可以调节 GCLC,进而调节机体的抗氧化应激能力。

神经认知系统是一个复杂的系统,需要神经信号的正常动力学和数亿个神经元的突触连接才能正常运作,故认知功能障碍与突触完整性密切相关。神经元突触膜富含多不饱和脂肪酸,这些脂肪酸对 ROS 高度敏感。ROS 攻击脂肪酸会引发脂质过氧化反应,生成脂质过氧化物,导致突触膜结构紊乱,影响膜流动性,从而损害突触功能^[25]。此外,ROS 可以直接氧化突触中的关键蛋白质,导致其结构和功能异常^[26]。本研究中,与对照组相比,AD 模型小鼠 A β 蛋白增加,突触损伤和认知障碍更严重。慢病毒下调 Nrf2 后,A β 蛋白增加,突触损伤和认知障碍加重。

综上,慢病毒下调的 Nrf2 通过下调 GCLC,加

重了氧化应激反应,加重了 A β 蛋白的沉积和神经突触的损伤。

参考文献

- [1] 王刚,齐金蕾,刘馨雅,等. 中国阿尔茨海默病报告 2024[J]. 诊断学理论与实践,2024,23(3):219-256.
- [2] Nasb M, Tao W, Chen N. Alzheimer's disease puzzle: delving into pathogenesis hypotheses[J]. Aging and Disease, 2023, 15: 43-73.
- [3] 刘雨辉,卜先乐,马辛,等. 阿尔茨海默病药物治疗指南[J]. 阿尔茨海默病及相关病,2025,8(1):8-16.
- [4] George M, Tharakan M, Culbertson J, et al. Role of Nrf2 in aging, Alzheimer's and other neurodegenerative diseases [J]. Ageing Research Reviews, 2022, 82: 101756.
- [5] 任慧玲,罗伟刚,陈鹤群,等. 电针激活 Nrf2/ γ -GCS 通路改善大鼠脑出血急性期脑损伤的研究[J]. 河北中医药学报, 2024, 39(3): 36-41.
- [6] Uruno A, Yamamoto M. The KEAP1-NRF2 system and neurodegenerative diseases[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2023, 38(13-15): 974-988.
- [7] Ramsey CP, Glass CA, Montgomery MB, et al. Expression of Nrf2 in neurodegenerative diseases[J]. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 2007, 66(1): 75-85.
- [8] Cheng M, Yuan C, Ju Y, et al. Quercetin attenuates oxidative stress and apoptosis in brain tissue of APP/PS1 double transgenic AD mice by regulating Keap1/Nrf2/HO-1 pathway to improve cognitive impairment [J]. Behavioural Neurology, 2024, 2024(1): 5698119.
- [9] Song M, Zhang S, Yu W, et al. Gomisins N rescues cognitive impairment of Alzheimer's disease by targeting GSK3 β and activating Nrf2 signaling pathway[J]. Phytomedicine, 2024, 132: 155811.
- [10] Lee YH, Kim SH, Lee S, et al. Antioxidant effect of barley sprout extract via enhancement of nuclear factor-erythroid 2 related factor 2 activity and glutathione synthesis[J]. Nutrients, 2017, 9(11): 1252.
- [11] Chaopreecha J, Phueakphud N, Suksatu A, et al. Andrographolide attenuates SARS-CoV-2 infection via an up-regulation of glutamate-cysteine ligase catalytic subunit (GCLC) [J]. Phytomedicine, 2025, 136: 156279.
- [12] Mao JQ, Cheng L, Zhang YD, et al. Chinese formula Guben-Jiannao Ye alleviates the dysfunction of circadian and sleep rhythms in APP/PS1 mice implicated in activation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 335: 118696.
- [13] 林璐,马辛,王刚,等. 中国阿尔茨海默病早期预防指南(2024) [J]. 阿尔茨海默病及相关病, 2024, 7(3): 168-175.
- [14] Pradeepkiran JA, Reddy PH. Defective mitophagy in Alzheimer's disease[J]. Ageing Research Reviews, 2020, 64: 101191.
- [15] Connor SA, Siddiqui TJ. Synapse organizers as molecular codes for synaptic plasticity[J]. Trends in Neurosciences, 2023, 46(11): 971-985.
- [16] She L, Sun J, Xiong L, et al. Ginsenoside RK1 improves cognitive impairments and pathological changes in Alzheimer's disease via stimulation of the AMPK/Nrf2 signaling pathway[J]. Phytomedicine, 2024, 122: 155168.
- [17] 鲁西,骆晓峰,宋毓,等. 阿尔茨海默病发病机制的研究进展 [J]. 国际老年医学杂志, 2024, 45(5): 619-623.
- [18] Nie Y, Chu C, Qin Q, et al. Lipid metabolism and oxidative stress in patients with Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment [J]. Brain Pathology, 2024, 34(1): e13202.
- [19] Zoroddu S, Sedda S, Mangoni AA, et al. Malondialdehyde in cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis [J]. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 2026, 181: 106531.
- [20] Praticò D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2008, 29(12): 609-615.
- [21] Kaundal RK, Datusalia AK, Sharma SS. Posttranscriptional regulation of Nrf2 through miRNAs and their role in Alzheimer's disease [J]. Pharmacological Research, 2022, 175: 106018.
- [22] Liu J, Tang H, Chen F, et al. NFE2L2 and SLC25A39 drive cuproptosis resistance through GSH metabolism [J]. Scientific Reports, 2024, 14: 29579.
- [23] Qu L, Ji L, Wang C, et al. Synthesis and evaluation of multi-target-directed ligands with BACE-1 inhibitory and Nrf2 agonist activities as potential agents against Alzheimer's disease [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 219: 113441.
- [24] Yamamoto M, Kensler TW, Motohashi H. The KEAP1-NRF2 system: a thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis[J]. Physiological Reviews, 2018, 98(3): 1169-1203.
- [25] Butterfield DA, Halliwell B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease [J]. Nature Reviews Neuroscience, 2019, 20(3): 148-160.
- [26] Stadtman ER. Protein oxidation and aging[J]. Science, 1992, 257(5074): 1220-1224.

(收稿日期: 2025-09-07

修回日期: 2026-03-28)