

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.22.003

通天草提取物对 A β 损伤 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞的保护作用及代谢组学研究*

董晓红^{1,2} 刘斌¹ 姚壮¹ 刘海洋¹ 张艳¹ 周忠光^{2 Δ}

(1 黑龙江中医药大学佳木斯学院 黑龙江 佳木斯 154007; 2 黑龙江中医药大学 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要 目的:采用代谢足迹技术探讨通天草提取物对 A β 损伤 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞的保护作用及其代谢机制。**方法:**采用 MTT 法测定细胞增殖率测定 A β 损伤 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞的细胞增殖情况,在此基础上首次采用代谢足迹技术评价通天草提取物的疗效。聚焦关键代谢通路及相关代谢靶标,阐明其 A β 损伤 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞的发病机制和通天草提取物的作用机制。**结果:**MTT 法测定细胞增殖率结果 A β 损伤 SAMP8 小鼠的原代海马神经元细胞的细胞活力明显减少,经代谢足迹技术研究发现,与同窝野生小鼠相比,A β 损伤 SAMP8 小鼠的原代海马神经元细胞代谢异常主要集中在与神经细胞相关的叶酸代谢和牛磺酸代谢上,经高通量质谱解析及文献数据库检索确定了 3 个差异代谢物,分别是 L- 磺基丙氨酸(L-Cysteic acid)、二氢叶酸(Dihydrofolate)、分支酸(Chorismate),这些小分子代谢产物经通天草提取物干预后有明显的回调趋势。**结论:**通天草提取物对 A β 损伤 SAMP8 小鼠的原代海马神经元细胞具有一定程度的治疗作用,本次发现的 3 个生物标记物可能是 A β 损伤 SAMP8 小鼠的原代海马神经元细胞发病机制的潜在靶点,给予通天草提取物后这些标记物呈不同程度的回调趋势,为通天草提取物治疗阿尔兹海默病提供实验依据。

关键词:通天草;SAMP8 小鼠;免疫组织化学染色方法;代谢足迹;潜在靶点

中图分类号:R-33; Q421; R749.16 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)22-4213-04

Study of Waternut Herb Extract on A β SAMP8 Damage of Mouse Hippocampal neurons and the Protective Effect of Metabolomic Study*

DONG Xiao-hong^{1,2}, LIU Bin¹, YAO Zhuang¹, LIU Hai-yang¹, ZHANG Yan¹, ZHOU Zhong-guang^{2 Δ}

(1 Jiamusi College, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Jiamusi, Heilongjiang, 154007, China;

2 Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, 150040, China)

ABSTRACT Objective: To study the metabolic mechanism of protective effect of waternut herb extract on primary A β SAMP8 damage of mouse hippocampal neurons by metabolic footprinting. **Methods:** MTT assay was used to determine the proliferation of primary hippocampal neurons in SAMP8 mice with A β damage, the effect for the first time on the basis of metabolic footprinting evaluation waternut herb extract. Focus on key metabolic pathways and related metabolic targets, mechanism of primary A β SAMP8 damage of mouse hippocampal neurons and pathogenesis of waternut herb extract. **Results:** MTT assay was used to measure the rate of cell proliferation. The results showed that the cell viability of the primary hippocampal neurons was significantly decreased in the A β SAMP8 mice. The study found that metabolic footprinting, compared with littermate wild-type mice, neuronal cell metabolism A β SAMP8 damage of mouse anomalies mainly concentrated in the metabolism of folic acid and taurine metabolism associated with nerve cells, by high-throughput mass spectrometric analysis and literature database retrieval to determine the 3 differential metabolites, respectively is L- disodoum alanine (L-Cysteic acid), dihydrofolate (Dihydrofolate), acid (Chorismate), the branch of small molecule metabolites through extract intervention after Amakusa callback trend obviously. **Conclusion:** the therapeutic effect of waternut herb extract on A β SAMP8 damage of mouse primary hippocampal neurons to a certain extent, 3 biomarkers of this discovery may be a potential target of A β SAMP8 damage of mouse primary hippocampal neurons in the pathogenesis of waternut herb extract, given after these markers were callback trend in different degree, suggesting that waternut herb extract could regulate metabolism related enzymes and metabolic pathways to protect the purpose, to provide the experimental basis for the treatment of Alzheimer's disease waternut herb extract.

Key words: Waternut herb; SAMP8 mice; Immunohistochemistry; Metabolic footprinting; Potential target

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q421; R749.16 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)22-4213-04

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81373777,81173599)

作者简介:董晓红(1974-),副教授,博士研究生,主要从事中医药防治老年痴呆及风湿性关节炎方法的研究

Δ 通讯作者:周忠光(1957-),教授,博士研究生导师,博士,主要从事中医药防治老年痴呆的研究工作

(收稿日期:2017-01-17 接受日期:2017-02-13)

前言

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种进行性神经退行性疾病,随着全球老龄化趋势的加剧,AD 的患病人口目前正不断攀升,其发病机制尚不完全明确,且没有对 AD 具有明确治疗作用的相关药物。研究表明 β 淀粉样蛋白沉积所致的淀粉样斑块和由 tau 蛋白过度磷酸化形成的神经元纤维缠结是 AD 患者两大标志性病理特征。针对此特异性的病理特点,AD 的建模方式可分为细胞模型和动物模型两种,转基因模型是动物模型中应用较为广泛、认可度较高的模型, SAMP8 (ASM-Prone8) 小鼠是由日本京都大学培育的优秀稳定的近交系衰老模型小鼠,其表现为学习记忆能力随年龄增长而加速衰老和中枢神经病变等特点^[1-3]与 AD 的临床表现极为相近,是 AD 研究的首选模型动物之一^[4-6]。本研究采用基于高通量的代谢足迹技术聚焦 A β 损伤 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞的代谢轮廓及代谢途径,同时给予通天草提取物进行干预^[7-9],旨在为通天草治疗 AD 的相关药物研究提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

通天草药材购于北京同仁堂制药集团哈尔滨药店,经黑龙江中医药大学陈孝忠副教授鉴定为正品;A β 损伤 SAMP8 小鼠的原代海马神经元细胞及同窝野生小鼠原代海马神经元细胞(天津中医学院第一附属医院提供)。

1.2 仪器和试剂

Agilent 6470A Triple Quadrupole 质谱仪(美国安捷伦公司);AZ3102 分析天平(赛多利斯艾科勒);KS50R 台式高速冷冻离心机(上海赵迪生物科技有限公司);FLOM 实验室超纯水机(中国 FLOM 公司);MK3 型酶标仪(上海热电仪器有限公司)。

1.3 通天草提取物溶液及其他药液的制备

精密称定通天草药材 100 g,以 1000 mL 的 80 %乙醇溶液浸泡 1 h,再次加入 10 倍量的 80 %乙醇溶液,加热回流 3 h,6 层纱布过滤后,滤液减压浓缩。合并浓缩液于蒸发皿中,水浴 80 °C 蒸干放入干燥箱,40 °C 干燥得干膏,冻干成粉备用,给药组剂量为 10 μ g/mL。

DMEM 完全培养液由 89 %DMEM 无血清培养基、10 %胎牛血清和 1 %双抗组成,配好的 DMEM 完全培养液密封置 4 °C 保存待用;PBS 缓冲液置于 500 mL 瓶中,高压蒸汽灭菌 10 min,4 °C 保存待用。

1.4 细胞培养

将 A β 损伤 SAMP8 小鼠的原代海马神经元细胞及同窝野生小鼠原代海马神经元细胞置于 3 mL、37 °C 的 DMEM 完全培养基中,离心(4 °C、1000 rpm、3 min),弃掉上清,以 1 mL 的 DMEM 完全培养基轻轻吹打混匀细胞,以 5×10^5 个细胞/mL 密度接种于 25 cm² 培养瓶中,置于 37 °C、5 %CO₂、饱和湿度细胞培养箱中培养。

1.5 样品采集与制备

选取对数生长期细胞,经消化离心,弃去上清液得到细胞沉淀物,以 DMEM 完全培养基混匀至混悬液,以 2×10^4 个细

胞/mL 密度接种于 96 孔培养板上,将其置于细胞培养箱汇中培养。孵育 4 h 后取出,吸去上清液加入 150 μ L 二甲基亚砜,37 °C 震荡 10 min,使蓝紫色甲臌结晶充分溶解,进行吸光度值的测定。用 MK3 型自动酶标仪检测 570 nm 下的吸光度值,每组设置六个平行样本,每个样本测定 3 次后取平均值。按公式 1 计算细胞增殖率。PR%(细胞增殖率)=实验组 OD₅₇₀ 值 / 空白组 OD₅₇₀ 值 $\times$ 100%(公式 1)。

取 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞,接种于 96 孔培养板,培养 48 小时后更换不含血清的培养基,每孔取出 200 μ L 的细胞培养液加入 800 μ L 的冷甲醇淬灭,震荡 5 min,离心(4 °C、10000 rpm、10 min),取上清液 400 μ L,置 -80 °C 冻存备用。贴壁的细胞用预冷 4 °C 的磷酸盐缓冲液(PBS)溶液清洗 2 遍后,用细胞刮刀刮下细胞置于 EP 管中,离心取上清液,用预冷磷酸盐缓冲液(PBS)液清洗 1 次后,加入 1 mL 的冷甲醇溶液,涡漩,冰浴条件下于超声破碎仪中破碎细胞(20 W、3 min),离心(4 °C、10000 rpm、10 min)取上清液 100 μ L 供代谢组学分析。

1.6 分析条件

质谱条件:采用电喷雾离子源(ESI),ESI+ 模式下毛细管电压设定为 2.8 KV,锥孔电压设定为 28 V;脱溶剂气温度设定为 330 °C;脱溶剂气流量设定为 800 L/h;ESI- 模式下毛细管电压设定为 2.5 KV,脱溶剂气温度设定为 310 °C;脱溶剂气流量设定为 750 L/h;采用全扫描模式采集。

1.7 统计学分析与潜在生物标记物筛选

采用 SPSS 22.0 进行统计学分析,对空白组和模型组的质谱信号进行统计分析,P<0.05 为显著性差异,P<0.01 为极显著差异。代谢组学数据预处理部分采用 XCMS-online(美国 Scripps 公司)平台进行分析,将预处理的结果进行模式识别分析,以筛选差异离子,通过第三方数据库及数据检索系统确定潜在生物标记物。

2 结果

2.1 SAMP8 小鼠与野生小鼠原代海马神经元细胞的细胞增殖情况比较

与同窝野生小鼠原代海马神经元细胞的细胞相比, SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞的细胞增殖率明显降低,而通天草提取物可提高 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞的细胞增殖率(P<0.05),见表 1。

2.2 代谢组学研究

以超高分辨质谱采集小鼠代谢轮廓数据,经 XCMS-Online 数据预处理平台处理后,导出各项数据矩阵,进行模式识别分析及数据统计学分析。从主成分 PCA 得分图中可以看出组间聚类明显(图 1),空白组和模型组组间分离明显,这可能是由于模型组细胞的代谢发生代谢异常所致,由此推断模型组细胞发生了显著变化,可能与 AD 的发展过程密切相关。给药组处于空白组和模型组间,直观可以看到给药组的代谢轮廓靠近向空白组,证明通天草水提取物对模型组小鼠具有一定的治疗作用,使其向空白组发展。

采用有监督的正交偏最小二乘判别分析可知获取空白组和模型组组间对代谢轮廓贡献明显的差异离子作为潜在生物标记物(图 2)。选取重要变量投影值大于 2,且距离远点较远的

表 1 SAMP8 小鼠与野生小鼠原代海马神经元细胞的细胞增殖情况比较

Table 1 Comparison of the proliferation of primary hippocampal neurons from SAMP8 mice and wild type mice

Groups	Absorbance	Cell proliferation rate
Control group	0.311± 0.033	100± 8.28
Model group	0.133± 0.111	60± 5.19
Administration group	0.215± 0.392 [#]	80± 2.85 [#]

注:与空白组对比, $P<0.01$, $P<0.05$;与模型组比, $^{##}P<0.01$, $^{*}P<0.05$ 。

Note: compared with control group, $P<0.01$, $P<0.05$; compared with model group, $^{##}P<0.01$, $^{*}P<0.05$ 。

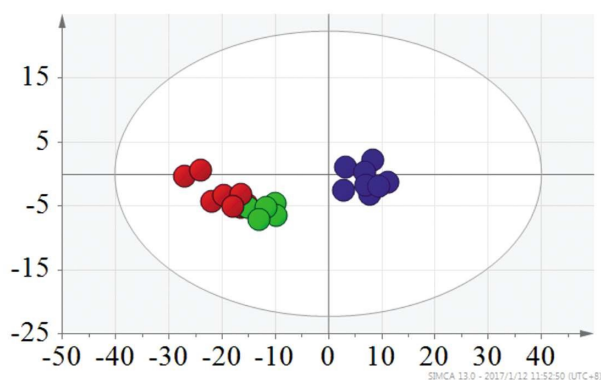


图 1 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞代谢 PCA 得分图

● 空白组 ● 模型组 ● 给药组

Fig.1 PCA score of primary hippocampal neurons in SAMP8 mice

● Control group ● Model group ● Administration group

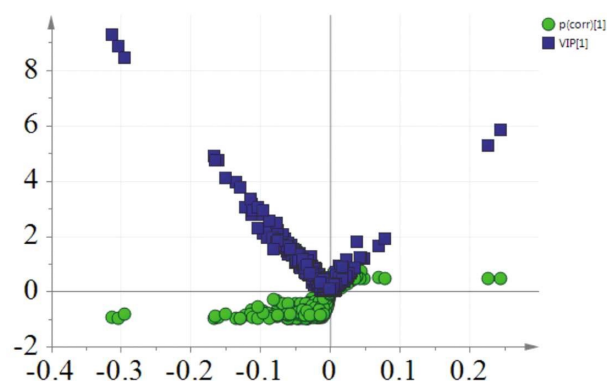


图 2 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞 VIP-S 分析

■ VIP ● S 图

Fig. 2 VIP-S plot of primary hippocampal neurons in SAMP8 mice

■ VIP ● S-plot

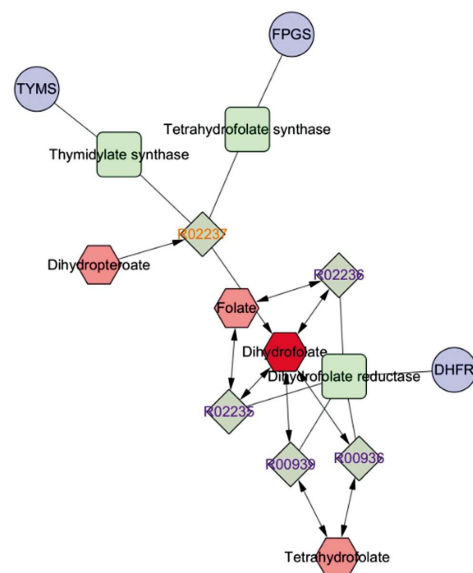


图 3 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞代谢网络分析图

Fig. 3 Metabolic network analysis of primary hippocampal neurons in SAMP8 mice

离子作为差异离子,进一步通过相关数据库检索进行比对,最终鉴定 3 个离子作为 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞学习记忆功能的潜在生物标记物,并由此构建 SAMP8 小鼠原代海马神经元细胞代谢的网络分析图(图 3)。

3 讨论

阿尔兹海默病是一类严重威胁人类健康的疾病,其发病机制复杂,针对其病理表象,主要提出的发病假说有与 $A\beta$ 淀粉蛋白沉积、氧化应激、炎症反应和 Tau 蛋白异常磷酸化等有关^[10-13]。目前,针对 AD 的治疗药物种类繁多,但具有明确疗效的药物还未知,因此亟待开发和解决对其治疗的有效药物。近年

来,中医药在多成分、多靶点治疗复杂疾病方面效果明显,为新药研发及多成分多靶点治疗提供了依据^[14-16]。

通天草为莎草科荸荠属植物荸荠的地上部分,具有清热解毒,利尿,降逆之功效。研究显示其对神经系统疾病,特别是阿尔兹海默病有很好的治疗作用,国内外学者通过对AD临床或动物模型的研究发现其针对发病假说的典型病理状态有很好的缓解和回调作用,但基于高通量代谢组学的研究未见报道。本研究基于非靶向的代谢轮廓技术对其进行发病机制的深入挖掘和对通天草干预作用药效进行评价,以期阐明通天草的作用机制。

近年来研究发现,AD的发病机制与牛磺酸和亚牛磺酸代谢密切相关^[17-20],在人体代谢中,牛磺酸参与多条代谢通路,是多个代谢通路汇集的重要节点,如牛磺酸和亚牛磺酸代谢、初级胆汁酸代谢、硫代谢、转运蛋白代谢、神经活性的配体-受体相互作用等。普遍认为牛磺酸有改善记忆能力的作用,同时牛磺酸又是连接诸多关键蛋白转化的节点,如L-半胱氨酸、丙氨酸和参与能量代谢的2-氧化戊二酸等。其含量及代谢的异常都会导致一些列代谢通路的代谢异常,进而产生不同类的疾病。近年来由不同致病诱导的AD动物模型研究中,牛磺酸代谢都得到了很好的应征,这表明牛磺酸代谢在AD发病过程中的特异性,为阿尔兹海默病的发病机制研究提供聚焦分析思路。值得注意的是牛磺酸与亚牛磺酸代谢通路中涉及与脑部疾病密切先关的代谢酶,即谷氨酸脱羧酶,由于此代谢酶的活性异常将有可能导致临床常见的大脑性麻痹症状的发生,此代谢酶可能与AD的发生密切相关,通过给予通天草提取液后发现牛磺酸代谢恢复正常,提示通天草通过调节改代谢通路间接达到缓解和治疗AD的作用。

本次通过代谢组学技术发现的核心生物标记物及相关代谢通路主要涉及牛磺酸代谢和叶酸代谢。前者代谢过程中涉及与脑部疾病密切先关的代谢酶,即谷氨酸脱羧酶、由于此代谢酶的活性异常将有可能导致临床常见的大脑性麻痹症状的发生。同时叶酸代谢是与神经系统直接相关的代谢,因而新生几体内叶酸代谢极为活跃,脑部神经发育较其他时期速度更快。通过对两个代谢通路的分析,可以间接获取AD的发病过程与此密切先关,为其发病机制的聚焦研究提供新思路。

参考文献(References)

- [1] 王冬梅. EGCG对SAMP8鼠原代海马神经元的保护作用[D]. 河北师范大学, 2011
Wang Dong-mei. Neuroprotective effects of Epigallocatechin-3-gallate on primary neurons of SamP8 mice [D]. Hebei Normal University, 2011
- [2] 张琴. 可穿膜重组TAT-tCNTF的透膜机制及对A β 损伤小鼠的作用机制研究[M]. 军事医学科学院, 2014
Zhang Qin. Study of Transmembrane Mechanism of Transducible TAT-tCNTF and Effect of TAT-tCNTF on Mice Injured by A β [M]. Academy of military medical sciences, 2014
- [3] 李宝龙. 通天草提取物对 β -淀粉样蛋白诱导的AD大鼠的保护作用及分子机制研究[D]. 黑龙江中医药大学, 2012
Li Bao-long. The protective effectiveness of waternut herb extracts on the Alzheimer's disease (AD) induced by b-amyloid protein (AB) and

the molecular mechanisms in rats [D]. Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2012

- [4] 刘旭. 通天草提取物对AD大鼠NF- κ B信号通路相关蛋白表达影响的实验研究[D]. 黑龙江中医药大学, 2012
Liu Xu. The experimental study on the effects of waternut herb extract on NF- κ B signal pathway and related protein expression of AD rats [D]. Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2012
- [5] 马芹颖. 快速老化小鼠SAMP8老化过程中自噬的改变以及mTOR信号通路功能研究[D]. 河北医科大学, 2011
Ma qin-ying. The autophagy alterations and function of mTOR signaling in the aging process of senescence accelerated mouse prone 8 [D]. Hebei medical University, 2011
- [6] 姜波, 焦月华, 吴娟, 等. 通天草胶囊对AD大鼠的学习保护作用以及对血清中A β 1-40调节作用机制[J]. 科技创新与应用, 2014, (5): 284
Jiang bo, Jiao yue-hua, Wu juan, et al. Study the protective effect of waternut herb capsule on AD rats and on serum A 1-40 regulation mechanism [J]. Science and technology innovation and Application, 2014, (5): 284
- [7] 周天, 费洪新, 田冰, 等. 通天草水提物对APP/PS1双转基因小鼠学习记忆及海马IL-1 β 和TNF- α 水平影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, (3): 10-14
Zhou Tian, Fei Hong-xin, Tian bing, et al. Effects of Aqueous Extract from Waternut Herb on Learning and Memory Ability and Interleukin-1 β and Tumor Necrosis Factor- α of Hippocampal in APP/PS1 Double Transgenic Mice [J]. Journal of Liaoning University of TCM, 2016, (3): 10-14
- [8] 杜徽, 费洪新, 张英博, 等. 通天草水提物对阿尔茨海默病小鼠海马白介素-1 β 水平的影响[J]. 黑龙江科学, 2015, (1): 14-15
Du wei, Fei Hong-xin, Zhang Ying-bo, et al. Effects of aqueous extract from waternut herb on Interleukin-1 β of Hippocampal Alzheimer's disease mice [J]. Heilong jiang Science, 2015, (1): 14-15
- [9] 邱文兴, 贾博宇, 刘永武, 等. 通天草提取物对A β (1-40)所致AD大鼠血清与海马组织中细胞因子含量的影响[J]. 中医药信息, 2012, 29(2): 24-25
Qiu Wen-xing, Jia bo-yu, Liu Yong-wu, et al. Effect of Extracts from Waternut Herb on Cytokines of AD Rats Induced by A β 1-40 [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2012, 29(2): 24-25
- [10] 贾博宇, 韩玉生, 赵雪莹, 等. 通天草提取物对AD大鼠海马区5-HT蛋白表达的影响[J]. 中医药信息, 2013, 30(4): 27-29
Jia Bo-yu, Han yu-sheng, Zhao xue-ying, et al Expression of 5-HT protein in hippocampus of waternut herb extract on AD rats [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2013, 30(4): 27-29
- [11] 贾博宇, 姜波, 李宝龙, 等. 通天草提取物对AD大鼠行为学的影响[J]. 黑龙江科学, 2013, (1): 51-54
Jia Bo-yu, Jiang Bo, Li Bao-long, et al. Babel Grass Extract AD Rat Behavior [J]. Heilong jiang Science, 2013, (1): 51-54
- [12] 李宝龙, 单毓娟, 刘旭, 等. 通天草提取物对阿尔茨海默病大鼠脑氧化性损伤的保护作用[J]. 中医药信息, 2012, 29(4): 24-27
Li Bao-long, Shan min-juan, Liu xu, et al. Protective Effect of Extracts from Waternut Herbs on Cerebral Oxidative Damage of Rats with Alzheimer's Disease [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2012, 29(4): 24-27

- [7] Elidrisi Errahhali M, Elidrisi Errahhali M. First report on molecular breast cancer subtypes and their clinico-pathological characteristics in Eastern Morocco: series of 2260 cases [J]. BMC Womens Health, 2017, 17(1): 3
- [8] Ye LL. Professor I. Craig Henderson: triple negative breast cancer is most chemo-sensitive of all subtypes of cancer [J]. Chin Clin Oncol, 2016, 5(6): 84
- [9] Hsu HC, Liu LC, Wang HY, et al. Stromal Fibroblasts from the Interface Zone of Triple Negative Breast Carcinomas Induced Epithelial-Mesenchymal Transition and its Inhibition by Emodin[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0164661
- [10] Zhang Chong-jian, Qin Li, Wang Lu, et al. Effects and prognostic factors of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer [J]. Chinese Journal of Geriatrics, 2016, 36(3): 636-637
- [11] Wright N, Xia J, Cantuaria G, et al. Distinctions in Breast Tumor Recurrence Patterns Post-Therapy among Racially Distinct Populations[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0170095
- [12] Li ML, Dong Y, Luan SL, et al. Changes of expression of estrogen and progesterone receptors, human epithelial growth factor receptor 2 and Ki-67 after neoadjuvant chemotherapy in the treatment of breast cancer[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2016, 30(4): 1059-1065
- [13] Sivasanker M, Sistla SC, Manwar SA, et al. Clinical and pathologic response following taxane based neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer patients in a tertiary care centre in India[J]. Indian J Cancer, 2016, 53(2): 220-225
- [14] Makhoul I, Todorova VK, Siegel ER, et al. Germline Genetic Variants in TEK, ANGPT1, ANGPT2, MMP9, FGF2 and VEGFA Are Associated with Pathologic Complete Response to Bevacizumab in Breast Cancer Patients[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0168550
- [15] Ilgun S, Sarsenov D, Erdogan Z, et al. Receptor discordance rate and its effects on survival in primary and recurrent breast cancer patients [J]. J BUON, 2016, 21(6): 1425-1432
- [16] Li W, Arasu V, Newitt DC, et al. Effect of MR Imaging Contrast Thresholds on Prediction of Neoadjuvant Chemotherapy Response in Breast Cancer Subtypes: A Subgroup Analysis of the ACRIN 6657/I-SPY 1 TRIAL[J]. Tomography, 2016, 2(4): 378-387
- [17] Shin GW, Park YM, Yoon HK, et al. Increased Malignant Microcalcifications after Neoadjuvant Chemotherapy in Advanced Breast Cancer[J]. J Breast Cancer, 2016, 19(4): 459-464
- [18] Chang JH, Jeon W, Kim K, et al. Prognostic Significance of Inner Quadrant Involvement in Breast Cancer Treated with Neoadjuvant Chemotherapy[J]. J Breast Cancer, 2016, 19(4): 394-401
- [19] Lee C, Park S, Kim JH, et al. Expression of T-Lymphocyte Markers in Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer[J]. J Breast Cancer, 2016, 19(4): 385-393
- [20] Wu J, Gong G, Cui Y, et al. TU-D-207B-05: Intra-Tumor Partitioning and Texture Analysis of DCE-MRI Identifies Relevant Tumor Subregions to Predict Early Pathological Response of Breast Cancer to Neoadjuvant Chemotherapy[J]. Med Phys, 2016, 43(6): 3751

(上接第 4216 页)

- [13] 沈宁, 葛鹏玲, 代巧妹. 通天草提取物对阿尔茨海默氏病转基因小鼠认知功能的改善作用[J]. 中医药学报, 2015, (2): 55-58
Shen Ning, Ge Peng-ling, Dai Qiao-mei. Effects of Extracts from Waternut Culm on the Cognitive Function of Alzheimer's Disease Transgenic Mice[J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2015, (2): 55-58
- [14] 李林, 孙超, 郭家, 等. 通天草提取物对大鼠肝纤维化的影响和机制[J]. 中国老年学, 2016, 36(7): 1537-1539
Li Lin, Sun Chao, Guo Jia, et al. Effect of Aqueous extract from Waternut herb on liver fibrosis rats and its mechanism [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2016, 36(7): 1537-1539
- [15] 贾博宇, 刘旭, 孔令超, 等. 通天草提取物对大鼠局灶性脑缺血模型的影响[J]. 中医药学报, 2012, 40(3): 41-43
Jia Bo-yu, Liu Xu, Kong Ling-chao, et al. Effect of Extracts from Waternut Herb on MCAO Rats [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2012, 40(3): 41-43
- [16] 魏铁花, 李宝龙, 刘旭, 等. 通天草提取物对拟阿尔茨海默氏病模型大鼠学习记忆能力及其海马区组织相关蛋白表达的影响[J]. 吉林中医药, 2013, 33(2): 179-181
Wei Tie-hua, Li Bao-long, Liu Xu, et al. Effect of waternut herb extract on the expression of the Alzheimer's disease model rats learning and memory ability and hippocampus related protein[J]. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 33(2): 179-181
- [17] Hye Y K, Hyunjin Y K, Jin H Y, et al. Taurine in drinking water recovers learning and memory in the adult APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease[J]. Sci Rep, 2014, 4(7): 7467
- [18] Chu H, Zhang A, Han Y, et al. Metabolomics approach to explore the effects of Kai-Xin-San on Alzheimer's disease using UPLC/ESI-Q-TOF mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1015-1016: 50-61
- [19] 初航, 卢盛文, 孔玲, 等. 基于中医方证代谢组学的开心散干预老年痴呆症大鼠的效应物质动态分析 [J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2016, 18(10): 1653-1669
Chu Hang, Lu Sheng-wen, Kong ling, et al. Dynamic Analysis of the Effects of Pharmacodynamic Constituents of Kai Xin San on Alzheimer's Disease Rats Based on Chinmedomics[J]. World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2016, 18(10): 1653-1669
- [20] Omura Y, Lu D, Jones MK, et al. Early Detection of Autism (ASD) by a Non-invasive Quick Measurement of Markedly Reduced Acetylcholine & DHEA and Increased β -Amyloid (1-42), Asbestos (Chrysotile), Titanium Dioxide, Al, Hg & often Coexisting Virus Infections (CMV, HPV 16 and 18), Bacterial Infections etc. in the Brain and Corresponding Safe/Individualized Effective Treatment [J]. Acupunct Electrother Res, 2015, 40(3): 157-187