

网络出版时间:2021/12/22 15:41 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20211221.1001.019.html

6-姜酚通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路对 A β 诱导的 AD 大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症的影响

李 交¹, 肖友元¹, 谢 沁¹, 马天蓉¹, 李剑萍¹, 段 俊¹, 苏 懋²

摘要 目的 探究 6-姜酚通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路对 β -淀粉样蛋白(A β)诱导的阿尔茨海默病(AD)大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症的影响。方法 通过在大鼠双侧大脑的海马体注射 A β 构建 AD 大鼠模型。大鼠被随机分为 6 组:对照组、模型组、低剂量 6-姜酚组(50 mg/kg)、中剂量 6-姜酚组(75 mg/kg)、高剂量 6-姜酚组(100 mg/kg)和阳性对照组(盐酸多尼哌齐 0.9 mg/kg)。通过神经损伤评分评估大鼠神经损伤程度,干/湿法检测脑含水量,HE 染色检测海马体组织学损伤程度。流式细胞术和 TUNEL 染色检测海马体细胞凋亡。ELISA 检测 iNOS、IL-6、TNF- α 、SOD、GSH-Px 和 MDA 的蛋白水平。其中 qRT-PCR 和 Western blot 检测 Wnt 和 β -catenin 的 mRNA 和蛋白相对表达量。结果 与模型组相比,在 6-姜酚治疗后,神经损伤评分降低,脑含水量减少,细胞凋亡率降低,促炎细胞因子 iNOS、IL-6 和 TNF- α 的

表达量下调,SOD 和 GSH-Px 的蛋白含量上调,而 MDA 蛋白含量下调。Wnt 和 β -catenin 的 mRNA 和蛋白相对表达量均上调。结论 6-姜酚通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路缓解 AD 大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症。

关键词 6-姜酚;AD 大鼠模型;细胞凋亡;氧化应激;神经炎症;Wnt/ β -catenin 信号通路

中图分类号 R 742

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)01-0095-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.018

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是世界范围内导致痴呆的最常见原因,部分原因是世界人口老龄化。这种神经退行性疾病有两个典型的临床特征:记忆丧失和认知障碍。AD 的主要病理特征是淀粉样蛋白斑块沉积和过度磷酸化的 tau 蛋白神经原纤维缠结、细胞凋亡、自噬功能障碍、神经炎症、氧化应激和线粒体功能障碍^[1]。尽管 AD 带来了重大的公共健康问题,但目前仅有 5 种药物被批准用于治疗 AD,而这些药物的作用是控制症状、延缓痴呆症的发作,从而减慢病程加剧的速率^[2]。研究^[3]表明 Wnt/ β -catenin 信号通路的持续缺失是 AD

2021-10-30 接收

基金项目:四川省科技计划项目(编号:2018TD0021)

作者单位:四川省医学科学院四川省人民医院¹ 老年医学科、² 康复医学科,成都 610072

作者简介:李 交,女,本科;

苏 懋,男,本科,主治医师,责任作者,E-mail:283504696@qq.com

(cTnI), and levels of superoxide dismutase (SOD), glutathion peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) in myocardial tissues were detected. The apoptosis of myocardial tissue cells was detected by TUNEL staining. The expression of B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) gene, Bcl-associated x protein (Bax), cysteine protease 3 (Cas-3) and Cas-9 in myocardial tissues was detected by Western blot. **Results** HR, LVEF, FS and LVWT in I/R group were lower than those in control group, the levels of serum CK-MB, LDH, Mb and cTnI were higher than those in control group, the expression of MDA, Bax/Bcl-2, cleaved Cas-3/Cas-3 and cleaved Cas-9/Cas-9 proteins in myocardial tissues was higher than that in control group, the levels of SOD and GSH-px were lower than those in control group, and the apoptosis rate of myocardial tissue cells was higher than that in control group ($P < 0.05$). HR, LVEF, FS and LVWT in I/R + agomiR-346 group were higher than those in I/R + agomiR-NC group, the levels of serum CK-MB, LDH, Mb and cTnI were lower than those in I/R + agomiR-NC group, the expression of MDA, Bax/Bcl-2, cleaved Cas-3/Cas-3 and cleaved Cas-9/Cas-9 proteins in myocardial tissues was lower than that in I/R + agomiR-NC group, the levels of SOD and GSH-px were higher than those in I/R + agomiR-NC group, and the apoptosis rate of myocardial tissue cells was lower than that in I/R + agomiR-NC group ($P < 0.05$). **Conclusion** The miR-346 overexpression can reduce oxidative stress level in I/R rats, alleviate myocardial tissue damage, and improve cardiac function.

Key words myocardial ischemia/reperfusion; miR-346; oxidative stress; myocardial tissue damage; cardiac function

发生和进展的基础,该信号通路参与淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)处理、肽类神经毒性、磷酸化和脑内载脂蛋白 E 功能调节。6-姜酚[(5S)-5-羟基-1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)癸烷-3-酮]是生姜的主要药理活性成分^[4]。与6-姜烯酚、8-姜酚和10-姜酚(生姜中的其他三种植物化学物质)相比,6-姜酚被报道具有广泛的生物化学和药理作用,包括抗菌、抗炎、抗氧化和抗肿瘤能力^[4-6]。研究^[7]表明6-姜酚能够减轻乏氧/复氧诱导的H9C2心肌细胞损伤,其机制与抑制氧化应激和炎症反应有关。6-姜酚通过激活Wnt/ β -catenin信号通路抑制3T3-L1细胞的成脂分化^[8]。该实验旨在研究6-姜酚通过调节Wnt/ β -catenin信号通路对 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)诱导的AD大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症的影响。

1 材料与方法

1.1 分组及阿尔茨海默病大鼠模型建立 大鼠随机均分为6组:对照组、模型组、低剂量6-姜酚组、中剂量6-姜酚组、高剂量6-姜酚组和阳性对照组。将所有大鼠腹腔注射氯胺酮和二甲苯(按体质量分别为80 mg/kg和20 mg/kg)进行麻醉,除对照组外,其余各组注射A β_{1-42} 1.0 μ l构建阿尔茨海默病大鼠模型。方法^[9]:制备合成低聚A β_{1-42} 溶液,A β_{1-42} 在PBS溶液溶解,使用前在37 $^{\circ}$ C孵化72 h,孵化72 h后使用1 μ l汉密尔顿注射器从大鼠双侧大脑的海马体中,以0.1 μ l/min速度注射A β_{1-42} 1.0 μ l。模型建立第15天时,低、中、高剂量6-姜酚组灌胃6-姜酚50、75、100 mg/kg,阳性对照组灌胃盐酸多尼哌齐0.9 mg/kg,对照组和模型组灌胃相同体积的0.9%氯化钠溶液,均每日1次,连续21 d。

1.2 神经损伤评分 神经损伤在各组大鼠制模15 d后进行评分,具体参考Longa神经评分法^[10]。0分:正常,无神经损伤;1分:左侧前爪不能完全伸展,轻度神经损伤;2分:行走时,大鼠向瘫痪侧转圈,中度神经功能缺损;3分:行走时,大鼠身体向瘫痪侧倾倒,重度神经功能缺损;4分:不能自发行走,有意识丧失。

1.3 脑含水量的检测 脑组织含水量的测定^[11](干湿重法测定):取小鼠脑组织约100 mg,称重(湿脑重量),将脑组织置于110 $^{\circ}$ C的烤箱中烘烤24 h以上至恒重后,称取干脑重量。计算公式:脑组织含水量=(湿重-干重)/湿重 \times 100%。

1.4 HE染色 HE染色,采集大鼠海马体,用苏木

精-伊红染色,并在显微镜下进行观察。

1.5 TUNEL染色 采集大鼠海马体,用切片机将不同组的石蜡包埋的组织切成薄片(厚度为3 μ m)。常规对组织进行脱蜡,并加入50 μ l 3%过氧化氢溶液。随后将切片在20 $^{\circ}$ C下孵育10 min,并用磷酸盐缓冲盐水(PBS)冲洗3次。将切片在50 μ l TUNEL中于37 $^{\circ}$ C孵育60 min。然后,在加入50 μ l 过氧化物酶(POD)在37 $^{\circ}$ C下再次孵育30 min,并用PBS冲洗3次。将Dolichosbiflorusagglutinin(DBA)试剂盒中的试剂A、B和C各1滴加入1 ml蒸馏水中混匀,再滴加至切片显色10 min。之后,将切片用PBS洗涤3次,用苏木精复染10 s。用显微镜观察和计数凋亡细胞(颜色为黄棕色)。图像是用OLYMPUS DX51荧光显微镜(日本奥林巴斯公司)拍摄的。在每个组织切片中评估心肌细胞区域的积分选择密度(integrated option density, IOD)和面积,然后获得平均吸光度值(OD = IOD/面积)。选择了4个切片,每切片4个视野。

1.6 流式细胞术 采用Annexin V-荧光素(AV)和碘化丙啶(PI)细胞凋亡检测试剂盒(Invitrogen公司,美国)流式细胞术检测不同处理组细胞的凋亡率。简单地说用胰蛋白酶分解的细胞,在药物刺激后,用PBS洗涤后,10 L Annexin V-FITC和5 L PI在室温黑暗中孵育15 min。流式细胞术使用FACSscan流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司)进行流式分析,数据使用FlowJo软件(美国Tree Star公司)进行分析。

1.7 酶联免疫吸附法(ELISA) 根据制造商的说明,直接测量海马体组织中的细胞因子(iNOS、IL-6和TNF- α)和氧化应激指标(SOD、GSH-Px和MDA)的表达量。用BIO-RAD酶标仪(美国Bio-Rad公司)测定吸光度值。使用ELISA试剂盒提供的细胞因子标准品建立测量的标准曲线。

1.8 提取总RNA、反转录和荧光定量 使用TRIzol从海马体组织提取总RNA,提取的总RNA首先去除基因组中的DNA,然后进行反转录,以上步骤根据产品说明书进行操作。荧光定量检测反应体系:5 μ l的SYBR Premix,各0.5 μ l的上游引物和下游引物,3 μ l的RNase Free dH₂O,1 μ l的cDNA。程序:95 $^{\circ}$ C预变性2 min,95 $^{\circ}$ C变性30 s,60 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s共40个循环。扩增完成后进行熔解曲线分析:95 $^{\circ}$ C维持10 s,65 $^{\circ}$ C处理1 s,此后从65 $^{\circ}$ C开始,每一个循环温度增加0.5 $^{\circ}$ C,时间为1 s。

1.9 Western blot实验 海马体加入液氮研磨,并

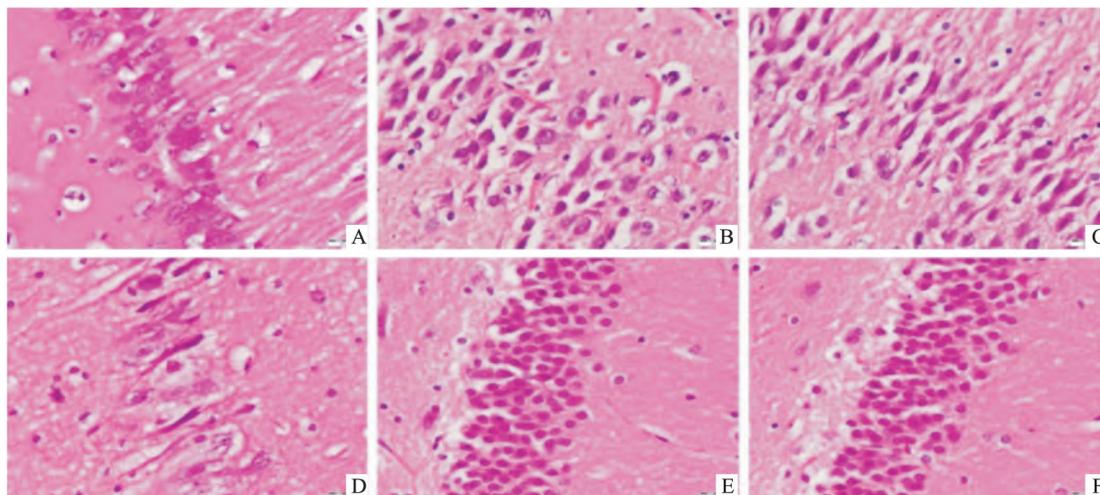


图1 海马体病理切片 HE 染色 ×400

A:对照组;B:模型组;C:低剂量6-姜酚组;D:中剂量6-姜酚组;E:高剂量6-姜酚组;F:阳性对照组

用裂解缓冲液裂解在 4 °C 并以 14 000 r/min 离心 15 min,形成浓缩蛋白质。然后测量蛋白质浓度。取 20 μg 总蛋白在 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 并转移至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜。将膜在 37 °C 下用 1 h 封闭 5% 的牛血清白蛋白,然后与抗 Wnt 和 β-catenin 在 4 °C 过夜。用 TBST 缓冲液 (含 Tween-20 的 Tris 缓冲盐水) 清洗,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG (二抗) 37 °C 反应 1 h;洗膜后 ECL 曝光成像并应用 Quantity one 软件分析蛋白条带的灰度值。

1.10 统计学处理 运用 SPSS 22.0 进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据之间的比较首先采用方差分析,不同处理之间用 Duncan 法多重性比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 6-姜酚对 Aβ 诱导的 AD 大鼠神经损伤和脑含水量的影响 神经损伤评分检测结果表明,模型组大鼠神经损伤程度在 (3.08 ± 0.46) 分。而中剂量和高剂量组大鼠神经损伤程度降低 ($P < 0.05$),且阳性对照组大鼠神经损伤程度降低 ($P < 0.01$)。脑含水量的检测结果表明,模型组大鼠脑含水量在 $(89.76 \pm 6.33)\%$ 。中剂量和高剂量 6-姜酚组大鼠脑含水量减少 ($P < 0.05$),且阳性对照组大鼠脑含水量减少 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 6-姜酚对 Aβ 诱导的 AD 大鼠海马体病理损伤的影响 HE 染色结果表明,模型组 AD 大鼠海马体锥体细胞神经元萎缩,细胞空泡化,细胞疏松。而中剂量和高剂量 6-姜酚组或阳性对照组治疗后 Aβ 诱

导的 AD 大鼠,上述情况明显好转。见图 1。

2.3 6-姜酚对 Aβ 诱导的 AD 大鼠海马体细胞凋亡的影响 流式细胞术和 TUNEL 染色检测结果表明,模型组 AD 大鼠细胞凋亡升高 ($P < 0.01$),而中剂量和高剂量 6-姜酚组 AD 大鼠细胞凋亡降低 ($P < 0.05$),且阳性对照组 AD 大鼠细胞凋亡降低 ($P < 0.01$)。流式细胞检测细胞凋亡各组比较 $F = 155.649, P < 0.01$; TUNEL 染色检测细胞凋亡各组比较 $F = 80.754, P < 0.01$ 。见图 2。

表 1 神经损伤及脑含水量测定 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	神经损伤 评分(分)	脑含水量 (%)
对照	-	0	61.45 ± 4.19
模型	-	3.08 ± 0.46	89.76 ± 6.33 ^{**}
低剂量 6-姜酚	50	2.94 ± 0.52	85.41 ± 4.65
中剂量 6-姜酚	75	1.85 ± 0.39	73.16 ± 4.82 [#]
高剂量 6-姜酚	100	1.03 ± 0.27	68.10 ± 4.27 ^{##}
阳性对照	0.9	0.58 ± 0.19	65.33 ± 3.29 ^{###}
F 值	-	102.981	47.19
P 值	-	< 0.001	< 0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.4 6-姜酚对 Aβ 诱导的 AD 大鼠海马体促炎细胞因子的影响 ELISA 检测结果表明,模型组 AD 大鼠海马体中促炎因子 iNOS、IL-6 和 TNF-α 的表达量均上调 ($P < 0.01$),而 G 与模型组比较中剂量和高剂量 6-姜酚组 AD 大鼠海马体中促炎因子 iNOS、IL-6 和 TNF-α 的表达量均下调 ($P < 0.05$),且阳性对照组 AD 大鼠海马体中促炎因子 iNOS、IL-6 和 TNF-α 的表达量均下调 ($P < 0.01$)。见表 2。

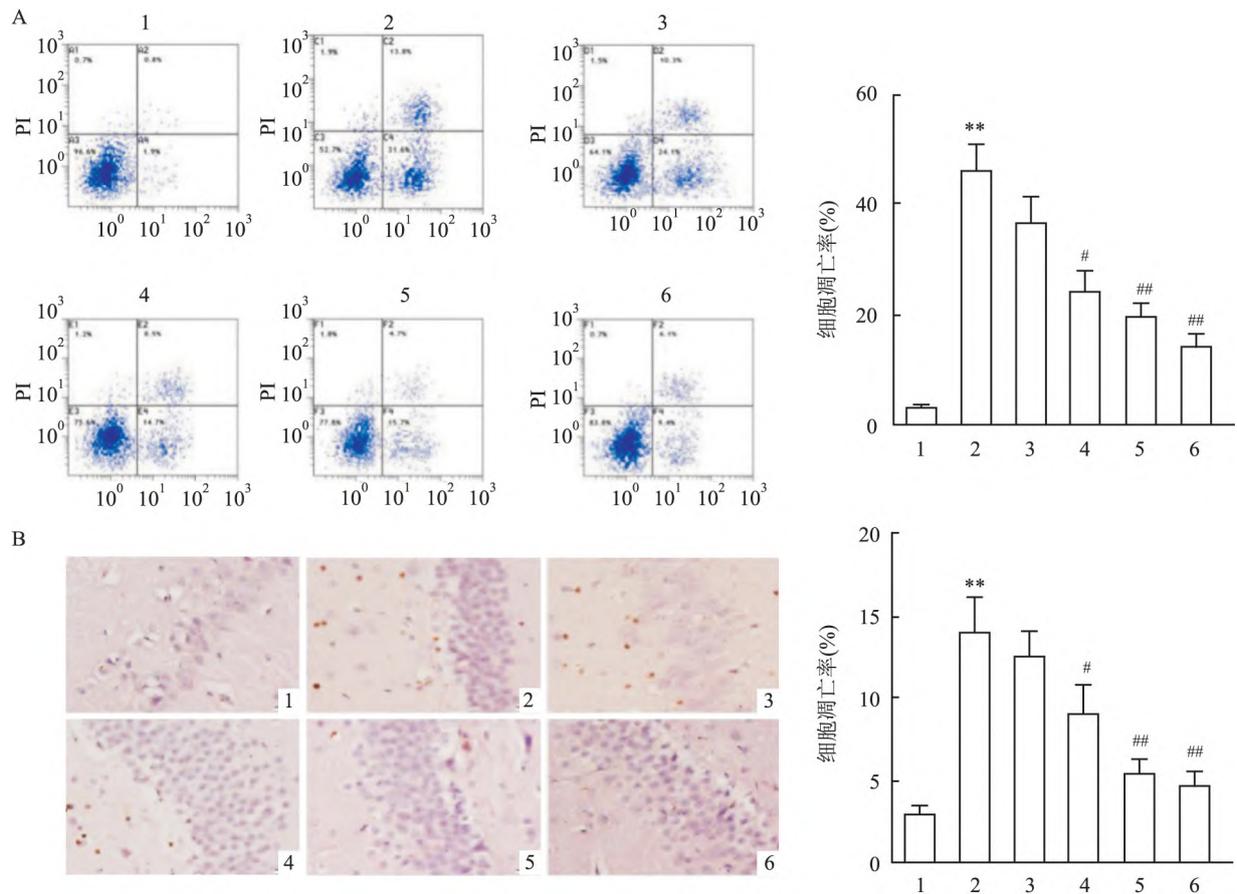


图2 6-姜酚对 Aβ 诱导的 AD 大鼠海马体细胞凋亡的影响

A: 流式细胞检测细胞凋亡率; B: TUNEL 染色细胞凋亡率; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: 低剂量 6-姜酚组; 4: 中剂量 6-姜酚组; 5: 高剂量 6-姜酚组; 6: 阳性对照组; 与对照组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与 AD 大鼠模型组比较: ## P < 0.01

表2 促炎因子 iNOS, IL-6 和 TNF-α 表达量的测定 (pg/ml, n = 8, x̄ ± s)

组别	iNOS	IL-6	TNF-α
对照	1.56 ± 0.85	3.45 ± 1.46	11.23 ± 2.71
模型	5.12 ± 1.38 **	16.67 ± 2.80 **	39.16 ± 3.44 **
低剂量 6-姜酚	4.08 ± 1.13	15.16 ± 2.45	35.09 ± 3.29
中剂量 6-姜酚	3.26 ± 1.01 #	11.33 ± 2.07 #	28.52 ± 3.43 #
高剂量 6-姜酚	2.13 ± 0.95 ##	7.31 ± 1.96 ##	19.07 ± 2.97 ##
阳性对照	2.24 ± 0.77 ##	5.82 ± 1.76 ##	17.45 ± 3.02 ##
F 值	13.625	49.585	95.897
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

与对照组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与模型组比较: ## P < 0.01

2.5 6-姜酚对 Aβ 诱导的 AD 大鼠海马体氧化应激的影响 ELISA 检测结果表明,模型组 AD 大鼠海马体中氧化应激标志物 SOD 和 GSH-Px 的表达量均下调(P < 0.01),氧化应激标记物 MDA 的表达量上调(P < 0.01)。而与模型组比较中剂量和高剂量 6-姜酚组 AD 大鼠 SOD 和 GSH-Px 的表达量均上调(P < 0.05),MDA 的表达量下调(P < 0.05)。且阳性

对照组 AD 大鼠 SOD 和 GSH-Px 的表达量均上调(P < 0.01),MDA 的表达量下调(P < 0.01)。见表 3。

表3 氧化应激标志物 SOD、GSH-Px 和 MDA 表达量的测定 (n = 8, x̄ ± s)

组别	SOD (U/mg)	MDA (pmol/mg)	GSH-Px (U/mg)
对照	89.61 ± 15.31	4.39 ± 1.37	77.21 ± 17.63
模型	45.12 ± 14.05 **	10.23 ± 2.64 **	32.88 ± 10.04 **
低剂量 6-姜酚	49.39 ± 14.12	9.16 ± 2.36	39.12 ± 11.13
中剂量 6-姜酚	64.22 ± 13.98 #	7.33 ± 2.17 #	55.08 ± 12.66 #
高剂量 6-姜酚	78.43 ± 14.29 ##	6.31 ± 1.21 ##	62.07 ± 13.27 ##
阳性对照	80.13 ± 13.72 ##	5.82 ± 1.16 ##	66.13 ± 12.00 ##
F 值	12.653	10.3427	13.301
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

与对照组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与模型组比较: # P < 0.05, ## P < 0.01

2.6 6-姜酚对 Aβ 诱导的 AD 大鼠 Wnt/β-catenin 信号通路的影响 qRT-PCR 和 Western blot 检测结果表明,模型组 AD 大鼠 Wnt 和 β-catenin 的 mRNA

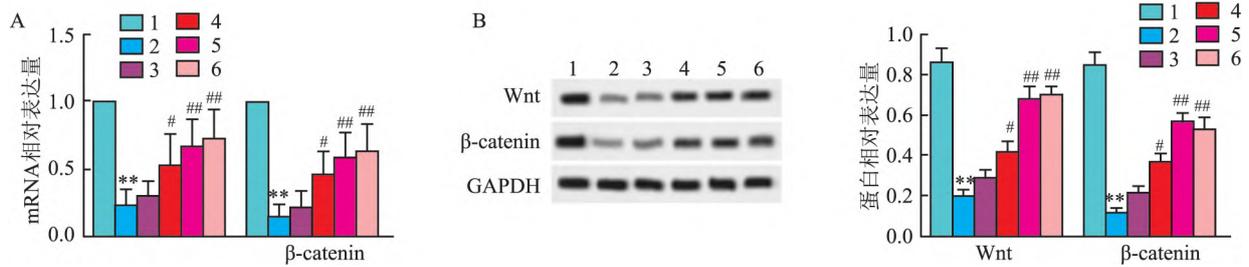


图3 6-姜酚对Aβ诱导的AD大鼠Wnt/β-catenin信号通路的影响

A: qRT-PCR检测Wnt和β-catenin的mRNA相对表达量; B: Western blot检测Wnt和β-catenin的蛋白相对表达量; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: 低剂量6-姜酚组; 4: 中剂量6-姜酚组; 5: 高剂量6-姜酚组; 6: 阳性对照组; 与对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

和蛋白相对表达量均下调 ($P < 0.01$), 而与模型组比较中剂量和高剂量6-姜酚组AD大鼠Wnt和β-catenin的mRNA和蛋白相对表达量均上调 ($P < 0.05$), 且阳性对照组AD大鼠Wnt和β-catenin的mRNA和蛋白相对表达量均上调 ($P < 0.01$)。qRT-PCR检测Wnt mRNA相对表达量 ($F = 215.364, P < 0.001$); qRT-PCR检测β-catenin mRNA相对表达量 ($F = 286.140, P < 0.001$); Western blot检测Wnt蛋白相对表达量 ($F = 23.304, P < 0.01$); Western blot检测β-catenin蛋白相对表达量 ($F = 36.703, P < 0.01$)。见图3。

3 讨论

AD是一种神经退行性疾病,会导致记忆、判断和推理等精神和认知过程的逐渐衰退^[12]。6-姜酚通过下调丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(Akt)/雷帕霉素哺乳动物靶标(mTOR)/信号转导子和转录激活因子3(STAT3)通路,抑制小胶质细胞介导的神经炎症,从而改善脑缺血损伤^[13]。该实验中在6-姜酚治疗后Aβ诱导的AD大鼠后,大鼠神经损伤程度显著下调,脑含水量显著下调。结果表明6-姜酚对脑组织有保护作用。

AD的病理表现为细胞凋亡、神经炎症和氧化应激。氧化应激是AD发病机制中的一个重要因素,对淀粉样蛋白的生成具有重要作用。AD与血脑屏障的通透性增加有关。氧化应激降低了低密度脂蛋白受体相关蛋白1的表达,上调了血脑屏障中晚期糖基化终末产物受体的表达,增加了血脑屏障的通透性,这可能会导致蛋白在AD脑内的沉积增多。凋亡发生在AD的发病过程中,氧化应激通过外在途径和内在途径促进细胞凋亡。氧化应激诱导的细胞凋亡可能是导致细胞凋亡的潜在因素^[14]。研究^[7]表明,6-姜酚能够减轻缺氧/复氧诱导的

H9C2心肌细胞损伤,其机制与抑制氧化应激和炎症反应有关。以上文献表明,改善AD细胞凋亡,氧化应激和神经炎症有助于缓解AD造成的神经损伤。在该实验中,6-姜酚治疗后,细胞凋亡率降低,促炎细胞因子iNOS、IL-6和TNF-α的表达量下调,SOD和GSH-Px的蛋白含量上调,而MDA蛋白含量下调。结果表明6-姜酚能缓解Aβ诱导的AD大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症。

在AD中,典型Wnt/β-catenin信号通路下调,而过氧化物酶体增殖激活受体上调。Wnt/β-catenin的下调,是通过淀粉样蛋白β激活糖原合酶激酶3β以及磷脂酰肌醇3激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶信号失活而引起的^[15]。研究^[8]表明,6-姜酚通过激活Wnt/β-catenin信号通路抑制3T3-L1细胞的成脂分化。该实验中6-姜酚治疗后Wnt和β-catenin的mRNA和蛋白相对表达量均显著上调。这些结果表明6-姜酚能通过调节Wnt/β-catenin信号通路缓解Aβ诱导的AD损伤。

综上所述,该研究表明6-姜酚能通过调节Wnt/β-catenin信号通路缓解Aβ诱导的AD大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症。该研究仅为体内实验初步探讨6-姜酚具有缓解AD的治疗效果,为进一步研究6-姜酚药理学功能提供参考。

参考文献

- [1] Chen S Y, Gao Y, Sun J Y, et al. Traditional Chinese medicine: role in reducing β-amyloid, apoptosis, autophagy, neuroinflammation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction of Alzheimer's disease[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 497.
- [2] Briggs R, Kennelly S P, O'neill D. Drug treatments in Alzheimer's disease[J]. Clin Med (Lond), 2016, 16(3): 247-53.
- [3] de Ferrari G V, Avila M E, Medina M A, et al. Wnt/β-catenin signaling in Alzheimer's disease[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2014, 13(5): 745-54.
- [4] Xu S, Zhang H, Liu T, et al. 6-Gingerol induces cell-cycle G1-

- phase arrest through AKT-GSK 3 β -cyclin D1 pathway in renal-cell carcinoma[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2020, 85(2): 379-90.
- [5] Mansingh D P, O J S, Sali V K, et al. [6]-Gingerol-induced cell cycle arrest, reactive oxygen species generation, and disruption of mitochondrial membrane potential are associated with apoptosis in human gastric cancer (AGS) cells[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2018, 32(10): e22206.
- [6] Park Y J, Wen J, Bang S, et al. [6]-Gingerol induces cell cycle arrest and cell death of mutant p53-expressing pancreatic cancer cells[J]. *Yonsei Med J*, 2006, 47(5): 688-97.
- [7] 覃秋语, 吕祥威, 武琦, 等. 6-姜酚预处理对缺氧/复氧诱导的H9C2心肌细胞损伤的保护作用[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2020, 51(5): 658-63.
- [8] Li C, Zhou L. Inhibitory effect 6-gingerol on adipogenesis through activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Toxicol In Vitro*, 2015, 30(1 Pt B): 394-401.
- [9] Karthick C, Nithiyandandan S, Essa M M, et al. Time-dependent effect of oligomeric amyloid- β (1-42)-induced hippocampal neurodegeneration in rat model of Alzheimer's disease[J]. *Neurol Res*, 2019, 41(2): 139-50.
- [10] 曹建文, 颜丙春. 黄蜀葵提取物灌胃对脑缺血再灌注损伤小鼠神经损伤的防治作用及其机制探讨[J]. *山东医药*, 2018, 58(11): 37-9.
- [11] 朱刚毅. 自发性脑出血中红细胞对脑含水量的影响及与AQP4表达的关系[D]. 洛阳:河南科技大学, 2014.
- [12] 周阳, 王啸晨, 严丽荣, 等. 阿尔茨海默病遗传及信号通路研究进展[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(6): 994-1000.
- [13] Liu Y, Deng S, Zhang Z, et al. 6-Gingerol attenuates microglia-mediated neuroinflammation and ischemic brain injuries through Akt-mTOR-STAT3 signaling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 883:173294.
- [14] Cai Z, Zhao B, Ratka A. Oxidative stress and β -amyloid protein in Alzheimer's disease[J]. *Neuromolecular Med*, 2011, 13(4): 223-50.
- [15] Vallée A, Lecarpentier Y, Guillemin R, et al. Effects of cannabidiol interactions with Wnt/ β -catenin pathway and PPAR γ on oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2017, 49(10): 853-66.

6-gingerol relieves cell apoptosis, oxidative stress and neuroinflammation in rats with Alzheimer's disease by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway

Li Jiao¹, Xiao Youyuan¹, Xie Qin¹, Ma Tianrong¹, Li Jianping¹, Duan Jun¹, Su Mao²
(¹Dept of Geriatrics, ²Dept of Rehabilitation Medicine, Sichuan Academy of Medical Sciences, Sichuan People's Hospital, Chengdu 610072)

Abstract Objective To investigate the effects of 6-gingerol on amyloid β -protein (A β) induced apoptosis, oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease (AD) rats by regulating Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Methods The rat model of AD was established by injecting A β into hippocampus of bilateral brain. The rats were randomly divided into six groups: control group, model group, low-dose 6-gingerol group, medium-dose 6-gingerol group, high-dose 6-gingerol group and positive control group. Nerve injury was evaluated by nerve injury score, brain water content was measured by dry/wet method, and hippocampal histological injury was measured by HE staining. The apoptosis of hippocampal cells was detected by flow cytometry and TUNEL staining. The protein levels of iNOS, IL-6, TNF- α , SOD, GSH-Px and MDA were detected by ELISA. The mRNA and protein relative expression levels of Wnt and β -catenin were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results** Compared with the model group, after 6-gingerol treatment, nerve injury score decreased, brain water content decreased, the apoptosis rate decreased, the expression of iNOS, IL-6 and TNF- α decreased, SOD and GSH-Px protein content increased, while MDA protein content decreased. The mRNA and protein relative expression levels of Wnt and β -catenin were up-regulated. **Conclusion** 6-gingerol can reduce apoptosis, oxidative stress and neuroinflammation in AD rats by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words 6-gingerol; AD model rat; apoptosis; oxidative stress; neuroinflammation; Wnt/ β -catenin signaling pathway