

# 远志提取物清除 $\beta$ 淀粉样蛋白的途径及其信号通路的研究

赵 欢<sup>1</sup> 陈晓宇<sup>1</sup> 姬飞虹<sup>2</sup> 王奎锋<sup>2</sup> 王志成<sup>3</sup>

**摘要** 目的 探讨中药远志提取物(PTE)清除  $\beta$  淀粉样蛋白( $A\beta$ )的途径及其可能的信号通路。方法 采用 MTT 法观察不同浓度(100、40、20、10、5、0  $\mu\text{g/ml}$ )的 PTE 对神经细胞株(SH-SY5Y)的毒性作用。ELISA 法检测 PTE 对转染过表达淀粉样前体蛋白(APP)和  $\beta$  分泌酶(BACE1)的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞培养液中  $A\beta$  水平的影响。单丹磺酰尸胺(MDC)染色检测 PTE 处理后的神经细胞内自噬小体的变化。Western blot 检测微管关联蛋白轻链 3(LC3)的表达水平,以及 mTOR、p70s6k、Raptor、Akt、AMPK 等蛋白的磷酸化水平。结果 MTT 结果显示 PTE 对神经细胞活力没有影响( $P > 0.05$ )。CHO-APP/BACE1 经药物处理后, $A\beta$  分泌水平明显降低,并呈浓度依赖性。荧光显微镜下观察药物处理组细胞自噬增强,另外,自噬标志物蛋白 LC3 II/LC3 I 水平升高。结论 PTE 通过增强 AMPK/Raptor 通路,抑制 mTOR 和 p70s6k 的磷酸化,诱导自噬发生,使细胞清除  $A\beta$  的能力增强,减少  $A\beta$  的分泌。

**关键词** 阿尔茨海默病;  $\beta$  淀粉样蛋白; 自噬; 微管关联蛋白轻链 3

中图分类号 R 749.1; R 341; Q 25

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)07-0913-05

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD) 又称老年性痴呆,是一种与年龄高度相关的神经退行性疾病,以渐进性的行为、认知和记忆功能损害为主要临床症状<sup>[1]</sup>,目前认为, $\beta$  淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid,  $A\beta$ ) 在 AD 的发生、发展过程中扮演了重要角色<sup>[1]</sup>。 $A\beta$  来源于淀粉样前体蛋白( $\beta$ -amyloid pro-protein, APP),APP 依次经过  $\beta$  分泌酶( $\beta$ -secretase, BACE1) 和  $\gamma$  分泌酶的水解作用,形成约 4 ku 的多肽<sup>[2]</sup>。随着年龄的增长,机体清除  $A\beta$  效率逐渐降低,大脑中  $A\beta$  水平不断积聚升高,并形成淀粉样斑块,是 AD 的病理特征之一。另外,研究<sup>[3-4]</sup>表明,

可溶性的  $A\beta$  低聚物对神经元的毒性作用甚至比淀粉样斑块更严重。因此,降低  $A\beta$  的产生水平,增加清除率,对改善 AD 患者认知功能,延缓病程发展有重要意义。自噬作为细胞清除自身异常蛋白和细胞器的重要手段,已受到研究者的密切关注<sup>[5]</sup>,增强细胞的自噬成为寻找抗 AD 新型药物的一种新策略。远志已经被证实具有神经保护作用<sup>[6-7]</sup>,但其作用机制尚不清楚。该研究将从自噬的角度阐述远志提取物(*Polygala tenuifolia* extract, PTE) 对  $A\beta$  分泌水平的影响,以及诱导自噬过程中相关信号通路的变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**1.1.1 细胞株** 人神经母细胞瘤细胞株 SH-SY5Y、中国仓鼠卵巢(Chinese hamster ovary, CHO) 细胞转染过表达 APP/BACE1 细胞株 CHO-APP/BACE1 由上海勤浩生物科技有限公司实验室提供。

**1.1.2 试剂和主要仪器** 噻唑蓝(MTT)、单丹磺酰尸胺(dansylcadaverine, MDC) (美国 Sigma 公司);远志(上海浦东新区医药药材有限公司养和堂张江店,产地:内蒙古);DMEM/F12 培养基、F12 培养基(美国 Gibco 公司);南美 FBS(美国 Hyclone 公司); $A\beta$  1-40 ELISA 试剂盒(上海依科赛生物制品有限公司);BCA 蛋白定量试剂盒(美国 Pierce 公司);一抗:(p)-Akt、(p)-mTOR、(p)-p70S6k、(p)-AMPK、(p)-Raptor、轻链 3(light chain, LC3) 抗体(美国 CST 公司);青链霉素溶液、蛋白预染 Marker、一抗稀释液、辣根过氧化物酶标记的二抗、ECL 化学发光液(碧云天生物有限公司);硝酸纤维素(nitrocellulose, NC)膜(美国 Millipore 公司);半干转膜仪(大连竞迈生物科技有限公司);酶标仪(美国 Thermo 公司)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞培养** DMEM/F12 培养基培养 SH-SY5Y,含 10% FBS,100 U/ml 青霉素,100  $\mu\text{g/ml}$  链霉素;CHO-APP/BACE1 细胞株用 F12 培养基培养,含 10% FBS、100 U/ml 青霉素、100  $\mu\text{g/ml}$  链霉素、400  $\mu\text{g/ml}$  G418。置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中。

2014-03-20 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81373421);安徽省自然科学基金(编号:1208085MC53)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学组织胚胎学教研室,合肥 230032

<sup>2</sup>上海市勤浩生物科技有限公司,上海 201203

<sup>3</sup>上海中医药大学实验中心,上海 200071

作者简介:赵 欢 男 硕士研究生;

陈晓宇 男 副教授 硕士生导师,责任作者,E-mail: cxyady@163.com

1.2.2 药物提取 500 g 远志用 1 L 75% 乙醇溶液浸泡, 超声仪超声 3 次, 每次 2 h。将残渣过滤掉, 3 次所得滤液一起用茄形瓶旋蒸, 得到膏状提取物, 用 DMSO 溶解(g/V), -20 °C 保存。

1.2.3 MTT 实验 SH-SY5Y 细胞在 100 mm 培养皿中生长密度达到约 90% 接种到 96 孔板, 接种数约 8 000/孔, 次日细胞贴壁后加药处理。设不同浓度给药组(100、40、20、10、5 μg/ml), 对照组用 DMSO 药物处理 24 h 后, 加入 MTT 工作液(5 mg/ml), 10 μl/孔, 继续在温箱中孵育 4 h, 吸去培养液, 加 DMSO 100 μl/孔, 震荡 10 min。酶标仪测 570 nm 波长下光密度(optical density, OD)值, 620 nm 作为参考波长。

1.2.4 ELISA 实验 将 CHO-APP/BACE1 细胞接种到 24 孔板, 接种数约 80 000/孔, 500 μl/孔, 接种 24 h 后加药处理, 给药组浓度依次为: 100、40、20、10、5 μg/ml, 对照组加 DMSO。处理 24 h 后收集上清液, 上清液按 Aβ 1-40 ELISA 试剂盒说明书测 Aβ40 浓度, 细胞总蛋白用 BCA 蛋白定量试剂盒测定。对照组 Aβ 总量与总蛋白的比值作为对照。

1.2.5 MDC 染色检测自噬小泡 将无菌盖玻片放入 6 孔板后接种 SH-SY5Y 细胞, 每孔细胞数约 350 000。选择 100、0 μg/ml 两个浓度分别处理 24 h。处理结束后, 取出细胞爬片, PBS 洗 2 次, 于 0.05 mmol/L MDC 溶液 37 °C 孵育 30 min, 4% 多聚甲醛固定 15 min, 再用 PBS 洗 2 次, 晾干, 在荧光显微镜波长 338 nm 激发光、515 nm 发射光下观察。

1.2.6 Western blot 检测自噬标志蛋白 LC3 水平 将 SH-SY5Y 细胞接种于 6 孔板, 次日细胞贴壁后加药处理。设对照组(DMSO)、给药组(100、40、20、10、5 μg/ml) 药物处理 24 h 后, 用 RIPA 裂解液(含 1 mmol/L 蛋白酶抑制剂)提取总蛋白, 4 °C、12 000 r/min 离心 30 min, 取上清液, BCA 试剂盒蛋白定量后制备电泳样品。用 5% 浓缩胶、10% 分离胶电泳样品, 半干转膜仪转膜 1 h, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 4 °C 孵育 LC3 抗体过夜后用 0.05% TBST 洗膜 3 次, 二抗室温孵育 2 h, 0.05% TBST 洗膜 3 次, ECL 化学发光, 曝光压片 2 min, 显影, 定影。

1.2.7 Western blot 检测 mTOR 通路相关蛋白表达水平 步骤同上, 分别孵育 mTOR、p70s6k、AMPK、Raptor、Akt 抗体及其磷酸化蛋白抗体。采用 Image J 软件检测图像吸光度值, 以磷酸化蛋白和总蛋白灰度值之比代表该蛋白磷酸化水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件分析,

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两组间比较采用 *t* 检验。

## 2 结果

2.1 药物对神经细胞毒性作用 方差分析结果显示, 各组间细胞活力水平差异无统计学意义( $F = 0.337, P = 0.890$ )。给药组与对照组间两两比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 1。

表 1 各浓度 PTE 对神经细胞活力的影响( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

浓度(μg/ml)	OD 值	P 值
DMSO	0.52 ± 0.06	-
PTE		
5	0.53 ± 0.02	0.808
10	0.50 ± 0.11	0.696
20	0.49 ± 0.16	0.509
40	0.48 ± 0.08	0.427
100	0.49 ± 0.09	0.566

2.2 Aβ 的分泌 PTE 处理 CHO-APP/BACE1 细胞 24 h 后, 培养液中分泌的 Aβ40 浓度通过 ELISA 试剂盒检测, Aβ40 的浓度与相应细胞总蛋白的比值即为其分泌水平。结果显示, 各组间 Aβ 分泌水平差异有统计学意义( $F = 20.389, P < 0.01$ )。两两比较结果为: 与对照组相比, PTE 浓度在 5 μg/ml 时 Aβ40 分泌水平明显降低( $P < 0.05$ ), 当药物浓度达到 10 μg/ml, Aβ40 分泌水平显著降低( $P < 0.01$ ), 见表 2。

表 2 各浓度 PTE 对 CHO-APP/BACE1 细胞分泌 Aβ 的影响( $n = 6, \bar{x} \pm s$ )

浓度(μg/ml)	Aβ 水平(%)
DMSO	100.00 ± 23.69
PTE	
5	70.93 ± 26.05*
10	33.21 ± 22.60**
20	25.71 ± 23.80**
40	13.41 ± 6.90**
100	9.68 ± 3.58**

与 DMSO 组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

2.3 PTE 对细胞自噬小泡变化 MDC 是一种荧光染料, 可选择性的聚集于自噬囊泡周围, 在荧光显微镜下可观察到点状结构。自噬小体越多, 表明自噬程度越强。本研究中, 对照组的细胞内没有或仅见少量荧光。在 100 μg/ml 药物处理组, 胞质内荧光小泡明显强于对照组, 见图 1。

2.4 自噬标志蛋白 LC3 水平的变化 LC3 I 和

LC3 II 是微管关联蛋白轻链 3 的两个亚型。在自噬发生时,定位胞质的 LC3 I 会被包括 Atg7 和 Atg3 在内的泛素样体系所修饰和加工,产生分子量为 14 ku 的 LC3 II 并定位到自噬小体中,LC3 II /LC3 I 的水平与自噬程度呈正比。Western blot 实验结果表明,随着给药浓度增加,LC3 II /LC3 I 呈现递增趋势,各组间灰度值差异有统计学意义 ( $F = 59.379, P < 0.01$ )。见图 2。

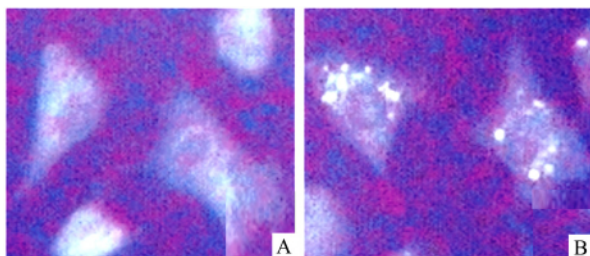


图1 PTE对SH-SY5Y细胞自噬小泡的影响 SP×250  
A: 0 μg/ml; B: 100 μg/ml

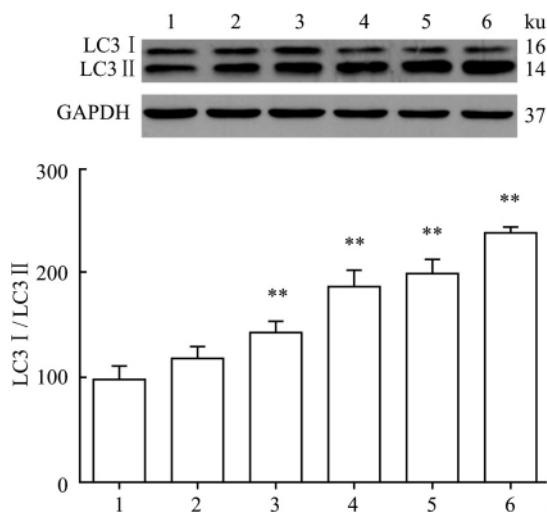


图2 PTE对LC3 II /LC3 I 水平的影响

1: 对照组; 2: 5 μg/ml PTE; 3: 10 μg/ml PTE; 4: 20 μg/ml PTE; 5: 40 μg/ml PTE; 6: 100 μg/ml PTE; 与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### 2.5 对神经细胞自噬相关蛋白表达水平的影响

实验结果表明,mTOR 蛋白磷酸化水平被 PTE 抑制,且各组间差异有统计学意义 ( $F = 59.160, P < 0.01$ )。同样,mTOR 下游激酶 p70s6k 活化也被 PTE 抑制 ( $F = 106.607, P < 0.01$ ),见图 3。调控 mTOR 上游的两条信号通路,AMPK/Raptor 信号通路被激活(AMPK:  $F = 27.647, P < 0.01$ , Raptor:  $F = 43.405, P < 0.01$ ) 见图 4。Akt 磷酸化水平却没有

改变 ( $F = 0.426, P = 0.822$ ) 见图 5。

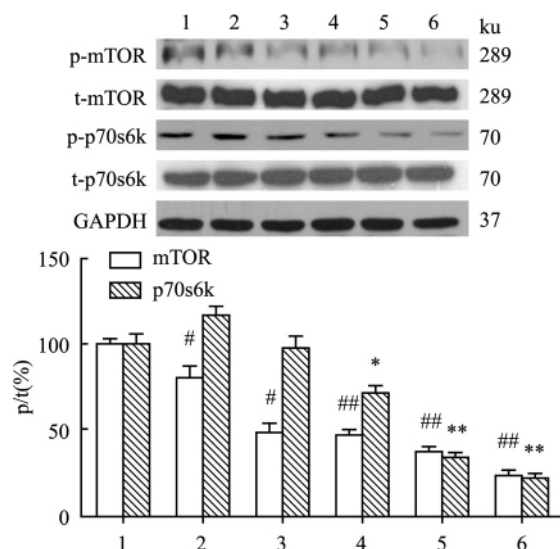


图3 PTE对mTOR、p70s6k磷酸化水平的影响

1: 对照组; 2: 5 μg/ml PTE; 3: 10 μg/ml PTE; 4: 20 μg/ml PTE; 5: 40 μg/ml PTE; 6: 100 μg/ml PTE; 与 mTOR 对照组比较: #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ ; 与 p70s6k 对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

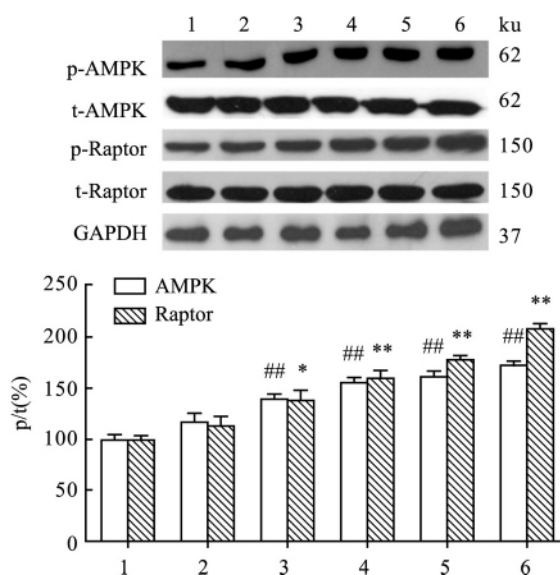


图4 PTE对AMPK、Raptor磷酸化水平的影响

1: 对照组; 2: 5 μg/ml PTE; 3: 10 μg/ml PTE; 4: 20 μg/ml PTE; 5: 40 μg/ml PTE; 6: 100 μg/ml PTE; 与 AMPK 对照组比较: #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ ; 与 Raptor 对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

作为 AD 的产物,  $A\beta$  在 AD 病理进程中起到了至关重要的作用,成为研究者们寻找抗 AD 药物的突破口<sup>[8]</sup>。如何降低  $A\beta$  的水平,保护神经元,如何改善认知功能,提高生存质量都是需要解决的问题。目前 AD 治疗仍然没有特效药物,中药作为天然产

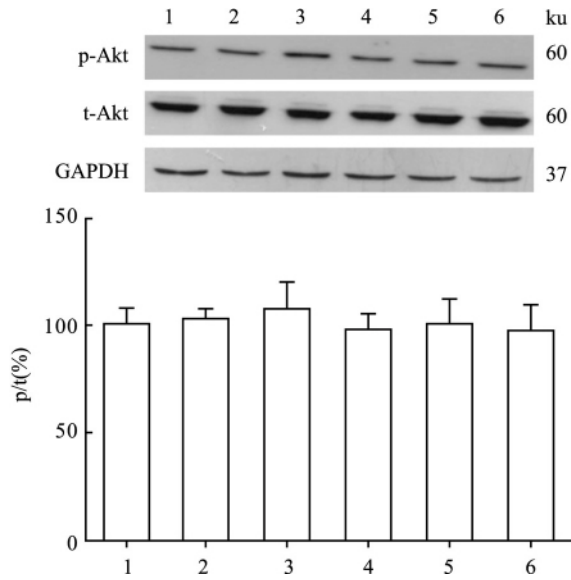


图5 PTE对Akt蛋白磷酸化水平的影响

1: 对照组; 2: 5 μg/ml PTE; 3: 10 μg/ml PTE; 4: 20 μg/ml PTE; 5: 40 μg/ml PTE; 6: 100 μg/ml PTE

物,具有毒副作用小,效果好,多靶点作用等特点,有良好的研究前景。本研究所选取的远志具有安神益智、祛痰、消肿的功效<sup>[9]</sup>。

Aβ对神经元损害很大,除了形成淀粉样斑块,还可引起炎症反应<sup>[10]</sup>,导致神经元死亡。本研究结果显示PTE能够明显抑制CHO-APP/BACE1细胞分泌Aβ,表明药物处理过的细胞已具有很强的清除Aβ的能力。而自噬作为细胞清除自身异常蛋白和细胞器的主要方式,很可能参与了此作用,通过MDC染色和对自噬标志物蛋白LC3的检测,结果显示:PTE处理24h后细胞内自噬小泡明显增多,同时LC3 II与LC3 I的比值也随着给药浓度增加而变大,表明自噬作用增强。

为了深入了解PTE诱导自噬所影响的信号通路,研究了与自噬诱导密切相关的mTOR通路。mTOR是自噬的抑制性激酶,研究<sup>[11-12]</sup>表明,通过用雷帕霉素抑制mTOR,诱导自噬的发生,可以减少阿尔茨海默模型小鼠淀粉样斑块形成,改善小鼠的认知功能。另外,p70s6k是mTOR下游的靶作用激酶,受mTOR的正向调控,也参与到自噬作用的过程中<sup>[13]</sup>。mTOR上游的AMPK与Akt是两个通过不同通路调控mTOR的激酶,AMPK是mTOR的抑制性激酶,Arsikin et al<sup>[14]</sup>用6-羟基多巴胺(6-hydroxy dopamine, 6-OHDA)处理SH-SY5Y细胞,AMPK/Raptor被活化,抑制了mTOR及其下游p70S6K的激活。Akt也是mTOR的上游激活,Wu

et al<sup>[15]</sup>用Akt抑制剂抑制了Akt的磷酸化,其下游的mTOR磷酸化水平也降低,表明Akt是mTOR的促进性激酶。本研究也分别检测了这些与自噬相关的激酶,显示在PTE处理过后,AMPK/Raptor磷酸化水平升高,但Akt磷酸化水平没有变化,mTOR与p70s6k活化均受到抑制。提示PTE是通过AMPK/mTOR通路,诱导自噬的增强。

综上所述,自噬在PTE对抗Aβ过程中起到了十分重要的作用,并且诱导自噬的信号通路的发现也具有一定的意义,本研究结果可为后续在动物水平考察PTE抗AD,改善认知功能提供先导理论依据。

参考文献

- [1] Cavallucci V, D'Amelio M, Cecconi F. Aβ toxicity in Alzheimer's disease [J]. Mol Neurobiol 2012, 45(2): 366-78.
- [2] Cappai R, White A R. Amyloid β [J]. Int J Biochem Cell Biol, 1999, 31(9): 885-9.
- [3] Lindhagen-Persson M, Brännström K, Vestling M et al. Amyloid-β oligomer specificity mediated by the IgM isotype-implications for a specific protective mechanism exerted by endogenous auto-antibodies [J]. PLoS One 2010, 5(11): 1-9.
- [4] De Felice F G, Wu D, Lambert M P, et al. Alzheimer's disease-type neuronal tau hyperphosphorylation induced by A beta oligomers [J]. Neurobiol Aging 2008, 29(9): 1334-47.
- [5] Ralph A N, Yang D S. Autophagy failure in Alzheimer's disease-locating the primary defect [J]. Neurobiol Dis 2011, 43(1): 38-45.
- [6] Lee H J, Ban J Y, Koh S B, et al. Polygalae radix extract protects cultured rat granule cells against damage induced by NMDA [J]. Am J Chin Med 2004, 32(4): 599-610.
- [7] Park C H, Choi S H, Koo J W, et al. Novel cognitive improving and neuroprotective activities of Polygala tenuifolia Willdenow extract, BT-11 [J]. J Neurosci Res 2002, 70(3): 484-92.
- [8] Jeon S, Bose S, Hur J, et al. A modified formulation of Chinese traditional medicine improves memory impairment and reduces Aβ level in the Tg-APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer's disease [J]. J Ethnopharmacol 2011, 137(1): 783-9.
- [9] 姜勇, 屠鹏飞. 远志研究进展 [J]. 中草药, 2001, 32(8): 759-61.
- [10] Cao L, Liu C, Wang F, et al. SIRT1 negatively regulates amyloid-beta-induced inflammation via the NF-κB pathway [J]. Braz J Med Biol Res 2013, 46(8): 659-69.
- [11] Majumder S, Richardson A, Strong R, et al. Inducing autophagy by rapamycin before, but not after, the formation of plaques and tangles ameliorates cognitive deficits [J]. PLoS One 2011, 6(9): 1-11.
- [12] Spilman P, Podlutskaya N, Hart M J, et al. Inhibition of mTOR by rapamycin abolishes cognitive deficits and reduces amyloid-beta levels in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. PLoS One, 2010, 5(4): 1-8.

## miR-145 对大鼠静脉桥血管内膜增生的影响

叶 岩 张成鑫 张士兵 葛圣林

**摘要** 目的 探讨微 RNA-145 (miR-145) 对自体静脉桥内膜增生的影响。方法 18 只雄性 SD 大鼠均分为慢病毒处理组、慢病毒对照组和未处理组。移植前,慢病毒处理组将移植静脉浸入慢病毒介导的 miR-145 溶液中(病毒滴度为  $1.0 \times 10^9$  pfu/ml) 15 min,慢病毒对照组将移植静脉浸入空载慢病毒溶液(病毒滴度为  $1.0 \times 10^9$  pfu/ml) 浸泡 15 min,未处理组在生理盐水中浸泡 15 min。术后 2 周取出移植血管,应用 HE 染色和 Masson 染色观察血管内膜的病理学改变,以及荧

光定量 RT-PCR 法检测移植血管中单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、增殖细胞核抗原(PCNA)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)及血管内皮生长因子(VEGF)的表达。结果 慢病毒处理组移植血管内膜厚度和管腔狭窄度均较慢病毒对照组和未处理组明显减少,MCP-1、PCNA、 $\alpha$ -SMA 及 VEGF 的表达水平明显低于慢病毒对照组和未处理组。结论 miR-145 可以有效抑制移植静脉内膜的增生。

**关键词** microRNA-145; 慢病毒; 静脉桥; 基因治疗

中图分类号 R 615; R 318.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)07-0917-06

2014-04-08 接收

基金项目:安徽省科技厅年度重点科研项目(编号:1301043025)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院心脏外科,合肥 230022

作者简介:叶 岩,男,硕士研究生;

葛圣林,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-

mail: aydgs1@sina.com

冠状动脉旁路移植术(coronary artery bypass grafting, CABG)中采用大隐静脉(great saphenous vein, GSV)作为材料已有30多年历史,而乳内动脉

[13] Klionsky D J, Meijer A J, Codogno P. Autophagy and p70S6 kinase[J]. Autophagy, 2005, 1(1): 59-60.

[14] Arsikin K, Kravic-Stevovic T, Jovanovic M, et al. Autophagy-dependent and -independent involvement of AMP-activated protein kinase in 6-hydroxydopamine toxicity to SH-SY5Y neuroblastoma

cells[J]. Biochim Biophys Acta 2012, 1822(11): 1826-36.

[15] Wu X, Kihara T, Akaike A, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling regulates glutamate transporter 1 in astrocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 393(3): 514-8.

## The process and signal pathway of eliminating $\beta$ -amyloid protein by *Polygala Tenuifolia* extract

Zhao Huan<sup>1</sup>, Chen Xiaoyu<sup>1</sup>, Ji Feihong<sup>2</sup>, et al

(<sup>1</sup> Dept of Histology and Embryology, Anhui Medical University, Hefei 230032;

<sup>2</sup> Shanghai GenHouse Technology Co Ltd, Shanghai 201203)

**Abstract Objective** To discuss the way of eliminating  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) protein by traditional Chinese medicine *Polygala Tenuifolia* extract (PTE) as well as its possible signal pathway. **Methods** MTT assay was used to observe the toxicity of different concentration of PTE (100, 40, 20, 10, 5, 0  $\mu$ g/ml) on SH-SY5Y cells.  $A\beta$  peptide level in the supernatant of CHO cells overexpressing  $\beta$ -amyloid pro-protein (APP) and  $\beta$ -secretase (BACE1) after treated with PTE was detected by ELISA method. Autophagic vacuoles in SH-SY5Y were observed by MDC staining, and microtubule-associated protein light chain 3 (LC3) was detected by Western blot. mTOR, p70s6k, Raptor, Akt, AMPK as well as their phosphorylated protein were tested by Western blot to investigate the possible signaling pathway of autophagy which induced by PTE. **Results** MTT result showed that PTE had no significant toxicity on SH-SY5Y. After treated with drug, CHO cells had significantly decreased the secretion of  $A\beta$ , and with dose independent. We observed that autophagic vacuoles boosted in drug treatment group by fluorescence microscopy, in addition, LC3 II/LC3 I, the marker protein of autophagy also increased. **Conclusion** PTE may induce autophagy via enhancing AMPK/Raptor pathway, and inhibit mTOR phosphorylation as well as p70s6k, then strengthen the capacity of cellula to eliminate  $A\beta$ , and decrease its secretion.

**Key words** Alzheimer disease;  $\beta$ -amyloid protein; autophagy; LC3