

不同疗程电针对放射性脑损伤模型小鼠学习记忆功能及 Notch 信号通路的影响

李炎辉 武鑫 王坦 王白燕 张晗 牛婷媛 牛钰琪 高剑峰

(河南中医药大学医学院 郑州 450046)

摘要 探讨不同疗程的电针干预对放射性脑损伤小鼠学习记忆的影响及其作用机制。60只4周龄雄性C57/BL6J小鼠随机分为空白组、模型组、电针组1(7d)、电针组2(14d)、电针组3(21d)、电针组4(28d)。除空白组外,其余各组给予X射线(8 Gy, 2 min)照射,构建放射性脑损伤模型,电针组给予针刺“百会”、“风府”及双侧“肾俞”穴,并依据分组分别干预7、14、21、28 d。电针结束后,Y迷宫检测各组小鼠学习记忆功能,苏木精-伊红染色法、透射电镜观察海马齿状回(DG)神经元形态、突触超微结构,Western blot检测Notch信号通路Notch 1、Hes 1、ASCL 1的蛋白表达。结果显示:与空白组相比,模型组小鼠学习记忆功能显著下降($p<0.01$);海马DG区神经元数量减少,排列紊乱;神经元突触前膜突触囊泡数量减少,突触界面率减小、突触后致密区(PSD)厚度降低、突触间隙增大均有显著差异($p<0.01$);与模型组相比,电针各组小鼠的学习记忆功能均显著提高($p<0.05$, $p<0.01$);电针组小鼠DG区神经元数量增多,排列整齐;各组小鼠DG区突触界面率均有显著改善($p<0.01$),电针组2、3和4小鼠PSD厚度显著增加($p<0.01$),电针组2、3和4的突触间隙显著减小($p<0.01$)。与空白组相比,模型组小鼠Notch 1蛋白表达显著升高($p<0.05$),Hes 1蛋白表达显著升高($p<0.01$),ASCL 1蛋白表达显著降低($p<0.01$);与模型组相比,电针组2、3和4的Notch 1、Hes 1蛋白表达显著降低($p<0.05$, $p<0.01$),电针组3和4的ASCL 1蛋白表达显著升高($p<0.05$, $p<0.01$)。提示不同疗程的电针可以改善放射线照射对小鼠学习记忆功能造成的损伤,该作用与改善DG区突触超微结构及调控Notch信号通路相关蛋白的表达有关。

关键词 放射性脑损伤,电针,学习记忆,Notch信号通路

中图分类号 R741

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2023-0004

引用该文:

李炎辉,武鑫,王坦,等.不同疗程电针对放射性脑损伤模型小鼠学习记忆功能及Notch信号通路的影响[J].辐射研究与辐射工艺学报,2023,41(5):050301. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2023-0004.

LI Yanhui, WU Xin, WANG Tan, *et al.* Effects of different courses of electrotherapy on learning, memory, and Notch signaling in a mouse model of radiation-induced brain injury[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2023, 41(5): 050301. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2023-0004.



基金资助:河南省自然科学基金(202300410267)、河南省重点研发与推广专项(科技攻关)项目(212102311082)、河南省高等院校青年骨干教师培养计划项目(2021GGJS085)、河南中医药大学2021年度研究生科研创新类项目(2021KYCX043)和河南中医药大学2019年度研究生创新创业团队(2019CXCX001)资助

第一作者:李炎辉,男,1996年12月出生,硕士研究生在读,研究方向:中医药防治脑损伤, E-mail: 651148324@qq.com

通信作者:高剑峰,医学博士,教授,硕士研究生导师, E-mail: jc.gjfeng@hotmail.com

收稿日期:初稿 2023-01-30;修回 2023-04-28

Supported by Natural Science Foundation of Henan Province (202300410267), Key R&D and Promotion Project of Henan Province (Science and Technology Research) (212102311082), The Young Key Teachers Training Program of Henan Province (2021GGJS085), 2021 Postgraduate Research Innovation Project of Henan University of Traditional Chinese Medicine (2021KYCX043), and 2019 Graduate Innovation and Entrepreneurship Team of Henan University of Chinese Medicine (2019CXCX001)

First author: LI Yanhui (male) was born in December 1996, Now he is a master student, research direction: prevention and treatment of brain injury with traditional Chinese medicine, E-mail: 651148324@qq.com

Corresponding author: GAO Jianfeng, medical doctor, professor, master's supervisor, E-mail: jc.gjfeng@hotmail.com

Received 30 January 2023; accepted 28 April 2023

Effects of different courses of electrotherapy on learning, memory, and Notch signaling in a mouse model of radiation-induced brain injury

LI Yanhui WU Xin WANG Tan WANG Baiyan ZHANG Han
NIU Tingyuan NIU Yuqi GAO Jianfeng

(College of Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT Herein, we investigated the effects of different courses of electroacupuncture on learning and memory in mice with radiation-induced brain injury, and elucidated the underlying mechanisms. Sixty 4-week-old male C57/BL6J mice were randomly divided into the blank group, model group, electroacupuncture group 1 (7 d), electroacupuncture group 2 (14 d), electroacupuncture group 3 (21 d), and electroacupuncture group 4 (28 d). Except the blank group, all groups were irradiated with X-ray (8 Gy, 2 min) to construct the radioactive brain injury model. The electroacupuncture group was injected with "Baihui," "Fengfu," and bilateral "Shenshu" points, and the intervention was performed for 7, 14, 21 and 28 days according to the groups, respectively. After electroacupuncture, the Y-maze test was conducted to assess the learning and memory of mice in each group. Neuron morphology and synaptic ultrastructure in the hippocampal DG region were observed via Hematoxylin-eosin staining and transmission electron microscopy. Protein expression levels of the Notch signaling pathway components Notch 1, Hes 1, and ASCL 1 were detected via Western blotting. The results revealed that, compared to those in the blank group, the learning and memory function of mice decreased significantly in the model group ($p < 0.01$). The number of neurons in the hippocampal dentate gyrus (DG) region decreased and their arrangement was disordered. The number of synaptic vesicles in the presynaptic membrane decreased, the rate of synaptic interface decreased, the thickness of the postsynaptic density (PSD) decreased, and the synaptic cleft increased significantly ($p < 0.01$). Compared to those of the model group, the learning and memory function of mice in electroacupuncture group was significantly improved ($p < 0.05$, $p < 0.01$). In the electroacupuncture group, the number of neurons in the DG region increased, with neurons neatly arranged. The rate of synaptic interface in the DG region improved significantly in all groups ($p < 0.01$), the PSD thickness of mice in groups 2, 3, and 4 was significantly increased ($p < 0.01$), and the synaptic cleft in groups 2, 3, and 4 was significantly decreased ($p < 0.01$). Compared to the blank group, Notch 1 ($p < 0.05$) and Hes 1 ($p < 0.01$) protein expressions were significantly increased in the model group, while ASCL 1 protein expression was significantly decreased ($p < 0.01$); compared those in the model group, the expressions of Notch 1 and Hes 1 proteins in electroacupuncture groups 2, 3, and 4 were significantly decreased ($p < 0.05$, $p < 0.01$), and the expression of ASCL 1 protein was significantly increased in electroacupuncture groups 3 and 4 ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). In conclusion, different courses of electroacupuncture can ameliorate the damage in learning and memory function caused by irradiation in mice, which is associated with improving the ultrastructure of synapses in the DG region and regulating the expression of related proteins of the Notch signaling pathway.

KEYWORDS Radiation-induced brain injury, Electropuncture, Learning and memory, Notch signaling pathway

CLC R741

放射性脑损伤 (Radiation-induced brain injury, RBI) 是头颈部肿瘤患者放疗后产生的严重并发症之一, 常出现头痛、学习记忆能力严重受损等症状, 影响患者的生活质量, 甚至危及生命^[1-3]。针灸是祖国医学的重要组成部分, 将传统针灸与电刺激相结合的电针疗法在血管性痴呆、阿尔茨海默症、帕金森等疾病中用于改善患者的学习记忆能力有良好的效果, 现已广泛用于临床^[4-6]。课题

组前期研究发现, 给予 8 Gy 的 X 射线照射即可引起 C57BL/6J 雄性小鼠海马区神经元凋亡, 旷场和新物体识别等行为学检测表明, 模型组小鼠的学习记忆能力显著受损, 给予电针干预后模型组小鼠的学习记忆能力得到明显改善, 说明电针干预对放射性损伤有一定的保护作用, 但其机制尚未明确^[7]。Notch 信号通路在哺乳动物体内广泛存在, 可以通过调控炎症反应、氧化应激和免疫反

应在胚胎发育、肿瘤发生及神经退行性病变过程中发挥重要作用^[8-9]。有研究表明,学习记忆能力的改善可能与Notch信号通路有关,但其机制尚未明确^[10]。因此,本实验通过电针干预“百会”、“风府”和双侧“肾俞”穴,观察不同疗程电针对放射性脑损伤小鼠学习记忆能力的影响及作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组

4周龄SPF级雄性C57BL/6J小鼠60只,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号为SCXK(京)2016-0006,实验单位使用许可证编号为SYXK(豫)2020-0004。将小鼠置于河南中医药大学饲养室按照7:00-19:00光照和19:00-7:00黑暗的时间,水食不限,适应性饲养1周。适应性饲养后将小鼠随机分为空白组、模型组、电针组1(7d)、电针组2(14d)、电针组3(21d)、电针组4(28d),每组10只。本实验已通过河南中医药大学伦理审查,动物伦理审查批准编号为:DWLL202004406。

1.2 主要设备与试剂

直线加速器(Varian Clinac 600 CD, Radiation Oncology Systems, San Diego, CA, USA);电子针灸治疗仪(无锡佳健医疗器械股份有限公司,型号G6805);一次性无菌针灸针(0.30 mm×13.00 mm,苏州医疗用品厂);石蜡切片机(Leica,型号2235);黏附载玻片(188105,世泰);Notch 1兔多克隆抗体(380355, ZENBIO);Hes 1兔多克隆抗体(381205, ZENBIO);ASCL 1兔多克隆抗体(YT0367, Immunosway); β -actin兔多克隆抗体(GB11001, Servicebio);HRP标记山羊抗兔IgG(GB23303, Servicebio);图像分析系统Image J(National Institutes of Health, USA)。

1.3 模型制备

除空白组外,模型组、电针组小鼠均通过X射线照射全脑,构建放射性脑损伤模型。腹腔注射1%戊巴比妥钠(0.01 mL/g)麻醉各组小鼠后,将小鼠俯卧位置于放射平台,全脑处于X射线照射区域,射线源距离脑99.5 cm,剂量率为400 cGy/min,脑组织接受剂量的变异约 $\pm 5\%$,行

单次8 Gy剂量的X射线照射,照射过程持续约2 min。造模结束后第二天进行电针干预。

1.4 电针干预方法

除空白组、模型组外,其余各组均进行电针干预。用小鼠固定器将小鼠俯卧位固定于操作台上,电针穴位取百会(顶骨正中)、风府(枕骨顶嵴后枕寰关节背凹陷处)及肾俞(第2腰椎后两旁凹陷处),取穴方法参考《实验针灸学》^[11]。电针治疗仪回路1取百会和风府,回路2取双侧肾俞。用一次性无菌针灸针刺入深度约1 mm,连接电针仪设置电压1.5 V,频率10 Hz,波宽1 ms,针刺时间为20 min/次,1次/d,依据分组连续干预7 d、14 d、21 d、28 d。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 Y迷宫行为学检测

Y迷宫由3个等长臂组成(50 cm×18 cm×35 cm),每两个臂之间夹角为120°,在中央处各有一个可以移动的隔板,迷宫内臂及底部均涂为黑色,在研究啮齿类动物的空间学习记忆能力方面具有显著优势^[12]。将小鼠放在Y迷宫任意一臂的末端中,任其自由探索5 min,摄像系统记录小鼠5 min的行为变化,进行酒精消毒,排除气味粪便干扰后,放入下一只小鼠继续进行测试,记录指标。小鼠总进臂数(The total number of entries):小鼠进入迷宫臂的次数(以动物4只脚均完全进臂为一次为标准);轮换次数(An alternation):小鼠依次连续进入Y迷宫的3个臂为一次,例如ABC、ACB、BCA、BAC...;大轮换次数(The number of maximum alternation):总进臂数-2。自发交替反应评价公式为:轮换次数/大轮换次数×100%,按照以上公式对小鼠的学习记忆能力做出评价。

1.5.2 石蜡切片检测

各组小鼠行为学检测后每组取3只小鼠取材,制备石蜡切片。采用1%戊巴比妥钠(0.01 mL/g)麻醉小鼠,打开胸腔暴露心脏,输液针插入心尖搏动处,剪开右心耳,先用50 mL生理盐水冲洗血管,再用50 mL 4%多聚甲醛进行灌注,以四肢僵硬,尾巴翘起为灌注成功标准,迅速断头,冰上取脑,4%多聚甲醛固定,24 h后换液,进行石蜡包埋,病理切片(厚度3 μ m)贴于黏附载玻片上,烤箱干燥后备用。

苏木-伊红(HE)染色检测海马区神经元形态。

石蜡切片按照脱蜡至水-苏木素染色-伊红染色-脱水封片-显微镜镜检的步骤进行操作,结果判读:细胞核呈蓝色,细胞质呈红色。

1.5.3 透射电镜观察海马区突触超微结构

行为学检测结束,每组取3只小鼠进行麻醉,心脏灌注后断头,冰上迅速取脑,在2.5%的戊二醛固定液中分离海马DG区,切成1 mm³的组织块固定4 h,经磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗(15 min×4次),1%锇酸固定,PBS漂洗(15 min×4次),梯度乙醇和丙酮脱水处理后,用环氧树脂进行包埋,聚合,超薄切片,饱和醋酸双氧铀水溶液染色(20 min),水洗,烘干,柠檬酸铅溶液染色(5 min),水洗,烘干后进行透射电镜观察拍照。

1.5.4 Western blot检测蛋白表达

行为学检测结束后,每组取4只小鼠麻醉后断头,冰上迅速取出双侧海马组织,剥离DG区放入冻存管,液氮中保存,全部取材结束移至-80℃冰箱冻存。提取组织蛋白,BCA法检测各组样本蛋白浓度,加入上样缓冲液100℃金属浴10 min,放置室温后通过垂直电泳仪进行电泳,PVDF膜转膜,分别和Notch 1兔多克隆抗体(1:3 000稀释),Hes 1兔多克隆抗体、ASCL 1兔多克隆抗体、β-actin兔多克隆抗体(均1:1 000稀释)4℃孵育过夜。次日1×TBST漂洗(3×10 min),与HRP标

记山羊抗兔IgG室温孵育1 h,1×TBST漂洗(3×10 min),用ECL增强发光液进行显影,利用Image J软件系统分析条带的吸光度,实验结果为目的蛋白条带的吸光度/内参蛋白条带的吸光度的比值。

1.6 统计学数据分析

实验数据利用IBM SPSS Statistics 21系统和Graphpad Prism软件进行分析,利用单因素方差分析(One-way-ANOVA)处理,方差齐时组间比较采用LSD法,不齐时采用Dunnett's T3法进行比较,数据均以“均数±标准差”(x̄±s)表示,以p<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同疗程电针对放射性脑损伤小鼠学习记忆能力的影响

Y实验结果表明,与空白组相比,模型组小鼠交替反应得分显著下降([#]p<0.01),表明造模成功。与模型组相比,不同疗程电针干预后,各组小鼠交替反应得分均有不同程度的升高,电针组1、2、3、4的得分均有明显差异(*p<0.05,**p<0.01)(表1)。

表1 电针干预对放射性脑损伤小鼠学习记忆能力的影响
Table 1 Effects of electroacupuncture intervention on learning and memory ability of mice with radiation-induced brain injury (x̄±s)

组别 Group	交替反应得分 Alternate response score
空白组 Blank group	0.93±0.06
模型组 Model group	0.33±0.05 [#]
电针组1 Electroacupuncture group 1	0.42±0.11 [*]
电针组2 Electroacupuncture group 2	0.60±0.06 ^{**}
电针组3 Electroacupuncture group 3	0.66±0.06 ^{**}
电针组4 Electroacupuncture group 4	0.73±0.05 ^{**}

注:与空白组相比,[#]p<0.01;与模型组相比,^{*}p<0.05,^{**}p<0.01。

Note: Compared with blank group, [#]p<0.01; compared with model group, ^{*}p<0.05, ^{**}p<0.01.

2.2 不同疗程电针对放射性脑损伤小鼠海马DG区神经元形态的影响

神经元是中枢神经系统结构和功能的基本单位。实验结果表明,空白组小鼠海马区齿状回(DG)的椎体细胞层细胞带结构完整,分层明显,细胞排列紧密,神经元形态规则,结构清晰,胞浆透明;模型组小鼠海马区齿状回椎体细胞层细

胞带结构缺失,不完整,分层不明显,细胞间隙增大,部分神经元胞体小,形态不规则,胞浆染色深;与模型组相比,电针组1和2组小鼠海马区齿状回细胞数目增多,但排列紊乱、细胞间隙大;电针组3和4组小鼠海马区齿状回椎体细胞层细胞带结构较完整,分层明显,细胞排列紧密,神经元体积较大,形态较规则,结构清晰,胞浆透明(图1)。

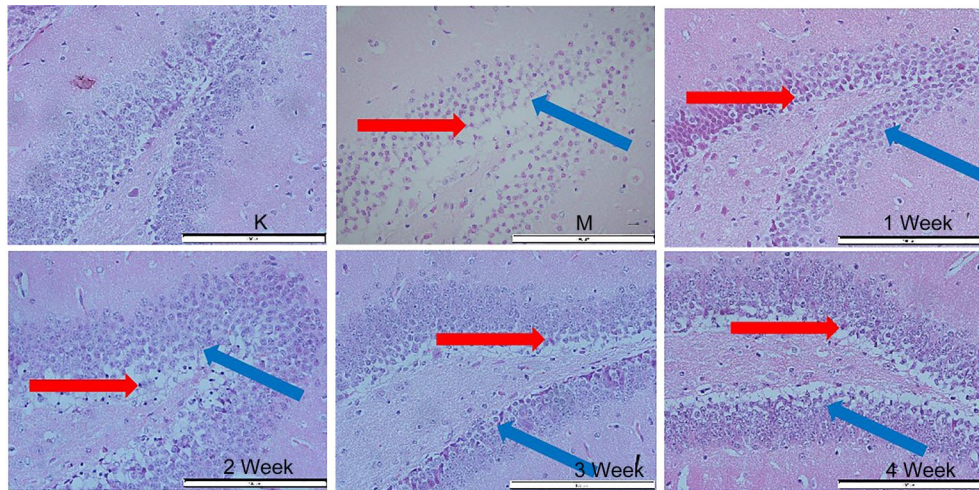


图1 不同疗程电针对小鼠海马 DG 区神经元形态的影响($\times 200$ 倍, 标尺 $100\ \mu\text{m}$); 注: K-空白组; M-模型组; 1 Week-电针组 1; 2 Week-电针组 2; 3 Week-电针组 3; 4 Week-电针组 4; 红色箭头-细胞固缩; 蓝色箭头-细胞间隙(彩色见网络版)
Fig.1 Effects of different courses of electricity on the morphology of neurons in the hippocampus DG region of mice ($\times 200$ times, scale $100\ \mu\text{m}$); note: K-blank group; M-model group; 1 Week-electroacupuncture group 1; 2 Week-electroacupuncture group 2; 3 Week-electroacupuncture group 3; 4 Week-electroacupuncture group 4; red arrow-cell shrinkage; blue arrow-intercellular space (color online)

2.3 不同疗程电针对放射性脑损伤小鼠海马 DG 区突触超微结构的影响

神经元与神经元之间进行信息传递的结构称为突触，突触是大脑实现高级功能（如学习记忆、认知的结构和功能）基础。因此，我们进一步检测了各组小鼠海马 DG 区的突触超微结构。实验结果表明，与空白组相比，模型组小鼠 DG 区神经元

突触前膜突触囊泡数量减少，突触界面率减小，突触间隙增大，PSD 厚度降低，均具有显著差异 ($^{\#}p < 0.01$)。与模型组相比，电针组 1、2、3 和 4 突触界面率均有显著升高 ($^{**}p < 0.01$)，电针组 2、3 和 4 的 PSD 厚度与模型组相比显著增加 ($^{**}p < 0.01$)，电针组 2、3 和 4 的突触间隙与模型组相比均显著减小 ($^{**}p < 0.01$)。(图 2，表 2)。

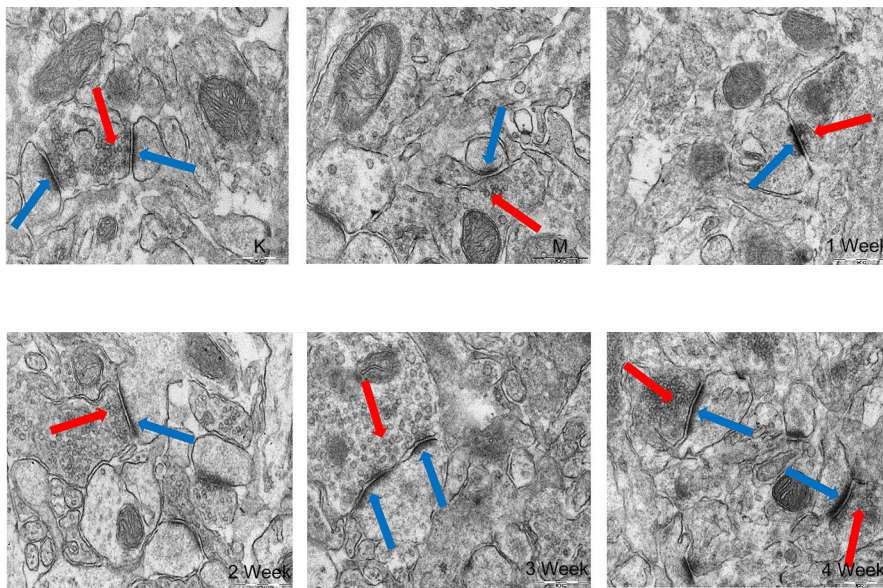


图2 不同疗程电针对小鼠海马 DG 区突触结构的影响 ($\times 30\ 000$ 倍, 标尺 $500\ \text{nm}$); 注: 红色箭头所指突触囊泡, 蓝色箭头所指 PSD (彩色见网络版)
Fig.2 Effects of different courses of electrotherapy on synaptic structure in the DG region of mice hippocampus ($\times 30\ 000$ times, scale $500\ \text{nm}$); note: red arrow: synaptic vesicles, blue arrow: PSD (color online)

表2 不同疗程电针对小鼠海马 DG 区突触结构的影响

Table 2 Effects of different courses of electrotherapy on synaptic structure of hippocampal DG region of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别 Groups	突触界面率 Synaptic interface rate	PSD 厚度 / nm PSD thickness	突触间隙 / nm Synaptic cleft
空白组 Blank group	1.21±0.02	74.01±1.78	15.61±0.61
模型组 Model group	0.98±0.01 ^{##}	38.83±3.70 ^{##}	33.05±3.03 ^{##}
电针组 1 Electroacupuncture group 1	1.09±0.01 ^{**}	43.08±2.34	30.53±1.05
电针组 2 Electroacupuncture group 2	1.11±0.01 ^{**}	52.13±2.22 ^{**}	27.16±0.92 ^{**}
电针组 3 Electroacupuncture group 3	1.13±0.13 ^{**}	60.70±2.48 ^{**}	21.20±1.67 ^{**}
电针组 4 Electroacupuncture group 4	1.19±0.02 ^{**}	68.38±2.90 ^{**}	17.50±1.80 ^{**}

注：与空白组相比，^{##} $p < 0.01$ ；与模型组相比，^{*} $p < 0.05$ ，^{**} $p < 0.01$ 。

Note: compared with blank group, ^{##} $p < 0.01$; compared with model group, ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$.

2.4 不同疗程电针对放射性脑损伤小鼠海马 DG 区 Notch 1、Hes 1、ASCL 1 蛋白表达的影响

Notch 信号通路在神经系统的病理生理过程及神经损伤后的修复和再生中起重要调控作用^[13]。因此，我们进一步检测各组小鼠海马 DG 区 Notch 蛋白信号通路节点蛋白的表达。实验结果表明，与空白组相比，模型组小鼠 Notch 1 蛋白表达显著升高（[#] $p < 0.05$ ），与模型组相比，电针干预各组 Notch 1 蛋白表达均不同程度下调，其中电针组 2、

3、4 的小鼠海马 DG 区 Notch 1 蛋白表达显著降低（^{*} $p < 0.05$ ，^{**} $p < 0.01$ ）；与空白组相比，模型组小鼠 Hes 1 蛋白表达显著升高（^{##} $p < 0.01$ ），与模型组相比，电针干预各组 Hes 1 蛋白表达均不同程度下调，其中电针组 2、3 和 4 显著降低（^{*} $p < 0.05$ ，^{**} $p < 0.01$ ）；与空白组相比，模型组 ASCL 1 蛋白表达显著降低（[#] $p < 0.05$ ），电针干预各组 ASCL 1 蛋白表达均不同程度上调，其中电针组 3 和 4 显著升高（^{*} $p < 0.05$ ，^{**} $p < 0.01$ ）（表 3，图 3）。

表3 不同疗程电针对小鼠海马 DG 区 Notch1、Hes1、ASCL1 蛋白表达水平的影响
Table 3 Different courses of electricity in mice hippocampal DG Notch1, Hes1, ASCL1 protein expression level of influence ($\bar{x}\pm s$)

组别 Groups	Notch 1/ β -actin	Hes 1/ β -actin	ASCL 1/ β -actin
空白组 Blank group	0.38±0.12	0.65±0.39	1.66±0.43
模型组 Model group	1.02±0.39 [#]	1.60±0.26 ^{##}	0.69±0.47 [#]
电针组 1 Electroacupuncture group 1	0.76±0.27	1.23±0.18	1.08±0.25
电针组 2 Electroacupuncture group 2	0.61±0.22 [*]	1.03±0.25 [*]	1.21±0.36
电针组 3 Electroacupuncture group 3	0.39±0.11 ^{**}	0.74±0.31 ^{**}	1.53±0.21 [*]
电针组 4 Electroacupuncture group 4	0.39±0.11 ^{**}	0.67±0.24 ^{**}	1.66±0.31 ^{**}

注：与空白组相比，^{##} $p < 0.01$ ；与模型组相比，^{*} $p < 0.05$ ，^{**} $p < 0.01$ 。

Note: compared with blank group, ^{##} $p < 0.01$; compared with model group, ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$.

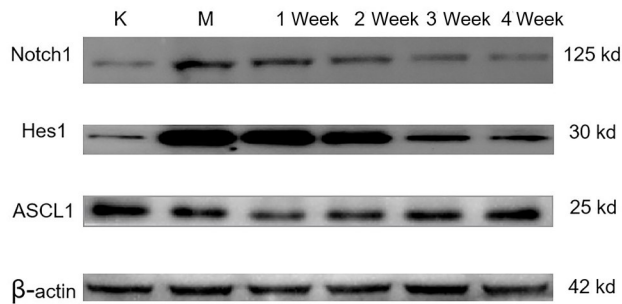


图3 不同疗程电针对小鼠海马 DG 区 Notch 1、Hes 1、ASCL 1 蛋白表达的影响

Fig.3 Effects of different courses of electrotherapy on the expression of Notch 1, Hes 1, and ASCL 1 proteins in the DG region of the hippocampus of mice

3 讨论

目前，放疗被广泛用于治疗头颈部肿瘤，而在放射治疗过程中，神经元不可避免地受到损伤，出现放射性脑损伤，主要临床表现为学习记忆能力下降^[14-16]。中医认为放射线属外来邪气，依据患者的临床表现，将放射线归于火热毒邪，应结合患者的具体情况进行对症治疗^[17]。针灸是中医学重要的组成部分，以操作简单、效果明显为特点逐步在临床推广。放射性脑损伤病发部位在脑，可归于脑病，首取督脉。督脉为阳脉之海，总领一身阳气。百会穴居颠顶，是督脉要穴，与脑密切联系，具dian'ding有通督调神、醒脑开窍的作用，研究表明，电针百会可以通过调控大脑血液供应、改善脑组织抗氧化酶活性，改变海马区的突触结构，提高突触相关蛋白的表达水平等起到改善学习记忆的能力^[18-20]。风府位于脑部，属督脉。《备急千金药方》中记载：“风府”可治脑中百病，针刺风府可以起到通关开窍、调节神机的作用^[21-22]。肾主骨生髓，藏志，督脉“贯脊属肾”，脑为髓海，刺激肾俞有填精益髓、补肾益智的作用^[23]。因此，本实验选取“百会”、“风府”和“肾俞”作为穴位组进行电针干预，3个穴位同时刺激，具有醒脑开窍、填精益智的功效。

Y迷宫可用来检测小鼠的学习记忆能力。在实验过程中，小鼠进入不同的臂表示进入不同的环境，正常小鼠能够记住已进入的臂，避免再次进入同一臂，学习记忆受损的小鼠则对已进入过的臂没有印象，因此表现为交替反应得分下降^[24]。本实验结果显示，模型组小鼠的交替反应得分显著下降 ($p<0.01$)，提示小鼠学习记忆功能受到损伤，而电针干预后小鼠学习记忆能力得到提升，与模型组相比，电针组1、2、3和4的反应得分均有显著升高 ($*p<0.05$, $**p<0.01$)，提示电针组小鼠的学习记忆能力得到改善。成年海马的神经发生在大脑学习记忆过程中具有重要作用，而DG区富含神经干细胞，可以分化为新的神经元进行损伤修复，起到神经保护作用^[25-27]。海马是学习记忆的重要区域，一旦神经元出现数目减少、排列紊乱等结构变化，大脑的学习记忆功能会受到不同程度的影响。HE染色实验表明，与空白组相比，模型组小鼠DG区神经元细胞数量减少，排列紊乱，细胞核固缩，细胞间隙增大。经过电针干预，电针组1、2海马DG区神经元细胞数目增加，

但细胞排列紊乱、间隙较大，而电针组3、4海马DG区神经元细胞数目增加，细胞排列规律，间隙减小。神经细胞除胞体外还具有丰富的突触结构进行细胞间的信息传递，与学习记忆的形成密不可分^[28]。突触由突触前膜、突触间隙和突触后膜组成，突触发生改变直接影响学习记忆能力，我们把这种改变称为突触可塑性，突触可塑性是公认的学习记忆的神经基础，包括结构可塑性和功能可塑性，其中以突触数量、突触间隙和PSD厚度发生的改变称为结构可塑性，功能可塑性则以长时程增强和长时程抑制为主^[29-31]。有研究表明，电针治疗可以通过增强突触可塑性改善学习记忆损伤，这与长时程增强、突触超微结构的改变有一定关系^[32-33]。本实验通过透射电镜结果发现，与空白组相比，模型组小鼠DG区神经元突触前膜突触囊泡数量减少，突触界面率降低、PSD厚度降低和突触间隙增大具有显著差异 ($p<0.01$)。而与模型组相比，电针组1、2、3和4突触界面率均有显著升高 ($**p<0.01$)，电针组2、3和4的PSD厚度与模型组相比显著增加 ($**p<0.01$)，电针组2、3和4的突触间隙与模型组相比均显著减小 ($**p<0.01$) (图3, 表1)。上述实验结果表明，8 Gy的X射线即能造成小鼠的学习记忆功能损伤，电针干预后小鼠的学习记忆功能得到改善，与海马DG区神经元和突触结构的改变有关。

Notch信号通路在各组织广泛表达，参与生长发育的整个生物过程，主要包含Notch配体(Delta-like 1、Delta-like 3、Delta-like 4和Jagged 1、Jagged 2)、Notch受体(Notch 1、Notch 2、Notch 3和Notch 4)、DNA结合蛋白CSL(CBF-1、Suppressor of hairless及Lag的合称)以及其他效应分子和调节分子，配体与受体结合释放NICD进入细胞核后与转录因子CSL结合形成复合体激活下游的包括Hes和ASCL 1在内的负调控型碱性螺旋-环-螺旋基因(basic helix-loop-helix, bHLH)转录抑制因子家族，对神经干细胞的增殖分化有重要调节作用，参与成年海马DG区的神经发生过程，是一条高度保守的信号转导通路^[34-36]。有研究发现，Notch 1主要在神经干细胞中表达，起到维持神经干细胞保持未分化的状态，Hes 1和ASCL 1是Notch信号通路的重要下游效应分子，其中，Hes 1可以维持神经干细胞的正常数目和形态，而ASCL 1可以启动神经元的分化，对神经干细胞起正性调控作用，当Notch信号通路被激活，两者相

互拮抗,共同调控神经干细胞的分化^[37-40]。前期研究表明,针刺后Notch信号通路可以通过促进神经干细胞的增殖分化、血管新生、增强神经可塑性等方式起到改善抑郁症、脑缺血、阿尔兹海默症带来的学习记忆受损症状^[41-42]。但放射性脑损伤小鼠的学习记忆改善与Notch信号通路的调控机制尚未明确。本实验结果表明,与空白组相比,模型组小鼠Notch 1蛋白表达显著升高($p<0.05$),与模型组相比,电针组2、3和4显著降低($p<0.05$, $p<0.01$);与空白组相比,模型组小鼠Hes 1蛋白表达显著升高($p<0.01$),与模型组相比,电针组2、3、4显著降低($p<0.05$, $p<0.01$);而ASCL 1的蛋白表达与Notch 1、Hes 1的表达呈负调节,与空白组相比,模型组ASCL 1蛋白表达显著降低($p<0.05$),电针干预各组ASCL 1蛋白表达均不同程度上调,电针组3和4的ASCL 1蛋白表达均显著升高($p<0.05$, $p<0.01$)。上述结果表明电针,针干预可以通过调节Notch信号通路的蛋白表达对放射性脑损伤小鼠的学习记忆能力起到改善作用。

4 结论

放射性脑损伤是临床不可忽视的一种严重并发症,甚至危及患者生命。本实验通过不同疗程的电针干预“百会”、“风府”及双侧“肾俞”穴证明电针可以改善放射性脑损伤小鼠的学习记忆功能现象,其作用机制可能与改善海马DG区的突触超微结构和调控Notch信号通路相关蛋白的表达有关。本实验为临床推广电针疗法提供了实验理论参考。

作者贡献声明 李炎辉是本实验的主要操作者和本文的主要撰写者;武鑫、王坦、王白燕作为主要指导者,对本文的撰写和逻辑提出建设性修改意见;张晗作为辅助者,帮助第一作者理清书写思路并给予相应指导;牛婷媛、牛钰琪辅助第一作者顺利完成病理和蛋白实验;高剑峰是本文的通信作者,给第一作者点明研究方向和撰写思路,并提供前期的研究基础,督促作者认真撰写文章。全体作者均已阅读并同意最终的文本。

参考文献

1 刘秀珠,武兵兵,王燕如,等.炎症在放射性脑损伤中的作用研究状况[J].中国临床药理学杂志,2022,38(9):

1007-1010. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2022.09.025.

LIU Xiuzhu, WU Bingbing, WANG Yanru, *et al.* Research status on mechanisms of inflammation in radiation-induced brain injury[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2022, 38(9): 1007-1010. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2022.09.025.

2 王冬慧,武鑫,孙宁宁,等.电针干预放射性脑损伤小鼠海马区突触可塑性相关蛋白的表达[J].中国组织工程研究,2021,25(14):2205-2210.

WANG Donghui, WU Xin, SUN Ningning, *et al.* Electroacupuncture intervention on the expression of synaptic plasticity-related proteins in the hippocampi of mice with radiation-induced brain injury[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2021, 25(14): 2205-2210.

3 敖翻,赵歆,玉洪荣,等.海带多糖干预对放射性脑损伤模型小鼠血脑屏障的保护[J].中国组织工程研究,2022,26(20):3158-3163.

AO Pian, ZHAO Xin, YU Hongrong, *et al.* Laminaria japonica polysaccharide protects radiation-induced brain injury by regulating the blood-brain barrier in mice[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2022, 26(20): 3158-3163.

4 陈少萍,梁超,张燕珍,等.电针“智三针”对血管性痴呆患者疗效、认知功能、神经物质代谢影响研究[J].四川中医,2022,40(8):173-176.

CHEN Shaoping, LIANG Chao, ZHANG Yanzhen, *et al.* Study on effect, cognitive function and neurometabolic effect of electroacupuncture “Zhi SAN acupuncture” on vascular dementia patients[J]. Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine, 2022, 40(8): 173-176.

5 黄姬玲,康英杰,成建明,等.电针干预轻微肝性脑病即刻脑效应的BOLD-fMRI研究[J].中国医学计算机成像杂志,2022,28(2):119-126. DOI: 10.19627/j.cnki.cn31-1700/th.2022.02.019.

HUANG Jiling, KANG Yingjie, CHENG Jianming, *et al.* The BOLD-fMRI study on the immediate brain effect of electroacupuncture intervention in mild hepatic encephalopathy[J]. Chinese Computed Medical Imaging, 2022, 28(2): 119-126. DOI: 10.19627/j.cnki.cn31-1700/th.2022.02.019.

6 汤炎华,梅章林,庄焕忠,等.电针涌泉、神门、百会穴对老年患者术后认知功能障碍的影响[J].罕少疾病杂志,2022,29(9):94-96. DOI: 10.3969/j.issn.1009-3257.2022.09.043.

- TANG Yanhua, MEI Zhanglin, ZHUANG Huanzhong, *et al.* Effect of electroacupuncture at Yongquan, Shenmen and Baihui points on postoperative cognitive dysfunction in elderly patients[J]. *Journal of Rare and Uncommon Diseases*, 2022, **29**(9): 94-96. DOI: 10.3969/j.issn.1009-3257.2022.09.043.
- 7 武鑫, 李炎辉, 张文靖, 等. 不同疗程电针对放射性脑损伤小鼠突触超微结构及突触功能相关蛋白的影响[J]. *生理学报*, 2021, **73**(6): 909-916. DOI: 10.13294/j.aps.2021.0083.
- WU Xin, LI Yanhui, ZHANG Wenjing, *et al.* Effects of electroacupuncture with different courses on the synaptic structure and synaptic function-related proteins in mice with radiation-induced brain injury[J]. *Acta Physiologica Sinica*, 2021, **73**(6): 909-916. DOI: 10.13294/j.aps.2021.0083.
- 8 刘婷, 刘旺华, 郭志华, 等. 基于Notch通路的中药治疗缺血性脑卒中的研究进展[J]. *中国中医急症*, 2022, **31**(10): 1861-1864. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2022.10.045.
- LIU Ting, LIU Wanghua, GUO Zhihua, *et al.* Research progress of traditional Chinese medicine in treating ischemic stroke based on Notch pathway[J]. *Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine*, 2022, **31**(10): 1861-1864. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2022.10.045.
- 9 颜丽巧, 易伊人, 陈茂, 等. 基于信号转导通路探讨针灸治疗血管性痴呆的作用机制[J]. *中医药导报*, 2022, **28**(10): 100-104. DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2022.10.023.
- YAN Liqiao, YI Yiren, CHEN Mao, *et al.* Discussion on the mechanism of acupuncture treatment of vascular dementia based on signal transduction pathway[J]. *Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2022, **28**(10): 100-104. DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2022.10.023.
- 10 梁俊杰, 韩姗姗, 吴佳骏, 等. 醒脑静抑制Notch信号通路减轻七氟烷引起的成年小鼠认知功能障碍[J]. *南京中医药大学学报*, 2022, **38**(7): 599-606. DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2022.0599.
- LIANG Junjie, HAN Shanshan, WU Jiajun, *et al.* XingNaoJing alleviated adult mice cognitive dysfunction induced by sevoflurane through inhibition of the Notch signaling pathway[J]. *Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine*, 2022, **38**(7): 599-606. DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2022.0599.
- 11 余曙光, 徐斌. *实验针灸学*[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2021.
- YU Shuguang, XU Bin. *Experimental acupuncture and moxibustion science massage acupuncture*[M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2021.
- 12 梁嘉莹, 李佳男, 陈旭, 等. 热刺激联合Y迷宫实验用于观察糖尿病小鼠认知功能的可行性[J]. *江苏医药*, 2021, **47**(5): 447-449. DOI: 10.19460/j.cnki.0253-3685.2021.05.004.
- LIANG Jiaying, LI Jianan, CHEN Xu, *et al.* Feasibility of heat stimulation combined with Y maze test in observing cognitive function of diabetic mice[J]. *Jiangsu Medical Journal*, 2021, **47**(5): 447-449. DOI: 10.19460/j.cnki.0253-3685.2021.05.004.
- 13 张珊. 有氧运动介导Notch信号通路影响AD小鼠AHN及学习记忆能力的研究[D]. 成都: 成都体育学院, 2021. DOI: 10.26987/d.cnki.gcdtc.2021.000035.
- ZHANG Shan. Effects of Notch signal pathway mediated by aerobic exercise on AHN and learning and memory ability in AD mice[D]. Chengdu: Chengdu Sport University, 2021. DOI: 10.26987/d.cnki.gcdtc.2021.000035.
- 14 刘力源, 郭玲, 黄蓉蓉, 等. 20 Gy γ 射线不同分割模式头部照射对小鼠学习记忆的影响[J]. *神经解剖学杂志*, 2021, **37**(2): 137-144. DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2021.02.003.
- LIU Liyuan, GUO Ling, HUANG Rongrong, *et al.* The effects of 20 Gy γ -ray cranial irradiation with different fractionation regimen on learning and memory in mice [J]. *Chinese Journal of Neuroanatomy*, 2021, **37**(2): 137-144. DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2021.02.003.
- 15 Bálentová S, Adamkov M. Pathological changes in the central nervous system following exposure to ionizing radiation[J]. *Physiological Research*, 2020: 389-404. DOI: 10.33549/physiolres.934309.
- 16 Haldbo-Classen L, Amidi A, Lukacova S, *et al.* Cognitive impairment following radiation to hippocampus and other brain structures in adults with primary brain tumours[J]. *Radiotherapy and Oncology*, 2020, **148**: 1-7. DOI: 10.1016/j.radonc.2020.03.023.
- 17 张悦, 梁建庆, 李金田, 等. 辐射毒与中医火毒相关性探讨[J]. *中华中医药杂志*, 2022, **37**(10): 6084-6087.
- ZHANG Yue, LIANG Jianqing, LI Jintian, *et al.* Discussion on the correlation between radiation poisoning and fire poisoning in traditional Chinese medicine[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2022, **37**(10): 6084-6087.

- 18 王强, 王玥. 电针内关、百会通过NLRP3/ASC/Caspase-1通路干预局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠的作用研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(8): 1335-1340. DOI: 10.3969/j.issn.1674-070X.2022.08.016.
- WANG Qiang, WANG Yue. Effect of electroacupuncture at Neiguang ("PC6") and Baihui ("DU20") on focal cerebral ischemia-reperfusion injury through NLRP3/ASC/Caspase-1 pathway in rats[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan, 2022, 42(8): 1335-1340. DOI: 10.3969/j.issn.1674-070X.2022.08.016.
- 19 王婧吉, 瞿艳, 王娟, 等. 电针“百会”“神庭”对血管性痴呆大鼠学习记忆能力和海马突触结构与相关蛋白表达水平的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2022, 41(3): 51-56. DOI: 10.3969/j.issn.2095-7246.2022.03.012.
- WANG Jingji, QU Yan, WANG Juan, *et al.* Effect of electroacupuncture at Baihui and Shenting on learning and memory, hippocampal synaptic structure, and expression of related proteins in rats with vascular dementia[J]. Journal of Anhui University of Chinese Medicine, 2022, 41(3): 51-56. DOI: 10.3969/j.issn.2095-7246.2022.03.012.
- 20 闫晓, LEE Jaemyung, 张铭, 等. 电针神庭穴和百会穴对脑缺血/再灌注损伤后学习记忆障碍大鼠脑组织超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的影响研究[J]. 中国全科医学, 2022, 25(23): 2892-2898. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0008.
- YAN Xiao, LEE Jaemyung, ZHANG Ming, *et al.* Effect of electroacupuncture at Shenting and Baihui acupoints on superoxide dismutase activity and malondialdehyde content in the brain tissue in a rat model of learning and memory impairment induced by cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Chinese General Practice, 2022, 25(23): 2892-2898. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0008.
- 21 夏昆鹏, 逢静, 李书霖, 等. 督脉电针对阿尔茨海默病患者学习记忆能力及血清APP、 $A\beta_{1-42}$ 的影响[J]. 中国针灸, 2020, 40(4): 375-378. DOI: 10.13703/j.0255-2930.20190728-0003.
- XIA Kunpeng, PANG Jing, LI Shulin, *et al.* Effect of electroacupuncture at governor vessel on learning-memory ability and serum level of APP, $A\beta_{1-42}$ in patients with Alzheimer's disease[J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2020, 40(4): 375-378. DOI: 10.13703/j.0255-2930.20190728-0003.
- 22 周俊, 王文熠, 李澎. 不同频率电针风府穴治疗脑卒中后吞咽障碍的临床观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(9): 1705-1709. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.210930.
- ZHOU Jun, WANG Wenyi, LI Peng. Clinical observation on treatment of dysphagia after stroke by electroacupuncture at Fengfu point with different frequencies[J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2021, 16(9): 1705-1709. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.210930.
- 23 杜艳军, 陶一鸣, 田青, 等. 基于ERK/CREB信号通路探讨艾灸肾俞穴改善去卵巢联合D-半乳糖阿尔茨海默病样大鼠神经元丢失的机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(6): 1-7, 259. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2021.06.001.
- DU Yanjun, TAO Yiming, TIAN Qing, *et al.* Study on mechanism of moxibustion at Shenshu(BL23) to improve neuron loss in ovariectomized D-galactose AD-like rats based on ERK/CREB signaling pathway[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2021, 39(6): 1-7, 259. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2021.06.001.
- 24 李悦, 王慧, 姚欣雨, 等. 酸枣仁汤对PCPA失眠大鼠学习记忆功能及海马突触可塑性相关蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(8): 12-20. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20220836.
- LI Yue, WANG Hui, YAO Xinyu, *et al.* Effect of Suanzaoren Tang on learning, memory and expression of proteins related to hippocampal synaptic plasticity in PCPA-induced insomnia rat model[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2022, 28(8): 12-20. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20220836.
- 25 杜佳, 付燕, 范佳, 等. 有氧运动干预 $A\beta_{1-42}$ 诱导阿尔茨海默病大鼠海马突触结构与突触蛋白的改变[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(33): 5256-5262.
- DU Jia, FU Yan, FAN Jia, *et al.* Aerobic exercise intervenes with beta-amyloid 1-42 induced changes in hippocampal synaptic structure and proteins in a rat model of Alzheimer's disease[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2023, 27(33): 5256-5262.
- 26 黄文韬, 李朵朵, 李冰, 等. 电针对抑郁症大鼠海马齿状回亚颗粒区小胶质细胞活化和学习记忆能力的影响[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(4): 513-519. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2022.04.009.
- HUANG Wentao, LI Duoduo, LI Bing, *et al.* Effects of electroacupuncture of the subgranular area of the dentate gyrus on microglia activation, and learning and memory function, in depressed rats[J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2022, 30(4): 513-519. DOI: 10.

- 3969/j.issn.1005-4847.2022.04.009.
- 27 曾文飞, 谭燕梦, 杨林, 等. 加巴喷丁对慢性疼痛和抑郁共病成年大鼠海马齿状回神经发生的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2022, **47**(7): 839-846. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2022.210657.
- ZENG Wenfei, TAN Yanmeng, YANG Lin, *et al.* Effect of gabapentin on neurogenesis in hippocampal dentate gyrus of adult rats with co-disease of chronic pain and depression[J]. *Journal of Central South University (Medical Science)*, 2022, **47**(7): 839-846. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2022.210657.
- 28 王玲, 杨馥宇. 二氢杨梅素对间歇低氧大鼠认知功能及海马齿状回微管相关蛋白2表达的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2022, **24**(4): 422-425. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2022.04.022.
- WANG Ling, YANG Fuyu. Effect of dihydromyricetin on cognitive function and MAP-2 expression in hippocampal dentate gyrus in intermittent hypoxia rats[J]. *Chinese Journal of Geriatric Heart Brain and Vessel Diseases*, 2022, **24**(4): 422-425. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2022.04.022.
- 29 Mancini A, de Iure A, Picconi B. Basic mechanisms of plasticity and learning[M]//*Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam: Elsevier, 2022: 21-34. DOI: 10.1016/b978-0-12-819410-2.00002-3.
- 30 Hossain M M, Belkadi A, Al-Haddad S, *et al.* Deltamethrin exposure inhibits adult hippocampal neurogenesis and causes deficits in learning and memory in mice[J]. *Toxicological Sciences*, 2020, **178**(2): 347-357. DOI: 10.1093/toxsci/kfaa144.
- 31 Lee J H, Yang D S, Goulbourne C N, *et al.* Faulty autolysosome acidification in Alzheimer's disease mouse models induces autophagic build-up of A β in neurons, yielding senile plaques[J]. *Nature Neuroscience*, 2022, **25**(6): 688-701. DOI: 10.1038/s41593-022-01084-8.
- 32 宋凯, 王亚婷, 熊凡捷, 等. 针灸调节学习记忆损伤长时间增强机制的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2022, **40**(3): 84-89. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2022.03.020.
- SONG Kai, WANG Yating, XIONG Fanjie, *et al.* Research progress on acupuncture and moxibustion regulating long-term potentiation mechanism of learning and memory impairment[J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2022, **40**(3): 84-89. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2022.03.020.
- 33 牟秋杰, 姜婧, 王鑫, 等. 针灸治疗阿尔茨海默病的作用机制研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, **22**(8): 2621-2627. DOI: 10.11842/wst.20200229003.
- MOU Qiuji, JIANG Jing, WANG Xin, *et al.* Research progress on the mechanism of acupuncture and moxibustion in the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2020, **22**(8): 2621-2627. DOI: 10.11842/wst.20200229003.
- 34 李彦军, 王宇星, 杨嘉凯, 等. Fasudil在EAM小鼠中通过抑制NOTCH信号通路下调IL-6表达[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2023, **44**(1): 82-88. DOI: 10.7652/jdyxb202301013.
- LI Yanjun, WANG Yuxing, YANG Jiakai, *et al.* Fasudil exerts a protective effect on down-regulation of IL-6 expression by inhibiting the NOTCH signaling pathway in EAM mice[J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences)*, 2023, **44**(1): 82-88. DOI: 10.7652/jdyxb202301013.
- 35 郭诗天, 林辉, 于洁. 姜黄素抑制Notch信号通路治疗动脉粥样硬化的研究进展[J]. 心脑血管病防治, 2022, **22**(6): 71-74. DOI: 10.3969/j.issn.1009-816x.2022.06.016.
- GUO Shitian, LIN Hui, YU Jie. Research progress of curcumin inhibiting Notch signaling pathway in the treatment of atherosclerosis[J]. *Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral-Vascular Disease*, 2022, **22**(6): 71-74. DOI: 10.3969/j.issn.1009-816x.2022.06.016.
- 36 周剑英, 何思锦, 顾力华, 等. 基于Notch信号通路探讨中医药干预缺血性脑卒中的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, **19**(23): 4099-4101. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2021.23.019.
- ZHOU Jianying, HE Sijin, GU Lihua, *et al.* Based on Notch signaling pathway, the research progress of TCM intervention in ischemic stroke was discussed[J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine on Cardio/Cerebrovascular Disease*, 2021, **19**(23): 4099-4101. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2021.23.019.
- 37 Zhu J D, Wang J J, Zhang X H, *et al.* Neuroprotective effect of Notch pathway inhibitor DAPT against focal cerebral ischemia/reperfusion 3 hours before model establishment[J]. *Neural Regeneration Research*, 2019, **14**(3): 452. DOI: 10.4103/1673-5374.245469.
- 38 苏明珠, 马跃文. 放散式冲击波通过Notch1/Hes1通路调节脑缺血后海马组织中神经干细胞的增殖与分化[J]. 中国组织工程研究, 2021, **25**(19): 3009-3015.
- SU Mingzhu, MA Yuewen. Radial extracorporeal shock wave therapy regulates the proliferation and differentiation of neural stem cells in the hippocampus

- via Notch 1/Hes 1 pathway after cerebral ischemia[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2021, **25** (19): 3009-3015.
- 39 胡楠, 宋国齐, 邹琳清. Hes 基因对神经干细胞发育的调控作用的研究进展[J]. 神经解剖学杂志, 2020, **36**(6): 689-692. DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2020.06.016. HU Nan, SONG Guoqi, ZOU Linqing. Research progress on the regulation of hes gene on the development of neural stem cells[J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2020, **36**(6): 689-692. DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2020.06.016.
- 40 周翔宇. 细丝蛋白 A 在神经干细胞增殖和分化中的作用及作用机制[D]. 武汉: 武汉科技大学, 2021. DOI: 10.27380/d.cnki.gwkju.2021.000393. ZHOU Xiangyu. The role and mechanism of filaggrin A in the proliferation and differentiation of neural stem cells [D]. Wuhan: Wuhan University of Science and Technology, 2021. DOI: 10.27380/d.cnki.gwkju.2021.000393.
- 41 顾良臻, 李树红, 王世军, 等. Notch 信号通路在脑缺血中的作用[J]. 神经解剖学杂志, 2020, **36**(4): 450-454. DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2020.04.015. GU Liangzhen, LI Shuhong, WANG Shijun, *et al.* Role of Notch signal pathway in cerebral ischemia[J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2020, **36**(4): 450-454. DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2020.04.015.
- 42 王静, 秦悦, 刘群, 等. Notch 信号通路在针刺治疗中枢神经系统疾病中作用机制研究[J]. 针灸临床杂志, 2019, **35**(6): 99-102. WANG Jing, QIN Yue, LIU Qun, *et al.* Action mechanism of Notch signaling pathway in acupuncture treating diseases of central nervous system[J]. Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion, 2019, **35**(6): 99-102.