

- size and improves cardiac function in rats [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12(17): 3767–3784.
- [16] Xie Q, Sun Z, Chen M, et al. IL-8 up-regulates proliferative angiogenesis in ischemic myocardium in rabbits through phosphorylation of Akt/GSK-3 β (ser9) dependent pathways [J]. *International Journal of Clinical & Experimental Medicine*, 2015, 8(8): 12498–12508.
- [17] Wang D, Zhang X, Li D, et al. Kaempferide protects against myocardial ischemia/reperfusion injury through activation of the PI3K/Akt/GSK-3 β pathway [J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017(7): 1–11.
- [18] Wang Y, Wu CY, Han B, et al. Dexmedetomidine attenuates repeated propofol exposure-induced hippocampal apoptosis, PI3K/Akt/Gsk-3 β signaling disruption, and juvenile cognitive deficits in neonatal rats [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 14(1): 769–775.
- [19] Mury FB, Lugon MD, DA Fonseca RN, et al. Glycogen Synthase Kinase-3 is involved in glycogen metabolism control and embryogenesis of *Rhodnius prolixus* [J]. *Parasitology*, 2016, 143(12): 1569–1579.
- [20] Li J, Ruffenach G, Kararigas G, et al. Intralipid protects the heart in late pregnancy against ischemia/reperfusion injury via Caveolin2/STAT3/GSK-3 β pathway [J]. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*, 2017, 102(1): 108–116.
- (责任编辑: 冯天保, 钟志敏)

表没食子儿茶素没食子酸酯对 D-半乳糖诱导的 AD 模型小鼠 A β 生成作用的研究

王会敏¹, 何柯新², 尚陈宇¹, 刘冬冬¹, 徐建华¹

1. 广东省中医院二沙岛分院, 广东 广州 510130; 2. 广州市惠爱医院, 广东 广州 510370

[摘要] 目的: 探讨表没食子儿茶素没食子酸酯 (Epigallocatechin-3-gallate, EGCG) 对 D-半乳糖诱导的阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 模型小鼠 β 淀粉样肽 (Amyloid- β peptide, A β) 生成作用的影响。方法: 将 60 只昆明小鼠随机分为对照组、模型组、VE 阳性组、EGCG 低剂量组、EGCG 中剂量组、EGCG 高剂量组, 每组 10 只。注射 D-半乳糖建立 AD 小鼠模型后, 对照组和模型组灌胃等量双蒸水; VE 阳性组每天灌胃 5.6% VE 1 次; EGCG 低、中、高剂量组分别按每天 2 mg/kg 灌胃 0.04% EGCG、4 mg/kg 灌胃 0.08% EGCG 和 6 mg/kg 灌胃 0.12% EGCG 1 次; 持续给药 28 天后通过避暗试验和 Morris 水迷宫试验观察小鼠动物行为学变化; ELISA 法检测小鼠脑匀浆中白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和 A β 水平; 苏木精-伊红 (HE) 染色观察海马内神经元的变化。结果: EGCG 能明显延长 AD 模型小鼠跳台潜伏期、减少跳台错误次数、缩短通过迷宫的时间和减少进入盲端的错误次数; 且能显著减轻 D-半乳糖诱导的 AD 模型小鼠海马神经元的损伤及降低其脑内 IL-6、TNF- α 和 A β 表达水平, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: EGCG 可能通过降低 D-半乳糖诱导的 AD 模型小鼠脑内 A β 的含量, 来抑制神经细胞凋亡, 从而改善学习记忆障碍。

[关键词] 阿尔茨海默病 (AD); 表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG); β 淀粉样肽 (A β); 动物实验; 小鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 09-0017-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.09.005

Study on Generating Effect of EGCG on A β of Model Mice with Alzheimer's Disease Induced by D-galactose

WANG Huimin, HE Kexin, SHANG Chenyu, LIU Dongdong, XU Jianhua

Abstract: Objective: To explore the generating effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on amyloid- β peptide (A β) of model mice with Alzheimer's disease (AD) induced by D-galactose. **Methods:** Divided 60 cases of mice from Kunming

[收稿日期] 2018-02-02

[基金项目] 广东省中医药局科研项目 (20161092)

[作者简介] 王会敏 (1981-), 女, 主管技师, 研究方向: 临床血液和体液研究。

[通信作者] 徐建华, E-mail: whm69255114@163.com。

randomly into the control group, the model group, the VE positive group, the EGCG groups of low, middle and high dose, 10 cases in each group. After establishing the model mice with AD by injection of D-galactose, the control group and the model group were given equivalent double distilled water by gavage. The VE positive group was given 5.6% VE by gavage once a day. The EGCG groups of low, middle and high dose were respectively given 2mg/kg 0.04% EGCG, 4mg/kg 0.08% EGCG, 6mg/kg 0.12% EGCG by gavage once a day. After continuously treating for 28 days, observed the changes of animal behaviors by the step-through test and Morris water maze test, detected levels of interleukins-2 (IL-2), interleukins-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and A β in brain homogenate of mice by ELISA method, and observed the changes of neurons in hippocampus of mice by hematoxylin-eosin staining. **Results:** EGCG can obviously prolong the step-down latency, reduce the error frequency of step-down, shorten the passing time through maze and reduce the error frequency of entering dead end of the model mice with AD, and it can obviously relieve the injury of neurons in hippocampus of model mice with AD induced by D-galactose and reduce the expression levels of IL-6, TNF- α and A β , differences being significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** EGCG possibly can inhibit the apoptosis of neurons by reducing the content of A β of brain in the model mice with AD induced by D-galactose, so as to improve the learning and memory impairment.

Keywords: Alzheimer's disease (AD); Epigallocatechin-3-gallate (EGCG); Amyloid- β peptide (A β); Animal experiment; Mice

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种与年龄密切相关的神经退行性疾病,临床表现为慢性、进行性的认知障碍,主要病理特征之一的淀粉样斑是由 β 淀粉样肽(Amyloid- β peptide, A β)异常沉积形成的^[1-2]。表没食子儿茶素表没食子酸酯(Epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是绿茶多酚的主要有效成分,EGCG具有抗氧化、抗炎、抗癌、保护心脑血管及延缓衰老等作用,能够穿透血脑屏障进入中枢,保护神经,有效改善AD患者的学习认知障碍^[3-4],但机制并未阐明。本研究从动物实验的角度研究绿茶提取物EGCG对D-半乳糖诱导的AD模型小鼠A β 生成效果的影响,为深入研究抗AD新药的机制提供客观依据和理论基础,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康8周龄清洁级昆明小鼠60只,雌雄各半,体质量(20 ± 2)g,由广州中医药大学实验动物中心提供(合格证号:00178105)。实验过程中的动物饲养及取材均遵守实验动物管理和保护的有关规定。

1.2 仪器与试剂 LW-II型水迷宫和WX-2型小鼠电光刺激条件反射跳台、Epics-XL型流式细胞仪、TC 2323型CO₂孵箱、752型紫外光栅分光光度计、EGCG(Sigma公司)、D-半乳糖、维生素E、人源A β 40和A β 42、ELISA试剂盒(Covance公司)。

1.3 药物处理与分组 取昆明小鼠60只,随机分为6组,每组10只,分别为对照组、模型组、VE阳性组、EGCG低剂量组、EGCG中剂量组、EGCG高剂量组。实验室常规饲养3天后,对照组每天颈背部皮下注射生理盐水,其余各组每天按150 mg/kg体质量颈背部皮下注射3%的D-半乳糖,持续21天。造模7天后,对照组和模型组灌胃等量双蒸水;VE阳性组每天按280 IU mg/kg灌胃5.6% VE 1次;EGCG低、中、高剂量组分别按每天2 mg/kg灌胃0.04% EGCG、4 mg/kg灌胃

0.08% EGCG、6 mg/kg灌胃0.12% EGCG 1次;持续给药28天。

1.4 避暗试验 实验装置为四周是黑色塑料板,箱底铺铜栅的箱,箱内右后方放1个橡皮垫作为小鼠逃避电击的安全区,可调变压器控制电流强度。将小鼠放入箱中自由活动3 min,熟悉环境,然后箱底通以电流,其正常反应是跳上平台以躲避伤害性刺激。从放入小鼠到第1次跳下平台受电击的时间作为潜伏期,以5 min内跳下平台受电击的次数为错误数,作为小鼠学习成绩。24h后,再将鼠置于平台上,重复上述操作并记录。

1.5 Morris水迷宫试验 迷宫有4个盲端,终点是1个略高出水平面的安全台。实验步骤:第1天包括2个盲端,第2天包括3个盲端,第3、4、5天均包括4个盲端。每天训练2次,记录5天每只小鼠进入盲端的次数和游出时间。

1.6 病理形态学观察 末次给药后24 h,称重,将各组小鼠按40 mg/kg腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,无菌条件下取脑组织,10%甲醛固定、脱水、石蜡包埋、切片,进行HE染色,每只小鼠脑组织制作2张切片,随机抽取1张在高倍显微镜下随机选取5个视野观察,倒置显微镜分析图像。

1.7 检测脑组织匀浆中IL-2、IL-6、TNF- α 和A β 水平 取小鼠脑组织置冰生理盐水中洗净血液,用滤纸吸去水分称重,用pH 7.4的PBS按1:10稀释冰浴下匀浆,转速3 000 g离心5 min,按试剂盒操作测定脑组织中IL-2、IL-6、TNF- α 含量和A β 水平。

1.8 统计学方法 采用SPSS13.0统计软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,进行单因素方差分析和显著性检验。预先用Homogeneity of Variances进行方差齐性检验,如方差不齐采用Tamhane's T2检验,方差齐采用LSD检验和S-N-K检验。

2 结果

2.1 各组小鼠跳台活动检测结果比较 见表1。与对照组比较,模型组小鼠跳台错误次数明显增加($P < 0.01$),跳台潜伏期

明显缩短($P < 0.01$); 与模型组比较, EGCG 中、高剂量和 VE 阳性组的小鼠跳台错误次数均明显降低($P < 0.01$), 跳台潜伏期明显延长($P < 0.05$, $P < 0.01$); EGCG 低剂量组差异无统计学意义。

表 1 各组小鼠跳台活动检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 学习 | | 记忆 | |
|-----------|----|--------------------|------------------------|---------------------|------------------------|
| | | 潜伏期(s) | 错误次数(次) | 潜伏期(s) | 错误次数(次) |
| 对照组 | 10 | 53±37 | 1.56±0.68 | 295±61 | 0.99±0.29 |
| 模型组 | 10 | 35±29 ^① | 4.60±2.13 ^① | 144±44 ^① | 3.92±1.33 ^① |
| VE 阳性组 | 10 | 58±51 ^② | 3.81±1.52 ^② | 192±50 ^② | 3.08±1.27 ^③ |
| EGCG 低剂量组 | 10 | 44±37 | 4.32±2.88 | 176±57 | 3.62±2.25 |
| EGCG 中剂量组 | 10 | 56±49 ^③ | 3.71±2.75 ^② | 198±61 ^② | 2.98±0.99 ^② |
| EGCG 高剂量组 | 10 | 61±45 ^③ | 3.29±1.99 ^② | 234±70 ^③ | 2.62±0.85 ^③ |

与对照组比较, ① $P < 0.01$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$,

③ $P < 0.01$

2.2 各组小鼠水迷宫实验检测结果比较 见表 2、表 3。在水迷宫试验中, 训练的第 1 天和第 2 天, 与对照组比较, 模型组小鼠通过水迷宫的时间显著延长, 进入盲端的次数显著增加($P < 0.01$)。与模型组比较, 第 1 天和第 2 天, EGCG 低、中、高剂量组小鼠通过水迷宫时间差异无统计学意义($P > 0.05$); 而在训练的第 3、4、5 天, EGCG 中、高剂量组和 VE 阳性组小鼠通过迷宫时间显著缩短($P < 0.05$), 进入盲端的次数也显著减少($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.3 各组小鼠脑组织病理形态学结果比较 见图 1。HE 染色结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠海马 C2 区颗粒层神经元细胞数量明显减少, 排列紊乱, 部分神经元细胞发生核固

缩, 细胞膜核膜界限模糊、胞浆深染, 部分可见坏死的神经元细胞, 大脑皮层可见明显的神经元细胞发生核固缩, 核周空染, 周围间质神经纤维明显变疏松。EGCG 低剂量组小鼠海马齿状回颗粒层神经元细胞发生明显的固缩, 细胞核周围可见明显的空染区域, 神经纤维变得明显疏松, 颗粒层变薄, 大脑皮层中神经元细胞发生明显的核固缩, 周围可见空染区域, 神经纤维变得疏松。EGCG 中剂量组小鼠海马 C2 区, 颗粒层神经元细胞可见有少量发生核固缩, 颗粒层变薄, 周围神经纤维结构有些疏松, 大脑皮层中可见少量神经元细胞发生核固缩, 周围结构空染, 神经纤维结构变得疏松。EGCG 高剂量组和 VE 阳性组小鼠海马各区未见明显的病理改变, 颗粒层细胞排列规则, 未见变少, 也未见明显的固缩, 大脑皮层未发现明显病理改变, 神经元细胞未见发生核固缩。

2.4 各组小鼠脑组织匀浆中 IL-2、IL-6、TNF- α 含量比较见表 4。与对照组比较, 模型组小鼠脑组织 IL-2 水平降低($P < 0.01$), IL-6 和 TNF- α 水平升高($P < 0.01$)。与模型组比较, EGCG 中、高剂量组和 VE 阳性组小鼠脑组织 IL-2 水平显著升高, IL-6 和 TNF- α 水平显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.5 各组小鼠脑内 A β 水平检测结果比较 见图 2。与对照组比较, 模型组小鼠脑内 A β 40 水平升高, 差异有统计性意义($P < 0.01$)。与模型组比较, EGCG 低剂量组小鼠脑内 A β 40 水平差异无统计学意义。与模型组比较, EGCG 中、高剂量组和 VE 阳性组小鼠脑内 A β 40 水平逐渐降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 且 A β 40 水平的下降呈剂量依赖性(图 2A)。A β 42 水平的下降呈现相同的趋势(图 2B), 说明 EGCG 抑制 A β 的分泌水平呈剂量依赖性。

表 2 各组小鼠通过水迷宫时间比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 第 1 天 | 第 2 天 | 第 3 天 | 第 4 天 | 第 5 天 |
|-----------|----|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 对照组 | 10 | 92.1 ± 26.5 | 72.1 ± 23.7 | 50.2 ± 23.4 | 33.9 ± 21.1 | 26.4 ± 17.2 |
| 模型组 | 10 | 164.9 ± 80.1 ^① | 132.0 ± 65.5 ^① | 118.4 ± 47.7 ^① | 98.3 ± 29.7 ^① | 81.9 ± 23.8 ^① |
| VE 阳性组 | 10 | 128.5 ± 47.9 | 108.6 ± 44.8 | 89.7 ± 39.9 ^② | 76.1 ± 30.2 ^② | 65.0 ± 30.1 ^② |
| EGCG 低剂量组 | 10 | 159.6 ± 43.6 | 138.1 ± 40.2 | 104.8 ± 38.1 | 90.2 ± 33.3 | 76.5 ± 23.4 |
| EGCG 中剂量组 | 10 | 154.0 ± 26.6 | 122.2 ± 27.9 | 94.9 ± 28.4 ^② | 83.2 ± 22.9 ^② | 70.2 ± 19.7 ^② |
| EGCG 高剂量组 | 10 | 145.9 ± 40.1 | 115.4 ± 38.1 | 90.0 ± 34.4 ^② | 77.4 ± 26.1 ^② | 63.9 ± 25.2 ^② |

与对照组比较, ① $P < 0.01$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$

表 3 各组小鼠进入水迷宫盲端错误次数比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 第 1 天 | 第 2 天 | 第 3 天 | 第 4 天 | 第 5 天 |
|-----------|----|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 对照组 | 10 | 6.5 ± 3.1 | 4.9 ± 2.2 | 4.0 ± 2.1 | 2.2 ± 1.0 | 1.2 ± 1.1 |
| 模型组 | 10 | 9.4 ± 4.6 ^① | 8.9 ± 4.2 ^① | 7.9 ± 4.0 ^① | 7.1 ± 2.7 ^① | 6.3 ± 2.9 ^① |
| VE 阳性组 | 10 | 8.6 ± 4.5 | 8.1 ± 2.3 | 6.9 ± 1.2 ^② | 4.9 ± 1.8 ^② | 4.3 ± 1.5 ^② |
| EGCG 低剂量组 | 10 | 9.1 ± 3.8 | 8.6 ± 4.1 | 7.3 ± 3.5 | 6.4 ± 2.8 | 5.2 ± 3.1 ^② |
| EGCG 中剂量组 | 10 | 8.8 ± 4.0 | 8.2 ± 3.5 | 6.1 ± 1.8 ^② | 5.2 ± 1.6 ^② | 4.7 ± 1.5 ^② |
| EGCG 高剂量组 | 10 | 8.6 ± 4.2 | 7.9 ± 2.3 | 5.4 ± 2.3 ^② | 4.6 ± 2.5 ^③ | 4.0 ± 1.2 ^③ |

与对照组比较, ① $P < 0.01$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$

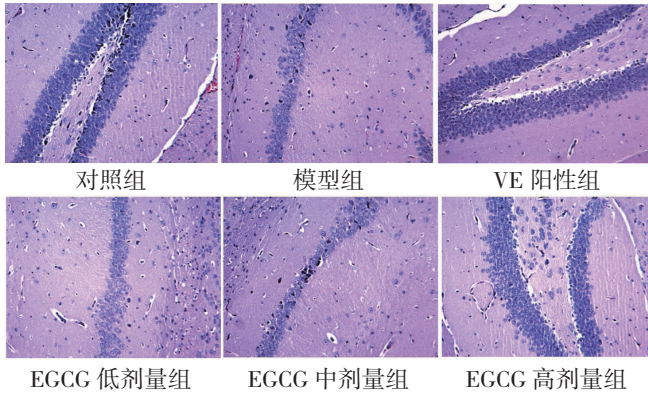


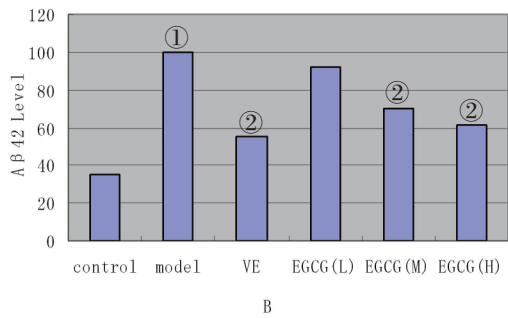
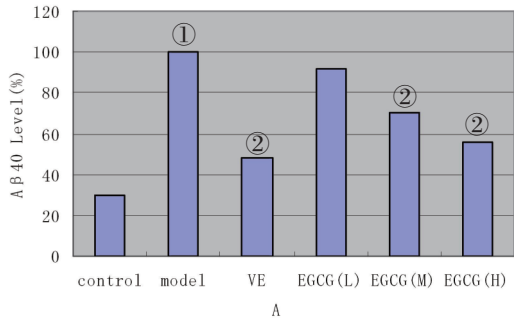
图1 各组小鼠脑组织病理形态学比较 (×200)

表4 各组小鼠脑组织匀浆中IL-2、IL-6、TNF-α含量比较(̄x±s) pg/g

| 组别 | n | IL-2 | TNF-α | IL-6 |
|-----------|----|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照组 | 10 | 995.26±30.21 | 702.44±35.13 | 1 134.12±33.89 |
| 模型组 | 10 | 551.88±20.12 ^① | 1 386.10±96.22 ^① | 1 936.54±50.29 ^① |
| VE 阳性组 | 10 | 850.35±18.90 ^③ | 713.19±49.37 ^③ | 1 310.25±45.65 ^③ |
| EGCG 低剂量组 | 10 | 649.76±10.21 | 1 199.45±33.89 | 1 788.45±36.31 |
| EGCG 中剂量组 | 10 | 782.65±25.38 ^② | 907.44±42.90 ^② | 1 459.39±39.26 ^② |
| EGCG 高剂量组 | 10 | 959.84±51.21 ^③ | 709.11±39.88 ^③ | 1 290.85±44.12 ^③ |

与对照组比较, ①P < 0.01; 与模型组比较, ②P < 0.05,

③P < 0.01



与对照组比较, ①P < 0.01; 与模型组比较, ②P < 0.01

图2 各组小鼠脑内Aβ水平检测结果

3 讨论

AD伴有记忆减退和认知障碍^[5-6],本研究通过避暗试验和水迷宫试验发现,EGCG处理后的AD小鼠认知和记忆行为得到明显的改善,尤其是中剂量和高剂量EGCG处理后,可以明显减少小鼠跳台发生的错误次数,延长跳台潜伏期;缩短游出迷宫时间和减少进入盲端的错误次数。提示长期应用EGCG有利于改善AD病人的认知和记忆障碍,EGCG保护脑神经作用可能是通过提高机体抗氧化能力,减少氧自由基和过氧化物质的生成实现的。

β-淀粉样前体蛋白在β-分泌酶和γ-分泌酶的剪接作用下,发生错误折叠,造成纤维状Aβ在脑内的异常堆积,由于Aβ可增强兴奋性神经递质的毒性、致使细胞内钙失衡,导致神经元细胞凋亡。本研究通过检测EGCG对D-半乳糖诱导的衰老模型小鼠脑内IL-6、TNF-α、IL-2和Aβ表达的影响来探讨EGCG的神经保护作用。结果发现,与对照组比较,模型组小鼠经D-半乳糖处理后脑内的IL-6、TNF-α和Aβ表达水平明显增加,IL-2水平明显降低,同时发现应用EGCG低、中、高剂量处理后可明显减少D-半乳糖诱导AD小鼠脑内IL-6、TNF-α和Aβ表达水平,升高IL-2水平,并呈剂量依赖性。提示EGCG可能通过降低IL-6、TNF-α和Aβ对神经细胞的毒性作用,发挥对D-半乳糖诱导的AD模型鼠的脑部病理改变的保护作用。至于EGCG的进一步神经保护作用有待进一步研究。

D-半乳糖在半乳糖氧化酶的作用下氧化成醛和H₂O₂,产生大量氧自由基,降低抗氧化酶的活性,影响渗透压,使细胞肿胀,细胞膜脂质过氧化、脂褐素沉积^[7],细胞代谢紊乱,加速衰老和神经退行性疾病的发生,包括神经元数目减少,脑组织中SOD活性下降,从而产生一系列与AD相似的行为和病理改变^[8-10]。本实验已证实D-半乳糖可诱导小鼠认知和记忆能力减退等行为改变,可模拟AD的部分病变,经HE染色显示,D-半乳糖长期作用的小鼠大脑皮层及海马区神经元脱失,数量明显减少,细胞排列稀疏、紊乱,局部神经元之间间隙增大,出现较多呈固缩状的坏神经细胞。经EGCG治疗的模型小鼠大脑皮层和海马中可见神经元数量增多,体积增大,排列整齐,核圆,核仁明显,少有神经元坏死现象。提示EGCG能够减轻D-半乳糖诱导的小鼠海马神经元的损伤,对AD模型小鼠有一定的保护作用。

EGCG具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤及降低血脂和清除胆固醇等生物学活性,尤其是神经保护作用也越来越受到重视。研究显示,EGCG能够延长杆状线虫的生命周期,并改善其年龄相关的一些行为改变^[11-12],EGCG能够激活细胞的抗氧化防御系统,减少外加Aβ引起的细胞氧化损伤和细胞凋亡^[13],Dragicevic N等^[14]研究发现,EGCG能显著改善APP/PS1转基因小鼠中由于Aβ过量产生导致的氧化损伤和线粒体功能障碍。此外,EGCG能够明显改善Tg2576小鼠的认知功能障碍,

并抑制 Tau 蛋白的过度磷酸化^[15]。

综上, EGCG 可以降低 D- 半乳糖诱导的衰老模型小鼠脑内 IL-6、TNF- α 和 A β 的生成, 并呈剂量依赖性, 来发挥其神经保护作用, 但其中的机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease[J]. *Science*, 2006, 314(5800): 777-781.
- [2] Broersen K, Rousseau F, Schymkowitz J. The culprit behind amyloid beta peptide related neurotoxicity in Alzheimer's disease: Oligomer size or conformation? [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2010, 2(4): 12.
- [3] Chowdhury A, Sarkar J, Chakraborti T, et al. Protective role of epigallocatechin-3-gallate in health and disease: A perspective[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 78: 50-59.
- [4] Legeay S, Rodier M, Fillon L, et al. Epigallocatechin gallate: a review of its beneficial properties to prevent metabolic syndrome[J]. *Nutrients*, 2015, 7(7): 5443-5468.
- [5] Arbor SC, LaFontaine M, Cumbay M. Amyloid-beta Alzheimer targets-protein processing, lipid rafts, and amyloid-beta pores[J]. *Yale J Biol Med*, 2016, 89(1): 5-21.
- [6] Zhao X, Liu F, Jin H, et al. Involvement of PKC α and ERK1/2 signaling pathways in EGCG's protection against stress-induced neural injuries in Wistar rats[J]. *Neuroscience*, 2017, 346: 226-237.
- [7] Sasaguri H, Nilsson P, Hashimoto S, et al. APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies[J]. *EMBO J*, 2017, 36(17): 2473-2487.
- [8] Weiner MW, Harvey D, Hayes J, et al. Effects of traumatic brain injury and posttraumatic stress disorder on development of Alzheimer's disease in Vietnam Veterans using the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: Preliminary report[J]. *Alzheimers Dement (NY)*, 2017, 3(2): 177-188.
- [9] He M, Zhao L, Wei MJ, et al. Neuroprotective effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on aging mice induced by D-galactose[J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(1): 55-60.
- [10] Sadigh-Eteghad S, Majidi A, McCann SK, et al. D-galactose-induced brain ageing model: A systematic review and meta-analysis on cognitive outcomes and oxidative stress indices[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0184122.
- [11] Brown MK, Evans JL, Luo Y. Beneficial effects of natural antioxidants EGCG and alpha-lipoic acid on life span and age-dependent behavioral declines in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2006, 85(3): 620-628.
- [12] Yamamoto N, Shibata M, Ishikuro R, et al. Epigallocatechin gallate induces extracellular degradation of amyloid β -protein by increasing neprilysin secretion from astrocytes through activation of ERK and PI3K pathways[J]. *Neuroscience*, 2017, 362: 70-78.
- [13] Kim CY, Lee C, Park GH, et al. Neuroprotective effect of epigallocatechin-3-gallate against beta-amyloid-induced oxidative and nitrosative cell death via augmentation of antioxidant defense capacity[J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(6): 869-881.
- [14] Dragicevic N, Smith A, Lin X, et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and other flavonoids reduce Alzheimer's amyloid-induced mitochondrial dysfunction[J]. *J Alzheimers Dis*, 2011, 26(3): 507-521.
- [15] Rezai-Zadeh K, Arendash GW, Hou H, et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reduces beta-amyloid mediated cognitive impairment and modulates tau pathology in Alzheimer transgenic mice[J]. *Brain Res*, 2008, 1214: 177-187.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)