

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.09.002

APOE4 通过 Calpain/p35-p25/Cdk5 增加 tau 蛋白磷酸化*

赵发雪 赵琳 张春云 邱瑜[△]

(上海交通大学医学院 上海 200020)

摘要 目的:探究载脂蛋白 APOE4 对小鼠海马组织中 tau 蛋白磷酸化的作用。**方法:**采用 6 月龄人载脂蛋白 APOE3, APOE4 转基因纯合小鼠, 用 Western Blot 检测小鼠海马组织中 tau 蛋白的磷酸化程度及 Calpain 蛋白、p35/25、CDK5 等蛋白表达水平。使用脑立体定位术向小鼠侧脑室注射 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA 或二甲基亚砜 DMSO 两次, 给药时间间隔 4 小时, 第二次给药结束后两小时内处死小鼠。检测海马中 Calpain 蛋白、CDK5、p35/25 及 tau 蛋白的磷酸化的变化情况。**结果:**① 与野生型小鼠和 APOE3-TR 小鼠相比, APOE4-TR 小鼠海马中 tau 蛋白在 Ser396, Thr181 及 Thr231 位点的磷酸化均显著性增高, 同时 Calpain2、p35/25 和 CDK5 的表达水平也增加。② 使用 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA 后, 与对照 DMSO 给药组相比, Ca^{2+} 螯合剂 EGTA 给药组小鼠海马组织中 tau 蛋白在 Ser396 位的磷酸化显著下降, 但未检测到 tau 蛋白在 Thr181 及 Thr231 位点的磷酸发生显著性变化, 同时 Calpain 2 蛋白、p35/25 和 CDK5 的表达水平降低。**结论:**人载脂蛋白 APOE4 引起小鼠海马 tau 蛋白磷酸化异常增高, 并且可能是通过 Calpain/p35-p25/CDK5 信号通路调控 tau 蛋白 Ser396 位点磷酸化。

关键词:载脂蛋白 APOE4; 钙调蛋白激酶; tau 蛋白过度磷酸化

中图分类号:R-33; Q593.2; R749.16 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)09-1607-05

APOE4 Increase the Phosphorylation of Tau Protein through Calpain/p35-p25/Cdk5*

ZHAO Fa-xue, ZHAO Lin, ZHANG Chun-yun, QIU Yu[△]

(Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200020, China)

ABSTRACT Objective: Explore the effect of apolipoprotein APOE4 on the hyperphosphorylation of tau protein in mouse hippocampal neurons. **Methods:** 6-month-old human apolipoprotein APOE3, APOE4 transgenic homozygous mice was used to detect the phosphorylation of tau protein and Calpain protein, CDK5, p35/25 in the hippocampus by western Blot. Ca^{2+} chelating agent EGTA or dimethyl sulfoxide DMSO was stereotactically injected into the lateral ventricle of the mouse two times with four hours' interval. The mice were sacrificed within two hours after the second administration to detect the changes in the phosphorylation of Calpain protein, CDK5, p35/25 and tau protein in the hippocampus. **Results:** ① Compared to wild-type and APOE3-TR mice, The phosphorylation of tau protein at Ser396, Thr181 and Thr231 sites in the hippocampus of APOE4-TR mice were significantly increased. Meanwhile, the expressions of Calpain 2, p35/25 and CDK5 were also increased. nd. ② Compared with the control group, Ca^{2+} chelating agent EGTA decreased the phosphorylation of tau protein at Ser396 site in the hippocampus significantly. However, no significant changes were detected in Thr181 and Thr231 sites of phosphorylation of tau protein. Moreover, the expression levels of Calpain 2, p35/25 and CDK5 were also decreased. **Conclusions:** Human apolipoprotein APOE4 caused abnormally increased phosphorylation of tau protein in the hippocampus of mice. Moreover, the phosphorylation of tau at Ser396 may be regulated by calpain/p35-p25/CDK5 signaling pathway.

Key words: Apolipoprotein APOE4; Calmodulin-dependent protein kinase; Hyperphosphorylation of tau protein

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q593.2; R749.16 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)09-1607-05

前言

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种以神经细胞外出现 β -淀粉样蛋白($\text{A}\beta$)聚集形成的老年斑和神经细胞内 tau 蛋白异常聚集形成神经纤维缠结(NFT),以及神经元和突触损伤为病理特征的一种神经退行性疾病^[1,2]。载脂蛋白

APOE4 是公认的迟发性 AD 的易感因子,有研究表明,与 APOE3 纯合携带者相比,携带一个 APOE4 等位基因可将患病概率提高 4 倍, APOE4 纯合携带者的患病概率可提高至 14 倍^[3]。为研究 APOE4 在 AD 中的发病机制,已有多种表达人 APOE4 的转基因小鼠制作成功,但为研究 APOE4 与 $\text{A}\beta$ 和 tau 的作用,常将 APOE4 小鼠与过表达 $\text{A}\beta$ 或 tau 的小鼠杂交,获得同

* 基金项目:上海市自然科学基金项目(20ZR1430100);上海市卫生健康委员会卫生行业临床研究专项资助(20194Y0056);

国家自然科学基金青年基金项目(81803499)

作者简介:赵发雪(1996-),女,硕士研究生,主要研究方向:神经药理, E-mail: woshifaxue@163.com

[△] 通讯作者:邱瑜(1970-),女,博士生导师,教授,主要研究方向:神经药理, E-mail: qiuyu@shsmu.edu.cn, 电话:021-63846590*778012

(收稿日期:2020-12-07 接受日期:2020-12-31)

时有 A β 或 tau 病理改变的 APOE4 小鼠^[47]。APOE4 作为公认的迟发性 AD 的易感基因,其在人类 AD 的发病并不与家族性 AD 中基因突变相关联。因此本文研究表达人 APOE4 转基因小鼠海马组织中 tau 蛋白的过磷酸化情况以及可能的相关信号通路。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

APOE3-TR 转基因鼠购买于美国的 Taconic。APOE4-TR 鼠来源于美国 Jackson Lab 的 APOE4 纯合 hLDLR 杂合转基因鼠。小鼠饲养在上海交通大学医学院实验动物中心。小鼠饲养于 12 小时光照与 12 小时黑暗交替的环境,环境温度控制在 $23 \pm 1^\circ\text{C}$,湿度控制在 55%左右,每笼 4-5 只。野生型 C57BL/6 小鼠,APOE3-TR 鼠,APOE4-TR 鼠饲养至 6 月龄后进行实验。

1.2 材料

鼠抗 tau 多克隆抗体购自 Cell Signaling 公司;兔抗 p35/25 多克隆抗体购自 Cell Signaling 公司;兔抗 CDK5 多克隆抗体购自圣克鲁斯生物技术公司;兔抗 tau 蛋白 Ser396、Thr231 和 Thr181 磷酸化抗体和抗 Calpain 2 抗体均购自 Abcam 公司;二甲基亚砜(DMSO)及 BCA 蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;全自动酶标仪(BIO-RAD550)购自美国 Bio-rad 公司;PVDF 膜购自美国 Millipore 公司;立体定位仪及基座购自深圳瑞沃德有限公司。

1.3 Western blotting 检测

在麻醉情况下,迅速脱臼处死小鼠,暴露脑组织,在冰上迅

速分离海马以及皮层组织后,于液氮中保存。裂解前将每个样本的海马组织准确称重,转移到研磨管后,按照 1 mg 组织 /15 μL 裂解液的比例(RIPA 中性裂解液 + 蛋白酶抑制剂 + 磷酸酶抑制剂 + PMSF)加入裂解液,于生物均质器上进行研磨,然后于冰上静置裂解 15 分钟后 4°C ,12000 rpm,离心 15 分钟。上清中加入上样缓冲液后 95°C 煮沸 5 分钟。电泳转膜结束后,用 5% 的脱脂牛奶室温下封闭 2 小时,一抗(tau 蛋白 Ser396、Thr231 和 Thr181 磷酸化抗体,Tau5,Calpain2,CDK5 和 p35/25 抗体,1:1000) 4°C 孵育过夜,TBST 漂洗 3 次,室温下孵育二抗 1 小时,TBST 漂洗,滴加发光液进行显影。

1.4 统计学分析

应用 Graphpad Prism 进行统计分析并作图,定量数据采用均数 $\pm$ 标准误(Mean $\pm$ SEM)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用非配对学生 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学差异意义。

2 结果

2.1 APOE4 对 tau 蛋白磷酸化的影响

6 月龄 APOE3-TR 小鼠海马内 tau 蛋白在 Ser396、Thr181 以及 Thr231 位点的磷酸化表达水平与野生型小鼠相似($P > 0.05$),6 月龄 APOE4-TR 小鼠相比较野生型小鼠,tau5 位点并无显著性差异但在 Ser396 位点的磷酸化增加到野生型组的 $224.20 \pm 40.08\%$,Thr231 位点的磷酸化增加到野生型组的 $196.04 \pm 31.61\%$,Thr181 位点的磷酸化增加到 $216.40 \pm 28.25\%$,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。

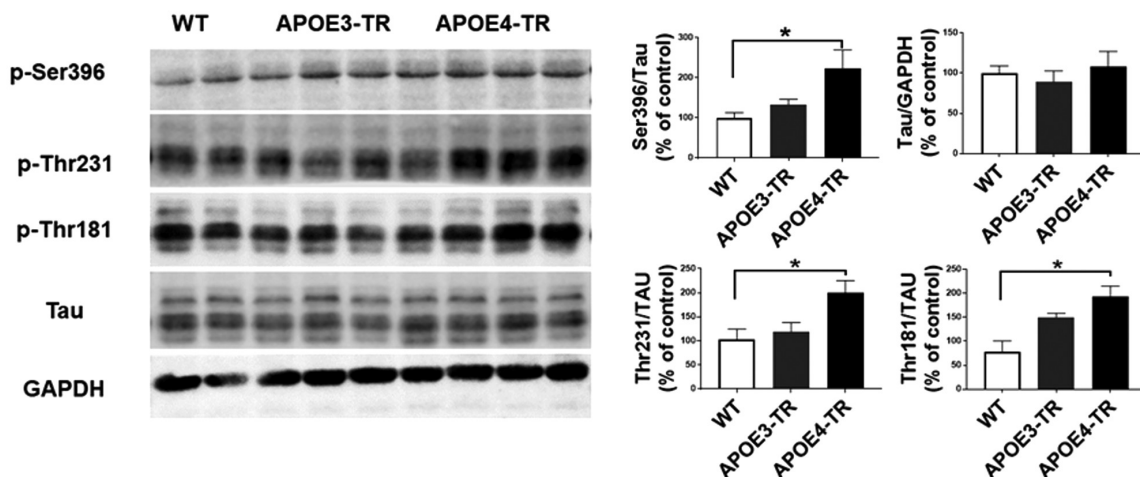


图 1 三种小鼠海马内 Tau 蛋白在 Ser396、Thr181 以及 Thr231 位点的磷酸化

Fig.1 Three kinds of mouse hippocampus Tau protein phosphorylation at Ser396, Thr181 and Thr231 sites

Note: *: $P < 0.05$.

2.2 APOE4 对 tau 蛋白磷酸化相关信号通路的作用

tau 蛋白 Thr181、Thr231 和 Ser396 位点磷酸化与细胞周期素依赖激酶 5(cyclin-dependent Kinase 5,CDK5)相关,因此我们检测了 CDK5 以及与其活化相关的 Calpain 2 和 p35/25 表达水平。如图 2 所示,6 月龄 APOE3-TR 小鼠海马内 Calpain 2 蛋白,p35/25 以及 CDK5 表达水平与野生型小鼠相似($P > 0.05$),6 月龄 APOE4-TR 小鼠相比较野生型小鼠,Calpain 2 增加到野生型组的 $160.91 \pm 17.76\%$,p35 位点增加到 $182.16 \pm$

24.02% ,p25 位点增加到 $151.80 \pm 9.12\%$,CDK5 位点增加到 $179.51 \pm 26.36\%$,差异具有统计学意义。6 月龄 APOE4-TR 小鼠相比较 APOE3-TR 小鼠,Calpain 2 位点增加到 $150.78 \pm 14.51\%$,p35 位点增加到 $201.30 \pm 22.79\%$,p25 位点增加到 $158.13 \pm 8.78\%$,差异具有统计学意义。

2.3 钙离子螯合剂 EGTA 对 tau 蛋白磷酸化的影响

钙离子激活 Calpain,因此我们使用钙离子螯合剂 EGTA 经侧脑室注射后,观察 tau 蛋白的磷酸化水平。如图 3 所示,与

对照组(给予 DMSO)相比,给予 EGTA 组小鼠海马内 tau 蛋白在 Ser396 位点的磷酸化下降到对照组的 $50.97 \pm 14.61\%$,

Thr181 以及 Thr231 位点的磷酸化表达未有显著性差异。差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

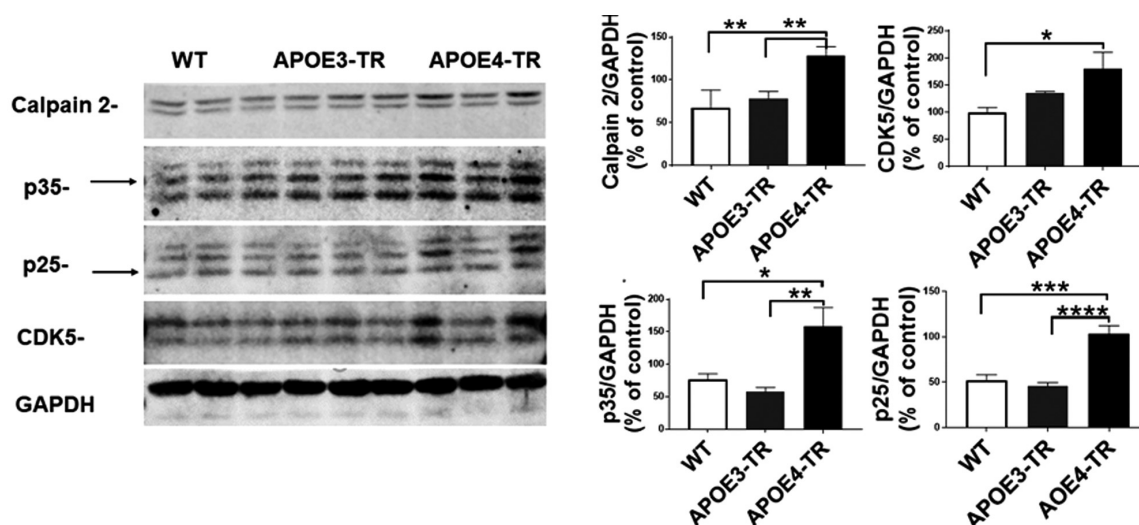


图 2 三种小鼠海马内 Calpain2、P35、P25、CDK5 的表达

Fig.2 The expression of Calpain2, P35, P25 and CDK5 in the hippocampus of three kinds of mice

Note: *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, ****: $P < 0.0001$.

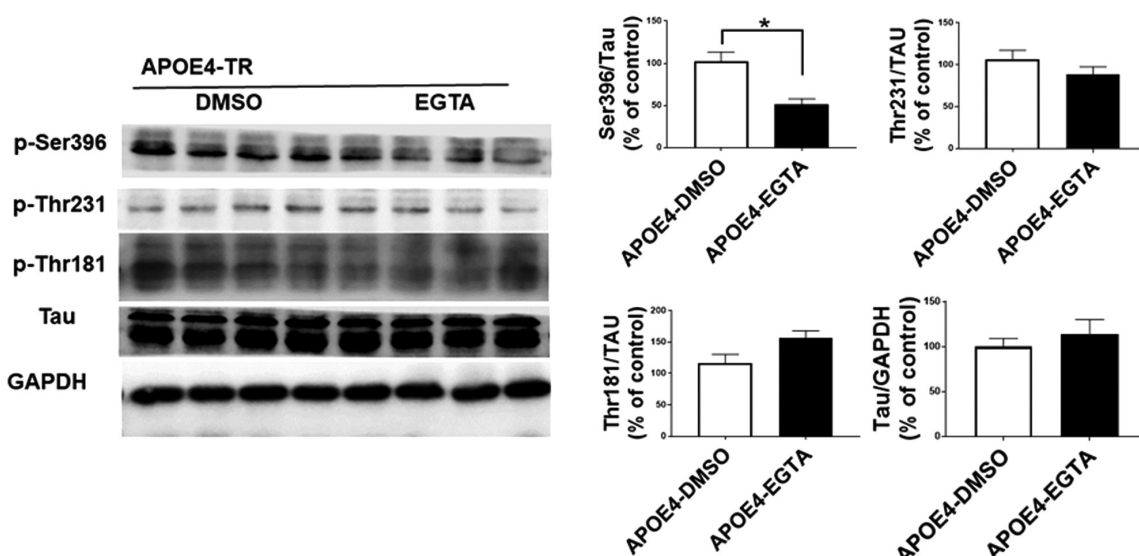


图 3 APOE4-TR 鼠侧脑室注射 DMSO 或 EGTA 后海马内 Tau 蛋白在 Ser396、Thr181 以及 Thr231 位点的磷酸化

Fig.3 Phosphorylation of Tau protein in the hippocampus at Ser396, Thr181 and Thr231 after injection of DMSO or EGTA into the lateral ventricle of APOE4-TR mice

Note: *: $P < 0.05$.

2.4 钙离子螯合剂 EGTA 对 Calpain 2-p35/25-CDK5 的影响

为进一步验证 EGTA 的作用,我们检测了给予 EGTA 后 Calpain 2 蛋白以及 p35/25、CDK5 的表达水平。如图 4 所示,与对照组(给予 DMSO)相比,给予 EGTA 组小鼠海马内 Calpain 2 表达水平减少了 $26.82 \pm 12.41\%$,p35 位点表达量减少了 $52.60 \pm 20.18\%$,p25 位点表达量减少了 $42.53 \pm 14.88\%$,CDK5 位点表达量减少了 $25.83 \pm 8.99\%$ 。差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

APOE4 是迟发性 AD 的公认的风险基因。研究 APOE4 对

于神经系统影响对揭示 APOE4 的致病机制具有重要意义^[8,9]。小鼠的 APOE 基因只有一种类型,本研究中所用转基因小鼠为人 APOE4 替代小鼠 APOE 基因,研究发现在此小鼠的海马组织中 tau 蛋白的磷酸化程度高于野生型小鼠和人 APOE3 替代小鼠。tau 蛋白是一种在人脑中正常存在的磷蛋白,位于轴索和神经元胞体中。在正常生理情况下 tau 蛋白与微管蛋白结合促进微管的稳定性,但过度磷酸化的 tau 蛋白不仅自身与微管蛋白的结合能力下降,而且还与微管蛋白竞争性地结合正常的微管结合蛋白(MAP),使微管结构异常导致解聚,影响神经元的轴浆运输,引发神经元变性^[10-12]。除此之外,过度磷酸化的 tau 蛋白还能够以成对双螺旋丝样结构(PHF)形成聚集进而形成

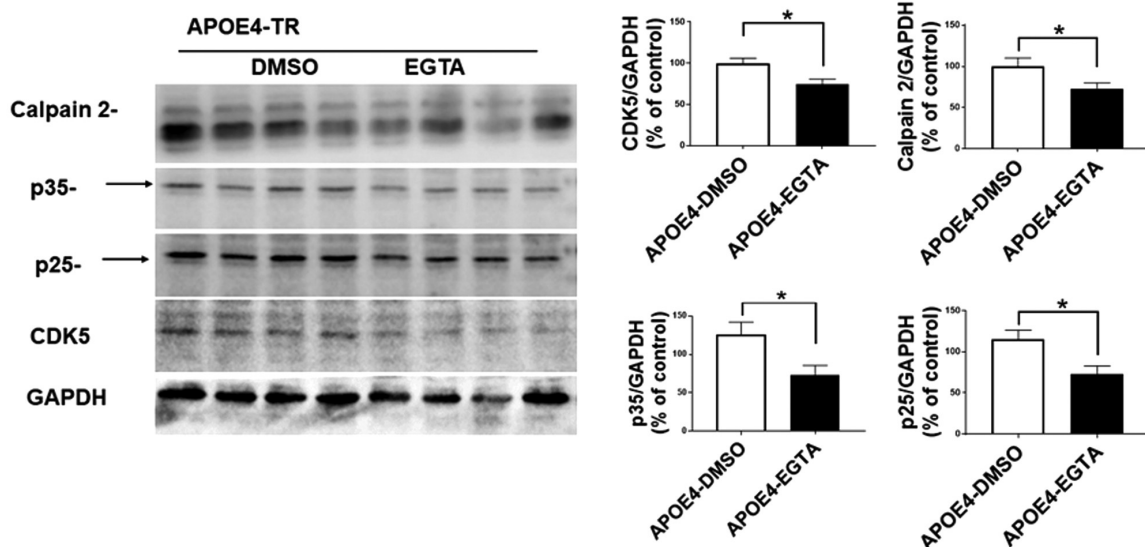


图4 APOE4-TR 鼠侧脑室注射 DMSO 或 EGTA 后海马组织内 Calpain2、P35/25 和 CDK5 的表达水平

Fig.4 The expression levels of Calpain2, P35/25 and CDK5 in the hippocampus after DMSO or EGTA was injected into the lateral ventricle of APOE4-TR mice

Note: *: $P < 0.05$.

神经元纤维缠结 (NFTs)^[13,14]。tau 蛋白在 Ser396、Thr181 及 Thr231 位点的过度磷酸化是目前公认的小鼠皮层神经元微管失稳的指标^[15,16]，有研究表明，与导入 APOE3 的 5× FAD-Tg 小鼠相比，APOE4 能够引起 5× FAD-Tg 小鼠脑中 tau 蛋白在 Thr205、Ser396、Ser404 和 Thr231 位点的磷酸化水平增加。但是总 tau 蛋白表达水平无显著差异^[17]。但却无法说明没有 Aβ 相关基因突变的情况下 APOE4 能否产生同样作用。本研究表明在没有转入外源 Aβ 相关基因突变的情况下，APOE4 能够增加 tau 蛋白在 Ser396、Thr181 和 Thr231 位点的磷酸化，提示 APOE4 可独立于 Aβ 引起 tau 相关的病理变化，揭示了 APOE4 对神经元可能的损伤作用。

已知 tau 的几个位点可以被相关激酶磷酸化。在所有 tau 蛋白激酶中，GSK-3β 和细胞周期蛋白依赖性激酶 5 (CDK5) 是能够使 tau 蛋白发生磷酸化的主要激酶。已有文献报道，CDK5 可促进 AD 脑中 tau 的异常磷酸化，并且在所有 tau 蛋白发生磷酸化的位点中，CDK5 作用的位点就有 9 个^[17]。尤其是在 Ser396 及 Thr181 位点发生磷酸化，而这两个位点的异常磷酸化是神经元微管稳态失衡的公认指标之一^[17-19]。本研究中我们检测到 APOE4 增加 tau 蛋白在 Ser396、Thr181 和 Thr231 位点的磷酸化水平，进一步研究表明 APOE4 作用下 Calpain 2、p35/25 和 CDK5 的表达增加，tau 蛋白磷酸化水平的增加可能和 Calpain-CDK5 有关。

Calpain 2 蛋白是保守的特异性依靠 Ca^{2+} 激活的中性半胱氨酸蛋白酶，该家族的成员表达水平异常已经与众多病理表征相关，尤其为神经退行性疾病^[18,22]。在 AD 病人的脑脊液中，该激酶的表达水平及表达活性均大大增高^[123,24]。有文献报道，APOE4 通过 Calpain- Cdk5 信号通路导致 5XFAD 转基因小鼠脑中 tau 蛋白的磷酸化水平的升高，从而加剧了认知功能的损害^[25]。同时，在 6 月龄 APPswe/PS1dE9 双转基因小鼠中也发现空间记忆障碍和 Cdk5 活性及表达水平异常增高有关^[26]。但这些研究都没有探究 APOE4 单独作用下是否可对 Calpain- Cdk5

信号通路产生影响并进而影响 tau 蛋白的磷酸化^[27-29]。本研究表明 APOE4 单独作用下，Calpain- Cdk5 信号通路相关的 Calpain 2、p35/25 和 Cdk5 的表达水平增加，进一步应用钙离子螯合剂 EGTA 减少 calpain 2 的活性可减少 CDK5 和 p35/25 的表达，也减少了 tau 蛋白在 Ser396 位点的磷酸化程度，这些结果表明 APOE4 可以上调 Calpain 2、p35/25 和 CDK5 的表达，从而促进 tau 蛋白的磷酸化。与在表达人 APOE4 的 5x FAD 转基因小鼠和在 APP/PS1 双转基因小鼠中检测到的 Calpain-CDK5 信号通路激活和 tau 蛋白磷酸化水平增加的结果相似^[27-29]，但 APOE4 致 Thr181 和 Thr231 位点磷酸化增加的机制尚有待进一步研究。尽管如此，本研究结果揭示 APOE4 单独作用即可对 Calpain- Cdk5 信号通路产生影响并进而影响 tau 蛋白的磷酸化，说明 calpain 2、p35/25 和 CDK5 信号通路在 APOE4 的致病机制中起重要作用。

综上所述，本研究揭示了 APOE4 对 tau 蛋白的磷酸化的影响，并提示其中 tau 蛋白 Ser396 位点的磷酸化与 Calpain 2、p35/25 和 CDK5 信号通路相关。本研究结果说明可以利用单转人 APOE4 的小鼠研究 APOE4 的病理生理作用，这将更加贴合在没有 Aβ 或 tau 蛋白相关基因突变的情况下 APOE4 致 AD 发病增加的实际情况，研究结果将更具有现实价值。因此，我们将利用这一病理模型，研究 APOE4 上调 calpain 2、p35/25 和 CDK5 的机制，以期寻找特异性针对 APOE4 致 AD 的相关药物靶标。

参考文献 (References)

- [1] 郭凯文. 阿尔茨海默病中钙调蛋白与 PP2A 和 GSK-3β 的关系[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(6): 434-434
- [2] Kang SG, Eskandari-Sedighi G, Hromadkova L, et al. Cellular Biology of Tau Diversity and Pathogenic Conformers [J]. Front Neurol, 2020, 11[Epub ahead of print]
- [3] Maria Fe Lanfranco, Christi Anne Ng and G. William Rebeck. ApoE Lipidation as a Therapeutic Target in Alzheimer's Disease [J]. Int J

- Mol Sci, 2020, 21, 6336
- [4] Chia-Chen Liu, Na Zhao, Yuan Fu, et al. ApoE4 Accelerates Early Seeding of Amyloid Pathology[J]. Neuron, 2017, 96: 1024-1032
- [5] T. L. Stephen, M. Cacciottolo, D. Balu, et al. APOE genotype and sex affect microglial interactions with plaques in Alzheimer's disease mice[J]. Acta Neuropathologica Communications, 2019, 7: 28
- [6] Jungsu Kim, Hong Jiang, Seonha Park, et al. Haploinsufficiency of Human APOE Reduces Amyloid Deposition in a Mouse Model of Amyloid- β Amyloidosis [J]. Journal of Neuroscience, 2011, 31 (49): 18007-18012
- [7] Yang Shi, Kaoru Yamada, Shane Antony Liddelow, et al. ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy[J]. Nature, 2017, 549: 523-543
- [8] Emrani S, Arain HA, DeMarshall C, et al. APOE4 is associated with cognitive and pathological heterogeneity in patients with Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Res Ther, 2020, 12(1): 141
- [9] Hung ASM, Liang Y, Chow TCH, et al. Mutated tau, amyloid and neuroinflammation in Alzheimer disease-a brief review [J]. Prog Histochem Cytochem, 2016, 51(1): 01-08
- [10] 于艳红,许杰,李文斌,等. Tau 蛋白磷酸化在阿尔茨海默病中所处的地位[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(8): 1573-1584
- [11] Jesús Avila, George Perry. A multilevel view of the development of Alzheimer's Disease[J]. neuroscience, 2020[Epub ahead of print]
- [12] Alonso R, Pisa D, Aguado B, et al. Identification of Fungal Species in Brain Tissue from Alzheimer's Disease by Next-Generation Sequencing[J]. Alzheimers Dis, 2017, 58: 55-67
- [13] Nicolas R, Barthélemy1, Joseph-Mathurin, et al. A soluble phosphorylated tau signature links tau, amyloid and the evolution of stages of dominantly inherited Alzheimer's disease [J]. Nat Med, 2020, 26(3): 398-407
- [14] Anthony W.P. Fitzpatrick1, Benjamin Falcon1, Shaoda He, et al. Cryo-EM structures of tau filaments from Alzheimer's disease[J]. Nature, 2017, 547: 185-190
- [15] Pasinetti GM, Wang J, Ho L, et al. Roles of resveratrol and other grape-derived polyphenols in Alzheimer's disease prevention and treatment[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(6): 1202-1208
- [16] Bo-Wen Zheng, Li Yang, Xue-Ling Dai, et al. Roles of O-GlcNAcylation on amyloid- β precursor protein processing, tau phosphorylation, and hippocampal synapses dysfunction in Alzheimer's disease [J]. Neurological Research, 2016, 38(2): 177-186
- [17] Meng Zhou, Tianwen Huang, Nicole Collins, et al. APOE4 Induces Site-Specific Tau Phosphorylation Through Calpain-CDK5 Signaling Pathway in EFAD-Tg Mice [J]. Current Alzheimer Research, 2016, 13: 1048-1055
- [18] TAI Zhaoxia1, FEI Xueyu, HE Xiaofen, et al. Role of calmodulin kinase II in neuropathic pain and its pathway of pain regulation [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2019, 27(3): 387-392
- [19] Zhuang K, Huang C, Leng L, et al. Neuron-Specific Menin Deletion Leads to Synaptic Dysfunction and Cognitive Impairment by Modulating p35 Expression[J]. Cell Rep, 2018, 17: 24(3): 701-712
- [20] Peterson DW, Ando DM, Taketa DA, et al. No difference in kinetics of tau or histone phosphorylation by CDK5/p25 versus CDK5/p35 in vitro[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(7): 2884-2889
- [21] Chen X, Huang T, Zhang J, et al. Involvement of calpain and p25 of CDK5 pathway in ginsenoside Rb1's attenuation of beta-amyloid peptide25-35-induced tau hyperphosphorylation in cortical neurons [J]. Brain Res, 2008, 1200: 99-106
- [22] 孙平,华茜,李澎涛,等.神经元钙稳态失衡在阿尔茨海默病发病中的进展[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(6): 1183-1185
- [23] Chami M, Checler F. Alterations of the Endoplasmic Reticulum (ER) Calcium Signaling Molecular Components in Alzheimer's Disease [J]. Cells, 2020, 9(12)[Epub ahead of print]
- [24] Crown ED. The role of mitogen activated protein kinase signaling in microglia and neurons in the initiation and maintenance of chronic pain[J]. Exp Neurol, 2012, 234(2): 330-339
- [25] 周梦. ApoE4 通过 calpain-CDK5 通路介导 tau 蛋白过度磷酸化加剧 5xFAD 转基因小鼠认知功能的损害[D]. 福建医科大学, 2015
- [26] 许方方, 蒋森. Cdk5/p25 在 APPswe/PS1dE9 双转基因 AD 模型小鼠海马内表达与认知功能障碍的关系[J]. 现代医药卫生, 2020, 36(20): 3248-3251
- [27] Crown ED. The role of mitogen activated protein kinase signaling in microglia and neurons in the initiation and maintenance of chronic pain[J]. Exp Neurol, 2012, 234(2): 330-339
- [28] Dreses-Werringloer U, Lambert JC, Vingtdeux V, et al. A polymorphism in CALHM1 influences Ca^{2+} homeostasis, A β levels, and Alzheimer's disease risk[J]. Cell, 2008, 133(7): 1149-1161
- [29] WATAMURA N, TOBA J, YOSHII A, et al. Colocalization of phosphorylated forms of WAVE, CRMP2, and tau in Alzheimer's disease model mice: involvement of Cdk5 phosphorylation and the effect of ATRA treatment[J]. J Neurosci Res, 2015, 94 (1): 15-26