

· 老年人认知功能障碍专栏 ·

阿司匹林对阿尔茨海默病模型大鼠学习记忆能力的保护作用及其对炎症因子IL-6、IL-1 β 和TNF α 表达的影响

胡毓洪¹, 拓西平^{2*}, 罗 镧³

(¹济南军区总医院心内科, 济南 250031; ²第二军医大学附属长海医院老年病科, 上海 200433; ³南通大学附属医院老年医学科, 南通 226001)

【摘要】目的 探讨阿司匹林对阿尔茨海默病(AD)是否具有防治作用,及是否对相关炎症因子表达存在影响。**方法** 本研究在体内条件下用侧脑室定向注射 β 淀粉样蛋白(A β)25-35模拟AD的基本病理改变,用阿司匹林进行干预,测试大鼠在Morris水迷宫中的逃避潜伏期,并用ELISA检测大鼠脑组织内炎症因子白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 和肿瘤坏死因子 α (TNF α)的表达情况。将50只大鼠随机分为5组,每组10只。(1)高剂量阿司匹林干预组:大鼠给予含阿司匹林2g/L的蒸馏水溶液喂服,自由进食。3周后侧脑室内注射A β 溶液5 μ l,再予含阿司匹林2g/L的蒸馏水溶液喂服3周,自由进食。(2)中剂量阿司匹林干预组:给予含阿司匹林1g/L的蒸馏水溶液喂服,其余同前。(3)低剂量阿司匹林干预组:给予含阿司匹林0.5g/L的蒸馏水溶液喂服,其余同前。(4)模型组:给予蒸馏水喂服,其余同前。(5)假手术组:给予蒸馏水喂服,3周后侧脑室内注射无菌生理盐水5 μ l,再予蒸馏水喂服,自由进食。第6周结束时,使用Morris水迷宫测试大鼠学习记忆能力改变。然后处死大鼠使用ELISA方法检测大鼠脑组织内IL-6, IL-1 β 和TNF α 水平。**结果** (1)阿司匹林各剂量干预组逃避潜伏期较模型组缩短,差异具有统计学意义。(2)IL-1 β 水平以模型组最高,假手术组最低,各不同阿司匹林剂量干预组水平在前两组之间;而3组阿司匹林干预组中,分别为低剂量组最高,高剂量组最低;差异具有统计学意义。(3)IL-6水平以模型组最高,假手术组最低,阿司匹林各剂量干预组介于两者之间,但总体间差异无统计学意义。(4)TNF α 水平以模型组最高,假手术组最低,各不同阿司匹林剂量干预组介于两者之间;各剂量组之间又分别以中剂量组最高,高剂量组最低;差异有统计学意义。**结论** 侧脑室定向注射A β 25-35能使大鼠学习记忆能力下降。阿司匹林干预可改善AD模型大鼠的学习记忆能力。阿司匹林可能下调IL-1 β , IL-6和TNF α 等炎症因子的释放,从而对AD模型大鼠学习记忆能力起到保护作用。

【关键词】 阿尔茨海默病; 大鼠; 阿司匹林; 炎症因子; 痴呆

【中图分类号】 R745.7

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2014.00080

Effect of aspirin on learning and memory abilities and brain expression of IL-6, IL-1 β and TNF α in Alzheimer's model rats

HU Yu-Hong¹, TUO Xi-Ping^{2*}, LUO Lan³

(¹Department of Cardiology, General Hospital of Jinan Military Command, Jinan 250031, China; ²Department of Geriatrics, Affiliated Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; ³Department of Geriatrics, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China)

【Abstract】Objective To investigate whether there is preventive and treatment effect of aspirin on the rat model of Alzheimer's disease (AD) and its influence on the expression of interleukin (IL)-6, IL-1 β and tumor necrosis factor α (TNF α) in the models. **Methods** A total of 50 SD rats were randomly divided into 5 groups: control group, model group, and low-, middle- and high-dosed aspirin groups. After fed with normal saline containing aspirin at 0, 0.5, 1 and 2g/L respectively for the later 4 groups for 3 weeks, the rats model of AD was established by injecting 5 μ l amyloid-beta protein 25-35 (A β 25-35) into the lateral cerebral ventricle followed by another 3 weeks' aspirin treatment, while those of control was given normal saline at same volume. The escape latency of the rats was tested in Morris water maze, and the levels of IL-6, IL-1 β , TNF α in the brain were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The mean escape latency was significantly shorter in the high-, middle- and low-dosed aspirin groups than in the control group. The brain levels of IL-1 β was the highest in the

收稿日期: 2014-03-17; 修回日期: 2014-04-28

基金项目: 上海市教委 2010 年度科研创新项目资助 (10zs57)

通信作者: 拓西平, E-mail: xptuo_01@126.com

model group, the lowest in the control group, and in a decreasing order in the low-, middle- and high-dosed aspirin groups, with significant difference among them. The brain level of IL-6 was in a similar trend as that of IL-1 β in the 5 groups, but there was no significant difference among them. The level of TNF α was also the highest in the model group, and the lowest in the control group, and those in the other 3 groups were between the 2 values. Among the 3 aspirin groups, the middle-dosed group had the highest level of TNF α , and the low-dose group had the lowest level, with significant difference between the 2 groups.

Conclusion Lateral cerebral ventricle injection of A β 25-35 causes short-term decrease in learning and memory abilities in rats. Aspirin intervention attenuates the induced decrease in the abilities. It might exert the protective effect on the learning and memory abilities through down-regulating IL-1 β , IL-6, and TNF α in the brain.

【Key words】 Alzheimer's disease; rats; aspirin; inflammatory factors; dementia

This work was supported by the Research and Innovation Project of Shanghai Municipal Commission of Education in the Year of 2010 (10zs57).

Corresponding author: TUO Xi-Ping, E-mail: xptuo_01@126.com

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是发生于老年和老年前期最常见的以进行性痴呆为特征的中枢神经系统变性疾病。AD与炎症相关, 损害的神经元、异常沉积的 β 淀粉样蛋白 (amyloid β , A β) 及神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT) 都是炎症的刺激物, 刺激机体产生炎症因子, 而炎症因子的存在可能增加AD的发病风险。众多流行病学资料显示, 长期服用阿司匹林 (aspirin) 的人群中AD的患病率明显低于未服用者。对于阿司匹林在AD发生发展中的确切作用及其机制有待于进一步研究。本研究拟从动物AD模型出发, 研究阿司匹林对AD的防治作用及其对大脑炎症因子白细胞介素 (interleukin, IL) -1 β , IL-6和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) α 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性SD大鼠50只, 鼠龄11~12周, 体质量260~280g, 由第二军医大学实验动物中心提供。标准环境下饲养: 温度 (23.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C, 湿度 (50.0 $\pm$ 0.5) %, 自然光线, 自由进食, 进水情况视具体分组决定。

1.2 实验材料及试剂

江湾1号C型脑立体定向仪 (第二军医大学生理学教研室); Morris水迷宫 (上海吉量公司)。A β 25-35由西格玛奥德里奇 (Sigma-Aldrich) 上海贸易有限公司提供。大鼠IL-6, IL-1 β 和TNF α 定量酶联免疫吸附实验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒均由上海为奥生物科技有限公司提供。

1.3 实验分组

所有50只大鼠, 随机分为5组, 每组10只。(1) 高剂量阿司匹林干预组 (高剂量组): 给予含阿司匹林2g/L的蒸馏水溶液喂服, 自由进食。3周后侧脑室内注射A β 溶液 (将A β 25-35溶于无菌生理盐水, 浓

度10mmol/L, 置37 $^{\circ}$ C恒温箱内孵育3d后备用) 5 μ l, 再予含阿司匹林2g/L的蒸馏水溶液喂服3周, 自由进食。(2) 中剂量阿司匹林干预组 (中剂量组): 给予含阿司匹林1g/L的蒸馏水溶液喂服, 自由进食。3周后侧脑室内注射A β 溶液5 μ l, 再予含阿司匹林1g/L的蒸馏水溶液喂服3周, 自由进食。(3) 低剂量阿司匹林干预组 (低剂量组): 给予含阿司匹林0.5g/L的蒸馏水溶液喂服, 自由进食。3周后侧脑室内注射A β 溶液5 μ l, 再予含阿司匹林0.5g/L的蒸馏水溶液喂服3周, 自由进食。(4) 模型组: 给予蒸馏水喂服, 3周后侧脑室内注射A β 溶液5 μ l, 再予蒸馏水喂服, 自由进食。(5) 假手术组: 给予蒸馏水喂服, 3周后侧脑室内注射无菌生理盐水5 μ l, 再予蒸馏水喂服, 自由进食。

1.4 动物模型制作

应用地西泮 (diazepam) 及氯胺酮 (ketamine) 进行腹腔麻醉后, 将大鼠固定在江湾1号C型脑立体定向仪上, 剪去顶部毛发, 碘酊消毒后切开皮肤, 参照包新民的《大鼠脑立体定位图谱》选择右侧侧脑室为注射靶区, 于前囟向后1.0mm, 中线右侧旁开1.7mm处, 用牙科钻钻开颅骨, 暴露硬脑膜, 微量注射器自脑表面垂直进针4.0mm, 将10mmol/L A β 25-35溶液5 μ l缓慢注入, 留针2min后缓慢撤针, 骨水泥覆盖露骨缺口, 缝合皮肤切口。肌肉注射40kU青霉素钠 (penicillin sodium) 预防感染。假手术组则注入等体积无菌生理盐水, 其余步骤相同。

1.5 Morris水迷宫行为学检测 (隐藏平台获得实验)

水迷宫装置由上海吉量软件设计, 包括一个圆形不锈钢水池, 直径140cm, 高60cm, 水池底和筒壁皆为黑色; 池壁上标有东南西北4个入水点, 将水池等分为4个象限; 目标象限的中央放置一直径为10cm, 高23.5cm的圆形隐藏平台, 整个实验期间其位置保持不变; 迷宫上方安置带有显

示系统的摄像机,同步记录大鼠运动轨迹。实验历时5d。实验前动物自由游泳2min。正式实验每天训练1次,每次2min,随机从东、西、南、北各个入水点选择一个,将动物面向池壁放入水中,记录动物寻找并爬上平台所需时间即逃避潜伏期(escape latency)。如果动物在2min内未找到平台,逃避潜伏期记为2min。第1~2天为训练,后3d数据作为学习和记忆成绩。

1.6 海马组织IL-1 β , IL-6和TNF α 水平的测定

本实验采用双抗体夹心ABC-ELISA法测定海马组织IL-1 β , IL-6和TNF α 水平。

1.7 统计学处理

全部资料用SPSS17.0软件进行统计分析。实验数据中计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料组间差异比较用 χ^2 检验;正态计量资料两组间比较用 t 检验,多组间比较使用单因素(one-way)ANOVA;非正态计量资料比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 总体情况

所有50只大鼠总体生长情况良好。第2周后,平均体质量每周增加5~7g,体质量无明显异常。所有大鼠进食情况无明显异常,每日每只大鼠饮水量约为32ml,与阿司匹林浓度无明显相关性。进行方差齐性检验后,饮水量数据符合方差齐性。

2.2 学习记忆能力测定

2.2.1 第1日水迷宫情况 进行模型组与假手术组间比较,验证AD模型造模是否成功。两组间数据经方差齐性检验符合正态分布,采用 t 检验分析。结果显示模型组逃避潜伏期较假手术组明显延长[(42.96 $\pm$ 17.51) vs (27.21 $\pm$ 13.23) s, $P < 0.05$]。说明侧脑室定向注射A β 能使SD大鼠学习记忆能力下降,造模成功。

2.2.2 第3日水迷宫情况 第3日水迷宫情况,大鼠

逃避潜伏期数据经方差齐性分析符合正态分布,总体均数间比较采用单因素ANOVA分析。结果显示总体均数有统计学差异,具体情况见表1。

表1 第3日各组大鼠逃避潜伏期比较
Table 1 Comparison of escape latency in five groups on day 3
($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Escape latency(s)
High dose	16.80 $\pm$ 6.12*
Middle dose	17.19 $\pm$ 6.06*#
Low dose	17.08 $\pm$ 5.55*#
Sham	12.10 $\pm$ 3.34**
Model	23.36 $\pm$ 8.82

Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with sham group, # $P < 0.05$

各组间比较采用LSD检验。其中模型组与高剂量组、中剂量组、低剂量组、假手术组比较,差异均具有统计学意义, P 值分别为0.011, 0.017, 0.015, < 0.001 。假手术组与中剂量组、低剂量组比较,差异均具有统计学意义, P 值分别为0.040和0.044。假手术组与高剂量组比较, P 值为0.057。其余各组间两两比较差异均无统计学意义。

2.3 各组大鼠海马组织IL-1 β , IL-6和TNF α 水平

各组取编号前8位的大鼠处死后取海马组织,使用ELISA方法检测IL-1 β , IL-6和TNF α 水平。IL-1 β , IL-6和TNF α 数据进行方差齐性检验后显示符合正态分布,总体比较采用单因素ANOVA分析,各组间两两比较采用LSD检验。

2.3.1 各组大鼠海马组织IL-1 β 水平 IL-1 β 水平总体间比较采用单因素ANOVA分析,差异具有统计学意义,见表2。

表2结果表明,IL-1 β 水平以模型组最高,假手术组最低。各剂量组之间又分别为低剂量组最高,高剂量组最低。据此,进一步分析各组间比较是否有统计学意义。

各组间比较采用LSD检验。其中模型组与高剂量组、中剂量组、假手术组比较,差异均具有统计学意义, P 值分别为0.014, 0.050, < 0.001 ;低剂量

表2 5组大鼠IL-1 β , IL-6及TNF α 水平比较
Table 2 Comparison of IL-1 β , IL-6 and TNF α levels in five groups
($n = 8, \text{ng/L}, \bar{x} \pm s$)

Group	IL-1 β	IL-6	TNF α
High dose	37.350 $\pm$ 7.340*	42.090 $\pm$ 9.466	43.294 $\pm$ 6.123**
Middle dose	39.761 $\pm$ 12.543*	42.276 $\pm$ 35.243	49.539 $\pm$ 7.051***
Low dose	43.403 $\pm$ 4.127#	50.827 $\pm$ 16.011	48.584 $\pm$ 7.172***
Sham	31.597 $\pm$ 6.559**	35.811 $\pm$ 5.181	37.539 $\pm$ 4.925**
Model	48.520 $\pm$ 9.985	55.707 $\pm$ 14.037	47.596 $\pm$ 9.440

Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with sham group, # $P < 0.05$, *** $P < 0.01$

组与假手术组比较差异有统计学意义, P 值为0.010。其余各组间两两比较均无统计学差异。

2.3.2 各组大鼠海马组织IL-6水平 IL-6水平总体间比较采用单因素ANOVA分析, 差异不具有统计学意义。

表2结果表明, IL-6水平以模型组最高, 假手术组最低, 各剂量组介于两者之间; 但总体间差异无统计学意义。

2.3.3 各组大鼠海马组织TNF α 水平 TNF α 水平总体间比较采用单因素ANOVA分析, 差异具有统计学意义, 见表2。

表2结果表明, TNF α 水平以模型组最高, 假手术组最低, 各剂量组介于两者之间。各剂量组之间又分别以中剂量组最高, 高剂量组最低。据此, 进一步分析各组间比较是否有统计学意义。

各组间比较采用LSD检验。其中模型组与高剂量组、中剂量组、低剂量组、假手术组比较, 差异均具有统计学意义, P 值分别为 < 0.001 , 0.005 , 0.002 , < 0.001 ; 假手术组与中剂量组、低剂量组比较差异有统计学意义, P 值分别为 < 0.001 和 < 0.001 。其余各组间两两比较差异均无统计学意义。

3 讨论

阿尔茨海默病主要临床表现为进行性记忆力减退、认知功能障碍以及人格改变等症状。AD的主要病理改变是: 大脑皮质及海马区的A β 在胞外积累并形成老年斑 (senile plaque, SP)、脑神经细胞内tau蛋白异常聚集形成的NFT、神经元突触功能异常及锥体神经细胞丢失。

流行病学资料显示, 长期服用阿司匹林能降低AD的患病率^[1-6]。关于阿司匹林在预防AD发病中的分子机制, 国内外进行了一些研究, 主要是体外细胞实验, 有以下主要观点。(1) 阿司匹林能够显著抑制A β 聚合^[7]。而异常聚合的A β 是炎症的刺激物, 能刺激机体产生炎症因子, 增加AD的发病风险; 同时, A β 可与细胞因子、补体、胶质细胞等共同形成了一个慢性持续性的炎症损伤反应, 导致AD病理损害持续加剧。(2) 阿司匹林能够减少tau蛋白异常磷酸化及其导致的NFT形成^[8]。NFT可刺激机体产生炎症因子, NFT的形成减少可减轻神经细胞的慢性炎症反应损伤, 减少和延缓AD的发生发展。(3) 阿司匹林能够减轻A β 诱导的体外培养海马神经细胞内Cl⁻浓度的增高; 而神经细胞内Cl⁻浓度的升高可增强谷氨酸的神经毒性, 加重AD的发生发展^[9]。(4) 阿司匹林可清除一氧化氮自由基, 从而减少神经元氧化应

激损伤^[10]。Dragomir等^[11]研究证实阿司匹林可通过蛋白激酶C诱导的NADPH途径减少超氧阴离子的生成, 减少活性氧生成, 稳定细胞内钙稳态。此外, 有研究指出, 非甾体抗炎药可抑制胆碱酯酶的活性, 减少内源性乙酰胆碱的降解, 增强乙酰胆碱对脑胆碱受体的作用, 提高胆碱神经功能, 延缓AD的发生发展, 从而对AD起到治疗作用^[12]。Pomponi^[13]等认为, 摄入小剂量阿司匹林可促使环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 乙酰化, 乙酰化后的COX-2能分别使花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 和二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA) 转化为对神经元有保护作用的脂质调节剂解离素类 (resolvins) 和神经保护素 (neuroprotectin) D1, 从而对AD具有治疗作用。

AD发病过程中, 中枢神经系统炎症损伤机制具有重要作用, 而阿司匹林具有明显的抗炎活性, 因此我们推测阿司匹林是否可通过抑制中枢神经系统炎症因子的释放, 减少炎症损伤, 从而对AD起到一定的防治作用。阿司匹林对AD模型动物学习记忆能力影响的体内实验研究也罕见报道。因此我们设计了该课题。

IL-1 β , IL-6和TNF α 等炎症介质在AD的发病机制中均起到了一定的作用, 如IL-1 β 可通过促进A β 的产生、导致NFT形成、诱导胶质细胞活化、损害胆碱系统功能等多个途径加重AD的进展。而IL-6在AD发病机制中也起到了一定的作用。IL-6能促使神经元表达淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 增加^[14]。Del Bo等^[15]在原代培养神经元实验中证实, IL-6可刺激神经元对APP mRNA的表达增加了约1倍。IL-6诱导 α_2 巨球蛋白合成, 而 α_2 巨球蛋白可使A β 清除不完全, 导致A β 沉积。Qiu等^[16]的实验提示, IL-6, A β 及N-甲基-D-天 (门) 冬氨酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 对AD的发展起协同作用。TNF α 与AD的发病同样具有密切的关系。TNF α 可与神经营养素相互竞争受体, 导致神经元的老化; 同时TNF α 加强NMDA介导的神经毒性作用; TNF α 可影响神经细胞内钙稳态。

本次研究中, 通过3d的水迷宫学习后, 阿司匹林各剂量干预组大鼠逃避潜伏期较模型组缩短, 差异具有统计学意义, 但中剂量组及低剂量组仍较假手术组延长。说明阿司匹林的干预, 对A β 介导的AD模型大鼠学习记忆能力具有一定保护作用。而高剂量组与假手术组比较, P 值为0.057, 反映该剂量组大鼠学习记忆能力与假手术组相比, 差异无统计学意义。表明高剂量阿司匹林干预组, 即2g/L浓度的

阿司匹林干预对AD模型大鼠学习记忆能力的保护作用可能较佳。而不同剂量阿司匹林对于A β 介导的AD模型大鼠学习记忆能力影响差异无统计学意义,可能与样本量较小有关,需要进一步实验进行验证。

我们的课题证实, A β 侧脑室定向注射能导致上调SD大鼠海马组织IL-1 β 和TNF α 的水平, 并引起SD模型大鼠短期学习记忆能力一定程度的下降。表明A β 侧脑室定向注射可能是通过使IL-1 β 和TNF α 因子释放增加, 从而对神经元起到毒性作用, 导致AD的发生。

本研究证实阿司匹林干预能下调A β 介导的AD模型大鼠海马组织IL-1 β 和TNF α 的释放水平, 并减轻SD模型大鼠短期学习记忆能力的下降。由此我们推测, 阿司匹林可能是通过减少炎症因子IL-1 β 和TNF α 等的释放, 导致海马区神经元损伤减少, 从而对AD模型大鼠的学习记忆能力起到保护作用。实验数据表明2g/L浓度阿司匹林干预对AD模型大鼠学习记忆能力的保护作用可能较佳。但可能由于样本量不足, 我们没有观察到各剂量组间明显的差异, 需要进一步扩大样本量进行实验。

【参考文献】

- [1] Pomponi M, Di Gioia A, Bria P, *et al.* Fatty aspirin: a new perspective in the prevention of dementia of Alzheimer's type[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2008, 5(5): 422-431.
- [2] Sabbagh MN. Drug development for Alzheimer's disease: where are we now and where are we headed[J]. *Am J Geriatr Pharmacother*, 2009, 7(3): 167-185.
- [3] In't Veld BA, Launer LJ, Breteler MM, *et al.* Pharmacologic agents associated with a preventive effect on Alzheimer's disease: a review of the epidemiologic evidence[J]. *Epidemiol Rev*, 2002, 24(2): 248-268.
- [4] Nilsson SE, Johansson B, Takkinen S, *et al.* Does aspirin protect against Alzheimer's dementia? A study in a Swedish population-based sample aged ≥ 80 years[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2003, 59(4): 313-319.
- [5] Landi F, Cesari M, Onder G, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) use and Alzheimer disease in community-dwelling elderly patients[J]. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2003, 11(2): 179-185.
- [6] Auriel E, Regev K, Korczyn AD. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs exposure and the central nervous system[J]. *Handb Clin Neurol*, 2014, 119: 577-584.
- [7] Hirohata M, Ono K, Naiki H, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drugs have anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's β -amyloid fibrils *in vitro*[J]. *Neuropharmacology*, 2005, 49(7): 1088-1099.
- [8] Tortosa E, Avila J, Perez M. Acetylsalicylic acid decreases tau phosphorylation at serine 422[J]. *Neurosci Lett*, 2006, 396(1): 77-80.
- [9] Iwata R, Kitagawa K, Zhang NY, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drugs protect amyloid β protein-induced increase in the intracellular Cl^- concentration in cultured rat hippocampal neurons[J]. *Neurosci Lett*, 2004, 367(2): 156-159.
- [10] Asanuma M, Nishibayashi-Asanuma S, Miyazaki I, *et al.* Neuroprotective effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs by direct scavenging of nitric oxide radicals[J]. *J Neurochem*, 2001, 76(6): 1895-1904.
- [11] Dragomir E, Manduteanu I, Voinea M, *et al.* Aspirin rectifies calcium homeostasis, decreases reactive oxygen species, and increases NO production in high glucose-exposed human endothelial cells[J]. *J Diabetes Complications*, 2004, 18(5): 289-299.
- [12] Muraoka S, Miura T. Inactivation of cholinesterase induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs with horseradish peroxidase: implication for Alzheimer's disease[J]. *Life Sci*, 2009, 84(9-10): 272-277.
- [13] Pomponi MF, Gambassi G, Pomponi M, *et al.* Why docosahexaenoic acid and aspirin supplementation could be useful in women as a primary prevention therapy against Alzheimer's disease[J]. *Ageing Res Rev*, 2011, 10(1): 124-131.
- [14] Zhang Y, Hayes A, Pritchard A, *et al.* Interleukin-6 promoter polymorphism: risk and pathology of Alzheimer's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2004, 362(2): 99-102.
- [15] Del Bo R, Angeretti N, Lucca E, *et al.* Reciprocal control of inflammatory cytokines, IL-1 and IL-6, and β -amyloid production in cultures[J]. *Neurosci Lett*, 1995, 188(1): 70-74.
- [16] Qiu Z, Gruol DL. Interleukin-6, β -amyloid peptide and NMDA interactions in rat cortical neurons[J]. *J Neuroimmunol*, 2003, 139(1-2): 51-57.

(编辑: 周宇红)