

·基础研究·

电针介导 AFG3L2 对阿尔茨海默病小鼠学习记忆能力的影响及其作用机制

张清清¹, 王佳伟¹, 王秀秀², 杨磊², 徐欢芸¹, 张宇思²,
吉欣茹¹, 詹诗琪¹, 萧怡萍¹, 梁胜祥^{1,2,3,4*}

1 福建中医药大学康复医学院, 福建 福州 350122;

2 福建中医药大学康复产业研究院, 福建 福州 350122;

3 福建中医药大学康复医疗技术国家地方联合工程研究中心, 福建 福州 350122;

4 福建省认知功能康复重点实验室, 福建 福州 350122

* 通信作者: 梁胜祥, E-mail: sxliang@fjcm.edu.cn

收稿日期: 2025-11-10; 接受日期: 2026-01-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(82575185, 82004440); 福建省自然科学基金项目(2024J09044);

福建省康复技术协同创新中心科研项目(X2025002-协同)

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2026.08005

摘要 目的 观察电针百会、神庭穴对阿尔茨海默病(AD)小鼠学习记忆能力的影响,并探讨其作用机制。**方法** 选择2月龄雄性5×FAD小鼠和雌性野生小鼠各4只,杂交约1个月培育后代,从后代中选择20只鉴定为阳性的3月龄小鼠,按照随机数字表法分为对照组和电针组,每组10只,再选取10只3月龄同窝阴性小鼠作为野生组。适应性固定1周后,电针组取百会、神庭穴进行针刺,深度2 mm,疏密波,频率1/20 Hz,1次/d,30 min/次,5 d/周,干预4周。野生组和对照组小鼠在同等条件下抓取和固定,不接受其他干预。采用新位置识别测试(活动总路程、辨别指数)评价小鼠学习记忆功能;采用7.0 T磁共振成像小动物系统进行化学交换饱和转移(CEST)成像扫描,检测小鼠海马区葡萄糖代谢水平(非对称磁化转移率[MTR_{asym}($\Delta\omega$)]);采用免疫组化检测小鼠海马淀粉样蛋白(A β)阳性面积;采用三磷酸腺苷(ATP)试剂盒检测小鼠海马区ATP的浓度;采用免疫荧光检测小鼠海马的线粒体钙单向转运蛋白(MCU)复合物必需亚基(EMER)阳性面积;采用Western blot检测小鼠海马MCU、ATP酶家族基因3同源蛋白2(AFG3L2)蛋白表达水平。**结果** ①新位置识别测试:干预后第2、3天,3组活动总路程差异均无统计学意义($P>0.05$);与野生组比较,对照组干预后第2、3天辨别指数明显降低($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后第2、3天辨别指数明显升高($P<0.05$)。②A β 阳性面积:与野生组比较,对照组干预后海马CA1和DG区A β 阳性面积均明显增加($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后海马CA1和DG区A β 阳性面积均明显减少($P<0.05$)。③MTR_{asym}($\Delta\omega$):与野生组比较,对照组干预后海马区MTR_{asym}($\Delta\omega$)明显降低($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后海马MTR_{asym}($\Delta\omega$)明显增加($P<0.05$)。④ATP浓度:与野生组比较,对照组干预后海马中ATP浓度下降($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后海马中ATP浓度升高($P<0.05$)。⑤EMER阳性面积:与野生组比较,对照组干预后EMER阳性面积增加($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后EMER阳性面积减少($P<0.05$)。⑥MCU、AFG3L2蛋白表达水平:与野生组比较,对照组干预后MCU表达水平明显升高($P<0.05$),AFG3L2表达水平明显降低($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后MCU表达水平明显降低($P<0.05$),AFG3L2表达水平明显升高($P<0.05$)。**结论** 电针百会、神庭穴可提高AD小鼠学习记忆功能,其具体作用机制可能与提高葡萄糖代谢水平、调节AFG3L2及相关线粒体蛋白有关。

关键词 阿尔茨海默病;学习记忆功能;葡萄糖代谢;电针;百会穴;神庭穴;ATP酶家族基因3同源蛋白2

引用格式:张清清,王佳伟,王秀秀,等.电针介导 AFG3L2 对阿尔茨海默病小鼠学习记忆能力的影响及其作用机制[J].康复学报,2026,36(8):568-575.

ZHANG Q Q, WANG J W, WANG X X, et al. Effects and mechanisms of electroacupuncture mediated by AFG3L2 on learning and memory in Alzheimer disease mouse models [J]. Rehabil Med, 2026, 36(8): 568-575.

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2026.08005

©《康复学报》编辑部, 开放获取 CC BY-NC-ND 4.0 协议

© Rehabilitation Medicine, OA under the CC BY-NC-ND 4.0

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种以学习记忆障碍为主要表现的慢性、进行性神经退行性疾病^[1-2]。有研究表明,AD 海马葡萄糖代谢水平下降会破坏神经元的突触可塑性,造成学习记忆障碍^[3-4]。突触中的辅助亚基和神经丝作为维持受体功能和突触结构稳定性的关键组分,能提升三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)合成水平,为其组装提供能量,提高突触传递效率^[5]。电针作为一种将传统针灸和现代电刺激相结合的特色疗法,可通过提高 AD 患者葡萄糖代谢水平改善学习记忆功能^[6-7],但其具体作用机制仍需进一步阐明。

ATP 酶家族基因 3 同源蛋白 2 (AFG3 like matrix AAA peptidase 2, AFG3L2) 是一种属于 m-AAA 蛋白酶家族的线粒体蛋白。AFG3L2 主要定位于线粒体内膜,在维持线粒体蛋白质稳态、线粒体形态和氧化磷酸化活性方面发挥着重要作用,是线粒体内质量控制系统的核心组成部分^[8]。小鼠脑内 AFG3L2 丢失促进了异常线粒体钙单向转运蛋白(mitochondrial calcium uniporter, MCU)复合物的形成,导致线粒体内 Ca^{2+} 大量流入以及神经元死亡,并出现了 AD 相关病理特征^[9-10]。AD 小鼠脑内出现线粒体 Ca^{2+} 超载、通透性过渡孔开放、代谢水平下降的现象^[11]。通过上调 AFG3L2 可以恢复线粒体嵴的数量及肿胀状态,改善线粒体受损表型^[12],提示调控 AFG3L2 表达可能是改善线粒体功能的关键途径之一。

本研究拟采用携带 5 个家族性基因突变的淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)/早老素 1(presenilin 1, PS1)转基因小鼠(5×FAD transgenic mice, 5×FAD)为研究对象,探讨电针百会、神庭穴调控 AFG3L2 对葡萄糖代谢水平及学习记忆功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择 2 月龄雄性 5×FAD 小鼠和雌性野生小鼠各 4 只,实验动物由江苏华创信诺医药科技有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2020-0009。将雄性 5×FAD 小鼠与雌性野生小鼠杂交培育约 1 个月,饲养于福建中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室[实验动物使用许可证号:SYXK(闽)2020-0002],待其后代生长至 3 月龄,选取其中 30 只开展研究。饲养环境温度 22℃,湿度 50%~70%,模拟标准昼夜系统(12 h 光照+12 h 黑夜),自由饮

水。动物实验方案及伦理均通过福建中医药大学动物管理委员会审批(审批号:FJTCMIACUC2021001),严格遵守《实验动物管理条例》,并严格按照国家动物保护法规的规定操作和施行。

1.2 主要仪器与试剂

小鼠新位置测试系统购自上海欣软信息科技有限公司;小动物呼吸麻醉机(深圳瑞沃德生命科技有限公司,型号:R500IP);7.0 T 小动物核磁共振成像仪(德国 Bruker 公司,型号:BioSpec 70/20 USR);华佗牌 G6805 型电针治疗仪(型号:SDZ-V)及针灸针(0.25 mm×25 mm)购自苏州医疗用品厂有限公司;凝胶成像系统(型号:ChemiDoc XRS+)及电泳仪(型号:1645050)均购自美国 Bio-Rad 公司。

增强型 ATP 检测试剂盒(货号:S0027,批号:A192250214)购自上海碧云天生物技术有限公司; $\text{A}\beta$ 淀粉样蛋白抗体(货号:25524-1-AP,批号:00190903)、MCU 复合物必需亚基(essential MCU regulator, EMRE)抗体(货号:29313-1-AP,批号:00160221)、AFG3L2 抗体(货号:14631-1-AP,批号:00163631)、MCU 抗体(货号:26312-1-AP,批号:00053756)均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 实验动物鉴定及分组

参考前期研究方法进行实验动物鉴定^[13]。首先通过聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)对繁育后的小鼠 DNA 进行扩增,随后加入配好的琼脂糖凝胶板的筛孔中进行电泳,如同时出现 377 bp 的 APP 基因条带及 608 bp 的 PS1 基因条带,则为 5×FAD 阳性小鼠,若均未出现则为阴性小鼠。将 20 只鉴定为阳性的小鼠按照随机数字表法分为对照组和电针组,每组 10 只,再选取 10 只同窝阴性小鼠作为野生组。

1.4 干预方法

1.4.1 干预前适应 将小鼠置于 50 mL EP 管中固定四肢,并将 EP 管固定在泡沫板上减少晃动,1 次/d,30 min/次,5 d/周,固定 1 周。所有小鼠在干预前 1 周进行适应性固定。

1.4.2 电针组 采用电针针刺百会、神庭穴。参考前期研究中的定位方法,取小鼠头部前正中线,两耳尖连线中点为百会穴,前正中线,额顶骨缝交界线前方为神庭穴,提起头部皮肤、斜刺进针、针刺深度 2 mm^[13]。电针参数如下:疏密波,频率 1/20 Hz,1 次/d,30 min/次,5 d/周,干预 4 周。

1.4.3 野生组和对照组 小鼠在同等条件下抓取

和固定,不接受其他干预。

1.5 观察指标

1.5.1 行为学检测 电针干预后,通过新位置识别测试检测小鼠学习记忆能力。该实验分为适应、学习和测试 3 个阶段。干预结束后第 1 天为适应阶段,将小鼠放入测试空箱 10 min 以适应测试环境。干预结束后第 2 天为学习与短期记忆测试阶段,在测试箱的西北角和西南角分别放置物体 A 和物体 B,放入小鼠学习 10 min 以记住物体方位。20 min 后将西南角的 B 物体移至东南角记为物体 C,放入小鼠探索 5 min 进行短期记忆测试,并观察小鼠距离物体 2~3 cm 的探索物体时间。干预结束后第 3 天再次进行长期记忆测试。实验结果采用辨别指数表示,辨别指数越高,代表小鼠对新位置的物体识别能力越强。

辨别指数 = 物体 C 探索时间 / (物体 C 探索时间 + 物体 A 探索时间) × 100%

1.5.2 葡萄糖代谢水平检测 行为学测试后,采用 7.0 T 磁共振成像小动物系统进行化学交换饱和转移 (chemical exchange saturation transfer, CEST) 成像扫描,检测葡萄糖代谢水平。CEST 成像前使用 1.5 % 异氟醚麻醉。扫描过程中,使用半径为 3.6 cm 的体积线圈作为发射器,正交单通道表面线圈作为接收器。

T2 加权成像 (T2 weighted imaging, T2WI) 详细采集参数如下:重复时间 (repetition time, TR) = 5 000 ms,回波时间 (echo time, TE) = 105.02 ms,视野 (field of view, FOV) = 16 mm × 16 mm,图像矩阵 = 256 × 256,切片厚度 = 1 mm。CEST 扫描, B1 = 3.7 μT, 设置 -1 800 ~ 1 800 Hz 的 41 次频率偏置采集,间隔为 90 Hz。具体采集参数如下: TR = 5 000 ms, TE = 35.45 ms, B1 = 3.7 μT, FOV = 16 mm × 16 mm, 图像矩阵 = 45 × 45, 切片厚度 = 1 mm。采用非对称磁化转移率 [MTR_{asym}(Δω)] 计算 CEST 葡萄糖代谢图像数据^[14]。

$$\text{MTR}_{\text{asym}}(\Delta\omega) = [\text{Ssat}(-\Delta\omega) - \text{Ssat}(\Delta\omega)] / S_0$$

计算过程中,需确定 Δω (即内容物与自由水之间的频率差)、饱和前的自由水信号 S₀ 以及饱和后 Ssat 信号对应的自由水值。体素计数均经每只小鼠代谢图像全脑平均强度标准化处理。随后,使用 ITK-SNAP 软件手动勾画左右海马感兴趣区,并提取每只小鼠海马的葡萄糖代谢值。

1.5.3 淀粉样斑块沉积水平检测 干预结束后,选

取 3 只小鼠进行取材。采用免疫组化检测海马淀粉样蛋白 (amyloid beta-protein, Aβ) 沉积水平。灌注取材后脱水包埋切片,二甲苯和梯度乙醇脱蜡,柠檬酸钠修复液低火修复 20 min 后冷却至室温。加入内源性过氧化物酶阻断剂 10 min,磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 冲洗后加入非特异性染色阻断剂封闭,37 °C 孵育 1 h。滴加一抗 (1:200) 标记 Aβ, 4 °C 孵育过夜。次日复温 30 min,滴加生物素标记的羊抗鼠/兔 IgG 聚合物,37 °C 孵育 1 h, PBS 清洗后滴加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶,室温孵育 10 min。PBS 冲洗后滴加新鲜 3,3'-二氨基联苯胺 (3,3'-Diaminobenzidine, DAB) 显色液显色, PBS 冲洗除去显色液,滴加苏木素染色液室温孵育 2 min, PBS 返蓝后吹干封片。最后用普通光学显微镜拍摄海马亚区中的阿蒙角 1 (cornu ammonis 1, CA1) 区及齿状回 (dentate gyrus, DG) 亚区,使用 ImageJ 统计分析。

1.5.4 ATP 浓度检测 干预结束后,另外选取 3 只小鼠取材,采用 ATP 增强型试剂盒检测 ATP 浓度。海马组织加入适量裂解液于冰上裂解 5~10 min,采用高速研磨仪充分研磨组织,然后在 4 °C 下 14 000 r/min 离心 15 min 后,取上清 80 μL。按照 ATP 试剂盒进行加样,用化学发光仪测定相对光单位 (relative light unit, RLU),根据标准曲线计算出样本中 ATP 的浓度。

1.5.5 EMER 阳性面积检测 干预结束后,使用上述 Aβ 检测中同批 3 只小鼠的相邻脑组织切片样本,通过免疫荧光检测 EMER 表达。使用二甲苯和梯度乙醇进行脱蜡,低火使用柠檬酸钠抗原修复液进行修复 20 min,随后取出冷却约 2 h 至室温,使用 PBS 洗净一抗,滴加封闭液 37 °C 孵育 1 h。PBS 洗后滴加一抗 (1:100), 4 °C 孵育过夜。第 2 天取出复温 30 min 后,用 PBS 溶液洗净一抗后,滴加二抗 (1:800)。37 °C 避光孵育 1 h 取出,用 PBS 洗净二抗,清洗后滴加防荧光淬灭封片剂封片。最后使用普通荧光显微镜观察染色结果并统计分析。

1.5.6 MCU、AFG3L2 蛋白表达水平 另选 3 只小鼠取材,采用 Western blot 检测海马 MCU、AFG3L2 蛋白表达水平。取海马组织加入裂解液进行裂解,4 °C 下以 14 000 r/min 离心 15 min,取上清 80 μL 进行定量。调蛋白浓度一致后加 Loading Buffer, 95 °C 变性 5 min。配制凝胶后上样进行电泳,采用三段式电泳法: 20 V 10 min、60 V 30 min、120 V 70 min,转

膜至聚偏氟乙烯膜。脱脂奶粉封闭 3 h,4 ℃一抗过夜(MCU 1:3 000、AFG3L2 1:10 000);二抗常温孵育 1 h(MCU 和 AFG3L2 均为 1:10 000)。洗涤后进行显色成像,使用 Image-Lab 软件分析灰度值,计算目的蛋白相对表达水平。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 24.0 统计软件进行数据分析。计量资料符合正态分布,采用($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,若方差齐两两比较使用 LSD-*t* 检验,若方差不齐则采用 Games-Howell 检验;计量资料不符合正态分布以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,采用 Krus-

kal-Wallis *H* 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 3组干预后新位置识别测试结果比较

干预后第 2、3 天,3 组活动总路程差异均无统计学意义($P>0.05$)。与野生组比较,对照组干预后第 2、3 天辨别指数明显降低($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后第 2、3 天辨别指数明显升高($P<0.05$)。见表 1。

表 1 3组干预不同时间点新位置识别测试比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of novel location recognition test in three groups at different times ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	活动总路程/m		辨别指数/%	
		干预后第 2 天	干预后第 3 天	干预后第 2 天	干预后第 3 天
野生组	10	22.61±4.24	29.19±4.46	66.65±13.66	69.56±10.08
对照组	10	23.07±5.27	24.32±7.18	50.80±11.31 ¹⁾	44.61±12.64 ¹⁾
电针组	10	22.65±4.04	25.50±4.98	65.08±16.12 ²⁾	69.76±13.09 ²⁾

注:与野生组比较,1) $P<0.05$;与对照组比较,2) $P<0.05$ 。
Note: compared with the wild group, 1) $P<0.05$; compared with the control group, 2) $P<0.05$.

2.2 3组干预后 Aβ 阳性面积比较

与野生组比较,对照组干预后海马 DG 和 CA1 区 Aβ 阳性面积均明显增加($P<0.05$)。与对照组比较,电针组干预后海马 DG 和 CA1 区 Aβ 阳性面积均明显减少($P<0.05$)。见表 2、图 1。

2.3 3组干预后 MTRasym($\Delta\omega$)比较

与野生组比较,对照组干预后海马 MTRasym($\Delta\omega$)明显降低($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后海马 MTRasym($\Delta\omega$)明显增加($P<0.05$)。见表 3。

表 2 3组干预后海马 Aβ 阳性面积比较($\bar{x}\pm s$) %

Table 2 Comparison of Aβ-positive area of the hippocampal areas in three groups after intervention ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	DG 区	CA1 区
野生组	3	0.00±0.00	0.00±0.00
对照组	3	1.35±0.18 ¹⁾	1.09±0.13 ¹⁾
电针组	3	0.69±0.09 ²⁾	0.56±0.14 ²⁾

注:与野生组比较,1) $P<0.05$;与对照组比较,2) $P<0.05$ 。
Note: compared with the wild group, 1) $P<0.05$; compared with the control group, 2) $P<0.05$.

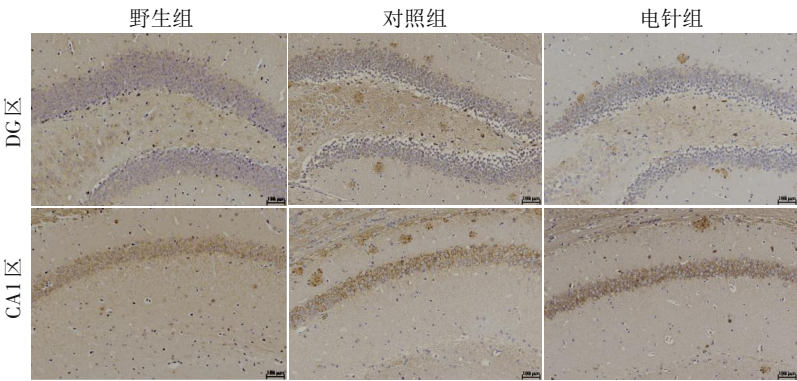


图 1 3组干预后 Aβ 阳性面积比较(×20)

Figure 1 Comparison of Aβ-positive area in three groups after intervention (×20)

表 3 3组干预后海马非对称磁化转移率比较($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Comparison of hippocampus MTRasym ($\Delta\omega$)
in three groups after intervention ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	海马 MTRasym($\Delta\omega$)
野生组	10	4.43±0.68
对照组	10	3.46±0.49 ¹⁾
电针组	10	4.23±0.69 ²⁾

注:与野生组比较,1) $P<0.05$;与对照组比较,2) $P<0.05$ 。
Note: compared with the wild group, 1) $P<0.05$; compared with the control group, 2) $P<0.05$.

2.4 3组干预后ATP浓度比较

与野生组比较,对照组干预后海马中ATP浓度下降($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后海马中ATP浓度升高($P<0.05$)。见表4。

表 4 3组干预后ATP浓度比较($\bar{x}\pm s$) $\mu\text{mol}/\text{mg prot}$

Table 4 Comparison of ATP concentration in three groups after intervention ($\bar{x}\pm s$) $\mu\text{mol}/\text{mg prot}$

组别	<i>n</i>	ATP 浓度
野生组	3	4.13±1.50
对照组	3	1.29±0.75 ¹⁾
电针组	3	3.99±1.12 ²⁾

注:与野生组比较,1) $P<0.05$;与对照组比较,2) $P<0.05$ 。
Note: compared with the wild group, 1) $P<0.05$; compared with the control group, 2) $P<0.05$.

2.5 3组干预后EMER阳性面积比较

与野生组比较,对照组干预后EMER阳性面积增加($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后EMER阳性面积减少($P<0.05$)。见表5、图2。

表 5 3组干预后EMER阳性面积比较($\bar{x}\pm s$) %

Table 5 Comparison of EMER-positive area in three groups ($\bar{x}\pm s$) %

组别	<i>n</i>	EMER 阳性面积
野生组	3	4.74±0.19
对照组	3	9.54±1.05 ¹⁾
电针组	3	4.92±0.28 ²⁾

注:与野生组比较,1) $P<0.05$;与对照组比较,2) $P<0.05$ 。
Note: compared with the wild group, 1) $P<0.05$; compared with the control group, 2) $P<0.05$.

2.6 3组干预后MCU和AFG3L2蛋白表达水平比较

与野生组比较,对照组干预后MCU表达水平明显升高($P<0.05$),AFG3L2表达水平明显降低($P<0.05$);与对照组比较,电针组干预后MCU表达水平明显降低($P<0.05$),AFG3L2表达水平明显升高($P<0.05$)。见表6、图3。

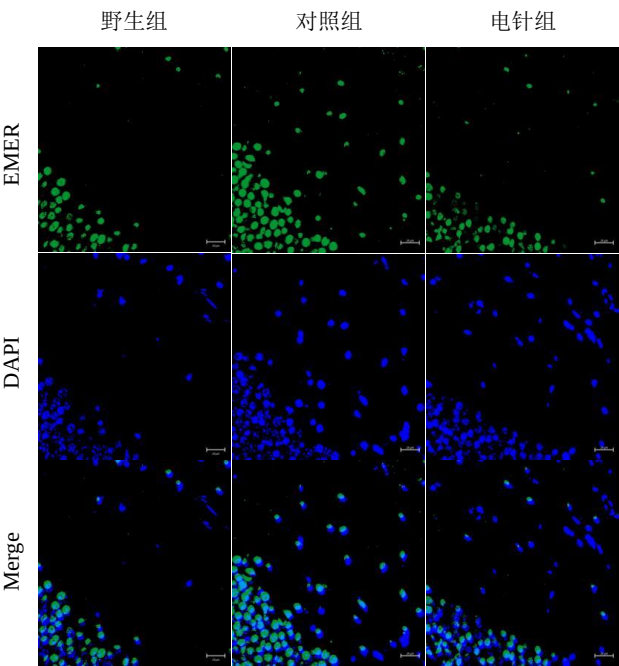


图 2 3组干预后EMER阳性面积比较($\times 40$)

Figure 2 Comparison of EMER-positive area in three groups after intervention ($\times 40$)

表 6 3组小鼠海马MCU和AFG3L2表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 6 Comparison of MCU and AFG3L2 expression level of the hippocampus in three groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	MCU/ β -actin	AFG3L2/ β -actin
野生组	3	0.22±0.13	0.66±0.07
对照组	3	0.68±0.20 ¹⁾	0.50±0.05 ¹⁾
电针组	3	0.33±0.21 ²⁾	0.62±0.04 ²⁾

注:与野生组比较,1) $P<0.05$;与对照组比较,2) $P<0.05$ 。
Note: compared with the wild group, 1) $P<0.05$; compared with the control group, 2) $P<0.05$.

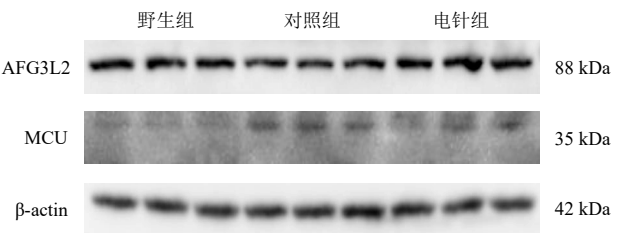


图 3 3组海马AFG3L2和MCU蛋白条带图

Figure 3 Protein band figure of AFG3L2 and MCU of the hippocampus in three groups

3 讨论

3.1 电针可提高AD小鼠学习记忆功能和减少A β 异常沉积

本研究结果显示,与对照组比较,电针组干预后辨别指数明显升高,A β 阳性面积明显减少,这提示电针可提高AD小鼠学习记忆功能和减少A β 沉

积。这可能与以下原因有关:①中医学理论认为 AD 与“髓海空虚”有关,可能是由于阳气不足所致。电针百会、神庭穴可升阳益气、填髓充脑、通督调神,协同提高海马等核心脑区的能量供应,改善其神经可塑性,从而提高学习记忆功能^[15-16]。② A β 是人体脑内的代谢产物,由 β 淀粉样前体蛋白经 γ -分泌酶和 β -分泌酶水解而来,绝大多数 AD 患者脑内 A β 的生成速度保持相对恒定,只是清除速度明显下降,最终造成神经毒性,引发神经元凋亡及学习记忆能力下降^[17]。电针百会、神庭穴可能通过激活促进 A β 降解的相关信号通路,提高 A β 清除速度,维持突触微环境稳定,改善学习记忆功能。这与 YU 等^[18]研究结果一致。

3.2 电针提高 AD 小鼠学习记忆功能可能与葡萄糖代谢水平升高有关

本研究结果显示,与对照组比较,电针组干预后小鼠海马 MTR_{asym}($\Delta\omega$)明显增加,ATP 浓度上升,提示电针提高学习记忆功能可能与海马葡萄糖代谢水平升高相关。这可能与以下因素有关:ATP 作为大脑能量代谢的载体,通过维持突触可塑性所需的离子梯度及突触囊泡循环等过程,为长时程增强的诱导与维持提供能量基础^[19]。超过 95% ATP 是由葡萄糖代谢提供^[20]。海马作为学习记忆的关键脑区,其能量供应高度依赖于葡萄糖的氧化过程,三羧酸循环作为有氧代谢的核心环节,能够高效地生成大量 ATP,以满足海马在学习记忆任务中的高能量需求^[21-22]。电针百会、神庭穴可能通过调控葡萄糖转运及代谢相关分子促进海马等重要脑区对葡萄糖的摄取,提高其葡萄糖利用率,增强 ATP 生成,提高神经元突触功能和辨别指数。这与 MINHAS 等^[23]研究结果发现改善海马葡萄糖代谢可恢复海马长时程增强作用的观点相似。

3.3 电针改善 AD 小鼠学习记忆功能可能与调控 AFG3L2 及相关线粒体蛋白有关

本研究结果发现,与对照组比较,电针组干预后 AFG3L2 表达水平明显升高,EMER 阳性面积、MCU 表达均明显降低,这提示电针改善 AD 学习记忆功能可能与调节 AFG3L2 及相关线粒体蛋白相关。可能与以下因素有关:① AFG3L2 是一种 m-AAA 蛋白酶家族的线粒体蛋白,参与呼吸链活性和线粒体基因表达的调控。AFG3L2 功能缺失会引发神经元线粒体代谢障碍及细胞死亡^[24-25]。电针百会、神庭穴可能通过激活 AFG3L2 上游信号,在转录水平上调

其表达,进而恢复其受损的 ATP 依赖性蛋白水解活性,促进线粒体内错误折叠或受损的蛋白的识别和清除,改善线粒体的氧化磷酸化功能及 ATP 的合成效率,为突触结构重塑等高耗能的学习记忆过程提供能量。② AFG3L2 的一个重要功能底物是 EMER,它是构成功能性 MCU 复合物所必需的调节亚基^[26]。AFG3L2 可通过降解未组装的 EMRE,维持 MCU 复合物的正常组装与功能^[27]。电针百会、神庭穴可能通过下调 EMER 和 MCU 表达,减少高活性 MCU 复合物的形成和线粒体内钙离子过载,为线粒体内 ATP 生成提供稳定环境,从而改善学习记忆相关突触可塑性相关蛋白合成、神经递质释放等关键活动。

4 小 结

电针百会、神庭穴可提高 AD 小鼠学习记忆功能,其具体作用机制可能与提高葡萄糖代谢水平、调节 AFG3L2 及相关线粒体蛋白有关。但本研究仍存在一些不足之处,如仅探究了电针调节 AFG3L2 介导 EMRE 的降解作用以及 MCU 复合物的组装状态,而对具体的分子相互作用机制尚未完全阐明。下一步研究还需通过敲除或抑制 AFG3L2,以验证其对 MCU 复合物形成及下游线粒体功能的影响,并在分子与功能层面明确 AFG3L2 在电针干预中的具体调控机制。

参考文献

- [1] LUNNON K, SMITH R, HANNON E, et al. Methyloomic profiling implicates cortical deregulation of ANK1 in Alzheimer's disease [J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17(9): 1164-1170.
- [2] ZHANG W, YANG Y W, XIANG Z F, et al. MRTF-A-mediated protection against amyloid- β -induced neuronal injury correlates with restoring autophagy via miR-1273g-3p/mTOR axis in Alzheimer models [J]. *Aging*, 2022, 14(10): 4305-4325.
- [3] LI J H, ZHANG B X, JIA W W, et al. Activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase drives the aerobic glycolysis in hippocampus for delaying cognitive decline following electroacupuncture treatment in APP/PS1 mice [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 774569.
- [4] 梁胜祥, 杨俊超, 张宇思, 等. 2 型糖尿病合并轻度认知障碍患者脑葡萄糖代谢连接网络拓扑结构分析[J]. *康复学报*, 2023, 33(6): 493-501.
- [5] LIANG S X, YANG J C, ZHANG Y S, et al. Topological analysis of brain glucose metabolic connectivity networks of patients with type 2 diabetes mellitus combined with mild cognitive impairment [J]. *Rehabil Med*, 2023, 33(6): 493-501.
- [5] DE VEIJ MESTDAGH C F, SMIT A B, HENNING R H, et al.

- Mitochondrial targeting against Alzheimer's disease: lessons from hibernation [J]. *Cells*, 2023, 13(1): 12.
- [6] XIE L, LIU Y, ZHANG N, et al. Electroacupuncture improves M2 microglia polarization and glia anti-inflammation of hippocampus in Alzheimer's disease [J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 689629.
 - [7] LIU W L, ZHUO P Y, LI L, et al. Activation of brain glucose metabolism ameliorating cognitive impairment in APP/PS1 transgenic mice by electroacupuncture [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 112: 174–190.
 - [8] GHOSH DASTIDAR R, BANERJEE S, LAL P B, et al. Multifaceted roles of AFG3L2, a mitochondrial ATPase in relation to neurological disorders [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(7): 3788–3808.
 - [9] KÖNIG T, TRÖDER S E, BAKKA K, et al. The m-AAA protease associated with neurodegeneration limits MCU activity in mitochondria [J]. *Mol Cell*, 2016, 64(1): 148–162.
 - [10] KONDADI A K, WANG S Y, MONTAGNER S, et al. Loss of the m-AAA protease subunit AFG₃L₂ causes mitochondrial transport defects and tau hyperphosphorylation [J]. *EMBO J*, 2014, 33(9): 1011–1026.
 - [11] CALVO-RODRIGUEZ M, HOU S S, SNYDER A C, et al. Increased mitochondrial calcium levels associated with neuronal death in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2146.
 - [12] LI H Y, MA Q W, XUE Y, et al. Compound heterozygous mutation of AFG3L2 causes autosomal recessive spinocerebellar Ataxia through mitochondrial impairment and MICU1 mediated Ca²⁺ overload [J]. *Sci China Life Sci*, 2025, 68(2): 484–501.
 - [13] 何肖君, 李琰, 梁胜祥, 等. 电针“百会”“神庭”对阿尔茨海默病小鼠早期空间识别功能与脑区局部一致性的影响[J]. *福建中医药*, 2021, 52(7): 30–33.
HE X J, LI L, LIANG S X, et al. Effect of electroacupuncture at "Baihui" and "Shenting" on early spatial recognition function and local consistency of brain regions in mice with Alzheimer's disease [J]. *Fujian J Tradit Chin Med*, 2021, 52(7): 30–33.
 - [14] VAN ZIJL P C M, YADAV N N. Chemical exchange saturation transfer (CEST): what is in a name and what isn't [J]. *Magn Reson Med*, 2011, 65(4): 927–948.
 - [15] LEONG P K, WONG H S, CHEN J H, et al. Yang/Qi invigoration: an herbal therapy for chronic fatigue syndrome with Yang deficiency [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 945901.
 - [16] 金虹, 梁吉, 李欣羽, 等. 针灸防治阿尔茨海默病的研究进展[J]. *中医药导报*, 2024, 30(8): 95–97, 112.
 - JIN H, LIANG J, LI X Y, et al. Research progress in the clinical application of acupuncture for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharmacol*, 2024, 30(8): 95–97, 112.
 - [17] MAWUENYEGA K G, SIGURDSON W, OVOD V, et al. Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease [J]. *Science*, 2010, 330(6012): 1774.
 - [18] YU C C, WANG Y, SHEN F, et al. High-frequency (50 Hz) electroacupuncture ameliorates cognitive impairment in rats with amyloid beta 1–42-induced Alzheimer's disease [J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(10): 1833–1841.
 - [19] SEAGER R, LEE L, HENLEY J M, et al. Mechanisms and roles of mitochondrial localisation and dynamics in neuronal function [J]. *Neuronal Signal*, 2020, 4(2): NS20200008.
 - [20] CUNNANE S C, TRUSHINA E, MORLAND C, et al. Brain energy rescue: an emerging therapeutic concept for neurodegenerative disorders of ageing [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(9): 609–633.
 - [21] GE I, KIRSCHEN G W, WANG X X. Shifted dynamics of glucose metabolism in the hippocampus during aging [J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 700306.
 - [22] DEWANJEE S, CHAKRABORTY P, BHATTACHARYA H, et al. Altered glucose metabolism in Alzheimer's disease: role of mitochondrial dysfunction and oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 193(Pt 1): 134–157.
 - [23] MINHAS P S, JONES J R, LATIF-HERNANDEZ A, et al. Restoring hippocampal glucose metabolism rescues cognition across Alzheimer's disease pathologies [J]. *Science*, 2024, 385(6711): eabm6131.
 - [24] CALVO-RODRIGUEZ M, BACSKAI B J. Mitochondria and calcium in Alzheimer's disease: from cell signaling to neuronal cell death [J]. *Trends Neurosci*, 2021, 44(2): 136–151.
 - [25] PATRON M, SPRENGER H G, LANGER T. M-AAA proteases, mitochondrial calcium homeostasis and neurodegeneration [J]. *Cell Res*, 2018, 28(3): 296–306.
 - [26] WU W P, SHEN Q Y, ZHANG R L, et al. The structure of the MICU1-MICU2 complex unveils the regulation of the mitochondrial calcium uniporter [J]. *EMBO J*, 2020, 39(19): e104285.
 - [27] SHI X J, DECIUCIS M, GRABINSKA K A, et al. Dual regulation of SLC25A39 by AFG3L2 and iron controls mitochondrial glutathione homeostasis [J]. *Mol Cell*, 2024, 84(4): 802–810. e6.

Effects and Mechanisms of Electroacupuncture Mediated by AFG3L2 on Learning and Memory in Alzheimer Disease Mouse Models

ZHANG Qingqing¹, WANG Jiawei¹, WANG Xiuxiu², YANG Lei², XU Huanyun¹, ZHANG Yusi²,
JI Xinru¹, ZHAN Shiqi¹, XIAO Yiping¹, LIANG Shengxiang^{1,2,3,4*}

¹ School of Rehabilitation Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China;

² Rehabilitation Industry Institute, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China;

³ National-Local Joint Engineering Research Center of Rehabilitation Medicine Technology, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China;

⁴ Fujian Key Laboratory of Cognitive Rehabilitation, Fuzhou, Fujian 350122, China

*Correspondence: LIANG Shengxiang, E-mail: sxliang@fjtcu.edu.cn

ABSTRACT Objective To observe the effects of electroacupuncture (EA) at the Baihui (GV20) and Shenting (GV24) acupoints on learning and memory function in Alzheimer disease (AD) mouse models, and to explore the underlying mechanisms. **Methods** A total of four male 5×familial Alzheimer disease (5×FAD) and four female wild-type (WT) mice, all aged two months were selected and cross-breeding. After approximately one month, their offspring were genotyped. A total of 20 3-month-old offspring identified as positive were randomly assigned using a random number table to control group and EA group, with 10 cases in each group. Additionally, ten 3-month-old negative littermates were selected as the WT group. Following one week of adaptive fixation, the EA group was administered electroacupuncture at the Baihui(GV20) and Shenting(GV24) acupoints with a needle penetration depth of 2 mm, using a dense-sparse waveform at a frequency of 1/20 Hz for 30 minutes daily, five days a week for four weeks. The WT and control group were captured and fixed under the same conditions without receiving any other treatment. Novel location recognition test (total travel distance, discrimination index) was employed to evaluate learning and memory function; a 7.0 T small animal magnetic resonance imaging system was used to perform chemical exchange saturation transfer (CEST) imaging scans to detect glucose metabolism levels (asymmetric magnetisation transfer ratio [MTRasym($\Delta\omega$)] in the hippocampus of mice. Immunohistochemistry was used to detect the amyloid- β (A β) positive area in the hippocampus of mice. Adenosine triphosphate (ATP) assay kit was used to detect the concentration of ATP in the hippocampus of mice. Immunofluorescence was used to detect the positive area of essential mitochondrial calcium uniporter regulator (EMER) in the hippocampus of mice. Western blot was used to detect the expression levels of mitochondrial calcium uniporter (MCU) and AFG3 like matrix AAA peptidase 2 (AFG3L2) proteins in the hippocampus of mice. **Results** (1) Novel location recognition test: on the 2nd and 3rd day after intervention, there was no statistically significant difference in the total travel distance in all three groups ($P>0.05$). Compared with the WT group, discrimination index in the control group decreased significantly on the 2nd and 3rd day after intervention ($P<0.05$). Compared with the control group, discrimination index in the EA group increased significantly on the 2nd and 3rd day after intervention ($P<0.05$). (2) A β positive area: compared with the WT group, the A β positive area in the hippocampal cornu ammonis 1 (CA1) and dentate gyrus (DG) regions in the control group increased significantly after intervention ($P<0.05$). Compared with the control group, the A β -positive area in the hippocampal CA1 and DG regions in the EA group decreased significantly after intervention ($P<0.05$). (3) MTRasym ($\Delta\omega$): compared with the WT group, hippocampal MTRasym($\Delta\omega$) in the control group decreased significantly after intervention ($P<0.05$). Compared with the control group, hippocampal MTRasym ($\Delta\omega$) in the EA group increased significantly after intervention ($P<0.05$). (4) ATP concentration: compared with the WT group, ATP concentration in the hippocampus of the control group decreased significantly after intervention ($P<0.05$); compared with the control group, ATP concentration in the hippocampus of the EA group increased significantly after intervention ($P<0.05$). (5) EMER positive area: compared with the WT group, EMER positive area in the control group increased significantly after intervention ($P<0.05$); compared with the control group, EMER positive area in the EA group decreased significantly after intervention ($P<0.05$). (6) MCU and AFG3L2 protein expression levels: compared with the WT group, MCU protein expression level in the control group increased significantly after intervention ($P<0.05$), while AFG3L2 protein expression decreased significantly after intervention ($P<0.05$). Compared with the control group, MCU protein expression level in the EA group decreased significantly after intervention ($P<0.05$), while AFG3L2 protein expression increased significantly after intervention ($P<0.05$). **Conclusion** EA at the Baihui (GV20) and Shenting (GV24) acupoints can improve learning and memory function in mouse models with AD. The specific mechanism may involve improving hippocampal glucose metabolism and regulating AFG3L2 and related mitochondrial proteins.

KEY WORDS Alzheimer disease; learning and memory function; glucose metabolism; electroacupuncture; Baihui (GV20) acupoints; Shenting (GV24) acupoints; AFG3L2

DOI:10.3724/SP.J.1329.2026.08005