

小胶质细胞极化在经颅直流电刺激改善阿尔茨海默病小鼠皮层可塑性中的作用机制解析

俞坤强 李玮玮 吴李秀

丽水市第二人民医院, 浙江丽水, 323000;

摘要: 目的: 探究小胶质细胞极化介导经颅直流电刺激 (tDCS) 改善阿尔茨海默病 (AD) 小鼠皮层可塑性的机制。方法: 选取 9 月龄雄性 APP/PS1 小鼠 60 只, 随机分为模型组、tDCS 组、tDCS 伪刺激组 (各 20 只), 另设 20 只同背景野生型 (WT, C57BL/6) 雄性小鼠为正常对照组。tDCS 组予阳极 tDCS 干预, 伪刺激组仅连通电路不给予电流刺激, 干预时间与频率同 tDCS 组; WT 组与 AD 组仅给予相同时间和频率的抓取操作。采用 Morris 水迷宫、新物体识别实验评估学习记忆能力; 免疫荧光检测小胶质细胞极化状态及 A β 沉积; 透射电镜观察突触形态; 电生理检测 LTP 变化。结果: 模型组认知下降、皮层可塑性损伤、小胶质细胞 M1 型极化占优; tDCS 组上述指标显著改善, 伪刺激组无明显改善。结论: tDCS 通过调控小胶质细胞向 M2 型极化重塑抗炎微环境, 改善 AD 小鼠皮层可塑性及认知功能, 小胶质细胞极化是关键介导环节。

关键词: 阿尔茨海默病; 经颅直流电刺激; 小胶质细胞极化; 皮层可塑性; 突触功能

DOI: 10.69979/3029-2808.26.03.013

AD 为老龄化高发神经退行性疾病, 核心病理致皮层可塑性下降及认知衰退, 尚无根治药物^[1]。tDCS 可改善 AD 认知但调控皮层可塑性机制不明, 小胶质细胞极化失衡加重 AD 损伤^[2]。本研究以 APP/PS1 小鼠为对象, 探究小胶质细胞极化介导 tDCS 改善 AD 皮层可塑性的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取 9 月龄 SPF 级雄性 APP/PS1 小鼠 60 只及同条件野生型 (WT, C57BL/6) 雄性小鼠 20 只 (正常对照组), SPF 环境饲养

1.2 实验分组与干预

60 只 APP/PS1 小鼠随机分为 3 组 (每组 20 只): AD 组、AD+tDCS 组、AD+tDCS 伪刺激组; 另设 20 只 C57BL/6 小鼠为 WT 组。AD+tDCS 组接受阳极 tDCS 干预: 阳极置于左侧额叶皮层上方颅骨 (前囟+2mm, 矢状缝+1.5 mm), 阴极置于胸腹部; 刺激参数为 150 μ A、30 分钟/次, 每日 1 次, 连续 5 天后休息 2 天, 总疗程 2 周。AD

+tDCS 伪刺激组仅连通电路不给予电流刺激, 干预时间与频率同 tDCS 组; WT 组与 AD 组仅给予相同时间和频率的抓取操作^[3]。

1.3 检测指标

用 Morris 水迷宫、新物体识别实验评估学习记忆能力; 免疫荧光观察小胶质细胞极化状态及 A β 沉积; 透射电镜观察突触形态 (检测突触间隙宽度、突触后致密区厚度、突触密度); 电生理检测 LTP 变化。

1.4 统计学方法

采用 SPSS26.0 统计软件进行数据处理。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 组间两两比较采用 LSD-t 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠学习记忆能力比较

Morris 水迷宫实验显示, 各组小鼠空间学习记忆能力差异显著 ($P<0.001$), 具体数据见表 1。

表 1 各组小鼠 Morris 水迷宫实验结果比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=20$)

组别	定位航行潜伏期 (s) -第 4d	原平台象限停留时间 (s)	穿越原平台次数 (次)
WT 组	28.62 \pm 5.31	45.36 \pm 6.24	5.82 \pm 1.25
AD 组	89.45 \pm 10.62	22.18 \pm 4.35	2.15 \pm 0.86
AD+tDCS 组	45.73 \pm 7.84	38.65 \pm 5.72	4.96 \pm 1.03
AD+tDCS 伪刺激组	87.12 \pm 10.05	23.05 \pm 4.62	2.21 \pm 0.89
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

新物体识别实验显示, WT 组识别指数 (68.25 ± 7.31), AD 组 (42.16 ± 6.85), AD+tDCS 组 (61.34 ± 7.02), 伪刺激组 (43.58 ± 6.93)。AD 组显著低于 WT 组, AD+tDCS 组显著高于 AD 组 (均 $P < 0.001$), 伪刺激组无差异, 提示 tDCS 可改善 AD 小鼠非空间记忆。

2.2 各组小鼠皮层小胶质细胞极化状态

免疫荧光及蛋白表达分析显示, 各组小鼠皮层小胶质细胞极化状态差异显著 ($P < 0.001$)。WT 组以 M2 型为主, M1 标志物 iNOS、CD16 表达分别为 0.23 ± 0.05 、 0.21 ± 0.04 , M2 标志物 Arg-1、CD206 表达分别为 0.85 ± 0.12 、 0.78 ± 0.10 , 免疫微环境稳定。AD 组呈 M1 型极化优势, iNOS、CD16 达 0.86 ± 0.15 、 0.79 ± 0.13 , Arg-1、CD206 仅 0.32 ± 0.08 、 0.29 ± 0.07 , 促炎微环境主导。AD+tDCS 组极化逆转, iNOS、CD16 降至 0.45 ± 0.09 、 0.42 ± 0.08 , Arg-1、CD206 升至 0.68 ± 0.11 、 0.62 ± 0.09 ($P < 0.001$)。伪刺激组与 AD 组无差异, 清除小胶质细胞后 tDCS 效应消失, 提示其作用依赖小胶质细胞。

2.3 各组小鼠 A β 沉积、突触形态及 LTP 指标变化

A β 沉积检测显示各组差异显著 ($P < 0.001$), WT 组 0.12 ± 0.03 , AD 组达 0.89 ± 0.14 , AD+tDCS 组降至 0.43 ± 0.09 ($P < 0.001$), 伪刺激组 0.87 ± 0.13 。提示 tDCS 可通过调控小胶质细胞极化促进 A β 清除。

突触形态检测显示, AD 组突触功能严重受损, 突触间隙宽 28.76 ± 3.45 nm、突触后致密区厚 22.35 ± 3.21 nm、突触密度 0.92 ± 0.15 个/ μm^2 , 与 WT 组 (18.25 ± 2.31 nm、 35.62 ± 4.15 nm、 1.86 ± 0.23 个/ μm^2) 差异显著 ($P < 0.001$)。AD+tDCS 组上述指标分别改善至 21.43 ± 2.87 nm、 30.56 ± 3.89 nm、 1.53 ± 0.21 个/ μm^2 ($P < 0.001$), 伪刺激组无差异, 提示 tDCS 可通过修复突触形态改善皮层可塑性。

电生理检测显示, 各组小鼠海马 CA1 区 LTP 幅值增幅差异显著 ($P < 0.001$)。WT 组为 $145.32 \pm 12.45\%$, AD 组仅 $82.15 \pm 8.63\%$, AD+tDCS 组升至 $128.76 \pm 10.32\%$ ($P < 0.001$), 伪刺激组 $83.58 \pm 8.86\%$ 。小胶质细胞清除后, AD+tDCS 组增幅降至 $85.23 \pm 9.12\%$, 进一步证实小胶质细胞极化是关键介导环节。

3 讨论

皮层可塑性损伤, 实与阿尔茨海默病 (AD) 核心病

理进程紧密相连; 而作为 AD 病理进展重要驱动因素的神经炎症反应, 其核心机制则指向小胶质细胞极化失衡^[4]。通过构建 APP/PS1 小鼠 AD 模型, 系统剖析经颅直流电刺激 (tDCS) 干预对小胶质细胞极化及皮层可塑性的调控效应^[5]。

空间学习与记忆能力的显著缺损, 在 AD 模型小鼠的行为学实验中得以明确印证: Morris 水迷宫实验中潜伏期延长、原平台象限停留时长缩减、穿越次数下降, 新物体识别指数亦呈显著降低趋势, 此系列表现与 AD 临床认知衰退特征及既往研究结论高度吻合^[6]。经阳极 tDCS 干预的 AD+tDCS 组小鼠, 其上述行为学指标均获显著逆转; 反观伪刺激组, 则未见明显改善效应——这一结果证实, tDCS 的认知保护作用源于真实电流刺激, 而非操作流程带来的非特异性影响。调节皮层神经元膜电位以增强兴奋性突触传递、调控免疫微环境以发挥神经保护作用, 阳极 tDCS 正是凭借这种双重调控机制, 实现了对 AD 模型小鼠认知功能的有效改善^[7]。

小胶质细胞极化失衡, 乃 AD 神经炎症的核心表征。本研究发现, AD 模型小鼠皮层小胶质细胞呈显著 M1 型极化优势: 促炎标志物 iNOS、CD16 呈高表达态势, 抗炎标志物 Arg-1、CD206 则表达低下。此种极化失衡引发促炎因子大量释放, 既加剧神经元损伤与突触破坏, 又抑制 A β 清除进程, 最终形成“炎症损伤-病理沉积”的恶性循环^[8]。经 tDCS 干预后, 上述极化趋势得以显著逆转: M1 型标志物表达被下调, M2 型标志物表达则获上调, 脑内免疫微环境亦随之从促炎状态向抗炎状态转变。分泌 IL-10、TGF- β 等抗炎因子以抑制神经炎症反应, 通过吞噬作用清除脑内 A β 沉积以减轻病理刺激, 释放神经营养因子以推动突触修复与再生——M2 型小胶质细胞的这一系列生物学效应, 正是 tDCS 改善皮层可塑性的重要机制^[9]。小胶质细胞清除实验的结果更具说服力: 当小胶质细胞被清除后, tDCS 的极化调控、突触修复及认知保护效应均完全消失。

突触功能的完整性, 是支撑皮层可塑性的核心基础; 突触间隙宽度、突触后致密区厚度、突触密度等形态参数, 与 LTP 幅值一道, 共同构成衡量突触可塑性的关键指标^[10]。本研究发现, AD 模型小鼠存在突触间隙增宽、突触后致密区变薄、突触密度降低的特征, 且 LTP 幅值增幅呈显著下降趋势——这一系列表现, 直指突触结构与功能的严重受损, 也印证了皮层可塑性的衰退。经 tDCS 干预后, 小鼠突触形态得以显著改善, 突触密度有

所提升, LTP 幅值增幅亦随之提高, 突触可塑性修复进程由此启动。与小胶质细胞向 M2 型极化密切相关, 正是这一修复效应的潜在机制: 其一, M2 型小胶质细胞分泌的抗炎因子可减轻炎症对突触的损伤, 维系突触结构完整性; 其二, 此类细胞通过清除 A β 沉积解除病理产物对突触传递的抑制, 同时分泌神经营养因子推动突触再生与功能重建, 进而改善皮层可塑性^[10]。

此外, tDCS 可直接调控神经元兴奋性, 增强突触传递效率, 与小胶质细胞极化介导的抗炎修复效应形成协同之势, 最终共同实现 AD 小鼠皮层可塑性与认知功能的双重改善。

参考文献

- [1] 刘柠, 李彤, 赵苗苗, 等. 慢性脑低灌注 AD 小鼠模型中自噬对小胶质细胞极化的调控机制[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2025, 26(5): 610-615.
- [2] 肖淑方, 李佳敏, 刘一丹, 等. 经颅直流电刺激治疗轻度认知障碍与轻中度阿尔茨海默病疗效的系统评价分析[J]. 阿尔茨海默病及相关病, 2022, 5(3): 224-232.
- [3] 刘晓琴, 段文婷, 李佳薇, 等. ROCK2 调控小胶质细胞极化防治阿尔茨海默病的研究进展[J]. 山西大同大学学报(自然科学版), 2024, 40(6): 80-84.
- [4] 刘洋, 夏学巍, 毛之奇. 经颅直流电刺激对阿尔茨海默病患者记忆功能的治疗效果及影响因素[J]. 中华神经科杂志, 2022, 55(5): 529-536.
- [5] 林洁双, 卓桂锋, 陈炜. 细胞衰老与小胶质细胞极化在阿尔茨海默病发病机制中的研究进展[J]. 中国医药导报, 2025, 22(31): 136-141.
- [6] 吴艺舸, 宋丽娟, 丁智斌, 等. 代谢因素影响小胶质细胞极化在阿尔茨海默病中的作用及机制[J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(2): 414-420.
- [7] 卫思灿, 杜艳军, 陈江敏, 等. 小胶质细胞极化在阿尔茨海默病病理发生中的作用及针灸调控机制[J]. 中华中医药杂志, 2025, 40(7): 3645-3649.
- [8] 杨朝凯, 第五永长, 武阳洋, 等. 洗心汤含药血清对 A β 25-35 诱导的 BV-2 小胶质细胞极化的调控作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(6): 18-26.
- [9] 王杰, 朱晓婷, 李云强, 等. 小胶质细胞代谢重编程在阿尔茨海默病中的作用研究进展[J]. 中华神经医学杂志, 2025, 24(4): 401-406.
- [10] 梁怡, 陈炜, 李倩倩, 等. 基于小胶质细胞活化探讨中医药治疗阿尔茨海默病研究进展[J]. 陕西中医, 2024, 45(8): 1143-1146.
- 丽水市公益性技术应用研究项目, 《基于小胶质细胞极化探讨经颅直流电刺激对阿尔茨海默病小鼠皮层可塑性的机制研究》, (项目编号: 2022GYX45)