

# 以抑制小胶质细胞活化为靶标的 抗神经退行性疾病的天然产物 及衍生物的筛选与机制研究\*

□杨静玉\*\* (沈阳药科大学药理教研室/辽宁省新药筛选重点实验室 沈阳 110016)

陈国良 (沈阳药科大学药化教研室 沈阳 110016)

吴春福\*\* (沈阳药科大学药理教研室/辽宁省新药筛选重点实验室 沈阳 110016)

**摘要:**脑内小胶质细胞的活化贯穿了神经退行性疾病的发生、发展全过程。抑制小胶质细胞活化已经成为防治此类疾病的重要策略。本文对近年来本课题组在白藜芦醇及其衍生物、姜黄素及其衍生物、人参皂苷等抑制小胶质细胞活化方面的研究进展进行综述,为防治神经退行性疾病药物的深入研究提供参考。

**关键词:**神经退行性疾病 小胶质细胞 MAPK/NF- $\kappa$ B 信号通路 人参皂苷 姜黄素 白藜芦醇  
doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2011.01.003

神经退行性疾病(Neurodegenerative disease)是影响人类健康的一类疾病的总称,是一组以特定类群的神经细胞选择性脱失为特征的慢性进行性神经系统疾病。该类疾病主要包括阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、亨廷顿病(Huntington's disease, HD)、多发性硬化症(Multiple sclerosis, MS)、HIV 痴呆(HIV-associated dementia, HAD)、脊髓小脑共济失调(Cerebellar disorders)、肌萎缩侧索硬化症(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等。其中以 AD 和 PD 发病率最

高,最为常见<sup>[1]</sup>。研究表明,神经退行性疾病总是伴随着脑内小胶质细胞活化介导的神经炎症,而抑制小胶质细胞活化已经成为防治神经退行性疾病的重要策略<sup>[2]</sup>。

白藜芦醇(Resveratrol)广泛存在于 12 科 31 属 72 种植物中,如葡萄、花生及中药虎杖等。姜黄素(Curcumin)是姜科植物(Curcuma Longa)根茎中主要活性成分。迄今为止,研究表明,白藜芦醇和姜黄素具有抗肿瘤、抗心血管疾病、抗炎、抗氧化等多种药理学作用。另外,已有报道表明这两种化合物具有抑制小胶质细胞活化的作用,提示其可能具有防治神

收稿日期:2010-02-12

修回日期:2010-04-15

\* 国家自然科学基金(30572248):白藜芦醇及其衍生物抑制小胶质细胞活化作用的构效关系研究,负责人:吴春福;辽宁省自然科学基金(20072066):姜黄素及其衍生物抑制小胶质细胞活化的作用及其机制研究,负责人:杨静玉;辽宁省教育厅高等学校创新团队项目计划(2007T174):姜黄素及其衍生物对神经炎症抑制作用的构效关系研究,负责人:杨静玉;科学技术部“十一五”国家重大新药创制科技重大专项(2009ZX09301-012):辽宁省重大新药创制综合平台,负责人:吴春福。

\*\* 通讯作者:杨静玉,教授,博士生导师,主要研究方向:神经药理学,Tel:024-23986341,E-mail:yangjingyu2006@gmail.com;吴春福,本刊编委,教授,博士生导师,沈阳药科大学校长,主要研究方向:神经药理学,Tel:024-23986339,E-mail:wucf@syphu.edu.cn。

经退行性疾病的作用。随着对天然产物白藜芦醇及姜黄素研究的深入,有关其衍生物也陆续有些报道,尤其是甲基化和羟基类衍生物。白藜芦醇、姜黄素的衍生物往往具有与母核相似的药理作用,且表现出高活性和较强的选择性、稳定性。人参是重要的补益药,现代药理学研究表明具有多种活性,尤其在神经系统的作用方面,其提取物以及有效成分人参皂苷等具有明显的促进学习记忆功能。本课题组近年来以抑制小胶质细胞活化为靶点,对白藜芦醇、姜黄素及其衍生物、人参皂苷等成分的活性与机制进行了研究,为寻找抗神经退行性疾病的候选化合物奠定基础,现对这一领域的研究情况进行综述。

## 一、神经退行性疾病与小胶质细胞

小胶质细胞是中枢神经系统(CNS)中常驻的免疫细胞。小胶质细胞来源于外周骨髓细胞,大约占脑内细胞的12%,神经胶质细胞的20%。在发育成熟的脑内,静息态的小胶质细胞呈分枝状,这种分枝状的小胶质细胞,被认为是监测脑内异常变化的感应细胞<sup>[3]</sup>。当伤害刺激下(如脑损伤或免疫刺激),小胶质细胞被激活<sup>[4]</sup>。激活的小胶质细胞在形态上从静息的分枝状转变为阿米巴样。同时,存在于细胞表面的一些分子的表达水平上调<sup>[5]</sup>。然而,在一些情况下,小胶质细胞过度激活,产生大量的细胞毒性因子,包括一氧化氮(NO)、前列腺素、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、活性氧(Reactive oxygen species, ROS)等等。这些神经毒性因子的持续大量释放,会对神经元产生毒性作用,导致神经元的变性和死亡,进而导致AD、PD等神经退行性疾病的发生<sup>[6]</sup>。已有研究表明,在患有神经退行性疾病的病人脑内的病灶部位,伴有大量的活化的小胶质细胞。此外,损伤的神经元也可释放多种细胞因子,进一步激活小胶质细胞,这一过程被称为“反应性小胶质细胞增生(Reactive microgliosis)”,导致了神经元自发性死亡的恶性循环<sup>[7]</sup>。因此,针对神经退行性疾病发病过程中小胶质细胞异常激活这一过程设计新的治疗方案,具有广阔的前景。

## 二、天然产物对小胶质细胞异常活化作用的活性筛选

### 1. 小胶质细胞的培养

本研究采用的小鼠小胶质细胞株 N9 由美国国

立癌症研究所(NCI)王吉民博士惠赠。此外,本课题组成功建立了大鼠原代小胶质细胞的培养方法<sup>[8]</sup>,将得到的原代小胶质细胞种植于盖玻片上,采用免疫细胞化学技术(CD11b/c 作为标记物)进行细胞纯度鉴定。结果表明,在培养体系生长至14天时,倒置显微镜下可见细胞分成几层。利用小胶质细胞贴壁力较弱、易于漂浮的特点,通过振摇结合贴壁分离法可获得高纯度的小胶质细胞,鉴定结果表明,小胶质细胞纯度高于95%。同时得到的小胶质细胞对外界的刺激具有良好的反应能力。

### 2. 抑制小胶质细胞异常激活化合物筛选模型的建立

细菌细胞壁成分脂多糖(LPS)是一种内毒素,被广泛用于小胶质细胞和周围免疫细胞的活化。LPS使小胶质细胞产生促炎症或抗炎症细胞因子、前列腺素和NO等的主要诱导物<sup>[9]</sup>。研究表明,LPS对神经元没有直接毒性作用,只能通过活化中枢神经系统内的小胶质细胞,释放神经毒性因子,间接的引起神经元损伤。LPS体内造模的特征包括:神经元死亡之前的显著炎症反应;迟发的渐进性的神经元死亡;小胶质细胞活化。传统的帕金森症(PD)模型采用高剂量的(1-甲基-4-苯基-吡啶盐)MPTP,和6-羟基多巴胺,导致急性的选择性多巴胺(DA)神经元死亡。而应用LPS建立的体内模型与此不同,模型动物表现出慢性的渐进性的DA神经元丢失,这与PD患者的临床表现非常接近,有力地提示了炎症很可能就是导致PD患者选择性多巴胺能神经元丢失的原因<sup>[10]</sup>。此外,阿尔茨海默病(AD)病理特征主要为皮质神经元纤维缠结(Neurofibrillary tangles, NFTs)、神经炎性斑(Senile plaques, SP)的出现及大量神经元的死亡,小胶质激活增加贯穿于疾病的整个进程当中。 $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )是神经炎性斑的主要成分,早期的研究认为A $\beta$ 具有神经毒性,可直接损伤神经元,因此有假说认为A $\beta$ 是驱使神经元退行性病变的直接原因,后来,在AD患者尸检结果中发现,在A $\beta$ 斑块周围出现了大量活化的小胶质细胞。这一发现揭示了小胶质细胞与AD中神经元丢失有关<sup>[11]</sup>。上述研究表明小胶质细胞的活化能够促进神经元细胞的损伤和退行性病变<sup>[12]</sup>。

基于此,本研究建立了体外LPS激活小胶质细胞释放NO升高的筛选模型。亚硝酸盐作为NO稳定的氧化产物,通过Griess比色法可检测培养液中

NO<sup>2-</sup>含量。取对数生长期的小胶质细胞,用IMDM培养基将细胞密度调至 $3 \times 10^5$  cells/mL,接种于96孔板内,于37℃,5%CO<sub>2</sub>的培养箱内培养。细胞贴壁培养24 h后换成无血清的新鲜培养液,稳定2 h后加药处理。加入LPS 0.1,0.3,1,3,10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,于12h,24h,36h,48h,60h,72h各取上清培养液与Griess试剂室温下反应15min,570nm处测定其光密度值。实验结果表明,与空白对照组比较,LPS刺激48h后细胞Griess颜色反应明显增强,提示本实验自行分离培养的小胶质细胞具有对外源性刺激物的较强反应性,该细胞模型可用于本实验的观察研究。

### 3. 天然产物单独作用或与LPS联合应用对大鼠原代小胶质细胞存活率的影响

为了排除细胞数量对炎症因子释放的影响,我们首先应用MTT法检测了人参中单体成分Rg1、Re、Rd、Rb2,藜芦醇,姜黄素,白藜芦醇60种衍生物,姜黄素26种衍生物(0.3~30 $\mu\text{M}$ )单独或与LPS联合应用后对小胶质细胞存活率的影响。

结果表明,Rg1,Re,Rd,Rb2,白藜芦醇,姜黄素,白藜芦醇37种衍生物,姜黄素15种衍生物在0.3~30 $\mu\text{M}$ 的浓度范围内不能显著抑制小胶质细胞存活率。同时,白藜芦醇及其37种衍生物单独作用于小胶质细胞对细胞存活率也无显著影响。提示,这些化合物对小胶质细胞的毒性相对较低,其对LPS激活的小胶质细胞NO释放的影响将不受其对小胶质细胞成活的影响<sup>[8,13-14]</sup>。因此,我们选择这些化合物进行下一步活性筛选的实验研究。

### 4. 天然产物对异常活化的小胶质细胞释放一氧化氮的活性筛选

进一步研究了对小胶质细胞存活率无显著性影响的天然产物与LPS联合应用对小胶质细胞NO释放的影响,并通过计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值比较化合物抑制NO释放的活性强弱。实验结果表明:白藜芦醇、姜黄素、白藜芦醇衍生物及姜黄素天然衍生物均能够不同程度的降低LPS激活的大鼠原代小胶质细胞NO释放的异常升高<sup>[8,14]</sup>。人参皂苷Rg1,Re,Rd,Rb2能够降低LPS激活的N9小胶质细胞NO释放的异常升高。以上各种化合物对小胶质细胞基础NO释放均无影响。进一步机制研究表明,上述化合物抑制NO释放的作用与在蛋白及mRNA水平抑制LPS诱导的细胞内诱导性一氧化氮合酶的表达相关<sup>[8,13-15]</sup>。对白藜芦醇衍生物进行了构效关系总结:①将白藜

芦醇结构中间苯二酚的两个酚羟基甲基化,可以增强化合物抑制小胶质细胞NO释放的作用。②间苯二酚的两个酚羟基甲基化的同时,保留另一苯环上的羟基,可使化合物表现出较强的抑制小胶质细胞活化的作用。③以喹啉基替代另一个苯环,也可以使化合物的这一活性显著增强<sup>[8]</sup>。姜黄素与其两种天然衍生物,去甲氧基姜黄素、二去甲氧基姜黄素的活性研究表明,去甲氧基姜黄素抑制LPS诱导的小胶质细胞炎症因子的作用最强,二去甲氧基姜黄素其次。提示保留单侧苯环甲氧基的不对称结构可增强姜黄素的抑制小胶质细胞活化作用。我们从筛选结果中选取了活性较高的化合物进行了后续的机制学研究。

### 5. 天然产物对异常活化的小胶质细胞释放炎症因子的活性考察

大量研究表明,小胶质细胞激活可产生许多神经毒性因子(如NO、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TGF- $\beta$ 等)、补体蛋白及其它免疫分子,从而造成神经元的损伤<sup>[7]</sup>。基于上述以抑制活化的小胶质细胞释放NO为筛选模型筛选所得的高活性化合物结果,我们接下来对目标化合物抑制小胶质细胞激活的活性进行了进一步的研究,包括对LPS诱导的细胞内其他炎症因子释放及mRNA表达水平的影响<sup>[8,13,15]</sup>。

实验结果表明:白藜芦醇,白藜芦醇衍生物RV01、RV02、RV32,姜黄素,姜黄素衍生物DMC、BDMC,人参皂苷Rg1、Re、Rb2、Rd均能够显著抑制LPS活化小胶质细胞培养上清液中TNF- $\alpha$ 含量的升高,且与抑制TNF- $\alpha$ 的mRNA水平相关<sup>[8,14]</sup>。此外,白藜芦醇及其衍生物RV01、RV02、RV32能够抑制LPS诱导的小胶质细胞内IL-1 $\beta$ 和IL-6 mRNA水平的升高(图1)。以上结果从多角度、多水平证明了上述化合物对小胶质细胞活化具有很强的抑制作用,表明其在以抑制小胶质细胞活化为靶点治疗和预防炎症相关的中枢神经退行性疾病中的潜在价值。

## 三、以抑制小胶质细胞活化为靶点的天然产物及衍生物作用机制研究

### 1. 天然产物对异常活化的小胶质细胞内丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen activated protein kinase, MAPKs)磷酸化的影响

MAPKs通路是细胞外信号引起细胞核反应的共同通路之一。MAPKs信号传递终端的蛋白质激酶是

通过磷酸化后而产生活性的,可以对酶蛋白及生理代谢有直接调理作用。MAPK 信号转导通路采用了 MKKK(MAPkinasekinasekinase) → MKK(MAPkinasekinase) → MAPK 的高度保守的三级激酶级联的形式传递信号<sup>[16]</sup>。在人类真核细胞中,已确定 MAPKs 包括:细胞外信号调节激酶(Extracellular signal-regulated kinases, ERKs)通路、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinases, JNK)通路及 P38 MAPK 通路。组织细胞中 JNK, ERKs 和 P38 在细胞炎症反应中以及细胞分化或存活中起重要作用。研究显示, MAPKs 家族参与了 LPS 信号的细胞内传导。

本研究结果表明, LPS 可以诱导大鼠原代小胶质细胞内 MAPKs 通路蛋白磷酸化水平显著升高。白藜芦醇及白藜芦醇衍生物 RV01、RV02、RV32, 去甲氧基姜黄素, 人参皂苷 Rg1、Re、Rb2、Rd 能够显著降低 LPS 激活的小胶质细胞 MAPK 蛋白的磷酸化表达水平(图 2)<sup>[13,15]</sup>。说明 MAPKs 参与了上述化合物抑制小胶质细胞激活的信号转导过程<sup>[8,13]</sup>。

## 2. 天然产物对异常活化的小胶质细胞内核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)活化的影响

核转录因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)是能够调节多种炎症和免疫基因表达的一种重要的转录调节因子,其调控的基因包括 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、iNOS 及 COX-2 等<sup>[17]</sup>。NF- $\kappa$ B 位于细胞的胞浆中,与 NF- $\kappa$ B 抑制蛋白(I $\kappa$ B)结合呈非活性状态。NF- $\kappa$ B 的激活一般依赖于 I $\kappa$ B 的磷酸化、泛素化及随后的降解,其中 I $\kappa$ B $\alpha$  最具代表性<sup>[18]</sup>。激活的 NF- $\kappa$ B 与 I $\kappa$ B 解离后而转入核内与特异基因启动子区域的结合位点结合,从而调控基因的转录<sup>[19]</sup>。LPS 可通过激活小胶质细胞 NF- $\kappa$ B 信号转导通路而调节 iNOS、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-6 的基因转录和生成,同时 LPS 诱导的 NF- $\kappa$ B 的激活与小胶质细胞形态学改变密切相关<sup>[20]</sup>。因前述实验已经证明 白藜芦醇,白藜芦醇衍生物 RV01、RV02、RV32 能够抑制 LPS 激活的原代大鼠小胶质细胞 iNOS、IL-1 $\beta$  和 IL-6 mRNA 表达,抑制 NO 和 TNF- $\alpha$  的产生,而这些神经毒性因子的基因转录受到 NF- $\kappa$ B 的严格调控,故推测上述化合物对小胶质细胞激活的抑制作用可能是通过调节 NF- $\kappa$ B 信号通路而产生的。

结果表明,这些化合物的确能够抑制激活的小胶质细胞内 I $\kappa$ B $\alpha$  的磷酸化及 I $\kappa$ B $\alpha$  的降解<sup>[8,13,15]</sup>,证明了抑制 NF- $\kappa$ B 激活可是其抑制 LPS 激活小胶质细胞的重要靶点<sup>[8,13,21]</sup>。

## 3. 天然产物对异常活化的小胶质细胞内活性氧(Reactive oxygen species, ROS)生成的影响

LPS 可以诱导小胶质细胞产生大量的 ROS,而细胞内的 ROS 是 NF- $\kappa$ B 和 MAPKs 激活的共同通路<sup>[22]</sup>。研究表明,在吞噬细胞(单核细胞/巨噬细胞/中性粒细胞)中,ROS 通过作用于 TLR4 介导的细胞信号转导通路中的环节,调节 NF- $\kappa$ B 依赖的基因转录<sup>[23]</sup>。LPS 能够诱导吞噬细胞产生 ROS,ROS 随后的氧化还原反应可增加 I $\kappa$ B 磷酸化和降解,NF- $\kappa$ B 激活<sup>[22]</sup>。此外,LPS 诱导的 ROS 产生能够调节 TRAF6 和 ASK1 的复合物的形成,进一步激活 MAPKs<sup>[24]</sup>。而 MAPKs 对于 NF- $\kappa$ B 激活及系列炎症因子的产生是很重要的。可见,LPS 激活小胶质细胞 ROS 的产生对于下游 MAPKs 和 NF- $\kappa$ B 的激活起到了一定的作用。因此,本研究考察了白藜芦醇、姜黄素及二者衍生物对 DPPH 自由基的清除能力及对 LPS 激活的小胶质细胞内 ROS 产生的影响(图 3)<sup>[15]</sup>。机制研究表明,去甲氧基姜黄素抑制 ROS 生成与降低 LPS 激活的小胶质细胞内 NADPH 氧化酶表达有关<sup>[15]</sup>。

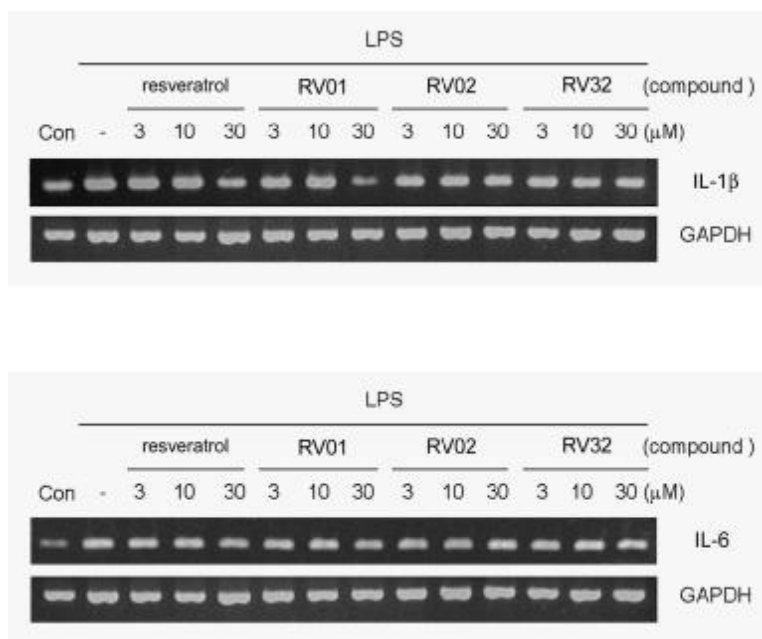


图 1 Res, RV01, RV02, RV32 对 LPS 诱导大鼠原代小胶质细胞 IL-1 $\beta$ 、IL-6 mRNA 表达增强的影响

研究表明:在无细胞的 DPPH 自由基体系中,白藜芦醇具有强大的自由基清除能力,这与文献的报导相一致<sup>[25]</sup>;RV01 仅在高浓度(30 $\mu$ M)下才表现出显著的自由基清除能力;而 RV02 和 RV32 在 0.3~30  $\mu$ M 的浓度范围内无显著的自由基清除作用。此外,在细胞体系中,4 种化合物均能够显著抑制 LPS 激活的小胶质细胞内 ROS 水平,说明 RV02 和 RV32 在细胞内不是通过捕捉 ROS 成分而起作用,而是通过抑制了 ROS 的生成;白藜芦醇和 RV01 可能是通过捕捉 ROS 和抑制 ROS 生成两种机制而发挥作用的。小胶质细胞内有多种途径可以生成 ROS,例如通过细胞表面的 NADPH 氧化酶、细胞内的过氧化物酶、以及线粒体内的氧化过程。但当小胶质细胞接受外界刺激生成 ROS 的过程中,主要是 NADPH 氧化酶在发挥作用<sup>[26]</sup>。研究表明,能够减少大鼠主动脉组织匀浆中 NADH/NADPH 氧化酶活性<sup>[27]</sup>。白藜芦醇还可以抑制氧化低密度脂蛋白(oxLDL)诱导的血管内皮细胞内 NADPH 氧化酶活性<sup>[28]</sup>。白藜芦醇及其 3 种衍生物是否通过抑制 NADPH 氧化酶活性而发挥抑制小胶质细胞活化的作用,有待于进一步的研究证实。

#### 四、结 论

天然产物的研究与开发历来是人类寻找新药以及向疾病作斗争的重要手段。借助天然产物的结构先导、修饰和改造也促进了合成药物的迅速发展。随着人们对天然产物研究的逐渐深入,新药的研究重点日益转向天然产物的开发和利用,这为人们寻找新的以抑制小胶质细胞为靶点的防治神经退行性疾病的天然

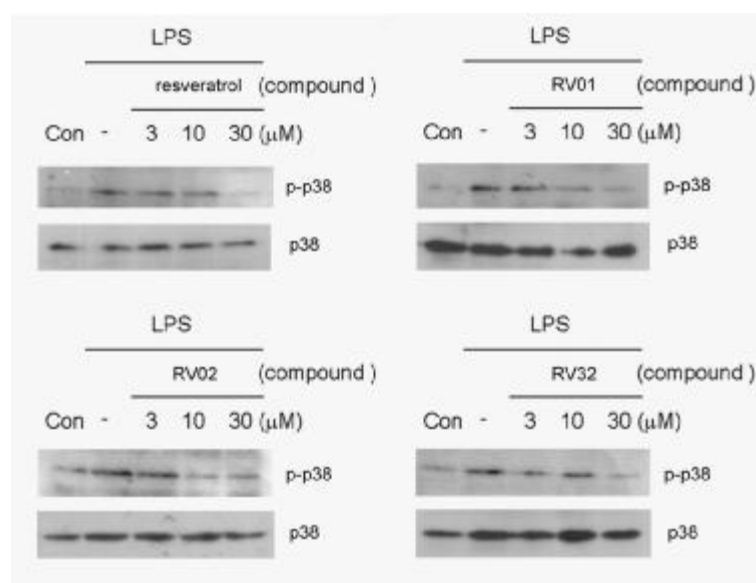


图 2 Res,RV01,RV02,RV32 对 LPS 诱导大鼠原代小胶质细胞磷酸化 p38 表达的影响

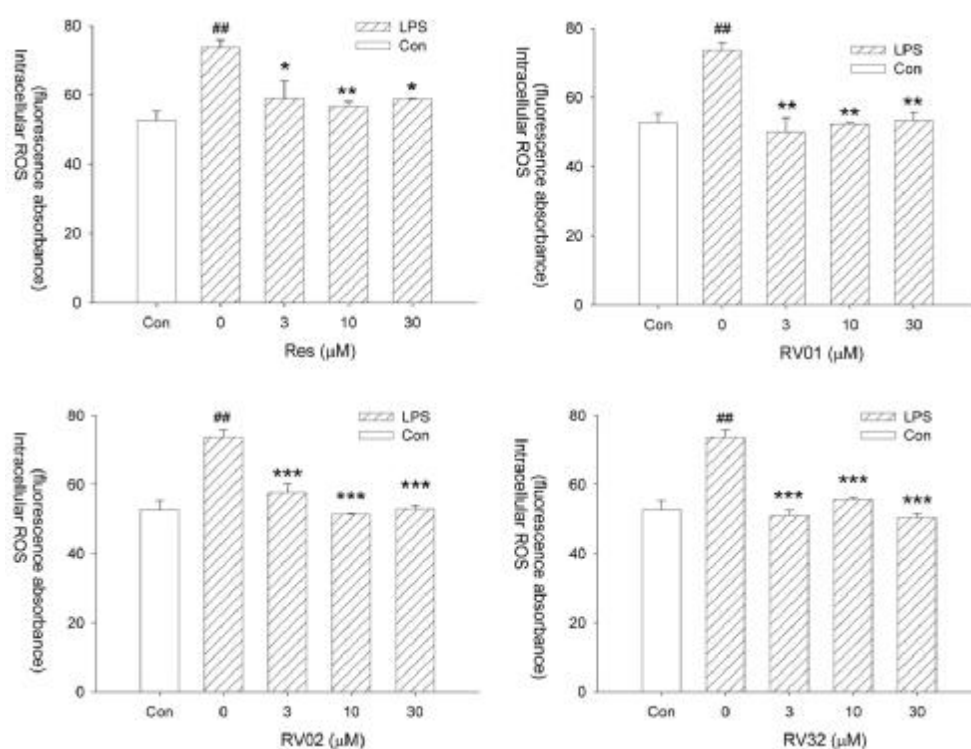


图 3 Res,RV01,RV02,RV32 对 LPS 诱导大鼠原代小胶质细胞内活性氧生成增加的影响  
注:与溶剂对照组比较,## $P<0.01$ ;与模型对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ 。

药物和合成药物开辟了新的思路和途径。我们对大量天然产物及衍生物进行了抑制小胶质细胞活化的作用筛选,并对其中高活性化合物进行了机制学考察,提示这些化合物对活化的小胶质细胞具有很

确切的抑制作用。在未来的研究中,我们将利用神经元与小胶质细胞共培养体系,进一步考察神经元和小胶质细胞的相互作用;建立神经退行性疾病相关的行为学模型,考察化合物在体水平对行为学的影响及脑内小胶质细胞活化、脑内炎症介质的表达情况。以期揭示神经退行性疾病的发病机制及阐明药物的作用靶点,为开发防治神经退行性疾病的新药奠定基础。

### 参考文献

- 1 ML Block, JS Hong. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol*, 2005, 76:77-98.
- 2 B Liu, JS Hong. Role of microglia in inflammation-mediated neurodegenerative disease: mechanisms and strategies for therapeutic intervention. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 304:1-7.
- 3 PB Hoeber. *Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System*. Penfield Wed, 1933, 185:115.
- 4 A Nimmerjahn, F Kirchhoff, F Helmchen. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*, 2005, 308:1314-1318.
- 5 W Oehmichen, M Genic'. Experimental studies on kinetics and functions of mononuclear phagocytes of the central nervous system. *Acta Neuropathol Suppl*, 1975, 6:285-290.
- 6 F Aloisi. Immune function of microglia. *Glia*, 2001, 36:165-179.
- 7 ML Block, JS Hong. Chronic microglial activation and progressive dopaminergic neurotoxicity. *Biochemical Society Transactions*, 2007, 35:1127-1132.
- 8 XL Meng, JY Yang, GL Chen, et al. Effects of resveratrol and its derivatives on lipopolysaccharide-induced microglial activation and their structure-activity relationships. *Chemico-Biological Interactions*, 2008, 174:51-59.
- 9 XL Bi, JY Yang, YX Dong, et al. Resveratrol inhibits nitric oxide and TNF- $\alpha$  production by lipopolysaccharide-activated microglia. *Int J Immunopharmacol*, 2005, 5:185-193.
- 10 HM Gao, JS Hong, W Zhang, et al. Distinct role for microglia in rotenone-induced degeneration of dopaminergic neurons. *J Neurosci*, 2002, 22:782-790.
- 11 HM Gao, J Jiang, B Wilson, et al. Microglial activation-mediated delayed and progressive degeneration of rat nigral dopaminergic neurons: relevance to Parkinson's disease. *J Neurochem*, 2002, 81:1285-1297.
- 12 ML Block, JS Hong. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol*, 2005, 76:77-98.
- 13 CF Wu, XL Bi, JY Yang, et al. Differential effects of ginsenosides on NO and TNF- $\alpha$  production by LPS-activated N9 microglia. *International Immunopharmacology*, 2007, 7:313-320.
- 14 LJ Zhang, CF Wu, XL Meng, et al. Comparison of inhibitory potency of three different curcuminoid pigments on nitric oxide and tumor necrosis factor production of rat primary microglia induced by lipopolysaccharide. *Neuroscience Letters*, 2008, 447:48-53.
- 15 LJ Zhang, CF Wu, SQ Zhao, et al. Demethoxycurcumin, a natural derivative of curcumin attenuates LPS-induced pro-inflammatory responses through down-regulation of intracellular ROS-related MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathways in N9 microglia induced by lipopolysaccharide. *International Immunopharmacology*, 2010, 10:331-338.
- 16 J Han, JD Lee, L Bibbs, et al. A MAP kinase targeted by endotoxin and hyperosmolarity in mammalian cells. *Science*, 1994, 265:808-811.
- 17 PN Moynagh. The NF- $\kappa$ B pathway. *J Cell Sci*, 2005, 118:4589-4592.
- 18 PA Baeuerle, D Baltimore. NF- $\kappa$ B: ten years after. *Cell*, 1996, 87:13-20.
- 19 T Henkel, U Zabel, K van Zee, et al. Intramolecular masking of the nuclear location signal and dimerization domain in the precursor for the p50 NF- $\kappa$ B subunit. *Cell*, 1992, 68:1121-1133.
- 20 JR Sunohara, ND Ridgway, HW Cook, et al. regulation of MARCKS and MARCKS-related protein expression in BV-2 microglial cells in response to lipopolysaccharide. *J. Neurochem*, 2001, 78:664-672.
- 21 XL Bi, JY Yang, YX Dong, et al. Resveratrol inhibits nitric oxide and TNF- $\alpha$  production by lipopolysaccharide-activated microglia. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5:185-193.
- 22 G Gloire, S Legrand-Poels, J Piette. NF- $\kappa$ B activation by reactive oxygen species: fifteen years later. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72:1493-1505.
- 23 K Asehnoune, D Strassheim, S Mitra, et al. Involvement of reactive oxygen species in Toll-like receptor 4-dependent activation of NF- $\kappa$ B. *J Immunol*, 2004, 172:2522-2529.
- 24 A Matsuzawa, K Saegusa, T Noguchi, et al. ROS-dependent activation of the TRAF6-ASK1-p38 pathway is selectively required for TLR4-mediated innate immunity. *Nat Immunol*, 2005, 6:587-592.
- 25 P Lorenz, S Roychowdhury, M Engelmann, et al. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells. *Nitric Oxide*, 2003, 9:64-76.
- 26 HM Gao, B Liu, JS Hong. Critical role for microglial NADPH oxidase in rotenone-induced degeneration of dopaminergic neurons. *J. Neurosci*, 2003, 23:6181-6187.
- 27 F Orallo, E Alvarez, M Camina, et al. The possible implication of trans-Resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol Pharmacol*, 2002, 61:294-302.
- 28 SE Chow, YC Hshu, JS Wang, et al. Resveratrol attenuates oxLDL-stimulated NADPH oxidase activity and protects endothelial cells from oxidative functional damages. *J Appl Physiol*, 2007, 102:1520-1527.

Screening and Mechanism Study of Natural Products and Derivatives for Prevention and Cure of Neurodegenerative Diseases by Taking Microglia Activation as the Target

Yang Jingyu<sup>1</sup>, Chen Guoliang<sup>2</sup>, Wu Chunfu<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacology, Shenyang Pharmaceutical University, Key Laboratory of New Drug Screening of Liaoning province, Shenyang 110016, China;

2. Department of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract:** Microglia activation is associated with the occurrence and progression of neurodegenerative diseases. Thus, inhibition of microglial activation is generally considered a useful strategy for treatment of many neurodegenerative diseases. This paper reviews our research progress in the inhibitory effects of natural products including resveratrol, curcumin, resveratrol derivatives, curcumin derivatives and ginsenosides on microglia activation. This may provide a reference for the further exploration in this field.

**Keywords:** Neurodegenerative Diseases, Microglia Activation, MAPK/NF- $\kappa$ B signal pathway, Curcumin, Resveratrol, Derivative

(责任编辑: 李沙沙 张志华, 责任译审: 张立巍)