

生物活性物质壳寡糖对阿尔茨海默病防治作用研究进展

张 姣, 戴雪伶, 姜招峰*

(北京联合大学 生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 功能食品科学技术研究院, 北京 100191)

摘 要: 阿尔茨海默病是一种以神经元细胞大量凋亡, 神经元细胞内神经纤维缠结以及神经元细胞外老年斑形成为主要病理学特征的中枢神经退行性疾病。壳寡糖, 又名 β -1,4-寡聚-葡萄糖胺, 是唯一带正电的天然碱性多糖, 具有多种生物活性。壳寡糖对阿尔茨海默病的防治有重要意义, 主要在保护神经元细胞、抑制Tau蛋白异常磷酸化、抑制 β -分泌酶活性、抗氧化、螯合铜离子、抑制乙酰胆碱酯酶等方面发挥作用。本文结合阿尔茨海默病发生机制及壳寡糖特性, 综述近年来壳寡糖在防治阿尔茨海默病中的研究进展, 旨在为壳寡糖在保健食品中的开发与利用提供一定的参考。

关键词: 壳寡糖; 阿尔茨海默病; 神经保护

Research Progress in Functions of Bioactive Chitooligosaccharides in Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease

ZHANG Jiao, DAI Xue-ling, JIANG Zhao-feng*

(Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Foods, Research Institute for Science and Technology of Functional Food, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease, which is characterized by the loss of neuronal cells, intracellular neurofibrillar tangles and extracellular senile plaques. Chitooligosaccharide, also termed β -1,4-oligomerization-glucosamine, is the alkaline oligosaccharide with multiple biological activities. Chitooligosaccharide plays an important role in the prevention and treatment of AD by protecting neuronal cells from death, suppressing hyperphosphorylation of tau, reducing the activity of β -secretase, antioxidation, chelating copper ions, and suppressing the activity of acetylcholinesterase. In this paper, we have reviewed the recent research progress of chitooligosaccharide on prevention and treatment of AD, which will provide a theoretical reference for the development and utilization of chitooligosaccharide in health foods.

Key words: chitooligosaccharide; Alzheimer's disease; neuroprotective effects

中图分类号: Q189

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)11-0316-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201311067

壳聚糖(chitosan)是由甲壳素(chitin)经脱乙酰化处理脱去大部分乙酰基后得到的动物多糖。以壳聚糖为原料经水解后得到的低聚糖称为壳寡糖(chitooligosaccharide, COS), 又称甲壳低聚糖。壳寡糖是自然界唯一带正电的碱性多糖, 具有抗氧化、抑菌、抗糖尿病、抗肿瘤等多种生物活性作用^[1-4], 其水溶性、人体吸收率、吸湿保湿性以及抗菌能力均优于壳聚糖, 在保健食品开发方面具有较大的潜力和广阔的前景。

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种与年龄相关的进行发展的中枢神经退行性疾病, 又称老年

性痴呆。临床表现为记忆能力不断减退、认知能力不断恶化, 日常生活能力进行性衰退, 同时伴有各种精神疾病症状和行为障碍。AD有3个典型的病理学特征: 神经细胞大量凋亡, 神经细胞内神经纤维缠结(neurofibrillar tangles, NFTs)以及神经细胞外老年斑(senile plaque, SP)的形成。AD研究发现, 壳寡糖对神经细胞、Tau蛋白、 β -分泌酶(β -secretase)、活性氧、二价铜离子、乙酰胆碱酯酶、血管紧张肽转化酶以及肾素等均有一定的影响, 对阿尔茨海默病的防治有着重要意义。本文结合阿尔海默茨病发病机制及壳寡糖特性, 综述壳寡糖对阿尔海默

收稿日期: 2012-03-03

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31071512); 北京市属高等学校人才强教计划高层次人才资助项目(PHR20090514)

作者简介: 张姣(1984—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。E-mail: zhangjiao1204@163.com

*通信作者: 姜招峰(1956—), 男, 教授, 博士, 研究方向为生物活性物质制备及生理功能。E-mail: zhaofeng@bnu.edu.cn

茨病的防治机制,旨在为壳寡糖在保健食品中的开发与利用提供一定的参考。

1 AD的发病机制

1.1 β -淀粉样蛋白级联假说

β -淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)是一种由39~43个氨基酸残基组成的多肽,由淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)经 β -分泌酶和 γ -分泌酶裂解后形成。正常人体内的APP主要由 α -分泌酶和 γ -分泌酶通过非淀粉样途径降解为可溶性的sAPP α 和不具有致病性的p83片段及羧基端片段;而AD患者脑中的APP主要由 β -分泌酶和 γ -分泌酶通过淀粉样途径降解为可溶的sAPP β 、A β 和羧基端片段^[5]。A β 片段具有较强的自聚性,可通过寡聚化形成二聚体、三聚体、甚至更大的聚合物,最终转化成不可溶的纤维状聚合物,在细胞间沉积形成老年斑^[6]。 β -淀粉样蛋白级联假说由Hardy等^[7]在1992年首次提出。该学说认为,当APP的代谢平衡被打破,引起A β 的异常聚集,进而引起神经细胞内级联病理反应,如突触损伤、Tau蛋白的超级磷酸化、神经元死亡、神经元纤维缠绕等,导致记忆和认知功能障碍,产生AD症状。

1.2 自由基学说

与衰老有关的自由基主要是人体代谢过程中产生的,对于包括阿尔茨海默病在内的神经疾病有着重要影响。自由基攻击生命大分子,如脂类、核糖核酸等,损伤细胞膜及细胞器,严重破坏神经元功能,最终造成其凋亡。两种脂质过氧化的产物4-羟基壬烯(4-hydroxynonenal, HNE)和2-丙烯醛(2-propenal)通过迈克尔加成反应与突触蛋白的半胱氨酸、组氨酸和赖氨酸残基共价结合,向蛋白质中引入羰基,使蛋白质发生氧化性修饰,造成蛋白质结构和功能的改变^[8]。另外,有研究发现^[9],NT2神经元中氧化应激的增加可以使A β 的表达增多。研究人员发现两种经典的助氧化剂H₂O₂和FeSO₄将导致NT2神经元细胞产生大量的HNE,进而使得A β 在短时间内大量增加,对神经细胞产生毒性。

1.3 钙离子稳态失调学说

钙离子稳态失调学说认为,细胞内钙离子水平持续紊乱是导致AD发生的一个关键因素,细胞外环境内流的钙以及细胞内内质网储存的钙的调节控制着钙信号,而神经元的许多功能依赖于钙信号的转导,钙稳态失调对神经元长时程突触增强效应有着较大影响,进而使得神经元突触可塑性降低^[10-11]。此外,钙离子浓度与A β 之间的正反馈机制,也促进着AD的发生与发展。钙离子浓度的升高使得A β 的产生增加,而A β 又反过来影响钙离子稳态,并形成恶性循环^[11]。

1.4 炎症反应学说

在AD患者大脑中,持续发现多种炎症标记物,如包括 α 1-抗胰凝乳蛋白酶(alpha 1-antichymotrypsin)和C反应蛋白(C-reactive)在内的急性期蛋白、补体、激活的小胶质细胞和星型胶质细胞瘤细胞等^[12]。其中,激活的小胶质细胞产生大量的炎症因子,如白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-1(interleukin-1, IL-1)等;激活的星型胶质细胞包裹在SP周围,在妨碍小胶质细胞对A β 吞噬的同时,产生炎性物质,如前列腺素、IL-1等。炎症反应学说认为,这些炎症因子与炎症相关的蛋白诱发神经炎症反应并导致神经元的损伤与凋亡^[13]。

1.5 其他学说

AD的发病机制远不止上述4种学说。基因学说认为,目前发现的19号染色体上的载脂蛋白E基因(APOE基因)、14号染色体上的早老素1基因(PSEN1基因)、1号染色体上的早老素2基因(PSEN 2基因)、12号染色体上的 α ₂巨球蛋白基因(A2M基因)等基因,对于AD的诱发起着直接或间接的作用,但机制目前尚不完全清除,有待进一步研究探索^[14]。Tau蛋白异常磷酸化学说认为,AD脑中Tau蛋白发生过度磷酸化,聚集形成缠结,破坏组成神经细胞骨架结构的微管系统,各种营养运输几乎中断,严重影响神经细胞的正常功能。铝中毒学说认为,铝介导Tau蛋白磷酸化,通过取代三磷酸鸟苷(GTP)结合位点上的镁而影响微管聚合,促进NFT和SP的形成并聚集在NFT中^[15]。胆碱能损伤学说认为,AD患者基底前脑区胆碱能神经元减少,重要神经递质——乙酰胆碱(Ach)的合成、释放和储存减少,同时一些相关酶类如胆碱乙酰转移酶(ChAT)、乙酰胆碱酯酶(AChE)的功能也发生不同程度的改变,进而引起一系列AD的临床表现^[16]。兴奋性氨基酸学说认为,一些兴奋性氨基酸尤其是谷氨酸(Glu)的快速兴奋作用引起的去极化,使得Cl⁻、Na⁺及水内流,膜电位依赖式谷氨酸R(GluR)激活,进而引起细胞渗透性溶解和Ca²⁺大量内流,最终导致神经元受损^[17];另外, Glu的失调将使得Glu持续刺激N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA),引起大量钙内流,导致兴奋性毒性^[18]。总之,AD的发生不是一个单一因素影响的结果,而是一个多因素相互作用的复杂过程,其确切的发病机制还有待进一步的研究和探索。

2 壳寡糖对阿尔茨海默病的防治作用

2.1 对神经元细胞的保护及促进再生作用

神经元细胞大量凋亡是阿尔茨海默病的三大病理特征之一,其发生可能与神经突触的大量丢失、A β 的过度表达^[19]、谷氨酸受体及钙离子平衡失调^[20]等诸多因素有关。Gong等^[21]研究发现,将周围神经受损的兔子分别静

脉注射壳寡糖1.5、3mg/kg后,周围神经细胞的再生能力明显较好,分别是空白对照组的1.6倍和2.4倍。Jiang等^[22]用大鼠代替兔子进行上述实验,得到了类似的结果,这说明壳寡糖对周围神经细胞具有保护及促进再生的作用,且这种作用与剂量有量效关系。Yang等^[23]研究了壳寡糖在体外对PC-12细胞神经元分化的影响,发现用壳寡糖处理后的PC-12细胞,其突触生长和细胞活力均得到了增强,PC-12细胞神经丝H的mRNA(或蛋白)和钙黏着蛋白的表达也被上调。谷氨酸盐受体是兴奋性毒损伤的主要参与者,可使细胞内钙离子浓度升高,进而引发一系列不利于神经元的反应。Zhou Songlin等^[24]研究发现,壳寡糖(分子质量800D)能保护海马神经元免受谷氨酸盐诱导的神经毒性的伤害。经一定浓度壳寡糖预先处理后,由谷氨酸盐导致的海马神经元凋亡有了一定程度的缓解;同时,因谷氨酸盐引起的钙离子浓度升高和半胱天蛋白酶-3(caspase-3)活性增强也受到了抑制,从而缓解了以上两种原因导致的海马神经元凋亡。

2.2 抑制 β -分泌酶活性

β -分泌酶在阿尔茨海默病的发生和发展中起着重要作用,壳寡糖对 β -分泌酶的抑制作用是治疗AD的一个新靶点,对AD的防治有着重要意义。Byun等^[25]发现几种脱乙酰度和分子质量不同的壳寡糖,对 β -分泌酶的活性均有一定的抑制作用,抑制强度与壳寡糖的脱乙酰度和分子质量有关。相同脱乙酰度的壳寡糖,中等分子质量的抑制效果最好;相同分子质量的壳寡糖,脱乙酰度越高的抑制效果越好,最后发现分子质量在3~5kD之间的90%脱乙酰度的壳寡糖(90-MMWCOS)显示出了最高的 β -分泌酶抑制活性,抑制剂的抑制模式为非竞争性抑制。

2.3 抑制Tau蛋白异常磷酸化

NFT是阿尔茨海默病的三大病理特征之一,其主要成分是Tau蛋白。正常情况下,Tau蛋白可以结合一定数量的磷酸分子;而在AD脑中,Tau蛋白则发生过度磷酸化,最终导致神经细胞的死亡。施美君等^[26]研究了壳寡糖对冈田酸(OA)诱导的SD大鼠海马神经元Tau蛋白过度磷酸化的抑制作用。将不同浓度壳寡糖预处理组与OA损伤组相比较,发现不同浓度壳寡糖预处理组神经元细胞形态均有所改善,部分细胞突起较OA损伤组明显,细胞存活率均有所上升,细胞上清液中LDH含量均有所下降。同时还发现,壳寡糖预处理组各组的海马神经元细胞Tau-pSer396阳性表达较OA损伤组均有所下降,并且以上各种改善均以壳寡糖质量浓度20 μ g/mL和40 μ g/mL效果最为明显。说明壳寡糖能够保护OA引起的SD大鼠海马神经元细胞的损伤并抑制Tau蛋白的异常磷酸化。而这种抑制作用可能与壳寡糖的抗氧化作用有关,活性氧(ROS)引起的钙稳态失调使得依赖性蛋白激酶和钙调蛋白激酶激活,进而导致蛋白激酶和蛋白磷酸酯酶比例失调,从而

使得Tau蛋白倾向于异常磷酸化;此外,ROS亦能通过抑制能量代谢使得Tau蛋白激酶(TPK)的异构体——糖元合成激酶-3(GSK-3)代偿性激活,进而也促进了Tau蛋白的异常磷酸化。壳寡糖清除ROS的作用,使得Tau蛋白异常磷酸化受到了抑制。

2.4 抗氧化作用

近年来研究发现,壳寡糖具有较好的抗氧化作用,可减少自由基的氧化损伤,从而对细胞起到保护作用。多项对壳寡糖在体外的抗氧化作用的研究表明,壳寡糖对羟自由基、超氧阴离子、 H_2O_2 、DPPH自由基等都有较好的清除能力,其原因可能是壳寡糖上的一 NH_2 基团与自由基相结合,使自由基转变为更稳定的物质,中止了链反应,而这种能力与多种因素相关。

Je等^[27]发现壳寡糖的脱乙酰度和分子质量的大小对其清除自由基的能力强弱起到决定性作用,具有最强自由基清除能力的是最大脱乙酰度的中等分子质量的壳聚糖。李晓晶^[28]发现壳寡糖清除DPPH自由基的能力随着壳寡糖溶液质量浓度的增加而增强。张敬晗等^[29]研究了壳聚糖及其衍生物、壳寡糖以及羧甲基壳聚糖清除羟自由基的能力,发现这些物质的抗氧化能力在一定质量浓度范围内均随质量浓度增加而增大,其中壳寡糖在质量浓度为0.32mg/mL时能达到97.81%的羟自由基清除率。Huang Ronghua等^[30]发现低质量浓度的壳寡糖衍生物的自由基清除能力随着其取代度的增加而降低,但高质量浓度的壳寡糖衍生物没有发现取代度与抗氧化能力之间的关系。除取代度外,取代基团的性质对自由基清除能力也有一定影响。有研究发现^[31],壳寡糖清除ROS的能力与壳寡糖分子质量大小有关系,相比小分子质量的壳寡糖而言,中等分子质量的壳寡糖清除自由基的能力较强,其原因可能与溶解度有关。

而多项壳寡糖在体内的抗氧化作用研究也发现,壳寡糖对体内自由基代谢紊乱有改善作用,能使超氧化物歧化酶活力增加,丙二醛浓度减少^[32-33]。张光等^[34]发现,适当质量浓度的壳寡糖对两种AD模型细胞——swe型和 $\Delta 9$ /swe型N2a细胞中活性氧的水平有明显的抑制作用,分别在壳寡糖处理后48h和24h出现明显抑制效果,达到较好抑制效果的壳寡糖浓度为0.1~1mg/mL。张吉等^[35]研究了壳寡糖在细胞外对DPPH自由基、 H_2O_2 和羟自由基的清除作用以及对脂多糖诱导的N9小胶质细胞的保护作用,发现壳寡糖能有效清除DPPH自由基和羟自由基,但不能清除 H_2O_2 ;同时发现其能降低脂多糖诱导的N9细胞培养液中NO水平,降低细胞内ROS水平,减少细胞凋亡,进而对N9小胶质细胞起到保护作用。

2.5 螯合铜离子

铜离子易与不同聚集形式的淀粉样蛋白络合形成复合物,并在老年斑内沉积。一方面,这种A β -Cu复合物

具有一定的神经毒性,会在氧化应激过程中产生过氧化氢,促进A β 沉积;另一方面,A β 在催化反应循环中,也能使Cu(II)还原为Cu(I),同时利用O₂和生物还原剂作为底物催化产生过氧化氢,损害神经细胞。经研究发现,壳寡糖对铜离子有较好的吸附作用,并且这种吸附作用与壳寡糖的取代度、溶液pH值、溶液浓度和温度等因素有关^[36]。其机理可能是壳寡糖分子链中的羟基、氨基及其他活性基团可以形成网状结构的笼形分子,对铜离子有较好的配位作用,能形成稳定的螯合物^[37]。另外,Xu Wei等^[38]前期研究发现,壳寡糖(分子质量1500D,脱乙酰度90%)能有效地对抗大鼠皮质神经细胞中由二价铜离子引起的神经毒性,并且通过2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)检测,发现壳寡糖能抑制二价铜离子引起的皮质神经细胞内活性氧水平的升高。

2.6 抑制乙酰胆碱酯酶、血管紧张肽转化酶及肾素

壳寡糖具有抑制乙酰胆碱酯酶、血管紧张肽转化酶及肾素的作用。乙酰胆碱酯酶是将脑内重要神经递质——乙酰胆碱水解为胆碱和乙酸的水解酶,能抑制碱能神经元的活性,使脑内神经递质出现紊乱。并且,乙酰胆碱酯酶与A β 之间有相互促进表达的作用^[39-40]。因而乙酰胆碱酯酶活性的抑制对AD的防治有重要意义。有研究发现^[41],几种壳寡糖的衍生物——氨基壳寡糖、二甲基壳寡糖和二乙基壳寡糖对乙酰胆碱酯酶的活性均有抑制作用,且疏水性最强的二乙基壳寡糖抑制能力越大,可能与疏水相互作用有关。另有研究发现^[42],壳寡糖的脱乙酰度和分子质量与壳寡糖对乙酰胆碱酯酶的抑制能力也有关系,脱乙酰度较高、分子质量居中的壳寡糖效果较好。

血管紧张肽转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)是催化血管紧张肽I转化为血管紧张肽II的一种酶,而肾素(renin)则可把紧张肽原转变成血管紧张肽I,这两种物质的增加,不利于脑血管的扩张,会导致脑内血流量的减少,从而影响脑内新陈代谢,促进AD的发生与发展。研究发现^[43-44]改性的N-乙酰基壳寡糖(N-acetyl chitooligosaccharide, NA-COS)、氨基壳寡糖(aminoethyl chitooligosaccharide, AE-COS)对上述两物质的活性有抑制作用,并且以脱乙酰程度达到90%,中等分子质量的壳寡糖效果为最佳。

3 结 语

阿尔海默茨病自1906年首次提出以来,已有一百多年的历史,其致病机理及防治措施的研究一直受到各国学者的广泛关注,随着人口老龄化程度的加剧,患者家庭及社会的负担越来越重,使得阿尔茨海默病更加受到重视。壳寡糖是唯一的带正电荷的天然碱性寡糖,在自然界中来源广泛,含量丰富,具有多种活性成分。随

着壳寡糖提取纯化技术的不断发展,壳寡糖活性作用研究日益成为热点话题。我国保健食品正向着功效成分明确、作用机理清楚的第三代保健食品的方向发展,本文综述壳寡糖在阿尔茨海默病的防治过程中所发挥的作用并简要阐述其作用机制,旨在探索阿尔茨海默病的防治措施,同时为生物活性物质壳寡糖在保健食品中的深入利用提供一定的理论基础。

参考文献:

- [1] YUAN Wenpeng, LIU Bing, LIU Changheng, et al. Antioxidant activity of chito-oligosaccharides on pancreatic islet cells in streptozotocin-induced diabetes in rats[J]. World Journal of Gastroenterology, 2009, 25(11): 1339-1345.
- [2] WANG Yan, ZHOU Peigen, YU Jianxing, et al. Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by chitosanase from pseudomonas CUY8[J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2007, 16 (Suppl 1): 174-177.
- [3] LIU Bing, LIU Wanshun, HAN Baoqin, et al. Antidiabetic effects of chitooligosaccharides on pancreatic islet cells in streptozotocin-induced diabetes rats[J]. World Journal of Gastroenterology, 2007, 13(5): 725-731.
- [4] SHEN K T, CHEN M H, CHAN H Y, et al. Inhibitory effects of chitooligosaccharides on tumor growth and metastasis[J]. Food Chem Toxicol, 2009, 47: 1864-1871.
- [5] 陈晔光, 张传茂, 陈隼. 分子细胞生物学[M]. 北京: 清华大学出版社, 2006: 172-174.
- [6] GENTILE M T, VECCHIONE C, MAFFEI A, et al. Mechanisms of soluble beta-amyloid impairment of endothelial function[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(46): 48135-48142.
- [7] HARDY J A, HIGGINS G A. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis[J]. Science, 1992, 256: 184-185.
- [8] BUTTERFIELD D A, CASTEGNA A, LAUDERBACK C M, et al. Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death[J]. Neurobiol Aging, 2002, 23: 655-664.
- [9] KHODAGHOLI F, EFTEKHARZADEH B, MAGHSOUDI N, et al. Chitosan prevents oxidative stress-induced amyloid β formation and cytotoxicity in NT2 neurons: involvement of transcription factors Nrf2 and NF- κ B[J]. Mol Cell Biochem, 2010, 337(1/2): 39-51.
- [10] 张均田. 老化, 老年痴呆与钙代谢失衡及其治疗新途径[J]. 药理学报, 1993, 28(9): 641-646.
- [11] BOJARSKI L, HERMS J, KUZNICKI J. Calcium dysregulation in Alzheimer's disease[J]. Neurochemistry International, 2008, 52(4/5): 621-633.
- [12] HULL M, STRAUSS S, BERGER M. Inflammatory mechanisms in Alzheimer's disease[J]. European Archives of Psychiatry and Clinical, 1996, 246(3): 124-128.
- [13] AKIYAMA H, BARGER S, BARNUM S, et al. Inflammation and Alzheimer's disease[J]. Neurobiology Aging, 2000, 21(3): 383-421.
- [14] 董雯, 郑爽, 冯志强. 阿尔茨海默病病因及发病机制的研究[J]. 中国老年保健医学, 2011, 9(1): 37-39.
- [15] 杨建华. 阿尔茨海默病病因及发病机制研究进展[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(18): 3304-3305.
- [16] 庄莹, 陈杰. 阿尔茨海默病病因及发病机制研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2008, 29(2): 101-104.
- [17] 常艳, 薛毅琰. 阿尔茨海默病的发病机制及其研究进展[J]. 中国临床康复, 2004, 8(4): 693-695.

- [18] 唐红梅, 白雪. 阿尔茨海默病发病机制及治疗研究进展[J]. 新疆医科大学学报, 2010, 33(12): 1455-1457.
- [19] MEDA L, BARON P, SCARLATO G. Glial activation in Alzheimer's disease: the role of A β and its associated proteins[J]. Neurobiol Aging, 2001, 22(6): 885-893.
- [20] MIGLIORE L, FONTANA I, COLOGNATO R, et al. Searching for the role and the most suitable biomarkers of oxidative stress in Alzheimer's disease and in other neurodegenerative diseases[J]. Neurobiol Aging, 2005, 26(5): 587-595.
- [21] GONG Y P, GONG L L, GU X S, et al. Chitooligosaccharides promote peripheral nerve regeneration in a rabbit common peroneal nerve crush injury model[J]. Microsurgery, 2009, 29(8): 650-656.
- [22] JIANG M, ZHUGE X, YANG Y, et al. The promotion of peripheral nerve regeneration by chitooligosaccharides in the rat nerve crush injury model[J]. Neurosci Lett, 2009, 454(3): 239-243.
- [23] YANG Y, LIU M, GU Y, et al. Effect of chitooligosaccharide on neuronal differentiation of PC-12 cells[J]. Cell Biol Int, 2009, 33(3): 352-356.
- [24] ZHOU Songlin, YANG Yumin, GU Xiaosong, et al. Chitooligosaccharides protect cultured hippocampal neurons against glutamate-induced neurotoxicity[J]. Neurosci Lett, 2008, 444(3): 270-274.
- [25] BYUN H G, KIM Y T, PARK P J, et al. Chitooligosaccharides as a novel β -secretase inhibitor[J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 61: 198-202.
- [26] 施美君, 邹原. 壳寡糖对冈田酸诱导大鼠海马神经元Tau蛋白过度磷酸化的保护作用[D]. 大连: 大连医科大学, 2009.
- [27] JE J Y, PARK P J, KIM S K. Free radical scavenging properties of hetero-chitooligosaccharides using an ESR spectroscopy[J]. Food Chem Toxicol, 2004, 42(3): 381-387.
- [28] 李晓晶. 日粮中添加壳寡糖对肉仔鸡促生长、免疫调节和抗氧化作用的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2007.
- [29] 张敬喆, 金黎明, 张盼, 等. 壳聚糖及其衍生物清除羟自由基的能力[J]. 食品与药品, 2008, 10(7): 23-24.
- [30] HUANG Ronghua, RAJAPAKSE N, KIM S K. Structural factors affecting radical scavenging activity of chitooligosaccharides(COS) and its derivatives[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 63(1): 122-129.
- [31] NGO D N, LEE S H, KIM M M, et al. Production of chitin oligosaccharides with different molecular weights and their antioxidant effect in RAW 264.7 cells[J]. Journal of Functional Foods, 2009, 1(2): 188-198.
- [32] 刘冰. 壳寡糖及其配合物对糖尿病的作用研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [33] 刘冰, 刘万顺, 韩宝芹, 等. 壳寡糖对胰岛 β 细胞的保护及其体内抗氧化作用的研究[J]. 高技术通讯, 2007, 17(9): 968-973.
- [34] 张光, 张秀芳, 公衍道. 壳寡糖可降低阿尔茨海默症模型细胞内活性氧水平[J]. 生物物理学报, 2009, 25(2): 77-82.
- [35] 张吉, 刘洪涛, 李秀英, 等. 壳寡糖对自由基的清除及对N9小胶质细胞的保护作用[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 81-85.
- [36] SUN Shengling, WANG Qin, WANG Aiqin. Adsorption properties of Cu (II) ions onto N-succinyl-chitosan and cross linked N-succinyl-chitosan template resin[J]. Biochemical Engineering Journal, 2007, 36(2): 131-138.
- [37] 徐魏, 戴雪伶, 姜招峰. 改性壳聚糖吸附 Cu(II)及其生物活性研究[J]. 生命的化学, 2008, 28(4): 500-503.
- [38] XU Wei, HANG Hanchang, LIN Changjun, et al. Chitooligosaccharides protect rat cortical neurons against copper induced damage by attenuating intracellular level of reactive oxygen species[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20(10): 3084-3088.
- [39] SBERNA G, SAEZ-VALERO J, BEYREUTHER K, et al. The amyloid beta-protein of Alzheimer's disease increases acetylcholinesterase expression by increasing intracellular calcium in embryonal carcinoma P19 cells[J]. J Neurochem, 1997, 69(3): 1177-1184.
- [40] HARDY J, SELKOE D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics[J]. Science, 2002, 297: 353-356.
- [41] YOON N Y, NGO D N, KIM S K. Acetylcholinesterase inhibitory activity of novel chitooligosaccharide derivatives[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 78(4): 869-872.
- [42] LEE S H, PARK J S, KIM S K, et al. Chitooligosaccharides suppress the level of protein expression and acetylcholinesterase activity induced by Ab25-35 in PC12 cells[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19(3): 860-862.
- [43] HUANG R, MENDIS E, KIM S K. Improvement of ACE inhibitory activity of chitooligosaccharides(COS) by carboxyl modification[J]. Bioorg Med Chem, 2005, 13(11): 3649-3655.
- [44] NGO D N, QIAN Z J, JE J Y, et al. Aminoethyl chitooligosaccharides inhibit the activity of angiotensin converting enzyme[J]. Process Biochemistry, 2008, 43(1): 119-123.