

化浊解毒疏肝方对抑郁症模型小鼠学习记忆的改善作用

曹亚飞¹, 张延红¹, 赵亚男², 平 鑫³, 秦少坤³, 刘书宁², 裴 林^{1,4*}

(1. 河北中医学院, 河北 石家庄 050031; 2. 华北理工大学中医学院, 河北 唐山 063000; 3. 河北大学中医学院, 河北 保定 071051; 4. 河北省中医药科学院, 河北 石家庄 050031)

摘要: 目的 探讨化浊解毒疏肝方对抑郁症模型小鼠的学习记忆的改善作用。方法 48 只 ICR 小鼠随机分为正常组、模型组、氟西汀组 (10 mg/kg) 及化浊解毒疏肝方低、中、高剂量组 (0.85、1.7、3.4 g/kg), 构建小鼠慢性不可预见性温和应激 (CUMS) 抑郁模型。检测小鼠体重 (1 次/周), 糖水偏好、水迷宫实验观察小鼠抑郁样行为和学习记忆能力, Western blot、免疫组化检测海马内神经细胞黏附分子 (NCAM)、生长相关蛋白 (GAP-43) 表达。结果 与模型组比较, 化浊解毒疏肝方高剂量组小鼠糖水偏好分数升高, 体重增加, 穿越平台次数多, 反向站台潜伏期缩短, NCAM、GAP-43 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)。结论 化浊解毒疏肝方可能通过提高海马内 NCAM 和 GAP-43 蛋白表达来提高模型小鼠学习记忆能力。

关键词: 化浊解毒疏肝方; 抑郁症; 海马; 糖水偏好; 水迷宫; NCAM; GAP-43

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)07-1732-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.07.011

Effects of Huazhuo Jiedu Shugan Formula on improving learning and memory of mouse models of depression

CAO Ya-fei¹, ZHANG Yan-hong¹, ZHAO Ya-nan², PING Xin³, QIN Shao-kun³, LIU Shu-ning², PEI Lin^{1,4*}

(1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050031, China; 2. College of Chinese Medicine, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China; 3. College of Chinese Medicine, Hebei University, Baoding 071051, China; 4. Hebei Academy of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050031, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Huazhuo Jiedu Shugan Formula (HJSF) on improving learning and memory of mouse models of depression. **METHODS** Forty-eight ICR mice were randomly divided into control group, model group, fluoxetine group (10mg/kg) and low dose, medium dose and high dose of HJSF groups (0.85, 1.7, 3.4 g/kg). The mouse model of chronic unpredictable mild stress (CUMS)-induced depression was established. The mice were subjected to the detection of body mass once a week, the observation of depression-like behavior and learning and memory ability by sugar water preference and morris water maze experiment, and the identification of expressions of NCAM and GAP-43 in hippocampus by Western blot and immunohistochemistry.

RESULTS Compared with the model group, the high dose HJSF group shared increased scores in sugar water preference test, increased body mass and number of times of crossing the platform, shortened incubation period of the reverse platform, and increased protein expression of NCAM and GAP-43 ($P < 0.01$) as well. **CONCLUSION**

HJSF may improve mouse models' ability of learning and memory by increasing the levels of NCAM and GAP-43 proteins expression in their hippocampus.

收稿日期: 2019-12-25

基金项目: 国家重点研发计划课题 (2017YFC1701701); 河北省政府资助临床医学优秀人才项目 (360601); 省级中医药类重大医学科研课题 (zyzd2013014)

作者简介: 曹亚飞 (1991—), 女, 硕士生, 从事中医内科学 (脑病) 研究。Tel: 15831153535, E-mail: 330358760@qq.com

* 通信作者: 裴 林 (1961—), 男, 教授, 博士生导师, 从事中医脑病及中药资源开发研究。Tel: 13831190309, E-mail: 13831190309@163.com

KEY WORDS: Huazhuo Jiedu Shugan Formula (HJSF); depression; hippocampus; sugar preference; morris water maze; NCAM; GAP-43

抑郁症是以情绪低落、快感缺失、精力减退导致活动减少为主要表现的一种临床综合征^[1], 2008年,世界卫生组织将其列为全球第三大负担疾病,并预计在2030年升至第一^[2],它可引起气郁、血瘀、痰浊等物质瘀积,迁延日久,浊化成毒。由于浊毒胶着难去,缠绵难愈,临床上单用疏肝、活血、祛湿、化痰等单一方法难以奏效,故同时从化浊、解毒、疏肝多种途径来治疗抑郁症在近些年颇受重视。化浊解毒疏肝方(HJSF)是基于浊毒理论配制的方剂,本研究通过小鼠抑郁症模型来探讨该方改善学习记忆能力及相关机制。

1 材料

1.1 动物 8周龄雄性ICR小鼠48只,SPF级,体质量27~33g,购自河北医科大学实验动物中心,生产许可证号SCXK(冀)2018-004。

1.2 试剂与药物 化浊解毒疏肝方由柴胡12g、绞股蓝12g、石菖蒲9g、黄芩12g、荷梗9g、罗勒6g组成,药材由安国市远光药业有限公司、安国市伊康药业有限公司提供(批号236190702、307190901、352190702、302190807、180901、180601),经河北省中医药科学院王小刚工程师鉴定为正品,加10倍量水浸泡1h,煎煮2次,每次30min,合并滤液,浓缩至2、1、0.5g生药/mL,4℃冰箱中保存备用。盐酸氟西汀胶囊(礼来苏州制药有限公司,货号J20170022);兔抗GAP-43单克隆抗体(英国Abcam公司,货号ab75810);小鼠抗NCAM1单克隆抗体(英国Abcam公司,货号ab9018);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号ZB2301);辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号ZB2305);RIPA裂解液(北京索莱宝科技有限公司,货号R0020);PVDF膜(美国Milliporego公司,货号IPVH00010)。

1.3 仪器 22331 Hamburg蛋白浓度定量仪(德国Eppendorf公司);WSE-4040半干转模仪(日本ATTO公司);centrifuge5417R低温高速离心(德国Eppendorf公司);超纯水仪(北京康铭泰克科技发展有限公司);DYCZ-24DN电泳仪(北京六一仪器厂);TS-8转移脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造有限公司);Tanon1600分析仪器(上海天

能科技有限公司);Morris水迷宫(北京硕林苑科技有限公司);RM2245切片机(德国Leica公司);CX41生物显微镜(日本Olympus公司)。

2 方法

2.1 造模 小鼠正常饲养1周后,构建慢性不可预见性应激(CUMS)模型,包括14种刺激,即昼夜颠倒24h、禁食24h、禁水24h、夹尾1min、异物(水瓶、破布、废纸)24h、异味(大蒜、酒精、香菜)24h、冰水游泳5min、热水游泳(45℃)5min、噪音(80db)2h、摇晃(120r/min)5min、潮湿(潮湿80%)24h、束缚2h、倾斜(45°)24h、空笼24h,每天给予2种不同刺激,每周每天刺激不重复,持续21d。

2.2 分组及给药 根据随机数字表法将小鼠分为正常组、模型组、氟西汀组及化浊解毒疏肝方低、中、高剂量组,每组8只,造模和给药同时进行。小鼠体质量测量分别于造模第0、7、14、21天进行;根据小鼠体表面积换算比例,化浊解毒疏肝方低、中、高剂量组灌胃剂量分别为0.85、1.7、3.4g/kg,氟西汀组为10mg/kg,正常组、模型组灌胃生理盐水(15mL/kg),每天1次,持续21d。

2.3 糖水偏好实验 本实验参考Mesripour^[3]报道的方法。造模结束后进行糖水偏好实验,糖水偏好分数=糖水消耗/总液体消耗。

2.4 水迷宫实验 本实验参考Mikulecká^[4]报道的方法。给药第17天进行为期6d的适应性训练;第23天将平台拆除,记录小鼠穿越平台原来所在位置的次数;第24天将原来平台旋转180度,记录小鼠找到平台的潜伏期。

2.5 Western blot检测 行为学实验结束后,取小鼠脑组织于冰上剥离海马,称定质量,置于冻存管中,-80℃冰箱中保存。取100mg组织,剪碎后放入液氮中,研磨至细粉末状,装入离心管,加入裂解液,4℃冰箱中过夜,4℃、12000r/min离心10min,取上清液。根据定量结果,把同体积的蛋白样品混合在蛋白质上样缓冲液中,95℃下变性10min。在凝胶孔中加入蛋白质样品,打开电泳仪,电压为50V,样品通过浓缩胶与分离胶,目的条带跑到分离胶2/3左右位置时停止电泳。将蛋白条带转印至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭1h,非

标记的一抗 4 ℃ 孵育过夜，辣根过氧化物酶标记的二抗 37 ℃ 摇床孵育 1 h，应用 Tanon Gis 软件进行灰度值的分析。

2.6 免疫组化检测 小鼠脑组织用 4% 甲醛固定，经过石蜡包埋、切片、脱蜡脱水、柠檬酸抗原缓冲液修复、滴加抗体、DAB 显色、脱水透明、封片等步骤后，于显微镜下观察海马细胞 CA3 区 NCAM 和 GAP-43 的表达，通过 Image-Proplus 软件进行分析。

2.7 统计学方法 应用 SPSS 23.0 软件进行分析，定量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD 法，方差不齐时采用 Kruskal-Wallis 非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 化浊解毒疏肝方对小鼠糖水偏好分数的影响 如表 1 所示，模型组糖水偏好分数低于正常组 ($P < 0.01$)；化浊解毒疏肝方高、中剂量组和氟西汀组 ($P < 0.01$)，以及化浊解毒疏肝方低剂量组

($P < 0.05$) 均高于模型组。

表 1 化浊解毒疏肝方对小鼠糖水偏好分数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Tab. 1 Effects of HJSF on sugar preference scores in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	糖水偏好分数
正常组	—	0.83±0.01 ^{**}
模型组	—	0.61±0.02
氟西汀组	0.01	0.80±0.04 ^{**}
化浊解毒疏肝方低剂量	0.85	0.66±0.04 [*]
化浊解毒疏肝方中剂量	1.7	0.73±0.04 ^{**}
化浊解毒疏肝方高剂量	3.4	0.83±0.05 ^{**}

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

3.2 化浊解毒疏肝方对小鼠体质量的影响 如表 2 所示，第 14 天模型组小鼠体质量低于正常组 ($P < 0.01$)，化浊解毒疏肝方高剂量和氟西汀组高于模型组 ($P < 0.01$)；第 21 天，模型组小鼠体质量小于正常组 ($P < 0.01$)，化浊解毒疏肝方高剂量组 ($P < 0.01$)、中剂量组 ($P < 0.05$) 高于模型组。

表 2 化浊解毒疏肝方对小鼠体质量的影响 (g, $\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Tab. 2 Effects of HJSF on body mass in mice (g, $\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	第 0 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天
正常组	—	29.09±2.90	32.06±1.92	33.37±2.81 ^{**}	35.19±1.58 ^{**}
模型组	—	29.53±1.69	26.56±1.20	27.54±1.44	30.44±1.16
氟西汀组	0.01	29.11±3.40	27.97±1.48	31.16±1.49 ^{**}	33.54±2.21 ^{**}
化浊解毒疏肝方低剂量组	0.85	29.50±3.71	26.90±2.15	28.35±1.80	31.90±0.92
化浊解毒疏肝方中剂量组	1.7	29.22±3.09	27.44±2.18	29.05±2.79	32.25±2.32 [*]
化浊解毒疏肝方高剂量组	3.4	29.05±1.32	27.81±2.53	32.11±2.54 ^{**}	34.00±1.89 ^{**}

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

3.3 化浊解毒疏肝方对小鼠水迷宫穿越平台次数和反向站台潜伏期的影响 如表 3 所示，模型组小鼠穿越平台次数少于正常组 ($P < 0.01$)，化浊解毒疏肝方高剂量组 ($P < 0.01$)、氟西汀组 ($P < 0.05$)

多于模型组；模型组小鼠反向站台潜伏期长于正常组 ($P < 0.01$)，化浊解毒疏肝方高、中剂量组和氟西汀组小鼠反向站台潜伏期短于模型组 ($P < 0.01$)。

表 3 化浊解毒疏肝方对小鼠学习记忆的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

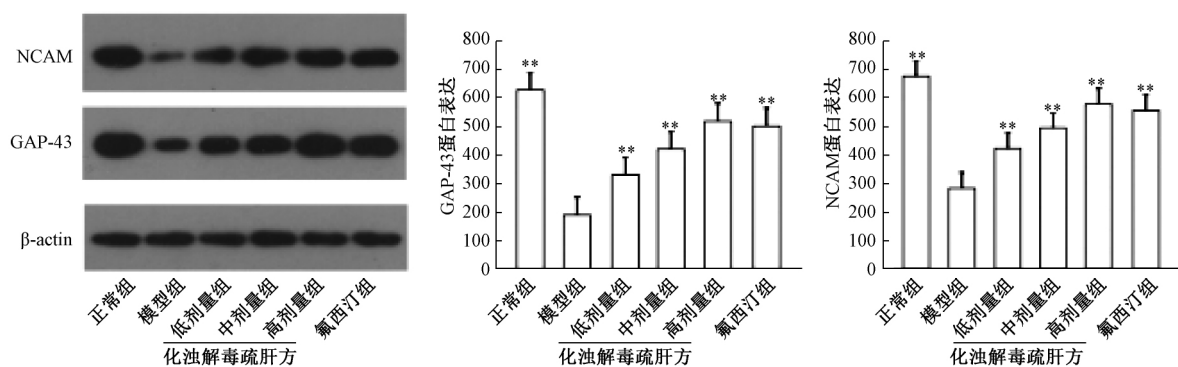
Tab. 3 Effects of HJSF on learning and memory in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	穿越平台次数/次	反向站台潜伏期/s
正常组	—	7.00±2.14 ^{**}	19.59±9.04 ^{**}
模型组	—	3.88±1.36	42.25±6.55
氟西汀组	0.01	6.13±1.64 [*]	25.25±5.33 ^{**}
化浊解毒疏肝方低剂量组	0.85	4.00±1.31	35.81±7.22
化浊解毒疏肝方中剂量组	1.7	4.75±1.83	26.81±13.72 ^{**}
化浊解毒疏肝方高剂量组	3.4	6.50±2.78 ^{**}	23.68±12.07 ^{**}

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

3.4 化浊解毒疏肝方对小鼠海马组织中 NCAM、GAP-43 蛋白表达的影响 如图 1 所示，模型组的 NCAM、GAP-43 表达低于正常组 ($P < 0.01$)，氟西汀组及化浊解毒疏肝方组高于模型组 ($P <$

0.01)。免疫组化结果也显示，模型组小鼠海马 CA3 区 NCAM、GAP-43 表达低于正常组 ($P < 0.05$)，氟西汀组、化浊解毒疏肝方高剂量组高于模型组 ($P < 0.05$)，见图 2~3、表 4。



注: 与模型组比较, ** $P < 0.01$ 。

图 1 Western blot 检测各组小鼠海马 NCAM、GAP-43 蛋白表达 ($n=3$)

Fig. 1 Detection of NCAM and GAP-43 protein expressions in mice hippocampus in each group by Western blot ($n=3$)

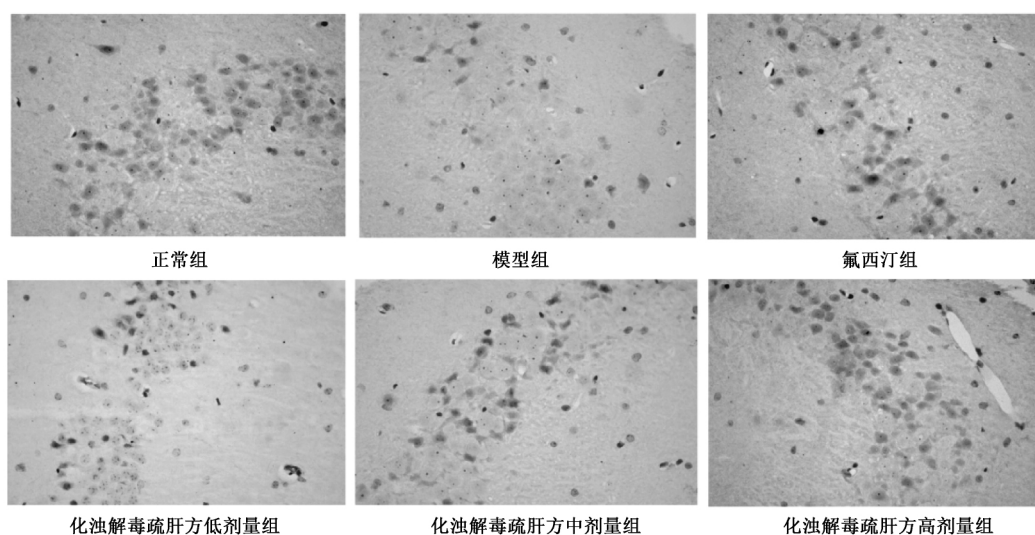


图 2 免疫组化检测各组小鼠海马 CA3 区 NCAM 表达 ($\times 400$)

Fig. 2 Detection of NCAM expression in mice hippocampal CA3 region in each group by immunohistochemical ($\times 400$)

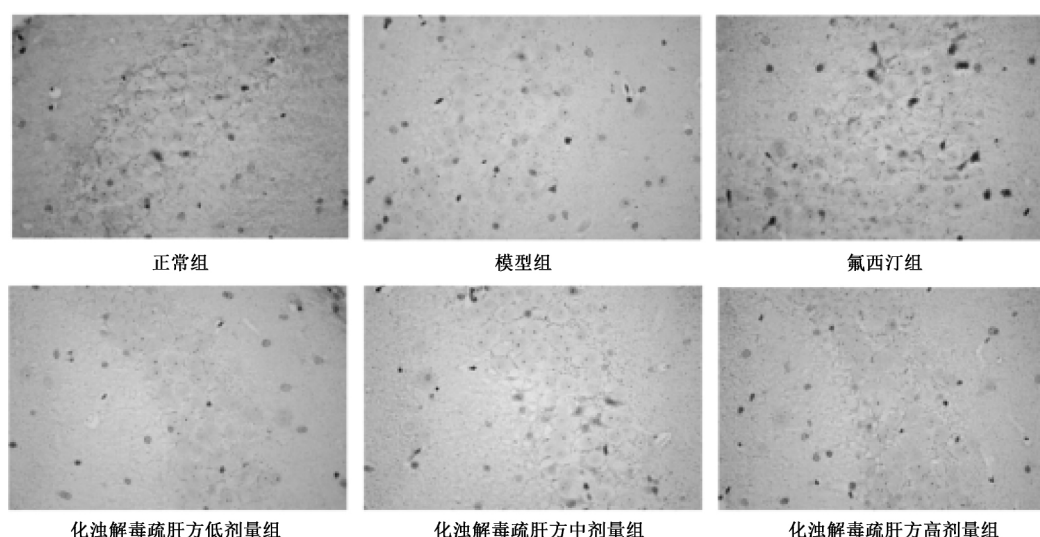


图 3 免疫组化检测各组小鼠海马 CA3 区 GAP-43 表达 ($\times 400$)

Fig. 3 Detection of GAP-43 expression in mice hippocampal CA3 region in each group by immunohistochemical ($\times 400$)

表 4 各组小鼠海马 CA3 区 NCAM、GAP-43 表达的免疫组化结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab. 4 Immunohistochemical results for the expressions of NCAM and GAP-43 in CA3 area of mice hippocampus in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	NCAM	GAP-43
正常组	0.093 5 $\pm$ 0.025 7*	0.054 8 $\pm$ 0.012 7*
模型组	0.022 7 $\pm$ 0.011 1	0.012 1 $\pm$ 0.013 1
氟西汀组	0.086 7 $\pm$ 0.014 9*	0.045 5 $\pm$ 0.019 8*
化浊解毒疏肝低剂量组	0.024 1 $\pm$ 0.012 8	0.015 7 $\pm$ 0.011 8
化浊解毒疏肝中剂量组	0.049 9 $\pm$ 0.019 0	0.019 3 $\pm$ 0.010 0
化浊解毒疏肝高剂量组	0.089 6 $\pm$ 0.106 0*	0.047 9 $\pm$ 0.003 0*

注: 与模型组比较, * $P<0.05$ 。

4 讨论

CUMS 应激模型是经典的抑郁症动物模型, 经过大量实验被证明稳定可靠^[5-7]。糖水偏好实验能模拟抑郁症的临床症状, 小鼠偏爱甜食, 模型组小鼠由于快感缺乏, 蔗糖溶液摄入量下降, 糖水偏好分数低于化浊解毒疏肝方组, 这与前期报道一致^[8-9]。研究报道, CUMS 应激小鼠体质量增长缓慢^[10-11]; 本实验结果显示, 第 1 周除了正常组, 其余各组小鼠受造模的影响体质量均有减轻; 第 2 周各组小鼠体质量均有缓慢的增长, 其中模型组小鼠最为缓慢; 第 3 周造模结束后各组小鼠体质量均有增长, 但模型组仍低于化浊解毒疏肝方组。水迷宫是通过强迫实验动物游泳, 使其寻找隐于水中的平台, 主要包括定位航行实验、空间探索实验和反向站台实验, 检测对空间位置感觉和方向感觉的学习记忆能力。本实验结果显示, 化浊解毒疏肝方组小鼠穿越平台次数明显多于模型组, 而反向站台的潜伏期显著缩短, 表明该方可以改善抑郁症小鼠的学习记忆。

抑郁症在中医属于“郁症”范畴, 郁可以影响气机的升降, 日久可导致气、血、痰、湿、火的瘀积, 郁而不化则成浊, 浊久熏蒸则成毒。化浊解毒疏肝方依据浊毒理论, 通过化浊、解毒、疏肝等多种途径治疗抑郁症, 同时改善学习记忆能力, 方中柴胡主要起到疏肝理气的作用, 黄芩、罗勒起到化湿解毒的作用, 而绞股蓝、荷梗、石菖蒲起到了芳香化浊的作用。

海马在学习记忆中起着非常重要的作用。研究发现, 发育中的 3% 大脑暴露七氟醚 6 h 可导致海马突触可塑性损伤, 学习记忆能力受损^[12]。抑郁症导致海马结构功能损伤, 其在八臂迷宫中工作记忆错误和参考记忆错误增加^[13]。21 d 的慢性应激后, 应激组动物海马齿状回 LTP 的形成受到明显的抑制, 反应动物空间学习记忆的水迷宫实验成绩

明显下降^[14]。本研究主要观察海马区的变化, 发现模型组小鼠成绩比化浊解毒疏肝方组差, 同时化浊解毒疏肝方组 NCAM、GAP-43 的蛋白表达明显高于模型组, 与前期报道一致^[15-16]。

NCAM 在神经系统的发育和可塑性中起着重要作用, 它不仅在发育过程中参与中枢神经系统的结构组织, 而且在成熟的大脑中参与轴突的修饰, 通过调节细胞间黏附能力和细胞间距进一步影响细胞活力, 既参与神经细胞形态结构的形成与维持, 也参与神经细胞信号传递的过程, 在突触可塑性中发挥作用, 与学习记忆密切相关。有研究表明, NCAM 通过纤维介素蛋白 (FGL) 激活成纤维生长因子受体 (FGFR1), 增强突触前功能, 促进突触形成, 从而改善长期记忆^[17], 它及其多唾液酸状 (PSA-NCAM) 在空间学习诱导的突触重构和记忆的存储中起着重要的作用^[18], NCAM 缺陷的小鼠可导致大脑区域环磷腺苷效应元件结合蛋白 (CREB) 介导的信号通路失调, 表现出多个海马突触的长期可塑性受损, 空间学习中断, 学习记忆能力下降^[19]。GAP-43 是神经细胞膜上特异性的磷蛋白, 其主要作用包括促进神经的生长发育和轴突的再生、调节突触的形态、维持建立其功能和传导学习记忆信号, 有研究表明, 突触蛋白 GAP-43 缺失会导致小鼠脑功能的障碍, 损害小鼠空间学习记忆的能力^[20]; 还有资料显示, 适度磷酸化的 GAP-43 蛋白表达可以增强记忆, 但过度表达反而可能会损害记忆^[21]。经过化浊解毒疏肝方治疗后, 小鼠 NCAM、GAP-43 蛋白表达明显高于模型组, 学习记忆能力得到明显改善。

综上所述, 化浊解毒疏肝方可明显减轻 CUMS 诱导的抑郁样行为和认知能力损害, 增加了 NCAM、GAP-43 蛋白表达, 表明该方具有抗抑郁作用, 可能与上调两者表达有关, 但具体仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Duan C M , Zhang J R , Wan T F , *et al.* SRT2104 attenuates chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors and imbalance between microglial M1 and M2 phenotypes in the mice [J]. *Behav Brain Res* , 2020 , 378: 112296.
- [2] WHO. The global burden of disease: 2004 update [M]. Geneva: World Health Organization , 2008.
- [3] Mesripour A , Alhimma F , Hajhashemi V. The effect of vitamin B6 on dexamethasone-induced depression in mice model of despair [J]. *Nutr Neurosci* , 2018 , 22(10) : 744-749.
- [4] Mikulecká A , Druga R , Stuchlik A , *et al.* Comorbidities of early-onset temporal epilepsy: cognitive , social , emotional , and morphologic dimensions [J]. *Exp Neurol* , 2019 , 320: 113005.
- [5] Li Y C , Wang F M , Pan Y , *et al.* Antidepressant-like effects of curcumin on serotonergic receptor-coupled AC-cAMP pathway in chronic unpredictable mild stress of rats [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* , 2009 , 33(3) : 435-449.
- [6] Li B , Han L , Cao B , *et al.* Use of magnoflorine-phospholipid complex to permeate blood-brain barrier and treat depression in the CUMS animal model [J]. *Drug Deliv* , 2019 , 26 (1) : 566-574.
- [7] Li X Y , Qi W W , Zhang Y X , *et al.* Helicid ameliorates learning and cognitive ability and activities cAMP/PKA/CREB signaling in chronic unpredictable mild stress rats [J]. *Biol Pharm Bull* , 2019 , 42(7) : 1146-1154.
- [8] Li X , Liu Z , Li W , *et al.* PTPRR regulates ERK dephosphorylation in depression mice model [J]. *J Affect Disord* , 2016 , 193: 233-241.
- [9] Du Y , Li W , Li Y , *et al.* Repeated arctigenin treatment produces antidepressant- and anxiolytic-like effects in mice [J]. *Brain Res Bull* , 2019 , 146: 79-86.
- [10] Kim Y R , Park B K , Kim Y H , *et al.* Corrigendum to " antidepressant effect of *Fraxinus rhynchophylla* hance extract in a mouse model of chronic stress-induced depression " [J]. *Biomed Res Int* , 2019 , 2019: 4672059.
- [11] Liu W , Liu J , Huang Z , *et al.* Possible role of GLP-1 in antidepressant effects of metformin and exercise in CUMS mice [J]. *J Affect Disord* , 2019 , 246: 486-497.
- [12] Xiao H , Liu B , Chen Y , *et al.* Learning , memory and synaptic plasticity in hippocampus in rats exposed to sevoflurane [J]. *Int J Dev Neurosci* , 2016 , 48: 38-49.
- [13] Mahati K , Bhagya V , Christofer T , *et al.* Enriched environment ameliorates depression-induced cognitive deficits and restores abnormal hippocampal synaptic plasticity [J]. *Neurobiol Learn Mem* , 2016 , 134 Pt B: 379-391.
- [14] 马 强 , 王 静 , 杨志华 , 等. 慢性应激对大鼠学习记忆能力和海马 LTP 的影响 [J]. 中国应用生理学杂志 , 2000 , 16 (4) : 318-320.
- [15] 沈 忱. 有氧运动对抑郁模型大鼠脑学习记忆能力及海马 GAP-43 的影响 [D]. 成都: 成都体育学院 , 2018.
- [16] Wang J , Li X , He S , *et al.* Regulation of the kynurenine metabolism pathway by Xiaoyao San and the underlying effect in the hippocampus of the depressed rat [J]. *J Ethnopharmacol* , 2018 , 214: 13-21.
- [17] Cambon K , Hansen S M , Venero C , *et al.* A synthetic neural cell adhesion molecule mimetic peptide promotes synaptogenesis , enhances presynaptic function , and facilitates memory consolidation [J]. *J Neurosci* , 2004 , 24 (17) : 4197-4204.
- [18] Venero C , Herrero A I , Touyarot K , *et al.* Hippocampal up-regulation of NCAM expression and polysialylation plays a key role on spatial memory [J]. *Eur J Neurosci* , 2006 , 23(6) : 1585-1595.
- [19] Aonurm-Helm A , Zharkovsky T , Jürgenson M , *et al.* Dysregulated CREB signaling pathway in the brain of neural cell adhesion molecule (NCAM) -deficient mice [J]. *Brain Res* , 2008 , 1243: 104-112.
- [20] Wu D M , Lu J , Zheng Y L , *et al.* Purple sweet potato color repairs d-galactose-induced spatial learning and memory impairment by regulating the expression of synaptic proteins [J]. *Neurobiol Learn Mem* , 2008 , 90(1) : 19-27.
- [21] Holahan M R , Honegger K S , Tabatadze N , *et al.* GAP-43 gene expression regulates information storage [J]. *Learn Mem* , 2007 , 14(6) : 407-415.