

加减薯蓣丸调节转录因子 EB 介导的自噬溶酶体通路改善 APP/PS1 小鼠学习记忆能力研究

邱 静, 鄢文静, 张雨婷, 谭子虎, 杨 琼

(湖北中医药大学中医临床学院, 湖北 武汉 430061)

[摘要]目的 研究加减薯蓣丸对 APP/PS1 模型小鼠的保护作用及可能机制。方法 选取 20 只 5 月龄 APP/PS1 小鼠分为模型组、中药组, 每组 10 只, 另设同窝野生型小鼠 10 只为对照组, 中药组给予加减薯蓣丸每日 14 g/kg 干预 4 周, 其余给予等容积生理盐水灌胃, Morris 水迷宫检测学习记忆能力, ELISA 检测海马组织 β 淀粉样蛋白 42 (amyloid- β 42, A β 42) 水平, Western blot 检测海马区微管相关蛋白 3 (microtubule-associated light chain3, LC3)-II/LC3-I、P62 蛋白、组织蛋白酶 B (cathepsin B, CTSB)、溶酶体膜相关蛋白 1 (lysosomal-associated membrane proteins 1, LAMP1)、总转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB)、核内 TFEB 蛋白水平。结果 与对照组相比, 模型组小鼠逃避潜伏期延长 ($P < 0.05$), 穿越平台次数及在原平台象限停留时间占比均显著减少 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 中药组小鼠逃避潜伏期缩短 ($P < 0.05$), 穿越平台次数及在原平台象限停留时间占比明显增多 ($P < 0.05$)。与对照组相比, 模型组小鼠海马组织中 A β 42 含量显著升高, LC3-II/LC3-I 比值显著升高, P62 蛋白、细胞核内 TFEB 和总 TFEB 表达水平均显著上调 ($P < 0.05$), LAMP1、CTSB 蛋白表达水平均显著下调 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 中药组小鼠海马组织中 A β 42 含量显著降低 ($P < 0.05$), LAMP1、CTSB、细胞核内 TFEB 表达水平均显著上调 ($P < 0.05$), P62 蛋白表达水平显著下调 ($P < 0.05$), LC3-II/LC3-I 比值、总 TFEB 水平无明显变化 ($P > 0.05$)。结论 加减薯蓣丸通过促进 TFEB 核转移增强自噬溶酶体途径, 减少海马区 A β 42 水平, 改善 APP/PS1 模型小鼠学习记忆能力。

[关键词]阿尔茨海默病; 加减薯蓣丸; 自噬; 转录因子 EB

[中图分类号]R285.5 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2020.01.017

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是与年龄相关的痴呆症中最常见的类型, 可导致严重的不可逆的认知衰退和大量神经变性^[1]。AD 发病机制复杂, 目前还缺乏明确有效的防治药物。中医药在辨证论治、整体观念指导下, 针对 AD 等复杂疾病具有一定的优势。中医认为 AD 的病机特点为脾肾亏虚、痰瘀互结。本课题组根据 AD 病机特点组方加减薯蓣丸, 在前期的临床观察中发现加减薯蓣丸可以提高轻、中度 AD 患者简易智能状态量表评分, 改善日常生活能力, 同时可以降低中医证候积分^[2]。但加减薯蓣丸在改善 AD 症状中的作用机制尚未明了, 因此本研究应用 APP/PS1 双转基因小鼠模型, 研究加减薯蓣丸具体作用效应及其可能机制, 为药

物临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物 SPF 级 5 月龄健康雄性 APP/PS1 双转基因小鼠 (B6C3-TgAPP^{swe}/PS1^{de9}) 20 只, 购于南京大学模式动物研究所, 动物生产许可证号: SCXK(苏)2018-0008, 体质量 (33.7 ± 3.2) g。饲养于湖北省中医院 SPF 级实验动物中心 [实验动物使用许可证号: SYXK(鄂)2017-0095]。温度 (21 ± 3) °C, 相对湿度 (60 ± 5)%, 自由摄食饮水, 12 h 明暗交替。

1.2 实验药物 加减薯蓣丸浓缩剂 (又名薯蓣健脾益智合剂, 由湖北省中医院制剂中心制备, 批准文号: 鄂药制字 Z20150027, 批号 20190101), 组方: 山药 30 g, 制何首乌、熟地黄各 24 g, 党参、白芍、当归各 20 g, 麸炒白术、茯苓、枸杞子各 18 g, 石菖蒲 14 g, 杜仲、远志各 12 g, 川芎、五味子各 10 g。上 14 味中药, 加水煎煮 3 次, 每次 1 h, 过滤后合并滤液, 经物理方法浓缩提纯而成口服液 250 mL, 生药含量 1 g/mL, 真空包装, 4 °C 冷藏备用。

1.3 主要试剂 RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购于碧云天, ECL 底物液购于 Thermo; 二抗

基金项目:中国中医科学院中医基础理论研究所自主选题“院所协同创新科研专项基金”(YZ-1852); 湖北省自然科学基金重点项目 (2015CFA089); 湖北中医药大学研究生创新能力提升项目

作者简介:邱静 (1988-), 女, 博士研究生

通信作者:谭子虎 (1964-), 男, 博士, 主任医师, 博士生导师, tanzihu2008@163.com

购于武汉博士德,微管相关蛋白 3(microtubule-associated light chain3,LC3)B(14/16 kD)、组织蛋白酶 B(cathepsin B,CTSB)、溶酶体膜相关蛋白 1(lysosomal-associated membrane proteins 1,LAMP1)、P62 购于 CST; β 淀粉样蛋白 42(amyloid- β 42,A β 42)试剂盒购于 elabscience;Nonidet P40 试剂盒、转录因子 EB(transcription factor EB,TFEB)抗体购于美国 Santa。

1.4 主要仪器 Morris 水迷宫:成都泰盟科技有限公司;mulISKANMK3 型酶标仪:美国 Thermo 公司;HI650 型离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;微量移液器:Eppendorf;电子天平:北京赛多利斯仪器系统有限公司;垂直电泳槽:北京六一仪器厂。

2 方法

2.1 分组及干预方法 20 只 APP/PS1 小鼠,随机分为模型组、中药组,每组 10 只;另取 10 只同窝阴性小鼠作为对照组,中药组给予加减薯蓣丸按每日 14 g/kg(根据有效大鼠剂量^[3-4]换算)灌胃,每日 1 次,连续 28 d;模型组和对照组予以等容积生理盐水灌胃。

2.2 观测指标及方法

2.2.1 Morris 水迷宫检测小鼠学习记忆能力 灌胃 28 d 后,采用 Morris 水迷宫检测小鼠空间学习记忆能力,正式测验前 4 d 开始获取训练:置于圆形水池,水下平台位于第 3 象限,小鼠从第 4 象限入水,实时摄像监测到达水下平台的时间(逃避潜伏期,90 s 内),超过 90 s 未找到则予以长杆引导至平台,停留 15 s 后移出。如此连续训练 4 d,第 5 天撤去水下平台,进行探索试验。实时摄像记录时间段内探索轨迹,通过分析软件计算平台跨越次数、目标象限时间百分比。

2.2.2 酶联免疫吸附法检测海马组织中 A β 42 水平 将海马组织在 PBS 中匀浆,然后用 RIPA 缓冲液进行匀浆。根据说明书,通过特异性酶联免疫吸附法试剂盒检测 A β 42 的浓度。

2.2.3 Western blot 检测海马组织中 CTSB、P62、

LAMP1、LC3、TFEB 蛋白水平 根据最小动物样本量及获得统计学意义的实验结果所需达到最低生物学重复,通过 SPSS 19.0 软件计算,取其中 6 只进行蛋白水平检测。小鼠腹腔麻醉后直接断头取脑,冰上迅速分离双侧海马用于组织总蛋白提取,将新鲜海马组织剪碎,冰上研磨,加入组织裂解液后静置 30 min、4 ℃ 离心后取上清,加入上样缓冲液裂解变性备用;同时根据文献^[5]提取核内蛋白:将新鲜海马组织剪碎,冰上研磨,冰浴、离心后取下层沉淀物,对沉淀物重新进行重悬,加入 100~200 μ L 含 Nonidet P40 缓冲液,冰浴 10 min,4 ℃ 离心,吸尽上清液后的沉淀部分是细胞核,再次加入 50~100 μ L 普通缓冲液,4 ℃ 离心,所获上清液即为细胞核蛋白。

每孔蛋白上样量 30 μ g,电泳、转膜、5%脱脂奶粉室温封闭 2 h;按不同浓度(CTSB、P62 浓度为 1:1 000,LAMP1、LC3 浓度为 1:2 000,TFEB 浓度为 1:250)稀释一抗抗体,4 ℃ 过夜;1 倍 TBST 液洗 3 次,每次 5 min;二抗(1:10 000)室温摇床 1 h;1 倍 TBST 液洗 3 次,每次 10 min;ECL 发光液使条带可视化。Image J 1.41 软件测量条带灰度值。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。连续型变量采用“均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)”进行统计学描述。采用单因素方差分析,均数多重比较采用 LSD 检验或 Dunnett's T3 检验。采用双侧检验,显著性水准为 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 各组小鼠学习记忆能力比较 水迷宫定位航行第 1~4 天,每组小鼠逃避潜伏期逐渐缩短。在第 4 天的实验中,与对照组相比,模型组小鼠逃避潜伏期延长($P<0.05$);与模型组相比,中药组小鼠逃避潜伏期缩短($P<0.05$)。空间探索实验显示,与对照组相比,模型组小鼠穿越平台次数及在原平台象限停留时间占比均显著减少($P<0.05$);与模型组相比,中药组小鼠穿越平台次数及在原平台象限停留时间占比明显增多($P<0.05$)。见图 1、图 2。

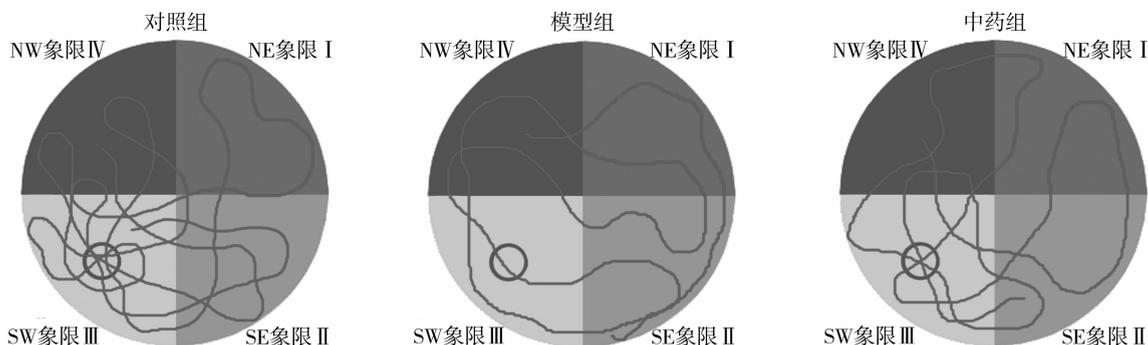
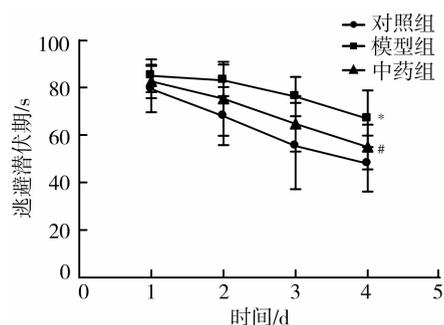


图 1 各组小鼠游泳轨迹图



注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$

图2 各组小鼠逃避潜伏期、穿越平台次数及目标象限停留时间比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

3.2 各组小鼠海马组织 A β 42 含量比较 模型组小鼠海马组织中 A β 42 含量显著高于对照组 [(0.428 \pm 0.018) vs (0.208 \pm 0.013), $P < 0.05$]; 中药组小鼠海马组织中 A β 42 含量为 (0.277 \pm 0.014), 显著低于模型组 ($P < 0.05$)。

3.3 各组小鼠海马组织 LC3-II/LC3-I、P62、LAMP1、CTSB 蛋白表达水平比较 与对照组相比,模型组小鼠海马组织 LC3-II/LC3-I 比值显著升高, P62 蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$), LAMP1、CTSB 蛋白表达水平显著下调 ($P < 0.05$); 与模型组比较,中药组小鼠 LC3-II/LC3-I 比值无明显变化 ($P > 0.05$), LAMP1、CTSB 蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$), P62 蛋白表达水平显著下调 ($P < 0.05$)。见图 3、图 4。

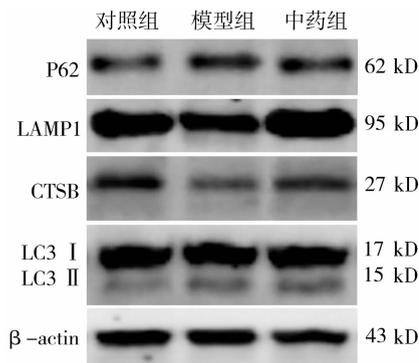
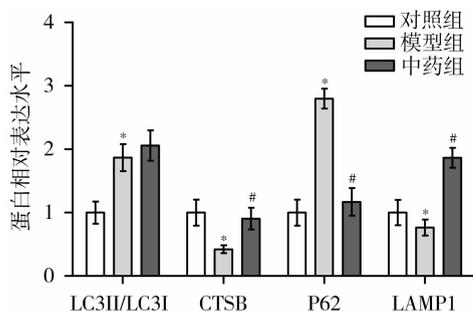
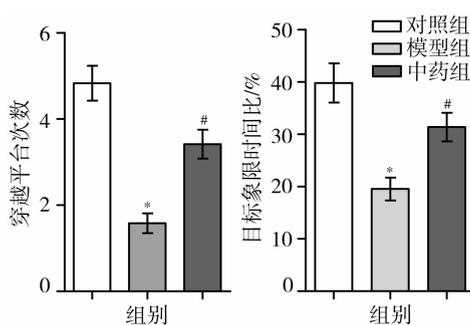


图3 Western blot 检测各组小鼠海马组织 CTSB、P62、LAMP1、LC3-II、LC3-I 蛋白表达水平



注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$

图4 各组小鼠海马组织 LC3 II/LC3 I、CTSB、P62、LAMP1 蛋白相对表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)



3.4 各组小鼠海马组织细胞核内 TFEB 表达水平比较 与对照组相比,模型组小鼠海马组织细胞核内 TFEB 和总 TFEB 表达水平均显著上调 ($P < 0.05$); 与模型组相比,中药组海马组织细胞核内 TFEB 表达水平显著上调 ($P < 0.05$), 总 TFEB 表达水平无明显变化 ($P > 0.05$)。见图 5、图 6。

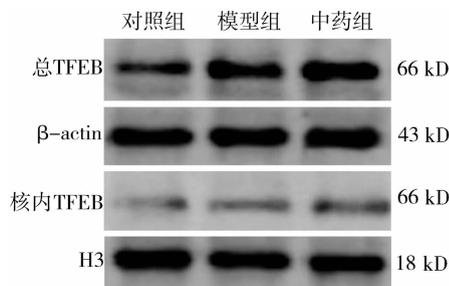
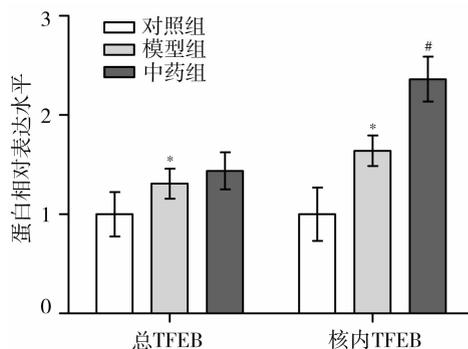


图5 Western blot 检测各组小鼠海马组织细胞核内 TFEB 及总 TFEB 表达水平



注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$

图6 各组小鼠海马组织细胞核内 TFEB 及总 TFEB 相对表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

4 讨论

加减薯蓣丸源于汉代张仲景《金匱要略》中的薯蓣丸,由已故名老中医吕继端教授去其祛风之药,取其补中之效,同时加用补肾填精、化痰开窍药物以切合痴呆脾肾亏虚、痰瘀互结的病机化裁形成。在对小鼠行为学观察实验中,给予加减薯蓣丸干预 4 周后,小鼠的逃避潜伏期及穿越平台次数均有不同程度改善,提示加减薯蓣丸可以改善 APP/PS1 模型的小鼠学习记忆能力。

$A\beta$ 的生成和清除失衡被认为是 AD 的核心病理改变, $A\beta$ 在脑内的聚集可以引发神经细胞缺失和认知功能损害^[1]。自噬作为真核细胞重要的分解代谢过程, 越来越多的研究显示自噬在 $A\beta$ 的产生和降解过程中起着重要作用, 自噬功能异常可能是 AD 的发病机制之一^[6]。自噬体形成后与溶酶体融合, 形成自噬溶酶体, 以有效清除整合的内容物, 这一过程即自噬-溶酶体途径 (autophagy lysosome pathway, ALP)。在 AD 中, ALP 途径呈进行性下降^[7], 蛋白质降解受损, 同时神经突起存在自噬体和溶酶体内细胞器的累积^[8]。在受损神经轴突中, β -分泌酶水平升高, 斑块形成增多^[9]。自噬溶酶体功能障碍同时会引起内吞淀粉样前体蛋白囊泡的转运时间延长, 增加被 β -分泌酶和 γ -分泌酶切割倾向, 导致 $A\beta$ 生成增加^[10-11]。在本实验中, 模型组海马 $A\beta_{42}$ 水平较对照组增加, 同时 LC3 II/LC3 I 比值升高, 提示脑内错误折叠蛋白 $A\beta$ 引起保护性自噬水平增加, 但 LC3 II 水平升高同时可能是溶酶体功能障碍, 下游清除功能受损的结果^[12]; 经加减薯蓣丸干预后, 海马区 $A\beta_{42}$ 水平下降, 中药组 LC3 II/LC3 I 比值有增加, 但与模型组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明加减薯蓣丸可能通过促进下游溶酶体降解, 增加 $A\beta$ 清除并减少 LC3 II 堆积。P62 作为自噬底物转运蛋白, 将泛素化蛋白质转运至自噬体并被溶酶体降解, 当自噬功能缺陷时, P62 在细胞质中不断累积^[13], 与对照组相比, 模型组 P62 水平明显增加, 表明 6 月龄 (5 月龄老鼠经干预治疗后月龄为 6) APP/PS1 小鼠开始出现溶酶体功能障碍, 经加减薯蓣丸干预后, 中药组 P62 蛋白累积得以部分缓解。CTSB 是溶酶体主要的天冬酰胺蛋白酶, 反映溶酶体降解功能, LAMP1 可以直接反映自噬体和溶酶体的成熟度, 经加减薯蓣丸干预后, 中药组 LAMP1、CTSB 水平增加, 结合 LC3 II/LC3 I、P62 蛋白水平也进一步证明小鼠海马区自噬溶酶体功能得以改善。

目前已有文献表明, TFEB 是 ALP 的主要调节因子, 可以增加自噬和溶酶体基因的表达, 刺激自噬体-溶酶体融合和自噬体内容物的降解^[14]。TFEB 动态调节 ALP, 增加 TFEB 表达是一种较高效率诱导自噬清除的途径^[15]。TFEB 活性是通过磷酸化调节, TFEB 磷酸化使其与伴侣蛋白 14-3-3 的结合并保持在细胞质中无法发挥作用, 而去磷酸化的 TFEB/14-3-3 复合物解离使 TFEB 转运至细胞核发挥转录激活靶基因的作用^[16]。在 AD 模型中, 增加 TFEB 的核内聚集可以加速淀粉样蛋白前体蛋白在溶酶体中的降解, 从而减少 $A\beta$ 的产生和淀粉样蛋白斑块的沉积^[11, 17]。本实验中, 与模型组相

比, 中药组核内 TFEB 明显增加, 表明加减薯蓣丸增加 TFEB 核内移位, 增加自噬溶酶体途径清除错误折叠蛋白能力, 减少海马区 $A\beta$ 水平。

加减薯蓣丸方中山药、熟地黄、制何首乌、杜仲、枸杞子、五味子滋补肝肾、填精益髓; 党参、白术、茯苓健脾益气; 石菖蒲、远志化痰开窍益智; 白芍、当归、川芎活血祛瘀。全方共奏健脾补肾、化痰祛瘀、开窍益智之效。自噬与中医痰瘀概念相似, 衰老细胞器、错误折叠蛋白属于中医内生痰瘀之邪, 痰瘀产生与自噬溶酶体功能障碍密切相关, 有研究表明, 多种活血化痰药物可以起到调节自噬的作用^[18]。组方中远志、石菖蒲、芍药等药物有效成分可从不同角度增强自噬途径, 减少 $A\beta$ 沉积^[19]。综上所述, 加减薯蓣丸通过促进 TFEB 核转移增强自噬溶酶体途径, 减少海马区 $A\beta_{42}$ 水平, 改善 APP/PS1 模型小鼠学习记忆能力。但 AD 发病机制复杂, 而加减薯蓣丸可能还存在更多的作用靶点和影响机制, 值得进一步深入研究。

参考文献:

- [1] SCHELTENS P, BLENNOW K, BRETELER M M B, et al. Alzheimer's disease [J]. *The Lancet*, 2016, 388 (10043): 505-517.
- [2] 谢文婷, 谭子虎, 陈延, 等. 加减薯蓣丸治疗轻、中度阿尔茨海默病的临床观察 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(21): 176-181.
- [3] 彭星铭. 加减薯蓣丸对轻度认知障碍的早期临床干预及相关量效关系实验的研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2015.
- [4] 陈延, 谭子虎, 刘进进, 等. 加减薯蓣丸抑制单磷酸腺苷活化蛋白激酶活性对慢性脑灌注不足大鼠的神经保护作用 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2017, 36(6): 64-68.
- [5] XU Y, REN J Q, HE X L, et al. YWHA/14-3-3 proteins recognize phosphorylated TFEB by a noncanonical mode for controlling TFEB cytoplasmic localization [J]. *Autophagy*, 2019, 15(6): 1017-1030.
- [6] REDDY P H, YIN X, MANCZAK M, et al. Mutant APP and amyloid beta-induced defective autophagy, mitophagy, mitochondrial structural and functional changes and synaptic damage in hippocampal neurons from Alzheimer's disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(14): 2502-2516.
- [7] CECARINI V, BONFILI L, CUCCIOLONI M, et al. The fine-tuning of proteolytic pathways in Alzheimer's disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(18): 3433-3451.
- [8] NIXON R, WEGIEL J, KUMAR A, et al. Extensive involvement of autophagy in Alzheimer disease; an immunoelectron microscopy study [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005, 64(2): 113-122.
- [9] GOWRISHANKAR S, YUAN P, WU Y, et al. Massive accumulation of luminal protease-deficient axonal lysosomes at Alzheimer's disease amyloid plaques [J]. *Proc*

Natl Acad Sci USA, 2015, 112(28): E3699-E3708.

- [10] PERIC A, ANNAERT W. Early etiology of Alzheimer's disease: tipping the balance toward autophagy or endosomal dysfunction? [J]. Acta Neuropathol, 2015, 129(3): 363-381.
- [11] XIAO Q, YAN P, MA X, et al. Neuronal-targeted tfeb accelerates lysosomal degradation of app, reducing a β generation and amyloid plaque pathogenesis[J]. J Neurosci, 2015, 35(35): 12137-12151.
- [12] CUNHA L D, YANG M, CARTER R, et al. LC3-associated phagocytosis in myeloid cells promotes tumor immune tolerance[J]. Cell, 2018, 175: 429-441.
- [13] CACCAMO A, FERREIRA E, BRANCA C, et al. P62 improves AD-like pathology by increasing autophagy [J]. Mol Psychiatry, 2017, 22(6): 865-873.
- [14] RABEN N, PUERTOLLANO R. TFEB and TFE3: linking lysosomes to cellular adaptation to stress[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2016, 32: 255-278.
- [15] CORTES C J, La SPADA A R. TFEB dysregulation as

a driver of autophagy dysfunction in neurodegenerative disease: Molecular mechanisms, cellular processes, and emerging therapeutic opportunities[J]. Neurobiol Dis, 2019, 122: 83-93.

- [16] LI Y, XU M, DING X, et al. Protein kinase C controls lysosome biogenesis independently of mTORC1 [J]. Nat Cell Biol, 2016, 18(10): 1065-1077.
- [17] XIAO Q, YAN P, MA X, et al. Enhancing astrocytic lysosome biogenesis facilitates A β clearance and attenuates amyloid plaque pathogenesis [J]. J Neurosci, 2014, 34(29): 9607-9620.
- [18] 胡朋言, 王伟, 梁雪, 等. 细胞自噬与相关中医辨证体系的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(9): 2217-2219.
- [19] 邓敏贞, 黄丽平, 秦劭晨. 阿尔兹海默病中医药防治的新靶点: 细胞自噬[J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(3): 567-569.

(收稿日期: 2019-07-01; 编辑: 曹健)

Modified *Dioscorea opposita* Thunb. Pill Improves the Learning and Memory Abilities of APP/PS1 Mice by Regulating the Transcription Factor EB-mediated Autophagy-Lysosomal Pathway

QIU Jing, YAN Wen-jing, ZHANG Yu-ting, TAN Zi-hu, YANG Qiong

(College of Clinical Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Hubei Wuhan 430061, China)

[Abstract] Objective To investigate the protective effect of Modified *Dioscorea opposita* Thunb. Pill on APP/PS1 mice and the possible mechanism. **Methods** A total of 20 APP/PS1 mice, aged 5 months, were divided into model group and traditional Chinese medicine (TCM) group, with 10 mice in each group, and 10 wild-type littermates were selected as control group. The mice in the TCM group were given the intervention with Modified *Dioscorea opposita* Thunb. Pill at a dose of 14 g/(kg·d) for 4 weeks, and those in the other two groups were given an equal volume of normal saline. Morris water maze was used to evaluate the learning and memory abilities; ELISA was used to measure the level of amyloid- β 42 (A β 42) in the hippocampus; Western blot was used to measure the protein expression of microtubule-associated light chain 3 (LC3)-II/LC3-I, sequestosome 1 (P62), cathepsin B (CTSB), lysosomal-associated membrane proteins 1 (LAMP1), total transcription factor EB (TFEB), and nuclear TFEB in the hippocampus. **Results** Compared with the control group, the model group had a significant increase in escape latency ($P < 0.05$) and significant reductions in the number of platform crossings and the percentage of time spent in the original quadrant ($P < 0.05$). Compared with the model group, the TCM group had a significant reduction in escape latency ($P < 0.05$) and significant increases in the number of platform crossings and the percentage of time spent in the original quadrant ($P < 0.05$). Compared with the control group, the model group had significant increases in A β 42 level in the hippocampus, LC3-II/LC3-I ratio, and protein expression of P62, nuclear TFEB, and total TFEB ($P < 0.05$), as well as significant reductions in the protein expression of LAMP1 and CTSB ($P < 0.05$). Compared with the model group, the TCM group had a significant reduction in A β 42 level in the hippocampus ($P < 0.05$), significant increases in the protein expression of LAMP1, CTSB, and nuclear TFEB ($P < 0.05$), and a significant reduction in the protein expression of P62 ($P < 0.05$), with no significant changes in LC3-II/LC3-I ratio and total TFEB ($P > 0.05$). **Conclusion** Modified *Dioscorea opposita* Thunb. Pill can improve the learning and memory abilities of APP/PS1 mice by promoting TFEB nuclear transfer, enhancing the autophagy-lysosomal pathway, and reducing the level of A β 42 in the hippocampus.

[Key words] Alzheimer's disease; Modified *Dioscorea opposita* Thunb. Pill; Autophagy; Transcription factor EB