

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.14.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200526.1647.006.html\(2020-05-27\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200526.1647.006.html(2020-05-27))

自噬在早期糖尿病大鼠海马损伤改变中的作用*

张峻槐¹, 李 斓², 陈亚希^{3△}

(1. 重庆市渝北区人民医院神经内科 401120; 2. 重庆市渝北区人民医院病理科 401120;

3. 重庆市高等医药专科学校呼吸内分泌教研室 400030)

[摘要] **目的** 探索自噬在早期糖尿病大鼠海马损伤中的表达变化。**方法** 选取 60 只 Wistar 大鼠分为糖尿病组及对照组,根据结束造模时间(0、4、12 周)均分为 3 个亚组,各 10 只。Wistar 大鼠经链脲佐菌素腹腔注射制作糖尿病大鼠模型。分别在结束糖尿病大鼠造模 0、4、12 周观察海马神经元形态学改变,检测自噬标记物 Beclin-1、Beclin-2、自噬相关蛋白 9a(Atg9a)、自噬相关蛋白 5a(Atg5a)、微管相关蛋白 MAP1LC3(LC3A 和 LC3B)的 mRNA 表达水平,以及海马神经元细胞中氧化应激相关分子的 mRNA 表达,同时通过水迷宫实验评价糖尿病大鼠学习及记忆能力。**结果** 在第 4 周时,糖尿病大鼠海马组织 Beclin-1 mRNA 表达水平相比初始降低 44.91% ($P<0.05$);第 12 周时,Beclin-1 mRNA 表达水平相比初始降低 68.75% ($P<0.01$),Atg9a mRNA 表达水平相比初始降低 34.14% ($P<0.05$),LC3A mRNA 表达水平相比初始降低 41.17% ($P<0.05$)。在第 4 周及第 12 周时,糖尿病大鼠氧化应激相关肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、神经型一氧化氮合酶(nNOS)、白细胞介素(IL)-6 的 mRNA 表达水平均逐渐增加,HE 染色及尼氏体染色显示海马神经元数目减少、萎缩变性,Morris 水迷宫结果显示大鼠认知功能障碍逐步加重。**结论** 在糖尿病脑病变中自噬可能参与了海马神经元的损伤。

[关键词] 自噬;糖尿病;海马;脑损伤;氧化应激**[中图法分类号]** R587.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)14-2260-05

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



The role of autophagy in hippocampal injury in early-stage diabetic rats*

ZHANG Junhui¹, LI Lan², CHEN Yaxi^{3△}

(1. Department of Neurology, the People's Hospital of Yubei District, Chongqing 401120, China;

2. Department of Pathology, the People's Hospital of Yubei District, Chongqing

401120, China; 3. Department of Internal Medicine, Chongqing Medical and

Pharmaceutical College, Chongqing 400030, China)

[Abstract] **Objective** To explore the autophagy expression changes in hippocampal injury in early-stage diabetic rats. **Methods** A total of 60 Wistar rats were selected and divided into the diabetic group and the control group, and then were divided into three subgroups according to the end of modeling time (0, 4, 12 weeks), 10 rats in each subgroup. Wistar rats were injected intraperitoneally with streptozotocin to make diabetic rat models. At 0, 4, 12 weeks after diabetic rat model building, the morphological changes in rat hippocampal neurons were observed; the mRNA expressions of autophagy markers, including Beclin-1, Beclin-2, autophagy-related protein 9a (Atg9a), autophagy-related protein 5a (Atg5a), microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3A) and light chain 3 (LC3B), as well as mRNA expressions of oxidative stress-related molecules in hippocampal neurons were detected. At the same time, the learning and memory abilities of diabetic rats were evaluated by water maze experiment. **Results** At the 4th week, the expression level of Beclin-1 mRNA in the hippocampus of diabetic rats decreased by 44.91% ($P<0.05$); at the 12th week, the expression level of Beclin-1 mRNA decreased by 68.75% ($P<0.01$), the expression level of Atg9a mRNA decreased by 34.14% ($P<0.05$), and the expression level of LC3A mRNA decreased by 41.17% ($P<0.05$), compared with the initial level. At the 4th and 12th week, the mRNA expression levels of oxidative stress-related tumor necrosis factor α (TNF- α), neuronal nitric oxide synthase (nNOS) and interleukin (IL)-6 gradually increased in diabetic rats. The HE staining and Nissl staining suggested a decrease number, atrophy and degeneration of hippocampal neurons. The results of Morris water maze showed that the cognitive dysfunction in diabetic rats gradually worsened.

* 基金项目:重庆市渝北区民生创新项目[2017(农社)48]。 作者简介:张峻槐(1989—),住院医师,硕士,主要从事神经内科基础与临床

的研究。△ 通信作者, E-mail: cyx_4ever@163.com。

Conclusion Autophagy may be involved in the damage of hippocampal neuron in diabetic encephalopathy.

[Key words] autophagy; diabetes mellitus; hippocampus; brain injuries; oxidative stress

糖尿病是一组常见的内分泌代谢疾病,发病机制为胰岛素分泌不足或作用降低,临床表现以血糖水平升高为特征,常并发眼、肾、心、脑系统病变。糖尿病累及脑血管及中枢神经系统在临床上表现为脑卒中发作、认知功能障碍、共济失调等症状,致残率和致死率较高^[1]。海马作为认知功能的重要组成,是 2 型糖尿病患者中枢神经系统受累时脑内最先受损伤的部位,特别是海马相关的学习记忆、方位定向功能常常在糖尿病病程中受损^[2-3]。目前对于糖尿病海马损伤造成认知功能障碍的机制主要包括脑血管重塑、海马神经元损伤、胰岛素抵抗等。目前为止海马神经元损伤的具体分子机制尚不明确,可能与氧化应激、晚期糖基化终产物增加等有关^[4]。自噬是在细胞受到不良应激损伤时维持细胞内环境稳态和实现自我更新的过程,本质是细胞依赖溶酶体对蛋白质和细胞器进行降解^[5]。氧化应激与自噬过程关系密切,活性氧能够诱导自噬的产生,而自噬能够清除损伤的蛋白质避免其释放进入细胞质,从而缓解氧化应激造成的损伤。但是过度自噬可导致细胞损伤或死亡。研究报道,自噬功能障碍与糖尿病多种并发症如糖尿病心肌病变、糖尿病视网膜病变等密切相关^[6]。因此,推测自噬可能与糖尿病海马神经元损伤有关,而目前国内外尚少有相关报道。本研究采用高糖高脂联合链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠模型,初步探索自噬与糖尿病海马神经元损伤及氧化应激的关系,寻找以自噬为基点靶向防护海马神经元损伤的治疗方法,为指导设计有效治疗糖尿病相关脑病变的新型药物提供新的思路与理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

无特殊病原体(SPF)级雄性 Wistar 大鼠 60 只,8~9 周龄,体质量 150~220 g,由重庆医科大学动物实验中心提供[使用许可证号:SCXK(渝)2012-0001]。动物处于室温 20~25℃,相对湿度 40%~70%的环境中。动物能自由饮水与饮食。所有动物实验遵循《试验动物管理条例》,并通过重庆医科大学动物实验伦理委员会批准,实验动物的使用和喂养遵循美国国立卫生研究院关于科学研究中动物的使用规范。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立

大鼠随机分为糖尿病组及对照组,每组又分为 0、4、12 周 3 个时间点结束造模,每个亚组大鼠 10 只。普通饲料适应性喂养 1 周后,对照组始终以普通饮食饲养。糖尿病组给予高糖高脂饲料(普通饲料 66.5%,猪油 10.0%,蔗糖 20.0%,蛋黄 2.5%)喂养并单次腹腔注射 STZ(30 mg/kg),1 周后取尾尖血,用血糖仪(Roche)监测血糖,随机血糖大于或等于 17 mmol/L 判为糖尿病模型建立成功。分别于造模成

功后的 0、4、12 周以戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉处死大鼠,每个亚组取 5 只大鼠大脑做苏木素-伊红(HE)染色及尼氏体染色,5 只大鼠提取海马组织行相关 RNA 检测。

1.2.2 Morris 水迷宫实验

参照既往研究选用 Morris 水迷宫实验用于观察大鼠的行为学改变^[7]。本实验采用直径 1.6 m,高度 0.6 m 的水池,水温 24~25℃,水池中站台直径为 12 cm,高度 30 cm。于建模后 0、4、12 周分别将各组大鼠放置于 Morris 水迷宫中进行连续 4 d 定位航行训练,每次选取东北、西北、东南、西南 4 个方向入水点训练 90~120 s。若大鼠在 90~120 s 找到并爬上平台,让其在平台上停留 15 s;若大鼠在 90~120 s 未找到并爬上平台,则需人工诱导大鼠至平台上并停留 15 s。潜伏期指大鼠每次入水后成功找到站台并在站台上逗留超过 10 s,其中上台前所花费的时间。大鼠的逃避潜伏期及游过的路程与学习记忆能力成反比。撤去水池中平台,将大鼠放置水迷宫中,记录 120 s 内各组大鼠穿越原平台所在位置的次数。大鼠穿越平台位置的次数越多,说明学习记忆能力越好。

1.2.3 海马组织染色

1.2.3.1 石蜡包埋

从胸腹正中剪开皮肤开胸暴露心脏,经左心室行主动脉插管,血管钳固定后剪开右心耳,使用 50 mL 针筒将 37℃生理盐水 200 mL 快速输入体内以排除循环血液,右心耳流出液清亮后,用 4℃的 4%多聚甲醛固定液 250 mL 匀速灌注固定。使用骨钳钳开颅骨后小心取出完整脑组织,置 4℃固定液(含 30%蔗糖的 4%多聚甲醛)中继续固定过夜。固定好的大脑经蒸馏水清洗后置于 50%乙醇中 20 min,采用不同浓度乙醇进行逐级脱水,再置于 50%二甲苯/50%无水乙醇中,脱色摇动 15 min。移入 100%二甲苯脱色摇动 10 min。于石蜡中浸蜡,每隔 1 h 换 1 次石蜡,共 4 次。将浸蜡好的大脑置于石蜡进行包埋,选用 5 μm 厚度,相隔 200 μm 进行切片。

1.2.3.2 HE 染色

大脑石蜡切片用二甲苯脱蜡,通过不同浓度的各级乙醇复水(100%—95%—85%—70%—50%蒸馏水),每种浓度乙醇复水 1 min,用苏木素溶液染色 3 min,自来水洗涤切片 2 次,每次 30 s。切片放入 0.25%氨水中 30 s 后用自来水洗涤 2 次,每次 30 s。切片通过不同浓度的乙醇脱水(50%—75%—85%—95%),每种浓度乙醇脱水 1 min。切片放入伊红溶液中染色 30 s。而后切片继续脱水(95%—100%—100%),每种浓度乙醇脱水 1 min。切片置于二甲苯中直至透明。

1.2.3.3 尼氏体染色

尼氏体是神经元的特征性结构之一,具有嗜碱性

表 1 各基因引物序列

基因	引物序列前引	引物序列后引
Beclin1	CTGAAACTGGACACGAGCTTCAAG	TGTGGTAAGTAATGGAGCTGTGAGTT
Beclin2	ATTTTCAGATGAGGGTCCCTTG	CAAGGACTTGAGATAGGAATGG
Atg9A	TCATGCAGTTCCTCTTTGTGG	TCTGGCAGAGTGACCTTG
Atg5	GGAGAGAAGAGGAGCCAGGT	TGTTGCCTCCACTGAACTTG
LC3A	TGGTCAAGATCATCCGGC	CTCACCATGCTGTGCTGG
LC3B	TTCTTCTCCTGGTGAATGG	GTGGGTGCCTACGTTCTCAT
TNF-α	CATGATCCGAGATGTGGAAGTGGC	CTGGCTCAGCCACTCCAGC
nNOS	CCTGGTACGGGCATTGCT	GCTCATGCGGCTCCTTT
IL-1b	TTGTGGCTGTGGAGAAGCTG	GCCGTCTTTCATACACAGG
IL-6	ATCCAGTTGCCTTCTTGGGACTGA	TAAGCCTCCGACTTGTGAAGTGGT
GAPDH	CCCCAACGTGTCGGTTGT	CTCGGACGCTGCTTCAC

特点,正常细胞核及神经元细胞质中蛋白质尼氏体呈蓝染,其生物学作用是合成和分泌各类蛋白质。大鼠石蜡切片常规脱蜡至蒸馏水。用 1% 甲苯胺蓝水溶液置于 50~60 ℃ 温箱内浸染 20~40 min。蒸馏水、70% 乙醇、95% 乙醇分别洗涤。无水乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶固封。

1.2.4 RNA 提取

经左心室使用生理盐水(0.9% NaCl,含 0.16 mg/mL 肝素钠)灌流清除血液,断头后钳开颅骨,于碎冰玻璃皿上利用眼科镊小心分离大脑海马后立即放入液氮,加入 1 mL Trizol 后用研磨。其后加入 200 μL 氯仿,剧烈摇荡混匀后于 4 ℃,12 000×g 离心 15 min,取适量上清液加等体积异丙醇摇晃混匀,室温放置 10 min 后于 4 ℃,12 000×g 离心 10 min。弃去上清液,加入 1 mL 75% 乙醇,震荡混匀后于 4 ℃ 下 12 000×g 离心 5 min。吸取上清液加入适量焦磷酸二乙酯(DEPC)水溶解 RNA。测量样品在 260 nm 处的吸光度值及样品浓度。如前所述进行后续反转录 cDNA 及实时荧光定量 PCR 操作^[8]。

1.2.5 引物序列

合成根据 GenBank 中 Beclin-1、Beclin-2、自噬相关蛋白 9a(Atg9a)、自噬相关蛋白 5a(Atg5a)、微管相关蛋白 MAP1LC3(LC3A 和 LC3B)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、神经型一氧化氮合酶(nNOS)、白细胞介素(IL)-1b、IL-6 基因序列分别设计引物,引物信息见表 1。引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较使用 post hoc Tukey's 检验;采用 Graphpad Prism8.0 软件作图;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠一般情况

糖尿病组造模成功后,0、4 及 12 周监测随机血糖均大于 17 mmol/L,不同时间点大鼠血糖情况见表 2。

2.2 各组大鼠 Morris 水迷宫评价结果

造模至第 4 周时,糖尿病组穿越平台次数较对照组

减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);而逃避潜伏时间未见明显差异($P > 0.05$);随着时间延长,第 12 周时糖尿病组穿越平台次数较第 4 周时明显减少($P < 0.05$),同时潜伏期较对照组明显延长($P < 0.05$),见表 3。

表 2 不同时间点大鼠血糖情况($n = 10, \bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	0 周	4 周	12 周
对照组	5.3±0.6	5.1±0.8	5.4±0.7
糖尿病组	18.2±4.4	20.8±4.5 ^{ab}	21.2±6.1 ^{ab}

^a: $P < 0.05$,与同组 0 周比较;^b: $P < 0.05$,与相同时间对照组比较。

2.3 海马神经元在糖尿病不同时期中的变化

造模至第 4 周时,海马 HE 染色及尼氏体染色显示形态结构与造模开始时相比无明显改变;造模至第 12 周时,HE 及尼氏体染色可见海马各层明显萎缩,神经元数量减少,神经纤维部分溶解,海马神经元蓝染尼氏体减少,见图 1。

2.4 糖尿病大鼠中海马自噬相关 mRNA 表达水平的变化

不同时期糖尿病大鼠自噬相关的 Beclin-1、Beclin-2、Atg9a、Atg5、LC3A、LC3B 的 mRNA 相对表达水平变化见图 2。Beclin-1 基因:第 4 周时表达水平相比初始降低 44.91%($P < 0.05$),第 12 周时表达水平相比初始降低 68.75%($P < 0.01$)。Atg9a 基因:在第 4 周时表达水平和初始水平相比无明显差异($P > 0.05$),第 12 周时表达水平相比初始降低 34.14%($P < 0.05$)。LC3A 基因:在第 4 周时表达水平和初始水平相比无明显差异($P > 0.05$),第 12 周时表达水平相比初始降低 41.17%($P < 0.05$)。Beclin-2、Atg5 及 LC3B 在糖尿病各个时期表达水平无明显变化。

2.5 不同时期糖尿病大鼠中海马氧化应激相关分子表达的变化

不同时期糖尿病大鼠自噬相关的 TNF-α、nNOS、IL-1b、IL-6 的 mRNA 相对表达变化见图 3。TNF-α 基因:第 4 周时表达水平相比初始增加 79.28%($P < 0.01$),第 12 周时表达水平相比初始增加 82.61%($P < 0.01$)。nNOS 基因:在第 4 周时表达水平和初始水平相比增加 68.90%($P < 0.01$),第 12 周时表达水平相比初始增加 76.55%($P < 0.01$)。IL-6 基因:在第 4 周时表达水平和初始水平相比无明显差异($P >$

表 3 各组大鼠 Morris 水迷宫结果比较($n=10,\bar{x}\pm s$)

组别	穿越平台次数(次)			逃避潜伏时间(s)		
	0 周	4 周	12 周	0 周	4 周	12 周
对照组	6.7±2.1	6.3±1.1	6.1±0.4	49.1±17.8	45.6±17.1	51.2±9.7
糖尿病组	6.5±1.5	4.9±1.7 ^b	3.4±0.9 ^{ab}	40.5±11.9	50.5±10.9	91.3±20.5 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与同组 0 周比较;^b: $P<0.05$,与相同时间对照组比较。

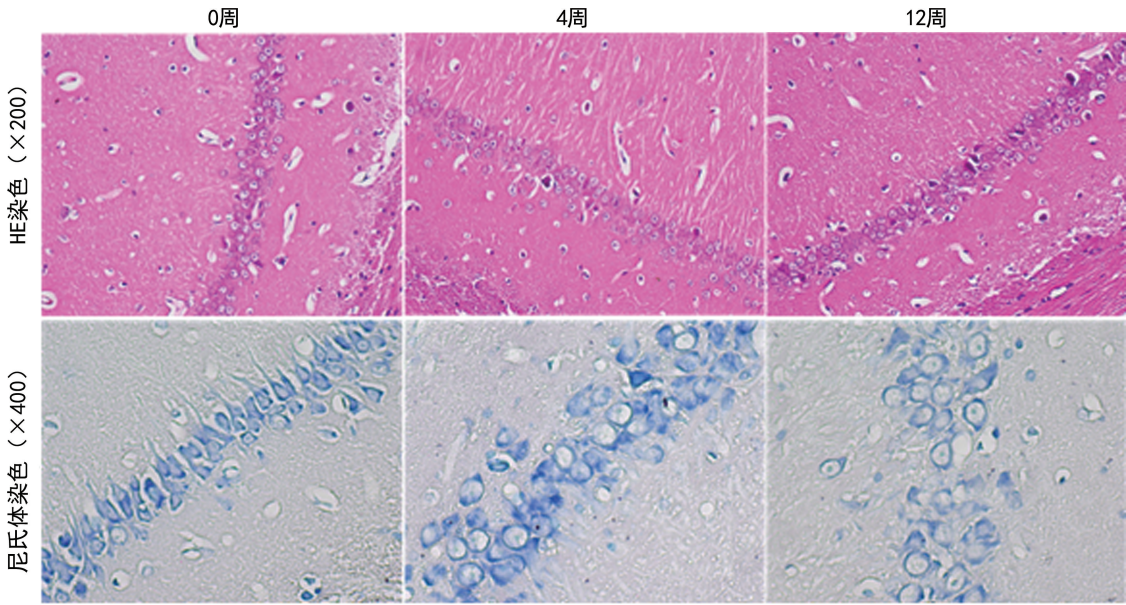
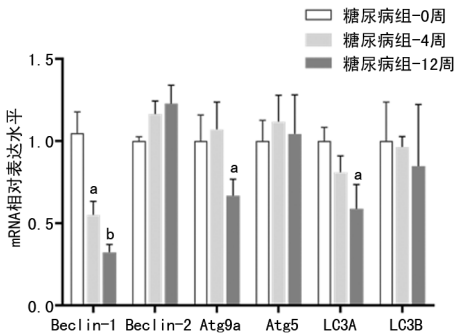


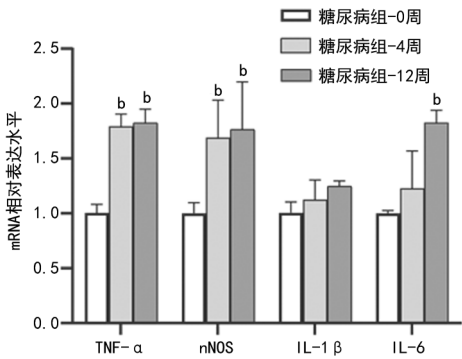
图 1 不同时间点糖尿病组大鼠海马 HE 染色及尼氏体染色

0.05),第 12 周时表达水平相比初始增加 81.81% ($P<0.01$)。IL-1 β 在糖尿病大鼠各个时期的海马组织中表达水平无明显变化。



^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,与 0 周比较。

图 2 糖尿病不同时期海马自噬相关 mRNA 相对表达水平变化



^b: $P<0.01$,与 0 周比较。

图 3 不同时期糖尿病大鼠海马氧化应激相关分子表达变化

3 讨 论

目前对于糖尿病并发症的研究主要集中于心脏、肾脏、视网膜、周围神经病变机制的研究,而对中枢神经系统的研究较少。本研究的意义为构建早期糖尿病大鼠模型,动态研究大鼠学习、记忆能力及海马自噬的变化。结果显示,在第 4 周时,海马自噬水平开始降低,同时氧化应激产物增加,而海马神经元未见明显损伤,随着糖尿病病程进展至第 12 周时,海马自噬程度进一步降低,而氧化应激水平进一步增强,海马神经元出现明显数目减少、萎缩变性,大鼠认知功能障碍进一步加重。本研究在糖尿病的病程中结合氧化应激及自噬相关指标与海马损伤的关系,为探讨糖尿病海马损伤提供了新的思路。

糖尿病并发中枢神经系统及精神情绪异常的机制主要包括血管内皮功能异常、毛细血管新生及全身炎症等,同时高糖所致毒性物质(如氧自由基)直接作用脑神经细胞引起损伤。糖尿病对脑的损伤早期以轻度认知功能障碍为主要表现,随着病程进展可导致进展性高级智能活动损伤^[9]。约 70% 糖尿病患者存在一定程度的学习、记忆功能或空间执行能力减退^[10]。糖尿病患者脑磁共振成像可见脑组织萎缩,尤其是海马和杏仁核萎缩^[11]。本研究通过水迷宫实验观察到糖尿病可造成大鼠学习记忆能力下降,并随病程进行性加重。通过 HE 染色及尼氏体染色,海马组织形态结构在第 4 周时并未出现明显改变;随着糖尿病病程进展,第 12 周时出现明显海马细胞萎缩,代表

神经细胞蛋白质合成的尼氏体淡染,这与观察到的大鼠认知功能障碍发生时间及程度相符。

在糖尿病的病理生理学机制及病程的发生、发展中,高糖可导致组织氧化应激的产生,而氧化应激可导致自噬的产生^[12]。自噬通过清除氧化应激损伤的线粒体、内质网等减缓细胞死亡。因此,氧化应激和自噬之间存在密切关系。在本研究中,选取了 TNF- α 、nNOS、IL-1b、IL-6 为代表的氧化应激相关分子进行检测,发现 TNF- α 、nNOS 在糖尿病早期的海马组织中表达增加,随着病程进展,TNF- α 、nNOS、IL-6 水平在海马中出现明显升高,提示氧化应激的增强。

自噬是细胞利用溶酶体对自身受损的细胞器和大分子进行降解的过程,与多种疾病的发生、发展有关,如神经退行性疾病及脑缺血性脑损伤等。自噬贯穿正常细胞的生长发育和生理病理过程,与认知功能关系密切。神经元自噬对于突触发育至关重要,而突触生长和可塑性是学习记忆认知功能的基础。过表达自噬关键调节因子可增强突触生长^[13]。自噬相关基因严密调控自噬过程,Becn-1 是调控自噬启动与完成的最重要的蛋白之一,介导其他自噬蛋白定位于吞噬泡,从而调控哺乳动物自噬体的形成与成熟。既往研究证实,通过上调 Becn-1 在哺乳动物细胞中的表达能够刺激自噬的发生^[14]。而 Becn-1 的过表达可预防脑神经细胞的凋亡,促进对蛋白质代谢废物及毒性分子的清除。ATG9a 是哺乳动物体内发现的唯一自噬体膜蛋白,参与自噬过程和囊泡蛋白的募集,是自噬体形成的必需蛋白,研究显示诱导 ATG9a 形成可调控自噬的过程^[15]。微管相关蛋白轻链 3 简称 LC3,是第一个被发现的自噬体标记蛋白,定位于自噬体膜上,其含量的多少与自噬泡的数量呈正相关。在本研究中,检测到糖尿病大鼠海马组织中 Becn-1、Atg9a、LC3A 表达随着病程进展降低,提示自噬可能与糖尿病所致海马损伤有关。有研究表明,糖尿病大鼠在早期即可损伤肾小管,并且肾小管自噬活动被抑制,胰岛素作用后可扭转自噬被抑制所造成的肾损伤^[16]。在体外试验中,糖尿病神经病变患者血清可诱导神经细胞瘤细胞自噬,在细胞凋亡过程中起到保护作用^[17]。自噬作为机体防御机制在糖尿病发病和慢性并发症的早期病理生理过程中有积极保护作用。

综上所述,本研究对自噬参与糖尿病海马损伤进行了初步探索,在糖尿病大鼠病程早期(4 周及 12 周),海马组织中自噬启动最关键的 Becn-1、自噬体膜蛋白 Atg9a、代表自噬体数量的 LC3A 表达下调,结合海马组织中氧化应激相关分子表达增加,海马组织细胞萎缩及大鼠学习、记忆能力下降,推测自噬激活参与糖尿病大鼠海马组织的损伤过程。为了进一步确定自噬激活在糖尿病海马损伤中的作用,还需要采用自噬抑制剂或激活剂调节自噬的水平,观察相应神经元及海马功能的改变,从而探讨自噬在糖尿病脑病

变中的治疗前景。

参考文献

- [1] DAVIES M J,D'ALESSIO D A,FRADKIN J K,et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes,2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD)[J]. Diabetes care,2018,41(12):2669-2701.
- [2] GOLD S M,DZIOBEK I,SWEAT V,et al. Hippocampal damage and memory impairments as possible early brain complications of type 2 diabetes [J]. Diabetologia,2007,50(4):711-719.
- [3] 贾贺. 2 型糖尿病大鼠脑损伤改变及氨基胍干预的脑保护作用的研究[D]. 郑州:郑州大学,2017.
- [4] BORSHCHEV Y Y,USPENSKY Y P,GALAGUDZA M M. Pathogenetic pathways of cognitive dysfunction and dementia in metabolic syndrome[J]. Life Sci,2019,237:116932.
- [5] RAVANAN P,SRIKUMAR I F,TALWAR P. Autophagy:the spotlight for cellular stress responses[J]. Life Sci,2017,188:53-67.
- [6] 欧阳正隆,余韵,胡玉新,等. 自噬在早期糖尿病大鼠视网膜神经病变中的作用[J]. 广东医学,2017,38(16):2444-2449.
- [7] 孔林林,张军,乔枫,等. 基于小鼠 Morris 水迷宫和 Y 迷宫联合试验的多任务行为学测试研究[J]. 神经解剖学杂志,2013,29(4):365-368.
- [8] NOLAN T,HANDS R E,BUSTINS A. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR [J]. Nat Protoc,2006,1(3):1559-1582.
- [9] XUE M,XU W,OU Y N,et al. Diabetes mellitus and risks of cognitive impairment and dementia:a systematic review and meta-analysis of 144 prospective studies[J]. Ageing Res Rev,2019,55:100944.
- [10] REIJMER Y D,VAN DEN BERG E,DE BRESSER J,et al. Accelerated cognitive decline in patients with type 2 diabetes:MRI correlates and risk factors[J]. DiabetesMetabRes Rev,2011,27(2):195-202.
- [11] CHERBUIN N,SACHDEV P,ANSTEY K J. Higher normal fasting plasma glucose is associated with hippocampal atrophy:the PATH study[J]. Neurology,2012,79(10):1019-1026.
- [12] FILOMENI G,DE ZIO D,CECCONI F. Oxidative stress and autophagy:the clash (下转第 2269 页)

- virus-mediated expression of long non-coding RNA PTENP1 and microRNA regulation[J]. *Biomaterials*, 2015, 44: 71-81.
 - [8] WANG L, ZHANG N, WANG Z, et al. Pseudogene PTENP1 functions as a competing endogenous RNA (ceRNA) to regulate PTEN expression by sponging miR-499-5p [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2016, 81(7): 739-747.
 - [9] YU G, YAO W M, GUMIREDDY K, et al. Pseudogene PTENP1 functions as a competing endogenous RNA to suppress Clear-Cell renal cell carcinoma progression[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(12): 3086-3097.
 - [10] 王翠翠, 怀磊, 张翠萍, 等. 抑癌基因 PTEN 与其假基因 PTENP1 在急性白血病细胞中的表达及其相关性研究[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(11): 896-901.
 - [11] DI CRISTOFANO A, PANDOLFI P P. The multiple roles of PTEN in tumor suppression [J]. *Cell*, 2000, 100(4): 387-390.
 - [12] SORIA J C, LEE H Y, LEE J I, et al. Lack of PTEN expression in non-small cell lung cancer could be related to promoter methylation[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(5): 1178-1184.
 - [13] SONG M S, SALMENA L, PANDOLFI P P. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(5): 283-296.
 - [14] SQUATRITO M, HOLLAND E C. DNA damage response and growth factor signaling pathways in gliomagenesis and therapeutic resistance[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(18): 5945-5949.
 - [15] ZHANG J G, WANG J J, ZHAO F, et al. MicroRNA-21 (miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and invasion in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(11/12): 846-852.
 - [16] GUO X Q, DENG L, DENG K Y, et al. Pseudogene PTENP1 suppresses gastric cancer progression by modulating PTEN[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2016, 16(4): 456-464.
 - [17] GONG T T, ZHENG S Y, HUANG S, et al. PTENP1 inhibits the growth of esophageal squamous cell carcinoma by regulating SOCS6 expression and correlates with disease prognosis[J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(12): 2610-2619.
 - [18] KABIR N N, SUN J M, RONNSTRAND L, et al. SOCS6 is a selective suppressor of receptor tyrosine kinase signaling[J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(11): 10581-10589.
 - [19] LAI R H, HSIAO Y W, WANG M J, et al. SOCS6, down-regulated in gastric cancer, inhibits cell proliferation and colony formation [J]. *Cancer Lett*, 2010, 288(1): 75-85.
 - [20] SRIRAM K B, LARSEN J E, FRANCIS S M S, et al. Array-comparative genomic hybridization reveals loss of SOCS6 is associated with poor prognosis in primary lung squamous cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30398.
- (收稿日期: 2019-12-23 修回日期: 2020-03-12)
-
- (上接第 2264 页)
- between damage and metabolic needs[J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(3): 377-388.
 - [13] SHEN W, GANETZKY B. Autophagy promotes synapse development in *Drosophila* [J]. *J Cell Biol*, 2009, 187(1): 71-79.
 - [14] LIANG X H, JACKSON S, SEAMAN M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1 [J]. *Nature*, 1999, 402(6762): 672-676.
 - [15] KAKUTA S, YAMAGUCHI J, SUZUKI C, et al. Small GTPase Rab1B is associated with ATG9A vesicles and regulates autophagosome formation [J]. *FASEB J*, 2017, 31(9): 3757-3773.
 - [16] HAN K, LEHRINGER-POLZIN M, ZHOU H, et al. Cellular autophagy in proximal tubules of early diabetic rats following insulin treatment and islet transplantation[J]. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 1992, 61(6): 367-373.
 - [17] TOWNS R, GUO C, SHANGGUAN Y, et al. Type 2 diabetes with neuropathy: autoantibody stimulation of autophagy via Fas[J]. *Neuroreport*, 2008, 19(3): 265-269.
- (收稿日期: 2019-12-27 修回日期: 2020-03-27)