

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00684

糖尿病大鼠脑组织环磷酸腺苷反应元件结合蛋白及 β -淀粉样蛋白的表达及意义

蔡志友¹, 晏宁¹, 晏勇^{1*}, 黄良国², 李洁颖¹, 王凤英²

1. 重庆医科大学附属第一医院神经内科, 重庆市神经病学重点实验室, 重庆 400016

2. 遵义医学院附属医院神经内科, 遵义 563003

[摘要] **目的:**分析糖尿病大鼠认知行为学改变与脑组织 β -淀粉样蛋白(β -amyloid protein, $A\beta$)、环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)及磷酸化 CREB(phosphorylated CREB, pCREB)表达变化的相关性,为探讨糖尿病糖代谢异常在阿尔茨海默病发病中的作用机制奠定基础。**方法:**腹腔注射链脲佐菌素(streptozocin, STZ)诱发糖尿病大鼠动物模型,随机分为4周模型组(M4组)、6周模型组(M6组)、8周模型组(M8组),以同批未制模大鼠作为正常对照(N组)。穿梭箱实验、Morris水迷宫实验检测认知行为学改变,刚果红染色检测大鼠脑内淀粉样物质沉着,Western印迹法、酶联免疫吸附法和RT-PCR检测大鼠脑组织 CREB 与 pCREB 的表达,酶联免疫吸附法检测脑组织 $A\beta$ 表达。**结果:**行为学检测显示模型组大鼠有显著的认知功能障碍,模型组与正常对照组比较有明显差异($P < 0.01$);模型组 $A\beta$ 表达明显增高($P < 0.01$),模型组 CREB 与 pCREB 表达明显降低($P < 0.01$),而3个模型组比较无统计学差异; $A\beta$ 表达水平与 CREB、pCREB 表达水平负相关, $A\beta$ 与学习、记忆损伤正相关,CREB、pCREB 与学习、记忆损伤负相关。**结论:**糖尿病糖代谢异常可能通过下调脑组织 CREB、pCREB 表达及增强 $A\beta$ 表达诱发脑损伤,导致认知行为改变。

[关键词] 糖尿病;阿尔茨海默病; β -淀粉样蛋白;环 AMP 反应性 DNA 结合蛋白质

[中图分类号] R 587.25

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2009)06-0684-06

Expression of cAMP responsive element binding protein and β -amyloid protein in cerebral tissues of diabetic rats

CAI Zhi-you¹, YAN Ning¹, YAN Yong^{1*}, HUANG Liang-guo², LI Jie-ying¹, WANG Feng-ying²

1. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, the Key Laboratory of Neurological Disorders, Chongqing 400016, China

2. Department of Neurology, The Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003

[ABSTRACT] **Objective:** To analyze the association of recognition and behavior of diabetic rats with the expression of β -amyloid protein ($A\beta$) and cAMP response element binding protein (CREB), so as to pave a way for studying the role of diabetic metabolic disorder in the mechanism of Alzheimer's disease. **Methods:** Animal model of diabetes mellitus was established by intraperitoneal injection of streptozocin. Wistar rats were randomly divided into normal control groups (N), 4 week diabetes mellitus model group (M4), 6 week diabetes mellitus model group (M6), and 8 week diabetes mellitus model group (M8). The changes of recognition and behavior were tested by Morris water maze task and shuttle box task. Congo red staining was used to detect the deposition of beta-amyloid in the brain tissues. Expression of $A\beta$ was measured by enzyme linked immunosorbent assay. CREB and pCREB were tested by enzyme linked immunosorbent assay, RT-PCR, and Western blotting assay. **Results:** Behavioral tests showed that the learning ability and memory of animals in the diabetes mellitus model groups were impaired and significantly decreased compared with those in the normal control group ($P < 0.01$). Compared with the normal control group, the model groups showed higher $A\beta$ expression and lower CREB and pCREB expression ($P < 0.01$), with no significant difference found between the three model groups. The expression of $A\beta$ was negatively correlated with the expression of CREB and pCREB, and was positively correlated with learning and memory impairment of animals. CREB and pCREB were negatively correlated with the learning ability and memory impairment of animals. **Conclusion:** Diabetes mellitus can contribute to

[收稿日期] 2008-09-20 **[接受日期]** 2008-12-24

[基金项目] 国家民政部中国老年学学会资助课题(2007-18-3-05). Supported by Gerontology Association of the Ministry of Civil Affairs of China(2007-18-3-05).

[作者简介] 蔡志友, 博士生. E-mail: czy000806@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 023-89012903, E-mail: yyanpro@yahoo.com

Alzheimer's disease through increasing expression of A β and decreasing expression of CREB and pCREB.

[KEY WORDS] diabetes mellitus; Alzheimer's disease; β -amyloid protein; cyclic AMP-response DNA-binding protein

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(6): 684-689]

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以进行性认知功能减退为特征的神经变性疾病。近年来的研究^[1-3]发现老龄人群的AD发病与代谢综合征特别是糖代谢紊乱有着密切的联系。一些学者推测在晚发性AD中,糖代谢紊乱可能就是其始动因子,甚至有学者提出AD是3型糖尿病的学说^[4-5],但真正的核心机制仍不清楚。环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)作为一个重要的转录因子,参与细胞多种信号转导通路的调节,磷酸化 CREB(phosphorylated CREB, pCREB)是 CREB 的活化形式^[6], CREB 和 pCREB 是否参与了糖尿病的发病机制仍不清楚。

因此,本研究以糖尿病大鼠动物模型作为研究对象,观察模型动物脑组织 β -淀粉样蛋白(β -amyloid protein, A β ; AD 的经典分子生物学指标)及 CREB 和 pCREB 表达,分析糖尿病大鼠认知行为学改变与脑组织 A β 、CREB 及 pCREB 表达变化的相关性,为探讨糖尿病糖代谢异常在 AD 发生中的作用机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 主要材料及试剂 tau 蛋白、A β 40/42 试剂盒购自美国 Biosource International 公司;链脲佐菌素(streptozocin, STZ)购自美国 Sigma 公司;CREB 和 pCREB 检测试剂盒为美国 Upstate 公司产品;大鼠跳台和大鼠穿梭箱程序自动控制仪均由重庆市神经病学重点实验室和重庆医科大学药学院提供。

1.2 动物分组及处理 10 周龄雌性 Wistar 大鼠,体质量 200~250 g,由第三军医大学野战医院动物研究所提供(动物中心许可证号:渝实动设施准第 260 号)。动物随机分为正常对照组(N 组,等量生理盐水颈部皮下注射, $n=6$),4 周模型组(M4 组, $n=6$),6 周模型组(M6 组, $n=6$),8 周模型组(M8 组, $n=6$)。模型组动物饲以高糖高脂饲料 2 个月(饲料组成:10%猪油、20%蔗糖、2.5%胆固醇、1%胆酸盐、6.5%常规饲料),待诱导出胰岛素抵抗后,按 25~30 mg/kg 腹腔注射 STZ 诱发糖尿病,检测尾静脉血糖达到 16.7 mmol/L 为入选标准。分别选取造模 4、6、8 周作为观察点(造模大鼠平均生存时间为 8 周)。

1.3 行为学检测

1.3.1 穿梭箱实验 穿梭箱底部铺以不锈钢电栅,大小为 60 cm \times 16 cm \times 25 cm,箱顶部装有蜂鸣器。训练时,将大鼠放在箱内任一侧,20 s 后出现蜂鸣音(持续 15 s),蜂鸣 5 s 后由底部电栅给以电刺激(电流强度 1.5 mA),大鼠受到电刺激后逃到另一端,电击蜂鸣自动停止。记录动物在单独蜂鸣期间逃避的时间(主动逃避时间)和遭受电刺激的时间以及电击的次数。全部动物每天测试 1 次,每次 20 个循环,全程训练。

1.3.2 水迷宫实验 Morris 水迷宫作为检测实验动物学习记忆水平的重要工具,其测试程序主要包括定位航行实验(place navigation test):用于测量大鼠获取经验(学习)的能力。实验前 1 d 下午将大鼠放入水中自由游泳 2 min,观察其游泳姿势并使其熟悉实验环境。实验历时 4 d,每天上午、下午两个时间段,每个时间段训练 4 次,每次训练随机选择 1 个人水点,将大鼠面向池壁放入水池,同一次训练所有大鼠入水点相同。记录大鼠找到平台的时间,即潜伏期(latency)。(2)空间探索实验(spatial probe test):用于测量大鼠保存经验(记忆)的能力,即大鼠学会寻找平台后,对平台空间位置记忆的能力。在训练的最后时段撤除平台,然后在 B 象限任选 1 个人水点将大鼠面向池壁放入水中,观测 120 s 内其在各象限的游泳距离及其占总距离的百分比;以及 120 s 内穿越各象限平台相应位置(即平台在 D 象限所在的位置)的次数。记录大鼠找到平台的时间(学习潜伏期),及 120 s 内穿越各象限平台相应位置的次数(记忆潜伏期),比较各组潜伏期,评价大鼠学习记忆功能。

1.4 刚果红染色 行为学实验结束后,大鼠麻醉后处死,取海马组织及皮质,中性甲醛溶液固定,厚度 5 μ m 石蜡切片常规脱蜡至水(50 $^{\circ}$ C,二甲苯 I、二甲苯 II 各 25 min;100%、95%、90%、80%、75%乙醇、蒸馏水依次各 5 min)。苏木精染色液浸染 2 min,0.5%盐酸乙醇液分化 2 s,自来水充分冲洗,刚果红染色液中浸染 25 min,无水乙醇迅速脱水 2 次,二甲苯透明,中性树胶封固,晾干。

1.5 酶联免疫吸附(ELISA)检测 CREB、pCREB 和 A β 大鼠麻醉后处死,在冰台上迅速分离大鼠一侧

的海马和皮质,按每克脑质量 2.5 ml 加入相当体积的冰生理盐水,用匀浆器将组织研磨,然后在冰浴下超声波粉碎制成匀浆,4℃下10 000×g离心 10 min,取上清液。严格按照 CREB、pCREB 与 Aβ ELISA 说明书步骤进行。

1.6 RT-PCR 检测大鼠脑组织 CREB 及 pCREB 的表达 行为学实验结束后,提取各组大鼠额顶叶皮质和海马组织总 RNA 并定量,用 DNA 酶 I 处理总 RNA 以去除 DNA 污染,各实验组取等量的 RNA 逆转录后进行 PCR。CREB、pCREB 的 PCR 引物序列见表 1,由北京奥科生物科技有限公司设计合成。将 5 μl PCR 扩增产物在 2% 的琼脂糖凝胶上进行电泳,电压一般为 70~80 V。电泳完毕后,取出凝胶在紫外灯下观察结果并照相。结果用 Quantity One-4.4.0 软件进行定量分析,以目的基因与 β-actin 条带平均光密度(D)比值表示目的基因 mRNA 的相对表达量。

1.7 Western 印迹检测大鼠脑组织 CREB、pCREB 含量 大鼠脑组织(海马及额顶叶皮质),按 10 ml/g 的比例加入全细胞裂解液(Tris-HCl 50 mmol/L,

pH 7.5,EGTA 2 mmol/L,DTT 2 mmol/L,10 g/L Triton X-100,1 g/L SDS,0.2 g/L NaN₃,100 mg/L PMSF,1 mg/L aprotinin,PMSF 和 aprotinin 临用前加入),组织经匀浆、超声破碎后,用 BCA 法进行蛋白定量。10%的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,上样量为 28 μg。电泳条件:4℃,电流 20~30 mA。电泳结束后,进行蛋白质转膜。转膜条件:采用孔径为 0.22 μm 的硝酸纤维素(NC)膜,4℃,电流 400 mA,转膜 3 h。Western 印迹杂交步骤如下:10%脱脂牛奶封闭 NC 膜 1 h,TYBS(20 mmol/L Tris-HCl,pH 7.5;0.15 mmol/L NaCl;0.05% Tween 20)漂洗 3 次,每次 10 min,再将 NC 膜与辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1:5 000)杂交反应 1 h。最后用 TTBS 漂洗 NC 膜 3 次,每次 10 min,加入 ECL 试剂反应 5 min,保鲜膜包裹,暗室进行 X 线胶片曝光、显影和定影。然后同一张 NC 膜再与 β-actin(1:1 000)进行 Western 印迹杂交反应。条带经 Gel 凝胶成像分析系统扫描处理,计算单位 D 值和条带面积,将各实验点的总 D 值与对照组比较,得到相对百分数。

表 1 CREB 和 pCREB PCR 引物设计

Tab 1 Oligonucleotides used for reverse transcriptase-polymerase chain reaction

Target gene	Primer sequence(5'-3')	Size(bp)	Annealing temperature θ/℃	Cycle
β-actin	Forward;GTT CAA AAT GGA TCA CTA TGC C	245	58	33
	Reverse;GCC AGA TCA AAT CGG TGA AGT C			
CREB	Forward;TGC TAG CCA TTA CCA CGT ACC T	268	60	33
	Reverse;CAG CAG GCA TGG CTC ATG ACG G			
pCREB	Forward;AAA TTC AGC TGC AGT GGG TCC	272	59	32
	Reverse;TCC ATA GAA CCT TCC AGA CCG			

CREB;cAMP response element binding protein; pCREB;phosphorylated CREB

1.8 统计学处理 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,全部数据采用 SPSS 11.0 软件包进行统计学处理,同一组内不同时间点的比较采用方差分析,两组之间同一时间点的比较采用 t 检验,One-way Pearson 线性相关分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 水迷宫、穿梭箱实验结果 结果(表 2)表明模型组有明显的学习、记忆障碍,学习记忆力和反应能力均下降。穿梭箱实验检测显示模型组大鼠的电击次数与正常对照组比较显著增加($P < 0.01$),主动逃避次数显著降低($P < 0.01$)。水迷宫实验结果显示模型组大鼠学习和记忆潜伏期时间显著延长

($P < 0.01$),模型组各组间大鼠行为学的检测结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 刚果红染色结果 正常对照组大鼠脑内见到轻微淀粉样物质沉着,与正常对照组比较,模型组大鼠淀粉样物质沉着明显,组织与胞质中均有红染(图 1)。

2.3 Aβ40/42 ELISA 结果 ELISA 法检测结果显示模型组脑内 Aβ40 水平明显增高,从正常对照组的(64.13 ± 6.76) pg/mg 升至模型组的(86.43 ± 7.03) pg/mg,差异具有统计学意义($P < 0.001$);Aβ42 也明显升高,从正常对照组的(67.43 ± 5.12) pg/mg 升至(89.45 ± 5.28) pg/mg,差异具有统计学意义($P < 0.001$);模型组各组间差异无统计学意义。

表 2 各组大鼠穿梭实验电击次数和主动逃避次数及学习和记忆潜伏时间

Tab 2 Results of shuttle box and Morris water maze test of rats in different groups

($n=6, \bar{x} \pm s$)

Group	Times of electric shock f/min^{-1}	Times of escape f/min^{-1}	Latency of study t/s	Latency of memory t/s
N	65.2 ± 7.5	48.5 ± 7.7	70.5 ± 8.1	53.8 ± 7.7
M4	102.4 ± 8.2**	26.2 ± 7.9**	92.2 ± 8.6**	78.8 ± 6.9**
M6	104.4 ± 6.8**	25.5 ± 6.3**	90.3 ± 8.3**	76.8 ± 5.4**
M8	103.1 ± 9.6**	27.7 ± 8.3**	92.3 ± 7.9**	78.1 ± 7.5**

** $P < 0.01$ vs normal control group

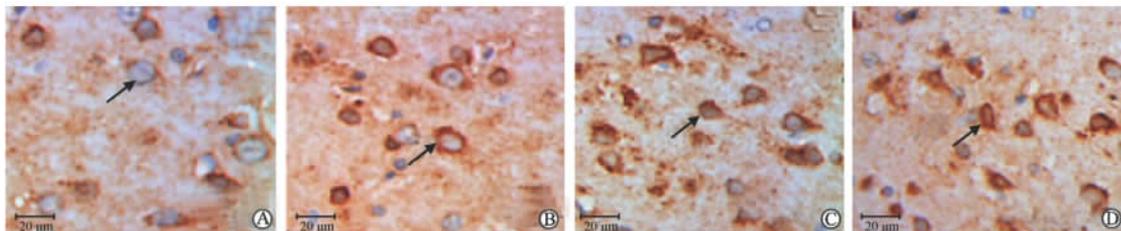


图 1 刚果红染色观察脑内海马组织淀粉样物质沉积(箭头所示)

Fig 1 Observation of amyloid plaque in hippocampus with Congo red staining(arrows)

A: Normal control group; B: 4-week model group; C: 6-week model group; D: 8-week model group

直线相关分析结果显示 ELISA 法测量 $A\beta_{40}$ 水平与穿越 D 象限平台次数呈正相关($r=0.426, P < 0.05$), ELISA 法测量 $A\beta_{42}$ 水平与穿越 D 象限平台次数亦呈正相关($r=0.292, P < 0.05$), 即 $A\beta$ 的变化和认知功能损伤程度正相关。

2.4 CREB 检查结果 Western 印迹和 ELISA 结果均显示模型组大鼠脑组织内 CREB 显著降低。ELISA 法: 从正常对照组的(33.26 ± 5.17) g/mg 降至模型组的(26.64 ± 5.81) g/mg, 差异具有统计学意义($P < 0.001$)。Western 印迹法: D 值从正常对照组的 1.32 ± 0.26 降至 0.68 ± 0.31 , 差异具有统计学意义($P < 0.001$, 图 2A)。RT-PCR 检测大鼠脑组织 CREB mRNA 的表达水平与蛋白质表达水平结果一致, 模型组与

正常对照组比较 CREB 表达明显降低($P < 0.01$, 图 2B)。模型组各组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

直线相关分析结果显示 CREB 的 Western 印迹法 D 值与穿越 D 象限平台次数呈正相关($r=0.312, P=0.0045$), ELISA 法测量 CREB 水平与穿越 D 象限平台次数亦呈正相关($r=0.434, P=0.0038$), CREB 的降低程度与认知功能的损伤程度正相关, 且 $A\beta_{40/42}$ 与 CREB 直线相关分析结果显示 $A\beta_{40/42}$ 与 CREB 具有负相关性, ELISA 法测量 CREB 与 $A\beta_{40}$ 呈负相关性($r=-0.326, P=0.0065$), CREB 水平与 $A\beta_{42}$ 亦呈负相关性($r=-0.321, P=0.0054$)。因此, 我们推测 CREB 表达增高可以降低 $A\beta$ 表达, 改善神经认知功能的损伤。

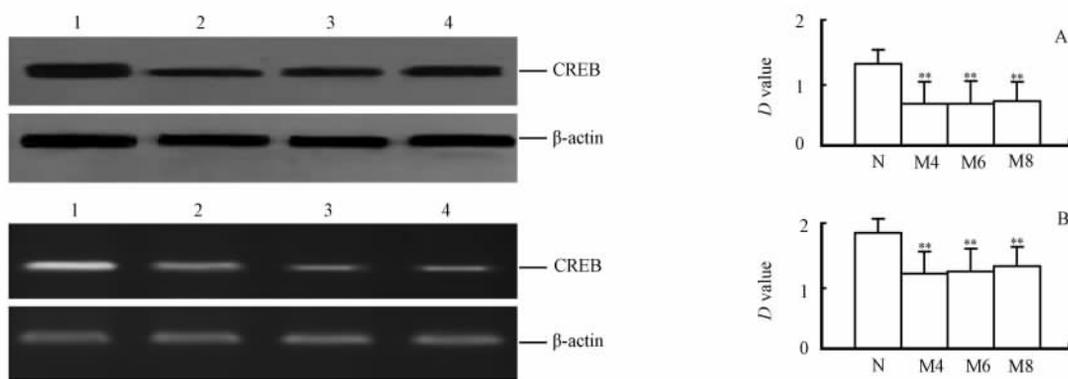


图 2 大鼠脑组织 CREB 蛋白(A)及基因(B)的表达

Fig 2 Expression of CREB prtotein(A) and mRNA(B) in hippocampus

1: Normal control group; 2: 4-week model group; 3: 6-week model group; 4: 8-week model group. ** $P < 0.01$ vs normal control group; $n=6, \bar{x} \pm s$

2.5 pCREB 检测结果 pCREB 检测结果显示与 CREB 表达结果具有一致性。Western 印迹和 ELISA 法结果均显示模型组大鼠脑组织内 pCREB 显著增高,ELISA 法从正常对照组的 (28.43 ± 5.45) pg/mg 降至模型组的 (21.23 ± 4.13) pg/mg, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。Western 印迹法 *D* 值从正常对照组的 1.64 ± 0.23 降至模型组的 0.78 ± 0.26 (图 3A), 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。RT-PCR 检测大鼠脑组织 pCREB mRNA 的表达水平与蛋白质表达水平结果一致,模型组与正常对照组比较 pCREB 表达明显降低 (图 3B), 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。模型组各組间差异

无统计学意义 ($P > 0.05$)。

直线相关分析结果显示 pCREB 的 Western 印迹法 *D* 值与穿越 D 象限平台次数正相关 ($r = 0.235, P = 0.0045$), ELISA 法测量 pCREB 水平与穿越 D 象限平台次数亦呈正相关 ($r = 0.332, P = 0.0037$), pCREB 表达和认知功能损伤程度呈负相关,且 Aβ40/42 与 pCREB 直线相关分析结果显示 Aβ40/42 与 pCREB 负相关,ELISA 法测量 pCREB 与 Aβ40 负相关性 ($r = -0.447, P = 0.0044$), ELISA 法测量 pCREB 水平与 Aβ42 亦呈负相关 ($r = -0.357, P = 0.0035$)。因此,可以推测 pCREB 表达降低可增高 Aβ 表达。

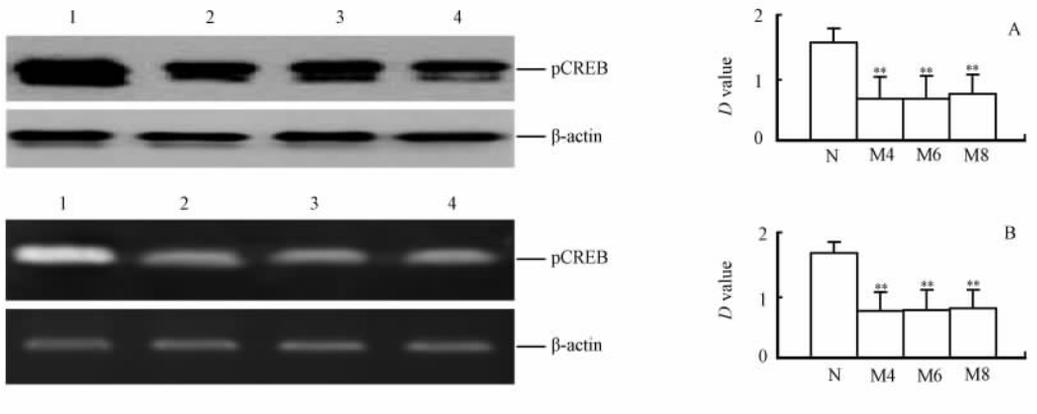


图 3 大鼠脑组织 pCREB 蛋白 (A) 及基因的 (B) 表达

Fig 3 Expression of pCREB protein (A) and gene (B) in hippocampus

1: Normal control group; 2: 4-week model group; 3: 6-week model group; 4: 8-week model group. * * $P < 0.01$ vs normal control group; $n = 6, \bar{x} \pm s$

3 讨论

本研究采用 STZ 建立大鼠糖尿病动物模型检测糖尿病大鼠脑组织 Aβ, 发现 Aβ 在糖尿病大鼠脑组织中的表达均较正常对照组增高, 糖尿病大鼠 Aβ 表达均在相对固定水平, 而且 Aβ 脑组织内表达水平与认知功能损伤正相关。所以, 糖尿病糖代谢异常增强 Aβ 蛋白表达可能参与了 AD 的发病机制。行为学检测显示模型组大鼠有显著的认知功能障碍, 刚果红染色阳性, 但未出现老年斑和神经纤维缠结等 AD 特征性的病理组织学改变, 所以, 本研究推测糖尿病糖代谢异常只是增强 Aβ 表达参与了 AD 的发病机制, 但不是 AD 的唯一因素, 还需与其他促发 AD 的因素联合参与 AD 的病理生理过程。

记忆相关蛋白 CREB 是一种真核生物细胞核内的蛋白质, 它的功能是调节基因的转录。通过 cAMP 介导的信号转导系统, cAMP 与蛋白激酶 A

结合, 进入细胞核内使 CREB 磷酸化, 磷酸化的 CREB 可激活 CREB 调控的基因, 表达产生长时记忆所需的蛋白质, 在长时记忆中起重要作用。通过对 CREB 缺失的突变型小鼠的研究发现其长时程记忆活动明显损伤, 而短时记忆则不受影响。同时用破坏 CREB 的药物特异性地阻断长时程记忆的形成。信息在神经系统内的长期储存需要激活新基因表达, 这与 CREB 调节转录的活性和它的磷酸化作用密切相关。还提示 CREB 是短时记忆向长时记忆转换的枢纽。在脑内 CREB 起转录因子的作用, 通过调控其他基因的转录而影响学习记忆过程^[7-9]。本研究通过行为学检测显示糖尿病模型组大鼠有显著的认知功能障碍, 且 CREB 和 pCREB 表达显著下调, 提示有皮质海马区新记忆蛋白的合成减少, 所以, 本研究推测糖尿病糖代谢异常不仅增强了 Aβ 表达参与糖尿病的认知功能损伤, 而且也通过下调记忆相关蛋白 CREB 的表达参与了糖尿病认知功能

损伤发病进程。

磷酸化是细胞信号通路中转录因子活性调控的主要机制。CREB是最早证实由磷酸化调控其活性的转录因子之一,在脑内所有细胞中均有表达,定位于核内并在多种信号分子诱导下调控大量下游靶基因的表达。由于在多种细胞及动物模型中证实CREB磷酸化在学习记忆过程中发挥重要的作用,CREB磷酸化成为近年来相关领域的研究热点。CREB可在不同信号通路的激酶作用下实现Ser133磷酸化而活化,其中多种通路已被证实可磷酸化CREB并在学习记忆过程中起重要作用。其中研究最为透彻的是cAMP-PKA通路对CREB的磷酸化,膜上的G蛋白偶联受体与胞外递质等配体结合后活化,刺激腺苷酸环化酶(adenylyl cyclases, AC)增加胞内cAMP浓度,4分子cAMP与PKA结构亚基上的位点结合,具有催化活性的PKA调节亚基解离并进入核内,磷酸化CREB从而启动下游靶基因的转录^[10-12]。有研究^[13]证实在AD中存在PKA-CREB信号通路功能障碍,在AD发病中起核心作用的 $A\beta$ 在低浓度即可引起PKA-CREB信号通路功能异常,CREB磷酸化水平下降,引起与学习记忆功能密切相关的海马CA1区长时程增强(long-term potentiation, LTP)被抑制。本研究显示 $A\beta$ 在糖尿病大鼠脑组织中表达增高,且表达水平与认知功能损害正相关,与CREB和pCREB表达水平负相关,所以,糖尿病代谢异常后 $A\beta$ 的表达增高可能是CREB和pCREB表达水平下降的直接原因之一, $A\beta$ 的表达增高与CREB和pCREB表达下降共同参与了糖代谢紊乱后的认知功能损害过程。

总之,糖代谢紊乱导致的神经细胞功能紊乱在神经变性疾病中的作用备受关注,AD中神经元损伤作用也与此有关。 $A\beta$ 在糖尿病大鼠脑组织中的表达增高,糖代谢紊乱后记忆相关蛋白CREB的生物活性明显降低,这些资料也为糖代谢紊乱后引发的 $A\beta$ 表达升高及认知功能损伤的机制提供了临床干预证据。本研究只是揭示了 $A\beta$ 在糖尿病大鼠脑组织中的表达增高与记忆相关蛋白CREB表达降低,对于糖代谢紊乱引发的 $A\beta$ 表达升高与记忆相关蛋白CREB表达降低的因果关系机制仍不明确,其具体作用机制有待进一步揭示。

[参考文献]

- [1] 赵路清,王鲁宁. 糖尿病与阿尔茨海默病关系的基础研究进展[J]. 中华内科杂志,2007,46:1043-1045.
- [2] Lopez-Lopez C, Dietrich M O, Metzger F, Loetscher H, Torres-Aleman I. Disturbed cross talk between insulin-like growth factor I and AMP-activated protein kinase as a possible cause of vascular dysfunction in the amyloid precursor protein/presenilin 2 mouse model of Alzheimer's disease[J]. J Neurosci, 2007, 27:824-831.
- [3] Risner M E, Saunders A M, Altman J F, Ormandy G C, Craft S, Foley I M, et al. Efficacy of rosiglitazone in a genetically defined population with mild-to-moderate Alzheimer's disease[J]. Pharmacogenomics J, 2006, 6:246-254.
- [4] Steen E, Terry B M, Rivera E J, Cannon J L, Neely T R, Tavares R, et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease—is this type 3 diabetes[J]? J Alzheimers Dis, 2005, 7:63-80.
- [5] Lester-Coll N, Rivera E J, Soscia S J, Doiron K, Wands J R, de la Monte S M. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis, 2006, 9:13-33.
- [6] Gonzalez G A, Montminy M R. Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133[J]. Cell, 1989, 59:675-680.
- [7] Warburton E C, Glover C P, Massey P V, Wan H, Johnson B, Bienemann A, et al. cAMP responsive element-binding protein phosphorylation is necessary for perirhinal long-term potentiation and recognition memory[J]. J Neurosci, 2005, 25:6296-6303.
- [8] Perazzona B, Isabel G, Preat T, Davis R L. The role of cAMP response element-binding protein in drosophila long term memory[J]. J Neurosci, 2004, 24:8823-8828.
- [9] Moncada D, Viola H. Phosphorylation state of CREB in the rat hippocampus: a molecular switch between spatial novelty and spatial familiarity[J]? Neurobiol Learn Mem, 2006, 86:9-18.
- [10] Meyer C J, Alenghat F J, Rim P, Fong J H, Fabry B, Ingber D E. Mechanical control of cyclic AMP signalling and gene transcription through integrins[J]. Nat Cell Biol, 2000, 2:666-668.
- [11] Kang H, Sun L D, Atkins C M, Soderling T R, Wilson M A, Tonegawa S. An important role of neural activity-dependent CaMKIV signaling in the consolidation of long-term memory[J]. Cell, 2001, 106:771-783.
- [12] Wu X, McMurray C T. Calmodulin kinase II attenuation of gene transcription by preventing cAMP response element binding protein(CREB) dimerization and binding of the CREB-binding protein[J]. J Biol Chem, 2001, 276:1735-1741.
- [13] Gong B, Vitolo O V, Trinchese F, Liu S, Shelanski M, Arancio O. Persistent improvement in synaptic and cognitive functions in an Alzheimer mouse model after rolipram treatment[J]. J Clin Invest, 2004, 114:1624-1634.

[本文编辑] 尹 茶