

苦荞麦总黄酮对 2 型糖尿病大鼠海马 APP 及 GSK-3 β 表达影响的研究

刘博通¹, 王 钰¹, 赵婵娟¹, 郭 妍¹, 冯晓帆^{2*}

¹辽宁中医药大学研究生学院;²辽宁中医药大学生物化学与分子生物学教研室, 沈阳 110847

摘要: 2 型糖尿病能导致以糖原合成酶激酶(GSK-3 β)激活使 tau 蛋白过度磷酸化、 β -淀粉样前体蛋白(APP)大量分解生成 β -淀粉样蛋白(A β)及神经元的炎症反应为特征的糖尿病脑病。苦荞麦总黄酮为苦荞麦提取物,能够降低血糖并改善糖耐量。我们通过 RT-PCR 及 Western Blot 技术检测经 STZ 法造模后 Wistar 大鼠海马组织 GSK-3 β mRNA 及 APP 表达情况,观察苦荞麦总黄酮对 2 型糖尿病大鼠海马病理代谢产物的影响,结果显示其显著抑制了二者的表达($P < 0.05$)。该项研究说明苦荞麦总黄酮能很好的降低 2 型糖尿病大鼠海马组织病理代谢产物,预防和治疗糖尿病脑病。

关键词: 糖尿病脑病; 2 型糖尿病; 苦荞麦总黄酮; β -淀粉样前体蛋白(APP); 糖原合成酶激酶(GSK-3 β)

中图分类号: R961

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.S.003

Effects of Total Flavonoids of Tartary Buckwheat on the Expression of APP and GSK-3 β of Hippocampus in Type 2 Diabetes Mellitus Rats

LIU Bo-tong¹, WANG Yu¹, ZHAO Chan-juan¹, GUO Yan¹, FENG Xiao-fan^{2*}

¹Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Graduate School; ²Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Department of Biochemistry and Molecular biology, Shenyang 110847, China

Abstract: Type 2 Diabetes Mellitus can be expected to result in such diabetic encephalopathy characterized by tau hyperphosphorylation. It can cause the over expression of β -amyloid protein (A β) derived from numerously decomposed β -amyloid precursor protein (APP). In addition it can cause the neuronal inflammatory responses. Total Flavonoids of Tartary Buckwheat were a group of tartar buckwheat extract that reduces blood sugar and improves glucose tolerance. We detected the expression of GSK-3 β mRNA and APP in hippocampus of Wistar rats modeled by STZ by the methods of RT-PCR and Western Blot. To observe the effects of Total Flavonoids of Tartary Buckwheat on Pathological Metabolites of Hippocampus in Type 2 Diabetic Rats. The results showed that it significantly inhibited the expression of both materials ($P < 0.05$). The study shows that total flavonoids of tartar buckwheat can reduce the pathological products in the hippocampus of rats with Diabetic Mellitus, prevent and treat diabetic encephalopathy.

Key words: diabetic encephalopathy; diabetes mellitus; total flavonoids of tartary buckwheat; β -amyloid precursor protein (APP); glycogen synthase kinase (GSK-3 β)

糖尿病是一种以体内糖脂代谢紊乱,血糖水平持续增高为特征的代谢性疾病,其中最常见的是 2 型糖尿病。2 型糖尿病主要因胰岛素抵抗和胰岛素相对分泌不足而发病^[1]。“糖尿病脑病”的概念于 1965 年由 Nielon 首次提出,是一种存在神经电生理及影像学异常改变的慢性进展性认知功能障碍^[2]。研究表明,2 型糖尿病患者海马糖原合成酶激酶

(Glycogen Synthase Kinase, GSK-3 β) 活性显著升高^[3], β -淀粉样前体蛋白(β -amyloid Precursor Protein, APP)出现代谢异常及过量表达^[4]。

苦荞麦(*Fagopyrum tataricum Gaertn*)是蓼科双子叶植物。据《本草纲目》记载,苦荞麦性味苦、平、寒,具有实肠胃,益气力,续精神,利耳目,练五脏滓秽,降气宽肠,磨积滞,消热肿风痛,除万浊等作用。苦荞麦总黄酮是苦荞麦的提取物,其主要成分为 2-苯基色原酮类化合物,如芦丁、茨菲醇等黄酮类物质,具有降低血脂、血糖,改善糖耐量等多种生物活性^[5]。

收稿日期:2017-09-05 接受日期:2017-11-28

基金项目:辽宁省科学技术计划(2013226012);辽宁省大学生创新创业训练计划(201510162000046)

* 通讯作者 Tel:86-24-31207093; E-mail:taxi1977@126.com

本实验采用 STZ 诱导糖尿病大鼠模型,观察苦荞麦总黄酮对大鼠海马 APP 及 GSK-3 β mRNA 表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

动物:选用 5 周龄雄性 Wistar 大鼠 78 只(No. 211002300009706)辽宁长生生物技术有限公司,体重 180 ± 10 g,其中随机选取 5 只大鼠作为空白组,标准饲料喂养,其余大鼠高脂饲料喂养(沈阳市于洪区前民动物实验饲料厂提供)。大鼠饲养于 SPF 级动物实验室,环境温度 $22 \sim 23$ °C,湿度 50% ~ 70%。

实验仪器及设备: ACCU-CHEK 血糖仪(GC11931924)罗氏诊断产品有限公司;ACCU-CHEK 血糖试纸(24633831 等)罗氏诊断产品有限公司。

主要试剂及药品:链脲佐菌素(1122F032) solarbio;苦荞麦总黄酮(显色分光法测定药物样品中苦荞麦总黄酮浓度为 $991.65 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)日本三益制药株式会社;罗格列酮(成都恒瑞制药有限公司);二甲双胍(中美上海施贵宝制药有限公司);胰岛素 ELISA 试剂盒, A β 1-42 ELISA 试剂盒(201608) SRB 北京鼎国提供;RT-PCR 试剂盒(AK5701 等);引物(CHPA194);SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(20151222) Solarbio;蛋白提取试剂盒(20160622), BCA 蛋白含量检测试剂盒(20160629)凯基生物;一抗 APP(0002)、GAPDH(0010) CST 公司;HRP 标记二抗(0026) CST 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及给药

78 只雄性 wistar 大鼠(No. 211002300009706)辽宁长生生物技术有限公司,体重 180 ± 10 g,饲养于干燥、通风、安静的环境中,适应性喂养 1 周后,随机分出空白组 6 只,高脂组 72 只。空白组给予标准饲料喂养,高脂组给予高脂饲料喂养。高脂饲料配方:($\cdot \text{kg}^{-1}$) 玉米淀粉 359.235 g、酪蛋白 200 g、大豆油 40 g、猪油 100 g、蔗糖 200 g^[6]。饲养 12 周后,空腹状态下测量血糖、血浆胰岛素水平(ELISA),计算胰岛素敏感指数($\text{ISI} = \text{Ln}(1/\text{FINS} * \text{FBG})$), FINS 为空腹胰岛素 FPG 为空腹血糖),空白组和高脂组进行对照,确认建立胰岛素抵抗模型。

所有大鼠禁食 16 h,高脂组大鼠于次日腹腔注射链脲佐菌素($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,溶于 0.1 mmol/L 的柠檬酸缓冲液, pH = 4.2)^[6],空白组注射等量等浓度

柠檬酸缓冲液,1 次/w,连续腹腔注射 2 次。2 w 后测量空腹血糖,糖尿病判断标准:空腹血糖大于 $7.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[7]。随机分为 5 组:2 型糖尿病模型组(14 只),苦荞麦总黄酮高剂量组(14 只),苦荞麦总黄酮中剂量组(14 只),苦荞麦总黄酮低剂量组(14 只,造模过程中死亡 2 只),西药组(二甲双胍合并罗格列酮)。苦荞麦总黄酮高中低剂量组及西药组分别灌胃苦荞麦总黄酮 $200 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 、苦荞麦总黄酮 $100 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 、苦荞麦总黄酮 $50 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$,二甲双胍 $100 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$,罗格列酮 $0.8 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$;上述动物于 19 周末,剪尾部取血,测定血糖及胰岛素敏感指数,二氧化碳窒息处死后于冰上取所有大鼠海马组织,检测 GSK-3 β mRNA 及 APP 的相对表达情况。

1.2.2 检测指标及方法

用血糖仪测定大鼠即时血糖,大鼠胰岛素酶联免疫分析法(ELISA)测定大鼠血清胰岛素水平,根据文献方法计算胰岛素敏感指数公式: $\text{ISI} = \text{Ln}(1/\text{FINS} * \text{FBG})$ (FINS 空腹胰岛素;FPG:空腹血糖)^[6]。RT-PCR 法检测大鼠海马 GSK-3 β mRNA 的相对表达情况:取 100 mg 新鲜大鼠海马组织,1 ml-Trizol 试剂匀浆裂解细胞,加入 0.2 ml 氯仿混匀后静置,12000 rpm 离心 15 min 以抽提 RNA。转移水相后加等体积异丙醇,混匀静置后离心 10 min,观察 RNA 沉淀。使用 1 ml 由 DEPC 水配成的 75% 乙醇,混匀静置后离心 5 min 完成 RNA 的洗涤。倒掉乙醇后加 30 μL DEPC 水溶解。RNA 溶液稀释后,用紫外分光光度计测定 260 和 280 nm 的吸光度,并计算 RNA 的浓度和纯度。按逆转录试剂盒说明进行操作, GSK-3 β 上游引物:5'-TCGTCATCGATGTGTGGTC-3', 下游引物:5'-TTGTCCAGGGGTGAGCTTTG-3',合成长度:202 bp,退火温度:60 °C,反转录反应液为:Mgcl₂ 2 μL ,10 * RT Buffer 1 μL , ddH₂O 3.75 μL , dNTP Mix 1 μL , RNase inhibitor 0.25 μL , AMV Reverse Transcriptase XL 0.5 μL ,上下游引物各 0.5 μL ,模板 RNA 1 μL ,总反应体系为 10 μL ,进行反转录反应。PCR 反应液为:5 * PCR Buffer 10 μL ,灭菌蒸馏水 28.75 μL , TaKaRa Ex Taq HS 0.25 μL , F-1 Primer 0.5 μL ,灭菌蒸馏水 0.5 μL ,总反应体系为 40 μL 。PCR 扩增条件为:94 °C 预变性 3 min,94 °C 变性 30 s,60 °C 复性 30 s,72 °C 延伸 1 min,进行 30 个循环。

使用 Western-Blot 法检测大鼠海马中 APP 的相

对表达情况:取 100 mg 海马组织剪碎,用超声波碎仪充分匀浆裂解,裂解液 4 °C 12000 rpm 离心 5 min, 转移上清液,提取总蛋白,BAC 法进行蛋白定量。上样量为每孔 20 μ L, M 孔放 Marker 5 μ L, 采用 SDS-PAGE 凝胶(10%)电泳,电泳过程中配转膜液准备 NC 膜,取胶后转膜,冰盆中湿转,用丽春红染 5-10 min 后(拍照),用纯水冲洗条带出现后拍照,再用纯水冲洗。倒掉纯水后加 5% 封闭液,放入水浴箱 37 °C 缓慢震荡 1.5 h 进行封闭。倒掉封闭液, TBST 于摇床上洗 3 次(3 min/次)。一抗(1:1000)于 4 °C 孵育过夜,回收一抗后,膜用 TBST 于摇床上洗 3 次(10 min/次),加入二抗(1:2000)后,37 °C 水浴 1 h,倒掉二抗。将发光液试剂盒中 A 液和 B 液按 1:1 比例于 EP 管中混匀,管外包锡纸避光待用,按每一条膜用 200 μ l 配置。使用电脑软件及凝胶成像仪检测蛋白条带灰度,拍照曝光进行统计分析。

1.2.3 统计学分析

所有测定结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用统计学软件 SPSS14.0 进行方差分析, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果

饲养 12 w 后各组大鼠胰岛素敏感指数变化情况见表 1,高脂组胰岛素敏感指数与对照组相比显著下降($P < 0.05$)。

给予苦荞麦总黄酮后各组血糖水平及胰岛素敏感指数的变化见表 2,模型组与对照组比较后发现血糖水平提高,存在显著性差异($P < 0.05$);苦荞麦总黄酮低、中、高剂量组、西药组与模型组比较后显示血糖水平下降,有显著性差异($P < 0.05$)。模型组与对照组相比胰岛素敏感指数下降,有显著性差异($P < 0.05$);苦荞麦总黄酮中、高剂量组、西药组与模型组比较后发现胰岛素敏感指数提高,有显著性差异($P < 0.05$)。

各组大鼠海马组织中 GSK-3 β mRNA 与 GAPDH mRNA 的相对表达情况见表 3,图 1,与对照组比较,模型组大鼠海马组织中 GSK-3 β mRNA 表达显著提高($P < 0.05$);苦荞麦总黄酮中、高剂量组、西药组和模型组比较后发现,GSK-3 β mRNA 表达明显下降($P < 0.05$)。

表 1 饲养 12 w 后各组大鼠胰岛素敏感指数变化情况($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Changes of ISI in Rats after Feeding for 12 weeks($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Group	胰岛素敏感指数 ISI
对照组 Control	0.0185 \pm 0.00614
高脂饲料组 1 号笼 Highfat diet cage-1	0.0101 \pm 0.00412 ¹⁾
高脂饲料组 2 号笼 Highfat diet cage-2	0.0097 \pm 0.00407 ¹⁾
高脂饲料组 3 号笼 Highfat diet cage-3	0.0125 \pm 0.00557 ¹⁾
高脂饲料组 4 号笼 Highfat diet cage-4	0.0121 \pm 0.00498 ¹⁾
高脂饲料组 5 号笼 Highfat diet cage-5	0.0117 \pm 0.00450 ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compare with control¹⁾ $P < 0.05$.

表 2 给予苦荞麦总黄酮后各组大鼠血糖与胰岛素敏感指数变化情况($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Changes of Blood Glucose and ISI in Rats after Tartary Buckwheat Total Flavonoids($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Group	血糖水平 Glucose level($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	胰岛素敏感指数 ISI
对照组 Control	4.286 \pm 0.302	0.0200 \pm 0.00196
模型组 Model	28.957 \pm 0.439 ¹⁾	0.0038 \pm 0.00035 ¹⁾
苦荞麦总黄酮低剂量组 Total Flavonoids of Tartary Buckwheat-L	19.343 \pm 0.458 ²⁾	0.0041 \pm 0.00040
苦荞麦总黄酮中剂量组 Total Flavonoids of Tartary Buckwheat-M	5.929 \pm 0.431 ²⁾	0.0154 \pm 0.00133 ²⁾
苦荞麦总黄酮高剂量组 Total Flavonoids of Tartary Buckwheat-H	8.857 \pm 0.355 ²⁾	0.0112 \pm 0.00074 ²⁾
西药组 Metformin and Rosiglitazone	4.871 \pm 0.263 ²⁾	0.0186 \pm 0.00059 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

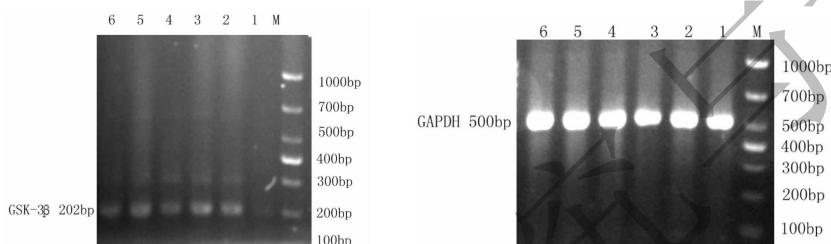
Note: Compare with control¹⁾ $P < 0.05$, Compare with model¹⁾ $P < 0.05$.

表3 各组大鼠海马组织中 GSK-3 β mRNA 相对表达 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 3 The expression of GSK-3 β mRNA of hippocampus in each groups ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别 Group	GSK-3 β 与 GAPDH mRNA 表达光密度比值 GSK-3 β and GAPDH mRNA expression optical density ratio
对照组 Control	0.0878 \pm 0.00669
模型组 Model	0.4178 \pm 0.02903 ¹⁾
苦荞麦总黄酮低剂量组 Total Flavonoids of <i>Tartary Buckwheat</i> -L	0.4604 \pm 0.03119
苦荞麦总黄酮中剂量组 Total Flavonoids of <i>Tartary Buckwheat</i> -M	0.2604 \pm 0.01886 ²⁾
苦荞麦总黄酮高剂量组 Total Flavonoids of <i>Tartary Buckwheat</i> -H	0.3444 \pm 0.03018 ²⁾
西药组 Metformin and Rosiglitazone	0.1978 \pm 0.01385 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compare with control¹⁾ $P < 0.05$, Compare with model¹⁾ $P < 0.05$.

图1 各组大鼠海马组织中 GSK-3 β mRNA 和 GAPDH mRNA 表达Fig. 1 The expression of GSK-3 β mRNA and GAPDH mRNA of hippocampus of rats in each group

注: M: Marker; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: 苦荞麦总黄酮低剂量组; 4: 苦荞麦总黄酮中剂量组; 5: 苦荞麦总黄酮高剂量组; 6: 西药组

Note: M: Marker; 1: Control; 2: Model; 3: Total Flavonoids of *Tartary Buckwheat*-L; 4: Total Flavonoids of *Tartary Buckwheat*-M; 5: Total Flavonoids of *Tartary Buckwheat*-H; 6: Metformin and Rosiglitazone

各组大鼠海马组织中 APP 的相对表达情况见图 2, 表 4, 模型组与对照组比较发现海马组织中 APP 表达增加, 有显著性差异 ($P < 0.05$); 苦荞麦总黄酮组、西药组与模型组比较, 海马组织 APP 表达减少, 有显著性差异 ($P < 0.05$)。

3 讨论

近年来研究提示, 2 型糖尿病大鼠海马 GSK-3 β 活性升高、APP 水平增加, 呈现典型的“AD 样”改变^[4]。这与此类患者常出现记忆力减退, 语言表达能力、理解能力下降, 神情淡漠及行动迟缓等症状相符合^[8]。基于这些结论我们认为 GSK-3 β 与 APP 可作为 2 型糖尿病大鼠糖尿病相关脑神经病变的特定蛋白被用于相关药物研究。苦荞麦能治疗多种疾病, 古代医书记载其可以治疗咳嗽、痢疾、水肿、喘息、烧伤、胃痛等。现代医学研究表明, 其籽粒、根、茎、叶及花中含有大量的槲皮素、芦丁、山奈酚-3-芸香糖甙和槲皮素-3-葡萄糖芸香糖甙等黄酮类化合物, 能够降低血糖、血脂、抗氧化、清除自由基及增强免疫力, 能够治疗高血压、高血脂、糖尿病、冠心病、中风

等^[5]。一些中药有效成分能够对糖尿病患者脑神经起到保护作用, 如黄芪多糖、银杏叶提取物、红景天苷等^[9], 但未见苦荞麦总黄酮对糖尿病脑神经作用的报道。本研究建立了 2 型糖尿病大鼠模型, 以苦荞麦总黄酮为试样探讨其对 2 型糖尿病大鼠海马 GSK-3 β mRNA 及 APP 表达的影响。结果表明, 苦荞麦总黄酮能够显著降低糖尿病大鼠血糖, 抑制海马组织 GSK-3 β mRNA 及 APP 的表达, 其给药剂量为 $100 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 时效果最为明显。

2 型糖尿病患者最重要的特征为胰岛素抵抗, 胰岛素抵抗可激活 GSK-3 β 导致 tau 蛋白过磷酸化形成神经元纤维缠结 (NFTs)^[3]。tau 蛋白的过度磷酸化是 AD 最早出现的病理表现^[10]。苦荞麦总黄酮能显著抑制 GSK-3 β mRNA 说明其具备改善胰岛素抵抗从而减少 NFTs 形成的作用。

糖尿病脑 AD 样改变的早期病变表现为 APP 聚集^[11,12]。APP 的聚集导致 A β 的大量产生^[13,14], A β 与认知水平下降相关^[15], 其大量聚集直接导致了神经元胰岛素抵抗, 从而加剧了脑 AD 样改变^[16]。近期研究表明, A β 作为固有免疫系统的一种重要抗菌

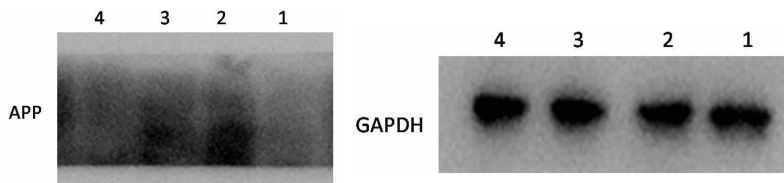


图 2 组大鼠海马组织中 APP 和 GAPDH 蛋白表达

Fig. 2 The expression of APP and GAPDH protein of hippocampus of rats in each group

注:1:对照组;2:模型组;3:苦荞麦总黄酮组;4:西药组

Note:1:Control;2:Model;3:Total Flavonoids of Tartary Buckwheat;4:Metformin and Rosiglitazone

表 4 各组大鼠海马组织中 APP 的相对表达 ($\bar{x} \pm s, n=4$)Table 4 Relative expression of APP in each groups ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别 Group	APP 与 GAPDH 蛋白表达光密度比值 APP and GAPDH protein expression optical density ratio
对照组 Control	10.9003 \pm 0.82806
模型组 Model	40.6878 \pm 1.12713 ¹⁾
苦荞麦总黄酮组 Total Flavonoids of Tartary Buckwheat	24.2151 \pm 0.82069 ²⁾
西药组 Metformin and Rosiglitazone	16.7560 \pm 0.91329 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。Note:Compare with control¹⁾ $P < 0.05$, Compare with model¹⁾ $P < 0.05$.

肽 (AMPs) 具有很强的抗菌作用。作为 APP 蛋白裂解后产生的 40-或 42 个氨基酸片段, $A\beta$ 能够有效的治疗受沙门氏菌感染的大鼠, 其沉积保护了受感染的脑组织^[17-19]。由此提示, 脑内感染或炎症可能为 APP 形成的使动因素, APP 分解生成过量 $A\beta$ 产生脑毒性可能是固有免疫系统失控的结果, 其产生的目的是保护脑组织免受各种炎症反应的损伤^[20]。苦荞麦总黄酮可能通过抑制炎症反应降低了海马 APP 表达, 进而降低 APP 产物所引起的神经元胰岛素抵抗。

综上所述, 苦荞麦总黄酮能够降低 2 型糖尿病大鼠血糖, 改善胰岛素抵抗, 清除糖尿病脑神经病理代谢产物。苦荞麦总黄酮改善胰岛素抵抗的方式可能是抗炎从而减少导致胰岛素抵抗的 APP 产生或直接作用于胰岛素信号转导通路, 这需要在今后的研究中加以确认。

参考文献

- Hu RM (胡仁明), Zhu XX (朱禧星). Practice of internal medicine 14th edition (实用内科学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013: 976-977.
- Kumar DK, Moir RD. The emerging role of innate immunity in Alzheimer's disease [J]. *Neuropsychopharmacol*, 2017, 42: 362-362.
- Yang Y (杨雁), Hu SH (胡蜀红), Zhang JH (张建华), et

al. Overtrogenic modification and its mechanism of Tau protein in Alzheimer's disease in obese and type 2 diabetic Rats [J]. *Prog Biochem Biophys* (生物化学与生物物理进展), 2006, 5: 458-464.

- Tang YX (唐燕霞), Xiao Q (肖谦), Xue YY (薛艳艳). β -amyloid protein and diabetic encephalopathy [J]. *Int J Geriatr* (国际老年医学杂志), 2011, 32: 218-222.
- Hu YB (胡一冰), Yang JD (杨敬东), Zou L (邹亮), et al. Pharmacological Study and Clinical Application of Tartary Buckwheat [J]. *J Hunan Univ: Nat Sci* (成都大学学报: 自科版), 2006, 4: 271-276.
- Xiang XS (向雪松). Study of type 2 diabetic rat model and its application in the valuation of hypoglycemic functional food [D]. Beijing: Chinese Center For Disease Control and Prevention (中国疾病预防控制中心), 2010.
- Kumar DK, Moir RD. The emerging role of innate immunity in Alzheimer's disease [J]. *Neuropsychopharmacol*, 2017, 42: 362-362.
- Kodl CT, Seaquist ER. Cognitive dysfunction and diabetes mellitus 1 [J]. *Endocr Rev*, 2008, 29: 494.
- Wang JS (王静舒), Chen Q (陈秋), Qiao MY (譙明燕). Advances in Research on Neuroprotective Effects of Herbs and its Extracts on Diabetic Encephalopathy [J]. *HuNan J TCM* (湖南中医杂志), 2015, 12: 191-194.