

# 黄连温胆汤对糖尿病大鼠海马胰岛素抵抗 和神经发生受损的改善作用

刘舟<sup>1</sup>, 李月碧<sup>2</sup>, 张卫华<sup>1\*</sup>, 刘华东<sup>1</sup>, 马世平<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 中国药科大学, 南京 211198)

**[摘要]** 目的:观察黄连温胆汤对糖尿病大鼠海马胰岛素抵抗和神经发生的作用。方法:通过高糖高脂饲料喂养 50 d 合并 1 次性 35 mg·kg<sup>-1</sup>链脲佐菌素(STZ)腹腔注射造成糖尿病大鼠模型。通过测定血糖,选取模型成功大鼠,随机分为空白,模型,二甲双胍(0.2 g·kg<sup>-1</sup>),小檗碱(0.2 g·kg<sup>-1</sup>),黄连温胆汤 3, 6, 12 g·kg<sup>-1</sup> 7 组,按相应剂量灌胃给药 30 d。测定大鼠口服葡萄糖耐量(OGGT),海马胰岛素(Ins)含量,胰岛素受体(InsR)和 $\beta$ -分泌酶(BACE1)mRNA 表达,苏木精-伊红(HE)染色观察海马齿状回(DG)区神经元细胞数目和变化。结果:给予 50 d 高脂饲料和 35 mg·kg<sup>-1</sup> STZ 后,糖尿病模型组与空白组大数相比,出现明显的 OGGT 受损( $P < 0.01$ ),海马 InsR mRNA 表达升高( $P < 0.01$ ),BACE1 表达降低( $P < 0.05$ ),DG 区神经元数目减少,细胞排列疏松;而给予二甲双胍(0.2 g·kg<sup>-1</sup>)组,小檗碱(0.2 g·kg<sup>-1</sup>)和黄连温胆汤 3, 6, 12 g·kg<sup>-1</sup>组的大鼠可以逆转这些现象( $P < 0.05, P < 0.01$ )。结论:黄连温胆汤能明显改善糖尿病大鼠受损的 OGGT,抑制海马 BACE1 表达,改善 DG 区神经元受损,其作用机制可能与增加海马 InsR 表达有关。

**[关键词]** 糖尿病; 胰岛素抵抗; 海马; 黄连温胆汤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0115-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015180115

## Effect of Huanglian Wendan Tang on Insulin Resistance and Neurogenesis in Hippocampus of Diabetic Rats

LIU Zhou<sup>1</sup>, LI Yue-bi<sup>2</sup>, ZHANG Wei-hua<sup>1\*</sup>, LIU Hua-dong<sup>1</sup>, MA Shi-ping<sup>2</sup> (1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Huanglian Wendan Tang (HLWDT) on insulin resistance and neurogenesis in hippocampus of diabetic rats. **Method:** The combined treatment of high-glucose-high-fat diet for 50 days and injection of 35 mg·kg<sup>-1</sup> streptozocin (STZ) was used to establish rat type 2 diabetic mellitus model. The successfully modeling rats were selected in the following trial based on blood glucose. Then, the modeling rats were allotted into 6 groups: model group, metformin (0.2 g·kg<sup>-1</sup>), berberine (0.2 g·kg<sup>-1</sup>), HLWDT (3, 6, 12 g·kg<sup>-1</sup>) respectively, and the drugs were given by gavage for 30 days except normal and model groups. Oral glucose tolerance test (OGGT) was performed. The release of insulin (Ins), expression of insulin receptors (InsR) and  $\beta$ -secretase (BACE1) mRNA were detected in hippocampus neuron. Finally, the number and morphology of neurons were observed by a hematoxylin and eosin (HE) staining of dentate gyrus (DG) region in hippocampus. **Result:** After treatment of high-glucose-high-fat diet and 35 mg·kg<sup>-1</sup> STZ injection, model group rats showed a significantly impaired OGGT ( $P < 0.01$ ), higher expression of InsR ( $P < 0.01$ ), lower expression of BACE1 ( $P < 0.05$ ), compared to the normal rats. The decreased number of neurons in DG region of hippocampus in model group rats was observed. All these adverse changes were reversed by treatment of metformin (0.2 g·kg<sup>-1</sup>), berberine (0.2 g·kg<sup>-1</sup>), HLWDT (3, 6, 12 g·kg<sup>-1</sup>) ( $P < 0.05, P < 0.01$ ). **Conclusion:** Treatment of HLWDT can improve the impaired OGGT and decreased expression of BACE1 mRNA in hippocampus of diabetic

**[收稿日期]** 20141224(014)

**[基金项目]** 教育部博士点基金项目(20113237120007);江苏省中医药局科技项目(LZ13001);南京中医药大学国家自然科学基金预研基金项目(12XYY03)

**[第一作者]** 刘舟,博士,讲师,从事中医基础理论与实验研究,E-mail:xiwangzhizhou@126.com

**[通讯作者]** \*张卫华,博士,副教授,从事中医治法与方剂配伍应用研究,Tel:025-85811929, E-mail:zwhcm@163.com

rats, as well as the impaired neurogenesis in DG region of hippocampus. The underlie mechanism may be related to increasing expression of InsR mRNA in hippocampus neuron.

[Key words] diabetes; insulin resistance; hippocampus; Huanglian Wendan Tang

随着现代社会人类生活质量的提升,糖尿病继肿瘤和心血管疾病后成为第三大危害人类健康的慢性非传染性疾病。糖尿病主要分为1型和2型,其中2型糖尿病占糖尿病总发病的90%以上。糖尿病可以引起机体多个器官的损害,其中一类重要的糖尿病并发症就是糖尿病脑病<sup>[1]</sup>。糖尿病脑病是一种类似于阿尔茨海默病(AD)的脑病,不仅表现出轻度的学习记忆能力下降,认知障碍,而且在脑内也出现了蛋白沉积,神经元丢失等AD样病变。AD也被称为“3型糖尿病”<sup>[2]</sup>。大脑是胰岛素敏感器官,长期的高血糖刺激使得脑内胰岛素敏感性降低,发生胰岛素抵抗,导致脑内通过胰岛素信号通路调节的下游激酶的激活受阻,影响学习记忆功能下降,神经元受损等现象,最终引起脑病的发生<sup>[3]</sup>。脑内的胰岛素通路不仅调节着神经元的葡萄糖代谢,还具有调节突触可塑性,改善学习记忆功能等<sup>[4]</sup>。此外,已有研究发现药物可以通过上调胰岛素受体表达减轻胰岛素抵抗来改善大鼠学习记忆功能<sup>[5]</sup>,直接鼻内给予胰岛素增强脑内胰岛素信号更能明显改善实验小鼠的认知能力下降及脑部病变等糖尿病引发的脑病症状<sup>[6-7]</sup>。因此,改善脑内胰岛素抵抗可能是成为糖尿病脑病的治疗方法之一。

黄连温胆汤由唐代孙思邈《千金要方》中温胆汤衍化而来,首见于《六因条辨》,具有清热燥湿,化痰行气的功效,主治痰热湿阻之证。现代临床研究发现黄连温胆汤对代谢综合征,糖尿病及其并发症均有较好疗效,而且对神经系统疾病如失眠,卒中后抑郁,血管性痴呆也有一定作用<sup>[8]</sup>。本实验室的前期研究发现,黄连温胆汤对2型糖尿病小鼠具有下调海马半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)蛋白表达,减轻海马神经元凋亡,改善学习记忆能力等作用<sup>[9-10]</sup>,本文就其改善糖尿病脑病的作用及机制做进一步研究。

## 1 材料

**1.1 药材与试剂** 黄连、竹茹、法半夏、陈皮、枳实、茯苓、甘草、生姜均购自先声再康药店。链脲佐菌素(STZ, Sigma公司,批号140226)用柠檬酸柠檬酸钠缓冲液(pH 4.4)配制成 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,避光保存,现配现用。胰岛素酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(南京天为试剂公司,批号

20140224)。盐酸二甲双胍(江苏苏中药业集团股份有限公司,批号13101411),盐酸小檗碱(南京白敬宇制药有限责任公司,批号130502),逆转录试剂盒(北京全式金生物技术有限公司,批号AE301-I10430K026),实时荧光定量核酸扩增检测(QPCR)试剂盒(南京诺唯赞生物技术有限公司,批号L/N605041),Trizol(南京诺唯赞生物技术有限公司,批号140613),引物(南京金斯瑞公司合成)。

**1.2 动物** 91只清洁级雄性SD大鼠,体重 $180\sim 200\text{ g}$ ,购自江苏大学实验动物中心,合格证号SCXK(苏)2009-0002。

**1.3 仪器** 3001-1939型全波长酶标仪(Finland, Thermo公司),L535R-1型低温离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),CFX96型荧光定量分析仪(美国Bio-Rad公司),HH-4型数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司),BT125D型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 药材处理** 黄连温胆汤中各药物的比例按照清代陆廷珍《六因条辨》原方的比例(黄连-竹茹-法半夏-枳实-陈皮-茯苓-甘草-生姜 $4:4:4:4:6:3:2:2$ )。将饮片浸泡30 min,水煎煮2次,每次煎30 min,纱布滤过, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴浓缩至 $1\ 200\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,冷藏备用。

**2.2 动物分组与2型糖尿病模型的建立** 动物分笼饲养,12 h昼夜节律,室温 $22\sim 24\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,自由饮食饮水。将大鼠按体重随机分组,分为空白组和模型1~6组。除空白组外各组均用高糖高脂饲料(10%猪油,15%蔗糖,5%蛋黄粉,0.5%胆固醇,0.5%胆酸盐,69%常规饲料)喂养50 d后,STZ $35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,ip。1周后测定其空腹血糖,筛选出 $60$ 只血糖 $> 13.9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的大鼠作为模型成功大鼠。将模型成功大鼠按血糖值随机分为模型组,二甲双胍组( $0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),小檗碱组( $0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),黄连温胆汤低、中、高3个剂量组(按生药量计 $3,6,12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),每组10只。每日上午9~11点各组按相应剂量ig给药,共给药4周。

**2.3 葡萄糖耐量实验** 给药结束后,禁食6 h,ig给予 $2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 葡萄糖,分别在ig后0,30,60,120 min用葡萄糖试剂盒法测定血糖值。

**2.4 组织处理** 葡萄糖耐量实验结束次日,每组留 3 只大鼠,剩余全部麻醉处死,在冰盒上小心的取出大鼠海马组织,置于 -80 °C 保存备用。

**2.5 生化指标** 取大鼠的海马,按 1 g:9 mL 比例加生理盐水研磨成 10% 海马组织匀浆,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min 取上清,用 ELISA 法测定胰岛素含量。

**2.6 QPCR 法测定海马 InsR, BACE1 含量** 用 Trizol 试剂提取海马组织 RNA,三氯甲烷和异丙醇分步萃取 RNA。之后按逆转录试剂盒说明书将得到的 RNA 逆转录,最终加入目的基因引物和相关试剂在荧光定量 PCR 仪上检测目的基因表达情况,所得数据通过 Bio-Rad CFX Manager 3.0 软件记录分析,海马 InsR 和 BACE1 的相对表达以空白组平均值为 1。所用引物序列均来自发表的文献并经 NCBI 数据库检测。见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

目的基因	引物序列
InsR	F:5'-TGACAATGAGGAATGTGGGGAC-3'
	R:5'-GGGCAAACCTTCTGACAATGACTG-3'
BACE 1	F:5'-GGCACGGACGAGGAACCTGAGGAG-3'
	R:5'-GTGTAGGGCACATACACAGAC-3'
GADPH	F:5'-GTGTAGGGCACATACACAGAC-3'
	R:5'-GGAAGAATGGGAGTTGCTGT-3'

**2.7 观察海马 DG 区神经凋亡变化** 每组取 3 只

表 2 黄连温胆汤对糖尿病大鼠 OGGT 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of Huanglian Wendan Tang on OGGT in diabetic rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血糖/mmol·L <sup>-1</sup>			
		0 min	30 min	60 min	120 min
空白	-	4.4 ± 0.3	6.7 ± 1.4	6.3 ± 1.5	5.1 ± 0.4
模型	-	25.0 ± 6.4 <sup>2)</sup>	38.5 ± 5.3 <sup>2)</sup>	34.0 ± 4.2 <sup>2)</sup>	26.6 ± 5.7 <sup>2)</sup>
二甲双胍	0.2	13.1 ± 6.4 <sup>4)</sup>	24.7 ± 6.6 <sup>4)</sup>	19.6 ± 6.5 <sup>4)</sup>	12.4 ± 5.2 <sup>4)</sup>
小檗碱	0.2	9.5 ± 7.2 <sup>4)</sup>	22.4 ± 8.3 <sup>4)</sup>	17.5 ± 7.3 <sup>4)</sup>	11.3 ± 4.6 <sup>4)</sup>
黄连温胆汤	3	13.7 ± 7.2 <sup>2)</sup>	23.4 ± 4.3 <sup>4)</sup>	20.7 ± 3.2 <sup>4)</sup>	14.2 ± 6.3 <sup>4)</sup>
	6	12.8 ± 4.4 <sup>4)</sup>	22.8 ± 8.3 <sup>4)</sup>	18.8 ± 8.4 <sup>4)</sup>	13.7 ± 5.5 <sup>4)</sup>
	12	11.3 ± 6.1 <sup>4)</sup>	20.5 ± 8.0 <sup>4)</sup>	17.8 ± 7.4 <sup>4)</sup>	14.0 ± 5.3 <sup>4)</sup>

注:与同时点空白组比较<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01;与同时点模型组比较<sup>3)</sup> P < 0.05, <sup>4)</sup> P < 0.01。

**3.3 对海马 DG 区神经元的影响** 在 HE 染色下,与空白组大鼠相比模型组大鼠 DG 区神经元细胞数目明显减少,排列疏松,细胞形态不清,DG 区中央明显出现间隙,而二甲双胍、小檗碱和黄连温胆汤各

大鼠麻醉后取出海马组织放于 10% 甲醛溶液中储存。于冰冻切片机中切成冠状切片,按说明书步骤进行 HE 染色,在光学显微镜 200 倍视野下观察海马 DG 区海马神经元变化情况并拍照。

**2.8 数据处理** 所有数据通过 Microsoft Excel 2003 软件处理,结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验, P < 0.05 为有统计学差异。

### 3 结果

**3.1 对糖尿病大鼠 OGGT 的影响** 给予葡萄糖后各组大鼠血糖均出现先升高后降低的现象,空白组大鼠血糖虽也有先升高后降低但整体波动幅度不大。与空白组对比,糖尿病大鼠血糖波动较大,模型组大鼠初始血糖最高,血糖急剧上升后下降 (P < 0.01)。而二甲双胍、小檗碱和黄连温胆汤各组大鼠在给予口服葡萄糖后 30 min 时,血糖也出现了峰值 (P < 0.01),但之后血糖波动水平较模型组变化程度减弱,其中黄连温胆汤高剂量组波动程度最弱,中剂量组次之。见表 2。

**3.2 对糖尿病大鼠海马 Ins 含量和 InsR, BACE1 mRNA 相对表达的影响** 模型组海马 Ins 含量较空白组略有下降,药物组能提高 Ins 含量,但结果均无显著性差异。而模型组大鼠海马区 InsR 表达与空白组的相比降低十分显著 (P < 0.01),二甲双胍和黄连温胆汤各剂量能明显升高 InsR 表达 (P < 0.05)。模型组大鼠 BACE1 表达较空白组增加 (P < 0.05),二甲双胍、小檗碱和黄连温胆汤各剂量均能有效抑制 BACE1 表达的增加 (P < 0.05)。见表 3。

剂量组 DG 区细胞排列紧密,数量较模型增多,形态清晰,中央间隙减小。见图 1。

### 4 讨论

OGGT 实验是评定大鼠血糖调节能力的一项重

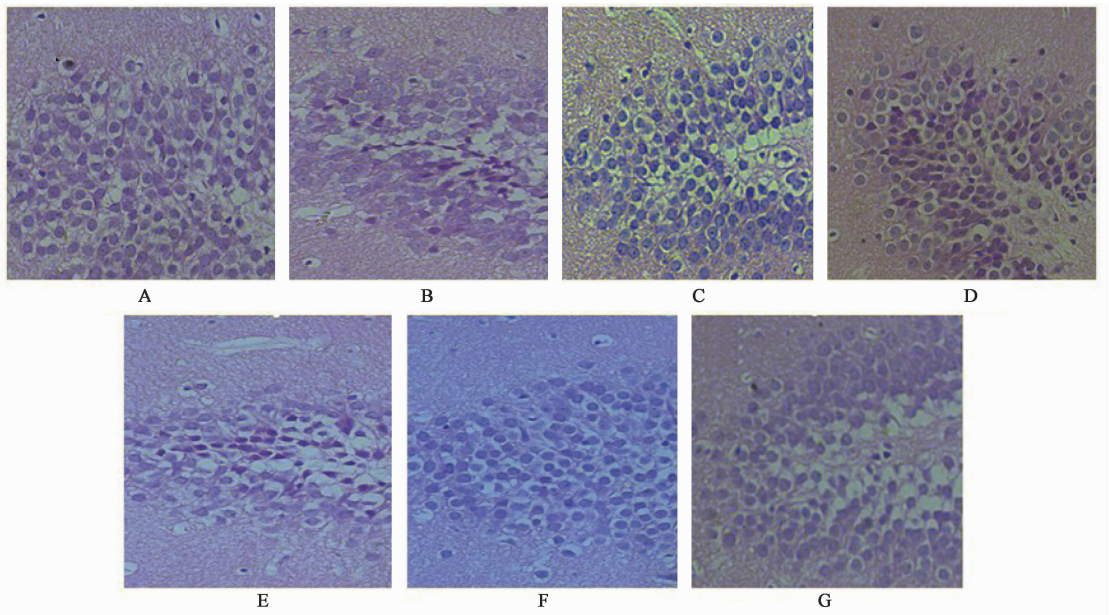
表 3 黄连温胆汤对糖尿病大鼠海马 Ins 含量, InsR 和 BACE1 mRNA 相对表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 Effect of Huanglian Wendan Tang on release of Ins, relative expression of InsR and BACE1 mRNA in hippocampus of diabetic rats

( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	体重 /g	海马 Ins /mU·L <sup>-1</sup>	mRNA 相对表达	
				海马 InsR	BACE1
空白	-	422.0 ± 32.6	30.97 ± 4.48	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.08
模型	-	276.8 ± 23.2 <sup>2)</sup>	24.60 ± 7.57	0.06 ± 0.01 <sup>2)</sup>	2.48 ± 0.55 <sup>1)</sup>
二甲双胍	0.2	338.0 ± 28.4 <sup>4)</sup>	31.80 ± 6.41	0.12 ± 0.02 <sup>3)</sup>	1.48 ± 0.27 <sup>3)</sup>
小檗碱	0.2	341.1 ± 22.3 <sup>4)</sup>	30.90 ± 5.42	0.10 ± 0.03	1.29 ± 0.43 <sup>3)</sup>
黄连温胆汤	3	332.0 ± 24.9 <sup>4)</sup>	27.39 ± 2.63	0.12 ± 0.01 <sup>3)</sup>	1.49 ± 0.27 <sup>3)</sup>
	6	339.2 ± 20.8 <sup>4)</sup>	28.65 ± 4.69	0.13 ± 0.01 <sup>3)</sup>	1.38 ± 0.33 <sup>3)</sup>
	12	340.3 ± 25.3 <sup>4)</sup>	30.12 ± 5.17	0.15 ± 0.03 <sup>3)</sup>	1.31 ± 0.29 <sup>3)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01; 与模型组比较<sup>3)</sup> P < 0.05, <sup>4)</sup> P < 0.01。



A. 空白组; B. 模型组; C. 二甲双胍 0.2 g·kg<sup>-1</sup>组; D. 小檗碱 0.2 g·kg<sup>-1</sup>组; E ~ G. 黄连温胆汤 3, 6, 12 g·kg<sup>-1</sup>组

图 1 黄连温胆汤对糖尿病大鼠海马 DG 区神经元细胞的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of Huanglian Wendan Tang on hippocampus neurons of DG region in diabetic rats(HE, ×200)

要标准。正常大鼠给予葡萄糖后,刺激胰岛素分泌,可以将多余的葡萄糖合成肝糖原储存,2 h 内血糖波动程度减弱;而糖尿病大鼠因胰岛素分泌不足或相对不足,导致多余的葡萄糖难以合成肝糖原,因此 2 h 后血糖变化十分明显,而血糖的急剧变化会严重损伤血管和组织等。本实验中 OGGT 结果表明,模型组大鼠与空白组相比,出现血糖明显的血糖大幅度波动现象,表明对血糖调节能力的下降。而各给药组大鼠虽然给予葡萄糖后血糖虽然也有上升,但较模型组波动程度的减小,表现出良好的血糖调节能力。这表明高脂饲料喂养和小剂量 STZ 腹腔注射能成功建立糖尿病脑病大鼠模型,损伤大鼠血

糖调节能力,黄连温胆汤各剂量组能明显改善糖尿病大鼠的血糖调节能力。

长期的高血糖是引起糖尿病大鼠胰岛素抵抗的重要原因。在脑内,胰岛素通过与细胞膜上的 InsR 结合激活下游相关蛋白来调节细胞的生理功能。因此,InsR 表达减少将引起胰岛素信号传递障碍,发生胰岛素抵抗。有研究显示脑内胰岛素抵抗是引起脑部 AD 样病变和学习记忆能力下降的原因之一<sup>[11]</sup>。海马是学习记忆的关键部位,海马区的病变对脑功能的发挥尤为重要。在本实验中测定了大鼠海马区胰岛素含量和 InsR 表达,结果显示海马区胰岛素含量虽有一定变化但不显著,而海马 InsR 下降

极其明显,提示糖尿病大鼠海马区 InsR 表达减少,引起胰岛素信号传递受阻,可能与胰岛素抵抗有关,给予黄连温胆汤的大鼠 InsR 表达明显增加,胰岛素抵抗有所改善。

$A\beta$  蛋白沉积是糖尿病脑病的一个明显的病理表现,脑内的胰岛素抵抗将引起  $A\beta$  蛋白的分解受阻,过多的  $A\beta$  沉积形成老年斑,具有神经毒性,最终导致神经元细胞的凋亡<sup>[12]</sup>。研究发现在胰岛素抵抗大鼠脑内, $A\beta$  生成酶 1 (BACE1) 出现高度表达<sup>[13]</sup>。BACE1 是  $A\beta$  蛋白合成的关键酶,缺乏 BACE1 的动物在淀粉样前体蛋白 APP 过量表达的时候也不能产生  $A\beta$  蛋白,在可生成人类 BACE1 的 AD 小鼠体内,BACE1 还可通过调节 cAMP/PKA/CREB 通路影响记忆功能。目前下调 BACE1 表达已成为 AD 治疗的一种新策略<sup>[14]</sup>,因此在糖尿病脑病中抑制 BACE1 表达可能也有着重要意义。在本实验中黄连温胆汤能明显抑制糖尿病大鼠的 BACE1 mRNA 表达的增加,可能对糖尿病脑病的改善有一定作用。

DG 区是海马神经生长与发育的主要区域,与学习记忆息息相关,也是海马神经元发生主要部位。有研究发现在胰岛素抵抗引发的 2 型糖尿病大鼠中,高血糖导致的神经发生受损也影响着脑功能的发挥<sup>[15]</sup>。在实验结果图片中可明显观察到模型组大鼠 DG 区细胞的减少,DG 区中央形成了很多间隙,这提示 DG 区神经细胞的新生减少。黄连温胆汤组大鼠的海马切片中这一症状明显减轻,说明它对糖尿病引起的海马 DG 区神经发生的受损可能具有保护作用。

综上所述,黄连温胆汤可以改善糖尿病大鼠血糖调节能力,降低海马区 BACE1 mRNA 表达,保护 DG 区神经发生受损,其作用机制可能与上调 InsR 表达,改善胰岛素抵抗有关。

#### [参考文献]

[1] Anders F S. Encephalopathies: the emerging diabetic complications[J]. Acta Diabetologica, 2010, 47(4): 279-293.  
[2] Suzanne M M. Type 3 diabetes is sporadic Alzheimer's disease: Mini-review [J]. Eur Neuropsychopharm, 2014, 24(12):1954-1960.  
[3] Qu M H, Fang C Y, Zhang X R, et al. Type 2 diabetes and mild cognitive impairment [J]. Prog Biochem Biophys, 2012, 39(8):791-795.

[4] Sophie M S, Maite S, Jens C B. The paradox of neuronal insulin action and resistance in the development of aging-associated diseases [J]. Alzheimer's Dementia, 2014, 10(1):3-11.  
[5] Xu B L, Wang R, Ji Z J, et al. Effects of analog P165 of amyloid precursor protein 5-mer peptide on learning, memory and brain insulin receptors in the rat model of cognitive decline[J]. Neurol Sci, 2014, 35(11):1821-1826.  
[6] Chen Y, Zhao Y, Gong C X, et al. Intranasal insulin restores insulin signaling, increases synaptic proteins, and reduces  $A\beta$  level and microglia activation in the brains of 3xTg-AD mice[J]. Exp Neurol, 2014, 261(1):610-619.  
[7] Francis G J, Martinez J A, Liu W Q, et al. Intranasal insulin prevents cognitive decline, cerebral atrophy and white matter changes in murine type I diabetic encephalopathy [J]. Brain, 2008, 131(12):3311-3334.  
[8] 刘舟,张卫华,梁兴. 黄连温胆汤治疗糖尿病的研究进展[J]. 陕西中医学院学报, 2010, 33(6):152-153.  
[9] 张卫华,张维新,刘华东,等. 黄连温胆汤对糖尿病小鼠海马神经凋亡的影响[J]. 山西中医学院学报, 2012, 13(3):54-56  
[10] 张卫华,刘舟,石富国,等. 黄连温胆汤对 2 型糖尿病小鼠学习记忆及海马神经细胞形态的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4):948-949.  
[11] Craft S. Insulin resistance and Alzheimer's disease pathogenesis: potential mechanisms and implications for treatment [J]. Curr Alzheimer Res, 2007, 4(2):147-152.  
[12] Sayre L M, Zagorski M G, Surewicz W K, et al. Mechanisms of neurotoxicity associated with amyloid  $\beta$  deposition and the role of free radicals in the pathogenesis of Alzheimer's disease: a critical appraisal [J]. Chem Res Toxicol, 1997, 10(5):518-526.  
[13] Sima A A, Detroit M I. Alzheimer changes develop in type 2 diabetic BBZDR/Wor-Rats[J]. Diabetes, 2007, 56(1):A204.  
[14] Robert Vassar. BACE1 inhibition as a therapeutic strategy for Alzheimer's disease [J]. Neurobiol Aging, 2014, 35(1):S23.  
[15] Lang B T, Yan Y, Dempsey R J, et al. Impaired neurogenesis in adult type-2 diabetic rats [J]. Brain Res, 2009 (1258):25-33.

[责任编辑 聂淑琴]