

## · 临床研究 ·

**老年 2 型糖尿病患者血清外泌体中神经元特异性烯醇化酶和磷酸化 tau 的表达及其与继发轻度认知功能障碍的相关性**郑桃林<sup>1</sup>, 刘超<sup>2\*</sup>, 彭璠<sup>1</sup>(解放军联勤保障部队第 921 医院:<sup>1</sup> 内分泌科,<sup>2</sup> 干部病房, 长沙 410003)

**【摘要】** **目的** 检测老年 2 型糖尿病 (T2DM) 患者血清外泌体神经元特异性烯醇化酶 (NSE) 和磷酸化 tau (P-tau) 的表达, 并探讨其与患者发生轻度认知功能障碍 (MCI) 的相关性。 **方法** 选取 2019 年 1 月至 2020 年 12 月于联勤保障部队第 921 医院就诊的 114 例老年 T2DM 患者为研究对象 (研究组), 另选取同期健康体检者 100 名为对照组。采用 ExoQuick-TC 提取研究对象血清源性外泌体。采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 检测研究对象血清源性外泌体中 NSE 和 P-tau 的表达。使用简易认知状态评价量表 (MMSE) 和蒙特利尔认知评估量表 (MoCA) 对研究对象进行认知评估。采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析。根据数据类型, 分别采用 *t* 检验或  $\chi^2$  检验进行组间比较。应用 Spearman 秩相关分析血清外泌体中 NSE 及 P-tau 表达水平与认知受损严重程度的相关性。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清源性外泌体中 NSE 和 P-tau 表达水平对 MCI 的预测价值。 **结果** 研究组老年 T2DM 患者出现认知受损的比例高于对照组; MMSE 和 MoCA 分值明显低于对照组; 发生 MCI 的比例高于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。根据 MoCA 分值将研究组患者分为 MCI 组 ( $n = 71$ ) 和非 MCI 组 ( $n = 43$ ), MCI 组血清外泌体中 NSE 和 P-tau 表达分别为  $(13.27 \pm 1.61) \mu\text{g/L}$  和  $(17.14 \pm 2.45) \text{pg/ml}$ , 明显高于非 MCI 组的  $(10.86 \pm 1.43) \mu\text{g/L}$  和  $(14.49 \pm 2.25) \text{pg/ml}$  ( $t = 5.728, 6.154; P < 0.05$ )。相关性分析显示, 老年 T2DM 患者血清外泌体中 NSE 和 P-tau 表达水平与 MMSE ( $r = -0.547, -0.562; P < 0.05$ ) 和 MoCA 分值 ( $r = -0.583, -0.597; P < 0.05$ ) 存在负相关。ROC 曲线分析结果显示, 血清外泌体中 NSE 表达预测老年 T2DM 患者发生 MCI 的曲线下面积 (AUC) 为 0.729, 血清外泌体中 P-tau 表达预测老年 T2DM 患者发生 MCI 的 AUC 为 0.741, 而两者联合预测老年 T2DM 患者发生 MCI 的 AUC 为 0.827, 高于 NSE 和 P-tau 单个指标的预测价值 ( $t = 3.836, 3.478; P < 0.05$ )。 **结论** 血清外泌体中高表达的 NSE 和 P-tau 与老年 T2DM 患者 MCI 的发生密切相关, 二者联合的预测价值更高。

**【关键词】** 糖尿病, 2 型; 外泌体; 轻度认知功能障碍; 神经元特异性烯醇化酶; 磷酸化 tau**【中图分类号】** R587.1**【文献标志码】** A**【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2023.06.090**Expression of neuron-specific enolase and phosphorylated tau in serum-derived exosomes and its correlation with secondary mild cognitive impairment in elderly patients with type 2 diabetes mellitus**Zheng Taolin<sup>1</sup>, Liu Chao<sup>2\*</sup>, Peng Fan<sup>1</sup>(<sup>1</sup>Department of Endocrinology, <sup>2</sup>Cadre Ward, No. 921 Hospital of PLA Joint Logistics Support Force, Changsha 410003, China)

**【Abstract】** **Objective** To detect the contents of neuron-specific enolase (NSE) and phosphorylated tau (P-tau) in serum-derived exosomes of the elderly patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), and explore the correlation of them with mild cognitive impairment (MCI). **Methods** A total of 114 elderly T2DM patients admitted in our hospital from Jan. 2019 to Dec. 2020 were enrolled and assigned as the study subjects (study group), and another 100 healthy volunteers taking physical examination in the same period were assigned as the control group. Exosomes in the blood samples from the study subjects were extracted by ExoQuick-TC. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the contents of NSE and P-tau in serum-derived exosomes. Mini-mental state examination (MMSE) and Montreal cognitive assessment (MoCA) were employed to evaluate the cognitive status of the subjects. SPSS statistics 19.0 was used for data analysis. The data difference between groups was analyzed by student's *t* test and *Chi*-square test. Spearman rank correlation analysis was adopted to study the correlation of NSE and P-tau contents in serum-derived exosomes with the severity of cognitive impairment. Receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to analyze predictive value of NSE and P-tau levels in serum-derived exosomes for MCI. **Results** The study group had significantly larger proportion of cognitive impairment, lower MMSE and MoCA scores, and higher incidence of MCI than the control group (all  $P < 0.05$ ). Based on the MoCA score, the

收稿日期: 2022-11-12; 接受日期: 2023-01-29

基金项目: 湖南省教育厅科研基金(19C1137)

通信作者: 刘超, E-mail: hanshi163007@163.com

114 patients in the study group were further divided into MCI group ( $n=71$ ) and non-MCI group ( $n=43$ ). The levels of NSE and P-tau in serum-derived exosomes in MCI group were ( $13.27\pm 1.61$ )  $\mu\text{g/L}$  and ( $17.14\pm 2.45$ )  $\text{pg/ml}$ , which were significantly higher than those of the non-MCI group [ $(10.86\pm 1.43)$   $\mu\text{g/L}$  and ( $14.49\pm 2.25$ )  $\text{pg/ml}$ ;  $t=5.728, 6.154$ ;  $P<0.05$ ]. Correlation analysis showed that the levels of NSE and P-tau in serum-derived exosomes were negatively correlated with MMSE score ( $r=-0.547, -0.562$ ;  $P<0.05$ ) and MoCA score ( $r=-0.583, -0.597$ ;  $P<0.05$ ) in the elderly T2DM patients. ROC curve analysis indicated that the area under the curve (AUC) of NSE level to predict MCI in elderly T2DM patients was 0.729, and that of P-tau level was 0.741. And, the AUC of their combination was 0.827, which was significantly higher than that of NSE ( $t=3.836, P<0.05$ ) and p-tau ( $t=3.478, P<0.05$ ) in the prediction of MCI. **Conclusion** Higher levels of NSE and P-tau in serum-derived exosomes are closely associated with the occurrence of MCI in elderly T2DM patients. Their combination has higher predictive value for the occurrence of MCI in the patients.

**【Key words】** diabetes mellitus, type 2; exosomes; mild cognitive impairment; neuron-specific enolase; phosphorylated tau

This work was supported by the Scientific Research Foundation of Hunan Provincial Department of Education (19C1137).

Corresponding author: Liu Chao, E-mail: hanshi163007@163.com

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是以高血糖、胰岛素抵抗和相对胰岛素缺乏为特征的慢性代谢疾病。目前,全世界有3.66亿糖尿病患者,到2030年,这一数字将达到5.52亿<sup>[1]</sup>。有研究表明,糖尿病与认知功能多个领域的表现下降及大脑结构异常密切相关<sup>[2]</sup>,长期糖尿病会导致患者认知能力下降,从而增加痴呆的发生。轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)<sup>[3]</sup>是介于正常老化与轻度痴呆之间的一种临床状态,是正常认知进展到痴呆的过渡期。研究发现,对于MCI及早进行治疗干预可以预防或延缓痴呆的发生<sup>[4]</sup>。因此,寻找能够预测老年T2DM继发MCI的生物标志物,并采取相应措施预防MCI的发生非常重要。

外泌体是由各种细胞释放的纳米级(直径30~120 nm)膜囊泡,通过胞外作用释放到细胞外。外泌体中包含的物质会根据宿主细胞的生理状态发生显著改变,因此外泌体被认为是获得致病信息和识别生物标志物的新来源。神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)是糖酵解酶烯醇化酶的神经元形式,主要位于神经元的细胞质中,是评估神经元损伤的标志物。Tau是一种细胞内微管相关蛋白,其在脑脊液中的总水平被认为反映了正在进行的神经元死亡的程度。磷酸化tau(phosphorylated tau, P-tau)的过度磷酸化形式与痴呆疾病过程中神

经原纤维缠结的形成密切相关,因此P-tau是痴呆的特异性生物标志物<sup>[5]</sup>。本研究的主要目的是检测T2DM患者血清外泌体中NSE及P-tau蛋白的表达,探讨其与继发MCI的相关性,评估其是否可以作为老年T2DM患者发生MCI的潜在预测标志物。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选择2019年1月至2020年12月于联勤保障部队第921医院就诊的114例老年T2DM患者为研究对象(研究组)。其中女性44例,男性70例;年龄65~78( $68.5\pm 3.2$ )岁;T2DM病程8~21( $10.3\pm 4.5$ )年。另选取同期健康体检者100名作为对照组。其中女性35例,男性65例;年龄64~76( $66.8\pm 4.2$ )岁。纳入标准:符合《中国2型糖尿病防治指南(2019年版)》的相关诊断标准。排除标准:(1)可能引起脑功能障碍的神经系统疾病患者,如脑卒中、帕金森病、脑肿瘤等;(2)长期服用镇静、抗抑郁药物,以及可能干扰中枢神经系统的药物;(3)长期酗酒;(4)心、脑、肺等重要器官严重疾病。患者及家属均自愿同意参加并签署知情同意书。本研究符合《赫尔辛基宣言》并经过医院伦理委员会批准。除血糖指标外,2组研究对象一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ;表1)。

表1 2组研究对象一般资料比较

Table 1 Comparison of baseline data between two groups

Item	Study group ( $n=114$ )	Control group ( $n=100$ )	$t/\chi^2$	$P$ value
Age (years, $\bar{x}\pm s$ )	$68.5\pm 3.2$	$66.8\pm 4.2$	0.42	0.48
Gender (male/female, $n$ )	44/70	35/65	0.30	0.59
FBG (mmol/L, $\bar{x}\pm s$ )	$8.5\pm 2.3$	$5.4\pm 0.5$	3.92	0.00
HbA1c (% , $\bar{x}\pm s$ )	$8.0\pm 1.9$	$5.6\pm 0.4$	3.68	0.00
Education duration (years, $\bar{x}\pm s$ )	$9.7\pm 2.1$	$9.5\pm 2.3$	0.35	0.52
BMI ( $\text{kg/m}^2$ , $\bar{x}\pm s$ )	$23.5\pm 4.1$	$22.8\pm 3.8$	0.38	0.49
Hypertension [ $n$ (%) ]	68(59.6)	51(51.0)	1.61	0.20
Smoking [ $n$ (%) ]	62(54.4)	48(48.0)	0.87	0.35
Alcohol drinking [ $n$ (%) ]	47(37.7)	30(30.0)	3.27	0.07

FBG: fasting blood glucose; HbA1c: glycosylated hemoglobin A1c; BMI: body mass index.

## 1.2 血清源性外泌体的提取和鉴定

(1) 血清提取:普通干燥管抽取各实验对象 10 ml 静脉血,室温下放置 30 min。然后 1 600 g 离心 10 min。将上清液转移至新 EP 管中,在 4℃ 下,以  $2 \times 10^4$  g 离心 10 min。将上清液移至新的 EP 管中,-80℃ 保存待分析。(2) 血清源性外泌体的提取:采用 ExoQuick-TC 试剂盒(美国 SBI 公司)提取血清源性外泌体。-80℃ 储存的血清样本冰上解冻,4℃ 条件下  $2 \times 10^4$  g 离心 15 min,上清液转移至新 EP 管中。每 400  $\mu$ l 上清液加入 ExoQuick<sup>TC</sup> 试剂 100  $\mu$ l,颠倒 EP 管约 20 次混匀,4℃ 静置 12 h。1 500 g 离心 30 min,吸出上清液。无核酸酶的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)反复均匀吹打重悬离心沉淀物,将重悬液转移至新的 1.5 ml EP 管中。(3) 血清源性外泌体的鉴定:采用透射电子显微镜观察提取的血清源性外泌体形态;Western blot 检测外泌体标志物表达(检测试剂盒购自美国 NanoView Biosciences)。

## 1.3 血清源性外泌体中 NSE 和 P-tau 的检测

采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测研究对象血清源性外泌体中 NSE 及 P-tau 的表达。其中人 NSE 检测试剂盒购自上海泽叶生物科技有限公司;人 P-tau 检测试剂盒购自武汉菲恩生物科技有限公司。检测按照试剂盒说明书严格进行操作。

## 1.4 简易认知状态评价量表

简易认知状态评价量表(mini-mental state examination, MMSE)是目前临床上广泛使用的成人认知状态评估工具。该量表主要对受测试者的定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆能力、语言能力 5 个方面的能力进行测量,共包括 11 个问题项目。总分范围 0~30 分,分数越高表示患者认知功能越良

好。认知功能损伤评分参考:正常(27~30 分);轻度受损(21~26 分);中度受损(10~20 分);重度受损(0~9 分)。

## 1.5 蒙特利尔认知评估量表

蒙特利尔认知评估量表(Montreal cognitive assessment, MoCA)是一种广泛使用的认知评估工具。该量表包括交替连线测验、视结构技能(立方体)、视结构技能(钟表)、命名、记忆、注意、句子复述、词语流畅性、抽象、延迟回忆和定向这 11 个维度项目。评估以下 7 个领域的认知功能:视觉空间/执行、命名、注意力、语言、抽象、记忆延迟和定向。该量表测试的最高分数为 30 分,分数越高,认知能力越好。以 26 分为界值,<26 分为伴有 MCI,  $\geq 26$  分则认知功能正常。

## 1.6 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 *t* 检验。计数资料以例数(百分率)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用 Spearman 秩相关分析血清外泌体中 NSE 和 P-tau 与 MMSE 分值和 MoCA 分值之间的相关性。构建受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,评估血清源性外泌体中 NSE 及 P-tau 的表达对 MCI 的灵敏性和特异性。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清源性外泌体的分离与鉴定

透射电镜下观察,从血清中分离的外泌体呈类圆形囊泡状,直径大小为 50~120 nm。Western blot 分析结果显示其表达外泌体特异性标志物 CD9 和 CD63,表明从研究对象血清中成功分离出外泌体(图 1)。

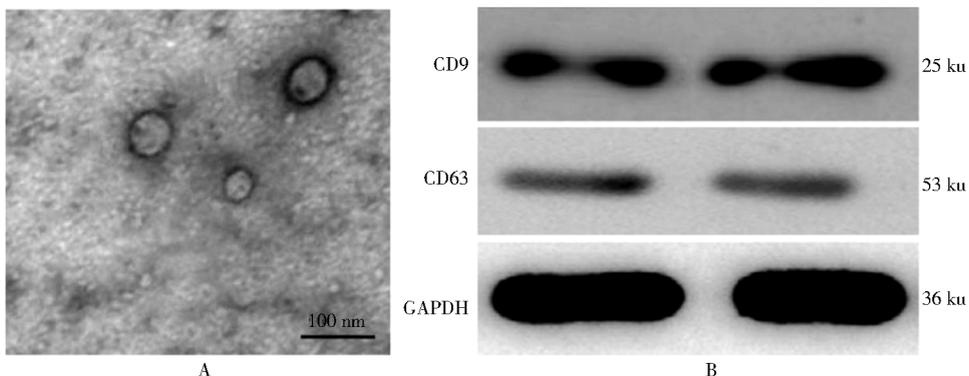


图 1 血清源性外泌体的镜下形态

Figure 1 Microscopic morphology of serum-derived exosomes

A: exosomes under transmission electron microscope; B: electrophoresis result.  
CD: cluster of differentiation; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

## 2.2 2组研究对象 MCI 发生情况

MMSE 量表结果显示, 研究组患者出现认知功能受损的比例高于对照组; MMSE 分值明显低于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。MoCA 量表结果显示, 研究组 MoCA 分值明显低于对照组 ( $P < 0.05$ )。研究组患者中 71 例发生 MCI, 对照组中 45 例发生 MCI, 研究组出现 MCI 的比例高于对照组, 差异均有统计学意义 (表 2)。

## 2.3 血清外泌体中 NSE 和 P-tau 的表达

根据 MoCA 分数将研究组 114 例患者分为 MCI 组 ( $n = 71$ ) 和非 MCI 组 ( $n = 43$ ), MCI 组血清外泌体

中 NSE 和 P-tau 表达水平分别为  $(13.27 \pm 1.61) \mu\text{g/L}$  和  $(17.14 \pm 2.45) \text{pg/ml}$ , 明显高于非 MCI 组的  $(10.86 \pm 1.43) \mu\text{g/L}$  和  $(14.49 \pm 2.25) \text{pg/ml}$  ( $t = 5.728, 6.154; P < 0.05$ )。

## 2.4 血清外泌体中 NSE 和 P-tau 表达水平与认知受损严重程度的相关性

相关分析显示, 研究组 114 例老年 T2DM 患者血清外泌体中 NSE 表达水平与 MMSE 分值和 MoCA 分值存在负相关 ( $r = -0.547, -0.562; P < 0.05$ ); 血清外泌体中 P-tau 表达水平与 MoCA 分值存在负相关 ( $r = -0.583, -0.597; P < 0.05$ ; 图 2)。

表 2 2组研究对象认知评估结果比较

Table 2 Comparison of cognitive assessment results between two groups

Item	Study group ( $n = 114$ )	Control group ( $n = 100$ )	$t/\chi^2$	$P$ value
MMSE scale [ $n(\%)$ ]			7.881	0.019
Normal (27 points $\leq$ MMSE score $<$ 30 points)	24 (21.1)	32 (32.0)		
Light/moderate damage (10 points $\leq$ MMSE score $<$ 27 points)	62 (54.4)	57 (57.0)		
Severe damage (MMSE score $<$ 10 points)	28 (24.6)	11 (11.0)		
MMSE score (points, $\bar{x} \pm s$ )	23.74 $\pm$ 4.25	26.93 $\pm$ 4.10	5.762	0.000
MoCA scale [ $n(\%)$ ]			6.409	0.011
0 point $\leq$ MoCA score $<$ 26 points	71 (62.3)	45 (45.0)		
MoCA score $\geq$ 26 points	43 (37.7)	55 (55.0)		
MoCA score (points, $\bar{x} \pm s$ )	22.54 $\pm$ 4.36	25.82 $\pm$ 4.14	6.105	0.000

MMSE: mini-mental state examination; MoCA: Montreal cognitive assessment.

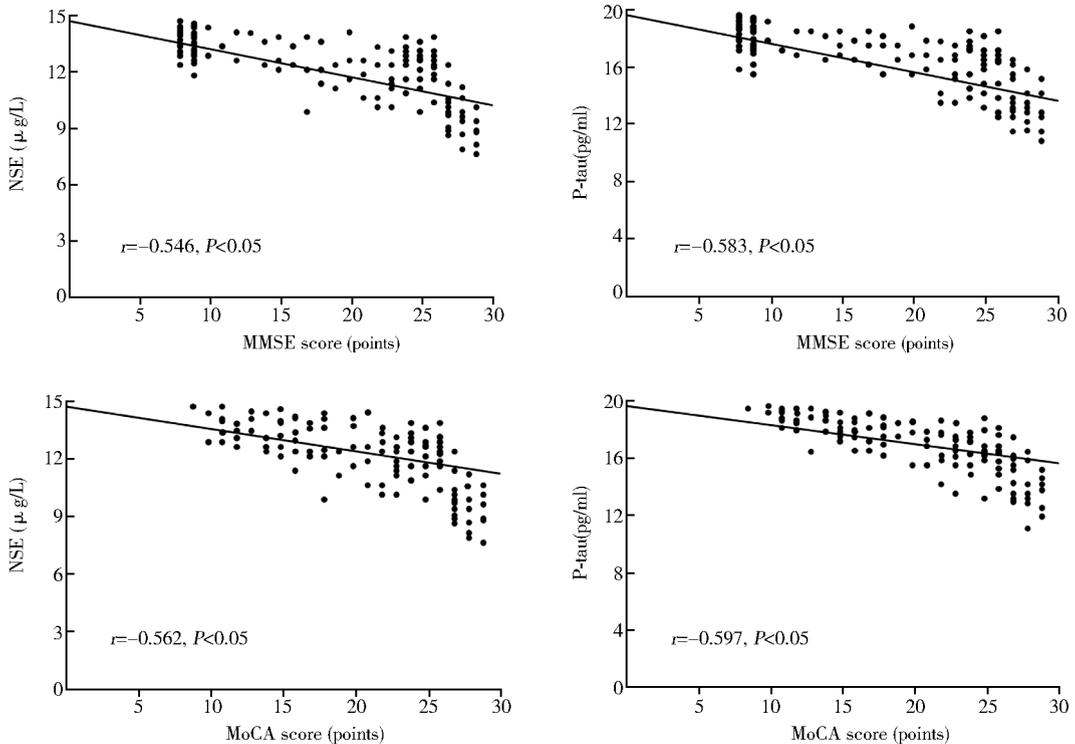


图 2 NSE 和 P-tau 表达水平与 MMSE 分值和 MoCA 分值的相关性分析

Figure 2 Analysis of correlation of NSE and P-tau expression with MMSE score and MoCA score

NSE: neuron-specific enolase; P-tau: phosphorylated tau; MMSE: mini-mental state examination; MoCA: Montreal cognitive assessment.

## 2.5 血清外泌体中 NSE 及 P-tau 对老年 T2DM 患者发生 MCI 的预测价值

血清外泌体中 NSE 表达预测老年 T2DM 患者发生 MCI 的曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.729, 血清外泌体中 P-tau 表达预测老年 T2DM 患者发生 MCI 的 AUC 为 0.741, 而两者联合预测老年 T2DM 患者发生 MCI 的 AUC 为 0.827, 高于 NSE 和 P-tau 单个指标对老年 T2DM 患者发生 MCI 的预测价值 ( $t=3.836, 3.478; P<0.05$ ; 图 3)。

## 3 讨论

T2DM 是一种复杂的代谢性疾病, 可能对身体各器官产生重大影响。T2DM 患者的 MCI 发病率明显高于非 T2DM 患者。You 等<sup>[6]</sup>荟萃分析结果显示, T2DM 患者中 MCI 的合并患病率约为 45.0%。T2DM 导致 MCI 的具体机制尚不明确, 目前已知可能与 T2DM 相关的血管危险因素 (包括高血压、血脂异常和肥胖等) 有关<sup>[7,8]</sup>。较长的 T2DM 持续时间可能导致严重的脑大血管疾病及可能损害认知功能的临床和亚临床脑梗死<sup>[9]</sup>。此外, 胰岛素信号受损也是导致 MCI 的重要机制<sup>[10]</sup>。还有研究报道 T2DM 可能加重特定灰质区域的萎缩, 表明 T2DM 在认知损害过程中可能发挥更关键的作用<sup>[11]</sup>。本研究结果显示, 研究组老年 T2DM 患者出现认知受损的比例高于对照组, 且 MMSE 和 MoCA 分值也明显低于对照组 ( $P<0.05$ )。根据 MoCA 量表的 MCI 标准, 本研究中老年 T2DM 患者出现 MCI 的比例高于未患 T2DM 的对照组 ( $P<0.05$ )。这一结果与既往研究 T2DM 被认为是 MCI 的风险因素一致。

外泌体是细胞间通信的重要媒介。有研究报

道, 外泌体是与神经退行性疾病相关的错误折叠蛋白细胞间传递的潜在载体, 其包含的分子也是神经退行性疾病的潜在诊断生物标志物<sup>[12,13]</sup>。既往有研究报道<sup>[14]</sup>, 在血液中发现的外泌体中包含了反映疾病特异性脑区域内病理变化的蛋白质表达谱, 表明分析循环外泌体蛋白表达可能是监测中枢神经系统发病机制的新策略。本研究我们选择分离血清外泌体作为载体来研究其包含的神经退行性疾病相关蛋白表达。本研究中, 我们使用 ExoQuick-TC 法提取血清外泌体, 最终获得的囊泡状颗粒与之前研究报道的外泌体形态和大小一致, 且 Western 印迹分析其富集外泌体特异性标志物 CD9 和 CD63 的表达, 进一步确认了这些颗粒作为外泌体的特性<sup>[15]</sup>。

糖尿病引起的脑微血管损伤可能增加神经元对缺血和缺氧的敏感性, 最终导致神经元凋亡, 这是糖尿病促进认知功能障碍的主要病理机制之一<sup>[16]</sup>。NSE 存在于神经元和其他神经外胚层来源的细胞中。当神经细胞受损时, NSE 可以从细胞中大量释放并进入血液循环, 导致血液中 NSE 水平异常升高。因此, 血清 NSE 可间接反映神经系统损伤程度, 其水平过高与老年人认知功能下降密切相关<sup>[17]</sup>。Tau 是一种微管相关蛋白, 在中枢神经系统 (尤其是在远端轴突) 中表达丰富。如果 Tau 蛋白过度磷酸化, 会导致轴突形态和动态运输功能的不稳定和破坏<sup>[18]</sup>。过度磷酸化的 Tau 蛋白聚集缠结直接导致神经退行性变和相关的认知恶化<sup>[19]</sup>。因此, P-tau 也被认为是认知功能障碍相关的生物学标志物。本研究结果显示, MCI 组血清外泌体中 NSE 和 P-tau 表达水平明显高于非 MCI 组。相关分析显示, 老年 T2DM 患者血清外泌体中 NSE 和 P-tau 表

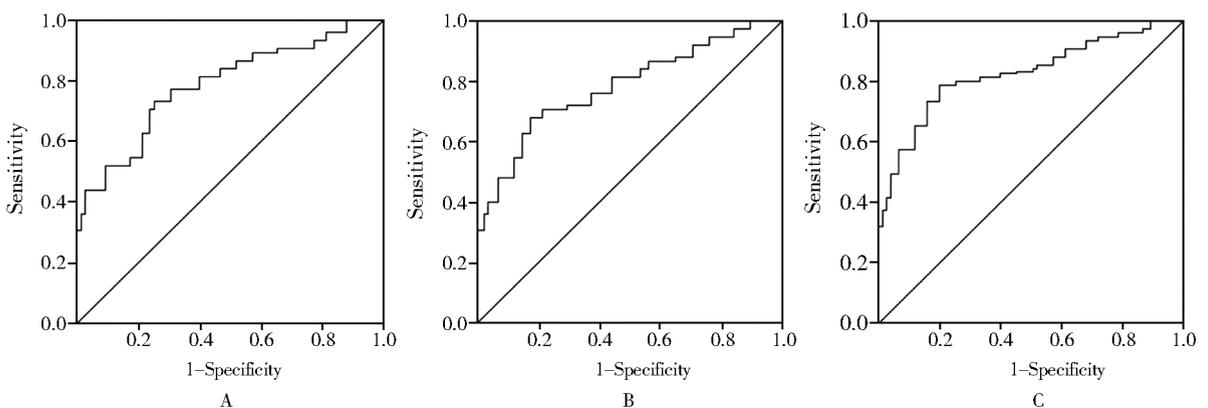


图 3 NSE 及 P-tau 表达预测 MCI 的 ROC 曲线

Figure 3 ROC curve of NSE and P-tau expression for predicting MCI

A: NSE expression; B: P-tau expression; C: combination of NSE and P-tau expression.

NSE: neuron-specific enolase; P-tau: phosphorylated tau; ROC: receiver operating characteristic; MCI: mild cognitive impairment.

达水平与 MMSE 分值和 MoCA 分值存在负相关。以上研究结果发现,血清外泌体中 NSE 和 P-tau 与老年 T2DM 患者出现认知障碍有关,即患者血清外泌体中 NSE 和 P-tau 表达浓度水平越高,其出现 MCI 的可能性也越大。此外,我们采用 AUC 这个整体性的衡量指标来研究血清外泌体中 NSE 和 P-tau 表达水平预测老年 T2DM 患者发生 MCI 的准确性。结果显示,血清外泌体中 NSE 和 P-tau 对于预测老年 T2DM 患者发生 MCI 的 AUC 具有较高的准确性,而联合二者检测会进一步提高其预测 MCI 发生的准确性。

总之,老年 T2DM 患者血清中外泌体富含神经元损伤和认知功能障碍相关标志物 NSE 和 P-tau,且其表达水平较非 T2DM 患者显著升高。相关分析表明老年 T2DM 患者血清中外泌体中高水平表达的 NSE 和 P-tau 与 MCI 有关。通过监测患者血清外泌体中 NSE 和 P-tau 表达水平的改变将有助于预测老年 T2DM 患者发生 MCI,这将有助于医师在临床上制定措施来进行针对性的干预。

#### 【参考文献】

[1] Khan M, Hashim MJ, King JK, *et al.* Epidemiology of type 2 diabetes — global burden of disease and forecasted trends[J]. *J Epidemiol Glob Health*, 2020, 10(1): 107–111. DOI: 10.2991/jegeh.k.191028.001.

[2] Cukierman-Yaffe T, Gerstein HC, Colhoun HM, *et al.* Effect of dulaglutide on cognitive impairment in type 2 diabetes: an exploratory analysis of the REWIND trial[J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(7): 582–590. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30173-3.

[3] Sanford AM. Mild cognitive impairment[J]. *Clin Geriatr Med*, 2017, 33(3): 325–337. DOI: 10.1016/j.cger.2017.02.005.

[4] Anderson ND. State of the science on mild cognitive impairment (MCI)[J]. *CNS Spectr*, 2019, 24(1): 78–87. DOI: 10.1017/S1092852918001347.

[5] Hu X, Yang Y, Gong D. Changes of cerebrospinal fluid Aβ<sub>42</sub>, t-tau, and p-tau in Parkinson's disease patients with cognitive impairment relative to those with normal cognition: a meta-analysis[J]. *Neurol Sci*, 2017, 38(11): 1953–1961. DOI: 10.1007/s10072-017-3088-1.

[6] You Y, Liu Z, Chen Y, *et al.* The prevalence of mild cognitive impairment in type 2 diabetes mellitus patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *Acta Diabetol*, 2021, 58(6): 671–685. DOI: 10.1007/s00592-020-01648-9.

[7] Abd Elaaty T, Ismail AA, Sheshtawy HA, *et al.* Assessment of comorbid mild cognitive impairment and depression in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2019, 13(3):

1759–1764. DOI: 10.1016/j.dsx.2019.03.012.

[8] Cao W, Tian S, Zhang H, *et al.* Association of low-density lipoprotein receptor-related protein 1 and its rs1799986 polymorphism with mild cognitive impairment in Chinese patients with type 2 diabetes[J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 743. DOI: 10.3389/fnins.2020.00743.

[9] Zhang XM, Tao YH, Zhou XL, *et al.* The role of carbonic anhydrase III and autophagy in type 2 diabetes with cardio-cerebrovascular disease[J]. *Metab Brain Dis*, 2021, 36(8): 2329–2341. DOI: 10.1007/s11011-021-00839-9.

[10] Lyu H, Tang L, Guo C, *et al.* Intranasal insulin administration may be highly effective in improving cognitive function in mice with cognitive dysfunction by reversing brain insulin resistance[J]. *Cogn Neurodyn*, 2020, 14(3): 323–338. DOI: 10.1007/s11571-020-09571-z.

[11] Li C, Zuo Z, Liu D, *et al.* Type 2 diabetes mellitus may exacerbate gray matter atrophy in patients with early-onset mild cognitive impairment[J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 856. DOI: 10.3389/fnins.2020.00856.

[12] Chi H, Yao R, Sun C, *et al.* Blood neuroexosomal mitochondrial proteins predict Alzheimer disease in diabetes[J]. *Diabetes*, 2022, 71(6): 1313–1323. DOI: 10.2337/db21-0969.

[13] Winston CN, Goetzl EJ, Baker LD, *et al.* Growth hormone-releasing hormone modulation of neuronal exosome biomarkers in mild cognitive impairment[J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 66(3): 971–981. DOI: 10.3233/JAD-180302.

[14] Sheinerman KS, Umansky SR. Circulating cell-free microRNA as biomarkers for screening, diagnosis and monitoring of neurodegenerative diseases and other neurologic pathologies[J]. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 150. DOI: 10.3389/fncel.2013.00150.

[15] Mathieu M, Nevo N, Jouve M, *et al.* Specificities of exosome *versus* small ectosome secretion revealed by live intracellular tracking of CD63 and CD9[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4389. DOI: 10.1038/s41467-021-24384-2.

[16] van Sloten TT, Sedaghat S, Carnethon MR, *et al.* Cerebral microvascular complications of type 2 diabetes: stroke, cognitive dysfunction, and depression[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8(4): 325–336. DOI: 10.1016/S2213-8587(19)30405-X.

[17] Sun Y, Wang S, Gan S, *et al.* Serum neuron-specific enolase levels associated with connectivity alterations in anterior default mode network after mild traumatic brain injury[J]. *J Neurotrauma*, 2021, 38(11): 1495–1505. DOI: 10.1089/neu.2020.7372.

[18] Rapoport M, Dawson HN, Binder LI, *et al.* Tau is essential to beta-amyloid-induced neurotoxicity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(9): 6364–6369. DOI: 10.1073/pnas.092136199.

[19] Holtzman DM, Carrillo MC, Hendrix JA, *et al.* Tau: from research to clinical development[J]. *Alzheimers Dement*, 2016, 12(10): 1033–1039. DOI: 10.1016/j.jalz.2016.03.018.