·基础研究·

脂肪间充质干细胞外泌体对糖尿病认知功能障碍大鼠的作用及其机制

贺佳丽[1],薛君[2,3*],宋伟玲[1]
([1]包头医学院研究生院,内蒙古 包头 014010;[2]乌兰察布市中心医院老年医学科,内蒙古 乌兰察布 012000;[3]内蒙古包钢医院老年医学科,内蒙古 包头 014010)

【摘 要】 目的 探讨脂肪间充质干细胞来源外泌体(AMSCs-Exo)基于磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/糖原合成酶激酶-3β(PI3K/Akt/GSK-3β)通路对大鼠糖尿病认知功能障碍(DCI)的作用及机制。**方法** 24只雄性SD大鼠中,8只大鼠给予普通饲料喂养作为空白对照(正常组);16只给予高糖高脂饲料喂养以造模,将其中14只造模成功的DCI模型大鼠随机分为模型组(7只)和干预组(7只),分别予生理盐水、外泌体干预,实验过程中模型组和干预组各有1只大鼠死亡。6周后检测各组大鼠糖代谢指标、学习记忆能力及海马组织PI3K/Akt/GSK-3β通路分子表达情况。采用SPSS 29.0和Graphpad Prism 8.0软件进行统计分析,逃避潜伏期比较采用重复测量方差分析,多组间比较使用单因素方差分析,组内两两比较采用Tukey法。**结果** 干预后,模型组大鼠随机血糖、胰岛素抵抗指数(HOMA-IRI)较正常组升高,学习记忆能力较正常组下降,差异均有统计学意义($P<0.05$);HE染色可见海马组织神经细胞较正常组排列杂乱。干预组大鼠随机血糖、HOMA-IRI较模型组降低,学习记忆能力较模型组提升,差异均有统计学意义($P<0.05$);HE染色可见海马组织神经细胞排列较模型组改善。实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)结果显示,模型组大鼠海马组织中PI3K、Akt mRNA表达较正常组降低;干预组大鼠该mRNA表达较模型组升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Western blotting结果显示,模型组p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt及p-GSK-3β/GSK-3β比值较正常组明显下降;干预组则较模型组提升,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** AMSCs-Exo可调节DCI大鼠的糖代谢,减轻海马组织损伤,改善认知功能,这可能与PI3K/Akt/GSK-3β通路的激活相关。

【关键词】 间充质干细胞;外泌体;糖尿病;认知功能障碍;磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/糖原合成酶激酶-3β
【中图分类号】 R587 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2025.12.198

Effects of exosomes derived from adipose-derived mesenchymal stem cells on diabetic cognitive dysfunction in rats and its mechanisms

He Jiali[1], Xue Jun[2,3*], Song Weiling[1]
([1]Graduate School of Baotou Medical College, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China; [2]Department of Geriatrics, Ulanqab Central Hospital, Ulanqab 012000, Inner Mongolia Autonomous Region, China; [3]Department of Geriatrics, Baogang Hospital, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects and mechanisms of exosomes derived from adipose-derived mesenchymal stem cells (AMSCs-Exo) on rats with diabetic cognitive impairment (DCI) through the phosphatidyl inositol 3-kinase/protein kinase B/glycogen synthase kinase-3β(PI3K/Akt/GSK-3β) pathway. **Methods** Among the 24 male SD rats, 8 were fed with normal chow as the blank control (normal group); the remaining 16 were fed with high-sugar and high-fat chow to establish the model, and among them, 14 successfully modeled DCI rats were randomly divided into a model group ($n=7$, normal saline) and an intervention group ($n=7$, AMSCs-Exo). During the experiment, one rat in each group died. After 6 weeks of intervention, glucose metabolism related indicators, learning and memory abilities, and molecular expression of the molecules related to the PI3K/Akt/GSK-3β pathway in hippocampal tissue were detected in each group of rats. SPSS 29.0 and Graphpad Prism 8.0 was used for statistical analysis. The escape latency was compared using repeated measures ANOVA, while intergroup comparisons among multiple groups were conducted with one-way ANOVA, and intragroup pairwise comparisons were performed using Tukey test. **Results** The model group exhibited significantly increased random blood glucose level and HOMA-insulin resistance index (HOMA-IRI), declined learning and memory abilities ($P<0.05$), and disordered neuronal arrangement in hippocampal tissues by HE staining when compared with the normal group. AMSCs-Exo intervention resulted in obvious decreases in the random blood glucose level and HOMA-IRI, improvements in learning and memory abilities ($P<0.05$), and better arrangement of hippocampal neuronal cells when compared with the conditions in the model group. Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) showed that the mRNA levels of PI3K and Akt in the hippocampus tissues were notably lower in

收稿日期: 2025-05-02; **接受日期**: 2025-07-02
基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金(2024LHMS08073);公立医院科研联合基金(2024GLLH1252)
通信作者: 薛君, E-mail: byxuejun@sina.com

the model group than the normal group, and AMSCs-Exo intervention reversed the decreases ($P<0.05$). The results of Western blotting indicaterd that compared with the normal group, the model group showed significant decreases in p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-GSK-3β/GSK-3β ratios, and the intervention group showed increases in these above ratios ($P<0.05$). **Conclusion** AMSCs-Exo can regulate glucose metabolism, alleviate hippocampal tissue damage, and improve cognitive function in DCI rats, which may be related to the activation of the PI3K/Akt/GSK-3β pathway.

【Key words】 mesenchymal stem cells; exosomes; diabetes mellitus; cognitive impairment; PI3K/Akt/GSK-3β

This work was supported by the Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2024LHMS08073) *and the Joint Scientific Research Fund for Public Hospitals* (2024GLLH1252).

Corresponding author: Xue Jun, E-mail: byxuejun@sina.com

糖尿病(diabetes mellitus,DM)是一种慢性代谢性疾病,《中国糖尿病防治指南(2024版)》显示,我国DM的患病率仍在上升,且DM的知晓率、治疗率、控制率分别为36.7%、32.9%、50.1%,处于较低水平[1]。DM的高患病率和低治疗率不仅使患者承受了病痛,也给国家带来了巨大的经济负担[2]。在DM的各类并发症中,认知功能的改变往往较为隐匿,糖尿病认知功能障碍(diabetic cognitive impairment,DCI)患者主要表现为中枢神经系统受损,学习记忆能力进行性下降。胰岛素抵抗(insulin resistant,IR)是DM的核心特征,也是DM与神经退行性疾病间重要的机制[3]。磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidyl inositol 3-kinase/protein kinase B,PI3K/Akt)通路是与IR相关的重要通路。研究显示,PI3K/Akt通路上调可以显著改善DCI并减轻微管相关蛋白(Tau蛋白)的过度磷酸化[4-6]。Akt的下游信号分子糖原合成酶激酶-3β(glycogen synthase kinase-3 β,GSK-3β)是发挥上述作用的关键,受Akt的负调节作用。一项为期6年的随访研究显示,DCI患者的基线GSK-3β水平显著升高[7]。此外,GSK-3β活性升高会加速Tau蛋白磷酸化,导致神经元纤维缠结积累,增加患认知障碍的风险[8]。因此,DCI的发生发展可能与PI3K/Akt/GSK-3β通路相关。

外泌体(exosome,Exo)是直径约30~200 nm的磷脂双分子层囊泡,具有细胞通讯、物质递送等功能[9]。近年的研究表明,源于不同间充质干细胞的Exo可以改善IR,上调PI3K/Akt通路[10,11]。Liu等[12]发现,骨髓间充质干细胞来源Exo可以缓解阿尔兹海默症小鼠的认知下降。脂肪间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells,AMSCs)具有获取便捷、提取量大等特点,且目前选用AMSCs及其衍生物进行干预的研究不足。因此,本研究在建立DCI大鼠模型[13]的基础上,探讨脂肪间充质干细胞来源外泌体(exosomes derived from adipose-derived mesenchymal stem cells,AMSCs-Exo)的干预是否可以激活PI3K/Akt/GSK-3β通路,发挥对DCI大鼠的保护作用,以期为DCI患者的诊疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

体质量(224±5)g的8周龄雄性SD大鼠24只,购于北京斯贝福公司。饲养于光照均匀、温度19℃~23℃、湿度40%~70%的环境中。链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)、HE染色试剂盒购于索莱宝公司;Exo提取试剂盒购于翌科生物公司;胰岛素(insulin,INS)试剂盒购于江苏泽雨公司;磷酸化磷脂酰肌醇3-激酶(phosphorylated phosphatidyl inositol 3-kinase,p-PI3K)/PI3K抗体、磷酸化蛋白激酶B(phosphorylated protein kinase B,p-Akt)/Akt抗体、磷酸化糖原合成酶激酶-3β(phosphorylated glycogen synthase kinase-3β,p-GSK-3β)/GSK-3β抗体购于Proteintech公司;荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)反转、扩增试剂盒购于全式金生物公司。

1.2 方法

1.2.1 AMSCs的培养与鉴定 本实验AMSCs由课题组提供,前期从吸脂术患者的废弃脂肪组织中分离提取,原代细胞冻存于液氮中。将AMSCs复苏后于恒温培养箱中培养。细胞生长状态良好且数量达80%~90%时,使用0.25%胰蛋白酶消化,并将细胞悬液分装至两培养瓶中传代,镜下观察细胞生长状态。收集P3代细胞,使用流式细胞仪检测细胞表面标记物分化簇(cluster of differentiation,CD)45、CD90及CD105。

1.2.2 AMSCs-Exo的提取与鉴定 AMSCs汇合度为80%时,离心并过滤,去除细胞及较大囊泡,按照试剂盒说明提取Exo。滴加10 μl AMSCs-Exo溶液于无菌培养皿表面,放置载样铜网,滴加3%磷钨酸负染,干燥40 min后使用透射电子显微镜拍照。将10 μl AMSCs-Exo溶液稀释至1 ml,使用纳米颗粒示踪分析仪(nanoparticle tracking analyzer,NTA)上样后采集60 s,记录AMSCs-Exo的粒径和浓度。

1.2.3 实验动物饲养与造模 所有大鼠适应性喂养 1 周后,8 只大鼠以普通饲料喂养;余 16只大鼠使用高糖高脂饲料喂养以造模。6 周后高糖高脂饲料喂养大鼠禁食 12 h,腹腔注射 1% STZ(30 mg/kg),72 h 后尾静脉采血,连续 3 d 测量随机血糖(≥16.7 mmol/L 为造模成功),剔除 2 只血糖不达标大鼠,继续高糖高脂饲料喂养 9 周。

1.2.4 分组与干预 14 只高糖高脂饲料喂养大鼠造模成功后,将其随机分为模型组(7 只)和干预组(7 只);以普通饲料喂养大鼠(8 只)为正常组。干预组予外泌体 200 μg/kg 尾静脉注射,每 3 天注射 1 次;正常组、模型组大鼠予等体积生理盐水尾静脉注射,干预 6 周。观察各组大鼠的形态、进食、饮水、排尿量,记录随机血糖。实验过程中模型组和干预组各有 1 只大鼠死亡,予以剔除。

1.2.5 Morris 水迷宫实验 Morris 水迷宫由水池(直径 160 cm,高 50 cm,深 30 cm,分为 4 个象限)、自动记录仪器、自动图象采集软件组成。提前将大鼠移至实验房间熟悉环境。第 1 天行适应性训练,引导大鼠寻找池中圆形平台;第 2~5 天行定位航行实验,每天按 4 个象限不同顺序入水,分别训练 1 次,分析大鼠逃避潜伏期(从入水至登上平台的时间),对比大鼠的学习能力;第 6 天行空间探索实验,撤除平台,大鼠从同一位置入水,记录 90 s 内穿越原平台的次数,对比大鼠的记忆能力。

1.2.6 收集标本 禁食 12 h,予大鼠戊巴比妥钠 35 mg/kg腹腔注射麻醉,腹主动脉采血后冰盒上断头取脑,部分分装于冻存管中,-80℃ 冰箱保存;部分固定于 4%多聚甲醛液。

1.2.7 血清胰岛素水平测定 采用酶联免疫吸附法测定血清 INS 水平,计算胰岛素抵抗指数(HOMA-insulin resistance index,HOMA-IRI)。

1.2.8 海马组织 HE 染色 取固定后的脑组织,脱水、制成蜡块,切片约 3 μm,烤片、染色后将切片置于光学显微镜下观察。

1.2.9 实时荧光定量聚合酶链式反应实验 为兼顾动物伦理学与实验科学性,每组采用最小有效样本量 3 只大鼠进行检测。实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction,RT-qPCR)实验中,取 100 mg 海马组织,冰上研磨后将混合液转移至 1.5 ml EP 管中,按照说明进行 RNA 反转录,94℃预变性 30 s,94℃变性 5 s,60℃退火 30 s,95℃延伸 15 s,40 个循环。引物序列见表 1。读取各 PCR 反应循环阈(cycle Z threshold,Ct)值,计算目的基因表达。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

Primer		Sequence(5′-3′)
PI3K	F	CGGGATGCCAAACTCTATGC
	R	CACGATGGATGACAATGAAAATG
Akt	F	ATCGTGTGGCAAGATGTGTATGAG
	R	GCTGAGTAGGAGAACTGGGGAAA
GAPDH	F	TTCAGCTCTGGGATGACCTT
	R	TGCCACTCAGAAGACTGTGG

PI3K: phosphatidyl inositol 3-kinase; Akt: protein kinase B; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

1.2.10 Western blotting 为兼顾动物伦理学与实验科学性,每组采用最小有效样本量 3 只大鼠进行检测。取 100 mg 海马组织进行蛋白裂解,然后用组织研磨仪研磨至匀浆,高速离心后用二辛可宁酸法(bicinchoninic acid assay,BCA)行蛋白定量。取约 80 μg总蛋白,加入适量5×蛋白上样缓冲液混匀,变性 10 min,短暂离心、上样、140 V 电压电泳,110 V 电压转膜。加入一抗,4℃摇床孵育过夜,1×Tris 缓冲盐水清洗 3 次;清洗后的膜放入稀释好的二抗(1∶3 000)中,室温孵育 1 h,清洗 3 次。增强化学发光(enhanced chemiluminescence,ECL)显色后成像拍照,分析条带。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 29.0 和 Graphpad Prism 8.0 软件进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,Morris 水迷宫实验逃避潜伏期比较采用重复测量方差分析,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Tukey 法。$P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 AMSCs 的培养及鉴定

原代 AMSCs 传代至 P3 代,镜下观细胞呈成纤维细胞样形态,漩涡状排列(图 1)。流式细胞术检测 AMSCs 表面特异标记物,阳性表达 CD90、CD105,阴性表达 CD45(图 2)。

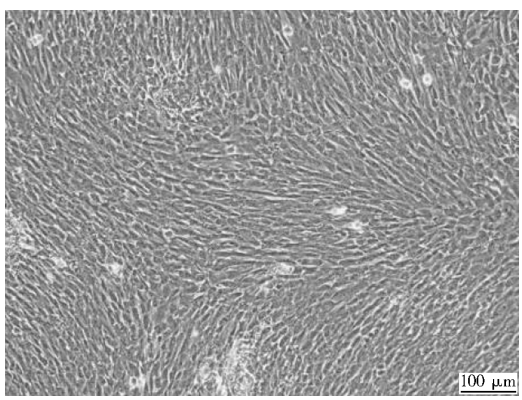


图 1 P3 代 AMSCs 显微镜下形态

Figure 1 Morphology of P3 AMSCs under microscope

AMSCs: adipose-derived mesenchymal stem cells.

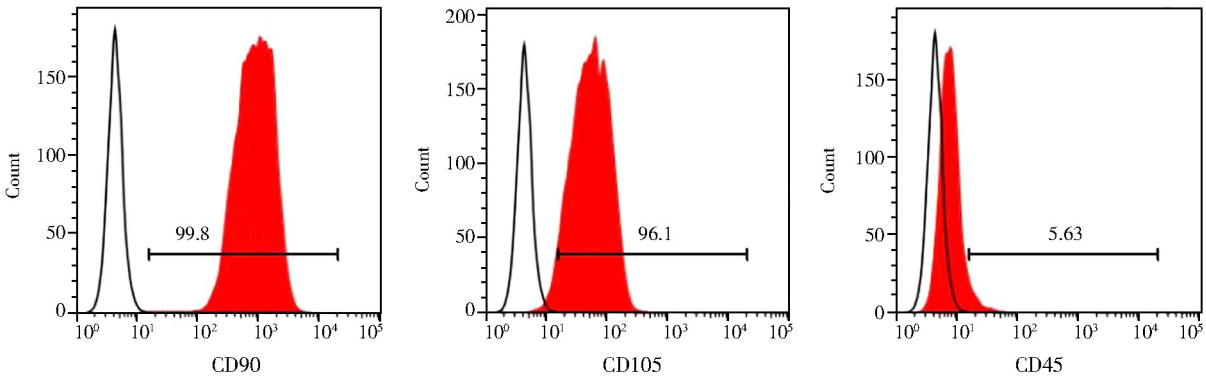


图 2　流式细胞术检测 AMSCs 表面标记物 CD90、CD105 及 CD45

Figure 2　Detection of surface markers CD90, CD105 and CD45 of AMSCs by flow cytometry

AMSCs: adipose-derived mesenchymal stem cells; CD: cluster of differentiation.

2.2　AMSCs-Exo 的鉴定

透射电子显微镜观察可见 AMSCs-Exo 的圆形或椭圆形囊泡结构,直径约 100 nm(图 3)。NTA 分析显示其直径多集中于 127 nm,峰值在 118.6 nm,浓度为 2.9×10^{11} particles/ml(图 4)。

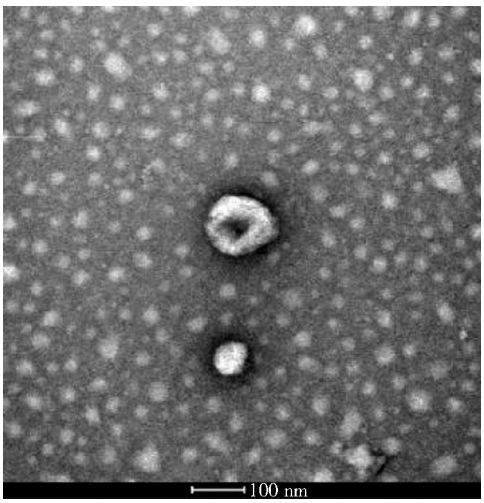


图 3　透射电子显微镜下 AMSCs-Exo 形态

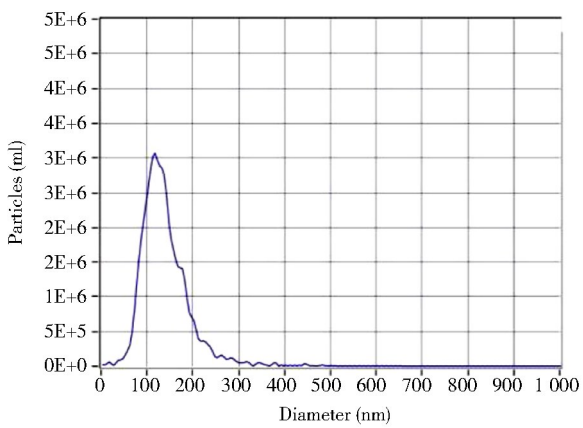
Figure 3　Morphological images of AMSCs-Exo under transmission electron microscope

AMSCs-Exo: exosomes derived from adipose-derived mesenchymal stem cells.

2.3　大鼠一般情况

正常组大鼠状态良好,进食和饮水正常,毛发光亮且体型匀称;注射 STZ 后的大鼠萎靡、消瘦,毛发油腻无光泽;经 AMSCs-Exo 干预后,大鼠萎靡、消瘦状态较模型组好转,毛发有一定光泽。

造模过程中,剔除 2 只血糖不达标大鼠。模型组大鼠死亡 1 只,该大鼠血糖值始终>33.3 mmol/L,考虑高血糖所致急性并发症。干预组大鼠在水迷宫实验后死亡 1 只,解剖发现气管异物,考虑窒息。



Result (sizes in nm)

	Number	Concentration (particles/ml)	Volume (nm^3)
Median (x50)	127.3	127.3	183.1
Span	50.1	50.1	87.6

Concentration: 5.7E+7 particles/ml
Dilution factor: 5 000
Original concentration: 2.9E+11 particles/ml

Peak analysis (concentration)

Diameter (nm)	Particles (ml)	FWHM(nm)	Percentage(%)
118.6	3.0E+6	80.5	95.8
282.4	1.2E+5	24.1	1.5
345.6	4.8E+4	11.0	0.3
381.4	4.4E+4	11.6	0.3
445.4	3.3E+4	11.4	0.2

图 4　NTA 分析 AMSCs-Exo 直径和浓度

Figure 4　Analysis of diameter and concentration of AMSCs-Exo by nanoparticle tracking analysis

NTA: nanoparticle tracking analyzer; AMSCs-Exo: exosomes derived from adipose-derived mesenchymal stem cells.

2.4 AMSCs-Exo 对 DCI 大鼠糖代谢的影响

正常组大鼠随机血糖相对稳定,模型组则持续保持较高状态,干预组大鼠随机血糖随干预进程逐渐下降。干预 4 周始,可见干预组随机血糖低于模型组,但高于正常组($P<0.05$;表 2);模型组与干预组大鼠血清 HOMA-IRI 高于正常组;干预组 HOMA-IRI、INS 低于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$;表 3)。

表 2 各组大鼠随机血糖的变化

Table 2 Changes in random blood glucose levels of rats in each group (mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

Intervention time(week)	Normal group ($n=8$)	Model group ($n=6$)	Intervention group ($n=6$)
0	4.41±0.29	26.30±1.75 *	25.82±3.20 *
1	4.78±0.22	29.07±2.13 *	27.55±2.53 *
2	4.64±0.32	29.82±4.32 *	26.12±2.09 *
3	4.70±0.56	29.57±3.66 *	26.45±1.93 *
4	4.59±0.38	30.00±2.78 *	24.65±2.05 *#
5	4.59±0.43	29.70±3.05 *	22.22±1.92 *#
6	4.60±0.33	29.18±3.81 *	21.00±1.83 *#

Compared with normal group, * $P<0.05$; compared with model group, # $P<0.05$.

表 3 各组大鼠 HOMA-IRI 比较

Table 3 Comparison of INS and HOMA-IRI of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	HOMA-IRI	INS(pg/ml)
Normal	8	5.28±0.50	34.66±1.10
Model	6	50.67±9.44 **	45.34±3.14 **
Intervention	6	35.60±2.42 **##	39.20±3.55#

INS: insulin; HOMA-IRI: HOMA-model-insulin resistance index. Compared with normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; compared with model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

2.5 AMSCs-Exo 对 DCI 大鼠学习记忆能力的影响

定位航行实验中,模型组大鼠的逃避潜伏期较正常组显著延长;干预组较模型组显著缩短,差异均有统计学意义($P<0.05$;图 5)。空间探索实验中,模型组大鼠穿越平台次数较正常组减少;干预组较模型组增加,差异均有统计学意义($P<0.05$;图 6)。

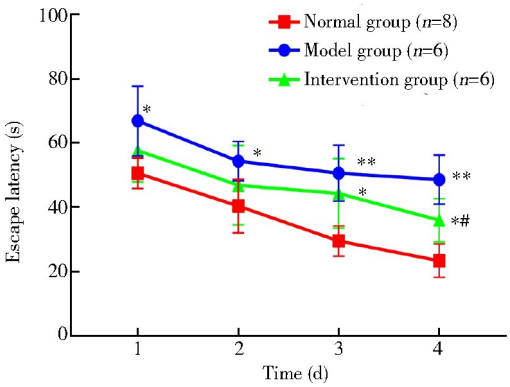


图 5 各组大鼠水迷宫实验逃避潜伏期比较

Figure 5 Comparison of escape latency of rats in each group

Compared with normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; compared with model group, # $P<0.05$.

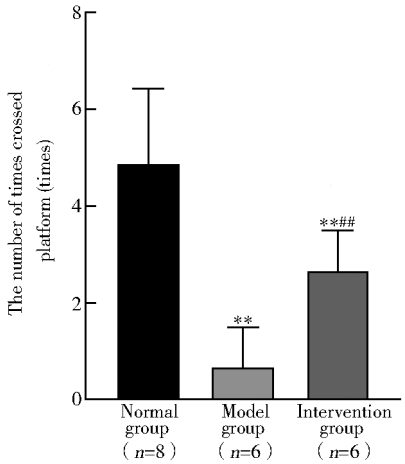


图 6 各组大鼠水迷宫穿越平台次数比较

Figure 6 Comparison of platform crossing frequency of rats in water maze in each group

Compared with normal group, ** $P<0.01$; compared with model group, ## $P<0.01$.

2.6 AMSCs-Exo 对 DCI 大鼠海马组织形态学的影响

正常组大鼠海马组织结构完整,神经细胞排列规则;模型组大鼠海马组织结构破坏,神经细胞排列杂乱、数量减少、间隙增大,形态异常;干预组大鼠海马组织结构、神经细胞排列较模型组改善(图 7)。

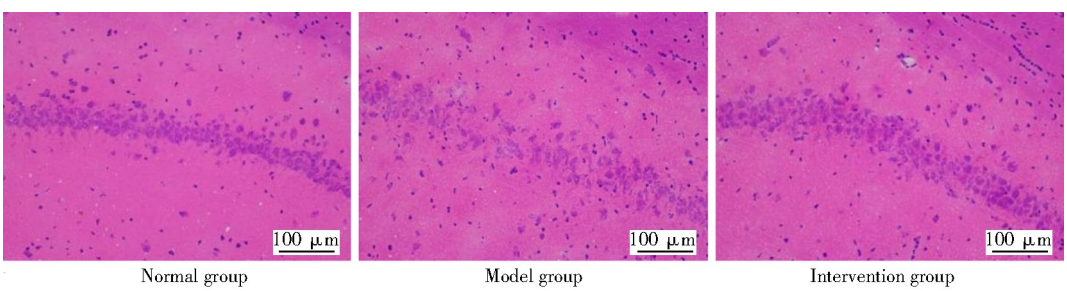


图 7 各组大鼠海马病理学形态观察

Figure 7 Morphology of hippocampal tissues of rats in each group (HE)

2.7 AMSCs-Exo 对 DCI 大鼠海马组织 PI3K 及 Akt mRNA 水平的影响

模型组与干预组大鼠海马组织中 PI3K 及 Akt mRNA 表达水平较正常组降低；干预组大鼠海马组织中 PI3K 及 Akt mRNA 表达水平较模型组升高，差异均有统计学意义（$P<0.05$；表 4）。

表 4 各组大鼠海马组织相关 mRNA 表达水平比较

Table 4 Comparison of expression levels of relevant mRNAs in hippocampal tissues of rats in each group

（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）

Group	PI3K	Akt
Normal	2.71±0.24	2.04±0.09
Model	1.00±0.13**	1.00±0.07**
Intervention	1.68±0.21**#	1.60±0.15**##

PI3K：phosphatidyl inositol 3-kinase；Akt：protein kinase B. Compared with normal group，*$P<0.05$，**$P<0.01$；compared with model group，#$P<0.05$，##$P<0.01$.

2.8 AMSCs-Exo 对 DCI 大鼠海马组织 PI3K/Akt/GSK-3β 通路蛋白表达的影响

各组大鼠海马组织蛋白表达情况见图 8。模型组与干预组 p-PI3K/PI3K 比值较正常组明显下降，干预组较模型组上升（$P<0.05$；图 9A）；模型组与干预组 p-Akt/Akt 比值较正常组明显下降，干预组较模型组上升（$P<0.05$；图 9B）；模型组与干预组 p-GSK-3β/GSK-3β 比值较正常组明显下降，干预组较模型组上升（$P<0.05$；图 9C）。

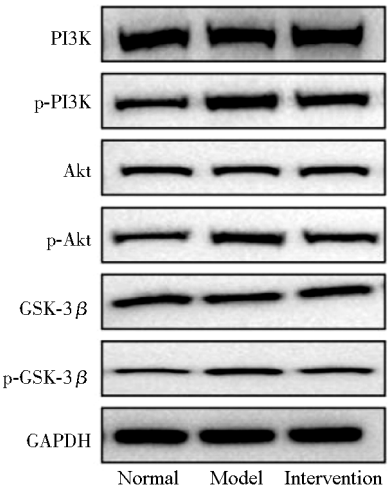


图 8 各组大鼠海马组织 p-PI3K/PI3K、p- Akt/Akt 及 p-GSK-3β/GSK-3β 蛋白表达水平

Figure 8 Expression levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-GSK-3β/GSK-3β proteins in hippocampal tissues of rats in each group

PI3K：phosphatidyl inositol 3-kinase；p-PI3K：phosphorylated phosphatidyl inositol 3-kinase；Akt：protein kinase B；p-Akt：phosphorylated protein kinase B；GSK-3β：glycogen synthase kinase-3β；p-GSK-3β：phosphorylated glycogen synthase kinase-3β；GAPDH：glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

3 讨 论

DCI 患者表现为注意力、执行力及记忆力下降，如不早期识别并干预，将会逐渐进展为痴呆症，丧失独立的生活能力[14]。AMSCs 可促进内源 β 细胞再生，改善 IR，但间充质干细胞移植仍存在一定风险，因此 AMSCs 衍生物 Exo 的治疗潜力逐渐受到重视[15]。目前 Exo 被广泛投入于各类疾病相关的研究中，包括疾病治疗、药物递送等[16]。本研究对 DCI 的作用及机制进行探讨，海马是学习记忆的核心区域，海马区的 IR 现象与 DM 及阿尔茨海默病的认知功能障碍密切相关[17]。本研究结果显示，AMSCs-Exo 使 DCI 大鼠的糖代谢改善，IR 减轻。水迷宫实验显示干预后的 DCI 大鼠学习记忆能力提升，结合海马组织神经细胞结构、形态及数量的恢复，提示通过干预恢复海马区的胰岛素灵敏性，可能是改善 DCI 的有效途径之一。

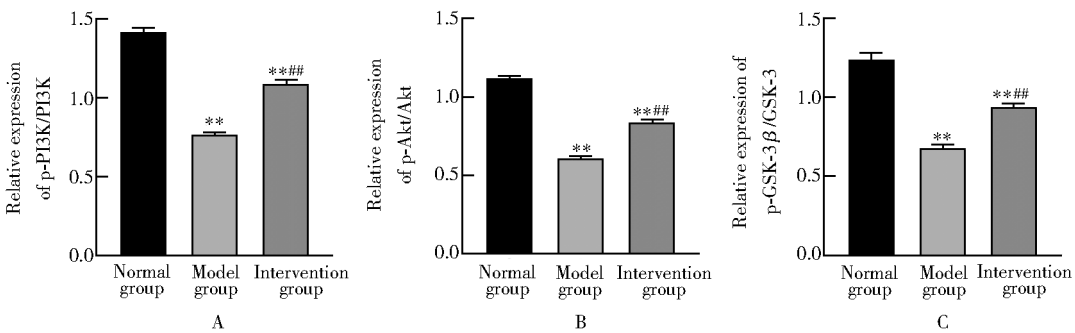


图 9 各组大鼠海马组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 及 p-GSK-3β/GSK-3β 蛋白表达比较

Figure 9 Comparison of protein expression of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-GSK-3β/GSK-3β in hippocampal tissues of rats in each group （$n=3$）

p-PI3K：phosphorylated phosphatidyl inositol 3-kinase；PI3K：phosphatidyl inositol 3-kinase；p-Akt：phosphorylated protein kinase B；Akt：protein kinase B；p-GSK-3β：phosphorylated glycogen synthase kinase-3β；GSK-3β：glycogen synthase kinase-3β. Compared with normal group，**$P<0.01$；compared with model group，##$P<0.01$.

PI3K/Akt 通路是调节 IR 的重要通路[18]。INS 与细胞膜表面的受体结合激活胰岛素受体底物,磷酸化 PI3K,进而激活 PI3K/Akt 通路,调节下游信号分子,调控细胞活动,该通路异常与神经系统疾病的发生发展密切相关[19],其下游分子 GSK-3β 介导 Tau 蛋白的过度磷酸化,加速脑内认知功能的退化[20]。在神经系统中,PI3K 的激活有助于减轻 DM 所致的神经元线粒体损伤[21]。此前已有研究支持上调 PI3K/Akt/GSK-3β 通路对 DCI 的保护作用,He 等[22]在海洋深层水干预 DCI 大鼠的实验中,证明刺激 PI3K/Akt/GSK-3β 信号传导可以改善 Tau 蛋白过度磷酸化和认知障碍。与该研究结果一致,本研究结果显示 AMSCs-Exo 可使 DCI 大鼠海马组织内磷酸化的 PI3K、Akt、GSK-3β 表达量上调,PI3K、Akt 的 mRNA 表达增加,表明 PI3K/Akt/GSK-3β 通路可能是 AMSCs-Exo 改善 DCI 大鼠认知功能的机制之一。

综上,随着 DM 的病程延长,DCI 的出现往往难以避免,目前临床上多以口服降糖药或注射 INS 制剂来改善病情,延缓并发症。本研究为 PI3K/Akt/GSK-3β 通路作为 DCI 的治疗靶点提供一定依据,提示 AMSCs-Exo 治疗 DCI 的潜力。本研究在 Exo 的检测中尚缺乏标志蛋白检测,这在未来的研究中将进一步完善,同时未来也需继续深入探索 AMSCs-Exo 中发挥作用的核心成分、最佳干预方式及通过修饰提升靶向性等,并与临床研究相结合,以期延缓 DCI 患者的疾病进展。

【参考文献】

[1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国糖尿病防治指南(2024 版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2025, 17(1): 16-139. DOI: 10.3760/cma.j.cn115791-20241203-00705.

[2] Hatipoglu BA. Rekindling hope for remission[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2023, 52(1): 1-12. DOI: 10.1016/j.ecl.2022.06.006.

[3] Burillo J, Marqués P, Jiménez B, *et al*. Insulin resistance and diabetes mellitus in Alzheimer's disease[J]. Cells, 2021, 10(5): 1236. DOI: 10.3390/cells10051236.

[4] Moghazy HM, Abdelhaliem NG, Mohammed SA, *et al*. Liraglutide *versus* pramlintide in protecting against cognitive function impairment through affecting PI3K/AKT/GSK-3β/TTBK1 pathway and decreasing Tau hyperphosphorylation in high-fat diet-streptozocin rat model[J]. Pflugers Arch, 2024, 476(5): 779-795. DOI: 10.1007/s00424-024-02933-0.

[5] Wang BN, Wu CB, Chen ZM, *et al*. DL-3-n-butylphthalide ameliorates diabetes-associated cognitive decline by enhancing PI3K/Akt signaling and suppressing oxidative stress[J]. Acta Pharmacol Sin, 2021, 42(3): 347-360. DOI: 10.1038/s41401-020-00583-3.

[6] Xu J, Li C, Fan R, *et al*. BMAL1 ameliorates type 2 diabetes-induced cognitive impairment *via* AREG upregulation and PI3K/Akt/GSK-3β pathway activation[J]. Cell Commun Signal, 2025, 23(1): 7. DOI: 10.1186/s12964-024-02019-5.

[7] Wei W, Xu P, Li L, *et al*. Association of glycogen synthase kinase-3β with cognitive impairment in type 2 diabetes patients: a six-year follow-up study[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2024, 15: 1386773. DOI: 10.3389/fendo.2024.1386773.

[8] Hobday AL, Parmar MS. The link between diabetes mellitus and Tau hyperphosphorylation: implications for risk of Alzheimer's disease[J]. Cureus, 2021, 13(9): e18362. DOI: 10.7759/cureus.18362.

[9] Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes[J]. Annu Rev Biochem, 2019, 88(1): 487-514. DOI: 10.1146/annurev-biochem-013118-111902.

[10] Shi H, Hao X, Sun Y, *et al*. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes reduce insulin resistance and obesity in mice *via* the PI3K/AKT signaling pathway[J]. FEBS Open Bio, 2023, 13(6): 1015-1026. DOI:10.1002/2211-5463.13615.

[11] Cao M, Bu C, Zhang J, *et al*. Exosomal circular RNA hsa-circ-0046060 of umbilical cord mesenchymal stromal cell ameliorates glucose metabolism and insulin resistance in gestational diabetes mellitus *via* the miR-338-3p/G6PC2 axis[J]. Int J Endocrinol, 2022, 2022: 9218113. DOI: 10.1155/2022/9218113.

[12] Liu S, Fan M, Xu JX, *et al*. Exosomes derived from bone-marrow mesenchymal stem cells alleviate cognitive decline in AD-like mice by improving BDNF-related neuropathology[J]. J Neuroinflammation, 2022, 19(1): 35. DOI: 10.1186/s12974-022-02393-2.

[13] 宋蝴蝶, 袁爱红, 叶敏, 等. 电针对糖尿病认知功能障碍大鼠海马区 GLUTs、MCTs 表达的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2025, 44(3): 50-56. DOI: 10.3969/j.issn.2095-7246.2025.03.013.

[14] Ehtewish H, Arredouani A, Elagnaf O. Diagnostic, prognostic, and mechanistic biomarkers of diabetes mellitus-associated cognitive decline[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(11): 6144. DOI: 10.3390/ijms23116144.

[15] Miklosz A, Chabowski A. Adipose-derived mesenchymal stem cells therapy as a new treatment option for diabetes mellitus[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2023, 108(8): 1889-1897. DOI: 10.1210/clinem/dgad142.

[16] He C, Zheng S, Luo Y, *et al*. Exosome theranostics: biology and translational medicine[J]. Theranostics, 2018, 8(1): 237-255. DOI: 10.7150/thno.21945.

[17] Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease[J]. J Clin Invest, 2011, 121(6): 2111-2117. DOI: 10.1172/JCI57132.

[18] Huang X, Liu G, Guo J, *et al*. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(11): 1483-1496. DOI: 10.7150/ijbs.27173.

[19] Akhtar A, Sah SP. Insulin signaling pathway and related molecules: role in neurodegeneration and Alzheimer's disease[J]. Neurochem Int, 2020, 135: 104707. DOI: 10.1016/j.neuint.2020.104707.

[20] Jiang H, Liu J, Guo S, *et al*. miR-23b-3p rescues cognition in Alzheimer's disease by reducing Tau phosphorylation and apoptosis *via* GSK-3β signaling pathways[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2022, 28: 539-557. DOI: 10.1016/j.omtn.2022.04.008.

[21] Gasecka A, Siwik D, Gajewska M, *et al*. Early biomarkers of neurodegenerative and neurovascular disorders in diabetes[J]. J Clin Med, 2020, 9(9): 2807. DOI: 10.3390/jcm9092807.

[22] He S, Peng WB, Fu XJ, *et al*. Deep sea water alleviates Tau phosphorylation and cognitive impairment *via* PI3K/Akt/GSK-3β pathway[J]. Mar Biotechnol (NY), 2022, 24(1): 68-81. DOI: 10.1007/s10126-021-10087-8.

(编辑: 郑真真)