

## 神经生长因子 $\beta$ 在糖尿病周围神经病变中的作用\*

陆春晖 张敬敬 陶慧文 罗梅 罗荔\*\*  
新疆医科大学第五附属医院, 乌鲁木齐 830000

**[摘要]** **目的** 探讨神经生长因子  $\beta$  (NGF $\beta$ ) 在糖尿病周围神经病变 (DPN) 中的作用机制。**方法** 建立高糖细胞模型, 并分为对照组、OE-NGF $\beta$  组、NC-NGF $\beta$  组; 建立大鼠糖尿病神经病变模型, 并分为大鼠对照组、大鼠 OE-NGF $\beta$  组、大鼠 NC-NGF $\beta$  组。利用 RT-qPCR 和 Western blot 检测细胞和大鼠坐骨神经中胰岛素样生长因子-1 (IGF-1), 细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、自噬相关基因 12 (ATG12)、微管相关蛋白 1A/1B 轻链 3B (LC3B) 和 P62 的表达变化。利用 ELISA 检测 DPN 大鼠血液样本中丙二醛 (MDA), 一氧化氮 (NO), 活性氧 (ROS) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 的水平。**结果** 与对照组比较 OE-NGF $\beta$  组中 IGF-1、ATG12、LC3B 和 P62 的 mRNA 和蛋白水平显著升高 ( $P < 0.001$ ), ICAM-1、TNF- $\alpha$  的 mRNA 和蛋白水平则显著下降 ( $P < 0.001$ )。与对照组比较大鼠 OE-NGF $\beta$  组的坐骨神经中 IGF-1、ATG12、LC3B 和 P62 的 mRNA 和蛋白水平显著升高 ( $P < 0.001$ ), ICAM-1、TNF- $\alpha$  的 mRNA 和蛋白水平显著降低 ( $P < 0.001$ )。此外, 与对照组比较大鼠 OE-NGF $\beta$  组中 MDA、NO 和 ROS 的水平显著降低 ( $P < 0.001$ ), SOD 的水平显著升高 ( $P < 0.001$ )。**结论** NGF $\beta$  可能通过调节自噬和抗氧化在 DPN 中发挥神经保护作用, 提示 NGF $\beta$  可能是一个 DPN 的潜在治疗靶点。

**[关键词]** 糖尿病神经病变; 神经生长因子  $\beta$ ; 自噬; 抗氧化

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.04.007

## Effect of Nerve Growth Factor $\beta$ on Diabetic Peripheral Neuropathy

Lu Chunhui, Zhang Jingjing, Tao Huiwen, Luo Mei, Luo Li\*\*

The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000

\*\* Corresponding author: Luo Li, email: luoli197620@163.com

**[Abstract]** **Objective** To investigate the mechanism of nerve growth factor  $\beta$  (NGF  $\beta$ ) in diabetic peripheral neuropathy (DPN). **Methods** High glucose cell model was established and divided into control group, OE-NGF $\beta$  group and NC-NGF $\beta$  group. Diabetic neuropathy model was established and divided into rat control group, OE-NGF $\beta$  group and NC-NGF $\beta$  group. RT-qPCR and Western blot were used to detect the expression changes of insulin-like growth factor-1 (IGF-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), autophagy-related gene 12 (ATG12), microtubule-associated protein 1A/1B light chain 3B (LC3B) and P62 in cells and rat sciatic nerves. The levels of malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), reactive oxygen species (ROS) and superoxide dismutase (SOD) in blood samples of DPN rats were detected by ELISA. **Results** Compared with control group, the mRNA and protein levels of IGF-1, ATG12, LC3B and P62 in the OE-NGF $\beta$  group were significantly increased ( $P < 0.001$ ), while the mRNA and protein levels of ICAM-1 and TNF- $\alpha$  were significantly decreased ( $P < 0.001$ ). Compared with control group, the mRNA and protein levels of IGF-1, ATG12, LC3B and P62 in the sciatic nerve of the rat OE-NGF $\beta$  group were significantly increased ( $P < 0.001$ ), and the mRNA and protein levels of ICAM-1 and TNF- $\alpha$  were significantly decreased ( $P < 0.001$ ). In addition, compared with control group, the levels of MDA, NO, and ROS were significantly decreased ( $P < 0.001$ ) and the levels of SOD were significantly increased ( $P < 0.001$ ) in the rat OE-NGF $\beta$  group. **Conclusion** NGF $\beta$  may exert neuroprotective effects in DPN by regulating autophagy and antioxidant, suggesting that NGF $\beta$  may be a potential therapeutic target for DPN.

**[Key words]** Diabetes peripheral neuropathy; Nerve growth factor  $\beta$ ; Autophagy; Antioxidant

糖尿病是一种全球性的慢性疾病, 其并发症对患者的生存率和生活质量均产生了重大影响<sup>[1]</sup>。糖尿病周围神经病变 (Diabetic peripheral neuropathy, DPN) 是糖尿病最常见的微血管并发症之一, 严重影响患者的生活质量<sup>[2]</sup>。DPN 的主要病理特

征包括神经纤维的退行性变化、神经细胞的损伤和功能障碍<sup>[3]</sup>。目前的研究发现, DPN 的发生和发展很大程度上是由高血糖、胰岛素缺乏和血脂异常引起的<sup>[4]</sup>。然而, 导致神经功能障碍的分子机制仍不清楚。因此, 阐明促进 DPN 发生和发展的

\* 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2022D01C317)

\*\* 通讯作者: 罗荔, 电子邮箱 luoli197620@163.com

分子机制具有重要的临床意义, 为开发有效的治疗策略提供理论依据。

神经生长因子  $\beta$  (Nerve growth factor  $\beta$ , NGF $\beta$ ) 是一种重要的神经营养因子, 对神经细胞的生存、生长和分化起到关键作用<sup>[5]</sup>。近年来, 有研究发现 NGF $\beta$  在糖尿病和其并发症的发病机制中可能起到了重要作用, 有助于胰岛素分泌调节<sup>[6]</sup>。特别是在 DPN 中, NGF $\beta$  的表达和功能可能受到高糖环境的影响, 进而影响神经细胞的生存和功能<sup>[7]</sup>。此外, 自噬是一种细胞内的降解过程, 通过此过程, 细胞可以清除受损的细胞器和蛋白质<sup>[8]</sup>。自噬缺陷是胰岛素靶组织中胰岛素抗性发展的潜在因素<sup>[9]</sup>。在 DPN 的发病过程中, 自噬紊乱导致细胞内的蛋白质和细胞器积累, 从而加剧神经细胞的损伤<sup>[10]</sup>。而 DPN 患者常常伴随氧化应激增加, 抗氧化系统功能障碍, 可能加剧 DPN 的病理过程<sup>[11]</sup>。

综上所述, 本研究旨在探讨 NGF $\beta$  在 DPN 的发病机制中的作用, 特别是其对自噬和抗氧化系统的影响, 从而为 DPN 的治疗提供新的理论基础和靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

RSC96 大鼠施旺细胞 (货号 CL-0199) 购自武汉 Procell 公司; 杜尔贝克改良伊格尔培养基 (货号 11965092)、胎牛血清 (货号 30067334)、青霉素和链霉素 (货号 15070063)、Lipofectamine 2000 转染试剂 (货号 11668500)、Superscript II 逆转录酶 (货号 18064014) 购自美国 Invitrogen 公司; pAvv6-NGF $\beta$ -EGFP 和 pAvv6-NC-EGFP 重组腺病毒载体购自苏州吉玛生物公司; Trizol 试剂 (货号 R0016)、BCA 试剂盒 (货号 P0009)、增强化学发光试剂 (货号 P0018S) 购自上海碧云天生物技术有限公司; SYBR Green/ROX qPCR mix (货号 K0223) 购自美国 Thermo 公司; 兔抗大鼠 NGF $\beta$  抗体 (货号 A14216)、兔抗大鼠自噬相关基因 12 (Autophagy-related genes 12, ATG12) 抗体 (货号 A19610)、兔抗大鼠 ICAM1 抗体 (货号 A20472)、兔抗大鼠胰岛素样生长因子-1 (Insulin-like growth factor-1, IGF-1) 抗体 (货号 A24744)、兔抗大鼠微管相关蛋白 1A/1B 轻链 3B (Microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3B, MAP1LC3B) 抗体 (简称 LC3B) (货号 A5618)、兔抗大鼠 P62 抗体 (货号 A19700)、兔抗大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 抗体 (货号 A24214)、兔抗大鼠  $\beta$ -actin 抗体 (货号 AC026)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG (货号 AS080) 购自武汉爱博泰克公司; 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) (货号 BL904A)、一氧化氮 (Nitric oxide, NO) (货号 BL850A)、活性氧 (Reactive oxygen

species, ROS) (货号 BL714A) 和超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) (货号 BL901A) 购自安徽 Biosharp 公司。

### 1.2 建立高糖细胞模型

大鼠雪旺细胞 (RSC96) 细胞培养条件为杜尔贝克改良伊格尔培养基 (含 150 mM 葡萄糖) + 10% 胎牛血清 + 1% 青霉素和链霉素, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, 培养 24 h 建立高糖模型。将细胞随机分为三组: 高糖培养的 RSC96 细胞 (对照组)、转染 pAvv6-NGF $\beta$ -EGFP 的过表达 (Over expression, OE) NGF $\beta$  的高糖培养 RSC96 细胞 (OE-NGF $\beta$  组)、转染 pAvv6-NC-EGFP 的空白对照 (Normal control, NC) 的高糖培养 RSC96 细胞 (NC-NGF $\beta$  组)。

当 RSC96 细胞生长至 60% ~ 70% 时传代用于转染。使用 Lipofectamine 2000 转染试剂与 pAvv6-NGF $\beta$ -EGFP 或 pAvv6-NC-EGFP 载体混合, 孵育 20 min 后形成转染复合物。将转染复合物加入到细胞培养液中, 轻轻混合, 然后在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中孵育 6 h, 更换新鲜的培养基继续培养 48 h 后进行检测。

### 1.3 建立大鼠糖尿病神经病变模型

由新疆医科大学动物护理中心饲养的 15 只 8 周龄雄性 Wistar 大鼠, 体质量为 (200 ± 20) g, 在自由饮水和标准饮食两周后随机分为三组: DPN 大鼠 (大鼠对照组)、过表达 NGF $\beta$  的 DPN 大鼠 (大鼠 OE-NGF $\beta$  组)、注射空载体的 DPN 大鼠 (大鼠 NC-NGF $\beta$  组)。

大鼠在适应性饲养 1 周后, 连续喂食高脂肪饮食 8 周, 建立 DPN 大鼠模型<sup>[12]</sup>。禁食 14 h 后, 腹腔内注射链脲佐菌素 30 mg/kg, 继续喂食高脂肪饮食, 第 3 天再次注射链脲佐菌素 30 mg/kg。检测大鼠血糖  $\geq 11.1$  mmol/L 即成功构建糖尿病大鼠模型。在糖尿病大鼠基础上继续高脂饮食饲养 4 周, 通过感觉或运动传导速度减慢超过 11% 来判断 DPN 大鼠模型的成功建立。另外, 通过尾静脉注射  $1.12 \times 10^{11}$  OPU (20  $\mu$ L) 的 pAvv6-NC-EGFP 对照或 pAvv6-NGF $\beta$ -EGFP 进行 NGF $\beta$  过表达。随后继续饲养 48 h, 通过腹腔内注射戊巴比妥进行麻醉, 采集腹主动脉血液样本并分离血清, 并在大鼠股骨外侧采集两侧坐骨神经组织样本。

### 1.4 实时定量 PCR (Real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 实验

收集 RSC96 细胞和大鼠坐骨神经样本, 利用 Trizol 试剂提取总 RNA; 使用 NanoDrop 微量分光光度计测定 RNA 的浓度和纯度; 通过逆转录酶 Superscript II 将总 RNA 逆转录为 cDNA。反应条件为 25 °C 孵育 10 min; 42 °C 孵育 60 min; 70 °C 孵育 10 min。随后将 cDNA 用特异的引物和 SYBR Green/ROX PCR mix 在 Step One Plus 系统中进行 RT-qPCR 反应。反应条件为 95 °C 10 min; 95 °C

15 s, 60 °C 30 s, 72 °C 10 s, 共 40 个循环; 72 °C 10 min。用于检测基因的合成寡核苷酸引物见表 1,

以  $\beta$ -actin 为内参基因, 通过  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法进行相对定量分析。

表 1 引物序列  
 Tab. 1 Primer sequences

基因	引物序列	大小(bp)
ATG12	F: 5'-GCAAGATGGCAGAAGACCCAG-3' R: 5'-TTGGTGTCTCCGGGAGGTTTC-3'	163
ICAM1	F: 5'-TTTCAGCTCCCATCCTGACC-3' R: 5'-GGGAAGTACCCTGTGAGGTG-3'	144
IGF-1	F: 5'-GACCCGGGACGTACCAAAAT-3' R: 5'-GAACTGAAGAGCGTCCACCA-3'	102
LC3B	F: 5'-TATCCACACCCATCGCTGAC-3' R: 5'-GGGGAGAACCTGACCAGAAC-3'	145
NGF $\beta$	F: 5'-CTGGTCCGACAGTGACCAAA-3' R: 5'-ATCTGACCATGCCCAGCATC-3'	135
P62	F: 5'-GGTGTCTGTGAGAGGACGAG-3' R: 5'-CCTCTTACTGGGGTTCCACG-3'	108
TNF- $\alpha$	F: 5'-ATCCGAGATGTGGAAGTGGC-3' R: 5'-CGATCACCCGAAGTTCAGT-3'	151
$\beta$ -actin	F: 5'-GGT ATG GAA TCC TGT GGC ATC CAT GAA A-3' R: 5'-GTG TAA AAC GCA GCT CAG TAA CAG TCC G-3'	181

### 1.5 Western blot 实验

使用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液在冰上提取 RSC96 细胞和大鼠坐骨神经样本的总蛋白, 使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。将等量的蛋白样品与 5X SDS 加载缓冲液混合, 然后在 95 °C 下加热 5 min。将样品加载到 12% SDS-PAGE 中, 并在恒定电压下进行电泳, 在转膜缓冲液中将蛋白从凝胶转移到 PVDF 膜上。使用 5% 脱脂牛奶在 TBST 中孵育 2 h。使用 TBST 清洗膜 3 次, 每次 10 min。将膜与稀释的一抗 NGF $\beta$  抗体 1:1 000; ATG12 抗体 1:1 000; 细胞间黏附分子-1 (Intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 抗体 1:3 000; IGF-1 抗体 1:3 000; LC3B 抗体 1:1 000; P62 抗体 1:1 000; TNF- $\alpha$  抗体 1:1 000;  $\beta$ -actin 抗体 1:2 000 在 4 °C 条件下孵育过夜。使用 TBST 清洗膜 3 次, 每次 10 min。室温下将膜与辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:5 000) 孵育 2 h。使用 TBST 清洗膜 3 次, 每次 10 min, 使用增强化学发光试剂检测蛋白质印迹后的蛋白质条带。以  $\beta$ -actin 为内参蛋白, 利用 Image J 软件分析目标蛋白的相对表达。

### 1.6 ELISA 实验

利用 ELISA 试剂盒检测血清中 MDA, NO, ROS, SOD 水平。

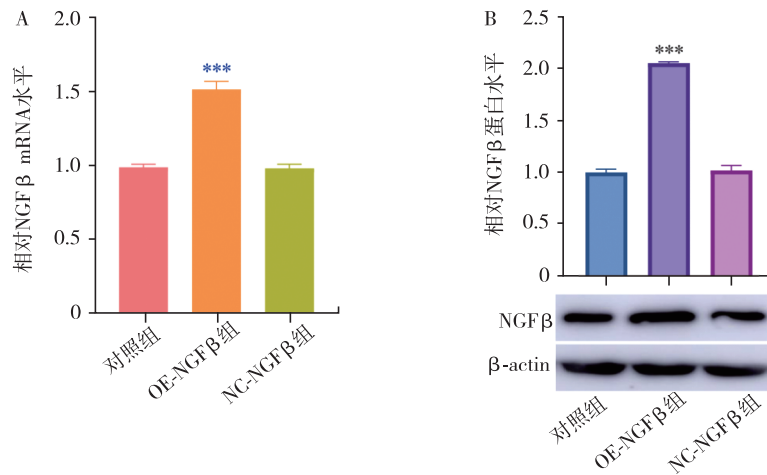
### 1.7 统计学方法

采用 GraphPad Prism 9 进行数据统计分析, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示。使用单因素方差分析, 任意两组比较采用 LSD-*t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NGF $\beta$ 过表达对高糖 RSC96 细胞中神经因子和自噬的影响

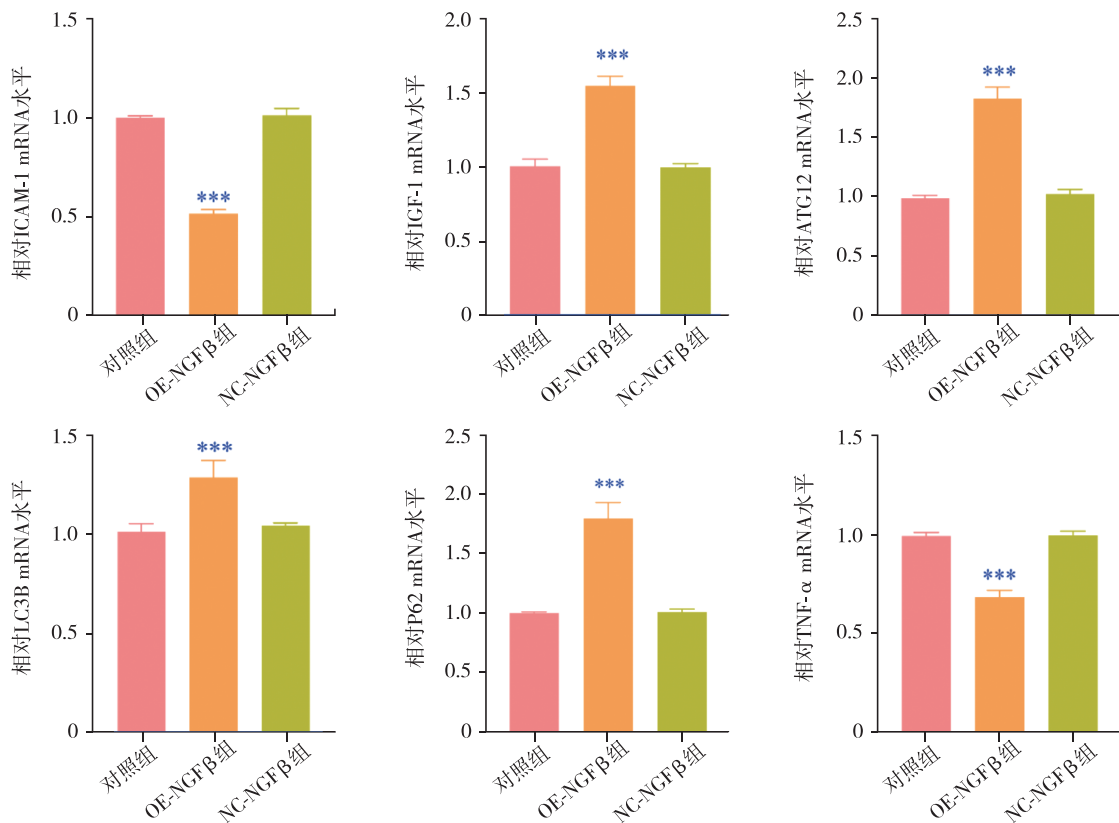
在高糖 RSC96 细胞模型中, 与对照组比较, OE-NGF $\beta$  组中 NGF $\beta$  的表达均显著升高 ( $P < 0.001$ ), 见图 1。RT-qPCR 分析发现 OE-NGF $\beta$  组 IGF-1、ATG12、LC3B 和 P62 的 mRNA 水平显著高于对照组 ( $P < 0.001$ ); OE-NGF $\beta$  组 ICAM-1 和 TNF- $\alpha$  的 mRNA 水平显著降低 ( $P < 0.001$ ), 见图 2。Western blot 检测结果显示, 与对照组比较, OE-NGF $\beta$  组 IGF-1、ATG12、LC3B 和 P62 的蛋白表达显著升高 ( $P < 0.001$ ); OE-NGF $\beta$  组 ICAM-1 和 TNF- $\alpha$  的蛋白表达显著降低 ( $P < 0.001$ ), 见图 3。



注: A. RT-qPCR 检测 NGF $\beta$  的 mRNA 水平; B. Western blot 检测 NGF $\beta$  的蛋白表达水平; 与对照组比较 \*\*\*  $P < 0.001$

图 1 检测高糖 RSC96 细胞中 NGF $\beta$  的表达

Fig. 1 Detection of expression of NGF $\beta$  in high glucose RSC96 cells



注: 与对照组比较 \*\*\*  $P < 0.001$

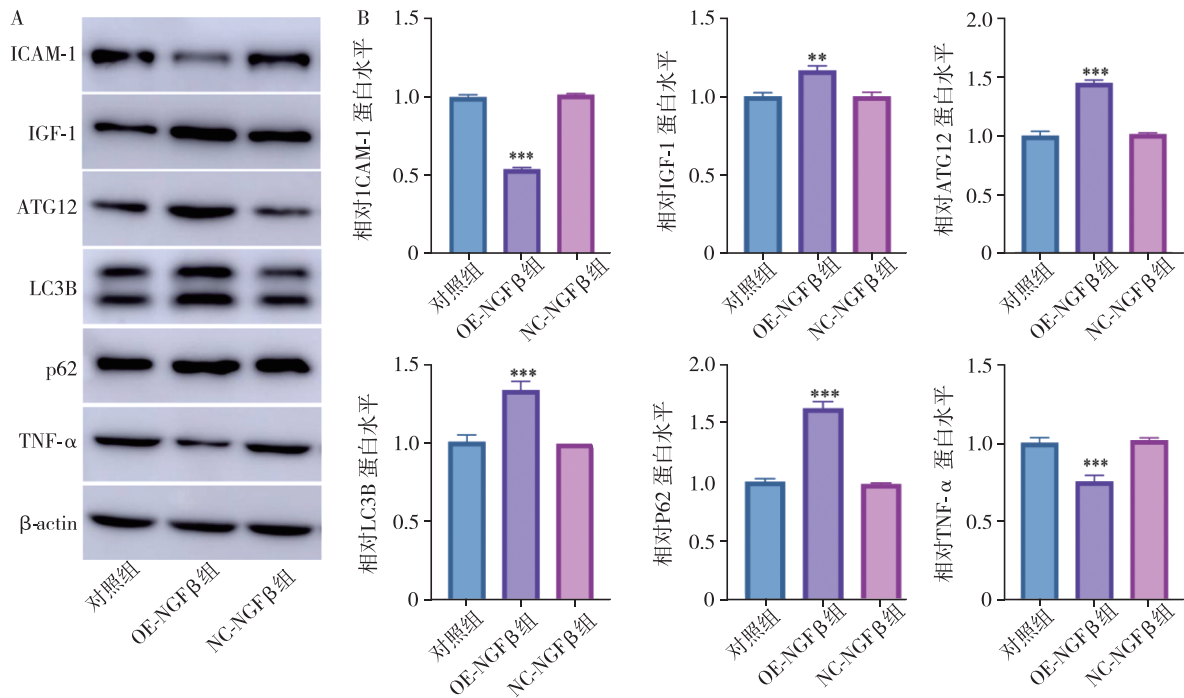
图 2 RT-qPCR 检测神经因子和自噬相关蛋白的 mRNA 水平

Fig. 2 RT-qPCR was used to detect the mRNA levels of neural factors and autophagy-related proteins

## 2.2 NGF $\beta$ 过表达对 DPN 大鼠坐骨神经中神经因子和自噬的影响

在 DPN 大鼠模型 HE 染色结果中, 与大鼠对照组比较, 大鼠 OE-NGF $\beta$  组大鼠坐骨神经纤维明显增多且规则, 见图 4。另外, 大鼠 OE-NGF $\beta$  组大鼠中 NGF $\beta$  的表达显著升高 ( $P < 0.001$ ), 见图 5。RT-qPCR 分析发现, 与对照组比较, IGF-1、ATG12、LC3B 和 P62 的 mRNA 水平在大鼠 OE-NGF $\beta$  组的 DPN

大鼠坐骨神经中显著升高 ( $P < 0.001$ ); ICAM-1 和 TNF- $\alpha$  的 mRNA 水平在大鼠 OE-NGF $\beta$  组 DPN 大鼠坐骨神经中显著降低 ( $P < 0.001$ ), 见图 6。Western blot 检测结果显示, 与大鼠对照组比较, IGF-1、ATG12、LC3B 和 P62 的蛋白表达在大鼠 OE-NGF $\beta$  组 DPN 大鼠坐骨神经中显著升高 ( $P < 0.001$ ); ICAM-1 和 TNF- $\alpha$  的蛋白表达在大鼠 OE-NGF $\beta$  组 DPN 大鼠坐骨神经中显著降低 ( $P < 0.001$ ), 见图 7。



注: A. Western blot 检测神经因子和自噬相关蛋白的表达; B. 蛋白表达量化的统计分析结果; 与对照组比较 \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

图3 检测神经因子和自噬相关蛋白的表达

Fig. 3 Detection of the expression of neural factors and autophagy-related proteins

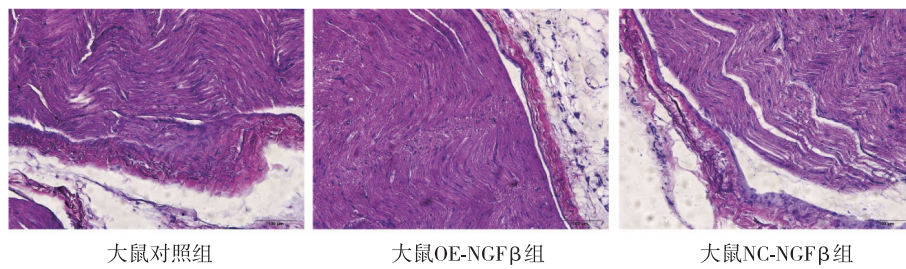
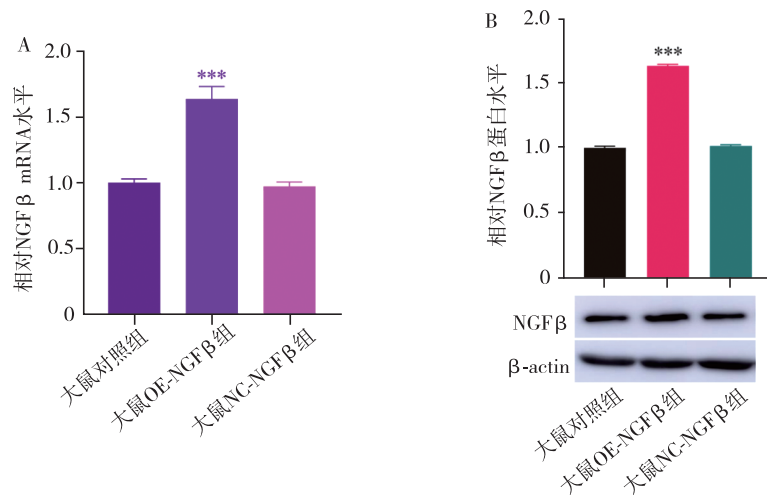


图4 DPN 大鼠坐骨神经 HE 染色结果 ( $\times 20$ )

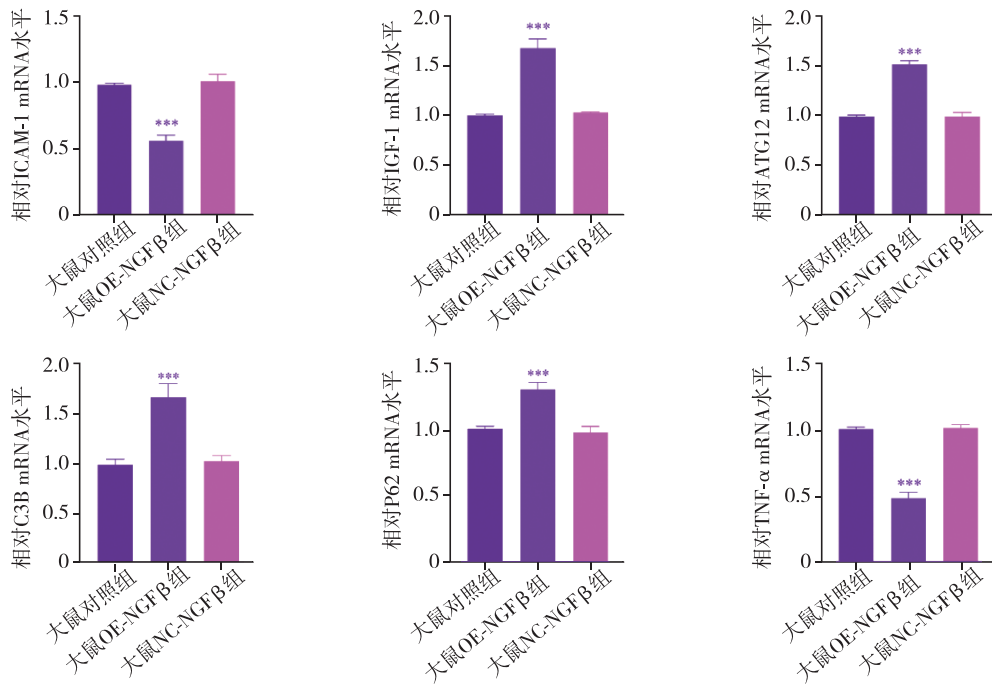
Fig. 4 HE staining results of the sciatic nerve of DPN rats ( $\times 20$ )



注: A. RT-qPCR 检测 NGF $\beta$  的 mRNA 水平 B. Western blot 检测 NGF $\beta$  的蛋白表达水平; 与对照组比较 \*\*\*  $P < 0.001$

图5 检测 DPN 大鼠坐骨神经中 NGF $\beta$  的表达

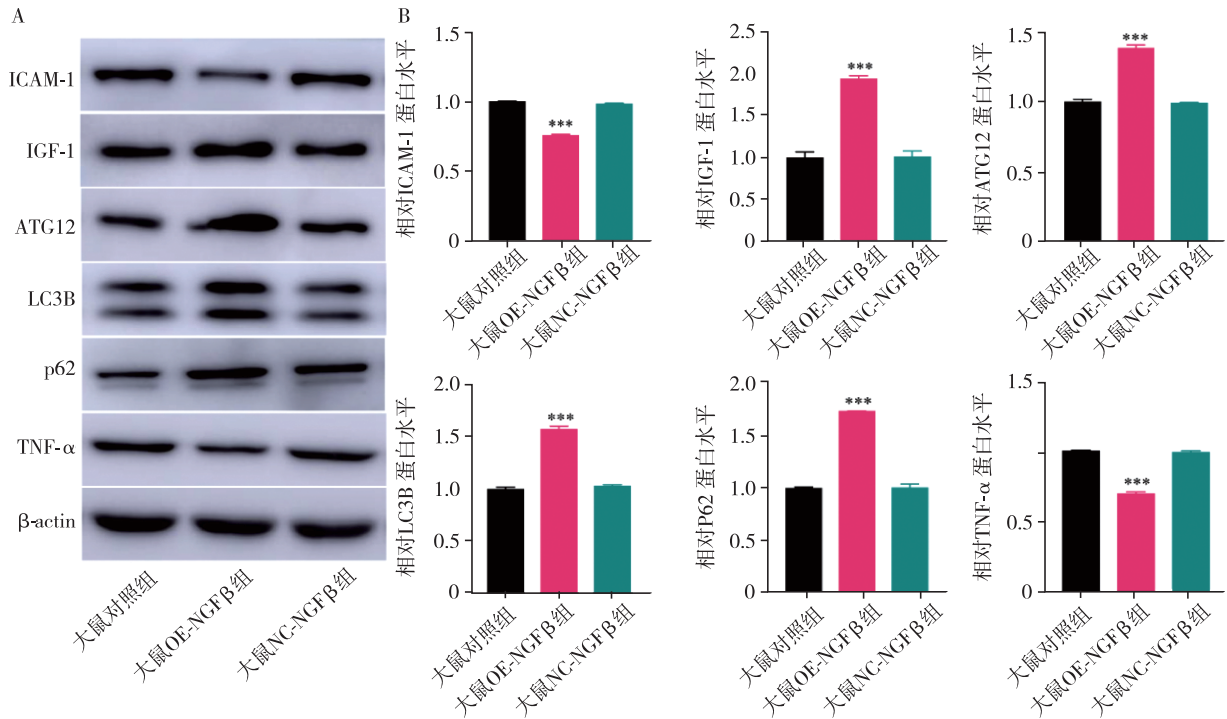
Fig. 5 Detection of NGF $\beta$  expression in the sciatic nerve of DPN rats



注: 与大鼠对照组比较 \*\*\*  $P < 0.001$

图 6 RT-qPCR 检测 DPN 大鼠坐骨神经中神经因子和自噬相关蛋白的 mRNA 水平

Fig. 6 RT-qPCR was used to detect the mRNA levels of neural factors and autophagy-related proteins in the sciatic nerve of DPN rats



注: A. Western blot 检测神经因子和自噬相关蛋白的表达; B. 蛋白表达量化的统计分析结果; 与大鼠对照组比较 \*\*\*  $P < 0.001$

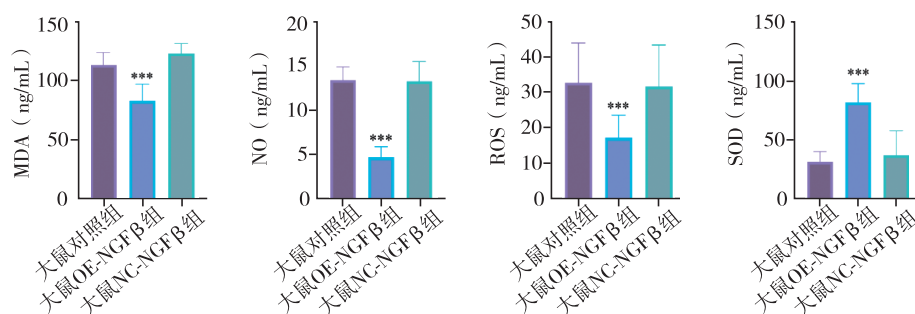
图 7 检测 DPN 大鼠坐骨神经中神经因子和自噬相关蛋白的表达

Fig. 7 Detection of the expression of neural factors and autophagy-related proteins in the sciatic nerve of DPN rats

### 2.3 NGF $\beta$ 过表达对 DPN 大鼠氧化应激的影响

通过 ELISA 检测了 DPN 大鼠血液样本中的多种氧化应激标志物。结果显示, 与大鼠对照组相

比, 大鼠 OE-NGF $\beta$  组 DPN 大鼠中 MDA、NO 和 ROS 的水平均显著降低 ( $P < 0.001$ ), 而 SOD 的活性显著增加 ( $P < 0.001$ ), 见图 8。



注: 与大鼠对照组比较 \*\*\*  $P < 0.001$

图 8 ELISA 检测 DPN 大鼠中氧化应激相关因子的表达

Fig. 8 ELISA was used to detect the expression of oxidative stress related factors in DPN rats

### 3 讨论

DPN 是糖尿病的一种常见并发症, 其发病机制复杂, 涉及多种生物学过程<sup>[13]</sup>。本研究着重探讨了 NGF $\beta$  在高糖环境下的作用及其对关键分子和氧化应激标志物的影响。结果表明, NGF $\beta$  过表达可以改善糖尿病神经病变模型大鼠的神经因子和自噬, 甚至氧化应激水平, 这是 DPN 的重要机制<sup>[14]</sup>。

本研究成功地在高糖 RSC96 细胞模型中过表达了 NGF $\beta$ , 这为进一步探索 NGF $\beta$  在高糖环境下的功能提供了基础。NGF 促进髓鞘形成, 激活雪旺细胞中的自噬以增加髓鞘碎片的清除, 并加速周围神经再生<sup>[15]</sup>。NGF $\beta$  在控制胰岛素释放和血糖代谢中是必不可少的, 并且可阻碍糖尿病并发症的风险<sup>[16]</sup>。前期研究已经证实, NGF $\beta$  显著提高 DPN 大鼠坐骨神经传导速度, 降低炎症因子表达<sup>[17]</sup>。

尽管 DPN 的确切发病机制尚不完全清楚, 但越来越多的证据表明, 氧化应激、炎症反应和自噬异常在其中起到了关键作用<sup>[18-19]</sup>。本研究结果发现 NGF $\beta$  在高糖环境下的雪旺细胞中显著促进了 IGF-1 的表达。已有研究显示抑制 IGF-1 信号传导是包括糖尿病性神经病变在内的神经退行性疾病发展的促成因素, 低浓度的 IGF-1 与 DPN 的发展有关<sup>[20-21]</sup>。此外, 自噬标志物 ATG12、LC3B 和 P62 的表达降低揭示了 DPN 患者的氧化应激和自噬的损伤<sup>[22]</sup>。激活自噬能保护胰岛细胞免于功能障碍和死亡, 有效治疗糖尿病神经病变<sup>[23]</sup>。高糖作用下雪旺细胞中自噬标志物 LC3B 和 P62 的表达降低, 从而抑制自噬并加重 DPN<sup>[24]</sup>。另外, 有证据表明, 并发神经病变的 2 型糖尿病患者中, ICAM-1 的水平增加<sup>[25]</sup>。本研究结果显示在过表达 NGF $\beta$  后的细胞和大鼠模型中 ICAM-1 和 TNF- $\alpha$  的水平显著降低。这些结果提示 NGF $\beta$  可能通过调节细胞自噬反应和炎症反应而在高糖环境下发挥保护作用。

在 DPN 大鼠模型中观察到了与细胞模型相似的结果, 这进一步强化了 NGF $\beta$  在糖尿病性神经病变中的关键作用并发现了过表达 NGF $\beta$  可以显著降低 DPN 大鼠中的氧化应激标志物 MDA、NO 和 ROS 的水平, 并增加抗氧化酶 SOD 的活性。已有

研究证实 DPN 中的 MDA、NO 和 ROS 水平明显升高, SOD 水平明显降低<sup>[26-28]</sup>。本研究结果证实了 NGF $\beta$  在调节细胞抗氧化防御机制中的重要作用。

尽管本研究提供了有关 NGF $\beta$  在高糖环境下的调控作用, 但仍存在一些问题需要进一步探讨。例如, NGF $\beta$  是如何调节自噬和炎症反应的具体机制仍不清楚; 此外, 尽管已经观察到了 NGF $\beta$  对关键分子和氧化应激标志物的影响, 但其长期的生物学效应和潜在的治疗应用仍需要进一步研究。综上所述, 本研究结果表明 NGF $\beta$  在高糖环境下可能通过调节自噬、抑制炎症反应和氧化应激来发挥其保护作用。为进一步探索 NGF $\beta$  在糖尿病性神经病变中的作用提供了新的见解, 并为开发新的治疗策略提供了理论基础。

### 参考文献

- [1] Aghaei Z, Karbalaeei N, Namavar M R, et al. Neuroprotective effect of Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium (WJMSC-CM) on diabetes-associated cognitive impairment by improving oxidative stress, neuroinflammation, and apoptosis [J]. *Stem Cells Int*, 2023, 2023: 7852394.
- [2] Li Y, Li Y, Deng N, et al. Training and external validation of a predict nomogram for type 2 diabetic peripheral neuropathy [J]. *Diagnostics (Basel)*, 2023, 13 (7): 1265.
- [3] Preston F G, Riley D R, Azmi S, et al. Painful diabetic peripheral neuropathy: practical guidance and challenges for clinical management [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2023, 16: 1595 - 1612.
- [4] Liu Y T, Xu Z, Liu W, et al. The circ\_0002538/miR-138-5p/plasmalipin axis regulates schwann cell migration and myelination in diabetic peripheral neuropathy [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18 (7): 1591 - 1600.
- [5] Li J, Guan R, Pan L. Mechanism of schwann cells in diabetic peripheral neuropathy: a review [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102 (1): e32653.
- [6] Samario-Román J, Larquéc C, Pánico P, et al. NGF and its role in immunoendocrine communication during metabolic syndrome [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24

- (3): 1957.
- [7] Alharthy K M, Balaha M F, Devi S, et al. Ameliorative effects of isoeugenol and eugenol against impaired nerve function and inflammatory and oxidative mediators in diabetic neuropathic rats [J]. *Biomedicines*, 2023, 11 (4): 1203.
- [8] Shu F, Xiao H, Li Q N, et al. Epigenetic and post-translational modifications in autophagy: biological functions and therapeutic targets [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8 (1): 32.
- [9] Frenedo-Cumbo S, Tokarz V L, Bilan P J, et al. Communication between autophagy and insulin action: at the crux of insulin action-insulin resistance? [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 708431.
- [10] Yang K, Cao F, Wang W, et al. The relationship between HMGB1 and autophagy in the pathogenesis of diabetes and its complications [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1141516.
- [11] Wang Q, Chen F Y, Ling Z M, et al. The effect of schwann cells/schwann cell-like cells on cell therapy for peripheral neuropathy [J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 836931.
- [12] Davidson E P, Copepy L J, Holmes A, et al. Effect of treatment of high fat fed/low dose streptozotocin-diabetic rats with Ilepatriol on vascular and neural complications [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 668 (3): 497–506.
- [13] 袁慧伦, 程凯, 陈前, 等. 基于 ERK 信号通路抑制星形胶质细胞活化探讨益气活血通络方对糖尿病大鼠神经病理性疼痛的作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29 (23): 36–46.
- Yuan H L, Cheng K, Chen Q, et al. Effects of Yiqi Huoxue Tongluo Recipe on neuropathic pain in diabetes rats based on ERK signaling pathway inhibiting astrocyte activation [J]. *Chinese Journal of Experimental Formula Studies*, 2023, 29 (23): 36–46.
- [14] Schleicher E, Didangelos T, Kotzakioulafi E, et al. Clinical pathobiochemistry of vitamin B12 deficiency: improving our understanding by exploring novel mechanisms with a focus on diabetic neuropathy [J]. *Nutrients*, 2023, 15 (11): 2597.
- [15] Amerian N, Talebi A, Safari M, et al. Effect of sesamol on damaged peripheral nerves: Evaluation of functional, histological, molecular, and oxidative stress parameters [J]. *Avicenna J Phytomed*, 2022, 12 (6): 602–613.
- [16] Pham V M, Matsumura S, Katano T, et al. Diabetic neuropathy research: from mouse models to targets for treatment [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14 (11): 1870–1879.
- [17] 罗荔, 罗梅, 张丽, 等. 鞘内转染 AAV6-hNGF $\beta$  对糖尿病神经病变大鼠的修复作用 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18 (22): 2373–2377.
- Luo L, Luo M, Zhang L, et al. The rehabilitation effect of intrathecal transfection of AAV6-hNGF $\beta$ -EGFP in diabetic peripheral neuropathy rats [J]. *J Clin Exp Med*, 2019, 18 (22): 2373–2377.
- [18] 袁久术, 周明阳, 王雪茹, 等. 中医药通过自噬防治糖尿病周围神经病变作用机制研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42 (04): 165–170, 294.
- Yuan J S, Zhou M Y, Wang X R, et al. Research progress on the mechanism of Chinese medicine preventing and treating diabetes peripheral neuropathy through autophagy [J]. *Chin J Tradit Chin Med*, 2024, 42 (04): 165–170, 294.
- [19] 黄苏苏, 王雪茹, 袁久术, 等. 中医药基于自噬防治糖尿病周围神经病变的实验研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48 (23): 6315–6323.
- Huang S S, Wang X R, Yuan J S, et al. Experimental research progress on prevention and treatment of diabetes peripheral neuropathy based on autophagy in traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Tradit Chin Med*, 2023, 48 (23): 6315–6323.
- [20] Aghanoori M R, Agarwal P, Gauvin E, et al. CEBP $\beta$  regulation of endogenous IGF-1 in adult sensory neurons can be mobilized to overcome diabetes-induced deficits in bioenergetics and axonal outgrowth [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79 (4): 193.
- [21] Biadgo B, Tamir W, Ambachew S. Insulin-like growth factor and its therapeutic potential for diabetes complications - mechanisms and metabolic links: a review [J]. *Rev Diabet Stud*, 2020, 16 (1): 24–34.
- [22] Medras Z, Mostafa Y M, Ahmed A, et al. Arctigenin improves neuropathy via ameliorating apoptosis and modulating autophagy in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29 (10): 3068–3080.
- [23] Zhao X, Bie L Y, Pang D R, et al. The role of autophagy in the treatment of type II diabetes and its complications: a review [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1228045.
- [24] Ge X, Wang L, Fei A, et al. Research progress on the relationship between autophagy and chronic complications of diabetes [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 956344.
- [25] Siddiqui K, George T P, Mujammami M, et al. The association of cell adhesion molecules and selectins (VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, L-selectin, and P-selectin) with microvascular complications in patients with type 2 diabetes: a follow-up study [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1072288.
- [26] Fan J, Pan Q, Gao Q, et al. TSH combined with TSHR aggravates diabetic peripheral neuropathy by promoting oxidative stress and apoptosis in schwann cells [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 2482453.
- [27] Yorek M. Treatment for diabetic peripheral neuropathy: what have we learned from animal models? [J]. *Curr Diabetes Rev*, 2022, 18 (5): e040521193121.
- [28] He Q, Zeng Z, Zhao M, et al. Association between thyroid function and diabetes peripheral neuropathy in euthyroid type 2 diabetes mellitus patients [J]. *Sci Rep*, 2023, 13 (1): 13499.