

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.08.014

论著·基础

过表达 CTRP6 通过调控 Nrf2/HO-1 通路在减轻糖尿病小鼠脑缺血再灌注损伤中的作用

沈倩妮, 王苏, 刘恒娟, 李亚男, 龚平



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82102295)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院麻醉科(沈倩妮、王苏、刘恒娟、李亚男、龚平); 430079 武汉大学口腔医院麻醉科/

口腔基础医学省部共建国家重点实验室/培育基地和口腔生物医学教育部重点实验室(龚平)

通信作者: 龚平, E-mail: gongping@whu.edu.cn

【摘要】目的 探讨过表达 C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白-6(CTRP6)通过调控核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶-1(Nrf2/HO-1)通路在减轻糖尿病小鼠脑缺血再灌注损伤中的作用。方法 于 2021 年 9 月—2022 年 6 月在武汉大学人民医院进行实验,选取清洁级雄性 C57BL/6 小鼠 18 只,采用随机数字表法分为假手术组(Sham)、脑缺血再灌注组(IR)、脑缺血再灌注 + CTRP6 过表达组(IR + CTRP6),各 6 只。IR 组、IR + CTRP6 组连续 5 d 腹腔注射 STZ 50 mg/kg 建立小鼠糖尿病模型,IR + CTRP6 组在糖尿病模型建立 3 周后脑室注射腺相关病毒(AAV)-CTRP6,6 周后 2 组采用线栓法制备小鼠脑缺血再灌注损伤模型,Sham 组仅行手术操作不作任何处理。再灌注 24 h 后 TTC 检测脑梗死面积;Western-blot 检测 Nrf2、HO-1、NQO-1、p-NF-κB/NF-κB、p-IKK/IKK 蛋白水平;WST-1 法检测 SOD,可见光法检测 CAT,TBA 法检测 MDA,ELISA 法检测 IL-1β、TNF-α、MCP-1 水平;比色法检测 Caspase-3、Caspase-9 活性;原位凋亡荧光素检测细胞凋亡情况。结果 与 Sham 组比较,IR 组 Nrf2、HO-1、NQO-1、SOD、CAT 均降低(P 均 < 0.01),p-NF-κB/NF-κB、p-IKK/IKK、MDA、IL-1β、TNF-α、MCP-1、Caspase-3、Caspase-9、TUNEL 阳性细胞升高(P 均 < 0.01);与 IR 组比较,IR + CTRP6 组 Nrf2、HO-1、NQO-1、SOD、CAT 均升高(P 均 < 0.01),脑梗死面积、p-NF-κB/NF-κB、p-IKK/IKK、MDA、IL-1β、TNF-α、MCP-1、Caspase-3、Caspase-9、TUNEL 阳性细胞均降低(P 均 < 0.01)。结论 CTRP6 通过调控氧化应激、炎症反应、细胞凋亡进而减轻糖尿病小鼠脑缺血再灌注损伤。

【关键词】 糖尿病;脑缺血再灌注损伤;C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白-6;核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶-1 通路;作用机制;小鼠

【中图分类号】 R614 **【文献标识码】** A

The role of overexpression of CTRP6 in alleviating cerebral ischemia-reperfusion injury in diabetes mice by regulating Nrf2/HO-1 pathway Shen Qianni*, Wang Su, Liu Hengjuan, Li Yanan, Gong Ping. * Department of Anesthesiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Gong Ping, E-mail: gongping@whu.edu.cn

Funding program: National Natural Science Foundation of China(82102295)

【Abstract】 Objective To explore the role of overexpression of C1q/tumor necrosis factor related protein-6 (CTRP6) in alleviating cerebral ischemia-reperfusion injury in diabetes mice by regulating nuclear factor E2 related factor 2/heme oxygenase-1 (Nrf2/HO-1) pathway. **Methods** The experiment was conducted at the People's Hospital of Wuhan University from September 2021 to June 2022. Eighteen clean grade male C57BL/6 mice were selected and randomly divided into sham surgery group (Sham), cerebral ischemia-reperfusion group (IR), and cerebral ischemia-reperfusion + CTRP6 overexpression group (IR + CTRP6) using a random number table method, with 6 mice in each group. In IR group and IR + CTRP6 group, STZ 50 mg/kg was intraperitoneally injected for 5 consecutive days to establish the mouse model of diabetes. In IR + CTRP6 group, adeno-associated virus (AAV) - CTRP6 was injected into the ventricles of the brain three weeks after the establishment of the diabetes model. After another three weeks, the two groups used the suture method to prepare the mouse model of cerebral ischemia reperfusion injury. Sham group was only operated without any treatment. After 24 hours of reperfusion, the area of cerebral infarction was measured by TTC. Western blot detection of Nrf2, HO-1, NQO-1, p-NF-κB/NF-κB. P-IKK/IKK protein levels. WST-1 method for detecting SOD, visible light method for detecting CAT, TBA method for

detecting MDA, ELISA method for detecting IL-1 β , TNF- α , MCP-1 level; Colorimetric detection of Caspase-3 and Caspase-9 activity; In situ apoptosis fluorescence assay was used to detect cell apoptosis. **Results** Compared with the Sham group, the IR group showed a decrease in Nrf2, HO-1, NQO-1, SOD, CAT ($P < 0.01$), p-NF- κ B/NF- κ B, p-IKK/IKK, MDA, IL-1 β , TNF- α , MCP-1, Caspase-3, Caspase-9, and TUNEL positive cells increased ($P < 0.01$). Compared with the IR group, the IR + CTRP6 group showed an increase in Nrf2, HO-1, NQO-1, SOD, CAT ($P < 0.01$), cerebral infarction area, p-NF- κ B/NF- κ B, p-IKK/IKK, MDA, IL-1 β , TNF- α , MCP-1, Caspase-3, Caspase-9, and TUNEL positive cells all decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** CTRP6 alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury in diabetes mice by regulating oxidative stress, inflammatory response and apoptosis.

【Key words】 Diabetes; Cerebral ischemia reperfusion injury; C1q/tumor necrosis factor related protein-6; Nuclear factor E2 related factor 2/heme oxygenase-1 pathway; Mechanism; Mice

脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI) 作为目前缺血性脑卒中的主要防治焦点, 其发病机制复杂多样^[1]。而伴有糖尿病的患者由于其抗氧化、抗炎能力降低, 导致血管脆性增加, 更易诱发脑损伤^[2]。因此, 积极寻找新的治疗方案以减轻糖尿病患者 CIRI 带来的负担具有重要意义。C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白-6 (C1q/tumor necrosis factor related protein 6, CTRP6) 作为 CTRP 家族的成员, 与多种疾病的发生进展密切相关^[3]。研究证实, CTRP6 可防止多柔比星引起的心脏损伤并激活蛋白激酶 B (PKB/AKT) 通路^[4]。然而 CTRP6 是否可以通过调控核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶-1 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2/heme oxygenase-1, Nrf2/HO-1) 通路进而改善糖尿病小鼠 CIRI 目前尚未见相关报道。本研究旨在探讨 CTRP6 调控的 Nrf2/HO-1 通路在糖尿病小鼠 CIRI 中的作用, 以期改善糖尿病患者 CIRI 的预后提供新思路, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 实验动物及分组: 清洁级健康雄性 C57BL/6 小鼠 18 只, 9~10 周龄, 体质量 (23 ± 2) g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 饲养于武汉大学动物试验中心 SPF 环境, 给予 12 h/12 h 光/暗条件 (灯亮时间为 07:00), 湿度 (65 ± 5)%, 温度 (25 ± 1) $^{\circ}$ C, 常规喂养颗粒饲料。随机数字表法分为假手术组 (Sham)、脑缺血再灌注组 (IR)、脑缺血再灌注 + CTRP6 过表达组 (IR + CTRP6), 各 6 只。(2) 主要试剂: STZ、TTC 购自美国 Sigma 公司, 腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV)-CTRP6 购自上海 Hanbio 公司, Nrf2、HO-1、NQO-1、NF- κ B、p-NF- κ B、IKK、p-IKK 抗体购自英国 Abcam 公司, SOD、CAT、MDA 试剂盒购自南京建成公司, IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1 试剂盒购自美国赛默飞公司, Caspase-3 试剂盒购自美国 Biovision 公司, Caspase-9 试剂盒购自上海生工生物公司, ApopTag Plus 凋亡荧光试剂盒购自美国 Millipore 公司。

1.2 实验方法 2021 年 9 月—2022 年 6 月于武汉大学人民医院进行实验。小鼠糖尿病模型建立: 小鼠腹腔注射 STZ 50 mg/kg, 连续 5 d, 而后检测其空腹血糖, 空腹血糖大于 13.9 mmol/L 时认为糖尿病模型制备成功。参照文献 [5-7], IR + CTRP6 组小鼠予 STZ 后 3 周接受 AAV-CTRP6 脑室注射, 再过 3 周后参照文献 [8] 建立大脑中动脉阻断 (MCAO) 模型。麻醉小鼠后于颈部正中切口, 分离左颈总动脉和颈外动脉, 结扎颈总动脉近心端及颈外动脉, 夹闭颈总动脉远心端, 在靠近颈总动脉结扎处插入线栓至稍感阻力后停止, 固定线栓并缝合。线栓置入 60 min 后拔出并恢复灌注。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 小鼠脑梗死面积检测: MCAO 后 24 h 处死小鼠, 收集大脑组织并沿冠状位切片 (厚度约 2 mm)。切片用 TTC 在 37 $^{\circ}$ C 水浴箱中孵育 30 min, 10% 福尔马林固定过夜。次日扫描并用 Image J 软件进行分析。

1.3.2 Western-blot 检测 Nrf2、NF- κ B 通路相关蛋白: 在含有蛋白酶抑制剂颗粒的 RIPA 裂解缓冲液中加入脑组织, 8%~12% 的 SDS-PAGE 电泳凝胶上分离并转移到 PVDF 膜上。随后室温下 5% 脱脂牛奶-PBS 阻断 2 h, 并加入 Nrf2、HO-1、NQO-1、NF- κ B、p-NF- κ B、p-IKK、IKK 抗体 (1:1 000), 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。次日用相应的含 HRP 的二抗和增强化学发光剂再次孵育, Image J 对印迹条带进行量化。

1.3.3 氧化应激及炎症因子检测: 取脑组织用预冷的 PBS 漂洗去除血液, 滤纸吸干称重, 按比例配置组织匀浆液, 离心后取上清置于冰上待测。WST-1 法检测 SOD, 可见光法检测 CAT, TBA 法检测 MDA, ELISA 法检测 IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1 水平, 严格按试剂盒说明书操作。

1.3.4 Caspase 活性及 TUNEL 染色检测: 使用 Caspase-3、Caspase-9 活性检测试剂盒对 Caspase 活性进行检测, 操作步骤严格按说明书进行。根据说明书采用 ApopTag Plus 原位凋亡荧光素检测试剂盒进行染色, 在荧光显微镜下观察并通过 Image-Pro Plus 软件分

析 TUNEL 阳性细胞数。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20 软件分析处理数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组比较采用独立样本 *t* 检验,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Turkey 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠 CIRI 后脑梗死面积及相关信号通路表达比较 与 Sham 组比较,IR 组 Nrf2/HO-1 通路及其下游 NQO-1 蛋白表达降低,p-NF-κB/NF-κB 与 p-IKK/IKK 水平升高($P < 0.01$);与 IR 组比较,IR + CTRP6 组脑梗死面积减少,Nrf2/HO-1 通路及其下游 NQO-1 蛋白表达升高,p-NF-κB/NF-κB 与 p-IKK/IKK 降低($P < 0.01$),见表 1。

2.2 各组小鼠 CIRI 后氧化应激及炎症因子表达比较 与 Sham 组比较,IR 组 SOD、CAT 活性降低,MDA 含量、IL-1β、TNF-α、MCP-1 表达水平升高($P < 0.01$);与 IR 组比较,IR + CTRP6 组 SOD、CAT 活性升高,MDA 含量、IL-1β、TNF-α、MCP-1 表达水平降低($P < 0.01$),见表 2。

2.3 各组小鼠 CIRI 后凋亡因子及细胞凋亡表达比较 与 Sham 组比较,IR 组 Caspase-3、Caspase-9 活性升高,TUNEL 阳性细胞数增多($P < 0.01$);与 IR 组比较,IR + CTRP6 组 Caspase-3、Caspase-9 活性降低,TUNEL 阳性细胞数减少($P < 0.01$),见表 3。

3 讨论

大量证据表明,氧化应激是诱发缺血性脑卒中的

表 3 各组小鼠凋亡因子及细胞凋亡比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of Apoptosis Factors and Cell Apoptosis in Different Groups of Mice

组别	Caspase-3 活性	Caspase-9 活性	TUNEL 阳性细胞
Sham 组	1.00 ± 0.33	1.00 ± 0.37	1.00 ± 0.27
IR 组	5.65 ± 0.86 ^a	3.15 ± 0.68 ^a	5.45 ± 1.34 ^a
IR + CTRP6 组	2.52 ± 0.45 ^b	1.27 ± 0.59 ^b	2.06 ± 0.59 ^b
F 值	106.95	35.44	47.00
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.01$;与 IR 组比较,^b $P < 0.01$ 。

重要机制之一,再灌注后氧自由基增多会对细胞造成直接损害,而机体内氧化和抗氧化系统的失衡又可导致多种信号通路的激活^[9]。糖尿病患者中过多的活性氧(ROS)可进一步诱发脂质过氧化、蛋白质变性和 DNA 损伤等,同时 ROS 还可引发后续的瀑布样炎症反应^[10]。以上研究表明 ROS 的产生和炎症介质的累积可触发神经损伤。

研究证实,CTRP6 参与了心脑血管代谢疾病的发生进展,亦与胰岛素抵抗和糖尿病密切相关^[11]。另有研究认为,CTRP6 能对急性刺激做出反应并在营养过剩的情况下发挥作用,通过诱发“生理性炎症反应”以限制脂肪组织扩张^[12]。本研究发现再灌注后小鼠脑梗死面积增大,当补充 CTRP6 后小鼠梗死面积降低。因此进一步探讨 CTRP6 在 CIRI 中的具体机制及其与氧化应激和炎症反应的关系,对预防 CIRI 有重要价值。

Nrf2/HO-1 通路作为机体内源性的保护机制,被认为是对抗氧化应激的主要细胞防御手段^[13]。本研究发现在糖尿病 CIRI 后 Nrf2/HO-1 通路及其下游的

表 1 各组小鼠脑梗死面积与 Nrf2、NF-κB 通路相关蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Cerebral infarction area and Nrf2, NF in each group of mice-κ Comparison of B-pathway related protein expression

组别	梗死面积(%)	Nrf2	HO-1	NQO-1	p-NF-κB/NF-κB	p-IKK/IKK
Sham 组	-	1.00 ± 0.13	1.00 ± 0.09	1.00 ± 0.11	1.00 ± 0.07	1.00 ± 0.08
IR 组	21.24 ± 3.76	0.43 ± 0.17 ^a	0.39 ± 0.08 ^a	0.56 ± 0.12 ^a	3.52 ± 0.59 ^a	3.24 ± 0.47 ^a
IR + CTRP6 组	8.52 ± 1.47 ^b	1.04 ± 0.18 ^b	0.95 ± 0.03 ^b	0.83 ± 0.10 ^b	1.64 ± 0.13 ^b	2.17 ± 0.22 ^b
t/F 值	132.52	25.77	152.22	25.61	84.33	82.07
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.01$;与 IR 组比较,^b $P < 0.01$ 。

表 2 各组小鼠氧化应激及炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of oxidative stress and inflammatory factor levels in each group of mice

组别	SOD(U/mg)	CAT(U/mg)	MDA(nmol/mg)	IL-1β(ng/L)	TNF-α(ng/L)	MCP-1(ng/L)
Sham 组	133.83 ± 10.62	7.75 ± 1.81	4.76 ± 0.64	5.57 ± 0.84	8.32 ± 0.98	22.31 ± 2.96
IR 组	41.44 ± 4.72 ^a	3.46 ± 0.76 ^a	20.14 ± 3.55 ^a	107.64 ± 8.75 ^a	31.85 ± 4.71 ^a	1 087.43 ± 66.76 ^a
IR + CTRP6 组	98.85 ± 7.43 ^b	6.26 ± 1.13 ^b	11.74 ± 1.83 ^b	33.53 ± 2.76 ^b	10.68 ± 1.34 ^b	327.67 ± 13.48 ^b
F 值	209.54	18.16	69.23	602.87	125.24	1 169.27
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.01$;与 IR 组比较,^b $P < 0.01$ 。

NQO-1 表达下降,而调控炎性介质的 NF- κ B 通路及其下游 IKK 的磷酸化升高,表明再灌注损伤会导致脑组织中氧化应激和炎性反应的升高。新近研究发现, Nrf2 和 NF- κ B 之间存在分子串扰现象,在一定程度上可使细胞更精细地调节其对应激的反应,而 Nrf2 与 NF- κ B 的失衡则会导致多种疾病的发生^[14]。当过表达 CTRP6 后 Nrf2/HO-1 通路及其下游分子表达增加,机体抗氧化能力增强, NF- κ B 通路及其下游 IKK 的磷酸化降低,机体促炎水平减弱。

在糖尿病状态下,炎性因子作为与缺血性脑卒中密切相关的机制之一,可激活小胶质细胞并招募白细胞分泌细胞因子形成促炎微环境,进一步加剧糖尿病小鼠脑损伤^[15]。本研究结果发现,再灌注后小鼠 SOD、CAT 活性降低,MDA 含量升高,而 IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1 的表达增多。过表达 CTRP6 后氧化应激和炎性因子的积累明显降低,证实 CTRP6 通过抑制氧化应激和炎性因子的表达在糖尿病 CIRI 中发挥保护作用。

凋亡作为决定卒中结局的关键因素,其可在脑缺血发生数分钟后启动,并在整个卒中过程中持续存在,抑制神经元的凋亡可有效减轻糖尿病小鼠脑缺血再灌注损伤^[16]。研究显示,CTRP6 可减轻 TNF- α 诱导的唾液腺细胞凋亡以及 IR 损伤诱导的 PC12 细胞死亡^[17-18]。研究发现,CTRP6 可通过激活 AKT 信号通路保护心脏免受阿霉素(DOX)诱导的心肌凋亡^[4]。与 CTRP6 在其他细胞类型中的抗凋亡作用相一致,本研究结果发现,CIRI 后 Caspase-3 与 Caspase-9 活性升高,同时 TUNEL 阳性细胞增多,补充 CTRP6 可降低 Caspase 的活性,减少凋亡细胞数量。

综上所述,在糖尿病 CIRI 期间 Nrf2/HO-1 通路抑制, NF- κ B 通路激活,进而导致氧化应激、炎性因子、细胞凋亡增加,而过表达 CTRP6 可显著减轻脑损伤。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

沈倩妮、王苏:实施研究过程,论文撰写;刘恒娟:资料搜集整理;李亚男:分析数据;龚平:课题设计,论文审核

参考文献

[1] Li M, Tang H, Li Z, et al. Emerging treatment strategies for cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Neuroscience*, 2022, 507: 112-124. DOI:10.1016/j.neuroscience.2022.10.020.

[2] Rehni AK, Cho S, Dave KR. Ischemic brain injury in diabetes and endoplasmic reticulum stress [J]. *Neurochem Int*, 2022, 152: 105219. DOI:10.1016/j.neuint.2021.105219.

[3] Hu B, Qian X, Qian P, et al. Advances in the functions of CTRP6 in the development and progression of the malignancy [J]. *Front Genet*, 2022, 13: 985077. DOI:10.3389/fgene.2022.985077.

[4] Zheng WF, Zhang SY, Ma HF, et al. C1q/TNF-related protein-6 protects against doxorubicin-induced cardiac injury [J]. *J Cell Biochem*,

2019, 120(6): 10748-10755. DOI:10.1002/jcb.28366.

[5] Liu L, Cao Q, Gao W, et al. Melatonin ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in diabetic mice by enhancing autophagy via the SIRT1-BMAL1 pathway [J]. *FASEB J*, 2021, 35(12): e22040. DOI: 10.1096/fj.202002718RR.

[6] Ma ZG, Yuan YP, Xu SC, et al. CTRP3 attenuates cardiac dysfunction, inflammation, oxidative stress and cell death in diabetic cardiomyopathy in rats [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(6): 1126-1137. DOI: 10.1007/s00125-017-4232-4.

[7] Li B, Wang W, Li Y, et al. cGAS-STING pathway aggravates early cerebral ischemia-reperfusion injury in mice by activating NCOA4-mediated ferritinophagy [J]. *Exp Neurol*, 2023, 359: 114269. DOI: 10.1016/j.expneurol.2022.114269.

[8] Zhao B, Yuan Q, Hou JB, et al. Inhibition of HDAC3 ameliorates cerebral ischemia reperfusion injury in diabetic mice in vivo and in vitro [J]. *J Diabetes Res*, 2019, 2019: 8520856. DOI:10.1155/2019/8520856.

[9] 尹晓新,冯海松,杨涛,等.脂联素介导 SIRT1/PGC-1 α 信号通路对大鼠脑缺血损伤后的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(6): 633-637. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.06.016.

[10] Bhavsar V, Vaghasiya J, Suhagia BN, et al. Protective effect of eichhornia crassipes against cerebral ischemia reperfusion injury in normal and diabetic rats [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2020, 29(12): 105385. DOI:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105385.

[11] Liao X, Liu S, Tang X, et al. Circulating CTRP6 levels are increased in overweight or obese Chinese individuals and associated with insulin resistance parameters: A pilot study [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2021, 129(7): 535-541. DOI:10.1055/a-0929-6072.

[12] Lahav R, Haim Y, Bhandarkar NS, et al. CTRP6 rapidly responds to acute nutritional changes, regulating adipose tissue expansion and inflammation in mice [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2021, 321(5): E702-E713. DOI:10.1152/ajpendo.00299.2021.

[13] 邵会敏,曹新营,刘志亮,等.紫云英苷对慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化及 AMPK/Nrf2 通路的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2021, 20(9): 883-888. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.09.005.

[14] Daverey A, Agrawal SK. Curcumin protects against white matter injury through NF- κ B and Nrf2 cross talk [J]. *J Neurotrauma*, 2020, 37(10): 1255-1265. DOI:10.1089/neu.2019.6749.

[15] Liu C, Yang J, Zhang C, et al. Remote ischemic conditioning reduced cerebral ischemic injury by modulating inflammatory responses and ERK activity in type 2 diabetic mice [J]. *Neurochem Int*, 2020, 135: 104690. DOI:10.1016/j.neuint.2020.104690.

[16] Liu K, Li L, Liu Z, et al. Acute administration of metformin protects against neuronal apoptosis induced by cerebral ischemia-reperfusion injury via regulation of the AMPK/ CREB/ BDNF pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 832611. DOI:10.3389/fphar.2022.832611.

[17] Qu LH, Hong X, Zhang Y, et al. C1q/tumor necrosis factor-related protein-6 attenuates TNF- α -induced apoptosis in salivary acinar cells via AMPK/SIRT1-modulated miR-34a-5p expression [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(8): 5785-5800. DOI:10.1002/jcp.30262.

[18] Li Y, Sun J, Gu L, et al. Protective effect of CTRP6 on cerebral ischemia/reperfusion injury by attenuating inflammation, oxidative stress and apoptosis in PC12 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(1): 344-352. DOI:10.3892/mmr.2020.11108.

(收稿日期:2023-02-04)