

· 基础研究 ·

11 β -羟化类固醇脱氢酶敲除对高脂饮食喂养小鼠认知功能的影响

曹清, 秦丽, 刘娟*

南京医科大学第一附属医院老年医学科, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探究11 β -羟化类固醇脱氢酶1(11 β -hydroxysteroid dehydrogenase, 11 β -HSD1)基因敲除对小鼠整体代谢和认知功能的影响。方法:将C57BL/6J为遗传背景的野生对照组及11 β -HSD1基因敲除组各15只小鼠高脂喂养20周,代谢笼评估能量代谢,行为学评估观察小鼠认知功能,电镜评估海马体的线粒体结构,免疫荧光及PCR确定其认知功能、线粒体功能相关基因及炎症基因的变化。结果:11 β -HSD1基因敲除能够提高高脂喂养小鼠学习和记忆能力,改善握力,改善海马体的微结构、线粒体含量变多,认知相关基因、线粒体呼吸功能相关基因上调,炎症相关基因改变。结论:11 β -HSD1敲除后高脂饮食喂养小鼠认知功能显著改善,握力显著提高,可能是治疗认知功能障碍的有效靶点。

[关键词] 11 β -羟化类固醇脱氢酶1;认知功能;海马体;线粒体

[中图分类号] R329.26

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2023)08-1047-08

doi: 10.7655/NYDXBNS20230802

Effect of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase knockout on cognitive function in high-fat diet-induced obese mice

CAO Qing, QING Li, LIU Juan*

Division of Geriatric Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD1) gene knockout on the metabolism and cognitive function of mice. **Methods:** A total of 15 mice each in the C57BL/6J genetic background wild control group and 11 β -HSD1 gene knockout group were fed with high fat for 20 weeks. We then assessed energy metabolism by metabolic cage, observed their cognitive function by behavioral evaluation, evaluated hippocampus mitochondria by electron microscope, and determined changes in cognitive function, mitochondrial function-related genes, and inflammatory genes by immunofluorescence and RT-PCR. **Results:** The 11 β -HSD1 gene knockout in showed the enhanced learning and memory ability, increased grip strength, improved hippocampal microstructure, amplified mitochondrial content, up-regulated the genes related to cognition and mitochondrial respiratory function, and changed the inflammatory genes. **Conclusion:** Our study demonstrated that knockout 11 β -HSD1 significantly improved cognitive function and grip strength mice fed high-fat diet, therefore may be an effective target for the treatment of cognitive dysfunction.

[Key words] 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1; cognitive function; hippocampus; mitochondria

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(08):1047-1054]

随着当今人口老龄化不断加剧,衰老相关性疾病已成为老年医学研究的重点,代谢紊乱性疾病和认知功能障碍是其中的重中之重。实际上,肥胖、

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81871106, 82071584)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: lioujane@njmu.edu.cn

代谢紊乱与认知功能障碍密切相关。人体研究发现,痴呆患者有高达39%的人患有2型糖尿病,而糖尿病又使认知功能下降的风险增加2~4倍。动物研究证实,高脂饮食诱导的肥胖小鼠不仅具备代谢紊乱的特征,也呈现认知功能损害的表现,被称为高脂饮食诱导的认知功能损害(high-fat diet-induced

cognitive impairment)^[1]。但是直至目前,机体代谢紊乱与认知功能障碍之间的发病机制尚不明确。

大量研究证实,慢性应激是老年人代谢紊乱和认知功能下降的重要原因^[2-3]。作为人体重要的应激激素——糖皮质激素已被证实和肥胖、认知功能密切相关。临床上,不管是内源性分泌过多的糖皮质激素还是长期使用外源性糖皮质激素,都会导致严重的代谢紊乱,同时也造成认知功能的下降^[4]。11 β -羟化类固醇脱氢酶1(11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, 11 β -HSD1)是调控局部组织糖皮质激素活性的关键酶,它将无活性的可的松转化为有活性的氢化可的松,是糖皮质激素在局部组织的功能放大器^[5-6]。既往研究发现,11 β -HSD1显著调控脂肪组织功能和机体代谢紊乱,使用11 β -HSD1抑制剂可以明显减少肥胖小鼠的白色脂肪含量、上调其棕色脂肪的功能^[7-8],改善小鼠的糖代谢。但是,11 β -HSD1对认知功能的影响仍不清楚。

线粒体是细胞能量的“发电厂”,是大脑能量代谢的动力保障。有研究显示,神经退行性疾病如帕金森病和痴呆患者的外周血线粒体DNA拷贝数显著下降^[9],相反,改善大脑的线粒体能量代谢可以有效逆转认知障碍。因此,本课题组在构建11 β -HSD1全身基因敲除小鼠的基础上,深入研究11 β -HSD1对长期高脂饮食状态下整体代谢和认知功能的影响,探讨11 β -HSD1影响认知功能的机制,为老年认知功能障碍提供有效的治疗靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

以C57BL/6J为遗传背景的野生对照组及11 β -HSD1基因敲除组小鼠,繁殖于南京大学模式动物研究所,每组各15只,4周,雄性,高脂饮食20周,饲养在SPF级动物房。

1.2 方法

1.2.1 葡萄糖耐量实验及胰岛素耐量实验

葡萄糖耐量实验将小鼠禁食15 h,正常饮水,腹腔注射葡萄糖(1.5 g/kg),剪尾取血,使用血糖仪分别测定0、15、30、45、60、120 min血糖。胰岛素耐量实验将小鼠禁食4 h,正常饮水,腹腔注射胰岛素(优泌林,1 U/kg)溶液,剪尾取血,使用血糖仪分别测定0、15、30、45、60、120 min血糖。

1.2.2 TSE标准代谢笼

提前在无偏差无应激的标准代谢笼(高精度传感器测量小鼠饮水和摄食行为;由产生热量、氧气消耗

和二氧化碳产生等测量小鼠代谢性能;红外光束框架测量小鼠身体活动量)适应48 h后开始记录数据。正式实验为一昼夜,记录小鼠的体质量、摄食量、饮水量、身体活动量、氧气消耗(VO_2)、二氧化碳产生(VCO_2)及整体产热并利用曲线图展示。

1.2.3 Morris水迷宫检测

使用一个由经圆点划分为4个象限的圆形水池,靶象限区域有一低于水平面1 cm的深色圆柱状小平台,水温(22 ± 2) $^{\circ}C$ 。实验包括为期4 d的训练阶段和为期1 d的检测阶段,每个象限训练1次,每天按水池顺时针方向依次训练4个象限。摄像头记录和分析小鼠找到平台的时间、轨迹图等。使用ANY-MAZE软件,对实验动物跟踪研究,评估对空间记忆的功能。

1.2.4 Y迷宫

使用一个聚氯乙烯板制成的呈字母Y型的三臂迷宫(8 cm \times 30 cm \times 15 cm),随机定义为:起始臂、新奇臂和其他臂。实验包含训练期和测试期,间隔2 h进行。训练期将新奇臂用活动挡板挡住,让小鼠探索起始臂和其他臂;检测期将挡板移除,小鼠自由探索3个臂。摄像头记录和分析测试期时小鼠在3个臂探索时的情况。通过使用ANY-MAZE软件,评估小鼠对新异环境的识别记忆能力。

1.2.5 旷场实验

使用一个底部被等分为25个正方形小格的正方体实验箱(45 cm \times 45 cm \times 45 cm),中间9个格子命名为中央区域。将小鼠放置旷场正中格后立即进行实验记录共5 min。摄像头记录和分析小鼠在旷场探索时的情况,通过ANY-MAZE软件,评价实验动物在新异环境中自主行为、学习探究行为与紧张度。

1.2.6 肌肉力量测定

使用小鼠抓力测定仪(KW-ZL-1,南京卡尔文生物科技有限公司),对小鼠进行肌肉力量测定,从笼中取出小鼠,将小鼠轻轻放在抓力板上,抓住小鼠尾端轻轻向后拉,以免对小鼠造成惊吓或产生误差。待小鼠抓牢抓力板后,拉住其尾部,均匀使用力量向后拉,直到作用力致使小鼠的爪子松开抓力板,这样可以测得小鼠最大抓力。按照以上方法重复5次,得出平均抓力。

1.2.7 透射电镜检测

分离出小鼠海马体组织,放入2.5%戊二醛中固定2 h,将海马组织样本修饰成1 mm³小块,丙酮梯度脱水、包埋、半薄切片处理后甲苯胺蓝染色,倒置光镜定位后制作超薄切片,经醋酸双氧铀、枸橼酸铅双染色,透射电镜5 000~40 000倍观察小鼠海马

区神经元超微结构。

1.2.8 石蜡切片及免疫荧光

取海马体组织,4%甲醛固定24 h后脱水,使用常规石蜡包埋后将海马体切片脱蜡,10%山羊血清封闭30 min,加一抗(anti-BDNF,GB11240,武汉 Servicebio 公司)、(anti-IL-1 β ,GB11113,武汉 Servicebio 公司),4 $^{\circ}$ C过夜,PBS清洗3次后加二抗(CY3 标记山羊抗兔),37 $^{\circ}$ C孵育30 min,加DAPI染液,37 $^{\circ}$ C继续孵育30 min,再次PBS清洗切片3次;用抗荧光衰减封片剂封片,使用免疫荧光显微镜观察并采集图像。

1.2.9 RT-PCR

取小鼠海马组织,提取组织RNA,并测定RNA的含量和纯度。将RNA逆转成cDNA为模板,用相关引物进行RT-PCR扩增(ABI7000,StepOne-Plus,美国)。总反应体系为10 μ L,反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性5 min;94 $^{\circ}$ C变性15 s,60 $^{\circ}$ C退火延伸15 s,40个循环;72~94 $^{\circ}$ C,每升高0.5 $^{\circ}$ C读1次制备溶解曲线。以Actin基因作为内参,对目的基因的表达量进行分析。

1.3 统计学方法

统计学方法将相关数据导入 excel 进行整理,用 GraphPad Prism 8 统计软件进行分析,采用 *t* 检验进行两组比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 11 β -HSD1 基因敲除高脂喂养小鼠整体代谢的改变

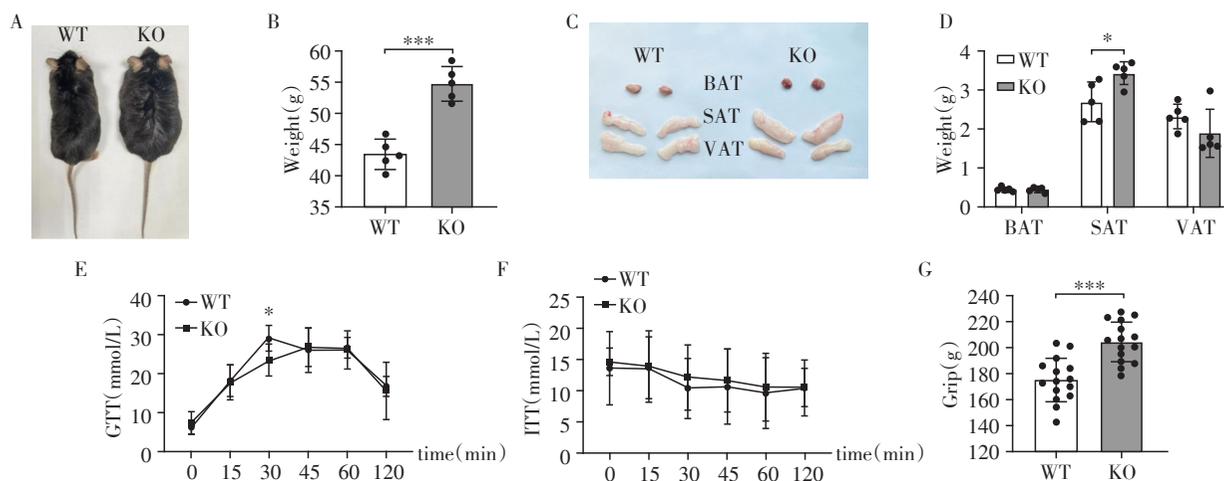
既往已有大量研究证实 11 β -HSD1 是调控脂肪

功能的关键因子,为了再次明确 11 β -HSD1 对机体整体代谢的影响,将 C57BL/6J 的野生对照小鼠与 11 β -HSD1 基因敲除小鼠高脂饮食 20 周后,观察 11 β -HSD1 基因敲除小鼠体重,发现显著性上升($P < 0.001$,图 1A、B)。留取两组小鼠的皮下脂肪、内脏脂肪和棕色脂肪组织,并对其进行称重,结果显示 11 β -HSD1 基因敲除组小鼠的皮下脂肪重量显著高于野生对照组小鼠($P < 0.05$),而内脏脂肪和棕色脂肪重量并没有明显差异(图 1C、D)。糖耐量试验和胰岛素耐量试验结果显示,随着体重的上升,11 β -HSD1 敲除组小鼠的糖耐量(图 1E)及胰岛素耐量(图 1F)未有明显改变。肌肉力量测定结果显示,11 β -HSD1 敲除组小鼠抓力明显高于对照组($P < 0.001$,图 1G)。

为了进一步明确小鼠体重变化的原因,我们对小鼠进行能量代谢评估。代谢笼检测结果显示:11 β -HSD1 敲除组与野生对照组相比,虽然摄食量、饮水量没有显著差别(图 2A、B),但是身体活动量(图 2C)、 VCO_2 (图 2F)有下降趋势,产热量($P < 0.05$,图 2D)、 VO_2 ($P < 0.05$,图 2E)显著下降。

2.2 11 β -HSD1 基因敲除高脂喂养小鼠认知功能的改变

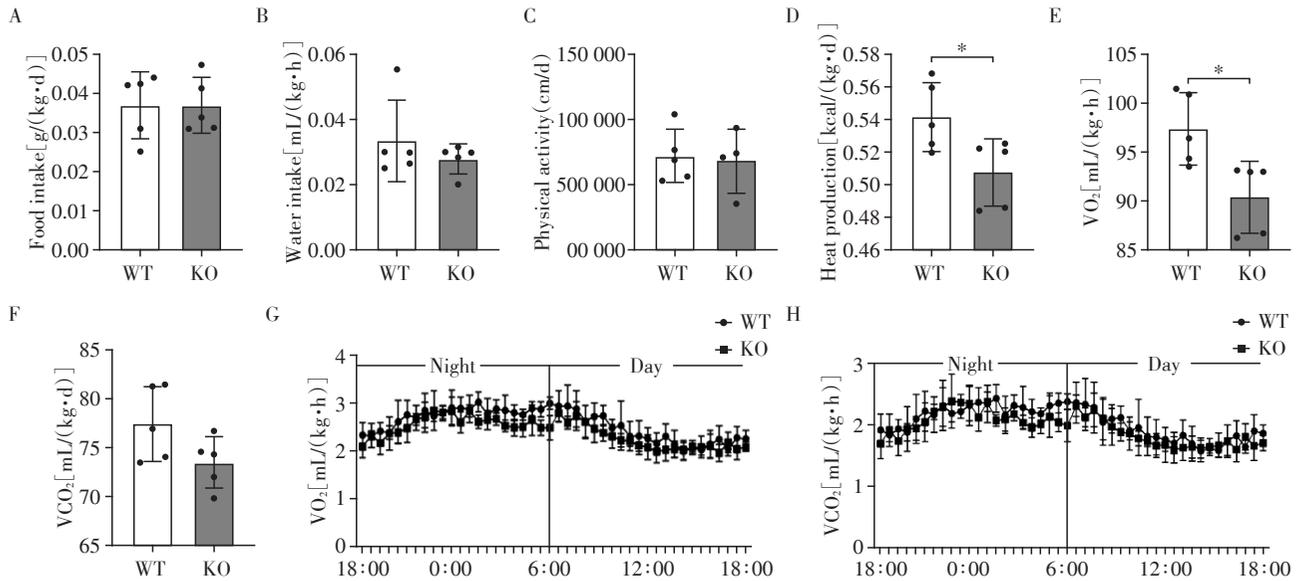
为了评估 11 β -HSD1 基因敲除高脂喂养小鼠认知功能的改变,对小鼠进行了行为学测试。水迷宫测试结果显示,与野生对照组相比,11 β -HSD1 敲除组可以迅速、准确地找到平台所在的象限和位置(图 3A);敲除组高脂喂养小鼠第 1 天学习期($P < 0.05$)、第 3 天学习期($P < 0.001$)、第 5 天记忆期($P <$



A: 小鼠大体图;B: 小鼠体重对比;C: 小鼠肩胛间棕色脂肪组织(BAT)、皮下脂肪组织(SAT)、内脏脂肪组织(VAT)的大体图;D: 小鼠脂肪重量对比;E: 小鼠葡萄糖耐受试验;F: 小鼠胰岛素耐受试验;G: 小鼠肌肉力量测定。两组比较,* $P < 0.05$,*** $P < 0.001$;肌肉力量测定 $n=15$,其余 $n=5$ 。

图1 11 β -HSD1 基因敲除小鼠高脂喂养饮食整体代谢的评估

Figure 1 Assessment of global metabolism in 11 β -HSD1 knockout mice fed with high-fat diet



A:小鼠代谢摄食量;B:小鼠代谢饮水量;C:小鼠代谢笼身体活动量;D:小鼠代谢笼产热量;E:小鼠代谢笼氧气摄入量;F:小鼠代谢笼二氧化碳呼出量;G:小鼠代谢笼的氧气摄入量(时间分段量);H:小鼠代谢笼的二氧化碳呼出量(时间分段量)。两组比较,* $P < 0.05$ ($n=5$)。

图2 11β-HSD1基因敲除高脂饮食喂养小鼠TSE能量代谢评估

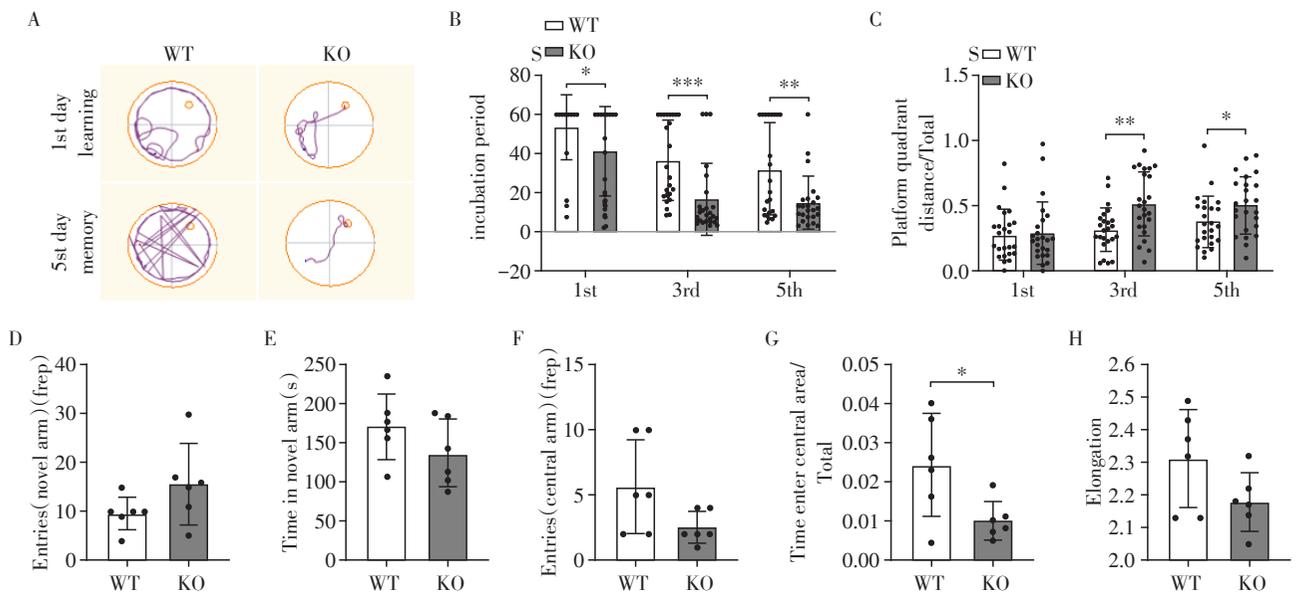
Figure 2 Evaluation of TSE energy metabolism in 11β-HSD1 knockout mice fed high-fat diet

0.01)的潜伏期均显著低于对照组(图3B),第3天学习期($P < 0.01$)、第5天记忆期($P < 0.05$)的平台象限路程与总路程之比显著高于对照组(图3C)。Y迷宫实验结果显示,11β-HSD1敲除组与野生对照组相比,进入新奇臂的次数有升高趋势(图3D),在新奇臂探索的停留时间有下降趋势(图3E)。旷场实

验结果显示,11β-HSD1敲除组与野生对照组相比,在进入旷场中央区域的次数(图3F)、动物身体拉伸率(图3H)有下降趋势,中央区域停留时间占总时间之比($P < 0.05$,图3G)显著下降。

2.3 11β-HSD1对海马体形态和功能的影响

海马是认知的核心,为了进一步分析小鼠认知



A:水迷宫轨迹图;B:水迷宫潜伏期;C:水迷宫平台象限路程与总路程之比;D:进入Y迷宫新奇臂的次数;E:在Y迷宫新奇臂中探索停留的总时间;F:进入旷场中央区域的次数;G:在旷场中央区域的探索停留时间占总时间之比;H:在旷场探索时的动物身体拉伸率。两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ ($n=6$)。

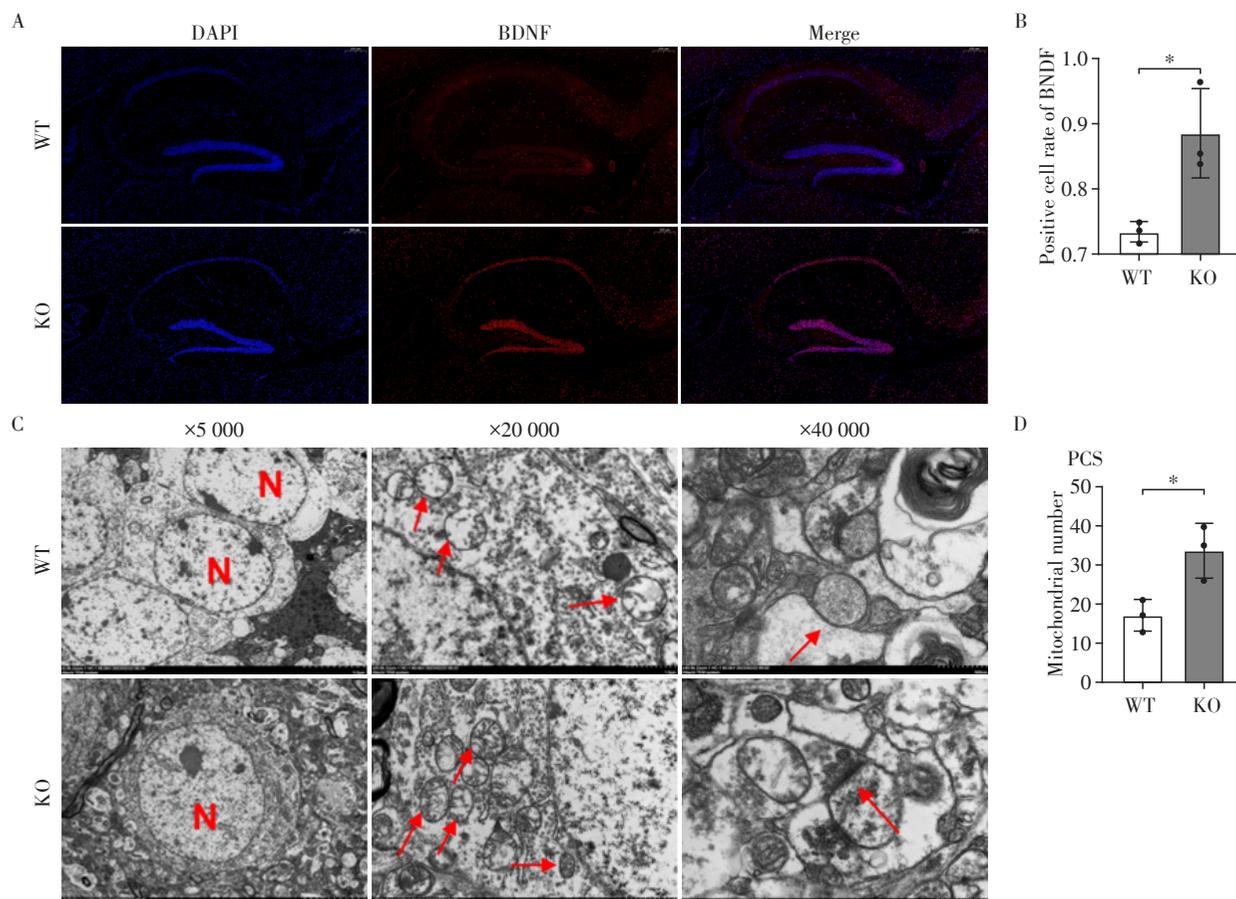
图3 11β-HSD1基因敲除高脂喂养小鼠行为学评估

Figure 3 Behavioral assessment in 11β-HSD1 knockout mice fed high-fat diet

功能改善的原因,对两组小鼠海马体石蜡切片进行与认知功能密切相关的功能蛋白脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)的免疫荧光染色(图4A),并对阳性细胞率进行定量分析,结果显示 11β -HSD1 敲除组与对照组相比, BDNF 阳性细胞率显著上升($P < 0.05$,图4B)。留取两组小鼠的海马体,透射电镜观察神经元的超微结构

构,结果显示全身 11β -HSD1 基因敲除高脂喂养小鼠的海马神经元的细胞核核仁更清楚,染色质分布均匀,未见明显的板层松解现象,核糖体较为丰富(图4C),细胞内的线粒体数量明显增加($P < 0.05$,图4D),而野生对照的海马神经元线粒体含量少,且呈空泡样改变。

进一步对海马体相关功能进行评估,使用 RT-



A: 石蜡切片(BDNF免疫荧光染色, $\times 50$); B: BDNF阳性细胞率; C: 透射电镜观察小鼠神经元超微结构; D: 神经元线粒体数量统计。两组比较, $P < 0.05(n=3)$ 。

图4 11β -HSD1基因敲除高脂饮食喂养小鼠海马体形态学评估

Figure 4 Morphological assessment of the hippocampus in 11β -HSD1 knockout mice fed high-fat diet

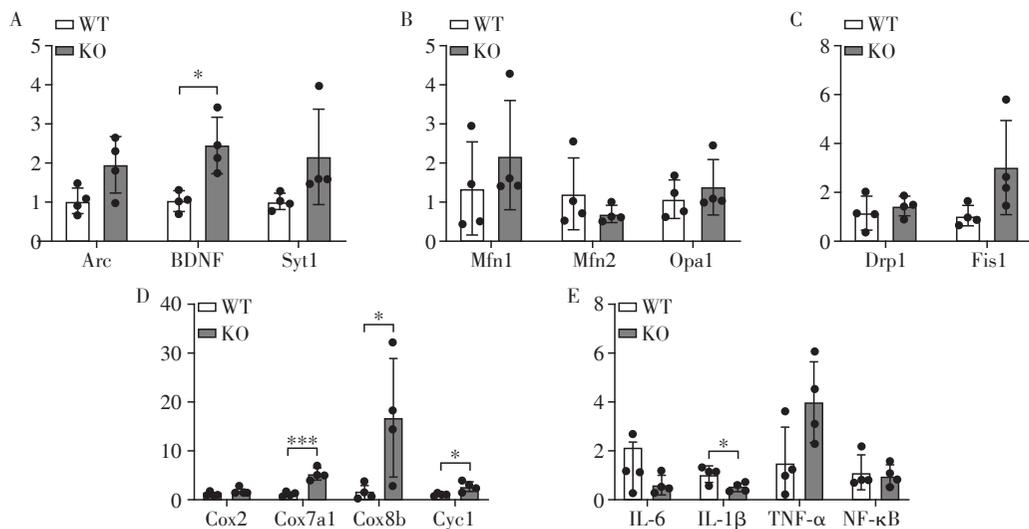
PCR 荧光定量分析评估认知功能相关蛋白: 活性调节细胞骨架相关蛋白(activity-regulated cytoskeleton-associated protein, Arc)、BDNF、突触结合蛋白-1(synaptotagmin-1, Syt1), 结果表明, 11β -HSD1 敲除组与野生对照组相比, Arc、Syt1 表达量有上升趋势, BDNF 表达量显著升高($P < 0.05$,图5)。由于电镜结果提示 11β -HSD1 敲除高脂喂养小鼠海马体的线粒体数量明显增加,进一步分析海马体线粒体融合和分裂相关蛋白基因,结果显示 11β -HSD1 敲除组和野生对照组相比,线粒体融合和分裂相关蛋白,

包括线粒体融合蛋白1(mitofusion 1, Mfn1)、线粒体融合蛋白2(mitofusion 2, Mfn2)、视神经萎缩蛋白(optic atrophy 1, Opa1), 动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1, Drp1)、线粒体分裂蛋白1(mitochondrial fission protein 1, Fis1)的基因表达无显著性差异(图5B、C);接着,检测了线粒体呼吸链相关蛋白的基因表达,包括环氧合酶2(cyclooxygenase-2, COX2)、细胞色素C氧化酶7 α 亚单位多肽1(cytochrome c oxidase subunit VIIa polypeptide 1, Cox7 α 1)、细胞色素C氧化酶8b亚单位(cytochrome c oxi-

dase subunit VIIIb, Cox8b)、细胞色素 C-1 (cytochrome c-1, Cyc1), 其中 Cox7α1 ($P < 0.001$)、Cox8b ($P < 0.05$)、Cyc1 ($P < 0.05$) 表达量明显高于野生对照组 (图 5D)。炎症与大脑认知功能及海马体线粒体功能均显著相关, 因此我们评估了炎症因子的表达, 包括白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白介素-1β (interleukin-1β, IL-1β)、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)、核因子κB (nuclear factor-κB, NF-κB), 结果显示 11β-HSD1 敲除组和对照组相比, IL-1β 表达量显著下降 ($P < 0.05$, 图 5E)。

3 讨论

糖皮质激素对代谢和能量平衡具有多效作用。在体内, 长时间过量的糖皮质激素会引起代谢紊乱。11β-HSD1 是调控体内糖皮质激素作用的关键酶, 其基因缺陷小鼠在正常饮食饲养条件下无明显代谢异常, 但具有与减少局部组织糖皮质激素的作用效果一致的代谢表型, 能够抵抗应激或高脂饮食引起的高血糖, 并且在空腹时减弱糖异生酶的诱导作用^[10]。本研究发现, 与野生高脂喂养对照组相



A: 认知相关功能蛋白 Arc、BDNF、Syt1; B: 线粒体融合相关蛋白 Mfn1、Mfn2、Opa1; C: 线粒体分裂相关蛋白 Drp1、Fis1; D: 线粒体链相关蛋白 Cox2、Cox7α1、Cox8b、Cyc1; E: 炎症相关蛋白 IL-6、IL-1β、TNF-α、NF-κB。两组比较, $P < 0.05$, $***P < 0.001$ ($n=4$)。

图5 RT-PCR 荧光定量分析 11β-HSD1 基因敲除高脂饮食喂养小鼠海马体相关功能评估

Figure 5 Assessment of related functions in the hippocampus of 11β-HSD1 knockout mice fed high-fat diet by RT-PCR

比, 11β-HSD1 基因敲除高脂喂养鼠虽然体重显著升高, 但以皮下脂肪重量增加为主, 而内脏脂肪重量未有明显改变, 糖耐量和胰岛素耐量试验结果也并没有明显差异。代谢笼结果显示, 与野生对照组相比, 基因敲除高脂喂养鼠消耗氧气量和产生的热量均明显下降, 说明 11β-HSD1 基因敲除鼠整体能量消耗的下降, 一定程度上解释了 11β-HSD1 基因敲除高脂喂养鼠体重增加的原因。Wamil 等^[11]也发现类似的现象, 在高脂饮食诱导的肥胖小鼠中, 11β-HSD1 缺乏会激活内脏脂肪组织的腺苷酸激活蛋白激酶 (Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 和胰岛素信号通路, 导致脂质从代谢不利的内脏脂肪中流失, 积聚在代谢更安全的皮下脂肪“仓库”中。因此虽然体重明显上升, 但主要以皮下脂肪蓄积为主, 而代谢未见恶化, 肌肉力量明显增加, 可见 11β-HSD1 基因敲除鼠的整体代谢依

然得到改善。

慢性应激是老年人认知功能下降的重要原因。糖皮质激素作为人体重要的应激激素, 和认知功能密切相关。本研究对 11β-HSD1 基因敲除高脂喂养小鼠的行为学研究结果提示, 与野生高脂喂养组相比, 敲除鼠学习和记忆能力显著改善。海马是认知功能的核心, 可以将短期记忆巩固为长期记忆, 同时在空间记忆功能的发挥中起着重要的作用^[12]。在大脑内, 海马体对糖皮质激素浓度特别敏感: 缺乏糖皮质激素会导致海马形成的齿状回神经元死亡, 而糖皮质激素的慢性升高会损伤神经元^[13]。人体研究发现, 库欣综合征患者表现出海马体萎缩^[14]。所以, 糖皮质激素对于海马体的形态和功能起着至关重要的作用。脑源性神经营养因子 BDNF 在神经系统内广泛表达, 其中海马和皮质的含量最高, 其与认知功能密切相关。对海马体的免疫荧光研究发

现,与野生高脂喂养组相比,11 β -HSD1基因敲除高脂喂养鼠海马体BDNF的阳性细胞率定量分析显著上升;RT-PCR定量分析显示,敲除鼠海马体组织中的BDNF基因表达明显升高,证实11 β -HSD1可能通过作用于海马体改善了高脂喂养小鼠的认知功能。

线粒体是大脑能量代谢的动力保障,大脑的能量供给不足会严重影响认知功能。Zhao等^[15]研究发现,腹腔注射线粒体电子转递的关键辅酶——烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)可直接逆转慢性脑灌注不足大鼠的脑小胶质细胞的线粒体损伤,减少活性氧簇的产生,进而改善了认知功能。除此之外,线粒体还是维持细胞内环境稳定的重要细胞器,在细胞死亡、活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成、炎症和钙稳态过程中都发挥着关键作用^[16],是神经细胞命运的决定因子。利用亚细胞分离和免疫电子显微镜对小鼠海马区的线粒体进行观察发现,线粒体是 β -淀粉样蛋白(amyloid β , A β)在细胞内积累的关键部位^[17],是大脑老化的重要标志和靶点。在线虫和小鼠中的研究显示,提高大脑神经元线粒体的抗应激能力,不仅能够自我保护其功能,而且也会降低大脑淀粉样斑块形成,使得小鼠的认知功能显著改善^[18]。本研究发现,透射电镜观察海马体超微结构,11 β -HSD1基因敲除高脂喂养鼠的海马神经元内线粒体数量明显增加,线粒体内脊完整性和丰富度显著改善,而野生对照组小鼠的海马神经元的线粒体含量少,且呈空泡样改变。进一步的RT-PCR荧光定量分析显示,线粒体链相关蛋白Cox7 α 1、Cox8b、Cyc1均明显高于对照组,提示了11 β -HSD1基因敲除高脂喂养小鼠海马体的线粒体结构和功能改善。

既往研究显示,11 β -HSD1与脂肪组织的线粒体功能显著相关。糖皮质激素会减少白色脂肪组织的线粒体膜上的“能量开关”——解偶联蛋白1的表达,降低了细胞氧耗;在棕色脂肪中,干涉11 β -HSD1可以显著增加细胞中线粒体的含量,促进解偶联蛋白1的表达,促进细胞氧耗,而高表达11 β -HSD1则明显抑制棕色脂肪的线粒体功能^[19]。本研究证实,在海马组织中11 β -HSD1也是调控其线粒体功能的重要因子,可能是11 β -HSD1基因敲除高脂喂养鼠认知功能改善的重要原因。

另一方面,线粒体也是氧化应激产生的重要场所。老化的线粒体会造成ROS蓄积,促使氧化应激增加,使得细胞炎症因子的表达增高^[20-21]。而目前

公认,系统性炎症是机体老化的核心。所以进一步对小鼠海马组织炎症相关蛋白进行分析,RT-PCR荧光定量分析结果显示11 β -HSD1敲除高脂喂养组的IL-1 β 显著下降,提示11 β -HSD1基因敲除在一定程度上改善了高脂喂养小鼠的炎症状态。

总之,11 β -HSD1敲除后学习记忆能力显著改善,握力明显好于对照高脂喂养小鼠,并且11 β -HSD1敲除鼠的海马体线粒体形态和功能均显著改善,因而11 β -HSD1可能通过调控海马体的线粒体功能影响认知功能。

[参考文献]

- [1] KOTHARI V, LUO Y, TORNABENE T, et al. High fat diet induces brain insulin resistance and cognitive impairment in mice [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(2):499-508
- [2] LUPIEN S J, JUSTER R P, RAYMOND C, et al. The effects of chronic stress on the human brain: From neurotoxicity, to vulnerability, to opportunity [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2018, 49:91-105
- [3] FELSTED K F. Mindfulness, stress, and aging [J]. *Clin Geriatr Med*, 2020, 36(4):685-696
- [4] KOKKINOPOULOU I, MOUTSATSOU P. Mitochondrial glucocorticoid receptors and their actions [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11):6054
- [5] 王梦茜, 金 焱, 夏 凡, 等. 肠上皮11 β -HSD1特异性敲除小鼠的小肠上皮屏障功能的研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(5):652-656
- [6] DEKKERS A J, AMAYA J M, VAN DER MEULEN M, et al. Long-term effects of glucocorticoid excess on the brain [J]. *J Neuroendocrinol*, 2022, 34(8):e13142
- [7] LIU J, KONG X, WANG L, et al. Essential roles of 11 β -HSD1 in regulating brown adipocyte function [J]. *J Mol Endocrinol*, 2013, 50(1):103-113
- [8] 尹立平, 王 龙, 吕 珊, 等. 11 β -HSD1抑制剂BVT.2733对肥胖小鼠多器官组织代谢与炎症相关基因表达的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(12):1716-1722
- [9] YANG S Y, CASTELLANI C A, LONGCHAMPS R J, et al. Blood-derived mitochondrial DNA copy number is associated with gene expression across multiple tissues and is predictive for incident neurodegenerative disease [J]. *Genome Res*, 2021, 31(3):349-358
- [10] 杨 洁, 童 佩, 奚 玲, 等. 11 β -HSD1与糖脂代谢异常的相关关系研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(4):464-469
- [11] WAMIL M, BATTLE J H, TURBAN S, et al. Novel fat depot-specific mechanisms underlie resistance to visceral

- obesity and inflammation in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1-deficient mice[J]. *Diabetes*, 2011, 60(4): 1158-1167
- [12] BETTIO L E B, RAJENDRAN L, GIL-MOHAPEL J. The effects of aging in the hippocampus and cognitive decline [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2017, 79:66-86
- [13] LEE A L, OGLE W O, SAPOLSKY R M. Stress and depression: possible links to neuron death in the hippocampus[J]. *Bipolar Disord*, 2002, 4(2): 117-128
- [14] 杨晨蝶, 幸 兵. 库欣综合征所致精神症状的机制[J]. *基础医学与临床*, 2014, 34(10):1438-1441
- [15] ZHAO Y, ZHANG J W, ZHENG Y L, et al. NAD⁺ improves cognitive function and reduces neuroinflammation by ameliorating mitochondrial damage and decreasing ROS production in chronic cerebral hypoperfusion models through Sirt1/PGC-1 α pathway[J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1):207
- [16] BAI J L, CERVANTES C, LIU J, et al. DsbA-L prevents obesity-induced inflammation and insulin resistance by suppressing the mtDNA release-activated cGAS-cGAMP-STING pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(46): 12196-12201
- [17] AMORIM J A, COPPOTELLI G, ROLO A P, et al. Mitochondrial and metabolic dysfunction in ageing and age-related diseases [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2022, 18(4): 243-258
- [18] SORRENTINO V, ROMANI M, MOUCHIROUD L, et al. Enhancing mitochondrial proteostasis reduces amyloid- β proteotoxicity[J]. *Nature*, 2017, 552(7684): 187-193
- [19] LIU J, KONG X, WANG L, et al. Essential roles of 11 β -HSD1 in regulating brown adipocyte function [J]. *J Mol Endocrinol*, 2013, 50(1):103-113
- [20] TREMBLAY B P, HAYNES C M. Mitochondrial distress call moves to the cytosol to trigger a response to stress [J]. *Nature*, 2020, 579(7799):348-349
- [21] TYRRELL D J, BLIN M G, SONG J, et al. Age-associated mitochondrial dysfunction accelerates atherogenesis [J]. *Circ Res*, 2020, 126(3):298-314
- [收稿日期] 2023-03-30
(本文编辑:唐 震)



欢迎关注本刊微博、微信公众号!