

GLP-1 在 2 型糖尿病诱发的阿尔茨海默病治疗中的作用

齐利琴 刘礼斌

【摘要】 2 型糖尿病是诱发阿尔茨海默病的高危因素。胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 可诱导胰岛 β 细胞再生和增殖, 可以呈葡萄糖依赖性地促进胰岛素分泌。另外, GLP-1 在治疗神经退行性病变中也有重要的作用, 能降低脑内 β 淀粉样蛋白斑块沉积, 减少氧化应激引起的神经细胞损伤, 还可以调节突触的传递, 增加突触的可塑性, 刺激轴突生长, 影响长时程增强, 从而改善记忆并提高认知水平。

【关键词】 胰高血糖素样肽-1; 2 型糖尿病; 阿尔茨海默病

Effects of GLP-1 in the treatment of Alzheimer's disease induced by type 2 diabetes mellitus Qi Liqin, Liu Libin. Institute of Endocrinology of Fujian Province, Department of Endocrinology, The Union Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China
Corresponding author: Liu Libin, Email: libin.liu@hotmail.com

【Abstract】 Type 2 diabetes has been identified as a risk factor for Alzheimer's disease (AD). Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) can stimulate β cell proliferation and insulin secretion in a glucose-dependent manner. It has been shown that GLP-1 also plays important roles in the treatment of neurodegenerative disease, such as reversing the detrimental effects that β -amyloid plaque load in brain, preventing neurons from oxidative damage, modulating synaptic transmission, rescuing synaptic plasticity, stimulating neurite growth, and affecting the process of long-term potentiation. Thus it can improve memory and cognitive dysfunction.

【Key words】 Glucagon-like peptide-1; Type 2 diabetes mellitus; Alzheimer's disease

阿尔茨海默病 (AD) 是一种以中枢神经退行性病变为特征性疾病, 主要表现为认知功能障碍。AD 发病的具体机制还未知, 可能和 $A\beta$ 淀粉样蛋白异常代谢和 tau 蛋白的过度磷酸化有关。糖尿病患者的长期高血糖状态使神经退行性疾病的危险性明显增加, 并且糖代谢紊乱可以在结构、神经生理、精神神经等诸多方面产生不良影响。胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 是一种因进食引起的由肠道 L 细胞分泌的肽类物质, 其多种衍生物已经通过美国食品药品监督管理局认证, 用于糖尿病的临床治疗。有研究表明, GLP-1 类似物能够通过血脑屏障进入脑内, 并且其受体在与认知功能相关区域的脑组织中均有表达。GLP-1 可以通过降低血糖, 改善胰岛素抵抗, 降低氧化应激反应等使 AD 患者受益, 同时 GLP-1 还是一种神经营养因子, 具有多种神经营养特性, 可以通过改善 $A\beta$ 淀粉样蛋白代谢等作用抑制神经细胞凋亡。

1 2 型糖尿病 (T2DM) 与 AD 的相关性

有研究表明, T2DM 是 AD 的高危因素。在一项对 6 370 例老年糖尿病受试者的前瞻性队列研究中, 有 126 例患者在后续的随访中出现痴呆症状, 其中 89 例为 AD 患者, 糖尿病使患 AD 的风险增加 1 倍 ($RR = 1.9$)^[1]。另一项对 1 892 例中年起病的糖尿病患者的研究发现, 30 年后有 652 例被诊断为 AD, Logistic 回归分析了糖尿病和 AD 的相关性, 同时, 与没有患 AD 的个体作对照, 并控制社会人口因素、心血管变量, 结果表明糖尿病个体 AD 的患病率显著增加 ($OR = 2.83$), 糖尿病是 AD 患病的危险因素^[2]。糖尿病和 AD 之间的联系密切, 但其中的机制还不明了。

2 T2DM 导致 AD 的发病机制

2.1 胰岛素抵抗 T2DM 发病机制之一是胰岛素抵抗, 胰岛素作为神经生长因子, 具有增加细胞代谢、促进细胞增长和修复细胞等功能, 因此, 胰岛素在脑组织内的敏感性降低能促进神经退行性病变的发生、发展。并且在 T2DM 患者中, 因胰岛素抵抗导致血浆和组织葡萄糖水平升高, 从而降低了葡萄糖转运至肝细胞或肌细胞的能力, 导致细胞外的高葡萄糖和晚期糖基化终末产物 (AGEs) 的产生, 并产生

氧化应激反应,同时细胞内葡萄糖含量减少会影响磷酸戊糖代谢途径,从而降低其抗氧化应激能力。并且胰岛素抵抗可以使可溶性A β 淀粉样蛋白的前体物质和A β 淀粉样蛋白从细胞内释放作用减弱,从而使A β 淀粉样蛋白在细胞内累积并导致神经细胞损害^[3]。

对于发生 T2DM 后出现认知功能障碍的患者,给予胰岛素治疗能明显改善其记忆能力,而在患有早期糖尿病的啮齿类动物皮下植入胰岛素颗粒,可以使血糖水平显著下降,同时还能完全缓解学习功能障碍,但在糖尿病发病 10 周后给予治疗,学习能力只有部分提高^[4-5]。

2.2 A β 淀粉样蛋白沉积和神经纤维缠结 AD 是一种慢性、进行性神经退行性病变,其病理特点是在脑中形成淀粉样蛋白斑块和神经纤维缠结。T2DM 时糖代谢过程中产生大量的 AGEs,在细胞内的 AGEs 可以使蛋白质交联并改变其可溶性,从而抑制细胞的转运等功能,导致细胞死亡。在细胞外的 AGEs 沉积,可以导致神经纤维缠结,产生氧化应激反应,从而诱导神经细胞功能紊乱和凋亡,AGEs 还可以激活神经胶质细胞产生自由基(超氧化物、一氧化氮和肿瘤坏死因子- α)^[6]。RAGE 作为 AGEs 的受体,激活后可以产生上述多种损伤效应,同时 RAGE 也是 β 淀粉样蛋白在神经细胞上的受体,激活 RAGE 可以导致神经细胞变性^[7-8]。

细胞内 β 淀粉样蛋白的累积,尤其是比较长的 A β 1-42,在 AD 的病理生理学中起关键作用,因为 A β 1-42 呈现出聚集性和神经毒特性。在糖尿病患者中 AGEs 及其前体物质甲基乙二醛等可能参与了可溶性蛋白转变为 β 淀粉样蛋白沉积的过程,并诱导蛋白质交联,使 tau 蛋白相关的微管蛋白发生聚集,从而导致 AD 患者的神经细胞损伤,并出现认知功能障碍^[9-10]。

因此,减轻 AD 患者的胰岛素抵抗、A β 淀粉样蛋白沉积以及改善氧化应激作用可能使其临床症状得到改善。

3 GLP-1 的神经保护作用

GLP-1 是一种具有 30 个氨基酸的内源性肽类激素,与 GLP-1 受体结合后能增加体内 cAMP 的水平,并刺激胰岛细胞再生,促进胰岛素释放,从而降低血糖。最近有研究发现,GLP-1 在神经的退行性病变中同样具有重要作用,能防止神经细胞凋亡和氧化应激损伤,调节 β 样蛋白前体的加工,减少 β 淀粉样蛋白在脑中的水平,从而起到改善认知功能的

作用^[11-12]。

3.1 促进胰岛素分泌,保护神经细胞 AD 患者存在胰岛素抵抗,所以,GLP-1 刺激胰岛细胞再生以及促进胰岛素的分泌能够改善 AD 患者的临床症状。研究证实,GLP-1 受体激活可以有效的刺激啮齿类动物 β 细胞再生,抑制 β 细胞凋亡^[13]。在一项随机双盲对照研究中发现,GLP-1 类似物可能通过增加脑组织的代谢率使脑组织内血糖水平显著降低,即单向通过血脑屏障的血糖转运并没有变,而清除率增加,从而使得脑组织内葡萄糖的水平波动更少,在高糖时对神经起保护作用^[14]。

3.2 减轻脑内 β 淀粉样蛋白沉积 通常情况下, pmol/L 水平的 A β 二聚体和三聚体会导致海马神经元进行性的丢失,并可使锥体神经元树突棘的密度明显降低,突触数量明显减少。但突触的损失是可逆的,并可被 A β 抗体所保护^[15]。GLP-1 受体激动剂 exendin-4 能改善 3xTg-AD (triple transgenic AD) 鼠脑组织的 A β 前体以及 A β 蛋白的升高,并能呈浓度依赖性的拮抗 A β 蛋白,保护神经元,在 100 nmol/L 时产生显著差异,在 200 nmol/L 时 exendin-4 达到最大效应^[16]。研究发现,在雄性 Wistar 大鼠的侧脑室注射 β 淀粉样蛋白 (10 nmol 和 100 nmol) 均能引起长时程增强 (LTP) 损伤,但在注射 β 淀粉样蛋白 30 min 前注射 Val(8) GLP-1,能显著改善淀粉蛋白引起的 LTP 损伤,从而对神经的退行性病变起保护作用^[17]。

3.3 防止氧化应激损伤 急性或慢性高血糖使细胞内活性氧簇和醛类累积,并促进糖尿病并发症的发展。甲基乙二醛是糖尿病及其并发症中最重要的反应性醛,在糖尿病患者的细胞和血清中明显升高,可以对 β 细胞分泌的胰岛素产生毒性作用,并能修饰蛋白和核酸^[18]。并且,AGEs 作用于 RAGE 能产生氧化应激反应,引起炎症反应爆发^[19]。GLP-1 类似物可以抑制 AGEs 诱导的 RAGE 和精氨酸甲基转移酶-1 基因的表达,减少活性氧簇产生,并且这些效应可以被 GLP-1 受体的小干扰 RNA 所阻断^[20]。在体外培养的 PC12 细胞中, GLP-1 和 exendin-4 均能保护高糖以及氧化应激介导的细胞损伤,并能增加神经细胞活性^[21]。GLP-1 受体激动剂还能通过丝裂原活化蛋白激酶途径激活 p90RSK 转录因子来调节血红素加氧酶-1 和 Bcl-2 等抗氧化应激蛋白的表达,从而发挥抗氧化应激效应^[22]。Ma 等^[23] 研究指出, GLP-1 (9-36) 酰胺能显著改善海马区 A β 沉积产生的线粒体氧化应激。

3.4 调节突触的可塑性 LTP 在 9 月龄 APP/PS1-21 小鼠中已经开始减弱,但静脉注射 Val(8)GLP-1 25 nmol/kg 3 周,能诱导其海马 CA1 区的 LTP 显著增强,表明 GLP-1 能完全保护由于过度表达突变 APP 和 PS1 基因对突触可塑性的损伤^[12]。GLP-1 受体激动剂不仅能减少由 β 淀粉样蛋白介导的 LTP 损伤,还能直接增强突触传递和促进 LTP 的形成,同时用 GLP-1 拮抗剂 Pro3GIP 能减少体内 LTP 的数量^[24]。对一项在 GLP-1 受体基因敲除小鼠模型的研究中发现,小鼠海马 CA1 区的 LTP 严重受损,并且产生物体的识别和学习障碍^[25]。在 GLP-1 受体基因缺乏的小鼠海马内导入 GLP-1 受体基因时,其记忆及认知功能受损均可得到改善,而且,在此项研究中发现, GLP-1 受体在海马过度表达时,学习记忆能力更高^[26]。

因此,在 AD 患者中, GLP-1 类似物可以通过促进胰岛素分泌,降低脑内 β 样淀粉蛋白沉积,防止氧化应激损伤并通过调节突触可塑性从而使 AD 患者受益。

GLP-1 发挥其神经保护作用的具体分子学机制是通过调节钙离子内流,防止细胞兴奋性死亡。神经细胞和胰岛 β 细胞具有许多共同点,都具有谷氨酸脱羧酶,能合成脑内神经抑制性递质如 γ -氨基丁酸,同时它们具有电兴奋性并能通过去极化和胞吐作用对葡萄糖和激素作出反应,类似于神经递质从突触囊泡中释放过程^[27]。实际上,在神经细胞的培养中, GLP-1 能调节谷氨酸诱导的钙离子释放。Gilman 等^[28]研究发现,钙离子在神经的可塑性及退行性病变中发挥重要作用,当用 GLP-1 预先处理神经元时,钙离子对谷氨酸的反应及膜去极化都是减少的,通过全细胞的膜片钳技术分析显示,谷氨酸诱导的电流和通过电压依赖性的钙离子通道的电流在 GLP-1 预处理后显著减少。由此说明, GLP-1 能显著减少由谷氨酸诱导的细胞死亡。

同时, GLP-1 可以通过下调葡萄糖激酶合酶 (GSK)3 β 的活性发挥保护作用。Ma 等^[23]研究发现,在 APP/PS1 鼠中,通过增加线粒体超氧化物使 GSK3 β 活性增加,从而减少 LTP,出现认知和学习功能障碍,并且, GSK3 β 活性的改变可以被 GLP-1 调节。GSK3 β 的上游调节分子是丝/苏氨酸蛋白激酶 (Akt), Akt 磷酸化后可抑制 GSK3 β 的活性。在 APP/PS1 鼠中,去磷酸化的 Akt 活性降低,从而使 GSK3 β 活性增加。并且, GLP-1 (9-36) 能逆转磷酸化 Akt 数量和活性的下降,降低 GSK3 β 的活性,增强

LTP,从而改善学习和认知障碍。

综上所述, GLP-1 作为新型糖尿病治疗药物,同时对中枢神经系统退行性病变的治疗也具有很大的潜力。基于 T2DM 和 AD 的相关性和 GLP-1 的神经保护作用,利用 GLP-1 干预 AD 也成为近年研究的热点。大量研究证实, GLP-1 及其类似物能够减少神经元凋亡、减轻氧化应激反应,改善 AD 模型鼠的认知功能和记忆能力。但 GLP-1 是否会引起 tau 蛋白磷酸化程度增加还有争议,并且 GLP-1 对神经细胞的具体作用机制还有待进一步阐明。

参 考 文 献

- [1] Ott A, Stolk RP, van Harskamp F, et al. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study[J]. *Neurology*, 1999, 53(9):1937-1942.
- [2] McIntyre RS, Powell AM, Kaidanovich-Beilin O, et al. The neuroprotective effects of GLP-1: possible treatments for cognitive deficits in individuals with mood disorders[J]. *Behav Brain Res*, 2013, 237:164-171. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.09.021.
- [3] Ling X, Martins RN, Racchi M, et al. Amyloid beta antagonizes insulin promoted secretion of the amyloid beta protein precursor[J]. *J Alzheimers Dis*, 2002, 4(5):369-374.
- [4] Plastino M, Fava A, Pirritano D, et al. Effects of insulin therapy on cognitive impairment in patients with Alzheimer disease and diabetes mellitus type-2[J]. *J Neurol Sci*, 2010, 288(1-2):112-116. DOI: 10.1016/j.jns.2009.09.022.
- [5] Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus[J]. *Trends Neurosci*, 2000, 23:542-549.
- [6] Dukic-Stefanovic S, Schinzel R, Riederer P, et al. AGES in brain ageing: AGE-inhibitors as neuroprotective and anti-dementia drugs[J]. *Biogerontology*, 2001, 2(1):19-34.
- [7] Yan SD, Roher A, Chaney M, et al. Cellular cofactors potentiating induction of stress and cytotoxicity by amyloid beta-peptide[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1502(1):145-157.
- [8] Sasaki N, Toki S, Chowei H, et al. Immunohistochemical distribution of the receptor for advanced glycation end products in neurons and astrocytes in Alzheimer's disease[J]. *Brain Res*, 2001, 888:256-262.
- [9] Beerli MS, Moshier E, Schmeidler J, et al. Serum concentration of an inflammatory glycotoxin, methylglyoxal, is associated with increased cognitive decline in elderly individuals[J]. *Mech Ageing Dev*, 2011, 132(11-12):583-587. DOI: 10.1016/j.mad.2011.10.007.
- [10] Fawcett JN, Schall HE, Petrof Chapo RD, et al. Amyloid-metabolite sensing: biochemical linking of glycation modification and misfolding[J]. *J Alzheimer Disease*, 2012, 30:63-73. DOI: 10.3233/JAD-2012-112114.
- [11] Holst JJ, Vilsbø T. Combining GLP-1 receptor agonists with insulin: therapeutic rationales and clinical findings[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2013, 15(1):3-14. DOI: 10.1111/j.1463-1326.2012.01628.x.
- [12] Gengler S, McClean PL, McCurtin R, et al. Val(8)GLP-1 rescues synaptic plasticity and reduces dense core plaques in APP/PS1 mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33:265-276. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.02.014.
- [13] Rankin MM, Kushner JA. Adaptive beta-cell proliferation is severely restricted with advanced age[J]. *Diabetes*, 2009, 58(6):1365-1372. DOI: 10.2337/db08-1198.

- [14] Gejl M, Egebjerg L, Lerche S, et al. Glucagon-like peptide-1 decreases intracerebral glucose content by activating hexokinase and changing glucose clearance during hyperglycemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32 (12): 2146-2152. DOI: 10.1038/jcbfm.2012.118.
- [15] Shankar GM, Bloodgood BL, Townsend M, et al. Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway [J]. *J Neurosci*, 2007, 27 (11): 2866-2875.
- [16] Li Y, Duffy KB, Ottinger MA, et al. GLP-1 receptor stimulation reduces amyloid-beta peptide accumulation and cytotoxicity in cellular and animal models of Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 19 (4): 1205-1219. DOI: 10.3233/JAD-2010-1314.
- [17] Gault VA, Hölscher C. GLP-1 agonists facilitate hippocampal LTP and reverse the impairment of LTP induced by beta-amyloid [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 587 (1-3): 112-117. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.03.025.
- [18] Hölscher C. The role of GLP-1 in neuronal activity and neurodegeneration [J]. *Vitam Horm*, 2010, 84: 331-354. DOI: 10.1016/B978-0-12-381517-0.00013-8.
- [19] Puddu A, Mach F, Nencioni A, et al. An emerging role of glucagon-like peptide-1 in preventing advanced-glycation-end-product-mediated damages in diabetes [J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 591056. DOI: 10.1155/2013/591056.
- [20] Ojima A, Ishibashi Y, Matsui T, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist inhibits asymmetric dimethylarginine generation in the kidney of streptozotocin-induced diabetic rats by blocking advanced glycation end product-induced protein arginine methyltransferase-1 expression [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182 (1): 132-141. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.09.016.
- [21] Chen S, Liu AR, An FM, et al. Amelioration of neurodegenerative changes in cellular and rat models of diabetes-related Alzheimer's disease by exendin-4 [J]. *Age (Dordr)*, 2012, 34 (5): 1211-1224.
- [22] Liu J, Yin F, Zheng X, et al. Geniposide, a novel agonist for GLP-1 receptor, prevents PC12 cells from oxidative damage via MAP kinase pathway [J]. *Neurochem Int*, 2007, 51 (6-7): 361-369.
- [23] Ma T, Du X, Pick JE, et al. Glucagon-like peptide-1 cleavage product GLP-1 (9-36) amide rescues synaptic plasticity and memory deficits in Alzheimer's disease model mice [J]. *J Neurosci*, 2012, 32 (40): 13701-13708. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2107-12.2012.
- [24] Hölscher C, Li L. New roles for insulin-like hormones in neuronal signaling and protection: new hopes for novel treatments of Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2010, 31 (9): 1495-1502. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2008.08.023.
- [25] Abbas T, Faivre E, Hölscher C. Impairment of synaptic plasticity and memory formation in GLP-1 receptor KO mice: interaction between type 2 diabetes and Alzheimer's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2009, 205 (1): 265-271. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.06.035.
- [26] During MJ, Cao L, Zuzga DS, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor is involved in learning and neuroprotection [J]. *Nat Med*, 2003, 9 (9): 1173-1179.
- [27] Meloni AR, DeYoung MB, Lowe C, et al. GLP-1 receptor activated insulin secretion from pancreatic β -cells: mechanism and glucoside dependence [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2013, 15 (1): 15-27. DOI: 10.1111/j.1463-1326.2012.01663.x.
- [28] Gilman CP, Perry T, Furukawa K, et al. Glucagon-like peptide 1 modulates calcium responses to glutamate and membrane depolarization in hippocampal neurons [J]. *J Neurochem*, 2003, 87 (5): 1137-1144.

(收稿日期: 2015-05-18)

(上接第 41 页)

- [9] Zhang HJ, Zhang XF, Ma ZM, et al. Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults [J]. *J Hepatol*, 2013, 59 (3): 557-562. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.04.030.
- [10] Wang C, Guan Y, Yang J. Cytokines in the progression of pancreatic β -cell dysfunction [J]. *Int J Endocrinol*, 2010, 2010: 515136. DOI: 10.1155/2010/515136.
- [11] Wenz T, Rossi SG, Rotundo RL, et al. Increased muscle PGC-1 α expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106 (48): 20405-20410. DOI: 10.1073/pnas.0911570106.
- [12] Sharp LZ, Shinoda K, Ohno H, et al. Human BAT possesses molecular signatures that resemble beige/brite cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (11): e49452. DOI: 10.1371/journal.pone.0049452.
- [13] Feldmann HM, Golozoubova V, Cannon B, et al. UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality [J]. *Cell Metab*, 2009, 9 (2): 203-209. DOI: 10.1016/j.cmet.2008.12.014.
- [14] Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, et al. Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity—correlation with body mass index [J]. *Peptides*, 2013, 39: 125-130. DOI: 10.1016/j.peptides.2012.11.014.
- [15] Choi YK, Kim MK, Bae KH, et al. Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013, 100 (1): 96-101. DOI: 10.1016/j.diabres.2013.01.007.
- [16] 潘玲玲, 张惠杰, 陈政, 等. 血清 irisin 水平与腹型肥胖成人血脂率相关 [J]. *中华糖尿病杂志*, 2013, 5 (8): 472-476. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2013.08.005.
- [17] Sharma N, Castorena CM, Cartee GD. Greater insulin sensitivity in calorie restricted rats occurs with unaltered circulating levels of several important myokines and cytokines [J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2012, 9 (1): 90. DOI: 10.1186/1743-7075-9-90.
- [18] Hernández-Alvarez MI, Thabit H, Burns N, et al. Subjects with early-onset type 2 diabetes show defective activation of the skeletal muscle PGC-1 α /Mitofusin-2 regulatory pathway in response to physical activity [J]. *Diabetes Care*, 2010, 33 (3): 645-651. DOI: 10.2337/dc09-1305.
- [19] Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, et al. Is irisin a human exercise gene? [J]. *Nature*, 2012, 488 (7413): E9-E10; discussion E10-1. DOI: 10.1038/nature11364.
- [20] Raschke S, Elsen M, Gassenhuber H, et al. Evidence against a beneficial effect of irisin in humans [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (9): e73680. DOI: 10.1371/journal.pone.0073680.

(收稿日期: 2015-05-17)